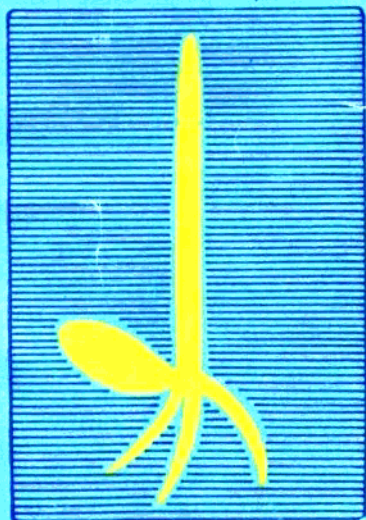


高等学校教材

植物生理学 实验指导

(第二版)

张志良 主编



高等教育出版社

内 容 提 要

本书是华东师范大学植物生理教研组主编的《植物生理学实验指导》的第二版,改为张志良主编。修版后的第二版删去一些简单的验证性内容,新增加“基本实验技术”部分。全书包括水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、物质代谢、植物激素、生长发育、植物与环境和基本实验技术9部分,共91个实验。内容涉及溶液培养、组织培养、吸收光谱分析、免疫测定、氧电极法、测压法、红外线CO₂分析、凝胶柱层析、凝胶电泳以及酶的分离和纯化等技术,系作者们多年在教学和科研中经验的总结。各实验以原理、仪器药品、操作步骤、实验作业、参考文献顺序叙述。书后有缓冲溶液、载液指示剂、培养基成分、筛目孔径及实验室常用的物理化学参数等附表17个,插图43幅。

本书可作为高等院校和中等专业学校教材,也可供有关专业师生和科研人员参考。

高等学校教材

植物生理学实验指导

(第二版)

张志良 主编

高等教育出版社出版

新华书店北京发行所发行

上海中华印刷厂印装

开本 850×1168 1/32 印张 11.375 字数 274,000

1990年3月第2版 1990年3月第1次印刷

印数0001—11,240

ISBN 7-04-002723-X/Q-153

定价 3.05 元

第二版前言

《植物生理学实验指导》一书自1980年出版以来,作为高等院校的试用教材,为许多兄弟院校所采用,每年印行1万册。近年来植物生理学和其他学科一样有了很大的发展,教学实验的内容也更为丰富,新技术和新方法也得到了应用,因此,原“指导”已不能完全适应新的形势,有必要进行全面修改。

这次修改工作,广泛征求了意见,收到了许多宝贵的建议,使我们更加明确了修改的方向。有些兄弟院校还给我们寄来了稿件,使修改后的“指导”增添了不少新的内容。对大家的关心,我们表示十分感谢。

由于各高等院校的类型和性质以及设备条件、教学时数等的不同,对植物生理学实验内容的繁简要求也就不同;有的学校已将植物生理学实验作为一门课,自成体系,不再从属于课堂教学,这就大大地加重了它的分量;学生的课外小组和毕业论文实践,也需要合适的指导书。变化中的这些新情况,都是这次修改中考虑的一些方面。在内容上删去了一些简单的、验证性的、效果不够理想的实验;有些实验内容虽简单,但能说明问题,目前许多学校还选做的,这次仍保留,但改为示范,不必占用学生的实验时间;新增加的基本实验技术部分,是为了专业植物生理学大实验和学生进行毕业论文或科学研究时参考用。

修订后的“指导”涉及植物生理学各章的内容,既有目前实验室常用的方法,又有较新的现代科学技术。将原有的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、物质代谢、植物激素、生长发育和植物与环境8部分95次实验进行了调整和删减,增添了组织培养、

免疫测定等内容。新增加的基本实验技术部分，则单独列出6个实验。全书分9部分，共91个实验，在各部分实验的划分和归属上，一定还有不少问题。如钙调素(calmodulin)是一种Ca-结合蛋白， Ca^{2+} 的浓度影响它的活性，从而调控一些酶的活性，但由目前的教学实际考虑，还是将它归入矿质营养中。

在修改过程中得到颜季琼教授和沈曾佑副教授的热情指导，教研组其他同志的关怀。特别是张利华同志，为核实验证实验内容的可行性，以及缮写书稿和绘图等花费了许多精力和时间，在此一并致谢。

