

豇豆螺旋茎段维管组织观察及其成因分析

党江波, 李彩, 李晔, 龙志坚, 魏旭, 汪卫星, 何桥, 郭启高, 梁国鲁*

(西南大学园艺园林学院, 重庆 400715)

摘要: 豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.)的茎缠绕支持物形成右手螺旋,其茎段经水浸泡去表皮后可见维管纤维沿茎轴方向呈左手螺旋状排列。用徒手切片法观察螺旋型和直线型茎段各节间中部的横切面,发现二者木质部导管分子均由内至外呈对称的扇形排列;螺旋型茎段各节间扇形的角度均显著小于直线型茎段对应节间的扇形角度($p < 0.05$);除第1节间外,螺旋型茎段各节间扇形纵横比均显著大于直线型茎段对应节间的扇形纵横比($p < 0.05$)。分析表明,茎的两种螺旋之间存在扭力平衡;螺旋型与直线型茎段横切面导管分子扇形排列的差异可能是茎段扭转过程中受挤压所致。此外,茎段扭转并不是细胞横向不对称扩张的结果,而可能是由各侧细胞不均衡的纵向生长所造成。

关键词: 豇豆; 维管纤维; 缠绕; 扭转; 细胞伸长

中图分类号: Q944

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2011)06-0743-06

Observation and Genesis Analysis of Vascular Tissue in Cowpea's Helix Stem

DANG Jiang-Bo, LI Cai, LI Ye, LONG Zhi-Jian, WEI Xu, WANG Wei-Xing, HE Qiao, GUO Qi-Gao, LIANG Guo-Lu*

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Southwest University, Chongqing 400715, China)

Abstract: Cowpea stems can be right-handed helical when twinning on backers. We found that vascular bundles in skinless stems, which had being soaked in water, ranked lengthways as left-handed helixes, opposite to the stems' twinning direction. In addition, helix and line type stem internode vessel elements were arranged as sectors when observed in crosswise transection by hand-held slicing method, and the angles of these sectors in helix type stems were significantly less than those in the same internodes of line type stems ($p < 0.05$). The aspect ratios of all sectors were the same, except that in the first internode ($p < 0.05$). These results show that the twinning helix and torsion helix counteracted each other, and the differences between sectors in helix and line type stems resulted from extrusion producing in stem torsion. In addition, analysis showed that stem torsion was not the result of cell asymmetric transverse expansion in the xylem, but of unilateral cell elongation.

Key words: Cowpea (*Vigna unguiculata* Linn.); Vascular fiber; Twinning; Torsion; Cell elongation

豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.)为豆科(Leguminosae)豇豆属(*Vigna*)植物,可攀缘生长,其茎缠绕支持物而形成右手螺旋形结构。螺旋形结构广泛存在于自然界的微观和宏观层面,为生物界所偏爱^[1]。至今已有多种与生物相关的微观螺旋形结构得到深入研究并被给予合理解释,核酸、蛋白质、

纤维素及淀粉的螺旋形结构均被认为是保持其活性的最稳定形式^[2]。在生物个体或器官的形态中,螺旋形也较为常见,如原核生物螺旋藻(*Spirulina* sp.)、腹足类动物(Snails)的蜗壳、攀缘植物如葡萄(*Vitis vinifera*)的卷须、缠绕植物豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.)的缠绕茎等。众多生物螺旋的形

收稿日期: 2011-04-03, 修回日期: 2011-09-06。

作者简介: 党江波(1984-),男,硕士研究生,主要从事植物细胞生物学方面的研究。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: lianggl@swu.edu.cn)。

