

文章编号: 1674-7054(2012)04-0349-04

石韦配子体发育的观察

郭 捡^{1,3}, 王 玥², 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. 哈尔滨市呼兰第一中学 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: 通过人工培养,记录了石韦(*Pyrrhosia lingua*)配子体发育的详细过程。孢子单裂缝,两侧对称,表面有瘤状突起;丝状体一般为2~4个细胞;幼原叶体为偏心形,成熟原叶体心形;片状体时期出现毛状体,原叶体发育类型为三叉蕨型;毛状体着生基细胞形态多样;约60 d性器成熟。

关键词: 石韦;配子体;发育

中图分类号: Q 914.85

文献标志码: A

石韦(*Pyrrhosia lingua*)属于水龙骨科(Polypodiaceae)多年生草本植物^[1],主要分布于热带及亚热带地区^[2],具有丰富的药用价值^[3]。石韦属植物全世界有50余种,中国有38种^[4]。尚无学者对该属植物做系统研究,对于石韦属的属内分类很混乱^[5]。SMITH^[6]曾根据石韦属的根状茎区分了该属的两个组;SHING^[7]根据叶的表皮特征对该属进行分类;HOVENKAMP^[8]根据一些典型的特征,尝试将石韦属的51个种划分为10个类群;TAKEI^[9]等在细胞学方面进行了零星的研究,但都不能明确其属下分类,可见对于石韦属植物的系统分类,仅依靠形态解剖等已远远不够,还需对其进行进一步研究。NAYAR^[10]曾描述了石韦属9种植物的成熟原叶体的形态,MOMOSE^[11]对贴生石韦配子体发育过程有阶段性的简要报道,包文美等^[12]研究了有柄石韦的配子体发育过程,程薪宇等^[13]曾报道了石韦配子体发育过程的部分特征,关于其个体发育的资料不是很全面。笔者以石韦为研究材料,详细报道了石韦配子体发育过程,对其毛状体着生位置、边缘细胞形状以及叶绿体发育特征进行了补充,旨在为石韦属植物的系统分类提供详实的资料。

1 材料与方法

1.1 材料 石韦(*Pyrrhosia lingua*)孢子采自海南五指山。将带有成熟孢子的叶片放入洁净的纸袋中,置于通风干燥处待孢子囊自然开裂,在清洁无风的室内将孢子收集至干燥的纸包内。凭证标本存于哈尔滨师范大学植物标本室。

1.2 方法 采用腐殖土培养。土壤采自黑龙江省亚布力北山针阔混交林。用眼孔直径为2 mm的筛子筛取细壤,120 °C灭菌50 min。取一直径为15 cm的培养皿,内铺入厚约7 mm的润湿海绵,待撒入适量的灭菌腐殖土后接种。培养条件同刘保东等^[14]的研究。重复培养3次,依各发育阶段制成临时装片,在Ni-kon显微镜下进行活体观察、照相并记录。数值大小采用随机测得的10~20个数的平均值,并给出所测的数值范围,颜色以肉眼所见的活体材料为准。

