



交配距离与父本数量对野慈姑有性繁殖的影响

周盼盼¹ 陈全¹ 张宇杰² 汪正祥^{1,3} 戴璨^{1,3*}

¹湖北大学资源环境学院, 武汉 430062; ²湖北大学生命科学学院, 武汉 430062; ³区域开发与环境响应湖北省重点实验室, 武汉 430062

摘要 植物的有性繁殖是生活史和进化的核心, 母本及环境对繁殖的影响固然重要, 父本的贡献亦不容忽视。父本来源与多样性对坐果结籽和后代质量的影响明显, 但由于不同物种或种群的繁殖特点和进化历程, 往往也会呈现其独特性。该研究旨在探究挺水植物野慈姑(*Sagittaria trifolia*)是否存在自交或远交衰退, 以及父本数量对其繁殖和后代表现的影响。通过人工控制授粉, 设置自交、近距离异交(<50 km)、远距离异交(>200 km) 3种交配距离以及单、双两类父本数量, 共计5种授粉处理, 观测野慈姑坐果概率、单果种子数量、种子面积、萌发率(2018和2019年)、幼苗芽长(2018和2019年)共7项指标。结果显示: 不同距离的交配对野慈姑的坐果概率、单果种子数量、种子面积、萌发率、幼苗芽长没有显著影响, 野慈姑未出现明显的自交衰退或远交衰退现象。父本数量的增加对野慈姑的结实数量(坐果概率、单果种子数量、种子面积)无影响, 但结实质量方面, 双父本处理的种子萌发率略高于单父本处理。综上所述, 交配距离与父本数量对野慈姑的繁殖表现影响较小, 这可能与其频繁自交历史、远距离的基因扩散以及高度相似的水生环境有关; 同时, 该研究基于20余个自然种群的基因型, 研究结果也表明了野慈姑物种水平有性繁殖的优异和稳定性。

关键词 交配距离; 父本数量; 自交衰退; 远交衰退; 野慈姑

周盼盼, 陈全, 张宇杰, 汪正祥, 戴璨 (2020). 交配距离与父本数量对野慈姑有性繁殖的影响. 植物生态学报, 44, 895–904. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0197

Effects of mating distance and number of pollen donors on sexual reproduction of *Sagittaria trifolia*

ZHOU Pan-Pan¹, CHEN Quan¹, ZHANG Yu-Jie², WANG Zheng-Xiang^{1,3}, and DAI Can^{1,3*}

¹School of Resources and Environmental Science, Hubei University, Wuhan 430062, China; ²School of Life Sciences, Hubei University, Wuhan 430062, China; ³Hubei Key Laboratory of Regional Development and Environmental Response (Hubei University), Wuhan 430062, China

Abstract

Aims Sexual reproduction is the core of plant life history and evolution. Besides the influence of maternal genotype and environment, the contribution of paternal parts on reproduction should not be ignored. In particular, the distance and diversity of pollen donor have significant impacts on fruit setting and offspring quality, which often show distinctive patterns due to specific reproductive characteristics and evolutionary processes of different species or populations. Our objective was to study the effects of mating distance and number of pollen donors on reproductive performance of *Sagittaria trifolia*.

Methods Three mating distances including selfing, outcrossing of short distance (<50 km), and outcrossing of long distance (>200 km) and two types of pollen donors (single- and double-donor) were investigated in *S. trifolia* using hand-pollination. Besides selfing, the remaining factors formed a factorial design, resulting in a total of five pollination treatments. We analyzed the differences in fruiting probability, seed number per fruit, seed size, germination rate of F₁ seed (year 2018 and 2019) and their seedling length (year 2018 and 2019).

Important findings Different mating distances had no significant effects on fruiting probability, seed number per fruit, seed size, germination rate or seedling length of *S. trifolia*, implying that there was no inbreeding or outbreeding depression in this species. The increase from single to double pollen donors had no effect on seed production of *S. trifolia*, but seed germination rate in double-donor treatment was slightly higher than that of single-donor. All together, mating distance and number of donors had little influence on reproductive performance of *S. trifolia*, which might be related to frequent selfing history, long-distance gene dispersal and high similarity in aquatic habitats of this species. Meanwhile, this study was based on mutual mating designs between genotypes

收稿日期Received: 2020-06-18 接受日期Accepted: 2020-07-20

基金项目: 国家自然科学基金(31670232)和湖北省自然科学基金(2019CFA066)。Supported by the National Natural Science Foundation of China (31670232), and the Natural Science Foundation of Hubei (2019CFA066).

* 通信作者Corresponding author (daican@hubu.edu.cn)

from over 20 natural populations. Such results also imply high and stable reproductive output of *S. trifolia* at species level.

Key words mating distance; number of donors; inbreeding depression; outbreeding depression; *Sagittaria trifolia*

Zhou PP, Chen Q, Zhang YJ, Wang ZX, Dai C (2020). Effects of mating distance and number of pollen donors on sexual reproduction of *Sagittaria trifolia*. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 44, 895–904. DOI: 10.17521/cjpe.2020.0197

利用各种传粉媒介把花粉转移到柱头上从而完成有性繁殖是有花植物的一大进化优势(Minnaar *et al.*, 2019)。在花粉转移的过程中, 供体与受体在空间或遗传上的远近程度往往会影响植物的繁殖表现及后代的质量(Rhode & Emmett Duffy, 2004)。其中, 关注较多的有自交衰退和远交衰退现象。近亲间的交配使等位基因的纯合性提升从而导致后代的适合度降低的现象称为自交衰退(Trame *et al.*, 1995)。从遗传学的角度解释主要有两点: 有害隐性基因的表达(Charlesworth & Charlesworth, 1987)和失去了某些生存发育能力相关位点的杂合优势(heterozygote advantage at viability loci)(Charlesworth & Charlesworth, 1987; Ziehe & Roberds, 1989; Agren & Schemske, 1993)。相对而言, 远交衰退是指遗传上相隔较远的同一物种个体之间交配后, 后代适合度下降的现象(Waser & Price, 1994)。造成这种现象的机制可能包括杂合子劣势(heterozygote disadvantage)、共适应基因复合物的解离(breaking up of coadapted gene complexes)、等位基因间的上位效应(epistatic interactions between alleles)以及局部适应的破坏(disruption of local adaptations)等等(Price & Waser, 1979; Edmands, 2002, 2007; Hufford & Mazer, 2003; Frankham *et al.*, 2011)。个体间的遗传距离与地理距离往往存在正相关关系(Schiemann *et al.*, 2000; Alberto *et al.*, 2010), 因此许多研究者通过设置不同的交配距离来观测物种的自交或远交衰退情况(Waser & Price, 1994; Trame *et al.*, 1995; Volis *et al.*, 2011)。

