生物实验室系列

植物细胞工程实验技术

孙敬三　朱至清　主编

Chemical Industry Press

化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心

生 物 实 验 室 系 列

植物细胞工程实验技术

孙敬三　朱至清　主编

化学工业出版社
现代生物技术与医药科技出版中心
·北 京·

图书在版编目（CIP）数据

植物细胞工程实验技术/孙敬三，朱至清主编. —北京：化学工业出版社，2006.3
（生物实验室系列）
ISBN 7-5025-8319-X

Ⅰ.植… Ⅱ.①孙…②朱… Ⅲ.植物-细胞工程-实验 Ⅳ.Q943-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字（2006）第 014237 号

生物实验室系列

植物细胞工程实验技术

孙敬三　朱至清　主编

责任编辑：周　旭

文字编辑：朱　恺

责任校对：郑　捷

封面设计：关　飞

*

化　学　工　业　出　版　社
现代生物技术与医药科技出版中心 出版发行

（北京市朝阳区惠新里 3 号　邮政编码 100029）

购书咨询：(010)64982530

(010)64918013

购书传真：(010)64982630

http://www.cip.com.cn

*

新华书店北京发行所经销

北京永鑫印刷有限责任公司印刷

三河市前程装订厂装订

开本 787mm×1092mm　1/16　印张 24½　字数 597 千字

2006 年 4 月第 1 版　　2006 年 4 月北京第 1 次印刷

ISBN 7-5025-8319-X

定　价：58.00 元

版权所有　违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者，本社发行部负责退换

作 者 名 单

（按姓氏笔画排列）

王海波　河北省农林科学院
叶和春　中国科学院植物研究所
曲良焕　武汉大学生命科学学院
朱至清　中国科学院植物研究所
刘春朝　中国科学院过程工程研究所
孙敬三　中国科学院植物研究所
孙蒙祥　武汉大学生命科学学院
孙德兰　中国科学院植物研究所
杨永智　中国农业科学院生物技术研究所
陆文樑　中国科学院植物研究所
陈伯军　北京大学生命科学学院
陈佩度　南京农业大学农学院
林忠平　北京大学生命科学学院
胡鸢雷　北京大学生命科学学院
施定基　中国科学院植物研究所
徐云远　中国科学院植物研究所
桂耀林　中国科学院植物研究所
郭文武　华中农业大学园艺林学学院
郭仲琛　中国科学院植物研究所
曹孜义　甘肃农业大学农学院
彭　昊　中国农业科学院生物技术研究所
路铁刚　中国农业科学院生物技术研究所
简令成　中国科学院植物研究所
蔡小东　华中农业大学园艺林学学院

前　　言

近年来，随着植物生物技术的迅速发展，植物组织培养技术和细胞培养技术应用的领域愈加广泛。为适应这一发展趋势，化学工业出版社2003年出版了朱至清编著的《植物细胞工程》。该书阐述了植物细胞工程的基础知识和研究进展，受到了广大读者的欢迎。很多读者在求购该书的同时，希望得到一本实用性更强的植物细胞工程实验操作方面的书籍。为此，化学工业出版社决定由我们二人组织有关专家编辑出版这本《植物细胞工程实验技术》。参加本书撰稿的多是国内从事植物细胞工程研究的知名专家及工作在第一线的中青年学术带头人，他们是王海波（第五章、第十四章），朱至清（第一章、第七章、第十章、第十一章），刘春朝、叶和春（第十五章），孙敬三（第二章、第九章、第十九章、第二十章、第二十二章第一节和第二节），孙蒙祥、曲良焕（第三章第二节、第八章），陈佩度（第二十二章第三节和第四节），胡鸢雷、陈伯君和林忠平（第二十一章），施定基（第十七章），陆文樑（第六章），郭文武、蔡小东（第四章），郭仲琛、桂耀林（第十二章），徐云远（第二十二章第五节），曹孜义（第十三章），简令成、孙德兰（第十六章），路铁刚、彭昊和杨永智（第三章第一节、第十八章）。

