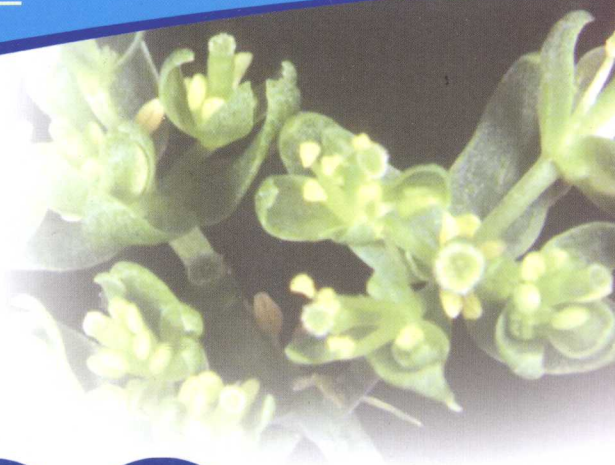


新世纪高等院校实验教程系列



植物生理学

实验教程

ZHIWUSHENGLIXUESHIYANJIAOCHENG

○ 汤绍虎 罗充 主编 ○

国家一级出版社 全国百佳图书出版单位



西南师范大学出版社

013022104

新世纪高等院校实验教程系列

Q945-33

08



植物生理学实验教程

ZHIWU SHENGLIXUE SHIYAN JIAOCHENG

○ 汤绍虎 罗充 主编 ○

本书由教育部生物科学特色专业建设与教师教育创新平台建设项目、重庆市高等教育教学改革重点项目（102122）、贵州省高等学校教学内容和课程体系改革项目（高师植物生理学教学内容体系和教学方法改革的探索与实践）资助出版。

Q945-33
08



北航

C1631701



西南师范大学出版社

国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

内 容 简 介

本教程包含植物生理学实验的主要内容,分为基础性实验、综合性实验和研究性实验三部分,共 88 项实验。第一部分包括水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、生长物质、生长发育和抗性生理等 7 章,共 72 项实验;第二部分包含 10 项综合性实验;第三部分包括 6 项研究性实验,可供不同高校结合实际情况选择开设。实验方法经典与现代兼备,试剂配制叙述翔实,正文后附有常用缓冲液、酸碱指示剂的配制以及 Hoagland 营养液和常用植物组织培养基配方等内容,可操作性和参考性强。

本教程可作为高等学校师范/非师范本、专科生物科学及相关专业植物生理学实验教材,亦可作为相关专业研究生及有关科研工作者开展植物生理研究的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验教程/汤绍虎,罗充主编. —重庆:
西南师范大学出版社,2012.6

