

矮化大豆突变体茎、叶的解剖学研究

张 达,郝再彬,王豫颖,苍 晶

(东北农业大学生命科学学院,黑龙江 哈尔滨 150030)

摘 要:用 NaN_3 处理大豆品种东农 42 获得了矮化突变体东泽 11 号,以东农 42 为野生型和该突变体为材料,采用石蜡切片法对野生型大豆东农 42 及其矮化突变体进行了解剖结构研究。结果表明:突变体茎薄壁细胞的横向长度(宽)小于野生型,薄壁细胞的纵向长度(长)大于野生型,单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型,但差异不显著。叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、海绵组织占叶片厚度突变体均小于野生型,栅栏组织占叶片厚度、栅/海比突变体大于野生型,且随着矮化程度的增加而增大。突变体的叶主脉维管束个数、导管个数、导管直径、输水面积、韧皮部面积均小于野生型。栅/海可作为矮化指标的筛选。

关键词:大豆;矮化;解剖;茎;叶

中图分类号:S565.1

文献标识码:A

文章编号:1000-9841(2008)04-0599-05

Anatomy Structures of Leaves and Stems in the Dwarfing Mutant Soybean

ZHANG Da,HAO Zai-bin,WANG Yu-ying,CANG Jing

(Life Science College of Northeast Agricultural University,Harbin 150030,Heilongjiang,China)

Abstract: Dwarf, a excellent agronomic index, is thought to play important roles in improving the growing density and enhancing the efficiency of photosynthesis. The soybean dwarf mutant Dongze 11 was obtained from Dongnong 42 treated with NaN_3 . Anatomic structures of leaves and stem were observed by paraffin-slice-up in mutant soybean and wild type. The results indicated that shorter transverse length of parenchyma cell (width), longer vertical length and smaller parenchyma cell number per unit area (no significant difference) were detected in dwarf mutant. Morphological measurements revealed that blade-thickness, palisade tissue-thickness, spongy-thickness and proportion of spongy-thickness and palisade tissue-thickness were all smaller in the dwarf mutant plants, and those characters was notably different in shorter dwarf plants. The numbers of main vascular bundle, vessel number, vessel diameter, area of transporting water and area of phloem in main vein of leaves were lower in the dwarf mutant soybean. In the present study, the dwarfing seedlings were screened, based on tissue proportion of spongy thickness and palisade thickness.

Key words: Soybean; Dwarf; Anatomic Structure; Stem; Leaf

矮化是一种重要的农艺性状,因其可改善种植密度、提高产量引起广泛重视。矮化作物的茎秆相对较短小粗壮,抵抗自然灾害和倒伏的能力强。且由于茎秆短小,矮化作物大幅度降低了茎秆的同化作用,使更多的光合产物可以提供给种子发育,可提高收获指数^[1]。早在 1939 年 Wiggams 提出了“方型”栽培理论,1967 年美国学者 Cooper 博士开始了“大豆的最高产量”的研究,1973 年发表了他研究的以矮化品种窄行密植为核心的大豆半矮化密植栽培模式(Solid-Seeded-Simidwarf System),即“SSS”系统,提出通过种植生育期适宜、增产潜力高、抗病抗

倒伏的半矮化或矮化大豆品种,增加密度、缩小行距、增大株距的窄行密植栽培方法。该技术的关键是 40~60 cm 高的矮化品种的应用^[2]。

以东农 42 及其矮化突变体^[3]为材料,初步探讨了茎、叶的解剖结构与矮化性的关系,揭示造成矮化的解剖学原因,为大豆矮化机理的研究、实现大豆的矮化密植提高产量提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

