

苏铁蕨配子体发育的研究

郭建瑞^{1,2}, 吴鸿¹, 陈霞^{1,2}, 李勇^{2*}

(1. 华南农业大学生命科学学院, 广州 510642; 2. 深圳市仙湖植物园, 广东 深圳 518004)

摘要:用无机培养基培养苏铁蕨(*Brainea insignis* (Hook.) J.Sm.)的孢子,显微镜下观察记录其孢子萌发及配子体形态发育过程。结果表明:孢子褐色,单裂缝,具周壁,稍褶皱。接种3 d左右孢子萌发,萌发类型为书带蕨型(*Vittaria* Type),原叶体发育类型为榭蕨型(*Drynaria* Type)。接种15 d左右发育为片状体。接种25 d左右发育为成熟原叶体,呈心形,其翼面和翼缘均分布有毛状体。精子器由3细胞构成,成熟颈卵器颈部由4列细胞组成,4~5层细胞高。

关键词: 苏铁蕨; 配子体; 发育

中图分类号: Q944.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2008)02-0160-05

Studies on the Development of Gametophyte in *Brainea insignis*

GUO Jian-rui^{1,2}, WU Hong¹, CHEN Xia^{1,2}, LI Yong^{2*}

(1. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

2. Shenzhen Fairy Lake Botanical Garden, Shenzhen 518004, China)

Abstract: The spores of the *Brainea insignis* (Hook.) J. Sm. were cultured in the inorganic medium. The spore germination and the gametophytic development were observed by microscope. The results showed that the spores were brown and monolete with a wrinkled perine. The spores germinated about three days after sowing. The spore germination belonged to the *Vittaria* Type while the gametophyte development was of the *Drynaria* Type. The prothallial plates formed about fifteen days after sowing. The mature cordate prothallus developed twenty-five days after sowing, profuse trichomes bearing superficial and marginal prothallus. Antheridia consisted of three cells. Archegonial neck was usually composed of four rows of cells and four to five cells high at maturity.

Key words: *Brainea insignis*; Gametophyte; Development

苏铁蕨(*Brainea insignis* (Hook.) J. Sm.)别名赤蕨,是乌毛蕨科(Blechnaceae)苏铁蕨属(*Brainea*)的单一常绿植物^[1]。其树形优美、形体苍劲、嫩叶绯红、老叶翠绿,观赏价值极高,把它引入园林作为新的园林观赏植物,效果极佳。苏铁蕨不仅具有观赏作用,还具有药用价值,其茎具有清热解毒、活血化淤、抗菌收敛等作用^[2]。但可能由于其对生境的要求比较严格和自身的生物学特性等许多原因,这种植物在自然界中的整体分布及数量稀少,面临濒危的境地,被列为国家二级重点保护野生植物^[2]。目前对苏铁蕨仅在其分布、引种^[3]及群落特征^[4]等方面有少量研究,王玥^[5]等对其配子体发育

各阶段的特点进行了观察,但未对孢子的萌发类型、片状体的发育方式等重要特征做出描述。本文利用显微摄影技术对苏铁蕨配子体的发育过程进行了全面详细的观察,并拍照记录了其配子体在形态建成过程中较为稳定的特征,以期对蕨类植物配子体发育提供基础资料,并为苏铁蕨的保护和开发利用提供依据。

1 材料和方法

孢子的采集 苏铁蕨(*Brainea insignis* (Hook.) J. Sm.)的成熟孢子于2006年9月采自深圳市仙湖植物园。将带有成熟孢子的叶片置于洁净纸袋中,

收稿日期:2007-08-08

接受日期:2007-11-05

基金项目:深圳市国家重点野生植物资源调查项目资助

* 通讯作者 Corresponding author

放于干燥通风处使孢子自然散落,约1周后将孢子去杂并收集于硫酸纸袋中。置于4℃的冰箱中进行保存,以便重复培养使用。

培养方法 取新鲜的孢子置于3 ml离心管内,滴入无菌水,充分振荡使成悬浊液,离心7~8次,得到孢子悬浊液。用滴管将此悬浊液均匀接种于改良的Knop's半固体琼脂培养基上进行培养,琼脂浓度1.2%,pH值5.5~5.8。培养室温度18~30℃,荧光灯光源,每日照光12 h,光照强度 $47\mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 。根据各发育阶段,定期做活体装片,选取典型而稳定的特征,在光学显微镜下照相并记录。本实验的数据采集是随机测取20个数值后,取其平均值。

