

树木生理学实验指导

果 林 專 业 用

山西农学院果林系果树教研組

一九七三年一月

目 录

实验(一)	树木细胞渗透压的测定——质壁分离法	2
实验(二)	树木细胞吸水压的测定——小液流法	6
✓ 实验(三)	树木含水量的测定	8
实验(四)	树木水分饱和差的测定	9
✓ 实验(五)	树木伤流量的测定及伤流液的收集	11
实验(六)	氨基酸纸上色层分析法	13
实验(七)	树木蒸腾强度的测定	16
✓ 实验(八)	树木含灰量的测定	19
✓ 实验(九)	树木灰份的分析	21
实验(十)	树木缺素症观察(水培法示范)	23
实验(十一)	树木光合强度的测定	27
实验(十二)	叶绿素含量的测定及主要理化性质的观察	29
✓ 实验(十三)	叶面积系数的测定	34
实验(十四)	用PH比色法测定树木的光合及呼吸强度	36
实验(十五)	果实呼吸强度的测定(小提兰法)	40
实验(十六)	休眠芽的观察和休眠期的调节	43
✓ 实验(十七)	树木自由水和束缚水的测定	45
实验(十八)	树木组织中可溶性糖的测定	47
实验(十九)	树木组织中淀粉含量的测定	50
实验(二十)	树木组织中全氮含量的半微量测定	53
实验(二十一)	维生素C的测定	57
✓ 实验(二十二)	粗脂肪的测定	61

毛主席语录

我们需要的是热烈而镇定的情绪，紧张而有秩序的工作。

树木生理实验室规则

- 一、学员在实验前，必须仔细的阅读实验指导，以便了解每次实验的目的要求和主要操作过程。
- 二、学员每二人一组进行实验，要求两人必须密切合作。
- 三、实验用的仪器设备，要按操作规程使用，使用前检查，使用后整理，注意爱护和节约。特别注意对贵重仪器的使用及保护，如发生故障及时报告教师。如有损坏应自觉登记。
- 四、实验结束后，必须按照教师指定内容做实验报告。
- 五、随时注意保持室内安全与清洁，废物集中一处，废液（酸碱腐蚀性强者）只能倒在指定地点，不能随地乱倒，实验完毕后应及时清扫。

实验(一) 树木细胞渗透压的测定

一质壁分离法

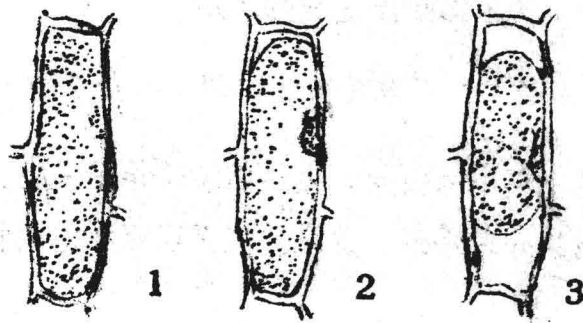
一、目的：树木根系在土壤中的吸水，主要靠渗透作用进行，因而测定细胞的渗透压，对果树的合理灌溉、施肥、以及研究树木的抗旱抗寒性有一定意义。

二、原理：树木的细胞是一个渗透体系，原生质层（包括质膜、中质和液胞膜）具有半透性。如将活细胞放在不同浓度的溶液中就会发生渗透现象。当细胞放在高渗溶液中时，液胞中的水会外渗，细胞发生质壁分离现象；如把细胞放在低渗溶液中，细胞会吸水膨胀；如某一浓度的溶液，刚好使细胞开始产生质壁分离，那么这种溶液，通常认为是细胞的等渗溶液，也就是说，这种溶液的浓度大约等于细胞液的浓度，根据这一原理，可以求出细胞液的近似渗透压。

