

文章编号: 1674-7054(2012)04-0345-04

姬蕨配子体发育的观察

刘婧宏^{1,3}, 王 玥^{2,3}, 刘保东^{1,3}(1. 哈尔滨师范大学 生命科学与技术学院 黑龙江 哈尔滨 150025; 2. 哈尔滨呼兰一中 黑龙江 哈尔滨 150500;
3. 黑龙江省普通高等学校植物生物学重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘 要: 首次报道了姬蕨科(Hypolepidaceae)姬蕨(*Hypolepis punctata* (Thunb.) Mett.)配子体发育阶段的结构特征。介绍了姬蕨配子体的培育方法,包括最初的孢子水培法和后期的配子体土培法。配子体发育过程包括孢子萌发、原丝体发育、叶绿体发育、假根分化、片状体形成、毛状体特征、幼原叶以及性器的出现,并初步讨论了姬蕨配子体发育的系统学意义。

关键词: 姬蕨; 配子体; 发育

中图分类号: Q 949.36

文献标志码: A

姬蕨(*Hypolepis punctata* (Thunb.) Mett.) 又名岩姬蕨,隶属于姬蕨科(Hypolepidaceae),生长于热带亚热带区域^[1],多见于路边、林缘、矿地、土墙隙^[2],在我国主要分布于安徽、广东、云南、浙江、台湾等地区海拔320~2 300 m的山坡灌丛草地^[3]。姬蕨有很高的药用价值,全草入药,有清热解毒和收敛止血的功效^[4]。过去对于姬蕨的试验多数是以孢子体为主,Chattopadhyay^[5],王全喜等^[6]曾用扫描电镜观察了姬蕨孢子的特征,将姬蕨列为碗蕨型组孢子形态类群,并指出了姬蕨属与鳞始蕨属的亲缘关系。Nayar, Imaichi 等^[7-10]进行过孢子形态学研究,Punetha^[11]报道过生理学内容等。但由于孢子采集、配子体培养都存在一定困难,使得配子体发育方面很少有人研究,Momose^[12]只对该科的配子体做过初步观察。有人^[13-15]认为配子体在真蕨类的生活史中担负着有性生殖及孕育胚的重要使命。Nayar^[16]曾提出研究配子体对孢子萌发类型、成熟原叶体形状、假根特征等方面的分类有重要意义。Lenette^[17]认为蕨类亲缘关系的探索离不开配子体的发育特征。但到目前为止尚未见关于姬蕨配子体发育过程的报道。笔者在反复试验的基础上,对姬蕨配子体发育过程中的各个阶段作了详实记录,同时对一些典型特征进行了分析,为姬蕨属植物的系统分类、园艺应用提供了一定的理论依据和技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料 姬蕨(*Hypolepis punctata* (Thunb.) Mett.)的孢子采自云南昆明植物所,凭证标本存于哈尔滨师范大学植物标本室。将新鲜成熟的孢子叶放在干燥、无风的环境中,待孢子自然脱落后收集于硫酸纸袋内,置4℃冰箱中保存,尽早进行重复播种。

1.2 方法 姬蕨配子体的培育方法包括孢子水培法和配子体土培法。配子体土培法:培养基质选取黑龙江省亚布力北山针阔混交林下的腐殖暗棕壤,用孔径为2 mm的细筛将其除杂,125℃灭菌30 min,取适当厚度的海绵放置在直径为15 cm洁净干燥的培养皿中,上铺经处理的细壤约1 cm厚,平整、压实后加蒸馏水至表面出现水痕,于避风处播撒孢子,重复培养多次,每日光下照射14 h,相对湿度为85%~95%,培养温度18~25℃,光照强度2 000~3 000 lx,并就不同光强进行分组对照,观察光诱导叶绿体运动的情况。孢子水培法:在20 mm×220 mm的试管中加入Knop's培养液约5 mL,放入少量孢子,培养条件同土

收稿日期: 2012-01-03

基金项目: 国家自然科学基金资助(31170294)

作者简介: 刘婧宏(1988-),女,黑龙江伊春人,哈尔滨师范大学生命科学与技术学院2011级硕士研究生。

通信作者: 刘保东,教授,主要从事孢子植物学科科研及教学工作。E-mail: 99bd@163.com

培法。定期选取不同发育阶段的培养材料,制成临时装片,在 Olympus BH-2 光学显微下观察并照相。所有数据均采用随机测得的 20 个数的平均值,颜色以肉眼所见为准。

2 结 果

2.1 孢子及其萌发 孢子囊为球形,在显微镜下可清楚地看见内部的孢子,孢子呈黑色,近椭圆形,长径约 35 μm ,短径约 30 μm (图版 1)。孢子萌发的时间为 5~10 d,有的萌发出很短的假根,有的假根已经生长很长,直径约 12 μm ,呈圆柱状,无色透明状的假根可以看到细小的颗粒物(图版 2)。

