

贡嘎山高低海拔上优势杨柳科植物性别比例与繁殖特性*

樊艳欣^{1,2} 姜永雷^{1,2} 陈珂³ 类延宝^{1**}

¹中国科学院水利部成都山地灾害与环境研究所 成都 610041

²中国科学院大学 北京 100049

³西南科技大学 绵阳 621010

摘要 雌雄异株植物的性比问题一直是进化生物学的研究热点之一。为揭示杨柳科植物不同性比格局的内在机理,从繁殖投入、种群密度和传粉效率等方面对贡嘎山两个海拔高度(2 000和2 600 m)上冬瓜杨和川滇柳的性别比例与繁殖投入进行对比研究。结果显示:(1)低海拔下冬瓜杨和川滇柳雌雄比(M/F)接近1:1平衡;而在高海拔区域出现性比失衡,即杨树偏雄(M/F = 2.36, $P = 0.008$),而柳树偏雌(M/F = 0.62, $P = 0.033$)。(2)冬瓜杨和川滇柳种群密度随海拔升高均明显下降,但川滇柳密度显著高于冬瓜杨,柱头接收花粉数量亦显著高于冬瓜杨。(3)枝条水平上,杨柳的总繁殖结构生物量(花序干重+种子干重)在两个海拔上都为雌株高于雄株;相对繁殖投入在低海拔时雌株高于雄株,高海拔上冬瓜杨雌株高于雄株,而川滇柳由于叶片的补偿生长,包括更高的叶片生物量投入和光合能力,导致相对繁殖投入雌雄间无显著差异。冬瓜杨雌株繁殖投入显著高于雄株,雌株对高海拔更敏感,因而高海拔时偏雄性。川滇柳的繁殖投入在海拔间无差异,加之传粉效率较高,可能容易产生花粉管竞争,从而偏雌性。本研究发现较之低海拔,贡嘎山上杨柳科植物在高海拔上叶与繁殖结构生物量权衡关系改变容易导致性比失衡,未来需在分子水平上,结合性别决定基因、性染色体和表观遗传学等进一步深入研究。(图2 表2 参36)

关键词 杨柳科; 性别比例; 繁殖投入; 种群密度; 传粉效率

CLC Q949.734 : Q945.79

Sex ratio patterns and reproductive characteristics of Salicaceae species at high and low altitudes on Gongga Mountain*

FAN Yanxin^{1,2}, JIANG Yonglei^{1,2}, CHEN Ke³ & LEI Yanbao^{1**}

¹ Institute of Mountain Hazards and Environment, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

² University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

³ Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China

Abstract The causes and consequences of variation in the sex ratios of organisms with separate sexes remain a central theme in evolutionary biology. The sex ratios of sympatric *Populus* sp. and *Salix* sp. vary according to the altitude and species; 1:1 equilibrium sex ratios are observed at mid-altitudes while the ratios are skewed at high altitudes, with *Populus* sp. having male-biased and *Salix* sp. having female-biased sex ratios. In this study, the reproductive investments, population density, and pollination efficiency of *P. purdomii* and *S. magnifica* were assessed at two different altitudes of 2 000 and 2 600 m on the Gongga Mountain, with the aim to provide new clues on the ecological and evolutionary aspects of the two species. Our results showed that the population densities significantly decreased from 2 000 to 2 600 m, being higher for *S. magnifica* than for *P. purdomii* at both the altitudes. The pollen received by the stigma was also significantly higher in *Salix* sp., due to its high population density, as well as due to the simultaneous pollination by the wind and insects, which may intensify the gametophytic competition to favor selective fertilization by the female-determining pollen tubes. Reproductive investments, including the biomass of the inflorescence and the seeds was higher in the females of *Populus* sp. at both the altitudes, whereas for *Salix* sp., the biomass was higher in the females at low altitudes, and was comparable to those at high altitudes. Under conditions of optimal temperature and precipitation, vigorous plant growth combined with relatively smaller reproductive investments was observed to contribute to the 1:1 equilibrium sex ratio, at an altitude of 2 000 m. At higher altitudes, the balance between the reproductive and vegetative growth was easily affected by more pronounced gender-related differences for

收稿日期 Received: 2017-09-26 接受日期 Accepted: 2017-12-29

*国家自然科学基金项目(31370607)资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (31370607)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: leiya@imde.ac.cn)

reproduction, resulting in biased sex ratios, e.g.: *Populus* sp. exhibited male biasness and *Salix* sp. showed female biasness at high altitudes. Consequently, our results improve our understanding of the causes and consequences of sexual dimorphism in dioecious species. However, more information on the genetic or epigenetic basis of sex determination, including identification of the definite sex chromosomes and sex markers is urgently needed.

Keywords Salicaceae species; sexual dimorphism; reproductive investment; population density; pollination efficiency

