

高等学校试用教材

植物生理学实验指导

华东师范大学生物系植物生理教研组主编

人民教育出版社

高等学校试用教材

植物生理学实验指导

华东师范大学生物系植物生理教研组主编

人民教育出版社

内 容 提 要

本书是根据十多个综合大学和师范院校提供的材料,按照高等师范院校植物生理学教学大纲(草案)规定的内容,由华东师范大学植物生理教研组主编的。

内容包括水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、物质代谢、植物激素、生长发育、植物与环境八个部分共 95 个实验。另有溶液、指示剂、换算表等 11 个附表。全书配有实验操作示意图 26 幅。各试验以原理、仪器药品、实验步骤、实验作业、参考资料顺序叙述。

为了适应不同的设备条件和要求,本书包括的实验范围和数目超出教学大纲的学时,各校可自行选择。

高等学校试用教材

植物生理学实验指导

华东师范大学生物系植物生理教研组主编

*

人民教育出版社出版

本书由上海发行所发行

上海中华印刷厂印装

*

开本 850×1168 1/32 印张 8 10/16 字数 212,000

1980 年 11 月第 1 版 1981 年 5 月第 1 次印刷

印数 00,001—10,000

书号 13012·0541 定价 0.76 元

前 言

1978年12月在北京植物生理学教材审稿会议上,我组受到会兄弟院校代表的委托,着手进行植物生理学实验指导的主编工作。许多兄弟院校给我们寄来了资料,北京大学、山东大学、南京大学、中山大学、云南大学、杭州大学、北京师大、东北师大、华南师院、北京师院、西南师院、辽宁师院、上海师院等积极承担了编写任务。在大家的共同努力下,于1979年9月完成初稿,分寄全国各高等师范院校、综合性大学以及部分农林院校和科研单位广泛征求意见。

此后于1980年1月在教育部委托我校举办的全国高师植物生理实验技术短训班上,由38个参加单位讨论草拟了实验编写大纲。本实验指导就是以这个编写大纲和高等师范院校植物生理学教学大纲(草案)中规定的实验内容为主要依据编写的。同时考虑到实验教材的适应性应比较广泛,类型应比较齐全,以满足不同的教学要求;既要有基本实验,也要有一定数量要求较高的和综合性的实验。因此,从初稿中选出有关的内容,经过修改,并补充了一些新的内容,共有实验95个,其中在目录内标有*号者,定为必做内容,标有○号者,可在同一性质的内容中任选一个,为明了起见,将安排列成附表11,供大家参考。其余的内容可根据各校的具体条件选用。初稿中有些兄弟院校撰写的内容十分新颖,但由于教学时数和教学内容的限制,在这本实验指导中未能列入,这是十分遗憾的事。

本实验指导供高等师范院校使用,也可供综合性大学及其他有关高等院校教学参考。

参加编写工作的同志有：张志良、沈曾佑、沈宗英、赵继芬、王隆华、胡天喜，以及前面提到的参加初稿编写的单位。全书由张志良同志负责修改校正，在编写过程中颜季琼教授多次参加讨论并热情指导。由于我们水平有限，实际经验不多，书中错误及不妥之处，热忱地希望同志们批评指正。

编 者

1980年7月于华东师大

目 录

一、水分生理

实验 1	植物组织含水量的测定	1
实验 2	植物组织水分饱和亏的测定	3
实验 3	植物组织中自由水和束缚水含量的测定	5
实验 4	植物体内水分传导途径(染料法)	8
实验 5*	植物组织渗透势的测定(质壁分离法)	9
实验 6°	植物组织水势的测定(小液流法)	12
实验 7°	植物组织水势的测定(重量法)	14
实验 8°	蒸腾强度的测定(钴纸法)	16
实验 9°	蒸腾强度的测定(容积法)	18
实验 10	环境因子对植物吐水的影响	20
实验 11	显微镜下观察气孔运动	22
实验 12	植物叶子气孔密度和面积的测定	23
实验 13*	钾离子对气孔开度的影响	25
实验 14	气孔保卫细胞内钾离子变化的观察	26
实验 15	小孔的扩散	28
实验 16	植物伤流量的测定	30
实验 17	植物伤流液中糖和氨基酸的鉴定	31