三、材料与设备：1、葱、洋葱、蚕豆、桃、苹果等叶片。2、1M蔗糖溶液，3、培养皿，4、镊玻璃，5、载玻片0.5 盖玻片，6、镊子，7、沪纸，8、0.1%中性红溶液，9、显微镜。

四、方法与步骤：

1、撕取桃或苹果树叶上表皮或下表皮细胞几块，将其浸在盛有少量0.1%中性红溶液的镊玻璃内染色10分钟，取出用少量蒸馏水冲洗，并浸泡片刻，在显微镜下观察细胞的正常状态。然后滴一滴1M蔗糖溶液于制片上，可以看到质壁分离现象（如下图）（典型细胞—洋葱表皮细胞质壁分离图）（见下页图）



洋葱表皮细胞质壁分离的过程图

(一)、正常细胞；(二)、初始质壁分离；(三)、质壁分离最后阶段；

2、在测定树木叶片表皮细胞渗透压以前，先用1M蔗糖溶液 $C_1 V_1 = C_2 V_2$ 公式配制0.1M，0.20M，0.25M，0.30M，0.35M，0.40M等一系列不同浓度的蔗糖溶液各10ml，盛于干燥清洁的培养皿内，然后依上述方法制备染色制片，每隔5分钟分别投入所配的各种浓度溶液中3—4片，过20分钟后，再依次在显微镜下观察细胞质壁分离情况（注意制片投入溶液前用滤纸将其吸干），如果在0.4M情况下，制片有多数细胞（50%以上）发生初始质壁分离，则其等渗浓度即为0.4M；如在0.4M情况下制片无或少数质壁分离，而在0.45M情况下制片细胞又有大多数（50%以上）发生较严重质壁分离，等渗浓度则在此两个浓度之间，即0.425M，然后以下公式求出树木细胞的渗透压。

$$P = iCRT$$

P= 所求的渗透压，以大气压表示

i= 等渗系数，蔗糖为1

C= 蔗糖溶液的克分子浓度（指等渗时）

$R =$ 气体常数 (0.0821 升 / 大气压 / 度)

$T =$ 绝对温度 $= 273 + t$

附注：等渗系数 i 又名范荷甫数，即一克分子浓度溶液，其分子解离所得的克离子数和未解离的克分子数之和，值大小决定于溶质的电离度和该溶液的浓度，即强电解质的稀溶液 i 值则较大，本实验所用蔗糖为非电解质，故其等渗系数为 1。

五、实验报告：

将实验结果，代入上述公式，求出植物组织的渗透压，注明树木材料名称，写成实验报告。

取含有花青素的植物组织（苹果或槲子果皮）切成大小相同的小块，在清水中充分洗净后，于4个试管中各加水2 ml，并投入等量材料。将试管编号后，在一号管中加入几滴氯仿，2号管中加等量的95%乙醇，3号管煮沸，4号管不加任何处理作为对照。然后静置试管架上。经过一小时左右，检查各管水液颜色改变情况，记录结果并加以解释。

2、原生质对不同溶质的透性：

将适宜的植物材料（含花青素的花瓣或果皮）放在载玻片上，滴以1 M乙醇溶液1—2滴，在显微镜下观察细胞是否发生质壁分离，如以1 M甘油溶液代替乙醇溶液，则结果又如何？观察半数质壁分离要多少时间？大多数细胞完成质壁分离复原又需要多少时间？再以1 M蔗糖溶液进行试验，随时在显微镜下观察，何时半数细胞发生质壁分离？能否复原？记录结果，并加以解释。

3、物质透过质膜与液胞的速度不同。

用镊子撕取桃树、杨树或大叶黄杨树叶片的表皮几小块，在0.01%中性红水溶液中浸5—10分钟，取出在稀碱液中漂洗一下，放在载玻片上，滴上1—2滴0.5—1 M KSCN 或 KNO_3 溶液，加盖玻片，5—10分钟后，在低倍显微镜下观察。注意质壁分离成什么形式，原生质有无膨胀现象。另取表皮组织，经同样染色后，不加 KSCN 而加蔗糖溶液或 1 M $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ，5—10分钟后，进行镜检，比较它和前一处理有何不同？记录结果并加以解释。

