



全国高等农林院校“十二五”规划教材

植物生理学实验指导

ZHIWU SHENGLIXUE
SHIYAN ZHIDAO

刘 新 • 主编

 中国农业出版社

全国高等农林院校“十二五”规划教材

植物生理学实验指导

刘 新 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物生理学实验指导/刘新主编. —北京: 中国农业出版社, 2015. 1

全国高等农林院校“十二五”规划教材

ISBN 978-7-109-19964-4

I. ①植… II. ①刘… III. ①植物生理学—实验—高等学校—教材 IV. ①Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2014) 第 304024 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区麦子店街 18 号楼)

(邮政编码 100125)

责任编辑 刘 梁

中国农业出版社印刷厂印刷 新华书店北京发行所发行

2015 年 1 月第 1 版 2015 年 1 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×1092mm 1/16 印张: 8.5

字数: 195 千字

定价: 18.00 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

编写人员名单

主 编 刘 新

副 主 编 车永梅 刘洪庆 柏素花 张 伟 王秀玲

编写人员 (按照姓名笔画排序)

马 倩 王秀玲 车永梅 刘 新 刘洪庆

杨德翠 张 伟 张英昊 张艳萍 赵方贵

柏素花 侯丽霞 海利力·库尔班

前言

植物生理学是研究植物生命活动规律和机理的一门实验科学，它的一切结论都是通过严格的科学实验得出的。近年来现代生物技术的发展日新月异，新的实验技术、方法和仪器设备层出不穷，新理论不断被探究。局限于单一实验原理和操作步骤介绍的传统植物生理学实验教材，难以满足人才培养的需求，学生需要系统学习和掌握实验材料培养、取样方法、试剂配置、实验设计、实验结果统计与分析、结果讨论和论文撰写等整个研究环节。为了全面培养学生的实验技能，提升科研思维 and 创新能力，适应现代人才培养的要求，我们编写了《植物生理学实验指导》。

本教材系统阐述了植物生理学领域常用的实验方法，并围绕植物生理学重要的研究领域（如水分生理、营养生理、光合作用、发育生理、成花生理、采后生理和逆境生理等）设计研究型和应用型实验案例，解析科研思路和研究方法，为生物技术、生物科学、农学、植物保护、茶学、园林、园艺、资源环境科学和种子科学等专业的高年级本科生的科研训练和研究生的科研工作提供参考。

本实验指导由青岛农业大学刘新、车永梅、刘洪庆、柏素花、杨德翠、赵方贵、侯丽霞、马倩、张英昊和张艳萍，山东大学张伟，山东农业大学王秀玲，新疆农业大学海利力·库尔班编写。刘新负责全书的审核，车永梅、刘洪庆和柏素花负责第一章、第二章及附录的审核，张伟和王秀玲负责第三章的审核。全体编写人员均具有多年从事植物生理学教学和研究的实践经验，有编写此类教材的丰富经验，所编写教材在使用中得到师生一致好评，保证了本实验指导的严谨、科学、实用、好用。

鉴于编者的水平有限，编写时间较仓促，本实验指导难免有不足之处，敬请读者和专家指正。

编者

2014年8月

目 录

前言

第一章 基础篇	1
第一节 几种植物的培养方法	1
一、拟南芥的培养	1
二、烟草幼苗的培养	1
三、番茄幼苗的培养	1
四、黄瓜幼苗的培养	1
五、玉米幼苗的培育	2
六、草莓的培育	2
第二节 实验设计的基本原则	3
一、科学可行性原则	3
二、对照原则	3
三、随机原则	4
四、重复原则	4
五、均衡原则	4
第三节 实验材料的采集、处理与保存	4
一、植物材料的采集	4
二、样品的处理和保存	6
第四节 实验数据处理与统计分析	8
一、实验数据处理	8
二、数据统计分析	8
第二章 方法篇	10
第一节 水分生理	10
一、植物组织水势的测定（露点法、小液流法和折射仪法）	10
二、气孔运动及其影响因素	13
第二节 矿质营养	15
一、根系活力的测定（TTC 法）	15
二、硝酸还原酶活性的测定	17
三、植物溶液培养和缺素培养	19
四、谷氨酰胺合成酶活性的测定	21
五、原子吸收法测定植物体钾离子含量	22