2.2 原丝体和片状体 孢子萌发生成假根的过程中也有形成圆顶棒状的单细胞突起,基部着生无色透明的 2 条假根,原丝体的细胞紧密排列在一起,大量的叶绿体存在于细胞中。原丝体继续发育成长约 200 μm ,宽约 180 μm 的近心形的片状体。基部的细胞较长,上部的细胞较小,近圆形,最底部的几个细胞排列成一行,两侧成心形的细胞基本是成对排列的,在生长点处的细胞较小,内部均匀分布大量的叶绿体,片状体边缘处的细胞上着生许多毛状体,在片状体的中部以及下部都着生数条假根(图版 3),假根均为无色透明的管状。

2.3 原叶体 原叶体呈心形(图版 4),长约 550 μm ,宽约 670 μm ,基部的细胞较大,形状不一,上部的细胞较小,近圆形,生长点处的细胞小而密集。配子体的边缘由一圈较小的、形状规则的细胞组成,其上着生毛状体。原叶体的背腹面都着生大量透明的假根,以中心位置最密集(图版 5),每个细胞内部都均匀分布大量的叶绿体。配子体的背面中心位置形成胚,雌配子体在生长 50 d 后的长度约 1 000 μm ,宽约 1 500 μm 。

2.4 生长点 生长点由刚刚分裂而成的小细胞组成,这些细胞呈辐射排列,细胞内分布大量的叶绿体(图版 6)。在配子体的边缘着生毛状体。毛状体近椭圆形,由 2 个细胞组成,顶端细胞较大,基部细胞较小。毛状体细胞中含有圆球型的叶绿体。成熟的毛状体长度约 53 μm 。

2.5 细胞 配子体的叶缘细胞明显小于其他细胞,直径约 35 μm 。有些叶缘细胞上发育出毛状体,形状呈长约 10 μm 的椭圆形。叶绿体沿细胞边缘分布使得细胞轮廓明显,其紧密排列使得细胞与细胞的连接凸显出来。边缘的细胞是形状不规则的多边形,细胞中不均匀地分布着大量的叶绿体(图版 7)。培养到 35 d 时配子体出现坏死的细胞,坏死的细胞并无很大变化,依然呈现出不规则的形状,但细胞内的叶绿体排列却有很大的变化,正常细胞的叶绿体部分密集,在细胞的边缘排列;其余的则比较分散的分布在细胞的内部(图版 8),而坏死的细胞在强光或弱光下都表现出叶绿体向相邻细胞壁处积聚的特点(图版 9)。

2.6 假根 假根呈细长的圆管状,略弯、透明,直径约 10 μm ,含有颗粒状的内含物,分布在配子体的腹面;而较老的假根仍呈无色透明状,但没有内含物(图版 10)。

