

华南五针松幼茎发育研究*

Studies on the Development of the Young Stems of *Pinus kwangtungensis*

陈健辉¹, 缪绅裕¹, 王厚麟¹, 邹丽华²

CHEN Jian-hui¹, MIAO Shen-yu¹, WANG Hou-lin¹, ZOU Li-hua²

(1. 广州大学生命科学学院, 广东广州 510006; 2. 广州双桥实验学校, 广东广州 510163)

(1. School of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou, Guangdong, 510006, China; 2. Guangzhou Shuangqiao Experimental School, Guangzhou, Guangdong, 510163, China)

摘要: 利用透射电子显微镜和光学显微镜对华南五针松 (*Pinus kwangtungensis*) 顶芽和一年生幼茎, 进行形态结构和发育的观察, 并进行细胞内淀粉粒含量的研究。结果表明, 华南五针松幼茎在芽鳞形成后期, 顶芽出现分区结构。顶芽细胞、幼茎细胞中, 质体、线粒体、内质网等细胞器的分布、数量与其干旱生活的环境相适应。茎的皮层、初生木质部有树脂道分布, 均为裂生型垂直树脂道, 由莲座状排列的 12~18 个细胞发育而来。淀粉粒在树脂道发育成熟前后的动态变化与树脂的合成和分泌有一定的关系。随着各组织的发育完善, 幼茎内薄壁细胞的淀粉粒呈现一个由无到丰富的动态变化。

关键词: 华南五针松 幼茎 发育 淀粉粒

中图分类号: Q944 文献标识码: A 文章编号: 1005-9164(2007)02-0150-05

Abstract: Transmission electron microscope and optical microscope technique were applied in the study of the morphology, development and starch grains in cells of terminal buds and young stems of *Pinus kwangtungensis*. Result is as follows: Shoot apex zones were appeared in the late period of terminal buds scale formation. The plastid, mitochondrion, endoplasmic reticulum distribution and quantity fitted the droughty living environment in the terminal bud cells, young stem cells. The cortex and the primary xylem of the young stem had resin ducts from 12~18 cells arranging the lotus form. There is a certain relationship between the dynamics state change of starch grains before and after maturity and development in resin ducts. With the growth of the organizations the starch grains in the parenchyma cells shows a non to a rich dynamics state change.

Key words: *Pinus kwangtungensis*, young stem, development, starch grains

松科植物在我国分布广, 大多数为重要的经济树种, 其中也有不少孑遗植物。目前国内外对松科植物茎的研究呈现多样化, 包括初生结构和次生结构的解剖学观察^[1~3]、电子显微结构观察^[4]、形态结构的综合观察^[5]、种与种之间的木材比较^[6,7]、以及树脂道的发生发育研究^[8~10], 等等。华南五针松 (*Pinus kwangtungensis* Chun ex Tsiang) 又名广东松或广东五针松, 是国家的二级保护植物^[11], 分布在南岭, 黔

东南、桂南和海南岛五指山等海拔 700~1800m 山地, 为针阔混交林或悬崖上的保护植物。华南五针松为乔木, 高可达 30m, 胸径可达 1.5m, 是山顶森林植被演替的先锋阳生树种。目前关于华南五针松的相关报道多见于生态方面的研究^[12~14], 茎形态结构发育方面的研究尚未见报道。本实验主要从解剖形态学角度, 通过对华南五针松幼茎的不同发育期进行解剖学研究, 总结、归纳华南五针松幼茎发生的结构特点和生长发育规律, 揭示其适应特定环境的结构特征和发育过程, 并探讨其与近缘类群的关系。

1 材料与方法

实验用的华南五针松材料采自韶关南岭自然保

收稿日期: 2006-11-06

作者简介: 陈健辉(1966-), 男, 副教授, 主要从事植物形态和植物发育方面的研究。

* 广东省自然科学基金(04009527)和广东省科技计划(2004B33301023)项目资助。

护区。采集地点海拔为 900~1320m。2005 年 3 月到 11 月期间,采集不同生长期的华南五针松顶芽和 1 年生茎,根据不同的研究目的,制作不同的标本进行研究。

