

柑橘不同种属花粉形态观察

武晓晓^{1,2}, 唐 艳², 邓崇岭^{2*}, 刘冰浩², 陈传武², 牛 英²

(¹广西师范大学生命科学学院, 广西桂林 541004; ²广西柑橘生物学重点实验室·广西特色作物研究院, 广西桂林 541004)

摘要:【目的】研究和了解柑橘不同种属花粉形态的多样性,为柑橘不同种属品种的鉴定以及分类提供一定的依据。**方法**以枳属、金柑属和柑橘属不同品种的花粉为试材,通过FEI Quanta 200场发射环境扫描电镜观察花粉的赤道面、极面、外壁纹饰等形态特征,并进行比较分析。**结果**孢粉学研究表明,枳属和金柑属材料的花粉粒具有4条孔沟,柑橘属中除柠檬和宜昌橙具有5条孔沟外,其余品种皆为4条孔沟;枳属花粉粒大小($P \times E$)为(20.40~30.33) $\mu\text{m} \times$ (17.91~28.49) μm ,网脊宽为0.52~0.58 μm ,网眼多为不规则多角形,网眼直径大小为0.48~0.74 μm ,金柑属花粉粒大小($P \times E$)为(23.81~29.58) $\mu\text{m} \times$ (15.73~17.37) μm ,网脊宽为0.79~0.93 μm ,网眼为圆形或近圆形,直径大小为0.66~1.07 μm ;柑橘属花粉粒大小($P \times E$)为(20.52~39.14) $\mu\text{m} \times$ (14.28~31.93) μm ,网脊宽为0.17~1.41 μm ,网眼直径大小为0.43~1.69 μm ,多为圆形或近圆形,但宜昌橙区、枸橼区的部分品种网眼为不规则多角形;枳属、金柑属的品种花粉粒的外壁纹饰均为网状纹饰或细网状纹饰,柑橘属中除柚类和部分葡萄柚具有穴状纹饰外,其余品种皆为网状纹饰或细网状纹饰。**结论**孢粉学研究结果表明柑橘不同种属品种的花粉特征具有不同的形态特征,体现了花粉形态具有多样性,花粉形态特征的差异可以为柑橘不同种属品种的鉴定以及系统分类提供一定的依据。从花粉形态的原始性分析推测,莽山野柑和姑婆山野生皱皮柑是目前发现的最原始的柑橘野生种。

关键词: 柑橘; 花粉形态; 扫描电子显微镜; 多样性

中图分类号: S666.2 文献标志码: A 文章编号: 1009-9980(2018)07-0794-08

Observation of citrus pollen morphology by scanning electron microscopy

WU Xiaoxiao^{1,2}, TANG Yan², DENG Chongling^{2*}, LIU Binghao², CHEN Chuanwu², NIU Ying²

(¹College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, Guangxi, China; ²Guangxi Key Laboratory of Citrus Biology · Guangxi Academy of Specialty Crops, Guilin 541004, Guangxi, China)

Abstract:【Objective】Pollen morphology is often used as references for plant classification for its conservation attribute. Therefor, the observation of citrus pollen morphology can provide some references for citrus classification. 【Methods】In full flowering period, the flowers were picked up in the upper part of the crown periphery from robust plants, and the petals and calyx were removed with sterile tweezers. The anthers were placed in an oven at 37 °C for more than 24 hours. The pollens were collected and stored at low temperature. The pollen of the *Fortunella*, *Poncirus trifoliata* and *Citrus* were observed by FEI Quanta 200 field emission scanning electron microscopy. A total of six quantitative features, including equatorial axis length, polar axis length, mesh diameter, net width, polar axis equatorial axis ratio, mesh net ridge ratio, were investigated. Data were normalized by NTsys-pc software and clustered. The genetic distance was calculated as the average classification distance, and the UPGMA method was used for the cluster analysis. 【Results】The pollens of most species were 4-colpate type. The pollens of

收稿日期: 2017-09-30 接受日期: 2018-03-27

基金项目: 国家自然科学基金(31160388); 广西自然科学基金重点项目(2013GXNSFDA019014); 广西科技研究与技术开发计划项目(桂科合1599005-2-15、桂科转1599004-6, 桂科AD16380046); 广西柑橘创新团队(nycytxgxcxt-05-01); ‘广西特聘专家’专项; 国家现代农业(柑橘)产业技术体系项目(CARS-27); 桂林市科学研究与技术开发计划项目(20110307)

作者简介: 武晓晓, 男, 在读硕士研究生, 从事柑橘种质资源和分子生物学技术研究。Tel: 15578386736, E-mail: 15578386736@126.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel: 15878392198, E-mail: cldeng88168@126.com

C. limon and *C. ichangensis* were 5-colporate type. The pollen grains ($P \times E$) of the *Poncirus trifoliata* were $(20.40\text{-}30.33) \mu\text{m} \times (17.91\text{-}28.49) \mu\text{m}$; the widths of mesh ridge were $0.52\text{-}0.58 \mu\text{m}$; and the meshes were mostly polygonal, the mesh sizes were $0.48\text{-}0.74 \mu\text{m}$. The pollen grains ($P \times E$) of *Fortunella* Swing were $(23.81\text{-}29.58) \mu\text{m} \times (15.73\text{-}17.37) \mu\text{m}$; the widths of mesh ridges were $0.79\text{-}0.93 \mu\text{m}$; and the mesh sizes were $0.66\text{-}1.07 \mu\text{m}$; The pollen grains ($P \times E$) of *Citrus* were $(20.52\text{-}39.14) \mu\text{m} \times (14.28\text{-}31.93) \mu\text{m}$; the widths of mesh ridges were $0.17\text{-}1.41 \mu\text{m}$; and the mesh sizes were $0.43\text{-}1.69 \mu\text{m}$; most species of citrus had round or roughly round pollen mesh but the pollen meshes of some species of *C. ichangensis* and citron were polygonal. Pollen exines of *C. grandis* were foveolate decoration and those of the other species were reticulate decoration. 【Conclusion】The pollens of different citrus species had different morphological characteristics. Pollen morphology differences could provide some basis for the identification of citrus species and taxonomic classification. It seems to be possible that *C. mangshanensis* and Guposhan wild Zhoupigan are the most primitive wild species of *Citrus*.