交配距离影响有性繁殖的现象十分普遍, 但每个物种的表现不一, 主要有以下4种模式。(1)自交衰退与远交衰退都存在, 即植物可能有最适的异交距离。如假龙胆属(*Gentianella*)植物*G. germanica*相距10 m个体间异交所产子代的萌发率、叶片数量、莲座大小均高于自然授粉、自交、1 m异交及25 km外的种群间异交(Fischer & Matthies, 1997)。在花柱草属(*Stylidium*)植物*S. hispidum*里, 相对于短距离(3–10 km)的异交, 种群内的交配出现了自交衰退, 而长距离(111–124 km)的异交则表现出了远交衰退,

表明其有最适的中间异交距离(Hufford *et al.*, 2012)。(2)存在自交衰退, 但远交衰退现象不明显, 甚至显示出杂合优势。例如, *Polylepis australis*的自然授粉、自交和30 km异交相比, 仅自交的种子萌发率显著降低(Seltmann *et al.*, 2009)。*Silene vulgaris*自花受精产生的自交衰退现象非常普遍, 但是不同种群间的交配却显现出杂合子优势(Bailey & Mccaulley, 2006)。(3)存在远交衰退, 但无近交衰退。如, 钝稃野大麦(*Hordeum spontaneum*)的F₁代异交种子与自花授粉种子相比, 活力明显降低(Volis *et al.*, 2011)。(4)交配距离对繁殖和子代的影响有限。例如, 路边青属(*Geum*)植物*G. urbanum*即使在很小的种群中也未出现自交衰退现象, 除了远距离(20 km)异交的萌发率稍低外, 没有发现远交对子代适合度的负面影响(Vandepitte *et al.*, 2010)。以上每种表现在自然界中都有可能存在, 这也许体现了物种/种群间不同的繁衍历史和进化历程。频繁自花传粉的植物物种不会累积大量的有害突变(张大勇和姜新华, 2001; Vandepitte *et al.*, 2010), 因为有害等位基因在纯合状态下会被清除, 从而缓解了以自花传粉为主的植物物种的自交衰退(Lande & Schemske, 1985; Johnston & Schoen, 1996; Byers & Waller, 1999; Crnokrak & Barrett, 2002)。然而, 也可能存在轻度有害的等位基因由于选择压力不大而无法被清除的现象(Charlesworth *et al.*, 1990; Glémin, 2003), 因此可能会在自交亲和的种群中累积并固定下来。这种情况下, 与种群内的交配相比, 种群间的异交就有可能提高子代的适合度。可若是种群间的地理或时间隔离程度大, 导致基因流动降低, 植物适应了本地的遗传背景, 那么这些遗传分化大的种群间的交配会因为基因组的不相容性或歧化适应(disrupting adaptation)的表达而导致繁殖水平和远交后代的适合度下降(Hufford & Mazer, 2003; Edmands, 2007)。

除了交配距离, 花粉多样性在很大程度上也会影响繁殖的结果。多项研究指出, 随着父本多样性的提高, 果实和种子产量均得到了不同程度的提升(Karron *et al.*, 2006; Koffi *et al.*, 2013; 周庆源,

2014)。这也许是因为: (1)多父本混合授粉, 使母株获得较高兼容性花粉的机会增加, 从而提高果实中受精的胚珠数量, 减少果实或种子的败育(Paschke *et al.*, 2002; 周庆源, 2014)。(2)与单父本的全同胞相比, 多父本的半同胞对母本资源的竞争更加激烈(Kress, 1981), 且激烈的竞争会产生更有活力的后代(Marshall *et al.*, 2007)。但父本数量的增加并不是对所有的物种都有促进作用, 也有研究发现父本的多样性对繁殖表现没有显著影响(Sork & Schemske, 1992; Holland *et al.*, 2009; Pélabon *et al.*, 2015)。这可能是因为柱头上有过量的花粉应对花粉竞争和母本选择过程, 此时不管父本数量如何, 均能够保证充分结实(Bertin, 1986)。也有研究指出, 当纳入实验的多个父本之间竞争能力及其与母本个体的兼容性没有明显差异时, 繁殖水平与后代表现也不会优于单个父本的交配(Sork & Schemske, 1992; Pélabon *et al.*, 2015, 2016)。

野慈姑(*Sagittaria trifolia*)为泽泻科慈姑属多年生的草本植物, 在亚洲范围内广泛分布, 常见于池塘、水稻田、水渠等地, 可以通过实生苗和球茎进行有性和无性繁殖、维系种群(陈家宽, 1989)。Chen等(2008)对全国范围内42个野慈姑种群的研究结果表明, 野慈姑区域间或种群间的遗传分化较低, 暗示存在长距离的基因散布和频繁的基因交流。这可能是因为野慈姑的种子非常小且漂浮于水面, 加上水系的连通流动或城镇的各类导水设施作用, 导致其散布距离长。同时, 由于水生植物物理环境的相似, 不同种群之间出现歧化选择(disruptive selection)或局部适应性(local adaptation)的可能性不大, 所以地理距离应该对基因组之间的兼容性影响较小。另外, 自然条件下野慈姑的自交率在20%左右(Dai *et al.*, 2018a), 这种低自交频率的植物可能存在一定的遗传负荷(张大勇和姜新华, 2001); 前期也有实验发现一野慈姑自然种群的自交种子萌发率偏低(覃道凤等, 2015)。因此我们推测, 野慈姑的远交衰退现象不会太明显, 而存在自交衰退现象。本研究以多个野外种群采集的植株为材料, 设置不同的交配距离(自交、小于50 km近距离异交和大于200 km的远距离异交), 探究野慈姑的自交衰退或远交衰退程度。同时, 还试图探讨野慈姑的繁殖水平是否会随着授粉父本数量(单父本处理与双父本处理)的提升而相应提高。

1 材料和方法

1.1 实验材料与研究地点

野慈姑是多年生挺水植物, 既可以通过地下球茎进行营养繁殖, 亦可以通过蜜蜂、食蚜蝇等昆虫授粉完成有性生殖, 且自交亲和(Dai *et al.*, 2018a, 2018b)。野慈姑雌雄同株异花, 总状花序, 每轮3朵花, 花序基部为雌花, 顶部为雄花, 由基至顶依次开放, 雌花一般在1–2天内开放完毕, 雄花持续开放4–10天, 雌雄花单花期均为1天(5:30–15:00)。在湖北省地区, 野慈姑花期6–10月。果实在授粉后20天左右成熟, 成熟的果实易散落, 种子为褐色, 可水培。

实验于2018年8月在中国科学院武汉植物园(114.42° E, 30.54° N)内野慈姑的同质园进行(罗文杰等, 2018)。同质园的植株来自于野慈姑自然种群2013年采集的球茎后代(李婷等, 2015), 各自然种群和同质园的地理位置如图1所示。

1.2 实验设计

1.2.1 授粉处理

实验主要通过人工操控授粉的方法, 控制野慈姑雌花交配过程中花粉的来源以及父本的多样性, 以探究野慈姑是否存在自交衰退或远交衰退现象, 以及父本多样性对繁殖及后代表现产生的影响。

