

DOI: 10. 3969/j. issn. 1000-3142. 2013. 05. 005

陈健辉, 郭培国, 李荣华, 等. 不同耐旱性大麦品种叶片发育的研究 [J]. 广西植物, 2013, 33 (5): 605–613

Chen JH, Guo PG, Li RH, *et al.* Development of the leaves in two different types of drought-tolerant barley [J]. *Guihaia*, 2013, 33 (5): 605–613

不同耐旱性大麦品种叶片发育的研究

陈健辉^{1,2}, 郭培国^{1,2}, 李荣华^{1,2}, 缪绅裕^{1,2}, 田长恩^{1,2}, 黄丽宜²

(1. 广州大学 植物抗逆基因功能研究广州市重点实验室, 广州 510006; 2. 广州大学 生命科学学院, 广州 510006)

摘要: 选用耐旱性不同的两个大麦品种作为研究对象, 分析其叶片结构的异同。结果表明: 两个大麦品种的叶片发育可以分为幼叶萌发期、幼叶抽出期、幼叶生长期和叶片成熟期四个阶段, 其中在幼叶萌发期, 叶片结构无明显差异。经 PAS 染色, 从幼叶生长期开始, 耐旱性弱的 Moroc 9-75, 含淀粉粒的叶肉细胞少, 淀粉粒颗粒小; 耐旱性强的 HS 41-1, 含淀粉粒的叶肉细胞多, 淀粉粒颗粒大。遭受干旱胁迫后, 两个品种的植株长势明显较弱, 叶片短而窄; 表皮细胞角质层变厚, 叶片中叶肉细胞变小, 叶肉细胞间隙变大, 叶肉细胞破裂现象增多; PAS 染色反应显示, 含淀粉粒的叶肉细胞减少, 淀粉粒颗粒变小或基本没有; HS 41-1 解体的细胞不如 Moroc 9-75 多。因此, 在光镜下, 叶片结构的差异, 特别是细胞含有的淀粉粒大小与数量的区别, 是植物对水分胁迫的一种适应; 同时叶脉对植物刚性的影响较大。

关键词: 大麦; 耐旱性; 叶片; 叶脉; 淀粉粒

中图分类号: Q944. 56 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142 (2013) 05-0605-09

Development of the leaves in two different types of drought-tolerant barley

CHEN Jian-Hui^{1,2}, GUO Pei-Guo^{1,2}, LI Rong-Hua^{1,2},
MIAO Shen-Yu^{1,2}, TIAN Chang-En^{1,2}, HUANG Li-Yi²

(1. *Guangzhou Key Laboratory for Plant Stress-Resistant Functional Gene, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China*; 2. *College of Life Sciences, Guangzhou University, Guangzhou 510006, China*)

Abstract: Two different types of drought-tolerant barley were studied in terms of the similarities and differences of their lamina structures. The study showed that the growth of the two types of lamina experienced 4 stages, namely germination stage, sprouting stage, growth stage and mature stage, and that there were no obvious difference in lamina structures in germination stage between the two types of barley. The method of PAS showed that at the germination stage, Moroc 9-75, less tolerant of drought, had fewer mesophyll cells rich in starch grains while the starch grains were small. In the same stage, HS 41-1, more tolerant of drought, had more mesophyll cells rich in starch grains while the starch grains were big. Under drought stress, the two types of barley showed apparent weak growth in height, with short and narrow leaves; the cuticles of epidermis cells thickened, the mesophyll cells of the lamina became smaller, the intercellular space between mesophyll cells grew bigger, and more mesophyll cells split; PAS showed that mesophyll cells with starch grains decreased in number and that starch grains became smaller or disappear; more cells of Moroc 9-75 broke down than those of HS 41-1. In conclusion, under optical microscopes, the differences in lamina structures, especially the differences in the size and the number of the starch grains that the cells contained, were the adaptation of plants to drought stress. Besides, the veins had great effects on the hardening of plants.

收稿日期: 2012-11-01 修回日期: 2013-02-31

基金项目: 国家自然科学基金 (30640045); 广东省科技计划项目 (20085003)

作者简介: 陈健辉 (1966-), 男, 广州市人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事植物形态和植物发育的研究, (E-mail) gzhubchjh@163.com。

Key words: barley; drought tolerance; lamina; vein; starch grain

干旱是影响作物正常生长、导致产量下降的主要环境因子 (Guo *et al.*, 2008)。多年来,人们对干旱胁迫下作物的生理特性和形态结构等方面进行了较深入研究,发现干旱胁迫会降低作物的光合作用 (Gupta *et al.*, 1988; Li *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2008),破坏呼吸链,降低碳代谢途径中一些酶的活性 (Reddy *et al.*, 2004; Demirevska *et al.*, 2008);也会改变作物组织、器官的结构。植物遭受干旱胁迫后,其叶片栅栏组织厚度略有增厚,海绵组织变薄,导致叶片中脉内所含大小维管束数量及导管直径,气腔数量下降和气腔面积大幅下降,短期干旱导致气孔关闭,长期则导致气孔密度和直径减少,角质层厚度增加 (李芳兰等, 2009);叶肉细胞细胞器如叶绿体、线粒体结构出现不同程度损伤等 (Ristic *et al.*, 1991; Stoyanova *et al.*, 2002; 白志英等, 2009; Vassileva *et al.*, 2009)。

大麦 (*Hordeum vulgare*) 是世界上种植面积仅次于水稻、小麦和玉米的第四大禾谷类作物 (Guo *et al.*, 2009)。但在大麦的生长季节,栽种地区常常遭受到干旱的侵袭,严重影响大麦的正常生理活动,从而导致减产减收 (Cellier *et al.*, 1998; Cochard *et al.*, 2002; Guo *et al.*, 2009)。多年来,研究者对大麦的叶片形态和结构开展了相应的研究工作,包括植物解剖学方面 (李扬汉, 1979; 伊稍, 1982), 叶片解剖特性及超微结构方面 (汤泽生等, 1989; 杨煜峰等, 1991; 代庆阳等, 2000; Radyuk *et al.*, 2002; Kolodziejek *et al.*, 2003), 不同品种营养生长与营养成分关系 (邹俊杰等, 2002), 栽培方式与叶片形状关系 (杨金华等, 2010); 也有研究胁迫下结构的变化及差异 (章文华等, 1991; 陈文利等, 1999)。但关于耐旱性不同的材料间叶片结构差异的研究依然缺乏,且未见有关于大麦叶脉发育方面的详细报道。本文以耐旱性不同的两个大麦品种为研究对象,结合简令成等 (2009) 在玉米等作物进行干旱胁迫的处理方法,在叶片拔节时期,进行干旱胁迫处理,对两个大麦品种叶片及相关结构的发育进行研究,通过对照研究,了解两者在结构及发育方面的差异,希望为单子叶植物叶片发育规律增添一些资料,同时也为大麦干旱胁迫的研究提供一些理论依据。

