

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201611014

李国栋, 张洪武, 刘小莉, 等. 草果两型植株的繁育差异研究 [J]. 广西植物, 2017, 37(10):1312–1321

LI GD, ZHANG HH, LIU XL, et al. Difference of reproduction between the two morphs of *Amomum tsaoko* (Zingiberaceae) [J]. *Guihaia*, 2017, 37(10):1312–1321

草果两型植株的繁育差异研究

李国栋¹, 张洪武³, 刘小莉¹, 钱子刚¹, 管开云², 杨耀文^{1*}

(1. 云南中医学院 优良种苗繁育工程研究中心, 昆明 650500; 2. 中国科学院新疆生态地理研究所, 乌鲁木齐 830011; 3. 姚安县种子管理站, 云南 姚安 675300)

摘要: 草果(*Amomum tsaoko*)是具有柱头卷曲机制的姜科植物,该研究通过观察和分析传粉者的访花行为、草果的花蜜分泌和最终的结实率,探索其花蜜分泌模式与传粉行为的相互关系,以及对其两型植株繁殖的影响。结果表明:草果两型植株的花蜜分泌在1 d花期的16:40—19:00期间达到高峰;上举型花比下垂型花能够提供更多的花蜜,下垂型花的花蜜分泌受环境温度、光照、湿度的显著影响,其结实率也显著低于上举型花。中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)是观察点频率最高的有效传粉者,在1 d花期里访花频率呈现双峰模式,访花行为受到温度和湿度的显著影响,78%或18℃较适宜访花。1 d花期中温度、湿度的变化,以及花蜜的动态分泌模式共同促进这一双峰访花模式的形成。草果花蜜分泌模式和双峰访花模式均与草果的柱头卷曲运动匹配,对吸引昆虫精确传粉、维持柱头卷曲机制有重要意义。草果两型植株之间,环境因素对它们花蜜分泌的影响显著不同,导致传粉者不同的访花行为反应和繁殖结果。适当增加居群中上举型植株数量,可能是提高产量的一个有效方法。

关键词: 草果, 花蜜分泌速率, 双峰访花模式, 结实率, 繁殖

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2017)10-1312-10

Difference of reproduction between the two morphs of *Amomum tsaoko* (Zingiberaceae)

LI Guo-Dong¹, ZHANG Hong-Wu³, LIU Xiao-Li¹, QIAN Zi-Gang¹,
GUAN Kai-Yun², YANG Yao-Wen^{1*}

(1. Center for Reproducing Fine Varieties of Chinese Medicinal Plants, Yunnan College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Kunming 650500, China; 2. Xinjiang Institute of Ecology and Geography, Chinese Academy of Sciences, Urumqi 830011, China; 3. Yao'an Station of Seed Manage, Yao'an 675300, Yunnan, China)

Abstract: Observations and analyses were conducted on visitor behavior, nectar production and final percentage of fruit to explore how *Amomum tsaoko*, a flexistylous ginger, build an insect-plant interrelation to influence on reproduction of

收稿日期: 2017-03-10 修回日期: 2017-04-21

基金项目: 国家自然科学基金(81660631); 云南省应用基础研究—中医联合专项项目[2017FF116(-004)]; 云南省傣医药与彝医药重点实验室基金(2017DG006) [Supported by the National Natural Science Foundation of China (81660631); Special Fund for Traditional Chinese Medicine Cooperation of Application Fundamental Research in Yunnan Province [2017FF116(-004)]; Foundation of Yunnan Key Laboratory for Dai and Yi Medicines, China(2017DG006)]。

作者简介: 李国栋(1984-), 男, 江西上饶人, 博士, 副教授, 从事中药资源学教学与研究, (E-mail) gammar116@163.com。

*通信作者: 杨耀文, 博士, 教授, 从事中药资源学教学与研究, (E-mail) yangyaowen@ynutcm.edu.cn。

its two morphs. The nectar production of both the morphs reached a peak during 16:40–19:00 in one-day anthesis, although the anaflexistylous flowers offered significantly more nectar than the cataflexistylous morph, which was influenced significantly by temperature, light and humidity, and whose fruit-setting rate was significantly lower than the former. The visiting frequency of the effective pollinator (*Apis cerana cerana*) was an bimodal visit pattern in one-day anthesis. The bees were significantly affected by both temperature and humidity, 78% or 18 °C was suitable for them to visit. In one-day anthesis, temperature and humidity influence on the bees and the dynamic secretion of nectar of the plant collectively promoted the bimodal visit pattern of the bees. Both the rhythms of the nectar secretion of the plant and the bimodal visit pattern of the bees matched with the flexistylous movement of the plant, favoring to the precise pollination and maintaining flexistylous of the plant. Between the two morphs, the influences of the environmental factors on the nectar secretion were significantly different, and had consequently different behavioral responses of the pollinators and the reproductive success. Properly increasing the anaflexistylous morph in a population of the plant would obtain higher prolificacy.

Key words: *Amomum tsaoko*, nectar production rates, bimodal visit pattern, fruit-setting rate, reproduction

草果 (*Amomum tsaoko*) 果实为常用中药, 味辛性温, 归脾、胃经; 有温中健胃、消食顺气、祛寒湿的功能; 用于治疗心腹疼、食积不消、止泻、呕吐、食欲不振、咳嗽痰多、胸满腹胀等症 (Chinese Pharmacopoeia Commission, 2015); 也作辛香料添加于食物中。因此, 草果在云南作为一种经济作物栽培, 如何提高其产量和质量成为影响生产的核心问题。姜科植物有约 1 300 种, 是亚洲热带地区物种多样性最丰富的一个类群 (Larsen et al, 1998)。姜科植物的性表达较丰富, 其中之一为柱头卷曲机制 (Smith, 1989; Cui et al, 1996; Sakai & Nagamasu, 1998; Renner, 2001; Barrett, 2002; Ren et al, 2007)。柱头卷曲机制是通过柱头的卷曲运动而改变其位置, 避免自交、促进杂交的一独特的、主动的机制 (Renner, 2001; Li et al, 2001a, b, 2002; Zhang & Li, 2002; Barrett, 2002; Wang et al, 2005a, b; Takano et al, 2005)。草果是具柱头卷曲机制的姜科植物 (Cui et al, 1996)。因此, 在一个草果居群中, 同时存在上举型和下垂型两类植株, 它们的主要区别在于开花时柱头卷曲的方向不同, 从而使得两类植株的花在传粉中处于互惠的状态 (Cui et al, 1995; Li et al, 2001a, b)。草果单朵花的花期仅为 1 d; 在 1 d 花期的上午, 上举型植株的花 (上举型花): 柱头下垂, 处于接受花粉的状态; 下垂型植株的花 (下垂型花): 柱头上举以避开传粉昆虫, 尔后花药开裂。下午, 下垂型花的柱头下垂而接受花粉, 上举型花的柱头上举以避开传粉昆虫, 花药开裂。因此, 下垂型花为雌性先熟, 其上午为上举型花提供花粉; 上

