



生命科学核心课程系列教材

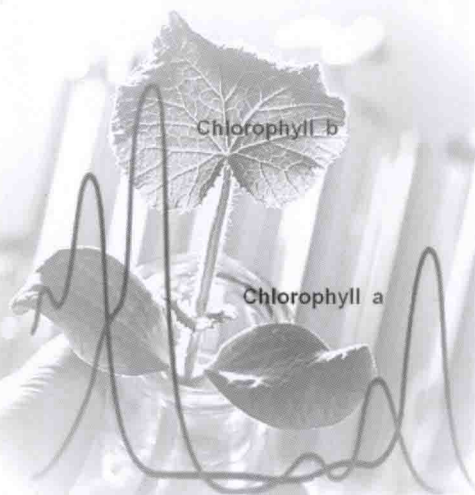


河南省“十二五”普通高等教育规划教材

植物生理学实验

(第二版)

刘 萍 李明军 主编



科学出版社

生命科学核心课程系列教材
河南省“十二五”普通高等教育规划教材

植物生理学实验

(第二版)

主 编 刘 萍 李明军
副 主 编 赵喜亭 刘海英 丁义峰
编写人员 (以姓氏笔画为序)
 丁义峰 刘 萍 刘海英
 李明军 李俊华 张晓丽
 陈明霞 赵喜亭

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

本书包括基础性实验、综合性实验和设计性实验三大部分,涉及植物的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物的转化与运输、植物生长物质、生长生理、生殖生理、成熟与衰老生理、抗性生理,以及植物分子生物学等方面,共 87 个实验,既有经典的植物生理学实验,又有近年来出现的新技术和新方法。每个实验内容之后都有注意事项和思考题,便于学生完成实验和理解、掌握实验内容。在附录中介绍了植物组织培养常用的几种基本培养基的成分,常用缓冲液的配制方法和植物生理学中常用计量单位及其换算等,便于读者查阅使用。

本书可作为综合性大学、师范院校和农林院校有关专业的大学本科教材,还可供从事植物生理学教学和研究的教师、研究生及科研人员参考。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验/刘萍,李明军主编. —2 版. —北京:科学出版社,2016.3
生命科学核心课程系列教材 河南省“十二五”普通高等教育规划教材
ISBN 978-7-03-047905-1

I. ①植… II. ①刘… ②李… III. 植物生理学-实验-高等学校-教材
IV. Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2016)第 058873 号

责任编辑:刘 丹/责任校对:贾伟娟
责任印制:赵 博/封面设计:迷底书装

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

文林印务有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2007 年 12 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2016 年 3 月第 二 版 印张:15 3/4

2016 年 3 月第一次印刷 字数:393 000

定价:32.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

第二版前言

《植物生理学实验》是为适应 21 世纪我国高等院校植物生理学教学改革和发展的需要, 河南师范大学植物生理学教学组在多年实验教学经验和自编实验指导的基础上, 广泛参阅国内外植物生理学实验教材和相关文献, 结合本教学组的部分科研成果, 按照基础性实验、综合性实验和设计性实验 3 部分内容编写而成。第一版于 2007 年由科学出版社出版问世后, 在部分高等院校中使用, 受到了广大师生的一致好评, 被列为 21 世纪生物学基础课系列实验教材, 并经河南省普通高等学校建设指导委员会审定为河南省“十二五”普通高等教育规划教材。

本书第二版是在第一版基础上进行的系统修编, 主要修编内容体现在以下两个方面: 一是文字方面, 订正了个别实验中的错误内容; 二是增加了新的实验内容, 基础性实验部分增加了“伤流液中糖和氨基酸的鉴定(实验 1-6)”、“总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量的测定(实验 1-28)”、“硝态氮和铵态氮含量的测定(实验 1-29)”、“游离氨基酸含量的测定(实验 1-31)”、“还原糖含量的测定(实验 1-33)”和“花粉活力的测定(实验 1-34)”共 6 个实验, 综合性实验部分增加了“转氨酶活力的测定(实验 2-2)”、“蛋白酶(肽酶)活力的测定(实验 2-3)”、“谷氨酸脱氢酶活力的测定(实验 2-4)”、“谷氨酰胺合成酶活力的测定(实验 2-5)”、“天冬酰胺酶活力的测定(实验 2-6)”、“过氧化氢含量的测定(实验 2-18)”、“抗坏血酸过氧化物酶活力的测定(实验 2-23)”、“谷胱甘肽还原酶活力的测定(实验 2-24)”、“ADPG 焦磷酸化酶活力的测定(实验 2-26)”、“淀粉合成酶活力的测定(实验 2-27)”、“淀粉分支酶活力的测定(实验 2-28)”、“种子油脂的提取和三酰甘油含量的检测(实验 2-31)”、“茉莉酸含量的测定(实验 2-35)”、“梓醇和毛蕊花糖苷含量的测定(实验 2-39)”和“绿原酸和木犀草苷含量的测定(实验 2-40)”共 15 个实验, 设计性实验部分增加了“黑暗处理对幼苗中苯丙氨酸解氨酶活力的影响(实验 3-4)”、“果实后熟软化中脂氧合酶活力的变化(实验 3-5)”、“基因表达载体构建(实验 3-7)”和“根癌农杆菌介导的遗传转化(实验 3-8)”共 4 个实验。实验数目由第一版的 62 个增加至 87 个。同时对“抗坏血酸含量的测定”中的钼蓝比色法、“可溶性糖含量的测定”中的苯酚法进行了补充完善。

