

小扭口藓(*Barbula indica*)芽胞发育特征的实验研究赵建成¹ 黄士良¹ 李 敏¹ 张元明² 王晓蕊¹ 范庆书¹

(1. 河北师范大学生命科学院, 石家庄 050016)

(2. 中国科学院新疆生态与地理研究所, 乌鲁木齐 830011)

摘 要 在光照培养箱中人工对照培养小扭口藓(*Barbula indica* (Hook.) Spreng)的芽胞, 显微镜下观察并记录其发育成配子体的全过程。结果表明: 小扭口藓芽胞在3~4 d即可萌发; 10 d左右开始分化出绿丝体、轴丝体及假根; 18 d, 轴丝体上的侧枝顶端细胞以分生缢割的方式产生单细胞或多细胞芽胞; 40 d, 轴丝体上开始出现配子体原始细胞; 之后, 配子体原始细胞发育成桑椹状的幼小配子体。还对芽胞形态发育、生理生态及配子体发生过程的特点进行了分析和讨论。

关键词 小扭口藓; 芽胞; 发育

Experimental studies on the characteristics of gemma development in *Barbula indica*

ZHAO Jian-Cheng¹ HUANG Shi-Liang¹ LI Min¹ ZHANG Yuan-Ming² WANG Xiao-Rui¹ FAN Qing-Shu¹

(1. College of Life Science, Hebei Normal University, Shijiazhuang 050016)

(2. Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011)

Abstract Gemma culture and protonema growth of *Barbula indica* (Hook.) Spreng in response to me-liorative knop, authors study the whole process and take photos. The results show that its gemma germinates after 3~4 days; 10 days later, chloronemata, caulonemata and rhizoides begin to differentiate; 18 days, the branch top cells of caulonemata differentiate into unicellular or multicellular gemmas; Nearly 40 days, bud primordium appears on caulonemata and develops into callow gametophyte. In the end of this paper, the characteristics of gemma development, and phyoiological ecology and gametophyte formation are analysed and discussed.

Key words *Barbula indica*; gemma; development

无性生殖在苔藓植物扩大种群数量的过程中具有重要意义。尽管很多苔藓植物学家将无性生殖看成是苔藓植物窄幅分布(Stenotypy)、进化缓慢的直接原因, 甚至会引起某个分类群最终消亡, 但由于其繁殖系统对水分的独特要求以及雌雄异株比例的偏高, 使得无性生殖在苔藓植物个体建成中似乎更为重要^[1]。无性生殖使苔藓植物在大的气候变化中获得更多的生存机会, 特别是在干旱、寒冷等恶劣条件下, 藓类植物的种群密度小、受精率

比较低时, 无性生殖能够在较短的时间内建立有效种群, 占据生态位, 其生存能力甚至会超过维管植物^[2]。

苔藓植物进行无性繁殖的繁殖体有芽胞和繁殖枝等, 芽胞则是多数旱生藓类植物为渡过不良环境而产生的独特生命形式^[2]。人们虽然知道藓类植物可以通过连续分枝、茎叶碎片、假根、孢子、芽胞等方式进行繁殖, 并且早就开始通过室内人工培养藓类植物孢子, 观察孢子萌发、原丝体发育及配

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划(No. 90202019); 河北省自然科学基金(No. 303150)和河北省教育厅(No. 2002235)

第一作者简介: 赵建成(1956—), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事苔藓植物学研究。 E-mail: zhaojiancheng@mail.hebtu.edu.cn

收稿日期: 2004-11-16

子体的发生过程,从而研究其有性生殖的特点,但是,藓类植物究竟是如何利用芽胞进行繁殖的,尚无系统的研究报道^[3-7]。

实验以小扭口藓(*Barbula indica*)为材料,通过人工培养其芽胞,详细观察并记录了小扭口藓芽胞萌发、原丝体发育及配子体发生过程,初步取得了一些实验数据,它们将是藓类植物生殖生物学特性研究的有益补充。同时,藓类植物也是固定沙丘结皮层的优势成分,是结皮层中生物量最大的类群,它们对生物结皮的逐年增厚、维持、养分积累和水分的动态平衡等起主要作用^[3]。因此,研究小扭口藓芽胞的发育特征,对揭示旱生藓类植物的繁殖生物学特性,研究荒漠结皮层的形成及其维持机理具有十分重要的意义。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用材料采自河北省巨鹿县辛庄乡西辛庄村,唐伟斌 00-422b,采集日期:2000年11月5日。凭证标本保存于河北师范大学生命科学学院植物标本室(HBNU)。

