

不同品种头花蓼叶片的比较解剖学研究

高凯悦¹, 廖海民¹, 刘世会^{2,3*}, 赵德刚^{1,2*}

(1. 贵州大学生命科学学院/农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新省部共建教育部重点实验室, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州省农业生物工程重点实验室, 贵州贵阳 550025; 3. 贵州大学药学院, 贵州贵阳 550025)

摘要 [目的]对野生头花蓼、GAP 基地种植头花蓼、贵州省农业生物工程重点实验室选育的四倍体及其二倍体头花蓼品种叶片进行解剖学研究, 期望为头花蓼优良品种的选育提供解剖学参考依据。[方法]采用石蜡切片法和指甲油印迹法, 分别对 4 种头花蓼叶片结构和叶表皮进行观测。[结果]头花蓼叶片气孔器为无规则型, 上表皮气孔数明显少于下表皮。表皮毛仅分布于叶脉上, 下表皮相对较多。叶肉包括栅栏组织和海绵组织 2 个部分, 其中栅栏组织 2 列, 细胞呈长柱形; 海绵组织细胞近圆形, 排列疏松。叶脉为外韧维管束类型, 主脉具两个维管束, 上下排列, 近轴面维管束较小, 其韧皮部朝下, 木质部朝上; 远轴面维管束相对较大, 木质部和韧皮部的排列与近轴面维管束相反。[结论]在研究的 4 个头花蓼材料中, 与其他 3 个二倍体品种相比, 多倍体形态解剖结构特征有明显差异。四倍体品种气孔密度较小, 叶片较厚, 栅栏组织发达, 表明该品种具有较强的抗寒性, 对环境的适应能力更强。

关键词 头花蓼; 叶片; 四倍体; 比较解剖

中图分类号 S567.23*9; Q944.5 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)16-011-03

Comparative Anatomy of Blades from Different Varieties of *Polygonum capitatum*

GAO Kai-yue¹, LIAO Hai-min¹, LIU Shi-hui^{2,3*}, ZHAO De-gang^{1,2*} (1. Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), College of Life Sciences and Institute of Agro-Bioengineering, Guiyang, Guizhou 550025; 2. Guizhou Key Laboratory of Agricultural Bioengineering, Guiyang, Guizhou 550025; 3. College of Pharmacy, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract [Objective] The anatomy relationship of four different varieties of *Polygonum capitatum* was compared to provide the anatomical reference for breeding the good varieties. [Method] Using paraffin section method and nail polish imprinting method, the blade structure and leaf epidermis of four varieties of *Polygonum capitatum* were observed. [Result] Blade stomata of *Polygonum capitatum* is anomocytic, and the number of the upper epidermis stomatal is significantly less than that of the lower epidermis. The trichomes distribute only on the veins and the number of trichomes is relatively more than that of lower epidermis. The mesophyll is consists of palisade tissue and spongy tissue. The palisade tissue cells show long column shapes and are arranged vertically. The spongy tissue cells are nearly suborbicular and are loosely arranged. The veins are collateral bundle type and the main vein with two vascular bundles arranges up and down. Adaxial vascular bundle is smaller, and the phloem is downward and the xylem is upward. Abaxial bundle is relatively large, and the phloem and the xylem are arranged instead of adaxial vascular. [Conclusion] Compared to the other three diploid varieties of *Polygonum capitatum*, tetraploid variety showed obvious differences in anatomical structure characteristics. The results showed that tetraploid variety had certain superiority and could adapt to environment better.

Key words *Polygonum capitatum*; Blade; Tetraploid; Comparative anatomy

头花蓼 (*Polygonum capitatum* Ham ex D. Don) 为蓼科 (Polygonaceae) 多年生匍匐草本植物, 又称四季红、石菖草、太阳草等, 主要分布于贵州、西藏、四川、广西、云南等省 (区)。头花蓼全草入药, 具有清热解暑、利尿通淋与活血止痛等功效^[1], 是贵州传统苗药。随着头花蓼在医药产业的不断发展, 其市场需求也在急速上升。近年来, 一些学者对头花蓼组织培养、人工栽培技术进行了大量研究^[2-3], 为头花蓼产业可持续发展奠定良好基础。但是, 有关头花蓼解剖结构的研究尚未见报道, 仅赛明兰等^[4]对头花蓼药材进行过显微鉴定。笔者对野生头花蓼、GAP 基地种植头花蓼、贵州省农业生物工程重点实验室选育的四倍体及其二倍体头花蓼品种叶片进行了解剖研究, 以期对头花蓼优良品种的选育提供解剖学参考依据。

