植物生理学实验指导

(第三版)

张志良　瞿伟菁　编

高等教育出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

图书在版编目（CIP）

植物生理学实验指导/张志良，瞿伟菁主编．—3版．
—北京：高等教育出版社，2003.7
ISBN 7-04-012168-9

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

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 100011
总　　机 010-82028899

购书热线 010-64054588
免费咨询 800-810-0598
网　　址 http://www.hep.edu.cn

经　　销 新华书店北京发行所
印　　刷 北京铭成印刷有限公司

开　　本 787×960 1/16
印　　张 21.5
字　　数 390 000

版　　次 1980年11月第1版
2003年7月第3版
印　　次 2003年7月第1次印刷
定　　价 24.80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

郑 重 声 明

高等教育出版社依法对本书享有专有出版权。任何未经许可的复制、销售行为均违反《中华人民共和国著作权法》,其行为人将承担相应的民事责任和行政责任,构成犯罪的,将被依法追究刑事责任。为了维护市场秩序,保护读者的合法权益,避免读者误用盗版书造成不良后果,我社将配合行政执法部门和司法机关对违法犯罪的单位和个人给予严厉打击。社会各界人士如发现上述侵权行为,希望及时举报,本社将奖励举报有功人员。

反盗版举报电话:(010)

传真:

E - mail:dd @ hep.com.cn

通信地址:北京市西城区德外大街 4 号

高等教育出版社法律事务部

邮编:100011

购书请拨打读者服务部电话:

责任编辑　吕庆娟
封面设计　张　楠
责任绘图　郝　林
版式设计　陆瑞红
责任校对　王效珍
责任印制

第三版前言

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，有必要对本书作全面修改。为此，作者在向兄弟院校征求意见的基础上对内容作了部分调整，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
吸作用
范大学)
章植物分子生物学
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

需要全本请访问 www.ertongbook.com

目　　录

第一章　水分生理 …… 1
实验1-1　植物组织中自由水和束缚水含量的测定 …… 1
实验1-2　植物组织渗透势的测定 …… 3
实验1-3　植物组织水势的测定 …… 5
Ⅰ　小液流法 …… 6
Ⅱ　折射仪法 …… 7
实验1-4　蒸腾强度的测定 …… 8
Ⅰ　钴纸法 …… 9
Ⅱ　容量法 …… 10
实验1-5　环境因子对植物吐水的影响 …… 12
实验1-6　植物叶子气孔密度和面积的测定 …… 13
实验1-7　钾离子对气孔开度的影响 …… 15
实验1-8　气孔运动与 K^+ 迁移 …… 16
实验1-9　小孔的扩散 …… 18
实验1-10　植物伤流液中糖、氨基酸及矿质元素的点滴分析 …… 20

第二章　矿质营养 …… 23
实验2-1　植物的元素缺乏症 …… 23
实验2-2　单盐毒害及离子间拮抗作用 …… 26
实验2-3　植物对离子的选择性吸收 …… 27
实验2-4　离体根对铵离子的交换吸收 …… 28
实验2-5　氧对小麦离体根吸收 K^+ 的影响 …… 31
实验2-6　植物对磷的吸收和运输 …… 33
实验2-7　根系体积的测定 …… 34
实验2-8　根系活力的测定 …… 35
Ⅰ　α-萘胺氧化法 …… 36
Ⅱ　甲烯蓝吸附法 …… 38
Ⅲ　氯化三苯基四氮唑 …… 39
实验2-9　硝酸还原酶活性的测定 …… 41
Ⅰ　活体法 …… 41

Ⅱ 离体法 …… 43
实验 2 - 10 植物灰分元素的分析鉴定 …… 44
实验 2 - 11 植物组织可挥发性元素的鉴别 …… 46
实验 2 - 12 植株中硝态氮的测定 …… 48
实验 2 - 13 植株磷素的测定 …… 50
实验 2 - 14 植株中总铁量的测定 …… 52
Ⅰ 硫氰化物法 …… 52
Ⅱ 邻二氮杂菲 …… 54
实验 2 - 15 用脱乙酰几丁质富集水中痕量的铜 …… 55
实验 2 - 16 微量元素铜的测定 …… 57
实验 2 - 17 细胞内游离 Ca^{2+} 的测量 …… 59
[…… 60

