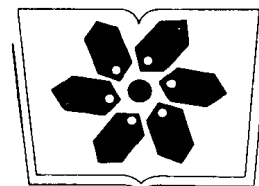


植物花粉剥离观察
扫描电镜图解

蓝盛朝 李瑞芳 著

科学出版社



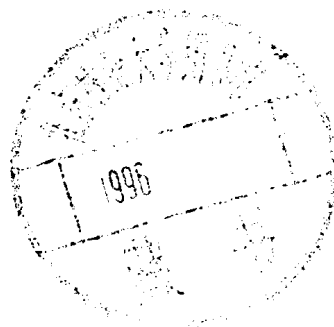
中国科学院科学出版基金资助出版

1414/30

植物花粉剥离观察扫描电镜图解

蓝盛银 徐珍秀 著

(国家自然科学基金资助项目)



北林图 A00120342

科学出版社

1996

441684

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书是采用离子剥离新技术的产物,即用作者研制的“离子剥离溅射仪”(ISC-A型,专利产品)所产生的任意向散射离子的适当冲击,将花粉粒的壁层层剥开,逐层观察掩盖于壁层间结合面上的细节,揭示出了大量的用常规方法不能暴露的结构现象和层间关系。显示花粉壁层结合面上的亚微结构是本书的特色,其图像层次分明、形态逼真,有亲临微观现场之感。在导论部分介绍了这一方法的特点和观察技巧。

书中以农林植物包括蜜源和食品花粉植物为主要对象,从其花粉表面、花粉壁断面、壁层结合面直至内壁花粉原生质体的结构特征以扫描电镜图像,按大田作物、蔬菜作物、果树林木、花卉植物、药用植物几个实用类型进行分科图解。共录入 66 科、148 种植物,选用 682 幅图片,反映了孢粉学研究的最新成果。本书还介绍了植物花粉扫描电镜观察的各种样品制备技术,从常规制样法到国内外最新发展起来的新技术,如本书采用的离子剥离技术、冰冻切割、冷冻蚀刻复型技术。

本书可供孢粉学、植物学、植物生殖学、作物遗传育种、生物工程、蜂业和食品花粉工作者及大专院校有关专业师生参考。本书所述剥离技术可为类似生物材料研究提供借鉴。

植物花粉剥离观察扫描电镜图解

蓝盛银 徐珍秀 著

责任编辑 潘秀敏

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

中国科学院印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

*

1996 年 5 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1996 年 5 月第一次印刷 印张: 3 1/2 插页: 67

印数: 1 900 字数: 71 000

ISBN 7-03-005083-5/Q·616

定价: 93.50 元

前 言

孢粉形态是孢粉学研究的基本内容,电子显微术把孢粉形态研究推向了亚显微和超显微水平,当我们将花粉粒的光学显微镜照片与电子显微镜照片加以对照时,不禁会产生隔世之感!生物电镜方法学对生命科学的影响是人所共知的,本书便是采用一种新的研究方法的产物。

在大量生物电镜技术实践中,我们探索出了花粉剥离观察技术,借助于我们研制的剥离溅射仪,采用任意向散射离子的冲击,将花粉粒的外壁层层剥开,暴露出掩盖于壁层间结合面上的细微结构,显示出种种生动的剥离形态,获得了一些前人未曾观察到的结构现象和大量的新的结构图像,这些图像清晰而逼真,有亲临微观现场之感,这对孢粉形态学研究,特别是对孢粉微结构生理研究具有一定的价值。

本书以常见栽培植物花粉粒为主要研究对象,按植物的主要用途分几个类型进行图解。包括大田作物、蔬菜作物、果树林木、花卉植物和药用植物,共 66 科、148 种植物。本书可视为农业孢粉学的一个尝试。

本书可供生命科学有关的大专院校师生、科研部门的植物学、孢粉学、植物生理学和生殖生物学、作物育种学工作者参考。对蜂业和花粉食品工作者、变态反应工作者亦有所裨益。

书中对花粉形态、结构的描述所使用的术语,遵守 G. Erdtman 著“孢粉学手册”(HANDBOOK OF PALYNOLOGY)的规范。

十多年来,我们对植物花粉扫描电镜观察的各种方法做了大量的实验探讨,从常规制样技术到特殊制样技术,如花粉剥离观察技术、花粉冰冻切割和冰冻蚀刻技术等都经过了反复实验,不揣其浅陋一并整理入册,以供同行参考。

国际电子显微镜联合会会长、日本大坂大学教授桥本初次郎先生对我们的工作给予了许多支持和关心,在编写过程中,植物遗传学家欧阳俊闻教授、孢粉学家[张金谈]教授、陆文梁教授、曹流教授,植物生理学家谭克辉教授给我们许多帮助和指导。中国科学院科学出版基金委员会、科学出版社及其武汉办事处的专家、领导、工作人员在学术上和资金上为本书出版做了大量工作并提供了保证。借该书一隅表示衷心的感谢。由于作者水平所限,罅漏之处在所难免,望读者不吝赐教。

作者 蓝盛银

徐珍秀

1991 年 12 月于武汉市

目 录

前言

一、导论	1
二、花药及花粉粒的产生与萌发	3
(一)花药的表面形态	3
(二)花药的结构	4
(三)小孢子母细胞的分裂及小孢子的发生	4
(四)花粉粒在雌蕊柱头上的萌发	4
三、花粉形态综合图解	5
(一)花粉粒的表面雕纹	5
(二)花粉壁的结构	6
(三)花粉萌发孔	7
(四)花粉萌发孔的内表面观	8
(五)内壁包裹的花粉原生质体形态	9
(六)复合花粉粒	10
四、常见栽培植物花粉形态分类图解	11
(一)大田作物	11
(二)蔬菜作物	17
(三)果树林木	22
(四)花卉植物	28
(五)药用植物	39
五、扫描电镜观察花粉粒样品制备技术	42
(一)花粉粒常规制样技术	42
(二)花粉粒剥离观察技术	45
(三)花粉粒冰冻断裂及冰冻刻蚀技术	47

