

骨碎补科两种植物配子体发育的研究

檀龙云, 刘保东*, 张凌献

(哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 哈尔滨 150025)

摘要: 首次报道了骨碎补科(Davalliaceae)的大叶骨碎补(*Davallia formosana* Hayata)和阴石蕨[*Humata repens* (L. f.) Diels]配子体发育过程。两者孢子均为单裂缝, 椭圆形, 不具周壁, 书带蕨型(Vittaria-type)萌发; 成熟原叶体心形, 边缘及背腹面均分布有毛状体; 精子器和颈卵器类型为同型孢子薄囊蕨类所具有的一般类型。总结了大叶骨碎补(*D. formosana* Hayata)和阴石蕨[*H. repens* (L. f.) Diels]的配子体发育在孢子大小、原叶体边缘细胞形状、精子器和颈卵器形态及毛状体产生时间等方面的异同, 初步讨论了这两个种配子体的抗逆性、营养繁殖、假根功能及其可能的系统学意义。

关键词: 配子体; 大叶骨碎补; 阴石蕨

中图分类号: Q945.51

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2008)03-0219-05

Studies on the Gametophyte Development of Two Species of Davalliaceae

TAN Long-Yun, LIU Bao-Dong*, ZHANG Ling-Xian

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

Abstract: The gametophyte development of *Davallia formosana* Hayata and *Humata repens* (L. f.) Diels of Davalliaceae was studied for the first time in this paper. The spores of two species are all monolete, ellipsoid, and without perispore. The spore germination of both species is Vittaria-type. Their adult prothallia are cordate, with trichomes on the edges and surfaces. The antheridium and archegonium are the same type as that found in leptosporangiate homosporous ferns. The characteristics of gametophyte development of *D. formosana* and *H. repens*, such as the spore size, the border cell shape of prothallium, the forms of antheridium and archegonium, and the time of trichome development were summarized. The possibly systematic significance of hardiness, vegetative propagation, and rhizoid function of gametophytes of two species were discussed.

Key words: Gametophyte; *Davallia formosana* Hayata; *Humata repens* (L. f.) Diels

大叶骨碎补(*Davallia formosana* Hayata)和阴石蕨[*Humata repens* (L. f.) Diels]均为骨碎补科(Davalliaceae)植物, 在中国主要分布于东南、西南等大部分省区^[1], 这两种植物体态潇洒, 造型优美, 具有极高的观赏价值^[2]; 其根状茎入药, 具有散瘀止痛, 接骨续筋等功效^[3]。近年来, 由于人们盲目采挖, 已致使其自然资源日渐枯竭。

骨碎补科共8属, 约100多种, 我国有5属, 约30多种^[1]。骨碎补属(*Davallia* Sm.)约45种, 阴石蕨属(*Humata* Cav.)约50种^[1]。对于该科的研究, 历来以孢子体为主, 如区系分布^[4]、系统分类^[5]、倍性研究^[6]等, 尤其在化学成分方面已做了大量的工

作, 如从大叶骨碎补中提取4-羧甲基黄烷-3-醇(4-Carboxymethyl flavan-3-ols)和原花青素(procyanidins)^[7]及对骨碎补属植物化学成分及生物活性的研究^[8]等。相比之下, 配子体方面的研究则显得极为薄弱, 虽然 Atkinson L. R.^[9]、Nayar 和 Kaur^[10]、Momose^[11]曾对该科的配子体做过不同程度的探索, 但是 Atkinson L. R.^[9]只对该科的毛状体及精子器进行了概括性的描述; Nayar 和 Kaur^[10]则以属为单位对该科的部分配子体做了比较; 只有 Momose^[11]对 *D. mariesii* Moore ex Bak. 配子体的成熟期做过一些较为细致的形态描述, 但在孢子、丝状体、幼片状体等方面均没有报道。然而 Atkinson^[9]主张这些时

收稿日期: 2007-10-17, 修回日期: 2007-12-20。

基金项目: 黑龙江省普通高等学校青年学术骨干支持计划项目(No. 1152G015)资助。

作者简介: 檀龙云(1981-), 女, 硕士, 主要从事植物系统学科研及教学工作。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: 99bd@163.com)。

