

# 薰衣草组培苗驯化移栽过程中形态解剖学比较

权俊萍<sup>1</sup>, 戴丽娜<sup>1</sup>, 唐徐林<sup>2</sup>, 牛攀新<sup>1</sup>, 贾晓鹰<sup>1</sup>, 吕国华<sup>1</sup>

(1. 石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832000; 2. 阿克苏市农村能源环境监测站, 新疆 阿克苏 843000)

**摘 要:**以继代培养不同时间、移栽生长不同阶段薰衣草组培苗为试材, 比较研究了不同阶段组培苗叶片及根系形态解剖及超微结构差异。结果表明: 瓶内壮苗培养 30 d 左右, 组培苗叶片和根系已分化出相对完整的形态组织结构, 具有初步的气孔调节及光合自养能力, 但与移栽 50 d 苗和栽培 1 a 生苗木有显著差异。温室移栽 50 d 时, 组培苗组织器官功能已基本满足露地生长的基本要求, 在栽培条件合适时, 可进行田间移栽相关工作。该研究为薰衣草工厂化组培苗生产的技术实施提供了科学依据。

**关键词:**薰衣草; 组培苗; 移栽驯化; 解剖结构

**中图分类号:**S 681.903.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2012)03-0055-04

薰衣草为唇形科(Labiatae)薰衣草属(*Lavandula*)多年生小灌木, 原产地中海沿岸地区, 不仅是世界香料种植产业中的重要组成部分, 而且因其较高的花文化内涵和观赏价值, 在许多城市的园林绿化实践工作中得以推广普及, 苗木需求量逐年增加。薰衣草种子杂合度高, 种子产量低且发芽率差, 种苗生产主要依靠传统的扦插、分株等营养繁殖方式进行, 但存在苗木整体成活能力较差, 繁殖效率低, 以及长期无性繁殖造成的品种混杂、优良特性逐渐丧失及整体抗性下降等严重问题, 给薰衣草种植带来较大困扰和损失<sup>[1-2]</sup>。采用植物组织培养快速繁殖技术进行薰衣草高质量种苗的生产, 成为解决以上问题的必要途径。

植物组织培养快速繁殖技术是对传统种苗生产技术的重要补充, 已在许多经济植物的高质量种苗生产中得到推广和普及, 优点突出, 应用效果显著<sup>[3]</sup>。在薰衣草工厂化苗木繁育体系中, 组培苗移栽驯化成活率一直是限制种苗生产的重要技术瓶颈之一, 采用科学的移栽驯化技术是保证种苗质量、降低生产成本、提高种苗生产效率的重要保证。植物在不同环境下培养, 会在形态和生理上发生相应的适应, 特别是植物营养器官的可塑性, 已成为衡量植物对环境适应能力的重要指标<sup>[4-5]</sup>, 组培苗移栽驯化过程中组织形态学的变化规律在部分植物中已被研究, 对揭示组培苗的生态适应性机理提供了良好科学依据<sup>[6-9]</sup>。

该研究通过对工厂化薰衣草组培苗壮苗驯化阶段叶片及根系形态解剖结构的观测比较, 探究组培苗移栽驯化过程中形态结构特点、可塑性差异及组培苗适应性规律, 以期为提高薰衣草组培苗移栽成活率及高质量工厂化种苗的生产实践提供科学理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料为伊犁地区薰衣草主栽品种‘701’, 试验在石河子大学设施种苗研发中心进行。

相关试验样品材料及编号如下: GL<sub>1</sub>~GL<sub>3</sub> 分别代表壮苗培养 10、20、30 d 的薰衣草组培苗叶片; WL<sub>1</sub>、WL<sub>2</sub> 和 LY 分别代表温室移栽 20、50 d 的组培苗叶片和露地栽培 1 a 的组培苗叶片; GR<sub>1</sub>、GR<sub>2</sub> 分别代表壮苗培养 20、50 d 的薰衣草组培苗根系; WR<sub>1</sub>、WR<sub>2</sub> 和 LG 分别代表温室移栽 20、50 d 的组培苗根系和露地栽培 1 a 的组培苗根系。