1 材料与方

1.1 材料 供试材料 4 个, 来源见表 1。表 1 中的 I、II、III 品种由贵州大学熊源新教授鉴定, IV 品种由贵州大学农业

生物工程重点实验室诱导培育经流式细胞仪鉴定。

表 1 供试头花蓼材料

品种	产地	特性
I	兴义市白碗窑镇	野生植株
II	施秉县牛场镇 GAP 基地	二倍体植株
III	贵州大学试验农场	二倍体植株
IV	贵州大学试验农场	四倍体植株

1.2 方法

1.2.1 表皮撕片法。取相同部位叶片中部, 采用指甲油印迹法撕取上下表皮^[5]。表皮毛长度、表皮细胞和气孔大小均取 50 个的平均值; 表皮细胞、气孔和表皮毛的密度取 10 个视野的平均值。

1.2.2 石蜡切片法。将新鲜叶片经浓度 70% FAA 固定, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋。切片厚度 10 μm, 番红一固绿染色, 加拿大树胶封片^[6]。叶片、主脉、表皮细胞、栅栏组织及海绵组织的厚度均为 30 个的平均值, 并且计算组织紧密度 (CTR)、疏松度 (SR) 以及栅/海比。计算公式如下:

$$CTR = \text{栅栏组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100\%$$

$$SR = \text{海绵组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100\%$$

$$\text{栅/海比} = \text{栅栏组织厚度} / \text{海绵组织厚度} \times 100\%$$

1.3 数据处理 用 EXCEL 和 SPSS19.0 软件对试验数据进行处理、统计分析。

基金项目 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目 (黔科合 ZY 字 [2013]3009 号); 贵州省科技创新人才团队建设项目 (黔科合人才团队 [2011]4001 号)。

作者简介 高凯悦 (1991 -), 女, 山西原平人, 硕士研究生, 研究方向: 结构植物学。* 共同通讯作者: 刘世会, 教授, 博士, 从事生药学方面的研究; 赵德刚, 教授, 博士, 从事植物生物学方面的研究。

