



(12)发明专利申请

(10)申请公布号 CN 105961175 A

(43)申请公布日 2016.09.28

(21)申请号 201610516251.4

(22)申请日 2016.07.04

(71)申请人 浙江工业大学

地址 310014 浙江省杭州市下城区潮王路
18号浙江工业大学

(72)发明人 钱海丰 陈思 李星星

(74)专利代理机构 杭州浙科专利事务所(普通
合伙) 33213

代理人 吴秉中 周红芳

(51)Int.Cl.

A01G 31/02(2006.01)

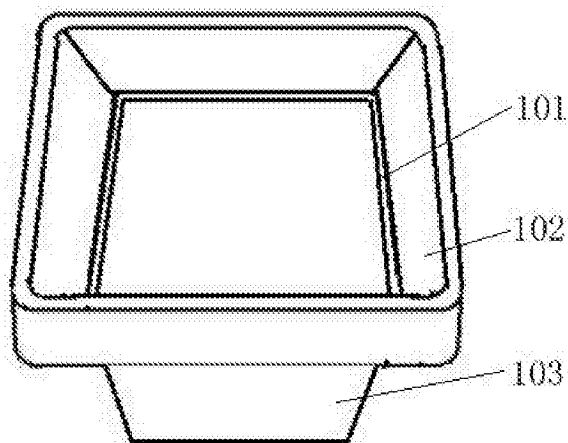
权利要求书1页 说明书3页 附图2页

(54)发明名称

一种拟南芥无菌水培装置及其水培方法

(57)摘要

一种拟南芥无菌水培装置及其水培方法,属于植物栽培技术领域。装置包括配合设置的培养盒及盒盖,培养盒为透明盒体,培养盒内装有营养液,培养盒内壁设有凹槽,铁丝网设置在凹槽上并由凹槽支撑,铁丝网上均匀设置有一组网孔,网孔孔径小于拟南芥种子直径,拟南芥种子固定在网孔上。本发明结构简单、操作方便、成本低、耗材少、使用灵活性高;它通过采用该水培装置采用营养液与无菌设备相结合的水培系统,用于培养拟南芥种子,其拟南芥种子固定在铁丝网上,再直接与营养液充分接触,不仅保留了水培种植的优点,而且克服了实验设备繁琐易染菌的缺陷,可保证拟南芥的无菌生长环境,大大减少了菌类和藻类的污染。



1. 一种拟南芥无菌水培装置,包括配合设置的培养盒(1)及盒盖(3),培养盒(1)为透明箱体,培养盒(1)内装有营养液,其特征在于培养盒(1)内壁设有凹槽(101),铁丝网(2)设置在凹槽(101)上并由凹槽(101)支撑,铁丝网(2)上均匀设置有一组网孔(201),网孔(201)孔径小于拟南芥种子直径,拟南芥种子固定在网孔(201)上。

2. 根据权利要求1所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于盒盖(3)上设有 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜,通过微孔滤膜隔绝空气中微生物的进入水培装置内。

3. 根据权利要求2所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜面积与盒盖(3)面积比为1:4-6。

4. 根据权利要求1所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述培养盒(1)为变径结构,由上箱体(102)及下箱体(103)连接构成,上箱体(102)及下箱体(103)均为柱锥台体结构,凹槽(101)设置在上箱体(102)小口径一端与下箱体(103)大口径一端的连接处。

5. 根据权利要求4所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述盒盖(3)面积与上箱体(102)大口径一端的面积匹配,盒盖(3)高度小于或等于上箱体(102)的上口至凹槽(101)的高度。

6. 一种基于权利要求1所述的拟南芥无菌水培装置的拟南芥无菌水培方法,其特征在于包括以下步骤:

1) 组装水培装置,往下箱体(103)内倒入灭菌的培养基,添加至液面与铁丝网(2)充分接触,以便拟南芥播种后能立刻与营养液接触,获得生长所需要的营养;

2) 用移液枪吸取灭菌后的拟南芥种子,根据需要的种植点在铁丝网(2)的网孔(201)中,保持种子与营养液充分接触,固定盒盖(3);随后将水培装置放进温度为 $24-30^{\circ}\text{C}$,相对湿度为60-80%的黑暗培养箱一天待其发芽后,拿到温度为 $22-25^{\circ}\text{C}$,相对湿度50-80%的培养间培养,直至拟南芥生长到所需大小,以供实验。

7. 根据权利要求6所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述培养基为每升培养液中含有10mL大量元素A1母液,10mL大量元素A2母液,0.1mL微量元素B1母液,0.1mL微量元素B2母液及铁盐5mL母液,余量为去离子水,其pH值为5.60。

