

3 种生殖方式蒲公英花粉活力和 柱头形态及可授性对比

张晓嘉, 宁 伟*, 马 铭, 赵 鑫

(沈阳农业大学 园艺学院/东北野菜种质异位保存圃与鉴定中心, 沈阳 110866)

摘 要: 利用离体萌发法、电镜扫描和联苯胺-过氧化氢法对有性生殖的东北蒲公英、专性无融合生殖的丹东蒲公英和兼性无融合生殖的蒙古蒲公英花粉活力、柱头表面形态及可授性进行观察和测定。结果显示: (1) 3 种蒲公英柱头均为干柱头, 单细胞乳突, 属于原始进化类型, 都存在雌雄异熟和雌雄异位花部特征; 东北蒲公英乳突饱满、紧密, 蒙古蒲公英次之, 丹东蒲公英干瘪、稀少。 (2) 东北蒲公英和丹东蒲公英柱头呈 Y 状时期花粉萌发率最高, 分别为 67.3% 和 19.8%, 蒙古蒲公英柱头呈棒状时期萌发率最高, 为 23.3%。 (3) 3 种蒲公英随着开花进行, 柱头可授性增加, 并且柱头在大 Y 状时期 3 种蒲公英为最佳授粉期, 可授性柱头占样本柱头的比率分别是 98.7% (东北蒲公英)、84.0% (蒙古蒲公英)、21.3% (丹东蒲公英)。研究表明, 有性生殖蒲公英与无融合生殖蒲公英在花粉萌发力、柱头可授性和乳突上产生明显差别, 为蒲公英在长期进化中性器官能量再分配提供证据。

关键词: 蒲公英; 柱头; 可授性; 生殖方式

中图分类号: Q944.42

文献标志码: A

Comparison of Pollen Viability and Stigmatic Surface Morphology and Receptivity in Three Reproductive Strategies of *Taraxacum*

ZHANG Xiaojia, NING Wei*, MA Ming, ZHAO Xin

(College of Horticulture, Shenyang Agriculture University/Ex-situ Conservation Garden and Identification Center of Potherb Germplasm in Northeast China, Shenyang 110866, China)

Abstract: We investigated pollen viability and stigmatic surface morphology and receptivity in sexual reproduction of *Taraxacum ohwianum* Kitag., obligate apomicts of *T. antungense* Kitag., facultative apomicts of *T. mongolicum* Hand. -Mazz. using germination *in vitro* and techniques of scanning electron microscopy and benzidine-hydrogen peroxide test. The result showed that: (1) Three kinds of dandelion stigma were dry stigma, single-celled papilla and belong to the primitive taxa. The phenomena of dichogamy and herkogamy appeared in dandelion. The papilla of *T. ohwianum* Kitag. was full grown and tight, *T. antungense* Kitag. was more wizened and *T. mongolicum* Hand. -Mazz. was the most wizened and rarefaction. (2) When stigma was in the Y-type, the pollen germination capacity rate of *T. ohwianum* Kitag. and *T. antungense* Kitag. was the highest, at 67.3% and 19.8% respectively. The highest rate of pollen germination capacity of *T. mongolicum* Hand. -Mazz. was 23.3% when stigma was in stick-type. (3) The stigmatic receptivity of three kinds of dandelions was rising with flowering. When stigma was in the Y-type, it was the best pollination period on the kinds of dandelion and the rate of stigmatic receptivity in samples were 98.7% (*T. ohwianum*

收稿日期: 2014-04-16; 修改稿收到日期: 2014-06-26

基金项目: 国家农业部野生植物资源保护项目(农计发[2010]29 号)

作者简介: 张晓嘉(1989—), 男, 在读硕士研究生, 主要从事蒲公英无融合和雄性不育研究。E-mail: zhangxiaojia0512@163.com

* 通信作者: 宁 伟, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事药用植物种质资源评价与创新研究。E-mail: synw_01@163.com

Kitag.), 84.0% (*T. antungense* Kitag.), 21.3% (*T. mongolicum* Hand.-Mazz.), respectively. There was transparent difference of sexual reproduction of dandelion and apomicts of dandelion in pollen germination capacity, papilla and stigmatic receptivity, which was an evidence of the redistribution of energy in sex organ of dandelion in long term evolution.

