



•研究报告•

群体表型性状研究揭示环境与遗传因素对霍山石斛表型及物种分类的影响

焦振彬^{1,2}, 罗毅波^{1*}

1. 中国科学院植物研究所系统与进化植物学国家重点实验室, 北京 100093; 2. 中国科学院大学, 北京 100049

摘要: 石斛属(*Dendrobium*)种类繁多, 属内物种具有丰富的表型多样性。霍山石斛(*D. huoshanense*)为我国特有物种, 其与河南石斛(*D. henanense*)和细茎石斛(*D. moniliforme*)以及铁皮石斛(*D. catenatum*)等近缘种表型相似, 在分类处理中存在争议。这种争议很大程度上与植物普遍存在的表型可塑性和代际共存有关。为探究环境和代际间遗传因素对霍山石斛表型性状的影响以及霍山石斛与近缘种的物种边界问题, 本研究观测了安徽省霍山县霍山石斛(野生、林间和温室F₁代、林间和温室F₂代)、野生河南石斛、细茎石斛和铁皮石斛, 共计16个群体2,279株植株的假鳞茎茎长等12个表型性状; 在种内层面, 首次借鉴生态学同质园实验和遗传学代际间性状比较的方法, 对霍山石斛群体表型性状进行差异显著性检验和95%置信区间比较以及主成分和变异系数等统计学分析。在种间层面, 对霍山石斛与河南石斛和铁皮石斛等近缘种群体表型性状进行比较和分析。结果表明, 环境因素对霍山石斛假鳞茎茎长和假鳞茎直径等具有显著的影响, 代际间遗传因素对霍山石斛假鳞茎直径具有显著的影响。霍山石斛与铁皮石斛和细茎石斛等近缘种群体在假鳞茎茎长、假鳞茎直径、花瓣长和花瓣宽等表型性状方面均存在显著性差异和间隔, 但与河南石斛仅在假鳞茎表型性状方面有显著性差异。我们的研究明确了环境和代际间遗传因素对霍山石斛表型性状的影响程度, 为霍山石斛与近缘种等争议物种的分类和鉴定提供了表型证据。

关键词: 石斛; 兰科植物; 表型性状; 环境因素; 遗传因素

焦振彬, 罗毅波 (2021) 群体表型性状研究揭示环境与遗传因素对霍山石斛表型及物种分类的影响. 生物多样性, 29, 1073–1086. doi: 10.17520/biods.2021001.

Jiao ZB, Luo YB (2021) Effects of environmental and genetic factors on phenotypic traits and species classification of *Dendrobium huoshanense*. Biodiversity Science, 29, 1073–1086. doi: 10.17520/biods.2021001.

Effects of environmental and genetic factors on phenotypic traits and species classification of *Dendrobium huoshanense*

Zhenbin Jiao^{1,2}, Yibo Luo^{1*}

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

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

ABSTRACT

Aims: *Dendrobium* is one of the largest genera in Orchidaceae. The species of this genus are characterized by high morphological diversity. *Dendrobium huoshanense* is an endemic species of China with high pharmaceutical and conservation value. However, the boundary of the species is still in debate. In this study, we aim to explore the variations of phenotypic traits affected by environmental and genetic factors, and define the boundaries among *D. huoshanense* and its related species.

Methods: We measured 12 phenotypic traits from 2,279 specimens in 16 populations from the dendrobiums planting base in Huoshan County, Anhui Province, East China, including wild and F₁, F₂ generation of *D. huoshanense*, wild *D. henanense*, *D. moniliforme* and *D. catenatum*. The F₁ and F₂ generations of *D. huoshanense* were cultivated from the seeds of random hand-pollination flowers in wild population and F₁ generation population from this base, respectively. We first used common-garden experiment method and intergenerational comparison to estimate the phenotypic

收稿日期: 2021-01-02; 接受日期: 2021-03-22

基金项目: 美丽中国生态文明建设科技工程专项(XDA23080101)和安徽省霍山县长冲中药材开发有限公司资助

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

variations of *D. huoshanense* affected by environmental and genetic factors. Furthermore, the phenotypic variations of *D. huoshanense* and its related species were estimated by statistical analysis.

Results: The results showed that F_1 and F_2 generations of *D. huoshanense* in greenhouse and woodland conditions had larger and longer pseudobulbs than that of wild specimens under the common-garden experiment method. With the intergenerational comparison, we found that the pseudobulb diameters of F_1 generation were wider than that of F_2 generation. Among related species, we found that the pseudobulb lengths and diameters as well as the petals of *D. huoshanense* were significantly different from that of *D. catenatum* and *D. moniliforme*. At the same time, *D. huoshanense* only showed significant differences in morphological traits of pseudobulbs with that of *D. henanense*.

Conclusion: Our results suggest that both environmental and genetic factors have significant effects on phenotypic changes of *D. huoshanense* and affect the delineation of species boundaries among *D. huoshanense* and its related species.

Key words: *Dendrobium*; Orchidaceae; phenotypic traits; environmental factors; genetic factors

物种是进化的基本单元(Simpson, 1951), 是研究生物多样性形成、演化和维持机制的重要内容(马克平, 1993), 同时也是生物多样性保护和可持续利用事业的基础(洪德元, 2016)。因此, 物种问题逐渐被生物学家所关注(孔宏智, 2016; 刘建全, 2016; 杨亲二, 2016; 葛颂, 2017), 而客观地认识以及划分物种是解决物种问题的重要前提。一般来说, 分类学研究主要包括性状的比较分析、归类和命名等三方面内容(方伟和刘恩德, 2012)。然而, 在自然界中, 植物易受环境因素和遗传因素影响从而产生表型性状的变化(Pigliucci et al, 2006; Leimar, 2009; 王姝和周道玮, 2017)。表型性状变化对分类学的比较和归类产生了很大困扰, 这种困扰的实质是对表型性状的变化规律认识不够深入和全面。所以, 在分类学研究中, 对争议物种进行群体水平大样本量的表型性状分析, 厘清表型性状变化式样, 明确物种间的真实分化状态, 是解决比较和归类等困扰的关键。

兰科石斛属(*Dendrobium*)植物为多年生草本, 约1,450种, 主要分布于亚洲和大洋洲热带及其周边地区, 具有重要的观赏和药用价值(Cribb & Govaerts, 2005; Wood, 2006; Ng et al, 2012; Pridgeon et al, 2014)。石斛属物种繁多, 形态相似(Jin et al, 2009), 在种内和种间存在表型性状的重叠和间隔(Morris et al, 1996; Yukawa & Uehara, 1996; Adams, 2011), 这为研究物种分类和物种形成等问题提供了合适的研究体系。霍山石斛(*D. huoshanense*)为我国特有种(吉占和, 1980), 与河南石斛(*D. henanense*)和细茎石斛(*D. moniliforme*)等近缘种同属细茎石斛复合群(Jin et al, 2009; Xiang et al, 2013)。在这个复

合群内霍山石斛与河南石斛的系统发育关系最近(徐晴, 2015)。前期研究与野外调查发现, 霍山石斛种内存在相当程度的表型性状变异, 模糊了物种界限, 造成了与其他近缘种的混淆, 进而严重影响了物种资源的保护和利用等各个方面。因此, 亟待从表型性状层面开展霍山石斛的比较和归类研究。

目前, 关于霍山石斛与铁皮石斛(*D. catenatum*)的分类问题, 学术界仍存在争议(Zhu et al, 2009; Xiang et al, 2013)。Zhu等(2009)基于假鳞茎、叶片和花朵等表型性状将霍山石斛和铁皮石斛合并在一起。后来, Xiang等(2013)基于4个叶绿体和ITS片段的系统学研究将霍山石斛与铁皮石斛划分为不同物种。就本质而言, 物种的表型性状是表型相关基因变异及表达调控的结果(Tanabe et al, 2005; Liao et al, 2019), 体现了遗传和环境因素的共同作用(Pigliucci et al, 2006; Leimar, 2009; 王姝和周道玮, 2017)。而分子系统学则是基于中性基因序列信息位点的变化揭示物种在进化时间尺度的先后次序(Zhu & Ge, 2005; Soto-Cerda et al, 2013; Xiang et al, 2016; Xiang et al, 2017)。因此, 基于分子系统学的结果并不能直接反映物种在表型性状方面的相似性, 需要对物种表型性状本身开展比较研究。

本研究选取霍山石斛的野生群体和随机人工授粉获得种子通过组织培养获得幼苗并种植在林间和温室环境下的 F_1 代和 F_2 代群体。同时选取相同人工栽培环境下与霍山石斛亲缘关系最近的河南石斛和表型相近的细茎石斛, 以及具有重要经济价值且与霍山石斛发生过混淆的铁皮石斛等物种, 对其营养器官和花部器官表型性状数据进行统计和分析。首次借鉴生态学同质园(common garden)实验(Montalvo & Ellstrand, 2000; Rutter & Fenster, 2007),

以及遗传学代际间表型性状比较的方法(Weber & Moorthy, 1952; Pande & Dhiman, 2011), 分别在群体水平对比分析环境因素和代际间遗传因素对霍山石斛群体表型性状影响的式样和规律, 以及相同环境下霍山石斛与近缘种群体表型性状之间的分化程度, 为霍山石斛及其近缘种的分类提供表型性状证据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

本研究选取安徽霍山县太平畈乡16个石斛种植基地, 对野生霍山石斛(93株)、林间环境的F₁代(203株)和F₂代(221株)霍山石斛、温室环境的F₁代(383株)和F₂代(522株)霍山石斛、野生河南石斛(98株)、细茎石斛(280株)以及铁皮石斛(479株)共计2,279株植株进行采样, 对假鳞茎茎长和花瓣长等12个具有重要分类学意义的表型性状进行测量。由于开花的霍山石斛植株叶片多数脱落, 导致叶片表型信息缺失较多, 本文未加以分析。

野生霍山石斛于2017年采自安徽省霍山县的不同地点, 植株种植在安徽省霍山县长冲中药材开发有限公司的保种基地林间山坡上(约数百株)。此外, 保种基地内还有1980年以来采自太平畈乡三天门(约500 g)、五峰山(约250 g)和落儿岭(约1,850 g)等3个不同采集地的少量野生霍山石斛, 经随机人工授粉获得的种子进行组织培养产生F₁代群体, 已在基地温室和林间环境下生长3年以上。该基地(占地面积约50亩)生境基本一致, 近似于生态学研究中的同质园条件。对F₁代霍山石斛通过随机人工授粉获得的种子进行组织培养产生F₂代群体, 分别种植在周边石斛种植基地温室和林间环境下2–3年。其中, F₁代和F₂代植株均不是无性繁殖, 并且没有经过人工选育, 可视为遗传学研究中的不同代际群体。

在石斛属系统发育关系的基础上结合物种表型性状的相似性, 选取了河南石斛和细茎石斛以及铁皮石斛等近缘种作为参考物种用于表型性状比较研究, 上述近缘种群体均在基地种植3年以上(附录1)。其中铁皮石斛种植在基地温室, 河南石斛和细茎石斛种植在林间环境下。由于基地种植规模较大, 本研究未对实际植株数量和种植面积进行详细统计。

1.2 数据统计分析

采取人工测量的方式获取上述样品表型性状数据, 使用Excel 2010对所有数据进行整理。

均值及差异显著性分析: 利用SPSS 19.0软件对表型性状数据进行均值统计, 使用Tamhane非参数法(Tamhane, 1981)对不同群体植株表型性状进行差异显著性检验。

利用SPSS 19.0软件对表型性状数据进行均值统计以及95%置信区间的计算, 用以检验各群体表型性状的间隔和重叠。

变异系数分析: 使用Excel 2010计算各表型性状变异系数, 用以评估各群体表型性状的变异程度。随后使用Excel 2010对各群体表型性状变异系数构建分布直方图并添加趋势线。其中, 变异系数计算公式为:

变异系数(CV) = 表型性状标准偏差/表型性状平均数

主成分分析: 利用SPSS 19.0软件对数据进行标准化的转换, 随后进行主成分分析, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率不小于80%。基于成分得分矩阵获取各组分的表型性状的组成并计算各性状的累计贡献率。使用SPSS 19.0内置散点图以及图片编辑器分别对PC1和PC2、PC1和PC3作图并编辑。使用R语言ggplot2程序包对霍山石斛与近缘种群体营养器官和花部器官表型性状进行主成分分析作图, 并添加95%置信区间。

