

# 液体培养基条件下乌毛蕨配子体发育的研究

戴锡玲, 王全喜, 李新国

(上海师范大学生命与环境科学学院, 上海 200234)

**摘要:** 在液体培养基条件下对中国产乌毛蕨(*Blechnum orientale* L.)配子体发育进行了观察。结果表明: 乌毛蕨的孢子为两面体型, 两侧对称, 极面观为椭圆形, 赤道面观为半圆形或豆形, 周壁具脊状褶皱; 孢子萌发为书带蕨型; 原叶体发育为三叉蕨型, 成熟原叶体为对称的心脏形。经比较分析, 蕨类植物孢子繁殖时采用混合土培养较适宜; 液体培养基和混合土在研究蕨类植物配子体发育时同样具有可行性。孢子形态和配子体发育的观察结果表明, 乌毛蕨是蕨类植物中较进化的种类; 乌毛蕨科与鳞毛蕨科亲缘关系较近。

**关键词:** 乌毛蕨; 液体培养基; 配子体; 发育

中图分类号: Q945.51

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)02-0205-04

## Study on the Development of Gametophyte of *Blechnum orientale* under the Condition of Liquid Medium

DAI Xi-Ling, WANG Quan-Xi, LI Xin-Guo

(College of Life and Environment Sciences, Shanghai Normal University, Shanghai 200234, China)

**Abstract:** The gametophyte development of *Blechnum orientale* L. from China is observed under the condition of liquid medium in this paper. The results show that the spore of *B. orientale* is bilaterally symmetric, elliptic in polar view, semicircle or fabaceous in equatorial view, the lophate is formed by the perispore; The pattern of spore germination is of vittaria-type; the prothallial development is aspidium-type; The developed prothallial is cordiform. Through comparative analysis, it is feasible to make use of mixed soil to cultivate when the spores of fern develop. It is also feasible to use liquid medium in the study of the development of gametophyte. From the view of spore morpha and gametophyte development, *B. orientale* is more evolutional species in fern, and close to dryopteridaceae in genetic relationship. The results try to provide some medium information for the culture of fern gametophyte and spore propagation, as well as accumulate some data for ferns systematic.

**Key words:** *Blechnum orientale* L.; Liquid medium; Gametophytes; Development

蕨类植物配子体培养和孢子繁殖所采用的培养基质主要有无机固体培养基、无机液体培养基、混合土和瓦片等, 不同培养基质对蕨类植物孢子萌发和配子体发育具有一定影响。近年来, 国内外在这方面只有少数报道<sup>[1-4]</sup>。

乌毛蕨(*Blechnum orientale* L.)隶属于乌毛蕨科(*Blechnaceae*)乌毛蕨属(*Blechnum*)。乌毛蕨属约有35种, 主产南半球热带。我国仅乌毛蕨1种, 产于西南、华南及华东(南部), 生阴湿林下或溪边, 为酸性土指示植物<sup>[5]</sup>。张开梅等<sup>[6]</sup>采用混合土培养对乌毛蕨配子体发育进行了研究。本文利用光学显微镜和显微摄影技术在液体培养基条件下, 对产自我国的乌毛蕨配子体发育过程进行了观察, 记录描述了其配子体各发育阶段的形态结构特征, 试图为

蕨类植物配子体培养和孢子繁殖提供培养基质方面的依据, 以及为蕨类植物的系统分类提供配子体方面的资料。

### 1 材料与方法

#### 1.1 孢子的收集

乌毛蕨(*Blechnum orientale* L.)孢子的标本于2004年10月22日采自云南瑞丽, 现保存于上海师范大学植物标本室。采集具有成熟孢子且孢子囊未开裂的叶片, 将叶片自植物体上采下后放入信封中, 待孢子囊自然裂开, 成熟孢子散落于信封中后, 置于4℃冰箱中保存待用。

#### 1.2 孢子的接种培养

将成熟孢子消毒和清洗后制成孢子悬浮液, 并

收稿日期: 2006-08-07, 修回日期: 2006-09-12。

基金项目: 上海师范大学科研启动基金(PL515)资助。

作者简介: 戴锡玲(1973-), 女, 博士, 讲师, 主要从事植物学教学和科研工作。

均匀接种在改良 knop's 液体培养基上。将接种后的培养皿置于 RXZ 型智能人工气候箱中培养。培养条件为全天光照, 光照强度约 2000 lx; 温度为 25℃左右; 湿度为 60%~70%。定期观察并照相记录。每次培养 3 个小培养皿, 共培养 2 次。文中数据为测量 10 个材料的平均值。

