

# 拟南芥室内水培方法的改进<sup>①</sup>

刘 峰, 施卫明\*

(土壤与农业可持续发展国家重点实验室(中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008)

**摘 要:** 根据拟南芥的生长需求特点, 采用 MS 培养基与营养液培养相结合的方法建立了一种简单、低耗、低维护和灵活的拟南芥植株水培系统。

**关键词:** 拟南芥; 水培技术; 方法改进

**中图分类号:** Q94-331

近年来, 植物广泛应用于土壤有机污染物<sup>[1-3]</sup>、重金属(Cd<sup>[4-5]</sup>、Cu<sup>[6]</sup>等<sup>[7-8]</sup>)以及盐分<sup>[9]</sup>等污染土壤的修复研究中; 转基因植物的生态风险<sup>[10]</sup>也成为人们日益关注的话题。拟南芥作为分子遗传学研究中的重要模式植物, 在分子水平上阐明植物在上述环境中的相关机理上已经发挥了重要作用。但是, 拟南芥幼苗很弱小, 易夭折, 这给拟南芥的培养带来了一定困难。因此, 掌握拟南芥的培养技术就显得非常重要<sup>[11]</sup>。

目前主要用泥炭(或营养土)和蛭石的混合营养介质<sup>[12-13]</sup>与营养液培养两类方法<sup>[14-15]</sup>培养拟南芥。在人工生长箱中进行水培可以控制营养培养条件, 快速地培养出整齐且健壮的拟南芥植株; 同时有利于根系的观察, 因此在根系生长和营养胁迫研究中水培方法得到广泛的应用<sup>[14-16]</sup>。但是, 国内外报道的水培方法在灵活性以及与其生长规律的利用上还有些不足, 主要表现为: ①发芽后的幼苗(发芽后 20 天内)生长阶段容易出现干枯现象或者水分营养供应稍嫌不足等使之生长不良; ②在水培过程中容易发生蓝藻的污染<sup>[17]</sup>; ③培养装置复杂、不够灵活等<sup>[17]</sup>。为此, 我们希望通过改进目前的培养方法, 建立一种简单、低耗、低维护和灵活的水培系统。

本研究前期试验结果观察到, 拟南芥在无菌条件下 MS 培养基中生长非常良好。但是无菌条件不适合一般研究, 而且无菌培养基方法也不能用于拟南芥生长后期的研究工作。因此, 我们尝试将 MS

(Murashige and skoog) 培养基(表 1, 去有机物和蔗糖, 下同)和常规水培试验相结合, 来培育拟南芥植株。

表 1 去有机物和蔗糖的 MS 培养基配方

Table 1 Components of the organic-substance-and-sucrose-free MS culture medium

成分	含量 (mg/L)	成分	含量 (mg/L)
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1650	KI	0.83
KNO <sub>3</sub>	1900	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	6.2
CaCl <sub>2</sub>	332	MnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	22.3
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	370	ZnSO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	8.6
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	170	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	0.25
FeSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	27.8	CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	0.025
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	37.3	CoCl <sub>2</sub> ·6H <sub>2</sub> O	0.025

注: 琼脂浓度将另行说明。

## 1 材料与方 法

实验材料为拟南芥生态型 Columbia。先用 20% 的次氯酸钠消毒种子 5 min, 后用无菌水洗 5 次, 置于 4℃ 冰箱内春化 2~4 天, 然后播种于培养基上培养, 待胚根长至穿过培养基后再用完全营养液培养。完全营养液组成参照文献<sup>[18]</sup>, 24 h 连续光照, 光强 120 μmol/(m<sup>2</sup>·s), 温度 23℃, 相对湿度 70%。根据不同的培养目的, 可以选用不同的培养条件。如繁殖种子要求营养生长期短, 结实多, 可选用高温(20~28℃)、高湿(70%~95%)条件; 观察营养生长或某一形态发生过程要求生长速度较慢, 可选

①基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 40271063)资助。

\* 通讯作者(wmshi@issas.ac.cn)

