

DOI: 10.20103/j.stxb.202401190167

胡佳, 蒋景龙, 程文娜, 魏丽娜, 王勇, 胡凤成, 邓茜茜, 李耘. 濒危植物秦岭石蝴蝶传粉生物学与繁育系统研究. 生态学报, 2024, 44(19): 8595-8604.

Hu J, Jiang J L, Cheng W N, Wei L N, Wang Y, Hu F C, Deng X X, Li Y. Pollination biology and breeding system of endangered plant *Petrocosmea qinlingensis*. Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(19): 8595-8604.

## 濒危植物秦岭石蝴蝶传粉生物学与繁育系统研究

胡 佳<sup>1,2,3</sup>, 蒋景龙<sup>1,2,3,\*</sup>, 程文娜<sup>1,2,3</sup>, 魏丽娜<sup>1,2,3</sup>, 王 勇<sup>1,2,3</sup>, 胡凤成<sup>5</sup>, 邓茜茜<sup>1,2,3</sup>,  
李 耘<sup>4</sup>

1 陕西理工大学生物科学与工程学院, 汉中 723000

2 陕西省资源生物重点实验室, 汉中 723000

3 陕南秦巴山区生物资源综合开发协同创新中心, 汉中 723000

4 汉中市野生动植物保护管理站, 汉中 723000

5 略阳县林木种苗工作站, 汉中 724310

**摘要:** 秦岭石蝴蝶 (*Petrocosmea qinlingensis*) 是秦岭地区特有的国家 II 级重点保护野生植物, 处于濒危状态。以野生、人工培育的秦岭石蝴蝶居群为对象, 通过观察和人工授粉实验对其传粉生物学及繁育系统进行研究。结果表明: (1) 秦岭石蝴蝶种群花期期为 7 月初—9 月底, 正值汉中多雨季节, 影响授粉; 花冠筒较深, 不利于昆虫授粉, 柱头位置高于花药, 需要传粉者协助授粉。(2) 柱头在花药开裂前具有可授性, 柱头在第 4—6 天可授性最强, 花粉活力第 5 天达到峰值, 花粉和柱头虽有重叠期, 但重叠期较短, 仅为 1—2 d。(3) 访花昆虫平均访花频率较低, 每朵访花停留时间较短, 阴雨天气严重影响昆虫访花行为。(4) 繁育系统检测与套袋实验结果显示, 花粉胚珠比(P/O)为 77.92, 杂交指数(OCI)为 4, 秦岭石蝴蝶繁育系统以自交亲和为主, 与异交并存的混合交配型系统, 不存在无融合生殖现象, 传粉者在传粉过程发挥极其重要作用。(5) 种子萌发试验表明, 秦岭石蝴蝶自然条件下萌发率较低, 仅为 23.33%。以上结果表明, 秦岭石蝴蝶传粉对昆虫依赖性较高, 受天气影响较大, 花粉和柱头活力重叠期较短, 自然条件下种子萌发率低, 这些因素可能是导致秦岭石蝴蝶濒危的主要原因。

**关键词:** 秦岭石蝴蝶; 开花物候; 繁育系统; 访花昆虫; 濒危机制

## Pollination biology and breeding system of endangered plant *Petrocosmea qinlingensis*

HU Jia<sup>1,2,3</sup>, JIANG Jinglong<sup>1,2,3,\*</sup>, CHENG Wenna<sup>1,2,3</sup>, WEI Lina<sup>1,2,3</sup>, WANG Yong<sup>1,2,3</sup>, HU Fengcheng<sup>5</sup>, DENG Xixi<sup>1,2,3</sup>,  
LI Yun<sup>4</sup>

1 School of Biological Sciences and Engineering, Shaanxi University of Technology, Hanzhong 723000, China

2 Shaanxi Key Laboratory of Bio-resources, Hanzhong 723000, China

3 QinLing-Bashan Mountains Bioresources Comprehensive Development Collaborative Innovation Center, Hanzhong 723000, China

4 Hanzhong City Wildlife Conservation and Management Station, Hanzhong 723000, China

5 Nursery of Lueyang County, Hanzhong 724310, China

**Abstract:** *Petrocosmea qinlingensis* is a Class-II National Key Protected Wild Plant distributed in the Qingling Mountains, which is in an endangered state. The pollination biology and breeding system of *P. qinlingensis* with wild or artificially cultivated were studied using observations and artificial pollination experiments. The results show that: (1) The flowering period of the *P. qinlingensis* population is from the beginning of July to the end of September, which coincides with the rainy

基金项目: 秦岭石蝴蝶人工繁育及野外回归研究项目(208023541, 208023719)

收稿日期: 2024-01-19; 网络出版日期: 2024-07-20

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: jiangjinglong511@163.com

season in Hanzhong, resulting in pollination failed. The corolla tube is deeper, which is not conducive to insect pollination, The stigma is higher than the anthers, needing pollinator assistance in pollination. (2) The stigma has the receptive before the anthers dehiscence, and the highest level of receptive is from the fourth to sixth day. Pollen viability reaches the peak on the 5th day. Although there is an overlapping period between pollen and stigma, the overlapping period is too short, only 1—2 days. (3) The average frequency of flower visiting insects is low, and the residence time of each flower visiting is short, which seriously affected the flower visiting behavior of insects in rainy weather. (4) The results of breeding system testing and bagging experiment show that pollen-ovule ration (P/O) is about 77.92, and the hybridization index (OCI) is 4. *P. qinlingensis* is a mixed-crossing system using self-compatibility as the main breeding form and concomitance out-crossing and there was no apomixis. Pollinators play an extremely important role during the pollination process. (5) The seed germination test show that the germination rate of *P. qinlingensis* is low under natural conditions, only 23.33%. The above results indicate that the pollination of *P. qinlingensis* is highly dependent on insects, greatly affected by weather, The overlap period of pollen and stigma activity is too short, and the seed germination rate is low under natural conditions, which may be the key reasons for the endangerment of *P. qinlingensis*.

