**实验二 无菌苗的培养**

**一、实验目的**

学习外植体的灭菌与接种方法，熟悉无菌操作技术，为下一次实验培养无菌苗。

**二、实验内容**

外植体的灭菌与接种：分4组，合做1份，每人接种1瓶。

**三、实验用品**

1. 仪器与器皿：超净工作台4台，光照培养箱；灭菌的100ml烧杯或三角瓶10个、长镊子10把、培养皿10套、吸水纸条4份、牙签若干、无菌1.5ml离心管若干；酒精灯6-8个、废液缸6-8个。

2. 材料与试剂：去皮甜瓜籽仁250粒，或烟草种子若干，75%乙醇，1%氯化汞溶液300ml，MS基本培养基32瓶，灭菌蒸馏水8-10份（每份200ml），75%乙醇。

**四、实验方法**

**1、**实验前的准备：

将酒精灯、废液缸和镊子等用具置于超净工作台中，打开风机，再开紫外灯照射25min，然后关闭紫外灯，开大风机。

2、实验操作：

在自来水管下将手洗净，再用酒精棉（75%乙醇浸泡）擦拭双手，然后进入超净台进行如下操作；
1）点燃酒精灯；

2）将甜瓜籽或烟草种子置于小烧杯中，加入0.1or1%氯化汞（或次氯酸钠）溶液20~25ml，不时摇动灭菌约10/8min；（如为烟草，则所有操作均在1.5ml离心管内完成，所加试剂量0.5~1ml）

3） 用灭菌水漂洗5次，最后用吸水纸吸干水分，用镊子夹取接种在MS培养基上，每瓶接种5-10粒；（如为烟草，则用牙签沾取种子接种在培养基上。）

4） 用封口膜封口，在三角瓶壁上标好姓名和日期，置于25℃、光照条件下培养。

以上所有操作尽量在酒精灯前进行。

**五、观察记录**

2~3天后开始观察培养物的萌发与污染情况。

**六、实验报告：**每人一份。

1. 实验目的

2. 实验方法

3. 实验结果与分析

3.1 用流程图表示甜瓜（或烟草）无菌苗的培养过程。

3.2 统计成苗率与污染率，分析引起污染的原因。