

不同生态环境下水曲柳的解剖结构差异分析

王晓钰, 陈丹萍, 徐光照, 李岩, 陆静梅* (东北师范大学, 吉林长春 130024)

摘要 [目的]探究在阴生和阳生2种环境下水曲柳演化出不同内部解剖结构特征。[方法]采用石蜡切片技术、木材离析技术、徒手切片及光学显微摄影技术,分别对阴生和阳生环境下水曲柳(*Fraxinus mandshurica* Rupr.)叶柄和叶片、木材切面以及木质部导管的结构进行比较研究。[结果]阴生环境下,水曲柳叶柄和叶片的角质层不发达,叶肉细胞通气组织发达,海绵组织不发达,栅栏组织稀疏,导管分子孔径较小,气孔稀疏,表现出植物耐阴性的结构特征。阳生环境下,其叶柄和叶片都表现出切向壁角质层加厚,叶肉细胞小而致密,栅栏组织层数较阴生多,海绵组织致密,可有效折射光强,避免叶片灼伤,维管组织发达,导管孔径较大,运输能力较强,是植物为适应干旱环境所演化出的特有结构。[结论]试验结果为进一步探究植物耐逆境及结构植物学的基础研究提供了理论依据,证实了植物内外形态与环境密切相关。

关键词 阴生植物;阳生植物;水曲柳;解剖结构
中图分类号 S792.41 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)21-0001-03

Difference Analysis of Anatomic Structure of *Fraxinus mandshurica* Rupr in Different Ecological Environments
WANG Xiao-yu, CHEN Dan-ping, XU Guang-zhao, LU Jing-mei* et al (Northeast Normal University, Changchun, Jilin 130024)

Abstract [Objective] To explore the *Fraxinus mandshurica* Rupr evolution of different internal anatomical characteristics in the shade environment and sun environment. [Method] Employing paraffin-section method, wood segregation technology, unarmed slice method and optical micrograph technology, we performed a comparative study on the structure of petiole, leaf, timber and xylem vessel of *Fraxinus mandshurica* in the two kinds of circumstances respectively. [Result] In the shade environment, its cuticle of petiole and leaf was underdeveloped, and aerenchyma mesophyll cells were developed. Spongy tissue was underdeveloped, and palisade tissue was sparse. The diameter of vessel elements and smaller and stomatal sparse, showed the structure characteristic of tolerance of shade environment. In the sun environment, its petiole and leaf showed the tangential wall corneous layer thickening, mesophyll cells were small and compact. The layer number of palisade tissue was more. Spongy tissue was dense. It could refract light intensity effectively in order to avoid leaf burns. Vascular tissue was developed. Vessel diameter was bigger, and made the ability of transport strengthen. These were the unique structure of the plant in order to adapt to the drought environment. [Conclusion] The results provide theoretical support for further exploring the rivalry adversity of plant and anatomical structure, and confirm the plant internal and external morphology is closely related to the environment.

Key words Shade plant; Heliophyte; *Fraxinus mandshurica*; Anatomical structure

同种植物在不同的生态环境中形态结构会存在差异,阴生和阳生环境下植物会演化出不同的外部形态以及内部解剖结构特征。大量试验都充分证明了植物结构演化与环境具有密切关系。

水曲柳属木犀科梣属植物,与黄菠萝、胡桃楸并称“东北三大硬阔”树种,是第三纪的孑遗种^[1],国家Ⅱ级重点保护野生植物^[2]。其材质坚韧,富有弹性,是良好的家具、建筑等用材,经济价值较高^[3]。水曲柳化学成分主要有香豆素、类黄酮等^[4],可防治病虫害^[5],其乙醇提取物有明显的镇痛、抗炎作用^[6]。树皮可治疗痢疾、牛皮癣等病症,具有较高的药用价值^[7]。水曲柳在我国区域气候环境的调节维护中起着重要作用,由于其资源遭到破坏^[8],林分中大径材的水曲柳数量已经较少^[9]。如今,人工造林事业对实现林业发展的可持续性具有重要意义^[10]。笔者对阴、阳生2种不同环境下水曲柳叶柄和叶片、木材切面以及木质部导管的结构进行了比较研究,旨在揭示2种环境下水曲柳在内部结构上所表现出的不同形态特征,为进一步探究植物抗旱性、耐阴性以及结构植物学的研究提供理论依据,证实植物形态建成与环境间存在密切关系。

