

· 研究报告 ·

# 新疆5个驼舌草二型花柱居群交互式雌雄异位的变异

任登芙<sup>1</sup>, 翟雅芯<sup>2</sup>, 张爱勤<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源与基因工程重点实验室, 乌鲁木齐 830017

<sup>2</sup>克拉玛依市高级中学, 克拉玛依 834000

**摘要** 异型花柱是被子植物的一种花柱多态现象, 表现为具有交互式雌雄异位的花型间传粉的亲和性, 以及花型内和自交的不亲和性。而同型花柱(homostyly)是在异型花柱形成与演化中出现的一种雌雄蕊同长且自交亲和的花型。驼舌草属为白花丹科中较早出现二型花柱的属, 野外调查发现分布于新疆的驼舌草(*Goniolimon speciosum*)自然居群出现大量雌雄蕊同长(H)的花型, 类似于同型花柱。该花型的产生背景是否已转变为型内和自交亲和, 它与典型的长(L)/短(S)花柱型花之间的亲和性关系等问题尚不清楚。该研究对驼舌草5个自然居群的花型构成与频率、花部特征参数和柱头花粉负荷进行统计, 并检测附属多态性和异型不亲和系统。结果表明, 所有居群均由L、S和H三种花型构成, 但在花粉纹饰和柱头表皮细胞形态上仍具二型性和严格的非选型交配, 表现为花粉纹饰和柱头乳突细胞形态不同的花型间亲和, 反之则不亲和。研究表明, H型花可能是由L型和S型花的雌雄蕊间距缩短所致, 是花型间交互式雌雄异位变异的结果, 但该花型并未转变为同型花柱。对于该物种而言, 这种交互式雌雄异位的变异与生理不亲和性的转变可能相对独立。

**关键词** 驼舌草, 异型不亲和系统, 异型花柱, 同型花柱, 交互式雌雄异位

任登芙, 翟雅芯, 张爱勤 (2023). 新疆5个驼舌草二型花柱居群交互式雌雄异位的变异. 植物学报 58, 733–742.

异型花柱是由遗传控制的一种花柱多态现象, 至少存在于被子植物的28个科中(周伟和王红, 2009; Barret, 2019)。异型花柱指在同一居群中有2种或3种花型共存(称为二型花柱或三型花柱), 表现为雌雄蕊高度具交互性对应关系的花型间亲和, 自花和型内授粉均不亲和, 被认为是植物通过花型间交互式雌雄异位在传粉者体表不同部位滞落花粉, 以促进型间花粉准确传递的一种适应机制(Darwin, 1877; Lloyd and Webb, 1992; Barrett, 2002); 也是在避免自交、降低雌雄功能干扰和促进合法花粉(legitimate pollen)传递等多种选择压力下形成的形态与生理特性有机结合的一种交配系统类型(Barrett, 2019)。异型花柱具有异型不亲和系统、交互式雌雄异位以及柱头和/或花粉形态的附属多态性等基本特征(Ganders, 1979; Barrett, 1992; Dulberger, 1992)。其中, 交互式雌雄异位是唯一所有异型花柱都具有的特征, 其变异或丢失常伴随异型不亲和系统的转变及同型花柱(homostyly)的形成(Zhou et al., 2017; Barrett, 2019)。

Darwin (1877)在解释异型花柱现象时强调, 交互式雌雄异位在促进合法花粉有效传递和降低自花粉滞留方面发挥重要作用, 并提出了“促进合法花粉传递假说”。这一假说在后来的研究中得到验证, 在水仙属(*Narcissus*)、木紫草属(*Lithodora*)以及桩果木属(*Glandora*)的研究中都显示了花型间交互式雌雄异位促进花粉传递方面的功能(Ferrero et al., 2011; Santos-Gally et al., 2015)。改变花型间的交互性对应关系或降低交互式雌雄异位的精确性均可明显抑制非选型授粉(Liu et al., 2016; Jiang et al., 2018; Wu et al., 2018; Brys and Jacquemyn, 2020)。交互式雌雄异位被认为具有促进非选型交配以及维持异型不亲和系统的功能(Zhou et al., 2015)。根据该假说可以推断, 异型花柱的形态特征与型内/自交不亲和性是两种截然不同的促进异交的机制(Barrett, 1992)。此观点得到了较多的支持(Baker, 1966; Charlesworth and Charlesworth, 1979; Ganders, 1979; Barrett, 1992)。从异型花柱形成的2个早期模型及一些科属中

收稿日期: 2022-09-21; 接受日期: 2023-02-28

基金项目: 新疆维吾尔自治区教育厅资助(No.XJEDU2021I006)和国家自然科学基金(No.31560183, No.32360308)

\* 通讯作者。E-mail: 1131646332@qq.com

不难看出,交互式雌雄异位与自交不亲和性的多次独立发生(Baker, 1966; Charlesworth and Charlesworth, 1979; Lloyd and Webb, 1986)。

但是,也有人提出不同观点。例如, Mather和de Winton (1941)认为异型花柱的形态差异与生理差异密切相关,雌雄蕊形态差异的真正意义在于由此产生的生理差异,两种差异一定有发育上的联系。如果两者相互独立,则会独立出现,否则将进行2种不同交配机制的融合(Mather and de Winton, 1941)。后续研究也支持这一观点。Dulberger (1975)通过对亚麻属(*Linum*)及白花丹科(Plumbaginaceae)一些物种的研究揭示了雌雄蕊长度、花粉和柱头形态的异型性特征在异型不亲和机制中的功能,提出“形态互补假说”。Costa等(2017)通过对具有不同花柱多态现象的海石竹属(*Armeria*) 2个物种以及欧洲补血草(*Limonium vulgare*)进行花粉和柱头形态的量化研究,进一步验证了这一假说。Huu等(2022)在报春花属(*Primula*)植物中发现,编码细胞色素酶P450的CYP734A50基因同时控制花柱长度和雌蕊的自交不亲和性。Mora-Carrera等(2023)在欧报春(*P. vulgaris*)中揭示了同型花柱的形成机制。上述研究很好地解释了报春花属植物由异型花柱向同型花柱、由异交向自交过渡的进化模式,以及在报春花属中广泛分布的、作为繁殖对策所形成的自交亲和的同型花柱的单态居群(Yuan et al., 2017; Zhong et al., 2019)。如果这一现象在其它科属中也存在,我们推测花型间交互式雌雄异位的变异或丢失将伴随着型内或自交不亲和性的改变。但从已有研究看,2种观点都有存在的依据。对于异型花柱的形态与生理特性的关系,可能还需要在不同科属中进行广泛的调查与研究。

