广西植物 Guihaia May 2018, 38(5): 626-634 http://www.guihaia-journal.com

DOI: 10.11931/guihaia.gxzw201705037
引文格式: 刘淑娟, 杨爱红, 周华, 等. 橙花瑞香的繁殖特性研究 [J]. 广西植物, 2018, 38(5): 626-634
LIU SJ, YANG AH, ZHOU H, et al. Reproductive characteristics of *Daphne aurantiaca* [J]. Guihaia, 2018, 38(5): 626-634

橙花瑞香的繁殖特性研究

刘淑娟, 杨爱红, 周 华, 余发新*

(江西省科学院生物资源研究所/江西省观赏植物遗传改良重点实验室, 南昌 330096)

摘 要: 瑞香属植物具有重要的药用和观赏价值,在中国资源丰富,但自然条件下低坐果率限制了该属植物的进一步开发和利用。该研究以橙花瑞香为对象,通过对其有性繁殖及传粉特性的研究,探索其自然坐果率低的原因,内容包括花部特征的测量分析,MTT 染色法测定花粉活性,联苯胺-过氧化氢法测定柱头可授性,扫描电镜观察柱头、花粉的形态,传粉者观察,通过花粉胚珠比(P/O)和人工授粉实验推测橙花瑞香的繁育系统类型。结果表明:橙花瑞香的花部结构特殊,管状小花,花药两轮,雌雄蕊分离。花开后的花粉具有活性,柱头具有可授性,扫描电镜下,柱头和花粉的结构没有发育异常,且柱头上有花粉落置。橙花瑞香的传粉者主要是夜间访花的蛾类,访花频率低。P/O 及人工授粉实验表明橙花瑞香的繁育系统为专性异交。橙花瑞香的坐果率非常低,自然坐果率为 1.4%,人工异花授粉为 23.3%,低坐果率可能是受其开花量大、异花花粉限制、资源限制以及花部结构等因素的影响。

关键词: 橙花瑞香, 繁殖, 传粉生物学, 扫描电镜, 坐果率

中图分类号: Q944.42 **文献标识码**: A **文章编号**: 1000-3142(2018)05-0626-09

Reproductive characteristics of *Daphne aurantiaca*

LIU Shujuan, YANG Aihong, ZHOU Hua, YU Faxin*

(*Key Laboratory of Horticultural Plant Genetic and Improvement of Jiangxi / Institute of Biology and Resources, Jiangxi Academy of Sciences*, Nanchang 330096, China)

Abstract: *Daphne* has important medicinal and ornamental values and it is rich in resources in China. Low fruit setting rate is a feature of the genus, and limits its further development and utilization. As the machanism for low fruit setting is unclear and few related studies have been carried out, especially in China, almost no one has carried out such relevant work. We explored the reasons for low natural fruit setting rate of *D. aurantiaca*, using *D. aurantiaca* as research material, through studying its sexual reproduction and pollination characteristics, including the measurement of floral traits, the detection of pollen viability by MTT solution and stigma receptivity by benzidine-H_2O_2 solution, observation of stigma and pollen morphology by scanning electron microscope (SEM), and survey the visit rates of pollinators. The breeding system was tested by pollen ovule rate (P/O) and artificial pollination experiment. The results showed that pollen grains

收稿日期: 2017-07-31
基金项目: 江西省科技支撑计划项目(20151BBF60078); 江西省科学院博士项目(2014-YYB-01); 江西省科学院普惠项目(2014-XTPH1-01); 南昌市优势科技创新团队项目(2015CXTD005) [Supported by Science and Technology Support Program of Jiangxi (20151BBF60078); Doctoral Program from Jiangxi Academy of Sciences (2014-YYB-01); Pratt & Whitney Program from Jiangxi Academy of Sciences (2014-XTPH1-01); Nanchang Advantages of Science and Technology Innovation Team(2015CXTD005)]。
作者简介: 刘淑娟(1982-),女,安徽宿州人,博士,助理研究员,主要从事植物繁殖生态学研究,(E-mail)liushujuan1115@126.com。
*通信作者: 余发新,博士,研究员,主要从事林木遗传育种学等研究,(E-mail)fxyu2000@126.com。

of *D. aurantiaca* had activities and stigmas had receptivities, and stigma and pollen developed normally through the SEM observation, which indicated that both male and female functions were normal. The flower structure of *D. aurantiaca* was special, flowers were very small, tubular structure, stigma-anther separation, with anthers consisting of two wheels arranged in the middle and top of corolla tube while stigma in the base of corolla tube. During the day time we did not see any effective visitors, and at night we found the main pollinator of *D. aurantiaca* was moths, with low visiting rate. We only found two moths in the whole period of the visitor observation, and one moth visited three flowers and the other visited two flowers in the same plant. Both P/O and artificial pollination experiments showed that the breeding system of *D. aurantiaca* was obligated out-crossing and self-incompatible. The fruit setting rate of *D. aurantiaca* was very low, only 1.4% in natural pollination and 23.3% in artificial cross-pollination. Its low fruit setting rate may be restricted by the large amount of flowers per plant, the inbreeding depression, the shortage of outcross pollen grains, resource limit and the influence of the flower structure. This study can provide theoretical basis for the utilization, preservation and expansion of *D. aurantiaca* resources.

