

# 箭叶淫羊藿同质园栽培居群非腺毛多样性及其分类学启示

徐艳琴<sup>1,2</sup> 蔡婉珍<sup>1</sup> 胡生福<sup>1</sup> 黄小虎<sup>1</sup> 葛菲<sup>1\*</sup> 王瑛<sup>2\*</sup>

1 (江西中医学院药学院, 南昌 330004)

2 (中国科学院武汉植物园植物种质创新与特色农业重点实验室, 武汉 430074)

**摘要:** 淫羊藿是国际上多年来重点研究的药用植物。箭叶淫羊藿(*Epimedium sagittatum*)是淫羊藿属分布最广,也是形态变异最大的物种,箭叶淫羊藿复合群种分类中存在诸多疑点和争议。为了重建淫羊藿属的系统发育,我们利用数码显微摄影技术对10省16个箭叶淫羊藿同质园栽培居群的叶背非腺毛性状进行了比较研究。结果表明,箭叶淫羊藿非腺毛性状的主要特征包括:细胞数、非腺毛长度、是否存在伸长细胞、顶细胞形态及由此导致的顶细胞直径和壁厚差异。不同居群的非腺毛形态和特征存在巨大差异和丰富的多样性,其中顶细胞形状是最重要的特征,并与全长、有无伸长细胞、顶细胞比例、顶细胞直径和壁厚等多个性状密切相关。聚类分析将16个居群划分为两个类型,即梭形组和剑形组。变异式样的分析表明个体间和居群间整体呈现连续变异,丰富的多样性可能是多型种的表现。但形态上的分化往往来源于关键性状特征的强烈选择作用引起的居群间适应性分化,同质园栽培个体和居群间的形态差异暗示着适应性相关性状的遗传分化,居群间的形态差异应为地方适应性的结果,这种差异可能是物种形成的雏形。

**关键词:** 同质园实验, *Epimedium sagittatum*, 非腺毛, 多样性, 变异式样, 多型种

## Morphological variation of non-glandular hairs in cultivated *Epimedium sagittatum* (Berberidaceae) populations and implications for taxonomy

Yanqin Xu<sup>1,2</sup>, Wanzhen Cai<sup>1</sup>, Shengfu Hu<sup>1</sup>, Xiaohu Huang<sup>1</sup>, Fei Ge<sup>1\*</sup>, Ying Wang<sup>2\*</sup>

1 College of Pharmacy, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

2 Key Laboratory of Plant Germplasm Enhancement and Speciality Agriculture, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074

**Abstract:** We investigated the morphological variations of non-glandular hairs across 16 cultivated *Epimedium sagittatum* (Berberidaceae) populations using digital photomicrography. The main features examined included the total numbers of cells, the full-length and ratio of the first cell, the angle and connection pattern between the first and adjacent cells, the presence of elongated cell(s), and the shape, diameter and cell wall thickness of the first cell. Of these, the shape of the first cell was the most important variable and was associated with such characters as the full length, the presence of elongated cell(s), the ratio of the first cell, and the diameter and cell wall thickness of the first cell. Morphological diversity among populations was significant with two main groups identified, namely as sword-shaped group and a fusiform group. However, variations of the main characters was continuous among individuals and populations, suggesting that *E. sagittatum* was possibly a polytypic species. Adaptive divergence of key traits between populations caused by natural selection was also possible. The genetic basis of variation was evidenced by morphological differences maintained among populations cultivated in a common garden. Phenotypic divergence between ecologically separated populations could be the result of local adaptation.

**Key words:** common garden experiment, *Epimedium sagittatum*, non-glandular hairs, diversity, continuous variation patterns, polytypic species

收稿日期: 2012-10-31; 接受日期: 2013-03-21

基金项目: 国家自然科学基金(31100146)、江西省卫生厅中医药科研项目(2012A147)和江西省科技专项(20123BBG70199)

\* 通讯作者 Authors for correspondence. E-mail: gftcm@163.com; yingwang@wbgcas.cn

箭叶淫羊藿(*Epimedium sagittatum*)为小檗科淫羊藿属多年生草本植物,与淫羊藿(*E. brevicornu*)、柔毛淫羊藿(*E. pubescens*)和朝鲜淫羊藿(*E. koreanum*)共同作为药材淫羊藿的基原植物。淫羊藿始载于《神农本草经》,具有2,000多年的药用历史,是中国应用最广泛、历史最悠久的中草药之一,传统用于补肾阳、强筋骨和祛风湿,现代药理表明还具有抗衰老、提高免疫功能、抑制肿瘤等功效,是国际上多年来重点研究的药用植物(Wu *et al.*, 2003; Xu *et al.*, 2013)。此外,淫羊藿作为地被观赏植物是其近年来和未来发展的趋势,国外已开展相关研究并培育出许多优良地被观赏品种(Ward, 2004)。

箭叶淫羊藿为淫羊藿属分布最广的种,湖北、湖南、江西、安徽、福建、浙江、广东、贵州、四川和陕西等省均有分布(徐艳琴等, 2008)。同时,也是形态变异最大的物种,被公认为淫羊藿属分类学上最难处理的种(何顺志等, 2003; 郭宝林和肖培根, 2003; 徐艳琴等, 2008)。花序类型、花瓣(距)的形态、叶背非腺毛形态和花粉外壁纹饰(郭宝林等, 1998; 何顺志等, 2003; 王悦云等, 2008)都曾用于箭叶淫羊藿的分类研究,但不同学者对其分类学处理始终存在较大争议。箭叶淫羊藿复合群种作为淫羊藿属最复杂的类群,其分类学处理不解决,就无法获得满意的淫羊藿属系统发育重建,植物资源也无法得到合理利用。

箭叶淫羊藿复合群种分类中存在诸多疑点和争议,需要进一步深入研究,如:种的界定不明确,是种还是变种?目前为止,至少有7个种或变种与箭叶淫羊藿界定不清。早在1938年,Stearn将*E. sinense* var. *pyramidale* Franch处理为箭叶淫羊藿的宽序变种[*E. sagittatum* var. *pyramidale* (Franch.) Stearn] (Stearn, 1938)。应俊生(1975)支持箭叶淫羊藿的宽序变种,并增加光叶变种(*E. sagittatum* var. *glabratum* T. S. Ying)。梁海锐等(1990b)发表毡毛淫羊藿新种(*E. coactum* H. R. Liang et W. M. Yan)及毡毛淫羊藿龙头虎变种(*E. coactum* H. R. Liang et W. M. Yan var. *longtouhum* H. R. Liang)。随后,郭宝林(1999)将毡毛淫羊藿降为箭叶淫羊藿毡毛变种 [*E. sagittatum* var. *coactum* (H. R. Ling et W. M. Yan) B. L. Guo et Hsiao], 毡毛淫羊藿龙头虎变种并入箭叶淫羊藿宽序变种。应俊生(2001)在《中国植物志》中将宽序变种作为天平山淫羊藿(*E. myrianthum*

Stearn)的异名,只认可光叶淫羊藿变种。而何顺志等(2003)将之前的分类处理进行大颠覆,将箭叶淫羊藿光叶变种、宽序变种和毡毛淫羊藿龙头虎变种都并入天平山淫羊藿,同时分别增加箭叶淫羊藿和天平山淫羊藿各1个新变种,即贵州淫羊藿(*E. sagittatum* var. *guizhouense* S. Z. He et B. L. Guo)和剑河淫羊藿(*E. myrianthum* var. *jianheense* S. Z. He et B. L. Guo),重新提升毡毛淫羊藿为一独立种。贵州淫羊藿作为箭叶淫羊藿变种的处理后来得到王悦云等(2008)的支持。但以上种种观点在*Flora of China*中并未得到认同,应俊生等(Ying *et al.*, 2009)坚持箭叶淫羊藿只有光叶变种,不认可贵州淫羊藿和剑河淫羊藿,也不支持毡毛淫羊藿的描述。

