

《植物细胞工程》 习题手册

蒋细旺 秦 凡 陈发菊 等编



经济科学出版社
Economic Science Press

《植物细胞工程》 习题手册

蒋细旺 等编

经济科学出版社

目 录

绪论	1
一、练习题	1
二、参考答案	4
第1章 实验室组成及基本技术	8
一、练习题	8
二、参考答案	12
第2章 植物细胞全能性与形态发生	20
一、练习题	20
二、参考答案	22
第3章 植物离体快速繁殖	25
一、练习题	25
二、参考答案	27
第4章 花药与花粉培养	31
一、练习题	31
二、参考答案	33
第5章 胚胎培养和离体受精	38
一、练习题	38
二、参考答案	40
第6章 植物体细胞胚胎发生	43
一、练习题	43
二、参考答案	45
第7章 植物细胞培养及次生代谢产物生产	48
一、练习题	48
二、参考答案	52
第8章 植物原生质体培养及融合	58
一、练习题	58
二、参考答案	60
第9章 植物遗传转化体系建立	63
一、练习题	63
二、参考答案	66

第10章	植物病毒病害及病毒脱除	71
	一、练习题	71
	二、参考答案	73
第11章	人工种子	77
	一、练习题	77
	二、参考答案	78
第12章	植物种质资源的离体保存	80
	一、练习题	80
	二、参考答案	81

绪 论

一、练习题

(一) 名词解释

- | | | | |
|-----------|-----------|------------|---------|
| 1. 植物组织培养 | 2. 植物细胞工程 | 3. 植物细胞全能性 | 4. 器官培养 |
| 5. 胚胎培养 | 6. 细胞培养 | 7. 细胞悬浮培养 | 8. 继代培养 |

(二) 填空题

1. 1902 年, 德国著名植物学家 Haberlandt 发表了著名论文“_____”, 提出了高等植物的器官和组织可以不断分割直至_____细胞, 这种细胞在离体培养条件下进行_____和_____, 乃至形成植株。

2. 1943 年, White 正式提出植物_____, 认为每个植物细胞具有母株植物的_____, 具有发育成完整植株的能力。

3. 1954 年, Muir 首次成功地进行了植物细胞的_____。

4. 植物细胞培养按照培养方式可以分为_____、_____和_____; 按照培养对象的不同, 可以分为_____、单细胞培养、_____、_____、小细胞团培养和_____等几种。

5. 植物细胞培养是指从_____获得_____, 然后在一定条件下进行培养, 以获得大量所需的植物细胞或各种产物的技术过程。

6. 常用的植物组织培养包括_____, _____、_____, _____等。其中_____和_____是植物快速繁殖的常用方法; _____和_____是获得无病毒植株的重要途径; 而_____的目的主要是获得某些次级代谢物。

7. 1934 年, Went 发现了第一种植物生长素_____; 1956 年, Miller 等人在鲑鱼精子中发现了具有强力促进植物细胞_____和_____作用的腺嘌呤衍生物——_____。

8. 1962 年, 穆拉辛格和斯库格为烟草细胞培养设计了_____培养基。其主要特点是_____浓度较高, 属较稳定的离子平衡溶液; 1968 年, 甘伯尔格等人为大豆细胞培养而设计了_____培养基, 其主要特点是铵的浓度较低, 适用于双子叶植物特别是_____的组织、细胞培养。

9. 1956 年, 尼克尔和劳廷提出了植物细胞培养生产化合物的第一个专利申请, 表明植物细胞培养有可能用于_____的生产。

10. 植物细胞培养在工业上的应用①_____, 如_____, _____等; ②利用植物细胞进行_____; ③在农业方面主要用于_____、_____和_____等。

11. 1956 年, 斯特瓦德从胡萝卜韧皮部诱导得到_____, 在分离得到单细胞, 经过_____培养, 形成了_____, 通过完整实验证实了植物细胞具有_____。

12. 除茎尖分生组织和一部分器官培养外, 其他几种培养形式最终也都要经历_____才能产

生再生植株。此外，_____还常常是悬浮培养的细胞和原生质体的来源。

13. 脱分化后的细胞进行再分化的过程中有两种不同的方式，一种是_____方式；另一种是_____方式。其中通过_____所形成的结构为_____极性结构；而通过_____所形成的结构是_____极性结构。

14. 20 世纪 30 年代中期，植物组织培养领域里出现了两个重要的发现，其中一是，认识了_____族维生素对植物生长的重要意义；二是发现了_____是一种天然的生长调节物质。

15. 在 20 世纪 40 年代，组织培养技术的另一项发展是 Overbeek 等（1941）首次把_____作为添加物引入到培养基中，使曼陀罗的_____期幼胚能够在离体培养至成熟。