第三章 光合作用 …… 62
实验 3 - 1 叶绿体色素的提取、分离及理化性质的鉴定 …… 62
实验 3 - 2 叶绿体色素的分离和吸收光谱曲线 …… 64
实验 3 - 3 叶绿素 a、b 含量测定 …… 67
实验 3 - 4 细胞中总叶绿素含量的测定 …… 70
实验 3 - 5 植物光合强度的测定 …… 73
Ⅰ 改良半叶法 …… 73
Ⅱ 氧电极法 …… 75
Ⅲ pH 比色法 …… 76
实验 3 - 6 藻类植物光合强度测定 …… 80
实验 3 - 7 环境因素对光合作用的影响 …… 83
Ⅰ 量气法 …… 83
Ⅱ 叶圆片上浮法 …… 85
实验 3 - 8 离体叶绿体光还原反应 …… 86
实验 3 - 9 叶绿体偶联因子 $_1$) …… 89
实验 3 - 10 乙醇酸氧化酶活性测定 …… 91
实验 3 - 11 二磷酸核酮糖羧化酶 - 加氧酶的羧化活性的测定 …… 93
实验 3 - 12 二磷酸核酮糖羧化酶 - 加氧酶的加氧活性的测定 …… 95

第四章 呼吸作用 …… 98
实验 4 - 1 植物呼吸强度的测定 …… 98
Ⅰ 简易测定法 …… 98

II　小篮子法 …… 99
III　呼吸比重瓶法 …… 100
实验 4 - 2　呼吸商的测定 …… 103
实验 4 - 3　呼吸抑制剂对呼吸作用的影响 …… 104
实验 4 - 4　离体线粒体的氧化作用和磷酸化作用 …… 106
实验 4 - 5　线粒体膜电位的比较测量 …… 110
实验 4 - 6　NADP 磷酸酶活性测定 …… 111
实验 4 - 7　丙酮酸激酶活性的测定 …… 113
实验 4 - 8　磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定 …… 114
实验 4 - 9　植物组织中几种酶的组化定位鉴定 …… 116
实验 4 - 10　多酚氧化酶活性的测定 …… 120
实验 4 - 11　过氧化氢酶活性的测定 …… 121
实验 4 - 12　过氧化物酶活性的测定 …… 123
I　比色法 …… 123
II　化学发光法 …… 124

第五章　物质代谢 …… 127
实验 5 - 1　碳水化合物含量的测定 …… 127
I　可溶性总糖类的测定 …… 127
II　蔗糖的测定 …… 128
III　葡萄糖的测定 …… 129
A. 比色法 …… 129
B. 化学发光法 …… 130
IV　果糖的测定 …… 131
V　淀粉的测定 …… 132
VI　粗纤维含量的测定 …… 133
实验 5 - 2　碳水化合物代谢酶的测定 …… 135
I　α- 淀粉酶与 β- 淀 …… 135
II　蔗糖合成酶和蔗糖磷酸合成酶活性的测定 …… 137
实验 5 - 3　粗脂肪的提取和测定 …… 138
实验 5 - 4　油脂酸价的测定 …… 140
实验 5 - 5　油脂皂化值的测定 …… 141
实验 5 - 6　油脂碘价的测定 …… 143
实验 5 - 7　油脂过氧化值的测定 …… 145
实验 5 - 8　脂肪水解酶活性的测定 …… 146

