

13 种栎属植物叶片的气孔特征及其相关性分析和分类学意义

王连珍, 郎庆龙^①, 夏兴宏, 仝振祥, 孙娟, 高伟

(辽宁省蚕业科学研究所, 辽宁 凤城 118100)

摘要: 以 13 种栎属 (*Quercus* Linn.) 植物〔包括产自辽宁省的槲栎组 (Sect. *Quercus*) 8 种和麻栎组 (Sect. *Aegilops*) 2 种以及引自北美洲的沼生栎组 (Sect. *Erythobalanus*) 2 种和引自波兰的白栎组 (Sect. *Lepidobalanus*) 1 种〕为试材, 观察了这些种类叶片的气孔形态, 并分析了气孔器和气孔的形态参数, 还对各形态参数间的相关性进行了分析; 在此基础上, 对 13 种栎属植物进行了聚类分析。结果表明: 栎属植物叶片的气孔仅分布于下表皮; 气孔器排列属无规则型; 气孔保卫细胞呈肾形, 内壁加厚; 气孔下陷, 呈椭圆形或狭长椭圆形。供试种类的气孔和气孔器的形态参数差异明显, 变异系数差异较大; 气孔器的长轴长度、短轴长度和面积分别为 18.24 ~ 27.46 μm 、14.63 ~ 23.18 μm 和 221.56 ~ 501.70 μm^2 , 变异系数分别为 7.73% ~ 15.90%、7.10% ~ 17.44% 和 14.13% ~ 32.73%, 气孔器指数为 0.73 ~ 0.85; 气孔的长轴长度、短轴长度、面积和密度分别为 8.69 ~ 15.41 μm 、1.94 ~ 8.49 μm 、15.15 ~ 104.93 μm^2 和 462.32 ~ 984.44 mm^{-2} , 变异系数分别为 12.03% ~ 22.17%、13.65% ~ 34.10%、27.95% ~ 54.13% 和 8.10% ~ 16.99%, 气孔指数为 0.22 ~ 0.57; 总体上, 按照多数气孔器和气孔参数从大至小的变化趋势依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。相关性分析结果表明: 供试种类的气孔密度与气孔器和气孔的长轴及短轴长度均呈极显著 ($P < 0.01$) 负相关; 气孔器面积与气孔器指数和气孔指数分别呈极显著和显著 ($P < 0.05$) 正相关; 气孔面积与气孔器和气孔的长轴和短轴长度、气孔器指数和气孔指数呈极显著正相关, 但与气孔密度呈显著负相关。聚类分析结果表明: 在欧氏距离 10 处可将 13 种栎属植物分为 3 类, 第 I 类包含槲栎组的 8 种, 第 II 类包含麻栎组和白栎组的 3 种, 第 III 类包含沼生栎组的 2 种。研究结果显示: 栎属植物叶片的气孔特征具有一定的稳定性, 可作为栎属植物组间分类及亲缘关系分析的依据之一。

关键词: 栎属; 气孔特征; 形态参数; 相关性分析; 聚类分析; 分类依据

中图分类号: Q944.5; S548 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2015)02-0048-08

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7895.2015.02.07

Leaf stomatal characteristics and correlation analysis of thirteen species in *Quercus* Linn. and taxonomic significance WANG Lianzhen, LANG Qinglong^①, XIA Xinghong, TONG Zhenxiang, SUN Juan, GAO Wei (Liaoning Institute of Sericultural Sciences, Fengcheng 118100, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2015, 24(2): 48-55

Abstract: Taking 13 species in *Quercus* Linn. including 8 species in Sect. *Quercus* and 2 species in Sect. *Aegilops* collected from Liaoning Province and 2 species in Sect. *Erythobalanus* introduced from North America and 1 species in Sect. *Lepidobalanus* introduced from Poland as tested materials, leaf stomatal morphology of these species was observed, and morphological parameters of stomatal apparatus and stoma were analyzed, correlations among these morphological parameters were also analyzed. On this basis, cluster analysis of 13 species in *Quercus* was carried out. The results show that leaf stomata of *Quercus* species distribute only on lower epidermis, arrangement of stomatal apparatus belongs to irregular type; stomatal guard cells appear reniform with thickening inner wall, stomata sunken and appear the

收稿日期: 2014-08-12

基金项目: 辽宁省自然科学基金资助项目(201202104); 辽宁省重大科技专项(2014209001); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-22); 农业部中波农业科技中心合作项目

作者简介: 王连珍(1969—), 女, 辽宁凤城人, 本科, 副研究员, 主要从事柞蚕场生态建设研究。

^①通信作者 E-mail: fclql@163.com

shape of oval or long oval. Differences in morphological parameters of stoma and stomatal apparatus of species tested are obvious, and those in their coefficient of variation are also bigger. Long axis length, short axis length and area of stomatal apparatus are 18.24–27.46 μm , 14.63–23.18 μm and 221.56–501.70 μm^2 , respectively, their coefficient of variation are 7.73%–15.90%, 7.10%–17.44% and 14.13%–32.73%, respectively, and stomatal apparatus index is 0.73–0.85. Long axis length, short axis length, area and density of stoma are 8.69–15.41 μm , 1.94–8.49 μm , 15.15–104.93 μm^2 and 462.32–984.44 mm^{-2} , respectively, their coefficient of variation are 12.03%–22.17%, 13.65%–34.10%, 27.95%–54.13% and 8.10%–16.99%, respectively, and stomatal index is 0.22–0.57. Overall, according to change trend from big to small of most parameters of stomatal apparatus and stoma, the order in turn is Sect. *Erythobalanus*, Sect. *Lepidabalanus*, Sect. *Aegilops*, Sect. *Quercus*. The results of correlation analysis show that stomatal density appears extremely significantly negative ($P < 0.01$) correlation with long axis length and short axis length of stomatal apparatus and stoma; stomatal apparatus area appears extremely significantly and significantly ($P < 0.05$) positive correlation with stomatal apparatus index and stomatal index, respectively; and stomatal area appears extremely significantly positive correlation with long axis length and short axis length of stomatal apparatus and stoma, stomatal apparatus index and stomatal index, but significantly negative correlation with stomatal density. The result of cluster analysis shows that 13 species in *Quercus* can be divided into 3 categories at Euclidean distance of 10, category I includes 8 species in Sect. *Quercus*, category II does 3 species in Sect. *Aegilops* and Sect. *Lepidabalanus*, and category III does 2 species in Sect. *Erythobalanus*. It is suggested that stomatal characteristics of *Quercus* species have a certain stability, can be used as one of bases for classification and phylogenetic analysis of *Quercus* species.