第三节 光合作用和呼吸作用	24
一、叶绿体色素的提取、分离、理化性质和定量测定	24
二、红外线 CO ₂ 气体分析仪法测定植物光合速率与呼吸速率	28
三、叶绿素荧光分析技术	33
四、光合作用相关酶活性的测定	35
五、植物体内多酚氧化酶活性的测定	39
六、维生素 C 含量的测定	40
第四节 植物激素	42
一、植物组织培养技术	42
二、植物激素含量的测定 (ELISA 法、HPLC 法和气相色谱法)	47
第五节 植物生长发育	54
一、种子萌发和活力测定	54
二、种子萌发时淀粉酶活性的测定	57
第六节 逆境生理	59
一、电导法测定植物细胞透性	59
二、超氧化物歧化酶活性的测定	61
三、氧自由基含量的测定	62
四、丙二醛含量的测定	64
五、游离脯氨酸含量的测定	65
六、过氧化氢含量及过氧化氢酶活性的测定	67
七、过氧化物酶活性的测定	68
八、苯丙氨酸解氨酶活性的测定	69
第三章 研究篇	71
第一节 理论研究案例	71
一、ABA 调控钾离子通道诱导气孔关闭的信号转导机制	71
二、AM 真菌促进植物氮营养吸收的作用机制	72
三、柱枝孢叶斑病对牡丹光合作用的影响	74
四、植物中存在 ABP1 互作蛋白参与对生长素的快速反应	75
五、拟南芥中 AtMAPK3 在乙烯生物合成过程中的作用	77
六、小麦蔗糖转运蛋白 TaSUT1 在营养组织中的表达和定位分析	79
七、苹果 FT 基因过量表达诱导植物提早开花	80
八、硫化氢缓解铝对大麦幼苗毒害作用的作用机制	82
九、气孔运动过程中保卫细胞微丝骨架调控叶绿体的运动	83
第二节 应用研究案例	84
一、AM 真菌菌剂 (肥) 在提高花卉产量与品质中的应用	84
二、浒苔提取物在提高黄瓜品质上的应用	85
三、苹果山梨醇脱氢酶基因在果树耐受非生物逆境中的应用	87
四、6-BA 和 GA ₃ 处理对春石斛催花的影响	88

五、苜蓿与主要农作物小麦轮作对二者产量及土壤性状的影响	89
六、1-甲基环丙烯处理对番茄果实采后生理及储藏的影响	90
七、蔬菜育苗时壮苗判断标准的建立	91
附录	93
一、植物组织培养常用培养基	93
二、常用激素及生长调节物质	94
三、常用缓冲液的配制	94
四、实验论文写作规范	98
五、生物学常用数据库	99
六、植物生理学常见词英汉对照	100
七、常用仪器的操作规范	104

第一章

基础篇

第一节 几种植物的培养方法

一、拟南芥的培养

(一) 培养基法培养拟南芥

将拟南芥种子在 70% 乙醇中表面消毒 10 min, 并用 100% 乙醇清洗 3 次, 之后置于超净工作台中的无菌过滤纸上干燥。将干燥后的种子均匀地撒在含 0.8% 琼脂和 1% 蔗糖的 $1\times$ MS 培养基 (pH 6.0) 上。将盛有培养基的培养皿用封口膜密封, 置于 4℃ 春化 3~4 d 后, 转移到相对湿度 65%, 恒温 22℃, 光照度 $145\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照周期 16 h/8 h 光照培养。

(二) 土培法培养拟南芥

将拟南芥种子均匀地撒在湿润的培养土壤中。之后将含有拟南芥种子的培养土置于 4℃ 下 3~4 d 后, 转移到相对湿度 65%, 恒温 22℃, 光照度 $145\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照周期 16 h/8 h 光照培养。

