



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

植物生理学 实验指导

第4版

主编 张志良 瞿伟菁 李小方



高等教育出版社



普通高等教育“十一五”国家级规划教材

植物生理学实验指导

第4版

主编 张志良 瞿伟菁 李小方



高等教育出版社

内容提要

本书是在第3版(2003年)的基础上,结合植物生理学课程改革和结合当前学科的发展修订而成的。全书覆盖面广,涵盖水分生理、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、分子生物学和果蔬采后生理10个方面的内容以及5个成熟的综合性实验教学案例。特别是扩充后的后3章的内容丰富、实用,从实际出发,力求为解决现实生活中的植物问题提供全面、可行的实验方案。

本书基本可以满足各类学校的教学需要,特别适合师范院校、农林院校和综合性大学等学校使用,也可作为相关领域科技工作者的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验指导/张志良,瞿伟菁,李小方主编.
4版.—北京:高等教育出版社,2009.7
ISBN 978-7-04-027276-5

I. 植… II. ①张…②瞿…③李… III. 植物生理学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. Q945-33

中国版本图书馆CIP数据核字(2009)第087899号

策划编辑 赵晓媛 责任编辑 张晓晶 封面设计 张楠 责任绘图 郝林
版式设计 范晓红 责任校对 胡晓琪 责任印制 毛斯璐

出版发行 高等教育出版社
社 址 北京市西城区德外大街4号
邮政编码 100120
总 机 010-58581000

经 销 蓝色畅想图书发行有限公司
印 刷 国防工业出版社印刷厂

开 本 787×1092 1/16
印 张 19.5
字 数 470 000

购书热线 010-58581118
咨询电话 400-810-0598
网 址 <http://www.hep.edu.cn>
<http://www.hep.com.cn>
网上订购 <http://www.landaco.com>
<http://www.landaco.com.cn>
畅想教育 <http://www.widedu.com>

版 次 1980年11月第1版
2009年7月第4版
印 次 2009年7月第1次印刷
定 价 25.10元

本书如有缺页、倒页、脱页等质量问题,请到所购图书销售部门联系调换。

版权所有 侵权必究

物料号 27276-00

第4版前言

植物生理学是研究植物的生命活动规律及其与外界环境之间关系的学科,与现代农业的发展、食品的安全以及环境的优化都密切相关。随着生物技术与生命科学的飞速发展,很多领域的研究技术与研究成果不断地相互渗透,因此该学科的内容和研究技术、方法也在不断更新和充实,相应地使学科的实验课不仅在内容上需要更新,而且在形式和模式上也要作出调整,实验课的核心已经从传统的验证性实验和技术学习,更多地转向解决和研究植物生命现象的思路和方法上。

本实验指导的编写,一直以能满足不同条件的高等院校的本、专科实验教学和研究生的需求,并能作为相关科研工作者的有用工具参考书为宗旨,承蒙诸多兄弟院校的厚爱和要
求,并在广征意见的基础上,我们不仅对原有基础性实验内容进行了部分调整,如:丰富了分子生物学的内容,增加了果蔬采后生理的内容,扩大了植物与环境的篇幅,部分实验的方法也作了补充。同时还增加了以培养学生的思维、创新等综合能力为目标的综合性实验内容。修改后的内容或更能满足各类学校的教学需要,同时仍然是科研人员的好帮手。

在这次征求各兄弟院校意见的过程中,我们收到了不少有益的修改意见和建议,有的教师寄来稿件,使修改后的内容增色不少,对兄弟院校的关心和帮助,我们在此表示衷心地感谢,同时还要感谢多年来使用本书的广大师生,在使用过程中对其中一些不妥或错误提出意见和批评,在这次修改中也作了改正。

本版内容按两部分排列,第一部分仍按章排列,各章由下列人员分工负责:李小方(第一章水分生理、第三章光合作用、第四章呼吸作用),张雯(第二章矿质营养),瞿伟菁(第五章物质代谢),王小菁(华南师范大学,第六章植物激素),赵旌旌(第七章生长发育),张伟(第八章植物与环境),孙越(第九章分子生物学),许玲(第十章果蔬采后生理)。李小方负责第二部分综合性实验,张志良负责附录内容。全书由张志良负责修改校正,张伟负责处理计算机文件。