16. 1972 年，Carlson 等通过两个烟草物种之间_____的融合，获得了第一个体细胞杂种。在这方面，我国高国楠等建立了通过_____处理促进细胞融合的方法。

17. 由于微繁技术有巨大的实用价值，很快为一些观赏植物生产者采用。这个方法最先运用到_____的生产中，从而建立了“_____工业”。

18. 组织培养实验室的温度是可控的，一般培养室温度保持在_____℃。

19. 植物组织培养中最常用的碳源是_____，其浓度一般为_____。

20. 在植物组织培养中，生长素被用于诱导_____和_____的分化。实验室常用的生长素有_____、_____（写两种即可）。

21. 在植物组织培养中，细胞分裂素的作用主要是为促进_____和由_____。

22. 植物组培中，在培养基中添加抗生素的主要目的，是防止_____所造成_____的污染。

23. 诱导愈伤组织常用的生长素是_____、_____、_____；常用的细胞分裂素是_____和_____。

24. 愈伤组织形成的过程包括三个时期，分别是：_____、_____和_____。

25. 现在已知，_____和_____是对微管组织分化过程有显著影响的两种物质。

26. 植物组织培养过程中，最常用的培养基是_____，培养基的 pH 因外植体的来源不同而异，常用_____和_____调节 pH，大多数植物的 pH 要求调节在_____范围内。

27. 可以通过_____、_____、_____、_____、_____等措施预防褐变的发生。

28. 植物组织培养时，外植体可以是_____、_____、_____、_____。

29. 在配制培养基时，可以在培养基中添加_____，利用其吸附能力，可以降低褐变的发生，但它对物质的吸附_____。

30. 组织培养中常用的生长素有吲哚乙酸（IAA），2,4-二氯苯氧乙酸（2,4-D）、吲哚丁酸（IBA）、萘乙酸（NAA），它们的作用强弱顺序为_____ > _____ > _____ > _____。

31. 污染的原因从病原菌上分析主要有两大类_____和_____。

32. MS 培养基一共由 14 种盐类和有机物组成（不包括糖、琼脂）其中组成大量元素的盐类是_____、_____、_____、_____和_____五种。

33. 组织培养获得单倍体植株的方法是通过_____。

34. 具有防止褐变作用的维生素是_____。

35. 一个已停止分裂的成熟细胞转变为分生状态，并形成未分化的愈伤组织的现象称为“_____”。

36. White 培养基_____浓度低, 适合_____培养。

(三) 判断题 (在括号内打“√”或“×”)

1. 所谓外植体是指在组织培养中, 把由植物体上切取下来进行培养的那部分组织或器官。
()
2. 外植体通常都是多细胞的, 并且组成它们的细胞常常为同一组织类型, 因此由一个外植体所形成的愈伤组织也是同质性。
()
3. 所谓全能性, 就是说, 任何植物细胞, 都拥有再生出一个完整该植株的可能性。
()
4. 根据激素调控器官的发生的理论, 细胞分裂素对生长素比率高时, 则促进茎芽的分化, 这一比率低时则促进生根。
()
5. 植物培养基的灭菌一般是把那些不易热分解的成分进行高压灭菌, 而某些生长调节物质、尿素以及某些维生素等, 遇热时容易分解, 不能进行高压灭菌, 而是通过过滤膜进行除菌的。
()
6. 在对外植体进行灭菌时, 在消毒液中加入几滴 Tween-80, 会提高杀菌的效果。这是因为其降低了外植体的表面张力, 使消毒液能更充分地 with 外植体接触, 从而提高了灭菌的效果。
()
7. 植物组织培养中, 各种常用培养基之间在组分上的主要差别, 在于加入激素种类和微量元素的的不同。而由质上来看, 各种植物组织所需的无机营养是相当一致的。
()
8. White 培养基是最早的植物组织培养基之一, 其中包含了所有必需的营养成分, 被广泛用于茎的培养。
()
9. 当营养元素的供应不足时, 愈伤组织会表现相应的症状, 如铁缺乏会是愈伤组织出现非常明显地退绿; 硼的缺乏则表现为细胞分裂停滞, 细胞伸长; 硫的缺乏则表现为细胞分裂停止; 锰或钼的缺乏则影响细胞伸长。
()
10. 在配制植物组织培养基时, 生长素一般用 95% 酒精或 0.5 摩尔/升的 HCl 进行溶解, 且后者的溶解效果更好。而细胞分裂素一般用 0.5 摩尔/升或 1 摩尔/升的 HCl 或稀薄的 NaOH 进行溶解。
()
11. 赤霉素有 20 多种, 其中在组织培养中所用的是 GA_3 。赤霉素易溶于冷水, 因此, GA_3 的配制一般用冷水。配制好后放入冰箱中保存。
()
12. 根据报道, 低浓度的 GA_3 能促进矮生小植株茎节伸长, 其还能刺激在培养中形成的不定胚正常发育成小植株。而在培养基中加入 ABA, 根据物种的不同, 或是能促进愈伤组织的生长, 或是能抑制它的生长。
()
13. 活性碳在植物组织培养中的用量一般为 0.5% ~ 3%。由于其属于遇热不易分解, 因此, 在配制培养基时一般在高压灭菌前加入。
()
14. 氮源在植物组织培养中除了供给培养物氮素营养外, 还原态氮还具有促进细胞分裂的作用, 硝态氮具有抑制细胞分裂的作用。因此, 当增加生长素浓度促进细胞分裂的效果不明显时, 增加培养基中的氨态氮 (如谷氨酰胺、精氨酸等有机形式的还原态氮) 时可起到明显的促进细胞分裂的作用; 反之, 则在培养基中加入硝态氮或减少还原态氮, 可起到显著的抑制细胞分裂的作用。
()

