

• 实验简报 •

美登木根的显微结构及其内生真菌的分布

谭小明² 郭顺星^{1*} 周雅琴² 缪剑华²

(1 中国医学科学院中国协和医科大学药用植物研究所药用植物菌根研究室 北京 100094)

(2 广西药用植物园 南宁 530023)

摘要 本文采用石蜡永久制片和光学显微摄像的方法对美登木(*Maytenus confertiflorus*)根的显微结构及其内生真菌的分布进行了研究。结果表明,美登木根的次生结构由周皮和维管组织构成;周皮由木栓层、木栓形成层和栓内层组成,其中木栓层由5~6列长形细胞组成;维管组织中次生韧皮部所占根径的比例达46%,其薄壁细胞中内含物较丰富,次生木质部中分布有导管和木射线及少量木薄壁组织;在美登木木栓层和次生韧皮部中分布有菌丝片段、膨大的菌丝、菌丝团及分生孢子;内生真菌只在一定区域的皮层和次生韧皮部细胞中分布。

关键词 根的显微结构, 美登木, 内生真菌, 石蜡切片

Microstructure and Endophytic Fungus Distribution of *Maytenus confertiflorus* Root

Xiaoming Tan², Shunxing Guo^{1*}, Yaqin Zhou², Jianhua Miu²

(1 Mycorrhizal Department, Institute of Medicinal Plant Development, CAMS and PUMC, Beijing 100094)

(2 Guangxi Botanical Garden of Medicinal Plant, Nanning 530023)

Abstract The microstructure and distribution of endophytic fungi in *Maytenus confertiflorus* root were studied by permanent paraffin sectioning and microscope photography. The secondary structure of the root consisted of periderm and vascular cylinders. Periderm was composed of cork, cork cambium, and phelloderm. The cork consisted of five or six layers of long cells. The secondary phloem occupied 46% of the diameter of the root and the parenchymas cells had abundant inclusions. The secondary xylem consisted of vessels, and xylary radial and some xylary parenchyma cells. Some segments of hypha, swelled hypha, pelotons and conidiophore were in colonies in cork and secondary phloem. Endophytic fungi existed in the local cells of cork and secondary phloem in the root.

Key words microstructure of root, *Maytenus confertiflorus*, endophytic fungi, permanent paraffin-cut section

美登木(*Maytenus confertiflorus*)是卫矛科(Celastraceae)美登木属(*Maytenus*)多年生灌木。从美登木属植物中提取的美登木素对淋巴恶性肿瘤等多种癌症有显著疗效,因而引起医

学界的重视。有关美登木属植物药用成分的提取分离(李朝明等, 1983)、临床治疗效果(中国科学院云南热带植物研究所, 1978)、组织培养(唐福圃和刘贤旺, 1991)以及内生菌(张玲琪等,

收稿日期: 2005-09-08; 接受日期: 2006-03-17

基金项目: 国家杰出青年科学基金(30325047)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: sxguo2006@yahoo.com.cn

2002)等方面已有研究报道,但有关美登木根的显微结构及其内生真菌分布方面的研究尚未见报道。本文研究了美登木根的显微结构及其内生真菌的分布,为今后研究美登木植物的生长发育、内生真菌分布规律以及合理开发利用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 植物材料来源

美登木(*Maytenus confertiflorus*)于2004年9月采自广西药用植物园标本园,为多年生植株。

1.2 石蜡切片制作方法

将美登木根在流水下冲洗干净,选取正常完整的根,切成2~3 mm长的小段迅速固定于FAA固定液中,石蜡法制片,切片厚度为10~14 μm 。番红-固绿对染,中性树胶封片,日本产Olympus-BH显微镜观察并摄影。