由于编者的水平有限,实际经验不多,书中难免有错误和不妥之处,恳请采用本书作为教材的兄弟院校的师生能及时提出批评,以便于以后修改。

编者于华东师范大学

2008年12月30日

第3版前言

《植物生理学实验指导》一书自1990年第2版至今,又过去十几年了,随着现代科学技术的发展,生命科学日趋活跃,并更多地受到了人们的关注。作为研究植物生命活动规律和机制的植物生理学与现代农业的发展、人类环境的优化等的关系显得日益密切,其涉及的内容也更加丰富,所应用的技术也越来越现代化,为适应新的形势,有必要对本书做全面修改。为此,作者在向兄弟院校征求意见的基础上对内容做了部分调整,如:增加了分子生物学的内容,扩大了物质代谢的篇幅,并补充了流式细胞仪和化学发光法的应用。修改后的内容除了能满足实验教学的需要外,对学生课外作业和毕业论文实践及有关教师和科研工作者也有很大的参考和实用价值。

在这次征求各兄弟院校意见的过程中,作者收到了不少有益的修改意见和建议,有的教师寄来稿件,使修改的内容增色不少,对兄弟院校的关心和帮助,我们在此表示衷心地感谢,同时还要感谢多年来使用本书的广大师生,在使用过程中对其中一些不妥或错误提出意见和批评,在这次修改中也作了改正。

本版内容仍按章排列,各章由下列人员分工负责组织稿件:第一章水分生理(李小方)、第二章矿质营养(瞿伟菁)、第三章光合作用(李小方)、第四章呼吸作用(瞿伟菁)、第五章物质代谢(傅中滇)、第六章植物激素(王小菁,华南师范大学)、第七章生长发育(王隆华,赵旌旌)、第八章植物与环境(张雯)、第九章植物分子生物学(王小菁,华南师范大学)、附录(张志良),全书由张志良负责修改校正,张雯负责电脑文书。

由于编者的水平有限,实际经验不多,书中难免有错误及不妥之处,恳请采用本书作为教材的兄弟院校的师生们能及时提出批评,以便于以后修改。

编者于华东师范大学

2002年11月8日

第2版前言

《植物生理学实验指导》一书自1980年出版以来,作为高等院校的试用教材,为许多兄弟院校所采用,每年印行1万册。近年来植物生理学和其他学科一样有了很大的发展,教学实验的内容也更为丰富,新技术和新方法也得到了应用,因此,原“指导”已不能完全适应新的形势,有必要进行全面修改。

这次修改工作,广泛征求了意见,收到了许多宝贵的建议,使我们更加明确了修改的方向。有些兄弟院校还给我们寄来了稿件,使修改后的书稿增添了不少新的内容。对大家的关心,我们表示十分感谢。

由于各高等院校的类型和性质以及设备条件、教学时数等的不同,对植物生理学实验内容的繁简要求也就不同;有的学校已将植物生理学实验作为一门课,自成体系,不再从属于课堂教学,这就大大地加重了它的分量;学生的课外小组和毕业论文实践,也需要合适的指导书。变化中的这些新情况,都是这次修改中考虑的一些方面。在内容上删去了一些简单的、验证性的、效果不够理想的实验;有些实验内容虽简单,但能说明问题,目前许多学校还选做的,这次仍保留,但改为示范,不必占用学生的实验时间;新增加的基本实验技术部分,是为了专业植物生理学大实验和学生进行毕业论文或科学研究时参考用。

修订后的教材涉及植物生理学各章的内容,既有目前实验室常用的方法,又有较新的现代科学技术。将原有的水分生理、矿质营养、光合作用、呼吸作用、物质代谢、植物激素、生长发育和植物与环境8部分95次实验进行了调整和删减,增添了组织培养、免疫测定等内容。新增加的基本实验技术部分,则单独列出6个实验。全书分9部分,共91个实验,在各部分实验的划分和归属上,一定还有不少问题。如钙调素(calmodulin)是一种Ca-结合蛋白,Ca²⁺的浓度影响它的活性,从而调控一些酶的活性,但由目前的教学实际考虑,还是将它归入矿质营养中。

在修改过程中得到了颜季琼教授和沈曾佑副教授的热情指导和教研组其他同志的关怀。特别是张利华同志,为核实实验内容的可行性,以及撰写书稿和绘图等花费了许多精力和时间,在此一并致谢。