2 结果

2.1 不同环境对霍山石斛群体营养器官表型性状的影响

采用霍山石斛野生、林间F₁代和温室F₁代群体的营养器官表型性状数据进行种内表型差异分析(表1)。野生、林间F₁代、温室F₁代群体的平均假鳞茎茎长分别为1.84 cm、5.53 cm、5.80 cm。差异显著性及95%置信区间显示, 林间和温室F₁代群体与野生群体之间存在极显著差异和间隔(表1, 附录2)。变异系数显示, 野生及林间和温室F₁代群体霍山石斛表型性状变异程度近似(附录3)。对上述群体进行主成分分析, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率为97.9%。其中, 野生群体植株整体聚集在一起, 林间和温室F₁代群体混合在一起, 第一主成分包含假鳞茎茎长; 第二主成分包含假鳞茎直径; 第三主成

表1 野生及不同环境下F₁代和F₂代霍山石斛假鳞茎与花部器官表型性状差异

Table 1 Differences in phenotypic traits of pseudobulbs and flowers among *Dendrobium huoshanense* in wild-type, F₁ and F₂ generations of *D. huoshanense* under different environments

	野生型 Wild type	F ₁ 代 F ₁ generation			F ₂ 代 F ₂ generation		
		林间 Woodland	温室 Greenhouse	林间 Woodland	温室 Greenhouse	林间 Woodland	温室 Greenhouse
假鳞茎数量 Number of pseudobulbs	93	202	355	221	500		
假鳞茎茎长 Pseudobulb length (cm)	1.84 ± 0.85 ^A	5.53 ± 2.59 ^{BE}	5.80 ± 2.65 ^{BCE}	4.92 ± 2.28 ^{BD}	5.77 ± 2.83 ^{BCE}		
假鳞茎直径 Pseudobulb diameter (cm)	0.45 ± 0.07 ^A	0.70 ± 0.12 ^B	0.69 ± 0.13 ^B	0.58 ± 0.13 ^C	0.59 ± 0.13 ^C		
假鳞茎茎长直径比 Length/diameter ratio of pseudobulb	4.17 ± 2.03 ^A	7.98 ± 3.70 ^B	8.64 ± 4.24 ^B	9.13 ± 5.07 ^{BC}	10.16 ± 5.55 ^C		
假鳞茎节长 Internode length of pseudobulb (cm)	0.65 ± 0.18 ^A	1.14 ± 0.32 ^{BE}	1.26 ± 0.36 ^{CE}	1.18 ± 0.30 ^{BcDE}	1.20 ± 0.39 ^{BCDE}		
假鳞茎节数 Number of pseudobulb internodes	3.67 ± 0.81 ^A	6.02 ± 1.46 ^{BE}	5.75 ± 1.28 ^{Bce}	5.48 ± 1.40 ^C	6.05 ± 1.62 ^{BDE}		
花朵数量 Number of flowers	2	26	107	31	151		
中萼片长 Dorsal sepal length (cm)	1.35 ± 0.07 ^A	1.41 ± 0.16 ^{AB}	1.29 ± 0.19 ^{AC}	1.51 ± 0.26 ^{ABD}	1.44 ± 0.23 ^{ABD}		
中萼片宽 Dorsal sepal width (cm)	0.60 ± 0 ^{AE}	0.68 ± 0.09 ^{Be}	0.66 ± 0.11 ^{BC}	0.66 ± 0.10 ^{aBCDE}	0.61 ± 0.09 ^{AbDE}		
中萼片长宽比 Length/width ratio of dorsal sepal	2.25 ± 0.11 ^A	2.11 ± 0.34 ^{AB}	2.02 ± 0.34 ^{ABC}	2.29 ± 0.38 ^{ABD}	2.39 ± 0.44 ^{AD}		
花瓣长 Petal length (cm)	1.40 ± 0 ^A	1.37 ± 0.15 ^{AB}	1.28 ± 0.21 ^{BC}	1.47 ± 0.24 ^{ABD}	1.42 ± 0.22 ^{ABD}		
花瓣宽 Petal width (cm)	0.80 ± 0 ^A	0.80 ± 0.11 ^A	0.77 ± 0.14 ^A	0.76 ± 0.13 ^{AD}	0.68 ± 0.13 ^d		
花瓣长宽比 Length/width ratio of petal	1.75 ± 0 ^A	1.74 ± 0.28 ^{AB}	1.71 ± 0.30 ^{ABC}	1.99 ± 0.41 ^{aBcd}	2.13 ± 0.39 ^D		
花梗长 Pedicel length (cm)	2.15 ± 0.07 ^A	1.93 ± 0.46 ^A	2.11 ± 0.44 ^A	2.07 ± 0.43 ^A	2.17 ± 0.51 ^A		

同一行相同大写或小写字母为无显著性差异($P > 0.05$), 不同大写字母为极显著性差异($P < 0.01$), 不同小写字母为显著性差异($P < 0.05$)。

The identical superscript capital or lowercase letter in the same row indicates no significant difference ($P > 0.05$), the different superscript capital letters in the same row indicate extremely significant difference ($P < 0.01$), the different superscript lowercase letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$).

分包含假鳞茎节长等性状(图1A, B)。

对于霍山石斛野生、林间和温室F₂代群体的营养器官表型性状数据进行种内表型差异分析(表1)。温室F₂代群体平均假鳞茎茎长(5.77 cm)、假鳞茎直径(0.59 cm)、假鳞茎节长(1.20 cm)和假鳞茎节数(6.05)等性状均大于野生群体和林间F₂代群体。差异显著性及95%置信区间显示, 林间F₂代群体与野生群体之间呈极显著性差异且存在置信区间间隔; 林间F₂代和温室F₂代群体植株仅在假鳞茎茎长和假鳞茎节数呈现极显著性差异和间隔(表1, 附录2)。变异系数显示, 温室F₂代群体比林间F₂代群体具有相对较大的变异程度(附录3)。在上述群体主成分分析中, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率为97.5%。林间和温室F₂代群体均存在较大的变化范围以及重叠的比例。第一主成分包含假鳞茎茎长; 第二主成分包含假鳞茎直径; 第三主成分包含假鳞茎节长等表型性状(图1C, D)。

2.2 不同环境对霍山石斛群体花部器官表型性状的影响

采用林间和温室F₁代群体的花部器官表型性状数据进行种内表型差异分析(表1)。林间和温室F₁代

群体的平均花瓣长分别为1.37 cm和1.28 cm。差异显著性和95%置信区间显示, 林间和温室F₁代群体在中萼片长和宽以及花瓣长方面存在极显著性差异, 其中在中萼片长存在间隔(表1, 附录2)。变异系数结果显示, 温室F₁代群体各性状变异系数均大于林间群体(附录3)。对上述群体进行主成分分析, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率为96.5%。其中第一主成分为中萼片长和花瓣长; 第二主成分为中萼片宽和花瓣宽; 第三主成分为中萼片长宽比和花瓣长宽比。林间F₁代和温室F₁代群体花部表型性状均有较大的变化范围和重叠比例, 林间群体花瓣长和中萼片长等性状呈现变小的趋势(图1E, F)。

采用林间和温室F₂代群体花部器官表型性状数据进行种内表型差异分析(表1)。林间和温室F₂代群体植株平均花瓣长分别为1.47 cm和1.42 cm。差异显著性和95%置信区间显示, 林间和温室F₂代群体在中萼片宽和花瓣宽等性状存在显著性差异, 95%置信区间在花瓣宽存在间隔(表1, 附录2)。变异系数显示, 温室和林间F₂代群体表型性状的变异程度近似(附录3)。对上述群体进行主成分分析, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率为97.5%。其中, 第一主

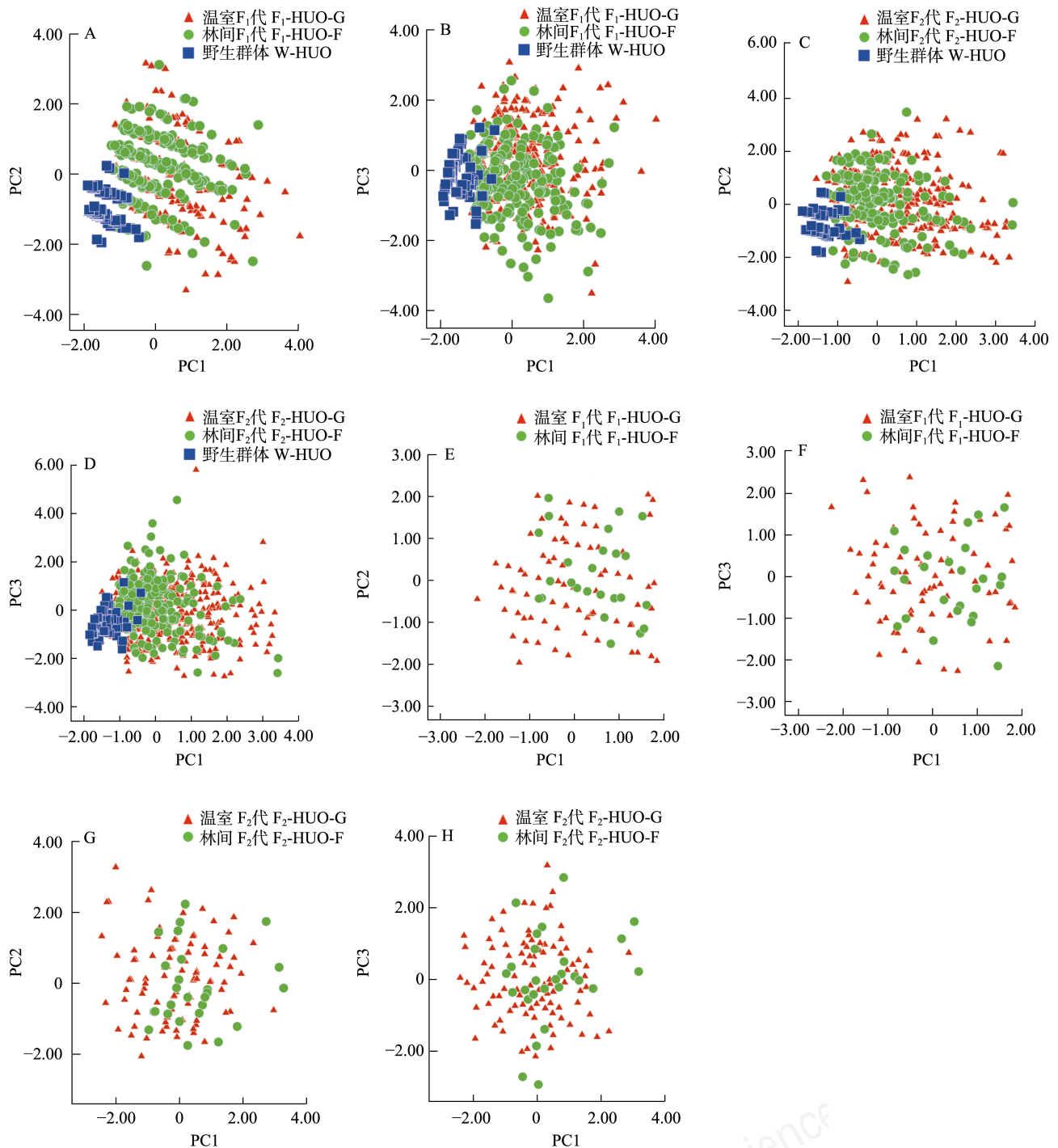


图1 不同环境条件下霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状主成分分析。(A)–(B)林间和温室环境下, F_1 代假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (C)–(D)林间和温室环境下, F_2 代假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (E)–(F)林间和温室环境下, F_1 代花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (G)–(H)林间和温室环境下, F_2 代花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图。

Fig. 1 Principal component analysis of pseudobulbs and flowers of *Dendrobium huoshanense* in different environmental conditions. A–B, PCA of pseudobulbs in wild-type (W-HUO), F_1 generation under woodland (F1-HUO-F) and greenhouse (F1-HUO-G); C–D, PCA of pseudobulbs in F_2 generation under woodland (F2-HUO-F) and greenhouse (F2-HUO-G); E–F, PCA of flowers in F_1 generation under woodland (F1-HUO-F) and greenhouse (F1-HUO-G); G–H, PCA of flowers in F_2 generation under woodland (F2-HUO-F) and greenhouse (F2-HUO-G).