为探究野慈姑是否存在自交或远交衰退现象, 本实验设置自交、近距离异交和远距离异交3个水平, 拟以近距离异交的子代性状为参照, 将自交后代、远距离异交后代与其进行对比。在本实验中, 综合考虑了水系连通性和传粉昆虫的飞行能力分别影响的种子与花粉散布, 把种群之间直线距离小于50 km的交配定义为近距离异交, 大于200 km的交配定义为远距离异交。具体方法为以每一个种群为中心, 列出它与其他种群之间的距离, 把植株来源小于50 km的作为可选近距离父本, 大于200 km的作为可选远距离父本(图1)。人工授粉时, 雌雄花须满足同一天开放, 自交授粉的花粉供体来源于同一基因型的植株, 近距离异交的花粉供体优先选择来源于同一种群不同基因型的其他植株(野外最常见的交配格局)(Dai *et al.*, 2018a), 远距离异交的花粉供体优先选择距离最远的种群。

为探究父本多样性对繁殖及后代的影响, 本实验设置单父本与双父本两个水平。人工授粉中每朵雌花均被两朵雄花授粉, 其中单父本处理的两朵雄

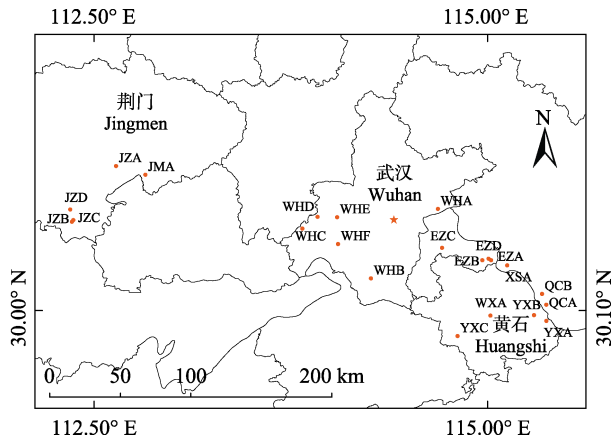


图1 野慈姑种群来源。实验地为中国科学院武汉植物园。EZA–EZD, 鄂州A–D; JMA, 荆门A; JZA–JZD, 荆州A–D; QCA–QCB, 蕲春A–B。WHA–WHF, 武汉A–F; WXA, 武穴A; XSA, 浠水A; YXA–YXC, 阳新A–C; 各自然种群的详细描述见李婷等(2015)。

Fig. 1 Source populations of *Sagittaria trifolia*. The experimental site is Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences. EZA–EZD, A–D of Ezhou; JMA, A of Jingmen; JZA–JZD, A–D of Jingzhou; QCA–QCB, A–B of Qichun. WHA–WHF, A–F of Wuhan; WXA, A of Wuxue; XSA, A of Xishui; YXA–YXC, A–C of Yangxin; See Li *et al.* (2015) for specific information of each natural population.

花来源于同一个植株, 而双父本处理的两朵雄花分别来自基因型不同的两个植株。父本数量与交配距离采用了阶乘设计, 但由于自交只可能是单父本, 故共计5种授粉处理: 自交、单父本近距离异交、双父本近距离异交、单父本远距离异交以及双父本远距离异交(下文分别简称为自交、单近、双近、单远和双远)。

人工授粉以每朵雌花为重复单元, 采用雄花花药与雌花心皮直接接触的方法, 每朵雌花用两朵雄花授粉, 直至球形心皮上的花粉均匀饱和。为了控制不同基因型的母本效应, 5个处理都尽量选择在同一个花序上进行, 每种处理对应的轮次位置随机, 以避免位置效应(Dai *et al.*, 2018a)。有少数花序内的雌花数太少, 故处理之间的样本量略有差异。在实验过程中, 为避免传粉昆虫的影响, 对即将开放以及完成人工授粉的花序进行套袋处理。在人工授粉后的第二天摘除套袋, 以免影响后续果实的发育。授粉操作于2018年8月盛花期进行, 每天8:00–12:00进行人工授粉, 最终样本量为自交51, 单近53, 双近52, 单远50, 双远54。

1.2.2 繁殖水平

不同授粉处理下野慈姑的繁殖水平用授粉雌花

的坐果概率、单果种子数量和种子面积(该植物扁平状种子的平铺面积, 种子大小的指标)为评价指标。在授粉操作10天后, 用透气透光的网袋对已发育的果实进行套袋, 防止果实成熟后散落。从授粉后20天开始, 对完全成熟的果实(果实从紧实变为疏松、种子呈准散落状态)进行采集, 单个存放于6 cm × 10 cm的牛皮纸袋中, 并统计坐果情况(坐果成功记为1, 失败记为0), 每日检查, 直至所有果实采集完成。果实袋带回实验室后立即对种子指标进行统计。具体操作为: 将每个果实的所有种子人工平铺于一张A3白纸上, 尽量保证种子之间没有重合, 用固定位置和焦距的单反照相机(尼康D7000)对其拍照, 然后用ImageJ软件对照片进行颗粒计数与大小估测, 得出单果种子数量与种子的平均面积。为了转化种子的面积单位, 边长为1 cm的黑色正方形标块被放置在白纸上和种子一起拍摄, 通过求得该正方形的平均像素面积, 将种子面积单位全部转化为mm²。

1.2.3 萌发实验

于2018和2019年分别进行两次种子萌发实验。2018年8–9月, 采集回来的果实统计完种子数量后, 立即将种子放入水中进行萌发(模拟自然状态)。每个果实随机挑取100粒种子, 不足100粒的则全部选取, 剩余的种子放回原袋进行烘干(50 °C, 12 h), 以备后续使用。将每个果实待萌发的种子放入装满自来水的塑料杯中, 在MGC-350HP-2人工气候箱(上海一恒科学仪器有限公司, 上海)中进行培养。本实验设定的人工气候箱的环境温度为30 °C, 相对湿度20%, 光照时间每天18 h, 光照强度选择仪器最大值20 000 lx。培养10天后, 种子萌发基本趋于顶峰(大于10天的培养新增萌发较少, 且杯内易滋生藻类等低等植物), 记录发芽个数, 并测量最长的幼苗芽长。由于果实数量较多, 所有种子陆续被随机分配到了3个温箱进行培养。

2019年10月对剩余的种子进行了第二次萌发实验。由于这批种子进行了烘干处理, 因此在这次萌发之前对种子进行了两个月的浸泡(覃道凤等, 2015), 其余的萌发操作和条件均与第一次萌发实验相同。

1.3 统计分析

本实验包括5种处理, 7个变量: 坐果概率、单果种子数量、种子面积、种子萌发率(2018和2019年)以及幼苗芽长(2018和2019年)。除坐果概率(0、1的

二元分布), 对其他变量进行了正态性分析, 其中种子面积和幼苗芽长满足正态分布。单果种子数量经过开平方转换、萌发率经过开方后的反正弦转换, 正态性均有所提高, 故统计中使用转换后数据。全部统计用R软件(v.3.6.1, Team, 2016)分析, 使用package包括car (Fox & Weisberg, 2019), lme4 (Bates *et al.*, 2015), lmerTest (Kuznetsova *et al.*, 2017), lsmmeans (Lenth, 2016), psych (Revelle, 2018)。