期的特征在阐明种属关系上具有重要的参考价值; Nayar^[10]也认为具同型孢子的真蕨类配子体在孢子萌发类型、成熟原叶体形状、精子器和颈卵器形态、假根特征、营养繁殖等方面能够提供可靠且有价值的分类依据。鉴于骨碎补科配子体发育的资料尚不全面,尤其是典型植物大叶骨碎补和阴石蕨配子体的个体发育尚属空白,我们在本文首次全面详实观察记录了这两个种的配子体在孢子、丝状体、幼片状体和生长点、原叶体、毛状体、营养细胞、假根、精子器和颈卵器、营养繁殖等方面表现出的稳定特征,并初步讨论了各自可能的系统学意义,在丰富了骨碎补科有性阶段基础资料的同时,也为保护性开发利用经济蕨类积累技术资料。

1 材料和方法

大叶骨碎补 (*Davallia formosana* Hayata) 和阴石蕨 [*Humata repens* (L. f.) Diels] 的孢子由刘保东和张宪春于 2004 年 12 月 19 日采自海南省五指山。凭证标本现存于哈尔滨师范大学植物标本室。将新鲜成熟的孢子叶放于干燥、无风的环境中,待孢子自然脱落收集于硫酸纸袋内,置 4℃ 冰箱中保存,及早并重复播种。

配子体的培养方法与王金娟等^[12]基本相同, pH 调整为 6。培养条件同刘保东等^[13]。每个种重复培养 3 次,每次 3 份,依据各发育阶段,定期选取典型而稳定的活体材料做装片,并在 Olympus BH-2 光学显微镜下照相记录。形态结构上的所有数值,均采用随机测得的 20 个数的平均值。

2 结果

2.1 孢子及其萌发

阴石蕨孢子浅黄色,单裂缝,极面观为椭圆形,赤道面观为肾形,大小为 $35 \sim 58 \times 58 \sim 84 \mu\text{m}$,外壁厚 $3 \mu\text{m}$,孢子表面具形状不规则的疣状纹饰(见图 1:1)。大叶骨碎补孢子黄色,左右对称,大小为 $17 \sim 32 \times 33 \sim 47 \mu\text{m}$,疣高 $1 \sim 4 \mu\text{m}$,宽 $4 \sim 5 \mu\text{m}$ 。两个种的孢子均无周壁。

阴石蕨孢子吸涨后,明显膨大,渐变为绿色,培养 4 d 左右,孢子内有叶绿体出现,球形的原叶体原始细胞内除有叶绿体存在外,还可观察到一个大而明显的圆球形的淡黄色油滴,随后自裂缝处长出一条无色透明假根(图 1:2),随叶绿体数目的增多,油滴渐小直至消失。大叶骨碎补的孢子萌发过程与阴石蕨无明显差异。

2.2 丝状体

接种 10 d 左右,大叶骨碎补的原叶体原始细胞横裂为一个大的近椭圆形的原叶体母细胞和一个小的圆形基原细胞(图 1:3)。叶绿体鲜绿色,多分布于原叶体母细胞的顶端,但靠近假根处也有少量分布。丝状体细胞数量少,一般为 2~4 个。原叶体母细胞的分裂面与形成假根的分裂面垂直(图 1:3,箭头所示),为书带蕨型 (Vittaria-type) 萌发^[10]。阴石蕨的丝状体发育方式与之基本相同。