## 2 观察结果

### 2.1 孢子及孢子萌发

乌毛蕨孢子为两面体型, 两侧对称, 极面观为椭圆形, 赤道面观为半圆形或豆形。孢子极轴长 28~32  $\mu\text{m}$ , 赤道轴长 37~41  $\mu\text{m}$ 。单裂缝, 裂缝长度为孢子长轴的 3/4 或几达赤道面。周壁向外隆起, 形成少数几条脊状褶皱(图 1:A)。

接种 4 d 后孢子破壁萌发, 从孢子的裂缝处伸出初生假根(图 1:B)为第一个细胞, 随后出现原叶体原始细胞。孢子萌发为书带蕨型( *Vittaria-type*)<sup>[7]</sup>。

### 2.2 丝状体

接种 6~7 d 后, 原叶体原始细胞横裂为二, 并出现明显的叶绿体颗粒, 前端细胞再进行多次横裂, 成为 5~10 个细胞长的单列丝状体。在液体培养基条件下, 丝状体细胞呈长圆柱状或圆柱状, 边缘略向外鼓出, 排列整齐, 叶绿体分布均匀。丝状体多挺直生长(图 1:C)。

### 2.3 片状体

由于丝状体顶端不出现明显的顶端细胞, 因此, 前端的细胞都处于分裂状态成为分散生长, 而形成一片细胞, 基部为 2~3 列细胞宽。片状体细胞叶绿体颗粒明显, 细胞间隔分明, 前端边缘出现毛状体(图 1:D,E)。

### 2.4 原叶体

接种 9~10 d, 当片状体前端宽至 4~5 个细胞时, 在前端出现凹陷, 凹陷处为分生组织, 此时由片状体进入幼原叶体阶段。分生组织的分裂使整个幼原叶体前端逐渐变得宽阔。随着发育, 顶端的下陷逐渐加深, 使幼原叶体成为明显的两侧对称的长条状心脏形。其边缘细胞较尾部细胞小型且整齐, 自前端到外侧体积逐渐增大, 翼细胞六边形。由分生组织产生的毛状体多集中于幼原叶体的上半部(图 1:F)。

成熟原叶体深绿色, 叶绿体丰富, 顶端下陷明显, 形成典型的心脏形。后端急尖, 宽度大于长度。两翼强力向斜上方扩展, 两翼均为宽卵形, 略斜向上

升, 外侧边缘全缘, 少有波状。边缘细胞长方形或不规则形, 翼细胞六边形或不规则形(图 1:G)。原叶体发育为三叉蕨型( *Aspidium-type*)<sup>[7]</sup>。

### 2.5 毛状体

毛状体最早于片状体时期出现, 多数出现于原叶体前端及背腹面的表面。原叶体发育早期出现的毛状体分布较密集, 成熟原叶体边缘毛状体则稀疏分布。该毛状体为单细胞直形圆柱状, 不分枝, 表面光滑, 内含叶绿体, 毛状体与相连的边缘细胞不向外突出或突出(图 1:H)。

### 2.6 假根

孢子萌发产生的初生假根为一无色的管状细胞(图 1:B)。此后, 次生假根沿原叶体下部背腹面大量分布。次生假根幼时呈无色透明状, 细长, 略含有叶绿体, 老时顶端呈红褐色, 粗细均匀, 有时略有弯曲, 未见分叉(图 1:F,G)。

### 2.7 性器官

自接种后 5~6 周出现性器官。成熟原叶体是两性的, 即同一原叶体上既有精子器又有颈卵器。

精子器位于原叶体边缘及后半部。精子器近球形, 突出于原叶体表面。精子器由盖细胞、环细胞和基细胞组成, 直径约 31~35  $\mu\text{m}$ 。成熟精子器的盖细胞孔裂, 精子逸出(图 1:I)。

