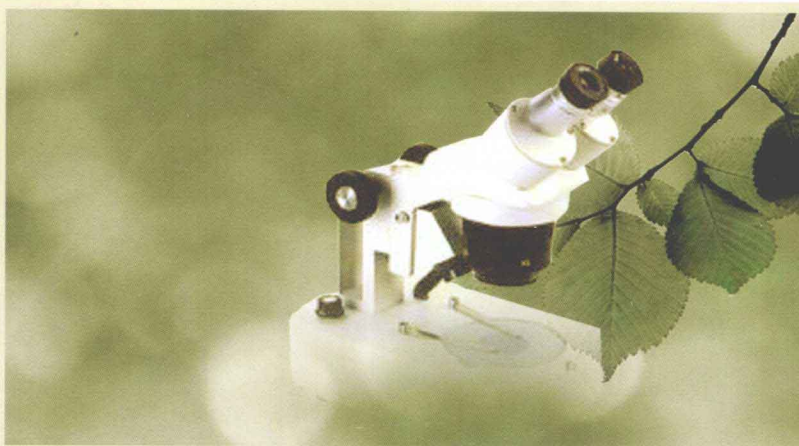


普通高等学校精品课程建设教材

植物生理学实验

蔡庆生 主编



中国农业大学出版社

ZHONGGUONONGYEDAXUE CHUBANSHE

普通高等学校精品课程建设教材

植物生理学实验

蔡庆生 主编

中国农业大学出版社
· 北京 ·

内 容 简 介

本实验教材配合理论课程教学内容,按照植物水分生理,植物矿质营养,植物光合作用,植物的呼吸作用,植物激素生理,植物生长、发育、成熟、衰老和脱落生理,植物逆境生理的顺序,由浅入深地针对各个生理过程,编入了基础性实验、拓展性实验和设计性实验,旨在满足学生们系统掌握植物生理学实验技术和进行深入研究的能力的需要,为切实加强本科实验教学提供实用的实验指导书。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学实验/蔡庆生主编. —北京:中国农业大学出版社,2013.2
ISBN 978-7-5655-0659-8

I. ①植… II. ①蔡… III. ①植物生理学—实验 IV. ①Q945-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 005326 号

书 名 植物生理学实验

作 者 蔡庆生 主编

策划编辑 孙 勇

责任编辑 潘晓丽

封面设计 郑 川

责任校对 王晓凤 陈 莹

出版发行 中国农业大学出版社

社 址 北京市海淀区圆明园西路 2 号

邮政编码 100193

电 话 发行部 010-62818525,8625

读者服务部 010-62732336

编辑部 010-62732617,2618

出 版 部 010-62733440

网 址 <http://www.cau.edu.cn/caup>

e-mail cbsszs@cau.edu.cn

经 销 新华书店

印 刷 北京时代华都印刷有限公司

版 次 2013 年 1 月第 1 版 2013 年 1 月第 1 次印刷

规 格 787×1092 16 开本 13.75 印张 340 千字

印 数 1~3000

定 价 24.00 元

图书如有质量问题本社发行部负责调换

主 编 蔡庆生 (南京农业大学)

副主编 陆 巍 (南京农业大学)

何龙飞 (广西大学)

於丙军 (南京农业大学)

陈 颖 (南京林业大学)

范桂枝 (东北林业大学)

王海珍 (塔里木大学)

编 委 (按编写章节先后排序)

蔡庆生 (南京农业大学)

何龙飞 (广西大学)

钱 猛 (南京农业大学)

谭明谱 (南京农业大学)

陈亚华 (南京农业大学)

夏 妍 (南京农业大学)

许晓明 (南京农业大学)

陆 巍 (南京农业大学)

甘立军 (南京农业大学)

何永明 (江西农业大学)

朱昌华 (南京农业大学)

范桂枝 (东北林业大学)

娄来清 (南京农业大学)

陈 颖 (南京林业大学)

王海珍 (塔里木大学)

於丙军 (南京农业大学)

张 群 (南京农业大学)

主 审 夏 凯 (南京农业大学)

