



普通高等教育“十二五”规划教材

植物生理学实验教程

王三根 主编



科学出版社

普通高等教育“十二五”规划教材

植物生理学实验教程

主 编 王三根 (西南大学)

副主编 赵德刚 (贵州大学)

何龙飞 (广西大学)

宗学风 (西南大学)

编写人员 (按姓名拼音排序)

代其林 (西南科技大学)

范曾丽 (西华师范大学)

高焕晔 (贵州大学)

何龙飞 (广西大学)

李忠光 (云南师范大学)

林 春 (云南农业大学)

吕 俊 (西南大学)

毛自朝 (云南农业大学)

滕中华 (西南大学)

王三根 (西南大学)

吴中军 (重庆文理学院)

赵德刚 (贵州大学)

周岐伟 (广西大学)

字淑慧 (云南农业大学)

宗学风 (西南大学)

科学出版社

北京

内 容 简 介

植物生理学实验是植物生理学课程的重要组成部分，是学习掌握植物生理学基础理论知识的实践性教学环节。本书是《植物生理学》的配套教材，为全国高等院校生物、农学、园艺、植物保护、水土保持、林学、草业、资源环境、生态等专业学生使用的基本教材。本书所选编的实验具有代表性、多样性，覆盖面广、内容系统，适应植物生理学研究的发展趋势，并兼顾各院校植物生理学实验课开设的传统经典实验的实际需要。本书包括植物生理学实验技术概论；植物生理学基础性实验，含细胞生理与信号转导实验、代谢生理实验、植物生长发育实验和植物逆境生理实验；综合性、设计性与研究性实验；另有主要参考文献及若干附录等。本书注重理论联系生产实践及考虑相关专业教学的特点，内容详实，重点突出，脉络清晰，图文并茂，编排合理。

本书适合本专科各相关专业学生学习使用，也可作为生命科学、生态学、农林、园艺等领域教学科研人员的参考书。

图书在版编目 (CIP) 数据

植物生理学实验教程 / 王三根主编. —北京: 科学出版社, 2017
普通高等教育“十二五”规划教材
ISBN 978-7-03-050421-0

I. ①植… II. ①王… 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 (2016) 第262734号

责任编辑: 丛楠 韩书云 / 责任校对: 李影

责任印制: 徐晓晨 / 封面设计: 谜底书装

科学出版社 出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京教图印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2017年1月第一版 开本: 787×1092 1/16

2017年3月第二次印刷 印张: 16 1/4

字数: 385 000

定价: 46.00元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

植物生理学实验是植物生理学课程的重要组成部分，是学习和掌握植物生理学基础理论知识的实践性教学环节。通过实验，可进一步加深学生对基础理论的认识和理解，加强对学生基本实验技能的训练和动手能力的培养，使学生初步掌握植物生理的基本测定方法和技术，提高学生分析问题和解决问题的能力，为今后参与科学研究奠定基础。

《植物生理学实验教程》是普通高等教育“十二五”规划教材《植物生理学》（科学出版社，2013年9月）理论教材的配套教材，主要据相应理论章节配套编写，同时兼顾国内广泛使用的植物生理学实验技术，目的是让学生较全面地接触和了解植物生理学各个环节的实验技术方法，更扎实地理解和掌握植物生理学的基本知识。这样的编写安排也有利于实验教学与理论教学的协调统一及实验内容的灵活选择。

本书编写者结合长期从事植物生理科研和教学的实践经验，对实验技术、内容及实验方法进行了修订和完善，根据植物生理研究的新进展和新动向，增添新的实验项目，吸收新的实验技术和方法，并且安排综合性、设计性与研究性实验，体现科学性、系统性和实用性。所选编的实验具有代表性、多样性，覆盖面广、内容系统，既适应目前植物生理学研究的发展趋势，又兼顾各院校植物生理学实验课开设相关传统经典实验的实际需要，符合培养具有扎实的基础知识和创新思维能力学生的实验教学改革方向，有利于增强学生独立工作、解决问题的能力。

