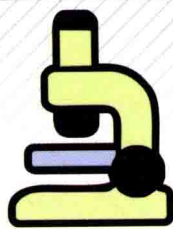


普通高等院校实验教材系列

生物技术

综合实验

SHENGWU JISHU



ZONGHE SHIYAN

陈毅坚 邓芳轶 熊 勇 熊华斌 主 编
杜 刚 杨青松 杨 淬 孙静贤 王 滢 副主编



科学出版社

普通高等院校实验教材系列

生物技术综合实验

主 编 陈毅坚 邓芳轶 熊 勇 熊华斌
副主编 杜 刚 杨青松 杨 淬 孙静贤 王 滢

科学出版社

北 京

内 容 简 介

《生物技术综合实验》是为高年级和即将开始毕业论文撰写的学生开设的一门专业实验课,目的是巩固学生的专业基础知识和培养学生将基础专业知识综合应用的能力。通过综合实验项目的训练,一方面可提高学生的综合实验素质和实际操作技能水平;另一方面可拓展学生的知识视野,了解较新的学科领域知识和信息,适应现代社会发展的需要。全书共编写了 22 个实验,分为基础型实验和综合研究型实验。实验内容综合了本专业多个学科涉及的研究范围,突出实验的综合性、现代性,并与实际应用紧密结合。实验材料部分可结合具体情况就地取材,方便教学和节约成本,实验完成后有思考题、实验讨论与小结,以便教学使用。

本书是生物技术专业和相关专业综合实验教材,还可以作为生物学类研究生、本科和专科学生的实验、科研入门指导书和参考书。

图书在版编目(CIP)数据

生物技术综合实验 / 陈毅坚等主编. —北京:科学出版社, 2015. 5

普通高等院校实验教材系列

ISBN 978-7-03-044177-7

I. ①生… II. ①陈… III. ①生物工程—实验—高等学校—教材

IV. ①Q81—实验
中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 114819 号

责任编辑: 杨 岭 郑述方/责任校对: 韩雨舟

责任印制: 余少力/封面设计: 墨创文化

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>

四川煤田地质制图印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2015 年 6 月第 一 版 开本: B5 (720×1000)

2015 年 6 月第一次印刷 印张: 7.75

字数: 200 000

定价: 22.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

前 言

《生物技术综合实验》是生物技术专业开设的一门专业选修课程。它是一门融合了多门基础专业的实验课程,包含基础生物技术实验的理论和技術以及生物技术发展前沿的新理论、新技术,具有综合性、创造性、实用性的特点,通过该课程的学习可培养生物技术专业学生独立观察、发现问题的能力,培养逻辑思维、创造性思维的能力以及动手操作能力,为今后工作实践和科学研究培养基本技能和科学素养。

本专业学生的基础实验课程包括植物学实验、生物化学与分子生物学实验、微生物实验、植物组培实验、基因工程实验、细胞工程实验和发酵工程实验等。这些实验为培养学生的基础操作能力、提高学生的实际动手能力等奠定了良好的基础,但是这些实验均为结合理论课程单独设计和实施的小实验,且在不同的学期完成了,学生完成实验后没有在学科群的水平上系统地将知识和技能相互关联,缺乏综合能力和设计分析能力的训练。因此,有必要在整体水平上设计独立的大实验,注重各个学科领域知识和技能的相互联系,训练和提升学生的能力和素质,启迪学习智慧,为今后科研工作奠定良好的基础,培养有能力的创新人才。

本教材结合教师开展的科学研究方向和地方资源特色,结合当地实际和为发展地方经济培养人才的特点,将实验内容分为几个部分编写,第一部分“基础研究实验部分”;第二部分“综合研究实验部分”;第三部分“附录”。实验采取大实验方法,将基础理论和技能联系融合,使学生有一个完整的操作过程,能完成一个整体的研究内容,并学会撰写实验报告和研究论文。

本教材编写组成员由云南民族大学化学与生物技术学院生物技术专业的大部分教师组成。附件资料由陈毅坚、邓芳轶、熊勇老师整理而成。本书初稿由邓芳轶、熊勇、熊华斌三位老师通读,提出了许多修改意见,最后由主编集体审稿、修改、定稿。

科学出版社郑述方编辑为本书的出版提供了热情而大量的帮助,本书得到了云南民族大学省级民族机动金民族文化教育项目资助出版,在此表示感谢!