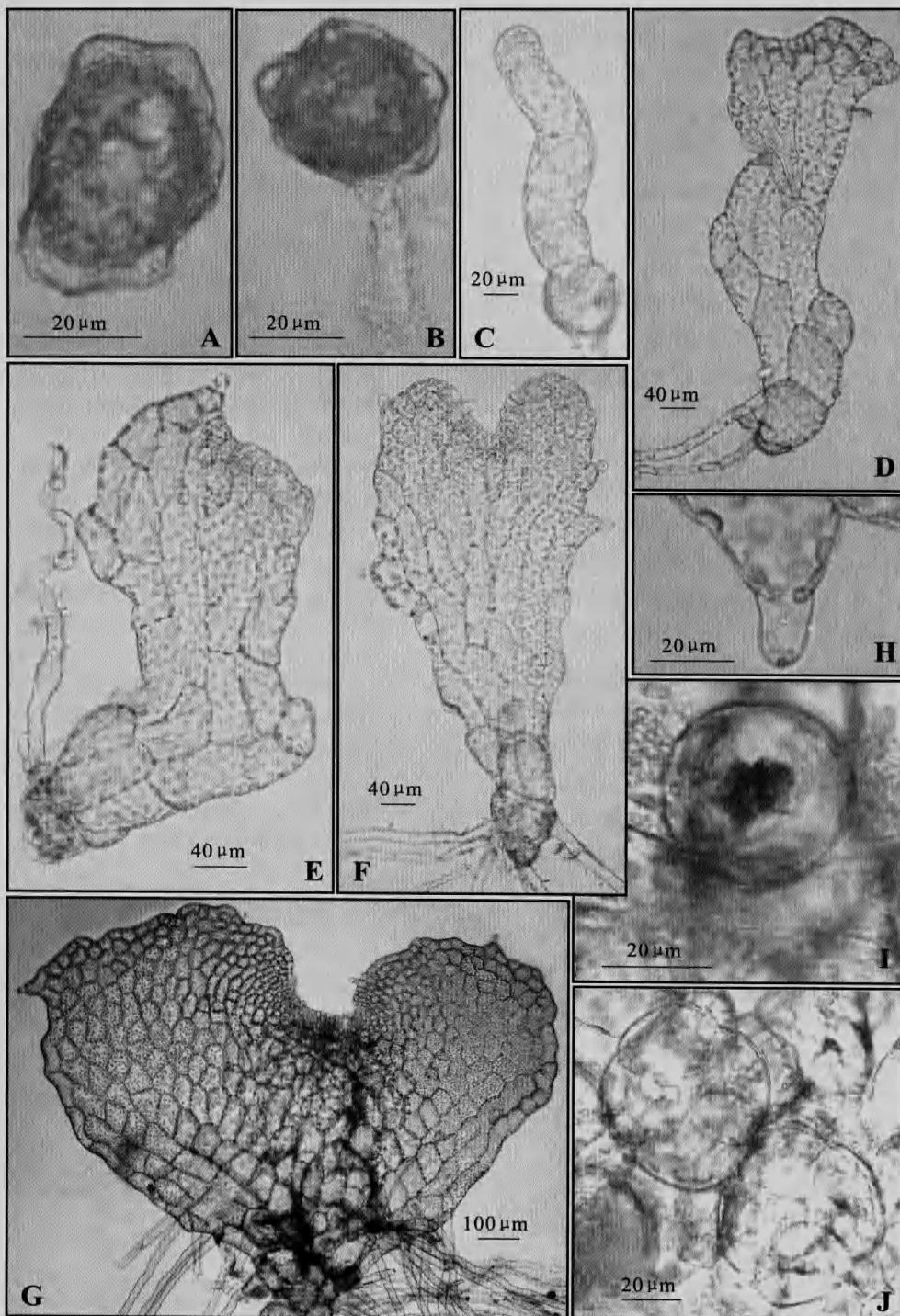
颈卵器呈烧瓶状, 腹部埋在原叶体组织内, 颈部由 4~5 层的 4 列颈壁细胞组成, 露出原叶体表面, 直立状, 稍后倾, 顶面观为铜钱状, 直径约 52~60  $\mu\text{m}$ (图 1:J)。受精后的颈卵器呈深褐色。

## 3 讨论

张开梅等<sup>[6]</sup>采用混合土培养乌毛蕨配子体, 孢子萌发和原叶体开始发育的时间分别为 1 周和 2 周, 长于本文利用液体培养基培养的观察结果 2~4 d 和 9~10 d; 而性器官形成的时间为 1 个月左右, 比本文的观察结果 5~6 周短。可见, 采用液体培养基培养乌毛蕨孢子, 在原叶体形成之前的生长速度较混合土快, 而原叶体成熟阶段(即精子器和颈卵器形成)较慢。上述结论支持杨建民<sup>[1]</sup>的观点, 即“液面培养萌发快, 生长快, 但后期出现早衰。可能与气体交换和光照直接有关”。而包文美等<sup>[2]</sup>在研究中国蕨科配子体发育时, 认为培养在固体培养基的生长速度优于液体; Sheffideld 等<sup>[4]</sup>在研究欧洲几种蕨类植物孢子萌发和配子体发育时得出结论, 14 d 内固态琼脂培养基中大部分植物由丝状变为二维分裂的过程比在液体培养基中显著。初步认为, 不同种类蕨类