基金项目 国家自然科学基金项目(41271231)。
作者简介 王晓钰(1993—),女,内蒙古林西人,硕士研究生,研究方向:结构植物学。*通讯作者,教授,博士,博士生导师,从事结构植物学研究。
收稿日期 2017-05-17

1 材料与方法

1.1 材料 试验材料为阴、阳生2种不同环境下的水曲柳叶柄、叶片及木材,均采于长春市东北师范大学校内。

1.2 方法

1.2.1 石蜡切片。石蜡切片法是常用的观察植物组织结构的方法,主要步骤为FAA固定(48 h以上)、乙醇梯度脱水、二甲苯梯度透明、浸蜡、包埋、切片、展片、二甲苯梯度脱蜡及染色(番红、固绿)、封片等,在显微镜下观察、测量。

1.2.2 叶表皮制片。取新鲜健康水曲柳叶片,流水冲洗,用钝面刀片轻刮叶片上表皮及叶肉部分,留下薄而透明的下表皮,制成临时装片,以备在显微镜下观察、测量。

1.2.3 徒手切片。取2种环境下健康的水曲柳木材放入水中煮沸、排气使其软化,左手持材料置于胸前,右手持刀,使刀片和材料垂直,向内均匀拉切材料,将切好的材料放入清水中,选择完整且薄的材料染色、封片以备观察、测量。

1.2.4 木材离析。将水曲柳木材切成1 cm左右细条,40℃下放入离析液(10%铬酸:10%硝酸铵=1:1)中4~6 h,漂洗、染色,以备在显微镜下观察、测量。应用Nikon Eclipse 80i光学显微镜拍摄。采用Nis-Elements D 2.20,20,sp2(Build 243)Imaging Software软件进行测量。

2 结果与分析

显微镜下,2种环境水曲柳叶柄、叶片基本结构相同,导管均有螺旋加厚,叶片下表皮均有气孔存在,木材为环孔材。据观察,水曲柳的外部形态和内部结构与其生活环境相一

致,不同环境下的水曲柳在形态结构上演化出不同的特征以适应对应的生态环境。

2.1 阴生环境水曲柳的解剖结构 阴生环境下,水曲柳叶片大而薄,通气组织发达,叶柄和叶片角质较薄,栅栏组织不

发达,海绵组织疏松,下表皮具气孔,数量较少。木材横切面上,管孔链较短且稀疏,每条管孔链通常有 4~6 个导管分子;导管孔径较小,侧壁纹孔排列稀疏。整体维管组织较不发达(表 1、2 和图 1)。

