

# 东方百合“索邦”叶片气孔运动机理研究

张永平

(唐山师范学院 生命科学系 河北 唐山 063000)

**摘要:**以东方百合“索邦”叶片为试材,观察光下  $K^+$ 、 $Na^+$ 、蔗糖、苹果酸、 $H_2O_2$ 、 $Ca^{2+}$  等因素对叶片气孔运动的影响。结果表明: $K^+$ 、 $Na^+$ 、蔗糖、苹果酸均能促进气孔开放,并且  $Na^+$  可以部分代替  $K^+$  的作用;而  $H_2O_2$ 、 $Ca^{2+}$  则能抑制气孔开放。

**关键词:**气孔运动;气孔开度;百合

中图分类号:S 682.2<sup>+</sup>5 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2010)08-0057-03

百合 (*Lilium* spp.) 是单子叶植物亚纲百合科 (Liliaceae) 百合属 (*Lilium* L.) 多年生草本鳞茎球根植物, 是世界著名的观赏花卉之一。百合观赏价值高, 植株刚直挺秀, 花大美丽, 清雅脱俗, 常被人们视为纯洁光明、自由和幸福的象征, 是目前国际市场上十分畅销的花卉之一。叶片是植物的营养器官, 是植物与外界环境进行联系的重要器官之一, 在植物的生长、生殖中起着非常重要的作用; 气孔运动有赖于其保卫细胞的特殊结构和特殊的代谢<sup>[1]</sup>。近年来, 对不同因子作用的深入研究和重新认识, 对完善气孔运动调控机制做出了贡献。但保卫细胞和气孔运动的多种理论仍存在争议, 并且在不同的植物上存在差异。气孔运动的调节机理历来是许多植物生物学家关注的热点之一, 阐明其机理既具有重要的基础理论意义又有重要的实践意义。现以东方百合“索邦”叶片为试验材料, 研究不同因素对气孔运动的影响, 以期探索气孔运动的规律, 为东方百合的栽培提供技术支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

东方百合“索邦”叶片下表皮取材于唐山师范学院花卉示范基地。在晴天上午 9:00、室温 27~28℃及相对湿度 85%~92%条件下, 从盆栽植株上摘取发育基本一致的功能叶片, 将所取叶片放在湿润纱布上保存备用。

### 1.2 试验方法

1.2.1  $K^+$ 、 $Na^+$  的处理方法 将叶片下表皮置于 0、0.25%、0.50%、0.75%、1.00%、1.25%、1.50%、1.75%、2.00% 的 KCl 和 NaCl 溶液中, 光照下处理 30 min, 压片观察。

**作者简介:**张永平(1978-), 女, 博士, 讲师, 现从事植物生理生化科研与教学工作。E-mail: zh-yongping@163.com.

**基金项目:**唐山师范学院科学研究基金资助项目(07A06)。

**收稿日期:**2009-10-09

1.2.2 蔗糖的处理方法 将叶片下表皮置于 0、0.025、0.05、0.075、0.1、0.125、0.15、0.175、0.2 mol/L 9 个浓度梯度的蔗糖溶液中, 光照条件下处理 30 min, 压片观察。

1.2.3 苹果酸的处理方法 将叶片下表皮置于 0.01、1、10、100  $\mu$ mol/L, 1、10、100、1 000 mmol/L 的苹果酸溶液中, 光照条件下处理 30 min, 压片观察。

1.2.4  $H_2O_2$  的处理方法 取叶片下表皮, 在 MES 缓冲液中照光 1 h 诱导其开放, 将其置于 0.01、0.1、1、10、100、1 000 mmol/L 的  $H_2O_2$  溶液中, 光照条件下处理 30 min, 压片观察。

1.2.5  $CaCl_2$  的处理方法 取叶片下表皮, 在 MES 缓冲液中照光 1 h 诱导其开放, 将其置于 0.1、10、100、1 000 mmol/L 的  $CaCl_2$  溶液中, 光照条件下处理 30 min, 压片观察。

### 1.3 气孔开度测定

用图像 DT2000 分析软件测量气孔的孔径, 测量时选取 3 个视野, 且每视野随机选取 10 个开放的气孔, 取其平均值。

### 1.4 气孔保卫细胞内 $K^+$ 观察

采用亚硝酸萘酚组织化学染色法<sup>[2,3]</sup>。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同浓度 $K^+$ 、 $Na^+$ 对气孔开度的影响

