

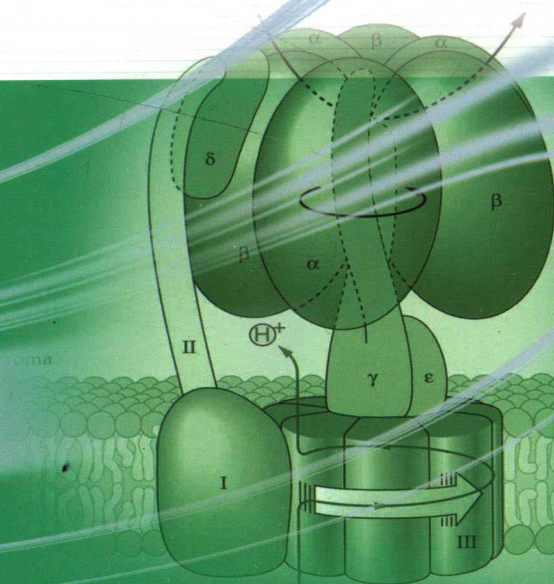


普通高等教育“十二五”规划建设教材

植物生理学实验指导

Zhiwu Shenglixue Shiyān Zhidao

蔡永萍 主 编



中國農業大學出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等教育“十二五”规划建设教材

植物生理学实验指导

蔡永萍 主编

中国农业大学出版社

• 北京 •

内 容 简 介

《植物生理学实验指导》在传统的验证性实验的基础上,适当增加了一定比例的综合性、设计性实验。全书共分 55 个实验,主要介绍水分生理、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等实验技术。附录部分包括各种常用数据表及常用试剂的配制和使用方法等,可供读者查阅。

本书实验均经过编写老师多年实验教学及科研的反复验证,同时也参考了其他一些研究方法。本书可作为高等农林院校生物专业和植物生产类各专业的植物生理学实验教材,也可供高等师范院校、综合性大学相关领域的科技工作者参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验指导/蔡永萍主编. —北京:中国农业大学出版社,2014.9

ISBN 978-7-5655-1041-0

I. ①植… II. ①蔡… III. ①植物生理学-实验-高等学校-教学参考资料
IV. ①Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 184269 号

书 名 植物生理学实验指导

作 者 蔡永萍 主编

策划编辑 魏秀云

封面设计 郑 川

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

电 话 发行部 010-62818525,8625

编辑部 010-62732617,2618

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

经 销 新华书店

印 刷 涿州市星河印刷有限公司

版 次 2014 年 10 月第 1 版 2014 年 10 月第 1 次印刷

规 格 787×980 16 开本 13.5 印张 247 千字

定 价 26.00 元

责任编辑 梁爱荣

责任校对 陈 莹 王晓凤

邮政编码 100193

读者服务部 010-62732336

出 版 部 010-62733440

e-mail cbsszs @ cau.edu.cn

图书如有质量问题本社发行部负责调换

编 委 会

主 编 蔡永萍(安徽农业大学)

副 主 编 高俊山(安徽农业大学)

张玉琼(安徽农业大学)

编写人员 (按编写先后排序)

蔡永萍(安徽农业大学)

王艳芳(鲁东大学)

蔡 健(阜阳师范大学)

王云生(安徽农业大学)

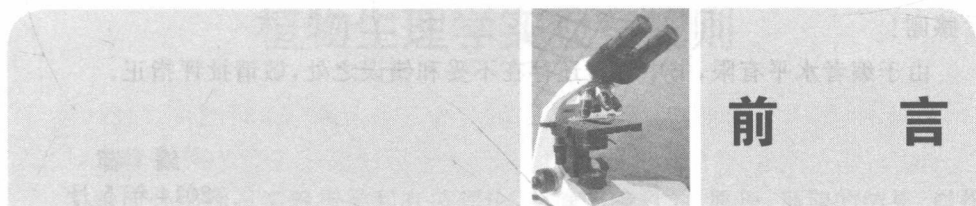
鞠世杰(黑龙江八一农垦大学)

高俊山(安徽农业大学)

王征宏(河南科技大学)

张玉琼(安徽农业大学)

姜 丹(黑龙江八一农垦大学)



