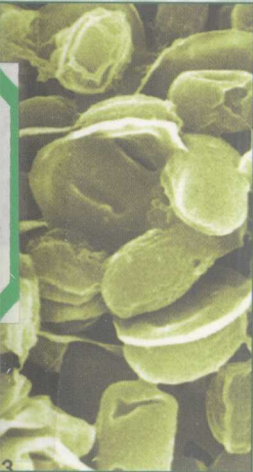


植物生理学 模块实验指导

李玲 主编

李娘辉 蒋素梅 冷佳奕 王小菁 副主编



科学出版社
www.sciencep.com

植物生理学模块实验指导

李 玲 主 编

李娘辉 蒋素梅 冷佳奕 王小菁 副主编

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书以专题形式安排了14个综合性模块实验,编入实验项目64项,涵盖植物生理学的主要基础方法。通过流程图与文字讲述每个模块实验的基本过程,达到操作过程直观、重点提示清晰的效果。同时介绍了实验材料的选择、实验数据的统计分析以及撰写实验论文的方法,列举了17个反映植物生理学研究主题、适合培养设计能力的模块实验题目,使读者在加深植物生理学基本理论的同时,强化植物生理学实验技能训练,培养科学素养和增强解决问题的能力。

本书适合师范院校、农林院校和综合性大学植物生理学实验教学使用,同时可供相关专业学生毕业论文实践及有关教师和科研工作者参考使用。

图书在版编目(CIP)数据

植物生理学模块实验指导/李玲主编. —北京:科学出版社,2009
ISBN 978-7-03-023053-9

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

中国版本图书馆CIP数据核字(2008)第147620号

责任编辑:罗 静 王 静 刘 晶/责任校对:朱光光
责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

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>

骏杰印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009年1月第一版 开本:787×1092 1/16

2009年1月第一次印刷 印张:11 1/2

印数:1—2 500 字数:259 000

定价:28.00元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈环伟〉)

前 言

为适应我国高等教育改革与发展,加强实验教学和操作环节,抓好综合性和创新性实验,大力培养学生实践能力,是落实教育部“高等学校教学质量与教学改革工程”、培养创新人才需采取的重要措施。随着生命科学的发展,对于当前具有创新能力的生命科学领域人才的培养而言,除了要求具有熟练掌握现代生物技术的能力之外,还要具有运用整体知识进行综合研究的创新能力。

植物生理学是一门实验学科,其研究技术发展迅速,与其他学科交叉性强。近年来,许多高等院校的植物生理学实验课程,以培养学生的实践和创新能力为重点,开设了综合实验,以加强植物生理学实验技术的基本操作和技能的训练及培养,提高学生的操作能力、独立工作能力、分析能力和创新能力。

模块实验则是以探讨问题为主线,将相关的若干个实验内容形成独立的研究专题,这样就强化了实验内容的相关性、完整性,使学生在科学态度、实验技能、独立工作能力方面获得初步的训练。基于植物生理学学科发展的规律和人才培养的理念,本书以形式新颖、图解清晰、注重启迪为特色,组合综合性的模块实验教学内容,提供开展设计性实验、开发学生“创造性思维和能力”的实验平台。

本书是一本满足模块实验教学、指导学生自主参与实验过程的实验教材,具有以下特点。

(1) 在经典的实验方法的基础上,结合现代生物技术,以专题形式编写安排 14 个综合性模块实验,依次为:植物细胞生理,矿质元素的作用,种子生理,光合和呼吸代谢温度和光对开花的影响,果实品质分析,植物组织培养,植物光抑制,逆境对植物组织的伤害,自由基清除,生长物质对切花保鲜的作用,调节不定根的发生,发根农杆菌对植物的遗传转化以及目的基因的表达。编入实验项目 64 项,覆盖植物生理学的主要基础方法,涉及的技术有细胞周期测定技术、遗传转化技术、组织培养方法、气相色谱分析技术以及原子吸收分光光度计方法等。

(2) 通过流程图与文字讲述每个模块实验的基本过程,达到操作过程直观、重点提示清晰的效果。有些模块编写了“注意事项与建议”、“实验拓展”、“思考题”,帮助学生理解实验原理,提高学生分析问题、解决问题的能力。

