

濒危植物野生欧洲李(*Prunus domestica* L.)花部特征与繁育系统研究

欧阳丽婷^{1,2}, 颀刚刚¹, 谢军¹, 耿文娟^{1*}

(1. 新疆农业大学林学与园艺学院 乌鲁木齐 830052; 2. 新疆林业学校, 乌鲁木齐 830026)

摘要:为探讨野生欧洲李致濒因素,在自然居群中通过野外定位观测,记录其花部特征、开花进程及访花昆虫特性。采用TTC、MTT、联苯胺- α 萘酚和I₂-KI四种染色法测定花粉活力,采用联苯胺-过氧化氢法测定其柱头可授性,运用杂交指数(OCI)、花粉胚珠比(P/O)、人工授粉试验等方法检测野生欧洲李的繁育系统。结果表明:(1)野生欧洲李为两性花,花期较长,种群花期可持续10~15 d。(2)野生欧洲李在花朵未开放前花粉没有活力,花药开裂当天花粉活力最高,随着时间的延长,花粉活力明显减弱;柱头在花朵未开放前已经具有活力,在花朵开放期与盛花期其柱头活力最强。(3)重力载玻片法检测,风媒传粉可完全忽略;主要访花昆虫为蜂类。(4)野生欧洲李花粉胚珠比为2 207.5 $\pm$ 677.43,杂交指数为4,结合人工授粉试验结果可以确定该物种的繁育系统为异交,部分自交亲和,需要传粉者。

关键词:野生欧洲李;花部特征;繁育系统

中图分类号:S662.3

文献标识码:A

文章编号:2096-5877(2022)06-0125-05

Study on Floral Characteristics and Breeding System of Endangered Plants (*Prunus domestica* L.)

OUYANG Liting^{1,2}, XIE Ganggang¹, XIE Jun¹, GENG Wenjuan^{1*}

(1. College of Forestry and Horticulture, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052; 2. Xinjiang Forestry School, Urumqi 830026, China)

Abstract: In order to explore the endangered factors of wild European plum, the characteristics of flower, flowering process and visiting insects were recorded in the natural population through field positioning observation. Pollen viability was determined by four staining methods: TTC, MTT, benzidine- α -naphthol and I₂-KI. The hybridization index and pollen-ovule ratio were used. artificial pollination test and other methods to detect the breeding system of wild European plum. The results showed that: (1) Wild European plum is a bisexual flower with a long flowering period, and the flowering period of the population can last for 10-15 days. (2) The wild European plum has no vitality before the flower is opened. The pollen vigor is the highest on the day of anther cracking. The pollen vigor is obviously weakened with the extension of time. The stigma has vitality before the flower is opened. The flower is open and full bloom, and Its stigma is the most energetic. (3) Gravity slide test, wind-borne pollination can be completely ignored; the main visiting insects are bees. (4) The ratio of wild European plum pollen ovule was 2207.5 $\pm$ 677.43, and the hybrid index was 4. combined with the results of artificial pollination test, it can be determined that the breeding system of the species is outcrossed, partially self-compatible, and needs pollinators.

Key words: Wild European plum; Flower characteristics; Breeding system

繁育系统不仅是直接影响后代遗传性状有性特征的总称^[1],也是决定植物种群遗传结构最重要的要素之一^[2],其研究范畴包括花器官的寿命

及特性、自交亲和水平等内容。是现今进化生物学范畴最为活跃的方面^[1]。对濒危物种繁育系统的研究,有助于了解该物种濒危的原因^[3],如生殖失败、资源短缺、近交衰退或生境破坏等;同时也能全面了解物种的生活史,为生物学的一系列研究奠定基础。繁育系统是受植物内外因素相互影响的,可在一定程度上控制植物进化和性状的变异,也能通过影响生殖从而潜移默化地影响种群

收稿日期:2020-02-22

基金项目:国家自然科学基金项目(31560545);新疆维吾尔自治区园艺重点学科(2016-10758-3)

