

3种番荔枝科植物花粉形态观察

张勇梅¹, 阳桂芳¹, 徐凤霞^{1**}

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

摘要: 利用扫描电子显微镜对番荔枝科2属3种植物的干花粉形态进行了观察, 旨在为番荔枝科植物花粉多样性及其演化关系提供形态学证据。观察结果显示, *Asimina longifolia* var. *spatulata* Kral、*Asimina reticulata* Shuttlew. ex Chapm. 和 *Disepalum plagioneurum* (Diels) D. M. Johnson 3种植物的花粉多为四合体, 在 *Asimina reticulata* 内偶见二合体、三合体, *Disepalum plagioneurum* 偶见多合体; 四合体类型大多为偏菱形, *A. reticulata* 和 *D. plagioneurum* 中偶见四角形; 3种植物花粉表面纹饰分别为皱波状(rugulate)、微网状(microreticulate)和网状(reticulate)。花粉通过形成外壁短链接(short exine connections)或花粉联丝(pollen-connecting threads)的方式将四合体凝集成花粉块(pollinium), 提高了单一传粉过程中卵细胞的受精几率。*Asimina* 和 *Disepalum* 两属植物花粉在表面纹饰、四合体类型等方面都十分相似, 支持两者在系统发育中亲缘关系较近的观点。

关键词: 番荔枝科; 花粉形态; 四合体; 花粉联丝

中图分类号: Q944.42

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)04-0315-05

Pollen Morphology of Three Selected Species from Annonaceae

ZHANG Yong-Mei¹, YANG Gui-Fang¹, XU Feng-Xia^{1**}

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

Abstract: Dry pollen grains of *Asimina longifolia* var. *spatulata*, *A. reticulata*, and *Disepalum plagioneurum* were described based on scanning electron microscopy to provide evidence for phylogenetic analysis. Results showed that most pollen grains were tetrads. Occasionally, dyads and triads were found in *A. reticulata*, and polyads were also observed in *D. plagioneurum*. Most of the tetrads were rhomboidal tetrads, though tetragonal tetrads were also observed in *A. reticulata* and *D. plagioneurum*. The ornamentations of the pollen walls were regulate (*A. longifolia* var. *spatulata*), microreticulate (*A. reticulata*) or reticulate (*D. plagioneurum*). Pollen grains of neighboring tetrads were connected by either short exine connections or pollen-connecting threads. The function of the cohesion among tetrads was to enhance pollination efficiency by enabling fertilization of multiple ovules in a single pollinator visit. Wall ornamentation and tetrad pollen grains in *Asimina* were similar with those of *Disepalum*, which supports their close phylogenetic relationship.

Key words: Annonaceae; Pollen morphology; Tetrads; Pollen-connecting threads

番荔枝科(Annonaceae)为被子植物基部类群, 是木兰目中最大的科, 该科全世界约有128属、2000余种植物, 属泛热带分布, 其中900余

种分布于新热带地区, 多数生长在低海拔热带雨林^[1-3]。作为被子植物早期进化的最大原始类群, 番荔枝科植物不仅在宏观形态上具有很高的多样

收稿日期: 2013-12-30, 退修日期: 2014-01-21。

基金项目: 国家自然科学基金项目(Y211091001); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-EW-J-28); 中国科学院华南植物园植物资源保护与可持续利用重点实验室基金项目(201216ZS)。

作者简介: 张勇梅(1987-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物结构与发育生物学(E-mail: zhangym@scib.ac.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: xfx@scbg.ac.cn.)。