**Key Words:** *Petrocosmea qinlingensis*; flowering; breeding system; visiting flower insects; endangering mechanism

繁殖是植物最为关键的生活史阶段之一,也是种群更新与维持的重要环节。濒危植物自身生殖繁育力的衰退是导致其濒临灭绝的重要原因之一。因此,开展繁殖生物学研究,深入了解物种的个体成熟年龄、结果时间动态、繁殖结构、授粉方式和主要传粉者、种子扩散、种子休眠情况和萌发条件等,有助于探讨植物的濒危机制及对其保护对策的制定<sup>[1]</sup>。很多植物都是由于传粉过程受到限制,导致结籽率不高,造成植物资源的减少,例如 Dompheh 对加纳特有濒危热带乔木 (*Talbotiella gentii*) 的传粉生物学研究,结果发现花粉败育是其濒危的主要原因之一<sup>[2]</sup>;宋玉霞等对濒危植物肉苁蓉 (*Cistanche deserticola*) 的花粉活力和柱头可授性进行检测,结果发现花粉和柱头同时处于较强活力的时间短而影响其授粉,进一步导致其结实率低,这可能是肉苁蓉濒危的原因<sup>[3]</sup>;孙燕在光叶木兰 (*Magnolia dawsoniana*) 中也发现花粉生活力低、柱头可授性短是其濒危的原因之一<sup>[4]</sup>;另外,其他学者发现许多植物,如: *Nyssa Yunnanensis*<sup>[5]</sup>、*Trillium recurvatum*<sup>[6]</sup>、*Smilax rotundifolia*<sup>[7]</sup>、*Nerium oleander*<sup>[8]</sup>、鹅掌楸 (*Liriodendron chinense*)<sup>[9]</sup>、红榄李 (*Lumnitzera littorea*)<sup>[10]</sup>等,由于传粉受限,导致结籽率不高,造成濒危。越来越多的数据表明,植物的繁育系统也与植物的濒危有关。植物的繁育系统是指直接影响其后代遗传组成的所有有性特征,主要包括花部特征总和、花各部位的活力与寿命、交配习性和传粉受粉行为等,其核心部分为交配系统<sup>[11-12]</sup>。万海霞等以濒危植物丰都车前 (*Plantago fengdouensis*) 为研究对象,发现其花部特征、开花物候和繁育系统为适应分布地夏季洪水水淹胁迫提供了一定的生殖保障,促进了该种群的续存<sup>[13]</sup>;Dieringer 和 Allain 等以木兰科几种濒危植物为研究对象,分析了授粉昆虫种类、访花频率与结实率的相关性,进而分析了其对植物濒危的影响<sup>[14-15]</sup>;此外,还有学者对珍稀濒危植物蒜头果 (*Malania oleifera*) 和细果秤锤树 (*Sinojackia microcarpa*) 的繁育系统进行研究,表明花期阴雨天气对昆虫访花活动和传粉效果的影响是其导致濒危的重要原因<sup>[16-17]</sup>。

秦岭石蝴蝶 (*Petrocosmea qinlingensis*) 为苦苣苔科 (Gesneriaceae), 石蝴蝶属 (*Petrocosmea* Oliv.), 中华石蝴蝶组 (Sect. *Petrocosmea*), 多年生草本植物<sup>[18]</sup>, 国家 II 级重点保护野生植物, 也是国家林业局重点保护的 120 种极小种群野生植物之一<sup>[19-20]</sup>。该物种野生居群地理分布极为狭窄, 对生长环境要求较为苛刻, 仅在陕西省汉中市勉县茶店子和略阳县境内的阴湿石灰崖壁上有零散分布, 为石蝴蝶属植物中分布最北缘原始种群, 灭绝风险高, 处于濒危状态<sup>[21]</sup>。对于秦岭石蝴蝶的保护与深入研究, 将对探讨石蝴蝶属的起源演化、迁移路线、分布规律, 秦岭植物区系的属性及历史渊源等具有一定的意义。杨平等通过野外调查和随机取样法对秦岭石蝴蝶群落生境中的维管植物组成、垂直结构和分布区类型及其种群特征和土壤化学性质进行了调查和分析, 并据此初步探讨了秦岭石蝴蝶的濒危原因, 推测种群规模较小、分布范围狭窄以及人为干扰可能是造成秦岭

石蝴蝶濒危的主要原因,而人为干扰是其中的重要原因<sup>[22]</sup>。孙旺等通过 SCoT 遗传标记技术,对秦岭石蝴蝶遗传多样性分析发现,其各种群内和种群间的遗传多样性较低,遗传背景狭窄,这可能是造成其环境适应能力差,导致处于濒危状态的原因之一<sup>[23]</sup>。截至目前,有关秦岭石蝴蝶的传粉生物学及繁育系统的研究及其与濒危关系尚未见报道。

本文通过观察和人工授粉实验对秦岭石蝴蝶开花物候、花的形态特征、传粉者及传粉动态,花粉胚珠比、杂交指数及人工授粉等进行研究,揭示秦岭石蝴蝶在开花和授粉过程中导致濒危的因素,为秦岭石蝴蝶物种保护提供科学依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验材料

2023 年 7—10 月对秦岭石蝴蝶进行定点观察,观察地点位于陕西省汉中市略阳县秦岭石蝴蝶野外分布地和人工繁育基地。秦岭石蝴蝶野外分布地海拔 847 m,人工繁育基地地处 33°16′3.965″N、106°15′14.051″E,海拔 842.2 m。全年总降雨量 808 mm,总下雨天数 129 d,其中 7—9 月为雨季,下雨 53 d。选择株龄、植株大小、生长状态均相对一致、健康的植株进行实验。同时,记录每天的天气变化情况。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 开花物候及花部特征观测

对即将进入生殖生长期的秦岭石蝴蝶植株进行随机标记,依据 Dafni 和 Maués<sup>[24]</sup>的方法观察和统计其主要的开花进程,如始花时间、开花高峰期(70%的花盛开,花药开始散粉)、持续时间和末花时间等。于现蕾期随机标记花期相近的健壮植株的花 20 朵,每天同一时间连续观察并记录花朵开放状态和开放持续时间,直到花期结束。随机选取盛花期花 20 朵,用电子游标卡尺分别测量花的各部位参数指标,包括花冠直径、萼片长度、雌蕊高度和雄蕊高度等参数,取平均值和标准差。同时,记录天气变化情况。

#### 1.2.2 花粉活力和柱头可授性检测

不同发育阶段花粉活力和柱头可授性参照 MTT 法<sup>[25-26]</sup>。分别将采集的花粉或花柱置于载玻片上,加 1 滴 1% (w/v) MTT 溶液(称取 0.1g MTT,溶解于 10 mL 配制好的 5%蔗糖溶液中),静置 5 min 后,置于光学显微镜下观察,统计花粉粒和花柱着色情况,每个发育阶段采集 10 朵花。花粉或柱头显示蓝黑色则表明有活力,若无颜色变化或黄褐色则表明无活力。花粉活力=被染色花粉数/观测花粉总数×100%。