1.1 组织结构观察材料制片

对顶芽及较软的材料,用卡诺氏固定液固定,较硬材料,用甘油、酒精的混合液,进行软化;两者均用爱氏苏木精整体染色,常规石蜡切片法切片,厚度为 10 μ m,中性树胶封固,置于 Olympus 显微镜下观察并摄影。

1.2 组织化学观察材料制片

材料经固定(或软化)后,进行梯度酒精脱水,用石蜡包埋,按常规石蜡切片法切片,切片厚度 10 μ m, PAS 反应法(高碘酸-席夫反应法)染色,鉴定淀粉粒,中性树胶封固,用 Olympus 显微镜观察并摄影。

1.3 透射电子显微镜观察材料

取顶芽、幼茎,用戊二醇-锶酸双重固定,系列酒精脱水,环氧丙烷过渡, Epon812 环氧树脂包埋, Philips-400 型透射电子显微镜观察、摄影。

2 观察结果

2.1 顶芽发育特点

华南五针松顶芽结构包括顶端原始细胞群和中央母细胞区两部分,在顶芽的最先端,为顶端原始细胞群,1 至 2 层细胞,中央母细胞区位于顶端原始细胞群下方。在芽鳞发育早期,顶芽纵切面可见细胞未出现分化,还没有出现分区结构,原始细胞没有淀粉粒的分布(图 1A);横切面可见细胞小而等径,细胞核较大,细胞壁薄,液泡无或小而分散,原生质浓厚,细胞分布均匀,但排列不太规则,无细胞特化现象出现。

在芽鳞发育后期,顶芽纵切面可见细胞出现了分化,也出现分区结构(图 1B),原始细胞有淀粉粒分布,初生分生组织位于中央母细胞区下端。在横切面可见,细胞出现分化,茎已经分化出原表皮、原形成层和基本组织。从顶芽的连续横切片看,基本组织的细胞数量比较多,细胞体积比较大,细胞壁薄,细胞核多位于靠近细胞的内表面位置,细胞内含大量淀粉粒,皮层由基本组织细胞发育形成。原形成层细胞体积较小,径向轴明显小于切向轴,细胞核所占比例大,原生质浓厚,染色较深,所有的形成层细胞成行排列,在其周围有相对明显的细胞形成束,束与束之间被一些薄壁细胞分隔,并围绕茎的中央排列成一圈,细胞内无淀粉粒分布(图 2A)。在束以外的组织中各有一个较束小、由多个细胞组成的细胞群,这些细胞比基本组织细胞稍小,这些是树脂道的原始细胞,这些细胞的

细胞核大,原生质浓厚,染色较深。原表皮细胞的大小和基本组织的大小差不多,但细胞稍成方形,排列较为规则紧密,处于茎的外围;细胞外切向壁有明显的、连续的角质加厚;细胞内无淀粉粒分布。