小扭口藓(*Barbula indica*)隶属于丛藓科扭口藓属(*Barbula*),主要生于岩面薄土、水边石壁及土壤上,林下土层和阴湿砖面也常见,海拔80~2210 m。分布于中国(内蒙、北京、河北、河南、江苏、福建、广东及台湾),日本、尼泊尔、印度、菲律宾、非洲、美洲及澳大利亚等地。

1.2 实验方法

1.2.1 本实验采用含改良 Knop 营养液的琼脂培养基,其中琼脂为 SIGMA 公司生产,改良的 Knop 营养液配方见表 1。

表 1 改良的 Knop 营养液
Table 1 Modified recipe of Knop solution

试剂 Reagent	浓度 Concentration(mg · L ⁻¹)
Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	1 000
KNO ₃	250
KH ₂ PO ₄	250
MgSO ₄ · 7H ₂ O	250
ZnSO ₄ · 7H ₂ O	3
FeSO ₄ · 7H ₂ O	12.5
NaNO ₃	微量
蒸馏水(Distilled water)	1 000 mL

注 pH:7.0

1.2.2 实验步骤

(1)培养基的制备:实验组按表 1 配方,在一定量改良的 Knop 营养液中加入适量琼脂,使其浓度为2%,加热熔化后,倒入60 mm的培养皿中,凝固后即可使用。(2)芽胞悬液的制备:获取小扭口藓的配子体,把整个植株浸入75%的酒精溶液中20 s,然后,在无菌蒸馏水中清洗5次,用镊子和解剖针将配子体叶腋内的芽胞挤出,将芽胞散入无菌蒸馏水中,制成适当浓度的芽胞悬液。(3)用吸管将稀释的芽胞悬液接种于培养基上。(4)培养皿加盖后放在250-D型光照培养箱中培养。温度23 ± 2℃,相对湿度大于80%,光照强度24 μmol · m⁻² · s⁻¹,光照时间12 h/d。(5)自接种培养之日起,每天定时镜检芽胞萌发情况,并对芽胞的萌发过程进行显微照相及绘图,详细记录个体的发育状况。

2 实验结果

2.1 芽胞的形态及其萌发 小扭口藓的芽胞为多细胞个体,近球形,直径30(17~60) μm。幼嫩的芽胞为浅绿色,成熟后呈棕黄色(图版 I:1,2),无休眠和后熟现象。芽胞接种1 d后,吸水膨胀至最大,直径达35 μm。2 d后,芽胞内部叶绿体的颜色变深,数量增多。3~4 d,芽胞周围开始产生绿丝体(Chloronema)原始细胞(图版 I:3)。5~6 d时,绿丝体原始细胞的数目增多到3~6个(图版 I:4)。绿丝体原始细胞继续伸长、分枝(图版 I:5)。10 d左右时,绿丝体生长、分枝增快,少数芽胞的外壁开始脱落。

2.2 原丝体发育阶段 13 d时,绿丝体发育形成网络状,顶端细胞不断进行横向分裂,形成单细胞不分枝的丝状原丝体。在网络状绿丝体的主干上的细胞向侧方斜向分裂,产生分枝细胞,形成一级侧枝。一级侧枝继续分裂,在其上产生二级侧枝,即轴丝体(Caulonema)原始细胞,轴丝体内的叶绿体的数量较少。二级侧枝形成后,有的深入到基质中生长,其细胞内部的叶绿体数目逐渐减少,特化成假根(Rhizoid);绿丝体上形成的侧枝有的也伸向培养基质内部,发育形成细长透明的假根。芽胞萌发生长初期没有初生假根生成,随着原丝体的发育,假根的数量开始增多,其正向重力反应随假根的发育而不断加强。

2.3 芽胞新个体的产生时期 17 d时,轴丝体上的侧枝和绿丝体前端的二级侧枝开始伸向基质外

侧,并且侧枝的顶端细胞膨大(图版 I:6)。20 d 时,这类侧枝数目增多。同时,原丝体生长发育速度加快,部分轴丝体开始褐化。30 d 时,整个原丝体系统的一、二和三级侧枝的顶端细胞均膨大成棒状,并开始以分生缢割的方式产生单细胞或多细胞芽胞,多形成 2、4、5 个细胞的芽胞(图版 I:7,8)。37 d 后,侧枝顶端形成的芽胞逐渐成熟,并脱离侧枝;同时,脱离母体后的多细胞芽胞的胞壁开始褐化(图版 I:9,10)。

