

毛竹茎秆组织速生的时空发育特征

崔凯¹, 何彩云², 张建国^{2*}, 廖声熙¹

(1. 中国林业科学研究院资源昆虫研究所, 云南 昆明 650224;

2. 中国林业科学研究院林业研究所, 国家林业局林木培育重点实验室, 北京 100091)

摘要:为探索毛竹从发笋到竹秆形成的组织发育规律, 对不同发育时期和部位的毛竹茎秆进行组织解剖分析并进行数量化分析。结果表明:竹秆的快速发育主要表现在节间的纵轴方向, 节间发育由细胞分裂和细胞伸长控制。发育初期, 在薄壁细胞和纤维细胞上可以看到大量的细胞核出现, 此时细胞分裂占主导地位; 随着组织发育, 细胞核逐渐减少并消失, 薄壁细胞和纤维细胞的长度显著增加, 细胞伸长在发育中后期占主导地位。竹秆的发育、成熟和老化从基部首先启动, 中部和顶部要顺次晚一些。基部的纤维组织最先出现木质化, 此时茎秆的高度大约为 6 m。竹秆的细胞伸长呈阶段性的波动, 薄壁组织的细胞长度在快速伸长期偏离正态分布, 在缓慢伸长期呈正态分布。

关键词:毛竹; 茎秆; 组织发育; 解剖结构; 细胞伸长

中图分类号: S795.7

文献标识码: A

Characteristics of Temporal and Spatial Tissue Development During the Rapidly Growing Stage of Moso Bamboo Culms

CUI Kai¹, HE Cai-yun², ZHANG Jian-guo², LIAO Sheng-xi¹

(1. Research Institute of Resources Insects, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650224, Yunnan, China; 2. Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry; Key Laboratory of Forest Tree Breeding and Cultivation, State Forestry Administration, Beijing 100091, China)

Abstract: To explore the development regularity from shoot to stem, the culms in different developmental stages and portions of Moso bamboo (*Phyllostachys heterocycla* cv. *pubescens*) were studied by anatomy analysis. The results of histological observations indicated that the rapid development of culms mainly presented in longitudinal direction, which was dominated by cell division and cell elongation. In the initial stage of growth, numerous cell nuclei could be seen in parenchyma and fiber cells—an obvious sign of cell division—indicating the presence of meristematic tissue when cell division dominated the culms development. As the culm developed, the number of nuclei declined, until there were almost no detectable nuclei in the late stages of development. The development of culm was dominated by cell division in the initial stages and by cell elongation in the middle and late stages. The development, maturation and aging in different parts of the culm were studied systematically from the basal to the top internode. The lignification was appeared at fibrous tissue of basal internode in G7 stage when the length of culm was 6 m. The cell elongation of culms showed periodic fluctuations. The cell length of parenchyma, in the rapid elongating stage, deviated from normal distribution while it showed normal distribution in the slow elongating stage.

Key words: *Phyllostachys heterocycla* cv. *pubescens*; culms; tissue development; anatomical structure; cell elongation

收稿日期: 2012-03-15

基金项目: 国家自然科学基金(30972332)“毛竹茎秆快速生长过程的蛋白质表达谱研究”

作者简介: 崔凯(1982—), 男, 河北邯郸人, 博士, 主要从事抗逆生理、林木蛋白组学方面研究。

* 通讯作者: E-mail: zhangjg@caf.ac.cn

毛竹 (*Phyllostachys edulis* (Carr.) H. de Lehaie) 是我国特有的、竹类资源中分布面积最大的经济竹种,其生长快、产量高、适应性强、其应用遍及各行各业,在我国的工农业生产和国民经济中占有重要的地位,年产值在5亿美元以上^[1];其鞭根系统发达,固水功能强,也是退耕还林工程中大力推广种植的优良生态植物之一。目前,“以竹代木、以竹代钢、以竹代塑”已为解决我国资源紧缺问题提供了广阔的前景,有人甚至认为“没有竹子,陆地将没有生命”^[2]。总之,作为一类具有良好生态效益和社会效益的、具有多种用途的水土保持优良植物,毛竹正在为解决我国面临的生态环境恶化,能源危机和资源短缺等问题发挥着越来越大的作用^[3-7]。

