



应用生态学报
Chinese Journal of Applied Ecology
ISSN 1001-9332, CN 21-1253/Q

《应用生态学报》网络首发论文

题目: 基于几何形态分析的栎属白栎组叶片形态特征
作者: 苏蔚, 宋以刚, 祁敏, 杜芳
DOI: 10.13287/j.1001-9332.202107.001
收稿日期: 2020-12-21
网络首发日期: 2021-03-29
引用格式: 苏蔚, 宋以刚, 祁敏, 杜芳. 基于几何形态分析的栎属白栎组叶片形态特征. 应用生态学报. <https://doi.org/10.13287/j.1001-9332.202107.001>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

基于几何形态分析的栎属白栎组叶片形态特征

苏蔚¹ 宋以刚² 祁敏¹ 杜芳¹✉

(¹北京林业大学生态与自然保护学院, 北京 100083; ²上海辰山植物园/中国科学院上海辰山植物科学研究中心, 上海 201602)

*通信作者 E-mail: dufang325@bjfu.edu.cn

摘要 以壳斗科栎属白栎组的 5 个种作为研究对象进行叶片几何形态学分析(GMMs)。选取了 20 个天然种群, 共采集 182 个个体, 887 张叶片, 对每张叶片采用几何形态学的标点法, 数字化叶形态特征, 使 5 个种的叶形态差异可视化。结果表明: 广义普氏分析可以有效地排除叶片位置和大小对叶片形状的影响。基于个体水平的主成分分析表明, 榲栌分别与槲栎和枹栎 2 个种的叶片形态差异明显, 基于个体水平的典型变量分析表明, 叶片的对称组分可以将榲栌与其他 4 个种准确区分。叶片非对称组分的多变量分析表明, 5 个种彼此间区别不明显。基于叶片水平的分析表明: 区分度较高的两组是榲栌 vs. 槲栎 (99.5% vs. 100%) 和榲栌 vs. 枹栎 (99.0% vs. 100%), 可以通过叶形准确区分; 区分度略低的两组是白栎 vs. 枹栎 (90.5% vs. 86.8%) 和榲栌 vs. 蒙古栎 (85.1% vs. 82.9%)。本研究为存在频繁杂交渐渗的物种间叶型鉴定提供了新思路。

关键词 几何形态学分析; 壳斗科; 白栎组; 叶形态特征

DOI: 10.13287/j.1001-9332.202107.001

Leaf morphological characteristics of section *Quercus* based on geometric morphological analysis

SU Wei¹, SONG Yi-gang², QI Min¹, DU Fang¹✉

(¹School of Ecology and Nature Conservation, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China; ²Shanghai Chenshan Botanical Garden/Shanghai Chenshan Plant Science Research Center, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 201602, China)

Abstract Five species of *Quercus* L. (Section *Quercus*) of Fagaceae were selected as the research objects for leaf geometric morphological analysis (GMMs). In total, 887 leaves, which were chosen from 182 individuals of 20 natural populations, were marked with GMMs, and leaf morphological characteristics of these samples were digitized to visualize leaf morphological differences of the five species. Generalized Procrustes analysis could effectively exclude the influence of leaf position and size on leaf shape. Principal component analysis of tree-level showed that the leaf morphology of *Q. dentata* was different with *Q. aliena* and *Q. serrata*. Canonical variates analysis of tree-level showed that the leaf morphology of *Q. aliena* could be accurately distinguished with the other four species in leaf symmetric components. The results of multivariate analysis of asymmetrical components in leaves showed that the distinction of the 5 species was not obvious. The analysis of leaf-level showed that, the two groups with a higher degree of discrimination were *Q. aliena* vs. *Q. dentata* (99.5% vs. 100%) and *Q. dentata* vs. *Q. serrata* (99.0% vs. 100%), which could be accurately distinguished by leaf shape. The two groups with a slightly lower degree of discrimination were *Q. fabri* vs. *Q. serrata* (90.5% vs. 86.8%) and *Q. dentata* vs. *Quercus mongolica* (85.1% vs. 82.9%). This study provided new insights for the leaf shape identification among species with frequent hybridization and introgression.

Key words geometric morphometric analysis; Fagaceae; section *Quercus*; leaf morphological characteristics

植物的形态特征对于物种鉴定具有重要的意义^[1]。目前, 野外物种的识别仍然主要依赖于表型性状的判断^[2], 比如观察花、果、叶、枝干等形态, 结合解剖特征及地理分布位置来进行一些基本的物种判断, 并进行分类与命名。在叶片表型特征的研究中, 其研究方法通常建立于传统形态学上^[3-4],

收稿日期: 2020-12-21

基金项目: 本文由国家自然科学基金项目(42071060)资助

作者简介: 苏蔚, 女, 1995年生, 硕士研究生。主要从事栎属白栎组叶片形态研究。E-mail: 18646721045@163.com

Fund: This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (42071060).

