

基部被子植物气孔性状与叶脉密度的关联进化

张亚^{1,2}, 杨石建^{1,2}, 孙梅^{1,2}, 曹坤芳^{1,3*}

(1. 中国科学院西双版纳热带植物园, 热带森林生态学重点实验室, 云南勐腊 666303; 2. 中国科学院大学, 北京 100049;
3. 广西大学林学院, 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室, 广西南宁 530004)

摘 要: 植物叶片通过气孔的水分蒸腾散失和叶脉的水分供应达到水分平衡, 而基部被子植物在进化过程中叶片水分供应和蒸腾散失是否达到平衡或关联进化还缺乏了解。本研究以 11 种基部被子植物为材料, 测定了气孔密度、气孔长度、叶脉密度和叶片厚度 4 个叶片性状, 并结合系统发育树, 利用系统发育独立对比的方法分析这些性状之间的关联进化。结果显示: 沿进化方向, 气孔密度和叶脉密度逐渐增加, 而气孔长度和叶片厚度有减小的趋势; 无论是否考虑系统发育的影响, 气孔密度都与叶脉密度呈显著正相关关系, 说明二者之间存在关联进化, 并证实了基部被子植物叶片水分平衡假说; 气孔密度和长度、叶脉密度均与叶片厚度呈显著线性相关, 但在去除系统发育的影响后这种线性相关关系不再显著, 说明叶片厚度与其它三个叶片性状不存在关联进化。本研究结果还表明, 叶片的水分供应和散失乃至 CO₂ 通透性的平衡主导着基部被子植物叶片结构和功能的进化。

关键词: 基部被子植物; 关联进化; 气孔密度; 叶脉密度; 水分平衡

中图分类号: Q945. 79

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2014)04-0320-09

Stomatal Traits are Evolutionarily Associated with Vein Density in Basal Angiosperms

ZHANG Ya^{1,2}, YANG Shi-Jian^{1,2}, SUN Mei^{1,2}, CAO Kun-Fang^{1,3*}

(1. Key Laboratory of Tropical Forest Ecology, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. State Key Laboratory of Conservation and Utilization of Subtropical Agro-Bioresources, College of Forestry, Guangxi University, Nanning, Guangxi 530004, China)

Abstract: Plant leaves reach water balance by evaporative water loss through stomata and water supply from leaf veins. However, it is still unclear whether water supply and transpiration demand maintained balance during the evolution of basal angiosperms. In the present study, we measured stomatal density, stomatal length, vein density and leaf thickness from 11 basal angiosperm species and applied phylogenetically independent contrasts, combined with phylogenetic trees, to detect correlated-evolution between traits. Our results showed that along the evolutionary direction, stomatal density and vein density increased gradually while stomatal length and leaf thickness expressed a declining trend; whether phylogeny was considered or not, stomatal density was positively correlated with vein density, indicating their correlated-evolution, and supporting the hypothesis that leaf water balance existed in basal angiosperms; leaf thickness was correlated significantly with both stomatal traits and vein density; however, after removing the phylogenetic effect, these correlations disappeared, indicating non-correlated evolution between these traits. The results of the present study revealed that the maintenance of the balance between water demand and supply, and even CO₂ supply, drove the evolution of leaf structure and function in basal angiosperms.

Key words: Basal angiosperms; Evolutionary association; Stomatal density; Vein density; Water balance

收稿日期: 2014-03-17, 退修日期: 2014-04-08。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31170399)。

作者简介: 张亚(1990-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为植物生理生态学(E-mail: zhangya@xtbg.org.cn)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: caokf@xtbg.ac.cn)。

叶片的水分平衡对植物生理功能的维持具有重要意义,叶片的水分平衡是指叶片光合作用过程中水分的供应与散失之间的平衡关系,取决于叶片进行光合作用时叶脉的水分传送及通过气孔口的水分散失^[1]。具体来说,叶脉密度决定着整个叶片的水分供应^[1,2]。高叶脉密度表明叶片维管系统在叶肉细胞中遍布更广,从而缩短水分从叶脉运输到气孔的距离,提高了叶片的蒸腾能力和水力导度^[3-5],进而提高叶片的光合能力^[6],因此叶脉密度的进化为植物具有高的光合速率奠定了基础,在基部被子植物(basal angiosperms)的早期演化过程中具有重要意义^[7];同时具有高光合能力的叶片为弥补大量的水分缺失则需要构建高的叶脉密度,这就要求植物消耗更多的碳源物质和能量,故植物叶片需要在光合产量和叶脉投资之间进行权衡^[7,8]。此外,气孔是植物与大气进行水气交换的通道,叶片进行光合作用时不可避免地伴随着水分的蒸发损耗^[8],气孔密度和气孔大小(保卫细胞长度)与叶片蒸腾需求即叶片的水分丧失有直接关系^[9,10]。许多研究表明,干旱生境的植物具有较高的气孔密度和较小的气孔^[10,11]。小气孔可以更快地响应外界的环境因子^[12],当植物面临干旱胁迫时,小气孔可以迅速关闭以防止水分进一步丧失,而大气孔在潮湿荫蔽的环境中可能占有优势^[10]。由于叶脉和气孔共同作用维持叶片的水分平衡,二者之间必然存在紧密的关联,这种关联及其进化在植物对外界环境的适应中具有重要意义。