为了探究野慈姑是否存在自交衰退或远交衰退, 将3种单父本的处理(自交、单近、单远)组成子数据集对7个变量进行方差分析。对坐果概率, 采用因变量二项分布的广义线性模型分析交配距离对坐果的影响, 处理类型作为固定因素, 实验日期作为随机因素。对其他6个变量, 均采用混合线性模型分析交配距离对各繁殖指标的影响, 处理类型作为固定因素, 实验日期作为随机因素, 其中2018年的萌发率与幼苗芽长加入了温箱作为随机因素。

为了探究双父本情况下近距离与远距离交配的区别, 将双近与双远两种处理组成子数据集分析, 模型同上。

最后, 为了整体研究父本数量对繁殖的影响, 将单近、单远、双近、双远4种处理集合, 以“父本数量”作为固定因素, 模型内其他要素同上, 对每个变量进行了分析。

以上3个方面的比较虽涉及重复使用数据, 但两两之间均为正交关系, 故不需要对显著性水平进行校正, 依旧采用 $\alpha = 0.05$ 。所有线性分析中的方差同质性均检测且满足。此外, 考虑到不同的萌发方法, 还对两个年份的萌发率和幼苗芽长进行了成对 t 检测。结果中全部使用原始数据(算术平均数 \pm 标准误差)。

2 结果

2.1 不同交配距离对野慈姑繁殖的影响

单父本情形下, 将自交、近距离异交、远距离异交的后代繁殖指标进行比较后发现, 3种处理下的各项繁殖指标均无差异(表1), 暗示野慈姑并无明显的自交衰退或远交衰退现象。

然而, 双父本处理下, 远距离的异交较近距离的异交显著提升了坐果概率(似然比检验(LRT) = 5.63, $p = 0.018$; 图2A)。不过, 两种交配距离的单果种子数($F_{1,87.0} = 0.004$, $p = 0.95$; 图2B)、种子面积($F_{1,87.2} = 0.58$, $p = 0.45$; 图2C)、萌发率(2018年: $F_{1,85.7} = 0.78$, $p = 0.38$; 2019年: $F_{1,69.3} = 0.30$, $p = 0.59$; 图3A、3B)以及幼苗芽长(2018年: $F_{1,80.0} = 0.25$, $p = 0.62$; 2019年: $F_{1,48.3} = 0.21$, $p = 0.65$; 图3C、3D)都未呈现显著区别。

2.2 不同父本数量对野慈姑繁殖的影响

单父本与双父本授粉条件下, 野慈姑的结实情况无明显差异(坐果概率: $LRT = 0.69$, $p = 0.4$; 单果种子数: $F_{1,175.94} = 0.05$, $p = 0.82$; 种子面积: $F_{1,174.73} = 1.13$, $p = 0.29$; 图2)。但在种子萌发方面, 单双父本2018年的萌发率差异接近显著($F_{1,172.52} = 3.30$, $p = 0.07$; 图3A), 双父本交配后代的萌发率略高; 但2019年的第二次萌发并未呈现显著区别($F_{1,138} = 0.33$, $p = 0.57$; 图3B)。在幼苗芽长方面, 单双父本2018年与2019年的幼苗芽长均无显著区别(2018年: $F_{1,149.26} = 0.98$, $p = 0.32$; 2019年: $F_{1,105.4} = 0.94$, $p = 0.34$; 图3C、3D), 但两年中双父本交配后代的幼苗芽长比单父本交配后代的幼苗芽长略长。以上结果表明父本数量在本实验中未影响野慈姑的结实数量, 但在后代质量上, 双父本交配的萌发率略有优势。

表1 野慈姑不同交配距离下的繁殖指标比较(平均值 \pm 标准误差)

Table 1 Comparison of reproductive indexes of *Sagittaria trifolia* at different mating distances (mean \pm SE)

繁殖指标 Reproductive indices	自交 Selfing	近距离异交 Outcrossing of short distance	远距离异交 Outcrossing of long distance	比较 Comparison
坐果概率 Fruiting probability (%)	90.38 \pm 4.13	88.46 \pm 4.47	90.00 \pm 4.29	$LRT = 0.136$, $p = 0.93$
单果种子数 Seed number per fruit	236.96 \pm 21.78	237.49 \pm 25.02	253.98 \pm 24.00	$F_{2,125.0} = 0.22$, $p = 0.81$
种子面积 Seed size (mm ²)	5.50 \pm 0.20	5.90 \pm 0.24	5.68 \pm 0.20	$F_{2,123.8} = 0.84$, $p = 0.44$
2018年萌发率 Germination rate of year 2018 (%)	5.82 \pm 0.95	4.64 \pm 1.05	4.47 \pm 0.70	$F_{2,126.0} = 0.07$, $p = 0.93$
2019年萌发率 Germination rate of year 2019 (%)	8.48 \pm 1.38	7.62 \pm 1.23	9.16 \pm 1.63	$F_{2,104.0} = 0.14$, $p = 0.87$
2018年幼苗芽长 Seedling length of year 2018 (cm)	3.24 \pm 0.28	3.09 \pm 0.21	3.36 \pm 0.24	$F_{2,93.3} = 0.67$, $p = 0.52$
2019年幼苗芽长 Seedling length of year 2019 (cm)	2.13 \pm 0.17	2.33 \pm 0.20	2.23 \pm 0.20	$F_{2,85.0} = 0.26$, $p = 0.77$

LRT , 似然比检验。

LRT , likelihood ratio test.

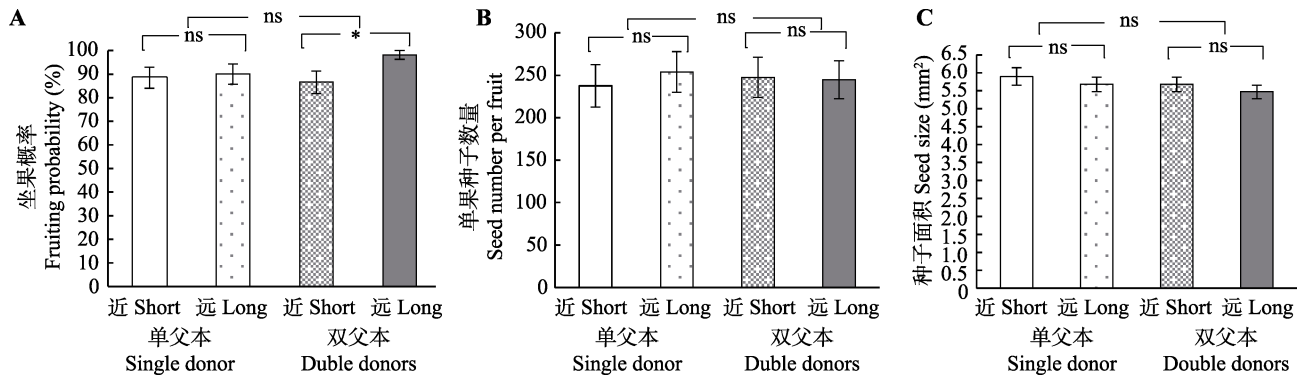


图2 野慈姑在不同交配处理下的结实情况(平均值±标准误差)。近, 近距离异交; 远, 远距离异交。ns, 区别不显著($p > 0.05$); *, $p < 0.05$ 。

Fig. 2 Fruiting status of *Sagittaria trifolia* under different mating treatments (mean \pm SE). Short, outcrossing of short distance; Long, outcrossing of long distance. ns, not significant ($p > 0.05$); *, $p < 0.05$.