Key words: *Quercus* Linn.; stomatal characteristics; morphological parameter; correlation analysis; cluster analysis; classification basis

柞树 (*Quercus* spp.) 是壳斗科 (Fagaceae) 柞属 (*Quercus* Linn.) 植物的统称, 具有重要经济价值。蒙古柞 (*Q. mongolica* Fisch. ex Ledeb.)、辽东柞 (*Q. wutaishanica* Mayr)、麻柞 (*Q. acutissima* Carr.) 等多种柞属植物的叶片是大型绢丝昆虫柞蚕 (*Antheraea pernyi* Guérin-Ménéville) 赖以生存的饲料; 柞属植物材质坚硬, 是车船制造、家具、地板、建筑等行业的重要用材, 其段木及木屑可用于生产食用和药用真菌; 而该属种类栓皮柞 (*Q. variabilis* Bl.) 的树皮是软木工业的重要原料; 麻柞种子橡实可作为家畜饲料或用于酿酒, 加工后还具有工业用途和食用价值, 其果壳和树皮还可提制鞣质^{[1]215}。另外, 多数柞属植物是森林群落的建群种, 具有涵养水源和保持水土等重要的生态价值。

气孔是植物与外界进行气体和水分交换的主要通道, 与植物的光合、呼吸和蒸腾等生理活动密切相关。气孔和气孔器是研究植物亲缘关系的重要器官, 可为植物系统进化和分类研究提供证据^[2-3]。对葡萄属 (*Vitis* Linn.) 种类、小麦 (*Triticum aestivum* Linn.)、南方红豆杉 [*Taxus wallichiana* var. *mairei* (Lemée et H. Lév.) L. K. Fu et Nan Li] 以及沙芥属 (*Pugionium* Gaertn.) 种类等植物^[4-9] 的气孔研究结果表明: 气孔与

植物的生长势、抗旱和抗寒能力、抗病能力、染色体倍性以及进化和分类等均密切相关。气孔的密度、大小及结构等可以作为研究植物起源、进化和分类的重要指标^[10-12]。

关于柞属属下各组间和种间的分类一直存在分歧。迄今为止, 已有许多学者从叶表皮及叶结构、数量性状的聚类分析、染色体核型分析、花粉形态特征观察、过氧化物同工酶分析等诸多方面探讨了柞属植物的系统分类问题^{[1]213-263, [13-18]}。目前, 有关柞属植物叶片气孔特征的研究仅见全国不同区域辽东柞气孔密度 $\delta^{13}\text{C}$ 值时空变异规律的研究报道^[19] 以及为了说明图像处理系统的用途而对蒙古柞、辽东柞和麻柞叶片进行气孔器观察的研究报道^[20]。但是尚未见针对柞属植物叶片气孔特征的全面系统的研究报道。

为了明确柞属植物组间和种间的分类关系, 作者对 13 种柞属植物的气孔特征、气孔和气孔器形态参数 (包括二者的长轴和短轴长度、面积和指数以及气孔密度) 及其相关性进行了研究, 在此基础上对供试 13 种柞属植物进行了聚类分析, 以期通过对柞属植物气孔和气孔器特征的比较, 为柞属植物的分类、起源及抗逆机制等相关研究提供参考依据, 并为柞属植物的遗传育种提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

供试的槲栎组 (Sect. *Quercus*) 种类蒙古栎、辽东栎、槲树 (*Quercus dentata* Thunb.)、槲栎 (*Q. aliena* Bl.)、锐齿槲栎 (*Q. aliena* var. *acuteserrata* Maxim. ex Wenz.)、凤城栎 (*Q. xfenchengensis* H. W. Jen et L. M. Wang)、粗齿蒙古栎 [*Q. mongolica* var. *grosseserrata* (Bl.) Rehd. et Wils.] 和枹栎 (*Q. serrata* Thunb.) 以及麻栎组 (Sect. *Aegilops*) 种类栓皮栎和麻栎均为本地产种类, 沼生栎组 (Sect. *Erythobalanus*) 种类红槲栎 (*Q. rubra* Linn.) 和沼生栎 (*Q. palustris* Muench.) 以及白栎组 (Sect. *Lepidobalanus*) 种类岩生栎 (*Q. petraea* Liebl.) 均为引进种, 均种植于辽宁省蚕业科学研究所柞树种质资源圃; 其中, 本地产种类的样株树龄为 20 a, 引自北美洲的红槲栎和沼生栎的样株树龄为 10 a, 引自波兰的岩生栎的样株树龄为 4 a。

