

全国高等农业院校教学参考书



农学类各专业用

作物生理研究法



全国高等农业院校教学参考书

作物生理研究法

张宪政 主编

农学类各专业用

农业出版社

(京)新登字060号

S311-3
1231

编

全国高等农业院校教学参考书

作物生理研究法

张宪政 主编

• • •

责任编辑 张兴瓚

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)

新华书店北京发行所发行

通县曙光印刷厂印刷

787×1092mm16开本 14.5印张 326千字

1992年10月第1版 1992年10月北京第1次印刷

印数 1—2,000册 定价 5.30元

ISBN 7-109-02172-6/S·1429

主 编 张宪政 (沈阳农业大学)
编 者 苏正淑 (沈阳农业大学),
审稿人 费雪南 (上海农学院)
徐正泰 (上海农学院)

前 言

《作物生理研究法》是根据农业部(1989)农(教宣)字第25号,关于印发《高等学校农科本科教材“七五”(1989—1990)和“八五”(1991—1995)教材建设规划》的通知而编写的。本教材系统介绍了作物生理的有关问题和研究方法,既是作物生理学的实验指导书,又是作物生理教学的参考书。

由于植物生理工作者和农学工作者的共同努力,目前已形成一门新型的边缘科学——作物生理学(或作物栽培生理学)。它是研究作物在栽培条件下,产量形成的生理过程及其与外界环境关系的应用理论科学,它为利用、调控作物(作物栽培)和改良作物(作物育种)提供科学依据,从而为高产、优质、低耗的作物生产服务。

近几十年来,国内外进行了大量的作物生理研究工作,发展很快。我国早在50年代末就开始了这方面的研究与讨论,以殷宏章教授为首的许多专家做了大量的研究工作,并出版了《稻麦群体研究论文集》(1961)等著作。尤其是从1982年开始,由《植物生理学通讯》编委会组织各方面的专家,以植物生理学如何为“四化”服务为题的专题讨论,进行了广泛的讨论,各抒己见,有诸如《作物生理》、《栽培生理》、《应用植物生理》等多种提法。尽管提法各有侧重,但都强调把植物生理学的理论应用到作物的宏观水平来研究作物的生理问题,使理论密切联系实际,为作物栽培育种提供科学依据,从而促进了作物生理学和农业生产的发展。近年出版了《光合作用——从机理到农业》(沈允钢等, 1978)、《植物栽培生理》(郑广华, 1980)、《植物栽培的生理基础》(娄成后等, 1981)、《作物生理》(赵微平, 1982)、《棉花栽培生理》(金聿等, 1987)、《玉米生理》(山东省农业科学院玉米研究所, 1987)等许多专著和发表了大量的论文,举行了多次全国性的和省级的作物栽培生理学术讨论会。所有这些都表明我国的作物生理(作物栽培生理)研究及其为农业现代化和作物生产服务,已进入了一个新的时期。

本教材较为广泛地介绍了近年我国作物生理研究的一些有关问题和研究方法,所涉及研究方法既有常规的又有一些新的现代技术和研究方法,以便读者根据具体条件和研究目的选择不同的研究方法,适应教学、科研和实际工作的需要。全书包括作物生理研究的试材准备、作物形态分析、个体生长量、群体结构、物质生产、光合与呼吸、水分生理、根系生理、有机营养、生长调节物质和逆境生理研究法等十二章。以高等农业院校农学、园艺、土壤农化、植物保护等专业的本科生和研究生为主要对象,可作为作物生理学的实验指导书和作物生理教学的参考书,并兼顾广大农业科技工作者从事农业科研和农业生产的需要,可供教学、科研和生产的参考。

本教材由上海农学院费雪南教授和徐正泰教授审稿并提出了宝贵的修改意见,由南京农业大学潘家驹教授和北京农业大学王树安教授定稿,特此向他们及本书所引用资料的作者,表示衷心的感谢。

由于水平所限,编写过程比较匆忙,教材中不妥、缺点和错误之处,敬请读者批评指正。

编 者

1990.3.

