

浙江扇脉杓兰野生居群的表型性状变异及其与地理-土壤养分因子的相关性

李全健^{1,2}, 王彩霞¹, 田敏^{1,①}, 李翠新²

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400; 2. 西南林业大学, 云南 昆明 650224)

摘要: 为揭示扇脉杓兰 (*Cypripedium japonicum* Thunb.) 表型性状的变异规律, 以浙江临安 6 个野生居群 (老殿、宝剑石、红蛇洞、清凉峰、大明山和里横塘) 为研究对象, 分析了叶片、萼片、子房及唇瓣等 18 个表型性状的变异幅度, 并讨论了表型性状变异与地理-土壤养分因子间的相关性以及居群间和居群内的表型多样性。结果显示: 6 个居群 18 个表型性状 (地径、下叶长、下叶宽、下叶长/宽比、上叶长、上叶宽、上叶长/宽比、中萼片长、中萼片宽、苞片长、苞片宽、子房长、花梗直径、花梗长、唇瓣长、唇瓣宽、植株展度和株高) 测量值的 F 值为 1.240 ~ 18.666, 除花梗直径和株高外, 其他 16 个性状均有极显著差异。各性状的变异系数为 5.937% ~ 26.349%, 其中, 唇瓣长的平均变异系数最小 (6.119%), 苞片宽的平均变异系数最大 (24.124%); 居群间各性状的变异系数为 8.139% ~ 13.663%, 平均变异系数为 11.143%, 其中, 里横塘居群的平均变异系数最大、宝剑石居群的最小。各性状的多样性指数平均为 1.977, 其中地径的多样性指数最大 (2.045)、苞片宽的最小 (1.663)。通过 UPGMA 聚类分析, 可将 6 个居群划分为 3 组: 清凉峰、大明山、老殿和宝剑石居群为 1 组; 红蛇洞和里横塘居群分别各自成组, 其中清凉峰和大明山居群的遗传距离最近。各表型性状间存在显著或极显著的相关关系; 但仅地径与速效钾含量显著正相关 ($r=0.854$), 子房长、唇瓣长和宽与土壤全磷含量显著正相关 (r 值分别为 0.916、0.854 和 0.914), 植株展度与土壤 pH 显著正相关 ($r=0.810$), 其余性状与地理因子 (包括经度、纬度和海拔) 及土壤养分因子均无显著相关性。研究结果表明: 扇脉杓兰野生居群表型性状存在丰富的变异和多样性, 且与生境土壤中速效钾及全磷含量及土壤 pH 有关。

关键词: 扇脉杓兰居群; 表型性状; 变异系数; 地理因子; 土壤养分; 相关性

中图分类号: Q949.71+8.43; Q944 文献标志码: A 文章编号: 1674-7895(2012)02-0045-08

Variation of phenotypic traits of wild populations of *Cypripedium japonicum* in Zhejiang Province and its correlation with geographical-soil nutrient factors

LI Quan-jian^{1,2}, WANG Cai-xia¹, TIAN Min^{1,①}, LI Cui-xin² (1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, China; 2. Southwest Forestry University, Kunming 650224, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2012, 21(2): 45-52

Abstract: To reveal variation regulation of phenotypic traits of *Cypripedium japonicum* Thunb., taking 6 wild populations (Laodian, Baojianshi, Hongshedong, Qingliangfeng, Damingshan and Lihengtang) in Lin'an of Zhejiang Province as research objects, variation range of 18 phenotypic traits of leaf, sepal, ovary and labellum was analyzed, and its correlation with geographical-soil nutrient factors and morphological diversity among or within populations were discussed. The results show that F values of 18 phenotypic traits (including ground diameter, length and width and ratio of length to width of lower leaf, length and width and ratio of length to width of upper leaf, length and width of middle sepal, length and width of bract, ovary length, diameter and length of pedicel, length and width of labellum, plant exhibition degree and plant height) are 1.240-18.666 among six populations, there are extremely significant differences among sixteen traits except of pedicel diameter and plant height. Coefficients of variation (CV) of all traits are 5.937%-26.349%, in which, average value of CV of labellum length

收稿日期: 2011-11-02

基金项目: 浙江省重大科技攻关项目(2010C02004-2)

作者简介: 李全健(1985—),男,吉林梅河口人,硕士研究生,主要从事植物遗传多样性研究。

①通信作者 E-mail: tmin115@163.com

is the smallest (6.119%) and that of bract width is the biggest (24.124%). And CV values of all traits among populations are 8.139%–13.663% with an average CV value of 11.143%, in which, average value of CV of Lihengtang population is the biggest and that of Baojianshi population is the smallest. The average of diversity index of all traits is 1.977, in which, diversity index of ground diameter is the highest (2.045) and that of bract width is the lowest (1.663). According to UPGMA cluster analysis result, six populations can be classified into three groups, one group includes populations of Qingliangfeng, Damingshan, Laodian and Baojianshi, other two groups are Hongshedong and Lihengtang, respectively. In which, genetic distance between populations of Qingliangfeng and Damingshan is the closest. There are significant or highly significant correlations among different traits. But only ground diameter has a significant positive correlation with available potassium content in soil ($r=0.854$), ovary length and length and width of labellum have significant positive correlations with total phosphorus content in soil ($r=0.916, 0.854$ and 0.914) and plant exhibition degree has a significant positive correlation with pH in soil ($r=0.810$), while other traits have no significant correlations with geographical factors (longitude, latitude and altitude) and soil nutrient factors. It is suggested that there are rich variation and diversity of phenotypic traits among *C. japonicum* populations, which relates to contents of available potassium and total phosphorus and pH in habitat soil.

