



全国高校素质教育教材研究编审委员会审定

# 植物生理学实验指导

史树德 孙亚卿 魏 磊 主 编 >>>



中国林业出版社

全国高校素质教育教材研究编审委员会审定

# 植物生理学实验指导

主    编    史树德    孙亚卿    魏  磊  
副  主  编    雷雪峰    娜荷雅  
编写人员    张子义    乌兰巴特尔  
                    乌仁其木格    李国龙  
主    审    张少英    樊明寿

中国林业出版社

## 图书在版编目 (CIP) 数据

植物生理学实验指导 / 史树德, 孙亚卿, 魏磊 主编. —北京: 中国林业出版社, 2011. 4

ISBN 978-7-5038-6108-6

I. ①植… II. ①史…②孙…③魏… 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 (2011) 第 040540 号

出 版 中国林业出版社 (100009 北京市西城区德内大街刘海胡同 7 号)

网 址 [www.cfph.com.cn](http://www.cfph.com.cn)

E-mail: [cfphz@public.bta.net.cn](mailto:cfphz@public.bta.net.cn) 电话: (010) 83224477

发 行 新华书店北京发行所

印 刷 三河市祥达印装厂

版 次 2011 年 4 月第 1 版

印 次 2011 年 4 月第 1 次

开 本 880mm×1230mm 1/32

印 张 5.5

字 数 150 千字

印 数 1~3000 册

定 价 20.00 元

# 前 言

近些年来，植物生理学的实验技术有了进一步的发展。为了适应当前的教学改革与实践，我们尽可能地将国内外一些先进的实验方法应用到教学中。为此，我们在保留了过去教学和科研中采用过的一些经典实验方法的同时，又参考了有关的实验指导书及相关网络资源，收集了部分正在使用的较先进的方法，编成了这本《植物生理学实验指导》。

本书编写的实验内容是根据植物生理学理论教学内容编排的，包括植物水分代谢、矿质营养、酶、植物呼吸、光合作用、植物激素和逆境生理等内容，共 47 个实验。其中既有操作简单不需精密仪器的传统、经典方法又有一些反映现代技术的新方法。另附有常用试剂及试剂配制，实验记录与实验报告等。

由于我们的理论水平和实践能力有限，书中的错误、疏漏在所难免，敬请广大师生提出宝贵意见。

编 者

2010 年 7 月

# 目 录

<b>第一章 水分生理</b> .....	1
实验一 植物组织水势的测定(小液流法).....	1
实验二 植物组织水势的测定(压力室法).....	4
实验三 植物细胞渗透势的测定(质壁分离法).....	8
实验四 植物组织含水量的测定 .....	11
实验五 钾离子对气孔开度的影响 .....	12
实验六 植物组织中自由水和束缚水含量的测定 .....	14
<b>第二章 矿质营养</b> .....	18
实验一 缺素对植物生长的影响 .....	18
实验二 单盐毒害及离子颉颃作用 .....	19
实验三 植物体内硝态氮含量的测定 .....	20
实验四 硝酸还原酶活性的测定 .....	22
实验五 植物无土培养和缺素症状观察 .....	26
实验六 植物根系对离子的选择吸收 .....	29
实验七 植物根系活力的测定 .....	31
<b>第三章 光合作用</b> .....	33
实验一 叶绿素含量的测定(比色法) .....	33
实验二 叶绿体色素的提取、分离和理化性质.....	36
实验三 植物光合与呼吸速率的测定 .....	40
实验四 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶活性的测定 .....	56
实验五 核酮糖-1,5 二磷酸加氧酶(Rubisco)活性的测定 .....	59

