

文章编号: 1674-7054(2012)04-0357-04

金毛狗配子体形态学特征的观察

邢建娇^{1,3}, 孙淑红^{2,3}, 孟宪利^{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: 选取国家二级重点保护野生植物金毛狗 *Cibotium barometz* (Linn.) J. Sm. 为研究对象, 利用光学显微镜观察了其配子体发育的过程, 重点讨论了前人未观察到的毛状体, 并给出了其幼孢苗的人工繁殖方法。金毛狗具有较高的观赏价值和药用价值。笔者初步探索了孢苗发生率以及环境条件的关系, 为金毛狗人工繁殖和经济开发积累了有效的经验和方法。

关键词: 金毛狗; 配子体; 形态学

中图分类号: Q 914.85

文献标志码: A

金毛狗 *Cibotium barometz* (L.) J. Sm. 为国家二级重点保护的濒危蕨类野生植物, 曾被归入桫欏科 (Cyatheaceae)^[1], 现属蚌壳蕨科 (Dicksoniaceae), 分布于我国西南、华南及华东地区, 生长于山麓沟边及林下酸性土上, 为多年生高大树状蕨类植物, 为单种科^[2]。金毛狗有较明显的树形主干, 是著名的大型室内观赏蕨类。其根状茎可供药用, 能补肝肾、强腰膝、除湿、利尿通淋; 其金黄色绒毛可用于止血, 是传统常用药材, 很多版本的《中国药典》均有记载。迄今为止, 对金毛狗的报导多集中在其系统分类^[3]、资源评价^[4-5]、化学成分^[6]及药用成分^[7-8]等方面。关于金毛狗配子体的发育, 前人已经做过较细致的研究^[9-12], 但笔者对其进行反复实验时发现, 前人对金毛狗配子体的观察、描述还存在一定的缺憾, 其素材仍满足不了人们的需要。因此, 笔者针对金毛狗配子体发育过程中的一些典型而稳定的特征, 如孢子萌发、配子体发育、孢苗发生率等环节做了深入细致的观察, 旨在为金毛狗人工繁殖和经济开发提供理论指导与技术支持。

1 材料与方法

1.1 材料 金毛狗 *Cibotium barometz* (Linn.) J. Sm. 孢子由深圳仙湖植物园提供, 凭证标本现存于哈尔滨师范大学植物标本室。

1.2 方法 将刚发育成熟的孢子叶采回, 放于干燥、阴凉的环境中, 待孢子散落后, 将其去杂, 用硫酸纸收集孢子, 保存于 4℃ 冰箱, 及早进行重复播种。将新鲜孢子接种于改良的 Knop's 半固体琼脂平板培养基中培养, 每日日光光照为 14 h, 光照强度为 120~150 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$; 环境温度为黑暗下 18℃, 光照下 20℃; 相对湿度保持在 90% 以上。培养过程中, 适当对所选材料进行抗逆性对照, 观察其形态变化。选取典型而稳定的特征, 在 Nikon 显微镜下记录并拍照。文中数值为随机测得的 20 个数的平均值, 并给出所测数值的范围, 颜色以肉眼所见为准。

2 结 果

2.1 原叶体 孢子萌发后, 原叶体母细胞经数次横分裂形成丝状体, 少数情况下, 丝状体可长达 10 个细

收稿日期: 2012-01-31

基金项目: 国家自然科学基金(31170294)

作者简介: 邢建娇(1986-), 女, 黑龙江双鸭山人, 硕士, 主要从事植物学科科研工作。

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

胞,再由丝状体先端细胞不断分裂形成片状体,继而发育为形态不规则的幼原叶体(图版1);也有丝状体发育至4细胞时就开始分裂,形成具有狭长带状的幼原叶体,其生长点明显偏生(图版2),通过在以后的发育过程中不断地自行分裂调节,生长点逐渐位于原叶体中央,幼原叶体的两翼逐渐外延扩展,直至在生长点上方相重叠,基部骤缩,扭曲(图版3)。成熟原叶体两翼在基部几乎相接为一直线,因翼缘细胞不规则向外凸出,致使翼缘呈波形状。假根多数,中褥显著(图版4)。

