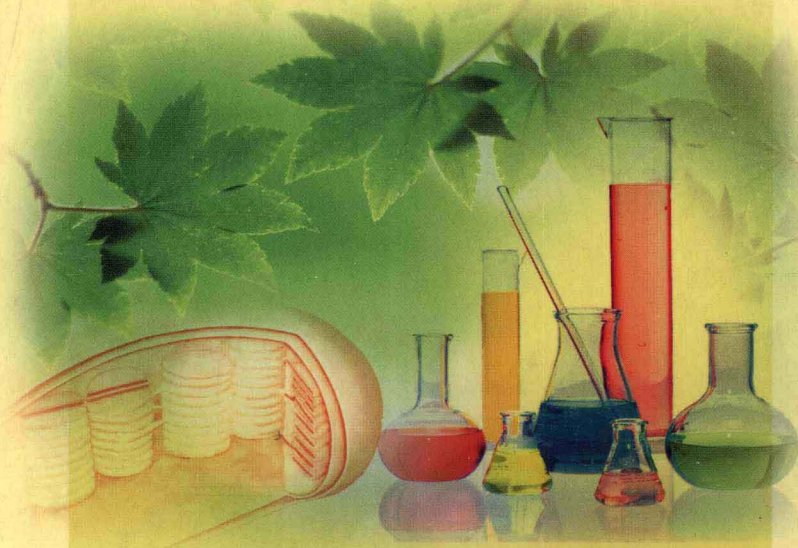



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教学指导委员会审定

植物生理学 实验技术

萧浪涛 王三根 主编



 中国农业出版社

全国高等农业院校教材
全国高等农业院校教学指导委员会审定

植物生理学实验技术

萧浪涛 王三根 主编



中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物生理学实验技术 / 萧浪涛, 王三根主编. —北京:
中国农业出版社, 2005. 8
全国高等农业院校教材
ISBN 7-109-10028-6

I. 植... II. ①萧...②王... III. 植物生理学-实验-高等
学校-教材 IV. Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2005) 第 090800 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

出版人: 傅玉祥

责任编辑 李国忠

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行
2005 年 8 月第 1 版 2005 年 8 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×960mm 1/16 印张: 17

字数: 304 千字

定价: 21.10 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

753548

主 编 萧浪涛 (湖南农业大学)
王三根 (西南大学)

副 主 编 赵会杰 (河南农业大学)
徐克章 (吉林农业大学)
蔺万煌 (湖南农业大学)
王惠群 (湖南农业大学)

编写人员 (按姓氏笔画排序)

王三根 (西南大学)
王若仲 (湖南农业大学)
王惠群 (湖南农业大学)
刘华英 (广西师范大学)
李合松 (湖南农业大学)
宗学风 (西南大学)
赵会杰 (河南农业大学)
徐克章 (吉林农业大学)
黄见良 (华中农业大学)
萧浪涛 (湖南农业大学)
彭克勤 (湖南农业大学)
鲁旭东 (湖南农业大学)
蔺万煌 (湖南农业大学)

前 言

植物生理学是一门实验性科学。实验课的学习与操作在植物生理学课程学习中占有十分重要的地位。本教材作为全国高等农业院校“十五”规划教材《植物生理学》的配套实验教材，在章节编排上继承了《植物生理学》教材的结构，以利实验内容与教学内容的统一和实验内容的灵活选择。

全书共分 11 章。导论和第七章由湖南农业大学萧浪涛编写，第一章由湖南农业大学蔺万煌编写，第二章由吉林农业大学徐克章编写，第三章由湖南农业大学彭克勤和华中农业大学黄见良编写，第四章和第五章由西南大学王三根和宗学风编写，第六章由湖南农业大学王惠群编写，第八章由湖南农业大学王若仲和李合松编写，第九章由湖南农业大学鲁旭东和广西师范大学刘华英编写，第十章由广西师范大学刘华英和湖南农业大学鲁旭东编写，第十一章由河南农业大学赵会杰编写，附录和主要参考文献由湖南农业大学蔺万煌和王惠群编写。初稿完成后由萧浪涛和王三根统稿，并于 2005 年 4 月在湖南农业大学召开了编委会修改会议。

