

葡萄叶片齿尖上表皮气孔形态及发育特征^①

马会勤^② 罗国光

(中国农业大学园艺学院)

摘要 用光学显微镜对葡萄叶片齿尖上表皮气孔的形态、发育、结构进行了观察。叶片齿尖无表皮毛覆盖,上、下表皮都具有高密度的气孔分布。上表皮气孔位置下陷,无周缘角质条纹,外观呈‘面包圈’形,典型的气孔与其旁边体形较小的气孔之间无特定的排列规律,它们的分化及成熟早于叶片中部下表皮气孔;齿尖下表皮气孔的形态特征与齿尖上表皮气孔相似;叶片中部下表皮存在典型的由气孔及其周围体形较小的气孔形成的气孔群。两类气孔分两批发育。典型的气孔突出表皮,具明显的周缘角质条纹,发育早于较小的气孔。这类气孔与表皮平面平齐或稍凹陷,周缘角质条纹不明显。叶片中部下表皮气孔的气孔下腔较大,齿尖上、下表皮气孔与叶片中部下表皮气孔无明显的结构差异。

关键词 葡萄叶片;气孔;形态;发育

分类号 S663.1; Q944.56

Morphology and Development of Adaxial Stomata on Tooth-tips of Grape Leaves

Ma Huiqin Luo Guoguang

(College of Horticulture Sciences, CAU)

Abstract Morphology and development of adaxial stomata on tooth tips of grape leaves were observed with light microscope and scanning electron microscope. It was found that no hairs on tooth tips, yet high density of stomata were observed on both upper and lower epidermal surfaces. The appearance of adaxial stomata was relatively roundish without distinct cuticle ridges. Their level was lower than that of epidermal cells. Though the size was different, there was no specific rule for their distribution. Abaxial stomata on tooth tips were similar to adaxial ones on morphological and developmental aspects. Typical stoma clusters were existed on the lower epidermis of the middle part of grape leaves. They were consisted of the central “larger” stoma and satellited “smaller” stomata. The “larger” ones were developed earlier than the “smaller” ones, but both of them developed later than adaxial stomata on tooth tips. The “larger” stomata in stoma clusters protruded above the epidermal level, their out ledges and radiating striae were very obvious. Those “smaller” ones were at the same level or a little lower compared with adjacent epidermal cells. Their out ledges and radiating striae were not so apparent. As for the structure no obvious differences were observed between adaxial and abaxial stomata of tooth tips, and also no difference when compared them with abaxial stomata on the middle part of leaves.

Key words grape leaves; stomata; morphology; development

一般认为,植物叶片的气孔可能分布在叶片的上表皮和/或下表皮^[1],而在木本植物上,除个别种外,只有下表皮才有气孔^[2]。然而,罗国光等(1989)^[3]首次报道葡萄叶片上表皮近叶缘

收稿日期:1998-03-12

①国家自然科学基金资助项目 39570505

②马会勤,北京圆明园西路2号中国农业大学(西校区),100094

部位存在高密度的气孔,并认为分布部位的特殊性是其长期未被发现的重要原因。苏淑钗等(1995)^[4]通过对91个葡萄种、品种叶片的复制膜观察,证明齿尖上表皮部位高密度的气孔分布是普遍存在的,但对这些气孔的形态、结构、行为和功能需要进一步研究。本文通过光学显微镜和扫描电镜观察,详细描述和比较了葡萄叶片齿尖上表皮气孔和叶片中部下表皮气孔的形态、结构及发育特征。

1 材料和方法

1.1 材料

试材为无核红(*Vitis vinifera* L. cv. Wuhehong)和巨峰(*V. vinifera* L. × *V. labrusca* L. cv. Kyoho)2个葡萄品种。叶片采自中国农业大学葡萄试验园。气孔发育的观察分别选取巨峰由新梢基部数第二、四、六、八叶位的成叶、幼叶及芽尖。其余观察项目均选2个品种的成叶。

1.2 方法

1.2.1 叶片不同部位的组织结构观察 分别切取2个品种叶片的叶齿和叶片中脉与上侧裂脉中间部位约0.5 cm×0.5 cm大小的组织块,按常规步骤^[5]对材料进行制片后,于Olympus BHS系列研究用显微镜下观察和PM-10AD全自动显微照相。

