

诱导胡萝卜愈伤组织实验的探究

□ 陈淑仪

广东省广州市知用中学 510180

摘要 以胡萝卜为材料就植物组织培养实验进行系列探究,为学校开展此项技术活动提供部分研究数据及方法。

关键词 组织培养 愈伤组织 正交实验设计

植物组织培养技术是新课标中要求中学生所掌握的一种现代生物技术,旨在从实验的角度让学生了解植物细胞的全能性。但这种实验在以往中学教材中根本没涉及,对老师而言也相当陌生,而且新教参提供的实验数据模糊,加上实验时间跨度大,部分学校条件制约等,让不少老师望而生畏,组培实验的实际开出率和成功率是极低的。我们开展了胡萝卜愈伤组织诱导的实验探究,一方面让学生掌握组织培养相关的实验操作以及科学实验常用的正交实验设计方法,了解植物组织培养的原理,另一方面也让学生真实地感受现代生物技术与生产生活的联系,体验现代生物技术给人类生活带来的变化。现将实验介绍如下:

1 实验原理

植物体的根、茎、叶细胞一般都具有全能性,即每个细胞都有发育成完整植株的全部遗传信息。在一定的营养和激素下,可以脱分化形成愈伤组织。

2 材料与方法

(1) 植物材料

胡萝卜。

(2) 实验方法

确认变量:实验培养基采取各营养和激素水平是实验自变量,各培养基培养产生的结果是因变量。

假设与预期:我们假设在控制实验植物材料和实施步骤相同后,实验的自变量是影响因变量的唯一因素,测定因变量变化可推测自变量和因变量之间的关联情况。

实施步骤:①以正交实验方法设计不同诱导培养基配方并配制,调整 pH 值,灭菌备用。实验

因子及相应水平见表 1。②将胡萝卜用自来水充分洗净削去外皮切成 10cm 段,置于超净工作台上用 75% 酒精浸洗 30s,无菌水冲洗 2~3 次,再用 20% 次氯酸钠溶液处理 30min,无菌水冲洗 5~8 次。③用无菌解剖刀把胡萝卜形成部分切成 1cm³/块,接种于诱导培养基上,每瓶接种 6 个外植体,10 瓶重复。20d 后统计愈伤组织诱导率(注意避免污染)。

表 1 正交实验因素及相应水平

因素/水平	基本培养基	2,4-D(mg/L)	KT(mg/L)
1	MS	0	0
2	1/2MS	1	0.5
3	1/4MS	2	1.5
4	1/8MS	4	2.5

注:上述培养基中均加入 30g/L 蔗糖,6g/L 琼脂,pH5.8~6.0,培养温度 28℃~30℃,避光培养。

3 结果与分析(结果见表 2)

从表 2 可以看出,各因素的极差 |R| 大小依次为:2,4-D > KT > 基本培养基,即 2,4-D 和 KT 的极差分居第一、二位,是影响愈伤组织诱导的关键性因子,而基本培养基的影响较小,说明大量元素不是愈伤组织诱导的主要因素。另外,单一生长素即可诱导愈伤组织产生。2,4-D 使用的浓度范围较大,从 1mg/L~4mg/L 都可诱导产生愈伤组织,而且可以明显看出,随着 2,4-D 浓度的增大,愈伤组织诱导率逐渐升高。

KT 的使用范围从 0.5mg/L~2.5mg/L,都可诱导产生愈伤组织。KT 浓度为 0.5mg/L 时达到最大的愈伤组织诱导率。但随着 KT 浓度的增大,愈伤组织诱导率有逐渐降低的趋势,说明 KT 的浓度不可过高。2,4-D/KT 比值是影响愈伤组织形成的关键因素。本实验中,使用的 2,4-D/KT