表 1 阴生和阳生环境下水曲柳叶柄和叶片特征结构的显微测量

Table 1 Microscopic measurement on the structure of petiole and leaf of <i>Fraxinus mandshurica</i> in shade environment and sun environment						
环境 Environment	叶片厚度 Thickness of leaf// μm	叶片角质层厚度 Thickness of leaf cuticle μm	上表皮细胞厚度 Thickness of upper epidermis cells// μm	下表皮细胞厚度 Thickness of Epidermal cell// μm	栅栏组织厚度 Thickness of palisade tissue// μm	栅栏组织层数 Layer number of palisade tissue
阴生 Shade environment	173.56 $\pm$ 12.64	1.95 $\pm$ 0.40	15.88 $\pm$ 1.82	10.93 $\pm$ 1.68	68.60 $\pm$ 8.15	2~3
阳生 Sun environment	192.99 $\pm$ 17.91	2.80 $\pm$ 0.44	15.13 $\pm$ 1.30	9.82 $\pm$ 1.10	94.09 $\pm$ 3.01	3~4
环境 Environment	海绵组织厚度 Thickness of spongy tissue μm	叶肉通气组织 Leaf meat aeration tissue	栅/海比值 The ratio of palisade tissue to spongy tissue	叶柄角质层厚度 Thickness of petiole cuticle μm	叶柄厚壁组织厚度 Thickness of petiole thick wall tissue// μm	
阴生 Shade environment	96.35 $\pm$ 9.36	多	0.71	3.20 $\pm$ 0.40	48.69 $\pm$ 3.28	
阳生 Sun environment	53.59 $\pm$ 4.70	少	1.76	4.31 $\pm$ 0.56	60.55 $\pm$ 5.26	
环境 Environment	叶柄木质部厚度 Thickness of petiole xylem μm	叶柄薄壁组织厚度 Thickness of petiole parench- yma// μm	叶柄整体直径 Petiole diameter μm	叶下表皮气孔 Leaf epidermal stomata	叶下表皮气孔密度 Density of leaf epidermal stomata//mm	
阴生 Shade environment	94.46 $\pm$ 6.58	207.57 $\pm$ 14.06	1 620.96 $\pm$ 56.56	大而稀疏	341.52 $\pm$ 3.45	
阳生 Sun environment	115.44 $\pm$ 7.89	192.01 $\pm$ 12.22	1 643.70 $\pm$ 116.28	小而密集	469.58 $\pm$ 2.11	

表 2 阴生和阳生环境下水曲柳木材特征结构的显微测量

Table 2 Microscopic measurement on the structure of wood of <i>Fraxinus mandshurica</i> in shade environment and sun environment							
环境 Environment	木材横切 射线宽度 The width of wood crosscut rays	木材射线 细胞宽度 The width of wood ray cell// μm	早材导 管直径 Diameter of early material ducts// μm	晚材导 管直径 Diameter of late material ducts// μm	管孔链 导管个数 Number of pipe chain catheters	木质部导 管孔径 Hole diameter of xylem μm	导管侧 壁纹孔 Pipe side wall groove
阴生 Shade environment	24.28 $\pm$ 2.30	10.16 $\pm$ 1.17	93.62 $\pm$ 12.42	31.92 $\pm$ 6.67	4~6	71.05 $\pm$ 10.92	紧密
阳生 Sun environment	28.26 $\pm$ 4.66	12.93 $\pm$ 1.47	104.31 $\pm$ 14.09	41.89 $\pm$ 6.80	9~14	99.11 $\pm$ 17.13	稀疏

2.2 阳生环境水曲柳的解剖结构 阳生环境下,水曲柳叶片小而厚,叶柄及叶片均出现角质层加厚的现象,维管束发达,皮层数增多。叶柄覆有表皮毛,栅栏组织排列紧密且海绵组织发达,下表皮气孔较多且排列致密。木材横切面上,管孔链较长且排列密集,每条管孔链通常有 9~14 个导管分子,导管侧壁纹孔排列紧密,弦切面上射线细胞排列紧密。导管孔径较阴生的大,整体维管组织相对较发达(表 1、2 和图 1)。