图版

一、导 论

孢粉学是一门多学科的边缘学科,它在不同应用领域的研究中产生了许多分支,如孢粉形态学、孢粉生理学、大气孢粉学、海洋孢粉学、地质孢粉学、石油孢粉学、医学孢粉学、古孢粉学等等。孢粉学在农业上的应用研究便构成了农业孢粉学,这方面的研究资料不多,有待开展,本书便是这一应用领域的尝试。

农作物的花粉在大气中的分布状况是可以连续测知的,它的消长动态反映农作物的生长状况和农业气候的利弊,也能反映农作物产量的丰歉。

农作物如水稻、玉米、高粱、油菜等花粉败育规律的研究,对作物雄性不育杂交优势在生产上的利用已经产生了巨大的效益,且在不断地推广应用。以远缘杂交育成的杂种后代的花粉粒经常表现出父、母本花粉的某些综合形态,有时也表现出超亲特征。作者曾对100多种梨树及其种间杂种的花粉进行了系统地比较观察,发现其中某些杂交后代的花粉粒,无论是雕纹或是萌发孔的数目、位置、特征都表现出父母本花粉粒综合形态或者过渡形态特征。这对杂种鉴定是很有用的。甘肃省农业科学院用苹果和梨属间杂交育成的新品种“甘金”,它的花粉形态明显地表现出双亲之间的过渡特征,武汉市蔬菜研究所孔庆东教授从数十种莲的花粉形态扫描观察研究后,指出藕莲是进化型花莲是原始型的新观点。

由花粉或花药培养出单倍体植株进而培育出新品种,在这方面的研究,我国已卓有成就,70年代这项工作发展十分迅速,据统计从花药和花粉培育成功的植物已有153种。

近几年来,花粉食品、花粉饮料、花粉酒类风靡各国,以其丰富的营养被冠之为“食品精华”,深受各国人民的欢迎。总之,孢粉学在生产和人民生活之中日益显现其重要性。而孢粉形态的研究则是孢粉学的基本内容。

孢粉学工作者,研究孢粉形态通常以光镜和电镜观察孢粉的轮廓、雕纹,或以切片法、超薄切片法研究孢粉的结构,或以冰冻割断法或冰冻刻蚀技术研究其断面或复型结构,根据这些观察进行分析描述。

在上述研究方法的基础上,经过多年探索,我们找到一种新的观察方法——花粉壁剥离观察法。借助于“剥离溅射仪ISC-A”,产生的任意向散射离子的冲击力,从各个方向冲击花粉粒,将花粉粒的多层壁随机地剥开,可以剥到各个层次上,在原位上暴露出用切片法无法看到的掩盖于壁层间结合面上的细节(每一层内外两个侧面上的细节),配合以场深大、立体感强、分辨率高的扫描电镜观察获得了不少的新的结构信息和大量的新的结构图像。图像生动、清晰逼真,有亲临微观现场之感,显示花粉壁层间结合面上的结构现象是本书的主要特点。现以陆地棉(*Gossypium hirsutum* L.)的花粉粒的剥离观察为例来讨论这种方法的特点和观察技巧(见图版1)。

(1) 既可观察花粉粒的表面形态,又可观察花粉壁的断面结构。

图版1-1示陆地棉花粉粒轮廓和表面纹饰。花粉粒为近球形,具刺状雕纹,刺间有穴

状纹,具多个萌发孔,孔缘不规则。图版 1-2 示花粉壁的断面结构。外壁(exine)由覆盖层(T)(tectum)、柱状层(C)(columnar layer)、基足层(F)(foot layer)(或称底层、或称 N-1 层)、外壁第二内层 N(或称 N-2 层,或称内内层)所组成。从图版 1-2 中还可看清单根基粒棒(b)(baculum)的三维结构,呈圆柱状。

(2) 能观察花粉壁的各层结合面上的细节和层间关系。

从图版 1-2 所示的花粉壁断面结构中,我们很难构思出花粉壁层间结合面上的结构,但用本技术,将花粉壁层层剥开便可观察掩盖在层间结合面上的细节了。采用散射离子冲击将花粉粒表面的刺拔掉后,便在其表面留下一个洞(H),如图版 1-3 所示的结构,洞底部露出了基足层表面的结构,呈现网状,网眼为基粒棒群的下端嵌入处,网脊为基粒棒之间的间隔。洞的周缘能看到基粒棒群,基粒棒顶端横向膨大愈合形成覆盖层(T)。用离子冲击,可将覆盖层去掉,可获得柱状层的顶视图像,如图 1-4,基粒棒顶端密集成颗粒状,在萌发孔的开口位置是没有基粒棒的。图版 1-5 是沿基足层(N-1)的内侧面外壁剥开的图像,可以观察到底层的内侧面比较光滑,而外壁第二内层(N-2)的表面比较粗糙,它的放大图像见图版 1-6,它是包裹在内壁(intine)上的一层薄膜,大量剥离观察证明,N-2 层与 N-1 层紧密地连生着,很难单独剥离下来。图版 1-7 是将外壁剥开后,所观察到的内壁“I”的表面细节,显然比 N-2 层的表面要光滑细致得多。