1 材料与方 法

1. 1 供试材料

实验所用的两个大麦品种分别为 HS 41-1 和

Moroc 9-75, 种子均由国际干旱地区农业研究中心提供。其中 HS 41-1 是叙利亚的一个地方品种,它具有很高程度的耐旱性; Moroc 9-75 为耐旱性较弱的品种 (Ceccarelli, 1994; Ceccarelli *et al.*, 2004)。

1. 2 材料的种植与处理

于 9 月选择籽粒饱满度一致的两个大麦品种籽粒,播于盛有无菌营养土的育苗盆中,在 20 °C 条件下使大麦籽粒萌发。待胚芽鞘出土后,转入 4 °C 的光照培养箱中低温处理一个月,之后盆栽种植各材料。盆栽试验安排在广州大学作物种植试验站的可控温光的温室中,各个大麦品种种植 10 盆,每盆三株。在 12 °C 条件下正常栽培管理至大麦成熟。在 11 月底叶片拔节时,进行干旱处理,设置正常供水 (对照) 和干旱胁迫 (处理) 两个处理组,干旱胁迫处理的时间为 14 d,之后恢复正常供水至次年 1 月抽穗成熟。

1. 3 叶片内部结构标本的制备

在叶片不同发育时期,取中部叶片,分别用卡诺氏固定液固定,爱氏苏木精整体染色,幼嫩材料用碱性品红酒精液 (95%) 复染,常规石蜡切片法切片,切片厚度为 8 μm, Olympus 显微镜下观察、摄影。

1. 4 淀粉粒鉴定标本的制备

在叶片不同发育时期,取中部叶片,常规石蜡切片法切片,切片厚度为 8 μm,用高碘酸-席孚反应法 (PAS 反应) 染色, Olympus 显微镜下观察、摄影。

1. 5 叶脉标本的制备

在籽粒萌发及植株生长过程的不同发育阶段,用解剖针挑取未萌发籽粒中的幼叶,或采集各个发育阶段的叶片,用卡诺氏固定液固定 24~48 h (视材料而定);再用酒精、甘油等组成的混合液透明 24~96 h (视材料而定);待透明后,换上新的透明液,加入 1% 的亚甲基蓝染色至合适,流水冲洗,乳胶贴片,在 Olympus 显微镜下观察、摄影。

1. 6 表皮离析标本的制备

在叶片不同的发育时期,取中部的叶片 (非主脉部位),用 4% NaOH 煮沸、离解表皮,使表皮解离;再用酒精、甘油等组成的混合液透明 6~24 h (视材料而定);加 1% 的碱性品红染色至合适,阿拉伯胶贴片, Olympus 显微镜下观察、摄影。

1. 7 扫描电子显微镜观察材料标本的制备

取叶片中部非中脉部位材料,用戊二醛——锇

酸双重固定，临界点干燥，离子溅射喷金，Philips-30-ES-EM 扫描电镜观察，摄影。

2 结果与分析

大麦叶片的描述术语参照李扬汉（1979）及陈守良等（1993）的表述术语；叶脉的制作和描述术语参考 Yu *et al.*（1991）的方法和术语。

从叶片发育进程观察结果来看，耐旱性较弱的材料 Moroc 9-75，在第三片叶形成以后，第四片叶开始发生较早，且植株叶片长度的差异较大，花序抽出的时间较早；而耐旱性较强的材料 HS 41-1，在第三片叶形成以后，第四片叶开始发生较迟，叶片长度的差异不如前者大，花序抽出的时间较前者晚 9~11 d。但从叶片结构和叶脉的数目及发育等观察结果来看，在耐旱性具明显差异的两个大麦材料之间，有相同也有不同的特点。根据叶片的生长、发育的不同，可以将叶片的发育分为幼叶萌发期、幼叶抽出期、幼叶生长期和叶片成熟期四个不同阶段，各阶段有各自的生长、发育特点。

2.1 成熟叶片的外观结构

大麦的成熟叶包括叶片和叶鞘两个明显部分。叶片基部有透明、膜状的叶舌和半月形具红色条纹的爪形叶耳。叶片扁平，脉序属平行类型，叶脉分为一级脉、二级脉、三级脉、四级脉四类；叶片中央为中脉区、较宽，整片叶具各级叶脉。在中脉区两侧，叶脉分别以近相等的数目分列。成熟叶片的中脉向叶背面突出，在叶片基部尤为明显，随位置逐步上移，突出程度逐步减少；非中脉部位背面、腹面相对较平。两个品种叶片在外观上没有明显的区别。

2.2 幼叶萌发期，叶片的结构与发育

大麦籽粒在浸种萌发时，籽粒外观无明显变化，内部具有大小不一的 3 片幼叶。外围的两片幼叶较大，第一片发育形成有 7~11 条叶脉早期结构、第二片（图版 I：1）有 3~5 条叶脉早期结构；第一幼叶短而宽（图版 I：2），第二幼叶长而窄。以后籽粒膨胀变大。

这个阶段叶片的横切面在显微镜下可见：形成的叶脉早期结构的部位，开始差异不明显，以后随着叶片的发育，幼叶具叶脉结构的部位向腹面突出明显，背面较为平整；叶片呈山峰状。叶片的表皮细胞排列紧密，细胞质浓密；尚未形成气孔，但已具有分化的细胞。两表皮间有 2~5 层叶肉组织细胞，细胞质浓密；不时可见正在分裂的细胞。维管