1.2.2 气孔形态和发育的扫描电镜观察 取样部位和大小同上。组织块置于2.5%的戊二醛中固定,经乙醇梯度脱水、临界点干燥、喷金后在S-450扫描电镜下观察,选取典型视野照相。部分材料使用离析液^[6]于20℃下处理24 h,分离上、下表皮,并除去残存的叶肉和表皮细胞,干燥后直接喷金,对角质层内表皮进行观察。部分材料经固定和梯度脱水后用三氯甲烷处理5 min、超声波清洗,临界点干燥、喷金,与未经脱蜡处理的材料进行对照观察。部分材料固定后经液氮冷冻断裂^[7],常规程序处理后,对叶片不同部位及气孔的断面进行观察。

2 观察结果

2.1 葡萄叶片不同部位的组织结构

齿尖与一般叶片中部部位存在明显的结构差异,没有栅栏、海绵组织分化。栅栏组织的分化在距齿尖末端0.5 mm左右的位置基本中断,中断处附近栅栏组织细胞的长度已明显短于普通栅栏组织细胞。齿尖部位根据其结构特征可划分为两个区域。一个区域位于齿尖末端中部较靠近上表皮的位置,由大量导管、管胞及体积较小排列紧密的细胞组成。该区域不直接与齿尖上表皮相连,未观察到维管束鞘细胞界定。另一区域为齿尖的其余部分,由排列较紧密的薄壁细胞构成。齿尖部位上、下表皮均有气孔分布,气孔具明显的气孔下腔,其体积均较小(图版I-1,-2)。叶内部位上、下表皮之间存在典型的栅栏组织、海绵组织分化。栅栏组织由单层细胞构成,细胞呈长圆柱形,排列整齐、紧凑;海绵组织结构疏松,有较大的胞间隙。该部位仅下表皮具有气孔分布,气孔下腔明显。

2.2 葡萄叶片气孔的形态

2个葡萄品种的齿尖上表皮均可观察到较细的基本呈平行排列的角质条纹及散布的颗粒状蜡质。表皮细胞形状较规则,具波状弯曲的垂周壁。该部位气孔分布密度高,凹陷(图版I-3),气孔形状较圆,外突不明显,一般无典型的周缘放射状角质条纹。保卫细胞周边突起,呈“面包圈”形的外观。气孔个体之间存在明显的大小差异,由于具分布上的连续性,较难根据其形

的大小进行自然的分组。气孔之间的相互位置也不具有明显的规律性(图版 I-4)。除观察到气孔呈开张和闭合两种状态外,闭合气孔中还存在一对保卫细胞间具平滑角质/蜡质带沿孔口纵径方向延伸的类型(图版 I-5)。此外一些气孔的孔口为凹形膜状物所覆盖,覆盖物与保卫细胞表面的角质连成一体。

齿尖下表皮气孔的分布位置与上表皮气孔相对应,并向叶片中部一直延伸。气孔的位置一般都凹陷,气孔个体之间存在较明显的大、小差别,但大小型气孔之间无明显的排列规律,大部分气孔形状较圆,无周缘角质条纹,外观与齿尖上表皮气孔相似,也呈较圆的“面包圈”形(图版 I-6),该部位也观察到气孔孔口为凹形膜状物所覆盖的现象,但数量较少。

叶片中部下表皮气孔密度高,具典型的气孔群特征(图版 I-7),气孔按形体大小可分为两种类型,大型气孔不凹陷而突出表皮,具明显的外突和周缘辐射状角质条纹(图版 II-1)。这与李连国等(1991)^[8]对巨峰的报道相一致。小型气孔呈放射状分布于大型气孔的周围,其保卫细胞平面与叶片下表皮平齐或稍凹陷,外突不如大型气孔明显,气孔周缘角质条纹较少或没有。小型气孔中也存在沿一对保卫细胞间具角质/蜡质带的类型,但在两个品种下表皮气孔中均未观察到孔口被凹形膜状物覆盖的个体。

