

尖叶拟船叶藓原丝体发育特征研究

魏华, 李菁*, 陈军, 姜业芳

(吉首大学生态研究所, 湖南吉首 416000)

摘要: 将尖叶拟船叶藓 [*Dolichomitriopsis diversiformis* (Mitt.) Nog.] 孢子接种于 Knop 培养基上, 置于恒温培养箱中培养, 在光学显微镜下对其原丝体 (protonema) 发育特征进行了详细观察和记录。结果表明: 孢子第 2 天就开始萌发, 第 6 天时其萌发率达 90% 以上; 原丝体系统由绿丝体 (chloronema) 和轴丝体 (caulonema) 构成, 假根 (rhizoides) 产生于芽体基部, 由轴丝体退化而成; 配子枝原始细胞产生于绿丝体分枝的基部或轴丝体上的斜壁细胞; 配子枝 (gametophore) 形成后其上各部位都可形成假根; 孢子萌发类型为真藓型 (Bryum-type)。

关键词: 原丝体; 绿丝体; 轴丝体; 假根; 配子枝原始细胞

中图分类号: Q949.35

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)02-0169-04

Study on the Characteristics of Protonema Development in *Dolichomitriopsis diversiformis*

WEI Hua, LI Jing*, CHEN Jun, JIANG Ye-Fang

(Institute of Ecology of Jishou University, Jishou, Hunan 416000, China)

Abstract: Spores of *Dolichomitriopsis diversiformis* were planted on Knop medium and cultured in incubator, and the process of spore germination and protonema growth were illustrated and microphotographs were taken. The results are as follows: spores began to germinate in the 2nd day and over 90% of them germinated in the 6th day. Protonema system was composed of the chloronema and caulonema. The rhizoides were formed from the bud base and produced from the caulonema which were degenerated. Gametophore primordium occurred at the branch base of the chloronema or at the caulonema cells which have cross walls that are oblique to the filament axis. Rhizoides were produced from nearly any part of the gametophore. The germination type of its spore was bryum type.

Key words: Protonema; Chloronema; Caulonema; Rhizoides; Gametophore primordium

尖叶拟船叶藓 (*Dolichomitriopsis diversiformis*) 系船叶藓科 (Lembophyllaceae) 拟船叶藓属, 为东亚特有藓种, 我国仅在贵州、安徽、四川、浙江等省的某些地区有少量分布^[1]。迄今为止对尖叶拟船叶藓的研究已涉及形态、生理生化、生态学及遗传学等方面^[2-6], 刘世彪等探讨了在不同光照和温度条件对尖叶拟船叶藓原丝体发育的影响, 对其生活史进行了初步的研究^[7], 而对该藓配子枝原始细胞的产生及生长规律未见报道。本研究旨在对该藓生活史作进一步的完善, 并为完成其生命表提供新的数据和资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

材料于 2005 年 11 月份采自贵州梵净山海拔

1760 m 的常绿阔叶林内, 尖叶拟船叶藓 (*Dolichomitriopsis diversiformis*) 植株附生于贵州青冈 [*Cyclobalanopsis argyrotricha* (A. Camus) Chun & Y. T. Chang ex Y. C. Hsu & H. W. Jen] 基部的树皮上, 孢蒴成熟呈桔红色, 带蒴帽。凭证标本存于吉首大学标本馆内 (JIU)。

1.2 实验方法

1.2.1 培养基的制备

配置 Knop 营养液^[8], 在营养液中加入琼脂, 浓度为 2%, 加热溶化后调节 pH 值至 7.0, 分装入培养瓶中, 在高压灭菌锅中灭菌 15 min (121℃), 冷却待用。

1.2.2 孢子的接种

在超净工作台将孢蒴浸于浓度为 0.1 % 的 HgCl₂ 中表面消毒 30 ~ 40 s, 于无菌水中清洗 2 ~ 3

收稿日期: 2006-08-07, 修回日期: 2006-10-30。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30470181); 吉首大学福特基金项目 (06JDPHE014) 资助。

