

濒危植物独花兰的形态变异及其适应意义

孙海芹 李 昂 班 玮 郑晓明 葛 颂*

(中国科学院植物研究所系统与进化植物学重点实验室, 北京 100093)

摘要: 采用ANOVA和UPGMA等方法对濒危植物独花兰(*Changnienia amoena*)分布于庐山、新宁和神农架3个地点的12个自然居群的形态变异进行了研究, 探讨其形态多样性水平和地理变异式样及其可能的适应机制。结果表明, 庐山居群13个性状的平均观测值均高于新宁和神农架居群。在物种水平上各个性状存在较丰富的变异, 变异系数(CV值)为0.02–0.30。尽管同一性状在不同居群中的变异程度较大, 但总体而言, 花部器官的变异性比营养器官低。单因素方差分析显示3个地区间多个形态性状存在极显著差异($P < 0.01$); UPGMA聚类分析也表明这3个地区分别形成明显不同的分支。值得注意的是, 神农架地区龙门河和关门山两个地点间存在明显的形态分化, 而这种形态分化是以传粉者为媒介自然选择的结果。相关性分析显示, 营养器官之间、花部器官之间, 以及营养器官与花部器官之间均存在较高的相关性。上述结果对进一步了解独花兰的适应机制以及制定科学的保护策略提供了有益的资料。

关键词: 形态变异, 地理分化, 单因素方差分析, UPGMA聚类分析, 自然选择

Morphological variation and its adaptive significance for *Changnienia amoena*, an endangered orchid

Haiqin Sun, Ang Li, Wei Ban, Xiaoming Zheng, Song Ge*

Laboratory of Systematic and Evolutionary Botany, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100093

Abstract: Investigation of intraspecific morphological variation is critical for the understanding of evolutionary and ecological processes, and may provide insights for uncovering the roles of natural selection, gene flow, and genetic drift in the distribution and abundance of species diversity. In the present study, we analyzed statistically the patterns of variation of 13 morphological traits among 12 populations in three localities of an endemic orchid, *Changnienia amoena*. The results showed that, among the three localities, the mean value of all measured morphological traits is the highest in the Lushan populations. There is abundant variation at both the species and population levels. Coefficient of variation (CV) varied between 0.02 and 0.30 at the species level, and the CV values of reproductive organs were lower than those of vegetative structures. ANOVA analysis showed that there was significant difference in most morphological traits among the three localities. UPGMA analysis showed that the populations in three localities were clustered into three main clades, the populations from Xinning and Lushan formed one clade, while the Shennongjia populations formed another clade. It is noteworthy that the Shennongjia populations were separated into two subclades corresponding to the populations at Longmenhe and Guanmenshan, respectively. This morphological differentiation is most likely a result of pollinator-mediated selection because this species is pollinated by different bumblebee species at these two sites. Pearson correlation analysis showed that high correlation occurred within the vegetative organs, reproductive organs, and between them. These results have important implications for our understanding of the evolutionary processes and mechanism of *C. amoena* and might provide useful information for the conservation and management of this endangered orchid.

收稿日期: 2005-03-15; 接受日期: 2005-04-19

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(G2000046805)和科技部国际科技合作重点项目计划(2001CB711103)资助

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: gesong@ibcas.ac.cn

Key words: morphological variation, geographical differentiation, ANOVA, UPGMA, pollinator-mediated selection

1 引言

物种的遗传变异是长期进化的产物,是物种生存适应和发展的前提(Soltis & Soltis, 1991; 葛颂, 1997)。遗传变异体现在不同水平上,如居群水平、个体水平、组织细胞水平以及分子水平等(Moritz & Hillis, 1996)。因此,检测遗传变异可以在不同层次利用不同的手段和方法进行:既包括传统的形态学和细胞学方法,也包括新近发展起来的同工酶和DNA技术,这些方法相互补充、相互印证,为我们全面、深入认识遗传变异及其生物学意义提供有价值的资料(葛颂, 1997)。

从形态学或表型性状上来检测遗传变异是最古老也是最简便易行的方法(Schaal *et al.*, 1991; 葛颂和洪德元, 1994)。通常,度量遗传变异的形态学性状主要有两类:一是符合孟德尔遗传规律的单基因性状,如质量形态性状、稀有突变等;另一类是由多基因决定的数量性状,如大多数形态性状和生活史性状等(葛颂和洪德元, 1994)。在自然居群中,植物的大多数形态性状是多基因决定的数量性状,往往具有适应和进化意义,故对其进行研究可以更清楚地揭示植物与其环境之间的关系,有助于我们认识植物适应和进化的方式、机制及其影响因素,加深对自然选择、基因流和遗传漂变等进化因素的理解(葛颂和洪德元, 1994; Schaal *et al.*, 1991; Schwaegerle *et al.*, 1986; 葛颂, 1997)。因此,研究自然生态条件下形态性状的变异是进化生物学研究中的重要部分(Turesson, 1922; Stebbins, 1950; Ford, 1954; Clausen *et al.*, 1948; Endler, 1977, 1986; Linhart & Grant, 1996)。资料表明,同一物种的不同个体或居群之间存在着各种形式和程度不同的形态变异,这些变异往往是各种生物和非生物因子导致自然选择在强度和方向上差异的产物。生物因子包括居群结构和动态、交配系统以及与传粉者、食草动物、食种子动物的相互作用(Grant & Grant, 1965; Faegri & van der Pijl, 1978; Real, 1983; Waser, 1983; Hainsworth *et al.*, 1984; Brody, 1992; Proctor *et al.*, 1996; Alexandersson & Johnson, 2002);非生物因子包括气候、土壤、营养和水分