Key words: *Cypripedium japonicum* Thunb. population; phenotypic trait; coefficient of variation; geographical factor; soil nutrient; correlation

表型多样性是遗传多样性与环境多样性的综合体现^[1],是基因和所处生态环境共同作用的结果,是生物遗传变异的表征^[2]。而天然居群的表型变异具有适应和进化上的意义,是人工驯化和遗传育种研究的基础,也是揭示种群适应性的有效途径之一^[3]。尽管同工酶标记和分子标记已被广泛应用于植物遗传多样性的研究^[4],但表型性状的研究仍然是遗传多样性研究最基本的方法和途径^[5]。近些年来,国内外许多学者通过表型变异的方法对峨眉蔷薇(*Rosa omeiensis* Rolfe)^[6]、木香花(*Rosa banksiae* Ait.)^[7]、岷江百合(*Lilium regale* Wilson)^[8]、蒙古栎(*Quercus mongolica* Fisch. ex Ledeb.)^[9]、云杉(*Picea asperata* Mast.)^[10–12]、御谷〔*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.〕^[13]、*Clarkia unguiculata* Lindl.^[14]等多种植物进行了研究,表明利用表型性状研究居群遗传多样性仍然是重要而有效的。

扇脉杓兰(*Cypripedium japonicum* Thunb.)是兰科(Orchidaceae)杓兰属(*Cypripedium* L.)植物,叶片扇形,通常2枚,近对生,极罕有3枚叶互生;花序顶生;生于海拔1 000~2 000 m的灌木林下、林缘、溪谷旁、荫蔽山坡等较为潮湿的环境中;主要分布于陕西、甘肃、安徽、浙江、江西、湖南、湖北、四川和贵州等地^[15]。其花形独特、花色鲜艳,观赏价值较高;并有活血调经、祛风止痛等药用功效^[16]。人为采挖和环境变化致使其野生居群大量减少,有的遗传资源已丢失,且处于濒危状态。目前对扇脉杓兰的研究报道较

少,仅见其果实发育及传粉生态学方面的初步研究结果^[17–18],尚无有关其居群遗传多样性的研究报道。作者以浙江省内的6个扇脉杓兰野生居群为研究对象,对居群的表型变异规律及其与环境因子的相关性进行分析,以期了解扇脉杓兰的遗传变异程度、揭示其变异规律,为该种的科学保护和合理利用提供参考依据。

1 材料和方法

1.1 居群概况与样株选择

在浙江省临安市选取老殿、宝剑石、红蛇洞、清凉峰、大明山和里横塘6个扇脉杓兰野生居群为研究对象,基本涵盖了浙江省内该种的天然分布区,各居群的地理概况见表1。若居群中植株总数多于30株则选取开花与无花植株各15株为样株,共30株;总数不足30株时全部选为样株。样株为生长正常、无严

表1 浙江省6个扇脉杓兰野生居群的自然概况

Table 1 Natural status of six wild populations of *Cypripedium japonicum* Thunb. in Zhejiang Province

居群 Population	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔/m Altitude	坡度/(°) Slope
老殿 Laodian	E119°26'	N30°20'	1 102	10–20
宝剑石 Baojianshi	E119°25'	N30°21'	1 120	30–45
红蛇洞 Hongshedong	E119°25'	N30°20'	1 053	45–60
清凉峰 Qingliangfeng	E118°52'	N30°07'	1 407	20–30
大明山 Damingshan	E118°59'	N30°03'	1 225	25–35
里横塘 Lihengtang	E119°26'	N30°20'	1 183	30–45

重缺陷、无明显病虫害的植株。

老殿居群的伴生植物有:小叶白辛树(*Pterostyrax corymbosus* Sieb. et Zucc.)、灯台树[*Bothrocaryum controversum* (Hemsl.) Pojark.]、柳杉(*Cryptomeria fortunei* Hooibrenk ex Otto et Dietr.)、牛蒡(*Arctium lappa* L.)、驴蹄草(*Caltha palustris* L.)、庐山楼梯草(*Elatostema stewardii* Merr.)等。宝剑石居群的伴生植物有:箬竹[*Indocalamus tessellatus* (Munro) Keng f.]、色木槭(*Acer mono* Maxim.)、短尾柯[*Lithocarpus brevicaudatus* (Skan) Hay.]、灯台树、延龄草(*Trillium tschonoskii* Maxim.)、楼梯草(*Elatostema involucratum* Franch. et Sav.)、牛蒡、毛叶山桐子(*Idesia polycarpa* var. *vestita* Diels)、毛茛(*Ranunculus japonicus* Thunb.)以及一些蕨类植物等。红蛇洞居群的伴生植物有:驴蹄草、箬竹、天目朴树(*Celtis chekiangensis* Cheng)、交让木(*Daphniphyllum macropodum* Miq.)、柳杉、短尾柯、六角莲[*Dysosma pleiantha* (Hance) Woods.]、华重楼[*Paris polyphylla* var. *chinensis* (Franch.) H. Hara]、倒卵叶瑞香(*Daphne grueningiana* H. Winkl.)等。清凉峰居群的伴生植物有:灯台树、头状四照花[*Dendrobenthamia capitata* (Wall.) Hutch.]、黄山栎(*Quercus stewardii* Rehd.)、中国绣球(*Hydrangea chinensis* Maxim.)、野蔷薇(*Rosa multiflora* Thunb.)等。大明山居群的伴生植物有:头状四照花、天目紫茎(*Stewartia gemmata* Chien et Cheng)、青钱柳[*Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinsk.]、蓝果树(*Nyssa sinensis* Oliv.)、菝葜(*Smilax china* L.)、华空木(*Stephanandra chinensis* Hance)、野蔷薇、盾叶莓(*Rubus peltatus* Maxim.)、榉树[*Zelkova serrata* (Thunb.) Makino]等。里横塘居群的伴生植物有:色木槭、鸢尾(*Iris tectorum* Maxim.)、掌叶复盆子(*Rubus*

chingii Hu.)、宝铎草(*Disporum sessile* D. Don)、金钱松[*Pseudolarix amabilis* (Nelson) Rehd.]、灯台树、箬竹、延龄草等。

