

青藏高原东部橐吾属三种植物的繁育系统

曹 昫¹, 马瑞君^{2*}, 王国祥³

(1. 江西师范大学 地理与环境学院, 南昌 330022; 2. 韩山师范学院 生物系, 广东 潮州 521041; 3. 南京师范大学 地理科学学院, 南京 210097)

摘要: 研究青藏高原东缘分布的箭叶橐吾、黄帚橐吾和掌叶橐吾的繁育系统, 箭叶橐吾和黄帚橐吾各自居群中有性生殖和克隆繁殖的权衡关系, 分析三种植物的克隆繁殖与生态适应, 探讨橐吾属植物对高寒环境胁迫条件下的适应与进化。结果显示三种橐吾的花果期在6月中旬到10月初, 花序为头状花序组成的总状排列。三种橐吾的杂交指数(OCI)均为4, 繁育系统以远交为主、部分自交亲和、虫媒、需要传粉者; 影响有性生殖成功的因素除昆虫侵食以外, 黄帚橐吾和箭叶橐吾低的结实率主要原因是传粉媒介限制。限制结实的主要因素是高寒多风的环境限制了昆虫的活动, 访花昆虫数量减少, 从而使花粉转移效率降低, 导致了低的结实率。植物采取的对策: 大量开花, 延长雌雄配子体的功能期和传粉媒介的泛化等, 可见三种橐吾有性生殖的潜力依然很大。箭叶橐吾和黄帚橐吾在自然条件下主要进行有性生殖, 在保护草场时, 应针对其有性生殖器官采取措施。

关键词: 箭叶橐吾; 掌叶橐吾; 黄帚橐吾; 毒杂草; 繁育系统; 生态对策

中图分类号: Q945.16 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)03-0302-05

The breeding system of three species of genus *Ligularia* in the east of Qinghai-Tibet Plateau

CAO Yun¹, MA Rui-Jun^{2*}, WANG Guo-Xiang³

(1. School of Geography and Environment, Jiangxi Normal University, Nanchang 330022, China; 2. Department of Biology, Hanshan Teachers College, Chaozhou 521041, China; 3. School of Geography Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210046, China)

Abstract: In this thesis, the breeding system and reproductive strategies of the three species were observed and analysed. The adaptation and evolution of the genus *Ligularia* under the condition of psychro-environment were discussed. The result showed that the flowering and fruiting periods of the three species were from mid-June to the beginning of October, and their inflorescences were racemose arrangement with capitulum. The outcrossing index were 4 in the all three species, the breeding system was given priority to outcrossing, part self-compatibility, insects pollinator-dependent. The main factors effecting the success of sexual reproduction were pollinators scarcity and insects infection. The primary factor to limit seed setting was the windy psychro-environment which limits the activities of insects, leading to the insect number to visited flowers decreased. All these factors induced the low setting percentage. But the plants didn't accept this fact passively, instead they took active strategies of adaptability, such as mass blossom, prolonging the functional period of female and male gametophyte, and generalization of pollen medium. Therefore, the potential of sexual reproduction in the three species was still very great. Under natural conditions, the clonal growing rhizomes of *L. sagitta* and *L. virgaurea* were suppressed due to interspecific competitions on the grassland, therefore the reproduction of the two plants mainly depended on seeds. This fact suggests, we should aim at sexual

收稿日期: 2006-12-19 修回日期: 2007-08-20

基金项目: 西北师范大学知识与科技创新工程(NWNU-KJXG-02); 国家“十五”“211工程”重大项目[Supported by Knowledge and Scientific Technology Innovation Program of Northwest Normal University(NWNU-KJXG-02); Major Item of “211 Program” of State Tenth Five-Year Plan Project]

作者简介: 曹昫(1974-), 男, 甘肃镇原人, 博士, 副教授, 主要从事植物生态学研究, (E-mail)yun.cao@163.com.

* 通讯作者(Author for correspondence)

reproductive organs in management of the two weeds, we also need to pay more attention to ecological recovery on the degenerating grassland to prevent land form further desertification.