Key words: *Daphne aurantiaca*, reproductive, pollination, scanning electron microscope, fruit setting rate

坐果率低是种子植物有性繁殖过程中的一个致命障碍,限制了物种的延续和扩散。植物坐果率与传粉有着密切联系,传粉是种子植物繁殖的必经阶段(吴佩纹等,2016)。通常成功的传粉需要满足以下条件:(1)花粉和柱头均具有正常的结构和功能。(2)拥有足够的传粉媒介及充足的访花频率保证足够数量花粉在柱头的落置。(3)柱头和花粉之间能成功地相互识别(吴佩纹等,2016)。木本植物更容易表现出坐果率低的现象(Huang et al, 2002),因为该类植物一般个体较大,开花较多,一方面受到资源限制,另一方面会受到花粉限制,特别是对于自交不亲和的物种,传粉昆虫在同一植株上大量访花,直接造成大量的同株异花和自花花粉较少或无异株花粉在柱头落置,导致坐果率和结籽率低(Bawa & Webb, 1984)。

瑞香科(Thymelaeaceae)植物具有重要的经济和观赏价值,其中瑞香属(*Daphne* Linn.)植物约有95 种,主要为落叶或常绿灌木或亚灌木,是木本植物并表现出坐果率低的特征。瑞香属植物主要分布于欧洲经地中海、中亚到中国、日本,南到印度至印度尼西亚。中国瑞香属植物资源丰富,有 44 种,多分布在云南、四川、贵州和甘肃等省,如橙花瑞香(*D. aurantiaca*)、甘青瑞香(*D. tangutica*)、白脉瑞香(*D. esquirolii*)和短瓣瑞香(*D. feddei*)等。本属中多种植物具有重要的经济和药用价值,为我国民间常用中药,如最具代表性的祖师麻(瑞香属植物的根皮和茎皮)为民间治疗风湿和止痛的常用中药,具疏风通络,祛瘀止痛之功效,可用于治疗头痛,牙痛,风湿关节痛等诸多痛症,并取得了良好的疗效(王勤礼等,2012);瑞香提取物瑞香素(daphnetin)具有降血脂,抗溶血活性,抗肿瘤活性和强镇痛等作用(王勤礼等,2012)。此外,瑞香属植物株形优美,花色多变,从黄色至紫色不等,管状小花,花型美观,香味浓郁,观赏性强,具有重要的观赏和利用价值。如被作为绿化树种开发利用的甘青瑞香(阿德安和杨宝山,2008);被培养为名贵盆栽品种的中国传统名花金边瑞香(周华等,2007,2012)。然而,由于在长期的利用过程中存在着过度不合理利用,导致部分野生资源急剧减少,原材料紧缺。

瑞香属植物在自然状态下主要靠种子繁殖,而坐果率低在本属中较为常见(Roccotiello et al, 2009; Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011),是瑞香属的一个特征。该特征限制了对本属植物的进一步开发利用,对其原因却尚不明确,相关研究也很少,尤其是在我国,几乎无人开展。本研究以橙花瑞香(*D. aurantiaca*)为材料,开展以下研究:(1)花部特征的调查,是否存在花部结构的特殊性。(2)柱头、花粉结构和功能的调查,是否存在正常的雌性和雄性功能。(3)繁育系统及亲和特性的调查,是否为自交不亲和或自交亲和。(4)传粉者的行为和影响调查,是否存在花粉限制。通过对橙花

瑞香有性繁殖及传粉特性的研究,探索其自然坐果率低的原因,为瑞香属植物种质资源的利用、保存及扩繁等提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料为橙花瑞香。橙花瑞香(*Daphne aurantiaca*)生长于海拔2 600~3 500 m 的石灰岩阴坡杂木林或灌丛中(图 1:A)。叶小,对生或近对生,密集簇生于枝顶,纸质或近革质。花橙黄色,管状小花,芳香,2~5 朵簇生于枝顶或部分腋生(图 1:B),偶有结实,果实为长椭圆形(图 1:C)。产自四川西南部(乡城、会东)、云南西北部丽江-香格里拉一带。盛花期每植株的开花数可达几百甚至上千。5 月上中旬始花, 5 月末至 6 月初进入盛花期, 7 月上中旬终花, 总体花期近 2 个月, 单朵花的开放时间平均为 11 d。本研究野外实验部分是 2015 年 5—6 月在云南省迪庆藏族自治州香格里拉县高山植物园(99°38′17″ E, 27°54′50″ N, 海拔3 300 m)开展,坐果率统计在当年 8 月底至 9 月初完成,所选橙花瑞香植株均为野生分布,单株散生,主要生长在峨眉蔷薇、荀子等的林下碎石堆里或位置较高不易积水的石灰质斜坡地段,伴生种有报春花科刺叶点地梅、玄参科二歧马先蒿等矮小草本花卉。

