

适应于营养积累和防止真菌侵染的白芨块茎结构

戍国标,王祖涛,杨 柳,赵 飞,王鑫月,姚月婷,马海英

(云南大学 生命科学学院 植物科学研究所,云南 昆明 650091)

摘要:兰科植物白芨的块茎是我国传统中药,该文对白芨块茎的显微结构进行了观察,同时为确认白芨块茎内是否有真菌侵染,进行了内生真菌分离实验。结果表明:白芨的块茎具有茎的基本结构特征,为单子叶植物典型的茎结构,具一层表皮细胞,外被发达的角质层;表皮下有一层细胞壁加厚的下皮层,之内则由薄壁组织构成的基本组织,多数小维管束星散分布于基本组织中。基本组织中有两种类型的薄壁组织,大的储水细胞和小的贮藏细胞,储水细胞内积聚水和无机盐,具针晶束;贮藏细胞内积聚有较大的颗粒,经PAS反应显示为多糖类物质;两种细胞有规则地分布。真菌分离实验和显微结构观察均表明白芨块茎中没有任何真菌侵染。白芨块茎中储水细胞和贮藏细胞很好地适应了它作为营养繁殖器官的需要,而表皮外发达的角质层以及表皮细胞加厚的细胞壁则是适应于地下生活的需要,有效地阻止了真菌菌丝的侵入。

关键词:白芨;真菌;块茎;假鳞茎;多糖

中图分类号:S567.23⁺9

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2012)08-0121-05

白芨 [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.] 又名白及、地螺丝、刀口药、连及草等,为兰科白芨属多年生草本植物,分布于长江流域及其以南各省区^[1]。白芨为我国传统中药,以其干燥的块状假鳞茎入药,可用于咯血、吐血、外伤出血、疮疡肿毒和皮肤皴裂等^[2],现代科学研究证实可以治疗肝癌^[3]以及血管瘤等^[4]病症,具有较高的药用价值。同时,白芨植株矮小健壮,花色为紫红色,且花形奇特,具有较高的观赏价值,因此市场需求不断增加。

目前野生白芨遭到无限制的采挖,同时,其自然生境也遭到严重破坏,已被《中国植物红皮书——稀有濒危植物》第1册收录,同时也被写入了1997年制定的《华盛顿公约》,即《濒危野生动植物国际贸易公约》(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, CITES)保护种类。只有通过人工栽培,才能既满足市场需求,又保存目前已经十分稀少的野生白芨资源。白芨的人工栽培多以分株繁殖为主,很多科研工作者已进行了组织培养研究^[5-13],但仍存在培养周期较长、生产成本低、且幼苗在炼苗及移栽后生长状况较差和成活率低等一系列实际问题,尚鲜见白芨组培苗规模化繁育的报道。因此,在白芨的实际生产和种植过程中,仍以块茎的分株繁殖这一无性繁殖方式为主^[14],因此对白芨块茎进行研究对白芨人工栽培具有十分重要的意义。白芨块茎在国外文献一般记录为假鳞

收稿日期:2012-04-11

基金项目:云南大学国家级大学生科研创新资助项目(教育部X3108052);云南大学“211”三期重点学科建设资助项目(21134025)

第一作者简介:戍国标(1989-),男,云南省昆明市人,在读学士,从事植物解剖学研究。E-mail:oldbiao@qq.com。

通讯作者:马海英(1971-),女,云南省昆明市人,博士,副教授,从事植物学教学及研究工作。E-mail: mahy@ynu.edu.cn。

higher than those of outside the fence; Bacteria and fungi whatever inside or outside the fence, the distribution law in different plant communities was similar, the distribution of fungi: *Leymus chinensis* community > Weeds community > *Puccinellia tenuiflora* community, the distribution of bacteria for: Weeds community > *Leymus chinensis* community > *Puccinellia tenuiflora* community; The distribution of inside and outside the fence of actinomycetes were slightly different, inside the fence: *Leymus chinensis* community > Weeds community > *Puccinellia tenuiflora* community, outside the fence: Weeds community > *Leymus chinensis* community > *Puccinellia tenuiflora* community. Three kinds of microorganism quantity performance both inside and outside the fence for the largest number of actinomycetes, second fungi, bacteria was the least.

