

多花黄精五个居群叶片的比较解剖学研究

李金花, 周守标*, 王影, 田长城

(安徽师范大学 生命科学学院, 安徽 芜湖 241000)

摘要: 利用石蜡切片技术、叶表皮离析法和电镜扫描技术, 对多花黄精五个居群的叶片进行了比较解剖学研究。观察发现: 多花黄精五个居群的叶肉细胞中均具有内含针晶束的异细胞, 叶表皮细胞为长方形、不规则形或椭圆形, 垂周壁一般为平直和弧形; 有的居群下表皮有单细胞表皮毛分布。在扫描电镜下, 角质层纹饰多为鳞片状。结果表明叶表皮特征, 如: 气孔器大小、气孔器指数、气孔器密度、气孔器分布特征、角质层纹饰及表皮毛的分布等受环境因子影响较大, 同种不同居群间有一定差异, 而叶肉的构成、内含物(如针晶束)、气孔器类型、表皮细胞形状等具有种间稳定性, 可以作为分类的依据。

关键词: 多花黄精; 叶片; 居群; 比较解剖学

中图分类号: Q944.5 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2007)06-0826-06

Leaf comparative anatomy of *Polygonatum cyrtonema* from five populations

LI Jin-Hua, ZHOU Shou-Biao*, WANG Ying, TIAN Chang-Cheng

(College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The comparative anatomy of the leaves of *Polygonatum cyrtonema* from five populations are studied. The results are as follows: the idioblasts with raphide are common in mesophyll of five populations of *P. cyrtonema*. The shapes of leaf epidermal cells are rectangle, irregular or oblong and the anticlinal walls are straight and arched. Some populations have unicellular hairs on lower epidermis. The cuticular ornamentation of leaf epidermis is usually scaly under SEM. The result shows that leaf epidermal characters such as size, index, density and distribution of stomatal apparatus, cuticular ornamentation and distribution of epidermal hair in different populations are mostly affected by environment. But some characters such as structure of mesophyll, inclusion (such as raphide), type of stomatal apparatus and shape of epidermal cell show stabilization in species which may be regarded as evidence for division of species.

Key words: *Polygonatum cyrtonema*; leaf; population; comparative anatomy

黄精属植物系 Miller (1754) 建立, 迄今已发表 60 余种, 广布于北温带, 主要分布于喜马拉雅到日本一带。《中国植物志》(1978) 记载有 31 种, 而近期中国植物志英文版记载有 39 种, 其中包括 20 个特有种 (*Polygonatum* in Flora of China@efloras.org.htm)。有关安徽黄精属植物的研究报道已有许多, 但利用叶片特征作为研究性状的仅有叶表皮 (郑艳等, 1999) 和叶片比较解剖 (李金花等, 2005), 居群研

究尚未见报道。由于叶片的表现型是由基因型与环境因子共同作用的结果, 观察发现不同居群黄精属植物的叶形变异很大, 而探讨不同居群叶片解剖结构多样性对了解黄精属植物种内的遗传多样性和对环境的适应性均有十分重要的意义。本文采用比较解剖学的方法对五个不同居群多花黄精 (*Polygonatum cyrtonema*) 叶片进行研究, 探讨不同居群多花黄精在叶片解剖学方面的差异, 旨在为探讨该植

收稿日期: 2006-03-10 修回日期: 2006-05-15

基金项目: 安徽省自然科学基金(00042415); 安徽省重要生物资源保护与利用重点实验室基金; 安徽省高校学科拔尖人才基金 [Supported by Natural Science Foundation of Anhui Province(00042415); Project of Key Lab of Biological Resources Conservation and Utilization of Anhui Province; Foundation for High School Excellent Scholars of Anhui Province]

作者简介: 李金花(1981-), 女, 安徽芜湖人, 硕士研究生, 主要从事植物发育与系统分类学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: zhoushoubiao@vip.163.com)

物叶片的形态解剖学特征在居群间的稳定性与变异性积累实验资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

