

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2014.06.024

魏鹏,刘彤. N、P、K 异质含量拟南芥试管苗的表型适应特性[J]. 广西植物, 2014, 34(6): 869—873

Wei P, Liu T. Phenotypic adaptive properties of *Arabidopsis thaliana* test-tube plantlets inoculated in the medium with heterogeneous content of N, P and K[J]. *Guihaia*, 2014, 34(6): 869—873

# N、P、K 异质含量拟南芥试管苗的表型适应特性

魏 鹏<sup>1</sup>, 刘 彤<sup>2\*</sup>

(1. 宁夏职业技术学院 植物组培快繁中心, 银川 750002; 2. 新疆兵团绿洲生态农业重点实验室, 新疆 石河子 832003)

**摘 要:** 以模式种拟南芥为试验材料, 有别于自然环境下生长的拟南芥, 借助于组织培养方法利用均匀设计对培养基中  $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$  设置处理, 探讨试管环境下拟南芥生长发育特性及对营养离子需求吸收特点, 结果显示拟南芥本性地通过加强莲座叶与茎生叶的功能以增加生殖生长期的分枝数与苔高; 生殖生长期影响试管苗茎生叶数、苔高的离子种类增多, 离子的交互作用更加复杂。通过分析模式植物对 N、P、K 异质含量培养基的表型适应特点可推论同一植物在不同时期使用单一培养基是不合理的。

**关键词:** 拟南芥; 试管环境; 表型适应; 营养元素; 苗子质量

中图分类号: Q945.97 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2014)06-0869-05

## Phenotypic adaptive properties of *Arabidopsis thaliana* test-tube plantlets inoculated in the medium with heterogeneous content of N, P and K

WEI Peng<sup>1</sup>, LIU Tong<sup>2\*</sup>

(1. Center of Plant Tissue Culture and Rapid Propagation, Ningxia Polytechnic College, Yinchuan 750002, China;

2. Key Laboratory of Oasis Ecological Agriculture of Xinjiang Regiments, Shihezi 832003, China)

**Abstract:** Characteristics of growth and development along with the specialty and the demand of absorbing nutritional ions of *Arabidopsis thaliana* *in vitro* were discussed by setting mode plant *A. thaliana* as the experimental material, unlike natural growth of *Arabidopsis* and by setting different levels of  $\text{KNO}_3$ ,  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  and  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  of treatment medium with in virtue of tissue culture technology and uniform design. The results showed that *A. thaliana* plantlets would reinforce the physiological function of rosette leaf and cauline leaf to enlarge the branches and the height of trunk; In reproductive phase, ion species which affect the number of cauline leaf and the height of trunk increased, the interaction of mineral ions was more complicated. Through analyzing photo-adaptive properties of *Arabidopsis thaliana* test-tube plantlets inoculated on the medium with heterogeneous content of N, P and K, it could be deduced that it was unreasonable to use unitary medium aim at certain plant into different growth period.

**Key words:** *Arabidopsis thaliana*; environment *in vitro*; phenotypic adaptation; nutrient elements; quality of plantlets

适应是生物的结构、功能或整个生物体对环境表现出的适应状态, 或获得这种适应性的过程, 对于特定环境下的植物个体而言, 适应表现为存活、生长

及开花、繁衍的顺利延续(蒋高明, 2004)。组培环境下植株叶片黄化、生根困难、茎尖枯死等现象均是植物适应环境的不良表现, 研究试管植物的适应特性

收稿日期: 2013-10-19 修回日期: 2013-12-22

基金项目: 国家自然科学基金(30360017)

作者简介: 魏鹏(1981-), 男, 宁夏银川人, 硕士, 讲师, 主要从事试管植物的生理生态学研究, (E-mail) weipeng135@126.com。