(3) 利用不同实验技术和方法的独立性及相关性进行内容组合,开展植物生理学实验教学的综合训练,使学生进一步掌握探讨某个主题各方法之间的有机联系。这样的训练不仅提高了学生对做实验的兴趣,同时启发了学生对实验方案综合设计的研究思路,以此来提高学生综合掌握和运用实验技术的能力,努力实现“融加强基础与创新能力于一体”的实验教学目标。

(4) 强化“综合性、设计性实验”的设计、操作与论文撰写的训练。介绍了实验材料的选择与样品提取、实验数据的统计分析以及如何撰写实验论文的方法,列举了 17 个反映植物生理学研究热点和可持续发展、适合培养学生设计性能力的综合性题目。

在具体的实验教学中,组合的实验内容多少、难易程度,应根据教学单位、教学计划和教学安排来进行。

我们认为实验课对于学生来说,既是学习的过程,也是独立思考和发展自身创新潜能的过程。近年来,我们采用模块实验教学方法进行实验教学(教学安排集中在一天时间,教师指导学生独立完成试剂的配制、材料的培养与处理、实验条件的比较优化等过去由教师准备的所有过程),使学生真正学到方法又提高能力,并能感受到实验成功的喜悦,因此受到学生的欢迎。应该说,本书介绍的内容与模块教学方法,体现了植物生理学教学团队近年实验教学的改革与实践。

本书由集体合编,模块1由冷佳奕和刘媛执笔,模块2由李娘辉、蒋素梅、冷佳奕、罗刚跃执笔,模块3由黄胜琴执笔,模块4和16由冷佳奕执笔,模块5、14由张盛春和王小菁执笔,模块6由蒋素梅和黄群声执笔,模块7、12、17由李玲执笔,模块8由彭长连执笔,模块9由蒋素梅、黄群声和许传俊执笔,模块10由黄群声和李玲执笔,模块13由施和平执笔,模块11由李玲、王小菁和许传俊执笔,模块15由黄群声执笔,模块18由李玲、冷佳奕、王小菁和蒋素梅执笔,附录由蒋素梅和李玲编辑。全书由李玲统稿。感谢蒋素梅对本书进行整理与校阅。对李娘辉为全书的组织编写工作致谢。

最后,我们要衷心感谢广东省教育厅和华南师范大学对植物生理学实验教学改革的支持,感谢科学出版社给予的帮助和指导。感谢方展强教授、罗刚跃讲师、李海航教授和王金祥副教授等对本书的某些内容进行了审阅,并提出了中肯的意见。

由于编者水平有限,加之植物生理学是一门发展迅速的学科,本书中的缺陷和错误在所难免,欢迎专家和读者指正。

编者

2008年10月于华南师范大学

目 录

前言

模块 1 植物细胞生理	1
1-1 细胞大小测定	1
1-2 细胞活性检测	4
1-3 植物细胞周期测定	5
模块 2 矿质元素的作用	8
2-1 缺素培养	8
2-2 植物形态观察	11
2-3 植物生长速率的测定	12
2-4 植株总氮含量的测定	13
2-5 硝酸还原酶活性的测定	17
2-6 植株铜含量的测定	19
2-7 植株重金属含量的测定	21
模块 3 种子生理	23
3-1 种子活力的测定	23
3-2 种子萌发率和发芽势的测定	25
3-3 种子活力指数的测定	26
3-4 α -淀粉酶与 β -淀粉酶活性的测定	27
3-5 种子粗脂肪含量的测定	29
模块 4 光合和呼吸代谢	31
4-1 光合速率的测定	31
4-2 叶绿体色素的提取和分离	35
4-3 叶绿体色素的理化性质	36
4-4 叶绿素含量的测定	37
4-5 呼吸速率的测定	38
4-6 乙醇酸氧化酶活性的测定	39
4-7 线粒体膜 H^+ -ATP 酶活性的测定	40
模块 5 温度和光对开花的影响	43
5-1 春化作用对开花的影响	43
5-2 光周期诱导开花	45
模块 6 果实品质分析	48
6-1 可溶性总糖含量的测定	48
6-2 维生素 C 含量的测定	50
6-3 可溶性蛋白质含量的测定	54