为多花黄精,采自安徽省琅琊山、天堂寨、九华山、黄山、绩溪,凭证标本存于安徽师范大学标本室。材料来源见表 1。

表 1 五个多花黄精居群的来源及生境
Table 1 The origin and habitat of *P. cyrtonema* from five populations

编号 No.	采集地点 Locality	生境 Habitat	海拔 Alt. (m)
1	黄山	林下	700
2	绩溪	林下	650
3	天堂寨	林下	400
4	琅琊山	林下	350
5	九华山	林下	650

1.2 实验方法

选取正常植株中部完整成熟叶片,剪取叶片中部中脉两侧约 5 mm×5 mm 的小块,用 FAA(50% 酒精)固定(同一居群设 5 株重复),常规石蜡切片法切片,切片厚度为 12 μm,番红—固绿对染,中性树胶封片制成永久切片,Olympus 显微镜观察并摄影,用测微尺测量每个居群 10 个装片的上下表皮厚度、叶肉厚度及叶片厚度,取其平均值和标准差。

选取正常植株中部的完整成熟叶片,洗净,剪取叶片中部中脉两侧若干约 15 mm×15 mm 的小块,用 FAA 固定,放入 NaClO(30%)溶液浸泡至叶片发白后取出,蒸馏水冲洗后剥离上下表皮,用 1% 的番红水溶液染色,梯度酒精脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,制成永久装片,Olympus 显微镜观察并摄影,测量并统计以下指标:(1)气孔器大小 取叶表

皮封片,置于光学显微镜下,用测微尺在视野范围内随机测 50 个气孔器大小,求其平均值。(2)气孔器类型 取叶表皮封片置于光学显微镜下观察,随机检查 50 个气孔器,记录其气孔器类型。(3)气孔器分布特征 取叶表皮封片置于光学显微镜下,依据方差(S^2)/平均数比率(m)观察气孔器是均匀分布还是随机分布还是成群分布,其中: $S^2/m=0$ 属均匀分布; $S^2/m=1$ 属随机分布; S^2/m 显著地 >1 属成群分布。(4)叶脉处气孔器分布情况 取叶表皮封片置于光学显微镜下观察叶脉处有无气孔器分布。(5)气孔器密度 取叶表皮封片置于光学显微镜下,观察 20 个视野内每 1 mm² 内气孔器个数,求其平均值。(6)气孔器指数(I)、单位视野气孔器数(S)、单位视野普通表皮细胞数(P)均取叶表皮封片中 20 个视野平均值,其中: $I=S/(S+P) \times 100$ 。

选取正常植株的完整成熟叶片,压制成熟腊叶标本。用毛笔将叶片轻轻擦拭,去除灰尘,剪成 2 mm×2 mm 的小方块,用双面胶带固定在样品台上,喷金镀膜后移入 LEO-1530VP 扫描电镜下观察并拍照。