自本书问世 8 年多以来, 使用本书的各院校师生提出了许多宝贵的意见, 特别是编委在实验教学过程中发现了不少问题, 均在第二版中进行了认真修改, 在保持第一版编排结构的基础上, 实验内容更加丰富并反映出了本学科的最新进展。在语言表达上力求简明、通俗、易懂, 在图表设计上注重明了、新颖、规范, 以使本书更有利于教师的教和学生的学。

本书基础性实验 1-8、1-24, 综合性实验 2-16、2-17、2-19 和设计性实验 3-1(XI) 由河南师范大学刘萍编写; 基础性实验 1-38, 综合性实验 2-41, 设计性实验 3-2 和附录 1 由河南师范大学李明军编写; 基础性实验 1-2、1-4、1-12、1-13、1-16、1-20、1-23、1-26、1-27、1-35, 综合性实验 2-8、2-12、2-23、2-24、2-25、2-33、2-36、2-37, 设计性实验 3-5、3-8 和附录 8、9、11 由河南师范大学赵喜亭编写; 基础性实验 1-6、1-7、1-9、1-14、1-17、1-21、1-25、1-36, 综合性实验 2-13、2-14、2-15、2-20、2-22、2-26、2-27、2-28、2-30、2-32、2-34, 设计性实验 3-1(III、VIII、IX、X) 和附录 2、5、10 由河南师范大学刘海英编写; 基础性实

验 1-1、1-5、1-11、1-22、1-30、1-18、1-32、1-33，综合性实验 2-1、2-3、2-4、2-5、2-6、2-10、2-18、2-29、2-38，设计性实验 3-1（I、II、VI）、3-3、3-6 和附录 3、4、6 由河南师范大学丁义峰编写；基础性实验 1-3、1-10、1-15、1-19、1-37，综合性实验 2-7、2-9、2-11、2-21、2-39、2-40，设计性实验 3-1（IV、V、VII）、3-4 和附录 7、12、13 由河南师范大学张晓丽编写；基础性实验 1-28、1-29、1-31，综合性实验 2-2 由河南师范大学陈明霞编写；基础性实验 1-34，综合性实验 2-31、2-35，设计性实验 3-7 由河南师范大学李俊华编写。本书各部分内容修编完成后，由刘萍教授和李明军教授做最后的统稿工作。

本书在编写、出版过程中，科学出版社的编辑为内容编排和编审做了大量的工作，河南省教育厅在规划教材的立项、河南师范大学在实验教学改革和教材建设等方面均给予了指导和帮助，并对本书的再版给予了大力的支持。在此一并表示衷心的感谢。

本书虽经仔细认真修改，但由于编者水平有限，书中不妥之处仍在所难免，敬请各位读者批评、指正，以便进一步修订与完善。

编 者

2015 年 10 月

第一版前言

植物生理学是生物学领域中实验性极强的学科之一。植物生理学实验作为其教学的重要组成部分,它不仅可加深学生对理论和实验基本原理的理解、训练学生的操作技能,而且在培养学生严谨的科学作风、提高学生分析和解决问题的能力及独立工作能力等方面均具有十分重要的作用。为适应 21 世纪我国高等院校植物生理学教学改革和发展的需要,河南师范大学植物生理教学组联合部分兄弟院校,在历年实验教学经验和自编实验指导的基础上,参阅近年来国内外植物生理学实验教材和相关文献,结合本组的部分科研成果,在刘萍教授和李明军教授的主持下,集体编写了这本植物生理学实验教材。

本书实验内容系统全面,包括基础性实验、综合性实验和设计性实验三部分,涉及植物的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物的转化与运输、植物生长物质、生长生理、生殖生理、成熟与衰老生理、抗性生理,以及植物分子生物学等方面的内容,共 62 个实验。附录部分包括植物组织培养常用的几种基本培养基、常用缓冲液的配制方法及植物生理学中常用计量单位及其换算表等,以便读者查阅。本书可供综合性大学、师范院校和农林院校有关专业的大学本科使用或参考,还可作为从事相关教学的教师、相关研究的科研人员和研究生的参考书。

