

带叶兜兰 5 个野生居群表型多样性分析

王文晓¹, 程浩², 徐玉凤¹, 葛红², 杨树华², 赵鑫², 武荣花¹, 贾瑞冬²

(¹河南农业大学林学院, 郑州 450002; ²中国农业科学院蔬菜花卉研究所, 北京 100081)

摘要: 以云南、广西、贵州的 5 个带叶兜兰主要野生居群分布区为研究对象, 采用巢式方差分析、表型分化系数、主成分分析、相关分析、聚类分析等分析方法, 对带叶兜兰的 18 个性状的表型多样性进行分析。结果显示: 带叶兜兰表型性状在居群间表现出显著或极显著差异, 居群内变异较少。带叶兜兰平均表型分化系数为 75.18%, 居群间的变异是居群多样性的主要来源; 18 个表型性状变异系数平均值的变化范围为 6.36%~18.51%, 离散程度较高。主成分分析表明, 造成带叶兜兰表型变异的主要来源是株高、子房长、花茎高、最大叶长、花横径和合萼片长 6 个性状。Pearson 相关分析表明, 株高、合萼片宽和中萼片宽等与大部分性状均呈显著或极显著正相关; 18 个性状中只有合萼片长与地理因子极显著相关。聚类分析结果表明, 5 个居群大致依据地理距离聚为 3 个类群。本研究发现, 带叶兜兰居群遗传多样性较高, 居群间的变异远高于居群内的变异, 因此, 应尽可能保护更多的野生居群, 在原地保护的基础上建立种质资源保存圃、库, 进行人工繁殖和育种, 以利用促保护。

关键词: 带叶兜兰; 天然居群; 表型多样性

Phenotypic Diversity Analysis of Five Wild *Paphiopedilum hirsutissimum* Populations

WANG Wen-xiao¹, CHENG Hao², XU Yu-feng¹, GE Hong², YANG Shu-hua², ZHAO Xin²,
WU Rong-hua¹, JIA Rui-dong²

(¹Forestry College, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002;

²Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In this study, we investigated the phenotypic diversity of 18 characters on five main natural populations of *Paphiopedilum hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein that were collected from three provinces Yunnan, Guangxi and Guizhou in China. The statistical methods used included nested variance analysis, coefficient of variation, correlation analysis, principal component analysis (PCA) and cluster analysis. The results revealed significant difference at most phenotypic traits among populations if compared to that within populations. The mean phenotypic differentiation coefficient (V_{ST}) was 75.18%, indicating that the population diversity was largely contributed by the variation among populations. The average variation coefficient of the 18 phenotypic traits was variable from 6.36%–18.51%, with a higher degree of dispersion. PCA showed that plant height, length of ovary, scape height, length of maximum leaf, diameter of flower and length of synsepal were the main sources of phenotypic variation. Pearson correlation analysis showed that plant height, width of synsepal and width of dorsal sepal were significantly or extremely significantly positively correlated with the majority of plant traits, whereas only the length of synsepal was extremely significantly correlated with geographic factors.

收稿日期: 2020-01-09 修回日期: 2020-02-11 网络出版日期: 2020-02-26

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200109006>

第一作者研究方向为园林植物与观赏园艺, E-mail: 329088280@qq.com

通信作者: 武荣花, 研究方向为园林植物与观赏园艺, E-mail: Wuronghua06@126.com

贾瑞冬, 研究方向为观赏植物种质资源与遗传育种, E-mail: jiaruidong@caas.cn

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31301810); 国家公益 (农业) 行业科研专项 (201203071); 农业部园艺作物生物学与种质创制重点实验室项目 (20130422)

Foundation projects: National Natural Science Foundation (31301810), National Public Welfare (Agriculture) Scientific Research Special Project (201203071), Ministry of Agriculture Horticultural Crop Biology and Germplasm Creation Key Laboratory Project (20130422)

Cluster analysis revealed three groups from the five populations, which could be explained by the geographic distribution. This study found that populations of *Paphiopedilum hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein have high genetic diversity, and the variation between populations is much higher than that within the population. The phenotypic diversity indicates that wild *Paphiopedilum hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein populations should be protected as much as possible. Moreover, it is recommended that germplasm is preserved in nurseries and libraries in addition to *in-situ* conservation, and that an artificial reproduction system is established enhance our conservation efficiency.

Key words: *Paphiopedilum hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein; natural population; phenotypic diversity

物种种质资源的遗传多样性研究是育种工作的基础,对资源多样性的调查和评价有助于了解其稳定性和进化^[1]。遗传多样性是在种质资源保护与评价中十分重要的指标^[2],表型多样性是了解生物遗传变异的关键线索,同时也是生物多样性研究不可或缺的内容^[3]。由于植物的表型性状是其自身基因与生存的外部环境共同作用而形成的,所以表型性状遗传多样性在很大程度上能够反映同物种之间的相似性和差异性,与分子标记的遗传多样性研究相比,表型性状是对植物基因的全面表达^[4-5]。通过有效的采样、合理的数学统计方法,采用遗传上较稳定的、不易受环境影响的性状,可以揭示群体的遗传规律、变异大小^[6]。利用表型性状来研究群体的遗传多样性更直观和快速,是目前种质资源研究的重要组成部分^[7]。Gadissa 等^[8]对 174 份马铃薯资源的 28 个表型性状进行分析,发现种群间性状存在极显著差异,环境对性状变异的影响最小。Félicien 等^[9]对 297 份花生资源的 19 个表型性状进行分析,发现育种效率可能与单株种子量和开花 50% 的天数这两个因素有关,并发掘出可培育高产品种的 10 个亲本。Iraklis 等^[10]对 49 份野豌豆资源的 24 个表型性状进行分析,发现倒伏敏感性与植株高度呈负相关,花期与产量性状呈负相关。Larbi 等^[11]通过对 25 份野豌豆资源进行表型多样性分析,挖掘出具有适宜非热带干旱地区生产潜力的 10 个品种。表型多样性分析也应用于水果作物的分类^[12-13],Ahmed 等^[14]对梨的表型性状进行了综合分析,发现果皮颜色受冠层形状、叶密度等性状的影响,60 份梨资源通过聚类分析聚为 3 类。另外,表型多样性分析也广泛应用于宽刺蔷薇^[15](*Rosa platyacantha* Schrenk)、滇牡丹^[16](*Paeonia delavayi* Franch.) 等观赏植物上。

由于野生种群少、个体数量少、分布区域有限,兜兰属 (*Paphiopedilum* Pfitzer) 所有种均被列入

野生动植物濒危物种国际贸易公约 (CITES) 附录 I 的保护范围^[17]。兰科野生居群的表型多样性研究中,孙海芹等^[18]对分布于庐山、新宁和神农架 3 地的濒危植物独花兰 (*Changnienia amoena* S. S. Chien) 12 个自然居群的形态变异进行了研究,发现花部器官的变异性比营养器官低,营养器官之间、花部器官之间,营养器官与花部器官之间均存在较高的相关性,12 个居群的聚类结果与居群间所处地理位置符合。李宗艳等^[19]对滇东南地区 7 个硬叶兜兰居群的 18 个表型数量性状进行研究,发现 77.98% 表型变异存在于居群内,7 个居群基于欧氏距离聚类可分为 2 大类。周妍慧等^[20]对云南地区 3 个野生杏黄兜兰 (*Paphiopedilum armeniacum* S. C. Chen & F. Y. Liu) 居群的 19 个表型性状进行多样性分析,发现杏黄兜兰在居群内和居群间均存在丰富的表型性状变异,且居群间的表型分化略大于居群内的表型分化。