2 观察结果

2.1 叶片横切面

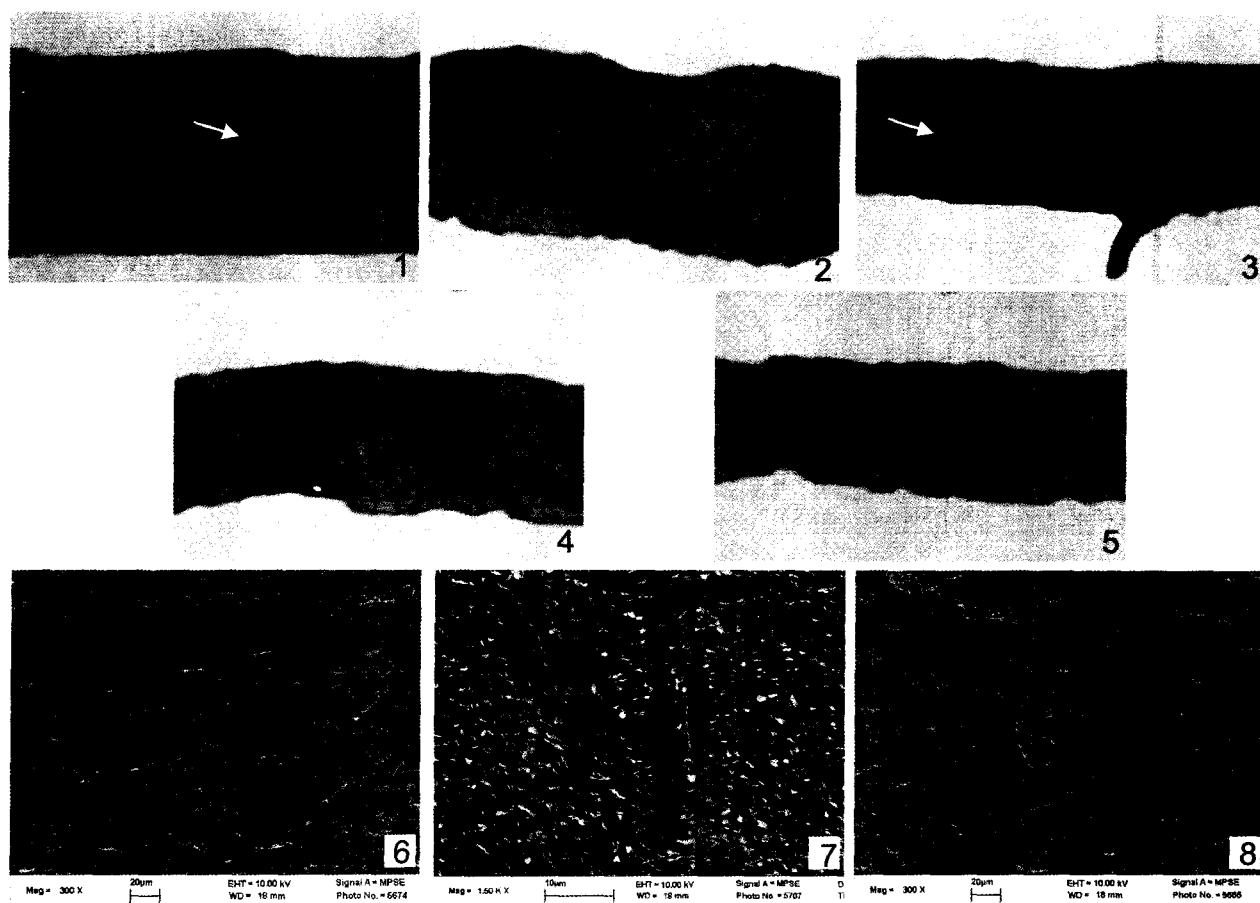
从横切面上看,多花黄精五个居群的叶片解剖学特征较一致:由表皮、叶肉和叶脉组成,叶片厚度 212~250 μm。表皮为单层方形细胞紧密排列而成,上表皮细胞厚度 12~22 μm,下表皮厚度 12~20 μm,除天堂寨居群下表皮偶见单细胞表皮毛外(图版 I:3),上、下表皮均无表皮毛分布。叶肉无栅栏组织和海绵组织的分化,但叶肉细胞中均有内含针晶束的异细胞分布(图版 I 中白色箭头所示),针晶束分布密度为每两维管束间有 0.1~0.6 个,且叶肉细胞中的叶绿体含量有一定的差异。具体结果参见表 2。

表 2 多花黄精五个居群间叶片的解剖特征比较

Table 2 The comparison of leaf anatomy of *P. cyrtonema* from five populations

居群 Populations	上表皮 UE			下表皮 LE			叶肉 F		叶片厚度 TL(μm)	针晶分布密度 DOR(个)
	表皮毛 H	气孔器 SA	厚度 T(μm)	表皮毛 H	气孔器 SA	厚度 T(μm)	厚度 T(μm)	构成 SOF		
1	—	—	15±0.19	—	+	12±0.65	185±0.79	—	212±1.58	0.6
2	—	—	20±0.78	—	+	20±0.93	180±0.73	—	220±1.76	0.1
3	—	—	12±0.74	+	+	16±0.79	112±0.69	—	140±1.19	0.5
4	—	—	22±0.68	—	+	21±0.96	107±0.78	—	150±1.27	0.3
5	—	—	22±1.45	—	+	20±0.94	103±1.27	—	145±1.58	0.2

