

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2014.08.010

外源赤霉素对金毛狗孢子萌发和配子体发育的影响^①

彭黎立^{1,2}, 邓洪平¹

1. 西南大学 生命科学学院/三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆 400715;

2. 四川外国语大学 附属外国语学校, 重庆 40039

摘要: 为研究外源赤霉素不同处理对金毛狗(*Cibotium barometz*)孢子萌发和配子体发育的影响, 为金毛狗引种繁育、人工栽培及资源保护提供理论依据, 采用不同质量浓度外源赤霉素对金毛狗孢子处理不同时间, 统计其孢子萌发时间、萌发率、假根数、丝状体形成率、原叶体形成时间、性器官形成时间, 分析外源赤霉素对金毛狗孢子萌发和配子体发育的影响。结果发现: 0.01 mg/L 赤霉素处理的金毛狗孢子萌发率、丝状体形成率最高, 孢子萌发时间、原叶体形成时间、性器官出现时间最短, 不同处理时间之间差异不显著。0.05 mg/L 赤霉素处理 5 min 假根数最多。低质量浓度赤霉素处理促进金毛狗孢子萌发和配子体发育, 高质量浓度赤霉素抑制金毛狗孢子萌发和配子体发育。

关键词: 外源赤霉素; 金毛狗; 孢子萌发; 配子体发育

中图分类号: Q944

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2014)8-0065-05

植物激素是植物代谢反应的产物, 同时又对植物的生长发育起着重要的调控作用。蕨类植物孢子萌发和配子体发育受光照、营养和 pH 值等诸多因素的影响, 但目前有关激素对孢子萌发和配子体发育的影响研究较少^[1-2]。

金毛狗(*Cibotium barometz* (Linn.) J Sm.) 隶属于蚌壳蕨科(Dicksoniaceae)、金毛狗属(*Cibotium*), 是我国典型单种科植物、著名药用植物和国家 II 级重点保护植物^[3]。金毛狗分布于重庆、四川、贵州、云南等地, 常生长于山沟林荫湿处。各区为典型的岛屿状分布, 种群及个体数量正不断减小, 呈现出一定的濒危状态^[4]。

目前对金毛狗的研究主要集中于形态多样性^[5]、群落分类^[6]、配子体发育阶段性^[7-8]、遗传多样性^[9]和化感作用^[3, 10]等方面, 激素对其孢子萌发及配子体发育的影响目前尚未见报道。本文拟通过外源赤霉素对金毛狗孢子萌发和配子体发育的影响研究, 为金毛狗的引种繁育、人工栽培及资源保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 孢子采集

2011 年 3 月, 于重庆缙云山国家级自然保护区, 将带有成熟金毛狗孢子的小叶片收集于洁净纸袋内,

① 收稿日期: 2013-02-25

基金项目: 重庆市自然科学基金资助项目(2008BB5256)。

作者简介: 彭黎立(1989-), 女, 重庆人, 硕士研究生, 主要从事植物系统进化学和生物教学研究。

放于干燥通风处使孢子自然散落,约 3 d 后用直径 0.216 mm 金属筛将孢子去杂并收集于硫酸纸袋中,置于 4 ℃ 冰箱中保存备用.

1.2 孢子消毒及处理

取 1 mg 成熟孢子置于 1.5 mL 离心管中,滴入无菌水,充分振荡后 4 000 r/min 离心 1 min,弃去上清液,重复 3 次.向离心管内加 1 mL 5% NaClO 消毒 4 min,无菌水冲洗 4~5 次,弃去上清液.每离心管中分别加 1 mL 0.01,0.05,0.10,0.15 mg/L 外源赤霉素溶液(用直径 0.22 μm 的细菌过滤膜过滤灭菌),各质量浓度分别处理 5,15,20,30 min.以加入等量无菌水作为空白对照.

1.3 孢子接种及培养

在无菌操作台中,用移液枪吸取 20 μL 孢子液,均匀涂布在 1/2MS 固体培养基(琼脂质量浓度为 0.7 g/L, pH=5.8)上,封口膜密封.接种后置于黑暗处理 24 h,以促其同步萌发,然后置于人工智能培养箱内,每天光照 12 h,光强约为 2 400 lx,昼温(24±2) ℃,夜温(15±2) ℃.每处理 5 个重复.