最后,我们诚恳地希望采用本书作教材的学校教师和同学们,能及时提出存在的问题和批评意见,便于以后再补充修改。

张志良

于华东师范大学生物学系

1987年11月

第 1 版前言

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、北京师范大学、东北师范大学、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,从初稿中选出的有关的内容,经过修改,并补充了一些新的内容,共有实验95个,其中在目录内标有符号*者,定为必做内容,标有符号○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,书中错误及不妥之外,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

第一部分 基础性实验

第一章 水分生理	3	II 氯化三苯基四氮唑(TTC)法	32
实验 1-1 植物组织中自由水和束缚水 含量的测定	3	实验 2-8 硝酸还原酶活性的测定	33
实验 1-2 植物组织渗透势的测定 (质壁分离法)	5	I 活体法	34
实验 1-3 植物组织水势的测定 (液体交换法)	6	II 离体法	35
I 小液流法	7	实验 2-9 植物灰分元素的分析鉴定	36
II 折射仪法	8	实验 2-10 植物组织可挥发性元素的 鉴别	37
实验 1-4 蒸腾强度的测定	9	实验 2-11 植株中硝态氮的测定	39
I 钴纸法	9	实验 2-12 植株磷素的测定(钼蓝法)	41
II 容量法	10	实验 2-13 植株中总铁量的测定	42
实验 1-5 环境因子对植物吐水的影响 (示范)	12	I 硫氰化物法	42
实验 1-6 植物叶子气孔密度和面积的 测定	13	II 邻二氮菲(菲绕咪)法	43
实验 1-7 K^+ 和 ATP 对气孔开度的影响 ..	14	实验 2-14 微量元素铜的测定	45
实验 1-8 气孔运动与 K^+ 迁移	16	实验 2-15 细胞内游离 Ca^{2+} 的测量 (流式细胞法)	46
实验 1-9 小孔的扩散(示范)	17	【附】 FACSscan 流式细胞仪的工作原理 ..	47
实验 1-10 植物伤流液中糖、氨基酸及 矿质元素的点滴分析	18	实验 2-16 磷酸盐测定(间隔流动 分析法)	49
第二章 矿质营养	21	【附】 间隔流动分析仪的使用原理	50
实验 2-1 植物的元素缺乏症(溶液培养) ..	21	第三章 光合作用	54
实验 2-2 单盐毒害及离子间颞颥作用	23	实验 3-1 叶绿体色素的提取、分离及 理化性质的鉴定	54
实验 2-3 植物对离子的选择性吸收	24	实验 3-2 叶绿体色素的分离和吸收 光谱曲线	56
实验 2-4 离体根对铵离子的交换吸收	26	实验 3-3 叶绿素 a、叶绿素 b 含量测定	58
实验 2-5 氧对小麦离体根吸收 K^+ 的 影响	27	实验 3-4 植物光合强度的测定	61
实验 2-6 根系体积的测定	29	I 改良半叶法	61
实验 2-7 根系活力的测定	30	II 氧电极法	63
I α -萘胺氧化法	30	III 便携式光合测定仪法	64
		实验 3-5 藻类植物光合强度的测定	65
		实验 3-6 环境因素对光合作用的影响	68

