

文章编号: 1674-7054(2016)03-0287-08

傅氏凤尾蕨复合群孢子形态的扫描电镜观察

王佳玫¹, 杨东梅^{1,2}, 王爱华³, 吴友根^{1,2}, 王发国³

(1. 海南大学 园艺园林学院, 海口 570228; 2. 海南大学 热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海口 570228; 3. 中国科学院 华南植物园/中国科学院植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广州 510650)

摘要: 傅氏凤尾蕨复合群(*Pteris fauriei* complex) 包括傅氏凤尾蕨 *Pteris fauriei*、百越凤尾蕨 *P. fauriei* var. *chinensis*、线裂凤尾蕨 *P. angustipinnula*、硕大凤尾蕨 *P. majestica*、隆林凤尾蕨 *P. splendida* 等, 此复合群种间界限模糊, 难以准确分类, 为此笔者利用扫描电镜对此复合群植物的孢子形态进行观察, 为理清成员间的亲缘关系提供佐证。观察发现, 脊类纹饰是此复合群孢子的重要特征, 根据脊类纹饰的有无和分布情况, 该复合群可划分为 4 个类群。此外, 孢子形态可作为此凤尾蕨复合群区分种的特征, 但傅氏凤尾蕨和百越凤尾蕨的孢子形态较相近, 难以区别。本研究还首次发现隆林凤尾蕨具有“连体孢子”。

关键词: 傅氏凤尾蕨复合群; 孢子形态; 亲缘关系

中图分类号: Q 247

文献标志码: A

DOI: 10.15886/j.cnki.rdswwb.2016.03.020

凤尾蕨属(*Pteris* L.) 隶属于凤尾蕨科(Pteridaceae), 全世界约有 300 多种, 主产于热带和亚热带地区, 我国有 68 种, 主要分布于华南和西南。凤尾蕨属植物不仅种类多, 而且种间关系混乱, 种间界限模糊, 部分类群孢子体形态极为相似, 一直被蕨类植物学家视为分类难度较大的类群^[1-3]。由于凤尾蕨属植物生殖方式的多样化, 尤其是天然杂交和无融合生殖的频繁发生, 某些种类孢子体形态相似, 且种间的孢子体形态具有明显的连续性和过渡性, 形成亲缘关系异常复杂的复合群^[4]。只有理清凤尾蕨属各复合群内成员间的亲缘关系, 才能根本解决该属突出的分类学问题。傅氏凤尾蕨复合群(*Pteris fauriei* complex) 是其中 1 个复合群, 包括傅氏凤尾蕨(*Pteris fauriei*)、百越凤尾蕨(*P. fauriei* var. *chinensis* Ching et S. H. Wu)、线裂凤尾蕨(*P. angustipinnula* Ching et S. H. Wu)、硕大凤尾蕨(*P. majestica* Ching ex Ching et S. H. Wu)、隆林凤尾蕨(*P. splendida* Ching ex Ching et S. H. Wu) 等。除傅氏凤尾蕨外, 其余 4 种均原产我国, 与傅氏凤尾蕨形态相近, 仅以植株的高度、羽片的大小、裂片间隙的大小、裂片先端的形状或孢子囊群的长短等细小的特征而区别于傅氏凤尾蕨^[5]。

尽管傅氏凤尾蕨复合群存在以上突出的分类学问题, 但是专门针对该复合群的分属研究寥寥无几, 除了 Huang Y M 等^[6-9] 先后从细胞学、生物地理学角度深入研究了傅氏凤尾蕨、小傅氏凤尾蕨的分类学关系外, 其他相关研究都集中在傅氏凤尾蕨 1 个种上, 因此, 傅氏凤尾蕨复合群成员间的亲缘关系仍有待研究。蕨类植物的孢子和种子植物的花粉一样, 具有相对稳定且保守的结构^[10]。孢粉学证据表明, 在属的水平上, 凤尾蕨属的孢子形态比较稳定; 部分种的孢子具有独特的表面纹饰, 可作为区别于其他种的分属学依据。我国学者先后利用光镜、扫描电镜对凤尾蕨属植物的孢子形态进行观察, 早期, 张玉龙等^[11] 利用光镜观察凤尾蕨属 51 种植物的孢子形态; 后来, 随着扫描电镜的广泛运用, 利用扫描电镜可更清楚

收稿日期: 2016-03-16

基金项目: 国家自然科学基金(31360042); 海南大学青年基金项目(qnj1215); 海南大学植物学国家重点学科项目(071001)

