

# 葛(豆科)叶的解剖学研究

刘孟奇\*, 罗晓铮, 王春雷

(河南中医学院药学院, 郑州 450008)

**摘要:** 利用光学显微镜和扫描电镜观察了葛(*Pueraria lobata*)叶的解剖学特征。结果表明,葛叶片的上、下表皮都只有一层表皮细胞,上表皮比下表皮厚。上、下表皮都有腺毛和非腺毛。气孔主要分布在下表皮,下表皮的气孔密度为 $(261 \pm 17) \text{ mm}^{-2}$ ,上表皮只有 $(6 \pm 3) \text{ mm}^{-2}$ 。叶肉由两层栅栏组织细胞和一层海绵组织细胞构成。叶肉细胞中有丰富的叶绿体。在栅栏组织和海绵组织之间有一层平行于叶脉的薄壁细胞。叶脉中含有大量的草酸钙晶体。葛叶的这些形态特征与其喜阳、耐旱的特点相适应。

**关键词:** 葛; 叶解剖; 气孔

doi: 10.3969/j.issn.1005-3395.2012.04.011

## Leaf Anatomy of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (Leguminosae)

LIU Meng-qi\*, LUO Xiao-zheng, WANG Chun-lei

(School of Pharmaceutical Sciences, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China)

**Abstract:** Leaf anatomic structure of *Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi (Leguminosae) was observed under light and scanning electron microscopes. The results showed that both adaxial and abaxial epidermis only consist of one layer of cell. The adaxial epidermis was thicker than abaxial epidermis. There are glandular and non-glandular trichomes on both epidermis. The stomata were mainly distributed on abaxial surface with density of  $(261 \pm 17) \text{ mm}^{-2}$ , compared to  $(6 \pm 3) \text{ mm}^{-2}$  on the adaxial epidermis. The mesophyll consist of two layers of palisade parenchyma cell and one layer of spongy parenchyma cell, both are rich in chloroplasts. There was one layer of parenchyma cell exit between palisade tissue and spongy parenchyma tissue. Many calcium oxalate crystals distributed in venation. The morphological characteristics of *Pueraria lobata* leaves were helpful to adapt to heliophytic and xerophytic environment.

**Key words:** *Pueraria lobata*; Leaf anatomy; Stomata

葛[*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi]俗称野葛,为豆科(Leguminosae)葛属多年生落叶藤本植物。葛原产于亚洲东部温带和亚热带地区,在俄罗斯、朝鲜、日本、越南、印度、马来西亚等国家都有广泛分布或栽培。在我国,葛分布极广,除新疆、西藏外,各省区均有野生分布。和豆科多数植物一样,葛根和固氮菌形成共生关系,可以固氮。在我国,野葛的干燥根茎为传统中药葛根,在亚热带和温带的一些地区葛叶被作为饲料<sup>[1]</sup>,近年来国外有不少研究

报道利用葛在贫瘠土壤上恢复植被<sup>[2]</sup>。

因为种子数量较少,葛的繁殖主要是营养繁殖。葛对土壤要求不高,在中性和微酸性土壤中都能生长。葛的适应性极强,喜阳而不耐阴,潮湿土壤有利于葛生长,但也能忍耐一定程度的干旱。葛生长繁殖很快,具有异常强大的生存能力,且根系发达而难以挖除,所以可用于防止水土流失。但是由于葛侵入农田,会影响作物生长,已成为一种新的有害入侵植物,早在20世纪50年代葛在美国被

收稿日期: 2011-12-14

接受日期: 2012-04-05

基金项目: 河南中医学院博士启动基金项目(BSJJ-2009-32)资助。

作者简介: 刘孟奇(1971~), 博士, 讲师, 主要从事药用植物资源方面的研究。

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: 2009liumq@163.com

定为入侵杂草<sup>[3]</sup>。现美洲、欧洲和非洲都有葛分布。

叶片是植物进行光合作用和蒸腾作用的主要器官,叶的形态结构与周围环境有密切联系,对环境较敏感且可塑性较大,其结构特征最能体现环境因子对植物的影响或植物对环境的适应性。葛叶互生,三出复叶,小叶的形态结构相似。本文对葛小叶的形态解剖结构进行了观察,探讨了葛分布范围广、适应性强的形态适应性,为研究葛的入侵机制和防除措施提供解剖学资料。