收稿日期: 2012-07-25

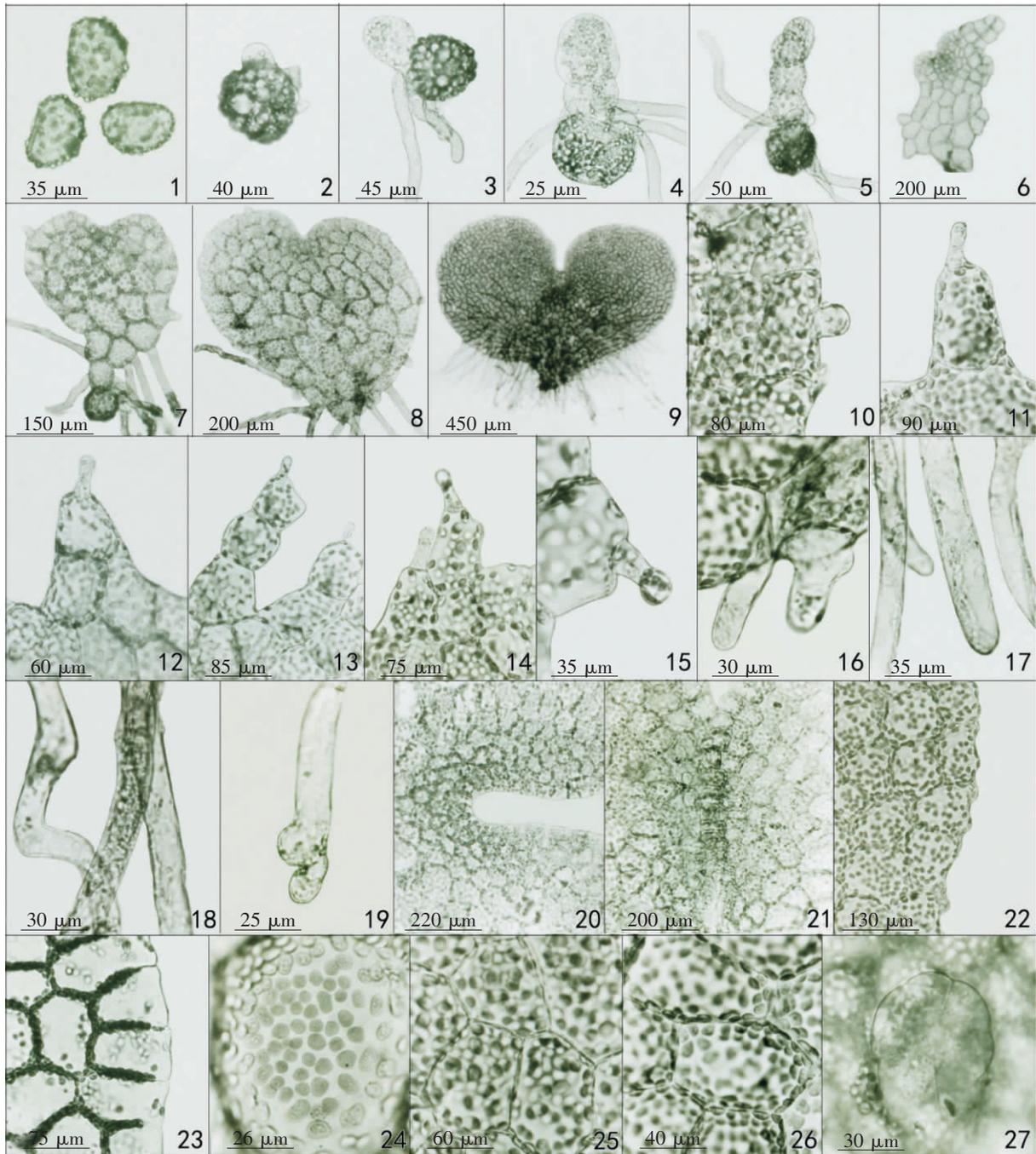
基金项目: 国家自然科学基金(31170294)

作者简介: 郭捡(1988-),女,黑龙江大庆人,哈尔滨师范大学生命科学与技术学院2010级硕士研究生。

通信作者: 刘保东(1962-),男,山东人,教授,主要从事孢子植物科研及教学工作。E-mail: 99bd@163.com

2 结果与分析

- 2.1 孢子及孢子萌发 孢子褐色,单裂缝,裂缝长度约为孢子长度的 $1/2$,极面观呈椭圆形,赤道面观呈半圆形。表面有不规则的瘤状突起,孢子大小为 $(33 \sim 40) \mu\text{m} \times (30 \sim 37) \mu\text{m}$ (见图版1)。孢子接种5~9 d开始萌发,孢子萌发首先从孢子壁开裂处出现原叶体的原始细胞,内含少量叶绿体(见图版2),同时,另一侧孢子的单裂缝处伸出1至多条透明假根,直径约 $13 \mu\text{m}$,孢子壁宿存,孢子内贮有油滴(见图版3)。
- 2.2 原丝体 接种约18 d,原始细胞横向分裂形成长为2~4个细胞的单列原丝体,直立或稍弯曲,细胞



图版 石韦配子体发育各阶段的显微镜观察

1. 孢子;2~3. 孢子萌发;4~5. 原丝体;6. 幼原叶体生长点偏生;7~8. 幼原叶体;9. 成熟原叶体;10~15. 毛状体;16. 假根发生;17. 假根;18. 假根中部弯曲;19. 假根末端膨大;20~21. 生长点;22~23. 边缘细胞;24. 不同类型的叶绿体;25. 叶绿体均匀分布于细胞内;26. 叶绿体趋向运动;27. 颈卵器

长度小于或等于直径,呈圆筒状(见图版4)或圆球形(见图版5),细胞内充满叶绿体和油滴,随着细胞的继续分裂,叶绿体数量不断增加,油滴逐渐变小直至消失。原丝体基部细胞可继续发育向外突出形成数条假根。