Key words: *Leymus chinensis* steppes; plant communities; soil microorganisms quantity

茎(pseudobulb)^[15],在中国植物志中也记录为假鳞茎^[1],但因国内大部分文献记录为块茎^[2],该文亦采用块茎一词。白芨地下有菌根和块茎两种结构,均与白芨的繁殖和生长发育有关,此前已经对白芨的菌根进行了研究,观察及实验表明白芨形成菌根,并分离出了多种真菌。块茎生长于地下,是白芨的药用部位,又可用于营养繁殖,其结构如何,是否会受到真菌的侵染,均与白芨的人工栽培密切相关。因此该研究拟对白芨的块茎进行切片观察,揭示其显微结构,同时进行真菌分离实验,以确定白芨块茎内是否有真菌感染。在此基础上,探讨了白芨块茎的结构和功能的相互适应性,以便为白芨的栽培提供一些借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料野生白芨分别采自云南省5个县市(玉溪市江川县李家山、昆明市郊区长虫山、楚雄市苍岭镇谢柳屯后山、楚雄州元谋县羊街以及大理州巍山县巍宝山),野外采集后连同原生地土壤带回温室栽培。试验时材料取自温室栽培的白芨。

1.2 方法

1.2.1 块茎解剖学及组织化学定位研究 取出自白芨块茎,在流水下冲洗干净,切成约0.4 cm×0.8 cm,厚约0.3 cm的小块,固定于FAA固定液48 h以上。材料固定后,梯度乙醇脱水,二甲苯透明,常规石蜡制片(切片厚度10 μm),番红固绿对染,加拿大树胶封片,用OLYMPUS BX-51观察,cellSens[Vers. 1.4]显微数码成像系统拍照。

同时,还进行块茎中白芨多糖的组织化学定位实验,采用高碘酸-Schiff反应(PAS反应)检验多糖的含量和贮藏部位。按照常规石蜡切片法制片,切片脱蜡至蒸馏水步骤,流水冲洗10~15 min,然后用0.5%高碘酸处理15 min左右,蒸馏水洗涤,再用Schiff试剂处理30 min,漂洗液漂洗3次,常规石蜡切片法制片,乙醇梯度脱水,固绿对染,二甲苯透明,加拿大树胶封片,用OLYMPUS BX-51观察,cellSens[Vers. 1.4]显微数码成像系统拍照。

1.2.2 内生真菌分离 真菌分离实验用PDA培养基:去皮马铃薯200 g(沸水煮30 min后4层纱布过滤取其滤液),葡萄糖20 g,琼脂15~20 g,水加至1 000 mL,自然pH。121℃灭菌25 min。

每升培养基中加100 μg·mL⁻¹的硫酸链霉素和青霉素G钠以抑制细菌生长,倒平板备用。

取生长健壮的白芨块茎,冲洗去除表面附着物质,用沾有肥皂粉的毛刷清洗表面,流水冲洗30 min后晾干,然后依次用灭菌水冲洗1次,75%的酒精溶液消毒30 s,灭菌水冲洗1次,0.1%汞处理10 min,灭菌水清洗5次,取最后一次清洗后的洗液作为对照组,以检查表面消毒是否彻底。然后把消毒好的块茎切成0.5 cm×0.5 cm,厚度为0.2 cm左右的小块,将切好的块茎水平放置PDA平板上,每皿5个小块,于28℃保温箱中倒置培养7 d。

