

四回毛枝蕨配子体发育的研究

罗顺元, 王任翔*

(广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 采用 MS 培养基培养四回毛枝蕨孢子, 利用光学显微镜详细观察记录了其孢子萌发、配子体发育及幼孢子体形成的整个过程。结果表明: 成熟的孢子黑褐色, 不透明, 极面观圆球形, 赤道面观蚕豆型, 单裂缝, 表面微褶皱。播种后 8 d 左右萌发, 萌发类型为书带蕨型, 配子体发育为三叉蕨型。播种 20 d 左右发育为片状体。播种 30 d 左右形成幼原叶体, 幼原叶体暂不对称, 成熟原叶体呈蝴蝶形。原叶体边缘及背腹面都具毛状体, 数量丰富, 单细胞。播种 50 d 左右开始有性器官出现, 精子器近圆球形, 由 3 细胞构成, 成熟颈卵器颈部由 5 列细胞构成。原叶体受精后 1 月内可看到幼胚生成。

关键词: 四回毛枝蕨; 孢子萌发; 配子体发育

中图分类号: Q949.36 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)03-0332-04

Gametophyte development of *Leptorumohra quadripinnata*

LUO Shun-Yuan, WANG Ren-Xiang*

(College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract: The spores of the *Leptorumohra quadripinnata* were cultured in MS medium. The spore germination, gametophyte development and formation of young sporophytes were observed in detail by microscope. The result indicates that the mature spores are black-brown, monolete, little draped surface and horsebean-shaped in equatorial view and elliptical in polar view. The spores germinate about 8 days after sowing, the germination type is Vittaria-type and the gametophyte development is Aspidium-type. The prothallial plates form about 20 days after sowing. The young prothallia develop about 30 days after sowing, they are not symmetry temporarily, but the mature prothallia are papilionaceous. Profuse unicellular hairs occur in the whole surface and the margin of the prothallium. The sex organs form about 50 days after sowing. The antheridia look like pellets and are formed by three cells. The archegonial neck is often formed by 5 rows of cells. Young embryos can be seen from the prothallium in one month after fecundation.

Key words: *Leptorumohra quadripinnata*; spore germination; gametophyte development

蕨类植物有两个独立的生活植物体世代——孢子体世代和配子体世代, 其中配子体世代时间短, 易于观察记录。关于蕨类植物配子体的发育过程, 前人已作过大量的研究, Nayar & Kaur (1971) 在研究了一百多种蕨类植物配子体的发育过程后, 将薄囊蕨纲配子体的发育方式归纳为槲蕨型、铁线蕨型、三叉蕨型等七大类型。近年来国内也有不少这方面的研究, 包文美等 (1988, 1995a, b)、张开梅等 (2005b)、

徐艳等 (2005) 分别对球子蕨科、中国蕨科、铁角蕨科、凤尾蕨科、水龙骨科中一些种做过配子体发育过程的研究, 为探讨科、属的系统发育和分类提供资料。

在鳞毛蕨科 (Dryopteridaceae) 配子体发育过程的研究中, 王全喜等 (1995) 研究了东北产的鳞毛蕨属的粗茎鳞毛蕨 (*Dryopteris crassirhizoma*)、华北鳞毛蕨 (*D. goeringiana*)、远东鳞毛蕨 (*D. sichotensis*) 和耳蕨属中的鞭叶耳蕨 (*Polystichum craspe-*

收稿日期: 2006-05-16 修回日期: 2006-12-15

作者简介: 罗顺元 (1982-), 男, 湖南永州人, 硕士研究生, 主要从事蕨类植物的发育生物学和组织培养研究, (E-mail) HNRLSY@163.com.

