

植物组织培养课件

培养基制备

- 配制母液
- 配制培养基



培养基母液配制

【知识点】

培养基的成分及其配方

植物生长调节物质的作用及其特点

常用培养基母液的配制方法

【技能点】

能配制常用培养基母液

素质要求：培养学生任务执行力，规范操作、注意安全；具有科学严谨、实事求是的工作态度；具有团队合作交流意识和生态环保意识。

一、培养基成分

培养基的成分主要包括水、无机营养、有机成分、植物生长调节剂、培养物的支持材料（如天然有机物、活性炭、抗生素、硝酸银、抗氧化剂、凝固剂等）。

1.水

代谢过程的介质和溶媒。

在配制过程中基本上用蒸馏,保证母液及培养基成分的精确性,防止贮藏过程中发霉变质。

在大量生产过程中,用的是自然水。

2.无机营养

植物所需浓度大于 0.5m mol/L 的矿质元素称为大量元素。

(N、P、K、Ca、Mg、S)

植物所需浓度小于 0.5m mol/L 的矿质元素称为微量元素。

(Fe、Mn、Cu、Mo、Zn、Co、B)

(“各无机营养的功能、供应形式” 部分内容自学教材)

①N。功能：是蛋白质、酶、叶绿素、维生素、核酸、磷脂、生物碱等的组成成分，是生命结构和功能物质不可缺少的。

②P。功能：是磷脂的主要成分，而磷脂又是细胞膜、细胞核的重要组成部分。磷也是核酸、ATP、辅酶等的组成成分。

③K。功能：K对碳水化合物合成、转移、以及氮素代谢等有密切关系，它具有活化酶的作用。

④Mg、S和Ca。

功能：Mg是叶绿素的组成成分，又是激酶的活化剂；

S是含硫氨基酸所构成蛋白质的组成成分。

Ca是构成细胞壁的一种成分，对细胞分裂、保护质膜不受破坏有显著作用

微量元素

功能：铁是一些氧化酶、细胞色素氧化酶、过氧化氢酶等的组成成分。同时，它又是叶绿素形成的必要条件。

如缺氮，会表现出一种花色素苷的颜色，不能形成导管；缺铁，细胞停止分裂；缺硫，表现出非常明显的褪绿；缺锰或钼，则影响细胞的伸长

3、有机成分

(1) 碳水化合物

糖类（**碳源、能量**，维持培养基一定的渗透压。）
使用浓度：2--3%，常用**3%**。

(2) 维生素类

种类：主要有 VB_1 （盐酸硫胺素）、 VB_6 （盐酸吡哆醇）、 VB_3 （烟酸）、 V_C （抗坏血酸）等。一般用量为0.1-1.0mg/L。

(3) 肌醇

构建细胞壁。一般浓度为100mg/L

(4) 氨基酸

常用种类：甘氨酸。在10-1000mg/L之间。

(5) 天然有机化合物

常用的有椰乳、番茄汁、马铃薯、水果**提取物**、酵母提取物等。一般使用浓度在**10-20%**。

二、培养基植物生长调节剂与辅助成分

1.植物生长调节剂

(1) 生长素类

常用的生长素有IAA、IBA、NAA、2,4-D等

其活性强弱为 $2,4-D > NAA > IBA > IAA$

功能：诱导愈伤组织形成，诱导根的分化,促进细胞分裂、伸长生长。在促进生长方面，根对生长素最敏感。在极低的浓度下，就可促进生长,其次是茎和芽。

(2) 细胞分裂素

是腺嘌呤的衍生物，包括6-BA（6 - 苄基氨基嘌呤）、Kt（kinetin激动素）、ZT（zeatin玉米素）等。其中ZT活性最强，但非常昂贵，

常用的是6-BA。细胞分裂素浓度为0.05-10mg/L

。

作用：①诱导芽的分化促进侧芽萌发生长，②促进细胞分裂与扩大。③抑制根的分化。

2.其他物质

(1) 琼脂

琼脂只是固化剂。90°C以上成为溶胶，冷却至40°C凝固

用量：在6-10g/L之间

(2) 活性炭

吸附性，通常使用浓度为**0.5-10g/L**。



(3) 抗生物质。种类：抗生物质有青霉素、链霉素、庆大霉素等，用量在5 ~ 20mg/L之间。作用：防止菌类污染。

(4) 抗氧化物。种类半胱氨酸，常用50~200mg/L的浓度，其它抗氧化剂有二硫苏糖醇、谷胱甘肽、硫乙醇、及二乙基二硫氨基甲酸酯等。

(5) 其它。有玻璃纤维、滤纸桥、海绵等，总的要求是排出的有害物质对培养材料没有影响或影响较小。

三、培养基母液配制

母液是欲配制液的浓缩液，这可保证各物质成分的准确性及配制时的**快速移取**，并**便于低温保藏**。一般配成比所需浓度高**10--100倍**的母液。

要用蒸馏水或重蒸馏水。称量及定容都要准确。
各种药品先以少量水让其充分溶解，然后依次混合。
母液配好后放入冰箱内低温保存，用时再按比例稀释。

配制方法常有两种：

一是可以将培养基的每种成分配成**单一化合物**的母液，便于配制不同种类的基本培养基时使用；

二是配成几种不同的**混合**溶液，一般配成大量元素、微量元素、铁盐、维生素等母液，其中维生素、氨基酸类可以分别配制，也可以混在一起。

1.基本母液配制流程

计算→药品称量→溶解→定容→分装→贴标签→冰箱保存。

验证**计算结果**正确后，根据操作流程配制母液。

注意事项：大量元素母液中 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 需单独配制，否则易发生沉淀。其次铁盐母液要先将 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 和 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 分别溶解，然后将 $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ 溶液缓慢倒入 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 溶液中，并充分搅拌并加热5-10min，使其充分螯合。