Key words: *Citrus*; Pollen morphology; SEM; Diversity

柑橘是世界最重要的经济作物之一,柑橘的分类一直受到国内外学者的广泛关注。南宋韩彦直著《橘录》是世界最早的一部地方橘志,书中全面叙述了当时栽培柑橘分类和品种,共计柑8种、橘14种、橙子之属类橘者5种,共27种^[1]。现代柑橘分类从1753年瑞典植物学家林奈所著《植物种志》开始,林奈认为柑橘只有枸橼和圆果类酸橙2种;1811年Georges Gallesio按照林奈的分类法把柑橘分为枸橼柠檬类和酸橙甜橙类2种;1948年美国Swingle在《The Citrus Industry》中将柑橘属分为大翼橙亚属和柑橘亚属,共16种,8变种;日本田中三郎致力于用小种分类法进行柑橘分类研究,把柑橘属分为2亚属8类20亚类162种14变种^[2-3];1961年Hodgson发表的《柑橘分类和命名》一文中,提出折中分类方案,在承认施文格的种以外,接受了田中柑橘属中的23个种^[4];1969年Singh等在第一届国际柑橘会议上提出《实用柑橘分类的方法》,认为柑橘属有价值的种共31个^[4];中国曾勉^[4]在对柑橘进行详细形态学研究后,将原柑橘属重新划分为5个属,即大翼橙属、枸橼属、柚属、橙属和柑橘属,共30个种;黄成就^[5]1997年将柑橘属分为大翼橙亚属和柑橘亚属共15个种。柑橘分类的意见分歧由来已久,分歧的焦点集中在柑橘属的种问题上^[6]。长期以来国内外学者为了更好地解决柑橘分类问题进行了大量研究,但至今都没有一个权威的、完整的柑橘分类系统。

柑橘大多数种是无融合生殖的,因此根据花粉

分类具有重要的意义^[4]。花粉是显花植物的雄性配子体,由2个或2个以上的细胞组成,它们是由母细胞经过减数分裂而产生的。各类植物产生的花粉形态构造各不相同。植物花粉有其独特的外形、复杂的外壁结构和精细的纹饰,并且在遗传中具有相对较强的保守性和稳定性,这对植物种和品种的鉴定具有重要的意义^[7-10]。其次,植物花粉对植物的起源和演化有很大的帮助。近年来,利用电子显微镜已经在苹果属、梨属、柑橘属、葡萄属、榛属、桃、李、杏、枇杷、枣、龙眼、栗属等果树上进行了孢粉研究^[11]。但目前对于柑橘不同种属花粉形态的全面研究较少,为此,笔者通过收集柑橘不同种属的花粉为试验材料,利用扫描电镜对其花粉形态结构进行扫描观察,旨在为柑橘不同种属品种的鉴定以及系统分类提供孢粉学依据^[12]。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所用材料的花粉采自广西特色作物研究院(桂林)、中国农科院柑桔研究所(重庆)和湖南省园艺研究所(长沙)。表1中,编号1~6为金柑属材料,编号7~9为枳属材料,其余编号品种皆为柑橘属材料,具体材料,详见表1。

1.2 花粉的获取

于盛花期选择健壮植株,采集树冠外围中上部含苞待放的花蕾,用消过毒的镊子去掉花瓣和花萼,只留花药,置于烘箱内37℃烘24 h以上,将获得的花粉放置于干燥管中低温保存。

