

# 武安国家森林公园蕨类植物 叶表皮细胞的显微观察

张 浩<sup>1</sup>, 叶 嘉<sup>1</sup>, 刘 哲 玉<sup>2</sup>, 景 艳 红<sup>1</sup>

(1. 邯郸学院 生物科学系, 河北 邯郸 056005; 2. 邯郸市荀子中学, 河北 邯郸 056005)

**摘 要:**利用光学显微镜对武安国家森林公园 14 种观赏蕨类植物叶表皮细胞的显微结构进行了观察。结果表明:几种蕨类植物不同种属间具有一定的共性,表现为气孔器全部分布在叶的下表皮,即全部为下生气孔。但在叶表皮细胞的大小、形态、垂周壁式样及气孔器的类型、保卫细胞的长宽、气孔指数等特征上存在一定的差异,基于 14 个分类群和 35 项表型性状特征相似性的聚类分析结果,表明蕨类植物各个种之间的亲缘关系和传统分类方法基本相同。

**关键词:**武安国家森林公园;蕨类植物;垂周壁;叶表皮细胞

**中图分类号:**Q 949.36 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2011)18-0150-04

蕨类植物为古老物种,其系统发生信息在漫长的历史演化中被大量丢失,因此其系统演化的关系重建和物种分类是植物学家所面临的重要任务之一<sup>[1]</sup>。当前,蕨类植物分类系统还有许多未解的谜团,现有的分类依据不能够很好地解决这些问题。植物叶表皮性状在植物分类与系统学、古生物学、植物生理学与生态育种学和植物鉴定等领域有比较重要的研究价值<sup>[2]</sup>,近几年来,植物叶表皮微形态特征的研究越来越受到植物分类学家的重视<sup>[3-5]</sup>。研究表明营养器官的微形态特征反映了其本身的遗传特性。叶表皮的形态如气孔器类型、表皮细胞类型对探究植物分类系统有重要意义<sup>[6-21]</sup>。

武安国家森林公园的地理坐标为东经 113°45'~114°22',北纬 36°28'~37°01',地处太行山脉南段东麓,西北部与山西交界,总面积 1 811 km<sup>2</sup><sup>[1]</sup>。区内群峦叠嶂,丘陵起伏,沟壑纵横,地貌特征极为复杂,形成了丰富的生物类型和群落。该研究利用光学显微镜对武安国家森林公园 14 种观赏蕨类植物叶表皮细胞的显微结构进行观察,以期对武安国家森林公园蕨类植物的分类提供新的解剖学证据,为人们更好地利用和开发该地区的蕨类植物提供理论上的支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验材料为采集于武安国家森林公园的蕨类植物

第一作者简介:张浩(1983-),男,河北保定人,硕士,助教,研究方向为系统与进化植物学。E-mail:zhanghao\_55@163.com。

基金项目:邯郸市科技攻关指令资助项目(200610102);河北省科技支撑计划资助项目(06220111D-1)。

收稿日期:2011-06-11

腊叶标本,凭证标本均保存于邯郸学院标本室。

### 1.2 试验方法

**1.2.1 蕨类植物腊叶标本叶表皮制片方法** 在腊叶标本上用刀片切取成熟植物叶片若干片,放于 20%次氯酸钠溶液中浸泡,直至叶片完全变白透明,取出放于烧杯中,杯口盖上纱布,放于自来水下流水冲洗,直到没有残留的次氯酸钠。冲洗完毕后取 1 cm<sup>2</sup> 大小的叶表皮用解剖刀刮去非取材部分(如观察下表皮就将上表皮和叶肉刮去),此过程要注意区分叶片的上、下表皮,刮离完毕后将叶表皮放于滴有 1 滴清水的载玻片上制成临时水切片,即可放于显微镜下观察拍照。还可用 1%番红染色后制成临时水切片,也能达到理想的观察效果。

**1.2.2 细胞大小和保卫细胞大小的测定** 在相同的放大倍数下(物镜 40×目镜 10)每种植物的上、下表皮各取 10 个视野拍照。利用 Motic 3.0mp 软件测定细胞的面积、周长,保卫细胞的长和宽(测定细胞大小时要随机测定 20 个细胞的大小求其平均值)。

**1.2.3 气孔指数的测定** 利用所拍摄的 10 个视野,计算气孔指数。气孔指数计算公式为:  $I = S/E + S \times 100\%$ 。式中, I 表示气孔指数, S 表示气孔数, E 表示在同一视野内的表皮细胞数。最后计算 10 个视野气孔指数的平均值。