1.2 方法

1.2.1 花部特征调查　野外选择橙花瑞香 20 株,测量其株高、冠幅的长和宽,并统计其分支数及每支开花数。在盛花期随机选取 40 株野生橙花瑞香个体,每株选取正在开放的单花一个,用数显游标卡尺测其特征值,测量指标包括开口大小(CMD)、花冠长(CL)、柱头高(SH)、上轮花药高(AHH)、上轮花药长(ALH)、下轮花药高(AHL)、下轮花药长(ALL)。具体测量操作见图 2。所测得的平均值作为该花性状的表型值。

1.2.2 花粉及柱头特性

1.2.2.1 花粉活力及柱头可授性测定　花粉活力测定采用 MTT 染色法(Dafni, 1992;张超仪和耿兴敏, 2012),随机选取 25 株橙花瑞香,每株上在花开之前套袋处理一个花序,待套袋内花开到盛花期以后,每株上摘取 1~2 朵花(开花第 2 天至第 3 天),带回实验室测花粉活性。首先取少量花粉置于载玻片上,加 1~2 滴 MTT 溶液,盖上盖玻片。10 min 后在低倍镜下观察。选取 5 个视野,每个视野花粉数在 30 粒以上,取其平均值作为花粉的活力指标。被染成深红色甚至紫黑色的花粉,其生活力为强,红色的次之,无色的为不具活力的花粉或不育花粉。花粉活力比率=某视野变色的花粉粒数目/该视野花粉粒总数×100%。

柱头可授性测定采用联苯胺-过氧化氢法(王育青等,2010):随机选择 25 株处于盛花期的橙花瑞香(开花第 2 天或第 3 天),每一株上选择 1~2 朵花,将柱头取下浸入凹面载玻片含有联苯胺-过氧化氢反应液(1%联苯胺∶3%过氧化氢∶水=4∶11∶22,体积比)的凹陷处。若柱头具可授性,则柱头周围呈现蓝色并有大量气泡出现。根据蓝色深浅和气泡多少表示可授性强弱。

1.2.2.2 花粉及柱头扫描电镜观察　为了观察橙花瑞香的花粉及柱头的形态结构,随机收集处于盛花期的花 10 朵(分别来自不同植株),用 FAA 固定保存带回实验室,经清洗、酒精逐级脱水(70%, 80%, 90%, 100%, 100%)、用双面胶分别将柱头和花药均匀地粘附在金属台面上,在离子溅射仪上对金属台面喷金镀膜(贾子瑞等,2014),扫描电镜下观察花粉和柱头的形态。

1.2.3 繁育系统

1.2.3.1 花粉、胚珠产量测定　野外收集 15 朵不同植株花药未开裂的花,分别盛放于 70%酒精的 2 mL 离心管中保存,带回实验室。在实验室,将每朵花的上下轮共 8 个花药取出,放在小研钵中充分研碎,在容量瓶中稀释至 5 mL,混匀,用移液器随机吸取 5 滴(每滴 50 μL)放于载玻片上,在 100×显微镜下数花粉的数量,将五滴的平均值乘以稀释倍数 100,即为该花的花粉产量(Dafni, 1992)。

将子房放在体视显微镜下解剖,并将胚珠均匀散开,统计胚珠数量。

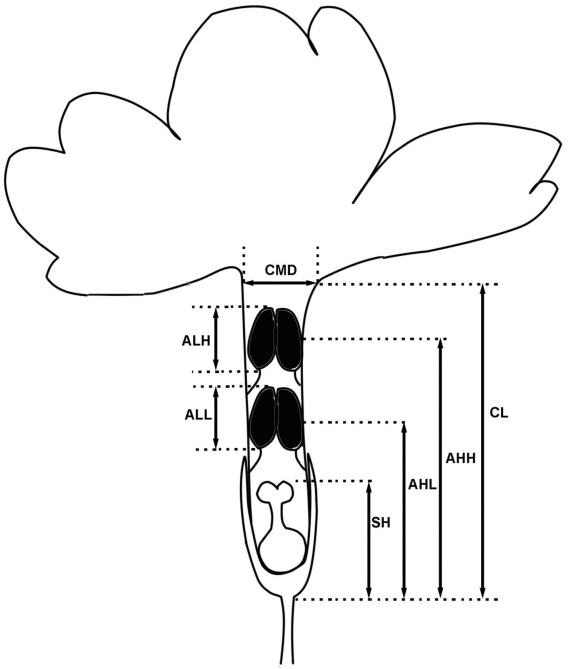
1.2.3.2 人工授粉实验　在盛花期分别选取花苞状态的花进行套袋处理。待袋内花苞开放后再进行人工授粉处理:(1)人工自交处理, 取自花或同株

注：**A**. 单棵植株；**B**. 管状结构的花；**C**. 箭头所指为未成熟果实。
Note：**A**. Individual plant；**B**. Flowers with tubular structure；**C**. Arrow to the immature fruit.