实验(二) 树木细胞吸水压的测定

一小液流法

一、目的：植物组织的吸水压(S)，决定于细胞的膨压(T)和渗透压(P)的差额，其关系为 $S = P - T$ 。吸水压的大小与细胞内含水量有密切关系，因此吸水压可作为树木的灌溉生理指标。

二原理：将树木细胞浸入各种不同浓度的蔗糖溶液中时，由于细胞和溶液间发生了水分交换，溶液的浓度和比重也发生相应的改变，如将已浸过树木组织的各种溶液，用毛细管移入原来各相应溶液中时，由于比重的改变，滴出的小液滴可能向上，向下或静止不动，根据小液滴移动的方向，即可判断溶液浓度比原来的降低或升高。间接求出细胞的吸水力。

三、材料与设备：1、桃、苹果、杨树等叶片，2、1 M 蔗糖溶液，3、10 mL 移液管 4、平底指形管或普通试管，5、小试管，6、毛细滴管，7、钻孔器，8、甲稀兰结晶，9、指形管架。

四、方法与步骤：先用1 M 蔗糖溶液制取一系列不同浓度的溶液0.1M，0.15M，0.2M，0.25M，0.3M，0.35M，0.4M，各10 mL，分别盛入8支指形平底管中，然后各取1毫升盛入另一组小试管内。用打孔器切取同一部位植物叶片4—6块，分别投入盛有1毫升糖溶液的小试管内，塞上瓶塞（投入片数依打孔器口径大小而定），20—30分钟后（在这段时间内摇动2—3次），用解剖针向各小试管中投入极少量的甲稀兰粉末，轻轻摇匀后用毛细管吸取少量已着色的糖溶液，然后将毛细管伸入同浓度溶液中的第一组平底指形管中部，慢慢滴出有色溶液并观察小液滴移动的方向，如果小液

滴向下移动，说明该溶液因叶细胞吸水而变浓；小液滴向上移动，则表示该溶液浓度变化，此时溶液之渗透压等于细胞之吸水力。如在某一浓度以上小液滴向上，而此浓度以下液滴向下，则吸水压介为二浓度之间（如0.3M向下，0.4M向上，则按0.35M计算。

按下公式计算吸水力

$$S=iCRT$$

C=和细胞吸水压相等的蔗糖溶液浓度

R=气体常数，0.0821 升/大气压/度

T=绝对温度（273 + t）

i=等渗系数（蔗糖为1）

五、实验报告

将实验结果，代入上述公式，求出植物组织吸水力，注明所用树木材料名称，写成实验报告。

实验(三) 树木含水量的测定

一、目的与意义：水是植物生存不可缺少的物质，因此一般植物组织都含有多量水分，但植物的含水量因种类而异同一种植物中又因生长部位、年令和器官的不同而异。

树木含水量与需水量有关，测定树木不同时期的含水量可做为需水量的参考。

二、材料与设备：待测树木的组织，天平、剪刀、烧杯、烘箱、硫酸干燥器。

三、方法与步骤：

1、选择一种树木，用天平称取根、茎、叶、花或果实各30—50克，置于4个烧杯中。用剪刀或小刀切剪后置于105℃烘箱中烘24小时。

2、俟材料充分烘干后，移至干燥器中，静置30分钟（何故？）使其冷却，再用天平称重，将结果代入下列公式：

$$\text{含水量} = \frac{\text{鲜重} - \text{干重}}{\text{干重}} \times 100$$

四、实验报告：

将所测得树木的含水量填入下表

树木名称 _____

器官 含水量	根	茎	叶	花	果	
含水量						

实验(四) 树木水分饱和差的测定

一、目的和意义:

树木栽培环境(空间和土壤)的水分状况直接影响着树体内的水分状况,如果空间和土壤内的含水量少时,便会加大树体内的水分饱和差,饱和差大到一定程度,树木就现出缺水现象,如叶片萎蔫枝条停止生长和落果等。因此通过水分饱和差的测定,就可以确定灌溉的生理指标。

二、原理:

植物在它的生活环境中,由于蒸腾作用经常处于水分的不饱和状态,但达到某种程度时就会影响植物的正常代谢过程,严重时就会使植物旱死。为了保证植物的正常生育,人们首先应该了解体内的水分状况。

由植物叶片的实际含水量与充分吸水饱和后的含水量之比,可求得水分饱和差。又根据达到将近伤害时的含水量,可求得临界饱和差。根据水分饱和差和临界饱和差之比,可测得植物的需水程度。

三、实验材料、方法和步骤:

在同干旱栽培条件下,梨树及苹果树不耐旱,为了作比较,本实验将测定梨叶和苹果叶。

叶片自当年生枝条中部采取,每次采10—12枝测定。一般午前9时采叶,采下立刻测其鲜重。然后放入水杯中,用被水汽饱和的玻璃罩盖上,放入容器内,置于明亮而无直射日光处,使充分吸水饱和。

2、吸水24小时完全膨胀后,取出测其重量(还可重复称一次)

此重为饱和鲜重。

3、称后放入105℃恒温干燥箱内烘干至恒重时，称其干物重。

4、依下式计算：

$$\text{实际含水量} = \text{叶片鲜重} - \text{干重}$$

$$\text{饱和含水量} = \text{饱和鲜重} - \text{干重}$$

$$\text{水分饱和差} = \frac{\text{饱和含水量} - \text{实际含水量}}{\text{饱和含水量}} \times 100$$

5、另取同样的叶片数+枚，挂在室内干燥，5—6小时后，每隔1小时，取下两枚称重，再放入水杯中，同样盖以玻璃钟罩，观察能否恢复正常。直到附近伤害时为止，把叶片烘干，依下式求出临界饱和差：

$$\text{临界含水量} = \left(\text{干重} + \frac{\text{测饱和含水量的叶干重}}{\text{测临界含水量的叶干重}} \right) \times \text{测饱和含水量的叶干重}$$

$$\text{临界饱和差} = \frac{\text{饱和含水量} - \text{临界含水量}}{\text{饱和含水量}} \times 100$$

6、根据实验时测得的水分饱和差及临界饱和差，求出当时植物的需水程度。

$$\text{需水程度} = \frac{\text{实际水分饱和差}}{\text{临界饱和差}} \times 100$$

四、实验报告：将实验结果注明实验材料名称测定时间，写成报告。

实验(五) 树木伤流量的测定及伤流液的收集

伤流现象是植物主动吸水的一种表现,它与植物的生理状态以及土壤温度、湿度有密切关系。测定伤流量可以间接了解植物根系活动能力的强弱;分析伤流液的成份,可以进一步了解根系的合成能力、矿质营养的吸收、运转、代谢等情况。

通常测定伤流量的方法有三即毛细管法、简易收集法和称重法,各有利弊,现分述如下:

(一)、毛细管法:

仪器: 1、直径为1mm 玻璃毛细管, 2、小米尺,

实验步骤: 将径为1mm 左右的玻璃毛细管直接插入离植物茎部的2公分处,使玻璃的口插入植物基部中心的木质部,不久就可看见伤流液藉毛细管作用上升,半分钟后,拔出毛细管,用米尺量管内液柱高度。不同植物液柱高度不同,通过测定可相对比较各种植物的伤流量。

(二)、简易收集法:

仪器: 1、指形管, 2、脱脂棉, 3、天平, 4、刀片, 5、玻璃纸, 6、白线, 7、玻璃腊笔。

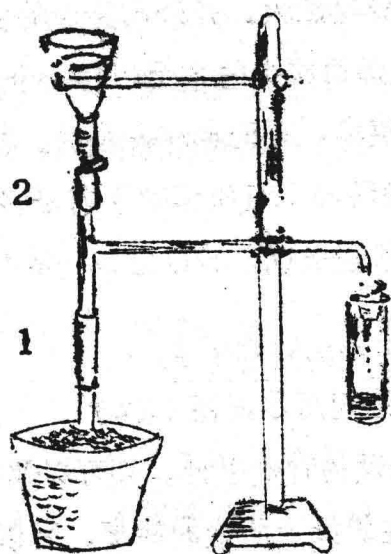
实验步骤: 在指形管内填满松紧适度的干净脱脂棉,管口封以玻璃纸(用白线将玻璃纸扎好玻璃管口)在天平^上称重。然后选定植株,用锋利的刀片切去离基部2—3 Cm 的地上部分随即在玻璃纸中心穿一小孔,将指形管套于断株上,使切口紧密接触管内棉花,伤流液即不断渗入棉花中。一定时间后取下玻璃管,拭净管外尘土水汽,置于天平上称重,两次重量之差即为该植物在收集时间内的伤流量。

(三)、称重量法:

仪器: 1、橡皮管, 2、伤流管, 3、利刀, 4、指形管, 5、软木塞, 6、漏斗, 7、凡士林。

实验步骤: 选定植株, 在离地面约 4—5 厘米左右的茎基部用刀切断。将橡皮管套在断株上, 在管的另一端套上伤流管。伤流管的另一端连接在带有小漏斗的橡皮管上, 接口处涂上凡士林。实验开始时, 于小漏斗中注入自来水, 打开软管夹, 使水充满伤流管, 再将夹子夹紧。

(管内如有气泡, 可打开夹子, 用一指堵住伤流管长管末端, 挤动橡皮管, 赶走气泡), 将称重后的平底管, 插入伤流管末端, 记下时间, 伤液进入长管后, 推出管内原有水滴至平底管中, 一定时间后, 再将平底管称重, 两个重量之差, 即为该植株在一定时间内的伤流量。(附图如下)



