

马蹄纹天竺葵叶斑变异的解剖学观察

李明银

(绵阳师范学院 园林科学研究所, 四川 绵阳 621000)

摘要: 植物叶斑是由两种或者两种以上基因型细胞组成的特殊组织结构,在植物发育研究和提高植物观赏性方面具有十分重要的意义。该项研究以天竺葵(*Pelargonium zonal*) 'Ms. Pollock' 银边绿心型新鲜叶组织为材料,研究斑块结构切片及不同质体细胞的分布,以探索叶斑异化变型机制。结果表明:天竺葵 'Ms. Pollock' 突变型异化不是由于细胞突变形,而是由于质体突变型白色细胞和原型绿色细胞在生长发育过程中相互竞争转轨所致,即白色细胞和原型绿色细胞改变了分裂方向,部分表皮绿色细胞进入第二层,挤压第二层白色细胞转轨进入第三层,导致细胞类型的移位,从而形成异型斑。

关键词: 马蹄纹天竺葵; 质体突变型; 细胞转轨

中图分类号: Q944.56 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2009)04-0438-04

Anatomy observation on the leaf variegation of *Pelargonium zonale*

LI Ming-Yin

(Institute of Garden Science, Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China)

Abstract: Variegation on plant leaves is a specific constitution consisting of two and more type of different genetic cells. It is importance for the study of the plant development and to improve the ornamental value of horticulture. In this paper, the constitution of the variegation and the distribution of different protoplasts in muted fresh tissues of GWG variegated plant of *Pelargonium zonal* 'Ms. Pollock' were investigated for study on it's mechanism of variegation changes. The results showed that the changes of the types were not caused by new cell mutation, but by translocation of the different cell types of variegation. The changes of division direction of white cells and green cells resulted that some of the green epidermal cells translocated into the second layer and it pushed furthermore the origin white cells of the second layer into the third layer, so that the variegation altered.

Key words: *Pelargonium zonale*; plastidmutation; cell translocation

一个植物个体通常只含有一种基因型细胞,植物叶斑则含有两种或者两种以上基因型细胞,因此叶斑结构可以用于不同基因型细胞间信息交流的研究和植物抗性育种(Szymkowiak & Sussex, 1996; Session 等, 2000; 李明银等, 2005)。据研究,两种不同基因型细胞叶斑在生长发育过程中,通过多次细胞转移可以形成 8 种不同的基因型组合, 4 种表现型,从而增加观赏植物的花色品种(李明银等, 2005)。同时植物叶上具有的不同斑纹,可以大大地

提高植物的观赏性和观赏价值,如紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)、金边吊兰(*Chlorophytum comosum* var. *margunarium*)、兰花艺草等。因此,叶斑植物的遗传早就引起欧洲学者极大的重视(Bauer, 1909; Marcotrigiano, 1997; Li, 2005, 2008)。目前大量的叶斑观赏植物已被引进中国市场,广泛地受到消费者的亲睐。因此加强我国叶斑植物资源的收集、整理和开发利用具有十分重要的意义。

植物叶斑的形成多与叶绿体基因突变有关,叶

收稿日期: 2008-04-17 修回日期: 2008-08-22

基金项目: 四川省自然科学基金(2006C-048); 绵阳师范学院科技处重点课题(MA2005008)[Supported by Natural Science Foundation of Sichuan Province(2006C-048); Key Item of Science and Technology Department of Mianyang Normal University(MA2005008)]

作者简介: 李明银(1952-), 男, 四川人, 博士, 研究方向为植物遗传育种, (E-mail) mingyinli@126.com.