(3) 能在外壁的内表面上(EIS),由里向外观察萌发孔。

图版 1-8 是将整粒花粉的外壁对半打破,取其中的一半外壁以其内表面转向我们对它进行观察的图像。可见,外壁的内表面比较光滑,在各个方位上分布着萌发孔,每一个萌发孔的四周都有一道环状加厚,被命名为“内孔缘”(IL)(inner labrum),它相对于萌发孔表面的孔缘(labrum)而存在,这种结构无疑具有加固萌发孔的作用。

(4) 可以观察到由内壁所包裹的花粉原生质体。图版 1-9 是冲击离子将外壁掀开一块,在原位上看到的仅由内壁所包裹的花粉原生质体、在内壁球面上分布着多个圆锥状突起(P),被命名为花粉管原始体(pollen tube primordium),在突起的基部四周,有一道环槽(R),它的高倍像参看图 1-7 的下半部。这些内壁上着生的突起物无疑是花粉管的原始阶段。将图版 1-8 与图版 1-9 比较观察可知,外壁内表面上的内孔缘是嵌合在内壁面上花粉管原始体基部环槽(R)中的,而花粉管原始体(P)的突起则插入外壁的孔中,形成了一个多层次的精致的镶嵌结构。当花粉萌发时,花粉管原始体穿过外壁孔延伸出外壁而形成长长的花粉管。

二、花药及花粉粒的产生与萌发

被子植物的花药一般具有 4 个花粉囊,或称小孢子囊(microsporangium),由小孢子母细胞经过减数分裂产生 4 个一群的单倍体细胞,即小孢子(microspore),从四分体释放出来的小孢子便可称为花粉(pollen)，“花粉”一词通常是指 2 细胞或 3 细胞时期的雄配子体(male gametophyte),以此区别于小孢子。花粉成熟后,花药裂开,散出大量的花粉,它们借助于风或昆虫的活动而传播到雌蕊的柱头上,随之花粉在柱头上萌发,长出花粉管,插入柱头,穿过花柱达到胚珠,进入胚囊,释放出精子进行受精过程。

(一) 花药的表面形态

在体视显微镜下能看到花药表皮细胞轮廓,但其细胞表面上的细节是无法看清楚。在扫描电镜下能观察到花药表面的各种精致的细微结构,应该认为是一种“纹饰”,不同植物花药表面的这种“纹饰”差别很大。大约在 500 倍左右,在花药表面的某些部位能观察到气孔器的形态特征及分布状况。值得一提的是花药表面的微结构是多种多样的,特别是在气孔周围的“纹饰”常常呈现出特殊的走向,如果将这种微结构进行研究比较则有利于植物的分类与鉴定。现以几种植物为例图解说明之,见图版 2。

杜鹃 *Rhododendron simsii* Planch. (图版 2-1):表皮细胞很不规则,有的狭长,有的呈多角形,细胞表面光滑没有细节,细胞周边多为折线,气孔近圆形。多分布在花丝与花药着生附近。

紫荆 *Cercis chinensis* Bunge. (图版 2-2):表皮细胞周边有弧线亦有折线,细胞表面密布曲折的平行条纹,气孔椭圆形,多分布在花丝与花药着生的四周。

打碗花 *Calystegia hederacea* Wall. (图版 2-3):表皮细胞狭长,表面光滑无细节,气孔近圆形,多分布在花药缝的两侧。

桂竹香 *Cheiranthus cheiri* L. (图版 2-4):表皮细胞大小比较一致,呈面包状凸起,细胞表面密布弯曲条纹,气孔近圆形,多分布在花药缝两侧。

虎刺梅 *Euphorbia milii* Ch. des Moulins (图版 2-5):表皮细胞凸起而不规则,细胞狭长,表面有弯曲条纹,气孔圆形,多分布在花丝与花药着生周围。

普通小麦 *Triticum aestivum* L. (图版 2-6):表皮细胞呈多角形,细胞表面密集清晰平行的弯曲条纹,且条纹多有急弯和不弯曲两种。这种条纹一到近气孔处则改变其走向,致使气孔得到装点,气孔的保卫细胞表面有平行条纹,气孔圆形,开口狭长。多分布在花药缝的两侧。

(二) 花药的结构

大多数的被子植物具有4个小孢子囊(microsporangium),又称花粉囊(pollen sac),它由药室和药壁所组成,药壁由表皮(epidermis)、药室内壁(endothecium)、中层(middle layer)和绒毡层(tapetum)组成。药室内壁又称纤维层,通常只有一层细胞。中层通常有1—3层细胞,内多有贮藏物。绒毡层细胞为小孢子发育提供营养。根据绒毡层发育后期的形态差别可分为腺质绒毡层和变形绒毡层两种。在花药壁的内表面上分布着许多球状或星状小体,称为乌氏体(ubisch body)。它的直径大约几个微米,乌氏体只在腺质绒毡层上产生,而不发生在变形绒毡层上。不同植物的乌氏体在花药壁内表面上着生的稀密不尽相同。如普通小麦的乌氏体较粟为稀,见图版3。

(三) 小孢子母细胞的分裂及小孢子的发生

由孢原细胞分裂而产生初生壁细胞和初生造孢细胞。初生壁细胞分化发育成花药壁,初生造孢细胞分化产生次生造孢细胞,进而分化产生小孢子母细胞。小孢子母细胞进行减数分裂产生四个一群的单倍体细胞,这就是小孢子。小孢子母细胞减数分裂是一个复杂的连续过程。现仅图示某些阶段,见图版4。