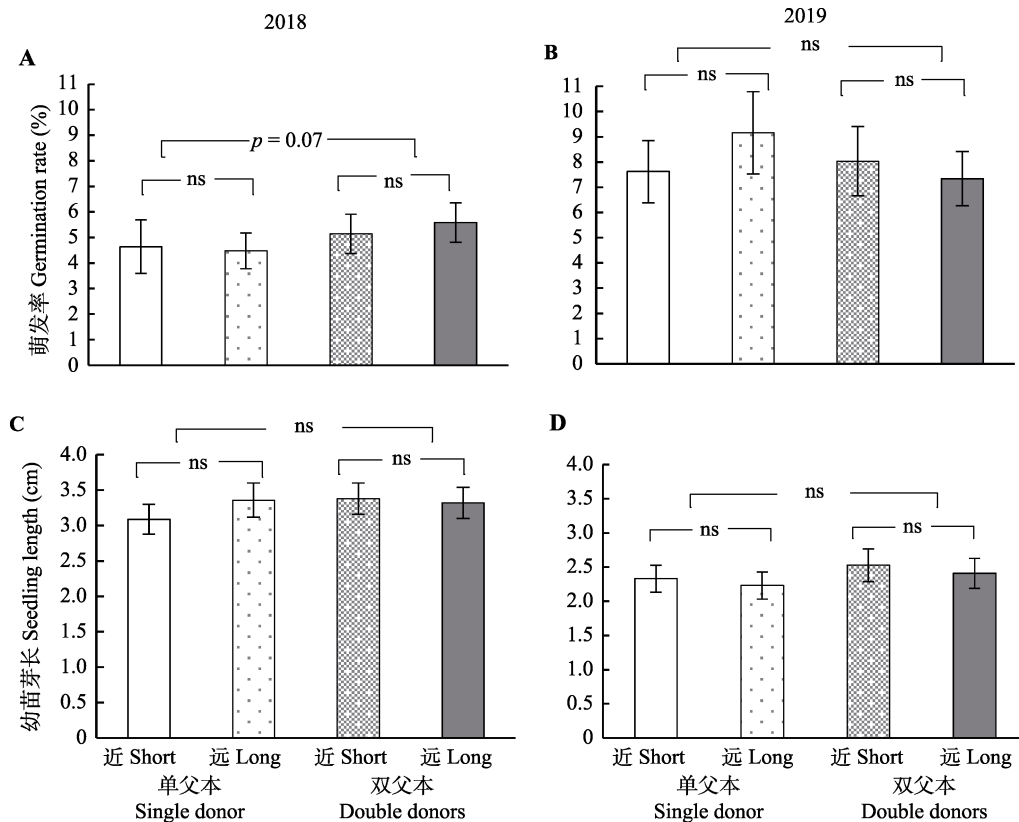


图3 野慈姑在不同交配处理下子代的萌发情况(平均值±标准误差)。近, 近距离异交; 远, 远距离异交。ns, 区别不显著($p > 0.05$)。

Fig. 3 Seed germination status of *Sagittaria trifolia* under different mating treatments (mean \pm SE). Short, outcrossing of short distance; Long, outcrossing of long distance. ns, not significant ($p > 0.05$).

2.3 不同萌发方法的结果比较

本实验中两次萌发的区别体现在, 2018年将采集回来的鲜种子直接萌发, 而2019年将烘干过且储存了一年的种子浸泡两个月后再进行萌发。对比发现, 2019年的种子萌发率有显著提升(成对 t 检测 $t = 6.28$, $df = 189$, $p < 0.001$; 图3A、3B), 但是2019年的

幼苗芽长却显著下降($t = 7.06$, $df = 126$, $p < 0.001$; 图3C、3D)。

3 讨论

研究结果发现, 野慈姑没有明显的自交衰退现象(表1), 这不符合前期的实验猜想。一般认为, 中

低水平自交的植物存在一定的遗传负荷(张大勇和姜新华, 2001), 研究指出野慈姑的自交率为20.9%–22.7% (Dai *et al.*, 2018b), 属于以异交为主的混合交配系统, 但经过人工自交后, 其繁殖表现和后代质量并未出现下降。类似的表现也出现在以异交为主的紫萼路边青(*Geum rivale*)的研究中(Ruhsam *et al.*, 2010)。相反, 一些自交率很高的植物, 如秋海棠属(*Begonia*)植物*B. hirsuta*和*B. semiovata*、苦参属(*Sophora*)植物*S. microphylla*、毒子榄属(*Baillonella*)植物*B. toxisperma*等, 却又存在严重的自交衰退现象(Agren & Schemske *et al.*, 1993; van Etten *et al.*, 2015; Duminil *et al.*, 2016)。由此可见, 不能单凭物种现阶段的自交率来判定是否会出现自交衰退现象。因为自交衰退程度会因物种、环境等多方面的差异而有所不同(王峥峰, 2003), 即便是同一物种, 也会因不同种群的发展阶段和长期交配格局而改变(Husband & Schemske, 1997; Kittelson & Maron, 2000; Hull-Sanders *et al.*, 2005)。本实验中野慈姑未表现出自交衰退现象, 但前期一个自然种群的自交实验导致种子萌发下降(覃道凤等, 2015), 这可能与单一自然种群的建群来源及其交配历史有关。本实验的野慈姑种群来源广泛, 那些具有频繁自交历史(或来自频繁自交种群)的基因型在长期的交配中有害突变得以清除, 自交后代的适合度较高, 有助于平衡某些种群的自交劣势, 使得平均的繁殖水平保持稳定。此外, 与条件恶劣的自然环境比, 同质园的环境条件相对稳定, 这些优良的环境条件可能在一定程度上降低了自交衰退的表达(何亚平和刘建全, 2003; Armbruster & Reed, 2005)。

另一方面, 野慈姑也未表现出远交衰退(表1), 这与前期的预测相符。野慈姑的长距离基因散布与克隆生长, 降低了空间分离种群的遗传分化, 同时水生环境的相似性使得不同种群间的歧化选择与局部适应不明显。另外野慈姑这一物种在第四纪冰川撤退后不断向北延伸, 分布范围不仅仅局限于单一的气候区域(Santamaría, 2002), 所以本实验200 km的距离相对野慈姑广泛的分布范围来讲可能尺度并不太大, 导致远交衰退现象不明显。值得注意的是, 双父本处理下, 远交的坐果概率较近交有显著提升(图2A)。可能是因为双父本提供了更多机会使得雌性配子与更匹配的雄性配子结合(Marshall, 1988); 或少数个体的花粉质量特别突出(Lankinen *et al.*,

