

藤茶的显微结构观察

张学娟 陈玉琼

华中农业大学园艺林学学院/园艺植物生物学教育部重点实验室, 武汉 430070

摘要 用光学显微镜和扫描电子显微镜对同一生态环境下的来源于江西定南、湖南茶陵、湖北恩施的三地藤茶的根、茎、叶、花粉进行了系统观测。结果表明:三地藤茶根、茎横切面结构差别不很明显,在皮层中的部分薄壁细胞内都含草酸钙簇晶,湖北和江西藤茶茎的表皮细胞上有非腺毛。在叶的叶肉组织和中脉附近的薄壁细胞中含有较多的簇晶或针晶,江西藤茶叶下表面有稀少的非腺毛,叶片下表面角质层纹理都呈密集波状线条,但纹理特征存在差异,叶下表面气孔都呈椭圆形,保卫细胞接近气孔边缘的弧形条纹数,气孔的密度、长度和开度存在差异;三地材料叶上表面沿主脉生长有密集单细胞非腺毛,非腺毛的密度和形状明显不同,叶上表面纹饰简单,但各不相同,江西藤茶叶上表面纹饰有不连续的颗粒状、片状蜡质;湖南藤茶叶上表面有一些细条纹;湖北藤茶叶的上表面比较光滑。三地藤茶花药的外观形态无明显差异,大小略有差异。湖北、江西藤茶的花粉近圆球形,而湖南藤茶的花粉呈圆球形,相对最大。藤茶的基本显微特征以及这些特征的不同提示产地不同的藤茶材料可能存在一定遗传差异。

关键词 藤茶;显微结构;形态;草酸钙簇晶

中图分类号 S 567.9 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2011)06-0685-06

藤茶属葡萄科蛇葡萄属显齿蛇葡萄(*Ampelopsis grossedentata*),是中国特有的珍稀茶用、药用植物资源。在民间,其茎叶常用于治疗感冒发热、咽喉肿痛、黄疸型肝炎等症,已有数百年的使用历史^[1]。现有研究^[2-7]表明,藤茶富含二氢杨梅素等多种黄酮类物质,不仅安全无毒,且具有抗炎、镇痛、抑菌、抗高血压、降血糖、降血脂、保肝护肝及增强免疫等作用。藤茶植物主要呈野生状态分布在中国广东、广西、云南、湖南、湖北、江西、福建、贵州等省少数民族地区(山区)^[8]。有关藤茶形态结构的研究仅有少量报道,刘建新等^[9]利用光学显微镜对藤茶的叶、叶柄、茎、卷须、根横切面结构进行了初步研究;肖冰梅等^[10]为鉴别藤茶的真伪,用扫描电镜对藤茶的叶及叶柄进行了初步研究,认为藤茶叶片角质层纹理、表面非腺毛特征明显可作为鉴别藤茶的一个依据。据笔者的调查发现,各地藤茶在外观形态上有一定差异,为进一步研究藤茶的结构特征以及各地藤茶形态结构的差异,笔者收集了江西定南、湖南茶陵、湖北恩施的藤茶种子集中种植在同一生态环

境下,用光学显微及扫描电子显微技术对其根、茎、叶、花粉的形态结构进行比较研究,以期对藤茶的形态解剖学和分类研究提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

根:选取同龄健壮植株相同部位的一级侧根;茎:采集相同部位的嫩茎;叶片:采集相同方向相同叶位的成熟叶片;花粉:开花前选择适宜的花器,将花器套袋隔离,花粉成熟时采集。

1.2 光学显微镜观察样品制作

将材料洗净,切成5 mm²的小块,迅速用FAA固定液固定,用注射器抽真空,在4℃冰箱内固定并保存。石蜡切片制片,OLYMPUS CHX41型倒置显微镜观测。

1.3 扫描电镜样品制作

所取植物样品立即用磷酸缓冲液-2.5%戊二醛前固定24 h(0~4℃),经系列乙醇30%→50%→70%→85%→95%→100%(2次)逐级脱水,每级

收稿日期:2011-04-20

基金项目:农业部重大技术研究专项(06-08-02B)