白花丹科是异型花柱分布较多的科,含27属(Kubitzki, 1993)。驼舌草(*Goniolimon speciosum*)为白花丹科驼舌草属植物。前期,我们对分布在新疆的部分驼舌草居群进行调查,显示除了典型二型花柱应有的长(L)、短(S)花柱型花外,还有雌雄蕊同长(H)的花型。这种H型花是如何产生的?与典型的L型和S型花之间有怎样的亲和性关系?这些居群是否由于交互式雌雄异位的变异而发生交配系统的转变?这些问题仍不清楚。

因此,我们进行以下内容的研究:(1) 驼舌草不同分布区的花型构成及花型频率调查;(2) 交互式雌

雄异位的变异及附属多态性研究;(3) 花型间亲和性关系及异型不亲和系统检测;(4) 居群花粉传递及花型间繁殖适合度研究,以探讨在交互式雌雄异位逐步丢失的情况下,异型不亲和系统是否得以维持以及同长花柱的产生背景,为深入理解异型花柱形态与生理间的相互关系提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料与研究地点

植物材料驼舌草(*Goniolimon speciosum* (L.) Boiss.)为白花丹科驼舌草属多年生草本植物,高20–40 cm,具莲座状基生叶,分布在中低山带。其穗状花序位于各级分支顶端,每花序由2–4朵花构成,花呈紫红色,花萼白色,膜质、宿存,胚珠1枚,花果期6–8月(图1A)。通常花序基部第1位上的花先开,接着相邻的花开放。所调查居群位于新疆境内5个自然分布区(表1),分别位于哈熊沟(HXG)、喀纳斯(KNS)、南山(NS)、昭苏(ZS)和甘沟(GG)。

### 1.2 研究方法

#### 1.2.1 居群花型的构成

在种群盛花期,随机划定10个10 m×10 m的样方,逐一统计各样方内所有植株的数量和花型,分析种群的花型构成与频率。参照Barrett (2019)的异型花柱定义。除L型和S型花外,我们将雌蕊和花药位于相同位置的花称为同长花柱型花,简称为H型花,对应植株为H型植株。在H型植株中,将柱头表皮细胞形态和花粉纹饰与L型花一致的花称为H<sub>L</sub>型花,所在植株为H<sub>L</sub>型植株;将与S型花一致的花称为H<sub>S</sub>型花,所在植株为H<sub>S</sub>型植株。

#### 1.2.2 花大小参数及雌雄蕊位置

在盛花期,从KNS居群中随机选取L、S和H<sub>L</sub> (或H<sub>S</sub>)型花各15株,每株取1–2朵花,测定花冠筒长、花冠开口直径和雌雄蕊长度。测量工具为数显游标卡尺(精度为0.02 mm)。同时,以各花型的雌雄蕊长度为参数制作散点图,以显示花内雌雄蕊位置的分布情况。

#### 1.2.3 花粉及柱头形态观察

从KNS居群中随机选取L、S、H<sub>L</sub>和H<sub>S</sub>型花植株各10

株, 每株取即将散粉的2朵花, 剥出花柱, 立即用2%戊二醛固定液(用0.1 mol·L<sup>-1</sup>磷酸缓冲液配制)固定。同时, 对各花型的花粉进行分装, 带回室内用于样品制备。用扫描电镜(LEO 1430 VP, CarlZeiss, Germany)对柱头和花粉进行观察并拍照。

#### 1.2.4 传粉者访花行为及访花频率观测

在KNS居群的盛花期, 随机选取L、S和H型株近邻分布的5个区域, 连续3天从09:00–17:00进行传粉者种类及访花行为观测。统计KNS、GG和ZS三个居群的自然状态柱头花粉数。

#### 1.2.5 异型不亲和系统检测

于盛花期, 从KNS居群随机选取L、S和H<sub>L</sub>型花植株各20株, 每株随机标记8个开放但未散粉的花。分别进行如下处理: (1) 型内授粉, 去雄, 人工授同型花粉(L×L、S×S和H<sub>L</sub>×H<sub>L</sub>); (2) “型间授粉”, 去雄, 人工授不同花型的花粉(L×S、S×L、L×H<sub>L</sub>、H<sub>L</sub>×L、H<sub>L</sub>×S和S×H<sub>L</sub>); (3) 人工自花授粉; (4) 对照, 标记同期开放的花, 不做任何处理。果实成熟后分别统计各处理的结实率。其中, 由于H型花分H<sub>L</sub>和H<sub>S</sub>两种花粉和柱头形态, 我们仅选取与L型花有相同花粉和柱头形态的花(即H<sub>L</sub>), H<sub>S</sub>型花的性状可依次类推。

#### 1.2.6 数据处理

用Excel 2010、SPSS 20.0和Origin 8.5软件进行数据处理与图表绘制。用卡方检验检测L型和S型2种花型在居群内的数量分布(即是否偏离1:1)。使用广义线性模型(generalized linear model), 用正态分布的恒等

函数分析不同花型的花部特征参数和访花频率; 用泊松分布和对数连接函数分析单花花粉量、柱头总花粉及合法花粉数; 用二项分布和逻辑连接函数分析不同授粉处理下不同花型的结实率。所有数据均用平均值±标准误表示。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各居群花型构成与频率

对不同分布区驼舌草居群的花型构成和频率进行统计(表1), 显示所调查的5个居群均由L型、S型和H型花构成(图1B–D)。在KNS、HXG和NS三个较大的居群中花型频率均以S型花占优势, 与L型花存在显著差异, H型花占比分别为32.62%、28.30%和18.41%; 在GG和ZS两个小居群中, 虽然L型与S型花的频率无差异, 在数量上表现为S型花偏多, H型花占比分别为26.36%和25.00%。

