

小叶罗汉松一年生幼苗根瘤形态与解剖构造的观察

招礼军, 朱栗琼, 黄宝灵, 文祥凤, 韦立秀, 孙基伦

(广西大学 林学院, 广西 南宁 530004)

摘要:以小叶罗汉松为试材, 观察研究了一年生幼苗所结根瘤的形态和显微解剖构造, 以了解小叶罗汉松根瘤的特征。结果表明: 小叶罗汉松根瘤在形态上有圆球形、圆锥形、马鞍状、串珠状及不规则形态等; 在构造上存在有限型和无限型 2 种根瘤; 与其共生的微生物有根瘤菌、Frankia 放线菌及真菌; 研究发现小叶罗汉松根瘤在形态、解剖构造的类型及其与之共生的微生物等均呈现多样性。

关键词:小叶罗汉松; 根瘤; 形态; 解剖特征; 多样性

中图分类号:S 791.46 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2014)10-0053-03

小叶罗汉松(*Podocarpus brevifolius* (Stapf) Foxw) 属罗汉松科(Podocarpaceae)罗汉松属植物, 也称为短叶罗汉松、珍珠罗汉松, 因其独特的造型, 观赏价值极高, 在园林绿化及盆景制作上具有广泛的应用前景。目前关于小叶罗汉松的研究主要集中在栽培技术、盆景制作方法等方面^[1-2], 其枝叶中含有抗肿瘤活性物质也受到医药界的关注^[3]。但对小叶罗汉松有关生物学和生态学方面的研究很少, 特别是对该树种的根际微生物及其共生体的研究尚鲜见报道。长期以来, 豆科植物与根瘤菌、木本双子叶植物与 Frankia 放线菌共生结瘤已成为共识, 也有研究发现非豆科的木本双子叶植物可以和根瘤菌共生结瘤形成固氮体系^[4-5]。在裸子植物中, 罗汉松属(*Podocarpus*)植物结瘤和形成菌根是普遍现象^[6-7], 一般认为罗汉松属的结瘤菌属于 Frankia 放线菌^[8]; 而黄宝灵等^[9]发现了几种罗汉松属植物的根瘤在形态与结构上与豆科植物的根瘤有许多相似之处, 并从罗汉松

根瘤中分离出了根瘤菌^[10], 由此推测罗汉松属植物可以同时与多种微生物形成共生体。该研究从小叶罗汉松根际共生体的形态和解剖构造着手, 以期为进一步揭示裸子植物复杂的共生体更多的特性提供基础依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为于 2012 年 11 月中旬在广西大学校园内随机选取绿化用成年小叶罗汉松 3 株, 在每株树下随机选择一年生幼苗各 5 株, 挖掘并用蒸馏水清洗干净根系, 置于装有蒸馏水的锥形瓶中, 带回室内供观察解剖和研究。

1.2 试验方法

制片采用徒手切片, 分别对苗木的各级侧根及根瘤进行横切和纵切制片, 蒸馏水装片。将制片置于 Nikon E100 数码显微镜下观察和照像。

2 结果与分析

2.1 小叶罗汉松幼根及根瘤的形态特征

野生一年生小叶罗汉松幼根为直根系, 主根发达但弯曲不直, 淡棕色。一级侧根较多, 大部分较整齐地呈二列状排列, 少数侧根上已长出二级侧根。侧根均较粗壮, 所有根尖呈弯曲状, 无根毛, 但几乎全部覆盖有一层

第一作者简介:招礼军(1970-), 男, 博士, 副教授, 现主要从事树木生理生态等研究工作。E-mail: zhlj-70@163.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30170033); 广西自然科学基金资助项目(2013GXNSFAA019063)。

收稿日期:2014-01-15

Abstract: Taking *Medicago sativa* L. as material, the effect of Zinc (Zn) on the proline content, malondialdehyde(MDA) content, soluble protein content and soluble sugar content of *Medicago sativa* L. and its accumulation abilities of Zn were measured and analyzed using the soil potted culture experiment methods. The results showed that the contents of MDA, proline, soluble protein and soluble sugar significantly increased when the Zn stress increased to 900 μ M, compared to control (non-Zn), after 23 days Zn exposure, the accumulation contents of Zn in leaves were significantly higher than root and stem. Taken together, these results indicated that the *Medicago sativa* L. was a promising remedial potential for the high level of Zn contamination soil, it was the absorbing and accumulation function for Zn from the contaminated soil.

