

海南凤仙花不同海拔种群的传粉生物学

钟云芳^{1,3} 张哲^{1,2} 宋希强^{1,2} 周兆德^{1,3*}

1 (海南大学热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室, 海口 570228)

2 (海南大学园林学院, 海口 570228)

3 (海南大学农学院, 海口 570228)

摘要: 凤仙花属(*Impatiens*)植物具有极为广泛的多样性和类型各异的特化传粉者, 被誉为“双子叶的兰花”, 受到众多传粉生物学家的关注。本文以海南特有种海南凤仙花(*Impatiens hainanensis*)为研究对象, 对3个不同海拔梯度的种群进行了开花生物学特性和开花物候、花器官结构、花粉活力和柱头活性、传粉者种类和访花行为及繁育系统的比较研究。结果表明: 单花花期 4.10 ± 0.46 d, 雄性期和雌性期分别约为 3.15 ± 0.24 d和 0.95 ± 0.36 d; 种群开花高峰期在8月初, 高海拔种群的花期高峰相对滞后。低、中海拔种群花粉活力呈现先升高后下降的趋势, 以开花第2 d花粉活力最高; 高海拔种群花粉活力随开花时间推移逐渐下降; 柱头活性随开花时间的推移而增强, 高海拔种群开花各天次均较低、中海拔种群低。主要传粉昆虫为黄黑无垫蜂(*Amegilla leptocoma*)和绿条无垫蜂(*A. zonata*), 低、中海拔种群以黄黑无垫蜂为主, 高海拔种群以绿条无垫蜂为主。未观察到自动自花授粉和无融合生殖现象, 人工授粉能明显增加坐果率(75–90%), 自然坐果率在高海拔种群相对较低(40–60%), 说明存在较强的传粉者限制。海南凤仙花的保护需要同时关注其有效传粉者的保护, 促进有效传粉昆虫在不同海拔种群之间的往来, 保证种群间的花粉流与种子流, 维持海南凤仙花的种群遗传多样性与有效种群大小。

关键词: *Impatiens hainanensis*, 特有种, 岩溶地貌, 繁育系统, 生态适应, 雌雄异熟

Pollination biology of *Impatiens hainanensis* (Balsaminaceae) populations at different altitudes

Yunfang Zhong^{1,3}, Zhe Zhang^{1,2}, Xiqiang Song^{1,2}, Zhaode Zhou^{1,3*}

1 Key Laboratory of Protection and Developmental Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources of Ministry of Education, Hainan University, Haikou 570228

2 College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou 570228

3 College of Agronomy, Hainan University, Haikou 570228

Abstract: The genus *Impatiens*, known as “dicotyledonous orchids”, is of great interest to pollination biologists because of its extremely wide diversity and different types of specialized pollinators. In this study, populations of *Impatiens hainanensis*, endemic to Hainan Island, distributed at three different altitudes were studied. Floral phenology, floral structure, pollen viability and stigma activity, floral visitors and their behavior, and the breeding system were determined. Results showed that the average life span of a single flower was 4.10 ± 0.46 d; the male and female flowers lasted 3.15 ± 0.24 d and 0.95 ± 0.36 d, respectively. The species' flowering peak was in early August, and the high altitude population flowered the latest. The pollen viability of a single flower appears in the trend of first increased then decreased with the flowering time went on, and reached to the highest on the second flowering day in low and middle altitude populations, and which declined gradually with the flowering time went on in high altitude population. Stigma activity generally rose as flowering time went on, but this measure was lower in high altitude population on different flowering days. The main pollinators were *Amegilla leptocoma* and *A. zonata*; *A. leptocoma* was the main visitor in low and middle altitude populations while *A. zonata* was in the high altitude population. We observed no automatic self-pollination or apomixis in *I. hainanensis*, and hand-pollination increased the fruit set (75–90%),

收稿日期: 2013-11-25; 接受日期: 2014-07-02

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201204604)和海南省重点科技计划项目(ZDXM 20120004)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zhouzhaode2012@163.com

compared to the natural situation (40–60%). This lower natural pollination success rate was especially true in the high altitude population where pollination was most limited. Therefore, conservation work with *Impatiens hainanensis* should protect both habitats and effective pollinators of *I. hainanensis* in order to promote gene flow via pollinators and seed movement among populations at different altitude via pollinators, and maintain the population genetic diversity and effective population size of *Impatiens hainanensis*.

Key words: *Impatiens hainanensis*, endemic species, karst landforms, breeding system, ecological adaptation, dichogamy

凤仙花科包括凤仙花属(*Impatiens*)和水角属(*Blume*)2个属。凤仙花属约900种, 主要分布在热带非洲、印度、东南亚、中国南部和日本的大部分地区, 也扩展到欧洲的北温带地区、俄罗斯以及美国北部(陈艺林, 2001; Tian *et al.*, 2004; 高萌^①, 2012)。我国已知约有240余种, 主要集中分布于西南和西北山区(毛志斌等, 2011)。凤仙花属植物形态性状易受环境因素的影响而发生变化, 变异式样极为复杂(Caris *et al.*, 2006), 其地理分布具有很明显的地域性和特有现象, 尤其是在石灰岩地区(岩溶地貌)这种特有现象更为显著(陈艺林, 2001; 田建平^②, 2004; 张雪^③, 2011)。也因此, 凤仙花属植物具有极为广泛的多样性和类型各异的特化传粉者, 被誉为“双子叶的兰花”(毛志斌等, 2011), 是众多传粉生物学家关注的热点类群(Schemske, 1978; Wilson & Thomson, 1991; Tian *et al.*, 2004; 肖乐希和刘克明, 2009)。