实验六	希尔反应的观察 .....	61
实验七	乙醇酸氧化酶活性测定(比色法) .....	62
实验八	气孔运动及其影响因素 .....	64
<b>第四章</b>	<b>呼吸作用 .....</b>	<b>67</b>
实验一	植物种子生命力快速测定 .....	67
实验二	种子萌发力测定 .....	69
实验三	植物呼吸强度的测定 .....	71
实验四	植物体过氧化物酶的测定 .....	74
实验五	植物体内抗坏血酸氧化酶活性的测定 .....	75
实验六	植物体内多酚氧化酶活性的测定 .....	78
实验七	过氧化物酶同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳 .....	81
<b>第五章</b>	<b>物质代谢 .....</b>	<b>86</b>
实验一	植物组织中维生素 C 含量的测定 .....	86
实验二	植物体内可溶性蛋白质含量的测定 .....	88
实验三	植物水溶性总糖的提取和含量测定(蒽酮比色法).....	93
实验四	植物中还原糖含量的测定(3,5-二硝基水杨酸法) .....	96
<b>第六章</b>	<b>植物激素 .....</b>	<b>99</b>
实验一	赤霉素对淀粉酶的诱导形成 .....	99
实验二	植物激素的酶联免疫吸附测定法(ELISA) .....	102
实验三	吲哚乙酸氧化酶活性的测定 .....	107
实验四	IAA 的生物鉴定(小麦芽鞘切段伸长法) .....	110
实验五	细胞分裂素对萝卜子叶的保绿作用.....	113
实验六	植物激素对愈伤组织形成和分化的影响.....	114
<b>第七章</b>	<b>植物的生长生理.....</b>	<b>118</b>
实验一	植物的组织培养.....	118
实验二	植物春化和光周期现象的观察.....	123

## 目 录

---

第八章 逆境生理	126
实验一 植物组织中丙二醛含量的测定	126
实验二 植物组织中超氧化物歧化酶活性测定	127
实验三 植物组织中过氧化氢含量及过氧化氢酶活性测定	133
实验四 植物抗逆性的测定(电导仪法)	138
实验五 植物细胞膜透性的定量测定(电导仪法)	140
实验六 植物组织游离脯氨酸含量的测定	142
实验七 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	145
附录	147
I 计量单位	147
II 常用缓冲溶液的配制	150
III 离心力与离心机转速测算公式	154
IV 不同质量摩尔浓度下各种盐的等渗系数( $i$ 值)	155
V 常见植物生长调节物质及主要性质	155
VI 植物激素和生长调节剂在农业生产中的应用	157
VII 植物组织培养常用培养基的成分	159
VIII 实验报告格式	161
参考文献	163

# 第一章 水分生理

## 实验一 植物组织水势的测定（小液流法）

### 一、实验目的

验证植物组织水分移动方向由水势决定；掌握小液流法测组织水势的方法。

植物体内的生理生化活动与其水分状况密切相关，而植物组织的水势是表示植物水分状况的一个重要生理指标。目前，植物组织水势的测定主要有几种方法：小液流法、折射仪法、压力室法、热电偶湿度计法等。压力室法较适于测定枝条或叶柄导管的水势。热电偶湿度计法较适宜测定柔软叶片的水势，且精确度高，可在一定范围内重复测定叶片的水势，是较好的水势测定方法。小液流法具有操作简便、反应灵敏、结果可靠、费用低廉诸多优点，因而在我国目前的许多研究中，测定植物组织水势仍以小液流法为主要方法之一，同时该法也是校验其它方法的一个基准方法。

### 二、实验原理

将植物组织分别放在一系列浓度递增的溶液中，当找到某一浓度的溶液与植物组织之间水分保持动态平衡时，这时可认为此植物组织的水势数值上等于该溶液的渗透势（溶质势）。因溶液的浓度是已知的，可以根据公式算出其渗透压取其负值，即为溶液的渗透势（ $\Psi_s$ ），代表植物的水势（ $\Psi_w$ ）（water potential）。

