

堇菜属植物花粉及叶表皮超微形态多样性的研究

李连方

(中国农业大学生物学院)

尹祖棠

(北京师范大学生物系)

摘要 对华北地区分布的 25 种堇菜属植物花粉和 26 种堇菜属植物叶表皮进行了形态观察。结果表明: 堇菜属植物花粉外壁光滑, 无纹饰; 三色堇具有 5 个萌发沟, 其他物种具有 3 个萌发沟; 叶表皮具有复杂的多样性特征, 对该属分类提供有价值的证据; 支持成立裂叶堇菜组和将毛萼堇菜作为细距堇菜一个亚种的意见。

关键词 堇菜属; 花粉; 叶表皮; 形态学

分类号 Q 949

Studies of Ultrastructural Diversity on Pollen and Leaf Epidermis of the Genus *Viola* L.

Li Lianfang

(College of Biology, CAU)

Yin Zutang

(Dept. of Biology, BNU)

Abstract The pollen morphology of 25 species and the leaf epidermis morphology of 26 species in Genus *Viola* in North China were observed. The results showed that pollen wall of all of the Genus is smooth. There are 3 or 4 geminal grooves on the pollen of the Genus except *V. tricolor* (5 grooves). The leaf epidermis morphology of the Genus is diversified, so these characters are of considerable taxonomic significance. It is suggested that the section *Pinnatae* was established and that the species *V. trichosepala* (Becker) Juz. is deleted as a ssp. of *V. tenuicornis* Becker.

Key words *Viola*; pollen; leaf epidermis; morphology

1975 年 Behnke^[1] 提出“超微结构分类学”概念, 为分类学寻求广泛的证据开辟了新的研究领域。国内外有关植物细微结构的观察报告不胜枚举, 但对堇菜属的研究却未见有报道。1992 年生物多样性科学作为分支学科被正式提出后, 又为“超微结构分类学”注入了新的研究内容和对观察资料新的解释。目前, 分类学和生态学在生物多样性领域日趋融合。尤其是对植物细微结构和形态多样性的不断揭示, 将对植物演化、亲缘关系、与环境的相互适应以及生物多样性的维持机制等方面问题的解释具有非常重要的意义。

堇菜属 *Viola* 是林奈于 1753 年以香堇菜 *Viola odorata* 为模式建立的。为北温带广布属, 全世界约有 500 种, 中国有 111 种^[2]。本属许多植物具有经济价值, 如鸡腿堇菜 *V. acuminata* 等植物可以食用, 紫花地丁 *V. philippica* 等植物是常见的中草药, 紫花地丁和早开堇菜 *V. prionantha* 是很有开发潜力的地被植物。此外, 如细距堇菜 *V. tenuicornis* 等植物的花具有浓郁的玫瑰香气, 其开发价值有待进一步研究。由于该属种类多、分布广和变异大, 而且普遍存在杂

收稿日期: 1999-11-10

李连方, 北京圆明园西路 2 号中国农业大学(西校区), 100094

交和闭花受精现象,所以在被子植物分类学中一直是个较为困难的类群。历史上,有许多学者曾对该属进行过研究,但都局限于经典分类学方面,而且至今仍存在许多有争议的问题。所以对该属植物细微结构多样性的揭示将不仅在分类学上具有意义,而且还有助于对该属植物的生态学适应等问题的了解。此外,该研究结果也可用于植物检疫、中草药鉴定以及古生物学研究等。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所采用的材料多数为作者采集,凭证标本现存于北京师范大学植物标本室。

1.2 花粉研究方法^[3]

取花药若干放于干净载片上,加几滴水后置酒精灯上煮沸(勿使水蒸干),去除花药残片,滴加少许酒精去脂。染色后,甘油胶封片,油镜观察。电镜观察则将花粉直接散于胶带上,喷金后观察。除三色堇放大倍数为 1.28 k 外,其余各种均为 2.50 k。