图 1　橙花瑞香
Fig. 1　*Daphne aurantiaca*

异花的花粉作为花粉供体，授在柱头上，套袋直至花凋谢。(2)人工异交处理，将花苞状态的花去雄并套袋，待花开放后，随机选择 20 m 之外 10 株植物的花粉置于离心管中混合，将混合的异花花粉授到柱头上，套袋直至花凋谢。(3)自动自花处理，一直套袋直至花凋谢。(4)对照处理，自然状态，不去雄，不套袋，使其授粉。一个植株内不同的处理用不同颜色的尼龙线标记。整个授粉处理植株内，同一种处理用同一种颜色的尼龙线标记。

1.2.4 传粉者观察　为了观察到橙花瑞香有效的传粉者以及计算访问频率，在盛花期随机选取橙花瑞香一株，统计正在开放的花数，以 30 min 为一个时间段，从早上 9:00 至下午 5:00 记录来访昆虫种类、访花数量、访花行为及访问单花的时间。



注：**SH**. 柱头高；**AHL**. 下轮花药高；**AHH**. 上轮花药高；**CL**. 花冠长；**ALL**. 下轮花药长；**ALH**. 上轮花药长；**CMD**. 开口大小。

Note: **SH**. stigma height; **AHL**. Anther height of low wheel; **AHH**. Anther height of high wheel; **CL**. Corolla length; **ALL**. Anther length of low wheel; **ALH**. Anther length of high wheel; **CMD**. Corolla mouth diameter.

图 2 花部特征示意图

Fig. 2 Picture of floral traits

当访花虫体接触到花药即为一次有效访问。晚上访花观察从 19:00—21:00,用红色布罩着手电筒以减少光线对蛾类访花的干扰(Liu & Huang, 2013),同白天观察方法一样,记录夜间访花者的种类和行为。访花观察包括 60 个时间段,30 h。

1.2.5 *数据分析* 所有数据统计分析、作图均采用 SPSS19.0 软件,统计数据用平均值±标准差表示,N 代表样本量。

2 结果与分析

2.1 植株及花部特征调查

橙花瑞香的株高平均为 32.2 cm,冠幅长为 73.8 cm,冠幅宽为 51.3 cm 平均每株分支数大于 50,每分支开花数为 12 朵,因此盛花期整株开花数可达几百甚至上千,开花量大。橙花瑞香的花较小,管状结构,花冠管长度平均为 6.76 mm(表 1),花开口较小,平均 1.27 mm,柱头位于花冠管的下部,花药两轮位于柱头的上方,下轮着生于花萼筒的中部(高约 4.8 mm,花药长 1.43 mm),上轮着生于花萼筒的喉部稍下面(高约 7 mm,花药长 1.32 mm),花药顶端可与花冠管顶部齐平或略有伸出,花丝短,两轮花药长度之间存在显著差异($P<0.01$,两个配对样品的 t 检验)。

2.2 花粉及柱头特性

2.2.1 *花粉活力及柱头可授性测定* MTT 染色观察表明,所测的 25 朵花的花粉活力波动范围较大,主要集中在 35%~75%之间,花粉活力平均值为(57±18)%(图 3)。联苯胺-过氧化氢法测定柱头可授性,发现柱头周围被染成蓝色近黑色并有气泡产生,说明柱头具有可授性。

2.2.2 *花粉及柱头扫描电镜观察* 扫描电镜观察表明橙花瑞香的花粉均以单粒形式存在,圆形(图 4:A),大小在十几至二十微米之间。花粉外壁纹饰为穿孔型,穿孔主要为不规则多边形或圆形,穿孔的频度较大,与龙胆的花粉相似(王臣等,2005)(图 4:B)。扫描电镜下观察柱头为圆柱形,上面密布长长的乳突结构(图 4:C),且乳突之间有花粉粘附,电镜下观察,花粉已经萌发干瘪(图 4:D),说明花粉落置在柱头上是可以萌发的。

2.3 繁育系统

2.3.1 *花粉、胚珠产量* 橙花瑞香的单花花粉产量平均为8 059粒,而其胚珠数只有 1,因此其 P/O 平均值为8 059。根据 Cruden(1977)的标准:P/O 为 2.7~5.4 时,其繁育系统为闭花受精;P/0 为 18.1~39.0 时,繁育系统为专性自交;P/O 为 31.9~396.0 时,繁育系统为兼性自交;P/O 为 244.7~2 588.0时,繁育系统为兼性异交;P/O 为 2 108.0~195 525.0时,繁育系统为专性异交。橙花瑞香的的 P/O 值为8 059,据此标准可判断其繁育系统为专性异交。

2.3.2 *人工授粉* 无论是人工自花授粉还是自动自花授粉的坐果率均为 0(表 2),说明橙花瑞香是严格的自交不亲和,为异花授粉,需要传粉媒介辅助授粉。人工异花授粉的坐果率是23.3%,而自

表 1　橙花瑞香的花部特征（平均值 ± 标准差）

Table 1　Floral traits of *Daphne aurantiaca* ($\bar{x}\pm s$)

测量特征 Measuring characteristics	开口大小 Corolla mouth diameter	花冠长 Corolla length	上轮花药高 Anther height of high wheel	上轮花药长 Anther length of high wheel	下轮花药高 Anther height of low wheel	下轮花药长 Anther length of low wheel	柱头高 Stigma height
测量值 Measured value (mm)	1.27±0.21	6.76±0.93	7±0.88	1.32±0.21	4.8±0.78	1.43±0.21	2.54±0.38
样本量 Sample number	40	40	40	40	40	40	40

