

光照和温度对扇蕨孢子萌发的影响

张光飞^{1,*}, 翟书华², 杨慧¹, 苏文华¹

¹云南大学生态学与地植物学研究所, 昆明 650091; ²昆明学院生命科学与技术系, 昆明 650031

摘要: 用组织培养法和光学显微镜技术初步研究光照和温度影响扇蕨孢子萌发的结果表明, 扇蕨孢子发芽是需光型, 具有明显的光休眠现象。光照是孢子萌发的主要影响因子, 25 °C下, 孢子萌发率达(85.1±5.1)%。相同温度下孢子即使在黑暗中培养 50 d也不能萌发, 转入光照下后萌发率可达(82.4±6.6)%。孢子在光下的最适发芽温度为 21.6~26.5 °C, 7 d开始萌发, 6~7周完全萌发, 温度升高或下降均降低孢子萌发率。

关键词: 扇蕨; 孢子萌发; 光照; 温度

Influence of Light and Temperature on Spore Germination of *Neocheiropteris palmatopedata* (Baker) Christ

ZHANG Guang-Fei^{1,*}, ZHAI Shu-Hua², YANG Hui¹, SU Wen-Hua¹

¹Institute of Ecology and Geobotany, Yunnan University, Kunming 650091, China; ²Life Science and Technology Department, Kunming University, Kunming 650031, China

Abstract: The influence of light and temperature on the spore germination of *Neocheiropteris palmatopedata* were studied by tissue culture and light microscopy. The preliminary results showed the spore germination of *N. palmatopedata* depended on light and had photodormancy. Light was the major influence factor of spore germination. At temperature of 25 °C, the spore germination percentage reached (85.1±5.1)%. At the same temperature there was no spore germination in the dark after 50 days of culture, and then the spores were transferred into light, the spore germination percentage reached (82.4±6.6)%. The optimal temperatures for germination was 21.6–26.5 °C in light. The spores began to germinate after 7 days and germinated completely after 6–7 weeks. The changes in temperature could reduce the spore germination percentage.

Key words: *Neocheiropteris palmatopedata*; spore germination; light; temperature

扇蕨, 属水龙骨科(Polypodiaceae)扇蕨属(*Neocheiropteris*), 草本植物。为我国特产的蕨类植物, 仅分布于云南、贵州和四川, 通常生长在海拔 1 500~2 700 m 的密林下、山崖林下(林尤兴等 2000)。它既可作为观赏植物, 也是一种常用的中草药, 其根状茎有解毒、消肿祛湿之效(宋朝樞等 1989)。由于其形态奇异, 在蕨类植物系统发育中有一定的研究价值, 1999年国务院正式批准公布的“国家重点保护野生植物名录(第一批)”中列为国家二级保护植物(于永福 1999)。

蕨类植物的生活史具有明显的世代交替现象, 即孢子体世代和配子体世代, 两个世代均能独立生活。由于配子体与孢子体形态结构差异很大, 其对环境条件的需求与孢子体世代也会有很大不同, 配子体世代是蕨类植物生活史中的脆弱阶段, 配子体能否生长发育, 是蕨类植物完成其生活史的关键。蕨类植物孢子的萌发方式、配子体的形态特征及其生活史的研究报道已很多(Miller 1968; Nayar

1971; Korpelainen 1998; 刘建武和刘宁 2001; 曹建国等 2003; 曾汉元和丁炳扬 2003, 2004; 张开梅等 2005), 但蕨类植物孢子的萌发以及配子体生长发育的生态条件的研究还较少(程景福等 1978; 段炳源等 1979; 浙江省温州地区农科所 1980; 吕书纓和严孟荀 1980; 黄春运 1987; 韩玉林和贺善安 1992; 鲁翠涛等 2002; 任冰如等 2008)。Christopher (2002) 虽然对蕨类的生态适应及其进化对策曾进行了综述, 但基本上并未涉及配子体对光照条件等生境变化的适应问题。本文探讨光照和温度对扇蕨孢子萌发的影响, 以期对扇蕨的人工栽培提供一些基础性资料, 进而探讨蕨类植物生活史中配子体世代对生境条件的响应和适应对策。

收稿 2009-05-03 修订 2009-08-12

资助 国家自然科学基金(30760043)和教育部高等理工教育教学改革与实践项目(239)。

* 通讯作者(E-mail: gfzhang@ynu.edu.cn; Tel: 0871-5033535)。

材料与方法

实验于2008年11月开始进行。以引自昆明西山的野生扇蕨 [*Neocheiropteris palmatopedata* (Baker) Christ] 活体栽培后产生的成熟孢子为研究材料, 采集时将带孢子的叶片剪下, 吹弹掉附着在叶片表面的杂物, 用细水喷洗, 然后用干净纸吸干, 放入洁净、密封的纸袋中, 将其置于通风干燥处1~2 d后收集于干燥的玻璃器皿中, 置4℃冰箱保存备用。