绿素形成受阻,会导致细胞白化。当白化组织与绿色组织相间分布,则呈现出叶斑。叶斑常见的有两种类型,即块状斑和嵌合斑。银皇后(*Aglaonema commulatum* cv. Silver Queen)等叶斑属块斑,金边吊兰(*Chlorophytum comosum* var. *margunarium*)、金边六月雪(*Serissa japonica* cv. *Variegata*)等叶斑属嵌合斑。

Stewart & dermen(1979)、Bowman & Eshed(2000)和 Simon(2001)的研究指出:大多数双子叶植物的花、叶、茎由生长点原基(SAM)的3层相互独立的细胞发育形成。第1层细胞(L1)形成植物的表皮组织、毛及气孔细胞,同时确定大多数植物的花色表现;第2层细胞(L2)形成植物栅栏组织及发育成生殖细胞(花粉细胞、卵细胞),同时影响花色的表现,并在决定叶的形状中起主要作用(Poethig, 1997);第3层细胞(L3)则发育成植物内层薄壁组织及形成扦插植物的根,还影响花序的状态及花数(Carles & Fletcher, 2003)。不同层次细胞的分裂取向是不同的:最外两层 tunica 细胞进行垂周分裂,平周扩展;而内层 corpus 细胞则是垂周和平周分裂的混合,进行多向扩展。这一学说被称为 tunica-corporis 理论(原体-原套学说)。当1层或2层或部分叶细胞发生突变时,即形成嵌合型叶斑(Marcotrigiano, 1997; Burge 等, 2002; 李明银等, 2005)。植物嵌合体根据结构分布可分为平周型(periclinal chimera)、扇区型(sectorial chimera)、混合型(mericlinal chimera)三种(Marcotrigiano, 1997; Burge 等, 2002; 李明银等, 2005)。平周型嵌合体中不同基因型细胞平周(与表面平行)分布于生长点原基的不同层次。因此,其内外不一,但相对稳定,故常见栽培的嵌合体植物多为平周型。扇区型嵌合体内不同的基因型细胞呈扇型分布于生长点原基不同区域,从而形成阴阳型彩斑。扇区型嵌合体很不稳定,容易因某一基因型消失而纯化,失去其嵌合性。混合型嵌合体是指平周分布和扇区分布混合于同一生长点原基的嵌合体,故多为一种过渡类型,容易发展成为平周型。本研究以银边绿心平周型嵌合型天竺葵‘MS. Pollock’中发现的变型株为材料进行切片观察,以确定其嵌合型叶斑出现变型的解剖结构原因。

1 材料和方法

‘MS. Pollock’银边绿心嵌合型天竺葵(*Pelar-*

gonium zonale),属牻牛儿苗科天竺葵属,叶面有明显的暗红色马蹄形环纹,花叶俱赏,深受人们喜爱,是一种市场销售量很大的盆栽观赏植物。研究材料马蹄纹天竺葵(*Pelargonium zonale* ‘Ms. Pollock’),2004年采自德国柏林洪堡大学植物育种所温室。原型株叶片叶缘为白色(W),中心为绿色(G)(图1:A),在繁殖过程中个别植株斑型出现变异:由银边绿心变为绿边金心,进一步变为纯绿色(图1:B);或变为白色,成为白化株(图1:C)。

试验取新鲜叶片进行徒手切片,将植物不同斑块过渡区段组织固定在黄瓜等组织内,在解剖镜下仔细切片,切片放入试管清水中,并用微型抽气泵震荡抽气5~10 min,直至切片沉入管底。然后取出切片置于载玻片水滴中,调整好切片方向,盖上盖玻片,于显微镜下观察,摄影系统为 Laica 相机。

2 结果与分析

2.1 嵌合体变型叶中不同细胞类型的分布

图2显示天竺葵叶具有两层栅栏层细胞。银边绿心原型植株表皮保卫细胞含叶绿体(图2:A),第一栅栏层细胞无叶绿体存在,第二栅栏层细胞及其它内层细胞则可见叶绿体(图2:B),即银边绿心株为绿-白-绿(GWG)嵌合斑。绿边金心变异型保卫细胞和切片中第一栅栏层细胞可见叶绿体,而第二栅栏层细胞则未见叶绿体(图2:C),故为绿-绿-白型(GGW)。白色叶保卫细胞未见叶绿体,切片中所有叶肉细胞也未见叶绿体(图2:D),因此,白色叶应该是纯白型(WWW)结构。