二、烟草幼苗的培养

一般用途的烟草在相对湿度 65%, 恒温 28℃, 光照度 $145\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照周期 16h/8 h 的培养箱中培养。但由于用在瞬时转化实验中的烟草需要较薄的叶片, 通常在光照度仅为 $50\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 相对湿度 65%, 恒温 28℃, 光照周期 16 h/8 h 的培养箱中培养。

三、番茄幼苗的培养

番茄种子用 70% 乙醇浸泡 30 s 后用 20% 次氯酸钠 (V/V) 消毒 15 min, 无菌蒸馏水冲洗 3~5 次, 用无菌水浸种 6 h, 播种于营养土中, 种子播入深度为 0.5~1 cm。在相对湿度 65%, 恒温 28℃, 光照度 $145\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照周期为 16h/8 h 的培养箱中培养。

四、黄瓜幼苗的培养

挑选成熟饱满黄瓜种子用 70%~75% 乙醇 (V/V) 消毒 30 s, 再用 2% 次氯酸钠 (V/V) 消毒 20 min, 无菌水冲洗 3~5 次后在无菌水中浸泡 6~8 h, 于 25℃ 恒温箱催芽后播种于含有灭菌的栽培基质的营养钵中, 栽培基质可以是营养土、草炭土与蛭石的混合基质 (草炭土与蛭石体积比为 1:2), 也可以是透气性能好、保水能力强的田园土。培养条件为: 光

照周期为 16 h / 8 h, 光照度 $50\sim60\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 昼/夜温度 $25\sim28\ ^\circ\text{C}/18\sim20\ ^\circ\text{C}$ 。

五、玉米幼苗的培育

(一) 溶液法培育玉米幼苗

精选高活力玉米种子, 装入搪瓷盘, 首先用自来水清洗 2~3 遍, 然后用 0.1% 氯化汞溶液浸泡消毒处理 5 min, 之后用无菌水冲洗 3 遍, 上敷吸湿性滤纸或纱布, 放入恒温箱 ($25\sim28\ ^\circ\text{C}$) 内发芽, 一般 6~12 h 即可发芽。中间注意适时加水, 使发芽盒内保持适当的水分含量, 并注意通风。待种子露出 2~3 条幼根 (长度为 1 cm 左右) 时取出, 均匀地摆在具有 1~2 cm 孔径的铁丝网培养器皿 (内含水分) 上, 注意要让根充分接触到水面, 在室温 ($25\sim28\ ^\circ\text{C}$) 自然光照下继续培养。待幼苗长到 3 叶 1 心时, 就可以考虑进行实验室内各种实验处理, 移植时注意勿损伤根系。

(二) 沙基法培育玉米幼苗

将已经过上述消毒处理并浸种时间为 12~24 h 的玉米种子均匀地排列在装入一定量石英沙或洁净河沙 (高温消毒) 的瓷盘里, 覆盖一层石英砂, 保持湿润, 然后放置在室温 ($25\sim28\ ^\circ\text{C}$) 自然光照下发芽, 一般 7 d 就可以发芽齐全, 中间注意适时加水保持沙基内水分。待长到 3 叶 1 心时可以考虑各种实验处理 (时间约为 2 周)。

六、草莓的培育

将草莓种子播种于含较高腐殖质土壤的陶瓷盆 (直径 20~30 cm) 中。播种后覆盖保湿, 发芽温度 $20\sim25\ ^\circ\text{C}$, 避光。5 d 左右出苗, 而后逐渐增加光照, 迅速壮苗。或购置 4~5 叶龄的种苗, 移栽于装有疏松、肥沃、排水良好的沙质土的陶瓷盆中; 或利用草莓的夏秋生长期形成的匍匐茎作为繁殖种苗, 即在草莓发苗期间及时理顺匍匐茎, 且用泥土稍压新枝, 促进新根的生长, 至 24 叶龄时, 距苗两侧 2~3 cm 处断蔓培育成新的繁殖种苗。盆栽草莓苗放置在光照充足 (12 h 以上), 温度为 $20\sim25\ ^\circ\text{C}$, 通风良好的湿润的环境中培养, 防止高温、干旱和积水, 加强水肥管理。盆栽草莓一般在结果 2 年后, 进行换土换盆, 把植株带土倒出, 去除衰老根和枯死根, 加入新培养土, 更换稍大些的新盆, 重新定植。

