

小麦植株发育过程中顶三叶结构的变化特征*

苗 芳, 张嵩午

(西北农林科技大学 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 采用常规制片方法, 在光学和电子显微镜下观察了不同小麦品种顶三叶的显微和超微结构。结果表明, 随着叶位上升, 叶表皮气孔缩小, 密度增大, 叶脉间的距离缩短; 叶肉细胞变小, 排列更紧密, 单位横截叶面积中叶肉细胞的数目以及单个叶肉细胞中叶绿体的数目增多, 而叶绿体中多基粒片层所占比例有减少的趋势。

[关键词] 小麦; 植株发育; 顶三叶; 叶片结构

[中图分类号] S512.1+10.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2004)10-0015-05

根据小麦植株体内有机物运输的方向和规律可知, 小麦顶三叶的结构和功能与小麦产量的关系最为密切, 因此, 关于顶三叶的结构和生理特性的研究已有不少报道。其中, 有关结构的研究主要集中在旗叶与低叶位叶片叶肉细胞形态和叶绿体超微结构的差异^[1,2]、旗叶衰老过程中超微结构的变化^[3~5]、小麦品种更替过程中旗叶叶肉细胞的变化^[6,7], 以及不同温度型小麦种质顶三叶的结构差异^[8]等方面; 有关生理特性的研究主要集中在旗叶与低位叶生理特性的比较^[2]、不同品种间顶三叶生理特性的比较^[9], 以及扬花后衰老期间旗叶生理特性的变化^[3,5,10~12]等方面, 而对于小麦个体发育过程中顶三叶结构的变化趋势还未见报道。因此, 本试验研究了与小麦产量密切相关的旗叶、倒二叶和倒三叶3片功能叶在扬花期的结构, 以为进一步阐明叶片结构与其生理功能相互依赖的关系及小麦优良品种的选育提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验地位于渭河谷地头道塬的西北农林科技大学农作试验站, 该站属于中国小麦主产区——黄淮平原冬麦区, 为暖温带半湿润气候。参试品种5个, 分别为陕229, 小偃6号, NR9405, 9430和偃师9号, 与其他小麦品种共15个, 随机区组排列, 重复3次; 每个小区7行, 行长2.67 m, 行距0.25 m, 株距0.03 m, 于10月上旬开沟带尺播种。田间管理按黄

淮平原冬麦区品种比较试验的要求进行。

1.2 取样、制片与测量统计方法

1.2.1 顶三叶表皮气孔器大小与数量的测定 在扬花期, 选择5个小麦品种中具有代表性的植株, 每小区1株, 每品种3株, 分别切取主茎上的旗叶、倒二叶和倒三叶, 制作叶片上、下表皮水装片, 显微镜下测量气孔器长度和宽度, 统计视野中气孔的数目, 每株测量统计10个重复, 每个品种30个重复, 求其平均值。

1.2.2 顶三叶叶脉间距离的测定 选择5个小麦品种中具有代表性的植株, 分别切取顶三叶叶片中部长1 cm、宽为叶片宽度的叶片, 用FAA固定液固定, 石蜡切片法制作叶片横切片, 切片厚度10 μm, 番红—固绿双重染色, 加拿大树胶封片, 显微镜下观察测量叶脉间的距离, 方法为从中脉向一侧依次测量叶脉间的距离, 求其平均值。

1.2.3 顶三叶叶肉细胞形态特征与叶绿体基粒片层分布特征的测定 选陕229, NR9405和小偃6号3个小麦品种, 分别切取顶三叶中部1 mm²的叶片, 制作半薄切片和超薄切片。切取的材料先用40 mg/g戊二醛和20 mg/g多聚甲醛混合液固定, 放置在4℃冰箱内6 h, 然后用磷酸缓冲液漂洗, 再在4

℃下用10 mg/g的锇酸固定2 h, 后经缓冲液漂洗, 丙酮浓度梯度脱水, Epon 812渗透并包埋, 超薄切片机切片。先切取1~2 μm的半薄切片, 经甲苯胺蓝染色, 在显微镜下观察叶肉细胞形态、测量叶肉细胞长度、统计单位叶面积内叶肉细胞数目以及单个

* [收稿日期] 2004-02-16

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(30070150; 30270766)

