

东方百合试管正常苗与玻璃苗叶片解剖结构的比较

韦梅琴, 郑江伟
(青海大学 农牧学院农林系 青海 西宁 810016)

摘要: 利用解剖学方法, 对东方百合试管正常苗和玻璃苗叶片解剖结构进行了观察比较, 结果表明: 二类苗叶都为等面叶, 其表皮均由单层细胞构成, 气孔突出, 且叶肉中通气组织发达。与试管正常苗相比, 玻璃苗的叶片厚; 叶肉组织无细胞的分化; 气孔突出明显, 表皮细胞、叶肉细胞体积膨大; 有的叶肉细胞壁发育不全, 在某些区域出现空洞, 壁的形态呈现不完整的现象; 玻璃苗叶片的维管组织呈现退化的现象。

关键词: 东方百合; 试管苗; 玻璃苗; 叶片; 解剖结构
中图分类号: S 682.2⁺ 9; S 603.6 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2007)12-0203-03

百合 (*Lilium tenuifolium* Fisch) 属于百合科百合属。东方百合花姿奇特, 为百合中的名贵种类, 深受人们的欢迎^[1]。近年来, 对东方百合离体培养的研究已有大量的报道, 但在离体培养中, 有时会出现异常现象, 如试管苗玻璃化就是常见的问题之一; 这是植物组织培养过程中特有的一种生理失调或生理病变, 由于其组织畸形, 吸收器官与光合器官功能不全, 因而很难移栽成活^[2-4]。现针对东方百合离体培养中产生的试管正常苗和玻璃苗叶片进行解剖学研究, 以期能为试管植物提供解剖学资料。

1 材料与方法

于青海大学实验温室里选择生长健壮的东方百合—马可菠萝茎尖为外植体, 接种于添加 BA、KT 的 MS 培养基中诱导培养, 经初代及继代培养获取的试管正常苗和玻璃苗的叶片, 用 FAA 固定液固定, 梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋; 切片厚度为 8~12 μm; 番

红—固绿对染; 中性树胶封片。在 Olympus-BH 显微镜下进行观察、测微和拍照。

2 结果与分析

2.1 东方百合正常苗的形态解剖学特征

2.1.1 形态学特征 试管正常苗高约 8 cm, 呈绿色, 由数枚叶片及其基部的小鳞茎组成。叶片无柄, 呈绿色, 较薄, 披针形, 具平行脉, 叶表光滑无毛。鳞茎呈扁球形, 由多数肥厚肉质的鳞片抱合而成, 外无皮膜。见图 1。

2.1.2 解剖学特征 正常苗叶片的中脉处厚 445.88 μm, 其余部分厚 300.95 μm。叶的上下表皮由单层细胞构成, 排列整齐, 缺少角质层, 气孔微突, 具孔下室。上表皮细胞的长为 27.45~65.70 μm, 宽为 29.79~64.35 μm, 下表皮细胞长为 27.18~42.93 μm, 宽为 26.55~46.08 μm。叶肉组织分化为等面叶, 背腹两面都有明显的栅栏组织, 厚 65.08 μm, 近方形, 细胞排列不紧密, 胞间隙大, 一般为 31.58 μm; 海绵组织厚 192.83 μm, 成不规则的圆形, 细胞排列不紧密, 胞间隙大, 具有裂隙腔, 宽为 36.08~121.56 μm, 栅栏组织与海绵组织的厚

第一作者简介: 韦梅琴(1963-), 女, 高级实验师, 从事植物学及组织培养方面的工作。E-mail: xnmq@126.com。
收稿日期: 2007-07-15

Studies on Pultaceous Callus Induction in Pumpkin

ZOU Ke-qin, ZHANG Yong-jun, LOU Ji-dong, FENG Jin-ping, CAO Tian
(College of Life Science, China Jiliang University, Hangzhou, Zhejiang 310018, China)

Abstract: Rapidly vegetal and pultaceous callus is the basis of plant cell suspension culture. Using the leaf blade of pumpkin as explants, added different kinds of hormones and proportions to MS medium for inducing the callus of pumpkin, then compared the induction rate, properties and growth potential. The results showed that the callus induction rate and growth potential were the highest when MS+1.0 mg/L BA+0.1 mg/L NAA was used.