网络首发时间: 2021-03-29 17:21:44 网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1253.Q.20210329.0929.003.html>

通过测量、计算一些定量和变量参数来代表叶片形态特征^[5]。

但传统形态学存在耗时长、精确度不够以及叶形态特征采集不完全等问题^[6]。随着科学技术的进步,形态学研究方法也不断地完善,由传统的测量方法发展到几何形态测量法^[7-8]。几何形态测量法可分别提取出叶片形状和大小两部分,数字化叶片形态特征,从而对叶轮廓进行可视化^[9]。多元分析的输出结果对于叶片形状的提取与判别都具有高度的有效性^[10]。与传统方法相比,几何形态测量法最大的优势在于能够可视化不同水平(物种、种群、个体及叶片)上的形态差异,因此该方法在形态测量中的应用也非常广泛。例如,Viscosi等^[11]通过几何形态学分析(GMMs)研究4种栎树叶片形态和大小的关系,从而达到物种判别的目的。Liu等^[12]利用GMMs对nSSR初步鉴定为槲栎(*Quercus aliena*)和槲树(*Quercus dentata*)的两个物种的个体进行正确的分类。Jiang等^[13]应用GMMs评估了欧洲冬青栎组(*sect. Ilex*)现存物种和两个化石物种之间的叶片形态相似性。

壳斗科植物是中国热带、亚热带与温带常绿阔叶林和落叶阔叶林的重要树种^[14]。栎属物种分布在中国西起喜马拉雅山脉东至台湾岛,最北可达中国东北地区,最南可达海南岛,在东亚木本植被中占有突出地位^[15]。栎属物种不但在生态学中极其重要,而且它们的分类从19世纪开始就一直是一个挑战,至今仍在继续^[16]。在更新的分类系统中^[17],栎属(genus *Quercus*)被分为白栎亚属(subgenera *Quercus*)和麻栎亚属(*Cerris*),分别对应于新大陆栎和旧大陆栎,白栎亚属包括以下5个部分:白栎组(*sect. Quercus*)、红栎组(*sect. Lobatae*)、中间栎组(*sect. Protobalanus*)、活栎组(*sect. Virentes*)和本都栎组(*sect. Ponticae*)。我国的栎亚属主要为白栎组,根据《中国植物志》^[18]的分类,白栎组在中国约有15种,Huang等^[19]将其合并为7种,分别为槲栎(*Q. aliena*)、槲树(*Q. dentata*)、白栎(*Q. fabri*)、大叶栎(*Q. griffithii*)、蒙古栎(*Q. mongolica*)、枹栎(*Q. serrata*)和云南波罗栎(*Q. yunnanensis*)。栎属植物种间基因交流频繁,近缘种的叶片表型特征极为相似,在组间和种间关系的处理上一直存在很大的分歧。由于栎属近缘种间的形态特征表现多有重复,种间界限并不清晰,进而导致在物种鉴定上及种间的亲缘关系研究中存在较大的困难^[20-21]。本研究以白栎组广泛分布的5个种(槲树、槲栎、枹栎、白栎和蒙古栎)的天然种群为对象,通过几何形态学分析5个种的叶片在形态学上的差异,以期为栎属分类及其它物种的鉴定提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

经过查阅《中国植物志》^[18],并在中国数字标本馆(<http://www.cvh.ac.cn>)、中国植物图像库(<http://ppbc.iplant.cn>)查找相关的标本采集信息,确定了白栎组物种在中国的分布情况。于2018—2019年的6—8月在中国11个省份采集了槲栎、槲树、白栎、蒙古栎以及枹栎5个种,共计20个种群。每个种群通过GPS记录仪(GRAMIN 621sc)记录采样点的经纬度信息,种群间至少相隔30 km,种群内的个体至少相隔10 m,每个个体采集4~7片叶形完整的叶片。共采集182个个体、887张叶片,采集叶片以标本夹压制用于后续叶形数据获取。本研究种群采集信息见表1。