有关凤仙花传粉生物学的研究最早见于Robertson(1928)对好望角凤仙花(*Impatiens capensis*)和*I. pallida*的传粉观察。此后, 众多学者对好望角凤仙花进行了更加深入的研究, 内容涉及盗蜜现象、花粉移出和落置效应等(Rust, 1977; Zimmerman & Cook, 1985; Wilson & Thomson, 1991)。繁育系统研究发现, 好望角凤仙花具有开花受精和闭花受精两种不同类型的花, 即具备双重繁育系统, 在被子植物中较为罕见, 不少学者对其繁殖适合度、近交衰退及进化机制等进行了颇有影响的研究(Schemske, 1978; Schmitt & Ehrhard, 1990)。与好望角凤仙花的双重繁育系统不同, 绝大多数的凤仙花通过雄性先熟(雌雄异熟)的机制来避免自交, 增加异花授粉的几率, 这主要得益于凤仙花雌雄蕊群的

特殊构造(合生雄蕊脱落前始终包被着柱头)(任明迅, 2008), 使得两性功能的实现呈阶段性(Rust, 1977; 肖乐希和刘克明, 2009)。但大多数学者认为凤仙花进化出这种机制主要是为了避免两性功能之间的干扰以及提高花粉传递的精确性, 因为雌雄异熟的机制虽然能避免自花授粉但不能阻止同株异花授粉的发生(Bertin & Newman, 1993; Barrett, 2002)。

传粉者对花的进化影响重大, 花部特征与传粉者行为、传粉机制和植物适合度有紧密关系, 植物与其传粉者的相互作用被认为是被子植物花进化的重要推动力(Huang & Guo, 2000; 黄双全, 2007, 2014)。气候条件的不同也在很大程度上决定着凤仙花传粉者的类群(Tian *et al.*, 2004)。在温带地区, 大多数凤仙花由熊蜂(bumble bee)和蜂鸟传粉(Rust, 1979; Kato *et al.*, 1989); 而分布在热带非洲地区的凤仙花绝大多数是由蝴蝶传粉, 其次是鸟类和蜂类(Grey-Wilson, 1980)。

另外, 海拔带来的环境差异会使不同昆虫的活动受到限制或促进, 导致不同海拔地区访问者种类和访问比例的差异, 进一步影响到植物的存活与局域适应(Kearns & Inouye, 1994; Bingham & Orthner, 1998; 段元文等, 2007)。总结目前我国学者已报道的研究结果发现, 低海拔分布的凤仙花有着更为多样的传粉者类群, 如华凤仙(*Impatiens chinensis*)、匍匐凤仙花(*I. reptans*)等5种凤仙花的传粉者类群涉及蝴蝶、天蛾、蜜蜂和熊蜂中的3–4种(Tian *et al.*, 2004; 肖乐希和刘克明, 2009; 肖乐希^④, 2009), 而高海拔地区的侧穗凤仙花(*Impatiens lateristachys*)传粉者为两种熊蜂(毛志斌等, 2011)。同一物种在不同海拔种群的传粉者种类和访问频率也会存在差异(张挺峰等, 2006)。

①高萌 (2012) 国产凤仙花属植物形态学与分子生物学研究. 北京林业大学硕士学位论文, 北京.

②田建平 (2004) 六种凤仙花属植物的系统学及匍匐凤仙花传粉生物学研究. 湖南师范大学硕士学位论文, 湖南长沙.

③张雪 (2011) 四川雅安地区凤仙花属植物种质资源及其花粉形态学研究. 四川农业大学硕士学位论文, 四川雅安.

④肖乐希 (2009) 四种凤仙花属 *Impatiens* L. 植物的传粉生物学研究. 湖南师范大学硕士学位论文, 湖南长沙.

虽然多样的传粉者类群往往对植物的花结构有着不同的选择作用, 但植物花部构成的进化往往是朝着最有效传粉者塑造的方向(适应最有效传粉者访问)进行的(Stebbins, 1970)。

海南凤仙花(*Impatiens hainanensis*)属石灰岩专性种, 分布在海拔190–1,300 m的石灰岩热带山地雨林中, 表现出极大的海拔梯度差异(钟云芳等, 2014)。专性石灰岩凤仙花植物具有独特的形态特征, 是适应特殊的石灰岩生境而从凤仙花属中特化出来的一类植物(于胜祥等, 2010)。目前, 海南凤仙花野外种群稀少, 已被列为海南省重点保护植物(秦新生等, 2012)。因此, 开展海南凤仙花的传粉生物学研究, 对于了解其繁育机制、性系统和花器官进化具有重要意义; 同时结合种群的海拔梯度差异分析不同海拔梯度传粉昆虫及分布、花器官结构、繁育系统的异同, 可以为该物种的保育工作提供理论指导和本底资料。基于此, 本文开展了对海南凤仙花不同海拔自然种群的开花物候、花粉活力及柱头活性、花部形态及报酬物、繁育系统、传粉者类群及其访花行为等方面的研究, 拟回答如下问题: (1)海南凤仙花的花部特征、传粉机制、访花昆虫比例及访花行为、访花频率等是否在不同海拔种群间存在差异? (2)如何结合传粉机制更好地进行野外保护以确保海南凤仙花的自然繁育?

1 材料与方法

1.1 研究材料和种群选择

海南凤仙花为多年生草本, 株高30–80 cm; 全

株无毛, 茎粗壮, 肉质, 直径0.8–2.5 cm; 叶互生, 具柄, 通常密集于茎枝上端; 花期6–10月; 花苞轮生于枝条顶端, 总花梗腋生, 极短或近无梗, 花苞开放具有时序性, 通常每个花序同时只开1–2朵花; 花较大, 粉红色; 唇瓣基部急收缩成上弯顶端2裂的距, 距长6–7 mm, 宽2.8–4.5 mm; 翼瓣具短柄, 2裂, 上部较长, 短宽斧形, 基部裂片近圆形, 后部有三角锥形突起, 黄色具疏紫斑点, 高约2.5–3.2 mm; 花丝线形, 长5–6 mm; 花药合生, 卵形, 顶端钝; 子房纺锤状, 长约5–6 mm, 先端尖, 白色(陈艺林, 2001; 于胜祥等, 2010; 钟云芳等, 未发表数据)。根据生境情况和海拔梯度, 选择了海南省昌江黎族自治县王下地区的3个不同海拔梯度的野生种群为研究样地(表1)。