注: UE=upper epidermis; LE=lower epidermis; F=follicolous; TL=the thickness of leaves; H=hairs; SOF=structure of follicolous; “+”=existence; “—”=inexistence; SA=stomatal apparatus; DOR=density of raphide.



图版 I 1. 黄山×200; 2. 绩溪×200; 3. 天堂寨×200; 4. 琅琊山×200; 5. 九华山×200; 6. 黄山(上表皮)×300; 7. 黄山(下表皮)×1000; 8. 绩溪(下表皮)×300。白色箭头: 针晶束。

Plate I 1. Huangshan×200; 2. Jixi×200; 3. Tiantangzhai×200; 4. Langyashan×200; 5. Jiuhuashan×200; 6. Huangshan(UE)×300; 7. Huangshan(LE)×1000; 8. Jixi(UE)×300. white arrow, raphide.

2.2 光镜下叶表皮

在光学显微镜下观察, 上表皮的细胞为长方形, 垂周壁平直, 下表皮的细胞为近圆形和不规则形, 垂周壁弓形, 上、下表皮细胞间结合紧密无间隙。气孔器仅分布于下表皮, 既有单个随机散布(图版 II: 10, 14, 15), 也有单个平行散布(图版 II: 9), 偶有两个聚集后随机散布(图版 II: 9, 12)。气孔器大小在(15.8~23.8) μm × (12.6~20.0) μm 之间, 气孔器类型为 Allium 型, 不同居群的气孔器指数和气孔器密度也有一定的差异。除绩溪居群下表皮叶脉处密集单细胞表皮毛外(图版 II: 10), 上、下表皮均无表皮毛分布。具体结果参见表 3。