等(Clausen, 1951; Stewart & Schoen, 1987; Herrera, 1993)。

开展形态学尤其是花形态研究对兰科植物尤其重要,因为兰科植物被认为是被子植物中适应虫媒传粉而具有非常特殊的花部结构的类群(Cribb, 2001)。在进化生物学研究的早期,达尔文对兰科植物特殊传粉机制的研究为自然选择理论和异花授粉的优势提供了强有力的证据(Darwin, 1877)。后来越来越多的研究支持达尔文关于传粉者对花形态性状施加自然选择的理论,尽管还存在一些异议(Nilsson, 1988, 1998; Robertson & Wyatt, 1990; Johnson & Steiner, 1997; Herrera, 1996; Wilson & Thomson, 1996)。例如,美国东南部舌唇兰(*Platanthera ciliaris*)的山地居群和海岸平原居群间表现出明显的花形态(尤其是花距)分化,而两地传粉者的喙长也存在显著差异,表明自然选择通过传粉者喙长对花距产生选择压以至形成传粉生态型(Robertson & Wyatt, 1990)。这种种内发生花形态变异以适应传粉者的现象在 *Disa* 中的一些类群也存在(Johnson & Steiner, 1997; Johnson *et al.*, 1998)。然而,上述研究多数以一两个居群为对象,针对具体物种不同地区不同居群的研究还较少。因此,探讨花形态在居群和物种水平上的变异性,以及这种变异是否反映其传粉者在空间上的差异等,对理解兰科植物适应进化的机理十分重要(Ackerman & Galarza-Pérez, 1991)。

独花兰(*Changnienia amoena*)隶属于兰科(Orchidaceae)布袋兰亚族(Calypsoinae),是我国特有的单种属植物,在兰科植物系统发育上具有重要的学术意义,而且是优良的野生花卉和珍贵的药用植物(傅立国, 1992),主要分布于我国中、东部海拔400–1700 m的中亚热带丘陵山地(吴征镒, 1991; 应俊生和张玉龙, 1994; 陈心启等, 1999)。由于生境渐趋恶化和人为过度采挖,独花兰居群规模日趋缩小,个体数目逐渐减少(傅立国, 1992)。居群遗传学的研究显示,独花兰的遗传多样性比其他远交兰花物种低,居群之间出现明显的遗传分化(Li *et al.*, 2002)。然而,与物种生

存和居群变化密切相关的传粉生物学方面的资料很少,且其传粉媒介一直不清楚。王年鹤等(1994)对安徽大别山的天堂寨自然保护区独花兰的繁殖特征进行了初步研究,认为在自然条件下其花器构造存在缺陷,以致没有大小和力量均适宜的昆虫来配合传粉,使其不能进行授粉和有性生殖,而仅靠假鳞茎有限的无性增殖方式来繁衍后代。最近,我们在神农架对独花兰的传粉媒介、传粉过程以及交配系统和结实等方面进行了详细研究,发现熊蜂(*Bombus*)是独花兰的有效传粉者(Sun *et al.*, 2003),但对独花兰花形态与传粉者的相关关系还所知甚少,限制了我们对独花兰的适应及其与生境之间关系的深入理解,也不利于我们采取有效的措施进行物种保护。

本研究对独花兰12个自然居群的营养和繁殖性状进行了统计分析,试图探讨:(1)形态性状在物种和居群水平上的变异水平如何;(2)其变异是否具有某种地理式样及其可能的原因;(3)结合已有的传粉生态学资料,探讨形态变异与传粉者、生境之间的关系及其适应意义。

2 材料和方法

独花兰是自交亲和、但需昆虫传粉的异交种(王年鹤等, 1994; Sun *et al.*, 2003), 主要生长于腐殖质丰富的土壤上或沿山谷较隐蔽的落叶阔叶林或针叶林下(陈心启等, 1999)。通常情况下, 独花兰于9月中下旬地下鳞茎萌动并开始展叶(单叶), 保持这个状态度过冬季, 次年3月中下旬开花。花期约3-4周, 至4月中、下旬花谢, 4月下旬至5月上旬叶片逐渐枯死。此时如果独花兰已经受粉、结实, 其花萼和果实继续发育, 到8月底果实成熟、散播。独花兰种子数量众多、细小如尘。开花期间群落内的林木尚未完全展叶, 郁闭度较低, 其鲜艳的花在群落内很显眼, 对吸引传粉者有重要作用(熊高明等, 2003)。

本研究在不同年份的开花期对3个地点的12个独花兰自然居群进行了观测: 包括庐山2个居群(LS1-2), 新宁2个居群(XN1-2), 以及神农架地区两个相距15 km的地点共8个居群(龙门河SNJ1-6, 关门山SNJ7-8)。各个居群的地理位置和

表1 独花兰居群编号、样本大小、地理位置和生境特点

Table 1 Number, sample size, locality and habitats of the *Changnienia amoena* populations sampled in this study

居群编号 Population No.	地理位置 Location	样本数 Sample size	生境特点 Habitat
LS1	江西庐山道洼 Daowa, Lushan, Jiangxi Province	8	400 m, 东坡, 50°, 稀杂木林 Alt. 400 m, on an east slope (50°), spare woodlands
LS2	江西庐山 Lushan, Jiangxi Province	18	450 m, 东坡, 40°, 杂木林 Alt. 450 m, on an east slope (40°) woodlands
XN2	湖南新宁段家岭 Duanjialing, Xinning, Hunan Province	14	1000 m, 南坡, 18°, 稀竹林 Alt. 1000 m, on a south slope (18°), spare bamboo forest
XN4	湖南新宁瓦屋里 Wawuli, Xinning, Hunan Province	17	-
SNJ1	湖北神农架龙门河 Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	13	1290 m, 北坡, 20°, 杂木林 Alt. 1290 m, on a north slope (20°) woodlands
SNJ2	湖北神农架龙门河 Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	18	1290 m, 北坡, 15°, 杂木林 Alt. 1290 m, on a north slope (15°) woodlands
SNJ3	湖北神农架龙门河 Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	24	1290 m, 南坡, 20°, 稀杂木林 Alt. 1290 m, on a south slope (20°), spare woodlands
SNJ4	湖北神农架龙门河 Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	17	1295 m, 北坡, 10°, 华山松林 Alt. 1295 m, on a north slope (10°), pine forest
SNJ5	湖北神农架龙门河 Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	24	1285 m, 南坡, 15°, 鹅耳枥林 Alt. 1285 m, on a south slope (15°), <i>Carpinus</i> sp. spare woodlands
SNJ6	湖北神农架龙门河Longmenhe, Shennongjia, Hubei Province	12	1290 m, 北坡, 12°, 杂木林 Alt. 1290 m, on a north slope (12°), spare woodlands
SNJ7	湖北神农架关门山 Guanmenshan, Shennongjia, Hubei Province	11	1270 m, 北坡, 12°, 杂木林 Alt. 1270 m, on a north slope (12°), spare woodlands
SNJ8	湖北神农架关门山Guanmenshan, Shennongjia, Hubei Province	21	1270 m, 北坡, 12°, 杂木林 Alt. 1270 m, on a north slope (12°), spare woodlands