### 1.2 试验方法

1.2.1 叶片表面形态观察(指甲油膜法) 于同一天上午 12:00, 选取不同处理薰衣草顶生第 1 片完全伸展新生叶片, 在其叶片背面中部叶脉附近均匀地涂一层指甲油, 空气干燥 10 min 后从叶片上取下, 平铺在载玻片上, 于泰克双目体视显微镜进行镜检拍照, 观察比较其气孔、腺毛及表皮细胞的形态特征差异<sup>[10]</sup>。选取同一处理 10 个不同叶片, 按照以上操作方法, 调查 40×视野范围的气孔数目(N), 表皮细胞数量(M), 开张气孔数目(T), 采用 Motic Images Advanced 3.2 软件直接计算中心视野气孔长纵横径。每叶片观察 5 个视野, 共观察 50 个视野。视野面积的计算方法参见王灶安<sup>[11]</sup>的方法, 气孔密度和气孔指数的计算参照汪矛<sup>[12]</sup>的方法: 气孔密度 = N/视野面积; 气孔指数 = N/(N+M)×100, 气孔开张率 = 开张气孔数量/观察气孔总数×100, 所有观测数据

**第一作者简介:**权俊萍(1973-), 女, 博士, 副教授, 现主要从事园艺园林植物种质资源及遗传育种研究工作。E-mail: quanjp99@163.com。

**责任作者:**吕国华(1964-), 男, 本科, 教授, 现主要从事园艺植物生理生态学研究。E-mail: lghshz@163.com。

**基金项目:**石河子大学动植物育种专项资助项目(gxjs2009-yz03); 石河子大学高层次人才引进资助项目(RCZX200819)。

**收稿日期:**2011-11-23

采用 DPS 统计分析软件进行统计处理。

1.2.2 叶片和根组织显微结构观察 按常规石蜡切片技术进行。同一时间选取不同处理材料的薰衣草顶生第 1 片完全伸展叶片, FAA 固定后, 经脱水、透明、透蜡、包埋、切片后, 进行脱蜡、复水, 经番红-同绿对染, 经再脱水、透明等处理, 最后用加拿大胶封固, 于 ZEISS STEMI SVII 光学显微镜下拍照并观测和统计叶片各部分形态结构<sup>[12]</sup>。

1.2.3 叶片细胞超微结构观察 同一时间选取不同处理材料的薰衣草侧根成熟区和顶生第 1 片完全伸展叶片, 用 LKB-V 型切片机切成宽 0.5 mm、厚 80 nm 的半薄切片, 于 3% 戊二醛溶液中 4℃ 固定 12 h, 磷酸缓冲液 (pH 7.2) 清洗 3 次, 每次 15 min。然后于 2% 锇酸 4℃ 条件下固定过夜, 材料经丙酮逐级 (30%→50%→70%→80%→90%→95%→无水丙酮) 脱水, 包埋剂渗透后用 Epon 812 环氧树脂包埋, 经半薄切片光学显微镜观察定位后, 在 LKB-V 型切片机切成超薄切片 (厚 10 nm), 醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色, 自然干燥后于 JEM-1200EX 型透射电镜下观察比较不同处理叶片细胞超微结构<sup>[13]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶片表皮形态及气孔分析

气孔作为叶片与外界环境进行气体和水分交换的重要通道, 对植物的光合、蒸腾和呼吸作用具有重要的意义。由图 1 可知, 薰衣草叶片表皮细胞为不规则多边形, 细胞边缘深波纹状, 气孔形状均为卵圆形。对组培苗叶片气孔密度的比较可以看出 (表 1), 在继代培养 20 d (62.26 个/mm<sup>2</sup>), 温室移栽 20 d (105.28 个/mm<sup>2</sup>) 和 50 d (148.76 个/mm<sup>2</sup>) 时均表现显著增加, 气孔指数变化主要在继代培养 20 d (17.42) 时, 温室移栽 20 d (20.58) 时以及露地栽培 1 a 苗 (26.81) 上表现出显著增加。

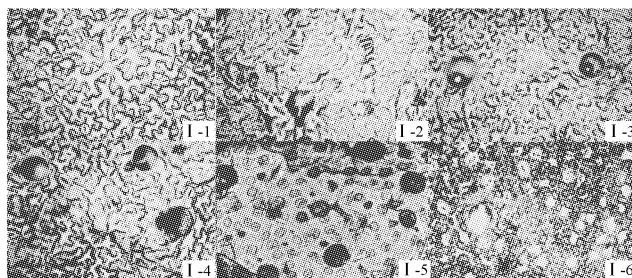


图 1 不同培养阶段薰衣草组培苗叶片表皮特征 (×400)