本教材的编写得到了编写人员所在单位特别是湖南农业大学的大力支持。中国农业出版社教材出版中心提供了热心帮助和指导。中国科学院上海植物生理生态研究所赵毓橘研究员、南京农业大学周燮教授提供很多参考资料，湖南农业大学孙福增教授对编写和修改给予了指导和帮助，湖南省植物激素与生长发育重点实验室吴顺、郭兆武、刘素纯、丁君辉、梁艳萍、童建华、黄好、刘清等多位研究人员和研究生以及琼州大学林伟副教授参与了本书的校对和绘图工作。此外，本教材的编写还参考了国内外多本相关教材与著作，在此一并表示衷心的感谢。

考虑到各院校在实验课教学方面的特殊性，本教材尽量吸收了参编院校目前开设的有代表性的实验。因此，各院校在开设实验时，可以根据地域、季节和自身设备条件进行选择。此外，编委会为《植物生理学》和《植物生理学实

验技术》系列教材设立了永久网址 (<http://www.phytohormones.com/pp-book>), 收集了很多与植物生理学相关的资料和网络资源, 还可通过论坛等对教材有关内容进行讨论交流。由于编者水平所限, 加上时间紧迫, 本教材缺点和错误在所难免, 请同行专家和读者批评指正。

编 者

2005年6月

目 录

前言

导论	1
一、植物生理学的研究内容	1
二、植物生理学的研究方法	1
三、植物生理学实验的基本过程	4
四、实验室的安全	12
第一章 植物细胞生理	17
实验一 植物细胞的活体染色及活性鉴定	17
实验二 植物组织培养技术	19
实验三 植物原生质体的分离和培养	23
实验四 流式细胞仪法测定细胞内游离 Ca^{2+}	25
实验五 叶绿体 DNA 的分离和提取	28
实验六 植物线粒体 DNA 的分离和提取	30
第二章 植物的水分关系	34
实验一 质壁分离法测定植物组织渗透势	34
实验二 小液流法测定植物组织水势	37
实验三 露点法测定植物叶片水势	39
实验四 压力室法测定植物组织水势	42
实验五 植物组织中自由水和束缚水的测定	45
实验六 叶片气孔状态和数目的观测	50
实验七 钾离子对气孔开度的影响	51
实验八 植物蒸腾速率的测定	53

第三章 植物的矿质营养	59
实验一 植物的溶液培养技术及缺素症状观察	59
实验二 氯化三苯基四氮唑法测定植物根系活力	65
实验三 α -萘胺氧化法测定植物根系活力	67
实验四 根际 pH 的显色测定	70
实验五 植物根系体积的测定	72
实验六 植物根系吸收表面积测定	73
实验七 植物伤流液的收集及成分分析	74
实验八 植物体内某些灰分元素的分析测定	76
实验九 原子吸收分光光度法测定植物体中的钾和钙	78
实验十 植物根系对矿质离子的吸收特点的测定	82
实验十一 植物对矿质离子的运输	83
实验十二 活体法测定硝酸还原酶的活性	85
实验十三 离体法测定硝酸还原酶的活性	87
第四章 植物的呼吸作用	90
实验一 酸碱滴定法测定植物的呼吸强度	90
实验二 呼吸缸法测定植物的呼吸速率	93
实验三 应用高精度 pH 计测定植物的光合速率和呼吸速率	94
实验四 呼吸商的测定	99
实验五 植物呼吸酶的简易鉴定法	101
实验六 过氧化物酶活性测定	103
实验七 过氧化氢酶活性测定	105
实验八 多酚氧化酶活性测定	107
第五章 植物的光合作用	110
实验一 叶绿体色素的提取及定量测定	110
实验二 叶绿体色素的分离及理化性质观察	114
实验三 叶绿体的分离制备及希尔反应活力测定	118
实验四 希尔反应的定性观察	121
实验五 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶羧化活性的测定	122
实验六 核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶加氧活性的测定	125
实验七 磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定	127