限于编者水平,书中难免有欠妥乃至错误之处,恳请读者批评指正。

编者
2014年12月

目 录

第一部分 基础研究实验部分	1
实验一 被子植物分类检索表的使用和编制	1
实验二 被子植物的种子发芽率快速测定和发芽实验	7
实验三 植物染色体标本制备及核型分析	12
实验四 胡萝卜愈伤组织诱导	17
实验五 细胞色素 C 的制备和测定	21
实验六 细胞冻存和复苏	26
实验七 细胞传代培养	30
实验八 食品细菌菌落总数检测	33
实验九 食品大肠菌群数检测	37
实验十 灯盏花核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶大亚基 (<i>rbcL</i>) 基因 PCR 扩增及产物纯化	41
实验十一 基因组 cDNA 文库的构建	46
第二部分 综合研究实验部分	51
实验十二 酶的海藻酸钠固定化及性质测定	51
实验十三 食用菌培养	55
实验十四 灯盏花核酮糖 1,5-二磷酸羧化酶大亚基 (<i>rbcL</i>) 基因克隆 及其蛋白质高级结构构建	60
实验十五 植物药材抗氧化活性测试实验	66
实验十六 动物肝脏过氧化氢酶的提取、分离与纯化	72
实验十七 动物不同给药途径对药物作用的影响	77
实验十八 家兔动脉血压的测定及其影响因素	80
实验十九 植物对重金属胁迫生理响应的综合评价	84
实验二十 重金属胁迫对植物相关抗性基因表达的影响	89
实验二十一 铬不同形态对植物生长的影响	93
实验二十二 胁迫环境下植物组织中的可溶性糖含量变化	97

第三部分 附 录	99
附录一 常用生化试剂配方	99
附录二 常用细胞培养液配方	104
附录三 硫酸铵饱和度常用表	108
附录四 微生物常用培养基配方	110

基础研究实验部分

实验一 被子植物分类检索表的使用和编制

一、实验目的

- (1) 通过植物分类检索表类型的介绍，了解植物分类检索表的编制原理。
- (2) 掌握植物分类检索表的使用，能够用给定的检索表独立鉴定实验提供的材料。
- (3) 初步学会编制简单的植物分类检索表。
- (4) 通过对蔷薇科代表植物的观察，掌握蔷薇科植物的主要特征及分亚科的标准，并编制分亚科检索表。

二、实验原理

植物检索表是鉴定植物的工具，其编制是根据法国人拉马克（Lamarck, 1744~1829）提出的二歧分类原则，即把一群植物相对的特征、特性分成相对应的 2 个分支，再把每个分支中相对的性状又分成相对的 2 个分支，依次下去，直到编制的科、属、种检索表的终点为止。为了便于使用，按其出现先后顺序在各分支前边加上顺序数字，相对应的 2 个分支前的数字或符号是相同的。

检索表编制按“一般到特殊”“特殊到一般”的原则，首先将所采到的植物标本进行有关习性、形状上的记载，将根、茎、叶、花、果和种子的各种特点进行详细的描述和绘图。再按照各种特征的异同来进行汇同辨异，找出相互显著对立的主要特征，依主、次要特征进行排列，将全部植物分成不同的门、纲、目、科、属、种等分类单位。其中主要是分科、分属、分种三种检索表。检索表常用的有以下两种形式。

