

紫花苜蓿复合体 (*Medicago sativa* complex) 叶片形态特征及数量分类研究

崔大方^a, 羊海军^b, 赵业彬^c, 李庆艳^b, 陈考科^a

(华南农业大学 a. 林学院; b. 公共基础课实验教学中心; c. 生命科学学院, 广东 广州 510642)

摘要: 运用比较形态学和比较解剖学方法, 使用扫描电镜和光学显微镜对紫花苜蓿复合体 (*Medicago sativa* complex) 6个分类群的叶片形态特征和叶片解剖结构进行了观察和比较, 并以15个叶片表征形态性状为基础, 采用聚类分析法(UPGMA)和主成分分析方法(PCA)对6个分类群进行了数量分类研究。观察结果表明: 各分类群叶片的上、下表皮多为不规则形细胞; 垂周壁呈深浅不一的波状; 气孔器为不规则型, 具有蜡质气孔盖, 气孔密度有一定差异。6个分类群的叶片均为薄纸质型, 厚度130~170 μm, 表皮细胞切面近圆形或近长方形; 栅栏组织细胞1~2层, 厚度41~68 μm, 细胞排列紧密; 海绵组织厚度32~75 μm, 细胞排列疏松; 不同分类群叶片的组织疏松度和组织紧缩度有一定的差异, 大花苜蓿(*M. trautvetterii* Sumnev.)叶片的组织疏松度最高, 紫花苜蓿叶片的组织紧缩度最高。UPGMA结果显示: 在结合线1.53处可将6个分类群划分为2支, 其中, 黄花苜蓿(*M. falcata* L.)独立为一支, 其余5个分类群聚成另一支; 在结合线1.18处, 第2支又被分成2个亚支, 其中一个亚支包含紫花苜蓿和天山苜蓿(*M. tianshanica* Vassilcz.), 另一个亚支则包含西锡金苜蓿(*M. schischkini* Sumnev.)、座垫苜蓿(*M. rivularis* Vassilcz.)和大花苜蓿。PCA结果表明: 对紫花苜蓿复合体而言, 叶片表皮细胞形状、垂周壁式样、轴性分化特征、组织疏松度和气孔密度等特征具有较好的分类价值; 基于主成分分析的Q分布图与聚类分析结果也具有较高的一致性。根据本研究结果及前人的研究结果, 认为国产的紫花苜蓿复合体应包含3个分类群, 即紫花苜蓿、黄花苜蓿及多变苜蓿(*M. varia* Martyn)。此外, 西锡金苜蓿、座垫苜蓿、天山苜蓿和大花苜蓿等杂交后代分类群的性状分化不稳定, 应属于多变苜蓿的同种异名植物。

关键词: 紫花苜蓿复合体; 叶片形态特征; 解剖结构; 聚类分析; 主成分分析; 数量分类

中图分类号: Q949.751.9; Q944.53 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7895(2010)03-0001-09

Studies on leaf morphological characters and numerical classification of *Medicago sativa* complex

CUI Da-fang^a, YANG Hai-jun^b, ZHAO Ye-bin^c, LI Qing-yan^b, CHEN Kao-ke^a (a. College of Forestry; b. Center of Experimental Teaching for Common Basic Courses; c. College of Life Science, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2010, 19(3): 1-9

Abstract: Using methods of comparative morphology and comparative anatomy, the morphological characters and anatomical structures of leaf of six taxa in *Medicago sativa* complex were studied by SEM and LM. And based on fifteen characterizations, numerical classification of the six taxa was also carried out by means of UPGMA and principal component analysis (PCA). The observation results show that leaf upper and lower epidermis cells of the six taxa are mostly irregular; anticlinal walls appear waved with different degrees; stomatal apparatus is the irregular type with a waxy cap, and the stomatal density varies to a certain degree. The six taxa all have papery leaf with a thickness of 130-170 μm, and the section shape of epidermal cells is subrotund or sub-rectangular. There is 1-2 layer cell in palisade tissue with a thickness of 41-68 μm and compact cell arrangement. The spongy tissue is with a thickness of 32-75 μm and loose cell arrangement. There is a certain difference in leaf structure loose ratio (SR) and

收稿日期: 2009-12-20

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30670145)

作者简介: 崔大方(1964—), 男, 新疆乌鲁木齐人, 博士, 教授, 从事系统与演化植物学研究。

structure tense ratio (CTR) among different taxa, in which SR of *M. trautvetterii* Sumnev. leaf is the highest while CTR of *M. sativa* leaf is the highest. The UPGMA result shows that the six taxa can be classified into two branches at the combining line of 1.53, in which one branch is *M. falcata* L. and other five taxa combine to form another branch. The latter branch can be further divided into two sub-branches at the combining line of 1.18, one contains *M. sativa* and *M. tianschanica* Vassilcz., and another contains *M. schischkinii* Sumnev., *M. rivularis* Vassilcz. and *M. trautvetterii*. The PCA result shows that shape of epidermal cells, patterns of anticlinal wall, differentiation characteristics of rhachis, SR and stomatal density of leaf possess high taxonomic value for *M. sativa* complex. Furthermore, the Q distribution map based on PCA is highly consistent with the UPGMA result. According to both of these results and previous research findings, it is concluded that *M. sativa* complex in China includes three taxa, namely, *M. sativa*, *M. falcata* and *M. varia* Martyn. In addition, differentiation of morphological characters of hybrid taxa, such as *M. schischkinii*, *M. rivularis*, *M. tianschanica* and *M. trautvetterii*, is unstable and these hybrids should be categorized as allogenic and synonym plants of *M. varia*.