成分包含中萼片宽和花瓣宽;第二主成分包含中萼片长宽比和花瓣长宽比;第三主成分包含中萼片长和花瓣长。这两群体均具有较大的变化范围和重叠比例(图1G, H)。

2.3 代际间遗传因素对霍山石斛营养器官表型性状的影响

林间环境下, F_1 代和 F_2 代群体平均假鳞茎茎长分别为5.53 cm和4.92 cm。差异显著性和95%置信区间显示,除假鳞茎节长和假鳞茎茎长直径比外, F_1 代和 F_2 代群体在假鳞茎茎长等性状上均呈极显著性差异,其中假鳞茎直径和假鳞茎节数均存在间隔(表1, 附录2)。变异系数显示,林间 F_2 代相对 F_1 代群体具有较大的变异程度(附录3)。对上述群体进行主成分分析,选取前3个主成分因子,累计贡献率为97.4%。第一主成分为假鳞茎茎长;第二主成分为假鳞茎直径;第三主成分为假鳞茎节长和假鳞茎节数等性状。林间 F_1 代与 F_2 代群体的表型性状均具有较大的变异范围和重叠比例(图2A, B)。

温室环境下, F_1 代和 F_2 代群体平均假鳞茎茎长分别为5.80 cm和5.77 cm, F_2 代群体整体假鳞茎节长较短、假鳞茎节数较多。差异显著性和95%置信区间显示,除假鳞茎茎长和假鳞茎节长外,温室 F_1 代和 F_2 代群体在其他性状上均呈极显著性差异,其中在假鳞茎直径、假鳞茎茎长直径比以及假鳞茎节数方面存在间隔(表1, 附录2)。变异系数显示,温室 F_2 代相对 F_1 代群体具有较大程度的变异(附录3)。对上述群体进行主成分分析,选取前3个主成分因子,累计贡献率为97.1%。第一主成分包含假鳞茎茎长;第二主成分包含假鳞茎直径;第三主成分包含假鳞茎节长和假鳞茎节数等性状。温室 F_1 代与 F_2 代群体均具有较大的变异范围和重叠比例(图2C, D)。

2.4 代际间遗传因素对霍山石斛花部器官表型性状的影响

林间环境下, F_1 代中萼片长和花瓣长分别为1.41 cm和1.37 cm, F_2 代群体中萼片长和花瓣长分别为1.51 cm和1.47 cm, F_2 代群体花朵相对较大。差异显著性和95%置信区间显示,林间 F_1 代和 F_2 代群体在中萼片宽和花瓣长宽比性状方面存在显著性差异但不存在间隔(表1, 附录2)。变异系数显示,林间 F_2 代群体相比 F_1 代群体具有较大的变异程度(附录3)。对两群体主成分分析,选取前3个主成分因子,累计贡献率为97.6%。第一主成分为中萼片长和花

瓣长;第二主成分为中萼片宽和花瓣宽;第三主成分为中萼片长宽比和花瓣长宽比。林间 F_1 代与 F_2 代群体在第一主成分方面均有较大的变异范围,两群体有着较大比例重叠(图2E, F)。

温室条件下, F_1 代群体中萼片长和花瓣长分别为1.29 cm和1.28 cm, F_2 代中萼片长和花瓣长分别为1.44 cm和1.42 cm, F_2 代花朵相对较大。差异显著性和95%置信区间显示,除花梗长外,温室 F_1 代与 F_2 代群体花部表型性状均呈极显著性差异和间隔(表1, 附录2)。变异系数显示,温室 F_1 代和 F_2 代群体的花部表型性状则有着相近的变异程度(附录3)。对两群体花部表型性状主成分分析,选取前3个主成分因子,累计贡献率为97.0%。第一主成分为中萼片长宽比和花瓣长宽比;第二主成分为花瓣宽和中萼片宽等;第三主成分为花瓣长和中萼片长等性状。温室 F_1 代与 F_2 代在第一主成分方面均有较大的变异范围,两群体之间存在一定程度重叠(图2G, H)。

2.5 霍山石斛及其近缘种群体营养器官表型性状分化

利用霍山石斛(野生群体、 F_1 代和 F_2 代所有群体)、河南石斛、细茎石斛以及铁皮石斛群体的营养器官表型性状数据进行种间表型差异分析(表2)。细茎石斛平均假鳞茎茎长最长(18.54 cm),野生霍山石斛群体平均假鳞茎茎长最短(1.84 cm);河南石斛、铁皮石斛平均假鳞茎茎长居中,分别为8.76 cm和14.97 cm。差异显著性及95%置信区间显示,野生霍山石斛与 F_1 代和 F_2 代霍山石斛群体均呈极显著性差异和间隔, F_1 代和 F_2 代霍山石斛群体仅在假鳞茎直径和假鳞茎茎长直径比方面存在极显著性差异和间隔。野生霍山石斛与河南石斛、细茎石斛以及铁皮石斛之间整体均呈极显著性差异和间隔。 F_1 代和 F_2 代霍山石斛与河南石斛等近缘种之间均呈极显著性差异和间隔。河南石斛与细茎石斛以及铁皮石斛两两之间整体均呈显著或极显著性差异和间隔(表2, 附录4)。变异系数显示,铁皮石斛群体植株假鳞茎表型性状整体变异程度最大,野生霍山石斛及其子代群体变异程度其次,河南石斛表型性状变异程度最小(附录5)。对上述近缘种群体进行主成分分析,选取前3个主成分因子,累计贡献率为97.8%。第一主成分包含假鳞茎茎长;第二主成分包含假鳞茎直径;第三主成分包含假鳞茎节长和假鳞茎节数等性状。各群体整体各自聚集在一起,相互之间有

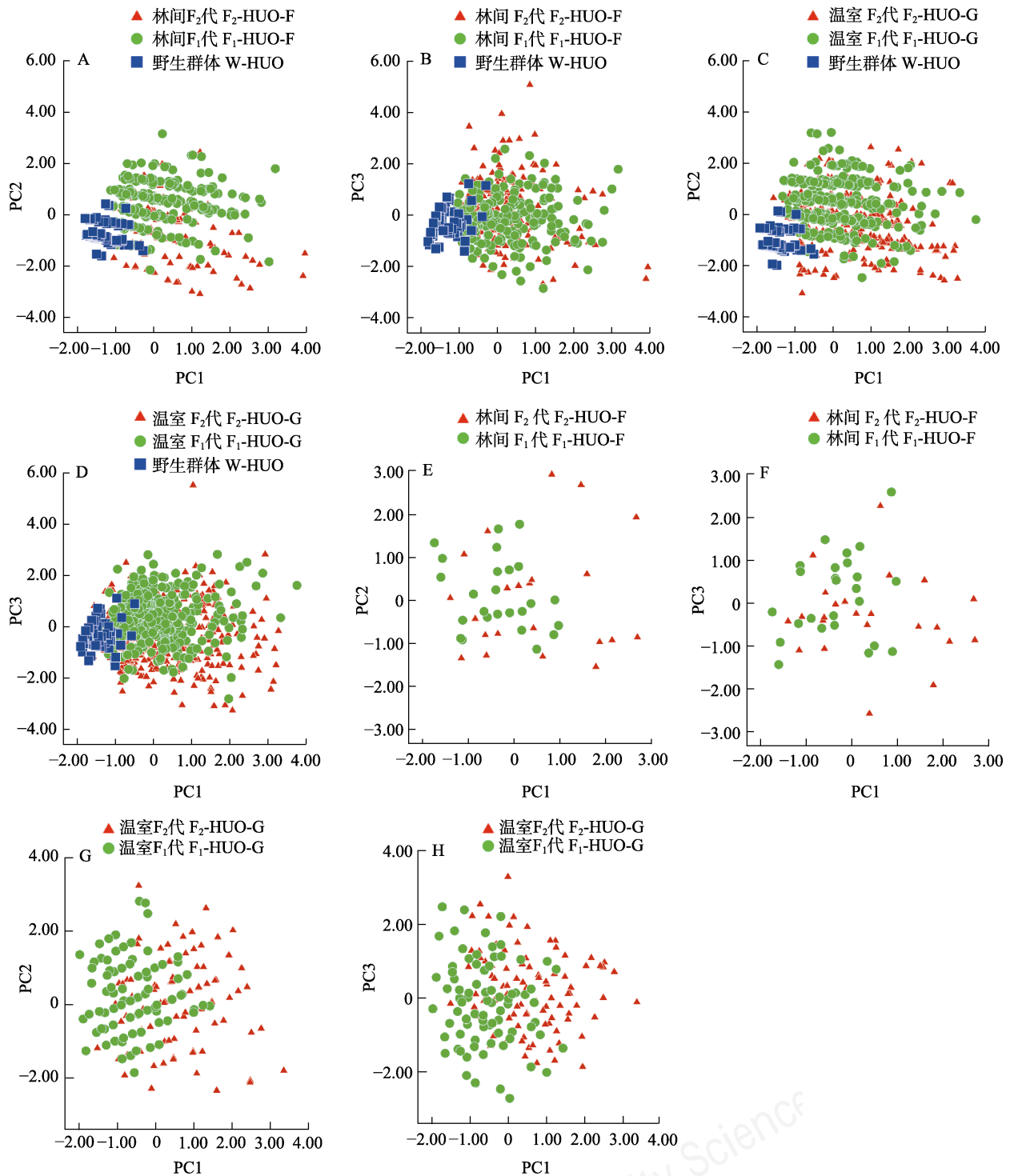


图2 不同代际条件下霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状主成分分析。(A)–(B)林间环境下, F_1 代和 F_2 代假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (C)–(D)温室环境下, F_1 代和 F_2 代假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (E)–(F)林间环境下, F_1 代和 F_2 代花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (G)–(H)温室环境下, F_1 代和 F_2 代花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图。

Fig. 2 Principal component analysis of pseudobulbs and flowers of *Dendrobium huoshanense* in different generations. A–B, PCA of pseudobulbs in wild-type (W-HUO), F_1 (F_1 -HUO-F) and F_2 generations (F_2 -HUO-F) under woodland; C–D, PCA of pseudobulbs in *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO), F_1 (F_1 -HUO-G) and F_2 generations (F_2 -HUO-G) under greenhouse; E–F, PCA of flowers in F_1 (F_1 -HUO-F) and F_2 generations (F_2 -HUO-F) under woodland; G–H, PCA of flowers in F_1 (F_1 -HUO-G) and F_2 generations (F_2 -HUO-G) under greenhouse.

表2 霍山石斛及其近缘种假鳞茎与花部表型性状差异

Table 2 Differences in phenotypic traits of pseudobulbs and flowers among *Dendrobium huoshanense* and related species

	霍山石斛 <i>D. huoshanense</i>			河南石斛 <i>D. henanense</i>	细茎石斛 <i>D. moniliforme</i>	铁皮石斛 <i>D. catenatum</i>
	Wild type	F ₁ generation	F ₂ generation			
假鳞茎数量 No. of pseudobulbs	93	557	721	98	217	414
假鳞茎茎长 Pseudobulb length (cm)	1.84 ± 0.85 ^A	5.70 ± 2.63 ^B	5.51 ± 2.70 ^B	8.76 ± 2.12 ^C	18.54 ± 5.87 ^E	14.97 ± 8.26 ^D
假鳞茎直径 Pseudobulb diameter (cm)	0.45 ± 0.07 ^A	0.70 ± 0.13 ^B	0.59 ± 0.13 ^C	0.43 ± 0.06 ^{AD}	0.39 ± 0.09 ^F	0.53 ± 0.11 ^E
假鳞茎茎长直径比 Length/diameter ratio of pseudobulb	4.17 ± 2.03 ^A	8.40 ± 4.06 ^B	9.84 ± 5.42 ^C	20.75 ± 5.90 ^D	48.99 ± 16.88 ^F	30.16 ± 19.40 ^E
假鳞茎节长 Internode length of pseudobulb (cm)	0.65 ± 0.18 ^A	1.21 ± 0.35 ^B	1.19 ± 0.36 ^B	1.52 ± 0.32 ^C	2.38 ± 0.55 ^D	1.65 ± 0.57 ^C
假鳞茎节数 No. of pseudobulb internodes	3.67 ± 0.81 ^A	5.85 ± 1.35 ^B	5.87 ± 1.58 ^B	8.45 ± 1.44 ^C	10.42 ± 2.30 ^d	11.17 ± 3.21 ^D
花朵数量 Number of flowers	2	132	181	5	138	235
中萼片长 Dorsal sepal length (cm)	1.35 ± 0.07 ^A	1.32 ± 0.19 ^{AB}	1.45 ± 0.23 ^{AC}	1.62 ± 0.15 ^{ABCD}	1.47 ± 0.27 ^{ACD}	1.77 ± 0.23 ^{ADE}
中萼片宽 Dorsal sepal width (cm)	0.60 ± 0 ^A	0.66 ± 0.11 ^B	0.62 ± 0.09 ^{abc}	0.70 ± 0.09 ^{ABCD}	0.51 ± 0.08 ^{DF}	0.63 ± 0.07 ^{bCDE}
中萼片长宽比 Length/width ratio of dorsal sepal	2.25 ± 0.11 ^A	2.03 ± 0.34 ^{AB}	2.37 ± 0.43 ^{AC}	2.35 ± 0.31 ^{ABCD}	2.90 ± 0.45 ^{ADE}	2.83 ± 0.40 ^{ADE}
花瓣长 Petal length (cm)	1.40 ± 0 ^A	1.30 ± 0.20 ^B	1.43 ± 0.22 ^{ACF}	1.52 ± 0.07 ^{AbCDF}	1.49 ± 0.24 ^{DF}	1.67 ± 0.20 ^{DE}
花瓣宽 Petal width (cm)	0.80 ± 0 ^A	0.77 ± 0.14 ^{AB}	0.69 ± 0.13 ^C	0.82 ± 0.04 ^{ABcd}	0.52 ± 0.09 ^F	0.56 ± 0.07 ^E
花瓣长宽比 Length/width ratio of petal	1.75 ± 0 ^A	1.72 ± 0.29 ^{AB}	2.11 ± 0.40 ^C	1.86 ± 0.16 ^{ABCD}	2.92 ± 0.47 ^E	3.01 ± 0.46 ^E

同一行相同大写或小写字母为无显著性差异($P > 0.05$), 不同大写字母为极显著性差异($P < 0.01$), 不同小写字母为显著性差异($P < 0.05$)。

The identical superscript capital or lowercase letter in the same row indicates no significant difference ($P > 0.05$), the different superscript capital letters in the same row indicate extremely significant difference ($P < 0.01$), the different superscript lowercase letters in the same row indicate significant difference ($P < 0.05$).

