

菜心下胚轴气孔的特征及其动态变化

徐燕, 杨颖, 玄晓丽, 王永飞*

(暨南大学生物工程学系, 广州 510632)

摘要:以“油青 60 天”和“四九-19”2 个菜心品种为材料,研究了菜心下胚轴气孔特征、气孔密度和气孔指数在 2 年内随不同发育时间的变化情况。结果显示:菜心种子萌发后第 3 天,下胚轴表皮上已有椭圆形或狭长形的气孔分布;菜心下胚轴普通表皮细胞为长条形,排列紧密。“油青 60 天”和“四九-19”下胚轴的平均气孔密度均先下降后上升,分别在第 27 天和第 21 天达到最大值。随着幼苗的生长,“油青 60 天”下胚轴的平均气孔指数在萌发后第 24 天达最大值,与第 3 天的平均气孔指数差异显著;“四九-19”菜心下胚轴平均气孔指数在萌发后第 21 天达最大值,且与第 12、15、27 天的平均气孔指数差异性达到 0.01 水平。

关键词:菜心;下胚轴;气孔;气孔密度;气孔指数

中图分类号: Q944 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)01-0124-05

Characteristics and dynamic changes of stomata on the hypocotyl of *Brassica chinensis* var. *parachinensis*

XU Yan, YANG Ying, XUAN Xiao-Li, WANG Yong-Fei*

(Department of Biotechnology, Jinan University, Guangzhou 510632, China)

Abstract: The stomata distribution, stomata density, stomata index of *Brassica chinensis* var. *parachinensis* on hypocotyl surface were investigated with cultivars “youqing 60 days” and “sijiu-19” by light microscopy. The results showed that ordinary epidermal cells were usually long-flat in shape. Oval-shaped or strip-shaped stomata were observed on hypocotyl epidermis 3 days after seeds germination. The average stomata density on hypocotyl of “youqing 60 days” and “sijiu-19” decreased first and then increased during two years tests. The average stomatal density reached maximum on the 27th day and 21st day respectively. With the growth of seedlings, the average stomatal index on hypocotyl of “youqing 60 days” in the first 24 days increased to a maximum. Comparing with the first 3 days, the difference in stomatal index were significant. The average stomatal index on hypocotyl of “sijiu-19” reached maximum on the first 21 days after germination during the two years experiments, and comparing with that on the 12th day, 15th day and 27th day, the difference between them were significant.

Key words: *Brassica chinensis* var. *parachinensis*; hypocotyl; stomatal; stomata density; stomatal index

气孔一般位于植物茎、叶等器官的表皮,由一对保卫细胞围绕一小孔形成,是二氧化碳、氧气和水蒸气等气体进出的通道,对植物光合、呼吸和蒸腾等生理活动起调节作用(周云龙,2004;Evert,2006)。有关气孔的功能、分布和结构曾有较多的报道,但多以叶片为研究对象(姚兆华等,2007;马之胜等,2008;

马会勤等,1999)。自从 Tietz 等(1977)、Lefebvre 等(1985)在向日葵(*Helianthus annuus*)根毛区上方 1.0~1.5 cm 处发现有大量气孔存在,而且对 ABA 敏感,人们开始关注植物根、茎表皮上气孔的形态发育、分布和结构。下胚轴是子叶着生点至胚根之间的部分,它作为茎和根的过渡结构成为研究

收稿日期: 2010-04-01 修回日期: 2010-09-02

作者简介: 徐燕(1984-),女,安徽寿县人,硕士研究生,从事菜心生理学研究,(E-mail)xuyan8415@126.com。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: wyfmsm@163.com)