作者简介: 刘峰(1980—), 男, 重庆梁平人, 博士研究生, 主要从事植物耐受逆境胁迫的生理生化机理研究。E-mail: fliu-eco@163.com

用低温（20~22℃）、中湿（50%~80%）条件<sup>[19]</sup>。

## 2 操作步骤与注意事项

### 2.1 培养介质的选择

为了找到一个快速且适合于拟南芥生长的介质，我们设计了 6.5 g/L<sup>[20]</sup>、5.5 g/L 和 4.5 g/L 3 种琼脂浓度作为培养基底质进行比较。发现，6.5 g/L 和 5.5 g/L 浓度的琼脂培养基均是良好的支承底质，拟南芥幼苗生长良好，而 4.5 g/L 浓度的琼脂培养基则由于培养基太软，出现下陷，不适合作为培养基底质。因此，以后的实验采用了 6.5 g/L 和 5.5 g/L 的琼脂浓度作为培养基底质。接着，我们设计了在琼脂培养基中添加或不添加 MS 营养液的试验。如表 2 所示，无论在有无 MS 营养的介质中，降低琼脂的浓度都有利于拟南芥苗的快速生长；同时，加 MS 营养液又能进一步促进拟南芥幼苗的生长。图 1 是不同琼脂浓度和 MS 营养液添加与否拟南芥幼苗生长 9 天后的情况。

表 2 不同琼脂浓度和不同营养物浓度对拟南芥苗生长的影响  
Table 2 *Arabidopsis thaliana* seedlings cultured in media different in agar content and in MS nutrient

处理	琼脂浓度(g/L)	MS 营养液	根穿过培养基的时间 (天)
A	6.5	无	8~9
B	5.5	无	7~8
C	6.5	有	5~6
D	5.5	有	4~5

### 2.2 培养介质的准备

用手术小刀将 1.5 ml 的 eppendorf 管沿距底部 13 mm 处切下，去掉上面部分，然后再切掉底部约

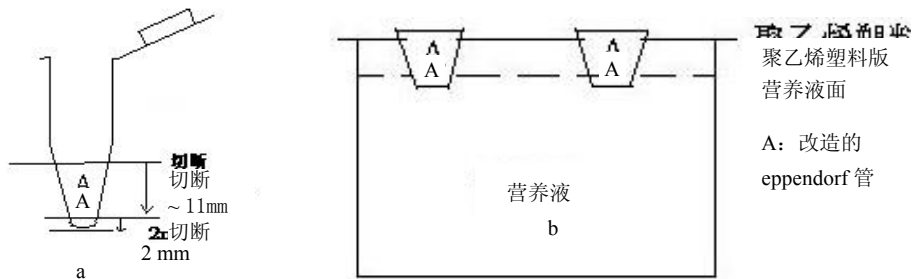


图 2 水培装置示意图 (a: 改造的 eppendorf 管; b: 水培装置)

Fig. 2 Hydroponic system (a: Modified eppendorf; b: Hydroponic system)

### 2.3 播种

用 20 μl 的移液枪 (Gilson, France) 吸取春化处

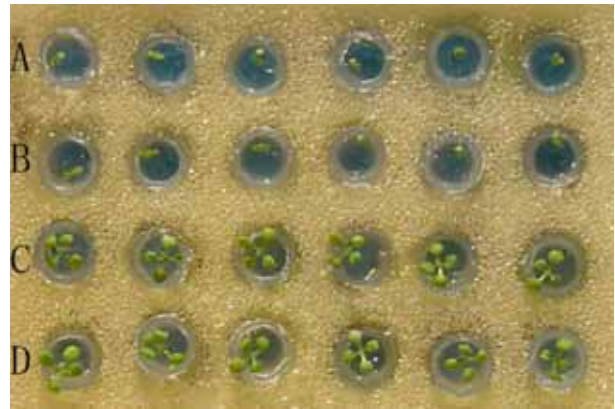


图 1 不同琼脂浓度和不同营养物浓度处理下拟南芥苗 9 天后的生长情况

Fig. 1 Phenotype of 9-day-old *Arabidopsis thaliana* seedlings in treatments different in agar content and in MS nutrient. 2 mm. 将改造后的 eppendorf 管放入 0.5 ml 的离心管盒（可以用 1.5 ml 的离心管盒上面放一薄层（约 0.3mm）海绵代替，图 1）里，或者放在钻孔的聚乙烯塑料板上（以刚好能放下改造好的 eppendorf 管为准）（图 2）。如果要繁育拟南芥种子，可以将聚乙烯板的孔密度钻稀一些，如每孔间隔 5 cm 或放在 50 ml 的离心管中，管外裹上黑塑料袋（图 3a）。在发苗时可以用孔密度较高的板。