6-4	可溶性固形物的测定	57
6-5	有机酸含量的测定	58
模块 7	植物的组织培养	60
7-1	培养基的配制与灭菌	60
7-2	愈伤组织的诱导	65
7-3	不定芽和不定根的形成	66
模块 8	植物光抑制	69
8-1	光合速率-光强响应曲线的测定	69
8-2	光合日变化的测定	71
8-3	Fv/Fm 日变化的测定	72
模块 9	逆境对植物组织的伤害	74
9-1	植物组织含水量的测定	75
9-2	自由水和束缚水含量的测定	76
9-3	植物细胞质膜透性的检测	78
9-4	丙二醛含量的测定	80
9-5	超氧阴离子产生速率的测定	83
9-6	过氧化氢含量的测定	84
9-7	脯氨酸含量的测定	86
9-8	热激蛋白的检测 (SDS-PAGE)	88
模块 10	自由基清除	92
10-1	羟自由基清除率的测定	92
10-2	抗氧化率的测定	94
10-3	过氧化氢酶活性的测定	95
10-4	过氧化物酶活性的测定	97
10-5	超氧化物歧化酶活性的测定	98
10-6	还原型谷胱甘肽含量的测定	100
10-7	茶多酚含量的测定	103
模块 11	生长物质对切花保鲜的作用	105
11-1	鲜切花保鲜	105
11-2	花色苷含量的测定	106
11-3	苯丙氨酸解氨酶活性的测定	108
11-4	乙烯含量的测定	109
模块 12	调节不定根发生	112
12-1	促进不定根形成	112
12-2	根系活力的测定	114
12-3	生长素含量的测定	115
12-4	吲哚乙酸氧化酶活性的测定	118
模块 13	发根农杆菌对植物的遗传转化	121
13-1	毛状根的诱导与培养	122

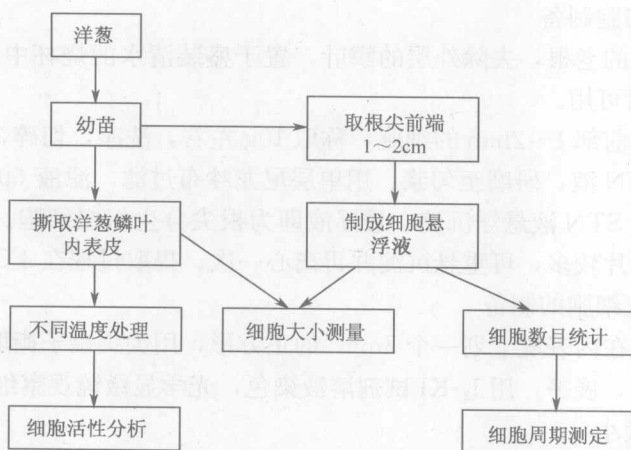
13-2	毛状根遗传转化鉴定	124
13-3	异黄酮含量的测定	128
模块 14	目的基因表达	132
14-1	总 RNA 提取	132
14-2	总 RNA 质量的检测及定量	134
14-3	RT-PCR 检测基因的表达	136
模块 15	实验材料选取与样品提取	141
模块 16	实验数据统计处理	145
模块 17	实验论文的撰写	154
模块 18	综合设计性实验选题	156
附录	159
I	试剂的配制	159
II	硫酸铵饱和度常用表	161
III	常用有机溶剂及其主要性质	163
IV	蔗糖浓度、密度与折射率换算表	164
V	植物组织培养常用培养基	165
VI	常见的植物生长调节物质及其主要性质	166
VII	常用缓冲溶液的配制	167
VIII	常用酸、碱指示剂	171
IX	离心机转数 (r/min) 与离心力 (g) 的换算	171
X	常用计量单位及其换算	172

模块 1 植物细胞生理

【模块实验目的】

植物细胞是植物体的基本单位，也是器官发生和形态建成的基础。研究植物的生长发育，需要了解细胞数目、细胞大小和形态变化，认识细胞周期的规律。本模块实验将介绍这些研究方法。

