

浙江大学实验报告

专业: 生物科学
姓名: 蒋贤迪
学号: 3240105782
日期: 2025.9.24
地点: 生物实验中心-312

课程名称: 生态学基础及实验 指导老师: 何磊 实验类型: 观测
实验名称: 外源刺激诱导植物气孔开度变化测量 成绩: 组员:

一、实验目的和要求

1. 实验目的

- (1) 了解气孔结构和气孔运动原理;
- (2) 掌握从蚕豆叶片表皮撕取技术;
- (3) 掌握气孔开度的基本测量方法。

2. 实验要求

- (1) 数据分析和绘图: 以不同处理 (Ctrl, Solution A, Solution B) 为横坐标、气孔开度 (经标准化的气孔宽度, 无单位) 为纵坐标
- (2) 已知脱落酸的气孔开度抑制效果大于水杨酸, 基于实验结果对 A、B 溶液分别是哪一种溶液做出判断

二、实验内容和原理

1. 气孔 (stoma/stomate)

- 气孔是存在于叶片、茎以及其他器官表皮中的孔隙
- 气孔是植物与外界交换气体的主要门户, 能控制叶片内部气腔与外界大气之间的气体交换速率
- 气孔由两个保卫细胞相围而成, 保卫细胞通过形态的改变调节气孔的开合

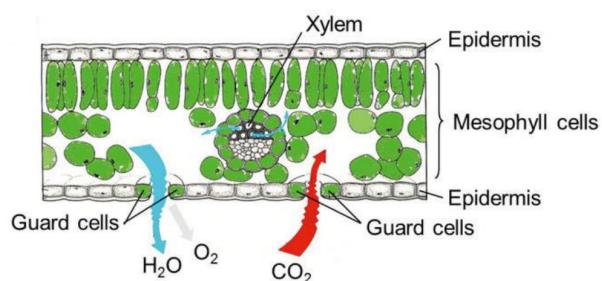


Figure 1: 气孔与气体交换示意图

2. 气孔的分布

- 气孔普遍存在于植物的叶和茎的表皮，主要位于叶片下表皮。
- 有些植物的花瓣、萼片、果实（苹果、葡萄）和地下茎（马铃薯块茎）的表面也有气孔存在。
- 多数沉水植物没有气孔。
- 如右图
 - (A) 野生型拟南芥中均匀间隔分布的气孔
 - (B) *too many mouths* 突变体中成簇分布的气孔

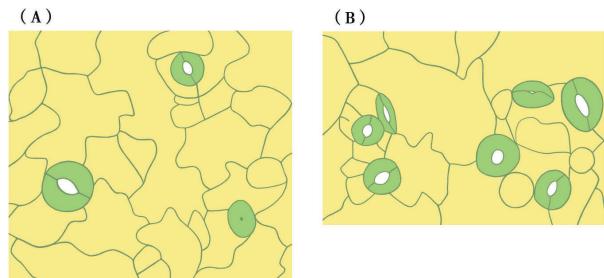


Figure 2: 野生拟南芥中的气孔（源自《植物生物学》第一版 图 5-59）

3. 气孔的结构

气孔由一对保卫细胞被副卫细胞所围绕，如右图所示，其中：

- **Guard Cells:** 保卫细胞，构成气孔的主体。
- **Stomatal Pore:** 气孔隙，气体进出的通道。
- **Subsidiary Cell:** 副卫细胞，围绕在保卫细胞外侧。
- **Epidermal Cell:** (普通) 表皮细胞。
- **Thick Inner Wall:** (保卫细胞) 加厚的内壁。
- **Chloroplast:** 叶绿体。
- **Vacuole:** 液泡 (其膨压变化控制开闭)。