本书分为以下几部分。第一篇为植物生理学实验技术概论，包括植物生理学实验的意义、植物实验材料的代表性、植物样品的采集和保存、植物实验材料的室内培养、植物生理学实验常用仪器与方法、实验记录与实验报告、实验室规则、实验室安全及防护知识等。第二篇为植物生理学基础性实验，为本书的主体部分，与《植物生理学》理论课的相应篇章同步编写。每个实验项目一般都包括实验原理，实验目的，实验材料、设备和试剂，实验步骤，结果与分析，注意事项，问题讨论等环节。其中第一单元是细胞生理与信号转导实验，第二单元是代谢生理实验，第三单元是植物生长发育实验，第四单元是植物逆境生理实验。第三篇为综合性、设计性与研究性实验。正文后还有主要参考文献和若干附录。

本书为参编院校通力协作的产物，力图体现系统性、科学性、先进性、实用性，各部分分工为：西南大学与贵州大学合作编写第一篇及附录；云南农业大学与西南大学合作编写细胞生理与信号转导实验；云南师范大学、西南科技大学、西华师范大学与西南大学合作编写代谢生理实验；重庆文理学院、云南农业大学、贵州大学与广西大学合作编写植物生长发育实验；广西大学与西南大学合作编写植物逆境生理实验；综合性、设计性与研究性实验则由各校在编写植物生理学基础性实验的前提下合作完成。在广泛征求意见的基础上，编写人员互相审阅，再三修订后，由王三根统稿。

本书的编写出版得到了科学出版社编辑的帮助及参编学校教务部门的支持。另外，在本书的编写过程中参考和引用了国内外及若干兄弟院校教材的许多资料和图片，在此一并表示衷心感谢。由于编者水平有限，书中不足之处在所难免，请广大读者批评指正，以便今后修改完善。

编 者

· 2015年12月

目 录

第一篇 植物生理学实验技术概论

一、植物生理学实验的意义	2
二、植物实验材料的代表性	2
三、植物样品的采集和保存	5
四、植物实验材料的室内培养	9
五、植物生理学实验常用的仪器	12
六、植物生理学实验常用的方法	14
七、实验记录与实验报告	41
八、实验室规则	42
九、实验室安全及防护知识	42

第二篇 植物生理学基础性实验

第一单元 细胞生理与信号转导实验	46
实验 1 植物细胞的活体染色及死活鉴定	46
实验 2 植物细胞的质壁分离	48
实验 3 植物原生质体的分离和培养	50
实验 4 植物细胞生长的计量	52
实验 5 高等植物叶绿体的分离制备与活性鉴定	54
实验 6 叶绿体中 DNA 的分离和提取	55
实验 7 植物线粒体的制备、分离和鉴定	57
实验 8 植物染色体荧光原位杂交	59
实验 9 植物乙醛酸体的分离	62
实验 10 蛋白质磷酸化活性的测定	64
第二单元 代谢生理实验	67
实验 11 植物组织自然含水量和相对含水量的测定	67
实验 12 植物组织中自由水和束缚水含量的测定	68
实验 13 植物组织水势的测定(小液流法)	70
实验 14 环境因子对植物吐水的影响	72
实验 15 K^+ 对气孔的影响及保卫细胞内 K^+ 的变化	73
实验 16 植物根系活力的测定	76
实验 17 根际 pH 的显色测定	81
实验 18 植物根系体积和吸收面积的测定	83
实验 19 植物体内灰分元素的分析测定	85