表1 试验材料
Table 1 Tested materials

编号 Code	品种名称 Variety name	编号 Code	品种名称 Variety name
1	长寿金柑 <i>Fortunella</i> Swing Changshoujingan	52	兰花橙 <i>C. sinensis</i> Lanhuacheng
2	金柑1号 <i>Fortunella</i> Swing Jingan No.1	53	新会橙 <i>C. sinensis</i> Xinhuicheng
3	罗浮金柑 <i>F. margarita</i> (Lour.) Swing	54	蜜奈夏橙 <i>C. sinensis</i> Midknight Valencia Orange
4	金豆金柑 <i>F. hindsii</i> (Champ.) Swing	55	阿尔及利亚夏橙 <i>C. sinensis</i> Algeria Valencia Orange
5	野生金柑 <i>Fortunella</i> Swing Yeshengjingan	56	莽山野柑(尖叶) <i>C. mangshanesis</i> (Pointed leaves)
6	滑皮金柑 <i>Fortunella</i> Swing Huapijingan	57	莽山野柑(圆叶) <i>C. mangshanesis</i> (Round leaves)
7	矮化枳 <i>Poncirus trifoliata</i> Aihuazhi	58	姑婆山野生皱皮柑 Guposhan wild Zhoupigan
8	灌云枳 <i>P. trifoliata</i> Guanyunzhi	59	崎久保温州柑 <i>C. reticulata</i> Jijiubaowenzhougan
9	23号枳 <i>P. trifoliata</i> Zhi No. 23	60	沙柑 <i>C. nobilis</i> Lour Shagan
10	白花宜昌橙 <i>Citrus ichangensis</i> Swing Baihuayichangcheng	61	贺州野橘 <i>C. reticulata</i> Hezhouyeju
11	元江宜昌橙 <i>C. ichangensis</i> Swing Yuanjiangyichangcheng	62	印度酸橘 <i>C. reshni</i>
12	大种橙 <i>C. macroperma</i>	63	岑溪酸橘 <i>C. reticulata</i> Cenxisuanju
13	2586宜昌橙 <i>C. ichangensis</i> Swing 2586yichangcheng	64	黄皮酸橘 <i>C. reticulata</i> Huangpisuanju
14	金刀峡宜昌橙 <i>C. ichangensis</i> Swing Jindaoxiayichangcheng	65	姑婆山野生元橘 <i>Sinocitrus chuana</i>
15	宜昌橙02-14 <i>C. ichangensis</i> Swing Yichangcheng02-14	66	南丰蜜橘 <i>C. reticulata</i> Nanfengmiju
16	红河大翼橙 <i>C. hongheensis</i>	67	迎新橘 <i>C. reticulata</i> Yingxinju
17	马蜂柑 <i>C. hystrix</i>	68	广西红皮酸橘 <i>C. reticulata</i> Guangxihongpisuanju
18	大翼厚皮橙 <i>C. kerrii</i> Tanaka	69	红皮酸橘 <i>C. reticulata</i> Hongpisuanju
19	西施柚 <i>C. grandis</i> Xishiyou	70	新生系3号(椪柑) <i>C. reticulata</i> Xinshengxi No.3 Penggan
20	强德勒柚 <i>C. grandis</i> Chandler pummelo	71	黔阳无核椪柑 <i>C. reticulata</i> Qinyanwuhepenggan
21	泰国柚 <i>C. grandis</i> Thailand pummelo	72	试18椪柑 <i>C. reticulata</i> Pengganshi No.18
22	奥兰柚 <i>C. grandis</i> Aolanyou	73	春甜橘 <i>C. reticulata</i> Chuntianju
23	文旦柚 <i>C. grandis</i> Wendanyou	74	道县野橘 <i>C. daoxianensis</i>
24	MG-3高接柚 <i>C. grandis</i> MG-3 Gaojieyou	75	立花橘 <i>C. tachibana</i>
25	高斑柚 <i>C. grandis</i> Gaobanyou	76	桂橘一号 <i>C. reticulata</i> Guiju No.1
26	琯溪蜜柚 <i>C. grandis</i> Guanximiyou	77	柳城蜜橘 <i>C. reticulata</i> Liuchengmiju
27	HB柚 <i>C. grandis</i> HByou	78	年橘 <i>C. reticulata</i> Nianju
28	江永本地酸柚 <i>C. grandis</i> Jiangyongbendisuanyou	79	大果南丰蜜橘 <i>C. reticulata</i> Daguonanfengmiju
29	菊花芯柚 <i>C. grandis</i> Juhuaxinyou	80	<i>C. reticulata</i> Clementiner bernovd
30	张家界本地红心柚 <i>C. grandis</i> Zhangjajiebendihongxinyou	81	克里曼丁橘 <i>C. reticulata</i> Clementine
31	早熟高糖香柚1号 <i>C. grandis</i> Zaoshugaotangxiaoyou No.1	82	新克里曼丁 <i>C. reticulata</i> New Clementine
32	大果红瓢柚 <i>C. grandis</i> Daguocongrangyou	83	枸橼05-06 <i>C. medica</i> Juyuan05-06
33	牛腿柚 <i>C. grandis</i> Niutuiyou	84	广佛手 <i>C. medica</i> Guangfoshou
34	糯米柚 <i>C. grandis</i> Nuomiyou	85	野生香橼 <i>C. medica</i> Yeshengxiangyuan
35	晚白柚 <i>C. grandis</i> Wanbaiyou	86	亚利桑那861香橼 <i>C. medica</i> Arizona Xiangyuan 861
36	慈利菠萝香柚2号 <i>C. grandis</i> Ciliboluoxiangyou No.2	87	尤力克柠檬 <i>C. limon</i> Eureka Lemon
37	安江酸柚 <i>C. grandis</i> Anjiangsuanyou	88	里斯本柠檬 <i>C. limon</i> Lisbon Lemon
38	酸柚 <i>C. grandis</i> Suanyou	89	米尔斯维特甜柠檬 <i>C. limon</i> Millswright Sweet Lemon
39	白玉霜柚 <i>C. grandis</i> Baiyushuangyou	90	费米耐劳柠檬 <i>C. limon</i> Feminellemelon
40	沙田柚 <i>C. grandis</i> Shatianyou	91	维拉弗兰卡柠檬 <i>C. limon</i> Villafrance Lemon
41	罗平柚 <i>C. paradisi</i> Luopingyou	92	白花柠檬 <i>C. limon</i> Baihuaningmeng
42	火焰 <i>C. paradisi</i> Flame	93	指株檬 <i>C. aurantifolia</i> Zhilaimeng
43	奥兰布朗克 <i>C. paradisi</i> Oroblanco	94	墨西哥株檬 <i>C. aurantifolia</i> Mexican Lime
44	星路比 <i>C. paradisi</i> Star Ruby	95	塔西堤株檬 <i>C. aurantifolia</i> Tahiti Lime
45	塞维利亚酸橙 <i>C. aurantium</i> Saiweiliyasuancheng	96	广西土柠檬 <i>C. limonia</i> Guangxitunigmeng
46	摩洛哥酸橙 <i>C. aurantium</i> Moluogesuancheng	97	红柠檬 <i>C. limonia</i> Honglimeng
47	红江橙 <i>C. sinensis</i> Hongjiangcheng	98	杂交柑明尼奥拉 Hybrids Minneola
48	西班牙2号 <i>C. sinensis</i> Spain No.2	99	杂交柑爱伦达尔 Hybrids Ellendale
49	无核雪柑 <i>C. sinensis</i> Wuhexuegan	100	杂交柑爱媛30 Hybrids Ehime 30
50	早金甜橙 <i>C. sinensis</i> Zaojintiancheng	101	杂交柑8603 Hybrids 8603
51	红肉夏橙 <i>C. sinensis</i> Hongrouxiacheng	102	杂交柑鑫诺2号 Hybrids Xinnuo No.2

