

管花秦艽的传粉生态学研究——兼与同域分布近缘种的比较

^{1,2}侯勤正 ^{1,2}孟丽华 ¹杨慧玲*

¹(中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 中国科学院西北高原生物研究所 西宁 810001)

²(中国科学院研究生院 北京 100049)

Pollination ecology of *Gentiana siphonantha* (Gentianaceae) and a further comparison with its sympatric congener species

^{1,2}Qin-Zheng HOU ^{1,2}Li-Hua MENG ¹Hui-Ling YANG*

¹(Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

²(Graduate University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract In this study, we studied pollination ecology of *Gentiana siphonantha* (Gentianaceae), a late-autumn flowering alpine perennial in the northeastern Qinghai-Tibetan Plateau for two years for the first time. We also aimed to compare the pollination differentiation between this species and sympatrically distributed *G. straminea* that has a close phylogenetic origin but is flowering early. Flowers of *G. siphonantha* are characteristic of dichogamy and herkogamy and this floral development prevents occurrence of autonomous self-pollination. This implication was confirmed by the breeding experiments, since no seed was produced when flowers were isolated. However, this gentian proved to be highly self-compatible when geitonogamous selfing was artificially induced. Each individual plant of this species has an average of 14.6 flowers ranging from 4 to 31, at both staminate and pistillate stages with a ratio of 1.2:1 in full anthesis. Both floral development and breeding experiments suggested that pollen vectors were indispensable for successful seed sets of this species. A great variety of insects were observed to visit this species, but the most common and only legitimate pollinator is *Bombus sushikini*. A statistic observation suggested that this pollinator showed no preference to either staminate or pistillate flowers and visited them at random. We further calculated the frequency of their visits between and within individual plants. Among the pollinators' bouts, the proportions of geitonogamous visits within an individual plant occupy about 87.8%. Such a case implied that geitonogamous selfing prevails in this species in spite of floral dichogamy and herkogamy that were suggested to promote outcrossing. Compared with sympatric *G. straminea*, the total floral longevity and the male and female duration of this species are shorter. However, the number of flowers of each individual plant and branch increased when in full anthesis. It is interesting that both closely related species shared the same pollinator despite their distinct difference in flower morphology. This finding is inconsistent with the previous hypothesis that both flower color and corolla tube depth have coevolved with different pollinators during speciation and formation of reproductive isolation. Both visit frequencies of the individual flower and geitonogamous visits within the individual plant are higher in *G. siphonantha* than in *G. straminea*. This difference may result from their different inflorescence designs that actively act upon behaviors of pollinator. Although these two species differed in flowering phenology, their flowering stages overlapped for a few days, suggesting incomplete pollination isolation between them.

Key words *Bombus sushikini*, geitonogamous selfing, *Gentiana siphonantha*, *Gentiana straminea*, pollination ecology, reproductive isolation and differentiation, sympatric distribution.

摘要 在青藏高原东北部连续两年观察了晚秋开花植物管花秦艽 *Gentiana siphonantha* 的传粉生态学特征, 并在此基础上进一步比较分析了与该物种同域分布且亲缘关系较近、但开花较早的麻花苳 *G. straminea* 之间的传粉生态学特征。管花秦艽的花发育过程表现出雌雄异熟和雌雄异位的特点, 不存在花内的自花传粉, 套袋隔离的花不结实也支持这一结论; 株内自交的高结实率表明该物种是自交亲和的。盛花期每植株平均有 15 朵开放的花, 雄性和雌性阶段的花比例为 1.2:1; 自然条件下产生种子必须依赖传粉媒介; 苏氏熊蜂是最有效的传粉昆虫, 且访花过程中对雄性和雌性阶段花不具明显的偏向性; 株内连续访花的频率高达 87.8%, 从而导致同株异花传粉自交的广泛存在。与同域分布的麻花苳相比, 管花秦艽的单花花期、雄性和雌

2007-04-19 收稿, 2007-06-07 收修改稿。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: yanghuiling@nwipb.ac.cn)。

性期持续时间缩短。但盛花期开花数量明显增加。令人感兴趣的是尽管两个近缘种的花形态特征存在显著差异,但都是由同一种熊蜂传粉。这一特点与过去认为花颜色和花管长度是物种分化过程中与不同传粉昆虫协同进化导致生殖隔离的假说不相符合。管花秦艽单花的访花频率和同株异花连续访花的比例都明显高于麻花苳。两个物种不同花序设计导致访花昆虫行为的改变可能是造成这一差异的主要原因。两个物种具有不同的开花时间,但仍然存在一定的花期重叠,表现出不完全的传粉生殖隔离状态。

关键词 苏氏熊蜂; 同株异花自交; 管花秦艽; 麻花苳; 传粉生态; 生殖隔离和分化; 同域分布

达尔文最早将植物物种形态分化以及生殖隔离与为之传粉的昆虫种类联系起来(Darwin, 1862)。通过对兰科近缘物种的比较,他发现不同的物种具有不同的传粉昆虫,而传粉昆虫的种类、形态特征与植物花的形态特征(也是物种分化的形态鉴别性状)存在相互对应的进化关系。植物与花的协同进化在后来的研究中得到广泛认同,如Nilsson (1988)指出,植物花冠管深度的演化与昆虫取食花蜜的喙长也存在正相关的协同进化关系。近缘物种之间花颜色的不同也可导致传粉昆虫的种类变化,进而使近缘物种之间通过传粉媒介的不同来维持生殖隔离(Clegg & Durbin, 2000)。近缘物种的传粉生态学特征比较对于阐述植物的物种分化和生殖隔离机制具有重要意义(Grant, 1981; 何亚平, 刘建全, 2003),但是以往的比较研究主要集中热带、温带昆虫种类比较丰富的地区(Darwin, 1862; Clegg & Durbin, 2000),而对于昆虫种类比较贫乏的高山地区则研究较少。自第三纪以来,青藏高原的快速隆升产生了众多分布在该地区进化历史较短的近缘物种(Liu et al., 2002, 2006; Liu, 2004; 王玉金等, 2004; Wang et al., 2005, 2007),从而为这一比较提供了丰富的研究对象。如集中分布在青藏高原地区的龙胆属 *Gentiana* L. (Ho & Liu, 2001),该属许多物种起源较晚(Yan & Kupfer, 1997; Zhang et al., 2006),并且近缘物种同域分布现象较为普遍。秦艽组sect. *Crucifera* Gaudin中的管花秦艽 *G. siphonantha* Maxim. ex Kusn. 和麻花苳 *G. straminea* Maxim. 的分布就具有该特点,适合于进行物种之间繁育系统和传粉生态特征分化的比较研究。