Key words: Pumpkin; Callus; Induction rate

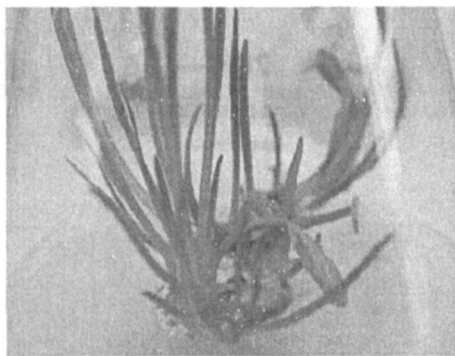


图 1 东方百合试管正常苗

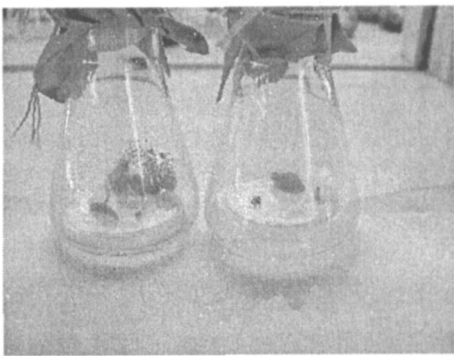


图 2 东方百合玻璃苗

度比为 1 : 2.96。有个别地方叶肉组织分化不明显,背腹一侧为栅栏组织一侧为海绵组织,有的甚至没有分化。叶片的主脉维管束单个,可观察 3 ~ 4 束木质部的

导管和韧皮部的筛管和伴胞及外围由一层薄壁细胞构成的维管束鞘,主脉维管束长 108.52 μm ,宽为 86.09 μm ,导管口径为 14.27 μm 见图 3.4。

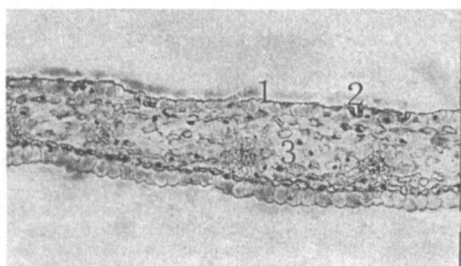


图 3 东方百合正常苗的叶子($\times 100$)
注: 1. 表皮; 2. 气孔; 3. 叶肉细胞。

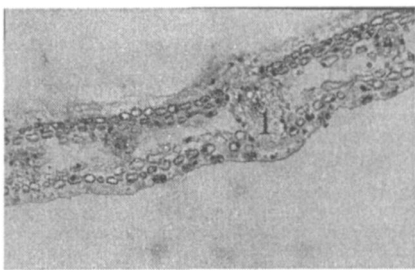


图 4 东方百合正常苗的叶子($\times 100$)
注: 1. 主脉维管束。

2.2 东方百合玻璃苗的形态解剖学特征

2.2.1 形态学特征 与正常苗相比,玻璃苗在形态上发生了显著的变化,玻璃苗植株矮小,一般株高 2 ~ 3 cm,叶片呈半透明、水浸状、海绿色,且肥厚;叶表凸凹不平,常皱缩并纵向卷曲,脆弱易破碎,见图 2。

2.2.2 解剖学特征 玻璃苗叶片无明显主脉,平均厚为 776.60 μm 。叶的上下表皮由单层细胞构成,排列不整齐,无角质层,气孔突出明显。上表皮细胞呈扁长形,长