生境特点见表1。

独花兰花大而鲜艳, 两侧对称, 具5枚粉白色或粉色花瓣、萼片和一个三裂片的唇瓣。唇瓣中裂片平展, 稍下斜, 宽倒卵状方形, 先端和上部边缘具不规则波状缺刻; 两侧裂片直立, 斜卵状三角形。唇盘上两侧裂片之间具3枚褶片状附属物。蕊柱弯曲, 两侧裂片于蕊柱顶部前端叠合。唇瓣和蕊柱下延成一角状距, 但没有花蜜, 唇瓣上的紫红色小点为假蜜导。以唇瓣中裂片为底, 蕊柱为顶, 两唇瓣侧裂片为壁, 形成一个入口, 是传粉者有效访花的必经之路, 是影响传粉的关键性状(图1)。由于独花兰每株只有一片叶和一朵花, 因此, 本研究选取营养器官和10个花部性状作为分析指标, 分别是叶片长和宽、花葶长、花距长、花距基部宽、唇瓣长和宽、侧萼片长和宽、中萼片长和宽、花瓣长和宽。测量时各性状的长是测量从顶端到基部的最长距离, 宽为垂轴最宽距离。花葶的高是从假鳞茎上花葶的萌发处到子房基部的长度。花入口的长和宽这两个性状只在神农架地区进行了测量, 入口宽为唇瓣两侧裂片之间水平距离, 入口高为蕊喙到唇瓣中裂片的垂直距离。测量精度为0.01 mm。另外, 我们还调查了新宁的1个居群个体的鳞茎数目。

对获得的数据以变异系数(CV)(标准差/平均数)作为居群形态性状变异度的测度, 用单因素方差分析法(one-way ANOVA)检验居群的变异水平和居群间的分化。用MVSP (Multi-Variate Sta-

tistical Package) 3.1中的聚类分析法对形态性状数据建立UPGMA聚类图以检测地理范围内的分化关系。

3 结果

3.1 性状的变异性

13个形态性状在3个地点的表现存在着一定的差异。从总体来看, 营养性状的观测平均值在庐山居群最高, 其次为新宁居群, 最低的为神农架居群; 花部性状中除花瓣宽、中萼片宽和侧萼片宽等3个性状外, 其他性状也呈现这种地理变化式样(图2)。同一性状在不同居群中的变异程度有很大差异(表2)。例如, 叶片长的变异系数在居群SNJ6和LS2最大, 在XNJ4最小; 花距长的变异系数在SNJ7最高, 在SNJ3和SNJ5最低。

同一居群中不同性状的变异性也差别较大。例如, LS1居群叶宽的变异系数最高, 花距的最低; XN2居群花葶长的变异系数最高, 中萼片长和花瓣长的最低; SNJ3居群叶片宽的变异系数最高, 花瓣长的最低(表2)。

从地区水平上看各个性状的平均变异性, 变异系数没有表现出地区间明显的变化规律(图3): 在庐山, 叶片宽的变异系数最高, 花距的变异系数最低; 在新宁, 花葶长的变异系数最高, 花瓣长的最低; 在神农架, 花葶长的变异系数最高, 花瓣长的最低。总之, 每一性状均存在丰富的变异性, 但CV值均不超过0.30。从各个性状的变异

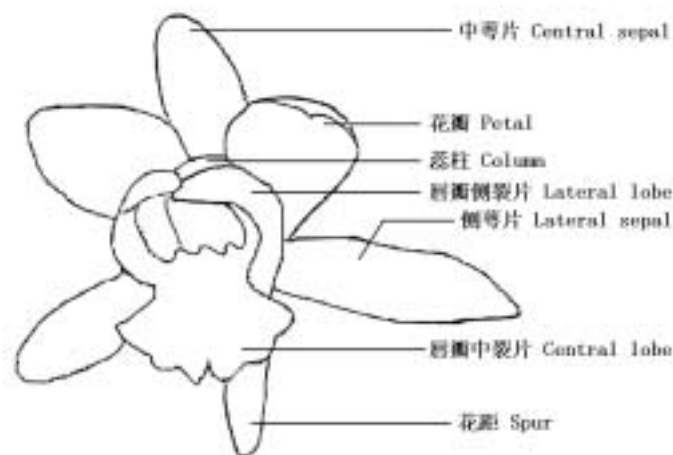


图1 独花兰的花结构

Fig. 1 Flower structure of *Chanenienia amoena*

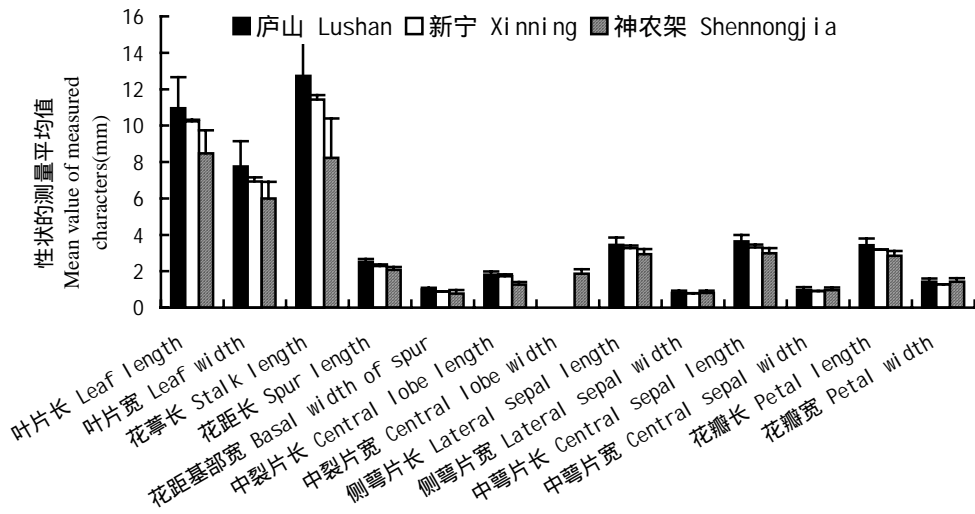


图2 13个性状的观测平均值在庐山、新宁和神农架3个地点的对比
Fig. 2 Comparison of the mean values of 13 morphological characters among Lushan, Xinning and Shennongjia

