

植物生理学实验教学中几个实验方法的改进

杨建伟, 杜敏华, 庞发虎 (南阳师范学院生命科学与技术学院, 河南南阳473061)

摘要 介绍了植物生理学实验教学中几个实验方法的改进。重点介绍了对叶绿体色素的提取和分离过程改进, 对叶绿素a和b含量测定的改进, 对种子活力的快速测定方法的改进。通过实验方法的改进, 在有限的学时内较高质量的完成实验教学, 进一步提高了学生的思维和综合分析能力。

关键词 植物生理学; 实验; 改进

中图分类号 G420 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2009)17-08284-02

Improvement of Some Experimental Methods in the Experimental Teaching of Plant Physiology

YANG Jian wei et al (Department of Life Science and Technology, Nanyang Normal University, Nanyang, Henan 473061)

Abstract The improvements of some experiment methods in the experimental teaching of plant physiology were introduced. The improvement of the extraction and separation process of chloroplast pigments, the improvement of content determination of chlorophyll a and b, and the improvement of the rapid determination method of seeds vigor were mainly introduced. Through the improvements of experimental methods, the experimental teaching with higher quality was completed within limited teaching time and the thought and comprehensive analysis ability of students were further improved.

Key words Plant physiology; Experiment; Improvement

植物生理学是生命科学专业基础课程之一, 是一门实践性较强的课程。多年来其实验课教材一直采用的是张志良的主编教材^[1], 该教材体系完整, 涉及到实验项目内容较多, 所以该实验指导一直是许多高等师范院校、综合大学及农业院校的首选用书^[2-4]。其中叶绿体色素的提取、分离及理化性质鉴定、叶绿素a和b含量的测定、种子活力的快速测定等实验, 是笔者所在学校学生实验教学计划中的必做实验。笔者仅就上述几个实验的改进情况做一介绍, 以供参考。

1 对叶绿体色素的提取、分离及理化性质鉴定的改进

1.1 对叶绿体色素提取过程的改进 该实验的目的是了解叶绿素提取分离的原理以及它们的光学特性在光合作用中的意义。原方法: 称取新鲜叶片2g, 放入研钵中加丙酮5ml, 少许碳酸钙和石英砂, 研磨成匀浆, 再加丙酮10ml, 以漏斗过滤之, 即为色素提取液。经过多次实验笔者发现该方法存在一定的缺点, 即称取新鲜叶片2g, 数量太少, 尤其是在秋冬季做实验时叶片常常发黄或者叶绿素含量太低, 会导致叶绿体色素的分离后各带颜色太淡看不清楚。所以, 在叶片称量上根据不同的季节选择不同的称量, 如在春夏季叶绿素含量高时, 称取新鲜叶片3g左右。在秋冬季叶绿素含量下降时叶片称取量改为5g左右。

原方法中提取液丙酮的加入量总数是15ml, 实际情况是经研磨过滤后的过滤液总量常常不到10ml, 结果常常导致该实验后面叶绿体色素的4个理化性质的鉴定由于过滤液量不足而无法进行。因此在提取液的加入总量上改进到25~30ml。同时考虑到丙酮对人体的伤害较大, 再加上乙醇和丙酮相比价格低廉经济又实惠, 笔者将原方法中的提取液由丙酮改为无水乙醇, 或者95%乙醇, 效果不错。

此外, 由于过滤匀浆液时速度非常缓慢, 所以笔者把原方法中的过滤过程改为离心过程, 离心1~2min即可, 通过离心可以快速准确把匀浆液中杂质分离出去, 仅此一步骤为该实验节约了大约10~15min时间。

1.2 对叶绿体色素分离过程的改进 在此实验中的点样过程中, 原方法是用毛细管吸取叶绿素溶液在2cm×20cm的滤纸条下端点一个圆点, 笔者把这一步改进为用载玻片沾取放于培养皿内的提取液, 在6cm~8cm×10cm~15cm的滤纸条下端距顶端2cm位置点一长条型的样品4~6次。这样分离得到的结果是4~5条色泽鲜明色素带, 而不是原方法中的几个色素圆点。用剪刀将这些色素分离带纵向剪开, 一半保留用于做叶绿素a和b的吸收光谱曲线, 一半贴于实验报告上。