药用植物的错误鉴定将导致药材质量和临床疗效无法保障,影响药用植物资源的合理利用,甚至可能导致严重的不良后果(Wang *et al.*, 1998; Fry *et al.*, 2003; Pringle *et al.*, 2005)。叶背非腺毛形态特征曾被认为是淫羊藿属物种鉴定及区分相关类群的重要性状,几乎每个物种都有自己特征的非腺毛(何顺志等, 1992, 2003),可作为无花植株和药材鉴定的依据(梁海锐和阎文玫, 1992)。梁海锐等(1990a)对15种淫羊藿属植物的非腺毛特征做了详细描述及对比,并将非腺毛特征作为偏斜淫羊藿、单叶淫羊藿、腺毛淫羊藿和龙头虎毡毛淫羊藿新种判定的依据之一(梁海锐等, 1990b)。何顺志等(2003)将非腺毛的形态差异应用于箭叶淫羊藿及其近缘种的鉴定,认为箭叶淫羊藿为伏生硬粗毛,宽序变种疏被贴生柔毛,毡毛淫羊藿叶背密生棕色毛,厚如毡被。王悦云等(2006<sup>①</sup>, 2008)和张晓东(2009)<sup>②</sup>分别对淫羊藿属小花类群15种1变种和大花类群16种进行了系统研究,结果表明该类群叶背非腺毛主要有两种类型(伏毛 vs. 柔毛/直毛)。高敏(2011)<sup>③</sup>选取中国地区40个物种101份标本的非腺毛特征观测,基于细胞数、细胞壁厚、细胞间大小分化、相邻细胞连接方式和毛形态等性状将其归纳为5种类型,并结合非腺毛特征对柔毛淫羊藿复合体、木鱼坪淫羊藿复合体和粗毛淫羊藿复合体等提出修订意见。这些

①王悦云 (2006) 中国 *Epimedium* 属小花类群分类鉴定与质量研究. 贵阳中医学院硕士学位论文, 贵阳.

②张晓东 (2009) 中国淫羊藿属 *Epimedium* 大花类群分类鉴定与药材质量研究. 贵阳中医学院硕士学位论文, 贵阳.

③高敏 (2011) 中国地区淫羊藿属非腺毛特征及木兰花碱含量研究. 中国医学科学院药用植物研究所硕士学位论文, 北京.

研究表明,淫羊藿属非腺毛结构特征如细胞间夹角、细胞壁厚薄、顶细胞形状、长度、直径、内含物、有无关节等在种间存在差异,是最重要的鉴别特征,具有分类学价值。但淫羊藿种下变异十分复杂,且从生物学角度考虑,物种是由若干个多少间断的居群而非个体所组成,从个体提取的特征无法完全代表一个物种(陈家宽和王徽勤, 1986; 汤彦承和向秋云, 1989)。要更好地认识性状变异幅度及其分类价值,就应当足够重视物种的居群系统(谢玉华, 2003)。

同质园实验(common garden experiment)是将不同生境居群的个体引种栽植在同一园地,保持其生境一致性,剔除表型变异中的环境因素而单独考察遗传遗传因素的效应,可检测居群间表型差异是否为表型可塑性的地方适应分化的结果。如果形态差异经同质园栽培后仍然存在,则可以认定这种差异来源于遗传分化,可能是物种形成的雏形(Ballentine & Greenberg, 2010)。

前期研究证明箭叶淫羊藿的非腺毛特征具有重要的分类学价值,但原有研究多局限于少量分布区内有限的研究样本,难以客观、全面反映其变异式样和趋势。正确的物种概念来自对植物变异式样及其分类学价值的正确和充分理解(徐炳声, 1998)。本研究按照居群遗传学(population genetics)覆盖物

种分布区的多居群、多个体取样策略,开展同质园栽培实验以剔除环境因素的影响,充分研究不同产地或居群箭叶淫羊藿非腺毛的特征差异及演化规律,探讨其差异的根源及分类学价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

关于箭叶淫羊藿实验材料的分类界定,本文暂且参照《中国植物志》和英文版植物志 *Flora of China* 的分类处理,认为箭叶淫羊藿只包含原变种和光叶淫羊藿变种,不认可贵州淫羊藿等其他变种。由于光叶淫羊藿变种叶背光滑无毛,所以未包含在本研究中。因此,本研究中的居群均为箭叶淫羊藿原变种。研究材料来自2005年采集的14个箭叶淫羊藿野生居群及2个美国波士顿植物园引种居群(原产地为中国,产地不详),野生居群覆盖其主要分布区,包括湖南、湖北、贵州、江西、广西、安徽、广东、福建、浙江和重庆等10省市,每个居群采集10–30株个体同质园栽培于中科院武汉植物园淫羊藿属专类园。非腺毛观测的材料于2011年取自不同居群箭叶淫羊藿同质园栽培条件下花茎上成熟健康的叶片,每个居群随机选择5株进行叶片采集,每株随机采集5片叶片,材料具体信息详见表1。

表1 箭叶淫羊藿样本来源及野生居群信息  
Table 1 Location and habitat characters of wild populations of *Epimedium sagittatum*

居群 Code	采集地点 Location	海拔 Elevation (m)	东经 Longitude (E)	北纬 Latitude (N)
AHHS	安徽省黄山汤口镇黄山景区 Yellow Mountain scenic area, Anhui Province	760	118°09'56.8"	30°06'06.6"
AHLA	安徽省六安市霍山县 Huoshan, Liu'an, Anhui Province	520	116°19'12.4"	31°40'23.6"
BST1	波士顿植物园引种居群, 原产地中国, 具体地点不详 Originated from China, without detailed location	—	—	—
BST2	波士顿植物园引种居群 Originated from China, without detailed location	—	—	—
CQWX	重庆市万县 Wanxian, Chongqing	590	108°20'15.5"	30°50'02.8"
FJYT	福建福州永泰县葛岭镇 Geling, Yongtai, Fuzhou, Fujian Province	80	119°05'20.0"	25°53'40.4"
GDRY	广东韶关市汝源县大桥镇 Daqiao, Ruyuan, Shaoguan, Guangdong Province	290	113°08'40.4"	24°59'38.0"
GXLJ	广西柳州柳江县洛满镇 Luoman, Liujiang, Liuzhou, Guangxi	298	109°12'40.2"	24°25'48.4"
GZZY	贵州镇远县舞阳河镇 Wuyanghe, Zhenyuan, Guizhou Province	555	108°22'25.0"	27°04'32.3"
HBLT1	湖北罗田县三里畈镇 Sanlifan, Luotian, Hubei Province	101	115°17'13.3"	30°54'28.0"
HBLT2	湖北罗田天堂寨风景区 Tiantangzhai scenic area, Luotian, Hubei Province	458	115°18'34.8"	31°34'44.8"
HNCL	湖南慈利县零溪镇 Lingxi, Cili, Hunan Province	157	111°11'05.7"	29°23'41.6"
HNHH	湖南怀化罗旧镇 Luojiu, Huaihua, Hunan Province	115	109°45'58.7"	27°28'28.0"
JXWN	江西武宁县宋溪镇 Songxi, Wuning, Jiangxi Province	138	115°01'42.6"	29°19'45.1"
JXNF	江西南丰紫霄镇 Zixiao, Nanfeng, Jiangxi Province	149	116°19'24.9"	27°03'19.6"
ZJKH	浙江衢州开化县杨林镇 Yanglin, Kaihua, Quzhou, Zhejiang Province	260	118°06'37.0"	29°04'00.1"

