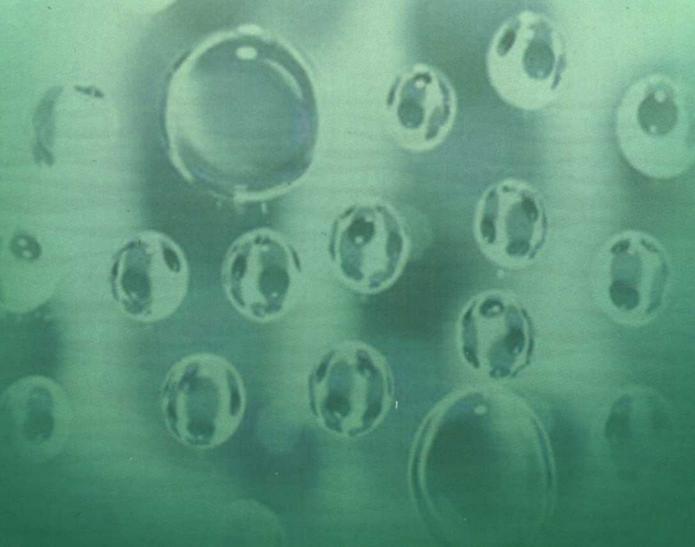


◎ 21世纪生物科学与工程系列教材

植物生理学实验指导

● 陈建勋 王晓峰 主编

(第二版)



生物科学与工程系列教材

植物生理学实验指导

(第二版)

陈建勋 王晓峰 主编

华南理工大学出版社

·广州·

内 容 简 介

本书主要介绍植物生理学的水分生理、矿质营养生理、光合作用、呼吸作用、生长发育、植物生长调节物质及抗性生理学等实验技术。附录部分包括各种常用数据表及常用仪器的使用方法等，可供读者查阅。本书相当部分实验均经过华南农业大学植物生理教研室多年实验教学及科研的反复验证，比较成熟，同时也参考了其他一些研究方法，供读者选择使用。

本书可供农林院校有关专业的大学本科生阅读，也可供其他植物生理学工作者参考使用。

图书在版编目（CIP）数据

植物生理学实验指导/陈建勋，王晓峰主编. —2 版. —广州：华南理工大学出版社，
2006. 2

（生物科学与工程系列教材）

ISBN 7-5623-1778-X

I . 植… II . ①陈…②王… 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（2002）第 006865 号

总 发 行：华南理工大学出版社（广州五山华南理工大学 17 号楼，邮编 510640）

发行部电话：020-87113487 87111048（传真）

E-mail：scutc13@scut.edu.cn http://www.scutpress.com.cn

责任编辑：詹志青

印 刷 者：广东省农垦总局印刷厂

开 本：787 × 1092 1/16 印张：6.75 字数：165 千

版 次：2006 年 2 月第 2 版第 3 次印刷

印 数：4501 ~ 6500 册

定 价：12.00 元

第二版前言

本书自 2002 年第一版以来，经过了近 4 年的教学实践。为了能更好地适应我校植物生理学的教学需要，我们对第一版进行了较大幅度的修订。修订的内容主要有以下几点：一是大幅度地删去了一些在教学实践过程中很少再使用的实验；二是结合教学和科研实践增加了一些新实验、综合性实验、实习性实验；三是改正了第一版中的一些错误。本书基本上涵盖了我校农科专业本科生、生物技术和生命科学专业高年级本科生及硕士研究生的实验课及实习的需要。

本书的内容经过近一年的共同研讨，是本教研室全体老师共同智慧的结晶，已经很难区分具体实验内容是谁编写的。参加第二版的编写人员按姓氏笔画顺序排列有：王晓峰、王曼、卢少云、刘伟、叶蕙、陈巧玲、陈建勋、庞学群、钱春梅，罗玉荣和刘运权作了部分校对工作，全书由陈建勋负责统稿。

由于编者水平有限，书中错误和不妥之处在所难免，恳请使用本书的师生及读者能及时提出批评，以便于今后更进一步完善。

编者于华南农业大学
2006 年 1 月

前　　言

植物生理学实验是植物生理学课程教学的重要组成部分，旨在加深学生对植物生理学理论和实验基本原理的理解。实验不仅可以加强学生的实验操作技能，而且可以培养学生严谨的科学作风，在提高学生分析和解决问题的能力及独立工作能力方面，具有十分重要的作用。为适应我国高等农业院校植物生理学教育改革和发展的需要，华南农业大学植物生理教研室根据几十年来的教学经验和植物生理学发展的趋势，在原有校内使用教材的基础上组织力量编写了这本教材。

