

粗齿黔蕨配子体发育的研究

郭治友^{1*}, 刘红梅², 张宪春³, 刘保东⁴

(1. 黔南民族师范学院生命科学系, 民族生物资源研究所, 贵州 都匀 558000; 2. 北京大学深圳研究生院城市人居环境科学与技术重点实验室, 广东 深圳 518055; 3. 中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室, 北京 100093; 4. 哈尔滨师范大学生命科学学院, 哈尔滨 150025)

摘要: 用原生境腐殖土对粗齿黔蕨(*Phanerophlebiopsis blinii* (Lévl.) Ching)的孢子进行培养,显微镜下观察孢子萌发和配子体发育过程。结果表明:粗齿黔蕨的孢子深棕色,单裂缝,极面观椭圆形,赤道面观为半圆形。播种1周后孢子萌发,萌发类型为书带蕨型(*Vittaria*-type),配子体发育为叉蕨型(*Aspidium*-type)。丝状体由4~12个细胞组成,片状体宽达9个细胞,斜向一侧生长,边缘具毛状体。播种约2个月后形成原叶体,成熟原叶体成对称心形。在粗齿黔蕨的配子体发育过程中,成熟原叶体的背腹面和边缘均被毛状体,假根有分叉且尖部常膨大,并含有较大的颗粒状贮藏物,精子器有3个壁细胞等特征较为进化,而颈卵器粗短且直立的特征较为原始。粗齿黔蕨的精子器和颈卵器发育不同步,精子器的出现和成熟均早于颈卵器的发育。从配子体发育的角度,初步探讨了粗齿黔蕨野外种群数量较少的成因。

关键词: 粗齿黔蕨; 鳞毛蕨科; 孢子萌发; 配子体发育; 分类学意义

中图分类号: Q944.4

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2010)01-0054-06

Studies on the Gametophyte Development of *Phanerophlebiopsis blinii* (Lévl.) Ching (Dryopteridaceae)

GUO Zhi-you^{1*}, LIU Hong-mei², ZHANG Xian-chun³, LIU Bao-dong⁴

(1. Department of Life Science and Institute of Ethnobiological Resources, Qiannan Normal College for Nationalities, Duyun 558000, China;

2. Key Laboratory for Environmental and Urban Sciences, Shenzhen Graduate School, Peking University, Shenzhen 518055, China;

3. State Key Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093, China;

4. College of Life and Environment Sciences, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

Abstract: The spores of *Phanerophlebiopsis blinii* (Lévl.) Ching were cultured in humus soil of pro-habitat. The spore germination and the gametophyte development were observed under microscope. The spores are dark-brown, monolete, elliptical in polar view and hemicyclic in equatorial view. The spores germinate about one week after sowing. The type of germination is *Vittaria*-type, and that of gametophyte development is *Aspidium*-type. Germ filament is consisted of 4 to 12 cells. Prothallial plate is usually lopsided with 9-cell width. Mature prothallus are cordate-thalloid with unicellular papillate hairs on the margin as well as the dorsal and ventral parts. More advanced characteristics, such as rhizoids usually are bifurcated and enlarged on the apex with granular stored substances, and antheridium is consisted of three wall cells. However, short and vertical neck of archegonia is a rather primitive character. The gametophyte development of *Phanerophlebiopsis blinii* is asynchronous, the development and maturation of antheridia is earlier than that of archegonia. From the view of characteristics of gametophyte development, the possible reasons of restricted distribution of *P. blinii* in the field environment were discussed.

Key words: *Phanerophlebiopsis blinii*; Dryopteridaceae; Spore germination; Gametophyte development; Taxonomic significance

黔蕨属 (*Phanerophlebiopsis*) 隶属于鳞毛蕨科 (*Dryopteridaceae*), 现知有 9 种, 中国特有, 以贵州和湖南为分布中心, 向东分布到湖南西部, 向南至广西东北部, 向西达四川东部^[1-2]。1965 年, 秦仁昌建立了黔蕨属^[3]。秦仁昌^[2]和谢寅堂^[4]先后对该属进行了类群修订, 并综述了形态学和地理分布等方面的研究。卢金梅等^[5]对长叶黔蕨 (*P. neopodophylla* (Ching) Ching ex Y. T. Xie) 进行了细胞学研究。配子体形态特征和发育过程对蕨类系统学研究具有重要意义^[6-7], 目前尚未见黔蕨属配子体发育方面的报道。本文利用显微摄影技术, 对粗齿黔蕨 (*P. blinii* (Lévl.) Ching) 孢子萌发和配子体发育过程进行了详细观察, 初步探讨配子体发育特征对该属分类学和系统学研究的意义, 为分析该属物种的形成与局限分布提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