作者简介: 王佳玫(1989-), 女, 海南大学园艺园林学院 2013 级硕士研究生. E-mail: wangjmei2011@163.com

通信作者: 杨东梅(1983-), 女, 博士, 讲师. 研究方向: 蕨类植物分类学. E-mail: ydm5711.student@sina.com

地观察孢子的立体形态和表面纹饰。据观察,凤尾蕨属孢子的总体特征为:孢子具赤道环,近极面具三裂缝,绝大多数辐射对称;极面观主要为钝三角形;赤道面观为半圆形、超半圆形或椭圆形;外壁厚,形成多种孢子表面纹饰,主要有疣块类、瘤块状、颗粒状和拟网状脊状等纹饰^[6,12-13]。近期,丁明艳^[3]从孢粉学的角度探讨了该属形态近似种的亲缘关系,她发现部分孢子体形态相似的种,其孢子形态也较相似。杨东梅^[13]通过对凤尾蕨属植物的研究,发现不少凤尾蕨属植物的孢子体,其孢子形状、表面纹饰因植株产地的不同而具有不同程度的变化,部分种在孢子体形态及孢子形态上都区别甚微。可见,对于凤尾蕨属植物,孢子形态具有一定的分类学意义。

鉴于傅氏凤尾蕨复合群的分类学问题,笔者利用扫描电镜对傅氏凤尾蕨复合群的孢子形态进行观察分析,旨在为理清该复合群种间的亲缘关系提供佐证。

1 材料与方法

1.1 材料 野外采集的凤尾蕨属植物按《中国植物志》第3卷^[4]进行分类处理(表1),凭证标本存放于海南大学园艺园林学院。孢子表面纹饰术语来源于文献^[5]。

表1 傅氏凤尾蕨复合群植物孢子形态研究的实验材料和凭证标本

Tab. 1 Materials and voucher specimens of spore morphology of *Pteris fauriei* complex

分类群 Taxon	采集地 Location	凭证标本 Voucher specimen
线裂凤尾蕨 <i>Pteris angustipinnula</i>	广西龙州	J. M. Wang 007
线裂凤尾蕨 <i>P. angustipinnula</i>	广西大新	J. M. Wang 010
傅氏凤尾蕨 <i>P. fauriei</i>	贵州册亨	J. M. Wang 024
傅氏凤尾蕨 <i>P. fauriei</i>	贵州荔波	J. M. Wang 066
百越凤尾蕨 <i>P. fauriei</i> var. <i>chinensis</i>	广西龙州	J. M. Wang 003
硕大凤尾蕨 <i>P. majestica</i>	云南景东	J. M. Wang 077
隆林凤尾蕨 <i>P. splendida</i>	贵州荔波	J. M. Wang 037

1.2 方法 第1步清洗孢子:从标本上取孢子囊,置于装有1 mL 70% 乙醇的离心管中,用超声波仪清洗10 min, $6\,000\text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$,离心5 min,去上清液,加入1 mL 70% 乙醇,再重复清洗2遍;第2步将孢子粘到样品台上:先在样品台台面上粘上黑色双面胶,用移液枪取离心管底部少量孢子,置于样品台上,干燥后用JFC-4600离子溅射仪喷金镀膜;第3步,观察与拍照:每个样品选取20个孢子,用JSM-6360LV扫描电镜观察孢子形状和表面纹饰,并适当拍照,用Smile View软件测量孢子赤道轴长和极轴长等数据。

2 结果与分析

笔者观察到的傅氏凤尾蕨复合群孢子的总体特征为:孢子具赤道环,近极面有三裂缝,绝大多数辐射对称;极面观主要为三角形;赤道面观为半圆形、超半圆形或椭圆形等;外壁厚,形成多种孢子表面纹饰,主要有脊类、疣类和瘤类三大类纹饰。这与戴锡玲^[12]、苏以丽^[14]、杨东梅^[17]等研究的凤尾蕨属孢子的总体特征相符。

傅氏凤尾蕨复合群各成员具体的孢子形态特征见表2和图版I~III。脊类纹饰包括脊状、拟网状脊状两种,其中,脊状纹饰还可细分为近极脊和远极脊。疣状纹饰和疣块状纹饰统称疣类纹饰。瘤状、瘤块状和瘤刺状纹饰统称为瘤类纹饰。疣状纹饰与瘤状纹饰的差别在于孢子表面的突起,其高度小于宽度称为疣状纹饰,反之,称为瘤状纹饰。其中,脊类纹饰是傅氏凤尾蕨复合群孢子的重要特征,根据脊类纹饰