最后，我们诚恳地希望采用本书作教材的学校教师和同学们，能及时提出存在的问题和批评意见，便于以后再补充修改。

张志良

于华东师范大学生物学系

1987年11月

第一版前言

1978年12月在北京植物生理学教材审稿会议上,我组到会兄弟院校代表的委托,着手进行植物生理学实验指导的主编工作。许多兄弟院校给我们寄来了资料,北京大学、山东大学、南京大学、中山大学、云南大学、杭州大学、北京师大、东北师大、华南师院、北京师院、西南师院、辽宁师院、上海师院等积极承担了编写任务。在大家的共同努力下,于1979年9月完成初稿,分寄全国各高等师范院校、综合性大学以及部分农林院校和科研单位广泛征求意见。

此后于1980年1月在教育部委托我校举办的全国高师植物生理实验技术短训班上,由38个参加单位讨论草拟了实验编写大纲。本实验指导就是以这个编写大纲和高等师范院校植物生理学教学大纲(草案)中规定的实验内容为主要依据编写的。同时考虑到实验教材的适应性应比较广泛,类型应比较齐全,以满足不同的教学要求;既要有基本实验,也要有一定数量要求较高的和综合性的实验。因此,从初稿中选出有关的内容,经过修改,并补充了一些新的内容,共有实验95个,其中在目录内标有*号者,定为必做内容,标有○号者,可在同一性质的内容中任选一个,为明了起见,将安排列成附表11,供大家参考。其余的内容可根据各校的具体条件选用。初稿中有些兄弟院校撰写的内容十分新颖,但由于学时数和教学内容的限制,在这本实验指导中未能列入,这是十分遗憾的事。

本实验指导供高等师范院校使用,也可供综合性大学及其他有关高等院校教学参考。

参加编写工作的同志有：张志良、沈曾佑、沈宗英、赵继芬、王隆华、胡天喜，以及前面提到的参加初稿编写的单位。全书由张志良同志负责修改校正，在编写过程中顾季球教授多次参加讨论并热情指导。由于我们水平有限，实际经验不多，书中错误及不妥之处，热忱地希望同志们批评指正。

编 者

1980年7月于华东师大

目 录

一、水分生理	1
实验 1 植物组织含水量的测定	1
实验 2 植物组织水分饱和亏的测定	4
实验 3 植物组织中自由水和束缚水含量的测定	6
实验 4 植物组织渗透势的测定(质壁分离法)	9
实验 5 植物组织水势的测定(小液流法)	12
实验 6 蒸腾强度的测定(钴纸法)	14
实验 7 环境因子对植物吐水的影响(示范)	16
实验 8 植物叶子气孔密度和面积的测定	18
实验 9 钾离子对气孔开度的影响	20
实验 10 气孔保卫细胞内钾离子变化的观察	21
实验 11 小孔的扩散(示范)	24
实验 12 植物伤流液中糖和氨基酸的鉴定	26
二、矿质营养	29
实验 13 植物灰分常量元素分析	29
实验 14 植物组织可挥发性元素的鉴别	31
实验 15 植株硝态氮的比色测定	33
实验 16 植株磷素的比色测定(磷钼蓝法)	36
实验 17 植株中总铁量的测定	39
I、硫氰化物法	39
II、邻二氮杂菲(非绕啉)法	41
实验 18 微量元素铜的测定	42
实验 19 植物的元素缺乏症(溶液培养)	45

