

李 雪,邵铁梅,安胜军. 1 种简单方便的拟南芥发芽诱导新技术[J]. 江苏农业科学,2015,43(12):51-52.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.12.014

1 种简单方便的拟南芥发芽诱导新技术

李 雪,邵铁梅,安胜军

(河北化工医药职业技术学院/河北省高校生物反应器与蛋白类药物开发应用技术研发中心,河北石家庄 050026)

摘要:采用 2 种方法对拟南芥进行发芽诱导,即普通常用的方法和研究的新方法。经过种植培养对比,表明研究的新方法在诱导发芽种植拟南芥方面比普通的方法简便、快捷、易操作。

关键词:拟南芥;发芽;新方法;诱导

中图分类号: Q945.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)12-0051-02

拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是一种显花植物,具有典型的开花植物所具有的特征^[1]。早在 2000 年年底拟南芥的全基因组测序工作已经完成,由于其植株矮小、基因组小、生长周期短、产种量大,以及是严格的自花授粉作物,因而被作为试验材料受到人们青睐。目前,拟南芥在分子生物学、遗传学、发育生物学、基因组学等领域得到广泛应用^[2],被作为模式植物广泛用于研究植物的生理病理机制和植物细胞的信号转导通路,越来越多的实验室以拟南芥为受体材料探索基因转染的方法和研究外源基因的功能。拟南芥的种植方法很多,既有混合介质和直播方式^[3],又有移栽法、蛭石法、5:5 法^[4]等。但拟南芥的种子极小,如针尖般大小,种植操作极为麻烦,若采用无菌操作后移栽,则步骤更加繁琐。因此种植方法虽多却不易推广使用。笔者所在实验室经过反复试验种植,发明了 1 种简单的、易于操作的方法,适合广泛推广使用。

1 材料与与方法

1.1 试验材料

试验材料为生态型为 Columbia 的拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)种子。

1.2 诱导发芽方法

1.2.1 普通方法 目前诱导拟南芥种子发芽主要有无菌培养和室内自然环境下直接播种 2 种方式。无菌培养需要对拟南芥种子进行消毒处理,放置于无菌发芽培养基上。然后对其进行春化处理,最后将其放入光照培养箱培养至发芽后移栽。具体的有无菌直播水培技术^[5]、无菌土培技术等。而室内自然环境下直接播种,过程主要是先春化处理拟南芥种子,然后直接用镊子或解剖针将种子播种于所准备的固相支持物中,或者将拟南芥种子经春化处理后,用 0.1% 的琼脂水溶液悬浮,借助移液枪将种子点播于固相支持物中。室内自然环境下播种主要有蛭石培养法、土培法^[6]、改进的水培方法^[7]等。

1.2.2 本研究方法 首先,准备直径 130 mm 的培养皿,培

养皿不能高压灭菌,但需要洗刷干净,准备直径 110 mm Watterman 圆形滤纸 2~3 层(滤纸不能高压灭菌);然后,将 2~3 层的滤纸放置于培养皿中,并用装了蒸馏水的洗瓶充分润湿滤纸(图 1);再然后,手捏拟南芥种子碾入润湿的滤纸中,力争让种子均匀散布于滤纸上(图 2、图 3、图 4),盖上培养皿盖子,置于 4℃ 冰箱内春化 3 d;最后,将培养皿拿出放置于光照培养箱中进行培养,培养箱温度 22℃,光照度 6 000~8 000 lx,16 h/8 h 光暗周期交替培养。培养 1 d 后,观察拟南芥种子生长成为绿色小球状(图 5、图 6),将营养土和蛭石混合的介质提前浇好营养液,并且在混合介质表面用小镊子尖扎约 0.5~1.0 cm 的浅坑,用小镊子挑起发芽良好,且带有根须的拟南芥幼芽,置于小坑中,将小坑四周的介质用镊子轻轻挤压一下,使介质填补小坑,从而也将拟南芥幼芽的根系埋住。

2 结果与分析

2.1 普通方法操作结果

试验结果表明,用普通方法种植的拟南芥,由于种子体积极小,播种操作困难,不仅费工而且不能做到均匀点播,生长出的拟南芥呈簇状,造成了出苗的拥挤,从而幼苗的生长势强弱不一致。而无菌培养种植,拟南芥种子需要消毒处理,会对拟南芥种子造成伤害,并且在消毒处理无菌水冲洗的步骤中,难免流失很多种子,既加重了试验的繁琐程度和试验等待的时间又浪费了好种质资源。

