

四种培养条件下白桫欏配子体的形态发育

陈贵菊^{1,2}, 成晓^{1*}, 刘保东³, 焦瑜¹

(1 中国科学院昆明植物研究所, 云南 昆明 650204; 2 中国科学院研究生院, 北京 100049;
3 哈尔滨师范大学生命与环境科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150025)

摘要: 对四种不同培养条件下白桫欏 (*Sphaopteris brunoniana*) 配子体的形态发育进行了观察, 发现培养于腐殖质土和赤红土两种基质上的配子体, 原叶体形态和有性繁殖均存在差异; 培养于改良的 knop's 琼脂培养基上, 不同的光照条件下的配子体在丝状体和原叶体阶段形态也差异很大。
关键词: 白桫欏; 配子体; 发育; 培养条件
中图分类号: Q 944 文献标识码: A 文章编号: 0253-2700 (2008) 04-430-03

Gametophyte Morphological Variations of *Sphaopteris brunoniana*
(Cyatheaceae) under Four Culture Conditions

CHEN Guī Ju^{1,2}, CHENG Xiao^{1*}, LIU Bao-Dong³, JIAO Yu¹

(1 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204, China;
2 Graduate School of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China;
3 College of Life and Environment Sciences, Harbin Normal University, Harbin 150025, China)

Abstract: Gametophyte morphology of *Sphaopteris brunoniana* under four culture conditions were investigated. Results showed that the gametophytes cultured on humus soil and crimson soil were different in the shape of the prothallus and sexual reproduction. On the other hand, the shape of filament and prothallus of the gametophytes cultured on improved Knop's agar medium were also quite different under different illuminations.
Key words: *Sphaopteris brunoniana*; Gametophyte; Morphological development; Culture condition

白桫欏 (*Sphaopteris brunoniana* (Hook.) R. M. Tryon) 是桫欏科 (Cyatheaceae) 植物的一种。桫欏科植物是蕨类植物中一个独特类群, 不仅对研究古生物、古气候和古环境变迁有重要意义, 而且具有较高的药用和观赏价值 (敖光辉, 2001; 周志琼, 2004)。它们多生长在沟深谷狭和温暖潮湿的环境, 属热带亚热带蕨类植物。我国白桫欏主要分布在西藏、云南和海南 (张宪春, 2004)。近年来, 由于它的生存环境日益恶化、森林破坏和过度开发致其处于濒危状态, 被列为 CITES 公约附录物种。前人曾对白桫欏配子体作

了一系列研究 (Khare and Chandra, 1995; 蒋胜军等, 2002; 王金娟等, 2007), 但是这些报道只局限于配子体发育特征的描述和孢子培养, 关于不同的培养条件下白桫欏配子体发育的研究还未见报。本文报道了四种培养条件下白桫欏配子体的形态发育, 以期对白桫欏乃至整个桫欏科植物的保育和人工繁殖提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

野外采集白桫欏的成熟孢子叶, 装入纸袋自然干

* 通讯作者: Author for correspondence; E-mail: xcheng@mail.kib.ac.cn
收稿日期: 2007-09-10, 2007-10-18 接受发表
作者简介: 陈贵菊 (1980-) 女, 山东临沂人, 在读硕士研究生, 研究方向为蕨类植物多样性保护。

燥，待成熟孢子囊开裂散出孢子后弃除孢子囊等杂质，用硫酸纸将孢子包起，于 4℃ 冰箱内保存。凭证标本 (X. Cheng 06 101) 存中国科学院昆明植物研究所标本馆 (KUN)。

1.2 方法

1.2.1 土壤培养 分别采用腐殖质土和赤红土作基质，赤红土取自昆明植物园，pH 5.5~ 6.5，有机质含量 3%~ 3.5%。腐殖质土取自云南针阔叶混交林下，pH 6.0~ 6.5，有机质含量 5%~ 5.5%。土壤经 140~ 160℃ 干炒灭菌 40 min，冷却后分装到直径为 6 cm，高为 8 cm 的玻璃培养瓶中，每瓶土壤厚 1.5~ 2 cm，凉开水浸湿。孢子用凉开水冲洗 3~ 4 遍，制成悬浊液，均匀播种在土壤基质上，每种基质播种 12 瓶，用塑料保鲜膜封瓶口。播种后黑暗处放置 24 h，然后放入培养室培养，光照强度为 800~ 1500 lx，光照时间 9~ 11 h/d，最高温度 29±1℃，最低温度 11±1℃。腐殖质土和赤红土为基质的培养分别标记为培养 1 和培养 2，培养过程中保持基质处于适度的湿润状态。

