

# 四种绣球属植物叶表面特征的比较研究

彭尽晖<sup>1</sup>, 范适<sup>2</sup>, 陈海霞<sup>1\*</sup>

(1.湖南农业大学 园艺园林学院,湖南 长沙 410128; 2.湖南环境生物职业技术学院 园林学院,湖南 衡阳 421005)

**摘要:**采用电子扫描电镜(SEM)对四种绣球属植物柔毛绣球、腊莲绣球、圆锥绣球和八仙花的叶表面特征进行了研究,主要研究结果为:四种绣球属植物的气孔密度和性状均不相同,圆锥绣球、腊莲绣球和八仙花的气孔为长椭圆形,而柔毛绣球的气孔为卵圆形;柔毛绣球的气孔密度最大,达到819.43个/mm<sup>2</sup>,圆锥绣球的气孔密度最小,仅为286.05个/mm<sup>2</sup>;表皮毛的长度、宽度、密度、形状和附属部件的特征也各不相同,腊莲绣球的表皮毛为线状,表面有许多丘状突起,柔毛绣球表皮毛呈薄片状,表面密布乳突状突起,圆锥绣球的圆锥状表皮毛上有很多星状附件,八仙花没有明显的表皮毛,但是其表面有颗粒状的附属物.由以上四种绣球属植物表皮微观形态的比较结果可知,表皮特征可作为植物分类的一个依据.图2,表2,参25.

**关键词:**绣球属;扫描电镜;气孔;表皮毛

**中图分类号:**Q949 **文献标识码:**A

绣球属是绣球花科中最大的属,可分为10个组,73个种,主要分布区域为南亚、南美和北美洲,其中原产中国的有47个种和11个变种,占世界总数的63%<sup>[1]</sup>.八仙花是重要的观赏植物,它不仅具有很高的观赏价值,而且还有很重要的药用价值.在1867年,Maximowicz根据其离瓣特征和生长习性,将绣球属植物分为绣球组和盖冠组.基于其外部形态,绣球属植物生长特性差异很大,如花粉的形态特征不同,以及其叶脉有很多的类型<sup>[2-3]</sup>.近年来,绣球属植物的分类也基于子房位置、蒴果顶端特征和花瓣分离和连合等特性,郑万钧将绣球属分为两组,分别为绣球组和藤八仙组,其中绣球组又分为绣球花系、挂苦树系和腊莲系三个<sup>[4]</sup>.课题组收集了很多绣球属植物,SRAP标记结果表明,在湖南广泛分布的四种绣球属植物,即圆锥绣球属于挂苦树系,腊莲绣球和柔毛绣球属于腊莲系,八仙花属于绣球花系<sup>[5-6]</sup>.

表皮是研究植物亲缘关系的重要器官.气孔和表皮毛是表皮的重要组成部分.近年来,通过分子遗

传学的方法研究拟南芥的毛状体发现了许多控制植物毛状体发育的基因<sup>[7]</sup>.随着扫描电镜技术的发展,植物的表皮特征也被认为是分类的依据之一,现已成功应用于壳斗科<sup>[8]</sup>、风车藤属<sup>[9-10]</sup>和栎属<sup>[11-12]</sup>等,然而对绣球属植物叶片表皮特征的报道较少.本文采用扫描电镜通过对四种绣球属植物的表皮毛特征进行观察,旨在阐明表皮毛特征在绣球属植物分类中的重要作用,为绣球科的系统分类提供依据.

## 1 材料与方法

### 1.1 植物材料

四种绣球属植物八仙花、腊莲绣球、柔毛绣球和圆锥绣球均采自湖南农业大学花卉基地.

### 1.2 叶片气孔器观察

采用过氧化氢-冰醋酸离析法.以成熟叶片为试材,取其中部面积约1 cm<sup>2</sup>的小叶片,投入沸水中

收稿日期:2016-06-17

基金项目:国家自然科学基金资助(编号:31201656);湖南省教育厅青年基金资助(编号:14B093);湖南省林业厅科技计划资助(项目编号:XLK201338)

作者简介:彭尽晖(1968-),女,湖南岳阳人,博士,副教授,研究方向:观赏植物分子生物学.