8. 根据权利要求7所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述大量元素A1母液含有 KNO_3 60.66 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.1503 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24.647 g/L;所述的大量元素A2母液含有 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 94.46 g/L;所述的微量元素B1母液含有KCl 18.6375 g/L;所述的微量元素B2母液含有 H_3BO_3 1.9323 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.4226 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.7189 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 0.3121 g/L, H_2MoO_4 0.0405 g/L, $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 0.0657 g/L;所述的铁盐母液含有 $\text{EDTA} \cdot 2\text{Na} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 3.7224 g/L, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 2.703 g/L。

9. 根据权利要求6所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于拟南芥种子要在 $4-6^{\circ}\text{C}$ 下先春化3天后再播种。

10. 根据权利要求6所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述培养间的光照周期为16-18h光照/6-8h黑暗,其光照强度3000-5000lux。

一种拟南芥无菌水培装置及其水培方法

技术领域

[0001] 本发明属于植物栽培技术领域,具体为一种适用于直播法且无菌培养的拟南芥无菌水培装置及其水培方法。

背景技术

[0002] 拟南芥具有易培养,成本廉价,繁殖周期短等优点,常作为遗传学和分子生物学研究中重要的模式生物。由于拟南芥基因组在已知植物中最小,高度纯合,且全基因组测序工作完成,在植物基因功能,调控机制以及环境毒理学研究中发挥不可替代的作用。随着组学技术的发展,植物生物学研究已进入大数据时代,这对拟南芥的快速大量培养优质的幼苗提出了更高的要求。

[0003] 拟南芥种子小,苗弱,对生长环境有严格要求,给培养方式提出了更高的要求。目前拟南芥幼苗的培养方式主要有水培法、土培法(营养土或介质混合培养)及组织培养法。土培和组培法植物较瘦弱,植株抽薹不稳定,易出现倒伏现象,且不能严格的控制培养介质的营养成分,不利于植物整个生长周期的观察和根系的研究,给研究工作造成诸多阻碍。

[0004] 水培法相对操作简单,可以精准人为控制营养培养条件,快速培养出整齐的幼苗,植株的各个器官容易获取。因此,水培法是植物营养胁迫和植物代谢等研究的重要手段。

[0005] 目前拟南芥的水培方法在灵活性及条件控制上还有些不足,设备比较复杂,且生长过程中需要移栽,从而造成一定的物理损伤。另外,传统直播水培法种子难以固定且实验装置的敞口设计易受到藻类、真菌等多方面的污染。

发明内容

[0006] 针对现有技术中存在的上述问题,本发明的目的在于提供一种拟南芥无菌水培装置及其水培方法。它采用营养液与无菌设备相结合的水培系统,不仅保留了水培种植的优点,而且克服了实验设备繁琐易染菌的缺陷。

[0007] 所述的一种拟南芥无菌水培装置,包括配合设置的培养盒及盒盖,培养盒为透明盒体,培养盒内装有营养液,其特征在于培养盒内壁设有凹槽,铁丝网设置在凹槽上并由凹槽支撑,铁丝网上均匀设置有一组网孔,网孔孔径小于拟南芥种子直径,拟南芥种子固定在网孔上。

[0008] 所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于盒盖上设有 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜,通过微孔滤膜隔绝空气中微生物的进入水培装置内。

[0009] 所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜面积与盒盖面积比为1:4-6。

[0010] 所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述培养盒为变径结构,由上盒体及下盒体连接构成,上盒体及下盒体均为柱锥台体结构,凹槽设置在上盒体小口径一端与下盒体大口径一端的连接处。

[0011] 所述的一种拟南芥无菌水培装置,其特征在于所述盒盖面积与上盒体大口径一端

的面积匹配,盒盖高度小于或等于上盒体的上口至凹槽的高度。

[0012] 所述的拟南芥无菌水培装置的拟南芥无菌水培方法,其特征在于包括以下步骤:

1)组装水培装置,往下盒体内倒入灭菌的培养基,添加至液面与铁丝网充分接触,以便拟南芥播种后能立刻与营养液接触,获得生长所需要的营养;

2)用移液枪吸取灭菌后的拟南芥种子,根据需要的种植点在铁丝网的网孔中,保持种子与营养液充分接触,固定盒盖;随后将水培装置放进温度为24-30℃,相对湿度为60-80%的黑暗培养箱一天待其发芽后,拿到温度为22-25℃,相对湿度50-80%的培养间培养,直至拟南芥生长到所需大小,以供实验。

[0013] 所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述培养基为每升培养液中含有10mL大量元素A1母液,10mL大量元素A2母液,0.1mL微量元素B1母液,0.1mL微量元素B2母液及铁盐5mL母液,余量为去离子水,其pH值为5.60。