Key words: *Ligularia sagitta*; *L. przewalskii*; *L. virgaurea*; poisonous weeds; breeding system; ecological strategy

在青藏高原东缘分布最广,危害最为严重的毒杂草是菊科(Compositae)橐吾属(*Ligularia*)的箭叶橐吾、黄帚橐吾和掌叶橐吾,其中前两种植物兼有有性生殖和克隆繁殖习性,对草场危害日趋严重,是高寒草甸中的优势毒杂草。黄帚橐吾和箭叶橐吾虽然已引起有关部门和研究者的重视,但目前对高寒草场橐吾属植物的研究仅限于对黄帚橐吾的克隆生长、繁殖分配等繁殖特性的一些初步研究(单保庆等,2000;刘左军等,2002);三种橐吾的繁殖特性和不同温度对种子萌发的影响已作过观察(马瑞君等,2002)。植物在极端环境下生存和扩散能力与其散布单位的数量、质量、散布能力和种子萌发机制等繁殖对策密切相关,与特殊环境相适应的繁殖对策才能确保植物在合适的地点与时间进行种子的萌发和幼苗建成。所以上述研究尚不能全面揭示这三种植物的生物学基本属性,以及其对高寒环境的适应与进化。

本研究试图观察分析青藏高原东缘分布的箭叶橐吾、黄帚橐吾和掌叶橐吾的繁育系统,探讨造成橐吾结实率低的原因。如果是高寒多风的环境限制了传粉媒介的活动,那么是长期的进化中,植物是否像许多一年生植物进化为自交亲和型?研究箭叶橐吾和黄帚橐吾,各自居群中有性生殖和克隆繁殖的权衡关系,探讨克隆繁殖与生态适应,以便深入揭示高山植物的繁育系统、物种形成和对高寒环境胁迫条件下的适应与进化。为青藏高原草原生态系统的恢复和保护,综合防治橐吾这一高寒草甸的优势毒杂草,提供必要的科学依据和方法。为进一步研究高寒草甸生态系统的结构、功能及其演化提供理论依据,并为草场资源的合理利用与保护、退化草地的恢复与重建提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

研究材料为2001年5~7月从分布于甘肃省甘南州9个地点的居群中移栽的箭叶橐吾、黄帚橐吾和掌叶橐吾(表1)。野外观察和实验地点设在甘肃省甘南州合作市兰州大学干旱农业生态野外实验站的实验地(102°53' E, 34°57' N, 海拔2 750 m, 年

气温2.6℃,年平均降水量620 mm)。

表1 研究地环境条件

Table 1 A general description of the polts

物种 Species	地点 Location	生态环境 Habitat	海拔高度 Altitude (m)
掌叶橐吾 <i>L. przewalskii</i>	夏河 清水河 合作 党支沟 碌曲 朗木寺后沟	路边灌丛 山坡灌丛 河谷灌丛	2 200 2 840 3 220
箭叶橐吾 <i>L. sagitta</i>	合作 市郊 玛曲 扎龙秀马 碌曲 晒银滩	公路边 河谷石滩 山坡地	2 800 3 700 3 400
黄帚橐吾 <i>L. virgaurea</i>	合作 市郊 玛曲 诺尔弄 玛曲 欧拉央地	山坡地 山坡地 河滩地	2 800 3 800 3 400

1.2 方 法

实验于2001~2003年三种橐吾开花期(6~10月)进行。

1.2.1 开花物候观察和套袋实验 三种植物各选15株生长健壮的橐吾对其进行花序开花动态观察,同时在每株上中下部分别选一发育正常的花序做上标记进行开花顺序观察。开花动态观察从每天6:00~18:00进行,每隔1 h统计1次每个花序的开花数。整个观察从植株花序上第一朵花开放开始到第一次生理落果结束,全程进行系统观察记载,并对记录观察数据进行分析。每次观测,均注意记录花朵开放,花粉散出,柱头伸长,花蜜与气味开始出现和持续的时间;注意记录花朵每1轮结构的数目、形状、大小。

1.2.2 判断是否虫媒依赖型 三种植物各选择15株开花植株,去除已完全开放的头状花序,套袋。每天隔袋观察,有花开放后,便弹动花序,使花粉能够离开花药。

1.2.3 异株之间人工辅助授粉 判断是否由于传粉昆虫稀少造成结实率较低:选择箭叶橐吾和掌叶橐吾各15株(黄帚橐吾因开花个体少,本项实验无法进行),在花期,用毛笔刷蘸邻株花粉后,轻点于实验植株的柱头上。