注: I-1~I-6, 分别代表 GL<sub>1</sub>、GL<sub>2</sub>、GL<sub>3</sub>、WL<sub>1</sub>、WL<sub>2</sub> 和 LY 期的薰衣草组培苗叶片。图 2、3 同。

Fig. 1 The leaf epidermis of lavender at different culture stages (×400)

Note: I-1~I-6: The leaf epidermis of lavender tissue culture seedling at GL<sub>1</sub>, GL<sub>2</sub>, GL<sub>3</sub>, WL<sub>1</sub>, WL<sub>2</sub>, LY stage. The same as Fig. 2 and Fig. 3.

从气孔器大小比较可以看出, 瓶内组培苗气孔器纵、横径要显著大于温室和露地组培苗, 这与张有铎等<sup>[14]</sup>相关研究一致。从气孔开张情况看, 在组培瓶内培

养阶段, 壮苗生长 30 d 时, 出现夜晚气孔开张率显著降低, 当移栽入温室培养 20 d 后, 白天气孔开张率表现为先下降再升高, 夜晚气孔开张率急剧下降, 表现为极显著差异 (表 1)。组培苗移栽过程中气孔开张率的变化在陈惠等<sup>[9]</sup>的研究中也被发现。

表 1 不同培养阶段气孔特征比较分析

Table 1 Comparative analysis of stomatal character at different culturing stages

处理 Treatment	气孔密度 Stoma density /个·mm <sup>-2</sup>	气孔指数 Stoma index /%	气孔纵径 Stoma length /μm	气孔横径 Stoma width /μm	气孔开张率 Opened stoma/%	
					白天 Day	夜晚 Night
GL <sub>1</sub>	25.13a	8.69a	11.17a	12.62a	93.11a	91.58a
GL <sub>2</sub>	62.26b	17.42b	12.13a	14.77a	87.75a	78.39a
GL <sub>3</sub>	77.41b	16.12b	11.86a	14.28a	78.21a	43.96b
WY <sub>1</sub>	105.28c	20.58bc	9.58b	12.12b	66.34b	18.51c
WY <sub>2</sub>	148.76d	23.38cd	6.69c	8.31c	86.58b	7.42d
LY <sub>1</sub>	170.23e	26.81d	5.78c	7.14c	97.86c	5.93d

该试验发现, 不同培养阶段薰衣草组培苗叶片上、下表皮均分布有气孔, 但露地培养 20 d 后, 叶片下表皮气孔分布数量开始显著高于上表皮。继代培养 20 d 的薰衣草组培苗新生叶片开始发育有腺毛, 随后各培养阶段叶表皮腺毛数量逐渐增加, 蜡质层明显。以上均说明温室移栽驯化有助于组培苗叶片组织发育的正常化, 壮苗驯化培养是增强组培苗环境适应性的必要技术措施。

### 2.2 叶片组织结构显微形态比较

栅栏组织和海绵组织是叶绿体和叶肉干物质的主要贮存场所<sup>[9]</sup>。由图 2 与表 2 可知, 在瓶内壮苗培养阶段, 叶片细胞较大, 细胞排列疏松, 空隙较多, 排列不规则, 培养 30 d 时叶片厚度显著增大, 且有较为典型的栅栏及海绵组织分化; 到温室驯化培养阶段, 叶片厚度逐渐增加, 叶片海绵组织和栅栏组织分化逐渐明显, 细胞排列趋于规则化, 结构趋于紧密, 细胞质浓, 温室培养 50 d 时叶片整体组织结构比较完整, 但叶片厚度、栅栏组织层数和厚度及栅/海比等指标, 显著小于露地栽培 1 a 生组培苗。以上叶片显微结构观测结果与以往相关研究结果较为相似<sup>[7-8]</sup>。

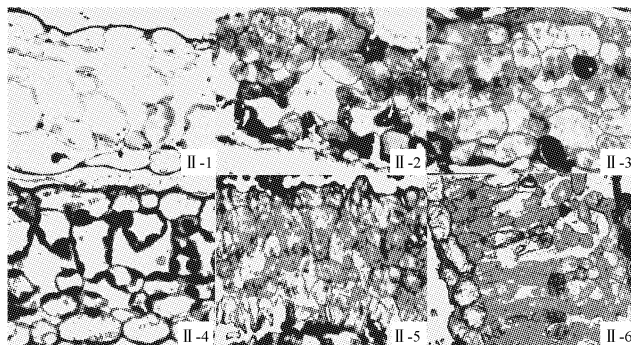


图 2 不同培养阶段薰衣草组培苗叶片显微结构 (×400)