## 1.2 实验方法

采用叶表皮局部刮取非腺毛法制片,先用洗耳球吹去叶表皮上的浮尘,均匀刮取叶基、叶尖、叶缘、叶中部的非腺毛于载玻片上,用醋酸甘油(50%冰醋酸:甘油:蒸馏水=1:1:1)透化后,加拿大树胶稀释液封片,室温下晾干。使用DM BA200-B光学显微镜在10×40倍镜下观测其结构,每居群随机选取20颗完整、具代表性的非腺毛进行测定,记录总细胞数、非腺毛全长、顶细胞长(顶细胞指非腺毛末端的一个细胞)、其余细胞长、顶余比(顶细胞与其余细胞长度比)、顶细胞比例、顶细胞直径、顶细胞壁厚、顶细胞与其他细胞衔接方式(钝接,也称钝角相接,2个相接的细胞夹角范围在90°–180°;直接,也称直接相接,2个相接的细胞夹角呈180°;“T”接,也称“T”型相接,2个相接的细胞间呈90°左右,且以顶细胞近基部侧面位置相接。)、顶细胞形状、顶细胞与其余细胞夹角、细胞间是否有膨大关节、是否具伸长细胞(顶细胞与非腺毛基部扁小细胞之间相对明显伸长的细胞)及是否具内含物等信息。并对清晰、完整的代表性非腺毛在10×10倍镜下进行显微数码拍摄。

图片信息采用Photoshop图像处理软件编辑。数据采用SPSS统计,以变异系数作为种群内各形态特征变异的测度,用单样本的 $t$ -检验检测种群内形态变异的显著性水平,并开展居群原产地的海拔和经、纬度与非腺毛主要性状的相关性分析以及非腺毛性状特征间的相关性分析,使用NTSYS 2.2 (Rohlf, 1998)进行聚类分析。

## 2 结果

### 2.1 箭叶淫羊藿非腺毛概况

从16个居群320颗非腺毛的统计结果来看(个体数据未列,仅提供居群平均数据),箭叶淫羊藿叶背非腺毛为单列式多细胞伏毛或短伏毛,由2–10个细胞组成,全长约86.06–829.86  $\mu\text{m}$ ,多数透明无色。顶端细胞是非腺毛的主要部分,剑形或梭形,壁加厚,先端钝圆或钝,向一侧倒伏,与其余细胞形成一定夹角(90.95°–179.88°),其长度长于或远长于(1.10–21.00倍)其余细胞,顶细胞占非腺毛全长的52–95%。顶细胞形态是箭叶淫羊藿非腺毛最重要的特征,与顶余比、顶细胞直径、顶细胞壁厚、伸长细胞有无、非腺毛全长和顶细胞比例等多个性状密

切相关。如,梭形顶细胞远宽于或厚于剑形者,其直径和细胞壁壁厚分别为8.47–51.88  $\mu\text{m}$ 和3.24–22.05  $\mu\text{m}$ 。剑形顶细胞的非腺毛一般存在伸长细胞,外形整体细长,顶细胞比例相对较小(居群平均比例为61.37–72.18%);而梭形顶细胞的非腺毛一般缺乏伸长细胞,非腺毛粗短,顶细胞比例明显增大(居群平均比例为75.08–88.26%)。基部细胞多短小,由1–6个细胞组成,近等长,结节状。壁薄的基部细胞或细胞相接处一般含黄棕色颗粒状内含物,其余细胞近无。相邻细胞相接处无明显膨大的关节结构。

### 2.2 箭叶淫羊藿非腺毛多样性

#### 2.2.1 居群间变异

不同居群箭叶淫羊藿叶背非腺毛形态差异显著,非腺毛显微结构中重要的鉴别特征,如总细胞数、非腺毛全长、顶细胞比例、顶细胞直径、顶细胞壁厚、顶细胞形态、顶细胞与其余细胞间夹角都呈现非常丰富的多样性(图1、表2)。居群水平上总细胞数为3.00(CQWX)–8.25(AHLA),其中10个居群集中在5左右(4.45–5.55)。非腺毛全长153.09(CQWX)–625.94  $\mu\text{m}$ (AHLA),其中半数以上(9个)居群的全长在200–300  $\mu\text{m}$ 之间。顶细胞在非腺毛中占绝对优势,顶细胞占非腺毛全长的比例从61.37(HNHH)–88.26%(JXWN),7个居群超过80%。顶细胞直径为11.11(BST2)–45.38(GDRY),居群间差异4.08倍,直径差异主要来源于其两侧细胞壁的厚度差异,为4.11(BST2)–18.74(GDRY),相差4.56倍。而细胞壁的厚度则主要取决于顶细胞的形状,梭形顶细胞较之剑形顶细胞具有明显的厚壁。顶细胞与其他细胞的衔接方式多为钝接,其中AHHS、AHLA、CQWX和HBLT1部分样本中观察到直接的类型。最为特殊的是GZZY居群,这是本次研究中惟一表现为“T”形相接的居群,与顶细胞与其余细胞夹角为90°左右,于顶细胞近基部的侧面位置相接(图1)。

基于非腺毛主要特征的UPGMA聚类分析结果表明,16个居群的样本清晰地分为A、B两组,其中6个居群,AHHS、HBLT1、AHLA、BST2、HNHH和HBLT2为剑形组(A组),主要特征为:顶细胞剑形或长剑形,非腺毛细长,细胞数较多,其细胞直径和细胞壁均较薄,顶细胞比例相对较低,顶细胞与基细胞之间存在伸长细胞。其余10个居群为梭形组(B组),共同特征为:非腺毛粗短,细胞数偏少,

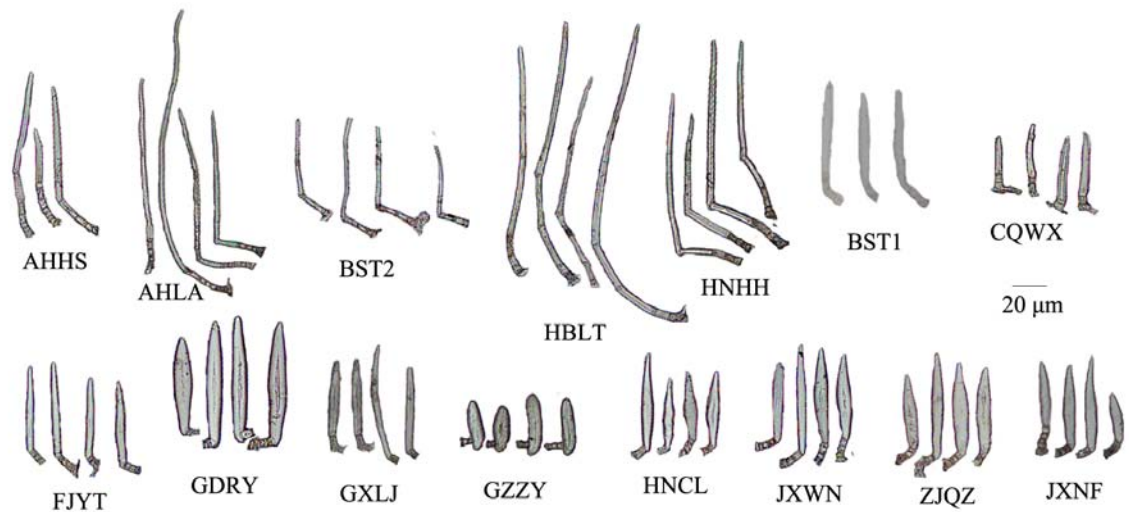


图1 15个箭叶淫羊藿同质园栽培居群非腺毛形态比较(居群代号同表1)  
Fig. 1 Comparison of the morphological characters among 15 cultivated populations of *Epimedium sagittatum*. Population codes see Table 1.