1.2.4 同株不同头状花序间的人工授粉对照 选择箭叶橐吾和掌叶橐吾各15株,进行同株不同头状花序间的人工授粉实验,在花期,用毛笔刷蘸同株不同头状花序的花粉后,轻点于实验植株的柱头上,授粉后套袋。

1.2.5 自然对照实验 三种橐吾各留 15 个植株,小花数分别为黄帚橐吾 696 朵,箭叶橐吾 782 朵,掌叶橐吾 403 朵,不作任何处理,使其自然授粉结实作为对照。

1.2.6 杂交指数(Outcrossing index, OCI)的估算 按照 Dafni(1992)的标准进行花序直径、花朵大小及开花行为的测量及繁育系统的评判。

1.2.7 花粉/胚珠(P/O)检测 取一朵花中的 5 个雄蕊放在 60% 的 H_2SO_4 中浸泡 4 h,用蒸馏水冲洗干净,然后加入乳酸:甘油(3:1)混合液至 1 mL,搅拌均匀,每次吸取 10 μL ,反复 5 次,观察计数。每个居群取 3 朵花,重复上述过程。平均 P/O 计算:(所测得 1 朵管状花的 P/O 比 \times 头状花序内所有管状花数)/(一个头状花序内管状花数+舌状花数),依据 Cruden(1977)以 P/O 评判繁育系统的标准。

1.2.8 有性生殖效率统计 2001 年 7 月 27 日至 8 月 3 日,在甘南地区三个种不同海拔高度的 9 个种群中随机选取 0.5 m \times 0.5 m(黄帚橐吾和箭叶橐吾)和 1 m \times 1 m(掌叶橐吾)样方各 10 个,分别统计开花的植株数和百分比。2001 年 10 月上旬在野外剪取大量总状花序,分装于纸袋中携回实验室,随机选择 15 株完整的花序,统计每株的头状花序数,虫蚀头状花序数,每株开花数(胚珠数),结实率(人为饱满种子率)。

1.2.9 花粉存活率测定 花粉活力检测用 TTC 测定法(胡适宜,1993),TTC(2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride)即 2,3,5-氯代三苯基四氮唑(用 2 M pH7.2 的磷酸缓冲液配制成 1% 的 TTC 溶液),是一种氧化还原染料,其基本原理:花粉中呼吸酶的活跃情况能较正确地反映其生活力的强弱,同时氧化还原染料能在呼吸酶的作用下着色,因此可根据着色情况来判断花粉的生活力。具体操作过程:(1)取少数花粉置于载玻片上,加 1~2 滴 TTC 溶液,盖上盖玻片。(2)将制片放置 35 $^{\circ}C$ 恒温箱中 15 min 后在低倍镜下观察。凡染成红色的花粉,其生活力为强,淡红的次之,无色的为不具活力的花粉或不育花粉。(3)观察 2~3 个制片,每片取 5 个视野,统计 100 粒,然后计算花粉的活力百分率。

2 结果与讨论

2.1 开花物候和开花过程

三种橐吾的花果期在 6 月中下旬到 10 月初,来自不同海拔高度的橐吾在开花物候方面具有很大的

时间差异,高海拔优先于中海拔,中海拔优先于低海拔。通常低海拔较高海拔花期长,花期 25~35 d。不同年份的花期物候也随气候的不同而有差异,如 2003 年由于春寒,三种橐吾的花期比 2002 年推迟 7~10 d。花序为头状花序组成的总状排列。开花顺序黄帚橐吾为向基式,掌叶橐吾和箭叶橐吾为向顶式。每个头状花序中,边缘为舌状花,雌性,中央为管状花,两性,头状花序开花顺序为向心式,单花花期 8~10 d 左右。子房 1 室 1 胚珠,柱头 2~3 裂;雄蕊 4~5 枚,纵裂。开花前雌蕊完全被雄蕊围绕,开花时,花柱延长,从雄蕊中央伸出后,柱头裂开,雌雄异位同熟。

