

产品使用说明书 Product Manual

缺磷拟南芥营养液（干粉+浓缩粉）

品牌	Chinook 钦诺克	
货号	CN260866	
中文名称	缺磷拟南芥营养液（干粉+浓缩粉）	
英文名称	Arabidopsis Thaliana Nutrient Solution(-P)(Powder)	
产品别名	缺磷拟南芥营养液(干粉+浓缩液)、缺磷拟南芥营养液	
用途	用于拟南芥营养研究与无土栽培	
营养液基盐成分 (mg/L) :		
硫酸钾 K_2SO_4		21.75
硫酸镁 $MgSO_4$		60.0
硝酸钾 KNO_3		202.0
硝酸铵 NH_4NO_3		40.0
硼酸 H_3BO_3		1.546
四水氯化锰 $MnCl_2 \cdot 4H_2O$		0.396
七水硫酸锌 $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$		0.575
五水硫酸铜 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$		0.125
氯化钾 KCl		3.725
六水氯化钴 $CoCl_2 \cdot 6H_2O$		0.035
四水合二钼酸铵 $(NH_4)_2MoO_4 \cdot 4H_2O$		0.093
乙二胺四乙酸铁钠 $FeNaEDTA$		14.68
pH		5.7
钙盐工作液浓度 (mg/L) :		
四水硝酸钙 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$		472.0
1000×钙浓缩液浓度 (g/L) :		
四水硝酸钙 $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$		472.0
产品组成:		
货号与规格	组成	
CN260866-250L	营养液干粉 90g+钙浓缩液干粉 125g	

CN260866-500L

营养液干粉 180g+钙浓缩液干粉 250g

用法:

1.配置 1000×钙浓缩液:

称取钙浓缩液干粉 47.2g 加入 100mL 蒸馏水中 (也可按照比例配置其它容量), 配置成 1000×钙浓缩液, 可根据实验需要和储存时间长短决定是否进行过滤除菌。

2.称取营养液基盐干粉 0.34g(精确值 0.344925g), 加入 999mL 水中, 搅拌溶解, 滴入配置好的 1000×钙浓缩液 1mL, 混匀, 测试 pH 值, 如有必要则调节至 5.7, 即为 1L 工作液。

拟南芥培养方法:

拟南芥生长的适宜温度白天为 22°C-24°C, 夜温 20-22°C, 适宜的湿度为 60-70%, 生长期适宜的光强为 150 μ mol \cdot S⁻¹ \cdot M⁻²(6 支 36W 日光灯下 35cm 处测得)。幼苗期不耐高光强, 可适当遮荫。光质也较重要, 应选用植物生长专用的日光灯。拟南芥属于长日照植物, 在日照长于 12 小时下才会开花, 一般拟南芥生长室的日照长度定于 14-16h 为佳。

1. 准备育苗培养基: 2.29 g/L 1/2 MS, 蔗糖:10 g/L, pH5.7, 琼脂:0.7-0.8 %。121°C 灭菌 15 分钟, 60°C 左右在超净台内分装入直径 100mm 培养皿 (25 mL)。

2. 种子消毒: 种子放在 1.5mL 离心管中, 加入 1 mL 的种子消毒液 (2% NaClO (市售 10% 溶液) 和 0.1% Triton-X100), 消毒 10 min (移液器反复吸吹), 用无菌水洗 5 次以上 (移液器反复吸吹)。

3. 点种: 种子里可多加些水, 用移液器吸取种子, 均匀铺到培养皿上, 可根据需要选择种植的密度 (一般不超过 30 株, 不要太密, 否则根缠在一起不好移苗), 用移液器吸除培养基表面上的水, 并置于超净台内吹干培养皿表面上的水, 密封盖子, 4°C 暗处理两天后 (春化), 移到光照培养箱 (22 °C, 光周期 12 h), 两周后再移苗。若种子较密, 光照培养箱中生长 1 周则要移苗, 且需适当遮荫。

4. 移苗: 将蛭石与珍珠岩按 3:1 的比例混好作为基质, 装入营养钵, 将营养钵放入不透水的平底塑料育苗盘, 在育苗盘中加水至 3 cm 高, 水就会通过营养钵的底孔渗入, 待基质湿透即可移苗。用镊子轻轻从培养皿中连根拉出小苗, 把根平放在蛭石表面, 用镊子把根轻轻压入基质内, 移苗后用保鲜膜覆盖营养钵 3-4 天。从苗期直至开花, 每隔 2-3 天浇一次水, 始终保持育苗盘内有 1-3 cm 的水层, 整个生长期浇 3-4 次拟南芥营养液。在收种期, 不要浇水, 保持育苗盘干燥。