举型花为雌性先熟, 其下午为下垂型花提供花粉。

植物繁殖期间, 通常需要提供报酬来吸引传粉者, 而花蜜是一个重要的报酬 (Kayna et al, 2011)。已有的研究表明: 越是报酬丰厚的植物越能获得传粉者更多的访问 (Waddington, 1981; Zimmerman, 1983; Galen & Plowright, 1985; Thomson et al, 1989; Cresswell, 1990; Neff & Simpson, 1990; Real & Rathcke, 1991; Mitchell, 1993); 传粉者的访花频率影响植物的适合度 (Zimmerman, 1983; Real & Rathcke, 1991; Mitchell & Waser, 1992; Mitchell, 1993; Hodges, 1995); 花蜜分泌可能与传粉者、环境因素、植物资源的配置等因素有关系 (Ordano & Ornelas, 2004)。植物均以特定的节律分泌花蜜, 以更好吸引传粉者 (Kayna et al, 2011); 花蜜分泌模式可能暗示了某种动物和植物之间的关系 (Galletto & Bernardello, 2004, 2005)。姜科植物的主要传粉者为蜜蜂、鸟等长喙动物 (Ippolito & Armstrong, 1993; Kato et al, 1993; Sakai et al, 1999); 它们和姜科植物的花之间存在协同进化关系 (Kato et al, 1993)。传粉者和花之间互惠的相互作用一直是进化生态学的一个核心问题 (Yuan et al, 2007; Kim et al, 2011)。因此, 探索具有柱头卷曲机制的草果以什么样的节律分泌花蜜, 以及如何与传粉昆虫之间建立相互关系而影响其繁殖, 不仅具有进化生态学的意义, 而且还可为如何提高草果产量提供传粉生物学和繁育生物学的依据。对草果繁育过程的探索也是研究如何提高其果实产量的必要前提。基于此, 本研究主要关注以下三个问题: (1) 在 1 d 的花期里, 草果

花蜜分泌模式是怎样的? (2) 草果花蜜分泌模式和传粉昆虫之间如何建立联系? (3) 草果两型植株的繁育是否有差异?

1 材料与方 法

1.1 材 料

草果为多年生植物,通常高 2~3 m。穗状花序生于根茎,小花密集。花期 4—6 月,9—12 月果实成熟(Wu & Raven,2000)。在实验观察点,花序通常由 21~135 朵鲜黄色的小花组成,每天 2~15 朵小花开放,单花寿命 1 d,黎明开放,黄昏凋萎;花蜜由两个肉质的上位腺体分泌,积累在花冠管基部。草果区别于同属其他植物的 3 个形态特征:唇瓣鲜黄色,且有两条红色的花蜜指引带;具有药隔附属体;叶舌棕红色、革质。

1.2 野外观察点

草果分布在云南,但在调查中发现其野生居群几乎灭绝(Wu & Raven,2000)。野外观察点设在高黎贡山潮湿的山谷里,居群 1 (24° 50.289' N, 98°46.501' E, 海拔 2 070 m) 距离居群 2 (25°3.702' N, 98°30.129' E, 海拔 2 219 m) 约 3 km,居群四周均有常绿阔叶林遮蔽。草果生长在山谷坡面和谷底,已经超过 20 多年。

1.3 野外观察

野外观察在盛花期进行,即 2007—2009 年每年的 5 月。在居群 1 随机选取两型植株各 12 株,共 24 株,每一植株连续观察 2~3 d,每天随机选取 2~4 朵花。每朵花均挂牌标记,开放前用单层纱布罩套以避免昆虫访花。开花期间,每间隔 2 h,用一次性注射器(刻度精度为 0.01 mL)(Li et al,2006)抽取每朵花分泌的花蜜。为探索花蜜分泌模式,一共检测了 77 朵上举型花和 83 朵下垂型花。每间隔 30 min,在居群中心监测并记录温度和湿度变化。

1.4 野外实验

在同一天同一居群,随机选取 3 个同型植株,每一植株随机选取 8~14 朵花,随机分为 2 组。第 1 组为控制组,开花前用黑布包裹以避免阳光透射,用光度计(ZDS-10)测量花朵的光照度为 0 lx;第 2 组为对照组,开花前仅用单层纱布罩套花朵,以避免昆虫访问,观察期间花朵的光照度为 155~91 300

lx。被选取的花朵均挂牌标记;开放期间,每间隔 2 h,用一次性注射器(刻度精度为 0.01 mL)抽取每朵花分泌的花蜜。为探索光照对两型花花蜜分泌的影响,一共观察上举型花 40 朵,下垂型花 38 朵。

1.5 传粉观察

对 2 个草果居群的传粉观察超过 90 h,并用相机和录像机记录。每次观察,均在同一居群中随机选取 3 个不同的植株进行同步观察,作为 3 个重复。每一植株随机选取 5~8 朵花,同时进行连续 30 min 的观察记录。当访花昆虫接触到花的性器官时,计为访花 1 次;每次访花,访花昆虫种类、访花时间(访花昆虫在花朵里的停留时间)均被记录。一共观察了 301 朵花。捕获部分访花者,投入装有乙酸乙酯的瓶中杀死,每类昆虫制作 3 个标本,保存在云南中医学院中药资源标本室,用于昆虫种类的鉴定;其余虫体在显微镜下观察、解剖,确定花粉落在它们身体上的位置,以及消化道内是否有花粉。

1.6 结实率

2007 年 5 月 25 日,在 2 个居群里随机选出 30 个植株进行连续 2 a 的观察,包括 14 个上举型植株和 16 个下垂型植株(居群 1: 8 个上举型植株+8 个下垂型植株;居群 2: 6 个上举型植株+8 个下垂型植株)。2007 年 10 月,发现居群 1 中 2 个选出的上举型植株被落下的树枝打死;而且,有 6 个植株仅有 1 个果序;所以,每一植株随机选取 1~4 个果序,一共采集 26 个上举型植株的果序(共计 316 个果实)、32 个下垂型植株的果序(共计 303 个果实)。2008 年 10 月,每一植株随机选取 3~8 个果序,一共采集 52 个上举型植株的果序(共计 503 个果实)、64 个下垂型植株的果序(共计 590 个果实)。统计每一果序的果实数量和小花数量,依据公式(果实数量 ÷ 小花数量 × 100%)计算果序的结实率。