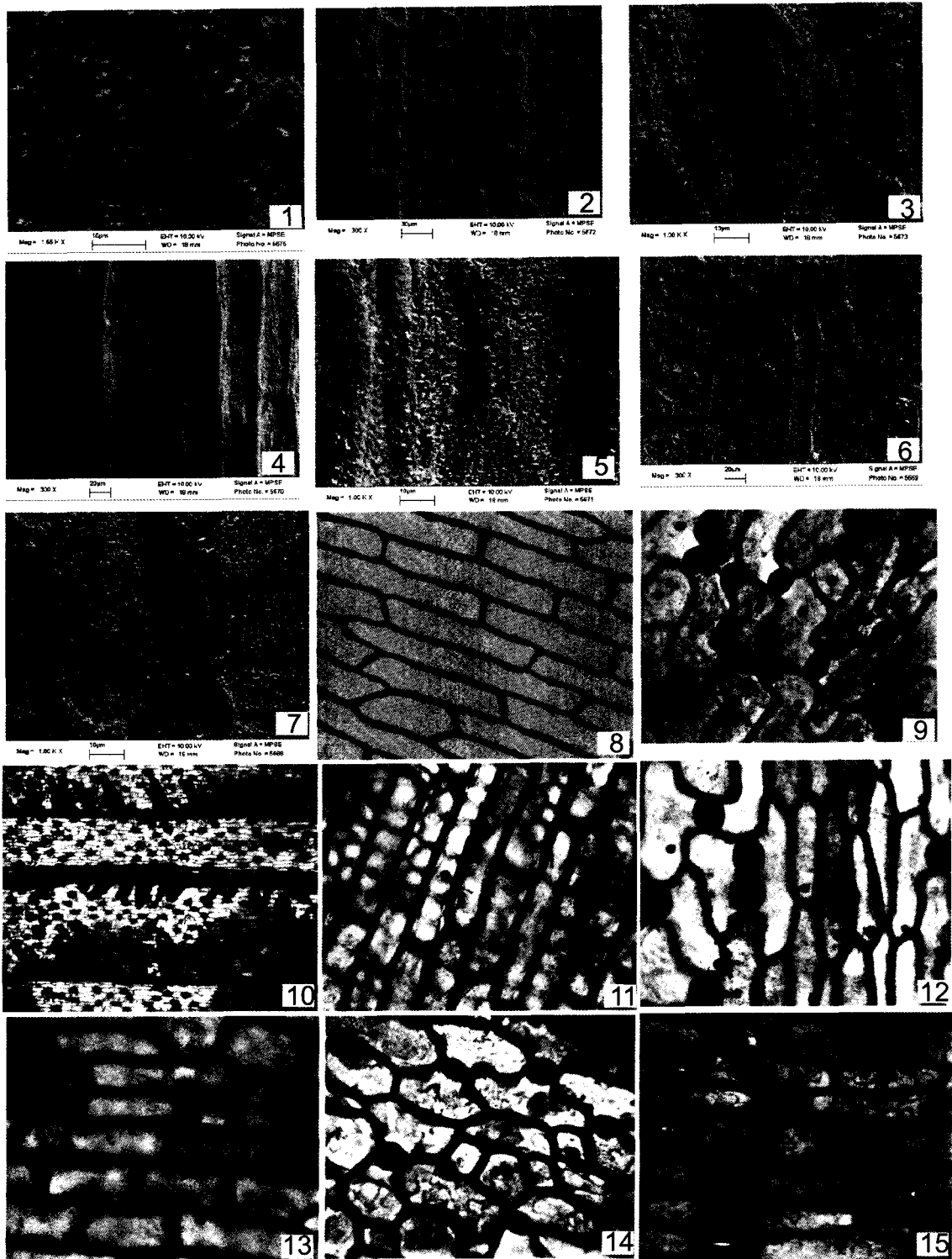
2.3 电镜下叶表皮

在扫描电镜下观察, 表皮细胞轮廓清晰, 外被角质层, 角质层纹饰为鳞片状和颗粒状, 无表皮毛分布。气孔器呈梭形或长椭圆形, 气孔外拱盖 1~2

层, 外被鳞片状或颗粒状纹饰, 外拱盖内缘近光滑或浅波状。具体结果参见表 4。

3 分析与讨论

(1) 多花黄精有些居群虽有表皮毛的分布, 但均为单细胞单列表皮毛, 与李金花等(2005)报道的玉竹下表皮具有多细胞单列表皮毛有所区别, 支持陈机(1996)论述的表皮毛的形态及类型能作为植物分类鉴定的辅助特征的观点。表皮毛的分布在不同居群间也有差异。从横切面看, 除天堂寨居群下表皮叶脉处偶见单细胞单列表皮毛分布外(图版 I: 3), 上、下表皮均未见表皮毛分布; 在光镜下, 则仅见绩溪居群下表皮叶脉处密集单细胞单列表皮毛(图版 II: 10); 在电镜下, 五个居群的多花黄精上、下表皮都未见表皮毛分布。可能是因为在取材时所选取的



图版 II 1. 绩溪(下表皮)×1550; 2. 天堂寨(上表皮)×300; 3. 天堂寨(下表皮)×1000; 4. 琅琊山(上表皮)×300; 5. 琅琊山(下表皮)×1000; 6. 九华山(上表皮)×300; 7. 九华山(下表皮)×1000; 8. 黄山(上表皮)×400; 9. 黄山(下表皮)×400; 10. 绩溪(下表皮)×100; 11. 天堂寨(上表皮)×400; 12. 天堂寨(下表皮)×400; 13. 琅琊山(上表皮)×400; 14. 琅琊山(下表皮)×400; 15. 九华山(下表皮)×400。

Plate II 1. Jixi(LE)×1550; 2. Tiantangzhai(UE)×300; 3. Tiantangzhai(LE)×1000; 4. Langyashan(UE)×300; 5. Langyashan(LE)×1000; 6. Jiuhuashan(UE)×300; 7. Jiuhuashan(LE)×1000; 8. Huangshan(UE)×400; 9. Huangshan(LE)×400; 10. Jixi(LE)×100; 11. Tiantangzhai(UE)×400; 12. Tiantangzhai(LE)×400; 13. Langyashan(UE)×400; 14. Langyashan(LE)×400; 15. Jiuhuashan(LE)×400.