大豆品种东农 42 及其矮化突变体东泽 11 号。

收稿日期:2007-11-07

基金项目:国家高技术研究发展计划“863”计划资助项目(2006AA100104);黑龙江省自然科学基金资助项目(AC2005-32)。

作者简介:张达(1977-),女,讲师,博士,主要从事植物生理生化研究。E-mail:zhangda77_@163.com。

通讯作者:郝再彬,教授,博士。E-mail:haozaibin610@126.com。

1.2 测定项目和方法

取野生型和突变体种子于 25℃ 恒温箱催芽后,播种在土中,置于光照培养箱 25℃、300 μmol·m⁻²·s⁻¹ 光强培养,光暗为 12 h/12 h,浇水。于出苗后 20、30 d 取样。茎切取 3~5 mm 切段,叶子以叶脉中部为中心,切取 0.5 cm² 的叶片组织,分割后立即用 FAA 固定,以常规的石蜡切片法制片,番红固绿二重滴染,切片厚度为 10~12 μm,中性胶封固,最后利用 OLYMPUS BH-2 型显微镜观察,并显微摄影,所得数据进行统计分析。

叶片组织结构紧密度 = 栅栏组织厚/叶厚 × 100%

叶片组织结构疏松度 = 海绵组织厚/叶厚 × 100%

2 结果分析

2.1 茎的解剖学观察

大豆茎的初生结构包括表皮、皮层、维管柱。表皮细胞较小,排列紧密,无明显细胞间隙。皮层细胞较大,排列疏松,有明显细胞间隙。维管柱包括木质部和韧皮部,大豆为典型的外韧维管束,木质部在里,韧皮部在外。木质部由导管、管胞、木薄壁细胞、木纤维组成,导管是水分和无机盐运输的主要通道。

2.1.1 茎的横切 表 1 和图 1A、B 是突变体与野生型茎的横切结构。从中可见,茎的横切面呈椭圆形,横切面大小表现为突变体小于野生型,且出苗后 20 d 时两者达到 1% 水平差异极显著。维管束个数出苗后 20 d 时两材料相等,出苗后 30 d 时突变体略

表 1 突变体与野生型茎横切的解剖结构

Table 1 Comparison of cross section of stem in anatomy between wild type and mutant			
	项目 Item	野生型 Wild type	突变体 Mutant
出苗后 20 d 20 days after emergence	长 L/μm	1482.912 ± 86.919	1760.958 ± 99.671 (119) **
	宽 W/μm	2834.118 ± 31.801	2019.492 ± 20.406 (71) **
	长 × 宽 L × W/ μm	1482.912 × 2834.118	1760.958 × 2019.492 (85)
	维管束数目 NVB	16 ± 1.225	16.2 ± 1.304 (101) ^{ns}
出苗后 30 d 30 days after emergence	长 L/μm	2204.856 ± 98.470	1719.495 ± 25.580 (80) **
	宽 W/μm	1356.084 ± 78.276	1349.580 ± 98.370 (100) ^{ns}
	长 × 宽 L × W/ μm	2204.856 × 1356.084	1719.495 × 1349.580 (78)
	维管束数目 NVB	15.2 ± 0.837	16 ± 1.095 (105) ^{ns}

^{ns}、^{**}: 分别表示突变体和野生型差异不显著,在 1% 水平差异极显著;括号中的数值为突变体占野生型的百分比,野生型为 100%。
^{ns}、^{**}: Means no significant, significant different at 1% level, respectively; the percent of the mutant and wild phenotype were presented in bracket, wild phenotype is 100%. L: length; W: width; NVB: number of vascular bundle.

