

滇南风吹楠花粉形态观察

张平, 徐凤霞*

(中国科学院华南植物园, 中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650)

摘要: 采用光镜、扫描电镜和透射电镜对滇南风吹楠的花粉形态进行观察。滇南风吹楠的花粉粒呈单粒存在, 远极面观为椭圆形, 近极面观大体为三角形, 为不等极, 两侧对称。花粉粒具一条远极单萌发沟; 花粉大小为(15)19.90(21) μm \times (20)22.50(25) μm 。花粉粒外壁纹饰为网状, 网脊平均宽度为 0.29 μm ; 网眼形状不规则, 大小差异较大。在透射电镜下, 花粉外壁可分为覆盖层、柱状层和基层, 基层占外壁厚度的 1/2。外壁-2 明显, 且厚度不均匀。内壁可分为 3 层。在远极面萌发沟区域, 外壁逐渐减薄, 最后消失, 仅残留内壁。风吹楠属的花粉形态特征是一致的, 而与亚洲分布的其它属的花粉形态有差别, 与其它属的分类界限是明确的。

关键词: 滇南风吹楠; 肉豆蔻科; 花粉形态

中图分类号: Q944.58 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)03-0328-04

Pollen morphology of *Horsfieldia tetratopala*

ZHANG Ping, XU Feng-Xia*

(Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Sustainable Utilization, South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Pollen grains of *Horsfieldia tetratopala* were examined by using light microscope(LM), scanning electron microscope(SEM) and transmission electron microscope(TEM). Pollen grains of *H. tetratopala* are boat-shaped, with a sulcate aperture on the distal face. The tectum is reticulate. The sizes of pollens are ranging from 1(15)9.90(21) μm \times (20)22.50(25) μm . The exine of *H. tetratopala* could be distinguished into tectum, columella and foot layer. Foot layer is nearly one-half of the total exine thickness. Endexine is distinct and varies in thickness. Intine can be distinguished into 3 layers. The exine elements(tectum, columella and foot layer) are reduced gradually to a thin foot layer in the colpus area. The pollen characters are basically consistent in *Horsfieldia*, while some differences exist among different Asian genera, which indicates the definite classification of *Horsfieldia*.

Key words: *Horsfieldia tetratopala*; Myristicaceae; pollen morphology

肉豆蔻科(Myristicaceae)全世界约有 21 属, 近 500 种(Sauquet, 2003)。肉豆蔻科所有的属都是以下四个地区的特有种: 南美洲和中美洲(6 个属), 非洲大陆(5 个属), 马达加斯加(4 个属), 东南亚到西太平洋(6 个属)。我国有 3 属, 约 15 种, 产于台湾、广东、海南、广西南部 and 云南南部热带地区, 尤以云南部为我国主要分布中心, 约占全国种类总数的

80%以上(蒋英等, 1979)。滇南风吹楠(*Horsfieldia tetratopala*)为肉豆蔻科(Myristicaceae)风吹楠属(*Horsfieldia*), 常绿乔木, 花单性, 雄花序圆锥状, 3~6 朵在分枝顶端簇生, 雄蕊 20 枚, 完全结合成球形体(中国科学院植物研究所等, 1982)。滇南风吹楠是我国南部热带季节性雨林中的特有种, 分布区狭小, 由于雨林过度毁坏, 数量极少, 加之伐树

收稿日期: 2010-09-24 修回日期: 2010-12-08

基金项目: 国家自然科学基金(30770140); 中国科学院生命科学领域基础前沿研究专项(KSCX2-EW-J-28)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(30770140); Knowledge Innovation Program of the Chinese Academy of Sciences(KSCX2-EW-J-28)]

作者简介: 张平(1984-), 女, 广西贵港人, 硕士研究生, 从事植物结构与发育研究。

*通讯作者: 徐凤霞, 博士, 研究员, 博士生导师, (E-mail)xfx@scib.ac.cn.