\* 通讯作者, E-mail: 377817046@qq.com

煮 5~10 min,然后转入 30%过氧化氢与冰醋酸体积比为 1:1 的离析液中浸泡,在 60℃温箱中放 12 h;当观察至表皮与叶肉组织分离后,用水洗净,然后用 1%番红酒精溶液染色 15 min 进行制片,最后采用 Motic BR300 电子显微镜观察和拍照。

### 1.3 气孔、气孔器大小与形状观测

利用数码显微镜摄像系统 (Motic BR300; Motic, 中国) 观测气孔和气孔器的长轴、短轴以及气孔的形状。在 40 倍物镜下观察拍照,每一样品随机选取 10 个视野进行统计。图像处理系统采用 Motic Images Advanced3.2 软件。

### 1.4 气孔密度测定

在 40 倍物镜下观察,每一样品随机选取 10 个视野,统计每个视野内的气孔数量,求其平均值;随后用物镜测微尺量取视野直径( $r$ ),计算视野面积。用视野中气孔的平均数除以视野面积,即可求出气孔密度(个/ $\text{mm}^2$ )。

### 1.5 气孔面积测定

根据上方法所测气孔器的长轴和短轴值,通过公式  $S=a \times b \times \pi \times 1/4$  计算得到。

### 1.6 表皮毛扫描电镜观察

材料处理方法参照文献<sup>[13]</sup>,采用扫描电镜 (Jeol JSM-T3000) 进行观察,在 100 倍目镜下观测毛状体的大小和密度,在 2000 倍目镜下观察毛状体的附属物。

## 2 结果与分析

### 2.1 气孔器的特征

气孔器由气孔和两个肾形的保卫细胞组成,保卫细胞是用来打开和关闭气孔,调节蒸腾和气体交换<sup>[14]</sup>。气孔的密度是指每平方毫米中气孔的数量,根据植物物种和环境条件的变化,植物典型的气孔特征也能改变;气孔的大小和形状也因物种和环境条件的不同而不同。如表 1 所示,柔毛绣球的气孔器为不规则形状,大多数为卵圆形,面积为  $446 \mu\text{m}^2$  ( $22.41 \mu\text{m} \times 19.90 \mu\text{m}$ ),气孔密度最大,达到  $819.43$  个/ $\text{mm}^2$ ,但是气孔面积仅为  $54 \mu\text{m}^2$  ( $11.19 \mu\text{m} \times 4.84 \mu\text{m}$ ),占整个气孔器的 12.11%。圆锥绣球的气孔器为中等大小的长椭圆形,面积为  $878 \mu\text{m}^2$  ( $37.27 \mu\text{m} \times 23.55 \mu\text{m}$ ),气孔密度是四种绣球属植物中最小的,仅为  $286.05$  个/ $\text{mm}^2$ ,气孔面积约  $190 \mu\text{m}^2$  ( $21.33 \mu\text{m} \times 8.92 \mu\text{m}$ ),占气孔器的 21.6%。

表 1 四种绣球属植物气孔器特征

Tab.1 The characteristic of Stomatal apparatus of four Hydrangea species

品种名	气孔器		气孔大小/ $\mu\text{m}$ (avg. 长轴×短轴)
	密度 (No./ $\text{mm}^2$ )	大小/ $\mu\text{m}$ (avg. 长轴×短轴)	
柔毛绣球 ( <i>H. villosa</i> )	819.43	22.41 × 19.90	11.19 × 4.84
腊莲绣球 ( <i>H. strigosa</i> )	533.95	26.82 × 19.09	14.54 × 4.81
圆锥绣球 ( <i>H. paniculata</i> )	286.05	37.27 × 23.55	21.33 × 8.92
八仙花 ( <i>H. macrophylla</i> )	429.98	38.27 × 26.43	21.56 × 9.38