2.1.1  $K^+$  和  $Na^+$  之间的相互关系 如图 1 所示, 叶表皮气孔开度随外界  $K^+$  浓度升高而增大, 然后减小, 在 1.25% 浓度处出现 1 个峰值, 并且在  $K^+$  作用下气孔开放幅度变化较大; 叶表皮气孔开度随外界  $Na^+$  浓度升高而增大, 然后减小, 在 1% 浓度处出现 1 个峰值, 但在  $Na^+$  作用下气孔开放幅度变化明显趋于平缓。在 2 种处理的最后阶段气孔开度又出现小幅度的增大。气孔开度随  $K^+$  浓度和  $Na^+$  浓度的变化表现出不同的反应模式, 当  $Na^+$  作用时, 气孔张开最大值出现在 1% 浓度, 而当  $K^+$  作用时则出现在 1.25% 浓度。因此当浓度在 1.00% 范围内,  $Na^+$  促使气孔开放和气孔开度增加的效果显著好于相应  $K^+$  浓度, 而当浓度高于 1.00% 时, 结果恰好相反。

2.1.2  $K^+$  定位 由图 2 和图 3 可知, 保卫细胞内  $K^+$  最后形

成内部是黄色,外层是黑色的黄黑色结晶物质。表皮细胞由于也含有 $K^+$ ,所以表皮细胞中也有弥散的黄黑色颗粒,但保卫细胞中的颗粒要远远多于表皮细胞,并且颗粒的分布相对

集中于细胞中的特定部位,由此初步判断保卫细胞中的 $K^+$ 定位于细胞中的液泡处<sup>[3]</sup>。

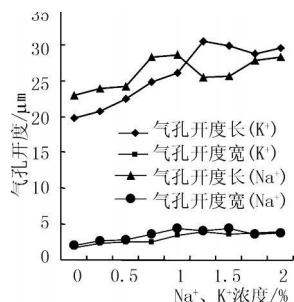


图1 不同浓度 $Na^+$ 、 $K^+$ 对气孔开度的影响

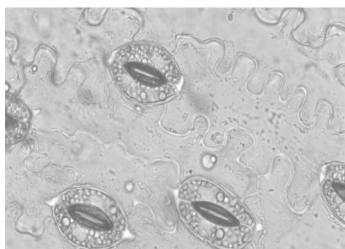


图2 百合气孔对照(40×)

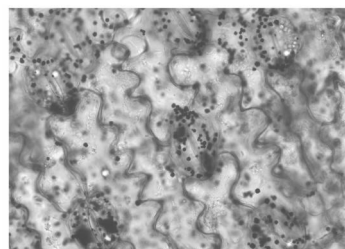


图3 亚硝酸钴钠染色后的气孔(40×)

## 2.2 不同浓度蔗糖对气孔开度的影响

蔗糖对气孔开度的影响如图4所示,叶表皮气孔开度随外源蔗糖浓度升高而增大,然后减小,呈现出一个峰值,最大值出现在0.125 mol/L浓度处。峰值出现以前气孔开度变化比较平缓,而在峰值出现以后气孔开度

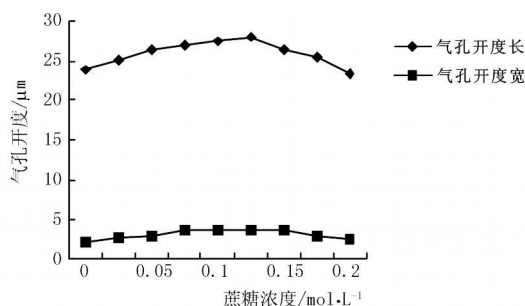


图4 蔗糖对气孔开度的影响

变化幅度较大,且气孔开度的宽度变化要远远大于气孔长度变化,气孔开度长度由最初的23.81  $\mu m$ 到最大开度28.06  $\mu m$ ,开度增加17.8%;而气孔宽度由最初的2.10  $\mu m$ 到最大的3.60  $\mu m$ ,气孔开度增加了71.4%。