麻花苳的繁育系统和传粉生态学研究已经有比较详细的报道:花发育具有明显的雌雄异熟和雌雄异位,避免了单花自交,必须依赖昆虫才能结实;像其他地区的高山植物一样,主要是由高能量的熊蜂传粉;但同株异花自交高度亲合,由于每一植株同时开放多个花,同株异花自交(geitonogamous selfing)现象广泛存在(何亚平, 刘建全, 2004; Duan

et al., 2005)。此外,该植物开放期的花随温度变化存在相应的“开”、“闭”动态(He et al., 2006)。管花秦艽和麻花苳不仅花序结构明显不同,而且花颜色和花冠管深度也迥然不同:前者为深蓝色、花冠管短,后者为黄绿色、花冠管长(Ho & Liu, 2001)。麻花苳花期主要集中在高原植物开花的高峰期8月开花,而管花秦艽则是在气温较低、开花种类较少的9月开花。这两个物种的花期在观察过的多个地点都存在部分重叠,而在这些地点也能发现形态位于二者之间的过渡性个体。分子证据表明形态过渡个体是两个物种的杂交后代(李小娟等, 2007),说明它们之间生殖隔离不是十分彻底。最近分子系统学的研究表明,管花秦艽和麻花苳都是秦艽组物种辐射式分化的产物(Zhang et al., 2006),因而两者之间有十分近缘的亲缘关系。管花秦艽的繁育系统等有关内容均未见报道。本文重点研究管花秦艽的传粉生态学特征,并与同域分布物种麻花苳进行比较(何亚平, 刘建全, 2004; Duan et al., 2005; He et al., 2006),回答如下问题:(1)作为麻花苳的近缘种,管花秦艽的繁育系统与之一样吗?(2)它们不同的花颜色以及花冠管长度是否意味着具有不同的传粉昆虫?传粉昆虫的差异是否是它们物种分化、生殖隔离的重要基础?(3)假如它们不是由不同的昆虫传粉,而是由同一种昆虫传粉,昆虫的访花行为、访花频率是否会由于开花物候的差别而存在显著的变化?

1 材料和方法

1.1 研究时间和地点

观察和试验于2005年和2006年8月至9月在青海省门源县中国科学院海北高寒草甸生态系统定位研究站(以下简称海北站)开展。海北站位于青藏高原东北部(北纬 37°29′-37°45′, 东经 101°12′-101°23′, 海拔3200 m),年平均气温-1.7 °C(最高27.6 °C;最低-37.1 °C),平均降水为426-860 mm,且降水多集中在5-9月。

1.2 研究对象

管花秦艽为多年生草本植物,高10–30 cm。莲座叶线形或线状披针形,长达15 cm,一般宽7–10 cm。枝少数,直立,光滑。花多数,无梗,簇生于花枝顶呈头状或轮生在花枝中部,每花枝可产生1–3个花簇;花冠深蓝色,筒形,长2–2.8 cm;一般具有5个花药,每两个花丝底部间有一蜜腺,所以管花秦艽一般具5个蜜腺。花果期7–9月。管花秦艽主要生于河滩、山坡草甸、灌丛中,海拔3000–4500 m的范围内。

1.3 花综合特征

在居群开花前期做3个1×10 m的样方,每天观察样方内开花数目,记录管花秦艽开花物候。选取40朵完全开放的花,测量花冠管部的长度和花冠口部的宽度。在居群盛花期调查统计每个植株上的花枝数目、开花数目以及每花枝上的开花数目和处于雄性阶段、雌性阶段的花数目,并计算雌雄阶段花比例。P/O比的检测采用Dafni (1992)的方法,随机摘取10个花蕾固定于FAA固定液中,带回实验室后把全部花药取出放于盛有水的离心管中,然后挤碎使花粉散布于水中,加水至1 mL,充分摇匀后用取液枪取出1 μ L在显微镜下数花粉数目,重复5次计算平均值得出每花的花粉数目;剖开子房,在体式显微镜下数胚珠数目。计算出P/O以初步判断管花秦艽的交配系统类型。

盛花期开始前,随机选取10个植株的10个花蕾进行观察。自花开放之日起,每日从早上8:00到晚上18:00每隔1小时观察记录一次花的状态,包括花药散粉、散粉结束、柱头张开的时间以及花冠永久性闭合的时间。

1.4 繁育系统

2005和2006年盛花期开始前在样地中选取100朵花做以下5种处理(每种处理各20朵):(1)去雄后自然传粉(nature pollination after emasculation);(2)不去雄套袋(bagging without emasculation);(3)去雄套袋(bagging after emasculation);(4)人工自花传粉(manual selfing);(5)人工异花传粉(manual outcrossing)。另外选20朵自然授粉(natural pollination)的花作为对照。其中所有去雄和套袋处理都在柱头未张开前进行,以免柱头受到污染;试验(2)在花蕾期进行,试验(4)和(5)要先进行去雄处理,然后等3天后(确保此时柱头开放)用同一植株(试验4)或不同植株