1.2 方法

1.2.1 性状测定方法 用GPS测定并记录各居群的经度、纬度和海拔等地理因子;用直尺测量植株展度(两叶片尖端之间的长度)和高度(有花植株为地表到植株最高处,一般为中萼片顶端;无花植株为叶片最高处),精度0.01 cm;其余性状均用游标卡尺测量,精度0.01 mm;各性状的长度均为基部到顶端的长度,宽度则为最宽处,花梗直径则为中央直径。选择成龄叶进行测定并标记叶片:下部叶片记为下叶,上部叶片记为上叶。测量性状包括:下叶长、下叶宽、下叶长/宽比、上叶长、上叶宽、上叶长/宽比、中萼片长、中萼片宽、苞片长、苞片宽、子房长、花梗直径、花梗长、唇瓣长、唇瓣宽、植株展度、株高和地径。

1.2.2 土壤养分含量测定 在每个样地内确定3个样点,挖取距地表15 cm左右根系附近土壤,将各样地内3个样点的土壤样品混合,自然风干后研磨、备用。按照LY/T 1256—1999、LY/T 1232—1999、LY/T 1228—1999、LY/T 1233—1999、LY/T 1236—1999、LY/T 1229—1999、LY/T 1237—1999和LY/T 1239—1999的方法分析土壤中全氮、全磷、全钾、有效磷、速效钾、水解性氮和土壤有机质含量及pH,由国家林业局经济林产品质量检验检测中心(杭州)完成。各样地土壤养分含量的测定结果见表2。

1.3 统计分析方法

对测定数据进行统计分析,并应用方差分析和变异系数(CV)、多样性指数(Shannon-Weaver信息指数 H')等指标分析各表型性状的变异规律;利用相关分析、聚类分析(UPGMA法)对各表型性状间以及表

表2 浙江省扇脉杓兰居群土壤养分含量的测定结果

Table 2 Determination result of soil nutrient content of *Cypripedium japonicum* Thunb. populations in Zhejiang Province

居群 Population	土壤养分含量/g·kg ⁻¹ Content of soil nutrients							pH
	全氮 TN	全磷 TP	全钾 TK	有效磷 AP	速效钾 AK	水解性氮 HN	有机质 Organic matter	
老殿 Laodian	8.05	0.74	2.77	0.007 05	0.117	0.334	69.40	4.81
宝剑石 Baojianshi	6.16	0.65	5.68	0.001 60	0.202	0.715	104.00	4.50
红蛇洞 Hongshedong	9.08	0.86	5.67	0.000 93	0.254	0.646	141.00	5.35
清凉峰 Qingliangfeng	10.66	0.86	5.53	0.000 73	0.194	0.594	138.00	4.45
大明山 Damingshan	6.06	0.50	4.31	0.001 85	0.142	0.508	88.50	4.72
里横塘 Lihengtang	5.83	0.36	3.21	0.000 96	0.159	0.349	92.20	5.38
平均值 Average	7.64	0.66	4.53	0.002 19	0.178	0.524	105.52	4.87

型性状与地理-土壤养分因子的相关性进行分析,并建立不同居群间的亲缘关系树系图。所有统计分析均采用 Excel 2003 和 SPSS 18.0 软件完成。

2 结果和分析

2.1 扇脉杓兰居群表型性状的变异特征

扇脉杓兰 6 个居群 18 个表型性状的测定结果见

表 3。红蛇洞居群植株的地径较粗,叶片、子房、唇瓣和萼片等也较大;清凉峰居群植株的地径相对稍细,叶较小,但株高最高。整体上看,6 个居群子房和唇瓣的变异规律与叶片基本一致。各居群植株的下叶均大于上叶,下叶和上叶的长/宽比变异趋势基本一致,均为老殿居群最大、清凉峰居群最小,且上叶长/宽比大于下叶,说明上叶的形状比下叶圆。中萼片宽和子房长的变异趋势一致,均以红蛇洞居群最大、大明山

表 3 浙江省 6 个扇脉杓兰居群表型性状测定值及方差分析结果 ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 3 Determination values and variance analysis result of phenotypic traits of six populations of *Cypripedium japonicum* Thunb. in Zhejiang Province ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

