

宋军阳, 罗腾, 张宁. 兰属(*Cymbidium*)5种植物叶结构特征[J]. 植物科学学报, 2019, 37(4): 422~433Song JY, Luo T, Zhang N. Leaf structure characteristics of five species of *Cymbidium*[J]. *Plant Science Journal*, 2019, 37(4): 422~433

兰属(*Cymbidium*)5种植物叶结构特征

宋军阳¹, 罗腾², 张宁^{3*}

(1. 西北农林科技大学风景园林艺术学院, 旱区作物逆境生物学国家重点实验室, 陕西杨凌 712100; 2. 广西交通设计集团有限公司, 广西南宁 530022; 3. 西北农林科技大学水建学院, 陕西杨凌 712100)

摘要: 采用光学显微镜和体视镜, 对兰属5种植物(春兰、蕙兰、建兰、寒兰、墨兰)的叶结构特征(叶脉结构、叶表皮结构、解剖结构)进行了观察和测量。结果显示, 兰属5种植物的叶脉结构相似, 叶表皮结构和解剖结构存在较大差异, 其中最主要的差异是皮下纤维束的多少和边缘角质层锯齿形态。依据叶结构特征聚类分析结果, 5种兰可分为春兰组、建兰组和墨兰组3组。本研究表明叶结构特征对兰属5种植物的分类具有重要意义。

关键词: 国兰; 叶结构特征; 兰属; 分类; 系统演化

中图分类号: Q949.71+8.43

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2019)04-0422-12

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2019.40422

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Leaf structure characteristics of five species of *Cymbidium*

Song Jun-Yang¹, Luo Teng², Zhang Ning^{3*}

(1. College of Landscape Architecture and Arts, Northwest A & F University, State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2. Guangxi Communications Design Group Co., Ltd, Nanning, Guangxi 530022, China; 3. College of Water Resources and Architectural Engineering, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: Leaf architectural characteristics (vein architecture, epidermal architecture, and anatomical architecture) of five species of *Cymbidium* (*Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f., *C. faberi* Rolfe, *C. ensifolium* (L.) Sw., *C. kanran* Makino, and *C. sinense* (Jackson ex Andr.) Willd.) were observed and measured using optical microscopy and stereomicroscopy. Results showed that among the five plants, vein architectures were similar but there were significant differences in the epidermal and anatomical architectures, mainly in the quantity of fiber bundles and structure of stratum corneum edge. Based on cluster analysis of the leaf structure characteristics, the five species of orchid could be divided into *C. goeringii* formation, *C. ensifolium* formation, and *C. sinense* formation. This study showed that leaf structure characteristics have great significance for the classification of these five species of *Cymbidium*.

Key words: Chinese orchid; Leaf architectural characteristic; *Cymbidium*; Classification; Phylogenetic relationship

国兰是中国传统名花, 一般指隶属于兰科(Orchidaceae)兰属(*Cymbidium*)的春兰(*Cymbidium goeringii* (Rchb. f.) Rchb. f.)、蕙兰(*C.*

faberi Rolfe)、寒兰(*C. kanran* Makino)、建兰(*C. ensifolium* (L.) Sw.)、墨兰(*C. sinense* (Jackson ex Andr.) Willd.)^[1]。这5种兰是中国

收稿日期: 2018-12-12, 退修日期: 2019-01-19。

基金项目: 陕西省农业专项资金(2019-3-34)。

This work was supported by a grant from the Shaanxi Provincial Special Fund for Agriculture (2019-3-34).

作者简介: 宋军阳(1971-), 男, 硕士, 研究方向为园艺植物种质资源与遗传育种(E-mail: songjunyang@nwsuaf.edu.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: znaw@nwsuaf.edu.cn)。

兰花最具代表性的种类，在中国有一千多年的栽培历史^[2]，具有深厚的中国传统审美文化底蕴。

叶结构特征作为植物的基本特征，在植物鉴别及系统分类上具有重要价值^[3]。叶结构特征是植物遗传特征的宏观呈现，稳定的叶结构特征能直观地体现种间差异，为植物分类和鉴定提供更丰富的宏观特征资料，因此植物叶表皮微形态特征的分类学价值越来越受到重视^[4-6]。有学者将叶结构特征运用于属下分类^[7,8]。

关于叶结构目前已有相对完整的描述术语^[9]和特征模版^[10]，但仅限于双子叶植物，单子叶植物还没有相应的特征模版。Cameron 和 Dickison^[11]对香荚兰亚族叶脉结构特征进行了详细的描述和赋值，为兰科叶脉结构特征描述提供了参考。Stern 和 Judd^[12]对蕙兰族叶解剖结构特征进行了赋值和描述，但未对这几种植物的不同特点进行比较。李爱民等^[13,14]对墨兰的解剖结构进行了研究。孙安慈^[15]对兰属 5 种植物的叶上下表皮和横断面进行扫描电镜观察后提出，表皮的乳突和隆起可以作为分类的参考特征。本文在前人研究的基础上，对兰属 5 种植物的叶脉形态、叶表皮形态以及横切结构进行比较研究，旨在发现其潜在的分类价值，以为兰属植物的分类和系统演化研究提供更多的形态学证据。

1 材料和方法

1.1 材料

兰属 5 种植物的采集地点及凭证标本信息见表 1。5 种兰样株叶片均为成年龄苗的第 2 片叶。

1.2 方法

参考 Beth 等^[10]的叶片透明法进行叶脉特征观测。脉间区长度测量近叶尖和叶面最宽处的 10 个数值，计算平均值。二级脉密度随机测量近叶尖、叶面最宽处、近叶基各 3 个视野，取平均值。

参考马清温等^[16]的醋酸-过氧化氢法进行表皮特征观测。细胞大小测量 50 个，计算平均值。气孔指数在近叶尖、叶面最宽处、叶基各测量 3 个视野，分别计算指数并计算总体平均值。气孔长轴长、叶面最宽处角质层锯齿特征、叶面最宽处气孔带宽度各测量 10 个数值，取平均值。

参考 Zhang 等^[17]的徒手切片法进行解剖特征观测。角质层厚度、表皮层厚度、海绵细胞大小、胞间隙各测量 20 个数值，计算平均值。叶片最大厚度、中脉部分厚度、中脉和最大维管束大小、木质部厚度、韧皮部厚度、厚壁组织厚度、导管数各观察计算 5 份样品的数值，取平均值。

所制样品在 Olympus BX51 型和 Leica MD750 型光学显微镜以及 Olympus SZX12 型和 Leica EZ4 HD 型体视镜下观察并拍照，采用 ImageJ 和 Excel 软件进行测量和计算，用 NTsys2.10e 软件进行聚类分析和作图。叶结构描述术语主要参照文献[10, 18, 19]。

2 结果与分析

2.1 叶表皮特征

5 种兰的细胞具有不规则性，在细胞大小上存在明显差异，因此在测量上难免有一定的误差性。同种兰叶气孔大小较为稳定，不同种的气孔长轴长、气孔器大小有差异，但不明显。以下是具有明显差异的指标。