叶片的水分供应及储存与叶片厚度也有关系,厚叶片可以直接储存更多水分且在干旱期间能维持较稳定的水分供给^[1,13]。但是,厚叶片也同时增加了水分在叶片中从叶脉末端到蒸腾部位(气孔)的距离,这将增加水分的叶肉传导阻力,进而降低总叶片水力导度和叶片光合速率^[14],因此叶片厚度与气孔及叶脉间可能也存在一定的关联。Beerling和Kelly发现叶片厚度与下表皮气孔密度间确实存在关联进化^[15],故在研究叶片的水分平衡时,考虑叶片厚度的影响是很有必要的。

基部被子植物是被子植物系统发育基部类群的简称,包括ANITA类群(无油樟属 *Amborella*、睡莲目 *Nymphaeales*、五味子科 *Schisandraceae*、

腺齿木科 *Trimeniaceae*、木兰藤属 *Austrobaileya*)和金粟兰科(*Chloranthaceae*)植物以及木兰类植物(*Magnoliids*,包括白桂皮目 *Canellales*、樟目 *Laurales*、木兰目 *Magnoliales*、胡椒目 *Piperales*)^[16]。其中,以无油樟属、木兰藤属和一些金粟兰科木本植物为代表的现存基部被子植物,常生长于潮湿、阴暗且有生物干扰的生境^[17],幼苗具有攀援或倚靠习性的细长嫩枝,而成年植株则具直立枝条的典型多分枝灌木或小乔木,即在其不同的生长时期植株会经历不同的生长形态^[18]。现存基部被子植物的生活环境暗示了被子植物可能起源于潮湿、荫蔽的林下生境^[17],研究基部被子植物的生理生态特征对于理解被子植物的起源演化有很大帮助^[18]。Brodribb和Feild^[2]研究表明,在被子植物起源后的40~60 Ma间,被子植物叶脉密度快速增大,水分的充足供给为高光合能力提供了基础,因而被子植物叶片的最大光合能力也随之快速提高(3~4倍),高光合能力无疑是被子植物占据陆地植被主导地位的一个显著优势^[2]。从进化角度研究基部被子植物叶片的水分平衡将为理解植物在进化过程中对环境的适应策略提供了一个新思路,这对理解被子植物的高光合能力及被子植物自白垩纪以来的迅速演化具有关键意义。

本研究测定了生长于中国科学院西双版纳热带植物园的11种基部被子植物叶片的气孔密度及大小、叶脉密度、叶片厚度4个叶片性状参数,结合系统发育树并利用系统发育独立对比的方法,试图回答以下2个科学问题:(1)气孔、叶脉密度及叶片厚度在基部被子植物发展过程中有何进化趋势?(2)基部被子植物的气孔、叶脉密度是否存在关联进化以维持叶片水分供需平衡?

1 材料与方法

1.1 研究地点自然概况及实验材料

研究地点为地处热带北缘的中国云南省勐腊县勐仑镇中国科学院西双版纳热带植物园(21°41'N, 101°25'E, 海拔570 m),其年平均温度为21.7℃,最热月(7月)平均气温为25.7℃,最冷月(1月)平均气温为16℃;年降雨量为1560 mm,一年分为两个明显的季节,雨季(5~10月)和旱季(11月

到次年 4 月), 其中雨季降水量占全年降水的 80% 以上。本实验全部在雨季(7–10 月)完成。

从生长于西双版纳热带植物园内热带森林及引种栽培的 7 个基部被子植物科(五味子科、金粟兰科、番荔枝科(Annonaceae)、樟科(Lauraceae)、肉豆蔻科(Myristicaceae)、木兰科(Magnoliaceae)、胡椒科(Piperaceae)中, 各选取 1~2 个代表种(共 11 个种, 表 1, 科名参照 APG III 分类系统^[19]), 且每种植物选取 5 个个体, 每个个体选取 5 片健康、阳生的成年叶片进行气孔密度及大小、叶脉密度、叶片厚度的测定。本实验选取的 11 种基部被子植物均为常绿植物, 树龄在 5 年以上。另外, 睡莲目(Nymphaeales)虽然是基部被子植物类群的重要成员之一, 但由于该目植物多为水生, 多裂(如穗菰属 *Cabomba*)或多褶(如澳大利亚睡莲属 *Ondinea*)的叶片与陆生基部被子植物有很大区别^[20], 故本研究暂不考虑睡莲目植物。

1.2 叶片性状测定

从每种植物 5 个不同个体上分别采集 5 片健康、阳生且无破损的成年叶片, 编号后密封于内含湿纸球的封口袋内, 置于保鲜盒中带回实验室进行叶片相关性状的观测。

首先用印记法观测气孔密度及长度: 选取叶片背面中部, 用纸巾擦净后涂一层透明指甲油, 3 min 后用镊子轻轻将指甲油膜揭下, 平铺于载玻

片上, 盖上盖玻片于光学显微镜(Leica DM 2500, 德国)下观察并拍照, 每个叶片拍摄 10 个视野。对含有气孔的照片用图形软件 ImageJ 1.4.8(<http://rsb.info.nih.gov/ij/>)^[21] 编辑处理, 统计每个视野内的气孔个数, 并直接测量保卫细胞的长度作为气孔长度(stomatal length, SL, 单位: μm)。气孔密度为视野中单位叶面积的气孔数目(stomatal density, SD, 单位: $\text{No.}/\text{mm}^2$)。