## 1 材料和方法

葛 [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] 叶片于 2011 年 9 月采自河南中医学院中药园,由河南中医学院罗晓铮副教授鉴定,凭证标本存于河南中医学院标本馆。选取幼嫩和成熟小叶,用徒手切片、石蜡切片和制作透明叶的方法观察叶的横切面和表皮。

**石蜡切片** 选取成熟小叶片,在距叶尖 1/2 处的叶片中部和边缘,切取 0.5~1.0 cm<sup>2</sup> 的小方块,用 FAA 固定 48 h,采用梯度酒精(50%、70%、85%、95%、100%)脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,LEICA-2016 轮转式切片器切片,切片厚度 20~25 μm,采用 0.5% 甲苯胺兰-O 染色,中性树胶封片,在 LEICA-DM3000 光学显微镜下观察并摄像。

**透明叶** 选取幼嫩和成熟小叶片,切成面积为 1~2 cm<sup>2</sup> 的小方块,然后在 10% NaOH 中浸泡,待叶片完全变黑或是变褐后,放于 10% 次氯酸钠中脱色 48 h,然后置于饱和水合氯醛中透明,再用清水流水漂洗,梯度酒精脱水,于纯二甲苯中透明后用中性树胶封片,在 LEICA-DM3000 光学显微镜下观察并摄像。

**扫描电镜观察** 将 FAA 中固定的叶片剪成大小约 0.6 cm × 0.6 cm 的方块,梯度酒精(50%、70%、85%、95%、100%)脱水,转入乙酸异戊酯,材料在 CO<sub>2</sub> 临界点干燥后,用双面胶带将材料粘贴于样品台上,喷膜镀金后,用 SE-4800 型扫描电镜 (SEM) 观察表皮特征并照相。

照片经 Photoshop 8.0 图像处理系统处理,并测量和计算气孔密度、表皮细胞厚度、表皮毛长度等特征,随机测 20 个数值,取平均值。

## 2 结果和分析

葛叶片由表皮、叶肉和叶脉 3 部分组成。根

据其叶肉组成和细胞排列情况,葛叶片为异面叶。

### 2.1 表皮

葛的幼叶和成熟叶上、下表皮都有非腺毛和腺毛(图 1: A,B; 图 2: A)。非腺毛由 3 个细胞构成,包括基细胞、柄细胞和 1 个长的顶细胞(图 2: B),非腺毛的表面均匀分布着一些疣点(图 1: C)。腺毛由一个嵌入表皮的基细胞、4 个细胞构成的柄以及至少两个细胞构成的头部构成(图 2: D)。腺毛从基部向上逐渐膨大,长度为 27~33 μm(图 1: C)。腺毛头部细胞中有叶绿体(图 2: D)。非腺毛在幼叶的上、下表皮较为密集,长度多数为(1200 ± 300) μm(图 2: A)。在葛叶成熟过程中非腺毛逐渐稀疏(图 1: A,B),叶片成熟时非腺毛大多脱落,只留下圆形的单细胞毛基(图 2: C)。中等成熟和成熟叶的非腺毛长度多为 100~300 μm(图 1: A,B)。腺毛在幼叶上就已经发育完成(图 2: A),但下表皮腺毛密度要大些,随着叶片发育成熟,上、下表皮上腺毛的密度逐渐减小。

