

四川雅安地区 13 种凤仙花属植物 花粉形态及其分类学意义

张 硕, 高素萍*, 张 雪, 何海峰

(四川农业大学 风景园林学院, 成都 611130)

摘 要:采用扫描电镜观察了中国四川雅安地区 13 种凤仙花属植物的花粉形态, 并对其花粉形态进行了主成分分析和聚类分析, 基于孢粉学和 SRAP 聚类结果的比较, 讨论不同孢粉学特征对分类结果的影响。结果显示: (1) 雅安地区 13 种凤仙花属植物花粉粒均为中等大小, 花粉粒形状从超扁到扁球形变化, 花粉粒极面观形状从矩形和椭圆形到四边形、圆形、三角型变化, 且只有湖北凤仙、峨眉凤仙和匙叶凤仙是三沟花粉粒, 其余种均为四沟花粉粒; 外壁纹饰仅扭萼凤仙和齿萼凤仙为细小网状, 其余均为网状纹饰。(2) 依据不同指标进行的孢粉学聚类均将 13 种凤仙花属植物划分为 3 个类群, 而 SRAP 聚类结果则将 13 种凤仙花属植物划分为 5 个类群; 不同孢粉学聚类结果的相似率只有 30.77%。(3) 孢粉学聚类并未与分子聚类显示严格的对应关系, 以花粉大小和形状、外壁纹饰为指标进行的孢粉学分类与 SRAP 分类的相似率最高(69.23%)。研究认为, 选择不同的花粉形态特征作指标对分类的准确性影响较大, 花粉大小和形状、外壁纹饰这 2 个指标对凤仙花属植物分类具有意义, 而萌发沟的特征则很难作为分类的依据, 花粉形态特征在分类上有局限性; 进行该属植物孢粉学分类需要选择有价值的分类指标, 并结合形态学、分子生物学等综合研究。

关键词: 凤仙花属; 孢粉学; SRAP; 聚类; 分类

中图分类号: Q944.1; Q944.58

文献标志码: A

Pollen Morphology and Its Relationship to Taxonomy of 13 Species in the *Impatiens* (Balsaminaceae) from Ya'an of Sichuan, China

ZHANG Shuo, GAO Suping*, ZHANG Xue, HE Haifeng

(College of Landscape Architecture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, Chian)

Abstract: In this study we analyzed pollen morphology of the 13 species of *Impatiens* (Balsaminaceae). We discussed the influence of different palynology characteristics to classification result of *Impatiens* by comparing the analysis results of palynology and SRAP. We obtained the following results: (1) Pollen grains of 13 *Impatiens* species were medium-sized. Pollen shapes varied from peroblate to oblate. Polar view varied from rectangular over elliptic to quadrangular, dumbbell and triangular shape. Within the species investigated, tricolpate pollen was observed in some species (*I. pritzelii*, *I. spathulata*, *I. omeiana*). The rest of species have pollen grains with four apertures. In general, sexine ornamentation in 11 species was reticulate. *I. dicentra* and *I. tortisepala* had a microreticulate sexine ornamentation. (2) By palynology cluster, 13 species of *Impatiens* are divided into three groups. By SRAP cluster, 13 species of *Impatiens* are divided into five groups. The similarity among palynology cluster results is 30.77%. (3) Palynology characteristics were not always congruent with molecular traits used to distinguish among *Impatiens*. The palynology cluster re-

收稿日期: 2013-11-07; 修改稿收到日期: 2014-03-04

基金项目: 四川省科技计划(2012FZ0083)

作者简介: 张 硕(1980-), 女, 在读博士研究生, 讲师, 主要从事观赏植物生殖生物学研究。E-mail: supingg@hotmail.com

* 通信作者: 高素萍, 教授, 主要从事观赏植物生理生态研究。E-mail: supingg@hotmail.com

sults by using pollen size, shape and sexine ornamentation as indexes have the most similarity with that of molecular level (69.23%). Palynology characteristics have a great effect on the accuracy of classification. For systematization of *Impatiens*, pollen grain size, shape and sexine ornamentation were meaningful index. The characteristics of aperture are difficult to be used as the basis of classification. Pollen morphological characteristics have limitations on the classification. The research suggests that palynology taxonomy of *Impatiens* asks for selecting valuable classification index. And we must integrate palynology with molecule and morphology when we classify *Impatiens*.

