

# 不同类型绣球属花粉形态特征观察

黄丽娟, 孙强\* (上海市林业总站, 上海 200072)

**摘要** 利用扫描电镜对4种类型绣球属共10个品种的花粉形态特征进行了观察和比较, 并进行了聚类分析。结果表明, 10个绣球属品种花粉粒为小型花粉, 花粉粒近长球形、长球形或超长球形, 三孔沟; 花粉外壁纹饰可分为网状和皱波状2个类型; 花粉形状、网眼大小、沟长、沟宽等方面存在一定差异, 可作为区分不同品种的辅助依据; 花粉形态聚类分析结果与传统形态分类结果有一定的相似之处。

**关键词** 绣球属; 花粉形态; 品种分类; 扫描电镜

中图分类号 Q944.58 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)05-0001-03

doi:10.3969/j.issn.0517-6611.2020.05.001

开放科学(资源服务)标识码(OSID): 

## Observation on Pollen Morphology of Different Types of *Hydrangea* L.

HUANG Li-juan, SUN Qiang (Shanghai Forestry Station, Shanghai 200072)

**Abstract** Pollen morphological features of 10 *Hydrangea* L. cultivars were examined using scanning electron microscopy (SEM), and cluster analysis was conducted based on observation result. The results showed that the pollen grain was in small-size, and subprolate, prolate or perprolate in shape with three colpi. The pollen surface ornamentation of 10 *Hydrangea* L. can be divided into reticular and corrugated. There were certain differences in details of pollen morphology, size of pollen grain, size of reticulate, length and width of colpus, so they could provide ancillary evidence for cultivar identification. And the result of cluster analysis for pollen morphology was similar to traditional morphological classification.

**Key words** *Hydrangea* L.; Pollen morphology; Variety classification; Scanning electron microscopy (SEM)

绣球属(*Hydrangea* L.)属于虎耳草科植物, 约80种, 分布于北半球的温带地区, 我国有46种10变种, 除南部海南, 东北部黑龙江、吉林, 西北部新疆等省区外, 全国各地均有分布, 尤以西南部至东南部种类最多<sup>[1-2]</sup>。目前, 主要依据子房位置、蒴果顶端特征、花瓣分离或连合等性状, 将我国绣球属分为离瓣组、绣球组、挂苦子组、冠盖组、藤绣球和星毛组6个类型<sup>[3-4]</sup>。花粉是种子植物的繁殖载体, 有着极强的遗传稳定性, 有大量的研究表明花粉形态特征在一定程度上可反映植物演化与亲缘关系<sup>[5-7]</sup>。笔者拟选择不同的绣球属品种进行花粉形态学观察, 以期找到种间花粉形态与传统形态学分类的关联性。

## 1 材料与与方法

**1.1 材料** 材料来源于上海市林业总站即农业农村部花卉产品质量监督检验测试中心(上海)、国家林业和草原局花卉产品质量检验检测中心(上海)绣球属资源种植圃。采集绣球属4种类型10个品种的花粉作为材料(表1), 用镊子取出其中的花药放入硫酸纸袋中, 在室温下干燥, 置于低温冰箱中保存备用。

**1.2 方法** 扫描电镜制样前, 将贴有导电双面胶带的金属载物台轻轻粘取花粉, 用常规真空喷镀法喷金3~4 min后, 置于JSM-6380LV扫描电镜下观察。经观察, 选取有代表性的视野, 放大400倍观察花粉粒的群体形态; 4000倍测量花粉极轴长( $P$ ), 赤道轴长( $E$ ); 10000倍下观察花粉表面纹饰, 测量网眼大小、网脊宽度、沟长、沟宽及沟间距。每个品

种的花粉粒测20粒, 取平均值, 统计各类型花粉的赤道面观、极面观和外壁纹饰特点。

表1 供试绣球属品种及其分类

Table 1 Cultivars and classification of *Hydrangea* L. cultivars

编号 Code	品种 Cultivar	拉丁名 Latin name	分类 Classification
1	大花绣球“精灵”	<i>H. macrophylla</i> “Pillnitz”	离瓣组
2	大花绣球“塞布丽娜”	<i>H. macrophylla</i> “Sabrina”	
3	银边八仙花	<i>H. macrophylla</i> “Tricolor”	
4	大花绣球“帝沃利”	<i>H. macrophylla</i> “Tivoli”	
5	大花绣球“塔贝”	<i>H. macrophylla</i> “Taubé”	
6	大花绣球“无尽夏”	<i>H. macrophylla</i> “Forever Summer”	
7	乔木绣球“贝拉安娜”	<i>H. arborescens</i> “Annabelle”	绣球组
8	平顶八仙花	<i>H. strigosa</i> “Rehd”	
9	粗齿绣球“珍贵”	<i>H. serrata</i> “Preziosa”	冠盖组
10	圆锥绣球“白玉”	<i>H. paniculata</i> “Grandiflora”	挂苦子组