1.3 叶表皮研究方法

取成熟、发育正常的叶片,水煮 10 min(难于撕取表皮者,置 1%~5% 次氯酸钠液中,30 恒温离析)后,轻轻撕取叶近中部的表皮。经酒精梯度脱水,1% 番红染色,光镜下观察并拍照。40 倍物镜下测量气孔,气孔频率为 5 个视野的气孔数目,气孔指数根据下式计算:

$$I = \frac{S}{S + E} \times 100\%$$

式中: I 为气孔指数; S 为一定面积内气孔的数目; E 为相同面积内表皮细胞的数目。

电镜观察,取正常发育的叶片,用毛笔轻轻扫除表面杂质,剪取叶中部小块,置胶带上,喷金后观察,放大倍数为 350 倍。

2 结果与分析

2.1 花粉

堇菜属植物 25 种及一个亚种的光镜和电镜观察结果表明:所有物种的花粉外壁光滑,缺乏纹饰(图 1)。花粉纹饰通常有利于昆虫传粉,堇菜属植物具有较发达的蜜腺吸引昆虫传粉,但并不仅仅依赖于昆虫传粉,闭花受精在该属植物中就很普遍。除三色堇 *V. tricolor* 花粉为五边柱状和具有 5 个萌发沟(图 1-4)外,其余各种均为长圆形,且具有 3 或 4 个萌发沟(图 1-1~3)。这进一步证明了分支分类学研究的结果^[4,5],即以三色堇为代表的美丽堇菜亚属 *M. elanium* 与其他各亚属的关系较为疏远。表 1 显示除美丽堇菜亚属以外,很难在亚属和组间寻找规律,堇菜属花粉特征种间具有一定的差异,但不显著。因此,花粉特征不适于作为堇菜属的分类依据。但结合萌发沟的超微形态特征,可用于某些近缘种间的鉴别,如蒙古堇菜 *V. mongolica* 和北京堇菜 *V. pekinensis* 在萌发沟的宽度上具有不同的特征。此结果与果实和种子形态学研究^[6]一致。

2.2 叶表皮

堇菜属植物叶表皮观察结果表明(表 2,图 1-5~8):横列细胞型和不等细胞型气孔是该属

普遍存在的类型。以三色堇为代表的美丽堇菜亚属具有围绕细胞型气孔；以双花黄堇菜 *V. biflora* 为代表的二裂柱头亚属 *D. ischidium* 具有极细胞型气孔；而堇菜亚属 *V. viola* 不具有以上 2 种气孔类型。