在植物界30多万种被子植物中存在6%-10%的雌雄异株植物^[1]。自从达尔文时代,雌雄异株植物的性比问题就令生物学家着迷,同时性比理论也是进化生物学的研究热点之一。Fisher认为性比平衡有助于提高植物有性繁殖的机率,维持种群的遗传多样性,促进种群的天然更新和扩散能力^[2]。自然种群中其雌雄个体的性别比例通常为1:1,但随水分、养分、CO₂浓度、温度、光照和干扰水平等的不同种群呈现偏雌或偏雄现象^[3-4]。如Correia等通过对黄连木(*Pistacia lentiscus*)雌、雄株空间分布的研究^[5]表明,在环境干扰较少的群落中,性别比例偏向雄性,而在弃耕后的农田区域,雌、雄株的数量没有显著差异。Freeman等对犹他州北部5个属的5个雌雄异株植物调查^[6]发现,在干旱的地点,雄性更多,而在湿润的环境中雌株更多。随着海拔的升高,温度、水分和紫外线辐射等众多环境因子对雌雄植物的生理过程、性别比例以及种群密度有着重要的影响。如Li等详细研究了卧龙巴郎山5个海拔梯度上沙棘(*Hippophae rhamnoides*)的性比格局,认为2 800 m是沙棘的最适生长区域,性比接近1:1,而在海拔高于2 800 m区域,可能由于雌株对低温以及由此造成的水分胁迫更敏感,导致沙棘偏雄^[7]。Ortiz等发现欧洲刺柏(*Juniperus communis*)的性别比例随着海拔的升高呈现偏雄的趋势^[8]。王志峰等对河北小五台山青杨(*Populus cathayana*)的分布调查发现,随着海拔的升高,在1 600 m以上,青杨显著偏雄^[9]。Grant和Mitton也发现,在海拔低于2 450 m时,美国科罗拉多州颤杨(*P. tremuloides*)的雌雄比值为1.27,而在海拔2 900 m以上则只有0.56^[10]。与杨树的雌雄性比变化不同,日本北海道地区的3个龙江柳(*Salix sachalinensis*)种群^[11]和加拿大11个峡谷中的5种柳属植物^[12]都表现出雌雄比例为1:2的偏雌现象。在海拔1 700、2 000、2 300和2 600 m,我们前期的野外调查发现,在2 000和2 300 m,冬瓜杨(*P. purdomii*)和川滇柳(*S. magnifica*)性比均接近1:1;而在1 700 m,冬瓜杨显著偏雄,川滇柳仍接近平衡;在高海拔2 600 m,均出现性比失衡,且呈现不同格局,即冬瓜杨偏雄,川滇柳偏雌。然而,以上调查研究集中在植物单一雌雄群体随海拔梯度的分布特征,而缺乏对亲缘关系较近的杨柳科植物的对比研究,即为什么杨柳科植物在中低海拔的适生区性比接近1:1平衡,而在高海拔分布上限区域出现性比失衡?性比失衡时亲缘关系较近的杨柳科植物为什么会呈现不同格局,即杨树偏雄和柳树偏雌?

近年来的许多研究表明,不同海拔种群间的繁殖对策和繁殖成效均存在显著差异,如在高海拔地区,植物个体更小,繁殖分配相对投入反而更大^[13]。Guo等研究了海拔对马先蒿属(*Pedicularis*) 24个物种的44个种群间生殖与营养生

长间分配关系的影响,发现将个体大小作为协变量,去除其影响,海拔与繁殖分配仍成正相关关系,表明海拔作为外界因子对繁殖分配有显著的影响,这种影响不依赖于植物的内部因素(如个体大小的差异)^[14]。而且也发现,高海拔地区植物的建成成本更高,可能与低温胁迫植物贮存热值较高的物质,如脂类化合物有关^[15]。那么在环境恶劣的条件下,如高海拔地区,繁殖投入会更多,无论在量上(相对高的生物量投入),还是质上(更高的能量建成成本),例如,Lei等研究发现杨柳种子的繁殖绝对投入量在高低海拔上都表现为雌株更高,此外,相对投入量(用碳、氮、磷和建成成本表示)则表现出冬瓜杨在高低海拔中都是雌株高于雄株,而川滇柳表现出复杂的格局,2 000 m时雌株高于雄株,2 600 m时生物量、碳和氮雌雄之间无差异。因此繁殖对植物生长的影响会更大,植物性别间的差异将会变得更明显,进而改变营养生长和繁殖生长之间的权衡关系,造成性比失衡^[16]。另外,有研究表明传粉环境能造成种子性比失衡,从而强烈影响植物的性比,如花粉管竞争假说(Certation hypothesis),认为当花粉浓度增大时,花粉管之间会为争夺柱头,为减少花粉管之间的竞争强度,选择偏雌的性比更为有利^[17]。与杨树相比,柳树是小乔木或是灌木,树木之间距离更近,加之柳树既能虫媒又能风媒传粉,效率较单纯营风媒花的杨树要高^[18],因此我们假设柳树更容易因花粉管竞争而偏雌性。

杨柳科植物是我国常用的造林树种,具有适应性强、繁殖容易、生长迅速和用途广等特性,因而被广泛用于生态治理、环境改良以及木材加工等方面,具有较高的生态和经济价值,而川西高原也是许多杨柳科植物的分化中心。贡嘎山地区杨柳科优势植物分别为冬瓜杨和川滇柳,冬瓜杨的分布海拔为700-2 800 m,川滇柳则为1 400-3 500 m。控制实验表明,营养生长并不能完全解释性比失衡格局^[16]。因此,我们以贡嘎山同域分布的冬瓜杨和川滇柳天然种群为对象,选择高(2 600 m)、低(2 000 m)两个海拔,从雌雄植株繁殖投入、种群密度和传粉效率等方面开展研究,以揭示杨柳科植物呈现不同性比格局的内在机理。研究结果可以为探讨植物生长、繁殖和性比的相互关系提供借鉴,为预测未来种群结构动态变化提供参考。

1 材料与方法

1.1 研究区域概况

研究区域位于青藏高原东缘的贡嘎山,主峰最高海拔7 556 m,分布范围为东经101°3'50"-102°05'49",北纬29°33'12"-29°36'30"。受亚热带季风和高山气候的影响,垂直

气候明显、气候差异大。在贡嘎山东坡,平均温度递减率为 $0.67\text{ }^{\circ}\text{C}/100\text{ m}$,而年降水梯度增加值为 $67.5\text{ mm}/100\text{ m}$ 。河谷低地处于邛崃山脉的雨影区,气候干暖;随海拔高度增加,气温逐渐降低,地形增雨效应增强,降雨量逐渐升高,从而形成了“下暖干-上凉湿”的气候梯度。从大渡河河谷至海拔 $4\,900\text{ m}$,自然垂直带谱依次为山地亚热带常绿阔叶带[海拔 $1\,000\text{--}2\,200\text{ m}$,包括以下的半干旱河谷灌草丛($<1\,500\text{ m}$)、常绿阔叶林、山地落叶阔叶混交林3个亚带],山地暖温带针阔混交林带(海拔 $2\,200\text{--}2\,800\text{ m}$),山地寒温带暗针叶林带(海拔 $2\,800\text{--}3\,600\text{ m}$),亚高山亚寒带灌丛草甸带(海拔 $3\,600\text{--}4\,200\text{ m}$),高山寒带草甸带(海拔 $4\,200\text{--}4\,600\text{ m}$),高山寒带疏草寒漠带(海拔 $4\,600\text{--}4\,800\text{ m}$)和极高山冰雪带(海拔 $>4\,900\text{ m}$)^[19],相应的土壤养分含量也随海拔梯度而变化^[20-22]。