实验 20	植物根系对矿质离子的选择性吸收	90
实验 21	硝态氮含量的测定	91
实验 22	单盐毒害及离子间的拮抗作用	95
实验 23	叶绿体色素的提取及定量测定(分光光度法)	96
实验 24	叶绿体色素的分离及理化性质观察	98
实验 25	叶绿体的分离制备及希尔反应活力测定	101
实验 26	植物光合、呼吸和蒸腾速率的测定	103
实验 27	光合速率-光强响应曲线的测定	109
实验 28	核酮糖-1,5-二磷酸羧化酶/加氧酶活性的测定	111
实验 29	磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定	114
实验 30	植物呼吸酶的简易测定	116
实验 31	抗坏血酸氧化酶活性的测定	118
实验 32	植物组织中可溶性糖含量的测定(蒽酮法)	120
实验 33	总淀粉含量的测定	122
实验 34	直链淀粉和支链淀粉含量的测定	126
实验 35	植物粗纤维含量的测定	127
实验 36	抗坏血酸含量的测定(双吡啶法)	129
实验 37	硝酸还原酶活性的测定	130
实验 38	植物对矿质离子的运输	133
实验 39	应用 ³² P测定磷在植物体内的运输与分布	134
实验 40	花色素苷的提取纯化及其光谱分析	136
实验 41	植物组织可溶性蛋白质含量的测定(考马斯亮蓝法)	138
实验 42	植物组织中可溶性蛋白质及热稳定蛋白质含量的测定	140
第三单元	植物生长发育实验	142
实验 43	植物激素的提取、分离与纯化	142
实验 44	植物生长调节剂生理效应的测定	144
实验 45	赤霉素诱导 α -淀粉酶的形成	146
实验 46	生长素类物质对水稻根、芽生长的不同影响	147
实验 47	乙烯对黄瓜雌花的诱导作用	149
实验 48	生长素对绿豆下胚轴插条生根的调控	150
实验 49	利用多效唑培育水稻壮秧	152
实验 50	水杨酸、多效唑对非洲菊切花的保鲜作用	154
实验 51	赤霉素对水稻幼苗生长的影响	156
实验 52	细胞分裂素对离体子叶的保绿效应	157
实验 53	种子活力的快速测定	159
实验 54	种子萌发对氧的需要	165
实验 55	光对需光种子发芽的影响	166
实验 56	种子萌发过程中淀粉酶活性的测定	167
实验 57	油类种子萌发时脂肪酸含量的变化	168
实验 58	植物向性运动的观察	169

实验 59	光对植物生长的影响	171
实验 60	植物光周期现象的观察	172
实验 61	花粉管生长的向化性	173
实验 62	花粉管向化性物质的提取、分离及其对细胞伸长的影响	174
实验 63	果品、蔬菜中可滴定酸含量的测定	175
实验 64	多酚氧化酶活性的测定	177
实验 65	切花的延衰保鲜实验	179
实验 66	植物生长物质对器官脱落的调节作用	181
实验 67	乙烯利对果实的催熟作用	183
实验 68	植物组织果胶酶活性的测定	184
第四单元	植物逆境生理实验	187
实验 69	超氧化物歧化酶活性的测定	187
实验 70	植物体内过氧化氢酶活性的测定	188
实验 71	聚丙烯酰胺凝胶电泳分离过氧化物酶同工酶	190
实验 72	植物体内过氧化物酶活性的测定	195
实验 73	抗坏血酸过氧化物酶活性的测定	196
实验 74	苯丙氨酸解氨酶活性的测定	198
实验 75	膜相变与流动性分析(荧光分析法)	199
实验 76	植物体内超氧自由基的测定	201
实验 77	植物体内甜菜碱含量的测定	203
实验 78	植物体内游离脯氨酸含量的测定	205
实验 79	植物细胞膜透性的测定	207
实验 80	植物细胞膜脂过氧化作用的测定	211
实验 81	植物热激蛋白的检测	213

第三篇 综合性、设计性与研究性实验

第一单元	综合性、设计性与研究性实验的基本要求	218
第二单元	综合性、设计性与研究性实验的选题举例	221
第三单元	综合性、设计性与研究性实验的若干范例	225
实验 82	植物的溶液培养及缺素症状比较观察	225
实验 83	植物对氮素缺乏的生理反应研究	230
实验 84	不同温度对植物根系生长与生理特性的影响	232
实验 85	植物组织培养快繁实验	233
实验 86	植物生长调节剂对插条不定根发生的影响	237
实验 87	种子萌发过程中的生理生化变化研究	238
实验 88	渗透胁迫对小麦幼苗生理生化指标的影响	239
实验 89	植物对盐胁迫的生理反应的研究	241
主要参考文献		243
附录		244

