

DOI:10.11913/PSJ.2095-0837.2017.10001

邓惠, 向甘驹, 郭友好, 杨春锋. 秦岭忍冬属 4 种植物的繁育系统及花色变化的研究[J]. 植物科学学报, 2017, 35(1): 1-12

Deng H, Xiang GJ, Guo YH, Yang CF. Study on the breeding system and floral color change of four *Lonicera* species in the Qinling mountains[J]. *Plant Science Journal*, 2017, 35(1): 1-12

秦岭忍冬属 4 种植物的繁育系统及花色变化的研究

邓惠¹, 向甘驹¹, 郭友好^{1*}, 杨春锋^{2*}

(1. 武汉大学生命科学学院, 武汉 430072; 2. 中国科学院武汉植物园, 水生植物和流域生态学重点实验室, 武汉 430074)

摘要: 以分布于秦岭的金花忍冬 (*Lonicera chrysantha* Turcz.)、忍冬 (*L. japonica* Thunb.)、葱皮忍冬 (*L. ferdinandii* Franch.) 和金银忍冬 (*L. maackii* (Rupr.) Maxim.) 为对象, 通过定位观察、人工授粉实验、人为设置实验斑块的方法对忍冬属 4 种植物的开花生物学特性、繁育系统、花色变化现象、传粉过程进行了研究。结果表明, 4 种植物的单花花期、花部特征存在差异。人工授粉实验显示, 4 种植物均存在一定的花粉限制, 自交不亲和。除葱皮忍冬外, 其余 3 种植物随着花色由白变黄, 花粉和花蜜报酬减少、雌雄生殖能力逐渐降低; 葱皮忍冬花变色后花蜜量变化不显著, 且仍保留较强的雌性生殖能力。变色花的保留被认为是植物的一种生殖策略, 通过增大植物的花展示来扩大自身的吸引力, 以吸引更多远距传粉者访花。人为控制白、黄花不同数量比的实验结果表明, 大多数传粉者偏向访问白花(变色前的花), 且白花提供的报酬量和黄花(变色后的花)数量显著影响传粉者的访花频率, 即当花蜜量减少或黄花数量增多时, 传粉者访花频率随之降低。因此, 我们认为忍冬属 4 种植物的花色变化可能除了增大植物对远距传粉者的吸引力外, 对近距传粉者的访花行为也可能具有一定的影响。当传粉者接近植株时, 变色后的花可能暗示其花蜜(花粉)报酬已经发生变化, 并驱使昆虫离开并飞向同株或异株植物新开放的报酬丰富的白花, 这既有利于提高传粉者的觅食效率, 又能降低植物同株异花授粉的几率, 对忍冬属植物及传粉者都具有重要意义, 是植物长期与授粉昆虫相互适应的反映。

关键词: 忍冬属; 繁育系统; 花色变化; 花蜜(花粉)报酬; 同株异花授粉

中图分类号: Q949.781.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2017)01-0001-12

Study on the breeding system and floral color change of four *Lonicera* species in the Qinling mountains

Deng Hui¹, Xiang Gan-Ju¹, Guo You-Hao^{1*}, Yang Chun-Feng^{2*}

(1. College of Life Science, Wuhan University, Wuhan 430072, China; 2. Key Laboratory of Aquatic Botany and Watershed Ecology, Wuhan Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430074, China)

Abstract: We examined the floral biology, mating system, flower color change, and pollination process of *Lonicera chrysantha* Turcz., *L. japonica* Thunb., *L. ferdinandii* Franch. and *L. maackii* (Rupr.) Maxim. from the Qinling mountains via field observation, artificial pollination experiments, and artificial experimental patches. Pollen limitations and some differences in single-flower flowering and floral traits were observed among the species, which were all self-incompatible plants. Except for *L. ferdinandii*, all species changed their corolla color with decreasing pollen/nectar rewards and lost both male and female reproductive abilities. The nectar reward in *L. ferdinandii* did not alter significantly, and it retained strong female reproductive function. The retention of post-color change flowers might be a

收稿日期: 2016-05-11, 退修日期: 2016-06-08。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31170214)。

This work was supported by a grant from the National Natural Science Foundation of China (31170214).

作者简介: 邓惠(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物系统与进化生物学(E-mail: 1183152908@qq.com)。

* 通讯作者(Author for correspondence. E-mail: cfyang@wbcas.cn, yhguo@whu.edu.cn)。

reproductive strategy of plants, in which an increase in floral display enhanced attractiveness to pollinators. The artificial control experiments showed that most pollinators preferred to visit the white flowers (pre-change flowers), and the amount of reward and number of yellow flowers (post-change flowers) significantly impacted pollinators' access frequency. That is, access frequency decreased with nectar reduction or increase in yellow flowers. These results indicate that flower color changes might increase plant attractiveness to distant pollinators, or have a certain influence on nearby pollinators. The post-change flowers might play a role in signaling to pollinators during their approach that the reward of nectar or pollen had changed, thus re-directing the insects to the sufficiently rewarded white flowers of homophyletic or heterologous plants. This could improve both the foraging efficiency of pollinators and reduce the chance of geitonogamy, which has important implications for the *Lonicera* species and their pollinators. These results show the reaction of plants and pollinators to long-term mutual adaptation.

Key words: *Lonicera*; Breeding system; Floral color change; Nectar and pollen rewards; Geitonogamy

繁育系统是指直接影响后代遗传组成的所有性特征, 主要包括花部综合特征、花部各性器官的寿命、花开放式样、传粉者种类和传粉行为以及自交亲和程度和交配系统^[1]。根据传粉综合征(Pollination syndromes)的观点, 传粉者种类可根据花部特征预测得知, 即在观察记录某种开花植物的传粉者类型前, 依据花的可见和可测量的特征来推测其可能存在的传粉者种类^[2-4]。花部形态上的变化如花色花冠颜色改变, 可能直接影响植物交配系统的各个组成部分, 如雌雄繁殖适合度、自花异花传粉程度及传粉者的访花行为等^[5]。花色变化, 是指植物在初花期或者盛花期时, 花发生颜色变化的现象, 而不是在末花期因花枯萎和老化使其颜色变暗或褪色的现象。植物中存在许多花会变色的现象, 被子植物中约有 33 目、78 科、253 属植物在开花时存在花色变化现象^[6], 花色改变可能伴随着花粉、花蜜报酬的减少以及雌雄繁育功能的丧失^[7]。关于被子植物存在变色花的现象, 有研究表明变色花的存在增大了花展示的尺寸, 增加了花对远距传粉者的吸引力, 从而使传粉者的访花次数增加^[7-9]; 也有研究认为, 花色变化是向近距传粉者暗示需转移到富含花蜜(花粉)报酬的花, 减少传粉者的徒劳访问, 提高传粉者觅食、访花效率以及降低植株内同株异花授粉的可能性^[10-12]。

忍冬属(*Lonicera* L.) 隶属于忍冬科(Caprifoliaceae), 为多年生直立或攀援状灌木, 属内多种为我国药用植物或观赏植物^[13,14]。该属植物花冠

多两侧对称, 稀辐射对称, 种间花冠颜色多样, 有白、黄、淡红、紫红等多种颜色。且属内有近 10 种植物具花色变化的现象。国内外对花色变化现象开展了较多研究, 如锦带花属(*Weigela* Thunb.)^[9,15]、绵毛木属(*Tibouchina* Aubl.)^[16]、肥皂草属(*Saponaria* L.)^[17]等。丰富的花色及花部形态变化使忍冬属成为植物繁育系统多样性研究的良好材料, 但目前人们对忍冬属植物的花色变化现象的生物学特性知之甚少。本研究对忍冬属 4 种植物的繁育系统、花色变化现象进行初步研究, 探讨花色变化前后的花蜜(花粉)报酬与繁殖能力的变化, 花色变化对传粉者行为的影响及生物学适应性意义, 以期为该属植物的传粉生物学及其他研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