前 言

植物生理学是一门量化性较强的、建立在实验基础上的、研究植物生命活动规律的科学。植物生理学理论知识的获得起始于由细致的观测和精确的手段所测得的实验数据,植物生理学理论的发展更是建立在先进的实验技术之上,利用各种实验技术手段获得的实验数据,经过反复的归纳、推论和验证,其理论和假说不断得到完善和发展,对于植物生命活动规律的认识持续深入。反过来,在实验基础上得到的理论认识被用于指导植物科学研究和生产实际。鉴于科学实验对于植物生理学的建立、认识和深入发展的重要性,开设《植物生理学》课程的高校,几乎都平行开设《植物生理学实验》课程。部分高校还为研究生专设“高级”、“现代”植物生理学实验技术课程。另一方面,国家教育部对于加强高等院校实验课程教学越来越重视,在其颁布的《全国硕士研究生入学统一考试农学门类联考考试大纲》中,规定实验是植物生理学考察内容的一部分,足见加强植物生理学实验教学的重要性和必要性。

在参考国内外诸多相关教材和研究文献的基础上,结合植物生理学实验教学改革实践和经验,本实验教材配合理论课程教学内容,按照植物水分生理,植物矿质营养,植物光合作用,植物的呼吸作用,植物激素生理,植物生长、发育、成熟、衰老和脱落生理,植物逆境生理的顺序,由浅入深地针对各个生理过程,编入了基础性实验、拓展性实验和设计性实验,旨在满足学生们系统掌握植物生理学实验技术和进行深入研究的能力的需要,为切实加强本科实验教学提供实用的实验指导书。

本书由南京农业大学蔡庆生任主编,广西大学何龙飞、南京林业大学陈颖、东北林业大学范桂枝、塔里木大学王海珍和南京农业大学陆巍、於丙军任副主编,参编有陈亚华、甘立军、许晓明、谭明谱、何永明、娄来清、朱昌华、钱猛、夏妍和张群。初稿完成后,经编者间相互审稿和南京农业大学夏凯教授精心审阅,编委根据审稿意见进行再修改,最后定稿。

本书可作为植物生理学实验教材,同时可作为课程以外的相关研究实验参考。由于编者水平有限,书中的缺点和错误在所难免,敬请读者批评指正。谢谢!

编 者

2012年11月

目 录

第 1 章 植物生理学实验基础	1
1.1 实验设计与样品准备	1
1.2 常规仪器与操作技术	1
1.3 实验数据处理与分析	5
第 2 章 植物材料培养	7
2.1 植物溶液培养	7
2.2 土壤培养	9
2.3 植物组织培养	10
第 3 章 植物水分生理	15
基础实验	15
3.1 植物组织含水量和相对含水量的测定	15
3.2 植物组织中自由水和束缚水含量的测定	16
3.3 植物组织水势的测定	17
3.4 细胞渗透势的测定(质壁分离法)	22
3.5 植物吐水和伤流现象的观察	23
拓展实验	24
3.6 K^+ 对气孔开度的影响	24
3.7 植物蒸腾速率的测定	25
3.8 植物伤流液中糖、氨基酸和矿质元素含量的分析	25
设计实验	27
3.9 水分胁迫下 ABA 对气孔开度的影响	27
3.10 水分胁迫对植物水分代谢、光合作用和呼吸作用的影响	28
第 4 章 植物矿质营养	30
基础实验	30
4.1 植物溶液培养法观察缺素症	30
4.2 单盐毒害与离子拮抗现象观察	33
4.3 TTC 法和 α -萘胺法测定植物根系活力	35
4.4 植物组织中总氮含量的测定	36
4.5 植物组织中可溶性蛋白质含量的测定	39
拓展实验	42
4.6 离体法测定植物 NR 活力	42
4.7 植物组织中金属元素含量的测定(原子吸收法和 ICP 法)	44