播种培养基为B₅培养基, 不加有机物和蔗糖, 加7 g·L⁻¹琼脂。温度设有5、10、15、20、25、35和40℃, 日光灯光源, 光照强度为30~50 μmol·m⁻²·s⁻¹, 光照时间14 h·d⁻¹; 培养瓶内的湿度为100%。在25℃条件下同时用黑塑料设置黑暗条件。每个处理重复5次, 孢子接种后, 用光学显微镜(Nikon 50i)每天观察孢子萌发情况, 前4周每隔2 d对其进行拍照(Nikon DXM1200F), 之后每隔7 d拍照1次, 直至形成幼孢子体。并记录不同处理中孢子萌发的时间、萌发指数、萌发率以及形成幼孢子体形成的时间。萌发指数(Gi)=ΣGt/Dt; 其中, Gt为在t时间的萌发数量; Dt为萌发t天数。萌发率=(孢子萌发数量/播种数量)×100%。萌发时间是以孢子播种后开始出现假根所需的时间。数据用SPSS统计分析软件分析数据间的差异显著性。

实验结果

1 温度对孢子萌发的影响

孢子的萌发过程是先吸水膨胀变亮, 伸出无色

突起, 然后逐渐伸长为初生假根, 假根内无叶绿体, 随后从孢子壁开裂处长出一个绿色细胞, 该细胞为丝状体的原始细胞, 方向与出生假根成90度角, 之后绿色细胞体积增大, 并进行分裂, 逐步进入丝状体、片状体时期, 然后形成肉眼可见的成熟配子体, 呈心脏型(图1)。丝状体的原始细胞是进行后期生长的前提(陈维伦等1999), 统计丝状体原始细胞的萌发率, 可以作为测定孢子生命力的指标之一。

温度对扇蕨孢子萌发的时间、萌发指数和萌发率均有显著的影响(图1~3、表1)。在25℃条件下, 无论从萌发速度、萌发指数还是萌发率均比其它温度的高, 萌发时间比其它温度的短, 说明该温度最适合扇蕨的孢子萌发。以达到90%最大萌发率的温度为最适宜计算可知, 扇蕨孢子萌发的最适温度为21.6~26.5℃。从5℃到25℃的萌发情况可以看出, 萌发率和萌发指数随着温度的下增加而明显上升, 且萌发时间缩短, 5℃下不萌发, 说明低温抑制扇蕨的孢子萌发。25~35℃下正好相反, 萌发率和萌发指数均下降, 萌发时间没有变化。在35℃时孢子虽然也有萌发, 但不能正常生长发育, 萌发的孢子只有少量能形成丝状体, 无片状体和配子体产生, 说明高温同样影响扇蕨孢子生长发育。20和25℃下能形成幼孢子体, 其余温度条件下的扇蕨都不能正常完成配子体世代的生活史。

2 光照对孢子萌发的影响

从表1的结果可以看出, 扇蕨孢子在25℃光照下, 其萌发率可达(85.1±5.1)%; 黑暗条件下不能萌发; 50 d后由黑暗中转入光照条件下, 其培养50 d的萌发率可达到(82.4±6.6)%, 其萌发率与前者无

表1 不同温度和光照对扇蕨孢子萌发和生长的影响

Table 1 Influence of different temperatures and light on spore germination and growth of *N. palmatopedata*

处理	萌发时间/d	萌发指数(Gi)	萌发率/%	形成幼孢子体所需时间/d
5℃	—	0 ^a	0 ^a	—
10℃	17±1.5 ^b	0.32±0.1 ^b	8.2±2.5 ^b	—
15℃	15±1.6 ^c	1.00±0.3 ^c	38.5±8.3 ^c	—
20℃	11±1.5 ^d	2.08±0.4 ^d	72.6±6.5 ^d	50±5 ^d
25℃	7±1.5 ^e	2.72±0.1 ^e	85.1±5.1 ^e	40±5 ^e
30℃	7±1.0 ^e	1.76±0.3 ^d	52.2±4.8 ^f	—
35℃	7±1.5 ^e	0.28±0.1 ^b	7.3±1.9 ^b	—
黑暗(25℃)	—	0 ^a	0 ^a	—
黑暗(25℃)培养50 d 后转入光照条件下	8±1.5 ^e	—	82.4±6.6 ^e	45±4.6 ^e