1. 定距检索表（等距检索表）

定距检索表从书页左边同样距离处开始描写，将相对立的特征，编为同样的号码。如此继续下去，直到检索到科、属或种的学名为止。例如：

- 1 植物以孢子繁殖，无花、无种子
 - 2 小型绿色植物，不具真正的根和维管束；结构简单，仅有茎、叶之分，有时仅为扁平叶状体 …………… 苔藓植物门 (Bryophyta)
 - 2 通常为中型或大型草本，有维管束；很少为木本植物，分化为根、茎、叶 …………… 蕨类植物门 (Pteridophyta)
- 1 植物以种子繁殖，有花或无花
 - 3 胚珠裸露，不包于子房内 …… 裸子植物门 (Gymnospermae)
 - 3 胚珠包于子房内 …………… 被子植物门 (Angiospermae)

这种检索表的优点是查找起来较为方便，但如果编排的特征内容（即所涉及的分类群）较多，就会出现两对应特征的项目相距较远的不足，还会浪费较多的篇幅。

2. 平行检索表

平行检索表是每一相对立的特征描写紧密并列，便于比较，在相邻的两行中也给予一个数字号码，而每一项条文之后还注明下一步依次查阅的号码或已查到对象的学名。例如：

- 1 植物以孢子繁殖，无花、无种子 …………… 2
- 1 植物以种子繁殖，有花或无花 …………… 3
 - 2 小型绿色植物，不具真正的根和维管束；结构简单，仅有茎、叶之分，有时仅为扁平的叶状体 …………… 苔藓植物门 (Bryophyta)
 - 2 通常为中型或大型草本，有维管束；很少为木本植物，分化为根茎叶 …………… 蕨类植物门 (Gymnospermae)
 - 3 胚珠裸露，不包于子房内 …… 裸子植物门 (Grmnospermae)
 - 3 胚珠包于子房内 …………… 被子植物门 (Angiospermae)

平行检索表，由于各项特征均排列在书页左边的同一直线上，既美观、整齐又节省篇幅，但不醒目、不方便查找。

3. 判断检索表正误的标准

- (1) 同一序号后的形态特征描述，必须两两对应。
- (2) 所有序号必须且只能出现 2 次。
- (3) 编制的最大序号为分类单位数 (n) 减 1。

三、实验材料

1. 用品

1) 书籍

中国高等植物科属检索表, 中国植物志 (蔷薇科), 云南植物志 (蔷薇科), 教材等。

2) 仪器

显微镜, 解剖镜, 解剖针, 解剖刀, 绘图纸, 铅笔, 载玻片, 盖玻片等。

2. 材料

根据季节采集两三种带花果的种子植物新鲜标本, 绣线菊亚科绣线菊的新鲜材料与植物标本, 蔷薇亚科月季的新鲜材料与植物标本, 梅亚科桃的新鲜材料与植物标本, 苹果亚科梨的新鲜材料与植物标本。

四、实验步骤

1. 植物分类检索表的使用

取某种未知的种子植物标本, 按下列次序进行观察与描述。

(1) 植物的性状——乔木、灌木、亚灌木、草本 (一年生或多年生)。

(2) 根——有根/无根; 定根/不定根; 直根系/须根系。

(3) 茎——草质/木质; 形状 (有棱/无棱); 颜色 (是否绿色); 有毛/无毛; 直立/平卧/匍匐/攀援/缠绕/其他。

(4) 叶——单叶/复叶; 叶形 (有无叶柄); 对生/互生/轮生; 叶面及叶背的颜色; 有毛/无毛; 网状脉/平行脉; 有托叶/无托叶。

(5) 花序——单花/花序; 有限花序/无限花序; 总状类花序 (穗状/总状/圆锥/伞形等); 聚伞类花序 (轮伞/聚伞)。

(6) 花——苞片形状、颜色、数目、被毛及其他; 花萼形状、颜色、离生/合生; 被毛/无毛; 花瓣形状、颜色、离生/合生; 被毛/无毛; 雌蕊群数目、花丝、离生/合生、雄蕊与花瓣、花萼对生/互生, 花药的着生情况和开裂方式; 雌蕊群数目、柱头不裂/分裂、分裂数等; 子房着生位置 (上位、下位或半下位)、子房室数目、胎座样式 (中轴胎座、侧膜胎座、中央胎座等)、胚珠数目、定数/不定数等。