作者简介:欧阳丽婷(1994-),女,硕士,从事果树种质资源研究。

通讯作者:耿文娟,女,博士,教授,E-mail: gwj0526@163.com

的进化^[4]。同时也能在一定程度上影响植物的遗传多样性,对植物的花部特征与繁育系统特性的深入研究对濒危植物的保护及开发利用具有指导作用^[5-6]。

野生欧洲李(*Prunus domestica* L.)俗名野酸梅,属于蔷薇科李属植物,该种仅在新疆新源等地野果林有限区域中有分布,其抗性弱,分布区域很小^[7-8]。近年来,野生欧洲李所在分布地人为活动比较活跃,导致其种群数目和分布面积急剧减少,该资源处于濒危状态^[9]。前期研究对野生欧洲李的地理分布^[9]、植物学形态^[10]、组织培养^[10]等均有报道,对其花器官的研究仅限于形态上的描述^[11-12],缺乏对野生欧洲李的开花生物学特征和繁育过程系统的梳理。因此本试验通过研究野生欧洲李花部综合特征繁育系统,了解其生殖过程中的濒危环节,旨在从生殖生物学角度探索野生欧洲李可能存在的濒危原因,为保护野生欧洲李资源提供一定的基础知识储备。

1 材料与方法

1.1 样地

选择新疆伊犁新源地区野果林改良场三队作为试验点,其地理位置为东经 83.591 515°、北纬 43.388 752°,海拔 1 235~1 253 m。该地区属于温带大陆性气候,太阳辐射年总量在 5 600~5 800 MJ/m²,年日照时数 3 150 h^[13]。

1.2 研究方法

1.2.1 花部形态特征和开花动态观察

于 2017 年 4~5 月和 2018 年 4~5 月按照 Dafni^[14]标准记录野生欧洲李群体开花进程,在不同植株上选取完全开放的 30 朵花,用游标卡尺测量其花丝长、花梗长、雌蕊长、花冠口直径,观测单花的花瓣数目,雌、雄蕊数目,子房数目,雄蕊和雌蕊等各部位颜色、形状、花药与柱头的距离。

1.2.2 杂交指数(Out crossing index, OCI)的估算

在对其花部特征描述观察的基础上,根据 Dafni^[14]评价繁育系统的类型进行判别。具体方法是:花序直径<1 mm 记为 0;1~2 mm 记为 1;2~6 mm 记为 2;>6 mm 记为 3。花药开裂时间与柱头可授期之间的时间间隔,两性器官同时或雌蕊先熟记为 0;雄蕊先熟记为 1。柱头与花药的空间位置,同一高度记为 0;空间分离记为 1。三者之和为杂交指数。

1.2.3 花粉胚珠比(Pollen ovule ratio, P/O)的估算

参照李亚兰等^[15]方法计算野生欧洲李每朵花的

的花粉量。在体式显微镜下对 20 个单花的子房解剖观察,记录每个单花的胚珠数目,依此来计算 P/O 值,所得数据采用“平均值±标准差”来表示。依据 Gruden^[16]的标准评判繁育系统类型。

1.2.4 花粉活力与柱头可授性的测定

1.2.4.1 花粉活力的测定

采集大蕾期末开裂花药让其自然开裂散粉,选取 4 种染色方法检测其活力,分别为联苯胺- α 萘酚法^[17]、TTC 法^[18]、MTT 法^[19]、I₂-KI 法^[20],随花药散粉时间的延长在显微镜下观察 4 种染色方法的花粉着色情况,检测其花粉活力。

1.2.4.2 柱头可授性检测

按照不同时期采集(大蕾期、盛花期、散粉期、落瓣期)的花各 10 朵,用联苯胺-H₂O₂^[21]检测其柱头活力。

1.2.5 传粉试验

1.2.5.1 授粉试验

分别采用以下处理:(1)自然对照,检测无处理条件下的授粉受精情况;(2)去雄,套袋,进行人工异花授粉,检测是否异株异花结实;(3)去雄,套袋,进行人工自花授粉,检测是否同株自花结实,以上每种处理 100 朵花,15 d 后统计坐果情况。

1.2.5.2 风媒传粉调查

参照张丙林等^[22]方法检测风媒传粉,选取 3 株正处于盛花期的野生欧洲李,采用重力玻片法,按风向在距离样株 10、30、50、70、90 cm 处,分别布设 5 个涂布凡士林的载玻片,检测风作为传粉媒介的花粉流情况,野生欧洲李花粉的鉴定以其花粉的大小及形状为标准。