二、矿质营养

实验 18*	植物灰分常量元素分析	34
实验 19*	植物组织可挥发性元素的鉴别	36
实验 20°	植株硝态氮的比色测定	38
实验 21°	植株磷素的比色测定(磷钼蓝法)	40
实验 22°	植株钾素的测定(亚硝酸钴钠-异丙醇法)	43
实验 23°	植株中总铁量的测定	44

I. 硫氰化物法

II. 邻二氮杂菲(非绕啉)法

实验 24° 微量元素铜的测定	48
实验 25° 植物体中锰含量的测定	50
实验 26° 植物体中总钼量的测定	52
实验 27* 植物的砂基培养	54
实验 28 根外喷铁对缺铁植株的恢复效应	57
实验 29° 单盐毒害及离子间拮抗现象	59
实验 30° 植物根系对离子的选择吸收	60
实验 31° 离体根对铵离子的交换吸收	61
实验 32° 氧对小麦离体根吸收钾离子的影响	64
实验 33 根系体积的测定	66
实验 34 根系活力的测定	68

I. α -萘胺氧化法

II. 吸附甲烯蓝法

实验 35 硝酸还原酶活性的测定	73
------------------------	----

三、光 合 作 用

实验 36° 叶绿体色素的提取和分离(纸层析法)	77
实验 37° 叶绿体色素的分离(柱层析)	78
实验 38* 植物体色素及其性质	82
实验 39 叶绿体色素的吸收光谱曲线	85
实验 40° 比色法测定叶绿素含量	86
实验 41° 叶绿素 a 和 b 含量的测定(分光光度法)	88
实验 42* 光合作用的必要条件	90
实验 43* 环境因素对光合作用的影响	92
实验 44 温度对光合作用的影响	94
实验 45° 改良半叶法测大田光合作用强度	95
实验 46° 植物光合强度的测定(pH 比色法)	98
实验 47° 藻类植物光合强度测定	102
实验 48 植物光合强度的测定(红外线 CO ₂ 测定法)	105
实验 49 叶绿体的分离	114
实验 50 离体叶绿体对染料的还原作用	116
实验 51 乙醇酸氧化酶活性测定(比色法)	118

四、呼吸作用

实验 52* 植物呼吸强度的测定	121
I. 简易测定法	
II. 小篮子法	
III. 呼吸比重瓶法	
实验 53* 呼吸商的测定	127
实验 54 离体线粒体的氧化作用和磷酸化作用	129
实验 55 植物呼吸酶的简易鉴定法	135
实验 56* 植物组织中几种酶的组化定位鉴定	137
实验 57 过氧化物酶活性的测定	143

五、物质代谢

实验 58° 植物组织中可溶性糖含量的测定	145
实验 59° 五碳糖含量的测定(苔黑酚法)	147
实验 60° 植物组织内糖与淀粉的测定	149
实验 61° 植物组织中碳水化合物的测定(索姆基法)	151
I. 还原糖含量的测定	
II. 蔗糖的测定	
III. 淀粉的测定	
IV. 粗纤维的测定	
实验 62° 氨基酸含量的测定(茚三酮比色法)	158
实验 63° 谷物蛋白质含量快速测定	161
实验 64° 紫外分光光度法测量蛋白质含量	163
实验 65° 核酸的测定	165
I. 方法一	
II. 方法二	
实验 66 花青素含量的测定	168
实验 67 茛菪碱和东茛菪碱的提取及分离	169
实验 68* 植物体内有机物运输途径(环割法)	174
实验 69 用 ^{32}P 示踪法研究小麦主茎和分蘖的关系	176
实验 70 应用 ^{14}C 示踪法研究 GA 的保铃作用	178
实验 71 放射自显影	181