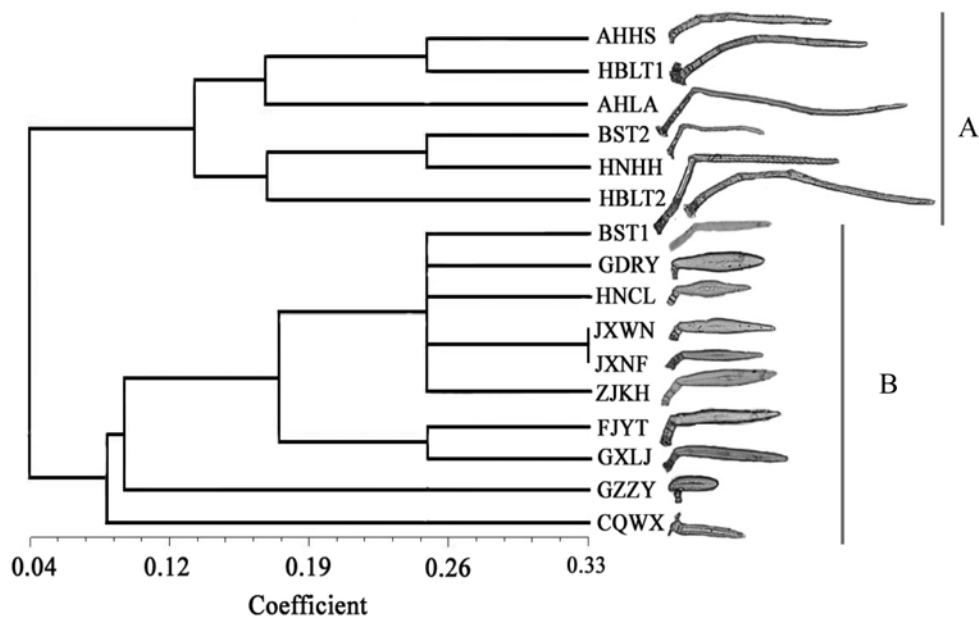


图2 16个箭叶淫羊藿同质园栽培居群非腺毛形态的UPGMA聚类图(居群代号同表1)  
Fig. 2 UPGMA dendrogram using morphological characters for 16 cultivated populations of *Epimedium sagittatum*. Population codes see Table 1.

顶细胞极其发达, 占据非腺毛全长的75%以上, 其形状为梭形或矩圆形(如GZZY居群), 顶细胞直径和细胞壁均明显加厚, 顶细胞与基细胞之间存在伸长细胞。引自中国的BST1和BST2居群, 其原产地不详, 就聚类分析结果判断, BST1和BST2居群分属于不同组, BST1居群与B组的7个居群界定不清, 而

BST2居群与HNHH居群最为接近, 但两者非腺毛全长差异较大(294.07/509.76)。

2.2.2 居群内变异

从表2可以看出, 同一非腺毛性状的变异系数在不同居群内变化较大, 如非腺毛总细胞数变异系数的最大值为0.1944(HBLT2居群), 最小值为0.0877

表2 箭叶淫羊藿16个同质园栽培居群的非腺毛特征及其变异系数(括号内数字)比较(居群代号同表1)  
Table 2 Morphological variation and the CV (coefficients of variation in parentheses) of non-glandular hairs for 16 *Epimedium sagittatum* cultivated populations. Population codes see Table 1.

代号 Code	总细胞数 Total number of cells	非腺毛全长 Full length ( $\mu\text{m}$ )	顶细胞比例 Ratio of the first cell (%)	顶细胞直径 Diameter of the first cell ( $\mu\text{m}$ )	顶细胞壁厚 Cell wall thickness of the first cell ( $\mu\text{m}$ )	顶细胞与其余 细胞夹角 Angle ( $^{\circ}$ )	衔接方式 Connection pattern	顶细胞形状 Shape of the first cell	伸长细胞 Elongated cell(s)
AHHS	6.95 (0.0988)	327.65 (0.1776)	66.55 (0.0855)	17.31 (0.0833)	6.98 (0.1103)	160.07 (0.0791)	直接/钝接	剑形	有
AHLA	8.25 (0.1517)	625.94 (0.2059)	72.18 (0.1374)	13.66 (0.1065)	4.65 (0.1201)	131.97 (0.1770)	钝接/直接	Sword-shaped 长剑形	Present 有
BST1	5.55 (0.1237)	261.60 (0.1504)	77.31 (0.0530)	17.93 (0.1564)	7.79 (0.1550)	155.97 (0.0932)	Obtuse angle or boxer 钝接	Long sword-shaped 梭形	Present 无
BST2	4.55 (0.1122)	294.07 (0.1563)	69.32 (0.0708)	11.11 (0.0936)	4.11 (0.1489)	130.80 (0.1620)	Obtuse angle 钝接	Fusiform 剑形	Absent 有
CQWX	3.00 (0.1529)	153.09 (0.2074)	75.08 (0.0631)	20.37 (0.0977)	8.26 (0.1256)	158.99 (0.1014)	Obtuse angle 直接/钝接	Sword-shaped 短剑形	Present 无
FJYT	4.60 (0.1480)	266.50 (0.1595)	83.12 (0.0497)	22.22 (0.0950)	9.23 (0.1138)	133.38 (0.1129)	Boxer or obtuse angle 钝接	Short sword-shaped 长剑形	Absent 无
GDRY	5.30 (0.0887)	287.93 (0.1774)	85.80 (0.0402)	45.38 (0.0794)	18.74 (0.0963)	118.83 (0.1085)	Obtuse angle 钝接	Long sword-shaped 梭形	Absent 无
GXLJ	3.20 (0.1283)	287.61 (0.3891)	87.93 (0.0732)	17.65 (0.1339)	6.90 (0.2059)	139.40 (0.1822)	Obtuse angle 钝接	Fusiform 剑形	Absent 无
GZZY	3.10 (0.1443)	157.47 (0.1869)	85.81 (0.0431)	34.34 (0.1193)	14.68 (0.1129)	105.99 (0.1608)	Obtuse angle “T”接	Sword-shaped 椭圆/矩圆	Absent 无
HBLT1	5.55 (0.1598)	413.80 (0.1361)	67.88 (0.1665)	13.77 (0.1173)	5.44 (0.1561)	160.26 (0.0703)	“T” shape 直接/钝接	Oval or oblong 剑形	Absent 有
HBLT2	5.35 (0.1944)	579.37 (0.2122)	64.71 (0.1620)	14.97 (0.1426)	5.37 (0.1726)	139.14 (0.2120)	Boxer or obtuse angle 钝接	Sword-shaped 长剑形	Present 有
HNCL	4.45 (0.1147)	219.03 (0.0876)	82.46 (0.0391)	31.15 (0.1050)	13.27 (0.1312)	125.59 (0.0977)	Obtuse angle 钝接	Long sword-shaped 梭形	Present 无
HNHH	6.15 (0.1607)	509.76 (0.1517)	61.37 (0.1122)	13.85 (0.0928)	5.47 (0.1142)	119.85 (0.1552)	Obtuse angle 钝接	Fusiform 剑形	Absent 有
JXWN	4.65 (0.1283)	267.97 (0.1554)	88.26 (0.5486)	34.44 (0.2176)	14.69 (0.1984)	139.14 (0.1154)	Obtuse angle 钝接	Sword-shaped 长梭形/梭形	Present 无
JXNF	4.65 (0.1263)	205.01 (0.1387)	78.04 (0.0544)	26.55 (0.1081)	11.49 (0.1215)	130.65 (0.1351)	Obtuse angle 钝接	Long spindle of fusiform 梭形	Absent 无
ZJKH	4.75 (0.1656)	220.23 (0.3851)	83.79 (0.1056)	33.41 (0.2383)	10.79 (0.2101)	142.64 (0.1025)	Obtuse angle 钝接	Fusiform 梭形/长梭形	Absent 无
差异倍数 Difference in populations	2.75 (2.22)	4.09 (4.44)	1.44 (14.03)	4.08 (3.00)	4.56 (2.18)	1.51 (3.02)	Obtuse angle	Fusiform or long spindle	Absent

