

# 浙江大学实验报告

课程名称：基础植物克隆技术与应用  
实验名称：胡萝卜的组织培养

专业：\_\_\_\_\_  
姓名：\_\_\_\_\_  
学号：\_\_\_\_\_  
日期：\_\_\_\_\_  
地点：\_\_\_\_\_  
指导老师：\_\_\_\_\_

## 一、实验目的和要求

- 掌握植物组织培养的基本理论和技术，明确组培的作用与应用。
- 掌握培养基的配制方法及无菌操作技术。
- 掌握培养结果的观察和统计方法。
- 掌握外植体污染的原因，种类和预防方法。
- 在实验中增长动手能力，培养对生物实验的兴趣。

## 二、实验内容和原理

## 三、实验材料与试剂

- 实验材料：新鲜胡萝卜
- 实验试剂：MS 培养基、蔗糖、琼脂、6-BA、2,4-D、NaOH、滴露、75%酒精、10%NaClO、无菌水

## 四、实验器材与仪器

超净工作台、天平、高压灭菌锅、移液枪、量筒、搪瓷杯、玻璃棒、电磁炉、培养管、镊子、解剖刀、酒精灯、无菌滤纸、pH 试纸、标签、记号笔。

## 五、操作方法和实验步骤

### 1、培养基配制：

胡萝卜培养基：MS+3%蔗糖+0.7%琼脂+0.2mg/L 6-BA +1mg/L 2,4-D，pH 控制在 5.8 左右

配制过程：

- ①用电子天平量取所需的 MS 粉，蔗糖和琼脂，用移液枪量取所需的植物激素加入搪瓷杯。
- ②向搪瓷杯中加入约 300mL 去离子水，搅拌并在电磁炉上加热至沸腾。
- ③向搪瓷杯中继续加入去离子水定容至 500mL。
- ④用 NaOH 溶液调节 pH 值至 5.8 左右。
- ⑤将配置好的培养基分装于培养管中，溶液约加至培养管三分之一的位置并盖好盖子。
- ⑥将培养管放入高压灭菌锅灭菌，灭菌完成后冷却。

## 2、接种

- ①将胡萝卜清洗干净，去除外皮，并切成大小适中的块状。
- ②用滴露溶液消毒 5min，并用清水漂洗 3 次。
- ③将准备好的胡萝卜块转入超净工作台，用 75%的酒精消毒 30s，再用无菌水漂洗 3 次。
- ④将胡萝卜块继续用 5%的 NaClO 溶液消毒 15min，再用无菌水漂洗 3 次。
- ⑤将消毒完成的胡萝卜块用无菌滤纸吸干表面水分，并切除表面在消毒中损伤的组织，最后将胡萝卜块切成薄片，大小约 1cm×1cm，切好的胡萝卜片中必须含有形成层。
- ⑥将胡萝卜片接种于培养基中，接种前用酒精灯火焰炙烤培养管管口，接种时将胡萝卜片平放于培养基表面。
- ⑦将接种好的胡萝卜置于培养室中培养。

