

海洋生命科学实验教材



# 植物生理学

# 实验技术

ZHIWU SHENGLIXUE SHIYAN JISHU

董树刚 吴以平 编



中国海洋大学出版社

海洋生命科学实验教材

ZHIWU SHENGLIXUE SHIYAN JISHU  
**植物生理学实验技术**

董树刚 吴以平 编

中国海洋大学出版社  
· 青 岛 ·

### 图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验技术/董树刚,吴以平编. —青岛:中国海洋大学出版社,2006. 10  
海洋生命科学实验教材

ISBN 7-81067-949-X

I. 植… II. ①董…②吴… III. 植物生理学—实验—教材 IV. Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2006)第 120798 号

出版发行 中国海洋大学出版社

社 址 青岛市香港东路 23 号

邮政编码 266071

网 址 <http://www2.ouc.edu.cn/cbs>

电子信箱 [hdcbs@ouc.edu.cn](mailto:hdcbs@ouc.edu.cn)

订购电话 0532-82032573 82032573(传真)

责任编辑 魏建功

电 话 0532-85902121

印 制 日照报业印刷有限公司

版 次 2006 年 10 月第 1 版

印 次 2006 年 10 月第 1 次印刷

成品尺寸 170 mm×228 mm

印 张 8.5

字 数 157 千字

定 价 18.00 元

## 前 言

植物生理学是一门实践性很强的学科,植物生理学实验主要是让学生了解和掌握植物生理学研究的基本手段和方法。本书作者在中国海洋大学从事植物生理学实验教学 20 多年,并在海洋植物生理教学和研究中积累了较丰富的经验,在本书中,作者结合植物生理学学科的发展、植物生理学课程内容和体系的改革,编选了部分有示范性的实验,这些实验覆盖面广,既有多样性又具有代表性。有一些是依据海洋大型藻类和浮游藻类的生理特点编写的,具有鲜明的海洋特色。

作者在实验设计中结合当前生产和科研工作的需要,特别注重学生动手能力、思维能力和创造能力的培养,本书中不但选入了一些经典的植物生理学实验,也吸收了许多近代植物生理学领域中出现的新实验和新技术。既有利于学生学习植物生理学实验的基本方法,又有利于学生掌握近年来不断涌现的各种测试技术和各种先进仪器的操作方法。

本书共收录 30 个实验,内容涉及水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、物质代谢、植物激素、生长发育、植物与环境等。为锻炼学生查阅资料、独立工作、解决问题的能力,书中还增加了综合性和研究性实验教学内容,这些实验可以引导学生举一反三,拓展实验的深度和广度。书中所列实验,都是经作者多次实践过的,切实可行;有些是自行设计并在教学过程中不断改进和完善起来的,具有较强的现实指导意义。

本书可作为涉海的综合性大学和师范院校植物生理学实验教材,亦可供农、林院校及其他与植物生理学有关的师生和科技人员参考。

本书部分内容借鉴了国内一些优秀教材和论文,在此向相关作者表示衷心的感谢。

由于编者水平有限,书中难免存在错误和不妥之处,敬请读者和专家们指正。

编 者

2006 年 8 月

# 目 录

实验室规则 .....	1
实验记录及实验报告 .....	2

## 第一部分 基础实验

实验一 植物组织自由水和束缚水含量的测定 .....	7
实验二 植物组织水势的测定 .....	10
实验三 植物溶液培养及缺素症的观察 .....	14
实验四 植物灰分中常量元素的分析 .....	17
实验五 植物硝态氮的比色测定 .....	19
实验六 硝酸还原酶活性的测定 .....	22
实验七 植物叶绿体色素的分析 .....	25
实验八 离体叶绿体对水的光解作用 .....	29
实验九 离体叶绿体对染料的还原作用 .....	32
实验十 海藻光合作用和呼吸作用强度的测定 .....	34
实验十一 高等植物光合作用和呼吸作用强度的测定 .....	39
实验十二 植物呼吸强度的测定 .....	43
实验十三 植物呼吸酶的简易测定法 .....	45
实验十四 植物组织中可溶性糖含量的测定 .....	47
实验十五 植物组织中可溶性蛋白质含量的测定 .....	50
实验十六 吡啶乙酸氧化酶活性的测定 .....	53
实验十七 气相色谱法测定乙烯含量 .....	56
实验十八 植物电解质外渗率的测定 .....	59
实验十九 植物组织中脯氨酸含量的测定 .....	61

