

水稻有机营养研究中完全及局部 无菌培养方法探讨

朱维琴^{1,2}, 吴良欢^{1*}, 陶勤南¹

(1 浙江大学环境与资源学院, 浙江杭州 310029; 2 杭州师范学院生命科学学院, 浙江杭州 310036)

摘要: 在无菌培养室内就水稻有机营养研究中水稻苗完全无菌及局部无菌培养方法作了比较研究。结果表明,在每隔 3d 更换一次培养液的前提下,过大(2000mL)或过小(250mL)的培养容积对完全无菌水稻幼苗的生长影响相对较大,但是采用 500mL 和 1000mL 三角瓶培养的完全无菌水稻幼苗长势无显著差异;在 50~1000mL 范围内培养容积对局部(根)无菌水稻幼苗的生长影响不显著,可以采用易于操作的小容积(50mL)培养。培育后期局部无菌苗的生长状况明显优于完全无菌苗,且其具有较低的最终累积污染率。因此,在植物有机营养研究中采用局部无菌培养方法是可行的。

关键词: 水稻; 完全无菌培养; 局部无菌培养; 有机营养

中图分类号: Q94-331

文献标识码: A

文章编号: 1008-505X(2004)05-0516-06

Studies on totally and partially enclosed sterile culture methods used in the research of rice organic nutrition

ZHU Wei-qin^{1,2}, WU Liang-huan¹, TAO Qin-nan¹

(1 College of Envir. and Resour. Sci., Zhejiang Univ., Hangzhou 310029, China;

2 School of Life Sci., Hangzhou Normal College, Hangzhou 310036, China)

Abstract: Comparative studies between totally enclosed sterile culture method and partially enclosed sterile culture method used in the research of rice organic nutrition were conducted in sterile chamber. The results were as followed, with the precondition of replacing hydroponic solution every other three days, too big (2000mL) or too small (250mL) culture volume had relatively more effects on the growth of totally sterile rice seedlings, but there were no significant differences between the growth status of totally enclosed sterile rice seedlings cultured in the triangular flask of 500mL and 1000mL; Culture volume within the range of 50 to 1000mL had no significant effects on the growth of partially enclosed sterile rice seedlings, but small volume (50mL) was recommended for its easily operational advantage. The growth status of partially sterile enclosed rice seedlings excelled to that of totally enclosed sterile rice seedlings at culture evening, furthermore, partially enclosed sterile rice seedlings had lower ultimate cumulative pollution ratio. So partially enclosed sterile method can be used in the research of plant organic nutrition for its superiority and feasibility.

Key words: rice; totally enclosed sterile culture; partially enclosed sterile culture; organic nutrition

大量试验指出,植物根系能直接吸收利用有机氮^[1-2]。在植物有机营养试验中,为避免营养液中

有机养分被微生物分解利用,就必须采用无菌培养技术^[3-4]。无菌培养试验一般可分为二种类型,第一

收稿日期: 2003-08-06 修改稿收到日期: 2003-12-10

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(G1999011707); 国家自然科学基金项目(30370838); 高等学校博士学科点专项科研基金(20030335076)资助。

作者简介: 朱维琴(1975—),女,安徽霍邱人,博士,主要从事植物有机营养与环境资源利用研究。* 通讯作者

种是完全无菌培养试验,即供试植株整株生长在全封闭的无菌环境中;另一种是局部无菌培养试验,即根部及营养液灭菌,地上部分生长在正常的环境中^[5]。由于完全无菌培养试验中植株通常生长在全封闭的环境中,很难调节植物生长发育所必需的温度、湿度、光照和二氧化碳等条件。对水稻等高秆作物而言,在完全封闭的环境中会出现拔节过快、苗瘦及苗过早黄化、易倒伏、只能短期培养等问题。因此,尽管局部无菌培养试验方法选取合适的地上部分与根部隔离材料比较困难,根部容易污染,操作比较麻烦,但在高秆作物无菌试验中仍受关注。本试验对水稻有机营养研究中完全无菌和局部无菌试验方法进行了比较,并比较两种无菌培养方法所获得无菌苗的生长差异及污染率。