目 录

第一章 试材的准备	1
第一节 试材的代表性	1
一、准确度与精确度	1
二、标准差和变异系数	2
三、抽样原则和样本容量	3
第二节 作物器官样品的采集和保存	5
一、植株样品的采集	5
二、器官样品的采集	6
三、器官样品的保存	8
第三节 作物籽粒样品的采集和制备	9
一、样品采集	9
二、样品的干燥	9
三、粉碎和过筛	9
第四节 室内试材的一般培养	10
一、幼苗的准备	10
二、培养液的配制	10
三、水培栽植	12
四、喷雾培养法	12
第二章 作物形态分析法	14
第一节 作物的叶龄指标	14
一、作物叶龄指标的测算法	14
二、几种作物的叶龄模式	20
第二节 作物的叶形态指标	26
一、作物见展叶差的变化规律及其应用	26
二、双龄叶和伸长叶枕距的变化规律及其应用	28
三、叶耳间距指标的测算与应用	29
第三章 作物个体生长量研究法	32
第一节 作物的株高	32
一、株高的测定	32
二、株高整齐度	32
三、株高构成指数	33
第二节 作物的叶面积	35
一、作物叶面积的测定方法	35
二、叶面积和穗部性状与产量的关系	45
第三节 作物体的重量	46
一、作物体鲜重的测定	46
二、作物体干重的测定	47
三、作物体的风干重	47

第四章 作物群体结构研究法	49
第一节 作物的叶面积指数	49
一、作物叶面积指数的测定方法	50
二、作物叶面积指数与物质生产	50
第二节 作物的光合势和叶面积持续时间	51
一、光合势和叶面积持续时间的测定	52
二、光合势与物质生产	53
第三节 作物叶片着生状态研究法	54
一、有关概念	54
二、作物叶片着生状态的测定	55
三、叶片着生状态与光能利用	55
第四节 作物群体内光能分布研究法	57
一、有关概念	57
二、作物群体消光系数的测定	59
三、作物群体结构的测定	60
四、作物群体消光系数与物质生产	62
第五章 作物群体物质生产研究法	65
第一节 物质生产的数量分析	65
一、有关概念	65
二、物质生产的测定	70
第二节 作物籽粒灌浆的生长分析	73
一、有关概念	73
二、作物籽粒灌浆过程测定法	74
第三节 生物产量和经济产量	76
一、经济系数	76
二、株重和穗重的数量关系	77
第四节 作物生产力的估算	79
一、作物的光能利用率与光能转化效率	79
二、影响光能利用率的因子	80
三、最高理论产量的估算	81
四、我国作物产量的潜力	85
第六章 作物光合作用呼吸作用研究法	87
第一节 干重法	88
一、干重法的发展	88
二、改进干重法测定光合速率的方法	90
三、讨论	91
第二节 pH 法	91
一、pH 法测定光合呼吸的原理	91
二、GH-Ⅲ 型光合仪简介	93
三、GH-Ⅲ 型光合仪测定光合速率的方法	94
第三节 红外 CO ₂ 分析仪法	96
一、红外 CO ₂ 分析仪法的原理	96
二、红外 CO ₂ 分析仪的配套设备	93
三、红外 CO ₂ 分析仪测定光合速率的方法	99
四、作物光补偿点和光饱和点的测定	104

五、作物 CO_2 补偿点的测定	105
第四节 氧电极法	105
一、氧电极法的原理	106
二、氧电极测氧系统的组装	107
三、用氧电极法测定光合呼吸速率的方法	107
第五节 作物光呼吸的测定	110
一、作物光呼吸测定法简介	110
二、测定 CO_2 猝发量的原理	111
三、 CO_2 猝发量的测定方法	111
第六节 作物群体内 CO_2 浓度的测定	112
一、原理与特点	113
二、作物群体内 CO_2 浓度的测定方法	113
第七章 作物水分生理指标研究法	117
第一节 鲜重含水量和干重含水量	117
一、测定原理与特点	117
二、鲜重含水量和干重含水量的测定方法	117
第二节 相对含水量和饱和亏缺	119
一、测定原理与特点	119
二、相对含水量和饱和亏缺的测定方法	119
三、关于“早晨饱和法”	120
第三节 自由水和束缚水	121
一、测定原理	121
二、自由水和束缚水的测定方法	121
三、阿贝折射仪的使用法	122
第四节 作物组织的水势	123
一、植物水势简介	123
二、小液流法	125
三、折射仪法	126
四、压力室法	127
五、热电偶湿度计法	128
第五节 蒸腾速率与保水力	129
一、蒸腾速率的测定	129
二、保水力的测定	131
第六节 叶片气孔开度和气孔阻力	131
一、气孔开度的测定	132
二、叶片扩散阻力的测定	133
第八章 作物根系活力研究法	136
第一节 根系伤流量的测定	136
一、体积法测定伤流量	136
二、重量法测定伤流量	137
第二节 作物根量和表面积的测定	137
一、根量的测定	137
二、根系表面积的测定	139
第三节 根系氧化还原力的测定	140
一、 α -萘胺法测定根系氧化力	140