Key words: *Impatiens*; palynology; SRAP; cluster; taxonomy

凤仙花属(*Impatiens* L.)是一个大属,已知的种类已超过 1 000 种^[1]。凤仙花属在植物分类学上是十分困难的一个类群^[2]。该属植物形态高度保守,总是有腺齿叶和半肉质多汁的茎,花部形态却存在着大量的变异^[3-10]。庞大的物种数量、表观形态的相似性、高趋同进化水平的花部形态都是经典形态数据难于解决该属分类的主要原因^[11]。

花粉的形态特征常常用于植物的分类,特别是利用经典形态学方法难于解决分类问题时。孢粉学的研究也作为辅助手段引入到了凤仙花属的分类研究中^[12-16]。但花粉形态能否作为该属植物分类的依据,一直为学者所争论^[4,9-10,17-19]。Grey-Wilson 最早肯定了花粉形态在处理凤仙花属分类问题上的可能价值^[10,17]。他用孢粉学数据来推断非洲凤仙花的分类关系,并认为花粉形态学在分类中的价值可能因杂交而变得模糊;鲁迎青认为,孢粉学研究对该属植物属内类群划分具有系统学意义^[18];Perveen 等^[19]研究认为很难用花粉形态特征(大小、萌发沟长度、外壁厚度)对其进行分类;而 Janssens 等^[7]的研究却为该属部分种类的分类找到了孢粉学依据,在对亚洲凤仙属 115 个种的研究中 Janssens 等认为,不能用单一的分子或花粉形态学数据解决系统进化的问题,必须将两者结合起来^[9]。

花粉形态特征众多,不同学者对花粉形态在凤仙属植物分类上的分歧可能与选择分类指标有关。本研究的目的是,提供雅安地区这 13 种凤仙属植物全面的花粉形态描述,并对其进行分析。根据对孢粉学、SRAP 的综合分析,探讨孢粉学特征对该属植物分类的真实意义。

1 材料和方法

1.1 材料的采集

13 种凤仙花种材料均来自四川雅安地区,所有材料均由四川农业大学林学院刘军教授鉴定。凭证标本保存在四川农业大学环境资源重点实验室。

1.2 花粉形态分析

在电镜视野中随机选取 30 粒花粉,测量极轴长度(P)、赤道轴长度(E),计算 P/E ,统计萌发沟的数量、沟长、沟宽,网眼大小,网脊宽度,观察网脊形状及长短等。相关指标测量后,利用方差分析计算各指标在种水平上的差异性,剔除差异不显著的指标。花粉形态有关术语参考埃尔特曼的方法与标准^[20]。

为了得到可靠的聚类分析结果,要求变量的数目(这里指花粉形态特征)远少于观察的数量(这里指种类)。因此首先对差异显著的测量指标进行分类。再通过主成分分析(SPSS 版本 1.9)分别计算主成分得分。按表 1 选择指标进行 Q 型聚类分析,分别得到孢粉学聚类结果 1、2、3。

1.3 SRAP 分析

取 0.3 g 左右用硅胶干燥的供试材料嫩叶,采用 CTAB 法略加改进提取 DNA,在 1.0% 琼脂糖凝胶上电泳检测^[21]。采用筛选出的 16 对引物(由北京奥科鼎盛生物科技有限公司合成),使用经正交优化的最佳反应体系和扩增程序对 13 种凤仙花属植物进行 SRAP 扩增,扩增产物用 2% 的琼脂糖电泳检测。计算多态位点百分率,并用 NTSYSpc 2.1 软件进行 Q 型聚类分析,计算相似系数,使用 UPGMA(非加权配对算术平均法)构建树状图。

表 1 孢粉学聚类指标选择一览表

Table 1 Index selection of palynology cluster

孢粉学聚类方法 Palynology cluster	孢粉学聚类 1 Palynology cluster 1	孢粉学聚类 2 Palynology cluster 2	孢粉学聚类 3 Palynology cluster 3
指标 1 Index 1	花粉大小和形状 Pollen size and shape	花粉大小和形状 Pollen size and shape	花粉大小和形状 Pollen size and shape
指标 2 Index 2	萌发沟特征 Aperture characteristic	外壁纹饰 Sexine ornamentation	外壁纹饰 Ssexine ornamentation
指标 3 Index 3	无 None	无 None	萌发沟特征 Aperture characteristic