(1)下表皮气孔器分布频率(图版 I：12a，图版 II：13a、14a，图版 III：15a、16a)与气孔带宽度有一定关系。春兰近尖端部分的气孔指数明显高于其他 4 种兰，从直观上表现为春兰近尖端的气孔密度大于其他 4 种兰，因此这个指标是鉴定春兰较好的特征。此外，气孔器的分布频率和气孔带宽度呈近似正比关系，这种正比关系表明纤维和维管束可能会使气孔密度减少。各样本特征数据详见表 2。

表 1 供试兰属植物基本信息
Table 1 Basic information on tested *Cymbidium*

材料 Material	采集地 Collection location	凭证标本保存地点 Storage location
春兰 <i>Cymbidium goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	陕西省安康市石泉县	西北农林科技大学兰花资源圃
蕙兰 <i>Cymbidium faberi</i> Rolfe	陕西省商洛市商洛县	西北农林科技大学兰花资源圃
寒兰 <i>Cymbidium kanran</i> Makino	福建省漳州市南靖县	西北农林科技大学兰花资源圃
建兰 <i>Cymbidium ensifolium</i> ‘Tiegusu’	江苏省宿迁市陈村	西北农林科技大学兰花资源圃
墨兰 <i>Cymbidium sinense</i> ‘Qihei’	江苏省宿迁市陈村	西北农林科技大学兰花资源圃

(2)上表皮的气孔器取向(图版 I: 12d, 图版 II: 13e、14e, 图版 III: 15e、16d) 是区分种间差异的较好特征。气孔器取向可分为气孔器隐藏和气孔器外露, 据此可将 5 种兰划分为全部气孔器隐藏于气孔洞之中和部分气孔器外露 2 类。春兰、蕙兰、墨兰属于第 1 类; 建兰、寒兰能明显观察到部分气孔器外露, 属于第 2 类。

(3)叶面最宽处的角质层锯齿形态及其数据, 是区分 5 种兰的特征之一。通过光学显微镜(图版 I: 12b, 图版 II: 13b、14b, 图版 III: 15b、16b)和体视镜(图版 I: 12b, 图版 II: 13c、14c, 图版 III: 15c、16c; NLT: 图版 II: 14d, 图版 III: 15d) 观察对比, 发现 5 种兰这一特征比较稳定, 并且能够将它们区分开。各样本形态特征数据见

表 3、表 4。

2.2 叶解剖结构特征

在 5 种兰的叶肉细胞中均观察到近圆形的胞间空腔(图版 I: 9), 其大小小于或等于 1 个叶肉细胞。胞间空腔的出现可能是细胞死亡分解后留下的空腔, 或是之前纤维束曾存在的位置。胞间空腔的数量和大小具有随机性, 因此不能作为明显的差异指标。另外, 5 种兰的上、下表皮层和角质层的厚度虽有一定差异但不明显, 也不可作为种间差异的区分指标。以下是具有明显差异的几个指标。

(1)近轴面沟细胞(图版 I: 12g, 图版 II: 13h、14h, 图版 III: 15h、16d)。李爱民等^[13]将此特征描述为“中脉附近的叶肉细胞”, 我们认为不太准确。本文参照文献[20]将这一特征称为

表 2 供试兰属植物叶远轴侧表皮气孔指数、叶面最宽处气孔带宽度及平均值
Table 2 Abaxial stomatal index and stomatal belt width at the widest point of leaf surface in *Cymbidium* species

材料 Material	远轴侧表皮气孔指数		Abaxial stomatal index		叶面最宽处的气孔带宽度/平均值(μm) Stomatal belt width/Aver LWP
	NLT	LWP	NLB	Aver	
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	10.18	9.21	5.07	8.15	534.626 ~ 683.104/626.701
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	6.91	5.43	3.68	5.34	656.537 ~ 909.515/786.691
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	7.86	4.7	2.71	5.09	94.051 ~ 722.857/324.587
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	5.26	4.95	3.8	4.67	207.901 ~ 425.073/309.904
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	5.89	4.95	2.3	4.38	60.220 ~ 287.145/164.127

注: NLT, 近叶尖; LWP, 叶面最宽处; NLB, 近叶基; Aver, 平均值。下同。
Notes: NLT, Near leaf tip; LWP, Leaf widest place; NLB, Near leaf base; Aver, Average. Same below.

表 3 叶面最宽处的边缘角质层锯齿形态特征
Table 3 Characteristics of edge corneum serration at the widest point of leaf surface

材料 Material	形状 Shape	PD	NSS	DLS	耳垂状结构 Earlobe structure	DNL	近叶尖锯齿 Serration in NLT
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	不规则	较突出	2 ~ 4	较大	基本无	较小	NA
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	不规则	极突出	2 ~ 4	极大	常见	较小	NA
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	波浪状	较平缓	2 ~ 4	较小	无	较大	基本无锯齿
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	波浪状	平缓	2 ~ 7	较大	基本无	极大	角质层锯齿极长, 齿基部不接触叶肉细胞
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	几乎无锯齿	NA	NA	NA	NA	NA	NA

注: PD, 突出程度; NSS, 大锯齿中的小锯齿数; DLS, 小锯齿的长度差异; DNL, 近尖端和叶最宽处差异; NA, 没有该特征或该特征很不明显。下同。
Notes: PD, Prominent degree; NSS, Number of small serrations in large serrations; DLS, Differences in length of small serrations; DNL, Differences in NLT and LWP; NA, No such feature or feature not obvious. Same below.

表 4 叶面最宽处的角质层锯齿数值特征
Table 4 Data characteristics of stratum corneum serration at the widest point of the leaf surface

材料 Material	齿长度/平均值(μm) Serration length/Aver	小锯齿宽度/平均值(μm) Small serration width/Aver
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	29.259 ~ 63.200/44.181	74.903 ~ 152.147/111.419
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	70.924 ~ 200.952/103.431	127.072 ~ 280.741/224.100
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	19.307 ~ 44.554/36.386	101.822 ~ 163.851/141.809
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	33.941 ~ 50.326/40.960	88.948 ~ 157.999/125.034
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	NA	NA

“Foliar adaxial groove cells”。从解剖结构观察可见, 5 种兰中脉位置相对于叶肉组织向远轴侧偏移, 而在近轴侧形成沟状结构, 近轴面沟细胞就是指在沟状结构周围的细胞, 可分为近圆形和细长 2 类。春兰、蕙兰、寒兰的近轴面沟细胞形状与海绵组织细胞相似, 属于近圆形类; 建兰、墨兰的近轴面沟细胞细长, 形状与栅栏组织细胞相似, 属于细长类。

(2) 各指标数值方面的差异主要表现在海绵细胞大小、胞间隙面积、叶片厚度、中脉部分厚度(表 5)。这些特征主要与叶肉组织厚度和叶肉组织细胞大小有关。根据这些数值特征可将 5 种兰划分为 3 类: 春兰、蕙兰属于组织结构紧密型; 寒兰属于组织结构较紧密型; 建兰、墨兰属于组织结构疏松型。此特征类型划分并没有严格的区分数值, 仅表明叶部分解剖特征的数值差异。