将用于气孔性状观测的叶片背部的透明指甲油全部清除后, 将叶片沿中脉分成两半, 一半仍然密封于封口袋中并置于保鲜盒内备用。而对另一半叶片作如下处理: 从叶片中部剪取面积约 2 cm^2 的叶片组织放入 7% NaOH 溶液中煮沸 3 min, 用纯净水漂洗 30 min 后转移至 5% NaClO 水溶液中漂白 5 min, 再用纯净水漂洗 30 min, 最后置于载玻片上, 经 0.5% 甲基蓝溶液染色 3 min 后在光学显微镜下观察叶脉并拍照, 每个叶片拍摄 10 个视野。对含有叶脉的照片用图形软件 ImageJ 编辑处理并测量视野中所有叶脉的总长度, 单位叶面积的叶脉总长度为叶脉密度(leaf vein density, VD, 单位: mm/mm^2)。

取出保鲜盒内保存备用的另半片叶片(背部已清除涂抹的透明指甲油), 避开主脉, 取叶片中间部位并用双面刀片进行徒手切片; 将切好的叶片横切面用 0.1% 番红染液染色后制成临时装片, 在光学

表 1 11 种基部被子植物
Table 1 Eleven basal angiosperm species selected in this study

物种 Species	生活型 Life form	生境 Habitat
金粟兰科 Chloranthaceae		
草珊瑚 <i>Sarcandra glabra</i> (Thunb.) Nakai	半灌木 Subshrub	山坡、沟谷林下荫湿处
胡椒科 Piperaceae		
黄花胡椒 <i>Piper flaviflorum</i> C. de Candolle	藤本 Liana	山谷、沟边密林
五味子科 Schisandraceae		
重瓣五味子 <i>Schisandra plena</i> A. C. Smith	藤本 Liana	密林
野八角 <i>Illicium simonsii</i> Maximowicz Bull.	乔木 Tree	山谷、溪流、沿江两岸潮湿处
番荔枝科 Annonaceae		
假鹰爪 <i>Desmos chinensis</i> Loureiro Fl.	灌木 Shrub	丘陵山坡、林缘灌木丛
金钩花 <i>Pseuduvaria trimera</i> Craib	乔木 Tree	山地密林或山谷、沟旁潮湿疏林
樟科 Lauraceae		
阴香 <i>Cinnamomum burmanni</i> (Nees et T. Nees) Blume	乔木 Tree	疏林、密林、灌丛或溪边路旁
披针叶楠 <i>Phoebe lanceolata</i> (Nees) Nees	乔木 Tree	山地阔叶林
肉豆蔻科 Myristicaceae		
云南风吹楠 <i>Horsfieldia prainii</i> (King) Warburg Monogr	乔木 Tree	沟谷密林或山坡密林
云南肉豆蔻 <i>Myristica yunnanensis</i> Y. H. Li	乔木 Tree	山坡或沟谷斜坡的密林
木兰科 Magnoliaceae		
香子含笑 <i>Michelia hypolampra</i> Dandy	乔木 Tree	山坡、沟谷林

显微镜下观察叶片横切结构并拍照，每个叶片拍摄 10 个视野。叶片横切面照片用图形软件 ImageJ 编辑处理并测量叶片厚度 (leaf thickness, LT, 单位: μm)。

1.3 系统进化树的建立及性状的系统发育信号检测

以买麻藤科 (Gnetaceae)、无油樟科 (Amborellaceae) 和睡莲科 (Nymphaeaceae) 植物为外类群，构建基部被子植物 11 个种的系统进化树。首先从 GenBank 数据库 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) 中获取本研究中 11 个种 (表 1) 的叶绿体基因 *matK* 序列；采用软件 MEGA 5.0 的 CLUSTALW 模块对 *matK* 基因序列进行自动比对，并对比对结果辅以少量手动调整；然后用 jModel-Test 0.1 软件选择最优进化树模型，适合本研究的最优模型是 GTR ++I + G 模型；最后依据最优模型，设置步长 (Bootstrap) 为 1000，采用最大似然法构建 11 个基部被子植物的系统进化树。

为了解叶片性状受系统发育的影响程度，采用 *K*-统计检测性状的系统发育信号值 (*K*-values)，*K*-统计是基于“布朗运动”随机模型来估计性状的总变异与随机期望值之间的关系。若 $K > 1$ ，说明该性状主要受系统发育控制，在进化过程中较保守；反之， $K < 1$ 表示该性状是独立进化的，且在进化过程中受环境的影响较大^[22]。本研究利用 R 3.0.2 软件 (<http://ftp.ctex.org/mirrors/CRAN/>) “picante”模块，并结合基于 *matK* 基因序列构建的系统进化树对各性状的 *K* 值进行检测^[23]。

1.4 统计分析

利用系统发育独立对比 (phylogenetically in-

dependent contrasts, PICs) 的方法进行性状关联进化检测。首先由各原始性状值根据系统进化树提供的系统发育位置及枝长信息在 Phylocom 3.41 软件“analysis of traits (AOT)”模块中计算出内部节点 (祖先种) 的性状值 (contrasts)；然后比较性状关系在原始数据值和内部节点性状值之间是否有差异。各性状原始值和系统发育对比值间的相关关系均用“Pearson”相关分析和线性回归方程模拟。

文中进化树的绘制采用软件 Tree View X 作图，其余所有性状关系作图均使用软件 SigmaPlot 12.5。差异显著性检测水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 基部被子植物的叶片性状