Key words: Zinc(Zn); *Medicago sativa* L.; physiological and biochemical; accumulation

颜色较浅的薄壁组织,有的还延伸至根尖后面较远的位置,该层薄壁组织厚度并不均匀,间隔一段距离后会出现溢痕(图1)。主根上无成型的单个根瘤,而所有侧根均有数量不等的根瘤附于其上,越近茎基部的侧根越长,根瘤的数量也越多,主根根尖附近的侧根短而小,通常只有一些不明显的小突起。单个着生的根瘤在根上的排列类似侧根一样,呈二列状,也有相距较近的根瘤靠合在一起,有的甚至还有共同的部分套合在一起,因而小叶罗汉松幼根的根瘤不仅大小差异明显,形态上也出现多样性,有圆球形、圆锥形、马鞍状、串珠状及不规则形等(图2)。大部分根瘤表面较光滑,但少部分具有稀疏的乳突状突起,极少数根瘤还带有较长的根毛,根毛大部分出现前端膨大而弯曲的变形状态(图3)。

2.2 小叶罗汉松根瘤的起源

小叶罗汉松幼根正常的根瘤起源于根的中柱鞘,并

且大部分与侧根具有同源性,有的甚至与侧根起源于同一位置,根瘤组织覆盖于侧根原基之外,并随着侧根原基的不断分裂而发育生长,侧根的根尖始终被根瘤包裹着,若侧根最终没有突破根皮,就一直潜伏于根瘤中,这种根瘤外形上通常呈圆锥形,发育较根瘤原基早的侧根原基有的能突破根皮,但侧根根尖仍在根瘤中,这种根瘤从外形上看有一个柄状结构(图2左上)。若单独起源于中柱鞘的根瘤,其根瘤原基呈球形,与侧根原基的锥形有明显差异,这种根瘤外形上往往也呈圆球形为多。

在观察中还发现少数根瘤上可以再形成新的根瘤(图2中下),新的根瘤起源于老根瘤内部的分生组织,二者不仅根瘤内皮层相连,同时维管组织也是相通的。

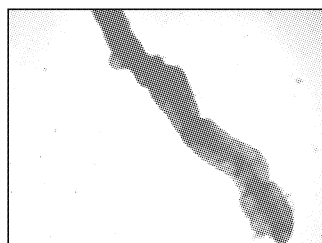


图1 根尖及根瘤层外形(40×)

Fig.1 Shape of root tip and nodule layer(40×)

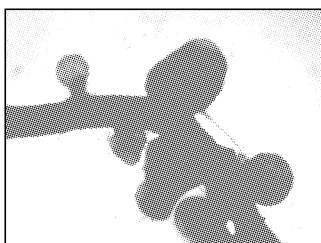


图2 形态各异的根瘤(40×)

Fig.2 Diverse shapes of nodules (40×)



图3 根瘤上的根毛(400×)

Fig.3 Root hair of nodule(400×)

2.3 小叶罗汉松根瘤的解剖构造

起源于根部中柱鞘的根瘤,由根皮层和圆柱形的根瘤束所构成(图4、5)。根皮层是原幼根皮层增生而成,细胞明显膨大,占据根瘤大部分体积,在各切面可以看到皮层细胞几乎全部受到微生物侵染,不仅细胞壁上布满丝状物或管状物,皮层细胞内部也被一些粗大的光泽度强的银白色分枝状管状物充斥,可以观察到这些是从细胞壁伸入细胞体内,并且在相邻细胞间相通,有的管状物前端变成棕黄色泡囊状。皮层细胞的细胞核也较大,而且结构变得松散(图6)。根瘤束由根瘤内皮层包被,内有根瘤内部皮层、维管组织及细菌状区。根瘤内

皮层也是幼根内皮层的外延,无论纵切面还是横切面上观察,这层细胞均呈扁平状,与相邻细胞差异显著,体积上小于周围细胞,而且呈棕色或红棕色,异质性明显。根瘤内部皮层位于根瘤内皮层之内,也是由薄壁细胞构成,但较根皮层细胞小,纵切面上看扁平,横切面上看近等径。根瘤中心是维管组织,排列方式与小叶罗汉松幼根的维管束相似,呈二原型。木质部主要由一系列螺旋管胞构成,木质部周围的薄壁细胞内含物较丰富,是细菌状区。有的根瘤束前端具一群较小的薄壁细胞是根瘤的分生组织。



图4 幼根及根瘤切面(100×)

Fig.4 Cross section of radicle and nodule(100×)



图5 根瘤横切面(400×)

Fig.5 Cross section of nodule (400×)

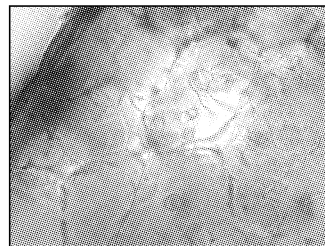


图6 根瘤皮层内丝状物及泡囊(1 000×)

Fig.6 Filament and vesicle in nodule cortex(1 000×)

3 结论与讨论

该研究发现小叶罗汉松一年生幼苗的结瘤量较多,验证了罗汉松属植物普遍自然结瘤的现象^[6-7]。小叶罗汉松幼根的主根及侧根均不同程度弯曲,根尖极少有根毛,而少数根瘤上出现的稀疏根毛较长,并且顶端膨大弯曲变形,应是微生物入侵的一个突破口^[11]。根瘤主要分布在侧根上,并且类似侧根一样呈二列状排列,外形上有近圆球形、圆锥形、马鞍形、串珠状及不规则形等多种,大小也不等,可能与起源、发育的方式及程度有关。