本书在编写的过程中,借鉴了国内外近年来出版的一些新教材和新文献,既注重经典和传统的实验,又注意吸收近几年出现的新技术和新方法,力求文字简洁,内容条理,方便阅读。本书在编写和出版过程中得到了河南师范大学生命科学学院和科学出版社的大力支持,在此深表谢意。同时,也向书中所有参考文献的作者一并表示衷心的感谢。

本书基础性实验 7、23,综合性实验 11、22、26 和设计性实验 1 (XI) 由河南师范大学刘萍编写;基础性实验 32,综合性实验 24,设计性实验 2 和附录 1 由河南师范大学李明军编写;基础性实验 2、8、16、19、30,综合性实验 8、10、16、17,设计性实验 1 (III、X) 和附录 2、9、11 由周口师范学院李成伟编写;基础性实验 3、13、14、18,综合性实验 2、4、13,设计性实验 1 (IV、V、VIII) 和附录 5、12 由河南省农业厅刘怀攀编写;基础性实验 4、11、12、15、22、25、26、29,综合性实验 3、7、19、20、23,设计性实验 1 (VI) 和附录 8 由河南师范大学赵喜亭编写;基础性实验 1、5、10、21、27,综合性实验 1、5、14、25,设计性实验 1 (I、II)、3、4 和附录 3、4、6 由河南师范大学丁义峰编写;基础性实验 6、17、20、24、28,综合性实验 9、15、21,设计性实验 1 (IX) 和附录 10 由河南师范大学刘海英编写;基础性实验 9、31,综合性实验 6、12,设计性实验 1 (VII) 和附录 13 由河南师范大学张晓丽编写;综合性实验 18 和附录 7 由河南师范大学崔长海编写。最后,由刘萍教授和李明军教授统稿。

本书在第一次印刷的基础上,对有些实验的内容进行了调整和修改,但限于编者的理论水平和实践经验,加上编写时间仓促,书中缺点错误仍在所难免,敬请读者给予批评指正。

编 者

2007 年 4 月

目 录

第二版前言

第一版前言

第一部分 基础性实验

实验 1-1	渗透势的测定	2
实验 1-2	水势的测定	6
实验 1-3	自由水与束缚水含量的测定 (马林契可法)	13
实验 1-4	蒸腾速率的测定	15
实验 1-5	气孔密度和面积的测定及钾离子对气孔开度的影响	21
实验 1-6	伤流液中糖和氨基酸的鉴定	23
实验 1-7	环境因子对植物吐水的影响	25
实验 1-8	根系对离子的交换吸附	26
实验 1-9	根系对离子的选择吸收	27
实验 1-10	单盐毒害及离子间的拮抗作用	28
实验 1-11	溶液培养及缺素观察	30
实验 1-12	叶绿体色素的提取、分离及理化性质	33
实验 1-13	叶绿素含量的测定	36
实验 1-14	光合速率的测定	39
实验 1-15	光合作用的必要条件	44
实验 1-16	光呼吸速率和 CO_2 补偿点的测定	46
实验 1-17	呼吸速率的测定	48
实验 1-18	呼吸商的测定 (丹尼管法)	53
实验 1-19	抗坏血酸含量的测定	54
实验 1-20	呼吸酶的组化定位鉴定	58
实验 1-21	生长素的生物试验法 (小麦芽鞘切段伸长法)	61
实验 1-22	细胞分裂素的生物试验法 (茼红素合成法)	63
实验 1-23	赤霉素的生物试验法 (水稻幼苗法)	64
实验 1-24	脱落酸的生物试验法 (气孔开度法)	65
实验 1-25	乙烯的生物试验法 (三重反应法)	66
实验 1-26	种子发芽率的快速测定	67
实验 1-27	种子萌发时有机物的转化	72
实验 1-28	总氮、蛋白氮、非蛋白氮含量的测定 (微量凯氏定氮法)	74
实验 1-29	硝态氮和铵态氮含量的测定	77

实验 1-30	可溶性蛋白质含量的测定	80
实验 1-31	游离氨基酸含量的测定	83
实验 1-32	可溶性糖含量的测定	85
实验 1-33	还原糖含量的测定	89
实验 1-34	花粉活力的测定	93
实验 1-35	花青素含量的测定	95
实验 1-36	糖和硼对花粉管萌发与生长的影响	97
实验 1-37	电导率的测定	99
实验 1-38	核酸类物质的分离提取及其含量的测定	101