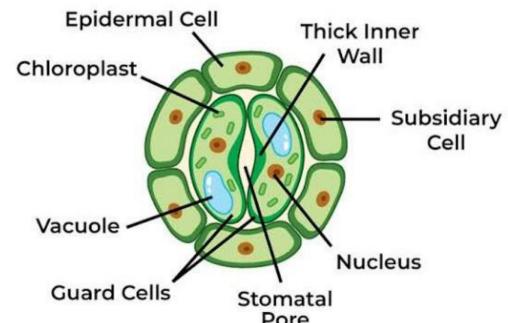


Figure 3: 气孔结构示意图

4. 保卫细胞的类型

- **肾形:** 大多数双子叶植物和许多单子叶植物、裸子植物、蕨类和藓类的保卫细胞，如 (a)(c) 拟南芥 (肾形)。
- **哑铃形:** 禾本科植物和部分莎草科植物的保卫细胞，如 (b) 大麦 (哑铃形)

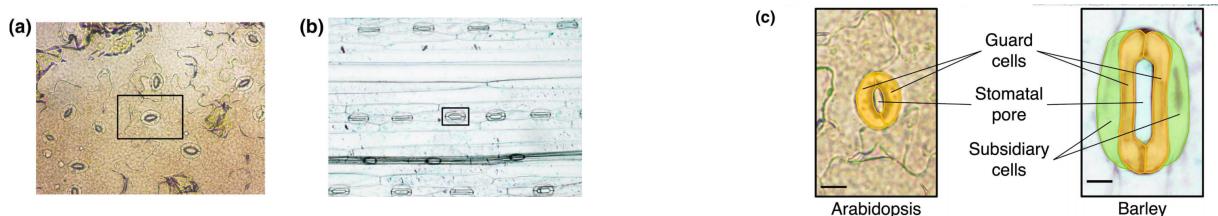


Figure 4: 保卫细胞两种主要类型

5. 气体的运动及机理

气孔运动是指气孔的张开和闭合过程，是通过保卫细胞的膨压变化来实现的，其主要受到离子运输以及细胞膜内外水分流动的调节。

- 当保卫细胞膨压低时，气孔关闭。
- 随着溶质、接着是水分的净内流，保卫细胞膨压升高并膨胀。
- 纤维素微纤丝的位置和不同程度细胞壁的增厚使气孔打开。

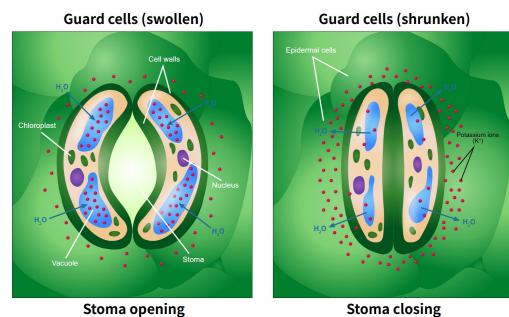
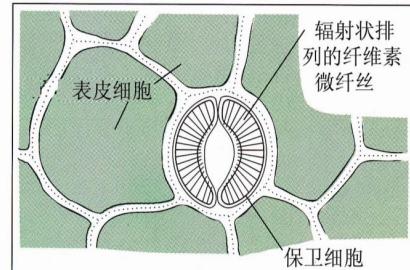
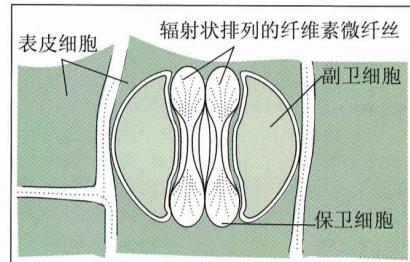


Figure 5: 气孔运动的机理

肾形保卫细胞壁上有许多以气孔口为中心辐射状径向排列的微纤丝，它限制了保卫细胞沿短轴方向直径的增大。当保卫细胞吸水，膨压加大时，较薄的外壁易于伸长，但微纤丝难以伸长，于是微纤丝将拉力传递到内壁，将内壁拉离开来，气孔就张开。



哑铃形保卫细胞壁中间部分的胞壁厚，两头薄，纤维素微纤丝则象射线从气孔的缝隙向两端辐射，微纤丝径向排列。当保卫细胞吸水膨胀时，微纤丝限制两端胞壁纵向伸长，而改为横向膨大，两个保卫细胞的中部推开，于是气孔张开。