2.3 片状体 接种约30 d后进入片状体时期,原丝体细胞继续分裂,由于端部细胞纵分裂较快,原丝体逐渐形成扇形,此时,片状体细胞中含有大量叶绿体,整体颜色鲜绿,且在相邻细胞相接处分布较多。随着片状体细胞继续纵向分裂,片状体不断增大。两侧细胞形成营养细胞,中间细胞仍旧保持分生能力,形成生长点。生长点的分裂使片状体逐渐由扇形变为不对称的心形。有的片状体一侧分裂,形成生长点偏于一侧的不规则形状(见图版6)。生长点附近细胞小而质浓,代谢活动旺盛,叶绿体在此处大量聚集,下部细胞均可生出假根形成假根丛。在片状体的边缘有少量毛状体出现(见图版7)。

2.4 原叶体 接种45 d后进入原叶体阶段,由于两侧细胞的继续分裂,生长点不断下陷,两翼上延,形成宽约2 000 μm 的偏心形幼原叶体,生长点处细胞排列紧密呈平滑曲线状(见图版8)。成熟原叶体形状趋于稳定,两翼向斜上方扩展形成宽卵形,表现出宽略大于高,颜色鲜绿(见图版9)。原叶体两翼边缘多凹陷呈波浪状,边缘细胞方形或不规则形,较小;中间细胞相对较大,呈三角形、六边形或不规则多边形。原叶体的发育类型为三叉蕨型(*Aspidium-type*)^[15]。

2.5 毛状体 毛状体最早出现于片状体时期,一般为单细胞,毛状体内有或无叶绿体存在,有的有细胞核,毛状体发生于细胞表面或边缘,初生毛状体的发生以边缘为主,呈棒状(见图版10)。成熟原叶体上的毛状体一般为乳突状,其着生的基部细胞略有不同,本实验中观察到的毛状体着生的基部细胞形态有以下几种:①基部细胞为边缘细胞突起纵裂产生的一细胞(见图版11);②基部细胞呈三角形,边缘细胞横列为两细胞,两细胞上纵裂一细胞(见图版12);③毛状体分布于相邻的两细胞间,一个基部细胞为边缘细胞纵裂形成2~3个细胞的丝状体,另一个基部细胞为边缘细胞纵裂形成1~2个细胞的丝状体(见图版13);④基部细胞平行排列,为相邻边缘细胞纵向分裂产生(见图版14)。毛状体顶端略膨大,有胶状分泌物,长度为22~58 μm (见图版15)。

2.6 假根 初生假根一般为无色透明的管状细胞,从孢子壁内伸出,部分假根有内含物,主要分布于基部边缘(见图版16)。随着原叶体的不断发育,假根逐渐密生在中脉的下表面,直径约1 020 μm 。次生假根初为无色透明管状,衰老时变为淡褐色(见图版17),含少数叶绿体,相互交错,假根中间偶有呈“S”弯曲(见图版18),前端或近前端膨大并弯曲(见图版19),偶见有分叉现象。

2.7 生长点 生长点细胞小而密集,附近细胞含大量叶绿体,颜色略深于主体部分。幼原叶体的生长点呈U形(见图版20),老原叶体的两翼过宽,两翼上缘内侧相互重叠(见图版21)。

2.8 边缘细胞及叶绿体 边缘细胞不规则,为多边形或近长方形,边缘细胞曲线为齿状或平滑,齿状表现为细胞外侧中部有不同程度的凹陷,两侧突起(见图版22);平滑细胞表现为外部边缘平整,无明显突起(见图版23),其内均富含叶绿体。在光学显微镜下观察,叶绿体为圆形或椭圆形,或中间缢缩为哑铃型,似正在进行无丝分裂(见图版24)。当光强在145~175 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,叶绿体均匀地分布于整个细胞内表面,呈圆形,其内还有1至多个明显的淀粉核(见图版25);当光强大于180 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 或小于100 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,表面叶绿体趋向集中于相邻细胞的侧向壁,整齐排列,形状不规则,近丝状长条形,细胞非上下表面间叶绿体悬浮(见图版26)。

2.9 性器 接种55 d后,开始有精子器产生,初期精子器主要分布于假根之间及边缘,顶面观呈圆形,直径约30 μm ,内含大量卷曲的精细胞。培养60 d后,在配子体的中肋处有颈卵器产生,顶面观似铜钱,侧面观颈部由约4层细胞组成,高约150 μm ,中间接近椭圆形的孔为精子游入的通道(见图版27)。精子器和颈卵器颜色加深变为褐色时,表明精子已释放完毕,颈卵器受精完成。

3 讨 论

Nayar 和 Kaur^[10]对石韦属9个种的配子体形态特征进行了系统的研究,9种原叶体均有毛状体,个别毛状体基细胞纵裂为二;包文美等^[12]报道了石韦属有柄石韦的配子体发育过程,毛状体直立或弯曲,横列为2~12个细胞,本研究发现毛状体的着生位置更复杂,曾汉元和丁炳扬^[16]曾提出毛状体的出现是一个