1 材料与方 法

1.1 水稻幼苗完全无菌培养试验

1.1.1 水稻幼苗完全无菌培养试验设计 完全无菌培养水稻幼苗试验中,由于整株水稻均置于培养容器(本法采用三角瓶作为培养容积)培养,因此,一方面培养容积对完全无菌水稻幼苗生长具有较大影响,另一方面完全无菌苗的生长必须有培养介质支撑,而常用支撑介质石英砂的粗细对完全无菌苗的生长影响亦未清楚。据此,本试验在同一细砂培养基下设置 250、500、1000 和 2000mL 4 个培养容积处理以研究并比较培养容积对完全无菌水稻幼苗生长的影响;另外,又增设 250 和 500mL 培养容积下的粗砂介质培养方式以比较介质粗细对完全无菌水稻幼苗生长的影响。各处理重复 6 次,每个重复 3 瓶,每瓶种无菌苗 5 株,以保证试验结束后去除受污染的重复后还有 3 个以上无污染重复。

1.1.2 完全无菌苗培养方法 试验选用巴西陆稻品种,水稻种子经 70% 的酒精浸泡 1min,无菌水洗 3 次后剥去颖壳,再用 70% 的酒精浸泡 1min,无菌水洗 3 次后在无菌条件下静置 24h(25℃)后按莫良玉等^[7]组合灭菌方法进行灭菌,然后将灭菌后的种子点播于装有约 15mL 营养琼脂培养基(1.0%)培养皿(直径约 60mm)内,每皿放种子 15~20 粒,盖上盖后用封口膜封好,置于光照培养箱内于 37℃、黑暗下高温催芽 48h,然后挑选出无菌的芽苗,按上述处理方式种子于已灭菌过以细、粗二种石英砂为支撑介质(石英砂厚度均接近 1.0~2.0cm)的 250、

500、1000、2000mL 三角瓶内,每瓶 5 棵(以保证瓶内有 3 株生长较好的供试苗),然后分别添加水稻完全营养液 10、20、40、80mL(保证培养介质的湿润度一致)。用玻璃纸封口后置于每天光照/黑暗(日光光源)15/9h,温度光照/黑暗期约 30℃/25℃,光强约 6000lx 的无菌植培台上培养 20d(从水稻种子发芽点种之日起计)后取样。每隔 3d 换 1 次营养液,并同时用营养琼脂培养基^[6]作菌检。以上操作均在无菌超净台上进行,以消除微生物的影响。

本试验所用营养液采用国际水稻所配方^[7],先配制成缺氮营养液,溶液 pH 为 5.1 左右,所用试剂均为分析纯,采用热压灭菌。由于水稻有机、无机氮营养试验采用相同的培养方法^[8],为方便起见本研究均采用无机氮作氮源。氮营养液采用将缺氮营养液热压灭菌后再加入经超滤膜灭菌过的高浓度硝酸铵溶液,按溶液中无机氮的浓度为 N 40mg/L 配制。

1.2 水稻幼苗局部无菌培养试验

1.2.1 水稻幼苗局部无菌培养试验设计 局部无菌苗地上部分置于外界环境中生长,而其全部的根系部分均置于无菌的培养溶液中培养。因地上部与地下部之间有隔离物隔离并支撑植株,水稻局部无菌培养容器内无需再添加介质(如石英砂等)支撑,采用溶液培养即可。但是根部培养容积大小可能会影响局部无菌苗根系生长,进而影响稻苗长势。为了研究不同培养容积对局部无菌水稻幼苗生长的影响,本试验共设 50mL(离心管)、500mL(太空杯)、1000mL(太空杯) 3 个培养容积(更大的培养容积因操作困难而不考虑)。转移无菌苗之前首先在离心管盖或太空杯盖上钻出一直径约 0.5cm 的小孔,在离心管或太空杯中注入约 50mL 的蒸馏水后,用玻璃纸包扎好并热压灭菌后备用。各处理重复 6 次,每个重复 5 株苗,培养 20d(从转移无菌幼苗之日起计,即生长期约 26d)后取样考查生长指标。