作者简介: 魏华 (1981 -), 男, 硕士研究生, 生态学专业, 从事植物生态学研究。

* 通讯作者 (Author for correspondence. E-mail: LKG@jssu.edu.cn)。

次,再将孢蒴在无菌水中打开使孢子散于水中制成孢子悬液,用吸管吸取悬液滴于培养基上,用涂布棒均匀涂布,培养瓶加盖后置恒温培养箱中培养。

1.2.3 培养条件及观察

将孢子置于恒温培养箱中培养,温度 22℃,光照强度为 $24 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光照时间 12 h/d,相对湿度大于 80%,重复 3 次实验。孢子萌发率 = 萌发孢子数/观察的孢子总数。在统计孢子萌发率时随机选取 8 个 10 倍物镜下的视野,在显微镜下统计每个视野内单、两极萌发率,取 8 次平均值得出平均萌发率。每天定时观察,取带有原丝体的培养基小块制成临时水封片,在装有摄像头的显微镜(LEICA DM 2000)和体视镜(LEICA S6D)下对典型特征进行拍照,并详细记录各阶段发育特征。

2 实验结果

2.1 孢子形态及其萌发

尖叶拟船叶藓孢子为单细胞孢子,球形、绿色,在光学显微镜下表面光滑无疣,直径为 $23 \sim 24 \mu\text{m}$ 。1 d 时,孢子吸水膨胀至 $25 \sim 30 \mu\text{m}$,孢子内叶绿体变大、数目增多,使得整个孢子在显微镜下呈鲜绿色(图版 I:1)。2 d 时,孢子开始萌发,其标志是孢子突出一极,叶绿体随即进入突出极中,6 d 时萌发率达 90% 以上,此时原丝体多为单极生长(图版 I:2),而两极生长的孢子仅为 5%(图版 I:3A),此后两极生长的情况逐渐增多。18 d 时,两极生长的孢子约占 70%,而三极生长的现象极为罕见(图版 I:4)。20 d 以后仍有未萌发的孢子,而这些萌发较晚的孢子在培养过程中其分裂能力降低或退化死亡,这可能是由于原丝体生长过程中产生某些次生物质对孢子有抑制作用的结果。

2.2 原丝体发育

2 d 时,孢子长出萌发管,出现细胞壁,随着细胞的持续分裂,形成单列细胞,这些细胞均为长圆筒形,富含椭圆形叶绿体(每个细胞约 20~30 个),细胞壁与原丝体长轴垂直,此单细胞列即为绿丝体(图版 I:2)。12 d 时,绿丝体产生一级分枝(图版 I:3B)。18 d 时,绿丝体系统各分枝继续生长,一级分枝上的细胞侧向分裂形成二级分枝,此后各分枝不断生长,分枝数目增多(图版 I:5)。24 d 时,少部分绿丝体末端细胞壁出现褐化现象(图版 I:6A)。30 d 时,绿丝体进一步生长,其分枝的反复生长形成了纵横交错的丝状原丝体“群丛”(图版 I:7)。40 d 时,绿丝体分枝出具斜壁的原丝体,此类

原丝体细胞的细胞壁与其长轴斜交,而叶绿体丰富、呈椭圆形,为轴丝体(图版 I:9A)。

2.3 配子体发生

40 d 时,绿丝体分枝基部出现一种特殊的细胞,其叶绿体含量丰富且体积膨大,在形态上区别于其它细胞,此即配子枝原始细胞(图版 I:8A),配子枝原始细胞产生的另一种方式是由轴丝体上的斜壁细胞产生(图版 I:9B)。配子枝原始细胞经过纵向、横向、斜向分裂形成颜色鲜绿、含大量叶绿体的不规则分生细胞团。50 d 时,由于分生细胞团不断分裂生长而形成桑椹状的幼小芽体,芽体基部的突起生长可形成轴丝体(图版 I:10A),其在配子体生长过程中因细胞内的叶绿体解体、褐化而形成假根(无分枝)(图版 I:12A)。芽体分化成拟茎体(caulidium)和拟叶体(phyllidium),其中拟叶体无明显中肋、卵圆形(图版 I:10B),螺旋状排列于拟茎体上(图版 I:10C)。60 d 时,形成肉眼可见的配子枝,一个原丝体约产生 5~9 个配子枝。从配子枝原始细胞长至肉眼可见的配子枝所需时间较短,这可能是一方面由于分生细胞团分泌的内源性植物激素能促进细胞分裂生长、另一方面由于假根的形成能够吸收满足配子枝生长需要的营养物质所致。配子枝形成以后,原丝体仍然存在,行使光合作用或营养物质吸收的作用。70 d 时,配子枝上的茎尖、叶腋处及茎状体上的表面细胞都可向外突出生长(图版 I:11A),形成具有斜壁细胞的丝状体,此类丝状体退化成褐色的假根(无分枝),对植物起固着和营养吸收的作用(图版 I:12B,C)。