二、TTC 法测定根系还原力	142
第九章 作物有机营养生理指标研究法	144
第一节 叶绿素含量的测定	145
一、作物叶绿素含量测定方法简介	145
二、丙酮乙醇混合液法	148
第二节 可溶性糖及淀粉的测定	150
一、可溶性糖的测定	150
二、淀粉的测定	152
第三节 游离氨基酸和蛋白质的测定	153
一、游离氨基酸的测定	154
二、谷物中蛋白质的快速测定	155
第四节 作物组织中 ATP 含量的测定	157
一、含磷有机物在营养上的重要意义	157
二、作物组织中 ATP 含量的测定	158
第十章 植物生长调节物质的应用研究	162
第一节 植物生长调节物质简介	162
一、生长素类	162
二、赤霉素类 (GA)	165
三、细胞分裂素类 (CTK)	166
四、脱落酸 (ABA)	167
五、乙烯 (ETH) 和乙烯利 (CEPA)	168
第二节 植物生长调节剂的应用	168
一、促进种子萌发、培育壮苗	168
二、提高秧苗成活率, 控制分蘖	169
三、控制徒长, 防止倒伏	169
四、防止落花落果、促进结实	169
五、促进早熟	170
六、性别控制	170
第三节 植物生长调节剂调控技术的研究	170
一、作物内源激素和生长调节剂的相互关系	171
二、生长调节剂与营养水平的关系	171
三、应用技术问题	172
第四节 植物内源激素的提取、分离与生物鉴定	175
一、内源激素的提取、分离与纯化	175
二、植物激素的生物鉴定	178
第十一章 作物种子生命力与品质研究法	185
第一节 种子生命力的快速测定	185
一、红墨水染色法	185
二、TTC 染色法	186
三、BTB 法 (溴麝香草酚蓝法)	187
四、荧光法	188
五、碘化钾反应法	188
第二节 种子品质测定法	189
一、谷物种子赖氨酸含量的测定	189
二、作物种子脂肪含量的测定	191

三、高粱籽粒单宁含量的测定	192
第十二章 作物逆境生理研究法	195
第一节 外渗电导法	195
一、有关概念	195
二、作物组织外渗电导值的测定	197
第二节 组织电阻法	200
一、中段电压降法	201
二、针刺电极法	203
三、植物电阻夹法	204
第三节 脯氨酸法	205
一、脯氨酸与植物抗逆性的关系	205
二、作物脯氨酸含量的测定	206
第四节 作物叶片衰老指标的测定	207
一、植物逆境伤害和衰老过程中的活性氧代谢	207
二、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定	208
三、过氧化物酶活性的测定	210
四、过氧化氢酶活性的测定	211
五、过氧化物同工酶的鉴定	212
六、丙二醛含量的测定	215
第五节 植物耐酸力的测定	216
一、植物组织汁液 pH 值的测定	216
二、植物组织等电点的测定	217
三、植物组织汁液缓冲性的测定	218

第一章 试材的准备

无论是进行系统的作物生理研究，还是进行单项的生理指标测定，首先要准备试验材料(简称试材)。试材的充分准备和科学取材，直接关系到研究结果的正确与否和测定数据的可靠程度。所以，试材的准备和正确的取材是作物生理研究的重要环节。

第一节 试材的代表性

在进行作物生理研究时，大多是以作物群体产量考虑为出发点，从个体、器官和组织的测定入手，通过对局部的研究结果来推断总体。例如，通过对群体条件下单株光合能力的测定来研究群体的物质生产能力，或是通过对单叶（或叶组织）光合能力的测定来了解单株的生产能力。当然，植物生理学的微观研究，更是作物生理宏观研究的坚实基础。

在实际的科学研究工作中，不可能对组成总体的所有个体都进行测定，同样，对于个体的研究也是以部分器官或组织为基础。所以，结果的可靠性就取决于试材（样本）对总体的代表性，代表性愈差，可靠性愈低。如果样本不能代表总体，用这种片面的研究结果去指导生产，不但不会达到预期的目的，还会导致巨大的损失。因此，试材的代表性就是一个非常重要的问题。