Key words: *Medicago sativa* complex; leaf morphological character; anatomical structure; cluster analysis; principal component analysis; numerical classification

紫花苜蓿复合体(*Medicago sativa* complex)是由紫花苜蓿(*M. sativa* L.)和与之容易杂交并能产生可育后代的种类共同构成的复合群体,包括紫花苜蓿、黄花苜蓿(*M. falcata* L.)以及分布于高加索、中亚细亚、西伯利亚和中国新疆一带的天然杂交类群,如天山苜蓿(*M. tianschanica* Vassilcz.)、西锡金苜蓿(*M. schischkinii* Sumnev.)、伊犁苜蓿(*M. subdicycla* Vassilcz.)、密序苜蓿(*M. agropyretorum* Vassilcz.)、大花苜蓿(*M. trautvetterii* Sumnev.)和座垫苜蓿(*M. rivularis* Vassilcz.)等^[1-2],大体包括3类表型:1)开紫色花,荚果螺旋盘卷;2)开黄色花,荚果镰状弯曲或稍直;3)介于前两者之间,花色多样,荚果镰状弯曲至螺旋盘卷。其中第3类植物在形态上有许多重叠,彼此的界限极为模糊,分类学争议较大,成为植物分类学研究的重点。1982年,Small等采用2个元素特征(Ca和S)及12个形态特征对*M. sativa-falcata*连续体进行了数量分析^[3];1984年,Small等根据花色、生长习性和荚果盘卷圈数展示了紫花苜蓿、黄花苜蓿和多变苜蓿(*M. varia* Martyn)三者之间的连续性变异特点^[4];Quiros等利用蛋白标记,将可能与紫花苜蓿天然杂交的*M. falcata*、*M. cretacea* M. Bieb.、*M. varia*、*M. tunetata* Murb.和*M. glutinosa* M. Bieb.合并称为紫花苜蓿复合体^[5];1989年,Small等总结了苜蓿属(*Medicago* L.)的分类进展,支持将多变苜蓿和黄花苜蓿划分为紫花苜蓿的2个亚种,即*M. sativa* ssp. *varia* (Martyn) Arcang.及*M. sativa* ssp. *falcata* (L.) Arcang.^[6];何咏松等则认为紫花苜蓿和黄花苜蓿同属1个种的2个亚种或生物型或生态型^[7];崔大

方等^[8]和耿华珠^[9]通过叶、花、果、花粉形态以及染色体核型分析,将黄花苜蓿与紫花苜蓿的天然杂交类群归并为多变苜蓿,并在多变苜蓿内新组合了若干种下分类群;李拥军等采用种子贮藏蛋白分析技术和RAPD分子标记技术,支持将紫花苜蓿复合体划分为3个亚种,即*M. sativa* ssp. *sativa*、*M. sativa* ssp. *varia*和*M. sativa* ssp. *falcata*,并发现前2个亚种间的遗传差异相对较小,而二者与第3个亚种间的遗传差异相对较大^[10-11];孙毅等根据核糖体DNA的ITS序列分析结果将黄花苜蓿与紫花苜蓿并入1个种^[12]。

综上所述,由于长期以来在不同地理条件下杂交和分离,紫花苜蓿与黄花苜蓿的基因重新组合,出现了许多天然杂交类群,子代和亲本类型多样,这些类群的分类归属问题一直未能得到科学合理的解决。为此,在前期工作的基础上,作者对紫花苜蓿复合体的叶部表征形态和内部结构进行了全面的观察,并运用比较形态学、比较解剖学和数量分类学等研究方法对紫花苜蓿复合体进行比较分析,为解决紫花苜蓿复合体中各分类群的分类归属问题提供研究依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试紫花苜蓿复合体分类群的具体信息见表1,凭证标本保存于新疆师范大学植物标本室(XJNU)。

1.2 方法

1.2.1 叶表皮显微特征的观察方法 选取标本上部完好的成熟叶片,在小叶中部中脉附近剪取0.5 cm×

表1 供试紫花苜蓿复合体各分类群的凭证标本信息

Table 1 Information of voucher specimens of tested taxa in *Medicago sativa* complex

分类群 Taxon	采集号 Collection number	采集地 Location	海拔/m Altitude
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i> L.	C830155	新疆和静县 Hejing County, Xinjiang	1 340
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i> L.	C820342	新疆乌恰县 Wuqia County, Xinjiang	2 200
西锡金苜蓿 <i>M. schischkini</i> Sumnev.	C830267	新疆叶城县 Yecheng County, Xinjiang	1 360
座垫苜蓿 <i>M. rivularis</i> Vassilcz.	820340	新疆阿勒泰市 Altay City, Xinjiang	1 350
大花苜蓿 <i>M. trautvetterii</i> Sumnev.	C830342	新疆温宿县 Wensu County, Xinjiang	2 000
天山苜蓿 <i>M. tianschanica</i> Vassilcz.	201	新疆叶城县 Yecheng County, Xinjiang	2 600

0.5 cm 的小片,浸泡在 V(体积分数 30% 过氧化氢):V(乙酸)=1:1 的混合溶液中;60 °C 温箱中静置 3~5 h 后,用蒸馏水冲洗干净;剥取叶表皮,用体积分数 10% 过氧化氢溶液漂白 5~10 min,再用质量体积分数 1% 番红溶液染色 20~30 min,然后用体积分数 1% 的甘油封片。在 DMLB 型显微镜(德国莱卡公司生产)下观察并照相。气孔密度为 15 个观察视野的平均值。