焦点。菜心 (*B. chinensis* var. *parachinensis*) 别名菜薹, 是十字花科芸薹属芸薹种白菜亚种以花薹为产品的变种。一年生短日照草本植物, 喜温暖不耐热, 耐湿性强。主要分布于广东、广西、云南及华南地区, 其中广东种植面积最大, 栽培历史悠久, 能周年栽培, 且品质佳、商品性好, 是我国出口港澳及东南亚的重要蔬菜之一。菜心是子叶出土型双子叶植物, 且子叶出土后能保持数日之久, 故能在子叶脱落前持续观察下胚轴表皮气孔分布形态。本文以菜心的 2 个品种为材料, 对下胚轴下端 (即与胚根连接部分) 表皮上气孔的形态分布及变化进行研究, 以期为气孔分布和气孔的发育研究奠定工作基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验材料为“油青 60 天”菜心和“四九-19”菜心。“油青 60 天”是油青系列的中熟菜心品种, 色泽油绿有光泽, 叶柄短, 薹叶较细, 纤维少, 播种至初收 40~45 d。“四九-19”是广州菜科所育成的较抗病、耐风雨的早熟菜心品种, 色泽比一般的黄叶四九菜心稍偏绿, 基叶呈倒卵形, 淡绿色, 薹叶呈狭卵形, 播种至初收 32~34 d。

1.2 实验方法

分别于 2008 年和 2009 年 9 月中旬将菜心种子盆栽播种, 各 10 盆。种子萌发后第 3 d 取样, 每 3 d 取样 1 次, 直到子叶有 80%~85% 脱落。每次随机取 10 株健康完整、大小一致的植株, 先测量完整植株下胚轴长度, 然后取下胚轴与胚根连接处 1 cm, 制成临时装片, 于 Nikon YS100 显微镜下观察。在 40 倍物镜下, 统计 50 个视野内气孔和表皮细胞的数目, 计算气孔密度和气孔指数, 并采用 Sony W5 数码相机拍照。运用 Photoshop CS2 处理图片和 DPS 软件进行 q 检验统计学分析。

气孔密度的计算方法: 气孔密度 = 一个视野中的气孔数 / 视野面积。

气孔指数的计算方法参照汪矛 (2003) 的方法。公式如下: 气孔指数 = [一定面积内气孔数 / (一定面积内气孔数 + 相同面积内表皮细胞数)] \times 100%

2 结果与分析

2.1 菜心下胚轴气孔的特征

“油青 60 天”和“四九-19”下胚轴表皮均有两种

类型的细胞: 普通表皮细胞和保卫细胞。普通表皮细胞形状呈长条形, 排列紧密整齐。由两个肾形保卫细胞环绕形成的气孔一般为椭圆形 (图 1:A) 或狭长形 (图 1:B)。保卫细胞周围大多无副卫细胞 (图 1:A, C, D), 少数保卫细胞有一个与其长轴平行的半包围气孔的副卫细胞 (图 1:B, F, G), 副卫细胞通常很小。“油青 60 天”和“四九-19”在萌发后第 3 天下胚轴表皮已有发育完全的气孔 (图 1:A, B), 萌发后第 6、9 天仍可见有正在发育的气孔 (图 1:C, D)。在成熟保卫细胞中可观察到叶绿体 (图 1:A, E, F), 而正在发育的保卫细胞中没有观察到叶绿体 (图 1:C, D)。同时在下胚轴表皮上还可以见到由两个大小形态不同的保卫细胞或由三个保卫细胞围绕形成的异常气孔 (图 1:E-H)。这些异常气孔的保卫细胞中也含有叶绿体。

2.2 菜心下胚轴的气孔密度

从图 2 中看出, “油青 60 天”第一年下胚轴表皮的气孔密度在第 12 天达最大值 (每 1 mm^2 为 11.68 ± 0.93 个), 极显著地高于第 15、18 天的气孔密度。其次是第 24 天, 气孔密度每 1 mm^2 为 10.60 ± 0.81 个, 较第 12 天下降了 9.24%。萌发后第 15 天和第 18 天的气孔密度与第 12 天相比, 分别下降了 30.74% 和 40.06%, 差异极显著, 第 24 天的气孔密度与第 12 天相比, 下降了 23.12%, 差异显著。其它天数间无显著差异。“油青 60 天”第二年下胚轴表皮的气孔密度在第 12 天却是气孔密度最小值 (每 1 mm^2 为 9.56 ± 0.68 个), 第 27 天达最大值 (每 1 mm^2 为 12.58 ± 0.90 个), 较第 12 天上升了 24%, 差异显著。其它天数之间无显著差异。

