

# 濒危药用植物盘龙参根的显微结构 及其内生真菌分布研究

周秀玲, 刘紫英\*

(宜春学院 化学与生物工程学院, 江西 宜春 336000)

**摘要:** 采用石蜡永久制片和光学显微摄像的方法, 对盘龙参根的显微结构及其内生真菌的分布进行了研究。结果表明: 盘龙参的根由表皮、皮层和中柱组成, 表皮上有根毛, 皮层所占根径的比例达70%以上, 其内草酸钙针晶散在或成束于皮层细胞中。中柱由18~22个木质部与韧皮部相间排列组成。盘龙参根的皮层细胞和中柱中有内生真菌的分布; 内生真菌由表皮、外皮层侵入到皮层薄壁细胞和中柱的薄壁细胞中, 在皮层和中柱中形成菌丝和菌丝结, 并扩展成一定的侵染区域, 同时在部分皮层细胞中菌丝结已被消化吸收。

**关键词:** 兰科; 盘龙参; 石蜡切片; 光学显微摄像; 内生真菌

**中图分类号:** Q942.4    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000-3142(2011)02-0194-04

## Microstructure and endophytic fungus distribution of the root of endangered and officinal plant *Spiranthes sinensis*

ZHOU Xiu-Ling, LIU Zi-Ying\*

(College of Chemistry and Bioengineering, Yichun University, Yichun 336000, China)

**Abstract:** Microstructure and distribution of endophytic fungi of the root of *Spiranthes sinensis* were studied through permanent paraffin-cut section and optical microscope photography. The results indicated that the rhizome of *S. sinensis* consisted of epidermis, cortex and stele. The epidermis had many root hairs, the cortex occupied more than 70% of the diameter of root, in which the cylinder were sometimes observed. Stele were scattered by eighteen to twenty-two xylem and phloem. The hyphae of endophytic fungi were colonized in the cortex and stele. They infected the cortex parenchyma through epidermis and exodermis, and then formed pelotons, and expanded their occupying area of cortex.

**Key words:** Orchidaceae; *Spiranthes sinensis*; permanent paraffin-cut section; optical microscope photography; endophytic fungus

盘龙参 (*Spiranthes sinensis*) 为兰科绶草属 (*Spiranthes*) 植物, 又名绶草; 被原国家林业部颁布的《野生植物保护名录》列为二级保护植物, 同时又被列为国际濒危植物。盘龙参为名贵的药用植物, 根及全草入药, 具滋阴益气、补肾壮阳、凉血解毒、润肺止咳、消炎解毒、强筋骨、祛风湿之功效。盘龙参喜半日

照, 适宜在潮湿和阳光充足的环境下生长。植株高15~50 cm; 根数条簇生于茎基, 粗厚、肉质, 幼嫩者表面着生多数淡黄色细根毛; 茎直立, 叶片倒披针形或条形, 花序顶生, 具多数密生的小花, 似穗状; 花白色或淡红色, 呈螺旋状排列(林道清等, 2003)。散布于全国各省区; 在江西省宜春地区有大量分布。

收稿日期: 2010-05-17    修回日期: 2010-10-25

基金项目: 江西省教育厅科技计划项目(GJJ08410, GJJ09606)[Supported by Science and Technology Project of Jiangxi Education Department (GJJ08410, GJJ09606)]

作者简介: 周秀玲(1960-), 女, 江西南昌人, 副教授, 主要从事药用植物教学和研究工作, (E-mail) zxl600820@163.com。

\* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: yingziliu2008@163.com)

目前国内外对盘龙参的药效成分、内生真菌已有报道(程玉鹏等, 2008; 董美伶等, 2005; Peng, 2008), 但关于其根的显微结构方面及根中内生真菌的分布尚未见报道。本文研究了自然生长状态下的盘龙参根的显微结构及内生真菌的分布, 为今后研究兰科盘龙参植物的生长发育、内生真菌的分布规律、次生代谢产物与内生真菌的关系以及盘龙参的保护工作提供了科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料来源

实验材料盘龙参(*Spiranthes sinensis*)取自江西省宜春学院校园。

### 1.2 实验方法

(1) 石蜡切片制作法: 将盘龙参根在流水下冲洗干净, 选取正常完整的根, 切成 0.2~0.5 cm 长的小

段迅速固定于 FAA 固定液中, 常规石蜡切片制作, 切片厚度 10~16  $\mu\text{m}$ , 番红固绿对染, 中性树胶封片。  
(2) 显微摄像: 取制好的石蜡切片放于重庆奥特产高级数码生物显微镜 SK-DM500 光学摄像仪下摄像。

