

桫欏科三种植物配子体发育的研究

王金娟¹, 张宪春², 刘保东^{1*}, 成晓³

(1. 哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 哈尔滨 150025; 2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093;

3. 中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

摘要: 用土壤培养桫欏 *Alsophila spinulosa* (Wall. ex Hook.) R. M. Tryon、中华桫欏 *A. costularis* Baker 和白桫欏 *Sphaeropteris brunoniana* (Hook.) R. M. Tryon 的孢子, 利用光学显微镜对其配子体发育的各个阶段进行了观察, 包括孢子形态及其萌发、原丝体发育特点、片状体和生长点的形成及分化、假根特征、精子器和颈卵器的分化及发育, 以及原叶体感染真菌后的显微特征。初步讨论了桫欏科不同属(种)间的配子体发育的系统学意义和有性世代的濒危原因。

关键词: 桫欏科; 配子体发育; 桫欏; 中华桫欏; 白桫欏

中图分类号: Q944.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2007)02-0115-06

Gametophyte Development of Three Species in Cyatheaceae

WANG Jin-juan¹, ZHANG Xian-chun², LIU Bao-dong^{1*}, CHENG Xiao³

(1. Life and Environment College, Harbin Normal University, Harbin 150025, China; 2. Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China; 3. Kunming Institute of Botany, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China)

Abstract: The spores of *Alsophila spinulosa* (Wall. ex Hook.) R. M. Tryon, *A. costularis* Baker and *Sphaeropteris brunoniana* (Hook.) R. M. Tryon were cultivated in soil medium. The gametophyte development of the three species were observed under light microscope in spore germination, filament development, the formation and differentiation of prothallial plate and apical point, the rhizoid feature, and the development and differentiation of the antheridium and archegonium. We also reported ultrastructure of prothallus infected by fungi. The systematic significance of their gametophyte development in Cyatheaceae is discussed, as well as the causes of sexual generation endangerment.

Key words: Cyatheaceae; Gametophyte development; *Alsophila spinulosa*; *Alsophila costularis*; *Sphaeropteris brunoniana*

桫欏科 Cyatheaceae 是唯一现存木本蕨类植物, 被称为植物界中的“活化石”, 约 500 种, 我国仅产 2 属 14 种 2 变种^[1], 因其重要的科研、观赏和药用价值而备受人们关注。我国桫欏科的所有种被列为国家二级保护植物。迄今为止, Khare 等^[2]研究过濒危种类 *Cyathea* Sm. J. 的配子体形态学; Hung^[3]研究了 *Sphaeropteris lepifera* 的配子体和孢子体形态, 同年, Chiou^[4]报道了 *Cyathea podophylla* (Hook.)

Copel 配子体生殖方面的内容; Huany^[5]描述了台湾产桫欏科 7 种植物的配子体和幼孢子体的形态, 讨论了孢子囊内孢子的数量以及孢子萌发的类型。遗憾的是上述研究均没有就配子体发育的各环节进行深入研究, 所提供的形态学特征也不够细致, 无法进行比较。其中, 中华桫欏配子体发育的研究未见报道。配子体特征是桫欏科植物研究的重要内容之一, 研究配子体发育能为保护这类珍稀物种提供

收稿日期: 2006-08-16 接受日期: 2006-11-30

基金项目: 国家自然科学基金项目 (NSFC-30470139) 资助

* 通讯作者 Corresponding author

基础资料。本研究对我国产桫欏 *Alsophila spinulosa* (Wall. ex Hook.) R. M. Tryon、中华桫欏 *A. costularis* Baker 和白桫欏属 *Sphaeropteris* 的白桫欏 *S. brunoniana* (Hook.) R. M. Tryon 的配子体发育,进行了比较观察。

1 材料和方法

桫欏 *Alsophila spinulosa* (Wall. ex Hook.) R. M. Tryon 和白桫欏 *Sphaeropteris brunoniana* (Hook.) R. M. Tryon 的孢子由张宪春于 2004 年 12 月采自海南尖峰岭;中华桫欏 *A. costularis* Baker 的孢子由刘保东于 2004 年 7 月采自云南昆明植物研究所。凭证标本现存哈尔滨师范大学植物标本室。