2.母液配制的计算

已知扩大倍数、规定量单位浓度和母液体积，求某一化合物的称取量。

$$\text{称取量} = \text{规定量单位浓度} \times \text{扩大倍数} \times \text{母液体积}$$

例1：若要配制 $\text{GaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的母液，其规定量浓度为440mg/L，要求扩大10倍，母液体积为250ml，求所需 $\text{GaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 的称取量。

解答：称取量 = $440\text{mg/L} \times 10 \times 250\text{ml}$

答：所需 $\text{GaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 称取量为1100mg。

3、母液的吸取量

$$\text{母液吸取量 (ml)} = \frac{\text{所配培养基体积 (ml)}}{\text{该母液的扩大倍数}}$$

例2：配制2L培养基，从10倍 $\text{GaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 母液中吸取多少毫升？

解答：

$$\text{母液吸取量 (ml)} = \frac{2000\text{ml}}{10} = 200\text{ml}$$

答：需要吸取200ml $\text{GaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 母液。

案例分析:

表1 MS 母液配制

母液种类	成分	规定量mg/L	扩大倍数	称取量mg	母液体积ml	配1L培养基吸取量ml
母液1 大量元素	KNO_3	1900	20		1000	
	NH_4NO_3	1650				
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370				
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440				
	KH_2PO_4	170				
母液2 铁盐	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.3	100		1000	
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8				

续表

母液种类	成分	规定量mg/L	扩大倍数	称取量/ mg/L	母液体积ml	配1L培养基 吸取量ml
母液3 微量元素	H_3BO_3	6.2	100		1000	
	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3				
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6				
	KI	0.83				
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25				
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025				
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025				
母液4 有机	甘氨酸	2.0	100		1000	
	烟酸	0.5				
	肌醇	100				
	VB_6	0.5				
	VB_1	0.1				

案例答案:

表1 MS 母液配制

母液种类	成分	规定量mg/L	扩大倍数	称取量 mg	母液体积ml	配1L培养基 吸取量ml
母液1 大量元素	KNO_3	1900	20	38000	1000	50
	NH_4NO_3	1650		33000		
	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	370		7400		
	$\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	440		8800		
	KH_2PO_4	170		3400		
母液2 铁盐	$\text{Na}_2\text{-EDTA}$	37.3	100	3730	1000	10
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	27.8		2780		

续表

母液种类	成分	规定量mg/L	扩大倍数	称取量/ mg/L	母液体积ml	配1L培养基 吸取量ml
母液3 微量元素	H_3BO_3	6.2	100	620	1000	10
	$MnSO_4 \cdot 4H_2O$	22.3		2230		
	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	8.6		860		
	KI	0.83		83		
	$Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$	0.25		25		
	$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	0.025		2.5		
	$CoCl_2 \cdot 6H_2O$	0.025		2.5		
母液4 有机	甘氨酸	2.0	100	200	1000	10
	烟酸	0.5		50		
	肌醇	100		10000		
	VB ₆	0.5		50		
	VB ₁	0.1		10		

4.植物生长调节剂母液

浓度一般配成0.1--1mg/ml，用时根据需要取用。

注意事项：

- IAA、IBA、GA先溶于少量的95%酒精中，再加水定容到一定浓度。
- NAA可溶于热水、强碱或少量的95%酒精中，再加水定容到一定浓度。
- 2,4-D可用少量NaOH溶解后，再加水定容到浓度。
- KT和BA先溶于少量1mol的HCl中再加水定容。
- 玉米素先溶于少量95%的酒精中，再加热水到一定浓度。

案例分析

例：配制0.1mg/ml NAA母液100ml。

计算，称取用量。 $0.1 \times 100 = 10\text{mg}$

溶解，加入少量95%酒精后，倒入60~80ml蒸馏水溶解

定容，100ml

装瓶，贴标签，放1~5℃冰箱中冷藏。

5.母液保存

需注明母液名称、用量(ml/L)或倍数或浓度(mg/ml)、配制时间及配制人，然后置于4°C冰箱中保存。母液保存过程中要定期检查，发现有沉淀出现或霉菌产生应弃之无用，重新配制。

注意事项：

- 1) 母液最好在2~4°C的冰箱中贮存，特别是有机类物质，贮存时间不宜过长，无机盐母液最好在一个月内用完，如发现有霉菌和沉淀产生，就不能再使用。
- 2) 制备母液和营养培养基时，所用蒸馏水或无离子水必须符合标准要求，化学药品必须是高纯度的（即分析纯）。
- 3) 称量药物采用高灵敏度的天平，每药品专用一药匙。

1、培养基成分：

- 水、无机盐、有机成分、植物生长调节剂、其他支持物质。

2、培养基成分的特点

3、母液配制流程

- 计算→药品称量→溶解→定容→分装→贴标签→冰箱保存。

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/255340004321011212>