本书的内容涉及植物生理学的水分生理、矿质营养生理、光合作用、呼吸作用、生长发育、植物生长调节物质及抗性生理学等实验技术。按照农业院校所设专业教学计划的安排，并充分考虑到实验室实验设备的现状以及学科发展的需要，本书主要以容易采摘及获得的植物材料为研究对象，所选实验系多年来在教学和科研中较为成熟的实验，适合初学者使用，同时在实验选择上充分考虑到农业院校不同层次学习者的需要，安排了部分设计型实验、综合性实验，供高年级本科生和硕士研究生使用。

本书实验1~8由叶蕙编写，实验9~10由陈建勋编写，实验11~20、27由钱春梅编写，实验21~26由庞学群编写，实验28~47由刘伟编写，实验48~52由王晓峰编写，实验53~58由卢少云编写，附录部分由陈巧玲编写，全书由陈建勋统稿。本书在编写过程中，参考并引用了大量的国内外相关资料，由于篇幅所限，书中不能一一列出，在此一并表示衷心的感谢。

尽管我们主观上希望本书能够较好地体现农科院校的特色，满足教学之需，但由于时间仓促，水平有限，书中不足之处在所难免，竭诚希望读者不吝赐教。

编　者
2002.2

目 录

植物生理实验室规则	(1)
实验 1 植物组织含水量的测定	(2)
实验 2 植物组织水势的测定(小液流法)	(4)
实验 3 蒸腾强度的测定(容积法)	(6)
实验 4 植物伤流液的收集及伤流液成分分析	(8)
实验 5 植物的溶液培养及缺素培养	(11)
实验 6 植物体内的硝酸还原酶活力的测定	(13)
实验 7 乙醇酸氧化酶活性的测定	(17)
实验 8 氧电极法测定植物光合速率和呼吸速率	(20)
实验 9 考马斯亮蓝 G - 250 法测定蛋白质含量	(24)
实验 10 植物呼吸强度的测定(广口瓶法)	(26)
实验 11 根系活力的测定(TTC 法)	(28)
实验 12 多酚氧化酶在植物组织褐变中的作用及控制	(30)
实验 13 果胶酶活力的测定	(31)
实验 14 花色苷的提取纯化及其光谱分析	(33)
实验 15 生长素类物质对水稻根、芽生长的不同影响	(35)
实验 16 植物生长区域的测定	(38)
实验 17 乙烯对黄瓜雌花的诱导作用	(39)
实验 18 生长素类与植物生长延缓剂促进绿豆下胚轴插条生根	(41)
实验 19 利用烯效唑培育水稻壮秧	(42)
实验 20 水杨酸、多效唑对非洲菊切花的保鲜作用	(45)
实验 21 种子生活力的快速测定(TTC 法)	(48)
实验 22 赤霉素对小麦种子萌发过程中 α -淀粉酶合成的诱导	(50)
实验 23 种子萌发时蛋白质的转化	(53)
实验 24 植物组织可溶性总糖的测定	(55)
实验 25 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	(57)

实验 26 超薄等电聚焦电泳	(59)
实验 27 植物组织总 RNA 的提取、质量鉴定及定量分析	(62)
实验 28 不同温度对植物细胞质膜相对透性的影响	(64)
实验 29 逆境对植物体内游离脯氨酸含量的影响	(66)
实验 30 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定	(68)
实验 31 抗坏血酸过氧化物酶活性的测定	(70)
实验 32 过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)活性的测定	(72)
实验 33 植物组织丙二醛含量的测定	(74)
实验 34 几种抗氧化剂含量的测定	(75)
实验 35 逆境处理对植物生理生化指标的影响	(78)
实验 36 叶绿体色素的提取、分离、理化性质及含量测定	(81)
实验 37 香蕉的催熟、冷害及青皮熟现象的观察(实习)	(85)
附录 1 玻璃仪器的洗涤	(87)
附录 2 DDS-11A 型电导率仪的使用方法	(88)
附录 3 滴定管的使用方法	(89)
附录 4 721 分光光度计的工作原理及使用方法	(90)
附录 5 常用缓冲液的配制	(91)
附录 6 常用指示剂的配制	(94)
附录 7 常用酸碱试液配制及其相对密度、浓度	(95)
附录 8 计量单位	(96)
附录 9 常用有机溶剂及其主要性质	(99)
参考文献	(100)