6. 影响气孔运动的因素

- 光强和光谱 (蓝光和红光能促进气孔打开， $\text{蓝光} > \text{红光}$)
- 温度 (气孔开度一般随温度的上升而增大。在 30°C 左右达到最大气孔开度)
- CO_2 浓度 (Low CO_2 concentration usually induces opening of stomata while high CO_2 concentration closes the same)
- 食草动物侵害与病原体入侵 (both induce stomatal closure)
- 叶片 (尤其是表皮细胞) H_2O 含量

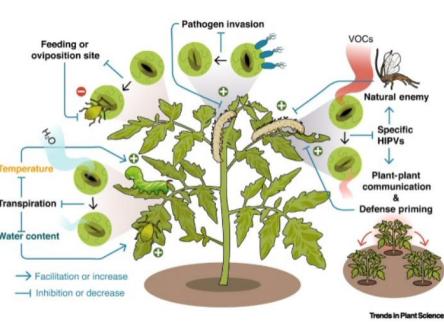


Figure 6: 影响气孔运动的因素

7. 气孔运动的激素调节

- 脱落酸是促进气孔关闭的核心激素
- 水杨酸、乙烯、茉莉酸等也有促进关闭作用
- 细胞分裂素、生长素则多促进气孔开放

脱落酸（ABA）诱导气孔关闭的机制

在水分胁迫过程中，保卫细胞对 ABA 的响应受到一系列信号级联反应的调控，气孔通过响应脱落酸（ABA）信号而关闭，以减少蒸腾作用失水。这一过程的核心在于保卫细胞膨压的降低，其详细分子机制如图 7 所示。

- (1) 气孔运动取决于保卫细胞膨压的变化，该变化由 K^+ 近处细胞的离子流控制，而 K^+ 流又是由质膜和液泡膜上 K^+ 的通道蛋白控制，分为 K^+ 内流通道和 K^+ 外流通道。
- (2) 保卫细胞受体 (R) 感知脱落酸 (ABA) 来诱导钙离子 (Ca^{2+}) 由液泡通过慢液泡通道 (SV) 输出，并且使钙离子通过质膜上的钙渗透离子通道进入细胞，升高了细胞质内 Ca^{2+} 的浓度。
- (3) Ca^{2+} 的升高通过通过质膜的去极化和对质膜 $H^+ - ATPase$ 的抑制，抑制 K^+ 内流通道，激活 K^+ 外流通道，导致保卫细胞中 K^+ 的净输出，细胞膨压降低及气孔关闭

8. 气孔开度 (Stomatal aperture)

气孔开度是指保卫细胞内壁间跨距，气孔张开的程度，是气孔运动的最重要生理指标

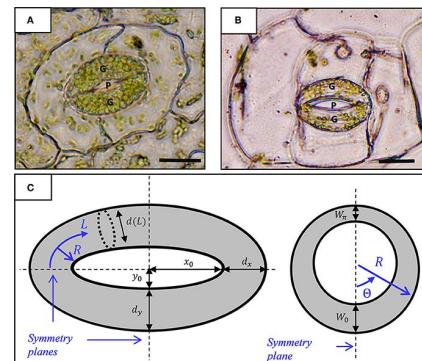
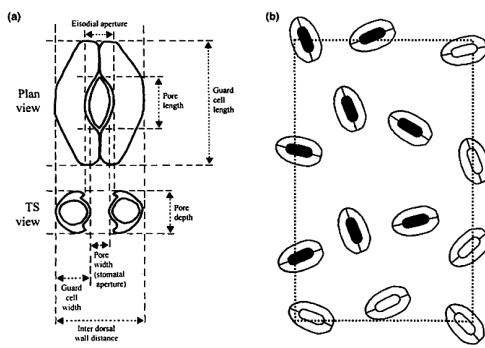


