高等农林院校教材

植物生理学实验教程

主　编　熊庆娥
副主编　叶　珍　杨世民
编　委　(按姓氏笔画为序)
文　涛　王西瑶　叶　珍
李方安　李晓铃　刘　帆
杨世民　倪　甦　熊庆娥
审　稿　王三根　胡延玉

四川科学技术出版社

需要全本请访问 www.ertongbook.com

书　　名：植物生理学实验教程
丛 书 名：高等农林院校教材
作　　者：熊庆娥
出 版 社：四川科学技术出版社
出版时间：2003-1-1
ISBN：7-5364-5299-3/Q945-33
定　　价：16.00

前　言

为适应高等院校面向21世纪教学改革的需要,加强对学生能力、素质和创新意识的培养,各高等院校采取了一系列措施加强实践性教学。在农林院校,“植物生理学实验”作为一门课程独立开设,就是加强实践性教学的措施之一。“植物生理学实验”课程独立开设,改变了植物生理学实验教学从属于理论教学的状况,也对实验教学在系统性、实用性、先进性方面提出了更高的要求,原有实验教材已不能适应新的教学需要。为此,四川农业大学植物生理课程组全体教师和实验技术人员,按照《植物生理学实验教学大纲》的要求,于2000年着手新教材编写,经一年多的辛勤工作,完成了本教材《植物生理学实验教程》的编写。经使用两年后,2003年作者对新教材进行了认真修改,并于秋季出版。

新教材的系统和内容与旧教材相比,有很大改进。全书共分三部分内容:一、植物生理学基础实验技术概述(第一章);二、基本实验操作(第二章至第九章);三、综合性大实验(第十章)。第一部分内容体现了植物生理学实验课作为专业基础课的承上启下作用,对植物生理学研究中常用实验技术进行了梳理分类和系统介绍,旨在为学生和其他读者提供一个较完整的可供选择的实验技术指南。第二部分内容是植物生理学基本实验技术,供学生实践训练,力求兼顾实用性与先进性、现实性与前瞻性。第三部分内容综合性实验是对学生所学实验技能和基础理论的巩固与综合训练,通过这一部分的教学进一步提高学生的学习能力、动手能力和分析解决问题的能力,促进学生的创新思维的形成,提高学生对科学研究的兴趣。此外,书后有附录可供读者查用。本教材供农林院校本科学生使用和研究生选用,也可供从事植物生理学及相关学科教学科研的教师及研究人员参考。

在本教材编写过程中,得到了不少专家和同行的指导帮助,并参阅了国内许多同类教材。书稿完成后承西南农业大学王三根教授、四川省植物学界前辈胡延玉教授审阅并提出宝贵意见。在此,谨向所有给予我们指导帮助的同仁、所有参考书目的作(编)者致以诚挚的谢意!本教材的编写是一次改革的尝试,教材中疏漏、错误之处难免,望读者给予批评指正。

编　者

2003年5月

目　录

第一章　植物生理学基础实验技术概述

第一节　植物生理实验材料的选择 ……
第二节　植物生理学中的常用仪器及化学分析技术 ……
第三节　植物显微技术 ……
第四节　生化分析技术的应用 ……
第五节　溶液培养及基质培养技术 ……
第六节　植物组织培养技术 ……
第七节　植物细胞的分离技术 ……
第八节　气体分析技术 ……
第九节　免疫化学技术 ……
第十节　同位素技术的应用 ……
第十一节　其他测试技术 ……

第二章　细胞和水分生理

实验 1　植物组织中自由水和束缚水的测定 ……
实验 2　植物组织水势的测定 ……
Ⅰ. 小液流法
Ⅱ. 压力室法
实验 3　植物细胞的质壁分离与复原 ……
实验 4　钾离子对气孔开度的影响 ……
实验 5　植物根系活力的测定 ……
Ⅰ. α- 萘胺法
Ⅱ. 吸附甲烯蓝法
Ⅲ. 氯化三苯基四氮唑(TTC) 法
实验 6　植物蒸腾拉力与蒸腾强度的测定 ……
Ⅰ. 蒸腾拉力观察
Ⅱ. 植物蒸腾强度简易测定法(钴纸法)
Ⅲ. ZHT 型蒸腾仪测定法

第三章　植物的矿质与氮素营养

实验 7　伤流液的收集及伤流液成分快速测定 ……
实验 8　植物伤流液中氨基酸总量的测定(茚三酮比色法) ……
实验 9　植物组织中硝态氮含量的测定 ……

实验 10　植物组织中无机磷含量的测定 ……
实验 11　植物组织中钾的测定 ……
实验 12　植物体内硝酸还原酶活性的测定 ……
实验 13　植物缺素培养 ……

