

二倍体与四倍体绿玉树乳汁管分布特征的比较

李政, 李凌*

(西南大学园艺园林学院, 重庆 400716)

摘要: 采用石蜡切片法、离析法以及徒手切片 3 种方法研究了绿玉树 (*Euphorbia tirucalli* L.) 乳汁管的分布, 并对二倍体和四倍体植株茎的乳汁管分布和数量进行了比较研究。结果表明, 绿玉树乳汁管为无节型; 初级乳汁管主要分布在木质部与韧皮部之间, 在 2 a 生茎的髓部也有分布; 次级乳汁管以多级分支的形式不规则地散布在韧皮部中; 末级乳汁管分布在皮层 (或周皮) 下部。随着茎成熟度增加, 初级乳汁管数量和直径随之增加, 直径增加到一定时便不再增粗, 而以增加数量的方式来缓解液压。与二倍体相比, 相同成熟度的四倍体绿玉树乳汁管的数量和直径都显著减少, 其中嫩茎的初级乳汁管数量减少了 5.5 条, 直径减少了 8.4 μm ; 1 a 生枝条初级乳汁管数量减少了 10.7 条, 直径减少了 9.6 μm 。

关键词: 绿玉树; 乳汁管; 二倍体; 四倍体

中图分类号: Q944.68

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)04-0333-05

Comparison of the Distribution of Laticifers in Diploid and Tetraploid of *Euphorbia tirucalli* L.

LI Zheng, LI Ling*

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400716, China)

Abstract: Laticifer distribution and number were studied in diploid and tetraploid *Euphorbia tirucalli* L.. The laticifers are non-articulated. Primary laticifers are distributed mainly between the xylem and phloem and in the pith of 2-year-old stems as well. Secondary laticifers are scattered irregularly in the phloem, multi-branched. Terminal laticifers are present beneath the cortex (or periderm). Primary laticifers increase in number and diameter with stem growth. Then the diameter keeps a certain level and primary laticifers continuously increase in number to relief the sap pressure. Compared with diploid, the number of the primary laticifers decreased by 5.5 and 10.7 in newborn and 1-year-old stems of the tetraploid, respectively, and the diameter decreased by 8.4 and 9.6 μm , respectively.

Key words: *Euphorbia tirucalli* L.; Laticifer; Diploid; Tetraploid

绿玉树 (*Euphorbia tirucalli* L.) 又名橡胶大戟、绿珊瑚、白乳木、光棍树, 为大戟科大戟属植物, 富含乳汁。前人研究发现绿玉树乳汁中含有丰富的烯、萜、甾醇等物质, 通过加工可以替代石油, 因此, 绿玉树被认为是一种有应用前景的能源植物^[1-3]。我们在重庆引种绿玉树 3 a, 发现其对低温敏感, 为此

开展了绿玉树同源四倍体的诱变工作并获得成功。鉴于前人研究发现橡胶同源四倍体产胶量似有下降趋势^[4], 因此, 对同源四倍体绿玉树的乳汁产量变化趋势进行研究显得十分必要。乳汁管的分布和数量是衡量乳汁产量的重要指标之一, 且关于绿玉树乳汁管的分布的研究还未见报道。因此, 本文采用

收稿日期: 2006-11-01 接受日期: 2007-02-05

基金项目: 林业部重点推广项目 (林技发 200416-2) 资助

* 通讯作者 Corresponding author

石蜡切片法、离析法以及徒手切片对二倍体和四倍体的绿玉树进行比较解剖学研究,以观察绿玉树乳汁管的分布特征,从而为进一步开发利用绿玉树资源提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验材料

材料取自西南大学苗圃栽培的二倍体绿玉树以及经过人工诱变获得的四倍体绿玉树。按成熟度不同将材料分为 2 a 生枝条(已木质化)、1 a 生未木质化枝条以及正在生长的嫩枝(距顶端 0.5–3 cm 处)。由于四倍体植株栽培时间短,故只对 1 a 生未木质化枝条以及正在生长的嫩枝进行研究。

1.2 实验方法

石蜡切片法 按照史自强等^[9]关于含橡胶组织的制片方法处理材料,即局部加热取材、固定,碘-溴变性试剂处理,采用石蜡切片法,用手动旋转切片机切片,切片厚 10 μm ,酒精系列脱水,二甲苯透明,番红-固绿对染,封片后在 Leica DM1000 光学显微镜下观察并照相。