实验八	改良半叶法测定叶片光合速率	129
实验九	红外线二氧化碳分析仪法测定植物光合速率、呼吸速率和 CO ₂ -P _n 曲线	132
实验十	氧电极法测定植物的光合速率与呼吸速率	137
实验十一	LI-6400 型便携式光合仪测定光合作用参数	142
实验十二	CB-1101 型光合、蒸腾测定系统测定光合和蒸腾速率	147
第六章	植物体内同化物运输与分配	152
实验一	蒽酮法测定植物组织中可溶性糖的含量	152
实验二	植物组织淀粉和纤维素含量的测定	154
实验三	果蔬中柠檬酸含量的测定	156
实验四	对氨基苯磺酸法测定植物硝态氮	158
实验五	水杨酸硝化法测定植物硝态氮	160
实验六	微量凯氏定氮法测定总氮量	161
实验七	³² P 示踪法研究磷在植物体内的运输和分布	166
第七章	植物生长物质	169
实验一	植物激素的提取、分离与纯化	169
实验二	植物激素的高效液相色谱测定法	172
实验三	植物激素的酶联免疫吸附测定法	174
实验四	植物生长物质生理效应的测定	177
实验五	赤霉素对 α-淀粉酶诱导合成的影响	179
第八章	植物的生长生理	183
实验一	光对烟草种子和莴苣种子发芽的影响	183
实验二	植物人工种子的制备方法	184
实验三	植物种子生活力快速测定	186
实验四	谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	191
实验五	植物组织中过氧化物酶、过氧化氢酶和酯酶的 同工酶测定	192
实验六	植物生长的相关性的观察	196
第九章	植物的成花生理和生殖生理	199
实验一	花粉活力测定	199

实验二	花粉管生长速度的测定	201
实验三	植物春化现象的观察	203
实验四	植物光周期现象的观察	204
实验五	春化蛋白的诱导形成与检测	206
第十章	植物的成熟和衰老生理	209
实验一	2,6-二氯酚靛酚钠法测定植物组织维生素 C 含量	209
实验二	分光光度计法测定维生素 C 含量	211
实验三	植物细胞膜脂过氧化作用的测定	213
实验四	超氧化物歧化酶活性的测定	215
实验五	植物体内氧自由基的测定和清除	218
第十一章	植物的逆境生理	221
实验一	植物体内游离脯氨酸含量的测定	221
实验二	植物体内甜菜碱含量的测定	223
实验三	电导率仪法测定离体植物叶片的抗逆性	225
实验四	电导率仪法测定活体植物根系的抗逆性	227
实验五	差示扫描量热法分析膜相变与流动性	230
实验六	苯丙氨酸解氨酶活性的测定	232
附录		234
附录 1	离心机转速与相对离心力的换算	234
附录 2	常用缓冲溶液的配制	234
附录 3	常用酸碱指示剂	242
附录 4	植物组织培养常用的几种基本培养基	243
附录 5	植物生理学中常用计量单位及其换算表	247
附录 6	常用酸碱的浓度	256
附录 7	蔗糖浓度、密度与折射率换算表	256
附录 8	植物生理学网络资源	258
主要参考文献		260

导 论

一、植物生理学的研究内容

植物生理学是研究植物生命活动规律及其机理的科学。植物生命活动是物质代谢、能量转换、形态建成及信号传导的综合反应，也就是植物不断地同化外界物质、利用获得的能量建造自己的躯体并繁衍后代的过程。植物生理学的研究内容十分丰富，在微观方面，由于生物科学领域中的细胞学、遗传学、分子生物学的迅速发展，使植物生命活动本质的研究向分子水平深入并不断综合。在宏观方面，植物生理学与环境科学、生态学等密切结合，产生了植物环境生理学、植物群体生理学、生态生理学，使植物生理学朝更为综合的方向发展，由植物个体扩大到群体，再扩大到生态系统，大大扩展了植物生理学的研究范畴。

21 世纪是生命科学的世纪，以探索植物生命活动规律为主要任务的植物生理学将大有作为。随着世界人口的急剧增加和工业化进程的加速，人类面临着一系列亟待解决的难题，其中人口、粮食、能源、环境及资源等问题尤为突出，而这些问题的解决几乎无一不与植物生理学的研究密切相关。植物生理学自诞生以来之所以一直受到人们的重视，不仅在于它研究和阐明了植物科学领域的一些重要基础理论问题，还在于它能为栽培植物和改良植物等提供理论依据，并不断提出控制植物生长的有效方法。同时，生产实践也不断地为植物生理学研究提出需要解决的理论研究课题。

植物生理学是一门实验性科学，要充分重视实验方法的作用，要克服只重理论学习而轻实验实习、重生理机理而轻生产实践、重室内实验而轻田间实验的不良倾向，同时必须注意在实验和分析的基础上进行综合，只有这样才能获得关于植物生命活动规律及其机理的正确认识。