着不同程度的重叠。野生霍山石斛群体单独聚在一起且变化范围较小, 其他近缘种群体则具有广泛的变化范围。在第一和第三主成分方面野生霍山石斛、细茎石斛、铁皮石斛等之间呈现较为明显的分化(图3A, B, 附录6)。

2.6 霍山石斛及其近缘种群体花部器官表型性状分化

利用霍山石斛(F₁代和F₂代所有群体)、河南石斛、细茎石斛以及铁皮石斛群体的花部器官表型性状数据进行种间表型差异分析(表2)。结果显示, 铁皮石斛花瓣长最大, 为1.67 cm; F₁代霍山石斛花瓣长最短, 为1.30 cm; 河南石斛与细茎石斛群体花瓣长度居中, 分别为1.52 cm和1.49 cm。差异显著性和95%置信区间显示, F₁代和F₂代霍山石斛之间, 除花梗长外, 其余表型性状均呈显著性或极显著性差异和间隔。F₁代霍山石斛与铁皮石斛相比, 除中萼片宽呈显著性差异外, 其余性状均呈极显著性差异和间隔。F₁代霍山石斛与细茎石斛相比, 除花梗长外, 其余性状均呈极显著性差异和间隔。F₁代霍山石斛与河南石斛相比, 仅在花瓣长存在显著性差异和间隔(表2, 附录4)。变异系数显示, F₁代和F₂代霍山石斛以及细茎石斛群体整体花部表型性状变异程度

最大, 河南石斛变异程度最小(附录5)。对上述物种进行主成分分析, 选取前3个主成分因子, 累计贡献率为97.6%。第一主成分包含中萼片长宽比和花瓣长宽比; 第二主成分包含中萼片宽和花瓣宽; 第三主成分包含中萼片长和花瓣长。F₁代霍山石斛、河南石斛、铁皮石斛以及细茎石斛群体整体各自聚在一起且具有相对较大的变化范围, 群体之间存在不同程度的重叠。霍山石斛与河南石斛等群体在第一和第二主成分方面呈现较为明显的分化(图3C, D, 附录7)。

3 讨论

3.1 环境差异对野生、林间子代、温室子代霍山石斛群体营养器官表型分化有显著影响

表型是植物适应环境的结果(Sultan, 2000; Siefert et al, 2014; Fox et al, 2019)。在不同的环境中, 植物经历不同选择压力, 进而产生相应的表型变异以适应新环境(李磊等, 2010; 刘龙昌等, 2015), 这对于揭示物种表型变化以及物种环境适应性等物种问题的研究具有重要意义(Valladares et al, 2006; Gienapp et al, 2008; Anderson et al, 2012)。我们的研究发现环境差异对霍山石斛表型性状存在较大影

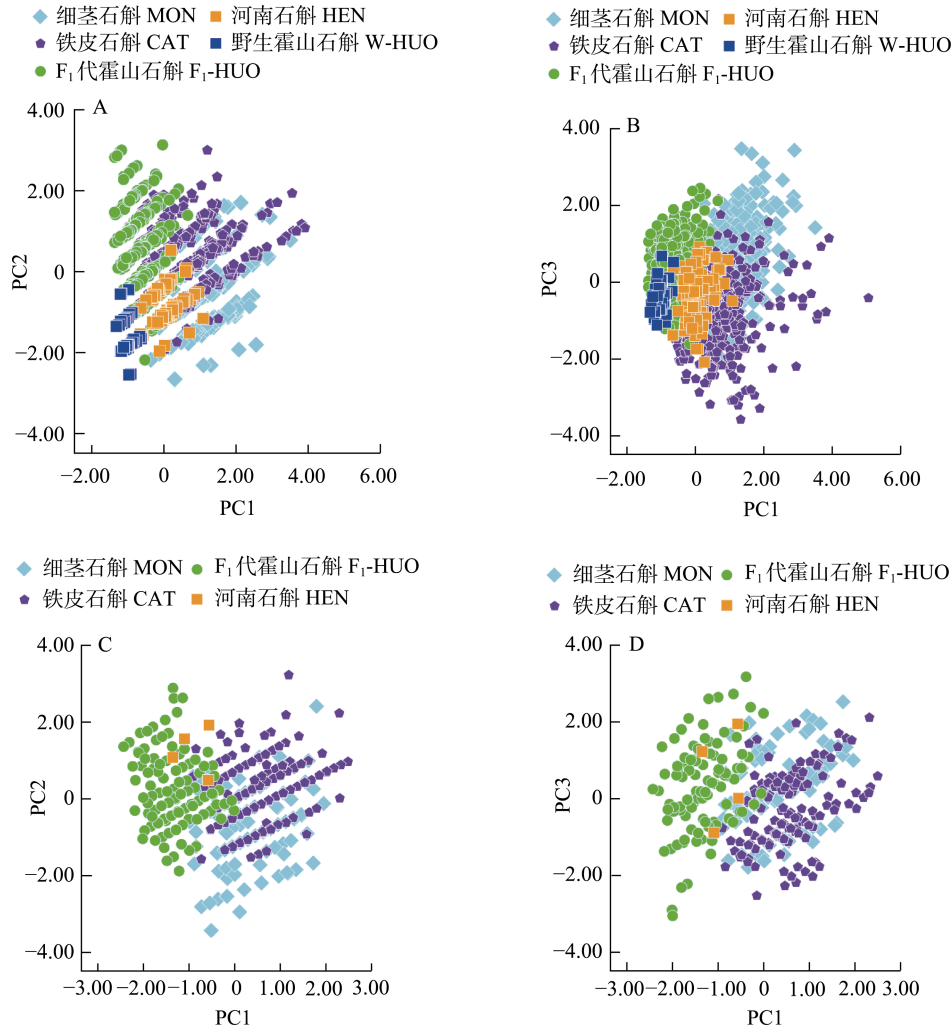


图3 野生霍山石斛(W-HUO)、F₁代霍山石斛(F₁-HUO)、河南石斛(HEN)、细茎石斛(MON)以及铁皮石斛(CAT)群体假鳞茎和花部表型性状主成分分析。(A)–(B)霍山石斛及其近缘种群体假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图;(C)–(D)霍山石斛及其近缘种群体花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图。

Fig. 3 Principal component analysis (PCA) of phenotypic traits of pseudobulbs and flowers in *Dendrobium huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation of *D. huoshanense* (F₁-HUO), *D. henanense* (HEN), *D. moniliforme* (MON) and *D. catenatum* (CAT). A–B, PCA of pseudobulbs in *D. huoshanense* and related species; C–D, PCA of flowers in *D. huoshanense* and related species.

响。野生环境下霍山石斛群体植株矮小,而人工环境下(林间和温室)的F₁代和F₂代整体呈现假鳞茎变高以及假鳞茎直径变大等趋势。对于林间和温室F₁代群体以及林间和温室F₂代群体而言,霍山石斛在假鳞茎茎长等性状方面产生了显著性差异。

一般地,植物营养器官比花部器官更易受环境的影响(邢毅等, 2008),环境差异导致的选择压力促使营养器官和花部器官表型性状产生不同程度的变异,从而有助于提高其适合度(Schlichting & Levin, 1984)。与花部器官相比,营养器官表型性状在野生或子代霍山石斛群体中具有较高的变异程

度以及较好的种内区分效率,这或许与营养器官表型更易受选择压力影响有关。在非生物因素方面,野生霍山石斛生长于强光照、温差大和缺乏营养的崖壁上,环境选择压力较大,植株整体较为矮小。在人工环境中,由于营养、水分等充足且温度适宜,植株表型性状会产生假鳞茎茎长变长、假鳞茎直径变粗的趋势,同时具有较高的表型多样性。在生物因素方面,共生真菌通过影响石斛种子的萌发间接影响群体表型多样性。共生真菌对于兰科植物的生长和发育是必需的(Rasmussen, 1995),这种共生关系涉及营养物质的交换(Smith & Read, 2008)。由于

石斛种子数量多且无胚乳, 野外植株种子萌发率极低, 仅少数与真菌共生萌发后形成的植株可以存活, 这极大地限制了野生群体规模以及群体植株的表型多样性。在人工干预条件下, 种子萌发率接近100%, 进而促进了子代群体规模的扩大以及表型多样性的提高。所以, 我们认为生物因素和非生物因素的共同作用可能是促使霍山石斛植株营养器官表型在人工和野生环境下产生差异的重要原因。

3.2 遗传因素在 F_1 代和 F_2 代霍山石斛群体表型分化方面具有一定程度的影响

遗传因素对表型同样有着重要的影响(Pintado et al, 1997; Mitchell-Olds et al, 2007; García-Verdugo et al, 2009, 2010)。一般地, 相同环境下, 代际间的差异通常反映出遗传层面的变化。在自然界中, 由于植物的特殊性, 同一群体内代际共存是一种普遍现象(Fan et al, 1992)。本研究中, 无论在温室还是林间环境, F_2 代相比 F_1 代霍山石斛群体均呈现假鳞茎直径变细且假鳞茎茎长直径比增大的趋势和显著性差异。已有研究显示, 茎秆(假鳞茎)伸长以及茎秆(假鳞茎)居间分生组织生长受到多种内源激素调控, 包括赤霉素(van der Knaap & Kende, 2000; Bashline et al, 2014; Huang et al, 2015; Marowa et al, 2016)、油菜素内酯(Wang et al, 2012; Guo et al, 2013)和生长素(Schenck et al, 2010)。因而我们推测这种代际群体间呈现的表型性状差异或许与调控营养器官表型相关基因在群体水平的变异有关。

造成上述现象的原因, 客观方面或许与调控营养器官表型相关基因的非同义突变或基因型频率在群体水平的变化有关。主观方面人工授粉果实数量对不同代际群体基因型频率的变化有较大的影响。 F_2 代群体主要来源于在 F_1 代群体的随机人工授粉获得的果实, 但通常组织培养所需的果实数量有限, 这在一定程度上容易造成 F_2 代获得 F_1 代群体部分种类的基因型或获得的基因型频率发生偏差。

3.3 霍山石斛在表型层面是区别于其他近缘种的独立物种

霍山石斛与近缘种群体之间存在显著的表型分化。在营养器官方面, 霍山石斛与近缘种群体在所有表型性状方面均呈显著分化。在花部器官方面, 霍山石斛群体与细茎石斛和铁皮石斛群体花瓣长和宽等多数性状呈现显著分化, 但与河南石斛群体整体分化不显著。因此, 营养器官和花部器官表型

