

研究报告

Research Report

10 个八仙花品种花粉粒形态扫描电镜观察

周静伟¹ 吴晓梦¹ 周慧晶¹ 邹剑锋² 陈海霞^{1*}

1 湖南农业大学园艺学院, 湖南省中亚热带优质花木繁育与利用工程技术研究中心, 长沙, 410128; 2 湖南农业大学分析测试中心, 长沙, 410128

* 通信作者, chenhaixia@hunau.edu.cn

摘要 利用电镜扫描观察 10 个八仙花品种的花粉粒, 根据花粉粒的形状、长短轴比、萌发沟特征、纹饰特征、极面特征等分析八仙花不同品种间以及孕性花粉粒形态特征的差异性。结果表明: 八仙花可孕花的花粉粒均为长球体, 除了‘无尽夏’和‘奥塔克萨’不孕花花粉粒为超长球体外, 其它也为长球体, 其均具 3 条萌发沟, 沟长裂至两极, 属于 N3P4C5 型花粉; 花粉粒极面形状有差异, ‘无尽夏’、‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’、‘头花’和‘初恋’极面观为三裂圆形, 其它品种极面观为钝三角形; 不同品种花粉粒的萌发沟长度与萌发沟脊面宽也存在差异, 仅‘玫红妈妈’不同孕性花粉粒具有显著性差异。外壁纹饰均为孔穴状, 其孔穴大小、形状以及分布特征不同, 但是同一品种的不同孕性花粉粒形态特征并无差异。综上所述, 花粉粒的外壁纹饰可作为八仙花品种鉴定的依据之一, 但是不能作为花粉孕性的鉴别依据。

关键词 八仙花, 花粉形态, 扫描电镜, 品种鉴定

Observation of Pollen Grains of of Ten *Hydrangea* varieties with Scanning Electron Microscope (SEM)

Zhou Jingwei¹ Wu Xiaomeng¹ Zhou Huijing¹ Zou Jianfeng² Chen Haixia^{1*}

1 College of Horticulture, Hunan Agricultural University, Hunan Mid-subtropical Quality Plant Breeding and Utilization Engineering Technology Research Center, Changsha, 410128; 2 Center of Analytical Service, Hunan Agricultural University, Changsha, 410128

* Corresponding author, chenhaixia@hunau.edu.cn

DOI: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0030

Abstract In order to analysis the difference in pollen morphological characteristics of the hydrangea varieties and pollen fertility, scanning electron microscope was used to observe the pollen characteristics of 10 varieties of hydrangea, parameters of pollen grains such as shape, the ratio of long and short axes, germination groove, ornamentation and polar surface characteristics. In Observe the characteristics of pollen grain shape, aspect ratio, germination groove, ornamentation, polar surface and other characteristics of the 10 *Hydrangea macrophylla* through electron microscope scanning to analyze the differences between different *Hydrangea* varieties and pregnancy pollen grains sex. The results indicated that the pollen grains of the fertile flowers of 10 *Hydrangea* are all long spherical, except for the sterile flowers of ‘Endless summer’ and ‘Otaksa’, all the other are long spheroids. The all have with three3 germinating grooves, which are long splitting into to the germination grooves of the poles. The pollen belongsing to the N3P4C5 type pollen, The polar face shapes of pollen grains were different in and the outer wall decoration is hole-shaped. But only the ‘Endless summer’ and ‘Otaksa’ infertility

本文首次发表在《分子与植物育种》上, 现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License, 协议对其进行授权, 再次发表与传播

收稿日期: 2020 年 8 月 30 日; 接受日期: 2020 年 9 月 2 日; 发表日期: 2020 年 9 月 9 日

引用格式: 周静伟, 吴晓梦, 周慧晶, 邹剑锋, 陈海霞, 2020, 10 个八仙花品种花粉粒形态扫描电镜观察, 分子植物育种(online), 18(30): 1-10 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0030) (Zhou J.W., Wu X.M., Zhou H.J., Zou J.F., and Chen H.X., 2020, Observation of pollen grains of of ten *Hydrangea* varieties with scanning electron microscope (SEM), Fengzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding (online)), 18(30): 1-10 (doi: 10.5376/mpb.cn.2020.18.0030))

flowers were super-long spheres. The polar faces of pollen grains have different shapes, such as ‘Endless Summer’, ‘Otaksa’, ‘Mona Lisa’, ‘Head Flower’ and ‘First Love’ are trilobate circles, others are blunt triangles. The length and ridge width of germination groove of different varieties were also different, and only the different pregnant pollen grains of ‘Maman rose’ had significant differences. The size, shape and distribution of the pores are different, but the morphological characteristics of different fertile pollen grains of the same variety are not different. In conclusion, the external walls decoration of pollen grains can be used as one of the basis for the identification of *Hydrangea* varieties, but not for the identification of pollen fertility. The length of the germination groove of different varieties of pollen grains differs from the width of the ridge surface of the germination groove, as well as the size, shape and distribution characteristics of the holes. However, there is no significant difference in the morphological characteristics of the outer wall decoration patterns of different pregnancy pollen grains of the same variety.

Keywords *Hydrangea macrophylla*, Pollen morphology, SEM, Cultivar identification

八仙花(*Hydrangea macrophylla*)又名绣球花、紫阳花,为虎耳草科(*Saxifragaceae* Juss.)绣球属(*Saxifragaceae* L.)的一种落叶灌木。八仙花花序大且色彩丰富,颇具观赏价值,可做鲜花束或干花装饰,也是优良的绿化树种,近年在国内开始大量引种栽培,逐渐成为“网红”植物,应用于各类主题花展。

目前,八仙花的研究主要集中在离体培养、化学成分分离鉴定、栽培管理等方面(任洁, 2018, 绿色科技, (13): 165-167),而有关八仙花品种花粉形态特征的研究鲜有报道。据记载绣球品种多达 600 多种,杂交后代繁多,经过多代繁殖其亲本已难以考证,甚至部分绣球品种(如大花绣球和粗齿绣球)的分类一直存在争议,导致植物命名混乱,分类系统存在缺陷(曾奕等, 2018)。在绣球亚科属种间关系的孢粉学研究指出,绣球亚科物种花粉的形态性状、花粉外壁表面纹饰及次级纹饰对物种划分有很大的参考价值,并且提出花粉外壁层次结构及萌发孔的研究,有助于进一步理解本亚科花粉性状的演化及属内分组(陈焕镛, 1954; 郝刚和胡启明, 1996; 张梅等, 2019)。绣球属及近缘属花粉形态的研究结果表明绣球属及其近缘属花粉形态特征的分类学价值主要表现在种间界定上(张梅等, 2019)。因此,本研究以 10 个八仙花品种为材料,利用电镜扫描观察不同品种以及不同育性的花粉粒形态特征的差异性,进一步明晰八仙花花粉粒形态特征在分类学上的意义,为研究八仙花的遗传多样性提供科学依据。