性，同时花粉形态也丰富多样^[4]。

番荔枝科植物花粉形态多样性丰富，是研究系统进化的重要依据和材料，一直以来倍受分类学家的重视。被子植物中有超过 56 个科的植物存在花粉复合体，主要有二合体、三合体、四合体、多合体以及花粉块 5 种形式^[5]。在番荔枝科 120 属^[6]中，约有 40 属存在花粉复合体^[7-10]，其中四合体类型多样，如偏菱形、四角形、四面体形、十字形、T 型等。前人采用光镜 (LM)、扫描电镜 (SEM)、透射电镜(TEM)对番荔枝科花粉的形状、花粉萌发孔(沟)的类型及分布位置、花粉外壁和内壁的结构等进行了大量研究^[7-12]，揭示了该科植物花粉具有很高的多样性。花粉形态多样性作为番荔枝科植物辐射进化的一个显著方面和系统发育特征的来源之一具有重要的研究价值^[13]。Walker^[7,8,11]首次对番荔枝科花粉形态进行了较为全面的研究，以花粉特征作为番荔枝科分类的主要依据，将番荔枝科划分为非正式的亚科和族，认为在番荔枝亚科(Annonoideae)中，花粉多为四合体或多合体，稀有单粒花粉，异极或无极性，两侧对称，具有近极面的萌发槽(catasulcate)或萌发孔(cataulcerate)。Le Thomas^[9,10]和 Couvreur 等^[12]对非洲地区类群的花粉形态及结构进行了较为详细的研究，发现番荔枝科植物主要花粉类型有单花粉、四合体以及包含 8、16、32 粒花粉的多合体。Waha^[14]和 Gabarayeva^[15,16]首次报道了 *Asimina triloba* (L.) Dunal 花粉复合体的发育。Tsou 等^[17,18]研究了番荔枝属(*Annona*)四合体的形成及其联合机制—胼胝质-纤维素联合机制，以及 *Cymbopetalum baillonii* R. E. Fr. 八合体的形成及联合机制。Su 等^[19]描述了金钩花属(*Pseuduvaria*)42 种植物的花粉形态，并研究了其四合体的结合机制。Chaowasku 等^[20]报道了野独活属(*Miliusa*)20 种植物花粉的形态结构。Doyle 等^[13,21]和 Mols 等^[22]对番荔枝科花粉的演化关系和系统发育进行了分析和研究，认为具有单粒花粉和单萌发沟的蒙蒿子属(*Anaxagorea*)为番荔枝科原始类群，而无萌发孔(沟)花粉，如番荔枝亚科的四合体则更为进化。

Asimina 和 *Disepalum* 两属均属于番荔枝亚科番荔枝族(Annoneae)。*Asimina* 属包含 11 个种，

为小乔木或灌木，原产于北美东部，目前仅对该属植物 *A. triloba* 花粉的萌发以及四合体结合机制进行了较为深入的研究^[14-16]。*Disepalum* 属包含 9 种植物，为高大乔木或灌木，分布于中国、马来西亚、印度尼西亚、老挝以及越南，目前对 *Disepalum* 属花粉形态的研究较为匮乏，仅 Walker^[8]采用光学显微镜对 *Disepalum* 属 5 种植物花粉的外部形态特征进行了研究。从系统发育树来看，*Asimina* 和 *Disepalum* 两属的系统演化关系非常接近^[23]。为探寻两者在花粉形态方面的异同点及其演化关系，本研究选取 *Asimina* 属的 *A. longifolia* var. *spatulata* 和 *A. reticulata* 以及 *Disepalum* 属的 *D. plagioneurum* 为研究对象，采用扫描电镜 (SEM) 对其干花粉形态进行观察研究，旨在为番荔枝科植物花粉多样性及其演化关系提供形态学证据。

1 材料与方法

研究材料均取自中国科学院植物研究所标本馆 (PE) 番荔枝科植物标本的干花粉，即：*Asimina longifolia* var. *spatulata*(1186019, R. K. Godfrey, Florida)、*A. reticulata* (1186032, T. R. Dudley, Florida, USA) 和 *Disepalum plagioneurum* (1187411, 海南工作队, 海南省)。

将花粉从花药中剥离后，直接粘台，用真空喷镀仪喷金镀膜，然后在 JSM-6360LV 扫描电子显微镜下观察并拍照，用 SMileView 软件测量每种花粉表面至少 30 个网孔(lumina)和 20 个网脊(muri)的直径(单位为 μm)。孢粉学术语参照 Punt 等^[24]的方法进行描述。