带叶兜兰 (*Paphiopedilum hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein) 为兰科兜兰属地生或半附生植物,主要分布于我国广西西部至北部、贵州西南部和云南东南部,被列为国家重点保护野生植物名录 (一级,第二批,讨论稿)。近年来发现野生带叶兜兰居群植株数量分布不均匀且不连续,呈现破碎化现象^[21]。本课题组经过多年的野外资源调查,在云南、广西、贵州 3 个省或自治区,找到 5 个带叶兜兰野生居群。我们还同时对杏黄兜兰和硬叶兜兰等其他几种兜兰进行了野生资源野外调查,跟杏黄兜兰^[20]和硬叶兜兰^[22]相比,带叶兜兰有其自己的形态特征和生长特性。在野外调查过程中,我们在雅长居群发现有零星的由种子萌发的植株,对大丛的带叶兜兰观察发现,带叶兜兰没有走茎,易萌蘖,生长势强,一丛可能是一株。我国带叶兜兰的研究主要集中在无菌萌发^[23]、离体培养^[24]、菌根研究^[25],对其表型多样性的研究未见报道。本研究以云南、

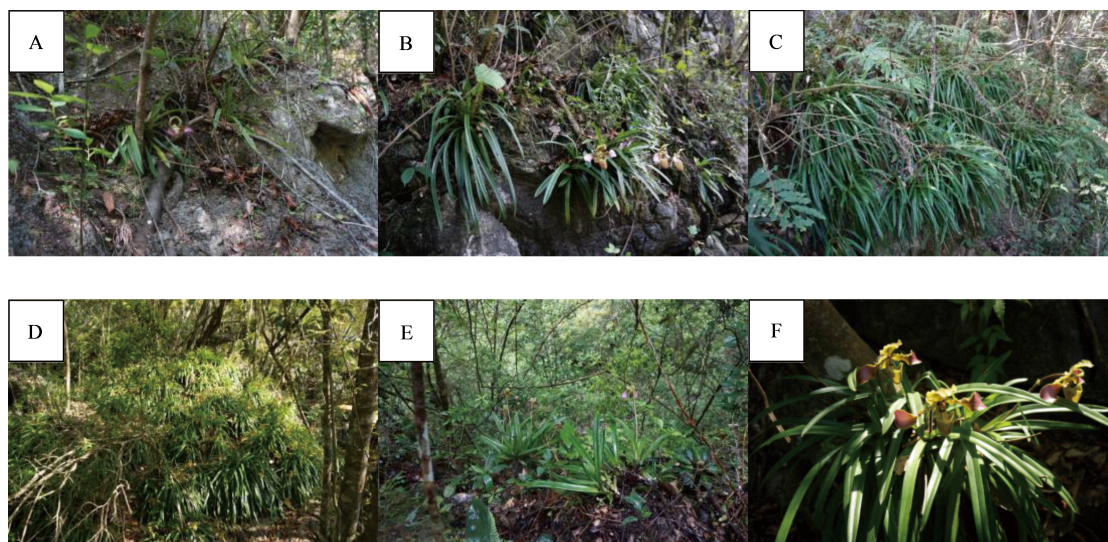
广西、贵州的 5 个野生带叶兜兰为对象,进行表型性状的调查,并对数据进行分析,意在阐述带叶兜兰野生居群的表型变异规律,为今后野生带叶兜兰资源的利用与保护提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 居群选择与材料采集

结合带叶兜兰分布区域与野外实际调查情况,本课题组于 2016-2018 年选取了云南马关县斗嘴乡 (YDZ 居群)、云南西畴县法斗乡 (YXC 居群)、贵州

安龙县万峰湖镇 (QWF 居群)、广西乐业县雅长乡 (GYC 居群)、广西环江县木论乡 (GML 居群) 共 5 个野生带叶兜兰居群进行调查,居群的地理位置见表 1、居群野外生境见图 1。参照周妍慧等^[20]的采样方法,从每个居群随机选择 10 个生长有带叶兜兰的约 1 m² 样方,测量每个样方内 3 株开花植物的表型,样本植株需生长正常、无明显病虫害,带叶兜兰株 (丛) 间水平距离为 5 倍株高以上,并采用 GPS 定位 (表 1),出于对野生带叶兜兰居群的保护,经纬度数据已经隐去。



A: 云南马关县斗嘴乡居群; B: 云南西畴县法斗乡居群; C: 贵州安龙县万峰湖镇居群;
D: 广西乐业县雅长乡居群; E: 广西环江县木论乡居群; F: 野生带叶兜兰开花株
A: Population YDZ, B: Population YXC, C: Population QWF, D: Population GYC, E: Population GML,
F: *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein flowering plants

图 1 云南、贵州、广西地区带叶兜兰野生居群生境及开花株

Fig. 1 Wild habitat and flowering plant of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein populations in Yunnan, Guizhou and Guangxi

表 1 带叶兜兰 5 个居群的地理位置和生境

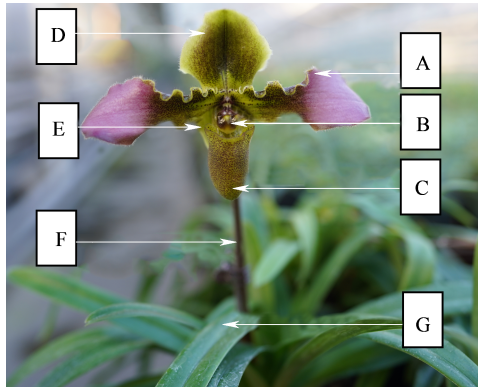
Table 1 The geographical sites and habitat of five *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein populations

居群代号 Population code	样品采集点 Collection sites	生境 Habitat	海拔 (m) Altitude
YDZ 居群 Population YDZ	云南省马关县斗嘴乡	石灰岩, 灌木丛	1400
YXC 居群 Population YXC	云南省西畴县法斗乡	石灰岩, 灌木丛	1000
QWF 居群 Population QWF	贵州省安龙县万峰湖镇	长有苔藓的峭壁	1300
GYC 居群 Population GYC	广西壮族自治区乐业县雅长乡	灌木丛	1000
GML 居群 Population GML	广西壮族自治区环江县木论乡	灌木丛	700

选择具有代表性、遗传相对稳定、易于获得和测定的表型性状 (图 2), 包括株高、最大叶长、最大叶宽、叶片数、花茎高、花横径、花纵径、唇瓣横径、唇瓣纵径、合萼片长、合萼片宽、中萼片长、中萼片宽、退化雄蕊横径、退化雄蕊纵径、子房长、花瓣长和花瓣宽, 共计 18 个性状。株高、最大叶长、最大叶宽和花茎高 4 个指标采用钢尺测量, 其他指标采用精度为 0.1 mm 的游标卡尺测量, 植株表型的测定均选取盛花期进行。

1.2 统计方法

使用 SAS 9.4 软件对 5 个居群的 18 个表型性状数据进行巢式方差分析、变异系数多重比较、方差分量百分比计算、主成分分析、性状之间的 Pearson 相关分析和聚类分析。巢式方差分析的线性模型



A: 花瓣; B: 退化雄蕊; C: 唇瓣; D: 中萼片; E: 合萼片; F: 花茎; G: 叶片
A: petal, B: false stamen, C: lip, D: dorsal sepal, E: synsepal, F: scape, G: leaf

图 2 带叶兜兰花器官及叶片示意图

Fig. 2 Schematic diagram of floral organs and leaves of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein

为: $Y_{ijk} = \mu + S_i + T_{(i)j} + e_{(ij)k}$, 式中: Y_{ijk} 为第 i 个居群第 j 个单株第 k 个观测值; μ 为总均值; S_i 为居

表 2 带叶兜兰居群表型性状巢氏方差分析结果

Table 2 Nested ANOVA analysis at the phenotypic traits of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein

表型性状 Phenotype trait	YDZ 居群 Population YDZ	YXC 居群 Population YXC	QWF 居群 Population QWF	GYC 居群 Population GYC	GML 居群 Population GML	平均值 Average	F 值 F values	
							居群间 Among populations	居群内 Within populations
株高 PH	33.73 ± 3.77 b	33.77 ± 4.53 b	30.21 ± 5.55 c	36.95 ± 5.66 a	33.56 ± 3.10 b	33.64	5.03**	2.14**
最大叶长 LML	36.47 ± 6.99 bc	41.92 ± 8.81 a	30.82 ± 5.50 d	35.78 ± 6.73 c	39.97 ± 6.27 ab	36.99	8.91**	1.45
最大叶宽 WML	1.92 ± 0.33 bc	2.07 ± 0.25 a	1.89 ± 0.26 c	2.03 ± 0.27 ab	2.03 ± 0.23 ab	1.99	2.97*	0.82
叶片数 LN	4.60 ± 0.89 b	4.87 ± 1.11 ab	5.07 ± 0.58 a	5.03 ± 0.61 a	4.47 ± 0.73 b	4.81	3.27*	0.98
花茎高 SH	24.05 ± 2.44 a	23.56 ± 3.13 a	18.28 ± 4.17 b	23.58 ± 4.03 a	22.94 ± 2.51 a	22.48	11.49**	3.28**
花横径 DF	11.24 ± 0.91 b	10.82 ± 1.44 b	11.63 ± 0.96 ab	11.24 ± 2.97 b	12.43 ± 1.19 a	11.47	3.99**	0.97
花纵径 VF	7.03 ± 0.95 b	7.07 ± 0.78 b	7.77 ± 1.06 a	7.02 ± 0.70 b	7.21 ± 0.78 b	7.22	3.62*	1.20
唇瓣横径 DL	2.28 ± 0.27 c	2.09 ± 0.37 d	2.28 ± 0.29 c	2.70 ± 0.27 a	2.47 ± 0.30 b	2.37	20.69**	0.78
唇瓣纵径 VL	4.24 ± 0.25 b	4.18 ± 0.28 b	4.55 ± 0.22 a	4.12 ± 0.27 b	4.65 ± 0.36 a	4.35	30.28**	0.63
合萼片长 LS	3.51 ± 0.24 b	3.63 ± 0.40 b	3.57 ± 0.53 b	3.67 ± 0.43 b	3.92 ± 0.57 a	3.66	5.67**	0.57
合萼片宽 WS	2.68 ± 0.42 ab	2.53 ± 0.36 b	2.70 ± 0.38 ab	2.83 ± 0.32 a	2.80 ± 0.42 a	2.71	2.66*	1.14
中萼片长 LDS	4.16 ± 0.29 abc	4.10 ± 0.45 bc	3.96 ± 0.53 c	4.22 ± 0.40 ab	4.33 ± 0.38 a	4.16	2.54	1.51*
中萼片宽 WDS	3.74 ± 0.38 a	3.41 ± 0.51 b	3.53 ± 0.47 ab	3.74 ± 0.33 a	3.50 ± 0.30 b	3.58	3.92**	1.00
退化雄蕊横径 DFS	1.10 ± 0.16 a	0.86 ± 0.19 b	0.89 ± 0.13 b	0.89 ± 0.08 b	0.92 ± 0.09 b	0.93	14.66**	0.98
退化雄蕊纵径 VFS	1.06 ± 0.13 c	0.99 ± 0.24 c	1.23 ± 0.18 b	1.34 ± 0.18 a	1.06 ± 0.06 c	1.14	11.14**	3.27**
子房长 LO	6.30 ± 1.05 b	6.29 ± 1.16 b	5.35 ± 0.63 b	7.02 ± 0.89 a	6.03 ± 1.11 c	6.20	12.33**	0.87
花瓣长 LP	6.37 ± 0.23 ab	6.13 ± 0.54 b	6.29 ± 0.55 ab	6.58 ± 0.55 a	6.46 ± 1.20 ab	6.37	1.53	1.32
花瓣宽 WP	2.44 ± 0.28 a	2.25 ± 0.20 b	2.29 ± 0.31 b	2.45 ± 0.22 a	2.24 ± 0.23 b	2.34	3.99**	1.42

表中数值为表型性状数据的平均值 ± 标准差, a, b, c 为 Duncan's grouping 表示值, 字母相同者为互不显著, ** 表示极显著差异 $P < 0.01$, * 表示显著差异 $P < 0.05$ 。下同

The values are the mean ± std of phenotypic traits data, a, b and c represent Duncan's grouping value and the difference among populations with same letter is not significant. ** means significance at the 0.01 probability level while, * means significance at the 0.05 probability level. PH: Plant height, LML: Length of maximum leaf, WML: Width of maximum leaf, LN: Leaf number, SH: Scape height, DF: Diameter of flower, VF: Vertical of flower, DL: Diameter of lip, VL: Vertical of lip, LS: Length of synsepal, WS: Width of synsepal, LDS: Length of dorsal sepal, WDS: Width of dorsal sepal, DFS: Diameter of false stamen, VFS: Vertical of false stamen, LO: Length of ovary, LP: Length of petal, WP: Width of petal. The same as below

群效应(固定); $T_{(i)j}$ 为居群内单株效应(随机); $e_{(ij)k}$ 为试验误差^[24]。应用 Excel 计算表型变异系数 $CV(\%) = \sigma / \mu \times 100\%$, 式中: σ 为标准差, μ 为平均值。之后对各表型性状的变异系数进行正弦变换, 进行变异系数多重比较^[17]。表型分化系数 $V_{st}(\%) = [(\delta_{vs}^2) / (\delta_{vs}^2 + \delta_s^2)] \times 100\%$, 式中 δ_{vs}^2 为居群间方差分量, δ_s^2 为居群内方差分量, 表型分化系数 (V_{ST}) 是居群间方差分量占遗传总变异(居群间和居群内方差分量之和)的百分比, 反映居群间的表型分化状况^[26]。聚类分析采用 SAS 9.4 软件的 Cluster 程序最长距离法(Complete Method)进行分析。

2 结果与分析

2.1 带叶兜兰表型性状在居群间与居群内的差异

对带叶兜兰 5 个居群的 18 个性状采用巢式方差分析和 Duncan's 多重比较(表 2)。比较居群性状间的平均值可知, 云南西畴县法斗乡居群(YXC

居群)营养性状中最大叶长、最大叶宽平均值最大,但花部性状中花横径、唇瓣横径、合萼片宽、中萼片宽、退化雄蕊横径、退化雄蕊纵径、子房长与花瓣长平均值均最小,与其他居群相比叶片面积较大、整体花部宽度较小。广西乐业县雅长乡居群株高平均值最大,花部性状中花纵径、唇瓣纵径平均值最小,唇瓣横径、合萼片宽、中萼片宽、退化雄蕊纵径、子房长、花瓣长与花瓣宽平均值均最大。

