

广西人工栽培铁皮石斛内生菌根的研究

曹斌¹, 廖月葵^{2*}, 何开家¹, 周军¹, 司徒百兴³, 赖其瑞¹

(1. 广西中医药研究院, 南宁 530022; 2. 广西中医学院药学院, 南宁 530022;

3. 广西大新聚龙铁皮石斛种植有限公司, 广西崇左 532300)

摘要: 通过光学生物显微镜及 Qwin 图像分析系统, 对人工繁育栽培的铁皮石斛各生长期植株的内生菌根进行了观察分析。结果表明: 铁皮石斛具有典型的内生菌根; 铁皮石斛根内共生菌不是其原有的, 而是通过栽培基质传与铁皮石斛的根而共生。被真菌侵染的区域大, 其植株生长茂盛, 真菌对铁皮石斛的生长发育可能有促进的作用。

关键词: 内生菌根; 铁皮石斛; 人工栽培

中图分类号: Q949.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2010)05-0626-03

Study on endomycorrhiza of cultivated *Dendrobium officinale*

CAO Bin¹, LIAO Yue-Kui^{2*}, HE Kai-Jia¹, ZHOU Jun¹,
SITU Bai-Xing³, LAI Qi-Rui¹

(1. Guangxi Institute of Chinese Medicine and Pharmaceutical Sciences, Nanning 530022, China; 2. Pharmaceutical

College of Guangxi College of Traditional Chinese Medicine, Nanning 530022, China; 3. Guangxi

Daxin Julong Tiejishihu Plant CO, Ltd., Chongzuo 530022, China)

Abstract: The roots of cultivated *Dendrobium officinale* with endomycorrhiza from Guangxi were observed using the Qwin image analysis system in different growth periods. The results showed that the roots of *D. officinale* had typical endomycorrhiza and the endophyte fungi came from their substrates and then co-existed with *D. officinale*. Furthermore, *D. officinale* could grow better after the more endophyte fungi immigrated. Thus, endophyte fungi could increase the growth of *D. officinale*.

Key words: Endomycorrhiza; *Dendrobium officinale*; cultivation

铁皮石斛(*Dendrobium officinale*)为兰科植物石斛属多年生的附生草本植物(吉占和, 1999)。是一种珍稀的药用植物和室内观赏植物(王云等, 2008)。功能与主治为益胃生津, 滋阴清热。用于阴伤津亏, 口干烦渴, 食少干呕, 病后虚热, 目暗不明(中华人民共和国药典委员会, 2005)。其含有石斛碱、石斛次碱和石斛宁等多种生物碱, 具有清音明目、养胃清热、增强免疫和抗肿瘤等功效(丁亚辛等, 1998; 莫昭展等, 2008; 邵华等, 2004)。利用铁皮石斛为原料开发了广西名牌产品“金嗓子喉宝”、“复方鲜石斛颗粒”、“石斛夜光丸”等产品。因铁皮石斛被人为过度采伐以及繁

殖率低等原因, 致使野生资源濒临绝种、石斛药材供需关系紧张, 已被国家列为重点保护药用植物。铁皮石斛生长对环境要求苛刻, 除对气候和土壤等有较高要求外, 同时要有真菌的参与。菌根(Mycorrhiza)是共生真菌生存于健康的陆生植物根组织上而形成的联合吸收器官, 是植物在长期的生存过程中与菌根真菌共同进化的结果(高倩等, 2009)。经相关研究证实, 真菌对石斛的生长发育有促进的作用(杨有联等, 2005; 李明等, 2000)。在人工栽培过程中为了提高石斛栽培的成活率, 科研人员多采用对石斛组培苗进行基部放置菌种的手段来提高幼苗的成活率。本文对

收稿日期: 2009-04-13 修回日期: 2010-09-29

基金项目: 广西科技攻关项目(桂科攻 0815005-2-8)[Supported by Key Technologies Research and Development Program of Guangxi(0815005-2-8)]

作者简介: 曹斌(1964-), 女, 广东广州市人, 助理研究员, 主要从事药用植物新产品的开发与研究, (E-mail)caobin@163.com.