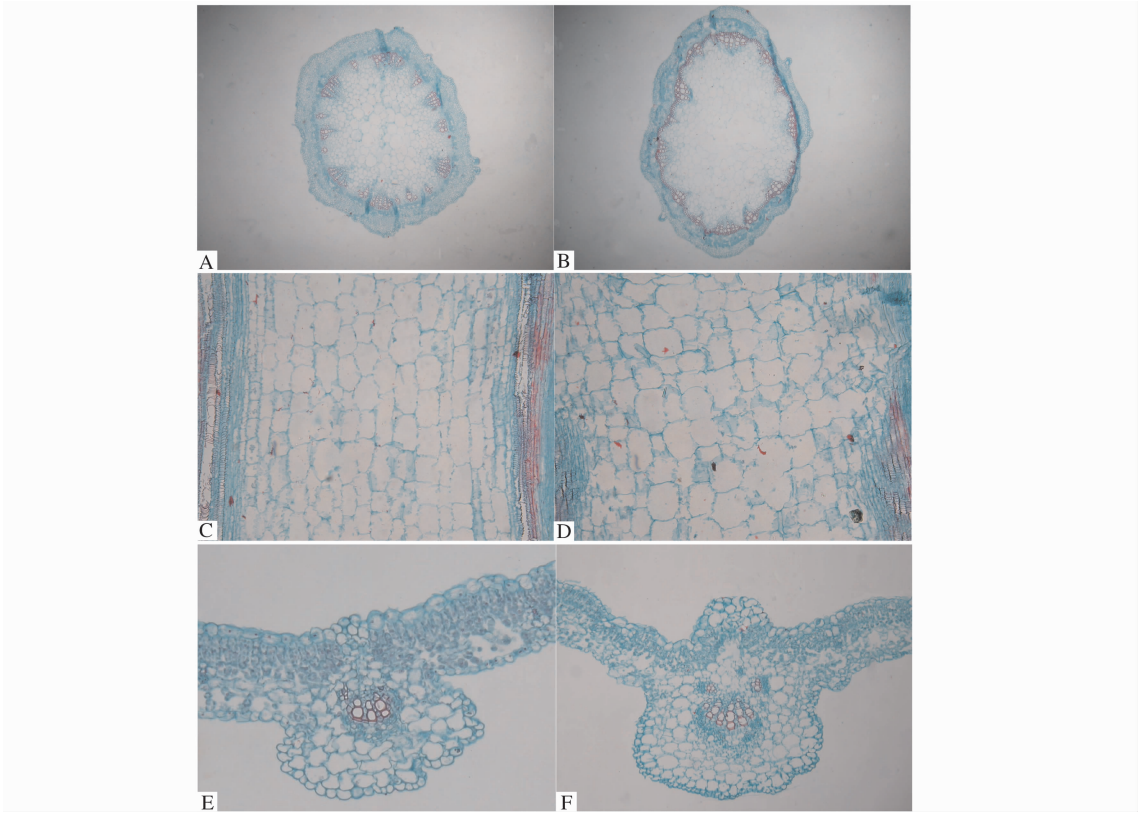
大于野生型,但差异不显著。突变体与野生型的横截面差异显示突变体周长小于野生型,较野生型细弱,这可能与突变体横向分裂有关。但二者的维管束数目差别不大,可见突变体虽然矮小,横截面小,但输导能力相对较大。

2.1.2 茎的纵切 表 2 和图 1C、D 是突变体与野生型出苗后 30 d 时茎的纵切结构。从中可见,在直径上突变体略大于野生型,薄壁细胞的横向长度(宽)突变体小于野生型,薄壁细胞的纵向长度(长)突变体大于野生型,单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型。但 *t* 检验直径、薄壁细胞的横向长度(宽)、薄壁细胞的纵向长度(长)、薄壁细胞密度两材料差异均不显著。突变体直径略大于野生型,但突变体薄壁细胞的横向长度(宽)小于野生型,这可能与突变体横向分裂层数增加有关。突变体薄壁细胞的纵向长度(长)大于野生型,但单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型,所以分析茎的矮化可能

表 2 突变体与野生型茎的纵切结构

Table 2 Comparison of vertical section of stem in anatomy between wild phenotype and mutant		
	野生型 Wild type	突变体 Mutant
直径 DIA/μm	1573.155 ± 58.060	1601.610 ± 14.082 (102) ^{ns}
薄壁细胞横向长度(宽) WPC/μm	82.430 ± 13.331	77.570 ± 11.179 (94) ^{ns}
薄壁细胞纵向长度(长) LPC/μm	107.270 ± 10.310	110.690 ± 9.440 (103) ^{ns}
薄壁细胞密度 DPC/235225 μm ²	31.750 ± 3.594	28.333 ± 7.095 (89) ^{ns}

DIA: diameter; WPC: width of parenchyma cell; LPC: length of parenchyma cell; DPC: density of parenchyma cell.