Figure 8: 气孔开度

三、 实验材料与设备

- **实验材料：**新鲜的蚕豆叶片
- **实验用品：**显微镜、载玻片、盖玻片、目镜测微尺、培养皿、镊子、单面刀片、吸水纸
- **实验试剂：**
 - MES (2-(N-吗啉)乙磺酸) / KCl 缓冲液 (10/50 mmol/L)
 - 水杨酸 (Salicylic Acid, SA) 溶液 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$
 - 脱落酸 (Abscisic Acid, ABA) 溶液 $10 \mu\text{mol L}^{-1}$

四、 操作方法和实验步骤

1. 实验流程

- (1) 在 3 个培养皿中，各加入 9 mL 的 MES/KCl 缓冲液；
- (2) 撕取蚕豆叶片下表皮放入培养皿中（每皿 ≥ 4 个表皮条）；
- (3) 光照强度 14 000 lux, 28 °C 条件下培养 50 min；
- (4) 在 3 个培养皿中，分别加入 MES/KCl 缓冲液 1 mL、A 溶液 1 mL 和 B 溶液 1 mL；
- (5) 光照强度 14 000 lux, 28 °C 条件下继续培养 20 min；
- (6) 制片、定量观测并记录 MES/KCl 缓冲液、A 溶液和 B 溶液培养皿中气孔开度（每人对各处理观测 10 个气孔）。



Figure 9: 实验流程图

2. 蚕豆叶片下表皮的剥取

为了获得清晰的观测视野，需要掌握正确的表皮剥取技术。具体操作如图 10 所示，用镊子小心撕取下表皮，避免带有过多的叶肉细胞。

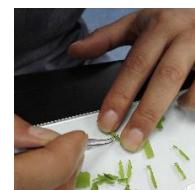


Figure 10: 蚕豆叶片下表皮的剥取过程示意图

3. 气孔开度测量

- 视野聚焦：**先使用 10×10 倍物镜进行对焦，寻找气孔。
- 测量：**切换至 10×40 倍物镜，测量气孔开度。
- 读数：**刻度的读取应精确到最小刻度的 0.5。
- 字母含义：** $2X_0$ 为长轴， $2Y_0$ 为短轴/开度
- 数据标准化：**以 Pore width ($2Y_0$) 作为开度指标，并经标准化处理： X_0/Y_0 。

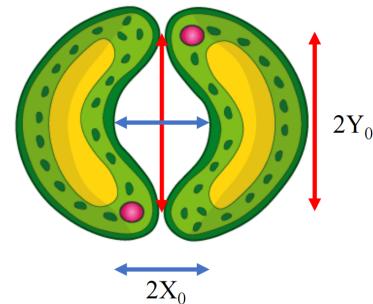


Figure 11: 气孔开度测量示意图

五、实验数据记录和处理

1. 实验数据记录

经过 40 次观察与测量，得到如下结果：

Table 1: 气孔开度原始数据（单位：目镜标尺小格）

序号	CK1			CK2			A			B		
	$2X_0$	$2Y_0$	X_0/Y_0									
1	3.5	11.0	0.318	4.5	11.5	0.391	2.0	14.0	0.143	3.0	11.0	0.273
2	4.0	8.5	0.471	3.5	11.0	0.318	2.5	14.5	0.172	3.5	12.0	0.292
3	3.5	11.5	0.304	3.5	9.5	0.368	2.0	12.5	0.160	3.5	11.0	0.318
4	3.0	9.5	0.316	4.5	8.5	0.529	2.0	15.5	0.129	2.5	11.0	0.227
5	4.5	9.0	0.500	4.0	9.0	0.444	2.5	14.5	0.172	3.0	8.5	0.353
6	3.5	10.0	0.350	4.0	7.0	0.571	2.0	14.0	0.143	3.5	11.0	0.318
7	4.5	9.5	0.474	3.0	9.5	0.316	2.0	13.5	0.148	3.0	10.0	0.300
8	4.0	9.5	0.421	4.5	10.0	0.450	2.0	13.0	0.154	2.5	10.0	0.250
9	5.0	12.0	0.417	4.0	10.5	0.381	2.5	13.5	0.185	3.0	9.0	0.333
10	4.5	10.5	0.429	3.5	10.5	0.333	2.0	14.5	0.138	3.5	9.0	0.389