葛叶上表皮的气孔很少(图 2: E),气孔主要分布于下表皮(图 1: D; 图 2: F)。气孔散生于脉间区,为平列型,椭圆形,气孔取向无规则。气孔由两个肾形保卫细胞构成,保卫细胞外侧没有副卫细胞(图 2: F)。两个保卫细胞的位置低于表皮细胞(图 1: E),气孔下方可见孔下室(图 2: G)。气孔的长轴长度为 18.2~21.5 μm,短轴长度为 15.8~18.7 μm。气孔开孔长度只有 9.2~11.3 μm。上表皮气孔分布很少且分布不均匀,气孔密度为(6 ± 3) mm<sup>-2</sup>;下表皮气孔密度为(261 ± 17) mm<sup>-2</sup>。

葛叶的上、下表皮均为单层细胞,上表皮细胞形状不规则,相互嵌合,排列紧密,无细胞间隙,垂周壁深波状弯曲(图 2: E)。下表皮细胞形状也不规则,垂周壁深波状弯曲,比上表皮细胞略小(图 2: F)。上表皮细胞厚度为 17~20 μm,下表皮为 8~11 μm,上表皮细胞明显比下表皮细胞厚。上表皮细胞外壁加厚,外壁的外面覆盖着明显的角质层(图 2: G),角质层的外面还分布有一层蜡质(图 1: F),使表皮细胞的轮廓模糊不清。

