

文章编号: 1674-7054(2012)04-0353-04

光叶藤蕨配子体发育的培养观察

李 范^{1,3}, 孟宪利^{2,3}, 孙淑红^{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. 牡丹江市第一中学, 黑龙江 牡丹江 157000;

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: 通过人工培养的方法, 详细记录了光叶藤蕨 *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd. 配子体发育的全过程, 并建立了光叶藤蕨的人工繁殖方法。

关键词: 光叶藤蕨; 配子体; 人工繁殖

中图分类号: Q 914.85

文献标志码: A

光叶藤蕨 *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd. 是多年生藤本植物, 在我国主要分布于广东、云南及海南等省区, 在越南、印度、老挝、柬埔寨等地也有分布^[1]。光叶藤蕨株型优美、叶片狭长翠绿, 不仅可以在园林绿化中应用^[2], 而且也有很高的食用价值^[3]。到目前为止, 对该植物的研究主要集中在植物化学^[4]、资源学^[5]、孢粉学^[6]、孢子体的形态学^[7]等方面。而对于其配子体方面的研究鲜有报道, 只有 Hagemann 曾经对光叶藤蕨的配子体做过简要的描述^[8], 但 Lenette 提出: 蕨类植物配子体的发育特征对其亲缘关系和分类地位的确定具有重要的意义^[9]。笔者在反复试验的基础上, 用光学显微镜详细记录了光叶藤蕨配子体发育的全过程, 以期为该种植物的系统分类及杂交育种等方面的研究提供比较详细的基础资料。

1 材料与方法

光叶藤蕨孢子采自海南省五指山。凭证标本现存于哈尔滨师范大学植物标本室。于采集地将着生有成熟孢子囊的孢子叶羽片剪下, 放入纸袋内密封, 并置于干燥的环境中, 待孢子囊自然开裂、孢子向外散出时, 收集粉末状的孢子, 置于 4℃ 冰箱中保存或直接播种。

将用细筛筛过的暗棕壤装袋灭菌, 然后放入直径为 12 cm 的培养皿中, 土厚约 2 cm, 基质表面平整压实后, 将培养皿淹水至基质表面出现水痕, 然后将孢子均匀撒于土壤表面。培养条件为: 温度 20~28℃, 日光光强为 150~200 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, 每日光照时间 10~14 h, 相对湿度 85%~95%。重复培养 3 次, 每次 3~5 份。用 Olympus-BH₂ 光学显微镜定期检查, 取典型材料进行活体制片观察, 并用 Nikon ECLIPSE-E600 相机记录其稳定的形态特征。

2 结果与分析

2.1 孢子及孢子萌发 光叶藤蕨孢子呈褐色, 单裂缝, 极面为椭圆形, 赤道面为豆形, 表面不光滑, 无周壁, 有疣状突起(图版 1)。孢子吸水膨胀后, 体积增大约为原来的 120%, 颜色逐渐变为绿色(图版 2)。培养 1 周后的孢子开始萌发, 自裂缝处伸出 1 条或 2 条无色透明的初生假根, 而且假根中有不均匀的颗粒状物质, 细胞质不均匀(图版 3)。

收稿日期: 2012-01-31

基金项目: 国家自然科学基金资助(31170294)

作者简介: 李范(1988-), 女, 吉林长春人, 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院硕士。

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

2.2 原叶体 由于幼小细胞的分裂活动而形成片状体,片状体进一步生长并形成心形的原叶体。幼原叶体的细胞内充满多而密的叶绿体,心形形状已经很明显,底部有假根形成,生长点附近细胞小、细胞质浓,而底部的细胞体积大、细胞质稀(图版 4)。成熟原叶体呈现对称的心形,并且生长点处凹陷较深,细胞略呈方形,自中肋处斜向上生长(图版 5)。

2.3 生长点 光叶藤蕨的配子体在不同的发育时期,其生长点的形状也不尽相同。在幼原叶体时期,其生长点呈现平滑的曲线状,生长点凹陷较浅,凹陷处的上方比较开阔;成熟原叶体时期生长点的凹陷加深,两翼内侧的边缘近于平行(图版 6)。另外,还有些成熟原叶体的单翼边缘有生长点存在(图版 5)。