第二部分 综合性实验

实验 2-1	硝酸还原酶活力的测定	106
实验 2-2	转氨酶活力的测定	110
实验 2-3	蛋白酶(肽酶)活力的测定	113
实验 2-4	谷氨酸脱氢酶活力的测定	115
实验 2-5	谷氨酰胺合成酶活力的测定	116
实验 2-6	天冬酰胺酶活力的测定	118
实验 2-7	根系活力的测定(TTC 法)	119
实验 2-8	细胞质膜 H^+ -ATPase 活力的测定	121
实验 2-9	叶绿体的分离制备和希尔反应活力的测定	122
实验 2-10	二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)羧化活力的测定	124
实验 2-11	二磷酸核酮糖羧化酶/加氧酶(Rubisco)加氧活力的测定	126
实验 2-12	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活力的测定	128
实验 2-13	乙醇酸氧化酶的活力测定(比色法)	130
实验 2-14	光饱和点与光补偿点的测定	132
实验 2-15	抗坏血酸氧化酶活力的测定	133
实验 2-16	多酚氧化酶活力的测定	136
实验 2-17	超氧阴离子产生速率的测定(羟胺氧化法)	137
实验 2-18	过氧化氢含量的测定	139
实验 2-19	丙二醛含量的测定	141
实验 2-20	超氧化物歧化酶活力的测定	142
实验 2-21	过氧化物酶活力的测定	146
实验 2-22	过氧化氢酶活力的测定	147
实验 2-23	抗坏血酸过氧化物酶活力的测定	152
实验 2-24	谷胱甘肽还原酶活力的测定	153
实验 2-25	氧化型和还原型谷胱甘肽含量的测定	155
实验 2-26	ADPG 焦磷酸化酶活力的测定	156
实验 2-27	淀粉合成酶活力的测定	158
实验 2-28	淀粉分支酶活力的测定	160
实验 2-29	谷物种子萌发时 α -淀粉酶活力的测定	161

实验 2-30	果糖-1, 6-二磷酸酯酶活力的测定	163
实验 2-31	种子油脂的提取和三酰甘油含量的检测 (薄层层析法)	165
实验 2-32	赤霉素含量的测定 (高效液相色谱法)	166
实验 2-33	细胞分裂素含量的测定 (高效液相色谱法)	168
实验 2-34	乙烯含量的测定 (气相色谱法)	171
实验 2-35	茉莉酸含量的测定 (气相色谱-质谱法联用)	173
实验 2-36	植物激素含量的测定 (酶联吸附免疫法)	174
实验 2-37	吡哆乙酸氧化酶活力的测定	177
实验 2-38	超氧化物歧化酶同工酶的凝胶电泳及活力显示	179
实验 2-39	梓醇和毛蕊花糖苷含量的测定	182
实验 2-40	绿原酸和木犀草苷含量的测定	184
实验 2-41	植物种质资源的超低温保存	186

第三部分 设计性实验

实验 3-1	植物生长物质的应用	192
实验 3-2	植物组织培养	206
实验 3-3	赤霉素诱导 α -淀粉酶的形成	210
实验 3-4	黑暗处理对幼苗中苯丙氨酸解氨酶活力的影响	212
实验 3-5	果实后熟软化中脂氧合酶活力的变化	213
实验 3-6	不同程度干旱条件下组织中游离脯氨酸含量的变化	215
实验 3-7	基因表达载体的构建	217
实验 3-8	根癌农杆菌介导的遗传转化	221
参考文献		225
附录		227

第一部分 基础性实验

实验 1-1 渗透势的测定

植物组织的渗透势主要取决于细胞液的溶质浓度，因此又称为溶质势。已知在干旱、盐渍等逆境条件下，一些植物常在细胞内主动积累溶质，以降低其渗透势，增加吸水能力，从而在一定程度上维持膨压，保障细胞的生长和气孔的开放，这种现象称为渗透调节作用。细胞渗透调节能力的大小可以用逆境条件下细胞渗透势的降低值来表示，在水分生理与抗性生理研究中经常需要测定植物细胞的渗透势。以下介绍两种测定植物细胞渗透势的方法。

I. 质壁分离法

【实验原理】

植物组织细胞和周围溶液组成一个渗透系统，当细胞放入低水势的溶液中时，液泡的水分则向外渗出，原生质体的体积缩小，产生质壁分离现象。当细胞与外界溶液达到渗透平衡且此时的细胞又处于临界质壁分离状态时，细胞的压力势等于零，细胞的水势等于其渗透势，并与外液的渗透势相等，该外液的浓度就是细胞的等渗浓度。

将某种植物组织分别投入一系列不同浓度的溶液中，观察细胞质壁分离现象。细胞的等渗浓度介于刚引起初始质壁分离（即初始质壁分离）和尚未发生质壁分离的最高外液浓度之间，将细胞的等渗浓度代入公式即可计算出该组织细胞的渗透势。