精子的观察制作法 取出若干成熟的雄配子体置于载玻片上,滴加蒸馏水,待精子从精子器中释放后,用微吸管吸取精子,通过Noland固定染液染色并对其进行观察。

2 结果

2.1 孢子及孢子萌发

苏铁蕨的孢子褐色,单裂缝,极面观椭圆形,赤道面观豆形(图版I:1),大小约为 $43\mu\text{m}\times 51\mu\text{m}$,具周壁,稍褶皱(图版I:1)且周壁易脱落。接种的孢子吸涨后,渐变为绿色,培养3~5 d,孢子壁裂开(图版I:2),发育出1~2条无色透明的假根(图版I:3)。此时可在孢子内观察到一个大而明显的圆球形的淡黄色油滴(图版I:2,3),此后油滴随叶绿体数目的增多逐渐变小而消失。原叶体母细胞的分裂面与形成假根的分裂面垂直,表现为书带蕨型(*Vittaria* Type)^[6](图版I:3)。

2.2 丝状体

接种10 d左右,原叶体母细胞经过连续数次横分裂,形成2~8个细胞的单列丝状体,细胞呈圆柱状(图版I:4)。每个细胞内均含有叶绿体,叶绿体的数目从十几个到数十个不等,鲜绿色。

2.3 片状体

接种15 d以后,孢子由一维生长转化为二维生长,丝状体顶端细胞通过纵分裂、横分裂或斜分裂进入到片状体阶段(图版I:5,6,7,8)。当片状体前端的细胞分裂到十几个时,其边缘细胞顶部的一端或两端产生毛状体(图版I:7,8)。片状体呈狭长的舌状,顶部细胞的分裂不均等,其两侧细胞分裂

较快,顶端细胞分裂较慢,因此顶端细胞下陷,形成生长点(图版I:9)。

2.4 原叶体

片状体形成生长点时标志着个体发育进入幼原叶体阶段。由于两侧衍生的翼面细胞分裂快,细胞数目增多,生长点逐渐下陷,两翼上延,形成形态相对稳定的左右对称的心形原叶体(图版I:10)。在幼原叶体近生长点的边缘,出现一定数目的毛状体(图版I:9),生长点细胞体积较小,且细长而密集,远离生长点,细胞逐渐变大,且呈多边形(图版I:11)。原叶体发育类型为槲蕨型(*Drynaria* Type)^[6]。

接种25 d左右,幼原叶体上出现性器官,个体发育进入到成熟原叶体阶段。成熟的雌配子体生长点下方出现几层细胞加厚的中肋,雄配子体则不出现加厚的中肋。成熟原叶体翼面的细胞呈较规则的多边形,且其叶绿体的数目较多(图版II:5)。在实验中我们还观察到,成熟原叶体常在基部进行营养繁殖(图版II:3)。

2.5 毛状体

毛状体在片状体阶段开始发生,配子体的边缘和翼面都有分布,毛状体一般为单细胞,由营养细胞外突产生(图版II:1,2)。成熟的毛状体有分泌物,其长约 $45\mu\text{m}$,底部宽约 $16\mu\text{m}$,顶部宽约 $11\mu\text{m}$ 。

2.6 假根

孢子萌发初期发育出1~2条初生假根。假根呈管状,单细胞,无色透明。有些假根的末端膨胀或弯曲(图版II:4)。随着原叶体的生长,假根的数目不断增加且逐渐变为黄褐色,少数假根内含有少量内含物。

2.7 性器官

培养25 d左右,配子体上有精子器产生,精子器产生时间较颈卵器早5 d左右,精子器一般位于心形原叶体的腹面,每个原叶体上约有十余个至数十个(图版II:9),精子器高约 $61\mu\text{m}$,直径约 $48\mu\text{m}$ 。精子器(图版II:10)近圆球形,由3细胞(基细胞、环细胞、盖细胞)组成,基细胞较小,呈圆盘状;盖细胞大而明显(图版II:11)。成熟时,盖细胞内出现孔状开口,随着开口逐渐加宽,盖细胞破裂,精子释出。精子自精子器中释放出时呈圆球形(图版II:12),外被薄膜,薄膜溶解后,精子迅速游

动。释放的精子如果不能与卵结合,即在 40 ~ 50 min 后死亡且随即解体,经 Noland 染液处理后,可见精子由顶端的“S”形结构、生毛带、鞭毛、细胞质和精核五部分组成(图版 II :13)^[7]。颈卵器自播种后 30 d 左右开始产生,一般位于心形原叶体生长点下方的中肋处,每个原叶体上有几个至几十个不等(图版 II :6)。成熟颈卵器细长,常向原叶体基部倾斜或弯曲,颈部由 4 列细胞组成(图版 II :7),一般为 4~5 个细胞(图版 II :8),高约 87 μm ,直径约 57 μm ,当颈卵器顶部的盖细胞开裂,精子即可进入颈卵器与卵结合形成受精卵,受精后的颈卵器一般为褐色。