1.2 样地设置与调查

以冬瓜杨和川滇柳同域分布的两个海拔高度($2\,000$ 和 $2\,600\text{ m}$)为研究区域,分别在每个海拔处选择5个典型的 $20\text{ m}\times 20\text{ m}$ 的调查样方,标记每个样方内所有的冬瓜杨与川滇柳,并记录两种树木的数量、胸径和株高等信息。在花期,利用望远镜观察柔荑花序的不同来区分雌雄植株,调查性别比例。

1.3 植株传粉效率的测定

参考徐庆等的方法^[23],每个海拔上至少取30个冬瓜杨与川滇柳的雌蕊柱头,将柱头置于FAA溶液中固定带回实验室,然后用 8 mol/L 的NaOH溶液软化 24 h 后,用 0.01% 的水溶性苯胺蓝染色,后用玻璃棒蘸取少量花粉悬浮液滴于载玻片上,加甘油染液封片,在 100 倍的显微镜下计数,至少取3个视野($n\geq 3$),比较杨柳科植物在不同海拔上的传粉效率差异。

1.4 繁殖投入的测定

由于不同年龄阶段的杨柳植物存在极大变异性,并且获取整株繁殖结构不具操作性,因此我们参考Petzold等对胡杨(*P. euphratica*)^[24]和Che-Castaldo等对北美洲*S. sitchensis*^[25]雌雄植株的繁殖投入研究方法,进行枝条水平上的繁殖投入研究^[24-25]。在 2015 年 4 月 20 日雄性花枝开始散粉前,每个海拔高度上选择胸径大小一致的健康雌雄冬瓜杨和川滇柳各 10 株。选择直径约 2 cm 的雌雄冬瓜杨和川滇柳枝条分别收集雌雄花序并做好标记;并在 5 月份种子成熟时,收集与原标记枝条所对称枝条上的所有种子。带回实验室放到烘箱中 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烘 24 h ,测定其干重。雄性繁殖成本为花期成本,而雌性包括花期和果期两个时期的成本之和,根据Obeso^[26]和Ishida等^[27]的计算方法来计算相对繁殖投入:

$$\text{雄性繁殖投入} = \text{花序干重} \div (\text{花序干重} + \text{叶片干重}) \times 100\%;$$

$$\text{雌性繁殖投入} = (\text{花序干重} + \text{种子重量}) \div (\text{花序干重} + \text{种子重量} + \text{叶片干重}) \times 100\%.$$

1.5 数据分析

数据分别采用SPSS 18.0和Origin 8.0进行统计分析和制图。且单个样方内样本数大于 5 时,用Person卡方检验确定性比偏离 $1:1$ 零假设的显著性程度,单个样本数小于或等于 5 时,用Fisher's检验性比偏离零假设的显著性程度。分别采用单因素和多因素方差分析对不同海拔上雌雄冬瓜杨和川滇柳性

别比例和繁殖投入的差异进行分析。

2 结果与分析

2.1 冬瓜杨和川滇柳的性别比例、种群密度和传粉效率与海拔的关系

在高低海拔上冬瓜杨和川滇柳呈现不同的性比变化格局。在 $2\,000\text{ m}$ 处冬瓜杨和川滇柳性比接近 $1:1$ 平衡,而在海拔 $2\,600\text{ m}$ 处表现出性比失衡现象,且冬瓜杨显著偏雄($M/F = 2.36, P = 0.008$),而川滇柳显著偏雌($M/F = 0.62, P = 0.033$) (图1A)。此外,冬瓜杨和川滇柳群体(包括雌雄)的密度在海拔梯度间具有显著差异。在低海拔处,其种群密度显著高于高海拔;且川滇柳种群密度在高、低海拔上都显著高于相应的冬瓜杨群体(图1B)。在高、低两个海拔上,川滇柳的传粉效率(柱头接收花粉数目)都显著高于冬瓜杨,且两者的传粉效率在海拔之间差异显著,都表现为低海拔处的传粉效率显著高于高海拔(图1C)。另外,在整个海拔梯度上,川滇柳和冬瓜杨种群密度与传粉效率呈显著正相关关系(图1D)。

2.2 冬瓜杨和川滇柳雌雄植株的繁殖投入与海拔的关系

冬瓜杨和川滇柳雌雄植株的繁殖投入表现出不同的变化特征,包括繁殖结构生物量(绝对投入)以及其与叶片营养结构的比例(相对投入)(表1、图2)。无论是在低海拔还是在高海拔,川滇柳和冬瓜杨雌雄之间花序生物量都无显著差异(图2A);川滇柳种子质量高于冬瓜杨(图2B);无论在低海拔还是在高海拔区域,杨柳总繁殖结构生物量(花序与种子之和)都表现出雌株显著高于雄株(图2C)。性别因子显著影响杨柳群体的总繁殖结构生物量和叶片生物量;海拔仅显著影响杨柳群体的叶片生物量和繁殖投入,而性别和海拔的交互作用对杨柳雌雄群体影响不显著。物种和海拔的交互以及性别和物种的交互作用显著影响杨柳雌雄群体的总繁殖结构生物量、叶片生物量和繁殖投入。这种不同的响应模式导致了显著的性别 $\times$ 海拔 $\times$ 物种交互效应(表1)。