张学娟,硕士,研究方向:茶用植物综合利用。E-mail: zhangxuejuan006@163.com

通讯作者:陈玉琼,博士,副教授,研究方向:茶叶功能化学及综合利用。E-mail: chenylq@mail.hzau.edu.cn

10~15 min,用等体积的醋酸(异)戊酯和乙醇混合液浸泡 10 min,醋酸(异)戊酯浸泡 10 min,代换后的样品用 CO₂ 临界点干燥仪干燥,用双面胶带粘贴,粒子溅射仪镀膜后入镜观察。

2 结果与分析

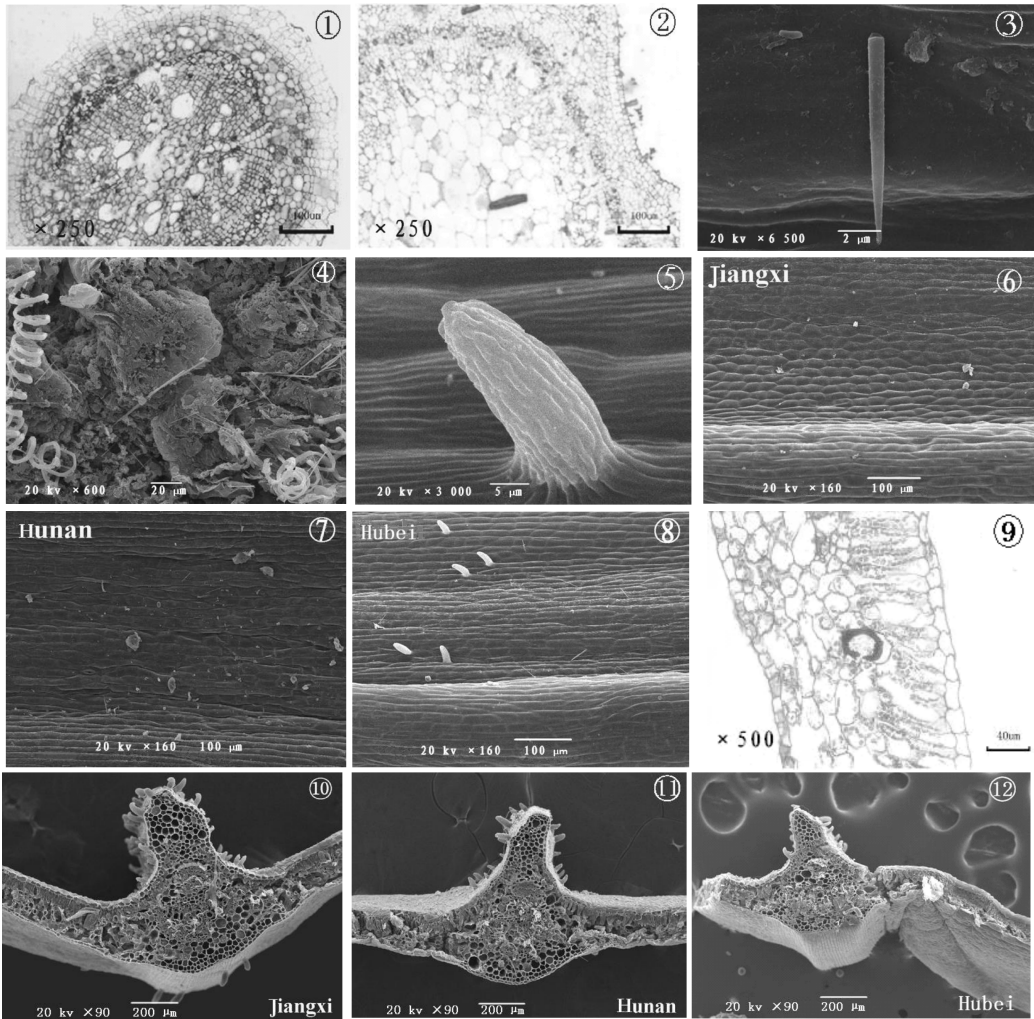