2.3 片状体

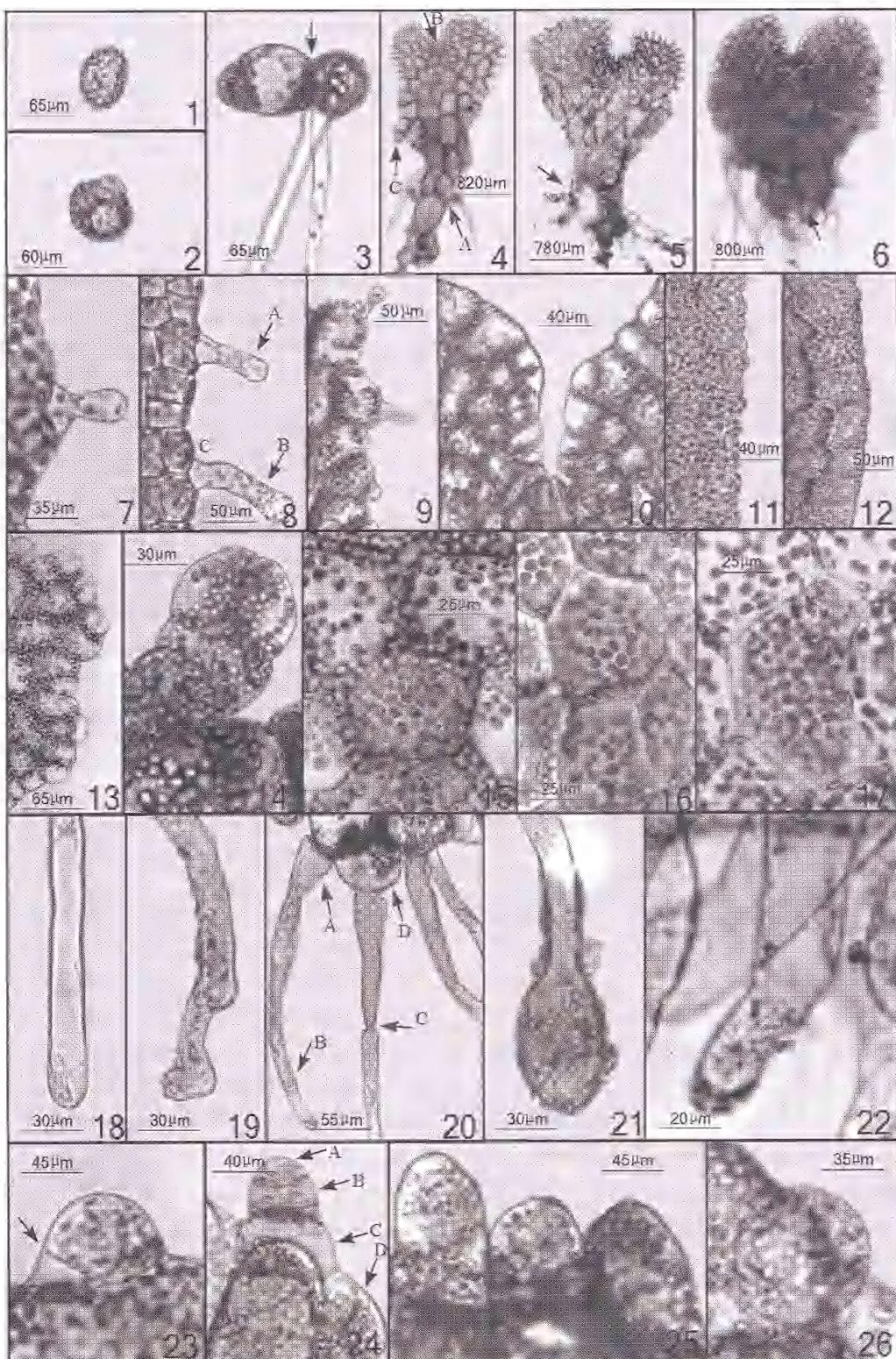
接种约 30 d 左右进入片状体阶段。阴石蕨片状体心形,基部由 2~3 列细胞组成(图 1:4A),着生多条假根。生长点呈圆滑曲线状,略偏向一侧(图 1:4B),形成不对称的两翼,细胞分裂列明显,近基部边缘细胞常向外形成分支(图 1:4C)。40 d 左右,片状体基部分支伸长且着生假根(图 1:5,箭头所示),生长点处渐宽,凹陷加深,两翼内侧边缘趋于平行。生长点处的细胞较小,细长而密集,但随着远离生长点,细胞逐渐变大,且呈多边形。假根数目不断增多(图 1:5)。个别片状体两翼在生长点上方相接。大叶骨碎补的片状体发育与阴石蕨无明显差异,但发育时间略长于阴石蕨。

2.4 原叶体

孢子培养 50~60 d 左右,个体发育进入原叶体阶段。阴石蕨原叶体经发育过程中的不断调整,生长点逐渐趋于原叶体顶端中部,致使两翼基本对称(图 1:6)。成熟原叶体呈对称的心形,对其进行连续黑暗处理 4~6 d 后,原叶体基部细胞常会膨大,个别细胞变形死亡(图 1:6,箭头所示),恢复正常光照后,原叶体可以继续发育。大叶骨碎补的原叶体发育与阴石蕨基本相同,但给予同样程度的黑暗处理后,未观察到大叶骨碎补原叶体基部细胞死亡的现象。