#### 1.2.3 花粉胚珠比(P/O)的估算

在实验样地,随机选取处于花蕾期的花 10 朵,放入 FAA(冰醋酸 6.0 mL、38%福尔马林 5.0 mL、50%乙醇 89.0 mL 混合)固定液中保存并带回实验室解剖,将单花中的全部花药取下放入 1 mL 的离心管中,使用镊子将花药碾碎制成花粉悬浊液,用蒸馏水定容至 0.5 mL,用移液枪吸取 0.5 μL 的花粉悬浊液于载玻片上在光学显微镜下 10 倍观察并统计花粉量,重复 10 次,计算单花花粉量。同时将对对应花的子房置于载玻片上,在解剖镜 40 倍下用解剖针将胚珠从胎座中解剖,观察并统计每朵花对应的胚珠数。判定方法参照 Cruden<sup>[27]</sup>根据花粉胚珠比(P/O)判定繁育系统类型的方法,P/O 值降低,则近交程度升高;P/O 值升高,则远交程度上升。

#### 1.2.4 杂交指数(OCI)的估算

根据 Dafni<sup>[28]</sup>的标准,对秦岭石蝴蝶花器官直径和开花行为进行观察测量并评判其繁育系统。具体方法是:(1)花朵直径<1 mm 记为 0,1—2 mm 记为 1;2—6 mm 记为 2;>6 mm 记为 3;(2)花药成熟开裂时间与柱头具可授性若无时间差异或柱头具可授性时间早于花药成熟时间记为 0;花药先成熟则记 1。(3)柱头与花药的空间位置同一高度记为 0,空间分离记为 1。三者相加即可得到 OCI 值。评判标准为:OCI=0,繁育系统为闭花受精;OCI=1,繁育系统为专性自交;OCI=2,繁育系统为兼性自交;OCI=3,繁育系统为自交亲和,有时需要传粉者;OCI=4,繁育系统为异交型,部分自交亲和,需要传粉者。

#### 1.2.5 传粉昆虫种类及访花行为

随机选取开放的花序,连续观察 3—5 d,记录同一样方(10 m×10 m)内访花昆虫和访花行为,包括访花的

停落方式、访花过程、在花上停留时间及每次的访花数等。从 9:00—18:00 连续观察,统计每 1 h 内前 30 min 时程内的访花昆虫,用数码相机拍摄访花者照片,用捕虫网捉访花昆虫制作凭证标本,带回实验室后通过查询《中国动物志》,并咨询动物分类相关领域研究人员进行物种鉴定。同时注意记录天气变化。

### 1.2.6 繁育系统检测

根据 Dafni 描述的方法<sup>[28]</sup>,人工授粉实验分为以下 6 个处理:(1)自然对照,不做任何处理,自由授粉,检测自然状态下的亲和性;(2)自然自花授粉,开花前用硫酸纸袋套袋,不去雄,检测是否存在自花传粉可育;(3)自然异花授粉,不套袋,去雄,自由授粉,检测结实率是否受传粉者的限制;(4)人工同株异花授粉,去雄,人工授粉后套袋,花粉来自于同株花,检测有无自交不亲和;(5)人工异株异花授粉,去雄,人工授粉后套袋,花粉来自于不同植株,检测异交亲和性;(6)开花前去雄并套袋,检测是否存在无融合生殖。每种处理选择 20 朵花,所有去雄套袋授粉试验均在开花前 1 d 进行,避免花药散粉。果实成熟时,分株分朵收集,统计结实率(结实率=结实数/处理花朵数×100%)。

### 1.2.7 降雨量变化

分布地降雨量变化数据根据略阳县野外分布地全自动雷达水文监测系统(FT-SW4,山东风途物联网科技有限公司)与汉中市气象局数据获得。

### 1.2.8 种子萌发试验

种子萌发试验共设 3 个处理:(1)自然对照,野外直接收集的秦岭石蝴蝶果荚;(2)人工异花授粉后套袋处理的秦岭石蝴蝶植株的果荚;(3)人工自花授粉后套袋处理的秦岭石蝴蝶植株的果荚。果荚从野外带回干燥后,用小镊子抖落果荚中的种子,散在干净的白纸上。选取籽粒健硕饱满、色泽正常、大小均一的秦岭石蝴蝶种子,用 0.5% 次氯酸钠溶液震荡消毒 30 s 左右,用蒸馏水冲洗 3 次后再用滤纸将其表面水分吸干,放入铺有 2 层滤纸的培养皿,加入适当蒸馏水,于 25℃ 恒温培养箱中进行萌发试验。每个处理设置 3 个平行重复,每组 20 粒,每天统计种子萌发率。萌发率=(萌发种子数/种子总数)×100%。

## 2 结果与分析

### 2.1 开花物候期及单花开花特征

秦岭石蝴蝶的种群花期为 7 月初至 9 月底,花期长达 3 个月左右。始花期在 7 月初,盛花期为 7 月中旬至 8 月底,9 月至 9 月中下旬为末花期。据调查,秦岭石蝴蝶所在地略阳县总下雨天数 122 d,降雨 6 月—9 月最为明显,从 5 月开始降雨量逐渐升高,7 月份达到最高,为 179 mm,随后降低,其中 7 月至 9 月为分布地受秋季降雨的强干扰期,下雨 53 d,降雨量占全年降雨量的 52.60%(图 1),此阶段正是秦岭石蝴蝶开花高峰。强降雨等恶劣天气严重影响了秦岭石蝴蝶授粉和坐果。单花从花蕾展开至凋谢一般持续 12—15 d(n=20),同一植株上不同开花时间间隔 1—2 d,并且在一天中任何时间都可开放,花药开裂时间集中在 11:00 左右,受天气影响较大,晴天会提前,阴雨天气则相对延后。

秦岭石蝴蝶为典型的两侧对称花,花瓣呈淡紫色,合瓣花,植株呈莲座状,雌雄同株,各植株在花期内可陆续开放多达 9 朵花,花朵没有明显香气。如表 1 所示,单花花冠平均直径(13.48±1.31) mm,花冠筒较深(4.93±0.73) mm,不利于昆虫迅速地找到蜜源与花粉;花梗长(41.75±8.39) mm(n=20),与花苞外被白色短柔毛(图 2);幼花较小,为淡黄绿色,是吸引传粉者的主要部分;花萼 5 裂达基部,外面疏被短柔毛;上唇 2 裂近

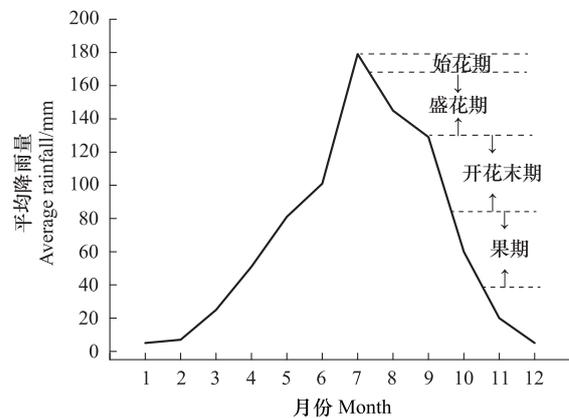


图 1 秦岭石蝴蝶分布地降雨量变化与花果期

Fig.1 Changes in rainfall and flowering and fruiting stages in the distribution of *P. qinlingensis*