15. 一般将微量元素母液配制成 10 倍, 在配制培养基时, 使用量为 10 毫升/升。 ()
16. 对于金边虎尾兰等遗传学上的嵌合体植物, 要使组织培养繁殖的植株保持原有的园艺价值, 只能通过叶培养。 ()
17. 细胞分裂素与生长素的比值较高时, 有利于愈伤组织的诱导。 ()
18. 细胞的全能性, 可以通过分裂细胞的脱分化和再分化过程得以体现。 ()
19. 培养基中的铁盐, 常用不易分解的乙二胺四乙酸铁螯合物, 以防在 pH 较高时铁被氧化为不溶的氢氧化铁。 ()

(四) 简答

1. 简述植物细胞工程的任务。
2. 何谓植物细胞全能性? 其实现全能性必须具备什么条件?
3. 胚状体途径产生再生植株有哪些显著优点?
4. 植物生长物质如何调控外植体形态发生?

(五) 论述题

1. 试述植物细胞培养发展的阶段及其标志性的成果。
2. 试述植物组织培养与农业的关系。

二、参考答案

(一) 名词解释

1. 植物组织培养: 通常用于所有类型的植物无菌培养技术。植物无细菌培养技术可分成以下几类: ①植物培养。幼苗及较大植株的培养。②胚胎培养。成熟及未成熟胚胎的离体培养。③器官培养。离体器官的培养, 如根尖、茎尖、叶原基等。④愈伤组织培养, 狭义的“组织培养”。从植物的各种器官的外植体增殖而形成的愈伤组织的培养。⑤悬浮培养。分散性好的离体细胞或很小的细胞团的液体培养。

