普通高等教育农业部“十三五”规划教材
《植物生理学》(第3版)配套教材

高等农林教育“十三五”规划教材

植物生理学实验指导

Zhiwu Shenglixue Shiyan Zhidao

第2版

高俊山　蔡永萍　主编



中国农业大学出版社
ZHONGGUO NONGYE DAXUE CHUBANSHE

需要全本请访问 www.ertongbook.com

普通高等教育农业部“十三五”规划教材
《植物生理学》(第3版)配套教材

高等农林教育“十三五”规划教材

植物生理学实验指导

第2版

高俊山　蔡永萍　主编

中国农业大学出版社
·北京·

内 容 简 介

植物生理学是一门研究植物生理活动规律的实验科学。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。通过植物生理学实验课程的学习，不仅加深对植物生理学基本原理、基础知识的理解，而且能培养学生分析、解决问题的能力和严谨的科学态度。

《植物生理学实验指导》(第2版)在保持第1版体系的基础上，修改或重写了部分内容，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。全书共包含58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学等实验技术。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。

本教材所有实验项目均经过参编老师多年实验教学及科研的反复验证，技术成熟，同时也参考了其他一些研究方法，供读者选择使用。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/高俊山，蔡永萍主编. —2版. —北京：中国农业大学出版社，2018.12

ISBN 978-7-5655-2161-4

Ⅰ.①植… Ⅱ.①高…②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(2018)第284881号

书　　名　植物生理学实验指导　第2版
作　　者　高俊山　蔡永萍　主编

策划编辑	张秀环	责任编辑	郑万萍
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	邮政编码	100193
电　　话	发行部 010-62818525，8625	读者服务部	010-62732336
	编辑部 010-62732617，2618	出　版　部	010-62733440
网　　址	http://www.caupress.cn	E-mail	cbsszs@cau.edu.cn
经　　销	新华书店		
印　　刷	涿州市星河印刷有限公司		
版　　次	2018年12月第2版　2018年12月第1次印刷		
规　　格	787×1 092　16开本　10.75印张　265千字		
定　　价	29.00元		

图书如有质量问题本社发行部负责调换

第2版编写委员会

主　编　高俊山（安徽农业大学）

蔡永萍（安徽农业大学）

副主编　张玉琼（安徽农业大学）

王云生（安徽农业大学）

陈　楚（淮北师范大学）

编　者　（按姓氏拼音排序）

蔡　健（阜阳师范大学）

蔡永萍（安徽农业大学）

陈　楚（淮北师范大学）

高俊山（安徽农业大学）

高丽萍（安徽农业大学）

姜　丹（黑龙江八一农垦大学）

鞠世杰（黑龙江八一农垦大学）

李　玲（合肥师范学院）

刘亚军（安徽农业大学）

彭云成（安徽农业大学）

史刚荣（淮北师范大学）

司伟娜（安徽农业大学）

王艳芳（鲁东大学）

王云生（安徽农业大学）

王征宏（河南科技大学）

武健东（安徽农业大学）

尹彩萍（安徽农业大学）

张玉琼（安徽农业大学）

第1版编写委员会

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)

需要全本请访问 www.ertongbook.com

第2版前言

植物生理学实验是高等院校植物生产类和生物类各专业的一门重要专业基础课程，也是进行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，不仅可以加深学生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、解决问题的能力和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，在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情况下，教学人员积极调整教学内容，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，修改编写了《植物生理学实验指导》(第2版)，本教材与《植物生理学》(第3版)、《植物生理学学习指导》(第2版)同时修订，属于系列教材。

本教材在保持第1版体系的基础上，修改或重写了部分内容。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、逆境生理、物质代谢等方面58个实验，具有全面性和典型性，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、设计性实验。实验目的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、解决问题及假设；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。本书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内容，在此表示衷心的谢意！本教材再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！

本教材在修订再版过程中，编委们根据多年教学一线经验，及本教材第1版使用过程中存在的一些不足，融合了自身多年从事植物生理学教学实践的心得与对一些实验方法改进所做的有效尝试。但由于编者水平有限，书中存在不妥和错误之处，敬请批评指正。