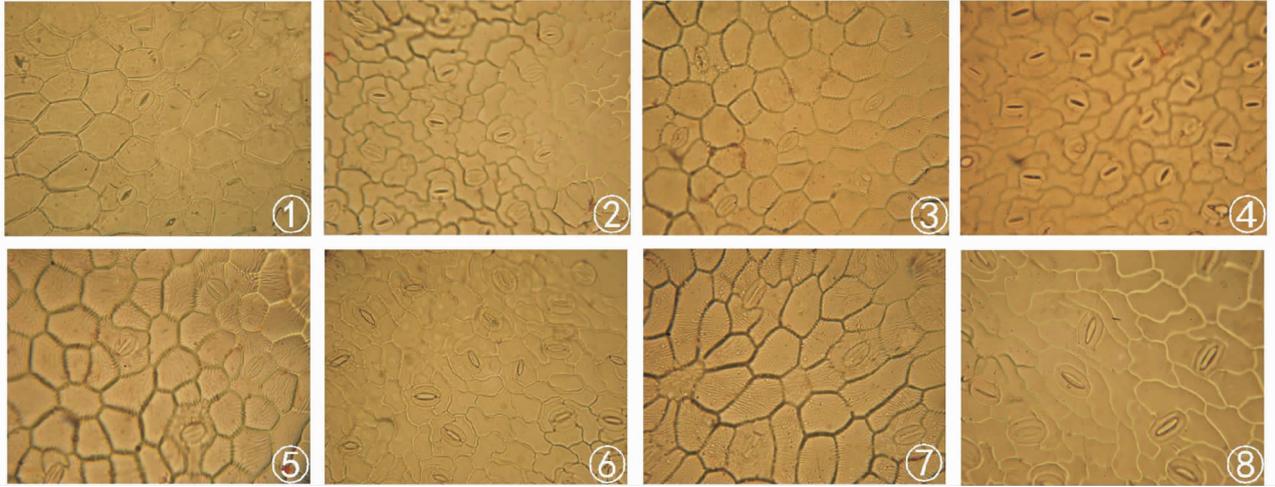
收稿日期 2015-03-31

2 结果与分析

2.1 叶表皮特征 头花蓼叶片表皮由表皮细胞、气孔器和表皮毛组成(图1)。

2.1.1 表皮细胞。头花蓼叶表皮细胞均排列紧密,其中上

表皮细胞垂周壁近平直,细胞近方形,细胞较大,密度小;下表皮细胞垂周壁呈波状弯曲长条形,细胞较小,密度较大。由表2可知,在头花蓼4个材料中,相对于其他3个品种,多倍体细胞较大,密度更小,且差异在0.05水平显著。



注:1. I号的上表皮($\times 400$);2. I号的下表皮($\times 400$);3. II号的上表皮($\times 400$);4. II号的下表皮($\times 400$);5. III号的上表皮($\times 400$);6. III号的下表皮($\times 400$);7. IV号的上表皮($\times 400$);8. IV号的下表皮($\times 400$)。

图1 不同品种头花蓼叶表皮结构

表2 叶表皮细胞特征

品种	上表皮		下表皮	
	细胞大小// mm^2	细胞密度// $\text{mm}^2/\text{个}$	细胞大小// mm^2	细胞密度// $\text{mm}^2/\text{个}$
I	$0.0018 \pm 0.00047\text{aA}$	$671.39 \pm 75.9381\text{aA}$	$0.0009 \pm 0.00004\text{aA}$	$1293.9 \pm 108.4642\text{abAB}$
II	$0.0016 \pm 0.00050\text{aA}$	$744.39 \pm 47.0914\text{bA}$	$0.0008 \pm 0.00006\text{aA}$	$1424.7 \pm 387.2909\text{aA}$
III	$0.0012 \pm 0.00035\text{bB}$	$807.74 \pm 91.6452\text{cAB}$	$0.0006 \pm 0.00004\text{bB}$	$1420.6 \pm 366.8430\text{aA}$
IV	$0.0023 \pm 0.00077\text{cC}$	$560.53 \pm 42.3494\text{dC}$	$0.0010 \pm 0.00007\text{cC}$	$1124.5 \pm 106.8369\text{bB}$

注:同列不同大小写字母分别表示差异在0.01、0.05水平显著。

2.1.2 气孔器。头花蓼气孔器均呈为无规则型,由2个肾形保卫细胞和气孔组成,上表皮气孔数明显少于下表皮。由

表3可知,多倍体上表皮气孔明显大于其他3个品种,上、下表皮的气孔密度均较低。

表3 叶表皮气孔特征

品种	上表皮		下表皮	
	气孔大小// mm^2	气孔密度// $\text{mm}^2/\text{个}$	气孔大小// mm^2	气孔密度// $\text{mm}^2/\text{个}$
I	$0.0004 \pm 0.00006\text{aA}$	$81.9446 \pm 9.43616\text{aA}$	$0.0010 \pm 0.00035\text{aAB}$	$260.29 \pm 30.06842\text{aA}$
II	$0.0004 \pm 0.00006\text{aA}$	$94.3395 \pm 9.21011\text{bA}$	$0.0008 \pm 0.00029\text{bB}$	$267.18 \pm 52.01929\text{aA}$
III	$0.0004 \pm 0.00003\text{aB}$	$83.3218 \pm 16.6947\text{aA}$	$0.0006 \pm 0.00026\text{cB}$	$216.22 \pm 58.89550\text{bAB}$
IV	$0.0006 \pm 0.00006\text{bC}$	$44.7596 \pm 8.11530\text{cB}$	$0.0010 \pm 0.00041\text{aA}$	$180.42 \pm 25.31160\text{bB}$