本书对植物细胞工程领域各分支学科的基础理论、实验技术及应用成就进行了较为全面的论述，特别对各种实验设计原理、技术关键和操作注意事项等进行了详细的介绍，并对每种实验都列举了成功的操作实例，是一本资料丰富、内容全面、既有理论评述又有详细操作方法、实用性较强的植物细胞工程实验技术专著。

与过去出版的同类书籍相比，本书增加了植物器官的克隆、离体受精和合子培养、以离体培养为基础的快速育种、微藻细胞培养、植物插入突变体库技术以及植物RNA原位杂交等章节，这些都是近年来植物细胞工程研究的活跃领域。希望本书的出版对正在从事或即将从事植物细胞工程研究的同仁在制订研究方案和进行实验操作时有所帮助。

本书参加撰写的作者较多，各位专家的行文风格各有千秋，编者并未对各章的遣字用词进行刻意化一，由此给读者造成的不便，在此深表歉意。

孙敬三　朱至清

2005年10月

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

目　　录

第一章　植物细胞工程实验室的设备和基本操作 …… 1
第一节　实验室的结构和设备 …… 1
一、培养基制备实验室 …… 1
二、无菌操作室 …… 2
三、培养室 …… 2
四、显微工作室 …… 3
第二节　实验室的基本技术操作 …… 3
一、配制培养基需要的器皿 …… 3
二、细胞组织培养用的器皿 …… 4
三、玻璃器皿的清洗 …… 5
四、培养基的配制 …… 5
五、材料和器械的消毒与无菌操作 …… 5
六、细胞计量技术 …… 7
七、植物激素调控离体细胞的器官与胚胎发生 …… 9
参考文献 …… 11
第二章　培养基的组成及制备 …… 13
第一节　培养基组成成分 …… 13
一、无机盐类 …… 13
二、碳源 …… 14
三、维生素和氨基酸 …… 14
四、植物激素 …… 14
五、其他有机复合成分 …… 15
六、琼脂 …… 15
第二节　培养基的制备 …… 16
一、培养基的选择和常用培养基 …… 16
二、培养基的制备方法 …… 17
参考文献 …… 19
第三章　细胞培养 …… 21
第一节　植物细胞悬浮培养 …… 21
一、细胞悬浮培养概述 …… 21
二、建立良好悬浮细胞系应注意的事项 …… 22
三、操作实例 …… 26
第二节　单细胞培养 …… 31
一、微滴培养 …… 32
二、微室饲养培养 …… 33

参考文献 …… 35
第四章　原生质体培养和体细胞杂交 …… 37
第一节　原生质体分离 …… 37
一、酶解材料准备 …… 38
二、材料预处理 …… 38
三、酶解 …… 38
四、原生质体纯化 …… 39
五、原生质体活力测定 …… 39
第二节　原生质体培养注意事项 …… 39
一、植板密度 …… 39
二、原生质体培养基 …… 40
三、原生质体培养方法 …… 40
四、原生质体再生植株过程 …… 40
第三节　体细胞杂交 …… 41
一、植物原生质体融合方法 …… 41
二、杂种细胞筛选 …… 42
三、体细胞杂种或胞质杂种鉴定 …… 42
四、植物体细胞杂交的影响因子 …… 43
第四节　操作实例 …… 43
一、水稻原生质体培养 …… 43
二、玉米原生质体培养 …… 44
三、柑橘原生质体对称融合 …… 46
四、小麦的非对称融合 …… 49
参考文献 …… 50
第五章　愈伤组织的诱导及植株再生 …… 51
第一节　愈伤组织的诱导 …… 52
一、愈伤组织形成的原理 …… 52
二、诱导愈伤组织的技术要点 …… 52
第二节　愈伤组织的分化 …… 55
一、愈伤组织分化的原理 …… 55
二、诱导愈伤组织分化的技术要点 …… 56
三、解决分化中所遇问题的一些策略 …… 58
第三节　组织培养中基因型及培养条件的作用 …… 59
一、基因型 …… 59
二、培养条件 …… 60
第四节　离体培养的核心规律 …… 61
一、细胞状态在离体培养中的地位 …… 61
二、细胞类型与细胞状态及细胞状态间的关系 …… 62
三、细胞状态的变化规律 …… 63
四、细胞状态调控 …… 64