实验 20	单盐毒害及离子间拮抗现象	49
实验 21	植物根系对离子的选择吸收	50
实验 22	离体根对铵离子的交换吸收	52
实验 23	氧对小麦离体根吸收钾离子的影响	55
实验 24	根系体积的测定	57
实验 25	根系活力的测定	59
	I、 α -萘胺氧化法	59
	II、甲烯蓝吸附法	62
实验 26	硝酸还原酶活性的测定	65
实验 27	植物对磷的吸收和运输(放射自显影, 示范)	68
实验 28	真核生物钙调素的酶联免疫测定法	70
三、光合作用		78
实验 29	叶绿体色素的提取和分离(纸层析法)	78
实验 30	叶绿体色素的分离(柱层析法)	80
实验 31	植物体色素及其性质	84
实验 32	叶绿素 a 和 b 的吸收光谱曲线	86
实验 33	叶绿素 a 和 b 含量的测定(分光光度法)	88
实验 34	环境因素对光合作用的影响	92
实验 35	改良半叶法测定大田光合强度	94
实验 36	植物光合强度的测定(pH 比色法)	96
实验 37	植物光合强度的测定(氧电极法)	102
实验 38	植物光合强度的测定(红外线 CO ₂ 测定法)	103
实验 39	藻类植物光合强度测定	118
实验 40	叶绿体的分离	122
实验 41	离体叶绿体对染料的还原作用(希尔反应)	124
实验 42	乙醇酸氧化酶活性测定(比色法)	126
实验 43	淀粉的合成——淀粉磷酸化酶	129

四、呼吸作用	131
实验 44 植物呼吸强度的测定	131
I、简易测定法	131
II、小篮子法	133
III、呼吸比重瓶法	135
实验 45 呼吸商的测定	138
实验 46 呼吸抑制剂对呼吸作用的影响	141
实验 47 离体线粒体的氧化作用和磷酸化作用	143
实验 48 植物组织中几种酶的组化定位鉴定	148
实验 49 过氧化物酶活性的测定(比色法)	154
实验 50 过氧化氢酶活性的测定(氧电极法)	155
实验 51 多酚氧化酶活性的测定(氧电极法)	158
五、物质代谢	160
实验 52 植物组织中可溶性糖含量的测定(蒽酮比色法)	160
实验 53 五碳糖含量的测定(苔黑酚比色法)	162
实验 54 植物组织中碳水化合物含量的测定 (Somogyi 法)	164
I、还原糖含量的测定	165
II、蔗糖含量的测定	168
III、淀粉含量的测定	169
IV、粗纤维含量的测定	170
实验 55 氨基酸含量的测定(茚三酮比色法)	172
实验 56 蛋白质含量的测定	175
I、微量克氏定氮法	176
II、双缩脲法	180
III、Folin 酚试剂法	181
IV、考马斯蓝染料结合法	183
V、紫外吸收法	184

实验 57 核酸的测定	186
I、方法一	186
II、方法二	188
实验 58 花青素含量的测定	190
实验 59 茛菪碱和东茛菪碱的提取及分离	191
实验 60 植物体内有机物运输途径(环割法,示范)	197
六、植物激素	199
实验 61 IAA的生物鉴定(小麦芽鞘切段伸长法)	199
实验 62 脱落酸(ABA)放射免疫测定	202
实验 63 吲哚乙酸氧化酶活性的测定	210
实验 64 赤霉素对 α -淀粉酶的诱导形成	213
实验 65 细胞分裂素对萝卜子叶的保绿作用	216
实验 66 乙烯对棉花子叶脱落的效应	217
实验 67 乙烯对雌花的诱导	219
实验 68 乙烯对果实的催熟作用	221
实验 69 生长延缓剂B ₉ 对花生茎节生长的影响	222
实验 70 植物生长调节剂 NAA 促进生根	224
七、生长发育	226
实验 71 种子发芽率的快速测定	226
I、氯化三苯四氮唑法(TTC 法)	226
II、溴麝香草酚蓝法(BTB 法)	228
III、红墨水染色法	229
IV、纸上荧光法	230
实验 72 谷物种子萌发时淀粉酶的形成(示范)	232
实验 73 谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	234
实验 74 油类种子萌发时脂肪酸含量的变化	236
实验 75 花粉管生长的测定	237