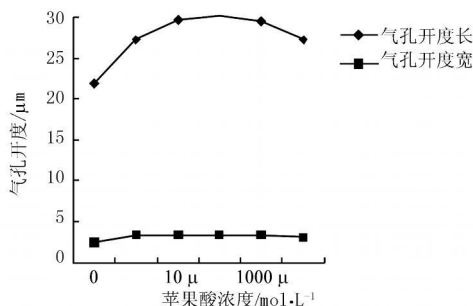


图5 苹果酸对气孔开度的影响

## 2.3 不同浓度苹果酸对气孔开度的影响

苹果酸对气孔开度的影响如图5所示,百合下表皮气孔开度随苹果酸浓度的升高先增加而后减小,呈现出1个峰值,最大值出现在100  $\mu mol/L$ 浓度处。气孔开度的宽度变化与气孔长度变化大体相同,气孔开度的长度由最初的21.89  $\mu m$ 增加到30.16  $\mu m$ ,开度增加37.7%;而气孔宽度由最初的2.48  $\mu m$ 减少3.42  $\mu m$ 增加了37.9%。而气孔宽度变化则比较平缓,并且在峰值之前气孔变化幅度较之后大。

## 2.4 不同浓度 $H_2O_2$ 对气孔开度的影响

$H_2O_2$ 对气孔开度的影响如图6所示,不同浓度的 $H_2O_2$ 均表现出促进气孔关闭的效应,且随着外源 $H_2O_2$ 的浓度的增加,气孔开度逐渐减小;气孔开度的宽度变化比气孔长度变化较为明显,气孔开度的长度由最初的

30.46  $\mu m$ 减少到25.78  $\mu m$ ,降低15.4%;气孔宽度由最初的3.85  $\mu m$ 增加到2.32  $\mu m$ 降低39.7%。当 $H_2O_2$ 浓度达到1000 mmol/L(1 mol/L)时,气孔已经完全关闭,并使叶片受到一定的伤害,且当把表皮条转入没有 $H_2O_2$ 的环境中仍不能恢复。

## 2.5 $Ca^{2+}$ 对气孔开度的影响

$Ca^{2+}$ 对气孔开度的影响如图7所示, $Ca^{2+}$ 可以显著抑制气孔的张开,试验所用浓度均表现出促进气孔关闭的效应,气孔长度随 $Ca^{2+}$ 浓度升高而减小。气孔长度由最初的29.16  $\mu m$ 减少到26.45  $\mu m$ ,减少9.3%;气孔宽度由最初的2.63  $\mu m$ 到1.69  $\mu m$ 减少35.7%。这表明 $Ca^{2+}$ 对气孔开度长度的变化较宽度的变化明显。当浓度达到1 mol/L时大部分气孔已被诱导关闭。