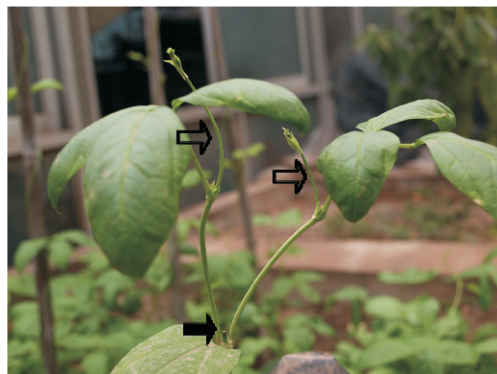
成机理得到较为深入的研究^[3-8]。达尔文对42种缠绕植物进行研究后指出,缠绕植物的缠绕行为可能与回旋转头运动有关^[9],近年的部分实验结果也支持此种说法^[10]。但是回旋转头运动与缠绕行为之间更清晰、更明确的关系仍未得到确认。对缠绕运动如何进行,植物解剖结构如何随缠绕而发生变化,缠绕运动在力学上如何实现,仍没有明确的结论^[11,12]。高等植物大多数器官的形态由其维管组织维持^[13],因此,欲了解茎螺旋形态的形成机理,须从其维管组织的排列入手。

本研究以豇豆为试材,观察螺旋形茎段维管组织细胞纵、横排列并分析其成因,对茎螺旋及扭转发生机理进行探讨,以期能对豇豆的缠绕行为有更全面的了解,为缠绕植物螺旋形结构形成的机理提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料准备

播种后,待豇豆(*Vigna unguiculata* Linn.)幼苗长至第1对真叶完全展开时,剪去茎尖,让其抽生2条藤蔓(图1)。藤蔓长至2节后,选取直径3~5 cm、高约2 m的竹竿靠近其中一条藤蔓作为其支持物,使其能缠绕生长;另一条藤蔓则让其远离支持物,呈直线生长。按以上方法准备20株植株备用。



“→”所示为去除中心主梢处;“⇨”所示为两条分枝藤蔓。
“→” indicates the position where the primary main vine was cut, “⇨” indicates two new vines.

图1 豇豆幼苗处理

Fig. 1 Handling of *Vigna unguiculata* seedling

1.2 处理方法

当藤蔓长至9个完整节间,且茎尖以下第1节间伸长至约3 cm时,选取10株茎段螺圈分布较为均匀的植株,分别取直线型和螺旋型茎段第1、2、3、4、7节间中部,徒手切片。显微镜下初检并选取

适宜厚薄的切片放入约10 mL蒸馏水中,加入0.1%的番红溶液4滴,摇匀,室温放置3 h。取出切片用甘油临时装片,Leica-DMRA2显微成像系统观察被染成红色的木质部并进行拍照。

将螺旋型茎段第7、8节间浸入自来水中,常温封储于密闭容器中。约20 d后取出,流动自来水冲洗除去腐烂表皮及其它组织,于室温下通风处晾干后拍照。

1.3 相关指标的测量与数据处理

利用photoshop7.0中的标尺工具测量横切面木质部导管分子横向扇形排列的角度(angle, A)和纵横比(aspect ratio, AR),每个切片取平均值,Statistica V6.0进行差异性分析。