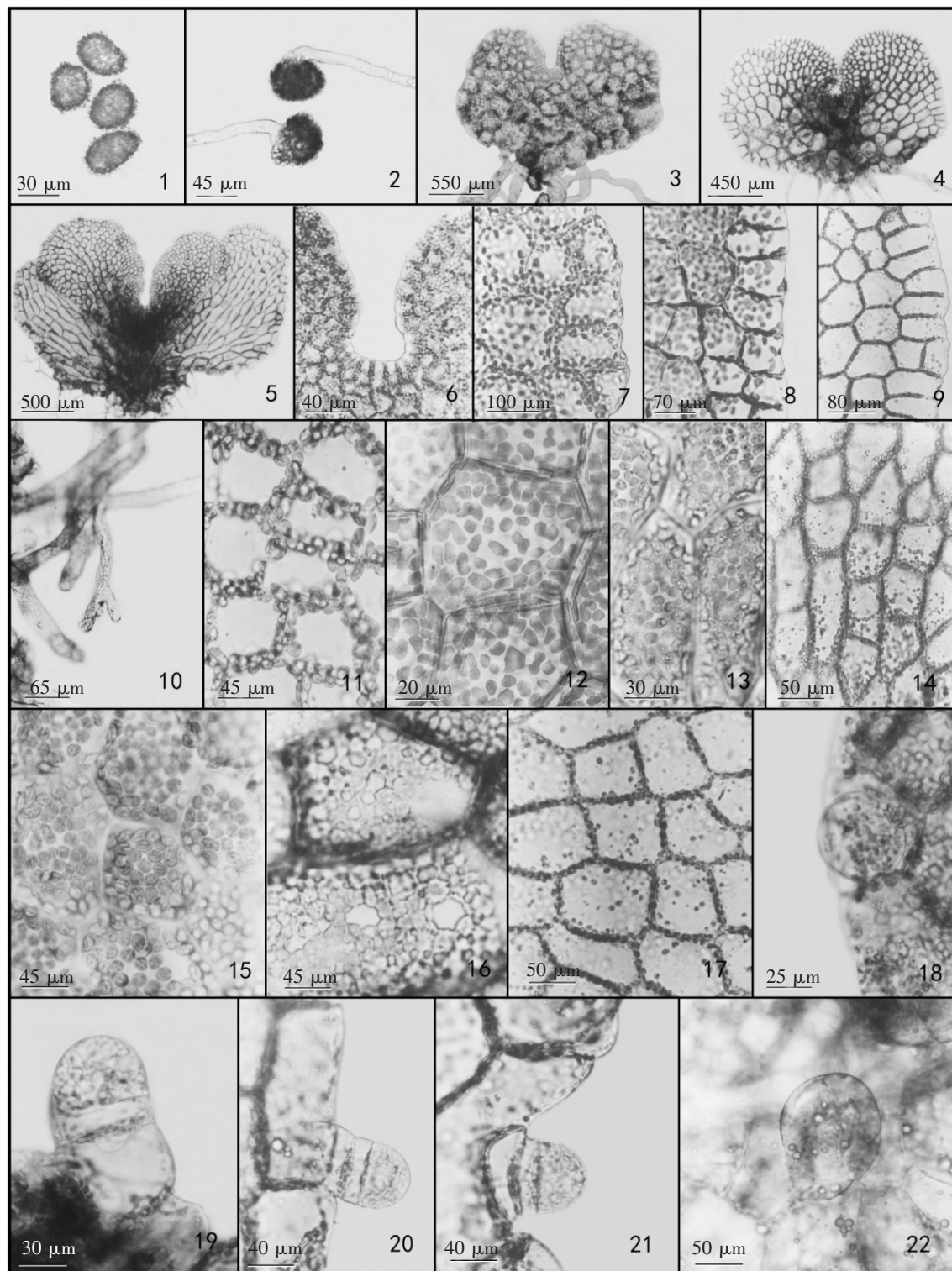
2.7 叶绿体 生长点处的叶绿体在强光下会更紧密地排列在细胞的边缘(图版 11)。正常细胞的叶绿体有一部分紧密地沿着细胞的边缘排列在一起;另一部分则均匀分散在细胞内部。叶绿体的大小不一,形状各异,并且彼此独立(图版 12),当细胞继续生长后,成熟细胞中叶绿体相对变小(图版 13),此时在细胞中易于观察到淀粉核,1 个叶绿体内往往有多个淀粉核。细胞中有少数近圆形的叶绿体分散在细胞边缘,其直径约 2 μm (图版 14),而大部分的叶绿体均匀分散在细胞内,直径约 3 μm (图版 15)。在配子体发育 40 d 后,细胞内的叶绿体逐渐消失(图版 16)或残留着一些胶状物质(图版 17)。

2.8 性器 配子体在发育成熟后,其腹面会产生精子器,精子器呈球形,直径约 10 μm ,精子在精子器内,颜色较深(图版 18)。精子在刚发生(图版 19)至成熟(图版 20)的过程中,可清晰看到基细胞、第 1 环细胞以及盖细胞(图版 21~22)。

3 讨 论

在研究姬蕨配子发育过程中发现假根有膨大或分支的现象,初期有叶绿体存在,但随着假根发育,大部分叶绿体会逐渐消失。包文美等^[18]曾提出初生假根含叶绿体是原始类型的表现。因此,笔者认为姬蕨也属原始蕨类植物,并观察到配子体的叶缘细胞形态与 Momose^[12]报道的相一致。王全喜等人曾将姬蕨列为碗蕨型组孢子形态类群^[6],而笔者则认为姬蕨属与鳞始蕨属有亲缘关系。此外,在强光等逆境条件下,原叶体边缘处的细胞中叶绿体只分布于细胞的内侧壁,而其他位置的细胞中叶绿体则均匀分布。

叶绿体这种趋光运动方式与刘保东等^[19]在对开蕨 *Phyllitis scolopendrium* (L.) Newm. 配子体中观察到的完全一致。为此, 笔者认为这种现象不仅是其抗逆性的一种表现, 也反映出了原叶体的形态在分类上具有重要的稳定特征。另外, 在对叶绿体形态的细致观察后, 笔者发现叶绿体像原核生物一样, 以“无丝分裂”的形式完成数量的增加。