2.5 毛状体

大叶骨碎补与阴石蕨的毛状体产生的时间不同,前者在丝状体时期已有毛状体产生,但后者的毛状体直到幼原叶体时期才产生,除此之外,二者的毛状体没有明显的形态差异,其共同特征是:毛状体单细胞,幼时常为乳头状,基部较顶部略宽,内含少量叶绿体(图 1:7);成熟后为长棒状,略向一侧倾斜(图 1:8A),无分泌物,个别毛状体弯曲变形(图 1:8B),且生长于相邻两细胞的接触面上(图 1:8C)。着生毛状体的部分原叶体边缘细胞形状较规则,毛状体一般向同一方向倾斜(图 1:8),但有些边缘细



1. 阴石蕨孢子赤道面观; 2. 阴石蕨孢子萌发及油滴; 3. 大叶骨碎补丝状体; 4,5. 阴石蕨片状体; 6. 阴石蕨幼原叶体; 7~9. 阴石蕨毛状体; 10,11,13. 阴石蕨原叶体边缘细胞; 12. 大叶骨碎补原叶体边缘细胞; 14. 阴石蕨原叶体营养繁殖; 15,16. 阴石蕨原叶体营养细胞; 17. 阴石蕨坏死细胞; 18. 阴石蕨假根; 19. 阴石蕨假根弯曲; 20. 阴石蕨假根末端渐细; 21. 阴石蕨假根末端膨大; 22. 阴石蕨假根丛生; 23,24. 大叶骨碎补精子器侧面观; 25. 阴石蕨精子器侧面观; 26. 阴石蕨精子器顶面观

1. Spore in equatorial view of *Humata repens*; 2. Spore germination and oil globule of *H. repens*; 3. Uniseriate germ filament of *Davallia formosana*; 4,5. Prothallial plate of *H. repens*; 6. Young prothallus of *H. repens*; 7~9. Trichomes of *H. repens*; 10,11,13. Prothallial border cells of *H. repens*; 12. Prothallial border cells of *D. formosana*; 14. Prothallial vegetative propagation of *H. repens*; 15,16. Prothallial vegetative cells of *H. repens*; 17. Necrotic cells of *H. repens*; 18. Rhizoid of *H. repens*; 19. Curvate rhizoid of *H. repens*; 20. Attenuate rhizoid of *H. repens*; 21. Ventricose rhizoid of *H. repens*; 22. Cluster of rhizoids of *H. repens*; 23,24. The lateral view of the antheridium of *D. formosana*; 25. The lateral view of the antheridium of *H. repens*; 26. The top view of the antheridium of *H. repens*

图1 大叶骨碎补和阴石蕨配子体发育阶段

Fig. 1 Stage of the gametophyte development of *Davallia formosana* and *Humata repens*

胞膨大且外凸,毛状体为不整齐发育,倾斜方向也不一致(图 1:9)。这两个种的原叶体背腹面均分布有毛状体。

2.6 原叶体细胞

阴石蕨原叶体细胞形状大小均不整齐:生长点处的细胞小,胞质浓,叶绿体相对较多(图 1:10),其它部位的细胞较大。边缘细胞形状规则,近四边形,细胞外侧中部有不同程度的凹陷,呈圆齿状(图 1:11),细胞分裂列清楚;大叶骨碎补的原叶体边缘细胞与表面细胞之间具有明显的界限(图 1:12)且无清楚的分裂列。个别阴石蕨的原叶体边缘细胞形状不规则,呈波状(图 1:13),有时某些细胞向外分裂成舌状结构(图 1:14)。阴石蕨原叶体营养细胞为规则的六边形(图 1:15),个别情况下,几个略长的营养细胞以近圆形的多边形细胞为中心围成花环状(图 1:16),大叶骨碎补无此现象。阴实蕨原叶体营养细胞如被真菌侵染,则其细胞由于膨压降低而被相邻细胞挤压变形,叶绿体溶解(图 1:17)。

2.7 假根

阴石蕨和大叶骨碎补配子体的假根无明显差异,其共同特征是:初生假根呈管状,无色透明,直径约 13 μm (图 1:18);培养 30 d 后,假根渐变为黄褐色,有些假根弯曲变形(图 1:19);少数假根随着发育而渐细,致使其基部(图 1:20A)明显较末端(图 1:20B)粗壮;极少数假根(约 5%)近中部出现横隔(图 1:20C),相应的假根基部着生的细胞也膨大呈球形(图 1:20D);有些假根则末端膨大,近球形,其内积累有颜色较深的物质,壁外粗糙(图 1:21)。进入成熟配子体阶段,假根密集着生于配子体腹面基部,直径近 20 μm ,明显较初生假根粗壮(图 1:22)。