1.4 数据分析

将各聚类结果进行比较,记录各分类中结果相同的种,并统计总数,计算相似率,并根据不同聚类间的相似率,确定最佳孢粉学分类指标。

$$\text{相似率} = v/n \times 100\%$$

式中, v 为相应聚类中分类结果均相同的种的个数; n 为种的总数。

2 结果与分析

2.1 花粉形态特征

2.1.1 花粉大小 表2显示,13种植物花粉粒均为中等大小。极轴(P)从14.30 μm (红雉凤仙)到19.60 μm (短喙凤仙)变化,平均16.89 μm 。赤道轴(E)长度从17.10 μm (扭萼凤仙)到30.10 μm (湖北凤仙和匙叶凤仙)变化,平均22.55 μm 。湖北凤仙花粉粒最大($P=19.30 \mu\text{m}, E=30.10 \mu\text{m}$),扭萼凤仙花粉粒最小($P=14.50 \mu\text{m}, E=17.10 \mu\text{m}$)。

2.1.2 花粉粒形状 使用极轴/赤道轴长度(P/E)说明花粉的形状。13种植物的花粉粒形状从超扁到扁球形变化。扁球形是最多的(76.92%),然后是超扁圆形(23.08%)。

2.1.3 极面观形状 研究材料的花粉粒极面观形状变化很大,从矩形和椭圆形到四边形、圆形、三角形变化。矩形最多(38.46%,图1,1A~5A),其次为椭圆形和三角形,均为23.08%(图1,6A~8A;图1,9A~11A)。有2个种(天全凤仙和太子凤仙)为哑铃形(图1,12A,13A)。

2.1.4 萌发沟 13种植物中仅湖北凤仙、峨眉凤仙和匙叶凤仙是三沟花粉粒,其余均为四沟花粉粒。菱叶凤仙的萌发沟最长($L=9.04 \mu\text{m}$;表2),匙叶凤仙的最短($L=5.75 \mu\text{m}$;表2),平均长度7.21 μm 。

2.1.5 外壁饰纹 通常,亚洲凤仙花的外壁饰纹是网状(图1,1B~6B,9B~13B)。细小的网状只在扭萼凤仙(图1,7B)和齿萼凤仙(图1,8B)中看到。

13种凤仙的平均网眼直径从0.65 μm (扭萼凤仙;表2)到2.37 μm (峨眉凤仙;表2)变化,平均直径1.45 μm 。网脊宽度在0.27 μm (扭萼凤仙;表2)到0.70 μm (峨眉凤仙和太子凤仙;表2)之间变化,平均宽度为0.54 μm 。网脊形状的种类及各自所占比重为:边缘波状表面光滑(46.15%)、边缘波状表面凹凸(23.08%)、边缘平滑表面光滑(30.77%)。

2.2 聚类分析结果

2.2.1 孢粉学聚类分析 极轴长 P 、赤道轴长 E 、 P/E 、萌发沟数量、沟长、沟宽、网眼大小、网脊宽度、

网脊形状、网脊长度等指标在0.05水平下差异显著。根据指标的特征和意义,对其进行分类,并分别提取主成分。11个测量指标提取为6个主成分指标,远小于植物种类(13种)。因此聚类分析结果具有意义。利用提取的主成分,依据表1的指标选择进行孢粉学聚类,孢粉学聚类结果见图2。

孢粉学聚类1以花粉大小、形状和萌发沟特征为指标,将13种凤仙属植物分为了3个类群(图2, A)。类群I包括湖北凤仙、峨眉凤仙和匙叶凤仙。此类群均为三沟花粉,余下10个种均为四沟花粉。类群II包括短喙凤仙、菱叶凤仙、华丽凤仙和天全凤仙。此类群花粉粒体积均较大(天全凤仙除外),且萌发沟较宽(菱叶凤仙除外)。类群III包括波缘凤仙、红雉凤仙、扭萼凤仙、太子凤仙、齿萼凤仙和荞麦地凤仙。此类群花粉粒体积均较小(荞麦地凤仙除外),萌发沟较窄。

孢粉学聚类2以花粉大小、形状和外壁纹饰为指标,将13种凤仙属植物分为了3个类群(图2, B)。类群I包括湖北凤仙、峨眉凤仙、匙叶凤仙、波缘凤仙和太子凤仙;类群II包括红雉凤仙、天全凤仙和扭萼凤仙;类群III包括华丽凤仙、齿萼凤仙、荞麦地凤仙、菱叶凤仙和短喙凤仙。