1 结果与分析

1.1 10 个八仙花品种花粉粒的群体特征

电镜扫描观察结果可以看出(图 1; 图 2; 图 3),在视野 1 000×下,八仙花为单花粉粒,不同品种八仙

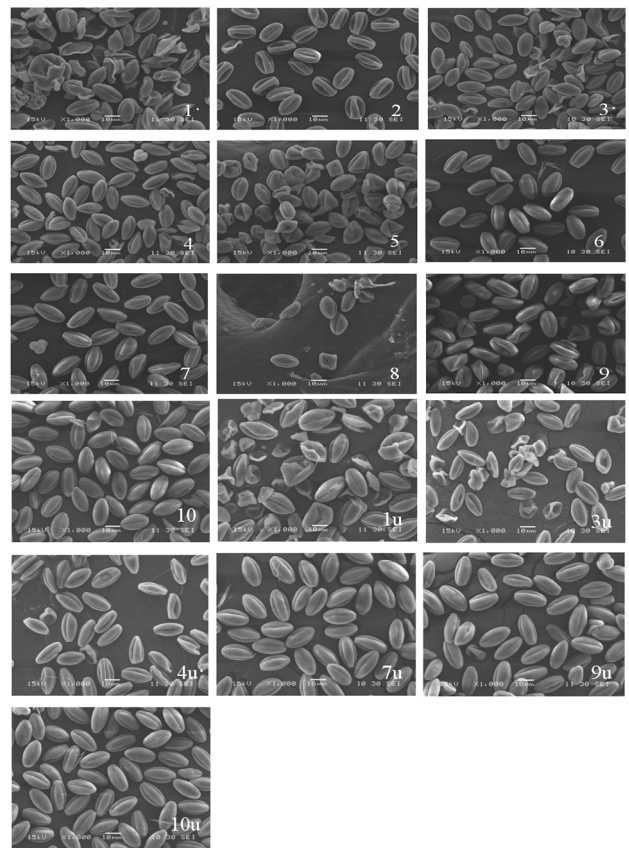


图 1 扫描电镜下的花粉粒群体形态

注: 可孕花: 1: ‘玫红妈妈’; 2: 粗齿绣球‘珍贵’; 3: ‘无尽夏’; 4: ‘奥塔克萨’; 5: ‘蒙娜丽莎’; 6: ‘头花’; 7: ‘爆米花’; 8: ‘小町’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘初恋’; 不孕花: 1u: ‘玫红妈妈’; 3u: ‘无尽夏’; 4u: ‘奥塔克萨’; 7u: ‘爆米花’; 9u: ‘Lanarth’; 10u: ‘初恋’

Figure 1 SEM micrographs of pollen grains population morphology
Note: Sexual male flower: 1: ‘Maman rose’; 2: *Hydrangea serrata* ‘Preziosa’; 3: ‘Endless Summer’; 4: ‘Otaksa’; 5: e ‘Mona Lisa’; 6: ‘Headdress flower’; 7: ‘Porpcorn’; 8: ‘Komachi’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘First love’; Unisexual male flower: 1u: ‘Maman rose’; 3u: ‘Endless Summer’; 4u: ‘Otaksa’; 7u: ‘Porpcorn’; 9u: ‘Lanarth’; 10u: ‘First love’