基部被子植物 11 个种的叶片均为异面叶，叶肉已明显分化出栅栏组织和海绵组织，且气孔均分布于下表皮，上表皮无气孔分布。4 个叶片性状在 11 个基部被子植物间变化很大 (表 2)，如重瓣五味子 (*Schisandra plena*) 的气孔密度最低，为 65.72 No./ mm^2 ，而阴香 (*Cinnamomum burmanni*) 的气孔密度达到 458.73 No./ mm^2 ，约为前者的 7 倍；11 种植物的气孔长度变化范围在 14.30~48.07 μm 之间；叶脉密度变化幅度也较大 (2.26~8.58 mm/mm^2)，草珊瑚 (*Sarcandra glabra*) 的叶脉密度最低，而假鹰爪 (*Desmos chinensis*) 的最高；叶片厚度为 117.67~336.00 μm ，金钩花 (*Pseuduvaria trimera*) 叶片最薄，而野八角 (*Illicium simonsii*) 叶片最厚 (表 2)。

表 2 11 种基部被子植物叶片性状参数
Table 2 Leaf traits of the 11 basal angiosperm species examined in this study

种名 Species	气孔密度 (No./ mm^2) SD (mean \pm sd)	气孔长度 (μm) SL (mean \pm sd)	叶脉密度 (mm/mm^2) VD (mean \pm sd)	叶片厚度 (μm) LT (mean \pm sd)
野八角	93.00 \pm 13.32	38.28 \pm 3.03	3.41 \pm 0.32	336.00 \pm 23.33
重瓣五味子	65.72 \pm 11.46	45.58 \pm 5.03	4.86 \pm 0.59	273.35 \pm 25.13
草珊瑚	66.93 \pm 22.25	48.07 \pm 3.61	2.26 \pm 0.35	252.14 \pm 20.31
假鹰爪	310.93 \pm 38.17	23.90 \pm 2.00	8.58 \pm 0.76	148.65 \pm 13.40
金钩花	309.68 \pm 37.90	21.65 \pm 1.57	6.65 \pm 0.44	117.67 \pm 11.59
阴香	458.73 \pm 66.29	14.30 \pm 1.38	6.88 \pm 0.60	169.03 \pm 13.84
披针叶楠	439.77 \pm 55.23	17.16 \pm 1.63	6.47 \pm 0.79	120.86 \pm 10.47
云南风吹楠	248.92 \pm 34.25	24.52 \pm 2.23	7.08 \pm 0.56	282.00 \pm 32.27
云南肉豆蔻	164.02 \pm 24.54	26.80 \pm 3.24	5.19 \pm 0.62	256.72 \pm 27.00
香子含笑	293.45 \pm 39.76	18.40 \pm 1.29	6.41 \pm 0.59	182.48 \pm 13.48
黄花椒	101.64 \pm 13.76	29.71 \pm 2.73	6.35 \pm 0.60	210.65 \pm 11.05
最小值~最大值	65.72~458.73	14.30~48.07	2.26~8.58	117.67~336.00

Notes: SD, Stomatal density; SL, Stomatal length; VD, Vein density; LT, Leaf thickness.

2.2 叶片性状的系统发育信号检测及性状沿进化树的进化方向

叶片性状的系统发育信号检测结果(表 3)表明:气孔密度(SD)和气孔长度(SL)均表现出很强的系统发育信号($K > 1$),在进化过程中比较保守。而叶脉密度(VD)和叶片厚度(LT)受系统发育影响较小($K < 1$)。4 个叶片性状值沿 11 种基部被子植物系统进化树排列的结果显示:气孔密度沿进化方向越来越高,而气孔长度沿进化方向越来越小。另外,较进化的种叶片较薄,且拥有更高的叶脉密度(图 1)。

表 3 叶片性状的系统发育信号值

Table 3 Phylogenetic signals of leaf traits

性状 Traits	缩写 Abbr.	单位 Unit	K 值 K-value	P 值 P-value
气孔密度 Stomatal density	SD	No. /mm ²	1. 438	0. 005
气孔长度 Stomatal length	SL	μm	1. 779	0. 001
叶脉密度 Vein density	VD	mm/mm ²	0. 650	0. 103
叶片厚度 Leaf thickness	LT	μm	0. 655	0. 041

注: $K > 1$, 性状进化主要受系统发育控制; $K < 1$, 性状进化受系统发育影响较小。
Notes: $K > 1$ indicates evolution of traits mainly controlled by phylogeny, while $K < 1$ represents phylogeny affecting traits evolution weakly.

2.3 叶片性状间的关联进化

无论是否考虑系统发育的影响,叶脉密度都与气孔密度存在显著正相关关系(原始值 $R^2 = 0. 476^*$; 对比值 $R^2 = 0. 570^*$; 图 2: A, B), 而与气孔长度呈显著负相关(原始值 $R^2 = 0. 620^{**}$; 对比值 $R^2 = 0. 399^*$; 图 2: C, D)。气孔密度和长度均与叶片厚度呈显著线性相关,但在去除系统发育的影响后这种线性相关关系不再显著(图 3: A, B, C, D)。叶脉密度与叶片厚度的原始值存在显著负相关($R^2 = 0. 637^*$),但在去除系统发育影响后二者间无显著相关关系(图 3: E, F)。

3 讨论

3.1 基部被子植物叶片性状的进化趋势与系统发生

基部被子植物的气孔密度和叶脉密度沿进化方向有增大的趋势,而气孔长度和叶片厚度沿进化方向呈变小趋势(图 1),这与基部被子植物起源于潮湿、荫蔽环境的假说^[17]是相符的。与被子植物相比^[8,9,12],拥有低气孔密度、低叶脉密度及较大气孔的基部被子植物适于在阴凉、潮湿的林下环境中生存^[10,24,25]。如位于进化树基部的重瓣五味子和野八角均有较低的气孔密度和叶脉密