2009), 在双父本处理中由于使用次数加倍, 其优异性得以展现。一些研究提到, 杂合优势的程度与亲本间的遗传差异成正比(East, 1936), 也就是说: 杂合优势的水平随亲本遗传距离的增加而增加(Kaeppler, 2012; Marcón *et al.*, 2019)。而域间遗传分化较低的野慈姑(Chen *et al.*, 2008)是否存在杂合优势或是远交衰退, 还需要延长实验观测时间(Waser & Price, 1994; Quilichini *et al.*, 2001)或增加亲本间的交配距离, 可能才会有更显著的表现。

本实验中, 与单父本处理相比, 双父本处理对野慈姑的种子产量和质量的促进作用有限(图2, 图3)。这可能是因为: (1)种子质量及数量多受低至中等程度的花粉量的影响(Hildesheim *et al.*, 2019), 且只有在花粉量低的情况下, 多父本的种子质量提升才会凸显(Bertin, 1986)。而本实验以两朵雄花的所有花粉为雌花授粉, 花粉量比较充分饱和, 不论是单父本还是双父本都能保证充分优质的结实。(2)不同父本产生的果实争夺资源的能力相差无几, 或母本植株没有选择性的偏好, 致使多父本混合授粉的后代表现与单父本后代表现相似。比如, 在给山扁豆属(*Chamaecrista*)植物*C. fasciculata*授多个父本的混合花粉后, 其坐果率、果实与种子产量、种子重量和萌发率都没有显著提升(Sork & Schemske, 1992)。父本数量的增加对黄蓉花属(*Dalechampia*)植物*D. scandens*的种子质量也无显著影响(Pélabon *et al.*, 2015)。本研究中, 2018年双父本处理的萌发率比单父本的略高(图3A), 暗示父本数量的增多在一定程度上提升了种子质量, 但该趋势在第二次萌发中并未展现。也许添加更多的父本数量才能有助于发挥竞争的筛选作用, 从而充分显示其对繁殖和子代质量的积极影响(Marshall & Ellstrand, 1986; Paschke *et al.*, 2002; Karron *et al.*, 2006; 赵学杰和谭敦炎, 2007; Koffi *et al.*, 2013)。

不论交配距离或父本数量如何改变, 野慈姑种子的萌发指标都没有表现出显著变化(表1; 图3), 说明其种子和子代幼苗质量的稳定性, 暗示野慈姑的繁殖策略会优先满足单个种子的养分供给和生命活力, 当条件发生变化时通过调整果实或种子的数量进行响应(Dai *et al.*, 2018b)。这一结果也提示今后类似的实验应重点关注野慈姑坐果与结实数量的变异而非质量。不过, 我们发现不同的萌发处理对野慈姑种子的萌发效果有显著影响: 与2018年第一次

萌发处理相比, 2019年的萌发率显著提升, 而幼苗芽长却显著下降(图3)。本实验的萌发处理在人工气候箱内完成, 两次萌发设置的条件相同, 唯一不同的是种子的新鲜程度与烘干处理: 2018年将鲜种子直接浸水萌发, 以模拟自然状态; 剩下的种子烘干且储存了一年, 于2019年浸泡吸水2个月萌发。2019年的萌发率提升说明烘干和一年的存储期对野慈姑的种子活性没有明显的负面影响, 适当时间的浸泡或许对萌发有益(杨忠仁等, 2007; 席沁等, 2014)。至于幼苗芽长下降, 可能是因为2019年的种子全部集中放置于一个气候箱内萌发, 由于密度太大, 幼苗光照强度不足所致。

综上所述, 以异交为主的野慈姑经过人工自交后, 其适合度和 F_1 表现并未降低, 200 km距离的种群间交配也未发现远交衰退现象, 频繁的自交历史、远距离的基因扩散和相似的物理生境可能扮演了至关重要的作用。不过, 鉴于野慈姑广泛的分布范围, 建议在类似物种的研究中, 适当拓宽交配距离或延长观测周期, 以深入探讨交配距离对繁殖的影响。此外, 本研究基于野慈姑20余个自然种群的基因型, 相较于单一种群的研究, 实验样本具有更高的基因多样性。从实验设计上, 每个种群的基因型都有均等的机会作为父本或母本参与交配, 避免了以单一或少量种群作为母本交配的遗传背景影响(Vandepitte *et al.*, 2010)或母本效应(Galloway & Etterson, 2007), 因此, 本论文的结果从物种水平上揭示了野慈姑有性繁殖的优异和稳定性, 更具说服力。

致谢 感谢湖北大学资源环境学院邓琳、牟亚莉在实验过程中的帮助, 丁新颖、牛可可、解季明、解雪婷对文章修改给予的建议。

参考文献

- Agren J, Schemske DW (1993). Outcrossing rate and inbreeding depression in two annual monoecious herbs, *Begonia hirsuta* and *B. semiovata*. *Evolution*, 47, 125–135.
- Alberto F, Raimondi PT, Reed DC, Coelho NC, Leblois R, Whitmer A, Serrão EA (2010). Habitat continuity and geographic distance predict population genetic differentiation in giant kelp. *Ecology*, 91, 49–56.
- Armbruster P, Reed DH (2005). Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity*, 95, 235–242.
- Bailey MF, McCauley DE (2006). The effects of inbreeding, outbreeding and long-distance gene flow on survivorship in North American populations of *Silene vulgaris*. *Journal of Ecology*, 94, 98–109.
- Bates DM, Machler M, Bolker BM, Walker S (2015). Fitting linear mixed-effects models using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67, 1–48.
- Bertin RI (1986). Consequences of mixed pollinations in *Campsis radicans*. *Oecologia*, 70, 1–5.
- Byers DL, Waller DM (1999). Do plant populations purge their genetic load? Effects of population size and mating history on inbreeding depression. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 30, 479–513.
- Charlesworth B, Charlesworth D, Morgan MT (1990). Genetic loads and estimates of mutation rates in highly inbred plant populations. *Nature*, 347, 380–382.
- Charlesworth D, Charlesworth B (1987). Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 18, 237–268.
- Chen JK (1989). *Systematic and Evolutionary Botanical Studies on Chinese Sagittaria*. Wuhan University Press, Wuhan. 31–38. [陈家宽 (1989). 中国慈姑属的系统与进化植物学研究. 武汉大学出版社, 武汉. 31–38.]
- Chen JM, Liu F, Wang QF, Motley TJ (2008). Phylogeography of a marsh herb *Sagittaria trifolia* (Alismataceae) in China inferred from cpDNA *atpB-rbcL* intergenic spacers. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 48, 168–175.
- Crnokrak P, Barrett SCH (2002). Perspective: purging the genetic load: a review of the experimental evidence. *Evolution*, 56, 2347.
- Dai C, Li LN, Wang ZX, Liao K (2018a). Sequential decline in fruit resource allocation within inflorescences of *Sagittaria trifolia*: a test of non-uniform pollination hypothesis. *Plant Species Biology*, 33, 259–267.
- Dai C, Luo WJ, Gong YB, Liu F, Wang ZX (2018b). Resource reallocation patterns within *Sagittaria trifolia* inflorescences following differential pollination. *American Journal of Botany*, 105, 803–811.
- Duminil J, Mendene Abessolo DT, Ndiade Boubou D, Doucet JL, Loo J, Hardy OJ (2016). High selfing rate, limited pollen dispersal and inbreeding depression in the emblematic African rain forest tree *Baillonella toxisperma*—Management implications. *Forest Ecology and Management*, 379, 20–29.
- East EM (1936). Heterosis. *Genetics*, 21, 375. DOI: 10.1007/BF02982541.
- Edmunds S (2002). Does parental divergence predict reproductive compatibility? *Trends in Ecology and Evolution*, 17, 520–527.
- Edmunds S (2007). Between a rock and a hard place: evaluating the relative risks of inbreeding and outbreeding for conservation and management. *Molecular Ecology*, 16, 463–475.
- Fischer M, Matthies D (1997). Mating structure and inbreeding and outbreeding depression in the rare plant *Gentianella germanica* (Gentianaceae). *American Journal of Botany*, 84, 1685. DOI: 10.2307/2446466.