1.7 数据分析

采用 SPSS(16.0 version)进行数据分析。花蜜总量(mL)、花蜜分泌速率(单位:mL · h⁻¹ · f⁻¹,毫升/每小时/每花)、(昆虫)访花频率(单位:t · 30 min⁻¹ · f⁻¹,次数/30 分钟/每花)、(昆虫)停留时间即单花处理时间(单位:s · v⁻¹ · f⁻¹,秒/每次访问/每花)、温度、湿度、结实率、花序小花数量等先经过方差齐性检验(Homogeneity of variance test),然后采用一般线性模型(GLM)进行方差分析。采用线性回

归 (Linear regression) 检测传粉行为分别与花蜜分泌、温度、湿度之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 草果两型花的花蜜分泌模式

在 1 d 花期里单朵花分泌的花蜜总量, 上举型花为 0.176 ± 0.094 ($\bar{x} \pm s$, 变幅: $0.010 \sim 0.338$) mL, 下垂型花为 0.113 ± 0.067 ($0.004 \sim 0.266$) mL, 两者之间有极显著的差异 ($d_f=91$, $F=19.203$, $P=0.000 < 0.01$)。两型花的花蜜分泌速率 ($\text{mL} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{f}^{-1}$) 随着时间的推移逐渐增加, 在 16:40—19:00 期间达到顶峰; 上举型花的分泌速率显著高于下垂型花 ($d_f=67$, $F=5.554$, $P=0.021 < 0.05$)。从 8:40 开始, 每间隔 2 h 的花蜜分泌速率, 在上举型花之间有显著差异 ($d_f=34$, $F=3.410$, $P=0.021 < 0.05$), 而在下垂型花之间有极显著差异 ($d_f=33$, $F=5.782$, $P=0.002 < 0.01$) (图 1)。

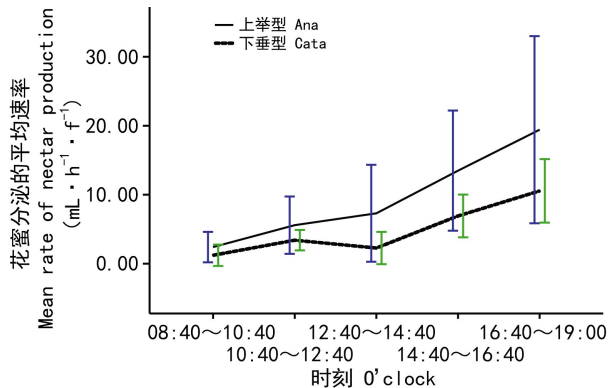


图 1 草果花蜜分泌速率在 1 d 花期里的变化

Fig. 1 Rate of nectar production of *Amomum tsaoko* in one-day anthesis

2.2 生态因子对两型花花蜜分泌速率的影响

在居群 1, 花蜜分泌速率在同一天 (2009/5/12) 的 3 个上举型植株之间有极显著差异 ($d_f=9$, $F=33.302$, $P=0.000 < 0.01$), 在同一天 (2009/5/13) 的 7 个上举型植株之间有显著差异 ($d_f=21$, $F=3.595$, $P=0.023 < 0.05$)。在居群 2, 花蜜分泌速率在同一天 (2009/5/10) 的 6 个下垂型植株之间没有显著差异 ($d_f=18$, $F=0.967$, $P=0.475 > 0.05$), 在同一天 (2009/5/11/) 的 3 个下垂型植物之间也没

有显著差异 ($d_f=9$, $F=0.849$, $P=0.474 > 0.05$)。

在居群 1, 同一天的花蜜分泌速率在 3 个上举型植株之间有极显著的差异 ($d_f=9$, $F=8.915$, $P=0.009 < 0.01$), 但是, 在来源于同一植株的控制组和对照组之间却没有显著差异 ($d_f=6$, $F=0.131$, $P=0.727 > 0.05$)。相反, 花蜜分泌速率在 3 个下垂型植株之间没有显著差异 ($d_f=9$, $F=3.473$, $P=0.082 > 0.05$), 但是, 来源于同一植株的控制组显著高于对照组 ($d_f=6$, $F=6.098$, $P=0.039 < 0.05$)。

观察期间 (每天 8:00—19:30) 的平均温度为 19.1 ± 3.2 ($16.7 \sim 22.2$) °C, 不同观察日之间有极显著差异 ($d_f=168$, $F=28.755$, $P=0.000 < 0.01$); 而平均湿度为 70.3 ± 21.9 ($50.9 \sim 95.7$) %, 不同观察日之间有显著差异 ($d_f=168$, $F=124.532$, $P=0.000 < 0.01$)。对于下垂型花, 花蜜分泌速率在不同的环境温度之间有极显著差异 ($d_f=32$, $F=4.066$, $P=0.007 < 0.01$) (图 2), 在不同的环境湿度之间有显著差异 ($d_f=46$, $F=3.405$, $P=0.012 < 0.05$) (图 3)。

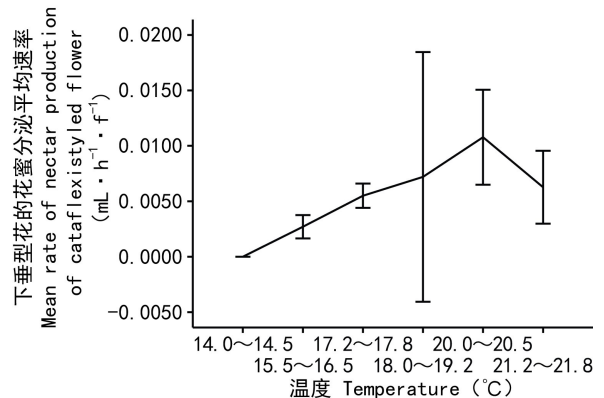


图 2 温度对草果下垂型花蜜分泌速率的影响

Fig. 2 Influence of temperature on the nectar production rate of cataflexistyled flowers from *Amomum tsaoko*

2.3 昆虫传粉

熊蜂 *Bombus* spp. 是草果的专性传粉昆虫 (Cui et al, 1996), 在此次野外观察期间仅发现 6 只雄蜂偶然访花, 它们停留的总时间没有超过 1 h。中华蜜蜂 (*Apis cereana cerana*) 的访花频率最高, 为了采集花蜜, 它们进入花朵而触碰到花药或柱头, 翅膀、足、触角等身体部位粘满草果的花粉, 可以判断它们是草果的有效传粉昆虫。在中华蜜蜂体内发现大量