先配制 MS 培养基，琼脂 5.5 g/L，pH5.7，用 1000 μl 的移液枪 (Gilson, France) 吸取预热过的该培养基小心沿壁滴入改造的 eppendorf 管中，先滴入一两滴在管底形成一薄层，待该薄层冷却后再加满至 eppendorf 管顶部。全部冷却后再在离心管盒里或塑料盆中加入蒸馏水。初期必须保证水位盖过 eppendorf 管的底部，否则 eppendorf 管中的培养基容易下陷。

理后的种子均匀播种于培养基表面，每个 eppendorf 管播 2~3 粒（要求种子发芽率在 90% 以上），如果

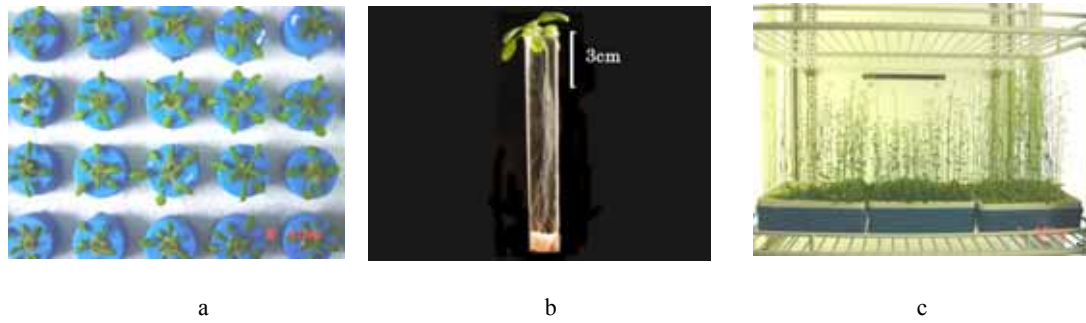


图 3 拟南芥的生长情况 (a: 生长 18 天后的拟南芥; b: 生长 18 天后的拟南芥根系; c: 抽薹开花期的拟南芥植株)

Fig. 3 Phenotype of *Arabidopsis thaliana* (a: 18-day-old *Arabidopsis thaliana*; b: Root system of 18-day-old *Arabidopsis thaliana*; c: Phenotype of *Arabidopsis thaliana* during flowering time)

发芽率低可增至 5 粒 (如发芽率为 50%)。

## 2.4 培养

将培养介质移入光照培养箱 (Sanyo, Japan) 中。培养基中的营养足够供种子发芽后的幼苗长到根穿过 eppendorf 管, 这个过程约需 5 天左右, 其间可以间苗, 每个 eppendorf 管只需留一棵苗。待根穿过 eppendorf 管后, 即根长达 1.5 cm 左右时, 此时的根系已具有一定的吸收能力和忍受缺氧的能力, 可以选择长势一致的苗, 将其连同 eppendorf 管一起移至有孔的聚乙烯塑料板上, 放在装有完全营养液的塑料盆里培养。

需要强调的是塑料板上孔的密度要以根不会相互缠绕而难以分开和保证每棵苗都能很好地采光为原则。聚乙烯板和塑料盆等须是不透光的材料, 以防止藻类产生, 盛营养液的塑料盆一般需要 10 cm 深, 以保证根系生长无阻。此时培养营养液每 3 天换 1 次, 以保证供应足够的氧气和营养水平, 防止藻类的繁殖。根系足够长时, 营养液面可以稍低于 eppendorf 管, 让部分根可以吸收氧气。生长后期, 如果培养基干掉, 可以用海绵或棉花缠住根部放入孔中来固定植株, 以防止其倒伏。

## 3 结果与讨论

这种水培系统适合于拟南芥的生长习惯, 植株生长很健壮, 根系发达 (图 3), 而且简单经济。除了一般水培法可以无伤害地观察和收获根部的优点外, 还因培养基是一个较软的培养介质, 并有一定的营养, 提供了类似土壤的环境, 从而能够让根系很快地生长; 通过控制培养介质的 eppendorf 管的高度可以很方便地调节介质湿度, 从而避免水分过多对拟南芥植株幼苗的不利影响; 由于采用了培养装

置表面的完全覆盖, 从而可以有效地避免蓝藻生长引起的污染; 本方法灵活性很高, 可以将苗从一个板上移到另一个板上, 处理起来很方便; 由于苗是随整个 eppendorf 管而移动, 所以减少了移苗过程中植株的损伤。