\*通讯作者: 刘彤, 博士, 教授, 主要从事植物生态与植物组织培养研究, (E-mail) liutong1968@yahoo.com.cn。

用于指导改善试管苗生长质量具有重要意义。拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)是分子生物学的模式植物,生活史短、分布广,是研究植物表型适应(Henry *et al.*, 2010; 吴嘉等, 2010)、居群分化(Sletvold *et al.*, 2012)、系统发育(Choob *et al.*, 2004)的良好材料。试管环境下拟南芥仍可开花(Iwasakin *et al.*, 2005),该现象为全面考察离体植物从营养生长至生殖生长表型适应特性提供了素材。

MS培养基被套用于多数植物的离体繁殖是否适合试管苗的不同生长阶段,试管苗能否产生最佳的适应状态近来受到质疑(Nas *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.*, 2005)。本研究以模式种拟南芥为材料,利用均匀设计对基本培养基中N、P、K营养元素设置处理,(1)分析拟南芥试管苗在不同时期的适应特点,是否与自然条件下拟南芥发育属性相关?(2)分析不同浓度离子对试管苗营养生长期、生殖生长期相关指标的影响,总结试管苗在不同生长期对营养离子吸收的差异特点,分析惯用单一培养基的不合理性。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

选择当年生美国哥伦比亚生态型拟南芥种子,消毒灭菌后接种于不含任何激素的1/2 MS培养基中,待其萌发,株高1~1.5 cm时接入试验培养基。

### 1.2 方法

1.2.1 试验培养基设置与培养条件 MS培养基属高盐浓度培养基,配方中N、P、K浓度较高,其中 $\text{KNO}_3$  1 900  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{NH}_4\text{NO}_3$  1 650  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , $\text{KH}_2\text{PO}_4$  170  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,为了提高试验可信度,配方中 $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 三类化合物上限浓度分别提高到2 500、1 800、230  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,利用均匀设计(方开泰,1994),分别对 $\text{KNO}_3$ 、 $\text{NH}_4\text{NO}_3$ 、 $\text{KH}_2\text{PO}_4$ 三种化合物设置处理(表1), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 、 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 、微量元素、铁盐及有机物含量与MS培养基相同。为防止激素与营养元素产生交互作用影响试验最终结果,培养基中不加任何激素。配方不另设对照,共16个处理。材料共16处理 $\times$ 3次/重复 $\times$ 3瓶/次 $\times$ 5株/瓶=720株,培养容器为150 mL的三角瓶,培养温度(25 $\pm$ 2)  $^\circ\text{C}$ ,日光灯照明16 h $\cdot$ d $^{-1}$ ,光强40  $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 。

表1 不同处理中三种化合物的含量

Table 1 Contents of 3 compounds of different treatments

配方编号 No. of medium	化合物含量 Content of compound		
	$\text{KNO}_3$	$\text{NH}_4\text{NO}_3$	$\text{KH}_2\text{PO}_4$
1	2 500	1 200	125
2	2 300	700	0
3	2 100	200	140
4	1 900	1 400	20
5	1 700	900	155
6	1 500	400	35
7	1 300	1 800	170
8	1 200	1 100	50
9	1 000	600	185
10	900	0	65
11	800	1 300	200
12	700	800	80
13	500	300	215
14	300	1 650	95
15	100	1 000	230
16	0	500	110

1.2.2 测量指标 待试管苗生长1个月,选取莲座叶重/株、茎生叶重/株、苔重/株、莲座叶枯叶重/株、根重/株、莲座叶数/株、茎生叶数/株、分枝数/株、苔高/株,莲座叶叶绿素含量( $\text{mg} \cdot 0.1 \text{g}^{-1} \text{FW}$ )统计测量,生理指标的测定方法引自李合生(2000)。

1.2.3 统计与分析 利用SPSS11.5软件对测量指标进行相关分析。以测量指标为因变量, $[\text{NO}_3^-]^2$ 、 $[\text{NO}_3^-]$ 、 $[\text{NH}_4^+]^2$ 、 $[\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{PO}_4^{3-}]^2$ 、 $[\text{PO}_4^{3-}]$ 、 $[\text{K}^+]^2$ 、 $[\text{K}^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-][\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-][\text{PO}_4^{3-}]$ 、 $[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]$ 、 $[\text{NH}_4^+][\text{PO}_4^{3-}]$ 、 $[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]$ 、 $[\text{PO}_4^{3-}][\text{K}^+]$ 为自变量进行多元二次线形逐步回归分析,比较不同浓度的N、P、K对试管苗在不同时期生长质量的影响,反过来总结试管苗对营养离子需求的相似性与差异性。