Fig. 2 The leaf microstructure of lavender at different culture stages (×400)



表2 不同培养阶段叶片解剖结构比较分析

Table 2 Comparative analysis of leaf anatomy structure at different culturing stages

处理	叶片厚	栅栏组织	海绵组织	栅/海比
Treatment	Thickness of leaf	Palisade tissue/ $\mu\text{m}$	Spongy tissue/ $\mu\text{m}$	Palisade-Spongy ratio
GL <sub>1</sub>	65.23a	—	—	—
GL <sub>2</sub>	82.62a	—	—	—
GL <sub>3</sub>	138.2b	37.53a	34.25a	1.09a
WY <sub>1</sub>	159.37bc	65.86ab	51.16a	1.29a
WY <sub>2</sub>	181.56c	87.21b	64.29ab	1.35a
LY <sub>1</sub>	236.54d	136.68c	73.58b	1.85b

## 2.3 叶肉细胞超微结构比较

由图3可知,随着培养阶段的变化,叶片细胞内的叶绿体的数量逐渐增多,叶绿体由长橄榄形发育成为扁圆形,瓶内培养10 d的叶片,叶绿体数量少,游离于细胞壁,基粒片层不明显,20 d时,叶绿体基粒片层出现,但排列疏松不规则,30 d时,叶绿体数量显著增加,叶绿体形状由椭圆转为卵圆形,基粒片层发育比较清晰,有淀粉粒出现,说明此时叶片已具备一定光合自养能力。在温室培养阶段,移栽20 d时的组培苗叶片叶绿体为不规则圆形或椭圆形,细胞叶绿体片层结构较为清晰完整,片层排列疏松膨胀,温室培养50 d时,叶绿体形状变化不大,但叶绿体数量明显增加,片层结构趋于紧密,出现明显淀粉粒及脂粒类物质,与温室组培苗相比,露地1 a生组培苗叶绿体形状多数以卵圆形为主,细胞叶绿体数量明显增多,基粒发育明显,片层结构清晰,排列规则,淀粉粒大得多。

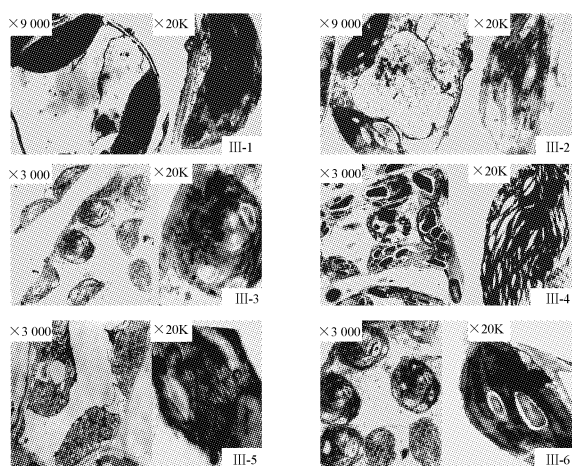


图3 不同培养阶段薰衣草叶片超微结构

Fig. 3 The leaf ultrastructural of lavender at different culture stages

## 2.4 根系显微结构比较

根系发育完善是否直接决定组培苗成活率的高低,通过对不同培养驯化阶段根系形态的观察比较,可从一定程度揭示薰衣草组培苗根系发育规律,为各项移栽管理工作的适时开展提供一定科学依据。由于继代10 d的

组培材料根部没有分化出根系,只有愈伤组织,细胞松散,没有拍照。由图4可知,薰衣草组培瓶内壮苗培养20 d时,大多数组培苗根系已经发育,显微结构表明此时根系形态虽然初步形成,但根系内部结构较为混乱,组织分化不明显,当壮苗培养30 d时,组培苗根中心位置出现较大的细胞群,有较为完整的根系组织分化。温室移栽培养20 d时,组培苗新生根系虽然形成,虽然内部组织结构不明显,但出现厚壁组织与外围薄壁细胞的分化,温室培养50 d时,组培苗根系发育完备,外围细胞排列较紧密,具明显维管束及髓部导管,露地培养1 a生组培苗的根表皮细胞形状规则,排列整齐,皮层由3~4层薄壁细胞组成,中间导管细胞大小均匀。

