

影响喜旱莲子草性别可塑性表现形式的环境因子的研究

邓汝芳, 刘文平, 刘卫*

(中国科学院华南植物园, 广州 510650)

摘要: 亚稳定可塑性会显著影响植物个体的适合度和个体对环境的反应模式, 因此, 探讨其起因和维持机制成为非常重要的科学问题。喜旱莲子草性别特征表现为亚稳定可塑性而其它表型特征为常规的可塑性。通过正交控制实验, 量化喜旱莲子草的表型特征在不同环境条件下的可塑性表现。结果表明: (1) 决定喜旱莲子草性别可塑性和其他大多数可塑性的环境因素相同; (2) 在不同环境条件下, 喜旱莲子草个体性别大多表现为完全心皮化或雌雄同花, 在二者之间的多种中间形态不足总个体数的 1%。由实验结果可以推断出, 喜旱莲子草的性别亚稳定可塑性有两个亚稳态, 亚稳定可塑性特征的产生由喜旱莲子草内部因素决定。

关键词: 喜旱莲子草; 亚稳定可塑性; 心皮化; 正交实验

中图分类号: Q948.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2011)04-0485-05

Research on the environmental factors regulating the phenotypic states of gender plasticity in *Alternanthera philoxeroides*

DENG Ru-Fang, LIU Wen-Ping, LIU Wei*

(South China Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China)

Abstract: Metastability plasticity could significantly affect the fitness and response model of individual plant to environment. Therefore, it is important to explore the inducement and operating mechanism of metastability plasticity. *Alternanthera philoxeroides* shows metastable plasticity on gender trait, but stable plasticity on other phenotypic variations. In this study, orthogonal experiments were conducted to quantify the plasticity of phenotypic traits on *A. philoxeroides*, under various control conditions. The result showed that: (1) environmental factors that determine the gender plasticity are also the primary factors for many other plastic traits; (2) under different control environment, monoiclinous and completely pistillate genets are the majority of experimental plants, while incomplete pistillody individuals are less than 1.0% of the total. Through the results, we can make the conclusions that, *A. philoxeroides* has two metastable states for gender transgeneration plasticity, and this metastability plasticity is intrinsically caused by individual plant.

Key words: *Alternanthera philoxeroides*; metastable plasticity; pistillody; orthogonal experiments

随着对可塑性研究的深入, 越来越多的证据显示许多可塑性性状具有不同程度的表型稳定性, 其

中最典型的的就是目前生态学和进化生物学极为关注的表观遗传行为——传代可塑性; 表型可塑性所表

收稿日期: 2011-03-01 修回日期: 2011-06-01

基金项目: 国家重点基础研究“973”发展计划; 国家自然科学基金(30530160)[Supported by the National Key Basic Research“973”Program of China (2009CB119204); the National Natural Science Foundation of China(30530160)]

作者简介: 邓汝芳(1985-), 女, 硕士研究生, 主要从事繁殖生态学研究, (E-mail)dengrufang@scbg.ac.cn.

* 通讯作者(Author for correspondence, E-mail: liuwei@scib.ac.cn)

现出的一定范围的稳定性可被称为表型可塑性的亚稳定性(Molinier等,2006;Carroll等,2007)。在单个可塑性特征水平,表型的亚稳定性会:(1)使具体的表型特征在应对环境的变化时表现出不敏感和反应延迟的现象,这严重降低了其生态适合度;(2)亚稳定的可塑性既可表现为表型的延续性又可表现出表型的回复性,这两种不同的反应模式将会带来两个截然不同的生态学结果——定型化(canalization)和可塑性。在整个有机体水平,一个新的选择环境会引起一系列的表型性状的综合可塑性,从而导致个体性状表现出镶嵌式的特征(Reznick & Ghalambor,2005)。至今为止,在这种不同性状呈可塑性斑块分布的植物体上,亚稳定可塑性的产生和维持机制是一个重要但又极少被了解的研究领域(Ghalambor & Diggle,2007)。在这个研究领域,有两个科学问题亟待解答:(1)调控亚稳定可塑性特征表现形式的的环境因素有无特殊性,以及亚稳定可塑性特征是如何应对环境变化的?(2)在自然群体中具有亚稳定可塑性特征常表现出一系列的连续表型变化,不同表型的频率是多少?我们选择喜旱莲子草的雄蕊心皮化特征为研究对象,尝试对这两个问题做出回答。