1.2.2 局部无菌苗培养方法 水稻种子的预处理、消毒及无菌催芽同完全无菌苗培养。种子催芽后,挑选出无菌的芽谷再点播于已灭菌且内装有 50mL 营养琼脂培养基(1.0%)的 250mL 三角瓶中,置于上述无菌植培台上培养。至一叶一心期后,在超净工作台上将无菌苗转移至 50mL 无菌离心管或 500 和 1000mL 无菌太空杯中培养,使无菌苗根系部分在无菌离心管或太空杯中生长。然后用南大 704 硅橡胶(RTV Silicone)(经检验无菌)固定植株并密封小孔,每管一株,同时更换为水稻完全营养液(IRRI 配方),于无菌植培台上培养,方法同上。

1.3 两种培养方法稻苗长势及污染率动态比较试验

采用通过上述两个试验确定的局部和完全无菌试验优化培养方式,比较不同培养时间下完全无菌和局部无菌培养方法下水稻幼苗生长及污染率的动态差异。培养液及培养条件同上述两个试验,其中局部无菌培养试验采用 50mL 离心管作容器,设 25 个重复,每个重复 5 株苗,共培养 125 棵离心管苗。完全无菌培养试验采用 500mL 三角瓶作容器,以细砂为支撑介质,设 15 个重复,每个重复 3 瓶,每瓶种苗 3 株,共 45 瓶,培养苗 135 株。以保证在试验结束时去除已污染苗后仍然有足够的供试无菌苗。两种培养方式下分别培养 5、10、15 和 20d(均以转移无菌幼苗之日起计)后取样分析,同时作菌检计算累积污染率:

$$\text{累积污染率}(\%) = \text{污染苗数} / \text{总培养苗数} \times 100\%$$

1.4 取样分析

将植株取出,先用自来水洗,再用去离子水冲洗,以去除吸附在植株表面的矿质元素。用吸水纸将水吸干,考查各作物生长性状(其中绿叶数为剔除黄色或叶尖枯黄叶后叶片数,根长为主根长),然后

于 70℃ 条件下烘干至恒重^[4],称取各处理茎叶及根系干物重。

2 结果与分析

2.1 水稻完全无菌培养试验条件分析

2.1.1 培养容积与介质对完全无菌培养水稻幼苗茎叶生长的影响 完全无菌培养条件下,2000mL 容积培养水稻幼苗株高极显著高于 1000、500、250mL 容积培养的幼苗株高。其中 250mL 容积培养时水稻幼苗株高显著低于其它培养方式所得水稻幼苗株高;而 1000mL 容积培养与 500mL 容积培养所得水稻幼苗的株高无显著差异(表 1)。相同培养介质条件下,除 250mL 容积培养水稻幼苗叶片叶绿素含量显著低于其他容积培养水稻幼苗叶绿素含量外,各容积培养水稻幼苗叶绿素含量间无显著差异。但不同培养容积对水稻叶片数、绿叶数及茎叶干物重均无显著影响。可见,完全无菌培养水稻幼苗时,相对较大容积(2000mL)和相对较小容积(250mL)对水稻幼苗茎叶生长的影响较大,而水稻幼苗生长状况在 500 和 1000mL 容积下培养无显著差异。

表 1 不同培养容积和介质中水稻完全无菌培养幼苗茎叶生长状况

Table 1 Shoot growth status of totally enclosed sterile rice seedlings cultured in different volumes or mediums