2 结果与分析

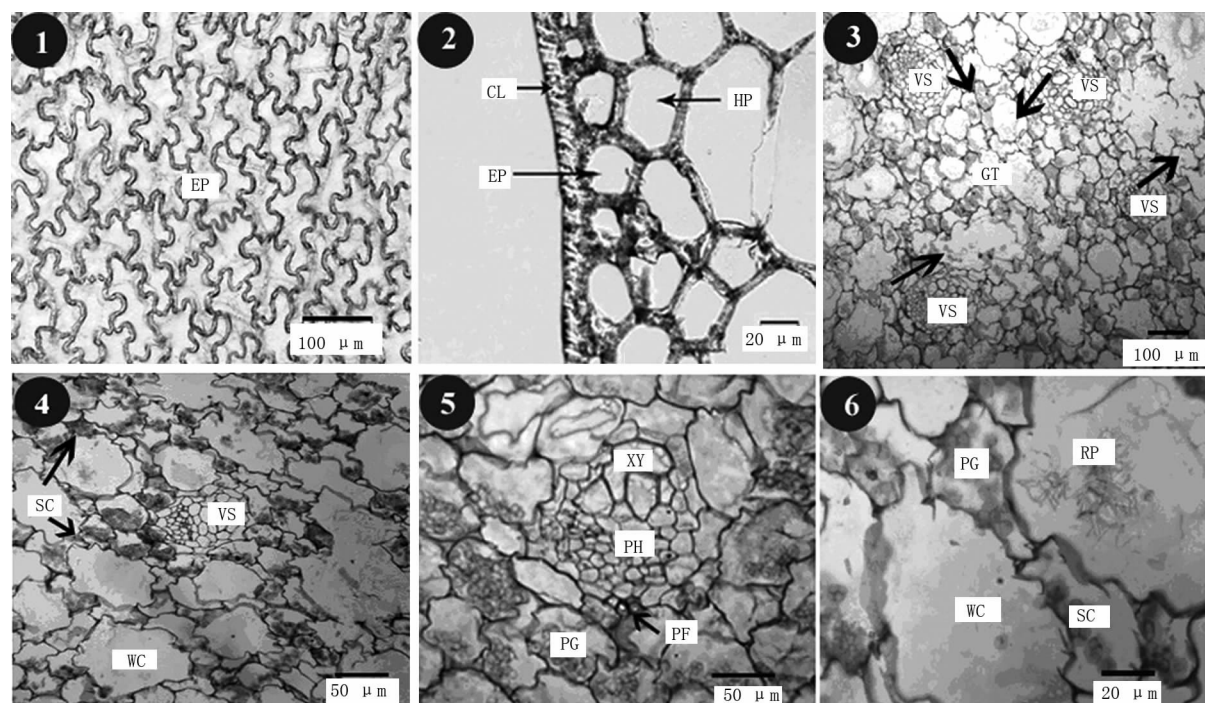
2.1 白芨块茎的结构

白芨的块茎具有单子叶植物类型的茎结构特征,具一层厚的表皮细胞,无气孔(见图版1中的2),表皮内有下皮层(见图版1中的2),下皮层内为薄壁组织构成的基本组织,多数小型维管束星散分布于薄壁组织中(见图版1中的3)。

白芨块茎的表皮细胞为长方形,细胞壁显著加厚,外被极为发达的角质层(见图版1中的2),表皮细胞间排列紧密,表面观为不规则型细胞紧密镶嵌而成,没有气孔分布于表皮细胞间,亦没有任何表皮毛(见图版1中的1,2)。紧贴表皮的一层细胞,细胞壁也有一定程度的加厚而没有内容物,故定义为下皮层(见图版1中的2)。

基本组织由两种细胞构成,一种细胞较大,横切面约为圆形,细胞内部没有营养物质积累,但常具有针晶束,为储水细胞(见图版1中的4,6);另一种细胞较小,细胞内积累了众多的颗粒物质,为营养细胞,在靠近维管束的地方更多(见图版1中的5)。PAS显色反应结果表明,营养细胞内的颗粒普遍显红色,因此为糖类物质多。储水细胞远较贮藏细胞为大,2种细胞有比较规则的排列规律,即一个大的储水细胞周围由一圈营养细胞包围(见图版1中的4,6)。

白芨块茎的维管束都比较小,星散分布于基本组织中,维管束由木质部和韧皮部构成,木质部并没有呈现强烈木质化,木质部和韧皮部的排列并没有呈现明显的方向性,同一个切面上同时存在靠内和靠外的木质部、韧皮部(见图版1中的5)。维管束外无明显的维管束鞘,韧皮部的外侧有少数纤维细胞构成的束鞘纤维群(见图版1中的5)。整个白芨块茎中起支持机械作用的主要



图版 1 白芨块茎结构

1. 白芨块茎表皮表面观, 示紧密镶嵌排列的表皮细胞(EP), 无气孔无毛; 2. 白芨块茎表皮切面观, 示表皮外发达的角质层(CL), 细胞壁加厚的表皮(EP)和表皮下加厚形成的下皮层(HP); 3. 白芨块茎内部结构, 示星散分布的维管束(VS)和基本组织(GT), 其中箭头方向表示木质部方向, 示韧皮部和木质部在茎中的排列方向并不完全一致; 4. 一个维管束和其周围的基本组织, 基本组织分为储水细胞(WC)和贮藏细胞(SC); 5. 维管束的结构, 木质部(XY)、韧皮部(PH)和韧皮部外的韧皮纤维(PF); 6. 储水细胞(WC)和贮藏细胞(SC), 储水细胞内无有机内含物, 具有针晶束(RP), 贮藏细胞内有大量多糖颗粒(PG)。