F 值的大小表现了结果可靠性的高低,在一定程度上也反映了不同表型性状在居群内和居群间差异程度的不同^[27]。在居群间,唇瓣横径、唇瓣纵径变异值较大,分别为 20.69、30.28,花瓣长变异值最小,为 1.53,除了中萼片长和花瓣长这 2 个表型性状不存在显著差异外,其余 16 个性状在居群间都存在显著或极显著差异,其中唇瓣横径和唇瓣纵径、退化雄蕊横径和退化雄蕊纵径等 12 个性状达到极显著差异水平,居群间大部分表型性状存在丰富

的变异。在居群内,花茎高变异值最大,为 3.28,合萼片长变异值最小,为 0.57,只有株高、退化雄蕊纵径、花茎高、中萼片长 4 个性状存在显著或极显著差异,其中株高、退化雄蕊纵径、花茎高的变异水平达到极显著水平。株高、花茎高、退化雄蕊纵径在居群间和居群内均表现极显著差异,表型丰富。18 个表型性状均表现出居群间的变异程度大于居群内的变异程度,说明带叶兜兰居群间表型变异大于居群内变异。

2.2 带叶兜兰的表型性状变异特征

变异系数(CV)表示表型性状值的离散程度,变异系数值越大,则表型性状值离散程度越大,个体差异越大,反之则越小^[28]。带叶兜兰居群间与居群内每一性状均存在不同程度的变异,但变异系数均值均不超过 0.2(表 3)。18 个表型性状中,均值最大的是最大叶长,为 18.51%,说明其受环境影响产生的变异幅度较大;变异系数均值最小的是唇

表 3 带叶兜兰天然居群的表型性状变异系数及性状间变异系数多重比较

Table 3 Variation coefficient of phenotype traits in the populations and its Duncan's test of CV among populations and phenotype traits of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Steinf. (%)

表型性状 Phenotype trait	变异系数 CV					平均 Average
	YDZ 居群 Population YDZ	YXC 居群 Population YXC	QWF 居群 Population QWF	GYC 居群 Population GYC	GML 居群 Population GML	
株高 PH	11.17	13.42	18.37	15.33	9.24	13.50 ABCD
最大叶长 LML	19.17	21.03	17.84	18.79	15.69	18.51 A
最大叶宽 WML	17.28	12.08	13.62	13.50	11.44	13.58 ABCD
叶片数 LN	19.44	22.72	11.51	12.22	16.35	16.45 AB
花茎高 SH	10.13	13.30	22.84	17.08	10.95	14.86 ABCD
花横径 DF	8.09	13.34	8.22	26.44	9.55	13.13 ABCD
花纵径 VF	13.56	11.01	13.58	9.94	10.88	11.79 BCD
唇瓣横径 DL	11.79	17.52	12.64	10.10	12.15	12.84 ABCD
唇瓣纵径 VL	5.89	6.70	4.82	6.57	7.82	6.36 E
合萼片长 LS	6.80	10.95	14.86	11.80	14.64	11.81 BCD
合萼片宽 WS	15.53	14.24	13.96	11.18	15.15	14.01 ABCD
中萼片长 LDS	7.01	11.02	13.42	9.46	8.68	9.92 CDE
中萼片宽 WDS	10.12	15.00	13.32	8.93	8.55	11.19 BCD
退化雄蕊横径 DFS	14.66	22.04	14.43	9.24	9.72	14.02 ABCD
退化雄蕊纵径 VFS	11.97	24.51	14.35	13.39	5.86	14.02 ABCD
子房长 LO	16.73	18.42	11.81	12.69	18.42	15.61 ABC
花瓣长 LP	3.60	8.80	8.68	8.42	18.54	9.61 DE
花瓣宽 WP	11.42	8.70	13.69	9.13	10.26	10.64 BCDE
平均值 Mean	11.91	14.71	13.44	12.46	11.88	12.88
多重比较 Duncan's	A	A	A	A	A	

A、B、C、D、E 为 Duncan grouping 表示值,字母相同者表示互相间差异不显著

A, B, C, D and E represent Duncan's grouping value and the difference among populations with same letter is not significant

瓣纵径,为 6.36%,说明其受环境影响产生的变异幅度小,在遗传上稳定性较高。在 5 个带叶兜兰居群中,根据 18 个表型性状得到的变异系数均值为 11.88%~14.71%,表型性状在居群间变异程度不大。以 5 个居群的 18 个表型性状的变异系数进行多重比较,结果表明变异系数在居群间差异性不显著,说明虽然各居群生长环境存在差异,但表型性状的变异程度没有太大差别;变异系数在表型性状间存在显著差异,说明在同样的生长环境下,不同表型性状对环境的适应能力有所不同。

2.3 带叶兜兰野生居群的表型分化

对巢氏设计方差分量组成比进一步分析,得到各方差分量百分比和表型分化系数(表 4)。表型性状在居群间和居群内的平均方差分量百分比分别为

表 4 带叶兜兰居群表型性状的方差分量与居群间表型分化系数

Table 4 Variance component and phenotype differentiation coefficient of morphological traits among and within population of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stejn (%)

表型性状 Phenotype Trait	方差分量百分比 Percentage of variance portion		表型分化系数 Phenotype of differentiation coefficient
	居群间 Among populations	居群内 Within populations	
	株高 PH	17.25	
最大叶长 LML	24.94	9.79	71.81
最大叶宽 WML	5.13	0	100.00
叶片数 LN	6.88	0	100.00
花茎高 SH	39.45	26.13	60.16
花横径 DF	8.86	0	100.00
花纵径 VF	8.96	5.69	61.16
唇瓣横径 DL	33.80	0	100.00
唇瓣纵径 VL	38.14	0	100.00
合萼片长 LS	8.11	0	100.00
合萼片宽 WS	5.68	4.11	58.02
中萼片长 LDS	6.22	13.64	31.32
中萼片宽 WDS	8.87	0	100.00
退化雄蕊横径 DFS	30.93	0	100.00
退化雄蕊纵径 VFS	38.60	26.43	59.36
子房长 LO	24.70	0	100.00
花瓣长 LP	2.06	9.34	18.05
花瓣宽 WP	11.04	10.93	50.25
平均 Mean	17.76	7.16	75.18

17.76% 和 7.16%,表明带叶兜兰居群间的分化程度大于居群内的分化程度。带叶兜兰 18 个表型性状的表型分化系数变异幅度为 18.05%~100.00%,表型分化系数最小的是花瓣长(18.05%),说明花瓣长在居群间的分化差异非常小,与其他性状相比较为稳定,这与前面表型变异结果一致。带叶兜兰居群间 18 个表型性状的表型分化系数平均值为 75.18%,居群表型变异在居群间和居群内的贡献分别为 75.18% 和 24.82%,表明引起带叶兜兰居群表型变异的主要来源是居群间的变异。

2.4 带叶兜兰表型性状的主成分分析

对带叶兜兰的 5 个居群 18 个表型性状进行主成分分析(表 5)。由表中信息可知,前 3 个主成分的累积贡献率达 86.66%,前 3 个主成分基本可以代表原始因子所包含的所有信息。