4.8 植物细胞质膜 H^+ -ATPase 活力的测定	47
设计实验	49
4.9 超积累植物修复重金属污染土壤的研究	49
第5章 植物光合作用	51
基础实验	51
5.1 光合色素提取和理化性质分析	51
5.2 光合色素的分离及其吸收光谱	52
5.3 叶绿素含量的测定(比色法)	54
5.4 叶绿体 Hill 反应活力的测定	55
5.5 红外气体交换方法测定叶片光合速率	57
拓展实验	59
5.6 叶绿素荧光参数分析测定	59
5.7 光合作用光响应曲线和 A_{Ci} 响应曲线的测定	61
5.8 氧电极方法测定叶圆片光合速率	64
5.9 RuBP 羧化酶活性的测定	66
5.10 PEP 羧化酶活性的测定	69
5.11 蔗糖合成酶(SS)与蔗糖磷酸合成酶(SPS)活性的测定	71
设计实验	75
5.12 光抑制条件下植物光合速率、气孔导度和叶绿素荧光参数的变化	75
5.13 环境条件对植物光合作用和同化物积累的影响	76
第6章 植物的呼吸作用	78
基础实验	78
6.1 植物呼吸速率的测定	78
6.2 植物组织呼吸商的测定	82
6.3 植物组织中 H_2O_2 含量的测定	83
拓展实验	85
6.4 植物线粒体的提取	85
6.5 呼吸抑制剂对呼吸作用的影响	86
6.6 抗坏血酸(AsA)含量的测定	86
6.7 抗坏血酸过氧化物酶(AsA-POD)活性的测定	87
6.8 植物体内多酚氧化酶活性的测定	89
6.9 苯丙氨酸解氨酶(PAL)活性的测定	90
6.10 植物组织中 ATP 含量的测定	92
设计实验	93
6.11 不同温度对植物根系呼吸、根系活力和矿质元素吸收的影响	93
第7章 植物激素生理	96
基础实验	96
7.1 生长素对种子根芽生长的影响	96
7.2 脱落酸对种子发芽率的抑制作用	97

7.3 生长素含量的生物试法	98
7.4 植物激素的提取与纯化	100
拓展实验	102
7.5 植物激素的 ELISA 测定	102
7.6 植物多胺的层析分离与检测	106
7.7 植物激素对愈伤组织的形成与分化的影响	108
7.8 气相色谱法测定乙烯含量	111
7.9 DR5::GUS 转基因植物中报告基因 GUS 的组织化学定位检测	113
设计实验	115
7.10 乙烯诱导拟南芥根毛的形成	115
第 8 章 植物的生长生理	117
基础实验	117
8.1 植物种子活力的快速测定(BTB 法, TTC 法, 红墨水法与荧光法)	117
8.2 植物相对生长速率的测定	120
8.3 植物生长调节物质对种子萌发的影响	121
8.4 谷物种子萌发时淀粉酶活性的测定	122
8.5 光敏色素的提取和纯化	124
8.6 大豆萌发时氨基酸含量的变化	126
8.7 植物细胞壁蛋白的提取和测定	127
拓展实验	128
8.8 植物组织中非结构性碳水化合物含量的测定——UV 法	128
8.9 植物中总黄酮含量的测定	132
8.10 多酚含量的测定	133
8.11 拟南芥种子萌发的光敏色素及激素调控	135
设计实验	137
8.12 不同温度对谷类种子萌发过程中生理生化的影响	137
第 9 章 植物的生殖生理	138
基础实验	138
9.1 植物春化作用与光周期现象的观察	138
9.2 花粉活力的测定	140
拓展实验	142
9.3 春化蛋白的诱导形成与检测	142
9.4 植物的亲和性鉴定及不亲和性的克服	144
设计实验	146
9.5 植物生长调节剂对拟南芥花期的调控	146
第 10 章 植物成熟、衰老和脱落生理	148
基础实验	148
10.1 谷物蛋白质组分的分析	148
10.2 植物中粗脂肪含量的测定	149