(3) 维管束特征包括最大维管束形状和大型维管束厚壁组织(图版 I: 12h, 图版 II: 13i、14i, 图版 III: 15i、16h)。此特征可以很好地鉴别寒兰。寒兰的最大维管束类似于“馒头形”, 远轴侧相对扁平, 近轴侧相对尖锐。寒兰大型维管束的厚壁组织包围木质部和韧皮部, 形似帽状, Yukawa 等^[20]将其称为“厚壁组织帽”。各样本维管束特征

见表 6。

(4) 纤维束特征包括边缘纤维束和表皮下纤维束(图版 I: 12h, 图版 II: 13i、14i, 图版 III: 15i、16h)。表皮下纤维束包含数量、排列、近轴侧与远轴侧数量对比、叶肉组织中纤维束等 4 个特征。纤维束特征是解剖特征中差异最大的, 据此可将 5 种兰完全区分(表 7)。寒兰每个边缘有 2 个大纤维束, 由 50 个以上的厚壁细胞构成, 在结构上完全区别于其他纤维束, 并且寒兰几乎每个维管束之间都有一个叶中纤维束。由于墨兰表皮下纤维束极多, 因此其叶宽度大、纤维束密度大, 据此并结合叶脉特征中的叶面最宽处纤维数可区分墨兰。各样本纤维束特征描述见表 7。

2.3 叶脉结构特征

Y 型二级脉是指二级脉分叉, 一条回到原一级脉, 一条到另一条一级脉的二级脉结构。在春兰、寒兰、墨兰的叶尖中均发现有 Y 型二级脉结构(图版 I: 8), 而蕙兰和建兰中没有发现。由于二级脉的形态变化较大, 无法确定这就是有效的差异特征。叶尖一级脉和二级脉的数量及形态变化较大, 大部分种间差异来自此特征, 有一定的种间鉴别价值。各样本叶脉结构特征见表 8(均指叶面最宽处的数值)。

表 5 部分数值特征
Table 5 Partial data characteristics

材料 Material	海绵组织细胞大小 Spongy tissue cell size/Aver(μm)	胞间隙大小 Intercellular space size /Aver(μm ²)	叶片最大厚度 Leaf maximum thickness(μm)	中脉部分厚度 Leaf central part thickness(μm)
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	20.260 ~ 39.226/30.450	5.343 ~ 15.297/10.104	299.74	251.819
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	20.311 ~ 32.504/28.339	6.829 ~ 13.927/11.169	398.433	325.548
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	19.389 ~ 52.984/35.313	5.806 ~ 22.106/15.893	555.667	350.682
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	28.322 ~ 53.263/40.427	13.542 ~ 43.480/23.423	407.341	404.430
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	20.718 ~ 62.567/42.080	12.500 ~ 18.542/23.495	817.632	630.204

表 6 维管束特征
Table 6 Characteristics of vascular bundles

材料 Material	最大维管束形状 Maximum bundle shape	大型维管束厚壁组织 Large vascular bundle sclerenchyma
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	椭圆形, 长轴为叶片厚度方向	远轴侧比近轴侧的细胞壁更厚, 细胞更小更多
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	椭圆形, 长轴为叶片厚度方向	远轴侧比近轴侧的细胞壁更厚, 细胞更小更多
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	近椭圆形, 长轴为叶片宽度方向, 并向远轴侧偏移	远轴侧比近轴侧的细胞壁更厚, 细胞更小更多, 两侧的厚壁组织几乎将木质部和韧皮部完全包围
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	椭圆形, 长轴为叶片厚度方向	近轴侧厚壁细胞很少
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	椭圆形, 长轴为叶片厚度方向	近轴侧厚壁细胞很少

表 7 纤维束特征
Table 7 Characteristics of fiber bundles

材料 Material	叶缘纤维束 Marginal bundle	叶中纤维束 Central fiber bundle	表皮下纤维束 Fiber bundle under epidermis		
			数量(描述/参考数值) Number (Description/ Reference)	排列 Arrangement	数量比较 Number comparison
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	无	无	无	NA	NA
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	2	无	无	NA	NA
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	4	有	较多/47	不规则	Ab > Ad
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	2	无	较多/46	交错	Ab ≈ Ad
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	2	无	极多/244	交错	Ab > Ad

注: Ab, 远轴侧; Ad, 近轴侧。
Notes: Ab, Abaxial side; Ad, Adaxial side.

表 8 叶脉结构特征
Table 8 Characteristics of vein architecture

材料 Material	NP	NPT	MSP in LWP (μm)	DS in NLT ($\mu\text{m}/\text{mm}^2$)	FES in NLT	NFB
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. F.	13 ± 1	3	371.609	529.917	无	无
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	17 ± 1	3 或 5	425.000	265.279	无	无
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	19 ± 1	5	557.414	322.370	无	较多
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	18 ± 1	5	551.067	395.396	无	较多
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	40+	7	547.645	545.134	有	极多

注: NP, 一级脉数目; NPT, 叶尖一级脉数目; MSP in LWP, 叶面最宽处一级脉平均间距; DS in NLT, 近叶尖二级脉密度; FES in NLT, 近叶尖游离二级脉(图版 I : 8); NFB, 纤维束数量。
Notes: NP, Number of primary veins; NPT, Number of primary veins in leaf tip; MSP in LWP, Mean spacing of primary veins at the widest point of leaf surface; DS in NLT, Density of secondaries in NLT; FES in NLT, Free ending secondaries in NLT (Plate I : 8); NFB, Number of fiber bundles.

5 种兰的一级脉数目(图版 I : 12e, 图版 II : 13f、14f, 图版 III : 15f、16e)以及叶尖一级脉数目(图版 I : 12f, 图版 II : 13g、14g, 图版 III : 15g、16f)波动的主要原因是叶宽度的变化。经大量观察发现, 春兰和蕙兰叶宽度的变化较大, 但春兰的一级脉数目较稳定, 而蕙兰常有变化。另外, 同种兰且叶宽度相同的叶片也存在差异, 主要是主脉左半部分和右半部分的叶片宽度差异较大, 此特征可能会导致叶宽度较小部分的一级脉缺少 1 条, 或者原来绝对收敛于叶尖的一级脉收敛在主脉(图版 I : 6)。

墨兰的一级脉较多且叶片平均宽度远大于其他 4 种兰, 春兰的这两个特征与墨兰相反。观察发现, 春兰一级脉的平均间距小于墨兰, 这可能是因为春兰没有皮下纤维束, 通过增加维管束及依靠维管束中的厚壁组织来保持自身形态。结合解剖特征对蕙兰一级脉平均间距进行观察也可得到同样的结果。另外, 在墨兰近叶尖部分发现有较多游离二级脉, 即一端从一条一级脉出发, 另一端未到达另一条一级脉的二级脉。此种二级脉游离端圆滑, 并非由断裂产生。

与解剖特征相同, 在寒兰、建兰和墨兰的叶脉特征中也可以观察到明显的纤维束存在。墨兰中的纤维束与某些较细的一级脉相似, 难以直接判断。观察建兰的纤维束发现, 二级脉有明显的跨越现象(图版 II : 15f)。跨越是指二级脉越过一至多条纤维束, 直接连接相邻一级脉的特征, 在叶脉特征中是鉴别纤维束和一级脉的较好特征之一。