2.4 毛状体 毛状体由部分边缘细胞分裂而形成,片状体时期开始发生,但多见于原叶体时期。毛状体的发生初期,首先是边缘细胞的细胞壁向外凸起,随着细胞的不断增大,逐渐形成乳突状或圆柱状的毛状体(图版 7)。毛状体多数由单细胞构成,但也有部分毛状体由 2 个细胞构成,在这种情况下,构成毛状体的 2 个细胞通常上下垂直排列,叶绿体多集中于上部的细胞内(图版 8)。有些毛状体的基细胞增大并凸起,毛状体着生在基细胞的一侧(图版 9);有些毛状体着生在 2 个边缘细胞之间(图版 10,11);在某种情况下,3 个毛状体的基部还可以生长在一起,而顶部分开(图版 12)。正常情况下,毛状体细胞内应均匀分布且有叶绿体,但当毛状体老化时,叶绿体常聚集于毛状体细胞的上、中部,下部没有叶绿体(图版 13)。

2.5 假根 假根由营养细胞外突延长而形成。幼原叶体的假根多发生在腹面,随着原叶体的生长,在原叶体的边缘也会发育出假根。光叶藤蕨的初生假根无色透明、呈管状,其内部常积累有颜色较深的物质,外壁粗糙(图版 14)。进入成熟配子体阶段,假根变得明显较初生假根粗壮,颜色逐渐变为黄褐色,粗细变得不均匀,局部常呈半球形突起(图版 15)。

2.6 边缘细胞 边缘细胞的外缘轮廓都很平滑。生长点附近的边缘细胞、细胞壁稍微向外凸起,叶绿体均匀分布于整个边缘细胞内(图版 16)。但在强光或水势异常的情况下,叶绿体会分布于边缘细胞的内侧,使边缘细胞的外侧呈现半透明的状态(图版 17)。

2.7 原叶体细胞及叶绿体 光叶藤蕨的原叶体细胞大小不一、形态各异。生长点附近的细胞小而密集,近似长条形(图版 6);两翼前上方的细胞大、呈多边形,细胞内的叶绿体大而饱满(图版 18,19);叶缘细胞略呈方形,大而排列紧密(图版 16);老化的原叶体细胞体积变大,其内部的叶绿体萎缩变小(图版 20)。当毛状体老化坏死后,其基部的原叶体细胞常形成黑色的、呈多边形的坏死斑点,但不影响其周围的细胞正常生长(图版 21)。

叶绿体大多数呈椭球形,部分呈哑铃形或圆盘形,在长势良好的原叶体细胞内,叶绿体的分布是均匀的(图版 22)。但细胞在衰老过程中,其内部的叶绿体会逐渐聚集,随后萎缩变小,直至消失(图版 20)。如果遇到强光等逆境条件,边缘细胞中的叶绿体只分布于细胞的内侧壁,而同一个原叶体中其他细胞的叶绿体却是均匀分布的(图版 17)。

2.8 精子器及颈卵器 播种约 40 d 开始出现精子器,精子器近似圆球形(图版 23),每个原叶体上着生 15~25 枚精子器,由于精子器的发生是连续进行的,所以实际数目可能会更多。精子器混生于基部的假根丛中(图版 24),成熟前,其盖细胞是封闭的,成熟后,特别是在有水的条件下,盖细胞会破裂释放精子。