3 讨论

王玥等^[5]在采用针阔叶混交林的腐殖质土和固体培养基培养苏铁蕨配子体时,观察到苏铁蕨孢子萌发和成熟原叶体发育的时间分别为 12 d 和 78 d,而我们的观察结果为 3~5 d 和 25 d 左右。这可能与本实验接种的孢子表面未经消毒液消毒,而王玥等^[5]采用固体培养基培养孢子时用 NaClO 消毒液对孢子进行了消毒有关。文献报道,孢子年龄及孢子的清洁情况影响孢子萌发和早期配子体的发育^[8]。此外,他们还观察到苏铁蕨精子器和颈卵器的直径分别为 78 μm 和 95 μm ,本研究的观察结果与其不同,造成这些不同的原因可能与所采用的培养基、播种密度、温度、光照、营养和水分等因素有关^[9],那么最重要的影响因子是哪个?引起差异的原因有待于深入研究和探讨。

Nayar 和 Kaur^[6]曾提出乌毛蕨科植物原叶体的发育类型一般为叉蕨型。张开梅等^[10]认为乌毛蕨原叶体的发育类型为叉蕨型。但我们的研究表明,与乌毛蕨同一科的苏铁蕨原叶体的萌发方式应为槲蕨型。叉蕨型的一个重要萌发特征是毛状体在丝状体阶段开始形成,而我们观察到的苏铁蕨毛状体出现在片状体时期。因此,原叶体的发育类型可能在分类学上具有参考价值,乌毛蕨科配子体发育的研究工作还需要深入开展,为其配子体的发育提供比较全面的资料。

苏铁蕨配子体发育是苏铁蕨由孢子发育到植株的一个重要阶段。我们的研究表明,苏铁蕨配子体发育正常,且其受精率可达 86%,在实验中已经培育出幼孢子体。那么,苏铁蕨濒危的原因之一可能是孢子体阶段对环境的要求比较苛刻,造成濒危

的其它原因还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Delectis Florae Republicae Popularis Sinicae Agendae Academiae Sinicae Edita(中国科学院中国植物志编辑委员会). Flora Republicae Popularis Sinicae Tomus 4(2) [M]. Beijing: Science Press, 1999: 196-197. (in Chinese)
- [2] Huang B Q(黄宝琼). *Brainea insignis* — The treasure of plants [J]. Shantou Techn(汕头科技), 2000, 3: 17-18. (in Chinese)
- [3] Wang Y P(王用平), Wei D S(魏得生), Zeng L L(曾丽丽). The success of *Brainea insignis* introduction in Guizhou Garden [J]. Chin Wild Plant Res(中国野生植物资源), 1996, 4: 44. (in Chinese)
- [4] Tan G Z(谭观朱), Feng Z J(冯志坚), He Z J(何仲坚), et al. The characteristic of community with *Brainea insignis* in Yipingzui Natrue Reserve, Dongguan [J]. J South China Agri Univ(华南农业大学学报), 2006, 27(1): 121-123. (in Chinese)
- [5] Wang Y(王玥), Zhao J B(赵金博), Wang J J(王金娟), et al. Studies on the development of gametophytes of three species in Blechnaceae [J]. Bull Bot Res(植物研究), 2007, 27(3): 269-272. (in Chinese)
- [6] Naryar & Kaur. Gametophytes of homosporous ferns [J]. Bot Rev, 1971, 37(3): 306-307, 354.
- [7] Liu B D(刘保东), Bao W M(包文美), Ao Z W(敖志文). Studies on the morphological development gametophytes of *Phyllitis japonica* from China [J]. Bull Bot Res(植物研究), 1991, 11(2): 92-100. (in Chinese)
- [8] Lu C T(鲁翠涛), Mei X G(梅兴国), Zhong F(钟凡). Studies on factors of pteridophyte spore germination [J]. Guihaia(广西植物), 2002, 22(6): 503-508. (in Chinese)
- [9] Zeng H Y(曾汉元), Ding B Y(丁炳扬). Studies on the gametophyte development in fern [J]. Bull Bot Res(植物研究), 2003, 23: 154-158. (in Chinese)
- [10] Zhang K M(张开梅), Shi L(石雷), Li D(李东). Observation on the gametophyte development of *Blechnum orientale* [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2005, 13(5): 419-422. (in Chinese)

