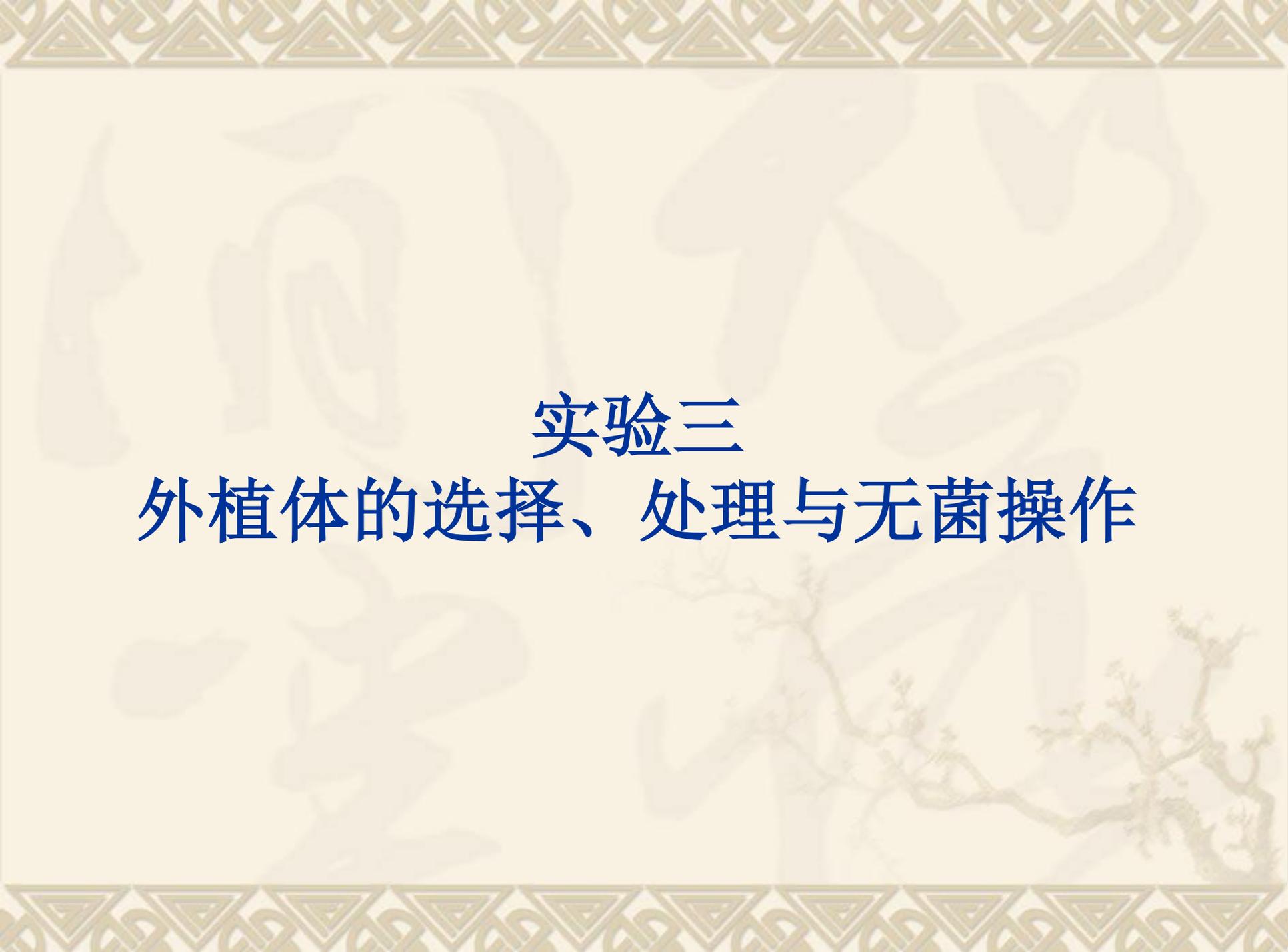


实验三

外植体的选择、处理与无菌操作



一、目的与要求

1. 掌握外置体选择、处理、灭菌技术；
掌握无菌操作基本程序和技术。
2. 每人接种5瓶（3瓶自主选择的材料，2瓶无菌材料），标注上班级、组次、姓名、日期。

二、材料与用具

1. 实验材料：现采的植物材料、无菌组培苗等。
2. 实验试剂：75%的酒精、消毒试剂、无菌水、洗洁精、吐温等。
3. 实验用品：超净工作台、高温消毒器、灭菌A4纸、盛有培养基的培养容器、接种器械（解剖刀、剪刀、镊子等）、脱脂棉、纱布、酒精喷壶、口罩、发套、鞋套、工作服等。