第一篇

植物生理学实验技术概论

一、植物生理学实验的意义

植物生理学 (plant physiology) 是研究植物生命活动规律及其与环境相互关系的科学。它以学习和研究构成植物的各部分乃至整体的功能及其调控机制为主要内容, 通过了解其功能的实现过程及其调控机制来不断地阐明植物生命活动的规律和本质。

植物生理学的研究范畴包含了群体、个体、组织和器官、细胞、分子等层面。在微观方面, 由于生物学领域中的细胞学、遗传学、分子生物学的迅速发展, 植物生命活动本质方面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, 向更为综合的方向发展, 大大扩展了植物生理学的研究范畴。植物生理学作为基础学科, 其要务是探索植物代谢的基本规律及其与环境的关系。但植物生理学从诞生迄今之所以受到人们的重视, 在于它能指导生产实践, 为栽培植物、改良和培育植物提供理论依据, 并不断提出控制植物生长的有效方法。

由此可见, 植物生理学是理论性和实践性均很强的学科, 它的发展与实验技术和手段的进步密不可分。植物生理学实验是学习掌握植物生理学基础理论知识的实践性教学环节。通过实验, 可进一步加深对基础理论的认识和理解, 加强对基本实验技能的训练和动手能力的培养, 初步掌握植物生理的基本测定方法和技术, 提高分析问题和解决问题的能力, 为今后参与科学研究和生产实践奠定基础。

二、植物实验材料的代表性

无论是进行系统的植物生理研究, 还是进行单项的生理指标测定, 首先要准备实验材料。实验材料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, 实验材料的准备和正确的取材是植物生理研究的重要环节。

植物生理学实验的基本过程包括采集具有代表性的样品, 选择适宜的样品制备、处理和分析测定方法, 进行分析测试和数据处理及统计分析。

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实验材料 (样本) 对总体的代表性, 代表性越差, 可靠性越低。

(一) 试验的准确度与精确度

从试验中得到的所有观察值, 既包含处理的真实效应, 又包含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。

由取材误差、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; 误差的大小和正负总保持不变, 或按一定的规律变化, 或是有规律地重复。由一些偶然的外因所引起的误差, 称为偶然误差; 误差的大小和正负以不可预测的方式变化。必须指出, 在测量中, 由于读数或计算时发生错误, 致使测量结果与总体平均值 (真值) 之间产生较大的偏差 (过失误差或粗大误差), 这种偏差是错误而不是误差, 它是不应该出现的, 也是完全可以避免的。

系统误差影响分析结果的准确度, 偶然误差影响分析结果的精确度。准确度和精确度共同反映测定结果的可靠性 (图 1-1)。

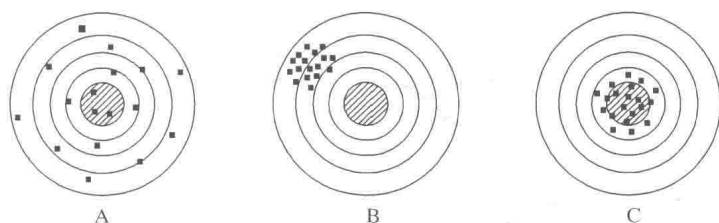


图 1-1 误差与准确度及精确度

- A. 系统误差小, 随机误差大, 精确度、准确度都不好; B. 系统误差大, 随机误差小, 精确度很好, 但准确度不好; C. 系统误差和随机误差都很小, 准确度和精确度都很好

精确度 (也称精密度) 是指在测定中所得数值重复性的程度, 它能反映偶然误差的程度, 是对测量结果中系统误差和偶然误差大小的综合评价。精确度高说明测定方法可靠, 重复性好。它通常用偏差来表示。偏差分为绝对偏差和相对偏差。

