

牛角瓜花部综合特征与繁育系统

刘 鹏, 刘惠民*, 王连春, 李 璐, 郑 元, 张太奎

(西南林业大学林学院, 昆明 650224)

摘 要: 野外调查发现, 牛角瓜 (*Calotropis gigantean*) 的自然坐果率较低, 影响了利用其种子纤维的开发前景。研究了牛角瓜的传粉生物学, 观察了云南元江牛角瓜居群的开花进程、花部特征和访花昆虫, 检测了其花粉活力与柱头可授性, 并对其进行了人工授粉辅助试验。结果表明: (1) 牛角瓜花为聚伞形花序, 花冠蓝紫色, 花期全年, 单花花期 7 ~ 8 d, 在开花整个过程中花粉一直保持较强活力且柱头具有可授性, 花药一直低于柱头, 由蜡质薄膜包裹的花粉粒形成花粉块, 无法散落至柱头, 花药和柱头间存在空间隔离。(2) 牛角瓜的杂交指数为 4, 说明其繁育系统以异交为主, 部分自交亲和, 需要传粉者。(3) 人工授粉试验显示, 牛角瓜不能在柱头表面完成授粉, 而是在柱头腔中, 且存在一定的传粉限制; 没有自发的自花传粉现象, 在自然条件下也没有无融合生殖现象, 人工异株授粉结实率比自花授粉结实率高。(4) 昆虫借助足部特殊结构将花粉块移出并将花粉块通过花药裂口插入柱头腔中以完成授粉; 牛角瓜访花昆虫共有 10 余种, 传粉昆虫主要有膜翅目的黑小蜜蜂、圆柄木蜂和木蜂。花粉限制是牛角瓜坐果率低的主要原因, 可通过放养传粉昆虫来提高牛角瓜的坐果率, 从而增加其种毛纤维的产量。

关键词: 牛角瓜; 传粉生物学; 花部特征; 繁育系统; 合蕊柱; 花粉块

中图分类号: S 68

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2015) 10-2002-13

Floral Syndrome and Breeding System of *Calotropis gigantean*

LIU Peng, LIU Hui-min*, WANG Lian-chun, LI Lu, ZHENG Yuan, and ZHANG Tai-kui

(College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China)

Abstract: The low natural fruit set rates of *Calotropis gigantean* L. decreased the economic application in fibers. The surveys on the blooming progress, floral traits, flower-visiting insects, pollen viabilities, stigma receptivity, and breeding system of the wild *C. gigantean* groups in Yuanjiang region of Yunnan, were performed. (1) The *C. gigantean* flowers had sympodium umbels, the hyacinthine corollas, blooming all the year round and the flowering phase of 7 - 8 d. Their pollen had strong vitalities and stigma possessed certain receptivity during the flowering. The anther height was lower than the stigma height. All pollen grains which were wrapped by the ceraceous thin film and formed the pollinaria could not scatter and fall on the stigma. Consequently, there was the spatial isolation between the anther and the stigma. (2) The hybridization indexes of 4 indicated that the breeding was the outcrossing and partly self-compatible, and demanded the pollinators. That the pollination on the anther slit instead of the stigma had certain

收稿日期: 2015 - 01 - 26; **修回日期:** 2015 - 08 - 11

基金项目: 林业公益性行业科研专项 (201304810)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: hmliu@swfu.edu.cn)

致谢: 西南林业大学潘涌智教授和司徒英贤教授鉴定昆虫种类。

limitations was surveyed through the test of the hand-pollinate on the *C. gigantean*. (3) The test on the hand-pollinate on the *C. gigantean* revealed that the pollination on the Stigmatic chamber rather than the stigma resulted in the limitations to pollination. There were no spontaneous self-pollination phenomenon and no apomixis phenomenon under field conditions. The setting ratios of the artificial pollination surveyed on the outcrossing were higher than which surveyed on the self-pollination. Therefore, the setting rate differences between them verified the results of the hybridization indexes. (4) The insect moved out the pollinaria and inserted it into the Stigmatic chamber to finish the pollination, using their special body parts. More than ten kinds of flower-visiting insects were surveyed on the *C. gigantean* and the pollinating insects mainly were the *Micromicrapis andreniformis* Smith, *Xylocopa tenuiscapa* and a specie of the *Xylocopa* family. Pollen limitation is the main reason of the low *C. gigantean* fruit setting rates, and the fruit production of the *C. gigantean* can be improved through the rearer of the main pollinators.