II 目录

I 量气法	68	VI 淀粉的测定	109
II 叶圆片上浮法	69	VII 粗纤维含量的测定	110
实验 3-7 离体叶绿体光还原反应 (希尔反应)	71	实验 5-2 糖类代谢酶的测定	111
实验 3-8 叶绿体偶联因子(CF ₁)提取及 ATPase 活性测定	72	I α -淀粉酶和 β -淀粉酶活力的测定 ..	111
实验 3-9 乙醇酸氧化酶活性测定	74	II 蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成 酶活性的测定	113
实验 3-10 二磷酸核酮糖羧化酶-加氧 酶羧化活性的测定	76	实验 5-3 油脂过氧化值的测定	114
实验 3-11 二磷酸核酮糖羧化酶-加 氧酶的加氧活性的测定	78	实验 5-4 化学发光法测量脂质过 氧化及抗氧化剂	115
第四章 呼吸作用	80	实验 5-5 脂肪水解酶活性的测定	117
实验 4-1 植物呼吸强度的测定	80	实验 5-6 蛋白质的提取和测定	118
I 简易测定法	80	I 蛋白质的提取	119
II 小篮子法	81	II 微量凯氏定氮法	120
III 呼吸比重瓶法	82	III Folin-酚试剂法	122
实验 4-2 呼吸商的测定	84	IV BCA 试剂法	123
实验 4-3 呼吸抑制剂对呼吸作用的影响 ..	85	V 考马斯蓝染料结合法	125
实验 4-4 离体线粒体的氧化作用和 磷酸化作用	87	VI 紫外吸收法	126
实验 4-5 NADP 磷酸酶活性的测定	90	实验 5-7 蛋白质特性分析	127
实验 4-6 丙酮酸激酶活性的测定	91	I 蛋白质组分分析	127
实验 4-7 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶 活性的测定	92	II 蛋白质相对分子质量的测定 (电泳法, Kingsburg 系统)	129
实验 4-8 植物组织中几种酶的组化 定位鉴定	94	III 蛋白质等电点的测定	130
实验 4-9 多酚氧化酶活性的测定 (氧电极法)	97	实验 5-8 转氨酶(GOT、GPT)的提取 和测定	132
实验 4-10 过氧化氢酶活性的测定 (氧电极法)	98	实验 5-9 酰胺含量的测定	134
实验 4-11 过氧化物酶活性的测定	100	实验 5-10 次生物质含量的测定	135
I 比色法	100	I 总黄酮含量的测定	135
II 化学发光法	100	II HPLC 法测定黄酮苷元含量	137
第五章 物质代谢	103	III 茶多酚含量的测定	138
实验 5-1 糖类含量的测定	103	IV 花青素含量的测定	140
I 可溶性总糖的测定	103	V 穿心莲总内酯含量的测定	141
II 还原糖的测定	104	VI 咖啡碱的提取	142
III 蔗糖的测定	106	【附】 索氏抽提器的结构及作用原理	143
IV 葡萄糖的测定	106	VII 咖啡碱含量的测定(质量法)	144
1. 比色法	106	VIII 总皂苷的粗提及 HPLC 法测定 其中甾体皂苷元的含量	146
2. 化学发光法	107	IX 挥发油含量及成分分析	148
V 果糖的测定	108	第六章 植物激素	151
第六章 植物激素	151	实验 6-1 吲哚乙酸(IAA)的提取、 纯化和测定	151
实验 6-1 吲哚乙酸(IAA)的提取、 纯化和测定	151	实验 6-2 生长素含量测定(小麦芽鞘 切段伸长法)	153
实验 6-2 生长素含量测定(小麦芽鞘 切段伸长法)	153	实验 6-3 吲哚乙酸氧化酶活性的测定	155
实验 6-3 吲哚乙酸氧化酶活性的测定	155		

实验 6-4 赤霉素(GA ₃)的生物鉴定(水稻幼苗第二叶叶鞘伸长的“点滴法”)	156	含量的变化	188
实验 6-5 GA ₃ 对小麦种子 α-淀粉酶的诱导形成	158	实验 7-10 大豆萌发时氨基酸含量的变化	189
实验 6-6 酶联免疫法测定脱落酸(ABA)含量	160	实验 7-11 光对植物叶绿体运动的调控作用	191
实验 6-7 细胞分裂素含量的测定(萝卜子叶测定法)	162	实验 7-12 H ⁺ 流向与植物生长模式	192
实验 6-8 细胞分裂素对花色素苷积累的影响	163	实验 7-13 植物开花的光周期诱导	194
实验 6-9 生长调节剂对黄瓜性别表达的作用	164	I 苍耳的光周期诱导	194
实验 6-10 生长调节剂对果实发育的影响	166	II 日本青萍 6746 的光周期诱导	194
实验 6-11 香石竹的切花保鲜	167	实验 7-14 球根花卉的花期调节	197
实验 6-12 水仙的矮化	168	实验 7-15 胚珠的离体受精	198
第七章 生长发育	170	实验 7-16 植物的组织培养	200
实验 7-1 种子生活力的快速测定	170	I 愈伤组织的培养和分化	200
I 氯化三苯基四氮唑法(TTC 法)	170	II 原生质体的分离和培养	202
II 溴麝香草酚蓝法(BTB 法)	171	III 离体培养下的花芽分化	203
III 纸上荧光法	171	第八章 植物与环境	205
实验 7-2 种子活力的测定	173	实验 8-1 植物的向性运动(示范)	205
I 抗冷法	173	实验 8-2 花粉管生长的趋性	206
II 砂压法	174	实验 8-3 高温和低温对植物的伤害	207
III 低温法	174	实验 8-4 渗透胁迫与脯氨酸的积累	208
【附】 AOSA 规定棉花种苗分级标准	175	实验 8-5 冷胁迫对质膜 H ⁺ -ATPase 活性的影响	210
IV 电导法	175	实验 8-6 干旱处理对叶片脂氧合酶活性的影响	212
V 加速衰老法	176	I 分光光度法	212
实验 7-3 人工种子的制备方法	177	II 氧电极法	213
实验 7-4 细胞生长周期测定(流式细胞法)	178	实验 8-7 植物幼苗的超微弱发光	214
实验 7-5 花粉活力的测定	181	实验 8-8 盐胁迫蛋白的检测	215
I 碘-碘化钾染色测定法	181	实验 8-9 超氧化物歧化酶活性的测定	218
II 过氧化物酶测定法	181	I 比色法	218
III 氯化三苯基四氮唑法(TTC 法)	182	II 邻苯三酚自氧化法	219
实验 7-6 花粉管生长的测定	183	实验 8-10 植物组织中活性氧含量的测定	221
【附】 培养基的配制	184	I 过氧化氢含量的测定	221
实验 7-7 谷物种子萌发时淀粉酶的形成(示范)	186	1. 二甲酚橙法	221
实验 7-8 谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	187	2. 安替吡啉法	222
实验 7-9 油类种子萌发时脂肪酸		II 氧自由基产生速率的测定(羟胺法)	223
		实验 8-11 植物膜脂脂肪酸的分析	224
		实验 8-12 丙二醛的测定	227
		实验 8-13 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	229
		实验 8-14 植物根系分泌物	230
		I 植物根系分泌物的观察	230