2.2 变型叶过渡区不同细胞类型的分布

图3显示由银边绿心型向绿边金心型的转型过程。图3:A左边组织为GWG型,而右边组织则为GGW型,从第一栅栏层到第二栅栏层间明显可见一白色弯道。这表明了不同类型细胞在生长发育过程中存在着转轨现象,即银边嵌合斑中第二层白色质体突变型细胞在生长发育竞争中被绿色原型细胞挤压而进入第三层。说明其变型不是由第一栅栏层白色细胞突变绿化或第二栅栏层绿色细胞突变白化形成,而是由于不同类型细胞层的竞争所致。图3:B则显示白色突变型细胞在内层组织中的发展轨迹,即第三层中白色突变型细胞挤压绿色细胞,使原有的绿色细胞位置逐渐被白色突变型细胞代替,进而使白色面积扩大。图3:C显示白色突变型细胞

向两侧发展以至白-绿-白型成为纯白色叶片。图 3: D 绿色细胞和白色细胞交错出现在同一细胞层中导致叶块色泽的变化, 从而形成色斑不同的叶型。由此看到叶片生长发育竞争中不同类型细胞的竞争

现象。

2.3 变型株茎柄过渡区不同细胞类型的分布

原型银边绿心植株茎柄区细胞类型分布如图 4: A, 植株茎柄过渡区细胞分布与上述叶片观察结



图 1 天竺葵 'Ms. Pollock' 不同的异型嵌合株

Fig. 1 Mutations of leaf types of *Pelargonium zonale* 'Ms. Pollock'

A. 'Ms. Pollock' 银边绿心原型植株; B. 银边绿心原型向绿边-白心型及绿色型过渡; C. 白边-绿心型向白色型过渡。
A. Original white margin type; B. Leaf type transition from original white margin to white inner and green margin; C. Leaf type transition from original white margin to white leaf.



图 2 天竺葵 Ms. Pollock 不同变型叶切面图

Fig. 2 The leaf sections of the different chimeral types of *P. zonale* 'Ms. Pollock'

A. 表皮保卫细胞与叶绿体; B. 原型株银边绿心型叶切片; C. 绿边白心叶切片; D. 白色叶切片。

A. Stomatal cells with protoplasts; B. Different cell distribution of the leaf section of the original chimera with white margin; C. Different cell distribution of the leaf section of the chimera with white inner; D. Different cell distribution of the section of the white mutation leaf.

果相似: 第二层细胞未见叶绿体, 而第三层细胞含有叶绿体。而在变型株中茎柄过渡组织外层白色细胞挤压内层绿色细胞而形成了白色区、绿色区和交错区(图 4: B), 显示生长发育竞争中不同类型细胞的竞争现象。

而转座子是基因组中一段可移动的 DNA 序列, 可以通过切割重新整合等一系列过程从基因组的一个位置跳跃到另一个位置, 它的特性是既具有跳动性又具有控制其它基因开闭的作用(李军等, 2005)。因此转座子基因产生的异化型变异像杂色玉米一样显现不规则性, 形成许多间断型的斑点(Federoff, 1984; Kempken & Kempken, 2004)。本研究在 'Ms. Pollock' 叶型组织发育变异中观察到不同细胞类型变异过渡通道, 未见间断区域的存在。因此天竺葵 'Ms. Pollock' 银边绿心叶的斑型变异不是由于细胞基因转座或突变形成, 而是细胞在生长发育竞争中导致扩展方向改变形成, 即细胞转移所致。