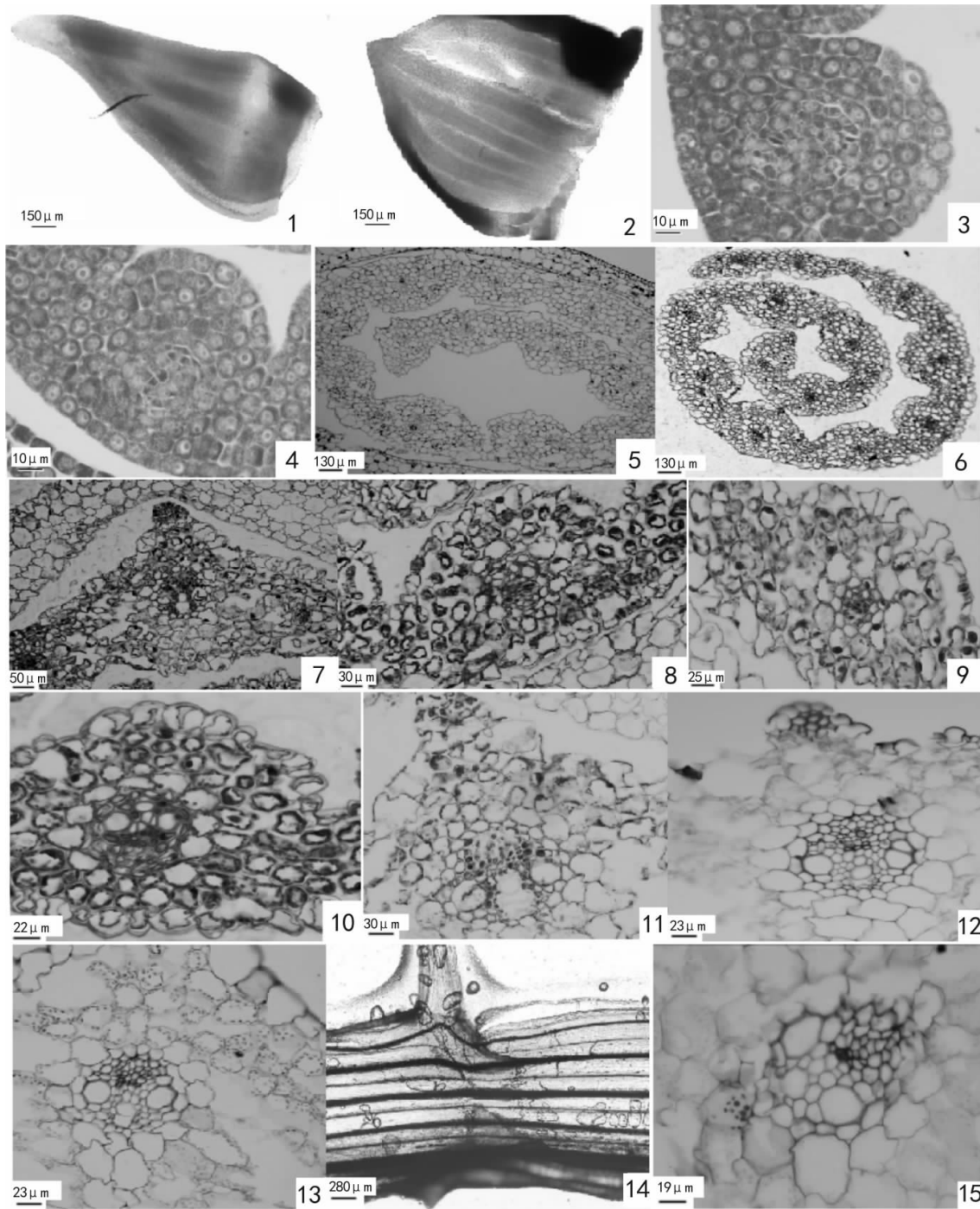
束位于幼叶的叶肉组织中央或偏向背面一侧，维管束细胞尚未分化完全，以一层可以与叶肉细胞相区分的细胞为界，这层细胞将来发育形成鞘细胞（图版 I：3）。鞘细胞径向轴与切向轴的比值较其外的叶肉细胞小，鞘细胞包围的细胞群，各细胞形态不一，大小不同，已经出现有细胞解体和分化的现象；并开始逐步形成环纹或螺纹导管，但韧皮部的发生稍晚于木质部。在两个突起间，无明显的薄壁细胞群连接（图版 I：4）。第三片幼叶尚未分化形成叶脉的早期结构。中央为生长锥，其横切面呈扁圆形。以后，在幼叶抽出过程，第三片幼叶逐渐发育形成具有 3 条叶脉的早期结构，组成与上述的幼叶相同。在这个阶段，两个品种幼叶的结构、组成相同。

2.3 幼叶抽出期，叶片的结构与发育

大麦籽粒在幼叶抽出时，生长锥外的 3 片幼叶，较大的两片已分别形成具有 9~13、7~11 条叶脉及叶脉早期结构的幼叶，此时幼叶的外观大小与上一时期变化不大。较小的一片，形成具有 5~7 条叶脉早期结构。

在显微镜下可见，较大的两片幼叶向腹面突出明显，背面较为平整，呈山峰状。但细胞分化较为明显，原生质在细胞内，多聚集在细胞壁周围，并有细胞已经逐步发育形成输导组织；木质部已形成导管，韧皮部的输导组织细胞也开始分化，在维管束外的腹面，形成较多、大的薄壁细胞，这些薄壁细胞原生质多靠边、原生质浓厚。在此阶段，在叶片的两个突起结构之间形成的薄壁细胞明显增多，突起与凹陷处的厚度的差距变小。较小的幼叶，叶片结构与幼叶萌发期较大的两片相似，细胞尚未完全分化形成输导组织。生长锥的横切面呈圆形。

在此发育阶段，两个品种的叶片结构出现差异：材料 Moroc 9-75 的维管束间的下表皮细胞大，叶片正中央维管束的导管形成慢，导管孔径小；在 PAS 染色反应可见，含有淀粉粒的薄壁细胞多，细胞内的淀粉颗粒小（图版 I：5）。材料 HS 41-1 的维管束间的下表皮细胞小，叶片正中央维管束的导管形成快，导管孔径大；在 PAS 染色反应可见，含有淀粉粒的薄壁细胞少，细胞内的淀粉颗粒大（图版 I：6）。大麦在幼叶抽出后，生长锥外的 3 片幼叶，已分别形成 15~17、9~11、7~9 条叶脉及叶脉的早期结构。维管束在叶肉中位置不同，将来发育形成的叶脉类型有不同：原来在叶肉中央的维管束将来发育形成一级叶脉（图版 I：7），原来在叶肉中部偏向背面的维