性状分析结果均支持霍山石斛作为区别于细茎石斛和铁皮石斛的独立物种。但是, 仅营养器官的表型性状结果支持霍山石斛作为区别于河南石斛的独立物种。

营养器官的表型性状相对花部器官具有更高的种间区分效率。霍山石斛与铁皮石斛等群体在营养器官表型性状方面均呈显著分化且具有相对较高的变异程度, 而花部器官部分表型性状分化不彻底且整体变异程度相对较低, 这或许与营养器官和花部器官面临不同的选择压力有关。一般地, 花部器官更多地受传粉者选择的影响(Herrera et al, 2006; Harder & Johnson, 2009; Sletvold et al, 2010)。赤霉素、油菜素内酯以及生长素等内源激素相关基因可以调控植株茎秆(假鳞茎)居间分生组织以及茎秆(假鳞茎)伸长等(Wang et al, 2018), 而相对保守的MADS-BOX等基因家族部分成员则参与调控花部器官的表型和发育(Pelaz et al, 2000; Kater et al, 2006)。这些不同的基因通常具有不同的进化历史和进化速率(Zhu & Ge, 2005; Soto-Cerda et al, 2013), 进而很大程度上影响着植物营养器官和花部器官表型的分化程度。

较短的进化历史和有限的样品数量是石斛属物种边界存在重叠和争议的客观及主观原因。已有研究显示, 霍山石斛与其他近缘种的分化主要集中在更新世, 而霍山石斛与河南石斛之间分化时间更晚, 约在更新世末期(徐晴, 2015; Xiang et al, 2016)。较短的分化时间往往伴随着物种表型及遗传层面分化不彻底, 从而很大程度上影响表型性状的间隔和分化。因此, 霍山石斛与河南石斛花部器官表型性状方面未产生显著分化的客观原因可能与物种较短的分化时间有关。此外, 本研究中, 野生霍山石斛与河南石斛群体花朵数量分别为2朵和5朵, 较少的样品数量直接导致花部器官表型性状95%置信区间的扩大, 进而容易造成对物种的比较和归类产生偏差。因此, 对于野生霍山石斛和河南石斛群体花部器官表型分化问题, 仍需要进一步扩大花朵样本量。

3.4 群体表型性状研究重点关注分类学中的比较和归类方面

霍山石斛与河南石斛和铁皮石斛等近缘种分类问题存在广泛的争议, 需要对物种表型性状本身进行深入研究。在已有的研究中, Zhu等(2009)基于

营养器官和花部器官等表型性状将霍山石斛与铁皮石斛合并为同一物种, 而分子系统学则将霍山石斛与铁皮石斛分为不同物种(Zhu et al, 2009; Xiang et al, 2013), 这种分歧与植物表型性状的变化程度存在密切联系。在自然界中, 植物个体表型性状通常受遗传和环境因素的影响(Pigliucci et al, 2006; Leimar, 2009; 王姝和周道玮, 2017), 进而产生表型可塑性以及代际间遗传因素导致的表型变化, 这是植物长期适应环境的结果(Pigliucci et al, 2006; Fox et al, 2019)。这种表型性状的变化对分类学研究中的比较和归类问题产生了很大困扰。由于单个个体水平表型性状的描述无法反映出环境和遗传因素对表型性状的影响, 所以对于争议物种界定问题, 需要从群体水平开展物种表型性状的比较分析。

群体表型性状的研究可以为分类学中比较和归类方面的争议提供解决方案。对于霍山石斛与河南石斛和铁皮石斛等近缘种的分类学争议问题, 厘清环境因素和遗传因素对物种表型性状影响的程度和规律是关键。我们在前人分类学研究的基础上, 从群体水平对不同环境以及代际间物种表型性状进行比较研究, 重点探讨物种表型性状的比较和归类等方面。首次单独解析了环境因素对表型性状的影响式样以及代际间遗传因素对表型性状的影响模式, 这为物种的比较和归类研究提供了可靠的证据。本研究通过对霍山石斛开展群体水平同质园实验和代际间对比以及与河南石斛和铁皮石斛等近缘种表型性状比较, 明确了环境因素和代际间遗传因素对霍山石斛表型性状的影响程度和规律以及霍山石斛与近缘种之间的分化状态, 确定了霍山石斛表型性状的变异幅度及变异规律, 解决了霍山石斛与河南石斛和铁皮石斛等近缘种的比较和归类问题。

我们的研究结果表明, 对于分类学研究中的争议问题, 需要对物种的表型性状进行深入比较和分析, 在明确环境和遗传因素对群体表型性状影响程度的基础上, 最终提出较理想的物种鉴定和识别问题解决方案。未来还需要采用更多分子片段甚至在系统发育基因组层面解析霍山石斛等近缘物种的系统发育关系, 结合表型变化规律, 探讨这些类群的物种形成等进化问题。在此, 我们呼吁在未来的分类学研究领域重点关注物种表型性状的变化式样, 从而为分类学发展提供更好的基础。

致谢: 感谢安徽省霍山县长冲中药材开发有限公司何祥林提供宝贵的野生霍山石斛群体材料; 感谢安徽省霍山县太平畈乡康顺公司等16家石斛种植企业或基地提供大量的霍山石斛及近缘种群体材料保障本研究的顺利完成; 感谢鲁宾雁博士、张武凡博士、胡超博士和邹玉方师妹等课题组成员在稿件修改中的帮助; 感谢任之尧博士(暨南大学)在稿件修改中的帮助并提出了宝贵的建议。

ORCID

焦振彬  <https://orcid.org/0000-0002-8151-8172>

罗毅波  <https://orcid.org/0000-0002-2824-8011>

参考文献

- Adams PB (2011) Systematics of Dendrobieae (Orchidaceae), with special reference to Australian taxa. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 166, 105–126.
- Anderson JT, Inouye DW, McKinney AM, Colautti RI, Mitchell-Olds T (2012) Phenotypic plasticity and adaptive evolution contribute to advancing flowering phenology in response to climate change. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 279, 3843–3852.
- Bashline L, Lei L, Li SD, Gu Y (2014) Cell wall, cytoskeleton, and cell expansion in higher plants. *Molecular Plant*, 7, 586–600.
- Cribb P, Govaerts R (2005) Just how many orchids are there? In: *Proceedings of the 18th World Orchid Conference* (eds Raynal-Roques A, Roguenant A, Prat D). Naturalia Publications, Turriers.
- Fan ZF, Xu HC, Yu RY (1992) A study on the species group age structure of *Larix gmelini* population and its relation to disturbance in the north Daxinganling Mountains. *Scientia Silvae Sinicae*, 28(1), 2–11. (in Chinese with English abstract) [范兆飞, 徐化成, 于汝元 (1992) 大兴安岭北部兴安落叶松种群年龄结构及其与自然干扰关系的研究. *林业科学*, 28(1), 2–11.]
- Fang W, Liu ED (2012) The development of classical plant taxonomy and iFlora. *Plant Diversity and Resources*, 34, 532–538. (in Chinese with English abstract) [方伟, 刘恩德 (2012) 经典植物分类学的发展与iFlora. *植物分类与资源学报*, 34, 532–538.]
- Fox RJ, Donelson JM, Schunter C, Ravasi T, Gaitán-Espitia JD (2019) Beyond buying time: The role of plasticity in phenotypic adaptation to rapid environmental change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 374, 20180174.
- García-Verdugo C, Fay MF, Granado-Yela C, De Casas RR, Balaguer L, Besnard G, Vargas P (2009) Genetic diversity and differentiation processes in the ploidy series of *Olea europaea* L.: A multiscale approach from subspecies to

insular populations. *Molecular Ecology*, 18, 454–467.

- García-Verdugo C, Méndez M, Velázquez-Rosas N, Balaguer L (2010) Contrasting patterns of morphological and physiological differentiation across insular environments: Phenotypic variation and heritability of light-related traits in *Olea europaea*. *Oecologia*, 164, 647–655.
- Ge S (2017) What determines species diversity? *Chinese Science Bulletin*, 62, 2033–2041. (in Chinese with English abstract) [葛颂 (2017) 什么决定了物种的多样性? 科学通报, 62, 2033–2041.]
- Gienapp P, Teplitsky C, Alho JS, Mills JA, Merilä J (2008) Climate change and evolution: Disentangling environmental and genetic responses. *Molecular Ecology*, 17, 167–178.
- Guo HQ, Li L, Aluru M, Aluru S, Yin YH (2013) Mechanisms and networks for brassinosteroid regulated gene expression. *Current Opinion in Plant Biology*, 16, 545–553.
- Harder LD, Johnson SD (2009) Darwin's beautiful contrivances: Evolutionary and functional evidence for floral adaptation. *New Phytologist*, 183, 530–545.
- Herrera CM, Castellanos MC, Medrano M (2006) Geographical context of floral evolution: Towards an improved research programme in floral diversification. In: *Ecology and Evolution of Flowers* (eds Harder LD, Barrett SCH), pp. 278–294. Oxford University Press, Oxford.
- Hong DY (2016) Biodiversity pursuits need a scientific and operative species concept. *Biodiversity Science*, 24, 979–999. (in Chinese with English abstract) [洪德元 (2016) 生物多样性事业需要科学、可操作的物种概念. 生物多样性, 24, 979–999.]
- Huang DB, Wang SG, Zhang BC, Shanguan KK, Shi YY, Zhang DM, Liu XL, Wu K, Xu ZP, Fu XD, Zhou YH (2015) A gibberellin-mediated DELLA-NAC signaling cascade regulates cellulose synthesis in rice. *The Plant Cell*, 27, 1681–1696.
- Jin XH, Chen SC, Luo YB (2009) Taxonomic revision of *Dendrobium moniliforme* complex (Orchidaceae). *Scientia Horticulturae*, 120, 143–145.
- Kater MM, Dreni L, Colombo L (2006) Functional conservation of MADS-box factors controlling floral organ identity in rice and *Arabidopsis*. *Journal of Experimental Botany*, 57, 3433–3444.
- Kong HZ (2016) Biodiversity undertakings call for extensive discussion on species concept and the criteria for species delimitation. *Biodiversity Science*, 24, 977–978. (in Chinese) [孔宏智 (2016) 生物多样性事业呼唤对物种概念和物种划分标准的深度讨论. 生物多样性, 24, 977–978.]
- Leimar O (2009) Environmental and genetic cues in the evolution of phenotypic polymorphism. *Evolutionary Ecology*, 23, 125–135.
- Li L, Liu T, Liu B, Liu ZQ, Si LM, Zhang R (2010) Phenotypic variation and covariation among natural populations of *Arabidopsis thaliana* in North Xinjiang. *Biodiversity Science*, 18, 497–508. (in Chinese with English abstract) [李磊, 刘彤, 刘斌, 刘忠权, 司朗明, 张荣 (2010) 新疆北部拟南芥自然居群表型变异与协变. 生物多样性, 18, 497–508.]
- Liao ZG, Yu H, Duan JB, Yuan K, Yu CJ, Meng XB, Kou LQ, Chen MJ, Jing YH, Liu GF, Smith SM, Li JY (2019) SLR1 inhibits MOC1 degradation to coordinate tiller number and plant height in rice. *Nature Communications*, 10, 2738.
- Liu JQ (2016) “The integrative species concept” and “species on the speciation way”. *Biodiversity Science*, 24, 1004–1008. (in Chinese with English abstract) [刘建全 (2016) “整合物种概念”和“分化路上的物种”. 生物多样性, 24, 1004–1008.]
- Liu LC, Du GG, Si WJ, Wang F, Luo HJ, Zhou ZJ (2015) Phenotypic variation and covariation in natural populations of the exotic weed *Gaura parviflora* in different habitat. *Acta Prataculturae Sinica*, 24(7), 41–51. (in Chinese with English abstract) [刘龙昌, 杜改改, 司卫杰, 王菲, 罗海军, 周正军 (2015) 不同生境小花山桃草自然种群表型变异与协变. 草业学报, 24(7), 41–51.]
- Ma KP (1993) On the concept of biodiversity. *Chinese Biodiversity*, 1, 20–22. (in Chinese) [马克平 (1993) 试论生物多样性的概念. 生物多样性, 1, 20–22.]
- Marowa P, Ding AM, Kong YZ (2016) Expansins: Roles in plant growth and potential applications in crop improvement. *Plant Cell Reports*, 35, 949–965.
- Mitchell-Olds T, Willis JH, Goldstein DB (2007) Which evolutionary processes influence natural genetic variation for phenotypic traits? *Nature Reviews Genetics*, 8, 845–856.
- Montalvo AM, Ellstrand NC (2000) Transplantation of the subshrub *Lotus scoparius*: Testing the home-site advantage hypothesis. *Conservation Biology*, 14, 1034–1045.
- Morris MW, Stern WL, Judd WS (1996) Vegetative anatomy and systematics of subtribe Dendrobieinae (Orchidaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 120, 89–144.
- Ng TB, Liu JY, Wong JH, Ye XJ, Wing Sze SC, Tong Y, Zhang KY (2012) Review of research on *Dendrobium*, a prized folk medicine. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93, 1795–1803.
- Pande PK, Dhiman RC (2011) Performance and variability patterns in wood properties and growth traits in the parents, F₁ and F₂ generation hybrid clones of *Populus deltoides*. *Journal of Forestry Research*, 22, 379–385.
- Pelaz S, Ditta GS, Baumann E, Wisman E, Yanofsky MF (2000) B and C floral organ identity functions require *SEPALLATA* MADS-box genes. *Nature*, 405, 200–203.
- Pigliucci M, Murren CJ, Schlichting CD (2006) Phenotypic plasticity and evolution by genetic assimilation. *The Journal of Experimental Biology*, 209, 2362–2367.
- Pintado A, Valladares F, Sancho LG (1997) Exploring phenotypic plasticity in the lichen *Ramalina capitata*: Morphology, water relations and chlorophyll content in north- and south-facing populations. *Annals of Botany*, 80,