### 三、材料、仪器和试剂

(1) 材料：植物叶片或马铃薯块茎等。



(2) 仪器：试管、青霉素小瓶 9 个，打孔器，镊子，移液管，烧杯，毛细滴管，刀片。

(3) 试剂： $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$  母液，甲烯蓝粉末。

#### 四、实验步骤

##### 1. 系列 $\text{CaCl}_2$ 溶液浓度配制

(1) 取干燥洁净试管 9 个，贴上标签，编号，用  $1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}\text{CaCl}_2$  母液配成 0.05、0.1、0.15、0.2、0.25、0.3、0.35、0.4、 $0.45\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度的  $\text{CaCl}_2$  溶液，各管总量为 10ml，并塞上塞子（防止浓度改变），作为甲组。

(2) 另取干燥洁净的小瓶 9 个，贴上标签，编号，标明 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.4、 $0.45\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$  浓度，分别从甲组取相应浓度  $\text{CaCl}_2$  溶液 2.5ml 盛于小瓶中，作为乙组。

##### 2. 取样及测定

(1) 选取生长一致的叶片，用直径为 0.5cm 的打孔器钻取圆片，在玻璃皿内混匀，然后用镊子把圆片放进乙组小瓶中，每瓶放 15~20 片（若采用植物块茎如马铃薯，先用打孔器钻取圆条，然后切成约 1mm 厚圆片，每瓶放 5 片），放置 30min 左右，其间轻轻摇动 3 次，以加速平衡。

(2) 到预定时间后，各小瓶加入微量甲烯蓝粉染色，摇匀，取毛细滴管，分别从乙组中取出溶液，插入甲组原相应浓度  $\text{CaCl}_2$  溶液的中部，轻轻挤出滴管内的溶液一滴，并小心地抽出滴管（注意勿搅动溶液），注意观察小液滴升降动向。如果某一管中的小液滴悬浮不动，植物组织的水势等于该浓度溶液的水势，根据公式算出该溶液水势也即得出植物组织水势。若前一浓度溶液小液流下沉，而后一浓度溶液上浮，则组织的水势值介于两浓度溶液水势之间，可取平均值计算。

#### 五、实验结果

按表 1-1-1 记录实验结果。

## 第一章 水分生理

表 1-1-1 系列浓度 CaCl<sub>2</sub> 溶液的配制和实验结果记录

需配 CaCl <sub>2</sub> 溶液 浓度 (mol · L <sup>-1</sup> )	1mol · L <sup>-1</sup> CaCl <sub>2</sub> 溶液 (ml)	蒸馏水 (ml)	小液流移动方向 (上↑、下↓、一不动)
0.05	0.5	9.5	
0.10	1.0	9.0	
0.15	1.5	8.5	
0.20	2.0	8.0	
0.25	2.5	7.5	
0.30	3.0	7.0	
0.35	3.5	6.5	
0.40	4.0	6.0	
0.45	4.5	5.5	

根据以下公式计算出植物组织的水势：

$$\Psi_w = \Psi_n = -iCRT \text{ (MPa)}$$

式中：Ψ<sub>w</sub>——植物组织水势，单位：Mpa (兆帕)；

Ψ<sub>n</sub>——溶液的渗透势，单位：Mpa (兆帕)；

*i*——解离系数 (CaCl<sub>2</sub> = 2.60；蔗糖 = 1)；

*C*——溶液浓度 (mol · L<sup>-1</sup>)；

*R*——气体常数 [ (0.008314L · MPa) / (mol · K) ]；

*T*——绝对温度 (273 + t°C)。

### 六、注意事项

- (1) 配制 CaCl<sub>2</sub> 溶液浓度要准确，并充分摇匀。
- (2) 取样时选材要一致。
- (3) 加甲烯蓝要适量，过多会影响溶液浓度，过少则很难识别小液流移动方向。