或是指从植物体中取出组织、器官, 然后模拟机体的生理条件, 在体外进行培养, 使之生存, 形成组织或长成植株的技术过程。

2. 植物细胞工程: 利用离体培养细胞进行遗传操作, 实现植物品种改良的生物技术。如: 人工种子、胚胎培养、胚乳培养等。

3. 植物细胞全能性: 植物细胞具有该植物体全部遗传的可能性, 在一定条件下如同受精卵一样, 具有发育完整植物体的潜在能力。

4. 器官培养: 指对植物根、茎、叶、花、果实以及各部原基(芽原基、根原基)的培养。

5. 胚胎培养: 指以胚珠、幼胚、成熟胚为材料的离体培养。也包括胚乳的离体培养。

6. 细胞培养: 指用能保持较好分散性的植物细胞或很小的细胞团(6~7个细胞)为材料进行离体培养。如: 生殖细胞(小孢子)、叶肉细胞、根尖细胞、髓组织细胞等。

7. 细胞悬浮培养: 一般是把一些小块生长旺盛的愈伤组织放入液体培养基中, 进行震荡培养, 从而是愈伤组织块变成具有良好分散性的细胞和小的细胞聚集体。

8. 继代培养: 是指把在培养基上培养了一段时间的愈伤组织转移到新的培养基的方法, 就称为继代培养。更换一次培养基就称为一次继代培养。

(二) 填空题

1. 植物离体细胞培养实验, 单个, 分裂, 分化
2. 细胞全能性理论, 全套遗传信息
3. 悬浮培养
4. 固体培养, 液体静止培养, 液体悬浮培养, 愈伤组织培养, 单倍体培养, 原生质体培养, 固定化细胞培养
5. 外植体, 植物细胞
6. 茎尖培养, 芽尖培养, 花器培养, 发状根培养, 茎尖培养, 芽尖培养, 花器培养, 茎尖培养, 发状根培养
7. 吲哚乙酸, 分裂, 出芽, 激素
8. MS, 无机盐, B₅, 木本植物
9. 次级代谢物
10. 次生代谢产物生产, 色素, 药物, 酶, 生物转化, 种质保存, 人工种子制备, 植物大规模快速繁殖
11. 愈伤组织, 分化, 再生植株, 全能性
12. 愈伤组织, 愈伤组织
13. 器官发生, 胚胎发生, 器官发生, 单, 胚胎发生, 双
14. B, 生长素
15. 椰子汁, 心形
16. 原生质体, PEG
17. 兰花, 兰花
18. 25 ± 2
19. 蔗糖, 2% ~ 5%
20. 细胞的分裂, 根, IAA, 2,4-D
21. 细胞分裂, 愈伤组织或器官上分化不定芽
22. 外植体, 内生菌
23. 2,4-D, IAA, NAA, KT, 6-BA
24. 诱导期, 分裂期, 形成期
25. 生长素, 蔗糖
26. MS, HCL, NaOH, 5.6 ~ 6.0
27. 适宜外植体, 最佳的培养基, 连续转接, 加抗氧化剂, 加活性碳
28. 器官, 组织, 细胞, 去掉细胞壁的原生质体
29. 活性碳, 无选择性
30. 2,4-D, NAA, IBA, IAA
31. 细菌, 真菌
32. NH₄NO₃, KNO₃, KH₂PO₄, MgSO₄, CaCl₂·7H₂O
33. 花粉(花药)单倍体培养
34. Vc
35. 脱分化
36. 无机盐, 生根

(三) 判断题

1. × 2. × 3. × 4. √ 5. √ 6. √ 7. × 8. × 9. × 10. ×
11. × 12. √ 13. × 14. √ 15. × 16. × 17. × 18. √ 19. √

(四) 简答题

1. 答: 植物细胞工程的任务是: (1) 研究植物器官、组织和细胞在离体培养条件下, 所需要

的有机营养、无机营养、植物激素等营养条件和刺激因素。(2) 研究植物器官、组织和细胞, 在离体培养条件下, 所需温度、湿度和光照等环境条件。(3) 研究植物的不同生理年龄、遗传组成(基因型) 在离体培养条件下, 形态发生的规律。(4) 研究离体培养条件下再生植株群体的遗传稳定性和变异性。

2. 答: 植物细胞的全能性是指任何具有完整细胞核的植物细胞, 都具有再生出该植物体的可能性。要使植物细胞的全能性变为现实, 必须满足两条件: (1) 解除植物体其余部分对这些细胞的抑制; (2) 要给予它们适当的刺激, 即给予它们一定的营养物质, 并使它们受到一定的激素的作用。

3. 答: 胚状体途径产生再生植株有三个显著优点: (1) 在一个培养物上所能产生的胚状体数目往往比不定芽的数目多; (2) 胚状体形成的速度快; (3) 胚状体结构完整, 一旦形成, 一般都可直接萌发形成小植株, 成苗率高。

4. 答: 在植物组织培养过程中, 常用的植物激素有生长素类和细胞分裂素类, 在高生长素(如使用高浓度 2,4-D) 时能促进外植体的脱分化, 在生长素与胞分裂素比值较高时, 促进不定根的发生, 比值较低时促进不定芽的发生。

(五) 论述题

1. 答题要点: 植物组织培养的发展经历了三个阶段, 即基础研究阶段、技术储备阶段和应用研究发展阶段。

(1) 基础理论发展阶段。①19 世纪 30 年代, Schwann 和 Schleiden 创立细胞学说。②1902 年, Haberlandt 提出了植物细胞具有全能性的设想。③1934 年, Went 发现第一种植物生长素——吲哚乙酸。④1943 年, White 正式提出植物细胞全能性理论。⑤1954 年, Muir 首次进行了植物细胞悬浮培养, 并创立了单细胞培养的看护培养技术。⑥1956 年, Miller 等人发现了强力促进植物细胞分裂和出芽作用的腺嘌呤衍生物——激动素。⑦1958 年, Steward 通过完整实验证实了植物细胞具有全能性。

(2) 技术储备阶段。①1962 年, Murashige 和 Skoog 为烟草细胞培养设计了 MS 培养基。②1968 年, Gamborg 等人为大豆细胞培养设计了 B₅ 培养基。③1970 年, 设计出了适合烟草等原生质体培养的 NT 培养基。特别使适用于烟草叶原生质体的培养。④1974 年, 设计出了适用于原生质体培养的 KM-8P 培养基。⑤1974 年, 朱至清为水稻等禾谷类作物的花药培养设计了 N₆ 培养基。

(3) 应用研究发展阶段。①1956 年, Nichell 和 Routin 提出了植物细胞培养生产化合物的第一个专利申请, 表明植物细胞有可能用于次级代谢物的生产。②20 世纪 60 年代以来, 植物组织培养的迅速发展为植物细胞培养奠定了技术基础。③1983 年, 日本三井石油化学工业公司在世界上首次成功地采用紫草细胞培养工业化生产紫草宁。