### 2.2 叶肉

葛叶厚度约 120~130 μm。叶肉组织分为栅栏组织和海绵组织。栅栏组织有两层细胞,外层的细胞比内层的长些(图 2: G),厚度约占整个叶肉组织

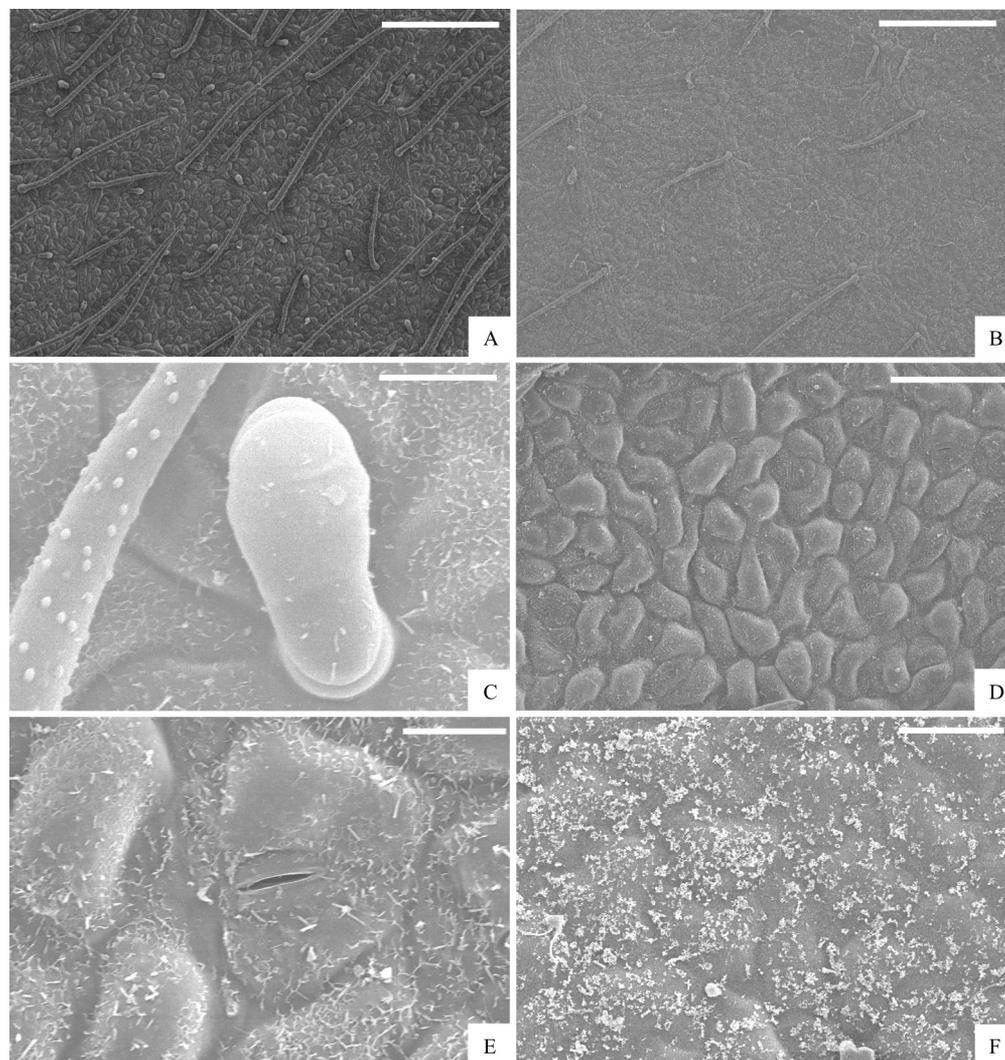


图1 葛叶表皮的扫描电镜观察。A. 中等成熟叶片下表皮上的腺毛和非腺毛; B. 成熟叶下表皮上稀疏的非腺毛; C. 下表皮腺毛和非腺毛上的疣点; D. 下表皮的表皮细胞和气孔; E. 气孔的放大; F. 成熟叶片的上表皮。标尺: A,B: 200  $\mu\text{m}$ ; C,E: 20  $\mu\text{m}$ ; D: 100  $\mu\text{m}$ ; F: 50  $\mu\text{m}$

Fig. 1 Leaf epidermis of *Pueraria lobata* under scanning electron microscope. A. Glandular and non-glandular trichomes on abaxial epidermis of moderate mature leaf; B. Sparse non-glandular on abaxial epidermis of mature leaf; C. Verruca on glandular and non-glandular trichomes of abaxial epidermis; D. Epidermal cells and stomata on abaxial surface; E. Magnification of stoma; F. Adaxial epidermis of mature leaf. Bars: A,B: 200  $\mu\text{m}$ ; C,E: 20  $\mu\text{m}$ ; D: 100  $\mu\text{m}$ ; F: 50  $\mu\text{m}$

厚度的55%~70%。栅栏组织细胞排列较为紧密,但是栅栏组织细胞为圆柱形,细胞间接触的地方不多,所以细胞间隙大;栅栏组织细胞的叶绿体大,占据了细胞体积的大部分。海绵组织细胞数量较少,只有1层细胞,形状不规则,常呈长椭圆形、矩圆形或不规则形,细胞排列较疏松,有较大的细胞间隙,气孔下有较大气腔,细胞多与下表皮细胞垂直排列(图2: G),海绵组织细胞中的叶绿体也较大,但叶绿体数量比栅栏组织细胞的少。

### 2.3 叶脉

从葛叶的横切面中还观察到,中型叶脉束鞘的

上下无叶肉组织,而是一些无叶绿体的薄壁组织,属于维管束鞘的延伸,将叶片上、下表皮层联系起来(图2: G)。并且在栅栏组织和海绵组织中间往往有一层平行于叶脉的无叶绿体的薄壁细胞,这也属于维管束鞘的延伸,细胞中有少量的叶绿体或没有叶绿体。葛叶的中、小型叶脉和最小叶脉被一层由薄壁细胞构成的束鞘包被着。束鞘细胞排列紧密,细胞纵长和叶脉延伸的方向平行。可见大量草酸钙晶体积聚在中型叶脉中(图2: H)。葛的叶脉维管束有木质部和韧皮部两部分,木质部在上,韧皮部在下,属于外韧维管束(图2: I)。