表 2

实验号	基本培养基	2,4-D (mg/L)	KT (mg/L)	诱导率 (%)
1	MS	0	0	3.3
2	MS	1	0.5	36.6
3	MS	2	1.5	38.3
4	MS	4	2.5	33.3
5	1/2MS	0	0.5	6.6
6	1/2MS	1	0	21.6
7	1/2MS	2	2.5	28.3
8	1/2MS	4	1.5	41.6
9	1/4MS	0	1.5	5
10	1/4MS	1	2.5	11.6
11	1/4MS	2	0	35
12	1/4MS	4	0.5	43.3
13	1/8MS	0	2.5	5
14	1/8MS	1	1.5	30
15	1/8MS	2	0.5	46.6
16	1/8MS	4	0	36.6
各水平之和	T1	111.5	19.9	96.5
	T2	98.1	99.8	133.1
	T3	94.9	148.2	114.9
	T4	118.2	154.8	78.2
各水平平均值	X1	27.875	4.975	24.125
	X2	24.525	24.95	33.275
	X3	23.725	37.05	28.725
	X4	29.55	38.7	19.55
极差 R	5.825	33.725	13.725	

诱导率 = (形成愈伤组织的外植体数/接种外植体数) × 100%

的比值范围较大。从研究结果可以看出,随着 2,4-D/KT 比值的增大,愈伤组织诱导率有逐渐升高的趋势。2,4-D/KT 比值在 2~4 的范围内时,愈伤组织诱导率基本维持在 35% 左右。

4 实验总结

2,4-D 和 KT 的绝对用量以及 2,4-D/KT 的比值,都影响着胡萝卜愈伤组织诱导率的高低。

该实验用具体实验情景展示了探究实验过程的步骤和设计中应该遵循的控制性原则、对照性原则和重复性原则。通过实验,学生亲身体会了植物组织培养的基本实验流程,加深了认识,增强了学习生物科学的兴趣,同时通过对实验结果以及实验过程中所出现的问题的分析和讨论,加深了对激素的生长调节作用知识的理解和再认识。正交实验方法的设计运用,开拓了学生的实践思路。

参考文献

- 1 杜荣骞. 生物统计学. 北京: 高等教育出版社, 1985: 479
- 2 李浚明. 植物组织培养教程. 北京: 北京农业大学出版社, 1992: 40-43

(收稿日期: 2007-09-12)

从海带中提取碘的探究实验

□ 陶金姣

北京市苹果园中学 100041

从海带中提取碘的实验是高中新课标选修 6《实验化学》教材中的实验,我将此实验改成用蒸馏水浸泡海带,从海带的浸泡液中获得碘。具体的过程如下:

(1) 实验步骤

①取食用干海带,用刷子刷去表面粘附物,剪成小块。称 3g 干海带块 9 份,分别放在 9 个贴好 4d、3d、2d、1d、6h、4h、2h、1h、30min 标签的小烧杯中,按不同时间往对应小烧杯中加蒸馏水,约 25mL~30mL。

②将不同浸泡时间的海带未加热和加热后分别间隔 5min 取样实验,每次分别取 1mL (约 22 滴) 浸泡液于试管中,滴加 5 滴稀硫酸,再加 1mL (约 22 滴) 3% 的 H_2O_2 溶液振荡,加 1mL (约 22 滴) CCl_4 溶液振荡,观察现象。

(2) 实验结果

实验后将试管并排放置在试管架上观察碘的 CCl_4 层的颜色。观察可发现,用蒸馏水浸泡海带时间越长时,碘的 CCl_4 层的颜色越深,说明溶于水中的碘越多。同一时间的浸泡液按上述要求做实验,实验结果如图 1。即在加热 5 到 10min 时 CCl_4 层的颜色最深。

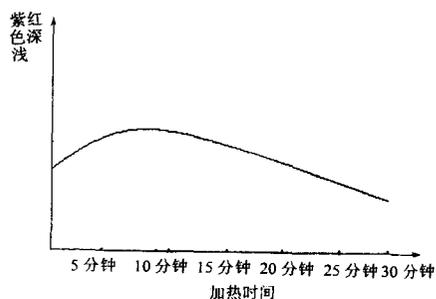


图 1

(3) 实验结论

建议做此实验时,将干海带用蒸馏水浸泡 1d 以上(实验用 1d 即可),加热 10min 后,取浸泡液做海带中提取碘的实验。实验结束后,注意回收碘的四氯化碳溶液。

(收稿日期: 2007-09-10)