

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201908001

谭殷殷, 金晓玲, 余秋岫, 等. 五种含笑属植物叶片抗寒结构指标的筛选与抗寒性评价 [J]. 广西植物, 2021, 41(8): 1296–1305.

TAN YY, JIN XL, YU QX, et al. Screening of leaf cold-resistant structural indexes and cold-resistance evaluation of five *Michelia* species [J]. *Guihaia*, 2021, 41(8): 1296–1305.

# 五种含笑属植物叶片抗寒结构指标的筛选与抗寒性评价

谭殷殷, 金晓玲\*, 余秋岫, 孙凌霄

(中南林业科技大学 风景园林学院, 长沙 410004)

**摘要:** 为筛选醉香含笑 (*Michelia macclurei*)、‘丹霞’含笑 (*Michelia* ‘Danxia’)、紫花含笑 (*M. crassipes*)、‘玉霞’含笑 (*Michelia* ‘Yuxia’) 和云南含笑 (*M. yunnanensis*) 的抗寒结构指标, 该文从叶片解剖结构角度评价这五种含笑属植物的抗寒性, 分别测定常温、自然降温和低温越冬三个温度节点五种植物的叶片厚度等 9 项结构指标。通过聚类分析和主成分分析这两种方法筛选抗寒结构指标, 并运用隶属函数法来评价五种含笑属植物的抗寒性。结果表明: (1) 不同降温阶段聚类分析筛选出的抗寒结构指标不同, 常温下, 栅海比、海绵组织和下表皮厚度为代表指标; 自然降温阶段则是栅海比、海绵组织和角质层厚度为代表指标; 而到了低温越冬时期, 代表指标变为栅栏组织、海绵组织和上表皮厚度, 隶属函数分析显示三个时期五种含笑属植物的抗寒性排序完全不同。(2) 主成分分析筛选出的指标为上表皮厚度、栅海比与细胞结构疏松度。隶属函数评价五种含笑属植物的抗寒性排序为醉香含笑>紫花含笑>‘丹霞’含笑>云南含笑>‘玉霞’含笑, 与田间观测和生理生化评价结果一致。综上所述, 以单一时期的叶片结构指标为依据进行聚类分析来筛选抗寒结构指标评价抗寒性的方法存在一定的不足, 通过主成分分析筛选指标来进行抗寒性评价的方法更具有参考价值。

**关键词:** 含笑属, 叶片解剖结构, 聚类分析, 主成分分析, 抗寒性

中图分类号: Q945.78 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2021)08-1296-10

## Screening of leaf cold-resistant structural indexes and cold-resistance evaluation of five *Michelia* species

TAN Yinyin, JIN Xiaoling\*, YU Qiuxiu, SUN Lingxiao

(College of Landscape Architecture, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China)

**Abstract:** In order to screen the cold-resistant structural indexes of five *Michelia* species (*Michelia macclurei*, *Michelia* ‘Danxia’, *M. crassipes*, *Michelia* ‘Yuxia’ and *M. yunnanensis*) and evaluate their cold-resistance according to the leaf anatomy, nine structural indicators such as thickness were measured at three temperature nodes (normal temperature, natural cooling and low-temperature wintering). We selected cold-resistant structural indexes by clustering analysis and

收稿日期: 2020-01-14

基金项目: 国家林业局“十三五”重点学科(风景园林学)(林人发[2016]21号); 林业公益性行业科研专项(201404710) [Supported by the 13th Five-Year Key Subject (Landscape Architecture) of the State Forestry Administration (21 [2016])]; Special Fund of Forestry Industry Research for Public Welfare (201404710)].

作者简介: 谭殷殷(1995-), 硕士研究生, 研究方向为园林植物与观赏园艺, (E-mail) 1360436927@qq.com.

\*通信作者: 金晓玲, 博士, 教授, 研究方向为园林植物育种研究, (E-mail) 121191638@qq.com.

principal component analysis, and used the membership function method to evaluate the cold-resistance of five *Michelia* species. The results were as follows: (1) Cold-resistant structural indexes selected by cluster analysis at different cooling stages were different. At normal temperature, the ratio between palisade tissue and spongy tissue (P/S), sponge tissue (TS) and lower epidermis thickness (TL) were representative indicators; at natural cooling stage, P/S, TS and cuticle thickness (CT) were representative indicators; and in the low-temperature over wintering period, thickness of palisade tissue (TP), TS and thickness of upper epidermis (TU), and the orders of cold-resistance in three periods were completely different according to membership function analysis. (2) The indicators selected by principal component analysis were TU, P/S and looseness of palisade tissue (SR). The cold-resistance of five *Michelia* species evaluated by membership function was *M. macclurei* > *M. crassipes* > *Michelia* 'Danxia' > *M. yunnanensis* > *Michelia* 'Yuxia'. The results were consistent with the field observation and physiological and biochemical evaluation results. It could be concluded that clustering analysis on screening cold-resistant structural indexes and evaluate cold-resistance based on the leaf structure indicators at a single period had certain defects, while the principal component analysis on evaluating cold-resistance by screening indexes had more reference value.

**Key words:** *Michelia*, leaf anatomical structure, cluster analysis, principal component analysis, cold-resistance

经过自然条件筛选,植物叶片的解剖结构和外部结构在一定程度上反映植物的生理适应性,可作为植物抗逆研究的依据(陈雪峰等,2018)。针对利用植物叶片解剖结构评价几种植物抗寒性的研究方法,郭学民等(2015)在筛选 16 个品种桃叶片抗寒解剖结构指标时指出,选择彼此独立、具有代表性的指标才能够获得抗寒性评价的最优方案。因此,多数学者往往会对指标进行聚类分析,再通过相关指数的计算方法选出各类中的典型指标。