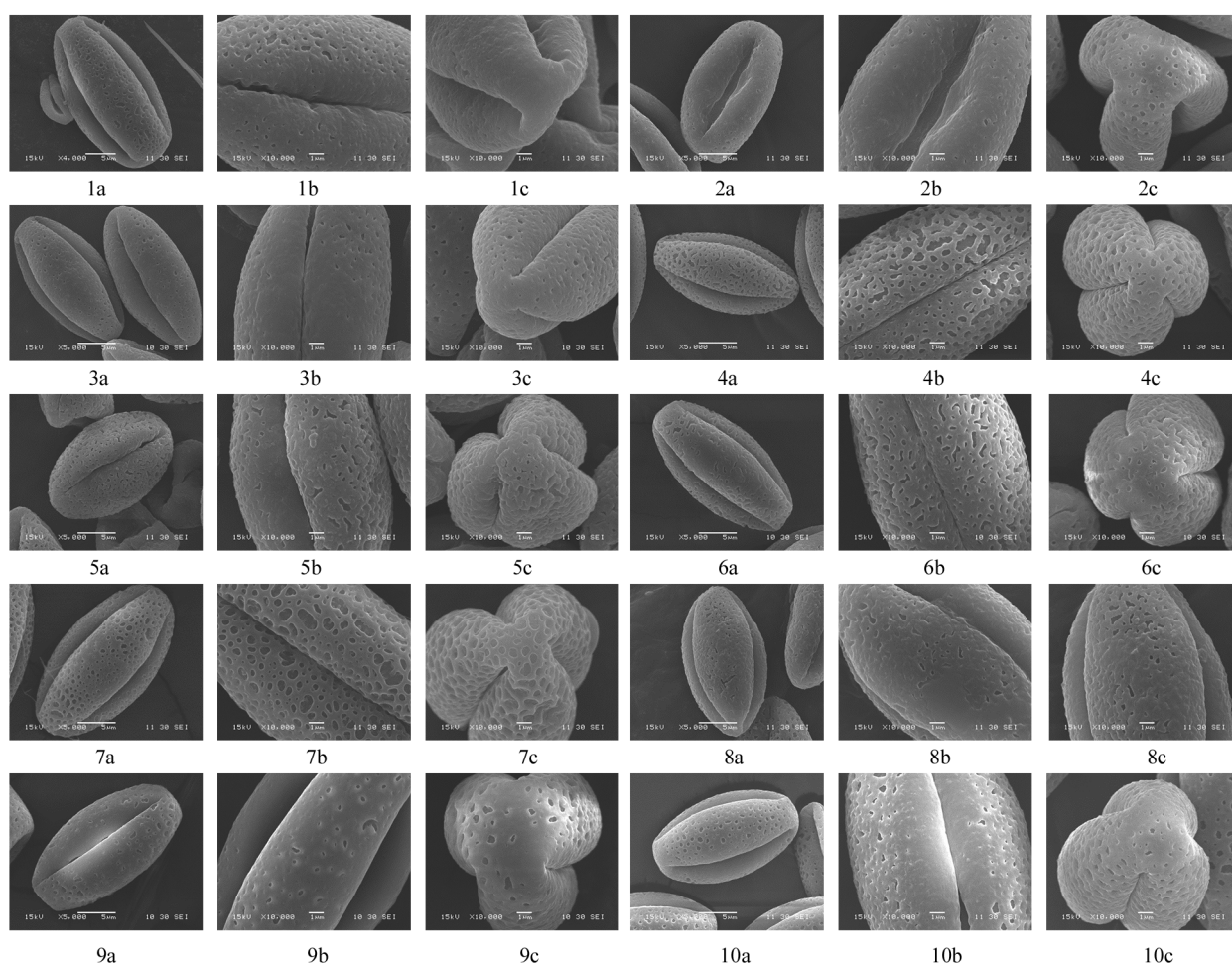


图 2 扫描电镜下的可孕花花粉形态

注: 1: ‘玫红妈妈’; 2: 粗齿绣球‘珍贵’; 3: ‘无尽夏’; 4: ‘奥塔克萨’; 5: ‘蒙娜丽莎’; 6: ‘头花’; 7: ‘爆米花’; 8: ‘小町’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘初恋’; a: 花粉粒赤道观面; b: 花粉纹; c: 花粉粒极面观

Figure 2 SEM micrographs of fertile flower pollen grains

Note: 1: ‘Maman rose’; 2: *Hydrangea serrata* ‘Preziosa’; 3: ‘Endless Summer’; 4: ‘Otaksa’; 5: ‘Mona Lisa’; 6: ‘Headdress flower’; 7: ‘Porpcorn’; 8: ‘Komachi’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘First love’; a: Pollen grain equatorial view; b: Pollen ornament; c: Polar view of pollen grains

花的花粉粒数量存在差异。所有品种的可孕花都能观察到花粉粒,但是无法观察到品种‘珍贵’、‘蒙娜丽莎’、‘头花’和‘小町’的不孕花花粉粒,这可能与品种的不孕花花蕾小有关。‘小町’可孕花的花粉粒极少;‘珍贵’、‘头花’和‘爆米花’花粉粒数量也相对较少,这可能与花型相关。

在视野中,不同品种八仙花花粉粒群体中出现不同数量的畸形花粉,‘玫红妈妈’、‘无尽夏’和‘蒙娜丽莎’可孕花的畸形花粉粒数量最多,这可能与其花药较小,可供其生长发育营养物质较少有关。视野下的畸形花粉粒多呈现干瘪、褶皱形的不规则形状,或是萌发沟处向下深凹陷,此为花粉退化或花粉败育现象,可能是八仙花雄性不育的原因之一。

八仙花 10 个品种正常的花粉形态具有以下共

性: 外型均为长球体,赤道面均具有子午向萌发沟。但不同品种花粉粒的大小、萌发沟深度、脊面形状有差异。

1.2 10 个八仙花品种可孕花花粉粒的特征分析

1.2.1 10 个品种可孕花花粉粒的形态特征

八仙花的花粉外型均为长球体,均属于等极、辐射对称轴花粉,赤道面均具有三孔沟,且均为子午向长沟,沟延至两极端并不在极面汇合;花粉外壁均有孔穴状纹饰,按照 NPC 分类系统,属 N3P4C5 型花粉。从 L/W 的比值来看,供试品种花粉粒形状均为长球体,‘爆米花’和‘奥塔克萨’花粉粒近似超长球体,与其他品种有显著性差异。

品种之间花粉粒大小形态均存在显著性差异(表

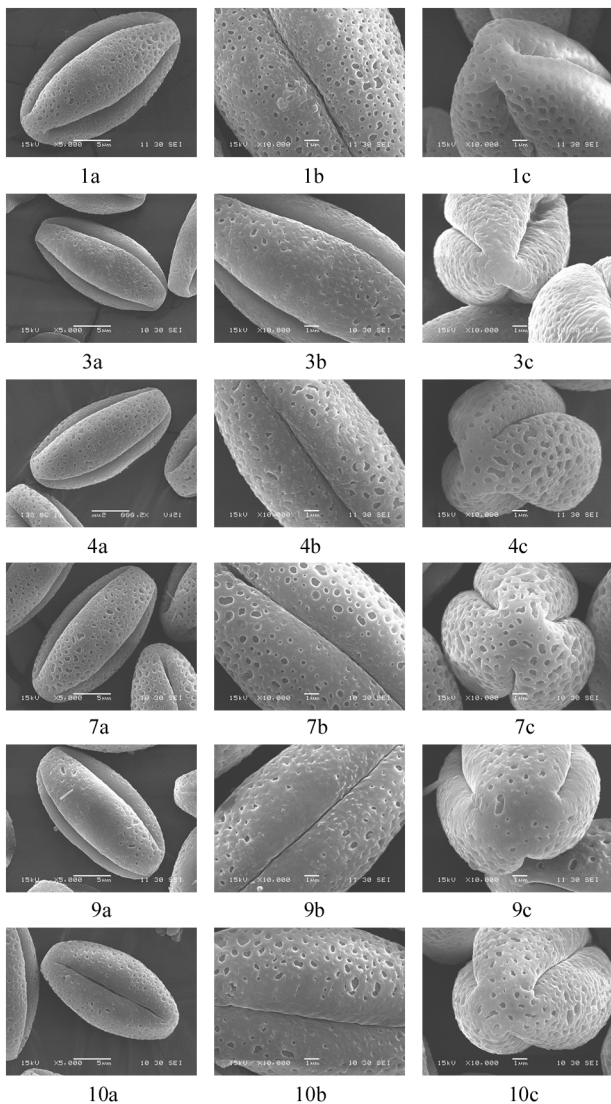


图3 扫描电镜下的不孕花花粉形态

注: 1: ‘玫红妈妈’; 3: ‘无尽夏’; 4: ‘奥塔克萨’; 7: ‘爆米花’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘初恋’; a: 花粉粒赤道观面; b: 花粉纹; c: 花粉粒极面观