【材料、设备与试剂】

1. 材料

大葱、洋葱鳞茎内表皮，或蚕豆、紫鸭跖草、小麦、玉米等植物叶片的表皮。

2. 设备

显微镜、载玻片与盖玻片、温度计、尖头镊子、刀片、小培养皿（直径 6 cm）、试剂瓶、小烧杯、容量瓶、量筒、滴管、移液器或移液管、镜头纸、吸水纸等。

3. 试剂

1 mol/L 蔗糖溶液（母液）：称取 342.3 g 预先在 60~80 °C 条件下烘干至恒重的蔗糖，用蒸馏水溶解并定容至 1000 mL。

系列不同浓度的蔗糖溶液：取干燥洁净的小试剂瓶编号，用 1 mol/L 蔗糖溶液（母液）依 $C_1V_1=C_2V_2$ 公式配制成 0.30 mol/L、0.35 mol/L、0.40 mol/L、0.45 mol/L、0.50 mol/L、0.55 mol/L、0.60 mol/L、0.65 mol/L、0.70 mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖溶液（具体浓度范围可根据材料的不同加以调整），贮于小试剂瓶中，瓶口加塞以防蒸发浓缩。

1%中性红溶液。

【方法与步骤】

（1）取 9 套干燥洁净的培养皿编号，将配制好的不同浓度的蔗糖溶液按顺序加入各培养

皿中,使溶液成一薄层。向每一个浓度的溶液中分别滴加 1%中性红溶液 1~2 滴,充分摇晃均匀后盖好培养皿盖备用(若选用的材料为有色素的表皮可不加中性红)。

(2) 用镊子撕取供试材料表皮,大小以 0.5 cm^2 为宜,立即浸入不同浓度的蔗糖溶液中,每一浓度 4~5 片。

(3) 材料在蔗糖溶液中浸泡 20~30 min,同时记录室温。

(4) 从高到低浓度依次取出材料放在滴加对应浓度糖液的载玻片上,盖好盖玻片。显微镜下观察确定细胞处于临界质壁分离时的外液浓度(即细胞的等渗浓度)。

如果在两个相邻浓度的材料中,一个没有发生质壁分离或质壁分离的细胞数不足 50%,该浓度即没有引起细胞发生质壁分离的最高外液浓度;另一个发生质壁分离的细胞数超过 50%,则该浓度即引起细胞发生质壁分离的最低外液浓度。可粗略地将这两个浓度的平均值作为细胞的等渗浓度。

(5) 将所得到的等渗浓度和记录的室温代入式(1-1),计算出细胞等渗溶液的渗透势即细胞的渗透势(Ψ_s)。

$$\Psi_s = -icRT \quad (1-1)$$

式中, Ψ_s 为溶液的渗透势(与细胞的渗透势相等,MPa); c 为等渗浓度(mol/L); R 为摩尔气体常量 [$(0.0083\text{ L} \cdot \text{MPa})/(\text{mol} \cdot \text{K})$]; T 为热力学温度(K),即 $273+t\text{ }^\circ\text{C}$ (实验当时温度); i 为溶液溶质的解离系数(蔗糖 $i=1$), $i=1+\alpha(n-1)$,其中 n 为溶质电离的离子数, α 为溶质的电离度。

(6) 也可用 CaCl_2 或 NaCl 代替蔗糖,但须改变式(1-1)中等渗系数。 CaCl_2 的 i 值为 2.6, NaCl 的 i 值一般为 1.8。

【注意事项】

1. 配制的系列蔗糖溶液浓度要准确。
2. 材料要完全浸没在溶液中。

【思考题】

某植物叶片吸水饱和时的渗透势经测定为 -0.8 MPa ,又用质壁分离法测出其渗透势为 -0.9 MPa ,请计算质壁分离状态的细胞液体积相当于饱和时的百分数。

II. 冰点下降法

【实验原理】

根据拉乌尔(Raoult)冰点下降原理,任何溶液,如果其单位体积中溶解溶质的颗粒(分子和离子)总数目相同时,则引起溶液冰点下降的数值也相同。 1 mol 的任何非电解质溶解于 1000 g 水中,则水的冰点由 $0\text{ }^\circ\text{C}$ 下降至 $-1.857\text{ }^\circ\text{C}$;而 1 mol 的电解质溶于 1000 g 水中,其冰点下降值为解离的离子与不解离的分子的总摩尔数与 1.857 的乘积,即冰点下降值与溶质的总颗粒数有关。因此,欲求某一溶液的溶质颗粒数目,可先测其冰点下降值,然后代入公式算出。

$$OS = \Delta t / 1.857$$

式中, OS 为 1000 g 水中所溶解的溶质的颗粒数目, 即质量渗(透)摩尔浓度, 也就是总颗粒浓度 ic 值; Δt 为冰点下降值 ($^{\circ}\text{C}$); 1.857 为水的摩尔冰点下降常数。