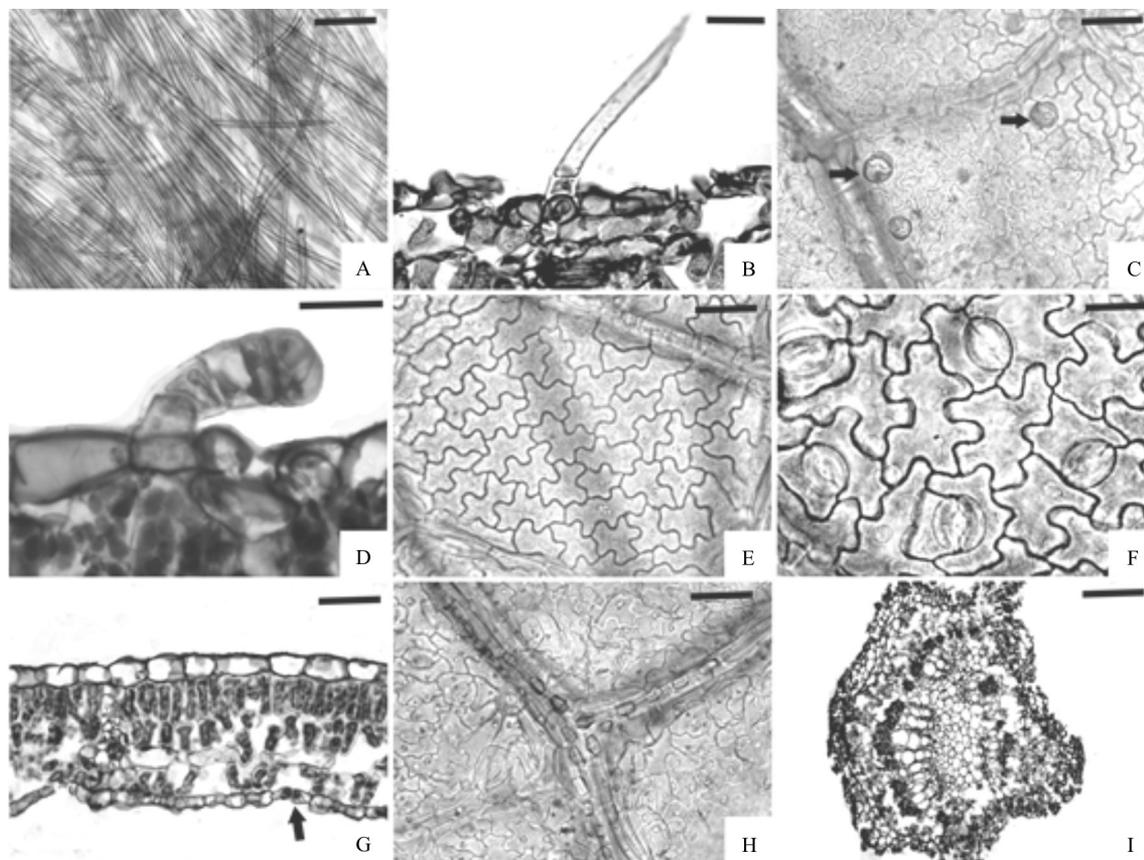


图2 葛叶的解剖结构。A. 幼叶上表皮的密集非腺毛; B. 非腺毛的结构,由3个细胞构成; C. 成熟叶片上表皮特征,箭头示非腺毛毛基; D. 表皮上的腺毛; E. 上表皮; F. 下表皮; G. 栅栏组织由两层细胞,海绵组织只有一层细胞构成,其间有一层平行的薄壁细胞,箭头指示下表皮的气孔; H. 透明叶片中在叶脉观察到的草酸钙晶体; I. 中脉的横切,示中脉中的维管束。标尺: A: 200  $\mu\text{m}$ ; B,D,F: 20  $\mu\text{m}$ ; C,E,G,H: 50  $\mu\text{m}$ ; I: 100  $\mu\text{m}$

Fig. 2 Leaf anatomy of *Pueraria lobata*. A. Non-glandular trichomes on adaxial epidermis of young leaf; B. Non-glandular trichome consists of three cells; C. Adaxial epidermis of mature leaf, showing non-glandular trichome base; D. Glandular trichome on epidermis; E. Adaxial epidermal; F. Abaxial epidermal; G. Palisade and spongy tissues consist of two and one layer(s) of parenchyma cell, and a layer of parallel parenchyma cell exit in middle of them; H. Calcium oxalate crystals in venation of clear leaf; I. Transverse section of venation, showing vascular bundle. Bars: A: 200  $\mu\text{m}$ ; B,D,F: 20  $\mu\text{m}$ ; C,E,G,H: 50  $\mu\text{m}$ ; I: 100  $\mu\text{m}$