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	SPAD	叶片数 Total leaf number (No./plant)	绿叶数 Green leaf number (No./plant)	茎叶干物重 Shoot dry weight (mg/plant)
2000mL,FS	40.0 a A	14.1 a A	3.0 a A	2.0 a A	13.2 ab A
1000mL,FS	25.5 bc BC	13.8 a A	3.0 a A	1.5 ab A	12.7 ab A
500mL,FS	24.0 cd BCD	13.5 a A	3.0 a A	1.5 ab A	12.8 ab A
250mL,FS	21.5 e D	11.7 b A	3.0 a A	1.5 ab A	12.9 ab A
500mL,CS	27.0 b B	13.7 a A	3.0 a A	1.3 ab A	14.6 a A
250mL, CS	22.5 de CD	13.2 ab A	3.0 a A	1.0 b A	10.7 b A

注(Note): 1) 每列中不同大、小写字母表示差异达 1% 和 5% 显著水平,下同。Different capital and small letters in each column mean significant at the 1% and 5% levels, respectively, same as follows.

2) FS 表示细砂,CS 表示粗砂,下同。FS and CS mean fine sand and coarse sand, respectively, same as follows.

2.1.2 培养容积和介质对水稻完全无菌培养水稻幼苗根系生长的影响 表 2 可见,相同培养介质下,各容积培养水稻幼苗的根长、根系干物重差异不大,R/S 值以 250mL 细砂或粗砂处理较高,总体上培养容积对完全无菌培养水稻幼苗的根系生长影响不太明显。

培养介质粗细对株高影响较大并因培养容积而异。相同体积下介质粗细对水稻茎叶叶绿素含量、

叶片数、绿叶数、茎叶干物重及根长、根系干物重、根冠比(R/S)等均无显著影响(表 1、表 2)。说明培养介质并非水稻完全无菌水稻幼苗培养中的限制性影响因素。

2.2 水稻局部无菌培养试验条件分析

2.2.1 培养容积对局部无菌水稻幼苗茎叶生长的影响 表 3 可见,局部无菌培养条件下,不同容积培养水稻幼苗的株高、SPAD 读数、叶片数之间差异不

表2 不同容积及介质培养水稻完全无菌培养
幼苗根系生长状况

Table 2 Root growth status of totally enclosed sterile
rice seedlings cultured in different volumes or mediums

处理 Treatment	根长 Root length (cm)	根系干物重 Root dry wt. (mg/plant)	根茎比 Root/Shoot ratio
2000mL,FS	11.0 a A	3.5 a A	0.27bc A
1000mL, FS	7.5 b A	3.0 a A	0.24 c A
500mL, FS	9.5 ab A	3.5 a A	0.28 bc A
250mL, FS	11.5 a A	4.0 a A	0.36 ab A
500mL,CS	10.0 ab A	3.2 a A	0.22 c A
250mL,CS	11.5 a A	4.2 a A	0.39 a A

表3 不同培养容积下局部无菌培养水稻幼苗茎叶生长状况

Table 3 Shoot growth status of partially enclosed sterile rice seedlings cultured in different volumes

处理 Treatment	株高 Plant height (cm)	SPAD	叶片数 Total leaf number (No./plant)	绿叶数 Green leaf number (No./plant)	茎叶干物重 Shoot dry weight (mg/plant)
50mL,CT	33.5 a A	37.3 a A	5.7 a A	3.7 a A	0.129 a A
500mL,PB	34.6 a A	36.7 a A	5.3 a A	3.0 b A	0.146 a A
1000mL,PB	35.5 a A	35.9 a A	5.2 a A	3.2 ab A	0.084 b B

注(Notes): CT—离心管 Centrifuge tube; PB—太空杯 Plastic bottle; 下同 Same as follows.