一、准确度与精确度

作物生理的研究对象是作物有机体，试材存在着个体或器官的差异，在其生长发育中又受许多试验因素以外难以控制的自然环境条件的影响，还有试验中人为偶然因素的存在，致使在品种的或是栽培的各种处理试验中，试验处理的真实效应由于许多非处理因素的干扰和影响，而不能真实地显示出来。所以，从试验中得到的所有观察值，就既包含有处理的真实效应，又包含有许多其他因素的偶然影响。这种使观察值偏离试验处理真实效应值的偶然影响，称为试验误差或误差。它影响试验的准确度和精确度。它也反映了从总体中所抽样本代表性的高低。

准确度是指试验中所得测定值与真实值的符合程度。测定值与真实值之差称为绝对误差，但在实用上多以相对误差来表示测定值的准确度：

$$\text{相对误差} = \frac{\text{测定值} - \text{真实值}}{\text{真实值}} \times 100$$

由于真实值不易得到，所以常用由总体抽样测定的平均值来代替，测定值与平均值之差称为绝对偏差，实用上是以相对偏差来表示准确度：

$$\text{相对偏差} = \frac{\text{测定值} - \text{平均值}}{\text{平均值}} \times 100$$

偏差越小说明从总体所抽样品的代表性越好。

精确度（也称精密度）是指在测定中所得数值重复性的 大小，它能反映偶然误差的程度。精确度高说明测定方法可靠，重复性好。

在一组测定中，有时精确度很高，但准确度不一定很好，即测定样品的代表性不一定很好；反之，若准确度很好，则精确度也一定很高。准确度和精确度的区别，正如射击打靶一样，射击子弹偏离靶心很远，而且不集中于一处，表示准确度和精确度都很差；射击子弹虽偏离靶心，但集中于某一很小范围，则表示准确度差而精确度高；射击子弹都集中击中靶心附近，则表示准确度和精确度都很高。在科学研究的测量中，只有设想的真值（靶心），平时进行测定就是想测得此真值，而实际所得平均值只能是近似真值或称最佳值。

二、标准差和变异系数

平均数是样本的集中表现，也就是样本的代表值。但其代表性的可靠程度，取决于各个变量之间的变异程度。因此在说明一个总体时，不仅需要描述其集中性的特征数，而且还需要描述其变异性的特征数。表示变异度的统计数较多，最常用的有标准差和变异系数。

标准差是表示偶然误差的一种较好的方法，它可以表示单次测定值围绕平均值的密集程度，说明测定结果精确度的大小。其单位与测定值的单位相同。由样本资料计算标准差的公式为

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n - 1}} = \sqrt{\frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n - 1}}$$

式中：S —— 表示样本单次标准差；

X —— 表示测定值；

$\bar{X}$ —— 为样本平均值；

n - 1 —— 为自由度。

S 值小，说明单次测定结果之间的偏差小，精确度高，平均值的代表性好。求出的标准差一般写在平均值之后，即 $\bar{X} \pm S$ 。

如要比较不同样本变异的大小时，因单位不同或均数不同，不能直接用标准差进行比较，需要把表示变异程度大小的绝对值——标准差换算为相对值，才能够比较。一个样本的标准差占该样本平均数的百分率称为该样本的变异系数，用 C. V. 表示，计算公式为

$$C. V. = \frac{S}{\bar{X}} \times 100$$

变异系数小，说明平均值的波动小，精密度高代表性好。变异系数既受标准差的影响，又受平均数的影响。因此，在采用变异系数表示样本的变异程度时，应同时列举平均数和标准差，否则可能会引起误解。

要判断多次平行测定结果的平均数之间的差异时，仅有单次测定标准差还不够，还必须计算样本平均数标准误差（简称标准误差），也称均数标准差。计算公式为

$$S_{\bar{X}} = \frac{S}{\sqrt{n}}$$

式中： $S_{\bar{X}}$ ——均数标准差；

S ——样本单次标准差；

n ——样本测定值个数（样本容量）。

由上式可以看出，均数标准差与单次标准差成正比；与测定值个数的平方根成反比，即样本容量愈大，平均数的误差愈小。所以，在抽样测定中，增加样本容量（ n ）或增加重复次数，均能降低平均数的误差。求出均数标准差一般写在平均数之后，即 $\bar{X} \pm S_{\bar{X}}$ 。