(试验5)的新鲜花粉进行授粉。在果实成熟后未开裂前采集种子,带回实验室数成熟种子数和败育胚珠数,计算结籽率。结籽率=成熟种子数/(成熟种子数+败育胚珠数)。

1.5 传粉昆虫观察以及传粉效率测定

2005年–2006年在居群盛花期采用Arroyo等(1985)的方法观察访花昆虫的种类、行为和频率。观察前选择5–7个花序,以花序上所有的花作为观察对象,在3 m外(减少对昆虫的干扰)观察记录所有访花昆虫的次数和行为,并依据昆虫的访花行为确定管花秦艽的传粉昆虫。经过2005年3天时间的前期观察,发现苏氏熊蜂是该植物最常见、也可能是最有效的传粉昆虫,然后集中时间对这种昆虫在每植株上的访花数目和访花方向进行统计。主要采用跟踪每个昆虫访花的方法,即统计每个昆虫在一个植株上访问了多少花序,在一个花序上访问了多少朵花,接触访花的方向;并检查被访问花所在的雄性或者雌性阶段时期。

在2006年检测了苏氏熊蜂的传粉效率。首先在花蕾期对10朵花去雄套袋,柱头张开后去掉袋子,苏氏熊蜂访问一次后马上套上袋子,2 h后取下柱头并固定在FAA中,在实验室显微镜下采用Dafni (1992)的方法观察柱头上的花粉数目。用蒸馏水冲洗柱头后用8 mol/L的NaOH软化10 h,软化结束后在蒸馏水中浸泡3 h复水,然后在乙酸钾缓冲液配制的0.1%苯胺兰溶液中染色4 h。染色后将柱头置于载玻片上,用盖玻片压碎后在光学显微镜下统计花粉数量。染色后的花粉呈蓝色。根据花粉数目来估计苏氏熊蜂的传粉效率。对苏氏熊蜂的喙长(proboscis length)利用直尺直接进行测量。

1.6 与麻花苳相关数据的对比分析

2005年和2006年对与管花秦艽同域分布的麻花苳居群开花物候进行了连续观察。麻花苳的繁育系统由于以前连续4年的观察均未发现变化(Duan et al., 2005),因而没有进行再实验。2005年对花大小、花持续期、昆虫访花频率和在株内连续访花比例进行了观察,由于与以前的研究结果相一致(Duan et al., 2005),2006年不再进行观察。这些内容的研究方法同管花秦艽。在与管花秦艽的比较中,我们主要进行两个物种同在2005年新取得的观察数据之间的比较。同时,在昆虫访花频率和株内连续访花比例的比较中,我们也将麻花苳5年(2001–

2005)的平均数据和管花秦艽连续两年(2005–2006)的平均数据进行比较。

1.7 统计分析

所有数据平均值的计算与统计分析均在SPSS 11.0中进行,在比较前首先用Nonparametric Test中1-Sample K-S检验数据是否服从正态分布。对于服从正态分布的数据,用Independent T Test比较两组数据的差异,而用One-way ANOVA和Pos hoc-LSD比较3组或者3组以上数据的差异;对于不服从正态分布的数据,用Nonparametric Test中2 Independent Samples比较两组数据的差异,用K Independent Samples比较3组或者3组以上数据的差异。文中及图、表中的所有数据均用平均值±标准差表示,而*n*表示样本量。

2 试验结果

2.1 花综合特征

管花秦艽的开花物候在两年间存在一定差别,2005年要早于2006年,但均在8月中旬开始开花(图1)。每个花枝位于顶端头状花序中央的花首先开放,然后向外依次开放;下层花序开放要比上层晚,开放时也是靠近花枝中央的花首先开放,然后向外开

放。开花后期(9月)时,温度下降导致叶和花枝变黄,但是花仍然处于开放状态,此时开放的花颜色仍为深蓝色。

管花秦艽每植株产生 1.93 ± 0.73 个花枝($n=40$),麻花苳每植株产生 2.06 ± 1.14 个花枝($n=152$),两者之间没有显著性差异($F=3.378, P=0.462$)。管花秦艽盛花期每个花枝共产生6至42朵花,平均 23 ± 8 朵($n=40$),其中处于开放状态的花朵数目为2至17朵,平均 8 ± 3 朵($n=40$),而整个植株上处于开放状态下的花数目为 15 ± 5 朵($n=40$);盛花期开放状态下的花朵处于雄性和雌性阶段的比例为1.2:1(图2)。管花秦艽开放期的花冠口部宽 12.67 ± 4.14 mm ($n=40$),花冠管深 6.73 ± 1.02 mm ($n=40$)。管花秦艽单花花粉数为 119300 ± 58000 个($n=10$)、胚珠数为 132 ± 28 个($n=10$),花粉胚珠比(P/O)为 884 ± 403 ($n=10$)。

管花秦艽在自然状态下单花持续期为 6.2 ± 1.5 d ($n=10$),花张开时聚在花中央的5个花药开始散粉,此时柱头位于花药下方没有张开。雄性期持续时间 2.1 ± 0.8 d ($n=10$);散粉完毕后花药随着花丝向四周运动,直到贴在筒状花冠内壁上。在花丝运动过程中,位于花药下方的雌蕊伸长,柱头开始张开,并具有接受能力。雌性期持续时间为 4.1 ± 1.5 d ($n=10$)。管花秦艽的花开放过程说明该植物具有雄性先熟