必然联系,因此采用小容积离心管培养具有可行性及优越性。

2.2.2 培养容积对局部无菌水稻幼苗根系生长的影响 局部无菌培养水稻幼苗的根长大小顺序为:500mL 太空杯>1000mL 太空杯>50mL 离心管,且相互间达到显著差异水平(表4)。可见,培养容积对局部无菌水稻幼苗的根长影响较大,但培养容积与根长之间不存在一定的相关性。局部无菌苗根系干物重和R/S值均以1000mL太空杯培养处理显著低于50mL离心管和500mL太空杯处理,且50mL离心管与500mL太空杯培养的水稻幼苗根系干物重及R/S间无显著差异。这表明根系培养容积对局部无菌水稻幼苗的根系生长影响较大,但是,同茎叶生长一样,根系生长与根系培养容积亦不存在必然联系。

2.3 完全无菌及局部无菌培养下稻苗长势的动态差异比较

两种培养方式下水稻完全及局部无菌苗随培养时间延长的生长状况如表5所示。50mL离心管局部无菌培养水稻幼苗在整个培养期间其株高、SPAD读数、叶片数、绿叶数、茎叶及根系的干物重均随培

显著。但是50mL离心管培养水稻幼苗绿叶数显著高于500mL太空杯培养幼苗,且500mL与1000mL太空杯培养幼苗绿叶数之间无显著差异。局部无菌水稻幼苗茎叶干物重的大小顺序为:500mL太空杯>50mL离心管>1000mL太空杯,但50mL离心管和500mL太空杯培养幼苗干物重之间的差异不显著。另外,1000mL太空杯局部无菌培养水稻幼苗茎叶长势较差的原因可能在于:其过高的杯高导致无菌苗转移培养时难以定植,茎叶大部分掉入杯内进而限制其茎叶干物重的积累。由此可见,局部无菌水稻幼苗的茎叶生长与无菌苗的转移定植成功操作具有密切关系,而与根系培养容积大小无一定的

表4 不同培养容积下局部无菌培养水稻幼苗根系生长状况

Table 4 Root growth status of partially sterile rice
seedlings cultured in different volumes

处理 Treatment	根长 Root length (cm)	根系干物重 Root dry wt. (mg/plant)	根茎比 Root/Shoot ratio
50mL, CT	19.6 c B	0.039 a A	0.310 a A
500mL, PB	26.0 a A	0.043 a A	0.290 a A
1000mL, PB	22.6 b AB	0.015 b B	0.176 b A

养时间的延长而不断地增加,而相同条件下500mL三角瓶完全无菌培养水稻幼苗各生长指标在整个培养期间则变化不一,其株高随培养时间的延长而不断上升,SPAD读数则不断下降,其叶片数不断上升,但绿叶数则从培养10d时的2.0片/株下降至20d时的1.1片/株;其茎叶及根系干物重在培养期间增长缓慢,表明随培养时间的延长局部无菌水稻幼苗可以正常生长,而完全无菌水稻幼苗的生长则明显受抑。

从同一培养时间下两种方式培养水稻幼苗生长状况的差异看,转移培养5d后,50mL离心管培养

的局部无菌水稻幼苗株高、绿叶数均显著低于 500mL 三角瓶培养的完全无菌水稻幼苗,而其它生长指标在两种培养方式间无显著差异。水稻幼苗转移培养 10d 后,50mL 离心管局部无菌培养水稻幼苗株高与完全无菌水稻幼苗株高间已无显著差异,但是 50mL 离心管局部无菌培养水稻幼苗其叶片叶绿素含量 (SPAD 读数)、茎叶及根系干物重均显著

高于完全无菌水稻幼苗。在水稻幼苗移栽 15 或 20d 时,除株高及根冠比 (R/S) 外,局部无菌培养水稻幼苗的根长、株高、SPAD 读数、叶片数、绿叶数、茎叶及根系的干物重均显著高于完全无菌水稻幼苗的相应指标,表明局部无菌培养水稻幼苗培养期间其长势要优于完全无菌培养水稻幼苗。

表 5 不同培养时间下完全无菌及局部无菌培养水稻幼苗茎叶及根系状况

Table 5 Shoot and root growth status of totally enclosed sterile and partially enclosed sterile rice seedlings cultured at different growth stage