表 5 前 3 个主成分因子载荷量及特征值

Table 5 component score coefficient and eigenvalue of first 3 ingredient

表型性状 Phenotype trait	主成分 1 Principal component 1	主成分 2 Principal component 2	主成分 3 Principal component 3
株高 PH	0.373	-0.032	-0.062
最大叶长 LML	0.147	-0.422	0.035
最大叶宽 WML	0.195	-0.305	0.059
叶片数 LN	-0.099	0.224	-0.228
花茎高 SH	0.320	-0.227	-0.089
花横径 DF	-0.032	0.059	0.473
花纵径 VF	-0.331	0.202	0.123
唇瓣横径 DL	0.262	0.258	0.203
唇瓣纵径 VL	-0.207	0.028	0.402
合萼片长 LS	0.097	-0.147	0.433
合萼片宽 WS	0.189	0.283	0.301
中萼片长 LDS	0.299	-0.128	0.272
中萼片宽 WDS	0.238	0.303	-0.121
退化雄蕊横径 DFS	0.087	0.065	-0.098
退化雄蕊纵径 VFS	0.081	0.399	0.008
子房长 LO	0.364	-0.029	-0.133
花瓣长 LP	0.270	0.262	0.212
花瓣宽 WP	0.238	0.268	-0.228
特征值 Eigenvalue	6.644	4.768	4.188
贡献率(%) Proportion	36.91	26.49	23.26
累积贡献率(%) Cumulative	36.91	63.4	86.66

第 1 主成分的累积贡献率为 36.91%, 在第 1 主成分中, 株高的载荷量最大, 为 0.373, 其次是子房长与花茎高, 分别为 0.364 与 0.320; 第 2 主成分中, 最大叶长载荷量最大, 为 0.422; 第 3 主成分中, 载荷量最大的是花横径与合萼片长, 分别为 0.473 与 0.433。前 3 个主成分主要反映带叶兜兰的表型性状差异表现在株高、子房长、花茎高、最大叶长、花横径和合萼片长。因此, 主成分分析结果表明, 带叶兜兰居群表型多样性是营养性状和生殖性状共同作用的结果。

2.5 带叶兜兰表型性状的相关性分析

对带叶兜兰 18 个表型性状进行相关性分析 (表 6), 株高与除叶片数、花横径、花纵径、唇瓣纵径外的其他 13 个性状皆为极显著正相关, 其中与花茎高相关系数达到最大值, 为 0.814; 叶片数与最大叶宽、花瓣宽呈显著正相关, 与最大叶长、花茎高呈极显著负相关, 与其他 13 个性状相关性都不显著; 中萼片宽与除叶片数、中萼片长外的 15 个性状呈显著或极显著正相关; 中萼片长与株高、合萼片长等 10 个性状呈显著或极显著正相关; 子房长与株高等 10 个性状呈显著或极显著正相关。上述结果表明, 株高与最大叶长、最大叶宽等营养性状, 与合萼片长、合萼片宽、花瓣长、花瓣宽等早期生殖生长性状有正相关性, 中萼片宽、子房长和花瓣长等生殖性状之间有较强的正相关性。即营养性状之间、生殖性状之间和营养性状与生殖性状之间存在着不同程度的相关性, 可为今后带叶兜兰的遗传育种提供参考。

2.6 带叶兜兰表型性状与地理因子的相关性分析

带叶兜兰 18 个表型性状与采样地的经度、纬度、海拔进行相关性分析 (表 7), 其中只有合萼片长与纬度呈极显著正相关, 相关系数为 0.942; 合萼片长与海拔呈极显著负相关, 相关系数为 0.944。说明合萼片长由南到北逐渐增大, 随海拔升高逐渐变小。其余 17 个性状与经度、纬度、海拔这 3 个地理因子之间相关性不显著。综合来看, 经、纬度与海拔对带叶兜兰的性状变异影响不大。

2.7 带叶兜兰居群的聚类分析

采用 SAS 9.4 软件上的最长距离聚类法对 5 个居群的 18 个性状的平均值进行 Q 型聚类分析。以欧氏距离 0.96 为阈值, 将带叶兜兰居群划分为 3 类 (图 3)。其中, 云南马关县斗嘴乡居群与云南西畴县法斗乡居群归为第 I 类群, 马关县地理位置紧邻西畴县, 带叶兜兰生境皆为石灰岩与灌木丛, 聚类结果与它们同属毗邻的地理位置和生长环境符合, 居群存在很大相似性, 都在山的近基部位置。广西乐

业县雅长乡居群与广西环江县木论乡居群归为第 II 类群, 两地虽地理位置相隔较远, 海拔也不相同, 但带叶兜兰生境相似皆为灌木丛, 分布在山的近基部。贵州安龙县万峰湖镇居群为第 III 类群, 单独为 1 个类群, 调查发现, 这个居群分布在山的顶部, 生长在有苔藓的峭壁上。5 个野生带叶兜兰居群聚类分析结果显示, 带叶兜兰地理位置相近、生境相似的居群聚为一类。

3 讨论

表型反映居群遗传因素与环境互作的复杂性及其适应环境压力的程度, 表型性状的多样来源于许多方面, 比如遗传上的差异使物种性状产生分化; 环境因子同样会使物种产生性状的分化, 从而适应环境的变化^[29]。我们选取云南、广西、贵州 3 地的 5 个野生带叶兜兰居群作为研究对象, 进行表型多样性分析, 这将为带叶兜兰遗传与环境互作研究、资源收集、保护与利用策略制定等提供重要依据。

巢式方差分析结果显示, 带叶兜兰居群的大部分表型性状在居群间存在显著或极显著差异, 居群内性状大多稳定。其中退化雄蕊纵径在居群间和居群内都存在极显著差异, 兜兰通过唇瓣和退化雄蕊, 引诱传粉者陷入唇瓣, 从而达到传粉目的^[27], 退化雄蕊纵径的变异与吸引授粉有关, 不同大小的退化雄蕊能吸引不同体型大小的昆虫来授粉。带叶兜兰表型性状的平均表型分化系数为 75.18%, 高于硬叶兜兰^[19] (*Paphiopedilum micranthum* Tang & Wang) 的 22.02%、杏黄兜兰^[20] (*Paphiopedilum armeniacum* S. C. Chen & F. Y. Liu) 的 53.02%、疏花蔷薇^[27] (*Rosa laxa* Retz.) 的 41.84%、蕙兰^[28] (*Cymbidium faberi* Rolfe) 的 26.38%, 说明跟其他物种的野生居群相比, 带叶兜兰野生居群间变异比居群内变异贡献更多, 这可能与植物的生长繁殖习性相关。调查中我们发现带叶兜兰有非常强的营养繁殖能力, 杏黄兜兰和硬叶兜兰是地生兰, 一般零星分布在草丛或灌木丛, 带叶兜兰是半附生兰, 一般成丛大片分布, 一丛可能来自于一株小苗, 在生长条件较好的地方甚至一丛可以达到数平米。杏黄兜兰和硬叶兜兰虽然都能通过走茎进行营养繁殖, 但营养繁殖能力远不及带叶兜兰, 这或许是导致居群中变异幅度小的原因, 而居群内变异程度低会导致其对环境变化的适应能力差, 这可能是导致带叶兜兰濒危的重要原因。

变异系数分析结果显示, 带叶兜兰的变异幅度为 6.36%~18.51%, 变异最小的是唇瓣纵径, 最大的

表 6 带叶兜兰表型性状间的 Pearson 相关分析
 Table 6 Pearson correlation analysis of phenotype traits of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein

表型性状 Phenotype traits	株高 PH	最大叶长 LML	最大叶宽 WML	叶片数 LN	花茎高 SH	花横径 DF	花纵径 VF	唇瓣 横径 DL	唇瓣 纵径 VL	合萼 片长 LS	合萼 片宽 WS	中萼片 长 LDS	中萼片 宽 WDS	退化雄蕊 横径 DFS	退化雄蕊 纵径 VFS	子房长 LO	花瓣长 LP
最大叶长 LML	0.637**																
最大叶宽 WML	0.314**	0.335**															
叶片数 LN	-0.010	-0.215**	0.172*														
花茎高 SH	0.814**	0.659**	0.328**	-0.220**													
花横径 DF	0.091	0.089	0.0234	-0.153	0.049												
花纵径 VF	0.113	0.162*	0.120	-0.113	0.032	0.188*											
唇瓣横径 DL	0.225**	-0.022	0.063	0.123	0.036	0.254*	0.246**										
唇瓣纵径 VL	-0.030	0.087	-0.013	-0.049	-0.078	0.266**	0.506**	0.234**									
合萼片长 LS	0.396**	0.337**	0.150	-0.066	0.337**	0.164*	0.324**	0.191*	0.364**								
合萼片宽 WS	0.271**	0.156	0.178*	-0.088	0.211*	0.263**	0.281**	0.217**	0.212**	0.273**							
中萼片长 LDS	0.496**	0.329**	0.214**	-0.113	0.448**	0.172*	0.410**	0.221**	0.346**	0.603**	0.316*						
中萼片宽 WDS	0.395**	0.196*	0.162*	-0.126	0.387**	0.217**	0.533**	0.330**	0.185*	0.368**	0.532*	0.477					
退化雄蕊 横径 DFS	0.220**	0.152	0.101	-0.126	0.331**	0.004	0.245**	0.111	0.240**	0.192*	0.307*	0.317	0.441*				
退化雄蕊 纵径 VFS	0.286**	-0.149	0.036	0.147	0.099	0.054	0.245**	0.412**	0.047	0.189*	0.254*	0.048	0.303*	0.156			
子房长 LO	0.495**	0.367**	0.184*	0.132	0.344**	0.162*	0.151	0.439**	0.096	0.138	0.164*	0.305	0.300*	0.144	0.104		
花瓣长 LP	0.270**	0.139	0.113	0.009	0.173*	0.338**	0.154	0.194*	0.104	0.081	0.312*	0.233	0.331*	0.036	0.110	0.213**	
花瓣宽 WP	0.340**	0.080	0.208*	0.171*	0.177*	0.096	0.126	0.257**	-0.017	0.040	0.301*	0.186	0.284*	0.303**	0.105	0.220**	0.359**

表 7 表型性状与地理因子的相关性分析

Table 7 Correlation analysis between phenotypic and geographical factors

表型性状 Phenotype trait	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Altitude
株高 PH	-0.054	0.312	-0.367
最大叶长 LML	-0.368	0.224	-0.623
最大叶宽 WML	0.026	0.442	-0.797
叶片数 LN	0.240	-0.333	0.331
花茎高 SH	-0.500	0.102	-0.292
花横径 DF	0.671	0.775	-0.494
花纵径 VF	0.487	-0.071	0.262
唇瓣横径 DL	0.649	0.681	-0.354
唇瓣纵径 VL	0.559	0.478	-0.279
合萼片长 LS	0.600	0.942**	-0.944**
合萼片宽 WS	0.728	0.735	-0.314
中萼片长 LDS	0.174	0.751	-0.710
中萼片宽 WDS	-0.082	-0.086	0.431
退化雄蕊横径 DFS	-0.561	-0.339	0.545
退化雄蕊纵径 VFS	0.625	0.2038	0.129
子房长 LO	-0.168	0.1678	-0.245
花瓣长 LP	0.542	0.641	-0.261
花瓣宽 WP	-0.226	-0.252	0.502

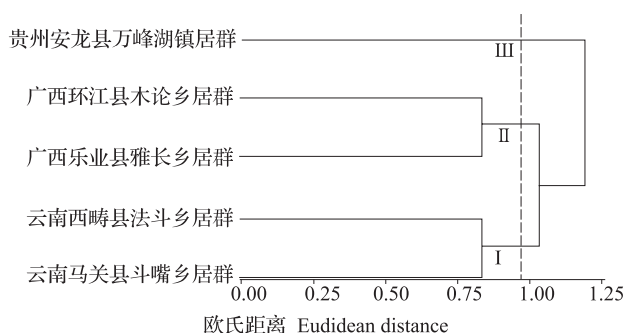


图 3 基于 18 个表型性状的带叶兜兰居群聚类树形图

Fig. 3 Clustering Tree Map of *P. hirsutissimum* (Lindl. ex Hook. f.) Stein population based on 18 phenotypic traits

是最大叶长,每一性状在不同居群中变异程度不同,总体而言,营养性状的变异程度高于大多数花部性状。Lorne 等^[30]认为两侧对称性花的植物其花部性状的变异性往往要小于营养性状的变异性,与本研究结论一致,原因可能是相比花部性状,营养性状更容易受环境因子变化的影响。带叶兜兰为虫媒传粉,花器官各构件作为一个整体对传粉昆虫有极显著的招引作用^[31],一般认为兰科植物欺骗性传粉机制和传粉者之间是一种单方向的演化关系,即传粉

者是欺骗性兰科植物多样化的重要驱动力^[32]。虫媒植物同一物种可能存在不同的授粉者,为保证生殖成功,产生花器官性状分化吸引主要传粉者,可能为花部器官分化的主要因素^[19]。

主成分分析表明,株高、子房长、花茎高、最大叶长、花横径和合萼片长等性状分化是造成带叶兜兰居群表型多样性的主要因素,此结果说明带叶兜兰居群表型多样性是营养性状和生殖性状共同作用的结果。兜兰在野外生境中与草丛及灌木丛伴生,株高、花茎高和叶片长度影响了光照面积大小,与其光合作用相关;花横径与合萼片长影响了对传粉昆虫的吸引力,与授粉相关。18 个表型性状的相关性分析表明,株高、最大叶长、最大叶宽等营养性状与早期生殖生长呈正相关,这与前人研究结果一致,在手参 (*Gymnadenia conopsea* (L.) R. Br.) 的表型分析结果显示花序长度、植株高度的正向选择与有利的生殖生长显著相关^[33]。花萼长、花瓣、萼片和唇瓣是花展示的重要参数,是吸引传粉者来访的重要形态性状^[18]。花部性状特征影响传粉者的选择偏好,一些食源性欺骗的植物花和花序的大小与花粉块移出和结实率成正相关^[34]。株高和最大叶长是营养生长的重要指标,不同居群生长环境有所区别,可能使植株较高、花茎较高、叶片较长的带叶兜兰更有利于生存。带叶兜兰表型性状与地理因子的相关性分析结果显示,经、纬度与海拔只对带叶兜兰居群的合萼片长有影响,与其余 17 个表型性状的变异相关性不显著,说明经度、纬度和海拔等地理因子并不是引起居群间变异的主要原因。

对 5 个带叶兜兰居群进行 Q 型聚类,居群可划分为 3 类。其中,云南马关县斗嘴乡居群与云南西畴县法斗乡居群归为第 I 类群,广西乐业县雅长乡居群与广西环江县木论乡居群归为第 II 类群,贵州安龙县万峰湖镇居群为第 III 类群,聚类结果与它们同属毗邻的地理位置和生长环境基本符合。表型性状受遗传、生长环境条件的共同影响,说明聚类结果与各居群的生长环境相似程度有关。在以往许多植物群落的研究中发现,植物的表型性状随生态地理因子的改变而出现一些规律性的变化^[35]。夏蜡梅 (*Sinocalycanthus chinensis* W. C. Cheng & S. Y. Chang) 的表型分析结果中显示,地理隔离是造成基因交流受阻,使花部性状在居群间分化的主导因素^[36]。调查中我们发现,带叶兜兰多分布在云南、贵州和广西的具有卡斯特地貌的山区,这种地貌往往形成一个单独的小山包,在贵州兴义的万峰湖镇