2 结果

2.1 美登木根的结构特征

2.1.1 美登木根的次生结构 美登木根的次生结构包括周皮和维管组织两部分(图1A)。周皮由木栓层、木栓形成层和栓内层组成(图1B)。其中木栓层由5~6列长形细胞组成,颜色较浅,长度为23~30 μm ,宽度为8~13 μm ,排列紧密。木栓形成层由1列长方形细胞组成,颜色较深,长度为18~26 μm ,宽度为5~13 μm 。栓内层与位于其内方的中柱鞘细胞难以区分,因此从根横切面上不易观察到该层细胞。靠近栓内层的是初生韧皮部(被挤到边缘),次生韧皮部较明显,颜色较深,所占比例约为根直径的46%,次生韧皮薄壁细胞发达,细胞内含有众多颗粒状或块状的储藏物质(图1C)。次生木质部由导管和木射线组成,导管呈径向排列,木化程度高且壁厚,导管直径一般25~35 μm ,导管之间有少量木薄壁细胞分布,木射线单列,主要由薄壁组织构成,韧皮射线不明显(图1D)。

2.1.2 美登木侧根的产生 美登木侧根由中柱鞘细胞产生,对着木质部放射角的细胞分生能力强,发生分裂,向外突起,形成侧根(图1E)。在侧根的形成过程中,分化出维管组织,并且与主根的维管组织连接在一起(图1F)。

2.2 美登木根中内生真菌的分布

从美登木根连续石蜡切片中可以看到,木栓层表面有真菌菌丝分布,往往还附着一些碎屑,碎屑附近的薄壁细胞已不完整,碎屑中的菌丝正通过此处侵入到根的木栓层内(图2A)。菌丝在木栓层薄壁细胞间横向延伸,并逐渐向木栓形成层生长(图2B~D),有时在木栓层薄壁细胞中的一个或连续几个细胞中定殖(图2C)。随着菌丝在定殖细胞中不断地生长,菌丝细胞往往会膨大,膨大后的菌丝细胞往往较原菌丝的直径大约4~5倍,菌丝具明显的横隔膜,有的膨大菌丝细胞呈近圆形(图2C, D)。膨大的菌丝在充满整个细胞腔后,可再生出正常直径的菌丝穿透细胞壁向下一层的薄壁细胞侵染(图2B)。侵染到木栓层薄壁细胞的菌丝并非在所有经过的细胞中定殖,有时只定殖于其中某一个细胞,有时则能在同一层或相邻的细胞中连续定殖(图2C)。被真菌侵染的木栓层薄壁细胞,其壁木质化加厚,经番红-固绿双重染色后呈红色,细胞的形状也发生了变化(图2B);处于旺盛生长状态的菌丝经番红-固绿双重染色后呈绿色,而老化的菌丝则呈红色(图2D)。此外,真菌菌丝并非在所有的木栓层薄壁细胞中都有分布,而是只集中在某些区域(图2B)。

美登木根的木栓层为死细胞,有木质化加厚的细胞壁,而木栓形成层的细胞为活细胞,细胞壁薄,具有细胞核(图2D)。在木栓层细胞中定殖后的菌丝可以长出新的菌丝或者以孢子的形式进一步向次生韧皮部侵染(图2E)。