另外, 对于扩展剂原方法中是用3~5ml四氯化碳和少量无水硫酸钠, 而此分离方法常常需要30~40min才能看到结果。笔者将其改为在φ120mm的培养皿内加入约30ml汽油和5~8滴苯。点过样的滤纸条用线绳穿起制成一个圆纸筒, 点样端朝下竖立在汽油中, 5~10min后即可观察到实验结果。此一步骤为该实验又节约了大约40min左右的时间。

2 对叶绿素a和b含量测定的改进

该实验的目的是熟悉在未经分离的叶绿体色素提取液中测定叶绿素a和b的方法及其计算。原方法是称取新鲜叶片0.5g, 加入提取液丙酮、少许碳酸钙和石英砂, 研磨成匀浆, 经过离心得色素提取液并定容至20ml备用。此实验实验材料单一, 学生做起来兴趣不高, 所以对该实验重点改进的是实验材料的种类和数量。

在此实验中, 笔者结合当时的季节情况, 在选择叶片方面就地取材, 在实验室外的草坪边、校园内外草地上的绿色植物到处都有可供选择的实验材料。由学生到室外自采实验材料, 要求每2个学生一组, 教师规定学生必须选择3种以上材料(原方法中只选用一种实验材料)。学生可以选择同一种植物的3种以上不同器官, 如根、茎、叶、花、果实等, 也可以选择3种以上不同种类的植物, 如木本植物与草本植物、阳生植物与阴生植物的同种器官作为实验材料。同时要求每样品重复3次。

当学生自采到实验材料后, 经过研磨、提取、离心、定容、测定等系列过程最后测得一套光密度数据。经过计算获得了不同职务或者同种植物不同器官叶绿素a和b含量的

基金项目 南阳师范学院植物生理学实验教学研究资助项目。
作者简介 杨建伟(1965-), 女, 河南西峡人, 硕士, 教授, 从事植物生理学教学与研究工作, E-mail: yangjianwei2007@yahoo.com.cn。
收稿日期 2009-03-17

数据。

学生做完实验后,此时教师要求学生下课后要通过查资料,针对所得到的系列数据进行比较、分析、讨论不同植物之间、同种植物不同器官之间叶绿素a和b含量的差异的原因,并撰写出一份完整的实验报告。

撰写实验报告是实验教学过程中的一个重要环节,是衡量实验效果的一个重要依据,但是过去的教学中学生往往处于被动的学习地位,实验报告常常是参照实验指导书,抄写出实验目的、实验原理、实验过程。而作为实验报告的核心内容“结果与分析”学生却写得很少,有的学生甚至只写结果没有分析,更谈不上查阅资料。究其原因一方面与实验材料太单一,无法进行比较分析有关,另一方面也与老师没有具体要求有一定的关系。

3 对种子活力的快速测定方法的改进

在种子活力的快速测定方法中,该教材提供了4种方法:即氯化三苯基四氮唑法(TTC法)、溴麝香草酚蓝法(BTB法)、红墨水染色法和纸上荧光法。其中纸上荧光法由于要求的实验材料仅限于十字花科植物种子,再加上该法误差较大,因此笔者将此法舍弃。仅用前3种实验方法进行快速测定。

前3种实验方法中,在实验材料的选择上,笔者以当地常用的小麦或玉米种子作为实验材料,随机取样测定发芽率。按照原方法要求TTC法和红墨水染色法使用的均为一粒种子的一半,BTB法用的是完整的种子。学生们用这3种方法测出的发芽率有很大差异,这样的差异性究竟是方法本身的局限性所导致,还是不同种子本身的差异性所导致的很难说清,因此学生在比较结果的异同及原因时,常常难以以下结论。

为了克服因种子本身的原因所造成的差异,笔者对红墨水染色法、TTC法以及BTB法均作了改进。原TTC方法中是取吸胀的种子200粒,用刀片沿胚中线切成两半。200个半粒放于一培养皿中,加入浓度0.5%TTC适量,另200个半粒用沸水煮以杀死胚作为对照。原红墨水染色法与TTC法相似,是把浓度0.5%的TTC换成红墨水。