图版 姬蕨配子体发育的过程

1. 孢子; 2. 孢子萌发; 3. 片状体; 4~5. 配子体; 6. 生长点; 7~9. 边缘细胞; 10. 假根;
11~17. 不同类型的叶绿体; 18~22. 精子器

参考文献:

- [1] 中国科学院北京植物研究所古植物研究室孢粉组. 中国蕨类植物孢子 [M]. 北京: 科学出版社, 1979: 110 – 112.
- [2] 王培善, 王筱英. 贵州蕨类植物志 [M]. 贵阳: 贵州科学出版社, 2001: 373 – 374.
- [3] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 2 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1959: 246 – 249.
- [4] 浙江植物志编辑委员会. 浙江植物志: 第 1 卷 [M]. 浙江: 科学技术出版社, 1993: 72 – 73.
- [5] CHATTOPADHYAY B, SEN U. Spore morphology in Dennstaedtiaceae and Hypolepidaceae sensu pichi sermolli [J]. Indian Fern Journal, 1993(1/2): 24 – 34.
- [6] 王全喜, 戴锡玲. 中国水龙骨科(真蕨目) 孢子形态的研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2010: 27.
- [7] NAYAR B K, KAUR S, BAJPAI N. Morphological studies on *Histiopteris* and *Hypolepis* [J]. Bot. Notiser 1967, 120: 177 – 195.
- [8] IMAICHI R. Developmental study on *Hypolepis punctata*(Thunb.) Mett. I. Initiation of the first and the second petiolar buds in relation to early leaf ontogeny [J]. Bot Mag Tokyo, 1982, 95: 435 – 453.
- [9] IMAICHI R. Studies on the extra-axillary buds of *Hypolepis punctata* [J]. J Jap Bot Mag Tokyo, 1974, 93: 25 – 38.
- [10] MORAN R C. A new species of *Polypodium* (Polypodiaceae) and two new species of *Hypolepis* (Denstaedtiaceae) from Me-soamerica [J]. Anals of the Missouri Botanical Garden, 1990, 77(4): 845 – 850.
- [11] PUNETHA N. Incipient apical inhibition in the fronds of *Hypolepis punctata* (Denstaedtiaceae) [J]. Phytomorphology, 1990, 40: 223 – 232.
- [12] MOMOSE S. Prothallia of the Japanese ferns (Filicales) [M]. Tokyo: University of Tokyo Press, 1967: 91 – 97.
- [13] ATKINSON L R, STOKEY A G. Comparative morphology of the gametophyte of the home-sporous ferns [J]. Phytomorphology, 1964, 14: 51 – 70.
- [14] 徐艳, 石雷, 刘保东. 阔鳞瘤蕨(水龙骨科) 配子体形态发育的研究 [J]. 植物研究, 2005, 25(1): 34 – 38.
- [15] RANADOS B, PÉREZ-GARCÍA B, MENDOZA A. Fase sexual de los helechos *Odontosoria schlechtendalii* *Odontosoria scandens* (Dennstaedtiaceae) [J]. Rev Biol Trop, 2003, 51(3): 675 – 682.
- [16] NAYAR B K, KAUR S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. The Botanical Review, 1971, 37(3): 295 – 393.
- [17] LENETTE R A. 配子体与科的关系 [M]. 邢公侠译. 北京: 科学出版社, 1987: 226 – 238.
- [18] 包文美, 敖志文, 刘保东. 东北蕨类植物配子体发育研究 IV: 铁线蕨科 [J]. 植物研究, 1987, 7(4): 54 – 62.
- [19] LIU Bao-dong, BAO Wen-mei, AO Zhi-wen. Studies on the development of gametophyte of *Phyllitis japonica* from China [J]. Bulletin of botanical, 1991, 11(2): 93 – 100.

Gametophyte Development of *Hypolepis punctata* (Thunb.) MettLIU Jing-hong^{1 3}, WANG Yue^{1 2}, LIU Bao-dong^{1 3}

(1. College of Life Sciences and Technology, Harbin Normal University, Harbin 150025, China;

2. Harbin Hulan No. 1 Senior High School, Harbin 150025, China;

3. Key Laboratory of Plant Biology, College of Heilongjiang Province, Harbin 150025, China)

Abstract: The structural features of gametophytes of *Hypolepis punctata* (Thunb.) Mett. at the development stage are reported, and the culture method for the gametophytes is introduced, including water culture for spores at early stage and soil culture for gametophytes at the late stage. *H. punctata* gametophyte development includes spore germination, protonema development, chloronema development, rhizoid differentiation, formation of prothallial plate, and production of trichomes, juvenile prothalli and sex organs. The bearing of development of the gametophytes of *H. punctata* on the systematics is also discussed.

Key words: *Hypolepis punctata*(Thunb.) Mett.; gametophyte; development