## 2 结果与分析

### 2.1 武安山几种蕨类植物叶表皮观察结果

观察结果表明,武安山几种蕨类植物的叶表皮形态具有一致性。几种蕨类植物的叶表皮细胞垂周壁多为浅波状、波状和深波状,而近平直型分布较少。高山冷蕨的上表皮细胞排列方式趋向规整,且垂周壁出现近平直。几种蕨类植物细胞间紧密结合无间,少数种

类中表皮细胞垂周壁出现了加厚现象,比如高山冷蕨的叶上、下表皮细胞。气孔器在几种蕨类植物中均分布在下表皮,即下生气孔。气孔器类型具有多样性(表1),多数具有极细胞型(图2-9. a,图2-21. a,图2-27. a)、腋下细胞型(图2-1. a,图2-3. a,图2-9. b,图2-11. a)、不规则四细胞型(图2-5. a,图2-21. b),少数种具有聚

合极细胞型(图2-5. b)、聚腋下细胞型(图2-3. b,图2-17. a,图2-27. b)、不规则细胞型(图2-23. a,图2-25. a)。此外,不同种蕨类植物的叶表皮大小有差异,同种植物的叶上、下表皮细胞大小有差异,气孔器的大小和气孔指数在不同的物种间也有差异(表2)。

表 1 光学显微镜下 14 种蕨类植物的叶表皮特征

种名	上 表 皮			下 表 皮					
	细胞面积	细胞周长	垂周壁式样	细胞面积	周长	保卫细胞 长 宽	气孔指数/%	垂周壁式样	$\mu\text{m}$
鞭叶耳蕨	2 512	358	深波状	1 985	326	39 16	5.57	近平直-深波状	
凤尾蕨	4 132	499.5	近平直-浅波状	1 770	313.5	44.5 10.5	21.10	近平直-波状	
高山冷蕨	2 066	269	浅波状-波状	2 854.5	358	45 15.5	12.77	近平直-波状	
河北峨眉蕨	4 437	465	深波状	3 466	497.5	33 8	15.77	深波状	
华北粉背蕨薄叶蕨变种	7 367	643	深波状	3941	541.5	39.5 15	20.16	深波状	
华北粉背蕨	4 035	351.5	近平直-浅波状	4 089.5	378.5	34 14	17.79	弓型-浅波状-波状	
华北蹄盖蕨	3 774.5	449	波状	4 219	565.5	46 12.5	15.70	深波状	
华东蹄盖蕨	3 346.2	430.85	深波状	3 358	631.2	52.9 16.5	7.77	波状-深波状	
冷蕨	5 805.5	543	波状	5 248	648	43 13.5	12.49	深波状	
西北铁角蕨	4 716	425	波状-深波状	3 448	458	37 12	17.5	深波状	
溪洞碗蕨	4 171.5	432	浅波状-波状	3 774.5	458	42.5 13	12.5	浅波状-深波状	
岩蕨	3 132	428	波状	4 290	420	40.5 13	12.44	浅波-波状	
中华蹄盖蕨	3 333	444	深波状	2 251	458	49 16.5	12.37	波状-深波状	
银粉背蕨	4 400	474.5	深波状	5 257	595	33.5 14	20.08	波状	

表 2 14 种蕨类植物气孔器的类型

种名	极细胞型	腋下细胞型	不规则四细胞型	聚合极细胞型	不规则型	聚腋下细胞型
鞭叶耳蕨	稀有	有++	有	有	—	有+
凤尾蕨	有+	有++	有	稀有	有	有
高山冷蕨	有	有+	有++	—	稀有	有
河北峨眉蕨	有+	有++	稀有	—	—	稀有
华北粉背蕨薄叶蕨变种	有	有++	有+	—	稀有	—
华北粉背蕨	有	有++	有+	—	稀有	—
华北蹄盖蕨	有+	有++	有	稀有	稀有	—
华东蹄盖蕨	有+	有++	有++	—	稀有	有
冷蕨	—	有++	有+	—	—	稀有
西北铁角蕨	稀有	有++	有+	—	有+	有
溪洞碗蕨	有	有+	有++	—	有	稀有
岩蕨	有	有++	有+	稀有	有++	—
中华蹄盖蕨	有	有++	有	有	有+	稀有
银粉背蕨	有	有++	有	稀有	有+	有

注:++表示所占比例最多,+表示所占比例次之,—表示该气孔类型在此种蕨类中不存在。

2.2 数据处理及统计学软件分析

2.2.1 对武安山区 14 种蕨类叶表皮细胞结构差异显著水平的判定 通过统计学软件 Statistica 6.0 对样本蕨类的多个性状进行多元方差分析,得出其显著水平  $P<0.01$ ,表明 14 种蕨类叶表皮具有极显著差异,可以作为蕨类植物系统研究分类的重要依据。