## 第二部分 综合性实验

实验二十 植物愈伤组织的诱导、继代与分化培养 .....	65
------------------------------	----

实验二十一 植物原生质体的制备与培养 .....	71
实验二十二 植物快繁技术 .....	74
实验二十三 浮游植物叶绿素含量的测定 .....	77
实验二十四 氨基酸的测定——高效液相色谱法 .....	81

### 第三部分 研究性实验

实验二十五 矿质元素对小麦生长的影响 .....	91
实验二十六 钙处理对植物抗逆性的影响 .....	93
实验二十七 环境因子对高等植物光合作用的影响 .....	95
实验二十八 矿质元素对海洋微藻的生长的影响 .....	99
实验二十九 海藻对矿质元素的吸收规律 .....	103
实验三十 海藻对重金属(镉、汞)的吸收与净化作用研究 .....	107

### 附录

附录 1 常用酸碱的浓度 .....	119
附录 2 不同温度下以空气饱和的水中的氧含量 .....	119
附录 3 光的能量单位之间的关系 .....	120
附录 4 离心机转速与相对离心力的换算 .....	120
附录 5 标准筛孔目数与孔径对照表 .....	121
附录 6 常用缓冲溶液的配制 .....	122
附录 7 植物组织和细胞培养常用的几种培养基 .....	127

参考文献 .....	128
------------	-----

## 实验室规则

(1) 自觉遵守课堂纪律、维护课堂秩序,不迟到、不早退,保持室内安静,不大声谈笑。

(2) 在实验过程中要认真听从教师的指导,严肃认真地按照操作规程进行实验,并简要准确地将实验记录在实验记录本上,实验结束后,经教师检查同意方可离开实验室,课后按照实验要求写出实验报告。

(3) 环境和仪器的清洁整齐是做好实验的重要条件,因此在实验过程中要注意保持实验台面的整洁,使用过的试剂要及时放回到试剂架上,实验完毕,应将试剂排列整齐,玻璃仪器洗净倒置放回到仪器橱中,将实验台面擦拭干净后方可离开实验室。

(4) 实验中使用试剂时要注意节约,应特别注意保持试剂的纯净,严防混杂,不要将滤纸和称量纸做其他用途。使用和洗涤玻璃仪器时要小心仔细,防止损坏仪器。使用贵重精密仪器时,应严格按照仪器的使用操作规程进行操作,发现故障立即报告教师,不要自己动手检修。

(5) 实验室内严禁吸烟,电炉等用电设备用毕应随时关闭。禁止用明火直接加热乙醇、丙酮、乙醚等易燃易爆物品,实验结束后应关闭电器的电源、关闭水龙头,各种玻璃器皿应放置稳妥,各项不安全因素均消除后,方可离开实验室。

(6) 废弃液体中的强酸、强碱必须稀释或中和后,方可倒入下水槽放水冲走;重金属废弃物应收集在重金属废液瓶中,由实验室交相关处理厂统一处理。无害的废渣、废纸等固体废弃物应放入垃圾袋中按生活垃圾处理。

(7) 仪器损坏时应如实向教师报告,认真填写损坏仪器登记表,然后补领。

(8) 实验室内的一切物品,未经教师批准,严禁携出室外,借物应办理借物登记手续。

(9) 每次实验结束后,值日生要认真负责当日的卫生工作。

# 实验记录及实验报告

## 一、实验记录

实验课前应认真预习实验材料,将实验名称、目的要求、原理、实验内容和步骤等简单扼要地写在记录本上。实验记录本上应标上页数,不要撕去任何一页,更不要擦抹及涂改,写错时可以划去重写,记录时必须使用钢笔或圆珠笔。实验时应将实验条件、实验现象、结果和数据等及时地记在记录本上,绝对不可以用单片纸做记录或草稿,原始记录必须准确、简练、详尽、清楚,从实验课开始就养成这种良好的习惯。

记录时应做到客观记录实验结果,切忌夹杂主观因素,在实验条件下观察到的现象、观测数据(如,称量物的质量、滴定管的读数、分光光度计的读数等均作为记录对象)。必要时可以设计一定的表格记录数据,并根据仪器的精度准确记录有效数字(例如光密度值为 0.050 不应写成 0.05)。实验记录上的每一个数字,都是每一次测定结果的反映,所以,重复观测时即使数字完全相同也应如实记录下来。