1.2 方法

于 2014 年 7 月中、下旬分别选取供试各种类的样株 3 株, 选择植株下部当年生枝条顶端发育完全且向阳的 5 个小枝, 分别采集小枝上相对位置相近的健康成熟叶片, 每个小枝采集 5 枚叶片; 将透明指甲油涂抹于叶片的上表皮和下表皮, 待指甲油干后从叶片中脉两侧 1 cm 附近用透明胶带取下指甲油薄片, 置于载玻片上制成装片。利用 PHM-30Z 数码型显微镜 (合肥密维光学仪器有限公司) 观察、测量并拍照, 统计及测量指标包括气孔的数量、长轴长度和短轴长度以及气孔器的长轴长度和短轴长度。每个样株均选取 5 个临时装片, 每个装片观察 30 个视野, 即每个种类共拍摄 150 幅图片; 计数并测量 200 个气孔和气孔器的长轴长度和短轴长度, 结果取平均值。按照公式“气孔指数 = 气孔的短轴长度/气孔的长轴长度”和“气孔器指数 = 气孔器的短轴长度/气孔器的长轴长度”分别计算气孔指数和气孔器指数。气孔密度根据拍摄图片上的视野面积及气孔数量 (观测前使用显微镜测微尺进行校正) 进行计算, 并换算成 1 mm² 叶片面积上的气孔数量。

1.3 数据处理及统计分析

实验数据采用 EXCEL 2003 和 SPSS 19.0 统计软件进行统计和分析, 计算各形态参数的平均值 (\bar{X})、标准差 (SD) 和变异系数 (CV) 以及各形态参数

间的相关系数, 采用组间联接法进行聚类分析并绘制聚类图。

2 结果和分析

2.1 气孔和气孔器特征分析

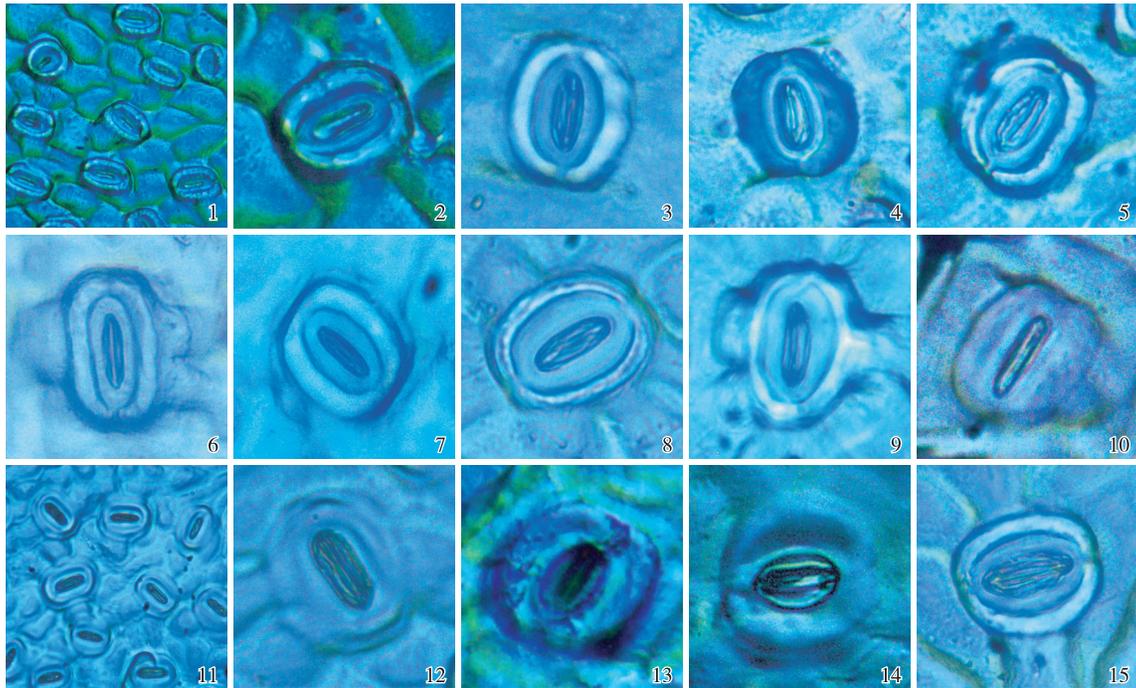
2.1.1 气孔形态观察 供试 13 种栎属植物叶片的气孔和气孔器的形态见图 1。

由图 1 可见: 13 种栎属植物叶片的气孔均位于下表皮, 为下生气孔; 叶脉上虽有气孔, 但极少。气孔下陷, 开放时呈椭圆形或狭长椭圆形; 气孔口内可见内脊, 但不同种类的内脊差异明显。气孔器排列属不规则型, 呈椭圆形或扁圆形; 保卫细胞略凸出周围表皮细胞层, 呈肾形, 并且 2 个保卫细胞对称排列、内壁加厚, 但不同种类保卫细胞内壁加厚的程度明显不同。保卫细胞内壁加厚程度较大的种类有槲栎组的槲栎、粗齿蒙古栎、辽东栎、锐齿槲栎、蒙古栎、枹栎、凤城栎、槲树和白栎组的岩生栎, 其保卫细胞内壁厚度约占保卫细胞宽度的一半甚至更多, 且气孔下陷明显; 而麻栎组的栓皮栎和麻栎以及沼生栎组的红槲栎和沼生栎的保卫细胞内壁明显较薄, 其保卫细胞内壁厚度均不到保卫细胞宽度的一半。

2.1.2 气孔器和气孔形态参数分析 供试 13 种栎属植物叶片气孔器和气孔的形态参数测量结果分别见表 1 和表 2。

结果表明: 气孔器的长轴和短轴长度均以沼生栎最长, 分别为 27.46 和 23.18 μm ; 其次为红槲栎, 其气孔器的长轴和短轴长度分别为 27.28 和 23.16 μm 。气孔器长轴长度最短的种类为槲树, 为 18.24 μm ; 而短轴长度最短的种类为枹栎, 为 14.63 μm 。气孔器长轴和短轴长度变异系数最大的种类均为麻栎, 变异系数分别为 15.90% 和 17.44%。总体上看, 锐齿槲栎与麻栎组 2 个种类间的气孔器长轴长度无显著差异, 其余组间的气孔器长轴长度均有极显著差异。各组种类按照气孔器长轴长度由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组, 且槲栎组内多数种类的气孔器长轴长度差异显著; 但同组内不同种类的气孔器长轴长度变化范围有重叠现象, 因此无法严格划分种间差异。各组间气孔器短轴长度的差异与其长轴长度的差异类似。