2.1 藤茶根形态解剖结构特征

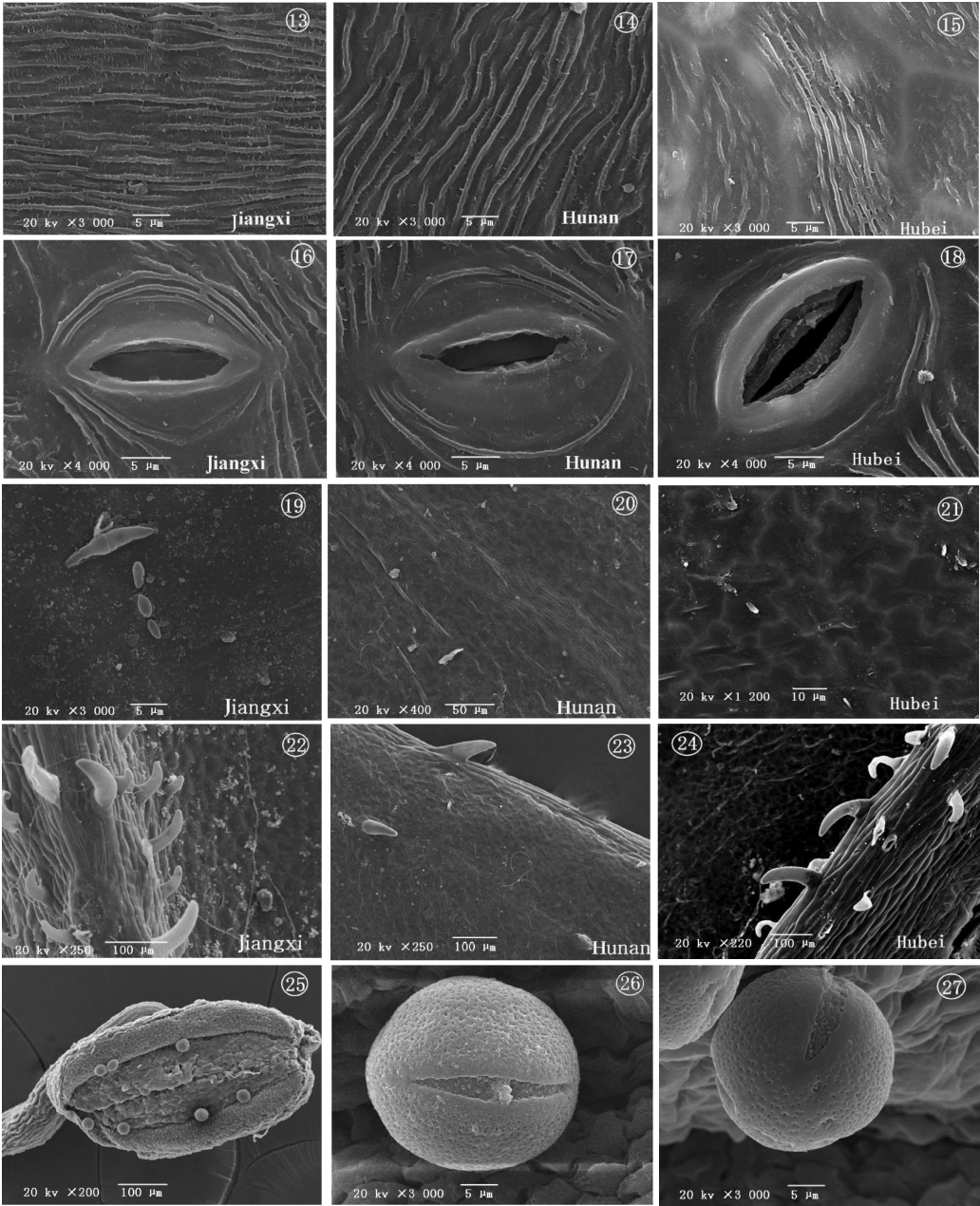
三地来源藤茶根在形态解剖结构上差别不很明显。光学显微镜观察(图 1-①)显示,藤茶根的横切面类圆形,由木栓层、皮层、韧皮部及木质部组成。木栓层由 4~5 列长方形紧密的厚壁细胞构成。皮层由 5~6 列平周壁切向延长的薄壁细胞组成。韧皮部狭窄或弧形。形成层明显可见。本质部二原型,导管稀少,单个或 2~3 个成群、辐射状排列,木质部其余部分为纤维群。在皮层中,有些薄壁细胞内含草酸钙簇晶。