六、植物激素

实验 72	玉米种子中吲哚乙酸含量的测定	184
实验 73	IAA 的生物鉴定(小麦芽鞘切段伸长法)	186
实验 74*	吲哚乙酸氧化酶活性的测定	189
实验 75*	赤霉素对 α -淀粉酶的诱导形成	191
实验 76	激动素对萝卜子叶的保绿作用	193
实验 77	乙烯对棉花子叶脱落的效应	194
实验 78	乙烯对雌花的诱导	196
实验 79	乙烯对番茄的催熟作用	197
实验 80	生长延缓剂B ₉ 对花生茎节生长的影响	198

七、生长发育

实验 81	种子发芽率的快速测定	200
	I. 氯化三苯四氮唑法	
	II. 溴麝香草酚蓝法	
	III. 红墨水染色法	
	IV. 纸上萤光法	
实验 82	谷物种子萌发时淀粉酶的形成	206
实验 83*	谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	207
实验 84*	油类种子萌发时脂肪酸含量的变化	209
实验 85*	花粉管生长的测定	210
实验 86*	花粉活力的测定	212
	I. 碘-碘化钾染色测定法	
	II. 过氧化物酶测定法	
	III. 氯化三苯基四氮唑法	
实验 87°	植物春化和光周期诱导现象的观察	215
	I. 冬小麦春化现象的观察	
	II. 菊花光周期诱导的观察	
实验 88°	苍耳的光周期诱导	219
实验 89	植物器官的分化(组织培养)	221
实验 90	植物过氧化物酶同工酶聚丙烯酰胺凝胶电泳	224

八、植物与环境

实验 91*	不良环境对植物的伤害	230
实验 92*	植物缺水程度的鉴定(脯氨酸法)	231
实验 93*	植物的向性运动	233
实验 94	植物对刺激的传递	234
实验 95	植物根系分泌物的观察	236

附 录

附表 1	常用缓冲液的配制	239
附表 2	常用酸碱指示剂	247
附表 3	泛用酸碱指示剂	248
附表 4	不同温度及 pH 条件下反应瓶中二氧化碳含量表	249
附表 5	索姆基氏葡萄糖-硫代硫酸钠换算表	251
附表 6	提高溶液饱和度%时应加入硫酸铵的克数	252
附表 7	植物组织和细胞培养常用培养基	253
附表 8	常用培养基附加成分	254
附表 9	^{32}P 的衰变修正系数 K 值表	255
附表 10	透光率和光密度换算表	256
附表 11	实验内容安排参考表	266

一、水分生理

实验 1 植物组织含水量的测定

原 理

植物组织的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也有影响，种子含水状况对安全贮藏更有重要意义。

利用水遇热可蒸发为水蒸汽的原理，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%表示，有时也以相对含水量%(或称饱和含水量%)表示。后者更能表明它的生理意义。

仪 器

分析天平

干燥器

烘箱(或红外灯)

称量瓶

坩埚钳

吸水纸

实 验 步 骤

1. 鲜重法及干重法

(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 2 小时左右，用坩埚钳取出放入干燥器中冷却至室温后，在分析天平上称重，再于烘箱中烘 2 小时，同样于干燥器中冷却称重，如此重复二次(二次称重的误差不得超过 0.002g)求得平

均值为 W_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, 装入已知重量的称量瓶中盖好, 在分析天平上准确称取重量, 得瓶与鲜样品总重为 W_2 , 然后于 105°C 烘箱中干燥 4—6 小时(注意要打开称量瓶盖)。关掉烘箱电源, 待其温度降低至 $60-70^{\circ}\text{C}$ 后用坩埚钳盖上称量瓶盖, 取出放在干燥器中冷却至室温, 再用分析天平称重, 然后再放到烘箱中烘 2 小时, 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。称得重量为瓶与干样品总重量为 W_3 (注: 亦可用红外灯照射代替恒温烘箱, 使水分蒸发)。烘时注意防止植物材料焦化。如系幼嫩组织可先用 $100-105^{\circ}\text{C}$ 杀死组织后, 再在 80°C 下烘至恒重。

