

植物生物学实验-植物生理部分

实验八 植物激素对植物 形态建成的作用

【实验原理】

- 植物各器官的分化，首先是细胞的极化过程。植物的每一个细胞都由受精卵分裂而来，即使高度分化的细胞也保留着遗传上的全能性，即在每一个细胞中包含着产生一个完整有机体的全部基因。
- 早在五十年代Skoog和崔澂就已发现在烟草组织培养中，**激动素**和**生长素**在愈伤组织产生和分化中的相互作用。愈伤组织的大量产生需要有生长素和激动素。
- **生长素 / 激动素的比率高**时，诱导产生根；**生长素 / 激动素的比率低**时，产生芽；在二者的比例居间时，愈伤组织占优势。

【实验目的】

- 理解植物激素对植物形态建成作用的重要性。
- 了解生长素 / 激动素比率的变化是决定诱导根、芽和愈伤组织形成的关键因素。

【实验材料】

- 生长健壮的烟草植株



【实验器材】

- (1)烧杯; (2)搅棒; (3)容量瓶; (4)量筒; (5)移液管; (6)三角瓶; (7)培养皿; (8)超净工作台; (9)培养室; (10)冰箱; (11)天平; (12)高压灭菌锅; (13)镊子; (14)手术刀; (15)手术剪; (16)酒精灯; (17)滤纸; (18)铝箔。

【实验步骤】

■ (1) 愈伤组织诱导培养基（RM-1965）

- ① 称取琼脂10克，放入盛有约500mL蒸馏水的量程为1升的烧杯中，加热溶解（注意加水体积不要太多）。
- ② 逐一加入(1) ~ (10)母液各10mL，边加边搅拌。
- ③ 称取蔗糖30克加入烧杯中，搅拌均匀后加蒸馏水至1000mL。
- ④ 用1M NaOH调pH为5.6-6.0。
- ⑤ 把溶液装入三角瓶，每瓶25mL，于高压灭菌锅中1.05MPa(121℃)蒸气压力下灭菌15~20分钟，冷却后备用。

■ (2) 分化培养基

除生长素和激动素按后面浓度比例加入外，其它与RM-1965培养基中成份相同。共分六个处理，各处理重复四个以上。调pH至5.6-6.0之间，分装及灭菌与诱导培养基相同。

编号	生长素浓度 (mg/mL)	激动素浓度 (mg/mL)
1	0	0
2	0	0.2
3	2	0
4	2	0.2
5	2	0.02
6	0.02	2

■ 愈伤组织的诱导

- (1) 茎段的消毒：取高约2尺的烟草植株地上部分，去顶，去叶，切成约7cm长的小段，用70%乙醇浸泡3min，无菌水冲洗一遍后，用10%安替福民浸泡5min，更换新的安替福民溶液再浸泡5min，然后用无菌水冲洗5次，置无菌培养皿中备用。
- (2) 烟草髓的制备：在无菌条件下于超净工作台上，用最小号打孔器小心的将烟草髓组织取出(可用小玻璃棒退出)。然后用手术刀将髓两端切去各0.5cm，再将中间一段切成2mm左右的小圆片(注意烟草形态的上下方向)。
- (3) 接种：用长柄镊子向每个三角瓶中接入髓片三个，使形态学的下端朝下，用铝箔纸包上瓶口。
- (4) 培养：置培养室中，28℃人工光照条件下培养。

■ 器官的再分化

在无菌条件下将诱导出(约3~4周)的烟草愈伤组织，用手术刀小心的切成 $2 \times 2 \times 2 \text{mm}^3$ 的小块，用长柄镊子转接于分化培养基中，置 28°C 培养室中人工光照培养，记录生长变化情况，五周后总结观察结果。

■ 结果记录

- (1) 愈伤组织出现的时间。
- (2) 芽和根出现的时间。
- (3) 统计根、芽及全苗数。

【注意事项】

- 1. 整个实验过程都需无菌操作。
- 2. 接种时烟草叶片的形态学下端朝下放置在培养基上。

【思考与作业】

1. 培养基中加入的蔗糖对愈伤组织的生长起什么作用？
2. 实验中除培养基需高压灭菌外，还有哪些实验用品需无菌处理？
3. 不同浓度比例的IAA和激动素对愈伤组织的诱导及其分化有何影响？
4. 实验材料烟草髓片接入瓶中时，要求形态学下端朝下，为什么？