(7) 果实——果实类型, 开裂/不开裂, 果实的形状大小和颜色。

(8) 种子——有无胚乳, 胚的子叶数目, 种子形状大小和颜色。

根据以上特征,利用《种子植物科特征检索表》鉴定这种植物属于哪个科。

2. 蔷薇科 4 亚科分类检索表的编制

1) 绣线菊标本观察

取绣线菊亚科绣线菊标本,观察其叶形和叶序,有无托叶?取花枝鉴别其花序。

(1) 花。取一朵花观察,萼片 5 片,三角或卵状三角形;花瓣 5 片,倒宽卵形,离生;雄蕊多数,离生;花托呈凹浅盘状,雌蕊 5 个,离生,着生于花中央,成轮状排列,从整个花的构造来看,萼片、花瓣、雄蕊均着生于花托的边缘而位于子房的周围,形成周围花,子房上位。再仔细观察,在雄蕊群内侧花托的边缘上可以看到肉质的腺体连成一环,鲜红色。

(2) 果实。蓇葖果 5 个,离生,轮状排列,成熟时沿腹缝线开裂。

2) 蔷薇标本观察

取蔷薇亚科蔷薇的标本观察,观察其叶形、叶序及托叶着生情况,与绣线菊比较,单叶与复叶有何重要区别?

(1) 花。花两性,萼片 5 片,花冠有 5 个离生的花瓣;雄蕊多数离生;花托深凹陷呈瓶状,中空,蜜腺生于花托口边缘;花柱伸出瓶状的花托口外,用刀片将花托纵切可看到多数离生的雌蕊着生于瓶状花托的内壁上,子房并不与花托合生,只是花托的形状发生了变化,仍属于子房上位。从整个花的构造来看,萼片、花瓣、雄蕊着生于瓶状花托的边缘而位于雌蕊的周围,因此,形成周围花,子房上位。

(2) 果实。果实为瘦果,成熟时由一肉质的花托所包围形成聚合瘦果,特称为蔷薇果。

3) 桃标本观察

取桃冬枝标本观察,试区别其花芽和叶芽。取梅亚科桃的标本观察,观察其叶序和叶形,托叶披针形,具腺体,早落。

(1) 花。花两性;萼片 5 片;花瓣 5 片或重瓣;雄蕊多数成轮状排列;花托深凹成杯状,蜜腺生于花托的内壁上,淡黄色;雌蕊 1 个,着生于花中央,子房上位,不与花托合生。从整个花的构造来看,萼片、花瓣、雄蕊均着生于花托边缘上,位于雌蕊的周围,形成周围花,子房上位。取雌蕊 1 个,用刀片将子房纵切,放在解剖镜下观察,子房由 1 枚心皮组成,1 室,内含 2 个胚珠,仅有一个发育形成种子。

(2) 果实和种子。取桃的果实,用解剖刀纵切,并把果核打开,鉴别是什么果实,种子有无胚乳,胚的形态如何?

4) 梨标本的观察

取梨的标本观察，观察其叶形和花序类型，托叶存在，常早落。

(1) 花。花两性，萼片 5 片；雄蕊多数，沿花托的边缘着生，排成 1 至数轮；雄蕊内侧花托边缘上有黄色的蜜腺；用刀片将一朵花纵切，另一朵花横切，观察下列部分：①花柱是合生还是离生？②花柱和子房是否同数？③心皮几枚？合生？离生？④子房壁和杯状花托完全合生，形成下位花。

(2) 果实。果实特称为梨果。将果实纵切和横切，可以看见心皮和花托的关系，果实成熟时，花托肉质肥厚，包围子房形成假果，供食用的部分主要是花托及花髓部。心皮的壁分为 3 层，内果皮为草质或皮纸质，中果皮和外果皮为肉质，彼此不易分辨。