## 2 结果与分析

### 2.1 盘龙参根的解剖特征

盘龙参的根茎由表皮、皮层和中柱三部分组成(图 1:A)。

最外层由表皮细胞发育而来, 其细胞 1 列, 扁圆形或扁长方形, 微木化, 它主要起保护、吸水、透气、减少内部组织细胞水分散失的作用; 表皮细胞外壁突出形成根毛(图 1:B), 可以看出根毛细胞和一部分表皮细胞常被破坏, 是根穿越土壤时与土壤摩擦而形成的。

皮层位于表皮内侧, 由 11~14 层细胞组成, 皮

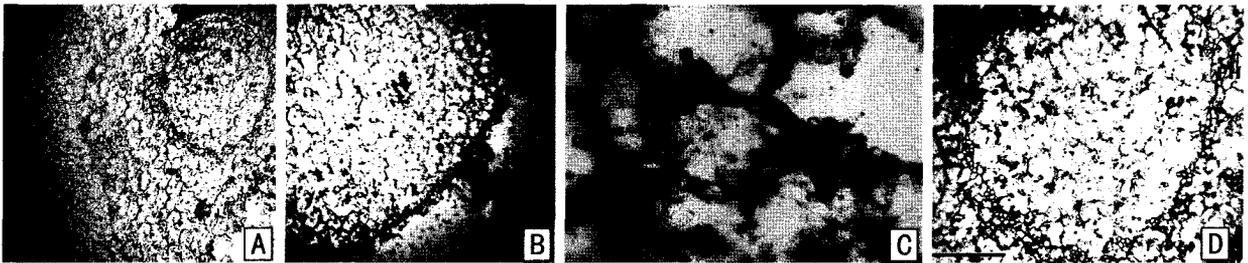


图 1 A. 一个完整的盘龙参根横切面, 示表皮、皮层及中柱(bar=500  $\mu\text{m}$ ); B. 根横切面的一部分, 示根表有根毛(bar=500  $\mu\text{m}$ ); C. 根横切面的一部分, 示皮层细胞内的针状结晶束(bar=50  $\mu\text{m}$ ); D. 根的中柱横切面的一部分, 示木质部和韧皮部相间排列(bar=200  $\mu\text{m}$ )。Rh. 根毛; Ep. 表皮; Co. 皮层; N. 细胞核; Cr. 结晶体; S. 中柱; Pl. 髓; XY. 木质部; PH. 韧皮部; H. 真菌菌丝; P. 菌丝结。

Fig. 1 A. An intact transverse section of root of *Spiranthes sinensis*, composed of epidermis, cortex, endodermis and vascular bundle sheath (bar=500  $\mu\text{m}$ ); B. The transverse section of root, showing root hair on the face of root (bar=500  $\mu\text{m}$ ); C. The transverse section of rhizome of *S. sinensis*, showing needle-cluster crystalline crystal in cortex cell (bar=50  $\mu\text{m}$ ); D. The transverse section of vascular bundle sheath showing xylem alternated with phloem (bar=200  $\mu\text{m}$ ). Rh. Root hair; Ep. Epidermis; Co. Cortex; N. Nucleus; Cr. Crystal; S. Stele; Pl. Pith; XY. Xylem; PH. Phloem; H. Hyppha; P. Peloton.

层组织包括外皮层、中皮层和内皮层三层结构, 由基本分生组织发育而来, 皮层宽广, 由多层薄壁细胞组成, 所占根径的比例很大(70%以上), 中皮层组织细胞较大, 多角球形, 细胞壁薄, 内含物最丰富, 是活力最旺盛的细胞, 个别中皮层细胞中充满了针状束草酸钙晶体(图 1:C)。针状结晶常分布于与外皮层相邻的几层皮层细胞中。皮层最内一层特化的细胞为内皮层, 由排列紧密的方形或长方形细胞组成, 细胞较小, 细胞有活力, 壁稍加厚, 其中与木质部的薄壁细胞相对的为内皮层通道细胞。