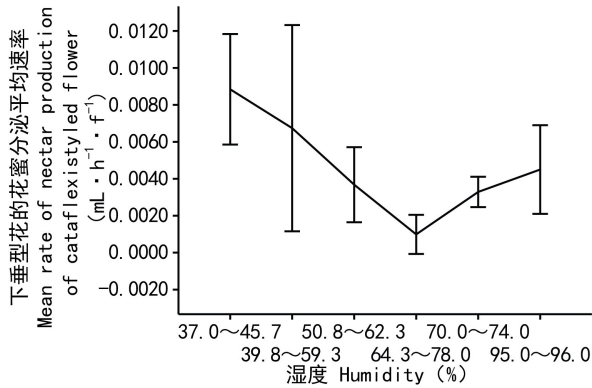


图3 湿度对草果下垂型花花蜜分泌速率的影响

Fig. 3 Influence of humidity on the nectar production rate of cataflexistyled flowers from *Amomum tsaoko*

的花粉粒,说明它们采食草果花粉(图4)。

中华蜜蜂对上举型花、下垂型花的访花频率分别是 $8.074 \pm 4.1107(1 \sim 21)$ 和 $7.919 \pm 4.5591(1 \sim 18)t \cdot 30 \text{ min}^{-1} \cdot f^{-1}$,两者之间没有显著差异($d_f = 300, F = 0.045, P = 0.832 > 0.05$)。中华蜜蜂对上举型花、下垂型花的单花处理时间分别是 $9.968 \pm 12.8640(1 \sim 125)$ 和 $7.533 \pm 9.1425(1 \sim 63)s \cdot v^{-1} \cdot f^{-1}$,上举型花极显著的高于下垂型花($d_f = 1877, F = 8.256, P = 0.004 < 0.01$)。中华蜜蜂的访花频率与草果上举型花的花蜜分泌速率之间存在显著的正相关性($t = 2.366, R = 0.591, P = 0.036 < 0.05$)。

中华蜜蜂在下午(16:50—17:30)的访花频率最高,其次是在中午(12:40—13:10),因此在1d中形成2个高峰(图5)。访花频率在15、16、17、18、19、20℃等不同环境温度之间有极显著的差异($d_f = 6, F = 5.207, P = 0.000 < 0.01$),18℃时达到其最大值: $7.960 \pm 3.3971(3 \sim 15)t \cdot 30 \text{ min}^{-1} \cdot f^{-1}$;在78%、80%、82%、85%、88%、90%、92%、94%、95%、96%、97%等不同环境湿度之间也有极显著的差异($d_f = 11, F = 6.906, P = 0.000 < 0.01$),78%时达到其最大值: $8.786 \pm 3.5121(5 \sim 16)t \cdot 30 \text{ min}^{-1} \cdot f^{-1}$ 。中华蜜蜂单花处理时间在不同环境温度之间有极显著的差异($d_f = 6, F = 17.176, P = 0.000 < 0.01$),在不同环境湿度之间也有极显著的差异($d_f = 11, F = 19.485, P = 0.000 < 0.01$)。处理时间和环境湿度

($t = 3.198, R = -0.074, P = 0.001 < 0.01$)、温度($t = 1.979, R = -0.046, P = 0.048 < 0.05$)之间都有显著的负相关性。

2.4 结实率

上举型、下垂型的花序结实率分别是 $15.013 \pm 1.059(1.03 \sim 54.00)\%$ 和 $10.615 \pm 0.965(0.78 \sim 37.78)\%$,上举型极显著的高于下垂型($d_f = 174, F = 9.298, P = 0.003 < 0.01$)。

3 讨论

3.1 草果花蜜分泌模式

本研究表明草果两型花的花蜜分泌速率在1d的花期里均有变化,在16:40—19:00期间达到高峰。上午,草果两型花处于互惠的传粉状态(下垂型花的柱头上举,花药开裂而释放花粉;同时,上举型花的柱头下垂而接受花粉;下垂型花为上举型花提供花粉),其花蜜的分泌速率较低,分泌量少,随着时间的推移而逐渐增高。同时,由于环境温度的逐渐增高,使得中华蜜蜂逐渐变得活跃,它们为了得到更多的花蜜而必须不断访花,这有利于下垂型花的花粉传播,同时也有利于上举型花的柱头接受花粉。下午(16:40—19:00),两型花的花蜜分泌速率均达到高峰,大多数上举型花的花药在其柱头上举后开裂,大多数下垂型花的柱头下垂而进入受粉状态(上举型花为下垂型花提供花粉);中华蜜蜂的访花频率也随之达到高峰。中午(13:00—14:00),大多数的下垂型花处于“无性”状态,也就是它们的柱头还没有下垂而处于接受花粉的状态,而花药基本是空的,在此期间,下垂型花的花蜜分泌速率下降,而中华蜜蜂的访花频率也相应降低。当草果下垂型花进行性转化、处于“无性”状态时,传粉者的访问基本是无效的,此时花蜜分泌速率的降低,可能也反映了花蜜分泌模式对柱头卷曲运动的配合。较之雌性阶段,植物在花期投入更多的资源在其雄性阶段,特别是对于花粉的成熟、供应(Zhang & Jiang, 2001)。上举型花是雌性先熟,其早期的雌性阶段分泌的花蜜比后期的雄性阶段少,可能有利于其花粉的成熟和呈现,一定程度上也反映了草果花蜜分泌模式和柱头卷曲运动的配合。

