

油松茎次生木质部中树脂道的发育过程和组织化学研究

李爱民<sup>1,2</sup>, 吴 鸿<sup>1\*</sup>

(1. 华南农业大学生命科学学院, 广州 510642; 2. 怀化学院生物系, 湖南怀化 418008)

摘 要: 利用组织化学方法对油松茎次生木质部树脂道发育过程中上皮细胞内树脂滴和淀粉粒的动态变化进行了研究。发现在树脂道原始细胞阶段, 每个原始细胞含淀粉粒较少, 含树脂滴稀少。在树脂道形成阶段, 淀粉粒数目较多, 体积增大, 树脂滴也呈递增趋势。在树脂道成熟阶段, 淀粉粒数目变化不大, 而体积明显变小, 树脂滴的体积增大, 数目减少。

关键词: 油松; 树脂道; 发育; 组织化学

中图分类号: Q944.6

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2003)01-0018-04

Development and Histochemistry of Resin Ducts of Secondary Xylem in the Stem of *Pinus tabulaeformis* Carr.

LI Ai-Min<sup>1,2</sup>, WU Hong<sup>1\*</sup>

(1. College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;  
2. Department of Biology, Huaihua College, Huaihua, Hunan 418008, China)

**Abstract:** The dynamic changes of resin droplets and starch grains in resin duct cells at different developmental stages of resin duct of secondary xylem were studied by histochemistry. At the initial stages, few resin droplets and starch grains observed in the cytoplasm. At formative stages, the number of starch grains gradually increases while their volume enlarges. Resin droplets charge with a same trend. At the mature stage, the volume of starch grains obviously decreases, no great change takes place in the number of starch grains. The volume of resin droplets enlarges while the number decreases.

**Key words:** *Pinus tabulaeformis* Carr.; Resin duct; Development; Histochemistry

油松(*Pinus tabulaeformis* Carr.) 为松科松属植物, 为我国特有树种, 广泛分布于我国北方, 是我国主要经济林木之一。油松体内普遍分布有树脂道, 所产生的树脂是重要的医药和化工原料。因此, 研究树脂道中树脂滴的动态变化以及树脂滴与淀粉粒的相互关系具有重要的理论和实践意义。

关于松科植物树脂道的研究已有大量报道<sup>[1-8]</sup>, 其研究内容主要是有关树脂道的结构、分布及其发育, 而涉及树脂道的组织化学仅有少量报道<sup>[4-8]</sup>。对于油松树脂道已有一些研究报道<sup>[4-8]</sup>, 其

中吴鸿等<sup>[8]</sup>对油松茎皮层树脂道的组织化学进行过详细研究, 揭示出了在茎皮层树脂道发育过程中树脂滴的变化规律以及树脂滴与淀粉粒之间的相互关系。然而, 在生产上割脂的部位为次生木质部, 因而有必要弄清次生木质部中树脂道的发育特点及其树脂积累的动态变化规律, 以便为合理采脂及人工调控树脂的产量和质量提供一定的理论依据。笔者利用薄切片技术和组织化学方法对油松次生木质部中树脂道发育过程中树脂滴和淀粉粒动态变化进行了研究, 并探讨了它们之间的相互关系。