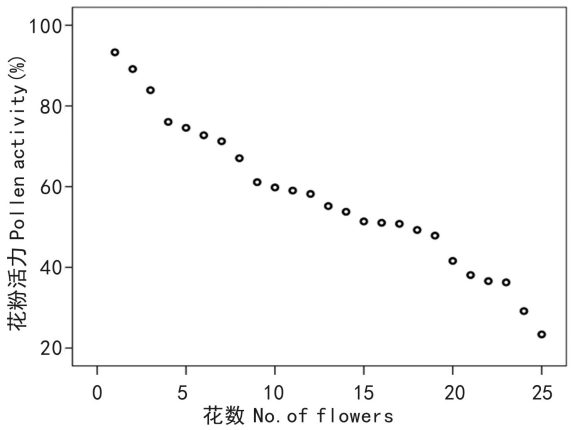


图 3　MTT 染色后花粉活性

Fig. 3　Pollen activity after MTT staining

表 2　人工授粉的坐果率统计

Table 2　Fruit setting rate of hand pollination

处理 Treatment	花数 No. of flowers	果数 No. of fruit	坐果率 Fruit setting rate (%)
自然对照 Natural pollination	50	1	1.4
人工异花授粉 Hand cross pollination	30	7	23.3
人工自花授粉 Hand self-pollination	30	0	0
自动自花授粉 Automation self-pollination	40	0	0

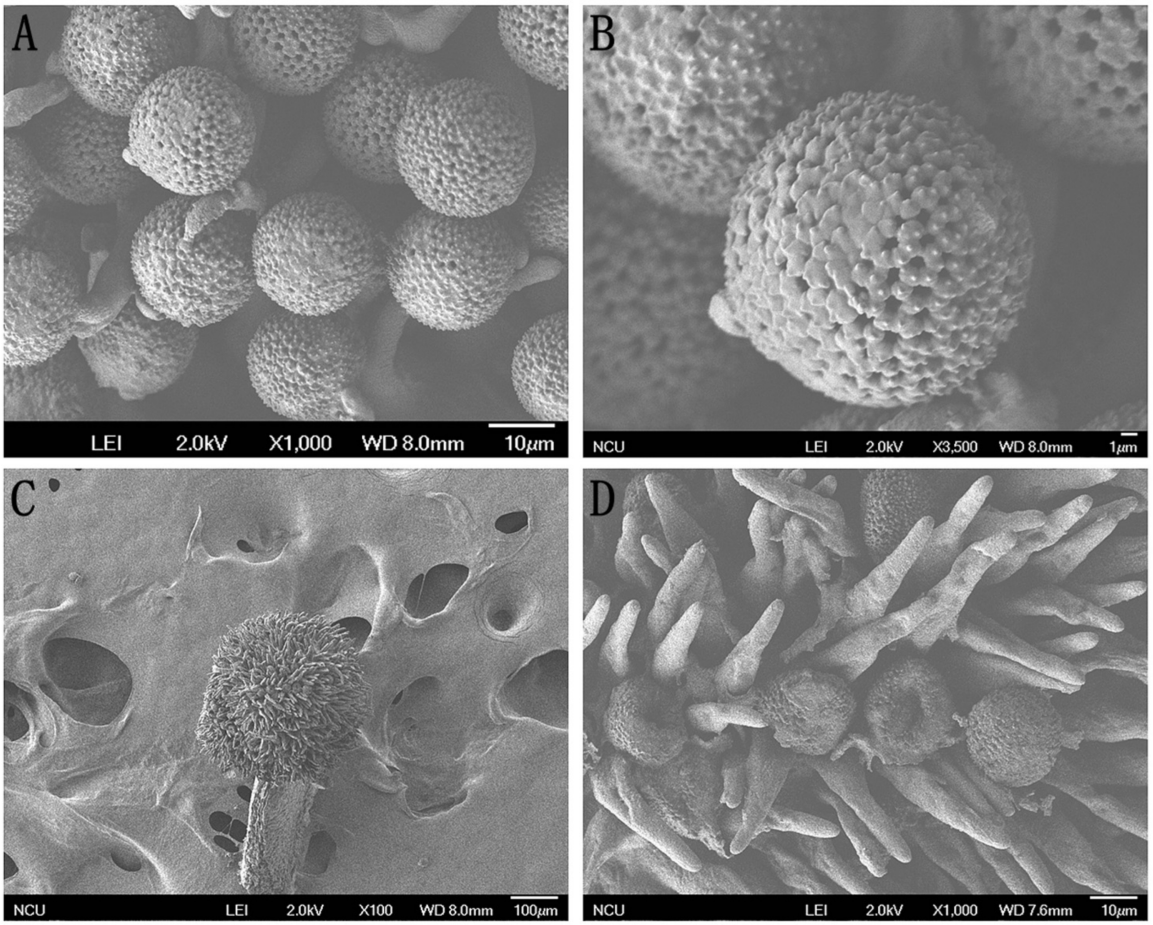
然授粉的坐果率只有 1.4%，因此与自然坐果率相比，人工异花授粉提高了近 17 倍，说明自然状况下，橙花瑞香存在着异花花粉限制。