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

广西铁皮石斛内生菌根在不同生长阶段显微结构变化的进行了研究,为铁皮石斛大面积人工栽培、品种优选提供资料依据。

常规石蜡切片法制作供显微观察的切片。切片厚 10 μm,番红-固绿染色,置于 MPS-60 型生物显微镜及 Qwin 图像分析系统(德国莱卡)进行观察分析。

1 材料与方 法

2 结 果

1.1 材 料

2.1 铁皮石斛根的外形特征

材料采集于广西大新聚龙铁皮石斛种植有限公司种植基地各生长阶段的铁皮石斛。选用铁皮石斛的无菌组培苗根、茎上部分孽生苗长达 6 cm 以上的未接触栽培基质的气生根、炼苗 60 d 植株根、生长 8 个月发育不良的植株根、正常生长 5 个月的植株根、生长一年至采收期的植株根的中部进行试验。

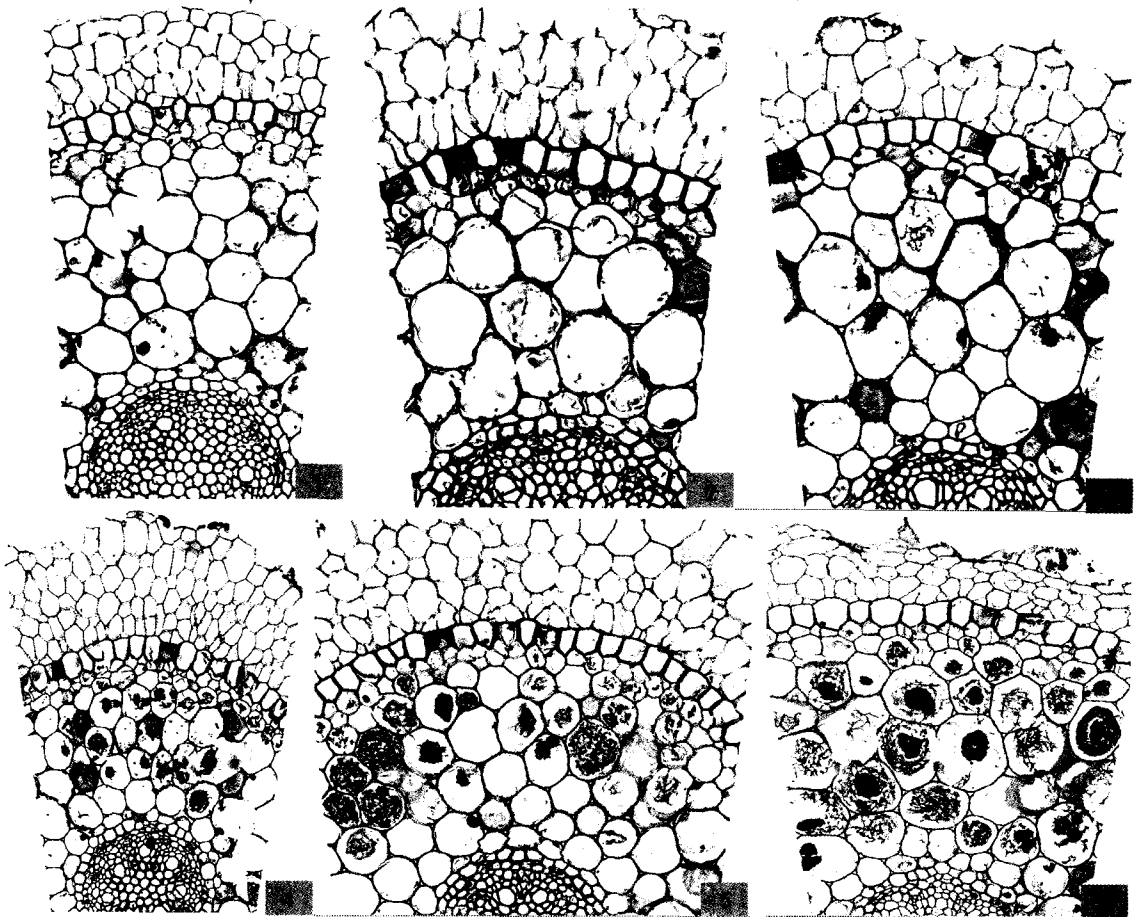
铁皮石斛不同生长阶段的根形态有所不同,组培苗(无菌苗或称瓶培苗)有 3~4 条根,直径约 1 mm,长 3~8 cm,浅绿色。经过炼苗 60 d 后,新增须根 2~3 条,长度可达到 15 cm,颜色为乳白色或黄白色。到采收期铁皮石斛的根系非常发达,根可长达 28 cm,直径 1~2 mm,颜色为白色或浅黄白色。