气孔的长轴长度和短轴长度也以沼生栎最长, 分别为 15.41 和 8.49 μm ; 气孔长轴长度最短的种类为



1, 2: 蒙古栎, 分别显示多个气孔和单一气孔 *Quercus mongolica*, showing several stomata and single stoma, respectively; 3: 辽东栎的单一气孔 Single stoma of *Q. wutaishanica*; 4: 槲树的单一气孔 Single stoma of *Q. dentata*; 5: 槲栎的单一气孔 Single stoma of *Q. aliena*; 6: 锐齿槲栎的单一气孔 Single stoma of *Q. aliena* var. *acuteserrata*; 7: 凤城栎的单一气孔 Single stoma of *Q. xfenchengensis*; 8: 粗齿蒙古栎的单一气孔 Single stoma of *Q. mongolica* var. *grosseserrata*; 9: 枹栎的单一气孔 Single stoma of *Q. serrata*; 10: 栓皮栎的单一气孔 Single stoma of *Q. variabilis*; 11, 12: 麻栎, 分别显示多个气孔和单一气孔 *Q. acutissima*, showing several stomata and single stoma, respectively; 13: 红槲栎的单一气孔 Single stoma of *Q. rubra*; 14: 沼生栎的单一气孔 Single stoma of *Q. palustris*; 15: 岩生栎的单一气孔 Single stoma of *Q. petraea*.

图 1 13 种栎属植物叶片下表皮的的气孔形态
Fig. 1 Stomatal morphology on lower epidermis of leaf of thirteen species in *Quercus* Linn.

表 1 13 种栎属植物叶片气孔器的形态参数平均值和变异系数 (CV) 及气孔器指数 (SAI) 的比较 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾
Table 1 Comparison on average and coefficient of variation (CV) of morphological parameters of stomatal apparatus, and stomatal apparatus index (SAI) on leaf of thirteen species in *Quercus* Linn. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

种类 ²⁾ Species ²⁾	长轴长度 Long axis length		短轴长度 Short axis length		面积 Area		SAI
	均值/ μm Average	CV/%	均值/ μm Average	CV/%	均值/ μm^2 Average	CV/%	
1	20.96 \pm 2.11dD	10.05	16.14 \pm 1.50eD	9.31	267.29 \pm 48.44eE	18.12	0.77
2	20.51 \pm 1.98eD	9.67	15.29 \pm 1.88fghE	12.47	247.82 \pm 48.38fF	19.52	0.75
3	18.24 \pm 2.26hF	12.41	15.28 \pm 1.90fghiE	12.38	221.56 \pm 53.14iF	23.84	0.84
4	19.90 \pm 1.80fE	9.06	15.44 \pm 1.50fE	9.74	242.56 \pm 40.27fgF	16.60	0.78
5	22.21 \pm 2.55cC	11.47	16.61 \pm 1.86dD	11.18	293.13 \pm 63.39dD	21.65	0.75
6	19.36 \pm 1.88gE	9.71	15.12 \pm 1.49ghiE	9.89	232.23 \pm 42.90hF	18.49	0.78
7	19.66 \pm 1.58fgE	8.02	15.29 \pm 1.09fgE	7.10	237.51 \pm 34.84ghF	14.67	0.78
8	19.79 \pm 1.55fE	7.82	14.63 \pm 1.35jF	9.22	229.35 \pm 32.20hiF	14.13	0.74
9	22.25 \pm 2.43cC	10.91	16.25 \pm 1.93eD	11.93	285.45 \pm 54.49dD	19.04	0.73
10	22.21 \pm 3.53cC	15.90	17.21 \pm 3.01cC	17.44	307.24 \pm 100.74cC	32.73	0.77
11	27.28 \pm 2.11aA	7.73	23.16 \pm 2.01aA	8.70	498.41 \pm 74.16aA	14.88	0.85
12	27.46 \pm 2.35aA	8.57	23.18 \pm 1.95aA	8.41	501.70 \pm 73.91aA	14.73	0.84
13	25.21 \pm 2.38bB	9.46	19.14 \pm 1.79bB	9.33	382.20 \pm 70.73bB	18.51	0.76

¹⁾ 同列中不同的小写字母和大写字母分别表示差异显著 ($P < 0.05$) 和极显著 ($P < 0.01$) 差异, 分别表示。
indicate the significant ($P < 0.05$) and extremely significant ($P < 0.01$) differences, respectively.

²⁾ 1-8. 槲栎组 Sect. *Quercus*: 1. 蒙古栎 *Quercus mongolica*; 2. 辽东栎 *Q. wutaishanica*; 3. 槲树 *Q. dentata*; 4. 槲栎 *Q. aliena*; 5. 锐齿槲栎 *Q. aliena* var. *acuteserrata*; 6. 凤城栎 *Q. xfenchengensis*; 7. 粗齿蒙古栎 *Q. mongolica* var. *grosseserrata*; 8. 枹栎 *Q. serrata*. 9, 10. 麻栎组 Sect. *Aegilops*: 9. 栓皮栎 *Q. variabilis*; 10. 麻栎 *Q. acutissima*. 11, 12. 沼生栎组 Sect. *Erythobalanus*: 11. 红槲栎 *Q. rubra*; 12. 沼生栎 *Q. palustris*. 13. 白栎组 Sect. *Lepidobalanus*; 岩生栎 *Q. petraea*.