2.8 精子器和颈卵器

精子器和颈卵器类型为同型孢子薄囊蕨类的一般类型。接种 60 d 左右,配子体始有精子器产生。大叶骨碎补的精子器发育初期呈泡状突起,直径约 55 μm ,高约 50 μm ,精子器原始细胞经第一次斜分裂(图 1:23,箭头所示)形成一个大的扇形细胞及一个大的三角形细胞,发育后期,精子器的基细胞(图 1:24C)在宽度和高度上明显大于顶细胞(图 1:24A)和环细胞(图 1:24B),且着生在膨大的、富含叶绿体的营养细胞上(图 1:24D)。阴石蕨的精子器常并排着生,基细胞与顶细胞、环细胞在形状和大小上无明显差异(图 1:25)。这两个种的精子器的顶面观均为圆球形(图 1:26),两个环细胞所围成的空腔内充满精细胞,精细胞成熟后,盖细胞破裂,精

子逸出并借助原叶体表面的水膜游入颈卵器,完成受精作用。两个种的颈卵器特征与 Momose^[11]所描述的 *D. mariesii* Moore ex Bak. 的颈卵器特征基本相同。

3 结论与讨论

3.1 两种植物配子体发育的共同特征

我们观察的两个种均为骨碎补属(*Davallia* Sm.)和阴石蕨属(*Humata* Cav.)的代表种类,它们配子体发育过程中的共同特征是:孢子单裂缝,不具周壁,书带蕨型萌发;丝状体细胞较少;原叶体心形;毛状体单细胞,乳头状或长棒状,无分泌物;精子器由基细胞、环细胞和盖细胞组成。根据 Atkinson^[9]的观点,这些特征都表明骨碎补科在同型孢子薄囊蕨类中是个进化的类群,同时也支持 Wagner^[14]将骨碎补科归为进化类群的观点。

3.2 两种植物配子体发育的差异

吴兆洪、秦仁昌^[15]认为阴石蕨属极近于骨碎补属,唯一的区别特征为囊群盖的形状及其着生的位置。我们通过对大叶骨碎补和阴石蕨配子体的观察,认为二者在配子体方面存在如下差异:一是阴石蕨孢子的极轴与赤道轴长度分别为 35~58 μm 和 58~84 μm ,而大叶骨碎补孢子的极轴与赤道轴长度远小于前者,分别为 17~32 μm 和 33~47 μm ;二是阴石蕨的原叶体边缘细胞形状规则,与表面细胞无明显界限,边缘细胞外侧有不同程度的凹陷,细胞分裂列清楚,而大叶骨碎补的原叶体边缘细胞的特征则与之相反;三是大叶骨碎补的精子器基细胞较盖细胞和环细胞明显膨大,而阴石蕨精子器的 3 个细胞无显著差别;四是这两个种的毛状体产生的时间相差很大,大叶骨碎补的毛状体在丝状体时期就已出现,而阴石蕨则在幼原叶体时期才始有毛状体产生,这一点与 Nayar^[10]所得到的结果相同,而且 Nayar^[10]认为骨碎补科的毛状体具有独特性,在各类群的比较研究中具有重要的参考价值,应将其作为分类的重要依据。阴石蕨和大叶骨碎补在配子体方面的差异,可为阴石蕨属与骨碎补属的比较提供一定的基础资料,而阴石蕨属与骨碎补属的其它种在配子体方面是否也存在相应的差异,还需进一步研究。

3.3 配子体抗逆性与营养繁殖

实验中观察到对大叶骨碎补和阴石蕨原叶体进行 4~6 d 的连续黑暗处理后,阴石蕨原叶体基部个

别细胞死亡而大叶骨碎补无此现象产生。从植物抗性生理的角度来看,笔者推断大叶骨碎补配子体的避逆性和耐逆性可能比阴石蕨配子体强,至于是何种原因造成这两个种对逆境适应性的差异,还需对其在生理生化领域进行验证。