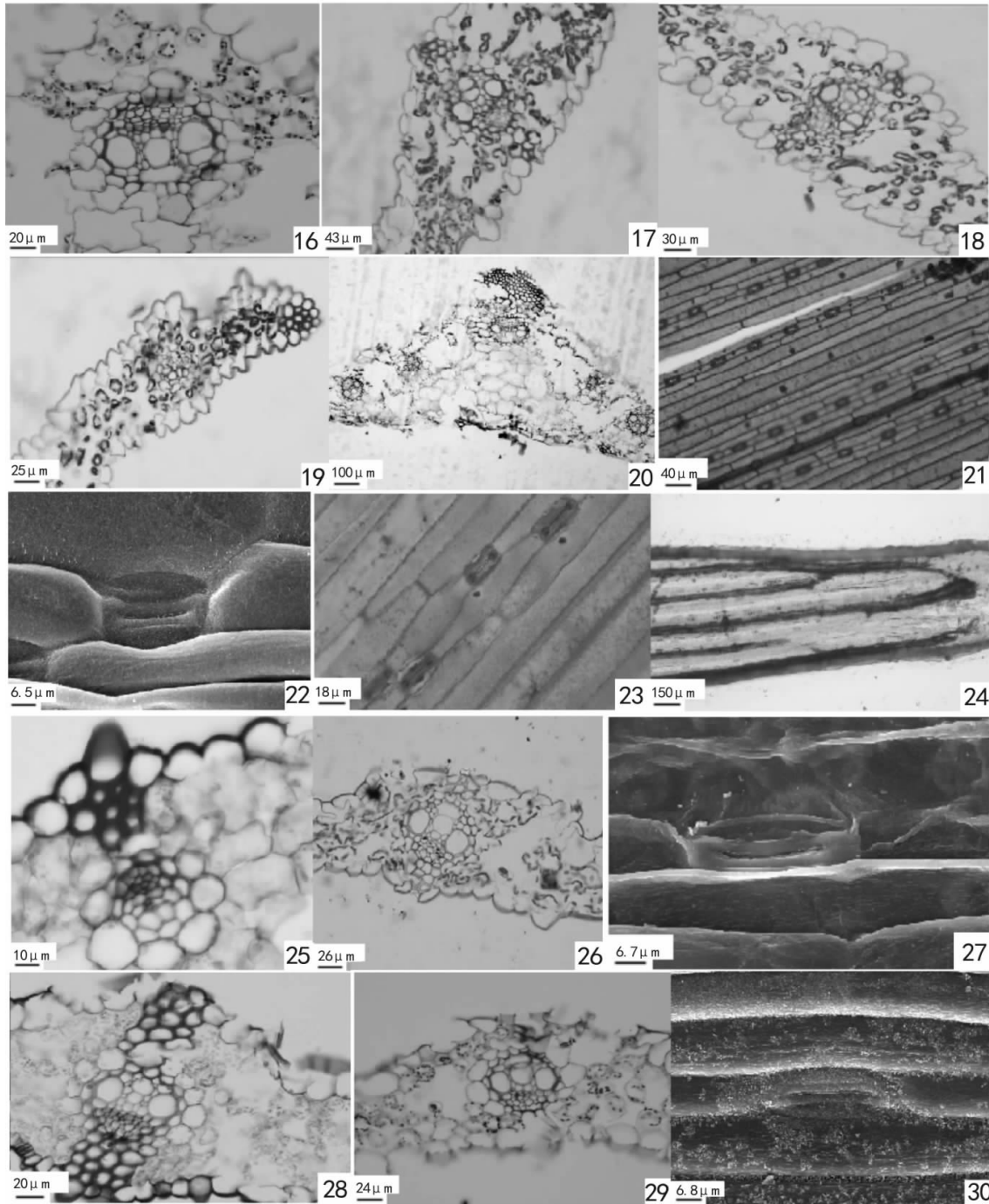


图版 I 1. 第二幼叶; 2. 第一幼叶; 3. 幼叶的早期结构, 示维管束; 4. 幼叶的早期结构, 示两个突起结构; 5. 抽出期, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示含有淀粉粒的薄壁细胞; 6. 抽出期, 材料 HS 41-1 幼叶, 示含有淀粉粒的薄壁细胞; 7. 抽出期, 材料 HS 41-1 幼叶, 示主脉; 8. 抽出期, 材料 HS 41-1 幼叶, 示二级脉; 9. 抽出期, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示一级脉; 10. 抽出期, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示二级脉; 11. 抽出期后阶段, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示表皮下的厚壁细胞; 12. 抽出期后阶段, 材料 HS 41-1 幼叶, 示表皮下的厚壁细胞; 13. 生长期, 材料 HS 41-1 幼叶, 示嵌合的表皮细胞; 14. 生长期, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示叶枕附近的叶脉; 15. 生长期, 材料 Moroc 9-75 幼叶, 示细胞的淀粉粒。

Plate I 1. Secondary tender leaf; 2. Primary tender leaf; 3. Early structure of tender leaf, showing vascular bundle; 4. Early structure of tender leaf, showing two projecting structures; 5. Sprouting stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the starch grains; 6. Sprouting stage, tender leaf of HS 41-1, showing the starch grains; 7. Sprouting stage, tender leaf of HS 41-1, showing the midrib; 8. Sprouting stage, tender leaf of HS 41-1, showing the secondary vein; 9. Sprouting stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the primary vein; 10. Sprouting stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the secondary vein; 11. Sprouting stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the sclerenchyma under the epidermis; 12. Sprouting stage, tender leaf of HS 41-1, showing the sclerenchyma under the epidermis; 13. Growth stage, tender leaf of HS 41-1, showing the inlaid epidermis cells; 14. Growth stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the vein nearby collar; 15. Growth stage, tender leaf of Moroc 9-75, showing the starch grains.

管束将来发育形成二级叶脉 (图版 I : 8), 此时尚未有三级叶脉原基出现。中脉两侧对称分布的大型、中型维管束分别形成一级叶脉、二级叶脉。叶

片由表皮、叶肉、维管束组成, 在每一个维管束外的表皮层下形成厚壁组织细胞群。已形成叶脉的维管束, 其鞘细胞开始有分裂现象, 并逐步形成两层



图版 II 16. 生长期，材料 HS 41-1 幼叶，示细胞的淀粉粒；17. 材料 HS 41-1 成熟叶片的大型维管束；18. 材料 HS 41-1 成熟叶片的中型维管束；19. 材料 HS 41-1 成熟叶片的小型维管束；20. 材料 HS 41-1 成熟叶片的中脉区；21. 成熟叶片的表皮表面观；22. 扫描电镜下的气孔器；23. 并生的气孔带；24. 在叶缘汇聚的叶脉；25. 干旱胁迫后，增厚的表皮细胞角质层；26. 干旱胁迫后，材料 Moroc 9-75 的叶肉细胞；27. 扫描电镜下，材料 Moroc 9-75 的气孔器；28. 材料 HS 41-1 的厚壁细胞；29. 干旱胁迫后，材料 HS 41-1 的叶肉细胞；30. 扫描电镜下，材料 HS 41-1 的气孔器。

Plate II 16. Growth stage, tender leaf of HS 41-1, showing the starch grains; 17. Mature stage, leaf of HS 41-1, showing the large-scale vascular bundle; 18. Mature stage, leaf of HS 41-1, showing the medium-sized vascular bundle; 19. Mature stage, leaf of HS 41-1, showing the small-sized vascular bundle; 20. Mature stage, leaf of HS 41-1, showing midrib; 21. Leaf in mature stage, showing the cell of epidermis; 22. Leaf in mature stage, showing the stomata under the SEM; 23. Stomas grow up abreast; 24. Collect all the veins in margin; 25. The cuticle of epidermis cells in mature stage under drought stress condition; 26. Mesophyll cells of Moroc 9-75 in mature stage under drought stress condition; 27. Stomata of Moroc 9-75 under the SEM; 28. Sclerenchyma cells of HS 41-1; 29. Mesophyll cells of HS 41-1 in mature stage under drought stress condition; 30. Stomata of HS 41-1 under the SEM.

