植物学通报 2002，19（6）：746～748
Chinese Bulletin of Botany

技术与方法

易卷曲叶表皮制片技术（NaOCl 法）的改进①

洪亚平* 陈之端**

（中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室，北京 100093）

摘要 在利用 NaOCl 法制备用于光学显微镜观察的叶表皮过程中，一些科/属植物的叶表皮在 100% 乙醇脱水后遇二甲苯便发生卷曲，增加了叶表皮制片的难度，甚至无法进行。本文介绍一种简便易行的方法：在系列乙醇脱水后，加盖小块盖玻片，防止叶表皮脱水后卷曲，并使其保持平整，便于显微摄影。这种方法使得叶表皮显微制片技术更加完善。

关键词 叶表皮，制片技术

Improvement on NaOCl Method Used for the Liable-to-roll-up Leaf Epidermis①

HONG Ya-Ping* CHEN Zhi-Duan**

（*Laboratory of Systematic & Evolutionary Botany*, *Institute of Botany*, *The Chinese Academy of Sciences*, Beijing 100093）

Abstract As we prepare the leaf epidermis for examination under light microscopy using the traditional NaOCl method, sometimes difficulties occur in some materials from different families or genera in which the epidermis rolls up easily after dehydration with 100% Ethanol. This paper introduced a method by using a small piece of cover-glass to cover the epidermis before washing it with Xylene, this way the epidermis could maintain open and flat. The improvement made the technique of epidermal preparation based on NaOCl method more perfect.

Key words Leaf epidermis, Epidermal preparation

植物叶表皮性状有重要的分类学和系统学价值（Cutler，1975；Stace，1984；陈之端和张志耘，1991）。用于光学显微镜下观察的植物叶表皮的制片方法有多种，其主要差别在于使叶表皮和叶肉细胞离析的离析剂不同（Foster，1955；Ferguson，1974；Stace，1984；李正理，1987；Hong De-Yuan（洪德元），1989）。常用的叶表皮制片方法有次氯酸钠（sodium hypochlorite solution，NaOCl）法（又称 Eau da Javelle 法）和铬酸离析法。前者已逐渐成为叶表皮制片的常规方法，但在实际应用时，它并不能完全满足需要，有时需要将次氯酸钠法和铬酸离析法结合起来使用（潘开玉等，1990）。次氯酸钠法的优点很多，它的药品易得且价格低廉，作用温和，操作简单，并且对环境污染小。但在叶表皮制片过程中，NaOCl 法

①本研究得到中国科学院知识创新工程重要方向项目 KSCXZ-SW-101A 资助。Supported by the Chinese Academy of Sciences (grant KSCXZ-SW-101A).
* 河南省林业科学研究所。Henan Forestry Institute, Zhengzhou 450008
** 通讯作者。Author for correspondence.
作者简介：洪亚平，男，37 岁，助理研究员。1997 年在中国科学院武汉植物研究所获植物学硕士学位，现在中国科学院植物研究所系统与进化植物学开放研究实验室从事植物分类与系统进化研究。
收稿日期：2001-12-03 接受日期：2002-01-18 责任编辑：刘 晖，孙冬花

存在着一个主要缺点，就是某些科/属植物的叶表皮经 100% 乙醇脱水后，遇二甲苯便会发生卷曲，这使得制片异常困难，有时甚至无法进行。本文针对次氯酸钠法制片的这一难点，对其制片的方法进行改进，使之成为一个更加完善的叶表皮制片技术。

1　材料和方法

实验材料取自腊叶标本水松 *Glyptostrobus pensilis* (Staunt.) K. Keoch(杭州植物园 419)和木防己 *Cocculus orbiculatus* (Linn.) DC.(洪亚平 99435，广州)。

叶表皮制片时：(1)先将叶片剪成约 1 cm^2 的小块(*Cocculus orbiculatus*)或约 0.5 cm 长的小段(*Glyptostrobus pensilis*)，煮沸 10 ~ 20 min 后放入 NaOCl：H_2O = 1：2(比例依材料不同可有所不同)溶液中浸泡。(2)待叶片颜色变白时取出，经蒸溜水冲洗后进行上/下表皮剥离。(3)在载玻片上滴一滴蒸馏水，将剥离好的上/下表皮放入，并在解剖镜下将其展平，将水吸去，用 1% 番红染色，染色时间依材料而定。(4)染色后分别用 35%、50%、70%、85%和 95%系列乙醇冲洗。本步骤除能使叶表皮逐步脱水外，还能将与叶表皮表面结合不牢固的番红分子洗去，使其不再褪色。(5)用 100% 酒精冲洗 4 ~ 5 次进行脱水，从 22 × 22 mm 的盖玻片上用玻璃刀割取 1/3 至 1/2 大小盖在叶表皮上。将载玻片倾斜适当的角度(约 30°)，用无水乙醇：二甲苯 = 1：1 的混合溶液，沿载玻片和盖玻片之间的缝隙冲洗叶表皮数次(次数根据具体情况而定)，冲洗时要确保盖玻片始终盖住叶表皮(否则叶表皮会

