

# 森林遗传学实验新技术

J. P. Miksche 编

张 培 杲 译  
吴 贯 明

中国林业出版社



# 森林遗传学实验新技术

J.P.Miksche 编

张培杲  
吴贯明 译

中国林业出版社

## 森林遗传学实验新技术

J. P. Miksche 编

张培皋 译  
吴贯明

---

中国林业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

---

850×1168 毫米 32开本 11.375印张 249千字

1981年5月第1版 1981年6月北京第1次印刷

印数 1—2,800册

统一书号 16046·1007 定价 1.40元

## 译 序

随着林业生产的不断发展，森林遗传与树木育种的许多常规实验手段已经远远不能满足当前生产和科研的需要。本书针对目前国外森林遗传与树木育种中正在研究的若干问题，介绍了一些新的试验方法。本书介绍的方法涉及面很广，有先代分析，生理测定，育种方法，栽培技术等等。各章编写的侧重点也不一致，有的着重于试验方法的一般评述，有的着重于操作步骤的详细介绍，全书可做为了一本“手册”。当前有不少方法（如同功酶的凝胶电泳分析，开花的激素控制和树木的组织培养等）已开始为我国森林遗传工作者应用，取得了一些成果，而有些方法（如树木的核酸分析和分子杂交，花粉不亲和性的免疫学分析等）则在我国尚未见到有应用的报道。总之，我们认为本书所介绍的方法体现了森林遗传研究的现代水平。我们深信通过我国广大森林遗传工作者的实践，结合我国实际情况，去粗取精，洋为中用，这些方法将在生产和科研单位发挥作用。

原书中有悼念Robert G. Stanley和Klaus Stern两位教授的献词，因与正文关系不大，所以没有译出。各章参考文献列于书后，供读者使用。

由于译者水平有限，译文中难免有错误或不妥之处，敬希读者指正。

东 北 林 学 院 张培果  
南京林产工业学院 吴贯明

1979年于南京

## 序 言

本书所包括的论文，是根据1973年6月5日到28日在德国Göttingen大学召开的国际林业研究组织联合会（IUFRO）生化遗传工作委员会（工作委员会S.04—5）指定的方向编写的。本工作委员会是为了悼念Klaus Stern教授，由Robert G. Stanley教授发起成立的。不幸的是，两位教授都先后去世。Stanley教授对本会会刊的创办也是有帮助的。这次会议的参加者责成我来完成这项工作，我真诚地感谢他们的合作、忠告和鼓励。

除了指定的和后来由以上专业会议拟定的论文外，我们还采用了一些没有能够出席会议的同事们的论文。本书的内容可以看作是应用于森林遗传与育种计划的一般“现代”技术的工作手册。

各章分置在五个主要的部分里。前面的三个部分是根据植物遗传的化学成分来分的，即核酸（DNA，RNA），基因的初级产物（氨基酸，蛋白质和酶类）以及代谢的初级和次级产物（糖类聚合物，树脂，酚类，色素等）。第四部分是环境和基因系统的交互作用。间接选择、杂交、原生质融合和开花的控制是第五部分的内容。

第一章中Berlyn和Cecich提供了一个较易精确测定DNA含量的方法。这个方法颇为适用，因为最近的发现证明：每个细胞的DNA总量或者每个物种的DNA总量并不象以前认为的那样是恒定不变的，而DNA含量的变化是可以被森林遗传学家利用的另一个遗传变异。除了DNA的含量外，其他一些为DNA特有的质和量方面的特征也是与森林遗传学的研究有关的。第二章中

Hall, Miksche和Hansen提供了有关DNA分离、纯化和鉴定的方案。鉴定DNA的两个方法是:Cot分析和核酸杂交。Cot分析证明树木的DNA与其他真核生物一样,有两种类型:高度重复的DNA和单复本的或单份的DNA。分子杂交技术可以作为研究系统发育和遗传亲缘关系的有效工具。系统发育和遗传亲缘关系是支持树木育种计划的两个重要的研究领域。用蛋白质证实的遗传亲缘关系的模式,可以用Feret和Bergmann在第三章中提供的电泳方法作进一步的探索。他们还对电泳在植物学上的应用提出了一个较充分的文献报道。氨基酸是蛋白质的基本化学成分,Lunderstädt在第四章里概述了氨基酸提取和评价的方法,即确定存在于被研究机体内的氨基酸类型和数量的方法。