高俊山　蔡永萍

2018年11月

第1版前言

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、解决问题的能力和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、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，在此表示衷心的谢意！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

目 录

实验室规则 …… 1
实验一 植物组织含水量的测定 …… 3
实验二 植物组织水势的测定 …… 5
实验三 植物细胞渗透势的测定 …… 7
实验四 植物气孔开闭状况的测定 …… 9
实验五 钾离子对气孔开度的影响 …… 11
实验六 植物蒸腾速率的测定 …… 13
实验七 硝酸还原酶活性的测定 …… 15
实验八 植物的溶液培养和缺素症观察 …… 18
实验九 单盐毒害及离子间拮抗现象 …… 21
实验十 原子吸收法测定植物矿质元素钾、钙含量 …… 23
实验十一 植物叶绿体的分离制备 …… 25
实验十二 希尔反应的观察与测定 …… 27
实验十三 叶绿体色素的提取、分离和理化性质 …… 29
实验十四 叶绿体色素的定量测定 …… 32
实验十五 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶活性的测定 …… 36
实验十六 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定 …… 40
实验十七 改良半叶法测定叶片光合速率 …… 42
实验十八 LI-6400 便携式光合仪测定植物叶片的气体交换 …… 45
实验十九 植物叶绿素荧光参数的测定 …… 49
实验二十 植物呼吸速率的测定 …… 53
实验二十一 生长素类物质对根芽生长的影响 …… 55
实验二十二 植物激素类物质的生物鉴定 …… 57
实验二十三 植物激素对愈伤组织形成和分化的影响 …… 60
实验二十四 细胞分裂素对萝卜子叶的保绿作用 …… 63
实验二十五 酶联免疫吸附测定法测定植物激素含量 …… 64
实验二十六 高效液相色谱法测定植物的内源激素含量 …… 67
实验二十七 气相色谱法测定乙烯含量 …… 69
实验二十八 赤霉素对 α-淀粉酶诱导合成的影响 …… 72
实验二十九 种子生活力的快速测定 …… 75
实验三十 植物根系活力的测定 …… 78

实验三十一　花粉活力的测定 …… 82
实验三十二　植物花粉管生长的测定 …… 84
实验三十三　光对需光种子萌发的影响 …… 86
实验三十四　植物春化作用和光周期现象的观察 …… 88
实验三十五　植物组织逆境伤害程度的测定 …… 90
实验三十六　植物组织中丙二醛含量的测定 …… 93
实验三十七　植物组织中 ATP 酶活力的测定 …… 95
实验三十八　超氧化物歧化酶(SOD)活力测定 …… 98
实验三十九　过氧化物酶(POD)活性的测定 …… 102
实验四十　过氧化氢酶(CAT)活性的测定 …… 104
实验四十一　多酚氧化酶(PPO)活性的测定 …… 106
实验四十二　抗坏血酸含量的测定 …… 108
实验四十三　抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)活性的测定 …… 110
实验四十四　苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定 …… 112
实验四十五　植物体内游离脯氨酸含量的测定 …… 114
实验四十六　植物体内甜菜碱含量的测定 …… 116
实验四十七　过氧化氢含量的测定 …… 118
实验四十八　氧自由基产生速率的测定 …… 120
实验四十九　植物组织中蔗糖酶活力的测定 …… 122
实验五十　纤维素酶活力的测定 …… 124
实验五十一　植物组织中游离氨基酸总量的测定 …… 129
实验五十二　植物组织中可溶性糖含量的测定 …… 132
实验五十三　谷物中淀粉含量的测定 …… 134
实验五十四　果实、蔬菜中有机酸含量的测定 …… 136
实验五十五　高粱籽粒中单宁含量的测定 …… 138
实验五十六　植物组织中酚类物质含量的测定 …… 140
实验五十七　植物生物碱含量的测定 …… 142
实验五十八　植物黄酮化合物含量的测定 …… 144

