应用树脂复型法研究红豆杉管胞内壁结构

徐建华 胡玉熹 林金星*
(中国科学院植物研究所, 北京 100093. * 联系人)

摘要 树脂复型法对于研究植物体内部的三维结构是一种有效的方法. 采用复型法对裸子植物红豆杉正常木和应压木的管胞内壁结构进行比较研究, 不仅可以清楚地观察到常规解剖法所能观察的结构, 而且可以观察到管胞-管胞间的具缘纹孔对等常规方法所不能显示的三维结构. 两者管胞的内壁在螺旋加厚角度、走向以及形成位置、瘤层结构的分布等方面均存在较大差异.

关键词 **树脂复型 红豆杉 应压木 管胞 结构**

植物体内有各种不同排列的非原质体空隙, 例如导管腔、分泌道及胞间隙等, 它们的大小、形状以及彼此间的连接对于水分运输、树汁流动乃至应力支撑都有重要作用. 树脂复型技术就是利用植物体内存在的空隙, 将液状树脂注射或渗透进植物组织或细胞内的空隙, 待其凝固后把植物组织分解掉, 然后根据树脂模型进行形态结构研究的方法[1]. 这种方法最早应用于动物体及人体循环系统解剖结构方面的研究. 近年来, 这项技术也被应用于植物组织的研究. 但是由于植物非原质体空隙复杂, 连接形式多样, 因此迄今仅有几则报道, 而这些报道均是围绕具大导管的被子植物开展的[2]. 本文选择中国特有裸子植物红豆杉(*Taxus chinensis*), 应用树脂复型技术并结合解剖法对其正常木与应压木管胞的内壁超微结构进行了比较研究.

1 材料与方法

材料取自福建省浦城县, 树龄为32年, 树干倾斜角度约为42°. 选材时分别从心材或边材处截取, 将材料切成5 mm见方, 10 mm高的小块, 浸泡在含1%过氧化苯甲酰的苯乙烯单体中, 并用抽气泵抽气几分钟以促进液体渗透到材料中. 然后将每个小样本分别投入密闭的充满苯乙烯的小试管中(一次性使用的玻璃容器), 放入60 ℃温箱中保温72 h. 待苯乙烯完成聚合反应后将材料从温箱中取出, 切成火柴杆粗细的条状, 分别用过氧化氢与冰醋酸的混合液以及浓硫酸轮流反复处理; 过氧化氢和冰醋酸的混和物可以除掉细胞壁中的木质素成分, 而浓硫酸可以溶解细胞壁上的多糖成分. 得到的管胞复型再用清水反复冲洗, 经纯酒精干燥后, 用扫描电子显微镜观察.

2 结果与讨论

图1为红豆杉正常木与应压木管胞的复型. 应压木是指在倾斜或弯曲松柏类树干和枝条的下侧, 由应力形成的一种结构和性质特殊的次生木质部[3], 其主要特征是管胞的次生壁上具有明显的螺纹裂隙[4]. 树脂复型后所得到的模型外部结构与植物体的内部结构互相对映, 即复型上凸起的结构应为管胞内壁上凹陷的部分, 如具缘纹孔(图1(a)、(b)); 反之, 复型上凹陷的结构则与管胞上凸起的结构相互对映, 如螺旋加厚和瘤层(图1(c)、(d)). 本实验通过"树脂复型-扫描电镜"观察的这一相互对映的表现形式, 与利用"冰冻复型-透射电镜"的观察方法有一定的相似之处, 但前者的制样过程更为简单, 而得到的三维结构更加逼真.