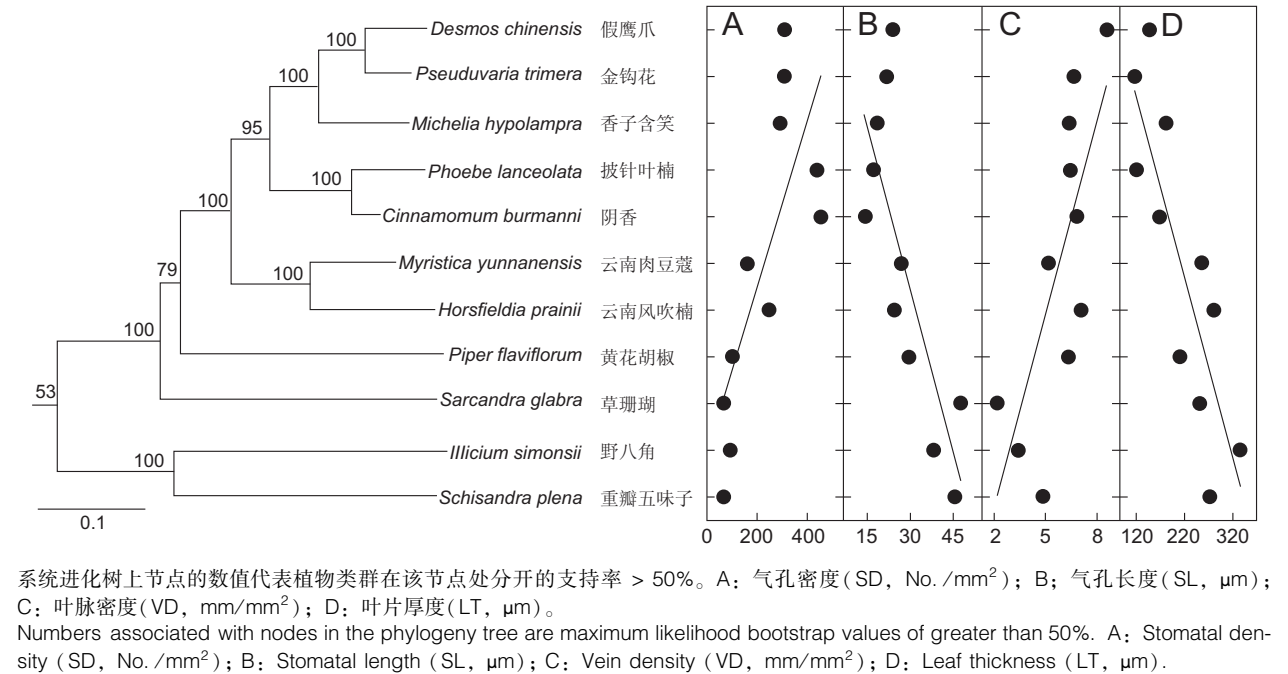


图 1 叶片性状(平均值)沿 11 种基部被子植物进化趋势

Fig. 1 Evolutionary trends of leaf traits (mean values) in 11 basal angiosperm species

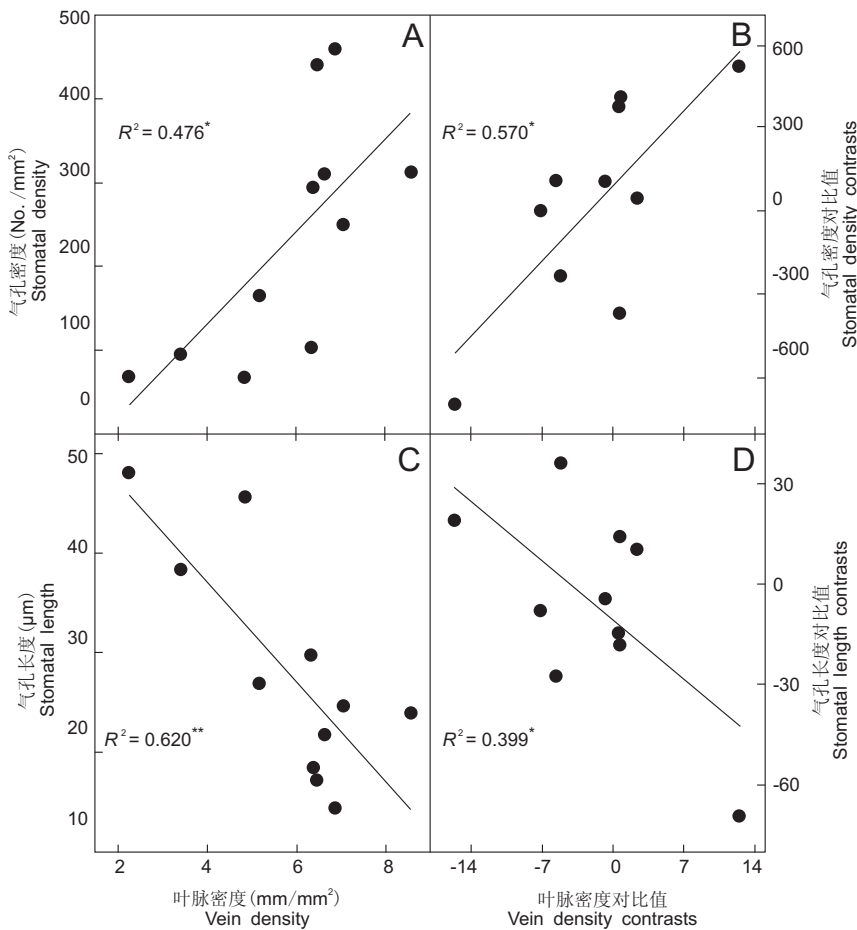


图 2 11 种基部被子植物中叶脉密度与气孔密度、气孔长度的相关关系

Fig. 2 Correlations of leaf vein density with stomatal density and stomatal length across 11 basal angiosperm species (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$)

