

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201401040

罗晓珊, 王任翔, 邓晰朝. 龙津蕨的配子体发育特征及其系统学意义[J]. 广西植物 2015, 35(2):151–155

Luo RS, Wang RX, Deng XC. Gametophyte development in *Mesopteris tonkineusis* and its systematic significance[J]. *Guihaia* 2015, 35(2):151–155

龙津蕨的配子体发育特征及其系统学意义

罗晓珊¹, 王任翔^{1,2*}, 邓晰朝³

(1. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004; 2. 珍稀濒危动植物生态与环境保护省部共建教育部重点实验室, 广西 桂林 541004; 3. 河池学院 化学与生物工程学院, 广西 宜州 546300)

摘要: 采用改良 Knop's 营养液液体培养基于 25 °C 恒温培养箱中培养龙津蕨 (*Mesopteris tonkinensis*) 的孢子, 每天光照 12 h 黑暗 12 h, 光照强度为 2 500 lx。用光学显微镜观察记录其孢子萌发、配子体发育的全过程, 为龙津蕨系统学的研究提供配子体发育方面的详实资料。结果表明: 成熟孢子深褐色, 不透明, 两侧对称, 极面观椭圆形, 赤道面观圆角三角形, 具单裂缝, 孢子周壁具密集的脊状褶皱。播种后 15 d 左右萌发, 形成 2~5 个细胞长的丝状体。孢子萌发类型为书带蕨型 (vittaria-type)。具单细胞假根, 不含叶绿体, 基部膨大。20 d 左右发育成片状体, 30 d 左右形成幼原叶体, 幼原叶体不对称, 成熟原叶体心脏形对称, 56 d 左右形成成熟原叶体, 原叶体发育类型为铁线蕨型 (adiantum-type)。幼原叶体仅左右两翼顶端细胞产生乳突毛状体, 成熟原叶体边缘及背腹面都具少量乳突毛状体, 毛状体由单细胞构成。68 d 左右精子器开始出现, 精子器近圆球形, 由基细胞、环细胞、盖细胞构成。75 d 左右颈卵器出现, 成熟颈卵器颈部由 3 层细胞构成。其侧面观柱状, 顶面观为铜面状。颈卵器垂直于原叶体表或向原叶体基部倾斜。另外, 根据已知的金星蕨科其他属的配子体发育特征, 发现龙津蕨配子体发育的这些特征与他们存在较大的区别, 因此龙津蕨系统学位置还有待于进一步研究。

关键词: 龙津蕨; 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(2015)02-0151-05

Gametophyte development in *Mesopteris tonkineusis* and its systematic significance

LUO Rao-Shan¹, WANG Ren-Xiang^{1,2*}, DENG Xi-Chao³

(1. College of Life Sciences, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China; 2. Key Laboratory of Ecology of Rare and Endangered Species and Environmental Protection (Guangxi Normal University), Ministry of Education, Guilin 541004, China; 3. School of Chemistry and Bioengineering, Hechi University, Yizhou 546300, China)

Abstract: The spores of *Mesopteris tonkinensis* were artificial cultured in Knop's liquid culture medium with constant temperature 25 °C incubator. Light intensity was 2 500 lx and light 12 h dark 12 h every day. And at every stage of the spore germination and gametophyte development had been observed and recorded detailedly under the microscope. We provided a lot of detailed data in the course of gametophytes development of *M. tonkineusis*, and evidence for phylogenetic studies through these characteristics of spore germination and gametophyte development. The result showed that the mature spores were dark brown, bilateral symmetry and no transparent, elliptical in polar view, rounded triangle in equatorial view and with a single fracture, and perisporium with dense ridge folds. The size of these mature spores was 56.1

收稿日期: 2014-03-21 修回日期: 2014-06-11

基金项目: 国家自然科学基金(31460049); 广西自然科学基金(2011GXNSFA018089)。

作者简介: 罗晓珊(1986-), 女, 广西玉林人, 硕士研究生, 从事蕨类植物学研究。

*通讯作者: 王任翔, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事细胞学和蕨类植物学研究, (E-mail) wrx05@126.com。