以分布于秦岭的忍冬属(*Lonicera*) 4 个物种为材料, 即忍冬(*L. japonica* Thunb.)、金花忍冬(*L. chrysantha* Turcz.)、葱皮忍冬(*L. ferdinandii* Franch.) 和金银忍冬(*L. maackii* (Rupr.) Maxim.)。这 4 种植物为缠绕藤本或直立灌木, 具双花花序生于叶腋, 花冠分上下唇瓣呈两侧对称, 花药 5 枚, 花期 4-7 月, 果熟期 7-10 月。广布于我国南北各地, 常生长于海拔 1000 ~ 2000 m 的山坡林下或灌丛中, 秦岭南北坡均有分布。野外实验于 2015 年 5-7 月在陕西省宝鸡市太白县境内的秦

岭北坡和安康市宁陕县的秦岭南坡进行。

1.2 研究方法

1.2.1 花部特征测量

于盛花期, 每种植物随机标记 30 朵即将开放的花蕾, 观察记录各开花花期、花色(变化前与变化后)、花色保持时间; 每种植物另随机选取 30 朵当天开放的花, 测量上下唇瓣长与宽、花管长、花柱长、花蜜量及糖浓度等花部特征。

1.2.2 花粉、胚珠数量和花粉/胚珠比

每种植物随机选取 30 朵即将开放花的 5 个花药(每朵花取 5 个花药)置于 EP 管中, 使用 SCIENT-48 高通量组织研磨器将花药磨碎释放出花粉, 加蒸馏水定容至 1 mL, 于漩涡混匀仪上震荡 30 s, 取 20 μ L 置于光学显微镜(10 \times 40 倍)下计数, 重复计数 6 次, 所得平均值乘以 50 即为该朵花的花粉数量。同时取相对应的子房置于 10% 的 NaOH 溶液中软化 5 ~ 10 min, 然后用蒸馏水漂洗、压片, 在 40 倍光学显微镜下统计胚珠数。计算花粉/胚珠比, 即 $P/O = \text{单花总花粉粒数量} / \text{单花胚珠数量}$ 。

1.2.3 繁育系统

为判定忍冬属 4 种植物的繁育系统, 分别对 4 种植物进行以下处理: (1) 人工去雄并授同株自花花粉(hand self-pollination)并套袋; (2) 人工去雄并授异株异花花粉(hand cross-pollination)并套袋; (3) 接受自然传粉(open pollination)。每个处理重复 30 次, 检测各处理的结实率。

1.2.4 花色变化的传粉研究

1.2.4.1 花蜜(花粉)报酬测定

每种植物分别随机收集 30 朵即将开放的花(变色前)和变色后花的花药于 75% 的酒精溶液固定, 于室内处理并计数花粉量; 随机标记套袋 30 朵花, 采用毛细管(内径 0.3 mm)持续收集开花 24、48、72 h 的花蜜, 测定花蜜量($V = \pi(0.3/2)^2 \times L$)。其中, π 为毛细管的圆周长, L 为毛细管的长度)。

1.2.4.2 雌雄生殖能力的测定

每种植物分别随机收集变色前刚开裂的花药和变色后花药的花粉, 采用离体培养法测定花粉萌发率。配制 4 个浓度的蔗糖溶液, 分别为 10%、15%、20%、25%, 用胶头滴管吸取少量溶液滴在载玻片上, 取花粉洒在溶液中, 于 25℃恒温培养

2 h 后于显微镜下镜检。每次取 6 个重复, 镜检时每个重复观察 5 个视野, 每个视野花粉粒在 100 粒以上。花粉萌发率 = (已萌发的花粉粒数 / 花粉总数) \times 100%。通过检测花粉萌发率, 确定最适的蔗糖浓度, 将花粉置于最适蔗糖浓度溶液中萌发。

采用授粉实验测定柱头可授性。随机选取即将开放的花苞, 去雄套袋, 将采集的有活力的花粉授于花变色前、后(各 30 朵)的柱头上后套袋, 检测授粉后的结实率, 即: 结实率 = (种子数 / 胚珠总数) \times 100%。

1.2.4.3 访花昆虫及其行为观察

在盛花期, 选择晴朗天气的 08:00–17:00 进行访花观察。每次观察随机选取植株上一个或几个枝条为一个样方, 记录该样方内的盛开花朵总数, 详细记录样方内传粉者的种类、访花行为、访花频率, 每 15 min 为一个观察时间段。

1.2.4.4 花色变化对传粉者的影响

为评估每种传粉者对花色的偏好, 将植株的花分为两种花色(以肉眼视角划分), 即白色(White: 花开至花冠开始泛黄的花色)和黄色(Yellow: 花冠泛黄至花冠彻底变黄的花色)。人为设置不同比例的实验斑块, 即 A 组: 单色花实验斑块, $W:Y$ (白花/黄花) = 1:0 (共 50 朵花), $W:Y = 0:1$ (共 50 朵花); B 组: 双色花实验斑块, $W:Y = 1:1$ (共 120 朵花), $W:Y = 1:2$ (共 120 朵花), $W:Y = 2:1$ (共 120 朵花); C 组: 花色渐变的单色花实验斑块(仅有即将开放的花苞 50 朵), 所有花基本同时开放并由开花初期的白色逐渐变为黄色直至凋谢。详细记录各实验组的传粉者种类、访花行为、首先访花的花色(W 或 Y)、总访花次数、白花访问次数、黄花访问次数, 每 15 min 为一个观察时间段。

1.3 数据分析

采用 SPSS 22.0 软件中 one-way ANOVA 比较物种间花部特征、蜜量等测量指标以及花粉/胚珠比的差异。各物种间的两两比较使用 Tukey's HSD 检验。对于单花花期、胚珠数、花粉数及访花频率等不符合正态分布的计数指标, 则采用 Generalized Linear Model(GLM)比较物种间的差异。

2 结果

2.1 花部特征

忍冬属 4 种植物的单花花期不一致, 具有显著差异 (GLM, Wald $\chi^2 = 853.458$, $P < 0.001$), 其中, 忍冬的单花花期最长, 金银忍冬的花期稍短, 金花忍冬和葱皮忍冬的单花期最短 (表 1)。从肉眼的视觉角度观察, 4 个物种间花色有一定差异 (图 1), 忍冬和金银忍冬花初期主要为白色, 而金花忍冬和葱皮忍冬花初期分别为乳白色和白绿色, 4 种花都存在花冠颜色变化的现象, 即由花初期的颜色变为黄色。为方便统计, 定义花朵开放至花冠开始泛黄的花为白花 (W), 花冠泛黄到颜色加深最后到凋谢的花为黄花 (Y)。统计数据表明, 4 种植物的白花持续时间明显短于黄花的持续时间。其中, 忍冬傍晚开花, 白花一般持续到第二天下午其花冠开始泛黄变色, 因而黄花是其整个单花期的主要花色; 金花忍冬和葱皮忍冬的白花仅维持在开花当天, 少数花在开花当天傍晚花瓣便已经开始泛黄变色; 金银忍冬的新开花多数持续到第二天下午才开始泛黄变色, 其颜色变化差异不如其他 3 种忍冬

显著。

4 种植物的花瓣大小 (长与宽)、花管长度具有显著差异 (ANOVA, $F_{3, 116} = 2018.774$, $P < 0.001$), 其中, 花瓣大小、花管长度最大的为忍冬; 葱皮忍冬次之; 而金花忍冬和金银忍冬相对较小, 且 4 种植物花柱长度的差异类似花管长度间的差异。不同物种间花蜜量和花蜜糖浓度均具显著差异 ($F_{3, 70} = 26.845$, $P < 0.001$), 其中, 金花忍冬的蜜量显著高于其他物种的蜜量; 忍冬次之; 金银忍冬的蜜量最少, 但其花蜜糖浓度却显著高于其他 3 种植物。