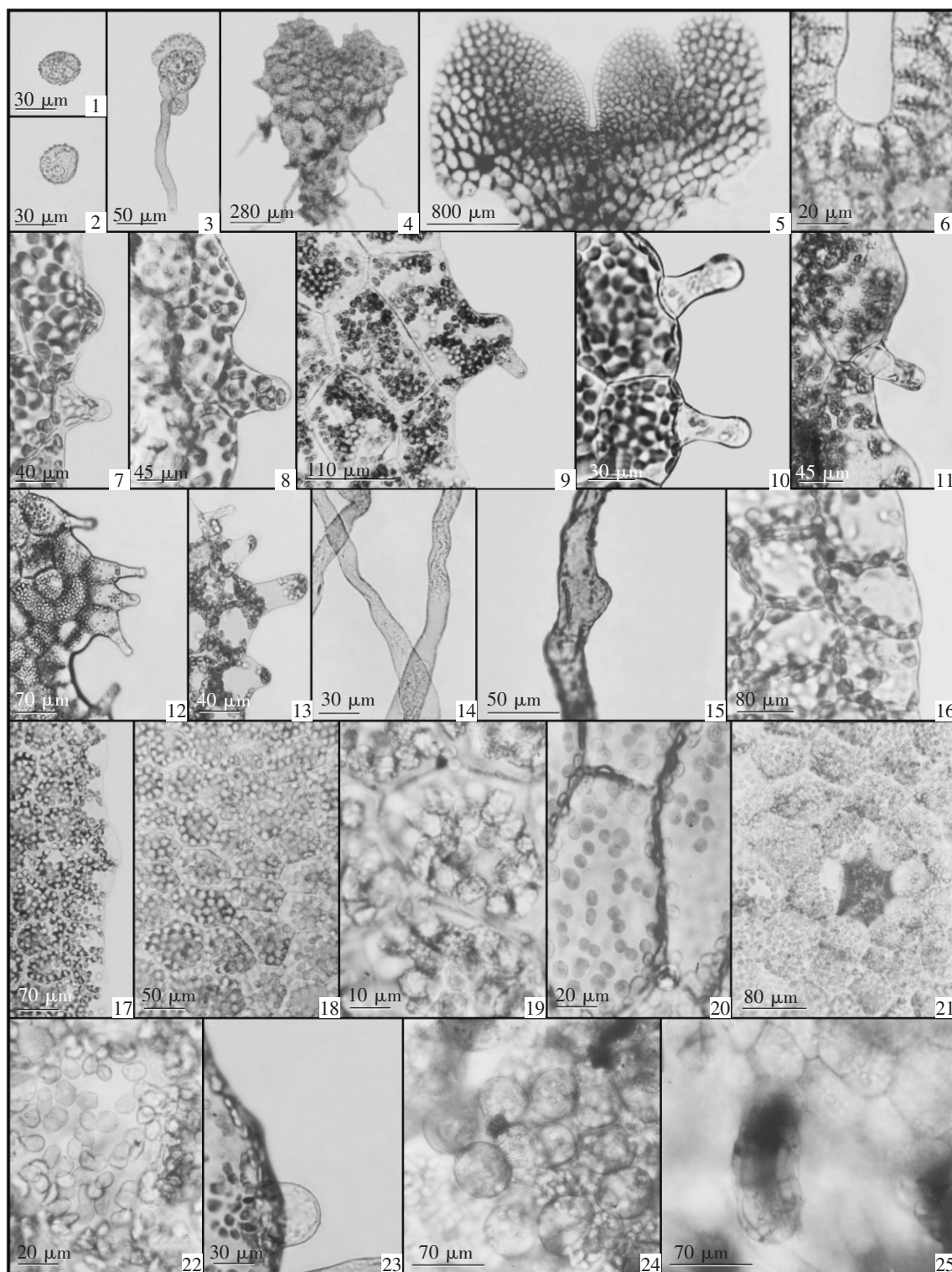
颈卵器生长于心形原叶体的中肋上端区域,其颈部常向原叶体基部倾斜或弯曲。颈卵器侧面观细长,由 5 层细胞构成,从顶部到腹部颜色逐渐加深(图版 25)。当颈卵器成熟后,会于适宜的条件下露出颈沟,同时释放出一些粘液类物质,引导精子游入颈卵器内。

随着培养时间的延长,原叶体上老的性器(包括精子器和颈卵器)不断地衰亡,幼的性器不断地产生。

3 讨论

蕨类植物配子体的假根为单细胞、管状,主要起吸收和固着的作用^[10]。所以,光叶藤蕨的初生假根内细胞质不均匀,分布有大小不一的颗粒状物质,可能是从基质中吸收营养物质所致,这种现象在其他蕨类植物中也较常见。另外,在光叶藤蕨中还观察到假根局部呈半球形凸起的现象,这或许是光叶藤蕨配子体提高固着能力的一种方式。曾汉元和丁炳扬^[11]曾提出毛状体的出现是蕨类植物配子体的一种进化现

象,戴绍军等^[2]在研究鹿角蕨(*Platynerium wallichii* Hook.)配子体时也曾提出毛状体顶端的分泌物可能有利于其在自然界中生存。光叶藤蕨具有含叶绿体的毛状体,而且毛状体的端部具有分泌物,由此可以推断光叶藤蕨的系统位置相对进化。