- 345–353.
- Pridgeon AM, Cribb PJ, Chase MW, Rasmussen FN (2014) Genera *Orchidacearum*. Vol. 6: Epidendroideae (Part three). Oxford University Press, Oxford.
- Rasmussen HN (1995) Terrestrial Orchids: From Seed to Mycotrophic Plant. Cambridge University Press, Cambridge.
- Rutter MT, Fenster CB (2007) Testing for adaptation to climate in *Arabidopsis thaliana*: A calibrated common garden approach. *Annals of Botany*, 99, 529–536.
- Schenck D, Christian M, Jones A, Lüthen H (2010) Rapid auxin-induced cell expansion and gene expression: A four-decade-old question revisited. *Plant Physiology*, 152, 1183–1185.
- Schlichting CD, Levin DA (1984) Phenotypic plasticity of annual phlox: Tests of some hypotheses. *American Journal of Botany*, 71, 252–260.
- Siefert A, Fridley JD, Ritchie ME (2014) Community functional responses to soil and climate at multiple spatial scales: When does intraspecific variation matter? *PLoS ONE*, 9, e111189.
- Simpson GG (1951) The species concept. *Evolution*, 5, 285–298.
- Sletvold N, Grindeland JM, Ågren J (2010) Pollinator-mediated selection on floral display, spur length and flowering phenology in the deceptive orchid *Dactylorhiza lapponica*. *New Phytologist*, 188, 385–392.
- Smith SE, Read DJ (2008) Mycorrhizal Symbiosis, 3rd edn. Academic Press, Cambridge.
- Soto-Cerda BJ, Diederichsen A, Ragupathy R, Cloutier S (2013) Genetic characterization of a core collection of flax (*Linum usitatissimum* L.) suitable for association mapping studies and evidence of divergent selection between fiber and linseed types. *BMC Plant Biology*, 13, 1–15.
- Sultan SE (2000) Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends in Plant Science*, 5, 537–542.
- Tamhane AC (1981) Randomized response techniques for multiple sensitive attributes. *Journal of the American Statistical Association*, 76, 916–923.
- Tanabe S, Ashikari M, Fujioka S, Takatsuto S, Yoshida S, Yano M, Yoshimura A, Kitano H, Matsuoka M, Fujisawa Y, Kato H, Iwasaki Y (2005) A novel cytochrome P450 is implicated in brassinosteroid biosynthesis via the characterization of a rice dwarf mutant, *dwarf11*, with reduced seed length. *The Plant Cell*, 17, 776–790.
- Tsi ZH (1980) A preliminary study of the orchid genus *Dendrobium* SW China. *Journal of Systematics and Evolution*, 18, 427–449. (in Chinese with English abstract) [吉占和 (1980) 中国石斛属的初步研究. *植物分类学报*, 18, 427–449.]
- Valladares F, Sanchez-Gomez D, Zavala MA (2006) Quantitative estimation of phenotypic plasticity: Bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *Journal of Ecology*, 94, 1103–1116.
- van der Knaap E, Kim JH, Kende H (2000) A novel gibberellin-induced gene from rice and its potential regulatory role in stem growth. *Plant Physiology*, 122, 695–704.
- Wang B, Smith SM, Li JY (2018) Genetic regulation of shoot architecture. *Annual Review of Plant Biology*, 69, 437–468.
- Wang S, Zhou DW (2017) Research on phenotypic plasticity in plants: An overview of history, current status, and development trends. *Acta Ecologica Sinica*, 37, 8161–8169. (in Chinese with English abstract) [王姝, 周道玮 (2017) 植物表型可塑性研究进展. *生态学报*, 37, 8161–8169.]
- Wang ZY, Bai MY, Oh E, Zhu JY (2012) Brassinosteroid signaling network and regulation of photomorphogenesis. *Annual Review of Genetics*, 46, 701–724.
- Weber CR, Moorthy BR (1952) Heritable and nonheritable relationships and variability of oil content and agronomic characters in the F_2 generation of soybean crosses. *Agronomy Journal*, 44, 202–209.
- Wood HP (2006) The Dendrobiums. ARG Gantner Verlag, Ruggell.
- Xiang XG, Mi XC, Zhou HL, Li JW, Chung SW, Li DZ, Huang WC, Jin WT, Li ZY, Huang LQ, Jin XH (2016) Biogeographical diversification of mainland Asian *Dendrobium* (Orchidaceae) and its implications for the historical dynamics of evergreen broad-leaved forests. *Journal of Biogeography*, 43, 1310–1323.
- Xiang XG, Schuitman A, Li DZ, Huang WC, Chung SW, Li JW, Zhou HL, Jin WT, Lai YJ, Li ZY, Jin XH (2013) Molecular systematics of *Dendrobium* (Orchidaceae, Dendrobieae) from mainland Asia based on plastid and nuclear sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 69, 950–960.
- Xiang YZ, Huang CH, Hu Y, Wen J, Li SS, Yi TS, Chen HY, Xiang J, Ma H (2017) Evolution of Rosaceae fruit types based on nuclear phylogeny in the context of geological times and genome duplication. *Molecular Biology and Evolution*, 34, 262–281.
- Xing Y, Zhao X, Dong KH, Shi WW (2008) A study on morphological variation of different populations of *Lespedeza davurica*. *Acta Prataculturae Sinica*, 17(4), 26–31. (in Chinese with English abstract) [邢毅, 赵祥, 董宽虎, 史威威 (2008) 不同居群达乌里胡枝子形态变异研究. *草业学报*, 17(4), 26–31.]
- Xu Q (2015) Molecular Phylogeny of *Dendrobium* and Genome-wide Analysis of NBS Genes in *D. catenatum*. PhD dissertation, Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Beijing. (in Chinese with English abstract) [徐晴 (2015) 石斛属的系统发育和铁皮石斛NBS基因的分析. 博士学位论文, 中国科学院植物研究所, 北京.]
- Yang QE (2016) Comments on species-level taxonomy of plants in China. *Biodiversity Science*, 24, 1024–1030. (in

- Chinese with English abstract) [杨亲二 (2016) 我国植物种级水平分类学研究刍议. 生物多样性, 24, 1024–1030.]
- Yukawa T, Uehara K (1996) Vegetative diversification and radiation in subtribe Dendrobiinae (Orchidaceae): Evidence from chloroplast DNA phylogeny and anatomical characters. *Plant Systematics & Evolution*, 201, 1–14.
- Zhu GH, Tsi ZH, Wood JJ, Wood HP (2009) Orchidaceae. In: *Flora of China*, Vol. 25 (eds Wu ZY, Raven PH, Hong DY), pp. 382–383. Science Press, Beijing & Missouri Botanical Garden Press, St. Louis.
- Zhu QH, Ge S (2005) Phylogenetic relationships among A-genome species of the genus *Oryza* revealed by intron sequences of four nuclear genes. *New Phytologist*, 167, 249–265.
- (责任编辑: 葛学军 责任编辑: 时意专)

附录 Supplementary Material

附录1 种植基地内霍山石斛及其近缘种植株形态照片

Appendix 1 Photos of *Dendrobium huoshanense* and related species in dendrobiums planting base
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-1.pdf>

附录2 霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状95%置信区间

Appendix 2 The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs and flowers in *Dendrobium huoshanense*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-2.pdf>

附录3 霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状变异系数

Appendix 3 Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs and flowers traits in *Dendrobium huoshanense*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-3.pdf>

附录4 霍山石斛及其近缘种植群体假鳞茎和花部表型性状95%置信区间

Appendix 4 The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs and flowers in *Dendrobium huoshanense* and related species
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-4.pdf>

附录5 霍山石斛及其近缘种植群体假鳞茎和花部表型性状变异系数

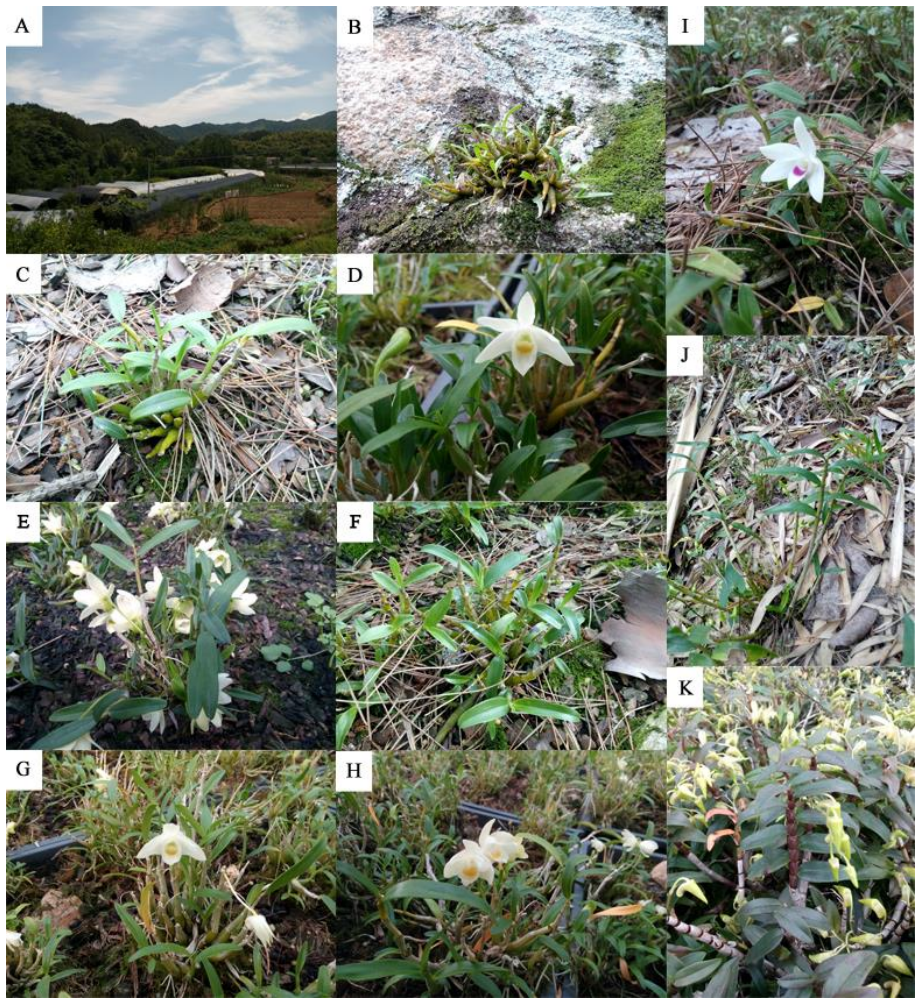
Appendix 5 Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs and flowers traits in *Dendrobium huoshanense* and related species
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-5.pdf>

附录6 野生霍山石斛、F₁代霍山石斛、河南石斛、细茎石斛以及铁皮石斛群体假鳞茎表型性状主成分分析散点图

Appendix 6 Scatter plots of the principal component analysis of pseudobulbs in *Dendrobium huoshanense* in wild-type, F₁ generation of *D. huoshanense*, *D. henanense*, *D. moniliforme* and *D. catenatum*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-6.pdf>