植物生理学是农业院校种植业各相关专业重要的学科基础课程,植物生理学实验技术是进行农业科学研究和指导农业生产的重要手段和依据,掌握植物生理学的实验技术、基本原理以及研究过程对了解植物生理学的基本理论非常重要。开设植物生理学实验课程,不仅可以使学生加深对植物生理学基本原理、基础知识的理解,而且对培养学生分析问题、解决问题的能力 and 严谨的科学态度以及提高科研技能等都具有十分重要的作用。

为适应学校的教学改革,各相关专业人才培养方案中的植物生理学理论课与实验课的教学时数大幅缩减,我们积极调整教学内容,不断更新教学手段,力求做到减课时不减质量,减课堂教学不减能力培养,因此编写了这本《植物生理学实验指导》。

本实验指导书收集了水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、植物激素、生长发育、植物与环境、物质代谢等方面的 55 个实验,体现了植物生理学最实用的技术方法,同时注重传统、经典技术理论与现代新兴技术的结合。

为兼顾不同专业对植物生理学知识与实验技能的需求,充分考虑学生的学习能力与兴趣差异,本书在传统的验证性实验的基础上,适当增加了一定比例的综合性和设计性实验。包括直接验证一些植物生理学理论;熟悉植物生理学实验程序;学习如何提出问题、假设并用特定的实验去证实、解决;锻炼协同工作能力和独立工作能力;学习植物生理学实验报告和科研报告的写作;培养严谨的科研作风;锻炼学生的自学能力。实际教学安排可根据各专业要求,从中予以选择、调整。

本书注重知识的系统性,力求做到编排合理、层次清晰、概念准确、内容简练、方法实用、便于教学。书中借鉴了国内一些优秀教材与资料,引用了国内外



相关论文和教材的资料和图表,在此表示衷心的感谢!本教材出版得到安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

由于编者水平有限,书中肯定还存在不妥和错误之处,敬请批评指正。

编者
2014年5月

本教材在编写过程中,参考了国内外许多优秀的植物生理学教材和实验指导书,并参考了安徽农业大学、中国农业大学等单位的实验资料。在编写过程中,得到了安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

编者

本教材在编写过程中,参考了国内外许多优秀的植物生理学教材和实验指导书,并参考了安徽农业大学、中国农业大学等单位的实验资料。在编写过程中,得到了安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

本教材在编写过程中,参考了国内外许多优秀的植物生理学教材和实验指导书,并参考了安徽农业大学、中国农业大学等单位的实验资料。在编写过程中,得到了安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

编者

本教材在编写过程中,参考了国内外许多优秀的植物生理学教材和实验指导书,并参考了安徽农业大学、中国农业大学等单位的实验资料。在编写过程中,得到了安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

本教材在编写过程中,参考了国内外许多优秀的植物生理学教材和实验指导书,并参考了安徽农业大学、中国农业大学等单位的实验资料。在编写过程中,得到了安徽农业大学教务处、教材中心和中国农业大学出版社的大力支持和帮助,在此一并表示感谢!

植物生理学实验室规则

1. 实验要求

实验前必须预习实验指导和有关理论,明确实验目的、原理、预期的结果、操作关键步骤及注意事项;实验时要严肃认真专心操作,注意观察实验过程中出现的现象和结果;及时将实验结果如实记录下来,并交老师当场审核;实验结束后,根据实验结果进行科学分析,按时将实验报告交老师审阅。结果不良时,必须重做。

2. 仪器使用与保管

常用仪器在首次实验时,按仪器清单进行清点,并负责保管,若有缺损到实验准备室换领,期末如数归还。实验中如有仪器破损必须登记;实验后,必须把玻璃仪器洗净放入柜内,按次序放置好,以提高工作效率并防止破损;贵重仪器尤其要尽力爱护。实验仪器在使用前要了解使用方法,严格遵守操作规程;公用仪器如分光光度计、离心机等,每组同学使用时间不宜过长,以免妨碍其他同学使用。

3. 玻璃器皿清洁

玻璃器皿清洗一般应用洗衣粉或去污粉洗涤;铬酸洗液勿用于普通玻璃器皿的洗涤,用过的铬酸洗液须加以保存,直到变为绿色方可弃之,其舍弃法与浓硫酸液相同;用蒸馏水冲洗玻璃器皿时,应遵循少量多次原则。