的维管束鞘（图版 I：9）；以后，两层维管束鞘细胞的内层细胞，开始逐步出现细胞壁的加厚，形成除内切向壁外的五面加厚结构。维管束外的细胞在该阶段仍然可见明显的分裂现象。但薄壁细胞由原

生质靠边、浓厚开始变为稀薄。在叶片中原来明显突出的腹面，在两凹陷处的薄壁组织细胞逐渐增加，使两维管束间的距离增加；突起与凹陷的厚度差进一步变小。将来发育形成一级叶脉的维管束位

于叶片的中部,将来发育形成二级叶脉的维管束偏向叶片的边缘(图版 I:10)。

一级叶脉、二级叶脉外到表皮细胞间的厚壁细胞少(图版 I:11);维管束形成的具五面加厚的鞘细胞少。在 PAS 染色反应可见,含淀粉粒的叶肉细胞少,淀粉粒颗粒小。材料 HS 41-1 的表皮细胞小;一级叶脉、二级叶脉外到表皮细胞间的厚壁细胞多(图版 I:12);维管束形成的具五面加厚的鞘细胞多。在 PAS 染色反应可见,含淀粉粒的叶肉细胞多,淀粉粒颗粒大。

2.4 幼叶生长期,叶片的结构与发育

大麦的幼叶抽出后,其外包被的叶鞘在较长一段时间存在。在叶片的生长期,叶片在显微镜下其横切面结构由表皮、叶肉、维管束三部分组成。叶片中央形成中脉区,在发育过程,中脉区经历一个分裂旺盛期,薄壁细胞迅速增加、逐步形成向背面突出,中央维管束以外的近轴面形成较多、大的薄壁细胞。表皮层外切向壁加厚、角质化明显;此阶段叶肉有一个迅速发育、分化的阶段。中脉区主维管束已经形成了两层的维管束鞘细胞,外层为薄壁细胞,排列不规则;内层为除外切向壁外的五面加厚的厚壁细胞,排列整齐;维管束为外韧有限维管束(图版 I:13);在中脉区主维管束的两侧,位于表皮下 3~4 层细胞处,对称分布有小维管束及中型维管束,但此阶段小维管束结构尚未发育完全,仅见一团明显与周围细胞区别的结构,中型维管束已经逐步形成。在中脉区的两侧,叶片的一级脉、二级脉已经形成,维管束外的背面表皮层下有一团细胞发育、分化为厚壁组织,厚壁组织外的表皮较其它表皮细胞小;腹面表皮层下的厚壁组织细胞少、薄壁组织细胞多;相邻的表皮细胞间径向细胞壁有明显的嵌合现象。此时三级脉发育完成,四级脉为横向连接的叶脉,尚未完全形成。一、二级脉或由叶枕附近发出(图版 I:14);或在叶片中部附近产生分支,逐步增粗形成;二级脉将来也可以由中脉区的维管束延伸形成。

在此发育阶段,两个品种的叶片结构出现差异:材料 Moroc 9-75 的一、二级叶脉维管束的韧皮部与原生木质部之间有较多的薄壁细胞;内层维管束鞘细胞具有五面加厚细胞壁的少、细胞壁较薄。三级叶脉内轮薄壁的鞘细胞明显。在 PAS 染色反应可见,含淀粉粒的叶肉细胞少,淀粉粒颗粒小(图版 I:15)。材料 HS 41-1 的一、二级叶脉维管束的韧皮部与原生木质部之间有较少的薄壁细胞;内层维管束鞘细胞具有

五面加厚细胞壁的多、细胞壁较厚。三级叶脉内轮薄壁的鞘细胞不太明显。在 PAS 染色反应可见,含淀粉粒的叶肉细胞多,淀粉粒颗粒大(图版 II:16)。

2.5 叶片成熟期,叶片的结构和发育

成熟大麦叶片的中脉向叶背面突出,在叶片基部尤为明显,随着叶片的上升,突出程度逐步减少;非中脉区的背面、腹面则突出不明显。当花序抽出时,植株具 4~5 片绿叶,倒数第三片叶最长,绿叶中最顶 1 片为旗叶。旗叶叶片较短,中部以下最宽,近披针形,但叶鞘较长,旗叶长 (8.6 ± 0.8) cm。旗叶结构、叶脉组成与成熟叶一致,两个品种的旗叶无明显差异。花序从旗叶叶鞘中部膨胀并向上生出。

在显微镜下观察到叶片的横切面由表皮、叶肉和维管束三部分组成。表皮由 1 层表皮细胞组成,细胞形状不规则,排列不整齐,相邻细胞径向壁的镶嵌明显,具表皮毛和气孔器。叶肉细胞由薄壁细胞组成,不规则排列,不分化为栅栏组织和海绵组织,维管束分布其中。维管束分为大型、中型和小型三类,大型维管束整体横长为 (179 ± 18) μm ,导管分子 4~7 个,大多数为后生导管,后生导管分子孔径为 (36 ± 5) μm ,原生导管分子孔径为 (16 ± 4) μm ;至成熟时大多数原生导管解体破裂。韧皮部筛管分子细胞小。维管束外有两轮维管束鞘,外轮为薄壁细胞,内轮为除外切向壁外的五面加厚的厚壁细胞(图版 II:17)。中型维管束整体横长为 (89 ± 9) μm ,维管束外有两轮维管束鞘,外轮为薄壁细胞,内轮为完整或不完整五面加厚的厚壁细胞,原生导管分子孔径为 (13 ± 4) μm ,后生导管分子孔径为 (27 ± 5) μm (图版 II:18)。小型维管束整体横长为 (65 ± 9) μm ,原生导管分子孔径为 (6 ± 2) μm ,后生导管分子孔径为 (12 ± 3) μm ;维管束外由一层或两层不完整的薄壁细胞组成的维管束鞘包围(图版 II:19)。叶片中央为中脉区,中脉区中部有一大型维管束(图版 II:20);叶片以中脉区为对称轴分布有各种维管束组成的叶脉。中脉区突出部位的两侧各依次分布有 2~3 个小型维管束及一个中型维管束,小型维管束外被薄壁细胞组成的鞘包围,内含 1~5 个导管和管胞。在两中型维管束间的腹面表皮,有泡状细胞分布;在大、中型维管束外的表皮层下有厚壁细胞束分布;维管束间为薄壁细胞。大型维管束外远轴面的表皮层下有 5~11 个厚壁细胞组成的细胞束分布,腹面的表皮层下有 3~8 个厚壁细胞组成的细胞束分布。在中型维管束外两表皮层下,有 1~7