第四章　光合作用

实验 14　叶绿体色素的提取和分离 ……
实验 15　叶绿体色素理化性质鉴定 ……
实验 16　叶绿素含量的测定(分光光度法) ……
实验 17　希尔反应 ……
实验 18　植物光合速率的测定 ……
Ⅰ. 改良半叶法
Ⅱ. GH—III 型光合仪测定法(pH 法)
实验 19　测定叶面积的简易方法 ……
Ⅰ. 称重法(裁剪重量法)
Ⅱ. 系数法
Ⅲ. 透明方格法
实验 20　Rubisco 的纯化与活力测定 ……
实验 21　磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶活性的测定 ……

第五章　呼吸作用

实验 22　植物呼吸速率的测定 ……
Ⅰ. 广口瓶法(小筐子法)
Ⅱ. 红外线 CO_2 分析法
Ⅲ. 氧电极法
实验 23　过氧化物酶活性的测定(愈创木酚法) ……
实验 24　过氧化氢酶活性测定 ……
Ⅰ. 碘量法
Ⅱ. 高锰酸钾滴定法
Ⅲ. 紫外分光光度法
实验 25　植物冰冻切片技术与酶的组织化学定位 ……

第六章　有机物质的代谢

实验 26　植物组织中可溶性糖含量的测定(蒽酮比色法) ……
实验 27　植物组织中蔗糖、果糖、葡萄糖的分离鉴定 ……
实验 28　可溶性蛋白质含量的测定(考马斯亮蓝 G - 250 法) ……
实验 29　粗脂肪的定量测定 ……
实验 30　碘价的测定(Hanus 法) ……
实验 31　植物多酚含量的测定 ……

需要全本请访问 www.ertongbook.com

Ⅰ.茶多酚含量的测定(酒石酸亚铁法)
Ⅱ.作物籽粒单宁含量的测定(Folin - Denis 法)
实验 32　苯丙氨酸裂解酶的提取及活性测定 ……
实验 33　花青素的测定 ……

第七章　植物生长物质

实验 34　植物生长调节剂对植物生长的影响 ……
Ⅰ.生长素类对根芽生长的影响
Ⅱ.PP_{333}对种子成苗的影响
实验 35　赤霉素打破种子和芽休眠效应 ……
实验 36　乙烯利对果实、蔬菜的催熟作用 ……
实验 37　植物激素的提取与纯化 ……
实验 38　植物激素的生物鉴定 ……
Ⅰ.苋红素合成法鉴定细胞分裂素
Ⅱ.水稻芽鞘点滴法鉴定赤霉素
Ⅲ.小麦胚芽鞘切段伸长法鉴定生长素
实验 39　酶联免疫吸附法测定植物激素 ……

第八章　植物生长发育

实验 40　种子生活力的快速测定 ……
Ⅰ.TTC 法
Ⅱ.红墨水染色法
Ⅲ.溴麝香草酚蓝法
实验 41　萌发种子中淀粉酶活性的测定 ……
Ⅰ.淀粉酶活性的简易测定
Ⅱ.α- 淀粉酶活性的测定(碘反应比色法)
实验 42　花粉生活力的测定 ……
Ⅰ.碘染色法
Ⅱ.过氧化物酶测定法
Ⅲ.TTC 法
实验 43　聚丙烯酰胺凝胶电泳分离同工酶 ……
实验 44　植物器官的培养 ……
实验 45　红光和远红光对植物光形态建成的影响 ……

第九章　逆境生理

实验 46　植物抗逆性的鉴定(电导率测定法) ……
实验 47　游离脯氨酸的测定(酸性茚三酮比色法) ……
实验 48　超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定 ……
实验 49　膜脂过氧化产物丙二醛含量的测定 ……

实验 50　植物膜脂脂肪酸含量的测定(气相色谱法) ……

第十章　综合性大实验

第一节　植物生理学大实验的基本要求 ……
第二节　综合性大实验的题目 ……

附　　录

附录一　植物生理学中常用法定计量单位及其换算 ……
附录二　化学试剂的分级 ……
附录三　常用酸碱及其他化合物的重要参数 ……
附录四　几种常用缓冲液的配制 ……
附录五　溶液配制方法 ……
附录六　硫酸铵饱和度计算表 ……
附录七　植物组织培养常用培养基配方 ……
附录八　植物组织培养常用缩略语 ……
附录九　分光光度计的使用 ……