毛竹的生长很独特,它在幼笋出土长成幼竹的短短几个月内即完成秆形生长。竹笋出土初期,每天仅长高几厘米,以后逐渐加快,每天几十厘米,高峰期一昼夜可达1 m以上。组织解剖是直观了解植物发育规律的一项重要手段。前人对竹类植物的不同组织解剖构造做了很多研究。如熊文愈等^[8]指出竹类植物在节间基部存在居间分生组织,节间的快速伸长与此有关。竹子节部被认为起到了物质运输的作用,丁雨龙等^[9]对毛竹节部的结构进行研究,指出维管束在节部通过不断的弯曲和分叉形成一个复杂的网络,韧皮部的结构在维管束分叉处形成了特殊的结构—“韧皮部节”,认为“韧皮部节”与物质分流密切相关。毛竹茎秆纤维的起源以及次生壁的形成被研究^[10-11]。周坚等^[12]对竹子的分支做了解剖研究,他认为秆节部的几个芽都是由一个腋芽发育而来,各级分支的形成和主腋芽的早期分化有关。

据作者实地观测,毛竹竹笋出土后发育成竹秆,竹秆可以长到十多米才开始展叶。系统的对竹笋出土直到竹秆发育成熟这一过程的解剖研究目前鲜有报道。本研究从解剖角度了解竹秆的整个发育动态和掌握幼竹的木质化规律,并对其进行数量化分析,对于探索竹秆速生机理有非常重要的意义。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料在同一生长季采自江西省分宜县大岗山国家级自然保护区(27°30'~27°50' N, 114°30'~114°45' E)的天然毛竹林。选择生境条件较为一致、同一竹鞭分生的,处于不同生长时期的竹体,以竹子露出地表的高度计,定期分别取5、20、50、100、

200、300、600、850、1 200 cm 9个生长高度(命名为G1-G9),每支竹秆按长度平均划分为3个部位:基部、中部和顶部,在每个部位节间的基部组织取材,材料用灭菌后的刀片切取,洗净擦干切成0.5 cm²大小,放于FAA固定液中经抽气后保存,用于组织解剖学观察。每份样品生物学和技术重复各3次。

1.2 试验方法

用常规的石蜡切片法进行竹秆不同发育时期和部位的切片制作。整个流程包括材料的固定、脱水、浸蜡、材料包埋、切片、脱蜡、染色和树胶封片等流程,具体的实验条件为:二甲苯脱蜡(5~15 min)→1/2二甲苯+1/2纯酒精(2 min)→100%酒精(2 min)→95%酒精(2 min)→85%酒精(2 min)→70%酒精(2 min)→50%酒精(2 min)→蒸馏水→1%番红染色(17 h)→蒸馏水→50%酒精(1 min)→70%酒精(1 min)→85%酒精(1 min)→95%酒精(2 min)→0.1%固绿染色(10~40 s)→95%酒精(1 min)→100%酒精(1 min)→1/2二甲苯+1/2纯酒精(2 min)→二甲苯透明(5 min)→加拿大树胶封片。番红-固绿一二重染色法。

用Zeiss光学显微镜(Zeiss, Jena, Germany)进行显微照相,用内置的标尺进行显微测量,数字图像用Zeiss Axio Vision 4.6分析。数据处理—细胞长度进行Shapiro-Wilk检验;细胞长度经Z-score标准化、细胞核含有率经平方根反正旋变换后进行差异性检验与相关分析等。