Figure 3 SEM micrographs of infertile flower pollen grains

Note: 1: ‘Maman rose’; 3: ‘Endless Summer’; 4: ‘Otaksa’; 7: ‘Porpcorn’; 9: ‘Lanarth’; 10: ‘First love’; a: Pollen grain equatorial view; b: Pollen ornament; c: Polar view of pollen grains

1)。八仙花花粉粒属于小型花粉粒，其长轴 $16.10\sim 25.50\ \mu\text{m}$ ，均值 $17.34\sim 21.74\ \mu\text{m}$ ；短轴 $7.94\sim 16.90\ \mu\text{m}$ ，均值 $9.61\sim 12.05\ \mu\text{m}$ 。花粉大小用花粉长轴的长度表示，花粉粒从大到小的顺序为：‘玫红妈妈’>‘爆米花’>‘头花’>‘初恋’>‘Lanarth’>‘奥塔克萨’>‘蒙娜丽莎’>‘无尽夏’>‘珍贵’>‘小町’。‘玫红妈妈’和‘爆米花’花粉粒较大，与其他8个品种有显著差异，而‘小町’和‘珍贵’花粉粒为最小，与其他品种也具有显著差异；其它6个品种之间并无

显著差异。花粉粒整齐度用长轴变化幅度表示，粗齿绣球‘珍贵’花粉粒最整齐，‘玫红妈妈’花粉粒大小个体间存在的变化幅度最大。

八仙花花粉粒的极面形状有差异(图2)，‘无尽夏’、‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’、‘头花’和‘初恋’极面观为三裂圆形；其它品种极面观均为钝三角形。

1.2.2 10个品种可孕花花粉粒的萌发沟特征

10个八仙花品种花粉粒均具有3条萌发孔沟，与赤道平行等间距分布，沟长裂或深至两极，在极面未形成合沟。供试品种的萌发沟长度、脊面宽度具有显著差异(表2)，‘玫红妈妈’花粉粒萌发沟最长，达到 $25.60\ \mu\text{m}$ ，‘珍贵’与‘小町’最短，均与其它品种存在显著性差异；但‘珍贵’、‘无尽夏’、‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’、‘小町’和‘初恋’之间无显著性差异。‘玫红妈妈’花粉粒萌发沟脊面最宽，是‘珍贵’的近二倍，与其它品种的差异显著；而‘无尽夏’、‘头花’、‘爆米花’、‘小町’和‘Lanarth’之间不存在显著性差异。

可以观察到萌发沟形态特征存在差异(图2)，粗齿绣球‘珍贵’萌发沟最宽，呈槽状，且向内深陷；其它9个品种的萌发沟呈缝隙状，向内深陷，其中‘玫红妈妈’、‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’和‘爆米花’延伸至极面的中部。

1.2.3 10个品种可孕花花粉粒的纹饰细节图案特征

10个八仙花品种花粉粒外壁纹饰均呈孔穴状，但是不同品种之间外壁孔穴纹饰细节图案具有差异，表现为孔穴分布疏密度、大小及形状等特征不同(表3；图2)。

从孔穴分布的疏密程度来看，‘玫红妈妈’、‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’、‘头花’和‘小町’孔穴多，分布排列紧密，而‘Lanarth’孔穴最少，分布最稀疏。

不同品种的花粉外壁表面纹饰形状也有差异性，其中‘玫红妈妈’、‘珍贵’、‘无尽夏’和‘Lanarth’花粉粒外壁较平滑，而‘蒙娜丽莎’和‘爆米花’花粉粒外壁呈明显的皱波状；根据花粉粒孔穴形状不同，将供试品种分为3类：(1)圆形孔穴状纹饰的是‘玫红妈妈’、粗齿绣球‘珍贵’、‘无尽夏’、‘爆米花’、‘Lanarth’和‘初恋’；(2)粗条形孔穴状纹饰的是‘蒙娜丽莎’和‘头花’；(3)不规则孔穴状纹饰的是‘奥塔克萨’和‘小町’。

1.3 6个八仙花品种的不孕花花粉粒的特征分析

1.3.1 6个品种不孕花花粉粒的形态特征

电镜扫描观察结果表明，仅有6个八仙花品种

表 1 10 个八仙花品种可孕花花粉形态特征比较

Table 1 Comparison of pollen morphological characteristics of fertile flowers in ten *Hydrangea* varieties

| 编号 Codes | 长轴(μm) Length (μm) | 短轴(μm) Width (μm) | 长轴/短轴 L/W | 花粉形状 Pollen shapes | 极面形状 Polar shape |
|-------------|----------------------------|----------------------------|--------------|-----------------------|---------------------------|
| 1 | 21.74±1.84 (19.20~25.50)a | 12.05±1.62 (9.62~15.30)a | 1.82 bcd | 长球体 Prolate | 钝三角形 Blunt triangle |
| 2 | 17.73±2.19 (11.70~19.40)d | 11.20±0.92 (10.10~13.20)ab | 1.59 e | 长球体 Prolate | 钝三角形 Blunt triangle |
| 3 | 18.30±0.70 (17.40~19.70)cd | 9.61±0.40 (9.00~10.30)d | 1.91 abcd | 长球体 Prolate | 三裂圆形 Three-lobed round |
| 4 | 19.37±0.69 (18.20~20.40)bc | 9.79±0.54 (9.06~11.00)cd | 1.98 ab | 长球体 Prolate | 三裂圆形 Three-lobed round |
| 5 | 18.48±0.64 (17.40~19.90)cd | 10.59±0.70 (9.12~11.60)bc | 1.75 d | 长球体 Prolate | 三裂圆形 Three-lobed round |
| 6 | 20.46±0.98 (19.30~22.60)b | 10.50±0.55 (9.65~11.20)bcd | 1.95 abc | 长球体 Prolate | 三裂圆形 Three-lobed round |
| 7 | 21.71±0.96 (20.40~23.20)a | 11.01±1.15 (9.33~12.70)b | 1.99 a | 长球体 Prolate | 钝三角形 Blunt triangle |
| 8 | 17.34±0.94 (16.10~18.60)d | 9.90±1.68 (7.94~11.60)cd | 1.79 cd | 长球体 Prolate | - |
| 9 | 19.84±1.39 (17.70~22.00)b | 10.28±0.64 (9.20~11.30)bcd | 1.93 abc | 长球体 Prolate | 钝三角形 Blunt triangle |
| 10 | 20.36±0.46 (19.80~21.10)b | 10.99±0.64 (10.20~12.20)b | 1.86 abcd | 长球体 Prolate | 三裂圆形 Three-lobed round |