孢子采集及其保存按刘保东等^[6]的方法。培养用土壤采自黑龙江省亚布力北山针阔混交林林下的腐殖暗棕壤。用网孔直径为 2 mm 的细筛筛取细壤,120℃ 灭菌 40 min。在培养皿内铺入厚约 8 mm 的濡湿海绵,并撒入适量的上述土壤后接种。培养条件同刘保东等^[7]的方法。每种重复培养 3 次,每次 3–6 份。依各发育阶段制成临时装片,在 Nikon 显微镜下活体观察、照相并记录。数值大小是采用随机测得的 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 桫欏

孢子囊侧面观呈钝三角形,为单层细胞,环带细胞 20 个(图版 I:1)。孢子极面观为三角形,极轴为 30.2 (28.3–33.4) μm ;赤道面观为半圆形,赤道轴为 46.3 (43.2–49.6) μm ,棕色。孢子三裂缝,裂缝长达孢子赤道线。孢壁不透明,表面具细而密的颗粒状纹饰,壁厚度为 4.5 (4.2–4.9) μm 。孢子接种 5 d 后萌发:自三裂缝处向一端长出一条无色透明假根,向另一端长出一个富含叶绿体的原叶体原始细胞。孢子壁宿存(图版 I:2)。原丝体不发达,多由 4–6 个细胞构成(图版 I:3)。

自接种后 20 d,原丝体顶端细胞经左右交替的斜向分裂形成生长点。培养 35 d 左右,形成心形片状体,生长点附近的细胞小且规则整齐;基部有数条管状、透明、无分叉的、直径为 20.2 (18.2–24.6) μm 的假根,假根附近的细胞大且不规则(图版 I:4)。

随着片状体的发育,两翼渐明显,假根增多(图版 I:5);毛状体发生在原叶体表面及其边缘。

原叶体细胞被真菌感染后,细胞萎缩变形,病斑由 1 个细胞逐渐向外扩散(图版 I:6);有些真菌直接穿过细胞,可以明显地看到细胞上的菌丝(图版 I:7,箭头所示),并进而形成呈线状排列的病斑(图版 I:8);直至细胞死亡(图版 I:9)。接种后约 60 d 配子体发育成熟,精子器多分布于原叶体腹面中央,其正面观呈圆形,直径约 55.6 (51.4–60.2) μm ,顶端为一盖细胞,两个环细胞的空腔内充满精细胞;精子器成熟后,精细胞从盖细胞的开口处溢出(图版 I:10)。该种的配子体存活率约为 75%,成苗率约为 40%;幼孢苗的成活率约为 50%。

2.2 中华桫欏

孢子三裂缝,裂缝长达孢子赤道线,极面观为三角形,极轴为 28.7 (27–32) μm ,赤道面观为半圆形,赤道轴为 45.9 (43.3–48.2) μm ,浅棕色。孢壁表面具有条纹状纹饰,壁厚度为 4.3 (4.2–4.9) μm 。接种后约 6 d,孢子萌发,产生的原丝体母细胞经连续横分裂,形成 9–10 个细胞的原丝体(图版 I:11);约 36 d 形成片状体,多数片状体形状较规则,心形,细胞自生长点按从小到大以辐射状分布,细胞中叶绿体分布均匀(图版 I:12)。有的片状体形状不规则,无明显的生长点(图版 I:13),分化出单细胞排列的丝状结构(图版 I:13,箭头所示)。有的片状体出现长舌状分叉,其顶端的细胞呈球形(图版 I:14,箭头所示)。

接种约 68 d 后,原叶体趋于成熟,呈心形片状,其腹面下部有百余条假根;原叶体中褥明显,由一到多层细胞构成(图版 II:1);生长点细胞排列呈平滑曲线状,生长点上方两翼重叠(图版 II:2,箭头所示)。片状体和原叶体表面有多数毛状体(图版 II:3,箭头所示)。真菌侵染致死的细胞,常被周围的活细胞挤压变形(图版 II:4)。假根单细胞管状、透明、不分叉,直径在 9–15 μm 之间,数量可达百余条(图版 II:1);有的假根老化变成黄褐色,管壁上出现病斑(图版 II:5)。颈卵器分布于配子体生长点的下方,且多数败育(图版 II:6,箭头所示)。精子器分布于原叶体腹面的假根丛中,高为 37.8 (35.3–40.6) μm ,直径为 53.1 (50.2–55.3) μm ,内含球形的精细胞(图版 II:7)。本种配子体的存活率约为 70%,成苗率约为 50%;幼孢苗的成活率约为 60%。