基部,且其背部裂片向后反折,能够有效为传粉者提供降落平台;下唇3裂,内被短柔毛,雄蕊2枚,高( $2.97 \pm 0.49$ ) mm,花药近平行,无柔毛,纵列成熟时会产生大量的花粉(图2);雌蕊1枚,高( $7.92 \pm 1.12$ ) mm,花丝和花柱较长,花株基部密布白色绒毛,柱头位置始终高于雄蕊,不利于自花花粉落在柱头上,需要传粉者协助授粉。

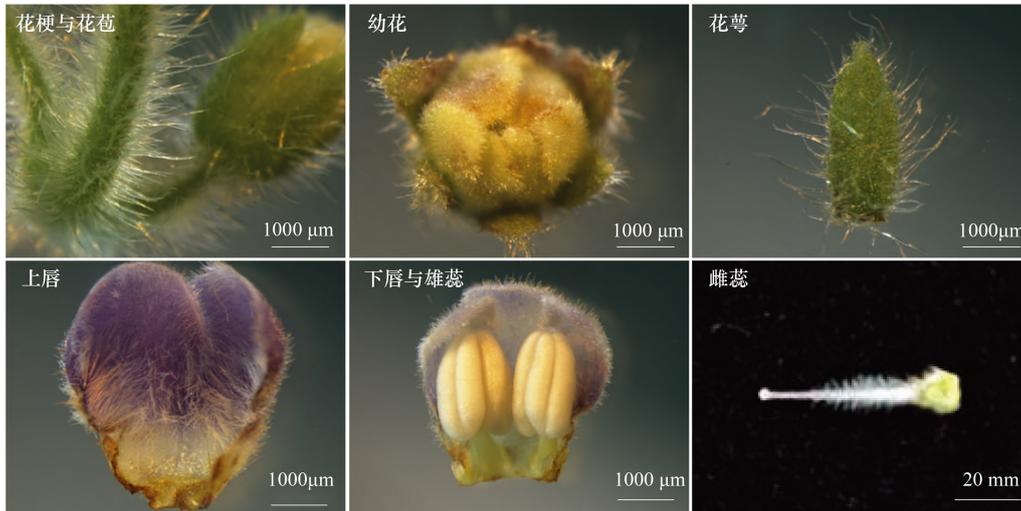


图2 秦岭石蝴蝶的花部特征

Fig.2 Flower characteristics of *P. qinlingensis*

表1 秦岭石蝴蝶的花部形态参数( $n=20$ )

Table 1 The flower morph parameters of *P. qinlingensis*

花部参数/mm Flower parameters	平均值 Average value (Mean±SE)			花部参数/mm Flower parameters	平均值 Average value (Mean±SE)		
	最小值 Minimum	最大值 Maximum	最小值 Minimum		最大值 Maximum		
萼片长度 Sepal length	3.67±0.47	3.09	4.58	花柱长度 Flower column length	5.43±0.90	3.26	6.65
萼片宽度 Sepal width	1.42±0.17	1.09	1.67	雌蕊长度 Pistils length	7.92±1.12	4.68	9.52
花筒深度 Flower tube depth	4.93±0.73	2.45	5.72	雄蕊高度 Stamens height	2.97±0.49	2.25	4.07
花冠直径 Corolla diameter	13.48±1.31	10.45	15.53	下唇长度 Lower lip length	4.74±0.60	3.81	6.03
花筒口直径 Diameter of the flower tube	5.46±0.82	4.16	7.02	下唇宽度 Lower lip width	3.83±0.72	2.06	5.02
上唇长度 Upper lip length	4.26±0.56	3.23	5.45	子房长度 Ovary length	1.99±0.53	1.02	2.84
上唇宽度 Upper lip width	5.48±0.55	4.18	6.78	子房宽度 Ovary width	1.92±0.45	1.27	2.63
花药长度 Anthers length	1.74±0.19	1.47	2.2	花梗长度 Pedicel length	41.75±8.39	32.09	64.84
柱头直径 Stigma diameter	0.38±0.10	0.11	0.52	叶片长度 Blade length	28.69±10.06	14.46	49.14
柱头高度 Capitals height	0.31±0.12	0.15	0.58	叶片宽度 Blade width	25.34±8.63	13.32	42.31

## 2.2 花粉活力和柱头可授性检测

柱头在花药未开裂前就具有可授性,并且逐渐增强,其染色情况先由浅紫色至深紫色不断加深直到开花后期几乎没有颜色变化,在开花后第1天柱头染色呈浅紫色,可授性较弱,在开花后第4—6天内柱头染色呈深紫色,可授性最强,第7天可授性开始减弱,第9天后柱头自身颜色开始变黑或者褐色,逐渐失去粘性和张力,少部分具有可授性(表2)。随开花天数的增加花粉活力与柱头可授性变化趋势一样,表现为先升高后降低的变化趋势,在开花第1天,花药还未开裂,即具有较高的花粉活性,为56.02%,随着花药开裂,在开花第3天和第4天花粉活力分别达到74.91%和82.86%,在开花第5天,花粉活力达到峰值93.15%,在开花第6天开始下降,至第9天时花粉活力急剧下降至18.05%,此后几乎没有活力(表2)。以上结果表明,花粉可授性和柱头活力虽有重叠期,但重叠期较短,仅为1—2 d,不利于花期完成授粉。

表 2 秦岭石蝴蝶花粉活力及柱头可授性

Table 2 Pollen viability and stigma teachability of *P. qinlingensis*

开花后时间 Flowering Time/d	柱头颜色 Stigma color	柱头可授性 Stigma receptivity	花粉活性 Pollen activity/%	开花后时间 Flowering Time/d	柱头颜色 Stigma color	柱头可授性 Stigma receptivity	花粉活性 Pollen activity/%
开花 1 天 Flowering 1 d	浅紫色	+	56.02	开花 6 天 Flowering 6 d	深紫色	+++	60.36
开花 2 天 Flowering 2 d	紫色	++	66.83	开花 7 天 Flowering 7 d	紫色	++	44.23
开花 3 天 Flowering 3 d	紫色	++	74.91	开花 8 天 Flowering 8 d	紫色	++	31.12
开花 4 天 Flowering 4 d	深紫色	+++	82.86	开花 9 天 Flowering 9 d	浅紫色	+/-	18.05
开花 5 天 Flowering 5 d	深紫色	+++	93.15				