测定值与平均值之差称为绝对偏差, 实用中以相对偏差来表示精确度。

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

偏差越小, 说明从总体所抽样品的代表性越好。

准确度是指实验中所得测定值与真值的符合程度。它用误差来表示。误差也分为绝对误差和相对误差。误差小表示可靠性好, 误差大表示可靠性差。

测定值与真值之差称为绝对误差, 但在实用中多以相对误差来表示测定值的准确度。

$$\text{相对误差} = \frac{\text{测定值} - \text{真值}}{\text{真值}} \times 100\%$$

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。

(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, 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 为样本单次标准差; X 为测定值; \bar{X} 为样本平均值; n 为样本测定值的个数 (样本容量); $n-1$ 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 $\bar{X} \pm S$ 。

如果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

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

变异系数小,说明平均值的波动小,精确度高,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。其计算公式为

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

式中, $S_{\bar{X}}$ 为均数标准差。

由上式可以看出,均数标准差与样本单次标准差成正比,与测定值个数的平方根成反比,即样本容量越大,平均数的误差越小。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。

均数标准差和单次标准差一样,是一个绝对值,与平均数、样本单次标准差及样本的大小直接关系,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 $V_{\bar{X}}$ 。

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

均数变异度的值越小,平均数的误差越小,代表性越强。

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,衡量两个样本平均数之差是它的多少倍(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

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

(三) 植物材料的抽样原则和样本容量

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,还能正确地估计抽样误差。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成, 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, 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, 样本个体数越多, 抽样误差越小, 样本的代表性就越大。但是, 样本过大又会耗费过多的人力和物力, 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。

以植株高度、穗长和产量等连续性变量为例, 用简单随机抽样法抽样时, 由下式:

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

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 值为 1.96 时, 有 95% 的可靠性。这时的样本容量应为

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

$$n = \frac{t^2 \cdot S^2}{(\bar{X} - \mu)^2}$$

所以

例如, 在抽样调查某植物的株高时, 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, 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, 由 $20-1=19$, 查 t 表得 t 值为 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。

三、植物样品的采集和保存

植物生理学是以植物材料为研究对象, 样本的选取和采集除遵循常用的统计处理方法外, 还必须根据所研究对象和分析项目的特点作特殊处理。植物样品的采集和处理, 是研究测定中的重要环节。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）植物材料的种类

植物生理学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（如植物的幼苗、根、茎、叶、花等器官活组织）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）；按水分状况、生理状态可划分为新鲜植物材料（如苹果、梨、桃果肉，蔬菜叶片，绿豆、豌豆芽下胚轴，麦芽、谷芽，鳞茎、花椰菜等）和干材料（小麦面粉，玉米粉，大豆粉，根、茎、叶干粉，干酵母等）。在实际中要根据实验目的和条件不同加以选择。

植物材料生理分析的准确性，除取决于分析方法的选择是否合适及全部分析工作是否严格按照要求进行外，在很大程度上还取决于样品的采取是否具有最大的代表性。如果不遵循科学方法采样，样品缺乏代表性，即使分析工作严谨无误，也得不到正确的结论。另外，植物材料的采集要具有典型性，即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。此外，植物材料的采集还具有适时性，即在植物不同的生长发育阶段，或各种处理前后，适时采样分析。而且，在操作和处理过程中还要防止样品变化和污染。因此，必须对样品的采取、处理和保存给予足够的重视。

（二）植株样品的采集

研究测定结果的可靠性（或准确性），首先取决于实验材料对总体的代表性，如果采集样本缺乏代表性，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，正确采集所需的实验材料，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。

在许多生理测定项目中都需要采集整株的实验材料样品，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。整株采样，也只是对地上部的采样，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，因此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。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），随机抽取所需要数量的群，然后在被抽出的每群中对所有个体进行观察，由每群所得数据求得总体估计值。

在实验区（或大田）中选取有代表性的取样点，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。例如，小麦等密植型作物或其他作物幼苗可按面积采取或采取样品束（一束样品的植株数视需要而定）；玉米、甘蔗等作物，每个点采取一株就够了。

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采样。即在实验区（或大田）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。一般蔬菜样品可按对角线法采取样株。