拓展实验	153
10.3 植物组织中 DNA 的提取与含量测定	153
10.4 植物组织中 ATP 酶活性的测定	158
10.5 花色素含量的测定	163
10.6 果实中有机酸含量的测定	164
10.7 果实中维生素 C 含量的测定	166
设计实验	171
10.8 生长调节剂对果实发育的影响	171
第 11 章 植物逆境生理	174
基础实验	174
11.1 植物抗逆性的鉴定(电导法)	174
11.2 脯氨酸含量的测定	175
11.3 丙二醛含量的测定	178
11.4 原生质体的分离效率、体积和失去渗透反应能力的测定	179
11.5 SOD、POD、CAT 等抗氧化酶活性的测定	182
拓展实验	188
11.6 植物体内超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$)产生速率的测定	188
11.7 植物总抗氧化能力的测定(FRAP 法)	190
11.8 植物体内 GSH 和 GSSG 含量的测定	191
11.9 植物盐胁迫蛋白的测定	192
11.10 植物膜类脂的分析	194
设计实验	196
11.11 盐胁迫对植物生物膜结构与功能的影响	196
附录	198
附录 1 植物组织培养常见的几种基本培养基	198
附录 2 常用缓冲液	201
附录 3 易变质及需要特殊方法保存的试剂	206
附录 4 常用酸碱指示剂	207
附录 5 离心机转速与相对离心力的换算	208
附录 6 实验室规则	210

第 1 章 植物生理学实验基础

1.1 实验设计与样品准备

以植物为材料的研究中,常常采用比较实验的方法,从比较中确定出植物生命活动的规律、阐述这些规律的机理、研究方法和技术。选择恰当的比较标准、对照和处理在各种比较研究中十分重要。

植物生理学实验中十分重视实验结果的代表性和重演性,以避免偶然性,从而可以明确实验结果的实用范围和稳定程度。因此,设计一项实验时必须遵守比较实验的“唯一差异”原则,除了比较的某个或某些因子以外,其他条件必须严格控制保持一致,实验材料、实验环境条件需要具有统一性和代表性。

可用于植物生理学实验的植物材料非常广泛。从植物种类来划分,有木本植物和草本植物,有单子叶植物和双子叶植物,等等;从来源划分,有田间种植的植物和室内培养的植物;从植物生长发育阶段划分,有不同叶龄的营养生长阶段和生殖生长阶段;从植物材料所具有的水分状态划分,有新鲜植物材料和干材之分;同一株植物还有根、茎、叶、花、果、种子等不同部位之分。因此,必需根据实验目的、实验条件和实验设计,而合理选择和前期处理植物材料。田间实验取材通常利用多点和各点取一定数量的随机取样法,室内培养的植物材料通常采用平均样品的混合取样法、按照比例的取样法、按照部位划分的取样法,以确保实验材料选择的代表性。

具体植物材料培养详见本教材第 2 章。

1.2 常规仪器与操作技术

植物生理学实验室常规仪器主要有电子天平、分光光度计、加样器、pH 计、离心机、培养箱、烘箱、各类色谱仪、电泳仪、氧电极、电导仪、红外线 CO₂ 气体分析系统、叶绿素荧光分析仪等,以下介绍几种最常规使用的仪器的使用规则和方法。

1. 电子天平的使用

电子天平使用规则与方法如下:

- (1)稳定放置。将天平放在稳定的台面之上,放置天平的台面上切勿放置振动类仪器。
- (2)调节平衡。使用天平前应调节底座螺丝,使其保持水平,并不要随便移动天平。
- (3)注意称量范围。看清天平标注的称量范围,对于大质量样品需要先粗称,避免在电子天平上称量超过最大重量范围的样品,以免损坏天平。
- (4)选用合适天平。根据称量要求、试验精确度要求,选择不同感量水平的天平。例如,在称量植株幼苗鲜重时,应选感量大的(感量为 0.01 g)电子天平。如果选用感量为 0.000 1 g 的

电子天平,因幼嫩植物体内水分易蒸发,电子天平显示数值易变,很难称准;在制作标准曲线、称取标准试剂时,则应选取感量较小的,如感量为 0.000 1 g 或感量为 0.001 g 的电子天平。

(5)称量样品的放置。所有称量样品(植物样品、药品等)均不能直接放在天平称盘上,不可与天平称盘和周壁接触,应选用专用称量纸或干净烧杯等,注意不可使用皱折的称量纸。

(6)清零。在将样品放在专用称量纸上或干净烧杯之中称量前,先将空白、干净的专用称量纸或烧杯放在天平称盘上,按下清零键,在显示数值为 0.00(感量为 0.01 g 的电子天平)后,再放置样品于专用称量纸上或干净烧杯之中。