2 结果与分析

2.1 茎段的螺旋与表皮纤维的扭转

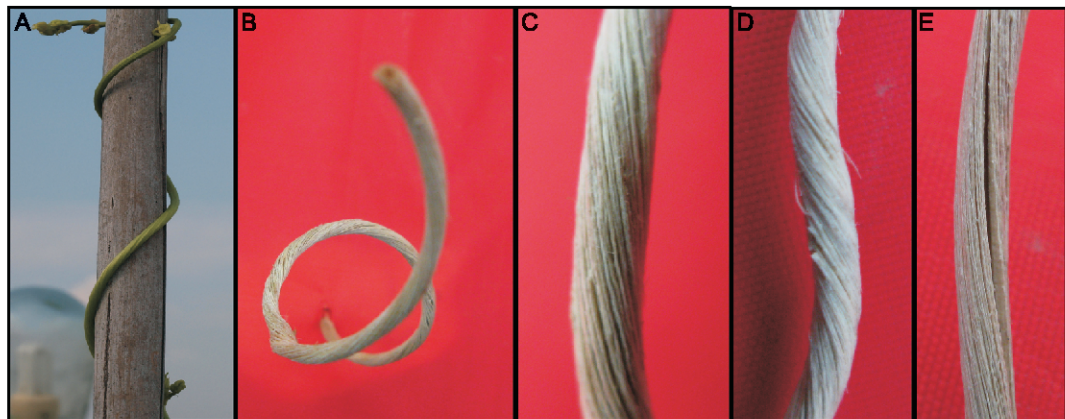
据观察,豇豆茎段缠绕螺旋一般发生于茎尖下可明显辨别(此时第1节间长度约3 cm)的第2节间。螺旋型茎段表皮纤维发生了与螺旋方向相反的扭转,形成反方向的螺旋,且螺距越大、越靠近支持物的茎段,其表皮纤维扭转程度越大;但是第2节间刚发生弯曲缠绕部分的表皮纤维排列方向仍与茎段平行,未发生扭转。以上现象可以说明,豇豆茎段缠绕过程中茎可能发生了扭转,且发生于缠绕之后,扭转可能是缠绕引起的,扭转的程度可能与节间伸长、螺圈收紧有关。

2.2 维管的排列

2.2.1 维管的纵向排列

处理后的豇豆茎段清晰可见沿茎纵向平行排列的维管纤维(图2: C),且以茎轴方向为中心,顺时针扭转,形成左手方向螺旋,这恰与茎段沿支持物缠绕形成的螺旋方向(右旋)(图2: B)相反。结合前述表皮纤维的扭转可见,豇豆螺旋茎段确实发生了扭转。豇豆缠绕螺旋和纤维螺旋排列之间的关系与DNA双螺旋和其高度螺旋化后形成的负超螺旋结构之间的关系相似^[14],即螺旋方向与超螺旋方向相反。这两种螺旋产生的扭力可以部分抵消。本研究将上述缠绕支持物形成的螺旋称为茎缠绕螺旋(简称缠绕螺旋),而维管纤维绕茎轴方向形成的螺旋称为纤维螺旋。

将去皮的螺旋茎段沿顺时针方向(反缠绕方向)旋转甚至拉直,减少其缠绕螺旋的螺圈,使其缠



A: 茎段沿支持物以右手螺旋方向缠绕;B: 除去表皮后的螺旋型茎段;C: 维管纤维左手螺旋排列;D: 当螺旋型茎段向左手方向旋转时,纤维螺旋更加紧密,部分纤维甚至断裂;E: 当螺旋型茎段向右手方向旋转时,纤维螺旋变得松散,一些部位甚至开裂。
A: Right-handed helical stem of cowpea; B: Helix type stem of cowpea without epidermis and marrow; C: Direction of stem torsion helix was left-handed; D: Torsion helix was tighter when the spiral stem revolved along left-hand, some fibers even fractured; E: Torsion helix was looser when the helix type stem revolved along right-hand, some positions even dehiscd.

图2 豇豆螺旋茎段及维管组织纵向排列

Fig.2 Helical stem and longitudinal arrangement of vascular tissue of cowpea

绕螺旋度降低,可见其纤维螺旋变得更加紧密(图2: D),甚至局部纤维发生断裂。相反,将茎段沿逆时针方向(缠绕方向)旋转,增加其缠绕螺旋的螺圈,使其缠绕螺旋的螺旋度增加,可见其纤维螺旋变得松散,甚至离散(图2: E)。由此可推测两种螺旋方式产生了平衡,即缠绕螺旋与纤维螺旋之间达到了扭力平衡。

2.2.2 木质部导管分子的横向排列

切片经番红染色后 100 倍显微镜下观察发现,螺旋型与直线型茎段各节间木质部导管分子均成对称的扇形排列,其余细胞排列方式未见较大差异;在第 2、3、4 节间,螺旋型茎段导管分子横切面大多呈椭圆或不规则的圆形,但直线型茎段中多为较规则的圆形;且螺旋型茎段第 2、3、4 节间初生木质部导管分子的数量较直线型茎段的多(图3: C~J)。