植物必须通过花蜜分泌速率的变化以吸引更多

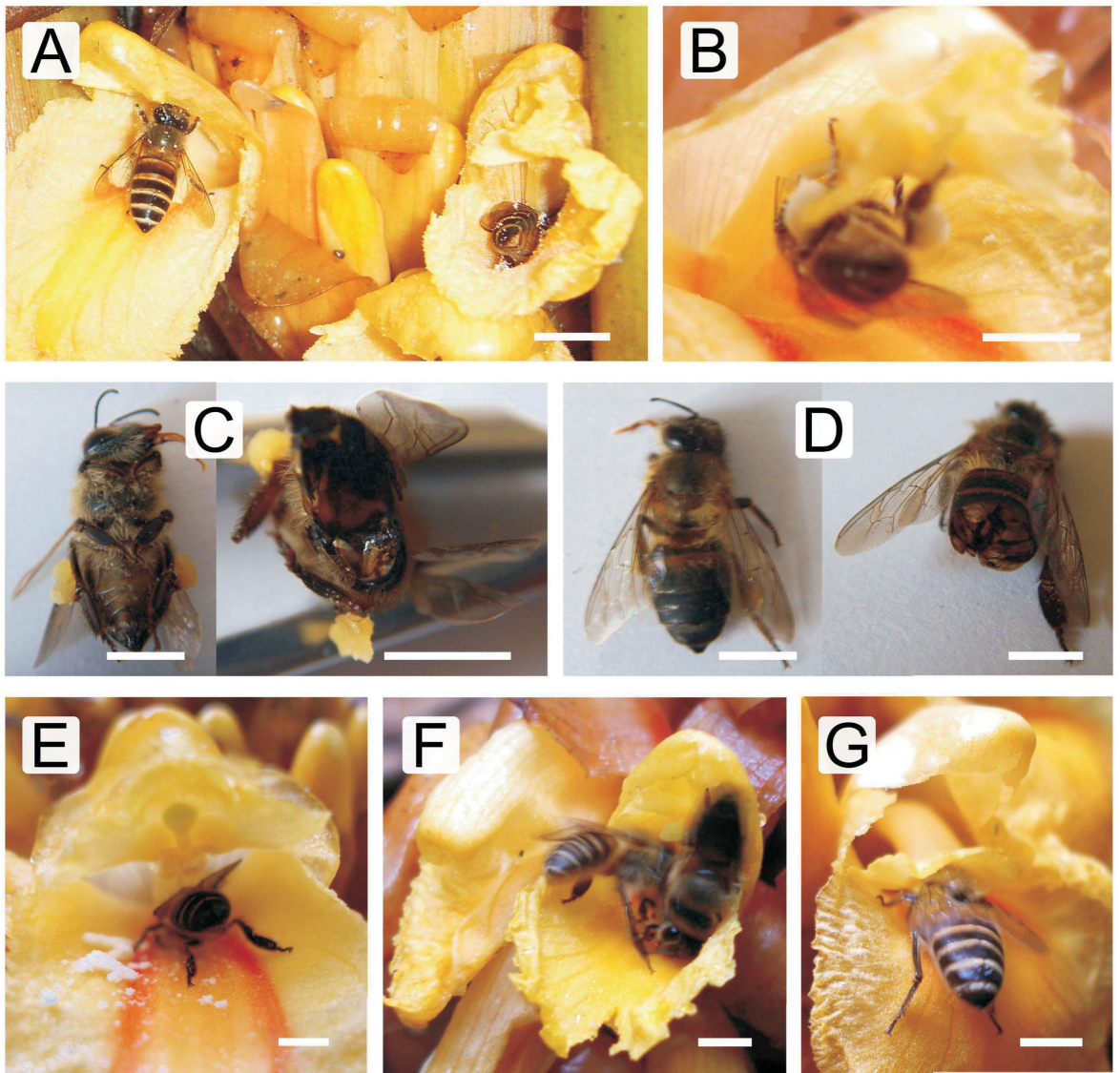


图 4 中华蜜蜂对草果两型花的访问 A, B. 中华蜜蜂飞入草果花中采集花蜜, 以身体搬运花粉; C. 访花期间的中华蜜蜂, 身体表面和消化道里均有大量花粉; D. 访花前, 中华蜜蜂体表和消化道内没有花粉; E. 中华蜜蜂吸食下垂型花的花蜜, 柱头上举而花药开裂; F, G. 中华蜜蜂吸食上举型花的花蜜, 柱头下垂而花药未开裂。Scale bars: A=1.0 cm; B-G=0.5 cm。

Fig. 4 Activities of *Apis cerean cerana* visiting to two types of floral morphs of *Amomum tsaoko* A, B. *A. cerean cerana* flew into flowers and foraged nectar, its body carried pollens; C. *A. cerean cerana* which foraged nectar during visiting flowers of *A. tsaoko*, carried pollen on its body and there were pollen in its digestive tract; D. Before visiting flowers of *A. tsaoko*, there was not pollen on the body and in the digestive tract of *A. cerean cerana*; E. *A. cerean cerana* sucked nectar of a cataflexistyled flower of *A. tsaoko*, which stigma moved upward and anther discerned; F, G. *A. cerean cerana* sucked nectar of a cataflexistyled flower of *A. tsaoko*, whose stigma remained downward and anther did not discern. Scale bars: A=1.0 cm; B-G=0.5 cm.

的传粉者 (Deng et al, 2005), 因此, 花蜜按一定的节律进行分泌 (Kayna et al, 2011)。花蜜分泌不同于花的大小、颜色等其他特征, 其实是花的一个生理特征, 反应出植物内部资源分配的某种策略 (Rathcke, 1992)。对于有花植物, 花蜜的动态分泌

是一个潜在的适应策略, 对于雌雄蕊异熟的植物特别重要 (Nepi et al, 2001)。异型雌雄蕊异熟被认为源于同步的雌雄蕊异熟, 朝着雌雄异株的方向进化 (Renner, 2001)。而柱头卷曲机制是一种特殊的异型雌雄蕊异熟, 通过精确的传粉得以维持 (Ren et

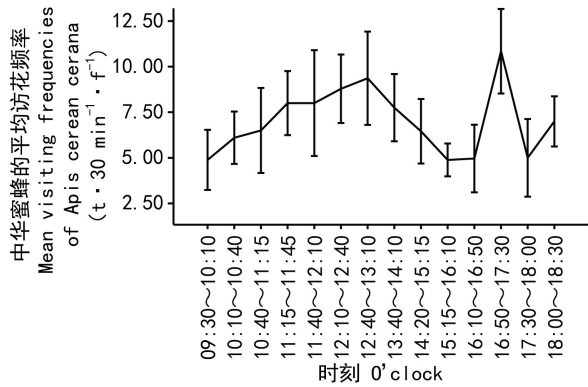


图5 草果1 d花期里中华蜜蜂访花频率的变化

Fig. 5 Visiting frequencies of *Apis cerana cerana* in one-day anthesis of *Amomum tsaoko*

al, 2007)。因此,对于具有柱头卷曲机制的草果,其花蜜的动态分泌配合了柱头卷曲运动,应该是长期自然选择的结果,对吸引昆虫精确传粉、维持柱头卷曲机制有重要意义。

3.2 双峰访花模式

对于本研究所观察的草果居群,中华蜜蜂是频率最高的有效访花者。中华蜜蜂的访花频率在一天里呈现两个高峰,分别在中午(12:40—13:10)和下午(16:50—17:30)。双峰访花模式在具有柱头卷曲的豆蔻属(*Amomum* sp.) (Ren et al, 2007)、山姜属(*Alpinia* sp.) (Li et al, 2001b; Takano et al, 2005)植物中均有报道,提示了其花朵在1 d花期中性功能状态和传粉者的觅食行为是匹配的;也可能提示柱头卷曲机制的进化发生于类似的生境,传粉者在中午减少访花行动(Takano et al, 2005)。