孢粉学聚类3将13种凤仙属植物分为了3个类群(图2, C)。类群I包括湖北凤仙、峨眉凤仙和匙叶凤仙,该类群均为三沟花粉。类群II包括短喙凤仙、菱叶凤仙、荞麦地凤仙和太子凤仙。该类群均为四沟花粉,花粉粒较大,萌发沟窄(短喙凤仙除外),网脊较宽。类群III包括波缘凤仙、齿萼凤仙、红雉凤仙、扭萼凤仙、华丽凤仙和天全凤仙,均为四沟花粉,花粉粒较小,萌发沟较宽,网脊较窄。

2.2.2 SRAP 聚类分析 由图2, D可知,SRAP聚类将13种凤仙花属植物划分为5个类群。类群I包括华丽凤仙和扭萼凤仙;类群II包括波缘凤仙、红雉凤仙、太子凤仙、菱叶凤仙、匙叶凤仙、天全凤仙和荞麦地凤仙;类群III包括湖北凤仙和峨眉凤仙;类群IV为短喙凤仙;类群V为齿萼凤仙。

2.2.3 各聚类结果比较 3种孢粉学分类中,只有短喙凤仙和菱叶凤仙、湖北凤仙和峨眉凤仙的分类是相同的,相似率为 $4/13=30.77\%$ 。这说明选择不同指标,孢粉学聚类结果间差异很大,即指标的选择对分类的影响也很大。

孢粉学聚类1中有2组(湖北凤仙和峨眉凤仙,波缘凤仙和红雉凤仙)分类得到SRAP的证实,相似率为 $4/13=30.77\%$;孢粉学聚类2中有4组(荞

表 2 孢粉学数据一览表
Table 2 Pollen morphological characteristics of the tested *Impatiens*

种类 Species	花粉大小和形状 Pollen size and shape				萌发沟特征 Aperture characteristic				外壁纹饰 Sexine ornamentation			
	极轴长 Polar axis (P)/ μm	赤道轴长 Equator axial (E)/ μm	P/E	极面观形状 Shape in polar view	萌发沟数量 Aperture number	萌发沟长度 Aperture length/ μm	萌发沟宽度 Aperture width/ μm	网眼大小 Lumina size/ μm	网脊宽度 Muri width/ μm	网脊长度 Muri length/ μm	网脊形状 Muri shape	
华丽凤仙 <i>I. faberi</i>	17.20	21.60	0.80	3	4.00	8.27	0.74	1.17	0.48	2	1	
波缘凤仙 <i>I. undulata</i>	15.00	20.50	0.73	3	4.00	6.90	0.47	1.32	0.58	1	2	
湖北凤仙 <i>I. pritzelii</i>	19.30	30.10	0.64	1	3.00	6.38	0.41	1.90	0.47	4	3	
红雄凤仙 <i>I. oxyanthera</i>	14.30	22.10	0.65	3	4.00	7.00	0.39	1.82	0.45	3	1	
短喙凤仙 <i>I. rostellata</i>	19.60	22.00	0.89	4	4.00	8.16	0.48	1.34	0.60	2	3	
扭萼凤仙 <i>I. tortisepala</i>	14.50	17.10	0.85	4	4.00	6.84	0.17	0.65	0.27	2	1	
齿萼凤仙 <i>I. dicentra</i>	16.70	20.30	0.82	4	4.00	7.86	0.34	0.73	0.55	2	2	
荞麦地凤仙 <i>I. lemeii</i>	19.10	21.50	0.89	3	4.00	6.54	0.29	1.14	0.54	1	1	
峨嵋凤仙 <i>I. omeiana</i>	17.30	27.50	0.63	1	3.00	7.49	0.62	2.37	0.70	4	3	
天全凤仙 <i>I. tienchuanensis</i>	14.50	19.50	0.74	3	4.00	7.26	0.89	1.72	0.49	3	2	
菱叶凤仙 <i>I. rhombifolia</i>	19.10	21.50	0.89	2	4.00	9.04	0.29	1.09	0.51	2	1	
匙叶凤仙 <i>I. spatulata</i>	16.70	30.10	0.55	1	3.00	5.75	0.67	1.53	0.65	1	3	
太子凤仙 <i>I. alpicola</i>	16.30	19.40	0.84	2	4.00	6.22	0.16	2.08	0.70	1	1	

注:极面观形状:1.三角形;2.哑铃形;3.矩形;4.椭圆形。网脊长度:1.较长;2.短;3.长短差异;4.长。网脊形状:1.边缘波状表面光滑;2.边缘波状表面凹凸;3.边缘平滑表面光滑。

Note: Shape in polar view: 1. Triangle; 2. Dumbbell; 3. Rectangle; 4. Ellipse. Muri length: 1. Long; 2. Short; 3. Difference; 4. Longer. Muri shape: 1. Undulate margin and smooth surface; 2. Undulate margin and rough surface; 3. Smooth margin and smooth surface.