个厚壁细胞组成的细胞束分布。在小型维管束外两表皮层下，没有厚壁细胞分布。叶缘为表皮细胞包被的厚壁细胞束。表皮细胞表面观明显分为气孔带区和非气孔带区，两者相间排列；在非气孔带区有规律地排列有表皮毛带（图版Ⅱ：21）。表皮毛细胞为细胞壁不均匀加厚的细胞，形成硬化的刺毛，毛大多向上，也有向下的；毛外展部分为厚壁结构。气孔器下陷，由两个保卫细胞、两个副卫细胞组成；保卫细胞哑铃型，含较少原生质；副卫细胞哑铃半圆型，含丰富原生质（图版Ⅱ：22）。在观察中不时发现有两列气孔带并列生长现象（图版Ⅱ：23）。两气孔器间有1~2个表皮细胞。非气孔带区的表皮细胞为4~6边形、长条状，近气孔带的稍短，远离气孔带的稍长。

成熟大麦叶片的叶脉分为一级脉、二级脉、三级脉、四级脉四类。其中，叶片中央的中脉区分布有一级叶脉1条，中脉区突出的两侧则各有2~3条三级叶脉、1条二级叶脉。在中脉区两侧，一至三级脉分别以近相等的数目分列。在幼叶时发育的叶脉可以形成一级脉和二级脉，以一级脉居多。一级脉形成后，在它们之间形成二级脉。一级脉、二级脉的发生、生长是中央快、两边慢；以后由于细胞不断分裂、分化而逐渐增多、增粗。成熟的一级脉间具1~5条二级脉；二级脉间具1~3条三级脉。二级脉一部分来自幼叶或叶枕，一部分由中脉区的维管束延伸形成，一部分由三级脉进一步分化形成。三级脉极少数来源于叶鞘，多数由二级脉区中部细胞分化而来，由于分化不同步，在观察中发现有断断续续的三级脉。各级纵向叶脉在叶尖逐渐汇聚（图版Ⅱ：24），从而构成整张叶片脉序的纵向条纹；四级脉是横向连接一至三级脉的结构。在二、三级脉形成以后，伴随有四级脉的发生。四级脉作为横向结构与主脉区、一级、二级、三级叶脉连接，形成在显微镜下可见的细小脉间区，这些叶脉有规律地分布构成大麦的输导结构。成熟叶片的表面观可以看见：除中脉区外，还有6~8条一级脉，6~16条二级脉，10~34条三级脉，以左右对称形式分列。中脉区中央叶脉、一级脉由大型维管束组成，在横切面可见清晰的木质部和韧皮部，且整体横长大，维管束外具两轮清晰的维管束鞘，从叶枕向叶尖方向直行，至叶片上部逐步与叶缘贴生而逐步消失。二级脉由中型维管束组成，在横切面可见清晰的木质部和韧皮部，且整体横长较大，从叶枕向叶尖方向直行，至叶片中部终止或在上部逐

步与叶缘贴生而逐步消失。三级脉由小型维管束组成，在横切面看见的木质部和韧皮部细胞不多，从叶枕向叶尖方向直行，至叶片中部终止或在上部逐步与四级脉连接而消失。叶耳具由叶鞘和叶片延伸出的小导管组成环状的输导结构，成熟叶的叶耳具一大、一小清晰的二轮维管束。

经干旱胁迫处理后的两个材料与未经干旱胁迫的对照材料相比，出现明显变化，胁迫后的植株长势明显较弱，叶片短而窄。表皮解离材料发现：气孔关闭的多、气孔器长与宽的比值下降，两列气孔带并列生长的现象消失；从横切面结构看，表皮细胞角质层变厚（图版Ⅱ：25），新出叶叶肉细胞破裂现象增多，老叶叶肉细胞破裂现象则不如新叶破裂多；叶片中叶肉细胞变小，叶肉细胞间隙变大。叶脉数目基本不变。PAS染色反应显示，叶肉细胞不含淀粉粒，或含淀粉粒的叶肉细胞减少、颗粒变小。

在此发育阶段，两个品种的叶片结构出现差异：未经干旱胁迫处理时，材料Moroc 9-75较小、较短的叶片有主脉1条；一级脉6条；二级脉6条；三级脉10条；较大、较长的叶片有主脉1条；一级脉6条；二级脉12条；三级脉28条。叶长 (31.8 ± 15.2) cm。二级叶脉维管束与表皮层之间的厚壁细胞少；三级叶脉内轮薄壁的鞘细胞明显。在PAS染色反应可见，含淀粉粒的叶肉细胞少，淀粉粒颗粒小。干旱胁迫处理后，叶肉细胞间隙大，解体细胞多，基本没有淀粉粒（图版Ⅱ：26）。在扫描电镜下可见，表皮细胞表面具较少的蜡质颗粒，保卫细胞有外凸现象，表皮细胞外凸明显（图版Ⅱ：27）。材料HS 41-1未经干旱胁迫处理时，较小、较短的叶片有主脉1条；一级脉6条；二级脉8条；三级脉14条；较大、较长的叶片有主脉1条；一级脉8条；二级脉16条；三级脉34条。叶长 (34.5 ± 9.8) cm。二级叶脉维管束与表皮层之间的厚壁细胞多（图版Ⅱ：28）；三级叶脉内轮薄壁的鞘细胞明显。在PAS染色反应可见，含淀粉粒的叶肉细胞多，淀粉粒颗粒大。干旱胁迫处理后，叶肉细胞间隙大，解体细胞不如材料Moroc 9-75多，细胞具有淀粉粒（图版Ⅱ：29）。在扫描电镜下可见，表皮细胞表面具较密的蜡被，保卫细胞有外凸不明显，表皮细胞壁凹陷（图版Ⅱ：30）。