(7)读数。读取称量样品重量前,关上天平上方两侧玻璃门,无玻璃盖罩的则需在称量室内无气流干扰时,记录下数值。

(8)善后事宜。关闭电源,取出天平称盘上的样品和称量纸或烧杯,清扫天平内外,关闭天平上方两侧玻璃门。

2.721 型分光光度计的使用

使用方法:

(1)阅读分光光度计的使用说明书或使用简介。如同使用任何仪器一样,使用分光光度计前,使用者应首先了解该仪器的基本结构和工作原理以及各操作旋钮的功能,在未接通电源之前,应检查电源线接线是否牢固,通地是否良好,各旋钮的位置是否正确,同时检查仪器底部的放大器和单色器的两个矽胶干燥筒,如受潮变色,应更换干燥的蓝色矽胶或倒出原矽胶,烘干后再用。

(2)检查仪表指针位置。在仪器尚未接通电源前,电表的指针必须位于“0”刻线上。

(3)调“0”和“100%”。将仪器的电源开关接通,打开比色皿暗厢盖,预热 20 min 左右后,选择需用的单色光波长,调节“0”电位器使电表指“0”,然后将比色皿暗厢盖合上,比色皿处于蒸馏水校正位置,使光电管受光,调节“100%”电位器使电表指针到满刻度附近。

(4)放大器灵敏度的选择。放大器灵敏度有 5 档,由最低的“1”挡逐步增加。选择放大器灵敏度挡位的原则是:保证能使空白挡调到“100%”的前提下,尽可能采用灵敏度较低档,这样仪器有更高的稳定性。所以,使用时一般置“1”档。灵敏度不够时再逐级升高,但改灵敏度后须按上述的过程,重新调“0”和“100%”。

(5)配套比色皿的选用。测定时,应先检查比色皿是否配套和洁净,比色皿之间误差应尽量小,装入比色皿的溶液的体积一般在 $3/4 \sim 4/5$,避免倒入比色皿中过多的溶液,以免溅出、污染仪器,过少($<2/3$)会影响数值的准确性。

(6)重新调整“0”和“100%”。当大幅度改变测试波长时,在调整“0”和“100%”后需稍等片刻(因钨灯在急剧改变亮度后需要一段热平衡时间),当指针稳定后,重新调整“0”和“100%”,再行测定。

3. pH 计的使用

适用于测定溶液 pH 的仪器类型较多,这里仅介绍常用的雷磁 25 型酸度计和雷磁 PHSJ-4 型 pH 计。

1) 雷磁 25 型酸度计

(1)安装电极。雷磁 25 型酸度计配备有 231 型玻璃电极(指示电极)和 232 型甘汞电极(参比电极)。将玻璃电极的塑料帽夹在电极的夹子上,插头插在插孔内。把甘汞电极的金属帽夹在电极夹的另一夹子上,由于它具有金属的帽子,可直接与仪器内部形成回路。两个电极