离析法 将材料截成 0.5–1 cm 小段,在 60°C 6% 氢氧化钠溶液中解离 48 h,蒸馏水冲洗 3 次后滴 1–2 滴碘-碘化钾染液,1–2 min 后滴 2–3 滴 70% 硫酸,用水冲洗多余染液并在 Leica DM1000 光学显微镜下观察并照相。

徒手切片结合透明染色 采用徒手切片法对材料进行横切和纵切,再将切片以 1:30 的体积比置于 6% 的氢氧化钠溶液中,于 60°C 恒温箱中处理 48 h。将材料取出用单蒸水冲洗 3 次,挑取切片到载玻片上,经染色后(染色方法同离析实验)在 Leica DM1000 光学显微镜下观察并照相。

1.3 数据统计

在目镜下测量乳汁管直径,并对横切面材料的乳汁管进行记数。每个数据为 30 个测量值的平均值。比较二倍体绿玉树与四倍体绿玉树的差异。

2 结果和分析

2.1 石蜡切片法的观察结果

初级乳汁管呈环状分布在木质部外围,其周围

被数个小细胞紧密围绕。在切片中(尤其是在四倍体切片中),少量管状结构严重变形,与周围薄壁细胞差异不明显;部分类似的管状结构周围小细胞排列不规则;故无法确定是否为初级乳汁管,横切面上初级乳汁管的数量也就无法确定。乳汁管中无残存的乳汁(图版 I:1)。未观察到细小的次级和末级乳汁管。

2.2 离析法的观察结果

两种材料不同成熟度的枝条中乳汁管中乳汁被染成褐色,且各级乳汁管均为无节型;初级乳汁管有分叉现象;次级乳汁管多级分枝;末级乳汁管分枝呈帚状(图版 I:2,3,4)。在相同的放大倍数下($\times 40$),从初级乳汁管到末级乳汁管,乳汁管的直径逐渐减小,分支逐渐增多。

2.3 徒手切片结合透明染色的观察结果

在二倍体与四倍体不同成熟度的枝条中均有乳汁管的分布,且主要集中在韧皮部。乳汁管中残存的乳汁被染成褐色,可据此判断乳汁管的分布和数量。其分布的共同特点是:初级乳汁管主要沿茎长轴方向分布在木质部与韧皮部之间(图版 I:5,6),在 2 a 生木质化的枝条髓部也有少量分布(图版 I:7)。纵切面上观察到初级乳汁管自上向下有分枝和沟通现象(图版 I:8,9);次级乳汁管有多级分支,分布在韧皮部薄壁细胞之间,且分布无明显规律(图版 I:10)。末级乳汁管分布在皮层(或周皮)下部(图版 I:11),和次级乳汁管相比更为微小。和二倍体绿玉树相比,四倍体绿玉树韧皮部薄壁细胞普遍增大且排列更为混乱,维管柱也发生严重的扭曲,初级乳汁管的排列也随之发生变化(图版 I:6,12)。从染色深浅来看,四倍体绿玉树乳汁颜色明显较二倍体的浅。

2.4 数据统计结果

经过测量发现:随着枝条成熟度提高,两种绿玉树材料的初级乳汁管数量和直径均有增加的趋势(表 1)。其中二倍体绿玉树 1 a 生枝条的乳汁管直径较嫩茎中的增加 15.7%,数量增加 82.9%;和 1 a 生枝条相比较,2 a 生枝条中乳汁管直径的增加幅度减小(3.2%),而数量增加幅度仍保持较高水平(71.9%)。

表1 初级乳汁管直径和数量比较

Table 1 Comparison of the number and diameter of primary laticifers

	二倍体 Diploid		四倍体 Tetraploid	
	直径 (μm) Diameter	数量 Number	直径 (μm) Diameter	数量 Number
嫩茎枝条 Newborn stem	32.4	17.5	24	12
1 a生枝条 One-year-old stem	37.5	32	27.9	21.3
2 a生枝条 Two-year-old stem	38.7	55	—	—

3 讨论

3.1 关于石蜡切片法

有研究表明大戟属植物的乳汁中含有橡胶^[6]。故采用史自强等^[9]的方法对绿玉树茎段进行变性处理并制片,但是未能使乳汁保留在乳汁管中。我们对在重庆栽培了2 a的绿玉树乳汁进行了GC-MS分析,发现绿玉树乳汁中橡胶含量极微(另文报道)。由于在胡正海等^[9]的方法中,变性试剂只作用于橡胶^[9],因此采用石蜡切片法不能使绿玉树的乳汁固定在乳汁管中。