根的中心部分称为中柱(图 1:D), 由中柱鞘、韧

皮部、木质部和髓构成, 中柱内有 18~22 个木质部与韧皮部交替排列; 髓较大, 由薄壁细胞组成。

### 2.2 盘龙参根中内生真菌的分布

盘龙参根中内生真菌是通过破坏表皮组织侵袭根皮层组织细胞。从显微镜下可观察到在表皮的表皮层上均有许多着色较深的凹陷部分, 这些是真菌菌丝的侵入位点; 表皮细胞中分布有大量菌丝(图 2:A), 菌丝侵入点附近的表皮细胞已被破坏, 相邻的外皮层细胞出现不同程度的异常和解体; 在真菌菌丝侵染到表皮细胞后, 菌丝常在表皮细胞间切向延伸, 并逐渐朝皮层方向侵袭; 一般来说, 被真菌侵

染的细胞,其壁往往木质化加厚,经番红固绿双重染色后呈红色。皮层在盘龙参根中占70%以上,细胞壁薄,可消化侵入的菌丝为盘龙参的生长提供营养。在破坏部分表皮细胞后、外皮层细胞后,真菌菌丝侵入盘龙参根,并在皮层细胞内形成菌丝结(图2:B)。皮层中的菌丝结有时可以通过菌丝穿过细胞壁而侵染到另外一个细胞(图2:C),并形成新的菌丝结,因而可以观察到菌丝将细胞中的两个菌丝结相连的现象(图2:B)。

菌丝自染菌细胞向邻近皮层细胞穿越,一种是正常菌丝;另一种是已被分解的菌丝碎片或脱壁的菌丝,多数为被消化的菌丝残体,最终随着菌丝在细胞内的扩展而崩解消失;从图2:D可见正在被消化的菌丝片段。同时皮层细胞内有大量新定殖的菌丝和正在被消化的菌丝结最终被消化,为盘龙参生长提供营养。脱壁的菌丝结在皮层细胞中被吸收或在邻近的皮层细胞转移。菌丝可从一个细胞转向另一个细胞,正处于旺盛的生理状态,皮层细胞的细胞核