收稿日期: 2002-03-24, 修回日期: 2002-12-28。

作者简介: 李爱民(1968-), 男, 白族, 博士生, 讲师, 从事植物学的教学和科研工作。

\* 通讯作者(Author for correspondence)。

## 1 材料和方法

研究材料于 1992 年 6~8 月分别采自西北大学校园的油松栽培植株。切取 10 株油松的当年生幼枝、多年生茎的形成层和次生木质部部位, 分割为  $1\text{ mm}^3$  的小块, 迅速固定于  $0.2\text{ mol/L}$  二甲胍酸盐缓冲液( $\text{pH}7.0$ )配制的 6% 戊二醛中, 4 $^{\circ}\text{C}$  固定 2 h, 经缓冲液冲洗, 再用 1% 锇酸固定 2 h, 蒸馏水冲洗后, 酒精系列脱水, 环氧丙烷过渡, Epon812 包埋, 奥地利 Reichert Jung 超薄切片机切片, 薄切片厚 1~2  $\mu\text{m}$ , 亚甲兰染色。组织化学研究用苏丹黑、苏丹、硫酸奈尔兰染色显示树脂滴分布<sup>[9]</sup>。染色步骤参照胡适宜方法<sup>[10]</sup>, 但染色时间有所延长。PAS 反应显示淀粉粒分布<sup>[10]</sup>。中性树胶封片。在 Olympus 显微镜下随机选取 20 个同一发育时期的树脂道横切片进行观察。

## 2 结果

根据不同生长期的油松茎的纵、横切片观察, 其次生木质部中分布垂直树脂道和水平树脂道。每个树脂道都是由一层上皮细胞包围着胞间道, 外面又由一至多层鞘细胞所包围, 其中部分鞘细胞为细胞壁加厚的死细胞。根据次生木质部树脂道发生和发育过程中树脂道细胞形态和结构变化特点, 将其发生发育过程划分为三个阶段: 原始细胞阶段、树脂道形成阶段和树脂道成熟阶段。利用组织化学方法观察在上述三个阶段细胞内树脂滴和淀粉粒的变化如下。

### 2.1 原始细胞阶段

次生木质部中垂直树脂道来源于维管形成层的纺锤状原始细胞。在纺锤状原始细胞向内产生的细胞中, 可观察到通常 4 个成群排列的细胞。这些细胞体积大, 原生质浓厚, 细胞核明显(图版: 1), 易与周围细胞区别, 此即为树脂道原始细胞。原始细胞中淀粉粒多为椭圆形, 每个细胞中约 1~4 个(图版: 1)。此期树脂滴不常见。

### 2.2 树脂道形成阶段

随着树脂道的进一步发育, 在 4 个原始细胞中央相邻接处的中层溶解, 出现胞间隙。以后中层继续溶解, 胞间隙进一步扩大, 腔隙周围的细胞成为上皮细胞。此时围绕腔隙的细胞内淀粉粒体积明显增大, 数目也增多, 每个细胞中可多达 16 个(图版: 2), 同时树脂滴也逐渐增多。此时, 在木射线薄壁细胞中可见到较多的树脂滴(图版: 2)。在腔道扩大的过

程中, 除了上皮细胞中淀粉粒体积和数量增多外, 围绕树脂道的一些薄壁细胞中也出现大量的淀粉粒(图版: 3)。此时, 上皮细胞中树脂滴的数目较淀粉粒少, 其体积也较小(图版: 4)。

### 2.3 树脂道成熟阶段

在胞间隙扩大过程中, 上皮细胞可进行垂周分裂, 以适应腔道扩大, 还可看到鞘细胞插入相邻的 2 个上皮细胞之间, 从而成为上皮细胞的组成分子。当树脂道胞间隙扩大至近椭圆形时, 上皮细胞周围的鞘细胞已明显分化。当树脂道发育完成时, 其胞间隙近圆形, 上皮细胞呈平周向伸长, 鞘细胞壁增厚。有的鞘细胞内原生质消失, 成为死鞘细胞, 并常在树脂道扩大过程中被压扁、挤毁。此时, 上皮细胞内淀粉粒的数目变化不大, 但体积明显较上一阶段的为小, 主要分布在远离腔道一侧的细胞质中(图版: 5)。在树脂道附近的含淀粉粒的细胞数目较上一阶段减少(图版: 5)。此时, 上皮细胞中树脂滴的体积明显增大, 数目多为 2~5 个。在树脂道附近的一些薄壁细胞中也出现树脂滴, 但树脂滴数目较上皮细胞中的数目少(图版: 6)。