1.2.5.3 虫媒传粉调查

在盛花期选择晴朗的天气观察记录来访花的昆虫种类、数量以及访问次数、逗留时间,对其行为拍照、描述。捕捉来访昆虫并制成标本带回鉴定。记录时间 10:00~19:00 点,每次观察 30 min,连续观察 5 d。

1.2.6 数据统计与分析

采用 Microsoft Excel 2010 对数据进行处理,SPSS 19.0 分析数据。

2 结果与分析

2.1 野生欧洲李花朵形态特征和开花动态

2.1.1 野生欧洲李花朵形态特征

野生欧洲李为两性花,边缘胎座,花梗长 0.6~1.2 cm;花萼近椭圆形;花瓣白色,长圆形,多 5 片,也有重瓣花,可达 8 片以上;柱头多 1 枚,少数

有2枚,柱头为湿柱头,具有乳突状突起;雄蕊多数为25~30枚,黄色,花丝长短不等,排列紧密不规则2轮;雌蕊明显高于雄蕊,为完全花(表1)。

表1 野生欧洲李花部形态特征

花器官	最小值	最大值	平均值±标准差
花冠直径(cm)	1.5	2	1.748±0.127
雌蕊长度(cm)	0.7	0.9	0.75±0.064
花丝长度(cm)	0.3	0.5	0.44±0.057
花梗长度(cm)	0.6	1.2	0.964±0.155
子房数目(个)	1	1	1
雄蕊数目(枚)	25	33	28.52±1.746
花瓣数目(片)	5	8	5.36±0.625

2.1.2 野生欧洲李开花生长动态

野生欧洲李在2017年4月27日现蕾,5月3日始花,5月5日进入盛花期,大约持续7 d,5月13日进入末花期。在2018年4月15日现蕾,4月21日始花,4月23日进入盛花期,4月29日进入末花期。连续花期为10~15 d。

2.2 杂交指数(OCI值)

依据 Dafni 的标准对其花部形态特征进行测量(表1)。野生欧洲李花冠直径为(1.748±0.127) cm,记为3;该物种为两性花,柱头先熟花药后熟,记为0。单花开放时雌蕊高于雄蕊,两者无法接触,记为1。据此,野生欧洲李的杂交指数为4,该物种的繁育系统是以异交为主,部分自交亲和,需要传粉者。

2.3 花粉胚珠比(P/O)

经测定,野生欧洲李单花的花粉量为(4 415±1 354.86)粒,胚珠数为2,则 P/O 约为(2 207.5±677.43)。根据 Cruden^[16]可知,野生欧洲李的有性繁育系统为兼性异交或专性异交。

2.4 野生欧洲李花粉活力和柱头的可授性

4种染色方法比较可得,野生欧洲李在花药开裂第1天花粉活力最高,经联苯胺染色后,花粉活力达到21.32%;经MTT染色后,第1天花粉活力达到23.68%;经I₂-KI染色后,第1天花粉活力达到26.52%;随着时间周期的增加,野生欧洲李花粉活力越来越低(图1)。试验过程中发现经TTC染色后,视野下的所有花粉均未着色,无法判断花粉活力,因此可认定TTC染色法不适用于野生欧洲李花粉活力的检测。

如图2所示,野生欧洲李的柱头在花药开裂前就已经具有活力,大蕾期柱头活力较弱;花朵开放期和散粉期,其柱头活力较强,落瓣期柱头活力明显下降。

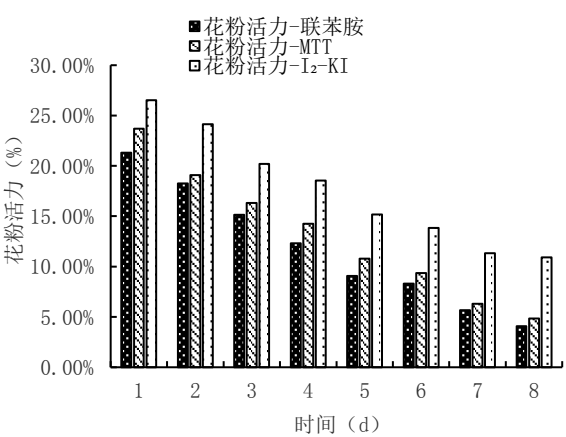
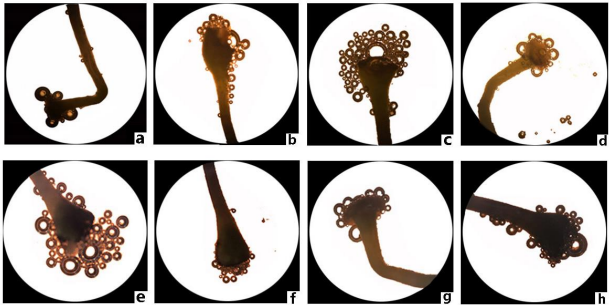