## 2 结果与分析

### 2.1 离体条件下拟南芥试管苗整体生长特点

各配方处理对拟南芥试管苗影响差异较大,部分处理试管苗全部死亡或叶片黄化,但植株生长、发育仍具一定整体规律性(表2)。根重与莲座叶重、茎生叶重、苔重及莲座叶枯死叶重极显著相关,表明根在拟南芥整个营养生长、生殖生长都具有吸收功能。莲座叶重与枯死叶重正相关,表明莲座叶的生长发育快速,仅占整个生活史的一小部分,而叶绿素含量与分枝数正相关,推测莲座叶行使的光合生理功能主要为了增加后期分枝数,以提高果枝个数与

表 2 拟南芥试管苗特征值间的相关分析

Table 2 Correlation analysis among different eigenvalue of *Arabidopsis thaliana* test-tube plantlet

	莲座叶重 Weight of rosette leaf	茎生叶重 Weight of cauline leaf	苔重 Weight of trunk	枯叶重 Weight of withered leaf	根重 Weight of root	叶绿素 Content of chlorophyll	莲座叶数 Number of rosette leaf	茎生叶数 Number of cauline leaf	分支数 Number of branch	苔高 Height of trunk
莲座叶重 Weight of rosette leaf	1									
茎生叶重 Weight of cauline leaf	0.465	1								
苔重 Weight of trunk	0.349	0.781 **	1							
枯叶重 Weight of withered leaf	0.565 *	0.503	0.254	1						
根重 Weight of root	0.765 **	0.736 **	0.761 **	0.649 **	1					
叶绿素 Content of chlorophyll	-1.13	0.138	0.424	0.272	0.312	1				
莲座叶数 Number of rosette leaf	-0.298	-0.21	-0.062	-0.868 **	-0.423	-0.274	1			
茎生叶数 Number of cauline leaf	-0.077	0.372	0.666 *	-0.35	0.199	0.347	0.491	1		
分支数 Number of branch	-0.221	0.077	0.550 *	-0.279	0.066	0.584 *	0.312	0.734 *	1	
苔高 Height of trunk	-0.161	-0.024	0.503	0.449	0.067	0.313	0.453	0.816 **	0.824 **	1

注: 除叶绿素含量( $\text{mg} \cdot 0.1 \text{g}^{-1} \text{FW}$ )以外,其它指标均为单株测量;处理 2 试管苗全部死亡,未统计入内; \*\* 显著性水平为 1%; \* 显著性水平为 5%。下同。

Note: All the measured trait used single plantlet except for the content chlorophyll ( $\text{mg} \cdot 0.1 \text{g}^{-1} \text{FW}$ ); All the plantlets of treatment labeled 2 were dead, traits of treatment 2 were not use in statistic analysis; \*\* means the significance level is 1%; \* means the significance is 5%. The same below.

结实率,表现出一定的适应性生长。茎生叶数与苔高极显著正相关,表明茎生叶的主要功能是增加单枝长度,反映出试管苗生殖生长期的适应特点。

## 2.2 不同培养基 N、P、K 三种营养元素含量比较

由图 1 看出,1 号处理  $\text{NO}_3^-$  离子浓度最高,16 号处理最低,两者相差近  $34 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,4 号与 7 号次之,10 号与 13 号差别不大。7 号处理  $\text{NH}_4^+$  离子浓度最高,10 号最小等于 0,结合  $\text{NO}_3^-$  离子浓度的变化图,7 号处理总 N 含量最高,而 10 号由于  $\text{NO}_3^-$  与  $\text{NH}_4^+$  均较低,使得总 N 含量在所有处理中最低,两者相差近  $49 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,1 号与 4 号总 N 含量仅次于 7 号处理,而 2、11、5、8 号 4 种处理总 N 含量差别不大,均在  $40 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  左右。 $\text{K}^+$  浓度除 3 号配方陡然增大外,从 1~16 号处理,均逐渐降低,最大值与最小值相差约  $25 \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。 $\text{PO}_4^{3-}$  浓度变化规律较明显,奇数处理大于相应偶数处理,其中 15 号最大,2 号最小,为 0。