2 观察结果

2.1 *Asimina longifolia* var. *spatulata*

花粉多数为四合体，偏菱形(rhomboidal tetrad)(图版 I: A)，偶见二合体(图版 I: B)；未见萌发孔；花粉表面呈皱波状(rugulate)，有穿孔(图版 I: C)；邻近的花粉四合体通过外壁短连接(short exine connections)的方式相连(图版 I: D)。

2.2 *Asimina reticulata*

花粉多为四合体，偶见二合体(图版 I: E)、三合体(图版 I: F)，其中四合体多为偏菱形(图

版 I: G), 也存在四角形(tetragonal tetrad)(图版 I: H); 未见萌发孔; 单粒花粉表面较平, 具微网状纹饰(microreticulate), 有穿孔,(图版 I: I), 网孔的直径平均为 0.904 μm, 网脊的长度平均为 0.815 μm; 花粉表面、花粉之间有花粉连丝相接, 将不同的花粉粒和花粉单位(pollen unit)黏合在一起形成花粉块(pollinium)(图版 I: J)。

2.3 *Disepalum plagioneurum*

花粉大多为四合体, 多数为偏菱形(rhomboidal tetrad)(图版 I: K), 也存在四角形(图版 I: M), 偶见多合体(图版 I: N); 未见萌发孔; 花粉粒外壁纹饰为网状(reticulate)(图版 I: L), 网孔的直径平均为 3.131 μm, 网脊的长度平均为 2.240 μm, 具圆形小穿孔; 相邻四合体之间以及花粉之间有花粉连丝相连, 观察发现有花粉联丝从外壁网孔中发生(图版 I: O); 在部分花粉连丝基部有圆球状的小颗粒物质(图版 I: N)。

3 讨论

Walker^[8]研究发现, *Asimina* 属植物的花粉为四合体, 四角形, 异极, 两侧对称; 单花粉形态多样, 有船形、三角形、椭圆形和圆形。Hesse 等^[25]认为该属花粉四合体具有不同的类型, *A. triloba* 的花粉为十字形四合体花粉。本研究中观察到 *Asimina* 属的 2 种植物花粉以偏菱形四合体居多; 而 *A. reticulata* 的花粉为三合体、二合体以及花粉团, *A. longifolia* var. *spatulata* 的花粉也有二合体出现。Walker^[8]研究发现, *Disepalum* 属植物的花粉多为多合体(八合体), 异极, 两侧对称, 覆盖层具长度适中的穿孔或大穿孔, 圆形或长圆形; 而本研究观察发现 *D. plagioneurum* 的花粉多为偏菱形四合体。从 3 种植物花粉的纹饰上看, *A. longifolia* var. *spatulata* 和 *A. reticulata* 的外壁纹饰为皱波状和微网状, 而 *D. plagioneurum* 的花粉外壁纹饰为网状。*Asimina* 和 *Disepalum* 两属植物花粉在表面纹饰、四合体的类型等方面都比较相似, 支持两者在系统发育中亲缘关系较近的观点。