居群	Population	GD/mm	L _L /mm	W _L /mm	R _L	L _U /mm	W _U /mm
老殿	Laodian	6.01±0.85	138.63±13.37	171.31±17.62	0.81±0.05	142.19±12.75	154.42±20.22
宝剑石	Baojianshi	5.22±0.91	127.36±10.58	166.10±17.52	0.77±0.08	129.80±12.49	156.98±16.52
红蛇洞	Hongshedong	6.19±0.64	145.67±9.09	200.68±21.94	0.73±0.09	148.33±15.49	175.43±23.94
清凉峰	Qingliangfeng	5.34±0.42	121.80±11.11	168.80±13.47	0.72±0.04	120.51±15.38	151.44±7.84
大明山	Damingshan	5.59±0.57	150.36±13.64	199.52±23.00	0.76±0.06	154.58±11.13	182.65±19.58
里横塘	Lihengtang	5.34±0.58	139.16±19.53	193.53±32.46	0.72±0.06	140.33±19.95	174.92±34.35
MS _i		2.458	1 367.441	3 673.998	0.019	1 739.755	2 175.210
MS _e		0.536	164.014	441.911	0.005	206.918	461.963
F		4.583	8.337	8.314	4.119	8.408	4.709
Sig.		0.001	0.000	0.000	0.002	0.000	0.001
居群	Population	R _U	L _{MS} /mm	W _{MS} /mm	L _B /mm	W _B /mm	L _O /mm
老殿	Laodian	0.93±0.07	56.64±3.52	19.57±1.63	48.81±6.87	21.21±4.96	32.60±3.82
宝剑石	Baojianshi	0.83±0.08	59.64±2.40	23.44±0.56	51.48±2.10	20.30±0.47	33.30±1.91
红蛇洞	Hongshedong	0.85±0.08	63.98±5.03	20.94±2.74	63.98±6.65	44.80±8.43	36.79±1.88
清凉峰	Qingliangfeng	0.79±0.07	55.48±3.87	22.66±0.99	57.16±6.57	39.84±19.34	28.66±3.38
大明山	Damingshan	0.85±0.07	44.12±1.81	18.57±0.54	53.76±5.77	26.97±8.07	24.66±2.85
里横塘	Lihengtang	0.81±0.07	51.45±5.45	23.84±2.19	48.37±7.15	20.08±4.37	32.31±5.20
MS _i		0.036	321.175	34.425	268.718	817.494	119.955
MS _e		0.006	17.206	3.233	42.568	83.248	13.757
F		6.283	18.666	10.648	6.313	9.820	8.719
Sig.		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
居群	Population	D _P /mm	L _P /mm	L _{LB} /mm	W _{LB} /mm	E/cm	H/cm
老殿	Laodian	2.82±0.29	122.38±15.12	55.56±3.20	32.88±3.94	22.73±24.61	29.54±69.44
宝剑石	Baojianshi	3.09±0.00	94.55±10.98	59.64±0.27	37.87±0.95	22.88±22.74	26.95±72.60
红蛇洞	Hongshedong	2.99±0.22	93.05±16.37	59.43±3.48	38.40±3.58	26.27±23.21	30.04±64.45
清凉峰	Qingliangfeng	2.69±0.16	99.73±16.26	53.70±2.98	32.14±4.29	24.09±28.56	32.27±14.87
大明山	Damingshan	2.75±0.38	129.94±12.29	44.04±4.13	23.32±4.64	28.42±26.35	31.05±62.06
里横塘	Lihengtang	2.68±0.36	117.04±14.60	55.76±5.42	36.08±4.38	24.67±27.66	31.83±69.47
MS _i		0.145	1 581.366	209.172	205.688	6 320.548	5 209.427
MS _e		0.086	217.593	15.574	16.537	623.832	4 199.924
F		1.686	7.268	13.431	12.438	10.132	1.240
Sig.		0.162	0.000	0.000	0.000	0.000	0.299

¹⁾ GD: 地径 Ground diameter; L_L: 下叶长 Length of lower leaf; W_L: 下叶宽 Width of lower leaf; R_L: 下叶长/宽比 Ratio of length to width of lower leaf; L_U: 上叶长 Length of upper leaf; W_U: 上叶宽 Width of upper leaf; R_U: 上叶长/宽比 Ratio of length to width of upper leaf; L_{MS}: 中萼片长 Length of middle sepal; W_{MS}: 中萼片宽 Width of middle sepal; L_B: 苞片长 Length of bract; W_B: 苞片宽 Width of bract; L_O: 子房长 Length of ovary; D_P: 花梗直径 Diameter of pedicel; L_P: 花梗长 Length of pedicel; L_{LB}: 唇瓣长 Length of labellum; W_{LB}: 唇瓣宽 Width of labellum; E: 植株展度 Plant exhibition degree; H: 株高 Plant height. MS_i: 居群间均方 Mean square among populations; MS_e: 居群内均方 Mean square within populations.

居群最小;唇瓣长和宽的变异趋势基本一致。在野外调查过程中发现红蛇洞居群有 2 株样株具有 3 枚叶片,而且第 3 枚叶片小于前 2 枚叶片,这 2 株样株的叶片长和宽分别为 119.65 和 97.85 mm、100.08 和 44.23 mm。说明野生居群中单株叶片数存在差异。

由各性状的均方差异和 F 检验结果可见(表 3): 6 个居群 18 个测量性状的 F 值为 1.240 ~ 18.666,除花梗直径和株高差异不显著外,其余 16 个性状的差异均达到极显著水平。差异性性状占总体的 88.89%,说明不同居群间存在明显差异。

2.2 扇脉杓兰居群表型分化特征

2.2.1 变异系数分析 表型性状离散程度可用变异系数表示,变异系数越大,表明性状测量值的离散程度越大。由表 4 可知:各居群表型性状的变异程度因性状而异,唇瓣长的平均变异系数最小(6.119%)、苞片宽的平均变异系数最大(24.124%),说明唇瓣长的稳定性高于其他表型性状,而苞片宽的稳定性最小且变异比其他性状显著。同一性状在不同居群中存在

较大差异,苞片宽的变异系数为清凉峰居群最大、宝剑石居群最小;下叶宽的变异系数为里横塘居群最大、清凉峰居群最小。同一居群的不同性状也存在差异,在老殿居群中变异系数最大的是株高、最小的是唇瓣长;而在清凉峰居群中变异系数最大的是苞片宽、最小的是中萼片宽。