相比解剖特征, 在叶脉特征中计算纤维束的数量没有意义。原因是部分纤维可能存在远轴侧和近轴侧相互遮挡的情况(如寒兰); 其次纤维分布于远轴侧和近轴侧, 如果计算两侧观察数据之和, 可能会出现重复计算的情况; 另外, 部分纤维的宽度过小, 在小倍数物镜下难以观察到。所以叶脉观察得到的纤维束数量会明显小于解剖特征观察结果。

墨兰的叶脉特征和其他 4 种兰的差异很大(表 8), 依据叶脉特征能明显地将春兰和墨兰鉴别出来, 但蕙兰、寒兰、建兰有较多相同的叶脉特征, 不易区分, 因此叶脉结构特征并不是鉴别 5 种兰最好的差异特征。

2.4 叶结构聚类分析

从以上特征中选出 20 个具有分类意义的性

状，经过因子选择最后使用 10 个性状进行赋值，其具体性状和编码规则见表 9。将所得矩阵(表 10)在 NTsys2.10e 软件中采用 UPGMA 法进行聚类分析。聚类结果显示(图 1)，春兰、蕙兰、寒兰、建兰、墨兰按照叶结构特征可分为：墨兰型、建兰型和春兰型 3 种类型。墨兰型几乎无角

质层锯齿，表皮下有极多纤维束，一级脉排列松散，主要是墨兰；建兰型角质层锯齿为波浪状，表皮下较多纤维束，一级脉排列松散，主要有寒兰和建兰；春兰型角质层锯齿形状为不规则，表皮下无纤维束，一级脉排列紧密，主要有春兰和蕙兰。

表 9 叶结构特征赋值
Table 9 Assignment of leaf architectural characteristics

特征类型 Feature type	指标名称 Feature name	赋值编码规则 Assignment rule
表皮特征 Epidermal feature	上表皮细胞面积	直接测量，取平均值，单位： μm^2
	角质层锯齿形状	不规则 0；波浪状 1；NA 2
	角质层锯齿耳垂状结构	有锯齿，有耳垂状结构 0；有锯齿，无耳垂状结构 1；NA 2
解剖特征 Anatomical feature	近轴面沟细胞	细长 0；近圆形 1
	叶缘纤维束	直接计数，取平均值
	表皮下纤维束排列	不规则 0；交错 1；NA 2
	近轴侧与远轴侧数量	ab. \approx ad. 0；Ab > Ad 1；NA 2
	叶中纤维束	有 0；无 1
叶脉特征 Vein feature	一级脉数目	直接计数，取平均值
	叶面最宽处一级脉平均间距	直接测量，取平均值，单位： μm

表 10 兰属 5 种植物叶结构特征矩阵
Table 10 Leaf architectural characteristic matrix of five species of *Cymbidium*

材料 Material	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
春兰 <i>C. goeringii</i> (Rchb. f.) Rchb. f.	1051.367	0	1	1	0	2	2	1	13	371.609
蕙兰 <i>C. faberi</i> Rolfe	1208.337	0	0	1	2	2	2	1	17	425.000
寒兰 <i>C. kanran</i> Makino	995.113	1	1	1	4	0	1	0	19	557.414
建兰 <i>C. ensifolium</i> ‘Tiegusu’	1096.902	1	1	0	2	1	0	1	18	551.067
墨兰 <i>C. sinense</i> ‘Qihei’	1223.400	2	2	0	2	1	1	1	40	547.645

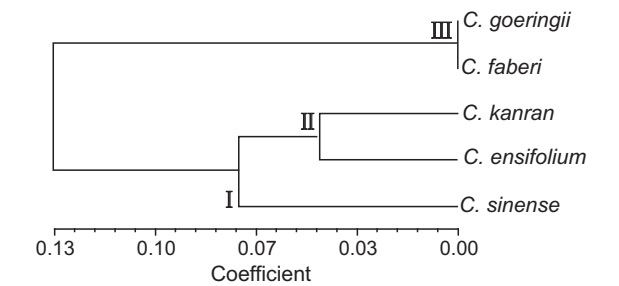


图 1 兰属 5 种植物叶结构特征的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of five species of *Cymbidium* based on leaf architectural characteristics

3 讨论

3.1 兰属植物分组问题的探讨

根据上文差异特征及聚类分析结果，可将兰属 5 种植物分为 2 组或 3 组。3 组的划分方式和聚类分析结果相同，即春兰组、建兰组和墨兰组。组的

划分过细会给鉴定和查阅带来不便，因此这 5 种兰分为 2 组比较合适。按照叶结构特征，仅依据是否有皮下纤维束即可将 5 种兰分为有皮下纤维束组和无皮下纤维束组。相比 3 组分类法，2 组分类法仅将墨兰型与建兰型合并到一起，构成有皮下纤维数组。

以上依据叶结构特征的分组方式，支持了 ITS 序列分析和 RAPD 分析结果^[21,22]，但不支持传统的依据苞片、基部关节、叶宽等外部形态分组的结果。实际上根据 DNA 分子技术的划分方式更接近这 5 种植物的亲缘关系，而依据叶结构特征的分类并不一定能得到准确的亲缘关系。因此对于兰属植物的系统分类，还需综合更多的资料深入探讨，并找到有对应特征的外类群。

3.2 系统学意义

叶结构特征的复杂程度能提示植物性状的初生与次生、原始与进化的状态^[7]。Dahi 和 Hanne^[3]

指出, 兰目来源于百合目的祖先, 类百合目没有硅体细胞这一原始性状表明, 相对于兰目, 百合目为原始类群。如果将百合目作为外类群, 则没有边缘角质层锯齿的植物为原始种类。聚类分析结果表明, 边缘角质层锯齿和皮下纤维束有较大的演化意义。本研究表明, 无角质层锯齿和有极多皮下纤维束为原始性状, 具有突出的不规则的角质层锯齿和没有皮下纤维束为进化性状, 而具有平缓的波浪状锯齿和较多皮下纤维束为过渡性状。在 5 种兰 3 组分类方式中, 墨兰型属于原始类型, 适应性较差; 春兰型为进化类型, 分布广泛, 适应性强; 建兰型为过渡类型。说明兰属这 5 种植物在向不同方向演化的同时也存在紧密联系, 体现了进化的连续性。

根据以上系统学分析, 可对兰属 5 种植物不同特征的进化方向进行预测。刘仲健等^[23]研究兰属植物认为, 兰属植物的自然生境是“疏林或林缘有散射阳光而不灼晒、湿润而排水良好、温暖而无严寒酷暑”, 蔡永立等^[24]研究常绿阔叶林藤本植物认为, 表皮角质膜的发达和海绵组织排列紧密是偏旱生或阳生叶的特征, 路贵和等^[25]研究不同抗旱类型大豆品种气孔特性认为, 背面气孔密度大是适应干旱环境的表现。结合前人的研究结论和本文的研究结果, 我们认为兰属植物的演化方向是增强自身的适应性, 将生境范围扩大到中等光照、适度缺水的地区。关于叶结构对地理环境的适应性方面, 尚有待进行深入的研究和探讨。