2.3 葡萄叶片不同部位气孔特征的观察

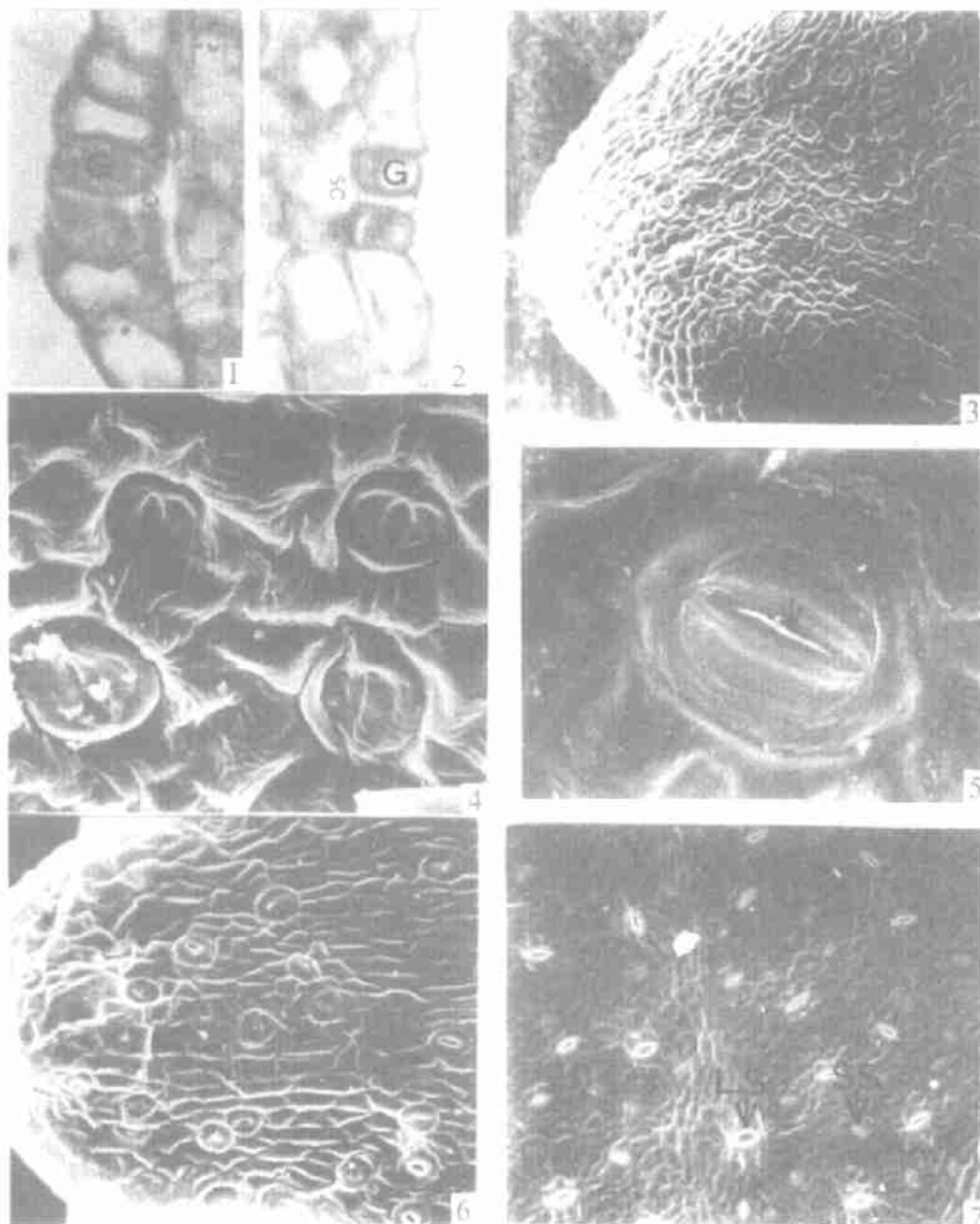
2.3.1 角质层内表面 齿尖上表皮角质层的内表面较粗糙,具球形的颗粒状突起。表皮细胞邻接部位角质厚并向细胞间发展,形成连续的胞间突缘。覆盖齿尖上表皮气孔保卫细胞的角质层内表面平滑,无周缘条纹,与周围表皮细胞上的角质层有明显的区分。孔口可分为无覆盖物(图版 II-1)及孔口堆积角质/蜡质两个类型。