2.2 繁育系统

三种橐吾在植株间和植株内头状花序间传粉均能结实;P/O 值分别为 2779(黄帚橐吾),2676(箭叶橐吾)和 1343(掌叶橐吾),可见掌叶橐吾的繁育系统为兼性异交型、黄帚橐吾和箭叶橐吾的繁育系统均为专性异交型(表 2)。而套袋及人工授粉的实验结果显示三种橐吾无自发的自花传粉现象,能够在人工辅助下同株异花传粉和异株异花传粉。橐吾花序套袋后结实率远低于自然状态,而人工授粉后的结实率明显提高。说明花粉向柱头的转移主要依赖于昆虫,风力能够偶尔使花粉落到柱头上,但这种几率很低。黄帚橐吾和箭叶橐吾低的结实率主要是传粉媒介限制。

表 2 繁育系统实验结果

Table 2 Test results on breeding system

种类 Species	花序套袋实验 Bagging (%)	人工授粉(%) Artificial pollination		对照 Control (%)	P/O
		不同植株间	同株花序间		
黄帚橐吾 <i>L. virgaurea</i>	0	54.5	93.3	15.6	2 779
箭叶橐吾 <i>L. sagitta</i>	0.003	90.0	96.6	17.2	2 676
掌叶橐吾 <i>L. przewalskii</i>	0.010	93.3	97.5	60.1	1 343

高寒环境昆虫稀少,使橐吾的花粉量明显转移不足,增加雄性的资源投入,加大花粉数量,是在这类环境下保证生殖成功的对策之一。黄帚橐吾、箭叶橐吾和掌叶橐吾的管状花/舌状花比分别为 3.8、3.3,而掌叶橐吾则为 0.67。在头状花序中给予昆虫视觉信号以吸引昆虫的是舌状花,刘左军等(2002)观察到昆虫(如熊蜂 *Bombus*、蝇类 *Diptera* 和夜蛾 *Noctuidae* 等)对较大的橐吾花序有优先选择的趋势,密集而艳丽的舌状花对昆虫更强烈的吸引作用,因此相应降低了对花粉产量的资源投入。

2.3 杂交指数的估算及评判

按 Dafni 的标准进行花序直径、花朵大小及开花行为的测量及繁育系统的评判, 三种橐吾的繁育系统都为部分自交亲和, 异交, 需要传粉者(表 3)。

表 3 杂交指数的评判

Table 3 The judgement of outcrossing index

种类 Species	花朵直径 Diameter of the flower	时间 间隔	空间 位置	OCI	评判 Judgement
黄帚橐吾 <i>L. virgaurea</i>	3	0	1	4	部分自交亲和, 异交, 需要传粉者
箭叶橐吾 <i>L. sagitta</i>	3	0	1	4	
掌叶橐吾 <i>L. przewalskii</i>	3	0	1	4	

2.4 有性生殖效率

三种橐吾的开花率差异很大, 黄帚橐吾 < 箭叶橐吾 < 掌叶橐吾。黄帚橐吾和箭叶橐吾每株开花个体的胚珠数均在 1 000 枚以上, 但可能由于虫蚀或其他原因导致了较低的结实率, 分别为 13.2% 和 12.4%; S/O 比分别为 0.13 和 0.12, 呈现出明显的花多果少现象(表 4)。

表 4 有性生殖效率统计

Table 4 The efficiency statistics of sexual reproduction

项目 Item	黄帚橐吾 <i>L. virgaurea</i>	箭叶橐吾 <i>L. sagitta</i>	掌叶橐吾 <i>L. przewalskii</i>
开花率(%)	0.5	4.0	26.0
头状花序数	37	58	110
平均胚珠数	1 065	1 491	530
虫蚀头状花序(%)	55	22	6
结实率(%)	13.2	12.4	67.9
最终结实数量	141	185	36
种子/胚珠 S/O	0.13	0.12	0.68

尽管黄帚橐吾和箭叶橐吾的开花率和结实率都很低, 但平均一株开花的个体上可产生平均 1 000 朵左右的管状花和舌状花, 在如此高的开花基数上, 只要有一株开花, 便可产生 100~200 粒的种子参与繁殖与更新。因此, 具有克隆繁殖能力的黄帚橐吾和箭叶橐吾, 在其种群扩散和物种的繁衍过程中, 有性生殖仍然起着十分重要的作用。三种橐吾在花期易被一种双翅目蝇类幼虫侵染并寄生于花序托上破坏组织、吸取营养。虫蚀头状花序数量在黄帚橐吾中平均为 55%, 最高可达 85%(刘左军等, 2003)。

