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% 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。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

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℃烘箱中烘干至恒重，以计算水的百分含量。

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质量浓度为 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℃。

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浓度 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浓度 B_1。

9. 计算：按下式计算植物样品中自由水的百分含量。

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

式中：β 为自由水的百分含量；

m_B 为加入样品中蔗糖溶液的质量；

B_1 为原蔗糖溶液质量浓度百分数；

B_2 为加样后糖溶液的质量浓度百分数；

m_f 为植物样品鲜重。

公式(1)还可根据如下关系导出：

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

$$m_A = \frac{m_B (B_1 - B_2)}{B_2} \qquad (2)$$

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

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 = 组织水含量 - 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℃。

【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. 束缚水含量为什么与植物的抗性有关？

参 考 文 献

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

（华东师范大学　　沈宗英）

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。这种渗透势相等的溶液称为等渗溶液。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 0.1、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

【实验步骤】

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

2. 从 0.50 mol/L 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质液的渗透势。

$$-\varphi_s = RTiC_1$$

式中：$-\varphi_s$ 为细胞渗透势；

R 为气体常数 $= 0.083 \times 10^5$ L·Pa/mol·K；

T 为热力学温度，单位 K；即 $273 + t$，t 为实验温度，单位是 ℃；

i 为解离系数，蔗糖为 1；

C_1 为等渗溶液的质量摩尔浓度，单位是 mol/kg；

则

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

由于实验用的蔗糖溶液浓度单位为 mol/L，因此需要按下式对其浓度进行修正。

$$\text{质量摩尔浓度(mol/kg)} = \frac{C_2 \times 1\,000}{1\,000 \times \rho - M_B C_2}$$

式中：C_2 为溶质分子的物质的量浓度（原称摩尔数），即等渗的蔗糖浓度，单位是 mol/L；

ρ 为蔗糖溶液的密度。单位是 g/mL(见附表 6)；

M_B 为蔗糖的摩尔质量，即 342.3 g/mol。

【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

1. 魏海姆 FH 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

2. 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

3. 黄群声. 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

4. Boyer J S. Measurement of the water status of plants. Ann. Rev. Plant Physiology. 1969. 20：351～364

5. Noggle G R，*et al*. Introductory plant physiology. Prentice-Hall Inc.，1976，403～406

6. Victor AG. Plant Function and Structure，The MacMillan Company. New York：Collier-MacMillan Publishers. London. 1973，183～192

＊编者根据文献 2、3对原内容作了修改

（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，如果植物组织的水势（Ψ_{cell}）小于某一溶液的水势（Ψ_{out}），则组

需要全本请访问 www.ertongbook.com

织吸水，反之组织失水。若两者相等，水分交换保持动态平衡。组织的吸水或失水会使溶液的浓度、密度、电导率以及组织本身的体积与质量发生变化。根据这些参数的变化情况可确定与植物组织等水势的溶液。

液体交换法测定水势的方法有多种，这里选择其中 2 种方法，各种方法的原理列于表 1-1。可让学生比较这 2 种测定方法所得结果，总结各种方法的优缺点，也可根据条件选择其中一种方法。

表 1-1　液体交换法测定水势的种类与原理

判据 $\Delta\Psi = \Psi_{out} - \Psi_{cell}$	组织的水分得失	外液的密度变化	外液的浓度变化	外液的电导变化
$\Delta\Psi > 0$	吸水	升高	增加	增高
$\Delta\Psi < 0$	失水	降低	降低	降低
$\Delta\Psi = 0$	平衡	不变	不变	不变
测定方法		小液流法	折射仪法	电导仪法
使用器材		用毛细移液管测定外液的密度变化	用折射仪测定外液的浓度变化	用电导仪测定外液的电导率变化
适用的材料		叶片或碎的组织	叶片或碎的组织	叶片或碎的组织

Ⅰ　小 液 流 法

【器材与试剂】

1. 实验仪器　试管，移液管，直角弯头的毛细滴管，直径 0.5 cm 打孔器，镊子

2. 实验试剂　1.00 mol/L 蔗糖溶液，甲烯蓝

3. 实验材料　玉米或菠菜叶片

【实验步骤】

1. 用 1.00 mol/L 蔗糖母液配制一系列不同浓度的蔗糖溶液(0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mol/L)各 10mL，注入 8 支编好号的试管中，各管都加上塞子，按编号顺序在试管架上排成一列，作为对照组。