的有无和分布情况,该复合群可划分为四大类群,类群 I: 具有远极脊和近极脊,硕大凤尾蕨均属于此类群,隆林凤尾蕨的部分孢子同时具有远极脊和近极脊; 类群 II: 只具有远极脊,隆林凤尾蕨的部分孢子。类群 III: 具有脊状或拟网状纹饰,但不具远极脊、近极脊: 傅氏凤尾蕨、百越凤尾蕨均属于这种类群,远极面具有拟网状脊状纹饰,近极面常为疣状、疣块状、瘤状和瘤块状的混合纹饰; 类群 IV: 不具有远极脊、近极脊及脊状或拟网状纹饰,线裂凤尾蕨属于此类群,在孢子的远极面和近极面只具有瘤形的刺这种纹饰。

表 2 傅氏凤尾蕨复合群孢子形态
Tab. 2 Spore morphology of *Pteris fauriei* complex

分类群	纹饰类型	极面观	赤道面观	远极面纹饰	近极面纹饰	大小	图版
Taxon	Ornamenta- tion type	Shape in polar view	Shape in equa- torial view	Ornamentation on distal face	Ornamentation on proximal face	Size/ μm^2	Plate
线裂凤尾蕨 <i>P. angustipin- nula</i>	类群 IV	圆形、椭圆形 Rounded, ellip- tical	椭圆形 Oblong	瘤刺状 Tuber- culate echinate	瘤刺状 Tuber- culate echinate	37.0 × 31.4	I: D-H
傅氏凤尾蕨 <i>P. fauriei</i>	类群 III	等边三角形、等 腰三角形 Equalateral tri- angular, isosce- les triangular	超半圆形、椭圆 形 Super semi- circular, ellipti- cal	拟网状脊状、疣 状 Subreticulate lophate, verru- cate	疣状、疣块状、 瘤状 Verru- cate, verucate- rugulose, tuber- culiform	43.1 × 28.8	I-III: I-L, S- V
百越凤尾蕨 <i>P. fauriei</i> var. <i>chinensis</i>	类群 III	等边三角形、等 腰三角形 Equalateral tri- angular, isosce- les triangular	半圆形、超半圆 形 Semi-circu- lar, super semi- circular	拟网状脊状纹 饰,微凸,大多 数隆起、少数平 整 Subreticulate lophate, slightly bulged, most protruded, few flat	瘤状、瘤块状 Tuberculate, Tuberculate-rug- ulose	46.7 × 26.2	I: A-C
硕大凤尾蕨 <i>P. majestica</i>	类群 I	近圆形、三角形 Subrounded, triangular	半圆形、超半圆 形、椭圆形、扇 形 Semi-circu- lar, super semi- circular, ellipti- cal, sectorial	脊状、瘤状、耳 状 Lophate, tu- berculate, au- riculate	瘤状、疣状 Tu- berculate, ver- rucate	52.3 × 33.5	III: W-Z, A1
隆林凤尾蕨 <i>P. splendida</i>	类群 I, II	等边三角形、圆 形、近圆形、椭 圆形等 Equalat- eral triangular, circular, subcir- cular, elliptical	半圆形、超半圆 形 Semi-circu- lar, super semi- circular	脊(部分)、瘤 状、瘤块状、拟 网状脊状 Lo- phate (part), tuberculate, tu- berculate - rug- ulate, subretic- ulate lophate	脊(部分)、疣 状、瘤状 Lo- phate (part), verrucate, tu- berculate	50.0 × 30.2	II: M-R