[作者简介] 苗 芳(1965-), 女, 陕西蒲城人, 副教授, 博士, 主要从事植物形态解剖研究。

叶肉细胞中叶绿体数目,每株重复10次,每个品种重复30次。再切取厚度为50~60 nm的超薄切片,经醋酸双氧铀及柠檬酸铅染色,于100CX-II型透射电子显微镜下观察,统计各小麦品种顶三叶叶绿体基粒片层数以及基粒垛数,每品种随机统计100个基粒,并根据Goodenough等改进的Teichler-Zallen法^[13],按公式 $100nN / nN$ 统计绘制旗叶、倒二叶和倒三叶叶绿体基粒片层分布图。式中, n 为基粒片层数, N 为基粒垛数, nN 为基粒片层数为 n 的基粒的总片层数, nN 为统计的所有基粒的总片层数。

表1 小麦顶三叶上、下表皮气孔器的平均大小

Table 1 The length and width of the top-three leaves' epidermal stomatal apparatus of wheat μm

品种 Variety	旗叶 Flag leaf		倒二叶 The 2nd top leaf		倒三叶 The 3rd top leaf	
	长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width
小偃6号 Xiaoyan 6	59.7	13.0	64.0	14.3	68.4	15.4
陕229 Shaan 229	61.2	12.6	63.5	14.6	67.6	13.3
9430	59.1	13.6	64.4	14.2	70.5	15.6
NR9405	60.8	12.8	63.1	12.4	67.3	13.2
偃师9号 Yanshi 9	58.6	12.9	63.9	13.6	68.2	14.0
平均值 Average	59.9	13.0	63.8	13.8	68.4	14.3

2.2 顶三叶表皮气孔器的密度

在显微镜下观察叶表皮水装片,将表皮上的气孔列移入视野内,统计圆形视野内气孔的数目。各小麦品种上、下叶表皮气孔的密度(即单位面积内气孔的数目)见表2。从表2可以看出,各小麦品种顶三

2 结果与分析

2.1 顶三叶表皮气孔器的大小

小麦叶下表皮由表皮细胞、气孔器和表皮毛组成,上表皮另外还有泡状细胞。在叶表皮上,气孔列和非气孔列相间排列。小麦叶表皮气孔器由4个细胞组成:2个哑铃形保卫细胞和2个副卫细胞,气孔器的长度为哑铃形细胞的长度,宽度为4个细胞组成的气孔器中部的宽度。各小麦品种叶上、下表皮气孔器的长度和宽度见表1。由表1知,各小麦品种顶三叶表皮气孔器的长度和宽度均随叶位的上升而减小,旗叶表皮气孔器的长度和宽度均最小。

表1 小麦顶三叶上、下表皮气孔器的平均大小

叶上表皮气孔的密度均大于下表皮;随着叶位的上升,上、下叶表皮气孔密度均增大,以旗叶上、下叶表皮气孔密度最大,倒三叶最小。根据气体扩散的小孔律,气孔小、密度大有利于提高叶片的蒸腾速率。

表2 顶三叶上、下表皮气孔密度

Table 2 The top-three leaves' epidermal stomatal density of wheat 个/mm²

品种 Variety	旗叶 Flag leaf		倒二叶 The 2nd top leaf		倒三叶 The 3rd top leaf	
	上表皮 Upper epidermis	下表皮 Lower epidermis	上表皮 Upper epidermis	下表皮 Lower epidermis	上表皮 Upper epidermis	下表皮 Lower epidermis
小偃6号 Xiaoyan 6	58.3	44.2	46.8	36.5	40.2	32.2
陕229 Shaan 229	52.4	38.2	41.7	36.2	35.2	30.9
9430	63.1	44.6	47.0	38.4	38.8	32.0
NR9405	56.1	45.0	49.8	41.1	41.9	32.7
偃师9号 Yanshi 9	57.3	46.3	49.3	40.7	42.3	37.4
平均值 Average	57.4	43.7	46.9	38.6	39.7	33.0

2.3 顶三叶叶脉间的距离

小麦叶片中的叶脉分中脉和侧脉,中脉的横截面相对较大,侧脉相对较小。侧脉数目较多,而且也有大小之分,大的侧脉中有原生木质部和后生木质部的分化,小的侧脉中只有少量的原生木质部。一般大的侧脉之间具有3个小的侧脉。小麦各品种顶

三叶中相邻侧脉间的平均距离见表3。

从表3可以看出,各小麦品种顶三叶随着叶位的升高,叶片中叶脉间的距离缩小,以旗叶中叶脉间的距离最小。叶脉间的距离小,意味着单位叶面积中维管束的数目较多,叶片中输导组织较发达。顶三叶间相比,以旗叶中的维管组织最发达。