粗齿黔蕨 (*Phanerophlebiopsis blinii* (Lévl.) Ching) 的孢子于 2007 年 7 月 30 日采自贵州省都匀市斗篷山马腰河峡谷。凭证标本保存于黔南民族师范学院生命科学系民族生物资源研究所标本室。将带有成熟孢子的叶片装入自封袋, 带回实验室转入硫酸纸袋中, 放于干燥通风处自然风干, 孢子脱落后收集于小牛皮纸袋, 4℃ 冰箱贮存备用。

1.2 方法

利用原生境腐殖土培养。将过细筛后的原生境腐殖土用报纸包好, 130℃ 高压灭菌 30 min, 装入用甲醛高锰酸钾熏蒸过的紫砂花盆至 2/3 花盆体积, 用手压实, 浇蒸馏水使盆土湿润, 将孢子均匀地撒播在土壤表面, 以明显看到孢子为播种量。以保鲜膜封盆口, 在膜上用针刺孔。置黑暗处培养 2 d 后, 置于实验室窗台上自然培养, 共 3 个重复。从孢子萌发至发育到丝状体阶段, 每天取样 1 次制片, 丝状体阶段之后每 3 d 取样 1 次制片观察, 用 Olympus CH3 型、Motic AE31 型显微镜观察并拍照。精子用鲁哥液染色观察, 颜色用肉眼观察, 数据取随机测定的 10 个数值的平均值。

2 结果和分析

2.1 孢子及其萌发

粗齿黔蕨的孢子深棕色, 单裂缝, 赤道面观为半圆形(图版 I:1), 极面观为椭圆形(图版 I:2)。孢

子周壁具疣状纹饰, 孢子大小为(30.1~39.8) μm \times (41.2~53.8) μm 。孢子先吸胀, 形状由半圆形变成椭圆形, 细胞体积增大, 叶绿体增多, 播种 1 周后自单裂缝处萌发(图版 I:3), 发育至丝状体后长出假根, 假根与营养细胞垂直, 孢子萌发为书带蕨型 (*Vittaria-type*)^[8]。

2.2 丝状体

播种 2 周后进入丝状体发育阶段。原叶体母细胞横分裂, 形成单列细胞, 丝状, 由 4~12 个细胞组成。细胞长圆形, 内含多数叶绿体, 主要集中在前端。丝状体上仅有少数几个原叶体细胞具单条假根, 假根含叶绿体, 孢壁宿存(图版 I:4)。

2.3 片状体

播种 3 周后进入片状体发育阶段。在丝状体前端的原叶体细胞出现乳头状的毛状体, 其后面的几个原叶体细胞分别行纵向和横向分裂, 产生多个细胞, 偏向一侧(图版 I:5)或对称发育(图版 I:6), 但一侧的毛状体较多且细胞分裂缓慢, 最终分裂偏向另一侧(图版 I:7), 边缘出现较多单细胞乳头状的毛状体, 内含叶绿体数枚。片状体宽度可达 9 个细胞, 腹面假根数量不断增多。

2.4 原叶体

播种 2 个月后, 片状体前端产生倒圆锥形的分生细胞(图版 I:8), 由该细胞不断分裂, 形成生长点, 生长点的细胞小, 细胞质浓(图版 I:9), 随着生长点细胞的不断分裂, 原叶体中心区域的细胞层数增多, 逐渐变大增厚, 在分生细胞的作用下, 成熟的原叶体发育为对称的心形(图版 I:10)。播种 4 个月后精子器出现, 其后约 10 d 出现颈卵器。成熟原叶体边缘着生有较多的毛状体(图版 I:11), 背腹面也被大量的毛状体, 假根丛生于腹面(图版 I:12), 原叶体发育属三叉蕨型 (*Aspidium-type*)^[8]。成熟原叶体中部有明显增厚的中肋, 在原生境土壤上培养易形成超大原叶体, 原叶体大而厚, 腹面的假根短而增多, 中肋极厚, 精子器和颈卵器数量增多。