相对繁殖投入表现为川滇柳显著高于冬瓜杨,性别间比较则表现出与物种和海拔的交互效应,即冬瓜杨无论高低海拔都是雌株高于雄株,而川滇柳在 $2\,000\text{ m}$ 雌株高于雄株, $2\,600\text{ m}$ 无显著差异。叶生物量与总繁殖结构生物量的相关分析表明,杨柳科植物在低海拔存在明显的权衡关系($R^2 = 0.22, P = 0.002$),而在高海拔这种关系则被改变,容易导致性比失衡(图2F)。

3 讨论与结论

3.1 海拔对冬瓜杨和川滇柳性比特征和传粉效率的影响

随着海拔高度的升高,植物生长的微环境发生变化,导致不同海拔种群间的适应对策不同,即使亲缘关系较近的植物其适应策略也不尽相同。植物群体在适合自身生长的环境中表现出优越的生长和繁殖状态,Li等对沙棘的研究发现,在最优的生长环境中其雌性比接近 $1:1$ ^[7]。在本研究中,不同海拔下冬瓜杨和川滇柳雌性群体对海拔的响应显著

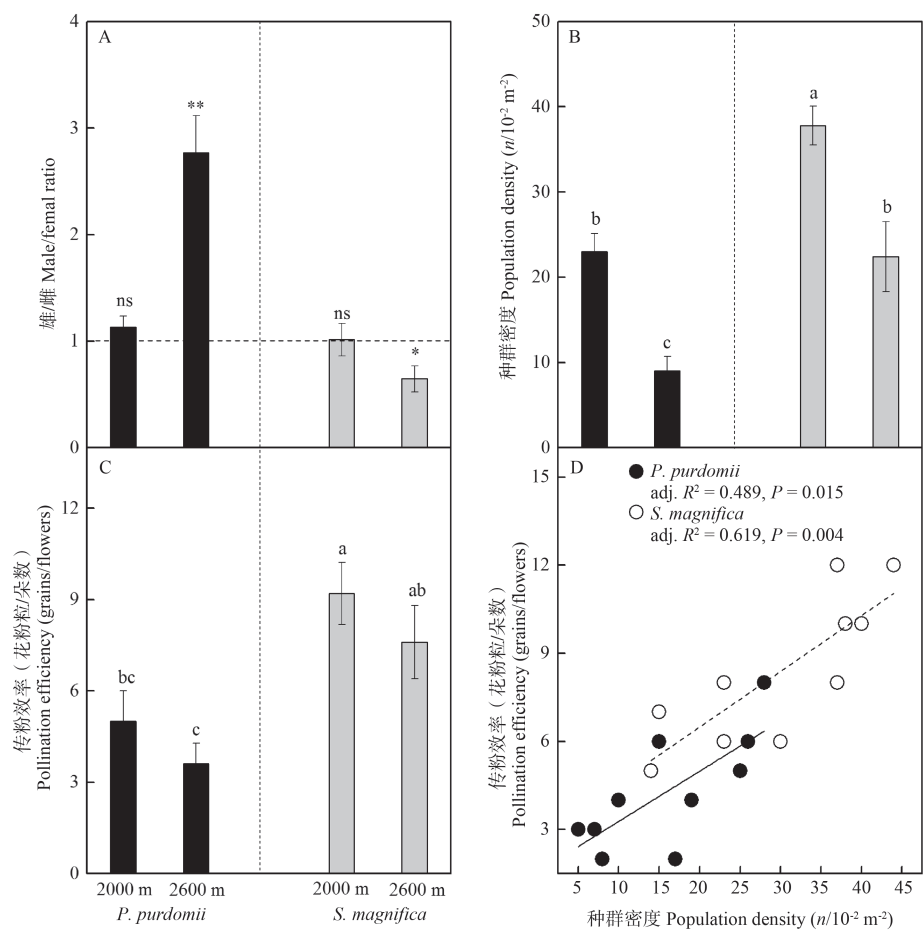


图1 冬瓜杨和川滇柳在贡嘎山高低海拔上性别比例 (A)、种群密度 (B) 和传粉效率 (C) 比较以及种群密度与传粉效率之间的相互关系 (D)。用 Person 卡方检验确定性比偏离1:1零假设的显著性程度, 对种群密度和传粉效率, 不同字母代表单因素方差分析存在显著差异 ($P < 0.05$)。 Fig. 1 Male/female ratio (A), population density (B), pollination efficiency (C), and correlation between population density and pollination efficiency (D) for *Populus purdomii* and *Salix magnifica* at 2 000 m and 2 600 m on Gongga Mountain. Chi-square tests were used to estimate significant departures from the 1:1 sex ratio equilibrium. For population density and pollination efficiency, different letters represent significant differences ($P < 0.05$) according to one-way ANOVA.

表1 冬瓜杨和川滇柳在贡嘎山高低海拔上营养生长和繁殖投入的三因素方差分析 Table 1 Three-way ANOVAs conducted to evaluate the effects of sex, altitude, and species on vegetative propagation and sexual reproduction investment for *Populus purdomii* and *Salix magnifica* at 2 000 m and 2 600 m on the Gongga Mountain

因子 Factor	花序质量 Inflorescence mass (m/g)	种子质量 Seed mass (m/g)	总繁殖结构生物量 Total reproductive mass (m/g)	叶片生物量 Leaf mass (m/g)	繁殖投入 Reproductive investment (P/%)
模型 r^2 Model r^2	0.690	0.549	0.754	0.832	0.864
性别 Sex	0.083	-	< 0.001	< 0.001	0.350
海拔 Altitude	0.650	0.256	0.445	< 0.001	< 0.001
物种 Species	< 0.001	0.004	< 0.001	< 0.001	< 0.001
性别×海拔 Sex × altitude	0.802	-	0.562	0.594	0.291
物种×海拔 Species × altitude	0.921	0.063	0.029	0.015	< 0.001
性别×物种 Sex × species	0.073	-	0.029	0.015	< 0.001
性别×海拔×物种 Sex × altitude × species	0.850	-	0.692	0.001	0.155

粗体表示显著性为 $P < 0.05$ 。
Significant effects ($P < 0.05$) are shown in bold.