2. 另取 8 支试管，对应于对照组各管编号，作为试验组。然后从对照组的各管中分别取 4mL 溶液移入相同编号的试验组试管中，并都加上塞子。

3. 用打孔器在玉米或菠菜叶片中部靠近主脉附近打取叶圆片，随机取样，向试验组的每一试管中放入相等数目（15 ~ 30 片）的叶圆片，加塞，放置 30 min，其间并摇动数次。到时间后，用大头针沾取少许甲烯蓝粉末加入每一试管中，并振荡，此时溶液呈蓝色。

4. 用 8 支毛细滴管从试验组的各管中依次吸取着色的液体少许，然后伸入对照组同样浓度溶液的中部，缓慢从毛细滴管尖端横向放出一滴蓝色溶液，轻轻取出滴管，观察蓝色液滴的移动方向。如果蓝色液滴向上移动，说明溶液从叶片细胞中吸出水分而被冲淡，密度比原来小了；如果液滴向下移动，则说明叶片细胞从溶液中吸了水分，溶液密度变大；如果液滴不动，则说明叶片与溶液的水分交换平衡，即叶片的水势与此种浓度的溶液的渗透势相等。

5 根据公式计算叶片细胞的水势。

$$\Psi_{cell} = \Psi_{out} = -icRT$$

式中：Ψ_{cell} 为植物细胞水势；

Ψ_{out} 为外界溶液渗透势；

i 为解离系数，蔗糖为 1；

c 为小液滴在其中基本不动的溶液的浓度单位为 $mol \cdot L^{-1}$；

R 为摩尔气体常数，$R = 0.083 \times 10^5$ L·Pa/mol·K；

T 为热力学温度单位 K，即 $273 + t$，t 为实验温度，单位是 ℃.

注：按实验 2 修正后的浓度 c 代入上式

Ⅱ 折 射 仪 法

【器材与试剂】

1. 实验仪器：阿贝折射仪，温度计，试管，移液管，直径 0.5 cm 打孔器，镊子

2. 实验试剂：1.00 mol/L 蔗糖溶液

3. 实验材料：玉米或菠菜叶片

【实验步骤】

1. 用 1.00 mol/L 蔗糖母液配制一系列不同浓度的蔗糖溶液（0.1、0.2、0.3、0.4、0.5、0.6、0.7、0.8 mol/L） 各 5 mL，注入 8 支编好号的试管中，各管都加上塞子，按编号顺序在试管架上排成一列。

2. 用折射仪分别测定 1—8 管的折光系数，折射仪接上自来水加以恒温。

3. 用打孔器在叶片中部靠近主脉附近打取叶圆片，随机取样，浸入 1—8 号试管中，每管放入相等数目(15 ~ 30 片）的叶圆片，加塞，放置 2 h，其间摇动数次。然后用折射仪再次测定蔗糖溶液的折光系数。