2.4 配子体发生阶段 35 d 时,轴丝体上开始出现配子体原始细胞。配子体原始细胞中的叶绿体数量逐渐增多,不同于轴丝体上的棒状细胞(图版 I:11)。37 d 时,配子体原始细胞发育形成桑椹状的细胞团,细胞团顶部的分生组织又分裂成几个芽,这些芽发育成丝状细胞向上生长,并不断的进行纵向和横向分裂,发育形成叶原基(图版 I:12)。配子体顶端分生组织细胞体积较小,具有较高的分裂频率。40 d 时,由分生组织发生的叶原基逐渐发育形成幼叶,伸向培养基外侧。45 d 时,幼小的配子体上已产生 1~6 个幼叶(图版 I:13)。

3 分析与讨论

环境条件适宜时,小扭口藓的芽胞在配子体的叶腋内开始萌发生长,产生原丝体,然后在原丝体上产生芽胞和配子体。通过实验室内培养小扭口藓的成熟芽胞可以观察到:小扭口藓芽胞萌发生长能产生大量原丝体。轴丝体不直接发育形成配子体,而是首先发育形成芽胞。经历这样一段较长的发育时期后,才开始在轴丝体上形成少量配子体原始细胞。因此,通过小扭口藓芽胞的整个发育过程可以看出,小扭口藓在没有形成孢子体、产生孢子前,由于芽胞的大量产生,已经使其种群数量大大扩增,种群占有的面积扩大。即使外界环境变得干旱,不利于该种生长和产生孢子体,小扭口藓也可以无性繁殖的方式维持其种群的发展和扩散。

同时,由小扭口藓的无性繁殖过程可以初步推断出:一些旱生藓类植物能够通过调整自己的生殖机制去适应变化的外界环境。例如:当外界环境条件适宜时,小扭口藓在原丝体发育阶段即可形成芽胞,随之再产生配子体,完成有性生殖过程。

一般情况下,苔藓植物的无性繁殖很少如其产生孢子那样作为长距离传播的手段。然而,它对种群的繁衍具有非常重要的意义。我们不能根据那些一年生种类能够产生孢子而推断其有性生殖更

有效,因为通过细致入微的野外观察发现其无性繁殖方式也包含在内。尽管芽胞不具备孢子所特有的遗传背景,甚至长时间的无性繁殖会对种群遗传多样性产生不利的影响,但是,无性繁殖对于各类环境条件变化的贡献远远超过有性生殖,其复杂的繁殖方式对苔藓植物系统演化过程中各谱系的延续以及变异的积累具有重要意义^[2]。目前,无性繁殖的种群动态变化以及生殖方式对遗传多样性的影响等均已成为苔藓植物生殖生态学研究热点问题。

在人工培养条件下,小扭口藓芽胞生长发育速度较快,其产生的植物体的大小、叶片的形状及细胞的形态与野生小扭口藓的相应性状有一定差异,在种的鉴定过程中应充分考虑它的生态变异。

参 考 文 献

1. 方炎明. 生殖生态学. 济南: 山东大学出版社, 1996. 199~212
2. 吴鹏程(主编). 苔藓植物生物学. 北京: 科学出版社, 1998. 23~55
3. 张萍, 白学良, 徐杰, 等. 沙坡头固定沙丘结皮层藓类植物繁殖生物学特性研究. 中国沙漠, 2002, 22(6): 553~558
4. 赵建成, 李秀芹, 张慧中. 10 种藓类植物孢子萌发和原丝体发育的初步研究. 干旱区研究, 2002, 19(1): 32~38
5. 范庆书, 赵建成, 于树宏, 等. 苔藓植物孢子萌发与原丝体发育的研究进展. 植物学通报, 2003, 20(3): 280~286
6. Schwuchow J M, V D Kern, N J White, *et al.* Conservation of the Plastid Sedimentation Zone in All Moss Genera with Known Gravitropic Protonemata. Plant, 2002, 21: 146~155
7. Nishida Y. Studies on the sporeling types in mosses. J. Hattori Bot Lab, 1978, 44: 371~454

图 版 说 明

Explanation of plate

图版 I 1,2. 芽胞; 3. 芽胞开始萌发; 4,5. 绿丝体细胞开始纵向、横向分裂; 6. 侧枝顶端变粗; 7,8. 侧枝顶端细胞分化形成芽胞; 9,10. 发育成熟的芽胞开始脱离侧枝; 11. 配子体原始细胞; 12,13. 幼小的配子体(3,6,9~11,13. $\times 10$; 2,5,7,8,12. $\times 20$; 1,4. $\times 40$)