同一列中不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

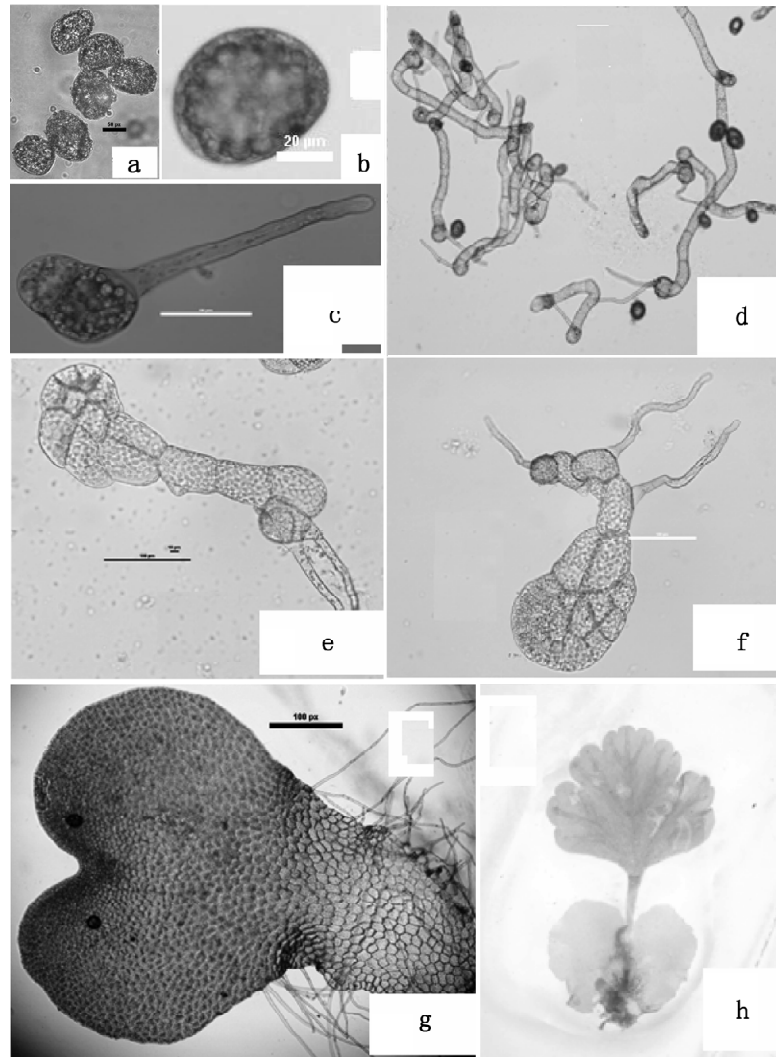


图1 扇蕨的配子体发育过程

Fig.1 Process of gametophyte development of *N. palmatopedata*

a: 孢子形态(200×); b: 孢子吸胀(400×); c: 孢子萌发(200×); d: 丝状体(100×); e、f: 片状体(200×); g: 心型原叶体(40×); h: 幼孢子体(2.5×)。

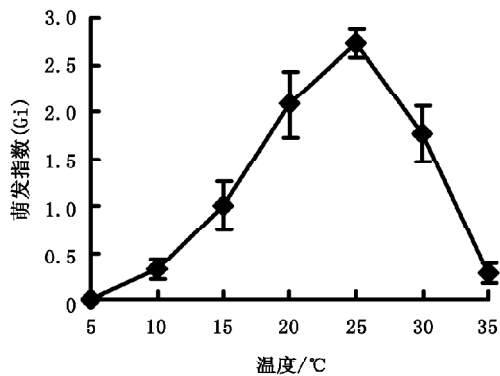


图2 不同温度对扇蕨孢子萌发指数的影响

Fig.2 Influence of different temperatures on germination index of *N. palmatopedata* spores

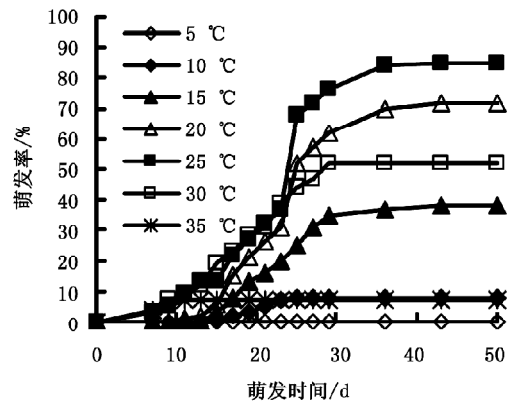


图3 不同温度下扇蕨孢子萌发率影响的变化

Fig.3 Changes of germination percentages of *N. palmatopedata* spores under different temperatures