箭叶橐吾平均为 22%。这一天敌的蚀食, 是黄帚橐吾和箭叶橐吾这两种毒杂草在有性生殖过程中所经历的主要压力之一, 也是影响其有性生殖效率

的主要因素。

2.5 花粉活力

不同种类的橐吾植株, 其花粉活力有所差异。花粉活力在开花之初较高, 但 96 h 后迅速下降, 120 h 仍有一部分具有活力, 120 h 后大部分失去活力。三种橐吾的花粉寿命均约为 5 d, 第 6 天时仅有少量花粉具有活力(表 5)。

表 5 三种橐吾的花粉活力

Table 5 Pollen viability of three *Ligularia*(%)

散粉后 时间(h)	黄帚橐吾 <i>L. virgaurea</i>	箭叶橐吾 <i>L. sagitta</i>	掌叶橐吾 <i>L. przewalskii</i>
1	92.38	87.56	96.22
24	95.42	93.51	97.38
48	89.76	91.67	90.95
72	87.55	70.33	77.59
96	47.65	59.33	53.27
120	3.47	2.68	5.07

植物花粉的活力与寿命因植物种类不同及环境条件不同而有所差异: 如茄的花粉在夏季只能存活 1 d、在冬季则能维持 3 d(胡适宜, 1993)、咖啡花粉的生活力一般只能维持 1~2 d; 长喙毛茛泽泻开花前花粉粒在体外的萌发率高达 71.6%, 开花 1 h 后花粉萌发能力急剧衰退; 而矮慈姑的花粉萌发率在开花后 2 h 达到最高值(82.6%), 开花后 4h 仍维持在 25% 左右(汪小凡等, 1998)。于晓英等(2005)研究发现玫红色有白色内眼瓜叶菊花粉染色 4 h 后, 染色率仅为 5.56%, 6~8 h 后也只有 8.33%~22.2%。低温(3~4 °C)贮藏 68 d 后, 再次进行染色检测, 其染色率的变化不大。

对三种橐吾而言, 花粉活力在开花之初较高, 随着时间延长而缓慢下降, 开花后第 4 天, 具活力的花粉仍维持在较高的比率, 在第 5 天除个别花粉有活力外, 大部分失去活力。可见三种橐吾虽从散粉后花粉活力逐日下降, 但在整个散粉期花粉活力很高。橐吾的花粉活力能较长时间维持在较高的水平, 为昆虫传粉提供更多的时间范围, 提高了被昆虫传粉的几率, 给异花传粉增加成功的机会, 补偿了由昆虫稀少而降低的传粉效率, 是其对高寒传粉昆虫缺乏的一种适应, 也是其对高寒环境的一种生态对策。

3 结论

黄帚橐吾、箭叶橐吾和掌叶橐吾的开花率分别为 0.5%、4% 和 26%, 年季间有较大变化, 但总体开

花率低,可能与较长时间的花前生长期和资源竞争有关;黄帚橐吾和箭叶橐吾的结实率虽然只有13.2%和12.4%,但因花序大、花数量多,因此,有性生殖在其种群扩散和物种的繁衍中仍起着重要作用;黄帚橐吾、箭叶橐吾的P/O比均明显低于多年生草本植物的平均值,即存在着突出的花多果少现象;三种橐吾的繁育系统以远交为主、部分自交亲和、虫媒、需要传粉者;传粉者缺乏和蝇类幼虫侵食是三种橐吾有性生殖过程中所经历的主要压力,是影响其有性生殖效率的重要因素;植物为了保证生殖成功所采取的适应对策有:大量开花,延长雌、雄配子体的功能期和传粉媒介泛化。

箭叶橐吾和黄帚橐吾,作为草原危害严重毒杂草,在自然条件下,克隆生长的根状茎受到了草场其它生物的竞争,其繁殖方式以有性生殖为主。提示我们在保护青藏高原东缘的高寒草甸时,应该针对植物有性生殖的器官,如抽出的花梗,开放的花序以及形成的种子等,抑制其后代的散布和种群的扩大,还要注意退化草场的生态恢复和物种保护,避免土地沙化,使橐吾的克隆生长始终受到抑制,以防止其在缺乏竞争环境中克隆繁殖得以释放,占据更为广泛的生境。这些都启发我们,在未来的草场生态治理工作中,需要考虑多重因素,采用综合办法,具有针对性的采取科学合理的防治措施。