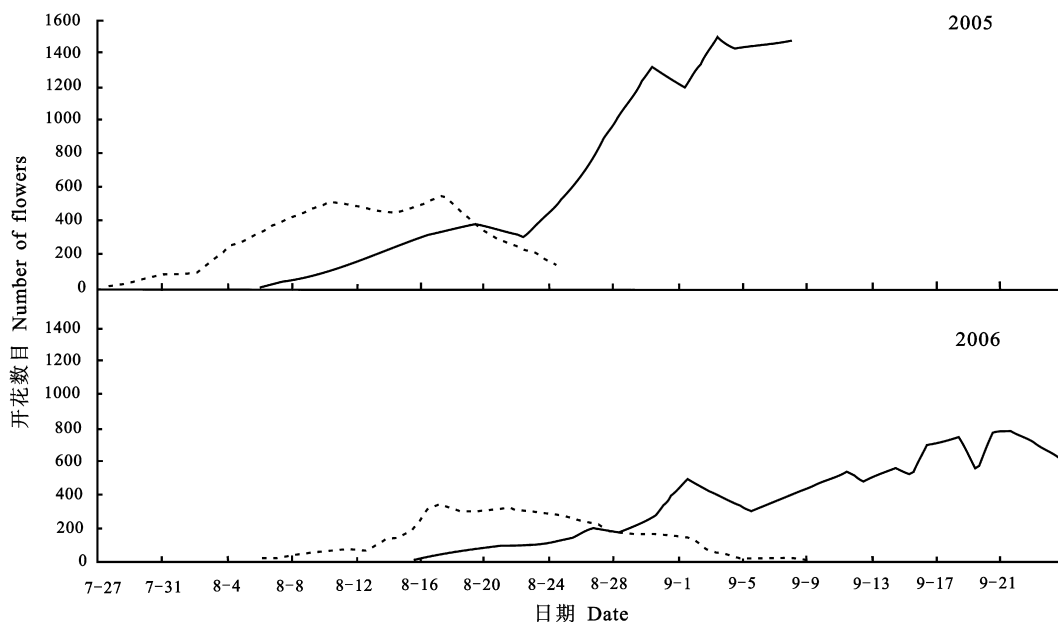


图1 管花秦艽和麻花苳2005和2006年的开花物候 图中虚线代表麻花苳,实线代表管花秦艽。

Fig. 1. Flowering phenology of *Gentiana siphonantha* and *G. straminea* in 2005 and 2006. The broken and the solid lines indicate *G. straminea* and *G. siphonantha* respectively.

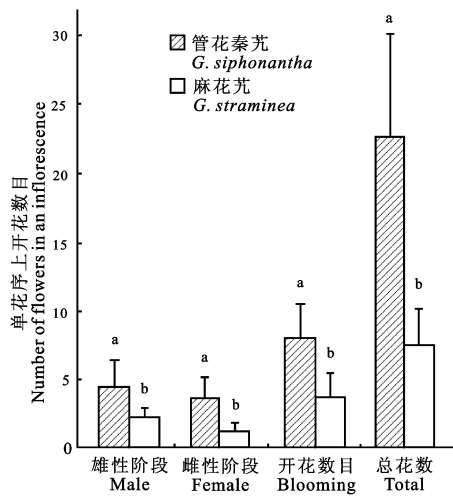


图2 管花秦艽和麻花苳盛花期一个花序上雄性阶段、雌性阶段、开花(雄性阶段和雌性阶段)和所有发育的花数目 差异的显著性比较只在两个物种间进行;不同的字母表示在0.01水平上有显著性差异。

Fig. 2. The number of flowers in each inflorescence of *Gentiana siphonantha* and *G. straminea* at the male phase, the female phase, blooming (male phase and female phase) and the total number of the developed flowers. Significant tests were conducted only between two species and bars with different letters indicate a significant difference at $P=0.01$.

和雌雄异位的特点。通过对开放花的监测发现,无论是处于雄性期还是雌性期末授粉的开放花,在温度下降(早上、晚上、阴天、雨天以及突然降雨)时都发生临时性闭合,而在白天温度升高时又开放。雌性期授粉后的花发生永久性闭合,不再开放。

2.2 繁育系统

繁育系统各种处理在两年间的比较除不去雄套袋外都没有显著性差异(不去雄套袋在2005年有低微结实,其原因可能为实验处理过程中操作误差所为)(表1),繁育系统在两年间的变化不明显。人工自交处理的结籽率都很高(分别为0.62和0.633),与人工异交的结籽率在统计上没有显著性差异(表1),

表明管花秦艽自交高度亲和。不去雄套袋和去雄套袋两年的平均结籽率都很低,表明管花秦艽既不存在单花自交(autonomous self-pollination)现象,也不能无融合生殖(apomixis)。两年间去雄后自然授粉的结籽率分别0.707和0.624,与自然状态下结籽率比较没有显著性差异(表1),这一结果说明管花秦艽存在传粉媒介,而且较为稳定。

2.3 访花昆虫及其传粉效率

两年间在管花秦艽盛花期共对65个花序296朵花进行了40.8 h的观察(其中2005年15个花序85朵花观察了14.5 h,2006年50个花序211朵花观察了26.3 h),发现苏氏熊蜂是最主要、也是最有效的传粉昆虫。2005年苏氏熊蜂对管花秦艽的访花频率为 $0.025 \text{次}\cdot\text{花}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,2006年为 $0.027 \text{次}\cdot\text{花}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$,平均值为 $0.026 \text{次}\cdot\text{花}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$;两年间的访花频率比较不存在显著性差异($P>0.005$)。苏氏熊蜂在访问管花秦艽时都是直接飞向花朵(没有在花朵上方盘旋动作),头部伸入花内,用喙取食花蜜。一般情况下苏氏熊蜂会对一朵花的5个蜜腺全部取食,在此过程中身体会在花朵上爬着绕行 360° ,从而使头部和前胸充分接触到花粉和柱头。在访问完一朵花后苏氏熊蜂会接着爬向就近的花朵,重复刚才的访花动作;或飞向较近的花序访问,但连续被访问的两个花序之间的距离不会很远。对苏氏熊蜂访花效率的观测结果显示,苏氏熊蜂单次访问所带给柱头的花粉数为 370 ± 279 个花粉($n=10$)。苏氏熊蜂的喙长为 $13.7\pm 3.3 \text{ mm}$ ($n=25$)。

管花秦艽还有其他访问者,如苍蝇、蝴蝶和蜜蜂,但其访花频率均很低,访花行为观察发现它们只访问雄性阶段的花,而且只是取食花粉,身体不伸入花内,所以推测它们只是花粉偷食者(pollen thievery),而不是管花秦艽的有效传粉昆虫。蚂蚁和

表1 管花秦艽2005和2006年繁育系统中6种不同处理的结籽率

Table 1 Seed sets of six different breeding treatments of *Gentiana siphonantha* in 2005 and 2006