- Fox J, Weisberg S (2019). *An {R} Companion to Applied Regression*. 3rd ed. Sage, Thousand Oaks, USA.
- Frankham R, Ballou JD, Eldridge MDB, Lacy RC, Ralls K, Dudash MR, Fenster CB (2011). Predicting the probability of outbreeding depression. *Conservation Biology*, 25, 465–475.
- Galloway LF, Etterson JR (2007). Transgenerational plasticity is adaptive in the wild. *Science*, 318, 1134–1136.
- Glémin S (2003). How are deleterious mutations purged? Drift versus nonrandom mating. *Evolution*, 57, 2678–2687.
- He YP, Liu JQ (2003). A review on recent advances in the studies of plant breeding system. *Acta Phytoecologica Sinica*, 27, 151–163. [何亚平, 刘建全 (2003). 植物繁育系统研究的最新进展和评述. 植物生态学报, 27, 151–163.]
- Hildesheim L, Opedal OH, Armbruster S, Pelabon C (2019). Quantitative and qualitative consequences of reduced pollen loads in a mixed-mating plant. *Ecology and Evolution*, 9, 14253–14260.
- Holland JN, Chamberlain SA, Waguespack AM, Kinyo AS (2009). Effects of pollen load and donor diversity on seed and fruit mass in the Columnar Cactus, *Pachycereus schottii* (Cactaceae). *International Journal of Plant Sciences*, 170, 467–475.
- Hufford KM, Krauss SL, Veneklaas EJ (2012). Inbreeding and outbreeding depression in *Stylidium hispidum*: implications for mixing seed sources for ecological restoration. *Ecology and Evolution*, 2, 2262–2273.
- Hufford KM, Mazer SJ (2003). Plant ecotypes: genetic differentiation in the age of ecological restoration. *Trends in Ecology and Evolution*, 18, 147–155.
- Hull-Sanders HM, Eubanks MD, Carr DE (2005). Inbreeding depression and selfing rate of *Ipomoea hederacea* var. *integriuscula* (Convolvulaceae). *American Journal of Botany*, 92, 1871–1877.
- Husband BC, Schemske DW (1997). The effect of inbreeding in diploid and tetraploid populations of *Epilobium angustifolium* (Onagraceae): implications for the genetic basis of inbreeding depression. *Evolution*, 51, 737–746.
- Johnston MO, Schoen DJ (1996). Correlated evolution of self-fertilization and inbreeding depression: an experimental study of nine populations of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Evolution*, 50, 1478–1491.
- Kaeppler S (2012). Heterosis: many genes, many mechanisms—End the search for an undiscovered unifying theory. *ISRN Botany*, 2012, 1–12.
- Karron JD, Mitchell RJ, Bell JM (2006). Multiple pollinator visits to *Mimulus ringens* (Phrymaceae) flowers increase mate number and seed set within fruits. *American Journal of Botany*, 93, 1306–1312.
- Kittelson PM, Maron JL (2000). Outcrossing rate and inbreeding depression in the perennial yellow bush lupine, *Lupinus arboreus* (Fabaceae). *American Journal of Botany*, 87, 652–660.
- Koffi A, Severin BB, Guillaume KK, Bertin YK, Clemence KL, Sylvere YK, Yao D (2013). Effect of pollen load, source and mixture on reproduction success of four cultivars of *Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsumura and Nakai (Cucurbitaceae). *Scientia Horticulturae*, 164, 521–531.
- Kress WJ (1981). Sibling competition and evolution of pollen unit, ovule number, and pollen vector in angiosperms. *Systematic Botany*, 6, 101–112.
- Kuznetsova A, Brockhoff PB, Christensen RHB (2017). lmerTest package: tests in linear mixed effects models. *Journal of Statistical Software*, 82, 1–26.
- Lande R, Schemske DW (1985). The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. I: Genetic models. *Evolution*, 39, 24–40.
- Lankinen Å, Maad J, Armbruster WS (2009). Pollen-tube growth rates in *Collinsia heterophylla* (Plantaginaceae): one-donor crosses reveal heritability but no effect on sporophytic-offspring fitness. *Annals of Botany*, 103, 941–950.
- Lenth RV (2016). Least-Squares Means: the R package lsmeans. *Journal of Statistical Software*, 69, 1–33.
- Li T, Qin DF, Dai C (2015). An estimation of the outcrossing rate in *Sagittaria trifolia* using SSR fluorescence markers. *Plant Science Journal*, 33, 133–142. [李婷, 覃道凤, 戴璨 (2015). 利用SSR荧光标记对野慈姑异交率的估测. 植物科学学报, 33, 133–142.]
- Luo WJ, Jin XF, Wang ZX, Dai C (2018). The reproductive difference in *Sagittaria trifolia* under two contrasting habitats: direct and indirect effects. *Acta Ecologica Sinica*, 38, 3543–3552. [罗文杰, 金晓芳, 汪正祥, 戴璨 (2018). 两种生境下野慈姑繁殖差异及其机制. 生态学报, 38, 3543–3552.]
- Marcón F, Martínez EJ, Rodríguez GR, Zilli AL, Brugnoli EA, Acuña CA (2019). Genetic distance and the relationship with heterosis and reproductive behavior in tetraploid bahiagrass hybrids. *Molecular Breeding*, 39, 1–13.
- Marshall DL (1988). Postpollination effects on seed paternity: mechanisms in addition to microgametophyte competition operate in wild radish. *Evolution*, 42, 1256–1266.
- Marshall DL, Ellstrand NC (1986). Sexual selection in *Raphanus sativus*: experimental data on nonrandom fertilization, maternal choice, and consequences of multiple paternity. *The American Naturalist*, 127, 446–461.
- Marshall DL, Shaner MGM, Oliva JP (2007). Effects of pollen load size on seed paternity in wild radish: the roles of pollen competition and mate choice. *Evolution*, 61, 1925–1937.
- Minnaar C, Anderson B, De Jager ML, Karron JD (2019). Plant-pollinator interactions along the pathway to paternity. *Annals of Botany*, 123, 225–245.
- Paschke M, Abs C, Schmid B (2002). Effects of population size and pollen diversity on reproductive success and offspring size in the narrow endemic *Cochlearia bavarica* (Brassicaceae). *American Journal of Botany*, 89, 1250–1259.
- Pelabon C, Albertsen E, Falahati-Anbaran M, Wright J, Armbruster