参考文献:

- Cruden R W. 1997. Pollen-ovule ratio: a conservative indicator of breeding system in flowering plants[J]. *Evolution*, **31**:32-46
- Dafni A. 1992. Pollination Ecology[M]. New York: Oxford Univ Press:1-57
- Hu SY(胡适宜). 1993. Experimental methods in plant embryology (1)determination of pollen viability(植物学实验方法(1)花粉生活力的测定)[J]. *Chin Bull Bot(植物学通报)*, **10**(2):60-62
- Liu ZJ(刘左军), Du GZ(杜国桢), Chen JK(陈家宽). 2002. Size-dependent reproductive allocation of *Ligularia virgaurea* in different habitats(不同生境下黄帚橐吾个体大小依赖的繁殖分配)[J]. *Acta Phytoecol Sin(植物生态学报)*, **26**(1):44-50
- Liu ZJ(刘左军), Du GZ(杜国桢), Chen JK(陈家宽). 2003. Relationship between habitats and resource allocation of inflorescence structure in *Ligularia virgaurea*(黄帚橐吾花序结构的资源配置与环境的关 系)[J]. *Acta Phytoecol Sin*, **27**(3):344-351
- Ma RJ(马瑞君), Du GZ(杜国桢), Liu ZJ(刘左军), et al. 2002. Regenerative strategies of three species of *Ligularia* (Asteraceae) in eastern of Qinghai-Xizang Plateau of China: From flowering to germination(青藏高原东部三种橐吾属植物更新对策的研究)[J]. *Acta Prat Sci(草业学报)*, **11**(2):25-32
- Shan BQ(单保庆), Du GZ(杜国桢), Liu ZH(刘振恒). 2000. Clonal growth of *Ligularia virgaurea*: Morphological response to nutritiunal variation(不同养分条件下和不同生境类型中根茎草本黄帚橐吾的克隆生长)[J]. *Acta Phytoecol Sin(植物生态学报)*, **24**(1):46-51
- Wang XF(汪小凡), Chen JK(陈家宽). 1998. Studies on mating system of *Ranalisma rostratum* (Alismataceae)(长喙毛茛泽泻(泽泻科)的交配系统研究)[J]. *Acta Bot Yunnan(云南植物研究)*, **20**(3):315-320
- Yu XY(于晓英), Lu XY(卢向阳), Gong MF(龚明福). 2005. Pollen viability of *Senecio hybridus*(瓜叶菊花粉生活力研究)[J]. *J Hunan Agric Univ(Nat Sci)(湖南农业大学学报·自然科学版)*, **31**(1):42-46
- Xie XD(谢晓东), Ni ZF(倪中福), Meng FR(孟凡荣), et al. 2003. Relationship between differences of gene expression in early developing seeds of hybrid versus parents and heterosis in Wheat(小麦杂交种与亲本发育早期种子的基因表达差异及其与杂种优势关系的初步研究)[J]. *Acta Genet Sin(遗传学报)*, **30**(3):260-266
- Yu ZR(俞作仁), Guo R(郭睿), Ge YH(葛晔华), et al. 2003. Cloning of ESTs of spermatogenesis-related genes from early stage spermatogenic cells of mice using a modifie DDRT-PCR method(用 DDRT-PCR 方法克隆小鼠精子发生早期相关基因的 EST)[J]. *Acta Biochim ET Biophy Sin(生物化学与生物物理学报)*, **35**(1):92-96
- Zhang H(张晗), Gao YC(高永超), Sha W(沙伟), et al. 2006. Study of DNA extraction and genetic diversity in grimmiaceae(紫萼藓科植物 DNA 提取及遗传多样性的分析)[J]. *Shandong Agric Sci(山东农业科学)*, **1**:7-9
- Zimmermann J W, Schultz R M. 1994. Analysis of gene expression in the preimplantation mouse embryo: Use of mRNA differential display[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **91**:16-19

(上接第 301 页 Continue from page 301)