溶液的冰点下降值可用冰点渗透压计测定, 该仪器以高灵敏度感温元件测量冰点, 并转

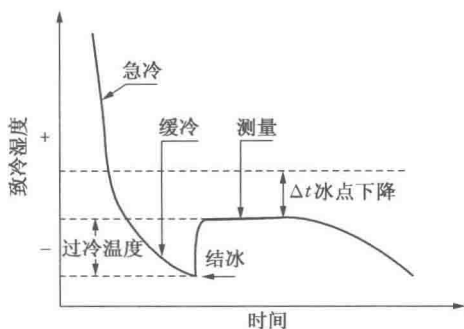


图 1-1 结冰曲线

换为渗透摩尔浓度单位 (OS mol)。冰点是指溶液的固态和液态处于平衡状态下的温度。对于水溶液, 在从液态向固态冷却变化的过程中, 温度虽已达到甚至低于冰点而不发生结冰的现象称为“过冷现象”, 处于过冷状态下的液体是极不稳定的, 任一扰动便可“触发”其立刻结晶而变为固态, 释放出“晶化热”, 将使过冷的溶液在冰晶形成瞬间产生温度回升现象。上述过程, 可用结冰曲线来描述 (图 1-1)。

从结冰曲线可以看出, 过冷的溶液在结冰释热后有一段温度平稳的时间, 这段较平稳的温度即溶液的冰点, 本实验所用冰点渗透压计即根据对这一温度的测量求出被测液体的冰点, 并将冰点下降值换算成 ic 值, 且显示读数, 然后根据公式便可计算出溶液的渗透势。

$$\Psi_s = -icRT$$

式中, Ψ_s 为溶液的渗透势 (MPa); c 为溶液的物质的量浓度 (mol/L); R 为摩尔气体常量 $[(0.0083 \text{ L} \cdot \text{MPa})/(\text{mol} \cdot \text{K})]$; T 为热力学温度 (K), 即 $273+t$ $^{\circ}\text{C}$ (实验当时的摄氏温度); i 为溶液溶质的解离系数。

【材料、设备与试剂】

1. 材料

小麦叶片。

2. 设备

FM-4 型冰点渗透压计、离心机、离心管、温度计、注射器、纱布、剪刀等。

【方法与步骤】

1. 仪器调试

参照仪器结构图 (图 1-2) 进行以下操作。

(1) 从制冷槽口加入 40 mL 左右不冻液, 观察仪器的液面刻度 (红线), 至刻度为止。

(2) 打开冷却水, 调节水流量为 0.5 L/min 左右。

(3) 在冷却水循环后, 打开电源开关, 预热仪器 20~30 min。

(4) 按下调零键, 如数字不为“0.000”, 可用螺丝刀调节“调零”电位器, 使数字为“0.000”, 而前面的“+”、“-”符号任意, 放开调零键, 应显示一个数字 (与测量数字无关)。

(5) 将温度计插入制冷槽, 仪器制冷器的最低温度一般应调至 $-8 \sim -7$ $^{\circ}\text{C}$, 可用螺丝刀调整螺栓调节温度, 并观察液面后面的指示灯 (指示灯亮为降温)。

(6) 在洁净干燥的测定管中倒入 1 mL 300 参考液或 800 参考液, 将测定管放入制冷槽, 用洁净卫生纸把测量探头的热敏电阻和振棒擦净。按“下降”键, 此时测量探头缓慢下降在

测定管内,显示数字开始从正数下降至负数,至-1000左右时会听到测定管内的振棒发出强振声,同时测量探头自动提升到中位,如果提升数字不在-1000左右,可调节“提升”电位器。

(7) 提升到中位后,所显示的数字的绝对值由大到小,退到最小的数字即样品的渗透浓度值,如果数字回升变大,可按“高位”,提升测量探头到原位,测量完毕。

(8) 测量出的数字若与 300 参考液数据有误差,调整“校正 I”电位器(应显示 300);如果与 800 参考液数据有误差,可调整“校正 II”电位器(应显示 800)。

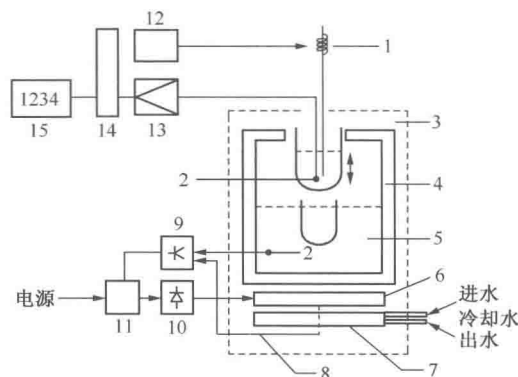


图 1-2 冰点渗透压计仪器结构示意图

1. 振棒; 2. 热敏电阻; 3. 保温层; 4. 制冷槽; 5. 不冻液; 6. 制冷器; 7. 冷却水箱; 8. 断水报警; 9. 制冷温控;
10. 整流; 11. 降压; 12. 振幅变换; 13. 检测放大; 14. 程控操作; 15. 显示屏