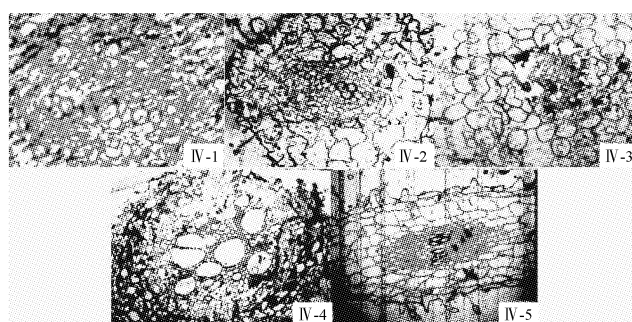


图4 不同培养阶段薰衣草组培苗根系显微结构(×400)

Fig. 4 The root microstructure of lavender at different culture stages(×400)

注:IV-1~IV-5:分别代表 GR<sub>2</sub>、GL<sub>3</sub>、WR<sub>1</sub>、WR<sub>2</sub> 和 LG 的薰衣草成活组培苗根系。

Note:IV-1~IV-5:The root microstructure of lavender tissue culture seedling at GL<sub>2</sub>, GL<sub>3</sub>, WL<sub>1</sub>, WL<sub>2</sub>, LG stage.

## 3 结论与讨论

植物形态结构和生理机能对环境的适应,能使植物最有效利用环境资源,从而趋于最佳生长状态。该研究表明,薰衣草组培苗不同驯化移栽时期,形态特征与培养环境表现出明显相关性。在高湿、低光、密闭的培养瓶培养阶段,组培苗生长表现出植株含水量较高、叶片较薄、根系细而短等形态特征,随着向温室环境的移栽驯化,组培苗表现出幼茎粗壮、叶片为深绿、根系变粗伸长、根毛数量多,逐渐向接近露生苗形态的方向发展。以上外部形态的可塑性变化,是内部形态解剖结构已发生显著变化的结果。

首先,气孔是植物与外界环境进行气体和水分交换的门户和通道,对植物的同化和异化作用均具有重要影响<sup>[15]</sup>。气孔器发育特性可在一定程度上揭示薰衣草组培苗不同培养阶段生长状态。该研究表明,随着薰衣草组培苗培养阶段的变化,气孔密度、气孔指数、气孔大小及开张率等指标均出现培养瓶内、温室内及露地培养间的显著差异。总体看,露地组培苗在气孔数量及气孔指数指标上均表现最高,而瓶内组培苗气孔器纵横径要显

著大于温室和露地组培苗,这是不同培养条件下水分和光照条件共同作用的结果<sup>[3]</sup>。在气孔开张能力方面,薰衣草组培苗在培养瓶阶段气孔开张异常现象比较明显,当组培苗移栽温室培养 20 d 后,气孔的开闭功能才真正得到恢复。表明这一时期组培苗叶片气孔已真正发育完善,具备了执行相关生理功能的基础,可逐渐降低水分供应,增强气孔对干旱的调节适应能力。关于试管苗气孔不能正常张开的主要原因,可能是由于其保卫细胞壁的纤维素微纤丝等组织结构发育不足造成的<sup>[6]</sup>,但仍需在薰衣草组培苗中进一步研究。其次,叶肉组织解剖特征是研究植物叶片对不同生境的结构与功能适应性的重要方法,有研究表明,光合速率的高低取决于叶肉组织中栅栏组织和海绵组织的厚度,并与其比值有一定相关性<sup>[16]</sup>。该研究表明,薰衣草组培苗叶肉组织结构在发育过程中表现出较高的形态可塑性,叶片厚度、栅栏组织层数和厚度及栅/海比等指标可以作为组培苗生长势高低的主要依据,建议在薰衣草组培苗温室驯化移栽 50 d 左右及时增加光照,以加快组培苗叶片结构发育的进程,增强对露地环境的适应性。

根系结构的发育完整标志着薰衣草幼苗能够脱离人工环境独立生长。该研究表明,培养瓶内壮苗阶段产生的根系虽然在形态解剖结构上已分化较为完整,但在后期移栽过程中多数根并不能保持良好的生长状态,移栽苗形成的有效根系大多是移栽过程中产生的新根。因此,培养瓶内实现壮苗诱根可能仅表明组培苗根系已具备分化根系的能力,而不能说明移栽后这些根系就能行使吸收功能,有关培养瓶内组培苗根系和温室移栽苗根系形成之间的关系还需进一步研究。

