



ZHIWU SHENGLIXUE
SHIYAN

植物生理学实验

肖家欣 ◆ 主编

安徽人民出版社

- 安徽师范大学特优强专业
- 生物科学建设基金资助项目
- 安徽师范大学教材建设基金资助项目

ZHIWU SHENGLIXUE
SHIYAN

植物生理学实验

主编 肖家欣(安徽师范大学)
副主编 刘志文(大连工业大学)
罗充(贵州师范大学)
张晓平(安徽师范大学)
童贵和(淮南师范学院)

安徽人民出版社

内 容 提 要

本书是为师范院校、农林工院校或综合性大学的《植物生理学》课程配套的实验教材。全书共 52 个实验,涉及植物生理学的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、有机物代谢、生长物质、生长生理、生殖生理及抗性生理等内容。附录部分包括各种常用数据表和常用试剂的配制方法等。本书结构完整,内容精炼、简洁,注重理论联系实际,着重加强培养学生分析问题和解决问题的能力。

本教材也可作为植物生理学相关的师生和科研人员的参考用书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验 / 肖家欣主编. —合肥:安徽人民出版社, 2010. 1

ISBN 978-7-212-03734-5

I . 植… II . 肖… 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(2010)第 017689 号

植 物 生 理 学 实 验

肖家欣 主编

出版发行:安徽人民出版社

地 址:合肥市政务文化新区圣泉路 1118 号出版传媒大厦 8 楼

发 行 部:0551-3533258 0551-3533292(传真) 邮编:230071

组 编:安徽师范大学编辑部 电 话:0553-3937079 3883579

经 销:新华书店

印 制:芜湖新欣传媒有限公司

开 本: 787 × 960 1/16 印张:9.375 字数:179 千

版 次:2010 年 1 月第 1 版 2010 年 1 月第 1 次印刷

标准书号:ISBN 978-7-212-03734-5

定 价:16.00 元

本版图书凡印刷、装订错误可及时向承印厂调换

前 言

植物生理学是研究植物生命活动规律的科学。植物生理学实验主要参考了我国师范院校、农林院校和综合性大学的实验内容。在章节内容上,大胆压缩,重点突出,前后呼应;在编写体系上,与其它教材相比,本教材增加了许多新的内容。全书共有 52 个实验,内容丰富,涵概了植物生理学教材的主要章节。

本书由安徽师范大学肖家欣主编,大连工业大学刘志文、贵州师范大学罗充、安徽师范大学张晓平、淮南师范学院童贯和任副主编。本书得到安徽师范大学教材出版基金的资助,同时还得到安徽师范大学生命科学学院的领导与老师的帮助与支持,在此一并表示感谢。

由于时间仓促,加上编者的水平有限,书中难免有错误及不妥之处,恳请各位同仁和广大读者能及时提出批评和意见,便于今后修改和提高。

编 者

2009 年 11 月

目 录

前 言	1
实验 1 植物组织中自由水与束缚水含量的测定	1
实验 2 质壁分离法测定植物细胞渗透势	3
实验 3 植物组织水势的测定	5
实验 4 植物叶片蒸腾速率的测定	7
实验 5 气孔运动及其影响因素	9
实验 6 植物的溶液培养和缺素症状的观察	15
实验 7 植物灰分中常用元素分析	18
实验 8 铜蓝法测定植株中磷元素的含量	20
实验 9 原子吸收分光光度法测定植物组织中金属元素的含量	22
实验 10 植物体内的硝酸还原酶活力的测定	24
实验 11 TTC 法测定植物根系活力	28
实验 12 植物根系对离子的选择吸收	30
实验 13 植物体内的谷氨酰胺合成酶活力的测定	32
实验 14 叶绿体色素的提取与分离	34
实验 15 叶绿体色素含量的测定	36
实验 16 植物叶面积的测定	39
实验 17 核酮糖 -1,5- 二磷酸羧化酶活性的测定	41
实验 18 乙醇酸氧化酶活性的测定	43
实验 19 改良半叶法测定植物叶片光合强度	45
实验 20 氧电极法测定植物组织的光合速率与呼吸速率	47
实验 21 红外线 CO ₂ 气体分析仪法测定植物光合速率与呼吸速率	51
实验 22 TPS-1 便携式光合作用系统测定光合速率、呼吸速率和蒸腾速率 ..	55
实验 23 用叶圆片沉浮法观察环境因素对光合作用的影响	58
实验 24 丙酮酸激酶活性的测定	60
实验 25 磷酸烯醇式丙酮酸羧激酶活性的测定	62
实验 26 小篮子法测定植物的呼吸速率	64
实验 27 氧电极法测定多酚氧化酶活性	66
实验 28 植物组织中可溶性糖与淀粉的测定	68
实验 29 苯丙氨酸解氨酶活性的测定	74