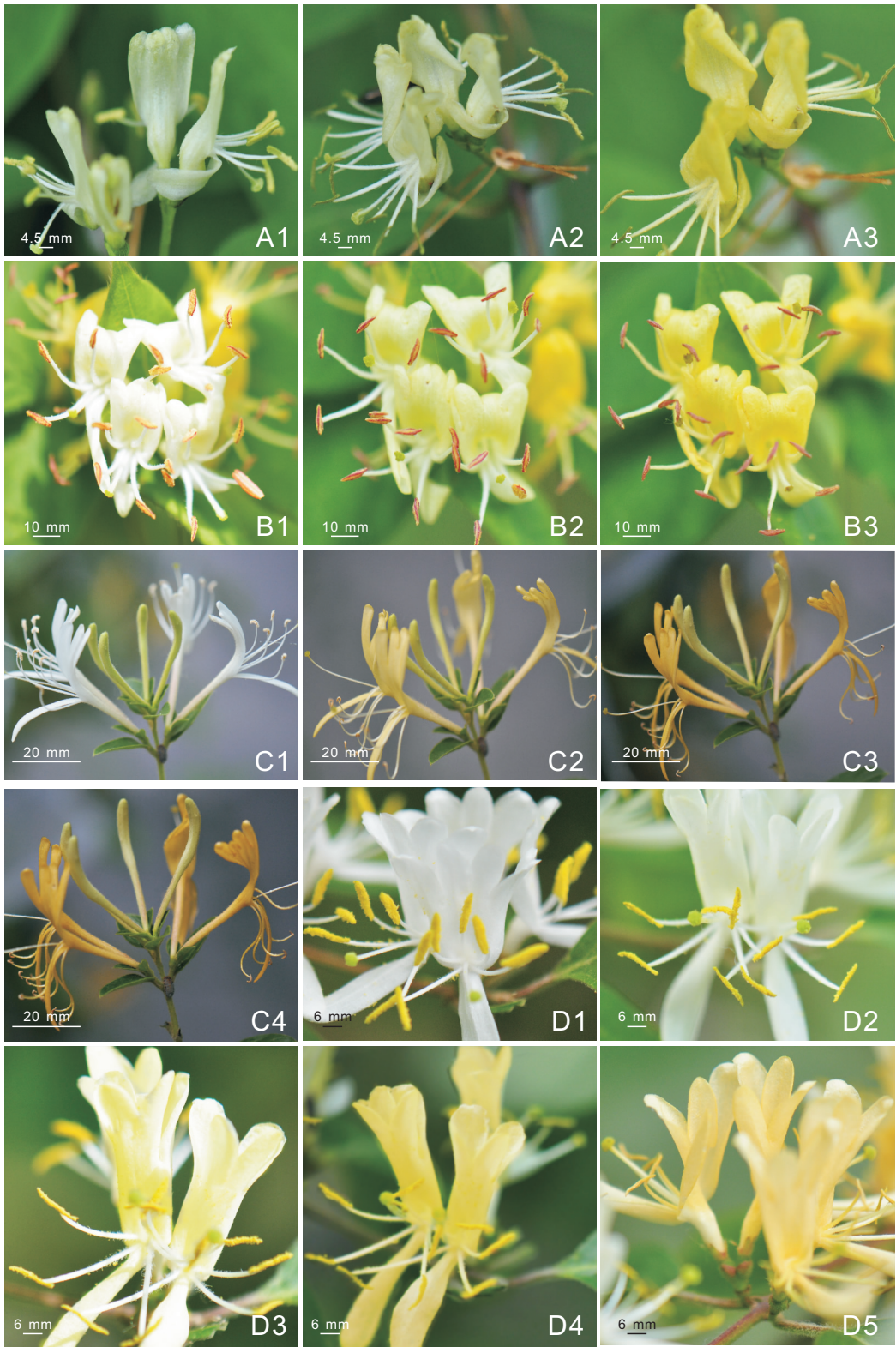
2.2 花粉量、胚珠数、花粉/胚珠比

从表 1 可看出, 忍冬属 4 个物种间的单花花粉产量具极显著差异 (GLM, Wald $\chi^2 = 43807.737$, $P < 0.001$)。其中, 葱皮忍冬花粉数最多, 金花忍冬、金银忍冬和忍冬花粉数最少; 单花胚珠产量各物种间差异不显著 (Wald $\chi^2 = 0.59$, $P = 0.898$), 且 12 枚胚珠是 4 种植物的常数。不同物种间的花粉/胚珠比 (P/O) 有极显著差异 (ANOVA, $F_{3, 114} = 51.522$, $P < 0.001$), 且 P/O 均为 1000 ~ 2000, 依据 Cruden (1977) 的标准, 4 种植物的繁育系统

表 1 忍冬属 4 种植物的单花花期与花部特征比较
Table 1 Comparison of single-flower flowering and floral traits among four *Lonicera* species

花部特征 Floral traits	忍冬 <i>L. japonica</i>	金花忍冬 <i>L. chrysantha</i>	葱皮忍冬 <i>L. ferdinandii</i>	金银忍冬 <i>L. maackii</i>
花冠颜色 Corolla color	White then yellow	White green then yellow	Creamy white then yellow	White then yellow
单花花期 Floral longevity (d)	6.68 ± 0.06a	2.43 ± 0.26b	3.09 ± 0.12c	5.12 ± 0.20d
花色时间 Color-longevity (h)				
白色 White	21.35 ± 0.36 (13.32%)	22.88 ± 1.75 (39.09%)	20.10 ± 1.59 (27.08%)	29.00 ± 1.69 (23.59%)
黄色 Yellow	138.93 ± 1.56 (86.68%)	35.48 ± 2.69 (60.91%)	54.13 ± 3.12 (72.92%)	93.93 ± 5.73 (76.41%)
花管长 Tube length (mm)	24.52 ± 0.40a	4.36 ± 0.06b	9.57 ± 0.18c	5.98 ± 0.10d
花瓣长 Petal length (mm)				
上唇瓣 Upper lip	20.23 ± 0.25a	9.57 ± 0.25b	9.64 ± 0.18b	15.30 ± .29c
下唇瓣 Down lip	21.66 ± 0.33a	9.73 ± 0.32b	10.99 ± 0.19b	5.13 ± 0.36c
花瓣宽 Petal width (mm)				
上唇瓣 Upper lip	9.21 ± 0.14a	5.45 ± 0.44b	8.24 ± 0.40c	19.70 ± 0.16d
下唇瓣 Down lip	2.79 ± 0.06a	3.05 ± 0.08b	4.13 ± .67c	3.70 ± 0.13d
花柱长 Style length (mm)	46.93 ± 0.92a	13.02 ± 0.20b	17.71 ± 0.36c	14.91 ± 0.22d
花蜜量 Nectar volume (μL)	4.03 ± 0.32a	5.27 ± 0.92a	2.66 ± 0.29ab	0.48 ± 0.06c
糖浓度 Sucrose (%)	10.71 ± 3.27a	20.07 ± 1.26b	29.86 ± 4.84c	33.17 ± 3.18d
花粉量 Pollen production	11675.00 ± 236.18a	18783.33 ± 329.26b	21158.22 ± 331.19c	12335.00 ± 324.26d
胚珠数 Ovule production	11.67 ± 0.20a	11.33 ± 0.31a	10.97 ± 0.25a	11.33 ± 0.26a
花粉/胚珠比 P/O	1011.69 ± 27.60a	1736.59 ± 91.98b	1966.99 ± 77.91b	1102.46 ± 36.23a

注: 表中数据为平均值 ± 标准差, 同行数据后不同小写字母表示具显著差异 ($P < 0.05$), 下同。括号中的百分数指白花或黄花的花色持续时间占单花总持续时间的比例。
Notes: All data in the table are average value ± SE, different letters in the same row indicate significant differences at the 0.05 level, same below. The percentage is the ratio of white or yellow color-longevity to floral longevity.