II 植物根系分泌的酶	231	实验 9-5 非洲菊(<i>Gerbera hybrida</i>)	
实验 8-15 土壤中的酶	233	花瓣 <i>CHS</i> 基因的表达检测	247
第九章 分子生物学	235	I <i>CHS</i> 基因片段的获得和探针制备	248
实验 9-1 植物基因组 DNA 的制备		II Northern 印迹法	250
及纯度分析	235	实验 9-6 根癌农杆菌介导的拟南芥转	
I 植物基因组 DNA 的制备(尿素法)	235	基因的操作方法	253
II 植物基因组 DNA 的制备		实验 9-7 用 GUS 与启动子融合表达法	
(CTAB 法)	236	检测特定基因表达时空特性	255
III 植物基因组 DNA 的纯度分析		实验 9-8 叶绿体 DNA 的制备	257
(电泳法)	238	第十章 果蔬采后生理	259
IV 植物基因组 DNA 的纯度分析		实验 10-1 果实硬度的测定	259
(分光光度计法)	239	实验 10-2 果蔬可溶性固形物的测定	260
实验 9-2 PCR 鉴定植物肌动蛋白基因	240	实验 10-3 果蔬含酸量的测定	262
实验 9-3 植物总 RNA 的提取	242	实验 10-4 果蔬维生素 C 含量的测定	264
I 植物总 RNA 的提取(LiCl 法)	242	实验 10-5 果蔬乙烯释放量的测定	
II 植物总 RNA 的提取(异硫氰		(气相色谱法)	265
酸胍法)	244	实验 10-6 果蔬 ACC 含量的测定	268
实验 9-4 干旱胁迫下拟南芥抗逆性		实验 10-7 气相色谱法测定果蔬中的	
特异基因 <i>Rd29A</i> 的表达	246	乙醇含量	270

第二部分 综合性实验

实验 1 植物在渗透胁迫条件下形态、生理		诱导气孔关闭的影响	279
和基因表达方面的适应性变化	275	实验 4 槐米中芸香苷的提取、纯化与	
实验 2 热激诱导的玉米幼苗耐热性观		鉴定	280
察及其可能的生理生化机制	277	实验 5 植物生长调节剂对植物插条	
实验 3 钙信使系统和活性氧对 ABA		不定根发生的影响	283
附录	286		
附表 1 常用酸碱的浓度	286		
附表 2 常用缓冲溶液的配制	286		
附表 3 几种常用缓冲剂的 pK _a	293		
附表 4 常用酸碱指示剂	293		
附表 5 泛用酸碱指示剂	294		
附表 6 离心机转速与相对离心力的换算	294		
附表 7 提高溶液饱和度(%)时应加入硫酸铵的质量(g)	295		
附表 8 不同温度下以空气饱和的水中的氧含量	296		
附表 9 常用植物激素的一些化学特性	296		
附表 10 植物组织和细胞培养常用培养基成分	297		
附表 11 常用培养基附加成分	298		