2.2 新方法操作结果

培养 1 d 的拟南芥种子有微小的绿芽,肉眼清晰可见,能轻易地区分发芽和不发芽的种子,容易挑拣发芽并且生理状态较一致的拟南芥种子,可以将各个种子轻易地分开,便于播种操作,而且很容易做到均匀点播,并且由于培养 1 d 的种子根系长度达到约 0.5 cm,为其吸收水分和营养提供了保障,移栽的幼芽 100% 能够存活。播种到蛭石和营养土混合的介质后培养 1 周,就可以得到整齐划一的拟南芥幼苗(图 7),约 6 周左右就可得到生长势一致且健壮的拟南芥植株(图 8)。本方法操作简单又不需要仪器设备,省时、省力、省成本。

3 讨论

传统拟南芥发芽方法存在很多弊端,如直接用水浸泡拟

收稿日期:2015-05-21

基金项目:2011 年度河北省人才工程培养经费资助项目。

作者简介:李 雪(1979—),女,河北赵县人,硕士,从事植物生物反应器的研究。Tel:(0311)85110352;E-mail:lixue712@126.com。

通信作者:安胜军,教授。Tel:(0311)85110008;E-mail:anshjun@yahoo.com。



图1 拟南芥种子的发芽装置



图2 拟南芥种子

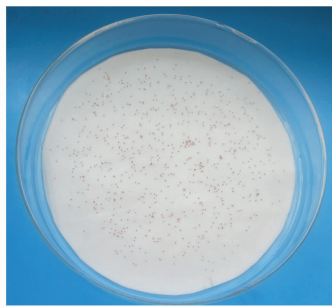


图3 拟南芥种子均匀撒在湿润滤纸上



图4 图 3 局部放大结果

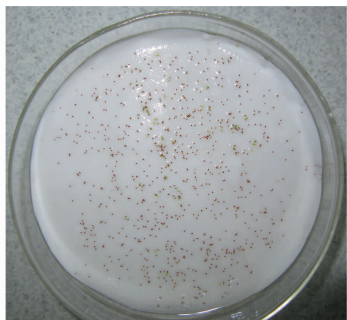


图5 春化后培养 1 d 的拟南芥种子长势



图6 图 5 局部放大结果



图7 移栽后培养 1 周的拟南芥幼苗

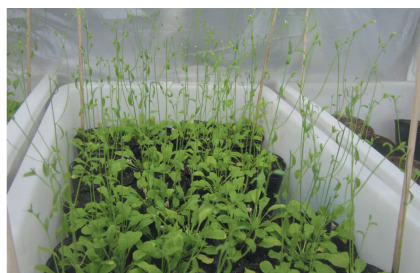


图8 生长约 6 周的拟南芥植株

分的保持可持续供给养分促其萌芽;滤纸是白色的,刚刚生出的小芽呈嫩绿色,与白色滤纸形成鲜明的对比色,容易观察和识别每 1 株幼芽的状态,为接下来的播种和移栽带来了极大的方便。采用本研究的方法可以得到所需的较好的受体系统,从而为后续的研究奠定良好的基础。

参考文献:

- [1]张 晶. 甘肃省土地利用分析[J]. 国土与自然资源研究,2005 (4):33-34.
- [2]王安周,张桂宾,郑 洁,等. 新乡市土地利用动态变化分析[J]. 水土保持研究,2008,15(1):163-165.
- [3]赵术珍,毕玉平. 拟南芥室内繁种技术的改进[J]. 山东农业科学,2011(3):50-51.
- [4]王秀荣,沈 宏,严小龙. 拟南芥室内繁种技术研究[J]. 华南农业大学学报:自然科学版,2002,23(3):94.
- [5]陈建红,沈 宏. 一种拟南芥无菌直播水培技术[J]. 植物生理学通讯,2007,43(2):348.
- [6]刘守伟,刘士勇. 拟南芥室内培养技术研究[J]. 东北农业大学学报,2007,38(2):279-281.
- [7]袁 昕,赵小英,刘选明,等. 一种简易可行的拟南芥水培新方法[J]. 生命科学研究,2006,10(4):324-327.

南芥种子,又细又小的种子极易成簇成团状地漂浮在水面上,导致种子的发芽交联缠绕成团,造成视觉混乱、识别困难、难于分离。而且幼芽质脆易折,为接下来的种植和移栽带来了不便。

本研究的方法弥补了传统方法的缺陷,使操作者避免浪费种质资源,盲目种植。本方法的创新之处在于滤纸的使用,浸湿的滤纸可以吸附极轻和极小的拟南芥种子,同时由于水