## 2.3 试管苗对 N、P、K 营养元素的吸收特点

从特征值与离子含量做逐步回归分析可以看到,营养元素以及营养元素之间的交互作用对试管苗各个器官生长,发育的影响。为防止变量进入模型逐渐增多而引起的  $R^2$  增大,我们用  $R^2$  与 adjusted  $R^2$  共同考察回归方程的拟合效果。如表 2 所示,根

重与  $[\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-]$ 、 $[\text{K}^+]$  未建立理想的回归方程,这与 16 个配方  $[\text{NH}_4^+]$ 、 $[\text{NO}_3^-]$ 、 $[\text{K}^+]$  变化规律不明显有关。莲座叶叶绿素含量、分枝数、苔重及茎生叶数未建立优化的回归模型,表明特征值的影响因素较多。

抽苔后拟南芥出现分枝、长茎生叶是营养生长向生殖生长过渡的主要标志,以 adjusted  $R^2 \geq 0.5$  的回归方程为例,  $[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]$  对茎生叶数、苔高具有明显的正向作用,而莲座叶数影响效果相反。 $[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]$  对茎生叶数、枯叶重影响显著。 $[\text{PO}_4^{3-}]^2$  与  $[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]$  对莲座叶重的影响与对莲座叶数相反。与莲座叶数、莲座叶重相比,苔高、茎生叶数回归方程变量因素增多,离子间的交互作用更加复杂。

## 3 讨论与结论

Pigliucc *et al.* (2002) 研究发现水淹条件下拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 的莲座叶数与分枝数相关性加强,以加大对生殖生长的投资。茎生叶在生殖阶段对提高拟南芥的相对适合度具有重要作用 (Bailey *et al.*, 2004)。本实验得出不同 N、P、K 营养水平下拟南芥试管苗莲座叶的光合生理功能与分