**1.3 数据分析** 聚类分析采用SPSS 19.0软件进行。根据扫描电镜的观测结果, 选取11个指标, 即极轴长( $P$ )、赤道轴长( $E$ )、 $P/E$ 、花粉大小、沟长、沟间距、沟宽、网眼大小、网脊宽度9个定量指标, 纹饰及网眼颗粒有无2个定性二元性状。其中定量指标直接取其数值, 定性指标则编号为0, 1。

## 2 结果与分析

**2.1 不同类型绣球属品种花粉粒大小和形态** 花粉粒的极轴长( $P$ )、赤道轴长( $E$ )、花粉大小( $\sqrt{PE}$ )的平均值分别见表2。按Erdtman G的标准<sup>[8]</sup>划分: 4种类型的品种花粉粒均为小型, 供试品种中, 花粉粒最大的是圆锥绣球“白玉”(16.86  $\mu\text{m}$ ), 最小的是乔木绣球“贝拉安娜”(12.28  $\mu\text{m}$ ); 花粉粒形状有3种类型(表2), 其中7个品种为长球形, 2个品种为超长球形, 仅大花绣球“无尽夏”1个品种为近长球形,  $P/E$ 为1.33~2.08,  $P/E$ 最大的是乔木绣球“贝拉安

**基金项目** 上海市绿化和市容管理局科学技术项目“一品红、石蒜属和八仙花品种收集评价及测试技术研究”(G14238)。

**作者简介** 黄丽娟(1988—), 女, 江西抚州人, 工程师, 硕士, 从事花卉园艺繁殖及生理生化研究。\*通信作者, 正高级工程师, 硕士, 从事花卉品种资源收集评价、花卉产品质量标准制修订、花卉植物新品种测试技术研究。

**收稿日期** 2019-07-25; **修回日期** 2019-09-16

娜”(2.08),最小的是大花绣球“无尽夏”(1.33)。极面观均为三裂圆形。

**2.2 不同类型绣球属品种花粉粒萌发孔** 4种类型花粉粒均有3条萌发沟,沿极轴方向延伸呈环状分布,极面观可看到3条,赤道观可看到1~2条,根据 Erdtman G 的 NPC 分类

系统,4种类型的花粉属于3沟类型。所有类型的沟长、沟宽及沟间距有所不同,其中粗齿绣球“珍贵”和大花绣球“塔贝”沟最宽为0.95  $\mu\text{m}$ ,大花绣球“塞布丽娜”和圆锥绣球“白玉”沟最窄为0.29  $\mu\text{m}$ (表2)。

表2 10个绣球属品种花粉形态特征

Table 2 Morphological characteristics of pollen of 10 *Hydrangea* L. cultivars

编号 Code	品种 Cultivar	极轴长 (P) Polar axis length $\mu\text{m}$	赤道轴 长(E) Equa- torial axis length $\mu\text{m}$	P/E	花粉粒 形状 Pollen grain shape	沟长 Colpus length $\mu\text{m}$	沟间距 Spacing of colpus $\mu\text{m}$	沟宽 Colpus width $\mu\text{m}$	花粉大小 Pollen size $\mu\text{m}$	$\sqrt{PE}$	极面观 Polar view	萌发孔 类型 Aperture type	外壁 纹饰 Exine orna- mentation	网眼 大小 Mesh size $\mu\text{m}$	网脊宽度 Murus width $\mu\text{m}$	网眼 形状 Mesh shape
1	银边八仙花	21.21	12.4	1.71	长球形	18.24	7.12	0.52	16.22,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.57	0.40	密网纹,不规则
2	大花绣球“精灵”	20.02	10.95	1.83	长球形	15.91	7.10	0.66	14.80,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.52	0.53	密网纹,圆形,具颗粒
3	大花绣球“帝沃利”	21.21	11.43	1.86	长球形	17.86	6.69	0.85	15.57,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.63	0.46	密网纹,圆形为主
4	平顶八仙花	16.83	10.31	1.63	长球形	13.99	6.09	0.85	13.17,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.70	0.40	密网纹,圆形为主
5	大花绣球“塔贝”	17.81	9.93	1.79	长球形	14.54	5.84	0.95	13.30,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.30	0.48	密网纹,不规则
6	大花绣球“无尽夏”	15.79	11.84	1.33	近长球形	12.99	7.66	0.51	13.67,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.40	0.50	密网纹,圆形为主
7	圆锥绣球“白玉”	24.14	11.77	2.05	超长球形	14.65	0.29	0.29	16.86,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.29	0.47	密网纹,圆形,具颗粒
8	粗齿绣球“珍贵”	16.57	10.42	1.59	长球形	11.41	5.03	0.95	13.14,小型		三裂圆形	三孔沟	皱波状	0	0.33	—
9	乔木绣球“贝拉安娜”	17.70	8.52	2.08	超长球形	13.13	5.44	0.58	12.28,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.41	0.59	密网纹,圆形为主
10	大花绣球“塞布丽娜”	19.49	11.09	1.76	长球形	14.65	0.29	0.29	14.70,小型		三裂圆形	三孔沟	网状	0.28	0.50	密网纹,不规则