1.3 试验方法

用牙签挑取少量花粉,均匀地撒在粘有导电胶的样品台上,用离子溅射仪进行真空喷金镀膜,置于FEI Quanta 200场发射环境扫描电镜下进行观察,工作电压为5 kV,选择有代表性的清晰视野进行观察,并拍照保存,800倍观察花粉的整体效果,6 000倍观察花粉的极面和赤道面,24 000倍观察花粉的外壁纹饰特征,并测量极轴长(P)、赤道轴长(E)、网脊宽度以及网眼直径的大小^[13]。

1.4 数据统计分析

每份试验材料随机选取20粒花粉粒进行相关数据的测量和统计,用SPSS软件计算平均值和标准差;花粉粒的大小用极轴长和赤道轴长的乘积来表示($P \times E$),花粉粒的形状用极轴长和赤道轴长的比值来表示(P/E);根据1969年Erdtmand的方法,将花粉的形状分为7种类型: $P/E > 2$ 为超长球形, $1.33 < P/E < 2$ 为长球形, $1.14 < P/E < 1.33$ 为近长球形, $0.88 < P/E < 1.14$ 为圆球形, $0.75 < P/E < 0.88$ 为近扁球形, $0.50 < P/E < 0.75$ 为扁球形, $P/E < 0.50$ 的超扁球形;花粉的大小划分依据是以花粉粒的最长轴的长度来划分的,最长轴 $< 10 \mu\text{m}$ 为很小, $10 \sim 25 \mu\text{m}$ 为比较小, $26 \sim 50 \mu\text{m}$ 为中等, $51 \sim 100 \mu\text{m}$ 为比较大, $101 \sim 200 \mu\text{m}$ 为很大, $> 200 \mu\text{m}$ 为巨大^[14-16]。

花粉的外壁纹饰有若干类型,Walker(1976年)将外壁纹饰类型划分为12种主要类型,分别为光滑无任何纹饰、穴状、犁沟或槽沟状、粗槽状、疣状、棒状、具基柱、芽胞状、刺状、皱波状、条纹状以及网状纹饰^[14-16]。随着植物种类研究的增加和不断深入,有关花粉外壁纹饰的术语越来越多。

选取赤道轴长、极轴长、网眼直径、网脊宽度、极轴赤道轴比值、网眼网脊比值共6个定量特征,用NTsys-pc软件将数据标准化后进行聚类,聚类单元之间的遗传距离以平均分类距离计算,聚类图用UPGMA法^[13]。

2 结果与分析

2.1 花粉的外部形态与萌发器官

对枳属、金柑属和柑橘属不同品种的花粉外部形态进行电镜扫描观察(图1)表明,不同品种的萌发器官均为孔沟类型,即花粉表面同时存在着孔和沟。花粉粒大多存在4条孔沟,部分品种的花粉具有5条孔沟,如柠檬、宜昌橙以及部分柚。花粉的极面观形状均为四裂圆形或者五裂圆形,赤道面形状

存在3种形状,分别为圆形、近圆形和长圆形。

2.2 花粉的大小和外壁纹饰

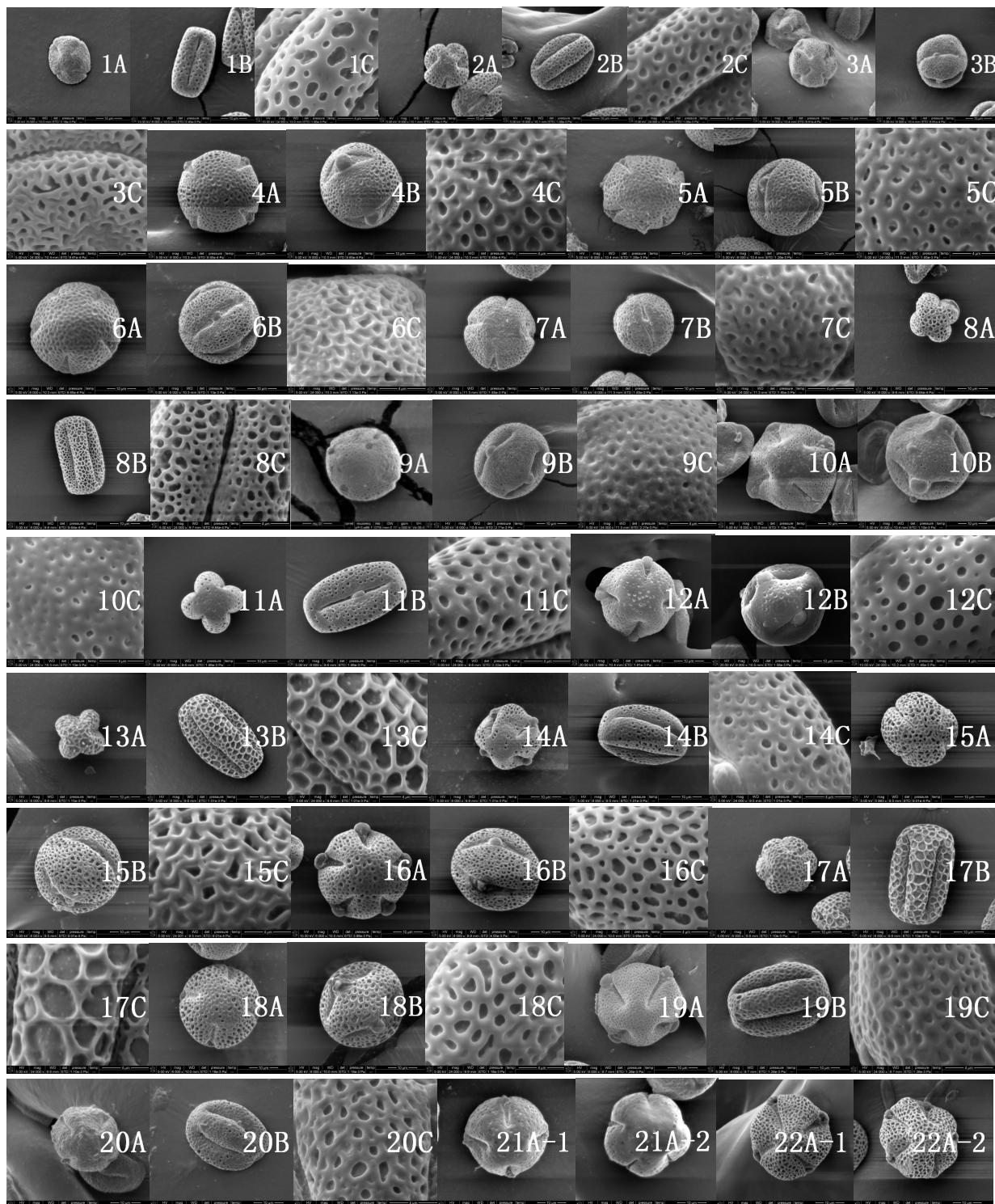
花粉大小的划分依据是以花粉粒最长轴的长度来划分的,根据表2列出的枳属、金柑属和柑橘属品种的花粉粒的极轴和赤道轴长范围,显示花粉大小均为中等大小($25 \sim 50 \mu\text{m}$),但仍存在着差异。花粉粒的大小为金柑属材料最小,枳属次之,柑橘属普遍较大,其中柑橘属中枸橼区、宜昌橙区、橙区、柚区以及野生宽皮柑橘的花粉粒较大,大翼橙区和宽皮柑橘区的其余品种花粉粒较小。

