

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201404040

邓晰朝. 野雉尾金粉蕨配子体发育及其系统学意义[J]. 广西植物, 2016, 36(1):96-100

DENG XC. Gametophyte development in *Onychium japonicum* and its systematic significance[J]. Guihaia, 2016, 36(1):96-100

野雉尾金粉蕨配子体发育及其系统学意义

邓晰朝

(河池学院 化学与生物工程学院, 广西 宜州 546300)

摘要:野雉尾金粉蕨为中国蕨科金粉蕨属植物,而金粉蕨属的系统位置一直存在争议。该研究用原生境腐殖土和改良克诺普氏(Knop's)营养液对野雉尾金粉蕨的孢子进行培养,培养条件为温度 25 °C、光照强度 2 500 lx、光照 12 h/d,在光学显微镜下观察记录其孢子萌发和配子体发育过程。结果表明:野雉尾金粉蕨的孢子为黄褐色,四面体型,三裂缝,赤道面观为扇形,具周壁,外壁表面具网状纹饰。孢子培养 7 d 后开始萌发,孢子萌发类型为书带蕨型(Vittaria-type)。孢子萌发后,配子体原始细胞经多次横向分裂形成 3~9 个细胞的丝状体,丝状体细胞呈圆筒形,壁薄,侧壁向外鼓起,含有颗粒较大且数量较多的叶绿体。15 d 左右发育为片状体,片状体多为匙状。25 d 左右形成幼原叶体,幼原叶体不对称,配子体发育类型为水蕨型(Ceratopteris-type)。在原叶体发育过程中分枝丝状体非常发达,配子体呈丛状生长,整个发育过程没有毛状体产生。野雉尾金粉蕨的假根为单细胞管状,偶有分支,内无叶绿体。45 d 左右精子器开始出现,精子器顶面观近圆形,侧面观为近椭圆形或短柱状。精子器成熟时,盖细胞裂开,精子逸出。60 d 左右颈卵器出现,颈卵器比较大,基部略大于顶部,侧面观呈烟卤状,顶面观为铜钱状,颈部由四列细胞构成。90 d 左右发育出肉眼可见的幼孢子体。从研究结果看,其配子体发育的特征与凤尾蕨科(Pteridaceae)凤尾蕨属(*Pteris* L.)相似,支持金粉蕨属归于凤尾蕨科的观点。该研究结果为野雉尾金粉蕨系统学研究提供了配子体发育方面的证据。

关键词:野雉尾金粉蕨, 孢子萌发, 配子体发育, 系统学意义

中图分类号: Q949.36 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2016)01-0096-05

Gametophyte development in *Onychium japonicum* and its systematic significance

DENG Xi-Chao

(School of Chemistry and Bioengineering, Hechi University, Yizhou 546300, China)

Abstract: *Onychium japonicum* falls into the category of *Onychium* Kaulf. of Sinopteridaceae; however, the alliance of *Onychium* remains controversial. In this study, the spores of *O. japonicum* were artificially cultured in the original habitat humus soil and improved Knop's nutrient solution in a constant temperature of 25 °C with 12 h of light and dark respectively per day and 2 500 lx of light intensity. Spore germination and gametophyte development were observed and recorded at every stage under the microscope. The results indicated that mature spores were tawny, tetrahedral, 3-colporate, with fan-shaped equatorial view, perispore and reticulation on the surface of the exine. The germination procedure was Vittaria-type while the gametophyte development was Ceratopteris-type. The spores cultivated in either of the two substrates began to germinate about 7 d and their germination shared the same Vittaria-type. With multiple transverse fission, the original gametophyte cell gradually turned into 3-9 protonemata with cylindrical shape, thin perispore, lumpy lateral exine and numerous granular chloroplasts. After about 15 d, the spores developed into prothallial plates and most of prothallial plates appeared spatulate.

收稿日期: 2014-07-27 修回日期: 2014-11-28

基金项目: 国家自然科学基金(31460049) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (31460049)].