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的正常发育无损伤的健康植株。

（三）器官样品的采集与保存

在测定许多生理指标时，并不需要对全体进行测定，或是不便于对全株测定，只需对部分器官或组织测定，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的实验材料，以提高测定结果的准确性。由于植物体各部分生理年龄和生理生化过程的速率不同，植株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的实验材料带来了很大困难。只有在充分了解植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的实验材料。

以叶片的采集为例，叶征较为长大的玉米等作物，同一片叶的不同部位存在着明显的生理差异，因而在取用叶片作生理测定时，应当特别注意叶片部位的选择，一般以中部为宜。虽然棉花、大豆等双子叶作物，叶片基部、中部、上部的差异比禾谷类作物小，但也应注意不同部位的差异性，以便在取样时尽可能提高代表性。

叶片样品的采集应根据植物种类、种植密度、株型大小、生育时期及测定要求的误差范围，从试验小区或大田确定采样株。数量一般为10~15株，其中苗期、后期少，密植作物多，高秆作物少。再根据不同叶位叶异质性的特点和研究测定的目的要求，确定采样部位。在确定了采样株和采样部位后，再将所需叶片剪下，并剪除不需要的部分，如玉米只剪取棒三叶（雌穗位叶及其上、下叶）叶片中部的20cm一段。如果剪取的样品量太多，可在剪碎混合后用四分法缩分到所需数量。

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，在正式测定之前的一段时间里，如何正确妥善地保存处理是很重要的，它关系到测定结果的准确性。

一般测定中，所取植株样品应该是发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，用这样的实验材料进行测定，就不可能得到正确可靠的结果。为了保持正常的水分状况，在剪取植株样品后，应立即插入有水的桶中，对于枝条，还应该立即在水中第二次剪切，即将第一次切口上方的一段在水中剪去，以防输导组织中水柱被拉断，影响正常的水分运输。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的带盖搪瓷盘中或铺有湿滤纸的培养皿中。对于干旱研究的有关实验材料，应尽可能维持其原来的水分状况，另外，在取样前，应刷掉实验材料表面的尘土等异物，取样后，对于可见的附着尘土异物，一般应该用水冲洗干净，并用滤纸吸干材料表面的附着水，尤其是供测定电导率等的实验材料，更要求实验材料表面洁净，否则测定结果就不会有好的重复性，准确度和精确度都不会高。

供试样品一般应该在暗处保存，但是，对于供光合、蒸腾、气孔阻力等测定的样品，在光下保存更为合理。一般可将这些供试样品保存在室内光强下，但从测定前的0.5~1.0h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,还能缩短测定时间。光照前处理的光强,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,也应该在较低的温度下保存,但在测定前应使材料温度恢复到测定条件的温度。

对不需要鲜样的组织样品,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。

(四) 植物籽粒样品的采集和制备

植物籽粒样品多用于其成分分析测定,有时也需要对叶组织的干样测定有关成分。对所采集的这类样品,需要进行干燥、粉碎、过筛等处理,并应在低温干燥条件下密封保存,以保证测定值能反映采样时样品成分的实际水平。

籽粒样品有的采自个别植株,有的采自试验小区或大田地块,有的则从大批收获物中采集。如籽粒样品是采自个别植株,应将全部种子采回留作样品用。如需要从试验小区或大田采样时,则应先按照采集植株样品的原则确定采集籽粒的植株(样株必须具有代表性),再将样株分别收获脱粒备用。也可将全小区或地块脱粒的种子混匀并铺平,用四分法对角缩分,小粒种子(如小麦、水稻等)取 250g 样品,大粒种子(如玉米、花生等)取 500g 样品。从大批谷物收获物中取样时,在保证样品有代表性的原则下,可在散堆中设点取样,或从包装袋中抽取原始样品,再用四分法缩分取样 250~500g。

对于采集的籽粒样品,在剔除杂质和破损籽粒后,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。

烘干时,新鲜材料应先在 105℃ 条件下烘干 0.5~2h(杀青),使酶失活,防止样品成分的变化。然后降温至 70~80℃ 条件下烘干 1~2d。烘干时最好是用鼓风干燥箱,并将样品平铺成薄层,以加速干燥。