亓白岩等(2013)从木兰科含笑属 8 种植物 10 项解剖性状指标中筛选出具抗寒性能力的 3 项指标,分别为上表皮厚度、栅栏组织厚度和叶片厚度;王伟伟等(2017)认为栅栏组织厚度、叶片厚度和细胞结构紧密度对比较锦绣含笑等四种含笑的耐寒性具有重要作用;李瑞雪等(2017)认为栅栏组织厚度、栅海比和主脉厚度是影响六种含笑属植物抗寒性的主要叶片解剖结构指标。然而,这种方法是基于单一时期测量的叶片结构指标数据开展的,如亓白岩用 4 月采集的叶片进行观测与分析,郭学民采用 6 月的叶片进行分析,而李瑞雪和王伟伟则采用越冬低温时的叶片进行实验,采样时期的不同是否对实验结果有影响尚未明确。因此,探明不同时期的叶片结构指标的聚类分析结果对评价植物抗寒性是否有影响,确定筛选五种含笑属植物的抗寒结构指标的方法并评价其抗寒性,是本研究的主要内容。

‘丹霞’含笑(*Michelia* ‘Danxia’)和‘玉霞’含笑(*Michelia* ‘Yuxia’)是分别以醉香含笑(*M. macclurei*)为父本、紫花含笑(*M. crassipes*)和云南含笑(*M. yunnanensis*)为母本杂交选育的新品种。‘丹霞’含笑淡紫,‘玉霞’含笑洁白,二者香气馥郁芬芳,均具有较高的园林观赏价值和广阔的发展前景。而低温是限制含笑属植物向北推广的重要因素,因此,探明五种含笑属植物的抗寒性对于新品种的推广具有重要的意义。在前期研究中,我们已从田间冻害观测与生理生化角度已对这五种含笑属植物的抗寒性进行了初步研究。本研究在此基础上,从叶片解剖结构的角度探究五种含笑属植物的抗寒性,进一步补充验证已有的实验结果,同时探讨筛选叶片结构指标的合理方法,以期植物抗寒性评价研究方法提供参考与新思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料

以中南林业科技大学实验苗圃内嫁接的长势良好无病虫害的醉香含笑、‘丹霞’含笑、紫花含笑、‘玉霞’含笑和云南含笑为试验材料。

### 1.2 方法

分别于 2018 年 9 月 20 日,平均温度为 25 ℃; 11 月 20 日,平均温度为 15 ℃和 2019 年 1 月 20 日,

平均温度为 5 ℃ 三个节点选择五种植株树冠东南向中层当年生侧枝基部倒数第二、第三片成熟健康无病虫害的叶片,每种植物混合取 6 片叶。切取 0.5 cm×0.5 cm 的小块,用 FAA 固定液固定,24 h 后按常规石蜡切片法(李正理,1987)制成永久切片,每个树种取 5 张切片,每个切片取 3 个视野,利用数字切片扫描系统 Moric VM1 观察、拍照。用 digimizer4.5.1 软件测定叶片结构指标,包括叶片厚度(leaf thickness, LT)、角质层厚度(cuticle thickness, CT)、上表皮厚度(thickness of upper epidermis, TU)、下表皮厚度(thickness of lower epidermis, TL)、栅栏组织厚度(thickness of palisade tissue, TP)、海绵组织厚度(thickness of spongy tissue, TS),进而计算栅海比(palisade tissue and spongy tissue ratio, P/S)、细胞结构紧密度(tightness of palisade tissue, CTR)、细胞结构疏松度(looseness of palisade tissue, SR)。其中,栅海比(P/S)=栅栏组织厚度(TP)/海绵组织厚度(TS);细胞结构紧密度(CTR)=栅栏组织厚度(TP)/叶片厚度(LT);细胞结构疏松度=海绵组织厚度(TS)/叶片厚度(LT)。

### 1.3 数据处理与分析

多重比较采用 Duncan 检验法;指标的相关性分析采用 Pearson 相关系数评价。

变异系数  $CV$  的计算公式:

$$CV = (\text{标准偏差}/\text{平均值}) \times 100\%;$$

叶片结构指标的相关指数及其计算公式:

$R_i^2 = \sum r^2 / (n-1)$ 。式中: $r$  为同类中某一指标与其他指标之间的相关系数; $n$  为同类中指标的个数, $i=1,2,\dots,n$ ;

指标变化率  $\alpha$  的计算公式:

$\alpha = (\text{处理值}-\text{对照值})/\text{对照值}$ 。式中:以 9 月 20 日测定值为对照值;以 1 月 20 日测定值为处理值。

采用隶属函数的方法对抗寒性进行综合评价。

隶属函数值计算公式:

$$\mu_{(x_j)} = (x_j - x_{\min}) / (x_{\max} - x_{\min});$$

反隶属函数值计算公式:

$$\mu_{(x_j)} = (x_{\max} - x_j) / (x_{\max} - x_{\min})。$$

式中: $x_j$  表示第  $j$  个指标测定值; $x_{\max}$  和  $x_{\min}$  分别

为某指标测定值中的最大值和最小值, $j=1,2,\dots,n$ 。

多重比较、相关性分析、主成分分析与聚类分析均采用 SPSS 20.0 进行处理,用 Excel 2007 软件绘表。

## 2 结果与分析

### 2.1 同一时期五种含笑属植物叶片解剖结构特征比较

#### 2.1.1 常温下五种含笑属植物叶片结构分析

2018 年 9 月 20 日,平均气温为 25 ℃,对五种含笑属植物叶片解剖结构进行分析,叶片结构特征如表 1 所示。醉香含笑叶片最厚,‘丹霞’含笑最薄,且差异显著。角质层厚度则‘玉霞’含笑最大,醉香含笑与紫花含笑相近,云南含笑最小。醉香含笑、‘玉霞’含笑上表皮由两层细胞紧密排列而成(图 1:A,J),而‘丹霞’含笑、云南含笑和紫花含笑上表皮为 1 层细胞排列而成(图 1:D,G,M)。上表皮厚度醉香含笑最厚,‘丹霞’含笑>‘玉霞’含笑>紫花含笑>云南含笑,差异显著;下表皮厚度紫花含笑最厚,醉香含笑最薄,其他三者厚度相近。栅栏组织厚度排序为醉香含笑>‘丹霞’含笑>紫花含笑>云南含笑>‘玉霞’含笑,差异显著。海绵组织厚度排序与叶片厚度排序一致,且各树种差异显著。‘丹霞’含笑栅海比最大,‘玉霞’含笑最小。细胞结构紧密度与栅海比排序一致。细胞结构疏松度紫花含笑最大,与‘玉霞’含笑差异不显著,云南含笑>醉香含笑>‘丹霞’含笑,差异显著。