[0014] 所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述大量元素A1母液含有 KNO_3 60.66 g/L, $(\text{NH}_4)_2\text{H}_2\text{PO}_4$ 1.1503 g/L, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 24.647 g/L;所述的大量元素A2母液含有 $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4 \text{H}_2\text{O}$ 94.46 g/L;所述的微量元素B1母液含有 KCl 18.6375 g/L;所述的微量元素B2母液含有 H_3BO_3 1.9323 g/L, $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0.4226 g/L, $\text{ZnSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ 0.7189 g/L, $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ 0.3121 g/L, H_2MoO_4 0.0405 g/L, $\text{NiSO}_4 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 0.0657 g/L;所述的铁盐母液含有 $\text{EDTA} \cdot 2\text{Na} \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ 3.7224 g/L, $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ 2.703 g/L。

[0015] 所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于拟南芥种子要在4-6℃下先春化3天后再播种。

[0016] 所述的拟南芥无菌水培方法,其特征在于所述培养间的光照周期为16-18h光照/6-8h黑暗,其光照强度3000-5000lux。

[0017] 通过采用上述技术,与现有技术相比,本发明具有如下优点及效果:

1)本发明的水培装置采用带有多网孔的铁丝网用于固定拟南芥种子,其培养非常高效,可满足不同密度种植,在短时间内获得大量长势一致的拟南芥幼苗,未采用空心管或海绵等辅助固定材料,其结构简单、操作方便、成本低、耗材少、使用灵活性高,它通过用铁丝网固定拟南芥种子,充分与营养液接触,且铁丝网可重复利用,耐高温可灭菌,质地坚硬不易变形,可满足拟南芥幼苗培养,适合大规模的水培种植,特别满足科学研究中要求获得无菌的拟南芥幼苗培养,同样适用于其他种子细小的植物;

2)本发明通过采用该水培装置采用营养液与无菌设备相结合的水培系统,用于培养拟南芥种子,其拟南芥种子固定在铁丝网上,再直接与营养液充分接触,不仅保留了水培种植的优点,而且克服了实验设备繁琐易染菌的缺陷,可保证拟南芥的无菌生长环境,大大减少了菌类和藻类的污染;

3)本发明限定了在盒盖上设置0.45μm微孔滤膜,并进一步限定了0.45μm微孔滤膜面积与盒盖面积比为1:4-6,有效隔绝空气中微生物的进入。

附图说明

[0018] 图1为本发明的结构示意图;

图2为本发明的培养盒结构示意图;

图3为本发明的铁丝网结构示意图。

[0019] 图中:1-培养盒,101-凹槽,102-上箱体,103-下箱体,2-铁丝网,201-网孔,3-盒盖。

具体实施方式

[0020] 以下结合说明书附图对本发明作进一步说明,但本发明的保护范围并不仅限于此。

[0021] 如图1-3所示,本发明的一种拟南芥无菌水培装置,用于培育拟南芥幼苗用,它包括配合设置的培养盒1及盒盖3,培养盒1为透明箱体,该培养盒1为变径结构,由均为柱锥台体结构的上箱体102及下箱体103连接构成,其中上箱体102小口径一端与下箱体103大口径一端连接,凹槽101设置在连接处,下箱体103用于盛装营养液;盒盖3面积与上箱体102大口径一端的面积匹配,盒盖3高度小于或等于培养盒1的上箱体102的上口至凹槽101的高度以保证密封,铁丝网2设置在凹槽101上并由凹槽101支撑,铁丝网2上均匀设置有一组网孔201,网孔201孔径小于或等于拟南芥种子直径,将拟南芥种子固定在网孔201上,网孔201无需全部利用,可根据实验需求设计直播密度。

[0022] 本发明的盒盖3上开有通孔,通孔上设有 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜,通过微孔滤膜隔绝空气中微生物的进入水培装置内,所述 $0.45\mu\text{m}$ 微孔滤膜面积与盒盖3面积比为1:4-6,优选为1:5。

[0023] 本发明通过可回收利用的铁丝网2作为拟南芥种子的支撑物,节约了成本和耗材,并且可灵活操作,利用无菌的盒盖3,可快速培养大量的无菌拟南芥幼苗,解决了现有水培装置易受藻类以及微生物的干扰的缺点,且培养盒1由透明材料制成,方便观察植株根系的变化,其结构简单、灵活性高、操作方便、成本低耗材少,可快速且大量的为科学研究提供无菌的植物材料。

[0024] 实施例1

如图所示,本发明的一种基于本发明限定的拟南芥无菌水培装置的拟南芥水培方法,具体包括如下步骤:

1) 组装水培装置,并在下箱体103内添加灭菌好的培养基,培养基液面与铁丝网2充分接触;