枳属材料花粉粒形状为圆球形,金柑属和柑橘属的花粉粒均为长球形或者近长球形。柚部分品种和葡萄柚外壁纹饰类型具有穴状纹饰^[14],表面具有凹陷的圆形或近圆形的穴,穴的大小深浅各不相同,其余种属都具有网状纹饰或细网状纹饰;从网眼和网脊来看,金柑属网脊普遍较宽,柑橘属宽皮柑橘区除野生品种外,网脊也普遍较宽,网眼以野生宽皮柑橘的最大。 P/E 均值,柑橘属酸橙类最大,为1.58,枳属最小,为1.10(表2)。

2.3 聚类分析

2.3.1 根据花粉的定量特征聚类 结果显示,以单独的某个性状数据进行聚类无法体现柑橘不同种属的分类情况。

2.3.2 根据花粉的6个定量特征聚类 根据花粉的6个定量特征构建了系统聚类树,在遗传距离1.38处将部分试验材料分为7个组群(图2)。第一组包括1、2、3、4、5、6、70、72、75共9个品种,该组主要为金柑属品种,该组主要特征是花粉较小,网眼小但网脊较宽;第二组为7,即‘矮化枳’;第三组包括8、9、11、12、14、16、17、19、20、21、22、23、25、26、27、29、30、31、32、33、34、35、39、40、41、42、43、44、47、49、50、51、52、53、54、55、59、60、61、62、63、64、65、67、68、71、73、76、77、78、79、80、81、82、84、85、86、87、88、89、90、91、92、93、94、95、96、97、98、99、100、102共72个品种,该组包括枳属和柑橘属品种,其中枳属和柑橘属枸橼区的品种各自单独成组,柑橘属除个别品种外,柚区、橙区、宽皮柑橘区柑亚区和橘亚区的品种均按区成组;第四组为74,即‘道县野橘’;第五组包括28、37、46,品种为‘酸柚’和‘酸橙’;第六组为10,即‘白花宜昌橙’;第七组包括56、57、58,品种为‘莽山野柑’和‘姑婆山野生皱皮柑’,该组特征为网眼大网脊狭。



A. 赤道面观; B. 极面观; C. 外壁纹饰。1. 滑皮金柑; 2. 罗浮; 3. 矮化枳; 4. 灌云枳; 5. 元江宜昌橙; 6. 金刀峡宜昌橙; 7. 红河大翼橙; 8. 马蜂柑; 9. 沙田柚; 10. 火焰葡萄柚; 11. 摩洛哥酸橙; 12. 红肉夏橙; 13. 莽山野柑(尖叶); 14. 岑溪酸橘; 15. 柚椽 05-06; 16. 米尔斯维特甜柠檬; 17. 指来檬; 18. 墨西哥来檬; 19. 广西土柠檬; 20. 红柠檬; 21. 琦溪蜜柚(4、5孔沟); 22. 野生香橼(4、5孔沟)。

A. Equatorial view; B. Polar view; C. Pollen exine ornamentation. 1. *Fortunella crassifolia* Swing Huapijingan; 2. *F. margarita* (Lour.) Swing; 3. *Poncirus trifoliata* Aihuazhi; 4. *P. trifoliata* Guanyunzhi; 5. *Citrus ichangensis* Yanjiangyichangcheng; 6. *C. ichangensis* Jindaoxiayichangcheng; 7. *C. hongheensis*; 8. *C. hystricis*; 9. *C. grandis* Shatianyou; 10. *C. paradise* Flame; 11. *C. aurantium* Molugesuancheng; 12. *C. sinensis* Hongrouxiacheng; 13. *C. mangshanesis* (Pointed leaves); 14. *C. reticulata* Blanco; 15. *C. medica* Juyuan 05-06; 16. *C. limon* Millswright Sweet Lemon; 17. *C. aurantifolia* Zhilaimeng; 18. *C. aurantifolia* Mexican Lime; 19. *C. limonia* Guangxituningmeng; 20. *C. limonia* Honglimeng; 21. *C. grandis* Guanxi-miyou (4-5 colposates); 22. *C. medica* Yeshenxiangyuan (4-5 colposates).