(49.7 – 61.4) $\mu\text{m} \times 67.2(58.8 - 69.3) \mu\text{m}$. All the data were averages of random measured 10 numerical. The spore germination was *Vittaria*-type and the gametophyte development was *Adiantum*-type. Having rhizoid, they consisted of single cell that had not chloroplasts. And the bottom of rhizoid was enlargement. The spores germinated about 15 d after sowing forming 2 – 5 cells long of filaments. The prothallial plates formed around 20 d after inoculation. The young prothallium developed about 30 d after sowing and they were not symmetry. But the mature prothallus was symmetrical cordate type. Mature prothallus were formed about 56 d after sowing. There were some things that papillary trichomes were spreading on upper and lower surfaces and along the margin of prothallium. But the left and right wings apical cells of young prothallium also had papillary trichomes. These papillary trichomes consisted of single cell. Antheridium was appeared on mature prothallus around 68 d after sowing. The antheridium was nearly round ball. It made up of 3 cells. One was a basal cell. The other one was a ring cell. The third was a cover cell. As the antheridium matured, the cap cell dehiscid. And the spermatozoids were discharged through the cap cell. Their archegonium had occurrence all most the same time. About 75 days after sowing archegonium was available on the margin and the lower surface of the mature prothallus. The neck of mature archegonium was composed of 3 layers of cells. The archegonium was perpendicular to the surface or inclined to the root-based of prothallus. Their lateral view was column. And the top view was the copper surface shape. The top cells would lost when the archegonium open. The paper preliminary discussed their taxonomic significance. It was discovered that these characteristics of *M. tonkineensis* gametophyte development and other genera of gametophyte development characteristics in Thelypteridaceae had great difference. Therefore, phylogenetic relationship of *M. tonkineensis* need to be further investigated.

Key words: *Mesopteris tonkineensis*; spore germination; gametophyte development; systematic significance

龙津蕨属隶属于金星蕨科 (Thelypteridaceae), 单种属, 产于我国广西南部的龙州、那坡及越南北部的石灰岩地区 (刑公侠, 1999)。这是一种分布区域很狭窄、形态特殊、系统位置及归属一直悬而未决的种类。自该种 1934 年发表以来, 先后置于了不同科属中, 最先将其置于鳞毛蕨科 (Dryopteridaceae) 的鳞毛蕨属 (*Dryopteris* Adans) (吴兆洪等, 1991), 秦仁昌 (1936) 将该种放在金星蕨科 (Thelypteridaceae) 的沼泽蕨属 (*Thelypteris* Schmidel); Copeland (1947) 将其放在假鳞毛蕨属 (*Lastrea* Bory); Holttum (1977) 将该种归属于大金星蕨属 (*Amphineuron* Holtt), 秦仁昌 (1978) 将其放在金星蕨科中专门作为一个新属—龙津蕨属 (*Mesopteris* Ching) 来处理。

在蕨类植物的分类和系统学演化研究中, 配子体发育的研究所提供依据具有一定的参考意义。目前, 对龙津蕨的形态解剖学、孢粉学及分子系统学有一些研究 (吴兆洪等, 1991; 黄玉源等, 1994; He *et al.* 2012); 有关龙津属近缘类群如卵果蕨和沼泽蕨配子体发育 (包文美等, 1994)、毛蕨属配子体发育 (谢桂琴等, 2008; 张开梅等, 2011) 也有研究; 但有关龙津蕨配子体发育的系统研究尚未见报道。本文对龙津蕨孢子萌发、配子体发育的形态及特征进行系统研究, 以期对龙津蕨的系统学研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 孢子的采集

2013 年 6 月于广西那坡采集成熟孢子的叶片, 夹入洁净平整的报纸 (或纸袋) 中, 带回实验室。实验时取具成熟孢子的叶片, 将成熟孢子囊、孢子从龙津蕨的叶背面刮下来, 搓动孢子囊, 使孢子散落, 除去杂质后装于密封纸袋中, 置 4 °C 冰箱中保存备用。