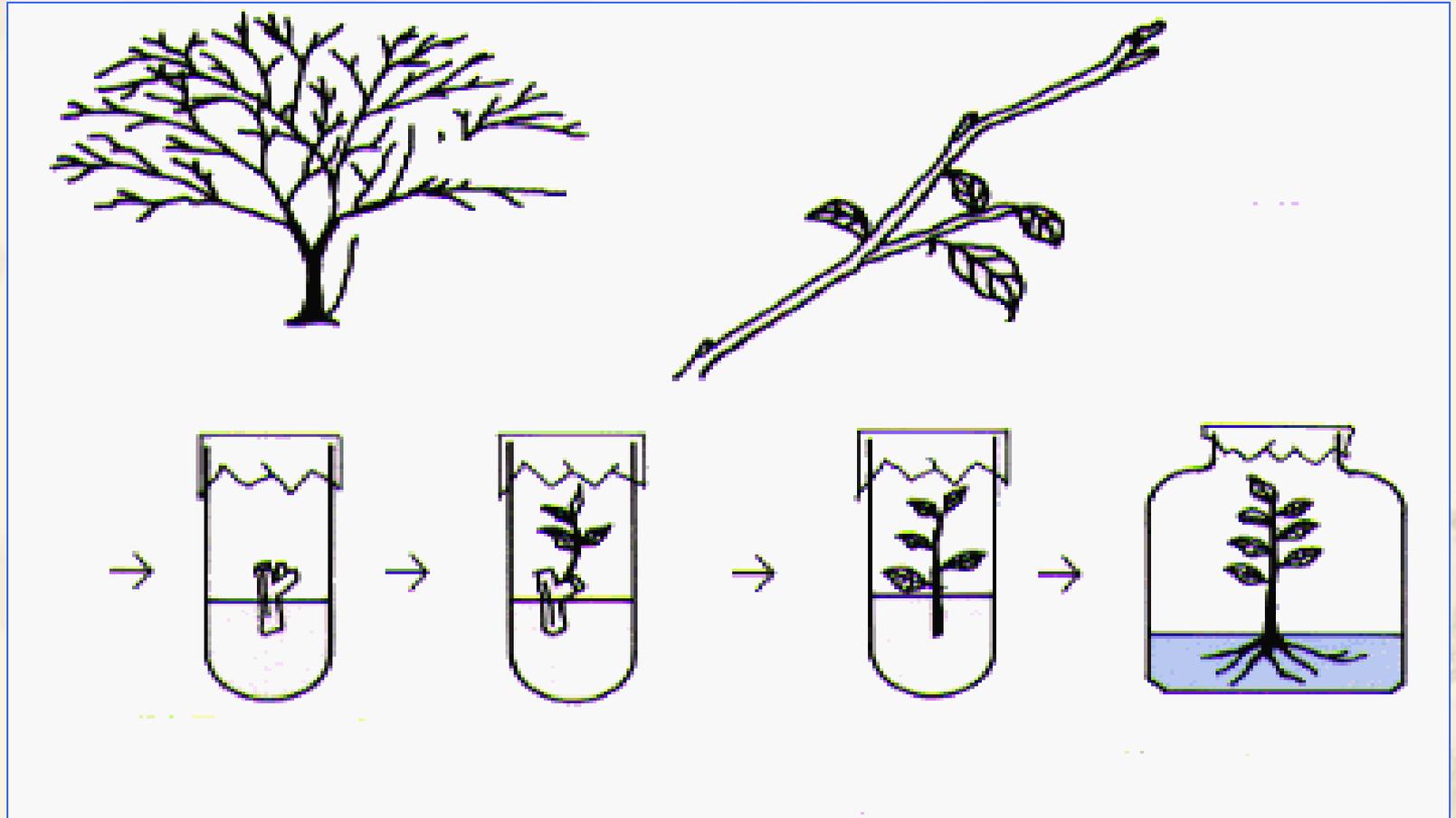
三、方法和步骤

1. 洗净双手，在缓冲间换好实验服、口罩、头套及鞋套等，进入接种室；
2. 用75%的酒精喷布并擦拭超净工作台内壁，打开接种间及超净工作台上的紫外灯杀菌30min以上；
3. 关闭紫外灯，打开工作台内风机，吹风10min左右。