实验 30	类黄酮含量的测定	76
实验 31	生长素的生物鉴定	78
实验 32	吲哚乙酸氧化酶活性的测定	80
实验 33	生长素类物质对根、芽生长的影响	82
实验 34	赤霉素的生物鉴定	84
实验 35	赤霉素对 α -淀粉酶的诱导形成	86
实验 36	细胞分裂素的生物鉴定	88
实验 37	酶联免疫吸附检测法(ELISA)测定植物激素含量	90
实验 38	气相色谱法测定乙烯含量	93
实验 39	植物生长调节剂对植物插条生根的影响	95
实验 40	植物生长调节剂对果实发育的影响	97
实验 41	植物生长调节剂诱导黄瓜性别转化的作用	99
实验 42	种子生命力的快速测定	101
实验 43	谷物种子萌发时淀粉酶活力的测定	105
实验 44	植物激素对愈伤组织形成和分化的影响	108
实验 45	花粉活力的测定	111
实验 46	植物春化和光周期现象的观察	114
实验 47	电导仪法测定植物组织逆境程度	117
实验 48	植物体内脯氨酸含量的测定	120
实验 49	植物组织中超氧物歧化酶活力的测定	122
实验 50	植物组织中过氧化氢含量及过氧化氢酶活性测定	125
实验 51	过氧化物酶活性的测定	130
实验 52	植物组织中丙二醛含量的测定	132
附录		134
主要参考文献		143

实验 1 植物组织中自由水 与束缚水含量的测定

植物组织中的水分以自由水和束缚水两种不同的状态存在。自由水与束缚水含量的高低与植物的生长及抗性有密切关系。自由水 / 束缚水比值高时, 植物组织或器官的代谢活动旺盛, 生长也较快, 抗逆性较弱; 反之, 则生长较缓慢, 但抗性较强。因此, 自由水和束缚水的相对含量可以作为植物组织代谢活动及抗逆性强弱的重要指标。

【实验原理】

自由水未被细胞原生质胶体颗粒吸附而可以自由移动、蒸发和结冰, 也可以作为溶剂。束缚水则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。基于上述特点以及水分依据水势差而移动的原理, 将植物组织浸入高浓度的糖溶液(低水势)中一定时间后, 自由水可全部扩散到糖液中, 组织中便留下束缚水。自由水扩散到糖液后(相当于增加了溶液中溶剂)便增加了糖液的质量, 同时降低了糖液的浓度。测定此降低了的糖液的浓度, 再根据原先已知的高浓度糖液的浓度及质量, 可求出浓度降低了的糖液的质量。用浓度降低了的糖液的质量减去原来高浓度糖液的质量即为植物组织中自由水的量(即扩散到高浓度糖液中水的量)。最后, 用同样的植物组织的总含水量减去此自由水的含量即是植物组织中束缚水的含量。

【仪器与用具】

阿贝折射仪, 分析天平或电子顶载天平(感量 0.1mg), 烘箱, 干燥器, 称量瓶, 打孔器(面积 0.5cm² 左右), 烧杯, 瓷盘, 量筒。

【试 剂】

质量百分浓度为 60% ~ 65% 的蔗糖溶液: 用天平称取蔗糖 60 ~ 65g, 置烧杯中, 加蒸馏水 35 ~ 40g, 使溶液总质量为 100g, 溶解后备用。

