

性强的马铃薯下表皮制片技术。

1 材料与方法

1.1 试验材料

马铃薯大西洋品种倒四叶的顶小叶叶片。

1.2 试验方法

1.2.1 透明胶带法

塑料透明胶带为普通型胶带, 宽度为 15 mm, 厚度为 0.05 mm。用塑料透明胶带拉开 2~5 cm, 胶面朝上, 平放在实验台面上, 用滤纸迅速吸干叶片的水分。将胶带粘贴在叶片上, 然后用手指对捏叶片, 使叶片的背面紧密粘贴在胶带上, 将胶带撕开, 叶片下表会或多或少的粘贴在胶带上, 若叶片附着物较多或胶带上粘贴的下表皮太少, 可连续重复粘贴。将带叶片下表皮的胶带剪成 3~5 mm × 3~5 mm 的矩形片。在载玻片上滴 2 滴 1% 的 I-KI 染液, 将带叶片表皮的胶带胶面向下方在载玻片上染色 0.5~1 min, 盖上盖玻片, 压平后镜检。

1.2.2 火棉胶印迹法

用毛笔蘸火棉胶少许涂抹在叶片背面, 干燥后用镊子将膜取下, 放在载玻片上, 加 1 滴纯水制片。

1.2.3 撕取下表皮法

用小镊子直接撕取叶片的下表皮制片, 染色方法同透明胶带法。

1.2.4 气孔的观察和测量

在目镜为 12.5×, 物镜为 40× 的显微镜(XSP-13A)下观察气孔, 同时用测微尺测定气孔的纵径和横径。

2 结果与分析

2.1 三种观察方法的比较

从表 1 可以看出, 火棉胶印迹法的取样能力和定位性最好, 基本可以达到全叶面任一部位的取样; 胶带粘取法次之, 取样面积较火棉胶印迹法小, 取样定位性好; 而用镊子撕取下表皮的方法取样能力和定位性最差, 取样面积也很小, 尤其是取样一般所需 8~15 min; 而用火棉胶印迹法, 虽然能一次取得整个叶片的表皮的印记, 但涂胶到胶干制片一般需要 5~10 min, 且胶的浓度和厚度直接影响压片的质量和观察效果。用透明胶带粘取马铃薯叶片下表皮, 一般只需要 0.5~2 min 即可粘取足够的下表皮, 粘贴在胶带上的下表皮可以制成一个或多个压片。

表 1 不同气孔观察方法的综合指标分析

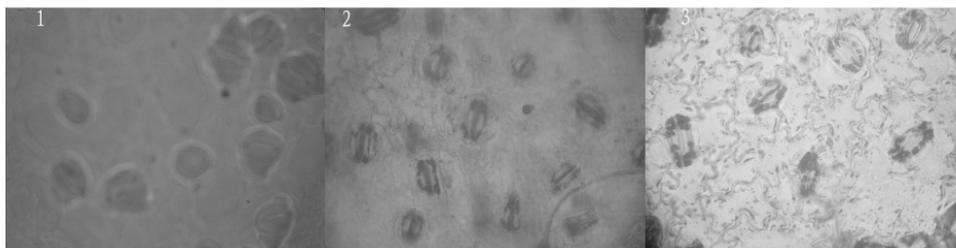
方法	制片所需时间(min·个 ⁻¹)	最大取样面积(mm ²)	取样定位性	压片清晰程度	气孔真实
火棉胶印迹法	5~10	接近叶面积	好	低	差
撕取下表皮法	8~15	6	差	高	好
胶带粘取法	0.5~2	25	好	高	好

2.2 三种方法的观察效果

三种方法的观察效果见图 1。

由图 1 可以看出, 用镊子直接撕取马铃薯叶片下表皮和用透明胶带法粘取的下表皮压片, 均能染色, 可清楚地看到气孔的结构和保卫细胞内的部分

内含物质, 气孔的真实性和清晰程度高, 二者之间没有明显差异; 而用火棉胶印迹法制作切片, 只能反映气孔的基本轮廓和开闭状态, 并不能观察到气孔的内含物质和结构, 且切片的真实性和清晰程度较差。



1. 火棉胶印迹法

2. 撕取下表皮法

3. 胶带粘取法

图 1 不同方法得到的马铃薯下表皮压片(600×)