【思考题】

1. 不同植物栽培条件 (光、温度、pH) 有何不同? 为什么?
2. 常用的种子消毒方法有哪些?
3. 玉米培养中, 在往纱网上摆放时, 种子幼根的长度不宜过长, 原因何在?
4. 为什么瞬时转化实验中的烟草需要较薄的叶片?
5. 如果发现烟草幼苗生长不齐, 应怎么进行苗床管理?
6. 植物幼苗移栽带不带土坨? 为什么?

【参考文献】

- 侯和菊. 2005. 烟草苗期管理要点 [J]. 河南科技 (8): 4.
- 李晓东, 刘敬梅, 陈杭, 等. 2004. 甜蛋白基因 MBL II 对番茄的遗传转化 [J]. 西北植物学报, 24 (5): 808-811.

刘培培, 姜振升, 王美玲, 等. 2012. 黄瓜 Rubisco 活化酶基因 C₃RCA 表达载体构建与遗传转化 [J]. 园艺学报, 39 (5): 869-878.

王树声, 董建新, 刘新民, 等. 2002. 我国烤烟大棚集约化托盘育苗技术研究与推广概况 [J]. 中国烟草科学, 23 (2): 1-4.

于惠敏, 石竹, 邵洪伟, 等. 2011. 农杆菌介导的抗病基因对番茄的遗传转化 [J]. 山东大学学报 (理学版), 46 (11): 1-7.

Ma Q, Du W, Brandizzi F, et al. 2012. Differential control of ethylene responses by *GREEN-RIPE* and *GREEN-RIPE LIKE1* provides evidence for distinct ethylene signaling modules in tomato [J]. Plant physiology, 160: 1 968-1 984.

青岛农业大学 柏素花 马倩 刘新 赵方贵 刘洪庆

第二节 实验设计的基本原则

一、科学可行性原则

实验是人为控制条件下研究事物(对象)的一种科学方法, 是依据假设, 在人为控制条件下对实验变量的变化和结果进行捕获、解释的科学方法, 只有实验设计科学、可行才能获得正确的结论。

所谓科学性, 是指实验设计必须有充分的科学依据, 符合逻辑, 整个设计思路和实验方法的确定符合生物学基本原理以及其他学科领域的基本原则。

所谓可行性, 是指在实验设计时要根据原理或者理论来假定结果, 从实验实施到实验结果的产生都实际可行。

实验目的要明确, 原理要正确, 选择的材料和方法要恰当。充分考虑到现实的实验条件, 在可选择的情况下, 尽可能做到实验材料易得、设备简单、操作简便、时间短, 并尽量降低实验成本。

二、对照原则

设立对照组的意义在于使实验组和对照组内的非处理因素基本一致, 即均衡可比。科学、合理地设置对照可以使实验方案简洁、明了, 且使实验结论更有说服力。

1. 空白对照 即不给对照组做任何处理, 例如, 在“超氧化物歧化酶活性的测定”实验中, 实验组滴加了酶液, 而对照组只加了等量的缓冲液, 起空白对照作用。

2. 条件对照 给实验组某种处理, 给对照组另一条件的处理。这种对照方法是指不论实验组还是对照组的对象都做不同条件的处理, 目的是通过得出两种相对立的结论, 以验证实验结论的正确性。在“温度对淀粉酶活性影响”实验中, 0℃和100℃等温度下的对照则为条件对照, 显然通过条件对照实验说服力大大提高。

3. 自身对照 指对照组和实验组都在同一研究对象上进行, 不再另外设置对照组。例如, “过氧化氢酶活性的测定”实验中, 处理组加入酶液 2.5 mL, 对照组加入煮死酶液 2.5 mL, 说明酶是生物催化剂, 则属于自身对照。