### 2.2 花部特征参数及雌雄蕊高度的分布

对KNS居群各花型的花部特征进行分析, 结果(表2)显示, 3种花型花冠筒长、花冠开口直径、单花花粉量和胚珠数均无差异。而3种花型雌雄蕊长度之间的关系不同。L型和S型花雌雄蕊长度基本具交互性对应关系。高位性器官L型花的雌蕊长度((8.39±0.09) mm)与S型花的雄蕊长度((8.26±0.06) mm)一致(Wald $\chi^2=1.350$ ,  $DF=1$ ,  $P=0.245$ ); 而低位性器官L型花的雄蕊长度((7.13±0.06) mm)与S型花的雌蕊长度((6.93±0.09) mm)有差异(Wald $\chi^2=4.057$ ,  $DF=1$ ,  $P=0.044$ ); 但从P值看, 二者比较接近。相对于L型花, S型花

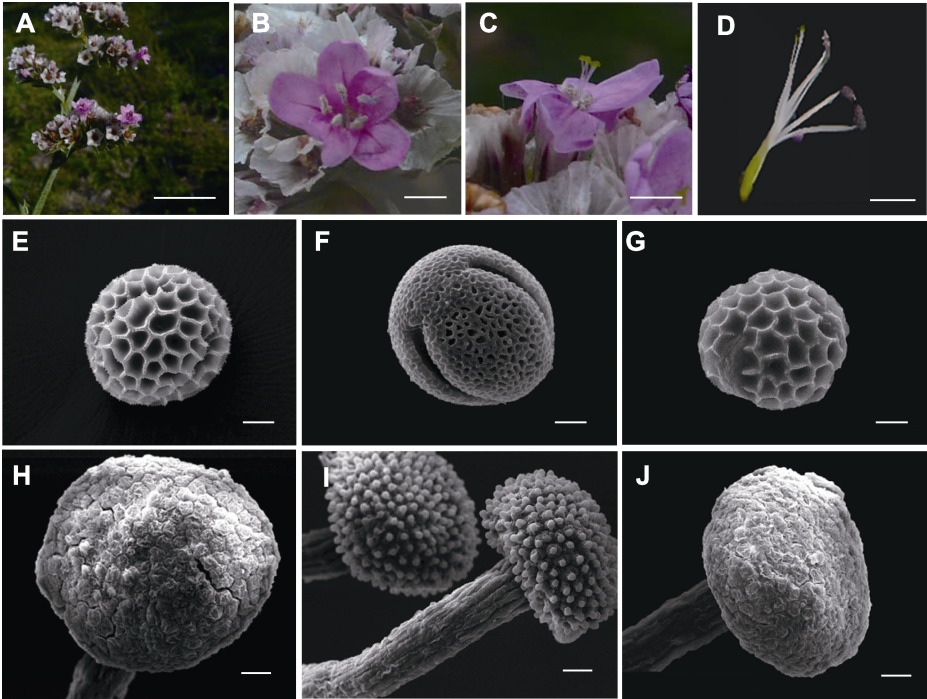
表1 5个驼舌草居群的花型构成与频率

Table 1 The floral morph composition and frequency in five populations of *Goniolimon speciosum*

Population	Location	Number of plant samples (L, S, H)	Floral morph frequency (L/S/H)	Proportion of H-morph (%)	$\chi^2$ (L/S)	P-values (L/S)
KNS	87.024°E, 48.698°N, 1424 m	166, 212, 91	1.82/2.33/1	32.62	5.598	0.018
HXG	87.984°E, 43.811°N, 1853 m	104, 162, 105	0.99/1.54/1	28.30	12.674	0.000
NS	87.233°E, 43.517°N, 1904 m	82, 113, 44	1.86/2.57/1	18.41	4.928	0.026
GG	87.167°E, 43.500°N, 1919 m	44, 51, 34	1.29/1.50/1	26.36	0.516	0.473
ZS	80.988°E, 43.150°N, 1980 m	52, 68, 40	1.30/1.70/1	25.00	2.133	0.144

KNS: 喀纳斯; HXG: 哈熊沟; NS: 南山; GG: 甘沟; ZS: 昭苏; L: 长花柱型花; S: 短花柱型花; H: 雌雄蕊同长型花

KNS: Kanasi; HXG: Haxiongou; NS: Nanshan; GG: Gangou; ZS: Zhaosu; L-morph: Flower with long style; S-morph: Flower with short style; H-morph: Flower with stigmas and anthers in the same position



**图1** 驼舌草的花枝、花型、花粉及柱头形态  
(A) 花枝; (B), (C) S型和L型花; (D) H型花雌雄蕊; (E), (H) L型花的花粉粒和柱头形态; (F), (I) S型和H<sub>S</sub>型花的花粉粒和柱头形态; (G), (J) H<sub>L</sub>型花的花粉粒和柱头形态。S型花: 柱头显著低于花药的花, 即短花柱型花; L型花: 柱头显著高于花药的花, 即长花柱型花; H型花: 柱头和花药高度在同一位置的花, 即同长花柱型花; H<sub>S</sub>型花: 花粉纹饰和柱头表皮细胞形态与S型花一致的花; H<sub>L</sub>型花: 花粉纹饰和柱头表皮细胞形态与L型花一致的花。(A) Bar=2 cm; (B)–(D) Bars=2 mm; (E)–(G) Bars=10 μm; (H)–(J) Bars=20 μm

**Figure 1** The flowering branch, floral morphs, pollen and stigma morphology in *Goniolimon speciosum*  
(A) Flowering branch; (B), (C) Flowers with S- and L-morph; (D) Pistil and stamen of H-morph; (E), (H) Pollen and stigma morphology of L-morph; (F), (I) Pollen and stigma morphology of S- and H<sub>S</sub>-morph; (G), (J) Pollen and stigma morphology of H<sub>L</sub>-morph. S-morph: Flower with stigma significantly lower than the anther, as short-styled morph flower; L-morph: Flower with stigma significantly higher than the anther, as long-styled morph flower; H-morph: Flower with stigma and anther in the same position, as homostylous morph flower; H<sub>S</sub>-morph: Flower with the same pollen and stigma morphology as S-morph flower; H<sub>L</sub>-morph: Flower with the same pollen and stigma morphology as L-morph flower. (A) Bar=2 cm; (B)–(D) Bars=2 mm; (E)–(G) Bars=10 μm; (H)–(J) Bars=20 μm

**表2** 驼舌草喀纳斯(KNS)居群的花部特征参数及3个自然居群各花型间柱头花粉负荷比较

**Table 2** Comparisons of floral parameters of Kanasi (KNS) population and stigmatic pollen loads among floral morphs in three field populations in *Goniolimon speciosum*