注: 表中小写字母为 Duncan 多重比较法 0.05 水平的显著性分析, ‘小町’未观察到其极面

Note: Lowercases are significant tested by Duncan at 0.05 level, No polar surface of 'Komachi'

能观察到花粉粒。6 个八仙花品种不孕花花粉形态为长球体或超长球体, 萌发沟为赤道三孔沟型。不孕花花粉粒大小(以长轴表示)形态也存在显著性差异(表 4), ‘玫红妈妈’最大, ‘无尽夏’最小, 与可孕花的结果大体一致。以 L/W 值分析花粉粒形状得知, ‘无尽夏’与‘奥塔克萨’为超长球体, 其他均为长球体; ‘玫红妈妈’L/W 值为最小, 与其他品种之间存在显著性差异。

可以观察到 6 个品种不孕花花粉粒外壁形态、孔穴形状与疏密度、萌发沟特征都存在差异(表 5; 图 3), 其中‘奥塔克萨’孔穴为不规则形, 与其他品种差异明显; 6 个品种不孕花花粉粒萌发沟特征与可孕花一致。

1.3.2 6 个品种可孕花与不孕花花粉粒的形态特征对比分析

八仙花 6 个品种中, ‘无尽夏’与‘奥塔克萨’不可孕花花粉粒为超长球体, 与可孕花存在差异; 从萌发沟长度、萌发沟脊面宽度对比发现, ‘玫红妈妈’的不同孕性花之间具有显著差异; 同一个品种花粉粒

的外壁孔穴纹饰形状、孔穴分布疏密度相似, 但极面特征有差异, ‘玫红妈妈’可孕花极面无孔眼, 而不孕花具较大的孔眼, 数量多且紧密, 其他品种无显著性差异, 说明同一八仙花品种的花粉粒形态特征与花孕性关联度较小。

2 讨论

花粉是植物较为保守的器官之一。研究表明花粉粒形态特征, 尤其是花粉粒外壁纹饰、花粉粒大小, 萌发沟长、穿孔大小等可以作为推算物种的进化程度的指标之一(额尔特曼, 1978), 也可以作为品种间鉴别的依据, 现已应用在桉树(武海霞等, 2012)、猕猴桃(齐秀娟等, 2017)、牡丹(魏乐, 2007)、忍冬(周洁等, 2016)、海棠(张锐等, 2018)、甜樱桃(魏国芹等, 2014)等的品种鉴定中。绣球属(*Hydrangea* L.)及近缘属花粉形态研究表明: 绣球属花粉的形态比较复杂, 其花粉形态的变异幅度覆盖了其近缘种属花粉形态的变异范围, 且绣球属花粉形状、赤道面观特征、花粉表面纹饰以及花粉大小在种内的变异相对稳定,

表 2 10 个八仙花品种可孕花花粉萌发沟特征比较

Table 2 Comparison of pollen germination ditch of ten *Hydrangea* varieties

| 编号 Codes | 萌发沟长度(μm) Germination groove length (μm) | 萌发沟脊面宽(μm) Germination groove width (μm) | 萌发沟类型 Germination groove type |
|-------------|---|---|--------------------------------------|
| 1 | 25.60 \pm 0.35a | 8.31 \pm 0.64a | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 2 | 18.97 \pm 0.76d | 4.89 \pm 0.32d | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 3 | 19.53 \pm 0.55cd | 6.33 \pm 0.46bc | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 4 | 19.80 \pm 0.26cd | 5.31 \pm 0.32d | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 5 | 19.17 \pm 0.84d | 7.06 \pm 0.84b | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 6 | 21.73 \pm 0.78b | 6.81 \pm 0.32bc | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 7 | 22.20 \pm 1.08b | 6.93 \pm 0.53bc | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 8 | 18.83 \pm 0.32d | 7.02 \pm 0.11bc | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 9 | 20.57 \pm 0.59c | 6.56 \pm 0.15bc | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |
| 10 | 19.87 \pm 0.31cd | 6.20 \pm 0.17c | 赤道三孔沟 Equatorial three-hole ditch |

注: 表中小写字母为 Duncan 多重比较法 0.05 水平的显著性分析

Note: Lowercases are significant tested by Duncan at 0.05 level

而种间差别明显(张梅等, 2019)。因此可以根据花粉形态特征对八仙花组的植物进行种或品种间鉴定。

芦建国和熊刚(2010)研究表明在利用孢粉进行蜡梅品种鉴定分析时确定穿孔大小、萌发沟长度、花粉粒大小、纹饰特点等为较重要形状指标。陈薇薇等(2007)人对当归属植物的研究显示花粉演化趋势是由小到大, 形状由球形向超长球形进化, 花粉粒越长, 进化程度也越高。本研究通过电镜扫描观察发现, 八仙花花粉粒均呈长球体, 虽然‘无尽夏’和‘奥塔克萨’不孕花花粉粒为超长球体, 没有显著性差异, 说明八仙花是进化程度高的物种之一, 花粉粒形状不能作为这 10 个八仙花品种鉴定的依据之一。这与前人认为花粉形态大小特性可作为品种鉴定的依据的研究不一致(薛晓敏等, 2012; 肖远辉等, 2014), 究其原因, 可能是八仙花遗传背景复杂, 目前园艺栽培品种是经过多代杂交而得。

诸多研究表明花粉外壁由光滑→小穴状→穴状→网状→粗网状→皱波状, 萌发沟是由 3 沟发展到多沟型, 至散孔, 以及孔穴中是否有颗粒状物质

等, 根据花粉粒的大小、形状、纹饰等进行数据化分析研究, 为植物分类提供有力证据(袁涛和王莲英, 2002; 刘志红等, 2013; 程艳等, 2019)。本研究中发现, 10 个八仙花品种花粉粒外壁均为孔穴状纹饰, 其中‘Lanarth’花粉粒外壁表面平滑, 孔穴稀疏, 相对而言, ‘奥塔克萨’、‘蒙娜丽莎’、‘头花’和‘爆米花’的花粉粒外壁孔穴密集, 呈皱波状。由此认为‘Lanarth’是较为原始的品种之一, 其叶片厚, 植株强健, 抗性强, 适合做杂交亲本。