3 结论与讨论

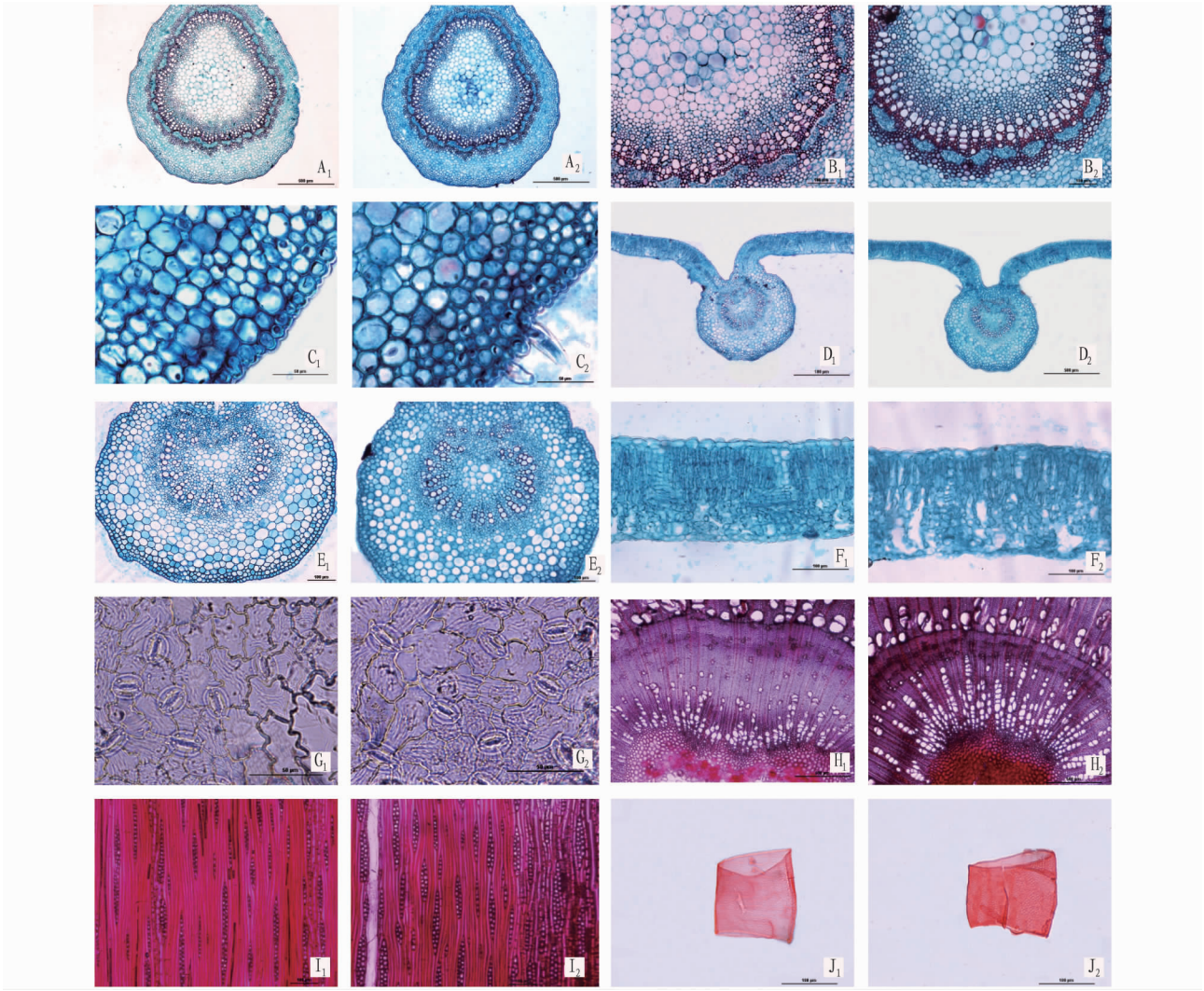
生态环境可以影响植物的形态建成,环境差异可导致植物不同形态结构的演化^[11]。该研究所用的阴生水曲柳试验材料生长在光照较少的阴湿环境下,倾向于湿生植物形态结构;阳生水曲柳生长在水分较少但光照充足的干旱环境下,倾向于旱生植物的形态结构^[12]。

阴生环境下的水曲柳生长可获得大量的水分,植株较发达,地上部分往往高大粗壮。通气组织发达以满足阴生环境下水曲柳对氧气的生理需要。栅栏组织稀疏,减少其对光的投射损失,使植物体能够吸收利用更多的光线,植株叶片较大而薄;这些结构特征提高了光能利用效率,有利于积累同

