专业：计算机科学与技术

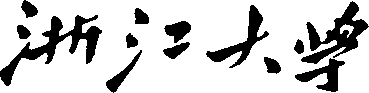
姓名：颜晗

学号：3200105515

日期：2023-6-14

地点：生物实验中心115室

指导老师：徐程

**实验报告**

装

订

线

课程名称： 基础植物克隆技术与应用

实验名称： 菜花的组织培养

## 一、实验目的和要求

1、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。

2、掌握培养基的配制方法及无菌操作技术。

3、掌握培养结果的观察和统计方法。

4、掌握外植体污染的原因，种类和预防方法。

5、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**

实验内容：

1. 花菜不定芽培养基的配置
2. 花菜的接种
3. 观察花菜培养过程的变化。

实验原理：

1. 植物体的根、茎、叶细胞一般都具有全能性，离体的植物细胞、组织和器官，在一定的营养和激素等条件下，
2. 胡萝卜的形成层部分全能性较高，分裂能力较强。因此我们切取的部分一定要包含形成层部分。
3. 细菌和真菌会污染培养基，导致植物组培失败。在实验过程中要注意严格执行杀菌消毒操作，使用消毒液，酒精，并在超净台进行操作来尽可能避免污染。

## 三、实验材料与试剂

1、实验材料：新鲜花菜

2、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：

菜花培养基：MS+3%蔗糖+0.7%琼脂+1.0mg/L 6-BA +0.2 mg/L NAA，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将花椰菜洗净，剪除头部花，保留接近头部的细小茎段。

②用滴露溶液消毒 5min，并用清水漂洗 3 次。

③将准备好的花椰菜茎段转入超净工作台，用 75%的酒精消毒 30s，再用无菌水漂洗 3 次。

④将花椰菜茎段继续用 5%的 NaClO 溶液消毒 15min，再用无菌水漂洗 3 次。

⑤将消毒完成的花椰菜茎段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。

⑥将花椰菜茎段接种于培养基中，接种前用酒精灯火焰炙烤培养管管口，接种时将花椰菜茎段插入培养基表面。

⑦将接种好的花椰菜茎段置于培养室中培养。 培养环境：2000 勒克斯 24h 光照、湿度 25%

**六、实验现象记录和处理**

**七、实验结果与分析**污染率计算公式：

# 污染外植体数

*污染率* = × 100%

# 接种外植体数

愈伤组织诱导率计算公式：

# 愈伤组织数

*诱导率* = × 100%

# 接种外植体数

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**