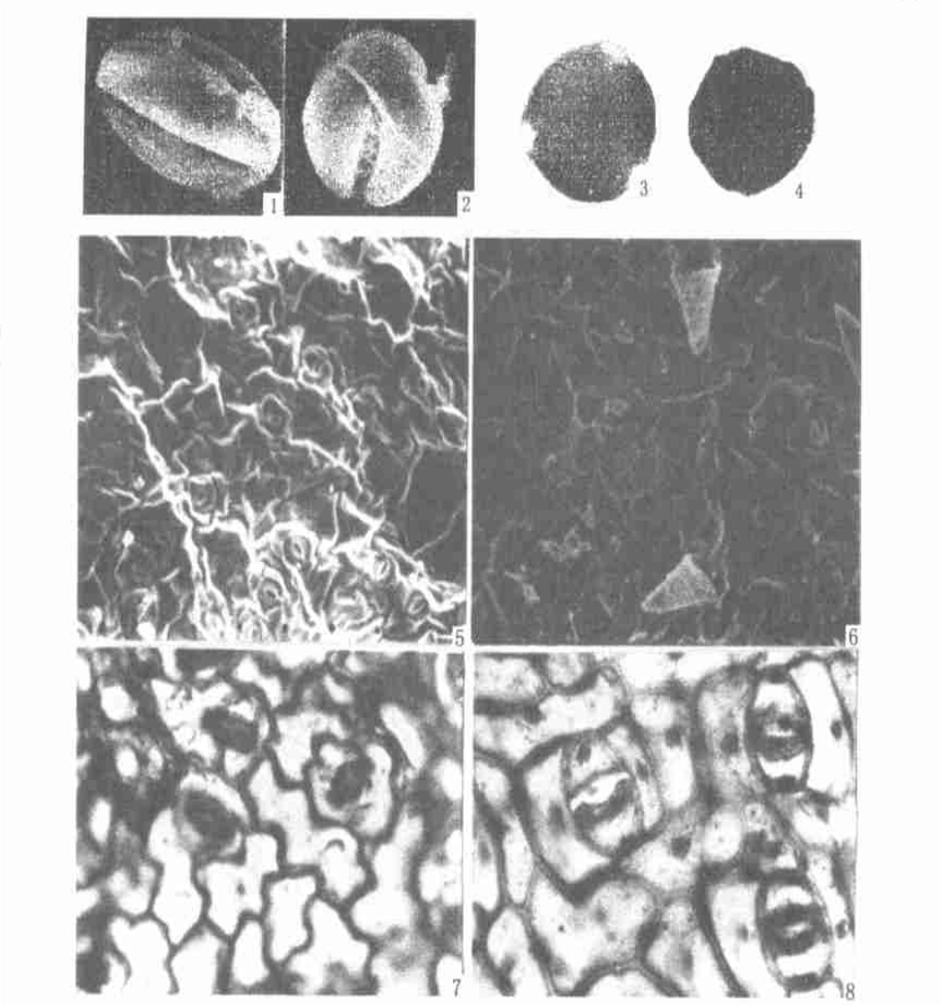


图 1 堇菜属花粉和叶表皮光镜及电镜图

1, 2 为东北堇菜 *V. mandshurica* 花粉的电镜图, $\times 700$; 3 为斑叶堇菜 *V. variegata* 花粉的光镜图, $\times 700$; 4 为三色堇 *V. tricolor* 花粉的光镜图, $\times 700$; 5 为西山堇菜 *V. hancockii* 叶下表皮电镜图, $\times 350$; 6 为斑叶堇菜 *V. variegata* 叶下表皮电镜图, $\times 350$; 7 为奇异堇菜 *V. mirabilis* 叶下表皮电镜图, $\times 400$; 8 为鸡腿堇菜叶下表皮光镜图 *V. acuminata*, $\times 400$

堇菜亚属是一个较大的类群, 本研究共涉及 5 个组。其中裂叶堇菜组 *Pinnatae* 的 4 个种均具有不规则四细胞型气孔, 因此支持王庆瑞^[2] 成立该组的建议。其他 4 个组大多数都不具有这种气孔类型, 表明裂叶堇菜组是个较为特化的类群, 很可能在进化水平上处于较高阶段^[4]。