## 3 讨论

Werker 和 Fahn(1968) 利用苏丹黑、苏丹、尼罗兰和结晶紫 4 种染料分别对阿颇勒松(*P. halepensis*) 树脂道进行组织化学研究, 他们发现在茎尖区域中具有不同性质的小滴。根据显色反应的特点认为这些小滴含有松脂, 同时指出在树脂道发育的不同阶段, 树脂道细胞可能含有松脂的不同成分<sup>[9]</sup>。Witztum 和 Zamski(1969) 指出苏丹类染料和硫酸奈尔兰能够引起树脂滴融合, 而经戊二醛和锇酸双固定的材料所保存的小滴最接近于生活细胞中的情况<sup>[11]</sup>。

我们利用苏丹黑、苏丹和硫酸奈尔兰分别对经戊二醛和锇酸双固定的油松茎皮层树脂道薄切片进行染色, 发现在不同发育阶段的树脂道上皮细胞及其附近的一些薄壁细胞中具有大小不同的小滴, 它们分别被染为黑色、红色和兰色。小滴的体积和数量呈现出有规律的变化, 同时 3 种染料染色结果均显示出相同的变化趋势。因此, 我们认为经戊二醛和锇酸双固定的材料再经苏丹类染料和硫酸奈尔兰染色都能反映树脂滴的分布和变化, 其中硫酸奈尔兰显色反应较为明显。

在次生木质部树脂道发育过程中, 上皮细胞中树脂滴和淀粉粒的数量和体积变化表现出明显的相

关性。在树脂道原始细胞阶段, 原始细胞中所含的淀粉粒数量少, 体积也较小, 而树脂滴则不多见。随着树脂道的发育, 细胞中所含的淀粉粒数量和体积均明显增加, 树脂滴的数目和体积也逐渐增加。一般说来, 同一细胞中淀粉粒的数量和体积均较树脂滴的多和大。树脂道成熟后, 淀粉粒的体积明显变小, 但数目变化不大, 而树脂滴的体积明显增大, 数目有减少的趋势。这一结果与我们以前<sup>[8]</sup>在油松茎皮层树脂道发育过程中所观察到的结果一致。淀粉粒能提供合成树脂的前体物质和能量<sup>[7]</sup>。在树脂道发育早期, 首先积累淀粉。随着树脂道的发育, 淀粉分解, 其中间降解产物参与树脂的合成, 此时由于淀粉的合成速度仍大于其分解速度, 从而淀粉粒和树脂滴数目和体积均呈上升趋势。随着淀粉粒的分解速度加快, 树脂滴逐渐增多。当细胞内树脂量达到一定程度后, 细胞开始分泌树脂。当树脂道成熟后, 淀粉粒体积减小, 但树脂滴的数量未发生明显的变化。究其原因, 可能是由于次生木质部树脂道的功能可行使数年。据 Zamski 和 Fahn<sup>[12]</sup>报道, 当树脂道细胞接近死亡状态时, 分泌量迅速增加, 当细胞质流动停止时, 分泌量达到最大。因此, 我们认为只有当次生木质部树脂道即将失去功能时, 树脂滴的数量才会迅速下降。