表1 种群采样地信息
Table 1 Location information of population sampling plots

物种 Species	种群 Population	位置 Location	个体数 Individual number	叶片数 Leaf number
槲栎 <i>Quercus dentata</i>	河南省焦作市修武县金岭坡村 Jinlingpo Village, Xiuwu County, Jiaozuo City, Henan Province	35°42'35" N, 113°19'48" E	11	46
	山东省临沂市蒙山景区 Mengshan Scenic Spot, Linyi City, Shandong Province	35°33'36" N, 117°58'12" E	10	47
	河北省秦皇岛市抚宁县石门镇上平山村 Shangping Village, Shimen Town, Funing County, Qinhuangdao City, Hebei Province	40°3'35" N, 119°31'12" E	11	51
	陕西省留坝县桑园坝乡 Sangyuanba Township, Liuba County, Shaanxi Province	33°42'35" N, 107°08'24" E	10	50
	河南省鲁山县观音乡西桐树庄大乐坛 Xitong daletan Village, Guanyin Township, Lushan County, Henan Province	33°52'12" N, 112°41'24" E	9	45
槲栎 <i>Quercus aliena</i>	陕西省眉县蒿坪寺 Haoping Temple, Mei County, Shaanxi Province	34°05'23" N, 107°42'35" E	10	50
	河南省沁阳市太行山猕猴国家级自然保护区 Taihang Mountain Macaque National Nature Reserve, Qinyang City, Henan Province	35°13'12" N, 112°49'48" E	10	50
	陕西省西安市长安区石砭峪 Shibian Valley, Chang'an District, Xi'an City, Shaanxi Province	35°01'12" N, 108°57'35" E	9	45
	甘肃省陇南市康县白云山公园 Baiyunshan Park, Kang County, Longnan City, Gansu Province	33°19'48" N, 105°36'36" E	8	40
	甘肃省陇南市成县鸡峰山 Jifeng Mountain, Chengxian County, Longnan City, Gansu Province	33°41'24" N, 105°40'48" E	9	45
枹栎 <i>Quercus serrata</i>	河南省洛阳市栾川县汉秋林 Hanqiulin, Luanchuan County, Luoyang City, Henan Province	33°48'36" N, 111°48'36" E	8	40
	四川省广元市青川县塔坝 Taba, Qingchuan County, Guangyuan City, Sichuan Province	32°13'48" N, 105°22'12" E	8	40
	重庆市北碚区缙云山 Jinyun Mountain, Beibei District, Chongqing City	29°50'24" N, 106°23'24" E	4	20
	贵州省遵义市凤凰山森林公园 Fenghuang Mountain Forest Park, Zunyi City, Guizhou Province	27°42'35" N, 106°55'12" E	10	50
	河南省信阳市鸡公山 Jigong Mountain, Xinyang City, Henan Province	31°51'36" N, 114°05'23" E	10	50
白栎 <i>Quercus fabri</i>	江西省九江市庐山东林大峡谷 Donglin Grand Canyon, Lushan Mountain, Jiujiang City, Jiangxi Province	29°35'24" N, 115°58'11" E	10	48
	辽宁省本溪市大石湖风景区 Dashi Lake Scenic Spot, Benxi City, Liaoning Province	41°06'36" N, 124°29'24" E	10	47
	辽宁省鞍山市千山风景区 Qianshan Scenic Spot, Anshan City, Liaoning Province	41°00'36" N, 123°08'24" E	8	39
	辽宁省沈阳市棋盘山 Qipan Mountain, Shenyang City, Liaoning Province	41°55'48" N, 123°40'12" E	7	34
	山西省吕梁市交口县桃红坡镇 Taohongpo Town, Jiakou County, Lyuliang City, Shanxi Province	37°05'23" N, 111°19'12" E	10	50

1.2 叶形数据获取

将野外采集的叶片干燥、压平后,用高分辨率扫描仪(CanoScan 5600 F)扫描叶片脉络清晰的一面。参照刘媛等^[22]研究,通过Image J软件按照图1的标志点^[23]顺序,对扫描的叶形图片进行标记确定,将这些标志点转换为每个叶子的13对笛卡尔坐标(x, y)的配置。获取所有叶片的轮廓标志点数据后,将其整理为.txt文本格式,保存每张叶片的13个标志点的点坐标值。

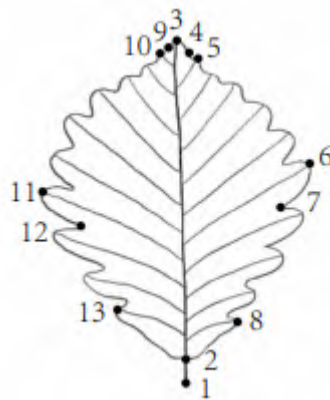


图1 白栎组叶片的标志点位置
Fig.1 Landmark configuration in leaves of section *Quercus*.

- 1) 叶柄起始点 Petiole starting point; 2) 叶柄与叶片的交界点 Junction of petiole and leaf; 3) 叶片顶端 Leaf apex; 4) 叶片右侧从顶点起第一个叶窦的位置 The first lobe sinus of leaf on the right side; 5) 叶片右侧从顶点起第一片裂叶端点 The first lobe immediately above the right side leaf apex; 6) 叶片右侧离中脉距离最宽的裂叶端点 Tip of the lobe with the widest distance from the middle vein on the right side of the leaf; 7) 第6个标志点下叶窦的位置 Lower lobe sinus of landmark 6; 8) 叶片右侧从叶柄起第一片裂叶端点 The first basal lobe sinus of leaf on the right side; 9) 叶片左侧从顶点起第一个叶窦的位置 The first lobe sinus of leaf on the left side; 10) 叶片左侧从顶点起第一片裂叶端点 The first lobe immediately above the left side leaf apex; 11) 叶片左侧离中脉距离最宽的裂叶端点 Tip of the lobe with the widest distance from the middle vein on the left side of the leaf; 12) 第11个标志点下叶窦的位置 Lower lobe sinus of landmark 11; 13) 叶片左侧从叶柄起第一片裂叶端点 The first basal lobe sinus of leaf on the left side.