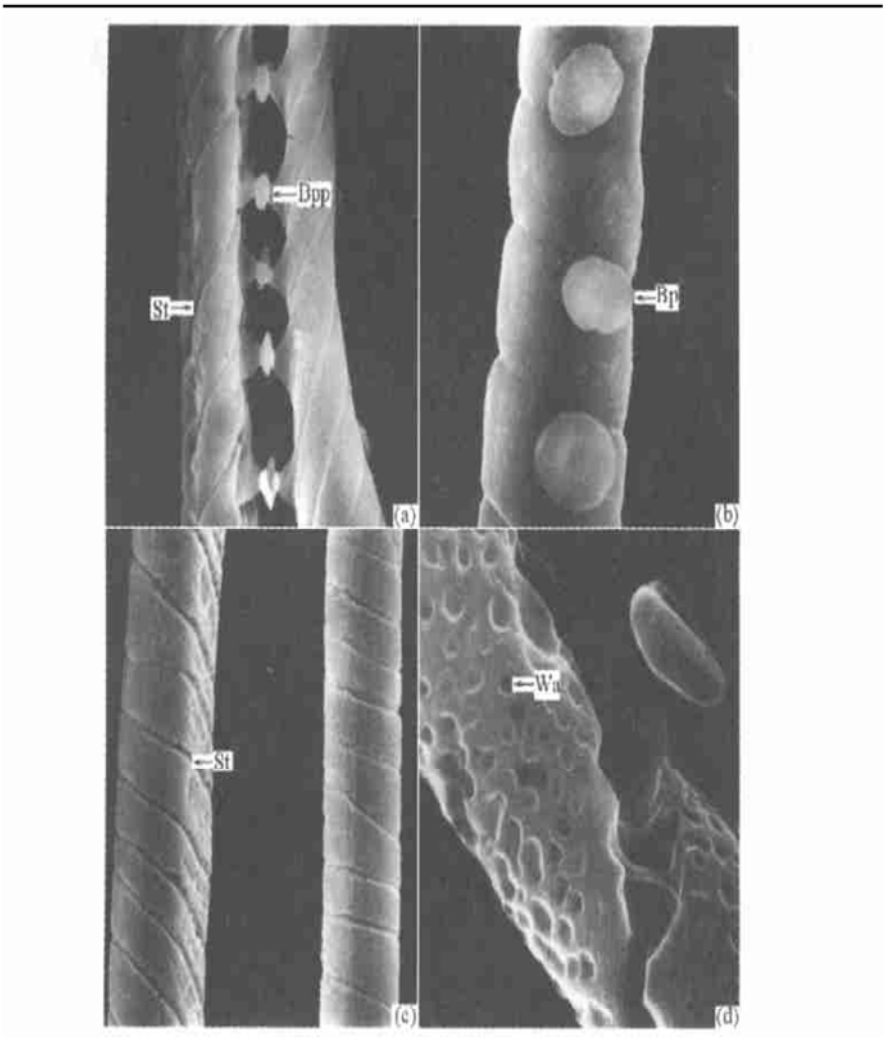

图1 红豆杉正常木与应压木管胞的复型

(a) 2条应压木管胞及其具缘纹孔对, ×480; (b) 正常木管胞及其凸起的具缘纹孔, ×1136; (c) 2条正常木管胞及其螺纹加厚, ×480; (d) 应压木管胞及其瘤层结构, ×1920. Bpp示具缘纹孔对, St示螺纹加厚, Bp示具缘纹孔, Wa示瘤层结构

应用传统的解剖法, 通过切片然后在显微镜下观察的方法, 对具有复杂三维结构的具缘纹孔, 尤其是纹孔内口与外口, 难以准确辨认[5,6], 只能靠推测来确定其结构; 采用复型方法, 我们不仅可以清楚地观察到管胞内壁的超微结构, 例如螺旋加厚及其角度、走向, 纹孔的排列以及瘤层结构等这些用传统的解剖方法便能观察到的结构, 更为重要的是可以观察到管胞-管胞间的具缘纹孔对所显示的三维结构. 通过观察复型后具缘纹孔的三维形态, 可以测量纹孔道的深浅以及纹孔道内口与外口的比例, 从而为木质部三维结构的重建、确定水分运输聚合体的范围、划分输水管状分子类型提供重要依据[7]; 对其中一些结构的定量计算, 也可以为水分有效运输方程的修正提供参数.