ISBN 978-7-5621-5813-4

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

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2012)第 121148 号

植物生理学实验教程

汤绍虎 罗 充 主 编

责任编辑:杜珍辉

封面设计:戴永曦

照 排:文明清

出版发行:西南师范大学出版社

重庆·北碚 邮编:400715

网址:www.xscbs.com

印 刷 者:重庆东南印务有限责任公司

开 本:787mm×1092mm 1/16

印 张:18.25

字 数:380 千字

版 次:2012 年 6 月 第 1 版

印 次:2012 年 6 月 第 1 次印刷

书 号:ISBN 978-7-5621-5813-4

定 价:35.00 元

编委会 / BIAN WEI HUI

主 编：汤绍虎 罗 充

副主编：罗安才 向邓云 李 群 宋丽莎

参编单位及人员（排名不分先后）

西 南 大 学：汤绍虎 吴能表 龙 云 周启贵 周心渝
曹瑞霞 李娇娇 黑刚刚 张红敏 赵许朋
杨 立 周 月 吴秀华

重 庆 师 范 大 学：罗安才

长 江 师 范 学 院：向邓云

重 庆 三 峡 学 院：甘丽萍

重 庆 文 理 学 院：胡 凯

四 川 师 范 大 学：李 群

西 华 师 范 大 学：文国琴

宜 宾 学 院：黄 彤

乐 山 师 范 学 院：刘 芳 黄 娇

贵 州 师 范 大 学：罗 充 冯晓英 谭金玉 吴 楠 辛 柯

贵 州 大 学：姚红艳

六 盘 水 师 范 学 院：谭 萍

黔 南 民 族 师 范 学 院：宋丽莎

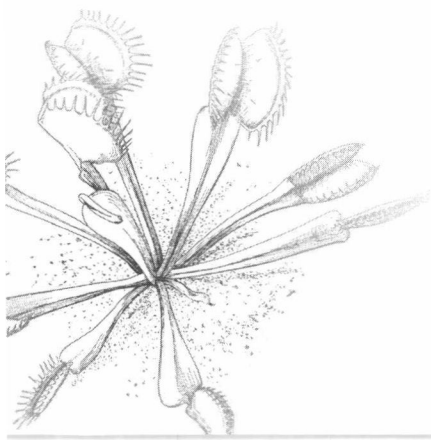
凯 里 学 院：刘伦沛

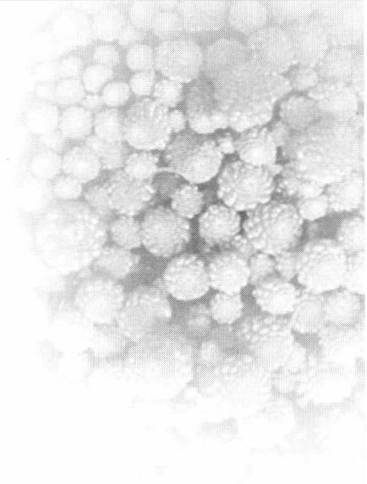
贵 阳 学 院：宋常美

遵 义 师 范 学 院：周 逊

兴 义 民 族 师 范 学 院：岑怡红、梁 娴

铜 仁 学 院：赵成刚





前言 / QIAN YAN

植物生理学是研究植物生命活动规律和机理的科学,与农业生产、食品安全和环境净化等密切相关。植物的生命活动是在水分代谢、矿质营养、光合作用和呼吸作用等基本代谢的基础上,表现出种子萌发、生长、运动、开花、结果等生长发育的复杂过程,受各种环境因素(水分、光照、温度和矿质等)的影响。同时,植物生理学本身又是一门实验科学,其主要研究方法是实验法。

当今,多学科知识与技术相互渗透,生命科学发展日新月异,植物生理学研究技术与方法不断充实与更新。随着我国高等教育的发展,高等学校实验教学改革不断深入,提高学生的创新能力已成为高校人才培养的核心目标。这要求植物生理学必须改革实验教学内容与方法,要在传授基本实验技术的基础上,更多地传授探究植物生命活动机理和解决生产实践问题的科学思维与科学方法。然而,不同高校地域资源不同,教学条件各异。植物生理学实验教学的改革需要与本校实际相结合,循序渐进地开展。本实验教程在技术与方法上既保留传统经典,又体现现代前沿,以培养学生的基本实验技能和解决实际问题的能力。本教程除包含必需的基础性实验外,还编制了较多的综合性和研究性实验,可供不同高校选择开设。

本教程可作为高等学校师范/非师范本、专科生物科学及相关专业植物生理学实验教材,亦可作为相关专业研究生及有关科研工作者开展植物生理研究的参考书。

本教程分为三部分,即基础性实验、综合性实验和研究性实验,共 88 项。第一部分共七章,分别为水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、生长物质、生长发育和抗性生理,共 72 项(各含 10~12 项)实验;第二部分包含 10 项

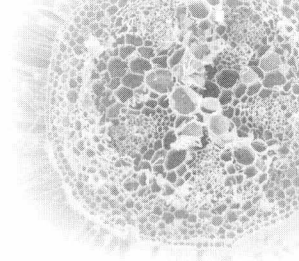
综合性实验;第三部分包括 6 项研究性实验。第一部分第一至四章(水分生理、矿质营养、光合作用和呼吸作用)由贵州师范大学罗充组稿,第五章(生长物质)由重庆师范大学罗安才组稿,第六章(生长发育)由长江师范学院向邓云组稿,第七章(抗性生理)和第二部分(综合性实验)由四川师范大学李群组稿,第三部分(研究性实验)由西南大学汤绍虎组稿。附录由西南大学周启贵编写,全书由西南大学汤绍虎统稿。

本教程在编写过程中参考和引用了相关实验教材和文献,在此对作者深表谢忱!