Key words: *Calotropis gigantean*; pollination biology; floral syndrome; breeding system; gynostegium; pollinia

萝藦科 (Asclepiadaceae) 植物的花部结构在很大程度上是相一致的 (Wiemer et al., 2012), 独特且复杂 (Endress et al., 2007); 其突出特点包括: (1) 5 个副花冠依次轮生在花冠上, 是花冠的附属物, 无生殖功能; (2) 由 5 个扇区状的雄蕊和雌蕊融合形成合蕊柱, 每一个扇区构成一个授粉单元, 其包括一个导向结构、一个柱头腔和接受面; (3) 每花药有 2 个或 4 个花粉块, 通过花粉块柄而系结于着粉腺上 (Bookman, 1981; Fallen, 1986; Endress, 1994; Kunze, 1981, 1996; Liede, 1994; Verhoeven & Venter, 2001)。需经传粉昆虫或更特别的鸟类传粉才能完成授粉受精。当昆虫在取食花蜜时, 首先会勾住花药边缘位置, 然后通过导向结构被迫将花粉块转移到身体上, 当访问另一朵花时, 此花粉块通过花药裂口被放到位于两个花药之间的柱头腔中完成授粉 (Kunze, 1991, 1995; Ollerton & Liede, 1997; Pauw, 1998)。这种授粉机制使大部分柱头仅能接受来自同一朵花的花粉 (Wyatt & Broyles, 1994; Wyatt & Lipow, 2007)。花粉块通过花药裂口进入柱头腔的整个传粉的动态过程尚不清楚。植物的繁育系统是指所有影响后代遗传组成的有性特征的总和, 主要包括花的形态特征、花的开放式样、花各部位的寿命、传粉者种类和频率、自交亲和程度和交配系统 (何亚平和刘建全, 2003)。交配系统是植物繁育系统研究的核心 (Wyatt, 1983)。近年来, 繁育系统的研究越来越多的与传粉生物学研究相结合。

牛角瓜 (*Calotropis gigantean* L.) 又名五狗卧花、断肠草等, 属于萝藦科牛角瓜属 (*Calotropis*), 直立灌木或小乔木, 周年开花, 花量大且花色鲜艳, 可作为园林绿化植物应用; 其茎皮纤维可供造纸、制绳索及人造棉, 织麻布、麻袋, 种毛可作丝绒原料及填充物, 还是一种非常具有开发潜力的纤维经济作物; 又因其茎、叶的乳汁含牛角瓜甙等多种强心甙和牛角瓜碱, 亦可作药用, 治皮肤癣、痢疾、风湿等 (Kiuchi et al., 1998; Quaquebeke et al., 2005; Lhinhatrackool & Sutthivaiyakit, 2006)。牛角瓜分布于东南亚, 在中国见于云南、海南、广东、四川等地。目前, 牛角瓜基本处于野生状态, 少有栽培。国内、外专家主要对牛角瓜的无性繁殖技术 (李克烈 等, 2007)、种子萌发 (高柱 等, 2012)、纤维素开发价值 (Nart et al., 1984; Asbofi & Bahreini, 2009)、药用价值 (Kattankulathur et al., 2012; Kumar et al., 2012)、固体燃料 (李瑞 等, 2007) 以及化合物的提取 (王茂媛, 2008) 等方面开展研究, 而在传粉生物学方面的观察报道较少, 仅 Kunze (1991) 研究了 7 种萝藦科植物的传粉机制; Jeff (1997) 在调查的基础上分析了萝藦科的授粉系统; 王定康等 (2009) 对萝藦科植物青阳参花部结构及其传粉适应性做了研究。

作者以云南元江县红河谷野生牛角瓜居群为研究对象, 经过野外调查发现其自然坐果率低, 这制约了以利用其种毛纤维为主的牛角瓜栽培生产的发展前景。本研究中从花部形态、开花进程、花粉活力、柱头可授性及访花昆虫、人工辅助授粉等方面开展传粉生物学研究, 以期揭示牛角瓜花器官对虫媒异花传粉适应机制以及与坐果率的关系, 为引种驯化、栽培管理等提供基础生物学资料。

1 材料与方法

1.1 研究地点和材料

野外观察在云南省元江县红河野生牛角瓜居群进行。该区域(东经 101°57'27.15"; 北纬 23°38'16.96"; 海拔 478 m)地处低纬高原, 属季风性气候, 冬暖夏热, 冬春干旱风大, 夏秋多雨湿润, 干湿季明显, 雨热同季。年均气温 22.6~25.7 °C, 终年无霜, 年均降水量 800~1 000 mm。植被群落组成以牛角瓜占绝对优势, 主要伴生植物有车桑子(*Dodonaea viscosa* L.)、辣木(*Moringa oleifera* Lam.)、剑麻(*Agave sisalana* Perr.)等。

1.2 研究方法

1.2.1 开花进程与花部综合特征的观察

在居群内, 分别于 2014 年 4 月和 9 月挂牌标记不同植株即将开花的花蕾 30 朵, 连续多天定位观察并记录花朵个体的开放进程, 直至花瓣脱落。

随机选取当天开放的花 30 朵, 用游标卡尺测量萼片、花瓣、副花冠、合蕊柱、子房的大小, 并在体式解剖镜下观察花药裂口、花粉块等花部微型结构。取当天开放花朵的花粉块, 经 2.5%戊二醛和 1%锇酸双固定, 0.1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液冲洗, 乙醇梯度(70%→85%→95%→100%→100%)脱水, 乙酸异戊酯置换, 临界点干燥, 粘样和喷金后置于日立 SEM-3000N 扫描电镜下观察合蕊柱、花粉块及花粉粒形态特征并拍照。