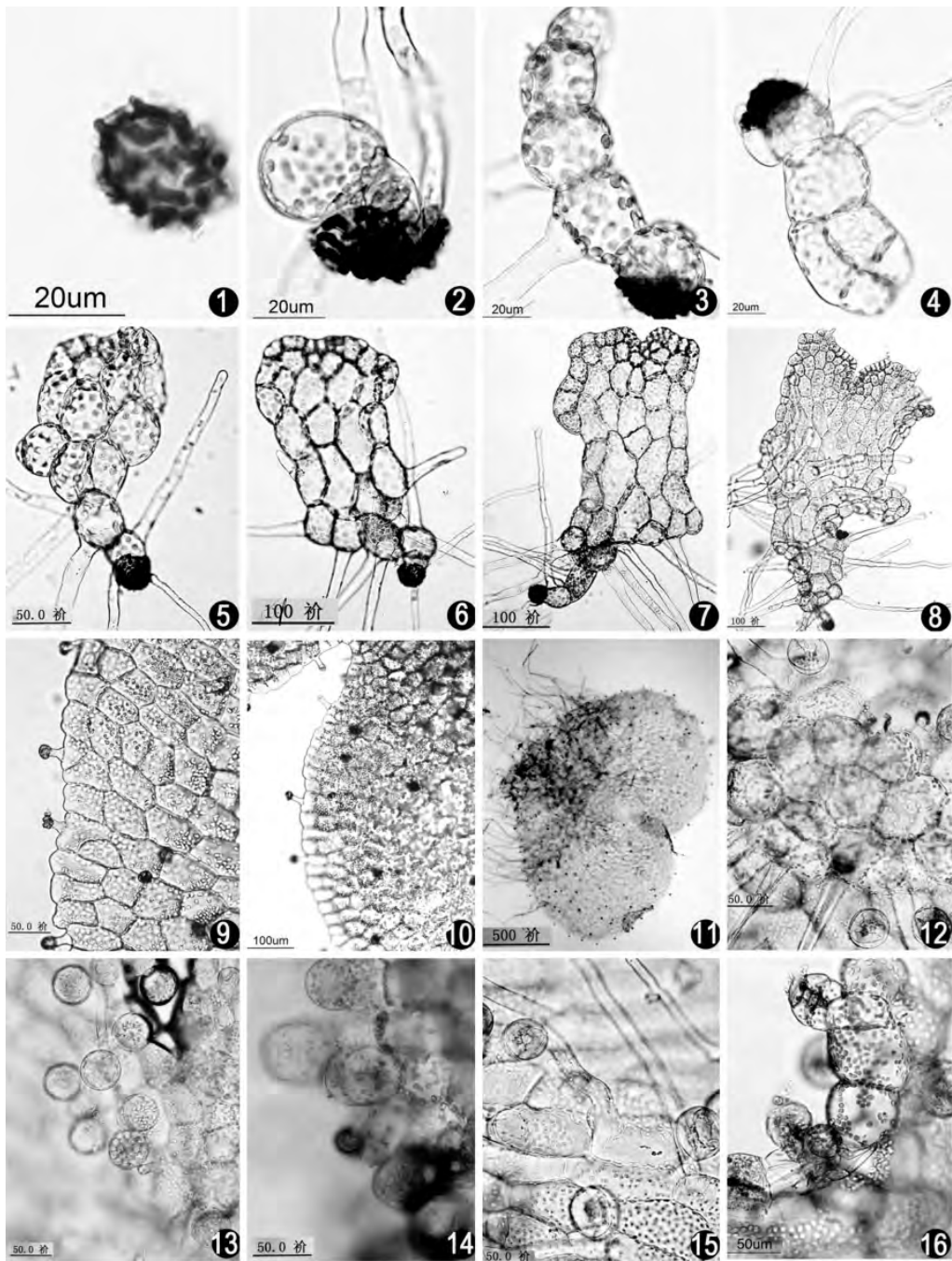
1.2 培养方法

将孢子接种于盛有改良 Knop's 营养液的培养皿中培养。培养条件是: 培养箱温度 25 °C, 日光灯光源, 每天光照 12 h, 黑暗 12 h, 光照强度为 2 500 lx。在孢子萌发、配子体发育的各个阶段, 用光学显微镜进行观察拍照记录。