图1 扫描电镜观察花粉形态
Fig. 1 SEM observation of the pollen morphology

表 2 柑橘不同种属花粉形态基本特征
Table 2 The basic characteristics of pollen morphology of different species of citrus

资源 Germplasm	极轴长 Polar axis, P/ μm	赤道轴长 Equator axis, E/ μm	网脊宽度 Mesh ridge width, W/ μm	网眼直径 Mesh size, D/ μm	P/E	花粉形状 Pollen shape
枳属 <i>Poncirus trifoliata</i>	20.40~30.73	17.91~28.49	0.52~0.58	0.48~0.74	1.10	圆球形 Spherical
金柑属 <i>Fortunella</i> Swing	23.81~29.58	15.73~17.37	0.79~0.93	0.66~1.07	1.54	长球形 Long spherical
宜昌橙区 <i>C. ichangensis</i>	20.52~30.56	18.78~25.64	0.68~0.82	0.62~1.40	1.15	近长球形 Nearly spherical
大翼橙区 <i>Papeda</i>	25.39~32.20	14.44~21.35	0.23~0.77	0.54~0.69	1.55	长球形 Long spherical
柚 <i>C. grandis</i>	25.50~38.92	19.61~27.24	0.71~1.41	0.51~0.86	1.30	近长球形 Nearly spherical
葡萄柚 <i>C. paradisi</i>	26.79~31.32	21.60~25.75	0.55~1.18	0.43~1.01	1.24	近长球形 Nearly spherical
枸橼 <i>C. medica</i>	30.91~34.04	23.57~24.64	0.52~0.81	0.52~0.81	1.34	长球形 Long spherical
柠檬 <i>C. limon</i>	29.04~33.68	21.99~24.30	0.55~0.76	0.56~0.76	1.32	近长球形 Nearly spherical
梾檬 <i>C. aurantiifolia</i>	26.82~30.07	16.50~23.21	0.41~0.75	0.41~0.75	1.32	近长球形 Nearly spherical
檸檬 <i>C. limonia</i>	27.24~31.22	20.70~22.50	0.43~0.73	0.43~0.73	1.31	近长球形 Nearly spherical
酸橙 <i>C. aurantium</i>	29.69~39.14	21.50~25.32	0.89~1.03	0.48~0.64	1.58	长球形 Long spherical
甜橙 <i>C. sinensis</i>	25.94~32.14	19.73~26.16	0.37~1.15	0.83~1.14	1.42	长球形 Long spherical
宽皮柑橘区 <i>C. reticulata</i>	22.61~37.10	14.28~26.09	0.17~1.31	0.49~1.37	1.43	长球形 Long spherical
杂交柑 Hybrids	24.29~27.35	17.77~21.80	0.74~1.04	0.62~0.97	1.28	近长球形 Nearly spherical