注:同列不同大小写字母分别表示差异在0.01、0.05水平显著。

2.1.3 表皮毛。头花蓼的表皮毛仅分布于叶脉上,为单细胞表皮毛类型。由表4可知,上、下表皮的表皮毛长度均为

多倍体较长,且与其他3个品种差异在0.05水平显著;上、下表皮的表皮毛密度无显著性差异。

表4 叶表皮毛特征

品种	上表皮		下表皮	
	毛长度// mm	毛密度// $\text{mm}^2/\text{个}$	毛长度// mm	毛密度// $\text{mm}^2/\text{个}$
I	$0.4925 \pm 0.10965\text{aA}$	$1.3791 \pm 0.33446\text{abAB}$	$0.5367 \pm 0.10768\text{aA}$	$2.2206 \pm 0.28506\text{aA}$
II	$0.5000 \pm 0.10660\text{aA}$	$1.9537 \pm 0.22709\text{aA}$	$0.4625 \pm 0.11104\text{aA}$	$2.6002 \pm 0.69004\text{aA}$
III	$0.5031 \pm 0.11757\text{aA}$	$0.9658 \pm 0.62942\text{bB}$	$0.5094 \pm 0.15622\text{aA}$	$2.1121 \pm 0.37894\text{aA}$
IV	$0.7525 \pm 0.17879\text{bB}$	$1.2744 \pm 0.29628\text{bAB}$	$0.7700 \pm 0.19494\text{bB}$	$2.0504 \pm 0.31281\text{aA}$

注:同列不同大小写字母分别表示差异在0.01、0.05水平显著。

2.2 叶片解剖结构 由图2可知,头花蓼叶片为典型的异

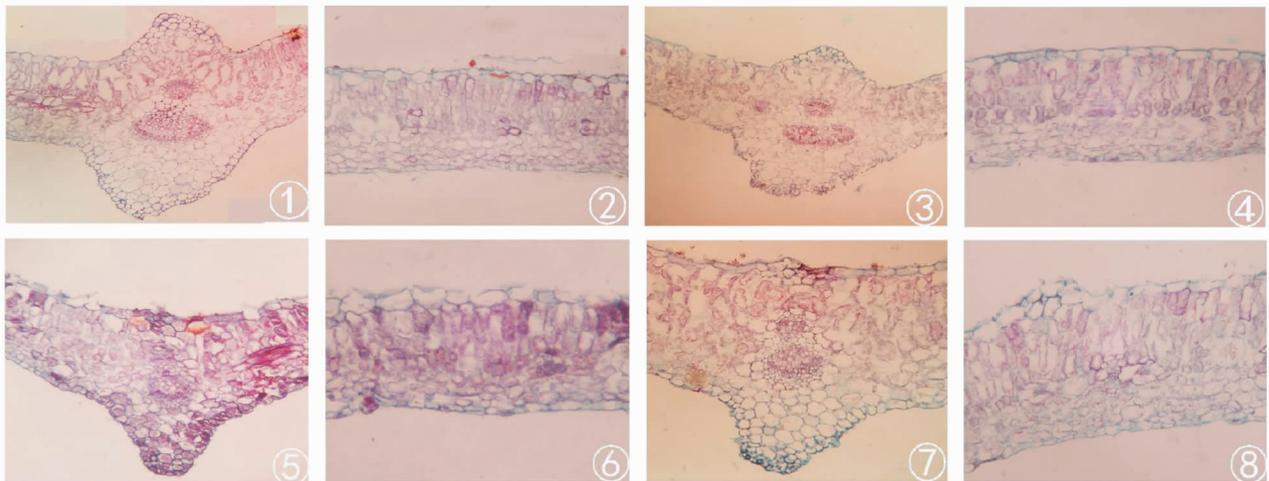
面叶结构,即横切面由表皮、叶肉和叶脉3个部分组成,叶肉

包括栅栏组织和海绵组织 2 个部分。

头花蓼上、下表皮均为一层细胞,细胞呈长方形,上表皮细胞较大且有明显的角质层。由表 5 可知,多倍体的叶片厚

度较大,与其他 3 个品种差异在 0.05 水平显著;上、下表皮的厚度均为多倍体较大,但差异不明显。

叶肉二型,分化为栅栏组织和海绵组织,在一些叶肉细



注:1~2. I 号的叶片横切(×400);3~4. II 号的叶片横切(×400);5~6. III 号的叶片横切(×400);7~8. IV 号的叶片横切(×400)。