1.2.2 叶表皮亚显微特征的观察方法 选取标本上部完好的成熟叶片,经体积分数 10% 过氧化氢溶液漂白 5~10 min,用纯净水洗净,再用体积分数 30%~100% 的乙醇进行梯度脱水,用双面胶将叶片固定在样品台上镀膜喷金后,用 XL-30-ESEM 型环境扫描电镜(荷兰菲利普公司生产)观察并照相。

1.2.3 叶片组织结构的观察方法 采用石蜡切片法观察叶片的解剖结构特征。从叶片中部至边缘切取面积 0.5 cm×0.5 cm 的小片(包含中脉),用 FAA 溶液固定后,用体积分数 50%~100% 的乙醇进行梯度脱水,然后用二甲苯透明处理,并用石蜡包埋后切片,切片厚度 8~10 μm,番红-固绿对染,中性树胶封片。在 DMLB 型显微镜下观察、测量并照相。其中,叶片、栅栏组织和海绵组织厚度各测量 30 个数值,计算平均值及标准差以及组织疏松度和紧缩度。疏松度=(海绵组织厚度/叶片厚度)×100%;紧缩度=(栅栏组织厚度/叶片厚度)×100%。

1.2.4 分类群的表征分析方法 基于表征形态数据分别计算相关系数和平均欧氏距离,并采用 UPGMA 法进行聚类分析,然后选择最优者应用结合线法进行分类群划分^[13];采用主成分分析法探讨紫花苜蓿复合体叶部特征的分类学价值。

用于聚类分析的叶片形态表征性状包括 6 个数量性状及 9 个定性性状。数量性状为上表皮气孔密度、下表皮气孔密度、叶片厚度、栅栏组织层数、组织疏松度、组织紧缩度。定性性状及其赋值为:上表皮

细胞形状(不规则形 0,不规则形或多边形 1);上表皮细胞长短轴分化程度(多数明显 0,明显或不明显 1,少数明显 2);上表皮细胞垂周壁式样(深波状 0,波状至浅波状 1,平直或弓形 2,其他 3);下表皮细胞形状(不规则形 0,不规则形或多边形 1);下表皮细胞长短轴分化程度(多数明显 0,明显或不明显 1,少数明显 2);下表皮细胞垂周壁式样(深波状 0,波状至浅波状 1,平直或弓形 2);表皮细胞切面形状(近长方形 0,近长方形或近圆形 1,近圆形 2);栅栏组织细胞排列状况(紧密 0,较紧密 1,较疏松 2,疏松 3);海绵组织细胞排列状况(疏松 0,较疏松 1,较紧密 2,紧密 3)。

1.3 数据处理

数据处理全部使用生物统计“NTSYS-PC”软件包完成。对所采集的数据进行聚类分析,将原来的性状作为运算单位,计算相似性系数并组成相似性系数矩阵,所得矩阵用 NTSYS-PC version 2.1e 进行处理。

聚类分析程序为:将原始矩阵用 Standardization 子程序进行标准化,然后用 Similarity 子程序中的 Interval data 求出欧氏距离矩阵,再用 Clustering 程序中的 Shani 子程序以 UPGMA 方法进行聚类。

主成分分析程序为:将原始矩阵用 Standardization 子程序进行标准化,然后用 Similarity 子程序中的 Interval data 求出各变量的相关系数,再用 Ordination 中的 Eigen 子程序算出特征值和特征向量等。

2 结果和分析

2.1 扫描电镜下紫花苜蓿复合体各分类群的叶表皮亚显微特征

紫花苜蓿复合体 6 个分类群叶表皮亚显微特征的结果见图版 I-1~6。紫花苜蓿、西锡金苜蓿、座垫苜蓿和天山苜蓿的下表皮细胞均为不规则形(图版 I-1,3,4,6);黄花苜蓿和大花苜蓿的下表皮细胞多数为不规则形,少数呈多边形(图版 I-2,5)。根

据波状起伏程度,不规则形细胞的垂周壁式样分为深波状、波状和浅波状;多边形细胞的垂周壁式样有平直和弓形。根据细胞表面隆起程度,可分为 3 类:1) 紫花苜蓿、西锡金苜蓿、天山苜蓿的细胞表面向上隆起呈山丘状,后者稍不明显;2) 黄花苜蓿和座垫苜蓿的细胞表面平整或近平整;3) 大花苜蓿的细胞表面近平整或向下凹陷。各分类群的下表皮都被有稀疏表皮毛和气孔器。表皮毛均为单细胞非腺毛,基部膨大,先端锐尖,毛上有微小乳突。所有分类群的气孔器均由气孔和保卫细胞组成,并被 3~5 个表皮细胞所包围,属不规则型气孔器,并具有蜡质气孔盖。

2.2 光学显微镜下紫花苜蓿复合体各分类群的叶片表皮形态特征

在光学显微镜下,紫花苜蓿复合体各分类群叶片

上、下表皮的细胞形状、长短轴分化程度、垂周壁式样、气孔器类型及气孔密度的观察和统计结果见图版 I-7~12 和表 2。光学显微镜下这 6 个分类群叶表皮的形态特征(图版 I-7~12)与扫描电镜观察结果基本相似。除黄花苜蓿的上、下表皮细胞有少量呈多边形、多数呈不规则形外,其余分类群叶表皮细胞均为不规则形;大部分分类群的叶表皮细胞长短轴明显;垂周壁呈波状,但有深浅之分,其中黄花苜蓿上、下表皮细胞的垂周壁尽管也为波状至浅波状,但也有垂周壁呈平直或弓形,与其他分类群有所不同;6 个分类群叶表皮气孔器均属不规则型,上、下表皮均有气孔,且上表皮气孔密度大于下表皮(天山苜蓿除外),其中黄花苜蓿叶片上、下表皮的气孔密度均最大,分别为 237 和 188 mm^{-2} 。