1.2 研究方法

1.2.1 开花生物学特性和种群花期物候

2011年6月在低海拔种群标定10朵花, 花芽阶段每5 d记录1次花朵发育情况, 开花阶段每0.5 d记录1次, 包括开花、雄蕊脱落至落花的全过程, 并分别统计海南凤仙花的开花雄性期和雌性期的持续时间。雄性期为合生雄蕊开始散粉至整体脱落, 雌性期为柱头露出至花柄连同柱头一起脱落。

2012年, 3个海拔梯度种群各标定20株个体, 统计种群开花进程, 每5 d 1次, 记录净开花数, 统计时间从2012年6月5日至2012年10月23日。

1.2.2 花粉活力及柱头活性检测

2011年, 分别在3个海拔梯度种群中, 选取开花第1、2、3、4 d的花各15朵, 采用MTT法染色

表1 海南凤仙花3个海拔梯度种群的生境信息
Table 1 Habitats of three different altitude populations of *Impatiens hainanensis*

种群 Population	经纬度 Longitude/latitude	海拔 Altitude (m)	种群大小(株) Population size	植被类型 Vegetation type
低海拔 Low altitude	109°08'3"–109°08'16" E /18°57'39"–18°57'45" N	198–245	100–120	异序乌柏(<i>Sapium insigne</i>)+美丽梧桐(<i>Firmiana pulcherrima</i>)–圆叶刺桑(<i>Taxotrophis aquifolioides</i>)–马缨丹(<i>Lantana camara</i>)–海南凤仙花(<i>Impatiens hainanensis</i>)+海南绿萝(<i>Scindapsus maclurei</i>)+飞机草(<i>Eupatorium odoratum</i>)群丛
中海拔 Mid altitude	109°07'08"–109°07'10"E /19°01'23"–19°01'25" N	422–460	70–90	美丽梧桐(<i>Firmiana pulcherrima</i>)+海南榄仁(<i>Terminalia hainanensis</i>)–圆叶刺桑(<i>Taxotrophis aquifolioides</i>)–鹅掌藤(<i>Schefflera arboricola</i>)–海南凤仙花(<i>Impatiens hainanensis</i>)+桫欏叶蕨(<i>Drynaria quercifolia</i>)群丛
高海拔 High altitude	109°06'33"–109°06'34" E /19°00'48"–19°00'50" N	1, 080–1, 100	30–50	海南龙血树(<i>Dracaena cambodiana</i>)–鹅掌藤(<i>Schefflera arboricola</i>)+海南大戟(<i>Euphorbia hainanensis</i>)–海南凤仙花(<i>Impatiens hainanensis</i>)群丛; 坝王栎(<i>Quercus bawanglingensis</i>)+海南苏铁(<i>Euphorbia hainanensis</i>)–海南大戟(<i>Cycas hainanensis</i>)+雀梅藤(<i>Sageretia thea</i>)–海南凤仙花(<i>Impatiens hainanensis</i>)+芳香石豆兰(<i>Bulbophyllum ambrosia</i>)群丛

(Dafni, 1992), 光学显微镜观察, 随机选取10个分离的视野, 每个视野不少于30粒花粉。统计视野中花粉的着色情况, 完全着色记活力为1, 半着色或着色较淡记为1/2, 未着色记为0。最后用以下公式计算:

花粉活力(%) = (完全着色的花粉数×1 + 半着色花粉数×1/2 + 未着色的花粉数×0) × 100% / 视野中的总花粉数。

2011年, 分别在3个海拔梯度种群中, 选取开花雌性期阶段的花15朵, 采用联苯胺-过氧化氢法测定柱头活性。由于在实验时发现合生雄蕊刚脱落时柱头活性比较高, 因此补充了开花第1、2、3 d的柱头活性测定实验(人工去除合生雄蕊), 并根据柱头先端产生的气泡数和染色深浅程度判定柱头活性的大小。

1.2.3 花蜜量及含糖量测定

2011年, 分别在3个海拔梯度种群中各选取12朵花, 开花前套袋, 开花24 h后将距剪下, 用100 mm 20 μL的毛细管将花蜜吸出, 用游标卡尺(0.05 mm)测量蜜柱长度, 花蜜体积V (μL) = 蜜柱长度 × 20/100。采用手持折光仪(0–80%)测定花蜜总糖含量。

1.2.4 访花昆虫及行为

2011年8月9日至10月10日标定58朵花(其中低海拔种群39朵, 高海拔种群19朵), 分5次进行传粉观察; 2012年6月10日至8月13日标定78朵花(低海拔种群19朵, 中海拔种群46朵, 高海拔种群13朵), 分7次进行传粉观察。记录访花昆虫的种类、数目和访问频率, 观察时间为8:00–21:00, 单位时间1 h。用捕虫网捕捉访花昆虫, 并将捕获的昆虫放入装有乙酸乙酯的毒瓶中杀死, 然后立刻测量昆虫的体长、胸高和胸宽。测量完成后将捕获的昆虫制成标本, 由中国农业大学徐环李博士鉴定。

1.2.5 繁育系统

标记一定数量的花, 花苞阶段套上硫酸纸袋待花开放后进行以下处理: (1)仅套袋(Bagged only): 以检测是否存在自动自花授粉(spontaneous autogamy); (2)去雄(E emasculated): 以检测是否存在无融合生殖(agamospermy); (3)自花人工授粉(Autogamous hand-pollination): 花粉来源于自身, 以检测自交是否亲和; (4)同株异花人工授粉(Aitonogamous hand-pollination): 花粉来源于同一

花序上的其他花, 以检测自交是否亲和; (5)异株异花人工授粉(Xenogamous hand-pollination): 花粉来源于10 m外的其他植株。(6)对照(Control): 不做任何处理。2011年和2012年分别在3个不同海拔梯度种群进行实验, 处理1、2每个种群各20朵花; 处理3–6每个种群各20朵, 统一取开花第3 d的花进行授粉(开花第3 d柱头活性和花粉活力均较高)。以上总计360朵花。