植物生理实验室规则

1. 实验室必须保持安静、整洁。
2. 除指定的仪器外，不得动用其他仪器。使用仪器前，应了解其性能和操作方法，并注意爱护；使用完毕，应记录仪器使用情况。
3. 使用药品和试剂应注意安全，公用药品必须在原来放置的地方取用，并注意节约。
4. 实验材料严禁倒入水槽内，有腐蚀性的废液必须小心倾倒入废液桶（以便做统一处理）。
5. 实验过程要小心谨慎，万一损坏仪器设备，应如实报告教师，并办理登记手续。如属违反操作规则而造成损失，视情节轻重赔偿或处分。
6. 实验完毕，应清洗玻璃仪器、收拾台面，值日生应负责整个实验室清洁卫生工作（包括关水电、抹台面、扫地、倒垃圾）。

实验 1 植物组织含水量的测定

【实验原理】

植物组织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，种子含水量对安全贮藏更有重要意义。利用水遇热蒸发为水蒸气的原理，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，常以鲜重或干重的百分比表示，有时也以相对含水量表示。后者更能表明它的生理意义。

【仪器设备及用品】

电子天平、干燥器、烘箱、称量瓶、坩埚钳、吸水纸。

【实验步骤】

1. 自然含水量法

(1) 称量瓶的恒重：将洗净的两个称量瓶编号，放在 105℃ 恒温烘箱中，烘 2h 左右，用坩埚钳取出放入干燥器中冷却至室温后，在电子天平上称重，再于烘箱中烘 2h，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 0.002g)，求得平均值 m_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，装入已知的称量瓶中盖好，在分析天平上准确称取质量，得瓶与鲜样品总质量 m_2 ，然后于 105℃ 烘箱中干燥 4~6h(注意要打开称量瓶盖子)。取出称量瓶，待其温度降至 60~70℃ 后用坩埚钳将称量瓶盖子盖上，放在干燥器中冷却至室温，再用电子天平称重，然后再放到烘箱中烘 2h，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。称得质量是瓶与干样品总质量 m_3 。烘时注意防止植物材料焦化。如系幼嫩组织，可先用 100~105℃ 杀死组织后，再在 80℃ 下烘至恒重。

(3) 记录及计算(见表 1)

表 1 测定组织含水量记载表 日期 _____ 记录人 _____

编号	称量瓶重(m_1)	瓶重 + 样品鲜重(m_2)	瓶重 + 样品干重(m_3)

$$\text{样品鲜重 } m_f = m_2 - m_1$$

$$\text{样品干重 } m_d = m_3 - m_1$$

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

2. 相对含水量法

相对含水量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好。

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

(2) 计算

$$\text{相对含水量(组织含水量占饱和含水量的百分比)} = \frac{m_t - m_d}{m_t} \times 100\%$$

实验 2 植物组织水势的测定(小液流法)

【实验原理】

测定植物组织水势的方法较多，小液流法是其中一种。本法是将植物组织置于不同浓度(也即不同水势)的蔗糖溶液中，寻找到一种浓度的蔗糖溶液，其水势与植物组织的水势相等，然后计算该浓度蔗糖溶液的水势，从而知道植物组织的水势。

蔗糖溶液的水势 $\Psi_w = \Psi_\pi = -icRT$ ，其中 i 为解离常数(蔗糖的 $i=1$)， c 为溶液的浓度， R 为气体常数(即 $0.008\ 314\ L \cdot MPa/(mol \cdot K)$)， T 为绝对温度，即 $273+t$ (测定时的摄氏温度)， Ψ_π 为渗透势，单位为 MPa。