图1 不同染色方法花粉活力状况



注:a、b为大蕾期,c、d为开放期,e、f为散粉期,g、h为落瓣期

图2 野生欧洲李柱头可授性变化特征

对比分析花粉与柱头活力变化可知,其花粉的成熟期与柱头具有活力的时期不一致,具有雌雄异熟的特性。但花粉与柱头具有活力的时间有一定的重叠,可以看出,花粉还不具有活力时,柱头已经具有活力,即柱头先熟花药后熟,其符合异花传粉的机制。

2.5 传粉试验

2.5.1 人工控制授粉

根据试验授粉的花数和结实情况,比较各处理方法的坐果情况可知:野生欧洲李人工异花授粉和自花授粉后坐果率分别为67%和53%,自然授粉平均坐果率为41%(表2)。这进一步说明该物种是以异交为主。

表2 野生欧洲李人工控制授粉结实情况

处理	处理花数(朵)	坐果花数(朵)	平均坐果率(%)
自然授粉	100	41	41
人工异花授粉	100	67	67
人工自花授粉	100	53	53

2.5.2 风媒传粉

检测结果显示(图3),试验点的测试载玻片上检测到的花粉数量极少,在选取的3株样树中仅在顺风方向上有3个载玻片上有花粉粒,多的可达4粒,少的有1粒;其余载玻片上均未检测到花粉粒。

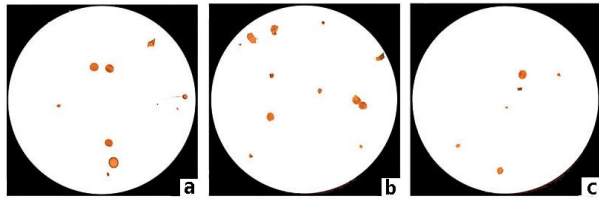
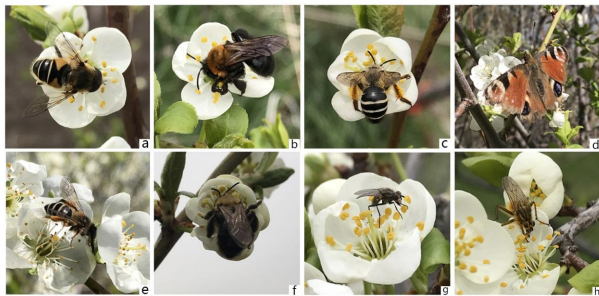


图3 野生欧洲李风媒传粉结果

2.5.3 访花昆虫及行为观察

在晴朗无风的天气昆虫访花次数较多,昆虫访花主要集中在11:00~16:00,12:00~15:00频率最高,观察的单花中昆虫访花次数最高在32次/d。温湿度等天气变化对昆虫的活动会产生一定影响,10:00~11:00访花昆虫活动较少,11:00后温度开始上升,昆虫的活动也越来越活跃,持续到15:00后访花昆虫数量开始减少。昆虫的访花频率还与野生欧洲李的花期有密切关系,初花期或未花期,访花昆虫数量少,盛花期昆虫访花频率最高。蜜蜂科、食蚜蝇等昆虫体表和附肢具有体毛,它们多少都带有野生欧洲李花的花粉;仔细观察可见蜜蜂、金龟子和蝇类后肢还带有花粉块,可见它们都在野生欧洲李花的传粉中起着重要作用,是主要的传粉者(图4)。



注:a. 双翅目食蚜蝇科昆虫访花, b. 膜翅目蜜蜂科昆虫访花, c. 膜翅目蜜蜂科昆虫访花, d. 鳞翅目蛱蝶科昆虫访花, e. 膜翅目蜜蜂科昆虫访花, f. 膜翅目蜜蜂科昆虫访花, g. 双翅目麻蝇科昆虫访花, h. 双翅目虻科昆虫访花