第一部分

基础性实验

第一章 水分生理

实验 1-1 植物组织中自由水和束缚水含量的测定

【实验目的】

了解植物组织中水分存在的状态与植物生命活动的关系,熟悉折射仪的使用。

【实验原理】

植物组织中的水分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组成。束缚水不易蒸发和结冰,不能作为溶剂,也不易被溶质夺取,所以当植物组织被浸入较浓的糖溶液中脱水时,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。

【器材与试剂】

1. 实验仪器 阿贝氏折射仪,分析天平,烘箱,超级恒温水浴,直径 5 mm 钻孔器,干燥器,滤纸,称量瓶,吸滤管,移液管。
2. 实验试剂 质量浓度为 65%~75%的蔗糖溶液。
3. 实验材料 新鲜植物叶片。

【实验步骤】

1. 取称量瓶 2 个,洗净,烘干,称重后备用。
2. 在田间选定待测作物,摘取在生长、部位、叶龄等方面较一致的叶片 5~10 片。
3. 用直径 5 mm 钻孔器,在叶子的半边钻下小圆片,每叶 5 片,放入 1 号称量瓶中,盖紧。然后在叶子的另半边的对称位置上同样钻下 5 个小圆片,放入 2 号称量瓶中,盖紧。
4. 1 号称量瓶于 105 °C 烘箱中烘干至恒重,以计算含水量(%)。
5. 2 号称量瓶在分析天平上称重,求得样品鲜重 m_f 。

6. 用移液管吸取 5 mL 65%~75% 蔗糖溶液, 加到 2 号称量瓶中, 加盖后再在分析天平上称重, 求得所加蔗糖溶液的质量 m_B 。小心摇动瓶中溶液, 使与样品混合均匀, 放在阴凉处 4~5 h, 期间经常摇动。

7. 将折射仪与超级恒温水浴相连, 水浴温度调节到 20 °C。

8. 用吸滤管(在玻璃管的一端塞上少许脱脂棉, 另一端配上橡皮吸头)吸取 2 号瓶中上层透明的溶液少许, 滴一滴在折射仪棱镜的毛玻璃上, 旋紧棱镜, 测定浸出液的含糖质量分数 B_2 。棱镜用蒸馏水清洗后, 再用同样方法测得原来蔗糖溶液的含糖质量分数 B_1 。

9. 计算: 按下式计算植物样品中自由水含量(%)。

$$\beta = \frac{m_B(B_1 - B_2)}{B_2 \times m_f} \times 100\% \quad (1)$$

式中: β 为自由水含量(%);

m_B 为加入样品中蔗糖溶液的质量;

B_1 为原蔗糖溶液质量分数;

B_2 为加样后糖溶液的质量分数;

m_f 为植物样品鲜重。

式(1)根据如下关系导出:

如 m_A 为样品中自由水质量;

加样后糖溶液中自由水质量为 $(m_B + m_A) \times (1 - B_2)$;

原来糖溶液中自由水质量为 $m_B(1 - B_1)$;

则样品中自由水质量 $m_A = (m_B + m_A)(1 - B_2) - m_B(1 - B_1)$;

简化得

$$m_A = \frac{m_B(B_1 - B_2)}{B_2}$$

$$\beta = \frac{m_A}{m_f} = \frac{m_B(B_1 - B_2)}{B_2 \times m_f} \times 100\% \quad (2)$$

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。

$$\text{束缚水含量} = \text{组织含水量} - \text{组织中自由水含量}$$

【注意事项】

1. 用于计算含水量的叶子圆片和用于测定的叶子圆片, 必须在同一叶片的对称位置上取下。
2. 用折射仪测定蔗糖浓度时恒温水的温度必须控制在 20 °C。

【实验作业】

1. 植物组织中的自由水与束缚水的生理作用有何不同?
2. 束缚水含量何以与植物的抗逆性有关?

参考文献

耶尔马科夫 A H, 等. 植物生物化学研究法. 吴相钰, 译. 北京: 科学出版社, 1956: 36-37.