【流程图】



1-1 细胞大小测定

I 制作临时装片法

【实验目的】

1. 观察洋葱不同组织细胞的形态大小，学习并了解测定植物细胞大小的方法。
2. 掌握普通光学显微镜及测微尺的使用方法。

【实验原理】

用目镜测微尺和镜台测微尺测量细胞的大小。镜台测微尺是中央部分刻有精确等分线的载玻片。一般将 1mm 等分为 100 格（或 2mm 等分为 200 格），每格长度为 0.01mm（即 $10\mu\text{m}$ ），用于校正目镜测微尺每格长度。目镜测微尺是一块可放在接目镜内的隔板上的圆形小玻片，其中央有精确的刻度，有等分 50 小格或 100 小格两种，每 5 小格间有一长线相隔。由于所用接目镜放大倍数和接物镜放大倍数的不同，目镜测微尺每小格所代表的实际长度也就不同，因此，在使用前必须用镜台测微尺进行校正，以求得在一定放大倍数的接目镜和接物镜下该目镜测微尺每小格的相对值，用来测量细胞的大小。

[器材与试剂]

1. 实验仪器与用具

台式离心机、目镜测微尺、镜台测微尺、显微镜、医用（尖嘴）镊子、擦镜纸

2. 实验试剂

I₂-KI 试剂：取碘 0.5g 与碘化钾 1.5g，加水定容至 25ml。

STN 液：将 137g 蔗糖、3.58g 三羟甲基甘氨酸（tricine）和 0.58g NaCl 溶于 800ml 水中，用 NaOH 溶液调至 pH7.8，加水定容至 1000ml。置 4℃ 冰箱备用。

3. 实验材料

洋葱

[实验步骤]

1. 洋葱根尖细胞制备

(1) 剪去洋葱的老根，去除外层的鳞叶，置于盛装清水的烧杯中，培养一周左右，不定根长到 2cm 时可用。

(2) 选取根尖前部 1~2mm 的细胞，称取 10g 左右，洗净，切碎，放入研钵中，加入 50ml 预冷的 STN 液，研磨至匀浆。用单层尼龙纱布过滤，滤液 500r/min 离心 30s。去上层液，用少量 STN 液悬浮沉淀，悬浮液即为根尖分生组织细胞。如果第一次离心后，沉淀中细胞碎片较多，可重悬沉淀并再离心一次。提取过程在 4℃ 进行。

2. 洋葱内表皮细胞的制备

取洋葱鳞茎，在内表皮上划一个 5mm² 的正方形，用尖头镊子撕取内表皮置于滴有蒸馏水的载玻片上，展平，用 I₂-KI 试剂溶液染色，光学显微镜观察细胞形态。

3. 测定细胞大小

(1) 用目镜测微尺分别在光学显微镜的低倍镜下和高倍镜下测量镜台测微尺，从而算出所用显微镜中目镜测微尺每格所代表的实际长度。

(2) 用目镜测微尺测量细胞的长径和短径。每个材料统计 10 个以上细胞。

4. 观察细胞形态

将细胞悬浮液滴在载玻片上，用光学显微镜观察细胞的形态；或用 I₂-KI 试剂溶液染色后，观察细胞的形态。

[实验作业]

1. 根据测量洋葱鳞叶表皮细胞和根尖分生组织细胞的结果，填写表格。

部位	细胞大小(长×宽)										细胞形态	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
表皮细胞												
根尖细胞												

2. 比较洋葱鳞叶表皮细胞和根尖分生组织细胞的形状和大小，并说明原因。

II 琼脂糖印迹法测定

[实验目的]

了解琼脂糖印迹法测定植物叶片表皮细胞大小和数目。

[实验原理]

在植物叶片的表面覆盖适量琼脂糖，胶体干后，其上印有叶片表皮组织各细胞的界迹边痕及气孔结构。用显微镜可以直接观察，测定植物叶片表皮细胞的大小和数目。

[器材与试剂]

1. 实验仪器与用具

显微镜 (OLYMPUS-BX51)

2. 实验试剂

福尔马林-乙酸-乙醇固定液 (FAA): 90ml 50%或70%乙醇与5ml冰乙酸和5ml 37%~40%甲醛混合。

1.5%琼脂糖: 称取1.5g琼脂糖 (Bio Basic Inc. 公司产品) 溶于100ml双蒸水中, 滴入3~5滴1%番红乙醇染液使琼脂糖着色, 反复煮沸2或3次, 使琼脂糖完全溶解。