图 2 不同品种头花蓼叶解剖结构

表 5 叶片主脉和表皮结构特征

品种	上表皮厚度//mm	下表皮厚度//mm	原角组织厚度//mm	叶片厚度//mm	叶脉直径//mm
I	0.019 5 ± 0.001 50aA	0.014 3 ± 0.001 50abA	0.012 4 ± 0.001 30bB	0.223 6 ± 0.009 37aA	0.676 0aA
II	0.017 2 ± 0.004 38aA	0.013 0 ± 0.001 97bA	0.005 5 ± 0.001 67aA	0.206 7 ± 0.002 18abA	0.520 0bB
III	0.027 9 ± 0.004 91bB	0.013 3 ± 0.001 67abA	0.007 1 ± 0.001 84aA	0.196 6 ± 0.009 00aA	0.416 0cC
IV	0.029 7 ± 0.004 47bB	0.015 9 ± 0.002 87aA	0.012 4 ± 0.001 30bB	0.314 6 ± 0.024 59cB	0.613 6dD

注:同列不同大小写字母分别表示差异在 0.01,0.05 水平显著。

胞中能看到草酸钙簇晶。靠近上表皮的部位为栅栏组织,组织两列,细胞呈长柱形,其组成细胞排列规则,细胞长轴垂直于叶表面;近下表皮部位的海绵组织,细胞近圆形,排列疏

松,间隙较多。由表 6 可知,多倍体的栅栏组织和海绵组织厚度较大,与其他 3 个品种差异在 0.05 水平显著;组织紧密度、栅/海比较高。

表 6 叶肉的解剖结构特征

品种	栅栏组织厚度//mm	海绵组织厚度//mm	CTR	SR	栅/海比
I	0.103 0 ± 0.007 08aA	0.099 1 ± 0.009 16bAB	0.464 1 ± 0.031 88aA	0.446 5 ± 0.041 26aA	1.040aA
II	0.088 8 ± 0.009 06aA	0.088 0 ± 0.008 00aA	0.428 8 ± 0.043 77aA	0.425 3 ± 0.038 67aAC	1.011aA
III	0.060 8 ± 0.005 39bB	0.105 6 ± 0.005 70bB	0.308 8 ± 0.027 37bB	0.535 8 ± 0.028 92bB	0.575bB
IV	0.167 7 ± 0.016 09cC	0.119 0 ± 0.011 61cBC	0.532 4 ± 0.051 07cC	0.377 6 ± 0.036 85cC	1.412cC

注:同列不同大小写字母分别表示差异在 0.01,0.05 水平显著。

在头花蓼叶片中分布有大量的维管组织,构成各级叶脉,属典型网状脉序。叶脉维管束为外韧维管束类型,由木质部、形成层和韧皮部组成。木质部靠近叶的近轴面,韧皮部靠近叶的远轴面。头花蓼主脉靠近上下表皮处且有较多厚角组织分布,其细胞排列较紧密。主脉具 2 个维管束,上下排列。近轴面维管束较小,其韧皮部朝下,木质部朝上;远轴面维管束相对较大,木质部和韧皮部的排列与近轴面维管束相反,即其木质部朝下,而韧皮部朝上。

3 结论与讨论

3.1 头花蓼叶片的解剖结构 头花蓼叶片为典型的异面叶结构。横切面由表皮、叶肉和叶脉 3 个部分组成。叶肉包括栅栏组织和海绵组织 2 个部分。表皮由表皮细胞、气孔器和表皮毛组成。表皮细胞均排列紧密,上表皮细胞垂周壁近平直,细胞近方形,下表皮细胞垂周壁呈波状弯曲长条形。

气孔器为无规则型,由呈肾形的 2 个保卫细胞和气孔组成,上表皮气孔数明显少于下表皮。表皮毛仅分布于叶脉上,下表皮相对较多。叶肉包括栅栏组织和海绵组织 2 个部分,靠近上表皮部位的为栅栏组织,其组成细胞排列规则,细胞呈长柱形,细胞长轴垂直于叶表面;近下表皮部位的为海绵组织,细胞近圆形,排列疏松,间隙较多。叶脉为外韧维管束类型,由木质部、形成层和韧皮部组成,木质部靠近叶的近轴面,韧皮部靠近叶的远轴面。