第一章　植物生理学基础实验技术概述

植物生理学基础实验技术内容极其广泛,是从事植物生理学及其相关学科研究的人都需要掌握并能正确使用的基本技术。这里仅对它们的基本原理和在植物生理学研究中的用途,分类进行概述。

第一节　植物生理实验材料的选择

一、植物生理实验材料选择的重要性和材料种类

植物生理实验材料的选择非常重要,不同的材料会得出不同的测定结果。不管用多么先进的仪器设备或测定技术,若不注重材料的代表性或取材不当,就会得出错误的结果或结论。植物生理实验材料非常地广泛,通常分为新鲜材料和干材料两类,在植物生理研究中,采用前者居多。决定采用什么形式的样品进行测定的基本原则取决于研究目的和测定项目的性质,若仅需要反映植物体内某物质的含量,采用干样进行测定居多,如测定作物籽粒的品质;若需要反映材料的生理状况或某物质对生理过程的影响等,则选择新鲜样品进行测定居多,如测定各种酶的活性。

二、植物生理实验材料的选择

植物生理实验或农业研究中,材料通常从植物的群体中抽取个体(植株),由于群体的均匀性有差异,材料选择是否具有代表性,决定实验研究的结果和结论。严格科学的取材方式应该是从大田或实验地等采取“原始样品”,在从其中按样品种类选取“平均样品”,最后才从“平均样品”中选出供分析用的“分析样品”。

1.原始样品的采取方式

(1)随机取样法　在试验区(或大田)中先确定取样点,试验区越大,取样点应越多。然后在取样点采取一定数量的植株,或采取一定面积上的植株。

(2)“五点”取样法　在试验区(或大田中)的两对角线取五点(即四个角上取一点,对角线交叉的中心点取一点,共五点),然后在 5 个取样点上采取一定数量的植株,或采取一定面积上的植株。

2.平均样品的采取方式

(1)混合取样法　颗粒状或粉末状的样品采用混合取样法,将材料铺在厚纸板上形成均匀的一层,按对角线划分为四等份,取对角的两份,其余淘汰,重复上述步骤,至样品需要的量为止。

(2)按比例取样法　对于生长不均等的材料,如果实、块根、块茎。应将原始样品分成不同类别,然后将每类别样品切取 1/4、1/8 或 1/16,最后混在一起。

3.取样的基本原则

(1)取样点的选择不能靠近田边、地边、厢边,应距边缘一定的距离。

(2)注意取样的生理状况(生育期、成熟度、病否)和材料在植株上的空间分布。

(3)多汁的瓜果、蔬菜及幼嫩器官因含水较多,应在冰箱中冷藏,切取时用不锈钢刀子。

(4)平均样本的数量应不少于分析样品的两倍。取样后,要注意附上标签。

三、样品的前处理

样品前处理视实验目的和要求而定。分析用干样品,材料应先杀青、烘干(参见本章第二节)、磨成粉末过 80 ~100 目(孔径 0.2 ~0.15mm)筛子,保存时注意防虫、防潮和防霉变。新鲜样品用湿纱布擦拭干净,忌用水冲洗,除非擦拭不干净的才用水冲洗。作解剖用的材料要及时观察或用固定液固定。作生理活性物质(维生素、激素、酶等)测定用的材料应保存在 0 ~4℃的冰箱中。

参考文献

1. 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京: 高等教育出版社, 2000. 1 ~4

2. 北京农业大学, 西北农业大学等. 定量分析. 上海: 上海科学技术出版社, 1978. 11 ~12

第二节 植物生理学中的常用仪器及化学分析技术

一、反应器的用途

常用的反应器主要有试管、点滴反应板、烧瓶、烧杯等,它们主要用于进行植物生理测试的各种反应。比如: 定氮用烧瓶是特制的可耐高温的反应器,在测定植物含氮量时用来消化材料,点滴反应板常用于检验反应进程和室内外的快速测定,例如: 可用于检验酶促反应进行到何种程度或对植物及土壤中某些矿质元素含量的快速比色测定等。

二、试剂的配制和保存

配制试剂时,首先应了解用于配制试剂的物质的性质,有时将多种化合物配制在一起时,特别应考虑它们的溶度积的大小以及是否产生不需要的反应,应先分别溶解,再在一较大烧杯中加入足够多的溶剂后,将其混合在一起,否则容易产生沉淀。

