

产品使用说明书 Product Manual

缺钙拟南芥营养液（干粉）

品牌	Chinook 钦诺克
货号	CN260863
中文名称	缺钙拟南芥营养液（干粉）
英文名称	Arabidopsis Thaliana Nutrient Solution(-Ca)(Powder)
产品别名	缺钙拟南芥营养液
用途	用于拟南芥营养研究与无土栽培
营养液基盐工作液浓度（mg/L）：	
磷酸二氢钾 KH_2PO_4	34.0
硫酸镁 MgSO_4	60.0
硝酸钾 KNO_3	202.0
硝酸铵 NH_4NO_3	120.0
硼酸 H_3BO_3	1.546
四水氯化锰 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.396
七水硫酸锌 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.575
五水硫酸铜 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0.125
氯化钾 KCl	3.725
六水氯化钴 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0.035
四水合二钼酸铵 $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0.093
乙二胺四乙酸铁钠 FeNaEDTA	16.8
pH	5.7
产品组成：	
货号与规格	组成
CN260863-100L	营养液干粉 45g
CN260863-250L	营养液干粉 110g
CN260863-500L	营养液干粉 220g
用法：	
称取本品 0.44g(精确值 0.439295g)，加入 1000mL 水中，搅拌溶解，混匀，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/L 的 6-BA 母液(1 mg/mL, 乙醇溶解); 200 μ l/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. 制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°C避光春化 2 到 3 天，移入 22°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°C 密封保存，贮存于避光、干燥处；保质期三年。

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. 本产品已调 pH 值为 5.7(25°C)，配置时无特殊要求无需再做调整。

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。

未开封产品保质期三年。开封后根据存放条件的不同保质时间存在一定的差异

废物处理：

检测之后带菌物品置于 121°C下高压灭菌 30 分钟后处理。