培养环境：2000 勒克斯 24h 光照、湿度 25%

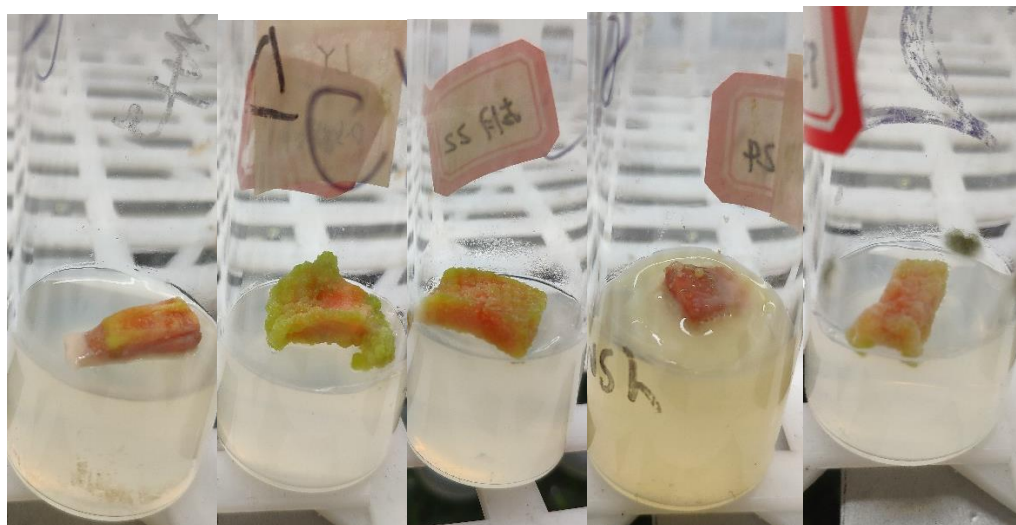
## 六、实验现象记录和处理

培养两周后：



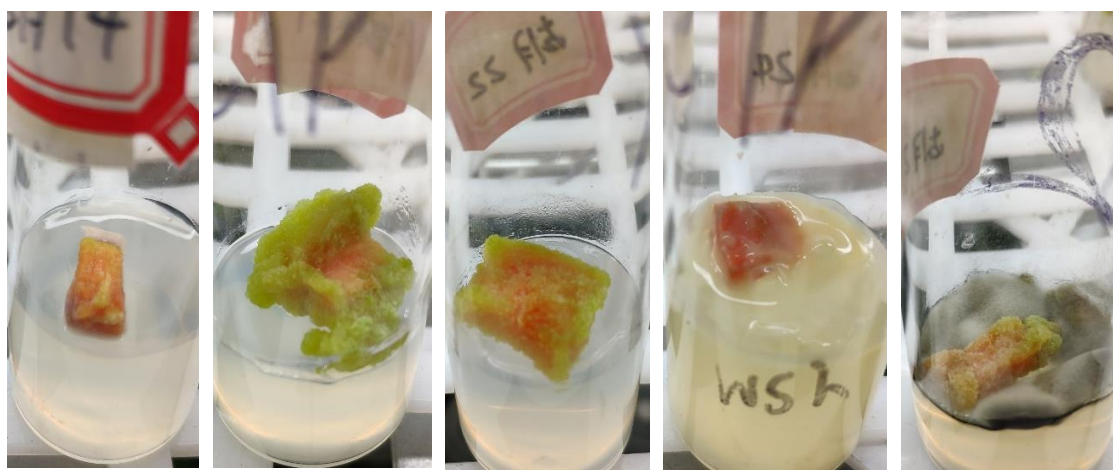
从生长情况可以看出，胡萝卜外植体在经过两周的培养之后，表面都已经有一些绿色的颗粒状组织产生，说明胡萝卜外植体已经开始诱导出愈伤组织。但是同时也发现，胡萝卜外植体存在污染的现象（上图四），可以发现胡萝卜外植体周围产生了一圈菌落，该培养管已经被污染。

培养四周后：



培养四周后，胡萝卜表面已经生长出了明显的愈伤组织（图中绿色组织），而在第二周发现的被污染的培养管中的外植体已经停止生长。同时也可以看到，第一管中的外植体虽然也诱导出了愈伤组织，但是生长情况明显不如其他三管，这可能与外植体选取的过小有关。

培养五周后：



培养五周后，胡萝卜表面生长出的愈伤组织更加明显，但是同时也发现原本没有出现污染的第五管却出现了真菌污染的情况，说明消毒工作还是存在缺陷。

## 七、实验结果与分析

污染率计算公式：

$$\text{污染率} = \frac{\text{污染外植体数}}{\text{接种外植体数}} \times 100\%$$

愈伤组织诱导率计算公式：

$$\text{诱导率} = \frac{\text{愈伤组织数}}{\text{接种外植体数}} \times 100\%$$

实验结果：

本次试验总共接种 5 管胡萝卜外植体，污染 1 管，污染率为 20%。其余四管均成功诱导出愈伤组织，诱导率为 80%。

胡萝卜培养结果				
接种数	污染数	污染率	诱导愈伤组织数	诱导率
5	2	40%	4	80%

实验结果分析：

八、讨论、心得