“四九-19”第一年下胚轴表皮的气孔密度在第 21 天达最大值 (每 1 mm^2 为 12.76 ± 1.11 个), 第 3、6、9、18 天的气孔密度与之相比无显著差异, 但与第 24、27 天的差异达到 0.05 水平, 与第 12、15 天的气孔密度相比达差异极显著水平。其它差异均不显著。“四九-19”第二年下胚轴表皮的气孔密度也于第 21 天达最大值 (每 1 mm^2 为 15.22 ± 0.99 个), 与第 6、12、15、18 和 24 天的气孔密度相比差异显著, 但与第 3、9 和 27 天的气孔密度相比并无显著差异。其它天数之间也无显著差异。

从图 2:A 中看出, “油青 60 天”第一年下胚轴第 3 至 9 天的气孔密度虽然有所上升, 但幅度不大。第 12 天气孔密度迅速上升至最大值, 随后气孔密度又开始下降, 第 18 天下降至最小值后又开始缓慢上

升,上升到第24、27天的气孔密度与第3、6、9天的气孔密度无显著差异;第二年“油青60天”萌发后第3、6、9天的气孔密度虽也有波动,但波动幅度甚微,

第12天的气孔密度迅速下降至最小,但与第3、6、9、15、18、21、24天相比,差异并不显著,与第27天相比,差异达显著水平。从2年的气孔密度平均值

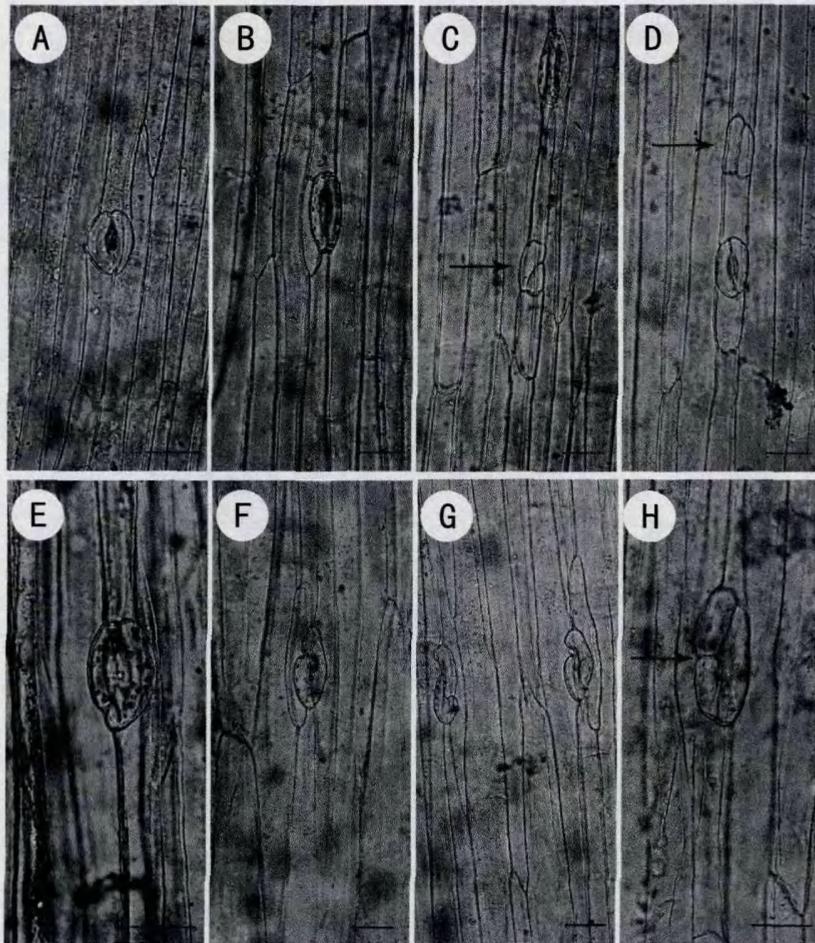


图1 菜心下胚轴普通表皮细胞和气孔 A. 萌发后第3天下胚轴表皮细胞及椭圆形气孔; B. 普通表皮细胞和狭长形气孔; C. 萌发后第6天下胚轴表皮细胞和正在发育的气孔(箭头所示); D. 萌发后第9天下胚轴表皮细胞和不对称保卫细胞(箭头所示); E. 不同大小肾形保卫细胞; F. 两个不同大小保卫细胞的气孔; G. 大小不同形态异常的保卫细胞; H. 三个保卫细胞的气孔(箭头所示)。Bar=20 μm 。