是同一居群的不同个体,可见同一居群不同个体之间表皮毛的分布情况也有差异。因此,笔者认为表皮毛的形态和类型可以作为黄精属植物种间分类的辅助依据,而表皮毛的有无及数目多少在居群间变异较大,不能作为该属植物种间分类的依据。

(2)从表 4 和图版 I,II 看出,不同居群间表皮细胞外被的角质层纹饰具有细微差异,表现为:黄山居群为鳞片状(图版 I:7),绩溪居群和天堂寨居群为鳞片状和颗粒状(图版 II:1,3),琅琊山居群为鳞片状、颗粒状和条纹状(图版 II:4,5),九华山居群为鳞片状、

颗粒状和杆状(图版 II:7)。角质层的厚度和纹饰在极端情况下,可以作为系统分类的依据(Solereder, 1899)。但是 Dunn 等(1965)在研究了 226 种双子叶植物之后,提出植物角质层纹饰形状可能与种的生境有关的观点。陈机(1996)强调,要想在分类学中应用角质层纹饰作为鉴定特征,重要的是要确定它们在某一分类单位中是否具有稳定性。本文研究的五个居群的多花黄精角质层纹饰具有一些差异,在种间不具有稳定性,不能作为分类的依据。

(3)从表 3 和图版 II 看出,多花黄精不同居群间

表 3 光镜下五个居群多花黄精的叶表皮细胞特征(表面观)

Table 3 The characters of leaf epidermis of *P. cyrtanema* from five populations under LM (surface view)

特征 Characters	居群 Populations				
	1	2	3	4	5
长 Length (μm)	20.0	19.5	23.8	18.8	22.5
宽 Width (μm)	15.5	12.6	20.0	15.0	17.5
长宽比 Lengthwidth ratio	1.29	1.55	1.19	1.25	1.29
气孔器类型 Type of stomatal apparatus	Allium 型				
气孔器分布特征 Distribution of stomatal apparatus	单个平行散布, 偶有两个聚集 后随机散布	单个随机散 布,但叶脉处 无任何气孔器	单个随机散布, 偶有两个聚集 后随机散布	单个随机散布, 但叶脉处无任 何气孔器	
气孔器密度(个/ mm^2) Density of stomatal apparatus	64.9	64.9	43.2	21.6	50.4
气孔器指数(D)Stomatal apparatus index (%)	40.0	27.9	23.1	11.5	35.0
细胞形状 Shape of cells	长方形,不规 则,近圆形	长方形,不规 则,近圆形	长方形,不规则	长方形,不规 则,近圆形	长方形,不 规则
垂周壁式样 Pattern of anticlinal	平直,弧形	平直,弧形	平直,弧形	平直,弧形	平直,弧形
表皮毛 Epidermal hair	—	+	—	—	—

表 4 扫描电镜下五个居群多花黄精叶表皮特征(表面观)

Table 4 The characters of leaf epidermis of *P. cyrtanema* from five populations under SEM (surface view)

居群 Populations	气孔器形状 Shape of stomata	气孔外拱盖 Outer stomatal ledge			角质层纹饰 Cuticular ornamentation	细胞轮廓 Outline of cells	图版 Plate
		层数 Layer	纹饰 Ornamentation	内缘 Inner margin			
1	梭形	1	鳞片状	近光滑	鳞片状	清晰	I:6,7
2	长椭圆形	2	鳞片状、颗粒状	浅波状	鳞片状、颗粒状	清晰	I:8; II:1,2
3	长椭圆形	2	鳞片状、颗粒状	浅波状	鳞片状、颗粒状	清晰	II:3,4
4	梭形	2	鳞片状	近光滑	鳞片状、颗粒状、条纹状	清晰	II:5,6
5	梭形	1	鳞片状	近光滑	鳞片状、颗粒状、杆状	清晰	II:7,8