4. 试剂使用规则

使用试剂前应仔细辨认标签,看清名称及浓度,确认是否为本实验所需要;取出试剂后,立即将瓶塞盖好,切勿盖错;用后放回原处,未用完的试剂不得倒回瓶内。取标准溶液时,应先将标准液倒入干净试管中,再用清洁吸管吸取标准液,以免污染瓶中的标准溶液。使用滴管时,滴管尖端朝下,切勿倒置以免试剂流入橡皮帽内;使用有毒试剂及强酸强碱时,尽可能用量筒量取,若用吸管时要用吸球吸取,切勿用嘴吸取,以免造成意外。

5. 安全注意事项

低沸点有机溶剂,如乙醚、石油醚、酒精等均系易燃物品,使用时应远离火源,若须加热要用水浴加热,不可直接在火上加热;凡属发烟或产生有毒气体的化学实验,均应在通风柜内进行,以免对人体造成危害;若发生酸碱灼烧事故,先用大量自来水冲洗。酸灼伤者用饱和 NaHCO_3 溶液中和,碱灼伤者用饱和 H_3BO_3 溶液中

和,氧化剂伤者用 $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ 处理;若发生起火事件,根据发生起火性质分别采用砂、水、 CO_2 或 CCl_4 灭火器扑灭;离开实验室前必须关好窗户、切断电源、水源,以确保安全。

6. 废弃物处理

所有固体废物,如用过的滤纸、碎屑沉淀物等必须弃于垃圾桶中;浓酸必须弃于小钵中,用水冲淡,然后倒入水池中;实验完成后的沉淀或混合物若含有可提取物质,不可随意舍弃,应交教师保管。

7. 实验室清洁

实验室必须常保持清洁,不得随地吐痰,乱丢纸屑;实验后要清扫实验台面、地面,试剂瓶要摆放整齐;下课时轮流由值日生打扫卫生,经教师检查后,方能离开实验室。

目 录

实验 1	植物组织含水量的测定	1
实验 2	植物组织水势的测定	4
实验 3	植物细胞渗透势的测定	7
实验 4	植物气孔开闭状况的测定	10
实验 5	钾离子对气孔开度的影响	12
实验 6	植物蒸腾速率的测定	14
实验 7	硝酸还原酶活性的测定	16
实验 8	植物的溶液培养和缺素症观察	20
实验 9	原子吸收法测定植物矿质元素钾、钙含量	24
实验 10	植物根系活力的测定	27
实验 11	植物叶绿体的分离制备	32
实验 12	希尔反应的观察与测定	35
实验 13	叶绿体色素的提取、分离和理化性质	38
实验 14	叶绿体色素的定量测定	42
实验 15	核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶活性的测定	47
实验 16	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定	52
实验 17	改良半叶法测定叶片光合速率	55
实验 18	红外线 CO ₂ 气体分析仪法测定植物光合速率与呼吸速率	59
实验 19	植物叶绿素荧光产量的测定	64
实验 20	植物呼吸速率的测定	68
实验 21	生长素类物质对根芽生长的影响	71
实验 22	植物激素类物质的生物鉴定	74
实验 23	植物激素对愈伤组织形成和分化的影响	78

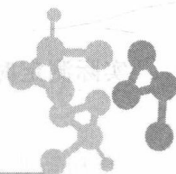
实验 24	细胞分裂素对萝卜子叶的保绿作用	82
实验 25	酶联免疫吸附测定法测定植物激素含量	84
实验 26	高效液相色谱法测定植物的内源激素含量	88
实验 27	气相色谱法测定乙烯含量	91
实验 28	赤霉素对 α -淀粉酶诱导合成的影响	95
实验 29	种子生活力的快速测定	99
实验 30	花粉活力的测定	104
实验 31	植物春化作用和光周期现象的观察	107
实验 32	植物组织逆境伤害程度的测定	110
实验 33	植物组织中丙二醛含量的测定	114
实验 34	植物组织中 ATP 酶活力的测定	117
实验 35	超氧化物歧化酶(SOD)活力测定	121
实验 36	过氧化物酶(POD)活性的测定	127
实验 37	过氧化氢酶(CAT)活性的测定	130
实验 38	多酚氧化酶(PPO)活性的测定	134
实验 39	抗坏血酸含量的测定	137
实验 40	抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)活性的测定	140
实验 41	苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	142
实验 42	植物体内游离脯氨酸含量的测定	144
实验 43	植物体内甜菜碱含量的测定	147
实验 44	过氧化氢含量的测定	150
实验 45	氧自由基产生速率的测定	153
实验 46	植物组织中蔗糖酶活力的测定	156
实验 47	纤维素酶活力的测定	159
实验 48	植物组织中游离氨基酸总量的测定	166
实验 49	植物组织中可溶性糖含量的测定	170
实验 50	谷物中淀粉含量的测定	173
实验 51	果实、蔬菜中有机酸含量的测定	176
实验 52	高粱籽粒中单宁含量的测定	179
实验 53	植物组织中酚类物质含量的测定	182
实验 54	植物生物碱含量的测定	185
实验 55	植物黄酮化合物含量的测定	188