1.2.6 传粉通道形态测量

2011年, 分别选取3个不同海拔梯度种群雄性和雌性期阶段花朵各15朵, 采用游标卡尺(0.05 mm)分别测量合适花药末端(或柱头末端)距离翼瓣上突起的距离(通道高)、翼瓣两侧间的距离(通道宽)及距到翼瓣形成平面的距离(通道深)(图1)。

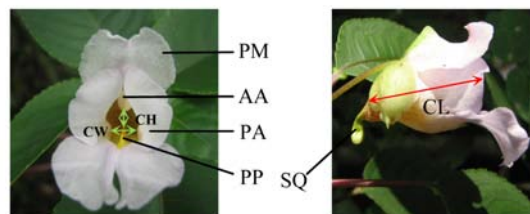


图1 海南凤仙花花结构与传粉通道形态。PM: 旗瓣; AA: 合生雄蕊; PA: 翼瓣; PP: 翼瓣上的突起; SQ: 距; CH: 通道高; CW: 通道宽; CD: 通道深。

Fig. 1 The flower structure and pollination channel characteristic of *Impatiens hainanensis*. PM, Petalum; AA, Adnate anther; PA, Petala; PP, Protuberance on petalam; SQ, Squers; CH, Channel height; CW, Channel width; CD, Channel depth.

1.3 统计分析

所有的数据均用SPSS 17.0 for Windows统计软件分析。采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 卡平方(χ^2)检验等方法进行数据分析; 百分比数据进行反正弦平方根转换后进行统计分析。

2 结果

2.1 单花与种群花期

根据2011年对海南凤仙花低海拔种群的观察, 海南凤仙花从花芽至凋谢发育时间大约为21–28.5 d, 平均为25.20 ± 2.30 d (mean ± SD), 平均花朵开放寿命4.10 ± 0.46 d, 雄性期持续时间为3.15 ± 0.24 d, 雌性期持续时间为0.95 ± 0.36 d。

2012年种群花期的观测结果发现, 低海拔种群和中海拔种群的开花高峰期均在8月4日, 而高海拔

种群的开花高峰期在8月14日, 相对低、中海拔种群滞后(图2)。

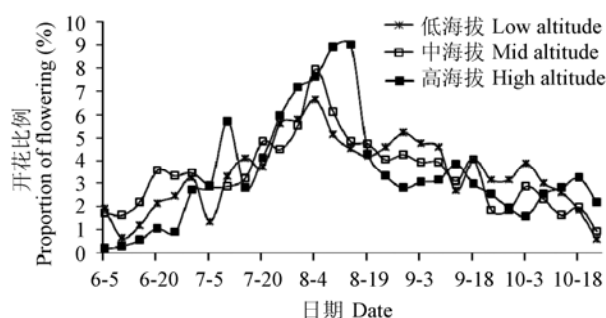


图2 海南凤仙花2012年不同海拔梯度种群的开花进程
Fig. 2 Flowering curves of *Impatiens hainanensis* populations at different altitudes in 2012

2.2 传粉通道形态、花蜜量及总糖含量测定

2.2.1 传粉通道形态

低海拔种群花部传粉通道深为 22.86 ± 3.53 mm, 中海拔为 21.83 ± 3.02 mm, 与高海拔种群(18.82 ± 5.43 mm)均有显著差异($P < 0.05$)(图3); 低、中、高3个海拔种群花部传粉通道宽分别为 5.92 ± 0.59 mm、 5.97 ± 0.42 mm和 5.86 ± 0.38 mm, 三者间无显著差异(图3)。传粉通道高度随着散粉过程的进行逐渐升高, 合生雄蕊脱落进入雌性期(约为开花后第4 d), 通道高度增至最高。在雄性期阶段, 低海拔种群传粉通道高度为 3.22 ± 0.16 mm, 中海拔种群为 3.17 ± 0.21 mm, 均与高海拔种群(2.83 ± 0.24 mm)有显著差异($P < 0.05$); 雌性期阶段, 低、中海拔种群分别为 3.55 ± 0.23 mm和 3.48 ± 0.26 mm, 与高海拔种群(3.03 ± 0.27 mm)间有显著差异($P < 0.05$)(图3)。

2.2.2 蜜量及总糖含量

海南凤仙花的花蜜含量为 6.75 ± 2.34 μ L, 平均总糖含量为 $39.22 \pm 3.15\%$ ($n = 36$)。高海拔种群花蜜含量较低(5.96 ± 1.58 μ L, $n = 12$), 与低海拔(7.21 ± 2.55 μ L, $n = 12$)和中海拔种群(6.42 ± 2.01 μ L, $n = 12$)有极显著差异($P < 0.01$)。

2.3 花粉活力和柱头活性

通过对海南凤仙花花粉可染率的换算, 低、中海拔种群花粉活力在开花第2 d达到最高($93.20 \pm 2.91\%$ 和 $92.11 \pm 2.99\%$), 高海拔种群花粉活力在第

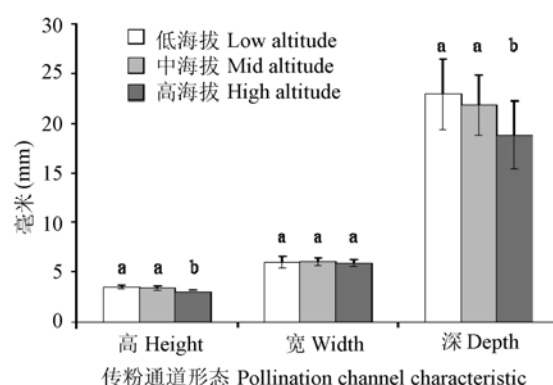


图3 海南凤仙花开花雌性期不同海拔梯度种群的传粉通道特征比较。不同字母代表在0.05水平存在显著差异。
Fig. 3 Pollination channel characteristic of flowering female stage of *Impatiens hainanensis* populations at different altitudes. The different letters indicate that the difference is significant at 0.05 level.

