

植物生理学理论与技术(B册)

植物生理实验技术

主编：郝再彬

徐 苍  
仲 晶

哈尔滨出版社

责任编辑：王放  
封面设计：王静



ISBN 7-80639-680-2



9 787806 396803 >

ISBN 7-80639-680-2  
Q·3 定价：56.00元（A、B册）

植物生理学理论与技术(B)

# 植物生理实验技术

主编 郝再彬 苍晶 徐仲

哈尔滨出版社

**图书在版编目(CIP)数据**

植物生理实验技术/郝再彬,苍晶,徐仲主编. —哈尔滨:  
哈尔滨出版社,2002.2

(植物生理学理论与技术)

ISBN 7-80639-680-2

I. 植... I. ①郝...②苍...③徐... II. ①植物  
生理学—实验 N. Q94-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2002)第 006907 号

责任编辑:王 放

封面设计:王 静

植物生理学理论与技术(B)

**植物生理实验技术**

郝再彬 苍晶 徐仲

---

哈尔滨出版社

哈尔滨市南岗区贵新街 170 号

邮政编码:150006 电话:0451-6225161

E-mail:hrbcbs@yeah.net

全国新华书店发行

东北农业大学印刷厂印刷

---

开本 787×1092 毫米 1/16 印张 38.75 字数 800 千字

2002 年 2 月第 1 版 2002 年 2 月第 1 次印刷

印数 1—1000 册

ISBN 7-80639-680-2/Q·3

定价:56.00 元(A、B 册)

---

版权所有,侵权必究。举报电话:0451-6225162

常年法律顾问:北京岳成律师事务所黑龙江分所

## 《植物生理实验技术》编委

**主 编** 郝再彬 (东北农业大学生命科学学院)  
徐 仲 (东北农业大学生命科学学院)  
苍 晶 (东北农业大学)

**副主编** 战淑敏 (莱阳农学院基础部)  
王军虹 (东北农业大学生命科学学院)  
吴东岚 (东北农业大学网络学院)  
高继国 (东北农业大学生命科学学院)

**参 编** (以姓氏笔画为序)  
王军虹 (东北农业大学生命科学学院)  
齐东来 (东北农业大学生命科学学院)  
李一丹 (东北农业大学生命科学学院)  
朱祥春 (东北农业大学生命科学学院)  
苍 晶 (东北农业大学生命科学学院)  
吴东岚 (东北农业大学网络学院)  
赵 越 (东北农业大学生命科学学院)  
杨丽娟 (东北农业大学生命科学学院)  
赵方贵 (莱阳农学院基础部)  
柏素花 (莱阳农学院基础部)  
战淑敏 (莱阳农学院基础部)  
徐 仲 (东北农业大学生命科学学院)  
高继国 (东北农业大学生命科学学院)  
郝再彬 (东北农业大学生命科学学院)

**主 审** 王守德 (东北农业大学生命科学学院)  
**副 审** 史芝文 (东北农业大学生命科学学院)

**校 对** 王 静 (东北农业大学生命科学学院 2001 级研究生)  
白 月 (东北农业大学生命科学学院 2001 级研究生)  
孙 鑫 (东北农业大学生命科学学院 2001 级研究生)  
朴日花 (东北农业大学生命科学学院 2001 级研究生)  
朱国英 (东北农业大学生命科学学院 2001 级研究生)

## 前 言

植物生理学是生物学领域中实验性极强的学科，近年来现代生物技术的发展日新月异，植物生理学也日益紧密的与生物学其他领域交叉，共同发展。为了面向 21 世纪国际生命科学研究的挑战，推动植物生理学教学与研究的发展，并尽快与国际先进科学技术接轨，我们在该领域前辈们及佼佼者数十年艰辛奋斗所积累的许多成就的基础之上，组织编写了适合东北及周边地区的本套教材。

全书分 A、B 两册。A 册为《植物生理生化》，共十三章，系统阐述了植物生理生化科学各方面的理论和技术成果，适于作为高等院校相关专业的教材。B 册为《植物生理实验技术》，共九章，收集了 78 个实验内容，代表了植物生理学最实用的技术方法，除可作为大学生教材外，也可作为研究生及高级科研技术人员的工作参考书。