二、植物生理学的研究方法

(一) 计数分析法

计数分析法是一种简单实用的方法，它通过对植物不同的生长状态、不同

的生命活动或不同处理下植物的响应情况进行直接的观察、测量、计数来描述结果，或者经过一定的统计分析来得出适宜的结论。例如，在人工气候室、温室和露地 3 种栽培条件下，通过计量果实大小和形状来研究花芽形成前温度对甜椒果实大小和形状的影响。此外，计数分析法在植物的生长发育、春化作用、光周期诱导、植物激素的生物测试等研究中也广为应用。

(二) 测试分析法

测试分析法以各种分析测试仪器为主要手段进行分析测试，并进行技术与方法的研究。它是对样品的宏观与微观、成分与结构、物理与化学、无机与有机等分析的集成与结合。

大多数植物生理学研究都可以用测试分析法进行，包括重量分析技术、滴定分析技术、萃取技术、膜分离技术、离心技术、气体测压技术、红外线 CO₂ 气体分析技术、X 射线衍射技术、同位素示踪技术、光学分析技术、电化学分析技术、免疫化学技术、色谱技术、电泳技术等。

随着科学技术的不断发展，不仅要求分析的准确度和灵敏度高，而且对于测试速度提出了更高的要求。仪器分析实质上是物理和物理化学分析。根据被测物质的某些物理特性与组分之间的关系，不经化学反应直接进行鉴定或测定的分析方法，叫做物理分析法。根据被测物质在化学变化中的某种物理性质和组分之间的关系进行鉴定或测定的分析方法，叫做物理化学分析方法。其中，光学分析技术中的分光光度法尤其是可见光分光光度法（或比色法）应用最为普遍，它多以化学变化过程中待测组分与试剂反应发生颜色的消长，通过仪器检测即可得知某组分的含量。植物组织中多种组分（如糖、可溶性蛋白质、脂肪、维生素及各种营养元素的含量、各种酶的活性等）都可应用该方法进行定量测定。而核磁共振技术、火焰分光光度法、荧光光谱法、紫外光谱法、红外光谱法、旋光分析法等，则是基于待测组分在特定的物理状态下具有相应的物理特性而进行测试的。具有旋光性的糖类、能催化具有旋光性的底物或产生有旋光性产物的酶（如蔗糖酶、乳酸脱氢酶等），也可用旋光分析法进行测定。

测试分析法种类繁多，同一种物质的测量往往可以采用多种方法，如过氧化氢酶活性的测定有高锰酸钾滴定法、氧电极法、紫外分光光度法等，在实际应用中可加以选择。

(三) 细胞学方法

细胞是生命活动的基本单位。因此，研究植物的生命活动规律离不开细胞学方法的应用，细胞学的研究方法包括以下几个方面。

1. 细胞形态结构的观察方法 细胞形态结构的观察方法包括光学显微镜技术（体视、光镜、偏光、相差、微分干涉差、荧光、暗场、激光共聚焦显微

镜、显微摄影)和电子显微镜技术(透射电子显微镜、扫描电子显微镜和扫描隧道效应电子显微镜)。

2. 细胞化学方法 细胞化学方法包括各种生物制片技术(徒手切片、整体装片、涂片、压片、冰冻切片、滑动切片、石蜡切片、超薄切片、电子显微镜制片)、电子显微镜负染方法、冷冻断裂电子显微镜技术、金属投影电子显微镜技术、细胞内各种结构和组分的细胞化学显示方法、蛋白质和核酸等生物大分子的特异染色方法、细胞器(线粒体、溶酶体、叶绿体、细胞核等)的染色方法和定性定量的细胞化学分析技术方法(显微分光光度计和流式细胞技术)。

3. 细胞组分的生化分离分析方法 细胞组分的生化分离分析包括差速离心和密度梯度离心、层析技术(纸层析、聚酰胺薄膜层析、纤维素柱层析)、电泳技术(琼脂糖电泳、PAGE、双向电泳)、分子杂交技术(原位杂交、Southern杂交和Northern杂交)。