显著差异($P<0.05$)。进而表明, 扇蕨孢子萌发需要光照, 光照是影响孢子萌发的环境因子之一。

讨 论

种子植物的种子萌发需要适宜的水、氧气、温度或光照等环境因子, 不同种子萌发所需环境条件不同。不同的环境因子有各自的作用, 但它们又彼此联系, 综合地影响种子的生命活动。同样, 蕨类植物的孢子萌发也是如此, 因生境和种类的不同, 影响孢子萌发的因子也不相同, 本文结果表明, 光照对孢子萌发具有决定性的影响, 在有光条件下($25\text{ }^{\circ}\text{C}$, 光照 $14\text{ h}\cdot\text{d}^{-1}$)扇蕨孢子能正常萌发并很好地生长发育, 而在黑暗条件下孢子培养 50 d 仍不能萌发, 转入光下后又能正常萌发, 说明扇蕨孢子萌发是需光型。孢子萌发的最适温度是 $21.6\sim 26.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, 在最适温度条件下光照是影响扇蕨孢子萌发的主要环境因子, 超出最适温度范围, 光照和温度同时制约孢子萌发, 二者都成为影响其孢子萌发的关键因子。

扇蕨孢子萌发的最适温度范围, 与其局限的海拔范围的生长环境相适应, 狭窄的温度范围决定了其自然分布的现状, 而光照也是影响孢子萌发及生长发育的环境因子, 光可能是直接影响种群数量大小。影响孢子萌发的因素很多, 光照和温度只是其中较为重要和关键的2个环境因子, 探讨扇蕨濒危的机制还需要结合综合因素进行, 如生长的基质、空气和湿度, 以及它本身的遗传因素等等, 这些均有待深入研究。

参考文献

曹建国, 包文美, 戴绍军(2003). 蕨类植物桂皮紫其颈卵器和精子器形态和发育的研究. 植物研究, 23 (1): 42~47
陈维伦, 郭东红, 石雷, 朱至清(1999). 蕨类植物的离体种质保存.

纪念秦仁昌论文集. 北京: 中国林业出版社, 412~416
程景福, 徐声修, 王素珍(1978). 满江红的孢子果和孢子果育苗. 植物学报, 20 (1): 54~58
段炳源, 张壮塔, 柯玉诗, 刘禧莲, 凌德全, 潘素文(1979). 红萍有性繁殖研究(二)——红萍孢子果的形态特征、萌发与有性苗生长条件. 广东农业科学, (3): 54~57
韩玉林, 贺善安(1992). 环境条件对荚果蕨孢子繁殖的影响. 黑龙江八一农垦大学学报, (1): 27~32
黄春运(1987). 光对蕨状满江红孢子果出苗率的影响. 土壤肥料, (2): 31~34
林尤兴, 张宪春, 石雷, 陆树刚(2000). 中国植物志(第6卷, 第2分册). 北京: 科学出版社, 32~35
刘建武, 刘宁(2001). 蕨类植物配子体发育及其性器官分化的研究进展. 植物学通报, 18 (2): 149~157
鲁翠涛, 梅兴国, 钟凡(2002). 蕨类植物孢子萌发影响因素的研究进展. 广西植物, 22 (6): 503~508
吕书纓, 严孟荀(1980). 细绿萍孢子果育苗若干问题的研究. 土壤肥料, (2): 40~43
任冰如, 夏冰, 李维林, 吴菊兰, 赵友谊(2008). 乌蕨孢子萌发研究. 云南植物研究, 30 (6): 713~717
宋朝樞, 徐荣章, 张清华(1989). 中国珍稀濒危保护植物. 北京: 中国林业出版社, 19~20
于永福(1999). 中国野生植物保护工作的里程碑——《国家重点保护野生植物名录》(第一批)出台. 植物杂志, 5: 3~4
曾汉元, 丁炳扬(2003). 蕨类植物配子体发育的研究. 植物研究, 23 (2): 154~158
曾汉元, 丁炳扬(2004). 蕨类植物孢子萌发及原叶体发育的观察. 武汉植物学研究, 22 (4): 368~371
张开梅, 石雷, 李东(2005). 剑叶凤尾蕨配子体发育的研究. 植物学通报, 22 (5): 566~571
浙江省温州地区农科所(1980). 细绿萍孢子果育苗. 农业科技通讯, (3): 23
Christopher N (2002). Ecological strategies in fern evolution: a neopteridological overview. Rev Palaeobot Palynol, 119: 1~33
Korpelainen H (1998). Labile sex expression in plants. Biol Rev Cambridge Philosophic Soc, 73 (2): 157~180
Miller JH (1968). Fern gametophytes as experimental material. Bot Rev, 34: 361~440
Nayar K (1971). Gametophytes of homosporous ferns. Bot Rev, 37 (3): 295~396