因编者水平有限,实际经验不足,故书中错误和不妥之处在所难免。恳请各位专家、各兄弟院校同行和使用者批评、指正,以便再版时修改。

本教程编写组

2012 年 4 月



目 录

CONTENTS

第一部分 基础性实验	001
第一章 水分生理	003
实验 1 植物组织含水量、相对含水量及水分饱和亏测定	003
实验 2 植物组织自由水与束缚水含量的测定	005
实验 3 植物组织渗透势的测定(质壁分离法)	007
实验 4 植物组织水势的测定	009
实验 5 蒸腾强度的测定	014
实验 6 小孔的扩散效应(示范)	023
实验 7 叶片气孔密度和气孔面积的测定	025
实验 8 光照、 K^+ 和 ABA 对气孔开度的影响	027
实验 9 植物水分利用效率(WUE)的测定	029
实验 10 植物水孔蛋白的检测	032
第二章 矿质营养	035
实验 11 植物主要矿质元素的含量测定($H_2SO_4-H_2O_2$ 消煮法)	035
实验 12 单盐毒害、离子拮抗及根系对离子的选择性吸收	041
实验 13 根系体积的测定	044
实验 14 根系活力的测定	046
实验 15 植物体内硝态氮与铵/胺态氮含量测定(分光光度法)	049
实验 16 硝酸还原酶(NR)活性测定(分光光度法)	053
实验 17 谷氨酰胺合成酶(GS)活性测定(分光光度法)	057
实验 18 生物膜 H^+ -ATPase 活性测定(分光光度法)	059
实验 19 植物组织中金属元素的测定(原子吸收分光光度法)	064
实验 20 植物细胞内游离 Ca^{2+} 含量的测定(流式细胞法)	066

第三章 光合作用	069
实验 21 叶绿体色素的提取、分离及理化性质的鉴定	069
实验 22 叶绿素 a 和叶绿素 b 含量的测定(分光光度法)	072
实验 23 β -胡萝卜素的提取和含量测定	075
实验 24 叶绿体 Hill 反应活力的测定	079
实验 25 植物(叶片)光合速率的测定	084
实验 26 叶片光呼吸的测定(红外 CO_2 分析法)	094
实验 27 乙醇酸氧化酶活性测定(二氯靛酚法)	097
实验 28 叶绿体膜上 Mg^{2+} -ATPase 活性的测定(分光光度法)	099
实验 29 二磷酸核酮糖(RuBP)羧化酶/加氧酶(Rubisco)活性测定	101
实验 30 磷酸烯醇式丙酮酸(PEP)羧化酶活性的测定(紫外比色法)	106
第四章 呼吸作用	109
实验 31 植物呼吸速率的测定	109
实验 32 可溶性总糖含量的测定(蒽酮比色法)	113
实验 33 淀粉含量测定(分光光度法)	115
实验 34 植物组织 ATP 含量测定(发光光度法)	120
实验 35 丙酮酸激酶活性的测定(分光光度法)	122
实验 36 磷酸果糖激酶活性的测定(紫外比色法)	124
实验 37 多酚氧化酶(PPO)活力测定(分光光度法)	126
实验 38 过氧化物酶(POD)活力测定(分光光度法)	128
实验 39 过氧化氢酶(CAT)活性测定(分光光度法)	130
实验 40 脂氧合酶(LOX)活性测定(分光光度法)	132
第五章 生长物质	134
实验 41 植物激素的生物鉴定	134
实验 42 生长素含量测定(分光光度法)	143
实验 43 赤霉素含量测定(浓硫酸反应-分光光度法)	148
实验 44 细胞分裂素含量测定(HPLC 法)	151
实验 45 脱落酸含量测定(伊文思蓝-荧光猝灭法)	154
实验 46 乙烯含量测定(气相色谱法)	156
实验 47 IAA 氧化酶活性测定(分光光度法)	159
实验 48 乙烯合成酶(ACC 氧化酶)活性测定(气相色谱法)	161
实验 49 赤霉素对小麦种子 α -淀粉酶的诱导形成	163