的高度,可利用电极夹子上的支头螺丝调节。

(2)校正。

①首先,将“pH-mV”开关拨到“pH”位置,然后打开电源开关,指示灯亮后,应预热 5 min。最好预热时间在 0.5 h 以上,以使零点有较好的稳定性。

②在小烧杯中加入已知 pH 值的标准缓冲溶液,将电极浸入,应使玻璃电极的球状体和甘汞电极的毛细孔完全浸入溶液,再轻轻摇动烧杯,使电极所接触的溶液均匀。

③调节温度补偿旋钮使其指示的温度与杯内温度或室温相同。

④根据标准缓冲液的 pH 值,将量程选择开关拨至 0~7 或 7~14。

⑤旋转零点调节器,使指针指在 pH 7 处。

⑥按下读数开关,如要揪住可在按下后稍许转动即可。转动定位调节器,使指针指在标准缓冲液的 pH 值处。

⑦放开读数开关,指针应在 pH 处。如有变动,则重复⑤、⑥操作直至数值稳定为止。

⑧为了更好地校正,可分别采用两种 pH 范围(0~7 和 7~14)的已知 pH 值的标准缓冲液进行校正。

⑨校正完毕,用蒸馏水冲洗电极。校正后,切勿再旋动定位调节器,否则必须重新校正。

(3)测量。

①用滤纸轻轻触及两个电极以吸干残余的溶液,或用待测液清洗电极,然后将电极浸入盛有待测液的烧杯中,轻摇之使溶液混匀。

②被测溶液的温度应与标准缓冲液的温度相同。

③按下读数开关,指针所指的 pH 值即为待测液的值。重复几次,直到读数不变为准。

④在放开读数开关后,指针必须指在 pH 7 处,否则,应旋转零位调节器至 pH 7 处以后,重测待测液的 pH 值。

⑤若在量程 0~7 范围测量时,指针读数超出读数范围,应将量程开关拨至 7~14 的位置,再重复③、④的操作。

⑥测量完毕,放开读数开关,关闭电源开关,然后冲洗干净,玻璃电极可浸在蒸馏水中,而将甘汞电极离开蒸馏水并戴上橡皮帽。

(4)注意事项。

①玻璃电极在初次使用前,必须在蒸馏水中浸泡数日至 1 周,至少浸泡一昼夜。平时应经常浸泡在蒸馏水中,以备随时使用。

②玻璃电极不要与强烈吸水的溶剂接触太久,在强碱溶液中使用应尽快操作,用毕立即用水洗净。

③玻璃电极的球泡的玻璃膜很薄,因此勿与玻璃杯及硬物相碰,防止球泡破碎。一般安装时应使甘汞电极头长出球泡头部,使在摇动时不会碰到杯底。

④玻璃电极的玻璃膜不要沾上油污,若不慎沾上应先用酒精,再用四氯化碳或乙醚,最后用酒精清洗,再用水洗净。清洗后只能用滤纸轻轻拭干,不可揩擦,以免碰破玻璃球膜。

⑤甘汞电极在使用时,要注意电极内充满氯化钾溶液,里面应无气泡,防止断路,并且要有少许氯化钾结晶存在,以使溶液保持饱和状态。在使用时应该将电极上部的小橡皮帽拔出,让极少量的氯化钾溶液从毛细管中流出,使测定结果可靠。

2) 雷磁 PHSJ-4 型 pH 计

(1) pH 值标定。有一点标定和两点标定两种。前者只采用一种标准缓冲液对电极系统进行标定,用于自动校准仪器的“定位”值,用这种方法进行 pH 值校准,必须确切知道电极的实际百分斜率。否则,仪器把电极百分理论斜率作为 100%。在测量精度不高的情况下可采用此法,简化操作。后者是选用两个标准溶液对电极系统进行标定,测得电极系统的实际斜率和定位值。这里仅介绍二点标定法。

①将 pH 电极和温度传感器分别插入各自插口内,并将电极清洗干净。同时将电极和温度传感器放入标准 1 溶液中。

②打开电源,光标“▼”指向标定 1。此时,仪器自动进入标定 1 状态。当显示器上 pH 读数趋于稳定后,按“校准”键,等待片刻,待仪器显示“m”出现,说明仪器已完成了标定 1 校准。

③将电极取出,重新用水清洗干净,并放入标准 2 溶液中。光标“▼”指向标定 2。此时仪器进入标定 2 工作状态,当显示器上 pH 读数趋于稳定后,按“校准”键,等待片刻,待仪器显示“▼”出现,说明仪器已完成了标定 2 校准。

④按“设置”键,仪器显示 7.000 pH 等电位点,用户可按“v”或“^”键,对等电位点进行修改。

⑤按“设置”键,仪器显示电极的实际斜率值,该斜率值不能修改。但仪器通过微机,已对斜率进行校准。

⑥按“设置”键,再按“v”或“^”键,用户可选择合适分辨率。

⑦按“设置”键,仪器自动进行 pH 测量状态。

(2)测定。按上述操作流程测定两种未知液的 pH 值。

3) 实验内容

用上述两种仪器测定两种未知溶液的 pH 值,做记录,将结果列于表中,并加以比较。

4. 紫外/可见分光光度计(UV-120-02 型)