3 讨 论

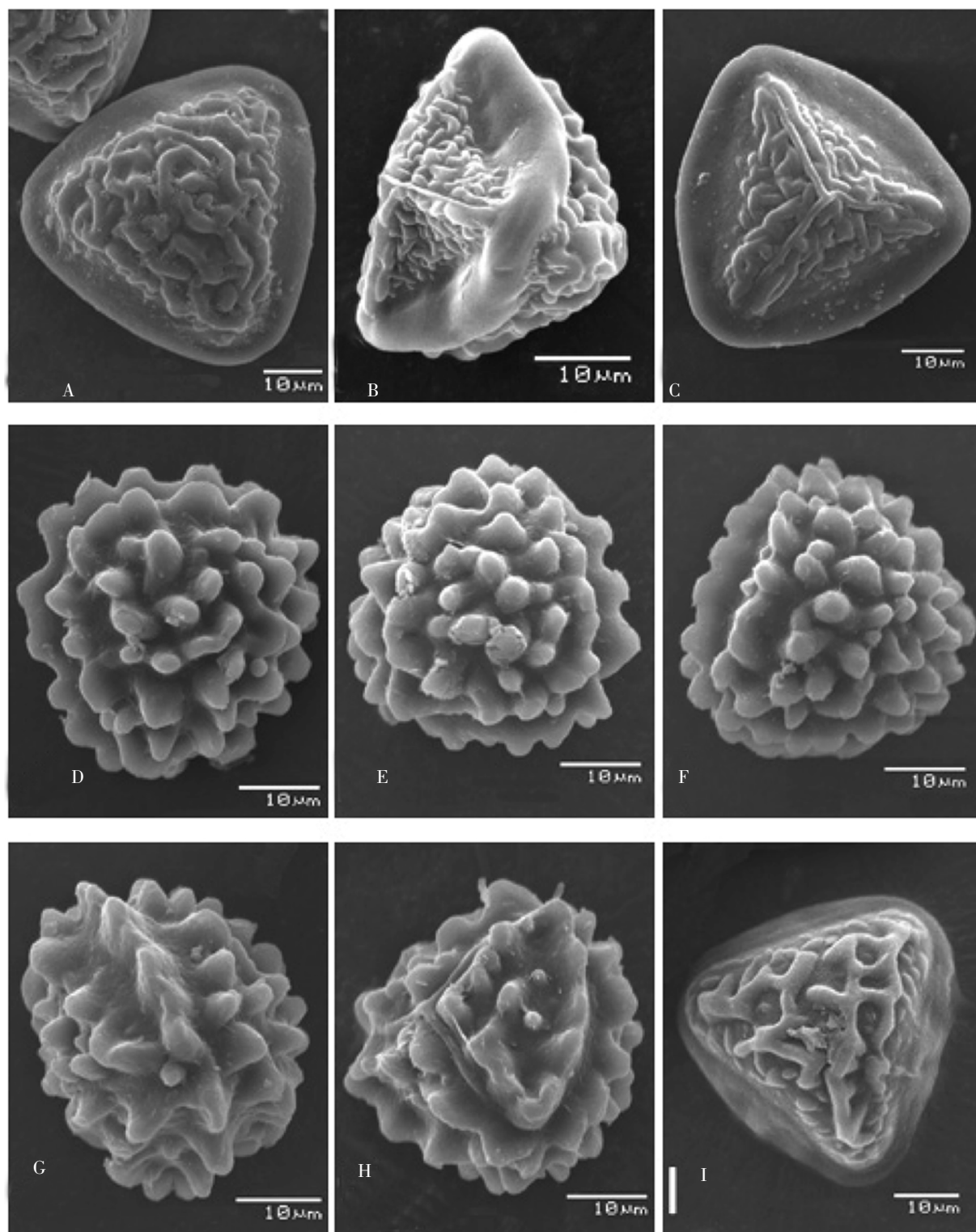
总体而言,孢子形态具有一定的分类学意义,可以作为傅氏凤尾蕨复合群区分种的特征。如硕大凤尾蕨的孢子以其均具有远极脊和近极脊而区别于其他成员,但傅氏凤尾蕨和百越凤尾蕨的孢子形态则较为相近,难以区别,由此推测它们的亲缘关系较近,与李庆艳^[18]、杨东梅^[9]的结论一致。

3.1 傅氏凤尾蕨复合群成员间的关系 根据《中国植物志》^[14],傅氏凤尾蕨复合群全体成员均划分到篦形凤尾蕨组单轴系中。以傅氏凤尾蕨为中心,其余4个成员(百越凤尾蕨、线裂凤尾蕨、硕大凤尾蕨、隆林凤尾蕨)的孢子体形态与之非常相近。《中国植物志》将百越凤尾蕨、线裂凤尾蕨、硕大凤尾蕨、隆林凤尾蕨认定为“形体近似傅氏凤尾蕨 *Pteris fauriei*”,其中,百越凤尾蕨作为傅氏凤尾蕨在中国的变种,以侧生羽片较宽较长,裂片较宽较长而区别于傅氏凤尾蕨。但杨东梅^[5]查阅大量标本后发现,其羽片形态特征均在傅氏凤尾蕨的变化范围之内;线裂凤尾蕨因其裂片为线状披针形,彼此以阔的间隔分开而区别于傅氏凤尾蕨;硕大凤尾蕨形体远较傅氏凤尾蕨高大,植株高逾1.3 m;隆林凤尾蕨则以裂片羽裂几达羽轴,羽轴上面有较多的长刺,裂片顶端有一短尖刺,裂片基部一对叶脉几以直角开展并与羽轴近平行而区别于傅氏凤尾蕨。张良^[19]在对凤尾蕨属的分子系统学研究发现,将包括傅氏凤尾蕨、硕大凤尾蕨、隆林凤尾蕨的凤尾蕨属植物聚成1支;它们在羽片对数、侧生羽片与叶轴的角度、裂片的数目和轴刺的长短等特征上变异较大。他认为这些特征都具有过渡性,但凤尾蕨属大量新种的发表(如百越凤尾蕨、隆林凤尾蕨)却基于这些不稳定的形态特征,因此“新种”的分类学位置有待修订。由此可见,傅氏凤尾蕨复合群这5种蕨类在宏观形态(孢子体形态)上难以区分,为此从微观形态对该复合群的成员进行细分是必要的。笔者将傅氏凤尾蕨复合群的5个成员按孢子纹饰类型分为4个类群,是为了从微观形态上区分它们,并探讨它们的亲缘关系。