4. 从前后两次测定其折光系数不变或变化很小的试管中的糖浓度即为等渗浓度或近似等渗浓度。叶片的水势与此种浓度的溶液的渗透势相等。

5. 根据公式计算叶片细胞的水势。

$$\Psi_{cell} = \Psi_{out} = -icRT \qquad \text{（同小液流法）}$$

【注意事项】

1. 小液流法中用的滴管尖端弯成直角，以保证从滴管出来的液滴不受向下力的影响。

2. 折射仪法前后两次测定溶液的折光系数时的温度必须一致。

【实验作业】

1. 比较这两种水势测定方法的优越性？测定材料为叶片时，用其小圆片与外液进行水分交换，有何缺点？

2. 用小液流法测定植物组织的水势与质壁分离法测定植物细胞的渗透势都是以外界溶液的浓度算出的溶质势，它们之间的区别何在？

参 考 文 献

1. 薛应龙主编．植物生理学实验．北京：高等教育出版社，1985．34 ~ 37

2. 斯卡兹金 ΦД 等著．植物生理学实验指导．北京农业大学植物生理教研组等译．北京：高等教育出版社，1954．136 ~ 140

（辽宁师范大学　李建之　华东师范大学　李小方）

实验 1 – 4　蒸腾强度的测定

【实验目的】

了解测定蒸腾强度的两种不同方法，钴纸法是测定蒸腾时失去的水量，而容量法是测定由于蒸腾作用植物从外界新吸收的水量。

Ⅰ 钴 纸 法

【实验原理】

本方法系根据氯化钴纸在干燥时为蓝色，吸收水分后变成粉红色，根据变色所需时间的长短，然后按钴纸吸水量计算出作物的蒸腾强度。

【器材与试剂】

1. 实验仪器　分析天平，软木塞，烘箱，干燥器，剪刀，镊子，玻璃板，载玻片，薄橡皮，有塞小试管，光照培养箱，秒表

2. 实验试剂　5%的氯化钴溶液（9.2 g $CoCl_2 \cdot 6H_2O$ 用蒸馏水配成 100 mL，其中滴几滴盐酸调成弱酸性）

3. 实验材料　可选择不同植物或品种的功能叶片，或同一植物不同部位的叶片

【实验步骤】

1. 钴纸的准备　选取优质滤纸，剪成 0.8 cm 宽，20 cm 长的滤纸条，浸入 5%氯化钴溶液中，待浸透后取出，用吸水纸吸去多余的溶液，将其平铺在干燥洁净的玻璃板上，然后置于 60～80 ℃ 烘箱中烘干，选取颜色均一的钴纸条，小心而精确地切成 0.8 cm 的小方块，再行烘干，取出贮于有塞小试管中，再放入硅胶干燥器中备用。

2. 钴纸标准化　用前需测出每一小方块钴纸由蓝色转变成粉红色吸收的水量。将分析天平置于 25 ℃、53%相对湿度的光照培养箱中，取 1～2 片钴纸小方块在分析天平上称重，并计下开始称重的时间，并每隔 1 min 记一次质量，等钴纸由蓝色全部转变成粉红色时，要立即准确地记下质量和时间。如此重复数次，计算出钴纸小方块由蓝色变为粉红色时平均吸收多少水分，以 mg 表示，作为钴纸吸水量。

3. 蒸腾强度的测定　取两块载玻片及与其大小一致的薄橡皮一块，在其中央开 1 cm^2 的方孔，用胶水将它固定在一块载玻片上，另准备一只弹簧夹。用镊子从干燥器（管）中取出钴纸小块，放在载玻片上的橡皮方孔中，立即置于待测作物叶片的背面（或正面），将另一玻片在叶片的正面（或反面）的相应位置上，用夹子夹紧，同时记下时间，注意观察钴纸颜色的变化，待钴纸全部变为粉红色时，记下时间。并以未夹叶片的相同装置作空白测定。重复 3 次。叶片 1 cm^2 蒸腾水量即是钴纸的标准吸水量减去空白测定值。根据钴纸变为粉红色

的时间，计算出叶片的蒸腾强度，其单位是： $mg/cm^2 \cdot min^{-1}$ 。也可根据钴纸变色所需时间的长短，比较蒸腾作用的相对强度，作半定量测定。

本实验可选择不同植物或品种的功能叶片，或同一植物不同部位的叶片，或测定植物在不同环境条件下(如不同湿度、温度、风速或光暗)的蒸腾强度。

Ⅱ 容 量 法

【实验原理】

带叶的枝条插在一定体积的水中，由于叶子的蒸腾作用，使容器中水的体积不断减少，通过水体积的减少，即可计算蒸腾强度。即在单位时间内，单位叶面积散失的水量，常以 $g/m^2 \cdot h$ 表示。外界环境条件，如光、温度、风速等都会影响蒸腾强度。

【器材与试剂】

1. 实验仪器　标本筒，软木塞，1 mL移液管，小分液漏斗，100 W 台灯，吹风机

2. 实验试剂　凡士林

3. 实验材料　一枝生长健壮的带叶枝条

【实验步骤】

1. 选取一个与标本筒相匹配的软木塞，按图 1 - 1 所示安装好所需的测定装置。标本筒中装满水。

2. 选取一枝生长健壮的枝条，在水中将枝条基部剪去一段，插入软木塞的一个孔中，在孔的周围涂上凡士林，以防漏气。盖紧软木塞，打开分液漏斗活塞，加入水，使标本筒和水平放置的移液管中都充满水，不能留有气泡。检查整个系统是否漏气、漏水，发现漏气、漏水处可用凡士林封好。最后关闭分液漏斗活塞。

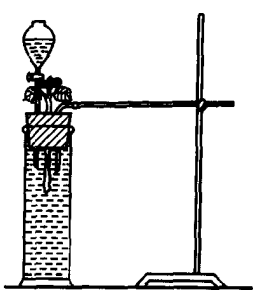


图 1 - 1　测定蒸腾强度的装置

3. 在距离枝条约 20 cm放置一个 100 W 台灯，照光期间保持叶面温度在 25 ~ 28 ℃ 。当移液管内水柱的凹液面移动到刻度时，开始计时。每 0.5 h 记录 1 次移液管中液面的位置，共计 2 次；在距离枝条 15 cm 处用吹风机吹风，记录叶表面温度，每 0.5 h 记录一次移液管中液面的位置，共计 2 次；在室内自然