均数标准差和单次标准差一样，是一个绝对值，与平均数、单次标准差及样本的大小都有直接关系，为了消除 $\bar{X}$ 、 S 、 n 的影响，使不同来源的均数标准差可以相互比较，需将其化为相对值，通常采用均数标准差对样本平均数的百分率来表示，称为均数变异度（也称精确度），记作 $V_{\bar{X}}(\%)$ 。

$$V_{\bar{X}}(\%) = \frac{S_{\bar{X}}}{\bar{X}} \times 100 = \frac{\frac{S}{\sqrt{n}}}{\bar{X}} \times 100 = \frac{\frac{S}{\bar{X}}}{\sqrt{n}} \times 100 = \frac{C.V.}{\sqrt{n}}$$

均数变异度的值愈小，平均数的误差愈小，代表性愈强。

均数标准差是重要的误差指标，在判断两个样本平均数差异的可靠性时，就是以样本均数标准差为标准，来衡量两个样本平均数之差（ $\bar{X}_1 - \bar{X}_2$ ）是它的多少倍（ t ），然后根据 t 值的大小来检验两个样本平均数差异的显著性。 t 检验法的公式为：

$$t = \frac{\bar{X}_1 - \bar{X}_2}{S_{\bar{X}}}$$

t 检验法常用于 $n \leq 30$ 的小样本，具体计算方法见有关田间试验和生物统计方法的教材。

三、抽样原则和样本容量

要研究总体的某一性状、特征，必须通过样本的个体以获得所需资料。由这些个体测定资料的平均值（估计值）来估计总体，就要求估计值具有较高代表性。也就是说要从总体中获得有代表性的样本，从而获得可靠的估计值。样本估计值和总体真值是有差异的，这个差异一般称为抽样误差，也称代表性误差。由于真值一般是未知数，所以抽样误差是用样本平均数的标准差（均数标准差）来表示的。通过抽样误差的计算可以推断真值的所在位置和置信范围。

抽样的方法很多，大致可分为随机抽样、典型抽样和顺序抽样三大类。抽样测定中最重要的问题是样本的代表性，就是样本要能反映出总体的特征。这就要求样本的分布应基本符合总体的分布规律，抽样方法应符合概率论的要求。根据这种要求，随机抽样方法是最理想的方法。这是因为抽样必须是随机的，不能有主观偏见，谁能被抽取，完全靠样本的概率来决定，概率大的被抽取的机会就大，反之则小。随机抽样符合概率论的要求，因而不仅对总体参数能做到无偏估计，而且还能正确的估计抽样误差。随机抽样又可分为：简单随机抽样，分层随机抽样，整群抽样，两级或多级抽样等方法。

典型抽样是按研究需要，有意识有目的地从总体内选取有代表性的典型单位（个体）或单位群，以代表总体的绝大多数。典型样本如果选择合适，可获得可靠结果，尤其是

从大容量的总体中选择较小数量的抽样单位时，往往采用这种方法。但由于这种方法完全依赖于抽样者的经验知识和技能，结果很不稳定，而且不符合随机原理，无法估计抽样误差。

顺序抽样是按照某种既定的顺序，每隔一定间隔抽取一个抽样单位组成样本。为了确定第一个被抽的个体，常按顺序将总体的全部个体，分为含有个体数相等的组，组数等于样本容量，在第一组用随机法确定第一个被抽的个体后，按等间隔抽取其他组。实际应用中有对角线式、棋盘式、分行式、平行线式等方法。顺序抽样法不符合概率论的要求，不能正确估计抽样误差。但顺序抽样方法简便，抽样单位在总体中的分布均匀，抽出的样本更具有代表性。

样本的代表性不仅与抽样方法关系密切，而且受样本容量的影响也很大，也就是样本必须要有足够数量的个体。根据样本均数标准差与样本大小（ n ）的平方根成反比的关系可知，样本个体数愈多，抽样误差愈小，样本的代表性就愈大。但是，样本过大又会耗费过多的人力物力，延误时间。因此，确定合理的抽样数量是抽样调查测定中的重要问题。确定抽样数量要根据抽样调查测定的目的所允许的误差范围和可靠程度来计算。