有关光能转化成化学能的物理—化学过程和结构是树木染色体组成分的内在因素,并且这些因素表现着遗传变异。Zelawski和Walker在第五章里对术语作了说明之后,介绍了测定光合效率和植物初级代谢物总量的方法。植物的次级代谢物——树脂产物和酚类化合物由Squillace和Lunderstädt在第六和第七章内分别作了讨论。各种各样树脂成分的鉴定和分析,随着气—液色谱法的出现而大大地增加了。Squillace结合树种种群的单萜分析,介绍了GLS仪器的一般应用方法。另外,还列出了有关针叶树单萜组成的树种索引,这对那些将要开始和目前正在GLS应用领域里工作的人员是有用处的。Lunderstädt的第七章提供了酚类化合物的分离、鉴定和定量分析的方法。树木里某些酚类化合物的存在或缺乏关系到它们对病原微生物的抗性,这些化合物也是抗御食叶害虫的防护物质。

上面各章涉及内部遗传物质及其衍生的遗传和代谢产物的检验与测定。下面两章则讨论树木外部环境中的空气与土壤的某些相互作用的因子。在第八章里,Evers和Bucking提出了养分吸取的遗传考虑和矿质分析的方法。在第九章里,Jensen,Dochinger,Roberts和Townsend较广泛地讨论了与树木有关的空

气污染的问题。

其余几章介绍了涉及以树木改良为最终目标的植物材料的培养和外源处理的使用。第十章中 Von Weissenberg 提出了间接选择法的应用。在十一章里, Kirby 和 Stanley 讨论了与不亲和性倾向有关的花粉的处理方法。Winton 和 Huhtinen 在十二章里介绍了一个较新的方法, 即原生质融合, 目前它在制订育种计划中很受重视。开花的研究对树木育种计划来说是一个重要的部分, 在最后一章里, Pharis 介绍了该项技术的现状。

Jerome P. Miksche 1976年3月于莱茵兰德

# 目 录

译 序

序 言

## 第一章 测定DNA含量的光学方法

.....G.P. Berlyn和R.A. Cecich ( 1 )

引 言..... ( 1 )

光吸收..... ( 2 )

误差的来源..... ( 6 )

染色特异性..... ( 8 )

材料和方法..... ( 9 )

细胞光度计部件..... ( 9 )

细胞光度计调准..... ( 10 )

标本制作..... ( 10 )

孚尔根染色步骤..... ( 12 )

Schiff试剂..... ( 12 )

孚尔根反应吸收曲线的获得..... ( 12 )

a, 方法 1..... ( 13 )

b, 方法 2..... ( 13 )

塞子法..... ( 13 )

双波长法..... ( 15 )

单波长/二面积法..... ( 17 )

积分法..... ( 18 )

内部标准..... ( 18 )

## 第二章 核酸的提取、纯化、重退火和杂交方法

.....R.B. Hall, J.P. Miksche和K.M. Hansen ( 22 )

|                                  |        |
|----------------------------------|--------|
| 引 言 .....                        | ( 22 ) |
| 材料和方法 .....                      | ( 22 ) |
| DNA 的提取和 纯化 .....                | ( 22 ) |
| 完整种子、实生苗或针叶 .....                | ( 23 ) |
| 双子叶植物的叶材料 .....                  | ( 27 ) |
| 细胞器核酸 .....                      | ( 31 ) |
| 不连续的梯度 .....                     | ( 31 ) |
| 选择溶解 .....                       | ( 32 ) |
| 核酸的鉴定和分析方法 .....                 | ( 34 ) |
| 浮力密度和硷基组成测定 .....                | ( 34 ) |
| 制备超速离心 .....                     | ( 34 ) |
| 分析离心 .....                       | ( 37 ) |
| T <sub>m</sub> 分析 .....          | ( 37 ) |
| 分子量测定 .....                      | ( 41 ) |
| 分析离心 .....                       | ( 44 ) |
| 电泳 .....                         | ( 45 ) |
| 用羟基磷灰石进行DNA Cot 分析或DNA 重结合 ..... | ( 46 ) |
| 羟基磷灰石(HAP)色谱 .....               | ( 48 ) |
| DNA重退火 .....                     | ( 48 ) |
| 核酸杂交 .....                       | ( 54 ) |
| DNA—RNA杂交 .....                  | ( 54 ) |
| DNA—DNA杂交 .....                  | ( 55 ) |
| 结 论 .....                        | ( 56 ) |