叶片中部下表皮角质层的内表面在两个品种间有较明显的差异。巨峰叶片下表皮的角质分布较均匀,除细胞间邻接部位角质较多并形成胞间突缘外,其他部位的角质层较平滑。覆盖一对保卫细胞的角质区为长椭圆形。无核红叶片下表皮角质层的内表面比巨峰的粗糙,其周缘具明显的呈辐射状排列的角质条纹。

2.3.2 表皮及气孔的蜡质特征 用三氯甲烷处理去掉齿尖上表皮及气孔保卫细胞上散见的块状蜡质,齿尖近气孔区原来较平滑的表面经处理后可观察到所有表皮细胞上都分布着近似平行排列的角质条纹。Rosenquist 等(1988)^[9]通过对葡萄果实的研究,认为角质条纹可以做为角质的一种贮存形式,对不断扩大的表面提供保护。脱蜡处理后覆盖部分气孔孔口的膜状物被去除,说明该覆盖物的成分主要为蜡质。而图版 I-5 中沿一对保卫细胞腹壁分布的物质未被三氯甲烷除去,判断其组成可能为角质。

叶片中部下表皮细胞、大、小型两类气孔经脱蜡处理后外观均变化不大。表明葡萄叶片下表皮外的保护层组分以角质为主,只有少量无定形蜡质覆盖于外表面。叶片不同部位组织相比较,齿尖上表皮所覆盖的蜡质多于叶片中部下表皮。这与 Baker(1982)^[10]报道欧洲种葡萄(*V. vinifera* L.)叶片表皮蜡质较少,并主要分布于近叶缘处相一致。

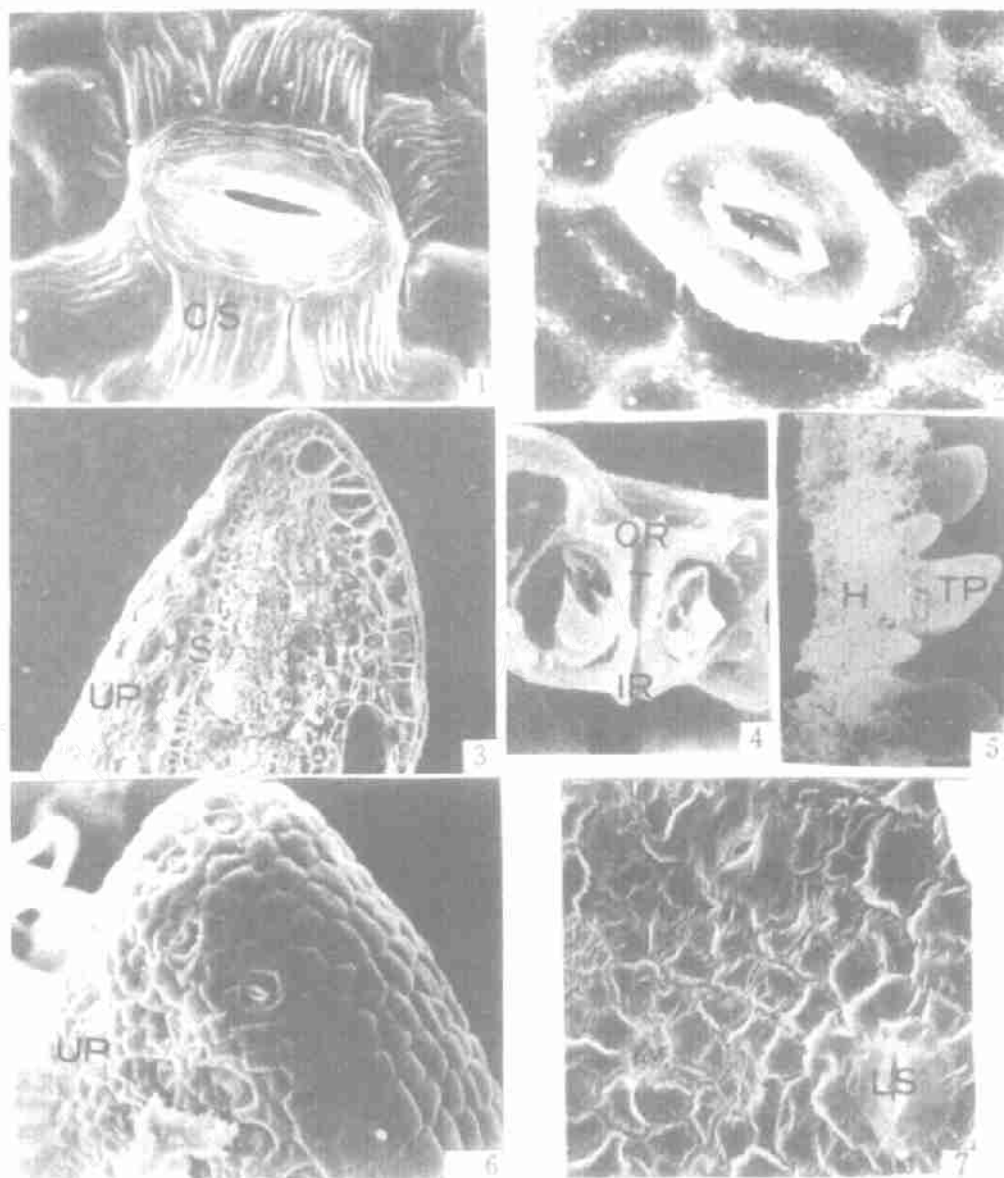
2.3.3 齿尖及叶片中部气孔断面的观察 由齿尖部位的纵断面可以清楚地观察到上表皮气孔的位置低于两侧的表皮细胞,并具有明显的气孔下腔(图版 II-3)。角质层的覆盖不仅存在于表皮细胞及保卫细胞的外表面,而且整个气体通道的表面及保卫细胞、表皮细胞与气孔下腔相邻接的表面也为角质所覆盖。保卫细胞背壁较薄,内侧壁较厚,并在内侧壁与腹壁交角处形成内突,在外侧壁靠近孔口处形成外突。齿尖上表皮气孔还具有较深的喉部(图版 II-4)。电镜下观察到外突闭合、喉部闭合、外突与喉部同时闭合及孔口覆盖物等多种现象。