1) 准备

(1)开电源开关,数字计上荧光数码管闪亮。

(2)选择光源,根据被测样品吸收波长用灯泡选择杆选择光源,钨灯为 340~1 000 nm,氘灯为 200~360 nm。VIS 为钨灯,UV 为氘灯。

(3)打开 D2 灯时,先 D2 开关拨至“HEAT”,预热 10 s 左右,再开至“ON”,灯即亮。

(4)调节波长,确定灵敏度,一般将灵敏度开关置于“LOW”处,若测定波长为 200 nm, 270~390 nm 或 1 000 nm 时,根据需要可调至“HIGH”处,预热 10 min。

(5)开启电源开关时,注意别忘了关 D2 灯开关,否则 D2 灯会在不正常条件下打开,缩短使用寿命。

2) 光密度测定

(1)将工作选择开关(Range)调至“0~100%T”。

(2)打开样品室盖,转动零位调节器(0%ADJ)使数字显示为零。

(3)在样品架中放入参比液,移动样品变换拉杆,使参比液进入光路。

(4)盖上样品室盖,调节光量调节钮(100%T/Zero),使数字板上显示为 100%T。

(5)将工作选择开关(Range)调至“Abs0~2”位置,调节光量调节钮(100%T/Zero),使数字板上显示为 Abs 为 0。

(6) 移动样品变换拉杆,使待测液进入光路,读出光密度值,并记录。

(7) 若数字超出 2,可将工作选择开关(Range)调至“Abs-3”位置。

1.3 实验数据处理与分析

科学研究的一丝不苟,不仅在实验操作过程中,也在实验数据的记录、整理和分析过程中。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。如果发现记错,则在记错的数据上标上删除线“~~mm~~”后,再在周围空白处记录正确数据。

首先,在植物生理指标定量测定中,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,再去掉多余的尾数。

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,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试验误差称为系统误差;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,后者则影响分析结果的精密度。所谓准确度是指测得值与真实值相符合的程度,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相符合的程度,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。例如,表 1-1 中两组数据的平均数皆为 6.0,第 1 组数据误差小,可靠性好,而第 2 组数据的误差大,其可靠性差。

表 1-1 样品的平均数与误差值

小组	样品 1	样品 2	样品 3	样品 4	样品 5	样品 6	样品 7	平均数 ± 误差*
第 1 组	5.9	6.0	5.8	6.0	7.0	5.2	6.1	6.0±0.49
第 2 组	1.5	3.0	10.5	6.1	8.4	6.9	5.6	6.0±2.85

*:利用 Excel 计算平均值[=average(样品 1:样品 7)];误差[=stdevp(样品 1:样品 7)]。

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 Cv 表示精密度更可靠。还可用置信区间表示指定置信度 α 的偏差。

$$(1) \text{算术平均值} = \frac{\sum x_i}{n}。$$

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

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

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

$$(5) \text{变异系数 } C_v = \frac{S}{\bar{x}} \times 100\%。$$

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

$$(7) \text{置信区间} = \bar{x} \pm P。$$

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,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因素的自由度及平方和,进而算得其均方差;②计算均方比,做出 F 测验,以明确各变异因素的重要程度;③对各平均数进行多重比较。具体的方法可参考有关专业书籍。

在完成实验和数据整理、分析的基础上,撰写实验报告。实验报告内容包括:实验名称、实验目的、实验原理、实验材料与仪器设备和试剂、实验方法与步骤、实验结果(含图表)与分析、讨论。

参 考 文 献

1. 盖钧镒. 试验统计方法. 北京:中国农业出版社,2000.
2. 王学奎. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社,2006.
3. 蔡庆生. 植物生理学. 北京:中国农业大学出版社,2011.

第2章 植物材料培养

2.1 植物溶液培养

溶液培养指不用土壤而用营养液培养植物的栽培方法,俗称为水培法。在溶液培养过程中,为固定植物、增加空气含量,多采用沙、砾、泥炭、蛭石、珍珠岩、浮石、玻璃纤维、岩棉、树皮块或锯末等作为固体基质,故又名沙培、砾培、泥炭培、蛭石培、珍珠岩培、浮石培、锯末培等。

溶液培养的关键是培养液的组成和理化条件。培养液应根据植物生长发育需求,按照一定比例和浓度加入所有必需的矿质营养元素而配制的平衡营养液,并注意溶液的酸碱度适宜。下面列出了2种常用的植物营养液配方。