### 七、思考题

- (1) 影响小液流法测定水势准确度的因素有哪些？

(2) 如果在液滴的升降转换过程中没有停滞不动的那一点，应如何处理？

## 实验二 植物组织水势的测定（压力室法）

### 一、实验目的

了解和掌握压力室法测植物水势的原理和方法。

### 二、实验原理

在土壤—植物—大气连续系统中，根不断从土壤中吸收水分，而叶片又不断向周围环境散失水分，在这种水势梯度系统中，植物根—茎—叶也存在水势梯度，使木质部导管中的细小水柱受空气低水势的负压影响，形成水分向上运输的拉力，导管中的水分由于“内聚力”的作用而形成连续的水柱。当植物枝条或叶片被切下时，导管中这种被拉紧的水柱断裂，水柱会从切口向上端内侧收缩。将切下的材料装入仪器的压力室内，使切口一端伸出室外密封起来，加压使枝条或叶片内的张力重新平衡，把小水柱推回恰到切口表面时为止，所施加的压力正好抵偿了完整植株导管中的原始负压。这时所施加的压力值（通常称为“平衡压”）将叶片中的水势提高到相当于开放大气中导管中液体渗透势  $\Psi_s(\text{sap})$  的水平。由于通过导管周围完整活细胞半透膜进入木质部导管的汁液，其渗透势常接近于零（活性溶质含量很低），因此，有下式成立：

$$P + \Psi_w = \Psi_s \approx 0 \rightarrow \Psi_w = -P$$

式中： $P$ ——平衡压（正值）；

$\Psi_w$ ——叶片或枝条的水势（负值）；

$\Psi_s$ ——木质部汁液的渗透势。

### 三、材料与仪器设备

(1) 材料：小麦，棉花，柳树枝。

(2) 仪器设备：压力室水热测定仪（图 1-2-1），贮气瓶。

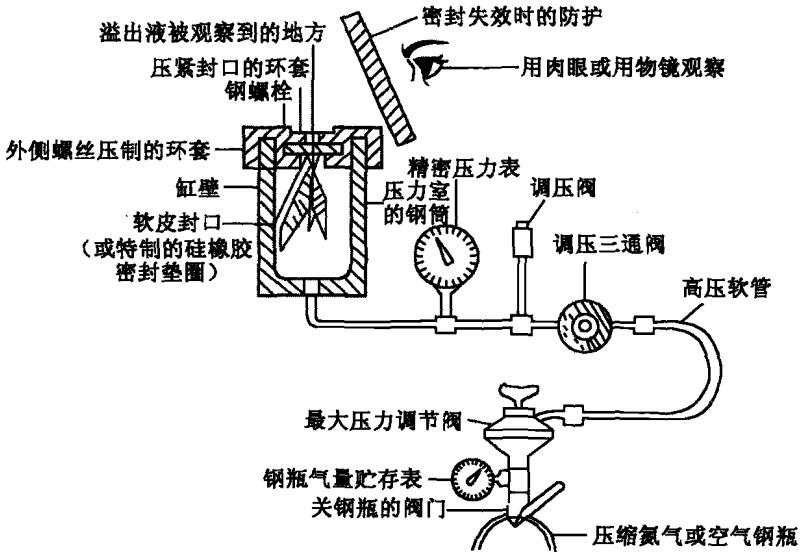


图 1-2-1 压力室构造简图

#### 四、实验步骤

##### 1. 仪器的准备

用高压金属软管通过过滤接头把贮气瓶与水势测定仪连接好。打开仪器箱，取下压力室盖，按测定材料的需要安装好相应大小的孔（缝）、金属垫片和橡胶密封垫，放在仪器台上的凹陷处。关闭进气阀和排气阀。为了避免仪器加压过高引起压力室内升温 and 空气变干的影响，可用湿润的纱布块放在压力室底部（注意不要堵塞进气孔）或罩在材料上。

##### 2. 取样和装样

用小刀取供试样品（枝条、具柄叶片、禾本科植物叶片或植物苗期地上部分等），叶柄和枝条应有大于 3cm 的长度用于固定到密封垫上，试样如不能立即测定时，应迅速将其装入塑料袋或微湿润的纱布内，放入带盖的瓷盘中防止水分散失。材料的切面应力求平整，否则应再作一次薄的垂直平滑切割。将它穿过盖上的孔（缝）使切割面露出几毫米，转动具有把手的压帽将材料夹好，要做到密