表3 顶三叶叶脉间的距离

Table 3 The interval between veins in the top-three leaves of wheat

叶位 Leaf location	小偃6号 Xiaoyan 6	陕229 Shaan 229	9430	NR9405	偃师9号 Yanshi 9	平均值 Average
旗叶 Flag leaf	228	238	263	250	258	249
倒二叶 The 2nd top leaf	240	253	283	278	283	267
倒三叶 The 3rd top leaf	268	270	310	270	280	280

2.4 顶三叶叶肉细胞的形态特征

从小麦叶片半薄切片可以观察到, 各品种的旗叶叶肉细胞较短, 排列较紧密, 细胞间隙较小; 叶肉细胞中央具有较大的液泡, 叶绿体呈一层或多层沿叶肉细胞边缘排列, 叶绿体排列紧密, 数目较多。倒二叶和倒三叶与旗叶相比, 叶肉细胞较长, 排列松散, 细胞间隙较大, 叶肉细胞中叶绿体含量较少。各

小麦品种顶三叶叶肉细胞的形态特征见表4。从表4可以看出, 各小麦品种顶三叶叶肉细胞长度随着叶位的上升而减小, 单位叶面积叶肉细胞数目和单个叶肉细胞中叶绿体数目均随着叶位的上升而增加。这说明随着叶位上升, 叶肉细胞渐小, 排列渐紧密, 单位叶面积中的细胞数目、叶绿体数目渐多, 因此, 叶片的光合速率也逐步增高。

表4 顶三叶叶肉细胞形态特征

Table 4 Characteristics of mesophyll cells in the top-three leaves of wheat

品种 Variety	叶位 Leaf position	叶肉细胞形态特征 Characteristics of mesophyll cells		
		叶肉细胞 长度/ μm Mesophyll cell length	叶肉细胞数目/ mm^{-2} Mesophyll cells in unit area	单个叶肉细胞中 叶绿体数目 Chloroplasts in a single mesophyll cell
陕229 Shaan 229	旗叶 Flag leaf	41.5	1 904	23.0
	倒二叶 The 2nd top leaf	41.0	1 393	20.7
	倒三叶 The 3rd top leaf	47.7	1 055	17.2
小偃6号 Xiaoyan 6	旗叶 Flag leaf	41.9	1 566	20.8
	倒二叶 The 2nd top leaf	49.6	1 371	18.0
	倒三叶 The 3rd top leaf	53.5	960	14.5
NR9405	旗叶 Flag leaf	58.2	1 119	16.4
	倒二叶 The 2nd top leaf	59.8	898	16.0
	倒三叶 The 3rd top leaf	64.5	764	14.7

2.5 顶三叶叶绿体的基粒片层分布

叶绿体中大多数基粒片层与叶绿体长轴平行, 少数接近叶肉细胞壁一侧的基粒片层呈辐射状排列, 每个叶绿体中基粒垛数一般为12~16。在灌浆结实期, 叶绿体基粒片层的垛叠程度随着生育期的推进而发生变化。在扬花期, 顶三叶生理代谢处于最

旺盛时期, 其细胞结构分化已完成, 叶片结构处于相对稳定和相对完整的阶段; 叶绿体基粒片层和基质片层排列整齐, 叶绿体基质浓厚, 代谢旺盛, 形成较多的囊泡, 将叶绿体内的光合产物运出, 同时叶绿体分裂也较旺盛, 形成较多的幼小叶绿体。小麦品种陕229顶三叶叶绿体基粒片层在扬花期的分布见图1。

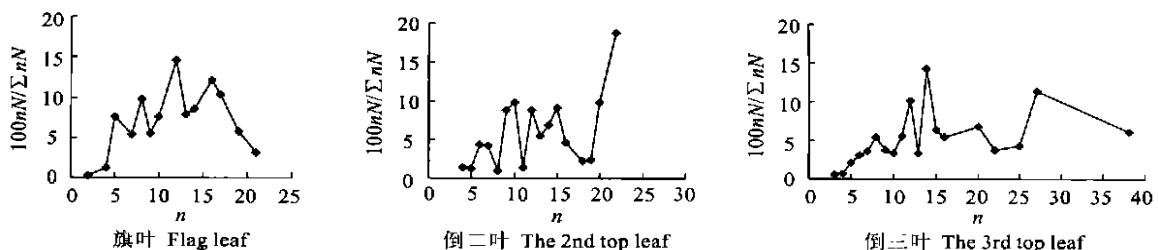


图1 扬花期陕229顶三叶叶绿体基粒片层的分布

Fig. 1 Distribution of chloroplast granular lamellae in the three-top leaves of Shaan 229 in flowering stage