(3) 记录及计算:

编 号	称 量 瓶 重, W_1	瓶重+样品鲜重, W_2	瓶重+样品干重, W_3

样品鲜重 $W_f = W_2 - W_1$

样品干重 $W_d = W_3 - W_1$

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

$$\text{含水量\% (占干重\%)} = \frac{W_f - W_d}{W_d} \times 100\%$$

2. 相对含水量法(或称饱和含水量法)

此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有变化, 在幼嫩而生长旺盛的叶子上干重常随时间而会显著增加, 所以要进行

不同时间含水量的对比就不恰当)。一般认为采用相对含水量法比用鲜重百分数和干重百分数法为好。

(1) 同 1 法先求得组织鲜重 W_f , 然后将样品浸入蒸馏水中数小时, 使组织吸水达饱和状态(浸水时间因材料而定)。取出用吸水纸吸去表面的水分, 立即放于已知重量的称量瓶中称重; 再浸入蒸馏水中一段时间后取出吸干外面水分, 再称重, 直至与上次称重相等为止。此即为植物组织在吸水饱和时的重量, 称饱和鲜重 W_t , 再如上法将样品烘干, 求得组织干重 W_d 。

$W_t - W_d$ 即为饱和含水量。

(2) 计算:

$$\text{相对含水量\% (组织含水量占饱和含水量的\%)} = \frac{W_f - W_d}{W_t - W_d} \times 100\%。$$

实 验 作 业

测定同一植物在不同外界环境条件下的相对含水量%。

实验 2 植物组织水分饱和和亏的测定

原 理

根据生理意义可把植物组织内的水分状况用下列三种不同方式表示。

1. 自然含水量: 植物在自然生长状态下组织中的水分含量, 称为自然含水量, 或简单地称为植物的含水量。

2. 饱和含水量: 即植物组织吸收水分达饱和状态时的含水量。

3. 临界含水量: 当植物体内的水分减少到临近发生伤害时的最低含水量水平, 低于这一水平时即引起植物伤害, 组织中这一最

低含水量即称为临界含水量。

利用上述这三种含水量的数值即可以计算出更能表明植物体内水分状况的另两种表示方法,即自然饱和亏和临界饱和亏。

自然饱和亏是指植物组织的自然含水量与饱和含水量两值之差。常以差值占饱和含水量的百分数表示之,差值愈大,表示植物体内水分亏缺愈严重。

临界饱和亏,是指植物的饱和含水量与临界含水量两值之差,常以该差值占饱和含水量之百分数表示之。此值愈大,表示植物抗脱水能力愈强。

仪 器

分析天平

烘箱(或红外灯)

干燥器

称量瓶

坩埚钳

吸水纸

实 验 步 骤

1. 测定自然饱和亏

按相对含水量法(见实验 1)求得植物组织的自然鲜重(W_f)和干重(W_d)及饱和鲜重(W_t),即可按下式求出自然饱和亏:

$$\text{自然饱和亏}(\%) = \frac{W_t - W_f}{W_t - W_d} \times 100\%$$

根据植物组织中相对含水量及自然饱和亏的定义可知:

$$\text{自然饱和亏}(\%) = 1 - \text{相对含水量}\%$$

注: 相对含水量%求法见实验 1, 所以求得相对含水量%后, 即可知其自然饱和亏(%)。

2. 测定临界饱和亏

取植物叶片约 10 片左右, 悬于室内, 使其逐渐干燥 5—6 小时

后,每隔 1 小时取下两片称重,再浸入水中,观察其能否恢复膨胀状态,直到取下的叶子称重后,再浸于水中时局部不能再恢复膨胀状态(即出现伤害)时为止。此时即可把这些剩下的叶片取来称其鲜重后,于 100—105℃ 烘箱中烘干,称得干重,此时鲜重及干重之差,即为该叶片组织的临界含水量(W_c)。根据定义即可按下式求出临界饱和亏。

$$\text{临界饱和亏}(\%) = \frac{W_t - W_c}{W_t - W_d} \times 100\%$$

根据所测得的植物组织水分的自然饱和亏及临界饱和亏,就可求出当时植物的需水程度。

$$\text{需水程度}(\%) = \frac{\text{自然饱和亏}}{\text{临界饱和亏}} \times 100\%$$

实 验 作 业

1. 比较不同植物在同一水分环境条件下(包括土壤湿度及空气湿度)的水分饱和亏及需水程度有什么差异。
2. 比较同一植物在不同水分环境条件下的水分饱和亏及需水程度有什么差异。