Floral parameter	Population	S-morph ( <i>n</i> =20–30)	L-morph ( <i>n</i> =20–30)	H-morph ( <i>n</i> =20–30)
Corolla tube length (mm)	KNS	(6.20±0.10) <sup>a</sup>	(6.03±0.11) <sup>a</sup>	(6.17±0.11) <sup>a</sup>
Corolla opening diameter (mm)	KNS	(6.17±0.09) <sup>a</sup>	(6.02±0.14) <sup>a</sup>	(6.09±0.13) <sup>a</sup>
Pistil height (mm)	KNS	(6.93±0.09) <sup>c</sup>	(8.39±0.09) <sup>a</sup>	(7.84±0.11) <sup>b</sup>
Stamen height (mm)	KNS	(8.26±0.06) <sup>a</sup>	(7.13±0.06) <sup>c</sup>	(7.81±0.07) <sup>b</sup>
Number of pollen grains per flower	KNS	(1127±46) <sup>a</sup>	(1158±36) <sup>a</sup>	(1110±24) <sup>a</sup>
Number of ovules per flower	KNS	1	1	1
Number of stigmatic pollen loads (total, inter-morph)	KNS	(17±3) <sup>b</sup> , (2.5±0.7) <sup>a</sup>	(27±4) <sup>ab</sup> , (1.4±0.4) <sup>a</sup>	(33±7) <sup>a</sup> , (1.3±0.5) <sup>a</sup>
	GG	(25±3) <sup>b</sup> , (0.6±0.3) <sup>a</sup>	(49±3) <sup>a</sup> , (1.1±0.3) <sup>a</sup>	(56±13) <sup>a</sup> , (1.6±0.9) <sup>a</sup>
	ZS	(22±3) <sup>b</sup> , (0.7±0.3) <sup>a</sup>	(54±4) <sup>a</sup> , (1.1±0.3) <sup>a</sup>	(54±5) <sup>a</sup> , (1.1±0.3) <sup>a</sup>

KNS、GG和ZS同表1。同行上标不同小写字母表示花型间差异显著( $P<0.05$ )。  
KNS, GG and ZS are the same as shown in Table 1. Different script lowercase letters indicate significant differences among floral morphs in the same row ( $P<0.05$ ).

的高位和低位性器官高度(雌雄蕊高度)均偏低。但2种花型的雌雄蕊间距(L:  $(1.26 \pm 0.08)$  mm; S:  $(1.34 \pm 0.10)$  mm)无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=0.407$ ,  $DF=1$ ,  $P=0.524$ )。H型花的雌雄蕊长度介于L型花雌蕊和S型花雄蕊高度之间。花内雌雄蕊高度的分布状况如图2所示。

### 2.3 花粉及柱头形态的异型性

驼舌草的花粉和柱头形态具典型的二型性。各花型的花粉粒均呈圆球状, 表面具网状纹饰, 有3个萌发孔; 柱头头状, 表皮细胞呈扁平的玉米粒状或乳突状。其中, L和 $H_L$ 型花的花粉形态一致, 花粉外壁纹饰网孔较大, 呈粗网纹(图1E, G); 柱头表皮细胞呈扁平的玉米粒状(图1H, J)。S和 $H_S$ 型花的花粉形态一致, 花粉外壁纹饰网孔较小, 呈细网纹(图1F); 柱头表皮细胞呈乳突状(图1I)。

### 2.4 传粉者种类、访花频率及传粉效率

通过对KNS居群访花昆虫进行观测, 发现主要访花者为蝇、小型蜂和蝶。一般在10:00以后开始出现, 12:00数量增多, 18:00以后基本不再有传粉者。传粉者在3种花型之间无访花偏好, 其中L型植株的访花频率为每花每小时( $0.096 \pm 0.051$ )次, S型的访花频率为每花每小时( $0.032 \pm 0.011$ )次, H型的访花频率为每花每小时( $0.082 \pm 0.015$ )次, 各花型之间访花频率无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=2.151$ ,  $DF=2$ ,  $P=0.341$ )。居群访花频率为每花每小时( $0.071 \pm 0.019$ )次。

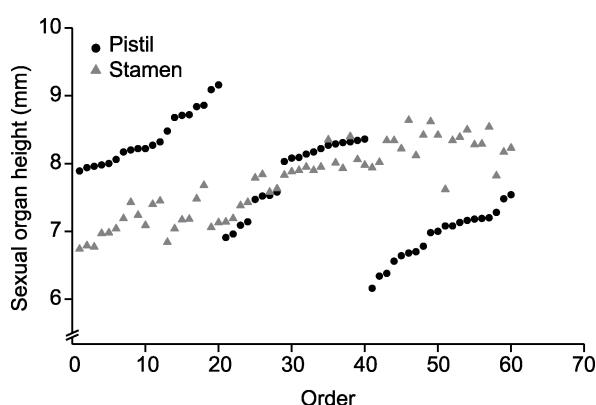


图2 驼舌草喀纳斯(KNS)居群不同花型性器官高度的分布

Figure 2 The distribution of sexual organ height among different floral morphs of Kanasi (KNS) population in *Gonolimon speciosum*

对KNS、GG和ZS居群自然状态柱头花粉数进行统计(表2), 结果表明居群内均表现为L型和 $H_L$ 型花的柱头花粉数高于S型, 各居群的柱头合法花粉数普遍较低, 合法花粉数在3种花型间无差异。从数值上看, KNS居群中S型花的合法花粉数较高, 另2个居群均偏低。