根据以上标本观察的结果，编制蔷薇科 4 个亚科的简易分类检索表。

五、备注

在应用检索表鉴定植物时，要掌握所鉴定的植物特征及相关的名词术语。

判断一个检索表的好坏，除编制的格式是否正确外，从内容上可从以下三方面去分析：一是所用的特征是否是稳定的和主要的；二是所用的特征是否界线清楚，切忌模棱两可；三是所用的特征是否是直观的、便于应用的，一般都能在标本上或野外记录上直接反映出来。

在使用检索表的过程中，常常会出现的情况是，在检索表中所用的特征在标本上没有，如检索表上用的是花的特征，而标本上只有果，或检索表上用的是果的特征，而标本上只有花而无果，这时首先应另找检索表检索；若仍然无济于事，则只能根据标本现有的特征去分析、推断看不见的特征。例如根据花去推断果的形态，或根据果去推断花的特征等；或者按前面所述，将检索表的相对 2 项同时检索，然后用文献资料核对。

六、结果和分析

(1) 根据工具书上描述的科的特征以及已经鉴定的标本，判断自行鉴定的标本分科是否正确。

(2) 根据植物分类检索表原理以及注意事项，逐项核对自己编制的蔷薇科分亚科检索表是否正确。能不能根据你自己编制的分亚科检索表来检索蔷薇科未知植物的分亚科情况？

七、思考题

- (1) 记录校园内某种植物的特征。
- (2) 鉴定校园内某种植物属于哪个科。
- (3) 绘制桃花的纵切面图(标示花托、萼片、花瓣、雄蕊和雌蕊)。
- (4) 编制蔷薇科4个亚科的分类检索表。

参考文献

- [1] 蔡岳文. 药用植物识别技术[M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [2] 杨晓红, 李先源, 王壮, 等. 被子植物分类检索表实验教学改革研究[J]. 西南农业大学学报(社会科学版), 2005, 3 (2): 148-150.
- [3] 叶宝兴, 朱新产. 生物科学基础实验(植物类)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.
- [4] 俞德浚. 蔷薇科[M]//吴征镒. 中国植物志[M]. 36、37、38卷. 北京: 科学出版社, 1965, 1979, 1986.
- [5] 张水利, 熊耀康, 俞冰, 等. 药用植物分类检索表的类型、编制及应用[J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31 (5): 642-643, 645.

实验二 植物的种子发芽率快速测定和发芽实验

一、实验目的

- (1) 掌握种子发芽率快速测定的基本原理和技术方法。
- (2) 掌握种子萌发试验的流程。
- (3) 学习计算种子萌发试验的相关指标, 包括发芽率、发芽势、萌发指数等。
- (4) 了解种子萌发前后淀粉、脂肪、蛋白质的变化。

二、实验原理

种子是植物个体发育的一个特定阶段, 种子又是植物种质资源长期保存的理想材料。种子在一定的环境条件下, 包括外界温度、种子水分、能够到达种胚的氧气以及一定的光照等条件下, 开始萌发。在适宜的萌发条件下, 发芽种子数与供试种子数的百分比, 称为发芽率。在规定的时间内, 发芽种子数与供试种子数的百分比, 称为发芽势。在发芽率没有差别的情况下, 可以用萌发指数来测定种子活力的差异。由于种子是农业生产上最基本的生产资料, 因此鉴定种子质量在农业生产中非常重要。一般情况下, 种子发芽率测定时间较长; 在急需了解种子生活力的情况下, 需要快速测定的方法。目前, 快速测定种子活力的方法是根据活细胞的原生质膜具有选择透性, 即染料分子不会进入细胞, 细胞不会被染色, 而死细胞的原生质膜丧失了选择透性, 染料可以进入细胞。