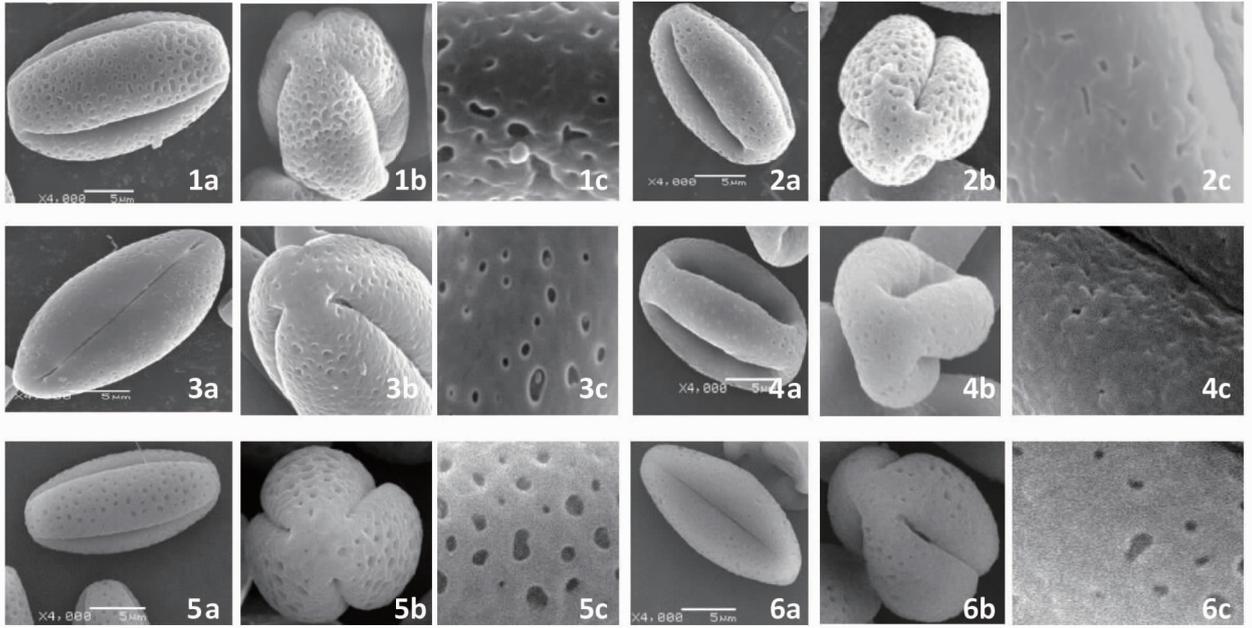
**2.3 不同类型绣球属品种花粉粒外壁纹饰** 4种类型的花粉外壁纹饰有2种类型:网状和皱波状(图1)。银边八仙花、大花绣球“精灵”等9个品种为网状,网脊明显并连结成各种大小的网状雕纹,网眼形状和大小不同,网眼最大为平顶八仙花0.70  $\mu\text{m}$ ,较小为大花绣球“塞布丽娜”(0.28  $\mu\text{m}$ )和圆锥绣球“白玉”(0.29  $\mu\text{m}$ )(表2);网眼形状为圆形或不规则形,其中圆锥绣球“白玉”网眼具颗粒物(图1-3c);仅粗齿绣球“珍贵”花粉粒外壁为皱波状(图1-4c),脊突出且脊间穿孔少。