2.5 毛状体

毛状体始出现于丝状体顶端, 分布片状体的边缘、原叶体的背腹面及边缘。成熟原叶体上的毛状体单细胞乳头状, 含有叶绿体, 基部宽 25 μm , 中部宽 18 μm , 顶部宽 34 μm , 高 69 μm (图版 I:12)。成熟老化的毛状体无叶绿体, 顶部变大色深, 表面有分泌物(图版 I:13)。

2.6 假根

成熟原叶体的假根位于腹面,数量多,假根直径 29 μm ,有分叉(图版 I:14),根尖通常膨大(图版 I:15),中部(图版 I:16)和头部(图版 I:17)常有颗粒状贮藏物,球形,大小为 22 μm \times 27 μm 。

2.7 性器官

播种 4 个月后出现性器官,发育为薄囊蕨型,雌雄同株,精子器先于颈卵器发生,分布于原叶体腹面的假根丛中,数量较多,顶面观为椭圆形(图版 I:18),54 μm \times 51 μm ,孔裂为 22 μm \times 30 μm 。基部有 1 柄细胞,高 29 μm ,顶部由 3 个细胞构成。精细胞圆球形,从精子器顶部孔裂溢出几分钟后,细胞表面膜破裂,变成具多条鞭毛的游动精子(图版 I:19)。精子为螺旋近 3 圈带状体,长 29 μm ,粗 17 μm (图版 I:20);颈卵器分布于原叶体腹面近生长点的中肋上,数个,颈部侧面观为短棒状(图版 I:21),有 4~5 层细胞,高 69 μm (图版 I:22),顶面观为铜钱状,直径为 53 μm ,孔径 26 μm (图版 I:23),成熟未受精的颈卵器呈深棕褐色(图版 I:24)。

2.8 胚的发育

成熟原叶体出现后,每天喷水保湿。播种约 5 个月后可观察到有少数幼孢子体出现。通常 1 个原叶体仅有 1 个颈卵器发育,腹部逐步膨大,并分化出明显的胚,幼叶拳卷状,被多细胞的鳞片和鳞毛,胚根从腹部伸出后逐渐伸长(图版 I:25)。

3 讨论

粗齿黔蕨的孢子为单裂缝,赤道面观和极面观分别为半圆形和椭圆形,孢子周壁具疣状纹饰,同王全喜的报道一致^[11]。

蕨类植物的配子体结构简单,生长周期短,易于观察,是进行蕨类植物研究的良好实验材料。同时,不同物种的配子体发育过程有不同的特点,有助于阐明不同类群之间的亲缘关系。与鳞毛蕨科其他属植物配子体发育比较,黔蕨属的配子体发育类型与耳蕨属的鞭叶耳蕨(*Polystichum craspedosorum*)、棕鳞耳蕨(*P. braunii*)、前原耳蕨(*P. mayebarae*)以及复叶耳蕨属的斜方复叶耳蕨(*Arachniodes rhomboidea*)和美丽复叶耳蕨(*A. speciosa*)一致^[10,12],即孢子萌发为书带蕨型,原叶体发育为三叉蕨型。同时,在丝状体末期发育开始均

产生乳头状的毛状体。配子体发育的差异主要表现在粗齿黔蕨的颈卵器直立且较为粗短,另外,形态与大小上的差别也不同于耳蕨属和复叶耳蕨属植物。

从黔蕨属的配子体发育过程可以看出,该属植物的配子体发育兼具进化和原始的特点。曾汉元等^[12]曾提出毛状体的出现是一个进化的特征。粗齿黔蕨有毛状体,且毛状体中含有叶绿体,因此,在毛状体的特征上,黔蕨属较为进化。此外,精子器有 3 个壁细胞的特征也较为进化,而颈卵器较为粗短且直立的特征则较为原始^[9]。

粗齿黔蕨的孢子萌发过程出现假根,第一原叶体细胞冲破孢壁,或到丝状体时才出现假根,这是一个值得关注的现象。成熟原叶体的假根分叉且根尖膨大。同时,我们观察到,秋冬季节粗齿黔蕨的原叶体假根内含有颗粒状贮藏物,而春夏季节无,因此推测颗粒状贮藏物的出现可能与抵御冬季低温有关。