雄蕊心皮化是植物以直接进化方式由雌雄同花向雌雄异花进化的途径之一(Mitchell等,2005),且植物性别亚稳定可塑性被认为是某些物种起源的基础(Iltis,1983;Murai等,2002)。雄蕊心皮化特征便于识别以及其在进化上有重要作用,使其成为研究亚稳定可塑性的理想对象。喜旱莲子草是具克隆性的多年生入侵植物,起源于南美,20世纪30年代进入中国,目前已侵入许多国家(Geng等,2007)。喜旱莲子草具有可逆性的雄蕊心皮化现象。其原始结构的两性花结构为5雄蕊,1心皮,而心皮化的花,雄蕊消失,具有6心皮,分两轮排列,其心皮化可通过无性繁殖在多个世代里稳定传递(陈倬,1964)。在许多栖息地中,偶尔会出现个别雄蕊不完全心皮化的中间态个体,在其心皮化的花朵中,雄蕊不同程度变为不可育的雌蕊(陈倬,1964)。因此,喜旱莲子草的心皮化现象表现出连续变化、亚稳定性和可塑性等典型的亚稳定可塑性特征(陈倬,1964;Suzuki & Nijhout,2006)。喜旱莲子草同时具有其它显著的表型可塑性特征,例如,植物在水生条件下有更大的叶、更长的节间距、更长更粗的茎、更大的茎髓腔和更高的茎根比(Geng等,2007)。我们以正交控制实

验来量化其多种表型可塑性变化特征,通过比较亚稳定可塑性特征与一般可塑性特征在不同环境压力下的表现有何异同,来尝试回答上面所提出的两个科学问题。

1 材料和研究方法

1.1 研究材料

研究所用的试验材料采集自中国科学院华南植物园内湿地,在喜旱莲子草花期内选择健康开花的克隆植株,依据其花结构分辨实验植株的性别,标记好性别并测量其它表型性状(见1.4数据搜集与分析)后用于随后的正交控制实验。具体材料的处理见正交实验设计部分。

1.2 试验地点

中国科学院华南植物园的野外试验地,位于广州市区的东北部。气候上属南亚热带季风气候区,地处低纬,地表接受太阳辐射量较多,同时受季风的影响,夏季海洋暖气流形成高温、高湿、多雨的气候;冬季北方大陆冷风形成低温、干燥、少雨的气候。年降雨量1623.6~1899.8mm,年日照时数1820~1960h,年日照百分率为41%~44%。土壤以红壤为主。

1.3 正交试验

在野外,大多数喜旱莲子草群体同时具有心皮化个体和雌雄同花个体,仅有少数单一性别群体。比较显示,两种单一性别群体的分布没有地域上的差别,同一地区雄蕊心皮化的种群一般生长在含有厚的湿润的有机质的土壤中,而雌雄同花种群一般生长在含有较多沙石但不缺乏水分的土质中。依据喜旱莲子草不同性别个体野外分布规律,和参照已有的关于性单态群体和性二态群体的双模态反应以及喜旱莲子草的表型可塑性的研究(Vaughton等,2005;Pan等,2006),我们选择了土壤肥力、土壤湿度、光强和植株密度4个参量,来研究环境和喜旱莲子草性别表型可塑性的关系。每一个环境因素被划分成三个水平,以对应野外情况下全雌株生境、雌雄同花植株生境、两种植株共存的中性生境等三种不同类型的生境。为了比较喜旱莲子草性别亚稳定可塑性与其它可塑性特征在环境压力下表现的差异,分别用完全心皮化植株和雌雄同花植株进行两个 $L_9(3^4)$ 的正交试验。