图版4-1显示玉米绒毡层细胞、花粉母细胞和其中处于细胞原位的染色体。图版4-2和图版4-3分别显示玉米的二分体和四分体。图版4-4显示棉花的四分体。

(四) 花粉粒在雌蕊柱头上的萌发

花粉以风或昆虫的活动为传播媒介到达雌蕊的柱头上,当环境条件适宜时(适当的温度和湿度)就会在柱头上萌发,长出花粉管插入柱头中。在远缘杂交或自交不亲和的情况下,雌蕊的柱头表面会产生胼胝质层阻止花粉管插入,花粉管会产生种种异常,见图版5。

普通甘蓝型油菜(自交亲和型)花粉能在柱头上萌发且顺利地将花粉管插入乳突细胞,如图版5-1所示。自交不亲和的甘蓝型油菜(*Brassica napus* L. var. *dichotoma* Prain)如强迫自交,花粉在柱头上也能萌发,但花粉管受到乳突细胞表面胼胝质层的阻挡而不能插入其中,花粉管将产生种种变形,有的末端膨大,有的弯曲盘旋,有的变成节状等等。如图版5-3和图版5-4所示。我们还观察到下述有趣现象:自交不亲和的甘蓝型油菜,在强迫自交的情况下,柱头接触到花粉后,受到花粉携带物质的刺激,在某些乳突上产生了诱导花粉管伸入的“诱导孔”,但当花粉管向诱导孔前进时却被柱头切断了。这个事实说明:①诱导孔的产生与亲和或不亲和无关。②柱头拒绝花粉管的反应不单单是产生胼胝质层来阻挡,还有另外的生理生化机制,还可以产生某种生化物质将花粉管溶解致断。见图版5-2。

图版5-5显示荻[*Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Benth.]的花粉在帚状柱头上的萌发,它们的花粉管能顺利地插入柱头。而将大麦的花粉授到小麦的柱头上,因这是属间远缘杂交,则表现出高度的不亲和性,花粉管末端膨大,花粉管弯曲且缠绕,见图版5-6。



三、花粉形态综合图解

植物花粉的形态具有很强的遗传保守性,世代相传基本上保持固有形态,即具有固定的轮廓,雕纹,萌发孔(或沟)的数目、位置和特征,固有的花粉壁结构,这些形态和结构特征常常用于植物分类鉴定。将花粉的多层壁剥开后观察掩盖于壁层间结合面上的细微结构,不同的植物也不相同,将外壁剥开观察由内壁包裹的花粉原生质体,依其植物不同而形态各异,这些都可作为植物分类鉴定的参考。

(一) 花粉粒的表面雕纹

花粉粒的表面纹饰称为雕纹(sculpture)是异常丰富的,前人已作了详细的描述,归纳为网状纹、刺状纹、棒状纹、条状纹、瘤状纹、疣状纹、穴状纹、颗粒状纹等等,在扫描电镜下高倍观察得知,即使是同一种纹饰细看起来还有多种变化,本书以实际观察拍照列举几种纹饰及其变化特征。见图版 6 和图版 7。

图版 6 中图 1-9 示各种网状纹饰;图版 6 中图 10—12 示各种颗粒纹。图版 7 显示巴豆式复合纹、穴状纹、棒状纹、条状纹、刺状纹。以下分别叙述之。

朱顶兰 *Amaryllis vittata* Ait. (图版 6-1):网纹变化特点是网脊线较宽。网眼的大小非常悬殊,小的网眼是大网眼的 1/20,有些小网眼分布在网脊上。

黄麻 *Corchorus capsularis* L. (图版 6-2):网眼大小比较一致,主要特点是每一个网眼中包含了若干个小网,大网胞网脊高,小网的网脊低。小网眼类似穴状。

金针菜 *Hemerocallis citrina* Baroni (图版 6-3):网胞呈不规则的多角形,网眼大小不均,每一个网眼中都有许多颗粒。

丝瓜 *Luffa cylindrica* Roem (图版 6-4):网脊线宽度比较一致,网眼中无任何细节,所以整个网纹看起来干净清晰。

甘蓝型油菜 *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* DC. (图版 6-5):网脊线特别宽,网眼小。

千日红 *Gomphrena globosa* L. (图版 6-6):具较规则的六边形网胞,网胞大小整齐一致,每个网眼中有一圆形的帽状物。

辣蓼 *Polygonum hydropiper* L. (图版 6-7):网胞呈比较规则的五边形,网胞大小比较一致,每个网眼中有许多颗粒状物,每个网眼的周缘可以看到一些排列整齐的圆柱状基粒棒。

一串红 *Salvia splendens* Ker-Gawl. (图版 6-8):网胞很小,每个网胞中包含有几个微网,网脊线很细小而清晰。

豇豆 *Vigna sinensis* Endl. (图版 6-9):网胞呈不太规则的五边形,整个网形比较模糊,网眼内没有细微结构。

图版 6 中的图 10—12 为三种可以区分的颗粒状纹饰。

水稻 *Oryza sativa* L. (图版 6-10): 颗粒细而密, 大小比较均匀一致。

茄 *Solanum melongena* L. (图版 6-11): 颗粒粗而密, 大小不太一致。

苎麻 *Boehmeria nivea* (L.) Gaud. (图版 6-12): 颗粒大小和形状多变化, 颗粒分布稀密不匀, 常由若干个小颗粒集结成团或集成条。