1.4 统计分析

用光学显微镜(Nikon-80i)定期观察孢子萌发和配子体发育过程.第 2 周开始计数,以孢子产生 1 个叶绿体细胞和 1 条无色透明假根时为已萌发.每培养皿中随机选取 3 个视野,记录孢子萌发时间、萌发率、假根数、丝状体形成率、原叶体形成时间、性器官形成时间.用 SPSS16.0 在 $p=0.05$ 水平上进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),各处理间差异显著性用 Duncan 法进行多重比较,用 Origin 8.1 作图.

2 结 果

2.1 对孢子萌发的影响

2.1.1 对孢子萌发时间的影响

随着赤霉素质量浓度的增加,金毛狗孢子萌发时间先提前后延迟.赤霉素质量浓度达到一定程度,萌发时间迟于对照组(表 1).对不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗孢子萌发时间进行方差分析,结果发现各质量浓度之间金毛狗孢子萌发时间差异显著($p<0.05$),0.01 mg/L 赤霉素处理的孢子萌发时间最短.不同处理时间对金毛狗孢子萌发时间差异性不显著($p>0.05$).

表 1 外源赤霉素质量浓度对金毛狗孢子萌发、原叶体及性器官形成时间的影响

GA 处理质量浓度 (/mg·L ⁻¹)	孢子萌发时间 (/d)	原叶体形成时间 (/d)	性器官形成时间 (/d)
Ck	12.00b	47.00b	61.00b
0.01	9.50a	41.25a	56.00a
0.05	11.25b	47.50b	62.75bc
0.10	11.75b	48.25b	65.25c
0.15	13.25c	55.25c	75.50d

注:同一列不同小写字母表示在 $p=0.05$ 水平差异显著.

2.1.2 对孢子萌发率的影响

随着赤霉素质量浓度的增加,金毛狗孢子的萌发率先增加后下降.赤霉素质量浓度高到一定程度,萌发率低于对照组(图 1).各处理时间下,0.01 mg/L 赤霉素处理的孢子萌发率最高,0.15 mg/L 赤霉素处理的孢子萌发率最低,抑制萌发.对处理 5 min 不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗孢子萌发率进行方差分析,结果表明,各质量浓度之间金毛狗孢子萌发率差异显著($p<0.05$),它们的孢子萌发率分别为 71.75%,65.50%,62.50%和 55.50%,对照组萌发率为 64.00%.由以上分析可以得出,0.01 mg/L 赤霉素处理的孢子萌发率最高.

随着处理时间的延长, 金毛狗孢子萌发率逐渐降低(图 2), 质量浓度为 0.01, 0.05 mg/L 时, 处理 5 min 的孢子萌发率最高, 其次是 15 min, 20 min, 处理 30 min 的萌发率最低. 0.01 mg/L 赤霉素处理不同时间对金毛狗孢子萌发率差异不显著($p > 0.05$).

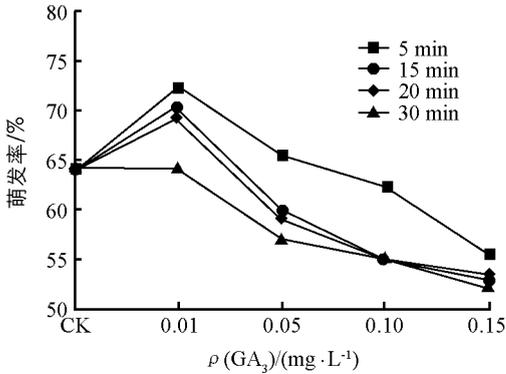


图 1 不同处理时间赤霉素质量浓度对金毛狗孢子萌发率的影响

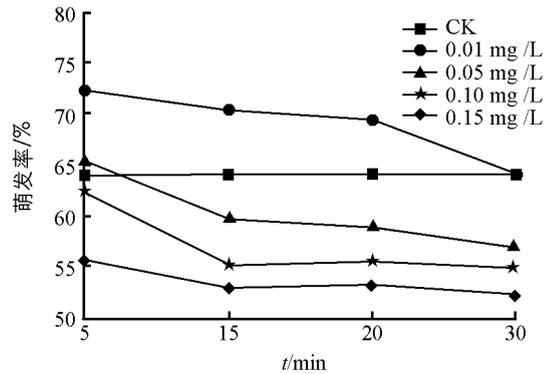


图 2 不同质量浓度下赤霉素处理时间对金毛狗孢子萌发率的影响

2.2 对配子体发育的影响

2.2.1 对假根数的影响

随着赤霉素质量浓度的增加, 金毛狗配子体的假根数先增加后下降, 但均高于对照组, 促进假根产生(表 2). 对不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗配子体的假根数进行方差分析, 结果表明, 各质量浓度之间金毛狗配子体假根数差异显著($p < 0.05$). 由以上分析可知, 0.05 mg/L 赤霉素处理的配子体假根数最高.