第五节　操作实例 …… 65
一、小麦愈伤组织的诱导及植株再生 …… 65
二、棉花愈伤组织的诱导及植株再生 …… 68
参考文献 …… 69
第六章　植物器官的克隆 …… 70
第一节　克隆器官的规律性 …… 70
第二节　克隆器官研究过程中提出的各种学说 …… 72
一、细胞全能性完全表达和部分表达的设想 …… 73
二、细胞的发育和逆发育以及主胚性细胞的发育循环设想 …… 73
三、生长素浓度在花器官按次序发生中起转换开关作用的设想 …… 76
四、在主胚性细胞发育循环过程中内源生长素浓度的高低发生循环变化的设想 …… 77
五、激活培养细胞中器官特征基因条件的设想 …… 78
第三节　克隆器官的理论依据 …… 79
第四节　克隆器官的操作步骤及技术要点 …… 80
一、克隆器官的操作步骤 …… 80
二、克隆器官的技术要点 …… 80
第五节　对疑难问题的分析 …… 81
第六节　操作实例 …… 82
参考文献 …… 84
第七章　胚培养和胚乳培养 …… 86
第一节　胚培养 …… 86
一、胚胎培养的用途 …… 86
二、影响幼胚培养的因素 …… 87
三、操作实例 …… 90
第二节　胚乳培养 …… 96
一、胚乳愈伤组织的诱导 …… 97
二、胚乳愈伤组织的分化和植株再生 …… 98
三、胚乳愈伤组织和再生植株的染色体数目 …… 99
四、操作实例 …… 100
五、胚乳培养的应用前景 …… 101
参考文献 …… 101
第八章　离体受精和合子培养 …… 104
第一节　卵细胞和精子的分离及体外培养 …… 104
一、卵细胞的分离 …… 104
二、精细胞的分离 …… 106
三、细胞花粉精细胞分离的两种主要方法 …… 107
四、细胞花粉精细胞分离的方法 …… 108
五、卵细胞的培养 …… 109
第二节　离体受精 …… 109

第三节　合子培养 …… 111
参考文献 …… 114
第九章　单倍体植物的诱导 …… 115
第一节　单倍体植物的特点及用途 …… 115
第二节　自然界单倍体植物的起源 …… 116
第三节　人工传粉及理化因素诱导孤雌生殖 …… 116
一、异种、属花粉授粉 …… 116
二、延迟授粉 …… 118
三、射线照射 …… 118
四、化学药剂处理 …… 119
第四节　染色体消除产生单倍体 …… 119
一、球茎大麦法 …… 119
二、玉米法 …… 123
三、其他染色体消除型种间杂交 …… 126
第五节　雄核发育和半配合生殖产生单倍体 …… 127
一、雄核发育 …… 127
二、半配合生殖 …… 128
第六节　未授粉子房和胚珠培养产生单倍体 …… 131
一、离体子房和胚珠单倍体来源和发育途径 …… 132
二、未授粉子房和胚珠培养应注意的问题 …… 132
三、操作实例 …… 135
参考文献 …… 137
第十章　花药和游离小孢子培养 …… 140
第一节　花药和花粉培养在育种上的作用 …… 141
一、利用单倍体植物控制杂种分离，加快常规育种速度 …… 141
二、提高常规育种的选择效率 …… 142
三、获得超雄植株和全雄植株 …… 142
四、利用 DH 群体绘制遗传图谱和进行基因定位 …… 142
第二节　影响花药和游离小孢子培养成功率的因素 …… 143
一、供体的基因型 …… 143
二、供体植株的生理状况 …… 144
三、花粉的发育时期 …… 144
四、材料的预处理和预培养 …… 145
五、培养基 …… 146
六、培养方式 …… 147
七、培养条件 …… 148
八、花粉植株的移栽 …… 148
九、花粉植株的倍性及染色体加倍技术 …… 149
第三节　植物花药培养的操作实例 …… 149
一、花药培养的一般程序 …… 149