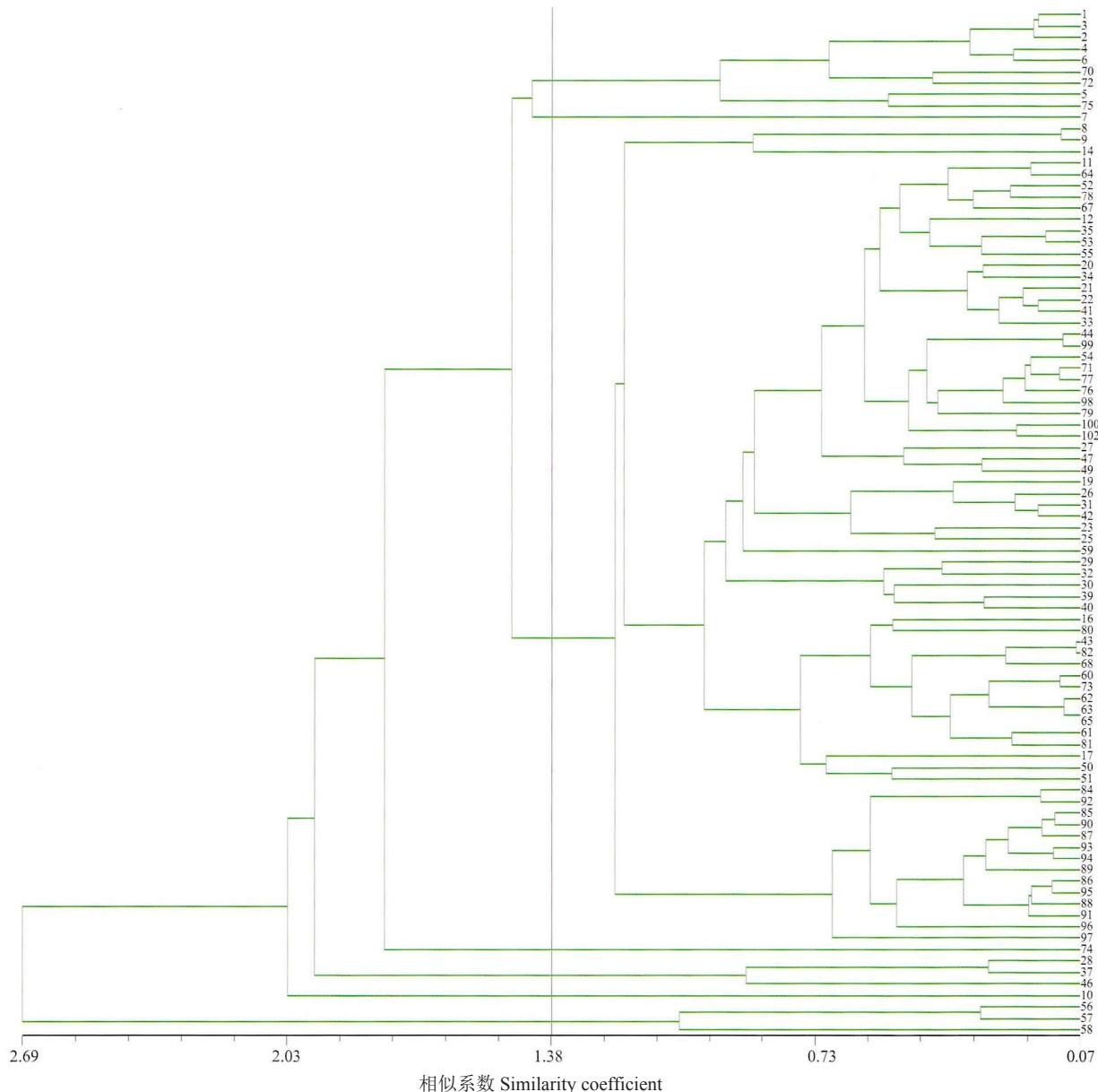


图 2 基于花粉形态的柑橘资源聚类分析

Fig. 2 Cluster analysis for citrus germplasm based on pollen morphological

3 讨 论

利用扫描电镜对柑橘不同种属花粉形态进行观察,不同种属花粉形态特征表现出多样性,表现在花粉形状、大小、外壁纹饰等方面。叶荫民等^[6]研究柑橘3个属主要品种花粉,认为柑橘花粉以长圆球形和近长球形为主。本试验材料中的花粉粒都以单粒形式存在,由P/E分析花粉形状分别表现为圆球形、近长球形和长球形,与叶荫民等的研究结果基本一致;柚类花粉外壁纹饰为穴状纹饰,与邵邻相等^[17]研究结果一致;柚类花粉基本特征以及数据与陈鹏等^[13]对湖南省柚类资源花粉形态研究的结果基本相近;聚类分析中,除个别品种外,枳属、金柑属、柑橘属在聚类分析中都单独成组,与《中国果树志·柑橘卷》^[4]中柑橘分类的记录基本吻合;柑橘属的枸橼、柚类及宽皮柑橘均单独成组,与前人的观点一致,在柑橘亚属中只有3个真正的种,即枸橼(*C. medica*)、柚(*C. grandis*)和宽皮橘(*C. reticulata*),其他重要的栽培柑橘种类为杂种起源^[18];莽山野柑(尖叶)和莽山野柑(圆叶)单独成组,应为同一野生种的不同形态类型,与廖振坤等^[19]AFLP分子标记研究结果一致;‘姑婆山野生皱皮柑’与‘莽山野柑’聚为一组,而柑橘花粉形态进化途径通常为较原始柑橘的花粉均为大型,网眼大,网脊比较窄;较进化的柑橘花粉为小型,网眼小,网脊较宽^[6,11-15,20],推测‘姑婆山野生皱皮柑’可能具有跟‘莽山野柑’一样的原始性,‘莽山野柑’(‘姑婆山野生皱皮柑’)是目前发现的最原始的柑橘野生种,与Wu等^[21]的研究结果基本一致。

‘矮化枳’‘道县野橘’以及‘白花宜昌橙’单独成组。‘道县野橘’是在中国南岭山脉发现的一个新种^[22],独立成组可以理解;但‘矮化枳’和‘白花宜昌橙’为何能单独成组,其遗传演化规律需结合细胞学解剖学、遗传学、生物化学、分子标记、基因组学分析等进行更深层次的研究。

4 结 论

通过电镜扫描以及对花粉形态数据的聚类分析表明,柑橘不同种属的花粉具有不同的形态特征,花粉粒大小形状不一,极面观为四裂圆形和五裂圆形,赤道面形状表现为圆形、近圆形和长圆形,网眼表现

为圆形、近圆形、不规则圆形以及不规则多角形且网眼大小存在差异,外壁纹饰表现为网状纹饰或细网状纹饰和穴状纹饰,表现了柑橘不同种属花粉形态的多样性。花粉的形态特征差异具有重要的分类特征,可以为柑橘不同种属的品种分类、鉴定提供一定的孢粉学依据。‘莽山野柑’和‘姑婆山野生皱皮柑’的网眼最大,网脊最狭,因此推测‘莽山野柑’和‘姑婆山野生皱皮柑’可能为最原始的柑橘野生种。

参考文献 References:

- [1] 方德秋. 柑桔分类研究的过去、现在及未来[J]. 武汉植物学研究, 1993, 11(4): 375-382.
FANG Deqiu. Citrus taxonomy- past, present and future[J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1993, 11(4): 375-382.
- [2] 周志钦. 柑桔分类研究进展—文献综述[J]. 园艺学报, 1993, 20(3): 243-250.
ZHOU Zhiqin. Advance in citrus taxonomy: literature review[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1993, 20(3): 243-250.
- [3] 李小孟, 周志钦. 柑桔属植物进化与分类研究进展[J]. 中国农学通报, 2007, 23(4): 112-118.
LI Xiaomeng, ZHOU Zhiqin. Advances in evolution and classification of citrus plants[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(4): 112-118.
- [4] 周开隆, 叶荫民. 中国果树志·柑橘卷[M]. 北京: 中国林业出版社, 2010.
ZHOU Kailong, YE Yinmin. Chinese fruit trees· *Citrus* rolls[M]. Beijing: China Forestry Publishing House, 2010.
- [5] 黄成就. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 178-209.
HUANG Chengjiu. Flora reipublicae popularis sinicae[M]. Beijing: Science Press, 1997: 178-209.
- [6] 叶荫民, 孔焱, 郑向红. 柑橘花粉形态的研究[J]. 中国农业科学, 1982, 15(5): 62-66.
YE Yinmin, KONG Yan, ZHENG Xianghong. Studies on pollen morphology of citrus plants[J]. Scientia Agricultura Sinica, 1982, 15(5): 62-66.
- [7] 王伟铭. 中国孢粉学的研究进展与展望[J]. 古生物学报, 2009, 48(3): 338-346.
WANG Weiming. Progress and prospect of studies on palynology in China[J]. Acta Palaeontologica Sinica, 2009, 48(3): 338-346.
- [8] 朱建华, 刘冰浩, 陆贵锋, 徐宁, 李鸿莉, 李冬波, 秦献泉, 黄凤珠, 彭宏祥. 广西荔枝资源花粉形态观测[J]. 南方农业学报, 2015, 46(5): 833-837.
ZHU Jianhua, LIU Binghao, LU Guifeng, XU Ning, LI Hongli, LI Dongbo, QIN Xianquan, HUANG Fengzhu, PENG Hongxiang. Observation on the pollen morphology of lichi from Guangxi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2015, 46(5): 833-837.