封又不损伤材料（掌握好力度，多练习几次即可）。为了减少水分丧失，应尽快将盖放回，使它沿槽下降并顺时针转动，使盖上的字码与筒体码重合（或转动受阻时为止），关好压力室，切记不可疏忽大意，若在未盖好盖子时加压，可使压力室盖脱出造成危险。

### 3. 加压测定

打开贮气瓶阀少许（不宜开得过大），仪器台面上的小压力表指针转动，停下的位置示贮气瓶气压。轻微打开进气阀，使压力以  $0.2\text{kg}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$  的速度上升，并用放大镜在压力室上部旁边从  $35^\circ$  角处观察材料切面。当切面呈现湿润时，立即关闭进气阀，从精密压力表上记下读数，根据表 1-2-1 可换算出水势值 (MPa)，如果操作时光线不好或在夜间工作，可打开发光放大镜开关观察（用法见仪器说明书）。操作中如密封垫因未压紧漏气时，可轻轻将压帽进一步拧紧到不漏气为止。

读数结束后，打开排气阀使压力室内的气体逸出，精密压力表指针回到零处，打开室盖取下材料，关闭排气阀，进行下一次测定。工作结束后关闭贮气瓶阀门，把仪器中的气体放尽，作好清洁工作，把箱盖盖好。

### 4. 野外操作

用仪器背带通过扣将仪器捆好，背至工作地点，装好铝管支架方可开始工作，仪器箱盖必要时还可暂作坐凳使用。

### 5. 节省气体操作

当测定样品为棒状枝条或禾本科植物叶片时（大叶片可取中脉旁的一部分），可将附件木筒放入压力室内，填充室内容积 50%，以减少气体用量和操作时间，提高工效，还可减少去野外工作携带的气体的数量。

表 1-2-1 工作压力与水势换算表

工作压力/ $\text{kg} \cdot \text{cm}^{-2}$	水势/MPa	水势/bar
1	0.0981	0.981
2	0.1961	1.961

## 第一章 水分生理

(续)

工作压力/kg·cm <sup>-2</sup>	水势/MPa	水势/bar
3	0.2942	2.942
4	0.3923	3.923
5	0.4903	4.903
6	0.5884	5.884
7	0.6865	6.865
8	0.7845	7.845
9	0.8826	8.826
10	0.9807	9.807
20	1.9613	19.613
30	2.9413	29.413
40	3.9227	39.227
50	4.9033	49.033
60	5.8840	58.840
70	6.8647	68.647
80	7.8453	78.453
90	8.8260	88.260
100	9.8067	98.067

### 五、注意事项

(1) 压力室盖一定要关闭到位。测量完后要排放完压力室内的气体，方可打开室盖更换样品。

(2) 操作时切记不要把手和脸放在压力室的上方，避免因疏忽未盖好压力室盖、或材料未固定好发生滑出，造成伤害。

(3) 加压速度不应过快，过快会因传导滞后效应使得到的结果偏高。

(4) 仪器上的精密压力表，经过一段时间使用后，应按说明校验。仪器应注意轻搬轻放，强烈振动会影响仪表精度。

(5) 仪器勿超压使用，当出现超压时，安全阀会发出泄气声，

应立即停止加压。

(6) 所用气体为  $N_2$ ，如果含  $CO_2$ 、 $O_2$  太多，会对细胞有害，影响结果。

## 六、思考题

(1) 压力室法测定植物组织水势，应注意些什么？

# 实验三 植物细胞渗透势的测定 (质壁分离法)

## 一、实验目的

植物细胞的渗透势主要取决于液泡的溶质浓度，因此又称溶质势。渗透势与植物水分代谢、生长及抗逆性等有密切关系。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细胞膨压，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的渗透势的降低值来表示，在水分生理与抗逆性生理研究中经常需要测定。