### 2.5 异型不亲和系统

控制授粉实验表明, 3种花型人工自交和型内授粉均不亲和(图3)。其中L型、S型和 $H_L$ 型花人工自花授粉的结实率分别为 $(4.00 \pm 2.67)\%$ 、 $(9.67 \pm 3.24)\%$ 和 $(2.00 \pm 2.00)\%$ , 三者无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=3.097$ ,  $DF=2$ ,  $P=0.213$ )。型内授粉 $L \times L$ 、 $S \times S$ 和 $H_L \times H_L$ 的结实率分别为 $(2.00 \pm 2.00)\%$ 、 $(8.00 \pm 3.27)\%$ 和 $(1.67 \pm 1.67)\%$ , 无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=2.605$ ,  $DF=2$ ,  $P=0.272$ )。“型间授粉”, 以S型花为母本时,  $S \times L$ 和 $S \times H_L$ 的结实率分别为 $(33.88 \pm 4.55)\%$ 和 $(32.52 \pm 5.29)\%$ , 自然对照的结实率为 $(28.00 \pm 7.42)\%$ , 三者无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=0.355$ ,  $DF=2$ ,  $P=0.837$ ); 以L型花为母本时,  $L \times S$ 和 $L \times H_L$ 的结实率分别为 $(31.00 \pm 6.40)\%$ 和 $(3.67 \pm 2.46)\%$ , 差异显著( $\text{Wald}\chi^2=11.917$ ,  $DF=1$ ,  $P=0.001$ ); 以 $H_L$ 型花为母本时,  $H_L \times L$ 的结实率为 $(3.33 \pm 2.22)\%$ ,  $H_L \times S$ 的结实率为 $(30.33 \pm 7.00)\%$ , 差异显著( $\text{Wald}\chi^2=11.861$ ,  $DF=1$ ,  $P=0.001$ )。综上, 在雌雄蕊高度具交互性对应关系的花型间(如L型和S型花)授粉亲和; 而在不具有交互性对应关系的花型间, 表现为具不同花粉/柱头形态的花型间(如 $H_L$ 型与S型花)授粉亲和, 具相同花粉/柱头形态的花型间(如 $H_L$ 型与L型花)授粉不亲和。自然状态下, L型、S型以及H型花的结实率分别为 $(20.00 \pm 7.30)\%$ 、 $(28.00 \pm 7.42)\%$ 和 $(22.00 \pm 6.96)\%$ , 无显著差异( $\text{Wald}\chi^2=0.958$ ,  $DF=2$ ,  $P=0.619$ )。

在所有交配类型中, 一个值得注意的现象是, 无论在型间以S型花为母本授粉, 还是在型内和人工自花授粉时, 均表现为S型花的结实率相对偏高, 尽管在同一处理模式中未见统计学意义上的差异性。

### 2.6 讨论

异型花柱在被子植物中广泛分布, 但是由于受居群中交配型数量有限、对传粉者有较高的选择性以及异型不亲和和性不严格等诸多因素的影响, 异型花柱植物又表现出高度的不稳定性和易变性(Washitani, 2000;



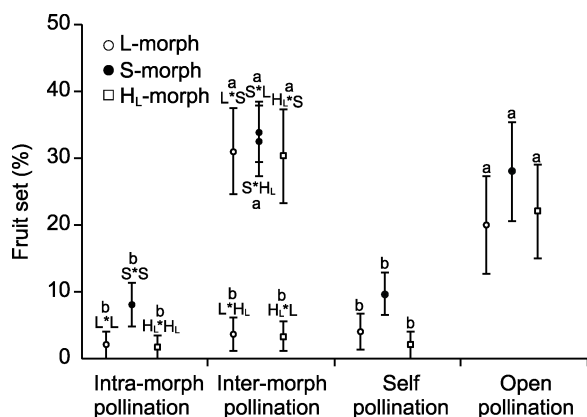


图3 驼舌草4种授粉处理下结实率比较  
不同小写字母表示各处理间差异显著( $P < 0.05$ )。

Figure 3 Comparisons of fruit set of floral morphs under four pollination treatments in *Goniolimon speciosum*  
Different lowercase letters indicate significant differences among treatments ( $P < 0.05$ ).

Chen, 2012; Matias et al., 2020)。在白花丹科中, 驼舌草属是较早出现二型花柱的属(Baker, 1948)。但从本研究结果看, 所调查居群花型间雌雄异位的程度发生了较大变异, 均出现一定比例(18.41%–32.62%)的雌雄蕊同长或接近的H型花(H<sub>L</sub>和H<sub>S</sub>)。其中, H<sub>L</sub>型与L型、H<sub>S</sub>型与S型花具有相同的花粉柱头形态及花型间不亲和性, 各花型型内和自交均不亲和。居群仍具有严格的非选型交配和花粉柱头形态的二型性, 表现为花粉柱头形态具异型性的花型间亲和, 反之不亲和, 交互式雌雄异位不再是型间亲和性的必要条件。我们推测, 雌雄蕊同长的H型花由长短花柱型花的雌雄蕊间缩短所致, 是花型间交互式雌雄异位变异的结果, 它不同于传统意义上作为繁殖保障、由异型花柱瓦解所形成的同型花柱。本研究材料这种交互式雌雄异位的变异或丢失可能独立于生理上自交不亲和性的转变。

### 2.6.1 花型频率及其偏离

在异型花柱研究中, 各花型在居群中的维持、占比与演化备受关注。Fisher (1935)最早对三型花柱植物种群内的平衡条件进行了研究, 指出在异型花柱居群中, 如果各花型无适合度上的差异, 那么在一个非选型交配的大种群中, 平衡的花型频率是唯一的可能。然而在多数情况下, 居群大小(Kéry et al., 2003)、传粉者类群或传粉限制等因素所致的不对称花粉流

(Shibayama and Kadono, 2003; Pérez-Barrales and Arroyo, 2010)、花形态和性器官交互性差异(Brys and Jacquemyn, 2020)以及雌雄繁殖力不同(Brys et al., 2008)等因素都会使居群中花型频率偏离等比。在二型花柱植物中, 不严格的异型不亲和系统是导致花型频率偏离的常见因素。例如, Brys等(2008)对分布在比利时北部的多个药用肺草(*Pulmonaria officinalis*)居群的花型频率和花型结实率进行调查显示, 缘于长花柱的自交亲和性、花型频率的偏离程度与花型的相对繁殖力密切相关。对驼舌草5个居群的调查显示, 各居群尽管有相同的花型构成, 但各花型在居群中的占比并不一致(表1)。其中, 2个小居群GG和ZS的长、短花柱型花的频率无显著差异, 但在数值上S型株占比偏高, 其余3个较大的居群均以S型株占优势。居群间不同的花型频率可能与居群大小、各花型自花授粉和型内授粉的不亲和性程度有关。