表2 13种栎属植物叶片气孔的形态参数平均值和变异系数(CV)及气孔指数(SI)的比较($\bar{X}\pm SD$)¹⁾Table 2 Comparison on average and coefficient of variation (CV) of morphological parameters of stoma, and stomatal index (SI) on leaf of thirteen species in *Quercus* Linn. ($\bar{X}\pm SD$)¹⁾

种类 ²⁾ Species ²⁾	长轴长度 Long axis length		短轴长度 Short axis length		面积 Area		密度 Density		SI
	均值/ μm Average	CV/%	均值/ μm Average	CV/%	均值/ μm^2 Average	CV/%	均值/ mm^{-2} Average	CV/%	
1	9.27±1.21fgE	13.05	2.02±0.62jG	30.93	15.34±7.04jkG	45.92	828.59±109.12dB	13.17	0.22
2	9.99±1.46eD	14.57	2.68±0.67gF	25.09	21.76±8.54ghF	39.26	757.44±128.71eC	16.99	0.27
3	8.85±1.66ijkE	18.80	3.04±1.00efE	33.05	22.06±10.98fgF	49.76	977.65±95.39aA	9.76	0.34
4	8.69±1.93kE	22.17	2.62±0.76ghF	28.95	19.13±9.49hiF	49.62	811.70±109.75dB	13.52	0.30
5	9.26±1.31fgE	14.11	2.68±0.49gF	18.08	20.01±6.47ghiF	32.33	817.59±66.25dB	8.10	0.29
6	9.39±1.53fE	16.30	3.17±0.64efE	20.43	23.85±8.90fF	37.30	984.44±99.04aA	10.06	0.34
7	9.11±1.20ghiE	13.20	2.60±0.44ghiF	16.79	19.00±5.77ijF	30.38	891.46±118.83bB	13.33	0.29
8	9.01±1.64ghijE	18.04	1.94±0.67jG	34.10	15.15±8.20kG	54.13	864.04±77.29cB	8.95	0.22
9	12.52±2.01dC	16.06	3.19±0.84eE	26.21	32.68±13.05eE	39.93	525.56±53.25hE	10.13	0.26
10	12.33±2.13dC	17.28	4.28±1.12dD	26.05	42.92±17.84dD	41.56	543.04±79.79gE	14.69	0.35
11	12.85±1.68cC	13.07	7.35±1.46bB	19.80	76.06±24.80bB	32.60	609.12±77.58fD	12.74	0.57
12	15.41±2.43aA	15.75	8.49±1.16aA	13.65	104.93±30.02aA	28.61	462.32±68.76iF	14.87	0.55
13	15.02±1.81bB	12.03	5.87±0.95cC	16.17	70.59±19.73cC	27.95	472.01±53.51iF	11.34	0.39

¹⁾ 同列中不同的小写和大写字母分别表示差异显著($P<0.05$)和极显著($P<0.01$)。Different small letters and capitals in the same column indicate the significant ($P<0.05$) and extremely significant ($P<0.01$) differences, respectively.

²⁾ 1-8. 槲栎组 Sect. *Quercus*: 1. 蒙古栎 *Quercus mongolica*; 2. 辽东栎 *Q. wutaishanica*; 3. 槲栎 *Q. dentata*; 4. 槲栎 *Q. aliena*; 5. 锐齿槲栎 *Q. aliena* var. *acuteserrata*; 6. 凤城栎 *Q. xjenchengensis*; 7. 粗齿蒙古栎 *Q. mongolica* var. *grosseserrata*; 8. 枹栎 *Q. serrata*. 9, 10. 麻栎组 Sect. *Aegilops*: 9. 栓皮栎 *Q. variabilis*; 10. 麻栎 *Q. acutissima*. 11, 12. 沼生栎组 Sect. *Erythobalanus*: 11. 红槲栎 *Q. rubra*; 12. 沼生栎 *Q. palustris*. 13. 白栎组 Sect. *Lepidobalanus*: 岩生栎 *Q. petraea*.

槲栎,为 8.69 μm ;短轴长度最短的种类为枹栎,仅为 1.94 μm 。气孔长轴长度和短轴长度变异系数最大的种类分别是槲栎和枹栎,变异系数分别为 22.17% 和 34.10%。各组间气孔长轴长度均有显著或极显著差异,各组种类按照气孔长轴长度由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。

供试种类的气孔器面积为 221.56 ~ 501.70 μm^2 ,其中仅槲栎组的锐齿槲栎与麻栎组的栓皮栎差异不显著,各组间气孔器面积均有极显著差异;各组种类按照气孔器面积由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。而供试种类的气孔面积为 15.15 ~ 104.93 μm^2 ,各组间气孔面积均有极显著差异;各组种类按照气孔面积由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。

供试种类的气孔器指数为 0.73 ~ 0.85,明显高于气孔指数。其中,红槲栎、沼生栎和岩生栎的气孔指数分别为 0.57、0.55 和 0.39;麻栎的气孔指数为 0.35;槲栎和凤城栎的气孔指数为 0.34;其他种类的气孔指数均小于 0.30,为 0.22 ~ 0.30。

在供试种类中,槲栎组种类的气孔密度最大,又以凤城栎的气孔密度最大,为 984.44 mm^{-2} ,变异系数为 10.06%;其次为槲栎(977.65 mm^{-2}),变异系数为 9.76%;沼生栎的气孔密度最小,仅为 462.32 mm^{-2} ,