2 结果与分析

2.1 竹秆不同发育时期的解剖特征

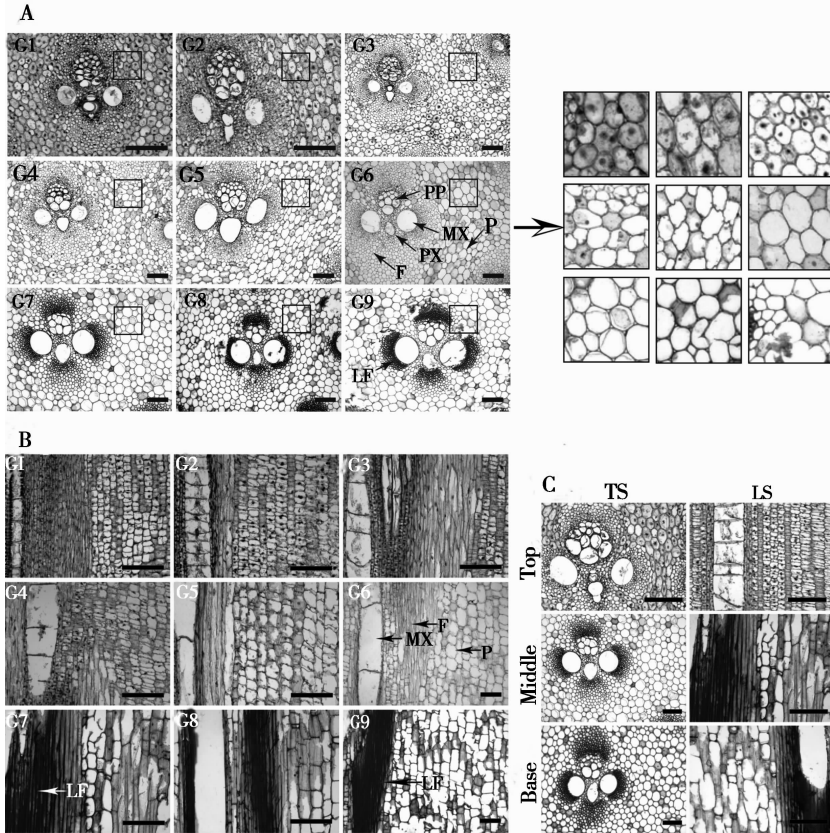
竹秆横切面由外至内分别为表皮、皮层、薄壁组织、维管束、髓和髓腔,维管束嵌在薄壁组织中,其中,薄壁组织(又称为基本组织)所占份额最大。维管束在竹秆内的分布规律是从基部往顶部越来越细,它没有次生生,由韧皮部、原生木质部和后生木质部组成,后生木质部由2个大的纹孔导管构成。维管束的数目在竹笋出土时就已固定,在9个发育时期只有粗度的增大,2个纹孔导管的直径在不同发育时期增大非常明显(图1A)。

从图1A中可以清楚地看到不同发育时期维管束和薄壁细胞,在生长初期(G1-G3),薄壁细胞中充斥着大量的细胞核,细胞核较大且较浓,核仁被染成红色,这是细胞旺盛分裂的标志。随着竹秆不断发育,在生长中期(G4~G6),细胞核数量明显减少,细胞核挤到细胞的边缘。在发育末期(G7~G9)只

有很少的细胞核存在。从发育初期到末期,横切面上薄壁细胞的直径有所增大。

图 1B 是图 1A 中 9 个发育时期对应的纵切图,

可以更清楚地看到整个发育过程中细胞核数目不断减少。与横切面相比,薄壁细胞在纵轴方向上有更为明显的细胞伸长。



(A) 中部节间 9 个发育时期的横切面。右边的版块是左边各个发育时期黑框部分的突出显示。(B) 是对应于图 A 各个时期的纵切。

(C) 3 个发育部位的横切面和纵切面比较(以第 7 个生长期为例)。图中 Base、Middle 和 Top 代表基部、中部和顶部节间。

图片左上方的数字代表发育时期。F, 纤维细胞; LF, 纤维素细胞木质化; LS, 纵切面; MX, 后生木质部; P, 薄壁组织; PP, 原生韧皮部; PX, 原生木质部; TS, 横切面。标尺: 100 μm 。