3.2 徒手切片结合透明染色中的褐色物质是否为乳汁

在乳汁离体染色中发现,采用氢氧化钠预处理,碘-碘化钾-硫酸染色的方法可以使乳汁中部分成分凝聚成褐色胶状物。同时还观察到被染色的哑铃状淀粉粒(图版 I:13)。而 Cremers、Biesboer 和 Mahlberg 也发现绿玉树乳汁中含淀粉粒,呈哑铃状^[7-8]。与石蜡切片法制作的切片相比较,在徒手切片结合透明染色的切片中,类似的褐色物质只存在于乳汁管的位置,并能够观察到淀粉粒。即说明采用此方法能够使残存乳汁保留在乳汁管中并染色,从而可以将乳汁管明显地与其它组织区别开。

3.3 绿玉树茎乳汁管分布的特点

Scharffstein^[9]和 Rosowski^[10]通过对大戟属(*Euphorbia*)植物进行研究,认为整个乳汁管系统是由少数已经在胚中存在的原始细胞产生,在植物各种器官中,乳汁管都可以存在,但也可能只限于韧皮部。有报道^[11]指出:在萝藦科(*Asclepiadaceae*)植物皮层早期形成的乳汁细胞于叶隙处辐射分枝并穿入髓,形成层活动一个时期后,这些乳汁细胞的分枝就被次生韧皮部和木质部所包围。在桑科

Atrocarpus 的一些种中发现无节乳汁管在木材中沿径向和轴向分枝^[12]。有报道^[13]认为夹竹桃属(*Nerium*)植物中的分枝状乳汁管的生长和延长在植物一生中是连续的,其末端可穿入到新芽、正发育的叶和根的生长区域。Mahlberg^[14]认为分枝状乳汁细胞的生长是通过插入生长和协调生长相结合而进行的。关于末级乳汁管的分布,Blaser^[11]曾指出,大戟科的某些种的叶子中,乳汁细胞可以达到表皮,在此与角质层接触。

我们的观察结果显示,绿玉树的乳汁管为无节乳汁管型,这与“分枝的无节乳汁管存在于大戟科(*Euphorbiaceae*)大戟属(*Euphorbia*)”的说法相符。同时还观察到,末级乳汁管的细小分枝主要分布在韧皮部以及皮层(或周皮)的细胞之间,在接近表皮处也有分布。末级乳汁管经过多级汇集后逐渐过渡到各次级乳汁管并最后汇集到初级乳汁管。在成熟度不同的枝条中,初级乳汁管的数量以及直径有明显差异。即随着成熟度增加,初级乳汁管的数量和直径均增加,但是当直径增加到一定程度时(约38.7 μm 左右),乳汁管的直径增加不显著。因此认为:随着绿玉树枝条不断成熟木质化,初级乳汁管直径随之增加,当达到一定限度时不再增加,

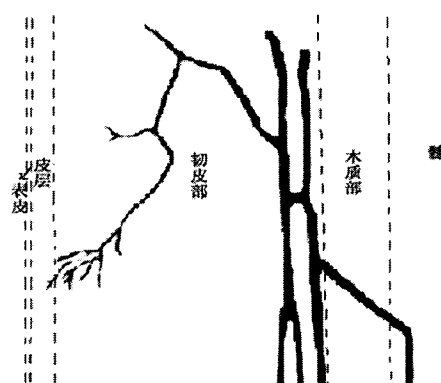


图1 乳汁管分布示意图

Fig. 1 The illustration of laticifer distribution

而是以不断分枝、沟通的方式增加初级乳汁管的数量以减轻其负荷的乳汁压力;在次生木质部和次生韧皮部生长过程中,部分初级乳汁管会逐渐嵌入导管和筛管之间,少部分初级乳汁管会插入到髓中(图 1)。

3.4 不同倍性绿玉树乳汁管数量和直径的差异

与相同成熟度的二倍体植株相比,四倍体绿玉树初级乳汁管的数量和直径都显著减少。其中嫩茎的初级乳汁管数量平均减少了 5.5 条,直径平均减少为 8.4 μm ; 1 a 生枝条初级乳汁管数量平均减少了 10.7 条,平均直径减少了 9.6 μm 。这可能是四倍体植株中薄壁细胞体积的增大以及维管柱扭曲而对乳汁管产生压迫造成的。另外,四倍体绿玉树乳汁管中乳汁染色较二倍体浅,说明绿玉树乳汁的成分随着染色体倍数的增加可能发生了变化,但是具体的变化有待研究。