次生韧皮部在美登木根径中所占的比例最大,是真菌增殖生长的主要栖居区域,可消化侵入的真菌菌丝为美登木的生长提供营养。真菌菌丝侵入次生韧皮薄壁细胞后,会在细胞中缠

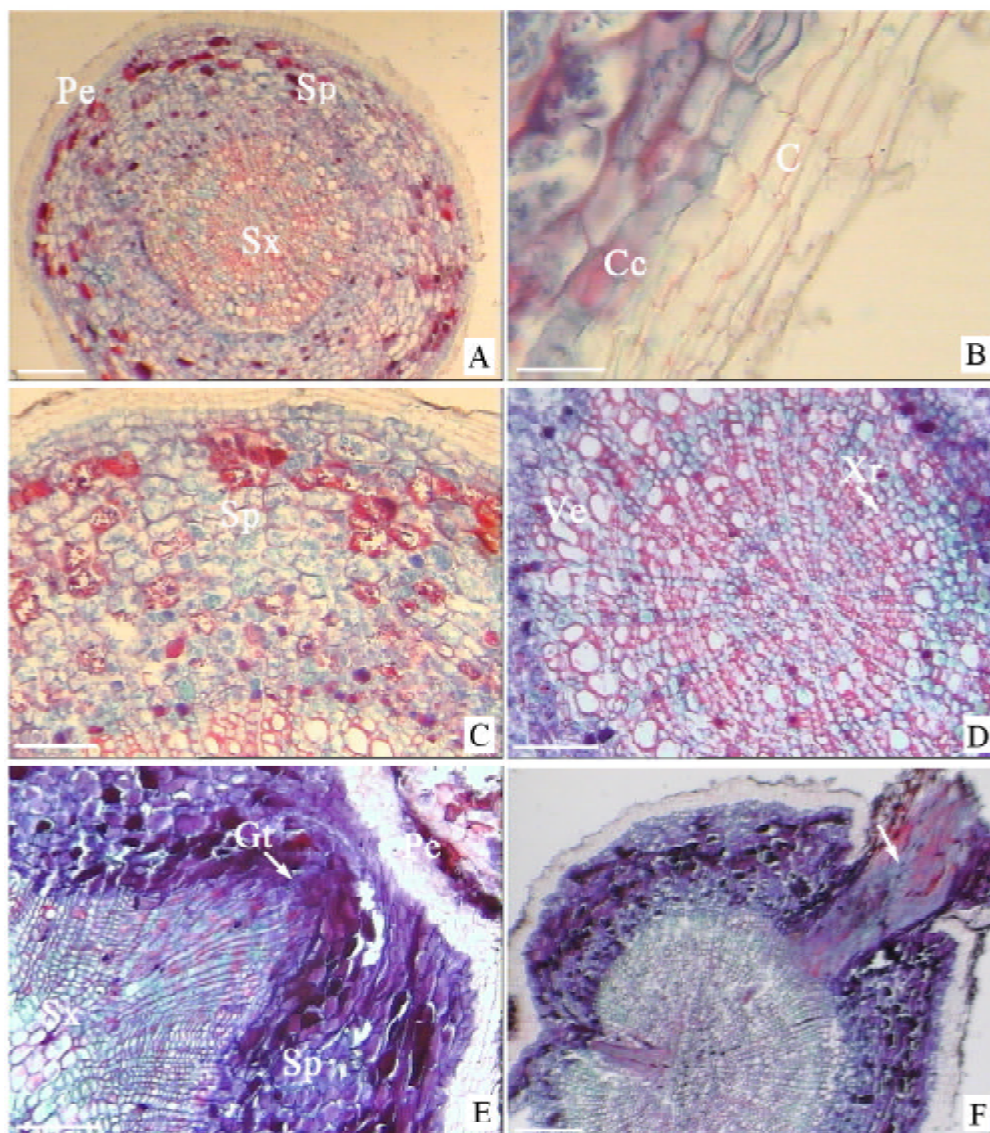
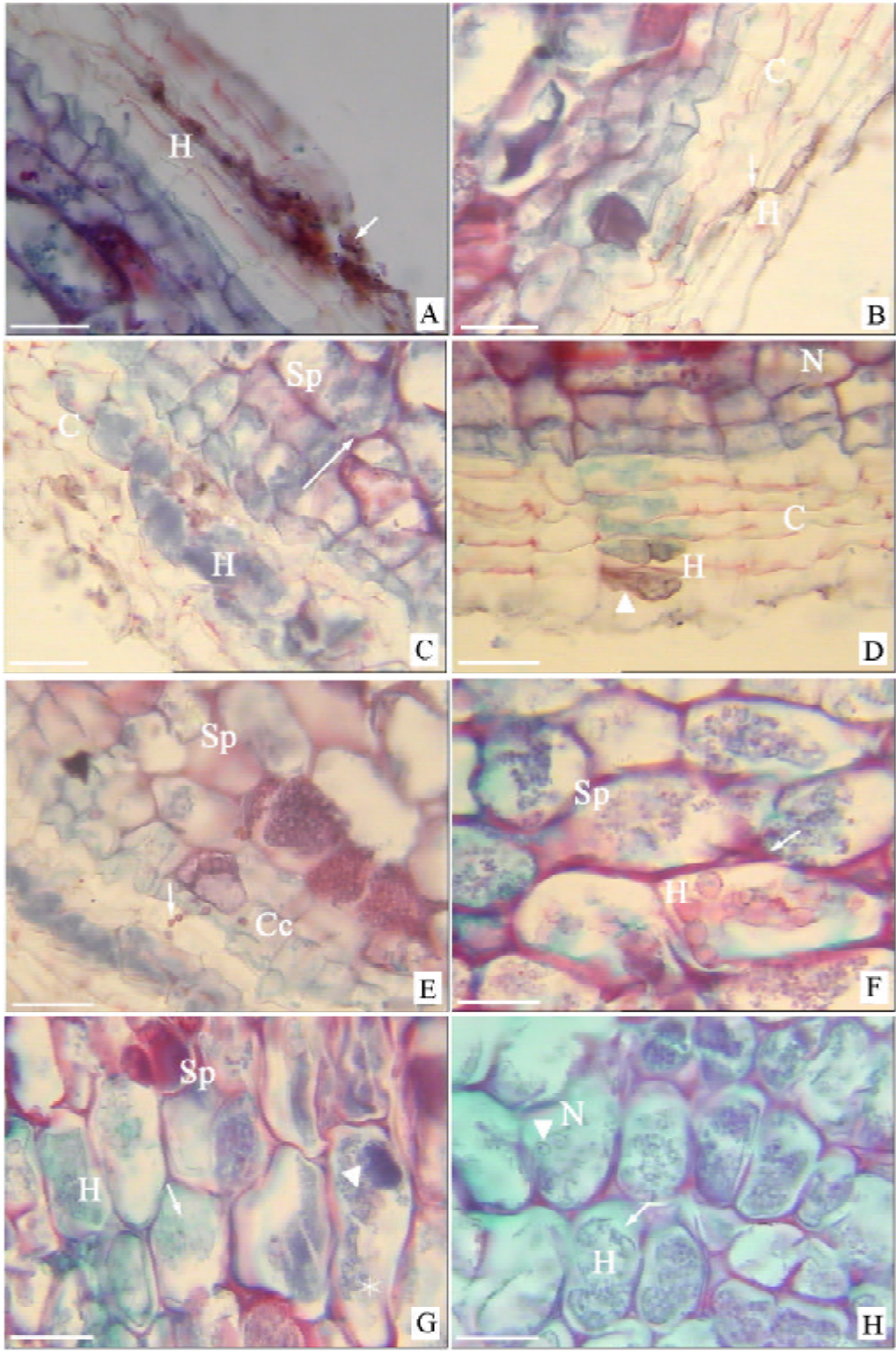