3.3 分类学意义

本研究涉及叶结构的表皮特征、叶脉特征和解剖特征 3 个方面, 这 3 方面特征的稳定性和多样性决定了某一特征是否能作为很好的分类学特征。

相对于双子叶植物, 单子叶植物叶脉结构较为简单。本研究供试的兰属 5 种植物大部分叶脉特征相似, 虽然叶脉特征稳定, 但是不能单独作为分类特征使用, 需要结合其他特征进行鉴定。表皮是叶肉组织抵御外界影响的重要屏障, 所以表皮特征很容易受到环境的影响, 在同种植物中可能会出现较大的差异, 研究中需要通过增大样本量减少误差的影响。由于上下表皮的差异和角质层的存在, 表皮特征有较高的多样性, 某些特征如边缘角质层锯齿, 可以借助简单的设备进行观测, 所以表皮特征对于野外鉴定很有帮助。相对于叶脉特征和表皮特征, 在这 5 种兰中, 解剖特征具有很高的多样性和

稳定性, 部分解剖特征如纤维束可以很好地用于种类鉴别, 同时维管束也蕴藏着丰富的分类信息, 所以解剖特征是这 3 特征中最好的分类学特征。

表皮特征、叶脉特征和解剖特征这 3 个方面需要相互参考, 例如在分析纤维束的数量时, 利用叶脉特征和解剖特征相互参考, 以减少鉴别差错。

3.4 春兰和蕙兰分类问题的探讨

春兰和蕙兰形态相近, 直接鉴别存在困难。通常是依据叶脉透明度和叶基关节(叶柄环)对其进行鉴定, 这也是《中国植物志》和《中国兰属植物》的鉴定特征^[23,26]。

从本研究中的差异分析可看出, 在其他叶结构特征中, 春兰和蕙兰也存在差异, 具体表现为春兰的一级脉数目小于蕙兰。春兰一级脉数量一般在 13 条左右, 蕙兰则是 17 条。虽然具体数目会随着叶宽度的变化而发生变化, 但是变化幅度小。另外, 蕙兰的角质层锯齿会出现耳垂状结构, 春兰的锯齿形状虽然和蕙兰相似, 但基本没有耳垂状结构。蕙兰有叶缘纤维束, 而春兰没有。

3.5 其他叶结构特征

由于本研究的局限性, 有些文献提及的叶结构未能观察到或无法观察到。如孙安慈^[15]在扫描电镜观察中发现这 5 种兰的上下表皮具有不同的乳突和凸起结构; Yukawa 和 Stern^[20]在寒兰、建兰和春兰叶肉细胞中发现了晶体; Stern 和 Judd^[12]在这 5 种兰的维管束边缘发现了“Stegmata”(即含有特殊形状硅体的细胞), 并指出春兰和寒兰的所有维管束表面都会出现“Stegmata”。Dahi 和 Hanne^[3]对兰目植物的“Stegmata”进行了较全面研究, 发现兰目植物“Stegmata”中的硅体有锥形和球形两种形式, 产生方式主要有主动和被动两种, 同时文中对有无“Stegmata”的系统学意义进行了探讨。此外本研究还有许多叶结构特征未提及, 在后期研究中尚需从多方面进行探讨。

4 结论

(1) 根据叶结构特征差异分析, 5 种兰表皮特征差异较明显, 但表皮特征易受到外界环境的影响, 稳定性较差, 需要结合其他特征进行分析和鉴定。解剖特征具有良好的多样性和稳定性, 是较好的分类学特征。

(2) 根据聚类结果, 可将兰属 5 种植物分为春

兰型(春兰和蕙兰)、建兰型(寒兰和建兰)和墨兰型(墨兰)。根据皮下纤维束的有无,可将其分为有皮下纤维束组和无皮下纤维束组。兰属相同种类的叶结构特征基本一致,而不同种类间存在一定的差异性,因此叶结构特征有较大的分类学价值。

(3)聚类结果还显示,叶边缘角质层锯齿和皮下纤维束有较大的演化意义。无角质层锯齿、有极少皮下纤维束为原始性状;平缓的波浪状锯齿、有较多皮下纤维束为过渡性状;有突出的不规则的角质层锯齿、没有皮下纤维束为进化性状。这些性状表明,兰属5种植物的演化方向是朝着对强光和缺水的适应性方向演化,以此扩大其生境范围。

参考文献:

- [1] 吴应祥, 陈心启. 国产兰属分类研究[J]. 植物分类学报, 1980, 18(3): 292-307.
Wu YX, Chen XQ. Domestic orchid classification research [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 1980, 18(3): 292-307.
- [2] 吴应祥. 中国兰花[M]. 北京: 中国林业出版社, 1993: 26-64.
- [3] Dahi JM, Hanne R. Stegmata in Orchidales: character state distribution and polarity[J]. *Bot J Linn Soc*, 1984, 89: 53-76.
- [4] De Oliveira MIU, Reboucas DA, Leite KRB, De Oliveira RP, Funch LS. Can leaf morphology and anatomy contribute to species delimitation? A case in the *Campomanesia xanthocarpa* complex (Myrtaceae)[J]. *Flora*, 2018, 249: 111-123.
- [5] 张健, 闻志彬, 张明理. 中国木蓼属植物叶表皮微形态特征及其分类学意义[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(2): 8-17.
Zhang J, Wen ZB, Zhang ML. Leaf epidermal micro-morphological characteristics of *Atraphaxis* Linn. (Polygonaceae) in China and its taxonomical significance [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2013, 22(2): 8-17.
- [6] 曹小燕, 曹明, 邓敏. 中国水青冈属(壳斗科)叶结构及分类学意义[J]. 植物分类与资源学报, 2014, 36(1): 1-6.
Cao XY, Cao M, Deng M. Leaf architecture and its taxonomic significance in *fagus* (fagaceae) within China[J]. *Plant Diversity and Resources*, 2014, 36(1): 1-6.
- [7] 石祥刚, 黎运钦, 李成仁, 宋晓虹, 叶创兴. 铃属植物叶宏观结构及其分类学意义[J]. 植物研究, 2009, 29(5): 517-523.
Shi XG, Li YQ, Li CR, Song XH, Ye CX. Leaf architecture of *Eurya* and its taxonomic significance[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2009, 29(5): 517-523.
- [8] 曹明, 曹丽敏, 张奠湘, 张瑞泉. 中国花椒属(广义)叶结构研究[J]. 广西植物, 2009, 29(2): 163-170.
Cao M, Cao LM, Zhang DX, Zhang RQ. Leaf architecture of *Zanthoxylum* (Rutaceae) from China and its taxonomic significance[J]. *Guihaia*, 2009, 29(2): 163-170.
- [9] Spicer RA. Pectinal veins: a new concept in terminology for the description of dicotyledonous leaf venation patterns [J]. *Bot J Linn Soc*, 1986, 93: 379-388.
- [10] Beth E, Douglas CD, Leo JH, Kirk RJ, John DM, Peter W, Scott LW. Manual of Leaf Architecture [M]. Beijing: Peking University Press, 2012: 153-182.
- [11] Cameron KM, Dickison WC. Foliar architecture of vanilloid orchids: insights into the evolution of reticulate leaf venation in monocotyledons[J]. *Bot J Linn Soc*, 1998; 128: 45-70.
- [12] Stern WL, Judd WS. Systematic and comparative anatomy of *Cymbidieae* (Orchidaceae)[J]. *Bot J Linn Soc*, 2002, 139(1): 1-27.
- [13] 李爱民, 陈泽谦, 孙谷畴, 叶秀麟. 墨兰组织培养植株的叶结构和生理特性[J]. 生命科学研究, 2002, 6(1): 68-73.
Li AM, Chen ZL, Sun GC, Ye XL. Anatomical structure and physiological characters of leaves for *Cymbidium sinense* in vitro[J]. *Life Science Research*, 2002, 6(1): 68-73.
- [14] 李爱民, 叶秀麟, 陈功锡, 陈泽谦. 墨兰的解剖学研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2002, 10(4): 295-300.
Li AM, Ye XL, Chen GX, Chen ZL. Anatomy of *Cymbidium sinense* (Andr.) Willd [J]. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2002, 10(4): 259-300.
- [15] 孙安慈. 兰属、兜兰属、石斛属植物叶片的扫描电镜观察[J]. 武汉植物学研究, 1995, 13(4): 289-294.
Sun AC. Investigations on leaves of *Cymbidium*, *Paphiopedilum*, *Dendrobium* under scanning electron microscope[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1995, 13(4): 289-294.
- [16] 马清温, 李凤兰, 李承森. 落羽杉属(杉科)叶表皮结构及气孔参数[J]. 植物分类学报, 2005, 43(6): 517-525.
Ma QW, Li FL, Li CS. Leaf epidermal structure and stomatal parameters of the genus *Taxodium* (Taxodiaceae) [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2005, 43(6): 517-525.
- [17] Zhang SM, Liu HY, Cheng JJ, Feng DY, Liu Z. Free-hand section techniques for clear observation of cell structures of millet (*Setaria italica*) and rice (*Oryza sativa*) leaves[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2015, 34(7): 1527-1530.
- [18] 王宇飞, 陶君容. 植物角质层分析术语新体系[J]. 植物学通报, 1991, 8(4): 6-13.
Wang YF, Tao JR. An introduction to a new system of terminology for plant cuticular analysis [J]. *Chinese Bulletin of Botany*, 1991, 8(4): 6-13.
- [19] 刘穆. 种子植物形态解剖学导论[M]. 5版. 北京: 科学出版社, 2010: 255-271.
- [20] Yukawa T, Stern WL. Comparative vegetative anatomy and systematics of *Cymbidium* (Cymbidieae; Orchidaceae) [J]. *Bot J Linn Soc*, 2002, 138(4): 383-419.
- [21] Zhang MY, Sun CY, Hao G, Ye XL, Liang CY, Zhu GH. A preliminary analysis of phylogenetic relationships in *Cymbidium* (Orchidaceae) base on *nrITS* sequence data [J]. *Acta Bot Sin*, 2002, 44(5): 588-592.
- [22] 文李, 叶庆生, 王小菁, 潘瑞炽. 利用 RAPD 技术分析兰属(*Cymbidium*)品种间的亲缘关系[J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7(1): 29-32.
Wen L, Ye QS, Wang XJ, Pan RC. Analysis of relationship among *Cymbidium* cultivars using RAPD [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2001, 7(1): 29-32.

- [23] 刘仲健, 陈心启, 茹正忠. 中国兰属植物[M]. 北京: 科学出版社, 2006: 25–28.
- [24] 蔡永立, 宋永昌. 浙江天童常绿阔叶林藤本植物的适应生态学: I. 叶片解剖特征的比较[J]. 植物生态学报, 2001, 25(1): 90–98.
Cai YL, Song YC. Adaptive ecology of lianas in Tiantong evergreen broad-leaved forest, Zhejiang, China: I. Leaf anatomical characters [J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2001, 25(1): 90–98.
- [25] 路贵和, 刘学义, 张学武. 不同抗旱类型大豆品种气孔特性初探[J]. 山西农业科学, 1994, 22(4): 8–11.
Lu GH, Liu XY, Zhang XW. Preliminary study on stomatal characteristics in different types of drought-resistant soybean cultivars [J]. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 1994, 22(4): 8–11.
- [26] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第 18 卷: 兰科[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 213–223.

图版说明

图版 I: 1. 寒兰, 近轴侧表皮细胞; 2. 蕙兰, 远轴侧表皮细胞; 3. 建兰, 远轴侧表皮气孔带; 4. 春兰, 气孔器结构; 5. 寒兰, 解剖特征下近轴侧和远轴侧表皮细胞、等面叶特征; 6. 春兰, 一级脉收敛; 7. 蕙兰, 一级脉末端分叉收敛; 8. 墨兰, 示 Y 型二级脉、游离二级脉; 9. 蕙兰, 胞间空腔; 10 ~ 11. 分别示春兰和墨兰小型维管束; 12. 春兰: 12a. 近尖端气孔带; 12b. 显微镜下边缘角质层锯齿; 12c. 体视镜下边缘角质层锯齿; 12d. 气孔器取向; 12e. 一级脉数目; 12f. 叶尖一级脉数目; 12g. 近轴面沟细胞; 12h. 最大维管束; 12i. 解剖面边缘。

图版 II: 13. 蕙兰: 13a. 近尖端气孔带; 13b. 显微镜下边缘角质层锯齿; 13c. 体视镜下边缘角质层锯齿; 13d. 耳垂状结构; 13e. 气孔器取向; 13f. 一级脉数目; 13g. 叶尖一级脉数目; 13h. 近轴面沟细胞; 13i. 最大维管束; 13j. 叶缘纤维束。14. 寒兰: 14a. 近尖端气孔带; 14b. 显微镜下边缘角质层锯齿; 14c. 体视镜下边缘角质层锯齿; 14d. 近尖端角质层锯齿; 14e. 气孔器取向; 14f. 一级脉数目; 14g. 叶尖一级脉数目; 14h. 近轴面沟细胞; 14i. 最大维管束、叶中纤维束、皮下纤维束; 14j. 叶缘纤维束。

图版 III: 15. 建兰: 15a. 近尖端气孔带; 15b. 显微镜下边缘角质层锯齿; 15c. 体视镜下边缘角质层锯齿; 15d. 近尖端角质层锯齿; 15e. 气孔器取向; 15f. 一级脉数目以及跨纤维束特征; 15g. 叶尖一级脉数目; 15h. 近轴面沟细胞; 15i. 最大维管束、皮下纤维束; 15j. 叶缘纤维束。16. 墨兰: 16a. 近尖端气孔带; 16b. 显微镜下边缘角质层锯齿; 16c. 体视镜下边缘角质层锯齿; 16d. 气孔器取向; 16e. 一级脉数目; 16f. 叶尖一级脉数目; 16g. 近轴面沟细胞; 16h. 最大维管束、皮下纤维束; 16i. 叶缘纤维束。