尤为典型,带叶兜兰生长在山的基部或近基部,这种特殊的地貌使得野生居群间进行基因交流比较困难。

带叶兜兰是兰科中最原始的类群之一,被誉为兜兰中的“美娇娘”^[24]。如今,由于保护意识的缺失,带叶兜兰大量野生植株被采挖,原生境受到严重破坏,导致其居群面临濒危状态,因此表型多样性的研究数据对提出并制定带叶兜兰野生居群的保护策略有重要意义。依据研究结果,带叶兜兰种质资源收集、保护策略应该是:基于群体间表型分化系数较高,大于群体内表型分化系数,所以应该尽量保护更多的野生居群,在保护更多居群的基础上,保护居群的完整性。兜兰属植物对环境的依赖性较强,对野生居群进行原地保护是最好的策略,我们调查的 5 个居群中有 2 个位于保护区内,这 2 个居群的面积、植株密度和生长情况都明显好于其他 3 个居群,因此要建立更多的自然保护区,以保护带叶兜兰的遗传多样性。另外,尽可能多地收集各个野生居群的种质资源,建立种质资源保存圃,建立种子、原球茎等种质资源基于超低温保存技术的离体保存库。同时选择花期长、花大、叶型好的个体,进行人工繁殖驯化栽培,积极加大育种研究,把更好的带叶兜兰及其后代推向市场,以减少人为的滥采滥挖。最后,需要进一步开展分子水平上的遗传多样性分析,将其与表型数据结合,深入揭示带叶兜兰居群的遗传变异多样性,为带叶兜兰野生资源的保护与利用提供科学依据。

参考文献

- [1] 王荣,何智冲,方学敏,陈丹荔,王琦,孟家松,赵大球. 扬州芍药栽培品种表型多样性分析. 植物科学学报, 2016, 34(6): 901-908
Wang R, He Z C, Fang X M, Chen D L, Wang Q, Meng J S, Zhao D Q. Analysis of phenotypic diversity of *Paeonia lactiflora* cultivars in Yangzhou. Plant Science Journal, 2016, 34(6): 901-908
- [2] 宋杰,李世峰,刘丽娜,李树发,解玮佳,关文灵. 云南含笑天然居群的表型多样性分析. 西北植物学报, 2013, 33(2): 272-279
Song J, Li S F, Liu L N, Li S F, Xie W J, Guan W L. Phenotypic diversity of natural populations of *Michelia yunnanensis*. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2013, 33(2): 272-279
- [3] 徐斌,彭莉霞,杨会肖,潘文,张方秋. 杜鹃红山茶叶片主要性状的遗传多样性分析. 植物研究, 2015, 35(5): 730-734
Xu B, Peng L X, Yang H X, Pan W, Zhang F Q. Genetic diversity analysis for leaf main traits of *Camellia azalea*. Bulletin of Botanical Research, 2015, 35(5): 730-734
- [4] 张彩霞,明军,刘春,赵海涛,王春城,单红臣,任君芳,周旭,穆鼎. 岷江百合天然群体的表型多样性. 园艺学报, 2008, 35(8): 1183-1188
Zhang C X, Ming J, Liu C, Zhao H T, Wang C C, Shan H C, Ren J F, Zhou X, Mu D. Phenotypic variation of natural populations in *Lilium regale* Wilson. Acta Horticulturae Sinica, 2008, 35(8): 1183-1188
- [5] 程大伟,姜建福,樊秀彩,张颖,张国海,刘崇怀. 中国葡萄属植物野生种多样性分析. 植物遗传资源学报, 2013, 14(6): 996-1012
Cheng D W, Jiang J F, Fan X C, Zhang Y, Zhang G H, Liu C H. Diversity analysis of Chinese wild grape species. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(6): 996-1012
- [6] 王珍,王文和,张杰,宋婷婷,姚允聪. 主要观赏海棠品种的遗传多样性及其亲缘关系分析. 果树学报, 2014, 31(6): 1005-1016
Wang Z, Wang W H, Zhang J, Song T T, Yao Y C. Genetic diversity and phylogenetic relationships analysis of major ornamental crabapple species. Journal of Fruit Science, 2014, 31(6): 1005-1016
- [7] 胡建斌,马双武,李建吾,王吉明,李琼,王林忠. 国外甜瓜种质资源形态性状遗传多样性分析. 植物学报, 2013, 48(1): 42-51
Hu J B, Ma S W, Li J W, Wang J M, Li Q, Wang L Z. Genetic diversity of foreign melon (*Cucumis melo*) germplasm resources by morphological characters. Bulletin of Botany, 2013, 48(1): 42-51
- [8] Gadissa F, Tesfaye K, Dagne K, Geleta M. Morphological traits based genetic diversity assessment of Ethiopian potato [*Plectranthus edulis* (Vatke) Agnew] populations from Ethiopia. Genetic Resources and Crop Evolution, 2020, DOI: 10.1007/s10722-019-00794-6
- [9] Félicien A, Achigan D, Enoch G, Mariam C, Julia S. Correlations, path coefficient analysis and phenotypic diversity of a West African germplasm of Kersting's groundnut [*Macrotyloma geocarpum* (Harms) Maréchal & Baudet]. Genetic Resources and Crop Evolution, 2019, 66(8): 1825-1842
- [10] Iraklis L, Efstathia L. Assessment of phenotypic diversity in bitter vetch (*Vicia ervilia* (L.) Willd.) populations. Genetic Resources and Crop Evolution, 2018, 65(1): 355-371
- [11] Larbi A, Abd E I, Moneim A M, Nakkoul H, Jammal B, Hassan S. Intra-species variations in yield and quality determinants in *Vicia* species: 1. bitter vetch (*Vicia ervilia* L.). Animal Feed Science and Technology, 2011, 165(3-4): 278-287
- [12] Martinez L, Cavagnaro P, Masuelli R, Rodriguez J. Evaluation of diversity among Argentine grapevine (*Vitis vinifera* L.) varieties using morphological data and AFLP markers. Electronic Journal of Biotechnology, 2003, 6(3): 244-253
- [13] Koehler-Santos P, Dornelles A L C, De Frietas J B. Characterization of mandarin citrus germplasm from Southern Brazil by morphological and molecular analysis. Pesquisa Agropecuaria Brasileira, 2003, 38(7): 797-806
- [14] Ahmed M, Anjum M, Hussain S, Ejaz S, Ahmad S, Ercisli S. Biodiversity in indigenous germplasm of *Pyrus* from Pakistan. Based on Phenotypic and Morphological Traits, 2017, 59(1): 19-27
- [15] 杨树华,郭宁,葛维亚,杨爽,刘新艳,贾瑞冬,葛红. 新疆东天山地区宽刺蔷薇居群表型多样性分析. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 455-461
Yang S H, Guo N, Ge W Y, Yang S, Liu X Y, Jia R D, Ge H. Phenotypic diversity of *Rosa platyacantha* populations in eastern Tianshan Mountains of Xinjiang. Journal of Plant