图 1 毛竹竹秆发育过程的解剖观察

从竹秆的外部形态可看出:前 3 个发育时期采样株的高度分别只有 5、20、50 cm, 而发育中期和发育末期的竹秆高度达到几米甚至十多米。从图 1B 中可看到发育早期(G1~G3)中很多纤维细胞中有细胞核存在,表明纤维处于细胞分裂状态,发育中期(G4~G6)细胞核减少,从 G7 期开始,纤维的细胞壁出现木质化(木质化的部分被染红),G7~G9 期的纤维木质化从纵切面上看非常清楚。另外,从纵切面可看出薄壁组织由两种类型的细胞组成:一种细胞在纵轴方向上长度较长,一种较短。

2.2 竹秆不同发育部位的解剖特征

从同一发育时期不同发育部位比较看,与基部相比,中部和顶部的发育要依次晚一些,这种情形从 G7 期之后更明显,从图 1C 中可以看到基部和中部

的细胞在纵轴方向拉长,细胞核较少,纤维出现木质化,同时顶部组织仍处在旺盛的细胞分裂状态。

2.3 竹秆不同发育时期和部位的细胞长度变化

从前面的解剖结果可以看出:竹秆发育过程中薄壁组织的变化最为明显,为了对细胞伸长和细胞分裂进行定量描述,把纵切面上的薄壁细胞的长度定义为“细胞长度”,把一个视野内薄壁细胞出现细胞核的百分率定义为“细胞核出现率”。为了使数据有代表性,对每个发育时期或部位,统计 50 个显微镜视野的数据求平均值。

通过对各部位不同发育时期的细胞长度分布情况的分析,发现在中部节间随着发育时期的延后,细胞长度不断增加,而这一规律在基部节间(图 2A)和顶部节间(图 2B)不明显。在顶部节间发现细胞长

度在 G9 期与前 8 个发育期的区别比较明显,这可能是因为前 8 个发育期顶部节间主要由细胞分裂来主导,到 G9 期细胞伸长加快。作者进一步对中部节间不同时期的细胞长度做正态分布检验(表 1),发现在当笋尖刚露出土时,组织内细胞的伸长生长速度较慢,这时细胞长度呈正态分布(G1 和 G2),当细胞伸长速度加快时,组织内细胞长度呈左偏态,近似正态分布(G3 ~ G5),随着发育时间的顺延,在 G6 期呈正态分布,然后又偏离正态分布(G7 和 G8),在生长后期,细胞伸长速度变缓,组织内细胞长度又呈正态分布(G9)。由此看出竹秆细胞的伸长呈阶段性的波动。

表 1 毛竹茎秆中部节间不同发育高度细胞长度正态分布检验

不同发育时期	Shapiro-Wilk 检验		
	统计量	自由度(<i>df</i>)	显著度(<i>Sig.</i>)
G1	0.981	120	0.088
G2	0.987	120	0.310
G3	0.966	120	0.004
G4	0.953	120	0.000
G5	0.936	120	0.000
G6	0.992	120	0.736
G7	0.974	120	0.018
G8	0.972	120	0.014
G9	0.981	120	0.082