就萌发沟宽度而言, ‘珍贵’萌发沟较宽, 且凹陷成船型, 与其他品种存在显著性差异, 究其原因, 可能‘珍贵’是粗齿绣球与大花绣球的杂交后代, 与其它大花绣球的亲缘关系较远。

综上所述, 八仙花不同品种花粉粒外壁纹饰差异很大, 且与植株形态特征和抗逆性均有一定相关性。虽然有部分学者坚持认为花粉形态不能作为品种鉴定的依据, 必须结合植物的其他性状或是生物技术才能得出正确的结果(魏乐, 2007), 但是孢粉学在系统分类或在品种鉴定中的也有一定的参考意义, 可

表 3 10 个八仙花品种可孕花花粉纹饰图案特征比较

Table 3 Comparison of pollen pattern features of ten *Hydrangea* varieties

| 编号 Codes | 纹饰特征 Decorative features | 孔穴分布 Perforation distribution | |
|-------------|--|---|--|
| | | 极端—中部—极端 Extreme-central-extreme | 极面 Polar face |
| 1 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 平滑, 孔眼由小—大—小—大—小, 分布紧密 Smooth, eyelet: small-big-small-big-small, tightly distributed | 平滑, 无孔眼 Smooth, non-perforated |
| 2 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 平滑, 孔眼均小, 分布稀疏 Smooth, small perforations, sparse distribution | 皱波状, 孔眼小 Wrinkled, small perforations |
| 3 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 平滑, 孔眼由小—无一—小, 分布稀疏 Smooth, eyelet: small-none-small, sparsely distributed | 皱波状, 无孔眼 Wrinkled, non-perforated |
| 4 | 孔穴状纹饰, 不规则孔眼 Hole pattern, irregular eyelet | 皱波状, 孔眼由大—小—大, 分布稀疏 Wrinkle-shaped, eyelet: big-small-big, sparsely distributed | 皱波状, 孔眼小 Wrinkled, small perforations |
| 5 | 孔穴状纹饰, 粗条状孔眼 Hole pattern, thick stripe eyelets | 皱波状, 孔眼大小不一, 分布均匀 Wrinkle-shaped, with different perforations and uniform distribution | 紧皱波, 无孔眼 Wrinkled, None-perforations |
| 6 | 孔穴状纹饰, 粗条状孔眼 Hole pattern, thick stripe eyelets | 皱波状, 孔眼由大—无一—大, 分布紧密 Wrinkled, eyelet: big-none-big, tightly distributed | 皱波状, 孔眼小 Wrinkled, small perforations |
| 7 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 皱波状, 孔眼由大—小—大, 分布紧密 Wrinkle-shaped, eyelet: big-small-big, tightly distributed | 皱波状, 孔眼大 Wrinkled, big perforations |
| 8 | 孔穴状纹饰, 不规则孔眼 Hole pattern, irregular eyelet | 皱波状, 孔眼由大—小—大, 稀疏分布 Wrinkle-shaped, eyelet: big-small-big, sparsely distributed | 皱波状, 孔眼小 Wrinkled, small perforations |
| 9 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 平滑, 孔眼由大—极小—大, 稀疏分布 Smooth, eyelet: big-small-big, sparsely distributed | 平滑, 孔眼大 Smooth, big perforated |
| 10 | 孔穴状纹饰, 圆形孔眼 Hole pattern, round eyelet | 皱波状, 孔眼由小—大—小, 分布紧密 Wrinkle-shaped, eyelet: small-big-small tightly distributed | 平滑, 孔眼小 Smooth, big perforated |

表 4 6 个八仙花品种不孕花花粉形态特征比较

Table 4 Comparison of pollen morphological characteristics of infertile flowers of six *Hydrangea* varieties

| 编号 Code | 长轴(μm) L (μm) | 短轴(μm) W (μm) | 长轴 / 短轴 L/W | 萌发沟长度(μm) Germination groove length (μm) | 萌发沟脊面宽(μm) Germination groove width (μm) | 花粉形状 Pollen shape |
|------------|------------------|------------------|----------------|---|---|-----------------------|
| 1 | 22.61±1.26a | 12.45±0.55a | 1.82 b | 23.17±0.32a | 7.20±0.16a | 长球体 Prolate |
| 3 | 18.66±1.02d | 9.32±0.69c | 2.01 a | 19.70±0.62d | 6.19±0.50b | 超长球体 Ultra prolate |
| 4 | 20.04±0.46bc | 10.01±0.90b | 2.02 a | 20.10±0.35cd | 6.66±0.32ab | 超长球体 Ultra prolate |
| 7 | 20.53±0.91bc | 10.59±0.82b | 1.95 a | 21.17±1.37bc | 7.13±0.38a | 长球体 Prolate |
| 9 | 20.72±1.05b | 10.42±0.68b | 1.99 a | 21.70±0.56b | 7.16±0.09a | 长球体 Prolate |
| 10 | 19.69±0.67c | 10.36±0.33b | 1.90 ab | 20.67±0.31bcd | 6.62±0.09ab | 长球体 Prolate |

注: 表中小写字母为 Duncan 多重比较法 0.05 水平的显著性分析

Note: Lowercases are significant tested by Duncan at 0.05 level

表 5 6 个八仙花品种不孕花花粉纹饰图案特征比较

Table 5 Comparison of the pattern features of infertile flowers on the six *Hydrangea* varieties

| 编号 Codes | 孔穴形状 Perforation shape | 花粉粒外壁形态(极端—中部—极端) Smoothness between holes (extreme-central-extreme) | 孔穴疏密度 Distribution of perforations | 极面特征 Polar features |
|-------------|------------------------------|--|--|--|
| 1 | 圆形孔眼 Round eyelet | 皱波状, 孔眼由大一小一大 Wrinkle-shaped, eyelet: big-small-big | 紧密 Tightly | 平滑, 孔眼大且密 Smooth, small perforations, Dense |
| 3 | 圆形孔眼 Round eyelet | 皱波状, 孔眼由小一无一小 Wrinkle-shaped, eyelet: small-big-small | 稀疏 Sparsely | 皱波状, 无孔眼 Wrinkled, none-perforations |
| 4 | 不规则孔眼 Irregular eyelet | 皱波状, 孔眼多粗条形 Hick stripe eyelets | 紧密 Tightly | 平滑, 孔眼小且疏 Smooth, small perforations, thin |
| 7 | 圆形孔眼 Round eyelet | 平滑, 孔眼由大一小一大 Smooth, eyelet: big-small-big | 紧密 Tightly | 平滑, 孔眼小且密 Smooth, small perforations, dense |
| 9 | 圆形孔眼 Round eyelet | 平滑, 孔眼由小一无一小 Smooth, eyelet: small-none-small | 稀疏 Sparsely | 平滑, 孔眼小且疏 Smooth, small perforations, Thin |
| 10 | 圆形孔眼 Round eyelet | 平滑, 孔眼由小一大一小 Smooth, eyelet: small-big-small | 紧密 Tightly | 平滑, 孔眼小且密 Smooth, small perforations, dense |