图版说明

图版 I

1. 孢子; 2~3. 孢子萌发; 4. 丝状体; 5~8. 片状体; 9~10. 幼原叶体; 11. 生长点;

图版 II

1~2. 毛状体; 3. 营养繁殖; 4. 假根; 5. 叶绿体; 6. 成熟的雌配子体; 7. 颈卵器的顶面观; 8. 颈卵器的侧面观; 9. 成熟的雄配子体; 10. 精子器顶面观; 11. 精子器侧面观; 12. 螺旋状卷曲的精子; 13. 精子。

Explanation of plates

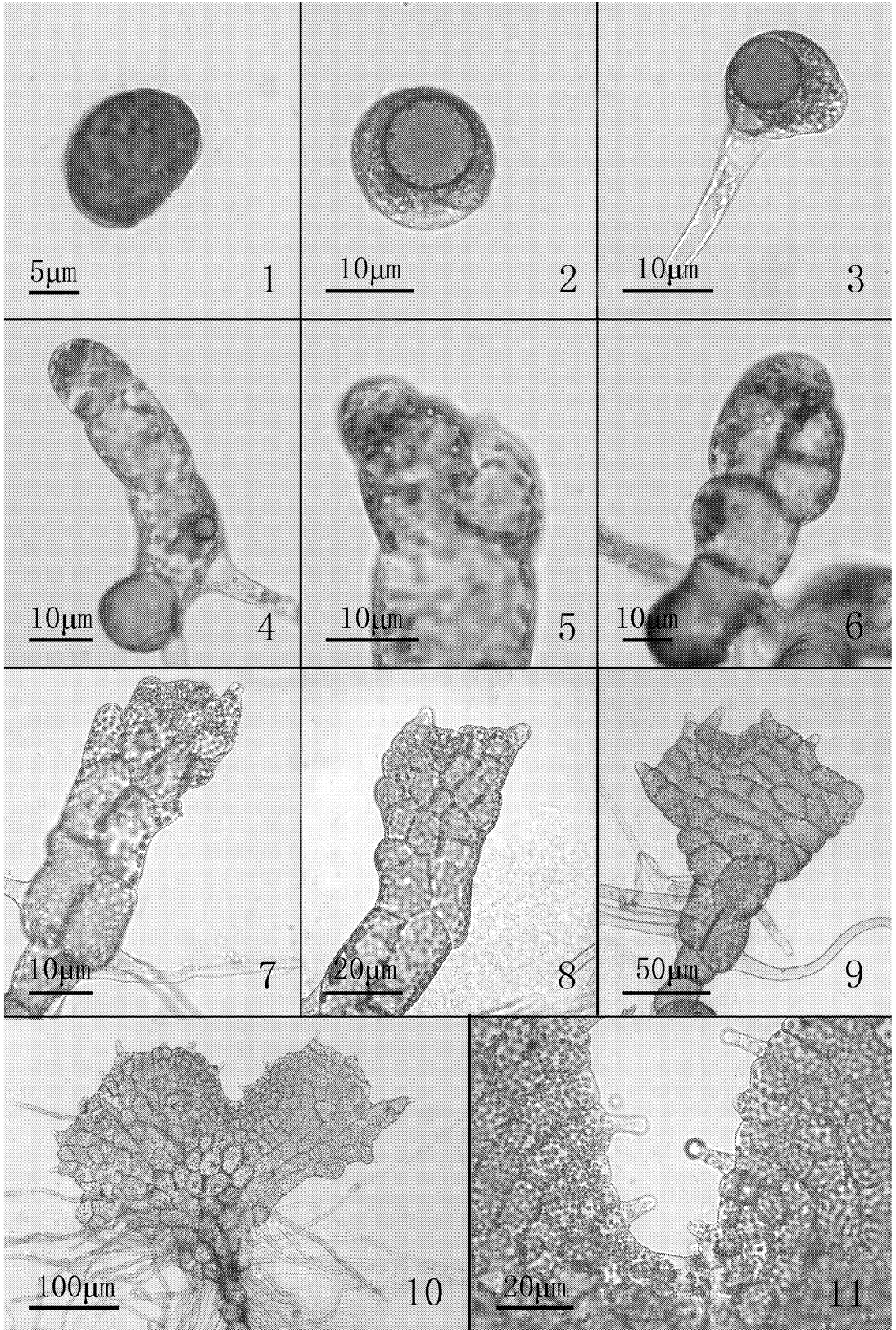
Plate I

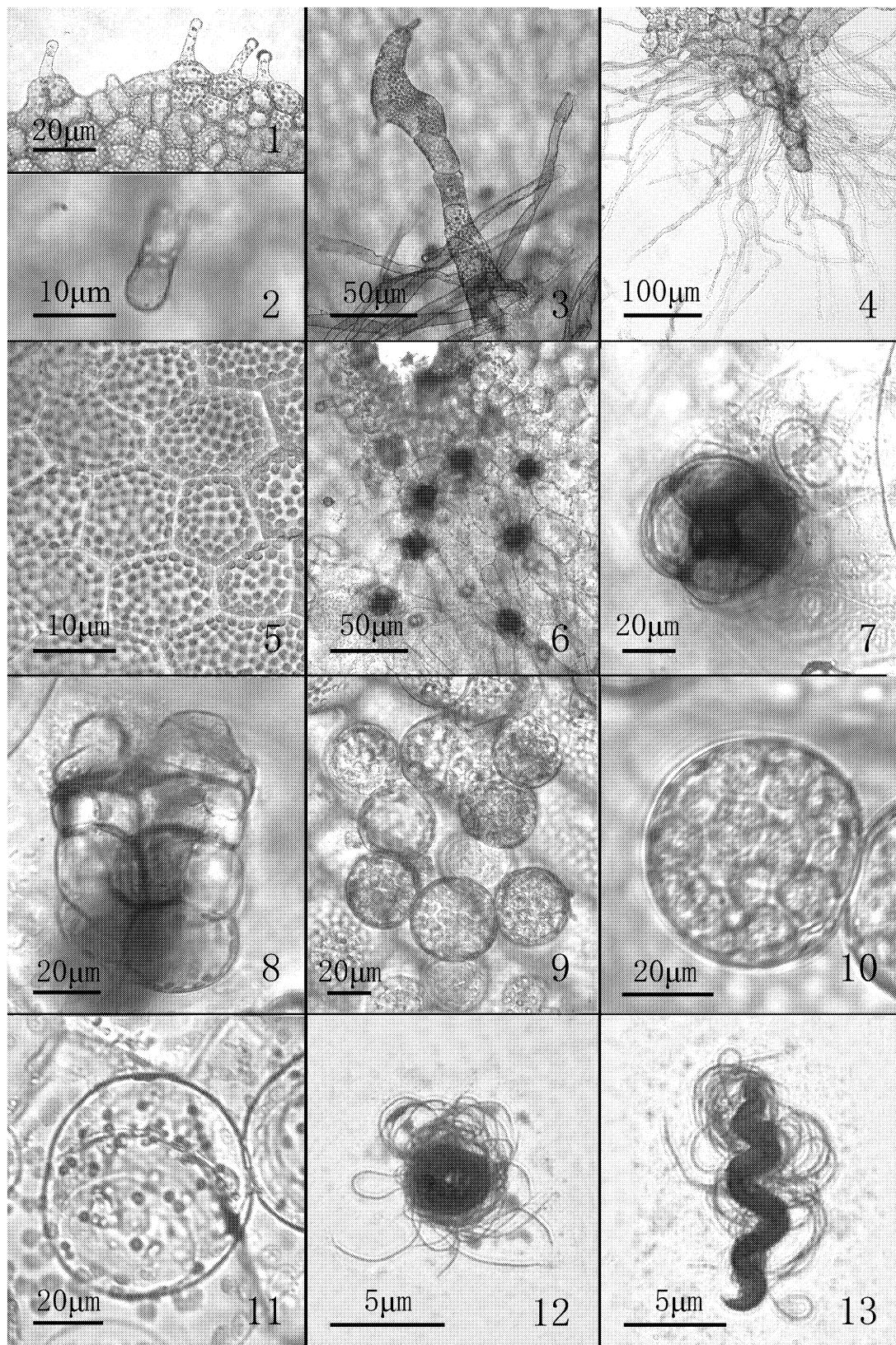
1. Spore; 2~3. Spore germination; 4. Filament; 5~8. Prochallial plate; 9~10. Young prothallus; 11. Growing point;

Plate II

1~2. Trichomes; 3. Vegetative reproduction; 4. Rhizoids; 5. Chloroplastid; 6. Mature female prothallus; 7. Top view of archegonium;

8. Lateral view of archegonium; 9. Mature male prothallus; 10. Top view of the antheridium; 11. Lateral view of the antheridium; 12. Helical-curling spermatozoa; 13. Spermatozoa.





郭建瑞:图版 II

GUO Jian-rui, et al.: Plate II