控制授粉实验结果表明, 在柱头形态具异型性的型间授粉中, 以S型花为母本时, S×L与S×H<sub>L</sub>的结实率分别为(33.88±4.55)%和(32.52±5.29)%, 这与L×S(31.00±6.40)%和H<sub>L</sub>×S(30.33±7.00)%的结实率无差异。但型内授粉和自花授粉时, 3种花型的结实率无统计学上的差异, 但在数值上S型花((8.00±3.27)%和(9.67±3.24)%)是L型花((2.00±2.00)%和(4.00±2.67)%)和H<sub>L</sub>型花((1.67±1.67)%和(2.00±2.00)%)结实率的2–4倍(图3)。这种不亲和程度的差异在传粉受限的居群中可能更容易引起型间雌性繁殖力的差异, 进而导致花型频率的偏离。在驼舌草居群中, 尽管花型间自然结实率不存在统计学差异, 但S型株自然结实率(28.00±7.42)%与L型和H型的结实率((20.00±7.30)%和(22.00±6.96)%)相比存在偏高现象。这种S型花在自交、型内及自然结实率中持续一致的偏高, 不太可能由随机因素造成。这一现象说明, 花型间自交不亲和程度的微小差异都有可能通过影响花型的雌性繁殖力而导致花型频率的偏离。

### 2.6.2 交互式雌雄异位的变异与同长花柱的形成

在异型花柱变异和演化过程中, 雌雄蕊同长的同型花柱被频繁报道(Zhou et al., 2017; Yuan et al., 2019; Mora-Carrera et al., 2023)。此类型花多发生在传粉者不足或是处于地理分布区边缘的小种群中, 可能通过自交不亲和性的丢失、染色体倍数的增加或控制花

柱长度的S位点内部的基因重组/突变而来(Tamari and Shore, 2004; Haddadchi and Fatemi, 2015; Yuan et al., 2019; Matzke et al., 2021; Zhang et al., 2021), 是以近交衰退为代价的一种繁殖保障策略(Jiang et al., 2018)。这种生理或遗传上的转变常伴随花形态的变异(Zhou et al., 2017; Zhang et al., 2021; Mora-Carrera et al., 2023)。例如, 在皖南羽叶报春(*Primula wannanensis*)中, 地理分布区的中心居群与边缘居群在花的大小及交互式雌雄异位程度上均具显著差异, 长短花柱型花柱头高度的不对称变化(L型花雌蕊缩短和S型花雌蕊伸长)是引起交互式雌雄异位降低的主要原因。传粉不足促进了可自动自交的同型花柱的形成(Zhang et al., 2021)。在驼舌草居群中, H型花雌雄蕊长度介于L型和S型花的高位和低位性器官之间, 从花大小参数、花粉柱头形态及花型内和花型间的亲和性关系看, H型花显然不同于以自交不亲和性丢失和促进繁殖保障为特征的同型花柱。尽管H型花的产生可能也与居群有限的传粉者有关, 但H型花的形成可能与提高低位性器官的适合度、促进合法花粉的传递有关。

在异型花柱植物中, 由于花冠筒的限制, 短吻昆虫常常是无效或低效的传粉者, 并且成为花型变异或丢失的重要影响因素(Pérez-Barrales and Arroyo, 2010; Simón-Porcar et al., 2014; 阿依古丽·阿卜杜热伊木等, 2021)。从KNS居群的访花频率和3个居群自然状态柱头花粉数的测定结果看, 传粉者访花频率及柱头合法花粉数普遍较低, 尤其是S型花的柱头合法花粉数在GG ( $0.6 \pm 0.3$ )和ZS ( $0.7 \pm 0.3$ )居群中均小于1, 存在明显的传粉限制。而在KNS居群, 传粉者有长、短吻2类昆虫, 平均访花频率仅为每小时每花( $0.07 \pm 0.019$ )次。尽管3种花型的柱头合法花粉数(S型:  $(2.5 \pm 0.7)$ ; L型:  $(1.4 \pm 0.4)$ ; H型:  $(1.3 \pm 0.5)$ )均大于1, 但3种花型的原始数据显示56%–79%的柱头上无合法花粉。从驼舌草花的结构看, 高位性器官位于花冠筒之上, 在位置上受花冠筒的约束较为有限; 而低位性器官位于花冠筒的喉部或花冠筒内, 虽然受到一定的约束, 但会使短吻传粉者成为低效或无效传粉者。在此情形下, 长、短吻传粉者均可能导致高、低位性器官不对称的花粉流(Armbruster et al., 2006; Pérez-Barrales et al., 2007; Zhu et al., 2015)。雌雄蕊同长的H型花的出现有助于避免在缺乏长吻昆虫时

低位性器官缩入, 同时有助于改善有效传粉类群的结构。驼舌草多分布在海拔2 000 m的中山带, 温度偏低使有效传粉昆虫较少, 花型的改变使一些耐低温采食花粉的短吻昆虫(如食蚜蝇)成为有效传粉者。尽管H型花有可能导致雌雄功能干扰和自花粉的滞留, 但从已测得的数据看, H<sub>L</sub>型花的柱头花粉数和合法花粉数与L型花无差异, 这为同长花柱替代长、短花柱型花提供了可能。由此推测, 雌雄蕊同长的H型花可能是在促进合法花粉传递的选择压力下形成, 是长、短花柱以提高低位性器官高度为主, 适当降低高位性器官位置, 由交互式雌雄异位的变异或丢失演变而来。但并未伴随生理上自交不亲和性的转变。这一花型也存在于同为白花丹科的喀什补血草(*Limonium kashgaricum*)中(阿依古丽·阿卜杜热伊木等, 2021), 在短吻昆虫传粉的居群中, 它避免了低位性器官缩入, 在促进合法花粉传递方面具有优势。

### 2.6.3 异型花柱的综合征及其关系

异型花柱的交互式雌雄异位、花粉柱头形态的附属多态性与异型不亲和性等一系列特征构成了异型花柱的综合征(Ganders, 1979; Dulberger, 1992)。这些特征在被子植物中的多次重复起源成为植物形态与功能协同演化的一个经典案例(Barrett, 2019)。尽管很多研究揭示了花形态与交配系统间的紧密联系(Dulberger, 1975; Zhou et al., 2015; Mora-Carrera et al., 2023), 但直到在荞麦属(*Fagopyrum*)、时钟花属(*Turnera*)及报春花属中发现由同一基因控制花柱长度与雌性自交不亲和性以后, 才较为清晰地阐明上述类群中花形态与生理间关系的遗传学基础(Takeshima et al., 2019; Matzke et al., 2021; Huu et al., 2022)。这意味着至少在这些类群中, 花型间交互式雌雄异位的变异或丢失伴随着雌性不亲和性的转变。但在驼舌草中, 我们似乎未看到这种紧密的关系, 即花柱长度的变异并未伴随自交不亲和性的转变。不管在之后的演化中居群是否会发生自交不亲和性的转变, 但从目前来看, 这一现象至少说明两者可能同步发生。