实验 5 - 9 DNA 的提取和分离十六烷三乙基溴化铵法 …… 148
实验 5 - 10 核酸的测定 …… 149
Ⅰ 标准浓度法 …… 149
Ⅱ 等吸光点法 …… 151
实验 5 - 11 蛋白质的提取 …… 152
实验 5 - 12 蛋白质的测定 …… 154
Ⅰ 微量凯氏定氮法 …… 154
Ⅱ 双缩脲法 …… 157
Ⅲ Folin - 酚试剂法 …… 158
Ⅳ 考马斯蓝染料结合法 …… 159
Ⅴ 紫外吸收法 …… 160
实验 5 - 13 蛋白质特性分析 …… 162
Ⅰ 蛋白质组分分析 …… 162
Ⅱ 蛋白质相对分子质量的测定 …… 164
Ⅲ 蛋白质等电点的测定 …… 166
实验 5 - 14 转氨酶 …… 167
实验 5 - 15 酰脲含量的测定 …… 169
实验 5 - 16 细胞内蛋白质含量的测定 …… 171
[…… 172
实验 5 - 17 总黄酮含量的测定 …… 173
实验 5 - 18 茶多酚含量的测定 …… 175
实验 5 - 19 穿心莲总内酯的含量测定 …… 177
实验 5 - 20 齐墩果酸的薄层色谱检测 …… 179
实验 5 - 21 挥发油含量测定 …… 180

第六章 植物激素 …… 183
实验 6 - 1 吲哚乙酸 …… 183
实验 6 - 2 生长素含量测定 …… 185
实验 6 - 3 吲哚乙酸氧化酶活性的测定 …… 188
实验 6 - 4 赤霉素 3)
“点滴法”) …… 190
实验 6 - 5 GA_3 对小麦种子 α - 淀粉酶的诱导形成 …… 192
实验 6 - 6 酶联免疫法测定脱落酸 …… 195
实验 6 - 7 细胞分裂素含量测定 …… 197
实验 6 - 8 细胞分裂素对花色素苷积累的影响 …… 198

实验 6 - 9　生长调节剂对黄瓜性别表达的作用 …… 200
实验 6 - 10　生长调节剂对果实发育的影响 …… 202
实验 6 - 11　植物生长调节剂对植物插条不定根发生的影响 …… 203

第七章　生长发育 …… 206
实验 7 - 1　种子活力的快速测定 …… 206
Ⅰ　氯化三苯基四氮唑法 …… 206
Ⅱ　溴麝香草酚蓝法 …… 207
Ⅲ　红墨水染色法 …… 208
Ⅳ　纸上荧光法 …… 208
实验 7 - 2　种子活力的测定 …… 210
Ⅰ　抗冷法 …… 211
Ⅱ　砂压法 …… 211
Ⅲ　低温法 …… 212
[…… 213
Ⅳ　电导法 …… 213
Ⅴ　加速衰老法 …… 214
实验 7 - 3　人工种子的制备方法 …… 216
实验 7 - 4　微型细胞大小的测量 …… 217
实验 7 - 5　细胞生长周期测定 …… 220
实验 7 - 6　花粉活力的测定 …… 223
Ⅰ　碘 - 碘化钾 …… 223
Ⅱ　过氧化物酶测定法 …… 224
Ⅲ　氯化三苯基四氮唑法 …… 225
实验 7 - 7　花粉管生长的测定 …… 226
[…… 226
实验 7 - 8　谷类种子萌发时淀粉酶的形成 …… 229
实验 7 - 9　谷类种子萌发时淀粉酶活性的测定 …… 230
实验 7 - 10　油类种子萌发时脂肪酸含量的变化 …… 232
实验 7 - 11　大豆萌发时氨基酸含量的变化 …… 233
实验 7 - 12　光对植物叶绿体运动的调控作用 …… 235
实验 7 - 13　H^+ 流向与植物生长模式 …… 236
实验 7 - 14　植物开花的光周期诱导 …… 238
Ⅰ　苍耳的光周期诱导 …… 238