植物在不同培养基质上的生长速度存在差异;但上述各研究中其他培养条件(如温度和光照等)略有差异,也可能还与这些培养条件的不同有关。因此,

配子体各发育阶段的时间长短非稳定性状。而在蕨类植物孢子繁殖时采用混合土培养较适宜,因为有土繁殖具有操作简便、成本低、幼苗易成活



A. 孢子赤道面观; B. 孢子萌发; C. 单列丝状体; D, E. 片状体; F. 幼原叶体; G. 成熟原叶体; H. 单细胞毛状体; I. 精子器顶面观; J. 颈卵器顶面观

A. Spore in equatorial view; B. Spore germination; C. Filament with a row of cells; D, E. Plate; F. Young prothallus; G. Mature prothallus; H. Unicellular hair; I. The top view of the antheridium; J. The top view of the archegonium

图1 液体培养基条件下乌毛蕨配子体发育

Fig. 1 The development of gametophyte of *Blechnum orientale* under the condition of liquid medium

等优点,是一种经济实用的繁殖方法<sup>[8]</sup>。

从本文的研究结果看,除了配子体各发育阶段时间长度外,在丝状体长度和性器官大小方面还存在差异。在性器官的大小上,本文赞成曾汉元等<sup>[9]</sup>的结论,即精子器直径小于45  $\mu\text{m}$ ,颈卵器直径小于60  $\mu\text{m}$ ;与张开梅等<sup>[6]</sup>的结论不同。因此,蕨类植物配子体的形状和大小与营养和水分等因素有关,不是稳定性状<sup>[8]</sup>。张开梅等<sup>[3]</sup>在对傅氏凤尾蕨配子体发育研究时,也认为傅氏凤尾蕨配子体的形状和大小与培养方式的不同有关,不同的培养方式中营养和水分等都存在差异。但是,我们观察到的乌毛蕨配子体各发育阶段的基本特征与张开梅等<sup>[6]</sup>的研究结果一致,如孢子萌发类型和原叶体发育类型等。因此,液体培养基和混合土在研究蕨类植物配子体发育时同样具有可行性。

乌毛蕨的成熟孢子为两面体型,两侧对称,单裂缝,有周壁,出现毛状体,孢子萌发为书带蕨型和原叶体发育为三叉蕨型。以上这些孢子形态和配子体发育上的进化性状说明,乌毛蕨是蕨类植物中较进化的种类<sup>[10]</sup>,与其处于较高的分类地位相一致。

乌毛蕨与鳞毛蕨科<sup>[11]</sup>的孢子形态和配子体发育特征有许多相似之处,如孢子两面型,两侧对称,单裂缝,极面观为椭圆形,赤道面观为半圆形或豆形,有周壁;孢子萌发为书带蕨型;出现单细胞毛状体,毛状体与相连的边缘细胞不向外突出或突出,它们在原叶体顶端和边缘的分布稀疏或稠密;原叶体发育为三叉蕨型;原叶体心脏形;精子器和颈卵器的

结构相似于本纲一般特征等。上述共同特点是否说明此两科植物具有共同的进化性,而且它们之间的关系也比较近。

#### 参考文献:

- [1] 杨建民. 井栏边草配子体的培养与观察[J]. 湖北大学学报(自然科学版), 1990, 12 (4): 353-357.
- [2] 包文美, 王全喜, 敦志文. 东北蕨类植物配子体发育的研究 VI (中国蕨科)[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1995, 15 (3): 373-376.
- [3] 张开梅, 石雷. 傅氏凤尾蕨配子体发育的研究[J]. 植物学通报, 2005, 22 (增刊): 50-56.
- [4] Sheffied E, Douglas G E, Hearne S J, Huxham S, Wynn J M. Enhancement of fern spore germination and gametophyte growth in artificial media[J]. American Fern Journal, 2001, 91 (4): 179-186.
- [5] 吴兆洪. 中国植物志(第4卷,第2分册)[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 193-195.
- [6] 张开梅, 石雷, 李东. 乌毛蕨配子体发育的研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2005, 13 (5): 419-422.
- [7] Kayar B K, Kaur S. Gametophytes of homosporous ferns[J]. Bota Rev, 1971, 37: 295-396.
- [8] 曾汉元, 丁炳扬. 蕨类植物孢子萌发及原叶体发育的观察[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22 (4): 368-371.
- [9] 曾汉元, 丁炳扬. 蕨类植物配子体发育的研究[J]. 植物研究, 2003, 23 (2): 154-158.
- [10] 吴兆洪, 秦仁昌. 中国蕨类植物科属志[M]. 北京: 科学出版社, 1991. 45-46.
- [11] 王全喜, 邵成文, 曹建国, 杨诚, 包文美, 苏国珍. 东北蕨类植物配子体发育的研究 XI (鳞毛蕨科)[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 1995, 11 (4): 83-86.