1.3 几何形态学分析

叶形的坐标数据利用 Morpho J 软件进行后续多变量分析。首先对获得的全部原始数据进行广义普氏分析(generalized procrustes analysis, GPA), 通过对坐标数据进行傅里叶转换, 将叶片的坐标数据平移、旋转和缩放, 使其最大限度地重合。其次, 根据数据的维数和数据集中样本数量之间的关系, 使用 Procrustes 距离可以检查哪些叶片与平均形状严重偏离。此类异常的叶片被称为“离群值”^[24], 剔除离群值后生成新数据集用于后续分析。

形态计量学研究通常考虑观察对象内部左右对称的部分, 称其为对象对称^[25]。通过广义普氏分析对剔除离群值后的叶形数据生成对称组和非对称组数据集, 对称组被视为由对应地标和其镜像的平均叶型, 而非对称组则为原始叶型。其次, 利用叶形分层分布的变化, 在个体水平上创建平均叶型, 并创建可编辑的变换网格和线框图。最后, 将各水平的矩阵作为数据集进行多元统计分析: 利用个体水平数据进行叶片形态变异分析包括主成分分析(PCA)和典型变量分析(CVA); 利用叶片水平数据进行物种判别分析(DA)。主成分分析(PCA)可用于检验样本中形状变化的主要特征。本研究将13个标志点构成的原始变量进行线性组合, 从中提取出对叶片形态变异贡献较大的组合变量。设置置信区间为90%。典型变量分析(CVA)通过马氏距离和普氏距离的排序分析和置换测试, 可最大限度分离组。本研究利用薄板样条(TPS)输出坐标轴上重要值的变换网格和线框图, 将变换网格与线框图重叠进而重建叶片形状, 分析叶形收缩或扩张的变化趋势, 并将其可视化。判别分析(DA)可观察任两组之间的分离。本研究的判别分析通过交叉交叉函数提高5种栎类两两判别的可靠性, 并自动对组均值之间差异的参数使用 T^2 检验。

2 结果与分析

2.1 广义普氏分析

去除叶片的位置摆放和大小的影响, 散点集中地分布在对应叶片13个标志点周围, 使所有的叶片最大限度地重合在一起, 表明GPA很好地排除了叶片位置和大小的差异(图2)。通过GPA对5个种的叶形进行初步可视化操作, 剔除离群值, 最终从887片叶片中挑选出880片叶片用于后续分析。

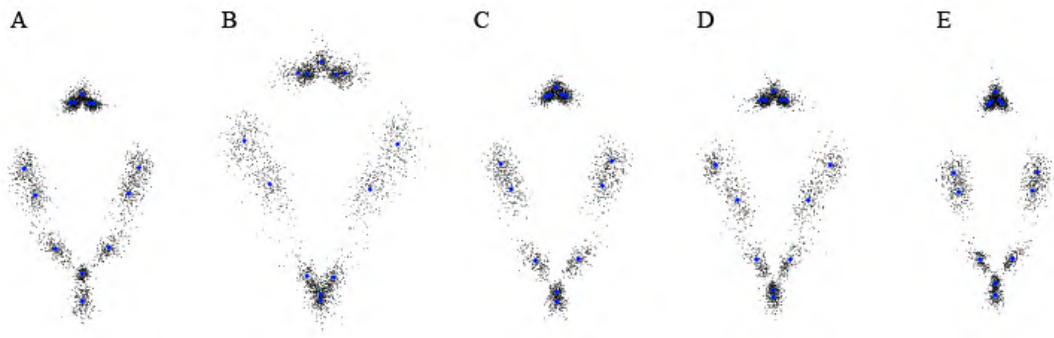


图2 白栎组叶形广义普氏分析
Fig. 2 Generalized procrustes analysis of the leaf shape of section *Quercus*.

A: 槲栎 *Quercus aliena*; B: 槲树 *Quercus dentata*; C: 白栎 *Quercus fabri*; D: 蒙古栎 *Quercus mongolica*; E: 枹栎 *Quercus serrata*.
下同 The same below.

2.2 主成分分析

PCA 基于对称组分和非对称组分别得到了 11 个主成分（图 3）。对称组分的前两个 PCs 的累计贡献率为 66.9%，基本可代表叶形指标所包含的信息，可很好地解释物种间的主要叶片形态差异。对称组分 PCA 分析基于个体水平的叶型大部分可区分，但仍有重叠部分。仅在第 1 主成分上，槲树与槲栎没有重叠部分，两个种叶形态差异可区分；在第 2 主成分上，槲树与枹栎的置信椭圆彼此分开，2 个种叶形态差异可区分。非对称组分的前 2 个主成分的累计贡献率为 82.0%，从非对称组分的 PCA 散点图可以看出，5 个种形态差异不明显。