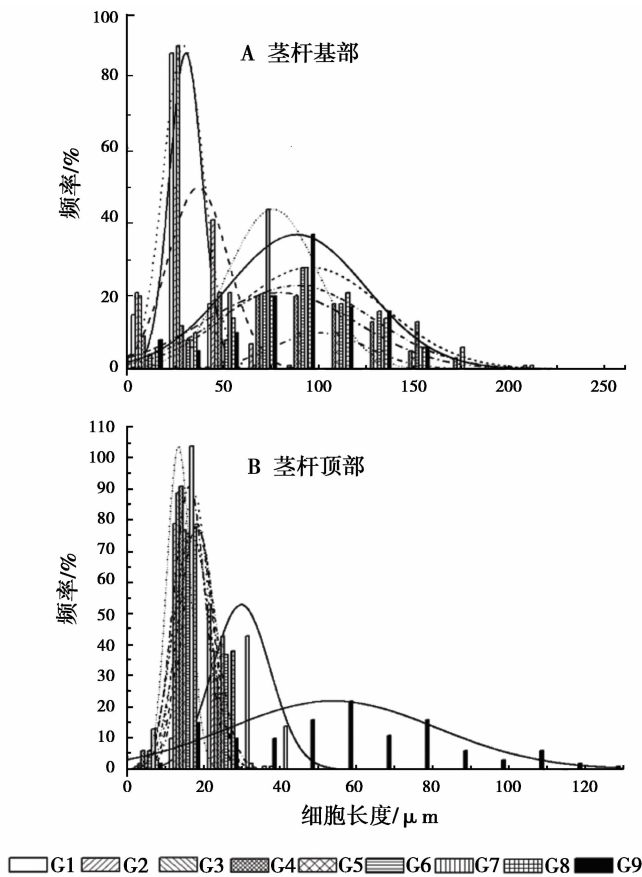
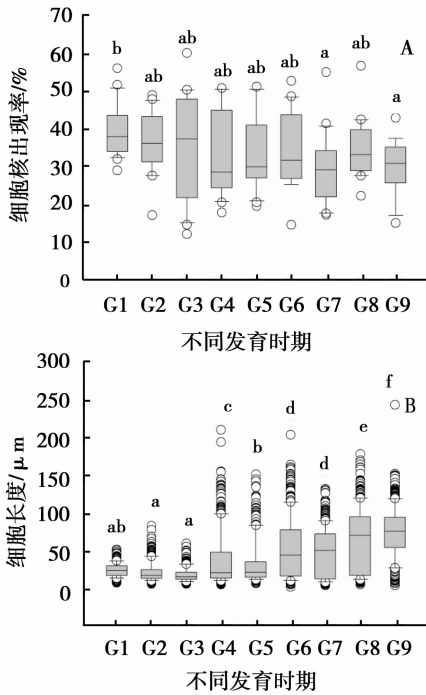


图 2 细胞长度不同发育时期和部位的分布情况

把各时期 3 个部位的数据叠加,可以反映出在时间序列上茎秆的发育规律(图 3),从发育初期到末期,细胞核出现率总体上呈递减趋势(图 3A),在第 1 发育期,大量的细胞处于分裂状态,细胞核出现率平均高达 39.88%,到第 4 发育期,降到 32.42%,到第 9 发育期,降到 29.63% ($P < 0.05$)。细胞长度的变化趋势则相反(图 3B),在第 1 发育期,细胞长

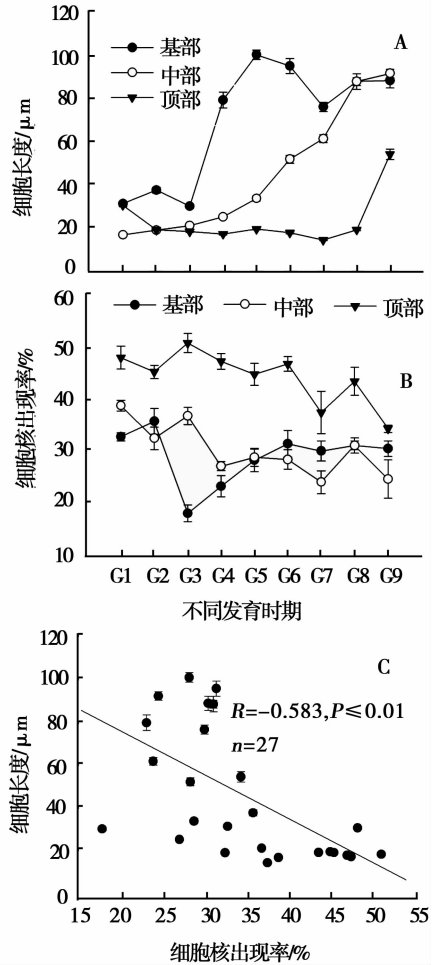
度为 25.39 μm ,第 4 发育期出现显著增大,达到 39.97 μm ($P < 0.05$),增幅为 57.42%;细胞长度在随后的 4 个发育期都有显著增加,发育末期达到 78.1 μm ($P < 0.05$),与发育初期相比,增幅为 207.6%。表明前 3 个发育期细胞处在旺盛的分裂状态,而细胞伸长的速率相对较缓,后几个发育期细胞分裂速度较慢,但伸长速度加快。