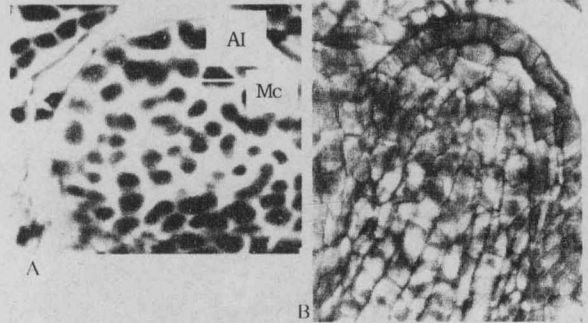


图 1 顶芽纵切面

Fig. 1 Longitudinal section of terminal bud

A. 示顶端原始细胞群(AI)和中央母细胞区(Mc)×520; B. 示分区结构×455。

A. Showing the apical initials(AI)and the central mother cells(Mc)×520; B. Showing the histochemical ×455.

在基本组织形成、原形成层出现后,顶芽的横切面上可见原形成层进一步分裂,形成明显的形成层区,向外分裂、发育形成韧皮部,向内分裂、发育形成木质部,两者的形成时间基本相同。以后形成层区外部逐渐发育、分化出筛胞细胞;形成层近茎中央端也分化形成管胞,管胞呈近圆形,无核,中空,细胞壁厚,形成的细胞成束排列明显(图 2B);形成层以内的薄壁组织细胞中所含的淀粉粒清晰可见;维管束之间的距离也逐渐缩短。皮层和初生木质部的一定位置,树脂道原始细胞进一步发育形成呈莲座状的细胞群,各由 12~18 个细胞组成,一般位于皮层部位的树脂道原始细胞较多,位于初生木质部树脂道原始细胞较少。在已经出现的莲座状细胞群最内一圈细胞,由于细胞壁的中层溶解而形成间隙,并互相分开,形成一个由这些细胞围成的扁椭圆形开口,这是树脂道的开口。位于皮层部位的树脂道原始细胞较多,形成的开口也较大。树脂道的形成与管胞、筛胞形成时间同步或稍早。薄壁组织细胞内的淀粉粒大小与上一阶段相比,没多大改变,但数量有所增加。

2.2 顶芽细胞的电子显微镜结构

在透射电子显微镜下,华南五针松顶芽发育初期的幼嫩细胞,尚未形成成熟细胞的特征,其大液泡还没有形成,仅有小而分散液泡,细胞核电子密度不大;细胞质浓厚,散布着较多小油滴,具前质体、双层膜的小泡及少量线粒体、内质网等细胞器(图 3);前质体有球形或卵形等,内膜开始呈现初步向内折叠状;线粒体较小,呈近球形,两层膜比较清晰,内膜向内折

叠。另外,细胞壁不均匀增厚,具较为明显凹陷区域。幼嫩细胞的细胞核、细胞质特点和细胞器的分布体现了活跃细胞的特征。

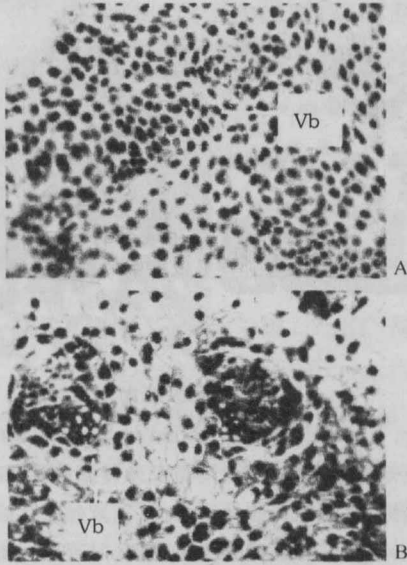


图2 顶芽横切面

Fig. 2 Transverse of terminal bud

A. 示一个开始分化的维管束(Vb)×250;B. 示已形成输导组织的维管束(Vb)×318。

A. Showing the vascular bundle (Vb) × 250; B. Showing the vascular bundle with conducting tissue (Vb) × 318.

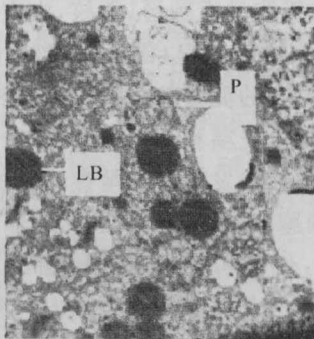


图3 幼茎细胞超微结构(×4200)

Fig. 3 Ultra-structure of shoot apex cell(×4200)

LB. 示油体, P. 示前质体。

P. proplastid, LB. lipid body.

2.3 一年生幼茎发育特点

华南五针松幼茎的一年生阶段短暂,横切面由外而内可以明显分为:表皮、皮层、维管束(包括初生韧皮部、束中形成层和初生木质部)、髓;在维管束间有不太明显的髓射线(图4)。

2.3.1 表皮和皮层

处于初生生长的华南五针松幼茎表皮由单层扁平细胞构成,液泡发达,内含有淀粉粒,外切向壁较厚,明显角质化,具角质层;细胞间排列紧密,其中某些部位的表皮细胞间具有间隙,是气孔器的所在位

置。表皮下是一层连续的薄壁细胞,大小相近,排列整齐,为皮下层。

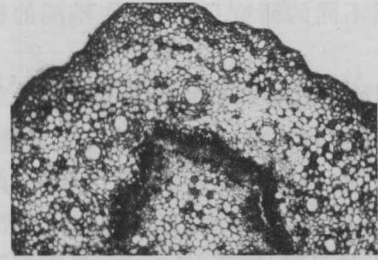


图4 一年生幼茎横切面(×120)