由表 2 可以看出, 三种方法对观测气孔长度没有显著性的差异, 用火棉胶印迹法观测气孔长度分别比镊子撕皮法和胶带粘取法减少 1.8% 和 4.5%; 用镊子撕取法比胶带粘取法较少 2.7%。

表 2 三种观察方法对马铃薯下表皮气孔长度的影响 (LSD 测验)

方法	气孔长度(μm)	显著水平	
		5%	1%
火棉胶印迹法	2.228	a	A
撕取下表皮法	2.267	a	A
胶带粘取法	2.328	a	A

由表 3 可以看出, 三种方法对观测气孔宽度没有显著性的差异, 用火棉胶印迹法观测气孔宽度分别比镊子撕皮法和胶带粘取法减少 2.8% 和 3.5%; 用镊子撕取法比胶带粘取法较少 0.7%。

表 3 三种观察方法对马铃薯下表皮气孔宽度的影响 (LSD 测验)

方法	气孔宽度(μm)	显著水平	
		5%	1%
火棉胶印迹法	1.623	a	A
撕取下表皮法	1.669	a	A
胶带粘取法	1.680	a	A

由表 1、2、3 和图 1 可以看出, 透明胶带粘取方法具有制片时间短、取样面积大、取样定位性好、压片清晰性和气孔真实性高等特点, 且在观测气孔开张度时与常用的镊子撕取法和火棉胶印迹法没有显著的差异, 适宜于气孔密度和开张度的研究。

3 讨论

叶片气孔是作物生理的重要研究对象, 同时随着生理育种的不断发展, 叶片气孔密度、纵横径和开张度等性状越来越受到育种工作者的重视。本研究以同一马铃薯叶片为材料, 采用透明胶带粘取法、火棉胶印迹法和镊子撕取下表皮法三种观测

气孔的方法, 认为用透明胶带粘取法观察马铃薯叶片下表皮的气孔, 具有操作简单、速度快、真实性强的优点, 尤其适宜于大批量的气孔观测。用塑料透明胶带粘取叶片的下表皮, 不仅操作速度快, 可以最大限度地减轻因失水导致的气孔开张度变化, 而且表皮紧密地粘贴在胶带上, 胶带对保卫细胞起到良好的固定作用, 可以防止因保卫细胞失水而导致的气孔开张度的变化。

用火棉胶印迹法观察马铃薯下表皮气孔虽然具有取样定位性好、取样面积大等特点, 但胶的涂抹厚度往往难以很好地掌握, 在压片的时候, 容易出现胶膜偏厚、压片不平整、对比度低和清晰程度较差的缺点。

另外, 从表 2 和表 3 可以看出, 三种方法观测气孔纵横径差异不显著, 但火棉胶印迹法观测到的纵横径均小于其它两者, 这是由于胶膜的收缩性强, 导致气孔印迹因胶膜的收缩变形而发生相应的变形, 使气孔的大小和纵横径发生变化。因此, 在气孔大小、纵横径等定量指标测定和研究方面, 准确性较低。这一方法只适宜于气孔基本形态和分布状况等定性指标的观察。

镊子撕取马铃薯叶片下表皮方法虽具有压片清晰度高和气孔真实性好等特点, 但由于制片所需时间太长、取样面积小等不足, 不太适宜在马铃薯叶片下表皮气孔观测中采用。

[参 考 文 献]

- [1] 曹孜义, 李唯, 王稀圣. 环境因素和 ABA 对葡萄试管苗气孔开闭的影响[J]. 植物生理学报, 1993, 19(4): 372-378.
- [2] 陈温福, 徐正进, 张龙步, 等. 水稻叶片气孔密度与扩散阻力和净光合速率关系的比较研究[J]. 中国水稻科学, 1990, 4(4): 163-168.
- [3] 李海波, 李全英, 陈温福, 等. 氮素不同用量对水稻叶片气孔密度及有关生理性状的影响[J]. 沈阳农业大学学报, 2003, 34(5): 340-343.
- [4] 蒙美莲, 门福义, 刘梦芸, 等. 马铃薯高淀粉生理基础的研究[J]. 马铃薯杂志, 1999, 13(3): 136-139.
- [5] 张秀芳, 石东里, 张兰. 观察植物气孔结构的简易方法[J]. 生物学通报, 2002, 37(6): 42.