二、花药培养的操作实例 …… 150
第四节　植物游离小孢子培养的操作实例 …… 154
一、游离小孢子培养的一般程序 …… 154
二、花粉培养的操作实例 …… 155
参考文献 …… 157
第十一章　体细胞无性系变异与植物改良 …… 159
第一节　在田间从再生植株中选择有用的细胞突变体 …… 160
一、从幼胚或幼穗诱导愈伤组织和再生植株 …… 160
二、R1 代的田间观察 …… 161
三、在 R2 代选择有用细胞变异株 …… 161
第二节　利用选择压筛选有用细胞突变体 …… 162
一、富含氨基酸的芦笋细胞突变体筛选 …… 162
二、抗黑胫病烟草细胞突变体的筛选 …… 163
三、豆瓣菜耐海水耐盐细胞突变体的筛选 …… 164
四、烟草抗除草剂细胞突变体的筛选 …… 166
参考文献 …… 167
第十二章　人工种子 …… 168
第一节　体细胞胚胎发生 …… 169
一、体细胞胚的诱导 …… 169
二、体细胞胚胎发生的同步控制 …… 172
第二节　人工种子的包裹 …… 173
一、人工种子的基本要求 …… 173
二、人工胚乳 …… 174
三、包裹材料的选择 …… 174
四、人工种子的包裹方法 …… 175
第三节　人工种子的储藏与播种 …… 176
一、胶囊储藏 …… 176
二、人工种子的播种 …… 176
第四节　操作实例 …… 178
参考文献 …… 181
第十三章　植物脱毒和微体快速繁殖 …… 182
第一节　植物脱毒和微体快速繁殖概况 …… 182
第二节　植物脱毒和微体快速繁殖的原理 …… 184
一、植物脱除病毒的原理 …… 184
二、植物微体快速繁殖的原理 …… 185
第三节　植物脱毒和微体快速繁殖的一般方法 …… 185
一、植物病毒脱除的方法 …… 185
二、植物无病毒植株的鉴定方法 …… 188
三、主要植物种类病毒类型、脱毒和鉴定方法 …… 190

四、植物微体快速繁殖的一般方法 …… 191
第四节 马铃薯脱毒和微体快繁技术 …… 192
一、马铃薯的脱毒方法 …… 193
二、病毒检测的方法 …… 194
三、脱毒植株的应用、保存及存在的问题 …… 194
四、马铃薯脱毒苗的微体快繁技术措施 …… 195
第五节 葡萄脱毒和微体快繁技术 …… 200
一、葡萄病毒病研究概况 …… 200
二、葡萄病毒病的种类及危害 …… 201
三、葡萄病毒病的脱除技术 …… 202
四、葡萄病毒病的鉴定 …… 203
五、脱病毒葡萄苗的微体快繁工厂化生产 …… 204
参考文献 …… 211
第十四章 以离体培养为基础的快速育种 …… 213
第一节 离体培养与快速育种 …… 213
一、植物加代研究的简要回顾与存在的问题 …… 213
二、加快植物发育速度的突破口 …… 214
三、胚培养在加快植物发育中的地位与作用 …… 214
四、快速育种技术的作用与应注意的问题 …… 215
第二节 小麦的快速育种技术 …… 215
一、突破口的选择 …… 215
二、新的理论基础 …… 215
三、新的技术基础 …… 216
四、快速育种的技术流程 …… 217
五、注意事项 …… 217
第三节 其他作物的快速育种 …… 218
参考文献 …… 218
第十五章 植物细胞生产有用次生代谢产物的调控技术和大规模培养 …… 220
第一节 细胞系的筛选 …… 220
一、高产细胞系筛选的整体思路 …… 220
二、高产细胞系培养 …… 221
三、高产细胞系的筛选方法 …… 223
四、高产细胞系的稳定性及保存 …… 227
第二节 植物细胞培养生产有用次生代谢产物的调控技术 …… 228
一、外植体的属性 …… 228
二、培养基 …… 229
三、pH 值 …… 229
四、光照和温度 …… 230
五、诱导子和前体的添加 …… 230
六、培养方法 …… 231