实验 1-2 植物组织渗透势的测定(质壁分离法)

【实验目的】

观察植物组织在不同浓度溶液中细胞质壁分离的产生过程及其用于测定植物组织渗透势的方法。

【实验原理】

当植物组织细胞内的汁液与其周围的某种溶液处于渗透平衡状态,植物细胞内的压力势为零时,细胞汁液的渗透势就等于该溶液的渗透势。该溶液的浓度称为等渗浓度。

当用一系列梯度浓度溶液观察细胞质壁分离现象时,细胞的等渗浓度将介于刚刚引起初始质壁分离的浓度和尚不能引起质壁分离的浓度之间的溶液浓度。代入公式即可计算出其渗透势。

【器材与试剂】

1. 实验仪器 显微镜,载玻片及盖玻片,镊子,刀片。
2. 实验试剂 100 mL 浓度为 1 mol/L 蔗糖溶液,用蒸馏水配成 0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50 mol/L 的蔗糖溶液各 50 mL。
3. 实验材料 洋葱鳞茎或紫鸭跖草叶片。

【实验步骤】

1. 取带有色素的洋葱鳞茎或紫鸭跖草叶片下表皮,迅速分别投入各种浓度的蔗糖溶液中,使其完全浸入,5~10 min。

2. 从 0.50 mol/L 蔗糖溶液开始依次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做同样观察,并记录质壁分离的相对程度。

3. 在实验中确定一个引起半数以上细胞原生质刚刚从细胞壁的角隅上分离的浓度,和不引起质壁分离的最高浓度。

4. 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,直到有把握确定为止。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。

将结果记录于表中。

测出引起质壁分离刚开始的蔗糖溶液最低浓度和不能引起质壁分离的最高浓度平均值之后,可按下列各式计算在常压下该组织细胞的渗透势。

$$\varphi_s = -RTic_1$$

式中: φ_s 为细胞渗透势;

R 为摩尔气体常数, $R=0.083 \times 10^5 \text{ L} \cdot \text{Pa}/(\text{mol} \cdot \text{K})$;

T 为热力学温度,单位是 K;即 $273+t$, t 为实验温度,单位是 $^{\circ}\text{C}$;

i 为解离系数,蔗糖为 1;

c_1 为等渗溶液的浓度,单位是 mol/L。

则

$$\varphi_s = -0.083 \times 10^5 \times (273+t) \times 1 \times c_1$$

【注意事项】

撕下的表皮组织必须完全浸没于溶液中。

【实验作业】

1. 复习细胞渗透作用的原理。
2. 测定并计算不同植物组织的渗透势。

参 考 文 献

魏海姆 F H, 等. 植物生理学实验. 中国科学院植物研究所生理生化研究室, 译. 北京: 科学出版社, 1974: 108-111.

刘国栋. 几本植物生理学教科书及实验教材评析二题. 植物生理学通讯, 1988, (6): 74.

黄郡声. 用梯度浓度溶液测定植物组织渗透势之我见. 植物生理学通讯, 1996, 32(3): 211-212.

Boyer J S. Measurement of the water status of plants. Ann. Rev. Plant Physiol., 1969, 20: 351-364.

Noggle G R, et al. Introductory Plant Physiology. New Jersey: Prentice-Hall Inc., 1976: 403-406.

Victor A G. Plant Function and Structure. New York: Collier-Macmillan Publishers, 1973: 183-192.

【编者按】在第 3 版中编者根据第 2、3 条参考文献,曾把蔗糖浓度单位 mol/L 换算成质量摩尔浓度 (mol/kg) 后来计算渗透势,但是这样的计算结果导致渗透势单位不是正常的 Pa,而是 (L·Pa)/kg。其实 R 分气体常数 R_g 和摩尔气体常数 R (也称通用气体常数、普适气体常数),后者与气体的性质及状态均无关,所有摩尔气体常数 R 都等于 0.083×10^5 (L·Pa)/(mol·K),在此情况下,蔗糖的浓度是不需要单位换算的。如果用的是气体常数 R_g ,则才需要换算,但是 R_g 的值随气体性质的不同而不同,非常不方便。为此,我们在新版中重新采用了原来第 2 版的计算方法。

(华东师范大学 沈宗英)

实验 1-3 植物组织水势的测定(液体交换法)

【实验目的】

了解植物组织中水分状况的另一种表示方法及用于测定的方法和它们的优缺点。

【实验原理】

植物组织的水分状况可用水势(Ψ)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。将植物组织放在已知水势的一系列溶液中,如