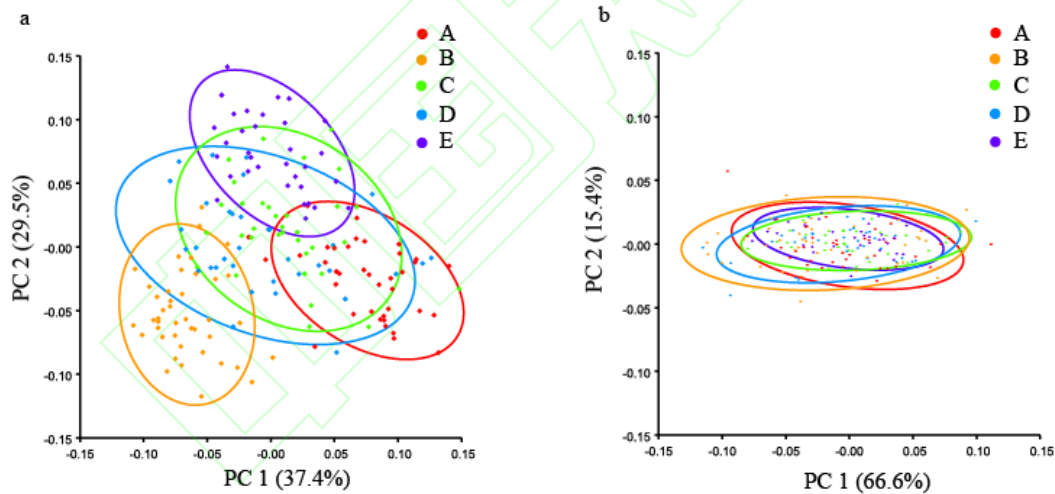


图3 白栎组 5 个种叶片在个体水平上基于对称组分(a)和非对称组分(b)的主成分(PC)分析

Fig.3 Principal component (PC) analysis of the leaves of five species at the tree-level for symmetric components (a) and asymmetric components (b).

2.3 典型变量分析

CVA 分析（图 4）显示，对称组分中前两个 CVs 的累计贡献率为 89.5%，槲栎单独地聚类到一起，与其它种明显分开。对称组分在 CV1 轴上，枹栎分别与蒙古栎和槲树可准确区分；白栎和槲树的置信椭圆没有重叠，故可区分。以上结果与 PC1 观察到的类似。非对称组分中 CVA 的结果显示，前 2 个 CVs 的累计贡献率为 92.8%，然而，散点图中 5 个种的分布是重叠的，无区分效果。

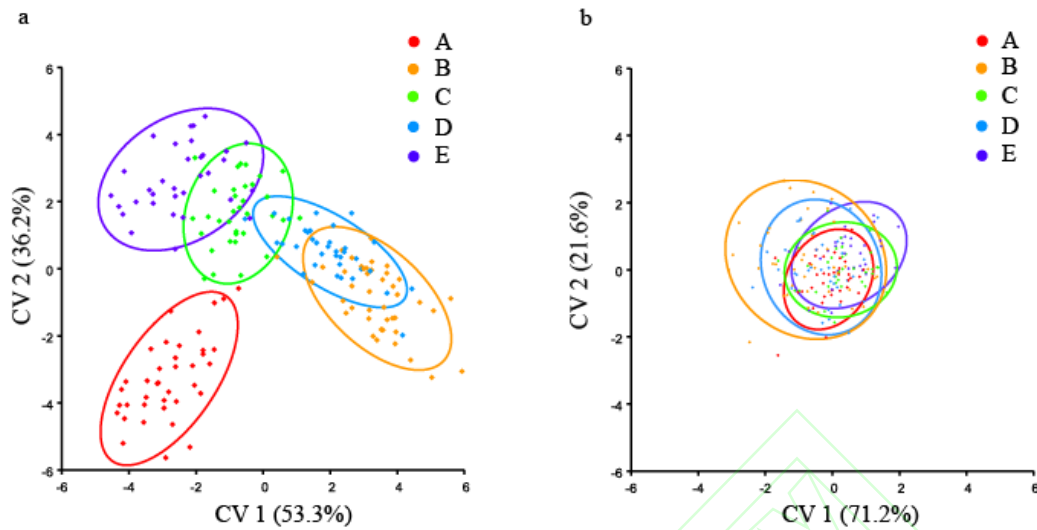


图4 白栎组5个种叶片在个体水平上基于对称组分(a)和非对称组分(b)的典型变量(CV)分析

Fig.4 Canonical variates (CV) analysis of the leaves of five species at the tree-level for symmetric components (a) and asymmetric components (b).