A. 突变体茎横切(40×);B. 野生型茎横切(40×);C. 突变体茎纵切(100×);D. 野生型茎纵切(100×);E. 突变体叶横切主脉结构(100×);F. 野生型叶横切主脉结构(100×)
A. Cross section of stem in mutant(40×);B. Cross section of stem in wild type(40×);C. Vertical section of stem in mutant(100×);D. Vertical section of stem in wild type(100×);E. Cross section of main vein of blades in mutant(100×);F. Cross section of main vein of blades in wild type(100×)

图 1 大豆出苗后 30 d 茎、叶解剖结构

Fig. 1 Anatomy structures of leaves and stems in the soybean during 30 days after emergence

与细胞数目减少有关。出苗后 30 d 时突变体茎的解剖结构与野生型差异不显著,可能与此时期矮化程度不明显有关。推测随着矮化程度的加剧,茎解剖结构的差异更为明显。

2.2 叶的解剖学观察

显微镜下观察大豆叶片横切面均由表皮、叶肉和叶脉三部分组成。表皮细胞近于长方形或椭圆形,排列成一层,表皮细胞排列紧密,无明显细胞间隙。叶肉组织由栅栏组织和海绵组织组成,栅栏组织与上表皮相接,由 2 层长柱型薄壁细胞组成,其细胞长轴与上表皮垂直,形状为棒状,且排列紧密,呈栅栏状。海绵组织位于栅栏组织和下表皮之间,细胞大小、形状不规则,或类似于栅栏组织细胞,或在与叶表面平行的方向延长,或形成短臂状突出而互相连接。栅栏组织的细胞间隙较小,细胞排列较有规则,而海绵组织的细胞间隙很大,细胞极其分散。

2.2.1 叶片主脉维管束的特性 维管束中木质部

导管是运输水分和无机盐的主要通道,韧皮部筛管主要运输有机物。表 3 和图 1E、F 所示突变体和野生型叶片主脉维管束特性。从表可见,叶主脉维管束导管直径、输水面积突变体均小于野生型,出苗后 20 d 时导管数目、维管束个数两材料相差不大,韧皮部面积突变体略大于野生型,*t* 检验表明:导管直径两材料差异不显著;出苗后 30 d 时叶主脉维管束个数、导管个数、韧皮部面积突变体均小于野生型,*t* 检验表明:导管直径 1% 水平差异极显著。推测随着矮化程度的加剧,突变体的输导能力低于野生型,突变体光合积累及运输均小于野生型。不同生育期相比,突变体叶主脉的导管数目、孔径大小、输水面积、韧皮部面积均变小,野生型除韧皮部面积变小外,导管数目、孔径大小、输水面积均随生育期的延长而变大。这表明突变体随着矮化程度的加剧,输导能力减小;但野生型随着生育期的延长,随着叶、茎发育的成熟,输导能力逐渐增强。

表 3 突变体与野生型叶片主脉维管束的特征

Table 3 Comparison of vascular bundle characteristics in main vein of leaves between wild type and mutant

	项目 Item	野生型 Wild type	突变体 Mutant
出苗后 20 d 20 days after emergence	维管束数目 NVB	1,2	1
	木质部导管数目 NXV	19.8	20.25(102)
	木质部导管直径 DXV/ μm	13.850 \pm 0.705	13.275 \pm 1.072(96) ^{ns}
	输水面积 ATW/ μm^2	2981.574	2801.205(94)
	韧皮部截面积 TAP/ μm^2	25125.280	27302.350(109)
出苗后 30 d 30 days after emergence	维管束数目 NVB	3	1
	木质部导管数目 NXV	28	12.4(44)
	木质部导管直径 DXV/ μm	15.703 \pm 0.936	11.350 \pm 0.285(72) ^{**}
	输水面积 ATW/ μm^2	5419.981	1254.009(23)
	韧皮部截面积 TAP/ μm^2	21346.79	6231.414(29)

NVB; number of vascular bundle; NXV; number of xylem vessel; DXV; density of xylem vessel; ATW; area of transporting water; TAP; transverse area of phloem.