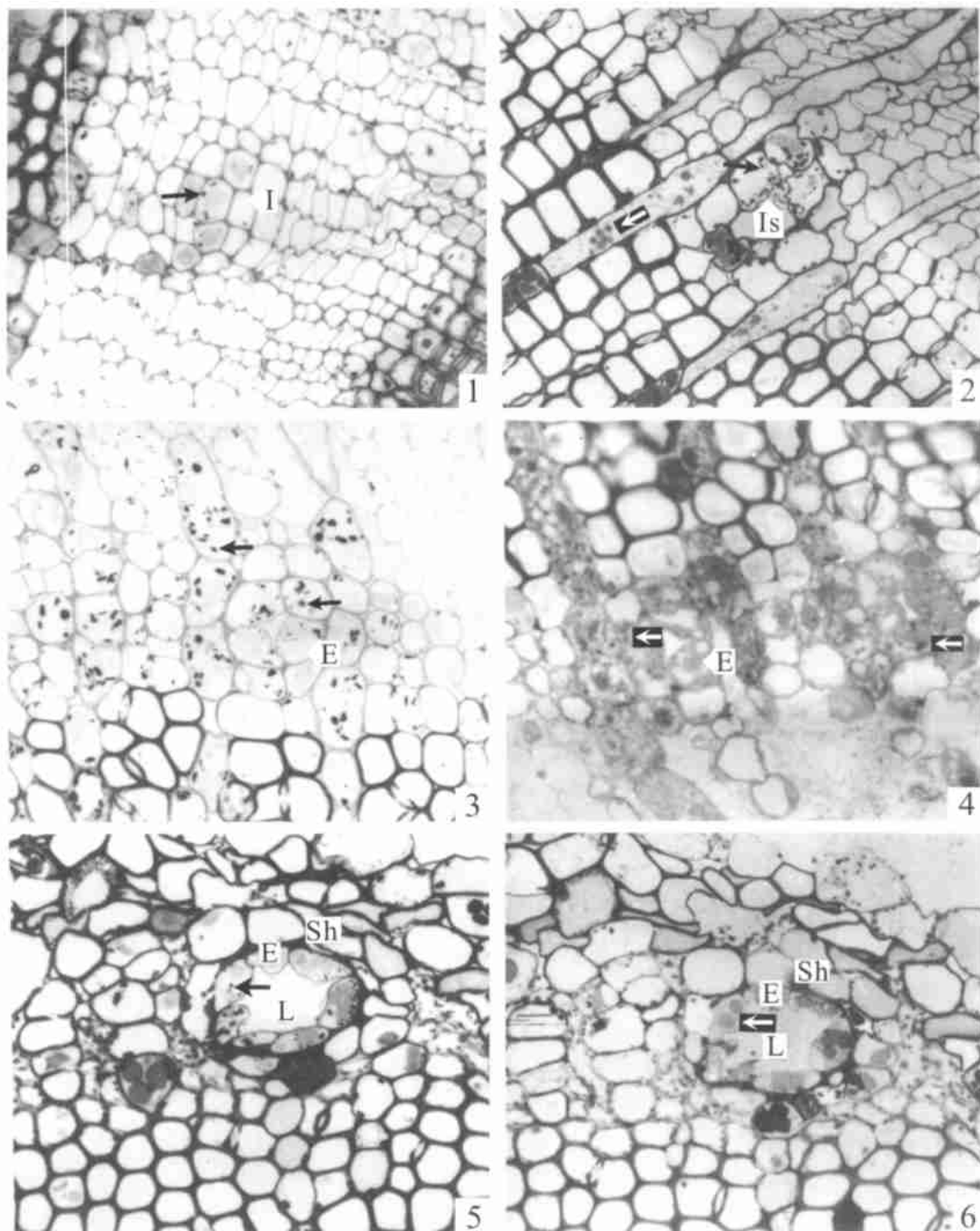
在油松茎皮层树脂道中, 同一细胞中淀粉粒的体积要小于树脂滴的体积<sup>[8]</sup>, 而在次生木质部中情况则相反。这可能是皮层树脂道中树脂的合成能力较次生木质部中树脂的合成能力强。张景钺(1936)首先报道了马尾松中具有含树脂细胞, 而一般松属木材中则不含此类细胞<sup>[13]</sup>。但我们在油松次生木质部中也发现了含树脂细胞, 这与我们以前的报道<sup>[14]</sup>相一致。含树脂细胞可能在树脂道发育阶段起保护幼嫩组织的作用, 其合成的树脂也可能转移到树脂道细胞中, 最终分泌至树脂道腔中<sup>[14]</sup>。

#### 参考文献:

[ 1 ] Bannan M W. Vertical resin ducts in the secondary

wood of the Abietineae [ J ]. *The New Phytologist*, 1936, **35**: 11 — 47.