本书的编者均有 10 年以上的从事植物生理学教学和研究的实践经验，曾独自编写或参编了多本此类教材，在高校使用中反响良好。

本书的选材代表性强，覆盖面广，注重将传统、经典技术及理论与现代新兴技术相衔接，文字力求清新简明。书中大部分内容借鉴了国内一些优秀教材的内容及国外最新研究成果，在此一并向这些参考文献的编者们表示衷心的感谢！

鉴于编者的水平有限，编写时间也较仓促，书中的不足和错误势必不少，敬请读者和专家多多指正。

编 者

2002 年 1 月

# 目 录

第一章 植物材料的采取、处理与保存-----	1
1.1 植物材料的采取-----	1
1.2 分析样品的前处理和保存-----	2
1.3 待测组分的提取、分离和纯化技术-----	3
1.4 样品中待测组分的测定-----	6
1.5 实验结果的数据处理与分析-----	6
第二章 细胞生理-----	10
2.1 活体染色法鉴定植物细胞死活-----	10
2.2 质壁分离法鉴定植物细胞死活-----	12
2.3 叶肉细胞的分离及活力检测-----	15
2.4 植物组织等电点的测定-----	18
2.5 质膜 $H^+$ -ATPCase 活力测定-----	20
第三章 水分生理-----	22
3.1 植物组织含水量的测定-----	22
3.2 植物组织汁液浓度(可溶固形物)的测定-----	24
3.3 植物组织自由水和束缚水含量测定-----	28
3.4 小液流法测定植物组织水势-----	31
3.5 压力室法测定植物组织水势-----	33
3.6 质壁分离法测定植物细胞渗透势-----	35
3.7 冰点下降法测定植物汁液渗透势-----	37
3.8 露点法测定植物叶片水势和渗透势-----	40
3.9 $K^+$ 对气孔开度的影响-----	42
第四章 植物的矿质营养-----	43
4.1 溶液培养及缺素观察-----	43
4.2 TTC 法测定植物根系活力-----	46
4.3 甲烯蓝法测定植物根系活力-----	48
4.4 离体法测定硝酸还原酶活力-----	50
4.5 活体法测定硝酸还原酶活力-----	53
4.6 植物体内硝态氮含量的测定-----	55
4.7 植物组织中 N、P、K 快速测定-----	57
4.8 原子吸收分光光度法测定矿质元素-----	61
第五章 光合作用和呼吸作用-----	63
5.1 叶绿体色素的提取、分离和理化性质-----	63
5.2 叶绿体色素的含量测定-----	68
5.3 分光光度法测定 RuBPCase 活性-----	71
5.4 同位素标记法测定 RuBPCase 活性-----	74

5.5	PEPCase 活性测定	76
5.6	乙醇酸氧化酶活性的测定	78
5.7	红外线 CO <sub>2</sub> 气体分析仪法测定植物光合、呼吸速率	80
5.8	氧电极法测定植物的光合与呼吸速率	89
5.9	微量减压法测定植物的呼吸速率	96
5.10	小筐子法测定植物呼吸速率	102
5.11	叶绿体中甘油醛-3-磷酸脱氢酶活性的测定	104
第六章 有机物代谢		107
6.1	植物组织有机酸含量测定	107
6.2	苯酚比色法测定可溶性糖含量	109
6.3	蒽酮法测定可溶性糖含量	111
6.4	DNS 比色法测定还原糖	113
6.5	斐林试剂比色法测定还原糖	115
6.6	淀粉的含量测定	117
6.7	纤维素的测定	119
6.8	斐林-酚试剂法测定可溶性蛋白质含量	121
6.9	考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白质含量	123
6.10	紫外吸收法测定可溶性蛋白质含量	125
6.11	染料结合法 (DBL) 测定谷物种子赖氨酸含量	127
6.12	植物同工酶和可溶性蛋白质的凝胶电泳	132
6.13	微量凯氏定氮法测定组织总氮、蛋白氮含量	138
6.14	种子粗脂肪的含量测定	144
6.15	植物组织 ATP 酶活性测定	146
6.16	纸层析法分离种子中不饱和和脂肪酸	149
6.17	茚三酮显色法测定谷物种子赖氨酸含量	151
6.18	苯丙氨酸解氨酶活性测定	154
6.19	谷氨酰胺合成酶活力的测定	156
6.20	植物组织中 DNA 的提取与测定	158
第七章 激素		162
7.1	植物内源激素脱落酸、赤霉素的提取、分离及测定	162
7.2	酶联免疫吸附检测法测定植物激素含量	166
7.3	赤霉素对 $\alpha$ -淀粉酶的诱导形成	169
7.4	细胞分裂素的生物鉴定——萝卜子叶增重法	171
7.5	气相色谱法测定乙烯含量	172
7.6	激素对愈伤组织的形成和分化的影响	174
第八章 植物的生长发育		177
8.1	TTC 法快速鉴定植物种子生活力	177
8.2	染料染色法快速鉴定植物种子生活力	179
8.3	荧光法快速鉴定植物种子生活力	180