**2.4 不同类型绣球属品种花粉形态聚类分析** 4种类型绣球属品种花粉形态的系统聚类树系图比较直观地反映了各分类单位在花粉形态上的相似性(图2)。以连接距离为15来算,10个绣球属品种被分成3类,第1类包括大花绣球“帝沃利”、大花绣球“精灵”和银边八仙花3个品种,其共同之处在于花粉形状相同,纹饰类型相同,网眼大小十分接近。从绣球属分组依据的角度看,10个绣球属品种在连接距离为

15时可划分出离瓣组的一类,第2、3类均包含归属于不同组的品种。

### 3 讨论

该研究表明,4种不同类型绣球属的10个品种花粉为小型花粉,形状为近长球形、长球形和超长球形,三孔沟,极面观为三裂圆形,花粉纹饰以密网状为主,网眼大小、网脊宽度、沟长、沟宽及沟间距不同。这与郝刚等<sup>[9]</sup>对绣球亚科花粉形态的研究中关于绣球属花粉为近球形和近长球形,三孔沟,网状和孔穴状纹饰观察结果有一致之处,也有补充。从孢粉学的角度进一步探讨了不同类型绣球属品种间的亲缘关系。同时,聚类结果表明,在连接距离为15时,10个绣球属品种可分为3类,表现出了一定的规律性,花粉形态聚类分析结果与传统形态分类结果存在一定的关联。该研究仅对10个绣球属品种进行了初步观察与分析,还有待加大品种数量的研究,以及从形态学、分子生物学<sup>[10]</sup>等方面展开研究,以进一步掌握绣球属花粉性状的演化和组间的亲缘关系。



注:1 为银边八仙花,2 为大花绣球“精灵”,3 为圆锥绣球“白玉”,4 为粗齿绣球“珍贵”,5 为乔木绣球“贝拉安娜”,6 为大花绣球“塞布丽娜”。其中,a 为花粉赤道面观×4 000,b 为极面观×4 000,c 为外壁纹饰×10 000

Note:1 is *H. macrophylla* 'Tricolor',2 is *H. macrophylla* 'Pillnitz',3 is *H. paniculata* 'Grandiflora',4 is *H. serrata* 'Preziosa',5 is *H. arborescens* 'Annabelle',6 is *H. macrophylla* 'Sabrina'. Among them,a is the equatorial view of pollen × 4 000,b is the polar view × 4 000,c is the outer wall decoration × 10 000

图 1 部分绣球属品种花粉粒扫描电镜特征

Fig. 1 Pollen grain characteristics of some *Hydrangea* L. cultivars under SEM

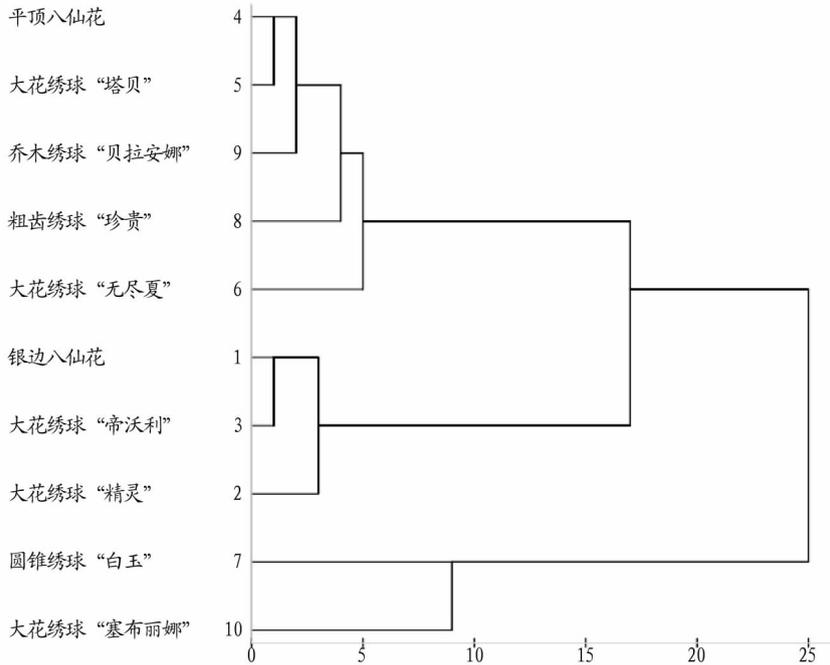


图 2 10 个绣球属品种花粉形态 Q 型聚类树系图

Fig. 2 The dendrogram of Q cluster analysis based on pollen morphology of 10 *Hydrangea* L. cultivars