【材 料】

新鲜植物叶片(如小白菜、棉花叶片)。

【方法与步骤】

一、植物组织中总含水量的测定

(1) 取称量瓶 3 只(3 次重复,下同),依次编号并分别准确称质量。

(2) 在田间选取生长一致的待测植物数株,各选部位、长势、叶龄一致的有代表性叶子数片。用打孔器钻取小圆片 150 片(注意避开粗大的叶脉),立即装到上述称量瓶中(每瓶随机装入 50 片),盖紧瓶盖并精确称质量。

(3) 将称量瓶连同小圆片置烘箱中 105℃下烘 15min 以杀死植物组织细胞,再于 80~90℃下烘至恒质量(称质量时须置干燥器中,待冷却后称)。设称量瓶质量为 W_1 ,称量瓶与小圆片的质量为 W_2 ,称量瓶与烘干的小圆片的质量为 W_3 (以上质量单位均设为 g,下同)。则植物组织的总含水量(%)可按下式计算:

$$\text{植物组织的总含水量(%)} = \frac{W_2 - W_3}{W_2 - W_1} \times 100$$

根据上式可分别求出 3 次重复所得到的组织总含水量的值并进一步求出其平均值。

二、植物组织中自由水含量的测定

(1) 另取称量瓶 3 只,编号并分别准确称质量。

(2) 用打孔器打取小叶圆片 150 片(植物材料的选取同上),立即随机装入三个称量瓶中(每瓶装 50 片),盖紧瓶盖并立即称质量。

(3) 三个称量瓶中各加入 60%~65% 的蔗糖溶液 5ml 左右,再分别准确称质量。

(4) 各瓶于暗处置 4~6h(经减压处理后,只需在暗处置 1h),其间不时轻轻摇动。到预定的时间后,充分摇动溶液。用阿贝折射仪分别测定各瓶糖液浓度,同时测定原来的糖液浓度。设称量瓶质量为 W_1 ,称量瓶与小圆片的质量为 W_2 ,称量瓶与小圆片及糖液的质量为 W_4 ,糖液原来的浓度为 C_1 ,浸过植物组织后的糖液浓度为 C_2 。则植物组织中自由水的含量(%)可由下式算出:

$$\text{植物组织中自由水的含量(%)} = \frac{(W_4 - W_2) \times (C_1 - C_2)}{(W_2 - W_1) \times C_2} \times 100$$

根据上式同样可求出 3 个不同的测定值并进一步求出其平均值。

三、植物组织中束缚水含量的计算

植物组织中束缚水的含量(%)=组织总含水量(%) - 组织中自由水含量(%)

【思考题】

1. 测定植物组织中自由水和束缚水的含量有何意义?

2. 缚水含量为什么与植物的抗性有关?

实验 2 质壁分离法测定 植物细胞渗透势

植物细胞的渗透势主要取决于细胞液的溶质浓度,因此又称溶质势。已知在干旱、盐渍等条件下,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,而在一定程度上维持膨压,保障细胞的生长和气孔的开放,这种现象叫做渗透调节作用。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。

【实验原理】

将植物组织放入一系列不同浓度的蔗糖溶液中,经过一段时间,植物细胞与蔗糖溶液间将达到渗透平衡状态。如果在某一溶液中细胞脱水达到平衡时刚好处于临界质壁分离状态,则细胞的压力势 ψ_p 下降为零。此时细胞液的渗透势 ψ_s 等于外液的渗透势 ψ_o ,即 $\psi_s=\psi_o$,此溶液称为该组织的等渗溶液,其浓度称为该组织的等渗浓度,因此,只要测出植物组织的等渗浓度,即可计算出细胞液的渗透势 ψ_s 。实际测定时,由于临界质壁分离状态难以在显微镜下直接观察到,故一般均以初始质壁分离作为判断等渗浓度的标准。处于初始质壁分离状态的细胞体积,比吸水饱和时略小,故细胞液浓缩而渗透势略低于吸水饱和时的渗透势,此种状态下的渗透势称基态渗透势。