头花蓼主脉较特殊,具两个维管束,上下排列,近轴面维管束较小,其韧皮部朝下,木质部朝上;远轴面维管束相对较大,木质部和韧皮部的排列与近轴面维管束相反,即其木质部朝下,而韧皮部朝上。主脉的这种维管束排列较少见,在同属植物何首乌(*Polygonum multiflorum* Thunb.)有报道^[7]。

(下转第 42 页)

参考文献

- [1] WESTON V. Large scale screening for DNA damage-induced transcription factors as potential targets for treatment of CLL with p53 apoptotic defect [J]. *Blood*, 2009, 114(22): 1336.
- [2] ERHARD F, HAAS J, LIEBER D, et al. Widespread context dependency of microRNA-mediated regulation [J]. *Genome Res*, 2014, 24(6): 906–919.
- [3] TORNOW S, MEWES H W. Functional modules by relating protein interaction networks and gene expression [J]. *Nucleic Acids Res*, 2003, 31(21): 6283–6289.
- [4] SEGAL E, FRIEDMAN N, KOLLER D, et al. A module map showing conditional activity of expression modules in cancer [J]. *Nat Genet*, 2004, 36(10): 1090–1098.
- [5] NIEHRS C, POLLET N. Synexpression groups in eukaryotes [J]. *Nature*, 1999, 402(6761): 483–487.
- [6] LANDGRAF P, RUSU M, SHERIDAN R, et al. A mammalian microRNA expression atlas based on small RNA library sequencing [J]. *Cell*, 2007, 129(7): 1401–1414.
- [7] SAYERS E W, BARRETT T, BENSON D A, et al. Database resources of the national center for biotechnology information [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 36: 13–21.
- [8] LASH A E, TOLSTOSHEV C M, WAGNER L, et al. SAGEmap: A public gene expression resource [J]. *Genome Res*, 2000, 10(7): 1051–1060.
- [9] WINGENDER E. The TRANSFAC project as an example of framework technology that supports the analysis of genomic regulation [J]. *Briefings in Bioinformatics*, 2008, 9(4): 326–332.
- [10] LEWIS B P, SHIH I H, JONES-RHOADES M, et al. Prediction of mammalian microRNA targets [J]. *Cell*, 2003, 115(7): 787–798.
- [11] KREK A, GRUN D, POY M N. Combinatorial microRNA target predictions [J]. *Nature Genetics*, 2005, 37(5): 495–500.
- [12] SETHUPATHY P, CORDA B, HATZIGEORGIOU A G. TarBase: A comprehensive database of experimentally supported animal microRNA targets [J]. *RNA*, 2006, 12(2): 192–197.
- [13] BADER G D, HOGUE C W. An automated method for finding molecular complexes in large protein interaction networks [J]. *BMC Bioinformatics*, 2003, 4: 2.
- [14] WU J H, SUN Y J, HSIEH P H, et al. Inferring coregulation of transcription factors and microRNAs in breast cancer [J]. *Gene*, 2013, 518(1): 139–144.
- [15] DUBE N, KOOISTRA M R, PANNEKOEK W J, et al. The RapGEF PDZ-GEF2 is required for maturation of cell-cell junctions [J]. *Cellular Signaling*, 2008, 20(9): 1608–1615.
- [16] COHEN J D, THAM K Y, MASTRANDREA N J, et al. cAMP-dependent cytosolic mislocalization of p27 (kip)-cyclin D1 during quinol-thioether-induced tuberous sclerosis renal cell carcinoma [J]. *Toxicol Sci*, 2011, 122(2): 361–371.
- [17] KANEHISA M, GOTO S, SATO Y, et al. Data, information, knowledge and principle: Back to metabolism in KEGG [J]. *Nucleic Acids Research*, 2014, 42(D1): 199–205.
- [18] BIRKHAUSER F D, KOYA R C, NEUFELD C, et al. Dendritic cell-based immunotherapy in prevention and treatment of renal cell carcinoma: Efficacy, safety, and activity of Ad-GM. CAIX in immunocompetent mouse models [J]. *J Immunother*, 2013, 36(2): 102–111.
- [19] ARRIAGA J M, BRAVO I A, BRUNO L, et al. Combined metallothioneins and p53 proteins expression as a prognostic marker in patients with Dukes stage B and C colorectal cancer [J]. *Human Pathology*, 2012, 43(10): 1695–1703.
- [20] HATEMI A C, GULEC C C, CINE N, et al. Sequence variations of *NKX2-5* and *HAND1* genes in patients with atrial isomerism [J]. *Anadolu Kardiyoloji Dergisi-the Anatolian Journal of Cardiology*, 2011, 11(4): 319–328.
- [21] GOLDMUNTZ E, PALURU P, GLESSNER J, et al. Microdeletions and microduplications in patients with congenital heart disease and multiple congenital anomalies [J]. *Congenital Heart Disease*, 2011, 6(6): 592–602.
- [22] KERKELA R, KOCKERITZ L, MACAULAY K, et al. Deletion of GSK-3beta in mice leads to hypertrophic cardiomyopathy secondary to cardiomyoblast hyperproliferation [J]. *J Clin Invest*, 2008, 118(11): 3609–3618.
- [23] LAL H, AHMAD F, WOODGETT J, et al. The GSK-3 family as therapeutic target for myocardial diseases [J]. *Circulation Research*, 2015, 116(1): 138–149.
- [24] LU M, ZHANG Q, DENG M, et al. An analysis of human microRNA and disease associations [J]. *PLoS One*, 2008, 3(10): 3420.