以株高、穗长和产量等连续性变量为例，用简单随机抽样法抽样时，由

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{S_{\bar{X}}}$$

可知，当所抽样本的平均值（ $\bar{X}$ ）和总体的平均值（ μ ）的差为均数标准差（ $S_{\bar{X}}$ ）的 1.96 倍（即 t 值）时，有 95% 的可靠性。这时的样本容量应为：

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{S_{\bar{X}}} = \frac{\bar{X} - \mu}{\frac{S}{\sqrt{n}}}, \quad \text{所以 } n = \frac{t^2 \cdot S^2}{(\bar{X} - \mu)^2}$$

例如，在抽样调查某作物的株高时，允许误差（ $\bar{X} - \mu$ ）= 3cm，根据以往试验的资料，知 $S^2 = 47.6$ （方差 S^2 也可在正式调查前，先抽样调查算出），有 95% 的可靠性，调查株数可由上式得

$$n_1 = \frac{1.96^2 \times 47.6}{3^2} = 20.3 \approx 20 \text{ (株)}$$

所得 20 株为小样本（ <30 ），所以，其 t 值不同于大样本（ >30 ）时，标准正态分布概率为 95% 的概率度值（ $\omega = 1.96\sigma_{\bar{X}}$ ），但是 t 受 $n-1$ 的影响， n 又是未知值，因此可先用 1.96 求出一样本值 n_1 ，根据 $n_1 - 1$ 在 t 表中查到 t 值，代入上式再算一次，即由 $20 - 1 = 19$ ，查 t 表得 t 值 2.09，代入上式得

$$n_2 = \frac{2.09^2 \times 47.6}{3^2} = 23 \text{ (株)}$$

所以，每重复调查 23 株较为合适。

再如，对一块小麦田进行测产，假设一个取样单位为 0.67m^2 ，测得其标准差（ S ）为每亩 30kg，要求测产与实产之差不超过 15kg/亩，并要求测产的可靠程度为 95%，应取多大样本？

已知： $S = 30\text{kg/亩}$ ， $\bar{X} - \mu = 15\text{kg/亩}$ ，要求可靠程度 95% 时的 $\omega = 1.96$ ，代入下式得

$$n_1 = \frac{t^2 \cdot S^2}{(\bar{X} - \mu)^2} = \frac{1.96^2 \times 30^2}{15^2} = 15$$

根据 $15 - 1 = 14$ 查 t 表: $t = 2.14$, 代入上式得

$$n_2 = \frac{2.14^2 \times 30^2}{15^2} = 18$$

再由 $18 - 1 = 17$ 时的 $t = 2.11$ 代入上式得

$$n_3 = \frac{2.11^2 \times 30^2}{15^2} = 17.8 \approx 18$$

说明求出的 18 与所用的 t 值基本相对应, 故 18 为所求样本的大小, 即要求测产的可信程度达 95% 时, 应取 18 个 0.67m^2 的取样单位。

在已知总体变异系数的情况下, 也可根据精确度的要求来计算样本容量。

$$\text{由精确度}(V_X) = \frac{C.V.}{\sqrt{n}}, \text{得 } n = \left(\frac{C.V.}{V_X} \right)^2$$

例如, 1.56 亩的探索播种 (华中农业大学, 1973), 收获前按 60尺^2 划分为 156 个小区, 分区收获算出的变异系数为 7.7%。以同样小区面积进行田间试验, 要求精确度达到 5%, 应重复

$$n = \left(\frac{7.7}{5} \right)^2 = 2.4$$

为了更有把握, 试验应重复 3 次为宜。

第二节 作物器官样品的采集和保存

作物样品的采集和处理, 是作物生理研究测定中的重要环节。在实际工作中, 往往容易把注意力集中在具体的仪器测定上, 而对于如何正确地采集和处理样品却不够注意, 结果导致了较大的实验误差, 甚至造成整个测定结果的失败。所以, 如何正确地采集和处理样品是实验测定过程中必须严格对待的问题。

一、植株样品的采集

作物生理研究测定结果的可靠性 (或准确性), 首先取决于试材对总体的代表性, 如果采样缺乏代表性, 那么测定所得数据再精确也没有意义。所以, 样品的采集除必须遵循田间试验抽样技术的一般原则外, 还要根据不同测定项目的具体要求, 正确采集所需试材, 目前, 随着研究技术的不断发展, 应该不断提高采样技术的水平。