根据居群间同一性状的变异系数可见(表 4):不同表型性状的平均变异程度由大至小依次为苞片宽、株高、花梗长、上叶宽、地径、唇瓣宽、下叶宽、苞片长、上叶长、子房长、植株展度、下叶长、上叶长/宽比、花梗直径、下叶长/宽比、中萼片宽、中萼片长、唇瓣长。根据各居群 18 个表型性状的平均变异系数可见:里横塘居群 18 个性状的平均变异系数最大、宝剑石居群最小;各居群按 18 个表型性状的平均变异系数由大到小依次排序为里横塘居群、老殿居群、大明山居群、红蛇洞居群、清凉峰居群、宝剑石居群。

2.2.2 多样性指数分析 采用 Shannon-Weaver 信息指数(H')分析扇脉杓兰各居群表型性状的多样性

表 4 浙江省 6 个扇脉杓兰居群表型性状的变异系数
Table 4 Coefficient of variation of phenotypic traits of six populations of *Cypripedium japonicum* Thunb. in Zhejiang Province

居群 Population	各性状的变异系数/% ¹⁾				Coefficient of variation of different phenotypic traits ¹⁾					
	GD	L _L	W _L	R _L	L _U	W _U	R _U	L _{MS}	W _{MS}	L _B
老殿 Laodian	14.093	9.642	10.284	6.501	8.925	13.096	7.368	6.221	8.338	14.076
宝剑石 Baojianshi	17.508	8.302	10.547	10.154	9.623	10.525	9.915	4.016	2.368	4.070
红蛇洞 Hongshedong	10.286	6.241	10.931	12.021	10.445	13.644	9.446	7.860	13.089	10.392
清凉峰 Qingliangfeng	7.933	9.118	7.980	5.563	12.764	5.176	8.912	6.980	4.351	11.499
大明山 Damingshan	10.208	9.071	11.528	7.364	7.199	10.723	8.683	4.097	2.928	10.735
里横塘 Lihengtang	10.842	14.034	16.771	8.302	14.215	19.641	9.055	10.588	9.207	14.792
平均值 Average	11.812	9.402	11.340	8.317	10.529	12.134	8.896	6.627	6.714	10.927
CV/% ²⁾	11.786	9.394	11.455	8.303	10.424	12.297	8.867	6.663	6.706	10.852

居群 Population	各性状的变异系数/% ¹⁾				Coefficient of variation of different phenotypic traits ¹⁾					
	W _B	L _O	D _P	L _P	L _{LB}	W _{LB}	E	H	平均值	Average
老殿 Laodian	23.398	11.733	10.190	12.351	5.760	11.983	10.830	23.509	11.572	
宝剑石 Baojianshi	2.315	5.722	0.000	11.613	0.453	2.496	9.938	26.940	8.139	
红蛇洞 Hongshedong	18.812	5.111	7.325	17.593	5.847	9.334	8.832	21.453	11.037	
清凉峰 Qingliangfeng	48.537	11.810	5.832	16.304	5.554	13.348	11.856	4.608	11.007	
大明山 Damingshan	29.908	11.562	13.962	9.458	9.380	19.881	9.271	19.992	11.442	
里横塘 Lihengtang	21.775	16.082	13.271	12.471	9.723	12.130	11.213	21.824	13.663	
平均值 Average	24.124	10.336	8.430	13.298	6.119	11.529	10.324	19.721		
CV/% ²⁾	26.349	10.112	8.246	13.037	5.937	10.849	10.273	19.424	11.165	

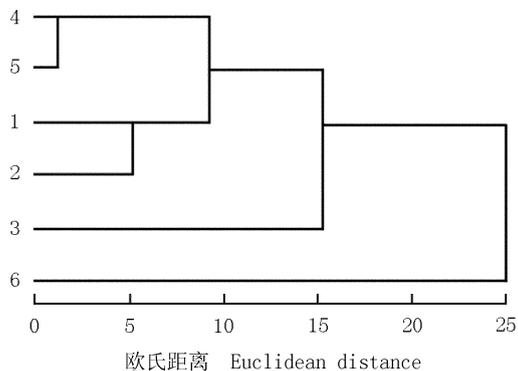
¹⁾GD: 地径 Ground diameter; L_L: 下叶长 Length of lower leaf; W_L: 下叶宽 Width of lower leaf; R_L: 下叶长/宽比 Ratio of length to width of lower leaf; L_U: 上叶长 Length of upper leaf; W_U: 上叶宽 Width of upper leaf; R_U: 上叶长/宽比 Ratio of length to width of upper leaf; L_{MS}: 中萼片长 Length of middle sepal; W_{MS}: 中萼片宽 Width of middle sepal; L_B: 苞片长 Length of bract; W_B: 苞片宽 Width of bract; L_O: 子房长 Length of ovary; D_P: 花梗直径 Diameter of pedicel; L_P: 花梗长 Length of pedicel; L_{LB}: 唇瓣长 Length of labellum; W_{LB}: 唇瓣宽 Width of labellum; E: 植株展度 Plant exhibition degree; H: 株高 Plant height.

²⁾居群间同一性状的变异系数 Coefficient of variation of same traits among populations.