基于对称组分和非对称组分的 CVA 中, 依据前两个典型变量(CV)的极值绘制出变换网格与线框图, 网格图表示叶片收缩或扩张的趋势, 线框图表示叶片形状的轮廓线, 以二者的重叠图来展示物种之间叶片形态差异(图5)。对称组分中, CV1 极值网格图显示白栎组叶片的主要区别在于: 槲树的叶片基部(13-2-8)较窄, 叶片上半部分(11-3-6)较宽, 叶柄相对长度(1-2)较短, 而枹栎和槲栎基部较宽, 叶片上半部分较窄, 叶尖的形状(10-3-5)为渐尖, 叶柄相对长度较长, 其他几个种形态在这两种形态之间逐渐过渡; CV2 极值网格图显示, 枹栎的叶片有收缩趋势, 叶柄相对长度较短, 叶片细长, 叶基部和上半部分较窄; 槲栎叶片有扩张趋势, 叶柄相对长度较长, 叶片较宽, 叶基部和上半部分收缩缓慢, 其他几个种形态在这两者之间逐渐过渡。非对称组分中, 叶形态变化不明显。

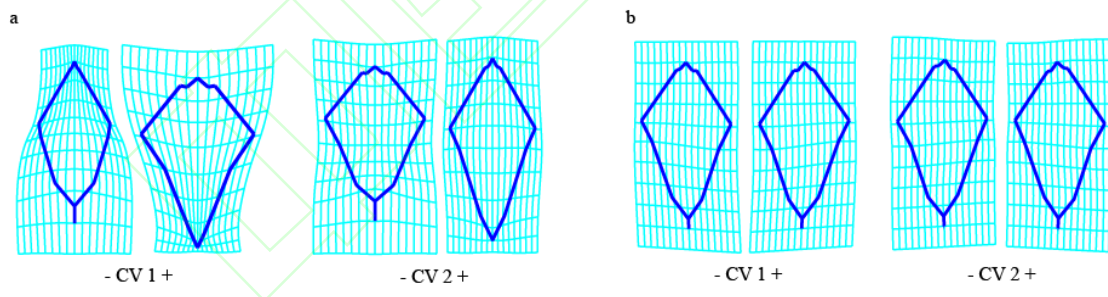


图5 叶形基于对称组分(a)和非对称组分(b)的 CV 值为正负极值(-,+)下相应的网格线框图

Fig.5 Leaf shape of transformation grid and wireframe in CV scores of negative and positive extremes (-, +) based on symmetric components (a) and asymmetric components (b).

2.4 判别分析

判别分析图6表明, 槲栎与其它种区分完全, 分组情况与PCA和CVA的结果一致。判别分析中区分度最高的两组是槲栎 vs. 槲树 (99.5% vs. 100%) 和槲树 vs. 枹栎 (99.0% vs. 100%), 通过叶形态可以准确地区分; 区分度最低的两组是白栎 vs. 枹栎 (90.5% vs. 86.8%) 以及槲树 vs. 蒙古栎 (85.1% vs. 82.9%), 是白栎组中叶形态不易区分的近缘种。另外, 在槲栎和槲树的判别中, 槲树的全部叶片都被正确地判别; 在槲栎和蒙古栎的判别中, 蒙古栎的全部叶片都被正确地判别; 在槲树和枹栎的判别中, 枹栎的全部叶片都被正确地判别。

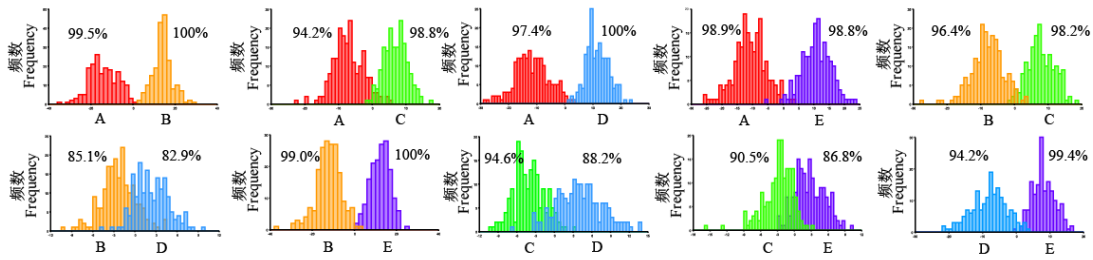


图 6 白栎组叶形的判别分析以及交叉验证的分类精度
Fig.6 Discriminant analysis of the leaf shape of section *Quercus* and classification accuracy (%) from cross-validation.

3 讨论

栎属种间存在广泛的自然杂交，基因渐渗频繁，导致近缘物种间物种鉴定困难。在栎类的叶形比较研究中^[7]，几何形态法相比传统的形态测定方法具有一定的优势，因为单一使用叶片的线性测量数据不能够提供形状差异的信息，并且误差往往是由在统计分析中的尺寸差异所导致。本研究参考了落叶栎常用的 13 个标志点^[23]，使用几何形态学分析，消除叶片形态坐标获取时叶片大小、位置和方向对形状的影响。通过单独分析叶片形状，将白栎组叶形态特征量化从而进行有效的区分鉴定。