实验 3 植物组织中自由水和束缚水含量的测定

原 理

植物组织中的水分是由被胶粒所固着的束缚水及不被胶粒所固着的自由水两部分所组成。束缚水不易蒸发和结冰,不能作为溶剂,也不易被夺取。所以当植物组织被浸入较浓的糖溶液中脱水,一定时间后仍未被夺取的水分作为束缚水,而被夺取的水分作为自由水。自由水的量可根据所加糖液浓度的降低量来计算。再由植物组织的总含水量减去自由水量,即可求得束缚水量。

植物体内自由水和束缚水含量及其比值常与植物的生长及抗

性有密切关系。自由水较多时,代谢活动常较强,生长速度也较快,但抗性往往降低。而束缚水含量多时,则情况相反,所以自由水与束缚水含量是植物抗性生理的一个指标。

仪 器 药 品

阿贝氏折射仪	天平 1/1,000
烘箱	干燥器
钻孔器	称量瓶
滤纸	吸滤管、5ml 移液管
蔗糖溶液 65—70% (w/v)	

实 验 步 骤

1. 取称量瓶两个,洗净、烘干、称重备用。

2. 取待测植物样品(例如:小麦、油菜的叶片两份,两份样品所取部位应力求一致)。快速剪碎,分别放于两个已知重量的称量瓶中,盖上盖子以免水分蒸发。

3. 在天平上称重、记录后,1号瓶置于100—105℃烘箱中烘干至恒重,以计算含水量占鲜重的百分数。

从2号瓶中两次称重之差,求得样品重量。

4. 用5 ml 移液管吸取5 ml 65—70% (w/v)的蔗糖溶液,加入2号称量瓶中,加盖后再在天平上称重,以求得所加糖液重量 B ,并小心摇动瓶中溶液,使与样品混合均匀,放于阴凉处4—5小时,其间不时摇动。

5. 用吸滤管吸取上层透明的溶液,滴一滴在折射仪棱镜的毛玻璃上,旋紧棱镜,在20℃温度下测定此浸出液的含糖百分数 B_2 ,及原来糖液的含糖百分数 B_1 (蔗糖溶液的原始浓度也必须在折射仪上读得)。

6. 计算:按下式计算植物样品中自由水含量%。

$$\beta = \frac{B(B_1 - B_2)}{B_2 \times W_f} \dots\dots\dots(1)$$

式中: β 为自由水含量%

A 为样品中自由水重量

B 为加入样品中蔗糖溶液的重量

B_1 为原蔗糖溶液浓度百分数

B_2 为加样后糖溶液的浓度百分数

W_f 为植物样品鲜重

公式(1)系根据如下关系求得

加样后糖溶液中自由水量为 $(B + A) \cdot (1 - B_2)$

原来糖溶液中自由水量为 $B(1 - B_1)$

则样品中自由水量 $A = (B + A)(1 - B_2) - B(1 - B_1)$

$$\text{简化得 } A = \frac{B(B_1 - B_2)}{B_2}$$

$$\beta = \frac{A}{W_f} = \frac{\frac{B(B_1 - B_2)}{B_2}}{W_f} = \frac{B(B_1 - B_2)}{B_2 \times W_f} \dots\dots\dots(2)$$

式(2)和式(1)完全相等。

求得自由水含量%后,即可根据下式求出束缚水含量%。

束缚水含量% = 组织含水量% - 组织中自由水%

实 验 作 业

测定同一植物不同品种的自由水和束缚水含量,实验重复三次,把结果填入下表。