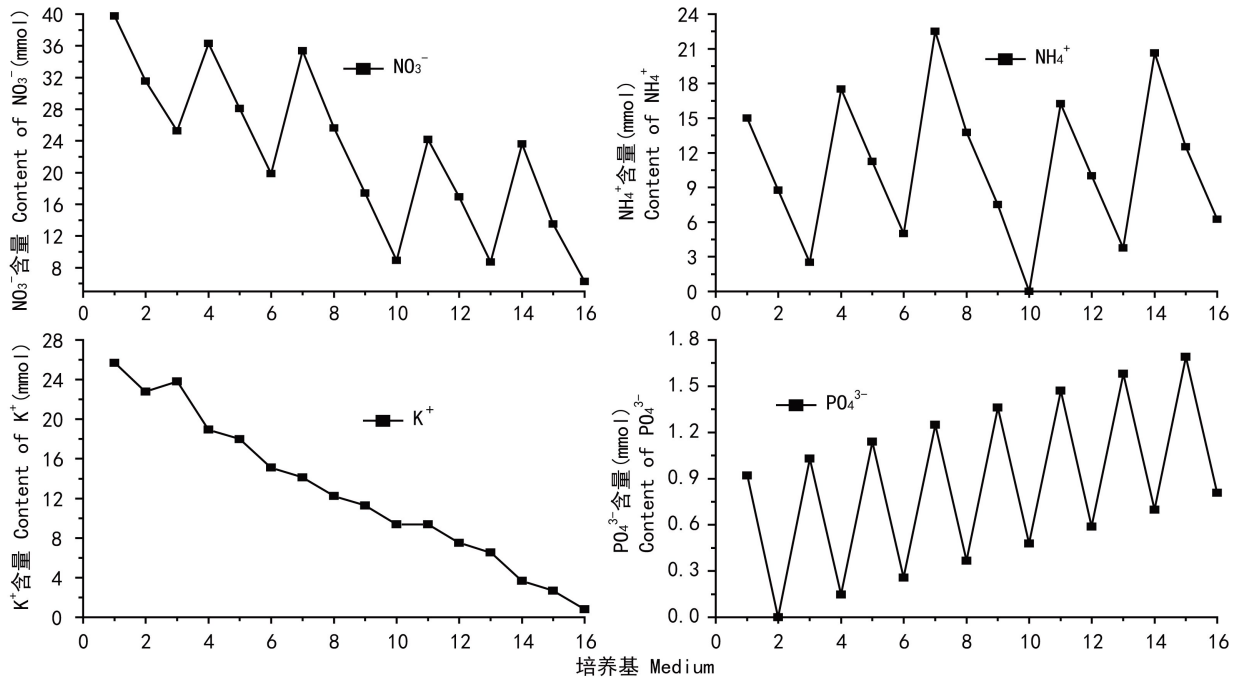


图 1 不同试验培养基中 N、P、K 营养元素含量的比较

Fig. 1 Comparison of content of nutritional elements of N, P and K in different experimental media

表 3 拟南芥试管苗不同指标与营养元素的逐步回归分析

Table 3 Step-wise regression analysis of the different traits of *Arabidopsis thaliana* test-tube plantlet with the nutritional element

特征值 Eigenvalue	方程 Equation	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>
茎生叶重 Weight of cauline leaf	$y=0.432[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]+0.265[\text{PO}_4^{3-}]^2$	0.222	0.093
苔重 Weight of trunk	$y=0.256[\text{PO}_4^{3-}]^2$	0.066	0.01
根重 Weight of root	$y=0.823[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]-0.491[\text{NO}_3^-][\text{NH}_4^+]$	0.201	0.068
叶绿素含量 Content of chlorophyll	$y=0.522[\text{PO}_4^{3-}]^2-1.137[\text{NH}_4^+]^2+0.849[\text{NO}_3^-][\text{NH}_4^+]$	0.422	0.264
分枝数 branches	$y=-0.595[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]$	0.354	0.304
莲座叶重 Weight of rosette leaf	$y=-0.463[\text{PO}_4^{3-}]^2+0.503[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]$	0.737	0.707 *
莲座叶数 No. of rosette leaf	$y=-0.708[\text{PO}_4^{3-}][\text{K}^+]-0.322[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]+0.204[\text{PO}_4^{3-}]^2$	0.962	0.897 *
枯叶重 Weight of withered leaf	$y=0.786[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]+0.160[\text{NO}_3^-][\text{PO}_4^{3-}]$	0.859	0.819 *
苔高 Height of trunk	$y=-1.084[\text{K}^+]^2-0.514[\text{NH}_4^+]^2+0.478[\text{NH}_4^+][\text{K}^+]$	0.921	0.845 *
茎生叶数 No. of cauline leaf	$y=-1.881[\text{K}^+]^2+0.595[\text{PO}_4^{3-}]^2+1.316[\text{NO}_3^-][\text{K}^+]-0.443[\text{NH}_4^+][\text{PO}_4^{3-}]$	0.89	0.767 *

枝数正相关, 茎生叶数与苔高极显著正相关, 结论反映了组培环境下 N、P、K 异质质含量拟南芥适应环境的策略, 性质与 Pigliucc *et al.* (2002)、Bailey *et al.* (2004) 研究结果一致, 这是拟南芥物种自身适应属性在试管环境下的展现。

16 个配方处理 N、P、K 营养含量差异较大, 拟南芥试管苗功能、形态及发育特征值处理之间差异显著, 离体条件下拟南芥对营养离子的吸收呈现一定特点, 拟南芥抽苔后相对于前营养生长期, 植株吸收营养离子的种类增多, 离子间的交互作用加强。