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com

七、植物转基因技术的应用 …… 232
八、反义技术 …… 233
九、次生代谢途径与关键酶 …… 233
第三节 植物细胞、组织和器官大规模培养 …… 236
一、植物组织细胞大规模培养 …… 236
二、操作程序 …… 239
三、操作实例 …… 240
参考文献 …… 244
第十六章 植物种质的离体储存 …… 246
第一节 植物培养细胞长期储存的技术原理和要点 …… 246
一、几种储存方法 …… 246
二、种质储存后细胞活力、存活率及遗传特性的观测 …… 248
第二节 种质储存操作的实例 …… 250
一、0℃以上低温储存 …… 250
二、程序慢速降温超低温储存 …… 250
三、玻璃化超低温储存 …… 251
参考文献 …… 252
第十七章 微藻细胞培养 …… 253
第一节 光自养培养法 …… 254
一、光自养培养法的技术要点及注意事项 …… 254
二、光自养培养法的操作实例 …… 254
第二节 暗异养培养法 …… 261
一、异养培养法的技术要点及注意事项 …… 261
二、暗异养培养法的操作实例 …… 261
第三节 混合营养培养法 …… 262
一、培养法的技术要点及注意事项 …… 262
二、混合营养培养法的操作实例 …… 262
参考文献 …… 263
第十八章 植物插入突变体库技术 …… 264
第一节 植物插入突变体库技术的原理 …… 264
一、植物插入突变体库概述 …… 264
二、基因敲除技术的应用和局限性 …… 266
三、饱和突变体库的建立 …… 267
四、获得外源片段插入位点侧翼序列的方法 …… 268
五、插入突变技术的改进 …… 272
第二节 拟南芥和水稻插入突变体库研究进展 …… 275
一、拟南芥插入突变体库研究进展 …… 275
二、水稻插入突变体库研究进展 …… 276
第三节 拟南芥插入突变库技术操作实例 …… 279

一、农杆菌介导的真空渗透法转化成熟拟南芥整体植株 …… 279
二、从 T-DNA 标签突变体中克隆基因 …… 280
第四节　水稻插入突变库技术操作实例 …… 282
一、转化实验用材料和培养基 …… 283
二、水稻的遗传转化 …… 283
三、转基因植株的分子检测 …… 284
四、增强子捕获及插入失活突变体筛选 …… 285
五、T-DNA 插入位点侧翼序列的扩增、测序和分析 …… 285
参考文献 …… 286
第十九章　农杆菌介导的基因转移 …… 289
第一节　农杆菌介导基因转移的基本原理 …… 289
一、天然野生型 Ti 质粒的结构与功能 …… 289
二、T-DNA 的转移机理 …… 290
第二节　Ti 质粒的改造和载体系统的构建 …… 291
一、Ti 质粒的改造 …… 291
二、Ti 质粒衍生的载体系统 …… 292
第三节　影响农杆菌介导基因转移的因素 …… 294
一、农杆菌菌株 …… 294
二、受体植物 …… 294
三、共培养条件 …… 295
四、转化体的选择 …… 296
第四节　农杆菌介导基因转移操作实例 …… 297
一、共培养法 …… 297
二、叶盘法 …… 298
三、整体植株转化法 …… 300
参考文献 …… 302
第二十章　外源基因的直接转移 …… 304
第一节　PEG 法 …… 304
一、PEG 法的技术要点及注意事项 …… 304
二、PEG 法的操作实例 …… 305
第二节　电激法 …… 307
一、电激法的基本原理 …… 307
二、电激法的技术要点及注意事项 …… 308
三、电激法的操作实例 …… 309
第三节　基因枪法 …… 310
一、基因枪的主要类型 …… 310
二、基因枪法的特点 …… 312
三、基因枪法的技术要点和注意事项 …… 312
四、基因枪法的操作实例 …… 312
第四节　花粉管通道法 …… 316