为 64.62 ~ 267.99 μm ,宽为 39.60 ~ 69.30 μm ,下表皮细胞长为 81.54 ~ 350.55 μm ,宽为 37.35 ~ 103.41 μm 。叶也属于等面叶,但没有栅栏组织和海绵组织的分化。叶肉细胞的细胞壁不完整,在某些区域具有长 543.85 μm ,宽为 189.65 μm 的裂隙腔。叶脉极度退化,仅相当于正常苗叶的细脉结构,一般由 2 ~ 3 个导管,几个筛管和外围的维管束鞘构成。维管束长为 94.27 μm ,宽为 64.08 μm ,导管的口径为 13.25 μm ,见图 5.6。

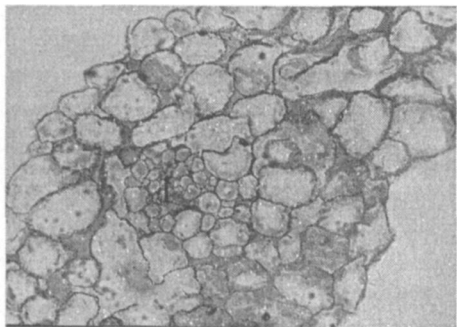


图 5 试管玻璃苗的叶片($\times 400$)
注: 主脉维管束

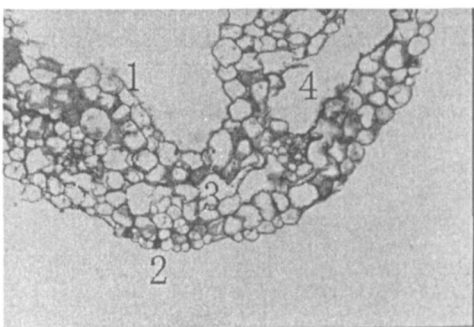


图 6 试管玻璃苗的叶片($\times 100$)
注: 1. 表皮; 2. 气孔; 3. 叶肉细胞; 4. 裂隙腔。

3 讨论

3.1 试管正常苗与玻璃苗的叶片在解剖结构上表现出与湿生植物叶片结构相似的特征

二类试管苗共同表现为: 通气组织发达, 具有裂隙腔; 而机械组织和输导组织较弱 (尤其是玻璃苗的); 表皮缺少角质层, 气孔突出。这可能是由于试管苗生长在玻璃容器中, 其生长环境与湿生植物的生存环境极为相似, 即相对湿度近乎饱和, 氧气供应不足, 光照强度弱。因而其叶片结构也相应出现了与湿生植物叶片结构相似的特征, 这是植物与生存环境相适应的结果。

3.2 试管苗叶片形态解剖结构对光照强度变化的响应与适应

叶解剖结构对阴生环境的适应主要体现在表皮细胞和栅栏组织细胞的形状及其排列方式两方面。表皮形态结构表现为细胞凸透、体积增大、细胞壁薄、常含叶绿素、无角质膜。这种变化可增强叶片细胞对光的捕获能力, 有利于光辐射穿透叶表皮到达叶肉组织, 或直接在叶片表皮中进行光化学反应, 提高光合能力。而叶肉是光合的主要部位, 栅栏组织和海绵组织厚度、细胞层数及栅栏细胞的形态变化等组合的差异必然影响到叶绿体的分布和光合作用的效率。近方形栅栏细胞可以提高近轴面和侧面叶绿体分布的密度, 增加了受光面积, 是植物对弱光条件的适应。组培间光照强度为 2 000 lx, 部分遮光处只有 800 ~ 1 000 lx。从不同遮光叶片的显微切片来看, 相对较强光照下叶片栅栏组织细胞排列较为紧密, 一般有 3 ~ 4 层细胞组成, 细胞间隙小, 层次清晰, 栅栏组织同海绵组织之间界限明显; 遮光较强的叶片栅栏组织细胞排列疏松, 一般仅由 1 ~ 2 层细胞所组成, 其余的细胞分化不充分, 栅栏组织同海绵组织之间界限不清晰。试管苗叶片表现出对光照强度的较强敏感性, 随光照强度增加叶面积缩小, 叶片栅栏组织细胞层数增加; 反之, 随光照强度减弱, 叶面积增大, 栅栏组织层数减少, 细胞排列疏松。说明光照条件是影