化产物。叶片下表皮气孔较少,有利于维持体内水分代谢平衡。

阳生环境下,植物由于常年经受干旱环境胁迫,植株往往矮小,叶片一般较小而厚,部分革质化,有利于减少强光对叶片的伤害,大大降低了叶片的蒸腾作用,增强了其储水和光合作用能力^[13]。干旱胁迫下,植物叶片常覆盖较厚角质层,叶片的维管束鞘发达,有着较强的机械组织,以抵抗干旱逆境^[14-15]。另外,其栅栏组织致密,有研究表明栅栏组织/海绵组织厚度的比值较高的植物有着更强的抗旱性^[16]。气孔数量多但孔径较小,有时有气孔下陷现象,有利于折射强光以避免灼伤。由于所处环境干旱缺水,阳生植物更需要发达的维管组织,才能维持干旱条件下植物体内水分的含量及代谢的平衡,从木材横切面和弦切面来看,阳生水曲柳导管数量多、排列紧密,提高了其运输水分和无机盐的能力,有效缓解干旱环境的胁迫。

由此可见,植物所在的生态环境与其解剖结构有直接关系,该研究不仅可以丰富解剖学的研究内容,还为水曲柳耐旱能力的深入研究奠定了基础,为树木的栽培管理以及园林规划提供了理论依据。



注:A₁. 阴生叶柄横切 X4;A₂. 阳生叶柄横切 X4;B₁. 阴生叶柄维管束 X10;B₂. 阳生叶柄维管束 X10;C₁. 阴生叶柄角质层 X40;C₂. 阳生叶柄角质层 X40;D₁. 阴生叶片横切整体结构 X4;D₂. 阳生叶片横切整体结构 X4;E₁. 阴生叶主脉维管束 X10;E₂. 阳生叶主脉维管束 X10;F₁. 阴生叶片栅栏组织及海绵组织 X20;F₂. 阳生叶片栅栏组织及海绵组织 X20;G₁. 阴生叶片下表皮外观结构 X40;G₂. 阳生叶片下表皮外观结构 X40;H₁. 阴生水曲柳木材横切面 X4;H₂. 阳生水曲柳木材横切面 X4;I₁. 阴生水曲柳木材弦切 X10;I₂. 阳生水曲柳木材弦切 X10;J₁. 阴生木质部导管分子 X20;J₂. 阳生木质部导管分子 X20

Note:A₁. Petiole crosscutting in shade environment X4; A₂. Petiole crosscutting in sun environment X4; B₁. The leaf stalk vascular bundle in shade environment X10; B₂. The leaf stalk vascular bundle in sun environment X10; C₁. Petiole cuticle in shade environment X40; C₂. Petiole cuticle in sun environment X40; D₁. The whole structure of leaf crosscutting in shade environment X4; D₂. The whole structure of leaf crosscutting in sun environment X4; E₁. Leaf main pulse vascular bundle in shade environment X10; E₂. Leaf main pulse vascular bundle in sun environment X10; F₁. Palisade tissue and spongy tissue of leaf in shade environment X20; F₂. Palisade tissue and spongy tissue of leaf in sun environment X20; G₁. The apparent structure of the epidermis of leaves in shade environment X40; G₂. The apparent structure of the epidermis of leaves in sun environment X40; H₁. Cross section of wood of *Fraxinus mandshurica* in shade environment X4; H₂. Cross section of wood of *Fraxinus mandshurica* in sun environment X4; I₁. Timber string of *Fraxinus mandshurica* in shade environment X10; I₂. Timber string of *Fraxinus mandshurica* in sun environment X10; J₁. Vessel elements of xylem in shade environment X20; J₂. Vessel elements of xylem in sun environment X20

图 1 阴生和阳生环境下水曲柳特征结构的显微观测

Fig.1 Microscopic measurement on the structure of *Fraxinus mandshurica* in shade environment and sun environment

参考文献

[1] 国庆喜,王天明. 丰林自然保护区景观生态评价:量化与解释[J]. 应用生态学报,2005,16(5):825 - 832.