Fig. 1 Ordinary epidermal cells and stomata on the hypocotyl of *Brassica chinensis* var. *parachinensis* A. Ordinary epidermal cells and oval-shaped stomata on the hypocotyl in the 3th day after germination; B. Ordinary epidermal cells and strip-shaped stomata; C. Ordinary epidermal cells and the developing stomata on the hypocotyl in the 6th day after germination (arrowhead); D. Ordinary epidermal cells and asymmetric guard cells on the hypocotyl in the 9th day after germination (arrowhead); E. Kidney-shaped guard cells of different sizes; F. Two different guard cells of stomata; G. Guard cells with abnormal morphologies of different size; H. Stomata with three guard cells (arrowhead). Bar=20 μm .

分析,“油青60天”萌发后第3至9天的气孔密度虽有波动,但波动幅度甚微;在第12天至第21天之间,下胚轴气孔密度变化较明显;随后“油青60天”气孔密度又逐渐变化到与第3至9天无显著差异水平。从图2B中可以看出,“四九-19”第一年下胚轴第3至9天的气孔密度虽然有所下降,但下降幅度不大。第12至15天,气孔密度迅速下降至最小值,随后气孔密度开始缓慢上升至最大值后又缓慢下降。“四九-19”第二年下胚轴第3至9天的气孔密度虽然也有所变

化,但并不显著。第12至15天,气孔密度迅速下降至最小值,随后气孔密度开始缓慢上升至最大值后又缓慢下降,且变化较显著。从2年的气孔密度平均值分析,“四九-19”萌发后第3~9天的气孔密度虽有波动,但波动幅度较小;第12至27天的气孔密度均经历了一个先下降后上升再下降的过程,且最终下降至与第3、6和9天无显著差异水平。

2.3 菜心下胚轴的气孔指数

从图3可看出,“油青60天”第一年下胚轴的气

孔指数在萌发后第 3 天已达最大值($4.40 \pm 0.53\%$), 随着幼苗的生长, 气孔指数有所下降, 在第 18 天下降至($2.77 \pm 0.33\%$), 比第 3 天下降了 36.99%, 差异极显著。其它天数, 虽然气孔指数有所下降, 但差异不显著。“油青 60 天”第二年下胚轴的气孔指数在萌发后第 24 天达最大值($4.99 \pm 0.31\%$), 比第 3 天上升 19.64%, 差异显著, 比第 12 天[最小值为($3.37 \pm 0.23\%$)]上升 32.46%, 差异极显著。其它天数, 虽然气孔指数有所变化, 但差异不显著。“四九-19”第一年下胚轴的气孔指数萌发后第 21 天达最大值($5.42 \pm 0.44\%$), 比第 18 天虽上升 9.25%, 但差异不显著, 但与第 12、15、27 天的气孔指数的差异性达到 0.01

水平。第 15 天气孔指数最小, 第 18 天和第 21 天较之分别上升 30.95% 和 37.34%, 差异显著 ($P < 0.05$)。“四九-19”第二年下胚轴的气孔指数萌发后第 9 天达最大值($5.56 \pm 0.39\%$), 与第 21 天相比下降 10.43%, 差异并不显著, 但与第 3、6、12、15、18、27 天的气孔指数的差异达到显著水平 ($P < 0.05$)。

从图 3 看出, “油青 60 天”和“四九-19”在第 3~6 天的气孔指数变化不大。从种子萌发后第 9 天开始, 气孔指数均有不同程度的升高或降低, 但到第 24~27 天气孔指数又进入了较为稳定的时期, 变化幅度很小。两年的气孔指数平均值也出现同样的变化趋势。