* 通讯作者 (Author for correspondence, E-mail: WRX05@126.com)

dosorum)、棕鳞耳蕨(*P. braunii*), 张开梅等(2005a)研究了鳞毛蕨属的三角鳞毛蕨(*Dryopteris subtriangularis*)。曾汉元等(2003)对林毛蕨科中的贯众属的镰羽贯众(*Cyrtomium balansae*)、复叶耳蕨属的斜方复叶耳蕨(*Arachniodes rhomboidea*)、耳蕨属的对马耳蕨(*Polystichum tsus-simense*)的配置体发育形态进行过描述。此外, Momose(1967)观察记录了许多日本产的鳞毛蕨属和耳蕨属植物的配子体成体形态。

四回毛枝蕨(*Leptorumohra quadripinnata*)属于鳞毛蕨科毛枝蕨属。该属植物全世界仅有4种, 分布于东亚日本、朝鲜和中国, 中国产3种分别为四回毛枝蕨、毛枝蕨(*Leptorumohra miqueliana*)和无鳞毛枝蕨(*L. sino-miqueliana*), 四回毛枝蕨产广西、台湾和云南(武素功, 2000)。该种蕨类株高90 cm左右, 造型优美, 可做观赏植物。毛枝蕨属的配子体发育研究至今尚无报道。本文通过MS无菌培养, 研究了四回毛枝蕨的孢子萌发以及整个配子体发育过程, 为毛枝蕨属的科系分类学及园艺栽种提供资料。

1 材料和方法

1.1 孢子的采集

四回毛枝蕨孢子于2005年11月1日采于桂林。生长地位于山谷的常绿林下。标本采回后, 将成熟孢子从孢子叶片刮下来, 置于干净的纸袋中, 放在4℃的冰箱中保存, 供重复培养使用。

1.2 培养方法

采用MS培养基无菌培养。用滤纸包好成熟的孢子, 折成2 cm², 75%酒精消毒30 s, 无菌水漂洗一遍, 5% NaClO消毒15 min, 无菌水漂洗3遍, 然后在超净工作台上接种于MS培养基上。培养箱温度25℃, 日光灯光源, 每天光照12 h, 黑暗12 h, 光照强度为45 μmol·m⁻²·s⁻¹。在配子体发育的各个阶段用光学显微镜进行活体观察, 并用OLYMPUS DP70显微拍照机照相记录。

2 结果与分析

2.1 孢子及萌发

孢子黑褐色, 赤道面观蚕豆形, 极面观圆球形, 40 μm×80 μm(取15个孢子大小的平均值), 单裂

缝, 表面光滑, 不透明, 外壁波纹状褶皱(图版I:1)。孢子播种后吸水膨胀, 约8 d左右萌发。孢子萌发时先从裂缝中开裂, 接着长出一绿色细胞。与此同时, 绿色细胞的胞底部长出一条几乎垂直的假根, 假根白色透明不具叶绿体(图版I:2,3)。孢子萌发为书带蕨型(*Vittaria*-型)(Nayar & Kaur, 1971)。

2.2 丝状体

孢子萌发后, 原叶体原始细胞经过连续数次横向分裂, 形成2~8细胞的丝状体, 细胞长度与直径有些几乎等长, 有些细胞长度大于直径(图版I:4,5)。丝状体以单细胞居多, 偶见双列丝状体和多列丝状体, 但都是单条, 不分枝, 成圆筒状。细胞内可见大颗的叶绿体, 未见有油粒。