收果,雄株多,雌株少,天然更新极差,濒临灭绝,被列为国家三级重点保护植物,为濒危种。目前野生种仅见于云南南部勐腊、景洪及西南部沧源的部分地区,散生于海拔 300~650 m 沟谷雨林的坡地上(傅立国,1992)。由于肉豆蔻科处于木兰目的基部位置,其祖先的情况对木兰目特征进化的重建有直接影响,因而对其属间关系的研究显得尤为重要。然而由于对该科的形态特征认识不够全面,分子信息的数量也远远不足以解决肉豆蔻科的关系(Sauquet 等,2003)。目前对肉豆蔻科中各属之间的关系都没有强而有力的支持。

该科花粉形态变化较大,但在萌发沟、外壁纹饰、覆盖层等方面特征稳定,而且具有系统学意义(Sauquet & Thomas,2003)。然而前人的研究没有该科花粉壁结构的报道,国产种类的花粉形态至今也没有报道。我们利用光镜、扫描电镜和透射电镜,对滇南风吹楠的花粉形态进行了全面、深入的观察,详细描述了花粉形状、萌发沟和外壁纹饰与超微结构等特征,为该科的孢粉学研究和系统发育研究提供重要基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

实验材料滇南风吹楠采自华南植物园(广东,华南植物园 SCBG,Guangdong Province)。采集将要开放的雄花,收集新鲜花粉。凭证标本:张平(P. Zhang)1(IBSC)。

1.2 方法

光镜样品制备:采用 Erdman(1962)的醋酸酐法,对材料处理后,用玻棒取出少量花粉放在置有一小滴甘油胶的载玻片上,然后盖上盖玻片制成临时装片。Olympus 显微镜下观察、测量、拍照,测量 20 粒花粉,取其最大值、最小值和平均值,以示变化幅度(中国科学院植物研究所等,1982)。

扫描电镜样品制备:取自然干燥花粉用导电胶粘样品台上,真空喷镀仪内喷膜镀金后在 JSM-6360LV 扫描电镜下观察并照相。

透射电镜样品制备:花粉经戊二醛预固定→锇酸后固定→乙醇系列脱水→环氧丙烷过渡→Epon812 包埋→切片(厚度为 80 nm)→染色(醋酸铀—柠檬酸铅),Jemioocxi 透射电镜观察、拍照(陈东钦等,2003)。

花粉壁层次划分及花粉形态描述术语参照 Erdtman(1962)的概念(Erdtman,1969;王开发等,1983)。

2 观察结果

光镜下观察,滇南风吹楠的花粉粒呈单粒存在,两侧对称,测得滇南风吹楠花粉粒的最短赤道轴为(15)19.90(21) μm ,长极轴为(20)22.50(25) μm 。

扫描电镜下观察,近极面观大体为三角形(图版 I:1),远极面观大体为椭圆形。花粉粒具一条远极单萌发沟,沟并不是一条简单的凹陷,从表面看起来是一条具有清楚分界的纵沟,是外壁变薄趋于破碎的区域,呈溃烂状(图版 I:2,3)。花粉的四分体排列在同一个平面上成左右对称形(图版 I:4)。花粉粒外壁纹饰为网状,网脊平均宽度为 0.29 μm ;网眼形状不规则,大小差异较大(图版 I:5)。