2.2.2 武安山区 14 种蕨类叶表皮细胞结构表型相似性状的分析 运用聚类分析法进行植物相似性状的比较已有报道,显示出良好的应用前景,为了比较 14 种

蕨类植物叶表皮的相似性关系,根据各种蕨类植物的 35 个表型性状值,利用 Statistic 6.0 软件中的聚类分析程序,得出各相关聚类分析图(图 1)。结果显示,当以皮尔逊相关系数 0.8 为阈值时,14 种蕨类植物可以分为四大类,其中华东蹄盖蕨、中华蹄盖蕨、鞭叶耳蕨、高山冷蕨聚为一类,叶表皮性状特征相似性比较高,说明华东蹄盖蕨、中华蹄盖蕨、鞭叶耳蕨、高山冷蕨在系统起源上比较接近,亲缘关系紧密,由此可知蹄盖蕨科和鳞毛蕨科在系统发生上也是比较接近的。凤尾蕨、

华北粉背蕨、华北蹄盖蕨、银粉背蕨、岩蕨、溪洞碗蕨聚为一类,说明凤尾蕨科和中国蕨科亲缘关系比较近,这与秦仁昌蕨类植物分类系统是相一致的。在聚类分析中,西北铁角蕨、华北粉背蕨薄叶蕨变种、河北峨眉蕨划分为第4类。冷蕨单独被划分为一类,而且与同属高山冷蕨分开,这是与经典分类系统不一致的,可能是由于同属植物在某些性状上其进化程度不同,单独考虑某个组织特征具有一定的片面性。叶表皮性状的聚类分析对于阐明种类乃至科的系统起源与进化具有一定的积极意义,可以作为研究蕨类植物系统进化的参考资料。