作者简介: 邓晰朝(1969-),女,广西桂平人,硕士,副教授,主要从事植物学教学以及植物系统学的研究工作,(E-mail)hcxydc@163.com。

And 25 d later, young prothalliums were formed but they were not symmetrical; meanwhile, the gametophytes developed were Ceratopteris-type. When the prothalliums were developing, branching protonemata were flourishing and gametophytes were becoming fasciculate without any trichome. The rhizoids of *O. japonicum*, occasionally branching and lacking chloroplasts, were unicellular and tubular. After about 45 d, antheridium, composed of a cap cell, a ring cell and a basal cell, emerged from the edge of several irregular prothalliums. When the antheridium became mature, the cap cell split and sperm split. The antheridium looked like a circle from the top and an oval or a short column from the side. About 60 d later, a large archegonium was clearly visible. Its base was bigger than the top. It looked like a coin from the top and a chimney from the side. Its neck consisted of four rows of cells. When the archegonium was fully developed, sperm entered and fertilized the egg cell inside. Half a month later, a young embryo could be clearly seen. About 90 d after sowing, the spores developed into juvenile sporophytes which were visible to the naked eye. It could be concluded from the findings that *O. japonicum* shared similar characteristics with *Pteris* of Pteridaceae in terms of gametophyte development. Therefore, *O. japonicum* could be classified into the Pteridaceae family. The study would provide evidence for the phylogenetic study of *O. japonicum* from the perspective of gametophyte development.

Key words: *Onychium japonicum*, spore germination, gametophyte development, systematic significance

野雉尾金粉蕨 (*Onychium japonicum*) 又名野鸡尾, 为中国蕨科 (Sinopteridaceae) 金粉蕨属 (*Onychium* Kaulf.) 植物, 在我国广泛分布于华东、华中、东南及西南; 日本、菲律宾、印度尼西亚 (爪哇) 及波利尼西亚也有分布。生林下沟边或溪边石上, 海拔 50~2 200 m (秦仁昌和刑公侠, 1990)。全草有解毒作用, 临床用于治疗跌打损伤、烫火伤、疔疮、胃肠炎、黄疸、便血、痢疾等 (丁恒山, 1982)。其孢粉学、化学成分研究已有报道 (于晶等, 2001; 李明潺等, 2010), 但有关配子体发育的研究尚未见有报道。

本文首次对野雉尾金粉蕨孢子进行培养, 对其孢子萌发和配子体发育的各个阶段进行观察记录, 为其系统学研究提供配子体发育方面的证据。

1 材料与方 法

1.1 野雉尾金粉蕨孢子的采集

所用材料于 2013 年 9 月采自桂林七星公园后山。将有成熟孢子的叶片放入自封袋中, 带回实验室后转入干净纸袋内, 放置通风处, 待孢子自然脱落后收集到牛皮纸袋中, 保存在 4 °C 冰箱中备用。

1.2 培养方法

用原生境腐殖土和改良 Knop's 营养液 (赵建成等, 2005) 对野雉尾金粉蕨的孢子进行培养。

先将原生境腐殖土和碎砖块分别装在培养皿中进行高温灭菌, 待其冷却后分别加入蒸馏水和改良 Knop's 营养液湿润, 然后将孢子直接播种于培养皿中培养。培养条件: 温度为 25 °C, 光照强度为 2 500 lx, 光照 12 h/d。在孢子萌发、配子体发育各个阶