指数,其中地径的多样性指数最大($H' = 2.045$),苞片宽的多样性指数最小($H' = 1.663$),各表型性状的 H' 平均值为 1.977。18 个表型性状的 H' 值差异明显,按 H' 值的大小依次排序为地径(2.045)、上叶长(2.033)、植株展度(2.031)、株高(2.029)、下叶长(2.026)、上叶宽(2.026)、上叶长/宽比(2.026)、花梗直径(2.012)、中萼片宽(2.005)、唇瓣长(1.992)、下叶宽(1.988)、花梗长(1.988)、下叶长/宽比(1.987)、子房长(1.969)、中萼片长(1.962)、唇瓣宽(1.941)、苞片长(1.859)、苞片宽(1.663)。根据野外实际观察结果以及各性状的测量值可见,在居群内或居群间地径和上叶长的差异均较大,因此其多样性指数也较高。

2.3 扇脉杓兰居群的聚类分析

根据表型性状的分析结果对 6 个扇脉杓兰居群进行聚类分析,结果见图 1。在欧氏距离 10 处可以把 6 个居群分为 3 组:第 1 组包括清凉峰、大明山、老殿和宝剑石居群;第 2 组和第 3 组分别仅包含红蛇洞居群和里横塘居群。其中,清凉峰和大明山居群的遗传距离最小,老殿和宝剑石居群的遗传距离也较为接近,说明清凉峰与大明山居群间的分化程度最小,老殿和宝剑石居群间的分化程度也较小;而红蛇洞及里横塘居群与前述 4 个居群的分化程度均较大。



1. 老殿 Laodian; 2. 宝剑石 Baojishe; 3. 红蛇洞 Hongshedong; 4. 清凉峰 Qingliangfeng; 5. 大明山 Damingshan; 6. 里横塘 Lihengtang.

图 1 基于表型性状分析结果的 6 个扇脉杓兰居群 UPGMA 聚类图
Fig. 1 UPGMA clustering dendrogram of six populations of *Cypripedium japonicum* Thunb. based on phenotypic traits analysis

2.4 扇脉杓兰居群表型性状和地理-土壤养分因子的相关性分析

2.4.1 表型性状间的相关性分析 对扇脉杓兰 18 个表型性状的平均值进行相关性分析,结果表明:下

叶长与上叶长、下叶宽与上叶宽极显著正相关,相关系数分别为 0.993 和 0.960;并且下叶长分别与下叶宽、上叶宽显著正相关,相关系数分别为 0.861 和 0.858;下叶长/宽比与上叶长/宽比显著正相关($r = 0.872$)。苞片长与苞片宽极显著正相关($r = 0.952$)。中萼片长分别与子房长、唇瓣长和唇瓣宽显著正相关,相关系数分别为 0.889、0.910 和 0.857;中萼片长与花梗直径显著负相关($r = -0.835$)。子房长分别与花梗长和花梗直径极显著正相关,相关系数分别为 0.931 和 0.929;花梗长和花梗直径极显著正相关($r = 0.984$)。植株展度分别与下叶宽和上叶宽显著正相关,相关系数分别为 0.854 和 0.866。株高和花梗长显著负相关($r = -0.911$)。

2.4.2 表型性状与地理-土壤养分因子间的相关性分析 对扇脉杓兰 18 个表型性状的平均值与居群的地理-土壤养分因子进行相关性分析,结果见表 5。由表 5 可见:地径与速效钾含量显著正相关($r = 0.854$);子房长、唇瓣长和宽与全磷含量显著正相关,相关系数分别为 0.916、0.854 和 0.914;植株展度与土壤 pH 显著正相关($r = 0.810$)。中萼片宽、苞片宽和唇瓣宽均与经纬度负相关,唇瓣长与经度负相关,其余各性状与经、纬度均正相关;多数性状与海拔负相关、少数正相关。虽然各表型性状与经纬度和海拔存在正、负相关性,但均不显著。另外,多数性状与土壤养分因子正相关,少数则负相关。

由表 5 还可见:中萼片长和宽、苞片长和宽、子房长、唇瓣长和宽等 7 个花部性状中有 3 个与某项地理-土壤因子存在显著相关性,而另外 11 个营养器官性状中只有地径和植株展度与某项地理-土壤因子存在显著相关性,说明环境对扇脉杓兰繁殖器官的影响大于对营养器官的影响。由各地理-土壤养分因子对各性状的相关系数绝对值之和^[7,16]可知,各地理-土壤养分因子对扇脉杓兰表型性状的影响程度有一定差异,按相关系数绝对值之和的大小依次排序为有效磷含量、土壤 pH、速效钾含量、纬度、海拔、全磷含量、土壤有机质含量、经度、全氮含量、水解性氮含量、全钾含量。

3 讨论和结论

表型性状具有稳定性和变异性,是植物基因型和所处生态环境的综合体现^[19]。植物居群间的变异程

表5 扇脉杓兰居群表型性状与地理-土壤养分因子的相关系数

Table 5 Correlation coefficients between phenotypic traits of *Cypripedium japonicum* Thunb. populations and geographical-soil nutrient factors