Key words: dandelion; stigma; stigmatic receptivity; reproductive strategies

蒲公英(*Taraxacum*)是菊科(Compositae)蒲公英属植物,是世界性植物,全世界约有300多种,其中中国就有70种和1个变种^[1]。在传统中医中,蒲公英具有清热解毒、消痈散结、抗癌和降低血糖的功效,并作为大宗药材,收录于《药典》^[2]。目前国内对于蒲公英的研究多集中于药理活性和化学成分等方面^[3]。刘文毅等^[4]曾对辽宁卷包蒲公英的花粉活力和柱头可授性进行报道,但对蒲公英属植物传粉生态学还未有系统报道,且蒲公英属内存在多种生殖方式的种^[5],不同生殖方式的蒲公英有其独特的传粉机制。本研究通过对3种不同生殖方式蒲公英花粉活力和柱头可授性及表面乳突的测定与观察,以期掌握蒲公英属植物传粉生态学基本规律,为蒲公英育种和人工栽培提供相应理论知识,进一步对蒲公英属植物种质资源评价提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

供试材料为东北蒲公英(*T. ohwianum* Kitag.)、丹东蒲公英(*T. antungense* Kitag.)和蒙古蒲公英(*T. mongolicum* Hand.-Mazz.)。3种蒲公英种质资源于2008年采集于辽宁、吉林等地,栽种于沈阳农业大学东北野菜异位保存资源圃,常规田间试验管理。分类标准依据《中国植物志》,材料经由中国科学院沈阳生态研究所李冀云研究员鉴定,样品标本存于沈阳农业大学标本馆(SYAB),材料来源详见表1。聚乙二醇(PEG-6000)为化学纯。经先期鉴定东北蒲公英繁殖方式为有性生殖,丹东蒲公英为专性无融合生殖,蒙古蒲公英为兼性无融合生殖^[6]。

1.2 方法

1.2.1 花粉萌发力测定 参照赵宏波等^[7]对菊科植物花粉活力测定方法,在蒲公英初花期到花落期,

收集不同发育时期花粉进行离体培养。培养基为PEG+ME3+不同浓度的蔗糖。重复3次,观察并记录统计结果。

1.2.2 柱头可授性测定 在3种蒲公英开花前、开花初期以及开花2 d后中午11:00进行取样,并将其浸入含有联苯胺-过氧化氢^[8]的反应液中,用具凹槽的载玻片制片,10~20 min后观察其柱头可授性。

1.2.3 柱头扫描电镜观察 取3种蒲公英开花前期、开花初期以及盛花期雌蕊,用戊二醛固定液固定,用乙醇和乙酸异戊酯不同浓度溶液系列脱水,CO₂临界点干燥,粘台,喷金镀膜后,在KYKY 1000B扫描电镜下对柱头形态进行观察照相。

2 结果与分析

2.1 花粉萌发率

将柱头形态变化过程分为棒状、小Y状、大Y状以及羊角状。不同种的蒲公英萌发率存在差异,同种不同发育阶段也存在差异(表2)。有性生殖的东北蒲公英萌发率最高为67.3%(小Y状时期),专性无融合生殖的丹东蒲公英为19.8%(大Y状时期),兼性无融合生殖的蒙古蒲公英为23.3%(棒状时期)。羊角状时期3种蒲公英的花粉萌发率都下降到12%以下,其中蒙古蒲公英最低。所有蒲公英花粉活力随着开花时间延长而变弱。

2.2 柱头可授性

蒲公英在开花初期至盛花期间柱头可授性明显增加(表3),随后柱头乳突细胞分泌过氧化物酶等角质酶降低,可授性下降,因此蒲公英最佳授粉时期为柱头呈Y型时期。其中,有性生殖的东北蒲公英柱头可授性极强,试验中产生大量气泡,即使柱头处在小Y状或羊角状时,具有可授性的柱头的比例也很高;兼性无融合生殖的蒙古蒲公英柱头试验中