段, 用光学显微镜观察并拍照记录。

2 结果与分析

2.1 孢子及萌发

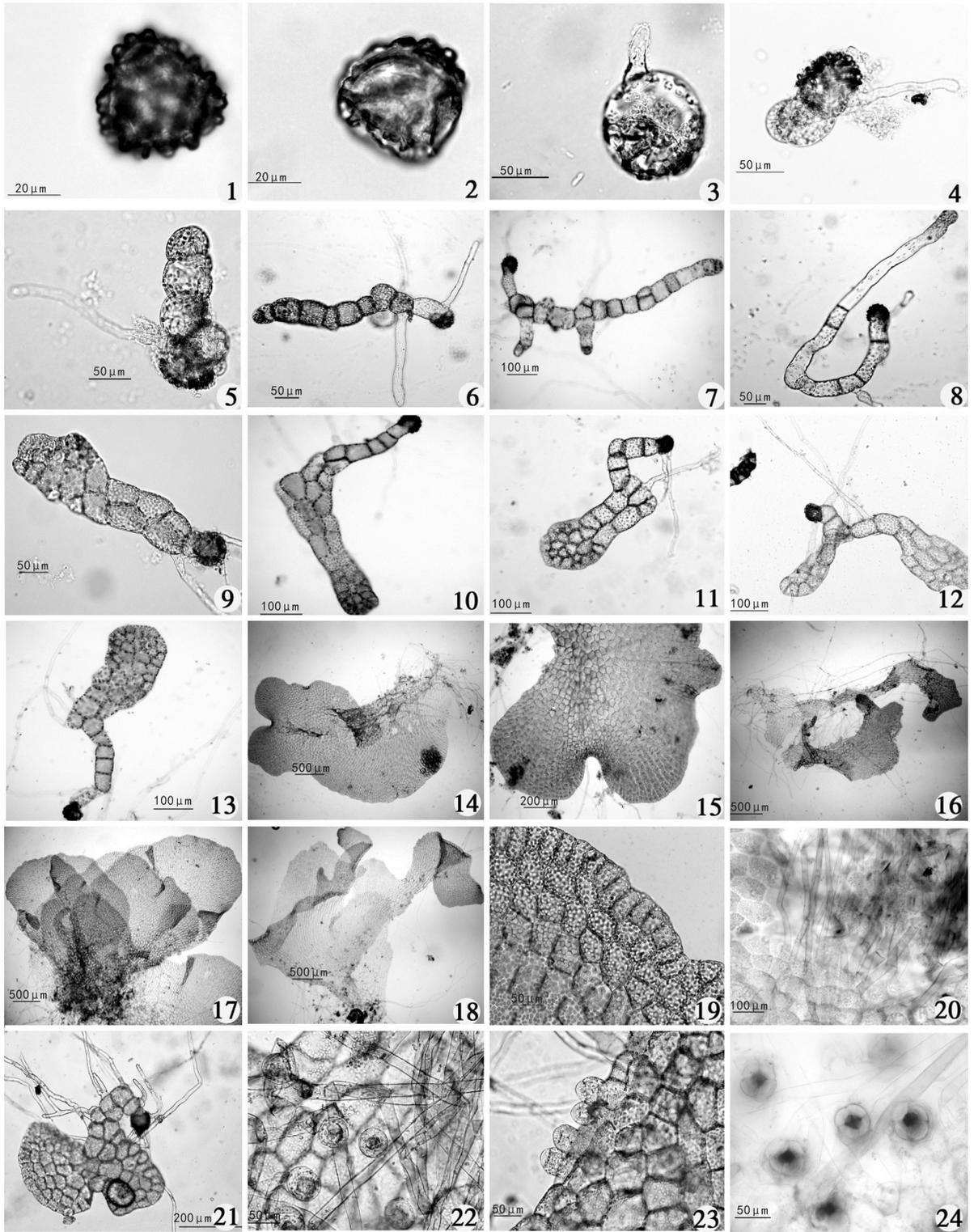
野雉尾金粉蕨的孢子为黄褐色, 四面体型, 三裂缝, 极面观为钝三角形, 赤道面观为扇形, 具周壁, 外壁表面具网状纹饰 (图版 I: 1, 2)。孢子培养 7 d 以后开始萌发; 孢子萌发时, 外壁开裂, 先长出短棒状的假根, 假根白色透明, 没有叶绿体; 随后自裂缝处长出内含叶绿体的细胞 (图版 I: 3); 在这过程中可以观察到孢子外壁裂为 3 瓣, 最后孢子壁多数宿存于基部。孢子萌发类型为书带蕨型 (*Vittaria*-type) (Nayar & Kaur, 1971)。两种基质培养的萌发时间大致相同, 萌发类型一样。

2.2 丝状体

配子体原始细胞经过多次横向分裂, 形成 3~9 个细胞长的丝状体 (图版 I: 4-6); 丝状体细胞呈圆筒形, 壁薄, 侧壁向外鼓起, 细胞叶绿体颗粒较大且数量较多, 呈鲜绿色。有的丝状体进行纵向分裂, 从一维的线状向二维生长, 出现不规则的分枝状 (图版 I: 7)。有的丝状体有长短细胞的区别, 短细胞呈圆筒形, 壁薄, 侧壁向外鼓起; 长细胞呈长圆柱状。长、短细胞的长度比例悬殊, 细胞内的叶绿体分布不均匀且较少, 顶端细胞的叶绿体较多 (图版 I: 8)。这种丝状体在改良 Knop's 营养液培养中较常见。三种类型的丝状体假根均分布于其基部, 且基部膨大。

2.3 片状体

在孢子萌发后的第 8 天左右, 片状体形成。丝



图版 I 野雄尾金粉蕨配子体发育 1. 孢子极面观; 2. 孢子赤道面观; 3. 孢子萌发; 4-8. 丝状体; 9-12. 片状体; 13. 幼原叶体; 14. 原叶体阶段; 15. 成熟原叶体; 16-17. 配子体呈丛状生长; 18. 再生现象; 19. 原叶体营养细胞; 20-21. 假根; 22-23. 精子器; 24. 颈卵器。
 Plate I Gametophyte development of *Onychium japonicum* 1. Polar view of spore; 2. Equatorial view of spore; 3. Spore germination; 4-8. Filament; 9-12. Prothallial plate; 13. Young prothallus; 14. Prothallus; 15. Mature prothallus; 16-17. The cluster prothallia; 18. Regeneration phenomenon; 19. Vegetative cells of the prothallus; 20-21. Rhizoid; 22-23. Antheridium; 24. Archegonium.

