



高等学校规划教材

植物生理 研究技术

ZHIWU SHENGLI
YANJIU JISHU

主 编 宗学凤 王三根

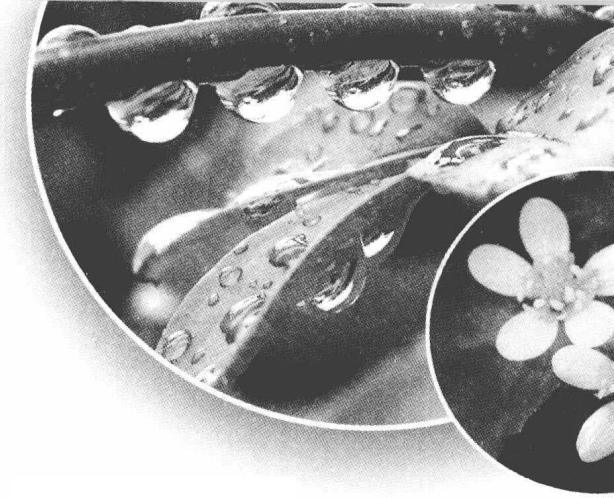


西南师范大学出版社

国家一级出版社 全国百佳图书出版单位



高等学校规划教材



主编 宗学凤 王三根

植物生理 技术

ZHIWU SHENGLI
YANJIU JISHU



西南师范大学出版社

国家一级出版社 全国百佳图书出版单位

图书在版编目(CIP)数据

植物生理研究技术/宗学凤,王三根主编. —重庆:
西南师范大学出版社,2011. 9

ISBN 978-7-5621-5470-9

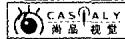
I . ①植… II . ①宗…②王… III . 植物生理学—
高等学校—教材 IV . ①Q945

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2011)第 195053 号

植物生理研究技术

宗学凤 王三根 主编

责任编辑:杜珍辉

书籍设计:  周娟 廖明媛

出版、发行:西南师范大学出版社

(重庆·北碚 邮编:400715)

网址: www.xscbs.com)

印 刷: 重庆市圣立印刷有限公司

开 本: 787mm×1092mm 1/16

印 张: 13.5

字 数: 330 千字

版 次: 2011 年 10 月第 1 版

印 次: 2011 年 10 月第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5621-5470-9

定 价: 28.00 元

植物生理研究技术

主 编 宗学凤(西南大学)
王三根(西南大学)
副 主 编 梁 纶(西南大学)
胡雪琴(重庆医药高等专科学校)
编写人员 万华方(西南大学)
马永甫(重庆文理学院)
刘大军(西南大学)
滕中华(西南大学)
吕 俊(西南大学)
陈 兰(重庆电子工程职业学院)
张 蕊(周口职业技术学院)
梁艳丽(云南农业大学)
李邦秀(西南大学)
陈世军(黔南民族师范学院)



前 言

植物生理学是研究植物生命活动规律及其机理的科学,是现代农林业的理论基础。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理为主要内容,通过了解其功能实现过程与调控机理来不断深入地阐明植物生命活动的规律和本质。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。

植物生理研究技术是相关植物生理学理论课程的配套教材,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,可进一步加深学生对基础理论的认识和理解,加强对学生基本技能的训练和动手能力的培养,扎实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,为参与科学研究奠定基础。

本教材分为上、下两篇,书末还有植物生理实验常用表等附录,方便学习查阅。上篇介绍植物生理实验原理。第一章为植物生理的实验材料,包括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等。第二章为植物细胞生理研究,包括植物细胞生理研究的主要方法,细胞组分的分离方法、制备技术和植物组织细胞培养技术。第三章为植物的水分生理研究技术,包括植物的水分生理指标及抗旱生理研究技术。第四章为植物生长的研究方法,包括植株生长量和植物群体结构研究法,植物群体物质生产的研究等。第五章为植物生长物质的研究方法,含植物激素的主要检测技术,植物激素的提取、分离与纯化,植物激素的免疫研究方法以及植物生长调节剂的应用技术。下篇则具体列举了 40 余个常见植物生理实验的测定技术,含第六章植物细胞生理实验,第七章植物的水分生理与矿质营养实验,第八章植物的光合作用与呼吸作用实验,第九章物质代谢及生长发育生理实验,第十章植物逆境和衰老生理实验等内容。