表2 独花兰13个形态性状的变异系数(CV)
Table 2 Coefficients of variation (CV) for 13 morphological characters of 12 *Changnienia amoena* populations

居 群 Population	叶 片 Leaf		花 萼 长 Stalk length	花 距 长 Spur length	花 距 基 部 宽Basal width of spur	唇 瓣 中 裂 片 长 Central lobe length	唇 瓣 中 裂 片 宽 Central lobe width	侧 萼 片 Lateral sepal		中 萼 片 Central sepal		花 瓣 Petal	
	长 Length	宽 Width						长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width
LS1	0.16	0.18	0.16	0.07	0.10	0.09	-	0.12	0.14	0.10	0.16	0.11	0.12
LS2	0.21	0.20	0.17	0.09	0.12	0.10	0.18	0.11	0.10	0.12	0.15	0.14	0.10
LS _{mean}	0.185	0.19	0.165	0.08	0.11	0.095	0.18	0.115	0.12	0.11	0.155	0.125	0.11
XN2	0.18	0.14	0.30	0.08	0.07	0.08	-	0.10	0.11	0.03	0.24	0.03	0.08
XN4	0.13	0.14	0.24	0.07	0.11	0.10	-	0.07	0.17	0.1	0.13	0.06	0.13
XN _{mean}	0.155	0.14	0.27	0.075	0.09	0.09	-	0.085	0.14	0.065	0.185	0.045	0.105
SNJ1	0.11	0.13	0.23	0.10	0.17	0.09	0.08	0.10	0.13	0.12	0.14	0.11	0.09
SNJ2	0.18	0.12	0.16	0.09	0.12	0.06	0.09	0.10	0.11	0.06	0.13	0.06	0.11
SNJ3	0.20	0.23	0.16	0.06	0.11	0.07	0.20	0.06	0.09	0.08	0.09	0.04	0.10
SNJ4	0.10	0.15	0.17	0.07	0.14	0.17	0.20	0.13	0.20	0.13	0.22	0.03	0.17
SNJ5	0.16	0.13	0.16	0.06	0.29	0.14	0.12	0.09	0.16	0.07	0.15	0.06	0.12
SNJ6	0.21	0.15	0.18	0.07	0.20	0.04	0.08	0.06	0.13	0.06	0.06	0.02	0.04
SNJ7	0.13	0.14	0.17	0.11	0.12	0.09	0.08	0.08	0.13	0.09	0.12	0.08	0.17
SNJ8	0.17	0.13	0.27	0.07	0.12	0.09	0.13	0.09	0.13	0.08	0.10	0.10	0.23
SNJ _{mean}	0.158	0.148	0.188	0.079	0.159	0.094	0.123	0.089	0.135	0.086	0.126	0.063	0.129
Total _{mean}	0.162	0.153	0.198	0.078	0.139	0.093	0.129	0.093	0.133	0.087	0.141	0.070	0.122

系数的总体平均值来看, 营养器官的高于花部性状(中萼片长除外); 在花部性状中, 中萼片宽的变异程度最高(CV=0.141), 花瓣长的最低, 花距

长和中萼片长的也较低(表2)。

3.2 地区间的形态变异式样

对庐山、新宁和神农架三地两两进行的单因

素方差分析显示, 花距长、花距基部宽、中萼片长、花瓣长和宽等5个性状在庐山与新宁两地的居群间存在显著性差异, 其他性状无显著差异。在新宁与神农架两地居群之间, 除了侧萼片宽和中萼片宽两个性状无显著差异, 其他10个性状均存在极显著差异(表3), 说明新宁和神农架两地居群的形态分化较大。对3个地区内居群间的12(或13)个形态性状进行单因素方差分析显示, 总体上地区内居群间多数性状没有显著性差异。例如, 在新宁, 居群2与居群4之间只有中萼片长在两居群

间有显著性差异($P = 0.0367$), 其他11个性状均无显著差异; 在神农架龙门河, 13个形态性状中, 花萼长($P = 0.0317$)、花距基部宽($P = 0.0248$)、唇瓣中裂片宽($P = 0.0369$)、中萼片长($P = 0.0323$)以及花瓣长($P = 0.0285$)等5个性状在居群1和居群5之间存在显著差异, 其他性状均无显著差异。值得一提的是, 在神农架面积不到80 km²的范围内, 龙门河6个居群(SNJ1-6)和关门山2个居群(SNJ7-8)之间, 只有叶片宽、花距长和基部宽、唇瓣中裂片长等4个性状不存在显著性差异, 其

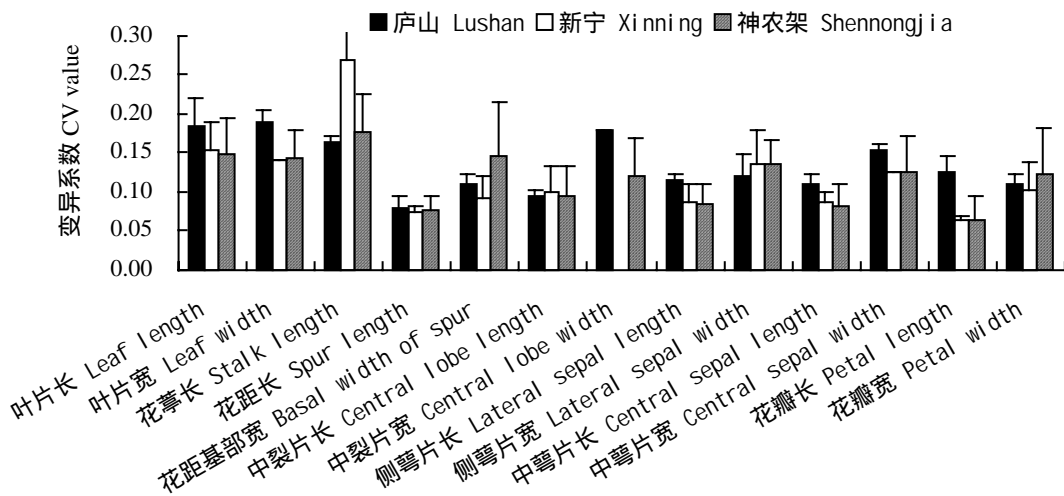


图3 独花兰13个性状的平均变异系数在庐山、新宁和神农架3个地点的对比
Fig. 3 Mean coefficients of variation for 13 morphological characters of *C. amoena* in the three localities