麦地凤仙和菱叶凤仙,红雉凤仙和天全凤仙,湖北凤仙和峨眉凤仙,匙叶凤仙、波缘凤仙和太子凤仙)分

类得到 SRAP 的证实,相似率为 $9/13=69.23\%$; 孢粉学聚类 3 中有 3 组(波缘凤仙和红雉凤仙,荞麦地

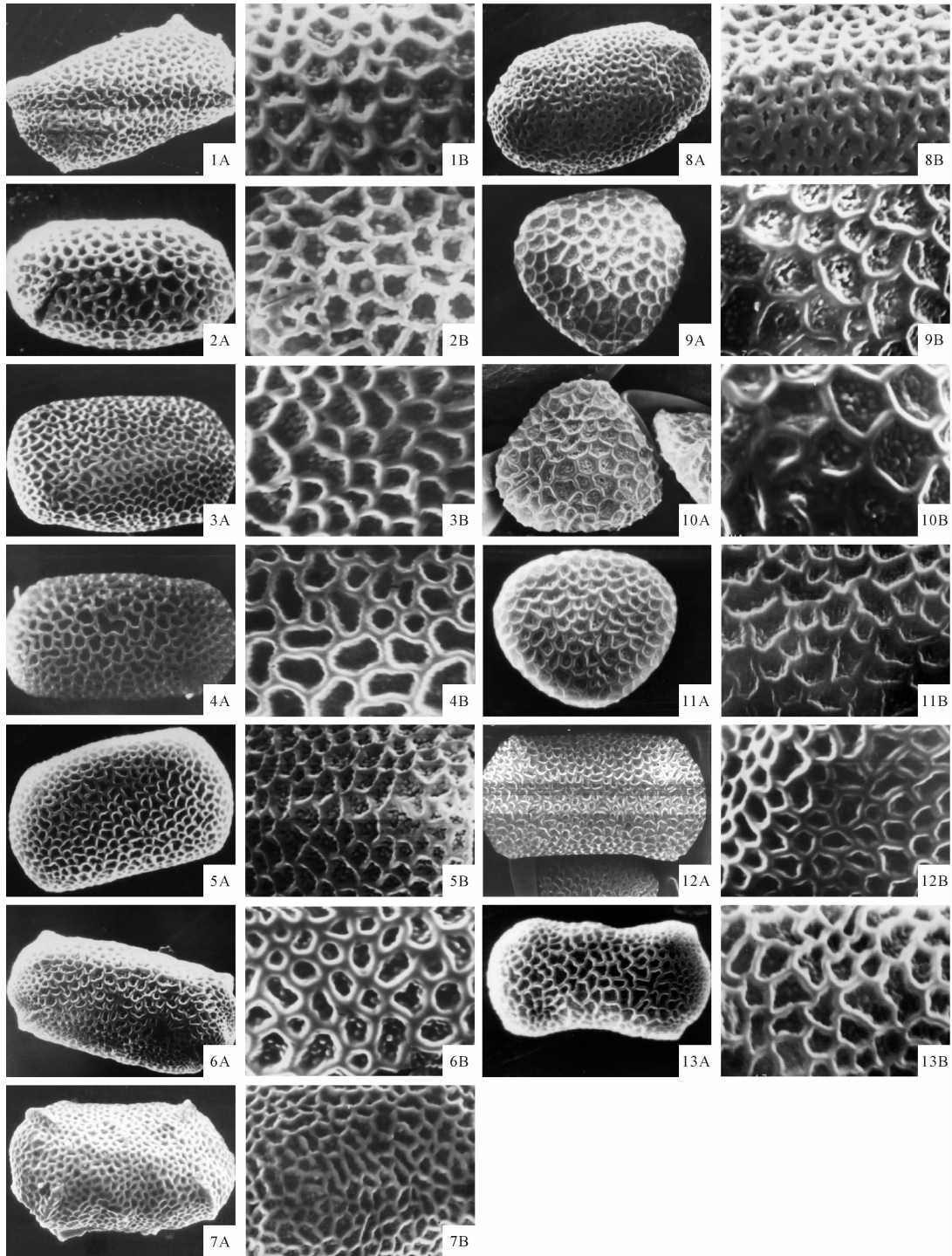


图 1 花粉极面观和外壁纹饰

1. 华丽凤仙花; 2. 波缘凤仙花; 3. 红雉凤仙; 4. 荞麦地凤仙; 5. 天全凤仙; 6. 短喙凤仙; 7. 扭萼凤仙; 8. 齿萼凤仙;
9. 湖北凤仙; 10. 峨眉凤仙; 11. 匙叶凤仙; 12. 菱叶凤仙; 13. 太子凤仙。A. 花粉极面观; B. 花粉外壁纹饰