本研究首先利用 PCA、CVA 区分 5 种栎类叶片形态差异，其次利用薄板样条法中的变形网格分析叶片收缩或扩张的变化趋势，最后，结合整体轮廓线框分析了 5 种栎类对称组分和非对称组分的叶片形状差异。结合 GPA 和 CVA 的结果，能够为每个研究物种定义更详细的平均叶形状。白栎组叶片形态的主要差异集中在叶柄相对长度、叶片尖端及基部形状等方面：槲栎区别于其它物种最主要的叶形态特征是叶片长椭圆状，叶柄相对长度较长，顶端短渐尖，基部楔形而槲树叶片倒卵形，叶柄相对长度较短，顶端短钝尖。基因型研究表明，槲树与槲栎种间存在基因交流，推测某些叶片表现为中间型的个体可能是来自两者基因渐渗^[26]。但本研究中的 CVA 与 PCA 可以发现，槲树和槲栎的置信椭圆（90%）不重叠，叶片形状差异区分完全（100% vs. 99.5%）。枹栎叶片细长，倒卵状椭圆形，顶端急尖，基部楔形；白栎和蒙古栎叶形态基本相似，叶片长倒卵形，基部楔形，蒙古栎顶端短钝尖，白栎顶端短渐尖。但是枹栎、白栎和蒙古栎的置信椭圆有重叠部分，叶型区分不明显，可能存在中间型或杂交个体。

本研究在叶片形态分析中综合考虑了叶片对称组分和非对称组分。对称组分的 PCA 和 CVA 散点图都能将物种准确地分开，而非对称组分 PCA 和 CVA 散点图并不能有效区分白栎组的 5 个种。在叶片非对称组分的 PCA 中，仅 PC1 就占到一半以上的贡献率，但沿 PC1 轴的所有样本几乎重叠，没有种间差异可以识别，并不能将物种区分开，与非对称组分的 CVA 结果一致。说明叶片的非对称组分不能提供种间差异的信息，推测主要受温度、降水的影响。已有研究表明，叶型对称组分主要用于比较个体间的差异，而叶型非对称组分往往与外部相关变量有联系，例如环境因子等^[24]。未来研究中可利用叶片非对称组分进一步研究生态因子对物种的影响。

Ponton 等^[27]基于叶片的绒毛密度和叶基部的耳廓角度两个性状对夏栎(*Quercus robur*)和无梗花栎(*Quercus petraea*)进行判别，可以提供至少 99.5% 的正确分类结果。可见除叶片形态特征外，叶面毛被等性状也同样具有分类学价值。李雁瓷等^[28]在秋海棠 (*Begonia grandis*) 的分类中表明，花、叶及植株大小等数量性状是最主要的标准和依据。从实际观察来看，栎属白栎组的叶柄长、叶面毛被等指标对分类具有一定的贡献率，因此，在今后研究中可进一步完善形态特征的分类标准和方法。

综上，本研究运用几何形态学中的标点法，提取代表性坐标点作为叶形态特征，观察包括叶柄相对长度、叶窦的位置、叶基部以及叶尖等特征，为栎属植物的区分提供了新思路。而对于鉴定近缘物种，诸如叶面毛被等性状也有不亚于形状的分类价值。但无论是传统的形态测量法还是几何形态测量法，都是基于研究者主观的判断，并选取叶片形态特征，今后研究中可结合直接变量和间接变量进行后续的分析。也可以结合计算机^[29]等快速处理器或算法，达到自动提取叶形特征并鉴别分类的目的。