表3 12个性状在地区间的变异显著性检验(P_{LS-XN} 为庐山与新宁两地之间的 P 值, P_{XN-SNJ} 为新宁与神农架两地之间的 P 值)

Table 3 One-way ANOVA analysis for 12 morphological characters of *Changnienia amoena* between the localities. P_{LS-XN} is the P value between populations of Lushan and Xinning, while P_{XN-SNJ} is between populations of Xinning and Shennongjia

性状 Character	P_{LS-XN}	P_{XN-SNJ}	性状 Character	P_{LS-XN}	P_{XN-SNJ}
叶片长 Leaf length	0.1805	1.1003E-9***	侧萼片长 Lateral sepal length	0.1135	3.5250E-8***
叶片宽 Leaf width	0.0688	8.2161E-8***	侧萼片宽 Lateral sepal width	0.6081	0.4174
花萼长 Stalk length	0.1344	4.3830E-9***	中萼片长 Central sepal length	0.0029**	1.5374E-6***
花距长 Spur length	0.0119*	1.3454E-10***	中萼片宽 Central sepal width	0.1996	0.0711
花距基部宽 Basal width of spur	0.0012**	0.0047**	花瓣长 Petal length	0.0048**	3.1931E-10***
中裂片长 Central lobe length	0.1002	0.0***	花瓣宽 Petal width	0.0352*	2.6994E-4***

* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$

表4 神农架龙门河居群和关门山居群间的变异显著性检验(2003年)

Table 4 One-way ANOVA analysis for 15 morphological characters of *Changnienia amoena* between Longmenhe and Guanmenshan populations in Shennongjia

性状 Character	<i>P</i>	性状 Character	<i>P</i>
叶片长 Leaf length	0.0220*	侧萼片宽 Lateral sepal width	7.86232E-5***
叶片宽 Leaf width	0.0892	中萼片长 Central sepal length	1.77345E-4***
花萼长 Stalk length	1.1023E-4***	中萼片宽 Central sepal width	0.0048**
花距长 Spur length	0.3007	花瓣长 Petal length	5.2081E-4***
花距基部宽 Basal width of spur	0.2967	花瓣宽 Petal width	5.4005E-5***
唇瓣中裂片长 Central lobe length	0.0501	入口宽 Entrance width	0.0092***
唇瓣中裂片宽 Central lobe width	0.0121*	入口高 Entrance height	0.0075***
侧萼片长 Lateral sepal length	7.3712E-4***		

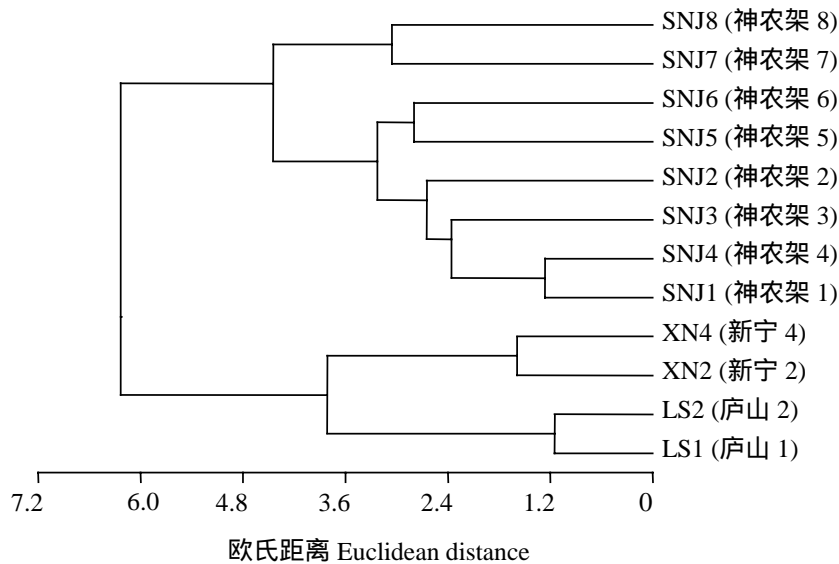
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ 

图4 独花兰12个居群的UPGMA聚类树

Fig.4 UPGMA dendrogram using 12 morphological characters for 12 populations of *C. amoena*

他11个性状均存在极显著性差异或显著性差异(表4)。

对12个形态性状进行UPGMA聚类分析产生的聚类树见图4。由图可见,3个地区12个居群聚成明显的两支,一支是由神农架8个居群组成,另一支由庐山2个居群和新宁2个居群组成。在庐山居群和新宁居群所组成的分支中,庐山居群与新宁居群也分为明显的次分支;在神农架居群所组成的分支中,龙门河居群(SNJ1-6)和关门山居群(SNJ7-8)也分为两个明显次分支,而且神农架两个次分支之间的分化甚至大于庐山居群和新宁居群之间的分化,这些结果与方差分析的结果相吻合。

3.3 性状的相关性

在庐山、新宁和神农架3个地区,12(或13)个性状表现出不同程度的相关性(数据未列)。在排除地区因素之后,78对性状组合中有53对性状具有显著相关关系。其中,营养器官(叶片长、叶片宽和花萼长)之间存在极显著相关。这3个营养器官与花部器官花距长、花距基部宽、中裂片宽、侧萼片宽、中萼片宽和花瓣宽之间也存在极显著相关关系。另外,叶片宽与中萼片长和花瓣长之间也存在极显著相关关系。花部器官中,花距长与花距基部宽、中裂片宽、侧萼片宽、中萼片长、中萼片宽和花瓣宽之间,花距基部宽与中裂片宽、侧萼片宽、中萼片宽和花瓣宽之间,中裂片

长与侧萼片宽、中萼片宽和花瓣宽之间, 侧萼片宽与中萼片长、宽和花瓣宽之间, 中萼片长与花瓣长之间, 中萼片宽与花瓣宽之间, 花瓣长与花瓣宽之间也存在极显著相关关系(表5)。由此可见, 营养器官之间和花部器官之间, 以及营养器官与花部器官之间均存在较高的相关性。