表 2 光学显微镜下紫花苜蓿复合体不同分类群叶表皮形态特征的观察结果

Table 2 Observation result of morphological characters of leaf epidermis of different taxa in *Medicago sativa* complex by LM

分类群 Taxon	上表皮 Upper epidermis				下表皮 Lower epidermis			
	细胞形状 Cell shape	长短轴分化度 Differentiation of long and short axis	垂周壁式样 Pattern of anticlinal wall	气孔密 度/ mm^{-2} Stomatal density	细胞形状 Cell shape	长短轴分化度 Differentiation of long and short axis	垂周壁式样 Pattern of anticlinal wall	气孔密 度/ mm^{-2} Stomatal density
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	深波状 Deep waved	156	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	深波状 Deep waved	128
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i>	少数多边形 Few polygon	明显或不明显 Obvious or not	波状至浅波状 ¹⁾ Waved to shallow waved ¹⁾	237	少数多边形 Few polygon	明显或不明显 Obvious or not	波状至浅波状 ¹⁾ Waved to shallow waved ¹⁾	188
西锡金苜蓿 <i>M. schischkinii</i>	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	浅波状 Shallow waved	204	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	浅波状 Shallow waved	173
座垫苜蓿 <i>M. rivularis</i>	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	深波状 Deep waved	167	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	浅波状 Shallow waved	143
大花苜蓿 <i>M. trautvetterii</i>	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	浅波状 Shallow waved	172	不规则形 Irregular	明显或不明显 Obvious or not	波状至浅波状 Waved to shallow waved	159
天山苜蓿 <i>M. tianschanica</i>	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	深波状至波状 Deep waved to waved	134	不规则形 Irregular	多数明显 Most obvious	波状至浅波状 Waved to shallow waved	141

¹⁾垂周壁平直或弓形 Anticlinal wall is straight or arched.

2.3 紫花苜蓿复合体各分类群的叶片解剖结构特征

供试的紫花苜蓿复合体 6 个分类群的叶片解剖结构特征见表 3 和图版 II。6 个紫花苜蓿复合体分类群的叶片解剖结构特征相似:叶片均为薄纸质型,厚度相差不大,为 130~170 μm ;上、下表皮细胞切面观为近圆形或近长方形。栅栏组织具有 1~2 层细胞,厚度为 41~68 μm ;通常靠近表皮的第 1 层栅栏组织细胞呈长圆柱状,排列相对紧密;第 2 层栅栏组织细

胞呈短圆柱状,排列较第 1 层相对疏松。海绵组织厚度差别较大,为 32~75 μm ,细胞排列较疏松。

表 3 显示,紫花苜蓿复合体 6 个分类群叶片细胞组织结构的差异较明显,其中组织疏松度最大的为大花苜蓿(57.46%),最小的为紫花苜蓿(24.85%),前者是后者的 2.31 倍;组织紧缩度最大的为紫花苜蓿(51.70%),最小的为大花苜蓿(31.56%),前者是后者的 1.64 倍。

表 3 紫花苜蓿复合体不同分类群叶片解剖结构特征的观察结果¹⁾
Table 3 Observation result of leaf anatomical structure features of different taxa in *Medicago sativa* complex¹⁾

分类群 Taxon	叶片厚度/ μm Leaf thickness	表皮细胞 切面形状 Section shape of epidermal cell	栅栏组织 Palisade tissue		海绵组织 Spongy tissue		SR/%	CTR/%	
			细胞层数 Layer number of cell	厚度/ μm Thickness	细胞排列状况 Cell arrangement	厚度/ μm Thickness			细胞排列状况 Cell arrangement
紫花苜蓿 <i>M. sativa</i>	130.76 \pm 12.15	近长方形 Sub-rectangular	2	67.60 \pm 3.25	较紧密 Relatively compact	32.50 \pm 2.56	疏松 Loose	24.85	51.70
黄花苜蓿 <i>M. falcata</i>	143.56 \pm 11.45	近圆形 Subrotund	2	49.83 \pm 2.26	紧密 Compact	47.67 \pm 1.35	较疏松 Relatively loose	33.21	34.71
西锡金苜蓿 <i>M. schischkinii</i>	143.85 \pm 12.21	近长方形 Sub-rectangular	2	50.05 \pm 4.35	紧密 Compact	55.25 \pm 4.35	较疏松 Relatively loose	38.41	34.79
座垫苜蓿 <i>M. rivularis</i>	169.43 \pm 14.27	近长方形或近圆形 Sub-rectangular or subrotund	2	65.87 \pm 2.24	较紧密 Relatively compact	71.50 \pm 3.56	较疏松 Relatively loose	42.20	38.88
大花苜蓿 <i>M. trautvetterii</i>	130.47 \pm 12.78	近长方形或近圆形 Sub-rectangular or subrotund	2	41.17 \pm 4.32	较紧密 Relatively compact	74.97 \pm 2.36	较疏松 Relatively loose	57.46	31.56
天山苜蓿 <i>M. tianschanica</i>	130.44 \pm 13.10	近长方形 Sub-rectangular	1	45.50 \pm 1.43	较紧密 Relatively compact	39.00 \pm 2.53	疏松 Loose	29.90	34.88

¹⁾ SR: 组织疏松度 Structure loose ratio; CTR: 组织紧缩度 Structure tense ratio.