老的原叶体常因细胞扩展速度不同而基部钝圆,翼缘具褶皱,两翼向上逐渐收缩,其内侧边缘在生长点上方不相重叠。假根淡褐色,多集中于原叶体腹面(图版5);也有特殊形态的原叶体,其两翼平直展开,基部逐渐下延为尾状,略扭曲。在生长点上方的两翼缘处,可见体积较小且不均等向外凸出的毛状体(图版6)或是两翼对称的原叶体。生长点呈“U”形,基原细胞处又发育出新的片状分支,假根较少(图版7)。但对于两翼不对称的原叶体而言,中褥距离生长点较近(图版8),其上多集中分布有性器,且距离假根丛较近(图版9)。有的原叶体在发育过程中,由于某一营养细胞向一侧分支,故发育出较长的丝状结构(图版10)。

2.2 毛状体 毛状体幼时为帽状或乳突状(图版11),直径为8 μm ,最早产生于幼原叶体的翼缘细胞处或着生在2个营养细胞外方(图版12),偶见从相邻细胞同时向外凸出2个毛状体的现象(图版13)。正常条件下,毛状体自产生后7~10 d即衰老脱落(图版14)。

2.3 细胞及叶绿体 原叶体边缘细胞形状不规则,有心形、“U”形和长方形等多种形态(图版14)。叶绿体均匀分布于整个细胞中,且翼缘细胞间具有明显的胞间连丝(图版15)。叶绿体多为颗粒状,也有长柱状或中间缢缩的“哑铃”形,直径6 μm (图版16),光强大于160 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,叶绿体呈环状均匀分布于营养细胞内(图版17)。原叶体的营养细胞大小不一,近方形(图版18)。生长点处细胞体积较小,表面观为长条形,富含叶绿体,由生长点至中褥处细胞体积逐渐增大(图版19)。

2.4 假根 孢子萌发初期由营养细胞外凸产生初生假根,约10 d即发育成管状,直径达14 μm ,长约1 800~2 500 μm 不等,多发生在原叶体基部及边缘。进入成熟配子体阶段后,假根渐变为褐色,可增至百余条,常分布于原叶体腹面下部,粗细不均(图版20)或呈不规则螺旋状(图版21),幼嫩的假根为近乎无色透明的圆柱状(图版22)。

2.5 性器 培养约55 d,原叶体绿色,表面出现晶亮的水珠。精子器于原叶体的营养细胞处产生,近泡状,均质、透明,由第1环细胞、第2环细胞和1个盖细胞组成,混生于假根丛中、两翼下部及近中褥处(图版23,箭头所示)。精细胞成熟时,精子器盖细胞孔裂,精子逸出,随后精子器(图版24)将逐渐老化。