1. 国际水稻研究所常规营养液——水稻营养液(表 2-1)

表 2-1 国际水稻研究所常规营养液的成分

(吉田昌一等,1975)

mg/L

元素	营养液中元素含量	使用盐类	盐类用量	
大量元素	N	40	NH_4NO_3	114.3
	P	10	$\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	50.4
	K	40	K_2SO_4	89.3
	Ca	40	CaCl_2	110.8
	Mg	40	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	405.0
微量元素	Mn	0.5	$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1500
	Mo	0.05	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	74
	B	0.2	H_3BO_3	934
	Zn	0.01	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	35
	Cu	0.01	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	31
	Fe	2.0	$\text{FeCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	7700
			柠檬酸(一水化合物)	11990

注:制备铁和微量元素贮备液时,各种盐类分别溶解,再与50 mL 硫酸混匀,加蒸馏水稀释至1 L。使用时,每4 L 营养液添加微量元素贮备液5 mL。

应用这种营养液时,用1 mol/L NaOH 溶液调节 pH 值为5。水稻各个生育期的供氮水平也有不同:移栽后3周为40 mg/L,分蘖盛期为80 mg/L,开花后2周为40 mg/L,到成熟期则可停止供氮。

2. Hoagland 营养液——适用绝大部分植物

溶液培养法的营养液配方很多,其中以美国科学家 D. R. Hoagland 等设计的 Hoagland 和 Arnon 营养液最为常用(表 2-2)。

表 2-2 Hoagland 和 Arnon 营养液配制表

(李合生, 2006)

	无机盐	浓度/(mmol/L)	无机盐质量浓度/ (mg/L)	元素	元素质量浓度 /(mg/L)
大量 元素	KNO ₃	6.0	606	K	235
	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	4.0	944	N(NO ₃ ⁻ -N) Ca	112 160
	NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0	115	N(NH ₄ ⁺ -N) P	14 31
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.0	493	Mg S	49 64
微量 元素	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0.009	1.77	Mn	0.5
	H ₃ BO ₃	0.046	2.8	B	0.5
	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0.000 8	0.23	Zn	0.05
	CuSO ₄ · 5H ₂ O	0.000 3	0.08	Cu	0.02
	H ₂ MoO ₄ · H ₂ O	0.000 1	0.02	Mo	0.01
	Fe-EDTA*				

*: 溶解 7.45 g Na₂-EDTA 于 200 mL 蒸馏水中,加热,加入 5.57 g FeSO₄ · 7H₂O 溶液,不断搅拌。冷却后定容到 1 L,为贮备液。使用时每升培养液加 1 mL 贮备液。

营养液的酸碱性(pH)直接影响养分的状态、转化和有效性,也影响植物的生长。植物生长所要求的 pH 因种类而异,通常在 5.0~6.5 较宜。在培养过程中,可用 pH 试纸进行测定。如 pH 偏高时,可加入适量酸校正;偏低时,可加入适量氢氧化钠校正。

在溶液培养中,植物从营养液中吸取氧,所以,通气是一项重要的培养措施。不同种类植物对通气的要求也不同,旱生植物的要求高些,水生植物的要求低些。通常采用自动通气装置来增加氧气,通气速度以每秒 2~3 个气泡为宜,植物生长初期每天或隔天通气 5 min,以后通气的的时间则加倍。同时还要防止光线对根系直接照射等。

植物在生长过程中不断消耗培养液中的水分和养分,为保持营养液的稳定浓度及足够的体积,必须定期更换营养液,一般 5 L 的培养盆,夏季每周更换 1~2 次,冬季 1~2 周更换 1 次;更大体积的盆钵可在此基础上适当延长更换周期,更小体积的盆钵可适当缩短更换周期。

固体基质一般应由一定大小的固形物质组成;具有良好的物理性状,材质疏松,保水、保肥又透气;具有稳定的化学性质,本身不含有害成分,不使营养液的成分和 pH 发生变化;要求基质取材方便,来源广泛,价格低廉,例如沙、珍珠岩、塑料、砾、玄武石、熔岩等物质。基质的直径