3.2 线裂凤尾蕨孢子形态特殊且稳定 线裂凤尾蕨孢子的表面纹饰较为特殊,只有1种瘤刺状纹饰。赤道轴也与其他凤尾蕨不同,边缘呈齿状,不光滑,并不是由孢子外壁沿赤道均匀加厚,而是由瘤状突起形成的瘤状褶皱。无论从赤道面看还是从极面看,线裂凤尾蕨孢子的表面纹饰都极为规则、稳定。可见,线裂凤尾蕨的孢子形态稳定,能清晰地与傅氏凤尾蕨复合群其他成员中区分出来。本研究中观察到的线裂凤尾蕨孢子采自生境迥异的2个地方,广西省崇左市的龙州县和大新县。采自龙州县的样本生长在湿润的土山上;采自大新县的样本生长在干燥的岩石山上,由此可见,孢子形态受生长环境的影响不大。

3.3 隆林凤尾蕨的孢子形态多样 隆林凤尾蕨的孢子具有多种形态,部分与傅氏凤尾蕨的孢子形态相似,而且其孢子的表面纹饰多变,暗示其可能是杂种起源。在戴锡玲等^[12]对凤尾蕨科植物孢子的研究中,观察到隆林凤尾蕨的孢子近极面具有近极脊,瘤状纹饰,远极面为瘤块状纹饰。与戴锡玲等^[12]的观察结果相比,本研究针对隆林凤尾蕨的孢子观察较多,观察到的孢子纹饰也较全面。本研究还发现隆林凤尾蕨具有少数“连体孢子”(2个孢子没有完全分开,粘合在一起)。这是首次在凤尾蕨属发现“连体孢子”。参考戴锡玲^[20]对蕨类孢子的孢壁发育的研究,推测此现象是由于在孢子形成过程中,孢子母细胞减数分裂的不同形式造成的。在孢子母细胞经减数分裂形成4个小孢子,进入四分体时期。若减数分裂是四分同裂,形成的孢子是辐射对称的,具有三裂缝,是凤尾蕨属孢子最常见的类型。若减数分裂是非四分同裂,则形成的孢子是两侧对称的,即出现“连体孢子”。

致 谢: 深圳仙湖植物园魏奇助理工程师、贵州荔波自然保护区工作人员、云南无量山国家级自然保护区工作人员在野外工作时给予了帮助;中国科学院华南植物园胡晓颖高级工程师在孢子扫描电镜工作中给予了指导与帮助,一并致谢!