#### 2.1.2 自然降温期五种含笑属植物叶片结构分析

2018 年 11 月 20 日,气温下降至 15 ℃ 左右,五种含笑属植物叶片解剖结构如图 1:B,E,H,K 和 N 所示。叶片厚度醉香含笑仍为最厚,而紫花含笑变为最薄。角质层厚度醉香含笑最大,‘玉霞’含笑次之,‘丹霞’和紫花含笑相近,云南含笑仍为最小。上表皮厚度‘玉霞’含笑变为最厚,云南含笑仍为最薄。云南、‘玉霞’和醉香含笑下表皮厚度相近,‘丹霞’含笑最薄。栅栏组织厚度醉香含笑仍为最厚,云南含笑变为最薄,两者相差 31.234  $\mu\text{m}$ 。海绵组织厚度‘玉霞’含笑变为最大,紫花含笑变为最小,两者相差 45.878  $\mu\text{m}$ 。栅海比排序为紫花含笑>醉

表 1 五种含笑属植物叶片结构特征比较 (2018-09-20)

Table 1 Comparison of leaf structure characteristics of five *Michelia* species (2018-09-20)

指标 Index	醉香含笑 <i>M. macclurei</i>	‘丹霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Danxia’	紫花含笑 <i>M. crassipes</i>	‘玉霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Yuxia’	云南含笑 <i>M. yunnanensis</i>	变异系数 CV (%)
LT ( $\mu\text{m}$ )	461.928 $\pm$ 1.237a	314.510 $\pm$ 1.632e	395.231 $\pm$ 0.805b	369.837 $\pm$ 1.839c	318.224 $\pm$ 0.630d	16.370
CT ( $\mu\text{m}$ )	3.444 $\pm$ 0.024b	2.305 $\pm$ 0.049c	3.408 $\pm$ 0.020b	4.330 $\pm$ 0.033a	1.321 $\pm$ 0.015d	39.325
TU ( $\mu\text{m}$ )	40.779 $\pm$ 1.073a	39.738 $\pm$ 0.526a	23.616 $\pm$ 0.413c	31.014 $\pm$ 0.760b	19.494 $\pm$ 0.252d	30.642
TL ( $\mu\text{m}$ )	9.224 $\pm$ 0.030d	10.011 $\pm$ 0.418c	12.858 $\pm$ 0.208a	10.421 $\pm$ 0.330bc	10.848 $\pm$ 0.369b	12.75
TP ( $\mu\text{m}$ )	123.731 $\pm$ 1.253a	103.501 $\pm$ 1.032b	101.246 $\pm$ 1.902b	82.420 $\pm$ 1.133d	89.258 $\pm$ 0.630c	15.818
TS ( $\mu\text{m}$ )	274.390 $\pm$ 0.664a	181.058 $\pm$ 0.643e	255.186 $\pm$ 1.397b	236.136 $\pm$ 4.230c	195.458 $\pm$ 0.313d	17.311
P/S	0.451 $\pm$ 0.005b	0.572 $\pm$ 0.004a	0.397 $\pm$ 0.009c	0.349 $\pm$ 0.002d	0.457 $\pm$ 0.003b	18.702
CTR	0.268 $\pm$ 0.003c	0.329 $\pm$ 0.003a	0.256 $\pm$ 0.005d	0.223 $\pm$ 0.002e	0.280 $\pm$ 0.002b	14.271
SR	0.594 $\pm$ 0.003c	0.576 $\pm$ 0.003d	0.646 $\pm$ 0.004a	0.639 $\pm$ 0.008a	0.614 $\pm$ 0.001b	4.828

注: 不同小写字母分别表示显著差异 ( $P < 0.05$ )。下同。

Note: Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). The same below.

香含笑>‘丹霞’含笑>云南含笑>‘玉霞’含笑。细胞结构紧密度仍与栅海比排序一致,细胞结构疏松度排序则反之(表2)。

### 2.1.3 低温越冬期五种含笑属植物叶片结构分析

2019年1月20日,气温下降到5℃左右,五种含笑属植物叶片组织结构再度变化,结果如图1: C, F, I, L, O和表3所示。醉香含笑叶片厚度为最厚,其次是紫花含笑、‘玉霞’含笑、云南含笑和‘丹霞’含笑,其中醉香含笑与紫花含笑叶片厚度差异不显著。与上一时期相比,紫花含笑角质层厚度排为第一,‘丹霞’含笑则由第二位变为第四位。上表皮厚度‘丹霞’含笑>‘玉霞’含笑>醉香含笑>云南含笑>紫花含笑,且前三者差异不显著。下表皮厚度‘玉霞’含笑最厚,‘丹霞’含笑仍为最薄。与15℃条件下相比,‘玉霞’含笑栅栏组织厚度>‘丹霞’含笑,五个树种差异显著。紫花含笑与云南含笑海绵组织厚度相近且较厚,‘玉霞’含笑与‘丹霞’含笑相近,醉香含笑最薄。栅海比排序为醉香含笑>‘丹霞’含笑>‘玉霞’含笑>紫花含笑>云南含笑。细胞结构紧密度不再与栅海比排序一致,紫花含笑仅次于醉香含笑。而细胞结构疏松度仍与栅海比排序相反。

## 2.2 基于聚类分析法筛选抗寒结构指标及抗寒性评价

2.2.1 常温下 采用分层聚类的方法对常温下9项叶片解剖结构指标进行分析并计算相关指数,结果如表4所示。9项指标可以分为三类:第一类为

栅海比、细胞结构紧密度、上表皮厚度和栅栏组织厚度;第二类为叶片厚度、海绵组织厚度和角质层厚度;第三类为下表皮厚度和细胞结构疏松度。第一类指标中栅海比相关指数最大,为0.442;第二类海绵组织厚度相关指数类中最大,为0.716;第三类中下表皮厚度与细胞结构疏松度相关指数相同,由于选入叶片结构变异度过小的指标会影响分析的准确性与合理性,故选择变异系数大的下表皮厚度作为代表指标。因此,在常温下叶片栅海比、海绵组织厚度和下表皮厚度可作为五种含笑属植物抗寒性评价的参考指标。