4. 相互对照 不单独设置对照组, 而是几个实验相互为对照, 这种方法常用于等组实验中。“植物溶液培养和缺素培养”实验中, 设计一个实验方案证明氮、磷、钾是玉米生长

发育必需的矿质元素，即分别配制完全培养液，缺氮、缺磷、缺钾（其余成分同完全培养液）的培养液，在4组培养液中分别栽培4株同样的玉米，在相同条件下培养一段时间后，观察玉米生长发育的情况。通过与完全培养液中玉米生长发育状况比较，说明3种元素对玉米生长的必要性。

三、随机原则

随机，就是每一个受试对象都有同等的机会被分配到任何一个组中去，分组的结果不受人为因素的干扰和影响。实验设计中必须贯彻随机原则，因为在实验过程中许多非处理因素在设计时研究者并不完全知道，必须采用随机的办法抵消这些干扰因素的影响。

四、重复原则

重复，就是实验要有足够的样本含量，是消除非处理因素影响的一重要手段。

五、均衡原则

均衡，就是要设法使各条件（即实验因素的各水平组合）下的受试对象受到非处理因素干扰和影响的机会和数量基本相等。这样一来，由各组受试对象反映出来的实验效应才能较为客观地体现出处理因素取不同水平时所产生的效果。

【思考题】

结合你所学的专业设计实验，分析其遵循了哪些原则？

【参考文献】

曹建平. 2012. 实验设计的方法、原则和技巧 [J]. 生物学通报, 37 (8): 48-49.

周宏星. 2012. 实验设计的基本原则和一般过程 [J]. 生物学通报, 37 (8): 33-34.

青岛农业大学 柏素花

第三节 实验材料的采集、处理与保存

植物材料的采集、处理和保存是完成植物生理学研究的重要环节之一。植物生理实验使用的材料非常广泛，根据来源可划分为天然的植物材料（如植物幼苗、根、茎、叶、花等器官或组织等）和人工培养、选育的植物材料（如杂交种、诱导突变种、植物组织培养突变型细胞、愈伤组织、酵母等）两大类；按其水分状况和生理状态可划分为新鲜植物材料（新鲜的植物根、茎、叶、芽、花和果实等）和干材料（烘干的植物器官组织和干酵母等）两大类。因实验目的和条件不同，对实验材料加以选择。

一、植物材料的采集

植物生理研究测定结果和结论的可靠性（或准确性），在很大程度上取决于材料的选用是否具有广泛的代表性，如果采样方法不科学，样品不具有广泛代表性，即使结果的分析准

确无误,也不可能得出正确的结论。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。为了保证植物材料的代表性,必须运用科学方法采取材料。从试验田和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(如植物的根、茎、叶、花、果实、种子等)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”。

(一) 原始样品的取样法

1. 随机取样 在试验区(或大田)中选择有代表性的取样点,取样点的数目视田块的大小而定。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 在试验区(或大田)可按对角线选定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。

(二) 平均样品的取样法

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进行。具体的做法为:将供采取样品的材料铺在木板(或玻璃板、牛皮纸)上成为均匀的一层,按照对角线划分为4等份。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。再将已取中的两份样品充分混合后重复上述方法取样。反复操作,每次均淘汰50%的样品,直至所取样品达到所要求的数量为止。这种取样的方法叫做“四分法”。

一般禾谷类、豆类及油料作物的种子均可采用这种方法采取平均样品,但注意样品中不要混有未成熟的种子及其他混杂物。

2. 按比例取样法 有些作物和果品等材料,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,对甜菜和马铃薯等块根、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剖开,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,如苹果和柑橘等果实,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,按各自相关的比例取样,再混合成平均样品。

3. 按生育期取样法 研究中常常需要观察、分析某种植物材料或某种因素的处理在不同生育期的动态变化,因此需要按生育期取样。在幼苗期取样,因植株较小,采取的株数就比较多,随着植株逐渐长大,每次采取植株数也相应减少,尽管各种作物有所不同,但总的原则是所取样品的干重应当大于分析用量的2倍以上,而且绝不能单株作为样品。在各个生育期取样时,都应事先调查植株的生育状况,并将样本区分为若干类型,计算各种类型植株所占的比例,再依此采取相应的样株作为平均样品。