种子萌发过程中, 需要消耗许多有机物, 种子中三大储藏物质——淀粉、脂肪、蛋白质在萌发过程中, 会转变成简单的有机化合物, 如葡萄糖、蔗糖、氨基酸等。淀粉贮藏量减少, 于是与碘作用显色较浅。而转化成的糖中还有还原糖, 因此转化的多少可用斐林试剂测定。在碱性溶液中, 还原糖能将 Ag^+ 、 Hg^{2+} 、 Cu^{2+} 、 Fe^{3+} 等金属离子还原, 而糖本身则氧化成各种糖酸。脂肪在脂肪酶的作用下, 水解产生甘油和脂肪酸, 自由脂肪酸的积累使酸价提高, 因此, 可以用标准碱液滴定。根据滴定消耗量可间接推测出生成脂肪酸的多少和脂肪酶的活性。蛋白质迅速水解, 产生氨基酸, 而氨基酸可与茚三酮反应, 最后产生蓝紫色化合物, 因此可用此性质来测定蛋白质转化成氨基酸的多少。种子中三大物质的转变量和速度也是判断种子质量的关键指标。

三、实验材料

1. 仪器

培养皿, 镊子 1 把, 单面刀片 1 片, 垫板 1 块 (切种子用), 50 mL 烧杯 1 个, 棕色试剂瓶, 解剖针 1 个, 搪瓷盘 1 个, pH 试纸, 9 cm 滤纸, 分光光度计, 水浴锅, 烧杯, 酒精灯, 石棉网, 试管架, 研钵, 漏斗, 滤纸, 滴管, 100 mL 三角瓶 4 个, 碱式滴定管, 铁架, 漏斗, 纱布, 量筒, 大试管 2 支, 中试管 8 支。

2. 试剂

5% 红墨水染色液, 1% 次氯酸钠溶液, 1% 氯化钠, 1 mg/mL 标准麦芽糖溶液, pH 6.9, 0.02 mol/L 磷酸缓冲液, 1% 淀粉溶液, 1% 3,5-二硝基水杨酸, 80% 酒精, 1% 茚三酮, 0.2 mol/L NaOH, 1% 酚酞指示剂, 斐林试剂。

3. 材料

市购新鲜的蚕豆种子或陈年种子, 萌发试验后发芽及未发芽的蚕豆种子。

四、实验步骤

1. 蚕豆发芽率的快速鉴定

随机选取发育良好、形态完整的蚕豆或者在发芽率测定终止时未萌发的蚕豆 30 粒, 设 3 个试验组, 用刀片沿种子胚的中心线纵切为二, 将其中一半用红墨水溶液浸没染色 5~10 min, 另一半在沸水中煮 5 min 杀死种胚, 再做同样的染色处理, 作为对照观察。浸种结束后弃去红墨水染液, 用水清洗种子至清洗液无色为止。凡是不着色或着色很浅的种胚, 计为活种子, 凡是种胚的着色程度与对照相同的计为死种子。

2. 种子萌发试验

随机选取发育良好、形态完整的蚕豆 50 粒, 3 个试验组, 用 1% 次氯酸钠消毒 15 min, 将种子均匀地排列在垫有棉花和滤纸的培养皿中, 加入适量的蒸馏水, 盖上培养皿盖, 放置在所需的温度条件下, 每天记录种子萌发的状态。

3. 种子萌发过程中主要贮藏物质的转变

1) 淀粉的转化

取发芽的与未发芽的蚕豆各 10 粒分别研磨，用温水（30℃）冲入烧杯中，使总体积为 15 mL，充分摇荡后，静置 15~20 min，各取上清液加入试管中，各加 5 mL 斐林试剂，然后将试管放在沸水浴中加热 15~20 min，观察有无红色氧化亚铜沉淀生成。

2) 脂肪的转化

(1) 取未发芽的蚕豆和发芽的蚕豆各 25 粒，放在研钵内，加水 10 mL，充分磨碎后，略加水稀释（不能超过 20 mL），用纱布过滤入 100 mL 量筒中，冲洗残渣数次，将洗液一起滤入量筒内，加水 50 mL，充分摇匀。

(2) 用量筒量取上述汁液各 25 mL，分别放在 2 个 100 mL 烧杯中，并加 1% 酚酞指示剂 3 滴，用 0.2 mol/L NaOH 溶液进行滴定，至滤液呈粉红色振荡 1 min 不褪色为止。滴定时所用 NaOH 溶液多少，即表示酸碱性强弱。