8.4 花粉萌发法测定花粉活力-----	182
8.5 I <sub>2</sub> -KI 染色法测定花粉活力-----	183
8.6 TTC 法测定花粉活力-----	184
第九章 逆境生理-----	185
9.1 电导法测定植物组织抗逆性-----	185
9.2 植物组织游离脯氨酸含量的测定-----	188
9.3 植物组织中丙二醛含量测定-----	190
9.4 气相色谱法测定膜脂中脂肪酸含量-----	193
9.5 超氧化物歧化酶活性测定-----	195
9.6 植物组织中过氧化氢含量测定-----	198
9.7 高锰酸钾滴定法测定过氧化氢酶活性-----	200
9.8 紫外吸收法测定过氧化氢酶活性-----	202
9.9 植物组织中过氧化物酶活性测定-----	204
9.10 滴定法测定抗坏血酸氧化酶、多酚氧化酶活性-----	206
9.11 比色法测定抗坏血酸过氧化物酶活性-----	210
9.12 氧电极法测定多酚氧化酶活性-----	211
9.13 比色法测定多酚氧化酶活性-----	212
附录	
附录 1 硫酸胺饱和度常用表-----	213
附录 2 实验中常用酸、碱的比重和浓度的关系-----	215
附录 3 常用固态酸、碱、盐的物质的量浓度配制参考表-----	216
附录 4 常用有机溶剂及其主要性质-----	217
附录 5 常用酸、碱指示剂-----	218
附录 6 植物组织培养常用培养基-----	219
附录 7 标准计量单位-----	220
附录 8 常见的植物生长调节物质及其主要性质-----	222
附录 9 植物激素与生长调节剂在农业生产中的应用-----	223
附录 10 常用缓冲溶液的配制-----	225
附录 11 维生素及其主要性质-----	229
主编简介-----	230

# 第一章 实验材料的采取、处理与保存

## 1.1 植物材料的采取

实验分析的准确性,在很大程度上取决于材料的选用是否具有最大的代表性。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(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”。

### 1.1.1 原始样品的取样法

#### 1.1.1.1 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。

#### 1.1.1.2 对角线取样

在试验区(或大田)可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。

### 1.1.2 平均样品的采取法

#### 1.1.2.1 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(或玻板、牛皮纸)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个方法采取平均样品,但应注意样品中不要混有不成熟的种子及其它杂物。

#### 1.1.2.2 按比例取样法

有些作物、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。例如对甘薯、甜菜、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，如桃、梨、苹果、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，按各相关的比例取样混合成平均样品。

### 1.1.3 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。取样点的四周不应有缺株的现象。

2. 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，应用锋利不锈钢刀子，并注意勿使果汁流失。

3. 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。

4. 选取平均样品的数量应当不少于供分析用样品的两倍。

5. 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。

## 1.2 分析样品的前处理和保存

### 1.2.1 种子样品的前处理和保存

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，使样品全部无损地通过 80~100 目的筛子，混合均匀，作为分析样品贮存于具有磨口玻塞的广口瓶中，并随即贴上标签，注明样品的采取地点、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要涂蜡。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。