单个生长的根瘤解剖结构主要由增生的根皮层包裹着根瘤束而成,内有与根部维管束相连的维管组织,小叶罗汉松根瘤的维管组织居于根瘤正中,被细菌状区环绕(图5),这与豆科植物根瘤维管组织包围细菌状区^[12]的情况相反。这种根瘤内无分生组织,属于有限根瘤,与黄宝灵等^[9]的研究结果一致。但在一些根瘤上又长出新根瘤的情况却不一样,老的根瘤束顶端存在分生组织区,这种根瘤具分生组织应属于无限根瘤。另外,与侧根起源于同一位置的根瘤大部分情况下抑制了侧根的形成,所以对侧根的数量应会产生一定影响。

在解剖观察过程中发现,与小叶罗汉松幼根共生的微生物也存在多样性。首先从幼根的形态粗壮、略呈二叉分枝状,以及根部皮层含有丝状物(疑是菌丝体)等特征可证实小叶罗汉松幼根上能形成内外生菌根^[7],因为通常根瘤的侵染线不会进入皮层细胞内,只在胞间壁分布^[13]。其次从单个生长根瘤的形态及解剖结构来判断,也进一步证实了小叶罗汉松根瘤中存在类似豆科类的根瘤菌^[10];另外,从根瘤的外皮层中出现的管状物顶端形成近圆球形的泡囊(图6)及根瘤上还能长新根瘤,形

成串珠状根瘤体来看,这种根瘤应属于弗兰克氏放线菌刺激形成的,因为泡囊是放线菌弗兰克氏菌才具有的一种特殊结构,由菌丝末端发育形成,内含固氮酶^[13]。但要准确地了解小叶罗汉松根际微生物的种类,还必须通过分离、鉴定才能确定。

参考文献

- [1] 陈黎. 用小叶罗汉松扦插苗制作微型盆景[J]. 花木盆景: 盆景赏石, 2001(12): 36-37.
- [2] 蒋桂雄, 朱积余. 广西珍贵树种高效栽培技术(连载)[J]. 广西林业, 2013(3): 42-43.
- [3] 顾世海, 张丹, 徐丽珍, 等. 小叶罗汉松化学成分的研究[J]. 中草药, 1997, 8(10): 586-588.
- [4] Trinick M J. Symbiosis between Rhizobium and nonlegume, *Trema aspera*[J]. Nature, 1973, 244: 459-460.
- [5] Tjepkema J D, Cartica R J. Diffusion limitation of oxygen uptake and nitrogenase activity in the root nodules of *Parasponia rigida* Merr. and Perry[J]. Plant Physiology, 1982, 69: 728-733.
- [6] Khen A G, Valder P G. The occurrence of root nodules in the Ginkgoales, Taxales and Coniferales[J]. Proc Linn Soc New South Wales, 1971, 96: 35-41.
- [7] 弓明钦, 陈应龙, 仲崇禄. 菌根研究及应用[M]. 北京: 中国林业出版社, 1997: 17-21.
- [8] 冯治翔, 栗敏, 刘洋, 等. 罗汉松及响叶杨内生放线菌的分离、活性及多样性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2011, 36(4): 264-268.
- [9] 黄宝灵, 吕成群, 于新宁, 等. 几种罗汉松属植物根瘤的形态与结构[J]. 广西植物, 2005, 25(3): 226-228.
- [10] Huang B L, Lv C Q, Wu B, et al. A rhizobia strain isolated from root nodule of gymnosperm *Podocarpus macrophyllus*[J]. Science in China Series C: Life Sciences, 2007, 509(2): 228-233.
- [11] 张吉科, 林伟. 沙棘根瘤的形成与固氮能力[J]. 沙棘, 1995, 8(3): 3-9.
- [12] 李东, 林树燕, 韩素. 八种豆科树种根瘤的形态与结构研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版) 2009, 33(6): 60-62.
- [13] 曾定. 固氮生物学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1987: 157.

Morphology and Anatomical Structure of Root Nodules of One-year Old *Podocarpus brevifolius* Seedlings

ZHAO Li-jun, ZHU Li-qiong, HUANG Bao-ling, WEN Xiang-feng, WEI Li-xiu, SUN Ji-lun
(College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004)

Abstract: Taking *Podocarpus brevifolius* (Stapf) Foxw as test material, the morphology and anatomical structures of root nodules of one-year-old *Podocarpus brevifolius* seedlings were observed and studied by light microscopy, to study the characteristics of mycorrhiza of *Podocarpus brevifolius*. The results showed that there were spherical, conical, saddles, beaded and irregular shapes in root nodule morphology of *Podocarpus brevifolius* seedlings. The root nodules could be divided into finite and infinite nodule in anatomical structure. The symbiotic microbial species included rhizobium, actinomycetes and fungus. It concluded that the morphology and anatomical structures of root nodules and symbiotic microbial species of *P. brevifolius* were diverse.

Key words: *Podocarpus brevifolius* (Stapf) Foxw; root nodule; morphology; anatomical traits; diversity