在作物苗期的许多生理测定项目中都需要采集整株的试材样品, 在作物中后期的一些生理测定项目中, 如作物群体物质生产的研究, 也需要采集整株的试材样品, 有时虽然是测定植株的部分器官, 但为了维持器官的正常生理状态, 也需要进行整株采样。

除研究作物群体物质生产外, 对于作物生理过程的研究来说, 许多生理指标测定中的整株采样, 也只是对地上部分的采样, 没有必要连根采样, 当然对根系的研究测定例外。采样时间因研究目的而不同, 如按生育时期或某一特殊需要的时间进行。在田间试验小区或在大田采样时, 多采用随机抽样法进行采样。在田间试验小区采样时, 由于同一小区各部分差异不太大, 所以可用简单随机抽样法进行采样, 在大田抽样如各部分的差

异较大时,可采用分层抽样法。按田间的差异情况可将地块分为若干个部分(如地带、地段等),称为区层,再独立地从每一区层内随机抽取所确定的抽样单位数目,由各区层的样本测定平均数,采用加权方法估计总体平均值(真值)。也可采用整群抽样法,即将总体划分为若干个抽样单位群(每群包含若干个个体),随机抽取所需数量的群,然后在被抽出的每群内,对所有个体进行观察,由每群所得数据求得总体估计值。

除逆境生理研究等特殊需要外,所取植株应是能代表试验小区正常生育无损伤的健康植株。

二、器官样品的采集

在测定许多作物生理指标时,并不需要对全株进行测定,或是不便于对全株测定,只需对部分器官或组织的测定,就可以了解全株的情况,尤其在相对比较测定中,这是更为通用的方法。

要通过器官或组织的测定结果来了解全株,进而来了解品种或栽培措施等的效应,就必须合理地选取器官或组织试材,以提高测定结果的准确性。由于作物体各部分生理年龄和生理生化过程的速率不同,所以作物体各部分存在着很大的异质性,这就给正确地选取器官或组织试材带来了很大困难。只有在充分了解作物体各部分异质性的基础上,才能根据研究目的和要求合理地选取器官或组织试材。

以叶绿素含量的变化来说,据苗以农等(1987)对黑河豆等6个早熟品种和吉林13号等6个晚熟品种的研究表明,12个品种主茎单叶(初生叶)叶绿素平均含量为 $3.98\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,品种间变异系数为10.56%。从3—4节位叶片叶绿素含量 $4.20\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,品种间变异系数5.48%,逐渐增高到11—12节位叶片的 $5.36\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,品种间变异系数13.62%。13—14节位叶片叶绿素含量较低为 $3.86\text{mg}\cdot\text{dm}^{-2}$,品种间变异系数为11.3%。早熟品种的9—10节位和11—12节位叶片叶绿素含量与其总平均值呈显著正相关,相关系数分别为0.9034*和0.9441**;晚熟品种5—6节位、7—8节位、9—10节位叶片叶绿素含量与各节位叶片总平均值呈显著正相关,相关系数分别为0.9335**、0.9198**、0.9198**。

由此可见,研究大豆品种之间叶绿素含量或进行叶片叶绿素性状选择时,中部叶片比上部和下部叶片更有代表性。

苏正淑等(1932)对玉米、小麦、水稻、谷子、高粱、糜子等几种作物叶绿素含量的测定结果表明,玉米在幼穗强烈分化期,叶片的叶绿素含量最高。在此期间从叶位看,以雌穗穗位叶和其上、下三叶(棒三叶)的叶绿素含量最高,其中又以上一叶的为最高($9.95\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 干重),是顶叶叶绿素含量($4.38\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 干重)的一倍多。灌浆期以果穗叶的上一叶为最高($7.58\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)。成熟期以果穗上二叶为最高($5.18\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)。

小麦以开花期叶绿素含量为最高。从叶位看,在籽粒形成以前(到开花期)叶绿素含量都是自上而下(下同)第二叶($2.68\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)比旗叶($2.49\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)高。而在籽粒形成期以后至成熟都是以旗叶为最高。例如乳熟期,旗叶为 $1.97\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重,而第二叶为 $0.97\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重。

水稻以开花至灌浆初期,叶绿素含量为最高,这期间从叶位看,以第三叶为最高

($3.25\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)。以后都以第二叶为最高,如成熟期,第二叶的含量为 $2.06\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重,而旗叶的含量为 $1.83\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重。