图1 美登木根的显微结构

A. 根次生结构横切局部, 示次生韧皮部、木质部及周皮(bar=500 μm); B. 根次生结构横切局部, 示木栓层、木栓形成层(bar=20 μm); C. 次生韧皮部横切面的放大, 示染菌区域(bar=100 μm); D. 木质部横切面的放大, 示导管、木薄壁细胞及木射线(bar=100 μm); E. 根次生结构横切局部, 箭头示侧根的生长锥(bar=100 μm); F. 根次生结构横切局部, 箭头示侧根的结构(bar=500 μm)。Sx. 次生木质部; Sp. 次生韧皮部; Pe. 周皮; Ve. 导管; Xr. 木射线; C. 木栓层; Cc. 木栓形成层; Gt. 生长锥

Fig. 1 Microstructure of the root of *Maytenus confertiflorus*

A. Parts of secondary structures of the root, showing secondary structure (bar=500 μm); B. Parts of secondary structures of the root, showing cork and cork cambium (bar=20 μm); C. The part-amplificatory transverse section of secondary phloem, showing area which were infected by fungi (bar=100 μm); D. The part-amplificatory transverse section of xylem, showing vessel and parenchymas cell and xylary radial (bar=100 μm); E. Arrow showed growing tip of lateral root (bar=100 μm); F. Arrow showed the characteristic features of lateral root (bar=500 μm). Sx. Secondary xylem; Sp. Secondary phloem; Pe. Periderm; Ve. Vessel; Xr. Xylary radial; C. Cork; Cc. Cork cambium; Gt. Growing tip