实验 50	细胞分裂素对花色素苷积累的影响	166
实验 51	生长素类调节剂(NAA)对水稻根、芽生长的影响	168
实验 52	乙烯、赤霉素对黄瓜性别表达的影响	170
第六章	生长发育	172
实验 53	种子生活力的快速测定	172
实验 54	种子活力的测定	176
实验 55	谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	179
实验 56	油料种子萌发时脂肪酸含量的测定	181
实验 57	豆类种子萌发时氨基酸含量的测定	183
实验 58	植物蛋白质的提取和含量测定	185
实验 59	拟南芥种子萌发的光敏色素及激素调控	189
实验 60	愈伤组织的诱导、继代与分化	191
实验 61	原生质体的分离、纯化与培养	194
实验 62	人工种子的制备方法	197
第七章	抗性生理	199
实验 63	高低温胁迫对质膜透性的影响(电导仪法)	199
实验 64	丙二醛(MDA)含量测定(分光光度法)	201
实验 65	游离脯氨酸含量测定(分光光度法)	203
实验 66	甜菜碱含量测定(紫外比色法)	205
实验 67	氧自由基产生速率的测定(羟胺-比色法)	207
实验 68	超氧化物歧化酶(SOD)活力测定(分光光度法)	210
实验 69	抗坏血酸过氧化物酶(APX)活力测定(紫外比色法)	213
实验 70	苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性测定(紫外比色法)	215
实验 71	热激蛋白的分离纯化	217
实验 72	盐胁迫蛋白的检测	220
第二部分	综合性实验	223
实验 73	生长调节剂对植物生长发育的影响	225
实验 74	植物光饱和点和光补偿点的测定(红外 CO ₂ 分析法)	229
实验 75	植物 CO ₂ 饱和点、补偿点的测定(红外 CO ₂ 分析法)	232
实验 76	叶绿素荧光动力学参数的测定(叶绿素荧光仪法)	235
实验 77	酶联免疫吸附法(ELISA)测定植物激素含量	238

实验 78	光对种子萌发及幼苗生长的影响	242
实验 79	植物生长调节剂对植物插条生根的影响	244
实验 80	光敏色素的提取、纯化及含量测定	246
实验 81	植物春化现象的观察	249
实验 82	植物光周期现象的观察	251

第三部分 研究性实验

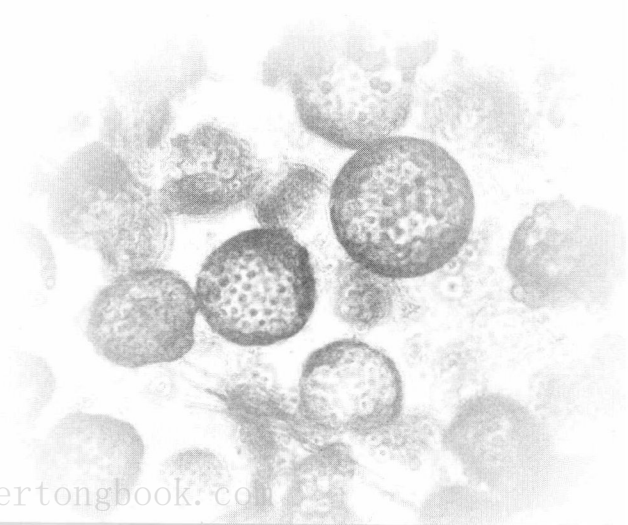
实验 83	光合作用的必需条件与产物的证明	255
实验 84	植物溶液培养及元素缺乏症的观察	258
实验 85	渗透胁迫对植物生长发育的影响	261
实验 86	Ca^{2+} 处理对盐胁迫下植物幼苗生长和生理特性的影响	263
实验 87	环境因子对植物光合速率和蒸腾速率的影响	265
实验 88	油菜素内酯(BR)对切花保鲜的影响	267

附 录

附表 1	常用酸碱溶液的浓度	269
附表 2	常用缓冲溶液的配制	270
附表 3	常用酸碱指示剂	277
附表 4	离心机转速与相对离心力的换算	278
附表 5	常用植物生长物质的一些化学性质	279
附表 6	荷格兰德(Hoagland)营养液配方	280
附表 7	常用植物组织培养基配方	281

第一部分

基础性实验



第一章 水分生理

实验 1 植物组织含水量、相对含水量及水分饱和和亏测定

【实验目的】

掌握植物组织含水量、相对含水量及水分饱和和亏测定方法。

【实验原理】

植物组织含水量、相对含水量、水分饱和和亏是反映植物水分状况和研究植物水分关系及农产品质量检测的重要指标。植物组织的含水量是指水分含量占鲜重或干重的百分比。相对含水量是指植物组织的含水量占饱和含水量的百分比,它更能反映植物的水分亏缺情况。水分饱和和亏是指植物组织实际相对含水量距饱和含水量(100%)的差值的大小。

表示组织含水量方法有两种:(1)干重法:以干重为基数表示;(2)鲜重法:以鲜重为基数表示。

$$\text{组织含水量(占 } FW\%) = \frac{(W_f - W_d)}{W_f} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{组织含水量(占 } DW\%) = \frac{(W_f - W_d)}{W_d} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W_f —组织鲜重; W_d —组织干重。

$$\text{植物组织相对含水量(RWC)} = \frac{(W_f - W_d)}{(W_t - W_d)} \times 100\% \quad (3)$$