5. 收种: 在种荚变黄, 变干时收种。将种子抖落容器内, 收集后用筛网除去杂质, 将种子装入小纸袋中, 标记好, 置于干燥的环境中待种子进一步干燥后, 封存于 1.5mL 离心管。

拟南芥的转化方法:

渗透培养基配制: 2.29g/L 1/2MS (大量元素减半); 5% 蔗糖; 0.5% MES; 用 KOH 调至 pH5.7; 再加: 10 μ L 的 6-BA 母液(1 mg/mL, 乙醇溶解); 200 μ L Silwet L-77(在蔗糖溶解后加入, 否则蔗糖很难溶解)。经转化的拟南芥, 种子收获后需在相应的抗性平板上筛选转化子。

1. 准备好已转化了相应质粒的农杆菌菌液 10 mL, 转入 200 mL 大瓶过夜培养, 农

杆菌液 OD600 在 1.2-1.6 即可。

2. 室温 5000 rpm 离心 15 分钟。

3. 弃上清，将农杆菌沉淀悬浮于相应体积的渗透培养基里，OD600 在 0.8 左右为宜。

4. 直接将拟南芥的花浸入农杆菌悬浮液，持续几秒钟，取出再浸入，反复 3-5 次。浸染后的植株平放在带有盖子的育苗盘中，或者用保鲜膜盖好，以保持湿度。移入恒温室避光培养 24 小时，第二天揭膜，正常光照培养。

转化子的筛选：

1. 种子消毒：用种子消毒液（2% NaClO 和 0.1% Triton-X100）处理 10 分钟（移液器反复吸吹）；然后用无菌水洗 5 次（移液器反复吸吹）。

注意：消毒时间不宜过长，否则影响种子发芽。

2. 处理后的种子用移液器均匀涂布在固体筛选培养基表面。不宜过密，切忌将种子堆叠在一起。如种子特别容易污染，可在固体筛选培养基中加入工作浓度为 250 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的头孢霉素抑制农杆菌的生长。

3. 4 $^{\circ}\text{C}$ 避光春化 2 到 3 天，移入 22 $^{\circ}\text{C}$ 恒温箱培养。

4. 观察种子在固体筛选培养基上生长情况，相比于其他萌发的幼苗，具有长根的幼苗可确定为转化子时，将转化子移栽至浇透拟南芥营养液的人工基质上培养。

储存方式：

营养液基盐干粉：常温运输，2-8 $^{\circ}\text{C}$ 密封保存，贮存于避光、干燥处；保质期三年。

钙盐浓缩粉：常温运输，26 $^{\circ}\text{C}$ 以下室温密封保存，贮存于避光、通风、干燥处；保质期三年。**注意：钙浓缩液干粉极易吸水潮解，要特别注意密封保存。**

相关产品：

CN260866 缺磷拟南芥营养液(干粉+浓缩粉)与 **CN260867 缺磷拟南芥营养液(干粉+浓缩液)**，营养成分完全相同，不同之处在于：前者，钙盐为粉末形式；后者，钙盐为液体形式。

注意事项：

1. 本品若作为复合肥使用，可以采用天然水配制；若作为无土栽培营养液需用人工软水配制，如蒸馏水。

2. 本品营养液基盐干粉已调 pH 值为 5.7(25 $^{\circ}\text{C}$)，但由于水质、温差等因素，配置时建议测试 pH 值，并根据需要调节 pH 值。

3. 影响植物生长的因素有很多，如光照、温度、湿度、病虫害等，实验前请充分考虑环境因素。

4. 打开包装的产品务必及时配制工作液，配制好的工作液只能短期常温储存。

5. 高倍母液低温会有析出，完全溶解后再配制工作液。

6. 营养液缓冲体系较小，用水偏酸或偏碱都会对营营养液造成影响。

7. 称量时注意粉尘，佩戴口罩操作以避免引起呼吸道系统不适。

8. 干粉培养基使用后立即旋紧瓶盖，避免吸潮结块。贮存于避光、干燥处。**钙浓缩液干粉极易吸**



水潮解，要特别注意密封保存，可在瓶外加一层自封袋，并且远离火种、热源。未开封产品保质期三年。开封后根据存放条件的不同保质期存在一定的差异

废物处理：

检测之后带菌物品置于 121℃下高压灭菌 30 分钟后处理。