Ⅱ 日本青萍 6746 的光周期诱导…… 240
实验 7 - 15 春化蛋白的诱导形成与检测 …… 242
实验 7 - 16 胚珠的离体受精 …… 245
实验 7 - 17 植物的组织培养 …… 248
Ⅰ 愈伤组织的培养和分化…… 248
Ⅱ 原生质体的分离和培养…… 250
Ⅲ 离体培养下的花芽分化…… 251

第八章 植物与环境…… 254
实验 8 - 1 植物的向性运动 …… 254
实验 8 - 2 花粉管生长的趋性 …… 255
实验 8 - 3 高温和低温对植物的伤害 …… 256
实验 8 - 4 渗透胁迫与脯氨酸的积累 …… 258
实验 8 - 5 冷胁迫对质膜 H^+ - ATPase 活性的影响 …… 260
实验 8 - 6 干旱处理对叶片脂氧合酶活性的影响 …… 262
[…… 264
实验 8 - 7 盐胁迫蛋白的检测 …… 265
实验 8 - 8 超氧化物歧化酶活性的测定 …… 268
Ⅰ 比色法…… 268
Ⅱ 邻苯三酚自氧化法 …… 270
实验 8 - 9 植物膜脂脂肪酸的分析 …… 271
实验 8 - 10 丙二醛 …… 274
实验 8 - 11 苯丙氨酸解氨酶 …… 277
实验 8 - 12 植物根系分泌物的观察 …… 279
实验 8 - 13 微微型浮游植物的识别和细胞亚群
丰度测定 …… 280
实验 8 - 14 浮游植物丰度测定 …… 287

第九章 分子生物学…… 290
实验 9 - 1 非洲菊 Gerbera hybrida) CHS 基因的表达 …… 290
Ⅰ 总 RNA 的提取 …… 290
Ⅱ CHS 基因片段的获得和探针制备 …… 292
Ⅲ Northern 印迹法 …… 296
实验 9 - 2 发根农杆菌对黄瓜的遗传转化及检测
抗生素抗性及冠瘿碱检测) …… 299

需要全本请访问 www.ertongbook.com

附录 …… 304
附表 1　常用酸碱的浓度 …… 304
附表 2　常用缓冲溶液的配制 …… 304
附表 3　几种常用缓冲剂的 pK_a 值 …… 310
附表 4　常用酸碱指示剂 …… 311
附表 5　泛用酸碱指示剂 …… 312
附表 6　蔗糖浓度、密度与折射率换算表 …… 312
附表 7　离心机转速与相对离心力的换算 …… 313
附表 8　提高溶液饱和度 % 时应加入硫酸铵的克数 …… 314
附表 9　透光率和光密度换算表 …… 315
附表 10　一些化合物的光谱数据 …… 323
附表 11　不同温度及 pH 条件下反应瓶中二氧化碳含量 …… 324
附表 12　不同温度下以空气饱和的水中的氧含量 …… 326
附表 13　常用植物激素的一些化学特性 …… 326
附表 14　植物组织和细胞培养常用培养基成分 …… 326
附表 15　常用培养基附加成分 …… 327

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

【

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。

【

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。

【

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

【

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℃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

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。

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

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

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 $m_B + m_A)$ $B_2)$

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

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

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

式

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

【

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℃。

【

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)

【

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。

【

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。

【

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

【

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。

$$-\phi_s = RTiC_1$$

式中：$-\phi_s$ 为细胞渗透势；

R 为气体常数 $= 0.083\times10^5$ 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 $-\phi_s = 0.083\times10^5\times$ t)×1× 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。

$$\text{质量摩尔浓度 mol/kg} = \frac{C_2\times1\,000}{1\,000\times\rho - M_B C_2}$$

式中：C_2 为溶质分子的物质的量浓度(原称摩尔数)

位是 mol/L；

ρ 为蔗糖溶液的密度。单位是 g/mL

M_B 为蔗糖的摩尔质量，即 342.3 g/mol。

【

撕下的表皮组织必须完全浸没于溶液中。

【

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

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

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)

【

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。

【

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}) Ψ_{out})

需要全本请访问 www.ertongbook.com