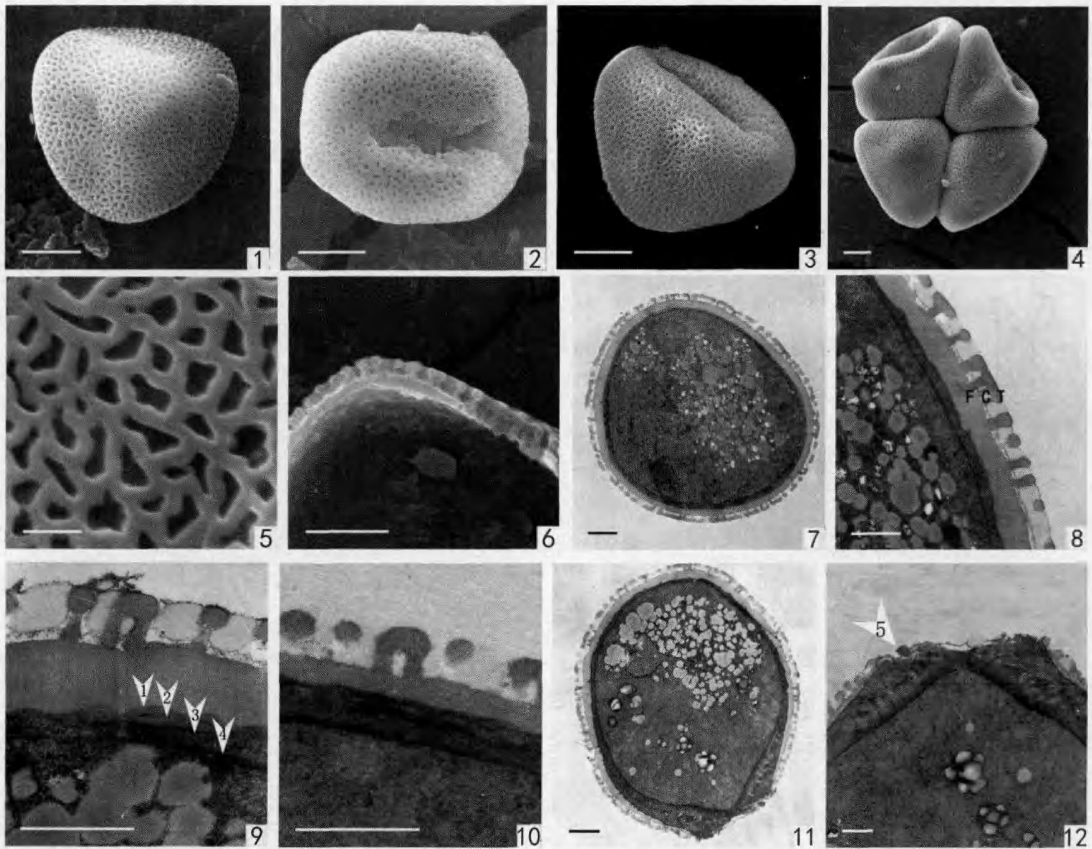
透射电镜下观察,花粉壁可以明显分为外壁(exine)和内壁(intine)两部分。外壁外层明显分为覆盖层(tectum)、柱状层(columella)和基层(foot layer)(图版 I:6,8,9,10)。覆盖层不连续,为半覆盖层,即覆盖层穿孔的直径比它们之间的花粉壁宽度大,结果产生了开放的网。柱状层发育较好,小柱连接覆盖层和基层,分布均匀,长度大于其直径,平均厚度为 0.48 μm 。基层光滑,厚度均匀,平均为 0.51 μm ,几乎占整个外壁的 1/2。在基层下面有一层电子密度完全不同的外壁-2(Endexine),厚度不均匀,不连续。内壁可分出电子密度不同的 3 层,内壁-1,内壁-2,内壁-3,但各层之间分界并不明显。内壁-1 位于内壁的最外层,紧邻基层,电子密度最小,厚度不均匀;内壁-1 下面有一层为内壁-2,电子密度较大,厚度约为 0.20 μm ;内壁-3 是内壁的最内层,紧接原生质膜,电子密度最大,仅有很薄的一层,厚度约为 0.05 μm 。花粉外壁厚度基本一致,除了在远极面萌发沟区域,内壁逐渐加厚,外壁逐渐减薄,最后消失,仅残留内壁(图版 I:11,12)。

3 讨论

Sauquet 等(2003)根据花粉外壁纹饰、覆盖层内的结构将肉豆蔻科分成两大类:一类是单沟花粉,网状或皱波状纹饰,柱状层由小柱组成;另一类是单孔花粉,具连续的覆盖层和混合柱状层(带有小柱和

颗粒)。他所研究的亚洲类群(如 *Endocomia*、*Gymnacranthera*、风吹楠属、红光树属和肉豆蔻属)都属于第一类。另外,从类群的分布区来看,该科所有亚

洲分布的种类和美洲分布的种类,以及3个非洲大陆属(*Coelocaryon*、*Pycnanthus* 和 *Scyphocephalum*)和1个马达加斯加属(*Haematodendron*),都有