A1 ~ A3: 金花忍冬; B1 ~ B3: 葱皮忍冬; C1 ~ C4: 忍冬; D1 ~ D5: 金银忍冬。
A1-A3: *L. chrysantha*; B1-B3: *L. ferdinandii*; C1-C4: *L. japonica*; D1-D5: *L. maackii*.

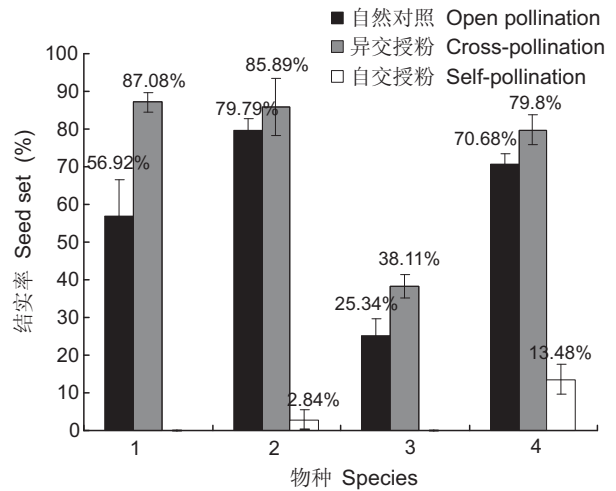
图 1 忍冬属 4 种植物的花色渐变过程

Fig. 1 Process of flower color change of the four *Lonicera* species

为兼性异交。

2.3 结实率

人工授粉实验结果表明，忍冬属各种植物异交授粉的结实率较高，均高于自然对照的结实率(图 2)，这可能存在一定花粉限制。其中，忍冬和葱皮忍冬的自交授粉结实率为 0，表明自交不亲和；金花忍冬和金银忍冬分别具 2.84%和 13.48%



1. 忍冬 (*L. japonica*)；2. 金花忍冬 (*L. chrysantha*)；3. 葱皮忍冬 (*L. ferdinandii*)；4. 金银忍冬 (*L. maackii*)。下同 (Same below)。

图 2 忍冬属 4 种植物的结实率比较
Fig. 2 Comparison of seed sets of the four *Lonicera* species

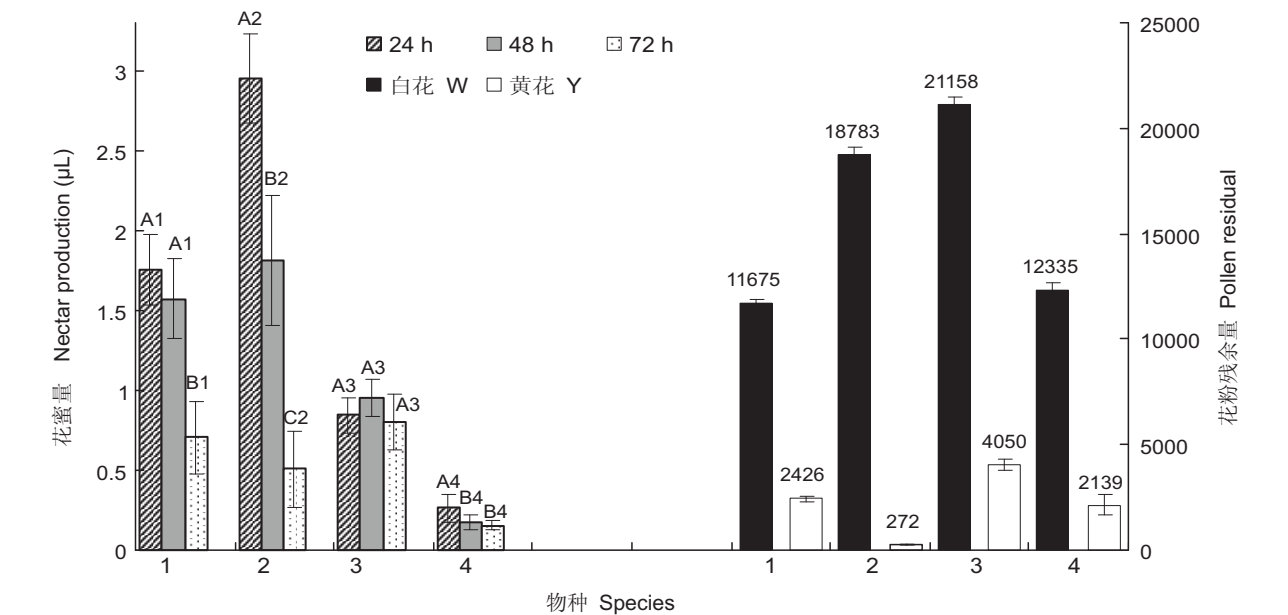
的自交结实率，存在部分自交亲和现象，但自交结实率较低，从而也判定为自交不亲和。表明这 4 种植物均属于异交亲和、自交不亲和植物。

2.4 花蜜(花粉)报酬变化

研究结果显示，不同物种的白花和黄花花蜜分泌量多数具有显著差异 (ANOVA，忍冬： $F_{2,57} = 5.770, P = 0.005$ ；金花忍冬： $F_{2,57} = 31.300, P < 0.001$ ；金银忍冬： $F_{2,57} = 11.482, P < 0.001$)。忍冬、金花忍冬和金银忍冬的花蜜分泌量在开花 24 h 时最高，之后随着时间的延长逐渐减少。葱皮忍冬在开花 24、48、72 h 时花蜜分泌量无显著差异 ($F_{2,48} = 0.291, P = 0.749$)。各物种花蜜分泌量及花粉量均呈现白花高于黄花的趋势 (图 3)。

2.5 雌、雄生殖功能变化

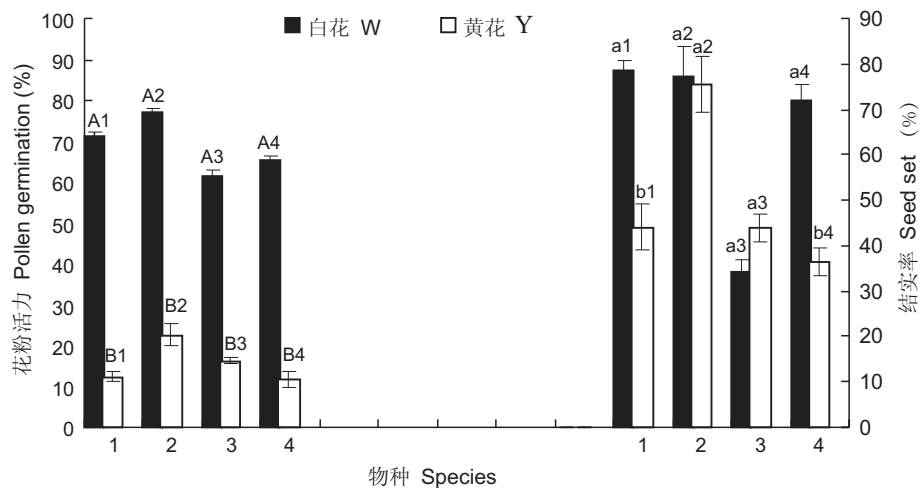
4 种植物白花期的花粉萌发率显著高于黄花期的花粉萌发率 ($P < 0.001$)，表明花粉活力随花色的变化而显著降低 (图 4)。从柱头可授性来看，金花忍冬和葱皮忍冬的白花及其人工套袋授粉的黄花间结实率无显著差异 (金花忍冬：Wald $\chi^2 = 0.188, P = 0.665$ ；葱皮忍冬：Wald $\chi^2 = 0.795, P = 0.384$)，说明这 2 个物种在花变色后柱头仍保持较强的可授性，而忍冬和金银忍冬白花的结实率显著高于黄花 (忍冬：Wald $\chi^2 = 22.287, P <$



不同字母 (如：A1、B1、C2) 表示具显著差异 ($P < 0.05$)。数字 (如：11675) 表示花粉粒数量。
Different letters A1, B1, and C2 indicate significant differences at the 0.05 level. Figures on the bars are pollen numbers.