[2] 陆爱君,曾凡顺,冯健,等. 我国水曲柳育苗技术研究进展[J]. 辽宁林业科技,2015(3):43 - 45,76.

[3] 辛丽红,郑玉石. 水曲柳的组织培养[J]. 吉林农业科技学院学报,2006,15(3):1 - 4,8.

[4] KOSTOVA I,IOSSIFOVA T. Chemical components of *Fraxinus* species [J]. Fitoterapia,2007,78(2):85 - 106.

[5] 陈玉娟,张宏桂,孙彤彤,等. 水曲柳皮总香豆素提取工艺研究[J]. 时珍国医国药,2008,19(1):3 - 4.

(下转第 8 页)

LD₅₀相近。对 2 种方法测得的 LD₅₀进行秩和检验,差异无统计学意义($P>0.05$)。

表 1 霍恩氏法和序贯法测定 6 种农药急性经口 LD₅₀ 的比较
Table 1 The LD₅₀ of pesticides detected by Dixon-Mood and Horn's

样品编号 Sample No.	样品名称 Sample name	霍恩氏法 Horn's			序贯法 Dixon-Mood		
		LD ₅₀	95% 可信区间 95% confidence interval	毒性分级 Toxicity grading	LD ₅₀	95% 可信区间 95% confidence interval	毒性分级 Toxicity grading
A	30% 灭蝇胺悬浮剂	>5 000.0		微毒	>5 000.0		微毒
B	80% 噻霉胺水分散颗粒	>5 000.0		微毒	>5 000.0		微毒
C	45% 咪鲜胺微乳剂	3 160.0		低毒	2 958.0	1 750 ~ 5 000	低毒
D	5% 阿维·噻螨酮微乳剂	2 150.0	1 380 ~ 3 360	低毒	2 505.0	1 750 ~ 5 000	低毒
E	10% 高效氯氟氰菊酯水乳剂	68.0		中毒	55.0	20 ~ 79	中毒
F	20% 阿维·毒死蜱微乳剂	147.0	78 ~ 275	中毒	310.2	175 ~ 550	中毒

2.2 霍恩氏法和序贯法测定 6 种农药使用动物数 由表 2 可知,霍恩氏法测定 6 种农药共使用了 72 只动物(雌性),序贯法则使用了 34 只动物,相比之下节约了 38 只动物(减少了 52.3%),对 2 种方法所用动物数进行秩和检验,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 霍恩氏法和序贯法使用单性别动物(雌性)数比较
Table 2 Comparison of female animals used by Dixon-Mood and Horn's

样品编号 Sample No.	霍恩氏法 Horn's	序贯法 Dixon-Mood	序贯法节约 The saving number of Dixon-Mood
A	4	3	1
B	4	3	1
C	16	6	10
D	16	7	9
E	16	9	7
F	16	6	10
合计 Total	72	34	38

3 结论与讨论

霍恩氏法是目前国内应用广泛的急性毒性试验方法之一,也是我国现行《农药登记毒理学试验》(GB 15670—1950)规定使用的急性经口 LD₅₀测定方法。霍恩氏法能得到较精确的 LD₅₀,方法简单易行,故应用至今。序贯法于 1987 年被美国测试与材料协会(ASTM)采用^[6]。OECD 也将序贯法作为传统急性毒性试验方法的替代方法,在 2001 年正式采纳^[7]。我国国家食品药品监督管理局颁布的化学药物急性毒性试验技术指导原则也推荐使用该方法^[8]。

研究表明,雌性动物对化学物质的敏感性一般大于或等于雄性动物,所以序贯法推荐使用单性别的雌性动物^[9-10]。

该研究表明,霍恩氏法和序贯法测定的 6 种不同毒性级别的农药 LD₅₀数据接近,毒性分级均一致,提示序贯法试验评价农药急性毒性有普遍适用性和准确度。该研究中,霍恩氏法(单性别试验)共使用 72 只动物,而序贯法共使用 34 只动物,相比之下节约了大量动物,也节省了人力、物力,这是序贯法的最大优点。为便于序贯法试验数据的分析,美国 EPA 开发了计算机软件 AOT 425 程序,研究者只需将每次的给药剂量及动物情况输入程序,程序就会自动给出试验的终点剂量,并计算出 LD₅₀及其可信区间,避免了纷繁复杂的计算过程,实用性较强,较霍恩氏法更优越。序贯法能应用最少的动物评估受试物的急性经口毒性,是传统急性毒性试验的一种优良替代方法。