1.2 方 法

2.2 铁皮石斛根横切面特征

将根中部切成 0.2 cm 小段,用(FAA)固定,按

铁皮石斛根由根被,皮层及中柱构成(图版 I)。



图版 I 铁皮石斛不同生长阶段根横切面,示根的结构及菌丝存在的部位(×400) 1. 无菌组培苗根; 2. 未接触栽培基质气生根; 3. 炼苗 60 d 植株苗根; 4. 生长发育不良植株根; 5. 正常生长 5 个月植株根; 6. 生长一年至采收期植株根。

Plate I Transverse section of the root of *Dendrobium officinale* at different growth stages (×400) 1. Root in aseptic tissue culture; 2. Aerial root in free substrates culture; 3. Shoot root on 60 d after transplantation; 4. Under development root; 5. Normal root grown for 5 months; 6. Normal root cultivated for 12 months, or at harvest stage.

根被细胞较小为近圆形或椭圆形,向内依次茎向延长,细胞较大,呈多角形,细胞壁薄,具纤维素细网络状增厚;皮层壁薄组织的外层和内层分化为外皮层和内皮层,外皮层为一层径向延长的多角形细胞,细胞壁较厚和木质化,间隔分布有壁薄的通道细胞,这是真菌从根被细胞向内皮层侵入的入口。紧邻的外皮层薄壁细胞较小,有的含有草酸钙针晶束,向内为6~7层近圆形或椭圆形的薄壁细胞,真菌侵染后菌丝在细胞内繁殖,被真菌侵染的细胞较大。内皮层为一层排列整齐近方形细胞,包围着为中柱。无菌苗根、未接触基质的气生根、生长期植株根、采收期植株的根的结构都具有上述特征。有些学者认为只有成熟的根被细胞,壁具有纤维素的细网络加厚(刑晓科等,2005),而我们从无菌根苗也观察到纤维素的细网络细胞(图版 I:1,根被组织)。

2.3 不同生长期的根中真菌繁殖情况

通过组织解剖和显微镜的观察,在皮层薄壁细胞中菌丝的存在,从无到少量至复杂的菌丝团;而无菌组培苗的根和未接触栽培基质的气生根均未观察到菌丝(图版 I:1,2)。经过60d炼苗期后发现呈线状菌丝生成(图版 I:3)。生长发育不良植株的根中菌丝及菌丝团较少(图版 I:4)。菌丝进入细胞后,逐渐发展成为菌丝团。这期间为真菌感染的最高峰,同时是植株生长最茂盛的花前期(采收期),根系最发达,根呈白色,皮层中有大量的共生菌菌丝和菌丝团,有的细胞腔内充满菌丝及菌丝团(图版 I:5,6)。