**致谢:**感谢中国科学院南京土壤研究所王校常、严蔚东老师在本项研究工作中的热情指导和西北农林科技大学段苏然同学的大力帮助。

## 参考文献:

- [1] 邢维芹, 骆永明, 李立平, 刘世亮, 丁克强. 持久性有机污染物的根际修复及其研究方法. 土壤, 2004, 36 (3): 258-263
- [2] 沈定华, 许昭怡, 于鑫, 胡文勇. 土壤有机污染生物修复技术影响因素的研究进展. 土壤, 2004, 36 (5): 463-467
- [3] 刘世亮, 骆永明, 丁克强, 李华, 吴龙华, 邢维芹, 宋静, 曹志洪, 陶澍. 苯并[a]芘污染土壤的丛枝菌根真菌强化植物修复作用研究. 土壤学报, 2004, 41 (3): 336-342
- [4] 蒋先军, 骆永明. Cd 污染土壤植物修复的 EDTA 调控机理. 土壤学报, 2003, 40 (2): 205-209
- [5] 安志装, 王校常, 严蔚东, 施卫明. Cd 硫交互处理对水稻吸收累积 Cd 及其蛋白巯基含量的影响. 土壤学报, 2004, 41 (5): 728-734
- [6] 施积炎, 陈英旭, 田光明, 林琦, 王远鹏. 铁和 ATP 酶抑制剂对鸭跖草 (*Commelina communis*) Cu 吸收的影响. 土壤学报, 2004, 41 (4): 553-557
- [7] Ni CY, Shi JY, Luo YM. "Co-culture engineering" for enhanced phytoremediation of metal contaminated soils. Pedosphere, 2004, 14 (4): 475-482

- [8] 黄铭洪, 骆永明. 矿区土地修复与生态恢复. 土壤学报, 2003, 40 (2): 161-169
- [9] Hussain N, Ali A, Sarwar G, Mujeeb F, Tahir M. Mechanism of salt tolerance in rice. *Pedosphere*, 2003, 13 (3): 233-238
- [10] 袁红旭, 张建中, 郭建夫, 许新萍, 李玥仁. 种植转双价抗真菌基因水稻对根际微生物群落及酶活性的影响. 土壤学报, 2005, 42 (1): 122-126
- [11] 于政权, 孙颖. 拟南芥室内培养技术的改进. 河北师范大学学报 (自然科学版), 1999, 23 (4): 549-550
- [12] 李俊华, 张艳春, 徐云远, 种康, 王辉. 拟南芥室内培养技术. 植物学通报, 2004, 21 (2): 201-204
- [13] 王秀荣, 沈宏, 严小龙. 拟南芥室内繁殖技术研究. 华南农业大学学报 (自然科学版), 2002, 23 (3): 94
- [14] 郁晓敏, 方萍, 朱日清. 拟南芥直播水培法. 植物生理学通讯, 2004, 40 (1): 81-82
- [15] 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
- [16] Gibeaut DM, Hulett J, Cramer GR, Seemann JR. Maximal biomass of *Arabidopsis thaliana* using a simple, low-maintenance hydroponic method and favorable environmental conditions. *Plant Physiol.*, 1997, 115: 317-319
- [17] Hirai H (Yokota), Chino M, Naito S. Method for hydroponic culture of *Arabidopsis thaliana* (in Japanese). 植物细胞工学, 1993, 5 (6): 485-487
- [18] [http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/seika/shiraishi/protocols/arabidopsis\\_media.html](http://kuchem.kyoto-u.ac.jp/seika/shiraishi/protocols/arabidopsis_media.html): Culture Medium for *Arabidopsis*
- [19] 陈敏, 白书农. 拟南芥菜培养经验点滴. 植物生理学通讯, 1995, 31 (6): 436-438
- [20] Tocquin P, Corbesier L, Havelange A, Pieltain A, Kurtem E, Bernier G, Périlleux C. A novel high efficiency, low maintenance, hydroponic system for synchronous growth and flowering of *Arabidopsis thaliana*. *BMC Plant Biology*, 2003, 3: 2 <<http://www.biomedcentral.com/content/pdf/1471-2229-3-2.pdf>>

## An Improved Method for Indoor Hydroponic Culture of *Arabidopsis Thaliana*

LIU Feng, SHI Wei-ming

(State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture (Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences), Nanjing 210008, China)

**Abstract:** The study aimed to establish a simple, inexpensive, nearly-maintenanceless and flexible hydroponic system for growing *Arabidopsis thaliana* plants by combining agar medium plus MS nutrients with the eppendorf tube system.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*, Hydroponic culture, Culture method improvement