2. 答题要点: 植物组织培养一方面可为遗传工程提供理想的受体材料; 另一方面又可为常规的植物改良程序提供一种新的手段, 从而使很多用传统的方法难以解决的问题迎刃而解, 更多更快地创造出各种农作物和园艺植物的新品种、新类型和新种质。概括地说, 组织培养在农业中的应用可以有以下 10 个方面:

(1) 组织培养是转基因技术不可或缺的组成部分, 无论是转基因受体的提供, 还是转化细胞的筛选和再生, 都需要有组织培养技术作为支撑。

(2) 在自花授粉作物杂交育种中, 后异花授粉作物自交系选育过程中, 采用花药培养技术不但可以缩短杂合体纯化所需的时间, 而且可以节省土地面积。

(3) 在某些雌雄异株植物中, 若把花药培养技术包括到制种程序中去, 其后代就有可能得到均匀一致的单性群体, 这在有些情况下, 可以显著提高经济效益。

(4) 在远缘杂交中, 通过离体授粉或原生质体融合有可能克服受精前的障碍, 通过幼龄合子胚培养可以克服受精后的障碍, 通过体细胞融合还有可能制造出细胞质杂种。

(5) 对于无药可治的病毒病, 可通过茎尖培养消除病毒, 这对解决马铃薯种薯退化问题能发挥重要的作用, 在其他很多植物中也可用以建立无毒原种。

(6) 通过离体诱导不定芽或促进腋芽生枝, 可对很多重要的园艺植物和名贵花卉、树种进行快速繁殖。

(7) 应用在细胞水平上进行突变体选择的技术, 可以在一定程度上使高等植物的育种程序微生物化, 从而大大提高选择效率, 节省时间和土地面积, 并且不受季节的限制。

(8) 体细胞无性系变异是除有性杂交和理化诱变之外的第三个变异来源。

(9) 通过人工种皮包被体细胞胚制造人工种子, 为某些稀有和珍贵物种的繁殖提供了一种高效的手段。

(10) 特别是在无性繁殖中, 通过对茎尖分生组织等离体培养材料, 进行超低温保存, 不但可以大大节省空间, 而且还不致受到病虫害的侵袭, 并便于无毒种质的国际交换。

第1章 实验室组成及基本技术

一、练习题

(一) 名词解释

- | | | | |
|----------|-------------|------------|-----------|
| 1. 外植体 | 2. 植株再生 | 3. 无性克隆植株 | 4. 初代培养 |
| 5. 继代培养 | 6. 固体培养 | 7. 液体培养 | 8. 悬浮培养 |
| 9. 不定芽 | 10. 大量元素 | 11. 微量元素 | 12. 琼脂 |
| 13. 植物激素 | 14. 植物生长调节剂 | 15. 植物生长物质 | 16. 细胞分裂素 |
| 17. 生长素 | 18. 抗氧化物 | 19. 活性碳 | 20. 培养基 |
| 21. 繁殖系数 | 22. 试管苗 | 23. 锻炼 | 24. 接种 |

(二) 填空题

1. 无菌操作室常用_____进行照射消毒, 时间为_____. 也可以用_____加少量_____定期密闭_____. 紫外线灭菌的原理是紫外线可激发空气中的氧分子缔合成_____分子, 这种气体成分有很强的_____作用, 可以对紫外线没有直接照到的角落产生灭菌效果。
2. 不耐高温的药品如_____, _____, _____, _____, _____, 常用过滤灭菌。
3. 用于植物细胞工程的培养基应含有植物细胞、组织生长所必需的_____, 以满足植物_____的需要。
4. 培养基中应包括_____, _____, _____, _____, _____, _____等物质。
5. 组织培养中的无机营养物包括_____和_____. 当某种营养元素缺乏时, 细胞或组织培养所获得的植株表现出_____。
6. 常见的植物激素有_____, _____, _____, _____等。
7. 生长素类常用的有_____, _____, _____, _____等。
8. 细胞分裂素类常用的有_____, _____, _____, _____, _____等。
9. TDZ 是近年来出现了具有很强的_____活性的物质, 在植物芽的_____发生、_____发生等也具有很大的作用。
10. 细胞分裂素与生长素的比例决定形态发生方向, 比例高时, _____起主要作用, 诱导_____的发生; 比例低时_____起主要作用, 诱导_____的形成。
11. 减少或去掉酚污染的物质叫_____. 常用的有_____, _____, _____, _____, _____等。
12. 在植物细胞、组织培养时加入活性碳可以防止_____, 防止_____的产生, 促进_____, _____, _____. 但当较_____浓度的活性碳与常量的生长调节物质同时使用时, 常常抵消生长调节物质的作用。