2.2.2 叶片的解剖学观察 从表可见,叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片组织结构疏松度均表现出突变体小于野生型,栅/海比、叶片组织结构紧密度突变体大于野生型。上、下表皮厚度出苗后 20 d 时突变体大于野生型,出苗后 30 d 时突变体小于野生型。*t* 检验表明:出苗后 20 d 时叶片、下表皮、栅栏组织、海绵组织厚度两材料差异不显著,上表皮厚度 1% 水平差异极显著;出苗后 30 d 时上、下表皮厚度两材料差异不显著,其它为 1% 水平差异

极显著。
不同生育期相比较,除突变体海绵组织厚度随生育期延长减小外,突变体与野生型的叶片厚度、上、下表皮厚度、栅栏组织厚度均随生育期的延长而变大;野生型变化显著,突变体除栅栏组织厚度变化显著外,其它变化均不显著。栅/海比随着生育期延长两材料均增大,且随着突变体矮化程度的加深栅/海比变大,这与张玉兰等^[4]对辽宁山楂不同株型叶片解剖结构研究的结果相一致。

表 4 突变体与野生型叶片解剖的特征

Table 4 Comparison of leaves character in anatomy between wild type and mutant

	项目 Item	野生型 Wild type	突变体 Mutant
出苗后 20 d 20 days after emergence	叶厚 TB/ μm	111.965 \pm 7.030	109.760 \pm 8.627(98) ^{ns}
	上表皮厚 TUE/ μm	10.780 \pm 1.265	13.475 \pm 1.291(125) ^{**}
	下表皮厚 TDE/ μm	10.780 \pm 1.713	11.270 \pm 1.713(105) ^{ns}
	栅栏组织厚 TPT/ μm	46.06 \pm 5.267	45.815 \pm 4.329(99) ^{ns}
	栅栏组织厚/叶厚 PTPTL	41.138	41.741(101)
	海绵组织厚 TST/ μm	44.590 \pm 7.286	39.200 \pm 5.889(88) ^{ns}
	海绵组织厚/叶厚 PTSTL	39.825	35.714(90)
	栅/海 PSTPTT	1.033	1.169(113)
出苗后 30 d 30 days after emergence	叶厚 TB/ μm	140.630 \pm 9.677	112.945 \pm 6.973(80) ^{**}
	上表皮厚 TUE/ μm	14.945 \pm 2.933	13.965 \pm 3.277(93) ^{ns}
	下表皮厚 TDE/ μm	12.250 \pm 1.633	11.760 \pm 1.550(96) ^{ns}
	栅栏组织厚 TPT/ μm	64.925 \pm 9.680	54.390 \pm 5.515(84) ^{**}
	栅栏组织厚/叶厚 PTPTL	46.167	48.156(104)
	海绵组织厚 TST/ μm	48.755 \pm 7.786	32.830 \pm 4.649(67) ^{**}
	海绵组织厚/叶厚 PTSTL	34.669	29.067(84)
	栅/海 PSTPTT	1.332	1.657(124)

TB; thickness of blades; TUE; thickness of upside epidermis; TDE; thickness of downside epidermis; TPT; thickness of palisade tissue; TST; thickness of spongy tissue; PTPTL; proportion of thickness between palisade tissue and leave; PTSTL; proportion of thickness between spongy tissue and leave; PSTPTT; proportion of spongy tissue and palisade tissue thickness.

3 讨论

矮化首先表现出茎的伸长生长受到抑制。在生物学性状上,往往与节位的减少、节间缩短有关;究其解剖学基础,与茎细胞的大小变化、数目变化相关。Kamijima 等^[5]通过对多种等位基因矮秆系水稻的研究,表明节间的缩短可能是细胞数目减少的结果。Dilbag 等^[6]研究玉米 *br2* 矮化突变体时发现,矮化与茎薄壁细胞直径变小、长度变短有关。研究发现矮化大豆突变体的直径略大于野生型,突变体薄壁细胞的横向长度(宽)小于野生型,突变体薄壁细胞的纵向长度(长)大于野生型,单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型。但 *t* 检验表现为直径、薄壁细胞的横向长度(宽)、薄壁细胞的纵向长度(长)、薄壁细胞密度两材料间差异均不显著。突变体直径略大于野生型,但突变体薄壁细胞的横向长度(宽)小于野生型,这可能与突变体横向分裂层数增加有关。突变体薄壁细胞的纵向长度(长)大于野生型,但单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型,所以推测茎的矮化可能与细胞数目减少有关。矮化大豆的研究结果与玉米的研究有所不同。可能造成矮化的细胞学机理在单子叶和双子叶植物之间存在较大差异,亦可能与研究大豆的时期为 3~4 周而研究玉米的时期为 6 周有关,因在大豆培养 4 周时虽然出现矮化表型,但农艺性状调查显示随着生育期的延长矮化程度加剧,造成矮化的细胞学基础是否与营养生长后期细胞分裂与分化的变化有关还有待于进一步研究。