Fig. 4 Transverse of young stem(×120)

皮下层以内的皮层厚度相当于幼茎的2/3,主要由薄壁细胞及树脂道组成,薄壁细胞比较大,细胞壁薄,一般呈等径,细胞内含有大量淀粉粒,因为细胞间具发达的胞间隙,所以从组织整体上看,皮层的质地显得比较疏松。在皮层上还分布有两轮或三轮成熟树脂道,一般外轮的较小,内轮的较大;每个树脂道都由1层上皮细胞和1层鞘细胞围成,这些鞘细胞同样含有大量淀粉粒。

2.3.2 初生维管束

在初生生长时期,韧皮部由大量薄壁细胞和少量筛胞、韧皮纤维组成,质地疏松。韧皮部的薄壁细胞的细胞核大,细胞质浓厚,淀粉粒含量丰富。筛胞的细胞壁稍厚。

束中形成层基本上与束间形成层连接成环状结构,只有少数部位仍然为薄壁细胞所断开(图5A)。形成层细胞明显较周围的细胞小,在横切面上所占的比例很小。

初生木质部的径向宽度与初生韧皮部相近,主要由管胞和木纤维构成,管胞上可见明显的具缘纹孔。初生木质部细胞小,细胞壁厚且木质化,径向紧密排列成行。从茎的切向切面和径向切面都可以看到管胞类型多数为孔纹管胞,少数为梯纹管胞。当第三轮皮层树脂道形成时,初生木质部也开始形成树脂道,初生木质部中的成熟树脂道,其口径不如皮层的大,呈近圆形,也由1层上皮细胞和1~2层鞘细胞围绕而成(图5B)。

2.3.3 髓和髓射线

髓和髓射线都是由薄壁细胞组成,髓射线呈1~2列细胞排列,细胞内淀粉含量高,近髓的细胞较远髓的细胞大。髓部近呈星状,细胞大小不一,胞间隙不明显,整个形状呈近圆形或椭圆形,未见树脂道分布。

2.4 一年生茎细胞的电子显微镜结构

在透射电子显微镜下在靠近顶端分生区部位的薄壁细胞,细胞壁厚度不一致。细胞核电子密度较高,没有形成中央大液泡,液泡小、多且分散(图6A)。细

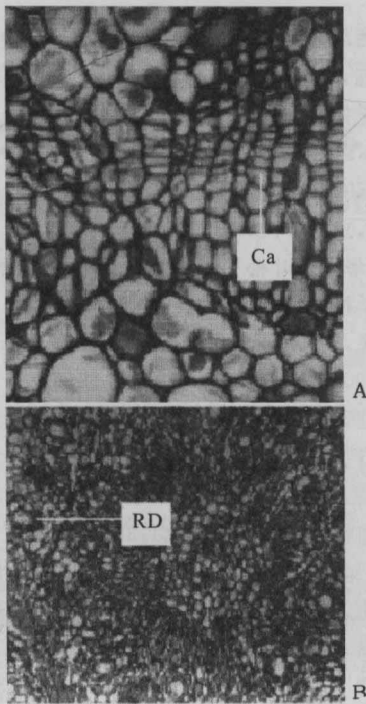


图5 幼茎横切面

Fig. 5 Transverse of young stem.

A. 示束中形成层和束间形成层(Ca)×495; B. 示维管束及维管束内的树脂道(RD)×170。

A. Showing the intrafascicular cambium and interfascicular cambium (Ca) in vascular × 495; B. Showing the vascular bundle and the resin ducts(RD)×170.

胞质浓厚,含有较多油滴以及多种细胞器。细胞器中,线粒体数量多,形态大小各异,松散的分布在细胞质中,呈近圆形,椭圆形,并且可以观察到内膜内折所形成的嵴;内质网形成扁平的条状或分枝,分布亦非常广泛(图6B);高尔基体数量少,但清晰可见(图6C)。细胞具有许多噬饿颗粒,嗜饿颗粒数量不等,大小不一,着色灰暗,近球形,有的电子密度较大,有的电子密度中等。