性状 ²⁾ Trait ²⁾	相关系数 ¹⁾ Correlation coefficient ¹⁾										
	Long	Lat	Alt	TN	TP	TK	AP	AK	HN	OM	pH
GD	0.515	0.545	-0.559	-0.066	0.191	0.625	-0.488	0.854 *	0.672	0.531	0.367
L _L	0.404	0.551	-0.088	0.117	-0.018	0.235	-0.559	0.610	0.148	0.520	0.559
W _L	0.036	0.158	0.154	0.377	0.105	0.267	-0.653	0.619	0.095	0.697	0.603
R _L	0.667	0.707	-0.479	-0.450	-0.145	-0.072	0.314	-0.082	0.107	-0.394	-0.192
L _U	0.486	0.634	-0.152	0.073	-0.029	0.199	-0.489	0.577	0.133	0.455	0.543
W _U	0.090	0.226	0.195	0.361	0.030	0.040	-0.484	0.414	-0.135	0.526	0.605
R _U	0.655	0.737	-0.489	-0.323	-0.014	0.326	-0.117	0.396	0.463	0.049	-0.034
L _{MS}	0.211	0.166	-0.560	0.305	0.670	0.327	0.345	0.340	0.403	0.173	-0.050
W _{MS}	-0.643	-0.604	0.450	0.632	0.565	-0.023	0.424	-0.296	-0.088	0.027	-0.528
L _B	0.210	0.043	-0.510	-0.008	0.049	0.100	-0.200	0.408	0.065	0.261	0.718
W _B	-0.007	-0.194	-0.352	-0.091	-0.034	0.223	-0.349	0.396	0.194	0.284	0.547
L _O	0.118	0.216	-0.319	0.632	0.916 *	0.534	0.190	0.549	0.551	0.479	-0.161
D _P	0.700	0.676	-0.757	0.161	0.410	-0.275	0.706	0.003	-0.198	-0.215	0.308
L _P	0.008	0.135	0.386	-0.309	-0.487	0.050	-0.486	0.014	0.033	0.034	-0.095
L _{LB}	-0.028	0.019	-0.243	0.563	0.854 *	0.350	0.425	0.239	0.392	0.222	-0.350
W _{LB}	-0.128	-0.054	-0.123	0.696	0.914 *	0.371	0.365	0.275	0.373	0.326	-0.330
E	0.157	0.145	0.025	-0.067	-0.382	-0.146	-0.530	0.251	-0.282	0.271	0.810 *
H	-0.698	-0.709	0.640	-0.024	-0.281	0.384	-0.826 *	0.223	0.267	0.431	-0.051

¹⁾ Long: 经度 Longitude; Lat: 纬度 Latitude; Alt: 海拔 Altitude; TN: 土壤全氮含量 Content of total nitrogen in soil; TP: 土壤全磷含量 Content of total phosphorus in soil; TK: 土壤全钾含量 Content of total potassium in soil; AP: 土壤有效磷含量 Content of available phosphorus in soil; AK: 土壤速效钾含量 Content of available potassium in soil; HN: 土壤水解性氮含量 Content of hydrolyzable nitrogen in soil; OM: 土壤有机质含量 Content of organic matter in soil; pH: 土壤 pH pH in soil. *: $P < 0.05$.

²⁾ GD: 地径 Ground diameter; L_L: 下叶长 Length of lower leaf; W_L: 下叶宽 Width of lower leaf; R_L: 下叶长/宽比 Ratio of length to width of lower leaf; L_U: 上叶长 Length of upper leaf; W_U: 上叶宽 Width of upper leaf; R_U: 上叶长/宽比 Ratio of length to width of upper leaf; L_{MS}: 中萼片长 Length of middle sepal; W_{MS}: 中萼片宽 Width of middle sepal; L_B: 苞片长 Length of bract; W_B: 苞片宽 Width of bract; L_O: 子房长 Length of ovary; D_P: 花梗直径 Diameter of pedicel; L_P: 花梗长 Length of pedicel; L_{LB}: 唇瓣长 Length of labellum; W_{LB}: 唇瓣宽 Width of labellum; E: 植株展度 Plant exhibition degree; H: 株高 Plant height.

度能反映该种类对不同环境的适应程度,变异系数越大,适应的环境条件越广^[9,20]。研究表明:扇脉杓兰表型性状变异包含居群间和居群内的变异,供试的6个野生居群的18个表型性状中有16个性状的变异达到显著水平,占统计性状的88.89%;18个表型性状的方差和变异系数均有较大差异,说明扇脉杓兰的各表型性状均存在明显的遗传变异。同一性状在不同居群内的变异幅度也有差异,说明不同区域的环境异质性导致了居群表型变异的差异。扇脉杓兰6个居群间各表型性状的变异系数较大,为8.139%~13.663%,平均变异系数为11.143%与川西云杉(*Picea balfouriana* Mast.) ($CV=15.96%$)^[20]和青钱柳($CV=14.19%$)^[21]居群表型性状的变异系数相当,低于紫丁香(*Syringa oblata* Lindl.) ($CV=20.73%$)^[1]和岷江百合($CV=30.46%$)^[8]居群表型性状的变异系数,也说明扇脉杓兰表型性状存在着丰富的居群间和居群内变异。

由扇脉杓兰居群各表型性状的 Shannon-Weaver

指数(H')来看,各性状的平均多样性指数为1.977,高于茶条槭(*Acer ginnala* Maxim.) ($H'=1.599$)^[22]、蚕豆(*Vicia faba* L.) ($H'=0.829$)^[23]和大豆[*Glycine max* (L.) Merr.] ($H'=1.482$)^[24];地径的多样性指数最大、苞片宽的多样性指数最小,各性状多样性指数的变化幅度为1.663~2.045,也说明扇脉杓兰居群具有较高的遗传多样性。

扇脉杓兰各表型性状与地理-土壤养分因子的相关性不高,仅地径和速效钾含量显著正相关($r=0.854$);子房长、唇瓣长和宽与全磷含量显著正相关,相关系数分别为0.916、0.854和0.914;植株展度和土壤pH显著正相关($r=0.810$)。而茶条槭的17个表型性状与土壤中的全氮、全钾、水解性氮、速效钾、有效磷、土壤有机质含量和含水量均存在显著或极显著的正、负相关性^[22],说明物种之间的差异可能与其生境中的土壤肥力或各居群生境的异质性有关。扇脉杓兰各居群土壤中水解性氮和速效钾含量的平均值分别为524.33和178.00 mg·kg⁻¹,均高于茶条槭