根据筛选出的3项结构指标,运用隶属函数法进行五种含笑属植物的抗寒性评价,结果表明五种含笑属植物的抗寒性排序为醉香含笑(0.543)>紫花含笑(0.531)>云南含笑(0.522)>‘丹霞’含笑(0.505)>‘玉霞’含笑(0.468),与田间观测结果相近。

2.2.2 自然降温期 采用相同方法对自然降温期9项叶片结构指标进行筛选,结果如表5所示。9项指标仍分三类:第一类包括栅海比、细胞结构紧密度和栅栏组织厚度;第二类包括叶片厚度、角质层厚度和上表皮厚度;第三类为海绵组织厚度、下表皮厚度和细胞结构疏松度。每类相关指数最大的指标分别为栅海比、角质层厚度和海绵组织厚度。因此,在秋季降温过程中叶片栅海比、角质层和海绵组织厚度可作为五种含笑属植物抗寒性评价的参考指标。

表 2 五种含笑属植物叶片结构特征比较 (2018-11-20)

Table 2 Comparison of leaf structure characteristics of five *Michelia* species (2018-11-20)

指标 Index	醉香含笑 <i>M. macclurei</i>	‘丹霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Danxia’	紫花含笑 <i>M. crassipes</i>	‘玉霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Yuxia’	云南含笑 <i>M. yunnanensis</i>	变异系数 CV (%)
LT ( $\mu\text{m}$ )	349.556 $\pm$ 3.060a	311.377 $\pm$ 3.038c	300.93 $\pm$ 2.266d	339.864 $\pm$ 1.265b	301.089 $\pm$ 2.109d	6.253
CT ( $\mu\text{m}$ )	3.668 $\pm$ 0.052b	2.974 $\pm$ 0.112c	2.810 $\pm$ 0.021d	3.879 $\pm$ 0.070a	2.086 $\pm$ 0.087e	23.246
TU ( $\mu\text{m}$ )	28.885 $\pm$ 0.932b	26.643 $\pm$ 0.549c	25.943 $\pm$ 0.549c	31.764 $\pm$ 0.777a	20.143 $\pm$ 0.533d	25.068
TL ( $\mu\text{m}$ )	10.036 $\pm$ 0.089b	7.700 $\pm$ 0.194d	8.61 $\pm$ 0.219c	10.489 $\pm$ 0.101ab	10.901 $\pm$ 0.528a	14.100
TP ( $\mu\text{m}$ )	127.068 $\pm$ 1.702a	103.023 $\pm$ 0.847c	112.620 $\pm$ 1.727b	96.909 $\pm$ 1.052d	95.852 $\pm$ 0.671d	12.141
TS ( $\mu\text{m}$ )	179.900 $\pm$ 3.604b	171.038 $\pm$ 2.021c	150.946 $\pm$ 2.131d	196.824 $\pm$ 0.868a	172.107 $\pm$ 1.744c	9.519
P/S	0.707 $\pm$ 0.023b	0.603 $\pm$ 0.005c	0.746 $\pm$ 0.018a	0.492 $\pm$ 0.007e	0.557 $\pm$ 0.002d	16.882
CTR	0.363 $\pm$ 0.008b	0.331 $\pm$ 0.002c	0.374 $\pm$ 0.006a	0.285 $\pm$ 0.003e	0.318 $\pm$ 0.001d	10.731
SR	0.515 $\pm$ 0.006d	0.549 $\pm$ 0.002c	0.502 $\pm$ 0.005e	0.579 $\pm$ 0.003a	0.572 $\pm$ 0.003b	6.287

针对 3 个指标运用隶属函数法进行五种含笑属植物的抗寒性评价,五种含笑属植物的隶属函数值分别为醉香含笑 0.520、‘丹霞’含笑 0.478、紫花含笑 0.544、‘玉霞’含笑 0.548 和云南含笑 0.512。由此得出五种含笑属植物的抗寒性排序为‘玉霞’含笑>紫花含笑>醉香含笑>云南含笑>‘丹霞’含笑。与田间观测结果不同。

2.2.3 低温越冬期 低温越冬期 9 项叶片结构指标筛选结果如表 6 所示。9 项指标依旧分为 3 组;第一组包括栅海比、细胞结构紧密度、角质层厚度、栅栏组织厚度和叶片厚度;第二组仅为上表皮厚度;第三组为海绵组织厚度、下表皮厚度和细胞结构疏松度。三类中的代表指标分别为栅栏组织厚度(0.747)、上表皮厚度(1.000)和海绵组织厚度(0.442)。因此,在冬季低温时期栅栏组织厚度、上表皮厚度和海绵组织厚度可作为五种植物抗寒性评价的参考指标。

隶属函数分析结果显示,‘丹霞’含笑隶属函数值最大,为 0.569、醉香含笑隶属函数值最小,为 0.404,紫花含笑为 0.509,‘玉霞’含笑为 0.468,云南含笑为 0.512。由此得出的抗寒性排序为‘丹霞’含笑>云南含笑>紫花含笑>‘玉霞’含笑>醉香含笑。