根据我们的试验统计,粗齿黔蕨的原叶体成苗率仅约为 1.3%,远低于同科植物刺齿贯众(*Cyrtomium balansae*)50%的成苗率^[13]。粗齿黔蕨精子器与颈卵器发育不同步,即精子器的出现和成熟均早于颈卵器,而且成熟原叶体上颈卵器的数量较少,我们推测这种发育特点可能是导致其成苗率低的一个因素。

参考文献

- [1] Wu S G(武素功). Flora of Reipublicae Popularis Sinicae Tomus 5 (1) [M]. Beijing: Science Press, 2000: 96-99.(in Chinese)
- [2] Ching R C(秦仁昌). Some additions and corrections to the fern genus *Phanerophlebiopsis* Ching [J]. Bull Bot Res(植物研究), 1987, 7(1): 71-75.(in Chinese)
- [3] Ching R C(秦仁昌). Two new fern genera from China [J]. Acta Phytotaxon Sin(植物分类学报), 1965, 10(2): 115-120.(in Chinese)
- [4] Xie Y T(谢寅堂). Classification and distribution of *Phanerophlebiopsis* Ching [J]. Bull Bot Res(植物研究), 1990, 10(1): 87-91.(in Chinese)
- [5] Lu J M(卢金梅), Li D Z(李德铎), Wu D(吴丁). Chromosome numbers of four genera in the Dryopteridaceae [J]. Acta Phytotaxon Sin(植物分类学报), 2006, 44(5): 516-522.(in Chinese)
- [6] Xu Y(徐艳), Li Y(李杨), Li D(李东), et al. Observation on the gametophyte development of *Drynaria roosii* Nakaïke [J]. J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报), 2009, 17(1): 12-16.(in Chinese)

- [7] Zhang L X(张凌献), Liu B D(刘保东), Tan L Y(檀龙云). Gametophyte development of *Microlepia strigosa* and *M. platyphylla* (Dennstaedtiaceae) [J]. *J Trop Subtrop Bot(热带亚热带植物学报)*, 2008, 16(3): 249-254.(in Chinese)
- [8] Nayar B K, Kaur S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. *Bot Rev*, 1971, 37(3): 295-396.
- [9] Wu Z H(吴兆洪), Ching R C(秦仁昌). *Fern Families and Genera of China* [M]. Beijing: Science Press, 1991: 427-429.(in Chinese)
- [10] Wang Q X(王全喜), Shao C W(邵成文), Cao J G(曹建国), et al. Studies of the development of gametophytes of ferns from North-Eastern China. XI. Dryopteridaceae [J]. *Nat Sci J Harbin Nor Univ(哈尔滨师范大学自然科学学报)*, 1995, 11(4): 83-89.(in Chinese)
- [11] Wang Q X(王全喜). Studies on the spore morphology of Polypodiales from China [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2001: 1-293.(in Chinese)
- [12] Zeng H Y(曾汉元), Ding B Y(丁炳扬). Studies on the gametophytes development in ferns [J]. *Bull Bot Res(植物研究)*, 2003, 23(2): 154-158.(in Chinese)
- [13] Zeng H Y(曾汉元). Studies on the propagation of ornamental ferns and development of gametophyte [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2001: 1-70.(in Chinese)