差异性分析表明,螺旋型和直线型茎段的对应节间导管分子排列的扇形结构的角度和纵横比有所不同。螺旋型茎段 4 个节间扇形角度均比直线型茎段的小($p < 0.05$),除第 1 节间外,其余 3 个节间扇形纵横比均比直线型的大($p < 0.05$) (见图 3、表 1)。这主要是螺旋型茎段靠髓内侧(扇形结构区域)的导管分子数量较多,且内、外侧导管分子的直径差异没有直线型茎段的大。对第 7 节节间切片观察发现,螺旋型茎段次生木质部导管分子明显比直线型的多(图3: K、L)。

2.2.3 纤维螺旋与缠绕螺旋的扭力平衡模拟分析
维管组织充当维管植物的骨架,其排列决定了

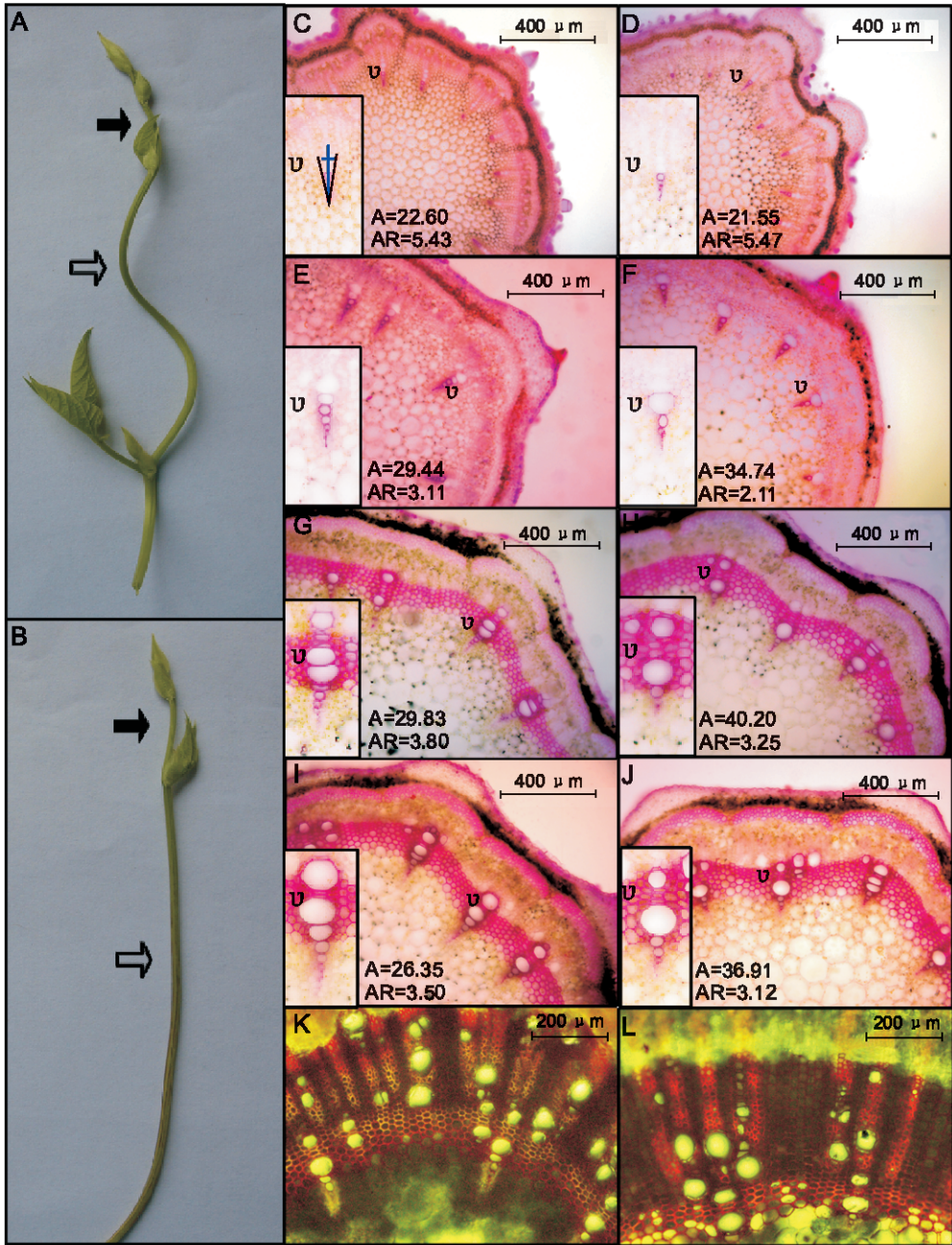
茎等器官的形态^[13]。达尔文虽也观察到缠绕植物茎表皮的扭转,但是并没有作出解释^[9]。豇豆维管纤维的扭转螺旋和茎缠绕螺旋的关系类似于 DNA 双螺旋和其形成的负超螺旋的关系。于是,在本实验中用尼龙纤维束模拟豇豆纤维螺旋与缠绕螺旋,在纤维束两端施加拉力将其拉直,并沿顺时针方向扭转,使尼龙纤维形成左手螺旋(图4: A),将螺旋的纤维束在中部对折后松开,即可形成双股相互缠绕的螺旋——超螺旋结构(图4: B、C);将左手方向扭转的纤维束一端固定于玻璃棒的一端,并沿右手方向将其缠绕于玻璃棒上,纤维束可保持稳定的超螺旋形态固定在玻璃棒上。将未扭转的纤维束缠绕于玻璃棒上,撤去使其缠绕的外力,纤维束会立即滑落。