随着处理时间的延长, 不同赤霉素质量浓度下金毛狗配子体假根数的变化不同(图 3). 质量浓度为 0.01, 0.05 mg/L 时, 假根数随着处理时间的延长先增加后降低; 质量浓度为 0.10, 0.15 mg/L 时, 假根数随着处理时间的延长而降低. 对不同处理时间条件下金毛狗配子体假根数进行方差分析, 结果表明, 各处理时间之间金毛狗配子体假根数差异极显著($p < 0.01$), 它们的假根数分别为 4.05, 3.95, 3.50 和 3.30, 对照组为 2.40. 可见, 处理 5 min 时的配子体假根数最多.

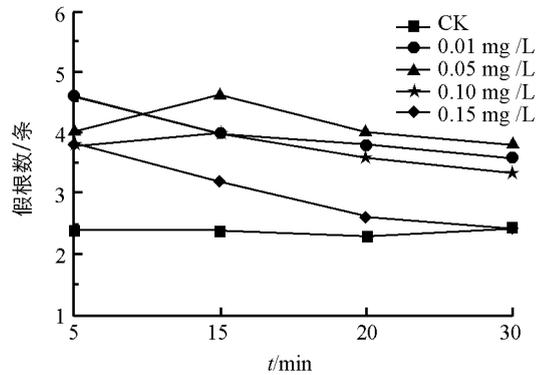


图 3 不同浓度下赤霉素处理时间对金毛狗配子体假根数的影响

表 2 外源赤霉素浓度对金毛狗丝状体形成比例和假根数的影响(56 d)

GA 质量浓度 /(mg · L ⁻¹)	假根数 /条	丝状体形成率 /%	GA 质量浓度 /(mg · L ⁻¹)	假根数 /条	丝状体形成率 /%
Ck	2.4a	34.17c	0.10	3.9c	23.17b
0.01	3.8c	39.17d	0.15	3.0b	13.42a
0.05	4.1c	23.96b			

注: 同一列不同小写字母表示在 $p = 0.05$ 水平差异显著.

2.2.2 对丝状体形成率的影响

随着赤霉素质量浓度的增加, 金毛狗丝状体形成率先增加后下降. 赤霉素质量浓度达到一定程度, 丝状体形成率低于对照组, 抑制其形成(表 2). 第 56 天时, 对不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗丝状体形成率进

行方差分析,结果表明,各质量浓度之间金毛狗丝状体形成率差异极显著($p < 0.01$).因此,0.01 mg/L 赤霉素处理的丝状体形成率最高.不同处理时间对金毛狗丝状体形成率差异性不显著($p > 0.05$).

2.2.3 对原叶体形成时间的影响

随着赤霉素质量浓度的增加,金毛狗原叶体形成时间先提前后延迟.赤霉素质量浓度高到一定程度,原叶体形成时间迟于对照组,抑制原叶体形成(表 1).对不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗原叶体形成时间进行方差分析,结果表明各质量浓度之间金毛狗原叶体形成时间差异极显著($p < 0.01$).由以上分析可知,0.01 mg/L 赤霉素处理的原叶体形成时间最短.不同处理时间对金毛狗原叶体形成时间差异性不显著($p > 0.05$).

2.2.4 对性器官形成时间的影响

随着赤霉素质量浓度的增加,金毛狗性器官出现时间先提前后延迟.赤霉素质量浓度高到一定程度,性器官出现时间迟于对照组,抑制性器官形成(表 1).对不同赤霉素质量浓度条件下金毛狗性器官出现时间进行方差分析,结果表明,各质量浓度之间金毛狗性器官出现时间差异极显著($p < 0.01$),0.01 mg/L 赤霉素处理的性器官出现时间最短.不同处理时间对金毛狗性器官出现时间差异性不显著($p > 0.05$).

3 讨 论

赤霉素促进孢子萌发和生长,主要通过特定的信号转导途径使胞外的信号逐级放大并传递,通过控制相关的蛋白转录和翻译过程调节某种关键蛋白的含量,从而实现对植物性状的影响^[11-12].