## 2.3 基于主成分分析法筛选抗寒结构指标及抗寒性评价

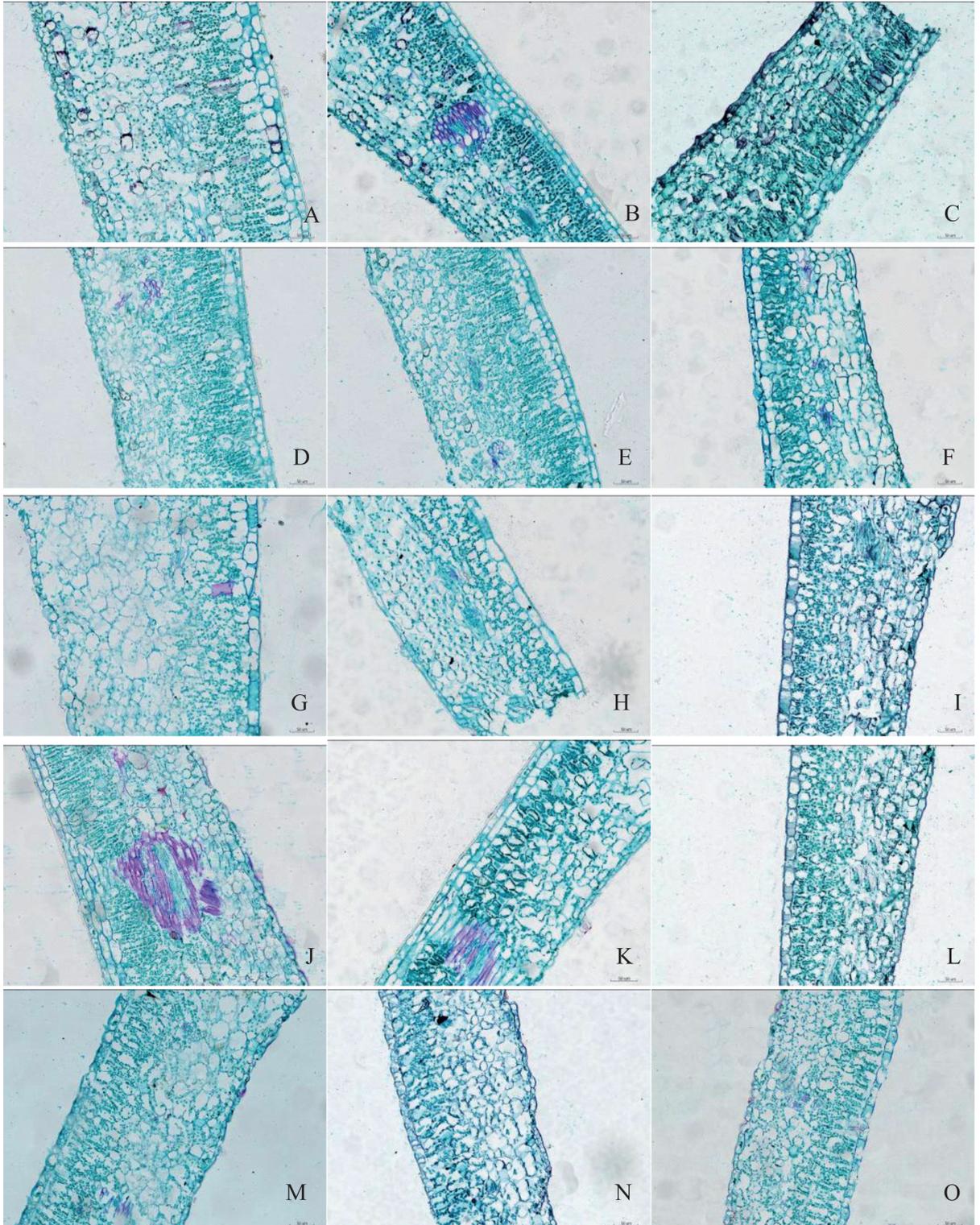
2.3.1 9 项叶片解剖结构指标变化率 9 项测定指标的变化率汇总结果如表 7 所示。9 个指标中,叶

片厚度、海绵组织厚度及细胞结构疏松度在自然降温后呈减少趋势;角质层厚度、栅栏组织厚度、栅海比及细胞结构紧密度则呈增加趋势;表皮厚度在自然降温后因植物种类的不同呈现出上升或下降的趋势。

2.3.2 主成分分析 将 9 项叶片结构指标变化率进行主成分分析,以特征值大于 1 进行提取,共提取到 2 个主成分,结果如表 8 所示。主成分的贡献率累计值达到 86.569%,这基本上反映了原始指标的大部分信息。第一主成分最为重要,能代表全部抗寒信息的 67.415%;第二主成分能代表全部抗寒信息的 19.154%。

主成分与抗寒结构指标的初始因子载荷矩阵表明各个指标在主成分上所占权重,具体结果如表 9 所示。第一主成分中的栅海比和细胞结构疏松度的主成分载荷系数最高且等大,为 0.987,故选作第一主成分的代表指标。第二主成分中上表皮厚度主成分载荷系数最高,为 0.804,故选作第二主成分的代表指标。

2.3.3 隶属函数分析 对筛选出的五种含笑属植物的 3 项叶片结构指标进行隶属函数分析,结果如表 10 所示。醉香含笑的隶属函数值最大,为 0.523,‘丹霞’含笑、紫花含笑和云南含笑的隶属函数值分别为 0.502、0.505 和 0.497,‘玉霞’含笑的隶属函数值最小,为 0.445。由此得出的抗寒性排序为醉香含笑>紫花含笑>‘丹霞’含笑>云南含笑>‘玉霞’含笑,与田间观测结果一致。



A-C 为醉香含笑；D-F 为‘丹霞’含笑；G-I 为紫花含笑；J-L 为‘玉霞’含笑；M-O 为云南含笑。从左往右依次为 2018 年 9 月 20 日样、2018 年 11 月 20 日样和 2019 年 1 月 20 日样。

A-C are *M. macclurei*; D-F are *Michelia* ‘Danxia’; G-I are *M. crassipes*; J-L are *Michelia* ‘Yuxia’; M-O are *M. yunnanensis*. Samples from left to right are September 20th, 2018, November 20th, 2018, and January 20th, 2019.

图 1 五种含笑属植物三个时期叶片结构解剖图

Fig. 1 Anatomical maps of leaf structure of five species of *Michelia* in three periods

表 3 五种含笑属植物叶片结构特征比较 (2019-01-20)

Table 3 Comparison of leaf structure characteristics of five *Michelia* species (2019-01-20)

指标 Index	醉香含笑 <i>M. macclurei</i>	‘丹霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Danxia’	紫花含笑 <i>M. crassipes</i>	‘玉霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Yuxia’	云南含笑 <i>M. yunnanensis</i>	变异系数 CV (%)
LT (μm)	311.107±2.997a	282.047±2.300d	309.950±2.264a	297.349±1.446b	290.122±4.099c	4.215
CT (μm)	4.399±0.048a	3.577±0.003b	4.469±0.081a	4.393±0.058a	3.002±0.018c	16.445
TU (μm)	32.544±0.492b	33.981±0.950a	23.398±0.908d	33.436±0.339ab	25.896±0.738c	16.278
TL (μm)	11.564±0.429b	9.391±0.113d	10.688±0.205c	13.082±0.459a	12.134±0.785b	12.386
TP (μm)	137.666±1.828a	109.189±1.157d	122.624±0.611b	112.702±0.450c	101.392±1.657e	11.975
TS (μm)	124.934±1.614c	125.901±0.671c	148.770±2.155a	133.736±0.922b	147.699±3.984a	8.444
P/S	1.102±0.013a	0.867±0.010b	0.824±0.009c	0.843±0.006bc	0.687±0.026d	17.363
CTR	0.443±0.003a	0.387±0.003c	0.396±0.002b	0.379±0.001d	0.350±0.009e	8.637
SR	0.402±0.003d	0.446±0.003c	0.480±0.004b	0.450±0.002c	0.509±0.007a	8.768