2 结果与分析

2.1 孢子与孢子萌发

龙津蕨成熟孢子深褐色, 两侧对称, 极面观椭圆形, 赤道面观圆角三角形, 大小为 56.1 (49.7 ~ 61.4) $\mu\text{m} \times 67.2(58.8 - 69.3) \mu\text{m}$ (各数据为随机测得的 10 个数值的平均值), 具单裂缝, 裂缝长度约为孢子长度的 3/4, 孢子周壁具密集的脊状褶皱 (图版 I:1)。



图版 I 龙津蕨配子体发育 1. 孢子极面观; 2. 假根产生; 3. 丝状体; 4-5. 片状体; 6-8. 幼原叶体; 9-10. 具毛状体的原叶体; 11. 成熟原叶体; 12-13. 精子器顶面观; 14. 精子器侧面观; 15. 盖细胞开裂的精子器; 16. 颈卵器。

Plate I Gametophyte development of *Mesopteris tonkineus* 1. Polar view of spore; 2. Rhizoid; 3. Filament; 4-5. Prothallial plate; 6-8. Young prothallus; 9-10. Trichome of young prothallus; 11. Mature prothallus; 12-15. Antheridium; 16. Archegonium.

培养 15 d 左右萌发,萌发时孢子自裂缝处开裂,裂口处长出内含叶绿体的细胞,同时伸出 1~3 条白色透明短棒状假根;随着细胞的生长,假根变长,在这过程中明显观察到孢子壁裂为 2 瓣,最后孢子壁多数宿存于基部(图版 I :2)。孢子萌发类型为书带

蕨型(vittaria-type)。

2.2 丝状体

原叶体原始细胞先横分裂为二,顶端细胞再经过 1~3 次的连续横向分裂,最后形成 2~5 个细胞长,无分支的丝状体(图版 I :3),大部分的丝状体

在2细胞长时就开始进行纵向分裂(图版I:4)。丝状体细胞呈弧线排列,细胞长圆筒形,壁薄,侧壁向外鼓起,细胞的直径与长度几乎等长,但有些细胞的高度稍大于宽度。细胞内叶绿体颗粒较大且数量较多,呈鲜绿色,叶绿体多分布于细胞边缘。随着细胞的不断分裂与生长,多数的丝状体在第二、第三个细胞的侧壁长出白色透明且饱满,基部膨大的假根。

2.3 片状体

培养20d左右发育为片状体。大部分丝状体在2细胞长时开始进行纵向分裂,细胞生长方向由原来的一维进入了二维。首先丝状体顶端细胞分裂形成2个并列的细胞,然后各自左右交替斜向分裂,形成一个细胞厚的梨状、匙状和不规则等形状的片状体(图版I:5),在这过程中片状体基部为2~5个细胞长的单列丝状体。片状体的初期细胞呈长圆筒形或球状形,假根集中分布于基部丝状体的细胞上。随着细胞的不断分裂生长,片状体进入末期;在片状体末期,片状体靠近基部的边缘细胞开始长出短而粗白色透明的假根,整个片状体的假根明显增多,面积也明显增大,叶绿体均匀分布于细胞内,此时片状体中部细胞的长度与宽度明显大于其他位置的细胞;片状体边缘细胞光滑,无毛状体,多呈长圆筒形。

2.4 原叶体

接种约30d后形成幼原叶体。当片状体面积不断增大,顶端出现楔形小细胞,片状体顶端开始出现浅凹陷点(图版I:6),该处细胞形成分生组织,分生组织细胞不断分裂,片状体出现了左右翼之分,此时发育进入了幼原叶体阶段;幼原叶体多为不对称,近基部一侧的细胞分裂活跃使得幼原叶体一侧向外凸起形成脊状(图版I:7,8)。初形成的原叶体顶端细胞及边缘细胞光滑,其中央部位的细胞明显大于边缘细胞;随着原叶体细胞不断分裂,细胞增多,细胞壁增厚,两翼面积增大,生长点的凹陷处也不断加深(图版I:7),逐渐形成成熟的原叶体。在这过程中腹面中部细胞长出棒状垂直于腹面或倾向于基部的假根,基部边缘细胞假根明显增多,整个原叶体的假根发达。与此同时在原叶体上也依稀地出现了毛状体(图版I:8,9)。毛状体最先出现在原叶体两翼的顶端细胞,接着少部分边缘细胞向外凸起形成毛状体,随着原叶体不断成熟凹形处相续出现了毛状体(图版I:10)。未成熟的原叶体较长似长方形(除去单细胞排列的基部,长:宽约为2:1