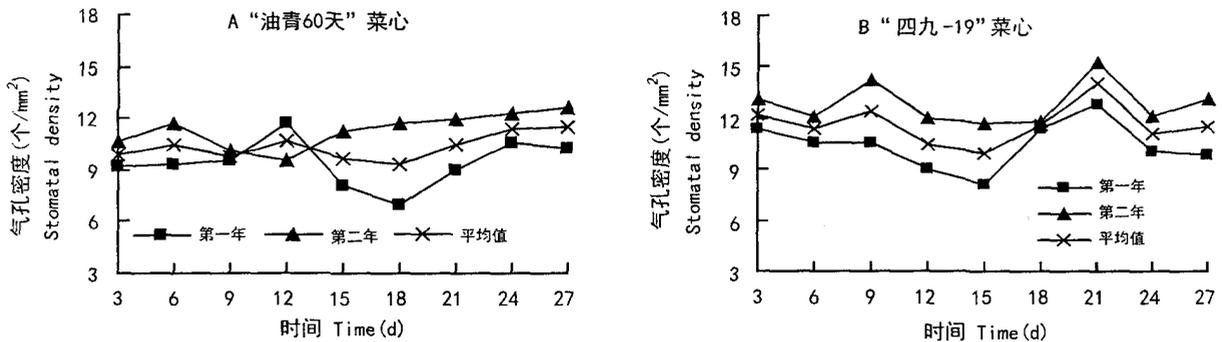


图 2 气孔密度随不同发育时间变化

Fig. 2 The dynamic changes of stomatal density in different times

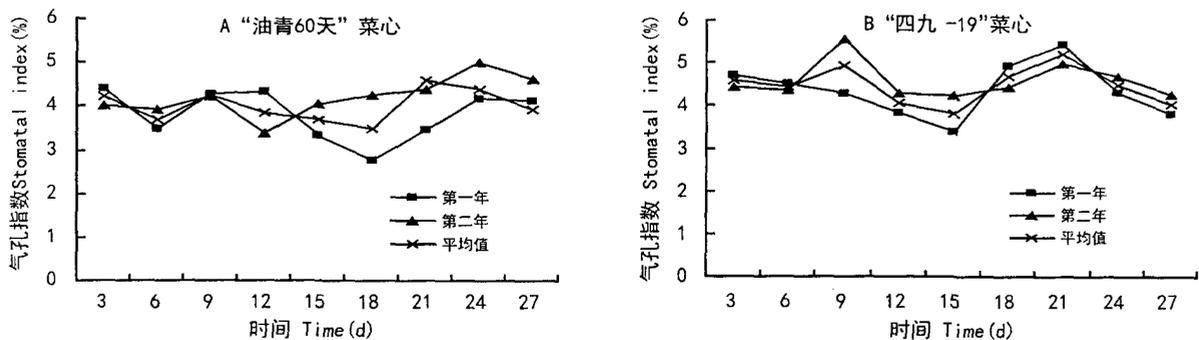


图 3 气孔指数随不同发育时间的动态变化

Fig. 3 The dynamic changes of stomatal index in different time

3 讨论

结果显示, 菜心种子萌发后第 3 天下胚轴上已有发育完全的气孔。下胚轴普通表皮细胞排列紧密, 呈长条形, 气孔随机分布在普通表皮细胞间。在幼苗生长过程中, 下胚轴上可观察到未成熟的气孔, 说明随着下胚轴的生长, 下胚轴表皮仍有气孔正在

形成。在发育成熟的气孔保卫细胞中有叶绿体, 而在未发育成熟的气孔保卫细胞中没有叶绿体。这说明下胚轴保卫细胞中叶绿体的发育与保卫细胞的发育关系密切, 叶绿体的发育与保卫细胞的发育具有同步性(何道文等, 1997)。除有肾形保卫细胞外, 还有一些异常保卫细胞围绕形成的气孔。这些异常气孔表现为两个保卫细胞不对称或有三个保卫细胞, 这与拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)下胚轴的研究

相同(Berger 等,1998)。在异常保卫细胞中也存在叶绿体,这说明在菜心下胚轴上保卫细胞异常并不影响保卫细胞内叶绿体的发育。那么保卫细胞异常的气孔是否影响气孔的正常功能呢?这还有待于进一步的研究。