2.4 基于紫花苜蓿复合体各分类群叶片表征形态性状的聚类分析结果

基于 15 个叶片表征形态性状的紫花苜蓿复合体各分类群的 UPGMA 聚类分析结果见图 1。应用结合线法^[13]划分类群时,在结合过程中,前 4 次结合水平变化平缓,而第 5 次结合水平迅速提高,产生了 1 次飞跃。如果取飞跃前后 2 次结合水平的平均值 1.53 (欧氏距离)作为划分类群的标准,则可得到 2 支,其中黄花苜蓿独立为一支,其余 5 个分类群聚成另一支。此处的结合水平可以作为种的界线。从划分结果看,中国境内的紫花苜蓿复合体应包含 2 个种,即黄花苜蓿和紫花苜蓿。当结合水平取 1.18 (欧氏距

离)时,第 2 支又被分成 2 个亚支,其中一个亚支包含紫花苜蓿和天山苜蓿,另一个亚支则包括西锡金苜蓿、座垫苜蓿和大花苜蓿,由此可以看出它们的相似性程度极高,且与紫花苜蓿的距离更近。

2.5 基于紫花苜蓿复合体各分类群叶片表征形态性状的主成分分析结果

基于 15 个叶片表征形态性状的紫花苜蓿复合体各分类群的主成分分析 Q 分布图见图 2,结果显示,主成分分析 Q 分布图的结果与基于欧氏距离进行的聚类分析结果有较高的一致性。

主成分分析结果(表 4)表明,前 3 个主成分的累

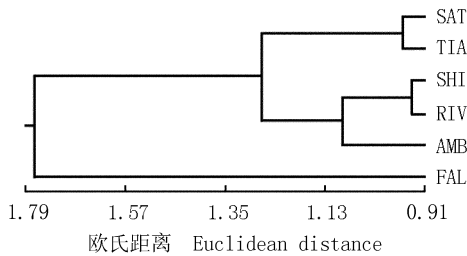


图 1 紫花苜蓿复合体不同分类群的 UPGMA 聚类分析结果
Fig. 1 Cluster analysis result of UPGMA of different taxa in *Medicago sativa* complex

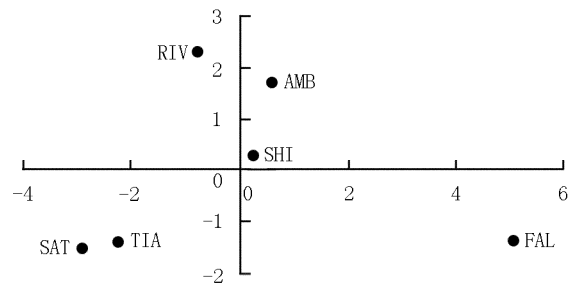


图 2 紫花苜蓿复合体不同分类群主成分分析的 Q 分布图
Fig. 2 Q distribution map of principal component analysis of different taxa in *Medicago sativa* complex

计贡献率达 85.14%，足以代表全部性状所提供的信息。第 1 主成分的贡献率达 53.55%，是认识紫花苜蓿复合体的主要方面，各性状的绝对权重值主要是表皮细胞形状、垂周壁式样和气孔密度的差异性反映，实际情况有 2 种不同的倾向：一种表现为表皮细胞形状不规则、垂周壁波状至深波状、气孔密度较小；另一种表现为部分表皮细胞规则、垂周壁浅波状至平直、

气孔密度较大。第 2 主成分的贡献率为 19.13%，主要反映了叶片内部组织结构的致密性。第 3 主成分的贡献率为 12.46%，主要反映了表皮细胞的轴性分化特征。因此，对于紫花苜蓿复合体各分类群而言，叶片的表皮细胞形状、垂周壁式样、轴性分化特征、组织疏松度和气孔密度等性状具有较好的分类价值。

表 4 紫花苜蓿复合体叶部特征的主成分分析结果¹⁾

Table 4 Result of principal component analysis of leaf characteristics of *Medicago sativa* complex¹⁾

主成分 Principal component	各性状的绝对权重值 Absolute weight value of different characters								
	A	B	C	D	E	F	G	H	I
1	0.309 5	0.186 4	0.314 4	0.320 8	0.309 5	0.273 3	0.330 4	0.326 6	0.063 1
2	-0.230 3	0.171 6	-0.220 4	-0.0231	-0.230 3	0.048 0	-0.083 2	0.002 5	0.344 7
3	-0.033 9	0.557 1	0.105 4	-0.2240	-0.033 9	0.437 9	-0.012 7	-0.070 7	-0.484 4

主成分 Principal component	各性状的绝对权重值 Absolute weight value of different characters						特征值 Eigen-value	贡献率/% Contribution rate	累积贡献率/% Accumulative contribution rate
	J	K	L	M	N	O			
1	0.320 2	0.136 1	-0.256 5	0.247 4	0.050 1	-0.163 9	8.032 9	53.55	53.55
2	-0.003 2	0.240 1	0.143 5	0.395 5	0.573 4	-0.351 9	2.869 0	19.13	72.68
3	0.060 3	-0.194 2	0.340 9	-0.124 0	0.123 5	-0.079 9	1.869 7	12.46	85.14

¹⁾ A: 上表皮细胞形状 Cell shape of upper epidermis; B: 上表皮细胞长短轴分化程度 Differentiation of long and short axis of upper epidermis cell; C: 上表皮细胞垂周壁式样 Pattern of anticlinal wall of upper epidermis cell; D: 上表皮气孔密度 Stomatal density of upper epidermis; E: 下表皮细胞形状 Cell shape of lower epidermis; F: 下表皮细胞长短轴分化程度 Differentiation of long and short axis of lower epidermis cell; G: 下表皮细胞垂周壁式样 Pattern of anticlinal wall of lower epidermis cell; H: 下表皮气孔密度 Stomatal density of lower epidermis; I: 叶片厚度 Leaf thickness; J: 表皮细胞切面形状 Section shape of epidermal cell; K: 栅栏组织细胞层数 Layer number of palisade tissue cell; L: 栅栏组织细胞排列状况 Arrangement of palisade tissue cell; M: 海绵组织细胞排列状况 Arrangement of spongy tissue cell; N: 组织疏松度 Structure loose ratio; O: 组织紧缩度 Structure tense ratio.