由于乳汁的产量和质量受乳汁管的数量、排乳速率、有效成分含量以及堵塞指数等多方面因素影响,所以四倍体绿玉树的经济性状是否下降还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Calvin M. Fuel oils from euphorbs and other plants [J]. Bot J Linn Soc, 1987, 94(1/2):97-110.
- [2] Calvin M. Fuel oils from higher plants [C]// Plant Products and the New Technology. Oxford, UK: Oxford University Press, 1985: 147-160.
- [3] Calvin M. Renewable Fuels for the Future [M]. Taipei, Taiwan: Food and Fertilizer Technology Center for the Asian and Pacific Region, 1985:1-17.
- [4] Huang Y J(黄有军), Qiu D J(邱德劲), Wang Z K(王哲魁), et al. Studies on morphological characters of somatic polyploids of *Hevea brasiliensis* [J]. Chin J Trop Crops(热带作物学报), 2003 (1):8-14.(in Chinese)
- [5] Shi Z Q(史自强), Hu Z H(胡正海). Paraffin section of rubber contained tissue of plant [J]. Acta Bot Sin(植物学报), 1965, 13(2): 179-183.(in Chinese)
- [6] Uzabakiliho B, Largeau C, Casadevall E. Latex constituents of *Euphorbia candelabrum*, *E. grantii*, *E. tirucalli* and *Synadenium grantii* [J]. Phytochemistry, 1987, 26(11):3041-3045.
- [7] Cremers G. A study of starch grains in the latex of some Malagasy euphorbias [J]. Bull Jardin Bot Natl Belgique, 1983, 53:405-415. (in French)
- [8] Biesboer D, Mahlberg P. Accumulation of non-utilizable starch in laticifers of *Euphorbia heterophylla* and *E. myrsiniters* [J]. Planta, 1987, 143:5-10.
- [9] Scharffstein G. Untersuchungen an ungegliederten Milchrohren [J]. Beih Bot Zbl, 1932, 49(1):197-220.
- [10] Rosowski J R. Laticifer morphology in the mature stem and leaf of *Euphorbia supine* [J]. Bot Gaz, 1968, 129:113-120.
- [11] Blaser H W. Anatomy of *Cryptostegia grandiflora* with special reference to the latex [J]. Amer J Bot, 1945, 32:135-141.
- [12] Topper S M C, Koek-Noorman J. The occurrence of axial latex tubes in the secondary xylem of some species of *Artocarpus* J. R. & G. Forster (Moraceae) [J]. IAWA Bull NS, 1980, 1:113-119.
- [13] Mahlberg P G. Development of the non-articulated laticifers in seeding axis of *Nerium oleander* [J]. Bot Gaz, 1963, 124:224-231.
- [14] Mahlberg P G. Development of the non-articulated laticifer in proliferated embryos of *Euphorbia marginata* Pursh [J]. Phytomorphology, 1959, 9:156-162.

图版说明

图版 I

P: 初级乳汁管 Primary laticifer; S: 次级乳汁管 Secondary laticifer; T: 末级乳汁管 Terminal laticifer; V: 导管 Vessel; F: 纤维 Fiber; G: 淀粉粒 Starch grain.

1. 石蜡切片的二倍体组织; $\times 200$
2. 离析的无节初级乳汁管; $\times 40$
3. 离析的次级乳汁管; $\times 40$
4. 离析的末级乳汁管; $\times 40$
5. 分布在二倍体木质部与韧皮部之间的初级乳汁管; $\times 100$
6. 分布在四倍体木质部与韧皮部之间的初级乳汁管; $\times 100$
7. 多年生木质化枝条髓部的初级乳汁管; $\times 100$
8. 分支的初级乳汁管(▲); $\times 100$
9. 初级乳汁管的沟通现象(▲); $\times 40$
10. 无规律分布在韧皮部中的次级乳汁管; $\times 40$
11. 皮层(或周皮)下部的末级乳汁管; $\times 100$
12. 四倍体排列扭曲的维管束及其初级乳汁管(纵切面); $\times 100$
13. 乳汁的离体染色情况。 $\times 100$