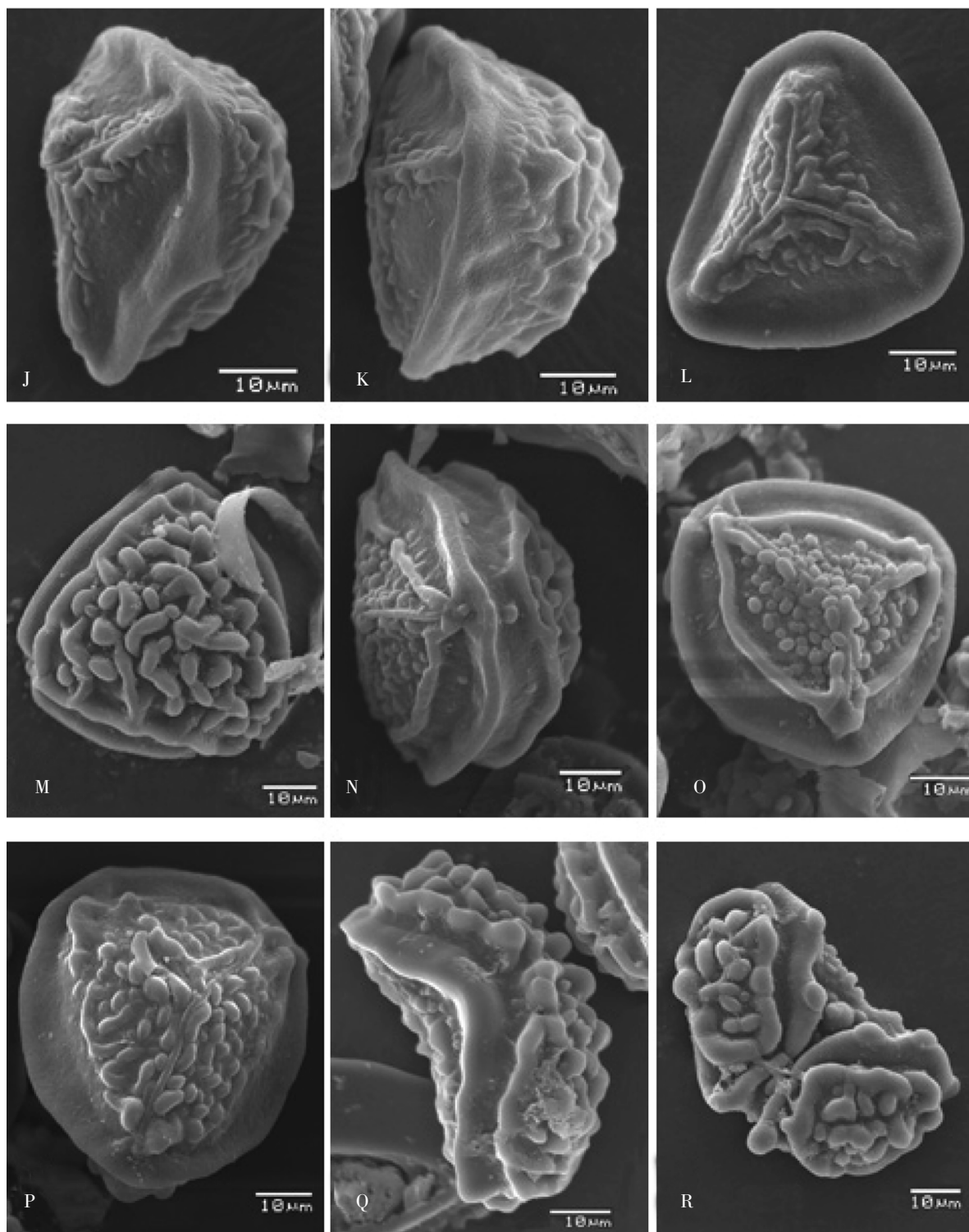


图版 I: 孢子形态

A—C. 百越凤尾蕨(广西龙州); D. 线裂凤尾蕨(广西龙州); E—G. 线裂凤尾蕨(广西大新); H. 线裂凤尾蕨(广西龙州); I. 傅氏凤尾蕨(贵州册亨) (A: $\times 1\ 200$; B: $\times 1\ 600$; C, I: $\times 1\ 500$; D—H: $\times 1\ 800$)

Plate I: Spore morphology

A—C. *Pteris fauriei* var. *chinensis* (Longzhou, Guangxi); D. *P. angustipinnula* (Longzhou, Guangxi); E—G. *P. angustipinnula* (Daxin, Guangxi); H. *P. angustipinnula* (Longzhou, Guangxi); I. *P. fauriei* (Ceheng, Guizhou) (A: $\times 1\ 200$; B: $\times 1\ 600$; C, I: $\times 1\ 500$; D—H: $\times 1\ 800$)