3 讨论和结论

中国境内的紫花苜蓿复合体在组成上相对简单，《中国植物志》记载该复合体包括 3 种 1 变种^[14]，而文献[9]记载该复合体包括 3 种 2 变种 6 变型，这两种处理结果都将多变苜蓿置于种的层面上，只是后者又从中划分出多个变型。分类学家大都认为多变苜蓿是 *Medicago sativa* 和 *M. falcata* 的杂交产物，具有较为完整的形态渐变，因而分类困难。就本文涉及的多变苜蓿的次级分类群而言，前苏联的有关植物志^[1-2]常将该种处理成许多种，如：将分布于高加索、中亚细亚、西伯利亚和中国新疆一带的相关天然杂交类群分成 *M. schischkinii*、*M. tianschanica*、*M. agropyretorum*、*M. subdicycla*、*M. trautvetterii* 和 *M. rivularis* 等。欧美学者习惯倾向于生物学种，允许较大的形态变异尺度，故将这些变异类型都归入多变苜蓿，并做为异名处理^[15]，由他们确认的紫花苜蓿复合

体不仅包括 *M. sativa* ssp. *xvaria* (Martyn) Arcang., 甚至将黄花苜蓿 [*M. sativa* ssp. *falcata* (L.) Arcang.] 也囊括其中。相比之下，中国学者的处理意见比较折中。作者基于紫花苜蓿复合体不同分类群的叶部特征、应用聚类分析和结合线法划分的分类结果与传统的分类结果有所差别。结合水平取 1.53，可得到 2 个分支，即黄花苜蓿和以紫花苜蓿为代表的一支，进一步的划分结果表明紫花苜蓿是一个多型种。这 2 个分支的性别亲和能力强，基因交流容易，并且杂交后代的生活力丝毫没有削弱的迹象，如果仅从性别亲和力和力上考虑，理所当然可以认为它们是同一种。但是，高等植物间的性别隔离远没有动物那样严格，并且在形态上 2 个分支的差异又极为显著，因此作者认为将它们处理为 2 个不同的种可能更加妥当。

因表型变异幅度极大，多变苜蓿的归属问题一直是分类学上的难题。从聚类分析的树系图看，多变苜蓿(本文中供试的为其异名的西锡金苜蓿、座垫苜蓿、天山苜蓿和大花苜蓿)与紫花苜蓿归在一类，说明多

变苜蓿与紫花苜蓿的相似性水平较之与黄花苜蓿明显要高,这与李拥军等^[10-11]的研究结果一致,但它们在形态特征上仍然存在一定的差异,这一点与《中国植物志》上的分类处理是一致的,所以,作者认为将多变苜蓿处理为独立的种有一定的合理性。

综上所述,作者认为多变苜蓿起源于黄花苜蓿和紫花苜蓿的杂交,叶部形态特征更接近于紫花苜蓿。国产的紫花苜蓿复合体包含3个分类群,即紫花苜蓿、黄花苜蓿及多变苜蓿。从叶片的形态特征聚类分析结果看,前苏联学者曾作为种级单位命名的一些杂交后代分类群(如西锡金苜蓿、座垫苜蓿、天山苜蓿和大花苜蓿等)的性状分化不稳定,它们都应属于多变苜蓿的同种异名植物。

基于不同相似性系数所得到的聚类分析结果存在差别,而基于欧氏距离的聚类分析结果与主成分分析中的Q分析结果较吻合,因而,根据欧氏距离进行的聚类分析结果更加可靠,可作为划分紫花苜蓿复合体分类群的基础。

参考文献:

[1] Grossheim A A. Flora of the USSR; Vol. 11 [M]. Moscow-Leningrad: USSR, 1945: 129-176.
 [2] Pavlov N V. Flora of Kazakhstan; Vol. 5 [M]. Alma-Ata: Academy of Science of Kazakhstan SSR, 1961: 30-50.
 [3] Small E, Lefkovitch L P. Agrochemotaxmetry of alfalfa [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1982, 62: 919-928.

[4] Small E, Brookes B S. Taxonomic circumscription and identification in the *Medicago sativa-falcata* (alfalfa) continuum [J]. Economic Botany, 1984, 38(1): 83-96.
 [5] Quiros C F, Bauchan G R. The genus *Medicago* and the origin of the *Medicago sativa* complex [M] // Hanson A A, Barnes D K, Hill R R. Agronomy Monographs: No. 9. Madison: American Society of Agronomy, 1988: 93-124.
 [6] Small E, Jomphe M. A synopsis of the genus *Medicago* (Leguminosae) [J]. Canadian Journal of Botany, 1989, 67(11): 3260-3294.
 [7] 何咏松, 吴仁润. 苜蓿自交不亲和性研究 [J]. 中国草业科学, 1987, 4(4): 6-11.
 [8] 崔大方, 田允温, 闵继淳, 等. 新疆苜蓿属植物的分类研究 [M] // 于兆英. 西北地区现代植物分类学研究: 第一卷. 北京: 科学技术文献出版社, 1992: 43-57.
 [9] 耿华珠. 中国苜蓿 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 10-24.
 [10] 李拥军, 苏加楷. 中国苜蓿地方品种亲缘关系的研究: I 种子贮藏蛋白标记 [J]. 草业学报, 1999, 8(1): 31-41.
 [11] 李拥军, 苏加楷. 中国苜蓿地方品种亲缘关系的研究: II RAPD 标记 [J]. 草业学报, 1999, 8(3): 46-53.
 [12] 孙毅, 梁爱华, 王景雪, 等. 根据核糖体 DNA ITS 序列分析苜蓿属的系统分类 [J]. 西北植物学报, 2003, 23(2): 242-246.
 [13] 徐克学. 数量分类学 [M]. 北京: 科学出版社, 1994.
 [14] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第四十二卷第二分册 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 304-328.
 [15] Lesins K A, Lesins I. Genus *Medicago* (Leguminosae), a Taxonomic Study [M]. Hague: Dr W Junk Publishers, 1979.