1 d达到最高($83.32 \pm 3.32\%$), 高海拔种群在开花第1-4 d的花粉活力均显著低于同开花天次的低、中海拔种群($P < 0.05$)。柱头可授性测定的实验结果表明, 柱头在被合生雄蕊包住的时候(开花第1、2、3 d)就确实已有一定活性, 柱头露出后(开花第4 d)活性达到最高。高海拔种群在开花各天次的柱头可授性都显著低于低、中海拔种群($P < 0.05$)(图4)。

2.4 访花昆虫种类及特点

观察到访花昆虫共计14种, 其中低海拔种群观察到14种, 中、高海拔种群各7种。访问频率较高的3种昆虫为黄黑无垫蜂(*Amegilla leptocoma*) (图5A)、绿条无垫蜂(*A. zonata*) (图5B)、*Thrinchostoma*一种(*Thrinchostoma* sp.1) (图5C)。黄黑无垫蜂和绿条无垫蜂的胸高分别为 5.21 ± 0.37 mm ($n = 11$)和 4.08 ± 0.25 mm ($n = 6$) (表2), 均高于传粉通道高度(2.83-3.51 mm), 携带的花粉粘着在昆虫的胸背部和腹背部, 是海南凤仙花的主要传粉昆虫。*Thrinchostoma* sp.1的胸高虽然仅为 2.71 ± 0.31 mm ($n = 9$), 但加上腿的高度, 偶尔也可以触碰到花粉或柱头, 是一种低效的传粉者, 但其仅见于低、中海拔种群。夜间观察仅发现果蝇属一种(*Drosophila* sp.1)和蚁科2种(*Formicidae* sp.1、sp.2)活动, 没有发现其他传粉者。

主要访花昆虫在3个海拔梯度种群的相对访问比例和访问频率也有所差异(图6)。低、中海拔种群以黄黑无垫蜂为主, 访问比例约为绿条无垫蜂和

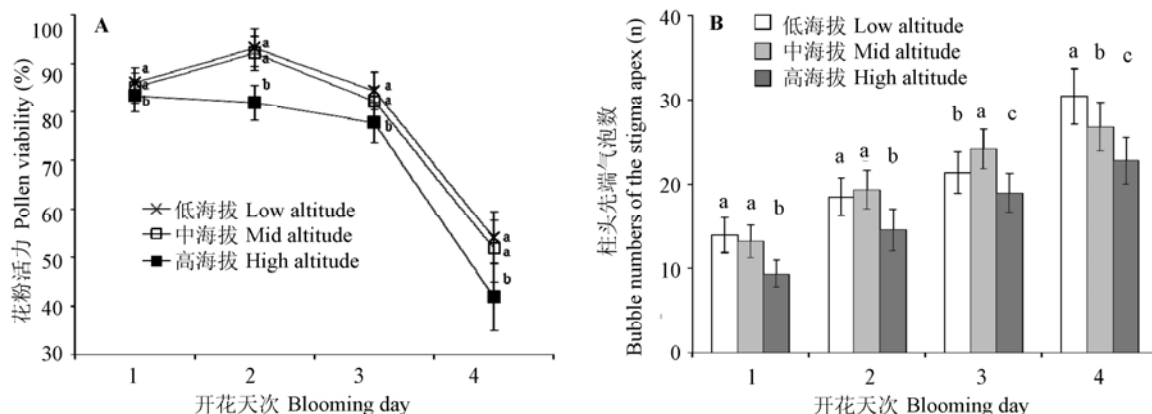


图4 海南凤仙花不同海拔梯度种群花粉活力(A)与柱头活性(B)。不同字母代表花粉活力或柱头先端气泡数在0.05水平存在显著差异。

Fig. 4 Pollen viability and stigma activity of *Impatiens hainanensis* populations at different altitudes. Different letters indicate that pollen viability or the bubble numbers of the stigma apex in different altitude populations are significantly different at 0.05 level on the different blooming days.

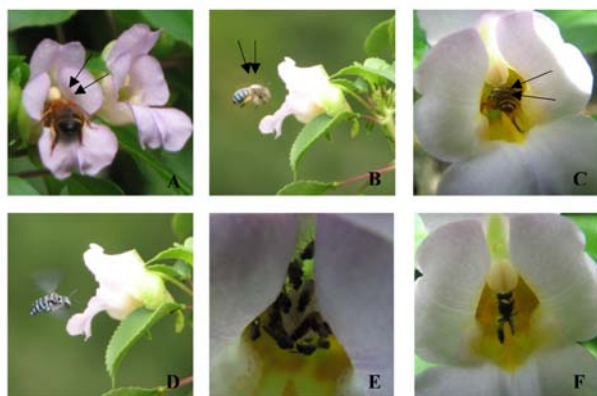


图5 海南凤仙花的访花昆虫。黑色箭头指示花粉。A: 黄黑无垫蜂; B: 绿条无垫蜂; C: *Thrinchostoma* 一种; D: 盾斑蜂属一种; E: 果蝇属一种; F: 齿突芦蜂

Fig. 5 The floral visitors of *Impatiens hainanensis*. Black arrows indicate pollen. The capital letters (A) *Amegilla leptocoma*; (B) *A. zonata*; (C) *Thrinchostoma* sp.1; (D) *Croisa* sp.1; (E) *Drosophila* sp.1; (F) *Ceratina iwatai*.