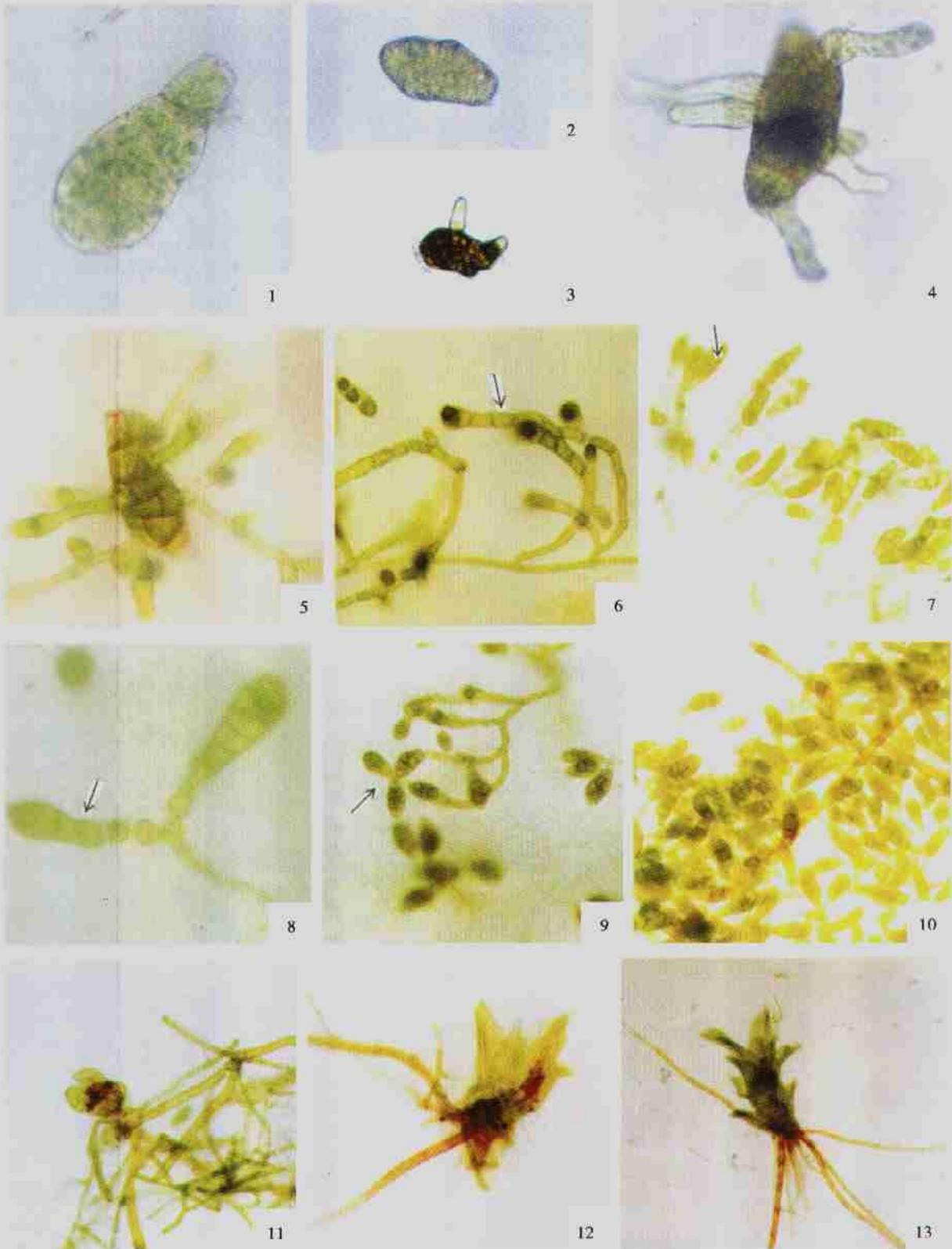
Plate I 1,2. Gemma; 3. Gemma begins to germinate; 4,5. Longitudinal and declinate Chloronema cell division; 6. Enlarge branch apical cell; 7,8. Branch apical cell differentiates into gemma; 9,10. Mature gemma break off branch; 11. Gametophyte original cell; 12,13. Young gametophyte(3,6,9~11,13. $\times 10$; 2,5,7,8,12. $\times 20$; 1,4. $\times 40$)

赵建成等:小扭口藓(*Barbula indica*)芽胞发育特征的实验研究

图版 I

ZHAO Jian-Cheng *et al.*: Experimental studies on the characteristics of gemma development in *Barbula indica*

Plate I



See explanation at the end of text