改进后的方法是:随机取50或100粒玉米或小麦种子,用刀片沿胚中线切成两半,将50或100个半粒放于一培养皿中,加入浓度5.0%红墨水20ml,室温下放置10~15min。自来水冲洗干净后观察胚的着色情况。另50或100个半粒放于另一培养皿中,加入浓度0.5%TTC溶液20ml,置于30~35℃培养箱中0.5h左右,观察胚的着色情况。BTB法也采取纵切种子的方法与TTC法进行对比或者与红墨水染色法进行对比,即取50或100粒玉米或小麦种子,用刀片沿胚中

线切成两半,其中的50或100个半粒平放于含有BTB琼脂凝胶的培养皿中,另一半加入浓度0.5%TTC溶液适量或者加入浓度5.0%红墨水适量。得到结果后,分别讨论分析TTC法与BTB法、TTC法与红墨水染色法、BTB法与红墨水染色法两者之间的结果有无差异。由于这3种方法由于分别用的是同一粒种子的两半,从理论上测出的发芽率应该是一样的,但是学生测出的结果往往却不相同,为什么会有这样的结果?既然是同一粒种子,在实验材料上应该没有差异,那是什么原因呢?由于存在这些问题,就迫使学生去查找原因。教师可诱导学生们从3种测定方法及原理方面入手,分析造成这一差异的原因,最终使学生找到正确的答案^[5-6]。

4 小结

上述叶绿体色素的提取、分离及理化性质鉴定实验中,通过对实验材料量上的改进、提取液的改进、过滤方法的改进、点样及扩展剂的改进获得了意想不到的收获,学生们看到自己在很短时间内分离出来清晰的叶绿体色素带异常兴奋,并且实验室不再是到处弥漫着有毒试剂丙酮的气味。更重要的是由于扩展剂的改进使整个实验时间缩短了30~40min,为下一步对植物生理学实验课程中压缩验证性实验、增加综合性设计型实验的整体改革提供了可能性。

在对叶绿素a和b含量测定的实验改进中,通过对实验材料的改进和实验报告撰写方面的要求,一方面巩固了学生对理论课知识的理解和掌握,另一方面学生们对做这种实验的兴趣比原来大不相同,学生们乐意提前到室外采集自己喜欢的实验材料,由于每人的实验材料不同得到的实验数据均不相同,所以学生们主动的自发的去查资料,通过查阅资料对自己的实验结果进行讨论与分析。

在对种子活力的快速测定方法的改进中,学生们更加深入地了解TTC法、BTB法、红墨水染色法和纸上荧光法的原理以及几种方法的差异。为学生今后更好地分析问题、解决问题打下较好的基础。

参考文献

- [1] 张志良,瞿伟菁.植物生理学实验指导[M].3版.北京:高等教育出版社,2003.
- [2] 李小方,张晓玲,孙越.植物生理学实验课教学改革初探[J].植物生理学通讯,2006,42(5):937-938.
- [3] 江月玲.植物生理学综合性实验的教学探讨与实践[J].植物生理学通讯,2007,43(1):155-156.
- [4] 史留功.植物生理学实验教学中学生科研素质的培养[J].周口师范学院学报,2007,24(2):86-87,116.
- [5] 王兴安,邱念伟,马宗琪.改革植物生理学实验教学、培养创新人才[J].曲阜师范大学学报,2007,33(1):121-123.
- [6] 李忠光,龚明.论植物生理学实验方法的改进[J].云南师范大学学报:教育科学版,2002,3(5):73-75.
- [7] 邹统钎.乡村旅游的围城效应与对策[J].旅游学刊,2006(3):8-9.
- [8] 王时阳,刘德谦.发展乡村旅游的三个重要条件[N].中国旅游报,2007-01-10.
- [9] 文军,李星群.恭城红岩新农村建设中乡村旅游开发的调查与思考[J].经济与社会发展,2007(1):78-82.
- [10] 吴忠军.民俗文化与民俗旅游[M].南宁:广西民族出版社,2001.
- [11] 李丰生.阳朔乡村旅游规模化开发探讨[J].经济地理,2005(2):261-264,276.

(上接第8261页)

参考文献

- [1] 曹学文.乡村旅游产品的三大文化特性[N].中国旅游报,2007-03-02.
- [2] 胡卫华,王庆.“农家乐”旅游的现状与开发方向[J].桂林旅游高等专科学校学报,2002(3):79-83.
- [3] 李丰生.阳朔乡村旅游规模化开发探讨[J].经济地理,2005(2):261-