13. MS 基本培养基由 _____、_____、_____、_____、_____、_____组成, 另外还要求合适的 _____。
14. MS 培养基的铁盐应是 _____。配制方法是将 _____ 预溶液缓缓倒入 _____ 预溶液中, 同时缓慢搅匀, 直至溶液 _____, 再定溶。
15. 2,4-D 常先用 1 摩尔/升的 _____ 溶解, KT、6-BA 常先用 1 摩尔/升的 _____ 溶解, IAA、IBA、NAA 常先用 _____ 溶解。
16. 植物组织培养的培养条件包括 _____、_____、_____、_____ 等。
17. 一般植物在细胞、组织培养中正常的诱导、分化、增殖、生根的温度是 _____ °C, 低于 10°C 会 _____, 高于 33°C 则会 _____, 甚至 _____。
18. 在植物组织培养中光照的影响表现在 _____、_____、_____ 三个方面, 光照强度的单位是 _____。
19. 在进行植物组织培养时, 必须使用具有优良 _____ 的封口膜, 才能减少乙烯的积累, 保证植株的 _____。
20. 进行液体培养时, 必须经常 _____ 或使用震荡摇床进行 _____, 促进培养物的 _____ 交换, 才能充分发挥液体培养高效的增殖作用。
21. 渗透压与植物细胞、组织的 _____ 关系密切。在培养基中添加 _____、_____、_____ 和 _____ 等物质可以调整渗透压。
22. 植物细胞组织培养的条件一般为, 室温控制在 _____ °C, 每天 _____ 小时光照, 光照度为 _____ 勒克斯。
23. 植物组织培养基本的技术环节包括外植体的 _____、_____、_____、_____、组培苗的 _____ 和 _____ 等。
24. 决定外植体培养成败的重要因素除了 _____ 的成分外, 还有外植体的 _____、_____、_____、_____、_____、_____ 等。
25. 培养基的灭菌一般采用 _____ 进行湿热灭菌。对于非全自动的高压灭菌锅应完全 _____ 锅内空气, 使锅内全部是水蒸气, 灭菌才能 _____。
26. 外植体在培养前必须采用 _____ 进行严格的灭菌和消毒处理, 但不能伤害材料的 _____。因此, 必须正确选择消毒剂和使用的 _____、_____ 和 _____。
27. 接种的基本原则是 _____, _____, _____, _____。
28. 外植体的培养方式一般有 _____ 和 _____ 两种方式。
29. 液体培养则是在培养基中不加入 _____, 它分为 _____ 和 _____。
30. 愈伤组织增殖的过程包括 _____、_____、_____、_____ 等。
31. 进行继代培养时, 必须根据植物自身生长习性和不同基因型的特点, 确定 _____、_____、_____ 等, 同时在继代转接时, 往往会出现 _____ 污染。
32. 在组培苗生根前, 一般必须有一个壮苗的过程, 目的是获得 _____ 的组培苗。培育壮苗可以在培养基中加入多效唑、B9、CCC 等植物生物 _____。
33. 超净工作台的工作原理是鼓风机送入的空气经过细菌过滤板除去 _____ 后, 再流过工作台面; 同时在操作人员和操作台之间形成 _____, 形成 _____ 环境。

(三) 单项选择题

- 吡哆醇是 ()。
 - 维生素 B₆
 - 维生素 B₁
 - 维生素 B₂
 - 维生素 B₃
- 硫胺素是 ()。
 - 维生素 B₁₂
 - 维生素 B₁
 - 维生素 B₆
 - 维生素 H
- 抗坏血酸是 ()。
 - 维生素 Bc
 - 维生素 B₁
 - 维生素 B₂
 - 维生素 C
- 核黄素是 ()。
 - 谷氨酸
 - 丙氨酸
 - 维生素 B₂
 - 水解乳蛋白
- 超净工作台常用 () 消毒。
 - 紫外线
 - 酒精
 - 升汞
 - 高锰酸钾
- 培养室应常年保持的温度是 ()。
 - 15℃ 以下
 - (15 ± 2)℃
 - (25 ± 2)℃
 - 30℃ 以上
- 植物组织在切割时会分泌出一些酚类物质, 接触空气中的氧气后, 自动氧化或由酶类催化氧化为相应的醌类, 产生可见的茶色、褐色以至黑色, 这就是 () 污染。
 - 色素
 - 硝酸银
 - 玻璃化
 - 酚
- 培养基在高压灭菌过程中常会使 pH 值 ()。
 - 上升
 - 下降
 - 不变
 - 不定
- 植物组培对材料部位的选择原则是 ()。
 - 生理年龄老的
 - 生理年龄幼的
 - 生长年龄老的
 - 生长年龄幼的
- 从苗的生理看, 组培苗移栽不易成活的原因是 ()。
 - 根的吸收功能差
 - 茎的输导功能差
 - 叶的光合能力低
 - 叶的蒸腾能力低
- 诱导试管苗生根时, 培养基的调整应 ()。
 - 加活性碳
 - 加大分裂素的浓度
 - 加大生长素的浓度
 - 降低糖的浓度
- 下列不属于细胞分裂素类的植物激素是 ()。
 - 6-BA
 - NAA
 - ZT
 - KT
- 对生根培养不起作用的激素是 ()。
 - GA
 - IAA
 - NAA
 - IBA
- 在离体的植物器官、组织或细胞脱分化形成愈伤组织的过程中, 可以不需要的条件是 ()。
 - 消毒灭菌
 - 适宜的温度
 - 充足的光照
 - 适宜的养料和激素
- 要将胡萝卜韧皮部细胞培养成完整植株, 不需要 ()。
 - 具有完整细胞核的细胞
 - 离体状态
 - 导入外源基因
 - 营养物质和激素