生长指标 Growth index	5d		10d		15d		20d	
	PS	TS	PS	TS	PS	TS	PS	TS
株高 Plant height (cm)	17.0 e D	23.7 d C	25.1 cd C	26.0 c C	31.6 a AB	29.3 b B	33.7 a A	33.0 a A
SPAD	28.1 cd BC	25.9 d C	30.8 bc B	19.4 e D	31.0 b B	17.0 e D	35.5 a A	12.9 f E
叶片数 Total leaf number (No./plant)	2.0 d D	2.2 d D	3.1 c C	3.0 c C	4.1 b B	3.1 c C	5.1 a A	3.1 c C
绿叶数 Green leaf number (No./plant)	1.0 e D	1.4 d D	2.1 c C	2.0 c C	3.1 b B	1.1 de D	4.1 a A	1.1 de D
茎叶干物重 Shoot dry wt. (mg/plant)	9.4 e D	11.8 de D	23.4 c C	13.6 de D	48.6 b B	15.1 d D	65.0 a A	16.5 d D
根长 Root length (cm)	11.8 d CD	11.2 d D	12.6 cd BCD	13.7 bc BC	17.8 a A	11.2 d D	16.4 a A	14.3 b B
根系干物重 Root dry wt. (mg/plant)	2.9 e D	4.2 de D	6.9 c C	4.4 de D	11.3 b B	4.5 d D	18.1 a A	4.6 d D
根茎比 Root/Shoot ratio	0.31 ab A	0.35 a A	0.28 bc AB	0.32 ab A	0.22 c B	0.30 ab AB	0.28 bc AB	0.28 bc AB

注 (Note): PS—局部无菌培养 Partially enclosed sterile culture; TS—完全无菌培养 totally enclosed sterile culture; 下同 Same as follows.

2.4 完全无菌及局部无菌培养下水稻幼苗累积污染率动态差异比较

图 1 可见,水稻幼苗培养 5d (从转移之日计) 时,局部无菌培养幼苗的污染率明显高于完全无菌培养幼苗污染率,前者为 5.3%,后者为 2.8%;培养至 10d 时,两种培养方式下幼苗污染率已基本接近,但是局部无菌幼苗的污染率仍然高于完全无

菌培养方式下幼苗污染率。培养至 15d 时完全无菌培养的水稻幼苗污染率已明显高于局部无菌培养幼苗的污染率,前者为 27.9%,后者为 20.5%;培养至 20d 时,两种培养方式下的幼苗污染率继续上升,50mL 离心管局部无菌培养幼苗污染率由 15d 时的 20.8% 上升至 28.7%,而 500mL 三角瓶完全无菌培养幼苗的污染率上升更为明显,从 15d 时的 27.9% 上升至 48.1%。由此可见,尽管完全无菌培养苗在生长前期其相对污染率较低,但在生长后期其累积污染率却明显高于局部无菌培养法。

3 讨论

有机氮营养试验整个过程要求做到植物培养基质无菌,空气无菌,采用无菌苗以及培养装置与用具完全无菌等。现代无菌试验采用特定培养装置或无菌培养室,使植物有机氮营养研究难度越来越小,精度越来越高^[9]。本实验室植培台空气经孔径为 0.5 μ m 的超滤膜反复过滤后已达无菌要求,采用南大 704 硅橡胶 (RTV Silicone) 作为植株地上部与根系的隔离、固定材料可确保局部无菌培养试验顺利进行。前人试验结果亦表明,局部无菌试验过程中采用硅橡胶作为植株地上部与根系的隔离、固定材料有效而可行^[10-11]。

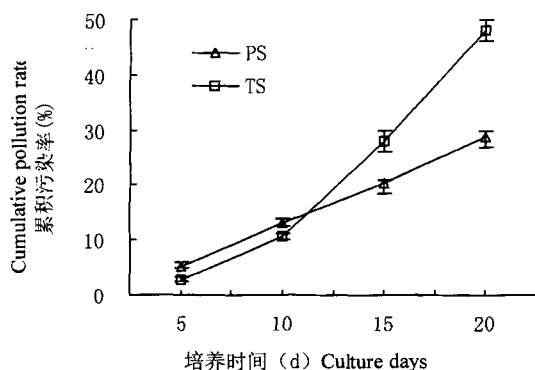


图 1 不同培养时间局部无菌培养和完全无菌培养水稻幼苗累积污染率的变化

Fig. 1 Changes of cumulative pollution rate of partially enclosed sterile and totally enclosed sterile rice seedlings cultured at different growth stages