Explanation of plate

Plate I

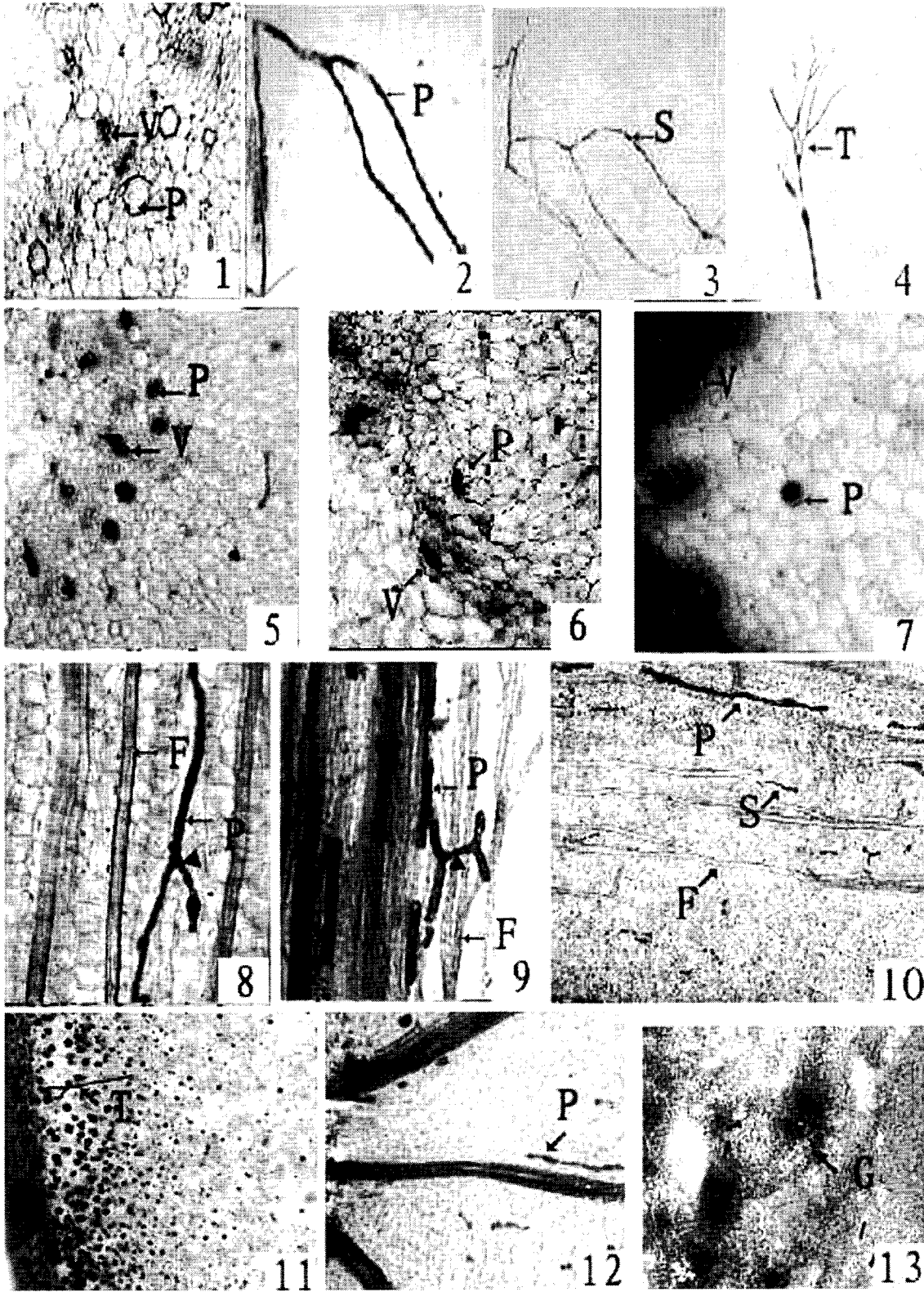
1. Diploid by paraffin section; $\times 200$
2. Non-articulated primary laticifers by maceration; $\times 40$
3. Secondary laticifers by maceration; $\times 40$
4. Terminal laticifers by maceration; $\times 40$
5. Primary laticifers distributed between the xylem and phloem in diploid; $\times 100$
6. Primary laticifers distributed between the xylem and phloem in tetraploid; $\times 100$
7. Primary laticifers distributed in the pith of perennial stems; $\times 100$
8. Branched primary laticifers (▲); $\times 100$
9. Connected primary laticifers (▲); $\times 40$
10. Secondary laticifers scattered irregularly in the phloem; $\times 40$
11. Terminal laticifers distributed beneath the cortex (or periderm);

×100

(longitudinal section); ×100

12. Distorted vascular bundle and primary laticifers in tetraploid

13. Latex stained *in vitro*. ×100



李政等：图版 I

LI Zheng et al.: Plate I