测定伤流的仪器装置

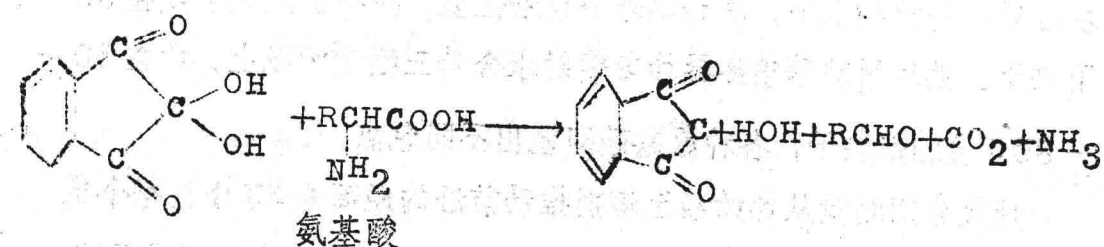
实验（六） 氨基酸纸上层析法

一、目的：植物组织中氨基酸的测定，可以使我们了解植物体内蛋白质代谢的状况。用纸上层析法，可以将氨基酸分离开，因而可以定性或定量的了解氨基酸的变化。

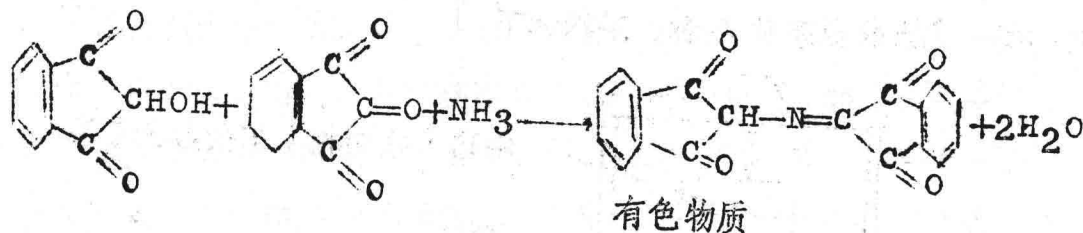
二、原理：纸上层析法，是利用滤纸里纤维素分子上所吸附的水分子作为固定相，以一部分能溶于水的有机溶剂，如苯酚或正丁醇的水饱和溶液作为推动相。当推动相沿滤纸向上或向下推动时，待测样品中各种氨基酸则按其在两相中的分配系数（即在两相中溶解度的比例）分层的在滤纸上分开。如果某种氨基酸的亲脂性较强，则随有机溶剂（推动相移动的趋势也愈大。反之，如果某种氨基酸的亲水性较强，则保留在固定相内的趋势也愈大。另外同类型的氨基酸的流动速率（ R_f ）是随着分子量的增加而减少的甚至相差一个次甲基的同系列化合物即可相差很大的移动速率，因而也容易鉴别。移动速率（ R_f 值）是氨基酸移动的距离与推动相（有机溶剂）前沿移动距离的比值，在标准条件下，对某一种氨基酸来说，其数值为一常数，用此 R_f 值即可定性的判断氨基酸的种类。

$$R_f = \frac{\text{溶质所走的距离 (Py)}}{\text{推动相溶剂所示距离 (Px)}}$$

除了根据 R_f 值判断氨基酸的种类以外，还可以用平行推移已知氨基酸的方法加以鉴别，溶质在滤纸上所走的距离，可以用喷射水合茚三酮的方法 显示后加以确定。不同的氨基酸与酰胺水合茚三酮作用产生不同的颜色，其反应如下：



水合茚三酮



有色物质

三、试剂：1、水饱和苯酚溶液，2、0.1%的水合茚三酮酒精溶液。

仪器：1、玻璃标本缸（高30—40cm，直径10cm以上）2、培养皿，3、玻璃喷雾器，4、玻璃毛细管，5、色层分析用滤纸。

四、实验步骤：将上试验所收集之伤流液，用毛细滴管或微量移液管吸取0.02mL，滴于一长条滤纸距一端3厘米的铅笔纸上，滤纸长度视标本缸高度而定，如同时在一张滤纸上滴几个样品，彼此距离应为2—3cm，不可太近以免互相干扰，点的大小以0.5cm直径为宜，每次滴后可用吹风机吹干后重复进行。

取苯酚天色结晶（粗苯酚需重新蒸馏）加蒸馏水使之成乳白色，用分液漏斗分或两层，取下层为水饱和的苯酚作溶剂（推动相），将分液漏斗上层之苯酚溶液放在标本缸的底层，底层上放一培养皿，将下层苯酚溶液放为其中，然后将滴有样本之滤纸悬挂在标本缸中，滤纸之下端不得接触溶液，标本缸应保持密封可用凡士林涂之。经过12—24小时后，标本缸内空间被溶剂饱和，可将滤纸下端浸入溶液，使溶剂沿滤纸条扩张，样品中之氨基酸亦随之扩张开。待溶剂扩张至滤纸前沿1cm

左右时，将沪纸取下，用铅笔划下前沿位置，并将沪纸风干或在 80°C 下烘干。然后用玻璃喷雾器均匀喷射水合茚三酮于沪纸上，放在 $60 - 80^{\circ}\text{C}$ 温箱中烘干，各种氨基酸即显出不同色点。

用尺分别测量从起始线至溶剂推动前沿的距离 (PX) 及每个氨基酸色点中心至起始线的距离 (PY)，求出各个氨基酸的 Rf 值即可知每一色点的氨基酸名称。附图如下：