4. 标记与示踪技术 标记与示踪技术包括同位素放射自显影技术、免疫荧光抗体技术、酶联免疫反应和酶标技术以及胶体金、胶体金银标记技术。

5. 细胞生物工程技术 细胞生物工程技术包括细胞工程技术(细胞培养、细胞融合、细胞克隆和细胞突变体的筛选)和染色体工程技术(染色体标本制备、染色体显带、染色体倍性改造)。

在上述细胞学研究方法中,细胞的显微观察和细胞工程技术是两类重要方法。采用传统的细胞学方法,可对植物的生长发育进行观察。植物细胞培养是植物细胞工程和植物基因工程的基础,在研究细胞生长、分化、细胞信号转导、细胞凋亡等理论问题和遗传育种、转基因植物应用等方面都不可或缺。

(四) 分子生物学方法

分子生物学自20世纪80年代以来得到突飞猛进的发展,实验技术和方法日新月异,分子生物学已成为生命科学的基础学科之一,其基本理论和实验技术已渗透到生物学的各个领域并促进了一批新学科的兴起和发展。分子生物学已成为生命科学工作者必备的专业基础,以分子生物学为基础的基因克隆和重组技术是现代生物技术的核心。其主要内容包括目的基因的定位、克隆、表达和分离纯化等,与之相关的常规技术有:核酸的分离、纯化,限制性内切酶的使用,核酸凝胶电泳技术,载体的构建,核酸的体外连接,目的基因转化,核酸探针标记,分子杂交,PCR,DNA序列分析等。

分子生物学技术的应用,使植物生理学的研究更深更广,在植物细胞壁的结构与功能、光合作用、呼吸作用、植物冠瘿瘤的发生、植物激素的作用机理、种子发育、成熟、衰老、抗逆性等研究领域都取得了丰硕的成果。如利用

植物基因工程技术，能改良植物蛋白质成分，提高作物中必需的氨基酸含量，培育抗病毒、抗虫害、抗除草剂工程植株及抗盐、抗旱等抗逆境植株。

(五) 其他方法

近年来，很多新技术和新方法被大量应用于植物生理学研究领域，大大丰富了植物生理学研究的方 法和内容。

计算机与信息技术除被大量应用于实验数据处理与统计分析外，还被广泛应用于其他很多植物生理学研究领域。例如，计算机专家系统技术被广泛应用于植物生长和代谢进程的模拟，已研制出能够根据症状确定缺素症并推测施肥方案的植物营养诊断与施肥专家系统以及能够根据底物浓度与时间确定代谢进程的虚拟细胞；计算机图像处理技术也被应用于进行相关测定，如叶面积扫描测定系统和根长测定系统以及蛋白质和核酸等生物大分子结构的可视化；生物信息学的很多方法被大量应用于序列比对、基因克隆等很多方面。

人造卫星提供微重力条件也被用于植物生理学研究。例如，沉降系数差异很大且来源于不同植物的原生质体在卫星上更容易融合，我国在运载火箭上成功地进行过上述实验。利用遥感技术可实现对大区域种植的农作物病虫害情报、营养状况、生育期以及产量等方面的情况进行收集、分析和预测。

总之，植物生理学的研究方法必须与时俱进。要注重学科交叉，借鉴、学习和吸收其他学科的新方法新技术来推进植物生理学研究。

三、植物生理学实验的基本过程

植物生理学实验的基本过程包括：实验设计、样品采集、样品制备、分析测定、数据处理和实验报告。值得指出的是，在植物生理学研究中体现实验设计的理念十分重要，因为实验设计的核心是估计和降低误差。要根据实验设计的指导确定实验方案，确定实验材料、处理条件、重复次数、小区布置、测定指标等内容。具体方法可参考相关著作。

(一) 植物材料的种类和采集

1. 植物材料的种类 植物生理学实验中使用的材料非常广泛，可依实验目的不同而加以选择。根据来源可划分为天然的植物材料（如植物的根、茎、叶等）和人工培养的植物材料（如杂交后代材料、突变体、愈伤组织等）两大类；按水分状况、生理状态可划分为新鲜植物材料和风（烘）干材料两大类。

2. 植物材料的采集 实验的准确性，除取决于分析方法是否科学以及操作是否严格外，在很大程度上还取决于取样的代表性和典型性。首先，要根据实验目的分别采集植株的不同部位，如根、茎、叶、果实，不能将各部位样品随意混合。其次，植物材料的采集还具有适时性，即在植物不同生长发育阶