表1 材料来源

Table 1 The origin of material

种 Species	来源 Origin	采集人 Collector	凭证标本 Voucher
东北蒲公英 <i>T. ohwianum</i> Kitag.	辽宁省丹东市 Dandong, Liaoning Province	张波 ZHANG Bo	023(SYAB)
丹东蒲公英 <i>T. antungense</i> Kitag.	辽宁省丹东市 Dandong, Liaoning Province	赵鑫 ZHAO Xin	011(SYAB)
蒙古蒲公英 <i>T. mongolicum</i> Hand.-Mazz.	辽宁省朝阳市 Chaoyang, Liaoning Province	赵鑫 ZHAO Xin	026(SYAB)

表 2 3 种蒲公英不同开花阶段花粉萌发率

Table 2 Pollen germination rate on different periods of stigma of *Taraxacum*/%

种 Species	棒状 Stick type stigma	小 Y 状 Small Y-type stigma	大 Y 状 Big Y-type stigma	羊角状 Curved type stigma
东北蒲公英 <i>T. ohwianum</i> Kitam.	43.5	67.3	57.8	10.5
丹东蒲公英 <i>T. antungense</i> Kitag.	10.2	15.0	19.8	8.5
蒙古蒲公英 <i>T. mongolicum</i> Hand. -Mazz.	23.3	16.5	11.6	7.8

表 3 不同种蒲公英在不同开花时期可授性检测结果

Table 3 The result of stigmatic receptivity at different flowering stages of *Taraxacum*(n=50)

柱头发育时期 The development period of stigma	东北蒲公英 <i>T. ohwianum</i> Kitag.		丹东蒲公英 <i>T. antungense</i> Kitag.		蒙古蒲公英 <i>T. mongolicum</i> Hand. -Mazz.	
	柱头可授性 Receptivity of stigma	可授性柱头占 样本柱头的比率 The rate of stigmatic receptivity in samples/%	柱头可授性 Receptivity of stigma	可授性柱头占 样本柱头的比率 The rate of stigmatic receptivity in samples/%	柱头可授性 Receptivity of stigma	可授性柱头占 样本柱头的比率 The rate of stigmatic receptivity in samples/%
棒状 Stick type stigma	—	0	—	0	—	0
小 Y 型 Small Y-type stigma	+/++	95.3	+	14.7	+	70.0
大 Y 型 Big Y-type stigma	++	98.7	+	21.3	+	84.0
羊角状 Curved type stigma	+/++	88.0	+	13.3	+	81.3

注:—,表示柱头不具可授性;+,表示柱头具有可授性;++,表示柱头具强可授性。
Note:— means stigma has no receptivity;+ means stigma has receptivity;++ means stigma has strong receptivity.

仅能产生少量气泡;专性无融合生殖的丹东蒲公英更为稀少,只有零星的气泡产生。从柱头可授性的比例来看,蒙古蒲公英、丹东蒲公英较东北蒲公英有明显差距,其中丹东蒲公英具有可授性的柱头所占测试柱头的比例最少,最高仅为 21.3%。

2.3 柱头形态

蒲公英柱头在开花前期形成棒状,并且尖端向内紧扣,花柱表面柱毛较长(图版 I,1)。开花初期,2 个细长的花柱逐渐分开,但顶端依旧向内扣,形成 Y 状。此时花柱突破聚合花药,下表面花柱毛将花药带出,明显可以看到大量花药,且中后部多于前端(图版 I,2)。盛花期之后,柱头尖端向外翻卷,形成大 Y 状,柱头表面携带花粉量减少(图版 I,3)。蒲公英柱头这种张开形式可使柱头表面持续产生对花粉的捕捉能力,有利于最大限度接受花粉。蒲公英饱满乳突成细长型,着生于乳突座上(图版 I,4)。在开花初期,尖端乳突开始变得饱满圆润,中部乳突依然细长(图版 I,4、1、5),之后随着开花的进行,中后部乳突也开始变得饱满。

乳突的形态和特征因种而异。在盛花期(可授性最强时),有性生殖的东北蒲公英柱头顶端和中部乳突饱满,排列紧密(图版 I,4、1、5);专性无融合生殖的丹东蒲公英尖端和中端乳突干枯,稀少,如纸状(图版 I,6、1、7);兼性无融合生殖的蒙古蒲公英尖