在异型花柱形态特征与生理特性相互关系的认识中, 密切相关与独立演化2种观点并存, 正如异型花柱形成的2种假说一直共存那样(Darwin, 1877; Charlesworth and Charlesworth, 1979; Lloyd and

Webb, 1992) (因为很难用一种假说来解释不同科属中异型花柱的形成与演化过程(Barrett, 2019)), 这提示我们异型花柱综合征间关系的复杂性以及科属间关系的差异性。相关分子与遗传学研究还有待在不同的科属中开展。

**致谢** 感谢郑荣倩和王娟在野外观测及数据分析工作中给予的帮助。

## 参考文献

- 阿依古丽·阿卜杜热伊木, 焦芳芳, 张爱勤 (2021). 异型花柱植物喀什补血草的传粉者功能群与花粉转移效率. 植物生态学报 **45**, 51–61.
- 周伟, 王红 (2009). 被子植物异型花柱及其进化意义. 植物学报 **44**, 742–751.
- Armbruster WS, Pérez-Barrales R, Arroyo J, Edwards ME, Vargas P (2006). Three-dimensional reciprocity of floral morphs in wild flax (*Linum suffruticosum*): a new twist on heterostyly. *New Phytol* **171**, 581–590.
- Baker HG (1948). Dimorphism and monomorphism in the Plumbaginaceae. I. A survey of the family. *Ann Bot* **12**, 207–219.
- Baker HG (1966). The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution* **20**, 349–368.
- Barrett SCH (1992). Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: Barrett SCH, ed. *Evolution and Function of Heterostyly*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 1–29.
- Barrett SCH (2002). Sexual interference of the floral kind. *Heredity* **88**, 154–159.
- Barrett SCH (2019). ‘A most complex marriage arrangement’: recent advances on heterostyly and unresolved questions. *New Phytol* **224**, 1051–1067.
- Brys R, Jacquemyn H (2020). The impact of individual inaccuracy of reciprocal herkogamy on legitimate pollen deposition and seed set in a distylous self-incompatible herb. *J Ecol* **108**, 81–93.
- Brys R, Jacquemyn H, Beeckman T (2008). Morph-ratio variation, population size and female reproductive success in distylous *Pulmonaria officinalis* (Boraginaceae). *J Evol Biol* **21**, 1281–1289.
- Charlesworth D, Charlesworth B (1979). A model for the evolution of distyly. *Am Nat* **114**, 467–498.
- Chen ML (2012). Floral morphology and breeding system in *Polygonum hastato-sagittatum* Mak. (Polygonaceae). *Flora* **207**, 365–371.
- Costa J, Castro S, Loureiro J, Barrett SCH (2017). Experimental insights on the function of ancillary pollen and stigma polymorphisms in plants with heteromorphic incompatibility. *Evolution* **71**, 121–134.
- Darwin CR (1877). *The different forms of flowers on plants of the same species*. London: John Murray. pp. 244–277.
- Dulberger R (1975). Intermorph structural differences between stigmatic papillae and pollen grains in relation to incompatibility in Plumbaginaceae. *Proc Roy Soc B Biol Sci* **188**, 257–274.
- Dulberger R (1992). Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In: Barrett SCH, ed. *Evolution and Function of Heterostyly*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 41–84.
- Ferrero V, Castro S, Sánchez JM, Navarro L (2011). Stigma-anther reciprocity, pollinators, and pollen transfer efficiency in populations of heterostylous species of *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant Syst Evol* **291**, 267–276.
- Fisher RA (1935). On the selective consequences of East’s (1927) theory of heterostylism in *Lythrum*. *J Genet* **30**, 369–382.
- Ganders FR (1979). The biology of heterostyly. *New Zeal J Bot* **17**, 607–635.
- Haddadchi A, Fatemi M (2015). Self-compatibility and floral traits adapted for self-pollination allow homostylous *Nymphoides geminata* (Menyanthaceae) to persist in marginal habitats. *Plant Syst Evol* **301**, 239–250.
- Huu CN, Plaschil S, Himmelbach A, Kappel C, Lenhard M (2022). Female self-incompatibility type in heterostylous *Primula* is determined by the brassinosteroid-inactivating cytochrome P450 CYP734A50. *Curr Biol* **32**, 671–676.
- Jiang XF, Zhu XF, Li QJ (2018). Variation in the degree of reciprocal herkogamy affects the degree of legitimate pollination in a distylous species. *AoB Plants* **10**, ply022.
- Kéry M, Matthies D, Schmid B (2003). Demographic stochasticity in population fragments of the declining distylous perennial *Primula veris* (Primulaceae). *Basic Appl Ecol* **4**, 197–206.
- Kubitzki K (1993). Plumbaginaceae. In: Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. *Flowering Plants. Dicotyledons: Magnoliid, Hamamelid and Caryophyllid Families*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 523–530.
- Liu SJ, Wu LY, Huang SQ (2016). Shortened anther-stigma distance reduces compatible pollination in two distylous *Primula* species. *J Plant Ecol* **9**, 224–232.