式中: W_t —组织被水分充分饱和后重量。

$$\text{水分饱和和亏(WSD)} = (\text{饱和含水量} - \text{原含水量}) / \text{饱和含水量} \times 100\% \quad (4)$$

实际测定时,可用下式计算:

$$WSD = (\text{饱和后鲜重} - \text{原鲜重}) / (\text{饱和后鲜重} - \text{干重}) \times 100\% \quad (5)$$

$$\text{或 } WSD = \frac{(W_t - W_f)}{(W_t - W_d)} \times 100\% \quad (6)$$

$$\text{或 } WSD = 1 - RWC \quad (7)$$



【实验器材与试剂】

1. 实验材料:植物组织任意部分的材料。
2. 实验试剂:蒸馏水。
3. 实验仪器:电子天平(精确度 0.1 mg)、烘箱、干燥器、剪刀、烧杯、铝盒、吸水纸等。

【实验步骤】

1. 剪取植物组织,迅速放入已知重量的铝盒中,称出鲜重(W_f)。
2. 将铝盒打开放入烘箱中,在 105 °C 下干燥 4~6 h 烘干至恒重。若是幼嫩材料,要先在 105 °C 下杀青 10 min,再在 80 °C 下烘干至恒重,然后取出铝盒,盖上铝盖放在干燥箱中冷却至室温,称出干重(W_d)。
3. 测相对含水量,在称鲜重后,将样品浸入蒸馏水中数小时后取出,用吸水纸擦干样品表面水分,称重;再将样品浸入水中 1 h,取出,擦干,称重,直到两次称重的结果基本相等,最后的结果即为饱和鲜重(W_t)。如果事先已知达到水分饱和所用的时间,则可一次称重而测得饱和鲜重(W_t),然后烘干,称出干重(W_d)。
4. 将所得的 W_f 、 W_d 、 W_t 值,代入公式(1)、(2)、(3)、(6),算出样品含水量、相对含水量及水分饱和和亏。

【注意事项】

1. 取材要均匀一致,且一定要烘干至恒重。
2. 称量要迅速准确,不要让材料在空气中暴露的时间太长。

【实验作业】

1. 计算所测样品的鲜重含水量、干重含水量和相对含水量。
2. 比较以鲜重为基数的含水量、以干重为基数的含水量、相对含水量这三种表示植物组织含水量的方法各有哪些优缺点。

【参考文献】

- [1] 李玲,李娘辉,冷佳奕,等. 植物生理学模块实验指导. 北京:科学出版社,2010.
- [2] 张以顺,黄霞,陈云凤. 植物生理学实验教程. 北京:高等教育出版社,2009.
- [3] 乔富康. 植物生理学实验分析测定技术. 北京:中国农业科学出版社,2002.

(贵州师范大学 罗充,谭金玉)

实验2 植物组织自由水与束缚水含量的测定

【实验目的】

了解植物组织中水分存在的不同状态及其与植物生命活动的关系,掌握折射仪的使用。

【实验原理】

水分在植物体内常以自由水和束缚水两种状态存在,这与原生质膜密切相关。自由水与束缚水的含量常与植物的抗性有密切联系。自由水与束缚水的比值大时,植物组织的代谢活动旺盛,生长也较快,抗逆性较弱;反之,则生长较缓慢,抗逆性较强。因此,自由水与束缚水的相对含量可以作为衡量植物组织代谢活动及抗逆性强弱的一个重要指标。

自由水是指距离胶粒较远而可以自由移动的水分,束缚水是指靠近胶粒而被胶粒吸附不易自由移动的水分。束缚水被细胞原生质胶体颗粒吸附而不易移动,因而不易被夺取,也不能作为溶剂。本法用完整的植物组织,浸入较浓的糖液中脱水,一定时间后仍没有被脱去的水分为束缚水,而被脱去进入蔗糖溶液中的水分为自由水。根据糖溶液浓度的变化可测得自由水含量。植物组织的总含水量减去自由水的含量,即可求出植物组织中束缚水含量。

【实验器材与试剂】

1. 实验材料:田间生长的任何植物。
2. 实验试剂:蒸馏水,60%~65%蔗糖溶液(称取蔗糖 60~65 g,置于烧杯中,加蒸馏水 35~40 g,使溶液总重量为 100 g,水浴加热溶解后备用)。
3. 实验仪器:阿贝折射仪、分析天平或电子天平(精确度 0.1 mg)、烘箱、干燥器、铝盒、恒温水浴锅、托盘天平、打孔器(直径 0.5~0.8 cm)、烧杯、瓷盘、量筒等。