### 2.2 表皮毛的特征

表皮毛是毛发状的附属物,是由表皮细胞发展而成的<sup>[15]</sup>。毛状体的常见类型包括毛发状、鳞片状和腺体状等等。植物毛可能是单细胞或多细胞、分支或无支链的,多细胞毛可能有一个或数层细胞,支毛可以树突(树形),簇绒或星状(星状)<sup>[7]</sup>。本研究中,四种绣球植物的表皮毛特征各异,如图 1 和表 2 所示,柔毛绣球的毛状体呈毛发状,且密集,基部宽,呈片状,向顶端逐渐延伸缩小,顶端锐尖;腊莲绣球的表皮毛最多且密集,基部扭曲,为狭长的线

状;圆锥绣球的表皮毛稀疏,呈圆锥状;八仙花无明显的表皮毛。四种植物表皮毛的密度大小为腊莲绣球>柔毛绣球>圆锥绣球>八仙花。

四种绣球属植物表皮毛上附属物形状如图 2 所示,蜡莲绣球表皮毛上有丘状突起的附属物;而柔毛绣球表皮毛附属物则为乳突状;圆锥绣球表皮毛上有密集的星状附属物;八仙花无明显表皮毛,表皮上覆盖了粗糙的颗粒状物质,可能为蜡被物<sup>[16]</sup>。综上所述蜡莲绣球和柔毛绣球的附属物均呈突起状,有一定的相似性,这可能二者亲缘关系较近;圆锥绣球和八仙花外形则存在明显差别。

表2 四种绣球属植物表皮毛特征

Tab.2 The characteristic of trichomes of four Hydrangea species

品种名	密度	形状	长度/ $\mu\text{m}$	宽度/ $\mu\text{m}$
柔毛绣球( <i>H. villosa</i> )	密集	细长扁平	416.8	50.4
腊莲绣球( <i>H. strigosa</i> )	非常密集	细长扁平	363.7	22.4
圆锥绣球( <i>H. paniculata</i> )	稀疏	长圆锥形	294.5	
八仙花( <i>H. macrophylla</i> )	光滑	无表皮毛		

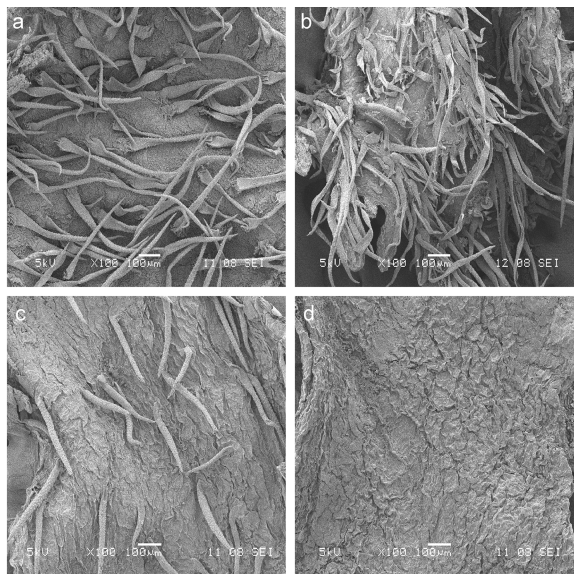


图1 表皮毛特征图

a. 柔毛绣球; b. 腊莲绣球; c. 圆锥绣球; d. 八仙花

Fig.1 The character of trichomes

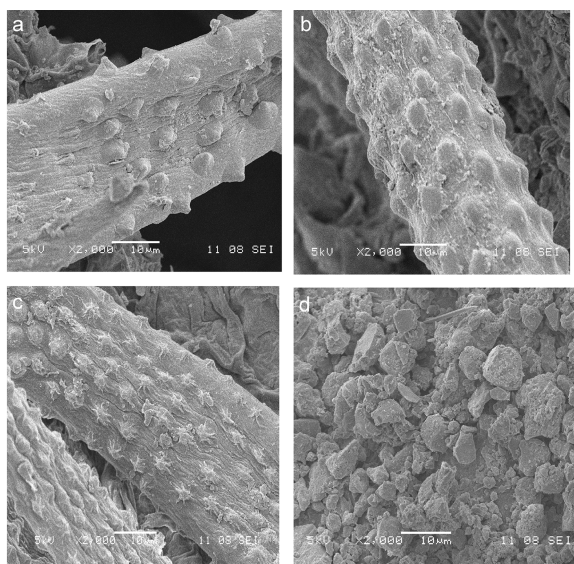
a. *H. villosa*; b. *H. strigosa*; c. *H. paniculata*; d. *H. macrophylla*