或大于2:1)。成熟原叶体呈心形对称(图版I:11)。成熟原叶体边沿细胞向外凸起形成单细胞的乳突状毛状体,在原叶体的背腹面也可观察到单细胞的乳突状毛状体。毛状体不丛生,单个生长,一个细胞上只长一个毛状体,整体呈均匀分布,数量不多。成熟原叶体基部细胞假根丛生,腹面假根相对较少。原叶体发育类型为铁线蕨型(adiantum-type)。

2.5 毛状体

最初毛状体由原叶体两翼部分顶端边沿细胞向外凸起而形成,接着两翼边沿细胞长有,随着原叶体不断成熟凹形处也出现了毛状体;成熟原叶体上的边缘、背腹面都产生毛状体。毛状体由单细胞组成,不丛生,单个生长,一个细胞上只长一个毛状体,在原叶体中呈均匀分布,数量不多。毛状体白色透明呈乳头状或短棒状,到了成熟原叶体阶段毛状体顶部增大呈帽状,基部膨大呈球状;毛状体顶部颜色由原来的白色透明变成褐色不透明,基部颜色不变。

2.6 假根

在配子体发育过程中,从孢子萌发开始就出现假根。孢子萌发时自孢子壁裂口处伸出1~3条白色透明假根,无叶绿体。随着细胞的不断分裂与生长,在丝状体的第二、第三个细胞的侧壁长出白色透明且饱满,基部膨大的假根。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短而粗白色透明的假根。幼原叶体时期,在原叶体腹面中心位置出现棒状垂直于腹面或倾向于基部的白色透明的假根;进入成熟原叶体阶段,腹面中心位置加厚并隆起,白色透明假根逐渐变棕色且出现收缩变皱现象。整个成熟原叶体的假根发达,呈棕色。

2.7 性器官

68d左右开始出现精子器。成熟原叶体腹面中心位置加厚并隆起,隆起部位有白色透明假根以及精子器,背腹面之分很明显(图版I:12)。精子器顶面观圆形(图版I:13),侧面观为圆球形或椭圆形(图版I:14),由3个细胞(基细胞、环细胞、盖细胞)构成。精子器数量多,广范分布于整个原叶体腹面的任何位置(如腹面基部假根丛生处、腹面中心位置、腹面近原叶体边沿处)。精子器成熟时,盖细胞破裂(图版I:15),精子自精子器中溢出。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。75 d 左右出现颈卵器,颈卵器常发生在原叶体的腹面凹口处或下方,垂直于原叶体表或向原叶体基部倾斜,其数量较少。成熟颈卵器颈部 3 层细胞构成,侧面观柱状,顶面观为铜面状(图版 I:16)。

3 讨论

吴兆洪等(1991)认为从孢子体形态来看,龙津蕨属近于假毛蕨属(*Pseudocyclosorus*)。戴绍军等(2005)认为龙津蕨孢子与假毛蕨属的差别很大,与金星蕨属相似。包文美等(1994)认为龙津蕨孢子周壁具密集的脊状褶皱,这些特点与沼泽蕨的孢子周壁具不规则块状和小刺状突起不同,与渐尖毛蕨的(张开梅等 2011)周壁隆起形成鸡冠状孢子纹饰也不同。黄玉源等(1994)在对龙津蕨的解剖学进行研究后,对龙津蕨划入金星蕨科中提出了质疑。近年来的分子证据显示,龙津蕨与新月蕨属(*Pro-nephrium*)、方秆蕨属(*Glaphyopteridopsis*)、毛蕨属(*Cyclosorus*)、茯蕨属(*Leptogramma*)等聚在一起,建议以上类群全部归入毛蕨属(*Cyclosorus*) (Smith *et al.* 2002; He *et al.* 2012)。