+ 示柱头具可授性, ++ 示柱头具较强可授性, +++ 示柱头具最强可授性, +/- 示部分柱头具可授性

### 2.3 花粉胚珠比(P/O)及杂交指数(OCI)

秦岭石蝴蝶单花花粉粒数为 6183.32—9882.18 粒, 平均 7745.34 粒, 单花胚珠数为 87—118 枚, 平均 99 枚, 花粉胚珠比为 71.07—86.33, 平均 77.92, 介于 31.9—396.0 之间, 据 Cruden 划分的花粉胚珠比标准, 说明其交配方式是以自交为主、异交为辅, 属兼性自交的繁育系统(表 3)。秦岭石蝴蝶的平均花冠直径约为 13.48 mm, >6 mm, 赋值为 3; 雌蕊先熟, 柱头在花药未开裂前就具可授性, 赋值为 0; 柱头始终高于花药, 在空间上存在隔离, 不能接触, 赋值为 1; 其 OCI 值为 4; 根据 Dafni 的标准, 其繁育系统为部分自交亲和, 异交, 需要传粉者。

表 3 花粉胚珠比值

Table 3 Pollen-ovule ratio

花朵序号 Sequence number	单花花粉粒数 Pollen number per flower	单花胚珠数 Ovule number per flower	花粉-胚珠比 Pollen ovule ration
1	9882.18	118	83.75
2	7240.86	94	77.03
3	8257.92	99	83.41
4	6183.32	87	71.07
5	7337	91	80.63
6	7640.6	98	77.97
7	9755.68	113	86.33
8	7615.3	106	71.84
9	6441.38	88	73.20
10	7099.18	96	73.95
平均 Average value	7745.34	99	77.92

### 2.4 传粉昆虫种类及访花行为

在秦岭石蝴蝶开花进程中, 观察到 4 种访花昆虫, 分别为稀刻淡脉隧蜂(*Lasioglossum albescens*)、刻点小食蚜蝇(*Paragus tibialis* Fallen)、棕腹长角蚜蝇(*Chrysotoxum baphrus* Walker) 和黑带食蚜蝇(*Episyrphus balteatus* De Geer)(图 3)。稀刻淡脉隧蜂访花时先用纤细的长足钩住秦岭石蝴蝶的上唇, 同时不停地扇动翅膀, 身体向花冠筒处移动, 将整个头胸部钻进花冠中, 前足抱握花药取食花粉的同时用后足快速收集花粉, 采粉毛位于转节、腿节、胫节、基跗节上, 偶尔用中足和后足包握花粉用前足刷头部的花粉送入口器中。3 种食蚜蝇类的访花行为非常类似, 食蚜蝇类访花时会先在花冠上圈形飞舞 1—3 s, 用中足与后肢支撑身体, 然后落在花冠上, 头部伸入花冠内用喙来舔食花蜜, 同时用 2 前足来回搓碰花粉, 偶尔见两前足搓头部, 将头部的花粉搓刷到口器, 靠体毛黏附异花授粉。稀刻淡脉隧蜂平均访花频率为(2.78±0.61)次/h, 显著高于( $P < 0.05$ )其他访花昆虫, 而刻点小食蚜蝇、棕腹长角蚜蝇和黑带食蚜蝇的平均访花频率依次为(0.51±0.30)次/h、(0.69±0.27)

次/h 和  $(0.47 \pm 0.24)$  次/h (图 4)。稀刻淡脉隧蜂在居群中访花的时间最高可以长达 30 min, 而其他访花昆虫访花的时间不超过 8 min。以上结果表明, 访花昆虫平均访花频率较低、每朵访花停留时间较短。



图 3 秦岭石蝴蝶的访花昆虫

Fig.3 Insect visitors of *P. qinlingensis*

秦岭石蝴蝶的访花昆虫在晴天活动时间分布在 8:00—17:00, 在上午 9:00 之前访花者很少, 随着气温升高, 在 11:00—13:00 时, 访花者的数量较多, 在 11:00 时最多, 是访花昆虫出现的高峰期, 随着时间推迟、气温降低, 访花昆虫开始减少, 直至 17:00 左右, 访花昆虫基本消失。在雨天访花活动主要分布在 9:00—15:00, 在 14:00 时最多 (图 5), 访花者数量很少, 仅为 12%, 是晴天访花者数量的 1/13, 表明阴雨天严重影响昆虫访花行为。

## 2.5 繁育系统

套袋实验结果表明, 结实率最高的是自然状态下 (对照), 达到 80%, 部分存在胚珠败育情况; 去雄套袋不授粉的结实率为 0, 表明秦岭石蝴蝶不存在无融合生殖; 不去雄、开花前直接套袋处理条件下结实率为 35%, 其次是在去雄不套袋的处理下结实率仅为 25%, 说明秦岭石蝴蝶不仅需要传粉者, 还受传粉者限制; 人工进行的同株异花和异株异花处理条件下结实率分别为 75% 和 60%, 说明秦岭石蝴蝶同花序、异花序均能相互授粉。上述结果进一步验证了, 秦岭石蝴蝶的繁育系统是自交与异交并存的混合交配系统, 不存在无融合生

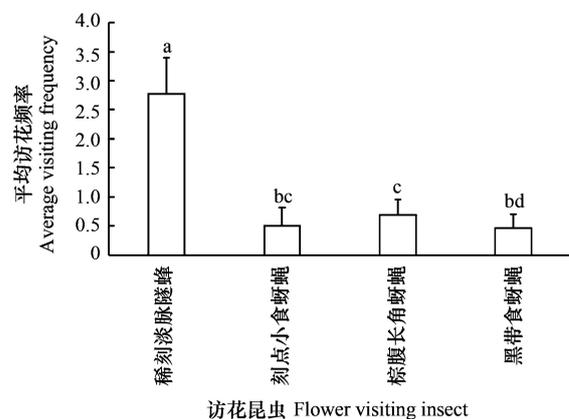


图 4 不同访花昆虫的平均访花频率

Fig.4 Average flowering frequency of different flower visiting insects

殖现象,传粉者在传粉过程发挥极其重要作用。

## 2.6 种子萌发试验

种子萌发实验结果表明,野外直接收集的秦岭石蝴蝶种子萌发率仅为 23.33%,人工异花授粉的秦岭石蝴蝶种子萌发率为 46.67%,比对照组明显高出 23.34% ( $P < 0.05$ );人工自花授粉秦岭石蝴蝶种子萌发率为 38.33%,也明显高出对照组(图 6)。上述结果表明,秦岭石蝴蝶种子自然状态下萌发率较低。