图版说明 Explanation of Plates

图版 I 1-6. 叶表皮形态特征: 1. 紫花苜蓿轴面; 2. 黄花苜蓿轴面; 3. 西锡金苜蓿轴面; 4. 座垫苜蓿轴面; 5. 大花苜蓿远轴面; 6. 天山苜蓿远轴面. 7-12. 气孔器类型: 7. 紫花苜蓿轴面; 8. 黄花苜蓿近轴面; 9. 西锡金苜蓿轴面; 10. 座垫苜蓿近轴面; 11. 大花苜蓿轴面; 12. 天山苜蓿轴面.

Plate I 1-6. Morphological characters of leaf epidermis: 1. Axial side of *Medicago sativa* L.; 2. Axial side of *M. falcata* L.; 3. Axial side of *M. schischkinii* Sumnev.; 4. Axial side of *M. rivularis* Vassilez.; 5. Abaxial side of *M. trautvetterii* Sumnev.; 6. Abaxial side of *M. tianschanica* Vassilez. 7-12. Types of stomatal apparatus: 7. Axial side of *M. sativa*; 8. Adaxial side of *M. falcata*; 9. Axial side of *M. schischkinii*; 10. Adaxial side of *M. rivularis*; 11. Axial side of *M. trautvetterii*; 12. Axial side of *M. tianschanica*.

图版 II 1-6. 叶主脉结构特征: 1. 紫花苜蓿; 2. 黄花苜蓿; 3. 西锡金苜蓿; 4. 座垫苜蓿; 5. 大花苜蓿; 6. 天山苜蓿. 7-12. 叶横切面结构特征: 7. 紫花苜蓿; 8. 黄花苜蓿; 9. 西锡金苜蓿; 10. 座垫苜蓿; 11. 大花苜蓿; 12. 天山苜蓿.

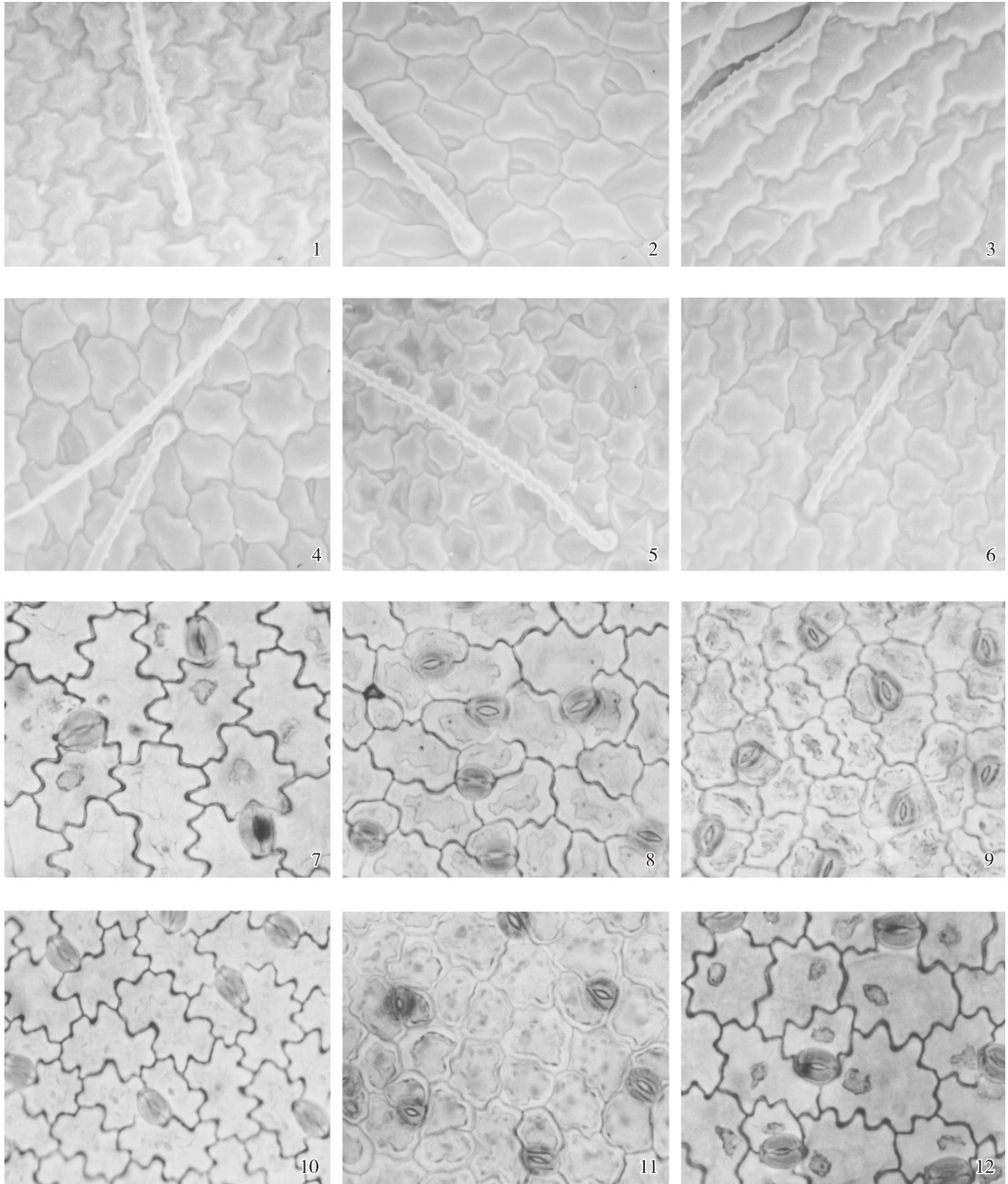
Plate II 1-6. Structure characteristics of leaf primary vein: 1. *M. sativa*; 2. *M. falcata*; 3. *M. schischkinii*; 4. *M. rivularis*; 5. *M. trautvetterii*; 6. *M. tianschanica*. 7-12. Structure characteristics of leaf transverse section: 7. *M. sativa*; 8. *M. falcata*; 9. *M. schischkinii*; 10. *M. rivularis*; 11. *M. trautvetterii*; 12. *M. tianschanica*.