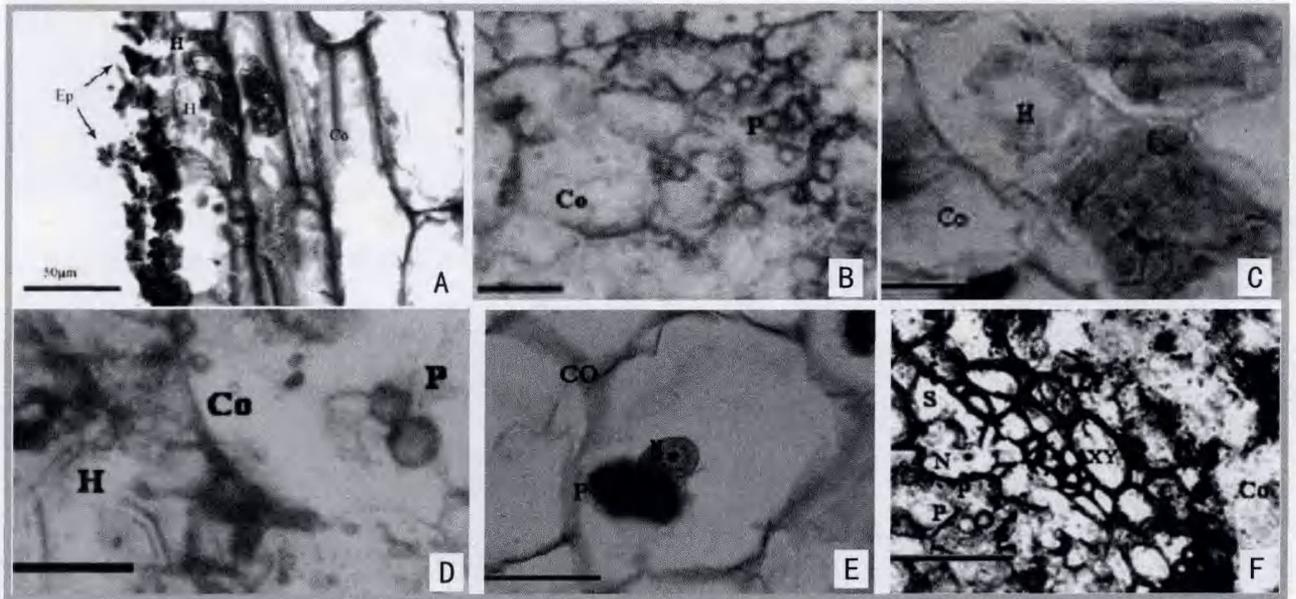


图2 A. 示盘龙参根的部分横切面及菌丝侵入点,内生真菌由表皮侵入到皮层薄壁组织,形成菌丝(bar=50  $\mu\text{m}$ ); B. 示盘龙参根的内生真菌菌丝结和两个菌丝结相连的现象(bar=50  $\mu\text{m}$ ); C. 示在皮层中菌丝由一个细胞向另一个细胞侵染(bar=50  $\mu\text{m}$ ); D. 示皮层中菌丝被消化(bar=50  $\mu\text{m}$ ); E. 示菌丝结与膨大的细胞核相邻(bar=20  $\mu\text{m}$ ); F. 示盘龙参根的中柱薄壁细胞中菌丝结(bar=50  $\mu\text{m}$ )。

Fig. 2 A. Root of *Spiranthus sinensis*, showing infection site of the hypha and the infected cell in cortex through epidermis (bar=50  $\mu\text{m}$ ); B. Hyphae of endophytic fungi were formed pelotons and joined in cortex (bar=50  $\mu\text{m}$ ); C. Hypha penetrate through cell from one to another (bar=50  $\mu\text{m}$ ); D. Hyphae were digested in cortex (bar=50  $\mu\text{m}$ ); E. Pelotons closely attached to the nucleus, the nucleus size increased significantly (bar=20  $\mu\text{m}$ ); F. Pelotons were formed in stele (bar=50  $\mu\text{m}$ ).

常膨大,真菌菌丝结往往向细胞核靠近,有时会将细胞核包裹起来(图2:E);在中柱的薄壁细胞中也存在大量的菌丝结(图2:F)。

### 3 讨论

盘龙参的根茎由表皮、皮层及中柱组成;根的薄壁细胞中贮藏有丰富的营养物质;针状结晶束在皮层薄壁细胞中形成后,细胞便失去活力,成为死细胞。根的中心部分称为中柱,有18~22个木质部和韧皮部交替排列,梁天干等(1984)在研究金线莲(*Anoectochilus formosanus*)等3种兰科植物的根

结构时指出,维管束的束数与它们对环境的适应性有一定的正相关,维管束多的,对土壤的水湿条件要求不严格,引种易于成活,维管束少的,要求的条件较苛刻。这一点与盘龙参的生存环境潮湿和在阳光充足的环境下生长、易于成活是一致的;髓部细胞由薄壁细胞组成,也是与环境条件相适应的结果。

真菌菌丝侵入根部的皮层细胞后,常缠绕形成菌丝结,在盘龙参皮层细胞中既有新定殖的菌丝,也有正在被消化的菌丝片段,同时在中柱的薄壁细胞中也存在大量的菌丝结和少量的消化的菌丝,这与伍建榕(2005)在研究春兰营养根中仅在皮层细胞的内生真菌只侵染皮层薄壁细胞,不侵染中柱的报道

不一致。兰科植物中内生真菌侵染机制和消化过程是非常复杂的(丁晖等, 2002; 周斌等, 2003; 李明, 2001; 陈佳昕等, 2008), 目前研究的结果仍未能对此作出完善的解释, 盘龙参根中的内生真菌的消化过程有待进一步研究。皮层细胞的细胞核常膨大, 真菌菌丝结往往向细胞核靠近, 有时会将细胞核包裹起来。范黎等(2000)曾报道了密花石斛等 6 种兰科植物菌根的特征, 发现染菌的皮层细胞细胞核常膨大, 且菌丝常向细胞核靠近。在本研究中我们观察到了同样的现象, 这是否与调控皮层细胞对菌丝的消化吸收有关现在还不清楚。对内生真菌引起宿主染菌细胞核大小和形态变化及其与未染菌皮层细胞的细胞核大小和形状的差别还需做进一步的研究。