2.4 传粉者观察

经过 30 h 以上的访花观察发现，橙花瑞香的整体访花者较少，偶尔有食蚜蝇和蝇类访问，但在花上驻留的时间短，且它们的喙部也较短，而橙花瑞香的花管较长且柱头位于花管基部，所以食蚜蝇和蝇类不能为橙花瑞香传粉，为无效的传粉者。而夜间访花的蛾类虽然访问频率也比较低（夜间访花观察期间仅看到两只，一只访问 3 朵花，另一只访问 2 朵花），但蛾类因其喙部较长，可以同时接触到橙花瑞香的花药和柱头，并为其传粉，被视为有效的传粉者。但蛾类一般在同一株上访问数朵花，这也容易造成自花花粉在柱头的落置。

3　讨论与结论

本研究表明，自然条件下橙花瑞香坐果率很低，只有 1.4%，大部分花在花期结束后脱落，偶有结实。这与前人对瑞香属其他物种的研究结果相一致（Alonso et al, 2007; Roccotiello et al, 2009; Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011）。盛花期橙花瑞香开花量大，单花可以维持 11 d 左右，无论是在扫描电镜下看花粉和柱头的形态，还是 MTT 染色法测花粉的活力以及联苯胺-过氧化氢法测柱头的可授性都可以看出柱头和花粉不存在发育异常，有正常的结构和功能。花粉在开放初期具有较高的活性，柱头则具有较强的可授性，说明橙花瑞香具有正常的雄性和雌性功能。访花观察发现，橙花瑞香的传粉者很少，白天偶尔见到蝇类和食蚜蝇活动，而且它们是无效的传粉者。晚上有蛾类访花，可以起到传粉作用，但是访问频率非常低。相似的，瑞香属 *D. rodriguezii* 的访问者也非常稀少，偶尔有小型蚂蚁（*Plagiolepis pygmaea*）访问一



注：**A**. 以单粒形式存在的花粉；**B**. 单粒花粉圆形；**C**. 圆柱状柱头；**D**. 柱头的乳突结构及乳突间的花粉粘附。
Note：**A**. Pollen in the form of single grain；**B**. Circle single pollen grain；**C**. Cylindrical stigma；
D. Papillary of stigma and the pollen grains adhered among papillary.

图 4 花粉、柱头的扫描电镜观察
Fig. 4 Observation of stigma and pollen by SEM

次或金龟子（*Tropinota hirta*）啃食花药和花被片；对于 *Daphne gnidium*，它的访问者多一些，大部分属于膜翅目和双翅目，然而自然状态下，*D. rodriguezii* 和 *D. gnidium* 的坐果率无显著性差异，都较低在 5% 以下（Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011）。说明访花昆虫并没有提高植物的坐果率，可能是因为它们在同一株上连续访问数花，带来的都是自花花粉，而本属植物大多是自交不亲和的。扫描电镜下可以看到柱头上有较多的花粉粘附，且花粉存在萌发后的干瘪现象，猜测自花花粉可以在柱头上萌发，但后续果实发育不良并最终脱落。这与 Alonso（2004）对 *D. gnidium* 和 *D. rodriguezii* 的研究相似，虽然花粉可以萌发，但坐果率跟花粉萌发没有相关关系，因为这些花粉主要为自花花粉，果实在发育过程中大部分（约 75%）会发生胚胎塌陷（embryo collapse）（75%未成熟的果实死掉），这主要由近交衰退造成（Roccotiello et al, 2009；Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011）。因此，传粉者稀少，异花花粉限制是造成橙花瑞香自然坐果率低的一个重要原因。

花作为被子植物的繁殖器官，具有比其它生物繁殖器官更高的变异性，多样的花部类型是植物为了适应其生境，使得物种能够顺利完成繁殖过程并延续下去而不断进化形成的（Huang &

Guo, 2002;钱一凡等, 2015)。对橙花瑞香花部特征的调查发现橙花瑞香是典型的管状花结构,花药两轮分别位于花冠管的中部和上部,柱头位于花冠管的下部,实现了花药和柱头在空间上的完全分离,属于柱头缩入式雌雄异位(张大勇, 2004)。这种结构类似于经典三型花柱的短柱型结构,管状结构限制了传粉者进入花中取食花蜜或花粉的行为及花内柱头、花药与传粉者身体不同部位的接触,对于三型花柱的植物而言,这种空间结构上的分离有助于促进花粉在同一高度水平的柱头和花药间传递,既可以促进异交传粉又可以避免自花花粉浪费(Liu et al, 2015)。但对于只有一种花部形态的橙花瑞香来说却可能是一种低效的花形结构,因为限制了异花花粉在柱头的落置并最终影响生殖成功。对瑞香属 *D. gnidium* 的研究发现,其访花者主要是鳞翅目和膜翅目昆虫,而套袋和不套袋处理都产生相等数量的果实,说明传粉者对这一特殊繁殖系统的生殖成功没有起到主角作用,其花部综合特征是一种低效的结构(Herrara,1987; Roccotiello et al, 2009)。