试剂瓶是保存试剂的主要容器,按其颜色分为无色透明玻璃瓶和棕色瓶,通常棕色瓶用于保存见光易分解的试剂。玻璃磨口瓶应忌盛强碱试剂,而橡胶塞的试剂瓶不能用于盛装强酸性试剂。通常用于生产试剂瓶的玻璃膨胀系数较大,骤冷骤热都容易破裂,所以不能对试剂瓶作加热或疾速降温处理。盛装试剂后,应贴上标签,在标签上写清楚试剂的种类、浓度、配制日期以及配制者姓名。

三、简单测量仪器的用途

测量物质重量的仪器主要是天平,在植物生理测试中,天平除用于称取药品配制试剂外,常用于准确称取待测样品的重量,分析植物各部分干物重的变化与同化物转化的关系。还可用于重量分析法测定植物光合速率、呼吸作用强度、叶片面积和植物器官或组织的生长

速度等。使用时应按样品量及实验要求,选择不同精确度的天平。

测量植物组织和细胞大小的量具主要有卷尺、直尺、游标卡尺和显微测微尺等。直尺、卷尺常用于测量株高、器官长度以及叶片面积。游标卡尺常用于测茎粗,果实大小等。显微测微尺是更为精确的长度测量工具,它可以精确测定至微米(μm),它与显微镜配合使用,可测定细胞、细胞器和染色体的大小。对于植物组织或细胞的长、宽、周长以及面积的测定,可以将被测材料制片后,将显微镜与计算机联机,用软件 Motic Images Advanced 3.0 照相后进行测定。

计数器常用于显微观察中计数,如测量气孔数目、细胞数目、可育(或败育)花粉粒数目等。在原生质体培养中测定诱导率或检查原生质融合情况以及测定液体培养中单位体积的细胞或原生质体数目时,均常用计数器。

测量液体体积的器具可分为量入式和量出式两类。量入式测量的是量具中所盛装液体的体积。主要有不同规格的容量瓶,一般较大容量瓶(100 ~5000ml)用于配制试剂,较小的容量瓶(10 ~100ml)常用于对植物内含物提取液、稀释或反应液定量。刻度试管的精度不如容量瓶,可作精确度要求不很高的反应液体积测定或稀释。量出式测量的体积是指从该容器中倾出或放出的液体体积,主要有移液管、量筒、酸碱滴定管。移液管精确度高于量筒,移液管又分为 A 级和 B 级,A 级比 B 级精度高。尤其应注意:使用液移管时,其尖端残留的液体不能吹出,除非该移液管标有“吹”的字样。酸碱滴定管用于测定到达滴定终点时,所耗滴定液的体积。采用化学方法定量测定一些生理指标时,常使用酸碱滴定管,如小蓝子法测定呼吸强度、凯氏定氮法测定植物含 N 量、碘量法测过氧化氢酶活性等。此外,还有可取 50 到 5000 微升的各种规格的取液器,其取液的体积一致性好,操作简便,但不是十分准确,常用于转移样品和不需太精确的测定中。

四、温度恒定设备的用途

温度恒定设备主要有水浴锅、干燥箱、温箱和生长箱,它们可以把温度恒定在所设置的水平。水浴锅常用于保证各种生理生化测试和生理过程进行所需要的温度,使测定结果免受环境温度的影响。干燥箱的温度可从几十摄氏度到 300℃,一般干燥箱均有鼓风机和排气窗,以便于干燥样品。植物材料的干燥过程通常是在 105℃左右杀青 15 ~20min,然后 70 ~80℃烘干至恒重。还可以用它烘干刚清洗过的玻璃器皿或对器皿进行干热灭菌。温箱和生长箱,主要用于提供植物生长所需的温度以培养试验材料,也常用于组织培养。温箱只能提供温度保障,而生长箱具有光照、温度甚至于湿度和 CO_2 浓度的控制系统,能满足植物生长的需要。

五、物质分离设备的用途

常用的物质分离设备有漏斗、分液漏斗和离心机等。用漏斗过滤是最常用的分离固体与液体的方法,常用分析滤纸过滤,提取或纯化植物材料中的某些成分。分液漏斗则主要用于分离两种不相溶的液体,也可用于提纯某种只溶于水或只溶于酯相的物质。而离心机具有更广泛的用途,是植物生理实验室必备的仪器之一,通过调节转速(离心力)或离心的时间,达到不同的分离效果。离心机可分为:①普通离心机(4000 ~20 000r·min^{-1}),用于分离固体和液体混合物外。②高速离心机(25 000r·min^{-1}左右),这类离心机通常带有制冷