配子体的一部分脱离母体而进行的营养繁殖,是藻类植物和部分苔藓植物主要的繁殖方式,但从系统学角度来看,自苔藓植物配子体有了精子器和颈卵器的分化以来,营养繁殖已逐渐被有性生殖所取代,蕨类植物的配子体世代承载着以有性生殖方式为主的繁殖使命,配子体营养繁殖的现象已不常见。本研究中我们观察到个别阴石蕨原叶体的某些边缘细胞分裂产生舌状结构以进行营养繁殖(图1:14)。正常发育的配子体,由丝状体过渡到片状体的生长,是对光的波长及光量的反应,片状体的生长需要波长少于50 nm的蓝光,而光量也必须超过一定的数量(约50~60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$)^[14]。由此笔者认为适宜的生态因素,特别是光质光强可能是促使阴石蕨原叶体进行营养繁殖的原因之一。

3.4 假根特征及其系统学意义

人们对苔藓及蕨类植物的假根已有了一定程度的了解,假根的形态特征曾被作为分纲(类)的重要依据之一^[16]。大叶骨碎补与阴石蕨假根的种种特征,如弯曲(图1:19)、膨大且积累较多的内含物(图1:21),与王晓楠等^[17]在东方荚果蕨[*Matteuccia orientalis* (Hook.) Trev.]中所报道的一致,并被其视为高度进化的特征。Nayar^[18]认为原叶体假根无隔是进步的特征,本研究中我们观察到阴石蕨个别假根中部出现了横隔(图1:20C),尽管假根有隔出现的几率只有5%,但这一现象明显与该科配子体众多特征尤其多数假根特征所反映的进化地位相悖,且其基部着生的细胞出现球状膨大,这一连带现象更是未见报道。因此,无论从生理生态学角度,还是从系统演化角度来说,这都是值得深入研究的。

参考文献:

[1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志(第6卷,第

1分册)[M]. 北京:科学出版社,1999. 161~193.

- [2] 曾宋君,邢福武. 观赏蕨类[M]. 北京:中国林业出版社,2002. 241.
- [3] 吴征镒. 新华本草纲要(第3卷)[M]. 上海:上海科学出版社,1990. 703~704.
- [4] Hattori T, Tamura K, Ishida H, Minamiyama N. A vegetational study on a lucidophyllous forest in the upper reaches of the Shiratori River in the Kirishima mountain system, Miyazaki prefecture [J]. *Humans & Nature*, 2002, 13(7): 7~20.
- [5] Basu S K, Giri G S. Systematic studies of the family Davalliaceae Mett. ex Frank in India: *Humata* Cav. [J]. *Journal of Economic and Taxonomic Botany*, 1991, 15(1): 109~120.
- [6] Singh V P, Roy S K. A note on the aneuploidy in *Araiostegia pulchra* (D. Don) Copel. and *Asplenium yoshinagae* Makino var. *planae* Morton [J]. *Current Science*, 1989, 58: 1151~1153.
- [7] Hwang T, Kashiwada Y, Nonaka G, Nishioka I. 4-Carboxymethyl flavan-3-ols and procyandins from *Davallia divaricata* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(1): 279~282.
- [8] 蒋金和,张云梅,王利勤,陈业高. 骨碎补属植物化学成分及生物活性研究进展[J]. 西北植物学报,2007, 27(5): 1039~1046.
- [9] Atkinson L R, Stokey A G. Comparative morphology of the homosporous ferns [J]. *Phytomorphology*, 1964, 14: 51~70.
- [10] Nayar B K, Kaur S. Gametophytes of homosporous ferns [J]. *Bot Rev*, 1971, 37(3): 295~396.
- [11] Momose. Prothallia of the Japanese Ferns [M]. Japan: University of Tokyo Press, 1967.
- [12] 王金娟,张宪春,刘保东,成晓. 桫椤科三种植物配子体发育的研究[J]. 热带亚热带植物学报,2007, 15(2): 115~120.
- [13] 刘保东,包文美,敖志文. 中国产对开蕨配子体发育的研究[J]. 植物研究,1991, 11(2): 93~100.
- [14] 福斯特 A S, 小吉福德 E M 著. 维管植物比较形态学[M]. 李正理,张新英,李荣敖,崔克明译. 北京:科学出版社,1983. 265,277.
- [15] 吴兆洪,秦仁昌. 中国蕨类植物科属志[M]. 北京:科学出版社,1991. 478.
- [16] 胡人亮. 苔藓植物学[M]. 北京:高等教育出版社,1987. 18.
- [17] 王晓楠,刘保东,石雷. 东方荚果蕨配子体发育的研究[J]. 武汉植物学研究,2006, 24(4): 310~315.
- [18] Vashishta P C. Botany for degree students pteridophyta [M]. New Delhi: S. Chand & Company LTD, 1997. 202~276.