2.3 白桫欏

孢子三裂缝, 裂缝长达孢子赤道线, 极面观为钝三角形, 极轴长 20.6 (18.0–24.2) μm , 赤道面观为半圆形, 赤道轴长 31.5 (25.8–34.6) μm , 浅黄色。孢壁表面具有疣状突起, 壁厚度为 2.5 (1.8–3.2) μm 。孢子中央含有油滴, 接种 7 d 后由远离油滴的一端长出假根。25 d 发育成单列细胞的原丝体, 原丝体顶端细胞膨大, 细胞质浓稠; 假根为单细胞管状 (图版 II:8)。

40 d 左右形成片状体。原叶体为典型的心形, 宽为 1.9 (1.6–2.1) mm, 两翼夹角约为 45°; 原叶体基部下延呈渐狭的片状, 其腹面有数 10 条假根 (图版 II:9)。生长点及两翼边缘的细胞颜色浅; 生长点以下的细胞质浓且色深 (图版 II:10)。有的假根出现分叉和弯曲 (图版 II:11); 有的假根开始呈球状, 后逐渐长成长棒状 (图版 II:12)。营养细胞表面观为近六边形, 叶绿体丰富且分布均匀 (图版 II:13)。原叶体中间和边缘常有被真菌感染而坏死的细胞 (图版 II:14)。培养 80 d 左右配子体成熟, 腹面分布很多精子器。精子器释放精子后, 侧面观呈杯状 (图版 II:15, 箭头所示), 顶面观呈球形, 直径约 60.7 (56.7–62.3) μm (图版 II:16, 箭头所示); 每个精子器产生精子 46 (30–55) 个。该种配子体存活率约为 65%, 成苗率约为 20%; 幼孢苗的成活率约为 40%。

3 讨论

桫欏科 2 属 3 种配子体发育的共同特征是: 孢子为四面体形; 原丝体分化为片状体的过程易于逆转或出现片状体分叉现象; 而且配子体的成活率均在 75% 以下; 假根多数为单细胞管状不分叉; 原叶体心形, 抗逆 (病) 能力较弱; 孢苗发生率较低。这些特征都与桫欏科属于较为原始的薄囊真蕨类这一观点^[8]相吻合。就假根向重力性反应而言, 这 3 个种也都处于较原始的系统位置^[9]。其中, 中华桫欏配子体发育为首次报道。

桫欏属 2 种孢子的极轴与赤道轴长度平均值都大于 28 μm 和 45 μm , 白桫欏孢子的极轴与赤道轴长度远小于前者, 分别为 20.6 μm 和 31.5 μm ; 桫欏属 2 种的配子体都有毛状体, 而白桫欏没有; 两属原叶体两翼的开度也明显不同; 桫欏属的精子器直径在 50–55 μm 之间, 白桫欏精子器直径约为

60 μm ; 白桫欏原丝体顶端细胞膨大, 而桫欏和中华桫欏的原丝体顶端细胞均不膨大; 桫欏和中华桫欏的配子体成苗率分别为 40% 和 50% 左右, 白桫欏配子体成苗率仅为 20%; 就成熟配子体形态结构而言, 本文结果与 Huany^[5]报道的相关结论一样。总之, 上述结果都支持吴兆洪等^[8]主要以孢子体特征为依据的分属观点。

从配子体生态生理及保护生物学角度来看, 桫欏科植物濒危的主要原因如下: 一是抗病 (真菌) 能力差, 常因个别细胞染杂菌坏死而迅速导致整株原叶体死亡; 二是分化能力差, 由原丝体分化成正常片状体的几率较小; 三是性器发育易于失调, 如发育异常的片状体仅产生精子器而无颈卵器; 四是孢苗成活率较低 (小于 60%); 五是常常出现颈卵器败育现象。因此, 本文认为复壮我国的桫欏种群, 最有效的方法应是进行人工条件下的有性育苗, 这样才有可能规避菌类污染这一不利环节, 而且还可以尝试人工调节雌雄性器分化、提高受精率, 有效进行幼孢苗复壮等等。