表 1 堇菜属 25 种及 1 个变种植物花粉形态多样性特征

编号	种名	凭证标本	花粉 长/宽	花粉形状		萌发沟	
				极面观	侧面观	数目	电镜特征
1	<i>V. tricolor</i>	师大无号	1.24	五边形	近长方形	5	哑铃形, 具隆起的边缘, 内有颗粒状物
2	<i>V. biflora</i>	李连方 9150100	1.43	卵形	长圆形	3	几乎延至顶端, 两端具脊状突
3	<i>V. mirabilis</i>	李连方 9150090	1.09	圆形	长圆形	3	短且极狭窄
4	<i>V. sacchalinesis</i>	李连方 9170008	1.50	圆形	长圆形	3, 4	中央阔, 向两端渐狭
5	<i>V. acuminata</i>	贺士元 18801	1.63	圆形	长圆形	3	中央稍阔, 沟内具一脊状突
6	<i>V. verecunda</i>	师大无号	1.43	圆形	长圆形	3	边缘隆起, 沟延伸至两端, 宽度一致
7	<i>V. raddeana</i>	王银无号	1.19	圆形	扁圆形	3	边缘隆起, 沟延伸至两端, 宽度一致
8	<i>V. collina</i>	李连方 9150091	2.00	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 中部狭, 两端宽
9	<i>V. rossii</i>	野田 14	1.81	圆形	长圆形	3	沟狭窄, 中部缘唇状隆起
10	<i>V. selkirkii</i>	马天贵 0584	0.92	圆形	圆形	3	中部宽, 内具脊状突
11	<i>V. hancockii</i>	刘源 1267	2.08	近圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 狭且宽度一致
12	<i>V. peginensis</i>	李连方 9150010	1.77	圆形	长圆形	3	沟狭, 但一端稍宽, 内具脊状突
13	<i>V. mongolica</i>	李连方 9150042	1.58	圆形	长圆形	3	宽且宽度一致, 内具脊状突
14	<i>V. yezoensis</i>	李连方 9150035	1.73	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 中部宽, 内具小突起
15	<i>V. variegata</i>	李连方 9150079	1.67	圆形	长圆形	3, 4	沟延伸至两端, 宽度一致
16	<i>V. tenuicornis</i>	李连方 0002	2.00	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 中部宽
17	<i>V. tenuicornis</i> ssp. <i>trichosepala</i>	李连方 9150025	1.77	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 中部狭, 向两端渐宽
18	<i>V. gmeliniana</i>	王银无号	1.36	近圆形	长圆形	3	沟稍短, 宽度一致
19	<i>V. patrinii</i>	朴顺姬兴-265	1.23	圆形	长圆形	3	沟短, 宽度一致, 内具脊状突
20	<i>V. mandshurica</i>	李连方 9101	1.77	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 宽度一致, 内具横向脊突
21	<i>V. prionantha</i>	李连方 9150072	2.14	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 狭窄
22	<i>V. philippica</i>	李连方 9140011	2.31	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 狭窄, 内具横向短脊
23	<i>V. dactyloides</i>	马毓泉 73	2.58	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 宽度一致, 具隆起
24	<i>V. chaerophylloides</i>	王薇 3469	1.75	圆形	长圆形	3	沟延伸至两端, 宽度一致, 具隆起
25	<i>V. dissecta</i>	李连方 9150043	2.00	近圆形	长圆形	3, 4	沟延伸至两端, 宽度一致, 具隆起
26	<i>V. fissifolia</i>	王银无号	2.15	近圆形	长圆形	3, 4	沟延伸至两端, 宽度一致, 具隆起

注: 编号 1 为美丽堇菜亚属 *Melanium*; 2 为二裂花柱亚属 *Dischidium*; 3~26 为堇菜亚属 *Viola*, 其中 3~5 为鸟嘴柱头组 *Trigonocarpae*, 6~7 为双缘柱头堇菜组 *Bilobatae*, 8 为堇菜组 *Viola*; 9 为阔鞘堇菜组 *Vaginatae*, 10~22 为合生托叶组 *Adnatae*, 23~26 为裂叶堇菜组 *Pinnatae*。