设备,以控制离心温度,其中的大容量连续流动离心机,可用于从培养物中收集酵母或细菌。低容量高速离心机用于收集微生物、细胞碎片、细胞、大的细胞器、蛋白沉淀物等。③超速离心机(100 000r·min^{-1}左右),常用于分离离析的细胞、细胞器或细胞中的颗粒(叶绿体、原生质体、核蛋白体),但每次分离的样本容量小,可用离心机中的光学系统连续地观测待测物质在离心场中的行为,推断其纯度、形状和相对分子量等。

六、酸度计和 pH 试纸的用途

在植物生理测试中和植物组织培养以及无土栽培等应用领域中,常需用酸度计或 pH 试纸测试反应系统的 pH,或监测植物(组织)生长环境中的 pH 值变化。pH 试纸测定结果没有 pH 计(酸度计)准确,若要准确测定 pH 值大小时,应选择 pH 计。

参考文献

1. 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社, 2000. 11～103
2. 何少华,何其敏,鲁启敏等. 玻璃仪器的性能及应用. 北京:北京出版社, 1983

第三节 植物显微技术

植物显微技术是超越人的视力范围研究植物微观世界的主要方法。应用各种技术手段和显微镜,可研究植物组织、细胞结构和某些物质在细胞中的含量和分布。在植物生理学研究中用于酶及生理活性物质的组织化学定位、气孔运动观察、细胞水势测定以及花粉生活力测定等。植物显微技术主要包含制片技术、植物组织化学技术和显微镜技术以及显微摄影技术四个方面的内容。

一、植物制片技术

植物制片的根本目的是将材料制成适合于显微镜观察的形式,并能显示出清晰正确的细胞或组织结构。根据其制作方法可分为:活体观察法、切片法、非切片法等三大类。应根据观察的目的、材料的性质决定采用何种制片方法。

二、植物组织化学技术

植物组织化学技术主要用于检测植物器官、组织或细胞中物质的微细含量和确定这些物质的分布。植物组织化学常应用被检物质的特征反应或特殊性质来进行制片观察。通常要求被检测的材料为活体,所以常用徒手切片、压片或冰冻切片等手段制取观测材料,一般不作永久封固保存,所以应做好照相记录准备,最好是采用彩色照相。如需暂时保留,也可用甘油明胶封片。

三、显微镜技术

显微镜技术是利用显微镜观察植物微观世界的常用技术,用于植物生理研究的显微镜大致为三类,即(1)普通型;指一般的光学显微镜,如生物显微镜、便携式显微镜、倒置式显微镜、解剖镜等,用于对植物非切片材料或解剖结构的一般观察。(2)特种型;是利用不同

需要全本请访问 www.ertongbook.com

的光学原理设计而成的显微镜,主要用于某种特殊的观察和研究。如暗场、荧光、紫外、相差、偏光、干涉等显微镜,在组织化学中会经常用到。(3)高级型:指大型的多用途、附件齐全的高级显微镜,如万用研究用生物显微镜、电子显微镜等。

四、显微摄影技术

显微摄影技术是利用显微镜摄影装置,把显微镜目镜中的影象投射到感光底片上以记录视野中所观察到的物象,可以更加形象直观地记录被检材料的结构和特性,以作为科学研究的资料。它主要包括拍摄和洗印放大两项技术。

参考文献
余炳生.植物显微技术.北京农业大学自印教材,1983

第四节　生化分析技术的应用

植物生物化学分析技术是相当复杂的,它包含了很广泛的内容,这里仅介绍在植物生理学研究中应用较多的层析技术、光谱分析技术和电泳分析技术等。

一、层析技术

层析技术是一种常用的物理分离提纯物质的方法,也可以作为鉴别物质种类的一种手段。它主要是利用植物材料混合物中各组分的物理化学性质差别(如吸附力,分子形状和大小、分子极性、分子亲和力、分配系数),将各组分经两相反复分配后而分离开来,这里所说的两相,一是固定的,叫固定相;另一个相是流经固定相的,称为流动相。在植物生理学中,常用层析技术分离纯化物质,如叶绿体色素、维生素、氨基酸、可溶性糖、植物激素、植物凝集素等的分离纯化。层析技术的种类很多,其分类和用途如表1。