双蒸水、1%番红乙醇染液 (或1%孔雀石绿染液)、福尔马林 (37%~40%甲醛)

3. 实验材料

洋葱、水稻、蝴蝶兰等植物叶片, 以及非洲菊的舌状花花瓣

[实验步骤]

1. 固定

将植物叶片表皮置于 FAA 中固定 24h。

2. 包埋

取1张滤纸, 粘有双面胶, 从固定液中取出植物材料, 用吸水纸吸干水分后, 粘在双面胶上, 展平, 放入培养皿中。将冷却至50~60℃的琼脂糖倒入培养皿中, 淹没材料, 静置待其凝固 (图1-1)。

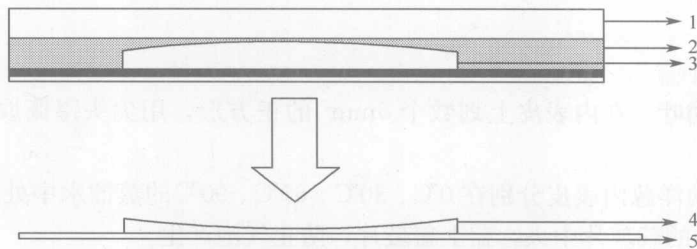


图 1-1 琼脂糖印迹法示意图

1. 培养皿; 2. 琼脂糖; 3. 植物材料; 4. 含材料表皮印迹的琼脂糖; 5. 载玻片

3. 制片

将培养皿倒置取出琼脂糖凝胶, 切取含拓痕的凝胶, 将拓痕面朝上, 放置在载玻片上, 在显微镜 (OLYMPUS-BX51) 下观察细胞大小, 并导入 DP Controller 系统拍照, 也可以用普通光学显微镜测定细胞大小和数目。

[实验作业]

观察实验材料的叶片表皮细胞, 绘制细胞形态, 测定细胞大小。

[注意事项]

固定时间可以根据植物材料的幼嫩程度做相应调整, 一般固定 24h。

[思考题]

与制作临时装片的方法相比,琼脂糖印迹法测定有何优缺点?

[参考文献]

吴杰,梁敏婷,王小菁等.2008.琼脂糖印迹法:观察植物表皮细胞的一种简易方法.植物学通报,25(3):332~336

1-2 细胞活性检测

[实验目的]

掌握用质壁分离法检测植物细胞活性(质壁分离法)的方法。

[实验原理]

植物细胞膜有选择透过性。当植物细胞处于高渗溶液中时,细胞内液渗出,整个原生质体缩小,细胞膜逐渐与细胞壁脱离,产生质壁分离。若将已经发生质壁分离的细胞再移入低渗溶液或水中,水重新进入细胞,原生质体逐渐恢复原状,即质壁分离复原。质壁分离实验可检测植物细胞发生渗透作用的情况,当选择透过性膜失去其功能时,不发生质壁分离现象,所以可用这种方法判断细胞的活性。

[器材与试剂]

1. 实验仪器与用具

显微镜、温度计、刀片、探针、医用(尖嘴)镊子、滴管、载玻片、盖玻片、吸水纸

2. 实验试剂

0.3g/ml 蔗糖溶液

3. 实验材料

洋葱

[实验步骤]

1. 取洋葱鳞叶,在内表皮上划数个 5mm^2 的正方形,用尖头镊撕取切片,置于蒸馏水中备用。

2. 将撕取的洋葱内表皮分别在 0°C 、 30°C 、 60°C 、 90°C 的蒸馏水中处理5min,平展放在滴有蒸馏水的载玻片中央,盖上盖玻片,防止气泡产生。

3. 先用光学显微镜的低倍镜观察,找到细胞位置再用高倍镜观察。

4. 从盖玻片的一侧滴入0.3g/ml蔗糖溶液,在盖玻片的另一侧用吸水纸吸引,重复几次,观察细胞中质壁分离现象。

[实验作业]

观察实验结果,以“+”表示洋葱鳞叶表皮细胞质壁分离的程度,填写表格。

温度	0°C	30°C	60°C	90°C
质壁分离程度				

[思考题]

除细胞质壁分离法外,常用于判断植物细胞活性的方法还有哪些?各种方法有何特点?