在单一的传粉过程中, 同一时间转移大量花粉提高了卵细胞的受精几率, 这是利用昆虫进行传粉的植物的一大选择优势^[5, 26, 27]。番荔枝科植物是通

过形成花粉复合体以及花粉联丝等几种方式把花粉聚集起来, 依靠传粉者实现花粉的大量转移。花粉联丝在被子植物中广泛分布, 将大量花粉聚合成团。通常有含孢粉素和无孢粉素的花粉联丝两种类型, 前者只在云实科(Caesalpiniaceae)、杜鹃花科(Ericaceae)以及柳叶菜科(Onagraceae)等少数被子植物类群中存在, 而后者则分布广泛, 且形态多样; 番荔枝科植物的花粉联丝属于起点不确定的黏滑脂质类物质。在花粉预处理时, 由于花粉联丝缺少孢粉素导致它们的结构被有机溶剂破坏^[23]。而本研究直接对干花粉进行扫描, 保证了其结构的完整性。已有相关研究^[9, 13-15]表明, 番荔枝科中的 *Asimina*、*Mischogyne*、*Ophrypetalum*、*Toussaintia*、*Uvariastrum*、*Uvariopsis* 等属中, 其代表种的邻近四合体通过覆盖层融合的简单连接方式相连。在金钩花属(*Pseuduvaria*)中, 邻近的花粉四合体通过外壁短连接(short exine connections)和花粉联丝两种不同方式相连接^[18]。*A. longifolia* var. *spatulata* 的邻近四合体通过外壁短连接的方式相连, 而 *A. reticulata* 和 *D. plagioneurum* 的花粉四合体通过花粉联丝相连, 然而两者花粉联丝的发生方式不同, *D. plagioneurum* 花粉联丝的发生可能与花粉外壁纹饰有关。从功能上来说, 不论是通过哪种方式相连, 都将大量的花粉聚合在一起, 进而增加了单一传粉过程中卵细胞的受精几率。尽管 *Asimina* 和 *Disepalum* 两属的系统演化关系非常接近, 且花粉形态有一定的相似性, 但本研究中观察到这 2 属 3 种植物的花粉四合体的连接方式有一定的区别。由此可见, 在番荔枝科的属间或属下水平上, 花粉的形态有一定的差异, 显示了番荔枝科植物花粉形态具有丰富的多样性^[28]。

致谢: 感谢华南植物园公共实验室徐信兰和胡晓颖高级工程师在制片和拍照工作中的耐心指导。

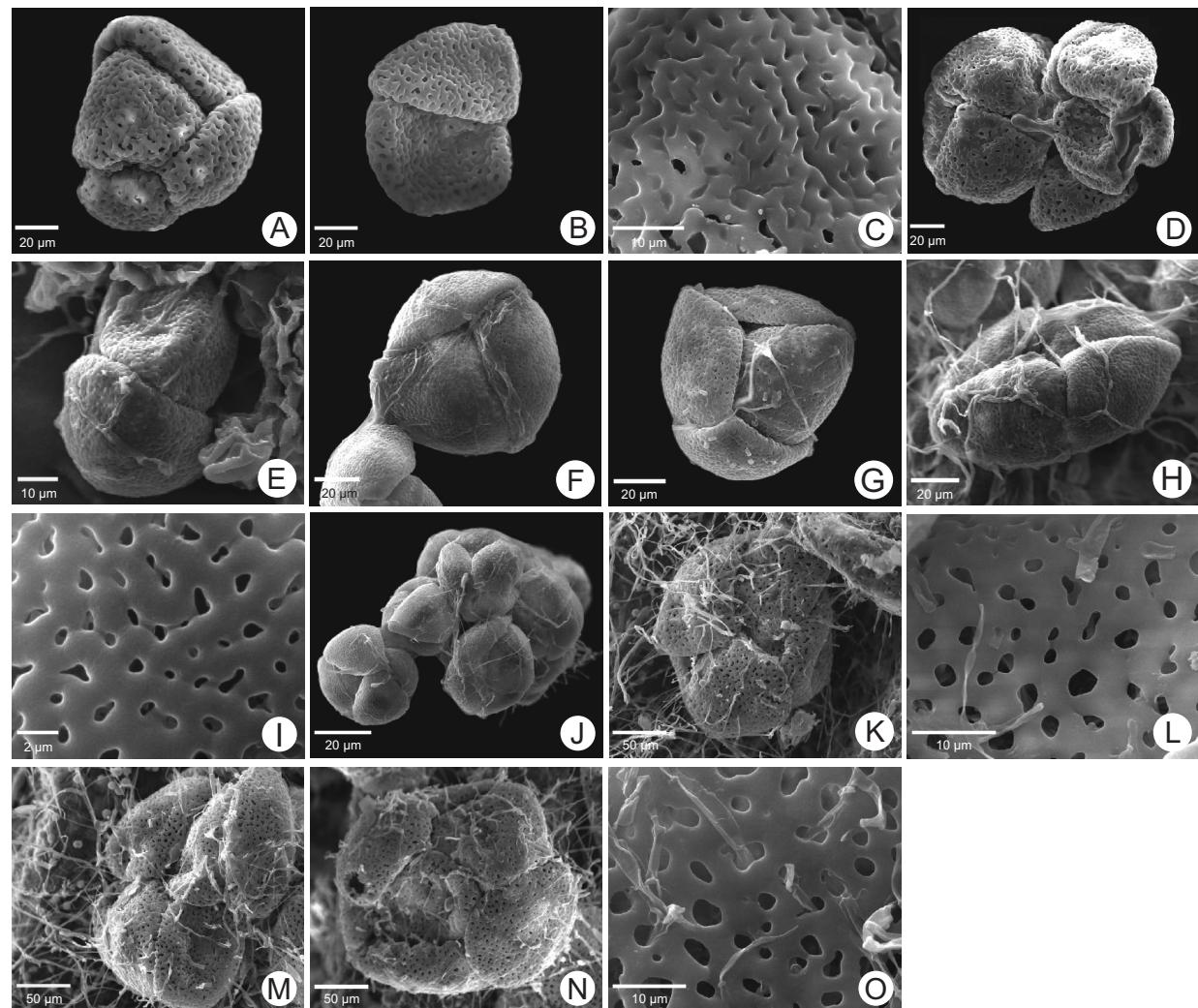
参考文献:

- [1] Kessler PJA. Annonaceae [M] // Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. The families and genera of vascular plants II. Berlin: Springer-Verlag, 1993: 93-129.
- [2] Cronquist A. An Integrated System of Classification of Flowering Plants [M]. New York: Columbia University Press, 1981.

- [3] The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG III [J]. *Bot J Linn Soc*, 2009, 161: 105–121.
- [4] Sampson FB. Pollen diversity in some modern Magnoliids [J]. *Int J Plant Sci*, 2000, 161: S193–S210.
- [5] Knox RB, McConchie CA. Structure and Function of Compound Pollen [M] // Blackmore S, Ferguson IK, eds. *Pollen and Spores, Form and Function*. London: Academic Press, 1986: 264–282.
- [6] Fries RE. Annonaceae [M] // Melchior H ed. *Die Naturlichen Pflanzenfamilien*. Berlin: Duncker and Humblot, 1959: 1–170.
- [7] Walker JW. Unique type of angiosperm pollen from the family Annonaceae [J]. *Science*, 1971, 172 (3983): 565–567.
- [8] Walker JW. Pollen morphology, phytogeography, and phylogeny of the Annonaceae [J]. *Contrib Gray Herb Harvard Univ*, 1971, 202: 1–132.
- [9] Le Thomas A. Ultrastructural characters of the pollen grains of African Annonaceae and their significance for the phylogeny of primitive angiosperms (first part) [J]. *Pollen et Spores*, 1980, 22: 267–342.
- [10] Le Thomas A. Ultrastructural characters of the pollen grains of African Annonaceae and their significance for the phylogeny of primitive angiosperms (second part) [J]. *Pollen et Spores*, 1981, 23: 5–36.
- [11] Walker JW. Contributions to the pollen morphology and phylogeny of the Annonaceae [J]. *Bot J Linn Soc*, 1972, 65: 173–178.
- [12] Couvreur TLP, Botermans M, Van Heuven BJ, Van der Ham RWJM. Pollen morphology within the Monodora clade, a diverse group of five African Annonaceae genera [J]. *Grana*, 2008, 47 (3): 185–210.
- [13] Doyle JA, Le Thomas A. Evolution and phylogenetic significance of pollen in Annonaceae [J]. *Bot J Linn Soc*, 2012, 169: 190–221.
- [14] Waha M. Sporoderm development of pollen tetrads in *Asimina triloba* (Annonaceae) [J]. *Pollen et Spores*, 1987, 29: 31–44.
- [15] Gabarayeva NI. Sporoderm development in *Asimina triloba* (Annonaceae) I. The developmental events before callose dissolution [J]. *Grana*, 1992, 31: 213–222.
- [16] Gabarayeva NI. Sporoderm development in *Asimina triloba* (Annonaceae) II. The developmental events after callose dissolution [J]. *Grana*, 1993, 32: 210–220.
- [17] Tsou CH, Fu YL. Tetrad pollen formation in *Annona* (Annonaceae): proexine formation and binding mechanism [J]. *Amer J Bot*, 2002, 89: 734–747.
- [18] Tsou CH, Fu YL. Octad pollen formation in *Cymbopetalum* (Annonaceae): the binding mechanism [J]. *Plant Syst Evol*, 2007, 263: 13–23.
- [19] Su YCF, Saunders RMK. Pollen structure, tetrad cohesion and pollen-connecting threads in *Pseuduvaria* (Annonaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 2003, 143: 69–78.
- [20] Chaowasku T, Mols J, Van der Ham RWJM. Pollen morphology of *Miliusa* and relatives (Annonaceae) [J]. *Grana*, 2008, 47: 175–184.
- [21] Doyle JA, Le Thomas A. Cladistic analysis and pollen evolution in Annonaceae [J]. *Acta Bot Gallica*, 1994, 141: 149–170.
- [22] Mols JB, Co DLV, Gravendeel B, Chatrou LW, Pirie MD, van der Ham RWJM, van Marle EJ, Kessler PJA. Morphological character evolution in thenmiliusoid clade (Annonaceae) [C] // Mols JB ed. *Miliusa* to *Miliuseae* to *Miliusoid*: identifying clades in Asian Annonaceae. Leiden: National Herbarium Nederland, 2004: 37–75.
- [23] Couvreur TLP, Pirie MD, Chatrou LW, Saunders RMK, Su YCF, Richardson JE, Erkens RHJ. Early evolutionary history of the flowering plant family Annonaceae: steady diversification and boreotropical geodispersal [J]. *J Biogeogr*, 2011, 38: 664–680.
- [24] Punt W, Hoen PP, Blackmore S, Nilsson S, Le Thomas A. Glossary of pollen and spore terminology [J]. *Rev Palaeobot Palynol*, 2007, 143: 1–81.
- [25] Hesse M, Halbritter H, Weber M. *Beschorneria yuccoides* and *Asimina triloba* Dun: examples for proximal polar germinating pollen in angiosperms [J]. *Grana*, 2009, 48: 151–159.
- [26] Cruden RW, Jensen KG. Viscin threads, pollination efficiency and low pollen-ovule ratios [J]. *Amer J Bot*, 1979, 66: 875–879.
- [27] Kress WJ. Sibling competition and evolution of pollen unit, ovule number, and pollen vector in angiosperms [J]. *Syst Bot*, 1981, 6: 101–112.
- [28] 刘永, 徐凤霞. 四种番荔枝科植物花粉形态 [J]. 植物分类与资源学报, 2012, 34 (5): 443–452.