- WS (2015). Does multiple paternity affect seed mass in angiosperms? An experimental test in *Dalechampia scandens*. *Journal of Evolutionary Biology*, 28, 1719–1733.
- Pélabon C, Hennet L, Bolstad GH, Albertsen E, Opedal ØH, Ekrem RK, Armbruster WS (2016). Does stronger pollen competition improve offspring fitness when pollen load does not vary? *American Journal of Botany*, 103, 522–531.
- Price MV, Waser NM (1979). Pollen dispersal and optimal outcrossing in *Delphinium nelsoni*. *Nature*, 277, 294–297.
- Qin DF, Li T, Dai C (2015). Factors affecting the estimation of pollen limitation in *Sagittaria trifolia*. *Journal of Applied Ecology*, 26, 302–307. [覃道凤, 李婷, 戴璨 (2015). 野慈姑花粉限制评估的影响因素. 应用生态学报, 26, 302–307.]
- Quilichini A, Debussche M, Thompson JD (2001). Evidence for local outbreeding depression in the Mediterranean island endemic *Anchusa crispa* Viv. (Boraginaceae). *Heredity*, 87, 190–197.
- Revelle W (2018). *psych: Procedures for Personality and Psychological Research*. Northwestern University, Evanston, USA.
- Rhode JM, Emmett Duffy J (2004). Seed production from the mixed mating system of Chesapeake Bay (USA) eelgrass (*Zostera marina*; Zosteraceae). *American Journal of Botany*, 91, 192–197.
- Ruhsam M, Hollingsworth PM, Squirrell J, Ennos RA (2010). Significant differences in outcrossing rate, self-incompatibility, and inbreeding depression between two widely hybridizing species of *Geum*. *Biological Journal of the Linnean Society*, 101, 977–990.
- Santamaría L (2002). Why are most aquatic plants widely distributed? Dispersal, clonal growth and small-scale heterogeneity in a stressful environment. *Acta Oecologica*, 23, 137–154.
- Schiemann K, Tyler T, Widén B (2000). Allozyme diversity in relation to geographic distribution and population size in *Lathyrus vernus* (L.) Bernh. (Fabaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 225, 119–132.
- Seltmann P, Cocucci A, Renison D, Cierjacks A, Hensen I (2009). Mating system, outcrossing distance effects and pollen availability in the wind-pollinated treeline species *Polylepis australis* BITT. (Rosaceae). *Basic and Applied Ecology*, 10, 52–60.
- Sork VL, Schemske DW (1992). Fitness consequences of mixed-donor pollen loads in the annual legume *Chamaecrista fasciculata*. *American Journal of Botany*, 79, 508–515.
- Team RDC (2016). *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Trame AM, Coddington AJ, Paige KN (1995). Field and genetic studies testing optimal outcrossing in *Agave schottii*, a long-lived clonal plant. *Oecologia*, 104, 93–100.
- Van Etten ML, Tate JA, Anderson SH, Kelly D, Ladley JJ, Merrett MF, Peterson PG, Robertson AW (2015). The compounding effects of high pollen limitation, selfing rates and inbreeding depression leave a New Zealand tree with few viable offspring. *Annals of Botany*, 116, 833–843.
- Vandepitte K, Honnay O, Jacquemyn H, Roldán-Ruiz I (2010). Effects of outcrossing in fragmented populations of the primarily selfing forest herb *Geum urbanum*. *Evolutionary Ecology*, 24, 1353–1364.
- Volis S, Shulgina I, Zaretsky M, Koren O (2011). Epistasis in natural populations of a predominantly selfing plant. *Heredity*, 106, 300–309.
- Wang ZF, Peng SL (2003). Plant conservation genetics. *Acta Ecologica Sinica*, 23, 158–172. [王峥嵘, 彭少麟 (2003). 植物保护遗传学. 生态学报, 23, 158–172.]
- Waser NM, Price MV (1994). Crossing-distance effects in *Delphinium nelsonii*: outbreeding and inbreeding depression in progeny fitness. *Evolution*, 48, 842.
- Xi Q, Zhao TN, Zhang CL (2014). Influence of treatments on *Pinus pumila* seed viability. *Plant Science Journal*, 32, 427–433. [席沁, 赵廷宁, 张成梁 (2014). 若干种子处理方法对偃松种子生活力的影响. 植物科学学报, 32, 427–433.]
- Yang ZR, Hao LZ, Zhang FL, Wang P, Liu JC, Li XJ, Zhang JW, Hu NB, Zhao QY, Wang LY (2007). Seed germination and changes in storage substance contents of *Allium mongolicum* Regel. *Plant Physiology Communications*, (1), 173–175. [杨忠仁, 郝丽珍, 张凤兰, 王萍, 刘杰才, 李晓静, 张进文, 胡宁宝, 赵清岩, 王六英 (2007). 沙葱种子的萌发特性和几种贮藏物质含量的变化. 植物生理学通讯, (1), 173–175.]
- Zhang DY, Jiang XH (2001). Mating system evolution, resource allocation, and genetic diversity in plants. *Acta Phytocologica Sinica*, 25, 130–143. [张大勇, 姜新华 (2001). 植物交配系统的进化、资源分配对策与遗传多样性. 植物生态学报, 25, 130–143.]
- Zhao XJ, Tan DY (2007). Selective abortion and its evolutionary, ecological significance in seed plants. *Journal of Plant Ecology (Chinese Version)*, 31, 1007–1018. [赵学杰, 谭敦炎 (2007). 种子植物的选择性败育及其进化生态意义. 植物生态学报, 31, 1007–1018.]
- Zhou QY (2014). Effect of pollen donor diversity on fecundity in *Xanthoceras sorbifolium*. *Plant Science Journal*, 32, 259–264. [周庆源 (2014). 文冠果花粉供体的多样性对果实产出的影响. 植物科学学报, 32, 259–264.]
- Ziehe M, Roberds JH (1989). Inbreeding depression due to overdominance in partially self-fertilizing plant populations. *Genetics*, 121, 861–868.

特邀编委: 廖万金 责任编辑: 李 敏