实验中使用仪器的类型、编号以及试剂的规格、化学式、分子量、浓度等都应记录清楚,以便总结实验结果时进行核对和作为查找成败原因的参考依据。

如果发现记录的结果有怀疑、遗漏、丢失等,都必须重做实验,因为将不可靠的结果当做正确的记录,在实验工作中可能造成难于估量的损失,所以,在学习期间就应一丝不苟,养成严谨的科学的工作作风。

## 二、实验报告

实验结束后,应及时整理和总结实验结果,写出实验报告。

一般每次实验课做数个定性实验,实验报告中的实验名称和目的要求都应该是针对这次实验课的全部内容而必须达到的目的和要求,在写实验报告时,可以按照内容分别写原理、步骤、结果与讨论等。原理部分应简述,实验步骤可以采用工艺流程图的方式来表示,某些实验步骤可以和结果部分合并。结果部分主要写实验结果及观察现象的小结,讨论部分主要是对实验课遇到的问题的分析和对思考题的回答等。



通常每次实验课做一个定量实验,在实验报告中,目的和要求、原理以及操作方法部分应简单扼要的叙述,但是对于实验条件和操作的关键环节必须写清楚,对于实验结果部分,应根据实验课的要求将一定实验条件下获得的实验结果和数据进行整理、归纳、分析和对比,尽量总结成各种图表,如原始数据及其处理的表格、标准曲线图等,同时针对实验结果进行必要说明和分析。讨论部分主要针对实验中存在的问题加以分析讨论,如实验的误差来源、实验方法的改进措施、实验的正常结果和异常现象分析,对于实验设计的认识、体会和建议,以及对实验课的改进意见等。