附录一　常用缓冲溶液的配制 …… 146
附录二　常用酸碱指示剂的配制 …… 151
附录三　基本常数 …… 152
附录四　常用酸碱试液配制及其相对密度、浓度 …… 153
附录五　常用有机溶剂及其主要性质 …… 154
附录六　常见植物生长调节物质及其主要性质 …… 157
附录七　植物组织培养常用培养基的成分 …… 159

参考文献 …… 161

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，并交给老师当场审核；实验结束后，根据实验结果进行科学分析，按时将实验报告交给老师审阅。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，实验结束后如数归还。实验中如有仪器破损必须登记并适当赔偿，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、电动离心机等，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；用好后放回原处，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的试管中，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。用吸管时要用吸耳球吸取，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 $Na_2S_2O_4$ 处理。若发生起火事件，根据发生起火性质分别采用沙、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，应交给教师保管。

7. 实验室清洁

实验室必须保持清洁，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，方能离开实验室。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

实验一　植物组织含水量的测定

一、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、光合作用，甚至影响作物产量，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中具有重要的意义。

2. 原理：利用水遇热可蒸发为水蒸气的原理，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，或称饱和含水量)表示。RWC 更能表明它的生理意义。

鲜重法和干重法：

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

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

式中：W_f—组织鲜重；

W_d—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的百分数：

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

式中：W_t—组织被水充分饱和后的重量。

水分饱和亏(WSD)指植物组织实际相对含水量距饱和相对含水量(100%)差值的大小。常用下式表示：

$$\text{WSD}=1-\text{RWC} \tag{1-4}$$

实际测定时，可用下式计算：

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

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亏，称为临界饱和亏。

二、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。

三、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，取出后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，即得样品饱和鲜重（W_t）；若事先已知达到水分饱和所用的时间，则可一次称重而测得饱和鲜重，然后烘干，称出干重（W_d）。

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

四、注意事项

1. 植物材料烘干时，杀青时间不能太长。

2. 80℃ 下烘干 1 天后，称重，然后继续于 80℃ 下烘干，再称重，直至恒重。

五、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？

实验二　植物组织水势的测定

一、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：

$$\psi_s = -icRT \tag{2-1}$$

式中：ψ_s—溶液的渗透势，MPa；

R—气体常数，0.008 314 MPa · L · mol^{-1} · K^{-1}；

T—绝对温度，即 273℃ + t，K；

c—溶液的物质的量浓度，以 mol · L^{-1} H_2O 为单位；

i—溶液的等渗系数，$CaCl_2$ 可用 2.6。

二、实验用品

1. 材料：植物叶片。

2. 试剂：亚甲蓝溶液；$CaCl_2$ 溶液，包括 0.05、0.10、0.15、0.20、0.25、0.30、0.35、0.40 mol · L^{-1} 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 0.5～1 cm^2 的打孔器 1 个，镊子 1 个，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。

三、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^{-1} 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。其间多次摇动小瓶，以加速水分平衡。

3. 到预定时间后，在乙组每一小瓶中，放入 1 小滴亚甲蓝溶液，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情况（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 $CaCl_2$ 溶液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^{-1})	0.05	0.10	0.15	0.20	0.25	0.30	0.35	0.40
蓝色液滴升降情况								

四、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. 毛细管尖端弯成直角，以保证从中出来的液滴不受向下力的影响。

4. 也可用亚甲蓝粉末，但带有结晶水的亚甲蓝不易溶于 $CaCl_2$ 溶液，可在 100℃下烘干成无水亚甲蓝粉末使用。

五、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时易产生误差的主要步骤有哪些？如何预防？

实验三　植物细胞渗透势的测定

一、实验目的与原理

1. 目的：植物细胞的渗透势主要取决于液泡的溶质浓度，一些植物在细胞内主动积累溶质，以降低其渗透势，增加吸水能力。本实验主要了解植物体内不同组织和细胞之间、植物与环境之间水分的转移与植物组织渗透势的关系，学习质壁分离法测定植物组织渗透势的基本方法。