1-3 植物细胞周期测定

[实验目的]

理解流式细胞仪的工作原理及仪器构造；学习和掌握利用流式细胞仪检测细胞周期的实验方法。

[实验原理]

在植物细胞周期 (G_0 , G_1 , S, G_2 , M) 的各个时期, DNA 的含量随各时相呈现出周期性的变化: 在 G_1 期, 细胞开始 RNA 和蛋白质的合成, 但 DNA 仍保持二倍体; 进入 S 期后, DNA 开始合成, 这时细胞核内 DNA 的含量介于 G_1 和 G_2 期之间; 当 DNA 复制结束成为四倍体时, 细胞进入 G_2 期, G_2 期细胞继续合成 RNA 及蛋白质, 直到进入 M 期, 因此, 单纯根据 DNA 含量无法区分 G_2 期和 M 期; 一旦有丝分裂发生, 细胞分裂成两个子细胞, 这两个子细胞或者进入下一个细胞周期, 或者进入静止期 (G_0 期), 而从 DNA 含量上 G_0 期同样无法与 G_1 期区分。因此, 单纯从 DNA 含量来划分, 整个复制周期可以分为 G_0/G_1 、S、 G_2/M 期。通过核酸染料标记 DNA, 并用流式细胞仪进行分析, 可以得到细胞各个时期的分布状态, 计算出 (G_0/G_1)%、S% 及 (G_2/M)%, 便可了解细胞的增殖情况。

碘化丙啶 (propidium iodide, PI) 是最常用的核酸染料之一, 它可以嵌入双链 DNA 和 RNA 的碱基对中与之结合并发出特定波长的荧光。采用 RNA 酶将 RNA 去除后, 通过流式细胞术检测到的 PI 荧光强度与细胞内的 DNA 含量成正比, 便可区分不同时期的细胞。

流式细胞术检测的对象是单个细胞或者单个细胞核的悬液, 由于植物细胞有细胞壁, 所以需要提取植物细胞原生质体, 制备成单细胞悬液。把植物组织分散为单细胞的方法有机械法、酶处理法、化学试剂处理法和表面活性剂处理法。本实验介绍用机械法制备单细胞悬液。

[器材与试剂]

1. 实验仪器与用具

流式细胞仪 (FACS Calibur, 美国 Becton Dickinson 产品)、低速台式离心机、研钵、100 目尼龙纱布、200 目滤网

2. 实验试剂

STN 液 (蔗糖 0.4mol/L, Tricine 20mmol/L pH7.8, NaCl 10mmol/L): 将 137g 蔗糖、3.58g Tricine (三羟甲基甘氨酸)、0.58g NaCl 溶于约 800ml 水中, 用 NaOH 溶液调至 pH7.8, 加水定容至 1000ml。置 4℃ 冰箱中备用。

磷酸缓冲液 (PBS): 8g NaCl、0.2g KCl、0.2g KH_2PO_4 、1.15g Na_2HPO_4 、蒸馏水定容至 1000ml, pH7.4。置 4℃ 冰箱中备用。

染色液: 含有 50 μ g/ml PI、20 μ g/ml RNase A、0.5% Triton X-100 的 PBS; 0.1% 柠檬酸钠。

0.02% 双乙酸酯

3. 实验材料

洋葱根尖分生区和叶片

[实验步骤]

1. 单细胞悬液的制备

(1) 分别选取洋葱根尖分生区和伸长区 10g 左右,洗净,切碎,放入研钵中,加入 50ml 预冷的 STN 液,研磨至匀浆。

(2) 匀浆液用 100 目的单层尼龙纱布过滤,滤液于 500r/min 离心 30s。去上清,用少量 STN 液悬浮沉淀,即可获得单细胞悬液。如果第一次离心后,沉淀中细胞碎片较多,可再悬浮离心一次。提取过程在 4℃ 下进行。

