

一种简易可行的拟南芥水培新方法

袁昕, 赵小英, 刘选明, 邓克勤, 汪启明, 唐冬英, 伍贤进

(湖南大学 生命科学与技术学院, 中国湖南 长沙 410082)

摘要: 在国内外拟南芥水培方法研究基础上, 结合实际情况, 设计一套适合于实验室的需要, 能就地取材自己制作的水培装置。这套装置主要由两部分组成: 播种子种的塑料管和作为支撑物的不锈钢丝网, 盛溶液的容器。实验证明两个拟南芥品种在这种水培装置中生长良好, 且培养的费用低, 易于管理等。由于有钢丝网作支撑, 拟南芥能够顺利完成整个生长周期并且结实饱满, 种子萌发率高。

关键词: 拟南芥; 水培; 改良的 Hoagland 溶液; 萌发率

中图分类号: Q94-331

文献标识码: A

文章编号: 1007-7847(2006)04-0324-04

A Simple, Feasible Hydroponic New Method for Planting *Arabidopsis thaliana*

YUAN Xin, ZHAO Xiao-ying, LIU Xuan-ming, DENG Ke-qin, WANG Qi-ming, TANG Dong-ying, WU Xian-jin

(College of the Life Science and Technology, Hunan University, Changsha 410082, Hunan, China)

Abstract: Based on hydroponic method in the home and abroad, a hydroponic system was designed for planting in laboratory. Local materials can be used to manufacture this hydroponic device. This device is made up of two parts: some seed-holders and stainless steel net as support, a tank with fit cover. Results showed that two kinds of *Arabidopsis* grew well in this hydroponic system. Furthermore, this system has the advantage of its low cost of planting and easy maintenance. Owing to the support of steel net, *Arabidopsis* plants can complete their whole life cycle successfully and can bear lots of normal seeds with characteristic of high germination rate.

Key words: *Arabidopsis thaliana*; hydroponic culture; improved hoagland solution; germination ratio

(Life Science Research, 2006, 10(4): 324 ~ 327)

拟南芥作为一种模式生物广泛应用于植物学研究中, 其生长受到光照、温度、养分等等生长环境的影响, 它生长的状况直接影响到实验的进展, 如实验的重复性、突变体材料的获得等。然而许多拟南芥生长环境条件都不大尽人意, 因此, 给

拟南芥提供一个良好的生长环境以及控制它生长的条件一致显得很重要。在同样情况下, 水溶液培养拟南芥能较好做到这一点。

用含有一定量植物所需养分的水溶液培养植物的方法称为溶液培养法或水培法。水培法的优

收稿日期: 2006-07-13; 修回日期: 2006-08-29

基金项目: 湖南省自然科学基金资助项目(851228001)

作者简介: 袁昕(1979-), 男, 湖南临湘人, 硕士研究生; 刘选明(1963-), 男, 湖南新宁人, 湖南大学教授, 博士, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事植物细胞分子生物学等方向的研究, E-mail: sw_xml@hnu.cn.

点在于比土壤种植提供了一个更统一规范且可复制的培养系统,拟南芥生长在水溶液中营养成分可以比较精确的控制,培养出健壮而整齐一致的植株^[1]。另一方面,生长在水溶液的拟南芥能容易地观察和收集到包括根在内的各部分组织^[2]。国内外已经有的一些水培养方法,大多因为培养的装置不易购得或是植物不能完成整个生长周期等限制条件而不便于进行。在这里我们将介绍一种较适用的,能就地取材自己制作装置的水培方法。

1 材料和方法

1.1 实验材料

拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的两个株系:野生型 (*col-4*); 隐花色素基因 CRY1 和 CRY2 的双突变体 (*cry1cry2*)。

1.2 方法

1.2.1 种子春化: 将拟南芥种子轻放于 0.1%

的琼脂糖凝胶上,于 4 °C 冰箱里放置 4 d。

1.2.2 水培装置的制作: 购置大小一致并且能配套的塑料盆子和盖子,大小由实验需要来定。为了防止拟南芥生长时水溶液里生长藻类等微生物,水培容器要遮光,由于一般难以购买到不透光且适合做水培的容器,需准备用于遮光的铝箔纸和铝箔胶。另购置不锈钢丝网,孔径要比较小,约一到两个毫米。