变异系数为 14.87%。麻栎组的栓皮栎和麻栎的气孔密度相近,分别为 525.56 和 543.04 mm^{-2} 。

2.2 气孔和气孔器形态参数间的相关性分析

供试栎属植物叶片气孔和气孔器形态参数间的相关系数见表 3。

结果表明:气孔和气孔器的长轴长度与短轴长度均呈极显著正相关($P<0.01$),相关系数为 0.811 ~ 0.962。气孔面积与气孔器长轴长度、气孔器短轴长度、气孔长轴长度、气孔短轴长度、气孔器指数和气孔指数均呈极显著正相关,相关系数分别为 0.862、0.945、0.803、0.987、0.711 和 0.980;与气孔密度呈显著负相关($P<0.05$),相关系数为 -0.615。气孔器面积与气孔器指数和气孔指数分别呈极显著和显著正相关,相关系数分别为 0.693 和 0.597;与其他指标均无显著相关性。气孔密度与气孔器的长轴和短轴长度以及气孔的长轴和短轴长度均呈极显著负相关,相关系数分别为 -0.839、-0.713、-0.930 和 -0.724。气孔指数与气孔器的长轴和短轴长度、气孔的长轴和短轴长度以及气孔器指数均呈极显著正相关,相关系数分别为 0.804、0.921、0.697、0.953 和 0.790;与气孔密度呈不显著负相关,相关系数为 -0.519。气孔器指数与气孔器短轴长度和气孔短轴长度呈显著正相关,相关系数分别为 0.622 和 0.636。

表 3 栎属植物叶片气孔和气孔器形态参数的相关系数¹⁾Table 3 Correlation coefficients among morphological parameters of stoma and stomatal apparatus on leaf of species in *Quercus* Linn.¹⁾

参数 Parameter	各形态参数间的相关系数 Correlation coefficient among different morphological parameters								
	LISA	SLSA	ASA	LLS	SLS	SA	SD	SAI	SI
LISA	1.000								
SLSA	0.958**	1.000							
ASA	0.377	0.536	1.000						
LLS	0.879**	0.811**	-0.019	1.000					
SLS	0.909**	0.962**	0.411	0.872**	1.000				
SA	0.862**	0.945**	0.512	0.803**	0.987**	1.000			
SD	-0.839**	-0.713**	0.170	-0.930**	-0.724**	-0.615*	1.000		
SAI	0.375	0.622*	0.693**	0.241	0.636*	0.711**	-0.029	1.000	
SI	0.804**	0.921**	0.597*	0.697**	0.953**	0.980**	-0.519	0.790**	1.000

¹⁾ LISA: 气孔器长轴长度 Long axis length of stomatal apparatus; SLSA: 气孔器短轴长度 Short axis length of stomatal apparatus; ASA: 气孔器面积 Area of stomatal apparatus; LLS: 气孔长轴长度 Long axis length of stoma; SLS: 气孔短轴长度 Short axis length of stoma; SA: 气孔面积 Stomatal area; SD: 气孔密度 Stomatal density; SAI: 气孔器指数 Stomatal apparatus index; SI: 气孔指数 Stomatal index. **: $P < 0.01$; *: $P < 0.05$.

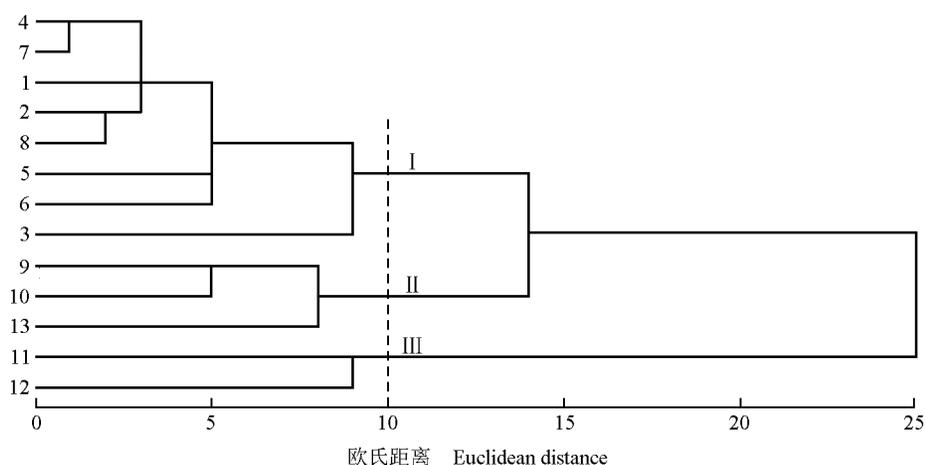
2.3 聚类分析结果

根据各种类叶片气孔和气孔器的形态参数测定结果,采用欧氏距离法对供试的 13 种栎属植物进行聚类分析,结果见图 2。

由图 2 可见:在欧氏距离 15 处,供试的 13 种栎属植物可被分成 2 类:一类包含槲栎、粗齿蒙古栎、蒙古栎、辽东栎、枹栎、锐齿槲栎、凤城栎、槲树、栓皮栎、麻栎和岩生栎 11 个种类,这些种类均原产于欧亚大陆;另一类仅包含红槲栎和沼生栎 2 个种类,二者均原产于北美洲。说明从波兰引进的岩生栎与中国本地种类亲缘关系更近,而与引自北美洲的种类(红

槲栎和沼生栎)亲缘关系较远;也说明栎属植物的地理变异较大。

由图 2 还可以看出:在欧氏距离 10 处,供试的 13 种栎属植物可被分成 3 类:第 I 类包含槲栎、粗齿蒙古栎、蒙古栎、辽东栎、枹栎、锐齿槲栎、凤城栎和槲树 8 个种类,这些种类均属于槲栎组;第 II 类包含栓皮栎、麻栎和岩生栎 3 个种类,它们分别属于麻栎组和白栎组;第 III 类包含红槲栎和沼生栎 2 个种类,二者均属于沼生栎组。这种聚类结果与它们的生态习性密切相关。



1: 蒙古栎 *Quercus mongolica*; 2: 辽东栎 *Q. wutaishanica*; 3: 槲树 *Q. dentata*; 4: 槲栎 *Q. aliena*; 5: 锐齿槲栎 *Q. aliena* var. *acuteserrata*; 6: 凤城栎 *Q. xfenchengensis*; 7: 粗齿蒙古栎 *Q. mongolica* var. *grosseserrata*; 8: 枹栎 *Q. serrata*; 9: 栓皮栎 *Q. variabilis*; 10: 麻栎 *Q. acutissima*; 11: 红槲栎 *Q. rubra*; 12: 沼生栎 *Q. palustris*; 13: 岩生栎 *Q. petraea*.