1.2.2 改良的 Knop's 琼脂培养基培养 用蒸馏水将孢子冲洗，3500 r/min 离心 2 min，弃上层液体，用 4% 的次氯酸钠溶液孢子表面消毒 5 min，离心后弃消毒液，蒸馏水冲洗，再离心，反复 4 次；最后加蒸馏水将孢子制成悬浊液，均匀接种在直径为 6 cm 的培养皿中。基质为改良的 Knop's 培养基 (刘保东等, 1991)，pH 6.0~ 6.5。将接种后的培养皿黑暗处放置 24 h，移至光照培养箱 (LRH-250-G) 内培养，光照强度为 1300~ 2000 lx，温度 25±1℃；光照时间采用两个处理：8 h/d 和 12 h/d，并将此两种处理分别标记为培养 3 和培养 4。

定期取材，显微镜及解剖镜下观察配子体发育情况

并拍照；结果与分析中时间数值均以从接种孢子到第一次观察到目的性状出现的时间为准，其它数值取随机观察测量的 20 个数值的平均值或数值范围。

2 结果与分析

四种培养条件下白桫欏的配子体形态发育见表 1，由此可以看出四种条件下的配子体形态发育存在差异。

培养于腐殖质土上的原叶体出现颈卵器以后，呈现蝶状 (图 1: 1)，在受精期对原叶体进行喷雾式浇水产生幼孢子体的比率达 90% 以上。培养于赤红土上的配子体发育到狭长的片状体或棒状阶段即开始产生精子器，而后停滞生长 (图 1: 2)，保持基质适当的湿度，该原叶体能持续存活，并且能不断产生精子器，靠假根的增多和伸长来获取水分和营养。

培养于改良的 Knop's 琼脂培养基上的配子体在 8 h/d 和 12 h/d 两种光照长度条件下，丝状体和原叶体阶段的形态均表现出极大差别 (图 1: 3~ 7)；丝状体细胞的大小差别也较大，前者的细胞长度和细胞直径分别为 80~ 120 μm 和 18~ 32 μm，后者的分别为 20~ 44 μm 和 28~ 38 μm。12 h/d 光照条件下丝状体分枝现象较明显，而且各分支都能形成片状结构 (图 1: 8)。

由此可见，两种土壤基质上白桫欏的原叶体形态及有性繁殖均明显不同；改良的琼脂培养基上两种光照时间长度下，白桫欏的丝状体及原叶

表 1 四种培养条件下白桫欏配子体的形态发育
Table 1 Gametophyte morphological development of *Sphaerpteris brunoniana* under four culture conditions

配子体形态发育 Gametophyte morphological development	培养 1 Culture 1	培养 2 Culture 2	培养 3 Culture 3	培养 4 Culture 4
孢子萌发 Spore germination (d)	13	10	7	8
孢子萌发率 Ratio of spore germination (%)	80- 85	80- 85	80- 85	80- 85
丝状体细胞数 Number of filament cells (u)	3- 5	3- 6	6- 10	3- 5
分枝丝状体所占比例 Ratio of branched filament (%)	0	0	30- 40	3- 5
二维生长 Second dimensional growth (d)	18	17	22	15
心形原叶体 Cordate prothallus (d)	27	无	33	28
原叶体长宽比 Ratio of the length and width of the prothallus	< 1	5- 7	5- 11	1. 5- 3. 0
精子器出现 Antheridia appearance (d)	45	43	35	35
精子器数目 Antheridia number (u/p)	30- 80	4- 9	4- 8	5- 10
颈卵器出现 Archegonia appearance (d)	60	无	65	56
颈卵器数目 Archegonia number (u/p)	15- 40	无	1- 4	1- 5
毛状体出现 Hair appearance (d)	58	无	67	54
毛状体数目 Hair number (u/p)	6- 30	无	3- 5	3- 5
幼子体出现 Young sporophyte appearance (d)	180	无	未记录	未记录

注: d= day, u= unit, p= prothallus
©1994-2010 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