表1　层析技术的种类和用途

种　　类	分离原理	在植物生理上的用途
氧化铝柱层析	吸附力	生物碱与固醇类
活性炭层析	吸附力	非极性物质
纸层析	分配系数	脂肪酸
液相层析	分配系数	植物激素、氨基酸
薄层层析	分配系数、吸附力	类胡萝卜素、VE 类、脂肪酸、甘油
聚丙烯酰胺薄层层析	分配系数、氢键吸附力	氨基酸
离子交换层析	酸碱度、极性	核酸类及其衍生物
亲和层析	生物大分子亲和力	植物凝集素、蛋白质、核苷酸
气相层析	分配系数	脂肪酸、氨基酸、甾族化合物、糖类、植物激素、有机酸

二、光谱分析技术

光谱分析技术是植物生理的重要分析技术之一。通常用分光光度计测定出某种溶液在

特征吸收波长下的光密度值或透光率,将其与标准溶液的光密度值相比较,即可确定出该溶液所含某种物质的浓度大小,如在 280nm 和 260nm 下测定蛋白质含量、在 200 ~300nm 下测定聚乙炔类化合物、在 250 ~290nm 下测定吲哚类化合物等。也可以通过变换波长(进行波长扫描),绘制出含某物质的溶液的光吸收图谱。由特征吸收光谱可以鉴别未知物质的种类和测知某物质的光谱性质。常见的光谱分析仪器主要有:可见光分光光度计、紫外—可见光分光光度计、红外光谱仪和荧光分光光度计等。应根据物质特征吸收峰的波长范围,选择使用不同的分光光度计。值得注意的是必须选择合适的比色杯(皿)盛装待测试液,使用可见光分光光度计应选择玻璃比色杯,而使用紫外和荧光光度计必须选择石英比色杯。

三、电泳分析技术

电泳是指带电粒子在电场中向与自身所带电荷相反的电极移动的现象。不同物质的分子由于所带电荷的性质和数量不同、分子量大小及形状不同,在一定的电场强度下移动的速度不同,以此可达到分离和鉴定物质的目的。电泳分析技术在植物生理生化研究中有着广泛的用途:

1. 利用电泳技术分离纯化生物大分子物质。

2. 进行植物同工酶电泳酶谱分析,鉴定植物亲缘关系,了解植物体内部代谢变化情况,也可用于种子纯度鉴定。

3. 通过未知物与已知分子量的标准物的电泳图谱比较,测定未知物的相对分子量。在凝胶中加入两性电解质,电泳时形成由阳极到阴极 pH 值逐步上升的梯度,可测定蛋白质的等电点。

4. 将电泳技术与薄层扫描技术结合,可以测知未知物的电泳扫描曲线,初步了解未知物的性质,通过对曲线的积分运算,还可以测知未知生物分子的含量。

5. 把核酸酶解和电泳相结合可以测定简单的核苷酸序列。

6. 电泳技术与限制性内切酶结合应用,通过 DNA 序列扩增、分子探针的运用和分子杂交,测定植物遗传的多样性和构建基因的物理图谱。

7. 与免疫技术相结合,鉴定植物及侵染植物的病原物的抗原与抗体,从而达到检测植物是否感病的目的。

参考文献

1. 李合生. 植物生理生化实验原理和技术. 北京:高等教育出版社, 2000. 11 ~103
2. 上海植物生理学会. 植物生理学实验手册. 上海:上海科学技术出版社, 1983
3. 张志良, 吴光耀. 植物生物化学技术与方法. 北京:农业出版社, 1986
4. 袁晓华, 杨中汉. 植物生理生化实验. 北京:高等教育出版社, 1983

第五节 溶液培养及基质培养技术

一、原 理

溶液培养和基质培养技术原为植物矿质营养研究的经典实验技术,现已发展成为不依

赖于土壤培养植物的无土栽培技术。它们主要通过含有植物必需元素的生理平衡溶液为植物生长发育提供无机营养。溶液培养是指将植物直接种植在营养液中或悬置于营养液雾中培养;基质培养则是以隋性介质作为固定植物的基质,并通过滴加营养液为植物提供养分。常用的基质主要有石英砂、玻璃球、蛭石、珍珠岩等无机基质,现生产已开始采用有机基质。

二、溶液培养及基质栽培的形式及优缺点

用于研究领域的无土栽培技术,其装置常常很简单,可用花卉栽培所用的容器盛装溶液或基质进行植物栽培,而生产实践中的无土栽培设施相对较复杂,栽培方式也更多样化。

1. 无土栽培的类型

按照使用基质与否,无土栽培分为无基质栽培与基质栽培两大类,各类又包括多种方式。

(1) 无基质栽培
- 溶液培养(水培):营养液膜技术(NFT):深液流技术(DFT)浮板毛管水培法(FCH)等。
- 雾培法(气培法)