图版 I 扫描电镜与透射电镜下滇南风吹楠花粉形态 1. 近极面观,花粉近三角形; 2. 远极面观,花粉近椭圆形,示远极萌发沟区域外壁逐渐变薄趋于破碎; 3. 侧面观; 4. 花粉四分体时期,萌发沟位于远极面; 5. 网状外壁纹饰; 6. 外壁结构,示覆盖层、柱状层和基层; 7. 花粉粒横切面形状; 8. 花粉壁结构, T 为覆盖层, C 为柱状层, F 基层; 9、10. 花粉壁结构,白箭头 1 指外壁-2,白箭头 2,3,4 分别指内壁-1,内壁-2,内壁-3; 11. 花粉横切面,示萌发沟; 12. 萌发沟,白箭头 5 指外壁在萌发沟区变薄。标尺 1,2,3,4,6=5 μm ; 标尺 5,8,9,10,12=1 μm ; 标尺 7,11=2 μm 。

Plate I SEM and TEM photographs of pollen of *Horsfieldia tetratepala* 1. Whole grain, proximal view; 2. Whole grain, distal view, showing monolocate (distal); 3. Whole grain, lateral view; 4. Tetrad stage, aperture in the distal side; 5. Tectal surface, showing reticulate tectum; 6. Exine section, showing tectum, columella and foot layer; 7. Pollen shape; 8. Ultrastructure under TEM, T, C, F representing tectum, columella and foot layer respectively; 9, 10. Ultrastructure of pollen wall, the white arrow in figs. 1 pointing endexine; in fig. 2, 3, 4 pointing the intine-1, intine-2, intine-3 respectively; 11. Colpus area of pollen; 12. Colpus area, the white arrow in fig. 5 pointing the exine elements (tectum and columella) are reduced gradually in the colpus area. Scale bars: 1, 2, 3, 4, 6=5 μm ; 5, 8, 9, 10, 12=1 μm ; 7, 11=2 μm .

以下特征:船形,单沟花粉,网状或皱波状纹饰,覆盖层下为柱状层。另外2个非洲大陆属(*Cephalosphaera* 和 *Staudtia*)和3个马达加斯加属(*Brochoneura*、*Doyleanthus* 和 *Mauloutchia*)的花粉形态则不相同,为球形,单孔花粉,具连续的覆盖层和混合型柱状层(带有颗粒和小柱)(Sauquet & Thomas, 2003)。本研究发现,滇南风吹楠花粉粒的基本特征与 Sauquet 所报道的亚洲风吹楠属其它种类的特征是非常一致的,如船型,单沟花粉,网状纹饰以及具柱状层等,但与亚洲其他属存在一些区别,如滇

南风吹楠的花粉柱状层的小柱发育良好,连接覆盖层和基层,基层较厚,约占整个外壁厚度的1/2。而在 Sauquet 所报道的其他属的花粉柱状层的小柱是独立的,不与覆盖层连接;基层较薄,厚度约为外壁的1/4~1/6(各属花粉形态比较见表1)。

Walker(1976)认为具外壁-2层的花粉是比较进化科所具有的特征,在原始被子植物中是缺少的。但大量研究已发现木兰科和番荔枝科的花粉也具有外壁-2的结构。由于肉豆蔻科属于木兰目的基部类群,应在后续的研究中证明肉豆蔻科是否具有外

壁-2。我们通过透射电镜观察,发现滇南风吹楠的花粉壁确实存在外壁-2的结构,在整个花粉壁中都存在,虽然不连续,但并不局限于萌发孔下方,厚度不均匀。

萌发沟形态特征在肉豆蔻科中较稳定,也是研究该科系统发育的有效特征。但是 Sauquet & Thomas(2003)和 Walker(1976)并没有对于该科萌发沟形态进行详细描述。本研究发现,滇南风吹楠