Explanation of plates

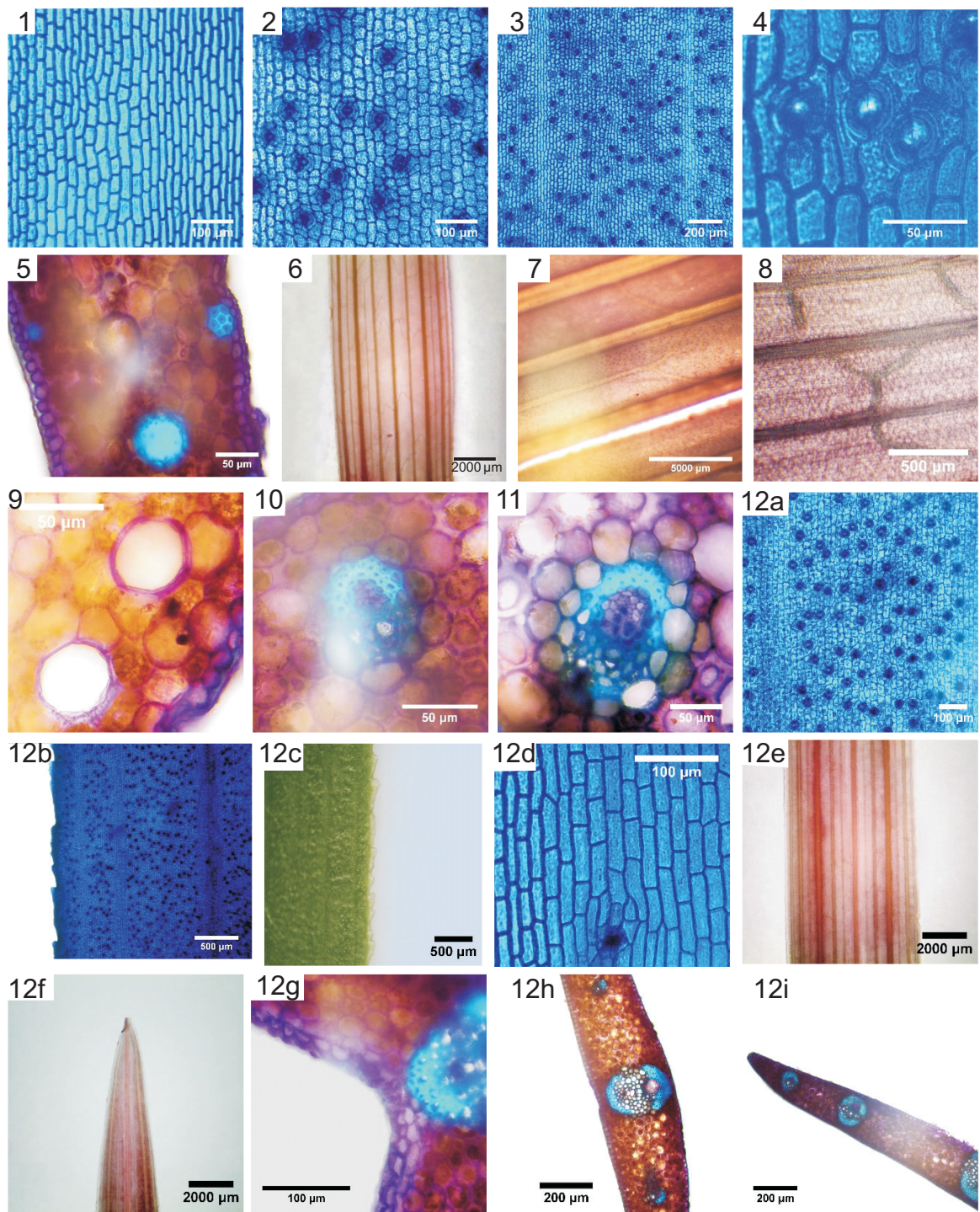
Plate I: 1. *Cymbidium kanran*, showing adaxial epidermal cells; 2. *C. faberi*, showing abaxial epidermal cells; 3. *C. ensifolium*, showing stomatal belt in abaxial epidermis; 4. *C. goeringii*, showing stomatal architecture; 5. *C. kanran*, showing adaxial and abaxial epidermal cells in anatomical characteristics and equilateral leaf characteristics; 6. *C. goeringii*, showing primary veins; 7. *C. faberi*, showing primary vein end separate convergence; 8. *C. sinense*, showing Y shape secondaries, free ending secondaries; 9. *C. faberi*, showing intercellular cavity; 10–11. *C. goeringii* and *C. sinense* showing small vascular bundle; 12. *C. goeringii*: 12a. stomatal belts near leaf tip; 12b. Edge corneum serration (microscope); 12c. Edge corneum serration (stereoscope); 12d. Stomatal orientation; 12e. Number of primary veins; 12f. Number of primary veins in leaf tip; 12g. Foliar adaxial groove cells; 12h. Largest vascular bundle; 12i. Anatomical architecture margin.

Plate II: 13. *C. faberi*: 13a. Stomatal belts near leaf tip; 13b. Edge corneum serration (microscope); 13c. Edge corneum serration (stereoscope); 13d. Earlobe structure; 13e. Stomatal orientation; 13f. Number of primary veins; 13g. Number of primary veins in leaf tip; 13h. Foliar adaxial groove cells; 13i. Largest vascular bundle; 13j. Marginal bundle. 14. *C. kanran*: 14a. Stomatal belts near leaf tip; 14b. Edge corneum serration (microscope); 14c. Edge corneum serration (stereoscope); 14d. Serration near leaf tip; 14e. Stomatal orientation; 14f. Number of primary veins; 14g. Number of primary veins in leaf tip; 14h. Foliar adaxial groove cells; 14i. Largest vascular bundle, central fiber bundle, fiber bundle under epidermis; 14j. Marginal bundle.

Plate III: 15. *C. ensifolium*: 15a. Stomatal belts near leaf tip; 15b. Edge corneum serration (microscope); 15c. Edge corneum serration (stereoscope); 15d. Serration near leaf tip; 15e. Stomatal orientation; 15f. Number of primary veins and secondaries fiber bundles; 15g. Number of primary veins in leaf tip; 15h. Foliar adaxial groove cells; 15i. Largest vascular bundle, fiber bundle under epidermis; 15j. Marginal bundle. 16. *C. sinense*: 16a. Stomatal belts near leaf tip; 16b. Edge corneum serration (microscope); 16c. Edge corneum serration (stereoscope); 16d. Stomatal orientation; 16e. Number of primary veins; 16f. Number of primary veins in leaf tip; 16g. Foliar adaxial groove cells; 16h. Largest vascular bundle, fiber bundle under epidermis; 16i. Marginal bundle.