3 讨论

苔藓植物中起固着和吸收作用的结构称为假根。周云龙认为藓类植物假根是由褐色单列细胞构成,有分枝或无^[9];吴鹏程认为藓类植物的假根是无色、单列细胞,有分枝或无,多呈丝状^[10];而刘世彪等认为假根中的褐化细胞则可能是由于苔藓植物在生长过程中分泌代谢产物导致原丝体细胞退化而形成的^[7]。本实验中所观察到的褐色原丝体是伴随配子枝的生长而逐渐形成的,很可能具有吸收营养物质、水份和固着支持的功能。在配子枝形成以后,褐色假根仍可继续由配子枝上的许多部位产生(图版 I:12B,C),具有固着植株作用,适于其匍匐生长,因此可以说藓类的假根在不同的类群中表现出多样性。

在原丝体的培养过程中,刘世彪等发现原丝体

中细胞的死亡会使长条的原丝体变为数条较短的裂段,每段发育成新的原丝体,这可能是藓体增加个体数量的一种生殖策略^[7]。范庆书等发现绿丝体在发育过程中其基部一个或多个原丝体细胞膨大,有的膨胀呈近圆球形,随后,几个球形细胞之间的连接处逐渐变细,2 d 后,发生缢裂,各自独立生长^[8]。本实验中未发现类似的原丝体缢裂后分段独自生长的现象,这很可能是由于培养基成分、培养条件的不同而造成的,因为培养基成分和浓度、环境温度、光强还有其他因素对苔藓植物原丝体生长及茎芽的分化有着重要的作用^[11-13]。

依据日本学者 Nishida 对孢子萌发类型的划分标准^[11, 14],确定尖拟船叶藓孢子萌发类型为真藓型孢子萌发型,其依据为:(1)原丝体系统分为有绿丝体和轴丝体;(2)孢子为单细胞孢子,孢子萌发后直接产生绿丝体,并且在绿丝体发育的早期阶段,其主轴上产生众多的分枝,配子枝原始细胞产生于绿丝体分枝基部或轴丝体上的斜壁细胞。

本实验中正常培养条件下尖叶拟船叶藓孢子萌发率很高,可达到90%以上。但在孢子萌发及原丝体发育阶段,其对干旱的耐受性很差,若培养基失水干燥,仅12 h 内其细胞中叶绿体就开始解体,最后只剩细胞残迹。受短期干燥影响的原丝体,其内部也将发生不可逆的变化(如叶绿体解体),这对以后原丝体的生长也将产生负面的影响,因此这可以从一定程度上说明此藓种在其生活史前期对环境中水湿条件的要求是很苛刻的,这也可能是尖叶拟船为东亚地区特有藓种的原因之一。为进一步提高此藓种在人工条件下的存活率,探究其原丝体正常生长的最低湿度和最适湿度是有待进一步研究的课题。

致谢:感谢梵净山自然保护区管理局在野外工作中给予

的大力支持和梁欢同学在实验中所作的工作。

参考文献:

- [1] WU P C. The east asiatic genera and endemic genera of the bryophytes in China[J]. *Bryobrothera*, 1992, 1: 99-117.
- [2] 陈功锡,李菁,陈军,朱杰英,陈建荣,刘应迪. 贵州梵净山尖叶拟船叶藓群落生态环境特征初探[J]. 贵州科学,2001, 19(4): 81-84.
- [3] 陈军,朱杰英,陈功锡,李菁,龚双娇. 尖叶拟船叶藓居群叶形态变异的初步研究[J]. 生命科学研究,2002, 6(4): 367-370.
- [4] 王菊凤,李鹤鸣,李菁,罗德夫. 卡尔. 尖叶拟船叶藓的77K 荣耀光谱及对强光照的短期适应能力[J]. 生命科学研究, 2004, 8(1): 46-51.
- [5] 李朝阳,姜业芳,田向荣,陈军,陈良碧,李菁. 濒危植物尖叶拟船叶藓的过氧化物同工酶分析[J]. 生命科学研究, 2005, 9(4): 78-81.
- [6] 刘冰,姜业芳,李菁,黄璜,陈功锡,陈军. 贵州梵净山森林树干附生尖叶拟船叶藓分布格局研究[J]. 云南植物研究, 2006, 28(2): 169-174.
- [7] 刘世彪,陈军,李菁,陈功锡,李鹤鸣. 光照和温度对尖叶拟船叶藓孢子萌发及原丝体发育的影响[J]. 西北植物学报, 2003, 21(1): 101-106.
- [8] 范庆书,赵建成,黄士良. 金灰藓配子体发生的实验观察[J]. 武汉植物学研究, 2004, 22(2): 140-144.
- [9] 周云龙. 孢子植物学实验及实习[M]. 北京:北京师范大学出版社,1987. 115.
- [10] 吴鹏程. 苔藓植物生物学[M]. 北京:科学出版社,1998, 28.
- [11] Nishida Y. Studies on the sporing types in mosses[J]. *J Hattori Bot Lab*, 1978, 44: 371-454.
- [12] 李艳红,宋秀珍,张便勤. 不同培养基及酶对立碗藓原丝体的作用研究[J]. 植物研究, 2004, 24(2): 192-196.
- [13] 王智慧,张朝晖,钟本固. pH 和钙离子浓度对葫芦藓暖地变种孢子萌发的影响[J]. 贵州科学, 1995, 13(4): 33-35.
- [14] 胡人亮. 苔藓植物学[M]. 北京:高等教育出版社,1987. 144-159.



尖叶拟船叶藓原丝体发育过程: 1. 孢子吸水膨胀; 2. 孢子单极生长; 3. 孢子出现两极生长(A: 一级分枝; B: 二级分枝); 4. 三极生长; 5. 绿丝体产生一级、二级分枝; 6. 绿丝体末端细胞壁褐色(A: 褐色细胞壁); 7. 原丝体群丛; 8, 9. 产生于绿丝体分枝基部或轴丝体斜壁细胞上的配子枝原始细胞(8A, 9B: 配子枝原始细胞; 9A: 斜壁细胞); 10. 具拟叶体、拟茎体的配子枝在其下部产生具斜壁细胞的轴丝体(A: 轴丝体; B: 拟叶体; C: 拟茎体); 11. 拟茎体上的突起细胞群(已经开始褐色), 以后将向外突出生长而分化为假根(A: 褐化的突起细胞); 12. 80 d 时, 由一个孢子形成的数个配子枝及其上的假根(A, B, C: 假根)

The developmental process of *Dolichomitriopsis diversiformis*: 1. Spore absorbs water and expanded; 2. Monopole germination; 3. Spore appeared two pole germination (A: the first branch; B: the second branch); 4. Three pole germination; 5. Primary branches and secondary branches formed on chloronema; 6. The cell wall at the end of the chloronema became brown (A: the brown cell wall); 7. Protonemata; 8, 9. The gametophore primordium formed at the branch base of the chloronema or at the declinate cells of the caulonema (8A, 9B: gametophore primordium; 9A: the cell which has a wall that is oblique to the filament axis); 10. The gametophore, with phyllidium, caulidium and caulonema on it (A: caulonema; B: phyllidium; C: caulidium); 11. The protuberant cells on the caulidium, which were already turned brown, will grow outwards and will eventually differentiate into rhizoids (A: protuberant cell); 12. Several gametophores formed from one spore, on which there existing rhizoids (at 80th day) (A, B, C: rhizoids)