光和无吹风的情况下按上述方法记 3 次读数，作为对照。如果蒸腾作用强，已超出移液管读数，则需从分液漏斗向容器补水，重新开始记录读数。

4. 实验结束后，将叶片剪下，计算叶面积。方法是：剪取 100 cm^2 的硫酸纸，在分析天平上称重 m_0。在此硫酸纸上画出并剪下叶片的实际形状，称重 m_1，叶面总面积 S 即为：

$$S = (m_1 / m_0) \times 100$$

5. 计算蒸腾强度 Q：

$$Q = m/(St)$$

式中：Q 为蒸腾强度（$g/m^2 \cdot h$）；

m 为由于蒸腾作用失去水的质量（根据失水的体积换算成质量）；

S 为叶面积；

t 为照光或吹风时间。

根据上式公式，分别计算在照光、吹风和对照条件下植物的蒸腾强度。

【注意事项】

1. 钴纸法　干燥后的标准钴纸颜色要均匀一致，测定时方孔小室不能漏气。

2. 容量法　枝条剪下后需迅速插入水中，并在水中将基部剪去一段，以防空气进入导管。整个装置必须不漏气。

【实验作业】

1. 实验用的枝条为什么要在水中剪下，不这样做会出现什么问题？

2. 比较不同条件下植物的蒸腾强度，说明蒸腾强度不同的原因。

参 考 文 献

1. 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，1974，136～140

2. 张东向，郝延龄，郑蔚虹. 测定植物蒸腾速率方法的一点改进. 植物生理学通讯，1996，32(6)：446～447

3. 朱广廉，钟诲文，张爱琴. 植物生理学实验. 北京：北京大学出版社，1990

（华东师范大学　沈宗英　李小方）

需要全本请访问 www.ertongbook.com

实验 1－5　环境因子对植物吐水的影响（示范）

【实验目的】

展示植物排出的另一种水分形态，以及与环境条件的关系。

【实验原理】

植物在正常生长状况下，从叶的尖端或叶的边缘（叶脉终止部位）的水孔排出水滴，这种现象称为吐水，这是一种由根压产生的正常的生理现象。外界的环境条件，如温度、湿度、土壤溶液的水势，以及根系的损伤等都会影响到幼苗的吐水活动。

【器材与试剂】

1. 实验仪器　玻璃钟罩，玻璃缸，冰块

2. 实验试剂　10% NaCl 溶液，三氯甲烷，食盐

3　实验材料　经盆栽的小麦、玉米或旱金莲幼苗或在铺有滤纸或沙子的培养皿上培育的幼苗

【实验步骤】

1. 实验前一周在塑料花盆中种上小麦、玉米或旱金莲幼苗，或在铺有滤纸或沙子的培养皿上培育的幼苗。

2. 将钟罩罩住有幼苗的盆，由于植物蒸腾作用而使罩内空气湿度增加，蒸腾作用因而减弱，经过一定时间后植物即开始以吐水来排除多余的水分。观察幼苗吐水时，用脱脂棉或滤纸吸去植株幼苗上的水滴，注意水滴重新出现，并记下水滴形成的速度。重复 2～3 次，算出平均速度。

3. 低温对植物吐水的影响　在一较大玻璃缸（或脸盆）中放入冰水或冰块，并加适量的食盐使溶液的温度降得更低，将具有吐水现象的植物的盆钵置于其中，用滤纸吸去幼苗上的水滴，罩上钟罩观察低温对吐水有什么影响，也可用冰水直接浇灌进行观察。

4　降低土壤水势对吐水的影响　　在栽有幼苗的盆中加入 10% NaCl［或 $(NH_4)SO_4$］直至使土壤潮湿为止，用滤纸吸去幼苗上的水滴，罩上钟罩进行观察。

5. 抑制根系活动的影响　用滤纸吸去正常植株的吐水后，取少量脱脂棉沾上三氯甲烷后放入幼苗丛中，罩上钟罩进行观察。

【注意事项】

必须使植物生长的空气中的湿度达饱和。

【实验作业】

思考出现实验结果的原因。

参 考 文 献

斯卡兹金 ΦД 等．植物生理学实验指导北京农业大学植物生理教研组等译．北京：高等教育出版社，1954．50～52

（华东师范大学　　沈宗英）

实验 1－6　植物叶子气孔密度和面积的测定

【实验目的】

了解叶子正背面气孔的数量，气孔面积占叶面积的百分数。

【实验原理】

在植物的蒸腾作用过程中，气孔蒸腾占着极重要的地位，而气孔在叶面上的数目及孔度的大小与气孔蒸腾的强度有密切的关系，因此了解气孔在叶面上的分布和面积，对于理解植物的蒸腾作用有着重要的意义。