3 讨论

3.1 变型体形成的可能途径

对于嵌合型叶斑的变型机制, 一些学者在不同的植物研究中得出了不同的结果, 并提出了不同的假设, 其中主要的有细胞突变说、细胞转移说和基因转座说三种(Carpenter & Chen, 1995; Pohlheim, 2003)。细胞新突变所引起的异化型通常在细胞间或细胞层间产生间断, 不会在层间形成连接通道。

3.2 不同类型细胞的发育竞争

切片显示生长发育竞争中不同类型细胞的竞争现象。不同类型的细胞在生长发育的过程中的竞争

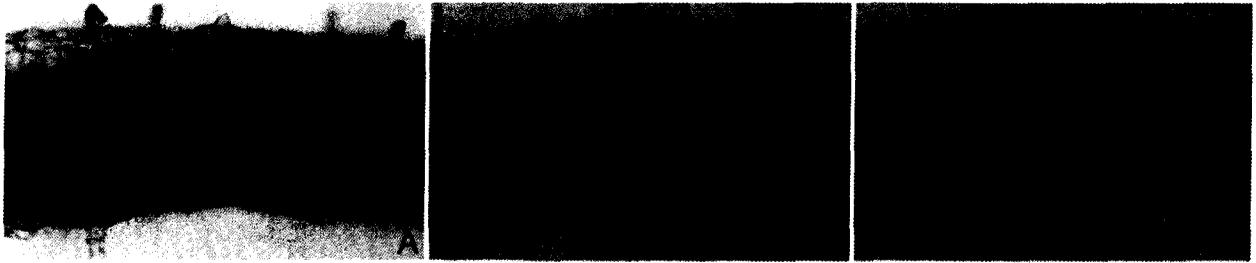


图 3 天竺葵不同叶型界面切片细胞类型变化图

Fig. 3 Cell types changes of transitional leaf sections of differential leaf type by *P. zonale* 'Ms. Pollock'

A. GWG 叶与 GGW 叶过渡区细胞类型变化; B. GGW 叶过渡区细胞类型变化; C. 白色细胞在 GGW 叶型中发展而绿色细胞消失; D. 绿色细胞和白色细胞交错生长在同一细胞层。

A. Cell type changes of the transition zone from GWG to GGW; B. Expansion of the mutated white cell in leaf of the GGW; C. White cell type in leaf of the GGW expanded to WWW; D. White cells and green cell grew each other in some layer of the leaf.

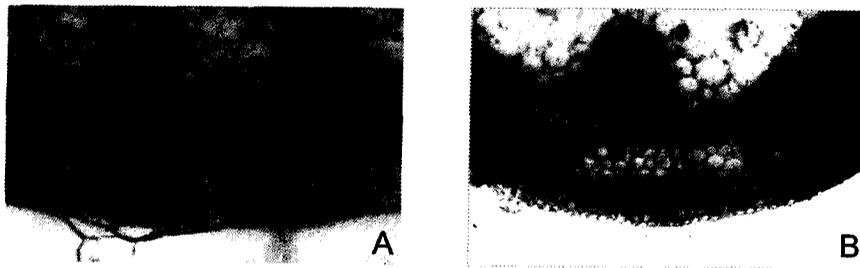


图 4 天竺葵变型植株茎柄切片中不同的细胞区域分布图

Fig. 4 Cell type distribution of petiole section of *Pelargonium zonale* 'Ms. Pollock'

A. 原型株茎柄切片; B. 变型株茎柄过渡区切片。

A. Cell type distribution of the petiole section of original chimera; B. Cell type distribution of the transition zone of petiole section of variegate.