图版 I 葡萄叶片齿尖的形态和解剖

图版说明 CS 角质条纹; G 保卫细胞; LS 大型气孔; SC 气孔下腔; SS 小型气孔

- 1 齿尖上表皮气孔,其气孔下腔较小, $\times 930$;
- 2 齿尖下表皮气孔,其气孔下腔也较小, $\times 930$;
- 3 齿尖上表皮部位,注意高密度存在的气孔及气孔分布的位置, $\times 200$;
- 4 齿尖上表皮的大、小型气孔, $\times 1\ 500$;
- 5 气孔孔口特征-沿孔口纵径分布的角质/蜡质带, $\times 3\ 000$;
- 6 齿尖部位下表皮,注意与齿尖部位下表皮相似的气孔型形态特征, $\times 300$;
- 7 叶片中部下表皮,注意气孔群及气孔的形态特征, $\times 250$ 。



图版 I 葡萄叶片齿尖气孔的结构和发育

图版说明 GM 保卫细胞母细胞; H 表皮毛; IR 内突; OR 外突; P 孔口; S 气孔; T 喉; TP 齿尖; UP 上表皮

- 1 气孔群中的大型气孔, 周缘角质条纹明显, $\times 1\ 800$;
- 2 齿尖上表皮角质层的内表面, 注意覆盖一对保卫细胞的角质及孔口特征, $\times 2\ 000$;
- 3 齿尖的矢状断面, $\times 150$;
- 4 齿尖上表皮气孔的结构, $\times 2\ 000$;
- 5 幼叶局部, 示表皮毛的分布, $\times 32$;
- 6 幼叶齿尖上表皮, 注意气孔凹陷于表皮并呈开张态, $\times 400$;
- 7 幼叶中部下表皮, 注意正在发育中的大型气孔及其周围的保卫细胞母细胞, $\times 1\ 500$