单位面积上气孔的数目可先用显微镜数得每一视野中气孔的数目，而后用物镜测微尺量得视野的直径，求得视野面积，由此而计算单位叶面上气孔的数目。气孔面积的测量借助于显微镜描绘器，在坐标纸上绘图后求得。

【器材与试剂】

1．实验仪器　显微镜，物镜测微尺，绘图仪（或显微镜描绘器），载玻片，盖玻片，坐标纸

2．实验试剂

3．实验材料　新鲜叶片

【实验步骤】

1. 测定气孔数目及密度　　将新鲜叶片上（或下）表皮制片，置于显微镜下计算视野中气孔的数目（选择用低倍镜还是高倍镜，决定于表皮上气孔的数目），移动制片，在表皮的不同部位进行 5 ~ 6 次计数，求其平均值。随后用物镜测微尺量得视野的直径，则半径 r 为已知，按公式 $S = \pi r^2$（S 为视野面积）计算视野面积，用视野中气孔的平均数除以视野面积，即可求出气孔的密度，以“1 mm^2 气孔数”表示。

2. 测量气孔的面积　　已求得气孔的密度，要测量单位叶面积上气孔的总面积，只要测得一个气孔的平均面积就可以了。

用图钉将坐标纸固定在显微镜右面的桌面上，调节描绘器上的反光镜，使成 45° 倾斜，然后调节光线亮度，使气孔与坐标纸的形象在显微镜视野中重合，用铅笔在坐标纸上绘若干个气孔图，这样放大后的气孔面积即可从坐标纸上计算得知。例如绘在坐标纸上气孔的面积等于 30 mm^2，要求计算出气孔的实际面积，还必须要知道显微镜的放大倍数。为此，取物镜测微尺置于显微镜下，如前法绘若干测微尺的刻度于坐标纸上，以确定放大后的测微尺每一刻度相当于若干毫米，由于物镜测微尺每一小格刻度的实际长度为 10 μm 是已知的，所以显微镜的放大倍数即可求得。例如测微尺的每一刻度等于坐标纸上的 5 mm，那么显微镜的放大倍数即为 500。

确定了长度的放大倍数后，还需要算出面积的放大倍数，由上面可知实际面积为 100 μm^2，经放大后则得 25 mm^2。用比例法即可求得气孔的实际面积。

$$\text{气孔的实际面积} = \frac{100\ \mu m^2 \times 30\ mm^2}{25\ mm^2} = 120\ \mu m^2$$

【注意事项】

表皮不易撕开的叶子，可用火棉胶制取叶子表面模型，然后进行测定。

【实验作业】

计算所测植物叶子上、下表皮的气孔密度，及气孔面积占叶面积的百分数。

参 考 文 献

1. 斯卡兹金 ΦД 等. 植物生理学实验指导. 北京农业大学植物生理教研

组等译　北京：高等教育出版社，　1954．69～71

2．颜季琼等．植物生理学实验指导．上海：上海科学技术出版社，　1959．19～21

（华东师范大学　　沈宗英）

实验 1－7　钾离子对气孔开度的影响

【实验目的】

观察钾离子在气孔开张中的作用。

【实验原理】

保卫细胞的渗透系统可由钾离子所调节，无论是环式或非环式光合磷酸化，都可形成 ATP。ATP 不断供给保卫细胞原生质膜上的钾－氢离子交换泵作功，支持保卫细胞逆着离子浓度差而从周围表皮细胞吸收钾离子，降低保卫细胞的渗透势，从而使气孔张开。