如何知道哪一浓度蔗糖溶液的水势与植物组织的水势相等呢？我们知道，水势的高低决定了水分的移动方向。如图 1 所示，若将植物细胞浸于蔗糖溶液中，当植物细胞的水势大于外界蔗糖溶液的水势时，细胞失水，外界溶液相对密度变小；当植物细胞的水势小于外界蔗糖溶液的水势时，细胞吸水，外界溶液的相对密度变大；只有当植物细胞的水势与外界蔗糖溶液的水势相等时，植物细胞将既不吸水又不失水(实际情况应是吸水和失水达到动态平衡)，而蔗糖溶液的相对密度将不发生变化。因此，测定外界蔗糖溶液的相对密度变化就可确定哪一浓度的蔗糖溶液的水势与植物细胞的水势相等。

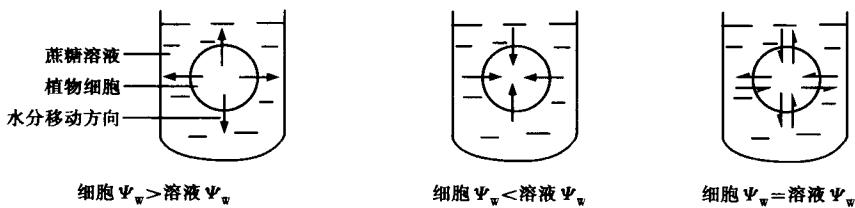


图 1 植物组织水分移动示意图

测定蔗糖溶液相对密度的变化，可采用如下简便的方法：即利用毛细管吸取已浸过植物组织的蔗糖溶液(为便于观察，可用甲烯蓝先染上颜色)，放一小滴到与其对应的相同浓度的蔗糖溶液中，然后观察滴出的小液滴(蓝色)的移动方向，即可知道浸过植物组织的蔗糖溶液相对密度的变化(“小液流法”即由此而来)。若小液滴向上移动，则表示浸过植物组织的蔗糖溶液的相对密度变小；相反，向下移动，则表示相对密度变大；若静止不动，则表示相对密度未变化，说明该浓度蔗糖溶液的水势与植物组织的水势相等。

【实验材料】

白兰或心叶树藤的叶片。

【仪器设备及用品】

试管架、5 mL 带塞试管 6 支、10 mL 带塞试管 6 支、毛细管 6 支、打孔器、镊子、移液管、吸球等。

【试剂药品】

1 mol/L 蔗糖溶液、甲烯蓝粉末。

【实验步骤】

(1) 取 6 支 5 mL 带塞试管编号，排列于试管架上；另取 6 支 10 mL 的带塞试管编上相同的号码，与 5 mL 试管对应排列于试管架上。所用试管一定要干燥。

(2) 取 1 mol/L 蔗糖溶液作母液，用蒸馏水将其稀释成下列各浓度：0.1 mol/L、0.2 mol/L、0.3 mol/L、0.4 mol/L、0.5 mol/L、0.6 mol/L，各 10 mL。然后充分摇匀，加塞。

(3) 用移液管从 10 mL 试管中取出不同浓度的蔗糖溶液 1 mL，分别装入相对应的 5 mL 试管中，立即加塞。移液管与浓度一一对应。

(4) 取生长状态一致的植物叶片数片(擦干表面水分)，在叶片的相同部位(应避免叶脉)用打孔器打取小圆片，用镊子向 5 mL 试管中各投入 10 片，使溶液浸没小圆片，加塞放置约 30 min，其间经常摇动小试管，并保持小圆片浸没于溶液中。打取小圆片及投入试管中时，动作应尽量快速。

(5) 到时间后，向 5 mL 试管中各加入甲烯蓝粉末少许(以染成蓝色为度)，摇匀，使溶液着色。

(6) 取干燥毛细管 6 支，分别从 5 mL 试管中吸取蓝色溶液(约为毛细管的一半以上)，用吸水纸将毛细管外壁的蓝色溶液擦干净，然后插入与 5 mL 试管相对应的 10 mL 试管中，使毛细管内的液面高于试管内的液面 1~2 cm，然后缓慢放出蓝色溶液一小滴，保持毛细管静止不动(可将毛细管壁靠在试管口上)，观察蓝色小液滴的移动方向，然后缓慢取出毛细管插回 5 mL 试管中。插入和取出毛细管时动作应缓慢并保持毛细管内溶液不漏出。毛细管与浓度应一一对应。