### 3 讨论

葛叶的上、下表皮上都有腺毛和非腺毛,尤其是幼叶的上、下表皮上密被长长的非腺毛。毛被被认为是一种增加叶片表面界面层阻力的重要生理生态特征<sup>[4]</sup>。研究表明,相比没有毛被的叶,幼叶上的毛被可以减少水分过度散失,尤其是在有风的情况下,且水的利用效率和毛被的密度呈正相关<sup>[5]</sup>。另外,毛被对于叶维持合适的温度是有利的<sup>[6]</sup>。由于毛对光具有反射作用,对热有阻隔作用,因此叶片可以避免因为强光和高温而受到伤害。随着叶片的发育成熟,非腺毛多数脱落,只剩下一些短的非腺毛,但是成熟叶上表皮发育完善的角质层和蜡质层能减少叶片水分散失,也可避免强光和高温的伤害。葛叶下表皮腺毛的密度大,由于真菌等病

源微生物容易从气孔(葛叶气孔主要分布在下表皮)侵入叶片,这些腺毛分泌物可能起到一定的防御作用。葛叶的上表皮气孔少,气孔主要分布在下表皮,这是对干旱环境的适应。因为叶片下表面的温度要比上表面的低,气孔的这种分布式样可以减少水分从气孔蒸发,提高水分利用效率,并且可以增加叶内二氧化碳浓度<sup>[7-9]</sup>,从而可以提高光合作用速率。气孔的这种分布式样可能也有防止大气中的尘埃或雨露堵塞气孔的作用。另外,葛叶的气孔微下陷,也在一定程度上减少了水分的散失。葛叶表皮细胞的厚度和中生植物叶片的接近,上表皮外面覆盖着较厚的角质层,一方面可以防止高温下叶片内水分的过度散失,因此具有一定的抗旱能力;另一方面,可以防止强光对叶内部细胞的灼伤,以保证光合作用的正常进行。

葛叶中栅栏组织远比海绵组织发达,栅栏组织有两层细胞,上层细胞排列紧密,下层细胞要疏松些,但是其细胞间隙比海绵组织的要小许多,这使得叶片上表面即受光面排列更多的栅栏组织细胞。另外,栅栏组织细胞中的叶绿体不仅体积大,而且数量多,有利于高效吸收光能,显示了葛叶较强的阳生性质。气体交换和蒸腾作用是葛叶海绵组织的主要机能,海绵组织只有1层细胞,细胞间隙大,细胞内所含的叶绿体比栅栏组织略少,所以海绵组织光合作用效率低于栅栏组织。总之,葛叶栅栏组织和海绵组织的结构和光合作用特性有明显差异,栅栏组织的光合能力要大于海绵组织,更有利于葛叶的光合作用和光能的有效利用。栅栏组织与叶片厚度的比值大,表明其对光能的利用效率越高<sup>[10]</sup>。叶肉组织中的叶绿体大而密,甚至连腺毛中都有叶绿体,叶绿体数量的增加有利于提高光合作用效率,促进葛快速生长。葛叶的结构特点说明葛属于阳性植物。