【器材与试剂】

1．实验仪器　显微镜，培养皿，温箱，镊子，载玻片，盖玻片

2．实验试剂　0.5％硝酸钾，0.5％硝酸钠

3．实验材料　盆栽蚕豆

【实验步骤】

1．配 0.5％ KNO_3 及 0.5％ $NaNO_3$ 溶液。

2．在 3 个培养皿中分别放入 0.5％ KNO_3、0.5％ $NaNO_3$ 及蒸馏水各 15 mL。

3．于实验前 1 h 用两支 1 000 W 碘钨灯对盆栽蚕豆进行照光处理，其间随时用水喷洒叶片，以保持叶片润湿，促使气孔开放。

4．从植株取一叶片，撕取下表皮，做镜检。如有相当部分的气孔已张开，则可进行下列实验。

5．撕蚕豆叶表皮若干放入上述 3 个培养皿中。

6．将培养皿置于 1 000 W 碘钨灯光照下照光 1～1.5 h。

7．分别在显微镜下观察气孔的开度。

【注意事项】

实验前用光照进行预处理，以促使气孔开张，对实验成功至关重要。

【实验作业】

试比较在何种溶液中气孔的开度最大？为什么？说明原因。

参 考 文 献

1. Dayandan P, Kaufman P B. Stomatal movements associated with Potassium Fluxes. Amer. J. Bot.. 1975 (62): 221

2. Raschke K. Fellows M P. Stomatal movements in *Zea mays*: Shuttle of *P*otassium and *C*hloride *B*etween *G*uard *C*ells and *S*ubsidiary *C*ells. Planta, 1971 (101): 296 ~ 316

3. 黄群声，“钾离子对气孔开度的影响”实验的改进．植物生理学通讯，1997. 33(1)：53 ~ 54

编者根据文献 3，对原内容已作了修改。

（首都师范大学　　丁以珊）

实验 1－8　气孔运动与 K^+ 迁移

【实验目的】

观察钾离子移动方向与气孔开张的关系。

【实验原理】

气孔开关的钾离子泵学说认为，在光下，保卫细胞或副卫细胞内钾离子累积，细胞内的渗透势降低，从而吸水膨胀，使气孔张开；反之，在暗中，保卫细胞或副卫细胞内的钾离子外流，气孔关闭。

用亚硝酸钴钠的组织化学染色法，在显微镜下检查双子叶植物保卫细胞和单子叶植物保卫细胞中的钾离子，钾离子与亚硝酸钴钠形成黄色的亚硝酸钴钠钾沉淀，如再与硫化铵作用则形成 CoS 的黄黑色结晶。

【器材与试剂】

1. 实验仪器　显微镜，镊子，剪刀，　100 W 白炽灯，载玻片和盖玻片

2. 实 验 试 剂 含 5% 硫化铵和 5% 甘油的固定液，　10%的亚硝酸钴钠溶液（称取 10 g 亚硝酸钴钠配成 10% 的溶液，取该溶液 10 mL 加一滴冰醋酸进行酸化，用时现配）

3　实验材料　实验前先将玉米和蚕豆种子播于花盆中，当苗长 30 cm 左右时，即可用作实验材料

【实验步骤】

1. 材料准备与处理　　实验前先将玉米和蚕豆种子播于花盆中，当苗长达 30 cm 左右时，即可用作实验材料。在培养观察中，最好施少量钾肥，特别是冬季在温室内培养时，要防止因缺钾而实验结果不明显。实验前取两盆培养的植物放进暗室，将其中一盆在实验前用 100 W 灯距离花盆 30 ~ 40 cm，照光 1 ~ 2 h。

2. 撕取表皮及染色　　从光、暗处理的植株上分别摘取成熟叶片，用刀片在叶片的下表皮上划出 5 mm × 5 mm 的小方块，再用尖头镊子撕下表皮；把表皮放在冷冻的蒸馏水中冲洗 2 min，以洗去外部的 K^+；然后放入冷冻的亚硝酸钴钠溶液中，染色 15 min 后取出，用冷冻的蒸馏水漂洗一下，迅速转移至 50% 乙醇溶液中漂洗 15 min，漂洗时搅动几次，最好换一次乙醇溶液。此时形成亚硝酸钴钠钾的黄色沉淀物。

以上操作要在 3℃ 以下的条件中或在冰浴中进行。

3. 固定样品　将制备好的样品，放在载玻片上，加一滴含有 5% 硫化铵和 5% 甘油的固定液固定，盖上盖玻片，在显微镜下观察，黄黑色的结晶即为亚硝酸钴钠钾的黄色沉淀在硫化铵作用下形成的 CoS。

【注意事项】

照光结束后检查一下气孔是否已经张开，如已张开则可进行以下实验，否则继续照光或增加光强，直至气孔张开。

【实验作业】

1. 绘图说明在光暗处理中植物保卫细胞中钾离子有否积累？解释其原因。

2. 总结实验成败的经验教训。

需要全本请访问 www.ertongbook.com