不同, 冬瓜杨和川滇柳性比在海拔2 000 m处接近1:1平衡, 而在高海拔区域出现性比失衡, 即冬瓜杨偏雄 ($M/F = 2.36$, $P = 0.008$), 而川滇柳偏雌 ($M/F = 0.62$, $P = 0.033$) (图1A), 这种现象说明, 不同物种对同一海拔相似环境压力有不同的适应策略, 推测海拔在2 000m区域, 适宜的水分和温度相耦合, 是杨柳群体生长的适宜生境。类似地, 李嘉竹等在贡嘎

山东坡发现, 426个 C_3 植物的 $\delta^{13}C$ 值与海拔的关系表现为二次曲线型, 拐点出现在2 000 m^[28]。进一步证实了与高海拔相比, 水分在海拔2 000 m处比较适宜。在2 000 m处, 杨柳植物营养生长较高, 绝对繁殖投入和相对繁殖投入较低。在高海拔处冬瓜杨表现出偏雄, 这一结果与前人的在低海拔处雌株适合进行繁殖生长, 而在高海拔处雄株较多的进行营养生

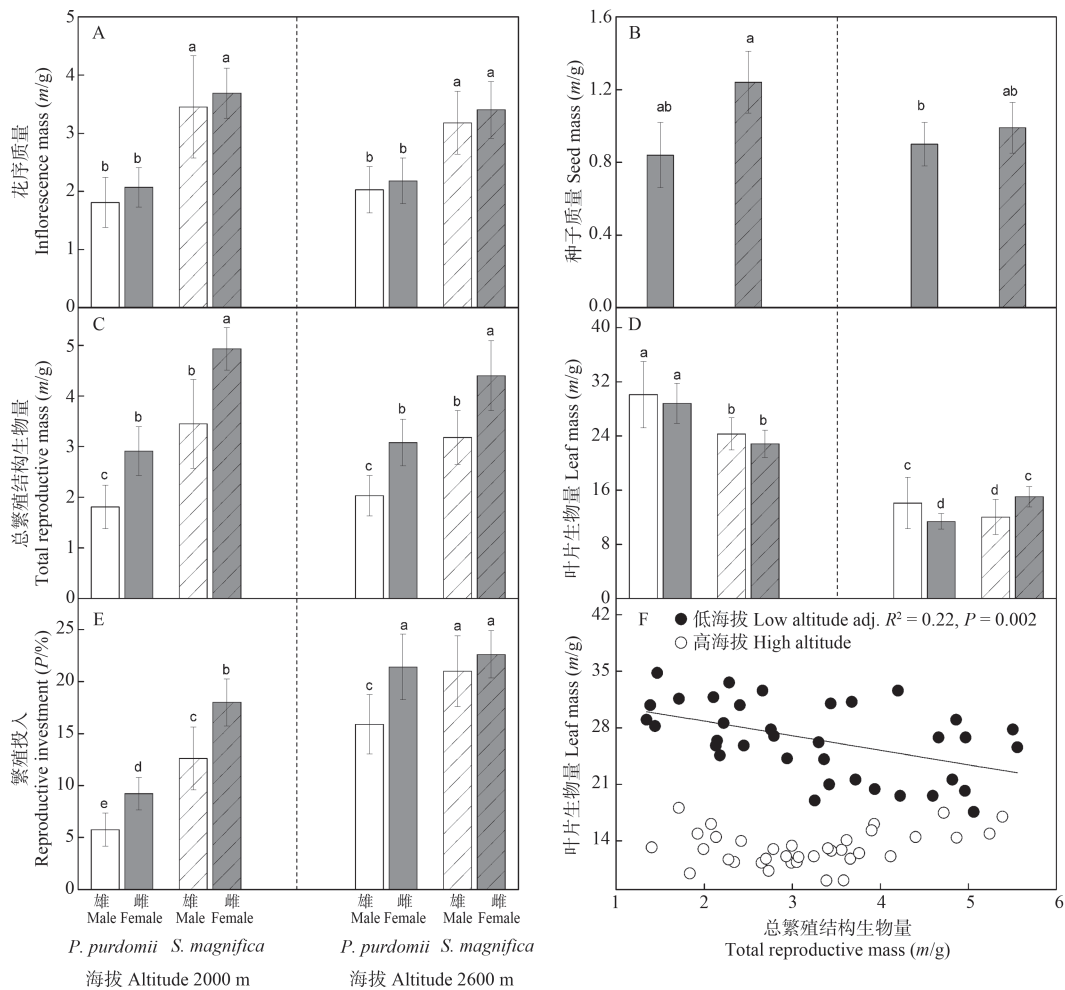


图2 冬瓜杨和川滇柳在贡嘎山高低海拔枝条水平上(直径约2 cm)的花序(A)、种子(B)、总繁殖结构生物量(C)、叶片生物量(D)和繁殖投入(E)对比以及叶生物量与繁殖结构生物量之间相关性(F)。不同字母代表单因素方差分析存在显著差异($P < 0.05$)。

Fig. 2 Inflorescence (A), seed (B), total reproductive (C), leaf dry mass (D) per branch, reproductive investment (E), and correlations between vegetative and reproductive growth (F) in *Populus purdomii* and *Salix magnifica* at 2 000 m and 2 600 m on the Gongga Mountain. Branches with a diameter of approximate 2 cm were sampled. Different letters represent significant differences ($P < 0.05$) according to one-way ANOVAs.