表 2 董菜属 26 种和 1 个变种植物叶表皮特征

编号	种名	凭证标本	气孔宽/长		气孔指数		气孔频率		气孔类型		表皮细胞壁		表皮毛	下表皮电镜特征
			下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮		
1	<i>V. tricolor</i>	师大无号	0.29	0.24	20.9	9.09	41	19	横列、不等和围绕细胞型	横列和不等细胞型	波状	较平直	无毛	片状或脊状突, 气孔突出
2	<i>V. biflora</i>	李连方 0031	0.25	0	23.3	0	23	0	横列、不等和极细胞型	横列型	平直	平直	无毛	不规则脊状突, 气孔突出
3	<i>V. mirabilis</i>	李连方 9150090	0.24	0.21	19.1	4.91	47	19	横列和不等细胞型	横列型	波状	稍平直	针状, 光滑	脊状突连成各种形状, 气孔凹陷
4	<i>V. sachalinensis</i>	李连方 9160037	0.31	0.30	19.0	7.7	61	11	横列和不等细胞型	横列型	稍波状	稍平直	无毛	大型片状或细脊状突, 气孔突出
5	<i>V. acuminata</i>	李连方 0021	0.31	0	14.3	0	35	0	平列细胞型	平列型	平直	波状	粗壮, 长锥形, 具瘤状突	细脊连成各种形状, 气孔突出
6	<i>V. grypoceras</i>	关、陈 1050	0.30	0	20.6	0	39	0	横列和不等细胞型	横列型	波状	平直	细长针状, 少	细脊连成环形, 气孔突出
7	<i>V. verecunda</i>	王作宾 19754	0.20	0.37	22.8	7.69	66	10	横列和不等细胞型	横列型	波状	平直	无毛	极细脊交错复杂, 气孔突出
8	<i>V. raddeana</i>	王银 156	0.25	0.23	15.7	2.38	70	18	不等和不规则四细胞型	不等细胞型	波状	平直	无毛	细脊波状交错复杂, 气孔突出
9	<i>V. collina</i>	李连方 0026	0.23	0.27	16.07	18.18	112	100	横列和不等细胞型	横列型	稍平直	稍平直	细长针状	脊较粗连成各种形状, 气孔突出
10	<i>V. seltrkzi</i>	李连方 9160015	0.25	0	18.9	0	46	0	横列型	横列型	波状	平直	长针状	脊较粗交错复杂, 气孔突出
11	<i>V. hancockii</i>	清华大学无号	0.32	0.33	20	4.76	58	11	横列和不等细胞型	横列型	波状	平直	长或短刺状	较粗脊交错复杂, 气孔不突出
12	<i>V. pekinensis</i>	李连方 9150088	0.36	0	28.6	0	78	0	横列和不等细胞型	横列型	平直	平直	无毛	较粗脊交错复杂, 气孔突出
13	<i>V. mongolica</i>	李连方 9170010	0.26	0.25	20.7	8.77	74	2	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	波状	平直	锥状	较粗脊交错复杂, 气孔突出
14	<i>V. yezoensis</i>	李连方 0055	0.33	0.24	10.9	10.2	31	22	横列和不等细胞型	横列型	波状	波状	长针状	较粗脊交错复杂, 气孔不突出

续表 2

编号	种名	凭证标本	气孔宽/长		气孔指数		气孔频率		气孔类型		表皮细胞壁		表皮毛	下表皮电镜特征
			下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮	下皮	上皮		
15	<i>V. variegata</i>	李连方 9170001	0.24	0	22.6	0	67	0	横列型		平直	平直	短锥状, 具瘤状突	较粗脊围成环, 气孔略突出
16	<i>V. tenuicornis</i>	李连方 9150040	0.20	0.31	20.93	9.38	35	22	横列和不等细胞型	横列型	平直	平直	无毛	较粗脊围成环, 气孔不突出
17	<i>V. tenuicornis</i> ssp. <i>trichosepala</i>	李连方 9150062	0.25	0.33	21.2	8.33	36	19	横列和不等细胞型	横列型	波状	波状	长锥状, 具瘤状突	较粗脊围成环, 气孔不突出
18	<i>V. phalacrocarpa</i>	李连方 9160031	0.23	0	21.25	0	49	0	横列和不等细胞型		波状	波状	锥状, 表面光滑	脊围成不规则形, 气孔突出
19	<i>V. gmeliniana</i>	李连方 9170011	0.26	0.25	20.4	9.09	35	11	横列、不等和不等细胞型	不等细胞型	波状	平直	无毛	脊状或片状突, 气孔略外突
20	<i>V. patinii</i>	刘书润 244	0.25	0.24	15.3	19.05	37	32	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	波状	平直	无毛	细脊围成各种形状, 气孔略突出
21	<i>V. mandshurica</i>	李连方 9103	0.19	0.20	14.7	13.7	40	15	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	平直	平直	无毛	细脊围成各种形状, 气孔突出
22	<i>V. prionantha</i>	李连方 9170013	0.35	0.27	21.4	6.25	36	18	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	波状	波状	无毛	较粗脊围成环形, 气孔突出
23	<i>V. philippica</i>	李连方 9160019	0.22	0.22	17.9	14.6	50	22	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	波状	波状	无毛	细脊围成各种形状, 气孔略突出
24	<i>V. dactyloides</i>	马毓泉 73	0.28	0	19.7	0	91	0	横列和不等细胞型		平直	平直	粗锥状, 具瘤状突	粗脊少而短
25	<i>V. chaerophyllodes</i>	李连方 9160001	0.21	0.36	16.7	9.09	60	42	横列和不等细胞型	横列和不等细胞型	波状	波状	无毛	较细脊交错复杂, 气孔突出
26	<i>V. dissecta</i>	李连方 9160022	0.27	0	24.4	0	109	0	横列和不等细胞型		波状	平直	粗锥状	粗脊和片状突, 气孔不突出
27	<i>V. fissifolia</i>	李连方 9150071	0.29	0.24	17.7	3.7	69	11	横列和不等细胞型	横列型	波状	平直	锥状	脊状突连成不规则环, 气孔突出