- Genetic Resources, 2013, 14(3): 455-461
- [16] 任秀霞, 张盈, 薛璟祺, 朱富勇, 石丰瑞, 王顺利, 张秀新. 滇牡丹天然居群的遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 772-780
Ren X X, Zhang Y, Xue J Q, Zhu F Y, Shi F R, Wang S L, Zhang X X. Genetic diversity analysis of natural populations in *Paeonia delavayi*. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(4): 772-780
- [17] 罗毅波, 贾建生, 王春玲. 中国兰科植物保育的现状和展望. 生物多样性, 2003, 11(1): 70-77
Luo Y B, Jia J S, Wang C L. A general review of the conservation status of Chinese orchids. Biodiversity Science, 2003, 11(1): 70-77
- [18] 孙海芹, 李昂, 班玮, 郑晓明, 葛颂. 濒危植物独花兰的形态变异及其适应意义. 生物多样性, 2005, 13(5): 376-386
Sun H Q, Li A, Ban W, Zheng X M, Ge S. Morphological variation and its adaptive significance for *Changnienia amoena*, an endangered orchid. Biodiversity Science, 2005, 13(5): 376-386
- [19] 李宗艳, 李名扬. 硬叶兜兰居群表型变异研究. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 765-771
Li Z Y, Li M Y. Study on phenotypic variation of *Paphiopedilum micranthum* population. Journal of Plant Genetic Resources, 2015, 16(4): 765-771
- [20] 周妍慧, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 葛红, 罗文美, 赵新梅, 桑益恒. 杏黄兜兰居群表型多样性分析. 园艺学报, 2016, 43(7): 1337-1347
Zhou Y H, Jia R D, Yang S H, Zhao X, Ge H, Luo W M, Zhao X M, Sang Y H. Phenotypic diversity of *Paphiopedilum armeniacum* populations. Acta Horticulturae Sinica, 2016, 43(7): 1337-1347
- [21] 冯昌林, 邓振海, 蔡道雄, 吴天贵, 贾宏炎, 白灵海, 赵祖壮, 苏勇. 广西雅长林区野生兰科植物资源现状与保护策略. 植物科学学报, 2012, 30(3): 285-292
Feng C L, Deng Z H, Cai D X, Wu T G, Jia H Y, Bai L H, Zhao Z Z, Su Y. Current status and conservation strategies of wild orchid resources in Guangxi Yachang forests. Plant Science Journal, 2012, 30(3): 285-292
- [22] 程浩, 徐玉凤, 王文晓, 朱俊, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 葛红. 中国硬叶兜兰主要分布区居群表型多样性分析. 园艺学报, 2020, 47(6): 1098-1110
Cheng H, Xu Y F, Wang W X, Zhu J, Jia R D, Yang S H, Zhao X, Ge H. Phenotypic diversity of *Paphiopedilum micranthum* populations from main distribution areas in China. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(6): 1098-1110
- [23] 陈宝玲, 周千淞, 陈尔, 王华新, 龚建英, 龙定建, 唐庆. 带叶兜兰壮苗生根培养基及移栽基质选择. 广西林业科学, 2017, 46(2): 206-209
Chen B L, Zhou Q S, Chen E, Wang H X, Gong J Y, Long D J, Tang Q. Selection of medium for seedling rooting and transplanting of *Paphiopedilum hirsutissimum*. Guangxi Forestry Science, 2017, 46(2): 206-209
- [24] 王晓国, 卢家仕, 周主贵, 李秀玲, 陈廷速, 卜朝阳. 带叶兜兰菌根真菌分离和初步鉴定. 西南农业学报, 2016, 29(2): 316-320
Wang X G, Lu J S, Zhou Z G, Li X L, Chen T S, Bu C Y. Isolation and preliminary identification of mycorrhizal fungi from *Paphiopedilum hirsutissimum* (Orchidaceae). Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2016, 29(2): 316-320
- [25] 田凡, 颜凤霞, 姜运力, 王莲辉. 带叶兜兰种子无菌萌发及试管成苗技术研究. 江苏农业科学, 2017, 45(9): 30-33
Tian F, Yan F X, Jiang Y L, Wang L H. Asymbiotic germination and in vitro seedling cultivation of *Paphiopedilum hirsutissimum*. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(9): 30-33
- [26] 葛颂, 王明麻, 陈岳武. 用同工酶研究马尾松群体的遗传结构. 林业科学, 1988, 24(4): 399-409
Ge S, Wang M X, Chen Y W. An analysis of population genetic structure of masson pine by isozyme technique. Scientia Silvae Sinicae, 1988, 24(4): 399-409
- [27] 郭宁, 杨树华, 葛维亚, 葛红. 新疆天山山脉地区疏花蔷薇天然居群表型多样性分析. 园艺学报, 2011, 38(3): 495-502
Guo N, Yang S H, Ge W Y, Ge H. Phenotypic diversity of natural populations of *Rosa laxa* Retz. in Tianshan Mountains of Xinjiang. Acta Horticulturae Sinica, 2011, 38(3): 495-502
- [28] 郭峰, 牛立新, 张延龙. 秦岭柞水地区野生蕙兰天然居群表型多样性. 北方园艺, 2010(18): 91-93
Guo F, Niu L X, Zhang Y L. Phenotypic variation of natural populations of *Cymbidium faberi* in Zhashui. Northern Horticulture, 2010(18): 91-93
- [29] Baeilieri R, Ducouso A, Kremer A. Genetic morphological ecological and phonological differentiation between *Quercus petraea* (Matt.) Label. and *Quercus robur* L. in a mixed stand of northwest of France. Silvae Genetica, 1995, 44(1): 1-10
- [30] Lorne M W, Jennifer L K. Floral symmetry and its influence on variance in flower size. The American Naturalist, 1999, 154(4): 484-488
- [31] 刘可为, 刘仲健, 雷嗣鹏, 李利强, 陈利君, 张玉婷. 杏黄兜兰传粉生物学的研究. 深圳特区科技, 2005(11): 171-183
Liu K W, Liu Z J, Lei S P, Li L Q, Chen L J, Zhang Y T. Study on pollination biology in *Paphiopedilum Armeniacum* (Orchidaceae). Shenzhen Science & Technology, 2005(11): 171-183
- [32] 任宗昕, 王红, 罗毅波. 兰科植物欺骗性传粉. 生物多样性, 2012, 20(3): 270-279
Ren Z X, Wang H, Luo Y B. Deceptive pollination of orchids. Biodiversity Science, 2012, 20(3): 270-279
- [33] 熊治廷, 吴剑, 李奕, 葛颂, 赵子恩, 桂先群, 程增林, 黄遵义. 独花兰野生种群研究 - 开花与营养体状态的关系. 植物学通报, 2002, 19(1): 87-91, 86
Xiong Z T, Wu J, Li Y, Ge S, Zhao Z E, Gui X Q, Cheng Z L, Huang Z Y. Relationship between flowering and vegetative status of *Changnienia amoena* Chien: a field population study. Chinese Bulletin of Botany, 2002, 19(1): 87-91, 86
- [34] Courtney J, Aaron M. Effects of habitat, plant size, and floral display on male and female reproductive success of the neotropical orchid *Brassavola nodosa*. Biotropica, 1996, 28(1): 30-41
- [35] 李珊, 甘小洪, 憨宏艳, 许宁, 侯正扬, 陈扬, 邓晓娟. 濒危植物水青树叶的表型性状变异. 林业科学研究, 2016, 29(5): 687-697
Li S, Gan X H, Han H Y, Xu N, Hou Z Y, Chen Y, Deng X J. Leaf phenotypic trait of *Tetracentron sinense* and endangered plant species. Forestry Research, 2016, 29(5): 687-697
- [36] 顾婧婧, 金则新, 熊能. 濒危植物夏蜡梅花的形态变异. 植物研究, 2010, 30(4): 461-467
Gu J J, Jin Z X, Xiong N. Morphological variation of flowers in endangered plant *Sinocalycanthus chinensis*. Bulletin of Botanical Research, 2010, 30(4): 461-467