端乳突较东北蒲公英少且细,少干枯(图版 I,8),中端干枯状乳突增多,并且更细长,与丹东蒲公英类似(图版 I,9)。

3 讨 论

3.1 蒲公英具有雌雄异熟和雌雄异位特征

花器官通过多种性状的演化来避免自交,最常见的形式为雌雄功能时空分离,即雌雄异熟和雌雄异位^[9]。花粉活力和柱头可授性试验表明,蒲公英属于半同步雌雄异熟。蒲公英花粉活力和柱头可授性有部分重叠,雄性器官(花粉)率先成熟,并且在 Y 状时期活力最高,之后迅速丧失活力,而雌性器官(柱头)在 Y 状-羊角状时期一直保持一定可授性。这种生长方式可以一定程度避免自花授粉,但是无法消除同株异花授粉,这与 *Chamerion angustifolium* 等植物的表现形式一致。同时电镜和田间观察中发现,蒲公英柱头突破药室后成熟,即形成 Y 状时期前期,柱头高于花药,出现空间上的分离,大大降低自交不亲和性,属探出式雌性异位。半同步雌雄异熟和探出式雌性异位的生长方式也证明,蒲公英生长过程中尽力避免雌性功能和雄性功能之间互相的干扰^[10],该种繁殖特性在蒲公英中较为普遍。

3.2 蒲公英柱头为较原始类型

Heslop-Harrison 等^[11]根据 250 科 1 000 多种

被子植物柱头表面特征,将所有植物柱头分为干柱头和湿柱头。其中干柱头又分为单细胞乳突型和多细胞乳突型,单细胞乳突型的每个乳突由单个细胞组成。相对于多细胞乳突细胞功能之间出现分化和分工,单细胞乳突功能单一,另外从性状角度来说,单细胞乳突型柱头类群的其他性状也相对比较原始^[12],因此单细胞乳突的蒲公英进化阶段原始。李平等^[13]认为,除了同科内植物可以有不同类型的柱头和乳突,同属内不同类型柱头和乳突也是存在的,如槲木属(*Cornus*)、刺花丹属(*Acantholimon*)和海石竹属(*Armeria*),本试验 3 种生殖方式蒲公英柱头和乳突类型一致,但试验结果与前人不一致,同时也证明蒲公英属内柱头并未分化其他类型,均为原始类型。另外柱头乳突细胞自上而下发育为渐次发育,授粉面积逐渐增大,有利于捕捉更多的花粉,大大增加授粉能力,这与万寿菊柱头乳突发育较一致^[14]。

3.3 蒲公英生殖进化选择

在蒲公英长期生殖生长过程中,其自身能量和资源分配产生自己独特的特点:相对于拥有无融合生殖能力的蒲公英,有性生殖蒲公英在生殖发育时

能量和营养集中投入到性器官的发育,增加传递效率,如本试验东北蒲公英乳突更加饱满,花粉活力和可授性更高。无融合的蒲公英不需要减数分裂,直接形成种子,所以拥有无融合生殖能力的蒲公英种可能减少了能量向性器官的运输量,多供于无融合生殖。本试验中丹东蒲公英乳突干瘪、花粉活力低下,这一现象也证明了其有性生殖能力有逐渐退化的趋势,长期进化中能量再分配,这与 Maynard-Smith 和 Van der Hulst 的植物性进化过程中减少冗余信息发送,从而降低无用的物质和能量的支出观点基本一致^[15-16]。丹东蒲公英单个头状花序不同处理下结实率均在 96% 以上,东北蒲公英最高仅为 77%,差异显著,相同条件下丹东蒲公英比东北蒲公英多产生 24% 的种子^[17]。该结果与 Meirmans 等^[18]证实在欧洲专性无融合生殖的蒲公英比相同条件下有性生殖蒲公英多产生 38% 的种子结论基本一致,说明无融合生殖具有更高的资源利用效率,并且 Meirmans 猜测理论上无融合生殖植物最终可以进化为雄性不育植物。因此想要全面揭示多种生殖方式的蒲公英属植物传粉生态学,还需进一步研究。

参考文献:

- [1] GONG ZH N(龚祝南),ZHANG W M(张卫明),LIU CH H(刘常宏),*et al.* The resources of *Taraxacum* in China[J]. *Chinese Wild Plant Resources*(中国野生植物资源),2001,**20**(3):9—14(in Chinese).
- [2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典(一部)[M]. 北京:中国医药科技出版社出版,2005:244.
- [3] ZHU D(朱 丹),ZHAO X(赵 鑫),XU Q(徐 俏),*et al.* Study on HPLC fingerprint of *Taraxacum* species in northeast of China[J]. *China Journal of Chinese Materia Medica*(中国中药杂志),2011,**36**(7):899—902(in Chinese).
- [4] LIU W Y(刘文毅),ZHAO X(赵 鑫),ZHANG B(张 波),*et al.* Studies on pollen viability, stigma receptivity of *Taraxacum*[J]. *Seed*(种子),2010,**29**(4):27—29(in Chinese).
- [5] WHITTON J,SEARS C J,BAACK E J,*et al.* The dynamic nature of apomixis in the angiosperms[J]. *International Journal of Plant Sciences*,2008,169:169—182.
- [6] 吴志刚. 蒲公英遗传多样性与无融合生殖机理研究 [D]. 沈阳:沈阳农业大学,2013.
- [7] ZHAO H B(赵宏波),CHEN F D(陈发棣),FANG W M(房伟民). Detection methods of pollen viability of *Dendranthema*[J]. *Journal of Zhejiang Forestry College*(浙江林学院学报),2006,**23**(4):406—409(in Chinese).
- [8] LIU L D(刘林德),ZHANG H J(张洪军). Pollen viability and stigma receptivity of *Eleutherococcus senticosus* (Aralia Eae)[J]. *Bulletin of Botanical Research*(植物研究),2001,**21**(3):375—379(in Chinese).
- [9] BAI W N(白伟宁),ZHANG D Y(张大勇). Sexual interference in cosexual plants and its evolutionary implications[J]. *Acta Phytocologica Sinica*(植物生态学报),2005,**29**(4):672—679(in Chinese).
- [10] BARRETT S. Sexual interference of the floral kind[J]. *Heredity*,2002,**88**(2):154—159.
- [11] HESLOP-HARRISON Y,SHIVANNA K. The receptive surface of the angiosperm stigma[J]. *Annals of Botany*,1977,**41**(6):1 233—1 258.
- [12] ZHOU J L(周建良),YUAN Q(袁 琼),DUAN L D(段林东),*et al.* Stigmatic surface morphology of six generain magnoliaceae from China[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报),2011,**31**(7):1 310—1 317(in Chinese).
- [13] LI P(李 平),YU X Y(余象煜). Developmental anatomy and histochemistry of style and stigma in *cornus officinalis*[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*(武汉植物学研究),1991,**9**(3):219—223(in Chinese).