3 结论与讨论

(1)在自然条件下,铁皮石斛与真菌共生成菌根的现象非常普遍(刑晓科等,2005),一般根尖及伸长区很少有菌丝。被真菌侵染的区域越大,菌丝及菌丝团越多,植株生长越茂盛。成年兰科植物与真菌共生形成内生菌根是自然界的一种普遍现象,菌根真菌为兰科植物提供生长、繁殖所必需的营养物质(伍建榕等,2006)。但真菌入侵铁皮石斛的条件和机理有待进一步研究。

(2)无菌铁皮石斛组培苗的根和未接触栽培基质的气生根均没有菌丝。铁皮石斛根内共生菌不是本身原来带有的,可能是在自然条件下栽培基质中具有

铁皮石斛所需的共生菌,真菌传予铁皮石斛的根内形成共生。在栽培实践中今后如何通过将菌种按一定比例混合于基质,提高铁皮石斛的产量还有待进一步研究。

(3)有学者认为老根的根被才有纤维素的细网络细胞(李明等,2000;刑晓科等,2005),而根据我们的观察,无菌苗根也有纤维素的细网络细胞存在。

参考文献:

- 中华人民共和国卫生部药典委员会. 2005. 中华人民共和国药典 Vol. I(一部)[M]. 北京:化学工业出版社:62-63
- 吉占和. 1999. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社:85-88
- Ding YP(丁亚平), Wu QS(吴庆生), Yu LW(于力文). 1998. On the best time for harvesting *Dendrobium candidum* (铁皮石斛最佳采收期的理论探讨)[J]. *China J Chin Mat Med* (中国中药杂志), 23(8):58-460
- Gao Q(高倩), Li SY(李树云), Hu H(胡虹). 2009. Structure and annual changing pattern of mycorrhizae of four *Cypripedium* species (四种杓兰的菌根结构及其周年动态)[J]. *Cuihaia* (广西植物), 29(2):187-191
- Li M(李明), Zhang Z(张灼), Peng YH(彭彦华). 2000. Research and application of orchid mycorrhiza (兰科菌根研究与应用)[J]. *Yunnan Agric Sci Tech* (云南农业科技), (6):42-44
- Mo ZZ(莫昭展), Bei XJ(贝学军), Qin GB(覃贵毕), et al. 2008. Multiplication of *Dendrobium officinale* cluster buds (铁皮石斛丛生芽增殖研究)[J]. *J Southwest Fore Coll* (西北林学院学报), 23(6):104-107
- Shao H(邵华), Zhang LQ(张玲琪), Li JM(李俊梅), et al. 2004. Advances in research of *Dendrobium officinale* (铁皮石斛研究进展)[J]. *Chin Trad Herb Drugs* (中草药), 5(1):109-112
- Wang Y(王云), Zhang EQ(张二芹), Gao WL(高婉丽), et al. 2008. Study on tissue rapidculture of *Dendrobium officinale* (铁皮石斛的组织快繁研究)[J]. *J Hebei Agric Sci* (河北农业科学), 12(5):69-70.
- Wu JR(伍建榕), Han SF(韩素芬), Zhu YR(朱有勇), et al. 2006. Study on taxonomy of endophytic fungi isolated from orchid Mycorrhizae in Yunnan Province (云南兰科植物菌根内生真菌种类研究)[J]. *J of Southwest Fore Coll* (西南林学院学报), 26(3):5-10
- Xing XK(刑晓科), Guo SX(郭顺星), Chen XM(陈晓梅), et al. 2005. Mycorrhizal microstructure of *Dendrobium officinale* cultivated under artificial conditions (人工栽培铁皮石斛菌根的细胞学研究)[J]. *Mycosystema* (菌物学报), 24(4):558-563
- Yang YL(杨友联), Liu ZY(刘作易). 2005. Action and applications of orchid mycorrhizae in the growth of orchid (兰科菌根真菌在兰科植物生长发育的作用与应用)[J]. *Seed* (种子), 24(5):55-58