对新宁地区的一个居群的地下假鳞茎进行统计发现, 每个植株的地下假鳞茎一般为1-3个串联而生, 对XN4居群的假鳞茎数目与其他性状之间进行相关分析显示假鳞茎数目与营养器官和生

殖器官的生长不存在显著相关性(表6)。

4 讨论

尽管形态性状变异的基础比较复杂, 但形态变异在某种程度上能反映遗传变异的大小, 更重要的是, 形态变异往往具有适应意义(Schaal *et al.*, 1991; 葛颂, 1997)。然而, 迄今针对表型性状变异性进行的研究并不多见(葛颂和洪德元, 1999)。葛颂和洪德元(1999)对桔梗科沙参属(*Adenophora*)的两个种——广布种泡沙参(*A. po-*

表5 12个性状总体水平Pearson相关系数(r)及其显著性检验

Table 5 Pearson correlation coefficients (r) for 12 morphological traits and their significance in the *Changnienia amoena* populations

	叶片宽 Leaf width	花萼长 Stalk length	花距长 Spur length	花距基部宽 Basal width of spur	唇瓣中裂片长 Central lobe length	侧萼片长 Lateral sepal length	侧萼片宽 Lateral sepal width	中萼片长 Central sepal length	中萼片宽 Central sepal width	花瓣长 Petal length	花瓣宽 Petal width
叶片长 Leaf length	0.809**	0.734**	0.568**	0.244**	0.611**	0.078	0.611**	0.204*	0.557**	0.220*	0.507**
叶片宽 Leaf width		0.558**	0.573**	0.299**	0.571**	0.274*	0.446**	0.422**	0.444**	0.405**	0.430**
花萼长 Stalk length			0.469**	0.396**	0.644**	0.150	0.535**	0.059	0.499**	0.047	0.568**
花距长 Spur length				0.350**	0.598**	0.156	0.485**	0.262**	0.471**	0.170	0.515**
花距基部宽 Basal width of spur					0.424**	0.281*	0.274**	0.111	0.324**	0.016	0.428**
唇瓣中裂片长 Central lobe length						0.114	0.650**	0.111	0.646**	0.061	0.701**
侧萼片长 Lateral sepal length							0.057	0.282*	0.194	0.210	0.289*
侧萼片宽 Lateral sepal width								0.272**	0.803**	0.186*	0.723**
中萼片长 Central sepal length									0.195*	0.780**	0.114
中萼片宽 Central sepal width										0.226*	0.835**
花瓣长 Petal length											0.093

** 在0.01水平上表现为极显著相关; * 在0.05水平上表现为显著相关

** Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed); * Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

表6 新宁居群(XN4)假鳞茎数目与其他性状的相关性

Table 6 Pearson correlation coefficients for number of pseudobulbs and other 12 morphological traits in XN4 population of *Changnienia amoena*

	叶片长 Leaf length	叶片宽 Leaf width	花萼长 Stalk length	花距长 Spur length	花距基部宽 Basal width of spur	唇瓣中裂片长 Central lobe length	侧萼片 Lateral sepal		中萼片 Central sepal		花瓣 Petal	
							长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width	长 Length	宽 Width
假鳞茎数 Number of pseudobulbs	-0.11	0.073	0.164	0.438	0.474	-0.123	-0.021	0.460	0.010	0.442	0.122	0.225

taninii)和濒危种裂叶沙参(*A. lobophylla*)共9个居群形态性状的研究发现,除了叶形和花冠形态以外,其他10个花部、果实和种子性状在居群水平上的平均变异性差异不大,均存在丰富的变异(CV值变动于0.022–0.3),在遗传(等位酶位点)上也存在很高水平的变异。独花兰也是一种濒危植物,其形态性状在物种水平有较丰富的变异,CV值变动于0.02–0.30(表2),然而其遗传多样性在居群水平上却较低(Li *et al.*, 2002)。由此可见,濒危植物形态性状的变异水平与遗传变异水平有时并不一致,这也许与形态性状更容易受生态因素影响有关。

在本研究中,就每个形态性状而言,在不同居群其变异程度明显不同,营养性状的变异程度高于多数花部性状(表2,图3)。Wolfe和Krstolic(1999)在研究植物花部对称性时认为,两侧对称花的变异性往往要小于辐射对称性花的变异性;而对于两侧对称性花的植物来说,其花部性状的变异性往往要小于营养性状的变异性,这主要是花与传粉媒介之间长期的协同进化(自然选择)的结果,营养器官更容易受环境因子中水分、养分和光照影响。然而,即使对花部器官,自然选择的压力并非对每个性状都一致。在本研究的花部性状中,侧萼片宽的变异程度最高,花距长的变异程度较低(图3)。这种选择性差异可能反映出各个花部性状的可塑性和功能重要性的差异。花萼长、花瓣、萼片和唇瓣是花展示(floral display)的重要参数,是吸引传粉者来访的重要形态性状,而花距是蜜腺(或蜜导)的指示,对吸引传粉者有效访问、对传粉(繁殖)成功起重要作用。花距长变异小说明这一性状更保守,对保证受粉成功和维持种的稳定性更重要。

Li等(2002)用RAPD标记对独花兰11个居群进行了研究,结果表明居群间的遗传差异很高,占45.27%。本研究中形态变异在不同地区间也呈现明显的分化,而地区内居群间多数形态分化不显著。单因素方差分析也显示,新宁居群和神农架居群之间多数性状均呈现显著性差异;庐山居群与新宁居群之间5个性状也存在显著性差异。同样,UPGMA聚类分析也表现出地区间明显的分化,一些研究显示,不同地理区域间表现出的种内形态差异往往是以传粉者为媒介的自然选择作

用的结果(Galen & Newport, 1988; Nilsson, 1988; Campbell, 1989; Galen, 1989; Schemske & Horvitz, 1989; Robertson & Wyatt, 1990; Steiner & Whitehead, 1990; Herrera, 1993; Anderson & Widén, 1993; Johnson & Steiner, 1997)。换句话说,如果一个物种不同地区的居群依赖于不同的传粉者,且出现花形态的分化,那么这极有可能是自然选择(通过传粉者)引起的,花形态的分化是为了更好地适应当地的传粉者以保证生殖成功。这一现象又称为“传粉生态型”(pollination ecotype, Fenster *et al.*, 2004)。Robertson和Wyatt(1990)在研究唇舌兰的传粉生态型时提出,验证一种植物在不同分布地是否存在传粉生态型必须满足几个标准:第一,植物和传粉者必须在它们自然分布范围内,且植物的不同分布地之间的传粉者不同;第二,不同分布地之间植物花形态存在分化,且这种分化与传粉者密切相关;最后,适应于不同传粉者的性状变异必须具有遗传基础。