### 第三章 蛋白质和酶的凝胶电泳

.....P.P.Feret和F.Bergmann ( 57 )

|                    |        |
|--------------------|--------|
| 引 言 .....          | ( 57 ) |
| 蛋白质和酶的复合分子形式 ..... | ( 57 ) |
| 蛋白质的分子结构 .....     | ( 57 ) |

|                         |        |
|-------------------------|--------|
| 蛋白质在电场中的动向 .....        | ( 58 ) |
| 凝胶介质的应用 .....           | ( 59 ) |
| 历史发展 .....              | ( 59 ) |
| 方法 .....                | ( 59 ) |
| 同工酶的命名和分类 .....         | ( 61 ) |
| 研究上的应用 .....            | ( 62 ) |
| 同工酶变异—历史背景 .....        | ( 62 ) |
| 森林树木中同工酶的变异 .....       | ( 67 ) |
| 方法和技术 .....             | ( 70 ) |
| 植物组织准备和蛋白质抽提的方法 .....   | ( 70 ) |
| 淀粉凝胶的配制和使用 .....        | ( 73 ) |
| 丙烯酰胺凝胶的配制和使用 .....      | ( 76 ) |
| 讨论 .....                | ( 78 ) |
| 凝胶介质的优缺点 .....          | ( 78 ) |
| 分析中存在的问题 .....          | ( 79 ) |
| 数据的评定 .....             | ( 80 ) |
| 酶谱的检查与鉴定 .....          | ( 80 ) |
| 同工酶变异的遗传控制的分析 .....     | ( 81 ) |
| 群体差异的统计评价 .....         | ( 82 ) |
| 同工酶变异性的表示方法 .....       | ( 84 ) |
| 在森林遗传和树木育种中酶电泳的应用 ..... | ( 85 ) |
| 个体发育的研究 .....           | ( 85 ) |
| 遗传变异性的分析 .....          | ( 86 ) |
| 多型现象 .....              | ( 86 ) |
| 基因流动和隔离 .....           | ( 87 ) |
| 地理变异和生态群变异 .....        | ( 87 ) |
| 个体和群体的鉴定 .....          | ( 88 ) |
| 结    论 .....            | ( 89 ) |

## 第四章 在挪威云杉叶子中抽提和分析游离的和与蛋白

质结合的氨基酸.....J. Lunderstädt (90)

引 言..... (90)

方 法..... (92)

云杉针叶中游离的和蛋白质相结合的氨基酸的定量测定 ..... (92)

组织准备 ..... (92)

可溶性氨基酸的抽提..... (93)

可溶性氨基酸的浓缩与纯化 ..... (93)

与蛋白质结合的氨基酸的酸解 ..... (93)

氨基酸的分离 ..... (94)

氨基酸的检出和定量 ..... (94)

纸层析法 ..... (94)

双向纸层析法 ..... (94)

圆形滤纸层析法..... (95)

氨基酸的定量 ..... (95)

氨基酸分析法 ..... (96)

结 论..... (98)

## 第五章 光合作用、呼吸作用与干物质生产

.....W. Żelawski和R. B. Walker (101)

引 言..... (101)

定义和名词介绍..... (101)

表示速率的参考单位和基数..... (104)

鲜 重 ..... (104)

干 重 ..... (104)

表面积 ..... (104)

光合器和叶绿素 ..... (105)

N—含量或蛋白质含量 ..... (105)