下图为实验报告的一般格式,供实验者参考。

### 实验报告格式

实验编号\_\_\_\_\_实验名称

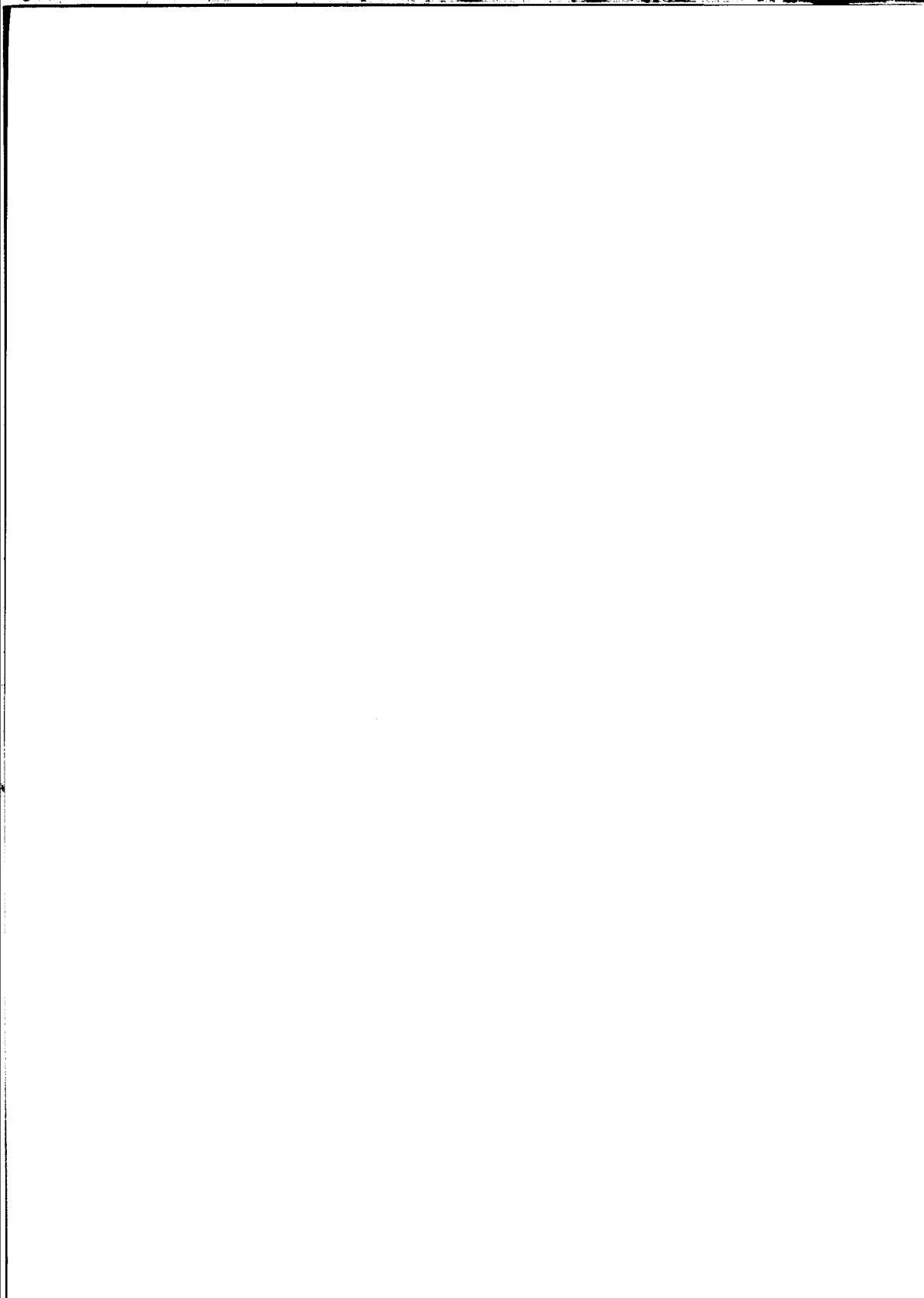
一、目的和要求

二、原理

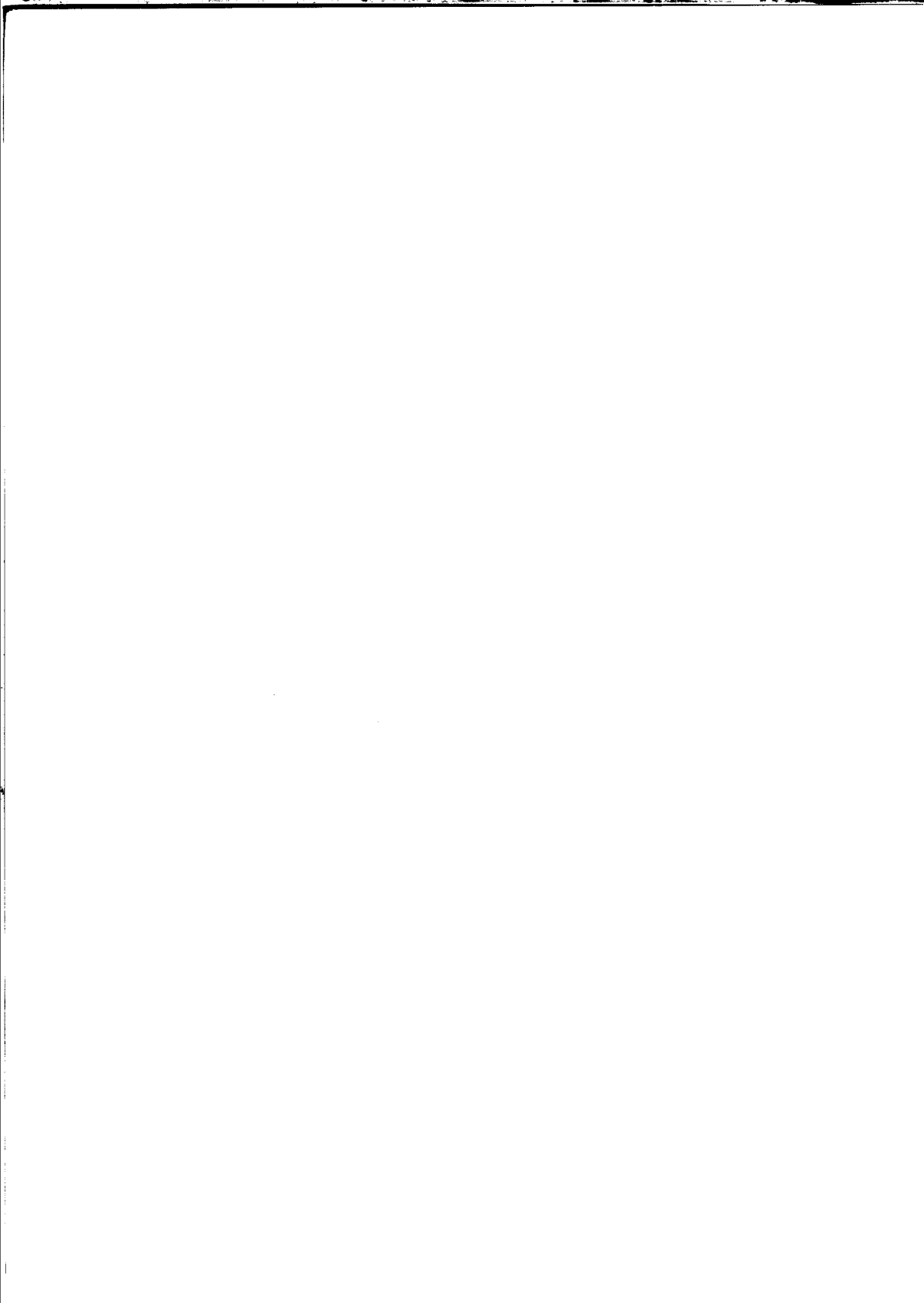
三、步骤

四、结果

五、讨论



第一部分  
基础实验



## 实验一 植物组织自由水和束缚水含量的测定

### 一、实验目的

学会植物组织含水量、自由水和束缚水含量的测定方法,学会电子天平和阿贝氏折射仪等仪器的使用方法。

### 二、实验原理

植物组织中水分有自由水和束缚水两种存在状态,自由水易于流动和蒸发,可以做溶剂,而束缚水与此相反难以蒸发,也不可以做溶剂。根据这两种水的性质不同将它们分离,然后再测定其含量。分离的方法是将待测的植物组织放入浓度很高的蔗糖溶液中脱水,如果蔗糖溶液的浓度足够高,体积足够大,那么在达到平衡时组织中绝大部分的自由水将进入蔗糖溶液,根据蔗糖溶液浓度的变化,重量以及植物组织的鲜重可以求出植物组织中自由水的含量,同时用烘干的方法测定出植物组织的含水量,束缚水含量等于植物组织含水量与自由水含量的差。

设: $A$  为植物组织中自由水的质量(g), $W$  为蔗糖溶液的质量(g); $C_1$  为处理前蔗糖溶液浓度(%); $C_2$  为处理后蔗糖溶液浓度(%); $W_y$  为植物组织鲜重(g)。

则

$$A = (W + A)(1 - c_2) - W(1 - c_1)$$

即

$$A = \frac{W(c_1 - c_2)}{W_y}$$

$$\text{自由水含量}(\%) = \frac{A}{W_y} \times 100\% = \frac{W(c_1 - c_2)}{c_2 W_y} \times 100\%$$

### 三、仪器试剂

#### 1. 仪器及器皿

阿贝氏折射仪,超级恒温水浴,1/1 000 电子天平,吸管,烘箱,扁型称量瓶,剪刀,5 mL 移液管,滤纸,吸水纸。