根据上述标准,神农架龙门河和关门山两个地点独花兰的形态分化极有可能是适应于当地传粉者而进化的结果。首先,独花兰和其传粉者熊蜂都是当地类群,而非移栽或引入种。另外,这两个地点的传粉者不同,尽管都是熊蜂,龙门河的主要传粉者是三条熊蜂(*Bombus (Diversobombus) trifasciatus*),关门山的唯一传粉者是仿熊蜂(*B. (Triconibombus) imitator*),这两种熊蜂在个体大小和觅食行为等方面均存在差异(Sun *et al.*, 待发资料)。其次,本研究的单因素方差分析和聚类分析都显示,尽管两个地点相距只有15 km,但两个地点的独花兰居群在形态上出现了明显的分化,尤其是在与传粉者密切相关的花入口大小这一性状上。由此我们推测,彼此相距很远的庐山、新宁和神农架3个地区的居群表现出的形态分化也有可能是由传粉者为媒介的自然选择作用的结果。当然,这一推论还有待进一步研究证实,同时我们还需要对花形态分化的遗传基础进行深入研究。

一种植物的形态特征是长期适应进化的结果,各个性状之间往往有一定联系,一个性状的变异可能导致其他相关性状的变异。本研究中,营养器官各性状之间、花部性状之间均存在较高的相关性,这说明各性状在维持花空间结构的稳

定性方面具有协调一致的适应。另外,植物的生殖生长常常是以营养生长为基础的,尤其是对单花单叶的独花兰来说,其生殖生长是建立在若干年营养生长的基础之上,故植株的营养生长状况对花的发育和开花具有直接影响(熊治廷等, 2002)。例如,熊治廷等(2002)对安徽天堂寨自然保护区独花兰野生居群的研究发现,开花持续期与叶长、叶宽和叶面积有显著($P < 0.01$)和极显著($P < 0.001$)的相关关系。本研究对13个形态性状相关性的分析表明,营养器官与花部器官之间存在较高的相关性,尽管各个性状间在不同研究地点的相关性的大小存在一些差异。

致谢: 感谢中国科学院生物多样性定位研究站谢宗强研究员和贾先平先生、神农架自然保护区科学研究所杨敬元先生在野外测试时提供的热心帮助。

参考文献

- Ackerman JD, Galarza-Pérez M (1991) Patterns and maintenance of extraordinary variation in the Caribbean orchid, *Tolumnia (Oncidium) variegata*. *Systematic Botany*, **16**, 182–194.
- Alexandersson R, Johnson SD (2002) Pollinator-mediated selection on flower-tube length in a hawk-moth-pollinated *Gladiolus* (Iridaceae). *Proceedings of the Royal Society of London B*, **269**, 631–636.
- Anderson S, Widén B (1993) Pollinator-mediated selection on floral traits in a synthetic population of *Senecio integrifolius* (Asteraceae). *Oikos*, **66**, 72–79.
- Brody AK (1992) Oviposition choices by a pre-dispersal seed predator (*Hylemya* sp.). I. Correspondence with hummingbird pollinators, and the role of plant size, density and floral morphology. *Oecologia*, **91**, 56–62.
- Campbell DR (1989) Measurements of selection in a hermaphroditic plant: variation in male and female pollination success. *Evolution*, **43**, 318–334.
- Chen SC(陈心启), Tsi ZH(吉占和), Lang KY(郎楷永), Zhu GH(朱光华)(1999) *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志), pp.18, 171. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Clausen J (1951) *Stages in the Evolution of Plant Species*. Cornell University Press, Ithaca, New York.
- Clausen J, Keck DD, Hiesey WM (1948) *Experimental Studies on the Nature of Species. III. Environmental Responses of Climatic Races of Achillea*. Carnegie Institute of Washington Publication, **581**, 1–129.
- Cribb P (2001) Orchidaceae. In: *Genera Orchidacearum* (eds Pridgeon AM, Cribb P, Chase MW), pp.1, 92. Oxford University Press, Oxford.
- Darwin C (1877) *The Various Contrivances by Which Orchids Are Fertilized by Insects*. University of Chicago Press, Chicago.
- Endler JA (1977) *Geographic Variation, Speciation, and Clines*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Endler JA (1986) *Natural Selection in the Wild*. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Faegri K, van der Pijl L (1978) *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon Press, New York.
- Fenster CB, Armbruster WS, Wilson P, Dudash MR, Thomson JD (2004) Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **35**, 375–403.
- Ford EB (1954) Problems in the evolution of geographic races. In: *Evolution as a Process* (eds Huxley JS, Hardey AC, Ford EB), pp. 99–108. George Allen and Unwin, Ltd., London.
- Fu LK (傅立国)(1992) *China Plant Red Data Book: Rare and Endangered Plants, I*(中国植物红皮书——稀有濒危植物, 第一册), pp.490–491. Science Press, Beijing.
- Galen C (1989) Measuring pollinator-mediated selection on morphometric traits: bumblebees and the alpine sky pilot, *Polemonium viscosum*. *Evolution*, **43**, 882–890.
- Galen C, Newport MEA (1988) Pollination quality, seed set, and flower traits in *Polemonium viscosum*: complementary effects of variation in flowers scent and size. *American Journal of Botany*, **75**, 900–905.
- Ge S (葛颂) (1997) Genetic diversity. In: *Conservation Biology (保护生物学)* (eds Jiang ZG (蒋志刚), Ma KP (马克平), Han XG (韩兴国)), pp.11–19. Zhejiang Science and Technology Press, Hangzhou. (in Chinese)
- Ge S(葛颂), Hong DY(洪德元) (1994) Genetic diversity and its detection. In: *Principles and Methodologies of Biodiversity Studies(生物多样性研究的原理与方法)*(eds Qian YQ(钱迎倩), Ma KP(马克平)), pp. 123–140. Chinese Science and Technology Press, Beijing. (in Chinese)
- Ge S(葛颂), Hong DY(洪德元) (1999) Studies of morphological and allozyme variation of the endangered *Adenophora lobophylla* and its widespread congener *A. potaninii*. *Acta Genetica Sinica(遗传学报)*, **26**, 410–417. (in Chinese with English abstract)
- Grant V, Grant KA (1965) *Flower Pollination in the Phlox Family*. Columbia University Press, New York.
- Hainsworth FR, Wolf LL, Mercier T (1984) Pollination and predispersal seed predation: net effects on reproduction and inflorescence characteristics in *Ipomopsis aggregata*. *Oecologia*, **63**, 405–409.
- Herrera CM (1993) Selection on floral morphology and environmental determinants of fecundity in a hawk-moth-pollinated violet. *Ecological Monographs*, **63**, 251–275.
- Herrera CM (1996) Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach. In: *Floral Biology—Studies on Floral Evolution in Animal—Pollinated Plants* (eds Lloyd DG, Barrett SCH),