龙津蕨孢子萌发类型为书带蕨型(*vittaria*-type)原叶体发育为铁线蕨型(*adiantum*-type),与卵果蕨(包文美等,1994)相同,与沼泽蕨和渐尖毛蕨不同。龙津蕨丝状体常弯曲且无分支,卵果蕨顶端常分支,沼泽蕨和渐尖毛蕨丝状体无弯曲。龙津蕨毛状体在幼原叶体时期才出现,起初毛状体白色透明,后期顶部增大呈褐色不透明的帽,基部膨大近似球状,与毛状体相连的细胞不凸出或稍向下凹陷;而卵果蕨常常在片状体前端宽至 14 个或有时 4 个细胞时期出现毛状体,毛状体基部收益,与毛状体相连的细胞向外凸出极甚,沼泽蕨在丝状体出现顶端细胞后即产生毛状体,且毛状体内含叶绿体,与毛状体相连的细胞稍突出或不凸出;渐尖毛蕨在片状体 11 细胞时产生毛状体,且毛状体仅分布于原叶体边缘细胞,与毛状体相连的细胞不凸出。龙津蕨配子体发育的这些特征与金星蕨科其他属的配子体发育

特征有较大区别(包文美等,1994;谢桂琴等 2008;张开梅等 2011)。因此,龙津蕨属的系统位置仍需进一步的研究。

参考文献:

- Bao WM(包文美),Wang QX(王全喜),Ao ZW(敖志文). 1994. Studies on the development of gametophytes of ferns from north-eastern China VII. Thelypteridaceae(东北蕨类植物配子体发育的研究VII.金星蕨科)[J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, **14**(4): 409-415
- Ching RC. 1936. A revision of the Chinese and Sikkim-Himalayan *Dryopteris* with reference to some species from neighboring regions[J]. *Bull Fan Mem Inst Biol*, **16**(5):237-347
- Ching RC(秦仁昌). 1978. The Chinese fern families and genera: systematic arrangement and historical origin(中国蕨类植物科属的系统排列和历史来源)[J]. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, **16**(4):16-37
- Copeland EB. 1947. Genera Filicum[M]. *Chronica Botanica Company*,Waltham,Mass 140
- Dai SJ(戴绍军),Wang QX(王全喜),Bao WM(包文美),*et al.* 2005. Spore morphology of pteridophytes from China IV. Thelypteridaceae 2(中国蕨类植物孢子形态的研IV.金星蕨科2)[J]. *Acta Phytotax Sin(植物分类学报)*, **43**(3):233-245
- He LJ Zhang XC. 2012. Exploring generic delimitation within the fern family Thelypteridaceae[J]. *Mol Phylogenet Evol*, **65**:757-764
- Holtum RE. 1977. Studies in the family Thelypteridaceae II. The genus *Amphineuron* Holtum[J]. *Blumea*, **23**(2):205-218
- Huang YY(黄玉源),Zhou HG(周厚高). 1994. Anatomic study on *Mesopteris tonkinensis*(龙津蕨的解剖学研究)[J]. *J Guangxi Agric Univ(广西农业大学学报)*, **13**(3):204-210
- Smith AR,Cranfill RB. 2002. Intrafamilial relationships of the thelypteroid ferns (Thelypteridaceae)[J]. *Am Fern J*, **92**:131-149
- Wu ZH(吴兆洪),Ching R(秦仁昌). 1991. Fern Families and Genera of China(中国蕨类植物科属志)[M]. Beijing(北京): Science Press(科学出版社):342-344
- Xie GQ(谢桂琴),Wang Y(王玥),Zhao JB(赵金博),*et al.* 2008. Comparative observation of the development of gametophytes of three species in *Cyclosorus Link*(毛蕨属三种植物配子体发育的比较观察)[J]. *J Harbin Norm Univ:Nat Sci Ed(哈尔滨师范大学·自然科学学报)*, **24**(2):91-96
- Xing GX(邢公侠). 1999. Flora Republicae Popularis Sinicae(中国植物志)[M]. Beijing(北京):Science Press(科学出版社), **4**(1):116-167
- Zhang KM(张开梅),Fang YM(方炎明),Wan J(万劲),*et al.* 2011. Observation on the gametophyte development of *Cyclosorus acuminatus* and *C. dentatus*(渐尖毛蕨和齿牙毛蕨的配子体发育研究)[J]. *Guihaia(广西植物)*, **31**(3):318-322