处理 Treatments	结籽率 Seed set		
	2005	2006	显著性 Significance
自然授粉 Natural pollination	$0.65 \pm 0.20^a (n=20)$	$0.70 \pm 0.12^a (n=11)$	0.344
去雄套袋 Bagged after emasculation	$0^b (n=18)$	$0^b (n=20)$	0.298
不去雄套袋 Bagged without emasculation	$0.02 \pm 0.001^c (n=15)$	$0^b (n=20)$	0.45
去雄后自然授粉 Natural pollination after emasculation	$0.71 \pm 0.21^a (n=12)$	$0.62 \pm 0.11^a (n=17)$	0.151
人工同株异花授粉 Artificial geitonogamy	$0.62 \pm 0.25^a (n=10)$	$0.63 \pm 0.18^a (n=12)$	0.902
人工异株异花传粉 Artificial xenogamy	$0.71 \pm 0.10^a (n=15)$	$0.72 \pm 0.14^a (n=13)$	0.872

表中同一年内有相同字母的值表示在0.05水平没有显著差异, n 代表样本量。

The different letters in the same year indicate a significant difference at the 0.05 level and n represents the sampled flowers.

蓟马等小型昆虫尽管生活在管花秦艽花朵内, 但对其在花朵内的行为观察发现, 它们只是花蜜偷食者, 身体不会触及柱头, 所以不是管花秦艽的有效传粉昆虫。克什米尔熊蜂也访问管花秦艽, 但在访花过程中, 身体停在筒状花冠外, 头部对着花柄方向, 用坚硬的喙在花冠基部凿孔, 然后吸食花蜜, 因此克什米尔雄蜂的访花行为只是一种抢食行为 (nectar robbery), 也不可能是管花秦艽的有效传粉昆虫。

对142头苏氏熊蜂(2005年58头, 2006年84头)访花行为的跟踪观察发现, 苏氏熊蜂在一个花序上有连续访问的行为, 它们在一个花序上一个回合访问两朵花以上的比例两年分别为72.3%和61.1%, 平均为66.7%; 而在同一植株内的访花比例高达87.8%。

2.4 管花秦艽和麻花苳开花与传粉特征比较

对开花物候两年的监测表明, 麻花苳开花要早于管花秦艽(图1)。2005年两个物种的开花物候都比2006年早, 两年中花期重叠都超过10天, 但开花高峰存在显著区别(麻花苳开花高峰在8月中旬, 而管花秦艽则在9月中旬)。管花秦艽单花持续期、雄性阶段和雌性阶段花持续期要短于麻花苳, 种间存在显著性差异(图3)。两物种盛花期每植株、花枝上的

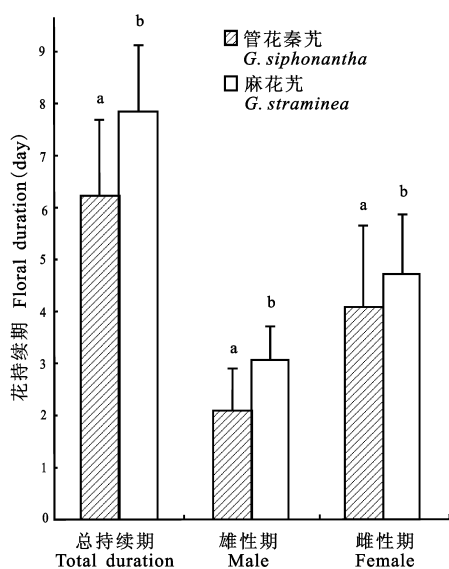


图3 管花秦艽和麻花苳2005年单花持续期、雄性持续期和雌性期差异的显著性比较只在两个物种间进行; 不同的字母表示在0.01水平上有显著性差异。

Fig. 3. Floral longevity and male and female phase duration of *Gentiana siphonantha* and *G. straminea* in 2005. Significant tests were conducted only between two species and bars with different letters indicate a significant difference at $P=0.01$.

开花数目存在显著性差异, 管花秦艽高于麻花苳; 同样, 每花枝上处于雄、雌性期的花数目也是前者高于后者(图2)。尽管两个物种都是由苏氏熊蜂传粉, 但二者花冠管部的长度存在显著差异, 麻花苳长于管花秦艽; 麻花苳花冠管部长度与苏氏熊蜂的喙长更为吻合(图4)。管花秦艽单花的访花频率和株内异花访花的频率都明显高于麻花苳(图5)。

3 讨论

3.1 管花秦艽的繁育系统

管花秦艽具有雌雄异熟和雌雄异位现象(黄双全, 2004), 与其他龙胆属植物相同(Spira & Pollak, 1986; 段元文, 刘建全, 2003; Duan et al., 2005)。这一机制被认为有效地促进了异花传粉、避免单花自交(Lloyd & Webb, 1986; Bhardwaj & Eckert, 2001; Ishii & Sakai, 2002)。本文对其不去雄套袋不结实的结果也证明了单花自花授精确实不会发生, 自然条件的花必须依赖昆虫才能结实。但是, 另外一些研究指出尽管植物有雌雄异熟和雌雄异位现象, 但是这两种现象不能避免同株异花授精造成的自交, 推测它们的作用可能主要是避免两性冲突(Galloway

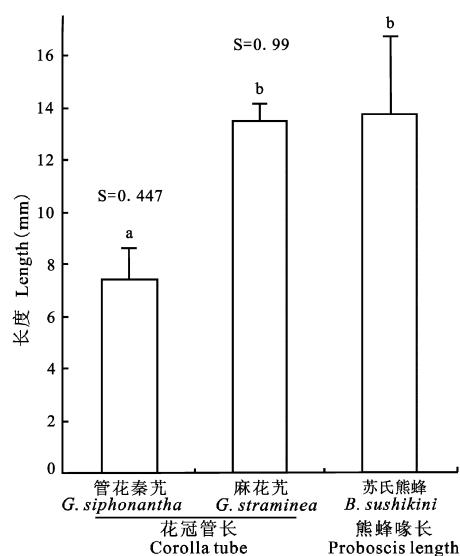


图4 管花秦艽和麻花苳的花冠管长度与苏氏熊蜂的喙长。不同的字母表示在0.01水平上有显著性差异; s表示花冠管深与熊蜂喙长的吻合度。

Fig. 4. Corolla tube lengths of *Gentiana siphonantha* and *G. straminea* and the proboscis length of *Bombus sushikini*. Bars with different letters indicate a significant difference at $P=0.01$ and s indicates the correlation indicator between corolla tube and proboscis lengths.