(三) 取样注意事项

1. 取样的地点,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。取样点的四周不应该有缺株的现象。

2. 注意取样的生理状况(生育期、成熟度、病否)和材料在植株上的空间分布。

3. 取样后,按分析的目的分成各部分(如根、茎、叶、果等),然后捆齐,并附上标签,装入纸袋。有些多汁果实取样时,应用锋利的不锈钢刀剖切,并注意勿使果汁流失。

4. 对于多汁的瓜、果、蔬菜及幼嫩器官等样品，因含水分较多，容易变质或霉烂，可以在冰箱中冷藏，或进行灭菌处理或烘干以供分析之用。

5. 选取平均样品的数量应当不少于供分析用样品的 2 倍。取样后，要注意附上标签。

6. 为了动态地了解供试验用的植物在不同生育期的生理状况，常按植物不同的生育期采取样品进行分析。取样方法系在植物的不同生育时期先调查植株的生育状况并区分为若干类型，计算出各种类型植株所占的百分比，再按此比例采取相应数目的样株作为平均样品。

二、样品的处理和保存

(一) 从田间采取的植株样品 (或是从植株上采取的器官组织样品)

一般测定中，所取植株样品应该是生育正常无损伤的健康材料。取下的植株样品或器官组织样品，必须放入事先准备好的保湿容器中，以维持试样的水分状况和未取下之前基本一致。否则，由于取样后的失水，特别是在田间取样带回室内的过程中，由于强烈失水，使离体材料的许多生理过程发生明显的变化，用这样的试材进行测定，就不可能得到正确可靠的结果。对于器官组织样品，如叶片或叶组织，在取样后就应立即放入铺有湿纱布带盖的瓷盘中，或铺有湿滤纸的培养皿中。对于干旱研究的有关试材，应尽可能维持其原来的水分状况。

采回的新鲜样品（平均样品）在做分析之前，一般先要经过净化、杀青、烘干（或风干）等一系列处理。

1. 净化 新鲜样品从田间或试验地取回时，常带有泥土等杂质，应用柔软湿布擦净，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，应将样品置于 105℃ 的烘箱中烘 15~20 min 以终止样品中酶的活动。

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℃，直到烘至恒重。烘干所需的时间因样品数量和含水量、烘箱的容积和通风性能而定。烘干时应注意温度不可过高，否则会把样品烤焦，特别是含糖较多的样品，更易在高温下焦化。为了更精密地分析，避免某些成分的损失（如蛋白质、维生素、糖等），在条件许可的情况下最好采用真空干燥法。

此外，在测定植物材料中酶的活性或某些成分（如植物激素、维生素 C、DNA、RNA 等）的含量时，需要用新鲜样品。取样时注意保鲜，取样后应立即进行待测组分提取；也可采用液氮中冷冻保存或冰冻真空干燥法得到干燥的制品，放在 0~4℃ 冰箱中保存即可。在鲜样已进行了匀浆，尚未完成提取、纯化，不能进行分析测定等特殊情况下，也可加入防腐剂（甲苯、苯甲酸），以液态保存在缓冲液中，置于 0~4℃ 冰箱即可，但保存时间不宜过长。

(二) 已经烘干（或风干）的样品

可根据样品的种类、特点进行以下处理。

1. 种子样品的处理 一般种子（如禾谷类种子）的平均样品清除杂质后要进行磨碎，在磨碎样品前后都应彻底清除磨粉机（或其他碾磨用具）内部的残留物，以免不同样品之间的机械混杂，也可将最初磨出的少量样品弃去，然后正式磨碎，最后使样品全部无损地通过 80~100 目的筛子，混合均匀作为分析样品储存于具有磨口玻塞的广口瓶中，贴上标签，注