根据 Cruden(1977)的标准,橙花瑞香的繁育系统是专性异交的,这与人工授粉的结果相一致。人工授异花花粉,橙花瑞香的坐果率只有 23.3%,这与瑞香属其它种的人工授粉结果相似,*D. rodriguezii* 的人工授异花花粉坐果率不到 25%, *D. gnidium* 的不到 15% (Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011),可见仅仅近交衰退理论不能解释其低坐果率(Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011)。从以下两种假说可以解释这一现象:(1)资源限制假说(Willson & Schemske,1980; Yang et al, 2005; Rodríguez-Pérez & Traveset, 2011; Arnan et al, 2014)认为有足够数量有效花粉,但依然不能完全结实,这种情况通常是由于资源供应的有限性所致(McCall & Primack, 1987)。资源限制是坐果率低的另一重要原因,事实上,自然界中植物坐果率低单一受花粉或受资源限制的情况很少发生,大多情况下两者共同起作用(Yang et al, 2005; Klein et al, 2015)。(2)性别选择假说(Bateman, 1948; Bawa & Webb, 1984)认为大量花在花期结束后脱落,这些脱落的过量花是为了增大雄性生殖成功,这一现象是由内部基因决定的,增大花粉扩散的选择压力以及受精卵的父系不确定性是导致潜在败育发生的主要因素。坐果率和结籽率更多的取决于性别选择的强度,而不是传粉者或资源的限制(Bawa & Webb, 1984)。Lloyd(1980)认为对花数量和果数量的调控是对母本投资的调控,目的是为了与可利用资源更好的匹配。

总之,橙花瑞香的低坐果率不是一个偶然的存在,跟其开花量大、传粉者稀少、花部结构特殊、自交不亲和等密切相关。虽然人工授粉可以提高其自然坐果率,但该方法耗时耗力,且效率非常低,在野外大规模开展很难实现。提高坐果率,寻找并驯化一种合适的传粉昆虫可能是一条可行的选择,如熊蜂类,具有长长的喙,能为瑞香属花传粉,而且熊蜂作为驯化的传粉昆虫已在温室、大棚等生产中应用,并取得了不错的效果。如引用明亮熊蜂为温室草莓授粉(李继莲等,2006);熊蜂为温室茄属作物授粉(黄家兴等,2007)等。然而如何将熊蜂成功的应用在橙花瑞香的野外传粉上,还需进一步研究。

参考文献:

A DA,YANG BS, 2008. Artificial domesticate on wild *Daphne tangutica* [J]. Sci Technol Qinghai Agric For, 3: 70-71. [阿德安, 杨宝山, 2008. 野生甘青瑞香人工驯化 [J]. 青海农林科技, 3: 70-71.]

ALONSO C, MUTIKAINEN P, HERRERA CM, 2007. Ecological context of breeding system variation: sex, size and pollination in a (predominantly) gynodioecious shrub [J]. Ann Bot, 100: 1547-1556.

ALONSO C, 2004. Early blooming's challenges: Extended flowering season, diverse pollinator assemblage and the reproductive success of gynodioecious *Daphne laureola* [J]. Ann Bot, 93: 61-66.

ARNAN X, ESCOLA A, RODRIGO A, et al, 2014.Female reproductive success in gynodioecious *Thymus vulgaris*: pollen versus nutrient limitation and pollinator foraging behavior [J]. Bot J Linn Soc, 175: 395-408.

BATEMAN AJ, 1948. Intrasexual selection in *Drosophila* [J]. Heredity, 2: 349-369.

BAWA KS, WEBB CJ, 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns [J]. Am J Bot, 71(5): 736-751.

CRUDEN RW, 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants [J]. Evolution, 31: 32-34.

DAFNI A, 1992. Pollination ecology: A practical approach [M]. Oxford: Oxford University Press.

HERRERA J, 1987. Biología reproductiva de algunas especies delmatorral de Doñana [J]. Anales Jará Bot Madrid, 44: 483-497.

HUANG JX, AN JD, WU J, et al, 2007. Advantage of bumblebee as pollinator for solanum in greenhouse [J]. Chin Agric Sci Bull, 23(3): 5-9. [黄家兴, 安建东, 吴 杰, 等, 2007. 熊蜂为温室茄属作物授粉的优越性 [J]. 中国农学通报, 23(3): 5-9.]

HUANG SQ, GUO YH, 2002. Variation of pollination and resource limitation in a low seed-set tree, *Liriodendron chinense* (Magnoliaceae) [J]. Bot J Linn Soc, 140: 31-38.

HUANG SQ, TAKAHASHI Y, DAFNI A, 2002. Why does the flower stalk of *Pulsatilia cernua* (Ranunculaceae) bend during anthesis [J]. Am J Bot, 89(10): 1599-1603.

JIA ZR, WANG JH, ZHANG SG, et al, 2014. Pollen morphology of 20 species in *Picea* by scanning electron microscope [J]. Sci Silv Sin, 50(5): 49-61. [贾子瑞, 王军辉, 张守攻, 等, 2014. 云杉属花粉形态的电镜扫描研究 [J]. 林业科学, 50(5): 49-61.]