表2 代表性雌雄异株植物性别比情况随生活型、传粉和种子散布方式的变化^[29-30]

Table 2 Sex ratio status changes with growth form, pollen, and seed dispersal agents in representative 250 dioecious species^[29-30]

生活型 Growth form	授粉方式 Pollen dispersal agent	种子散布方式 Seed dispersal agent	偏雄性 Male biased	偏雌性 Female biased	没有偏倚 Equilibrium sex ratio
乔木 (53%为雄) Tree (53% were male)	昆虫 Insect	生物 Biotic	81%	17%	2%
	昆虫 Insect	非生物 Abiotic	47%	53%	0%
	风 Wind	生物 Biotic	47%	40%	13%
灌木 (48%为雄) Shrub (48% were male)	昆虫 Insect	生物 Biotic	51%	41%	7%
	昆虫 Insect	非生物 Abiotic	69%	31%	0%
	风 Wind	生物 Biotic	65%	23%	12%
藤本 Vine	昆虫 Insect	非生物 Abiotic	39%	61%	0%
	昆虫 Insect	生物 Biotic	93%	0%	7%
草本 (51%为雄) Grass (51% were male)	昆虫 Insect	生物 Biotic	31%	54%	15%
	昆虫 Insect	非生物 Abiotic	58%	25%	17%
	风 Wind	非生物 Abiotic	33%	33%	33%

长的结论^[9-10]相符合。

高海拔处川滇柳雌雄的性比失衡现象较难解释,推测可能与花粉管的竞争有关^[17]。传粉环境和种子散布方式能造成种子性比失衡,从而强烈影响植物的性比(表2)。冬瓜杨多为高大乔木,种群密度较低,雌雄植株配置较远,且只能

进行风媒传粉,传粉效率较低,不易引起花粉管的竞争(图1B)。相反,川滇柳是小乔木或灌木,种群密度较高,林木之间距离较近,并且既能虫媒又能进行风媒传粉,所以传粉效率较单纯营风媒花的杨树高^[18]。川滇柳内花粉浓度较高,花粉管之间会争夺柱头,为减少花粉管之间的竞争强度,选

择偏雌的性比更为有利^[7, 9]。这也与Field等^[29]和Sinclair等^[30]总结的昆虫传粉和非生物种子散布容易造成乔木偏雌相吻合。我们的野外观察实验也发现川滇柳的主要传粉昆虫有厕蝇 (*Fannia* sp.)、蚂蚁 (*Monomorium* sp.) 和熊蜂 (*Bombus* sp.) 等, 且在高海拔的高山灌丛和草地区访花频率更高, 更有利于川滇柳雌株完成授粉, 因此高海拔川滇柳雌株较多。而冬瓜杨主要靠风媒传粉, 在纵切的沟谷内, 由于风向和风速的影响, 低海拔沟谷内的雌株更容易得到授粉机会, 因此低海拔冬瓜杨雌株较多。另外, He等最近在小五台山的研究发现, 青杨花粉数随海拔升高而增加, 在1 700 m处花粉数量最高, 我们推测川滇柳也存在类似规律, 从而高海拔处更容易因花粉管竞争而偏雌性^[31]。遗憾的是, 杨柳科植物中仍然缺乏确切的性染色体和性别决定基因, 最近Gerald等证实了*TOZ19*基因可能作为杨树的性别连锁基因, 只在雄性中表达, 但柳树性别决定系统更加复杂^[32]。因此, 在我们的实验中并没有直接鉴定种子的性别, 只能推断花粉管竞争在柳树偏雌可能起重要作用, 这还需要后续的观察来进一步验证该假设。

3.2 海拔对冬瓜杨和川滇柳雌雄群体繁殖投入的影响

雌雄植物间繁殖投入的差异通常认为是雌雄异株植物性比失衡的主要原因。随着海拔的升高, 冬瓜杨和川滇柳的绝对繁殖投入量 (总繁殖结构生物量) 和相对投入量 (繁殖结构和叶生物量的比例) 都显著增加 (图2)。表明与低海拔相比, 高海拔杨柳群体的繁殖投入更大。这与张林静等^[33]和王一峰等^[34]得出的海拔高度与植物繁殖分配呈正相关的结论一致。大量的研究表明, 生长在高海拔区域的植物通过提高繁殖投入量来适应恶劣的环境条件以保证自身的存活和后代的延续^[10, 13, 35]。通过整个海拔梯度上叶片生物量和繁殖结构生物量的相关性分析表明, 在海拔2 000 m区域杨柳雌雄群体具有显著的相关性, 即营养投资与繁殖投资之间存在明显的权衡, 而在海拔2 600 m这种平衡则被改变 (图2F), 容易导致性比失衡。这可能是由于高海拔地区生境条件恶劣, 导致植物对生长、存活及其繁殖部分的投入进行了调整^[36], 在权衡营养生长与繁殖投入关系的基础上, 选择投入更多的资源到繁殖器官中以确保有性繁殖的顺利进行, 进而导致营养生长和繁殖生长之间的权衡关系被打破, 容易造成性比失衡。

我们还发现, 冬瓜杨的绝对投入在高低海拔上无显著差异, 但由于叶生物量在高海拔的显著降低, 因而高海拔冬瓜杨相对投入大于低海拔, 且均为雌株大于雄株, 这也表明了雌株对海拔更敏感, 高海拔逆境更容易对雌株造成伤害, 从而造成偏雄现象。另外, 雌株柳树具有较强的补偿生长, 尤其是在高海拔地区。如川滇柳的叶生物量在低海拔时雌雄间无显著差异, 在高海拔时雌株高于雄株 (图2)。柳树的补偿性生长在许多研究中都已发现, 例如, Lei等对贡嘎山的川滇柳雌雄植株研究^[16]发现, 与雄株相比, 雌株具有更高的光合能力、更高的叶生物量分配以及部分繁殖结构也具有光合潜力, 从而可以部分地抵消雌雄植株之间的差距, 进而补偿其较大的繁殖消耗^[16]。由于川滇柳雌株存在补偿性生长, 其繁殖投入雌雄差异与绝对量、相对量以及海拔都有关系 (表1、图2), 表现为绝对繁殖投入海拔间无差异, 且均为雌株大于