图4 野生欧洲李访花昆虫

3 结论与讨论

3.1 开花物候

植物走向濒危,究其根源是其自身繁殖能力薄弱、抵抗外界恶劣环境的能力低下等内在因素导致^[23]。近年来,对珍稀濒危植物开花动态及繁育特性的研究逐渐重视起来^[24]。对于新疆特有珍稀濒危植物野生欧洲李的开花动态与繁育系统的研究较少。

对2017年与2018年野生欧洲李开花时间统计发现,花期时间不一致且差异较大。在2007年

观察野生欧洲李的开花时间为4月20~30日^[10]。有报道显示,植物开花物候的早晚不仅受其种群自身遗传特性的影响,还与其所在的环境条件有密切关系^[25-26]。开花的起止时间及花期长短受当地气候影响较大^[27]。野生欧洲李植物类群花期持续时间长且单花开放不一致的状态,可在一定程度上确保植物在这种花期持续较长的期间内能顺利完成传粉受精,从而保证生殖成功,也可以降低种群花期遭遇不良自然环境对该种群生殖成功产生的影响,这是野生欧洲李长期适应环境影响所形成的一种生殖策略。对濒危植物矮沙冬青、胡杨、灰叶胡杨开花动态的研究^[28-29]也证实了这一观点。

3.2 繁育系统

不同染色方法测定花粉活力的结果也略有不同,野生欧洲李花药散粉第1天~第8天,用TTC染色法测定花粉活力结果显示:视野下所有花粉均呈现黄色,说明该方法不适用于野生欧洲李,使用 I_2 -KI检测出的花粉活力高于联苯胺、MTT法检测的结果,可能因其成熟花粉内部有淀粉累积,且含有淀粉的花粉粒经高温杀死后遇 I_2 -KI也显现为蓝色,这可能是造成用 I_2 -KI染色法较其他两种染色法测定结果较高的原因。检测不同种类植物的花粉活力其方法多种多样^[28],单凭一种方法的检测并不能真实反映花粉活力状况,通过以上试验可得,4种染色方法较适用于野生欧洲李的是联苯胺与MTT法。

植物柱头活力是依据花朵成熟程度决定的,柱头活力持续的时间受自身花朵年龄、一天内时间段不同及柱头分泌物的多少等的影响^[29]。本研究结果表明,野生欧洲李花粉与柱头活力最高时段处于同一时期,柱头在花药还未开裂时就已经具有活性,表明野生欧洲李存在雌雄异熟现象,进一步证明其传粉机制是以异花传粉为主,是避免自交的一种适应性机制。

自然界中,两性花植物由于受到其自身的花粉数量、资源限制及传粉昆虫数量的缺少,或者以上几种因素兼具,导致其结实结籽率较低^[30-31]。本研究发现,野生欧洲李在人工控制授粉试验中异花授粉的结实率相对较高,在自然界中野生欧洲李存在花粉量少、资源有限及传粉昆虫的缺失,导致其自然传粉结籽率较低,致使该物种走向濒危。

3.3 生殖补偿

生物为了维持后代生存,往往会发展出必要的生殖补偿机制,从而确保物种繁衍得以延续^[14]。

因生活史各异,生物对应的繁育或生殖补偿机制亦不同。如紫背天葵对生存环境的专一依赖及其小居群长期自交的方式导致该物种成为濒危植物,“球茎”是其生殖补偿的有效途径^[32]。野生欧洲李为保持自身种群繁衍的能力,在其实生繁殖受阻的情况下,以根蘖繁殖作为补充^[9],从而达到生殖补偿。

参考文献:

- [1] 何亚平,刘健全.植物繁育系统的最新进展和评述[J].植物生态学报,2003,27(2):151-163.
- [2] 吕海英,曹满航,李进.新疆特有珍稀灌木银沙槐繁育系统研究[J].广西植物,2014,34(6):763-767.
- [3] 肖宜安,何平,李晓红.濒危植物长柄双花木的花部综合特征与繁育系统[J].植物生态学报,2004,28(3):333-340.
- [4] Grant V. Plant speciation[M]. New York: Columbia University Press, 1981: 34-36.
- [5] 刘芬,李全健,王彩霞,等.濒危植物扇脉杓兰的花部特征与繁育系统[J].林业科学,2013,49(1):53-60.
- [6] 宋玉霞,郭生虎,牛东玲,等.濒危植物肉苁蓉(*Cistanche deserticola*)繁育系统研究[J].植物研究,2008,28(3):278-282,287.
- [7] 张加延,周恩.中国果树志·李卷[M].北京:中国林业出版社,1998:21,33-39.
- [8] 林培钧,廖明康,施丽,等.新疆伊犁野生欧洲李的发现与分布(第一报)[J].北方果树,1986(1):6-8.
- [9] 耿文娟.野生欧洲李种质资源特性及亲缘关系研究[D].乌鲁木齐:新疆农业大学,2011.
- [10] 耿文娟,吴玉霞,袁海英,等.野生欧洲李组织培养技术[J].经济林研究,2009,27(1):45-48.
- [11] 耿文娟,廖康,许正,等.野生欧洲李开花物候期与花器官特征研究初报[J].新疆农业科学,2008(2):204-208.
- [12] 耿文娟,杨磊,谢军,等.野生欧洲李花芽形态分化研究[J].新疆农业大学学报,2011,34(1):28-31.
- [13] 廖康.新疆野生果树资源研究[M].乌鲁木齐:新疆人民出版社,2013:265.
- [14] Dafni A. Pollination ecology practical approach. [M]. New York: Oxford University Press: 1992: 1-57.
- [15] 李亚兰,梁凤丽.线叶忍冬开花动态特征与繁育系统研究[J].植物研究,2016,36(4):503-510.
- [16] Cruden R. A conservative indicator of breeding systems in flowering plants[J]. Pollen-ovule ratios, 1997, 31(1): 32-46.
- [17] 李和帅,王承民,王波超,等.我国几个主要椰子品种花粉生活力研究[J].江西农业学报,2013,25(9):11-14.
- [18] 王钦丽,明军,刘春,等.花粉的保存及其生活力测定[J].植物学通报,2002,19(3):365-373.
- [19] Rodriguez-riano T, Dafni A. A new procedure to assess pollen viability[J]. Sexual Plant Reproduction, 2000, 12(4): 241-244.
- [20] 林辰壹,韩文娟,祁晨霞,等.新疆高茎韭雄蕊开花动态特征与花粉育性研究[J].草业科学,2012,29(4):561-566.
- [21] Dafni A, Maues M M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity[J]. Sexual Plant Reproduction, 1998, 11(3): 117-180.
- [22] 张丙林,穆春生,王颖,等.五脉山黧豆开花动态及有性繁育系统的研究[J].草业学报,2006,15(2):68-73.
- [23] 张文辉,祖元刚,刘国彬.十种濒危植物的种群生态学特征及致死因素分析[J].生态学报,2002,22(9):1512-1520.
- [24] 王洁,杨志玲,杨旭.濒危植物繁育系统研究进展[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2011,39(9):207-213.
- [25] Ollerton J, Diaz A. Evidence for stabilizing selection acting on flowering time in *Arum maculatum*(Araceae): the influence of phylogeny on adaptation[J]. Oecologia, 1999, 113(3): 340-348.
- [26] Lessard-Therrien M, Davies T J, Bolmgren K. A phylogenetic comparative study of flowering phenology along an elevational gradient in the Canadian subarctic[J]. International of Biometeorology, 2014, 58(4): 455-462.
- [27] 李在留,李雪萍,郭松,等.珍稀濒危植物掌叶木的开花生物学特性与繁育系统[J].园艺学报,2015,42(2):311-320.
- [28] 孙春丽,潘延云.拟南芥花粉活力的测定及其在花粉发育研究中的应用[J].植物学通报,2008,25(3):268-275.
- [29] 马文宝,施翔,张道远,等.准噶尔无叶豆的开花物候与生殖特征[J].植物生态学报,2008,32(4):760-767.
- [30] 黄双全.植物与传粉者相互作用的研究及意义[J].生物多样性,2007,15(6):569-575.
- [31] 黄双全,郭友好.传粉生物学的研究进展[J].科学通报,2000,45(3):225-237.
- [32] 陈雄伟,邵玲,梁广坚,等.紫背天葵花部特征与繁育系统的研究[J].园艺学报,2013,40(2):363-372.

(责任编辑:王昱)