

拟南芥直播水培法

郁晓敏 方萍* 朱日清

浙江大学环境与资源学院资源科学系, 杭州 310029

A Hydroponic Method for Direct Culture of *Arabidopsis thaliana*

YU Xiao-Min, FANG Ping*, ZHU Ri-Qing

Department of Resource Science, College of Environmental and Resource Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029

提要 在参考国内外水培拟南芥的经验和方法的基础上,采用简易的水培装置,对拟南芥直播水培方法进行了探索。

关键词 拟南芥;直播;溶液培养

拟南芥种子小,幼苗脆弱,目前主要采用移栽法和直播土培法培养。前一方法是将经消毒后的种子先播于无菌培养基上,置于4℃冰箱内春化3~4 d后转入光照培养3~4周,再将小苗移栽到营养土和蛭石混合的培养介质上继续进行培养。在移栽过程中拟南芥幼苗易受伤害,同时因生长介质的环境条件改变,需要经历一定的缓苗期,因此,移栽后拟南芥幼苗很容易夭折,从而影响其成活率。后一方法则是种子经消毒后,先放在湿润的滤纸中,置于4℃冰箱内春化3~4 d,之后将种子直接播种在蛭石上。一般种子直播难以均匀,浇水时易被冲走,浇营养液时幼苗很容易被冲倒,因而也影响其成活率。一般来说,水培法可以严格控制营养液中的离子浓度,提高植株生长速度,从而培养出健壮而整齐一致的植株,并能采集到较多的根系。因此,水培法在拟南芥培养中得到广泛应用。但已经报道的拟南芥水培方法,通常采用移栽而不是直播。因拟南芥幼苗弱小,移栽时其根系很容易损伤,而影响成活率。特别是在进行高通量的拟南芥突变体筛选时,需移栽成千上万的幼苗,工作量非常大。因此,有必要建立一种简单而快速的拟南芥直播水培方法。本文在参考已有的水培拟南芥的经验和方法的基础上,对拟南芥的直播水培方法进行了探索。

1 植物材料

材料为拟南芥野生型(*Arabidopsis thaliana* Columbia)。

2 种子处理

拟南芥种子用70%乙醇和1%次氯酸钠浸泡消毒后,用无菌水冲洗干净,再放入4℃冰箱中春化3~4 d,种子用0.1%琼脂水溶液悬浮后,用移液枪将种子点播在尼龙筛网上进行培养。

3 水培装置

在300 mL一次性塑料杯(内杯)口上缝一层尼龙筛网,筛网上放一张剪有15个均匀分布小孔的滤纸,并剪去杯底,将其置于500 mL一次性塑料杯(外杯)中。再将配好的营养液倒入杯中,使液面与内杯的筛网齐平。拟南芥种子点播在铺于筛网上的滤纸的小孔处。为了防止绿藻产生,在大杯的外面加上一层避光材料(如涂油漆或粘深色纸)。播后的第1周要及时添加营养液,使滤纸和种子保持湿润,等种子发芽出苗后,小心移去滤纸。每周更换1次营养液,液面离筛网0.5 cm,保持筛网干燥以防止霉菌生长。

4 营养液成分

KNO_3 5 mmol·L⁻¹(单位下同)、 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ 2、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 2、 KH_2PO_4 2.5、 Na_2EDTA 0.5、 $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5、 H_3BO_3 0.007、 MnCl_2 0.01、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.001、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0.0005、 $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0.00001。用NaOH溶液调pH至5.7。

收稿 2003-03-24 修定 2003-06-13

资助 国家自然科学基金课题(30370839)

* 通讯作者(E-mail:pfang@zju.edu.cn, Tel:0571-86980595)。

5 培养条件

光源为金属卤化物灯泡(200 W), 光/暗周期为16 h/8 h, 光照度为4 000 lx; 温度为22℃左右。因是水培, 湿度毋需严格要求, 一般控制在50%以上即可。由于溶液表面与空气充分接触, 根系周围通气状况良好, 一般毋需通气, 只要定期更换营养液即可。

6 培养结果

结果表明, 直播水培的拟南芥能够完成整个生长过程, 直到种子成熟。一般来说, 拟南芥种子进行光照培养2~3 d后即会萌发, 进入营养生长期。水培初期, 特别是前2周, 拟南芥幼苗根系较少, 其吸收能力和忍耐能力较弱, 应及时添加营养液, 尽量使根系完全保持在营养液中。培养2~3周后, 根系已比较发达, 其吸收能力也增强, 此时营养液面与筛网之间应有一定的距离, 这样可使筛网保持干燥; 否则, 筛网长期在湿润的状态下, 表面容易产生藻类和真菌, 影响拟南芥植株特别是根系的生长。

众所周知, 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, 而且可以避免其他培养方法中培养介质对根系生长的机

械限制。此外, 通过水培方法, 还可直观地了解植株地上部与地下部生长的变化, 特别是根系生长的全过程。本文结果显示, 将处理后的种子直接播种在筛网上, 可以避免其他因素对筛选的影响, 特别是在营养突变体的筛选中, 可以控制营养液的组成成分, 排除培养基质对筛选过程的影响。由于营养液与空气能充分接触, 而定期更换营养液, 也解决了水培方法中通气不良、需定时通气的问题。本法培养的植株3~4周后即开花, 比其他方法培养的植株提前1~2周成熟; 且植株生长健壮, 苗高可达35~40 cm。

总之, 直播水培法, 在适宜的光照、温度、养分等条件下, 尤其是相对于一些特殊的栽培要求来说, 可以排除栽培介质的干扰, 培养出健壮的植株, 繁育出优质的种子。

参考文献

- 1 王秀荣, 沈 宏, 严小龙. 拟南芥室内繁种技术研究. 华南农业大学学报(自然科学版), 2002, 23(3): 94
- 2 陈 敏, 白书农. 拟南芥培养经验点滴. 植物生理学通讯, 1995, 31(6): 436~438
- 3 赵淑清, 郭剑波. 一种简单快速的拟南芥水培方法的研究. 生物学杂志, 2000, 17(6): 22~23