雄株。相对投入2 600 m大于2 000 m, 但2 000 m处雌株高于雄株, 2 600 m处雌雄间相对繁殖投入接近。三因素方差分析表明, 除了海拔之外, 物种、物种和海拔的交互以及性别和物种的交互都显著影响杨柳雌性的繁殖投入。这说明植物的繁殖投入和营养生长不仅受到外因 (如海拔) 的影响, 同时也受到内因 (如性别、物种、个体大小等) 的制约。

综上所述, 本研究对杨柳科植物性比失衡不同格局进行了初步研究, 发现海拔2 000 m区域冬瓜杨和川滇柳性比接近1:1平衡, 可能为杨柳种群的适宜繁衍区域。2 600 m高海拔上叶生物量与繁殖结构生物量的权衡关系被改变, 容易导致性比失衡。冬瓜杨雌株繁殖投入显著高于雄株, 雌株对高海拔敏感, 出现偏雄性。川滇柳的繁殖投入在高海拔时无差异, 加之传粉效率较高, 容易产生花粉管竞争, 从而偏雌性。此外, 由于雌雄性比会受多种环境条件的影响, 未来需要在分子水平上, 结合性别决定基因、性染色体和表观遗传学等进一步深入研究。

参考文献 [References]

- 1 Renner SS, Ricklefs RE. Dioecy and its correlates in the flowering plants [J]. *Am J Bot*, 1995, **82** (5): 596-606.
- 2 Fisher RA. The Genetical Theory of Natural Selection [M]. Oxford: Oxford University Press, 1930
- 3 尹春英, 李春阳. 雌雄异株植物与性别比例有关的性别差异研究现状与展望[J]. 应用与环境生物学报, 2007, **13** (3): 419-425 [Yin CY, Li CY. Gender differences of dioecious plants related sex ratio recent advances and future prospects [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2007, **13** (3): 419-425]
- 4 陈娟, 李春阳. 环境胁迫下雌雄异株植物的性别响应差异及竞争关系[J]. 应用与环境生物学报, 2014, **20** (4): 743-750 [Chen J, Li CY. Sex-specific responses to environmental stresses and sexual competition of dioecious plants [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2014, **20** (4): 743-750]
- 5 Correia O, Barradas MCD. Ecophysiological differences between male and female plants of *Pistacia lentiscus* L. [J]. *Plant Ecol*, 2000, **149**: 131-142
- 6 Freeman DC, Klika LG, Harper KT. Differential resource utilization by the sexes of dioecious plants [J]. *Science*, 1976, **193**: 597-599
- 7 Li C, Xu G, Zang R, Korpelainen H, Berninger F. Sex-related differences in leaf morphological and physiological responses in *Hippophae rhamnoides* along an altitudinal gradient [J]. *Tree Physiol*, 2007, **27** (3): 399-406
- 8 Ortiz PL, Arista M, Talavera S. Sex ratio and reproductive effort in the dioecious *Juniperus communis* subsp. *alpina* (Suter) Čelak. (Cupressaceae) along an altitudinal gradient [J]. *Ann Bot*, 2002, **89** (2): 205-211
- 9 王志峰, 胥晓, 李霄峰, 杨鹏, 袁新利. 青杨雌雄群体沿海拔梯度的分布特征[J]. 生态学报, 2011, **31** (23): 7067-7074 [Wang ZF, Xu X, Li XF, Yang P, Yuan XL. The distribution of male and female *Populus cathayana* populations along an altitudinal gradient [J]. *Acta Ecol Sin*, 2011, **31** (23): 7067-7074]
- 10 Grant MC, Mitton JB. Elevational gradients in adult sex ratios and sexual differentiation in vegetative growth rates of *Populus tremuloides* Michx [J]. *Evolution*, 1979, **33**: 914-918