从不同培养容积及培养介质对完全无菌水稻幼苗生长的影响来看,尽管 2000mL 与 250mL 容积培养对完全无菌水稻幼苗的株高、叶绿素含量的影响相对较大(表 1),但由于 2000mL 容积培养难以操作(体积过大,给更换营养液及菌检带来困难),而 250mL 容积对于水稻培养而言其高度相对偏低易致水稻茎叶伸出瓶口而相对增加稻苗的污染率,所以在实际操作中可以采用生长指标间差异不显著的 500mL 和 1000mL 容积进行培养。

培养容器大小与局部无菌水稻幼苗生长不存在必然关系且在培养容器过大时对无菌苗转移定植操作的影响较大(表 2),实验证明水稻幼苗局部无菌培养试验采用根系容积较小,易于操作的 50mL 离心管效果较好。此外,采用容积相对较小的离心管亦便于营养液灭菌、营养液更换、菌检及根分泌物收集等工作。

局部无菌培养幼苗在整个培养期间呈不断生长趋势。随着培养时间延长,用 50mL 离心管培养的局部无菌幼苗生长状况要好于用 500mL 三角瓶细砂完全无菌培养的水稻幼苗(表 5)。这可能与培养后期完全无菌培养幼苗株高过高,培养空间有限从而限制其生长有关。

此外,随着培养时间延长,完全无菌及局部无菌苗累积污染率均不断上升,但是完全无菌苗最终累积污染率明显高于局部无菌苗(图 1)。这可能与完全无菌苗后期培养时水稻幼苗过高(高过瓶口),更换营养液时容易污染有关。

综上所述,在植物有机营养研究中对于某些作

物,特别是高秆作物(如水稻)采用局部无菌培养试验方法是可行的,其与完全无菌培养试验法比较具有较大优越性。

参 考 文 献:

- [1] Nasholm T, Ekblad A, Nordin A *et al.* Boreal forest plants take up organic nitrogen[J]. *Nature*, 1998, 392(6679): 914-916.
- [2] Yamagata M, Ae N. Direct acquisition of organic nitrogen by crops [J]. *Japan Agric. Res.*, 1999, 33(1): 15-21.
- [3] 莫良玉, 吴良欢, 陶勤南. 植物有机营养研究中供试种子组合灭菌方法比较[J]. *浙江大学学报(农业与生命科学版)*, 2000, 26(6): 643-646.
- [4] 吴良欢, 陶勤南. 水稻有机营养试验供试无菌苗的筛选和培育方法[J]. *浙江农业大学学报*, 1997, 23(6): 711-715.
- [5] Hewitt E J. Sand and water culture methods used in the study of plant nutrition[M]. London: Eastern Press, 1966. 316-335.
- [6] 李影林. 培养基手册[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1991. 125.
- [7] 吉田昌一, 福尔诺 J H, 科克 D A, 等(北京市农业科学院作物研究所资料情报组译). 水稻生理学实验手册[M]. 北京: 科学出版社, 1975. 57-61.
- [8] 吴良欢, 陶勤南. 水稻氨基酸态氮营养效应及其机理研究[J]. *土壤学报*, 2000, 37(4): 464-473.
- [9] 高井康雄(敖光明等译). 植物营养与技术[M]. 北京: 农业出版社, 1988. 463-473.
- [10] Boeuf-Tremblay V, Plantureux S, Guckert A. Influence of mechanical impedance on root exudation of maize seedlings at two development stages[J]. *Plant and Soil*, 1995, 172(2): 279-287.
- [11] Renaud V G, Plantureux S, Guckert A *et al.* Influence of plant morphology on root exudation of maize subjected to mechanical impedance in hydroponic conditions[J]. *Plant and Soil*, 1998, 201(2): 231-239.