正交试验在华南植物园的生态实验温室中进

行。心皮化植株和雌雄同花植株在野外环境下随机收集得来,其茎被洗干净并切成带有一个节的 6~8 cm 的茎段,克隆片段在 12 月初种植在 54 个 1.2 m × 2 m 的长方形水泥池中,水泥池高 1 m,下面铺有 0.6 m 的基质,每个池里的基质组成按实验设计来确定。土壤含水量为水深。水生环境池在池底铺有防水塑料,土壤含水量通过土壤水分测定仪测定调节。光照强度用 LI-6400 测定。新的基株在次年 2 月由节部位长出,于 6 月采收并测量包括性别特征在内的 12 个表型参数。

表 1 正交试验 4 因素 3 水平参数设计表

Table 1 Levels and factors of orthogonal experiments

水平 Level	因素 Factors			
	土壤含水量 Soil moisture	土壤肥力 Soil fertility	植株密度 Plant density	光强 Light intensity
1	水深 30 cm	A	3 株/m ²	100%
2	40%	B	10 株/m ²	70%
3	12%	C	33 株/m ²	40%

A. 添加 Hoagland 培养液的泥(100 g/m²); B. 泥; C. 泥:沙=1:3。1. 土壤配制好后需进行 C, N, P, K 等元素的可溶和速效成分的分析,并加以调整。3 个重复。

1.4 数据搜集与分析

参照已有的关于性单态群体和性二态群体的双模态反应的研究,我们确定了基于生物量和叶面积、克隆生长相关的特征、克隆形态相关的特征等三组变量的 12 个性状:性别(G)、平均叶面积(LA;主茎上的第 5 到第 9 节上的叶片;用叶面积仪测)、叶型指数(LSI;叶最宽处/叶长)、茎髓腔直径(SPC)、节间距(LN)、主茎长(LMS)、分枝数/主茎长(NB)、分株产量(RY)、储存根直径(DR)、储存根长(LR)、生物量(BM)、根生物量/地上生物量(RF)(Dorken 等,2003;Leigh 等 2006)。

在 6 月份采收时,把所有的植株分成地下(根)、地上(茎和叶)和生殖器官(花和花序部分)3 个部分,测其形态特征,然后 70 °C 烘 48 h,并用电子天平称重精确到 0.1 mg。个体性别通过判别其花器官的心皮化程度来确定,完全心皮化的个体定为 1,雌雄同花个体定为 0,其它不同程度心皮化个体性别用公式(1)计算: $G = (f_i - 1) / (f_i + m_i - 1) \cdots (1)$

G 代表个体性别, f_i 为花内心皮数, m_i 为花内雄蕊数。

数据分析,使用的统计软件为 SPSS 16.0;并用 ANOVA 检验处理因子对定量特征的影响;用成对数据 T 检验比较两组正交实验(完全心皮化植株和

雌雄同花植株为材料的两个正交实验)中性别特征的结果,以验证母体性别特征对无性后代的影响。为了方差齐性的需要,后期处理数据过程中,对数据进行了变形。

2 结果与分析

正交试验中,喜旱莲子草的心皮化为全株水平,即其表现为类似雌全异株的特征。对不同心皮化程度个体在每种处理中占有所有个体的比例进行统计,结果显示:虽然喜旱莲子草有多种雄蕊不完全心皮化的中间态,但完全心皮化个体和雌雄同花个体的总和占绝对多数,在本实验中仅富营养,高密度,40%土壤持水度,40%光强条件下出现 1 株中间态个体(<1%),即喜旱莲子草的性别亚稳定可塑性有心皮化和雌雄同花两个亚稳态存在。

正交综合试验结果见表 2。通过将每行实验结果带入正交试验设计表中,并用方差分析判断所研究的 4 种因素对该表型特征影响程度的相对大小。结果显示,土壤肥力($df=2, r=9.725, P<0.05$)和土壤含水量($df=2, r=3.62, 0.05<P<0.1$)是引起性别变异的主要和次要因素,同时这两个因素也是影响许多其它可塑性特征的主要环境因素(表 3)。因此,影响心皮化特征的环境因素和影响其他可塑性特征的因素相比,并没有独特性。另一方面,成对数据 T 检验比较两个正交组合实验(完全心皮化植株和雌雄同花植株为材料的两个正交实验)中性别特征的结果显示:两个组合实验间存在显著不同($df=8, t=8.384, P<0.05$),即母体的性别特征对实验材料的性别有显著的影响。