图 1 Polar view and sexine ornamentation of pollen tested (SEM)

1. *I. faberi*; 2. *I. undulata*; 3. *I. oxyanthera*; 4. *I. lemeei*; 5. *I. tienchuanensis*; 6. *I. rostellata*; 7. *I. tortispala*;
8. *I. dicentra*; 9. *I. pritzelii*; 10. *I. omeiana*; 11. *I. spathulata*; 12. *I. rhombifolia*; 13. *I. alpicola*.

A. Polar view of pollen(SEM); B. Sexine ornamentation of pollen(SEM)

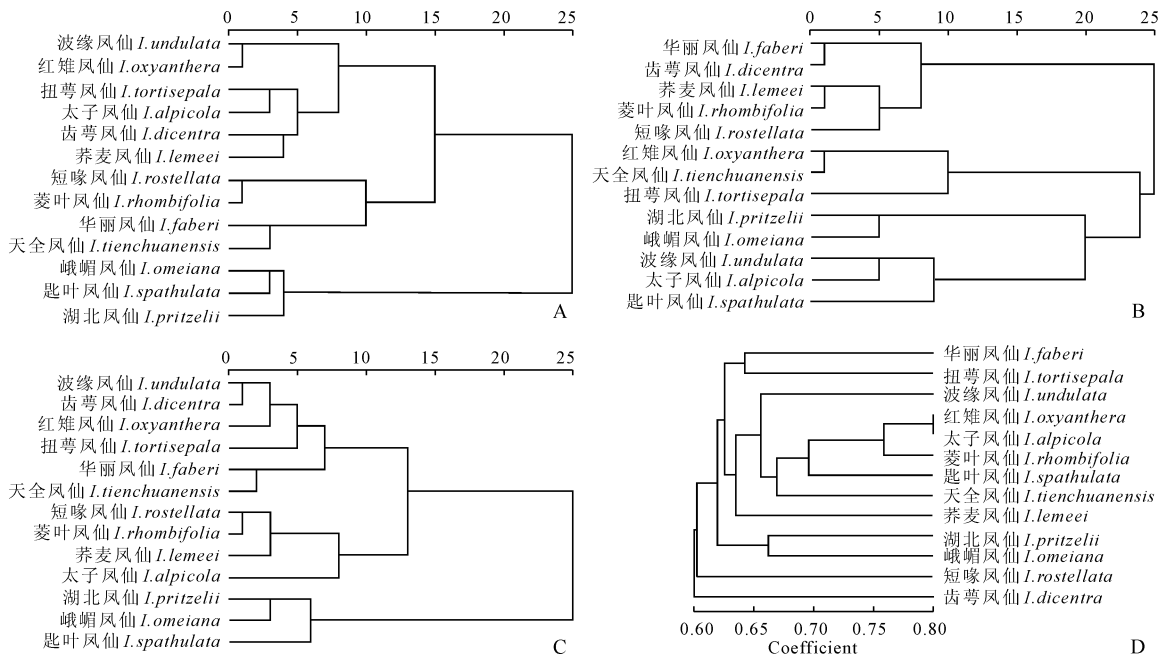


图 2 聚类结果

A. 孢粉学聚类 1 结果;B. 孢粉学聚类 2 结果;C. 孢粉学聚类 3 结果;D. SRAP 聚类结果

图 2 Clustering results

A. Clustering results of palynology 1; B. Clustering results of palynology 2;
C. Clustering results of palynology 3; D. Clustering results of SRAP

凤仙、菱叶凤仙和太子凤仙,湖北凤仙和峨眉凤仙)分类得到 SRAP 的证实,相似率为 $7/13=53.84\%$ 。与分子聚类相比较,孢粉学聚类 1 相似率最小,孢粉学聚类 2 相似率最大。不难看出,花粉萌发沟的特征混淆了植物之间的相互关系(相似性由 69.23% 降到 53.84%)。