崔大方, 等: 紫花苜蓿复合体(*Medicago sativa* complex) 叶片形态特征及数量分类研究

图版 I

CUI Da-fang, et al: Studies on leaf morphological characters and numerical classification of *Medicago sativa* complex

Plate I



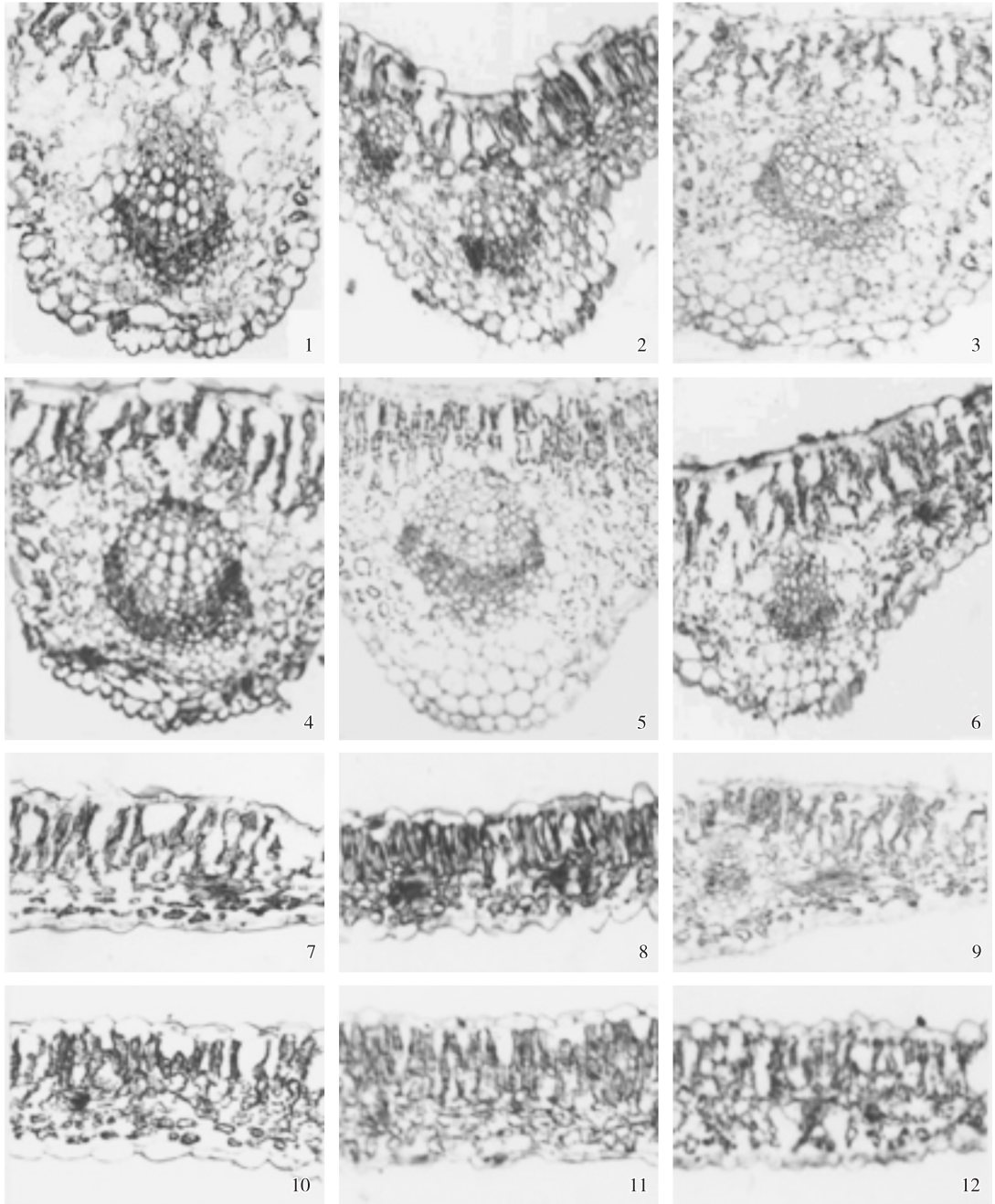
See the explanation at the end of the text

崔大方，等：紫花苜蓿复合体(*Medicago sativa* complex)叶片形态特征及数量分类研究

图版 II

CUI Da-fang, et al: Studies on leaf morphological characters and numerical classification of *Medicago sativa* complex

Plate II



See the explanation at the end of the text