明样品的采取地点、试验处理、采样日期和采样人姓名等。长期保存的样品，储存瓶上的标签还需要涂蜡。为防止样品在储存期间生虫，可在瓶中放置一点樟脑或对-二氯甲苯。

对于油料作物种子（如芝麻、亚麻、花生、蓖麻等）需要测定其含油量时，不应当用磨粉机磨碎，否则样品中所含的油分吸附在磨粉机上将明显地影响分析的准确性。所以，对于油料种子应将少量样品放在研钵内研碎或用切片机切成薄片作为分析样品。

2. 茎秆样品的处理 烘干（或风干）的茎秆样品，均要进行磨碎，磨茎秆用的电磨与磨种子的磨粉机结构不同，不宜用磨种子的电磨来磨碎茎秆。如果茎秆样品的含水量偏高而不利干磨碎时，应进一步烘干后再进行磨碎。

3. 多汁样品的处理 柔嫩多汁样品（如浆果、瓜、菜、块根、块茎、球茎等）的成分（如蛋白质、可溶性糖、维生素、色素等）很容易发生代谢变化和损失，因此常用其新鲜样品直接进行各项测定及分析。一般应将新鲜的平均样品切成小块，置于电动捣碎机的玻璃缸内进行捣碎。若样品含水量不够（如甜菜、甘薯等）可以根据样品重加入 0.1~1 倍的蒸馏水。充分捣碎后的样品应成浆状，从中取出混合均匀的样品进行分析。如果不能及时分析，最好不要急于将其捣碎，以免其中化学成分发生变化而难以准确测定。

有些蔬菜（如含水分不太多的叶菜类、豆类、干菜等）的平均样品可以经过干燥磨碎，也可以直接用新鲜样品进行分析。若采用新鲜样品，可采用上述方法在电动捣碎机内捣碎，也可用研钵（必要时加少许干净的石英砂）充分研磨成匀浆，再进行分析。

在进行新鲜材料的活性成分（如酶活性）测定时，样品的匀浆、研磨一定要在冰浴上或低温室内操作。新鲜样品采后来不及测定的，可放入液氮中速冻，再放入 -70℃ 冰箱中保存。

供试样品一般应该在暗处保存，但是，对于供光合、蒸腾、气孔阻力等的测定样品，在光照下保存更为合理。一般可先将这些供试样品保存在室内自然光照下，但从测定前的 0.5~1.0 h 开始，应对这些材料进行测定前的光照预处理，也叫光照前处理。这不仅是为了使气孔能正常开放，也是为了使一些光合酶类能预先被激活，以便在测定时能获得正常水平的值，而且还能缩短测定时间。光照前处理的光照度，一般应和测定时的光照条件一致。

测定材料在取样后，一般应在当天测定使用，不应该过夜保存。需要过夜时，也应在较低温度下保存，但在测定前应使材料温度恢复到测定条件的温度。

对于采集的子粒样品，在剔除杂质和破损子粒后，一般可用风干法进行干燥。但有时根据研究的要求，也可立即烘干。对叶片等组织样品，在取样后则应立即烘干。为了加速烘干，对于茎秆、果穗等器官组织应事先切成细条或碎块。

【思考题】

1. 原始样品和平均样品取样方法各有哪些？
2. 实验样品取样时应注意哪些问题？

【参考文献】

邹琦. 2003. 植物生理学实验指导 [M]. 北京: 中国农业出版社.

第四节 实验数据处理与统计分析

一、实验数据处理

做好实验记录是进行实验结果处理和分析的前提,在实验中观察到的现象及数据,应当及时准确地记在记录本上,切勿写错,更不能涂改。科学研究要求做到一丝不苟、严谨刻苦、实事求是,这不仅是做学问,而且也是做人的基本准则。

二、数据统计分析

在植物生理生化定量测定中,对实验数据进行统计分析,正确运用统计方法非常重要。

1. 有效数字位保留 记录数据时,应只保留一位不定数字,计算结果中过多无效数值是没有意义的,在去掉多余尾数时,以“四舍五入”为原则。在运算过程中,也可以暂时多保留一位不定数字,得到计算结果后,再去掉多余尾数。