图2 表皮毛附属物图

a. 柔毛绣球; b. 腊莲绣球; c. 圆锥绣球; d. 八仙花

Fig.2 The character of trichome appearance.

a. *H. villosa*; b. *H. strigosa*; c. *H. paniculata*; d. *H. macrophylla*

### 3 讨论

#### 3.1 表皮的微观形态在植物分类中的价值

叶片表皮的特殊器官,如蜡质层、毛状体和气孔都是从表皮细胞进化而来.气孔在叶和茎的表皮均有分布,用于气体交换,气孔和气孔器是研究植物亲缘关系的重要器官,它在木本植物分类和进化的研究中有很重要的意义,如苹果、葡萄、柑橘和梨中均有报道,认为叶片气孔密度、大小、结构可以作为研究植物起源、进化和分类的重要指标<sup>[17-18]</sup>. Metcalfe (1987)指出气孔器的形态与系统发生之间没有直接相关性,但是在一个限定的分类单元(如属级)结合其它演化特征,不同类型的气孔特征具有重要的系统发生的研究意义<sup>[19]</sup>.表皮微观特征被用来区分松属和落叶松属<sup>[20-21]</sup>.植物表皮的毛状体种类多,其形态和密度因植物种类不同而不同,也可能有种群和个体的差异,因此不同器官上的毛状体功能也有差异<sup>[15,22]</sup>.毛状体出现在几乎所有的陆地植物上,在植物保护方面扮演着重要角色,特别是对昆虫取食、抗干旱和抗紫外线辐射等起作用<sup>[23]</sup>,表皮毛的分布也能作为分类的依据之一<sup>[24]</sup>.

#### 3.2 叶表皮特征作为绣球属植物分类依据的意义

绣球属植物为温带树种,主要分布在中国长江以南和秦岭山脉一带.大多数种类分布在低海拔的山脚和树林的下层.在中国植物志中,将绣球属分为绣球组和藤八仙组,其中绣球组又分为三个系<sup>[4]</sup>,通过SRAP标记表明,本试验中的四种绣球属植物分别属于不同的组<sup>[6]</sup>.本研究中发现它们气孔器在形状和大小上也有差异,腊莲绣球和柔毛绣球气孔器特征相近,八仙花和圆锥绣球的气孔器相类似.气孔器密度可能与其生长环境相关,四种植物差异很大.据课题组前期研究表明,圆锥绣球和八仙花主要用于城市园林绿化,主要分布在低海拔地区;而腊莲绣球和柔毛绣球分布在海拔为1000 m左右的山区,呈灌丛状,目前还未用于城市绿化.因此,基于以上结果说明气孔密度与分布的海拔高度有相关性,光照强度也随着海拔高度的变化而变化,因此植物气孔器密度的改变是为了适应这一环境的变化.绣球属植物气孔密度的变化特性与珙桐有相似性<sup>[25]</sup>.

在本研究中,四种绣球属植物表皮毛的密度也

不同,其中腊莲绣球密度最大,而八仙花则无毛发状组织,而是大量片状蜡质层堆积;从表皮的形状分析,腊莲系绣球和柔毛绣球为扁平线状,有一定的相似性。

综合以上研究结果,在这四种绣球属植物中,腊莲绣球和柔毛绣球具有很近的亲缘关系,圆锥绣球和八仙花分属于不同的系,该研究结果与前期的SRAP标记结果一致<sup>[6]</sup>。因此,本研究结果说明叶表皮特征如气孔器大小和密度、表皮毛形状与密度等均可以作为绣球属植物分类的依据。