2. 原理：将植物组织放入一系列不同浓度的蔗糖或甘露醇溶液中，经过一定的时间达到渗透平衡后，细胞在其中发生初始质壁分离的溶液渗透势即等于细胞液的渗透势，此溶液称为等渗溶液，其浓度称为等渗浓度。实际测定时，初始质壁分离状态难以在显微镜下直接观察到，一般根据引起初始质壁分离的溶液浓度与相邻的不引起质壁分离的溶液浓度的平均值，求出等渗浓度，并计算出此溶液的渗透势，即为细胞的渗透势。根据下述公式即可计算出细胞液的渗透势(ψ_s)。

$$\psi_s = \psi_{so} = -ibRT \tag{3-1}$$

式中：ψ_{so}—供试溶液的渗透势，MPa；

i—溶质的解离系数(蔗糖为 1)；

b—供试溶液的质量摩尔浓度，$mol \cdot kg^{-1}$，以水作溶剂；

R—气体常数，0.008 31 $kg \cdot MPa \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$，0.008 31 $kg \cdot kJ \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$，0.083 1 $kg \cdot bars \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$，0.080 205 $kg \cdot atm \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$，0.035 7 $kg \cdot cal \cdot mol^{-1} \cdot K^{-1}$；

T—热力学温度，K。

二、实验用品

1. 材料：洋葱鳞茎、紫鸭趾草叶片等。

2. 试剂：1.00 $mol \cdot kg^{-1}$ 蔗糖溶液或甘露醇溶液。

3. 器材：显微镜，载玻片，盖玻片，温度计，尖头镊子，刀片，移液管，培养皿，试剂瓶，烧杯，容量瓶，量筒，吸管，吸水纸等。

三、实验内容与操作

1. 取干燥、洁净的培养皿 9 套编号，以 1.00 $mol \cdot kg^{-1}$ 的蔗糖溶液为母液，用蒸馏水稀释成 0.20、0.25、0.30、0.35、0.40、0.45、0.50、0.55、0.60 $mol \cdot kg^{-1}$ 溶液，摇匀后备用。

2. 用刀片在洋葱鳞茎内表皮上划出大小为 0.5 cm×0.5 cm 的小方格，用镊子剥取表皮

(注意撕下表皮的厚度要适当)。立即投入不同浓度的蔗糖溶液中(由高浓度向低浓度),每一浓度放入4～5片表皮块,使表皮完全浸入溶液。

3.表皮在蔗糖溶液中浸泡15～20 min后,从最高浓度的蔗糖溶液开始,按原来放入的顺序取出表皮,在载玻片上滴1～2滴相应浓度的蔗糖溶液,加盖玻片,在显微镜下观察5个以上视野,记录并计算质壁分离的情况。找出引起50%以上的细胞发生初始质壁分离(即原生质刚刚从细胞壁的角隅处与细胞壁分离)的蔗糖溶液浓度,以及不足50%的细胞发生质壁分离或不产生质壁分离的蔗糖溶液浓度。

4.重新配制上述结果两种浓度的蔗糖溶液,用新的表皮重复实验1～2次,直到实验结果符合要求。这两种蔗糖溶液渗透势的平均值即为细胞液的渗透势。

5.结果计算

根据 $\psi_s = -ibRT$ 计算植物细胞的渗透势。

四、注意事项

1.撕下的表皮组织必须完全浸没于蔗糖溶液中,浸没时间不能过短,否则会影响实验结果。

2.选用有色素的洋葱鳞茎外表皮实验效果较好。

五、思考题

1.配制蔗糖溶液时为何用质量摩尔浓度($mol \cdot kg^{-1}$)而不用物质的量浓度($mol \cdot L^{-1}$)?

2.发生细胞质壁分离时,植物细胞的水势由什么组成?

3.哪些情况下可能发生细胞质壁分离?采用什么措施才能使质壁分离的细胞复原?

4.什么是植物细胞的渗透势,它在细胞与周围环境的水分平衡中起什么作用?

需要全本请访问 www.ertongbook.com