绕,而且常膨大,膨大的菌丝细胞呈球形,有明显的横隔膜(图2F);从图2F~G可见新定殖的菌丝和正在被消化的菌丝,菌根正处于旺盛的生理状态,然后菌丝通过细胞壁上的纹孔再侵染相邻的另一个细胞,逐步扩展为一个侵染区域。菌丝块形状不规则,经番红-固绿双重染色后,呈明显深绿色的团状或结状结构(图2H)。从图2G可以看到,受侵染的细胞发生了质壁分离,菌丝逐渐卷曲缠绕包裹整个细胞核;真菌菌丝往往只分布在木质部以外的韧皮薄壁细胞中,而不能侵染到木质部(图1C,图2H)。

3 结果分析

据文献研究表明,目前国内外尚未有关美登木根显微结构的研究报道,而本文从细胞学的角度阐明了美登木根的显微结构。结果表明,美登木根的次生结构由周皮和维管组织两部分组成,这与双子叶植物根的次生结构特征一致(刘穆,2004)。

在本研究中我们发现侵入美登木根的真菌菌丝能在某些木栓层细胞和次生韧皮薄壁细胞中定殖,菌丝细胞明显膨大,而且在细胞间延伸

的菌丝也有膨大的菌丝细胞,这在以往的研究报道(范黎等,2000;丁晖等,2002)中均未见论述,但其具体作用还不明确。

同时本研究结果还表明,内生真菌在美登木根中的侵染区域主要在周皮和次生韧皮部,而且真菌菌丝的分布不在整个横切面均匀存在,而是集中在某个区域的细胞中。Hadley 和 Williamson(1972)曾在地生兰的根中观察到同样现象,认为菌根真菌的菌丝被限制并定位在一定的皮层细胞群中。但菌丝对皮层细胞的侵染是否存在一定的选择性,仍有待进一步研究。

另外,我们还发现在真菌侵入次生韧皮部的过程中有分生孢子产生,这在以往研究(范黎等,2000)中是很少见的,我们推测分生孢子可能是真菌不断向次生韧皮部侵染的方式之一。

参考文献

- 丁晖,韩素芬,王光萍(2002).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.菌物系统 21, 425-429.
- 范黎,郭顺星,肖培根(2000).密花石斛等六种兰科植物菌根的显微结构研究.植物学通报 17, 73-79.

← (图见上页)

图2 美登木根中内生真菌的分布

A. 木栓层,箭头示附着在根外的碎屑,这些部位常是真菌的侵入位点; B. 膨大的菌丝在木栓层细胞间纵横生长,膨大的菌丝有明显的横隔膜,并长出正常的菌丝继续侵染下一个细胞(↓所示); C. 菌丝连续侵染数个木栓层细胞,箭头示菌丝从木栓层侵入次生韧皮部; D. 菌丝逐渐向木栓形成层生长,膨大的菌丝呈球形(▲所示),箭头示木栓形成层中的细胞核; E. 木栓形成层,箭头示分生孢子; F. 次生韧皮部染菌细胞,膨大的菌丝在细胞中缠绕,菌丝由一个细胞向另一个细胞侵染(↓所示); G. 次生韧皮部染菌细胞中定殖的菌丝(↓所示)和正在被消化的菌丝(*所示)及菌丝结(▲所示); H. 箭头示次生韧皮部染菌细胞发生质壁分离,黑三角示细胞核。bars=20 μm. Sp. 次生韧皮部; C. 木栓层; Cc. 木栓形成层; H. 真菌菌丝; N. 细胞核

Fig. 2 Distribution of endophytic fungus in the root of *Maytenus confertiflorus*