表1 螺旋型和直线型茎段各节间横切面
导管分子扇形排列角度

Table 1 Angle value and aspect ratio of sector shaped by vessel elements on cross section in 1st,2nd, 3rd and 4th internodes of helical and line type stems

测定指标 Index	节间编号 Internode num.	螺旋型 Helix type	直线型 Line type
角度 Angle value	1	22.55 ±0.98e	25.51 ±0.82d
	2	23.00 ±1.16de	39.70 ±1.41a
	3	25.86 ±0.98d	33.82 ±0.77b
	4	30.29 ±0.88c	39.76 ±0.73a
纵横比 Aspect ratio	1	4.78 ±0.24 a	4.73 ±0.22a
	2	2.97 ±0.22 c	2.00 ±0.10d
	3	3.71 ±0.22 b	2.76 ±0.08c
	4	3.71 ±0.07 b	2.61 ±0.06c

注: 数字后不同字母表示差异达显著水平($p < 0.05$)。
Note: Different letters behind numbers mean significant difference level ($p < 0.05$).

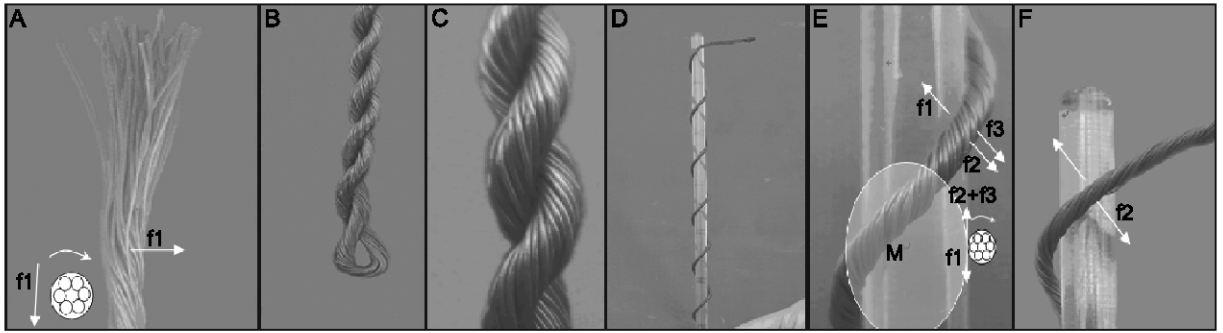


所有切片为各节间中部(A,B 中箭头所指部分)。A: 螺旋型茎段第1、2 节间(“→”所示为第1 节间切片处;“⇨”所示为二节节间切片处;以下各节以此类推); B: 直线型茎段第1、2 节间(箭头含义同A); C、E、G、I: 螺旋型茎段第1、2、3、4 节间中部横切面,左下方为单个维管束v处放大图(放大2 倍)[放大图中黑色“V”形示导管分子扇形排列的角度(angle,A),蓝色“+”形示纵横比(aspect ratio,AR),下同]。D、F、H、J 依次为直线型茎段第1、2、3、4 节间中部横切面。K、L 分别为螺旋型和直线型茎段第7 节间木质部横切面。

Sections were from central section of the 1st,2nd,3rd and 4th internodes (arrows indicates). A,B: The 1st,2nd internodes of helix type (A) and line type (B) stem (“→”indicates area where sections were formed in the first internodes,“⇨”indicates area where sections were formed in the second internodes); C,E,G,I indicate in turn transections of 1st,2nd,3rd and 4th internodes in helix type stems (photo in the lower left corner is magnified image (2 ×) of single vascular bundle (black v shows), black ‘V’ shows angle (A) of sectors shaped by vessel elements, blue ‘+’ shows its Aspect Ratio (AR), the same below); D,F,H,J indicate in turn transections of 1st,2nd,3rd and 4th internodes in line type stems; K,L show respectively xylem of 7th internode of helix and line type stem.