## 3 讨论

### 3.1 开花物候与植物传粉生殖的关系

植物的开花物候不仅是理解植物传粉、繁育系统和生殖成功的基础,也是繁殖生物学的重要研究领域之一<sup>[29]</sup>。秦岭石蝴蝶花期为 7 月初开始到 9 月底结束,其中 7 月中旬到 8 月底为秦岭石蝴蝶的开花高峰期,在该段时间内,秦岭石蝴蝶的花期大多处于汉中市的多雨季节,在开花进程中容易遭遇强降雨等恶劣天气的影响,导致花瓣和雄蕊直接脱落,花粉被雨水冲刷脱落、花蜜分泌以及昆虫活动减少、花药发生水溶性腐败等不良影响,从而导致秦岭石蝴蝶授粉难以成功,这可能是秦岭石蝴蝶濒危的原因之一。欧阳丽婷等<sup>[30]</sup>对濒危植物野生欧洲李(*Prunus domestica*)以及焦培培等<sup>[31]</sup>对濒危植物矮沙冬青(*Ammopiptanthus nanus*)开花物候特性的调查,也发现它们的授粉均受到恶劣的自然环境影响。尽管秦岭石蝴蝶单花花期较短(12—15 d),但秦岭石蝴蝶开花不同步性,且群体花期较长(约 3 个月),这使得秦岭石蝴蝶植株在较长时间内尽可能完成传粉受精过程,这也可能是秦岭石蝴蝶生境选择压力下所形成一种适应行为。

### 3.2 花部特征对传粉者的影响

植物的花部综合特征与传粉者行为、传粉机制以及植物适合度密切相关<sup>[32]</sup>。传粉者对植物生殖结构的选择作用最主要体现在其花部构成方面,这种选择作用的强度和速度对于一些拥有专性传粉者植物的花部结构而言更加明显<sup>[33—34]</sup>。从秦岭石蝴蝶的花部特征来看,花冠虽然相对较小,但其花瓣颜色艳丽,吸引传粉者降落到花上。上唇 2 裂近基部并且其背部裂片向后反折,正是这种反折结构为传粉者提供了很好的降落平台。刘开全等对重庆特有濒危植物缙云黄芩(*Scutellaria tsinyunensis*)的研究中也发现其存在这种特殊结构,使昆虫可以落下并深入到花中<sup>[35]</sup>。花药纵裂,花冠筒内壁及花柱上的长柔毛都会附着大量的花粉,当传粉者访花时,亦可转移到传粉者身上,起到次级花粉呈现的作用,从而提高了雄蕊适合度;花柱从花冠筒内侧伸出,表现为柱头探出式的雌雄异位来增大传粉者与柱头的接触机率,来避免自交促进异交,这在木兰科植物,华木莲(*Manglietia decidua*)和红花山玉兰(*Magnolia delavayi*)中也存在雌雄异位等时空隔离现象<sup>[36—37]</sup>。秦岭石蝴蝶开花时间较长,花粉活力和柱头可授性保持时间长,长的花寿命被认为是有花植物适应极端环境的繁殖保障机制之一<sup>[38—39]</sup>,花冠脱落花萼永久宿存并能保持一定时间的新鲜状态,从而增加整个植株的花展示面积来更有效地吸引传粉者。以上表明在极端环境下秦岭石蝴蝶具有吸引和适应与传粉者相互作用的花部特征,

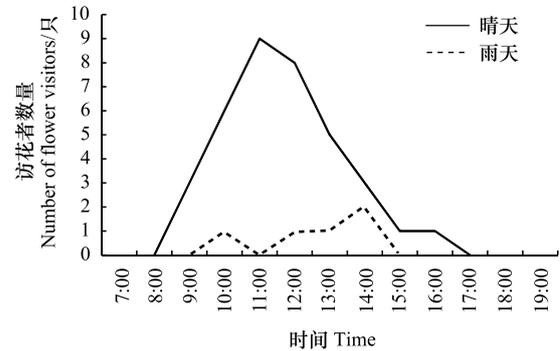


图 5 不同天气情况下访花者的日活动总数量

Fig.5 The total Number of daily activities of flower visitors under different weather conditions

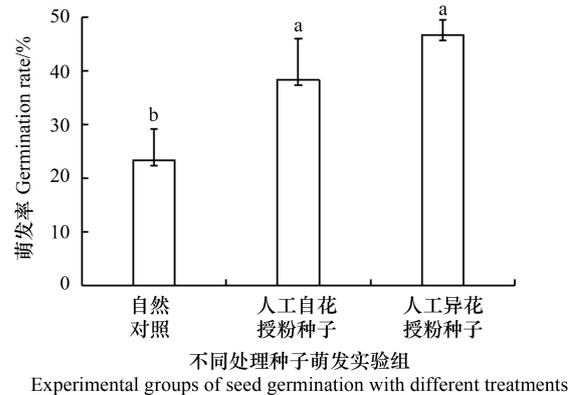


图 6 不同处理秦岭石蝴蝶种子萌发率

Fig.6 Seed germination rate of *P. qinlingensis* under different treatments

从而来提高授粉的效率。

传粉昆虫的限制是影响植物生殖成功的重要原因之一,同时也是探究该物种的濒危机制的重要前提<sup>[40]</sup>。本研究调查发现秦岭石蝴蝶的访花昆虫种类相对较少,其中稀刻淡脉隧蜂平均访花频率最高,为(2.78±0.61)次/h,由于蝇类自身的生理结构(口器较短、身体上缺少大量体毛等便于携带花粉的结构)和行为习性(飞行距离短、花序上只访问1朵花且喜欢来回飞)导致其传粉效率低。访花昆虫的活动受天气条件的影响明显,晴天数目较多,访花频率相对高,阴天时访花者很少,就很难保证每朵花都授粉成功,导致部分胚珠败育从而影响生长繁育和结实。由此结果显示,秦岭石蝴蝶的传粉媒介问题是造成传粉系统不完善和导致濒危的重要原因,这与南京郊区小菊(*Chrysanthemum morifolium*)、枝毛野牡丹(*Melastoma dendrisetosum*)观察到的现象一致<sup>[41-42]</sup>。