表 4 相关指数及类中排序 (2018-09-20)

Table 4 Correlation coefficients of the parameters and their orders (2018-09-20)

分类 Classification	结构指标 Structural index	相关指数 Correlation index	类中排序 Sort in class
1	栅海比 P/S	0.442	1
	细胞结构紧密度 CTR	0.403	2
	上表皮厚度 TU	0.226	3
	栅栏组织厚度 TP	0.225	4
2	叶片厚度 TL	0.660	2
	海绵组织厚度 TS	0.716	1
	角质层厚度 CT	0.444	3
3	下表皮厚度 TL	0.622	1
	细胞结构疏松度 SR	0.622	1

表 6 相关指数及类中排序 (2019-01-20)

Table 6 Correlation coefficients of the parameters and their orders (2019-01-20)

分类 Classification	结构指标 Structural index	相关指数 Correlation index	类中排序 Sort in class
1	栅海比 P/S	0.597	3
	细胞结构紧密度 CTR	0.686	2
	角质层厚度 CT	0.502	4
	栅栏组织厚度 TP	0.747	1
2	叶片厚度 LT	0.477	5
	上表皮厚度 TU	1.000	1
3	海绵组织厚度 TS	0.442	1
	下表皮厚度 TL	0.037	3
	细胞结构疏松度 SR	0.397	2

表 5 相关指数及排序 (2018-11-20)

Table 5 Correlation coefficients of the parameters and their orders (2018-11-20)

分类 Classification	结构指标 Structural index	相关指数 Correlation index	类中排序 Sort in class
1	栅海比 P/S	0.834	1
	细胞结构紧密度 CTR	0.816	2
	栅栏组织厚度 TP	0.664	3
2	上表皮厚度 TU	0.769	2
	角质层厚度 CT	0.856	1
	叶片厚度 LT	0.692	3
3	海绵组织厚度 TS	0.368	1
	下表皮厚度 TL	0.240	3
	细胞结构疏松度 SR	0.334	2

### 3 讨论

植物叶片对环境变化较为敏感,叶片的厚度、表皮厚度、栅栏组织厚度等结构会对环境变化产生响应(李芳兰等,2005),观察叶片解剖结构对研究植物的抗逆性具有重要意义。

本研究通过对三个不同温度阶段叶片组织结构特征比较发现,植物叶片组织结构在降温过程中变化的趋势因树种而异,不同时期几个相同的树种同一指标的排序并不会保持一致,而有较大波动。针对以上五种含笑属植物来说,运用聚类分析法在常温下筛选出的相关抗寒结构指标为栅海比、海绵组织厚度和下表皮厚度;自然降温时的

表 7 五种含笑属植物叶片结构指标变化率 ( $\alpha$ )Table 7 Change rates of leaf structure indexes ( $\alpha$ ) of five *Michelia* species

指标 Index	醉香含笑 <i>M. macclurei</i>	‘丹霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Danxia’	紫花含笑 <i>M. crassipes</i>	‘玉霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Yuxia’	云南含笑 <i>M. yunnanensis</i>
叶片厚度 LT	-0.33	-0.10	-0.22	-0.20	-0.09
角质层厚度 CT	0.28	0.55	0.31	0.01	1.27
上表皮厚度 TU	-0.20	-0.14	-0.01	0.08	0.33
下表皮厚度 TL	0.25	-0.06	-0.17	0.26	0.12
栅栏组织厚度 TP	0.11	0.05	0.21	0.37	0.14
海绵组织厚度 TS	-0.54	-0.30	-0.42	-0.43	-0.24
栅海比 P/S	1.44	0.53	1.05	1.40	0.50
细胞结构紧密度 CTR	0.63	0.18	0.54	0.73	0.25
细胞结构疏松度 SR	-0.32	-0.22	-0.26	-0.30	-0.16

表 8 五种含笑属植物叶片结构指标总解释方差

Table 8 Variance of total interpretation of leaf structure indexes of five *Michelia* species

主成分 Principal component	初始特征值 Initial eigenvalue ( $\lambda$ )	方差贡献率 Variance contribution rate (%)	累计方差贡献率 Cumulative variance contribution rate (%)
1	6.067	67.415	67.415
2	1.724	19.154	86.569

指标为栅海比、海绵组织厚度和角质层厚度;低温越冬时的指标为栅栏组织厚度、海绵组织厚度和上表皮厚度。进一步对这三个时期的指标进行隶属函数分析,所得到的抗寒性排序并不相同,这充分说明以某一个时期的叶片结构指标数据为依据进行几个树种的抗寒性评价存在一定的不足。初步分析导致这种不足的原因就是三个时期的叶片结构数据被独立开来,没有得到充分的联系,因此,通过指标变化率(杨凤翔,2010)这一方式将不同时期的指标联系起来,能在一定程度上改善这一不足。陈洁(2015)运用抗寒系数结合主成分分析法筛选出了3种含笑属植物的抗寒生理指标为相对电导率、丙二醛含量和可溶性蛋白含量;黄婷等(2019)运用主成分分析法筛选硬度、百粒质量、甜菜碱等6项枸杞鲜果品质评价核心指标。这说明主成分分析法可有效用于指标的筛选。因此,本文在指标变化率这一基础上,利用主成分分析法进行指标的筛选,得到3项抗寒结构指标,并运用隶属函数法对五种含笑属植物的抗寒性进行评价,评价结果与田间观测与生理指标评价的结果基本一致,说明运用主成分分析法筛选的抗寒结