度、较大的气孔长度和叶片厚度，前者生于丛林中，后者常见于溪边潮湿处，其生境都较荫蔽、湿润。Feild 等^[26]对一种较原始的木兰藤科植物 *Austrobaileya scandens* 研究也表明，该种植物具有较低的气孔密度 (35 ± 5 No./mm²) 和较大的气孔长度 (32 ± 5 µm)。而当基部被子植物开始向干旱、开阔的地区演化时，如生长于疏林的较进化的阴香，逐渐增高的气孔密度和叶脉密度以及逐渐减小的气孔长度和叶片厚度都有利于植物叶片保持良好的水分供需动态平衡。因为小气孔可以更加灵敏地感受外界环境的干旱并及时关闭防止水分进一步散失^[9]，同时干旱促进较高的叶脉密度为及时补充由强烈的蒸腾作用导致的水分亏缺提供了保证^[27]。

从叶片性状系统发育信号检测的结果来看，基

部被子植物的气孔密度和长度有很强烈的系统发育信号(表 3)，反映了基部被子植物的气孔性状受进化时间的影响较大，在进化过程中比较保守。在一些蕨类和兰科植物的研究中，气孔长度也检测出较强的系统发育信号^[1,10]。但是气孔密度在一些研究中却表现出较弱的系统发育信号^[1,10,28]，与本研究结果相异，这可能是所用的系统发育进化树不在同一科、属水平上^[27]的原因，也可能是因为不同的种对应着不同保守程度的气孔性状^[10,28]。本研究中基部被子植物的叶脉密度和叶片厚度均没有显示出较强的系统发育信号(表 3)，表明叶脉密度与叶片厚度在进化中受到系统发育的影响较小，而受外界环境的影响较大，与 Zhang 等^[1,10]的研究结果一致，这可能反映了性状的适应进化，体现了物种在异质环境中的适应性选择^[29]。

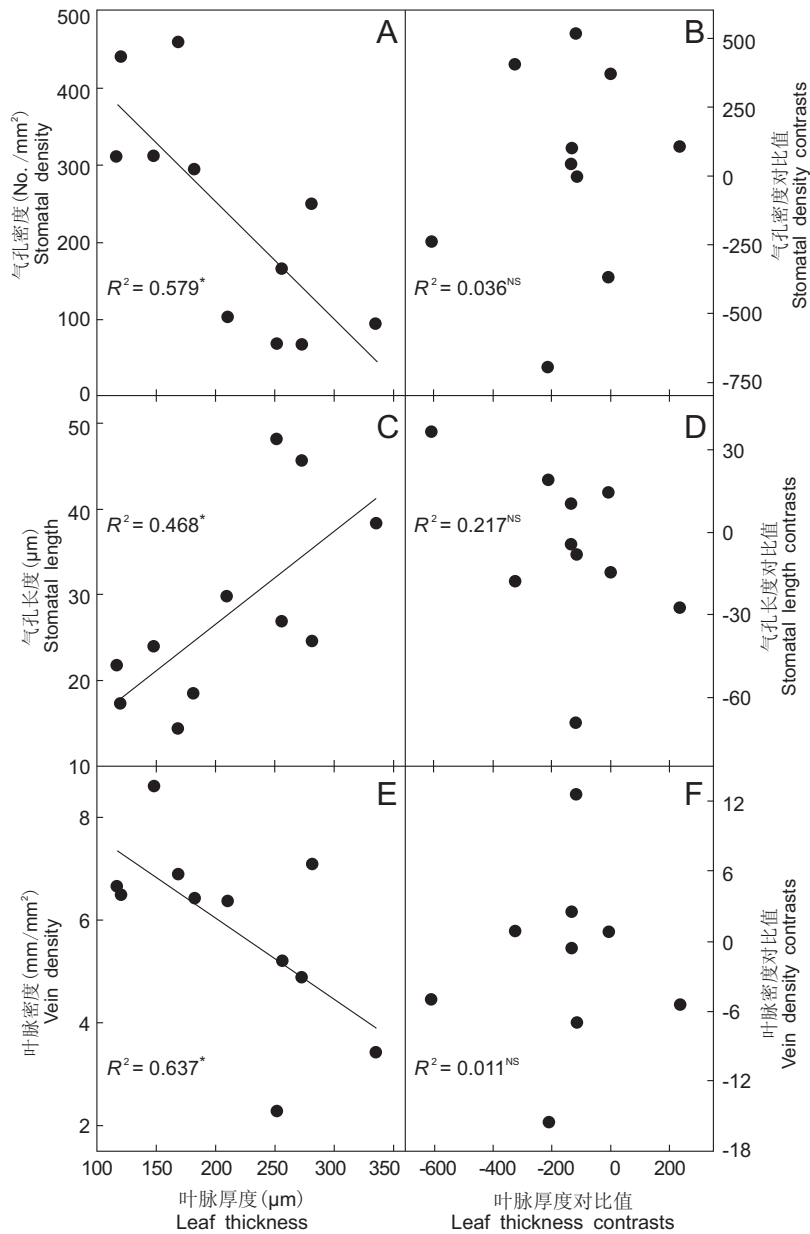


图 3 11 种基部被子植物中叶片厚度与气孔密度、气孔长度和叶脉密度的相关关系
Fig. 3 Correlations of leaf thickness with stomatal density, stomatal length and vein density across 11 basal angiosperm species (*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$; NS, $P > 0.05$)