已有的蜜蜂通常行为的研究表明,蜜蜂的体温取决于环境温度,当它们的身体获得足够的热量时才能开始觅食,环境温度越低,蜜蜂能够开始觅食的时间越晚(Heinrich, 1996)。当环境温度太高时,体型大的蜜蜂种类必须停止觅食,因为过高的温度导致它们身体水分的消耗超过摄入(Takano et al, 2005)。本研究发现,环境温度、湿度均极显著地影响中华蜜蜂在观察居群中的活动。78%的环境湿度,或18℃的环境温度非常适宜中华蜜蜂的活动,当温度或湿度变低时,中华蜜蜂每次访花在花朵里

的停留时间将延长。本研究的观察点位于潮湿的常绿阔叶林里,13:00—16:00期间的温度通常超过18℃,而湿度常常高于78%(据作者观察)。因此,环境温度和湿度对传粉者行为的影响,是双峰访花模式形成的原因之一。此外,草果两型花花蜜分泌的动态变化也促成双峰访花模式的形成,因为中华蜜蜂的访花频率与草果上举型花的花蜜分泌速率之间有极显著的相关性,说明它们对花蜜分泌的变化是有反应的。上午,一方面是花蜜分泌速率逐渐增高,花蜜不断增多;另一方面是环境温度的逐渐增高,中华蜜蜂逐渐变得活跃,它们在12:40—13:10达到第一个访花高峰,这一高峰的形成有利于下垂型花的花粉扩散和上举型花的柱头受精。下午,花蜜分泌速率持续增高,在16:40—19:00期间达到高峰,吸引中华蜜蜂不断飞回花朵,在16:50—17:30达到第二个访花高峰。此时,上举型花的花药开始开裂,下垂型花的柱头下垂而进入授粉通道。因此,第二个访花高峰的出现有利于上举型花的花粉传播和下垂型的柱头受精。在13:10—16:50期间,草果两型花分别处于性转化阶段,多数花处于“无性”状态,此时由于温度、湿度的影响导致中华蜜蜂访花频率的下降,在事实上避免了无效访花。所以,双峰访花模式和草果的柱头卷曲运动是匹配的,有利于草果两型花的互惠传粉。

3.3 草果两型植株的繁育差异

受精5 d以后,草果子房开始变大,在接下来的20~30 d期间,迅速生长;此时,部分已受精的子房由于干旱而脱落(Cui et al, 1996)。这些脱落的子房对植株的繁殖没有贡献,所以,排除这些花期以后脱落的受精子房来计算其结实率,更能反应出草果真实的繁殖状态。本研究表明上举型植株的结实率极显著高于下垂型植株,可能提示了上举型植株的适合度更高。

花蜜分泌不仅受到植物生理状态的影响,还受环境温湿度、土壤湿度和营养成分等因素的影响(Rathcke, 1992; Boose, 1997)。本研究表明,从花蜜分泌速率到中华蜜蜂访花,草果两型植株(花)之间存在显著差异。在相同的环境状态下,上举型花的花蜜分泌速率显著高于下垂型花;花蜜分泌速率在上举型植株之间有显著差异,在下垂型植株之间没有显著差异。环境温度、光照、湿度显著影响下垂

型花的花蜜分泌速率,在低湿度(<64%),或者避光的条件下,其分泌速率将增高;当环境温度约为 20℃时,其分泌速率达到一个高峰。由于对环境温度、湿度、光照的变化更为敏感,对比上举型,下垂型花的花蜜分泌在其 1 d 花期里的不同时间之间有极显著的变化。基于这些分析,花蜜分泌作为一个花的生理特征,在草果两型花之间是不同的,尽管它们在形态上类似。已有研究报道花蜜分泌速率在许多居群或物种的不同植株之间有显著差异(Pleasants, 1983; Marden, 1984; Wyatt & Shannon, 1986; Real & Rathcke, 1988; Thomson et al, 1989; Hodges, 1995)。花蜜分泌量在同一物种的雄花和雌花之间也可能不同(Pacini et al, 2003)。

对于传粉者而言,依据少量的花朵样本推测植株花蜜分泌的平均速率,检测出植株之间的差异,本质上是一个统计学问题。传粉者搜索了同一植株的少量高回报的花朵后,为了获得更多的报酬,通常要转移到另一个植株(Broose, 1997)。花蜜分泌的变化可能使传粉者很难基于花蜜分泌的平均速率在居群中鉴别植株,从而诱使传粉者为了期望更多的报酬,频繁的离开植株或花朵而访问其他植株或花朵,这将有利于增加花粉的扩散距离、促进居群内更远距离的杂交。

传粉者对不同的花蜜量有不同的反应,植物的繁殖成功可能是这一反应的重要结果(Pyke et al, 1988; Zimmerman & Pyke, 1988; Mitchell & Waser, 1992; Mitchell, 1993)。草果上举型植株提供的花蜜量显著高于下垂型植株,中华蜜蜂对上举型花的处理时间极显著地长于下垂型花,上举型植株的结实率显著高于下垂型植株。因此,草果两型植株之间繁殖成功的差异,可能是由于它们花蜜分泌的显著差异,包括它们对环境因素变化的不同反应,由此导致的传粉者不同的访花行为,最终导致两型植株之间结实率的显著差异。另外,有研究表明,草果上举型植株的结实率在不同年份之间没有显著差异,相反,下垂型植株的结实率在不同年份之间有显著差异,提示上举型植株的繁殖不易受环境因素的影响,而下垂型植株的繁殖易受环境因素的影响(Yang et al, 2016)。草果两型植株的这一差别可能也与其花蜜分泌的不同有关,因为本研究发现环境温度、湿度、光照的变化不能显著影响上举型花

的花蜜分泌,而显著影响下垂型花的花蜜分泌;而且,花蜜分泌速率在上举型植株之间有显著或极显著的差异,相反,在下垂型植株之间没有显著差异。对于这个问题的探索还有待进一步的深入研究。