图 3 忍冬属 4 种植物花变色前后的花蜜量、花粉量比较

Fig. 3 Comparison of nectar production and pollen residual pre-/post-color change of the four *Lonicera* species



图中不同字母(如：A1 与 B1，a1 与 b1)表示具显著差异($P < 0.05$)。下同。
Different letters A1 and B1, a1 and b1 indicate significant differences at the 0.05 level. Same below.

图 4 忍冬属 4 种植物花变色前后花粉活力、结实率比较

Fig. 4 Comparison of pollen germination and seed set pre-/post-color change of the four *Lonicera* species

0.001；金银忍冬：Wald $\chi^2 = 34.591$, $P < 0.001$ ），花变色后柱头可授性明显降低。

2.6 访花观察

访花观察结果显示(图 5)，忍冬的访花者有天蛾科(Sphingidae)昆虫、蜜蜂(*Apis mellifera* Linnaeus)、黑面条蜂(*Melea nigifrons* Cockerell)和隧蜂科(Halictidae)昆虫，少数食蚜蝇科(Syrphidae)昆虫也有访花行为，其中，天蛾科、隧蜂科昆虫主要以花蜜为报酬，蜜蜂以收集花粉为报酬，黑面条蜂以花粉和花蜜为报酬。由于忍冬具有傍晚开花的特性，因此访花者有夜间天蛾和白天天蛾两种。金花忍冬的访花者有蜜蜂、重黄熊蜂(*Bombus (Pyrobombus) flavus* Friese)、明亮熊蜂(*Bombus lucorum*)，偶有隧蜂科、天蛾科及食蚜蝇科昆虫访花，且蜂类昆虫和天蛾科昆虫均以花蜜为报酬，而食蚜蝇科昆虫主要收集花粉。葱皮忍冬的访花者主要为蜜蜂和隧蜂科昆虫，两者主要以花粉和花蜜为报酬，熊蜂属和食蚜蝇科昆虫偶有对其访花行为。金银忍冬的访花者主要是以花蜜和花粉为报酬的蜜蜂，隧蜂科、食蚜蝇科及熊蜂属昆虫有极少数访问。对忍冬属 4 种植物传粉者访花频率的测试结果显示(表 2)，不同物种的传粉者类型具有一定差异，同一类型传粉者对不同物种的访花频率具有显著差异(GLM, $P < 0.001$)，每种植物均观察到有隧蜂科昆虫和蜜蜂访花，其中，隧蜂科昆虫访花频率相对较低，蜜蜂对金花忍冬、葱皮忍冬

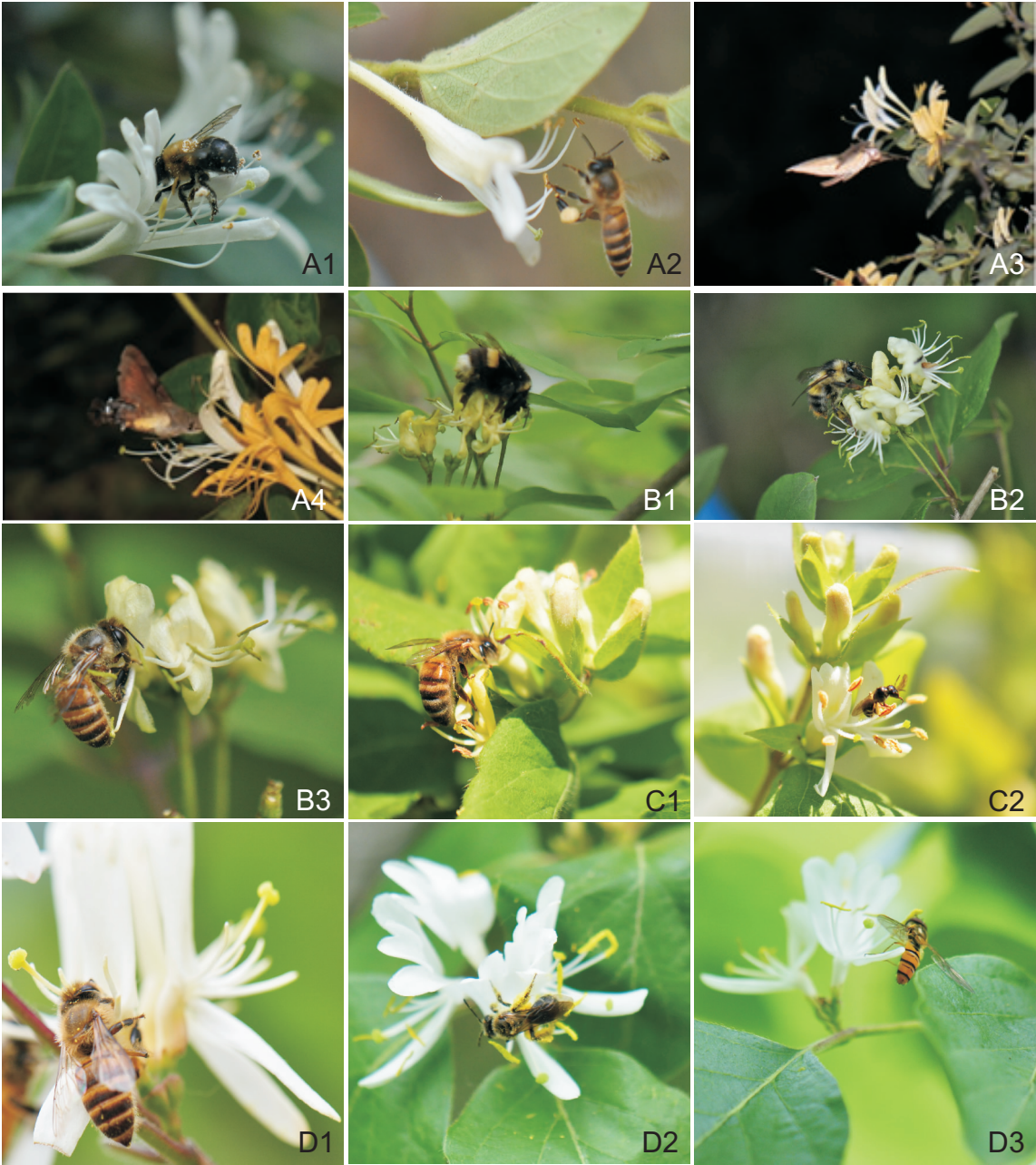
和金银忍冬的访花频率较高，但对忍冬访花较少。

2.7 花色变化对传粉者的影响

研究结果显示(表 3)，忍冬属 4 种植物的主要传粉昆虫均优先访问白花，且对白花的访问量明显高于黄花。由于忍冬具有傍晚开花的特性，夜晚光线太暗无法准确辨别天蛾访问的花色，故未收集忍冬夜间天蛾的访花数据。

单色花实验斑块(A 组)(W : Y = 1 : 0, 0 : 1)的访花数据显示，4 种植物的主要传粉者大多喜好访问白花，传粉者对白花的访问频率明显高于黄花($P < 0.05$, 图 6)。