以作为品种鉴别的依据之一。

新鲜花粉粒为材料(表 6)。

3 材料与方 法

3.1 试验材料

本研究以湖南农业大学花卉基地的八仙花品种

3.2 试验方法

于晴天上午采集发育成熟即将开放的花蕾, 放置于盛有干燥滤纸的培养皿中, 并标记品种名, 然后剥开花药, 取出花粉, 将新鲜花粉放置于

表 6 10 个八仙花品种信息

Table 6 Information of ten hydrangea varieties

| 编号 Codes | 品种名 Variety | 类型 Flower pattern | 花序形状 Inflorescence shape | 可孕花 Fertile flower | 不孕花 Infertile flower |
|-------------|----------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------------------|---|
| 1 | ‘玫红妈妈’ ‘Maman rose’ | 大花单瓣型 Single flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾大, 饱满 Big and full buds | 花蕾大, 饱满 Big and full buds |
| 2 | ‘珍贵’ ‘Preziosa’ | 粗齿绣球 Coarse hydrangea | 绣球型 Hydrangea | 花蕾小, 饱满 Small and full buds | 花蕾小, 饱满 Small and full buds |
| 3 | ‘无尽夏’ ‘Endless summer’ | 大花单瓣型 Single flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾小, 不饱满 Small and unfull buds | 花蕾小, 不饱满 Small and un full buds |
| 4 | ‘奥塔克萨’ ‘Otaksa’ | 大花单瓣型 Single flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾小, 饱满 Small and full buds | 花蕾小, 饱满 Small and full buds |
| 5 | ‘蒙娜丽莎’ ‘Mona Lisa’ | 大花单瓣型 Single flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾大, 饱满 Big and full buds | 花蕾大, 饱满 Big and full buds |
| 6 | ‘头花’ ‘Headdress flower’ | 大花重瓣型 Double flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾小, 不饱满 Small and un full buds | 花蕾小, 数量多, 不饱满 Small, mickle and un full buds |
| 7 | ‘爆米花’ ‘Porpcorn’ | 大花单瓣型 Single flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾大, 饱满 Big and full buds | 花蕾大, 饱满 Big and full buds |
| 8 | ‘小町’ ‘Komachi’ | 大花重瓣型 Double flower | 绣球型 Hydrangea | 花蕾小, 不饱满 Small and un full buds | 花蕾小, 数量多, 不饱满 Small, mickle and un full buds |
| 9 | ‘Lanarth’ | 大花平瓣型 Flat petals | 蕾丝帽型 Lace hat type | 花蕾大, 饱满 Big and full buds | 花蕾大, 数量多, 饱满 Big, mickle and un full buds |
| 10 | ‘初恋’ ‘First love’ | 大花平瓣型 Flat petals | 蕾丝帽型 Lace hat type | 花蕾大, 饱满 Big and full buds | 花蕾大, 数量多, 饱满 Big, mickle and un full buds |

JSM-6390LV 型扫描电子显微镜下拍照观察、拍照、测量和统计。

选取有代表性的视野分 1 000×(群体)、5 000×(个体形态,赤道面,萌发沟)、10 000×(局部,纹饰和极面观)进行拍摄及利用 Excel 收集数据。每个品种取 10 粒花粉粒测量长轴 L、短轴 W、萌发沟长度以及萌发沟脊面宽度,取最大值和最小值,利用 SPSS 计算平均值,标准差以及 DUNCAN 多重比较分析;花粉粒大小以长短轴积(L×W)表示;花粉粒形状用长短轴比(L/W)表示, $L/W \geq 2$ 为超长球形, $2 > L/W > 1.5$ 为长球形, $1 < L/W \leq 1.5$ 为近球形(张梅等, 2019);对花粉大小形态、极面特征、萌发沟特征(每个品种统计 3 粒花粉的萌发沟长度与萌发沟脊面宽度)及外壁纹饰进行描述。

作者贡献

陈海霞、周静伟是本研究的实验设计和实验研究的执行人;陈海霞、周静伟完成数据分析,论文初稿的写作;吴晓梦、周慧晶及邹剑锋参与实验设计,试验结果分析;陈海霞是项目的构思者及负责人,指导实验设计,数据分析,论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