本书结合作者长期从事植物生理科研和实验教学的实践经验,对实验项目、内容及实验方法进行修订和完善,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。所编选的实验具有代表性、多样性、实用性的特点,既适应目前植物生理学研究的发展趋势,又顾及传统植物生理学的研究需要,符合培养学生既有扎实基础知识又有

创新思维能力的实验教学改革方向,有利于学生的独立工作素质和综合素质的提高。

本教材的编写出版得到了西南大学专项经费资助,西南师范大学出版社的大力支持,特别是杨光明、杜珍辉编辑的热心帮助,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。

教材中定有不少缺点和错误,敬请广大同仁和读者不吝赐教,以便日后修订完善。

编者

2011 年 6 月



目 录

| | |
|----------------------------|-----|
| 上篇 植物生理实验原理 | 001 |
| 第一章 植物生理的实验材料 | 001 |
| 第一节 植物试验材料的代表性 | 001 |
| 一、试验材料的准确度与精确度 | 001 |
| 二、标准差和变异系数 | 002 |
| 三、植物材料的抽样原则和样本容量 | 003 |
| 第二节 植物样品的采集和保存 | 005 |
| 一、植物材料的种类 | 005 |
| 二、植株样品的采集 | 005 |
| 三、器官样品的采集与保存 | 006 |
| 四、植物籽粒样品的采集和制备 | 007 |
| 第三节 植物实验材料的室内培养 | 008 |
| 一、种子处理与幼苗的准备 | 008 |
| 二、植物营养液的配制 | 009 |
| 三、水培栽植方法 | 010 |
| 四、喷雾培养法 | 011 |
| 第二章 植物细胞生理研究 | 013 |
| 第一节 植物细胞生理研究的主要方法 | 013 |
| 一、细胞组分与发育的研究技术 | 013 |
| 二、细胞生理的研究方法 | 013 |
| 第二节 植物细胞组分的分离方法 | 014 |

| | |
|-----------------------|------------|
| 一、组织细胞的匀浆化 | 014 |
| 二、分离纯化的程序 | 015 |
| 三、细胞组分纯度的鉴定 | 015 |
| 第三节 植物细胞组分的分离制备技术 | 016 |
| 一、原生质体的分离制备 | 016 |
| 二、植物线粒体的制备 | 018 |
| 三、叶绿体及其色素蛋白复合体的分离制备 | 019 |
| 四、植物细胞质膜的分离 | 022 |
| 五、膜脂的提取分离技术 | 024 |
| 第四节 植物组织细胞培养技术 | 026 |
| 一、组织培养的概念与类型 | 026 |
| 二、组织细胞培养的设备及其操作 | 027 |
| 三、培养基及其配制 | 029 |
| 四、组织细胞培养的操作技术 | 032 |
| 第三章 植物水分生理研究技术 | 035 |
| 第一节 植物的水分生理指标 | 035 |
| 一、鲜重含水量和干重含水量 | 035 |
| 二、相对含水量和饱和亏缺 | 035 |
| 三、自由水与束缚水 | 036 |
| 四、水势及其组分 | 036 |
| 五、植物水势的测定 | 037 |
| 六、蒸腾速率的测定 | 040 |
| 第二节 植物水分逆境生理研究技术 | 040 |
| 一、植物水分逆境的类型 | 040 |
| 二、植物抗旱性的鉴定方法 | 042 |
| 第四章 植物生长的研究方法 | 047 |
| 第一节 植株生长量的研究 | 047 |
| 一、植物株高的测定 | 047 |
| 二、植物叶面积的测定 | 048 |
| 三、植株重量的测定 | 049 |
| 第二节 植物群体结构研究法 | 049 |
| 一、植物群体结构的调节 | 050 |