2. 植物样品渗透势的测定

(1) 取植物叶片,用湿纱布轻轻擦去表面灰尘,放入洁净的塑料袋中,立即放入-30℃低温冰箱 3 h 以上,以杀死植物细胞。

(2) 从低温冰箱中取出材料,融冰后用剪刀将材料剪碎,放入注射器内,将细胞液压出,存于 0.3 mL 或 1 mL 测定管内(视细胞液多少而定),盖好塞子。压出液应不少于 0.3 mL 才能测定。

(3) 压出液中若含有较多的残破细胞壁或大量淀粉粒、叶绿体等,需要先离心。可用台式离心机,2 mL 的具塞塑料锥形离心管,5000 r/min 离心 2 min,取上清液测定。

(4) 测定步骤参考仪器调试第(6)~(7)步,以经过离心的材料压出液代替参考液进行测定。

【注意事项】

1. 实验条件不同时,结冰曲线的形状会有变化,从而影响冰点测定结果,为此必须通过反复实验,选择能产生一段较为稳定而线性较好的结冰曲线的实验条件。
2. 在测定过程中,如果自来水突然断水,必须立即停机,以免烧坏半导体制冷器。
3. 测量探头的热敏电阻比较容易损坏,在移动测量探头时一定要注意保护。
4. 在测量过程中,显示数字达-1000 左右,但样品测定管内未发出强振声,同时也未提升,即自动提升失灵,此时可按“中位”键提升,随后显示测量数字。

【思考题】

1. 测量时，振棒的振动起什么作用？
2. 测量探头自动提升后，为何显示数字（绝对值）由大变小，变到最小时才是被测溶液的渗透摩尔浓度？
3. 对含有较多悬浮物的压出液，为何要先离心再测定？

实验 1-2 水势的测定

水势是指每偏摩尔体积分水的化学势差，纯水的水势为零，是水势的最高值，因此任何溶液的水势均为负数。水分总是从水势高的系统向水势低的系统转移，植物体细胞之间、组织之间及植物体与环境间的水分移动方向都是由水势差决定的。根据这一原理，可以用小液流法、压力室法、热电偶湿度计法和折射仪法等测定植物组织的水势。

I. 小液流法

【实验原理】

当植物组织或细胞分别放在一系列浓度递增的蔗糖溶液中时，由于植物组织具有一定的水势，梯度蔗糖溶液也各有一定的渗透势〔外液 ψ_p （压力势）=0， $\psi_s=\psi_w$ （水势）〕，水总是由水势高处流向水势低处，因而会使蔗糖溶液的浓度发生变化。用毛细吸管小心吸取浓度发生变化后的糖液（为便于观察可染色）滴入与其对应浓度的未浸入植物组织的糖液内，观察液滴的流动方向。若向上流动，说明组织细胞的水势高于周围糖溶液的渗透势，因而向外排水，糖液变稀，密度变小；若向下流动，说明组织细胞的水势低于周围糖溶液的渗透势，而向内吸水，使糖液变浓，密度加大；若液滴停留不动，说明组织细胞向外排水与向内吸水的量相等，水分保持动态平衡，此时植物组织中的水势等于溶液的渗透势。因溶液的浓度是已知的，可根据式（1-1）计算出其渗透势，即植物组织的水势。

【材料、设备与试剂】

1. 材料

棉花、小麦或其他植物的叶片。

2. 设备

刻度试管、移液器或移液管、弯头毛细滴管、镊子、打孔器、培养皿、青霉素小瓶、大头针等。

3. 试剂

1 mol/L 蔗糖溶液：称取 342.3 g 预先在 60~80 °C 条件下烘干至恒重的蔗糖，用蒸馏水溶解并定容至 1000 mL。

系列不同浓度的蔗糖溶液：取干燥洁净的小试剂瓶编号，用 1 mol/L 蔗糖溶液依 $C_1V_1=C_2V_2$

公式配制成 0.25 mol/L、0.3 mol/L、0.35 mol/L、0.4 mol/L、0.45 mol/L、0.5 mol/L、0.55 mol/L、0.6 mol/L、0.65 mol/L 等一系列不同浓度的蔗糖溶液（具体浓度范围可根据材料的不同加以调整），贮于小试剂瓶中，瓶口加塞以防蒸发浓缩。

甲烯蓝粉末。

【方法与步骤】

（1）取 9 个干燥洁净的刻度试管为甲组，各管分别加入 0.25~0.65 mol/L 蔗糖溶液约 8 mL；另取 9 个干燥洁净的青霉素小瓶为乙组，各小瓶中分别加入 0.25~0.65 mol/L 蔗糖溶液约 2 mL，上述各管和小瓶均加标签注明浓度。

（2）取待测叶片数片，用打孔器打取小圆片约 100 片放于培养皿中混合均匀。用镊子分别夹入约 10 个小圆片到盛有不同浓度蔗糖溶液青霉素小瓶中（乙组），使叶圆片全部浸没于溶液中，加塞。放置约 30 min，其间应经常摇动小瓶，以加速溶液与植物组织细胞间的水分交换。