(7) 将蓝色小液滴移动方向填入表 2 中，若小液滴向上移动，则说明叶片组织水势大于该浓度蔗糖溶液的水势；若向下移动则相反；若静止不动，则说明叶片组织的水势与该蔗糖溶液的水势相等；如果在前一浓度中向下移动，而在后一浓度中向上移动，则植物组织的水势可取两种浓度蔗糖溶液水势的平均值。

表 2 小液流法现象观察记载表

蔗糖浓度(mol/L)	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6
小液滴移动方向						

(8) 记录实验时的温度(℃)。

实验 3 蒸腾强度的测定(容积法)

【实验原理】

蒸腾强度是指植物在一定的时间内单位叶面积蒸腾的水量，一般用每小时每平方分米所蒸腾的水量(g)来表示，即

$$Q = m / (t \cdot S)$$

式中， Q 为蒸腾强度， $\text{g}/(\text{dm}^2 \cdot \text{h})$ ； m 为蒸腾的水量， g ； t 为时间， h ； S 为叶面积， dm^2 。

容积法测定植物的蒸腾强度，是将带叶的植物枝条通过一段乳胶管与一支滴定管相连，管内充满水，组成一个简易蒸腾计(如图 2 所示)。蒸腾一定时间(t)后，即可从滴定管刻度读出蒸腾失水的容积，换算成质量即为蒸腾的水量(m)，然后用质量法测定出枝条中叶的总面积(S)。得到以上数据后，代入上述公式即可求出蒸腾强度。

质量法测定叶面积的原理是：假定一张白纸各部分分布均匀，那么纸的面积(b)就与纸的质量(a)成正比，该纸单位质量的面积为 b/a ，即知道质量就可求出面积。

今将枝条上的叶片的实际大小描在白纸上，并沿笔线剪下来，然后称其总质量(x)，则叶的总面积 $S = (b/a) \cdot x$

【实验材料】

白兰或心叶树藤带叶枝条。

【仪器设备及用品】

1 mL 移液管 1 支、铁架台及滴定管夹、乳胶管、剪刀、药物天平一架、白纸(或报纸)数张、铅笔等。

【实验步骤】

(1) 取植物枝条(不能太粗或太细，以能插入乳胶管并保持密封为度)，保留几片叶子，然后于水中将枝条剪断，以免导管内进入空气。

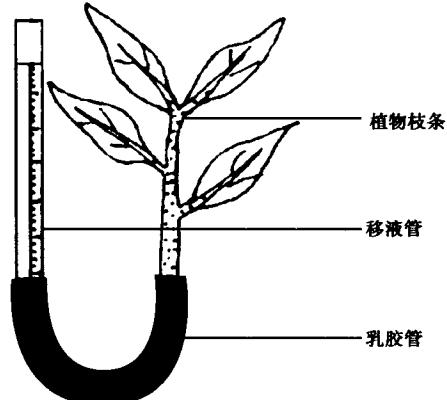


图 2 简易蒸腾计

(2) 在水盆中将移液管和乳胶管内注满水，于水中将移液管下端与乳胶管一端相连，调节管内水位在0刻度以下。

(3) 将枝条在水中插入乳胶管的另一端，接口处不能漏水(若漏水可用凡士林封住)。管内务必不能有气泡。

(4) 将安装好的简易蒸腾计固定在滴定管夹上成U形装置。轻轻擦干叶片表面水分，开始计时并记下移液管内的初始水位，填入表3。

表3 蒸腾强度测定记载表

蒸腾开始	时间	
	水位	
蒸腾结束	时间	
	水位	
某张白(报)纸	面积(b)	
	质量(a)	
与叶片同等大小的白(报)纸总质量(x)		
叶的总面积 $S = (b/a)x$		
蒸腾强度 $Q = m/(t \cdot S)$		