2.2 藤茶茎形态解剖结构特征

三地来源藤茶材料茎(图 1-②)较相似。茎的横切面为近六边形,由表皮、木栓层、皮层、韧皮部、木质部及髓部组成。茎表皮为 1 层细胞,具有角质层。木栓层为 2~3 列紧密的厚壁细胞。皮层外侧棱处为厚角组织,皮层为 3~4 列平周壁切向延长的薄壁细胞,约有 22~24 个维管束成环、均匀放射状排列,外侧各自为鞘状纤维群。韧皮部狭窄。形成层明显。木质部较发达,环形,占横切面的 3/5。导管近圆形,稀少,口径大小不一,单个或 2~3 个成群、放射状排列。髓部近圆形或椭圆形,由大的薄壁细胞组成,占横切面的 1/10。射线为 2 列薄壁细胞组成,横穿过木质部和韧皮部。皮层和髓部一些薄壁细胞中含草酸钙簇晶。

进一步通过扫描电镜观察可清晰地看出藤茶茎表皮有少量的皮孔,皮层中含草酸钙针晶束(图 1-③)





①~②:根、茎横切面光镜图;③~⑤:茎皮层中的草酸钙针晶、螺旋导管、茎表皮细胞上非腺毛;⑥~⑧:江西、湖南、湖北藤茶茎的表皮细胞扫描电镜图;⑨:叶横切面光镜图;⑩~⑫:江西、湖南、湖北藤茶叶横切电镜图;⑬~⑮:江西、湖南、湖北藤茶叶下表面纹理扫描电镜图;⑯~⑱:江西、湖南、湖北藤茶叶下表面气孔扫描电镜图;⑲~⑳:江西、湖南、湖北藤茶叶上表面纹饰扫描电镜图;㉑~㉓:江西、湖南、湖北藤茶叶片上表皮的非腺毛类附属物;㉔~㉖:藤茶花药、花粉扫描电镜图。

①~②: The structure of root, stem at LM; ③~⑤: The calcium oxalate needle crystal, spiral vessel in stem cortex, the nonglandular hair on stem epidermal cell at SEM; ⑥~⑧: Stem epidermal cells characteristics of the Jiangxi, Hunan, Hubei Tengcha leaves at SEM; ⑨: The structure of leaf at LM; ⑩~⑫: The leaf structure of Jiangxi, Hunan, Hubei at SEM; ⑬~⑮: The lower epidermal surface characteristics of Jiangxi, Hunan, Hubei leaves at SEM; ⑯~⑱: The lower epidermal surface stoma characteristics of Jiangxi, Hunan, Hubei leaves at SEM; ⑲~⑳: The upper epidermal surface characteristics of Jiangxi, Hunan, Hubei leaves at SEM; ㉑~㉓: The nonglandular hair on upper epidermal surface of Jiangxi, Hunan, Hubei leaves at SEM; ㉔~㉖: The anther and pollen characteristics of Tengcha at SEM.

图 1 藤茶各器官结构

Fig. 1 The structure and ultrastructure of three sites' Tengcha organs

和螺旋导管(图 1-④),导管直径 53.0~118.8 μm 。湖北和江西藤茶茎的表皮细胞上有非腺毛(图 1-⑤),非腺毛表面呈间断的条状纹,湖南藤茶茎的表皮上没有非腺毛。三地来源藤茶茎表皮细胞都是面包状,其中,江西藤茶茎的表皮细胞微凸、有平行条纹(图 1-⑥);湖南藤茶茎的表皮细胞较光滑、两边平行、中间凸起、折断多,有不连续的断碎蜡质(图 1-⑦);湖北藤茶茎的表皮细胞面包状,隆起不高,较光滑,有细胞界限,而且界限分明(图 1-⑧)。