从图1可以看出, 陕229顶三叶叶绿体中基粒片层数大于20的基粒总片层数占统计总片层数的

比例以旗叶最低(占3.2%), 倒三叶最高(占32.3%), 倒二叶位于旗叶和倒三叶之间(占

28.5%）。小偃6号和NR9405也具有类似的结果，表明小麦顶三叶叶绿体基粒片层的垛叠程度随着叶位的降低有增强的趋势，基粒片层数大于20的基粒增多。

3 讨 论

关于小麦个体发育过程中叶肉细胞的结构变化及作物品种更替过程中叶肉细胞的结构变化已有不少研究报道^[1,6,7]。研究认为^[1]，小麦个体发育过程中，随着叶位上升各类型细胞的形态和结构互有差异，并反映出逐步复杂化的规律，具体表现在：随着叶位上升，多环叶肉细胞的类型增多，旗叶中多环叶肉细胞最多。在小麦品种更替过程中，随着品种由远及近的更替顺序，同一叶位的叶片叶肉细胞中，多环叶肉细胞的频率逐渐提高^[6,7]。叶肉细胞环数增加，叶肉细胞的表面积就会增大，进而增加了原生质膜的面积，则在细胞内可以安排更多的叶绿体，这就增大了光合作用的表面积，这也是旗叶叶绿素含量和光合速率最高的原因之一。作者对小麦扬花期顶三叶结构的研究表明，随着叶位上升，叶表皮的气孔变小，而数量增多；叶片中维管束间的距离减小，维管束变稠密；叶肉细胞变小，单位叶面积中叶肉细胞的数目和单个叶肉细胞中叶绿体数目均增加。气孔变小，数量增多，有利于叶片的蒸腾作用，提高蒸腾速率，促进小麦植株体内的物质循环，同时，也有利于CO₂进入叶片中，提高光合速率。叶片维管组织发达，有利于植株体内水分、矿物质和有机物的运输。

因此，除了叶肉细胞的结构特征外，叶表皮气孔特征、叶片中维管束特征也是影响叶片生理功能的重要因素。可见，小麦顶三叶中，旗叶的叶绿素含量、蛋白质氮含量以及光合速率、蒸腾速率等生理指标最高，与其叶片结构的优化组合是分不开的。

对小麦^[2]和玉米^[14]不同层次叶片中叶绿体超微结构的研究表明，不同叶位的叶片叶肉细胞中，叶绿体的超微结构随叶位上升而渐趋复杂化，旗叶或果穗叶最为显著，具体表现在叶绿体基粒片层的数目随着叶位上升而增多。但作者对小麦扬花期顶三叶叶绿体基粒片层的统计却表明，随着叶位的降低，多基粒片层所占比例增加，造成这两种相反结论的主要原因是叶龄的影响。前人研究中，不同叶位叶片均在叶片完全展开后取样，各叶位叶龄保持一致，而本研究中，各叶位取样时期与小麦生产实践紧密联系，即按小麦生育期取样，在同一生育期（扬花期）各叶位的叶龄是不同的。据报道^[2]，当叶片处于壮年时期，叶绿体基粒片层有递增的趋势，而当叶片转入衰老枯黄期时，基粒片层开始减少。也就是说，在叶片衰老之前，叶龄越长，基粒片层变得越发达。因此，本研究结果与前人研究结果并不矛盾。在扬花期，旗叶叶肉细胞中单个叶绿体基粒片层与其他两叶位的叶片相比虽然不发达，但由于旗叶叶肉细胞小，排列紧密，单个叶肉细胞中叶绿体数目多，因而单位叶面积中总的光合膜较发达；另外，由于其叶龄最小，衰老最缓慢，因此，旗叶对小麦籽粒灌浆的贡献是任何叶位叶片无法代替的。

[参考文献]