各柱不同字母代表依据 LSD 多重比较在 0.05 水平有显著差异,误差线代表标准误

图3 细胞长度和细胞核出现率在不同发育时期的分布

分析不同发育时期和发育部位的细胞长度可知(图4A):3个发育部位的细胞长度总体都呈上升趋势,在整个发育过程中,除G1外,基部和中部的细胞长度大于顶部;基部的细胞长度在G8期前大于中部节间,而在G8和G9期小于中部节间。相对于中部和顶部,大幅度细胞伸长最早在基部,如基部G3期的细胞长度平均为29.31 μm。为了确定竹秆不同发育时期和发育部位的细胞分裂和细胞伸长,在光学显微镜下对1个视野内细胞长度和细胞核数目进行测量和统计。对于各个发育时期的不同部位,测量的数目要大于50个视野。图5中的折线数据点是3个部位数据的叠加,不同字母代表依据LSD多重比较,在0.05水平有显著差异。误差线代表标准误。到G4期达到79.37 μm,增幅为170.8%,基部节间在G1期的细胞长度是30.51 μm,在G2和G5期分别达到2个峰值(35.69、100.73 μm),随后在G7期降到76.14 μm,最后在G8和G9期呈上升趋势。顶部节间的细胞长度在G1期是29.84 μm,在G2期降到18.12 μm,在G9期有明显的增高。中部节间的细胞伸长大致呈线性增长。顶部在前8个发育期细胞长度无显著变化,在发育末期细胞长度有显著增加。



误差线代表标准误

图4 细胞长度和细胞核出现率在不同发育时期和部位的变化

2.4 竹秆不同发育时期和发育部位的细胞分裂变化

在各个发育时期,顶部节间的细胞核出现率都要高于基部和中部(图4B)。3个发育部位的细胞核出现率在整个发育期呈现一定的波动。中部和顶部节间有3个峰值都出现在G3、G6和G8。基部节间也有3个峰值,分别出现在G2、G6和G8。细胞长度和细胞核出现率呈显著的负相关($R = -0.583, P < 0.01$)(图4C)。

把细胞长度和细胞核出现率的数据叠加在一张图上(图5),对不同发育时期的数据做了差异性检验,结合前面的解剖数据可以看出:G1~G3是细胞快速分裂期,这个阶段细胞长度变化比较小,从3个部位来看,基部细胞的伸长最早;G4期细胞分裂速率明显减低,基部的细胞长度有显著的增加($P < 0.05$),而中部和顶部的细胞长度无显著变化;G7期是竹秆基部和中部纤维组织出现木质化的时期,此时的中部细胞长度较之前有显著的增加,基部的细