表 1 肉豆蔻科各属花粉形态比较

Table 1 Pollen morphology comparison on different genera of Myristicaceae

属 Genus	分布 Distribution	形状 Shape	外壁纹饰 Exine sculpture	柱状层 Columella	基层厚度/ 外壁厚度 Foot layer thickness /Exine thickness
<i>Bicuiba</i>	Brazil	船形 Boat shaped	网状纹饰,网脊平滑 Reticulate tectum with smooth muri	小柱 Columellar	1/5
<i>Brochoneura</i>	Madagascar	不规则形 Irregular	平滑表面具微穿孔 Microperforate with a smooth surface	混合型 Mixed type	Unknown
<i>Cephalosphaera</i>	Tanzania	球形 Globose	网隙-疣状纹饰,表面具颗粒 areolate-verrucate tectum with granulate microsculpture	混合型 Mixed type	1/2
<i>Doyleanthus</i>	Madagascar	球形 Globose	连续,具颗粒和短刺 continuous with granulate and short spines	颗粒或混合型 Granular or mixed	1/2
<i>Endocomia</i>	Southeast Asia	船形 Boat shaped	网状纹饰,具环纹和小刺 reticulate tectum with annulate to spinulate microsculpture	小柱 Columellar	1/4
<i>Gymnacranthera</i>	Southern India and Southeast Asia	船形 Boat shaped	皱波状纹饰,表面光滑 Rugulate tectum with a smooth surface	小柱 Columellar	1/5
<i>Haematodendron</i>	Madagascar	船形 Boat shaped	皱波状或网状纹饰,具环纹 Rugulate to reticulate tectum with annulate	小柱 Columellar	Unknown
<i>Horsfieldia</i>	Sri Lanka and India to the Solomon Islands and northern Australia	船形 Boat shaped	网状纹饰,网脊平滑 Reticulate tectum with smooth muri	小柱 Columellar	1/2
<i>Knema</i>	India and Nepal to western New Guinea	船形 Boat shaped	变化的,网状或皱波状具环纹 Variable, reticulate to rugulate with smooth to annulate muri	小柱 Columellar	1/5
<i>Mauloutchia</i>	Madagascar	球形 Globose	连续具颗粒或小刺、网隙纹饰 Continuous and covered with granules or spines, areolate	混合型 Mixed type	1/4 to 1/2
<i>Staudtia</i>	Western and central tropical Africa	船形 Boat shaped	平滑表面具微穿孔 Microperforate tectum with smooth surface	混合型 Mixed type	1/3
<i>Myristica</i>	India and Sri Lanka, and Southeast Asia to northern Australia and the western Pacific	椭圆到碗形 Elliptical to bowl-like shape	网状纹饰,网脊平滑,大网眼,具许多不与覆盖层连接的独立小柱 Reticulate tectum with smooth muri and large lumina, abundant bacula	小柱 Columellar	1/6
<i>Paramyristica</i>	Papua New Guinea	<i>Paramyristica</i> 与 <i>Myristica</i> 的花粉特征完全相同。Pollen of <i>Paramyristica</i> is identical in all characters to pollen of <i>Myristica</i>			

的花粉萌发沟并不是花粉壁简单向内凹陷而成,而是外壁逐渐变薄趋于破碎的区域,最后露出内壁。

综合本研究与已报道的肉豆蔻科风吹楠属花粉形态,可发现风吹楠属的花粉形态基本一致,如远极单萌发沟,网状纹饰,大小形状,花粉壁的结构等,证明该属的植物是一个很自然的分类群。在本次研究中通过透射电镜发现了滇南风吹楠具有外壁-2的结构,证实了 Walker 的推论,但在该科其他类群中

是否具有这样的结构还需深入研究。

致谢 中国科学院华南植物园中心实验室徐信兰和胡晓颖老师协助制片和照相,在此表示诚挚的感谢。

参考文献:

- Chen DQ(陈东钦), Xu FX(徐凤霞). 2008. Observation of pollen morphology of two species from *Talauma* (盖裂木属两种植物) (下转第 287 页 Continue on page 287)