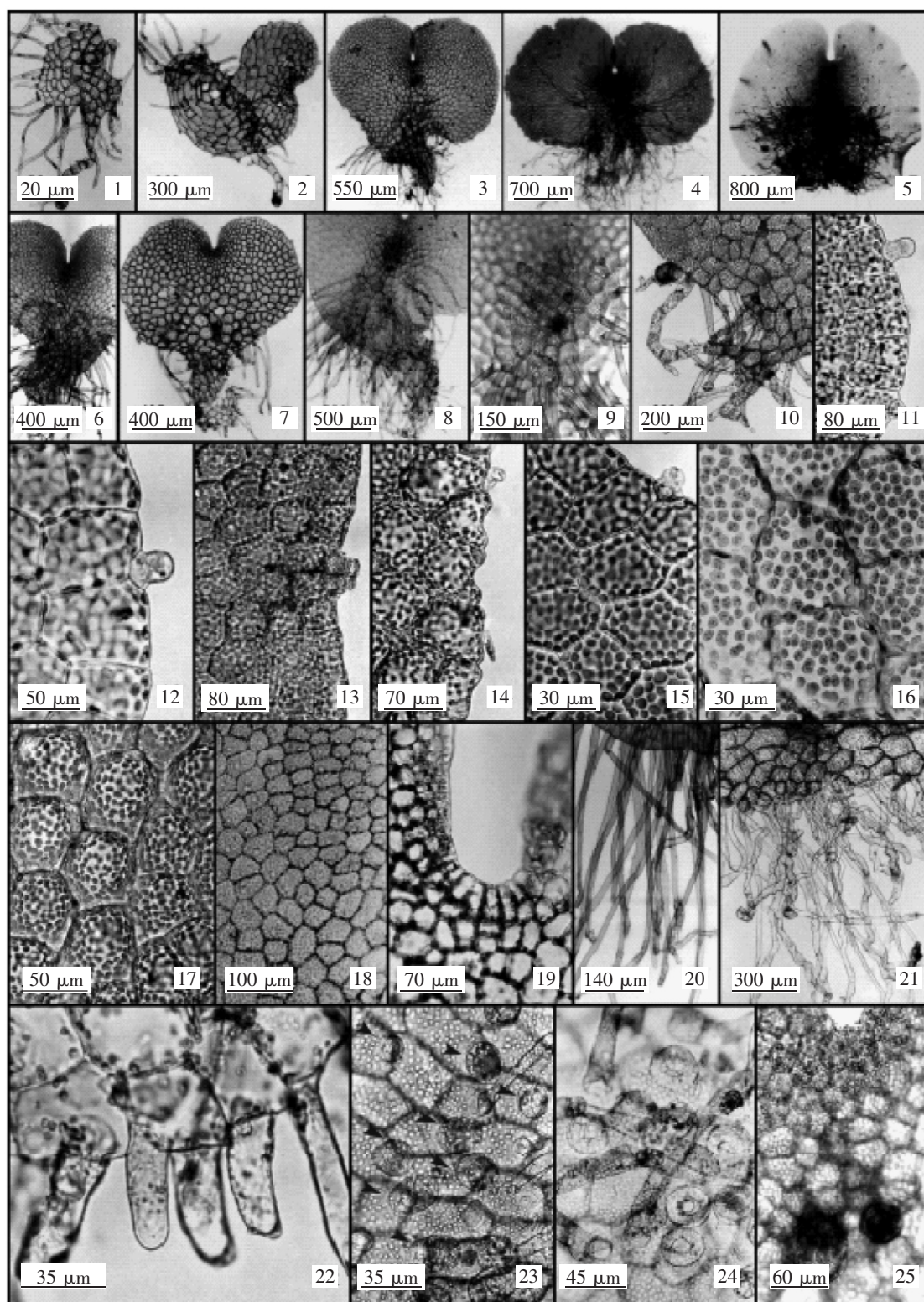
自产生10多个精子器之后出现颈卵器,颈卵器最初由原叶体的1个楔形原始细胞发育而来,生长于生长点附近,直径约59 μm ,距离生长点约200 μm (图版25)。

2.6 幼孢苗 人为控制光照、温度等条件,利用金毛狗的孢子直接进行繁殖,可使配子体的受精率约达80%,幼孢子体移栽入盆的成活率可达85%以上,且从播种孢子到分株移栽约需95 d。

3 讨论

原叶体基部形态常扭曲或基部钝圆,两翼内侧边缘在生长点上方不相接以及在原叶体基原细胞处分支出片状结构或较长丝状结构,关于金毛狗这些典型而稳定的形态特征尚未见报道,其原因可能是观察者不细致或就某个发育时期遗漏所致,而Nayar^[1]认为原叶体的这些形态在分类上具有重要的稳定特征。就毛状体的有无,笔者与前人的描述存在差异:一些学者^[10,13]认为,金毛狗配子体发育过程中无毛状体;而事实上,该种是具有不发达毛状体的,只是毛状体较小、寿命较短、数量较少、发生率低而已。毛状体的有无、形态特点等又是鉴别原叶体科或属间的依据^[14],因而,笔者认为在探讨金毛狗的系统分类地位时应该参考毛状体的特征。

关于翼缘细胞的形态,笔者与Momose^[14]的观察是一致的。叶绿体在不同位置出现的不同形态,经细致连续的观察,发现这些叶绿体像原核生物一样,以“无丝分裂”形式来增加数量;金毛狗细胞内的叶绿体趋光运动方式与刘保东等^[14]首次在对开蕨*Phyllitis scolopendrium* (L.) Newm. 配子体中观察到的完全一致,与苔藓植物的配子体也高度相似,上述叶绿体的这些特征蕴藏了怎样的细胞学机理,它们对植物系统演化又有怎样的意义,还有待进一步深入的研究。李兆亮等^[15]认为,在蕨类植物的培养过程中,当原叶体由绿色转变为浅褐色时,表明精子器已经成熟;而曾汉元和丁炳扬^[16]在研究了21种蕨类植物的配子体发



图版 金毛狗配子体形态学特征的观察

1. 不规则幼原叶体; 2. 幼原叶体生长点偏生; 3. 幼原叶体基部扭曲; 4. 成熟原叶体; 5. 老的原叶体; 6. 特殊原叶体; 7. 原叶体基部具片状体分支; 8. 不对称的原叶体; 9. 原叶体基部; 10. 原叶体具丝状分支; 11. 幼毛状体; 12. 毛状体; 13. 2 条毛状体; 14. 衰老的毛状体; 15. 胞间连丝; 16. 不同类型的叶绿体; 17. 叶绿体均匀分布于细胞内; 18. 营养细胞; 19. 生长点; 20. 假根粗细不均; 21. 假根螺旋; 22. 假根初期形态; 23. 精子器(箭头所示); 24. 精子器群; 25. 颈卵器