## 2. 试剂

65%~70%蔗糖溶液(W/V)。

## 四、实验材料

油菜或白菜。

## 五、实验步骤

(1)取称量瓶4个,编号、洗净、烘干,用电子天平称量、记录。

(2)取待测的植物样品4份,每份在1g左右(0.900~1.100g),用剪刀剪成1~2mm长的小段,放入称量瓶中,盖上盖子,称量、记录。

(3)其中两瓶用来测含水量,将盖子打开,放入100℃~105℃的烘箱中烘至恒重,称量、记录,代入公式计算植物组织含水量。

(4)另外两瓶分别加入蔗糖溶液5mL,盖上瓶盖,称量、记录,放在实验台上进行水分交换2~3小时,其间不时摇动,用阿贝氏折射仪分别测定处理前、后蔗糖的重量百分比浓度。

(5)将阿贝氏折射仪的进样旋钮打开,用吸管吸取待测蔗糖溶液1~2滴,加入折射仪进样棱镜的磨砂表面上,将棱镜关闭,调节色散旋钮至色散消失,调节读数旋钮,将黑白分界线调到望远镜筒的十字交叉点上,然后在读数镜筒中读出蔗糖的质量百分浓度。

## 六、计算

$$\text{样品含水量}(\%) = \frac{\text{鲜重} - \text{干重}}{\text{鲜重}} \times 100\%$$

$$\text{样品自由水含量}(\%) = \frac{W(c_1 - c_2)}{c_2 W_y} \times 100\%$$

式中,

$W$  —— 蔗糖溶液质量(g);

$c_1$  —— 处理前蔗糖溶液浓度(%);

$c_2$  —— 处理后蔗糖溶液浓度(%);

$W_y$  —— 植物组织鲜重(g)。

样品束缚水含量(%) = 样品含水量(%) - 样品自由水含量(%)

附 数据记录表

样品含水量测定结果见表 1-1, 样品自由水含量测定结果见表 1-2。

表 1 样品含水量测定结果

项目 瓶号	瓶重 (g)		瓶重+样品 鲜重(g)		瓶重+样品 干重(g)		样品含 水量(%)	平均
	测量	平均	测量	平均	测量	平均		
1								
2								