2. 待测数据重复次数 实验中的误差是绝对存在的,因此必须善于利用统计学方法,分析实验结果的正确性,并判断其可靠程度。实验中,每种处理至少要有3次重复,定量测定数据也要有3次重复,否则,无法进行统计检测。而且,不能选择性统计数据。

3. 实验误差问题 因取材误差、仪器误差、试剂误差、操作误差等一些经常性的原因所引起的误差,称为系统误差;因某些偶然外因所引起的误差,称为偶然误差。前者影响分析结果的准确度,后者影响分析结果的精密度。所谓准确度是指测得值与真实值符合的程度,它用误差来表示。误差分为绝对误差和相对误差。所谓精密度是指几次重复测定彼此间符合的程度,显示其重现性状况,它用偏差来表示。偏差也分为绝对偏差和相对偏差。准确度和精密度共同反映测定结果的可靠性。误差小表示可靠性好,反之,可靠性差。

4. 实验结果参数分析 对同一待测组分所得到的多个实验数据,最简单的办法是计算其算术平均值,但这还不能很好地反映测定结果的可靠性,尚需要计算出偏差或相对偏差。在分析中,如果实验数据不多,则可采用算术平均偏差或相对平均偏差表示精密度即可,但当实验数据较多或分散程度较大时,用标准偏差即均方差 S 或相对标准偏差即变异系数 C_v 表示精密度更可靠,还可利用置信区间表示指定置信度 α 的偏差。

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

$$\text{平均偏差} = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{n}$$

$$\text{相对平均偏差} = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{n\bar{x}} \times 100\%$$

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

$$C_v = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$P = \frac{t(\alpha, n-1)S}{\sqrt{n}}; \text{置信区间} = \bar{x} \pm P$$

式中, x_i 为样本; $\bar{x}$ 为样本平均值; n 为样本数量; S 为标准偏差 (均方差); C_v 为变异系数; P 为置信区间的界限。

t 检验: 在科学研究中, 为检测某一样品 $\bar{x}$ 所属总体平均数和某一指定的同类样品的总体平均数之间, 或者两种处理取样所属的总体平均数之间有无显著差异时, 在总体方差未知, 又是小样本情况下, 可用 t 检验求得 t 值, 再根据设定显著水平和自由度大小, 从 t 值表中查得概率值 (P), 即可推断不同样品或同一样品的不同处理之间是否具有显著性差异及其差异水平。

t 检验实质上是差数的 5% 和 1% 置信区间, 它只适用于检验两个相互独立的样品平均数。要确定多个平均数之间的差异显著性, 还必须对各平均数进行多重比较。

近来多采用最小显著极差法 (简称 LSR 法), 该方法特点是不同平均数间的比较采用不同的显著差数标准, 可用于平均数间的所有相互比较, 其常用方法有新复极差检验和 q 检验两种。各平均数经多重比较后, 常采用标记字母法表示。在平均数之间, 凡有一个相同标记字母的即为差异不显著, 凡具有不同标记字母的即为差异显著, 用小写字母 a 、 b 、 c 等表示 $\alpha=0.05$ 显著水平, 大写字母 A 、 B 、 C 等表示 $\alpha=0.01$ 显著水平。差异显著性也可用标 “*” 号的方法表示, 凡达到 $\alpha=0.05$ 水平 (差异显著) 的数据, 在其右上角标一个 “*” 号, 凡达到 $\alpha=0.01$ 水平 (差异极显著) 的数据, 在其右上角标两个 “*” 号, 未达到 $\alpha=0.05$ 水平的数据, 则不予标记。

【思考题】

1. 实验中的数据为什么要进行统计分析?
2. 统计分析中要注意哪些问题?

【参考文献】

Rice J. 2011. Mathematical statistics and data analysis [M]. 3rd edition. 田金方, 译. 北京: 机械工业出版社.

陈方樱, 徐赐文. 2006. 概率论与数理统计 [M]. 北京: 机械工业出版社.

青岛农业大学 刘洪庆