(四) 判断题 (在括号内打“√”或“×”)

1. 通过芽(腋芽)增殖的方式必须严格控制激素浓度,以防止产生愈伤组织。 ()
2. 接种或操作中突然遇到停电,暴露在未过滤空气中的材料不会污染。 ()
3. 用升汞灭过菌的外植体可不用无菌水冲洗直接接种。 ()
4. 冷却的蒸馏水即是无菌水。 ()
5. 无菌组培苗即是脱毒苗。 ()
6. 外植体只能通过直接方式分化产生不定芽。 ()
7. 愈伤组织增殖产生的芽容易发生变异。 ()
8. 琼脂是固体培养基基础的固化剂,本身不提供任何营养。 ()
9. 一般植物细胞、组织生长的最适宜 pH 为 5~6.5。 ()
10. 液体培养则是在培养基中加入凝固剂,它分为静止培养和振荡培养。 ()
11. 细胞分裂素与生长素的比值较高时,有利于愈伤组织芽的诱导。 ()
12. 培养基中的铁盐,常用不易分解的乙二胺四乙酸铁螯合物,以防在 pH 较高时铁被氧化为不溶的氢氧化铁。 ()

(五) 简答题

1. 植物细胞工程实验室由哪些部分组成?各有何作用?
2. 培养基中的有机营养成分有哪些?
3. 植物细胞工程的培养基应包括哪些成分?各有什么作用?
4. 外植体有哪些类型?各有何特点?
5. 高压灭菌的原理是什么?
6. 培养基通过高压灭菌后,通常会产生哪些变化?
7. 如何防止高压灭菌对培养基产生的影响?
8. 如何对组织培养的物品进行灭菌和消毒?
9. 如何对外植体进行灭菌和消毒?
10. 无菌操作的步骤包括哪些?
11. 固体培养的特点是什么?有什么优缺点?
12. 液体培养有哪些类型,各有何特点?
13. 植物组织培养增殖的方式有哪些?各有何特点?
14. 如何进行植物组培苗的生根?
15. 如何进行植物组培苗的移栽和管理?
16. 在植物组织培养中进行低温处理有什么作用?常用的低温处理有哪些方法?