结香 *Edgeworthia chrysantha* Lindl. (图版 7-1): 这种雕纹在低倍观察时容易误作颗粒纹, 高倍观察可确定是颗粒和网状的复合纹, 由 6—8 个粗颗粒侧面连生形成一个个的网胞, 呈现巴豆式图案, 而每一个粗颗粒上又着生几个细颗粒。

楝 *Melia azedarach* L. (图版 7-2): 在光滑的花粉粒表面, 稀疏地分布一些小穴, 形成穴状纹。

睡莲 *Nymphaea tetragona* Georgi (图版 7-3): 花粉表面稀密不匀地分布着短棒, 形成棒状雕纹。

含羞草 *Mimosa pudica* L. (图版 7-4): 花粉表面密集大小比较均匀的疣, 形成疣状雕纹。

图版 7 中的图 5—7 示几种条状纹饰。

樱花 *Prunus serrulata* Lindl. (图版 7-5): 条纹粗而密集, 在沟的两侧条纹顺着沟的长方向作平行走向。

桃 *Prunus persica* (L.) Batsch (图版 7-6): 条纹细腻而密集, 条纹弯曲多呈弧形, 条纹之间有稀疏的小穴。

天竺葵 *Pelargonium hortorum* Bailey. (图版 7-7): 条纹粗, 弯曲交错, 条纹互不平行。

图版 7 中的图 8—11 示几种刺状雕纹。

陆地棉 *Gossypium hirsutum* L. (图版 7-8): 刺长而尖, 刺基部有膨大的瘤, 刺与刺之间的表面有小穴, 这些小穴是覆盖层的穿孔。

朱槿 *Hibiscus rosa-sinensis* L. (图版 7-9): 刺粗大, 刺端钝圆, 刺基部有环线。

瓜叶菊 *Cineraria cruenta* Masson. (图版 7-10): 刺呈尖三角形, 刺间的表面多小穴。

南瓜 *Cucurbita moschata* Duch. (图版 7-11): 刺分大刺和微刺两种, 大刺粗短, 端部尖锐, 微刺密集类似绒毛。

(二) 花粉壁的结构

花粉壁由外壁(exine)和内壁(intine)组成。内壁是一透明的薄层, 主要成分为果胶纤维素; 外壁比较复杂, 可区分为覆盖层(tectum)、柱状层(columnar layer)、基足层(foot layer)和外壁第二内层(nexine-2)。在孢粉形态学中常将覆盖层和柱状层称为外壁外层(sexine), 而将基足层和基足层下的外壁第二内层称为外壁内层(nexine)。

外壁的主要成分为孢粉素(sporopollenin), 它是类胡萝卜素和类胡萝卜素酯的氧化多聚化衍生物, 质地坚固, 抗酸碱, 抗生物分解。不同的植物花粉壁的层次和各层厚度亦有所不同。本书按 G. Erdtman 的壁层划分法介绍几种类型的花粉外壁层次及结构如下, 见图版 8。

苘麻 *Abutilon avicennae* Gaertn. (图版 8-1): 基粒棒顶端膨大愈合形成全覆盖层, 柱状层发达, 厚约 $0.8\mu\text{m}$, 基粒棒呈圆柱状, 基足层厚约 $0.8\mu\text{m}$, 外壁内层极薄, 与基足层紧密连生, 但界线清晰。

水稻 *Oryza sativa* L. (图版 8-2): 具全覆盖层, 柱状层极薄, 基粒棒为细颗粒状。

大花马齿苋 *Portulaca grandiflora* Hook. (图版 8-3): 具全覆盖层, 柱状层特别发达, 基粒棒呈圆柱状, N-2 层不明显, 外壁内表面呈现网状纹饰。

结香 *Edgeworthia chrysantha* Lindl. (图版 8-4): 基粒顶端侧面连生形成半覆盖层, 柱状层发达, 基粒棒呈圆柱状, 其特点是基足层特别薄, N-2 膜不明显。

芥菜型油菜 *Brassica juncea* (L.) Coss. (图版 8-5): 具半覆盖层, 柱状层发达。

天竺葵 *Pelargonium hortorum* Bailey. (图版 8-6): 具半覆盖层, 柱状层发达。

芝麻 *Sesamum indicum* L. (图版 8-7): 无覆盖层, 表面上的瘤状颗粒就是基粒棒。基足层发达, N-2 层明显可见。

(三) 花粉萌发孔

在被子植物中萌发孔很复杂, 是植物种属鉴定的重要依据之一。萌发孔按其形状一般分为两种类型; 一为沟(colpus), 是指长萌发孔, 长轴至少为短轴的 2 倍以上, 二为孔(porus), 是指短萌发孔, 长轴不超过短轴的 2 倍, 或者为圆形。按萌发孔的结构分为简单萌发孔和复合萌发孔, 前者指萌发孔为单一形式, 或者为单一的沟, 或者为单一的孔。后者指萌发孔由两个不同的部分所组成, 如孔沟(colporate)在沟的中央部位有一孔, 称之为“内孔”(os)。孔孔型(pororate)它由外面的孔和里面的孔所组成。G. Erdtman 根据萌发孔的数目 N (拉丁文 numerus)、位置 P (拉丁文 positio)、特征 C (拉丁文 character) 提出 NPC 分类系统, 该系统简便易行, 广为采用, 在具体应用这一系统时, 需要对花粉萌发孔进行比较研究, 认真分辨。本书以实际观察各种代表型花粉萌发孔的拍照加以阐述。见图版 9 和图版 10。