2.3 藤茶叶片形态解剖结构特征

1)藤茶叶片的横切面结构特征。叶片横切面的光学显微镜观察结果(图 1-⑨)显示,藤茶叶片的横切面由表皮、叶肉、叶脉组成。外壁具角质层,上表面生长有单细胞非腺毛,在江西藤茶材料下表面也发现有稀少的非腺毛,湖南和湖北藤茶叶片的下表面未见非腺毛。叶肉中的栅栏组织 1 层,占 1/4,排列紧密,海绵组织细胞 2~4 层,排列疏松,内有大型分泌腔。在叶肉组织和中脉附近的薄壁细胞中含有较多的簇晶(图 1-⑩~⑫)。

2)藤茶叶片下表面特征。三地来源藤茶材料叶片下表面角质层纹理都呈密集波状线条,其中,江西藤茶叶片的下表面纹理呈波状、断续的条状,条状隆起,条与条之间有长沟,条状之间有横脊(有连接贯通连续的,也有毛状短脊断开的)(图 1-⑬);湖南藤茶叶片下表面角质层纹理走向复杂、纹理弯曲、隆起度较高,条纹之间的横脊相对较少,且多断碎条纹,纹理上分布片状或颗粒状蜡质(图 1-⑭);湖北藤茶叶片下表面的纹理呈波状、断续的条状,隆起度较低,没有横脊(图 1-⑮)。

叶下表面气孔扫描电镜观察(图 1-⑯~⑰)显示,江西藤茶、湖南藤茶、湖北藤茶的气孔器都呈椭圆形,部分下陷于角质层中,极少数完全突出于角质层面上,而且气孔在下表面的排列没有规律,比较杂乱。江西藤茶下表面气孔上保卫细胞接近气孔变成弧状条纹,气孔形状梭形,边缘条纹有 3 条。湖南藤茶气孔保卫细胞接近气孔的边缘只有 1 条弧形的条纹;湖北藤茶保卫细胞接近气孔边缘只有 1 条弧形条纹,气孔的密度、长度和开度较另两地藤茶的要大(表 1)。

3)藤茶叶片上表面特征。三地来源材料的上表

表 1 三地来源藤茶的叶表皮气孔特征
Table 1 The characterization of undersurface stoma of three sites' Tengcha materials

材料 Material	气孔密度 Density of stoma/(mm ⁻²)	气孔大小 Stoma size		
		长/ μm Length	宽/ μm Width	长/宽 Length/width
江西藤茶 Jiangxi Tengcha	149.3	20.0	10.6	1.9
湖南藤茶 Hunan Tengcha	127.9	23.1	12.9	1.8
湖北藤茶 Hubei Tengcha	204.7	23.5	9.6	2.5

面纹饰比较简单,也存在一些区别:江西藤茶上表面纹饰有不连续的蜡质,呈颗粒状、片状;湖南藤茶上表面有一些细条纹;湖北藤茶的上表面比较光滑(图 1-⑱~⑳)。

三地材料叶片的上表皮有中空的非腺毛类附属物,大多沿主脉排列,密集。三地材料的非腺毛的密度和形状明显不同。湖北、江西藤茶叶片上表面主脉处非腺毛较多,呈弯钩状,而且有大量的蜡质。湖南藤茶叶片上表面的非腺毛相对较少,短而微弯,有长条纹(图 1-㉑~㉒)。

2.4 藤茶花药和花粉形态特征

1)藤茶花药的形态特征。三地来源藤茶花药的外观形态无明显差异,大小略有差异(表 2),湖南藤茶的花药最大,其次是湖北藤茶的花药,江西藤茶的花药最小。

表 2 三地来源藤茶的花药的大小
Table 2 The anther size of three sites' Tengcha

材料 Material	长/ μm Length	宽/ μm Width	长/宽 Length/width
江西藤茶 Jiangxi Tengcha	520.8	250.0	2.1
湖南藤茶 Hunan Tengcha	560.8	303.8	1.9
湖北藤茶 Hubei Tengcha	547.2	305.7	1.8