图 2 基于叶片气孔和气孔器形态参数的 13 种栎属植物的聚类分析结果

Fig. 2 Cluster analysis result of thirteen species in *Quercus* Linn. based on morphological parameters of stoma and stomatal apparatus on leaf

3 讨论和结论

气孔是植物的重要器官之一,形态稳定性较高,因而可将其应用于植物的亲缘关系、地理起源、演化过程等方面的研究。一般认为,气孔密度和长度的差异在同属植物的种间相对较小,但在异属植物的种间却较大^[21-22]。本研究中,栎属属内不同组间种类的气孔密度差异较大,但各组内种类的气孔密度差异相对较小,与上述结果略有不同。供试的13种栎属植物的气孔密度为462.32~984.44 mm⁻²,其变异系数为8.10%~16.99%,其中,气孔密度最大的种类是凤城栎,气孔密度最小的种类是沼生栎,麻栎组的栓皮栎和麻栎的气孔密度接近。说明栎属植物的气孔密度变异较大。

朱燕华等^[23]的研究结果表明:植物叶片的气孔性状易受环境因素的影响,主要包括大气CO₂浓度、大气温度、水分、光照等,但不同植物种类的气孔性状受环境因素的影响程度并不一致。贺新强等^[24]比较了5种木本植物的气孔密度与近1个世纪大气CO₂浓度的相关性,结果表明辽东栎、短柄枹栎[*Q. serrata* var. *brevipetiolata* (A. DC.) Nakai]和杜仲(*Eucommia ulmoides* Oliver)的气孔密度随大气CO₂浓度的升高而明显降低,异叶榕(*Ficus heteromorpha* Hemsl.)的气孔密度变化与大气CO₂浓度变化不相关。郑淑霞等^[25]对近1个世纪黄土高原地区4种典型C₃植物叶片的气孔密度进行了研究,结果表明辽东栎的气孔密度略有增加(增幅为1.31%),虎榛子(*Ostryopsis davidiana* Decne.)的气孔密度小幅下降(降幅为9.79%),而酸枣[*Zizyphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H. F. Chow]和狼牙刺(*Sophora viciifolia* Hance)的气孔密度分别下降32.35%和46.85%。郑淑霞等^[19]的研究结果还表明:除个别区域外,在20世纪30年代至80年代辽东栎的气孔密度均呈持续下降的趋势,全国辽东栎气孔密度的平均值为703 mm⁻²,山西省辽东栎气孔密度的平均值为733 mm⁻²。上述研究结果均说明辽东栎气孔性状变异不一致,这可能是植物在长期进化过程中对外界环境因子适应的结果,也说明不同植物对同一环境条件的响应不同,同一植物的气孔特征也会因研究方法的不同而获得不同的结果。本研究中,辽东栎叶片的气孔密度为757.44 mm⁻²,与郑淑霞等^[19]2005年测得的山西省辽东栎的气孔密度差异不

大。这可能是由于栎属植物分布范围广,其适应性和自身的调节能力都极强,对气候变化不敏感,因而其气孔特征具有较强的稳定性;也可能是因为气孔综合特征协同变异使得气孔密度单项指标变化不明显。

本研究中,不同组间栎属植物的气孔器和气孔的长轴长度多具有极显著差异,按照气孔器和气孔的长轴长度由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组;供试种类的气孔器长轴长度变异系数均相对较小,气孔长轴长度的变异系数也不高,说明栎属植物的气孔器和气孔长轴长度均具有较高的稳定性,对栎属植物的组间分类有一定的参考意义。

陈方永等^[26]认为,分布于浙江省东南部的杨梅[*Myrica rubra* (Lour.) Sieb. et Zucc.]的气孔器大小与气孔大小无显著相关性,但与气孔密度有较强的相关性。本研究中,供试栎属植物的气孔器面积仅与气孔器指数呈极显著正相关、与气孔指数呈显著正相关,与气孔密度、气孔面积以及气孔器和气孔的长轴和短轴长度的相关性均较弱,说明栎属植物的气孔器面积受环境因子的影响较小,该性状也比较稳定;供试种类的分组按照气孔器面积由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。供试13种栎属植物的气孔面积为15.15~104.93 μm²,各组间差异极显著;供试种类的分组按照气孔面积由大到小依次排序为沼生栎组、白栎组、麻栎组、槲栎组。上述结果说明,栎属植物气孔器和气孔的面积均具有组间分类参考意义,可作为栎属植物的分类鉴定指标之一。

聚类分析结果表明:在欧氏距离10处,13种栎属植物被分成3类,其中,第I类包含槲栎组的8种、第II类包含麻栎组和白栎组的3个种、第III类包含沼生栎组的2种。这一聚类结果将产自本地的槲栎组和麻栎组种类分开,而把产自波兰的白栎组与产自本地的麻栎组种类聚在一起;另外,槲树与同组其他7种的亲缘关系最远,仅与凤城栎和锐齿槲栎具有相对较近的亲缘关系,为“凤城栎可能是锐齿槲栎与槲树的杂交种^{[1]225}”提供了一定的佐证。聚类分析结果也表明,栎属植物的气孔特征可以作为栎属植物组间分类的依据之一。