#### 参考文献:

- [1] 卫兆芬.中国植物志[M].北京:科学出版社,1995.  
Wei Zhao-fen. Flora of China [M]. Peking: Science Press, 1995.
- [2] 郝刚,胡启明.绣球亚科花粉形态的研究[J].热带亚热带植物学报,1996,4(3):26-31.  
Hao Gang, Hu Oi-ming. A Study of pollen morphology of *Hydrangeoideae* (*Hydrangeaceae*) [J]. Journal of Tropical and Subtropical Botany, 1996, 4(3): 26-31.
- [3] 郝刚,胡启明.绣球亚科的脉序研究[J].广西植物,1996,16(2):155-160.  
Hao Gang, Hu Oi-ming. Leaf venation of *Hydrangeoideae* (*Hydrangeaceae*) [J]. Guihaia, 1996, 16(2): 155-160.
- [4] 郑万钧.中国树木志[M].北京:中国林业出版社,1998.  
Zheng Wan-Jun. The Tree Species in China [M]. Beijing: Forestry Press of China, 1998.
- [5] 彭尽晖,周朴华,周红灿,等.湖南省绣球属植物资源调查[J].湖南农业大学学报,2008,34(5):563-567  
Peng Jin-Hui, Zhou Pu-Hua, Zhou Hong-Can, et al. Investigation of *Hydrangea* resource in Hunan province [J]. Journal of Hunan Agriculture University, 2008, 34(5): 563-567.
- [6] 陈海霞,彭尽晖.基于SRAP标记揭示中国绣球属部分种类的亲缘关系[J].植物分子育种,2012,10(15):1115-1121.  
Chen Hai-Xia, Peng Jin-Hui. Genetic relationships of Partial *Hydrangea* in China Revealed by SRAP Markers [J]. Molecular Plant Breeding. 2012, 10(15): 1115-1121.
- [7] Szymanski D B, Lloyd A M, Marks M D. Progress in the molecular genetic analysis of trichome initiation and morphogenesis in *Arabidopsis* [J]. Trends in Plant Sci. 2000, 5(5): 214-219.
- [8] Jones J H. Evolution of the Fagaceae: the implications of foliar features [J]. Ann Missouri Bot Gard, 1986, 73: 228-275.
- [9] Stace CA. The significance of the leaf epidermis in the taxonomy of the Combretaceae. II. The genus *Combretum* Subgenus *Combretum* in Africa [J]. Bot J Linn Soci, 1969, 62: 131-168.
- [10] Stace C A. The significance of the leaf epidermis in the classification of the Combretaceae. III. The genus *Combretum* in America [J]. Brittonia, 1969b, 21: 130-143.
- [11] 梁红平,任宪威,刘一樵.中国常绿栎类叶表皮毛形态与分类的研究[J].植物分类学报,1990,28(2):112-121.  
Liang Hong-Ping, Ren Xian-Wei, Liu Yi-Jiao. Studies on leaf epidermis and its hair of live-oak in China [J]. Acta Phytotaxonomica Sinica, 1990, 28(2): 112-121.
- [12] Zhou ZK, Wilkinson H, Wu ZY. Taxonomical and evolutionary implications of the leaf anatomy and architecture of *Quercus* L. subgenus *Quercus* from China [J]. Cathaya, 1995, (7): 1-34
- [13] Stockey RA and Ko H. Cuticle micromorphology of *Araucaria* (*Araucariaceae*) from New Caledonia [J]. Bot Gaz, 1986, 147(4): 508-548.
- [14] Barclay R, McElwain JC, Dilcher D, et al. The Cuticle Database: developing an interactive tool for taxonomic and paleoenvironmental study of the fossil cuticle record [J]. Courier Forschung Institut Senckenburg, 2007, (258): 39-55.
- [15] Werker E. Trichome diversity and development [J]. Adv Bot Res, 2000, (31): 1-35.
- [16] Theobald WL, Krahulik JL, Rollins RC. Trichome description and classification [J]. In Anatomy of the Dicotyledons, ed. CR Metcalfe, L Chalk. Oxford: Clarendon, 1979, (1): 40-53.
- [17] 李润堂,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.  
Li Run-Tang, Zhang Ying-Nan, Tian Da-Lun. Studies on the stomata of citrus plant leaves [J]. Journal of Fruit Science, 2004, 21(5): 419-424.
- [18] 李强,邓艳,于江龙,等.两种忍冬属植物叶表皮扫描电镜观察及其生态适应性的研究[J].广西植物,2007,27(2):146-151.  
Li Qiang, Deng Yan, Yu Jiang-Long, et al. Research on structure of leaf epidermis of two species of *Flos Lonicerae* by SEM and its ecological adaption [J]. GUIHAIA, 2007, 27(2): 146-151.
- [19] Metcalfe CR. Anatomy of the dicotyledons (2nd. Cd., Vol. III) [M]. Oxford Science Publications. 1987.
- [20] Hu YS. SEM observation of inner surface structure of needle cuticles in *Pinus* [J]. Acta Phytotaxon Sin, 1986,