(GDRY居群), 相差2.22倍。变异系数在居群间差异最为显著的是顶细胞比例, JXWN居群(0.5486)较之GDRY居群(0.0402)差异达14.03倍。此外, 非腺毛全长差异也较明显, 为4.44倍。9个形态参数在居群内的平均变异程度从大到小依次为: 顶余比(0.3470, 数据未列)、其余细胞长(0.2587, 数据未列)、顶细胞长(0.2213, 数据未列)、全长(0.1923)、顶细胞壁厚(0.1433)、总细胞数(0.1374)、夹角(0.1291)、顶细胞直径(0.1242)和顶细胞比例(0.1128)。各居群形态特征的平均变异系数差异在AHLA、GXLJ、HBLT2、JXWN和ZJKH这5个居群中超过0.2000(0.2331–0.2841), 其余11个居群为0.1500左右(0.1177–0.1820)。

2.3 箭叶淫羊藿非腺毛特征相关性

非腺毛所有特征与海拔和经、纬度间均未检测到显著相关性( $P>0.05$ , 数据未列), 说明其特征与居群的地理分布不存在明显线性关联。但绝大多数非腺毛特征间存在显著相关性, 从表3结果来看, 顶细胞与其余细胞夹角这一性状较为特殊, 除了与顶细胞直径和顶细胞壁厚存在显著相关性外( $P<0.05$ ), 与其他性状相关性均不显著。其他性状间则除了总细胞数与顶细胞直径和顶细胞壁厚、顶细胞长与顶余比和顶细胞直径间不存在显著相关性外, 均为显著相关, 甚至低于或接近于0.01水平的显著性。

非腺毛特征间的整体相关性趋势可归纳为: 总细胞数越多, 非腺毛就越长, 顶余比和顶细胞比例就越小; 而非腺毛越长, 顶余比、顶细胞比例、顶细胞直径和壁厚就越小; 顶细胞壁越厚, 非腺毛全长及各部分细胞长就越短, 顶余比、顶细胞比例、顶细胞直径就越大, 存在伸长细胞的可能性就越小。

2.4 箭叶淫羊藿非腺毛变异式样

分析不同居群箭叶淫羊藿非腺毛形态变异式样, 结果表明: (1)顶细胞形态、非腺毛全长、总的细胞数在居群间变异较大, 在长期的生态适应中, 不同居群出现了一定程度的分化(A、B两组类型的分化)。如AHHS、HBLT1、HNHH、HBLT2、BST2和AHLA居群的顶细胞剑形, 其余居群顶细胞为梭形。非腺毛全长在AHHS、HBLT1、HNHH、HBLT2和AHLA居群中尤为细长, 其他居群相对粗短, 而GZZY和CQWX则明显短小。非腺毛细胞数在居群

表3 16个箭叶淫羊藿同质园栽培居群非腺毛性状间的相关系数(对角线上方)及显著性(对角线下方)

性状 Feature	Correlation (above diagonal) and significance (below diagonal) among features of cultivated populations of <i>Epimedium sagittatum</i>									
	总细胞数 Total number of cells	非腺毛全长 Full length	顶细胞长 Length of the first cell	其余细胞长 Length of the rest cells	顶余比 Ratio of first and rest cell	顶细胞比例 Ratio of the first cell	顶细胞直径 Diameter of the first cell	顶细胞壁厚 Cell wall thickness of the first cell	顶细胞与其余 细胞夹角 Angle (°)	伸长细胞 Elongated cell
总细胞数 Total number of cells		0.749	0.729	0.672	-0.574	-0.547	-0.336	-0.363	0.148	0.658
非腺毛全长 Full length	0.000		0.964	0.934	-0.570	-0.650	-0.549	-0.579	0.013	0.792
顶细胞长 Length of the first cell	0.001	0.000		0.809	-0.372	-0.434	-0.416	-0.453	-0.047	0.646
其余细胞长 Length of the rest cells	0.002	0.000	0.000		-0.776	-0.847	-0.640	-0.657	0.113	0.888
顶余比 Ratio of first and rest cell	0.010	0.011	0.078	0.000		0.925	0.673	0.664	-0.411	-0.802
顶细胞比例 Ratio of the first cell	0.014	0.003	0.047	0.000	0.000		0.754	0.748	-0.308	-0.890
顶细胞直径 Diameter of the first cell	0.102	0.014	0.055	0.004	0.002	0.000		0.980	-0.435	-0.711
顶细胞壁厚 Cell wall thickness of the first cell	0.084	0.009	0.039	0.003	0.003	0.000	0.000		-0.453	-0.726
顶细胞与其余细胞夹角 Angle (°)	0.292	0.481	0.431	0.338	0.057	0.123	0.046	0.039		0.166
伸长细胞 Elongated cell	0.003	0.000	0.003	0.000	0.000	0.000	0.001	0.001	0.269	

间存在类似的明显分化, CQWX、GZZY和GXLJ居群细胞数较少(3.00–3.20), 而AHLA居群则高达8.25。(2)顶细胞直径和顶细胞壁厚表现出较强的可塑性, 居群间呈现典型的连续变异式样, 仅GDRY居群为离群值, 异常宽厚。(3)顶细胞与其余细胞的夹角在居群内存在较大差异, 而居群间变异幅度并不大, 没有显著的分类参考价值。(4)从聚类分析结果来看, 江西武宁(JXWN)和江西南丰居群(JXNF)未达到足够分化, 形态变异式样分析显示两者之间仅在顶细胞直径上存在较大差异, 而非腺毛全长、顶细胞厚度和顶细胞与其余细胞夹角等方面非常类似或较为接近。整体而言, 同质园栽培箭叶淫羊藿非腺毛性状在居群内个体间及居群间呈现连续变化的多态变异(图3)。

### 3 讨论

#### 3.1 非腺毛特征对淫羊藿属分类学的意义

淫羊藿属一直是分类学上难以处理的类群, 种间界限模糊不清, 种内变异明显, 其外部形态在种间和种内的变异幅度很难把握, 许多种的形态特征表现出演化程度的不一致, 又由于种间杂交往往可

育, 种质渐渗的存在致使种间的关系错综复杂, 属下分类和种的范围确定十分困难(郭宝林等, 1998)。分类学家们一直致力于该属植物各类性状的分析研究, 以求更好解决其分类鉴定问题。花粉形态(郭宝林等, 1998)、核型分析(盛茂银和陈庆富, 2007)、化学成分(郭宝林和肖培根, 1999)都曾用于淫羊藿属分类学研究。在淫羊藿属的专著中, 主要分类依据是花茎上叶的数目, 花瓣上距的长短是次级分类性状(Stearn, 1938, 2002)。但花茎上叶的数目有时很不稳定, 而花瓣上距的性状在组下多级使用, 这一分类方法有待改进(郭宝林和肖培根, 1999; Zhang *et al.*, 2011)。且本属植物的花松散、结构复杂多变且花期很短, 各部分易脱落且质薄易变形, 干燥后很难保留原有的颜色和式样, 腊叶标本亦很难保证其特征的完整有效(王悦云, 2006; 张晓东, 2009)。而实际使用中的淫羊藿药材, 更是难觅花踪, 如果药材只有叶片, 可利用的鉴别特征就更少, 给药材的准确鉴定带来困难(王悦云, 2006)。但非腺毛特征在新鲜植物、植物标本或干燥药材中较稳定, 不会因为脱水干燥而发生改变, 解决了该属植物无花便难于准确鉴定的困难, 对植物鉴定尤其是实际使用中