【仪器与用具】

显微镜,载玻片与盖玻片各若干,温度计,尖头镊子,刀片,小培养皿(直径6cm),试剂瓶,烧杯,容量瓶,量筒,吸管,吸水纸适量。

【试 剂】

1mol/kgH₂O 蔗糖溶液:称取预先在60~80℃下烘干的蔗糖34.2g溶于100g蒸馏水中,即为1质量摩尔浓度蔗糖溶液。

蔗糖系列标准液:取干燥洁净的小试剂瓶9支编号,用1mol/kgH₂O 蔗糖溶液依 $C_1V_1=C_2V_2$ 公式配制0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60、0.65、0.70 mol/kgH₂O 等一系列不同浓度的蔗糖溶液(具体范围可根据材料不同而加以调整),贮于试剂瓶中,瓶口加塞以防蒸发浓缩。

0.03%中性红溶液。

【材 料】

大葱或洋葱鳞茎,小麦叶片。

【方法与步骤】

(1)取干燥洁净的培养皿9套编号,将配制好的不同浓度蔗糖溶液按顺序加入各培养皿中使之成为一薄层,盖好培养皿盖备用。

(2)用镊子剥取供试材料下表皮或用刀片小心刮取小麦叶片上表皮,大小以 0.5cm^2 为宜。吸去切片表面水分,立即浸入不同浓度的蔗糖溶液中,每一浓度中4~5片。

为便于观察,可先将切片于0.03%中性红染料中染色5min左右,吸去水分,再浸入蔗糖溶液中,如果不加染色即能区别质壁分离时,仍以不染色为宜。

(3)切片在蔗糖溶液中浸泡20~30min,同时记录室温,取出放在载玻片上,滴一滴相同浓度的糖液,盖好盖玻片,显微镜下观察,确定引起50%以上细胞发生初始质壁分离(即原生质体刚从细胞壁的角隅分离)的浓度,每片观察的细胞不应少于100个,观察要迅速。如果在两个相邻浓度的切片中,一个没有发生质壁分离或质壁分离的细胞不足50%,另一个发生质壁分离的细胞数超过50%,则可粗略地将这两个浓度的平均值作为其等渗浓度。检查时可先从中间浓度开始。

(4)由所得到的等渗浓度和测定的室温,可用下式计算细胞液的渗透势(ψ),即为细胞的渗透势。

$$\Psi = - iCRT \times 1.013 \times 0.1$$

式中:

Ψ ——供试溶液的渗透势,MPa; i ——解离系数,蔗糖为1; C ——供试溶液的浓度,mol/kgH₂O; R ——气体常数,0.008314L·MPa/(mol·K); T ——绝对温度,(273+ t ℃),K;1大气压为1.013巴;1巴为0.1MPa。

(5)也可用CaCl₂或NaCl代替蔗糖,但须改变式中解离系数。CaCl₂的*i*值可用2.6,NaCl一般为1.8。

【思考题】

1. 质壁分离法除了用于细胞渗透势测定外还有什么用处?
2. 试测定并计算不同植物材料的渗透势。

实验 3 植物组织水势的测定

植物组织的水分状况可用水势来表示。植物体细胞之间、组织之间以及植物体与环境之间的水分移动方向都由水势差决定。

I. 小液流法

【实验原理】

当植物组织与外液接触时,如果植物组织的水势低于外液的渗透势(即溶质势),组织吸水、重量增大而使外液浓度变大;反之,则组织失水、重量减小而外液浓度变小;若两者相等,则水分交换保持动态平衡,组织质量及外液浓度保持不变。根据组织质量或外液浓度的变化情况即可确定与植物组织相同水势的溶液浓度,然后根据公式计算出溶液的渗透势,即为植物组织的水势。计算公式如下:

$$\psi_s = -iCRT \times 1.013 \times 0.1$$

式中 ψ_s ——溶液的渗透势,以 MPa 为单位; R ——气体常数,为 $0.008314 \text{ MPa} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$; T ——绝对温度,即 $273+t \text{ }^\circ\text{C}$,单位为 K; C ——溶液的质量摩尔浓度,以 $\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1} \text{H}_2\text{O}$ 为单位; i ——溶液的解离系数,蔗糖可用 1, CaCl_2 可用 2.6, NaCl 可用 1.8;1 大气压为 1.013 巴;1 巴为 0.1MPa。

【仪器与用具】

试管,试管架,打孔器,镊子,解剖针,移液管。

【试 剂】

甲烯蓝粉末, $1.00 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ 蔗糖溶液(或 CaCl_2 溶液)。

【材 料】

菠菜或其它作物叶片,韭苔。

【方法与步骤】

(1)取干燥洁净的试管 16 支,分成甲、乙两组,分别插在试管架相应的位置。配制一系列不同浓度的蔗糖溶液 ($0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8 \text{ mol} \cdot \text{kg}^{-1}$) 各 $10 \sim 20 \text{ mL}$,注入 8 支编好号的试管(甲组)中。另取 8 支试管(乙组),对应于甲组试验此为试读,需要完整PDF请访问: www.ertongbook.com

管编号,然后从甲组各管中分别取4ml溶液移入相同编号的乙组试管中,甲、乙两组试管分别塞上相应的软木塞(或橡皮塞)备用。

(2)用打孔器在叶片中部靠近主脉附近打取叶圆片,向乙组的每一试管中放入相等数目(10~30片)的叶圆片,使叶片浸入溶液,塞紧软木塞,放置30min以上。期间多次摇动试管,以加速水分平衡。如果用韭苔等植物茎为材料,需用刀片切取等长的茎段(1~3cm),然后向乙组每一试管中放入等质量(2~3g)的茎段。

(3)到预定时间后,在乙组每一试管中用解剖针放入微量甲烯蓝粉末,摇匀,溶液变蓝。

(4)用毛细管(或微量注射器)在乙组试管中吸取蓝色溶液少许,插入装有同样浓度溶液的甲组试管中,毛细管尖端放在溶液中部,轻轻挤出蓝色溶液一小滴,小心取出毛细管(勿搅动有色液滴)。观察蓝色小液滴的升降情况。若液滴下降,表示溶液浓度变大,植物组织吸水,组织水势低于溶液渗透势;若液滴上升,表示乙组相应试管中溶液浓度变小,植物组织失水,组织水势高于溶液渗透势;若液滴不动,则表示植物组织既不失水也不吸水,组织水势与溶液渗透势相等,该溶液的渗透势即为植物组织水势。若前一浓度中液滴下降,后一浓度中液滴上升,则用二者浓度的平均值。

分别测定不同浓度中蓝色液滴的升降,找出与组织水势相当的浓度,根据原理公式3-1计算出组织的水势。

(5)测定并记录不同植物组织的水势,分析各自的水分状况。

【注意事项】

- (1)所取材料在植株上的部位要一致,打取叶圆片要避开主脉和伤口。
- (2)取材以及打取叶圆片的过程操作要迅速,以免失水。
- (3)带有结晶水的甲烯蓝不易溶于 CaCl_2 溶液,可在100℃下烘干成无水甲烯蓝粉末使用。

II. 折光仪法

折光仪是测定物质折光率(折光系数)的仪器。本实验用折光仪测定浸泡植物组织后不同浓度蔗糖溶液浓度的变化情况,以确定相应的等渗浓度值。实验步骤(1)、(2)同上;(3)经一定时间水分平衡后,分别测定未浸植物组织和浸泡植物组织各浓度蔗糖液温及折光率;(4)根据液温,可换算成标准折光率,然后求出各溶液的实际浓度。即可知该待测植物组织的等渗浓度值,再代入公式3-1求得待测植物的水势值。

【思考题】

1. 试比较这两种水势测定方法的优越性?
2. 小液流法测定植物组织水势的原理是什么?