状体顶端细胞不仅横向分裂,而且纵向分裂,反复横、纵向分裂形成了片状体。有的丝状体在 2 细胞长时就开始进行纵向分裂,其基部细胞较大呈双列的丝状,顶部细胞较小且多;顶部楔形的细胞不断交叉分裂,使得整体呈片状(图版 I:9)。大多数丝状体长到 4~8 个细胞后,开始纵向分裂,片状体前端细胞均处于分裂状态成为分散生长,而后形成一片无规则排列的细胞,片状体基部仍维持丝状体形态,整体成为匙状(图版 I:10,11)。分枝的丝状体,每个分枝都可以形成片状体(图版 I:12)。

2.4 原叶体

孢子培养约 25 d 后,片状体产生分生组织,幼原叶体形成。当片状体前端形成宽至 6~8 个细胞时,在其一侧出现凹陷(即生长点),凹陷处细胞呈楔形并且排列紧密,此时由片状体阶段进入了幼原叶体阶段(图版 I:13)。片状体一侧的楔形细胞进行左右交替的斜向分裂,使片状体向两侧扩展,同时生长点的凹陷处也不断加深;此时在幼原叶体上可以观察到丛生的假根,假根由原来的白色透明变成了褐色(图版 I:14)。随着分生组织的不断分裂,最终产生的大型原叶体多为不规则的心脏形(图版 I:15),在配子体的基部常常会见到分枝的丝状体(图版 I:16)。配子体发育为水蕨型(Ceratopteris-type)(Nayar & Kaur, 1971)。

野雉尾金粉蕨的分枝丝状体非常发达,且基部的丝状体能持续地发育为片状体和原叶体,从而使原叶体呈丛状生长(图版 I:17)。配子体发育的各时期,都会发生再生现象,即在其边缘或生长点部位出现形状不规则的片状体。原叶体边缘也能产生新的片状体,又再产生精子器(图版 I:18)。原叶体营养细胞呈多边形,叶绿体分布比较均匀(图版 I:19),整个发育过程没有毛状体产生。

2.5 假根

在配子体发育过程中,孢子萌发时首先产生第一条白色透明假根,以后随着发育的进行,在丝状体、片状体的基部、边缘细胞以及原叶体腹部不断长出假根(图版 I:20)。在片状体的初期假根集中分布于基部丝状体的细胞上,进入片状体末期,在靠近片状体基部的边缘细胞可以观察到长而细白色透明的假根;进入幼原叶体阶段可以观察到丛生的假根,且假根由原来的白色透明变成了褐色。野雉尾金粉蕨的假根为单细胞管状,偶有分支(图版 I:21),内无叶绿体。

2.6 性器官

播种约 45 d 后原叶体陆续发育长出精子器,但在播种约 30 d 后,也可以观察到少数不规则原叶体边缘出现精子器。精子器多发生于原叶体假根丛深处或不规则原叶体的边缘(图版 I:22),数量较多;精子器顶面观近圆形,侧面观为近椭圆形或短柱状,由盖细胞、环细胞和基细胞组成(图版 I:23);精子器成熟时,盖细胞开裂,精子逸出。有的精子溢出后,卷缩成近球形,静止不动,几秒后做旋转运动;有的精子一溢出就开始旋转运动。精子借助原叶体表面的水分游动直至颈卵器完成受精。

颈卵器在播种 60 d 左右出现,一般生长于生长点附近。颈卵器比较大,基部略大于顶部,侧面观呈烟筒状,顶面观为铜钱状,颈部由四列细胞构成,4~5 层细胞高(图版 I:24)。刚开始时数量较少,随着原叶体不断生长发育,颈卵器的数量不断增多。颈卵器发育成熟后,又有新的颈卵器产生。精子进入到颈卵器内和卵细胞结合即可完成受精作用,受精后半个月内即可观察到幼胚,受精一个月后长成肉眼可见的幼孢子体。