叶片中部下表皮气孔与两侧表皮细胞的关系可分为凸出、平齐、稍凹陷三个类型,气孔下腔明显。角质覆盖的部位及气孔的结构与齿尖上表皮气孔相同。电镜下也观察到外突闭合、喉部闭合、外突与喉部同时闭合等多种现象。

2.4 葡萄叶片不同部位气孔的发育特点

齿尖部位从芽内幼叶至成叶都无表皮毛的分布,而叶片的中间部位上、下表皮在芽内幼叶期均已为浓密的表皮毛所覆盖(图版Ⅱ-5)。齿尖上表皮气孔具有分化、发育早、成熟早的特征。芽内未展开叶的齿尖部位气孔密度高、大小较为一致,许多已呈开放态,外观上与成叶同部位的气孔无明显差别(图版Ⅱ-6)。

叶片中部下表皮气孔的发育晚于齿尖上表皮部位,具有典型的分批分化发育的特征。芽内幼叶下表皮大型气孔的孔口已具有初步发育,外突大致形成,保卫细胞平面与表皮平面平齐,气孔周缘特定部位的角质开始加厚,但还没有特异性角质条纹的形成。大型气孔的周围可观察到将来形成小型气孔的保卫细胞母细胞,大小与表皮细胞相似,表面具有大量皱折样角质条纹,与普通表皮细胞有明显的区分(图版Ⅱ-7)。

由基部数第六叶下表皮的的大型气孔已基本发育完全,具有特异性周缘角质条纹,位置开始突出表皮。葡萄气孔平面与表皮平面相互位置的变化过程与 Galatis(1980)^[11]对玉米的报道相一致。第六叶上除已发育完全的大型气孔外,还有少量大型气孔孔口的蜡质正逐渐破裂,进入具有正常气孔功能的阶段。小型气孔平面与表皮细胞平齐,可清楚地观察到保卫细胞的纵轴取向,一般无孔口及外突的发育,仍不具有开闭功能。

由基部数第二、第四叶的中部下表皮大型气孔具有典型的外观特征,小型气孔也大部分发育成熟。已成熟的小型气孔具有明显的孔口发育,部分小型气孔的保卫细胞平面已稍低于下表皮细胞。此外仍可观察到少量处于孔口发育阶段的小型气孔。认为这些尚未具有正常功能的气孔属于发育上的迟缓或停滞类型,对其形成的原因和机制目前还不清楚。

3 讨论

3.1 齿尖上表皮部位存在气孔而非排水器水孔的形态解剖学证据

排水器(hydathode)一般在叶片的叶缘或叶尖出现^[12,14]。较复杂的排水器由通水组织和气孔组成。一般认为水孔已丧失了开张或闭合的功能^[15]。而葡萄叶片齿尖上表皮由一对保卫细胞及其围成的孔组成的结构具有以下特点:①分布位置和数量 其分布范围较水孔大,不仅出现于齿尖的顶端,而且遍及整个齿尖。每齿尖的分布数目一般都在100个左右,高于任何有关排水器水孔数目的报道。②形态结构特征 与齿尖部位下表皮气孔具有同样的形态特征。它们与叶片中部下表皮气孔的差异,可能是由齿尖与叶片中部组织结构和发育条件的差异造成的。③通水组织 齿尖部位无通水组织存在,尽管我们不排除齿尖部位有个别水孔存在,但根据对齿尖上表皮气孔形态、结构、发育以及行为、功能(行为、功能研究结果待发表)的综合考察,齿尖上表皮部位由一对保卫细胞及其围成的孔组成的结构中的绝大部分应属于典型的气孔而不是水孔。齿尖上表皮部位特异性地具气孔分布并不为葡萄叶片所独有,Chabot等(1977)^[16]和 Blanke等(1994)^[17]报道冷杉及苹果叶片的叶尖和叶齿上表皮具气孔分布,它们可能有利于叶内水分运输动力的形成。