- [ 2 ] Fahn A, Benayoun J. Ultrastructure of resin ducts in *Pinus halepensis* development, possible sites of resin synthesis, and mode of its elimination from the protoplast [ J ]. *Ann Bot*, 1976, **40**: 857 — 863.
- [ 3 ] Hanes C S. Resin canal in seedling conifers [ J ]. *J Linn Soc Bot*, 1927, **47**: 613 — 636.
- [ 4 ] 张泓, 胡正海. 油松茎初生结构中树脂道的研究 [ J ]. 西北植物学报, 1984, **4**(2): 79 — 87.
- [ 5 ] 吴鸿, 胡正海, 景汝勤. 油松茎次生结构中树脂道的结构、分布和发育的研究 [ J ]. 西北植物学报, 1987, **7**(3): 157 — 162.
- [ 6 ] 吴鸿. 油松树脂道的发生和发育研究 [ J ]. 武汉植物学研究, 1990, **8**(4): 311 — 316.
- [ 7 ] Wu H, Hu Z H. Ultrastructure of the resin duct initiation and formation in *Pinus tabulaeformis* Carr [ J ]. *Chinese J Bot*, 1994, **6**(2): 123 — 128.
- [ 8 ] 吴鸿, 胡正海. 油松树脂道的发育过程和组织化学研究 [ J ]. 林业科学, 1995, **31**(1): 51 — 55.
- [ 9 ] Werker E, Fahn A. Site of resin synthesis in cells of *Pinus halepensis* Mill [ J ]. *Nature*, 1968, **218**: 388 — 389.
- [ 10 ] 胡适宜, 徐丽云. 显示环氧树脂厚切片中多糖、蛋白质和脂类的细胞化学方法 [ J ]. 植物学报, 1990, **32**(11): 841 — 846.
- [ 11 ] Witztum A, Zamski G. Methods for observations on resin droplets in resin duct cells of *Pinus halepensis* Mill [ J ]. *Isr J Bot*, 1969, **18**: 55 — 59.
- [ 12 ] Zamski E, Fahn A. Observations on resin secretion from isolated portions of resin ducts of *Pinus halepensis* Mill [ J ]. *Isr J Bot*, 1972, **21**: 35 — 38.
- [ 13 ] 胡玉熹, 林金星. 裸子植物木材解剖学研究进展 [ J ]. 植物学通报, 1993, **10**: 81 — 91.
- [ 14 ] 吴鸿, 贺游利, 胡正海. 油松含树脂细胞组织化学和细胞化学研究 [ J ]. 西北植物学报, 1999, **19**(1): 100 — 103.



李爱民等: 图版

LI Ai-Min *et al.*: Plate

E. 上皮细胞; I. 原始细胞; Is. 胞间隙; L. 树脂道腔; Sh. 鞘细胞

1~6. 油松茎横切面。1. 示树脂道原始细胞和其中的淀粉粒(箭头),  $\times 220$ ; 2. 树脂道形成阶段, 示胞间隙、上皮细胞中的淀粉粒(黑箭头)和薄壁细胞中的树脂滴(白箭头),  $\times 220$ ; 3. 树脂道形成阶段, 示上皮细胞及薄壁细胞中的淀粉粒(箭头),  $\times 220$ ; 4. 树脂道形成阶段, 示上皮细胞中的树脂滴(箭头),  $\times 220$ ; 5. 树脂道成熟阶段, 示上皮细胞中的淀粉粒(箭头),  $\times 220$ ; 6. 树脂道成熟阶段, 示上皮细胞中树脂滴(箭头),  $\times 220$

E. Epithelial cell; I. Initial cell; Is. Intercellular space; L. Lumen; Sh. sheath cell

1- 6. Transverse section of stem of *Pinus tabulaeformis*. 1. Showing initial cell of resin duct and starch grains in initial cell (arrow),  $\times 220$ ; 2. Developing resin duct, showing intercellular space, starch grains in epithelial cell (black arrow) and resin droplets in parenchyma cell (white arrow),  $\times 220$ ; 3. Developing resin duct, showing starch grains in epithelial and parenchyma cell (arrows),  $\times 220$ ; 4. Developing resin duct, showing resin droplets in epithelial cell (arrows),  $\times 220$ ; 5. Mature of resin duct, showing starch grains in epithelial cell (arrow),  $\times 220$ ; 6. Mature of resin duct, showing resin droplets in epithelial cell (arrow),  $\times 220$