(2) 基质栽培
- 无机基质栽培:岩棉、蛭石、珍珠岩、砂等基质
- 有机基质栽培:草炭、椰壳、锯末、谷壳、刨花等基质

2. 无土栽培的优缺点

(1) 基质栽培　基质栽培的优点在于不必另加通气设备,不必经常补充铁盐;可提高植物对一些重金属盐的忍耐能力。缺点是根系不同部位的营养液浓度和 pH 值会呈现差异;根系生长环境中的营养成分不易控制;培养的基质难以净化;营养液更换麻烦,且易导致营养液的浪费。

(2) 溶液培养　溶液培养技术的优点是养分的形态、种类、浓度、供给时间均可人工控制;根系周围的养分分布均匀。缺点是溶液中的空气不充足,需充气或定时更换营养液;营养液缓冲性小,pH 值易变化;传染病菌迅速。

三、营养液的种类

适宜的营养液成分是植物无土培养的关键。目前,适于不同作物的营养液配方很多,在此列举三种营养液。

1. 水稻营养液

水稻营养液是专门为水稻设计的,常用的有 Espino 营养液、木村营养液、春日井营养液和国际水稻所营养液。其中多选用国际水稻所营养液,其成分见表 2。

表 2　国际水稻所营养液配方

盐　　类	用　量($mg \cdot L^{-1}$)
NH_4NO_3	91.40
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	40.30
K_2SO_4	71.40
$CaCl_2$	88.60

续表 2

盐　　类	用　量(mg · L^{-1})
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	324.00
$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	1.50
$(NH_4)M0_7O_2 \cdot 4H_2O$	0.074
H_3BO_3	0.934
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.035
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.031
$FeCl_3 \cdot 6H_2O$	7.70
柠檬酸水合物	11.90

2. 旱作营养液

适于培养旱作物的营养液有 knop 营养液、Hoagland 营养液、Arnon 微量元素营养液、Hewitt 营养液和普良尼什柯夫营养液, 目前应用较广泛的是 Arnon—Hoagland 营养液, 其配方见表 3。

表 3　Arnon—Hoagland 营养液配方

盐　　类		用　量(mg · L^{-1})
大量元素	$Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$	950
	KNO_3	610
	$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	490
	$NH_4H_2PO_4$	120
微量元素	酒石酸铁	5.0
	H_3BO_3	0.60
	$MnCl_2 \cdot 4H_2O$	0.40
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.05
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	0.05
	$H_2MoO_4 \cdot 4H_2O$	0.02

3. 不完全营养液

为了研究某种营养元素的生理作用常需使用不完全营养液(缺乏某种元素的营养液) 。例如: 采用 Hoagland 为基础的不完全营养液, 配方如表 4, 其中微量元素同表 3。

四、溶液培养和基质栽培的应用

无论在研究中还是在生产实践中, 溶液培养和基质栽培都有十分广泛的用途。现概括如下:

1. 用于研究植物矿质元素的生理效应和根系对矿质元素的吸收, 以及确定新的植物必需元素。

2. 为植物生理研究培养实验材料, 提高组培苗的成活率。

表4　Hoagland 不完全营养液(ml・L^{-1})

母　　液	完全	缺氮	缺磷	缺钾	缺镁	缺硫	缺钙
1mol・$L^{-1}KNO_3$	5	-	6	-	6	6	5
1mol・$L^{-1}Ca(NO_3)_2$	5	-	4	5	4	4	-
1mol・$L^{-1}MgSO_4$	2	2	2	2	-	-	2
1mol・$L^{-1}KH_2PO_4$	1	-	-	-	1	1	1
0.5mol・$L^{-1}K_2SO_4$	-	5	-	-	3	-	-
0.1mol・$L^{-1}NaH_2PO_4$	-	20	-	20	-	-	-
0.1mol・$L^{-1}CaCl_2$	-	12	-	-	-	-	-
1mol・$L^{-1}Mg(NO_3)_2$	-	-	-	-	-	2	-