张勇梅等: 图版 I

ZHANG Yong-Mei et al. : Plate I



扫描电子显微镜下3种番荔枝科植物花粉观察。A~D: *Asimina longifolia* var. *spatulata* Kral. A: 偏菱形四合体; B: 二合体; C: 花粉外壁皱波状纹饰; D: 相邻四合体依靠外壁短连接结合。E~J: *Asimina reticulata*。E: 二合体; F: 三合体; G: 偏菱形四合体; H: 四角形四合体; I: 花粉外壁微网状纹饰; J: 四合体依靠花粉联丝形成的花粉团。K~O: *Disepalum plagioneurum*。K: 偏菱形四合体; L: 花粉外壁网状纹饰; M: 四角形四合体; N: 多合体; O: 花粉联丝从外壁网孔中发生。

SEM view of pollen grain morphology from three species of Annonaceae. A-D: *Asimina longifolia* var. *spatulata*. A: Rhomboidal tetrads; B: Dyads; C: Ornamentation of rugulate; D: Pollen grains of neighboring tetrads connected viz. short exine connections. E-J: *Asimina reticulata*. E: Dyads; F: Triads; G: Rhomboidal tetrads; H: Tetragonal tetrads; I: Ornamentation of microreticulate; J: Pollinium. K-O: *Disepalum plagioneurum*. K: Rhomboidal tetrads; L: Ornamentation of reticulate; M: Tetragonal tetrad; N: Polyads; O: Pollen-connecting threads originating in the exine.

(责任编辑: 张平)