图版说明

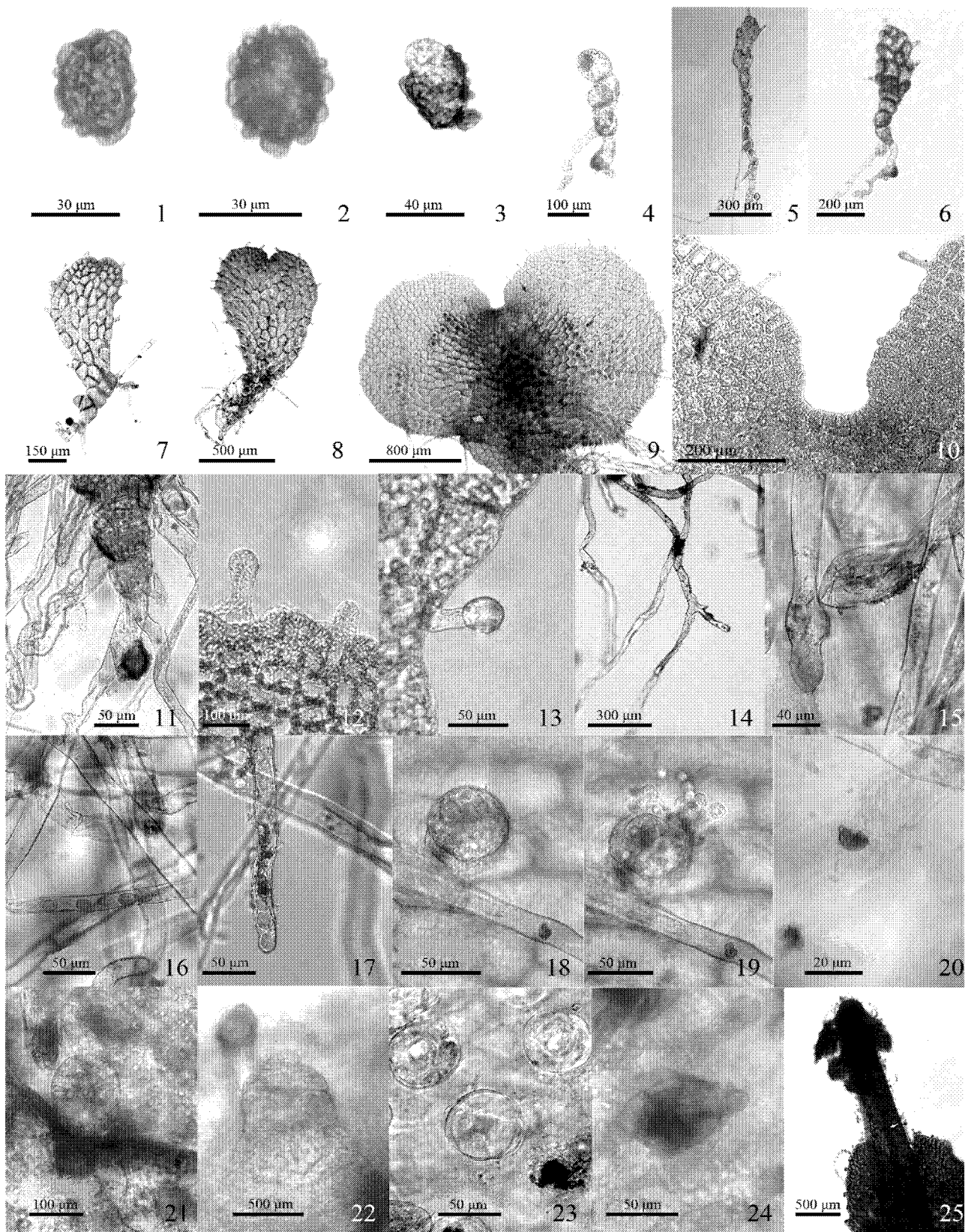
图版 I

1. 孢子侧面观; 2. 孢子极面观; 3. 孢子萌发; 4. 丝状体; 5. 片状体; 6. 幼原叶体; 7. 幼原叶体; 8. 幼原叶体; 9. 成熟原叶体; 10. 成熟原叶体的生长点; 11. 成熟原叶体上孢壁宿存; 12. 毛状体; 13. 老化的毛状体; 14. 假根分叉; 15. 假根尖的膨大; 16. 假根内的贮藏颗粒; 17. 假根尖的贮藏颗粒; 18. 精子器; 19. 精子的释放; 20. 成熟的精子; 21. 颈卵器侧面观; 22. 颈卵器侧面观; 23. 颈卵器顶面观; 24. 成熟的颈卵器; 25. 幼孢子体。

Explanation of plate

Plate I

1. Equatorial view of spores; 2. Polar view of spores; 3. Spore germination; 4. Filament; 5. Prothallial plate; 6. Young prothallus; 7. Young prothallus; 8. Young prothallus; 9. Adult prothallus; 10. Growth point of adult prothallus; 11. Existing sporoderm; 12. Hair; 13. Aged hair; 14. Rhizoid; 15. Enlarged on apex; 16. Storage grains at inner rhizoid; 17. Storage grains at tip of rhizoid; 18. Antheridium; 19. Sperm release; 20. Sperm; 21. In lateral view of the archegonium; 22. In lateral view of the archegonium; 23. The apical view of the archegonium; 24. Mature archegonium; 25. Young sporophyte.



郭治友等: 图版 I

GUO Zhi-you, et al.: Plate I