具体制作过程: 首先在盆子和盖子的外面包裹上一层铝箔纸,并用铝箔胶将缝隙处粘紧,再用打孔器或烧红的铁棒在盖子上均匀钻一些比 1.5 mL EP 离心管稍大的圆孔。接下来准备数个 1.5 mL EP 管,将管径大小一致的那一段剪下来,长度约为 1.5 cm。然后将钢丝网剪成边长约 5 cm 的正方形小块,用剪成的小块钢丝网将切好的 EP 管一端裹住,其余部分围住管壁插入盖子的孔中,将盖子放在盆子上,这样一个简单的水培装置就准备好了。如图 1 所示。

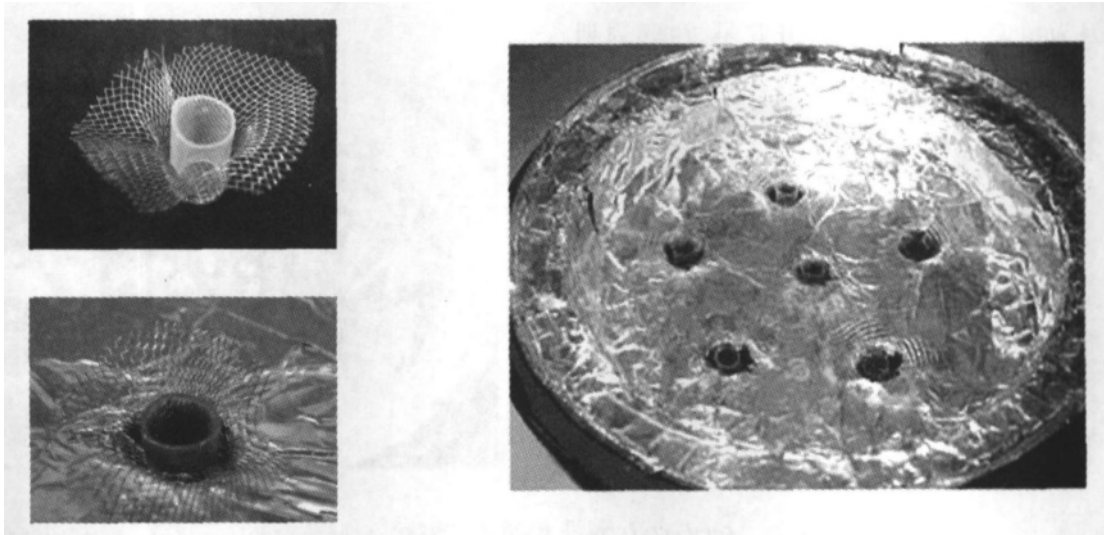


图 1 水培装置以及各部分示意图

Fig. 1 Sketch map of hydroponic device and every unit

1.3 营养液成分和配置

营养液成分参照由 Hoagland 溶液改良后的标准液 (Pierre T *et al.*, 2003)^[3]。

Ca(NO₃)₂ · 4H₂O 1.01 × 10⁻³ mol/L, NH₄H₂PO₄ 1.30 × 10⁻⁴ mol/L, KNO₃ 5.10 × 10⁻³ mol/L, MgSO₄ · 7H₂O 4.98 × 10⁻⁴ mol/L, NaOH 3.13 × 10⁻⁵ mol/L, EDTA 2.23 × 10⁻⁵ mol/L, FeSO₄ · 7H₂O 2.24 × 10⁻⁵ mol/L, H₃BO₃ 9.68 × 10⁻⁶ mol/L, MnCl₂ · 4H₂O 2.03 × 10⁻⁶ mol/L, ZnSO₄ · 7H₂O 3.14 × 10⁻⁷ mol/L, CuSO₄ · 5H₂O 2.10 × 10⁻⁷

mol/L, MoO₃ 1.39 × 10⁻⁷ mol/L, Co(NO₃)₂ · 6H₂O 8.59 × 10⁻⁸ mol/L, NH₄NO₃ 2.93 × 10⁻⁵ mol/L。

营养液配置和更换: 植物在水溶液培养中生长进行光合成有机物,不需要在营养液中另外加入糖作为碳源^[4]。预先根据各种营养成分终浓度大小分别配好 1 000 倍, 10 000 倍, 100 000 倍的母液,值得注意的是 FeSO₄ · 7H₂O 中 Fe²⁺ 在溶液在容易被氧化,并导致 pH 值改变,也不利于植物吸收。另外 NH₄H₂PO₄、NH₄NO₃ 是铵根离子化合物,在溶液中易挥发,所以这 3 种在每次配营养