段,或各种处理前后,适时采样分析。此外,在操作和处理过程中还要防止样品变质和污染。

从大田或实验地、实验器皿中采取的植物材料,称为“原始样品”,再按原始样品的种类分别选出“平均样品”,然后根据分析的目的、要求和样品种类的特征,采用适当的方法,从“平均样品”中选出供分析用的“分析样品”。

(1) 原始样品的取样方法 常用的方法有以下两种。

① 随机取样:在实验区(或大田)中随机确定取样点,取样点的数目视田块的大小和样品需要量而定。选好点后,随机采取一定数量的样株,或在每一个取样点上按规定的面积从中采取样株。

② 对角线取样:直接从田里采取植株样品,在生长均一的情况下,可按对角线或沿平行的直线等距离布点采样。即在实验区按对角线选定5个取样点,然后在每个点上随机取一定数量的样株,或在每个取样点上按规定的面积从中采取样株。

(2) 平均样品的取样方法 常用的方法有以下两种。

① 混合取样法:一般颗粒状(如种子等)或已碾磨成粉末状的样品可以采取混合取样法。具体的做法为:将供采取样品的材料铺在平面上成为均匀的一层,按照对角线划分为四等分。取对角的两份为进一步取样的材料,而将其余的对角两份淘汰。再把留下的两份样品充分混合后重复上述方法取样。反复操作,每份均淘汰50%的样品,直至所取的样品达到所要求的数量为止。

② 按比例取样法:有些材料在生长不均等的情况下,应将原始样品按不同类型的比例选取平均样品。例如块根、块茎材料选取平均样品时,应按大、中、小不同类型的样品的比例取样,然后再将每一个样品纵切割开,每个切取1/4、1/8或1/16,混在一起组成平均样品。在采取果实的平均样品时,一般选数株果树为代表,即使是从同一株果树上取样,也应考虑到果枝在树冠上的各个不同方位和部位以及果实体积的大、中、小和成熟度上的差异,按各相关的比例取样混合成平均样品。

3. 样品采集注意事项

(1) 取样地点 取样地点一般在距田埂或地边一定距离的株行取样,或在特定的取样区内取样。取样点的四周不应有缺株的现象。

(2) 取样数量 应根据分析项目数量、样品制备处理要求和重复测定次数等的需要,采集足够数量的样品。新鲜样品可按含水量80%~90%计算所需样品量。选取平均样品的数量应当不少于供分析用样品的两倍。

(3) 取样时期 为了动态地了解植物在不同生育期的生理状况,常按不同的生育期采取样品进行分析。取样方法是先调查植物的生育状况并区分为若干

类型，按各种类型株所占的比例，采取相应数目的样株作为平均样品。

(二) 样品测定前处理和保存

1. 种子样品的前处理和保存 一般种子的平均样品在清除杂质后要进行磨碎，在磨碎样品前后都应当清洁磨粉机内部，最初磨出的少量样品可以弃去，过筛后混合均匀，储存于具磨口玻璃塞的广口瓶中，并随即贴上标签，注明采集地点、实验处理、采样日期和采样人姓名等。长期保存的样品，其储存瓶上的标签还需涂蜡。

油料作物种子如需要测定其含油量时，不宜使用粉碎机，应将样品放在研钵磨碎或用组织捣碎机捣碎，也可用切片机切成薄片作为分析样品。

2. 样品的前处理和保存 采回新鲜样品后，全植株样品应按根、茎、叶、种子等分开。要制成干样的，需再经过净化、杀青、烘干或风干等一系列前处理。

(1) 净化 新鲜样品从田间或实验地取回时，常沾有泥土等杂质，应用柔软的湿布擦净，不应用水冲洗。

(2) 杀青 为了保持样品化学成分不发生转变和损耗，务必及时终止样品中酶的活动，这就需要将样品置于 110℃ 的烘箱中杀青 15~20 min。

(3) 烘干 样品经过杀青之后，应立即降低烘箱的温度，维持在 70~80℃ 直到样品烘干至恒重为止。温度过高会把样品烤焦。一般样品烘干所需时间大约为一天。烘干或风干的植物样品，一般还要进行磨碎。