2.3 片状体

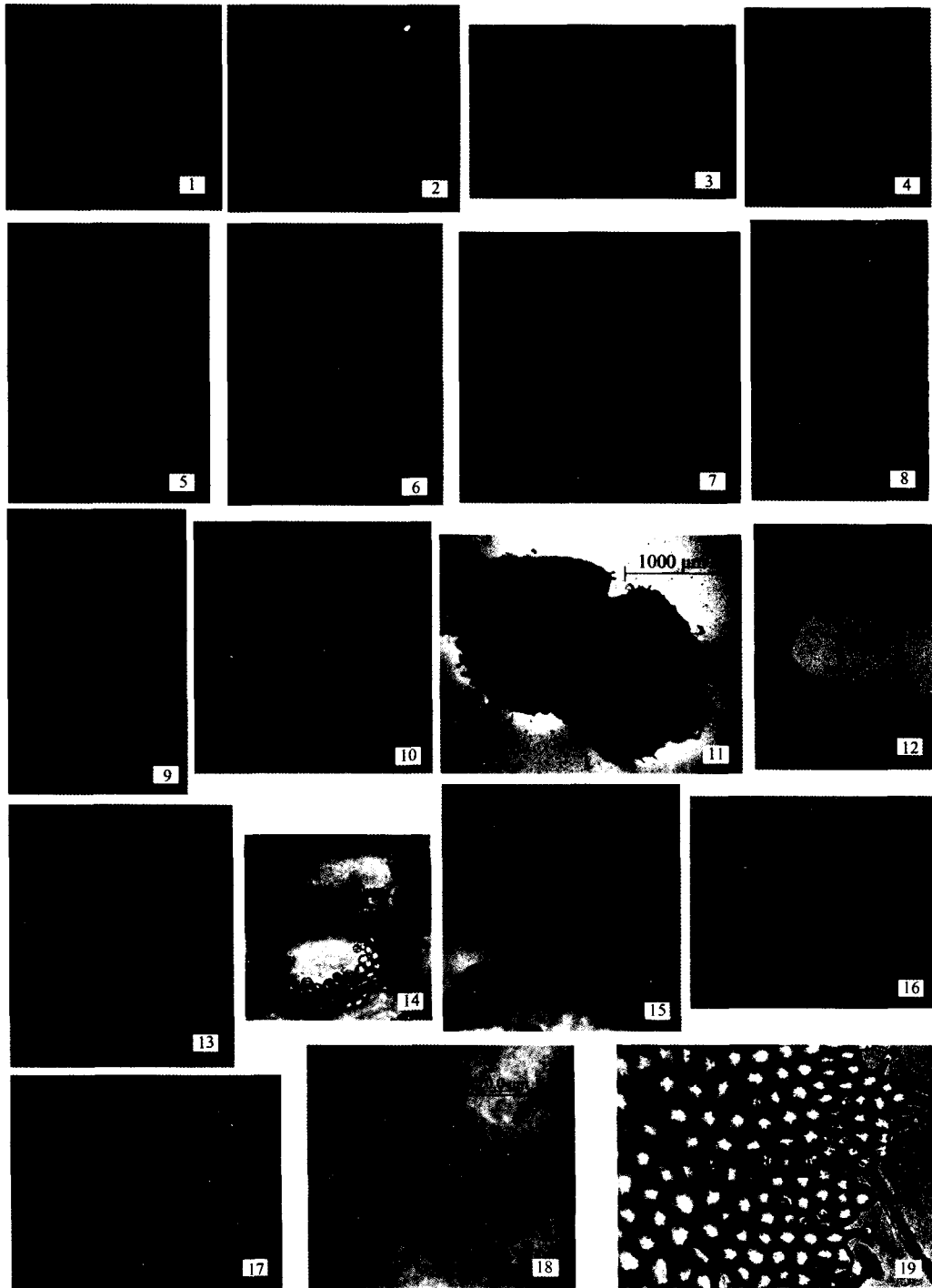
播种20 d左右, 丝状体顶端细胞不仅横向分裂而且纵向分裂, 开始发育为片状体(图版I:6)。其顶端一侧的边缘产生分生组织, 随后形成广阔的板状, 片状体大多为不对称状(图版I:7)。片状体顶端细胞上一般都长有毛状体。分生组织细胞不断分裂, 逐渐使片状体阶段进入到原叶体阶段。

2.4 原叶体

播种30 d左右, 幼原叶体形成。幼原叶体暂时不对称(图版I:9), 随着生长, 不对称现象逐渐消失, 而成为对称的心脏形(图版I:10)。原叶体发育方式为三叉蕨型(*Aspidium*-type)(Nayar & Kaur, 1971)。在原叶体的生长点区域, 其分生组织产生的边缘细胞位于边缘内侧, 为排列整齐而且紧密的契型细胞, 从前端到外侧, 体积逐渐增大, 形状仍保持一致, 与翼细胞区别明显(图版I:12)。幼原叶体在基部及后部长出几十条假根, 原叶体边缘及前部都长有毛状体。成熟的原叶体颜色为绿色或深绿色, 坚韧挺劲, 蝴蝶状, 大小一般为1.5~2.5 mm×3~5 mm, 细胞壁厚(图版I:11)。叶绿体丰富, 靠细胞壁分布(图版I:14)。