干燥后的样品应该用粉碎机或研槽进行粉碎处理,粉碎后再根据需要把样品进行过筛。样品细度随称样大小而定,如称样大于 2g 时,可用圆孔径 1mm 的筛子过筛;称样量为 1~2g 时,可用 0.5mm 孔径的筛子;称样量小于 1g 时,可用 0.25mm 孔径的筛子。筛子筛号和筛孔直径的关系大致如表 1-1 所示。样品过筛弃分混匀后,保存于磨口的广口瓶中,在瓶内放一标签,瓶外贴一标签。标签上要标明样品名称、取样日期、处理方法、小区号等。在样品的粉碎和过筛等操作过程中,要防止污染和混杂。贮样瓶要用蜡封口,并在干燥条件下保存。

表 1-1 标准筛孔对照表

筛号/目	筛孔直径/mm	筛号/目	筛孔直径/mm	筛号/目	筛孔直径/mm	筛号/目	筛孔直径/mm
4	4.70	16	0.99	32	0.50	60	0.25
6	3.33	20	0.83	35	0.42	65	0.21
8	2.35	24	0.70	42	0.35	80	0.18
10	1.65	28	0.59	48	0.30	100	0.15

注:筛号即每英寸^①长度内的筛孔数

① 1英寸=2.54cm

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,如条件许可最好用电动磨粉机,在磨碎样品前后都应当使磨粉机(或其他碾磨用具)的内部十分清洁,最初磨出的少量样品可以弃去不要,然后正式磨碎,使样品全部无损失地过筛,混合均匀,作为分析样品贮存于备有磨口玻塞的广口瓶中,并随即贴上标签,注明样品的采集地点、实验处理方法、采样日期和采样人姓名等。长期保存的样品,在其贮存瓶上的标签还需涂蜡。为了防止样品在贮存期间生虫,可在瓶中放置一点樟脑或对位二氯甲苯。

油料作物种子(如芝麻、亚麻、花生、蓖麻等)如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,应将少量油料种子样品放在研钵磨碎或用切片机切成薄片作为分析样品。

四、植物实验材料的室内培养

在研究中,有时需要进行一些幼苗的短期试验,在无温室条件或非生长季节,则需要在室内培养实验材料。只要能满足植物对水分、光照、养分、空气和温度等条件的要求,植株就可正常生长发育。对于全生育期的培养试验,一般以土培为宜,而对于生育前期的观察测定,一般以无土栽培为宜。无土栽培的方法有很多,根据实验的目的要求,可分别采用不同的培养方法,如对根系生理的研究以水培、雾培或砂培为宜,而对茎叶部较长时间的测定研究,除上述培养法外,以炉渣培养或膨胀塑料培养为宜。这些培养方法的共同特点是,植物所需的营养物质,除种子里原有的外,都是通过营养液供给的,因而水培法也叫营养液栽培,是无土栽培的基本方法。无土栽培已经在小麦、水稻、菜豆、番茄等大量作物、蔬菜上获得成功,并已广泛应用于花卉和林木育苗上。随着人工控制环境的“工厂化”生产过程的发展,营养液栽培法将会发挥其更大的作用。

(一) 种子处理与幼苗的准备

不论哪种形式的培养,首先都需要准备好可供选择培养的幼苗。

播前种子必须晾晒、清选,剔出破损、瘪粒、畸形、虫蛀及腐粒种子,保证发芽率高,出苗快而整齐。种子要进行消毒处理,常见方法如下。

1. 干热消毒法 如番茄等种子干燥时耐热力强,可用干热法消毒。为防治番茄病毒病和溃疡病,事先应将种子充分暴晒,使其含水量降至7%以下,后置于烘箱内缓慢升温至70~73℃,处理4d待播。

2. 热水浸种消毒法 该法广泛用于杀死种子表面的病菌,特别是菠菜、茄子、甜椒、黄瓜等表皮较硬的种子,能耐较高的水温。一般可先将水温调至70℃左右,再缓缓倒入种子,边倒边搅拌。至水温降至30℃保温浸种催芽。