致谢

本研究由国家自然科学基金项目(31201656)与湖南省自然科学基金项目(2017JJ3105)共同资助。

参考文献

- Chen H.Y., 1954, Research on the information of Hydrangeoideae, Zhiwu Fenlei Xuebao (Acta Phytotax Sin), 3 (2): 108-161 (陈焕镛, 1954, 绣球亚科资料的研究, 植物分类学报, 3(2): 108-161)
- Chen W.W., He X.J., Zhang X.M., and Pu J.X., 2007, Pollen morphology of the genus angelica from Southwest China and its systematic evolution analysis, Xibei Zhiwu Xuebao (Northwestern Journal of Botany), 27(7): 1364-1372 (陈薇薇, 何兴金, 张雪梅, 蒲吉霞, 2007, 中国西南地区当归属植物花粉形态及其系统进化分析, 西北植物学报, 27(7): 1364-1372)
- Chen Y., Mou Z.S., Zhang Y.H., Yu Y., Wang N., Wang F., Huo Y.L., Sun K., and Gong G.H., 2019, Discussion on the pollen morphology, evolution and classification of *Allium* spp. in Changbai Mountains, Jilin Agriculture, (15): 52, 102 (程艳, 牟忠生, 张宇航, 于娅, 王娜, 王飞, 霍云龙, 孙凯, 宫国辉, 2019, 长白山区大葱的花粉形态及其演化和分类的探讨, 吉林农业, (15): 52, 102)
- Ertman G., ed., 1978, Handbook of palynology, Paleobotany Research Office, Sporopollen Group, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, trans., Science Press, Beijing, China, pp.10-60 (额尔特曼 G., 主编, 中国科学院植物研究所古植物研究室孢粉组, 主译, 1978, 孢粉学手册, 科学出版社, 中国, 北京, pp.10-60)
- Hao G., and Hu Q.M., 1996, A study of pollen morphology of Hydrangeoideae (Hydrangeaceae), Redai Yaredai Zhiwu Xuebao (Journal of Tropical and Subtropical Botany), 4(3): 26-31 (郝刚, 胡启明, 1996, 绣球亚科花粉形态的研究, 热带亚热带植物学报, 4(3): 26-31)
- Liu Z.H., Xie Q., and Li Z.Q., 2013, Taxonomical status of *Pinus tabulaeformis* f. *shekannensis* Yao et Hsü based on morphological characteristics of pollen grain under SEM, Xiebei Linxueyuan Xuebao (Journal of Northwest Forestry University), 28(2): 61-65 (刘志红, 解庆, 李周岐, 2013, 基于花粉粒扫描电镜特征的柴松分类地位研究, 西北林学院学报, 28(2): 61-65)
- Lu J.G., and Xiong G., 2010, Pollen grain characteristics under SEM for classification of *Chimonanthus praecox* cultivars, Nanjing Linye Daxue Xuebao (Journal of Nanjing Forestry University (Natural Science Edition)), 34(4): 145-148 (芦建国, 熊刚, 2010, 蜡梅品种花粉粒扫描电镜特征的研究, 南京林业大学学报(自然科学版), 34(4): 145-148)
- Qi X.J., Wang R., Lan Y.P., Chen J.Y., Gu H., and Fang J.B., 2017, Morphologic study of pollens of three cultivated *Actinidia* species by scanning electron microscopy, Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science), 34 (11): 1365-1373 (齐秀娟, 王然, 兰彦平, 陈锦永, 顾红, 方金豹, 2017, 3 个猕猴桃栽培种花粉形态扫描电镜观察, 果树学报, 34(11): 1365-1373)
- Wei G.Q., Li F.D., Sun Y.G., Sun Y., and Yang X.H., 2014, Observation of pollen grains of twenty sweet cherry cultivars with scanning electron microscope, Guoshu Xuebao (Journal of Fruit Science), 31(S): 41-47 (魏国芹, 李芳东, 孙玉刚, 孙杨, 杨兴华, 2014, 甜樱桃 20 个品种花粉粒形态扫描电镜观察, 果树学报, 31(增刊): 41-47)
- Wei L., 2007, Pollen morphological comparison of three subshrubby peony species in *Paeonia* L., Qinghai Daxue Xuebao (Journal of Qinghai University (Nature Science)), 25(6): 52-53 (魏乐, 2007, 牡丹种间花粉粒形态差异性比较, 青海大学学报(自然科学版), 25(6): 52-53)
- Wu H.X., Liu L.T., Liao B.Y., and Mo X.Y., 2012, Pollen morphology and resulting taxonomic implications of 20 *Eucalyptus* species and progenies, Zhongnan Linye Keji Daxue Xuebao (Journal of Central South University of Forestry & Technology), 32(3): 29-36 (武海霞, 刘丽婷, 廖柏勇, 莫晓勇, 2012, 20 种桉树及杂交种的花粉形态分析及分类学意义, 中南林业科技大学学报, 32(3): 29-36)

- Xiao Y.H., Fu C.N., Ou S.H., Zhang S.N., and Mei Z.M., 2014, Pollen morphology of 6 kinds of pummelo (*Citrus grandis* L.), *Nanfang Nongye Xuebao* (Journal of Southern Agriculture), 45(9): 1616-1620 (肖远辉, 傅翠娜, 区善汉, 张社南, 梅正敏, 2014, 6个柚类品种花粉形态观察, 南方农业学报, 45(9): 1616-1620)
- Xue X.M., Wang J.Z., Lu C., and Wang G.P., 2012, SEM observation on the pollen morphology of pollinated species and cultivars in apple, *Huanan Nongye Daxue Xuebao* (Journal of South China Agricultural University), 33(2): 188-191 (薛晓敏, 王金政, 路超, 王贵平, 2012, 苹果专用授粉品种和栽培品种花粉形态扫描电镜观察, 华南农业大学学报, 33(2): 188-191)
- Yuan T., and Wang L.Y., 2002, Discussion on the origination of Chinese tree-peony cultivars according to pollen grain morphology, *Beijing Linye Daxue Xuebao* (Journal of Beijing Forestry University), 24(1): 5-11 (袁涛, 王莲英, 2002, 根据花粉形态探讨中国栽培牡丹的起源, 北京林业大学学报, 24(1): 5-11)
- Zeng Y., Yang Q.W., and Yu S.J., 2018, Research progress of *Hydrangea* breeding, *Guangdong Nongye Kexue* (Guangdong Agricultural Sciences), 45(6): 36-43 (曾奕, 杨伟权, 郁书君, 2018, 绣球花的育种研究进展, 广东农业科学, 45(6): 36-43)
- Zhang M., Xia C.Y., Fu L.Z., Liu Z.B., and Yu S.X., 2019, Pollen morphology of *Hydrangea* L. (Hydrangeaceae) and its related genera, *Guangxi Zhiwu* (Guihaia), 39(3): 297-311 (张梅, 夏常英, 傅连中, 刘正博, 于胜祥, 2019, 绣球属(*Hydrangea* L.)及近缘属花粉形态的研究, 广西植物, 39(3): 297-311)
- Zhang R., Mao M.M., Liu Z.L., Yang J.M., and Zhang G.J., 2018, SEM observation of pollen morphology of different ornamental crabapple varieties, *Fenzi Zhiwu Yuzhong* (Molecular Plant Breeding), 16(16): 5407-5414 (张锐, 毛萌萌, 刘振林, 杨俊明, 张国君, 2018, 观赏海棠不同品种花粉形态扫描电镜观察, 分子植物育种, 16(16): 5407-5414)
- Zhou J., Bian L.H., Zou L., Zou T.W., Li S.B., and Wang X., 2016, Micro-morphology characteristics of pollen from different strains of *Lonicera japonica* Thunb., *Zhongguo Zhongyiyao Zazhi* (Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine), 31(2): 484-486 (周洁, 边丽华, 邹琳, 邹廷伟, 李圣波, 王晓, 2016, 不同品系忍冬花粉粒微形态特征比较, 中华中医药杂志, 31(2): 484-486)