宋军阳等：图版 I

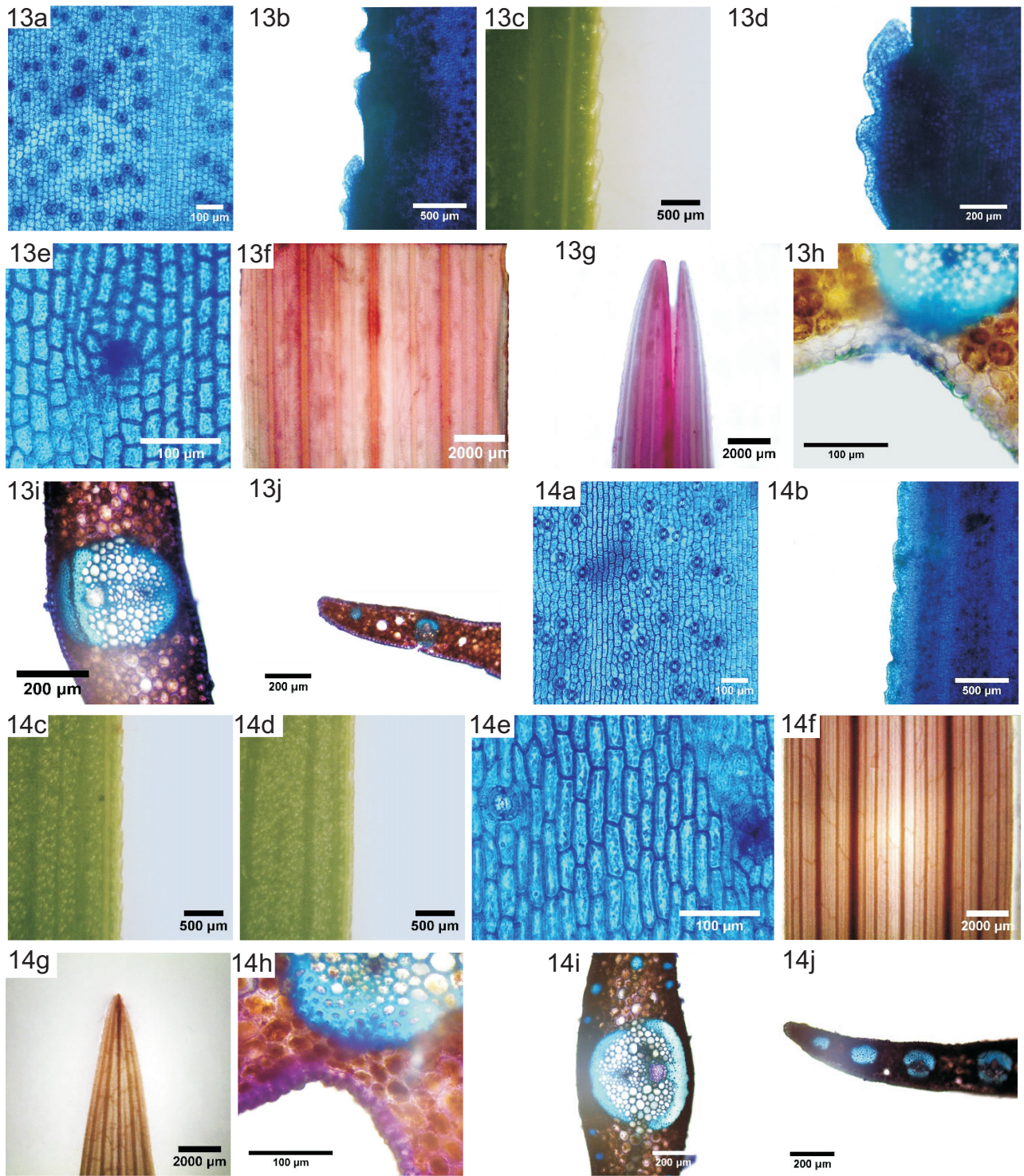
Song Jun-Yang *et al.*: Plate I



See explanation at the end of text

宋军阳等：图版 II

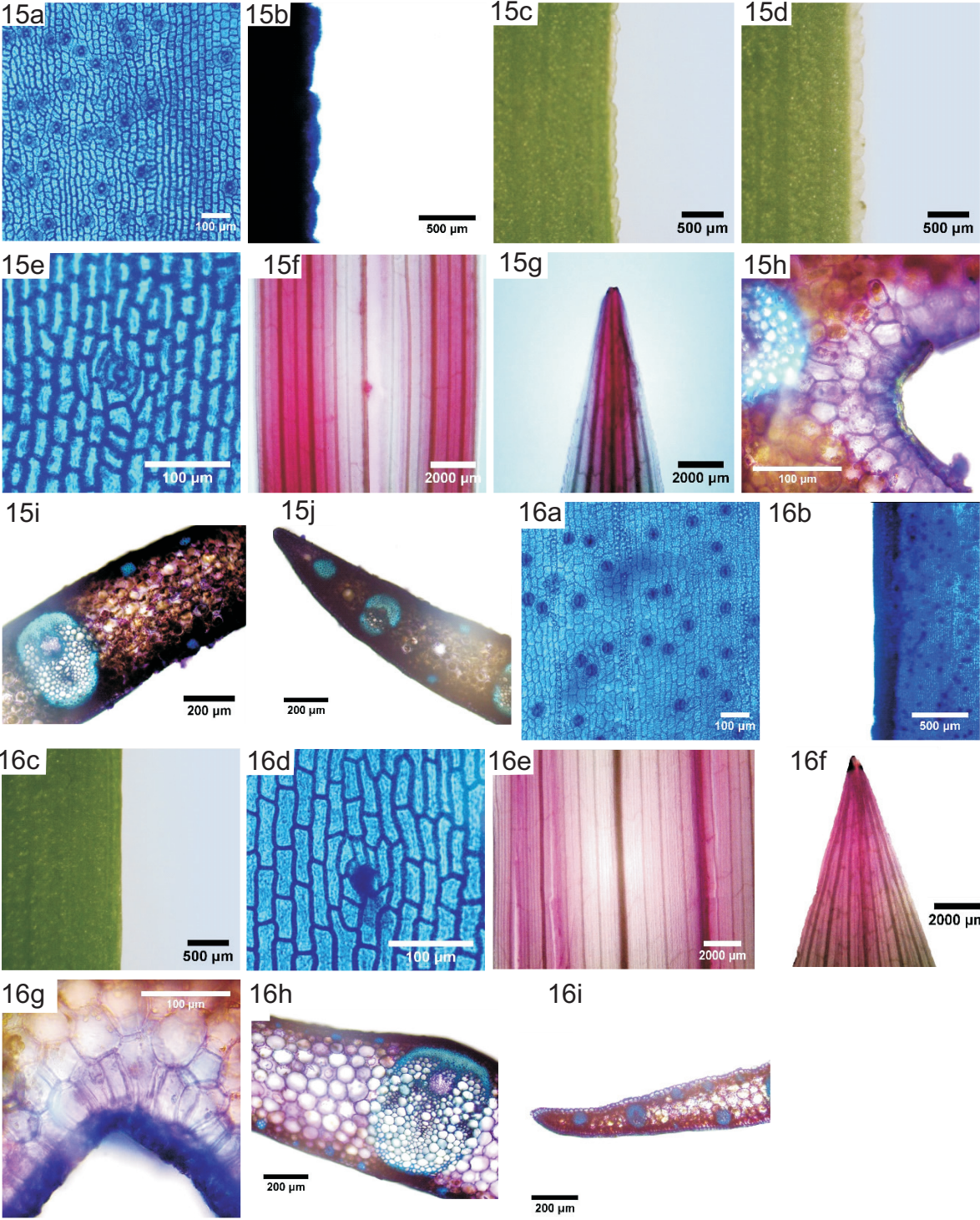
Song Jun-Yang *et al.*: Plate II



See explanation at the end of text

宋军阳等：图版 III

Song Jun-Yang *et al.*: Plate III



See explanation at the end of text

(责任编辑：张 平)