育过程中,发现当原叶体上出现晶亮水珠时,精子器即已成熟,但此时原叶体仍为绿色,笔者的观察结果与后者吻合。陈水木^[2]认为,精子器盖细胞为盖裂,而笔者观察到的则是孔裂,可能是前人观察有误,也可能是由于不细致而造成的。笔者认为,性器是最保守的、最稳定的遗传结构,是不应该有盖裂和产生如此大幅度变化的。

本实验详细观察了金毛狗的生活史,初步掌握了金毛狗孢子的人工繁殖方法。在控制光照、温度等培养条件下,提高了配子体的受精率以及幼孢子体成苗率,利用孢子对其进行繁殖不仅缩短了育苗周期,更具简单、高效、经济等显著优点。因此,建议尝试用孢子育苗的方法进行金毛狗的规模化生产,以便于对其资源进行进一步的开发利用。

参考文献:

- [1] NAYAR B K, KAUR S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. Botany Review, 1971, 37(3): 418–438.
- [2] 吴兆洪, 秦仁昌. 中国蕨类植物科属志 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 188–190.
- [3] WAGNER W H. Hawaii's Satchel-Sorus tree ferns, *Cibotium* species: what is their taxonomic status? [J]. Fiddlehead Forum, 1990, 17(1): 7–8.
- [4] ZHANG X C, JIA J S, ZHANG G M. Survey and evaluation of the natural resources of *Cibotium barometz* (L.) Smith in China, with reference to the implementation of the CITES convention [J]. Fern Gazette, 2002, 16: 383–387.
- [5] JIA J S, ZHANG X C. Assessment of resources and sustainable harvest of wild *Cibotium barometz* in China [J]. Medicinal Plant Conservation, 2001, 7: 25–27.
- [6] 贾天柱, 李军, 解世全, 等. 狗脊及其炮制品挥发油成分的比较研究 [J]. 中国中药杂志, 1996, 21(4): 216–218, 255.
- [7] 程启厚, 杨中林, 胡永美. 狗脊化学成分的研究 [J]. 药学进展, 2003, 27: 298–299.
- [8] 张春玲, 王喆星. 狗脊化学成分分离与鉴定 [J]. 中国药物化学杂志, 2001, 11: 279–280.
- [9] STOKEY A G. Prothallia of the Cyatheaceae [J]. Bot Gaz, 1930, 90: 1–45.
- [10] MOMOSE S. Prothallia of the Japanese ferns [M]. Japan: University of Tokyo Press, 1967.
- [11] HUANG Y M, KUO C Y, CHIOU W L. Morphology of gametophytes and young sporophytes of *Cibotium* Kaulf. native to Taiwan [J]. Taiwan J Forest Sci, 2003, 18: 163–170.
- [12] 陈水木, 邓洪平, 刘光华, 等. 金毛狗配子体发育阶段性及其多样性研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(3): 460–463.
- [13] ATKINSON L R, STOKEY A G. Comparative morphology of the homosporous ferns [J]. Phytomorphology, 1964, 14: 51–70.
- [14] 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(2): 93–100.
- [15] 李兆亮, 原永兵, 曹宗翼. 藻类植物和蕨类植物有性生殖的细胞生物学和生物化学研究现状 [J]. 植物学通报, 1995, 12(2): 1–8.
- [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.

New Observation of Morphological Characteristics of Gametophyte in the Endangered Fern *Cibotium barometz*

XING Jian-jiao^{1,3}, SUN Shu-hong^{2,3}, MENG Xian-li^{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, Mudanjiang 157000, China;

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

Abstract: *Cibotium barometz* (Linn.) J. Sm., a large fern, grouped in the Category II of State Special Protected Plants was used as material to observe its gametophytic development by using optical microscope. The hairy filaments which were not observed by other researchers are observed and discussed emphatically, and a propagation method for juvenile sporophytes is described. *C. barometz* has a very high ornamental and medicinal value. The rate of sporophytes and its relationship with environmental conditions are discussed.

Key words: *Cibotium barometz*; gametophyte; morphology