Thrinchostoma sp.1的4–5倍。但高海拔种群以绿条无垫蜂为主, 其访问比例占总的50.87%, 而黄黑无垫蜂占30.69%(图6)。从访问频率上看, 黄黑无垫蜂在低、中海拔种群分别为0.91次·朵⁻¹·h⁻¹和1.01次·朵⁻¹·h⁻¹, 远高于高海拔种群的访问频率(0.11次·朵⁻¹·h⁻¹); 绿条无垫蜂的访问频率在3个海拔梯度种群的访问频率分别为0.55次·朵⁻¹·h⁻¹、0.51次·朵⁻¹·h⁻¹和0.41次·朵⁻¹·h⁻¹, 差别相对较小。

2.5 繁育系统

由表3可见, 海南凤仙花3个海拔梯度种群套袋

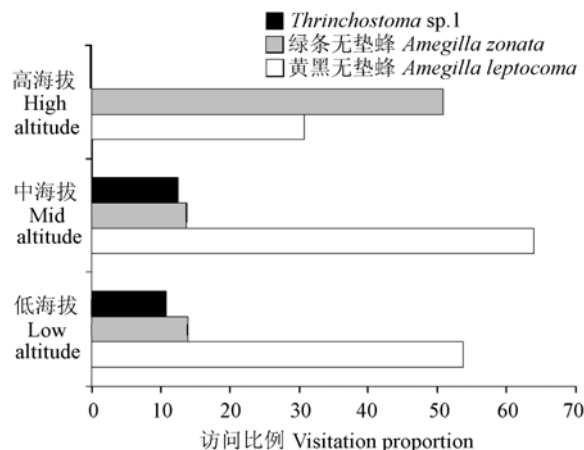


图6 海南凤仙花不同海拔种群主要传粉昆虫的访问比例
Fig. 6 Visitation proportion of main pollinators of *Impatiens hainanensis* populations at different altitudes

($n = 60$)和去雄处理($n = 60$)无一结实, 说明不存在无融合生殖或自动自花授粉的现象。3个海拔梯度种群的授粉实验表明, 异株异花、同株异花和自花授粉处理的坐果率在同一种群内均不存在显著差异; 同一处理在不同种群的坐果率也不存在显著差异。在低海拔种群, 异株异花和同株异花的坐果率与自然对照有极显著差异($\chi^2 = 7.025$, $P = 0.008$); 中海拔种群异交坐果率与自然对照有极显著差异($\chi^2 = 8.533$, $P = 0.003$), 同株异花坐果率与自然对照也有显著差异($\chi^2 = 4.286$, $P = 0.038$); 高海拔种群, 各个人工授粉处理与自然对照都有显著差异($P < 0.05$)。

表2 海南凤仙花主要传粉昆虫种类和体型特征(平均值±标准差, mm)
Table 2 Species and physical characteristics of main pollinators of *Impatiens hainanensis* (Mean ± SD, mm)

传粉者 Pollinators	体长 Body length	胸高 Thorax height	胸宽 Thorax width
黄黑无垫蜂 <i>Amegilla leptocoma</i> (n = 11)	14.84 ± 1.01	5.21 ± 0.37	5.48 ± 0.43
绿条无垫蜂 <i>A. zonata</i> (n = 6)	12.16 ± 1.16	4.08 ± 0.25	4.22 ± 0.17
<i>Thrinchostoma</i> 一种 <i>Thrinchostoma</i> sp.1 (n = 9)	11.78 ± 1.13	2.71 ± 0.31	3.00 ± 0.32

表3 海南凤仙花不同授粉处理的坐果率
Table 3 Fruit-set percentage of different hand-pollination treatments of *Impatiens hainanensis*

处理 Treatments	低海拔种群 Low altitude population	中海拔种群 Mid altitude population	高海拔种群 High altitude population
仅套袋 Bagged only	0	0	0
去雄 Emasculated	0	0	0
自花人工授粉 Autogamy hand-pollination	85%	75%	80%
同株异花人工授粉 Geitonogamy hand-pollination	90%	85%	75%
异株异花人工授粉 Xenogamy hand-pollination	90%	90%	90%
对照 Control	60%	55%	40%

自然对照的坐果率在低海拔种群最高(60%), 而高海拔种群仅有40%。

3 讨论

3.1 传粉昆虫在不同海拔种群的差异

有研究表明, 海拔较高或积温较低的地区, 某些昆虫会受到温度的限制(Heinrich, 1972; Totland, 2001; Fabbro & Korner, 2004)。海南凤仙花最主要且最有效的两种传粉者是黄黑无垫蜂和绿条无垫蜂, 而*Thrinchostoma* sp.1作为一种低效的传粉者仅分布于低、中海拔种群。海拔带来的环境差异还会使不同昆虫的活动受到限制或促进, 导致不同海拔梯度的种群访问者访问比例的差异(Kearns & Inouye, 1994; Bingham & Orthner, 1998; 段元文等, 2007)。黄黑无垫蜂的访问比例在低、中海拔的种群约为绿条无垫蜂的4–5倍, 但在高海拔种群的访问比例仅有绿条无垫蜂的一半以上(图5)。可能是由于绿条无垫蜂比黄黑无垫蜂具有更高的适应性, 更能够适应高海拔恶劣的环境条件; 但也不能排除是由于花部结构所致, 高海拔种群花朵无论是在开花雄性期还是雌性期传粉通道高度都较低、中海拔种群小($P<0.05$), 这可能更加适合体型较小的绿条无垫蜂。对露蕊乌头(*Aconitum gymnantrum*)的类似报道也表明不同海拔种群主要传粉熊蜂的种类和访问频率有所差异(张挺峰等, 2006)。

3.2 传粉机制与花器官结构

海南凤仙花低海拔种群花朵的传粉通道高度

在雄性期阶段为 3.22 ± 0.16 mm, 中海拔种群为 3.17 ± 0.21 mm, 它们与高海拔种群 2.83 ± 0.24 mm有显著差异($P<0.05$); 雌性期阶段, 低、中海拔种群分别为 3.55 ± 0.23 mm和 3.48 ± 0.26 mm, 它们与高海拔种群(3.03 ± 0.27 mm)有极显著差异($P<0.01$)(图3)。黄黑无垫蜂和绿条无垫蜂携带的花粉主要黏着在胸背部和腹背部, 它们胸高分别是 5.21 ± 0.37 mm和 4.08 ± 0.25 mm, 与传粉通道高(3.03–3.55 mm)并不十分契合。但观察中发现, 这两种传粉者访问停留的时间在1.5–5.0 s内, 并且能够轻松地进入花内吸食花蜜, 笔者推测可能是翼瓣上的突起结构(图2)具有一定的弹性, 使得传粉者能够进入, 需要进一步对这一结构进行解剖。