图 3 螺旋型与直线型茎段的木质部细胞(深红色区域)横切面

Fig.3 Xylem (deeper red areas) of helix type and line type stem in transection



A: 尼龙纤维束螺旋及其产生的扭力(f_1)及其横截面示意(左下角); B: 两股螺旋纤维束对折后产生的负超螺旋; C: 负超螺旋为右手螺旋,纤维束为左手螺旋; D: 螺旋纤维束可缠绕于支持物(玻璃棒)上并形成右手超螺旋; E: 纤维束螺旋产生的扭力(f_1)、其与玻璃棒产生的摩擦力(f_2)和缠绕螺旋产生的扭力(f_3)平衡及其横切面示意(下方的 M 示椭圆形为支持物斜向切面,其右为纤维束横切面); F: 自由端受力分析。

A: Nylon fibers beam helix,torsion (f_1) and their schematic in transverse section (lower left); B: Negative super-helix formed by two helical nylon fibers beam when folded; C: Negative super-helix is right-handed and fibers beams are both left-handed; D: Nylon fibers beam twisted on a glass rod around opposite direction; E: Nylon fibers beam's torsion (f_1), friction (f_2) between beam and glass rod and torsion (f_3) of twinning helix and their balance,schematic in transverse section (lower part, M marks oblique section of backer,transverse section of Nylon beam is on right); F: Force analysis of free end.

图4 尼龙纤维束两种螺旋之间的力学平衡

Fig. 4 Torsion balance of between nylon fibers beam helix and revolve helix

欲使弹性材料螺旋变形,须施加一定的外力使其扭转,同时材料会产生反作用力,二力合称为扭力^[16]。尼龙纤维顺时针方向扭转形成左手螺旋,必然会产生反方向的扭力 f_1 (图4:A),纤维束缠绕玻璃棒形成右手螺旋,必然也会产生扭力 f_3 (图4:E),二者方向相反。此外,纤维束扭转及缠绕使得其紧贴玻璃棒,与玻璃棒表面产生摩擦力 f_2 , f_2 恰能与 f_3 一起平衡 f_1 (图4:E)。在纤维束缠绕螺旋的自由端(上端),未形成缠绕螺旋即不产生扭力,自由端未螺旋部分的重力与前述的 f_2 、 f_1 平衡(图4:F)。