缩写表示: EP=epidermis, CL=cuticle layer, HP=hypodermis, VS=vascular bundle, GT=ground tissue, WC=water storage cell, SC=storage cell, XY=xylem, PH=phloem, PF=phloem fiber, PG=polysaccharide grain, RP=raphid

Fig. 1 The structure of *Bletilla striata* pseudobulb

1. The surface view of the epidermis(EP) of *Bletilla striata* pseudobulb, no stomata nor hair; 2. The transverse section view of the epidermis(EP), showing very thick cuticle layer the covering cuticle layer(CL), thick walled epidermis and also thick walled the hypodermis(HP); 3. The ground tissue and the scattered vascular bundles inside the pseudobulb. The vascular bundles are small, the xylem(XY) and the phloem(PH) are not always in the same direction within one pseudobulb; 4. One vascular bundle and the ground tissue around it, two kinds of cells are classified, water storage cells(WC) which contain water and inorganic materials and storage cells(SC) which contain organic materials; 5. The structure of a vascular bundle, xylem, phloem, and also a phloem fibers group out of the bundle sheath; 6. Two types of cells in the ground tissue and their containings; the raphid in the water storage cells and the polysaccharide grains in the storage cells.

在木质部导管和束鞘纤维。

块茎的表皮细胞完整没有破损, 整个块茎中没有发现任何菌丝, 说明块茎内没有真菌侵染。

2.2 白芨块茎真菌培养实验

对多个地点采集的白芨块茎进行实验, 在PDA培养基上培养7 d后, 仍没有任何菌丝生长, 表明白芨块茎内没有真菌共生或感染。

3 结论与讨论

白芨的块茎正式名称应为假鳞茎, 中国植物志称假鳞茎^[1], 国外文献一般称假鳞茎(pseudobulb)^[15], 因国内文献大部分称块茎^[2], 该文仍称

为块茎。然而其它兰科植物中与之相对应的结构是假鳞茎。对比其结构, 它们都具有植物茎的基本结构特征, 即维管束分散排列, 没有像根中那样形成一个完整的中柱, 以此与根相区别。白芨块茎结构具有单子叶植物茎的基本特征, 即多个维管束星散状分布于基本组织中, 而具体每一部分的细胞又适应于自身环境与功能而具有特定的特征: 一是表皮细胞的细胞壁强烈加厚, 外被一层极厚的角质层, 而表皮之下的一层细胞也加厚成为下皮层; 二是基本组织中两种不同的细胞分别积累不同的物质, 大的储水细胞储存水分和无机盐,

具有储水的功能,小的贮藏细胞储存多糖等营养物质,二者共同执行贮藏营养的功能;三是机械组织成分较少,整个结构中没有大的支撑结构,具有支撑功能的仅有维管束中的木质部细胞极厚和韧皮部外少数纤维细胞。

郑小珠和杜泉基^[16]曾经报道过白芨的块茎结构,他们将白芨块茎基本组织中的薄壁细胞分为粘液细胞和一般的薄壁细胞,分别与目前指的储水细胞和贮藏细胞相对应。因国外早在19世纪后期就有关于假鳞茎结构的研究^[17-18],经过和国外文献比较,仔细对比该文研究的结果,储水细胞中以水和无机盐为主,几乎没有其它的颗粒物质,这从广泛存在于其中的草酸钙针晶束就可以看出,而贮藏细胞中的多糖颗粒才是白芨显粘性的原因,因此该文取储水细胞和贮藏细胞的说法,他们指的粘液细胞即该文中的储水细胞,而未特指的薄壁细胞即该文的贮藏细胞。