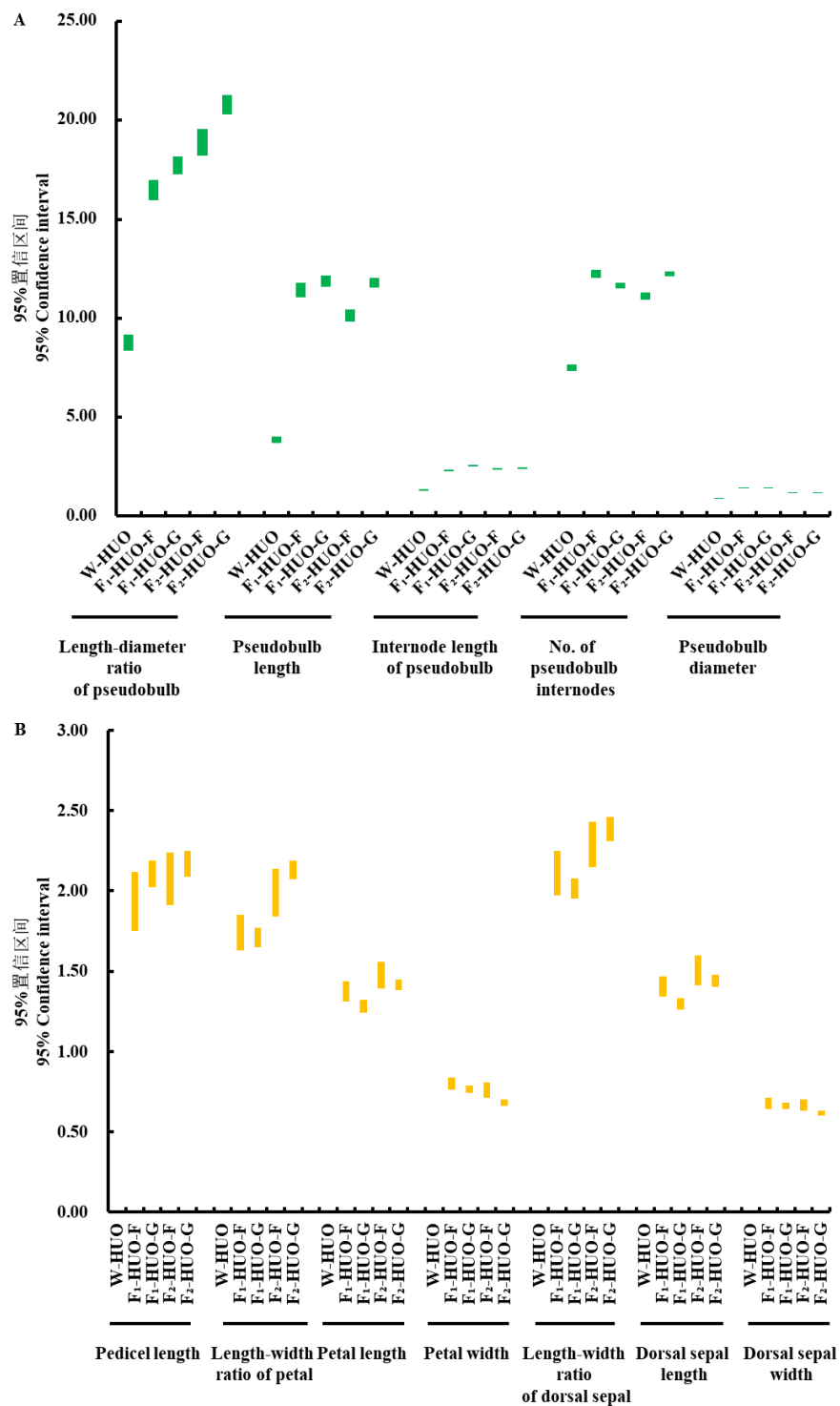
附录7 F₁代霍山石斛、河南石斛、细茎石斛以及铁皮石斛群体花部表型性状主成分分析散点图

Appendix 7 Scatter plots of the principal component analysis of flowers in F₁ generation of *Dendrobium huoshanense*, *D. henanense*, *D. moniliforme* and *D. catenatum*
<https://www.biodiversity-science.net/fileup/PDF/2021001-7.pdf>



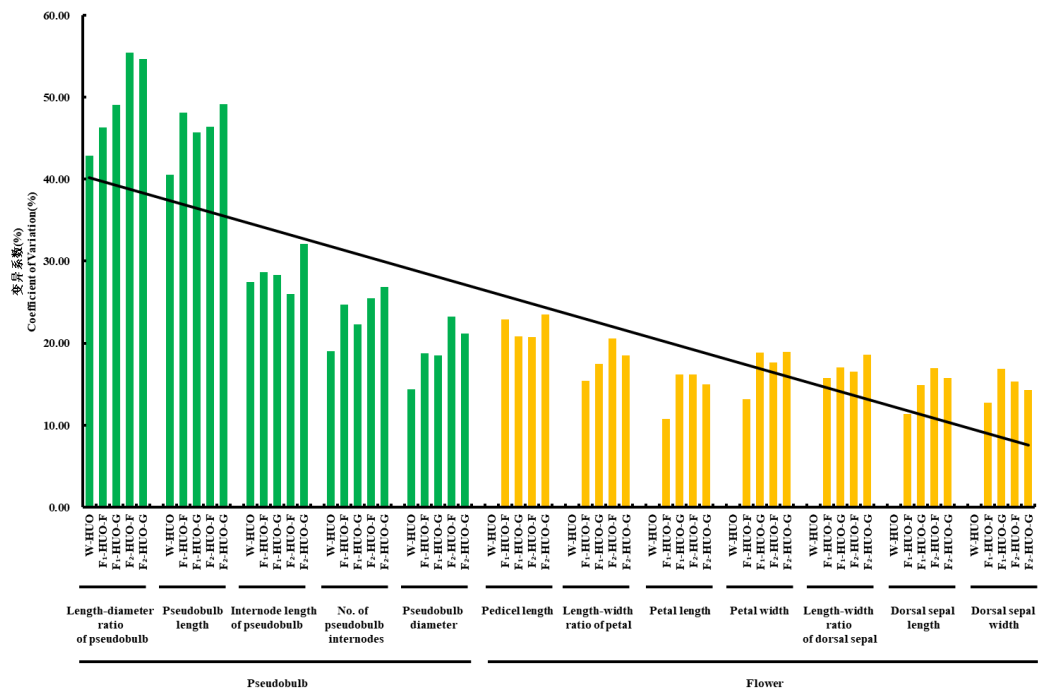
附录 1 种植基地内霍山石斛及其近缘种植株形态照片。(A)安徽省霍山县石斛种植基地环境;(B)野生霍山石斛(W-HUO);(C)林间 F₁代(F₁-HUO-F);(D)温室 F₁代(F₁-HUO-G);(E)温室 F₂代(F₂-HUO-G);(F)林间 F₂代(F₂-HUO-F);(G)温室 F₁代(F₁-HUO-G),少数假鳞茎较大的样品;(H)温室 F₁代(F₁-HUO-G),少数假鳞茎较高的样品;(I)河南石斛(HEN);(J)细茎石斛(MON);(K)铁皮石斛(CAT)

Appendix 1 Photos of *Dendrobium huoshanense* and related species in dendrobiums planting base. (A) The bird view of planting base of *D. huoshanense* and related species in Huoshan country, Anhui Province. (B) *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO); (C) F₁ generation under woodland (F₁-HUO-F); (D) F₁ generation under greenhouse (F₁-HUO-G); (E) F₂ generation under greenhouse (F₂-HUO-G); (F) F₂ generation under woodland (F₂-HUO-F); (G) Some individuals with large pseudobulbs among F₁ generation under greenhouse (F₁-HUO-G); (H) Some individuals with longer pseudobulbs among F₁ generation under greenhouse (F₁-HUO-G); (I) *D. henanense* (HEN); (J) *D. moniliforme* (MON); (K) *D. catenatum* (CAT)



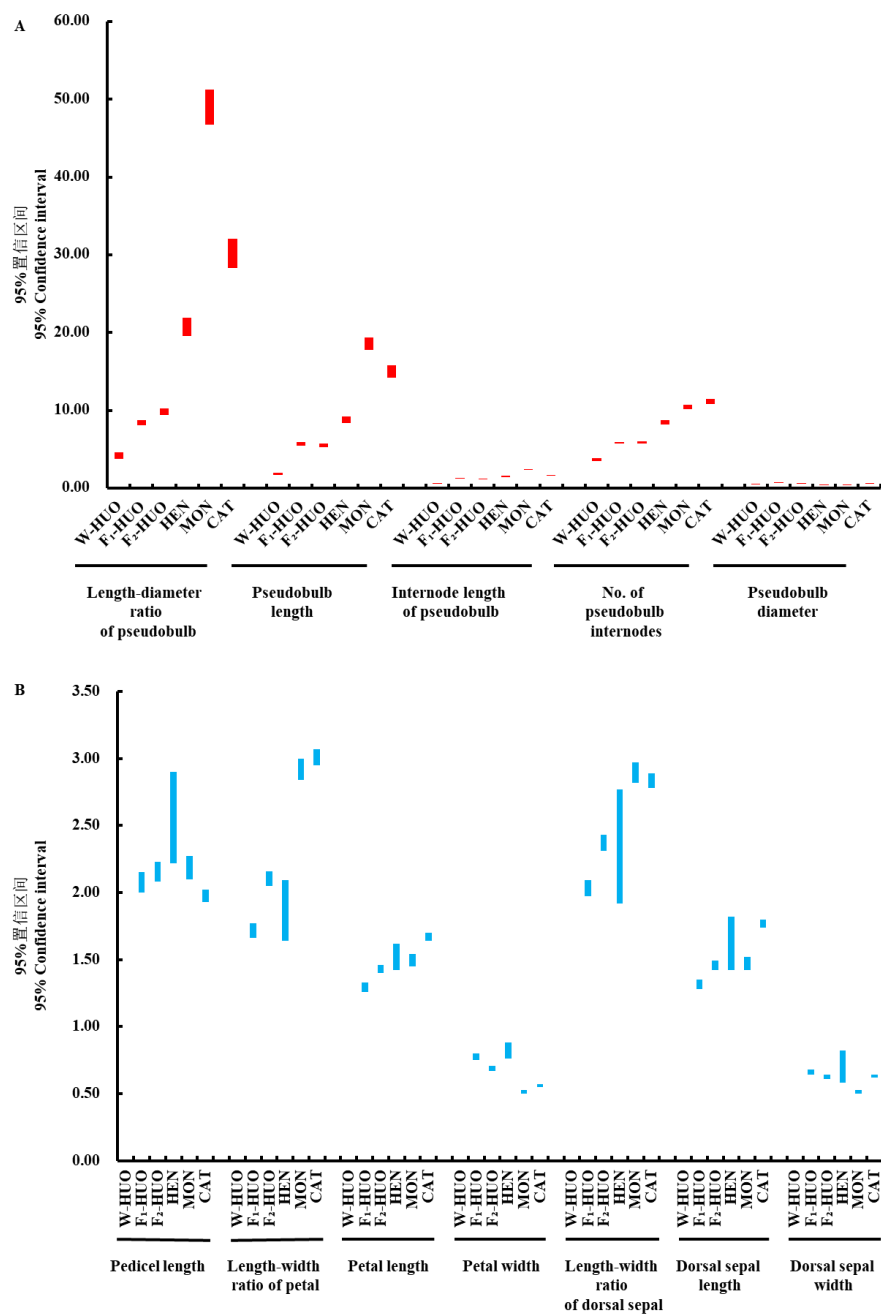
附录 2 霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状 95%置信区间。野生霍山石斛(W-HUO), 林间 F₁ 代(F₁-HUO-F), 温室 F₁ 代(F₁-HUO-G), 林间 F₂ 代(F₂-HUO-F)以及温室 F₂ 代(F₂-HUO-G) (A) 假鳞茎, (B) 花部表型性状 95%置信区间

Appendix 2 The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs and flowers in *Dendrobium huoshanense*. The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs (A) and flowers (B) in *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation under woodland (F₁-HUO-F), F₁ generation under greenhouse (F₁-HUO-G), F₂ generation under woodland (F₂-HUO-F) and F₂ generation under greenhouse (F₂-HUO-G)