- 11 Ueno N, Suyama Y, Seiwa K. What makes the sex ratio female-biased in the dioecious tree *Salix sachalinensis*? [J]. *J Ecol*, 2007, **95** (5): 951-959
- 12 Myers-smith IH, Hikd S. Uniform female-biased sex ratios in alpine willows [J]. *Am J Bot*, 2012, **99** (7): 1243-1248
- 13 Fabbro T, Körener C. Altitudinal differences in flower traits and reproductive allocation [J]. *Flora-Morphol Distr Funct Ecol Plants*, 2004, **199** (1): 70-81
- 14 Guo H, Weiner J, Mazer SJ, Zhao ZG, Du GZ, Li B. Reproductive allometry in *Pedicularis* species changes with elevation [J]. *J Ecol*, 2012, **100** (2): 452-458
- 15 Zhang L, Luo TX, Liu XS, Wang Y. Altitudinal variation in leaf construction cost and energy content of *Bergenia purpurascens* [J]. *Acta Oecol*, 2012, **43**: 72-79
- 16 Lei YB, Chen K, Jiang H, Yu L, Duan BL. Contrasting responses in the growth and energy utilization properties of sympatric *Populus* and *Salix* to different altitudes: implications for sexual dimorphism in Salicaceae [J]. *Physiol Plant*, 2017, **159** (1): 30-41
- 17 Correns C. The concurrence of male on female germ cells and the numerical proportion of both genders [J]. *Naturwissenschaften*, 1918, **6**: 277-280
- 18 冯毅, 王朱涛, 蔡应君, 任树平, 柴成忠, 罗建勋. 川西北地区康定柳天然群体表型多样性研究[J]. 西南林学院学报, 2010, **30**: 11-20 [Feng Y, Wang ZT, Cai YJ, Ren SP, Chai CZ, Luo JX. Study on phenotypic diversity of *Salix paraplesia* natural populations in northwest Sichuan [J]. *J SW For Univ*, 2010, **30**: 11-20]
- 19 李超男, 李家宝, 李香真. 贡嘎山海拔梯度上不同植被类型土壤甲烷氧化菌群落结构及多样性[J]. 应用生态学报, 2017, **28** (3): 805-814 [Li CN, Li JB, Li XZ. Soil methanotrophic community structure and diversity in different vegetation types at elevation gradient of Gongga Mountain, Southwest China [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2017, **28** (3): 805-814]
- 20 Bing HJ, Wu YH, Zhou J, Sun HY, Luo J, Wang JP, Yu D. Stoichiometric variation of carbon, nitrogen and phosphorus in soils and its implication for nutrient limitation in alpine ecosystem of eastern Tibetan Plateau [J]. *J Soils Sed*, 2016, **16**: 405-416
- 21 Sun H, Wu Y, Yu D, Zhou J. Altitudinal gradient of microbial biomass phosphorus and its relationship with microbial biomass carbon, nitrogen, and rhizosphere soil phosphorus on the eastern slope of Gongga Mountain, SW China [J]. *PLoS ONE*, 2013, **8** (9): e72952
- 22 周俊, 邴海健, 吴艳宏, 孙守琴, 罗辑. 贡嘎山燕子沟土壤磷海拔梯度特征及影响因素[J]. 山地学报, 2016, **34**(4): 385-392 [Zhou J, Bing HJ, Wu YH, Sun SQ, Luo J. Variations in soil P biogeochemistry and its impact factors along an altitudinal gradient in the Yanzigou, eastern slope of the Gongga Mountain [J]. *Mount Res*, 2016, **34** (4): 385-392]
- 23 徐庆, 姜春前, 刘世荣, 郭泉水. 濒危植物四合木种群传粉生态学研 究[J]. 林业科学院研究, 2003, **16**: 391-397 [Xu Q, Jiang CQ, Liu SR, Guo QS. Study on pollination ecology of endangered plant *Tetraena mongolica* population [J]. *For Res*, 2003, **16**: 391-397]
- 24 Petzold A, Pfeiffer T, Jansen F, Eusemann P, Schnittler M. Sex ratios and clonal growth in dioecious *Populus euphratica* Oliv., Xinjiang Prov., western China. *Trees-Struct Funct*, 2013, **27** (3): 729-744
- 25 Che-Castaldo C, Crisafulli CM, Bishop JG, Fagan WF. What causes female bias in the secondary sex ratios of the dioecious woody shrub *Salix sitchensis* colonizing a primary successional landscape? [J]. *Am J Bot*, 2015, **102** (8), 1309-1322
- 26 Obeso J. The costs of reproduction in plants [J]. *New Phytol*, 2002, **155**: 321-348
- 27 Ishida TA, Hattori K, Shibata S, Suzuki M, Kimura MT. Sex allocation of a cosexual wind-pollinated tree, *Quercus dentata*, in terms of four currencies [J]. *J Plant Res*, 2005, **118** (3): 193-197
- 28 李嘉竹, 王国安, 刘贤赵, 韩家懋, 刘敏, 柳晓娟. 贡嘎山东坡C₃植物碳同位素组成及C₄植物沿海拔高度的变化[J]. 中国科学D辑: 地球科学, 2009, **39** (10): 1387-1396 [Li JZ, Wang GA, Liu XZ, Han JM, Liu M, Liu XJ. Variations in carbon isotope ratios of C₃ plants and distribution of C₄ plants along an altitudinal transect on the eastern slope of Mount Gongga [J]. *Sci China Ser D Earth Sci*, 2009, **39** (10): 1387-1396]
- 29 Field DL, Pickup M, Barrett SCH. The influence of pollination intensity on fertilization success, progeny sex ratio, and fitness in a wind-pollinated, dioecious plant [J]. *Intern J Plant Sci*, 2012, **173** (2): 184-191
- 30 Sinclair JP, Emlen J, Freeman DC. Biased sex ratios in plants: theory and trends [J]. *Bot Rev*, 2012, **78** (1): 63-86
- 31 He JD, Dong TF, Huang KC, Yang YX, Li DD, Xu X, He XH. Sex-specific floral morphology, biomass, and phytohormones associated with altitude in dioecious *Populus cathayana* populations [J]. *Ecol Evol*, 2017, **7** (11): 3976-3986
- 32 Gerales A, Hefer CA, Capron A, Kolosova N, Martinez-Nuñez F, Soolanayakanahally RY, Stanton B, Guy RD, Mansfield SD, Douglas CJ, Cronk QCB. Recent Y chromosome divergence despite ancient origin of dioecy in poplars (*Populus*) [J]. *Mol Ecol*, 2015, **24** (13): 3243-3256
- 33 张林静, 石云霞, 潘晓玲. 草本植物繁殖分配与海拔高度的相关分析[J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2007, **37** (1): 77-80 [Zhang LJ, Shi YX, Pan XL. Analysis of correlativity between reproductive allocation and altitude in plants [J]. *J NW Univ (Nat Sci Ed)*, 2007, **37** (1): 77-90]
- 34 王一峰, 刘启茜, 裴泽宇, 李海燕. 青藏高原3种风毛菊属植物的繁殖分配与海拔高度的相关性[J]. 植物生态学报, 2012, **36** (1): 39-46 [Wang YF, Liu QQ, Pei ZY, Li HY. Correlation between altitude and reproductive allocation in three *Saussurea* species on China's Qinghai-Tibetan Plateau [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2012, **36** (1): 39-46]
- 35 樊宝丽, 孟金柳, 赵志刚, 杜国祯. 海拔对青藏高原东部毛茛科植物繁殖特征和资源分配的影响[J]. 西北植物学报, 2008, **28** (4): 805-811 [Fan BL, Meng JL, Zhao ZG, Du GZ. Influence of altitude on reproductive traits and resource allocation of species of ranunculaceae at East Qinghai Tibetan Plateau [J]. *Acta Bot Bor-Occid Sin*, 2008, **28** (4): 805-811]
- 36 苏梅. 青藏高原东部高寒草甸九种常见植物叶特征、繁殖特征研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009 [Su M. Leaf trait and reproductive traits of nine common species of plants at eastern alpine meadow in Qinhai-Tibetan Plateau [D]. Lanzhou: Lanzhou Universtiy, 2009]