对比其它植物的相应结构,可以更好地理解白芨块茎结构及其功能。国外有一些兰科植物的解剖学研究中涉及到假鳞茎的结构,如 Stern、Judd^[19]和 Yukawa 等^[20]在兰科 Catasetinae 亚族和兰属 *Cymbidium* 的解剖学研究中都有对假鳞茎的研究。它们的基本结构相似,由一层较厚的表皮细胞和内部基本组织构成,维管束散生于基本组织中,但与白芨明显不同的是这些在内部基本组织中,除了储水细胞外,另一些细胞内贮藏的营养物质很少,而在靠近表皮的几层薄壁细胞内还含有叶绿体,可以进行光合作用,因此这些细胞被称为同化细胞,即假鳞茎的基本组织由储水细胞和同化细胞构成。此外,这些兰科植物中韧皮部外侧的束鞘纤维极为发达,很多几乎形成3、4圆周,成为一个盖在韧皮部外的“帽子”^[20],大大增强了假鳞茎的支撑功能。这些结构上的差别主要是生长环境和所承担的功能不同引起的。大部分这些假鳞茎生于地上茎的基部,不具有营养繁殖的功能,主要起对抗不良环境的作用,所以它们的结构倾向于进行一定的合成并且储存水分以防止干旱,因此发展出发达的储水细胞,另一类普通薄壁细胞则保留有光合作用的功能,成为同化细胞。而作为茎的基部,假鳞茎还要支撑整个枝条,所以韧皮纤维非常发达。白芨块茎生活于地下,主要功能是营养繁殖,故块茎的内部细胞发展为贮藏营养的贮藏细胞而不是同化细胞,以供新植株生长需要。根据过去的研究,白芨块茎的主要

成分为白芨多糖^[21],根据普通切片可以看到细胞内的很多颗粒,即为多糖颗粒,这些糖类物质在新植株发出时很容易转换为植物所需的营养。此外,白芨作为地下的假鳞茎,主要用于营养繁殖,并不起支持作用,所以其纤维等机械组织都很不发达,仅有维管束外具有少量细胞构成的韧皮纤维群,有一定的机械支持作用。

白芨的根和块茎都生活于地下,而白芨的根始终与真菌形成共生的菌根,这不禁让人对块茎也产生疑问,但该文切片观察并未发现真菌菌丝,真菌分离实验的结果也没有培养出真菌,从两个角度证明白芨块茎中没有任何真菌感染。分析白芨的块茎结构,从角质层到表皮到外皮层,形成了一个连续的隔离保护层,且表皮细胞间无缝隙亦无气孔,一方面可以保持内部的水分不丢失,另一方面有效地阻挡了真菌菌丝的侵染,这种表皮保护功能的强化应该是白芨块茎作为繁殖器官生活于地下长期适应环境而形成的特性。

综上所述,白芨块茎的结构很好地适应了其作为营养繁殖器官的功能,基本组织中具有的储水组织和同化贮藏组织能够提供给营养繁殖使用,而发达的表皮层及角质层,以及表皮下的外皮层对白芨块茎有很好的保护功能,能够有效地防止由于生活于地下而面临的病菌侵害。

参考文献:

- [1] 中国植物志编委会. 中国植物志(第十八卷)兰科(2)[M]. 北京: 科学出版社, 1999: 50.
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 95.
- [3] 郑传胜, 冯敢生, 周汝明, 等. 中药白芨的新用途[J]. 中华肿瘤杂志, 1996(18): 305-307.
- [4] 周高龙. 白芨用于血管瘤[J]. 中医杂志, 1997, 38(6): 326.
- [5] 杨俊慧, 孟庆军, 李建东, 等. 利用组织培养法繁殖白芨[J]. 山东科学, 2002, 15(1): 13-16.
- [6] 彭丽丽, 刘祥东, 刘华, 等. 白芨的组培快繁(简报)[J]. 中国野生植物资源, 2003, 23(5): 65.
- [7] 曾宋君, 黄向力, 陈之林, 等. 白芨的无菌播种和组织培养研究[J]. 中药材, 2004, 27(9): 625-627.
- [8] 余朝秀, 李枝林, 王玉英. 野生白芨组培快繁技术研究[J]. 西南农业大学学报: 自然科学版, 2005, 27(5): 601-604.
- [9] 付志惠, 张建霞, 李洪林, 等. 白芨种子萌发与快速繁殖技术的研究[J]. 武汉植物学研究, 2006, 24(1): 80-82.
- [10] 吴华芬, 姚宏, 刘南祥, 等. 离体培养丽水野生白芨快速繁殖[J]. 北方园艺, 2008(6): 180-182.
- [11] 石云平, 李锋, 凌征柱. 白芨组织培养与快速繁殖技术研究[J]. 广西农业科学, 2009, 40(11): 1408-1410.
- [12] 袁宁, 何俊蓉, 何锐, 等. 白芨组培快繁育苗技术研究[J]. 西南农业学报, 2009, 22(3): 781-785.