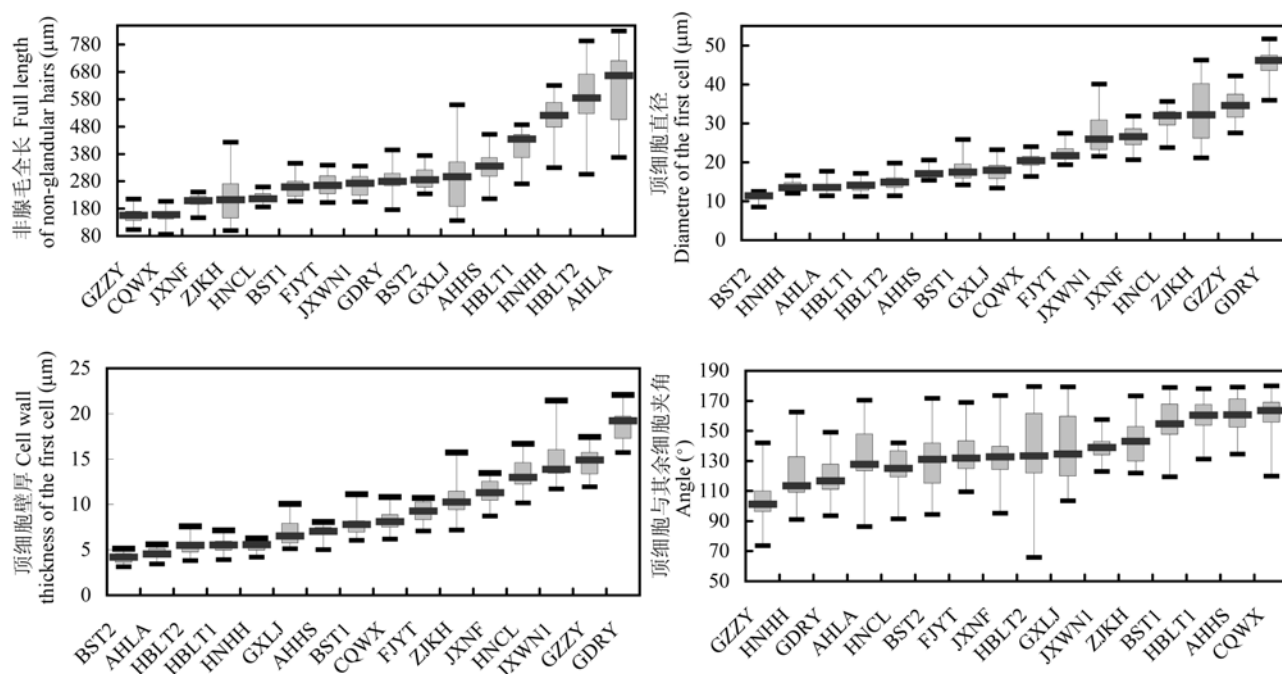


图3 不同居群箭叶淫羊藿非腺毛主要特征的箱线图(居群代号同表1)

Fig. 3 The box plot of main characters of non-glandular hairs among populations. Population codes see Table 1.



商品药材的来源鉴别提供了一种简便有效的分类方法(王悦云, 2006)。梁海锐等(1990b)将非腺毛特征作为区分偏斜淫羊藿、单叶淫羊藿、腺毛淫羊藿和龙头虎毡毛淫羊藿的性状之一。何顺志(2003)借助非腺毛特征区分箭叶淫羊藿、箭叶淫羊藿宽序变种和毡毛淫羊藿。王悦云(2006)和王悦云等(2008)根据非腺毛特征支持贵州淫羊藿作为箭叶淫羊藿的变种处理。基于非腺毛特征的比较研究, 高敏(2011)建议将星花淫羊藿作为柔毛淫羊藿变种, 保靖淫羊藿和时珍淫羊藿应并入木鱼坪淫羊藿, 单叶淫羊藿和绿药淫羊藿合并入粗毛淫羊藿。本研究中箭叶淫羊藿非腺毛特征较稳定, 同一居群个体间具有形态和性状相似的非腺毛。植物形态特征是长期适应进化的结果, 各个性状之间往往存在一定联系, 一个性状的变异可能导致其他相关性状的变异(孙海芹等, 2005), 如本研究中顶细胞形状与顶细胞直径、细胞壁厚、伸长细胞有无、非腺毛全长和顶细胞比例等多个性状密切相关, 说明各性状在长期应对不同生境的过程中已形成了协调一致的适应, 可作为分类学依据。

同时, 显微数码摄像图代替手工绘图, 以真实的形态、自然的颜色逼真地反映了非腺毛的特征, 图像效果与素描相比更感性、客观, 提高了实际运用中的参考价值(王悦云, 2006)。

### 3.2 同质园栽培在分类研究中的必要性

正确处理箭叶淫羊藿的分类学地位对箭叶淫羊藿的资源利用和淫羊藿属的系统分类学都具有重要意义。作者曾将形态变异、遗传和化学型变异整合研究的方法应用于箭叶淫羊藿的分类学研究, 不同居群在表型、遗传多样性和化学型上均表现出非常丰富的多样性, 但未获得充足可靠的分类学处理依据(徐艳琴, 2008)。箭叶淫羊藿分类学处理的主要困难在于不能确知形态分化的原因, 同质园实验是最直接的方法。同质园栽培去除了环境不均匀性造成的居群内个体差异或居群间差异(环境修饰作用), 因而其形态学或表型性状可作为检测遗传变异最简便易行的方法(顾德兴和徐炳声, 1986)。引种于野外的自然居群经多年同质园栽培实验后, 通过个体和群体差异的观察更能直观地反映物种间差异和物种的界定(黄宏文和张征, 2012)。

### 3.3 基于非腺毛特征的箭叶淫羊藿分类学启示

箭叶淫羊藿由于分类上存在的诸多疑问和争

议, 是淫羊藿属非腺毛研究重点关注的类群之一。梁海锐等(1990a)报道箭叶淫羊藿叶背非腺毛为粗短毛, 何顺志等(1992)描述箭叶淫羊藿非腺毛为单细胞(其实是基细胞断裂后存留的顶细胞——作者注), 毛少且硬伏, 梭状。梁海锐和阎文玫(1992)观察到箭叶淫羊藿的非腺毛为纺锤形, 细胞数可多至7个。何顺志(2003)将肉眼观察的非腺毛形态差异应用于箭叶淫羊藿及其近缘种的鉴定, 认为箭叶淫羊藿为伏生硬粗毛, 宽序变种疏被贴生柔毛, 毡毛淫羊藿叶背密生棕色毛, 厚如毡被。王悦云(2006)则认为箭叶淫羊藿的非腺毛为短伏毛, 由3–5个细胞组成, 顶细胞长梭形, 并首次关注产地间比较, 发现湖南永顺和贵州松桃产地间存在不明显差异。高敏(2011)进一步采集了箭叶淫羊藿分布于5省的9份样本进行分析, 结果表明不同来源的箭叶淫羊藿其非腺毛特征差异明显, 主要区别在于顶细胞形状、顶细胞与基部细胞的衔接方式及夹角大小, 观察到了长剑形和梭形两种类型的顶细胞形态。本研究严格遵循居群遗传学的取样策略, 选择16个居群进行研究, 覆盖了箭叶淫羊藿的主要分布区。且每居群选择20颗完整、具代表性的非腺毛进行测量和描述, 保证统计数据的代表性和完整性, 这是获得性状变异幅度和变异式样的重要前提。从本研究结果来看, 箭叶淫羊藿非腺毛由2–10个细胞组成, 其特征具有明显的多样性, 涵盖了以往研究报道的各种类型, 不同居群在其主要特征上存在较大差异。本研究与以往认为淫羊藿属非腺毛专属性较强, 每个物种都有独特非腺毛特征的观点相悖(何顺志等, 1992, 2003; 梁海锐和阎文玫, 1992)。导致这种差异的主要原因是前期研究只选择数量非常有限的样本代表一个物种, 在样本数量不足的情况下, 一个连续的变异式样也会呈现间断的形式(汤彦承和向秋云, 1989), 种及种下类群的建立应以天然居群为基础, 这是现代分类学的基本原则。