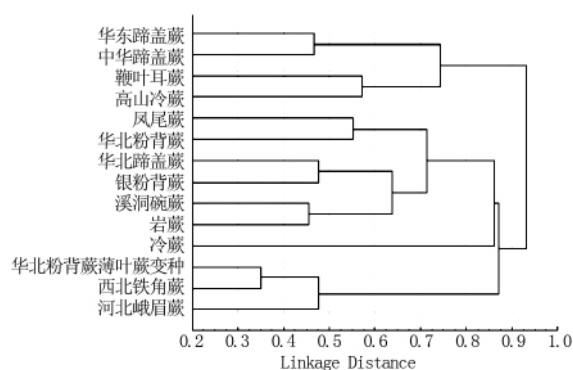


图1 几种蕨类植物叶表皮性状聚类树形图

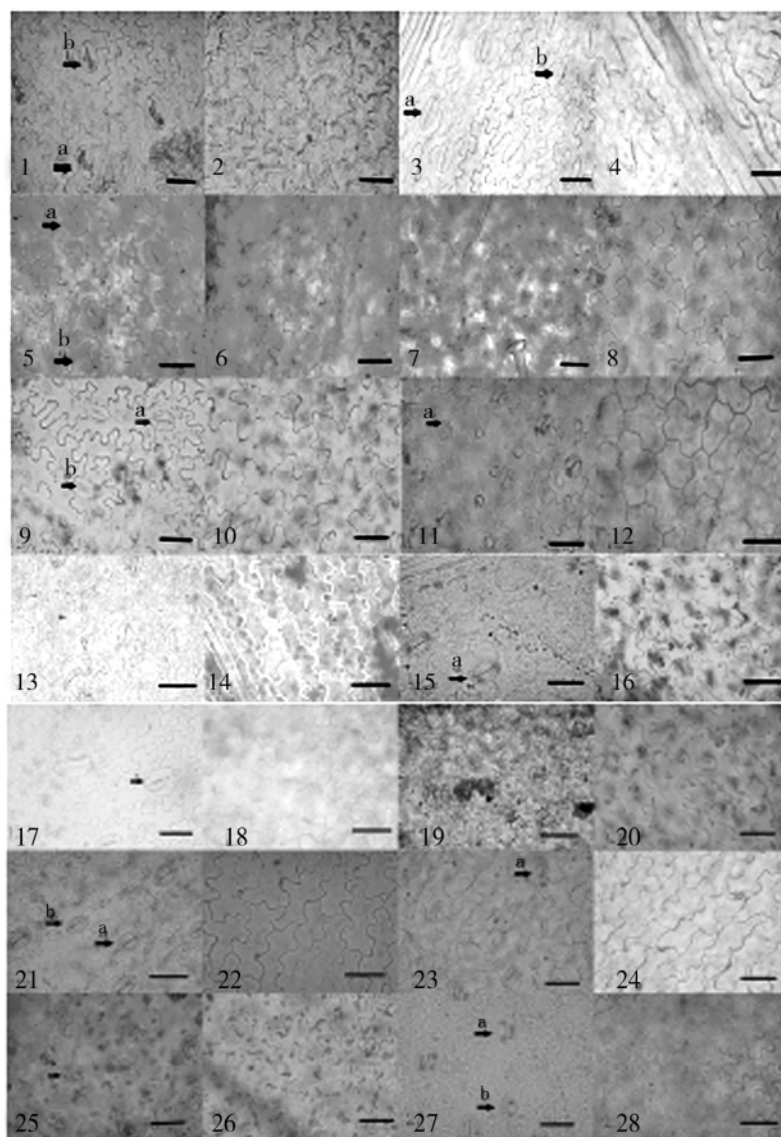


图2 气孔类型

注:1. 鞭叶耳蕨叶下表皮;2. 鞭叶耳蕨叶上表皮;3. 凤尾蕨叶下表皮;4. 凤尾蕨叶上表皮;5. 高山冷蕨叶下表皮;6. 高山冷蕨叶上表皮;7. 河北峨眉蕨叶下表皮;8. 河北峨眉蕨叶上表皮;9. 华北粉背蕨薄叶粉背蕨变种叶下表皮;10. 华北粉背蕨薄叶粉背蕨变种叶上表皮;11. 华北粉背蕨叶下表皮;12. 华北粉背蕨叶上表皮;13. 华北蹄盖蕨叶下表皮;14. 华北蹄盖蕨叶上表皮;15. 华东蹄盖蕨叶下表皮;16. 华东蹄盖蕨叶上表皮;17. 冷蕨叶下表皮;18. 冷蕨叶上表皮;19. 西北铁角蕨叶下表皮;20. 西北铁角蕨叶上表皮;21. 溪洞碗蕨叶下表皮;22. 溪洞碗蕨叶上表皮;23. 岩蕨叶下表皮;24. 岩蕨叶上表皮;25. 银粉背蕨叶下表皮;26. 银粉背蕨叶上表皮;27. 中华蹄盖蕨叶下表皮;28. 中华蹄盖蕨叶上表皮。

## 3 讨论

光学显微镜下发现研究的几种蕨类植物下表皮均具有气孔器,且气孔器类型大都具有腋下细胞型和不规则四细胞型。表皮细胞垂周壁均呈现弯曲状,以波状弯曲居多。这些种间的相似特征表明 14 种蕨类植物具有一定的亲缘关系,但从另一方面来看,14 种蕨类植物叶表皮存在诸多差异,如叶表皮细胞的大小、保卫细胞的大小、气孔指数等均有所不同,这充分反映了 14 种蕨类植物的种间特征,能够为它们亲缘关系远近的划分提供新的参考依据。

气孔指数、气孔大小和叶表皮细胞的大小与植物所处的生境有很大的关系。银粉背蕨、华北粉背蕨薄叶蕨变种、凤尾蕨气孔指数在 20% 以上,高山冷蕨和冷蕨虽然气孔指数均在 12%~13%,但冷蕨的上下表面积在 5 000  $\mu\text{m}^2$  以上,而高山冷蕨叶上下表面积在 2 000  $\mu\text{m}^2$  以上,高山冷蕨生活在相对高寒地区,叶表面积小,可以很好地减少散热和水分散失,这是适应环境的一种表现。陈之瑞认为,气孔器应由无规则型向短平列型发育<sup>[22]</sup>。所研究的蕨类植物中不规则型气孔类型较少出现(除岩蕨和中华蹄盖蕨外),而腋下细胞型和不规则四细胞型则普遍存在,说明这几种蕨类在气孔器类型的进化上近似。就表皮细胞弯曲程度的进化角度而言,细胞之间的镶嵌程度越大,对细胞内基质的保护效果越好,则应处于相对更进化的地位<sup>[23]</sup>。比如华北粉背蕨薄叶蕨变种上下表皮的垂周壁均为深波状,而华北粉背蕨的垂周壁则呈现近平直和浅波状,说明华北粉背蕨薄叶蕨变种处于相对进化的地位;华东蹄盖蕨、华北蹄盖蕨和中华蹄盖蕨垂周壁均呈现深波状,说明 3 个种在垂周壁的进化水平上一致。