胞长度有显著的减少,顶部无显著变化;G9期细胞核出现率降到最低,顶部的细胞长度有显著的增加($P < 0.05$)。另外,细胞核出现率在9个发育时期

的降低不是呈线性,而是呈有起伏的折线,这表明细胞分裂是有阶段性的。

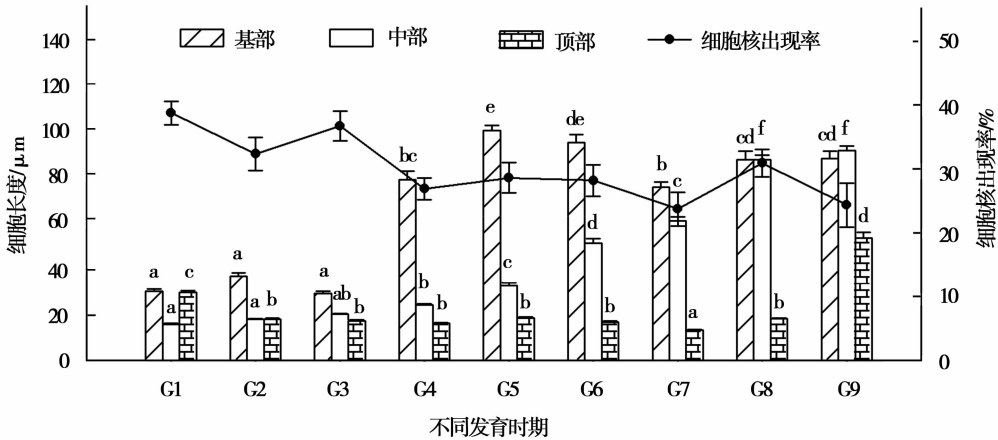


图5 不同发育时期和发育部位细胞长度和细胞核出现率的变化

3 讨论

毛竹主要分布在中国,因此国内的学者对其研究较多。董丽娜^[13]通过对毛竹不同发育时期的竹笋(从6.55 cm到129.9 cm 7个生长高度)解剖研究,指出节间的伸长是由细胞分裂和细胞伸长共同引起的,细胞分裂是基础,细胞伸长是导致节间伸长的主要原因。这和本试验得出的结论相符。本文研究结果表明,茎秆组织的节间伸长是由细胞分裂和细胞伸长两部分构成,二者即同时存在,又相互竞争。发育前期以细胞分裂占主导地位,细胞伸长比较缓慢,发育后期细胞分裂变缓,细胞伸长加快。同时本试验还阐明了不同部位的发育规律:茎秆基部、中部和顶部的发育不是同步完成的,最早的细胞伸长出现在基部节间,中部和顶部的发育要晚于基部,到发育后期,中部节间的细胞长度超过基部。3个发育部位相比,由于顶部节间的多数细胞始终处在减数分裂状态,所以顶部节间细胞长度在G9期前变化趋势不明显,在G9期时,细胞分裂有明显下降,同时细胞长度有明显的增大。

Evans等^[14]指出细胞的长度和细胞周期有相关性,细胞越长,细胞周期相应也就越长。同样地,He等^[15]通过组织解剖和免疫组化的手段,认为毛竹的薄壁细胞存在两种类型的细胞:长细胞和短细胞。长细胞具有储藏功能,短细胞基本没有储藏功能。短细胞具有较长时间的分裂能力,同时为长细胞输

送营养物质。本研究中发现,在发育早期,竹秆的纵切面上,细胞长度分布比较均一,这从图1B的切片结果和图3B的数量统计结果也可以看出这一点,表明这个阶段薄壁细胞大多处在旺盛的分裂状态,长、短细胞的分化还不太明显。到发育中期和后期,形成了许多长细胞,且长细胞往往和短细胞交错排列。

前人对竹类植物的解剖研究指出:竹子的节间伸长由细胞分裂、薄壁细胞和纤维细胞的分化、细胞伸长和组织木质化构成^[16-17]。Gritsch等^[16]对马来甜龙竹(*Dendrocalamus asper* (Schult. f.) Backer ex Heyne)的纤维和薄壁组织的细胞壁进行解剖研究,发现初生细胞壁由2层细胞构成,次生细胞壁在节间和纤维伸长没有完全停止的状况下就开始形成。细胞伸长之后伴随的便是组织成熟,组织成熟的特征就是多层次生细胞壁的形成。次生细胞壁的形成可能中断了细胞伸长。Lin等^[17]对毛竹竹秆的解剖研究表明,原生木质部导管在维管束分化的早期出现木质化,后生木质部和纤维素的细胞壁在维管束完成发育后开始分化;大多数薄壁组织在竹秆完成高生长后开始木质化,有少量薄壁细胞在成熟的竹秆仍然没有木质化;纤维和大多数的薄壁细胞的细胞壁在竹秆发育后期会逐渐加厚,加厚过程甚至可以持续7 a。毛竹木质化的细胞壁容易被番红染料染成红色,徐有明等^[18]在毛竹笋的解剖中观察到这种现象。本研究发现,毛竹的木质化首先出现在纤维组织的细胞壁,纤维组织的木质化从G7期(竹秆