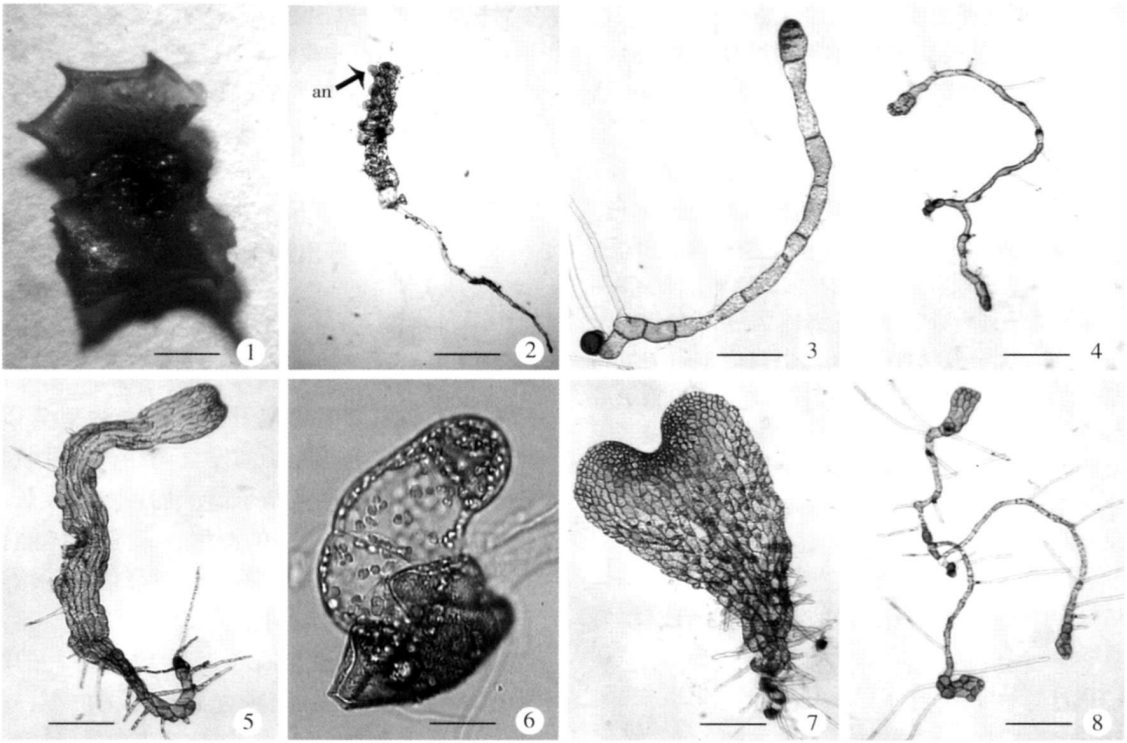


图 1 白桫欏的配子体形态图

1. 成熟的蝶状原叶体 (培养 1: 150 d); 2. 长有精子器的棒状配子体 (培养 2: 292 d); 3~ 5. 丝状体及长条形原叶体。3. 丝状体 (培养 3: 20 d)。4. 分枝的丝状体 (培养 3: 22 d); 5. 长条形原叶体 (培养 3: 45 d); 6~ 7. 丝状体和心形原叶体。6. 丝状体 (培养 4: 11 d); 7. 心形原叶体 (培养 4: 33 d); 8. 分枝丝状体发育成的片状结构 (培养 4: 26 d)。an= 精子器; 1 Bar= 125 μ m (3= 75 μ m, 6= 15 μ m, 1= 1.3 mm)

Fig. 1 Gametophyte morphology of *Sphaeropteris brunoniana*

1. Mature butterfly shaped prothallus (Culture 1, 50 d); 2. Club shaped gametophyte with antheridia (Culture 2: 292 d); 3- 5. Protonema and long prothallus. 3. Protonema (Culture 3: 20 d); 4. Branched protonema (Culture 3: 22 d); 5. Long prothallus (Culture 3: 45 d); 6- 7. Protonema and cordate prothallus. 6. Protonema (Culture 4: 11 d); 7. Cordate prothallus (Culture 4: 33 d); 8. Plate form branched protonema (Culture 4: 26 d). an= antheridium; 1 Bar= 125 μ m (3= 75 μ m, 6= 15 μ m, 1= 1.3 mm).

体形态也存在很大差异。因此，基质的变化和光照时间的变化能引起白桫欏配子体的形态特征及有性繁殖发生变化，但是具体的作用机理还需要深入研究。

致谢 哈尔滨师范大学王金娟女士在实验中给与帮助，昆明植物所陈渝老师协助实验准备。

〔参 考 文 献〕

张宪春, 张丽兵, 2004. 中国植物志 [M]. 北京: 科学出版社, 6 (3): 252
Ao GH (敖光辉), 2001. Research advance in Cyatheaceae [J]. *J Nei-jiang Teach Coll* (内江师范学院学报), 19 (6): 79-82

Jiang SJ (蒋胜军), Zeng X (曾霞), Wang SP (王胜培) *et al.*, 2002. Study of tissue culture of *Sphaeropteris hainanensis* [J]. *Chin J Trop Agri* (热带农业科学), 22 (6): 9-12
Khare PB, Chandra S, 1995. Gametophyte morphology of an endangered species of Cyatheaceae SM [J]. *Indian Bot Soc*, 74: 103-106
Liu BD (刘保东), Bao WM (包文美), Aur CW (敖志文), 1991. Studies on the development of gametophyte of *Phyllitis japonica* from China [J]. *Bull Bot Res* (植物研究), 11 (2): 93-100
Wang JJ (王金娟), Liu BD (刘保东), Cheng X (成晓) *et al.*, 2007. Gametophyte development of three species in Cyatheaceae [J]. *J Trop Subtrop Bot* (热带亚热带植物学报), 15 (2): 115-120
Zhou ZQ (周志琼), Su ZX (苏智先), Liao YM (廖永梅) *et al.*, 2004. Advance of biological study on *Alsophila spinulosa* [J]. *J Guizhou Norm Univ* (贵州师范大学学报), 2 (3): 100-103