3 讨论

喜旱莲子草能在水陆两种生境下生存并进行无性繁殖。在陆生条件下,其地上根状茎和叶片在冬季会由于霜冻冻死,喜旱莲子草在第二年的春季以厚的肉质根再生。在水生条件下,水下部分可以越冬存活并在第二年的 3、4 月份重新萌发(Xu 等,2003)。本研究中喜旱莲子草经过冬季的休眠,在第二年重新发育成新一代的克隆植株,并在不同的实验条件下产生显著不同的表型。但分子标记分析显示在中国喜旱莲子草群体具有群体间和群体内的高度遗传一致性(Ye 等,2003)。

虽然喜旱莲子草的性别可塑性有多种中间过渡类型存在(陈倬,1964),但本研究表明,喜旱莲子草在自然表型上主要表现出两个显著类型——雌雄同花状态和完全雌化状态。另外,克隆母体的性别特征对实验材料的性别有显著的影响,从而使其性别特征表现出双稳态的现象。双稳态现象在表观遗传学的研究中被多次报道(Molinier等,2006;Johannes等,2009),并且与在其它物种上对可塑性心皮化现象研究所得的结论一致(Murai等,2002)。值得关注的是喜旱莲子草性别可塑性所表现的双稳态现象与植物性别进化的方向相一致——从雌雄同花

的性单态向雌雄异株的性二态进化,特别是正交试验结果表明,影响其性别表型的主要环境因子为土壤营养和土壤水分,这与许多在性二态产生和维持机制的研究结果中所观察到的自然条件相一致(Dorken & Barrett, 2003; Vaughton & Kamsey, 2005)。这些都暗示了心皮化现象在性系统进化上可能的重要性。同时在我们的正交试验中对比性别可塑性和其他表型可塑性特征对环境的响应可以看出:作用于性别转换和其它可塑性的环境因素并无特殊性,环境只决定喜旱莲子草的性别转换可塑性中性别表现形式,而心皮化可塑性现象是由植物特

表 2 雌化个体为实验材料的正交试验中喜旱莲子草特征的平均值

Table 2 Mean values of *Alternanthera philoxeroides* phenotypic traits from orthogonal experiment

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
G1*	5.00	1.94	0.83	5.83	0.67	0	3.92	3.33	0
G2	7.50	9.00	6.70	9.40	7.00	5.00	8.30	10.00	2.50
LA	4.25	3.78	2.93	3.90	2.37	3.88	7.48	4.03	3.48
LSI	5.51	5.70	5.90	5.63	5.28	5.66	5.27	5.29	4.40
SPC	2.03	0.81	0.24	0.45	1.42	0.88	0.80	0.39	1.49
LN	6.98	4.90	3.27	5.20	3.05	4.15	4.76	2.98	3.03
LMS	2.55	2.18	1.10	1.57	1.18	1.03	1.85	0.79	0.88
NB	13.89	39.18	13.07	8.59	6.94	23.61	14.28	25.39	3.72
RY	0.22	3.72	7.84	2.04	0	7.36	2.47	10.83	0
DR	1.54	2.59	2.19	2.55	0	1.91	1.58	1.94	0
LR	9.56	17.72	17.94	11.25	0	17.00	13.04	12.5	0
BM	33.51	34.54	6.88	19.11	6.68	16.24	14.02	8.48	2.39
RF	0.29	0.18	0.69	0.13	0.48	0.21	0.11	0.50	0.27

* 除 G1 行代表雌雄同花为实验材料的性别特征外,其它各行均为雌化个体为实验材料的正交试验结果。

表 3 雌化个体为实验材料的正交试验中环境影响显著性的方差分析结果

Table 3 F value from ANOVA showing the effects of environmental conditions in orthogonal experiment for pistillody individuals

因素 Factors	df	G	LA	LSI	SPC	LN	LMS	NB	RY	BR	LR	BM	RF
光强 Light intensity	2	6.38	25.18*	23.83*	1.00	10.26	25.41*	30.6*	3.2	12.32	18.63*	104.8*	2.1
土壤肥力 Soil fertility	2	143.57*	36.35*	1.10	2.1	27.15*	35.38*	52.8*	28.51*	4	1	69.2*	37.7*
密度 Plant density	2	1.67	2.5	3.34	2.45	4.95	1	30*	34.02*	4.64	4.67	47.6*	3.77
土壤含水量 Soil moisture	2	66.7*	27.65*	15.14	31.32*	3	10.81	100.5*	89.54*	48*	69*	40*	365.27*