从实验过程看,供试样叶的成熟度不同,其气孔密度差异也很大,因此,必须采集成熟的较大叶片进行实验。由于栎属不同组种类的叶片着生方式不同,因此,在取样过程中不能完全按叶位采集样叶,而应该采集当年生枝条顶端的叶片作为样叶,并且在取材

时应避开叶片的主脉和较大的侧脉。另外,本研究中各种类样株的树龄不一致,有关树龄与气孔特征的关系有待进一步探讨。栎属植物的气孔只分布于叶片下表皮,气孔器呈椭圆形或扁圆形,气孔下陷,气孔的保卫细胞呈肾形且内壁加厚,这些特征是否与植株的生长势和抗性有关尚待深入研究。

综上所述,气孔特征完全可以作为栎属植物组间分类及亲缘关系划分的依据之一,但对于栎属不同种类间的精确鉴定还需借助叶片表皮微形态特征以及细胞生物学、分子生物学、形态学和基因组学等方面的研究结果。

参考文献:

- [1] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第二十二卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1998.
- [2] MARTIN E S, DONKIN M E, STEVENS R A. 气孔[M]. 张崇浩, 译. 北京: 科学出版社, 1987: 1-73.
- [3] HETHERINGTON A M, WOODWARD F I. The role of stomata in sensing and driving environmental change[J]. Nature, 2003, 424: 901-908.
- [4] 张延龙, 牛立新. 中国葡萄属植物叶片气孔特征的研究[J]. 植物研究, 1997, 17(3): 315-319.
- [5] 李茂松, 王春艳, 宋吉青, 等. 小麦进化过程中叶片气孔和光合特征演变趋势[J]. 生态学报, 2008, 28(11): 5385-5391.
- [6] 铁军, 金山, 李旭娇, 等. 濒危植物南方红豆杉叶片形态结构及气孔参数[J]. 东北林业大学学报, 2008, 36(9): 24-27.
- [7] 姚兆华, 郝丽珍, 王萍, 等. 沙芥属植物叶片的气孔特征研究[J]. 植物研究, 2007, 27(2): 199-203.
- [8] WANG Y, FU X Z, LIU J H, et al. Differential structure and physiological response to canker challenge between 'Meiwa' kumquat and 'Newhall' navel orange with contrasting resistance [J]. Scientia Horticulturae, 2011, 128: 115-123.
- [9] UNDERWOOD W, MELOTTO M, HE S Y. Role of plant stomata in bacterial invasion [J]. Cellular Microbiology, 2007, 9: 1621-1629.
- [10] 李志英, 梁艳荣, 胡晓红. 梨不同系统叶气孔的密度、大小与起源地气象因子的关系[J]. 内蒙古农业科技, 1994(5): 31-32.
- [11] 杨传友, 史金玉, 杜欣阁, 等. 苹果叶片气孔的研究[J]. 山东农业大学学报, 1998, 29(1): 8-14.
- [12] 李润唐, 张映南, 田大伦. 柑橘类植物叶片的气孔研究[J]. 果树学报, 2004, 21(5): 419-424.
- [13] ZHOU Z K, WILKINSON H P, WU Z Y. Taxonomical and evolutionary implications of the leaf anatomy and architecture of *Quercus* L. subgenus *Quercus* from China[J]. Cathaya, 1995, 7: 1-34.
- [14] 普春霞, 周浙昆, 罗艳. 中国栎属(壳斗科)基于叶表皮及叶结构特征的分支分析[J]. 云南植物研究, 2002, 24(6): 689-698.
- [15] 彭焱松, 陈丽, 李建强. 中国栎属植物的数量分类研究[J]. 武汉植物学研究, 2007, 25(2): 149-157.
- [16] 王良民. 我国落叶栎的聚类分析和核型分析[J]. 植物研究, 1986, 6(1): 55-69.
- [17] 曹明, 周浙昆. 中国栎属植物花粉形态及其系统学意义[J]. 广西植物, 2002, 22(1): 14-18.
- [18] 刘彦群, 张涛, 秦利, 等. 柞树过氧化物同工酶的研究[J]. 蚕业科学, 2000, 26(2): 120-122.
- [19] 郑淑霞, 上官周平. 辽东栎叶片气孔密度及 $\delta^{13}C$ 值的时空变异[J]. 林业科学, 2005, 41(2): 30-36.
- [20] 吴平, 崔建国, 林钧安. 图象处理系统及其在栎树叶片气孔器研究中的应用[J]. 沈阳农业大学学报, 1996, 27(2): 170-173.
- [21] 张纪英, 杨风云. 几种落叶果树叶片气孔性状观察[J]. 邯郸农业高等专科学校学报, 2001, 18(4): 14-15.
- [22] 赵秋玲, 王军辉, 马建伟, 等. 梓树属植物叶片的气孔特征[J]. 东北林业大学学报, 2011, 39(8): 21-24.
- [23] 朱燕华, 康宏樟, 刘春江. 植物叶片气孔性状变异的影响因素及研究方法[J]. 应用生态学报, 2011, 22(1): 250-256.
- [24] 贺新强, 林月惠, 林金星, 等. 气孔密度与近一个世纪大气 CO_2 浓度变化的相关性研究[J]. 科学通报, 1998, 43(8): 860-862.
- [25] 郑淑霞, 上官周平. 近一世纪黄土高原区植物气孔密度变化规律[J]. 生态学报, 2004, 24(11): 2457-2464.
- [26] 陈方永, 王引, 倪海枝, 等. 浙东南杨梅叶片气孔观察与相似性研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(4): 626-631.

(责任编辑: 佟金凤)