2. 实验数据处理

经标准化处理，得到如下信息：

Table 2: 不同处理下的气孔开度统计 ($Mean \pm SE$)

处理组	样本量 (N)	平均气孔开度 (X_0/Y_0)	标准误 (SE)
Ctrl (CK1+CK2)	20	0.405	0.018
Solution A	10	0.154	0.006
Solution B	10	0.305	0.015

六、实验结果与分析

1. 实验结果

结合表2和表1的数据，得到如下示意图：

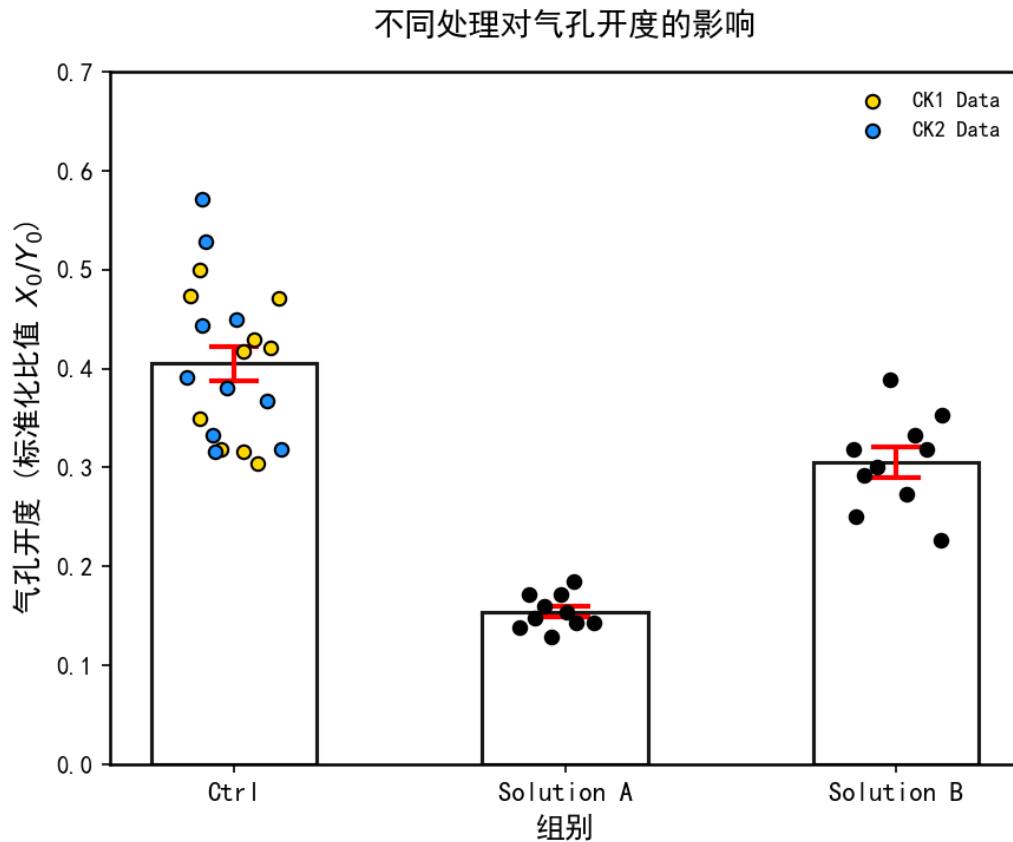


Figure 12: 不同组的气孔开度比较

2. 分析

从图中可以明显看出，对于气孔开度而言，Ctrl(CK1、CK2)>B>A，结合已知信息“脱落酸的气孔开度抑制效果大于水杨酸”，故可以明显得出结论：**A 组是脱落酸处理，B 组是水杨酸处理**。不过本实验也存在一定的误差，具体如下：

- 随着时间推移，眼睛疲劳加重，后面所得的测量结果可能存在一定的测量误差
- 选取的气孔不完全具有随机性，尽管在选取的时候已经尽可能随机取样了
- 所取的叶片可能来自不同的植株，即使来自同一植株，叶片的年龄也不一定相同，可能引入了叶龄所带来的误差