在远离分生区部位的薄壁细胞,其细胞已经液泡化,细胞核电子密度较高,可以观察到细胞中有个中央大液泡,细胞的细胞核已经被中央大液泡挤到细胞的边缘。细胞壁不均匀增厚明显,具较为明显的凹陷区域。细胞质浓厚,含较大的油滴。线粒体数量多,呈近圆形,椭圆形,内膜内折所形成的嵴明显;内质网分布广泛(图6D)。

3 讨论

3.1 细胞和组织的分化与其生活环境的关系

在华南五针松幼茎发育过程中,顶芽、幼茎的表皮细胞都有角质层覆盖,能有效减少水分蒸发。顶芽

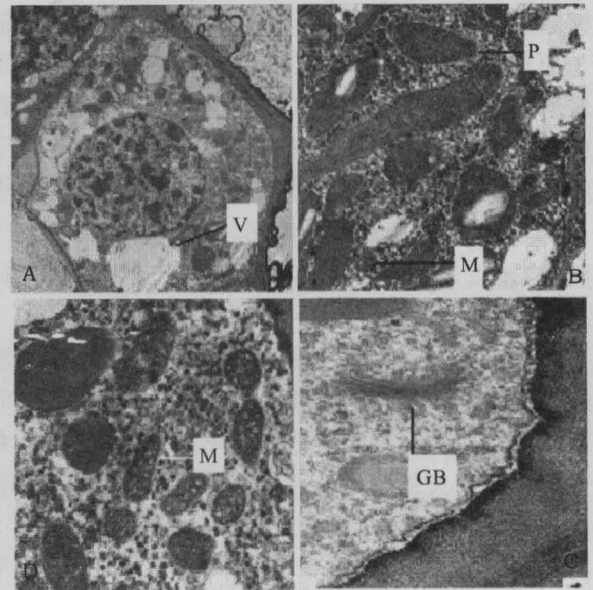


图6 顶芽细胞超微结构

Fig. 6 Ultra-structure of shoot apex cell

A. 示液泡(V),×2100; B. 示前质体(P)和线粒体(M),×5600; C. 示高尔基体(GB),×10200; D. 示线粒体(M),×8500。

A. Showing vacuole(V)×2100; B. Showing proplastid(P) and mitochondrion (M), × 5600; C. Showing golgi body (GB), × 10200; D. Showing mitochondrion (M), × 8500.

细胞和幼茎细胞中,含有许多大小不一、近球形的油滴,油滴可以适当阻碍水分流动,也减少水分蒸发,这是华南五针松茎适应干旱环境的一个特点。

在顶芽细胞尚未分化时,细胞内有前质体、无片层的双层膜小泡,到一年生幼茎时,线粒体大量出现,由于线粒体多聚集在细胞生理功能旺盛区,所以这时出现的线粒体与这一阶段树脂道的大量产生具有一致性。此外在顶芽发育初期细胞没有出现高尔基体,到顶芽出现分区及幼茎细胞中高尔基体的出现,而这个时期皮层、初生木质部出现并形成大量树脂道,与吴鸿等^[8]在研究其它松属植物所述的:“高尔基小泡对树脂道的形成有联系”的现象是一致的。说明细胞器的分化、产生与树脂道的形成相吻合。

3.2 树脂道的发生和发育

松柏类植物的茎中大量地分布着树脂道,但不同科、属的植物的树脂道的类型和分布位置有不同^[8~10]。本实验的结果表明:在华南五针松幼茎的皮层、初生木质部均有树脂道的分布,皮层与初生木质部的树脂道存在有产生前后有序规律,树脂道的类型为垂直树脂道,在茎的各个结构中未发现有水平树脂道的分布。

关于树脂道的发生和发育过程,前人^[8~10]对马尾松、油松的树脂道的发生发育都有详细的研究,皮

层树脂道起源于基本分生组织,初生木质部树脂道起源于原形成层细胞,包括原始细胞阶段、细胞壁中层膨胀阶段、胞间隙形成阶段、腔隙扩大阶段和树脂道成熟阶段。根据华南五针松茎顶芽、幼茎的连续切片观察,树脂道的发生发育过程和以上研究结果基本相同,都是由树脂道原始细胞群通过细胞间细胞壁中层膨胀、溶解以及腔道扩大而形成的,属于裂生型树脂道。