3 讨论

利用花粉形态进行分类时,首先就面临在众多的形态特征中选择适当的特征作为分类指标。本次研究中,在选择不同指标的 3 个孢粉学分类间,彼此的相似率只有 30.77% 。依据不同的孢粉学指标聚类,得到的分类结果并不相同。这就需要在利用孢粉学分类时谨慎选择分类指标。

在过去的研究中,一直以花粉萌发沟特征作为凤仙花属植物分类的重要依据。但本研究发现,萌发沟特征并不能较好地反映这 13 种亚洲凤仙之间的相互关系。此外,同为三沟花粉的匙叶凤仙在 SRAP 中与峨眉凤仙、湖北凤仙分属不同的小类。Janssens 等^[9]对 115 种亚洲凤仙属进行孢粉学研究时,在 *I. flaccida* 的同一标本中,观察到了 3 沟和 4 沟花粉;在 *I. repens* 和 *I. oncidoides* 中观察到了 4 沟和 5 沟花粉。花粉沟数量在种内存在不稳定性。

这些现象的存在也说明了不能将花粉萌发沟特征作为该属植物分类的依据。

蔡秀珍等^[12]认为凤仙花属植物花粉的外壁纹饰应视为分类的重要特征。尽管所有的亚洲种都有网状的外壁纹饰,Janssens 仍然观察到这种外壁纹饰的部分不同,并认为这一特点可用于种的鉴定^[9]。如前所述,以花粉大小和形状、外壁纹饰为指标的孢粉学聚类较其他孢粉聚类与 SRAP 聚类结果更为接近(相似性为 69.23%)。外壁纹饰这一指标对凤仙花属植物的分类是有意义的。其中,依据主成分提取的负荷因子知,重要性依次为网眼大小>网脊形状>网脊宽度>网脊长度。

孢粉学聚类 2 的结果虽然与分子聚类结果相似度达 69.23% ,但仍未完全对应。匙叶凤仙在孢粉学中同三沟花粉的湖北凤仙和峨眉凤仙聚为一类,而在分子聚类中,则从三沟花粉的小类中分离出来,与红雉凤仙、菱叶凤仙等四沟花粉聚为一类。此外,各小类在孢粉学聚类和分子学聚类中的相互关系不同,如:在分子聚类中首先分离出来的是齿萼凤仙和短喙凤仙,而在孢粉学聚类中三沟花粉的湖北凤仙、峨眉凤仙和匙叶凤仙最先分离出来。花粉形态特征的形成是自然选择的结果。由于存在趋同进化现象,在相同或相似的自然环境下,不同种花粉的

形态特征也可能具有相似的形态特征,这可能是用花粉形态特征分类的局限性原因。

本次研究的13种亚洲凤仙中,仅峨眉凤仙、齿萼凤仙和荞麦地凤仙有花粉形态的相关研究^[9,22],其余10种为首次报道。研究结果显示,雅安地区凤仙在花粉形态上与Janssens^[9]的测量值相吻合。如:极轴(P)从14.30 μm(红雉凤仙)到19.60 μm(短喙凤仙)变化,Janssens等的的数据则在10.90~24.50 μm之间;赤道轴(E)长度从17.10 μm(齿萼凤仙)到29.80 μm(湖北凤仙)变化,Janssens的数据则在17.10~29.80 μm之间。此外,在花粉极面观形状方面,天全凤仙和太子凤仙为哑铃型花粉,而

哑铃形的凤仙花粉还未见文献报道。植物生殖特征的多样性,比如花和花粉的形态,主要受地理环境的影响^[23]。四川喜马拉雅山系是凤仙的起源地,雅安地区正位于此范围内,是重要的生态过渡带。其特殊的地理位置和气候条件使该区域常具有较高的生物多样性,并常出现一些特殊种类。故雅安地区该属植物的地理分布具有明显的地域性和特有性。

总之,对凤仙花属植物孢粉学分类需要谨慎选择分类指标。孢粉学研究在该属植物的分类上尚有局限性。在利用花粉形态学对该属植物进行分类时应结合形态学、分子生物学等研究。

致谢:感谢生命理学院电镜实验室的谢玲老师在实验期间的耐心指导与帮助。

参考文献:

- [1] JANSSENS S B, KNOX E B, DESSEIN S, *et al.* *Impatiens msimwanensis* (Balsaminaceae): Description, pollen morphology and phylogenetic position of a new East African species[J]. *South African Journal of Botany*, 2009, **75**(1):104–109.
- [2] 陈艺林. 凤仙科[M]//中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 2002, **47**(72):1–4.
- [3] CARIS P L, GEUTEN K P, JANSSENS S B. Floral development in three species of *Impatiens*[J]. *American Journal of Botany*, 2006, **93**(1):1–14.
- [4] JANSSENS S B, LENS F. Palynological variation in Balsaminoid Ericales. II. Balsaminaceae, Tetram eristaceae, Pellicieraceae and general conclusions[J]. *Annals of Botany*, 2005, **96**:1 061–1 073.
- [5] JANSSENS S B, GEUTEN K, YUAN Y M. Phylogenetics of *Impatiens* and *Hydrocera* (Balsaminaceae) using chloroplast *atpB-rbcL* spacer sequences[J]. *Systematic Botany*, 2006, **31**(1):171–180.
- [6] JANSSENS S B. Evolutionary studies in Balsaminaceae: Integration of evidence from molecular and morphological data[D]. K U Leuven, 2008.
- [7] JANSSENS S B, FISCHER E, STEVART T. New insights on the origin of epiphytic *Impatiens* (Balsaminaceae) in West Equatorial Africa based on molecular phylogenetic and biogeographical analysis[J]. *Taxon*, 2010, **59**(5):1 508–1 518.
- [8] YUAN Y M, SONG Y, GEUTEN K. Phylogeny and biogeography of Balsaminaceae inferred from ITS sequences[J]. *Taxon*, 2004, **53**(2):391–391.
- [9] JANSSENS S B, SONG Y, YUAN Y M. A total evidence approach using palynological characters to infer the complex evolutionary history of the Asian *Impatiens* (Balsaminaceae)[J]. *Taxon*, 2012, **61**(2):355–367.
- [10] GREY WILSON C. *Impatiens* of Africa[M]. Rotterdam: Balkema, 1980:3.
- [11] HOOKER J D. An epitome of the British Indian species of *Impatiens*[J]. *Records of the Botanical Survey of India*, 1905, **4**(1):3–12.
- [12] CAI X ZH(蔡秀珍), LIU K M(刘克明), CONG Y Y(丛艳艳), *et al.* SEM observation on the pollen grains of ten species in *Impatiens* L. (Balsaminaceae)[J]. *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), 2007, **27**(3):279–283(in Chinese).
- [13] CAI X ZH(蔡秀珍), LIU K M(刘克明), ZHU X W(朱晓文), *et al.* Pollen morphology of some species of *Impatiens* L. (Balsaminaceae)[J]. *Acta Horticulturae Sinica* (园艺学报), 2008, **35**(3):389–394(in Chinese).
- [14] TARA C P, NAMBOODRI A N. Aberrant microsporogenesis and sterility in *Impatiens sultani* (Balsaminaceae)[J]. *American Journal of Botany*, 1974, **61**(6):585–591.
- [15] NARSYAN L L, SAYEEDUDDIN M. A study of the gametophytes in *Impatiens leschenaultii* Wall[J]. *J. Ind. Bot. Soc.*, 1959, **38**:391–397.
- [16] MOORE P D, WEBB J A. An Illustrated Guide to Pollen Analysis[M]. London: Hodder and Stoughton, 1978:126–128.
- [17] GREY WILSON C. Hybridisation in African *Impatiens*. Studies in Balsaminaceae[M]. London: Royal Botanic Gardens, Kew, 1980, 34:689–722.
- [18] LU Y Q(鲁迎青). Pollen morphology of *Impatiens* L. (Balsaminaceae) and its taxonomic implications[J]. *Journal of the Graduate School of the Chinese Academy of Sciences* (中国科学院研究生院学报), 1991, **29**(4):352–357(in Chinese).
- [19] PERVEENA A, QAISER M. Pollen flora of Pakistan-XXVI. Balsaminaceae[J]. *Turkish Journal of Botany*, 2001, **25**:35–38.
- [20] ERDMANN G. 孢粉学手册[M]. 中国科学院植物研究所古植物研究室孢粉组译. 北京: 科学出版社, 1978:1–45.
- [21] 邹喻苹, 葛 颀. 系统与进化植物学中的分子标记[M]. 北京: 科学出版社, 2001:15–19.
- [22] 王伏雄. 中国花粉形态[M]. 北京: 科技出版社, 1995:3–9.
- [23] OSWALD W W, DOUGHT E D, NE'EMAN G, *et al.* Pollen morphology and its relationship to taxonomy of the genus *Sarracenia* (Sarraceniaceae)[J]. *Rhodora*, 2011, **113**(7):1–23.