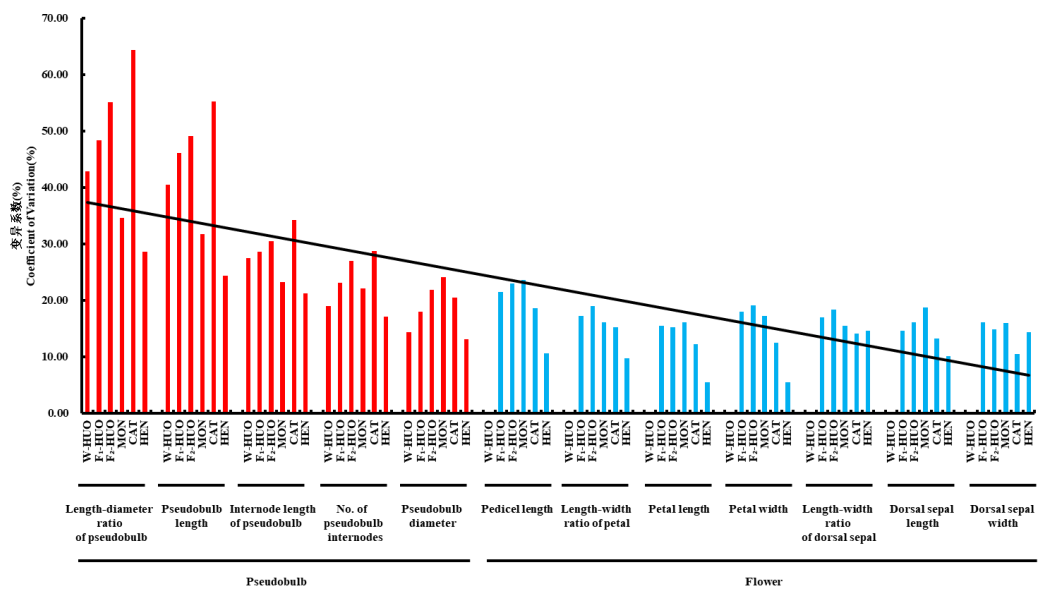
附录 3 霍山石斛群体假鳞茎和花部表型性状变异系数。野生霍山石斛(W-HUO), 林间 F₁ 代(F₁-HUO-F), 温室 F₁ 代(F₁-HUO-G), 林间 F₂ 代(F₂-HUO-F)以及温室 F₂ 代(F₂-HUO-G)群体假鳞茎(绿色)和花部(黄色)表型性状变异系数

Appendix 3 Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs and flowers traits in *Dendrobium huoshanense*. Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs (green) and flowers (yellow) traits in *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation under woodland (F₁-HUO-F), F₁ generation under greenhouse (F₁-HUO-G), F₂ generation under woodland (F₂-HUO-F) and F₂ generation under greenhouse (F₂-HUO-G)



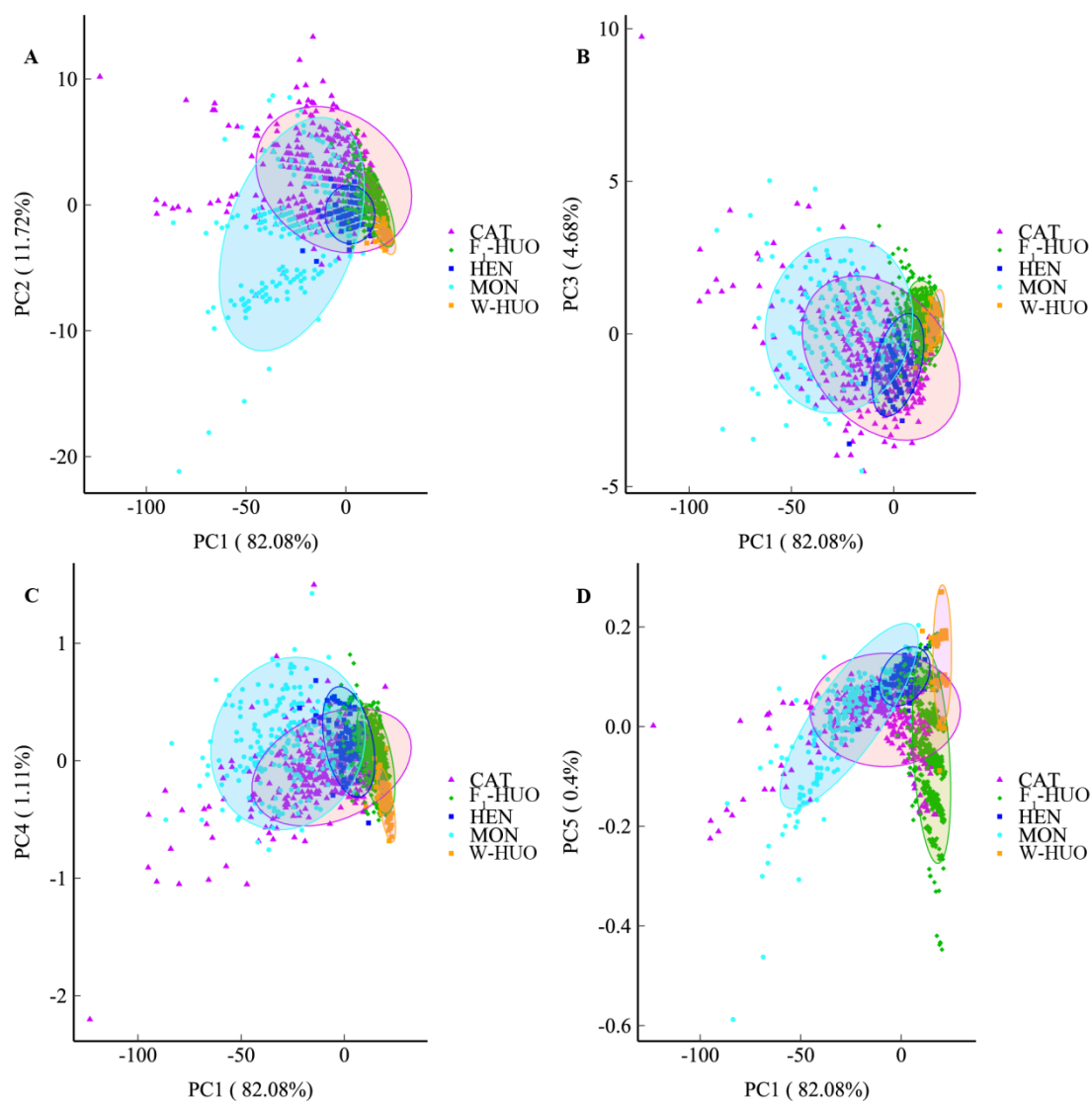
附录 4 霍山石斛及其近缘种群体假鳞茎和花部表型性状 95%置信区间。野生霍山石斛(W-HUO), F₁代霍山石斛(F₁-HUO), F₂代霍山石斛(F₂-HUO), 河南石斛(HEN), 细茎石斛(MON)以及铁皮石斛(CAT)群体(A)假鳞茎, (B)花部表型性状 95%置信区间

Appendix 4 The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs and flowers in *Dendrobium huoshanense* and related species. The 95% confidence interval for phenotypic traits of pseudobulbs (A) and flowers (B) in *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation of *D. huoshanense* (F₁-HUO), F₂ generation of *D. huoshanense* (F₂-HUO), *D. henanense* (HEN), *D. moniliforme* (MON) and *D. catenatum* (CAT)



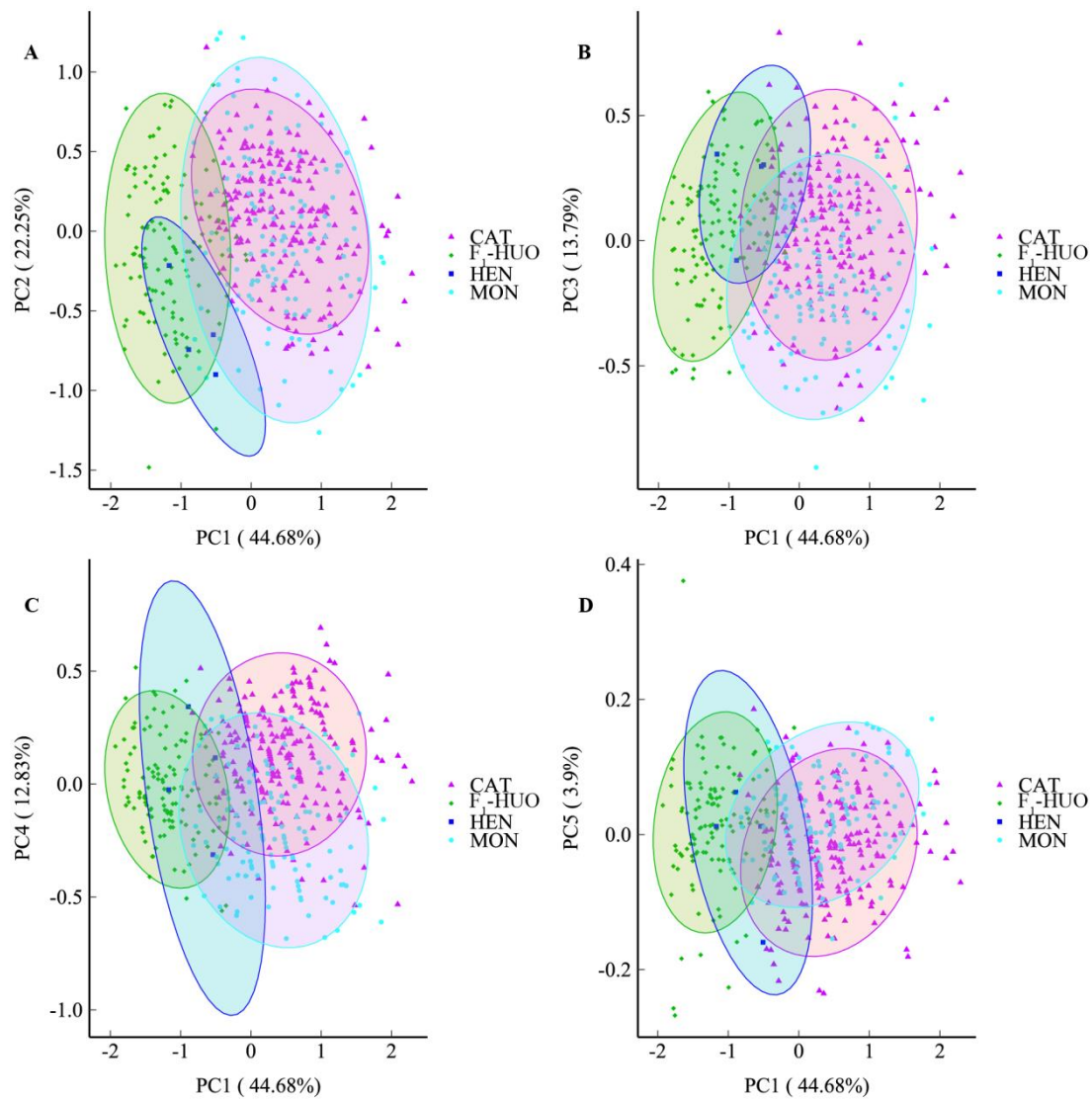
附录 5 霍山石斛及其近缘种群体假鳞茎和花部表型性状变异系数。野生霍山石斛(W-HUO), F₁代霍山石斛(F₁-HUO), F₂代霍山石斛(F₂-HUO), 河南石斛(HEN), 细茎石斛(MON)以及铁皮石斛(CAT)群体假鳞茎(红色)和花部(蓝色)表型性状变异系数

Appendix 5 Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs and flowers traits in *Dendrobium huoshanense* and related species. Phenotypic variation coefficients of pseudobulbs (red) and flowers (blue) traits in *D. huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation of *D. huoshanense* (F₁-HUO), F₂ generation of *D. huoshanense* (F₂-HUO), *D. henanense* (HEN), *D. moniliforme* (MON) and *D. catenatum* (CAT)



附录6 野生霍山石斛(W-HUO), F₁代霍山石斛(F₁-HUO), 河南石斛(HEN), 细茎石斛(MON)以及铁皮石斛(CAT)群体假鳞茎表型性状主成分分析散点图。(A)–(B)霍山石斛及其近缘种群体假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (C)–(D)霍山石斛及其近缘种群体假鳞茎表型性状主成分(PC1 vs. PC4)和(PC1 vs. PC5)散点图

Appendix 6 Principal component analysis of pseudobulbs in *Dendrobium huoshanense* in wild-type (W-HUO), F₁ generation of *D. huoshanense* (F₁-HUO), *D. henanense* (HEN), *D. moniliforme* (MON) and *D. catenatum* (CAT). A–B, PCA of pseudobulbs in *D. huoshanense* and related species; C–D, PCA of pseudobulbs in *D. huoshanense* and related species



附录 7 F₁代霍山石斛(F₁-HUO), 河南石斛(HEN), 细茎石斛(MON)以及铁皮石斛(CAT)群体花部表型性状主成分分析散点图。(A)–(B)霍山石斛及其近缘种群体花部表型性状主成分(PC1 vs. PC2)和(PC1 vs. PC3)散点图; (C)–(D)霍山石斛及其近缘种群体花部表型性状主成分(PC1 vs. PC4)和(PC1 vs. PC5)散点图

Appendix 7 Principal component analysis of flowers in F₁ generation of *Dendrobium huoshanense* (F₁-HUO), *D. henanense* (HEN), *D. moniliforme* (MON) and *D. catenatum* (CAT). A–B, PCA of flowers in *D. huoshanense* and related species; C–D, PCA of flowers in *D. huoshanense* and related species