* $P < 0.05$

殊的内部因素造成。

现有的对心皮化现象的分子生物学研究表明,心皮化与染色体某些区域的染色质机构异质化有关(Iltis,1983;Olimpieri & Mazzucato,2008)。例如,木瓜的心皮化是由于其 Y 染色体上雄性区域的特异性造成(Zhang等,2008;)。异质小麦的心皮化可塑性与其杂交所致核质互作有关(Murai等,2002;)。类似于异质小麦的杂交来源,在中国的喜旱莲子草是异源六倍体,与其起源地的杂合基因型

相近(蔡华等 2009)。因此,杂交所造成的基因组结构的不稳定性可能是生物物种进化的重要原因之一,同时也可能是引起表观遗传变异的重要原因之一(Finnegan,2002)。结合正交实验结果可以推测:喜旱莲子草雄蕊心皮化的亚稳定性可塑性可能与其杂交来源所导致的基因组压力有关,但具体原因还需进一步分子生物学工作,如对相关基因的甲基化和序列特征的研究。

喜旱莲子草的性别可塑性和亚稳态特征,在亚

稳定可塑性中具有很强的代表性(陈倬, 1964)。因此, 对其进行研究将为我们了解亚稳定可塑性的维持机制做出重要贡献。本研究中正交实验显示, 土壤营养和水分条件是影响喜旱莲子草性别的重要因素, 这与其野外纯心皮化种群一般生长在含有厚的湿润的有机质的土壤中, 而纯雌雄同花种群一般生长在含有较多沙石土质中的结论一致。这表明, 两个性别系统与栖息地类型有关的生态因子维持了它们在各自区域的稳定性, 同时, 性系统的亚稳定性可以使它们在短期的或轻微的环境波动下保持稳定, 从而有利于在野外维持喜旱莲子草的表型分化(性别分离), 并且为遗传同化提供时间, 这一维持机制成功地解释了墨西哥粟的进化过程(West-Eberhard, 2005; Suzuki & Nijhout, 2006)。相信未来通过在两个亚稳态各自的优势环境之间进行交互移栽, 并长期观察喜旱莲子草性别亚稳定可塑性的变化规律, 将为解释亚稳定可塑性在进化中的意义提供更加重要的依据。

参考文献:

- Cai H(蔡华), Wei CL(韦朝领), Chen N(陈妮). 2009. Chromosome karyotype characters of biological invasion in *Alternanthera philoxeroides*(生物入侵种喜旱莲子草的染色体核型特征)[J]. *Chin J Trop Crops*(热带作物学报), **30**(4): 530-534
- Case AL, Barrett SCH. 2004. Environmental stress and the evolution of dioecy: *Wurmbea dioica* (Colchicaceae) in Western Australia[J]. *Evol Ecol*, **18**: 145-164
- Carroll SP, Hendry AP, Reznick DN, et al. 2007. Evolution on ecological time-scales[J]. *Funct Ecol*, **21**: 387-393
- Chen Z(陈倬). 1964. Feminization of stamens of *Alternanthera philoxeroides* Grisebach(空心苋雄蕊雌化的现象)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报), **12**: 133-136
- Dorken ME, Barrett SCH. 2003. Life-history differentiation and the maintenance of monoecy and dioecy in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae)[J]. *Evolution*, **57**: 1973-1988
- Finnegan EJ. 2002. Epialleles - A source of random variation in times of stress [J]. *Curr Opin Plant Biol*, **5**: 101-106
- Geng YP, Pan XY, Xu CY, et al. 2007. Phenotypic plasticity rather than locally adapted ecotypes allows the invasive alligator weed to colonize a wide range of habitats[J]. *Biol Invasions*, **9**: 245-256
- Iltis H. 1983. From teosinte to maize: the catastrophic sexual transmutation[J]. *Science*, **222**: 886-895
- Leigh A, Meredith JC, Adrienne BN. 2006. Reproductive allocation in a gender dimorphic shrub: anomalous female investment in *Gynatrix pulchella*[J]. *J Ecol*, **94**(6): 1261-1271
- Mitchell CH, Diggle PK. 2005. Evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions[J]. *Am J Bot*, **92**(7): 1068-1076
- Molinier J, Ries G, Zipfel C, et al. 2006. Transgeneration memory of stress in plants[J]. *Nature*, **442**: 1046-1049
- Murai K, Takumi S, Koga H, et al. 2002. Pistillody, homeotic transformation of stamens into pistil-like structures, caused by nuclear-cytoplasm interaction in wheat[J]. *Plant J*, **29**: 169-181
- Olimpieri I, Mazzucato A. 2008. Phenotypic and genetic characterization of the pistillate mutation in tomato[J]. *Theor Appl Genet*, **118**(1): 151-163
- Pan X, Geng Y, Zhang W, et al. 2006. The influence of abiotic stress and phenotypic plasticity on the distribution of invasive *Alternanthera philoxeroides* along a riparian zone[J]. *Acta Oecologica*, **30**: 333-341
- Pigliucci M. 2005. Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now[J]. *Trends Ecol Evolution*, **20**(9): 481-486
- Pigliucci M. 2001. Phenotypic plasticity: Beyond nature and nurture[J]. Baltimore: Johns Hopkins University Press
- Prach K, Pyek P. 1994. Clonal plants - what is their role in succession Folia Geobot[J]. *Phytotax*, **29**: 307-320
- Reznick DN, Ghalambor CK. 2005. Selection in nature: experimental manipulations of natural populations[J]. *Integrative and Comparative Biology*, **45**: 456-462
- Robin C, Hay MJM, Newton PCD, et al. 1994. Effect of light quality (Red:Far-red ratio) at the apical bud of the main stolon on morphogenesis of *Trifolium repens* [J]. *Annals Bot*, **74**: 119-123
- Robinson D, Rorison IH. 1988. Plasticity in grass species in relation to nitrogen supply[J]. *Functional Ecol*, **2**: 249-257
- Schlichting CD. 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants[J]. *Ann Rev Ecol Syst*, **17**: 667-693
- Schmid B. 1987. Clonal integration and population structure in perennials: Effects of severing rhizome connections[J]. *Ecology*, **68**: 2016-2022
- Steinberg CEW, Sturzenbaum SR, Menzel R. 2008. Genes and environment - striking the fine balance between sophisticated biomonitoring and true functional environmental genomics[J]. *Sci Total Environ*, **400**(1-3): 142-161
- Sultan SE. 2000. Phenotypic plasticity for plant development function and life history[J]. *Trends Plant Sci*, **5**(12): 537-42
- Sultan SE. 2003. Phenotypic plasticity in plants: a case study in ecological development[J]. *Evolution Development*, **5**(1): 25-33
- Sultan SE. 2004. Promising directions in plant phenotypic plasticity[J]. *Perspectives Plant Ecol*, **6**(4): 227-233
- Suzuki Y, Nijhout HF. 2006. Evolution of a polyphenism by genetic accommodation[J]. *Science*, **311**: 650-652
- Vaughton G, Ramsey M. 2005. Dry environments promote the establishment of females in monomorphic populations of *Wurmbea biglandulosa* (Colchicaceae)[J]. *Evol Ecol*, **18**: 323-341
- West-Eberhard MJ. 2005. Developmental plasticity and the origin of species differences[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **102**: 6543-6549
- Xu CY, Zhang WJ, Fu CZ, et al. 2003. Genetic diversity of alligator weed in China by RAPD analysis[J]. *Biodiversity and Conservation*, **12**: 637-645
- Ye WH, Li J, Cao HL, et al. 2003. Genetic uniformity of *Alternanthera philoxeroides* in South China[J]. *Weed Res*, **43**: 297-302
- Zhang WL, Wang X, Yu QY, et al. 2008. DNA methylation and heterochromatinization in the male-specific region of the primitive Y chromosome of papaya[J]. *Genome Res*, **18**: 1938-1943