木质藤本。当年生小枝长约 30 cm, 基部粗约 3 mm, 有 10 条浅纵沟, 在节上疏被短柔毛, 其它部分无毛。叶对生, 为具 5 小叶的羽状复叶; 小叶纸质, 卵形或狭卵形, 长 4.2—6 cm, 宽 1.7—3.2 cm, 顶端急尖或渐尖, 基部浅心形, 边缘全缘, 两面只在近基部处疏被短柔毛, 其他部分无毛; 叶柄长 5.8—6 cm, 基部和顶端疏被短柔毛或近无毛。腋生聚伞花序具 1 花; 花序梗长 6—6.5 cm, 上部疏被短柔毛; 苞片 1—2, 具柄, 无毛, 叶片狭卵形, 长 1.2—2.5 cm, 顶端微尖, 叶柄长 3—9 mm。顶生聚伞花序有稀疏 5 花; 花序梗长约 11 cm, 近无毛; 苞片对生, 叶状, 具柄, 长约 10 cm, 有 3 小叶; 花梗长 2—5.7 cm, 上部被短柔毛, 裸或具 1 小苞片, 小苞片披针状条形, 长约 3 mm, 被短柔毛。花直径约 4 cm; 萼片 4, 白色, 狭卵形, 长约 1.5 cm, 宽 6 mm, 内面无毛, 外面上部密被、下部疏被贴伏短柔毛, 边缘被白色短绒毛; 雄蕊多数, 长 8—9 mm, 无毛, 花丝条形, 长 3.5—4.5 mm, 花药条形, 长 3—4 mm, 顶端钝; 心皮约 15, 钻形, 长 6—7 mm, 被短柔毛。

甘肃(Gansu): 文县(Wen Xian), 刘家坪(Liujiaoping), 水晶山(Shuijingshan), alt. 1 420 m, 山坡路边灌丛中(in shrubbery on slope), 花白色, 苞片绿色(fl. white, bracts green), 2007-05-16, 白水江队(Baishuijiang Exped.) 4490(holotype, PE)。

本种与陕西铁线莲 *Clematis shensiensis* W. T. Wang 在亲缘关系上相接近, 但当年生小枝在节上疏被短柔毛, 小叶两面只在近基部处疏被短柔毛, 腋生聚伞花序有 1 花, 花药顶端钝, 无短尖头而与后者不同。在陕西铁线莲, 当年生小枝和小叶下面密被短柔毛, 腋生花序有 3—7 花, 花药顶端有短尖头(Wang, 2003)。

致谢 蒙孙英宝先生为本文绘图, 在此表示衷心的感谢。

参考文献:

Wang WT. 2003. A revision of *Clematis* sect. *Clematis* (Ranunculaceae) [J]. *Acta Phytotaxon Sin*, 41(1): 1—62, (2): 97—172

(上接第 331 页 Continue from page 331)

花粉形态观察[J]. *Guihaia*(广西植物), 28(3): 317—319
Erdtman G. 1962. Pollen Morphology and Plant Taxonomy [M]. Beijing: Science Press: 3—5
Erdtman G. 1969. Handbook of Palynology - An Introduction to the Study of Pollen Grains and Spores [M]. Munksgaard, Copenhagen: 1—429
Fu LG(傅立国). 1992. China Plant Red Data Book: Rare and Endangered Plants [M]. Beijing: Science Press: 470—471
Institute of Botany and South China Institute of Botany, Academia Sinica(中国科学院植物研究所和华南植物研究所). 1982. Angiosperm Pollen Flora of Tropic and Subtropic China [M]. Beijing: Science Press: 1—8
Jiang Y(蒋英), Li BT(李秉滔). 1979. Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 30: 176—205
Sauquet H. 2003. Androecium diversity and evolution in Myristicaceae (*Magnoliales*), with a description of a new Mala-

gasy genus, *Doyleanthus* gen. nov. [J]. *Am J Bot*, 90(9): 1 293—1 305
Sauquet H, A Le Thomas. 2003. Pollen diversity and evolution in Myristicaceae (*Magnoliales*) [J]. *Int J Plant Sci*, 164(4): 613—628
Sauquet H, Doyle JA, et al. 2003. Phylogenetic analysis of Magnoliales and Myristicaceae based on multiple data sets: implications for character evolution [J]. *Bot J Linnean Soc*, 142(2): 125—186
Walker JW. 1976. Evolutionary significance of the exine in the pollen of primitive angiosperms [C]. Ferguson IK, Muller J (eds). 251—309
Wang KF(王开发), Wang XZ(王宪曾). 1983. Conspectus of Palynology [M]. Peking University Press: 1—205
Yunnan Institute of Botany. 1977. Yunnan Flora (Vol. 1) [M]. Beijing: Science Press: 1—14