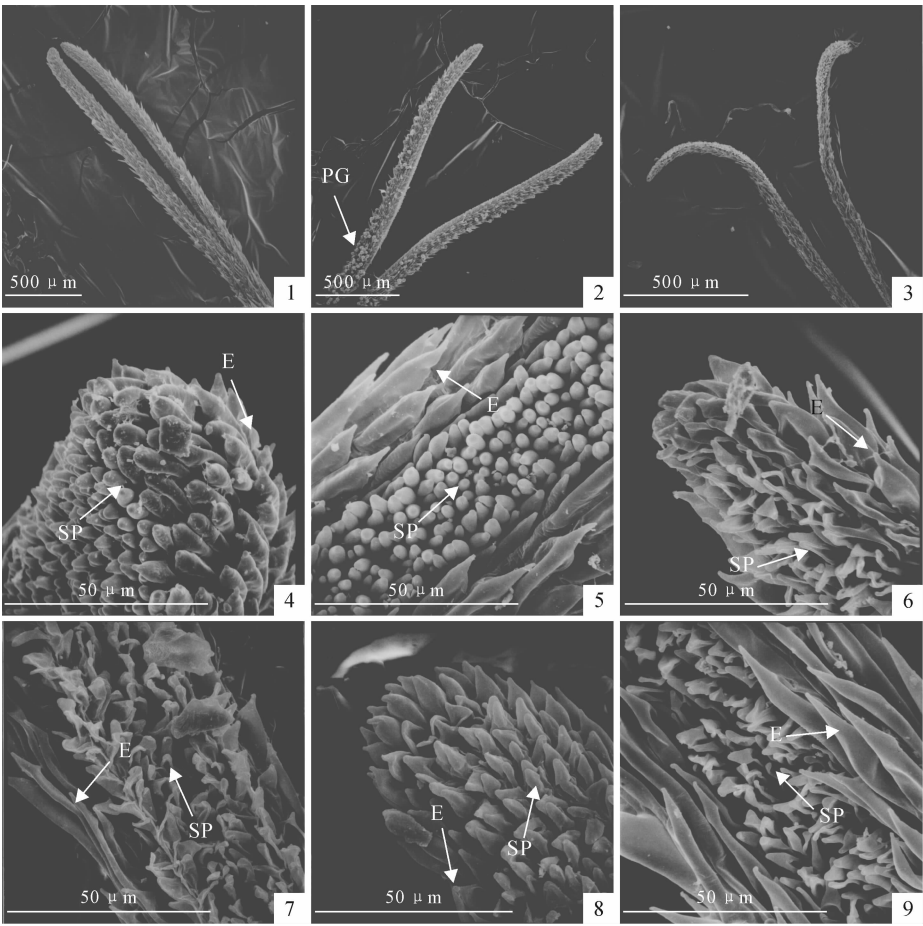
[14] ZENG L(曾 丽), ZHAO L J(赵梁军), ZHANG H L(张华丽), *et al.* Observation of floral organogenesis and development of *Tagetes erecta* L. [J]. *Acta Horticulture Sinica* (园艺学报), 2010, **37**(5): 785—793(in Chinese).

[15] MAYNARD-SMITH J. The Evolution of Sex[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1979.

[16] VAN DER HULST R, MES T, FALQUE M, *et al.* Genetic structure of a population sample of apomictic dandelions[J]. *Heredity*, 2003, **90**(4): 326—335.

[17] 张 建. 蒲公英属植物繁殖生物学研究 [D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2013.

[18] MEIRMANS P, DEN NIJS H J C, VAN TIENDEREN P. Male sterility in triploid dandelions; asexual females vs asexual hermaphrodites [J]. *Heredity*, 2006, **96**(1): 45—52.



图版 I 蒲公英柱头扫描电镜图片

PG. 花粉; SP. 乳突细胞; E. 花柱毛

1. 东北蒲公英棒状柱头, $\times 50$; 2. 东北蒲公英 Y 状柱头, $\times 50$; 3. 东北蒲公英羊角状柱头, $\times 50$; 4. 东北蒲公英 Y 状柱头尖端, $\times 960$; 5. 东北蒲公英 Y 状柱头中部, $\times 960$; 6. 丹东蒲公英 Y 状柱头尖端, $\times 950$; 7. 丹东蒲公英 Y 状柱头中部, $\times 950$; 8. 蒙古蒲公英 Y 状柱头尖端, $\times 950$; 9. 蒙古蒲公英 Y 状柱头中部, $\times 950$ 。

Plate I SEM photograph of stigma of *Taraxacum*

PG. Pollen; SP. Papilla; E. Echino-style

Fig. 1. Stick type stigma of *T. ohrwianum* Kitag. , $\times 50$; Fig. 2. Y-type stigma of *T. ohrwianum* Kitag. , $\times 50$; Fig. 3. Curved type stigma of *T. ohrwianum* Kitag. , $\times 50$; Fig. 4. The top of Y-type stigma of *T. ohrwianum* Kitag. , $\times 960$; Fig. 5. The middle of Y-type stigma of *T. ohrwianum* Kitag. , $\times 960$; Fig. 6. The top of Y-type stigma of *T. antungense* Kitag. , $\times 950$; Fig. 7. The middle of Y-type stigma of *T. antungense* Kitag. , $\times 950$; Fig. 8. The top of Y-type stigma of *T. mongolicum* Hand. -Mazz. , $\times 950$; Fig. 9. The middle of Y-type stigma of *T. mongolicum* Hand. -Mazz. , $\times 950$ 。