三、方法和步骤

4. 培养材料的灭菌处理；
5. 打开培养容器，将培养材料接入培养基中，封口，并在培养容器上标注材料名称、日期；
6. 操作完毕及时清理工作台，打开接种间及超净工作台上的紫外灯杀菌30min以上，为进行下一轮操作做好准备。

植物茎段培养模式

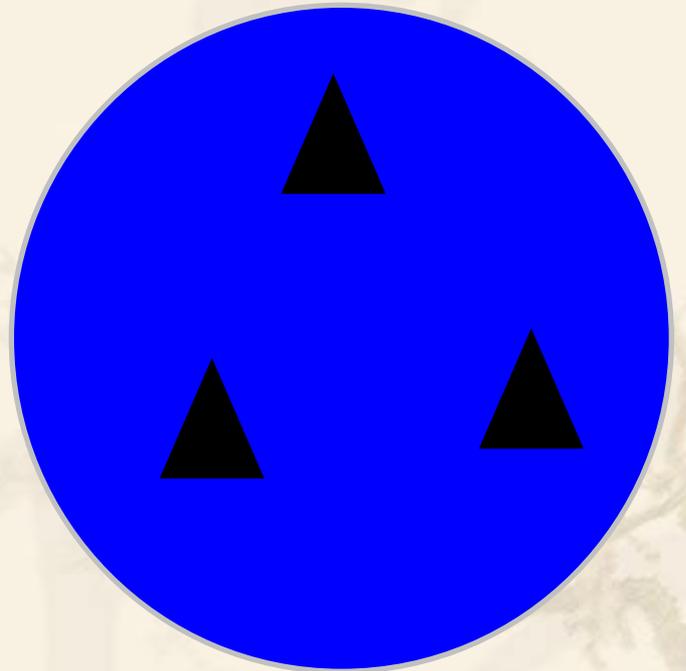
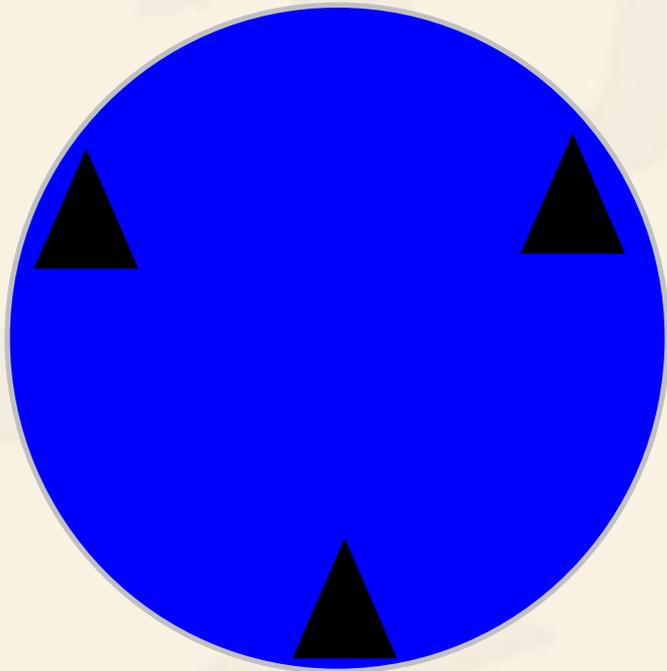


四、安全事项

1. 操作前检查电源插头是否结实，以防接种时漏电；
2. 操作过程中要防止酒精喷入眼睛，化学灭菌剂接触皮肤；
3. 操作过程中要防止被灼烧后的镊子、剪刀、手术刀等烫伤。

五、接种注意事项

- ❖ 接种操作时要端座，不要俯身工作台，口鼻远离接种区，不要讲话。
- ❖ 接种过程中手臂切忌从培养基、无菌材料、接种器械等物品上方经过，以免引起污染。
- ❖ 当培养容器敞口时，应倾斜瓶口防止污染物进入培养容器。
- ❖ 接种于固体培养基上的材料要求既要和培养基达到最大面积的接触，又要避免完全嵌入培养基。
- ❖ 单瓶内接多个材料时，应使之均匀分散开。



作业

- 1.材料消毒的步骤。
- 2.接种的注意事项。