## 参考文献

- [1] 李春香,陆树,杨群. 蕨类植物起源与系统发生关系的进展[J]. 植物学报,2004,21(4):478-485.
- [2] 张亚平,王秀云,洪亚平. 植物叶表皮制片方法的改进[J]. 安徽农业科学,2008,36(29):12683,12689.
- [3] 逢云莉,唐自慧,王奇志,等. 中国柴胡属植物叶表皮特征及系统学意义[J]. 武汉植物学研究,2009,27(2):133-144.
- [4] Kocsis M, Darok J, Borhiol A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (*Rubiaceae*) species[J]. Plant Syst Evol,2004,248:205-218.
- [5] 张丽兵. 中国后生耳蕨组和新生耳蕨组的叶表皮解剖研究[J]. 应用环境与生物学报,1996,2(4):361-36.
- [6] 李启发,李景原,杨相甫,等. 虎耳草科 11 种植物叶表皮的扫描电镜观察[J]. 河南师范大学学报(自然科学版)1995,23(2):68-71.
- [7] 戴锡铃,王全喜,李新国,等. 凤丫蕨属 6 种植物叶表皮特征的研究[J]. 植物研究,2009,29(1):33-38.
- [8] 孙稚颖,张宪春. 中国瓦尾属药用植物的叶表皮观察[J]. 植物学报,2009,44(3):331-337.
- [9] 秦仁昌,武素功. 带宽蕨属—中国水龙骨科一个奇特的属[J]. 云南植物研究,1980(2):67-74.
- [10] 于顺利,林允兴. 瓦韦属植物的系统学研究[J]. 植物分类学报,1997,35(4):341-347.
- [11] 张宪春,刘全儒,徐静. 带宽蕨书(水龙骨科)的系统学研究[J]. 植物分类学报,2003,41:401-415.
- [12] Sun T X, Edwards D, Li C S. The stomatal apparatus of *Lycopodium japonicum* and its bearing on the stomata of the Devonian lycophyte *Drepanophycus spinaeformis* [J]. Botanical journal of the Linnean society,2005,149:209-216.
- [13] 焦瑜,陈立群,宋书银. 七指蕨科和瓶儿小草科植物叶表皮特征[J]. 植物研究,1999,19(2):130-137.
- [14] 焦瑜,王士俊. 三种阴地蕨科植物叶的表皮构造[J]. 植物学通报,2000,17(4):352-359.
- [15] 张耀甲,于海峰,卢云霞,等. 国产水龙骨科植物的气孔器类型及其系统学意义[J]. 兰州大学学报,1999,35(2):130-139.
- [16] 邢怡,党安志,刘保东. 黑龙江产十种蕨类植物孢子囊和叶表皮的扫描电镜观察[J]. 植物学研究,2004,24(4):413-416.
- [17] 王秀华. 东北鳞毛蕨科植物叶比较解剖的初步研究[J]. 植物研究,2001,21(2):202-205.
- [18] 常朝阳,李思锋. 七津姑属叶表皮形态特征及其系统学意义[J]. 西北植物学报,1997,17(4):468-473.
- [19] Olowokudejo J D. Comparative morphology of leaf epidermis in the genus *Annonaceae* in West Africa[J]. Phytomorphology,1990,40(3-4):407-422.
- [20] 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.
- [21] 斯特斯 C A. 植物分类学与植物系统学[M]. 北京:科学出版社,1986.
- [22] 陈之瑞,张志耘. 桦木科植物叶表皮研究[J]. 植物分类学报,1991,29(2):156-163.
- [23] 朱栗琼,招礼军,陶世红,等. 马鞭草科 9 种植物叶表皮特征及其分类学意义IV[J]. 安徽农业科学,2007,35(23):7057-7058,7061.

## The Microscopic Observation on Leaf Epidermis Cells of Several Ferns in Wu'an National Forest Park

ZHANG Hao<sup>1</sup>, YE Jia<sup>1</sup>, LIU Zhe-yu<sup>2</sup>, JING Yan-hong<sup>1</sup>

(1. Department of Biology Science, Handan College, Handan, Hebei 056005; 2. Xunzi Middle School, Handan, Hebei 056005)

**Abstract:** Leaf epidermal micromorphology of 14 species of ferns from Wu'an were studied by light microscopy. The results showed that, between several different species of ferns had a certain commonality characteristics, showed that the stomatal apparatus was present on the lower epidermis in the leaves, the 14 species of ferns were different in the shapes of leaf epidermal cells, patterns of anticlinal walls, types of stomatal apparatus, size of guard cell, stomatal index etc. The results of the cluster analysis based on 14 species and 35 phenotypic characters similarity, showed that the basic same of genetic relationship and tradition sorting technique between several species of ferns.

**Key words:** National Forest Park in Wu'an; ferns plants; pattern of anticlinal wall; leaf epidermis cells