一、花粉管通道法的技术要点和注意事项 …… 317
二、花粉管通道法操作实例 …… 318
参考文献 …… 319
第二十一章　转基因植物的鉴定技术 …… 321
第一节　概述 …… 321
一、标记基因 …… 321
二、转基因植物的分子鉴定 …… 321
三、转基因植物的免疫鉴定 …… 322
第二节　标记基因的应用 …… 323
第三节　转基因植物分子鉴定的操作程序 …… 324
一、PCR 检测 …… 324
二、Southern 杂交 …… 325
三、Northern 杂交 …… 328
四、Western 印迹分析 …… 331
第四节　转基因植物的免疫鉴定 …… 332
一、ELISA 分析 …… 332
二、免疫荧光技术 …… 333
参考文献 …… 333
第二十二章　植物组织培养物的细胞学检查 …… 334
第一节　整体染色及透明技术 …… 334
一、整体染色法 …… 334
二、整体透明法 …… 336
第二节　染色体制片技术 …… 338
一、取材 …… 338
二、材料的预处理 …… 339
三、固定 …… 340
四、离析 …… 340
五、染色 …… 341
六、压片 …… 342
七、永久封片 …… 343
八、几种常用压片法的操作步骤 …… 343
第三节　植物染色体分带 …… 344
一、植物染色体分带概述 …… 344
二、植物染色体分带的主要步骤和注意事项 …… 346
三、植物染色体分带方法 …… 348
第四节　植物染色体原位杂交 …… 350
一、植物染色体原位杂交基本原理 …… 350
二、染色体原位杂交技术主要步骤 …… 350
三、植物染色体原位杂交实例 …… 351
附录 …… 355

一、实验用品及药品 …… 355
二、原位杂交试剂配制方法 …… 355
第五节 植物 RNA 原位杂交实用技术 …… 356
一、原位杂交的原理及用途 …… 357
二、原位杂交的标记物 …… 357
三、原位杂交的探针 …… 358
四、原位杂交的操作流程 …… 358
五、植物组织原位杂交举例 …… 361
参考文献 …… 364
附录 1 常用培养基 …… 366
附录 2 缩略语 …… 373

第一章　植物细胞工程实验室的设备和基本操作

第一节　实验室的结构和设备

植物细胞工程研究的主要内容是植物细胞培养和细胞的遗传操作，因此首先需要建立一套能够顺利开展工作的植物细胞和组织培养实验室。实验室一般由培养基制备间、无菌操作间、培养间和显微工作间五部分组成。实验室的房间最好按工作程序安排，以便于研究工作的开展。

一、培养基制备实验室

培养基制备实验室由洗涤间、培养基配制间和消毒间三部分组成，分别进行器皿的洗涤与烘干、培养基的制备与培养基的消毒等项工作。

1. 洗涤间

根据工作量的大小决定培养间的大小，面积在 40～60m^2 之间。在实验室的一侧设置专用的洗涤水槽，用来清洗玻璃器皿。中央实验台两端还应配置 2 个水槽，用于清洗小型玻璃器皿。如工作量较大，可以购置一台洗瓶机。准备 1～2 个洗液缸，专门用于洗涤对洁净度要求很高的玻璃器皿。此外还应配置晾干玻璃器皿的器皿架、烘箱以及存放干净玻璃器皿的柜子等。需要配备一台电热烘箱，主要用于烘烤急需迅速干燥的工具或玻璃器皿，温度需控制在 80～100℃，可使水分蒸发烘干。亦可用来进行高温干燥灭菌，其温度需控制在 120～150℃，消毒 1～2h。

2. 培养基配制间

面积 60m^2 左右，中央实验台两端配制水槽，实验台中缝处安置长形药品架。配备的主要仪器设备有冰箱、天平、pH 计等。电冰箱以体积 180～200L 为宜，用于储存培养基母液、贵重药品、彩色胶卷及保存植物材料。应配备各类不同感量的天平。精密度为 1/10 的工业天平感量大，用于称量量大的药品，如洋菜、蔗糖等。精密度为 1%或 0.1%的天平用于称量大量元素的药品，而精密度为 0.01%的分析天平用于称量测定微量元素、植物激素及维生素等含量用量很少的药品。pH 计（酸度测定器）用于测定培养基和缓冲溶液的 pH 值，以选择小型酸度测定仪为好。在没有 pH 计的情况下，可用精密的 pH 试纸代替。房间内应有存放药品的药品柜和存放玻璃器皿及小工具的器械柜。常用的玻璃器皿为各种培养瓶、培养皿，各种规格的移液管，带刻度的烧杯及量筒等。必要时可以购置培养基分装器。