力是不同的。含有叶绿素的绿色型细胞能够进行光合作用,并产生植物生长发育所需要的能量物质和生理活性物质,具有较强的自身活力。而纯白色芽往往生长缓慢,会逐渐停止生长直至死亡。但这并不意味着绿色细胞比白色突变型细胞更具有发育优势。在本研究中,天竺葵 'Ms Pollock' 白色突变型细胞在第二层受到绿色细胞的挤压进入第三层,但它却挤压了第三层的绿色细胞,并扩大了白色空间,因此白色细胞在生长发育过程中也表现出竞争趋势。本研究认为:不同类型细胞的转移发展方向与细胞的遗传性及生长竞争态势强弱有关,即与植株生长发育状态、细胞所处的环境有关。

致谢 本研究得到德国柏林洪堡大学 Pohlheim 教授和 Plashil 博士的支持,胥文诗女士对本文写作提出了有益的修改意见,在此一并表示感谢。

参考文献:

Baur E. 1909. Das Wesen und die Erblchkeitsverh? ltnisse der "Varietates albomarginatae hort." von *Pelargonium zonale* [J].

Zeitschrift für induktive Abstammungs- und Vererbungslehre, 1:330-351

Bowman JL, Eshed Y. 2000. Formation and maintenance of the shoot apical meristem [J]. *Trends Plant Sci*, 5:110-115

Burge GK, Morgan ER, Seelye JF. 2002. Opportunities for synthetic plant chimeral breeding: Past and future [J]. *Plant Cell Tissue and Organ Culture*, 70:13-21

Carles CC, Fletcher JC. 2003. Shoot apical meristem maintenance: the art of a dynamic balance [J]. *Trends in Plant Science*, 8:394-401

Carpenter R, Coen E. 1995. Transposon induced chimeras show that floralcaula, a meristem identity gene, acts non-autonomously between cell layers [J]. *Development*, 121(1):19-26

Federoff NV. 1984. Transposable genetic elements in maize [J]. *Sci Amer*, 250(6):84-98

Kempken F, Kempken R. 2004. Gentechnik bei Pflanzen [M]. Berlin Springer-Verlag, 71-73

Li MY(李明银), He YX(何云晓). 2005. Plant chimeras and application in the breeding of the ornamental plant(植物遗传嵌合体及其在观赏植物育种中的应用) [J]. *Chin Bull Bot(植物学通报)*, 22(6):641-647

Li J(李军), Li HQ(李洪清), Wu P(吴萍), et al. 2005. Application of transposons in making variegated flower color in orna-

(下转第 449 页 Continue on page 449)

阶梯状、缺刻状及较大的凹陷状等等。这似乎表明竹叶蕨与其它同型孢子真蕨类有较大的区别。当然原叶体边缘形状多样化的现象是否在其它蕨类植物中也普遍存在, 还应做更广泛的调查。

吴鹏程(1998)认为强光照射能抑制苔藓配子体光合色素的合成, 笔者认为此类机理也适用于竹叶蕨配子体, 叶绿体的避光运动可能是细胞的一种自我保护机制。此外, 造成竹叶蕨某些营养细胞内的叶绿体常常“下沉”到细胞内一角处的原因尚不清楚。

Momose(1967)虽对假根特征做过总结, 但仅对假根的着生位置及颜色做了简单的描述, 而竹叶蕨假根的诸多形态特征, 值得在讨论系统演化时予以关注。另外, 竹叶蕨精子器在丝状体时就有发生, 这与邸娜等(2007)在巢蕨(*Neottopteris antrophyoides*)配子体中观察到的现象类似。

参考文献:

- 吴兆洪, 秦仁昌. 1991. 中国蕨类植物科属志[M]. 北京: 科学出版社, 212—215
- 吴鹏程. 1998. 苔藓植物生物学[M]. 北京: 科学出版社, 133
- 钱崇澍, 陈焕镛. 1959. 中国植物志(第2卷)[M]. 北京: 科学出版社, 279—280
- 曾宋君, 邢福武. 2002. 观赏蕨类[M]. 北京: 中国林业出版社, 127—128
- Atkinson LR. 1970. Gametophyte *Taenitis pinnata* and development of the gametophytic plate in *Taenitis blechnoides* and *Syngramma alismifolia*[J]. *Phytomorphology*, **20**:40—48
- Dong SY(董仕勇), Chen ZC(陈珍传), Zhang XC(张宪春). 2003. Biodiversity and conservation of pteridophytes from Diaoluo Mountain, Hainan Island(海南岛吊罗山蕨类植物的多样性及其保育)[J]. *Biodiversity Sci*(生物多样性), **11**(5):422—431
- Di N(邸娜), Wang XN(王晓楠), Liu BD(刘保东). 2007. Newly observed on the gametophyte of *Neottopteris*(巢蕨配子体的新观察)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), **27**(4):398—401
- Gwynne-vaughan DT. 1903. Observations on the anatomy of *Solenostelic Ferns*[J]. *Part II Ann Bot*, os-17:689—742
- Momose. 1967. *Prothallia of the Japanese Ferns*[M]. Tokyo: University of Tokyo Press;35—37, 44
- Mitsuyasu H, Tomoyuki O, Miyuki N, et al. 1994. rbcL gene sequences provide evidence for the evolutionary lineages of leptosporangiate ferns[J]. *Proceedings of National Academy of Science USA June Evolution*, **91**:5 730—5 734
- Nayar BK, Kaur S. 1971. Gametophytes of homosporous ferns[J]. *Bot Rev*, **37**(3):341—342
- Wu SH(吴兆洪). 1984. The systematic scheme of pteridophyta by R. C. CHING(秦仁昌系统(蕨类植物门)总览)[J]. *Guihaia*(广西植物), **4**(4):289—307
- Wang JJ(王金娟), Zhang XC(张宪春), Liu BD(刘保东), et al. 2007. Gametophyte development of three species in Cyatheaceae(桫欏科三种植物配子体发育的研究)[J]. *J Trop Subtrop Bot*(热带亚热带植物学报), **15**(2):115—120
- Zhou HG(周厚高), Li H(黎桦), Zhou Q(周琼), et al. 2004. Study on pteridophyte flora of Guangxi, China(广西蕨类植物区系的基本特征)[J]. *Guihaia*(广西植物), **24**(4):311—316
- mental plants(转座子在观赏植物嵌合花色形成中的应用)[J]. *Plant Physiol Commun*(植物生理学通讯), **41**(4):542—546
- Li MY. 2005. Observation of high-frequency occurrence of chimeral adventitious shoots in tissue culture from the chimeral tissues of *Pelargonium zonale*[J]. *Hort Sci*, **40**:1 461—1 463
- Li MY. 2008. Somatische Variabilitaeten bei Chimaeren Pflanzen[M]. Saarbrücken: VDM-Verlag, 23—40
- Marcotrigiano M. 1997. Chimeras and variegation: patterns of deceit[J]. *Hort Sci*, **32**:773—784
- Poethig RS. 1997. Leaf morphogenesis in flowering plants[J]. *The Plant Cell*, **9**:1 077—1 087
- Pohlheim F. 2003. Vergleichende Untersuchungen zur Sprossvariation bei *Plectranthus L'HERIT*(Lamiaceae)[J]. *Feddes Repertorium*, **114**:488—496
- Sessions A, Martin F, Yanofsky D. 2000. Cell-cell signaling and movement by the floral transcription factors LEAFY and AP-ETALA[J]. *Science*, **289**:779—781
- Simon R. 2001. Function of plant shoot meristems[J]. *Cell Developmental Biology*, **12**:357—362
- Stewart R, Dermen H. 1979. Ontogeny in monocotyledons as revealed by studies of the developmental anatomy of periclinal chloroplast chimeras[J]. *Amer J Bot*, **66**:47—58
- Szymkowiak EJ, Sussex IM. 1996. What chimeras can tell us about plant development[J]. *Ann Review Plant Physiol Mol Biol*, **47**:351—76

(上接第441页 Continue from page 441)