豇豆的纤维螺旋与缠绕螺旋之间的关系与此类似,即纤维螺旋可以平衡缠绕螺旋产生的部分扭力。

2.2.4 导管分子横向排列的差异分析

螺旋型茎段导管分子所排列的扇形结构纵横比大于直线型茎段中扇形结构的纵横比,且螺旋型茎段初生木质部导管分子多于直线型,可见前者初生长强于后者。螺旋型茎段导管分子排列的扇形结构角度小于直线型茎段,且后者木质部导管细胞形状较前者圆,说明后者可能受到挤压。物体发生形变后,其微观结构都会发生变化^[16]。与直线型茎段相比,螺旋型茎段发生了茎的扭转和缠绕两种形变,这两种形变都会对微观结构产生影响。可能茎段的扭转和螺旋对内部组织形成压迫以致细胞产生形变,为减小进一步的形变,螺旋茎段便分化更多的木质化细胞,因而其初生木质化程度较直线型茎段高。Scher 等^[17]报道圆叶牵牛(*Ipomoea purpurea*)绕

直径较小的支持物缠绕时,其初生木质部生长更为旺盛,原因是缠绕力更大,但该文并未对木质部的变化进行更详细的描述。豇豆螺旋型茎段次生木质部导管分子较多,这可能与缠绕茎直立高度增加有关,以便增强水分运输能力。

3 讨论

生物宏观的螺旋形态往往由微观组织、细胞的形态或排列方式决定,不对称生长是其主要原因^[3,4,6,18,19]。达尔文认为,缠绕植物的缠绕与回旋转头运动密切联系,幼嫩的茎段可以通过回旋转头运动找到支持物^[9]。已有研究证实,缠绕确与回旋转头运动有关^[10]。回旋转头运动见于多种植物中,具有方向性,且同一物种保持一致。回旋转头运动即是植物纵向不对称生长的结果。达尔文观察到茎段的扭转(纤维螺旋)发生于茎段缠绕之后,本实验中也观察到相同的结果。但是现代有关缠绕植物的研究几乎没有提及茎的扭转。达尔文推断茎段的扭转是为平衡缠绕产生的螺旋力而形成。即茎段扭转是缠绕的结果,但是缠绕如何引起扭转,达尔文并未提及。上述的尼龙纤维束发生扭转是外力作用的结果,而豇豆茎段的扭转没有受到任何外力作用。所以,可以推断豇豆茎段的扭转也应是不对称生长的结果。茎段木质部横切面未发现横向不对称生长的现象,因此,缠绕和扭转都应是源于茎段纵向的不对称生长。在对拟南芥螺旋生长突变体研究的早期,

曾有学者提出以下扭转生长模型:即内层细胞长度小于外侧表皮细胞,为平衡长度不对称,外侧细胞发生扭转^[20],但是此模型不能解释螺旋发生的手性偏好^[21]。且此模型中外侧细胞必须同时伸长才可扭转,否则茎段只会弯曲。豇豆茎段扭转和螺旋的原因可能类似于上述模型,且与支持物密切联系。

现代研究较少关注缠绕植物,部分学者虽对部分缠绕植物转头运动过程中细胞长度和细胞膨压的变化^[22,23],缠绕茎段的张力^[17,12],缠绕茎段初生木质部^[17]等进行一定的研究,并提出了一些模型^[11,12]。这些结果仍不能解释缠绕过程中茎段形态变化(如扭转)产生的原因,且对缠绕的发生、茎解剖结构变化缺乏较系统的描述,缠绕发生的原因也不清楚,对不同植物缠绕发生机理的推断有较大差别。因此,关于缠绕植物的研究还不够全面和深入。本文对螺旋过程中的茎段扭转进行了分析,对茎木质部导管分子横向排列进行观察,同时提出缠绕、扭转可能是细胞纵向不对称生长的结果,为缠绕植物的研究提供了一定的补充。

参考文献:

- [1] Snir Y, Kamien R D. Entropically driven helix formation[J]. *Science*, 2005, 307: 1067–1067.
- [2] Chouaieb N, Goriely A, Maddocks J H. Helices[J]. *PNAS*, 2006, 25: 9398–9403.
- [3] Grande C, Patel N H. Nodal signalling is involved in left-right asymmetry in snails[J]. *Nature*, 2009, 457: 1007–1011.
- [4] Kuroda R, Endo B, Abe M, Shimizu M. Chiral blastomere arrangement dictates zygotic left-right asymmetry pathway in snails[J]. *Nature*, 2009, 462: 790–794.
- [5] Thitamadee S, Tuchiara K, Hashimoto T. Microtubule basis for left-handed helical growth in *Arabidopsis*[J]. *Nature*, 2002, 9: 193–196.
- [6] Ma Y Z, Yen L F. Actin and Myosin in pea tendrils[J]. *Plant Physiol*, 1989, 89: 586–589.
- [7] 杨文定, 姜成后. 丝瓜卷须的电波传导和快速卷曲[J]. *中国科学: B 辑*, 1994, 8: 837–844.
- [8] 汪志平. 螺旋藻形态建成的分子机制及转座子调控模型[D]. 杭州: 浙江大学, 2000: 1–11.
- [9] Darwin C R. 攀援植物的运动和习性[M]. 张肇骞译. 北京: 科学出版社, 1957: 1–23.
- [10] Kitazawa D, Hatakeda Y, Kamada M, Fujii N, Miyazawa Y, Hoshino A, Iida S, Fukaki H, Morita M T, Tasaka M, Suge H, Takahashi H. Shoot circumnutation and winding movements require gravisensing cells[J]. *PNAS*, 2005, 51: 18742–18747.
- [11] Goriely A, Neukirch S. Mechanics of Climbing and attachment in twining plants[J]. *Physical Review Letters*, 2006, 97(18): 1–4.
- [12] Isnard S, Cob A R, Holbrook N M, Zwieniecki M, Dumais J. Tensioning the helix: a mechanism for force generation in twining plants[J]. *Proc R Soc B*, 2009, 276: 2643–2650.
- [13] 韩碧文. 植物生长与发育[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003: 61–63.
- [14] Liu L F, Wang J C. Supercoiling of the DNA template during transcription[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987, 84: 7024–7027.
- [15] Nash W A. 材料力学的理论与问题[M]. 杨春生译. 北京: 国防工业出版社, 1985: 89–92.
- [16] 苟文选. 材料力学(I) [M]. 西安: 西北工业大学出版社, 2000: 7–8.
- [17] Scher J L, Holbrook N M, Silk W K. Temporal and spatial patterns of twining force and lignification in stems of *Ipomoea purpurea* [J]. *Planta*, 2001, 213: 192–198.
- [18] Hussey P J. Microtubules do the twist[J]. *Nature*, 2002, 147: 128–129.
- [19] Gilat G. On biological advantage in chirality[M]// *Advances in BioChirality*. New York: Elsevier, 1999: 47–69.
- [20] Furutani I, Watanabe Y, Prieto R, Masukawa M, Suzuki K, Naoi K, Thitamadee S, Shikanai T, Hashimoto T. The SPIRAL genes are required for directional control of cell elongation in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Development*, 2000, 127: 4443–4453.
- [21] Ishida T, Thitamadee S, Hashimoto T. Twisted growth and organization of cortical microtubules [J]. *J Plant Res*, 2007, 120: 61–70.
- [22] Care A F, Nefed'ev L, Bonnet B, Millet B, Badot P M. Cell elongation and revolving movement in *Phaseolus vulgaris* L. twining shoots[J]. *Plant Cell Physiol*, 1998, 39(9): 914–921.
- [23] Comparot S, Morillon R, Badot P M. Water permeability and revolving movement in *Phaseolus vulgaris* L. twining shoots[J]. *Plant Cell Physiol*, 2000, 41(1): 114–118.