|                     |         |
|---------------------|---------|
| 形态学的基数 .....        | ( 106 ) |
| 表示速率的基数的选择 .....    | ( 106 ) |
| 光合能力和光合效率 .....     | ( 106 ) |
| 树木光合能力的特点 .....     | ( 106 ) |
| 光合能力的比较 .....       | ( 107 ) |
| 潜在光合能力 .....        | ( 108 ) |
| 光合效率 .....          | ( 108 ) |
| 遗传变异 .....          | ( 110 ) |
| 年龄和发育阶段 .....       | ( 111 ) |
| 材料和方法 .....         | ( 113 ) |
| 试验材料 .....          | ( 113 ) |
| 一般考虑 .....          | ( 113 ) |
| 形态和部位 .....         | ( 113 ) |
| 适 应 .....           | ( 114 ) |
| 植物的年龄和离体分枝的使用 ..... | ( 115 ) |
| 植物小室中的条件 .....      | ( 116 ) |
| 光 照 .....           | ( 118 ) |
| 测量二氧化碳的吸收和释放 .....  | ( 120 ) |
| 电导计法和化学法 .....      | ( 120 ) |
| 热导气析计法 .....        | ( 121 ) |
| 红外线气体分析 .....       | ( 121 ) |
| 测量氧气的放出和吸入 .....    | ( 124 ) |
| 用碳同位素测量 .....       | ( 125 ) |
| 干物质增加的测定 .....      | ( 128 ) |
| 校准方法 .....          | ( 131 ) |
| 一般注意 .....          | ( 131 ) |
| 使用碳酸盐的特殊校准 .....    | ( 132 ) |
| 容器容积的测压测定 .....     | ( 133 ) |
| 结 论 .....           | ( 134 ) |

## 第六章 针叶树单萜类的气—液色谱分析

|                            |         |
|----------------------------|---------|
| .....A. E. Squillace       | ( 135 ) |
| 引 言 .....                  | ( 135 ) |
| 材料和方法 .....                | ( 137 ) |
| 取 样 .....                  | ( 137 ) |
| 含油树脂的来源 .....              | ( 138 ) |
| 采集样本时应考虑的因子 .....          | ( 139 ) |
| 树木年龄 .....                 | ( 139 ) |
| 季 节 .....                  | ( 139 ) |
| 茎上的部位—木质部含油树脂 .....        | ( 139 ) |
| 在树冠中的部位和组织的年龄—皮层含油树脂 ..... | ( 140 ) |
| 损伤的组织 .....                | ( 140 ) |
| 样品的贮藏时间 .....              | ( 140 ) |
| 样品的采集、制备和贮藏 .....          | ( 141 ) |
| 气相色谱的操作 .....              | ( 142 ) |
| 定 量 测 定 .....              | ( 144 ) |
| 总单萜基数 .....                | ( 145 ) |
| 含油树脂基数 .....               | ( 146 ) |
| 组织基数 .....                 | ( 148 ) |
| 数据的处理和解释 .....             | ( 150 ) |
| 成分之间的相关 .....              | ( 150 ) |
| 统计分析 .....                 | ( 152 ) |
| 单萜含量的表现型分类 .....           | ( 152 ) |
| 测定遗传方式 .....               | ( 155 ) |
| 地理型的测定 .....               | ( 155 ) |
| 测定生物合成途径 .....             | ( 155 ) |
| 摘 要 .....                  | ( 157 ) |
| 树种索引 .....                 | ( 157 ) |

## 第七章 从叶中分离和分析与抗虫和抗病性有关的

植物酚类化合物..... J. Lunderstadt (158)

引 言 ..... (158)

方 法 ..... (159)

从叶中, 特别是从针叶中抽提酚类化合物 ..... (160)

游离酚类化合物(游离酚和酚酸) ..... (160)

    步骤1 ..... (160)

    步骤2 ..... (160)

    步骤3 ..... (160)

    丹宁类物质 ..... (160)

    结合的酚类化合物 ..... (161)

酚类的鉴定 ..... (161)

定性的方法 ..... (161)

    1. 纸层析法和薄层层析法 ..... (161)

    2. 分光光度法 ..... (162)

定量的方法 ..... (162)

    1. 光度法 ..... (162)

    2. 气相色谱法 ..... (162)

用植物新鲜汁液与冻干植物组织的微量分析法 ..... (163)

    从鲜叶中分离植物汁液 ..... (163)

    从冻干植物组织中分离酚类 ..... (163)

    分离酚类化合物 ..... (163)

讨 论 ..... (165)

## 第八章 矿质分析 ..... F. H. Evers和W. Bucking (166)

引 言 ..... (166)

方 法 ..... (168)