高粱、谷子、糜子三种作物的叶绿素含量变化趋势是一致的,都是以幼穗分化期为最高。这时期,从不同叶位看,都以中上部叶的叶绿素含量为最高,如高粱 5 和 6 叶为 $2.9\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重,旗叶为 $2.0\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重。谷子 5、6 叶为 $2.12\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重,旗叶是 $0.85\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重。成熟期糜子是旗叶 ($1.55\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)、谷子是第二叶 ($1.21\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重)、高粱是第四叶 ($3.05\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 鲜重) 最高。

贺观钦等 (1983) 对大豆叶片生长的观察表明,当 n 叶开始生长时, $n-1$ 叶正值生长高峰, $n-2$ 叶的生长速率逐渐减缓, $n-3$ 叶已停止生长或即将停止生长。因此把自顶叶以下倒数 4 叶作为生理测定、形态解剖观察的取样叶位是可取的。若用来测定生长速率的快慢,则应以倒数第 2 叶作为取样叶位。在研究大豆生长速率的定株观察时,通常在上午 8、9 点钟进行为宜。

李维岳等 (1985) 对吉单 101 玉米(总叶数为 21 的中晚熟品种)叶片生长速率($\text{cm}^2/\text{日}$)的观察表明,它是以第 14 叶为中线的单峰曲线。从第 5 片叶到第 11 片叶生长速率呈直线增长,5 叶为 7cm^2 ,6 叶为 11cm^2 ,7 叶为 18cm^2 ,8 叶为 26cm^2 ,9 叶为 30cm^2 ,10 叶为 35cm^2 。从 12 叶到 19 叶这 8 片叶平均每天生长 40cm^2 左右,呈平稳峰顶。20—21 叶下降为 35cm^2 左右。可见玉米生理过程的测定,应取中部变化稳定的叶为宜。

万安良等 (1981) 对 30 个水稻品种地上部 5 片叶的面积分别计算了百分比(以 5 片叶总面积为 100),结果表明,第二叶(由上向下)最大,其次为 3 叶、1 叶,以下是 4 叶、5 叶。也有的是第三叶的面积最大。每一叶位叶面积大小,品种间的变异大于施肥量间的变异。如以变化最小的第三叶为例,品种间的变异系数为 8.3%,而施肥量间的变异系数为 1.45%。不同品种不同叶位间,以第三叶面积变异最小,其次为第二叶,以后依次为 4、1、5 叶。各叶位叶面积与总叶面积(5 片)的相关系数依次(由上向下)为 0.830、0.945、0.982、0.913 和 0.246。如果以某一叶片面积代表品种,无疑第三片叶有较好的代表性。

潘学标等 (1988) 对棉花中棉 12 号的研究表明,蕾期棉花主茎叶的净光合速率以自上而下第 5 展开叶为最大,可达 $22.17\mu\text{molCO}_2\text{m}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$ 。蒸腾速率的变化也是以第 5 展开叶为最大,达 $7.534\text{mmolH}_2\text{Om}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$ 。净光合速率和蒸腾速率都是从第 2 叶至第 5 叶迅速增加,第 5 叶以后又缓慢下降。叶片的水汽气孔导度也是以第 5 叶为最大,为 $0.3484\text{molm}^{-2}\cdot\text{S}^{-1}$,变化趋势同上。叶片的水分利用率,即光合与蒸腾之比,从第 2 叶至第 5 叶增加,第 5 叶以后稳定在 $3.0\mu\text{molCO}_2(\text{mmolH}_2\text{O})^{-1}$ 的水平上。可见对于棉花生理指标的研究,以主茎自上而下第 5 展开叶为适宜,具有较好的代表性。

同一片叶的不同部位,其生理指标也有很大的差异。王万里等 (1988) 对玉米孕穗期上部已充分伸展的功能叶(由上向下第二片已充分展开的叶片)进行了研究,将一片叶分为上部(距叶尖端约 10—20cm 一段)、下部(距叶耳 5—15cm 一段)、中部(中间 1cm 一段)三段,测定了各段的气孔导性、光合作用和水分状况。结果表明,从叶基部(下部)向叶上部气孔导性($\text{cm}\cdot\text{S}^{-1}$)逐渐增大,而且差异显著性的测定表明,上、中、下三段之间气孔导性的差异达到了显著或极显著的水平。

光合作用测定的结果表明,上部的光合速率明显大于下部,约为下部的 2 倍多。为