(上接第 13 页)

3.2 不同品种头花蓼叶片的结构差异 在头花蓼 4 个材料中,多倍体与所研究的其他 3 个材料间差异较大。其表皮细胞较大,细胞密度小;上表皮气孔较大,上、下表皮的气孔密度均较低;上、下表皮的表皮毛长度较长;叶片、上表皮和下表皮的厚度均较大;栅栏组织和海绵组织的厚度较大;其组织紧密度、栅/海比较高。这些形态解剖结构特征表明,多倍体品种具有一定的优越性,对环境的适应能力更强。一般认为,气孔密度越小,角质层越厚,叶肉的栅栏组织越发达,植物抗寒能力就越强^[8-10]。多倍体品种气孔密度最小,叶片最厚,CTR 最大,SR 最小。在抗寒性方面,与普通二倍体相比,多倍体具有明显的优势。

参考文献

- [1] 贵州植物志编委会. 贵州植物志(第一卷) [M]. 贵阳: 贵州人民出版社

- 社, 1982: 197.
- [2] 闫吉美, 刘世会, 龙凤荣, 等. 头花蓼组培快繁体系的建立 [J]. *山地农业生物学报*, 2012, 31(6): 477–480.
- [3] 孙长生, 梁斌, 李孟林, 等. 头花蓼规范化种植技术 [J]. *中国现代中药*, 2007, 9(1): 36–39.
- [4] 赛明兰, 张赛群. 四季红形态与组织鉴定 [J]. *贵阳医学院学报*, 1995, 20(3): 201–203.
- [5] 晏升禄, 崔丽, 徐爽, 等. 商陆与垂序商陆营养器官的解剖学研究 [J]. *山地农业生物学报*, 2012, 31(2): 124–128.
- [6] 李祖任, 胡楠, 杨吉刚, 等. 繁缕和鹅肠菜的花维管束系统比较解剖学研究及其系统学意义 [J]. *植物科学学报*, 2013, 31(6): 525–532.
- [7] 王舒颖, 徐爽, 廖海民. 何首乌幼苗的解剖学及过渡区的初生维管系统 [J]. *山地农业生物学报*, 2011, 30(1): 20–26.
- [8] 胡正海. *植物解剖学* [M]. 北京: 高等教育出版社, 2010.
- [9] 李芳兰, 包维楷. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应 [J]. *植物学通报*, 2005, 22(S1): 118–127.
- [10] 谢庭味, 欧阳美珊. 13 种木兰科树种叶片解剖与其抗寒性 [J]. *武汉植物学研究*, 1989, 7(3): 234–238.