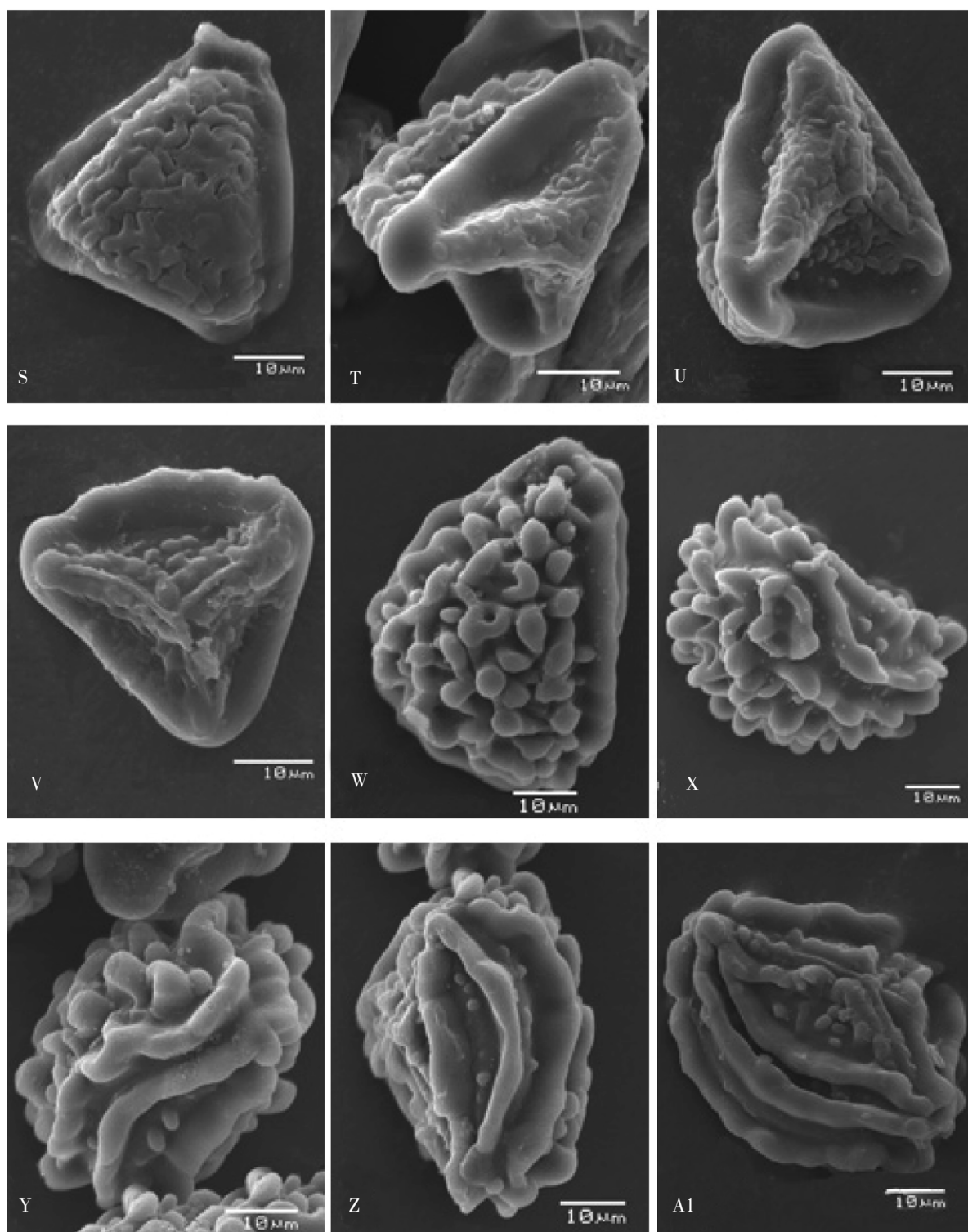


图版 II: 孢子形态

J—L. 傅氏凤尾蕨(贵州册亨) ; M—R. 隆林凤尾蕨(贵州荔波) (J, L, O: $\times 1\,500$; K, Q: $\times 1\,600$; M—N, P: $\times 1\,300$; R: $\times 1\,200$)

Plate II: Spore morphology

J—L. *Pteris fauriei* (Ceheng, Guizhou) ; M—R. *P. splendida* (Libo, Guizhou) (J, L, O: $\times 1\,500$; K, Q: $\times 1\,600$; M—N, P: $\times 1\,300$; R: $\times 1\,200$)



图版Ⅲ: 孢子形态

S—V. 傅氏凤尾蕨(贵州荔波); W—Z, A1. 硕大凤尾蕨(云南景东) (S: $\times 1\,700$; T: $\times 2\,000$; U, Y: $\times 1\,600$; V: $\times 1\,900$; W, Z: $\times 1\,300$; X, A1: $\times 1\,400$)

Plate III: Spore morphology

S—V. *Pteris fauriei* (Libo, Guizhou); W—Z, A1. *P. majestic* (Jingdong, Yunnan) (S: $\times 1\,700$; T: $\times 2\,000$; U, Y: $\times 1\,600$; V: $\times 1\,900$; W, Z: $\times 1\,300$; X, A1: $\times 1\,400$)

参考文献:

- [1] Walker T G. Cytology and evolution in the fern genus *Pteris* L. [J]. Evolution, 1962, 16(1): 27 – 43.
- [2] Shieh W C. A synopsis of the fern genus *Pteris* in Japan, Ryukyu, and Taiwan [J]. Bot. Mag. Tokyo, 1966, 79: 283 – 292.
- [3] 丁明艳. 蕨科与凤尾蕨科的系统学研究及篦形凤尾蕨组的分类修订 [J]. 广州: 中山大学, 2006.
- [4] 宋晓卿, 陆树刚. 云南产凤尾蕨属植物(凤尾蕨科) 的新修订 [J]. 广西植物, 2010, 30: 451 – 454.
- [5] 杨东梅. 中国凤尾蕨属(凤尾蕨科) 的系统分类学研究 [J]. 广州: 中国科学院华南植物园, 2011.
- [6] 王中仁. 术语“Biosystematics”和“Complex”的概念和中文译法辨析 [J]. 植物分类学报, 1998, 36(6): 90 – 92.
- [7] 秦仁昌, 吴兆洪. 我国凤尾蕨属植物资料 [J]. 中国科学院华南植物研究所集刊, 1983(1): 1 – 16.
- [8] Huang Y M, Chou H M, Hsieh T H, et al. Cryptic characteristics distinguish diploid and triploid varieties of *Pteris fauriei* (Pteridaceae) [J]. Canadian Journal of Botany, 2006, 84: 261 – 268.
- [9] Huang Y M, Chou H M, Wang J C, et al. The distribution and habitats of the *Pteris fauriei* complex in Taiwan [J]. Taiwan, 2007, 52(1): 49 – 58.
- [10] 陈晓端, 周云龙, 常崇艳, 等. 中国 3 种重点保护蕨类植物孢子的扫描电镜观察 [J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2002(2): 250 – 254.
- [11] 张玉龙, 席以珍, 张金谈. 中国蕨类植物孢子形态 [M]. 北京: 科学出版社, 1976.
- [12] 戴锡玲, 王全喜, 于晶, 等. 中国蕨类植物孢子形态的研究 VI. 凤尾蕨科 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(5): 489 – 500.
- [13] 杨东梅, 何蓉蓉, 邢福武, 等. 中国凤尾蕨属(凤尾蕨科) 的孢粉学与叶表皮形态学研究 [J]. 广西植物, 2013(1): 1 – 19.
- [14] 邢公侠, 林尤兴, 吴兆洪, 等. 中国植物志·第三卷·第一册 [M]. 北京: 科学出版社, 1990: 10 – 88.
- [15] 王全喜, 于晶. 扫描电镜下真蕨目孢子表面纹饰的分类 [J]. 云南植物研究, 2003(3): 313 – 320.
- [16] 苏以丽, 赵志国, 陈江平, 等. 广西蕨类植物孢子形态的研究 III. 凤尾蕨科 [J]. 广西植物, 2011(4): 436 – 440.
- [17] 杨东梅, 何蓉蓉, 邢福武, 等. 中国凤尾蕨属(凤尾蕨科) 的孢粉学与叶表皮形态学研究 [J]. 广西植物, 2013(1): 1 – 19.
- [18] 李庆艳. 广东省凤尾蕨属(*Pteris* L.) 系统分类学研究 [J]. 广州: 华南农业大学, 2006.
- [19] 张良. 凤尾蕨属的分子系统学研究 [J]. 成都: 中国科学院成都生物研究所, 2013.
- [20] 戴锡玲. 中国真蕨目主要孢子类型孢壁发育的研究 [J]. 上海: 华东师范大学, 2005.

Morphological Observation of the Spores from *Pteris fauriei* Complex by SEM

WANG Jiamei¹, YANG Dongmei^{1,2}, WANG Aihua³, WU Yougen^{1,2}, WANG Faguo³

(1. College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 2. Ministry of Education Key Laboratory of Protection, Development and Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Hainan University, Haikou, Hainan 570228; 3. Key Laboratory for Conservation and Sustainable Utilization of Plant Resources, South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: *Pteris fauriei* complex includes *Pteris fauriei*, *P. fauriei* var. *chinensis*, *P. angustipinnula*, *P. majestica*, *P. splendida* and so on. The taxonomic cluster of the complex is easily confused due to the morphological similarity of the members of the complex. Morphological observation of the spores of five members in this complex was performed by a scanning electron microscope (SEM), which could help to clarify their genetic relationship. It was found that the lophate-like ornamentation is an important feature, The complex could be divided into four groups based on the presence and distribution of the lophate ornamentation. And the spore morphology is species-specific in the complex, except in that *P. fauriei* and *P. fauriei* var. *chinensis* shared similar spore morphology and are hard to distinguish from each other. In addition, the “conjoined spores” phenomenon was first found in *P. splendida*.

Keywords: *Pteris fauriei* complex; spore morphology; genetic relationship