6 m 左右时)开始,同样是基部首先出现,中部和顶部要晚一些。直到展叶时,竹秆的基部和中部已基本发育成熟,但是顶部的纤维组织没有出现木质化,仍有很多细胞处在分裂状态。

参考文献:

- [1] Peng Z H, Lu T H, Li L B, *et al.* Genome-wide characterization of the biggest grass, bamboo, based on 10, 608 putative full-length cDNA sequences[J]. *BMC Plant Biology*, 2010, 10:116
- [2] Christanty L, Maily D, Kimmins J P. "Without bamboo, the land dies": Biomass, litterfall, and soil organic matter dynamics of a Javanese bamboo talun-kebun system[J]. *Forest Ecology Management*, 1996, 87(1-3):75-88
- [3] 萧江华, 楼一平. 竹林的分类经营与竹业的可持续发展—面向 21 世纪的林业[M]. 北京: 中国农业科技出版社, 1998
- [4] 施建敏, 郭起荣, 杨光耀. 毛竹光合动态研究[J]. *林业科学研究*, 2005, 18(5):551-555
- [5] 顾小平, 萧江华, 梁文焰, 等. 毛竹纸浆竹林施用氮磷钾肥料效应的研究[J]. *林业科学*, 1998, 34(1):25-32
- [6] 周芳纯. 竹林培育学[M]. 北京: 中国林业出版社, 1998
- [7] 林金星, 贺新强. 毛竹茎细胞壁半纤维素多糖的免疫细胞化学定位研究[J]. *植物学通报*, 2000, 17(5):466-469
- [8] 熊文愈, 丁祖福, 李又芬. 竹类植物的居间分生组织与节间生长—I 秆茎的居间分生组织与节间生长[J]. *林业科学*, 1980, 16(2):81-89
- [9] 丁雨龙, 樊汝汶, 黄金生. 竹子节部“韧皮部结”的发育与超微结构[J]. *植物学报: 英文版*, 2000, 42(10):1009-1013
- [10] 甘小洪. 毛竹茎秆纤维细胞的发育生物学研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2005
- [11] 贺新强, 林金星. 毛竹茎纤维次生壁形成过程的超微结构观察[J]. *植物学报: 英文版*, 2000, 42(10):1003-1008
- [12] 周 坚, 冯 玲, 赵奇增. 竹类植物分枝形成的解剖学研究[J]. *南京林业大学学报*, 1994, 18(1):1-6
- [13] 董丽娜. 毛竹竹秆茎高生长的发育解剖研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2007
- [14] Evans L S, Lagrazon K, Pancrudo J. Diversity of cell lengths in terminal portions of roots: location of the proliferative cell population[J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2001, 45(1):85-94
- [15] He X Q, Suzuki K, Kitamura S, *et al.* Toward understanding the different function of two types of parenchyma cells in bamboo culms[J]. *Plant Cell Physiology*, 2002, 43(2):186-195
- [16] Gritsch C, Murphy R. Ultrastructure of fibre and parenchyma cell walls during early stages of culm development in *Dendrocalamus asper*[J]. *Ann Bot-london*, 2005, 95(4):619-629
- [17] Lin J X, He X Q, Hu Y X, *et al.* Lignification and lignin heterogeneity for various age classes of bamboo (*Phyllostachys pubescens*) stems[J]. *Physiologia Plantarum*, 2002, 114(2):296-302
- [18] 徐有明, 郝培应, 费本华. 竹笋形态发育构建过程中解剖结构及化学成分的动态变化[J]. *东北林业大学学报*, 2008, 36(4):8-11, 16