参考文献

[1] 连勇,徐培瑜,孙强.上-下法替代实验与 Horn's 法测定 LD₅₀的试验研究[J].现代预防医学,2008,35(18):3591-3593.
[2] OECD. Acute oral toxicity-fixed dose procedure. OECD guidelines for the testing of chemicals (NO. 425)[S]. [s.l.]:OECD,2001.
[3] OECD. Acute oral toxicity-up-and-down procedure. OECD guidelines for the testing of chemicals,425[S]. [s.l.]:OECD,2001:1-26.
[4] 肖经纬,崔涛,孟会林,等.3 种急性经口毒性试验方法的比较[J].毒理学杂志,2007,21(2):135-136.
[5] 国家技术监督局.农药登记毒理学试验方法:GB 15670—1995[S].北京:中国标准出版社,1996.
[6] OECD. OECD guideline for the testing of chemieals. Test guideline 425, acute oral toxicity-up-and-down procedure[S]. [s.l.]:OECD,2008.
[7] ASTM. Standard test method for estimating acute oral toxicity in rats[S]. Philadelphia Pa, USA: American Society for Testing and Materials, 1987: 1163-1187.
[8] 李佳,金品,黄芝瑛.上下法在急性毒性试验中的应用进展[J].中国比较医学杂志,2008,18(6):70-72.
[9] 林心君,许茜,刘赞,等.石斛合剂序贯法治疗糖尿病大鼠的基因和蛋白表达谱之糖代谢研究[J].中华中医药学刊,2014,32(12):2857-2860.
[10] 张林媛,孙金秀.上下增减剂量法与 Horn's 测定 LD₅₀研究[J].卫生毒理学杂志,2003,17(4):234-236.

(上接第 3 页)

[6] 陈玉娟,张宏桂,王会堂,等.水曲柳镇痛抗炎活性研究[J].时珍国医国药,2008,19(4):780-781.
[7] 王淑艳.论东北水曲柳的育苗技术[J].生物技术世界,2015(10):45.
[8] 林士杰,张忠辉,谢朋,等.中国水曲柳基因资源的保护与利用[J].中国农学通报,2009,25(24):158-162.
[9] 王广发,庄发明,赵俊昌.长白山林区水曲柳人工更新方式的研究[J].吉林林业科技,2006,35(3):13-18.
[10] 陈晓芳,凌宪法,王钦刚,等.水曲柳人工林生长特性研究[J].吉林林业科技,2006,35(5):1-6.
[11] 谷安根,陆静梅,王立军.维管植物演化形态学[M].长春:吉林科学技术出版社,1993.

[12] 王丽芳,于秋雪,朱俊义,等.不同生态环境蒙古栎的解剖结构差异分析[J].农业与技术,2015,35(3):64-65.
[13] 王丽芳,吴东梅,陆静梅.阴生与阳生植物形态结构差异分析[J].吉林农业,2014(12):18.
[14] 叶龙华,黄香兰,薛立.干旱对树木叶片性状及抗旱生理的影响[J].世界林业研究,2014,27(1):29-34.
[15] 常英俏,徐文远,穆立蕾,等.干旱胁迫对 3 种观赏灌木叶片解剖结构的影响及抗旱性分析[J].东北林业大学学报,2012,40(3):36-40.
[16] 吴建慧,崔艳桃,赵倩竹,等.干旱胁迫下委陵菜和翻白委陵菜叶片结构和生理指标的变化[J].草业科学,2013,30(9):1369-1373.