### 1.2.2 茎叶样品的前处理和保存

采回新鲜样品(平均样品)后, 根据用途先要经过净化、杀青、烘干(或风干)等一系列前处理(pretreatment)。

1. 净化: 新鲜样品从田间或试验地取回时, 常沾有泥土等杂质, 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, 务必及时终止样品中酶的活动, 这就需要将样品置于 105℃ 的烘箱中杀青 15~20min。

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, 一般的样品所需烘干的时间大约为一天。烘干时应注意温度不能过高, 否则会把样品烤焦。

烘干(或风干)的茎叶样品, 均要进行磨碎, 磨茎叶用的粉碎机与磨种子的磨粉机的结构不同, 不宜用磨种子的电磨来代替。如果茎叶样品中的水分偏高而不利于磨碎时, 就需要进一步烘干之后再磨碎。磨碎后样品的保存方法均与上相同。

此外, 在测定植物材料中酶的活性或某些成分(如维生素 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。

## 1.3 待测组分的提取、分离和纯化技术

### 1.3.1 待测组分的提取

上述烘干(风干)的、冰冻的或是新鲜的样品置于一定的溶剂(提取液)中, 用电动捣碎机或研钵破碎后, 样品混合液内含有各种待测组分。由于待测组分的结构、性质不同, 与其他细胞组分的结合强度及在提取液中的溶解程度有差异, 因而不同待测组分的提取液性质、成分和操作条件都有很大差别。

对于色素、植物激素、氨基酸、可溶性糖、有机酸等小分子物质的提取, 首要的是选择适当性质的溶剂。一般而言, 极性的(亲水的)待测组分易溶于极性溶剂中, 非极性的(亲脂的)待测组分易溶于非极性的有机溶剂中。提取液的 pH 影响待测组分的解离状态及其活性和稳定性, 不可忽视。例如叶绿素可以用 95% 乙醇或丙酮溶液提取, 脱落酸、赤霉素可用丙酮、甲醇溶液提取, 还原糖可用蒸馏水提取, 维生素 C 可用 2% 草酸溶液提取。两性物质氨基酸在等电点以外的任何 pH 溶液中都是呈解离态, 一般可用 10% 乙酸提取。为了使待测组分能更快、更充分地与其他细胞组分中分离出来, 可以采用电炉加热、煮沸、恒温水浴保温、剧烈搅拌或振荡等, 这样就可以使待测组分最大限度地存在于提取液中, 再经过离心

或过滤除去残渣，即可得到较理想的粗提液。

对于核酸、蛋白质及酶等生物大分子的提取，则要相对复杂一些。一般情况下，碱性生物大分子物质易溶于酸性溶剂，酸性生物大分子物质易溶于碱性溶剂。由于不同蛋白质分子中，含有不同比例的极性基团与非极性基团，氨基酸排列顺序有很大差别，因此，提取蛋白质时，要根据蛋白质的结构及溶解性质、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，这样可以通过少量离子的作用，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的两侧，使蛋白质分子带上净电荷，以提高其溶解度。对于某些与脂质结合得比较牢固的蛋白质复合体或含脂肪族氨基酸较多的蛋白质，因其疏水性强，则需要在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(sodium dodecyl sulfate, SDS)或高浓度的有机溶剂(如 70%~80% 的乙醇)。

在提取酶时，一般情况下要在冰浴上或低温室内操作。其提取液应为偏离等电点两侧的 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(ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA)也是提取液中常用的成分之一，以防酶变性失活。为防止酶蛋白在分离过程中发生降解，有时还需加入蛋白酶抑制剂。

核酸的提取方法有多种。提取核酸时，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(separation)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(purity)和相对分子质量(molecular weight)。

### 1.3.2 待测组分的分离纯化

在一般的生理生化分析中，如果待测组分与分析试剂(如显色剂、氧化还原剂)反应的专一性程度高，受其他杂质的干扰少，则不需要进一步纯化(purification)。但在制备性生化实验中，必须采用一系列生化分离纯化技术，除去粗提取液中的杂质(异类物质和同类物质)，以制成高纯品。常用的生化分离纯化技术有：盐析技术、离心技术、电泳技术、层析技术等，这里重点介绍盐析技术和透析技术。