基于顶细胞形状(剑形/梭形)和伸长细胞有无等特征, 16个居群非常清晰地划分为剑形组(A组)和梭形组(B组), 两者在非腺毛长度、细胞数、顶细胞直径和细胞壁厚、是否具伸长细胞和顶细胞比例等方面都存在较明显差异; 但另一方面, 变异式样分析结果显示在多数性状上, 样本间并未出现明显间断, 整体呈现连续变异式样, 16个居群应属同一分类群(图3)。结合王悦云等(2008)和高敏(2011)的研

究结果, A组与偏斜淫羊藿接近, B组与长蕊淫羊藿、绿药淫羊藿、粗毛淫羊藿和湖南淫羊藿形态相似, 反映箭叶淫羊藿与这些种可能存在一定的演化关系。此外, 德务淫羊藿和天平山淫羊藿具有类似于箭叶淫羊藿的两种类型非腺毛(王悦云等, 2008; 高敏, 2011)。由此可见, 非腺毛性状至少在某些物种内变异十分复杂, 不同产地/居群间存在不同程度的差异。由于取样局限性所导致的“专属性”可能只是一种假象, 当样本数量放大后, 一些类群间的性状彼此交叉重叠, 专属性可能因此消失, 对于非常复杂的类群, 非腺毛特征不宜作为物种单一的鉴定依据。

箭叶淫羊藿为分类学上非常复杂的类群, 作者两次广泛的野外形态观测都发现箭叶淫羊藿形态变异非常广泛(徐艳琴等, 2008, 2012)。基于9个省(市)13个居群的性状统计发现, 多数形态特征在居群间表现明显差异, 且多数性状的变异范围超过《中国植物志》(应俊生, 2001)的描述。《中国植物志》记载箭叶淫羊藿植株高30–50 cm, 实际调查的株高为25–129 cm, 以40–80 cm常见。《中国植物志》记载叶背疏被粗短伏毛或无毛, 但实际调查发现广西柳州、湖南浏阳、江西武宁、湖北罗田等居群叶背被毛较密, 整体样本的被毛特征从无毛、疏毛到密被毛, 呈连续变异式样, 毛的类型既有粗短毛, 也有细长毛。圆锥花序长度(约9.86–29.75 cm)与《中国植物志》描述的10–20(–30) cm一致, 但小花数量远超过20–60朵, 居群最低水平(59.70朵)接近之前描述的上限(60朵)。重庆山元居群尤为特殊, 超过半数的个体其小花数量超过350朵, 其中3个个体甚至超过1,000朵(最高1,161朵)。花梗一般无毛, 但湖北罗田居群密被短毛。外萼从带紫色斑点、紫色、紫红色、深紫色, 呈连续变异。花瓣呈深浅不一的囊状, 从黄色(重庆山元、江西南丰和广西柳州居群)、黄棕色(湖南芷江、湖南浏阳和江西武宁居群)到橘红色(广东乳源和安徽黄山居群)连续变异, 甚至同一居群内个体间花瓣颜色也存在深浅变异。基于17个形态性状的聚类分析表明, 13个居群分为2组(徐艳琴等, 2012)。对11个箭叶淫羊藿居群基于6个微卫星(simple sequence repeats, SSR)标记的聚类分析也是分为2组(徐艳琴, 2008)。对10个居群化学型变异的比较发现, 箭叶淫羊藿不同居群的化学成分种类和含量差异都非常明显, 至少可划分为4种化学型

(徐艳琴, 2008)。结合形态变异、化学型变异、遗传变异和本研究非腺毛性状变异的结果, 不同居群至少被分为2组, 推测箭叶淫羊藿可能属于多型种(polytypic species)。

植物类群的多型现象是地理分化和生态分化的结果, 这符合植物分类学中归并派的观点。归并派在当前欧美学者中占主导地位, 认为凡具有广泛分布区的种或林奈种(linneon)往往是多型种, 是由不同的地理类型所组成, 而每一个地理类型相当于一个地理宗或地理亚种, 形态特征的种内分化主要来源于地理因素和生态因素, 即区域性分化(徐炳声, 1998)。多型种符合客观实际, 自然界的物种形成是通过地理隔离而产生地方宗、地理宗和地理亚种阶段, 最后才进化成种(Grant, 1985)。形态变异在一定程度上能反映遗传变异的大小, 且形态变异往往具有适应意义(Schaal *et al.*, 1991; 葛颂和洪德元, 1995)。同质园栽培个体和居群间的形态差异暗示着适应性相关性状的遗传分化, 这种分化可能是物种形成的雏形。

高敏(2011)对中国淫羊藿属非腺毛特征较为系统的研究表明, 非腺毛的演化趋势为: 细胞数由多到少, 细胞壁从薄到厚至中部膨大, 顶细胞比例逐渐增大, 伸长细胞由有到无、相邻细胞连接方式由直接到钝接甚至“T”型相接, 非腺毛形态从平直到卷曲。参照该演化趋势, 本研究中的16个居群其演化过程为A组(剑形组)进化为B组(梭形组), GZZY和CQWX分别因具有“T”型相接和最少的细胞数在聚类图上表现为最进化的类型。一般认为物种曾经的中心分布区其毛类型是比较原始, 而分布于外围区域的类型为衍生类型(高敏, 2011)。按照这一观点, 箭叶淫羊藿的进化历程可能为, 从其目前分布的东北边缘, 如安徽省的AHHS、AHLA居群和湖北省的HBLT1、HBLT2居群, 向南部进化到梭形组的浙江、江西、福建和广东居群, 最后向西进化为最先进的贵州和重庆居群, 到达淫羊藿属目前分布和分化的核心区, 即川东、重庆、鄂西和贵州, 但确切的种群扩散途径及种间演化趋势还有待深入的分子系统地理学和亲缘地理学研究。

此外, 对比王悦云等(2008)和高敏(2011)的研究结果, 本研究中箭叶淫羊藿剑形顶细胞类型(A组)与偏斜淫羊藿(*E. truncatum* H. R. Liang)接近。梭形顶细胞类型(B组)与长蕊淫羊藿(*E. dolichostemon*

Stearn)、绿药淫羊藿(*E. chlorandrum* Stearn)、粗毛淫羊藿(*E. acuminatum* Franch.)和湖南淫羊藿(*E. hunanense* (Hand.-Mazz.) Hand.-Mazz.)相似。天平山淫羊藿和德务淫羊藿(*E. dewuense* S. Z. He Probst & W. F. Xu)则均具有与箭叶淫羊藿类似的两种类型非腺毛。

致谢: 园地材料采集得到中科院武汉植物园陈建军博士和张燕君博士的支持; 论文修改承蒙郭宝林研究员和两位匿名外审专家厚爱, 提出许多宝贵意见, 谨此致谢!