（3）打开瓶塞，用大头针向每个小瓶中挑入少许甲烯蓝粉末，充分摇匀，使溶液呈蓝色。

（4）用弯头毛细滴管吸取乙组各小瓶的蓝色糖液少许，将弯头滴管插入对应浓度甲组刻度试管溶液的中部，小心地放出少量液流，观察蓝色液流的升降方向。若液流上升，说明浸过小圆片的蔗糖溶液浓度变小（即植物组织失水），表明叶片组织的水势高于该浓度糖溶液的渗透势；如果蓝色液流下降则说明叶片组织的水势低于该糖溶液的渗透势；若蓝色液流静止不动，则说明叶片组织的水势等于该糖溶液的渗透势，此浓度即与叶片组织细胞水势相等的糖液浓度。

（5）结果计算：将求得的与细胞水势相等的蔗糖浓度值代入实验 1-1 的式（1-1）中，计算出该溶液的渗透势即组织细胞的水势。

【注意事项】

1. 配制的系列蔗糖溶液浓度要准确。
2. 向每个小瓶中加入的甲烯蓝粉末量要适中，以防止改变溶液浓度。
3. 每次测定均要用待测浓度的甲烯蓝蔗糖溶液清洗几次弯头滴管。

【思考题】

1. 同一植物上部及下部叶片的水势有何差别？为什么？
2. 用小液流法测定植物组织水势与用质壁分离法测定植物组织细胞渗透势都是以外界溶液的浓度算出的渗透势为根据，它们之间的区别何在？

II. 压力室法

【实验原理】

进行蒸腾的植物，其导管中的水柱由于蒸腾拉力的作用，承受着一定的张力或负压，使水分连贯地向上运输。当叶片或枝条被切断时，由于张力解除，木质部中的液流迅速缩回木

质部。将叶片装入压力室钢筒，叶柄切口朝外，逐渐加压，直到导管中的液流恰好在切口处显露时，表明所施加的压力正好抵偿了完整植株导管中的原始负压。这时所施加的压力值（通常称为“平衡压”）将叶片中的水势提高到相当于开放大气的导管中液体渗透势的水平。由于通过导管周围完整活细胞半透膜进入木质部导管的汁液，其渗透势常接近于零，因此，将所测得的平衡压标以负号就等于被测叶片原来的水势。平衡压（ P ）、叶片中的水势（ Ψ_w ）和进入木质部导管汁液的渗透势（ Ψ_s ）之间的关系可用下式表示。

$$P + \Psi_w = \Psi_s \approx 0 \quad \therefore \Psi_w = -P$$

式中， P 为平衡压（正值）； Ψ_w 为叶片或枝条的水势（负值）； Ψ_s 为进入木质部导管汁液的渗透势（接近于零）。

【材料、设备与试剂】

1. 材料

木本植物带叶片的小枝、带叶柄的单个叶片或小苗的地上部分。

2. 设备

压力室（有多种型号，图 1-3 为压力室构造简图）、充满压缩氮气（95%左右）的钢瓶、剪刀、双面刀片、放大镜、塑料袋、纱布等。

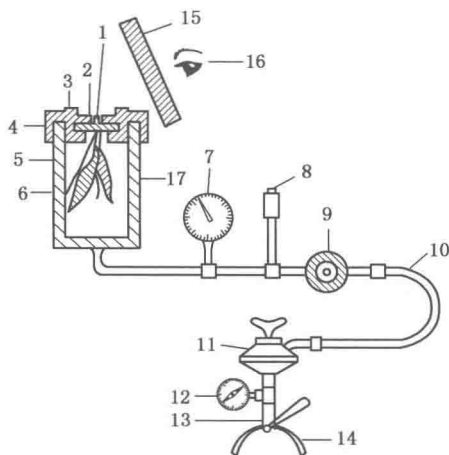


图 1-3 压力室构造简图

1. 溢出液被观察到的地方；2. 压紧封口的环套；3. 高度抗强的钢螺栓；4. 外侧的螺丝压制环套；5. 缸壁；6. 软皮封口（或特制硅橡胶密封垫圈）；7. 精密压力表；8. 调压阀；9. 调压三通阀；10. 柔韧的高压软管接氮气钢瓶；11. 钢瓶最大压力调节阀；12. 钢瓶气量储存表；13. 钢瓶开关阀门；14. 钢瓶壁；15. 防护镜；16. 肉眼观察位置；17. 钢筒

【方法与步骤】

下面以 3005 型压力室为例，介绍测定方法。

（1）将压力室的高压软管末端与钢瓶的出气口对接。压力室主控阀旋转到“关闭”位置。顺时针方向旋紧计量阀。取下压力室的压帽，逆时针旋转压帽上的固定样品的螺栓，将压帽竖放在样品处理板的凹槽内。打开高压气瓶的气封阀。在钢筒内侧粘贴一层湿滤纸，以减少