葛作为阳性植物,叶片又大,需要发达的叶脉来运输补充水分和机械支持作用。Brodrigg等<sup>[11]</sup>的研究表明,叶脉密度对于保持植物的光合作用能力是非常重要的。植物通过叶片的气孔来吸收二氧化碳;当气孔张开时,植物体内的水分便会部分流失,因此植物通过叶脉来更有效地输送水分。葛的叶脉发育完善,小叶的中脉木质部发达,导管直径大,大大增强了水分输导能力。叶的中、小型脉和最小的叶脉有束鞘包被着,束鞘对于物质进出维管组织有制约作用,维管组织并不直接与叶肉组织接触。束鞘还增加了叶脉和叶肉细胞的接触面积,中型叶脉束鞘是维管束鞘的延伸,可将叶脉中的水分运输到叶表皮,叶片表皮细胞通过侧向接触面将束鞘运输来的水分进行水平运输,从而代替了部分叶脉水平运输的作用。维管束鞘的伸展部分,即栅栏组织和海绵组织间的1层薄壁细胞,有利于叶肉组织和维管组织进行水分、无机盐和光合作用产物等的物质交换。另外,中型叶脉束鞘上下方维管束鞘的延伸还具有机械支持的作用。总的来说,发育完善的各级叶脉、维管束鞘及其延伸部分,使得葛叶脉具有强大的水分运输功能和机械支持作用,有利于葛高效进行光合作用以及适应干旱环境,因此,葛叶在适度缺水下不会萎缩变形。葛的叶脉中还有大量的草酸钙晶体,草酸钙晶体多呈菱形,位

于细胞中央,充满了细胞腔隙,大量含晶细胞的存在,改变了细胞渗透压,有利于提高组织的吸水和持水力,从而提高了葛的耐旱性;同时聚集体内过多的盐分,也可以加强叶的机械性能,避免在强光、高温环境中因失水而萎缩变形,达到保护内部叶肉细胞免受伤害的目的。

综上所述,葛适应性极强,喜阳而不耐阴,能耐一定程度的干旱。葛叶的解剖结构表现出其具有极为良好的生态适应性,体现出生存能力强、分布广等特点。

### 参考文献

- [1] Bogdan A V. Tropical Pasture and Fodder Plant: Grasses and Legumes [M]. London: Longman, 1977: 391–392.
- [2] Lynd J Q, Ansmann T R. Exceptional forage regrowth, nodulation and nitrogenase activity of kudzu [*Pueraria lobata* (Willd.) Ohwi] grown on eroded Dougherty loam subsoil [J]. J Plant Nutr, 1990, 13(7): 861–886.
- [3] Britton K O, Orr D, Sun J. Kudzu [M]// van Driesche R, Blossey B, Hoddle M, et al. Biological Control of Invasive Plants and Weeds in the Eastern United States. Washington, D C: USDA Forest Service Publication USA, 2002: 1–413.
- [4] Ehleringer J. Annuals and perennials of warm deserts [M]// Chabot B F, Mooney H A. Physiological Ecology of North American Plant Communities. New York: Chapman and Hall, 1985: 162–180.
- [5] Schuepp P H. Tansley review: No. 59 Leaf boundary layers [J]. New Phyt, 1993, 125(3): 477–507.
- [6] Meinzer F, Goldstein G. Some consequences of leaf pubescence in the Andean giant rosette plant *Espeletia timotensis* [J]. Ecology, 1985, 66(2): 512–520.
- [7] Monteiro W R, de Castro M M, Giulietti A M. Aspects of leaf structure of some species of *Leiothrix* Ruhl. (Eriocaulaceae) from the Serra do Cipó (Minas Gerais, Brazil) [J]. Rev Bras Bot, 1985, 8(1): 109–125.
- [8] Dickison W C. Integrative Plant Anatomy [M]. San Diego: Harcourt Press, Academic Press, 2000: 295–312.
- [9] Rost T L, Barbour M G, Stocking C R, et al. Plant Biology [M]. 2nd ed. Belmont CA: Thomson Brooks/Cole, 2006: 61–67.
- [10] Yang K J, Zhang X P, Zhang X W, et al. Study on anatomical structure of leaves of rare plant *Emmenopterys henryi* Oliv [J]. Bull Bot Res, 2007, 27(2): 195–198.  
杨开军, 张小平, 张兴旺, 等. 稀有植物香果树叶解剖结构的研究 [J]. 植物研究, 2007, 27(2): 195–198.
- [11] Brodrigg T J, Field T S, Sack L. Viewing leaf structure and evolution from a hydraulic perspective [J]. Funct Plant Biol, 2010, 37(6): 488–498.