高粱 *Sorghum vulgare* Pers. (图版 9-1): 只有一个萌发孔, 在远极面上, 具圆形的规则的孔缘、圆形孔盖, 属单孔型。

蜀葵 *Althaea rosea* Cav. (图版 9-2): 花粉粒表面密布萌发孔, 属散孔型, 无孔缘, 具孔盖。孔盖易脱落。

南瓜 *Cucurbita moschata* Duch. (图版 9-3): 具多个萌发孔, 孔呈圆形, 具大而凸起的孔盖。孔缘不明显。

打碗花 *Calystegia hederacea* Wall. (图版 9-4): 具多个萌发孔、散孔型, 孔呈椭圆形, 具孔盖, 孔盖上有微刺。

荷花玉兰 *Magnolia grandiflora* L. (图版 9-5): 具单沟, 沟狭长, 有沟膜。

川贝母 *Fritillaria cirrhosa* D. Don (图版 9-6): 具单沟, 沟较宽, 沟面上有许多颗粒物。

旱金莲 *Tropaeolum majus* L. (图版 9-7, 9-8): 有 3 条孔沟, 沟较宽而短, 沟的中央有内孔, 具内孔盖, 孔盖椭圆形, 孔盖上多颗粒物。

长叶冻绿 *Rhamnus crenata* Sieb. et Zucc. (图版 9-9, 9-10): 具 3 条孔沟, 沟狭长, 沟

中央有内孔,内孔盖突出,其表面光滑。内孔盖椭圆形。

四季报春 *Primula obconica* Hance. (图版 10-1,10-2):有 3 条沟,沟狭长,3 条沟在极面上交会形成合沟,无沟膜。

栎树 *Koelreuteria paniculata* Laxm. (图版 10-2,10-3):具 3 沟,沟较深而狭长,3 条沟在极面上没有交会,留下一个沟界极区。

烟草 *Nicotiana tabacum* L. (图版 10-5):具 4 条沟,沟端呈清晰的 35 度左右的夹角。沟在极面上没有交会,形成宽大的沟界极区。

梨 *Pyrus pyrifolia* var. *culta* (Mak.) Nakai (图版 10-6):有 3—5 条孔沟,具内孔盖,孔盖上有颗粒物。

令箭荷花 *Epiphyllum ackermannii* Haw. (图版 10-7):具多沟,沟狭窄而弯曲,多条沟分布在花粉粒表面形成散沟型,沟面上有条状或颗粒状物。

一串红 *Salvia splendens* Ker-Gawl. (图版 10-8):具 6 条沟,左右对称均匀分布,沟面上有细颗粒物。

芝麻 *Sesamum indicum* L. (图版 10-9):具 10—12 条沟,辐射对称,均等分布,沟狭长,具圆形的沟界极区。

(四) 花粉萌发孔的内表面观

花粉萌发孔或萌发沟的内表面观是指用剥离法将外壁剥开,观察外壁的内表面,从这个面上能观察到花粉萌发孔或萌发沟的内表面细节,不同植物花粉有所不同。这可以为植物分类鉴定提供某些依据,还可为花粉微结构生理生化研究提供某些佐证。图版 11 显示几种类型的萌发孔或萌发沟的内表面上形态特征。

大量剥离观察得知,花粉萌发孔或萌发沟的内表面形态普遍存在以下事实:具单个萌发孔的花粉类型如禾本科植物,其萌发孔内表面上,沿孔的四周有一道加厚环状结构,形成“内孔缘”(inner labrum)。具多个萌发孔的花粉粒,如锦葵科、菊科等植物的花粉粒萌发孔内表面上有两种情况:一种有明显的内孔缘,如苘麻、棉花,另一种无内孔缘,如蜀葵、打碗花等。萌发沟的内表面上,无论是单沟或是多沟都没有沿沟加厚的结构,在沟区内表面上仅有一层薄膜,就是外壁第二内层,所以沟区是整个花粉粒的最脆弱的部位,在剥离处理时,很容易沿沟裂开。另外在萌发孔或萌发沟的内表面上,在沿孔或沿沟处常常可观察到一些颗粒状、片状或呈不规则形状的物质,推测应是内壁蛋白。萌发孔或沟是内壁蛋白释放的通道。

玉米 *Zea mays* L. (图版 11-1):外壁内表面光滑,在萌发孔的四周有一道环状加厚,形成较低的内孔缘。

南瓜 *Cucurbita moschata* Duch. (图版 11-2):在外壁内表面上虽然较光滑,但仍能看到某些不连续的微纤维状的细节。在萌发孔四周加厚不明显,孔被孔盖盖住,孔盖内表面上沉积有不规则的物质。

陆地棉 *Gossypium hirsutum* L. (图版 11-3):外壁内表面上光滑无细节,多个萌发孔等距离分布,每个孔的四周有高而规则的圆形内孔缘。

苘麻 *Abutilon avicennae* Gaertn. (图版 11-4):外壁内表面上光滑无细节,萌发孔的

四周有规则的圆形内孔缘。

蜀葵 *Althaea rosea* Cav. (图版 11-5): 外壁内表面光滑, 密布萌发孔, 完全不具内孔缘。

打碗花 *Calystegia hederacea* Wall. (图版 11-6): 外壁内表面光滑, 具多个孔, 无内孔缘。

落花生 *Arachis hypogaea* L. (图版 11-7): 外壁内表面上呈现波纹状细节, 萌发沟内表面上多颗粒状物。

紫薇 *Lagerstroemia indica* L. (图版 11-8): 外壁内表面上现不明显的穴状、细条状细节, 萌发孔四周没有内孔缘, 孔处有外壁第二内层覆盖着。