| | |
|---------------------------|-----|
| 二、植物的叶面积指数..... | 051 |
| 三、光合势和叶面积持续时间..... | 052 |
| 四、植物叶片着生状态的研究..... | 052 |
| 第三节 植物群体物质生产的研究 | 054 |
| 一、植物群体的层次分析..... | 054 |
| 二、物质生产的数量分析..... | 056 |
| 三、群体植物生产力的估算方法..... | 059 |
| 第五章 植物生长物质的研究方法 | 064 |
| 第一节 植物激素的主要检测技术 | 064 |
| 一、生物鉴定法..... | 064 |
| 二、理化测定法..... | 065 |
| 三、免疫分析法..... | 065 |
| 第二节 植物激素的分离过程 | 066 |
| 一、植物激素的提取程序..... | 066 |
| 二、植物激素的分离与纯化..... | 066 |
| 三、植物激素的纯度检验..... | 070 |
| 第三节 植物激素的免疫研究方法 | 071 |
| 一、植物激素的一般免疫分析技术..... | 071 |
| 二、植物激素的免疫组织化学定位技术..... | 077 |
| 第四节 植物生长调节剂的应用技术 | 080 |
| 一、植物生长调节剂应用的特点..... | 080 |
| 二、植物生长调节剂的施用方法..... | 081 |
| 三、植物生长调节剂间的相互作用..... | 083 |
| 四、植物生长调节剂的配合使用..... | 084 |
| 下篇 植物生理实验方法 | 088 |
| 第六章 植物细胞生理实验 | 088 |
| 实验一 植物细胞的活体染色及死活鉴定 | 088 |
| 实验二 植物细胞的质壁分离 | 090 |
| 实验三 植物线粒体的制备、分离和鉴定..... | 092 |
| 实验四 叶绿体 DNA 的分离和提取 | 095 |

| | | |
|-----------------------------|-------|-----|
| 第七章 植物的水分生理与矿质营养实验 | | 097 |
| 实验一 植物组织含水量和相对含水量的测定 | | 097 |
| 实验二 组织中自由水和束缚水含量的测定 | | 098 |
| 实验三 植物组织水势的测定(小液流法) | | 100 |
| 实验四 植物体内的硝态氮含量的测定 | | 102 |
| 实验五 根系活力的测定(TTC还原法) | | 105 |
| 实验六 植物体内的灰分元素的分析测定 | | 107 |
| 实验七 硝酸还原酶活性的测定 | | 112 |
| 第八章 植物的光合与呼吸作用实验 | | 117 |
| 实验一 叶绿体色素的提取及定量测定(分光光度法) | | 117 |
| 实验二 叶绿体色素的分离及理化性质观察 | | 119 |
| 实验三 叶绿体的分离制备及希尔反应活力测定 | | 121 |
| 实验四 植物光合、呼吸和蒸腾速率的测定 | | 124 |
| 实验五 光合速率—光强响应曲线的测定 | | 127 |
| 实验六 Rubisco活性的测定 | | 128 |
| 实验七 PEP羧化酶活性的测定 | | 132 |
| 实验八 植物呼吸酶的简易测定 | | 134 |
| 第九章 物质代谢及生长发育生理实验 | | 137 |
| 实验一 植物组织中可溶性糖含量的测定 | | 137 |
| 实验二 植物组织中可溶性蛋白及热稳定蛋白含量的测定 | | 139 |
| 实验三 植物组织淀粉和纤维素含量的测定 | | 140 |
| 实验四 多酚氧化酶活性测定 | | 143 |
| 实验五 苯丙氨酸解氨酶活性的测定 | | 145 |
| 实验六 种子生命力的快速测定 | | 146 |
| 实验七 植物激素的提取、分离与纯化 | | 152 |
| 实验八 固相抗原型ELISA测定植物组织中激素含量 | | 155 |
| 实验九 赤霉素对 α -淀粉酶的诱导作用 | | 158 |
| 实验十 生长素类物质对根芽生长的不同影响 | | 161 |
| 第十章 植物逆境和衰老生理实验 | | 163 |
| 实验一 植物体内的游离脯氨酸和甜菜碱的测定 | | 163 |
| 实验二 植物细胞膜脂过氧化作用的测定 | | 166 |