    采样时间 ..... (168)

|                      |         |
|----------------------|---------|
| 采样部位 .....           | ( 169 ) |
| 样品分析的准备 .....        | ( 170 ) |
| 分析数据的解释 .....        | ( 171 ) |
| 分析方法 .....           | ( 171 ) |
| 分析的一般计划 .....        | ( 173 ) |
| 分析草案 .....           | ( 175 ) |
| 总 氮 .....            | ( 175 ) |
| 1. 原理 .....          | ( 175 ) |
| 2. 试剂 .....          | ( 175 ) |
| 3. 工作步骤 .....        | ( 175 ) |
| 4. 文献 .....          | ( 176 ) |
| 干灰化, 总灰分和 灰分提取 ..... | ( 177 ) |
| 1. 原理 .....          | ( 177 ) |
| 2. 试剂 .....          | ( 177 ) |
| 3. 工作步骤 .....        | ( 177 ) |
| 磷酸盐 的测定 .....        | ( 178 ) |
| 1. 原理 .....          | ( 178 ) |
| 2. 试剂 .....          | ( 178 ) |
| 3. 工作步骤 .....        | ( 178 ) |
| 4. 文献 .....          | ( 179 ) |
| 火焰光谱法和 原子吸收分析 .....  | ( 179 ) |
| 钾 .....              | ( 180 ) |
| 1. 原理 .....          | ( 180 ) |
| 2. 试剂 .....          | ( 180 ) |
| 3. 工作步骤 .....        | ( 181 ) |
| 4. 文献 .....          | ( 181 ) |
| 钠 .....              | ( 181 ) |
| 1. 原理 .....          | ( 181 ) |
| 2. 试剂 .....          | ( 181 ) |

|               |         |
|---------------|---------|
| 8. 工作步骤 ..... | ( 182 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 182 ) |
| 钙 .....       | ( 182 ) |
| 1. 原理 .....   | ( 182 ) |
| 2. 试剂 .....   | ( 182 ) |
| 8. 工作步骤 ..... | ( 183 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 183 ) |
| 镁 .....       | ( 183 ) |
| 1. 原理 .....   | ( 183 ) |
| 2. 试剂 .....   | ( 183 ) |
| 8. 工作步骤 ..... | ( 183 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 184 ) |
| 铁 .....       | ( 184 ) |
| 1. 原理 .....   | ( 184 ) |
| 2. 试剂 .....   | ( 184 ) |
| 8. 工作步骤 ..... | ( 185 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 185 ) |
| 锰 .....       | ( 185 ) |
| 1. 原理 .....   | ( 185 ) |
| 2. 试剂 .....   | ( 186 ) |
| 8. 工作步骤 ..... | ( 186 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 187 ) |
| 石灰化 .....     | ( 187 ) |
| 总 硫 .....     | ( 187 ) |
| 1. 原理 .....   | ( 187 ) |
| 2. 试剂 .....   | ( 187 ) |
| 8. 工作步骤 ..... | ( 187 ) |
| 4. 文献 .....   | ( 188 ) |
| 总 氮 .....     | ( 188 ) |

|              |         |
|--------------|---------|
| 1.原理 .....   | ( 188 ) |
| 2.试剂 .....   | ( 189 ) |
| 3.工作步骤 ..... | ( 189 ) |
| 4.文献 .....   | ( 190 ) |

## 第九章 污染反应.....K.F.Jensen, L.S.Dochinger, B.R.Roberts和A.M.Townsend ( 191 )

|                      |         |
|----------------------|---------|
| 引 言 .....            | ( 191 ) |
| 材料和方法 .....          | ( 192 ) |
| 研究空气污染 效应 的方法 .....  | ( 192 ) |
| 熏蒸研究 .....           | ( 192 ) |
| 空气监测 .....           | ( 193 ) |
| 野外调查 .....           | ( 194 ) |
| 植物取样 .....           | ( 194 ) |
| 生物监测 .....           | ( 195 ) |
| 植物对空气污染 的 反应 .....   | ( 195 ) |
| 叶部症状 .....           | ( 195 ) |
| 二氧化硫 .....           | ( 196 ) |
| 氧化剂 .....            | ( 197 ) |
| 氟化物 .....            | ( 198 ) |
| 各种各样的空气污染物 .....     | ( 198 ) |
| 树种的耐性 .....          | ( 199 ) |
| 生理反应 .....           | ( 199 ) |
| 生长 .....             | ( 199 ) |
| 代谢反应 .....           | ( 205 ) |
| 繁殖 .....             | ( 206 ) |
| 树木对大气污染物的吸收与净化 ..... | ( 207 ) |
| 研究吸收过程的方法 .....      | ( 207 ) |
| 大气污染物的吸收 .....       | ( 208 ) |