## 参考文献

- Ballentine B, Greenberg R (2010) Common garden experiment reveals genetic control of phenotypic divergence between swamp sparrow subspecies that lack divergence in neutral genotypes. *PLoS ONE*, **5**, e10229. doi: 10.1371/journal.pone.0010229.
- Chen JK (陈家宽), Wang HQ (王徽勤) (1986) The application of the concept and method of population to plant taxonomy. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), (4), 377–383. (in Chinese with English abstract)
- Fry BG, Winkel KD, Wickramaratna JC, Hodgson WC, Wüster W (2003) Effectiveness of snake antivenom: species and regional venom variation and its clinical impact. *Journal of Toxicology—Toxin Reviews*, **22**, 23–34.
- Ge S (葛颂), Hong DY (洪德元) (1995) Biosystematic studies on *Adenophora potaninii* Korsh. complex (Campanulaceae) III. Genetic variation and taxonomic value of morphological characters. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **33**, 433–443. (in Chinese with English abstract)
- Grant V (1985) *The Evolutionary Process: A Critical Review of Evolutionary Theory*. Columbia University Press, New York.
- Gu DX (顾德兴), Xu PS (徐炳声) (1986) The variation pattern *Rorippa indica* populations in response to different environments. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **4**, 385–387. (in Chinese with English abstract)
- Guo BL (郭宝林) (1999) *Molecular Systematic Research on Epimedium L.* (淫羊藿属植物的分子系统学研究). PhD dissertation, Peking Union Medical College, Beijing. (in Chinese with English abstract)
- Guo BL (郭宝林), Xiao PG (肖培根) (1999) The flavonoids in *Epimedium L.* and their taxonomic significance. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **37**, 228–243. (in Chinese with English abstract)
- Guo BL (郭宝林), Xiao PG (肖培根) (2003) Comment on main species of *Herba epimedii*. *China Journal of Chinese Materia Medica* (中国中药杂志), **28**, 303–307. (in Chinese with English abstract)
- Guo BL (郭宝林), Xiao PG (肖培根), He SZ (何顺志) (1998) The pollen exine ornamentation of *Epimedium* and its taxonomic significance. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **20**, 220–224. (in Chinese with English abstract)
- He SZ (何顺志), Guo BL (郭宝林), Wang XC (王晓春) (2003) Taxonomic study on *Epimedium sagittatum* (Berberidaceae). *Guizhou Science* (贵州科学), **21**, 102–106. (in Chinese with English abstract)
- He SZ (何顺志), Li L (李玲), Luo T (罗涛) (1992) Pharmacognostical identification study on *Herba epimedii* of Guizhou. *Guizhou Forestry Science and Technology* (贵州林业科技), **20**, 39–42. (in Chinese)
- Huang HW (黄宏文), Zhang Z (张征) (2012) Current status and prospects of *ex situ* cultivation and conservation of plants in China. *Biodiversity Science* (生物多样性), **20**, 559–571. (in Chinese with English abstract)
- Liang HR (梁海锐), Yan WM (阎文玫) (1992) Studies on leaf surface characteristics of the genus *Epimedium* in China. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica* (西北植物学报), **12**, 142–148. (in Chinese with English abstract)
- Liang HR (梁海锐), Yan WM (阎文玫), Li JS (李家实), Yang CS (杨春澍) (1990a) Study on the hairs of *Epimedium* species. *Journal of Beijing College of Traditional Chinese Medicine* (北京中医学院学报), **13**, 42–47. (in Chinese)
- Liang HR (梁海锐), Yan WM (阎文玫), Yang CS (杨春澍), Li JS (李家实) (1990b) New taxa of *Epimedium L.* from China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **28**, 321–324. (in Chinese with English abstract)
- Pringle A, Baker DM, Platt JL, Wares JP, Latgé JP, Taylor JW (2005) Cryptic speciation in the cosmopolitan and clonal human pathogenic fungus *Aspergillus fumigatus*. *Evolution*, **59**, 1886–1899.
- Rohlf FJ. NTSYS-pc: numerical taxonomy and multivariate analysis system. Version 2.2. Exeter Software, Setauket, New York.
- Schaal BA, O'Kane SL, Rogstad SH (1991) DNA variation in plant populations. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 329–333.
- Sheng MY (盛茂银), Chen QF (陈庆富) (2007) Karyomorphology of twelve species in *Epimedium* (Berberidaceae). *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **29**, 309–315. (in Chinese with English abstract)
- Stearn WT (1938) *Epimedium and Vancouveria* (Berberidaceae), a monograph. *Journal of the Linnean Society of London, Botany*, **51**, 409–535.
- Stearn WT (2002) *The Genus Epimedium and Other Herbaceous Berberidaceae. A Botanical Magazine Monograph*. Timber Press, Oregon.
- Sun HQ (孙海芹), Li A (李昂), Ban W (班玮), Zheng XM (郑晓明), Ge S (葛颂) (2005) Morphological variation and its adaptive significance for *Changnienia amoena*, an endangered orchid. *Biodiversity Science* (生物多样性), **13**, 376–386. (in Chinese with English abstract)

- Tang YC (汤彦承), Xiang QY (向秋云) (1989) A reclassification of the genus *Clematoclethra* (Actinidiaceae) and further note on the methodology of plant taxonomy. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **27**, 81–95. (in Chinese with English abstract)
- Wang J, Levy M, Dunkle LD (1998) Sibling species of cercospora associated with gray leaf spot of maize. *Phytopathology*, **88**, 1269–1275.
- Wang YY (王悦云), He SZ (何顺志), Guo BL (郭宝林) (2008) Non-glandular hairs of small-flowered taxa in *Epimedium* (Berberidaceae) from China and their taxonomic significance. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **30**, 423–429. (in Chinese with English abstract)
- Ward BJ (2004) *The Plant Hunter's Garden: the New Explorers and Their Discoveries*, pp. 134–142. Timber Press, Oregon.
- Wu H, Lien EJ, Lien LL (2003) Chemical and pharmacological investigations of *Epimedium* species: a survey. *Progress in Drug Research*, **60**, 1–57.
- Xie YH (谢玉华) (2003) The type specimen used in botanical nomenclature. *Journal of Neijiang Teachers College* (内江师范学院学报), **18**, 45–48. (in Chinese with English abstract)
- Xu PS (徐炳声) (1998) The species problem in plant taxonomy in China. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **36**, 470–480. (in Chinese with English abstract)
- Xu YQ (徐艳琴) (2008) *Determination of Active Constituents and Population Genetics of Three Medicinal Epimedium Species* (三种药用淫羊藿的活性成分变异及居群遗传学分析). PhD dissertation, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan. (in Chinese with English abstract)
- Xu YQ (徐艳琴), Li ZZ (李作洲), Zhang XJ (张学军), Chen JJ (陈建军), Zhou JF (周建峰), Wang Y (王瑛) (2008) Geographic distribution and resource status of three important medicinal *Epimedium* species. *Journal of Wuhan Botanical Research* (武汉植物学研究), **26**, 91–98. (in Chinese with English abstract)
- Xu YQ, Li ZZ, Yuan L, Zhang XJ, Lu DY, Huang HG, Wang Y (2013) Variation of Epimedin A, B, C and icariin in ten representative populations of *Epimedium brevicornu* Maxim. and implication for utilization. *Chemistry and Biodiversity*, doi: 10.1002/cbdv.201100424.
- Xu YQ (徐艳琴), Xu Y (许瑛), Hu SF (胡生福), Huang XH (黄小虎), Ge F (葛菲) (2012) Resource investigation and morphological variation of natural populations of *Epimedium sagittatum*. In: *Proceedings and Abstracts of the 10<sup>th</sup> National Symposium on Natural Medicinal Material Resources* (全国第十届中药及天然药物资源学术研讨会论文集), pp. 133–138. Lanzhou. (in Chinese)
- Ying TS (应俊生) (1975) On the Chinese species of *Epimedium* L. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **13**(2), 49–56. (in Chinese with English abstract)
- Ying JS (应俊生) (2001) The *Epimedium* L. In: *Flora of China* (中国植物志) (ed. Editorial Committee of Flora of China (中国植物志编辑委员会)), pp. 263–298. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Ying JS, Boufford DE, Brach AR, Harber J (2009) *Epimedium*, In: *Flora of China* (eds Wu CY, Raven PH, Hong DY). Vol 19. [http://flora.huh.harvard.edu/china/mss/volume19/Flora\\_of\\_China\\_Volume\\_19\\_Berberidaceae.pdf](http://flora.huh.harvard.edu/china/mss/volume19/Flora_of_China_Volume_19_Berberidaceae.pdf)
- Zhang YJ, Dang HS, Wang Y, Li XW, Li JQ (2011) A taxonomic revision of unifoliolate Chinese *Epimedium* L. (Berberidaceae). *Kew Bulletin*, **66**, 253–262.

(责任编辑: 李振宇 责任编辑: 时意专)