- (24):464-468.
- [21] Kim K, Whang SS, Hill RS. Cuticle micromorphology of leaves of *Pinus* (*Pinaceae*) in east and south-east Asia [J]. Bot J Linn Soc, 1999, (129):55-74.
- [22] Dalin P, Ågren T, Björkman C, Huttunen P and Kärkkäinen K. Leaf Trichome Formation and Plant Resistance to Herbivory [J]. Induced Plant Resistance to Herbivory, section II, 2008, 89-105.
- [23] Wagner GJ, Wang E, Shepherd RW. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome [J]. Annals of Botany, 2004, (93):3-11.
- [24] 强胜. 植物学 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2006. Qiang Sheng. Botany [M]. Beijing: Higher education press, 2006.
- [25] 钟小翠, 吴庆贵, 贺静, 等. 海拔对珙桐叶片比叶面积和气孔密度的影响 [J]. 绵阳师范学院学报, 2010, 29(2):76-78, 117. Zhong Xiao-Cui, Wu Qing-Gui, He Jing, et al. Effects of altitudes on specific leaf area, stomatal density of *Davidia involucreata* Leaf [J]. Journal of Mianyang Normal University, 2010, 29(2):76-78, 117.

## Comparative Study on the Leaf Surface Features of Four Hydrangea Species

PENG Jin-hui<sup>1</sup>, FAN Shi<sup>2</sup>, CHEN Hai-xia<sup>1\*</sup>

(1. College of Horticulture and Landscape, Hunan Agriculture University, Changsha 410128, China ;  
2. Landscape Department, Hunan Polytechnic of Environment and Biology, Hengyang 421005, China )

**Abstract:** The leaf surface features of four hydrangea species in China were studied under scanning electron microscopy (SEM) for the first time. The leaf surfaces of *Hydrangea villosa*, *H. strigosa*, *H. paniculata*, and *H. macrophylla* were observed by using a light microscope and SEM. The results indicate that the four hydrangea species are different in terms of stomatal shape and density. The stomata of *H. macrophylla*, *H. strigosa*, and *H. paniculata* are long and ellipsoid, whereas those of *H. villosa* are oval. The stomatal density of *H. villosa* is 819.43 units per square millimeter, which is the highest, whereas *H. paniculata* has the lowest at 286.05 units per square millimeter. The appearance of the trichomes differs in length, width, density, shape, appendages, and so on. *H. strigosa* has long and narrow linear trichomes, and many buninoid protuberances are distributed on its surface. The trichomes of *H. villosa* are flaky with papillose appendages. *H. paniculata* has cylindrical-conical trichomes and stellate appendages. *H. macrophylla* does not have trichomes but its cuticular appendages are granuliform. The cuticular micromorphology of four hydrangeas supports the taxonomic assignment in "The Flora of China." 2figs., 2tabs., 25refs.

**Keywords:** Hydrangea; scanning electron microscopy (SEM); stomatal apparatus; trichome

**Biography:** PENG Jin-hui, female, born in 1968, associate professor, major in molecular biology of ornamental plants.