实验室还应当配备一台小型的抽气泵，用于和过滤消毒器连接，进行过滤消毒。此外，为压片或切片观察培养材料，先要将材料进行固定。为了使固定液尽快渗入材料内部及提高制片的质量，在固定材料时需要用抽气泵把实验材料内部的空气抽出来。其规格一般为 1～2L/min。

3. 消毒间

配备实验台、电热灭菌锅或煤气炉加热的灭菌锅（消毒锅），以及排风和灭火设备。灭

菌锅主要用于培养基、无菌水、玻璃器皿及小工具等的灭菌。可根据不同要求选择不同型号的灭菌锅。一般实验室可选用小型的医用手提式高压灭菌锅，较大的实验室可选用立式的自动控制压力和温度的灭菌锅。生产性的实验室可选用大型的卧式灭菌锅，其优点是容量大，可装进不同形状的器皿进行消毒。

在没有条件的地方，可将上述工作合并在一个房间内完成，但设备的安装和排列要合理，房间要宽敞、明亮、通风。

二、无菌操作室

无菌操作室主要用于实验材料的接种操作，所以又叫接种室，通常由里外两间组成。外间是缓冲间，用于准备工作，还有防止污染的作用。缓冲间的门应该与接种室的门错开，两个门也不要同时开启，以保证无菌室不因开门和人员的进出带进杂菌。房间内应设有水槽、实验台和存放消过毒的用品的柜子。里间为接种间，接种间的面积按照工作量的大小来决定。为了保持房间的洁净，无菌操作室的内壁墙应当用塑钢板或瓷砖装修；工作人员进入操作室以前要穿上消过毒的工作服和拖鞋。

接种室内主要安放超净工作台。超净工作台有单人使用和双人同时使用两种，后者用于两人连续作业。超净台中需要准备一些接种用的小器具，如尖头小镊子、弯头小镊子、接种针（环）、解剖刀、手术剪刀等，以及酒精灯和储存70%酒精浸泡的棉球的广口瓶等。一些特殊形状或大小的解剖和接种工具，例如可以到医疗器械商店去选购的小型的眼科镊子、枪形镊、小型解剖刀和解剖针等。如果进行生长点或幼胚等细小结构的分离与接种，还应当在超净工作台内放置一台小型的双目解剖镜，以便观察、解剖和分离细小的外植体。

小型离心机主要用于分离和收集液体培养中的细胞、单花粉及原生质体等，也可用来筛选处于不同发育阶段的胚状体。其转速为500～4000r/min。可以放在大型的超净工作台内，也可以放在超净台外。离心机配置10ml的带刻度的离心管若干个。控温光照培养箱可以安放在缓冲间内。接种后的培养物主要送往培养室培养，也可在培养箱中培养。

三、培养室

为了控制培养室的温度和光照时间及其强度，培养室的房间不要窗户，原来有窗户的房间应将窗户封闭。但是应当留一个带木板门的通气窗，并安装排风扇，在湿度高、空调有故障时可以打开气窗排风通气。温度控制采用窗式空调。生产用的大型培养室或多间的培养室可以采用中央空调。在南方湿度高的地方可以考虑在培养室内安装去湿机。为了保持清洁和利于打扫，天花板和内墙最好用塑钢板装修，地面用水磨石或瓷砖铺设为宜。一般需要两间培养室，一间为光照培养室，另一间是暗培养室，因为有些培养过程需要在暗中进行。培养室门外应有一预备间或走廊。

培养室是培养实验材料的主要场所，需要有放置培养材料的培养架、摇床和转床等。目前使用的培养架基本上有两种，一种是木质结构的，即木架子和木隔板；另一种是金属和玻璃结构的，即铁架子，玻璃隔板。以木质结构的效果较好，因木板挡光、隔热的性能好，不会像玻璃板那样使植物的向光性受到影响。若使用玻璃隔板，需在玻璃隔板下放一个同样大小的纤维板或五合板用来隔热挡光。隔板之间的距离一般在45cm左右。

培养室内一般采用40W日光灯作为光源。日光灯固定在培养架的侧面或隔板的下面，每层有两支日光灯，两支灯管之间的距离为20cm，光照强度为2000～3000lx。最好使用专

此为试读，需要完整PDF请访问：www.ertongbook.com