### 3.3 秦岭石蝴蝶的繁育系统

传粉系统与繁育特性相辅相成,繁育系统的研究不仅对居群进化提供理论基础,而且作为居群有性生殖的纽带在决定植物表征变异方面也成为对传粉生物学研究的关键部分<sup>[43]</sup>。经 P/O 比、OCI 和不同条件下授粉实验表明,秦岭石蝴蝶的繁育系统为自交和异交综合特征并存,倾向于自交的混合交配型系统,不存在无融合生殖现象,传粉过程需要传粉者参与。在自然界中,绝对自交或杂交的植物类群很少,同一物种间的长期近交(自交)不利于系统进化<sup>[44]</sup>。由于秦岭石蝴蝶较为特殊的生境要求,其交配系统就有向自交方向变化的趋势。一方面,兼备自花传粉的濒危植物个体在传粉者稀少或数量较少时,较专性异交的个体相比,有一定的选择优势<sup>[45]</sup>,另一方面,秦岭石蝴蝶的花药与柱头在空间上分离,柱头始终高于花药,不利于自花授粉,从而加重其濒危现象,这种现象在濒危红树植物红榄李(*Lumnitzera littorea*)<sup>[10]</sup>中也有研究报道。对于自交亲和的克隆植物来说,克隆分株间的授粉即同(基)株异花授粉往往经历更严重的自交衰退<sup>[46]</sup>。秦岭石蝴蝶在野外自然状态下分布区域狭小,生境特殊,同株异花授粉较为困难,花粉传递限制和资源限制是较明显的,其主要通过根状茎上的侧芽克隆繁殖,居群成簇生长<sup>[47]</sup>。秦岭石蝴蝶野外居群通过其它的生殖方式补偿,来保证其物种繁衍的顺利进行,这也与刘芬等对濒危植物扇脉杓兰(*Cypripedium japonicum*)以及陈雄伟等对紫背天葵(*Begonia fimbriatipula*)的研究结果相一致<sup>[48-49]</sup>。

### 3.4 秦岭石蝴蝶致危因素探讨

秦岭石蝴蝶的濒危机制是多方面导致的,杨平等<sup>[22]</sup>从秦岭石蝴蝶的生态学特征角度分析了其群落特征和结构,认为地质运动造成的地理分布狭窄是导致濒危的重要原因之一。孙旺等<sup>[23]</sup>通过 SCoT 分子标记技术分析了 3 处秦岭石蝴蝶的遗传多样性,结果表明秦岭石蝴蝶种群间的遗传多样性低,遗传背景狭窄,可能是导致其濒危的另一个重要原因之一。调查发现,秦岭石蝴蝶根系不发达,多生于阴湿的石灰岩崖壁上,对生境要求极为苛刻,环境变化适应能力差,这也是限制其野外分布的重要原因。此外,从传粉生物学与繁育系统角度来看,该物种的花期处于多雨季节,传粉易受天气影响,在其繁育进程中访花昆虫种类相对较少,访花频率较低,昆虫传粉行为受阴雨天和低温影响,导致传粉效率大幅下降,彭东辉等<sup>[42]</sup>也指出种植地区遇到阴雨天气温度较低时,传粉昆虫就会减少访花行为,从而降低授粉率,导致传粉失败。传粉昆虫在转运花粉时,大风、下雨天气及访花者自身行为也会造成大量花粉损失<sup>[50-51]</sup>。秦岭石蝴蝶种群规模密度低、碎片化,更倾向于同型选择交配,可能出现传粉者竞争,就很难保证每朵花授粉成功,而花药与柱头在空间上分离,柱头始终高于花药,不利于自花授粉,从而加重其濒危现象。自然条件下秦岭石蝴蝶种子存在不育现象,且萌发率低仅为 23.33%,野外调查未见实生苗,由此可见,自然条件下种子萌发率低是导致秦岭石蝴蝶濒危的原因之一。

### 参考文献 (References):

- [1] Volis S. How to conserve threatened Chinese plant species with extremely small populations?. *Plant Diversity*, 2016, 38(1): 45-52.
- [2] Domphe D. Biology and conservation of the endangered Ghanaian endemic tree *Talbotiella gentii*. University of Aberdeen (United Kingdom), 2008.
- [3] 宋玉霞, 郭生虎, 牛东玲, 郑国琦, 马洪爱. 濒危植物肉苁蓉 (*Cistanche deserticola*) 繁育系统研究. *植物研究*, 2008, 28(3): 278-282, 287.