如溶液酸性强，说明脂肪酸含量高，使脂肪水解产生的脂肪酸多。

3) 蛋白质的转化

分别称取未发芽的和发芽的蚕豆各 10 粒，各置于研钵中加玻璃砂少许，研磨。在研磨过程中分别加入 80% 酒精 100 mL，过滤溶液即作为测定游离氨基酸用。

取干净试管 8 支，按下表所示成分，加入各种溶液及试剂，观察颜色。

管号溶液及试剂	1	2	3	4	5	6	7	8
滤液滴数（未发芽）	1	2	3	4	—	—	—	—
滤液滴数（发芽）	—	—	—	—	1	2	3	4
蒸馏水/mL	5	5	5	5	5	5	5	5
1% 茚三酮/mL	1	1	1	1	1	1	1	1
沸水浴煮 10 min								
颜色深浅								

五、备注

1. 种子发芽率快速鉴定

- (1) 5% 红墨水染色液的配制：5 mL 市购的红墨水加 95 mL 蒸馏水。
- (2) 染色时间不宜过长，如果环境温度较高时可以减少染色时间。
- (3) 浸种时，如果种子浮在溶液的表面，则需要抽气。
- (4) 受机械伤害的种子会影响测定结果。

2. 种子萌发试验

(1) 对于1~2天内能够全部萌发的种子,不宜采用发芽势来表示,宜采用简化活力指数。

(2) 培养皿加水不宜过多,否则影响种子呼吸。一般以滤纸充分湿润为宜,大粒种子因在吸胀开始时需要较多的水分,加水量可以适当增加。

(3) 种子发芽以胚根突出种皮2 mm为标准。

(4) 由于种子发芽率和发芽势是在适宜条件下测定的,不能反映在恶劣条件下种子生活力的强弱,因此单用发芽率还不能全面和正确地反映种子的活力。

六、结果和分析

1. 种子活力快速鉴定

活种子(%) = 种胚不着色或着色很浅的种子数/供试种子数 $\times 100\%$

2. 种子萌发指标计算

发芽率(%) = 发芽的种子数/供试种子数 $\times 100\%$

发芽势(%) = 规定时间内发芽的种子数/供试种子数 $\times 100\%$

萌发指数 = $\sum (Gt/Dt)$

Gt 为不同发芽时间(t)的发芽率, Dt 为不同的发芽试验天数(d)。

3. 斐林试剂标定

用移液管准确吸取斐林试剂甲液5 mL,斐林试剂乙液5 mL,与2 mL蒸馏水混合。将混合液置于150 mL锥形瓶中用电炉煮沸。标液(1 mg/mL标准麦芽糖溶液)滴定至蓝色将消失时,加2滴1%指示剂,用糖液滴定蓝色刚好消失(1 min内完成),重复3次,记录3次标液消耗的体积,求其平均值,计算斐林试剂常数。

$$r = wg/v$$

式中, r 为10 mL斐林试剂相当于葡萄糖的量, w 为葡萄糖溶液消耗的体积, g 为葡萄糖质量, v 为葡萄糖定容的体积,即 $r = 0.0032 w$ 。

七、思考题

(1) 计算不同品种蚕豆的种子活力。

(2) 计算蚕豆种子萌发试验中的萌发指标。判断这些指标是否合适衡量蚕豆的萌发情况？

(3) 比较淀粉转化实验中萌发与未萌发种子还原糖的含量。

(4) 比较脂肪转化实验中发芽与未发芽的种子哪种酸性强。

(5) 蛋白质转化实验中 8 支干净试管颜色有何不同？反应后为何放入沸水中？

参考资料

- [1] 刘子凡. 生物科学生物技术系列——种子学实验指南[M]. 北京: 化学工业出版社, 2011.
- [2] 宋松泉. 种子生物学研究指南[M]. 北京: 科学出版社, 2005.
- [3] 叶宝兴, 朱新产. 生物科学基础实验(植物类)[M]. 北京: 高等教育出版社, 2007.