注: 编号 1 为美丽堇菜亚属 *Melanium*; 2 为二裂花柱亚属 *Dischidium*; 3~27 为堇菜亚属 *Viola*, 其中 3~6 为鸟喙柱头组 *Trigonocarpae*; 7~8 为双缘柱头堇菜组 *Bilobatae*; 9 为堇菜组 *Viola*; 10~23 为合生托叶组 *Adnatae*; 24~27 为裂叶堇菜组 *Pinnatae*。

根据叶表皮各特征的综合应用,可以将每个种区分开,说明叶表皮特征具有一定的分类学意义。但有一个问题尚需讨论:由表1和表2可知,细距堇菜 *V. tenuicornis* 和毛萼堇菜 *V. tenuicornis* ssp. *trichosepala* 在叶表皮各方面特征都较为接近,这一结果与果实和种子形态学研究一致^[6]。众所周知,最早是由德国学者Becker^[7]建立的细距堇菜和其亚种毛萼堇菜,而前苏联学者Juzepczuk^[8]将细距堇菜提升为独立的种。萼片和子房被毛常被用来区分两者。实际上,植物体被毛状况是对环境湿度变化的反应,居群观察并未发现有其他相关性状的出现。因此,两者作为独立种的意见是不正确的,毛萼堇菜最高也只能作为细距堇菜的一个亚种。

3 结论

以三色堇为代表的美丽堇菜亚属在花粉特征上与其他亚属有着明显的区别,花粉为五边形柱状且具有5个萌发沟,说明该亚属与其他亚属在亲缘关系上较为疏远。

堇菜属植物花粉外壁为光滑型,缺乏纹饰。在亚属、组和种等级上没有规律性,分类学意义不大。

堇菜属普遍存在的气孔类型是横列细胞型和不等细胞型。以三色堇为代表的美丽堇菜亚属具有围绕细胞型气孔;以双花黄堇菜为代表的二裂柱头亚属具有极细胞型气孔;而堇菜亚属不具有以上2种气孔类型。

由于具有不规则四细胞型气孔,因此支持王庆瑞成立裂叶堇菜组的意见。鉴于该组在叶表皮方面的特殊性,认为这是一个极为特化的类群,很可能在进化水平上处于较高阶段。

叶表皮特征的综合运用可作为区分种的依据。支持毛萼堇菜作为细距堇菜一个亚种的意见。

参 考 文 献

- Behnke H D. The bases of angiosperm phylogeny: ultrastructure Ann Mo bot Gdn, 1975, 62: 647~ 663
- 王庆瑞 堇菜科 见: 中国植物志编辑委员会 中国植物志 北京: 科学出版社, 1991, 51: 9~ 20
- 王开发, 王宪曾 孢粉学概论 北京: 北京大学出版社, 1983
- 李连方, 尹祖棠 华北堇菜属植物的系统与进化植物学研究 见: 中国植物学会 60周年年会——学术报告及论文摘要汇编 北京: 中国科学技术出版社, 1993, 85
- 李连方, 尹祖棠 华北堇菜属植物化学分类初探 中国农业大学学报, 1997, 2 (1): 74, 82
- 李连方, 尹祖棠 华北地区堇菜属植物的果实和种子形态学研究 中国农业大学学报, 1999, 4 (3): 35~ 38
- Becker W. *Violae Asiaticae et Australenses* In: Heinrich C. Beihefte zum botanik Centralbl Dresden-N, 1916, Bd 34: 248~ 251
- Juzepczuk S V. *Violaceae* In: Flora URSS Leningrad, 1949, 15: 350~ 479