

四川大学实验报告

学 院 生命科学学院

专 业 生物科学

2022级4班

姓 名 何俊璁

同实验者

2023年5月22日

题目:自主实验——烟草的组织培养

1 实验目的

1. 全面理解植物组织培养的基本原理和实际操作技巧
2. 探索植物激素以及外植体如何影响植物的再分化能力

2 实验材料

1. 接种外植体：烟草叶；带叶片的烟草茎；烟草茎
2. 培养基成分：MS培养基+30g/L蔗糖+8g/L琼脂，PH=5.8
3. 植物激素
 - 0.5mg/L NAA+0.1mg/L 6-BA
 - 0.1mg/L NAA+0.5mg/L 6-BA
 - 0.5mg/L NAA+0.5mg/L 6-BA

3 实验内容

在本实验中，我们使用了烟草叶片、烟草茎+叶、烟草茎这三种外植体，并在三种不同的NAA与6-BA浓度组合下进行了培养：0.5mg/L NAA + 0.1mg/L 6-BA，0.1mg/L NAA + 0.5mg/L 6-BA，以及0.5mg/L NAA + 0.5mg/L 6-BA

NAA浓度(mg/L)	6-BA浓度(mg/L)	外植体
0.5	0.1	烟草叶片
0.5	0.1	烟草茎+叶
0.5	0.1	烟草茎
0.1	0.5	烟草叶片
0.1	0.5	烟草茎+叶
0.1	0.5	烟草茎
0.5	0.5	烟草叶片
0.5	0.5	烟草茎+叶
0.5	0.5	烟草茎

4 实验讨论

4.1 实验设计分析

本实验的设计主要考虑了两个主要因素：外植体的选择和植物激素的使用。对于外植体，我们选择了烟草叶、烟草叶+茎和烟草茎。这个选择的理由在于，叶片中可能含有较多的内源激素，这些激素可能会影响再分化的结果。而茎中的形成层一般分化程度较小，更有利于脱分化。通过比较这三种外植体的脱分化和再分化能力，我们可以更好地理解植物激素和组织类型如何影响植物再分化。

对于培养基中的植物激素，我们选择了NAA和6-BA。这两种激素的相互作用以及不同浓度对脱分化和再分化的影响是我们主要关注的点。NAA是一种生长素，能够刺激细胞的伸长和分化；6-BA则是一种细胞分裂素，可以促进细胞的分裂。我们通过调整这两种激素在培养基中的浓度，以探究他们在不同比例和浓度下对烟草组织再分化的影响。

4.2 实验过程记录

种植第二周（4月17日）

1. 不同外植体



图1 烟草叶+茎



图2 烟草叶



图3 烟草茎

2. 不同浓度植物激素（单位：mg/L）



图4 烟草叶+茎

0.5 NAA+0.1 6-BA



图5 烟草叶+茎

0.1 NAA+0.5 6-BA



图6 烟草叶+茎

0.5 NAA+0.5 6-BA

种植第七周（5月22日）

1. 不同外植体（0.5mg/L NAA+0.1mg/L 6-BA）



图7 烟草叶



图8 烟草叶+茎



图9 烟草茎

2. 不同浓度植物激素（单位：mg/L）



图10 烟草叶

0.5 NAA+0.1 6-BA



图11 烟草叶

0.1 NAA+0.5 6-BA

4.3 实验结果分析

4.3.1 实验结果

接种第二周，我们观察到：

茎与叶片组合的接种体经历了显著的脱分化和再分化过程，已有根部形成，但未观察到明显的愈伤组织。对于独立的叶片，其与培养基接触的基部逐渐脱分化，并形成了绿色的愈伤组织。烟草茎段在接种后展现出较强的脱分化趋势，其基部显著膨大，形成了愈伤组织。

针对同时接种烟草叶和茎的样本，我们发现只在植物激素浓度为0.5mg/L NAA+0.1mg/L 6-BA时，才触发根部的分化，否则仅观察到愈伤组织的形成。

在接种后的第七周，我们的观察如下：

与烟草叶+茎和烟草茎的接种比较，单独接种的烟草叶的生根能力显著强于前两者。此外，我们发现当接种烟草叶的培养基中NAA浓度高于6-BA时，其生根现象较为显著，而在6-BA浓度高于NAA时，观察到芽的分化更为活跃。

4.3.2 对植物脱分化再分化能力影响分析

实验结果表明，叶片对于根的再分化具有显著促进作用，当叶片和茎同时存在时，尽管其对根再分化的促进作用仍然存在，但在长期观察中，其效果不及单独的叶片带来的效果。相较之下，茎的脱分化能力显著超过叶片，带有叶片的茎的脱分化和再分化能力则显著优于其它两者。

同样，不同植物激素浓度的实验指出，当NAA的浓度高于6-BA时，更有利于根的分化。反之，当6-BA的浓度高于NAA时，更有利于芽的分化。然而，本实验范围内，植物激素对茎分化的影响并未明显呈现。

4.4 讨论

叶片对根的再分化有促进作用。这可能是因为叶片是光合作用的主要场所，通过光合作用，叶片能够产生和输送所需的能量和养分，从而支持根的再分化；除此以外，叶片中还含有较多的内源激素[1]（如生长素与细胞分裂素），可以促进根的再分化。而当叶片和茎同时存在时，茎可能会竞争一部分由叶片产生的能量和养分，因此其对根再分化的促进作用相对减弱。

茎的脱分化能力超过叶片，是因为茎内形成层分化程度不高[2]，容易脱分化。而当茎带有叶片时，叶片可能提供额外的内源激素，进一步促进茎的脱分化和再分化。

在植物激素方面，NAA是一种常见的人工合成的生长素，能够促进根的生长，因此更高的NAA浓度有利于根的分化；而6-BA是一种细胞分裂素，能够促进细胞分裂，特别是在芽中，所以更高的6-BA浓度更有利于芽的分化。[3]

对于植物激素对茎分化的影响，实验中没有观察到显著结果，可能是因为茎的分化可能受多种激素共同调控，而且其过程可能较为复杂[3]，不能仅仅通过改变NAA和6-BA的浓度就能显著影响。

参考文献

- [1] F. Skoog, "Chemical regulation of growth and organ formation in plant tissue cultured in vitro," in *Symp. Soc. Exp. Biol.*, vol. 11, 1957, pp. 118–131.
- [2] P. R. Larson, *The Vascular Cambium: Development and Structure*, Springer Science & Business Media, 2012.
- [3] T. Gaspar, C. Kevers, et al., "Plant hormones and plant growth regulators in plant tissue culture," *Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, vol. 32, pp. 272–289, 1996.