研究发现,“油青 60 天”和“四九-19”下胚轴表皮 2 年平均气孔密度处于不断变化中,都经历了平稳期(第 3~9 天)、变化期(第 12~21 天)和平稳期(第 24~27 天)3 个阶段。这可能是因为萌发后的前几天,表皮细胞就迅速地进行分裂,完成了细胞数目的增加,而保卫细胞也不断发育形成,从而使得气孔密度无显著的变化;随后表皮细胞体积增大,保卫细胞并不产生,从而导致气孔密度下降。这两种菜心下胚轴都有一个气孔密度的高峰,只是出现的天数不一样。“油青 60 天”是中熟品种,在萌发后第 27 天气孔密度达最大值。“四九-19”是早熟品种,在萌发后第 21 天气孔密度达到最大值。下胚轴气孔密度达到最大值所需的时间,在中熟品种“油青 60 天”中晚一些,在早熟品种“四九-19”中早一些。下胚轴气孔密度达到最大值所需的时间恰好与它们的熟性有关,其是否可以作为鉴定菜心品种熟性的一个指标呢?还需要进一步加大对菜心品种下胚轴上的气孔密度进行研究。

“油青 60 天”和“四九-19”下胚轴表皮 2 年平均气孔指数均处于不断变化中。气孔指数反映的是 100 个表皮细胞中气孔的数目。从本研究结果中可以看出,“油青 60 天”萌发后第 24 天,气孔指数达最大值;而“四九-19”萌发后第 21 天,气孔指数达最大值,说明相同数目的表皮细胞中进行气体交换的气孔分别于萌发后第 24 天和第 21 天有一个最高值。这是否可以表明下胚轴气孔指数也与它们的熟性有

关呢?另外,本实验是在凉爽、干燥的秋季进行的。在炎热、潮湿的季节,菜心下胚轴气孔的形态分布和气孔参数是否会有变化,与这两种品种的成熟特性有什么关系呢?这还需进一步研究。

参考文献:

- 汪矛. 2003. 植物生物学实验教程[M]. 北京:科学出版社:138
- 周云龙. 2004. 植物生物学[M]. 北京:高等教育出版社:68
- Berger F, Linstead P, Dolan L, et al. 1998. Stomatal patterning on the hypocotyl of *Arabidopsis thaliana* controlled by genes involved in the control of root epidermis patterning[J]. *Development Biol*, 194(2):226-234
- Evert RF. 2006. Esau's Plant Anatomy, Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body; Their Structure, Function, and Development(3rd ed) [M]. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, Inc:214-221
- He DW(何道文), He YK(何奕昆). 1997. Studies on the development of the guard cell and chloroplast of the *Talinum paniculatum* leaf(土洋参叶片保卫细胞及其叶绿体发育研究)[J]. *J Sichuan Normal Univ; Nat Sci Edi*(四川师范学院学报·自然科学版), 18(1):14-17
- Lefebvre DD. 1985. Stomata on the primary root of *Pisum sativum* [J]. *Ann Bot*, 55(3):337-341
- Ma HQ(马会勤), Luo GG(罗国光). 1999. Morphology and development of adaxial stomatal on tooth-tips of grape leaves(葡萄叶片齿尖上表皮气孔形态及发育特征)[J]. *J China Agric Univ*(中国农业大学学报), 4(5):118-124
- Ma ZS(马之胜), Jia YY(贾云云), Wang YH(王越辉), et al. 2008. Observation of leaf stomata shapes and distribution of large and small stomatas of peach(*Prunus persica*)(桃树叶片气孔形状与大、小气孔分布的研究)[J]. *J Agric Univ Hebei*(河北农业大学学报), 31(6):69-72
- Tietz A, Urbasch I. 1977. Spaltöffnungen an der Keimwurzel von *Helianthus annuus*[J]. *Naturwissenschaften*, 64(10):533
- Yao ZH(姚兆华), Hao LZ(郝丽珍), Wang P(王萍), et al. 2007. Study on the stomata characters of leaves of the *Puionium Gaertn*(沙芥属植物叶片的气孔特征研究)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), 27(2):199-203

《广西植物》已加入中文 DOI® 注册机构

DOI 为数字信息提供了全球唯一的身份标识,为了促进期刊的全球标准化,促进学术信息的网络传播与利用,提高期刊的全球影响力。我刊从 2011 年开始,已加入由北京万方数据股份有限公司运行的中文 DOI® 注册机构。此注册机构是 IDF(国际 DOI 基金会)正式授权的 DOI 注册机构,负责开展各种中文数字资源的 DOI 注册及服务。