测定植物材料内易挥发、转化和降解的物质（如酚类、亚硝酸盐等）和营养成分（如维生素、氨基酸、糖、植物碱等），应使用新鲜样品。此外，测定植物中激素含量和酶的活性，也需要用新鲜样品。取样时应注意保鲜，取样后应立即进行待测组分提取，也可采用液氮冷冻保存或冷冻真空干燥法得到干燥的样品，放在超低温冰箱中保存备用。

(三) 样品的测定及分析

1. 待测组分的提取 样品中待测组分的提取是测试分析工作的一个重要环节，要求提取过程中待测组分不受损失，不被污染，全部转变成适宜测定的形式。将样品置于一定的溶剂（提取液）中，用适宜方法匀浆后提取待测成分。由于待测组分的结构、性质不同，因而提取液性质、成分和操作条件也有很大差别。

水浸提是一种常见的样品提取方法，一切可在水中溶解的物质都可以采用该法。有些物质采用水浸提时不能完全溶解，或耗时较长，可采用酸浸提，如土壤缓效钾待测液的制备。有些样品组分（如有机物）不溶于水而溶于有机溶剂，可选用有机溶剂将待测成分浸提出来，再进行分析测定，常用的有机溶剂

有乙醇、乙醚、石油醚等。

提取蛋白质时,要根据蛋白质的结构、溶解性质和等电点等因素配制不同的蛋白质提取液。一般而言,蛋白质提取液以水为主,再加少量酸、碱或盐组成,这样可以减少蛋白质分子极性基团之间的静电引力,加强蛋白质与提取液之间的相互作用,从而提高其溶解性。缓冲液的 pH 应选择在偏离等电点,使蛋白质分子带上净电荷,以提高其溶解度。对于某些与脂质牢固结合的蛋白质复合体或含脂肪族氨基酸较多的蛋白质,由于其疏水性强,则需要微碱性提取液中加入一定浓度的表面活性剂(如十二烷基硫酸钠)或高浓度的有机溶剂(70%~80%的乙醇)。

提取酶时,一定要在冰浴上或低温室内操作。其提取液应为偏离等电点的 pH 缓冲液,离子强度适中,以维持酶结构的稳定。此外,还应加入适量的巯基乙醇和聚乙烯吡咯烷酮(PVP),以防止酶分子中的巯基氧化和样品中的酚氧化。重金属离子的络合剂乙二胺四乙酸(EDTA)也是提取液中常用的成分之一,可以防止酶变性失活。为防止酶蛋白在分离过程中发生酶解,还需要加入蛋白酶抑制剂。

核酸的提取方法有多种。常采用盐溶法,即根据 DNA 核蛋白易溶于高盐($1\sim 2\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$)溶液,难溶于低盐($0.14\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$)溶液,而 RNA 核蛋白则易溶于低盐($0.14\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}\text{ NaCl}$)溶液这一原理进行提取的。对 RNA 和 DNA 的分离也可根据 RNA 易被碱解, DNA 易被酸解的性质进行。在提取植物组织中的 DNA 时,常用液氮冻融法改善匀浆效果,缩短匀浆时间,并具有抑制 DNase 活性的效果。匀浆缓冲液中加入溴化乙锭,可显著提高 DNA 的纯度和相对分子质量。

研究植物营养时常用到灰化法,分为干灰化法和湿灰化法。干灰化法是将含有矿物质的植物材料,经高温灼烧进行灰化,使其有机物质分解变成 CO_2 和 H_2O 挥发,剩下的残渣即是灰分,可进行灰分元素的测定。湿灰化法是使样品中有机物经酸分解后,营养物质变成可溶态,然后进行定量测定。

2. 待测组分的分离纯化 常用的分离纯化技术有:盐析技术、透析技术、离心技术、电泳技术、层析技术等。

(1) 盐析技术 向含有待测组分的粗提取液中加入高浓度中性盐达到一定的饱和度,使待测组分沉淀析出的过程称为盐析。蛋白质、酶、多糖、核酸等都可应用盐析技术进行沉淀分离。该技术在蛋白质或酶的分离纯化中应用最广泛。盐析法在等电点时效果最好,但蛋白质沉淀中含有大量无机盐,这些无机盐可以用透析等方法除去。在盐析中使用中性盐种类很多,如硫酸铵、硫酸镁、氯化钠、醋酸钠等。最常用的是硫酸铵,它的溶解度大,受温度影响小,