- Lloyd DG, Webb CJ (1986). The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. *New Zeal J Bot* **24**, 135–162.
- Lloyd DG, Webb CJ (1992). The selection of heterostyly. In: Barrett SCH, ed. *Evolution and Function of Heterostyly*. Berlin: Springer-Verlag. pp. 179–207.
- Mather K, de Winton D (1941). Adaptation and counter-adaptation of the breeding system in *Primula*: the nature of breeding systems. *Ann Bot* **5**, 297–311.
- Matias R, Pérez-Barrales R, Consolaro H (2020). Patterns of variation in distylous traits and reproductive consequences in *Erythroxylum* species and populations. *Am J Bot* **107**, 910–922.
- Matzke CM, Hamam HJ, Henning PM, Dougherty K, Shore JS, Neff MM, McCubbin AG (2021). Pistil mating type and morphology are mediated by the brassinosteroid inactivating activity of the S-locus gene *BAHD* in heterostylous *Turnera* species. *Int J Mol Sci* **22**, 10603.
- Mora-Carrera E, Stubbs RL, Keller B, Léveillé-Bourret É, de Vos JM, Szövényi P, Conti E (2023). Different molecular changes underlie the same phenotypic transition: origins and consequences of independent shifts to homostyly within species. *Mol Ecol* **32**, 61–78.
- Pérez-Barrales R, Arroyo J (2010). Pollinator shifts and the loss of style polymorphism in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *J Evol Biol* **23**, 1117–1128.
- Pérez-Barrales R, Arroyo J, Armbruster WS (2007). Differences in pollinator faunas may generate geographic differences in floral morphology and integration in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *Oikos* **116**, 1904–1918.
- Santos-Gally R, de Castro A, Pérez-Barrales R, Arroyo J (2015). Styler polymorphism on the edge: unusual flower traits in Moroccan *Narcissus broussonetii* (Amaryllidaceae). *Bot J Linn Soc* **177**, 644–656.
- Shibayama Y, Kadono Y (2003). Floral morph composition and pollen limitation in the seed set of *Nymphoides indica* populations. *Ecol Res* **18**, 725–737.
- Simón-Porcar VI, Santos-Gally R, Arroyo J (2014). Long-tongued insects promote disassortative pollen transfer in style-dimorphic *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *J Ecol* **102**, 116–125.
- Takeshima R, Nishio T, Komatsu S, Kurauchi N, Matsui K (2019). Identification of a gene encoding polygalacturonase expressed specifically in short styles in distylous common buckwheat (*Fagopyrum esculentum*). *Heredity* **123**, 492–502.
- Tamari F, Shore JS (2004). Distribution of style and pollen polygalacturonases among distylous and homostylous *Turnera* and *Piriqueta* spp. (Turneraceae). *Heredity* **92**, 380–385.
- Washitani I (2000). Creeping ‘fruitless falls’: reproductive failure in heterostylous plants in fragmented landscapes. In: Kato M, ed. *The Biology of Biodiversity*. Tokyo: Springer-Verlag. pp. 133–145.
- Wu LY, Chang FF, Liu SJ, Armbruster WS, Huang SQ (2018). Heterostyly promotes compatible pollination in buckwheats: comparisons of intraflower, intraplant, and interplant pollen flow in distylous and homostylous *Fagopyrum*. *Am J Bot* **105**, 108–116.
- Yuan S, Barrett SCH, Duan TT, Qian X, Shi MM, Zhang DX (2017). Ecological correlates and genetic consequences of evolutionary transitions from distyly to homostyly. *Ann Bot* **120**, 775–789.
- Yuan S, Barrett SCH, Li CH, Li XJ, Xie KP, Zhang DX (2019). Genetics of distyly and homostyly in a self-compatible *Primula*. *Heredity* **122**, 110–119.
- Zhang W, Hu YF, He X, Zhou W, Shao JW (2021). Evolution of autonomous selfing in marginal habitats: spatio-temporal variation in the floral traits of the distylous *Primula wannanensis*. *Front Plant Sci* **12**, 781281.
- Zhong L, Barrett SCH, Wang XJ, Wu ZK, Sun HY, Li DZ, Wang H, Zhou W (2019). Phylogenomic analysis reveals multiple evolutionary origins of selfing from outcrossing in a lineage of heterostylous plants. *New Phytol* **224**, 1290–1303.
- Zhou W, Barrett SCH, Li HD, Wu ZK, Wang XJ, Wang H, Li DZ (2017). Phylogeographic insights on the evolutionary breakdown of heterostyly. *New Phytol* **214**, 1368–1380.
- Zhou W, Barrett SCH, Wang H, Li DZ (2015). Reciprocal herkogamy promotes disassortative mating in a distylous species with intramorph compatibility. *New Phytol* **206**, 1503–1512.
- Zhu XF, Jiang XF, Li L, Zhang ZQ, Li QJ (2015). Asymmetrical disassortative pollination in a distylous primrose: the complementary roles of bumblebee nectar robbers and syrphid flies. *Sci Rep* **5**, 7721.

## The Variation of Reciprocal Herkogamy in Five Distylous Populations of *Goniolimon speciosum* in Xinjiang

Dengfu Ren<sup>1</sup>, Yaxin Zhai<sup>2</sup>, Aiqin Zhang<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Sciences and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830017, China; <sup>2</sup>Karamay High School, Karamay 834000, China

**Abstract** Heterostyly is a kind of floral morph polymorphism in angiosperms, which is characterized by the reciprocal herkogamy and accompanied by physiological self- and intra-incompatibility but inter-compatibility. And the homostyly (H) is a kind of self-compatible floral morph with stigmas and anthers at the same position within a flower, which occurs during the formation and evolution of heterostyly. It has been reported that distyly appeared earlier in *Goniolimon* than in other genus in the Plumbaginaceae. However, our field survey found that a large number of floral morphs with the same length of pistils and stamens (H-morphs) appeared in the natural population of *Goniolimon speciosum* in Xinjiang, similar to homostyly. It is not clear how the H-morphs emerge, whether the H-morphs have been self- and intra-compatible, and what kind of relationship between the H-morphs and the typical floral morphs with long- (L-) or short- (S-) style flower. Thus, we investigated the floral morph composition and frequency, measured the floral parameters and stigmatic pollen loads among floral morphs, and also examined the accessory polymorphism and heteromorphic incompatibility system of *G. speciosum* in five natural populations. The result showed that all populations were composed of L-, S- and H-morphs, but each population still had dimorphism of pollen-stigma morphology and strictly disassortative mating, which showed that the floral morphs with different pollen ornamentation and stigma papilla cell morphology were compatible regardless of the reciprocal herkogamy, but incompatible if the floral morphs were the same. Conclusion: H-morphs may be the result of the variation of reciprocal herkogamy between floral morphs by shortening of stigma in L-morph or shortening of anther in S-morphs, but have not transformed into the homostyly. For this species, the variation of reciprocal herkogamy and the transformation of physiological incompatibility may be independent of each other.

**Key words** *Goniolimon speciosum*, heteromorphic incompatibility system, heterostyly, homostyly, reciprocal herkogamy

**Ren DF, Zhai YX, Zhang AQ** (2023). The variation of reciprocal herkogamy in five distylous populations of *Goniolimon speciosum* in Xinjiang. *Chin Bull Bot* **58**, 733–742.

---

\* Author for correspondence. E-mail: 1131646332@qq.com

(责任编辑: 白羽红)