## 参考文献

- [1] 凌敏.天然香料资源产业研究-新疆天然香料的产业化发展思考[D].乌鲁木齐:新疆大学,2006.
  - [2] Echeverrigaray S, Basso R, Andrade L B. Micropropagation of *Lavandula dentata* from axillary buds of field-grown adult plants[J]. *Biologia Plantarum*, 2005, 49(3): 439-442.
  - [3] 沈海龙. 树木组织培养微枝试管外生根育苗技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 2009.
  - [4] Valladares F, Wright S J, Lasso E, et al. Plastic phenotypic response to light of 16 congeneric shrubs from a Panamanian rain forest[J]. *Ecology*, 2000, 81: 1925-1936.
  - [5] 王荣, 郭志华. 不同光环境下枫香幼苗的叶片解剖结构[J]. *生态学杂志*, 2007, 26(11): 1719-1724.
  - [6] 袁惠君, 宋占午, 丁兰, 等. 参果试管苗与移栽成活苗气孔行为的比较[J]. *西北师范大学学报(自然科学版)*, 2001, 37(4): 53-57.
  - [7] 韦梅琴, 郑江伟. 东方百合试管正常苗与玻璃苗叶片解剖结构的比较[J]. *北方园艺*, 2007(12): 203-205.
  - [8] 张萍, 柏新富, 傅志军, 等. 一品红试管苗移栽驯化期叶片的解剖结构变化[J]. *西北植物学报*, 2005, 25(11): 2209-2212.
  - [9] 陈惠, 张海燕. 植物试管苗移栽过程中气孔开度的变化研究[J]. *山东师大学报(自然科学版)*, 1998, 13(3): 295-299.
  - [10] 刘明智, 努尔巴衣·阿布都沙力克, 潘晓玲. 指甲油涂抹撕取法制取植物叶气孔装片[J]. *生物学通报*, 2005(10): 12-14.
  - [11] 王灶安. 植物显微技术[M]. 北京: 农业出版社, 1992.
  - [12] 汪矛. 植物生物学实验教程[M]. 北京: 科学出版社, 2003.
  - [13] 凌诒萍, 俞彰. 细胞超微结构与电镜技术-分子生物学基础[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
  - [14] 张有铎, 蔡祖国, 卢莉, 等. 开瓶练苗对菜用大黄花组培苗气孔特性的影响[J]. *河南农业科学*, 2010(5): 83-87.
  - [15] Sam O, Jerdz E, Dell, et al. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermis[J]. *Biologia Plantarum*, 2000, 43: 275-277.
  - [16] 杜华栋, 徐翠红, 刘萍, 等. 陕北黄土高原优势植物叶片解剖结构的生态适应性[J]. *西北植物学报*, 2010, 30(2): 293-300.
- (该文作者还有李荣, 单位同第一作者。)

## Comparative Study on Morphology and Anatomy of Lavender During Transplantation and Acclimatization

QUAN Jun-ping<sup>1</sup>, DAI Li-na<sup>1</sup>, TANG Xu-lin<sup>2</sup>, NIU Pan-xin<sup>1</sup>, JIA Xiao-ying<sup>1</sup>, LV Guo-hua<sup>1</sup>, LI Rong<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Shihezi University, Shihezi, Xinjiang 832000; 2. The Rural Energy-environment Monitoring Station of Akesu City, Akesu, Xinjiang 843000)

**Abstract:** Using subculture at different times, different stages of growth of transplanted lavender tissue culture as experimental material, anatomical structure and ultrastructure of leaves and roots were compared at different culture stages in lavender. The results showed that the relatively complete morphology tissue structure were differentiated after culturing 30 days in bottle, and had the primary capability with stoma adjustment and photoautotrophic, but there were significant differences compared with the 50 days and 1 year tissue culture seedling that grew in greenhouse and in field respectively. The function of tissue organ could basically met the requirements of field growing after growing 50 days in greenhouse, so the seedlings could be transplanted to field under the suitable conditions at this culture stage. The research provided scientific basis for the technical implementation of factory production of lavender tissue culture seedling.

**Key words:** lavender; tissue culture seedling; transplantation and acclimatization; anatomical structure