实验 76 花粉活力的测定	240
I、碘-碘化钾染色测定法	240
II、过氧化物酶测定法	241
III、氯化三苯四氮唑法(TTC 法)	242
实验 77 苍耳的光周期诱导	243
实验 78 日本青萍 6746 的光周期诱导	245
实验 79 H^+ 流向与植物生长模式	248
实验 80 植物组织培养	250
I、愈伤组织培养和分化	251
II、原生质体的分离和培养	254
八、植物与环境	257
实验 81 不良环境对植物的伤害	257
实验 82 植物缺水程度的鉴定(脯氨酸法)	259
实验 83 植物的向性运动(示范)	261
实验 84 植物对刺激的传递(示范)	262
实验 85 植物根系分泌物的观察	264
九、基本实验技术	267
实验 86 吸收光谱分析	267
I、比色分析法	267
II、紫外和可见分光光度分析	272
实验 87 华氏呼吸计	279
实验 88 氧电极法	289
实验 89 酶的提取、分离、纯化及其活性测定	292
实验 90 离子交换凝胶柱层析	299
实验 91 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)	305
附录	313
附表 1 常用酸碱的浓度	313

附表 2	常用缓冲溶液的配制	313
附表 3	几种常用缓冲剂的 pK_a 值	324
附表 4	常用酸碱指示剂	325
附表 5	泛用酸碱指示剂	326
附表 6	筛孔目数与孔径	327
附表 7	离心机转速与相对离心力的换算	328
附表 8	提高溶液饱和度%时应加入硫酸铵的克数	329
附表 9	透光率和吸光度换算表	330
附表 10	一些化合物的光谱数据	340
附表 11	Somogyi 氏葡萄糖-硫代硫酸钠换算表	342
附表 12	不同温度及 pH 条件下反应瓶中 二氧化碳含量表	343
附表 13	不同温度下以空气饱和的水中的氧含量	347
附表 14	气体在反应瓶中的溶解度 α	348
附表 15	不同温度时水银的密度和体积	349
附表 16	植物组织和细胞培养常用培养基成分	350
附表 17	常用培养基附加成分	352

一、水分生理

实验 1 植物组织含水量的测定

原 理

植物组织的含水量是植物生理状态的一个指标。如水果、蔬菜含水量的多少对其品质有影响，种子含水状况对安全贮藏更有重要意义。

利用水遇热蒸发为水蒸汽的原理，可用加热烘干法来测定植物组织中的含水量。

植物组织含水量的表示方法，常以鲜重或干重%表示，有时也以相对含水量%(或称饱和含水量%)表示。后者更能表明它的生理意义。

仪 器

分析天平	干燥器
烘箱(或红外灯)	称量瓶
坩埚钳	吸水纸

操 作 步 骤

1. 自然含水量

(1) 称量瓶的恒重: 将洗净的两个称量瓶编号, 放在 105 °C 恒温烘箱中, 烘 2 小时左右, 用坩埚钳取出放入干燥器中冷却至室温

后,在分析天平上称重,再于烘箱中烘 2 小时, 同样于干燥器中冷却称重, 如此重复 2 次(2 次称重的误差不得超过 0.002 g), 求得平均值为 W_1 , 将称量瓶放入干燥器中待用。

(2) 将待测植物材料(如叶子等)从植株上取下后迅速剪成小块, 装入已知重量的称量瓶中盖好, 在分析天平上准确称取重量, 得瓶与鲜样品总量为 W_2 , 然后于 105°C 烘箱中干燥 4—6 小时(注意要打开称量瓶盖)。取出称量瓶, 待其温度降至 60—70°C 后用坩锅钳将称量瓶盖盖好, 放在干燥器中冷却至室温, 再用分析天平称重, 然后再放到烘箱中烘 2 小时, 在干燥器中冷却至室温, 再称重, 这样重复几次, 直至恒重为止。称得重量是瓶与干样品总重量为 W_3 。(注: 亦可用红外灯照射代替恒温烘箱, 使水分蒸发)。烘时注意防止植物材料焦化。如系幼嫩组织可先用 100—105°C 杀死组织后, 再在 80°C 下烘至恒重。

(3) 记录及计算

编 号	称量瓶重 W_1	瓶重+样品鲜重 W_2	瓶重+样品干重 W_3

样品鲜重 $W_f = W_2 - W_1$

样品干重 $W_d = W_3 - W_1$

$$\text{含水量\% (占鲜重\%)} = \frac{W_f - W_d}{W_f} \times 100\%$$

2. 相对含水量法(或称饱和含水量法)