KLEIN AM, HENDRIX SD, CLOUGH Y, et al, 2015. Interacting effects of pollination, water and nutrients on fruit tree performance [J]. Plant Biol, 17: 201-208.

LI JL, PENG WJ, WU J, et al, 2006. Strawberry pollination by *Bombus lucorum* and *Apis mellifera* in greenhouses [J]. Acta Entomol Sin, 49(2): 342- 348. [李继莲, 彭文君, 吴杰, 等, 2006. 明亮熊蜂和意大利蜜蜂为温室草莓的授粉行为比较观察 [J]. 昆虫学报, 49(2): 342-348.]

LIU CQ, HUANG SQ, 2013. Floral divergence, pollinator partitioning and the spatiotemporal pattern of plant-pollinator interactions in three sympatric *Adenophora* species [J]. Oecologia, 173(4): 1411-1423.

LIU SJ, WU LY, HUANG SQ, 2015. Shortened anther-stigma distance reduces compatible pollination in two distylous *Primula* species [J]. J Plant Ecol, 9(2): 224-232.

LLOYD DG, 1980. Sexual strategies in plants. 1. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session [J]. New Phytol, 86: 69-79.

MCCALL C, PRIMACK RB, 1987. Resources limit the fecundity of three woodland herbs [J]. Oecologia, 71(3): 431-435.

QIAN YF, LI YX, CHEN LY, et al, 2015. Pollination biology of *Michelia maudiae* [J]. Guihaia, 35(1): 36-41. [钱一凡, 黎云祥, 陈兰英, 等, 2015. 深山含笑传粉生物学研究 [J]. 广西植物, 35(1): 36-41.]

ROCCOTIELLO E, CASAZZA G, GALLI L, et al, 2009. The flower biology of *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae) [J]. Plant Syst Evol, 279: 41-49.

RODRÍGUEZ -PÉREZ J, TRAVESET A, 2011. Influence of reproductive traits on pollination success in two *Daphne* species (Thymelaeaceae) [J]. J Plant Res, 124: 277-287.

WANG C, HU BZ, MA LX, 2005. Pollen Morphology observation of three medicinal gentian by SEM and classification was discussed [J]. Nat Sci J Harbin Norm Univ, 21(5): 62-64, 67. [王臣, 胡宝忠, 马立祥, 2005. 三种药用龙胆花粉电镜扫描观察及分类意义探讨 [J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 21(5): 62-64, 67.]

WANG QL, YAN F, MAO ZH, et al, 2012. The first exploration of seed dormancy of *Daphne giraldii* [J]. Chin Hortic Abstr, 12: 9-10, 31. [王勤礼, 闫芳, 毛著鸿, 等, 2012. 祖师麻 (黄瑞香)种子休眠原因初探 [J]. 中国园艺文摘, 12: 9-10, 31.]

WANG YQ, MA XC, ZHOU YL, et al, 2010. The flowering and pollination biology characteristics of *Iris lacteal* [J]. Chin J Grassl, 32(3): 45-49. [王育青, 马小春, 周延林, 等, 2010. 马蔺开花及传粉的生物学特性 [J]. 中国草地学报, 32(3): 45-49.]

WILLSON MF, SCHEMSKE DW, 1980. Pollinator limitation, fruit production, and floral display in pawpaw (*Asimina triloba*) [J]. Bull Torrey Bot Club, 107(3): 401-408.

WU PW, GAO SP, ZHANG S, et al, 2016. Pollination biology and the breeding system of *Plumbago auriculata* low seed-set ratio [J]. Guihaia, 36(1): 107-113. [吴佩纹, 高素萍, 张硕, 等, 2016. 蓝花丹结实率低的传粉生物学和繁育系统初探 [J]. 广西植物, 36(1): 107-113.]

YANG CF, SUN SG, GUO YH, 2005. Resource limitation and pollen source (self and outcross) affecting seed production in two louseworts, *Pedicularis siphonantha* and *P. longiflora* (Orobanchaceae) [J]. Bot J Linn Soc, 147: 83-89.

ZHANG DY, 2004. Plant life-history evolution and reproductive ecology [M]. Beijing: Science Press: 311-315. [张大勇, 2004. 植物生活史进化与繁殖生态 [M]. 北京: 科学出版社: 311-315.]

ZHANG CY, GENG XM, 2012. Comparative study on methods for testing pollen viability of the six species from genus *Rhododendron* [J]. Plant Sci J, 30(1): 92-99. [张超仪, 耿兴敏, 2012. 六种杜鹃花属植物花粉活力测定方法的比较研究 [J]. 植物科学学报, 30(1): 92-99.]

ZHOU H, LIU TY, GAO Z, et al, 2007. Advances of *Daphne odora* var. *marginata* in China [J]. Jiangxi Sci, 25(1): 51-53. [周华, 刘腾云, 高柱, 等, 2007. 中国金边瑞香研究进展 [J]. 江西科学, 25(1): 51-53.]