3.2 基部被子植物叶片性状的关联进化

与许多研究结果^[1,7,8,10,30,31]一致，基部被子植物的叶脉密度与气孔密度呈显著正相关关系，而与气孔长度呈显著负相关(图 2)。无论是否考虑系统发育的影响，基部被子植物的气孔密度和叶脉密度都存在显著正相关关系，暗示了在基部被子植物中气孔与叶脉是协同进化的^[8]，二者关系在古老的类群中均已建立，并在以后的进化类群中持续存在^[32,33]。叶脉与气孔的相关关系体现了水分供需

平衡在基部被子植物叶片中也是存在的，如生于荫湿处的半灌木草珊瑚气孔密度较低，气孔长度较大(图 1)，但由于水分并不是生长的主要限制因素，其叶脉密度也并不高；而生长于开阔地带的乔木如披针叶楠(*Phoebe lanceolata*)则需要更高的叶脉密度保证充足的水分供应，并且小气孔和高气孔密度可使植物在一定蒸腾强度下达到最高的光合能力。另外，气孔和叶脉的关联进化为植物在叶脉网络碳投资和光合产量之间的权衡提供了重要

基础^[8]。

基部被子植物的叶片厚度与气孔、叶脉均呈显著相关,但这种相关关系在去除系统发育的影响后不再显著(图3),表明叶片厚度与气孔、叶脉之间不存在关联进化,进而功能关联也较弱,或在系统发育过程中叶片厚度对水分供需平衡的贡献相对较小。Zhang等^[10]研究也显示,气孔和叶片组织结构厚度间不存在关联进化,这可能是由于自然选择压力所致。气孔和叶脉受大气CO₂浓度、热胁迫、水分状况及光照强度等影响^[5,11,24,34,35],而叶片厚度主要受光照强度、紫外辐射、降雨及土壤营养元素等制约^[36-38],二者不同的环境影响因素使叶片的功能性状面临不同的选择压力^[10]。另外,树高可能导致植株水分运输阻力存在差异并直接影响到叶片属性的变化,如较高的树木往往叶片更小且更厚,从而导致叶片厚度与其它性状的关系并不显著。

综上所述,沿系统发育进化方向,基部被子植物的气孔密度和叶脉密度有逐渐增大的趋势,而气孔长度和叶片厚度呈逐渐减小的趋势,这与被子植物荫湿的林下起源假说相符。叶脉密度与气孔密度存在显著正相关关系,而与气孔长度呈显著负相关,反映了水分供需平衡在基部被子植物叶片进化适应过程中也起到重要作用。叶片厚度与气孔特征、叶脉密度之间不存在关联进化,或各自独立进化,反映了叶片厚度在基部被子植物水分平衡的进化过程中起到的作用较小。

参考文献:

- [1] Zhang SB, Sun M, Cao KF, Hu H, Zhang JJ. Leaf photosynthetic rate of tropical ferns is evolutionarily linked to water transport capacity[J]. *PLoS ONE*, 2014, 9: e84682.
- [2] Brodribb TJ, Feild TS. Leaf hydraulic evolution led a surge in leaf photosynthetic capacity during early angiosperm diversification[J]. *Ecol Lett*, 2010, 13(2): 175-183.
- [3] Brodribb TJ, Feild TS, Jordan GJ. Leaf maximum photosynthetic rate and venation are linked by hydraulics[J]. *Plant Physiol*, 2007, 144(4): 1890-1898.
- [4] Boyce CK, Brodribb TJ, Feild TS, Zwieniecki MA. Angiosperm leaf vein evolution was physiologically and environmentally transformative[J]. *Proc R Soc B*, 2009, 276(1663): 1771-1776.
- [5] 李乐, 曾辉, 郭大立. 叶脉网络功能性状及其生态学意义[J]. *植物生态学报*, 2013, 37(7): 691-698.
- [6] Brodribb TJ, Holbrook NM, Zwieniecki MA, Palma B. Leaf hydraulic capacity in ferns, conifers and angiosperms: impacts on photosynthetic maxima[J]. *New Phytol*, 2005, 165(3): 839-846.
- [7] Brodribb TJ, Jordan GJ, Carpenter RJ. Unified changes in cell size permit coordinated leaf evolution[J]. *New Phytol*, 2013, 199(2): 559-570.
- [8] Brodribb TJ, Jordan GJ. Water supply and demand remain balanced during leaf acclimation of *Nothofagus cunninghamii* trees[J]. *New Phytol*, 2011, 192(2): 437-448.
- [9] Franks PJ, Drake PL, Beerling DJ. Plasticity in maximum stomatal conductance constrained by negative correlation between stomatal size and density: an analysis using *Eucalyptus globulus* [J]. *Plant Cell Environ*, 2009, 32(12): 1737-1748.
- [10] Zhang SB, Guan ZJ, Sun M, Zhang JJ, Cao KF, Hu H. Evolutionary association of stomatal traits with leaf vein density in *Paphiopedilum*, *Orchidaceae*[J]. *PLoS ONE*, 2012, 7: e40080.
- [11] Xu ZZ, Zhou GS. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass[J]. *J Exp Bot*, 2008, 59(12): 3317-3325.
- [12] Drake PL, Froend RH, Franks PJ. Smaller, faster stomata: scaling of stomatal size, rate of response, and stomatal conductance[J]. *J Exp Bot*, 2013, 64(2): 495-505.
- [13] Ogburn RM, Edwards EJ. Quantifying succulence: a rapid, physiologically meaningful metric of plant water storage[J]. *Plant Cell Environ*, 2012, 35(9): 1533-1542.
- [14] Scoffoni C, Rawls M, McKown A, Cochard H, Sack L. Decline of leaf hydraulic conductance with dehydration: Relationship to leaf size and venation architecture[J]. *Plant Physiol*, 2011, 156(2): 832-843.
- [15] Beerling DJ, Kelly CK. Evolutionary comparative analyses of the relationship between leaf structure and function[J]. *New Phytol*, 1996, 134(1): 35-51.
- [16] Soltis PS, Soltis DE. The origin and diversification of angiosperms[J]. *Amer J Bot*, 2004, 91(10): 1614-1626.