3 讨论

金粉蕨属约有 10 种,分布于亚洲热带和亚热带,非洲仅 1 种,中国现有 8 种。本属可分以下 2 个自然组:金粉蕨组(sect. *Chrysonychium*)和野雉尾组(sect. *Onychium*.),金粉蕨组只有金粉蕨(*Onychium siliculosum*) 1 种,分布于热带干旱河谷,野雉尾组有 7 种,生境不同于金粉蕨(秦仁昌和刑公侠,1990)。

代小菲等(2010)曾对金粉蕨配子体发育进行过研究,认为金粉蕨配子体分枝发达,成熟配子体呈丛状,配子体的分枝和簇生习性可能是其对旱生环境的适应。与金粉蕨配子体发育相同,野雉尾金粉蕨配子体也有分枝和簇生习性,但野雉尾金粉蕨的分布比金粉蕨广,生境较多样,所以该习性是否是对旱生环境的适应也值得商榷。另外,与金粉蕨配子体发育为专性无配子生殖不同的是,野雉尾金粉蕨配子体能产生正常的颈卵器。笔者认为这种差异可能与金粉蕨只分布于热带干旱河谷有关,是其适应特别干旱环境的生殖对策。

金粉蕨属的系统位置一直存在争议。于晶等(2001)通过对中国金粉蕨属孢子形态的研究认为:本属孢子形态与中国蕨科其它属的孢子差别较大,

而与凤尾蕨科 (Pteridaceae) 的凤尾蕨属 (*Pteris* L.) 的大部分种的纹饰相近, 建议将金粉蕨属从中国蕨科分出, 放入凤尾蕨科 (于晶等, 2001)。杨文利和张钢民 (2005) 曾对金粉蕨属、珠蕨属和中国蕨科的典型成员中分别选取代表类群, 测定了 10 个种的 *rbcL* 序列, 结合其他相关类群的序列资料进行系统发育分析, 他们认为金粉蕨属位于凤尾蕨群这一分支, 该属与凤尾蕨属的关系近缘。从分子系统学的角度来看, 金粉蕨属既不属于中国蕨科, 也不属于珠蕨科, 而应归入凤尾蕨科 (杨文利和张钢民, 2005)。野雉尾金粉蕨的孢子为黄褐色, 四面体型, 三裂缝, 外壁表面具网状纹饰; 孢子萌发类型为书带蕨型, 片状体多为匙状, 配子体发育为水蕨型; 在原叶体发育过程中分枝丝状体非常发达, 配子体呈丛状生长, 整个发育过程中无毛状体发生; 这些特征与凤尾蕨属配子体发育特征一致 (沈建等, 2009; 程薪宇和刘保东, 2010)。基于野雉尾金粉蕨配子体发育的特征与凤尾蕨属相似, 支持金粉蕨属归于凤尾蕨科的观点。

参考文献:

BAO WM, WANG QX, AO ZW. 1995. Studies on the development of gametophytes of ferns from north-eastern China VI. Sinopteridaceae [J]. Bull Bot Res, 15(3): 373-378. [包文美, 王全喜, 敖志文. 1995. 东北蕨类植物配子体发育的研究 VI. 中国蕨科 [J]. 植物研究, 15(3): 373-378.]

CHENG XY, LIU BD. 2010. New researches of some phylogenetic botanical characteristics on Gametophyte in *Pteris* L. [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin, 30(12): 2 427-2 432. [程薪宇, 刘保东. 2010. 凤尾蕨属配子体若干系统学特征新考 [J]. 西北植物学报, 30(12): 2 427-2 432.]

DAI XF, CAO JG, HUANG WJ, et al. 2010. Gametophytic development and apogamy of the fern *Onychium siliculosum* (Desv.) C. Chr. [J]. Bull Bot Res, 30(2): 180-184. [代小菲, 曹建国, 黄武杰, 等. 2010. 金粉蕨配子体发育及其无配子生殖的研究 [J]. 植物研究, 30(2): 180-184.]

DING HS. 1980. Medical spore plants of China [M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press: 30-31. [丁恒山. 1980. 中国药用孢子植物 [M]. 上海: 上海科学技术出版社: 30-31.]

LI MC, TANG SA, DUAN HQ. 2010. Chemical constituents from *Onychium japonicum* [J]. Chin Trad & Herb Drugs, 41(5): 685-688. [李明潺, 唐生安, 段宏泉. 2010. 野雉尾金粉蕨化学成分研究 [J]. 中草药, 41(5): 685-688.]

NAYAR BK, KAUR S. 1971. Gametophytes of homosporous ferns [J]. Bot Rev, 37(3): 295-396.