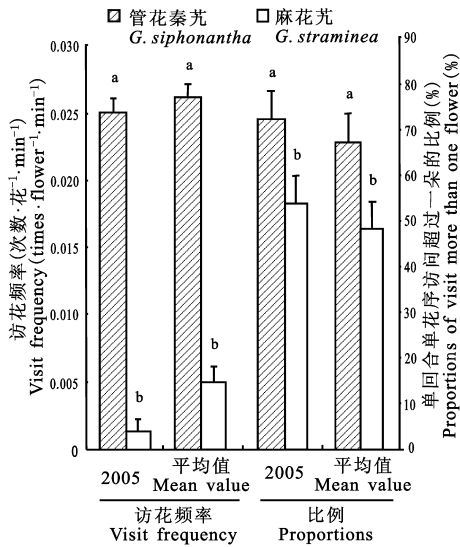


图5 苏氏熊蜂对管花秦艽和麻花苳2005年和多年平均的传粉频率(右边两栏)以及苏氏熊蜂在一个访问回合内在一个花序上访问超过一朵花的比例(左边两栏) 差异性重要性比较只在两个物种间进行; 不同的字母表示在0.01水平上有显著性差异。

Fig. 5. The visit frequencies (the two right columns) of *Bombus sushikini* to *Gentiana siphonantha* and *G. straminea* respectively and the proportions (the two left columns) of each bout with more than one flower in each inflorescence in 2005 and the average means in all monitored years. Significant tests were conducted only between two species and bars with different letters indicate a significant difference at $P=0.01$.

et al., 2002; 何亚平, 刘建全, 2004; Duan et al., 2005)。管花秦艽同株异花传粉高度亲合(表1), 盛花期同一植株上雌雄同期, 每一花枝上雄性花和雌性花的比值为1.2:1 (图2); 传粉昆虫在一个植株上甚至同一花序上一个回合访问两朵或两朵以上的比例都非常高(图5)。可见管花秦艽显然存在同株异花授粉, 从而造成株内自交, 表明该植物的雌雄异熟和雌雄异位并未完全避免自交。管花秦艽P/O比值为 884 ± 403 , 与兼性异交的物种相似(Dafni, 1992), 也说明该物种同时具有异交和自交的混合交配系统。管花秦艽的繁育系统特征与麻花苳十分类似(何亚平, 刘建全, 2004; Duan et al., 2005)。龙胆属的其他物种也具有类似的繁育系统(如Kozuharova et al., 2005), 这是该属十分稳定的一个生殖特征。这一特点可能反映了龙胆属植物促进异交和保证繁殖二者兼顾的进化策略。这种可塑性繁育系统对于植物适应昆虫访花频率相对较低的高山环境更能保证他们的繁衍生存。

3.2 传粉昆虫

高山植物主要是由熊蜂传粉(Whitham, 1997;

Bingham & Orthner, 1998)。熊蜂也是青藏高原地区其他花冠较大、颜色艳丽的植物种类的主要传粉者, 如獐牙菜属*Swertia* L. (段元文, 刘建全, 2003; Duan & Liu, 2007)、乌头属*Aconitum* L. (张挺峰等, 2006)以及马先蒿属*Pedicularis* L. (Macior & Tang, 1997)等植物种类。熊蜂具有高的热调节能力(Heinrich, 1975)、较强的逆境飞行能力(Bergmann et al., 1996)以及较高的花粉传递效率(Galen & Stanton, 1989; Fishbein & Venable, 1996)等适合为高山植物进行传粉的优良特点。管花秦艽与麻花苳作为一对同域分布近缘种, 花的形态差别较大(Ho & Liu, 2001), 但两物种均由苏氏熊蜂传粉。传粉昆虫与花的协同进化, 长期以来被认为是植物花形态多样化和物种隔离分化的主要驱动力(Darwin, 1862; 黄双全, 郭友好, 2000), 特别是不同的传粉昆虫传粉被认为是同域植物物种生殖隔离的重要机制(Grant, 1981)。但本文的比较研究表明, 对分布于青藏高原的秦艽类植物来讲, 其两个物种的形态分化与传粉昆虫没有必然联系。青藏高原地区马先蒿属物种之间的花形态存在极大分化, 对其传粉昆虫的观察也未发现与物种分化、花形态变异相对应的传粉昆虫种类的多样化: 花形态差异较大的物种却由同一种昆虫传粉, 同域分布、即使开花物候同期的物种也未发现是由不同的昆虫为之传粉(Macior & Tang, 1997)。

Nilsson (1988) 提出花冠长度与昆虫取蜜的喙长存在协同进化, 即花冠长度增长、相应传粉昆虫的喙长也增加。麻花苳的花冠管与苏氏熊蜂喙长最为吻合, 而管花秦艽花冠管短于苏氏熊蜂的喙长(图4), 表明传粉昆虫喙长不是一定要与花冠管长度匹配才能为之传粉, 长喙昆虫也能方便取食短花冠管植物的花蜜, 并为之进行有效传粉。此外, 麻花苳的花为黄绿色, 管花秦艽的花为深蓝色, 说明两种植物花的颜色似乎对传粉昆虫的影响较小。这些发现表明不同的传粉者传粉可能在高原地区一些类群中的近缘物种形态分化与生殖隔离方面没有发生重要作用。这一现象可能主要是由于高山环境下传粉昆虫种类相对少而造成的。

3.3 两个物种生殖隔离和传粉生态特征分化

虽然管花秦艽与麻花苳都是由同一传粉昆虫传粉, 两个物种的开花物候存在显著区别(图1), 这可能是二者为加强生殖隔离、减少由于杂交导致资源浪费、适合度降低的生态分化。对高山地区的植