对柳叶菜(*Epilobium canum*)的栽培试验表明,其花蜜分泌速率变化主要是由遗传因素引发的(Broose, 1997)。花蜜分泌速率变化的遗传证据在栽培的苜蓿(Teuber et al, 1990)、三叶草(Hawkins, 1971),以及在多花紫茉莉(*Mirabilis multiflora*)的野生居群(Hodges, 1995)中都有发现。在花蜜分泌速率方面,可能存在一种“基因型-环境”的相互作用(Broose, 1997);在植物居群中这种相互作用是普遍的(Schlichting, 1986)。因此,对草果基因型的研究,可能会揭示其两型之间的更多问题。

4 结论

草果花蜜的动态分泌模式配合其柱头卷曲运动。在 1 d 花期中温度、湿度的变化,以及花蜜的动态分泌模式共同促进中华蜜蜂双峰访花模式的形成。双峰访花模式不仅和草果的柱头卷曲运动是匹配的,而且有利于草果两型花的互惠传粉,对吸引昆虫精确传粉、维持柱头卷曲机制有重要意义。温度、湿度、光照等环境因素对草果花蜜分泌的影响,在其两型植株之间存在显著差异,继而导致传粉者对它们作出不同的访花反应、以及两型植株之间不同的繁殖结果。较之下垂型植株,上举型植株的花蜜分泌不易受环境温度、湿度、光照的影响,而且有较高的结实率。因此,调节草果居群中两型植株的比例,适当提高上举型植株的数量,可能是提高草果产量的一个有效方法。

参考文献:

- BARRETT SCH, 2002. The evolution of plant sexual diversity [J]. *Nat Rev Genet*, 3: 274-284.
- BOOSE DL, 1997. Sources of variation in floral nectar production rate in *Epilobium canum* (Onagraceae): implications for natural selection [J]. *Oecologia*, 110:493-500.
- Chinese Pharmacopoeia Commission, 2015. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (2015): Vol. 1 [M]. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press; 239. [中国药典委员会, 2015. 中华人民共和国药典

- (2015):一部 [M]. 北京:中国医药科学和技术出版社:239.]
- CRESSWELL JE, 1990. How and why do nectar-foraging bumblebees initiate movements between inflorescences of wild bergamot *Monarda fistulosa* (Lamiaceae)? [J]. *Oecologia*, 82:450-460.
- CUI XL, WEI RC, HUANG RF, 1995. A preliminary study on the genetic system of *Amomum tsaoko* [J]. *J Yunnan Univ (Nat Sci Ed)*, 17: 290-297. [崔晓龙,魏蓉城,黄瑞复, 1995. 草果遗传体系的初步研究 [J]. 云南大学学报(自然科学版), 17(3):290-297.]
- CUI XL, WEI RC, HUANG RF, 1996. Biological characters of flowering and fruiting habit in *Amomum tsaoko* [J]. *SW Chin J Agric Sci*, 9(1): 109-113. [崔晓龙,魏蓉城,黄瑞复, 1996. 草果开花结实的生物学特性 [J]. 西南农业学报, 9(1):109-113.]
- DENG XB, REN PJ, LI QJ, 2005. Nectar secretion patterns, floral visitor behavior and their impacts on fruit and seed sired of *Alpinia blepharocalyx* [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 29(2): 274-280. [邓晓保,任盘宇,李庆军, 2005. 云南草蔻花蜜分泌格局与访花动物行为及其对果实和种子产量的影响 [J]. 植物生态学报, 29(2):274-280.]
- GALEN C, PLOWRIGHT RC, 1985. The effects of nectar level and flower development on pollen carry-over in inflorescences of fireweed (*Epilobium angustifolium*) [J]. *Can J Bot*, 63: 488-491.
- GALETTO L, BERNARDELLO G, 2005. Nectar [M]// DAFNI A, KEVAN P, HUSBAND BC. Practical pollination biology [M]. Ontario: Enviroquest: 261-313.
- GALLETTO L, BERNARDELLO G, 2004. Floral nectaries, nectar production dynamics and chemical composition in six *Ipomoea* species (Convolvulaceae) in relation to pollinators [J]. *Ann Bot*, 94: 269-280.
- HAWKINS RP, 1971. Selection for height of nectar in the corolla tube of English singlecut red clover [J]. *J Agric Sci*, 77:348-350.
- HEINRICH B, 1996. How the honey bee regulates its body temperature [J]. *Bee World*, 77: 130-137.
- HODGES SA, 1995. Influence of nectar production on hawkmoth behavior, self pollination, and seed production in *Mirabilis multiflora* (Nyctaginaceae) [J]. *Am J Bot*, 82:197-204.
- IPPOLITO A, ARMSTRONG EA, 1993. Floral biology of *Hornstedtia scottiana* (Zingiberaceae) in a lowland rain forest of Australia [J]. *Biotropica*, 25: 281-289.
- KATO M, ITINO T, NAGAMITSU T, 1993. Melittophily and ornithophily of long-tubed flowers in *Zingiberaceae* and *Gesneriaceae* in West Sumatra [J]. *Tropics*, 2: 129-142.
- KAYNA A, MARLIES S, LEONARDO G, 2011. Nectar production dynamics and sugar composition in two *Mucuna* species (Leguminosae, Faboideae) with different specialized pollinators [J]. *Naturwissenschaften*, 98:933-942.
- KIM MCA V, MARCEL D, PETER W DE J, 2011. The potential of a population genomics approach to analyse geographic mosaics of plant-insect coevolution [J]. *Evol Ecol*, 25:977-992.
- LARSEN K, LOCK JM, MAAS H, et al, 1998. Zingiberaceae [M]//KUBITZKI K. The families and genera of vascular plants. Berlin: Springer: 474-495.
- LI QJ, KRESS WJ, XU ZF, et al, 2002. Mating system and stigmatic behaviour during flowering of *Alpinia kwangsiensis* (Zingiberaceae) [J]. *Plant syst evol*, 232: 123-132.
- LI QJ, XU ZF, KRESS WJ, et al, 2001a. Flexible style that encourage outcrossing [J]. *Nature*, 410: 432.
- LI QJ, XU ZF, KRESS WJ, et al, 2001b. Study on the flexistly pollination mechanism in *Alpinia* plants (Zingiberaceae) [J]. *Acta Bot Sin*, 43: 346-369. [李庆军,许再富, Kress WJ, 等, 2001b. 山姜属植物柱头卷曲性传粉机制的研究 [J]. 植物学报, 43(4): 346-369.]
- LI ZD, LIU JX, HUANG SQ, 2006. A comparison of several methods used in the field for nectar collection concentration analysis [J]. *Acta Phytotax Sin*, 44(3): 320-326. [李左栋,刘静萱,黄双全, 2006. 传粉生物学中几种花蜜采集和糖浓度测定方法的比较 [J]. 植物分类学报, 44(3):320-326.]
- MARDEN JH, 1984. Intrapopulation variation in nectar secretion in *Impatiens capensis* [J]. *Oecologia*, 63:418-422.
- MITCHELL RJ, WASER NM, 1992. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregate* nectar production: pollination success of single flowers [J]. *Ecology*, 73:633-638.
- MITCHELL RJ, 1993. Adaptive significance of *Ipomopsis aggregate* nectar production: observation and experiment in the field [J]. *Ecology*, 47:25-35.
- NEFF JL, SIMPSON BB, 1990. The roles of phenology and reward structure in the pollination biology of wild sunflower (*Helianthus annuus* L. Asteraceae) [J]. *Israel J Bot*, 39: 197-216.
- NEPI M, GUARNIERI M, PACINI E, 2001. Nectar secretion, reabsorption, and sugar composition in male and female flowers of *Cucurbita pepo* [J]. *Inter J Plant Sci*, 162: 353-358.
- ORDANO M, ORNELAS JF, 2004. Generous-like flowers: nectar production in two epiphytic bromeliads and a meta-analysis of removal effects [J]. *Oecologia*, 140:495-505.
- PACINI E, NEPI M, VESPRINI JL, 2003. Nectar biodiversity: A short review [J]. *Plant Syst Evol*, 238: 7-21.
- PLEASANTS JM, 1983. Nectar production patterns in *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae) [J]. *Am J Bot*, 70:1468-1475.
- PYKE GH, DAY LP, WALE KP, 1988. Pollination ecology of Christmas bell (*Blandfordia nobilis* SM): effects of adding artificial nectar on pollen removal and seed set [J]. *Austr J Ecol*, 13:279-284.
- RATHCKE BJ, 1992. Nectar distributions, pollinator behavior, and plant reproductive success [M]// HUNTER MD, OHGUSHI T, PRICE PW. Effects of resource distribution on animal-plant interactions. New York: Academic Press: 113-138.