芝麻 *Sesamum indicum* L. (图版 11-9): 外壁内表面光滑, 沿萌发沟两侧有皱状细节, 具条沟, 沟区有一层薄膜, 是外壁第二内层, 它容易裂开。

(五) 内壁包裹的花粉原生质体形态

大量剥离观察证明, 采用剥离法处理各种植物花粉粒时, 常常是沿外壁和内壁的界面剥开, 这是因为外壁和内壁属不同质地, 这种异质结合不牢固, 故此我们用剥离法很容易获得由内壁所包被的完整的花粉原生质体。而内壁和花粉原生质体膜结合很牢固, 几乎不能分离, 只能采用酶解法将内壁溶解掉。内壁花粉原生质体与体细胞原生质体不同, 仅就形态而论, 它总是具有同种植物花粉粒的相应形态。在内壁花粉原生质体的表面上着生有与花粉萌发孔相同数量的“花粉管原始体”(pollen tube primordium), 有的在内壁上有微孔, 如豆科植物、十字花科植物一般都能观察到这种微孔。有的有脂滴, 如油菜内壁花粉原生质体表面就有许多大小不一的脂滴。禾本科植物的内壁花粉原生质体的表面有一层胶状蛋白, 在经脱水干燥处理之后, 这层胶状蛋白凝聚成不定形的片状结构。由于内壁上胶状蛋白凝聚收缩便牵动花粉外壁, 使花粉粒表面皱缩变形, 所以禾本科植物花粉粒, 在样品处理过程中, 如不及时固定, 或固定时间太长, 脱水、干燥不当都容易引起变形。剥离法获得的内壁花粉原生质体与酶解法得到的花粉原生质体具有不同的特点: 用酶解法得到的花粉原生质体虽然整体轮廓未变, 但失去了表面上的细微结构, 一般内壁已被溶解仅存原生质膜; 用剥离法获得的花粉原生质体完整地保存了内壁上的细微结构, 具有形态学研究价值。

图版 12 显示几种植物的内壁花粉原生质体形态特征。

金鱼草 *Antirrhinum majus* L. (图版 12-1): 呈球形或近球形, 内壁表面光滑, 具有 3 个花粉管原始体, 其形状呈圆形突起。这 3 个花粉管原始体分别与 3 条萌发孔沟的内孔相嵌。

豌豆 *Pisum sativum* L. (图版 12-2): 呈长球形, 内壁表面光滑, 有 3 个花粉管原始体。

月季 *Rosa chinensis* Jacq. (图版 12-3): 呈圆球形, 内壁表面光滑, 具 3 个花粉管原始体。

苘麻 *Abutilon avicennae* Gaertn. (图版 12-4): 呈圆球形, 内壁表面很光滑, 具 3 个圆柱状花粉管原始体。花粉管原始体较长。

陆地棉 *Gossypium hirsutum* L. (图版 12-5): 圆球形, 内壁表面光滑, 在球面上均匀地、等距离地分布着 21 个花粉管原始体, 它们的形状规则大小一致, 呈圆锥状突起, 准确地嵌入外壁的孔中。在每一个花粉管原始体的基部的四周有一道环形凹槽, 它与外壁上的内孔缘紧密嵌合。

烟草 *Nicotiana tabacum* L. (图版 12-6): 近球形, 内壁表面光滑, 具 4 个花粉管原始体, 其形状呈圆球状, 分别嵌入 4 条孔沟的内孔中。

芝麻 *Sesamum indicum* L. (图版 12-7): 呈扁球形, 两个极面扁平, 状如齿轮, 具明显的齿脊和齿槽。内壁表面光滑, 没有突起的花粉管原始体。

芥菜型油菜 *Brassica juncea* (L.) Coss. (图版 12-8): 呈圆球形, 内壁表面分布着许多颗粒状物质, 可能是脂滴。这些颗粒如果用离子技术将它们扫掉后, 便暴露出颗粒下的内壁微孔, 它们是配子体与外壁的物质输送通道。

落花生 *Arachis hypogaea* L. (图版 12-9): 圆球形, 内壁表面上有许多微孔, 没有花粉管原始体。

(六) 复合花粉粒

大多数植物的小孢子四分体时期是短暂的, 由于胼胝质的溶解四分体中的四个小孢子彼此分开释放到药室中, 然而某些植物的小孢子发育成熟后, 仍然保留在四分体之中而不分开, 发育成复合花粉粒。如杜鹃科、夹竹桃科、萝藦科、兰科等。

图版 13 显示两种植物的复合花粉粒特征。

杜鹃 *Rhododendron simsii* Planch. (图版 13-1): 花粉复合体为四合体, 有两种复合方式: 一为正四面体, 一为十字形排列, 具三孔沟, 无沟膜。在复合体表面常有零乱的纤丝, 表面纹饰模糊。

梔子 *Gardenia jasminoides* Ellis. (图版 13-2): 四合体其复合方式有正四面体和十字形排列。四合体中每粒花粉有 3 个萌发孔, 复合体上每两粒花粉的萌发孔相邻, 萌发孔具有突出的孔盖, 因此常常观察到两个圆球形的孔盖并联着。

四、常见栽培植物花粉形态分类图解

显微照片上的文字标注说明如下：

- A: 萌发孔 (aperture)
- B: 基粒棒 (baculum)
- C: 柱状层或称基粒棒层 (columnar layer 或 baculum layer)
- Co: 萌发沟 (colpus)
- Cos: 萌发孔沟 (colp-os 或 colp-orate)
- IES: 外壁内表面 (inner side of exine)
- F: 基足层或称 N-1 层 (foot layer 或 nexine-1)
- I: 内壁 (intine)
- IL: 内孔缘 (inner labrum)
- L: 孔缘 (labrum)
- M: 内壁上的微孔 (micropore on intine)
- N: 外壁第二内层或称 N-2 层 (nexine-2)
- O: 孔盖 (operculum)
- P: 花粉管原始体 (pollen tube primordium)
- T: 覆盖层 (tectum)

(一) 大田作物

1. 向日葵 *Helianthus annuus* L. (图版 14)

菊科 Compositae 向日葵属 *Helianthus* L.