3 结论与讨论

3.1 叶片的结构和发育与耐旱性关系

在李扬汉（1979）的研究中，不同品种的大麦

都具有“茎出叶的第一片叶形短而宽，第二片以后的叶形长而窄、叶尖钝，旗叶小，旗叶以下第二、第一叶最长。叶片有 10~12 条与中肋平行的脉”的特点。从研究结果看，耐旱性不同的品种都基本符合这特点，但在本研究材料中，叶片最长均为倒数第三叶，与上述观点不同。旗叶最短、较宽，旗叶与茎的基角不大，也与杨煜峰等（1991）的研究结果一致。在研究的两个品种中，基角大小与耐旱性强弱没有明显联系。但是，耐旱性不同与花序抽出的时间有区别，相差 9~11 d；与叶片长度的变化、抽出的时间也有差异，耐旱性强的材料在第四片叶抽出后，叶片的发生较耐旱性弱的迟约 1 周，但各叶片长度变化较有规律、差异不如耐旱性弱的大，这种变化与其适宜在干旱环境下生长、保水强有一定的相关性；且在干旱胁迫处理后，两个品种的叶片均出现叶片短而窄，植株长势明显较弱的现象，这也与其适应干旱环境、产生自身的变化一致（简令成等，2009）。

在观察中没有发现下表皮具微毛和乳突，这与蔡联柄（1999）的研究结果相同，但气孔器常 1 至多列集生于脉间一侧、表皮毛带细胞具有明显波状纹细胞壁以及在观察的材料中没有发现大毛等结果与蔡联柄（1999）的研究结果不同。在观察中发现，不时有气孔器带并列生长的情况、在干旱胁迫处理后，两个品种的表皮解离材料的气孔器密度变小，气孔关闭的多、气孔器长与宽的比值下降，两列气孔带并列生长的现象消失、从横切面结构看，表皮细胞角质层变厚；叶片中叶肉细胞变小，叶肉细胞胞间隙变大等现象，与植物在干旱条件下生长，产生的对环境的适应而形成的细胞保水、提高细胞间输导的变化有关，也与李芳兰（2009）在其它植物中研究的结果相似，说明该物种有适于旱生生活的特性。

植物对环境刺激的反应和适应是通过细胞结构和代谢相互制约的改变来实现的、光合速率降低、气孔关闭是植物对干旱胁迫的一个最普遍的反应（陈守良等，1993；简令成等，2009），在研究的两个品种中，它们的气孔器下陷，干旱胁迫后，气孔常常处于关闭状态或开得很小，表皮细胞外壁增厚、表皮毛外展部分为厚壁结构，这些都与其受生长后期旱风影响小的生长习性相符（李扬汉，1979），表现出大麦是一种较耐旱的作物（Ceccarelli, 1994）。总的看大麦可以在较为干旱的环境下生活，且干旱胁迫后，叶片结构产生一些适应干旱的变化。

在正常生长情况下，从叶片结构和叶脉的数目及发育等观察结果看，耐旱性具明显差异的大麦品种之间，叶片、叶肉、叶脉的结构在光镜下是有差异的，这与同为四大经济作物的小麦在光镜下结构无明显差异有别（于晶等，2010）；特别是细胞含有的淀粉粒大小与数量有显著的区别；电子显微镜下，表皮上的蜡质颗粒也有不同。耐旱性较强的材料，从第四片叶开始，叶片的发生较迟，每片抽出时间较晚，叶片长度的差异不大，花序抽出的时间晚；这些都与耐旱性弱的材料有明显的区别，造成这些原因是：干旱胁迫引起种质间生理生化特性的差异（Li *et al.*, 2006；Guo *et al.*, 2009）和超微结构对环境变化的适应有关（吴凯等，2007；白志英等，2009）；同时，与其他学者在干旱生态型植物，采取保守用水，使生长缓慢（杨帆等，2007）和叶面积减少（陈珂等，2009）等对抗干旱的现象一致，这是植物对水分胁迫的一种适应，也是耐旱性强弱的大麦品种形态特征的表现。

3. 2 叶脉结构的比较

伊稍（1982）认为禾草类植物的维管束鞘有各种变异，可分为早熟禾族、画眉草族、黍族三种类型。早熟禾亚科植物多为碳三植物，通常有两轮维管束鞘，外轮为薄壁细胞，内轮为厚壁细胞，内层厚的细胞壁为栓质化。大麦属于早熟禾亚科（张宏达等，2004），也具有两轮维管束鞘，大、中型维管束鞘的外轮为薄壁细胞，内轮为完整或不完整五面加厚的厚壁细胞，小型维管束鞘均为薄壁细胞，与典型的碳三植物有区别，这种形式的结构尚未见报导。内轮维管束鞘的特点与植物抗性的关系，有待进一步研究。

耐旱性不同的两个品种的叶片其主脉和一级脉的差异不大，但材料 HS 41-1 的二级脉条数比材料 Moroc 9-75 多 25%，三级脉条数比 Moroc 9-75 多 30%。叶脉对植物刚性的影响较大，因此材料 HS 41-1 对干旱的忍受程度相对较大。

参考文献：

- 李扬汉. 1979. 禾本科作物的形态解剖 [M]. 上海：上海科技出版社：393-416
- 伊稍 (Esau K) 著. 李正理译. 1982. 种子植物解剖学 [M]. 第 2 版. 上海：上海科技出版社：250-256
- 张宏达, 黄云晖, 缪汝槐, 等. 2004. 种子植物系统学 [M]. 北京：科学出版社：548-573
- 陈守良, 金乐杏, 吴竹君. 1993. 禾本科叶片表皮微形态图谱 [M]. 南京：江苏科学技术出版社：1-116
- 简令成, 王红著. 2009. 逆境植物细胞生物学 [M]. 北京：科学出版社：115-226
- Bai ZY (白志英), Li CD (李存东), Qu P (屈平). 2009. Effect of drought stress on ultrastructure of flag leaves in wheat