构指标有一定的参考价值。

有大量研究表明植物叶片解剖结构与植物抗寒性有关。早实核桃不同品种叶片组织结构的研究表明,叶片的栅海比、细胞结构紧密度和细胞结构疏松度与抗寒性密切相关,可作为评价抗寒性的指标(刘杜玲等,2012)。郑志勇等(2009)利用叶片组织结构的紧密度和疏松度对常绿期金银木和普通金银木的耐寒性进行比较的结果与实际观察的结果基本一致,说明这两个指标与耐寒性密切相关。许瑛等(2009)的研究结果显示菊花的半致死温度与栅海比、上表皮厚度呈极显著负相关、与栅栏组织疏松度呈显著正相关。本研究通过主成分分析筛选出的3项抗寒叶片解剖结构指标分别是栅海比、细胞结构疏松度和上表皮厚度。栅栏组织和海绵组织之间在遗传上存在着相互制约的关系(简令成等,1986),细胞结构疏松度体现了叶片厚度与海绵组织厚度之间的制约关系,可以有效排除单一组织结构会因样品的个体差异和生境的影响发生改变,导致其稳定性不高的不利影响,这与吴林等(2005)的研究结果一致。多数研究已证明比值类指标可作为抗寒评价形态指标,

表 9 主成分初始因子载荷 ( $B_i$ ) 矩阵Table 9 Principal component initial factor loading ( $B_i$ ) matrix

主成分 Principal component	叶片厚度 LT	角质层 厚度 CT	上表皮 厚度 TU	下表皮 厚度 TL	栅栏组织 厚度 TP	海绵组织 厚度 TS	栅海比 P/S	细胞结构 紧密度 CTR	细胞结构 疏松度 SR
1	0.903	0.879	0.546	-0.444	-0.489	0.963	-0.987	-0.933	0.987
2	0.205	0.112	0.804	0.496	0.770	0.198	0.143	0.327	-0.131

表 10 自然低温胁迫下五种含笑属植物叶片解剖结构隶属函数值

Table 10 Membership function of five *Michelia* species under low temperature stress

树种 Tree species	醉香含笑 <i>M. macclurei</i>	‘丹霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Danxia’	紫花含笑 <i>M. crassipes</i>	‘玉霞’含笑 <i>Michelia</i> ‘Yuxia’	云南含笑 <i>M. yunnanensis</i>
隶属函数值 Membership function value	0.523	0.502	0.505	0.445	0.497
排序 Ranking	1	3	2	5	4

而单一类指标的筛选却各不相同。叶片厚度可作为油菜(杨宁宁, 2014)、油棕(曹红星等, 2014)、广玉兰(刘艳萍等, 2013)的抗寒鉴定形态指标; 茶藨属植物的角质层越厚抗寒性越强(林玉友等, 2014)。上下表皮厚度可作为评价不同倍性的滇山茶耐寒性的形态指标(杨桂英等, 2016)。本研究中筛选出的单一指标为上表皮厚度, 研究表明低温条件会导致敏感植物中的叶片脱水(Arias et al., 2017; Ana et al., 2018), 由此推测植物叶片结构对低温的响应过程中一部分作用是降低蒸腾速率阻止自身水分散失。植物表皮用于保护内部组织, 可防止水分过度蒸发, 表皮上的气孔可控制叶子与外界的气体吸收和放出, 影响蒸腾作用, 叶片表皮具有波浪状的垂周壁是抗寒能力强的表现(陈清西等, 1992), 这些因素都与表皮厚度息息相关, 因此, 上表皮厚度可作为抗寒结构指标有一定的参考价值。此外, 植物气孔器应对低温的调节作用和能否用垂周壁的深浅确定植物的抗寒性, 值得进一步研究。

## 4 结论

本研究通过比较分析三个时期五种含笑属植物的 9 项叶片结构指标, 可得出结论, 以单一时期

的叶片结构指标为依据进行聚类分析来筛选抗寒结构指标评价抗寒性的方法存在一定的不足, 主成分分析筛选出上表皮厚度、栅海比与细胞结构疏松度作为五种含笑属植物抗寒形态指标有一定的参考价值, 其通过隶属函数法评价五种含笑属植物的抗寒性结果与自然观察结果一致, 所得抗寒性排序为醉香含笑>紫花含笑>‘丹霞’含笑>云南含笑>‘玉霞’含笑。

## 参考文献:

- ANA C, HOUSSEM M, MARTA M, et al., 2018. Water relations in olive trees under cold conditions [J]. *Sci Hort*, 235: 1-8.
- ARIAS NS, SCHOLZ FG, GOLDSTEIN G, et al., 2017. The cost of avoiding freezing in stems: trade-off between xylem resistance to cavitation and supercooling capacity in woody plants [J]. *Tree Physiol*, 37: 1251-1262.
- CAO HX, HUANG HJ, LEI XT, et al., 2014. The effect of different low temperature treatment on the anatomical structure of oil palm leaves [J]. *Chin J Trop Crop*, 35(3): 454-459. [曹红星, 黄汉驹, 雷新涛, 等, 2014. 不同低温处理对油棕叶片解剖结构的影响 [J]. *热带作物学报*, 35(3): 454-459.]
- CHEN J, 2015. The research on cold resistance of three *Michelia* plants [D]. Changsha: Central South University of Forestry and Technology. [陈洁, 2015. 3 种含笑属植物抗寒性研究 [D]. 长沙: 中南林业科技大学.]
- CHEN QX, LIAO JS, WANG MS, et al., 1992. Comparison