3.2 葡萄叶片气孔发育的某些特点

齿尖部位气孔与叶片中部下表皮气孔的发育相比有以下特点。第一,齿尖部位气孔发育早。

这可能与叶片功能的成熟是由顶向基的^[18,19]有关。第二,葡萄叶片齿尖上表皮气孔是一次性分裂形成的,而叶片中部下表皮气孔是分批分裂形成的,这与 Carr 等(1990)^[20]对其他双子叶植物的报道相一致。第三,发育一致性差。齿尖气孔尽管发育早,成熟快,但气孔之间发育速度差异较大,甚至在老叶上仍可观察到少量发育迟缓或停滞的气孔。而叶片中部下表皮气孔发育节奏较整齐,当叶片成熟时下表皮气孔也基本同步成熟。这种现象的发生可能与环境条件及气孔所处不同部位的激素水平有关。Vemmos 等(1993)^[21]曾报道苹果萼片气孔在萌芽前成熟百分率高于莲座叶气孔,但盛花期时莲座叶气孔全部成熟,而萼片上仍有不成熟的气孔。第四,发育环境不同。叶片齿尖部位无表皮毛存在,而叶片其他部位在幼叶期表皮毛都极浓密,表皮毛可以增加表皮的界面层阻力(Willmer 1983)^[1],降低光照强度,影响气孔形成和发育的微环境。

参 考 文 献

- 1 Willmer C M. Stomata. London: Longman, 1983
- 2 克雷默 P J 著. 许旭旦等译. 植物的水分关系. 北京: 科学出版社, 1989
- 3 罗国光, 克利沃尔 W M. 葡萄叶面气孔观察. 见: 中国农业科学院郑州果树所编. 第二次全国葡萄学术交流论文摘要汇编. 1989, 13
- 4 苏淑钗, 罗国光. 葡萄叶片表面的气孔形态与分布. 见: 中国科协第二届青年学术年会. 园艺学论文集. 北京: 北京农业大学出版社, 1995, 252~256
- 5 余炳生, 张仪. 生物学显微技术. 北京: 北京农业大学出版社, 1989
- 6 胡玉熹. 三尖杉植物叶片结构的比较. 植物分类学报, 1984, 22: 289~296
- 7 田中敬一, 永谷隆. 李文镇等译. 图解扫描电子显微镜——生物样品制备. 北京: 科学出版社, 1984
- 8 李连国, 李晓燕, 刘志华等. 葡萄叶片气孔的研究——气孔形态与分布. 内蒙古农牧学院学报, 1991, 12: 24~28
- 9 Rosenquist J R, Morrison J C. The development of cuticle and epicuticular wax of the grape berry. *Vitis*, 1988, 27: 63~70
- 10 Baker E A. Chemistry and morphology of plant epicuticular waxes. In: Cutler D F, et al. eds. *The Plant Cuticle*. London: Academic Press, 1982
- 11 Galatis B. Microtubules and guard-cell morphogenesis in *Zea mays* L. *J Cell Sci*, 1980, 45: 211~244
- 12 Cutter E G. *Plant Anatomy*. (Part 1). Cells and Tissues. London: Edward Arnold (publishers) Ltd. 1978
- 13 陈机. 植物发育解剖学. 济南: 山东大学出版社, 1992
- 14 徐汉卿. 植物学. 北京: 中国农业出版社, 1996
- 15 Fahh A. *Secretary tissue in plants*. London: Academic Press, 1979
- 16 Chabot J F, Chabot B. Ultrastructure of the epidermis and stomatal complex of balsam fir (*Abies balsamea*). *Can J Bot*, 1977, 55: 1064~1075
- 17 Blank M M, Hofer M, Pring R J. Stomata and structure of tetraploid apple leaves cultured *in vitro*. *Ann Bot*, 1994, 73: 651~654
- 18 Turgeon R. The sink-source transition in leaves. *Ann Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*, 1989, 41: 119~133
- 19 Dale J E. The growth of leaves. *Studies in Biology No. 137*, London: Edward Arnold (publishers) Ltd., 1982
- 20 Carr D J, Carr S J M. Transverse and longitudinal gradients in stomata site in dicotyledons. *Cytobios*, 1990, 61(244): 4~62
- 21 Vemmos S N, Goldwin G K. Stomatal and chlorophyll distribution of coxs orange pippin apple flowers relative to other cluster parts. *Ann Bot*, 1993, 71: 245~250