#### 1.3.2.1 盐析

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(salting out)。蛋白质、酶、多糖、核酸等都可应用盐析技术进行沉淀分离。但该技术在蛋白质或酶的分离纯化中应用最广泛，它是一种由提取到分离纯化的衔接技术。其原理当溶液中的中性盐浓度增至一定的程度时，蛋白质分子表面电荷被中和，包围蛋白质分子的水膜被破坏，导致蛋白质分子溶解度下降，而凝聚析出。

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。最常用的中性盐是硫酸铵，它的溶解度大，受温度影响小，不易引起蛋白质变性，价格便宜。在使用硫酸铵进行蛋白质盐析时，要选用纯度较高的或重结晶的硫酸铵。硫酸铵的浓度常用饱和度表示，达到饱和状态时的硫酸铵饱和度为 100%。不同的硫酸铵饱和度可用加入固体盐法、加入饱和溶液法及透析平衡法任意调节。不同浓度的蛋白质溶液，使用硫酸铵的饱和度范围是有差别的。蛋白质浓度较高时，需硫酸铵量较少；蛋白质浓度较低时，需硫酸铵量较多。在具体进行盐析时，因制备阶段不同，其操作方法有差异。一般在制备早期，应保持一定的 pH 和温度，而改变离子强度(盐浓度)进行蛋白质的分步分离。在制备后期，分离纯化及结晶阶段，则往往保持一定的离子强度，而改变 pH 和温度。为保证实验的重现性，对盐析的条件如 pH、温度和硫酸铵的纯度、用量都必须严加控制。盐析后放置 0.5h 至 1h，沉淀完全后，可采用离心法或过滤法进行固液分离。

#### 1.3.2.2 透析

透析(dialysis)是膜分离技术的一种，用于分离大小不同的分子。透析膜只允许小分子通过，而阻止大分子通过。盐析得到的蛋白质沉淀，用缓冲液悬浮，装入透析袋内进行脱盐，可以除去硫酸铵等盐类。具体方法是，把盛有蛋白质溶液的透析袋两端系紧，悬挂在装有缓冲液的三角瓶中，置于磁力搅拌器上，在低温(4℃左右)条件下透析 30~36 h，由于透析袋只允许小分子盐类透过，而蛋白质大分子不能逸出膜外，经多次更换透析外液，不断降低膜外液中小分子盐类的浓度，即可将混杂于蛋白质大分子中的盐类等杂质透析掉。在透析时，要选用透析速度快、透性界限明确的透析袋。

### 1.3.3 浓缩与干燥

#### 1.3.3.1 浓缩

通过对水或溶剂的吸收和透析等方法，使低浓度溶液变为高浓度溶液的过程称为浓缩。浓缩的方法很多，如加热蒸发、加沉淀剂、离子交换法、吸收法、减压浓缩法、膜浓缩法、亲和层析法等。在实验室中最常用的是吸收浓缩法，即通过向溶液中投入吸收剂(如聚乙二醇、聚丙烯酰胺干凝胶等)，直接吸收溶液中的水分，使溶液浓缩的方法。在使用吸收剂时，也可先将生物大分子溶液装入透析袋里，扎紧袋口，外加聚乙二醇覆盖，袋内水分渗出，即被聚乙二醇迅速吸收而

被浓缩，可称为高渗透析法，兼有脱盐效果。其次是超滤法，是指使用一种特制的薄膜对溶液中各种溶质分子进行选择性的过滤的方法。应用超滤法，关键在于滤膜的类型、规格的选择。该法除浓缩、脱盐外，还可应用于生物大分子的分离纯化中，如进行多成分提取液的分离时，可先用超滤器分组，再进行柱层析，可将多种待测组分分离。

此外，还常用减压浓缩法对不耐热的生物大分子及生物制品进行浓缩。其原理是通过降低液面之上的气体压力使液体沸点降低，加快蒸发。

#### 1.3.3.2 干燥

所谓干燥就是将潮湿的固体及液体中的水或溶剂清除干净的过程。在生化研究中最常用的干燥方法是真空干燥法(减压干燥法)和冰冻真空干燥法(升华干燥法)。前者适用于不耐高温、易氧化物质的干燥和保存，其真空度越高，溶液沸点越低，蒸发越快；后者适用于蛋白质、酶等各类生物大分子的干燥保存，可保持其天然结构与活力。在相同压力下，水蒸气压力随温度的下降而下降，因而在低温和高度真空下，水分变成固态冰，冰可以升华为气体，并直接被真空泵抽走而得以干燥。