参考文献

[1] 中国科学院《中国植物志》编辑委员会. 中国植物志:第 35 卷 第 1 分册 虎耳草科(二)[M]. 北京:科学出版社,1995:201.  
 [2] 徐振华,王学勇. 八仙花促成栽培技术[J]. 林业实用技术,2002(1):40.  
 [3] 卫兆芬. 中国绣球属植物的修订[J]. 广西植物,1994,14(2):101-121.

[4] 黄小云,何平,黄林. 四川省及重庆市绣球属的分类研究(II)——属的特征、分种检索表及种的描述[J]. 西南师范大学学报(自然科学版),2001,26(5):603-615.  
 [5] 王开发,王宪曾. 孢粉学概论[M]. 北京:北京大学出版社,1983.

(下转第 8 页)

在软化过程中会改变样品(或组织)的pH,进而可能会对下游荧光染色造成较大影响,软化后样品(或组织)中软化剂和缓冲液是否置换完全,是荧光染色试验成败的关键<sup>[14]</sup>。

显微组织观察试验表明,荧光染色样品以pH 6.7为最适,此时花柱与背景的颜色对比明显,可清晰观察到花粉管,pH低于或高于6.7均无法观察到结构完整的花粉管<sup>[26]</sup>。

表2 石蜡切片中木质化植物材料的不同软化方法优缺点对比

Table 2 Comparison of advantages and disadvantages of different softening protocols on lignified plant materials in paraffin sections

不同软化方法 Different softening protocols	优点 Advantages	缺点 Disadvantages
NaOH 溶液软化法 NaOH softening protocol	耗时短,适用于木质化程度低的样品	褐化严重,对后期染色有一定影响
HCl 溶液软化法 HCl softening protocol	耗时短,适用于木质化程度低的样品	沸水浴时长不宜掌控
Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> 高温高压软化法 10% Na <sub>2</sub> SO <sub>3</sub> softening protocol	简单快捷,适用于木质化程度低、中的样品	最高温度及高压时长不宜掌控
甘油-乙醇软化剂 glycerol-ethanol softening protocol	适用于木质化程度高的试验材料	耗时长,而且进入材料的甘油不易清洗,影响后期染色
冰醋酸软化法 Glacial acetic acid softening protocol	适用于木质化程度高的试验材料	耗时长,材料中的冰醋酸不易被缓冲液置换,影响后期染色
乙二醇溶液软化 0.5% C <sub>2</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> softening protocol	适用于木质化程度高的试验材料,耗时短	毒性很大

植物发育不同时期,木质化程度不同,所应用的软化方法、软化剂的浓度以及软化时间也随之变化;无论哪种软化方法,针对木质化程度不同的试验材料,其浓度和软化时间均要进行相应调整。该研究探索了一套适合于壳斗科栎属高木质化雌花石蜡切片制片的软化处理方法,为今后开展壳斗科植物的受精生物学和胚胎学研究奠定了基础。

#### 参考文献

- [1] 胡适宜. 被子植物胚胎学[M]. 北京:人民教育出版社,1982:67-101.
- [2] 刘明英. 百合科植物比较形态解剖学研究——II. 万年青、吉祥草、紫花玉簪、芦荟、吊兰后生木质部管状分子的比较解剖[J]. 四川大学学报(自然科学版),1992,29(1):149-154.
- [3] 李正理. 植物组织制片学[M]. 北京:北京大学出版社,1996:50-161.
- [4] 叶宝兴,毕建杰,孙印石. 植物细胞与组织研究方法[M]. 北京:化学工业出版社,2011:54-63.
- [5] STEWART J A. Manual of histological techniques and their diagnostic application[J]. Histopathology, 1995,26(1):95.
- [6] HUANG C J, ZHANG Y T, BRUCE B. Fagaceae [M]//WU Z Y, RAVEN P H. Flora of China Cycadaceae through Fagaceae. Beijing: Science Press and Missouri Botanical Garden Press, 1999:314-400.
- [7] SOGO A, TOBE H. Delayed fertilization and pollen-tube growth in pistils of *Fagus japonica* (Fagaceae) [J]. American journal of botany, 2006,93(12):1748-1756.
- [8] BORGARDT S J, NIXON K C. A comparative flower and fruit anatomical study of *Quercus acutissima*, a biennial-fruited oak from the *Cerris* group (Fagaceae) [J]. American journal of botany, 2003,90(11):1567-1584.
- [9] 邓敏. 壳斗科栎属青冈亚属的形态解剖、分类、分布及其系统演化[D]. 昆明:中国科学院昆明植物研究所,2007:30-70.
- [10] 许慧玲,曹慧娟,李天庆. 板栗(*Castanea mollissima* B1.)的胚胎学研究——(I)胚珠、胚囊发育、受精和胚发生[J]. 北京林业大学学报,1988,10(1):10-16.
- [11] 许晨光,刘泽涛,苑少华,等. 不同固定液对小麦花粉母细胞微丝骨架