气孔器密度和气孔器指数存在一定差异,这可能与生境有关。黄山居群、绩溪居群和九华山居群的海拔相对较高,气孔器指数和气孔器密度则相对较高;而天堂寨居群和琅琊山居群的海拔相对较低,气孔器密度和气孔器指数则相对较低。五个居群多花黄精的海拔高度和气孔器密度及气孔器指数的关系见统计分析图 1。由图 1 可知,多花黄精随着海拔高度的增加,气孔器密度和气孔器指数均呈上升趋势。从表 2 和图 2 可以看出,随着海拔高度的增加,多花

黄精不同居群间的叶片厚度总体呈上升趋势,与李有忠等(1995)报道的植物的叶片厚度随着海拔高度的增加而逐渐加厚的观点一致。多花黄精不同居群间的气孔器分布特征也存在一定差异,主要表现为绩溪居群、琅琊山居群和九华山居群为单个随机散布(图版 II:10,14,15),而黄山居群为单个平行散布(图版 II:9),偶有两个聚集后随机散布,天堂寨居群为单个随机散布,偶有两个聚集后随机散布(图版 II:12)。由此可见,环境因子的不同对多花黄精气

孔器密度、气孔器指数及气孔器分布特征影响较大。

(4) Areschoug 等(1897)首次报道了阳生植物和阴生植物叶垂周壁弯曲的差别,表明垂周壁的弯曲程度可能与植物的生境有关,利用它作为分类鉴别的特征是应慎重的。多花黄精五个居群的表皮细胞上表皮为长方形,下表皮为不规则形和近圆形;垂周壁上表皮平直,下表皮弓形;在扫描电镜下,表皮细胞轮廓均清晰。黄精属植物均为阴生植物,表皮细胞性状及垂直壁式样在居群间具有稳定性,笔者认为可以作为分类的辅助依据。气孔器类型均为 Allium 型;叶肉细胞均无栅栏组织和海绵组织之分,且叶肉细胞中均有内含针晶束的异细胞分布。

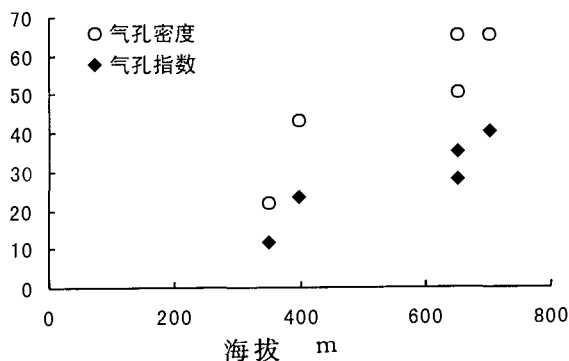


图1 多花黄精叶片气孔器密度和气孔器指数与海拔高度之间的关系

Fig.1 The relation between density, index of stomatal apparatus of leaves and altitude in *P. cyrtonema*

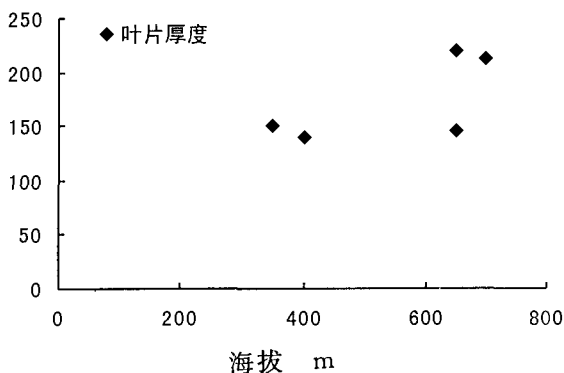


图2 多花黄精叶片厚度与海拔高度之间的关系

Fig.2 The relation between thickness of leaves and altitude in *P. cyrtonema*

(5)综上所述,多花黄精叶表皮特征中的气孔器大小、气孔器指数、气孔器密度、气孔器分布特征、角质层纹饰及表皮毛的分布等受环境因子的影响较大,同种不同居群间有一定差异,不能作为种间分类的依据;而叶肉的构成、内含物(如针晶束)、气孔器