研究叶片的解剖结构发现,无论出苗后 20 d 还是 30 d 均表现出叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片组织结构疏松度突变体小于野生型,栅/海比、叶片组织结构紧密度突变体大于野生型。叶片是植物进行光合作用的主要器官,而栅栏组织更是进行光合作用的主要场所,所以多数人认为栅栏组织的厚度与光合能力的强弱有关。不同生育期相比,突变体的栅栏组织厚度均小于野生型,意味着突变体的光合能力小于野生型。栅/海比随着生育期延长两材料均增大,且随着矮化程度的加深,栅/海比变大,这与史宝胜等^[7]对苹果矮化砧木枝条与叶片的解剖结构研究相符。笔者认为栅/海比不仅可作为矮化果树的筛选指标,也同样适用于矮化大豆的形态指标筛选。

4 结论

突变体茎的解剖结构与野生型相比没有明显变化。突变体茎薄壁细胞的横向长度(宽)小于野生型;纵向长度(长)大于野生型,单位面积薄壁细胞数目突变体小于野生型。

突变体的叶主脉维管束个数、导管个数、导管直径、输水面积、韧皮部面积均小于野生型。

叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片组织结构疏松度突变体均小于野生型,叶片组织结构紧密度、栅/海比突变体大于野生型,且随着矮化程度的加深而变大。

栅/海可作为矮化指标的筛选。

参考文献

- [1] 杨青春,苑保军,吕广伦,等.夏大豆密植高产型育种途径探讨[J].大豆通报,1998,2:26-27. (Yang Q C, Yuan B J, Lü G L, et al. High yielding breeding methods in summer soybean associated with high density planting[J]. Soybean Bulletin, 1998, 2: 26-27.)
- [2] 刘忠堂.大豆窄行密植高产栽培技术的研究[J].大豆科学, 2002, 21(2): 117-122. (Liu Z T. Study on technology for high yield of solid-seeded soybean[J]. Soybean Science, 2002, 21(2): 117-122.)
- [3] 郝再彬,吴东岚.矮秆大豆突变体的获得[J].核农学报,2004, 18(3): 204-206. (Hao Z B, Wu D L. Obtaining of soybean dwarf mutant[J]. Acta Agriculturae Nucleatae Sinica, 2004, 18(3): 204-206.)
- [4] 张玉兰,杨焕之.枝叶解剖构造、过氧化物酶活性与山楂属种、株型生长势关系[J].内蒙古农牧学院学报,1999,20(1): 46-51. (Zhang Y L, Yang H Z. The relationship between anatomical structure and enzymes activities of shoots and leaves and growth vigor of hawthorn[J]. Journal of Neimenggu Agricultural and Herd University, 1999, 20(1): 46-51.)
- [5] Kamijima O, Watanabe K. Effects of dwarf genes on the size and cellular characteristics of embryonic organs in near-isogenic lines of rice[J]. Japanese Journal of Breeding, 1985, 35: 243-254.
- [6] Dilbag S M, Steven P B, Mark A C, et al. Loss of an MDR transporter in compact stalks of maize *br2* and sorghum *dw3* mutants[J]. Science, 2003, 302(3): 81-84.
- [7] 史宝胜,徐继忠,马宝琨,等.几种苹果矮化砧木枝条与叶片的解剖结构研究[J].河北林果研究,2000,15(4): 334-338. (Shi B S, Xu J Z, Ma B K, et al. Studies on the anatomic structure of some apple dwarf stocks[J]. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 2000, 15(4): 334-338.)