毛志斌等(2011)的研究表明, 侧穗凤仙花(*Impatiens lateristachys*)雄蕊未脱落时其柱头和翼瓣之间的平均距离为5.13 mm, 而雄蕊脱落后为3.51 mm, 柱头有明显的下垂现象, 这种花部运动增加了雌蕊的受精机会, 提高了雌性适合度。而海南凤仙花柱头在雄蕊脱落后并没有明显下降, 此时传粉通道高度仍小于传粉者的胸高, 使得传粉者胸背部和腹背部仍能接触到柱头。虽然*Thrinchostoma* sp.1的胸高仅为 2.71 ± 0.31 mm, 但在观察中发现, 加上腿的高度, *Thrinchostoma* sp.1也偶尔可以触碰到花粉或柱头, 是一种低效的传粉者, 并且仅分布于低、中海拔种群。传粉者对花部特征的选择和塑造发挥着重要作用。如对花葱属(*Polemonium*)植物*Polemonium viscosum*的研究发现, 仅一代熊蜂的传

粉选择便可使其子代花冠开口宽度增加9%(Galen, 1996)。但这种花部特征的塑造主要由最频繁、最有效的传粉者所决定(Stebbins, 1970)。自然生境中, *Thrinchostoma* sp.1并不是海南凤仙花最有效、最频繁的传粉者, 因此, 它对其花部特征塑造可能起不到决定作用, 其低效传粉行为可能会对海南凤仙花的繁殖带来负面效应, 如花粉折损和花蜜损耗; 它所占用的访花资源也可能导致有效传粉者需要飞行更长的距离来获得报酬, 导致访问频率的降低。但也有研究显示, 植物传粉者飞行距离的增长可以增加花粉的传播距离, 也因此能够提高植物的雌性适合度(Zimmerman & Cook, 1985)。对于*Thrinchostoma* sp.1分布的中低海拔种群是否会因此加大繁殖上的投入以应对更多的生殖损耗, 及其对繁殖适合度的影响, 还需要进一步的研究。

3.3 繁育系统

海南凤仙花低、中海拔种群的花粉活力在开花第2 d达到最高($93.20 \pm 2.91\%$ 和 $92.11 \pm 2.99\%$); 高海拔种群花粉活力以第1 d最高($83.32 \pm 3.32\%$), 但在各开花天次都较低、中海拔种群低($P < 0.05$)。合生雄蕊脱落前的花粉活力仅有41.93–54.07%。海南凤仙花花粉活力随单花开放进程的变化趋势与其他几种凤仙花的研究结果相似(Tian *et al.*, 2004; 肖乐希^①, 2009; 毛志斌等, 2011), 柱头活性的变化特征也和一些凤仙花类似(Bertin & Newman, 1993; Barrett, 2002; 肖乐希和刘克明, 2009), 即在开花雄性期阶段柱头即具有活性, 并随着开花时间的推移逐渐增强, 但由于雌雄蕊群的特殊构造(合生雄蕊脱落前始终包被着柱头), 使得两性功能的实现呈阶段性(Rust, 1977; 肖乐希和刘克明, 2009)。

海南凤仙花套袋和去雄处理无一结实, 说明海南凤仙花不能自动自花授粉和无融合生殖, 这一结果与华凤仙(*Impatiens chinensis*)、瑶山凤仙花(*I. macrovexilla* var. *yaoshanensis*)的研究结果类似(肖乐希^①, 2009)。海南凤仙花3个海拔梯度种群的授粉实验表明, 异株异花、同株异花和自花授粉处理的坐果率在同一种群内不存在显著差异, 同一处理在不同种群的坐果率也不存在显著差异。自然对照与人工授粉处理坐果率在不同种群间都存在一定的差异, 特别是高海拔种群, 各个人工授粉处理与自

然对照都有显著差异($P < 0.05$)。自然对照的坐果率仅有40–60%。不同海拔的环境条件带来的传粉差异是显而易见的: 海拔分布较高的侧穗凤仙花(*I. lat-eristachys*)自然结实率远远低于低海拔的匍匐凤仙花(*I. reptans*) (田建平^②, 2004; 毛志斌等, 2011), 同种植物高海拔种群昆虫访问频率也较低海拔种群低, 进而导致结实率较低(段元文等, 2007)。

本研究中, 2种主要传粉昆虫黄黑无垫蜂和绿条无垫蜂的访问频率在低海拔种群分别为0.91次·朵⁻¹·h⁻¹和0.55次·朵⁻¹·h⁻¹, 而在高海拔种群访问频率仅有0.11次·朵⁻¹·h⁻¹和0.41次·朵⁻¹·h⁻¹, 高海拔地区强风、温差大等因素限制了传粉昆虫的活动, 可能是造成高海拔种群较低自然坐果率、较小种群规模、较差花粉活力和柱头活性的主要因素。由于人工授粉能显著提高各海拔种群的坐果率, 说明这些种群的有性繁殖都存在一定程度的花粉限制。因此, 对于海南凤仙花需要同时关注生境与有效传粉者的保护, 尤其是传粉者较少、自然坐果率低的高海拔种群需要特别注意其与中、低海拔种群的生境连接, 促进有效传粉昆虫在不同海拔种群间的往来, 保证这些种群间的花粉流与种子流, 维持海南凤仙花的种群遗传多样性与有效种群大小。

致谢: 感谢中国科学院武汉植物园任明迅研究员对文章的修改和指导, 中国农业大学徐环李博士对昆虫标本的鉴定, 海南霸王岭国家级自然保护区王进强对野外实验的帮助和支持, 海南大学武华周、胡翔宇在野外实验方面的协助。

参考文献

- Barrett SCH (2002) The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics*, **3**, 274–284.
- Bertin RI, Newman CM (1993) Dichogamy in angiosperms. *The Botanical Review*, **59**, 112–152.
- Bingham RA, Orthner AR (1998) Efficient pollination of alpine plants. *Nature*, **391**, 238–239.
- Caris PL, Geuten KP, Janssens SB, Smets EF (2006) Floral development in three species of *Impatiens* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany*, **93**, 1–14.
- Chen YL (陈艺林) (2001) Balsaminaceae. In: *Flora Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志·凤仙花科), pp.1–397. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Dafni A (1992) *Pollination Ecology: A Practical Approach*, pp.1–250. Oxford University Press, Oxford.