响叶片形态解剖结构的一种经常性环境因子。

3.3 玻璃苗的形态解剖与生理特点

与东方百合试管正常苗相比, 玻璃苗叶片在形态特征和解剖结构上有着显著的不同。叶的厚度为正常苗的 1.74 倍, 叶的表皮细胞、叶肉细胞均显著液泡化增大, 使细胞的形态呈现显著的横向增长的特点。表皮细胞和叶肉细胞的长宽比分别为 2.6 和 1.27, 而正常苗的仅为 0.8 和 0.61, 有的叶肉细胞的细胞壁出现空洞而呈现不完整状态, 这种结构上的特征可能是由于玻璃苗的细胞缺少纤维素和木质素, 从而导致壁压下降, 使细胞过度吸水而引起形态的畸变^[6], 另外玻璃苗的细胞中水分含量及还原糖、蔗糖、K、Ca、Cl 的含量较高^[7-9], 而木质素、叶绿素和蛋白质、肌醇、Fe、Cu 含量较低^[6,8], 使玻璃苗的细胞壁发育差, 细胞质膜透性发生变化。玻璃苗叶片形态和解剖结构的畸形与其生理生化变化相吻合。

参考文献

[1] 黄惠英. 东方百合的离体培养[J]. 甘肃农业大学学报, 2000, 35(4): 450-453.
[2] 刘淑玉, 祁东文, 冯文伟. 如何克服植物组织培养中试管苗玻璃化问题[J]. 新疆林业, 2001(1): 15.
[3] 鲁旭东. 植物组织培养中的玻璃苗问题[J]. 农业与技术, 1999, 19(2): 34-36.
[4] 谢丽霞. 试管苗的玻璃化现象及其预防措施[J]. 垦殖与稻作, 2005(3): 11-12.
[5] 李正理. 植物制片技术[M]. 2版. 北京: 科学出版社, 1987: 60-72.
[6] Phan C T, Letouze R. A comparative study of chlorophyll phenolic acid and protein contents and of hydroxycinnamate: CoA ligase activity of normal and vitreous plants (Prunus avium L.)[J]. Plant Sci Lett, 1983, (31): 323-327.
[7] Zimmerman T W, Cobb B G. Vitrification and soluble carbohydrate levels in Petunia leaves as influenced by methyl Celvite and sucrose concentration[J]. Plant Cell Rep, 1989, (8): 358-360.
[8] 刘思颖, 王泰哲. 丝竹竹玻璃苗的研究[J]. 园艺学报, 1988(15): 272-276.
[9] Frick H. Vitrification in vivo in Lemna minor and its maintenance by inopentery kadewine[J]. Plant Physiol, 1991, 137: 502-504.

The Comparson on the Anatomical Structure for Leaves of the Formal Shoots and Vitrification Shoots in Tissue Culture of Oriental lily hybrids

WEI Mei-qin, ZHENG Jiang-wei

(Department of Agronomy and Forestry, Agricultural and Animal Husbandry College of Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract: By the way of anatomical method, Anatomical structure of leaves of the formal shoots and vitrification shoots were observed and compared, It was found that both of them belonged to isolateral leaf, they were single layer of epidermis, stoma emergented, and aerenchyma was flourishing in mesophyll. Compare with the formal shoots, the leaves of vitrification shoots were thick, mesophyll cells were not differentiation, size of mesophyll cells and epidermis cells expanded, cell walls were agensels of some mesophyll cells and emerged void space in some regional. Vascular tissue merged extreme degeneration state of leaves of vitrification shoots'leaves.

Key words: Oriental lily hybrids; Shoots regenerated in vitro; Vitrification shoots; Leaf; Anatomical structure