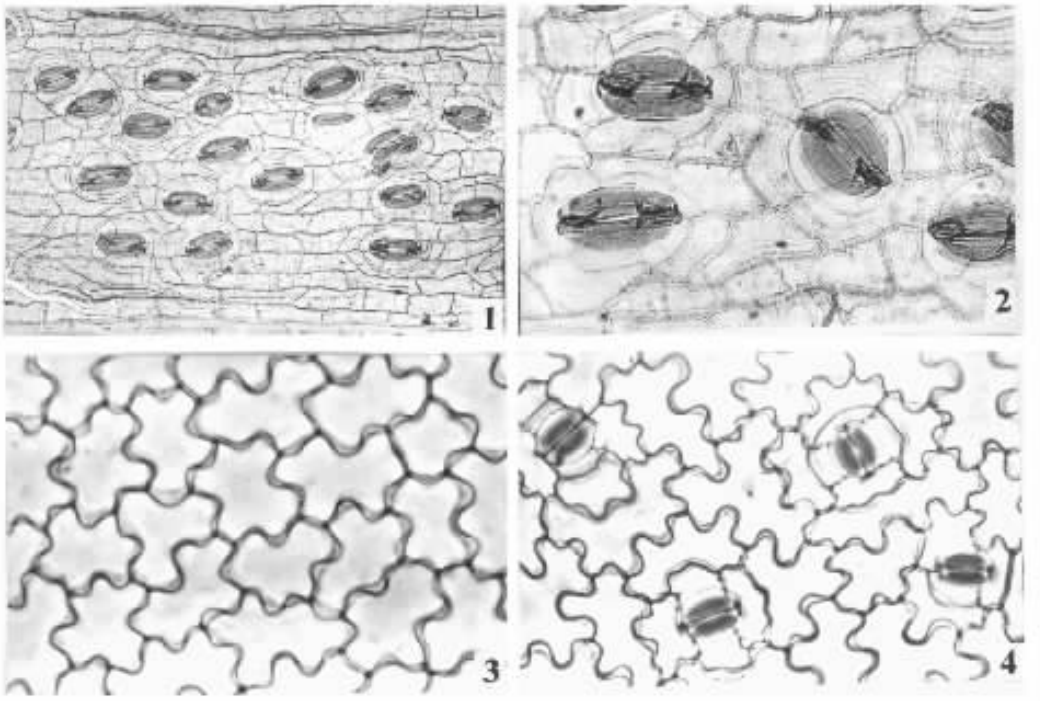


图 1　水松(*Glyptostrobus pensilis*)表皮(× 128)；图 2　水松(*Glyptostrobus pensilis*)表皮(× 320)；图 3　木防己(*Cocculus orbiculatus*)上表皮(× 320)；图 4　木防己(*Cocculus orbiculatus*)下表皮(× 320)

Fig. 1 ~ 2　Leaf epidermis of *Glyptostrobus pensilis* (Fig. 1　× 128；Fig. 2　× 320)；Figs. 3 ~ 4　Leaf epidermis of *Cocculus orbiculatsu* (all　× 320)

很快卷曲)。(6)用二甲苯冲洗数次,直到载玻片和盖玻片缝隙间和叶表皮中的液体被二甲苯完全替换为止。(7)用吸水纸(可用一般的吸水卫生纸代替)将载玻片和盖玻片周围的二甲苯吸去,但不要将缝隙间二甲苯吸去,以免叶表皮暴露在二甲苯之外接触空气,封片后容易产生气泡。(8)沿盖玻片一边滴上 1 ~ 2 滴封片树胶,树胶会通过狭缝吸力自动完成封片。在滴树胶的相对一边,用吸水纸将载玻片和盖玻片缝隙间吸出一部分,以加快树胶封片过程。(9)用夹子夹在载玻片和盖玻片外,放入 40 ℃烘箱烘干,这样树胶干后叶表皮更加平展。

2 结果与讨论

上述制片方法的制片结果见图 1 ~ 4。

在经过梯度乙醇脱水后,利用叶表皮上加盖小块盖玻片,有效地阻止了某些科/属植物的叶表皮在脱水后遇二甲苯而发生卷曲,并能使剥离的叶表皮更加平整。这种方法虽然简单,但有效地解决了次氯酸钠制片方法上的一个难题,使该方法更加完善。

不同的离析剂对叶表皮和叶肉细胞离析的结果可能存在着差异,这种差异可能会在离析的叶表皮的化学成分和物理性能上有所反映,它们在脱水后遇二甲苯的反应结果可能也会不同,但只要叶表皮会发生卷曲,就可以按照本文所述方法在叶表皮上加盖小块盖玻片,阻止其卷曲,并使其保持平整。

参 考 文 献

李正理, 1987. **植物制片技术**, **第二版**. **北京**:**科学出版社**, 96 ~ 100

陈之端, **张志耘**, 1991. **桦木科植物叶表皮的研究**. **植物分类学报**, **29**(2):156 ~ 163

潘开玉, **路安民**, **温洁**, 1990. **金缕梅科**(**广义**)**的叶表皮特征**. **植物分类学报**, **28**(1):10 ~ 26

Cutler D F, 1975. Anatomical notes on the leaf of *Eleutharrhena* and *Pycnarrhena* (Menispermaceae). *Kew Bulletin*, **30**(1): 41 ~ 48

Ferguson D K, 1974. The significance of the leaf epidermis for the taxonomy of *Cocculus* (Menispermaceae). *Kew Bulletin*, **29**(3): 483 ~ 492

Foster A S, 1955. Comparative morphology of the foliar sclereids in *Boronella* Baill. *Journ Arn Arb*, **36**:189 ~ 198

Hong D Y(**洪德元**), 1989. Studies on the genus *Paeonia* (2)—the characters of leaf epidermis and their systematic significance. *Chinese J Bot*, **1**(2):145 ~ 153

Stace C A, 1984. The taxonomic importance of the leaf surface. In: Heywood V H, Moore D M eds. Current Concepts in Plant Taxonomy. London: Academic Press, 76 ~ 80