参考文献

- [1] Delectis florae reipublicae popularis sinicae agenda academiae sinicae edita. (中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora Reipublicae Popularis Sinicae, Tomus 6(3) [M]. Beijing: Science Press, 2004:249. (in Chinese)
- [2] Khare P, Chandra S. Gametophyte morphology of an endangered species of *Cyathea* Sm. J. [J]. Ind Bot Soc, 1995, 75:103–106.
- [3] Huang Y M, Ying S S, Chiou W L. Morphology of gametophytes and young sporophytes of *Sphaeropteris lepifera* [J]. Amer Fern J, 2000, 190:127–137.
- [4] Chiou W L, Lee P H, Ying S S. Reproductive biology of gametophytes of *Cyathea podophylla* (Hook.) Copel [J]. Taiwan J For Sci, 2000, 15:1–12.
- [5] Huany Y M, Chion W L, Lee D H. Morphology of the gametophytes and young sporophytes of *Cyathea* native to Taiwan [J]. Taiwan, 2001, 46:274–283.
- [6] Liu B D (刘保东), Bao W M (包文美), Aur C W (敖志文). Studies on the development of gametophyte of *Phyllitis japonica* from China [J]. Bull Bot Res (植物研究), 1991, 11(92):93–100. (in Chinese)
- [7] Liu B D (刘保东), Zhang D W (张大维), Bao W M (包文美), et al. Studies on the morphological development gametophytes of Selaginellaceae [J]. Bull Bot Res (植物研究), 1993, 13(3):250–265. (in Chinese)
- [8] Wu S H (吴兆洪), Ching R C (秦仁昌). Fern Families and Genera of China [M]. Beijing: Science Press, 1991:80–198. (in Chinese)

- [9] Liu B D (刘保东), Sun G R (孙国荣). Effect of light on gravitropic response of rhizoids of gametophytes of ferns [J]. J Wuhan Bot Res (武汉植物学研究), 1994, 12(2):165-168. (in Chinese)

图版说明

图版 I

1-10. 桫欏的配子体发育。1. 孢子囊; 2. 孢子萌发; 3. 原丝体; 4. 幼片状体; 5. 片状体; 6. 坏死细胞; 7. 细胞上有菌丝; 8. 坏死细胞形成一条线; 9. 老化细胞; 10. 精子器群; 11-14: 中华桫欏。11. 原丝体细胞; 12. 片状体; 13. 异常的片状体; 14. 片状体出现分叉。

图版 II

1-7. 中华桫欏。1. 成熟原叶体; 2. 生长点; 3. 毛状体; 4. 坏死细胞; 5. 老化的假根; 6. 败育的颈卵器群; 7. 精子器侧面观; 8-16: 白桫欏。8. 异常的原丝体; 9. 成熟原叶体; 10. 生长点; 11. 假根分叉和弯曲; 12. 棒状的假根; 13. 营养细胞; 14. 坏死细胞; 15. 精子器侧面观; 16. 精子器及精子。