①肖乐希 (2009) 四种凤仙花属 *Impatiens* L. 植物的传粉生物学研究. 湖南师范大学硕士学位论文, 湖南长沙.

②田建平 (2004) 六种凤仙花属植物的系统学及匍匐凤仙花传粉生物学研究. 湖南师范大学硕士学位论文, 湖南长沙.

- Duan YW (段元文), Zhang TF (张挺峰), Liu JQ (刘建全) (2007) Pollination biology of *Anisodus tanguticus* (Solana-ceae). *Biodiversity Science* (生物多样性), **15**, 584–591. (in Chinese with English abstract)
- Fabbro T, Korner C (2004) Altitude differences in flower traits and reproductive allocation. *Flora*, **199**, 70–81.
- Galen C (1996) Rates of floral evolution: adaption to bumble-bee pollination in an alpine wild flower, *Polemonium viscosum*. *Evolution*, **50**, 120–125.
- Grey-Wilson C (1980) *Impatiens of Africa*. pp.1–235. AA Balkema, Rotterdam.
- Heinrich B (1972) Energetics of temperature regulation and foraging in a bumblebee, *Bombus terrestris* K. *Journal of Comparative Physiology*, **77**, 49–64.
- Huang SQ, Guo YH (2000) New advances in pollination biology and studies in China. *Chinese Science Bulletin*, **45**, 1441–1447.
- Huang SQ (黄双全) (2007) Studies on plant–pollinator interaction and its significances. *Biodiversity Science* (生物多样性), **15**, 569–575. (in Chinese with English abstract)
- Huang SQ (黄双全) (2014) Most effective pollinator principle of floral evolution: evidence and query. *Chinese Bulletin of Life Sciences* (生命科学), **26**, 118–124. (in Chinese with English abstract)
- Kato M, Itino I, Hotta M, Abbas I, Okada H (1989) Flower visitors of 32 plant species in West Sumatra. *Occasional Papers of the Kagoshima University Research Center for the South Pacific*, **16**, 15–31.
- Kearns CA, Inouye DW (1994) Fly pollination of *Linum lewisii* (Linaceae). *American Journal of Botany*, **81**, 1091–1095.
- Mao ZB (毛志斌), Cedric B, Ge XJ (葛学军) (2011) Pollination ecology and breeding system of *Impatiens lateristachys* (Balsaminaceae) endemic to China. *Guihaia* (广西植物), **31**, 160–166. (in Chinese with English abstract)
- Qin XS (秦新生), He KS (何科稣), Liu LW (刘立武), Sun JM (孙君梅), Qi XM (齐旭明), Shi H (施浩) (2012) Floristic and ecological characteristics of the community with *Impatiens hainanensis* in Exianling Limestone Mountain, Hainan. *Journal of South China Agricultural University* (华南农业大学学报), **33**, 361–367. (in Chinese with English abstract)
- Ren MX (任明迅) (2008) Stamen fusion in plants: diversity, adaptive significance, and taxonomic implications. *Journal of Systematics and Evolution* (植物分类学报), **46**, 452–466. (in Chinese with English abstract)
- Robertson C (1928) *Flowers and Insects*, pp.1–221. Science Press Printing Co., Lancaster.
- Rust RW (1977) Pollination in *Impatiens capensis* and *Impatiens pallida* (Balsaminaceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, **104**, 361–367.
- Schemske DW (1978) Evolution of reproductive characteristics in *Impatiens* (Balsaminaceae): the significance of cleistogamy and chasmogamy. *Ecology*, **59**, 596–613.
- Schmitt J, Ehrhardt DW (1990) Enhancement of inbreeding depression by dominance and suppression in *Impatiens capensis*. *Evolution*, **44**, 269–278.
- Stebbins GL (1970) Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms. I. Pollination mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **1**, 307–326.
- Tian JP, Liu KM, Hu GW (2004) Pollination ecology and pollination system of *Impatiens reptans* (Balsaminaceae) endemic to China. *Annual of Botany*, **93**, 167–175.
- Totland O (2001) Environment dependent pollen limitation and selection on floral traits in an alpine species. *Ecology*, **82**, 2233–2244.
- Wilson P, Thomson JD (1991) Heterogeneity among floral visitors leads to discordance between removal and deposition of pollen. *Ecology*, **72**, 1503–1507.
- Xiao LX (肖乐希) & Liu KM (刘克明) (2009) Floral traits and pollination system of *Impatiens chinensis* (Balsaminaceae). *Bulletin of Botanical Research* (植物研究), **29**, 164–168. (in Chinese with English abstract)
- Yu SX (于胜祥), Xu WB (许为斌), Chen YL (陈艺林), Qin HN (覃海宁) (2010) Supplementary description of floral morphology of *Impatiens hainanensis* and *I. morsei* (Balsaminaceae). *Guihaia* (广西植物), **30**, 33–35. (in Chinese with English abstract)
- Zhang TF (张挺峰), Duan YW (段元文), Liu JQ (刘建全) (2006) Pollination ecology of *Aconitum gymnantrum* (Ranunculaceae) at two sites with different altitudes. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **44**, 362–370. (in Chinese with English abstract)
- Zhong YF (钟云芳), Wu HZ (武华周), Song XQ (宋希强), Zhou ZD (周兆德) (2014) Species diversity and the relationship with habitat community characteristics of *Impatiens hainanensis*, endemic to Hainan Island. *Chinese Journal of Tropical Crops* (热带作物学报), **35**, 355–361. (in Chinese with English abstract)
- Zimmerman M, Cook S (1985) Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. *American Midland Naturalist*, **113**, 84–91.

(责任编辑: 黄双全 责任编辑: 时意专)