学习质壁分离测定组织渗透势的方法；验证渗透势是植物细胞水势的重要组成部分；了解生物个体差异及减少个体差异影响的方法。

## 二、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 ( $\Psi_p$ ) 将下降为零，此时细胞液的渗透势 ( $\Psi_s$ ) 等于外液的渗透势  $\Psi_{s0}$ 。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，即可计算出细胞液的渗透势 ( $\Psi_s$ )。实际测定时，因为临界质壁分离状态难以在显微镜下直接观察到，所以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状

态时的渗透势称基态渗透势。

### 三、实验材料、试剂与仪器设备

#### 1. 实验材料

洋葱或大葱鳞茎、小麦叶片。

#### 2. 试剂

(1) 1mol/kg 蔗糖水溶液：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 质量摩尔浓度的蔗糖溶液。

(2) 0.03% 中性红溶液。

(3) 蔗糖系列标准液：取干燥洁净的小试剂瓶 9 支编号，用 1mol/kg 蔗糖水溶液，依据  $C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$  公式，配制 0.30mol/kg、0.35mol/kg、0.40mol/kg、0.45mol/kg、0.50mol/kg、0.55mol/kg、0.60mol/kg、0.65mol/kg、0.70mol/kg 等一系列不同浓度的蔗糖水溶液（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。

#### 3. 仪器设备

显微镜，载玻片，盖玻片，温度计，尖头镊子，刀片，小培养皿（直径为 6cm），试剂瓶，烧杯，容量瓶，量筒，吸管，吸水纸等。

### 四、实验步骤

(1) 取干燥、洁净的培养皿 9 套编号，将配制好的不同浓度的蔗糖溶液按顺序加入各培养皿，使之成一薄层，盖好皿盖备用。

(2) 用镊子撕取（或用刀片刮取）供试材料的表皮，大小以 0.5cm<sup>2</sup> 为宜，迅速分别投入各种浓度的蔗糖溶液中，使其完全浸入，每一浓度 4~5 片。同时记录室温。为了便于观察，可先将切片于 0.03% 中性红内染色 5min 左右，吸去水分，再浸入蔗糖溶液中，但如不染色即能区别质壁分离时，仍以不染色为宜。

(3) 20~30min 后，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制片作同样观察，并记录质壁分



离的相对程度。如果在两个相邻浓度的切片中，一个切片没有发生质壁分离，另一个切片发生质壁分离的细胞数超过 50%，则这两个浓度的平均值为其等渗浓度。每一制片观察的细胞不应少于 100 个。检查时可先从中间浓度开始。

在找到上述浓度极限时，用新的溶液和新鲜的叶片重复进行几次，直至有把握确定为止。在此条件下，细胞的渗透势与两个极限溶液浓度之平均值的渗透势相等。

将结果记录于表 1-3-1 中。

表 1-3-1 植物细胞渗透势测定记载表

实验人	日期	材料名称	实验室温度
蔗糖浓度 (mol/kg)	渗透势 (Mpa)	质壁分离的相对程度 (作图表示)	
0.30			
0.35			
0.40			
0.45			
0.50			
0.55			
0.60			
0.65			
0.70			

### 五、结果计算

由所得到的等渗浓度和测定的室温，用下式计算供试溶液的渗透势 ( $\Psi_0$ )，即为细胞的渗透势 ( $\Psi_c$ )。

$$\Psi_c \text{ (MPa)} = \Psi_{s0} = -iCTR \times 1.013 \times 0.1$$

式中： $\Psi_0$ ——供试溶液的渗透势 (MPa)；

$i$ ——解离系数，蔗糖=1， $\text{CaCl}_2$ =2.60；

$C$ ——供试溶液的浓度，mol/L (以水作溶剂)；

$R$ ——气体常数，0.008314 [L·Mpa/ (mol·K)]；1

大气压为 1.013 巴；1 巴为 0.1Mpa；

$T$ ——绝对温度，(273+t℃)。