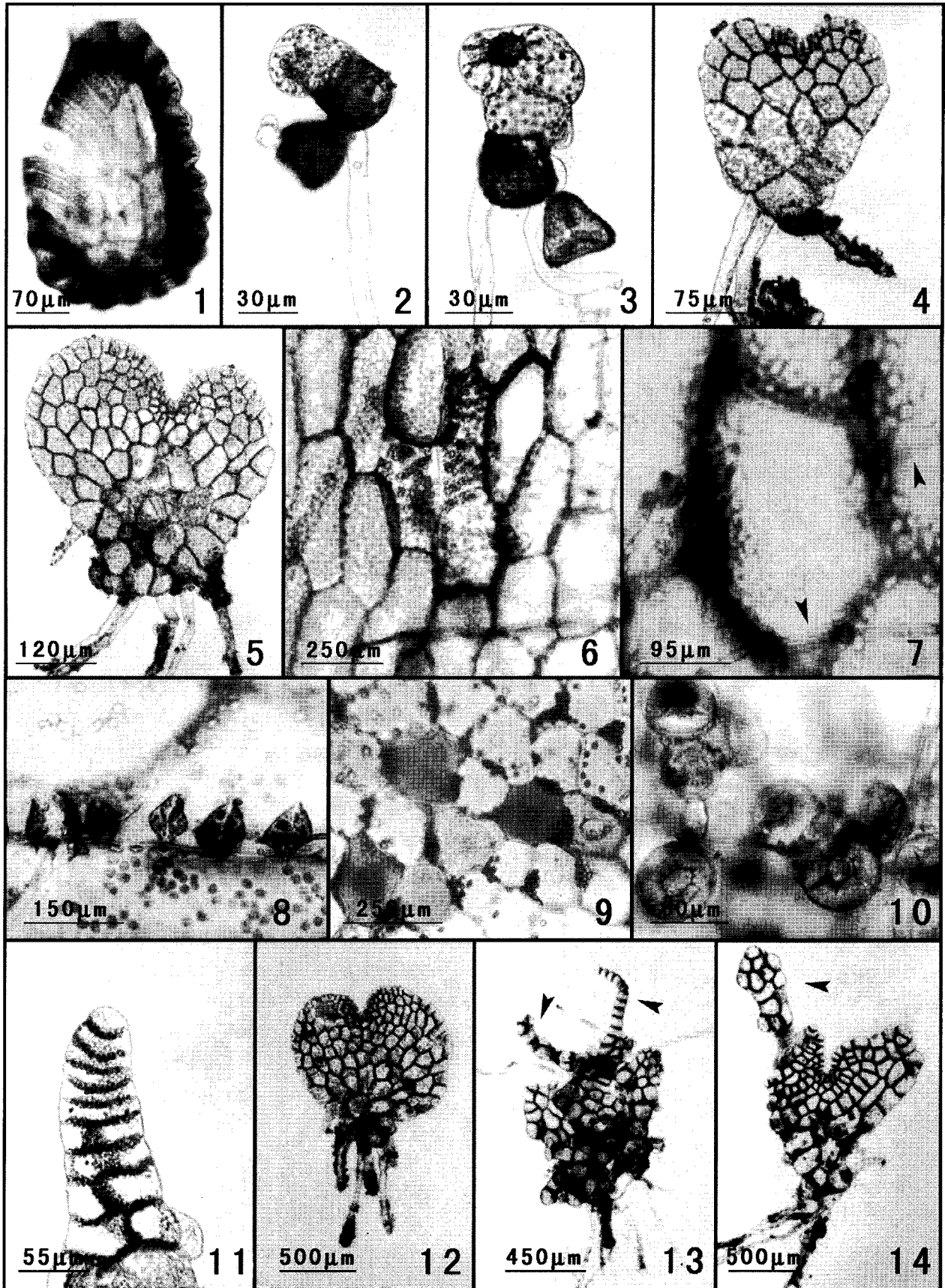
Explanation of plates

Plate I

1-10. Gametophyte development of *Alsophila spinulosa*. 1. Sporangium; 2. Spore germination; 3. Filament; 4. Young prothallial plate; 5. Prothallial plate; 6. Necrotic cells; 7. Hyphae present on cells; 8. Necrotic cells arranging in a line; 9. Aged cells; 10. Group of antheridia; 11-14. Gametophyte development of *A. costulari*. 11. Cells of filament; 12. Prothallial plate; 13. Abnormal prothallial plate; 14. Bifurcating prothallial plate.