SHEN J, LI XG, DAI XL, et al. 2009. Development and apogamy of the gametophyte of the fern *Pteris fauriei* [J]. Bull Bot Res, 29(4): 385-390. [沈建, 李新国, 戴锡玲, 等. 2009. 傅氏凤尾蕨配子体发育及其无配子生殖的研究 [J]. 植物研究, 29(4): 385-390.]

QIN RC, XING GX. 1990. Flora of China Vol 3(1) [M]. Beijing: Science Press: 108-109. [秦仁昌, 邢公侠. 1990. 中国植物志第三卷 (第一分册) [M]. 北京: 科学出版社: 108-109.]

YANG WL, ZHANG GM. 2005. Phylogenetic placement of *Onychium* based on the analysis of *rbcL* sequences [J]. J Agric Univ Hebei, 28(2): 36-39. [杨文利, 张钢民. 2005. 金粉蕨属系统位置——来自 *rbcL* 序列的证据 [J]. 河北农业大学学报, 28(2): 36-39.]

YU J, WANG QX, BAO WM. 2001. Studies on the spore morphology of *Onychium* from China [J]. Bull Bot Res, 21(2): 227-233. [于晶, 王全喜, 包文美. 2001. 中国金粉蕨属孢子形态的研究 [J]. 植物研究, 21(2): 227-233.]

ZHAO JC, HUANG SL, LI M, et al. 2005. Experimental studies on the characteristics of gemma development in *Barbula indica* [J]. Bull Bot Res (植物研究), 25(2): 169-172. [赵建成, 黄土良, 李敏, 等. 2005. 小扭口藓 (*Barbula laindica*) 芽胞发育特征的实验研究 [J]. 植物研究, 25(2): 169-172.]

(上接第 120 页 Continue from page 120)

邱显钦, 张灏, 等. 2008. 云南蔷薇属部分种质资源的 SSR 遗传多样性研究 [J]. 园艺学报, 35(8): 1 227-1 232.]

WANG GL. 2007. A study on the history of Chinese roses from ancient works and images [J]. Acta Hort (ISHS), 751: 347-356.

WANG YR, LI FJ, LIU QD, et al. 2012. Study on analysis of genetic relationship of 37 main castor varieties by peroxidase isozyme [J]. Northern Hort, 2: 95-98. [王玉荣, 李凤娟, 刘清岱, 等. 2012. Study on analysis of genetic relationship of 37 main castor varieties by peroxidase isozyme [J]. 北方园艺, 2: 95-98.]

WISSEMANN V. 2003. Conventional taxonomy of wild roses [M] // In: Roberts A, Debener T, Gudin S (eds). Encyclopedia of rose sciences. Oxford: Elsevier Science: 111-117.

WISSEMANN V, RITZ CM. 2005. The genus *Rosa* (Rosoidae, Rosaceae) revisited: molecular analysis of nrITS-1 and *atpB-rbcL* intergenic spacer (IGS) versus conventional taxonomy [J]. Bot J Linn Soc, 147: 275-290.

WYLIE AP. 1954. The history of garden roses [J]. J Roy Hort Soc, 79: 555-571.

ZHANG JW, BAO MZ. 1998. 分子标记在观赏植物分类中的应用 [J]. J Beijing For Univ, 20(2): 85-89. [张俊卫, 包满珠. 1998. 分子标记在观赏植物分类中的应用 [J]. 北京林业大学学报, 20(2): 85-89.]

ZHANG Q, LI QM, CUI XC, et al. 2004. Analyses of isoenzymes in two group of peppers under different temperatures [J]. J Shanghai Univ: Nat Sci Ed, 10(5): 488-492. [张清, 李琦明, 崔西辰, 等. 2004. 不同温度条件下两组辣椒的同工酶分析 [J]. 上海大学学报·自然科学版, 10(5): 488-492.]

ZHANG T, JIAN HY, WANG QG, et al. 2010. Study on karyotype of eleven Chinese old garden roses [J]. SW Chin J Agric Sci, 23(5): 1 656-1 659. [张婷, 蹇洪英, 王其刚, 等. 2010. 11 个中国古老月季品种的核型分析 [J]. 西南农业学报, 23(5): 1 656-1 659.]

ZHANG ZS, ZHU XZ. 2006. Rose of China [M]. Beijing: China Forest Publishing House: 170-172. [张佐双, 朱秀珍. 2006. 中国月季 [M]. 北京: 中国林业出版社: 170-172.]