(5) 30~60 min 后，记录移液管水位刻度，然后将枝条上的叶子全部剪下，用质量法计算出叶片总面积，填入表3。

【思考题】

(1) 为何要在水中剪断枝条，以免导管内进入空气？乳胶管内为何务必不能有气泡？

(2) 称重前，若剪下的纸被水打湿，将对结果产生什么影响？

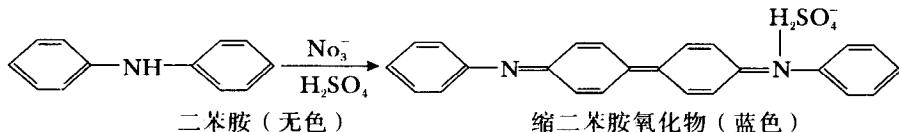
实验4 植物伤流液的收集及伤流液成分分析

【实验原理】

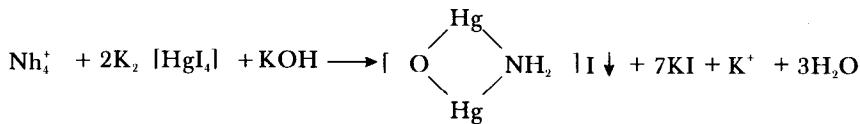
从植物茎的基部把茎切断，切口不久就有液体流出，这一现象称为伤流。流出的汁液即是伤流液。

根不但是水分和矿质营养的吸收器官，而且还是重要的合成器官，根系吸收的无机盐，有一部分即在根中进行初级同化，转变成有机物并向地上部运输。因此，伤流液中除含有大量水分和无机盐外，还含有少量的有机物。本实验即利用化学反应来检测伤流液中有机物及矿质盐的存在。

(1) 硝态氮(NO_3^-)在浓硫酸中能将二苯胺氧化，生成蓝色化合物，因此可利用二苯胺检测伤流液中 NO_3^- 的存在。反应式如下：

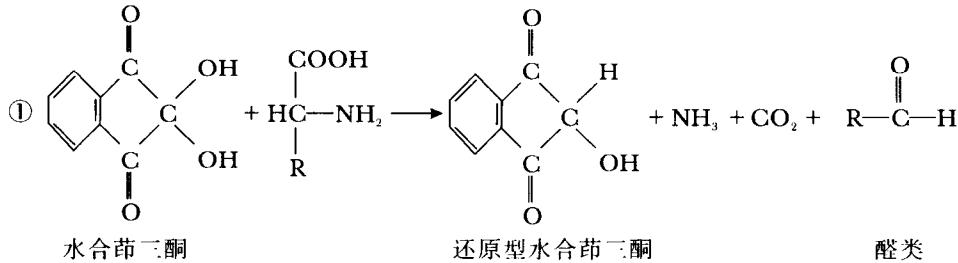


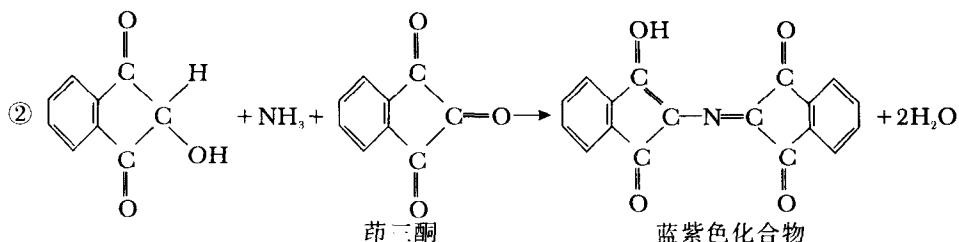
(2) 氨态氮(NH_4^+)与萘斯勒(Nessler)试剂(简称萘氏试剂)反应生成红棕色沉淀，在 NH_4^+ 含量很少时，呈黄色，以此鉴定伤流液中 NH_4^+ 的存在，反应式如下：