2)花粉的形态特征。藤茶花粉扫描电镜图(图 1-㉓~㉔)显示,花粉萌发孔均为三孔沟状;花粉的赤道面上有梭形的沟,沟比较深,每个沟中都有一个孔盖,孔沟中有蛋白质颗粒;花粉表面的纹饰是孔穴形,靠孔沟方向的孔变稀疏,孔径变小,孔沟边缘比较光滑。三地藤茶花粉中,湖北、江西藤茶的花粉近圆球形,而湖南藤茶的花粉是圆球形;湖南藤茶的花粉相对最大,江西藤茶的花粉最小(表 3)。

表 3 藤茶花粉形态特征

Table 3 Morphological characteristics of Tengcha pollen

材料 Material	花粉形状 Pollen shape	花粉大小/ μm Pollen size		萌发沟大小/ μm Germinal furrow size		外壁表面纹饰 Exosporium ornamentation	萌发孔类型 Germ pore type
		长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width		
湖北藤茶 Hubei Tengcha	近球球 Subsphaeroidal	28.5	26.0	21.3	3.5	Hole	3 colporate
江西藤茶 Jiangxi Tengcha	近球形 Subsphaeroidal	26.8	24.8	19.0	6.0	Hole	3 colporate
湖南藤茶 Hunan Tengcha	圆球形 Globose	28.3	27.5	22.5	4.5	Hole	3 coporate

3 讨 论

3.1 三地来源藤茶材料形态解剖结构的差异与遗传变异

通过光学显微镜和扫描电镜对三地藤茶材料的根、茎、叶、花器等结构特征进行了研究,发现其形态解剖结构特征大多相似,但也存在许多不同之处,如茎的表皮细胞和非腺毛特征,叶片的上下表面角质层纹理、上表面非腺毛形状和密度、上表皮细胞的厚度、叶片海绵组织空隙度等。在这些特征中,叶片下表面角质层纹理、上表面的非腺毛形状和密度及气孔特征具有相对的稳定性。这些特征的不同提示三地藤茶材料可能存在一定遗传差异。

花粉的形态特征受基因控制,具有极强的遗传保守性,形态和纹饰极为稳定,不易受外界环境的影响,是现代植物系统分类的重要依据之一。对藤茶的花药和花粉进行扫描电镜观察发现,三地藤茶花药的表皮细胞为多边形细胞,花粉的表面纹饰相差不大,但在花粉的形状和大小性状上存在一定差异。因此,三地藤茶材料遗传性可能存在一定差异。

3.2 藤茶的形态解剖结构与抗性的关系

植物叶片的上表皮往往覆盖有细密的角质层,是植物抗逆的一种表现,上表皮(或)角质层越厚,抗逆性越强^[11]。本研究发现,三地藤茶材料中江西藤茶的上表皮细胞最厚,上表皮角质层较厚且有不间断的颗粒状,片状蜡质,提示江西藤茶的抗病性和抗旱性最强,湖北藤茶的上表皮细胞最薄,可能抗性最弱。研究表明,除了植物叶片表皮厚度和角质层厚度与其抗病性密切相关外,叶片气孔的大小与密度也与抗病性相关。气孔小、稀少,且气孔内有白色堆积物,抗病性增强^[12]。三地藤茶材料中,湖北藤茶叶片气孔开度大、密度大,提示其抗性相对较弱。

3.3 藤茶的草酸钙晶体

草酸钙晶体是植物生活过程中的次生代谢产物,在植物组织中广泛存在,具有分布的规律性和形态的稳定性两大特点^[13]。草酸钙晶体的分布虽然种间差异明显,但是具有种内特异性,因而在植物学中常被视为植物的分类特征,在中药鉴定学中则为鉴别品种的重要指标。

在藤茶根、茎的皮层和髓部一些薄壁细胞内含有草酸钙晶体;叶片在中脉附近的薄壁细胞中含有较多的簇晶及针晶,而在叶肉组织中主要含针晶。藤茶营养器官中富含草酸钙晶体,可以作为藤茶显微特征的鉴别依据。

参 考 文 献

[1] 全国中草药汇编编写组. 全国中草药汇编:下册[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.

