DOI: 10. 3724/SP. J. 1142. 2014. 40320

基部被子植物气孔性状与叶脉密度的关联进化

张 亚¹²,杨石建¹²,孙 梅¹²,曹坤芳^{13*}

(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 CO_2 supply , drove the evolution of leaf structure and function in basal angiosperms.

Key words: Basal angiosperms; Evolutionary association; Stomatal density; Vein density; Wa-ter 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^[12]。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(Magnolia-ceae)、胡椒科(Piperaceae)中,各选取1~2 个代表种(共11个种,表1,科名参照APGII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(如穗莼属 *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: μ m)。气孔密度为视野中单位叶面积的气孔数目(stomatal density,SD,单位: No./mm²)。

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 cm²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% NaCIO 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/mm²)。

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

Table 1 Eleven basal angiosperm species selected in this study			
物种	生活型		
Species	Life form	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 Piper flaviflorum 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	

表 1 11 种基部被子植物 1 Fleven basal angiosperm species selected in this stud

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 *mat*K 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./mm²,而阴香(*Cinnamomum burmanni*)的气孔密度达到 458.73 No./mm²,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/mm²),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
traite	of the	11	hasal angiosperm species examined in this

	Table 2 Leaf traits of	t the 11 basal anglosper	m species examined in this	study
种名	气孔密度(No. /mm²)	气孔长度(μm)	叶脉密度(mm/mm ²)	叶片厚度(μm)
Species	SD (mean ± sd)	SL (mean ± sd)	VD (mean ± sd)	LT (mean ± sd)
野八角	93. 00 ± 13. 32	38. 28 ± 3. 03	3. 41 ± 0. 32	336. 00 ± 23. 33
重瓣五味子	65. 72 ± 11. 46	45. 58 ± 5. 03	4.86 ± 0.59	273. 35 ± 25. 13
草珊瑚	66. 93 ± 22. 25	48. 07 ± 3. 61	2.26 ± 0.35	252. 14 ± 20. 31
假鹰爪	310. 93 ± 38. 17	23. 90 ± 2. 00	8.58 ± 0.76	148. 65 ± 13. 40
金钩花	309.68 ± 37.90	21.65 ± 1.57	6.65 ± 0.44	117.67 ± 11.59
阴香	458.73 ± 66.29	14. 30 ± 1. 38	6.88 ± 0.60	169. 03 ± 13. 84
披针叶楠	439. 77 ± 55. 23	17. 16 ± 1. 63	6. 47 ± 0. 79	120. 86 ± 10. 47
云南风吹楠	248. 92 ± 34. 25	24. 52 ± 2. 23	7.08 ± 0.56	282. 00 ± 32. 27
云南肉豆蔻	164.02 ± 24.54	26. 80 ± 3. 24	5. 19 ± 0. 62	256. 72 ± 27. 00
香子含笑	293. 45 ± 39. 76	18. 40 ± 1. 29	6. 41 ± 0. 59	182. 48 ± 13. 48
黄花胡椒	101. 64 ± 13. 76	29. 71 ± 2. 73	6.35 ± 0.60	210.65 ± 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)。

衣ろ	叶斤性状的系统友育信亏值	
	Displayer attained and a start of the start	

Table 3	Phylogenetic	signals of	r leat traits	S
性状 Traits	缩写 Abbr.	单位 Unit	K值 K-value	P值 <i>P-</i> value
气孔密度 Stomatal density	SD	No. /mm²	1. 438	0. 005
气孔长度 Stomatal length	SL	μm	1. 779	0. 001
叶脉密度 Vein density	VD	mm/mm²	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^[89,12],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



系统进化树上节点的数值代表植物类群在该节点处分开的支持率 > 50%。A: 气孔密度(SD, No. /mm²); B; 气孔长度(SL, μm); C: 叶脉密度(VD, mm/mm²); D: 叶片厚度(LT, μm)。

Numbers associated with nodes in the phylogeny tree are maximum likelihood bootstrap values of greater than 50%. A: Stomatal density (SD , No. /mm²); B: Stomatal length (SL , μ m); C: Vein density (VD , mm/mm²); D: Leaf thickness (LT , μ m).

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



气孔长度的相关关系



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]。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^[178,10,30,31]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 CO。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 physio-

logically 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 Na-turalist, 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.

(责任编辑: 刘艳玲)