物来讲, 7-8月是温度最高、最适合于生长的季节, 9月则面临温度降低、授粉后胚胎没有足够的时间来发育成种子(Korner, 1999)。管花秦艽昆虫的访花频率升高(图5), 相应单花花期、雄性和雌性期持续时间缩短(图3), 这种变化有助于晚期开花的该物种快速完成传粉以及胚胎在冬季来临之前完全成熟。管花秦艽植株内昆虫连续访问的比例要明显高于麻花艽(图5), 从而不可避免导致更高的自交率。尽管理论上认为同株异花自交不是一种适应, 而是植物为提高异交花粉输出和接受量而无法避免的结果(张大勇, 姜新华, 2001), 但高的自交可以降低晚期植物的种子风险(Aide, 1986; Waller, 1986), 并可能稳定存在(Porcher & Lande, 2005)。这些特点可以使管花秦艽生活于高山9月份的低温环境, 并为两物种的物候分化提供了基础。管花秦艽与麻花艽开花物候的分化以及同一种昆虫访花频率和行为的改变, 关键原因可能还是由两物种起源时就已形成的形态特征差异决定的: 前者花多数, 无梗, 簇生花枝顶呈头状或轮生于花枝中部, 每花枝可产生1-3个花簇; 而后者为二歧聚伞花序, 顶生或腋生, 排列疏松, 具小花梗。这些花序设计上的区别应该受多基因控制, 似乎不可能是由于后来适应同一种访花昆虫造成的趋异分化。这种现象说明两物种可能主要是以异域分化为主, 这与近年对该地区物种形成研究中发现的现象是基本一致的。高原隆升造成快速的生境隔离, 容易导致以异域分化式样形成新物种(Liu et al., 2002, 2006; 王玉金等, 2004; Wang et al., 2005, 2007)。而这些新物种在随后分布范围的扩张中与近缘物种同域分布, 他们为避免杂交进一步导致开花物候的分化和合子前生殖隔离机制的形成、并由此引起物种生殖生态特征的适应性分化。但是, 对于我们目前研究的两个物种来说, 他们之间的开花物候仍然有较长重叠, 说明其完全的合子前传粉生殖隔离机制尚未完全建立起来。自然分布中二者之间也存在比较多的杂交个体, 同样说明二者之间不存在完全的生殖隔离(李小娟等, 2007)。但是, 两个物种之间花粉和柱头的亲和程度以及种间杂交不亲和的合子后隔离程度尚不清楚。此外, Klips (1999)报道花粉竞争也是同域分布近缘物种的重要生殖隔离机制。这一机制是否在龙胆属同域分布种中存在, 仍然是值得深入研究的课题。

总之, 本文的研究结果表明: 管花秦艽具有和麻花艽等其他龙胆属植物相似的繁殖生态学特征; 尽管两个物种花颜色和花冠管长度存在显著区别, 但是由同一种昆虫传粉, 传粉昆虫并没有为两个物种的生殖隔离提供条件; 两个物种开花物候存在显著区别, 但在时间上并没有完全隔离; 由于开花物候和花序设计的差异, 花雌雄持续期和昆虫访花行为在两个物种中存在显著区别。

致谢 国家自然科学基金项目(30572329, 302702-53)和中国科学院全国百篇优秀博士论文专项基金和西部之光项目资助。

参考文献

- Aide TM. 1986. The influence of wind and animal pollination on variation in outcrossing rates. *Evolution* 40: 434-435.
- Arroyo MTK, Armesto JJ, Primack RB. 1985. Community studies in pollination ecology in the high temperate Andes of Central Chile. II. Effect of temperature on visitation rates and pollination possibilities. *Plant Systematics and Evolution* 149: 187-203.
- Bergmann P, Molau U, Holmgren B. 1996. Micrometeorological impacts on insects activity and plant reproductive success in an alpine environment, Swedish Lapland. *Arctic and Alpine Research* 28: 196-202.
- Bhardwaj M, Eckert CG. 2001. Functional analysis of synchronous dichogamy in flowering rush, *Butomus umbellatus* (Butomaceae). *American Journal of Botany* 88: 2204-2213.
- Bingham RA, Orthner AR. 1998. Efficient pollination of alpine plants. *Nature* 391: 238-239.
- Clegg MT, Durbin ML. 2000. Flower color variation: a model for the experimental study of evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97: 7016-7023.
- Dafni A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford: Oxford University Press.
- Darwin C. 1862. *On the various contrivances by which British and foreign orchids are fertilized by insects*. London: Murray.
- Duan Y-W, He Y-P, Liu J-Q. 2005. Reproductive ecology of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Gentiana straminea* (Gentianaceae), a hermaphrodite perennial characterized by herkogamy and dichogamy. *Acta Oecologica* 27: 225-232.
- Duan Y-W (段元文), Liu J-Q (刘健全). 2003. Floral syndrome and insect pollination of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Swertia przewalskii* (Gentianaceae). *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 41: 465-474.
- Duan Y-W, Liu J-Q. 2007. Pollinator shift and reproductive performance of the Qinghai-Tibetan Plateau endemic and endangered *Swertia przewalskii* (Gentianaceae). *Biodiversity and Conservation* 16: 1839-1850.
- Fishbein M, Venable DL. 1996. Diversity and temporal changes in the effective pollinators of *Asclepias tuberosa*. *Ecology* 77: 1061-1073.
- Galen C, Stanton ML. 1989. Bumble bee pollination and floral