此法是以植物组织的饱和含水量为基础来表示组织的含水状况, 因为作为计算基础的组织饱和含水量有较好的重复性, 而组织

的鲜重、干重不太稳定(鲜重常随时间及处理条件而有变化,生长旺盛的幼嫩叶子,常随时间而会显著增加,所以要进行不同时期含水量的对比就不恰当)。一般认为采用相对含水量表示组织的水分状况,比用自然含水量表示为好。

(1) 同 1, 先求得组织鲜重 W_t , 然后将样品浸入蒸馏水中数小时, 使组织吸水达饱和状态(浸水时间因材料而定)。取出用吸水纸吸去表面的水分, 立即放于已知重量的称量瓶中称重, 再浸入蒸馏水中一段时间后取出吸干外面水分, 再称重, 直至与上次重量相等为止。此即为植物组织在吸水饱和时的重量, 称饱和鲜重 W_i 。再如 1 法将样品烘干, 求得组织干重 W_d 。

$W_t - W_d$ 即为饱和含水量。

(2) 计算

$$\begin{aligned} & \text{相对含水量 \% (组织含水量占饱和含水量的 \%)} \\ & = \frac{W_t - W_d}{W_i - W_d} \times 100\% \end{aligned}$$

实 验 作 业

测定同一植物在不同生态环境下的相对含水量%。

参 考 文 献

A. И. 耶尔马科夫等著, 吴相钰译: 1956. 植物生物化学研究法, 科学出版社, 31—32 页。

(华东师范大学沈宗英)

实验 2 植物组织水分饱和亏的测定

原 理

根据生理意义可将植物组织内的水分状况用自然含水量、饱和含水量和临界含水量三种不同方式表示。

1. 自然含水量: 植物在自然生长状态下组织中的水分含量, 称为自然含水量, 或简单地称为植物的含水量。

2. 饱和含水量: 即植物组织吸收水分达饱和状态时的含水量。

3. 临界含水量: 当植物体内的水分减少到临近发生伤害的最低含水量水平, 低于这一水平时即引起植物伤害, 组织中这一最低含水量即称为临界含水量。

利用上述三种含水量的数值即可以计算出更能表明植物体内水分状况的另两种表示方法, 即自然饱和亏和临界饱和亏。

自然饱和亏是指植物组织的自然含水量与饱和含水量两值之差。常以差值占饱和含水量的百分数表示之, 差值越大, 表示植物体内水分亏缺越严重。

临界饱和亏, 是指植物的饱和含水量与临界含水量两值之差, 常以该差值占饱和含水量的百分数表示之。此值越大, 表示植物抗脱水能力越强。

仪 器

分析天平

干燥器

坩埚钳

烘箱(或红外灯)

称量纸

吸水纸

操作 步 骤

1. 测定自然饱和亏

按相对含水量法(参阅实验1)求得植物组织的自然鲜重(W_t)、干重(W_d)及饱和鲜重(W_s),即可按下式求出自然饱和亏。

$$\text{自然饱和亏}(\%) = \frac{W_t - W_f}{W_t - W_d} \times 100\%$$

根据植物组织中相对含水量及自然饱和亏的定义,可知:

$$\text{自然饱和亏}(\%) = 1 - \text{相对含水量}\%$$

注:相对含水量%求法见实验1,所以求得相对含水量%后,即可知其自然饱和亏(%)。

2. 测定临界饱和亏

将植物叶片约10片悬于室内,使其逐渐干燥5—6小时,每隔1小时取下两片叶称量,再浸入水中,观察其能否恢复膨胀状态,直至取下的叶片称重后,浸入水中局部不能再恢复膨胀状态(即出现伤害)时为止。此时即可将这些剩下的叶片取来称其鲜重后,于100—105°C烘箱中烘干,称得干重,此时鲜重与干重之差,即为该叶片组织的临界含水重量(W_c)。根据定义即可按下式求出临界饱和亏。

$$\text{临界饱和亏}(\%) = \frac{W_t - W_c}{W_t - W_d} \times 100\%$$

根据所测得的植物组织水分的自然饱和亏及临界饱和亏,就可求出当时植物的需水程度。

$$\text{需水程度}(\%) = \frac{\text{自然饱和亏}}{\text{临界饱和亏}} \times 100\%$$

实 验 作 业

1. 比较不同植物在同一水分环境条件下(包括土壤湿度及空