附录.....	191
附录 1 常用缓冲溶液的配制	191
附录 2 常用酸碱指示剂的配制	196
附录 3 基本常数	197
附录 4 常用酸碱试液配制及其相对密度、浓度	197
附录 5 常用有机溶剂及其主要性质	198
附录 6 常见植物生长调节物质及其主要性质	201
附录 7 植物组织培养常用培养基的成分	202
参考文献.....	204

实验 1

植物组织含水量的测定



1.1 实验目的与原理

1. 目的

植物组织含水量是植物水分状况的一个重要指标,植物组织含水量不但直接影响植物的生长、气孔状况、光合功能甚至作物产量,而且还对果蔬品质以及种子和粮食的安全贮藏具有至关重要的作用。所以,学习测定植物组织含水量在植物水分生理研究具有重要的意义。

2. 原理

利用水遇热可蒸发为蒸汽的原理,可用加热烘干法来测定植物组织中的含水量。表示组织含水量的方法有两种:一是以鲜重为基数表示;二是以干重为基数表示。有时也以相对含水量(RWC)表示。RWC 更能表明它的生理意义。

鲜重法和干重法公式如下:

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

$$\text{组织含水量(占干重)} = \frac{(W_f - W_d)}{W_d} \times 100\% \quad (1-2)$$

式中: W_f 为组织鲜重; W_d 为组织干重。

植物组织相对含水量(RWC)指组织含水量占饱和含水量百分数:

$$\text{RWC} = \frac{(W_f - W_d)}{(W_t - W_d)} \times 100\% \quad (1-3)$$

式中: W_t 为组织被水充分饱和后重量。

水分饱和亏(WSD)指植物组织实际相对含水量与饱和相对含水量(100%)差

值的大小。常用下式表示：

$$\text{WSD} = 1 - \text{RWC} \quad (1-4)$$

实际测定时,可用下式计算:

$$\text{WSD} = \frac{(W_t - W_f)}{(W_t - W_d)} \times 100\% \quad (1-5)$$

相对含水量和水分饱和亏可作为比较植物保水能力及推算需水程度的指标。当植物组织含水量降低到产生不可恢复的永久性伤害时的水分饱和和亏,称为临界饱和和亏。

1.2 实验用品

1. 材料

植物组织。

2. 器材

天平(感量 0.1 mg),烘箱,剪刀,100 mL 烧杯,铝盒,吸水纸。

1.3 实验内容与操作

(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)将植物组织连同铝盒放入已升温至 105℃ 的烘箱中,杀青 15 min,然后于 80℃ 下烘至恒重,称出干重(W_d)。

(3)测定相对含水量,称鲜重后,将样品浸入蒸馏水中或包裹在吸饱水分的湿纱布中 6~8 h,取出用吸水纸擦干样品表面水分,称重;再将样品浸入蒸馏水中 1 h,取出,擦干,称重,直至样品饱和重量近似,即得样品饱和和鲜重(W_t);若事先已知达到水分饱和和所用的时间,则可一次称重而测得饱和和鲜重,然后烘干,称出干重(W_d)。

(4)将所得的 W_f 、 W_d 、 W_t 值代入式(1-1)、式(1-2)、式(1-3)、式(1-4)或式(1-5),算出样品含水量、相对含水量及水分饱和和亏。



1.4 注意事项

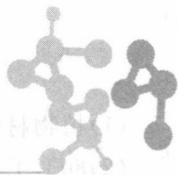
- (1) 植物材料烘干时,杀青时间不能太长。
- (2) 80°C 下烘干 1 d 后,称重,然后继续于 80°C 下烘干,再称重,直至恒重。

1.5 作业与思考题

- (1) 试比较以鲜重为基数的含水量、以干重为基数的含水量、相对含水量几种表示植物组织含水量的方法各有何优缺点。
- (2) 测定饱和含水量时,植物材料在水中浸泡时间过短或过长会出现什么问题?如何防止?