表 2 样品自由水含量测定结果

项目 瓶号	瓶重 (g)		瓶重+样品 鲜重(g)		瓶重+样品 干重(g)		处理前蔗糖 溶液浓度 (%) $c_1$		处理后蔗糖 溶液浓度 (%) $c_2$		样品自由 水含量 (%)	平均
	测量	平均	测量	平均	测量	平均	测量	平均	测量	平均		
3												
4												

## 实验二 植物组织水势的测定

### 一、实验目的

通过用小液流法和电导法对不同环境条件下植物组织水势的测定,使学生学会植物组织水势常用的测定方法,并了解植物水势和土壤水分含量之间的关系。

植物组织的水势随着外界条件的变化而变化,它可以反映出植物的水分供应状况,在农业生产中可以作为合理灌溉的生理指标。

### 二、小液流法

#### (一)实验原理

当植物浸入溶液中时,植物组织同溶液之间将发生水分交换。如果植物的水势小于外界溶液的水势,则植物组织吸水,从而使外界溶液浓度变大;如果植物组织的水势大于外界溶液,则植物组织失水,从而使外界溶液浓度变小。如果植物组织的水势与外界溶液相同,水分交换达到平衡,外界溶液的水势不变。此时,可以根据外界溶液的水势的数值求出植物组织的水势。

判断水分交换后,外界溶液浓度变化的方法有很多,最常见的是小液流法。将染上颜色的一滴外界溶液,放回到没有与植物组织进行水分交换的原液中去,如果溶液浓度降低,相对密度下降,液滴向上移动;如果溶液浓度变大,比重增加,液滴向下移动;溶液浓度不变则液滴静止不动,此时所测植物的水势即等于溶液的水势。溶液的水势可根据溶液的渗透势计算得到。

#### (二)仪器试剂

##### 1. 仪器及用品

试管,青霉素小瓶,试管架,打孔器,镊子,刀片,移液管(10 mL,5 mL),小烧杯,毛细吸管。

##### 2. 试剂

(1)次甲基蓝。

(2)1 mol·L<sup>-1</sup> NaCl 溶液。



(三)实验材料

马铃薯块茎。

(四)实验步骤

首先用  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  NaCl 溶液配制一系列浓度递增的 NaCl 溶液 ( $0.1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.3 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $0.4 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 各取 10 mL 注入不同的试管中, 各管都加上塞子, 并编号, 按编号顺序排成一列, 放在试管架上, 作为对照组。

另取 4 个青霉素小瓶, 编号, 按顺序放在试管架旁, 作为试验组, 然后从对照组各试管中分别取溶液 2 mL 移入相同编号的青霉素小瓶中, 再将各小瓶都加上塞子。

用刀片将马铃薯块茎切成  $5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm} \times 5 \text{ mm}$  大小相等的小块, 向试验组的每一小瓶中各加 4 块, 塞好塞子。放置 30 分钟, 在其间摇动数次, 到时间后, 向每一小瓶中各加次甲基兰粉末少许, 并振摇混匀, 此时溶液变成蓝色。

用毛细吸管从试验组的各小瓶中依次吸取着色的液体少许, 然后伸入对照组相同编号试管的液体中部, 缓慢放出一滴蓝色试验溶液, 并观察小液流移动的方向。

如果小液流向上流, 说明溶液从细胞中吸出水分而被冲淡, 相对密度比原来变小了; 如果小液流向下, 则说明细胞从溶液中吸了水, 溶液变浓, 相对密度变大; 如果液流不动, 则说明试验溶液的浓度等于对照溶液, 即植物组织的水势等于溶液的渗透势。

记录不同浓度的处理液的小液流流动的方向, 找到小液流不动时溶液的 NaCl 浓度。

(五)计算

按

$$\psi_w = -RTic \text{ 计算组织的水势值}$$

则

$$\psi_w = -0.0083 \times (273 + t) \times 1.8 \times c$$

式中,

$\psi_w$ ——组织的水势(MPa);

$R$ ——气体常数( $0.0083 \text{ L} \cdot \text{MPa} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$ );

$T$ ——绝对温度, K, 即  $273^\circ\text{C} + t^\circ\text{C}$  (当时实验时的温度);

$i$ ——解离系数, NaCl 的  $i$  值是 1.8;

$c$ ——等渗溶液的摩尔浓度。