进化性状,所以笔者推测石韦属应该是水龙骨科中具有相当进化水平的类群。马义伦和王伏雄^[17]认为毛状体着生在基部细胞的侧面是由于基部细胞纵向分裂所致。程薪宇等^[13]认为石韦毛状体着生在基部细胞侧面,基部细胞没有进行分裂。笔者认为程薪宇等可能是由于培养环境等因素影响,配子体上没有发育出形态多样的毛状体基细胞。本研究发现基部细胞可以纵向分裂 2~4 个细胞的丝状体,这与马义伦等^[17]的观点相同。曾汉元 and 丁炳扬^[16]认为当原叶体上出现亮晶水滴时,表明精子器已成熟,但此时原叶体为绿色。而李兆亮等^[18]认为原叶体由绿色变为浅褐色时,精子器才成熟。本实验中发现,当原叶体基部变为褐色时,精子已释放完,颈卵器受精完成,这印证了前者的观点。

参考文献:

- [1] TAKEOTO T H, KIAO H. Isolation of diploptene from *Pyrrrosia lingua* Farwell [J]. Chem Pharm Bull, 1963, 11: 409 - 410.
- [2] 王培善, 王筱英. 贵州蕨类植物志 [M]. 贵州: 贵州科学技术出版社, 2001: 604 - 609.
- [3] 中华人民共和国药典委员会. 中华人民共和国药典(一部) [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 61.
- [4] 林尤兴, 陆树刚, 张宪春, 等. 中国植物志: 第 6 卷 第二分册 [M]. 北京: 科学出版社, 2000: 116 - 151.
- [5] 杨鲁红, 陆树刚. 中国石韦属植物的分类研究概况 [J]. 仙湖, 2008, 7(4): 51 - 52.
- [6] SMITH J. An arrangement and definition of the genera of ferns, with observations on the affinities of each genus [J]. Hookers J of Bot, 1842, 4: 38 - 70, 147 - 198.
- [7] SHING K H. A reclassification of the fern genus *Pyrrrosia* [J]. Amer Fern J, 1983, 73(3): 73 - 78.
- [8] HOVENKAMP P. A monograph of the fern genus *Pyrrrosia* [M]. Leiden: Leiden University Press, 1986.
- [9] TAKEI M. Karyological studies in Polypodiaceae [J]. Bot Mag Tokyo, 1969, 82: 482 - 487.
- [10] NAYAR B K, KAUR S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. Botany Review, 1961, 37(3): 418 - 438.
- [11] MOMOSE S. Prothallia of the Japanese ferns [M]. Japan: University of Tokyo Press, 1967.
- [12] 包文美, 敖志文, 陈发生. 东北蕨类植物配子体发育研究 I. 水龙骨科 [J]. 植物研究, 1985, 5(4): 101 - 114.
- [13] 程薪宇, 宗琦, 刘保东. 水龙骨科三种植物配子体发育及其系统学意义初探 [J]. 仙湖, 2008, 7(4): 7 - 9.
- [14] 刘保东, 张大维, 包文美. 卷柏科 11 种雌配子体形态发育的研究 [J]. 植物研究, 1993, 13(3): 250 - 265.
- [15] KAYAR B K, KAUR S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. Bota Rev, 1971, 37: 295 - 396.
- [16] 曾汉元, 丁炳扬. 蕨类植物配子体发育的研究 [J]. 植物研究, 2003, 23: 154 - 158.
- [17] 马义伦, 王伏雄. 岩蕨属植物配子体发育初报 [J]. 云南植物研究, 1986, 8(2): 133 - 140.
- [18] 李兆亮, 原永兵, 曹宗巽. 藻类植物和蕨类植物有性生殖的细胞学和生物化学研究现状 [J]. 植物学通报, 1995, 12: 1 - 8.

Development of Gametophyte of *Pyrrrosia lingua*

GUO Jian^{1,3}, WANG Yue², 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 150500, China;

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

Abstract: The fern *Pyrrrosia lingua* was cultured artificially, and the whole development course of its gametophyte was observed and recorded. Its spores are monolete and bilateral, with their surface tuberculate; the germ filament develops 2 - 4 cells; young prothalli are dissymmetrically cordiform, mature prothallus cordate; the trichomes occur in the platellite, and the development of prothallus is of the *Aspidium*-type; the shape of basal cells of trichomes are diverse; sexual organs mature in about 60 days.

Key words: *Pyrrrosia lingua*; gametophyte; development