3. 药液消毒法 主要目的是杀灭种子表面带有的田间传播的病菌,把好种子消毒灭菌。

4. 药粉拌种消毒法 为防止猝倒病,常用福美双可湿性粉剂、克菌丹可湿性粉剂、多福可湿性粉剂及百菌清等处理种子,用量为种子量的0.3%,拌种的种子适于直播,不宜催芽。

有的种子要进行浸种催芽。一般常用温水浸种,即2份开水兑1份凉水至温度为50~55℃,边倒种子边搅拌,水温降至30℃左右时停止搅拌,再继续浸泡。浸种时间长短

因种子大小、种皮厚薄、吸水难易而异。豆类种子粒大，种皮薄，易吸水膨胀，浸种时间宜短；菠菜、香菜、茴香等应先搓开种子再浸种；小白菜、油菜、茼蒿、菠菜浸种后易直播，其他蔬菜多浸种催芽。浸种后用清水淘洗 2~3 遍。稍晾，再用湿纱布或毛巾、麻袋片包裹，置于洁净的瓦盆放在适湿处催芽。每隔 4~5h 上下翻动一遍，至 60% 以上种子露芽时播种。若将催芽后的种子放在 10~12℃ 低温下处理，可提高发芽整齐度和生活力，以利壮苗。

谷类植物种子可用饱和的漂白粉溶液浸泡消毒 15min（或用 0.1% 升汞溶液消毒 10min），取出后用蒸馏水冲洗干净。将种子播在垫有滤纸的带盖搪瓷盘中，加入少量水（或播在垫有湿沙子的搪瓷盘中），为了保持湿润，种子上面应覆盖湿纱布或湿沙子，并盖好盖，放在 25℃ 左右的温度下发芽。并注意应经常少量浇水。

当种子萌发胚根长到 2~4cm 时，应将生长整齐健壮的幼苗暂时移植一次，这次仍可将所挑选的幼苗移植在铺湿沙子的带盖搪瓷盘中，每天换一次水，继续在 25℃ 左右条件下培养。这一阶段的培养也可在光下进行。当根系长到 5~7cm 时，可作为水培的定植材料。

（二）植物营养液的配制

无土栽培的营养液配方有很多，依作物种类、生长季节等而不同。其中 Hoagland 营养液（表 1-2）pH 较为稳定，对大多数植物都比较合适，是应用比较广泛的一种营养液。

表 1-2 Hoagland 营养液的成分

元素	贮备液浓度 / (mmol/L)	贮备液浓度 / (g/L)	化合物	每升最终溶液中贮备液的体积 / mL
N, K	1000	101.1	KNO ₃	6.0
Ca	1000	236.16	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	4.0
P	1000	115.08	NH ₄ H ₂ PO ₄	2.0
S, Mg	1000	246.49	MgSO ₄ · 7H ₂ O	1.0
Cl	25	1864	KCl	2.0
B	12.5	0.7773	H ₃ BO ₃	2.0
Mn	1	0.169	MnSO ₄ · H ₂ O	2.0
Zn	1	0.288	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	2.0
Cu	0.25	0.062	CuSO ₄ · 5H ₂ O	2.0
Mo	0.25	0.04	H ₂ MoO ₄ (85% MoO ₃)	2.0
Fe	64	30	Fe-EDTA (10% Fe)	0.3~1.0

配制营养液所用水源的选择，因实验目的与要求的不同而不同。对于缺素培养当然以蒸馏水为宜，对于微量元素的实验研究则要求用特种玻璃蒸馏器所得蒸馏水或重蒸馏水，而对于这两类研究以外的作物生理研究，则用雨水、自来水和井水均可，但要求自来水和井水是中性或微酸性（pH>6），无大量钙、镁、氯等离子，工业废水等污水不能用于溶液培养。

配制营养液所用盐类的纯度，一般培养液用化学纯（C.P.）或实验试剂（L.R.）即可。要注意所用盐类与配方是否一致，若有差别必须换算。配制时首先将可溶性盐类配成贮备液，其浓度最好是该种盐类用量的倍数，便于使用时稀释。贮备液以放入黑色塑