- [1] 段续川,许霖庆,左宝玉,等 小麦叶片细胞的研究——冬小麦个体发育过程中叶肉细胞及其它类型细胞结构变化的观察[J].植物学报,1974,16(3): 254- 261.
- [2] 左宝玉,段续川 冬小麦不同层次叶片叶绿体超微结构及其功能的研究[J].植物学报,1978,20(3): 223- 228.
- [3] 岳寿松,余松烈,于振文 小麦旗叶衰老期间光合作用与叶肉细胞超微结构的变化[J].沈阳农业大学学报,1998,29(1): 1- 5.
- [4] Hurkman W J. Ultrastructure changes of chloroplast in attached and detached aging primary wheat leaves[J]. Am J Bot, 1979, 66: 64- 70.
- [5] Araus J L,Labrana X. Leaf photosynthesis and chloroplast senescence patterns in wheat flag leaves during grain filling[J]. Photosynthesis, 1991, 25(1): 33- 37.
- [6] 刘莹,李雁鸣,张立言 华北地区小麦品种更替过程中叶片细胞形态和光合性能演替规律的研究 I. 叶片细胞形态的演替[J].河北农业大学学报,1998,21(3): 7- 11.
- [7] 田笑明,叶珍 新疆冬小麦品种更替与旗叶叶肉细胞变化的关系研究[J].作物学报,1990,16(3): 267- 275.
- [8] 苗芳,冯佰利,周春菊,等 冷型小麦叶片显微结构的一些特征[J].作物学报,2003,29(1): 155- 156.
- [9] 张嵩午,王长发 冷型小麦及其生物学特征[J].作物学报,1999,25(5): 608- 615.
- [10] Patterson T G,Moss D N,Brun W A. Enzymatic changes during the senescence of field-grown wheat[J]. Crop Sci, 1980, 20: 15- 18.
- [11] Wittenschmid V A. Ribulose bisphosphate carboxylase and proteolytic activity in wheat leaves from anthesis through senescence[J]. Plant Physiol, 1979, 64: 604- 608.

- [12] Araus J L, Tapia L, Calafé R. Ontogenetic changes in photosynthetic capacity and dry matter production of wheat flag leaves during the grain filling period[J]. Photosynth Res, 1986, 8: 209- 218
- [13] Goodenough U N, Levine R P. Chloroplast ultrastructure in mutant strains of chlamydomonas reinhardtii lacking components of the photosynthetic apparatus[J]. Plant Physiol, 1969, 44: 990- 1000
- [14] 王群瑛, 胡常浩. 玉米不同叶位叶片叶绿体超微结构与光合性能的研究[J]. 植物学报, 1988, 30(2): 146- 150

Change characteristics of the top-three leaves' structure in wheat development process

MIAO Fang, ZHANG Song-wu

(College of Life Sciences, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The top-three leaves' micro-structure and ultra-structure of different wheat varieties were observed under optical and electrical microscopes by routine slicing method. The results indicate that, with the ascending of leaf location, leaf epidermis becomes small and its amount increases; the interval between veins becomes short; mesophyll cells become small and arranged more closely, amount of mesophyll cells in unit cross-section area and chloroplasts in a single mesophyll cell increase, and the percent of higher granular lamellae in chloroplast decreases.

Key words: wheat; plant development; top-three leaves; leaf structure

(上接第14页)

Study on the characteristics of carbohydrate transfer of stem and sheath and grain-filling in two-line hybrid rice

ZHAO Bu-hong^{1,2}, XILING LIN², YANG Jian-chang¹,

WANG Zhi-qin¹, ZHU Qing-sen¹, ZHANG Hong-xi²

(¹ College of Agronomy, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China;

² Liyuan Region Agricultural Research Institute of Jiangsu, Yangzhou, Jiangsu 225007, China)

Abstract: The translocation characters of reserves in stem and sheath and its relation to the grain filling were studied during ripening stage with different types two-line hybrid rice. The results showed that: Two-line hybrid rice had obviously higher net photosynthetic rate and dry matter accumulation after heading than that in three-line hybrid rice. EPMSS had significant positive correlations with the ripened grains, the degree of grain-filling, the maximum grain-filling rate and the mean grain-filling rate. The reserves and its translocation of stem and sheath in basic parts were high in all varieties. Because of earlier redistribution and higher amount of translocation of reserves of stem and sheath in the early filling, the translocation rate, the ripened grains and the degree of grain-filling were higher. The result showed the redistribution of reserves in the early filling was important to the grain filling. Improving carbohydrate/spikelet ratio before heading stage and accelerating usable carbohydrate transfer to grains at the beginning of filling are helpful to activate the activities of grains, accelerate filling, reduce unfilled-grain and improve grain plumpness.

Key words: two-line hybrid rice; redistribution of reserves in stem and sheath; grain plumpness