责任编辑 孙 菊

参考文献

- [1] Bell AD, Bryan A. *Plant Form: An Illustrated Guide to Flowering Plant Morphology*. Portland, OR, USA: Timber Press, 2008: 20-35
- [2] 方伟, 刘恩德. 经典植物分类学的发展与 iFlora. *植物分类与资源学报*, 2012, 34 (6): 532-538 [Fang W, Liu E-D. The development of classical plant taxonomy and iFlora. *Plant Diversity and Resources*, 2012, 34 (6): 532-538]
- [3] Heredia UL, Carabaña MV, Córdoba M, *et al.* Variation components in leaf morphology of recruits of two hybridising oaks [*Q. petraea* (Matt.) Liebl. and *Q. pyrenaica* Willd.] at small spatial scale. *European Journal of Forest Research*, 2009, 128: 543-554
- [4] Hubert F, Grimm GW, Joussetin E, *et al.* Multiple nuclear genes stabilize the phylogenetic backbone of the genus *Quercus*. *Systematics and Biodiversity*, 2014, 12: 405-423
- [5] 徐文铎, 何兴元, 陈玮, 等. 沈阳城市森林主要树种叶片形态生态特征与生长规律. *应用生态学报*, 2006, 17 (11): 1999-2005 [Xu W-D, He X-Y, Chen W, *et al.* Morphological-ecological characters and growth patterns of main tree species leaves in urban forest of Shenyang. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2006, 17 (11): 1999-2005]
- [6] 白明, 杨星科. 几何形态测量法在生物形态学研究中的应用. *昆虫知识*, 2007, 44 (1): 143-147 [Bai M, Yang X-K. Application of geometric morphometrics in biological researches. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2007, 44 (1): 143-147]
- [7] MacLeod N, Forey PL. *Morphology, Shape, and Phylogenetics*. London: CRC Press, 2002: 1-7
- [8] Adams DC, Rohlf FJ, Slice DE, *et al.* Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 2004, 71: 5-16
- [9] Mitteroecker P, Gunz P. Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology*, 2009, 36: 235-247
- [10] Silva MFS, Andrade IM, Mayo SJ. Geometric morphometrics of leaf blade shape in *Montrichardia linifera* (Araceae) populations from the Rio Parnaíba Delta, northeast Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2012, 170: 554-572
- [11] Viscosi V, Lepais O, Gerber S, *et al.* Leaf morphological analyses in four European oak species (*Quercus*) and their hybrids: A comparison of traditional and geometric morphometric methods. *Giornale Botanico Italiano*, 2009, 143: 564-574
- [12] Liu Y, Li YJ, Song J, *et al.* Geometric morphometric analyses of leaf shapes in two sympatric Chinese oaks: *Quercus dentata* Thunberg and *Quercus aliena* Blume (Fagaceae). *Annals of Forest Science*, 2018, 75: 1-12
- [13] Jiang XL, Hipp AL, Deng M, *et al.* East Asian origins of European holly oaks (*Quercus* section *Ilex* Loudon) via the Tibet-Himalaya. *Journal of Biogeography*, 2019, 46: 2203-2214
- [14] 邱丽毓, 柳涛, 常虹, 等. 中国壳斗科植物空间多样性格局研究. *植物科学学报*, 2017, 35 (2): 234-242 [Qiu L-C, Liu T, Chang H, *et al.* Study on the spatial diversity patterns of Fagaceae in China. *Plant Science Journal*, 2017, 35 (2): 234-242]
- [15] Yang J, Guo YF, Chen XD, *et al.* Framework phylogeny, evolution and complex diversification of Chinese oaks. *Plants*, 2020, 9: 1024
- [16] Denk T, Grimm GW, Manos PS, *et al.* An Updated Infrageneric Classification of the Oaks: Review of Previous Taxonomic Schemes and Synthesis of Evolutionary Patterns. New York: Springer, 2017: 23-25
- [17] Deng M, Hipp AL, Song YG, *et al.* Leaf epidermal features of *Quercus* subgenus *cyclobalanopsis* (Fagaceae) and their systematic significance. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2014, 176: 224-259
- [18] 陈焕镛, 黄成就. 中国植物志. 北京: 科学出版社, 1998: 213-263 [Chen H-Y, Huang C-J. *Flora of China*. Beijing: Science Press, 1998: 213-263]
- [19] Huang CC, Chang YT, Bartholomew B. *Flora of China*. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 1999: 380-400
- [20] 彭焱松, 陈丽, 李建强. 中国栎属植物的数量分类研究. *武汉植物学研究*, 2007, 25 (2): 149-157 [Peng Y-S, Chen L, Li J-Q. Study on numerical taxonomy of *Quercus* L. (Fagaceae) in China. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 2007, 25 (2): 149-157]
- [21] Song YG, Deng M, Hipp AL, *et al.* Leaf morphological evidence of natural hybridization between two oak species (*Quercus austrocochin chinensis* and *Q. kerrii*) and its implications for conservation management. *European Journal of Forest Research*, 2015, 134: 139-151
- [22] 刘媛, 吕佳, 宋佳, 等. 基于几何形态测量学的植物鉴定方法. *植物科学学报*, 2017, 35 (6): 894-899 [Liu Y, Lyu J, Song J, *et al.* Plant species delimitation method based on geometric morphometrics. *Plant Science Journal*, 2017, 35 (6): 894-899]
- [23] Viscosi V. Geometric morphometrics and leaf phenotypic plasticity: Assessing fluctuating asymmetry and allometry in European white oaks (*Quercus*). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2015, 192: 335-348
- [24] Klingenberg CP, Monteiro LR. Distances and directions in multidimensional shape spaces: Implications for morphometric applications. *Systematic Biology*, 2005, 54: 678-688
- [25] Klingenberg CP, Barluenga M, Meyer A. Shape analysis of symmetric structures: Quantifying variation among individuals and asymmetry. *Evolution*, 2002, 56: 1909-1920
- [26] Kanno M, Yokoyama J, Suyama Y, *et al.* Geographical distribution of two haplotypes of chloroplast DNA in four oak species (*Quercus*) in Japan. *Journal of Plant Research*, 2004, 117: 311-317
- [27] Ponton S, Dupouey JL, Dreyer E. Leaf morphology as species indicator in seedlings of *Quercus robur* L. and *Q. petraea* (Matt.) Liebl.: Modulation by irradiance and growth flush. *Annals of Forest Science*, 2004, 61: 73-80
- [28] 李雁瓷, 付乃峰, 孙加芝, 等. 秋海棠 (*Begonia grandis*) 的种内表型多样性. *植物研究*, 2021 [Li Y-C, Fu N-F, Sun J-Z, *et al.* Intraspecific phenotypic diversity in *Begonia grandis*. *Bulletin of Botanical Research*, 2021]
- [29] Christin S, Hervet E, Lecomte N. Applications for deep learning in ecology. *Methods in Ecology and Evolution*, 2019, 10: 1632-1644