A. Showing cork, arrow showed scraps out of the root; B. Showing the swelled hypha grew freely between the cell of cork, and the swelled hypha with obvious dissepiment formed normal hypha before infected next cell (arrow); C. Showing the hypha infected cork cell one by one. Arrow showed the road which hypha trespassed secondary phloem; D. Showing the hypha developed to the cork cambium gradually, and the swelled hypha were like sphericity (▲). Arrow showed nucleolus in cork cambium; E. Showing the cork cambium, and the conidiophore (arrow); F. Showing the infected cell of secondary phloem, and the swelled hypha enlaced in cell, and the hypha infected cell one by one (arrow); G. Showing the vegetal (↓) and the digested (*) hypha, and peloton (▲); H. Arrow showed the infected cells of secondary phloem were plasmolysis, and triangle showed nucleolus (▲). bars=20 μm. Sp. Secondary phloem; C. Cork; Cc. Cork cambium; H. Hypha; N. Nucleolus

- 李朝明, 朱吉祥, 周韵丽, 黄丽瑛 (1983). 美登木类大环化合物的色谱分离和质谱鉴定. 1. 两种美登木植物中三个抗癌成分的分离和鉴定. 云南植物研究 5, 105-108.
- 刘穆 (2004). 种子植物形态解剖学导论 (北京: 科学出版社), pp.140-147.
- 唐福圆, 刘贤旺 (1991). 云南美登木的组织培养. 江西中医学院学报 3, 42-43.
- 张玲琪, 王海昆, 邵华, 沈月毛, 曾松荣, 徐成东, 宣群, 魏蓉 (2002). 美登木内生真菌产抗癌物质球毛壳甲素的分离及鉴定. 中国药理学杂志 37, 172-175.
- 中国科学院云南热带植物研究所 (1978). 国产美登木的抗癌研究. 热带植物研究 11, 1-9.
- Hadley, G., and Williamson, B. (1972). Features of mycorrhizal infection in some Malayan orchids. New Phytol. 71, 1111-1118.

(责任编辑: 孙冬花)

第二届国际植物生长模型、模拟、可视化及应用研讨会

第二届国际植物生长模型、模拟、可视化及应用(The Second International Symposium on Plant Growth Modeling, Simulation, Visualization and Applications, PMA)研讨会将于2006年11月13日~17日在北京举行。本届会议由中法计算机科学、控制和应用数学联合实验室(the Sino-French Joint Laboratory in Informatics, Automation and Applied Mathematics, LIAMA)主办, 中国农业大学协办。

会议研讨内容包括: (1)植物与生态系统体系关系的分析; (2)植物生长的数学模型及模拟; (3)植物群落和景观生态系统的模型及模拟; (4)模型的校准、优化、最佳控制及限定状况分析; (5)植物及景观可视化理论和技术。

欢迎从事本领域研究的国内外学者及研究生届时参会。

联系人: 张小鹏 通讯地址: 中国科学院自动化研究所 100080

E-mail: pma06@liama.ia.ac.cn

新书介绍——《水稻遗传学和功能基因组学》

《水稻遗传学和功能基因组学》由钱前, 程式华主编。本书系统地阐述了水稻经典遗传学研究、分子遗传学研究和基因组学研究的理论基础、方法、进展以及发展方向, 侧重实用性, 反映了作者在超级稻育种和水稻重要功能基因克隆等方面获得的突破。全书共六章, 各章节既前后呼应, 又独立成章, 是一本涵盖水稻遗传、基因克隆及品种选育等多方面理论和实践的最新参考书。本书可供遗传育种、生物学、遗传学、农学和生物工程等专业的教师、学生及相关领域的科研人员及管理者参考。

图书在版编目(CIP)数据

北京: 科学出版社 (华夏英才基金学术文库)

ISBN 7 2 03 016261 2 7

I. 水… II. ①钱… ②程… III. ①水稻遗传育种研究 ②水稻基因组* 研究 IV. S511.1 032

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2005)第 106597 号

开本: B5(720×1000) 印张: 34 插页: 2 字数: 648 000 定价: 85.00元

联系人: 科学出版社: 李悦 Tel: 010-64019739; Fax: 010-64034622 E-mail: liyue700@hotmail.com

地址: 北京市东城区东黄城根北街16号; 邮编: 100717