李兆亮等^[13]在蕨类植物有性生殖研究中发现, 1×10^{-7} mol/L 赤霉素可使肾蕨孢子萌发率提高 14.95%,生长在不含赤霉素培养基中的密穗蕨原叶体仍然能生长,但不能产生精子器;大于 0.10 mg/L 赤霉素可以诱导其丝状体产生精子器.本研究也证明了低质量浓度赤霉素有促进孢子萌发和生长的效果,以 0.01 mg/L 赤霉素效果最好,高质量浓度赤霉素抑制孢子萌发和配子体发育.

张金文等^[1]认为赤霉素能促进蕨菜原叶体营养生长,但对蕨菜孢子成苗并非必需. Dopp 和 Takeno 等研究证明诱导蕨类植物精子发生的重要物质是成精子囊素,成精子囊素不是赤霉素,只是赤霉素的类似物^[13].关于不同赤霉素质量浓度对金毛狗配子体性别分化的影响还需进一步研究确定.

参考文献:

- [1] 张金文,牛俊义.培养基质赤霉素和硼对蕨菜孢子萌发成苗影响的研究[J].草业学报,1999,8(1):62-64.
- [2] 翟国燕,边柯,贾克功,等.GA₃及不同比例MS培养基对蕨菜孢子萌发的影响[J].中国蔬菜,2007(8):21-23.
- [3] 宋会兴.四川省国家级重点保护蕨类植物资源及保护对策[J].国土与自然资源研究,2002,2(7):71-74.
- [4] 王馨,邓洪平.常见伴生植物对药用植物金毛狗 *Cibotium barometz* 孢子萌发和配子体发育的化感作用研究[J].中国中药杂志,2011,36(8):973-976.
- [5] 伍莲,邓洪平,徐洁,等.濒危药用植物金毛狗形态多样性分化的研究[J].中国中药杂志,2005,27(5):639-641.
- [6] 雷胜勇,杜红,赵红,等.濒危植物金毛狗群落的数量分类及排序[J].贵州农业科学,2010,38(3):25-27.
- [7] 邓洪平,刘光华,伍莲,等.重点保护药用植物金毛狗配子体发育过程的研究[J].中国中药杂志,2007,32(18):1850-1852.
- [8] 陈水木,邓洪平,刘光华,等.金毛狗配子体发育阶段性及其多样性研究[J].西北植物学报,2007,27(3):0460-62.
- [9] 伍莲,邓洪平,徐洁,等.金毛狗居群遗传多样性的 AFLP 分析[J].中国中药杂志,2007,32(7):1468-1471.
- [10] 张开梅,石雷,姜闯道,等.紫茎泽兰对金毛狗孢子萌发和配子体发育的化感作用[J].草业学报,2008,17(2):20-22.

- [11] 白宝璋, 史芝文. 植物生理学 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1992: 130—132.
- [12] 袁高峰, 汪俏梅. 赤霉素信号转导研究进展 [J]. 细胞生物学杂志, 2003, 25(2): 90—94.
- [13] 李兆亮, 原永兵, 曹宗巽. 藻类植物和蕨类植物有性生殖的细胞学和生物化学研究现状 [J]. 植物学通报, 1995, 12(20): 1—3.

Effect of GA₃ on Spore Germination and Gametophyte Development of *Cibotium barometz*

PENG Li-li^{1,2}, DENG Hong-ping¹

1. Key Laboratory of Ecology and Resources in Three Gorge Reservoir Region, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China;
2. Chongqing Foreign Language School, Chongqing 400039, China

Abstract: The spores of *Cibotium barometz* were incubated on 1/2MS medium and treated with GA₃ at 4 concentrations for different time duration, and the time and rate of spore germination, rhizoid number, protonema formation rate, prothallus formation time and sexual organ formation time were recorded so as to study the effects of GA₃ on its spore germination and gametophyte development and thus provide useful information for the introduction, multiplication, artificial cultivation and germplasm preservation of the plant. The results showed that of the GA₃ concentration treatment designed, 0.01 mg/L gave the highest spore germination rate and protonema formation rate, and the shortest spore germination, prothallus formation and organ formation time. No significant difference was detected among different time duration treatments. The spores had the maximum rhizoid number at 0.05 mg/L GA₃ in 5 min.

Key words: GA₃; *Cibotium barometz*; spore germination; gametophyte development

责任编辑 胡 杨