类型、表皮毛的形态及类型、表皮细胞形状及垂周壁式样等性状稳定性较强,同种不同居群间没有明显差异,可以作为分类的依据。

参考文献:

中国科学院植物研究所. 1978. 中国植物志(第15卷)[M]. 北京:科学出版社:52—80
 《安徽植物志》协作组. 1992. 安徽植物志(第五卷)[M]. 合肥:安徽科技出版社:55—59
 陈机. 1986. 植物发育解剖学(上册)[M]. 山东:山东大学出版社:77—89
 Areschoug F, D Boulter. 1897. Ueber die physiologischen leistung- und die entwicklung des grundgewebs des blatts[J]. *Lunds Univ Arssk r*, **33**:1—46
 Dunn D B, Sharma G K, Campbell C C. 1965. Stomatal patterns of dicotyledons and monocotyledons[J]. *Amer Midl Nat*, **74**:185—195
 Li JH(李金花), Zhou SB(周守标), Wang CJ(王春景), et al. 2005. Comparative anatomy of the leaves in *Polygonatum* from Anhui province(安徽黄精属植物叶片的比较解剖学)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), **27**(5):509—516
 Li YZ(李有忠), Ben GY(賁桂英), Han F(韩发), et al. 1995. The effect of altitude variation on the structure of plant leaf lamina(海拔高度的变化对植物叶片内部结构的影响)[J]. *J Qinghai Normal Univ*(青海师范大学学报), **4**:34—40
 Nie LW(聂刘旺), Zhang DC(张定成), Zhang HJ(张海军), et al. 1999. A study on isozymes of 5 species in *Polygonatum*(安徽黄精属五种植物的同工酶分析)[J]. *J Anhui Normal Univ(Nat Sci)*(安徽师范大学学报(自然科学版)), **22**(1):29—31
 Shao JZ(邵建章), Zhang DC(张定成). 1992. Two new species of *Polygonatum* from Anhui(安徽黄精属两新种)[J]. *Guihaia*(广西植物), **12**(2):99—102
 Shao JZ(邵建章), Zhang DC(张定成), Yang JG(杨积高), et al. 1993. Karyotype analysis of 5 species of *Polygonatum*(黄精属五种植物的核型研究)[J]. *Acta Phytotax Sin*(植物分类学报), **31**(4):353—361
 Solereder H. 1899. Systematische Anatomie der Dicotyledonen [J]. *Ferdinand Enke, Stuttgart*
 Zhang DC(张定成), Zhou SB(周守标), Zhang XP(张小平), et al. 2000. A classification study on *Polygonatum* from Anhui(安徽黄精属植物分类研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **20**(1):32—36
 Zheng Y(郑艳), Wang Y(王洋), Zhou HB(周海滨), et al. 1999. Study on the leaf epidermis of *Polygonatum* from Anhui Province(安徽黄精属植物叶表皮研究)[J]. *Guihaia*(广西植物), **19**(3):263—266
 Zheng Y(郑艳), Sun YG(孙叶根), Wang Y(王洋), et al. 1998. Study on the pollen morphology of *Polygonatum* from Anhui, China(安徽黄精属植物花粉形态的研究)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), **18**(4):414—419
 Zhou SB(周守标), Zhang XP(张小平), Zhang DC(张定成), et al. 2000. A cladistic analysis of *Polygonatum* from Anhui(安徽黄精属植物的分支分析)[J]. *Guihaia*(广西植物), **20**(4):329—331