- [9] 林燕金,林旗花,姜翠翠,黄雄峰,卢新坤.4个柚类品种花粉形态初步观察[J].福建农业学报,2013,28(12): 1316-1318.
LIN Yanjin, LIN Qihua, JIANG Cuicui, HUANG Xiongfeng, LU Xinkun. Preliminary study on pollen morphology of four pomelo cultivars[J]. Fujian Journal of Agricultural Science, 2013, 28(12): 1316-1318.
- [10] 王延秀,陈佰鸿,王淑华,胡紫璟,党兆霞,魏晓燕.11个观赏海棠品种花粉形态扫描电镜观察[J].植物研究,2014,34(6): 751-757.
WANG Yanxiu, CHEN Baihong, WANG Shuhua, HU Zijing, DANG Zhaoxia, WEI Xiaoyan. SEM observation on the pollen morphology of eleven ornamental crabapple varieties[J]. Bulletin of Botanical Research, 2014, 34(6): 751-757.
- [11] 方从兵.我国果树孢粉学研究进展[J].安徽农业大学学报,2002,29(2): 154-157.
FANG Congbing. Research progress of phear science in fruit trees in China[J]. Journal of Anhui Agricultural University, 2002, 29(2): 154-157.
- [12] 武晓晓,唐艳,邓崇岭.柑桔孢粉学研究进展[J].中国南方果树,2017,46(5): 148-153.
WU Xiaoxiao, TANG Yan, DENG Chongling. Progress on study of citrus palynology[J]. South China Fruits, 2017, 46(5): 148-153.
- [13] 陈鹏,刘静波,罗赛男,卜范文,苑平,张文,李先信.湖南省柚类种质资源的花粉形态研究[J].园艺学报,2016,43(7): 1357-1366.
CHEN Peng, LIU Jingbo, LUO Sainan, BU Fanwen, YUAN Ping, ZHANG Wen, LI Xianxin. A study of pollen morphology of pomelo germplasms in Hunan province[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(7): 1357-1366.
- [14] 韦仲新.种子植物花粉电镜图志[M].云南:云南科技出版社,2003.
WEI Zhongxin. Pollen flora of seed plants[M]. Yunnan: Yunnan Science & Technology Press, 2003.
- [15] 李天庆,曹慧娟,康木生,张志翔,赵楠,张晖.中国木本植物花粉电镜扫描图志[M].北京:北京科学出版社,2011.
LI Tianqing, CAO Huijuan, KANG Musheng, ZHANG Zhi-xiang, ZHAO Nan, ZHANG Hui. Pollen flora of China woody plants by SEM[M]. Beijing: Science Press, 2011.
- [16] WALKER J W. Evolution of exine structure in the pollen of primitive angiosperms[J]. American Journal Botany, 1974, 61(8): 891-902.
- [17] 邵邻相,范晓萍.几种芸香科植物花粉形态观察[J].果树学报,2003,20(2): 146-148.
SHAO Lingxiang, FAN Xiaoping. Observation on the pollen morphology of different genera and species of Rutaceae[J]. Journal of Fruit Science, 2003, 20(2): 146-148.
- [18] GREEN R M, VARDI A, GALUN E. The plastome of *Citrus*. physical map, variation among *Citrus* cultivars and species and comparison with related genera[J]. Theoretical & Applied Genetics, 1986, 72(2): 170.
- [19] 廖振坤,张秋明,刘卫国,丁伟平,张玲.南岭山脉宽皮柑橘近缘野生种亲缘关系鉴定[J].湖南农业大学学报(自然科学版),2006,32(7): 385-388.
LIAO Zhenkun, ZHANG Qiuming, LIU Weiguo, DING Weiping, ZHANG Ling. Identification of relationships of wild relatives of eucitrus originated from Nanling mountains by AFLP analysis[J]. Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences), 2006, 32(7): 385-388.
- [20] 刘庚峰,李文斌,张映男,贺善文.宽皮橘类野生品种花粉形态的研究[J].园艺学报,1992,19(3): 203-208.
LIU Gengfeng, LI Wenbin, ZHANG Yingnan, HE Shanwen. A study on the pollen morphology of wild mandarins[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1992, 19(3): 203-208.
- [21] WU G A, TEROL J, IBÁÑEZ V, LÓPEZ-GARCÍA A, PÉREZ-ROMÁN E, BORREDÁ C, DOMINGO C, TADEO F R, CARBONELL-CABALLERO J, ALONSO R, CURK F, DU D, OL-LITRAULT P, ROOSE M L, DOPAZO J, GMITTER F G, ROKHSAR D S, TALON M. Genomics of the origin and evolution of *Citrus*[J]. Nature, 2018, 554(7692): 311-316.
- [22] 刘庚峰,贺善文,李文斌.中国柑桔属二新种[J].云南植物研究,1990,12(3): 287-289.
LIU Gengfeng, HE Shanwen, LI Wenbin. Two new species of citrus in China[J]. Acta Botanica Yunnanica, 1990, 12(3): 287-289.