双色花实验斑块(B 组)(W : Y = 1 : 1, 1 : 2, 2 : 1)的访花数据显示，4 种植物的传粉者对白花的访问频率明显高于黄花($P < 0.05$)，其中仅当 W : Y = 2 : 1 时，金花忍冬和金银忍冬的主要传粉者以相近的访问频率对白花和黄花进行访问(金花忍冬： $P = 0.242$ ；金银忍冬： $P = 0.059$)。对于各种比例间的白花而言，除金花忍冬外其余 3 个物种的传粉者对白花的访花频率受到同斑块内黄花数量的影响($P < 0.05$)，且随黄花数量的增多访花频率呈降低趋势，金花忍冬的传粉者对各种比例间白花的访问频率无显著差异($P = 0.157$)。对于各种比例间的黄花而言，忍冬、葱皮忍冬和金银忍冬的传粉者对黄花的访问频率差异不显著($P > 0.05$)，但金花忍冬的传粉者对黄花的访问频率因白花数量的多少而具有显著差异($P < 0.001$)。



A1 ~ A4: 分别为黑面条蜂、蜜蜂、夜间天蛾、白天天蛾访问忍冬; B1 ~ B3: 分别为重黄熊蜂、明亮熊蜂、蜜蜂访问金花忍冬; C1 ~ C2: 分别为蜜蜂、隧蜂科昆虫访问葱皮忍冬; D1 ~ D3: 分别为蜜蜂、隧蜂科和食蚜蝇科昆虫访问金银忍冬。
A1-A4: *Melea nigifrons*, *Apis mellifera*, Spingidae 1, Spingidae two visits to *L. japonica*; B1-B3: *Bombus* (*Pyrobombus*) *flavus*, *Bombus lucorum*, *Apis mellifera* visit to *L. chrysantha*; C1-C2: *Apis mellifera*, Halictidae visit to *L. ferдинандii*; D1-D3: *Apis mellifera*, Halictidae, Syrphidae visit to *L. maackii*.

图 5 忍冬属 4 种植物的主要传粉者

Fig. 5 Main pollinators of the four *Lonicera* species

忍冬属 4 种植物的主要传粉者对 A 组(W : Y = 1 : 0)白花的访问频率显著高于 B 组各种比例内白、黄花的总访问频率(图 6), 表明黄花的存在及数量的多少可能影响传粉者的访花活动。

花色渐变的单色花实验斑块(C 组)的访花数据显示(图 7), 忍冬的条蜂属昆虫和金银忍冬的

蜜蜂均偏好白花, 其第 1 d 访花频率最高, 并随着花色变黄其访花频率逐渐降低($P < 0.05$)。而金花忍冬的熊蜂属昆虫和葱皮忍冬的蜜蜂第 1 d 的访花频率均低于第 2 d 的访问频率, 第 3 d 的访花频率较第 2 d 有所下降, 但均高于第 1 d 的访花频率($P > 0.05$)。

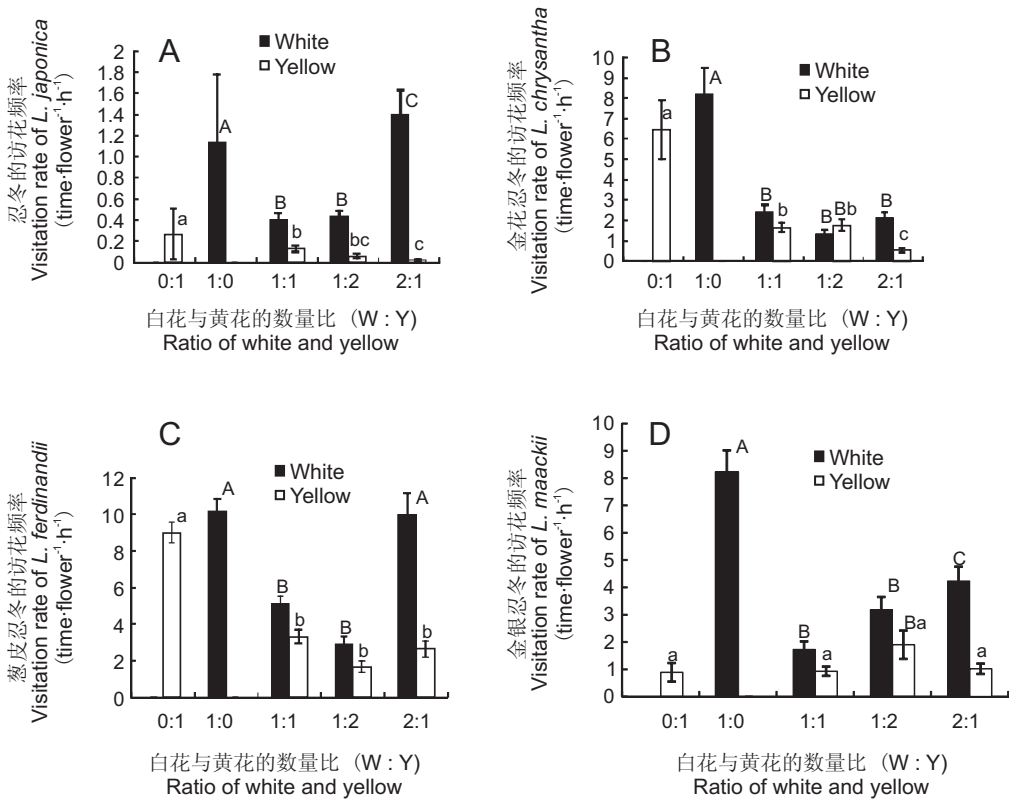
表 2 忍冬属 4 种植物传粉者的访花频率
Table 2 Visitation rate of pollinators to the four *Lonicera* species (unit: time · flower⁻¹ · h⁻¹)

传粉者类型 Pollinator type	忍冬 <i>L. japonica</i>	金花忍冬 <i>L. chrysantha</i>	葱皮忍冬 <i>L. ferdinandii</i>	金银忍冬 <i>L. maackii</i>
熊蜂属 <i>Bombus</i>	—	4.47 ± 0.37a	0.07 ± 0.02b	0.10 ± 0.05c
蜜蜂 <i>Apis mellifera</i>	0.38 ± 0.08a	1.41 ± 0.14b	8.25 ± 0.29c	4.95 ± 0.37d
隧蜂科 Halictidae	0.11 ± 0.02a	0.08 ± 0.03a	0.33 ± 0.03b	0.13 ± 0.04c
食蚜蝇科 Syrphidae	—	0.06 ± 0.01a	0.77 ± 0.07b	—
条蜂属 <i>Anthophora</i>	0.81 ± 0.07	—	—	—
天蛾科 Sphingidae	0.006 ± 0.002	—	—	—

表 3 传粉者访花偏好统计
Table 3 Statistics on visit preferences of pollinators

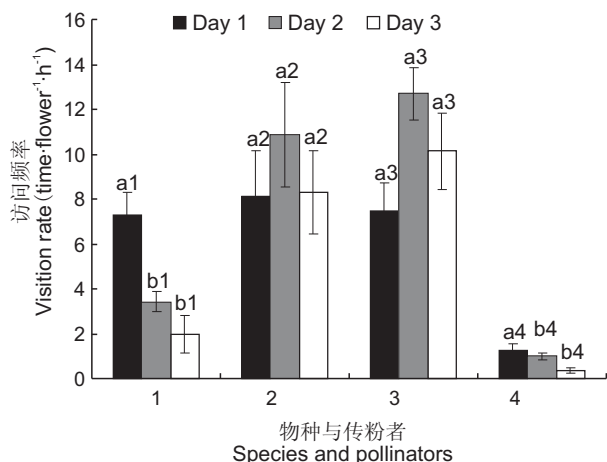
物种 Species	观察时间段(个) Observed periods	传粉者数量(个) No. pollinator	总访问次数 No. total visits	首次访问比例 First-visit rate		总访问比例 Total-Visit rate	
				白花 White	黄花 Yellow	白花 White	黄花 Yellow
忍冬 <i>L. japonica</i>	138	292	1120	79.45%(232)	20.55%(60)	82.95%(929)	17.05%(191)
金花忍冬 <i>L. chrysantha</i>	92	194	2174	72.16%(140)	27.84%(54)	66.24%(1440)	33.76%(734)
葱皮忍冬 <i>L. ferdinandii</i>	92	535	2624	66.73%(357)	33.27%(178)	64.10%(1683)	35.90%(941)
金银忍冬 <i>L. maackii</i>	77	172	1586	76.16%(131)	23.84%(41)	80.45%(1276)	19.55%(310)

注：括号内数字为传粉者访花次数。
Note: Figures in brackets are visit numbers of pollinators.