| | |
|-----------------------------|-----|
| 实验三 植物细胞差别透性的测定 | 168 |
| 实验四 植物热激蛋白的检测 | 172 |
| 实验五 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定 | 175 |
| 实验六 过氧化氢酶活性的测定 | 177 |
| 实验七 过氧化物酶活性的测定 | 179 |
| 实验八 过氧化氢含量的测定 | 182 |
| 实验九 超氧阴离子产生速率的测定 | 185 |
| 实验十 羟自由基清除率的测定 | 187 |
| 实验十一 抗氧化率的测定 | 188 |
| | |
| 附录 | 190 |
| 附一 植物生理实验室常用表 | 190 |
| 附二 离心机转速与相对离心率的换算 | 202 |
| | |
| 主要参考文献 | 203 |



上篇 植物生理实验原理

第一章 植物生理的实验材料

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理为主要内容,通过了解其功能实现过程及其调控机理来不断深入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,朝更为综合的方向发展,大大扩展了植物生理学的研究范畴。

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,首先要准备试验材料。试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,试验材料的准备和正确的取材是植物生理研究的重要环节。

第一节 植物试验材料的代表性

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。

在实际的科学的研究工作中,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的。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。

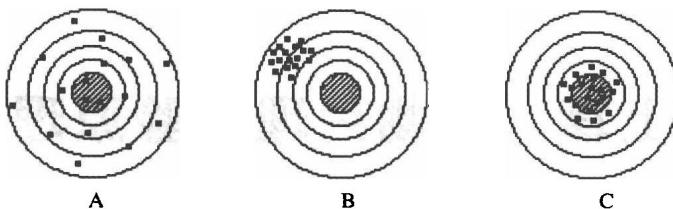
一、试验材料的准确度与精确度

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。

由于取材误差、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)。



- 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

图 1-1 误差与准确度及精确度

精确度(也称精密度)是指在测定中所得到数值重复性的大小,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。偏差也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。

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。误差小表示可靠性好,误差大表示可靠性差。

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:

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

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,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 ——样本单次标准差;

X ——测定值;



\bar{X} ——样本平均值；

$n - 1$ ——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：

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

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。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。

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 $V_{\bar{X}}(\%)$ ）。

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

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，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,而且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,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,确实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

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

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:

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

例如,在抽样调查某植物的株高时,允许误差($\bar{X} - \mu$)=3 cm,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 20.9,代入上式得

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

所以,每个重复调查 23 株较为合适。



第二节 植物样品的采集和保存

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);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(如小麦面粉,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,而加以选择。

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以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。其次,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。再次,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。而且,在操作和处理过程中还要防止样品变化和污染。因此,必须对样品的采集、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),首先取决于试材对总体的代表性,如果采集样缺乏代表性,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。

在许多生理测定项目中都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。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),随机抽取所需要数量的群,然后在被抽出的每个单位群中,对所有个体进行观察,由每个单位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。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),像玉米、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)按对角线选定五个取样点,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。如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正常生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进行测定,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。由于植物体各部分生理年龄和生理生化过程的速率不同,所以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试材带来了很多困难。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试材。

以叶片的采集为例,叶片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、生育时期以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,其中苗期多、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20 cm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,它也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,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,还应该立即在水中进行第二次剪切,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,另外,在取样前,应刷掉试材表面的尘土等异物,取样后,对