实验 2

植物组织水势的测定



2.1 实验目的与原理

1. 目的

水势是推动水在生物体内移动的势能。水在土壤—植物—大气连续体中总是从水势较高处向水势较低处移动。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,降低水势,增加吸水能力;植物体内水势的高低反映水分供求关系,即受水分胁迫的轻重。掌握小液流法测定植物组织水势的基本方法。

2. 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(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,组织重量及外液浓度保持不变。根据组织重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。溶液渗透势的计算:

$$\varphi_s = -iCRT \quad (2-1)$$

式中: φ_s 为溶液的渗透势,以 MPa 为单位; R 为气体常数,为 $0.008\,314\text{ MPa} \cdot \text{L}/(\text{mol} \cdot \text{K})$; T 为绝对温度,即 $(273+t)^\circ\text{C}$; C 为溶液的摩尔浓度,以 $\text{mol/L H}_2\text{O}$ 为单位; i 为溶液的等渗系数, CaCl_2 可用 2.6。



2.2 实验用品

1. 材料

植物叶片。

2. 试剂

甲烯蓝溶液; CaCl_2 溶液, 包括 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40 mol/L 共 8 种浓度(也可用蔗糖溶液)。

3. 器材

20 mL 试管 8 支, 青霉素小瓶 8 个并附有软木塞, 橡皮头弯嘴毛细管 1 个, 特制试管架 1 个, 面积为 $0.5 \sim 1 \text{ cm}^2$ 的打孔器 1 个, 镊子 1 把, 解剖针 1 支, 10 mL 移液管 2 支, 2 mL 移液管 8 支, 0.5 mL 移液管若干。

2.3 实验内容与操作

(1) 取干燥洁净的试管 8 支(为甲组), 分别插在试管架相应的位置, 编号。试管中分别加 0.05~0.40 mol/L 8 种浓度的 CaCl_2 溶液各 10 mL, 塞上相应的软木塞。同时在已编号的 8 个青霉素小瓶(为乙组)中分别加入相应浓度的 CaCl_2 溶液各 2 mL。

(2) 选取均匀一致的植物叶片 8~10 片, 叠在一起, 用打孔器打取叶圆片 8~10 片, 放入青霉素小瓶各 8 片, 使叶片浸入溶液, 盖紧塞子, 平衡 20 min 以上。期间多次摇动小瓶, 以加速水分平衡。

(3) 到预定时间后, 在乙组每一小瓶中, 放入一小滴甲烯蓝溶液, 摇匀, 溶液变蓝。

(4) 用弯嘴毛细管在乙组小瓶中吸取有色溶液少许, 插入装有同样浓度溶液的甲组试管中, 弯嘴毛细管尖端放在溶液中部, 轻轻挤出有色溶液一小滴, 小心取出毛细管(勿搅动有色液滴)。观察有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, 表示甲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,则取二者浓度的平均值。

(5)分别记录不同浓度中有色液滴的升降(表 2-1),找出与组织水势相当的浓度,根据原理公式计算出组织的水势。分析各自的水分状况。

表 2-1 不同浓度 CaCl_2 中蓝色液滴的升降情况

项目	试管编号							
	1	2	3	4	5	6	7	8
CaCl_2 浓度(mol/L)	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40
蓝色液滴升降情况								

2.4 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)毛吸管尖端弯成直角,以保证从中出来的液滴不受向下力的影响。
- (4)带有结晶水的甲烯蓝不易溶于 CaCl_2 溶液,可在 100°C 下烘干成无水甲烯蓝粉末使用。

2.5 作业与思考题

- (1)小液流法测定植物组织水势有何优缺点?
- (2)小液流法测定植物组织水势产生误差主要存在的步骤是哪些?如何预防?