实验 4 植物叶片蒸腾速率的测定

蒸腾速率是计量蒸腾作用强弱的一项重要的生理指标,其大小受植物形态结构和多种外界因素的综合影响。所以在研究植物水分代谢时,测定蒸腾速率很有必要。

【实验原理】

植物蒸腾失水,质量减轻,故可用称质量法测得植物材料在一定时间内所失水量而算出蒸腾速率。植物叶片在离体后的短时间内(数分钟),蒸腾失水不多时,失水速率可保持不变,但随着失水量的增加,气孔开始关闭,蒸腾速率将逐渐减小,故此实验应快速(在数分钟内)完成。

【仪器与用具】

防风玻璃箱及木架,电子顶载天平(感量 0.01g)或托盘扭力天平(感量 0.01g 附法码),镊子,剪刀,铁夹,透明方格板。

【材 料】

生长良好的盆栽植物。

【方法与步骤】

(1) 在待测植株上选一枝条,质量约 20g 左右(使在 3~5min 内蒸腾水量近 1g,而失水量不超过含水量的 10%),在基部缠一线以便悬挂,然后剪下立即称质量,称质量后记录时间和质量并迅速放回原处(可用夹子将离体枝条夹在原母枝上),在原来的环境下蒸腾。将到 3min 或 5min 时,迅速取下重新称质量,准确记录 3 或 5min 内的蒸腾失水量。称质量要快,要求两次称的质量变化不超过 1g,以便只从指针在扇形纸板上偏移的格数即可确定蒸腾失水量。

(2) 用叶面积仪或透明方格板计算所测枝条上的叶面积(cm^2),按下式求出蒸腾速率:

$$\text{蒸腾速率} = \frac{\text{蒸腾失水量}}{\text{蒸腾面积} \times \text{测定时间}}$$

常用单位为 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

(3) 针叶树之类不便计算叶面积的植物,可于第二次称质量后摘下针叶,再称

枝条质量,用第一次称得的质量减去摘叶后枝条质量,即为针叶(蒸腾组织)的原始鲜质量,再按下式求出蒸腾速率(单位为 $\text{g} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{h}^{-1}$)。

$$\text{蒸腾速率} = \frac{\text{蒸腾水量}}{\text{组织鲜质量} \times \text{测量时间}}$$

(4)比较不同时间(晨、午、晚、夜)、不同部位(上、中、下)、不同环境(温、湿、风、光)或不同植物的蒸腾速率,把结果及当时气候条件记入表 4-1,并加以解释。在测定蒸腾速率的同时,可附测气孔开闭情形以作参考。

表 4-1 蒸腾速率测定记载表

植物及 部位	生长 情况	重复	开始 时间 (h-min-s)	叶面积 (cm ²)	测定 时间 (min)	蒸腾 水量 (g)	蒸腾 速率	当时 天气	气孔 开闭	备注

【思考题】

1. 一般植物的蒸腾速率如何?
2. 测定蒸腾速率在水分生理研究上有何意义?
3. 测定蒸腾速率为何要考虑到天气情况和气孔开闭情况?

实验 5 气孔运动及其影响因素

气孔是陆生植物与外界环境交换水分和气体的主要通道及调节结构。它既要让光合作用需要的 CO₂通过,又要防止过多的水分损失,因此气孔在叶片上的分布、密度、形状、大小以及开闭情况显著影响着叶片的光合、蒸腾等生理代谢的速率。因而研究气孔状况很有必要,特别是在研究化学物质与环境因素对气孔运动的影响时,经常需要观察或测定气孔开闭的程度。本实验介绍观察气孔状况的一些方法。