- [17] Feild TS, Arens NC, Doyle JA, Dawson TE, Donoghue MJ. Dark and disturbed: a new image of early angiosperm ecology [J]. *Paleobiology*, 2004, 30(1): 82–107.
- [18] Feild TS, Arens NC. The ecophysiology of early angiosperms [J]. *Plant Cell Environ*, 2007, 30(3): 291–309.
- [19] Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III [J]. *Bot J Linn Soc*, 2009, 161(2): 105–121.
- [20] Feild TS, Arens NC. Form, function, and environments of the early angiosperms: merging extant phylogeny and ecophysiology with fossils [J]. *New Phytol*, 2005, 166(2): 383–408.
- [21] Abràmoff MD, Magalhaes PJ, Ram SJ. Image processing with ImageJ [J]. *Biophotonics International*, 2004, 11: 36–42.
- [22] Blomberg SP, Garland TJr, Ives AR. Testing for phylogenetic signal in comparative data: behavioral traits are more labile [J]. *Evolution*, 2003, 57(4): 717–745.
- [23] Kembel SW, Cahill JrJF. Independent evolution of leaf and root traits within and among temperate grassland plant communities [J]. *PLoS ONE*, 2011, 6: e19992.
- [24] Aasamaa K, Söber A, Rahi M. Leaf anatomical characteristics associated with shoot hydraulic conductance, stomatal conductance and stomatal sensitivity to changes of leaf water status in temperate deciduous trees [J]. *Aust J Plant Physiol*, 2001, 28(8): 765–774.
- [25] Feild TS, Brodribb TJ, Jaffre T, Holbrook NM. Acclimation of leaf anatomy, photosynthetic light use, and xylem hydraulics to light in *Amborella trichopoda* (Amborellaceae) [J]. *Int J Plant Sci*, 2001, 162(5): 999–1008.
- [26] Feild TS, Franks PJ, Sage TL. Ecophysiological shade adaptation in the basal angiosperm, *Austrobaileya scandens* (Austrobaileyaceae) [J]. *Int J Plant Sci*, 2003, 164(2): 313–324.
- [27] Sack L, Scoffoni C. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future [J]. *New Phytol*, 2013, 198(4): 983–1000.
- [28] Beaulieu JM, Leitch IJ, Patel S, Pendharkar A, Knight CA. Genome size is a stronger predictor of cell size and stomatal density in angiosperms [J]. *New Phytol*, 2008, 179(4): 975–986.
- [29] Ackerly DD, Donoghue MJ. Leaf size, sapling allometry, and Corner's rules: Phylogeny and correlated evolution in maples (*Acer*) [J]. *Amer Naturalist*, 1998, 152(6): 767–791.
- [30] Murphy MRC, Jordan GJ, Brodribb TJ. Acclimation to humidity modifies the link between leaf size and the density of veins and stomata [J]. *Plant Cell Environ*, 2014, 37(1): 124–131.
- [31] Sack L, Cowan PD, Jaikumar N, Holbrook NM. The 'hydrology' of leaves: co-ordination of structure and function in temperate woody species [J]. *Plant Cell Environ*, 2003, 26(8): 1343–1356.
- [32] Ackerly DD, Reich PB. Convergence and correlations among leaf size and function in seed plants: a comparative test using independent contrasts [J]. *Amer J Bot*, 1999, 86(9): 1272–1281.
- [33] Ackerly D. Self-shading, carbon gain and leaf dynamics: a test of alternative optimality models [J]. *Oecologia*, 1999, 119(3): 300–310.
- [34] Woodward FI. Stomatal numbers are sensitive to increases in CO₂ from pre-industrial levels [J]. *Nature*, 1987, 327(6123): 617–618.
- [35] Schluter U, Muschak M, Berger D, Altmann T. Photosynthetic performance of an *Arabidopsis* mutant with elevated stomatal density (*sdd 1-1*) under different light regimes [J]. *J Exp Bot*, 2003, 54(383): 867–874.
- [36] Cunningham SA, Summerhayes B, Westoby M. Evolutionary divergences in leaf structure and chemistry, comparing rainfall and soil nutrient gradients [J]. *Ecol Monogr*, 1999, 69(4): 569–588.
- [37] Manetas Y, Petropoulou Y, Stamatakis K, Nikolopoulos D, Levizou E, Psaras G, Karabourniotis G. Beneficial effects of enhanced UV-B radiation under field conditions: Improvement of needle water relations and survival capacity of *Pinus pinea* L. seedlings during the dry Mediterranean summer [J]. *Plant Ecol*, 1997, 128(1-2): 101–108.
- [38] Kerstiens G. Water transport in plant cuticles: An update [J]. *J Exp Bot*, 2006, 57(11): 2493–2499.