荧光标记的效果[J]. 作物杂志,2012(4):13-16.

- [12] DENG M, ZHOU Z K, CHEN Y Q, et al. Systematic significance of the development and anatomy of flowers and fruit of *Quercus schottkyana* (*Subgenus Cyclobalanopsis*; Fagaceae) [J]. International journal of plant sciences, 2008, 169(9):1261-1277.
- [13] 赵瑞艳,付钧钧,孙婷. 不同软化处理方法对竹材质量的影响[J]. 佳木斯大学学报(自然科学版),2009,27(4):637-640.
- [14] 程云清,张会弟,刘剑锋. 榛子木质化花柱软化方法的改进[J]. 吉林师范大学学报(自然科学版),2015(3):125-128.
- [15] 邱立军,赵维忠,孙开英,等. 次氯酸钠杀灭微生物效果与腐蚀性的试验观察[J]. 中国消毒学杂志,1998,15(2):110-112.
- [16] 张明宇. 快速离析干燥木材的方法[J]. 生物学通报,2000,35(1):43.
- [17] BOAVIDA L C, VARELA M C, FEIJO J A. Sexual reproduction in the cork oak (*Quercus suber* L.). I. The progamic phase [J]. Sexual plant reproduction, 1999, 11(6):347-353.
- [18] 胡玉熹,林金星. 高度木质化材料软化的简便方法[J]. 植物杂志,2000(3):31.
- [19] 蔡海滨,涂敏,胡彦师,等. 一种优化的橡胶树木质部石蜡切片制作方法[J]. 热带农业科学,2015,35(6):25-28.
- [20] 王秀文. 石蜡切片法中染色技术的改良[J]. 植物研究,2015,35(1):158-160.
- [21] CECICH R A. Pollen tube growth in *Quercus* [J]. Forest science, 1997,43(1):140-146.
- [22] KHO Y O, BAËR J. Observing pollen tubes by means of fluorescence [J]. Euphytica, 1968, 17(2):298-302.
- [23] CURRIER H B, STRUGGER S. Aniline blue and fluorescence microscopy of callose in bulb scales of *Allium cepa* L [J]. Protoplasma, 1956,45(4):552-559.
- [24] 李师翁,屠明珠. 用苯胺蓝压片法观察小孢子和雄配子体发育过程中胼胝质的动态[J]. 植物学通报,1990,7(1):60-63.
- [25] 谢延军,符启良,王清文,等. 木材化学功能改良技术进展与产业现状[J]. 林业科学,2012,48(9):154-163.
- [26] 朱书生,刘西莉,刘鹏飞,等. 6种染色方法对黄瓜霜霉病菌不同发育阶段的染色效果比较[J]. 植物病理学报,2006,36(1):86-90.

(上接第3页)

- [6] 芦建国,熊钢. 蜡梅品种花粉粒扫描电镜特征的分类研究[J]. 南京林业大学学报(自然科学版),2010,34(4):145-148.
- [7] 张彦妮,钱灿. 12种百合属植物花粉形态扫描电镜观察[J]. 草业学报,2011,20(5):111-118.

- [8] 埃尔特曼 G. 孢粉学手册[M]. 中国科学院植物所,译. 北京:科学出版社,1978.
- [9] 郝刚,胡启明. 绣球亚科花粉形态的研究[J]. 热带亚热带植物学报,1996,4(3):26-31.
- [10] 陈海霞,彭影晖. 基于 SRAP 标记揭示中国绣球属部分种类的亲缘关系[J]. 分子植物育种(网络版),2012,10(15):1115-1121.