(分别为 388.08 和 113.8 mg · kg⁻¹)^[22] 和蚕豆^[23] (分别为 93.0 和 150.0 mg · kg⁻¹)。而从野外调查情况来看,扇脉杓兰居群生活的土壤均为灰黑色,并且较松软、潮湿,说明其生长土壤的肥力较高。当土壤满足植物生长所必需的营养成分时,植株各表型性状之间的差异较小。扇脉杓兰的部分表型性状与土壤中的速效钾含量、全磷含量和 pH 有显著相关性,说明土壤中这 3 个因子的差异是形成扇脉杓兰表型性状多样性的原因之一。

供试的 6 个扇脉杓兰野生居群的海拔为 1 053 ~ 1 407 m,变化幅度相对较小,这也可能是其多数表型性状与海拔相关性不高的原因之一。另外,扇脉杓兰野生居群表型多样性与其所处的生境密切相关,自然选择的压力越大,表型的多样性就越丰富。在野生状态下,扇脉杓兰居群的伴生植物类型多样,有的居群生活在乔木、灌木和草本组成的混交林中,有的则生长于只有灌木和草本组成的灌草层中。此外,坡向和坡度也各不相同,呈现多样化生境。由于扇脉杓兰长期生活在多样化的环境中,对生境的适应使其表型性状呈现丰富的多样性。但是,对于扇脉杓兰表型变异是否受基因控制或受控制的程度尚不知晓,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 明 军, 顾万春. 紫丁香表型多样性研究[J]. 林业科学研究, 2006, 19(2): 199-204.
- [2] 葛 颖, 洪德元. 遗传多样性及其检测方法[M]//中国科学院生物多样性委员会. 生物多样性研究的原理和方法. 北京: 中国科学技术出版社, 1994: 123-140.
- [3] 曾 杰, 郑海水, 甘四明, 等. 广西西南桦天然居群的表型变异[J]. 林业科学, 2005, 41(2): 59-65.
- [4] STAUB J E, SEROYEN F C, MCCREIGHT J D. Genetic diversity in cucumber (*Cucumis sativus* L.) III: an evaluation of India germplasm[J]. Genetic Resources and Crop Evolution, 1997, 44: 315-326.
- [5] 陈 光, 杜雄明. 我国陆地棉基础种质表型性状的遗传多样性分析[J]. 西北植物学报, 2006, 26(8): 1649-1656.
- [6] 周宁宁, 唐开学, 邱显钦, 等. 云南峨眉蔷薇天然群体的表型多样性[J]. 西南农业学报, 2009, 22(6): 1732-1736.
- [7] 陈 玲, 张 颖, 邱显钦, 等. 云南木香花天然居群的表型多样性研究[J]. 云南大学学报, 2010, 32(2): 243-248.
- [8] 张彩霞, 明 军, 刘 春, 等. 岷江百合天然群体的表型多样性[J]. 园艺学报, 2008, 35(8): 1183-1188.
- [9] 李文英, 顾万春. 蒙古栎天然群体表型多样性研究[J]. 林业科学, 2005, 41(1): 49-56.
- [10] 罗建勋, 左 林. 云杉人工林材性变异的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2001, 29(3): 29-34.
- [11] 罗建勋, 李晓清, 孙 鹏, 等. 云杉天然群体表型变异研究[J]. 东北林业大学学报, 2003, 31(1): 9-11.
- [12] 罗建勋, 顾万春. 云杉表型与同工酶遗传多样性研究进展[J]. 林业科学研究, 2004, 17(2): 255-262.
- [13] STICH B, HAUSSMANN B I G, PASAM R, et al. Patterns of molecular and phenotypic diversity in pearl millet [*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.] from West and Central Africa and their relation to geographical and environmental parameters[J]. BMC Plant Biology, 2010, 10: 216-225.
- [14] CHRISTINE S J, MONICA A G. Variation among populations of *Clarkia unguiculata* (Onagraceae) along altitudinal and latitudinal gradients[J]. American Journal of Botany, 1999, 86(3): 333-343.
- [15] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 第十七卷[M]. 北京: 科学出版社, 1997: 42.
- [16] 浙江植物志编委会. 浙江植物志: 第七卷[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1993: 490.
- [17] 刘 芬, 田 敏, 王彩霞, 等. 扇脉杓兰果实生长动态及胚胎发育过程观察[J]. 植物资源与环境学报, 2012, 21(1): 28-35.
- [18] 孙海琴. 独花兰和扇脉杓兰的传粉生态学[D]. 北京: 中国科学院植物研究所, 2005: 54-75.
- [19] 杨 继. 植物种内形态变异的机制及其研究方法[J]. 武汉植物学研究, 1991, 9(2): 185-195.
- [20] 辜云杰, 罗建勋, 吴远伟, 等. 川西云杉天然种群表型多样性[J]. 植物生态学报, 2009, 33(2): 291-301.
- [21] 余诚棋, 杨万霞, 方升佐, 等. 青钱柳天然群体种子性状表型多样性[J]. 应用生态学报, 2009, 20(10): 2351-2356.
- [22] 王 丹, 庞春华, 高亚卉, 等. 茶条槭不同海拔种群的表型多样性[J]. 云南植物研究, 2010, 32(2): 117-125.
- [23] 刘玉皎, 宗绪晓. 青海蚕豆种质资源形态多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(1): 79-83.
- [24] 张礼凤, 李 伟, 王彩洁, 等. 山东大豆种质资源形态多样性分析[J]. 植物遗传资源学报, 2006, 7(4): 450-454.

(责任编辑: 惠 红)