华南五针松幼茎所有的树脂道的形态结构基本相同,都是由上皮细胞和鞘细胞围成的腔道,只是不同部位的树脂道鞘细胞层数有所不同,皮层和初生木质部的树脂道大部分由一层鞘细胞围成,部分具有两层鞘细胞,皮层的树脂道数量多,口径较大。

3.3 淀粉粒的分布

淀粉粒广泛存在于华南五针松茎的薄壁细胞中,在绝大部分发育阶段和结构中都有淀粉粒的存在,呈颗粒状。据耿世磊等人^[9]对树脂道的发育研究表明,淀粉粒在树脂道发育成熟前后的动态变化可能跟树脂的合成和分泌有一定的关系;树脂道成熟以后,淀粉粒可能通过糖酵解途径转变为丙酮酸,丙酮酸再经三羧酸循环脱羧和脱氢,产生乙酰辅酶A,从而为树脂的合成提供前体物质和能量。根据对华南五针松幼茎连续切片观察,在树脂道发育成熟之前,淀粉粒均匀分布在细胞中,数量随着茎的发育不断增加,但体积变化不是很明显,稍有增大;在树脂道发育成熟后,茎其它结构的细胞中淀粉粒的数量和体积没有明显变化,但树脂道周围的细胞,特别是树脂道的上皮细胞,其淀粉粒的体积缩小,数量也有一定减少的现象,说明华南五针松幼茎的淀粉能提供合成树脂的前体物质和能量。

参考文献:

[1] 王彦涵,林鉴钊. 松科4属植物茎初生结构比较研究

[J]. 西北植物学报,2000,20(5):852-855.

- [2] 张振钰,高信曾. 白皮松次生初皮部的解剖学观察[J]. 植物学报,1984,26(2):145-150.
- [3] BAAS P,LEE CHENGLLEE,ZHANG XINYING,et,al. Some effects dwarf growth on wood structure[J]. IAWA Bullns,1984,5:45-63.
- [4] 董源. 华北落叶松一年生茎的电子显微镜研究[J]. 西北植物学报,1996,16(4):415-420.
- [5] 林金星,胡玉熹. 裸子植物结构图集[M]. 北京:科学出版社,2000:6-15.
- [6] 李正理,樊拥军,崔克明. 云南松与地盘松木材结构比较观察[J]. 植物学报,1994,3(7):502-505.
- [7] 李正理,张新英. 三种正常与矮化松树的木材比较解剖[J]. 植物学报,1985,27(4):354-360.
- [8] 吴鸿,Martin M. 欧洲赤松树脂道上皮细胞树脂分泌方式研究[J]. 植物学报,1999,41(2):133-135.
- [9] 耿世磊,吴玉荷,赵晟等. 马尾松茎初生树脂道发生和发育研究[J]. 华南农业大学学报,2000,21(3):44-47.
- [10] ZAMSKI E,FAHN A. Observations on resin secretion from isolated portions of resin ducts of *Pinus halepensis* Mill[J]. Isr J Bot,1974,21:35-38.
- [11] 戚康标,常弘,缪汝槐. 中国珍稀濒危动植物辞典[M]. 广州:广东人民出版社,2001:596.
- [12] 缪绅裕,王伟彤,曾阳金,等. 广东石门台自然保护区广东松群落的基本特征[J]. 广西植物,2004,24(5):390-395.
- [13] 王献浦,李信贤. 广西环江县石灰岩山地广东松林群落学特点的研究[J]. 植物研究,1989,9(3):77-86.
- [14] 杜道林,刘玉成,苏杰. 茂兰喀斯特山地广东松种群结构和动态初步研究[J]. 植物生态学报,1996,20(2):159-166.

(责任编辑:邓大玉)

韩国科学家成功绘制出世界首个蛋白质三维模型

韩国科学家已成功绘制出控制生物体内细胞自我终止的蛋白质三维结构模型,这在世界上尚属首次。

Mst1 蛋白已知是程序性细胞死亡的催化剂。程序性细胞死亡是多细胞机体内细胞的终结,其中包含一系列导致受损细胞或异常细胞死亡的生物化学反应。韩国基础科学研究所生物学家郑在俊率领的科研小组绘制出 Mst1 蛋白的三维结构图,这幅图将为今后研究中风和心肌梗死等与细胞终止有关的疾病铺平道路。

(据科学网)