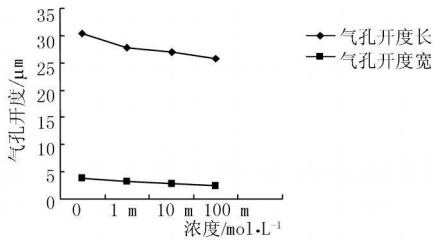


图6 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 对气孔开度的影响

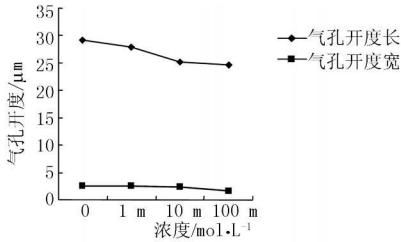


图7 CaCl<sub>2</sub> 对气孔开度的影响

3 讨论

气孔运动是一个复杂的生理活动,它受许多内、外因子的影响。其中气孔运动的渗透调节理论中心是K<sup>+</sup>出入保卫细胞,改变渗透势而导致水分的流动,引起气孔开闭<sup>[2]</sup>。研究发现K<sup>+</sup>、Na<sup>+</sup>对气孔的影响和离子浓度有关,低浓度时Na<sup>+</sup>较K<sup>+</sup>明显,高浓度时则相反。由此可知Na<sup>+</sup>可以部分代替K<sup>+</sup>,可能Na<sup>+</sup>和K<sup>+</sup>在许多方面很相似,只是Na<sup>+</sup>作用效果不如K<sup>+</sup><sup>[2]</sup>。有研究表明K<sup>+</sup>及拮抗离子不能完全解释气孔开度范围的渗透要求,因此蔗糖促进气孔的开放是K<sup>+</sup>学说的重要补充。Talbot等追踪了保卫细胞中蔗糖含量的变化,发现在午后蔗糖取代K<sup>+</sup>而成为保卫细胞的主要渗透物质,他们进而提出了2个不同的渗透调节阶段:依赖于K<sup>+</sup>的午前阶段和蔗糖起主导作用的午后阶段<sup>[4]</sup>。许多研究表明气孔开闭过程中的保卫细胞中蔗糖浓度分别增加和降低已成不争的事实<sup>[3,5]</sup>。但很少有外源蔗糖能否促进气孔开放的研究。该试验发现外源蔗糖在光下能显著促进气孔的开放,开度随蔗糖的浓度升高呈现出先增加后降低的趋势,其最大开度时的蔗糖浓度为0.125 mol/L。大多数保卫细胞气孔张开时淀粉含量下降,气孔关闭时增加,而苹果酸含量的变化正好相反<sup>[5]</sup>。外源苹果酸在光照条件下确实可以促进百合下表皮气孔开放,并且效果比较理想。苹果酸进入保卫细胞引起气孔的快速运动,之后随着保卫细胞中苹果酸浓度的升高,细胞对苹果酸敏感度降低。

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>是氧化性胁迫中了解较为深入的一种活性氧,虽然它的活性小,但存留时间较长,可以扩散到细胞的各个部位<sup>[6]</sup>。研究发现光条件下H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>明显促进百合

叶片下表皮气孔关闭,通过H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>介导了光、暗对气孔运动的调节。另外Ca<sup>2+</sup>是植物体内重要的信号物质<sup>[7]</sup>。逆境条件下保卫细胞胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度会上升,引起气孔关闭。加入一些螯合剂(如EGTA)或阳离子通道阻塞剂(如CoCl<sub>2</sub>),气孔的关闭受抑制<sup>[8]</sup>,保卫细胞质膜和细胞器膜上都有Ca<sup>2+</sup>通道,可以通过2个途径引起保卫细胞胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度发生变化。液泡是一个巨大的Ca<sup>2+</sup>仓库,它通过液泡膜上Ca<sup>2+</sup>通道的转运可引起胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度发生变化,在外界环境因素刺激的诱导下,保卫细胞外的Ca<sup>2+</sup>通过保卫细胞质膜通道进入胞质,从而引起胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度上升,胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度上升的同时,气孔孔径逐渐变小,甚至完全关闭;气孔有时也有随着胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度下降而慢慢张开的现象。

参考文献

[1] 潘瑞炽.植物生理学[M].2版.北京:高等教育出版社,2004.172-173.  
[2] 郑小林,钟炳辉,陈荣清.Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup>对富钾植物离体叶片气孔运动的影响[J].西北植物学报,2004,24(2):320-323.  
[3] 马丁ES,唐金ME,史帝文RA.气孔[M].北京:科学出版社,1987:24-36.  
[4] 李关荣,何凤发,Outlaw Jr WH.外源蔗糖促进蚕豆离体表皮上气孔开放的研究[J].西南农业大学学报,2000,22(1):10-13.  
[5] 张蜀秋,刘新,姜成后.保卫细胞碳代谢与气孔运动[J].植物学通报,2000,17(4):345-351.  
[6] 张媛华,宋喜贵,余小平.外源过氧化氢对蚕豆气孔运动的影响[J].陕西师范大学学报(自然科学版),2005,33(2):94-97.  
[7] 杨惠敏,王根轩.保卫细胞胞质中Ca<sup>2+</sup>浓度变化与气孔开闭之间的关系[J].植物生理学通讯,2001,37(3):269-273.  
[8] Schwartz A. Role of Ca<sup>2+</sup> and EGTA on Stomatal Movements in *Com-melina communis* L.[J]. Plant Physiol 1985 79: 1003-1005.

Study on Mechanism of Leaf Stoma Movement of *Lilium Oriental* ‘Sorbonne’

ZHANG Yong-ping

(Department of Life Science, Tangshan Teachers' College, Tangshan, Hebei 063000)

**Abstract:** Effects of K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, Sucrose, malic acid, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Ca<sup>2+</sup> on stomatal movement in *Oriental Hybrids* was studied in the light. The results indicated that: the K<sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, sucrose, malic acid can promote stomatal opening, and Na<sup>+</sup> can replace part of the role of K<sup>+</sup>; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, Ca<sup>2+</sup> can inhibit stomatal opening.

**Key words:** stomatal movement; stomatal aperture; lily