液前再临时配少量母液。

植物生长所需的营养液的配置每次按照终浓度加入所需母液,按上面改良后的标准液分别加入,一般不需要再另外调pH值。在培养的前3个星期由于植物根系尚未生长很发达,吸收的营养较少,所以到第3个星期后更换一次,再往后每一星期换一次。

1.4 播种

将插在钢丝网孔里的管子拿出来,用封口膜把下端口封住,然后往里面加入0.65%琼脂粉凝胶(注意要用营养液溶解琼脂粉制成凝胶,对比实验表明直接用水溶解的凝胶,拟南芥幼苗的根较难生长穿过),厚度为1cm,待凝胶凝固后拆掉封口膜。然后将管子重新插入钢丝网孔中,将春化好的种子播于凝胶上,一个管中播2~3颗,待成苗后只留一株植株,剔除多余的植株。在盆子里加入营养液,溶液上表面与钢丝网下端持平即可。最后将水培装置移入培养室中。

1.5 光照

因为拟南芥在长日照下开花早,生长周期

短,一般采用16h光照和8h黑暗条件培养拟南芥^[5]。

2 结果和分析

2.1 拟南芥的水培实验结果

实验的结果表明,这套水培系统适合于拟南芥的生长,设计简单,成本低,而且便于管理,由于有不锈钢丝网作支撑,拟南芥能够完成整个生长周期。0.65%的琼脂粉凝胶装在管中后能够确保种子的顺利萌发,这样就不用在做水培之前预先在培养皿中生长,不会浪费种子。另一方面,琼脂胶是一种软的支撑物利于幼苗的根的生长。根据生长条件的不同,幼苗的根穿过琼脂胶需要7~10d。

从*col-4*、*cry1cry2*两个实验材料生长过程来看,种子从萌发到秧苗,到成年植株均生长良好。突变体*cry1cry2*生长的主要特点是植株的下胚轴较长,开花相对野生型大大延迟,在此水培装置中也能完成整个生长周期(图2)。

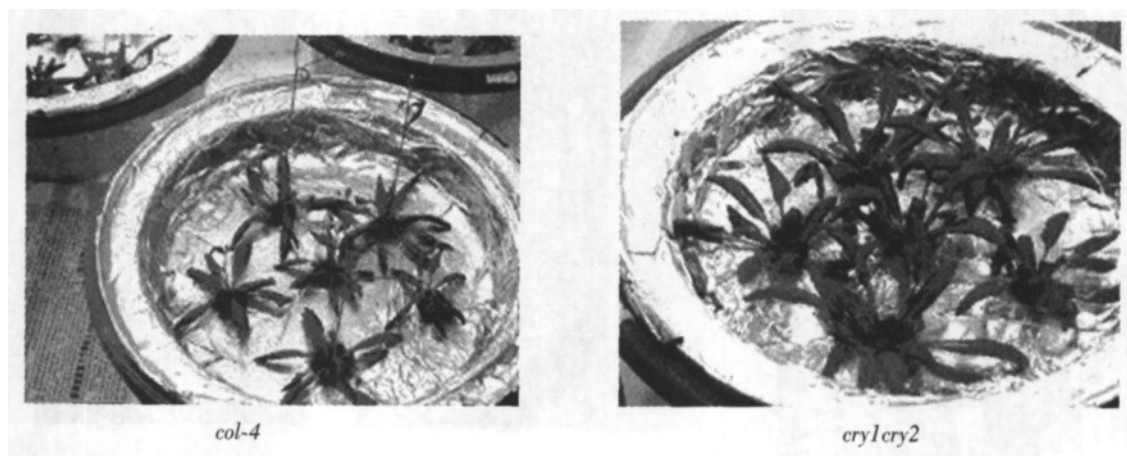


图2 *col-4*、*cry1cry2* 生长28d的植株

Fig. 2 The *col-4* and *cry1cry2* plants of 28 days' old

这个简易装置的一个新颖之处是几个部分包括每个孔中的管子都可以根据实验需要移动,具有灵活性。在研究与根生长有关的实验,可以方便地拿起来观察,数侧根数,测主根长等,而不影响植株的生长。由于盆子和盖子包裹上铝箔纸可以防止藻类生长,营养液中没有有机物的成分,不需要灭菌。