- [13] 赵漫丽,黄春球,李明静,等. 添加剂对白芨组培的影响[J]. 云南农业大学学报,2011,26(6):821-827.
- [14] 张亦诚. 白芨的生物特性及栽培技术[J]. 中药材,2007(10):45.
- [15] Pridgeon, Crib, Chase, et al. Genera Orchidacearum Volume 4 Epidendroideae (Part one) [M]. Landon: Oxford University Press, 2005: 30-33.
- [16] 郑小珠,杜泉基. 中药白芨的显微鉴别[J]. 广东药学院学报,1994,10(3):169.
- [17] Krüger P. Die oberirdischen Vegetationsorgane der Orchideen in ihren Beziehungen zu Klima und Standort [M]. Flora, 1883: 435-443, 451-459, 467-477, 499-510, 515-523.
- [18] Wertz M. Zur Anatomie der monandrischen sympodialen Orchideen [M]. Heidelberg, 1897: 1-53.
- [19] Stern W L, Judd W S. Comparative anatomy and systematics of Catasetinae (Orchidaceae) [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2001, 136(2): 153-178.
- [20] Yukawa T, Stern W L. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Cymbidium* (Cymbidieae, Orchidaceae) [J]. Botanical Journal of the Linnean Society, 2002, 138(4): 383-419.
- [21] 朱小平,吴东儒. 白芨多糖分离、纯化、组成及其性质[J]. 安徽大学学报:自然科学版,1991(4):87-91.

The Anatomical Structure of Pseudobulb of *Bletilla striata* Adapt to Nutrient Accumulation and Fungus Resistance

SHU Guo-biao, WANG Zu-tao, YANG Liu, ZHAO Fei, WANG Xin-yue, YAO Yue-ting, MA Hai-ying

(Life Sciences School of Yunnan University, Kunming, Yunnan 650091)

Abstract: *Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f. of Orchidaceae is widely used as traditional medicine and the function part is the underground pseudobulb (usually called tuber) of the plant. In this study, the anatomy of the pseudobulb of *B. striata* was studied by paraffin section. The pseudobulb of *B. striata* had a typical monocot stem structure, consisting of an epidermis outside and large ground tissue inside with scattered vascular bundles. The epidermal cells had thickened walls and a smooth thick cuticle layer was formed outside of the epidermis. The adjacent cell layer developed into hypodermis by cell wall thickening. The ground tissue is made up of two types of parenchyma cells, large and small starch grain containing assimilatory cells and larger, circular, water-storage cells. No fungus was found in pseudobulb of *B. striata* and the PDA medium culture proved the resistance of the pseudobulb from the fungus. The thick walls of the epidermal cells and the outside cuticle layer were the reason of its resistance to fungi.

Key words: *Bletilla striata*; fungus; tuber; pseudobulb; polysaccharide

临床过敏疾病学



现代过敏反应学丛书

书号:

978-7-03-034540-0/R·4078

作者:殷凯生,何韶衡,毕志刚

定价:168

内容简介:该书系统地总结了过敏性疾病的基础和临床研究的新进展,详细阐述了

了临床各系统过敏性疾病的发病机制、临床表现、诊治和预防,涉及呼吸科、耳鼻咽喉科、皮肤科、消化科、儿科及其他相关学科的常见过敏性疾病。探讨了临床过敏性疾病的常用诊断试验,包括过敏原皮肤试验、支气管激发试验、鼻黏膜激发试验、外周血和痰液

嗜酸性粒细胞的计数、血清 IgE 的测定等。评述了抗组胺药物、肾上腺糖皮质激素、茶碱类药物、外用药物,以及吸入疗法在过敏性疾病中的临床应用。此外,还介绍了妊娠期、职业性、老年人过敏性疾病以及在同时患有过敏性哮喘和鼻炎等特殊情况下过敏性疾病的诊治。全书分五篇,共 29 章。

读者对象:该书为现代过敏反应学丛书第三部,由从事临床过敏疾病学的专家和学者编著,可供临床各级医护人员、实习医师和从事与过敏性疾病相关的教学和科研工作者参考,也可作为医学院校相关专业的教材。

科学出版社 科学销售中心 联系人:周文宇

电话:010-64022646, 010-64017321

E-mail:zhouwenyu@mail.sciencep.com