[2] 陈玉琼,李安琪,孟燕. 藤茶黄酮及二氢杨梅素提取条件的优化[J]. 华中农业大学学报,2009,28(1):106-110.

[3] 陈玉琼,向班贵,倪德江,等. 恩施富硒藤茶安全性毒理学实验研究[J]. 茶叶科学,2005,25(3):295-299.

[4] 雷红灵,陆海波,蔡金洲,等. 硒对藤茶抗氧化酶活性及有效成份的影响[J]. 华中农业大学学报,2010,29(3):321-325.

[5] 周雪仙,周天达,谭春生. 双氢杨梅素皮素对兔胸主动脉条平滑肌收缩反应的影响[J]. 现代应用药学,1997,14(2):8-11.

[6] 钟正贤,覃洁萍,周桂分. 广西瑶族藤茶中双氢杨梅素皮素的药理研究[J]. 中国民族医药杂志,1998,4(3):42-44.

[7] 郑作文,曾春晖,林英辉. 广西藤茶中双氢杨梅素皮素对小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 广西中医学院学报,2002,5(2):10-11.

[8] 陈玉琼,倪德江,程倩,等. 藤茶总黄酮及二氢杨梅素降血脂作用研究[J]. 茶叶科学,2007,27(3):221-225.

[9] 刘建新,周天达. 藤茶的生药学研究[J]. 中草药,1999,30(6):459-463.

[10] 肖冰梅,何桂霞,刘塔斯,等. 藤茶叶的扫描电镜鉴别研究[J]. 中南药学,2004,2(5):306-308.

[11] 谢林. 腺枝葡萄生物学特性与抗病性观察及 RAPD 分析研究[D]. 长沙:湖南农业大学图书馆,2006.

[12] 王国英. 葡萄叶片气孔与霜霉病抗性[J]. 果树科学, 1988, 5 (3): 120-121.

[13] 贺正全. 草酸钙结晶体在被子植物中的分类及其在显微生物学中的应用[J]. 中国中药杂志, 1989, 14(1): 3.

Ultrastructural observation on Tengcha (*Ampelopsis grossedentata*)

ZHANG Xue-juan CHEN Yu-qiong

College of Horticulture and Forestry Science, Huazhong Agricultural University/
Key Laboratory of Horticultural Plant Biology, Ministry of Education, Wuhan 430070, China

Abstract The ultrastructural characteristics of root, stem, leaf, pollen in three kinds of Tengcha (*Ampelopsis grossedentata*) coming from the province of Jiangxi, Hunan, Hubei in the same ecological environment were investigated using light microscopy (LM) and scanning electron microscopy (SEM). The results showed that the cross section of root and stem had little difference among the three kinds of Tengcha, the parenchyma cells of root and stem contex all existed calcium oxalate needle crystal. There were some nonglandulars hairs in the stem epidermal cell of Hubei and Jiangxi Tengcha, calcium oxalate needle crystal also existed in the mesophyll tissue and the parenchyma cells of leaf midrib. The characteristics of lower epidermal surface of leaf including nonglandular hairs, the stripe number of the outer stomatal rim, the density, length and open of stoma were different; there were much nonglandulars at upper epidermal surface along leaf midrib, but the density and shape were different among the three kinds of Tengcha; the characteristics of upper epidermal ornamentation were different as well, the upper epidermal surface existed granular or flaky waxiness at Jiangxi Tengcha leaf, pinshripes at Hunan Tengcha leaf, but nothing at Hubei Tengcha leaf; the antheral characteristics were the same but large. The pollens of Hubei and Jiangxi were spheroidicity but pollen of Hunan Tengcha was global and the largest. The results described the special ultrastructural characteristics of the three kinds of Tengcha and the difference maybe result from its genetic diversity.

Key words Tengcha (*Ampelopsis grossedentata*); ultrastructure; morphology; calcium oxalate needle crystal

(责任编辑: 张志钰)