### 参考文献:

- Chen JX(陈佳昕), Dai CC(戴传超), Li X(李霞), *et al.* 2008. Endophytic fungi screening from *Atractylis lancea* and inoculating into the host plantlet(茅苍术内生真菌的分离鉴定及在组培中的回接)[J]. *Guihaia*(广西植物), **28**(2): 256-260
- Cheng YP(程玉鹏), Wang ZY(王振月), Li HL(李慧玲). 2008. Distribution characteristics of endophytic fungi in *Spiranthes sinensis*(盘龙参内生真菌分布特征的研究)[J]. *Fore By-Product Spec China*(中国林副特产), **93**(2): 22-23
- Ding H(丁晖), Han SF(韩素芬), Wang GP(王光萍), *et al.* 2002. Symbiosis between *Cattleya* sp. and *Rhizoctonia* sp. and mycorrhizal microstructure of *Cattleya* sp.(卡特兰与丝核菌共培养体系的建立及卡特兰菌根显微结构的研究)[J]. *Mycosystema*(菌物系统), **21**(3): 425-429
- Dong ML(董美伶), Xie YY(谢媛媛), Chen J(陈剑), *et al.* 2005. Quantitative determination of flavonoid in *Spiranthes sinensis* by HPLC(HPLC 法测定盘龙参中的盘龙参黄酮I)[J]. *Chin Trad Herb Drugs*(中草药), **36**(6): 921-922
- Fan L(范黎), Guo SX(郭顺星), Xiao PG(肖培根). 2000. A study on the mycorrhizal microstructure of six orchids(密花石斛等六种兰科植物菌根的显微结构研究)[J]. *Chin Bull Bot*(植物学通报), **17**(1): 73-79
- Li M(李明). 2001. The characteristics of orchidaceous mycorrhiza and application of mycorrhizal fungi in orchid culture(兰科菌根的特点及其菌根真菌在兰花培育中的应用)[J]. *J Yunnan Normal Univ; Nat Sci Edi*(云南师范大学学报·自然科学版), **21**(4): 68-71
- Liang TQ(梁天千), Zheng SK(郑伸坤). 1984. Morphology and anatomy of vegetative organs of three kinds of Wuyi orchidssn(三种武夷兰花营养器官的形态解剖)[J]. *J Fujian Agric Fore Univ; Nat Sci Edi*(福建农林大学学报·自然科学版), **13**(2): 147-154
- Lin DQ(林道清), Liang H(梁鸿), Tan QZ(檀庆忠). 2003. Rare and endangered plant resources and its protection in Qingyunshan Scenic Spot, Fujian Province(福建青云山风景区珍稀濒危植物资源及其保护)[J]. *Subtrop Plant Sci*(亚热带植物科学), **32**(1): 39-42
- Peng JY, Han X, Xu LN, *et al.* 2008. Two new prenylated coumarins from *Spiranthes sinensis*[J]. *J Asian Nat Prod Res*, **10**(3): 256-259
- Wu JR(伍建榕). 2005. Studies on endangered wild orchids and its relationship with mycorrhizal fungi in Yunnan Province(云南濒危野生兰花与菌根真菌的共生关系)[D]. Nanjiang: Nanjing Fore Univ; 95
- Zhou B(周斌), Wei Q(魏勤), Li SL(李绍兰), *et al.* 2003. Study on mycorrhizal fungi in some species of tropical orchids in Xishuangbanna(云南西双版纳几种热带兰菌根真菌的研究)[J]. *J Yunnan Univ; Nat Sci Edi*(云南大学学报·自然科学版), **25**(2): 161-166

( 上接第 243 页 Continue from page 243 )

for the analysis of simple sequence repeat polymorphisms in chloroplast genomes of dicotyledonous angiosperms[J]. *Genome*, **42**: 9-19

Zhang QL(张青林), Luo ZR(罗正荣). 2004. ISSR technology and its applications in fruit trees (ISSR 及其在果树上的应用)[J]. *J Fruit Sci*(果树学报), **21**(1): 54-58

Zhou R-Y(周瑞阳), Zhang X(张新), Zhang J-Q(张加强), *et al.*

2008. A breakthrough in Kenaf cytoplasmic male sterile lines breeding and heterosis utilization(红麻细胞质雄性不育系的选育及杂种优势利用取得突破)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学), **41**(1): 314

Zhou RY. 2001. Mutational effects of space flight on kenaf seeds. In: American Kenaf Society Proceedings[C]. Atlanta, Georgia: Fourth Annual Conference, **15-17**: 129-137