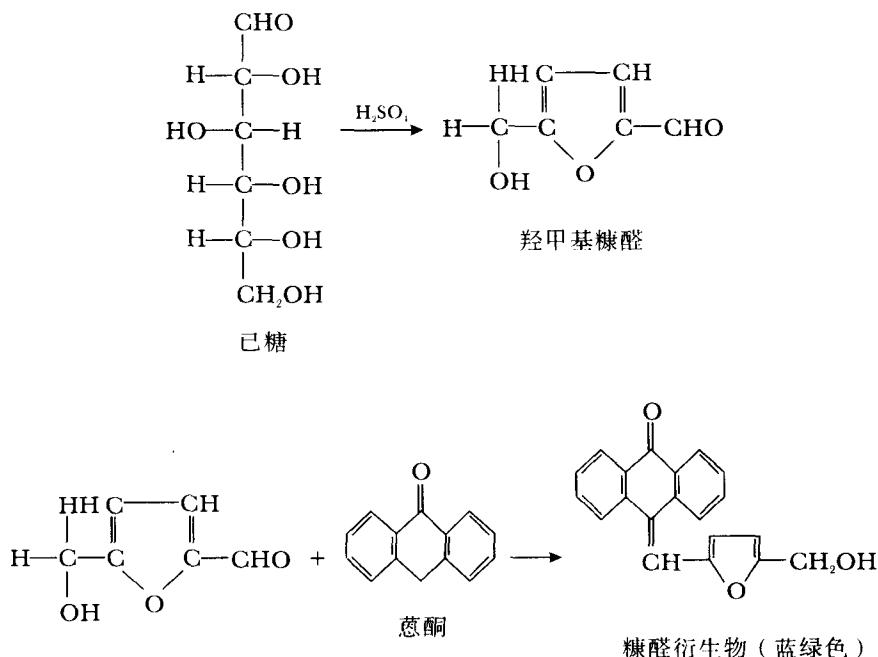
(3) 无机磷在适宜的酸性条件下，能与钼酸铵 [$(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$] 作用生成磷钼酸铵 [$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_3 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$]，后者又能被还原剂(如抗坏血酸等)还原成蓝色的磷钼蓝 [$(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{MoO}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$]。以此可鉴定伤流液中无机磷的存在。

(4) 凡含有自由氨基的化合物，与水合茚三酮共热时，能产生紫色化合物，可以此反应鉴定伤流液中氨基酸的存在。反应式如下：





(5) 在浓硫酸的脱水作用下，蒽酮能与糖(包括多糖在内)作用生成蓝绿色的糠醛衍生物，以此可鉴定伤流液中可溶性糖的存在，反应式如下：



【实验材料】

玉米苗。

【仪器设备及用品】

中试管 2 支、小试管 1 支、滴管 1 支、乳胶管、刀片、脱脂棉、白瓷板。

【试剂药品】

- ①二苯胺试剂：0.05~1.00 g 二苯胺溶于 10 g 浓硫酸中。
- ②萘氏试剂：11.5 g HgI_2 ，8 g KI，溶于 50 mL 蒸馏水中，再加入 50 mL 6 mol/L NaOH 溶液。若产生沉淀可以过滤。装于棕色瓶中暗处保存。
- ③定磷试剂：按以下顺序及体积比将各试剂混合：蒸馏水 : 12 mol/L 硫酸 : 2.5% 铜酸铵 : 10% 抗血酸 = 2 : 1 : 1 : 1。12 mol/L 硫酸的配制：166 mL 相对密度为 1.84 的硫酸，在搅拌中逐渐加入 500 mL 蒸馏水中，冷却后，移入 1000 mL 容量瓶中，加水至刻度。

度，摇匀。2.5% 铜酸铵的配制：称取铜酸铵(化学纯)2.5g，先用少量蒸馏水溶解，再定容至100 mL。10% 抗坏血酸须临时配制，并于棕色瓶中(在冰箱中可存放1个月)。新配制的定磷试剂为淡黄色，极不稳定，每日须新配并贮于棕色瓶中，溶液变为棕色则不能利用。

- ④ 苛三酮试剂：1g 苛三酮溶于100 mL 95% 酒精中。
⑤ 葡萄糖试液：将760 mL 浓硫酸(相对密度为1.84)用蒸馏水稀释至1000 mL，加入2g 葡萄糖至溶解。

【实验步骤】

1. 伤流液的收集

于实验前一天，在植株茎基部离地约3cm 处切断，留下的切茎立即用乳胶管套上，胶管的另一端伸入中型试管中，试管与乳胶管相连接处用棉花封闭。

2. 伤流液成分分析(见表4)

表4 伤流液成分分析表

伤流液用量	加入试剂	反应条件	现象	解释
3滴于小试管中	二苯胺6~10滴			
1滴于白瓷板上	1滴萘氏试剂	稍加热		
5滴于小试管中	15滴定磷试剂	稍加热		
10滴于小试管中	3滴水合茚三酮	沸水浴5~10min		
0.5mL于中试管中	3mL 葡萄糖试液	沸水浴5~10min		