A: 忍冬; B: 金花忍冬; C: 葱皮忍冬; D: 金银忍冬
A: *L. japonica*; B: *L. chrysantha*; C: *L. ferdinandii*; D: *L. maackii*

图 6 传粉者不同比例的花群中对白花和黄花访花频率
Fig. 6 Visitation rate of pollinators in different ratios to pre-/post-color change flowers



1. 忍冬 *L. japonica* (条蜂属 *Anthophora*); 2. 金花忍冬 *L. chrysantha* (熊蜂属 *Bombus*); 3. 葱皮忍冬 *L. ferdinandii* (蜜蜂 *Apis mellifera*); 4. 金银忍冬 *L. maackii* (蜜蜂 *Apis mellifera*)。

图 7 忍冬属 4 种植物主要传粉者对渐变花的访花频率

Fig. 7 Visitation rate of pollinators to flowers with changing color

3 讨论

3.1 花部特征和繁育系统

忍冬属 4 种植物具有相似的花部形态, 但花大小、花色、花蜜和花期等花部特征有较大差异。忍冬的花管和单花花期最长, 傍晚开花, 被鳞翅目具长吻的天蛾访花, 蜜蜂访花时仅收集花粉作为报酬; 葱皮忍冬的花蜜量及含糖量较高, 蜜蜂主要以其花蜜为报酬; 金花忍冬单花花期和花管最短, 但花蜜分泌最多, 吸引了以花蜜为报酬的熊蜂属昆虫和蜜蜂访花; 金银忍冬的花蜜最少但其含糖量最高, 因而以花蜜为报酬的蜜蜂是其主要传粉者。以上 4 个物种花部特征的分化表明物种间存在传粉系统的差异性, 主要表现在植物本身对花部的资源投入差异性。花蜜量高可以显著减少传粉者访花过程中时间和能量的消耗, 因此花蜜量往往与传粉吸引力呈正相关^[18], 高的蜜量反映出植物在传粉吸引方面的资源投入。长花管与低浓度花蜜更适合鳞翅目长吻昆虫传粉, 而短花管和高浓度花蜜更适应了短吻熊蜂属昆虫和蜜蜂的选择作用。有研究发现花的长花管特征是典型的为了阻挡不受欢迎的昆虫获取报酬的花蜜障碍 (nectar barriers), 植物对花蜜障碍的资源投资增加后, 会通过加大花的吸引力和花蜜报酬来维护其忠实有效传粉者的访问^[19]。对忍冬属各物种蜜蜂访问频率的比较发现, 忍冬尽管花蜜量最多但因为长花管的阻碍作用仅吸引较少蜜

蜂访花, 而更多地吸引具长喙的条蜂属和天蛾科昆虫访花; 金花忍冬和葱皮忍冬的花蜜量较高, 因此蜜蜂的访花量也较大, 尤其是葱皮忍冬花蜜含糖量较高, 表现出极高的访花频率 (8.25 ± 0.29 次 · 花⁻¹ · 小时⁻¹); 蜜量最低的金银忍冬并没有表现出最低的访花频率, 可能是因其花蜜含糖量最高, 对蜜蜂有极大吸引力, 说明花蜜含糖量极有可能是影响植物传粉吸引力的因素之一。以上研究结果也表明蜜量的多少是影响传粉者访花的重要因素, 少蜜型花可导致传粉者减少对植株的访花次数, 从而减少花粉贴现 (pollen discount)。花部大小、颜色和花蜜 (花粉) 报酬的差异是植物开花式样差异的表现, 开花式样影响了传粉者对其的吸引力和花粉散布, 从而导致各物种交配系统的差异^[20]。

授粉实验结果表明, 忍冬属 4 种植物自交不亲和, 且人工授粉后的结实率显著高于自然对照, 表明这 4 种植物存在一定的花粉限制, 传粉媒介不足很可能是影响其结实率的主要原因^[21]。P/O 在一定程度上是判断植物繁育系统的良好参数。根据 Cruden 的标准^[22], 4 种植物的 P/O 在 1000 到 2000 之间, 繁育系统均属于兼性异交。但自花授粉实验结果表明, 忍冬和葱皮忍冬的座果率和结实率均为 0, 属于严格异交的植物; 金花忍冬和金银忍冬在自花授粉实验中, 可能因花粉中掺杂了少量异花花粉而产生了极低的结实率, 因此这 2 个物种也应属于异花授粉植物。对这 4 种植物繁育系统的研究结果表明, P/O 能够较好地反映植物繁育系统的基本类型, 因此以实时实地测试数据为传粉结果是较为可靠的。

3.2 花色变化与传粉适应

有研究认为, 花色变化伴随着花粉和花蜜等报酬的减少以及雌雄生殖能力的下降^[7, 23]。忍冬属 4 种植物除葱皮忍冬外, 变色花的花粉和花蜜量显著减少, 并且雄性与雌性繁育能力也显著下降, 但仍保留一定的雌性生殖力, 且变色后的花持续时间明显长于变色前的花。这种低报酬、低繁殖能力花的保留可能具有增大植株的花展示、吸引一定距离内的传粉者的功能, 而不是在单花水平上弥补花粉落置量与移出量的不足^[9]; 或者低报酬的花可能通过改变花色来驱逐传粉者、以减少传粉者身体表面花粉损失, 为繁殖力强的花降低同株异花授粉几率^[7], 这还有待今后进一步研究证实。葱皮忍冬

花变色前提提供了最多的花粉且变色后仍分泌较多花蜜吸引蜜蜂，同时其柱头可授性明显强于变色前，这种独特的现象很可能是植物为繁殖成功而采取的一种保障性生存策略^[15]。

在颜色渐变的单色花群中，传粉者访问频率的变化趋势与花蜜量的变化趋势基本一致，即蜜量显著减少时访花频率也显著降低，当蜜量变化不显著时访问频率也基本相近。传粉昆虫对花报酬的判断能力对昆虫和植物双方都是有利的，昆虫能够依据报酬的多少来选择耗费更少的时间觅食，从而获得最大净能量的摄入，而植物能争取更多的异交花粉落置在未授粉的柱头上从而提高雌性适合度或者输出可育花粉^[6,8]。在人为设置的不同比例的单色花群中，传粉者对白花的访花频率显著高于黄花。而在不同比例的双色花群中，除比例为 W : Y = 1 : 2 的金花忍冬和金银忍冬没有显著差异外，其余比例的传粉者对白花访问频率显著高于黄花。且单位时间内传粉者对各比例的黄花访问量无显著差异；但对白花的访问量多数因黄花的数量而具有显著差异。当传粉者接近双色花花群时，黄花数量多的花群内昆虫对白花访问频率比黄花数量少的花群要低，此结果是可预期的。当双色花群中低报酬的黄花比例升高时，传粉者在花中的飞行距离也会随之增加，从而传粉者在单位时间内的净能量增益会减少，当收益/成本比降到其比例阈值时，传粉者将选择离开访问植株或飞向其他植物^[24,25]。比较仅有白花的单色花群和双色花群的访问频率发现，多数传粉者对仅有白花的访问频率显著高于双色花整体的访问频率，表明黄花的保留可能驱使传粉者离开植株并飞向报酬丰富的其它花或植株，有助于植物减少同株异花传粉^[26]。蜜蜂和熊蜂属昆虫对金花忍冬的白花和黄花访问量相当，究其原因可能是由于金花忍冬花变色时，尽管变色后其雄性生殖功能显著下降，但仍有许多花变色前的柱头没有得到充分的花粉以满足其受精需要^[15]，且仍维持极高的蜜量，自身花粉活力的降低更提高了外来花粉输入并成为父本的可能，具体原因还有待进一步研究。