(六) 论述题

1. 论述植物培养基的配制方法。
2. 论述如何进行植物组织培养条件的选择与控制。
3. 论述如何进行组培苗的生根和移栽。

二、参考答案

(一) 名词解释

1. 外植体：从植物体上分离下来的、用于离体培养的材料。
2. 植株再生：指通过组织培养技术将植物的细胞、组织、器官等培养成完整植株的过程。
3. 无性克隆植株：从植物部分器官、愈伤组织、细胞或原生质体再生的植株。
4. 初代培养：从植物体上分离外植体进行的第一次培养。
5. 继代培养：将初代培养的培养物（愈伤组织、芽等）重新切割转移到新的培养基中继续扩大培养的过程。
6. 固体培养：加入琼脂使培养基呈固体状态的培养。
7. 液体培养：不加入琼脂使培养基呈液体状态的培养。
8. 悬浮培养：亦称植物细胞悬浮培养。使植物细胞或细胞团悬浮在液体培养基中进行培养的一种方法。通常可以分为成批培养和连续两种类型。
9. 不定芽：从原有的芽以外的任何器官和组织通过器官发生重新形成的芽。
10. 大量元素：指浓度大于 0.5 毫摩尔/升的元素，如 N、P、K、Ca、Mg、S 等。
11. 微量元素：指浓度小于 0.5 毫摩尔/升的元素，如 Fe、B、Mn、Cu、Mo、Co 等。
12. 琼脂：指培养基中的固化剂。它是从海藻中提取的高分子碳水化合物，本身不提供任何营养。
13. 植物激素：是植物新陈代谢产生的天然化合物，能以极微小的量影响到植物的细胞分化、分裂、发育等生理生化活动。
14. 植物生长调节剂：指由人工合成的，能够调控植物生长发育的化学物质。它们在植物生产中可以起到促进扦插生根、调控开花时间、塑造理想株型的作用。
15. 植物生长物质：指在较低浓度的情况下能对植物产生明显生理作用的化学物质，主要包括内源的植物激素与人造的植物生长调节剂。
16. 细胞分裂素：缩写为 CTK，是一类腺嘌呤衍生物的激素，包括 6-BA（6-苄基腺嘌呤）、KT（激动素）、ZT（玉米素）等，其主要的生理作用是促进细胞分裂，抑制器官衰老，诱导芽分化，延缓叶片衰老等。
17. 生长素：在组织培养中，用于诱导愈伤组织的形成，诱导根的分化和促进细胞分裂、伸长生长的物质，包括 NAA、IAA、IBA 等。
18. 抗氧化物：植物组织在切割时会分泌出一些酚类物质，接触空气中的氧气后，自动氧化或由酶类催化氧化为相应的醌类，产生可见的茶色、褐色以致黑色，这就是酚污染。减少或去掉酚污染的物质叫抗氧化物。
19. 活性炭：为木炭粉碎经加工形成的粉末结构，具有很强的吸水力和吸附作用。
20. 培养基：用于满足植物正常生长发育需要的各种营养物质的总和。
21. 繁殖系数：也叫增殖率。指每块外植体在单位时间内增殖的倍数。
22. 试管苗：指在无菌离体条件下的人工培养基上，对植物细胞、组织或器官进行培养所获得的再生植株。

23. 锻炼: 植物的抗性是通过其体内的生理生化变化逐渐形成的, 最终表现为对不利环境的适应性。通过人为改善植物的抗性, 使其提高对不利环境适应性的过程叫锻炼。

24. 接种: 是将已消毒好的根、茎、叶等离体器官, 经切割或剪裁成小段或小块, 放入培养基的过程。

(二) 填空题

1. 紫外灯, 30 分钟以上, 福尔马林 (40% 甲醛), 高锰酸钾, 熏蒸, 臭氧, 杀菌
2. IAA, 玉米素, 赤霉素, 脱落酸, 硝酸银
3. 各种营养成分, 正常生长发育
4. 水, 无机元素, 有机物质, 植物生长调节物质, 琼脂, 蔗糖
5. 大量元素, 微量元素, 营养缺乏症
6. 生长素类, 细胞分裂素类, 赤霉素, 脱落酸
7. 吲哚乙酸 (IAA), 吲哚丁酸 (IBA), 萘乙酸 (NAA), 2,4-D (2,4-二氯苯氧乙酸)
8. 6-苄基氨基腺嘌呤 (6-BA), 玉米素 (ZT), 激素 (KT), 异戊烯基腺嘌呤 (2-Ip), 噻苯隆 (TDZ)
9. 细胞分裂素, 器官发生, 体细胞胚胎发生
10. 细胞分裂素, 芽, 生长素, 根
11. 抗氧化物, 半胱氨酸, 维生素 C (Vc), 二硫苏糖醇, 谷胱甘肽, 硫乙醇, 二乙基二硫氨基甲酸酯
12. 褐化, 玻璃化苗, 生长, 分化, 生根, 较高
13. 大量元素, 微量元素, 铁盐, 有机成分, 糖, 琼脂, 植物激素, pH 值
14. 螯合铁, $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{-EDTA}$, 透彻无沉淀
15. NaOH, HCl, 少量 95% 的酒精
16. 光照, 温度, 湿度, 营养
17. (25 ± 2) , 停止生长, 抑制生长、发育, 褐化
18. 光照时间, 光照强度, 光周期, 勒克斯
19. 通透性, 健康生长
20. 转动震荡, 培养, 氧气
21. 生长和分化, 食盐, 蔗糖, 甘露醇, 乙二醇
22. 24 ~ 26, 12 ~ 16, 1000 ~ 3000
23. 外植体的选择, 灭菌和消毒, 无菌操作, 继代培养, 组培苗的生根, 移栽
24. 培养基, 种类, 来源, 部位, 年龄, 取材季节, 大小, 生理状态, 质量
25. 高压灭菌锅, 完全排除, 彻底
26. 消毒剂灭菌, 生活力, 浓度, 处理时间, 程序
27. 小容器, 少数量, 隔离开, 多重复
28. 固体培养, 液体培养
29. 凝固剂, 静止培养, 振荡培养
30. 愈伤组织的诱导, 愈伤组织的增殖, 芽与根的分化, 完整植株的形成