水培方法可以提供充足的营养和水分,产生较大的和更为整齐一致的植株,从图2中可以看出,水培生长的拟南芥大小比较一致。在水培中几乎没有介质对根系生长的机械限制,所以根系

较土壤中发达,植株也较高大,繁育出的种子饱满。在植物分子生物学和遗传学研究中,拟南芥突变体的种子有时获得很少,且有些突变体萌发率和结实率相对野生型较低,而水溶液培养种子萌发率高,结实饱满。采用水培法培养突变体较土培法可以得到更多又饱满的种子。从生长的周期来看,水培的拟南芥比同时在土壤中生长的拟南芥要提前约2~3周成熟,这样缩短了实验周期。

另一方面,通过水培的方法,我们可以方便地做各种化学物质处理,如盐、重金属、激素和激素抑制剂等,方便进行营养突变体的筛选,水培不仅

可以精确控制各种营养成分,而且筛选后的突变体不需移栽,筛选出的苗子能全部存活,继续成长至开花结果完成生长周期,这样可以得到较多种子。

2.2 拟南芥水培植物的种子萌发实验

将土壤中生长良好的拟南芥野生型的种子与水培的野生型种子播同样数目的种子于MS培养基中,分别在第4、7、9 d时观察种子的萌发状况^[6]。实验结果如图3,同时期萌发率比较,水溶液培养的植物得到的种子要明显高于生长在土壤中植物所得的种子,第9 d时,在水培的种子萌发率达到100%时,土壤培养的种子萌发率为93%。水培种子的高萌发率有助于对幼苗进行各种处理,提高实验的准确性与重复性。

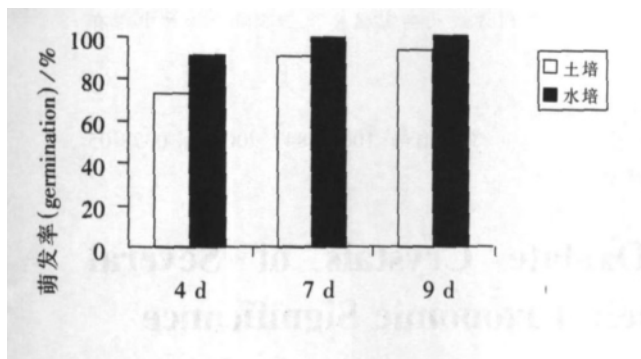


图3 土壤培养和水溶液培养的 *col-4* 种子的萌发率比较

Fig. 3 Comparison of germination for the seeds of *col-4* cultured between soil and hydroponics

综上所述,我们在这里提供了一种改进的、简易且可行的、能够就地取材自己制作的水培方法,装置灵活具有可变动性、低成本、易维护,适合许多实验的需要,不仅可以用来培养拟南芥,根据实验材料的不同改造一下也可同样适用。这套适用的水培养装置将对植物学的研究提供一定的帮助。

参考文献 (References):

- [1] 郁晓敏,方萍,朱日清. 拟南芥直播水培法[J]. 植物生理学通讯(YU Xiao-min, FANG Ping, ZHU Ri-qing. A hydroponic method for direct culture of *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Physiology Communications), 2004, 40(1): 81-82.
- [2] 赵淑清,郭剑波. 一种简单快速的拟南芥水培方法的研究[J]. 生物学杂志(ZHAO Shu-qing, GUO Jian-bo. A simple and rapid hydroponic method for culture of *Arabidopsis*[J]. Journal of Biology), 2000, 17(6): 22-23.
- [3] TOCQUIN P, CORBESIER L, HAVELANGE A, et al. A novel high efficiency, low maintenance, hydroponic system for synchronous growth and flowering of *Arabidopsis thaliana*[J]. BMC Plant Biology, 2003, 3: 2.
- [4] HUTTNER D, BAR-ZVI D. An improved, simple, hydroponic method for growing *Arabidopsis thaliana*[J]. Plant Molecular Biology Reporter 2003, 21: 59-63.
- [5] 韩玉珍,李睿,孟繁静. 拟南芥开花的光周期调节[J]. 植物生理学通讯(HAN Yu-zhen, LI Rui, MENG Fan-jing. Regulation of flowering by photoperiod in *Arabidopsis*[J]. Plant Physiology Communications), 1998, 34(5): 401-406.
- [6] BEWLEY J D. Seed germination and dormancy[J]. The Plant Cell, 1997, 9(7): 1055-1066.