- and observation on structure of leaves among several banana varieties or types [J]. J Fujian Agric Univ, (4): 406-412. [陈清西, 廖镜思, 王明双, 等, 1992. 食用蕉若干品种类型叶片组织结构的比较观察 [J]. 福建农学院学报, (4): 406-412.]
- CHEN XF, JING CJ, ZHAO XP, et al., 2018. Advances in application of plant leaf tissue structure in the research of stress tolerance [J]. J Hebei Agric Sci, 22(3): 50-53. [陈雪峰, 景晨娟, 赵习平, 等, 2018. 植物叶片组织结构在抗逆研究中的应用进展 [J]. 河北农业科学, 22(3): 50-53.]
- GUO XM, LIU JZ, ZHAI JT, et al., 2015. Relationship between leaf anatomical structure and trunk cold resistance of 16 peach cultivars [J]. Sci Silv Sin, 51(8): 33-43. [郭学民, 刘建珍, 翟江涛, 等, 2015. 16 个品种桃叶片解剖结构与树干抗寒性的关系 [J]. 林业科学, 51(8): 33-43.]
- HUANG T, ZAO SY, QIN K, et al., 2019. Quality evaluation of fresh fruit of *Lycium barbarum* based on principal component analysis [J]. N Hortic, (7): 132-139. [黄婷, 糟绍英, 秦垦, 等, 2019. 基于主成分分析的枸杞鲜果品质评价核心指标筛选 [J]. 北方园艺, (7): 132-139.]
- JIAN LC, SUN DL, SHI GX, et al., 1986. Leaf tissue structure in the cell of different kinds of citrus and its relation to cold hardness [J]. Acta Hortic Sin, (3): 163-168. [简令成, 孙德兰, 施国雄, 等, 1986. 不同柑桔种类叶片组织的细胞结构与抗寒性的关系 [J]. 园艺学报, (3): 163-168.]
- LI FL, BAO WK, 2005. Responses of the morphological and anatomical structure of the plant leaf to environmental change [J]. Chin Bot Bull, 22 (Suppl. 1): 118-127. [李芳兰, 包维楷, 2005. 植物叶片形态解剖结构对环境变化的响应与适应 [J]. 植物学通报, 22(Suppl. 1): 118-127.]
- LI RX, JIN XL, HU XJ, et al., 2017. Analysis and comprehensive evaluation on cold resistance of six varieties of *Michelia* [J]. Chin J Appl Ecol, 8(5): 1464-1472. [李瑞雪, 金晓玲, 胡希军, 等, 2017. 6 种含笑属植物抗寒性分析与综合评价 [J]. 应用生态学报, 8(5): 1464-1472.]
- LI ZL, 1987. Plant production technology [M]. Beijing: Science Press: 138-148. [李正理, 1987. 植物制片技术 [M], 北京: 科学出版社: 138-148.]
- LIN YY, ZHANG ZD, JIANG CG, et al., 2014. Study on the relationship between cold hardness and leaf anatomy of *Ribes L.* [J]. N Hortic, 38(2): 6-10. [林玉友, 张志东, 蒋春光, 等, 2014. 茶藨属植物叶片解剖结构与抗寒性关系研究 [J]. 北方园艺, 38(2): 6-10.]
- LIU DL, ZHANG BY, PENG SB, et al., 2012. Cold resistance division based on leaf tissue structure of early-fruiting walnut cultivars [J]. J Fruit Sci, 29(2): 205-211. [刘杜玲, 张博勇, 彭少兵, 等, 2012. 基于早实核桃不同品种叶片组织结构的抗寒性划分 [J]. 果树学报, 29(2): 205-211.]
- LIU YP, ZHU YL, KANG XY, 2013. Evaluation of cold resistance of different types of *Magnolia grandiflora* [J]. Sci Silv Sin, 49(6): 178-183. [刘艳萍, 朱延林, 康向阳, 等, 2013. 不同类型广玉兰的抗寒性评价 [J]. 林业科学, 49(6): 178-183.]
- QI BY, YIN YL, YU ZG, et al., 2013. Relationship between leaf anatomical traits and cold resistance of 8 species of Magnoliaceae [J]. J Jiangsu Agric Sci, 41(4): 150-153. [亓白岩, 殷云龙, 於朝广, 等, 2013. 木兰科含笑属 8 种植物叶片解剖结构性状与抗寒性的关系 [J]. 江苏农业科学, 41(4): 150-153.]
- WANG WW, DOU QQ, WAN DD, 2017. Study of the cold-tolerance of new varieties *Michelia maudiae* 'Jinxu' [J]. J Jiangsu For Sci Technol, 44(4): 1-7. [王伟伟, 窦全琴, 万丹丹, 2017. 锦绣含笑耐寒性研究 [J]. 江苏林业科技, 44(4): 1-7.]
- WU L, LIU HG, LIU YJ, et al., 2005. Studies on leaf tissue structure and its relations to cold resistance of blueberry [J]. J Jilin Agric Univ, (1): 48-50. [吴林, 刘海广, 刘雅娟, 等, 2005. 越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系 [J]. 吉林农业大学学报, (1): 48-50.]
- XU Y, CHEN Y, CHEN FD, et al., 2009. Analysis of cold-tolerance and determination of cold-tolerance evaluation indicators in *Chrysanthemum* [J]. Sci Agric Sin, 42(3): 974-981. [许瑛, 陈煜, 陈发棣, 等, 2009. 菊花耐寒特性分析及其评价指标的确定 [J]. 中国农业科学, 42(3): 974-981.]
- YANG FX, 2010. Comprehensive evaluation of different strawberry varieties cold tolerance [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University. [杨凤翔, 2010. 不同草莓品种抗寒性的综合评价 [D]. 兰州: 甘肃农业大学.]
- YANG GY, HE H, CAO ZL, et al., 2016. A study on cold resistance in diploid, tetraploid and hexaploid of *Camellia reticulata* (Theaceae) [J]. J Yunnan Univ (Nat Sci Ed), 38(2): 335-343. [杨桂英, 何瀚, 曹子林, 等, 2016. 3 种不同倍性滇山茶的耐寒性研究 [J]. 云南大学学报(自然科学版), 38(2): 335-343.]
- YANG NN, SUN WC, LIU ZG, et al., 2014. Morphological characters and physiological mechanisms of cold resistance of winter rapeseed in northern China [J]. Sci Agric Sin, 47(3): 452-461. [杨宁宁, 孙万仓, 刘自刚, 等, 2014. 北方冬油菜抗寒性的形态与生理机制 [J]. 中国农业科学, 47(3): 452-461.]
- ZHENG ZY, SHI JZ, WANG DF, 2009. Studies on blade tissue structure and its relations to cold resistance of *Lonicera maackii* 'Changlvqi' [J]. Acta Agric Boreal Sin, 24 (Suppl. 1): 331-333. [郑志勇, 石进朝, 王德芳, 2009. 长绿期金银木耐寒性与叶片组织结构的关系 [J]. 华北农学报, 24(Suppl. 1): 331-333.]