- pp. 65–87. Chapman & Hall, New York.
- Johnson SD, Linder HP, Steiner KE (1998) Phylogeny and radiation of pollination systems in *Disa* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, **85**, 402–411.
- Johnson SD, Steiner KE (1997) Long-tongued fly pollination and evolution of floral spur length in the *Disa draconis* complex (Orchidaceae). *Evolution*, **51**, 45–53.
- Li A, Luo YB, Xiong ZT, Ge S (2002) A preliminary study on conservation genetics of three endangered orchid species. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **44**, 250–252.
- Linhart Y, Grant MC (1996) Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **27**, 237–277.
- Moritz C, Hillis DM (1996) Molecular systematics context and controversies. In: *Molecular Systematics* (eds Hillis DM, Moritz C, Mable BK), pp.1–13. Sinauer Associates, Sunderland, MA.
- Nilsson LA (1988) The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature*, **334**, 147–149.
- Nilsson LA (1998) Deep flowers for long tongues. *Trends in Ecology and Evolution*, **13**, 259–260.
- Proctor M, Yeo P, Lack A (1996) *The Natural History of Pollination*. Timber Press, Portland, Oregon.
- Real LA (1983) *Pollination Biology*. Academic Press, New York.
- Robertson JL, Wyatt R (1990) Evidence for pollination ecotypes in the yellow-fringed orchid, *Platanthera ciliaris*. *Evolution*, **44**, 121–133.
- Schaal BA, Leverich WJ, Rogstad SH (1991) Comparison of methods for assessing genetic variation in plant conservation biology. In: *Genetics and Conservation of Rare Plants* (eds Falk DA, Holsinger KE), pp. 123–134. Oxford University Press, New York.
- Schaal BA, O'Kane SL, Rogstad SH (1991) DNA variation in plant populations. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 329–333.
- Schemske DW, Horvitz CC (1989) Temporal variation in selection on a floral character. *Evolution*, **43**, 461–465.
- Schwaegerle KE, Garbutt K, Bazzaz FA (1986) Differentiation among nine populations of *Phlox*. I. Electrophoretic and quantitative variation. *Evolution*, **40**, 506–517.
- Soltis PS, Soltis DE (1991) Genetic variation in endemic and widespread plant species: examples from Saxifragaceae and *Polystichum* (Dryopteridaceae). *Aliso*, **13**, 215–223.
- Stebbins GL (1950) *Variation and Evolution in Plant*, pp. 42–152. Columbia University Press, New York.
- Steiner KE, Whitehead VB (1990) Pollinator adaptation to oil-secreting flowers *Redviva* and *Diascia*. *Evolution*, **44**, 1701–1707.
- Stewart SC, Schoen DJ (1987) Pattern of phenotypic viability and fecundity selection in a natural population of *Impatiens pallida*. *Evolution*, **41**, 1290–1301.
- Sun HQ, Luo YB, Ge S (2003) A preliminary study on pollination biology of an endangered orchid, *Changnienia amoena*, in Shennongjia. *Acta Botanica Sinica* (植物学报), **45**, 1019–1023.
- Turesson G (1922) The genotypical response of the plant species to the habitat. *Hereditas*, **3**, 211–350.
- Wang NH(王年鹤), Lu Y(吕晔), Cheng ZL(程增林) (1994) Observation of biological properties and preliminary study on reproduction of *Changnienia amoena* Chien. *Chinese Bulletin of Botany*(植物学通报), **11**(Suppl.), 53–55. (in Chinese with English abstract)
- Waser NM (1983) The adaptive nature of floral traits: ideas and evidence. In: *Handbook of Experimental Pollination Biology* (eds Jones CE, Little RJ), pp. 277–293. Van Nostrand-Reindhold, New York.
- Wilson P, Thomson JD (1996) How do flowers diverge? In: *Floral Biology—Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants* (eds Lloyd D, Barrett SCH), pp.88–111. Chapman & Hall, New York.
- Wolfe LM, Krstolic JL (1999) Floral symmetry and its influence on variance in flower size. *The American Naturalist*, **154**, 484–488.
- Wu ZY(吴征镒) (1991) Distribution type of genus of seed plants in China. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), (增刊), 1–39. (in Chinese with English abstract)
- Xiong GM(熊高明), Xie ZQ(谢宗强), Xiong XG(熊小刚), Fan DY(樊大勇), Ge S(葛颂) (2003) The phenology, reproduction and community characteristics of *Changnienia amoena*, a rare orchid, in southern part of Shennongjia range. *Acta Ecologica Sinica*(生态学报), **23**, 173–179. (in Chinese with English abstract)
- Xiong ZT(熊治廷), Wu J(吴剑), Li Y(李奕), Ge S(葛颂), Zhao ZE(赵子恩), Gui XQ(桂先群), Cheng ZL(程增林), Huang ZY(黄遵义) (2002) Relationship between flowering and vegetative status of *Changnienia amoena* Chien: a field population study. *Chinese Bulletin of Botany*(植物学通报), **19**, 87–91. (in Chinese with English abstract)
- Ying TS(应俊生), Zhang YL(张玉龙) (1994) *Endemic Genus of Seed Plants in China* (中国种子植物特有属). Science Press, Beijing. (in Chinese)

(责任编辑: 时意专)