2.5 毛状体

毛状体一般为单细胞, 由营养细胞向外突出产生。毛状体最早见于片状体刚形成时的前端外缘(图版I:6), 在原叶体阶段遍布整个原叶体的外缘和前部。毛状体幼时长10 μm, 宽5 μm左右; 长成后形状有所变化, 成瓶颈状, 基部膨大圆球状, 顶部有球盖状附属结构包被, 靠近顶部附属结构处为细小颈部。毛状体高约60 μm, 基部直径10 μm左右, 颈部直径5 μm左右(图版I:13)。毛状体内具少量



图版 I 1. 孢子的形态,极面观和赤道面观; 2. 孢子萌发时裂开; 3. 孢子萌发及假根; 4. 三细胞长的丝状体; 5. 较长的丝状体; 6. 片状体出现第一条毛状体; 7. 出现分生组织的片状体; 8. 片状体边缘的毛状体及分生组织; 9. 不对称的幼原叶体; 10. 对称的幼原叶体; 11. 成熟的蝴蝶状原叶体; 12. 原叶体的生长点; 13. 原叶体上的毛状体及附属结构; 14. 成熟原叶体的细胞及叶绿体; 15. 劲卵器群; 16. 幼颈卵器侧面观; 17. 精子器; 18. 盖细胞开裂的精子器; 19. 密布于原叶体边缘及表面的毛状体。

Plate I 1. The shape of spores, the view in polar and view in equatorial; 2. The craze of spore germination; 3. Spore germination and its rhizoid; 4. Filament with three cells; 5. Longer filament; 6. The first hair of prothallial plate; 7. The prothallial plate with meristem appeared; 8. Hairs in the margin of prothallial plate and the meristem; 9. Asymmetry young prothallium; 10. Symmetry young prothallium; 11. The butterfly-shape mature prothallium; 12. The growing point of prothallium; 13. The hairs and their accessory structure in prothallium; 14. Cells and chloroplasts of mature prothallium; 15. Archegonium group; 16. Side face of young archegonium; 17. Spermogonium; 18. Craze covercell of Spermogonium; 19. Denseness hairs in the prothallium surface and margin.

叶绿体, 布满整个原叶体表面, 每个原叶体上的毛状体数量在几十到一百多不等(图版 I: 19)。

2.6 假根

最初的假根由孢子在萌发时产生, 假根白色透明, 无叶绿体(图版 I: 3)。孢子萌发时, 一般只产生一条假根。以后随着发育过程的进行, 在丝状体、片状体的基腹部不断有假根长出。到原叶体阶段时, 原叶体的基腹部长满假根。大部分假根直立且粗细均匀, 呈长管状, 长度多在 200~2 000 μm 之间。

2.7 性器官

播种 50 d 左右开始产生性器官。颈卵器都出现于原叶体的生长点之下到假根之间, 背腹面都有着生, 数目不多, 通常为 4~8 个。精子器大部分混生于原叶体基部的假根丛中, 数量较多, 在十几个到几十个之间。精子器呈长圆球形, 由三个细胞组成——基细胞、环细胞和盖细胞, 高约 50 μm , 直径约 40 μm (图版 I: 17)。精子器成熟时, 盖细胞裂开(图版 I: 18), 精子逸出。精子呈圆球形, 外背薄膜, 约 2 min 后, 薄膜溶解, 精子开始游动, 若不能与卵细胞结合, 10 min 左右便死亡解体。成熟的颈卵器颈部高约 100 μm , 直径约 50 μm , 由 5 列细胞组成, 5 个细胞高, 常向原叶体基部倾斜, 具有由多细胞组成的基座(图版 I: 15, 16)。

2.8 胚的发育

四回毛枝蕨受精后 1 个月内即可观察到从原叶体上生成的幼胚, 第一叶无拳卷现象。幼孢子体长出后, 原叶体仍继续生长一段时间, 但颜色逐渐变为褐色至黄褐色。当幼孢子体长出 2~4 片叶时, 原叶体死亡消失。