## 1.4 样品中待测组分的测定

样品中待测组分的测定可采用化学分析、物理分析等方法，而现代的植物生理生化实验则越来越多地依赖于仪器分析方法。但待测样品在上机之前，则要经过一些特异处理，提供特异的信号，才能使仪器作出反应。如比色技术、色谱技术等，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。其中像茚三酮比色法测定氨基酸含量，就是利用氨基酸在酸性条件下与水合茚三酮作用后能产生二酮茚胺的取代盐等蓝紫色化合物，在一定范围内，其颜色的深浅与氨基酸的含量成正比。又如核磁共振技术、火焰分光光度技术、荧光光谱技术、紫外光光谱技术、红外光光谱技术和旋光分析技术等，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。

在植物生理生化实验技术中，对同一待测组分含量可以采用不同的测定方法。实际工作中应当根据测试的目的、要求、样品的特点以及实验设备条件，选择合适的方法，制定合理的检测实施方案。

## 1.5 实验结果的数据处理与分析

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。

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。首先遇到的是实验测定结果中有效数字位数的确定问题。记录数据时，只应保留一位不定数字，计算结果中过多的无效数值是没有意义的，在去掉多余尾数后进位或弃去时，以“四舍五入”为原则。但有效数字取得太少，也会损失信息。计算所得数字有几位有效，取决于计算时所用的原始数字中有效数字的位数。在乘法中乘数与被乘数，或除数与被除数有效位数不等时，其积或商的有效位数取决于有效数字位数最少的那一个数据。而在加减法中有效数字的位数，则不是看相对的位数，而是看绝对的位数，即由小数点后位数最少的一个数据决定。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，再去掉多余的尾数。如所用单位较小，或者说数字与所用的单位相比很大，例如说某蛋白质相对分子质量为 64500，这从测定蛋白质相对分子质量的准确度来看，数字末两位“0”是没有意义的，但它们有表示数字位数的作用，不能舍去。可以采用 10 的幂次表示，如写成  $64.5 \times 10^3$ 。又如相对离心力 25000g，合理的写法是  $25 \times 10^3$ g。

其次，在待测组分定量测定中，误差是绝对存在的，因此必须善于利用统计学的方法，分析实验结果的正确性，并判断其可靠程度。实验中，每种处理至少要设二次重复，定量测定数据也要有三次重复，否则，无法进行统计检测。而且，在统计分析之前，不能单就数据进行选择统计。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；由于一些偶然的外因所引起的误差，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。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，误差大表示可靠性差。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。

在对实验结果进行分析时，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  $C.V$  表示精密度则更可靠。还可用置信区间表示指定置信度  $\alpha$  的偏差。

1. 算术平均值  $\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$



$$2. \text{ 平均偏差} = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{n}$$

$$3. \text{ 相对平均偏差} = \frac{\sum |x_i - \bar{x}|}{n\bar{x}} \times 100\%$$

$$4. \text{ 标准偏差 (均方差)} S = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad \bar{x} \pm S$$

$$5. \text{ 变异系数 } C.V = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%$$

$$6. \text{ 置信区间的界限 } P = \frac{t(\alpha, n-1)S}{\sqrt{n}}$$

$$\text{置信区间} = \bar{x} \pm P$$

在科学研究中,为了检测某一样品  $\bar{x}$  所属总体平均数和某一指定的类同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,可以用 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。

所谓 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。要明确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。多重比较的方法,过去沿用最小显著差数法(简称 LSD 法),但此法有一定的局限性。近来多采用最小显著极差法(简称 LSR 法),这一方法的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,并用小写字母 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,凡未达到  $\alpha = 0.05$  水平的数据,则不予标记。

在科学实验中,方差分析可帮助我们掌握客观规律的主要矛盾或技术关键。方差分析的基本步骤可概括为:①将资料总变异的自由度及平方和分解为各变异