2) 拟南芥种子,在 $4-6^{\circ}\text{C}$ (实施例中用 4°C)下先春化3天,用10mL移液枪吸取拟南芥种子(拟南芥种子先加入少量培养基中,便于其被吸取),点播在铁丝网2的网孔201中,使其与步骤1)中下箱体103内的营养液充分接触,随后将水培装置放进温度为 $24-30^{\circ}\text{C}$ (实施例中用 25°C),相对湿度为60-80%的黑暗培养箱一天待其发芽后,然后将该水培装置放进培养间培养;所述培养间的培养条件是:光照周期16-18h光照/6-8h黑暗,温度为 $22-25^{\circ}\text{C}$ 左右(实施例中的光照周期16h光照/8h黑暗,温度为 $22-25$ 左右,相对湿度为50-80%),通过采用本实验装置培养拟南芥,其发芽率可达到90%以上,成苗率80%以上,污染率可控制在5%以内。

[0025] 上述实施例为本发明最佳的实施方式,但本发明的实施方式并不受上述实施例的限制,其他的任何未背离发明的精神实质与原则下所作的改变、修饰、替代、组合、简化,均应为等效的置换方式,都包含在本发明的保护范围内。

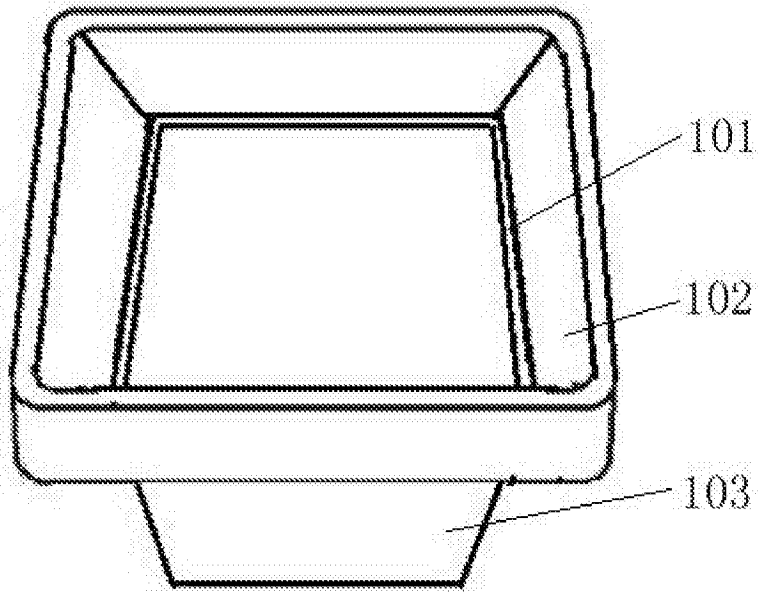


图1

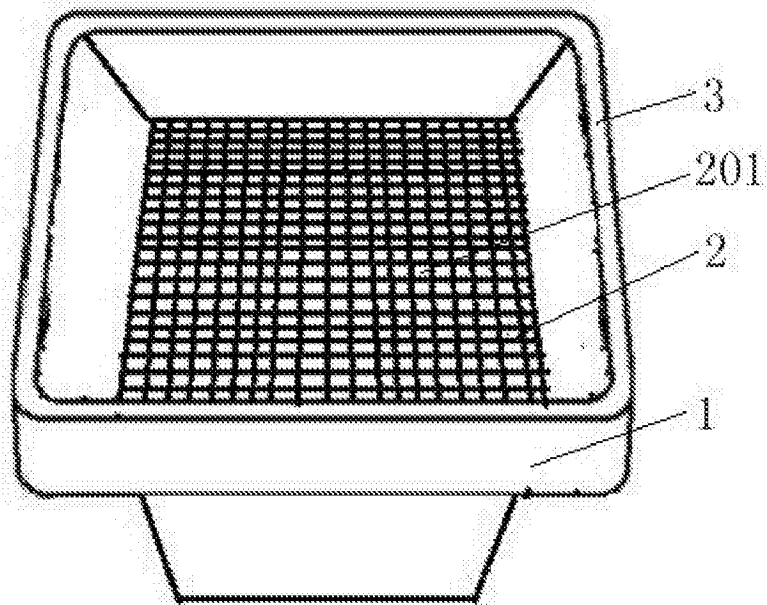


图2

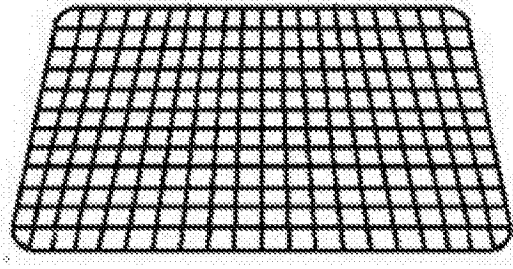


图3