3 讨论

四回毛枝蕨的孢子极面观圆球形, 赤道面观蚕豆型, 单裂缝, 外壁有微褶皱。孢子萌发为书带蕨型, 原叶体发育为三叉蕨型。毛状体出现较早, 在丝状体末、片状体初期就发生, 在随后的原叶体阶段, 毛状体数量多而且覆盖整个原叶体。毛状体的出现是一个进化性状。一般说来, 只有进化地位较高等的蕨类植物的原叶体, 才具毛状体(曾汉元等, 2003)。萌发时的假根不具叶绿体, 表现为真蕨类植物中较进化的类型。另外, 四回毛枝蕨的精子器和颈卵器都较小, 这三种特征都表明了四回毛枝蕨属于进化等级较高的类型。

曾汉元等(2003)在研究了三种不同属的鳞毛蕨

科蕨类植物配子体发育过程, 以及总结王全喜等的报道后推测——“书带蕨型孢子萌发方式”和“三叉蕨型原叶体发育方式”在鳞毛蕨科的发育中可能具有普遍性。另外, 张开梅等(2005a)报道的三角鳞毛蕨配子体发育过程是这样, 本实验研究的四回毛枝蕨也是这样。可能“书带蕨型孢子萌发方式”和“三叉蕨型原叶体发育方式”在鳞毛蕨科的发育中真的具有普遍性。

本文详细观察记录了四回毛枝蕨的配子体生活史, 并拍下了高分辨率的全套照片, 为实验生物学领域开展分子生物学及遗传学等研究提供了可能材料。另外, 本文用 MS 培养基培养出的四回毛枝蕨有高达 80% 以上的配子体长出孢子体幼苗, 为四回毛枝蕨的批量规模化生产提供了依据。

参考文献:

- 武素功. 2000. 中国植物志: 第 5 卷第 1 分册[M]. 北京: 科学出版社, 1—220
- Bao WM(包文美), Wang QX(王全喜), Aur ZW(敖志文). 1995a. Studies on the development of gametophytes of ferns from North-Eastern China VIII Asplenaceae(东北蕨类植物配子体发育的研究 VIII. 铁角蕨科)[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, 15(1): 61—64
- Bao WM(包文美), Aur ZW(敖志文), Liu BD(刘保东), et al. 1988. Studies on the development of gametophytes of ferns from North-Eastern China V. Onocleaceae(东北蕨类植物配子体发育的研究 V. 球子蕨科)[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, 8(3): 193—208
- Momose S. 1967. *Prothallia of the Japanese Ferns*[M]. Tokyo: University of Tokyo Press
- Nayar, Kaur. 1971. Gametophytes of homosporous ferns[J]. *Bot Review*, 37(3): 295—396
- Wang QX(王全喜), Shao CW(邵成文), Cao JG(曹建国) et al. 1995b. Studies on the development of gametophytes of ferns from North-Eastern China XI. Dryopteridaceae(东北蕨类植物配子体发育的研究 XI. 鳞毛蕨科)[J]. *J Harbin Normal Univ(Nat Sci)(哈尔滨师范大学学报(自然科学))*, 11(4): 83—90
- Xu Y(徐艳), Shi L(石雷), Liu BD(刘保东). 2005. Observation on the gametophyte development of *Phymatosorus haiuauensis* (Polypodiaceae)(阔鳞瘤蕨(水龙骨科)配子体形态发育的研究)[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, 25(1): 34—38
- Zhang KM(张开梅), Shi L(石雷), Zhang XC(张宪春). 2005a. Observation on the gametophyte development of *Dryopteris subtriangularis*(三角鳞毛蕨配子体发育的研究)[J]. *J Wuhan Bot Res(武汉植物学研究)*, 23(3): 276—279
- Zhang KM(张开梅), Shi L(石雷), Li D(李东). 2005b. The gametophyte development in *Pteris ensiformis*(剑叶凤尾蕨配子体发育的研究)[J]. *Chin Bull Bot(植物学通报)*, 22(5): 556—571
- Zeng HY(曾汉元), Ding BY(丁炳扬). 2003. Studies on the gametophytes development ferns(蕨类植物配子体发育的研究)[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, 23: 154—158