【实验步骤】

1. 取 6 个铝盒,洗净,烘干,称重后备用。
2. 在田间选取生长状况一致具有代表性的植株,摘取生长状况、部位、叶龄等一致的叶 5~10 片。
3. 用打孔器在叶子两侧(避开主脉)分别打取小圆片 150 片,共 300 片,然后随机放入已编好号的 6 个铝盒中(每盒 50 片),盖紧,以免水分散失。



4. 准确称取各盒重量,算出各盒样品鲜重。将其中 3 盒置于烘箱中于 105 °C 下杀青 15 min,再于 80 °C 下烘干至恒重,重复 3 次,求出组织含水量(%)。

5. 在剩下的 3 盒中加入 60%~65% 的蔗糖溶液 3~5 mL,再准确称重,算出各瓶糖液重量。

6. 将铝盒置于暗处 4~6 h,其间不时轻轻摇动。到预定的时间后,充分摇匀溶液。用阿贝折射仪测定各铝盒内蔗糖溶液浓度,同时测定原有的蔗糖溶液浓度。按照下式求出组织中自由水和束缚水的含量(%)。

自由水含量 = 糖液重(g) × {[糖液浓度(%) - 浸液后糖液浓度(%)]/浸液后糖液浓度(%)} / 植物组织鲜重(g)

束缚水量 = 组织含水量 - 自由水量

【注意事项】

1. 每个测定必须有 3 个以上的重复。
2. 称重要快,盖子尽量密封,以减少水分散失,保证测定的准确性。
3. 用于计算含水量的叶子圆片和用于测定的叶子圆片,必须在同一叶片的对称位置上取下。
4. 用折射仪测定蔗糖浓度时恒温水的温度必须控制在 20 °C。

【实验作业】

1. 测定植物组织中自由水和束缚水有何作用。
2. 在不同植物组织中自由水和束缚水的含量与植物的生长和抗逆性有何关系?

【参考文献】

- [1] 高俊凤. 植物生理学实验指导. 北京:高等教育出版社,2006.
- [2] 邹琦. 植物生理生化实验指导. 北京:中国农业出版社,1995.
- [3] 张志良,瞿伟菁,李小芳. 植物生理学实验指导. 第 4 版. 北京:高等教育出版社,2009.

(贵州师范大学 罗充,谭金玉)

实验3 植物组织渗透势的测定(质壁分离法)

【实验目的】

观察植物组织在不同浓度溶液中细胞质壁分离的产生过程,了解利用质壁分离法测定植物组织渗透势的方法。

【实验原理】

当植物组织细胞内的汁液与其周围的某种溶液处于渗透平衡状态,植物细胞内的压力势为零(细胞处于初始质壁分离状态)时,细胞汁液的渗透势就等于该溶液的渗透势,该溶液的浓度称为等渗浓度。

当用一系列浓度梯度溶液观察细胞质壁分离现象时,使细胞处于初始质壁分离状态的外界溶液的等渗浓度将介于引起明显质壁分离(显微视野内50%的细胞发生质壁分离)的最低浓度和尚不能引起质壁分离的最高浓度之间,代入溶液渗透势计算公式即可计算出植物组织的渗透势。

【实验器材与试剂】

1. 实验材料:洋葱鳞片的表皮或紫鸭跖草、苔藓、红甘蓝或黑藻、丝状藻等水生植物以及蚕豆、玉米、小麦等植物叶片表皮组织。

2. 实验试剂: $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖溶液。

3. 实验仪器:培养皿、显微镜、载玻片及盖玻片、镊子、刀片等。

【实验步骤】

1. 梯度浓度蔗糖溶液的配制:取培养皿9套,用 $1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖溶液分别配制0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 蔗糖梯度溶液各10 mL。

2. 撕取植物表皮,迅速投入各种浓度的蔗糖溶液中,使其完全浸入,加盖。

3. 5~10 min后,镜检观察质壁分离现象。从 $0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 开始依次取出表皮薄片,放在滴有同样溶液的载玻片上,盖上盖玻片,于低倍显微镜下观察,如果所有细胞都产生质壁分离的现象,则取低浓度溶液中的材料作同样观察。

4. 通过镜检,找出引起半数以上细胞原生质刚刚从细胞壁的角隅上分离的最低浓度和不引起质壁分离的最高浓度。