3.用于提高农作物尤其是花卉、蔬菜的产量和品质,生产无公害蔬菜。

4.用于窗台和屋顶,净化和美化环境。进行庭院经济植物的开发利用。

5.无土栽培不受土壤及地力的限制,为开发利用沿海滩涂和沙漠提供了可能。

参考文献

1. 马太和. 无土栽培. 北京: 北京出版社, 1980. 11 ~126

2. 山东农学院, 西北农学院. 植物生理学实验指导. 济南: 山东科学技术出版社, 1980. 191 ~195

第六节　植物组织培养技术

一、概　念

植物组织培养是生物技术中一个重要的组成部分,它是通过无菌操作,把植物的组织、器官或细胞接种于人工配制的培养基上,在人工控制的环境条件下进行离体培养的一套技术与方法。根据培养对象的类别,可以分为器官培养(包括茎尖或茎段、根尖或根段、叶或叶原基、花器原基或未成熟的花器以及未成熟果实的培养) 、愈伤组织培养(从植物的各器官的外植体增殖而形成愈伤组织的培养) 、胚胎培养、细胞培养和原生质体培养等。根据培养基物理状态,把加固化剂(如琼脂) ,培养基呈固体的称为固体培养;把不加固化剂而培养基呈液体的称为液体培养。

二、植物组织培养的理论基础

植物组织培养的理论基础是细胞的全能性,即植物的每个细胞中都包含着产生一个完整机体的全套基因,在适宜条件下具有分化成一棵完整植株的潜在能力。这意味着植物的组织、器官或细胞一旦脱离母体的束缚,成为离体状态时,在一定的营养,激素和环境条件下,通过脱分化培养(即已经分化的组织、器官、或细胞在人工培养条件下,细胞又恢复分裂能力,形成一团无特定结构和功能的细胞团的过程) 和再分化培养(即由脱分化的细胞再度分化形成另一种或几种类型细胞的过程) 就可能表现出细胞全能性。1958 年 Steward &

Reinert 用胡萝卜根髓细胞进行离体培养获得了完整植株,证实了植物细胞全能性的存在。

三、植物组织培养的优点

组织培养是器官、组织、细胞的离体培养,可以研究被培养部分在不受植物体其他部分影响下的生长和分化规律,并且可以运用各种培养条件调控它们的生长和分化,以解决理论上和生产上的问题。组织培养的特点是:取材少、培养材料经济;人为控制培养条件,可排除自然条件的影响;生长周期短,繁殖率高;管理方便,利于自动化控制。

四、植物组织培养的应用

植物组织培养技术不仅是植物科学理论研究的重要手段,而且也是现代农业生产中展现出良好发展前景的高新技术之一。植物组织培养的应用主要在以下几方面:

1. 植物的快速无性繁殖

嫁接、扦插等无性繁殖方式能保持原品种的优良特性,但繁殖率低。采用组织培养方法可在短期内进行大量无性繁殖。目前,国内外用此法来迅速繁殖各种经济价值高的植物,使植物种苗生产“工厂化”。

2. 植物病毒的脱除

植物受病毒侵染后,可以在无性繁殖植物体内代代相传,逐代累积,使植物品种退化,严重降低产量和品质。目前,对病毒尚没有药剂可有效地防治。已知在植物的茎尖分生组织中很少存在病毒,利用茎尖培养(一般切取 0.2 ~0.5mm 带 1 ~2 叶原基的茎尖)可从感染病毒的植株获得脱病毒的健康植株,再进行快速繁殖,建立原种基地,就能大规模生产无病毒种苗,这是目前克服植物病毒危害的一种有效途径。

3. 植物天然产物的工厂化生产

应用组织培养技术可不受地区、季节等条件限制。因而通过植物组织或细胞大规模培养,生产特定有价值的植物次生物质,具有良好发展前景。已报道的如药用植物中的有效成分(人参中的人参皂甙、喜树中的抗癌物质的喜树碱、红豆杉中的紫杉醇等);香料植物中的精油成分以及工业生产需要的次生物质(如生物碱、甾醇等)、“食品添加剂(花青素)等。

4. 开辟育种新途径

通过花药和未受精胚珠的培养可得到单倍体植株,对单倍体植株进行染色体加倍,可获得纯合的二倍体。单倍体培育与常规杂交育种相结合,可以大大缩短育种的世代和年限,也利于对突变体中隐性突变的分离。另外,用胚胎、子房或胚珠培养,可克服远缘杂交不亲和的障碍,获得远缘杂交种。

参考文献

1. 李浚明. 植物组织培养教程. 北京: 中国农业大学出版社, 1992
2. 曹孜义, 刘国民. 实用植物组织培养技术教程. 兰州: 甘肃科学技术出版社, 1996
3. 潭文澄, 戴策刚. 观赏植物组织培养技术. 北京: 中国林业出版社, 1991.8 ~12

第七节 植物细胞的分离技术

植物的代谢生长、分化、发育、繁殖、遗传、感应等生命现象都是由细胞这个基本单位来

需要全本请访问 www.ertongbook.com