- [ 4 ] 孙燕. 珍稀保护植物光叶木兰生殖生物学研究[D]. 雅安; 四川农业大学, 2015.
- [ 5 ] Sun B L, Zhang C Q, Lowry P P II, Wen J. Cryptic dioecy in *Nyssa Yunnanensis* (Nyssaceae), A critically endangered species from tropical eastern Asia I. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 2009, 96(4): 672-684.
- [ 6 ] Sawyer N W. Reproductive ecology of *Trillium recurvatum* (Trilliaceae) in Wisconsin. *The American Midland Naturalist*, 2010, 163(1): 146-160.
- [ 7 ] Kevan P G, Ambrose J D, Kemp J R. Pollination in an understory vine, *Smilax rotundifolia*, a threatened plant of the Carolinian forests in Canada. *Canadian Journal of Botany*, 1991, 69(11): 2555-2559.
- [ 8 ] Herrera J. The reproductive biology of a riparian Mediterranean shrub, *Nerium oleander* L. (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 1991, 106(2): 147-172.
- [ 9 ] 樊汝汶, 叶建国, 尹增芳, 高捍东, 尤录祥. 鹅掌楸种子和胚胎发育的研究. *植物学报*, 1992, 34(6): 437-442.
- [ 10 ] 张颖, 李燕华, 张晓楠, 杨勇. 濒危红树植物红榄李开花生物学特征及繁育系统. *应用与环境生物学报*, 2017, 23(1): 77-81.
- [ 11 ] Wyatt R. Pollinator-plant interactions in the evolution of breeding systems. *Pollination Ecology*, 1983: 51-95.
- [ 12 ] 何亚平, 刘建全. 植物繁育系统研究的最新进展和评述. *植物生态学报*, 2003, 27(2): 151-163.
- [ 13 ] 万海霞, 邓洪平, 何平, 蒋庆庆, 刘钦. 濒危植物丰都车前的繁育系统与传粉生物学研究. *生态学报*, 2018, 38(11): 4018-4026.
- [ 14 ] Dieringer G, Enrique Espinosa J E. Reproductive ecology of *Magnolia schiedeana* (Magnoliaceae), a threatened cloud forest tree species in Veracruz, Mexico. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 1994, 121(2): 154-159.
- [ 15 ] Allain L K, Zavada M S, Matthews D G. The reproductive biology of *Magnolia grandiflora*. *Rhodora*, 1999, 101(906): 143-162.
- [ 16 ] 赖家业, 石海明, 潘春柳, 陈尚文, 叶燕钻, 李明, 陈放. 珍稀濒危植物蒜头果传粉生物学研究. *北京林业大学学报*, 2008, 30(2): 59-64.
- [ 17 ] 台昌锐, 赵凯, 阳艳芳, 吴彦, 翟伟, 童跃伟. 珍稀濒危植物细果秤锤树开花生物学特性和繁育系统. *植物研究*, 2023, 43(2): 311-320.
- [ 18 ] 王文采. 中国苦苣苔科的研究(二). *植物研究*, 1981, 1(4): 35-75.
- [ 19 ] 汪松, 解焱. 中国物种红色名录. 第一卷, 红色名录: [中英文本]. 北京: 高等教育出版社, 2004: 405.
- [ 20 ] 杨文光, 储嘉琳, 张耀广, 李家美. 中国苦苣苔科植物濒危状况评估分析. *河南农业大学学报*, 2014, 48(6): 746-751, 756.
- [ 21 ] 吴金山. 珍稀濒危植物——秦岭石蝴蝶. *植物杂志*, 1991, (3): 6.
- [ 22 ] 杨平, 陆婷, 邱志敬, 陈朋, 彭杨, 谭小龙. 濒危植物秦岭石蝴蝶的生态学特性及濒危原因分析. *植物资源与环境学报*, 2016, 25(3): 90-95.
- [ 23 ] 孙旺, 蒋景龙, 胡选萍, 李耘, 王琦, 陶小斌, 胡凤成. 濒危植物秦岭石蝴蝶的 SCoT 遗传多样性分析. *西北植物学报*, 2020, 40(3): 425-431.
- [ 24 ] Dafni A, Maués M M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual Plant Reproduction*, 1998, 11(3): 177-180.
- [ 25 ] Rodriguez-Riano T, Dafni A. A new procedure to assess pollen viability. *Sexual Plant Reproduction*, 2000, 12(4): 241-244.
- [ 26 ] 李永泉, 张奠湘. 山地五月茶的蝇类传粉研究. *植物分类学报*, 2007, 45(2): 217-226.
- [ 27 ] Cruden R W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 1977, 31(1): 32-46.
- [ 28 ] Dafni A. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford [England]: IRL Press at Oxford University Press, 1992.
- [ 29 ] 康晓珊, 潘伯荣, 段士民, 索菲亚, 张永智, 师玮, 古丽努尔·沙比尔哈孜. 沙拐枣属 4 种植物同地栽培开花物候与生殖特性比较. *中国沙漠*, 2012, 32(5): 1315-1327.
- [ 30 ] 欧阳丽婷, 颀刚刚, 谢军, 耿文娟. 濒危植物野生欧洲李(*Prunus domestica* L.) 花部特征与繁育系统研究. *东北农业科学*, 2022, 47(6): 125-129.
- [ 31 ] 焦培培, 李志军. 濒危植物矮沙冬青开花物候研究. *西北植物学报*, 2007, 27(8): 1683-1689.
- [ 32 ] 张大勇. *植物生活史进化与繁殖生态学*. 北京: 科学出版社, 2004.
- [ 33 ] Nilsson L A. The evolution of flowers with deep Corolla tubes. *Nature*, 1988, 334(6178): 147-149.
- [ 34 ] Galen C. Rates of floral evolution: adaptation to bumblebee pollination in an alpine wildflower, *Polemonium viscosum*. *Evolution*, 1996, 50(1): 120-125.
- [ 35 ] 刘开全, 邓洪平. 重庆特有濒危植物缙云黄芩的繁育系统研究. *植物研究*, 2011, 31(4): 403-407, 442.
- [ 36 ] 付潘文. 珍稀濒危植物华木莲自交和异交生物学研究[D]. 南昌: 江西农业大学, 2019.
- [ 37 ] 龚洵, 武全安, 鲁元学, 张彦萍. 栽培红花山玉兰的传粉生物学. *云南植物研究*, 1998, 20(1): 89-93.
- [ 38 ] Zhang Z Q, Li Q J. Review of evolutionary ecology of floral longevity. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 2009, 33(3): 598-606.
- [ 39 ] Vesprini J L, Pacini E. Temperature-dependent floral longevity in two *Helleborus* species. *Plant Systematics and Evolution*, 2005, 252(1): 63-70.
- [ 40 ] Hong, D Y, Ge S, Zhang D M., Wang X Q, Chen S Z. Principles and approaches to studying the mechanisms of plant rarity and endangerment. In Qian Y Q & Zhen R D (eds). *Advances in studies on biodiversity*, Beijing: Science and Technology Press of China, 1995: 125-133.
- [ 41 ] 王伟, 刘勇, 陈发棣, 戴华国. 南京郊区小菊访花昆虫的行为与活动规律. *生态学杂志*, 2008, 27(7): 1167-1172.
- [ 42 ] 彭东辉, 兰思仁, 吴沙沙. 中国特有种枝毛野牡丹传粉生物学及繁育系统研究. *林业科学研究*, 2014, 27(1): 11-16.
- [ 43 ] 邵金凤. 红花传粉生物学研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2012.
- [ 44 ] 张金菊, 叶其刚, 姚小洪, 张胜菊, 黄宏文. 片断化生境中濒危植物黄梅秤锤树的开花生物学、繁育系统与生殖成功的因素. *植物生态学报*, 2008, 32(4): 743-750.
- [ 45 ] 王玉兵, 梁宏伟, 莫耐波, 覃康平, 汤庚国. 珍稀濒危植物瑶山苣荬菜开花生物学及繁育系统研究. *西北植物学报*, 2011, 31(5): 958-965.
- [ 46 ] Eckert C G, Barrett S C H. Inbreeding depression in partially self-fertilizing *Decodon verticillatus* (Lythraceae): population-genetic and experimental analyses. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 1994, 48(4): 952-964.
- [ 47 ] 蒋景龙, 孙旺, 胡选萍, 李耘, 胡凤成, 王勇, 王琦. 珍稀濒危植物秦岭石蝴蝶的繁育研究现状. *分子植物育种*, 2019, 17(9): 3024-3029.
- [ 48 ] 刘芬, 李全健, 王彩霞, 连静静, 田敏. 濒危植物扇脉杓兰的花部特征与繁育系统. *林业科学*, 2013, 49(1): 53-60.
- [ 49 ] 陈雄伟, 邵玲, 梁广坚, 梁霞. 紫背天葵花部特征与繁育系统的研究. *园艺学报*, 2013, 40(2): 363-372.
- [ 50 ] Thomson J D, Wilson P, Valenzuela M, Malzone M. Pollen Presentation And Pollination Syndromes, With Special Reference To *Penstemon*. *Plant Species Biology*, 2000, 15(1): 11-29.
- [ 51 ] 陆婷, 罗淑萍, 李疆, 唐开文, 玉苏甫·阿不力提甫. 扁桃开花及传粉生物学特性研究. *新疆农业科学*, 2013, 50(3): 447-452.