4 结论

对于自交亲和且近交衰退严重的植物而言，变色花的保留能减少传粉者同株异花授粉，从而提高

异交几率和植物的种子产量^[8,20]；对自交不亲和的植物而言，传粉者低效访花次数的减少可以减少花粉浪费或自花花粉的干扰^[27]。综上所述，本研究忍冬属 4 种植物均属于自交不亲和物种，且变色后的花尽管报酬及其生殖功能显著降低，但其花期长于变色前的花，变色花的保留增大了植株的花展示，提高了远距传粉者的吸引力。当传粉者接近花丛时，会依据花色选择访问报酬充足的花，提高自身的觅食效率，同时也提升了植物异花传粉的几率。从传粉综合征的角度来看，传粉昆虫的类型与花变色的类型相关，花变色的特性、范围差异会导致该物种由不同种类的传粉昆虫进行授粉。这是开花植物与昆虫长期相互适应并共同进化的结果。但是本研究中的忍冬属植物花色变化可能不仅伴随报酬变化，花气味也可能随花色的变化而改变，外部环境因素如温度、光照等也可能影响传粉者对花色变化的反映，因此还需要更多更深入的实验来准确评估忍冬属植物中花色变化的适应性意义。

参考文献：

- [1] 何亚平, 刘建全. 植物繁育系统研究的最新进展和评述[J]. 植物生态学报, 2003, 27(2): 151–163.
He YP, Liu JQ. A review on recent advances in the studies of plant breeding system[J]. *Acta Phytocologica Sinica*, 2003, 27(2): 151–163.
- [2] Wolfe LM, Sowell DR. Do pollination syndromes partition the pollinator community? A test using four sympatric morning glory species[J]. *Int J Plant Sci*, 2006, 167(6): 1169–1175.
- [3] Pérez F, Arroyo MT, Medel R, Hershkovitz MA. Ancestral reconstruction of flower morphology and pollination systems in *Schizanthus* (Solanaceae)[J]. *Am J Bot*, 2006, 93(7): 1029–1038.
- [4] Whittall JB, Hodges SA. Pollinator shifts drive increasingly long nectar spurs in columbine flowers[J]. *Nature*, 2007, 447(7145): 706–709.
- [5] Wu XL, Tan DY. Floral characters and breeding systems in the dimorphic annual plant *Diptychocarpus strictus* (Cruciferae)[J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2007, 45(4): 538–550.
- [6] Weiss MR. Innate colour preferences and flexible colour learning in the pipevine swallowtail[J]. *Anim Behav*, 1997, 53(5): 1043–1052.
- [7] Oberrath R, Böhning-Gaese K. Floral color change and the attraction of insect pollinators in Lungwort (*Pulmonaria collina*)[J]. *Oecologia*, 1999, 121(3): 383–391.

- [8] Ida TY, Kudo G. Floral color change in *Weigela middendorffiana* (Caprifoliaceae): reduction of geitonogamous pollination by bumble bees[J]. *Am J Bot*, 2003, 90(12): 1751–1757.
- [9] Suzuki MF, Ohashi K. How does a floral colour-changing species differ from its non-colour-changing congener? —a comparison of trait combinations and their effects on pollination[J]. *Funct Ecol*, 2014, 28(3): 549–560.
- [10] Weiss MR. Floral color change: a widespread functional convergence[J]. *Am J Bot*, 1995: 167–185.
- [11] Schaefer HM, Schaefer V, Levey DJ. How plant-animal interactions signal new insights in communication [J]. *Trends Ecol Evol*, 2004, 19(11): 577–584.
- [12] Nuttman CV, Semida FM, Zalut S, Willmer PG. Visual cues and foraging choices: bee visits to floral colour phases in *Alkanna orientalis* (Boraginaceae) [J]. *Biol J Linn Soc*, 2006, 87(3): 427–435.
- [13] 张伟. 忍冬属五种药用植物研究进展[J]. 内蒙古中医药, 2015, 34(2): 127–129.
Zhang W. Study advance of five *Lonicera* medicinal plants [J]. *Nei Mongol Journal of Traditional Chinese Medicine*, 2015, 34(2): 127–129.
- [14] 兰佩, 沈效东, 朱强. 宁夏地区忍冬属植物观赏价值与景观应用研究[J]. 农业科技通讯, 2015 (5): 324–329.
Lan P, Shen XD, Zhu Q. Study on ornamental value and landscape application of *Lonicera* of Ningxia[J]. *Bulletin of Agricultural Science and Technology*, 2015 (5): 324–329.
- [15] Zhang YW, Zhao XN, Huang SJ, Zhang LH, Zhao JM. Temporal pattern of floral color change and time retention of post-change flowers in *Weigela japonica* var. *sinica* (Caprifoliaceae) [J]. *J Syst Evol*, 2012, 50(6): 519–526.
- [16] Lázaro A, Vignolo C, Santamaría L. Long corollas as nectar barriers in *Lonicera implexa*: interactions between corolla tube length and nectar volume[J]. *Evol Ecol*, 2015, 29(3): 419–435.
- [17] Jabbari SG, Davis SL, Carter EJ. Interaction between floral color change and gender transition in the protandrous weed *Saponaria officinalis*[J]. *Plant Spec Biol*, 2013, 28(1): 21–30.
- [18] Ohara M, Higashi S. Effects of inflorescence size on visits from pollinators and seed set of *Corydalis ambigua* (Papaveraceae) [J]. *Oecologia*, 1994, 98(1): 25–30.
- [19] Barrett SC. The evolution of mating strategies in flowering plants[J]. *Trends Plant Sci*, 1998, 3(9): 335–341.
- [20] Lázaro A, Vignolo C, Santamaría L. Long corollas as nectar barriers in *Lonicera implexa*: interactions between corolla tube length and nectar volume[J]. *Evol Ecol*, 2015, 29(3): 419–435.
- [21] 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[J]. 林业科学, 2013 (1): 53–60.
Liu F, Li QJ, Wang CX, Lian JJ, Tian M. Floral characteristics and breeding systems of endangered species *Cypripedium japonicum* [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2013 (1): 53–60.
- [22] Cruden RW. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants [J]. *Evolution*, 1977: 32–46.
- [23] Zhang YW, Zhao JM, Yang CF, Gituru WR. Behavioural differences between male and female carpenter bees in nectar robbing and its effect on reproductive success in *Glechoma longituba* (Lamiaceae) [J]. *Plant Biology*, 2011, 13(S1): 25–32.
- [24] Narbona E, Ortiz PL, Arista M. Linking self-incompatibility, dichogamy, and flowering synchrony in two *Euphorbia* species: alternative mechanisms for avoiding self-fertilization? [J]. *PloS One*, 2011, 6(6): e20668.
- [25] Dukas R, Real LA. Effects of recent experience on foraging decisions by bumble bees[J]. *Oecologia*, 1993, 94(2): 244–246.
- [26] Heinrich B. Foraging strategies of caterpillars[J]. *Oecologia*, 1979, 42(3): 325–337.
- [27] Pereira AC, da Silva JB, Goldenberg R, Melod GAR, Varassin IG. Flower color change accelerated by bee pollination in *Tibouchina* (Melastomataceae) [J]. *Flora*, 2011, 206(5): 491–497.

(责任编辑: 张 平)