红豆杉正常木与应压木管胞的共同特征是都有螺旋加厚和瘤层[3], 本实验的观察结果也证明了这一点. 此外我们还注意到, 红豆杉正常木与应压木管胞内壁存在着明显的差异. 正常木管胞中, 螺旋加厚的走向为由右至左, 角度较小, 约为15~ 30°, 其形成位置靠近具缘纹孔处; 与此相反, 应压木管胞中, 螺旋走向为由左向右, 角度较大, 约为45°, 其形成位置可能经过具缘纹孔. 虽然正常木管胞的S_3层与应压木管胞的S_2层均有瘤层分布, 但两者在数量和

形成位置方面存在差异. 正常木具瘤状物的管胞很少, 瘤状物在管胞上的分布区域也很小, 管胞 S_3 层内表面较为光滑 (图 1(c)); 相反, 应压木多数管胞 S_2 层内表面粗糙不平, 内壁具有明显的瘤层结构, 且其分布区域较广, 甚至在纹孔室和纹孔道上亦有瘤状物分布.

树脂复型法是研究植物体内部的三维结构的一种有效的方法, 但它只限于具有非原质体空隙 (apoplastic space) 的细胞或组织, 并且在使用时仍需与传统的解剖方法相配合才更有说服力.

致谢 本工作为中国科学院重点基金 (批准号: KZ952-S1-128) 资助项目.

参 考 文 献

1 Fujii T. Application of a resin casting method to wood anatomy of some Japanese Fagaceae species. IAWA J, 1993, 14: 273~288
2 Mauseth J D, Fujii T. Resin-casting: a method for investigating apoplastic space. Amer J Bot, 1994, 71: 104~110
3 Timell T E. Compression Wood in Gymnosperms. Berlin: Springer Verag, 1986
4 林金星, 李正理. 马尾松正常木与应压木的比较解剖. 植物学报, 1993, 35(3): 201~205
5 Lin J X. Distribution, size and effective aperture area of the intertracheid pits in the radial wall of *Pinus radiata* tracheids. IAWA J, 1989, 10: 53~58
6 Yumoto M, Ishida S, Fukazawa K. Study on the formation and structure of the compression-wood cells induced by artificial inclination of young trees of *Picea glauca*. Gradation of the severity of compression wood tracheids. Res Bull Coll Exp For Hokkaido Univ, 1983, 40: 409~454
7 林金星, 林月惠, 杨海东. 应用连续切片-计算机叠加法对木质部纵向输水网络一级结构进行重建. 科学通报, 1996, 41(3): 330-332

(1998-08-13 收稿, 1998-12-07 收修改稿)

PHF2 全长 cDNA 及剪接异构体的克隆鉴定

汪俊华 杜光伟 周 严 阴 彬 胡松年 袁建刚* 强伯勤
(中国医学科学院 中国协和医科大学 基础医学研究所医学分子生物学国家重点实验室, 北京 100005. * 联系人)

摘要 PHD 锌指结构蛋白作为 *HOX* 基因的上游调控因子, 在生物体的发育过程中起着重要作用. 涉及该蛋白的异常还与人类的某些恶性疾病如白血病相关. 利用基因数据库同源性比较、PCR 扩增、cDNA 文库筛选 cDNA 及部分基因组 DNA 序列分析、多组织 Northern 印迹杂交等方法, 克隆鉴定了一种新的人类编码 PHD 蛋白的全长 cDNA (*PHF2* GenBank Acc: AF 052205) 及该基因的不同剪接异构体.

关键词 **PHD 锌指结构** **PHF2cDNA** **可变剪接**

PHD (plant homeodmain) 锌指结构 (C4HC3) 得名于植物拟南芥菜 (*Arabidopsis*) 中两种特殊的锌指蛋白 HAT3.1, HOXIA. 研究发现这一结构特征在不同生物体内广泛存在, 编码含 PHD 结构蛋白的基因在进化过程中十分保守. 从果蝇突变体研究中观察到此类蛋白作为转录因子通过维持同源异形盒 (HOX) 基因转录的活化或抑制状态, 调节 *HOX* 基因在不同组织细胞, 不同时相的表达水平, 在果蝇体节发育分化过程中具有十分重要的作用[1,2]. 通过对人体白血病