图版 光叶藤蕨配子体发育的全过程

1~2: 孢子; 3: 孢子萌发; 4~5: 原叶体; 6~13: 毛状体; 14~15: 假根; 16~17: 边缘细胞;
18~21: 原叶体细胞; 22. 叶绿体; 23. 精子器; 24. 精子器群; 25. 颈卵器

本实验中还观察到配子体边缘细胞中的叶绿体会随着光照强度的不同而发生位移(图版 17)。这与刘保东等^[1]首次在对开蕨(*Phyllitis scolopendrium*)配子体中观察到的现象类似,檀龙颜等^[4]在竹叶蕨(*Taenitis blechnoides*)配子体中也观察到叶绿体会随光照发生位移的现象。所以笔者认为,这可能是存在于蕨类植物配子体中的一种普遍现象,有利于抵抗外界不利的环境条件,是抗逆性的一种适应性表现。此外,部分光叶藤蕨的原叶体有拟生长点(图版 5),即生长点附近的翼片前缘产生另一凹陷,形成类似于生长点的结构。这可能是由于某种环境条件破坏了原叶体边缘的个别细胞,而其相邻的细胞不但受影响,反而加速发育,起到了补偿作用。这似乎表明光叶藤蕨配子体的自愈能力或适应能力较强。

光叶藤蕨是生长于热带和亚热带地区的大型攀援蕨类,具有较强的观赏性,但迄今为止,我国尚无人工繁殖的记录。笔者观察了光叶藤蕨完整的生活史,建立了光叶藤蕨的人工繁殖方法,各项观察结果都表明,光叶藤蕨配子体的抗逆性较强,易于通过孢子进行人工批量育苗繁殖。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 6 卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 樊智丰, 岳锋, 彭建松. 云南省主要野生观赏蕨类植物资源研究 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7247–7250.
- [3] SUBBA D K, RAI B K, DHAKAL M R. Food value of some edible ferns from Dharan, southeastern Nepal [J]. Journal of the Bombay Natural History Society, 2001, 98: 499–502.
- [4] LIU H, ORJALA J, RALI T, et al. Glycosides from *Stenochlaena palustris* [J]. Phytochemistry (Oxford), 1998, 49: 2403–2408.
- [5] 杨光穗, 尹俊梅, 徐世松, 等. 海南蕨类植物资源及其开发利用 [J]. 海南师范大学学报: 自然科学版, 2007, 20(1): 69–74.
- [6] 范亚文, 戴绍军. 4 种蕨类植物孢子形态的扫描电镜观察 [J]. 哈尔滨师范大学学报: 自然科学版, 1999, 15(1): 73–76.
- [7] DARNAEDI D, PRAPTOSUWIRYO T N, AMOROSO V B, et al. Plant resources of south-east Asia NO 15(2) [M] // de WINTER WP, AMOROSO VB. Cryptogams: Ferns and fern allies, Leiden: Backhuys Publishers, 2003: 186–188.
- [8] HAGEMANN W. Towards an organismic concept of land plants: The marginal blastozone and the development of the vegetation body of selected frondose gametophytes of liverworts and ferns [J]. Plant Systematics & Evolution, 1999, 216: 81–133.
- [9] LENETTE R A. 配子体与科的关系 [M]. 刑公侠, 译. 北京: 科学出版社, 1987, 22: 226–238.
- [10] 张耀甲. 颈卵器植物学 [M]. 甘肃: 兰州大学出版社, 1994: 12–13, 95.
- [11] 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.
- [12] 戴绍军, 刘焕宏, 陈立群. 鹿角蕨配子体发育的研究 [J]. 哈尔滨师范大学学报: 自然科学版, 1998, 14(1): 71–74.
- [13] 刘保东, 包文美, 敖志文. 中国产对开蕨配子体发育的研究 [J]. 植物研究, 1991, 11(2): 93–100.
- [14] 檀龙颜, 刘保东. 竹叶蕨配子体发育的培养观察 [J]. 广西植物, 2009, 29(4): 446–449.

Development of Gametophyte of *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd.

LI Fan^{1,3}, MENG Xian-li^{2,3}, SUN Shu-hong^{2,3}, LIU Bao-dong^{1,3}

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

2 Mudanjiang No. 1 Senior High School, Heilongjiang 157000, China;

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

Abstract: *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd. was cultured to observe its gametophyte development, the whole course of which was recorded. A propagation method for *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd. has then been established.

Key words: *Stenochlaena palustris* (Burm.) Bedd.; gametophyte; artificial propagation