花粉球形或近球形,直径约 27—29 μm ,具三孔沟,内孔纵长,具圆形内孔盖。沟宽约 3.5—4.0 μm ,沟长 15—16 μm ,具刺状雕纹,刺粗大,刺长约 5—6 μm ,刺基部膨大为瘤状,刺瘤上有穿孔,刺端尖锐。外壁厚约 1.5 μm ,外壁外层厚于外壁内层。基足层内表面上有许多孔,每一个孔的位置恰好是刺基部的中心部位,说明刺基部是中空的,见图版 14-3。外壁第二内层的外表面比较光滑,但能观察到一些模糊的颗粒。见图版 14-3。内壁的表面比较光滑,见图版 14-4。

2. 甘蓝型油菜 *Brassica napus* L. ssp. *oleifera* DC. (图版 15)

十字花科 Cruciferae 芸台属 *Brassica* L.

花粉近球形或长球形,长轴 27—29 μm ,短轴 22—24 μm 。极面观为三裂圆形,具三沟,沟宽约 2 μm ,沟长 14—15 μm ,在沟区有粗颗粒,在极面上有明显的沟界极区。具网状雕纹,壁厚约 1.5 μm ,外壁外层厚于外壁内层。其覆盖层为网状,属半覆盖层类型,它由基粒

棒群的顶端膨大横向联生而成,它的覆盖层是可以剥离下来的,见图版 15-4,覆盖层剥掉后,在基足层的外表面仍为网状,如图版 15-3。外壁的内表面呈拟网状如图版 15-2,内壁的表面上颗粒物,推测为脂滴和内壁蛋白。当这些颗粒脱落后便暴露出内壁上的微孔,证明内壁微孔是配子体与外壁之间的物质输送通道,见图版 15-6。

3. 芥菜型油菜 *Brassica juncea* (L.) Coss. (图版 16)

十字花科 芸苔属

花粉近球形,直径约 22—24 μm ,具三沟,极面观为三裂圆形。沟宽约 1.5 μm ,沟长约 15—16 μm ,沟区多颗粒。具网状雕纹,壁厚约 1.8 μm ,外壁外层厚于外壁内层。与甘蓝型油菜花粉纹饰相比较其突出的特点是网胞很不规则,网脊宽,呈折线状,网眼不规则,呈长方形或多角形。内壁表面颗粒粗大,颗粒脱落后暴露出内壁上的微孔,如图版 16-3 所示,外壁的内表面呈拟网状,见图版 16-4。

4. 蓖麻 *Ricinus communis* L. (图版 17)

大戟科 Euphorbiaceae 蓖麻属 *Ricinus* L.

花粉近球形,直径约 25—27 μm ,具三孔沟,沟狭长,沟宽 1 μm 以下,沟长约 17—19 μm ,内孔横长,沟面上有颗粒,具明显的沟界极区。具颗粒状雕纹,颗粒容易脱落,相当数量的颗粒脱落后显现出一些穴状纹。外壁厚约 2.0 μm ,外壁外层厚于外壁内层。外壁内表面呈模糊的颗粒纹,见图版 17-3。内壁表面呈模糊的穴状,有 3 个突出的花粉管原始体,如图版 17-4 所示。

5. 大麦 *Hordeum vulgare* L. (图版 18)

禾本科 Gramineae 大麦属 *Hordeum* L.

花粉近球形或近长球形,长轴约 32—34 μm ,短轴约 28—30 μm ,具单孔、远极孔,孔呈规则的圆形,孔径 2.5—3 μm 。孔的四周有一道环状加厚形成孔缘,孔缘宽约 3 μm 。具孔盖,孔盖与孔缘之间有一道环状间隙。具细颗粒雕纹。壁厚约 1.2—1.5 μm ,外壁外层与外壁内层近于等厚。外壁的内表面较光滑,在萌发孔处有较低的环形内孔缘,如图版 18-2。内壁的表面很粗糙,是由内壁上的胶状蛋白脱水干燥皱缩而形成的不定形粗颗粒或片状结构,有一个突起的花粉管原始体,其表面很光滑,如图版 18-4。

6. 荻 *Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Benth. (图版 19)

禾本科 芒属 *Miscanthus* Anderss

花粉圆球形,直径约 34—36 μm ,具单孔,远极孔,孔呈规则的圆形,孔径约 2.7—3.0 μm ,具孔缘和孔盖,孔盖与孔缘之间有环状间隙。具细颗粒雕纹。壁厚约 1.0—1.2 μm ,外壁外层等厚于外壁内层。外壁内表面光滑,在萌发孔处内孔缘不明显,内壁的表面较光滑,如图版 19-3—4 所示。外壁第二内层的表面呈模糊的粗颗粒状,如图版 19-2。

7. 稻 *Oryza sativa* L. (图版 20)

禾本科 稻属 *Oryza* L.