(3) 利用细胞计数板,计算细胞悬液的浓度,并将细胞浓度调整为 10^6 个/ml。

2. 样品的制备

(1) 取 500 μ l 单细胞悬液,3000r/min 离心 10min,去上清。

(2) 加入 500 μ l PBS 重悬沉淀,再次以 3000r/min 离心 10min,去上清。

(3) 用 150 μ l PBS 重悬细胞,将细胞逐滴加入 350 μ l 预冷的无水乙醇中,乙醇终浓度为 70%,4℃ 避光固定过夜。

(4) 3000r/min 离心 10min,去上清。

(5) PBS 清洗两次。

(6) 重悬细胞于 500 μ l 含 PI 的染色液中,避光孵育 30min。

(7) 以 200 目滤网过滤,收集滤液至流式专用管。

3. 流式细胞仪检测

(1) 预备实验——仪器参数和周期区域的确定:打开 Cellquest 软件,选取 FL2-A 为检测通道,以 PI 在 FL2-A 的荧光强度为横坐标,细胞数量为纵坐标作直方图(图 1-2)。取洋葱分生区的细胞样品进行预实验,调整 FL2 的电压和 FL2-A 电流,使 G_0/G_1 期峰调节到适当位置, G_2/M 期峰平均荧光量约为 G_0/G_1 期峰的 1.95~2.05 倍,并确保变异系数(coefficient of variation, CV 值) $\leq 3\%$ 。确定 G_0/G_1 期、S 期和 G_2/M 期的区域,以标尺划定。

(2) 测定:将处理好的洋葱伸长区和分生区的样品(不少于 200 μ l)分别上样,每个样品测定 10 000 个细胞,根据确定好的区域,利用 Cellquest 软件分析 G_0/G_1 、S 及 G_2/M 三个区域中细胞所占的百分比。

[实验作业]

以 FL2-A 荧光强度(线性放大)为横坐标,细胞数量为纵坐标,参照图 1-2,绘制洋葱根尖分生区和伸长区的细胞直方图,分析比较洋葱根尖分生区和伸长区的细胞增殖情况。

[注意事项]

荧光染料为剧毒物质,整个实验过程中必须戴上一一次性手套。

[思考题]

1. 测定细胞周期的方法还有哪些?各有什么优缺点?
2. 用乙醇固定细胞的目的是什么?
3. 利用流式细胞术检测细胞的 DNA 含量,还能分析哪些指标?

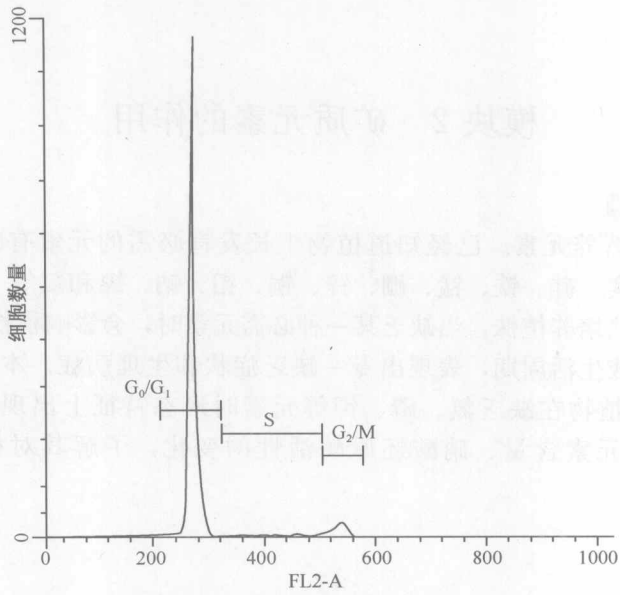


图 1-2 细胞周期 PI 染色直方图 (Sequeira, 1996)

[参考文献]

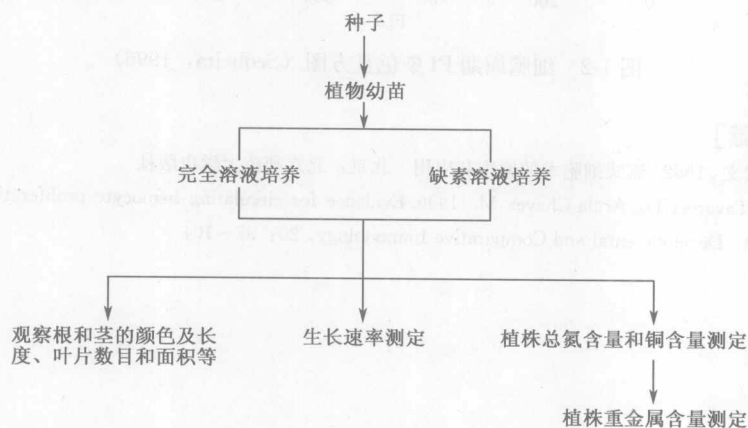
宋平根, 李素文. 1992. 流式细胞术的原理和应用. 北京: 北京师范大学出版社
 Sequeira T, Tavarest D, Arala-Chaves M. 1996. Evidence for circulating hemocyte proliferation in the shrimp *Penaeus japonicus*. *Developmental and Comparative Immunology*, 20: 97~104