- morphology: factors influencing pollen dispersal in the alpine sky pilot *Polemonium viscosum* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 76: 419–426.
- Galloway LF, Cirigliano T, Gremski K. 2002. The contribution of display size and dichogamy to potential geitonogamy in *Campanula americana*. *International Journal of Plant Sciences* 163: 133–139.
- Grant V. 1981. *Plant speciation*. 2nd ed. New York: Columbia University Press.
- He Y-P, Duan Y-W, Liu J-Q, Smith WK. 2006. Floral closure in response to temperature and pollination in *Gentiana straminea* Maxim. (Gentianaceae), an alpine perennial in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Plant Systematics and Evolution* 256: 17–33.
- He Y-P (何亚平), Liu J-Q (刘建全). 2003. A review on recent advances in the studies of plant breeding system. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报) 27: 151–163.
- He Y-P (何亚平), Liu J-Q (刘建全). 2004. Pollination ecology of *Gentiana straminea* Maxim. (Gentianaceae), an alpine perennial in the Qinghai-Tibet Plateau. *Acta Ecologica Sinica* (生态学报) 24: 215–220.
- Heinrich B. 1975. Thermoregulation in bumblebees. *Journal of Comparative Physiology B: Biochemical, Systemic, and Environmental Physiology* 96 (1): 155–166.
- Ho T-N, Liu S-W. 2001. *A worldwide monograph of Gentiana*. Beijing: Science Press.
- Huang S-Q (黄双全). 2004. On several scientific terms in pollination biology and their Chinese translation. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 42: 284–288.
- Huang S-Q (黄双全), Guo Y-H (郭友好). 2000. Advances in pollination biology. *Chinese Science Bulletin* (科学通报) 45: 225–237.
- Ishii HS, Sakai S. 2002. Temporal variation in floral display size and individual floral sex allocation in racemes of *Narthecium asiaticum* (Liliaceae). *American Journal of Botany* 89: 441–446.
- Klips RA. 1999. Pollen competition as a reproductive isolating mechanism between two sympatric *Hibiscus* species (Malvaceae). *American Journal of Botany* 86: 269–272.
- Korner C. 1999. Plant reproduction. In: Kner ed. *Alpine plant life-functional plant ecology of high mountain ecosystems*. Berlin: Springer. 259–290.
- Kozuharova E, Anchev M, Popov P. 2005. On the pollination ecology of *Gentiana cruciata* L. (Gentianaceae). *Nordic Journal of Botany* 23: 365–372.
- Li X-J (李小娟), Wang L-Y (王留阳), Yang H-L (杨惠玲), Liu J-Q (刘建全). 2007. Confirmation of natural hybrids between *Gentiana straminea* and *G. siphonantha* (Gentianaceae) based on molecular evidence. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究) 29: 91–97.
- Liu J-Q, Gao T-G, Chen Z-D, Lu A-M. 2002. Molecular phylogeny and biogeography of the Qinghai-Tibet Plateau endemic *Nannoglottis* (Asteraceae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 23: 307–325.
- Liu J-Q, Wang Y-J, Wang A-L, Ohba H, Abbott R-J. 2006. Radiation and diversification within the *Ligularia-Cremnathodium-Parasenecio* complex (Asteraceae) triggered by uplift of the Qinghai-Tibetan Plateau. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 38: 31–49.
- Liu J-Q. 2004. Uniformity of karyotypes in *Ligularia* (Asteraceae: Senecioneae), a highly diversified genus of the eastern Qinghai-Tibet Plateau highlands and adjacent areas. *Botanical Journal of the Linnean Society* 144: 329–342.
- Lloyd DG, Webb CJ. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. I. Dichogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 135–162.
- Macior LW, Tang Y. 1997. A preliminary study on pollination ecology of *Pedicularis* of Chinese Himalaya. *Plant Species Biology* 12: 1–7.
- Nilsson LA. 1988. The evolution of flowers with deep corolla tubes. *Nature* 334: 147–149.
- Porcher E, Lande R. 2005. The evolution of self-fertilization and inbreeding depression under pollen discounting and pollen limitation. *Journal of Evolutionary Biology* 18: 497–508.
- Spira TP, Pollak OD. 1986. Comparative reproductive biology of alpine biennial and perennial gentians (*Gentiana*: Gentianaceae) in California. *American Journal of Botany* 73: 39–47.
- Waller DM. 1986. Is there disruptive selection for self-fertilization? *American Naturalist* 128: 421–426.
- Wang A-L, Yang M-H, Liu J-Q. 2005. Molecular phylogeny, recent radiation and evolution of gross morphology of the Rhubarb genus *Rheum* (Polygonaceae) inferred from chloroplast DNA *trnL-F* sequences. *Annals of Botany* 96: 489–498.
- Wang Y-J (王玉金), Li X-J (李小娟), Hao G (郝刚), Liu J-Q (刘建全). 2004. Molecular phylogeny and biogeography of *Androsace* (Primulaceae) and the convergent evolution of cushion morphology. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 42: 481–499.
- Wang Y-J, Liu J-Q, Miede G. 2007. Phylogenetic origins of the Himalayan endemic *Dolomiaea*, *Diplazoptilon* and *Xanthopappus* (Asteraceae: Cardueae) based on three DNA regions. *Annals of Botany* 98: 91–98.
- Whitham TG. 1997. Coevolution of foraging in *Bombus* and nectar dispensing in *Chilopsis*: A last dreg theory. *Science* 197: 593–596.
- Yan YM, Kupfer P. 1997. The monophyly and rapid evolution of *Gentiana* sect. *Chondrophyllae* Bunge s.l. (Gentianaceae): evidence from the nucleotide sequences of the internal transcribed spacers of nuclear ribosomal DNA. *Botanical Journal of the Linnean Society* 123: 25–43.
- Zhang D-Y (张大勇), Jiang X-H (姜新华). 2001. Mating system evolution, resource allocation, and genetic diversity in plants. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报) 25: 130–143.
- Zhang T-F (张挺峰), Duan Y-W (段元文), Liu J-Q (刘建全). 2006. Pollination ecology of *Aconitum gymmandrum* (Ranunculaceae) at two sites with different altitudes. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 362–370.
- Zhang X-L (张小兰), Ge X-J (葛学军), Liu J-Q (刘建全), Yuan Y-M (袁永明). 2006. Morphological, karyological and molecular delimitation of two gentians: *Gentiana crassicaulis* versus *G. tibetica* (Gentianaceae). *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报) 44: 627–640.