- chromosome substitution lines (干旱胁迫对小麦中国春——Synthetic 6X 代换系叶片超微结构的影响) [J]. *J Chin Electr Microsc Sci* (电子显微学报), **28** (1): 68—72
- Cai LB (蔡联炳). 1999. Combinative patterns of constituent cells of leaf epidermis of poaceae and their taxonomic significance (禾本科叶片表皮结构细胞的组合式样及其分类学意义) [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), **19** (4): 415—427
- Ceccarelli S. 1994. Specific adaptation and breeding for marginal conditions [J]. *Euphytica*, **77**: 205—219
- Ceccarelli S, Grando S, Baum M, et al. 2004. Breeding for Drought Resistance in A Changing Climate [M] //Challenges and Strategies of Dryland Agriculture. Madison: Crop Science Society of America and American Society of Agronomy: 167—190
- Cellier F, Conejero G, Breitler JC, et al. 1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflowers. Accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance [J]. *Plant Physiol*, **116**: 319—328
- Chen K (陈珂), Jiao JY (焦娟玉), Yin CY (尹春英). 2009. The Morphological and physiological responses of plants to water stress (植物对水分胁迫的形态及生理响应) [J]. *Hubei Agric Sci* (湖北农业科学), **48** (4): 992—995
- Chen WL (陈文利), Xu LL (徐朗莱), Shen WB (沈文隧), et al. 1999. Changes of hydrogen peroxide accumulation and hydrogen peroxide-scavenging enzyme activity in the leaves of two barley species under salt stress (盐胁迫下两品种大麦叶片 H₂O₂ 累积及其清除酶活性的变化) [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), **22** (2): 97—100
- Cochard H, Coll L, Roux XL, et al. 2002. Unraveling the effects of plant hydraulics on stomatal closure during water stress in walnut [J]. *Plant Physiol*, **128**: 282—290
- Dai QY (代庆阳), Tang ZS (汤泽生), Su XH (苏学辉), et al. 2000. Ultrastructure of young leaf cells in nanchong yellowish barley (南黄大麦幼叶细胞的超微结构) [J]. *J Sichuan Teach Coll: Nat Sci Edit* (四川师范学院学报·自然科学版), **21** (4): 312—314
- Demirevska K, Simova-Stoilova L, Vassileva V, et al. 2008. Rubisco and some chaperone protein responses to water stress and real watering at early seedling growth of drought sensitive and tolerant wheat varieties [J]. *Plant Growth Regul*, **56**: 97—106
- Guo PG, Baum M, Grando S, et al. 2008. QTLs for chlorophyll and chlorophyll fluorescence parameters in barley under post-flowering drought [J]. *Euphytica*, **163**: 203—214
- Guo PG, Baum M, Grando S, et al. 2009. Differentially expressed genes between drought-tolerant and drought-sensitive barley genotypes in response to drought stress during the reproductive stage [J]. *J Exp Bot*, **60** (12): 3 531—3 544
- Gupta S, Berkowitz GA. 1988. Chloroplast osmotic adjustment and water stress effects on photosynthesis [J]. *Plant Physiol*, **88**: 200—206
- Kolodziejek, I, Koziol J, Waleza M, et al. 2003. Ultrastructure of mesophyll cells and pigment content in senescing leaves of maize and barley [J]. *Plant Growth Reg*, **22**: 217—227
- Li FL (李芳兰), Bao WK (包维楷), Wu N (吴宁). 2009. Morphological and physiological responses of current sophora davidii seedlings to drought stress (白刺花幼苗对不同强度干旱胁迫的形态与生理响应) [J]. *Acta Ecol Sin* (生态学报), **29** (10): 5 406—5 416
- Li R, Guo P, Baum M, et al. 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley [J]. *Agric Sci Chin*, **5**: 751—757
- Radyuk MS, Homan NM. 2002. Discrete character of the development of the photosynthetic apparatus in greening barley leaves [J]. *Photosyn Res*, **72**: 117—122
- Reddy AR, Chaitanya KV, Vivekanandan M. 2004. Drought induced response of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants [J]. *J Plant Physiol*, **161**: 1 189—1 202
- Ristic Z, Cass DD. 1991. Chloroplast structure after water shortage and high temperature in two lines of Zea Mays L. that differ in drought resistance [J]. *Bot Gaz*, **152** (2): 186—194
- Stoyanova D, Tchakalova E, Yordanov I. 2002. Influence of different soil moisture on anatomy of maize leaves and ultrastructure of chloroplasts [J]. *Bulg J Plant Physiol*, **28** (12): 11—20
- Tang ZS (汤泽生), Dai QY (代庆阳), Su XH (苏学辉). 1989. Ultrastructure of the leaf cells in Nan-huang barley (南黄大麦叶细胞的亚显微结构) [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **22** (4): 22—25
- Vassileva V, Simova-Stoilova L, Demirevska K, et al. 2009. Variety-specific response of wheat (*Triticum aestivum* L.) leaf mitochondria to drought stress [J]. *J Plant Res*, **122** (4): 445—454
- Wu K (吴凯), Zhou XY (周晓阳). 2007. Effects of environmental stresses on plant ultrastructure (环境胁迫对植物超微结构的影响) [J]. *J Shandong For Sci Technol* (山东林业科技), **3**: 80—83
- Yang F (杨帆), Miao LF (苗灵凤), Xu X (胥晓), et al. 2007. Progress in research of plant responses to drought stress (植物对干旱胁迫的响应研究进展) [J]. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), **13** (4): 586—591
- Yu Cheng-hong Chen Ze-lian. 1991. Leaf Architecture [M]. International Academic Publishers: 1—280
- Yu J (于晶), Zhou ZS (周子珊), Mu YC (牟永潮), et al. 2010. Comparison of leaf tissue structure of different cold hardiness winter wheat varieties under low temperature (低温下不同抗寒性冬小麦叶片组织结构比较) [J]. *J Northeast Agric Univ* (东北农业大学学报), **41** (4): 7—11
- Yang JH (杨金华), Cheng JS (程加省), Yu YX (于亚雄), et al. 2010. Effect of different cultivation model on barley leaf characteristics (不同栽培方式对大麦叶片性状的影响) [J]. *Southwest Chin J Agric Sci* (西南农业学报), **23** (1): 37—40
- Yang YF (杨煜峰), Lu DZ (陆定志). 1991. Genetic analysis on morpho-physiological traits of barley flag leaf (大麦剑叶形态生理性状的遗传分析) [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **24** (1): 20—26
- Zhang WH (章文华), Liu YL (刘友良), Xia CP (夏长沛). 1991. Effects of salinity on activity of two enzymes in barley and wheat during emergence (盐胁迫下钙对大麦和小麦离子吸收分配及 H⁺-ATP 酶活性的影响) [J]. *J Nanjing Agric Univ* (南京农业大学学报), **35**: 435—439
- Zou JJ (邹俊杰), Wang SG (王三根), Zhou TY (周堂英). 2002. Dynamic changes in nutrients of different barley cultivars in their vegetative growing period (不同品种大麦营养生长与营养成分动态变化) [J]. *J Southwest Agric Univ* (西南农业大学学报), **24** (2): 155—158