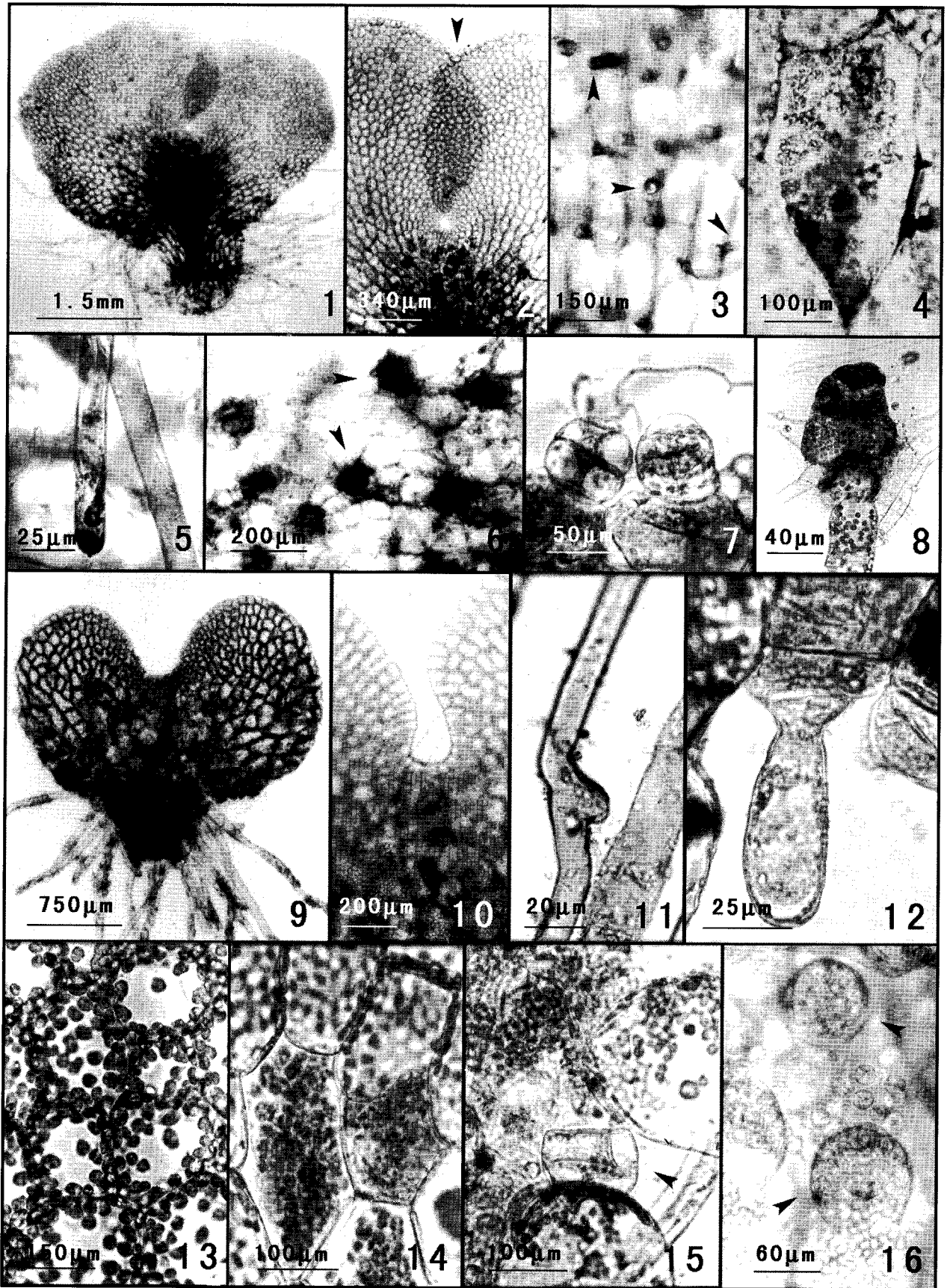
Plate II

1-7. Gametophyte development of *A. costularis*. 1. Mature prothallus; 2. Apical point; 3. Trichomes; 4. Necrotic cell; 5. Aged rhizoids; 6. Abortive archegonium groups; 7. Lateral view of antheridia; 8-16. Gametophyte development of *Sphaeropteris brunoniana*; 8. Abnormal filament; 9. Mature prothallus; 10. Apical point; 11. Bifurcated and snaky Rhizoid; 12. Clavate rhizoid; 13. Vegetative cells; 14. Necrotic cells; 15. Lateral view of antheridium; 16. Antheridia and spermatozoa.



王金娟等: 图版 I

WANG Jin-juan et al.: Plate I



王金娟等: 图版 II

WANG Jin-juan et al.: Plate II