I. 显微镜下观察气孔运动

【实验原理】

气孔的开闭运动是由组成气孔器的两个保卫细胞的膨压控制的,将叶片表皮放在高渗溶液中,保卫细胞失水,气孔关闭;置换成低渗溶液后,保卫细胞吸水,气孔开启。气孔的开闭运动可在显微镜下直接观察。

【仪器与用具】

显微镜,尖头镊子,载玻片,盖玻片,滤纸,滴管等。

【试 剂】

5%甘油溶液。

【材 料】

鸭跖草或蚕豆。

【方法与步骤】

实验前先把植株放在湿润的空气中照光,促使气孔张开。观察时摘下叶片,用尖头镊子撕取一小片下表皮,浸入有水滴的载玻片上,盖上盖玻片后立即在显微镜下观察。尽可能找到开得最大的气孔,然后在盖玻片的一端用滤纸吸去水,而从另一端滴上 5%甘油溶液,使甘油溶液取代水,然后可观察到保卫细胞因失水而质壁分离,致使气孔关闭。当按上述方法再用水取代甘油时,保卫细胞吸水便呈现质壁分离复原现象,气孔张开,而且张得比实验开始时还大。

【注意事项】

本方法适用于对气孔大且易撕下表皮的植物进行气孔运动的观察。

【思考题】

- (1)气孔的开闭是由什么控制的?
- (2)为什么供试材料在实验前要放在湿润的空气中照光?
- (3)当水取代甘油时,气孔开度为什么比实验开始时还大?

II. 光诱导气孔的开启

【实验原理】

光下植物叶片的气孔开启,暗中气孔关闭。气孔的形态、大小及气孔开度可在显微镜下直接观察。

【仪器与用具】

有光源的显微镜,显微聚光灯,载玻片,镊子,滴管,吸水纸,测微尺等。

【材 料】

鸭跖草或蚕豆。

【方法与步骤】

将不离体的叶片冲洗干净,放置暗中数小时,使气孔关闭。然后把一张平展的叶片固定在显微镜的载物台上,有气孔的一面朝上,开启显微镜的内藏式光源或在叶的斜上方安置一显微聚光灯,照射叶片。视野中选择数个气孔,调焦后,每隔5~10分钟观察一次,并用显微测微尺测量气孔开度。也可用显微摄影仪定时定点拍摄光诱导的气孔开启过程。

【注意事项】

- (1)观察的叶片最好是在温室中生长的,叶表面沾污的尘粒少。
- (2)事先对叶遮光处理。
- (3)照光后气孔从闭到开需20~30min。

【思考题】

光如何诱导气孔开启?

III. 钾离子对气孔开度的影响

【实验原理】

保卫细胞的渗透系统受钾离子调节。光下,保卫细胞中的叶绿体通过光合磷酸化生成 ATP,ATP 驱动质膜上的 K^+-H^+ 泵,使保卫细胞能逆浓度梯度从周围表皮细胞吸收钾离子,或从外界溶液中吸收钾离子,从而降低其渗透势,使气孔开放。

【仪器与用具】

显微镜,尖头镊子,光源灯(1000W 碘钨灯),培养皿,载玻片,盖玻片。

【试 剂】

$0.5\%KNO_3, 0.5\%NaNO_3$

【材 料】

盆栽鸭跖草或蚕豆。

【方法与步骤】

- (1) 将三个培养皿中各放 15ml 的 $0.5\%KNO_3, 0.5\%NaNO_3$ 与蒸馏水。
- (2) 在同一蚕豆叶上撕表皮若干,分放在上述的三个培养皿中。
- (3) 将培养皿置于人工光照条件下照光 1~1.5h, 光照强度在 4000lx 左右。
- (4) 分别在显微镜下观察气孔的开度。

【注意事项】

(1) 实验前,要给材料预照光,促使气孔适度开放,这样可缩短实验时间,提高处理效应。

(2) 室温低时,将照光培养皿放置于离光源稍近处,使培养皿中溶液温度能上升至 30~35℃。

【思考题】

1. 观察前为何要加温与照光?
2. 试比较在何种溶液中气孔开度最大? 为什么?