- REAL L, RATHCKE BJ, 1988. Patterns of individual variability in floral resources [J]. *Ecology*, 69:728-735.
- REAL L, RATHCKE BJ, 1991. Individual variation in nectar production and its effects on fitness in *Kalmia latifolia* [J]. *Ecology*, 72:149-155.
- REN PY, LIU M, LI QJ, 2007. An example of flexistyly in a wild cardamom species (*Amomum maximum* (Zingiberaceae)) [J]. *Plant Syst Evol*, 267: 147-154.
- RENNER SS, 2001. Heterodichogamy, how common is it? [J]. *Trends Ecol Evol*, 16:595-597.
- SAKAI S, KATO M, INOUE T, 1999. Three pollinations guilds and variation in floral characteristics of Bornean gingers (Zingiberaceae and Costaceae) [J]. *Am J Bot*, 86: 646-658.
- SAKAI S, NAGAMASU H, 1998. Systematic studies of Bornean Zingiberaceae I *Amomum* in Lambir Hills, Sarawak [J]. *Edinb J Bot*, 55: 45-64.
- SCHLICHTING CD, 1986. The evolution of phenotypic plasticity in plants [J]. *Ann Rev Ecol Evol Syst*, 17:667-693.
- SMITH RM, 1989. A new *Alpinia* from Sabah [J]. *Not R Bot Gard Edinb*, 45: 341-343.
- TAKANO A, GISIL J, YUSOFF M, et al, 2005. Floral and pollinator behaviour of flexistylyous Bornran ginger, *Alpinia nieuwenhuizii* (Zingiberaceae) [J]. *Plant Syst Evol*, 252: 167-173.
- TEUBER LR, RINCKER CM, BARNES DK, 1990. Seed yield characteristics of *alfalfa* populations selected for receptacle diameter and nectar volume [J]. *Crop Sci*, 30:579-583.
- THOMSON JD, MCKENNA MA, CRUZAN MB, 1989. Temporal patterns of nectar and pollen production in *Aralia hispida*: implications for reproductive success [J]. *Ecology*, 70:1061-1068.
- YANG YW, QIAN ZG, LI AR, et al, 2016. Differentiation in fructification percentage between two morphs of *Amomum tsaoko* (Zingiberaceae) [J]. *BS*, 66(3):391-395.
- YUAN LC, LUO YB, LEONARD BT, et al, 2007. Pollination of *Schisandra henryi* (Schisandraceae) by female, pollen-eating *Megommata* species (Cecidomyiidae, Diptera) in south-central China [J]. *Ann Bot*, 99: 451-460.
- WADDINGTON KD, 1981. Factors influencing pollen flow in bumblebee-pollinated *Delphinium virescens* [J]. *Oikos*, 37: 153-159.
- WANG YQ, ZHANG DX, CHEN ZY, 2005a. Pollination biology of *Alpinia hainanensis* (Zingiberaceae) [J]. *Acta Phytotax Sin*, 43(1): 37-49. [王英强, 张奠湘, 陈忠毅, 2005a. 草豆蔻传粉生物学的研究 [J]. *植物分类学报*, 43(1): 37-49.]
- WANG YQ, ZHANG DX, CHEN ZY, 2005b. A preliminary study of the pollination biology of *Alpinia oxyphylla* (Zingiberaceae) [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 29(4): 599-609. [王英强, 张奠湘, 陈忠毅, 2005b. 益智传粉生物学的研究 [J]. *植物生态学报*, 29(4): 599-609.]
- WU ZY, RAVEN PH, 2000. *Flora of China*. Vol. 24 (Flagellariaceae through Marantaceae) [M]. Beijing: Science Press; St. Louis: Missouri Botanical Garden Press.
- WYATT R, SHANNON TR, 1986. Nectar production and pollination of *Asclepias exaltata* [J]. *Syst Bot*, 11:326-334.
- ZHANG DY, JIANG XH, 2001. Mating system evolution, resource allocation, and genetic diversity in plants [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 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 [J]. *植物生态学报*, 25:130-143.]
- ZHANG L, LI QJ, 2002. Flexistyly and its evolutionary ecological significance [J]. *Acta Phytoecol Sin*, 26:385-390. [张玲, 李庆军, 2002. 花柱卷曲性异交机制及其进化生态学意义 [J]. *植物生态学报*, 26(4):385-390.]
- ZIMMERMAN M, PYKE GH, 1988. Experimental manipulations of *Polemonium foliosissimum*: effects on subsequent nectar production, seed production, and growth [J]. *J Ecol*, 76:777-789.
- ZIMMERMAN M, 1983. Plant reproduction and optimal foraging: experimental nectar manipulations in *Delphinium nelsonii* [J]. *Oikos*, 41:57-63.