模块 2 矿质元素的作用

【模块实验目的】

植物生长需要营养元素。已经知道植物生长发育必需的元素有碳、氢、氧、氮、磷、钾、硫、钙、镁、硅、铁、锰、硼、锌、铜、钼、钠、镍和氯等 19 种。利用溶液培养法或砂基培养法培养植株，当缺乏某一种必需元素时，会影响植物的生长发育，使植物不能正常地完成生活周期，表现出专一缺乏症状和生理病症。本模块实验通过溶液培养方法，了解植物在缺乏氮、磷、钾等元素时形态特征上出现的症状，进一步分析植物体内矿质元素含量、硝酸还原酶活性的变化，了解其对植物生长发育的影响。

【流程图】



2-1 缺素培养

[实验目的]

1. 学习配制溶液培养原液，利用原液配制完全培养液和缺素培养液的方法。
2. 了解验证矿质元素生理功能的原理与方法。

[实验原理]

应用溶液培养方法，可人为地控制植物生长所需的营养元素，研究植物生长对矿质元素的需求和矿质元素在植物生长发育过程中的作用。当植物生长在缺乏某元素的土壤（溶液）中时，植物的生长发育受到影响，表现出专一缺乏症。本实验使用完全培养液和缺素培养液培养植物，观察植物的生长情况。当使用完全培养液培养植物时，植物正常生长；当使用缺氮、缺磷、缺钾、缺钙、缺镁、缺硫、缺铁等缺素培养液培养植物时，植物生长均不正常，可证明必需营养元素对植物生长的重要性和必要性。

[器材与试剂]

1. 实验仪器与用具

医用天平、电子天平、培养缸或培养容器、烧杯、量筒、移液管、洗耳球、角匙、玻璃棒

2. 实验试剂

KNO_3 、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 CaCl_2 、 KCl 、 H_3BO_3 、 $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 、 H_2MoO_4 、 NaFeDTPA (10% Fe)、 $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$

3. 实验材料

玉米或番茄

[实验步骤]

1. 培养幼苗

将玉米种子用水浸泡 24h，或番茄种子浸泡 1h，充分吸胀后，播于干净的湿沙中，温室 (28℃) 或室外培养。当幼苗长到 7~8cm 时，选择生长势相同的植株进行溶液培养。

2. 按照表 2-1 配制 100ml 大量元素原液 (1000mmol/L)、100ml 各种微量元素原液、50ml $\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 原液 (0.25mmol/L) 和 50ml $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 原液 (1000mmol/L)。

表 2-1 配制培养液原液和 1L 培养液的吸取用量

试剂名称	分子质量 g/mol	浓度		每升培养液中取原液的 ml 数
		mmol/L	g/L	
大量元素				
KNO_3	101.10	1000	101.10	6.0
$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236.16	1000	236.16	4.0
$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$	115.08	1000	115.08	2.0
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246.48	1000	246.49	1.0
KH_2PO_4	136.09	1000	136.09	1.0
微量元素				
CaCl_2	110.98	500	55.49	5.0
KCl	74.55	25	1.864	0.4
H_3BO_3	61.83	12.5	0.773	0.4
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	169.01	1.0	0.169	0.4
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287.54	1.0	0.288	0.4
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249.68	0.25	0.062	0.4
H_2MoO_4 (85% MoO_3)	161.97	0.25	0.040	0.4
NaFeDTPA (10%Fe)	468.20	64	30.000	0.6
可加入或不加入				
$\text{NiSO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	262.86	0.25	0.066	2.0
$\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$	284.20	1000	284.20	1.0