鉴于组培工厂化生产种苗套用基本培养基的现象,Williams(1991)指出有必要考虑培养基中的矿物质组对外植体的生长与发育是否都最优。Ramage(2003)以番茄试管苗为例,发现外植体在不同时期对营养离子存在选择性吸收。本研究以拟南芥为试验材料,充分利用它在试管内可抽苔进行生殖生长的特性,揭示了试管环境下拟南芥营养生长与生殖生长时期对营养离子吸收的差异性规律,一定程度证明了同一外植体在不同培养时期使用单一培养基是不合理的,且试验中未加激素,剔除了以往类似试验中激素作用的协方差,使得结论更具说服力。

为了提高植物离体快繁技术的应用水平,技术上对营养元素含量优化是近年来的研究热点(Nas *et al.*, 2004; Gonçalves *et al.*, 2005; 刘彤等, 2006)。结合本研究结果,认为增加对外植体物种生物学特性的了解,尤其是特殊环境下的适应特征,对培养基中的激素、营养元素优化,是解决部分植物难以通过组培快繁大量繁殖的科学有效方法,应予以重视。

## 参考文献:

Bailey S, Horton P, Walters RG. 2004. Acclimation of *Arabidopsis thaliana* to the light environment: the relationship between photosynthetic function and chloroplast composition[J]. *Planta*, **218** (5): 793–802

Choob VV, Penin AA. 2004. Structure of flower in *Arabidopsis thaliana*: spatial pattern formation[J]. *Russ J Devop Biol*, **35** (4): 224–227

Fang KT(方开泰). 1994. Uniform Design and Uniform Design Table(均匀设计与均匀设计表)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社): 63–64

Gonçalves S, Correia PJ, Martins-Loução MA, *et al.* 2005. A new medium formulation for in vitro rooting of carob tree based on leaf macronutrients concentrations[J]. *Biol Plant*,

**49**(2): 277–280

Henry IM, Dilkes BP, Millerb ES, *et al.* 2010. Phenotypic consequences of aneuploidy in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Genetics*, **186** (4): 1 231–1 245

Iwasakin N, Sato Y, Hisajima S. 2005. Life cycle of *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana*) plant *in vitro* [J]. *Shokubutsu Kankyo Kogaku*, **17** (1): 34–38

Jiang GM(蒋高明). 1994. Plant ecophysiology 植物生理生态学 [M]//Chang J(常杰). Ecophysiology of Plant Growth and Development(植物生长发育的生理生态). Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社): 142–143

LI HS(李合生). 2000. Plant Physiological-Biochemical Tests Principle and Technology(植物生理生化实验原理和技术) [M]. Beijing(北京): Higher Education Press(高等教育出版社): 163–164

Liu T(刘彤), Wei P(魏鹏), Zhao XJ(赵新俊), *et al.* 2006. Optimization of rooting medium for virus-free seedlings of Korla's Xiangli pear cultivar by using uniform design(应用均匀设计优化香梨脱毒生根培养基)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **23**(4): 635–637

Nas MN, Read PE. 2004. A hypothesis for the development of a defined tissue culture medium of higher a plants and micropropagation of hazelnuts[J]. *Sci Hortic*, **101**: 189–200

Pigliucci M, Kolodynska A. 2002. Phenotypic plasticity and integration in response to flooded conditions in natural accssions of *Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh (Brassicaceae)[J]. *Ann Bot*, **90**: 199–207

Ramage CM, Williams RR. 2003. Mineral uptake in tobacco leaf discs during different development stages of shoot organogenesis [J]. *Plant Cell Rep*, **21**(11): 1 047–1 053

Sletvold N, Ågren J. 2012. Variation in tolerance to drought among Scandinavian populations of *Arabidopsis lyrata*[J]. *Evol Ecol*, **26** (3): 559–577

Williams RR. 1991. Factors determining mineral uptake in vitro [J]. *Acta Hortic*, **289**: 165–166

Wu J(吴嘉), Yang HY(杨红玉), Yang MZ(杨明攀), *et al.* 2010. Effects of SNP and cPTIO on physiology of *Arabidopsis* seedling under NaCl stress(SNP 和 cPTIO 对 NaCl 胁迫下拟南芥的生理影响)[J]. *Guihaia* (广西植物), **30**(5): 666–671