1.2.2 花粉活力和柱头可授性的检测

2014 年 9 月 12 日早上 9: 00—10: 00, 在元江牛角瓜野生居群内取下当天开放的花朵所在花序, 置于有冰袋的取样箱, 并在当天带回昆明西南林业大学林学院实验室, 用于花粉活力和柱头可授性等试验。采用离体萌发法(Hee et al., 2007)测定不同开花时期花粉活力。用解剖针小心从花朵中取出花粉块, 将花粉块样品置于凹玻片上, 加 1~2 滴培养液(胡适宜, 1993), 放入浸有湿滤纸的培养皿中 30 °C 恒温培养 6 h, 用解剖针小心取出花粉块, 用 10% NaOH 溶液处理 10 min 后, 放在普通载玻片上, 压上盖玻片小心挤压, 置于光学显微镜 10 倍镜下观察。每个制片观察 5 个视野, 以花粉管长度超过花粉粒直径作为萌发标准, 重复 3 次, 取平均值。萌发率(%) = 已萌发的花粉粒数/花粉粒总数 × 100。

采用联苯胺—过氧化氢法(Dafni, 1992)检验柱头的可授性。取开花后不同天数的花各 5 朵, 在解剖镜下小心将子房及柱头剥离出来, 在凹面载玻片中加入体积比为 1%联苯胺: 3%过氧化氢: 水 = 4: 11: 22 的反应液, 将子房及柱头浸入其中。若柱头具可授性则周围反应液呈现蓝色并有大量气泡出现, 根据气泡的多少和大小判断柱头可授性的相对强弱。

1.2.3 花粉管在雌蕊组织中的生长途径

人工授粉 20 朵当天开的花并套袋, 2 d 后采下用 FAA 固定液固定, 将固定的样品放在水中冲洗大约 7 h, 以洗去样品表面的固定液; 加入 8 mol·L⁻¹ NaOH 溶液浸泡 10 h, 以破坏样品中的组织,

后用水冲洗 8 h; 将配好的苯胺蓝母液稀释 4 倍, 将样品转入染色液中浸泡 10 h 左右。压制样品后放在 Axiovert 200M 倒置荧光显微镜 (UV) 下观测。

1.2.4 杂交指数的估算

按照 Dafni (1992) 的标准, 通过花序直径、性器官空间位置与成熟情况等评判繁育系统类型。OCI = 0 为闭花受精; OCI = 1 为专性自交; OCI = 2 为兼性自交; OCI = 3 为自交亲和, 有时需要传粉者; OCI = 4 为异交为主, 部分自交亲和, 且需要传粉者。

1.2.5 访花昆虫的观察

分别在 2014 年 4 月 21 日至 29 日, 9 月 3 日至 11 日, 每次连续 9 d, 从 6: 00—19: 00 初步观察并记录所有野生牛角瓜的访花昆虫的访花行为、访问时间、单花停留时间等。观察过程中, 不定时地网捕访花昆虫, 检查它们是否携带花粉块, 并制作标本, 进行种类鉴定。

1.2.6 人工控制授粉试验

2014 年对牛角瓜花进行人工授粉和套袋试验。

①对照组: 随机选择 201 朵未开放的花进行挂牌, 不套袋, 不去雄, 检测自然条件下的结实情况。

②自交组: 选择 50 朵花, 在开花前套袋, 不去雄, 检测是否存在自交现象。

③无性融合组: 选择 50 朵花, 去雄, 开花前套袋, 检测是否存在无性融合生殖。

④人工自花授粉组: 选取 10 株植株中当天开的花, 每株 10 朵, 用解剖针小心取下花的花粉块, 选取 5 株植株, 将花粉块放置在花朵的合蕊柱柱头表面上, 并套袋; 另外 5 株, 将花粉块通过花药裂口插入柱头腔中, 并套袋, 检测自交是否亲和。

⑤人工异花授粉组: 选取 10 株植株中当天开的花当母本, 每株 10 朵, 另取一株 50 m 外健壮的植株当天开的花当父本, 用解剖针取下父本花的花粉块, 在母本植株中选取 5 株, 将花粉块放置在花朵的合蕊柱柱头表面上, 并套袋; 另外 5 株, 将花粉块通过花药裂口插入柱头腔中, 并套袋, 检测杂交是否亲和。⑥人工杂交授粉组: 选取 10 株植株中当天开的花当母本, 每株 10 朵, 另取一株白花牛角瓜 (*Calotropis procera*, 萝藦科牛角瓜属) 健壮的植株当天开的花当父本, 用解剖针取下花粉块, 选取 5 株母本植株, 将花粉块放置在花朵的合蕊柱柱头表面上, 并套袋; 另外 5 株, 将花粉块通过花药裂口插入柱头腔中, 并套袋, 检测杂交是否亲和。

上述 6 种试验处理, 等果实成熟后统计坐果率。

2 结果与分析

2.1 花期与开花进程

在元江牛角瓜野生居群中, 花期为全年, 盛花期在 3—4 月, 单花期一般为 7~8 d。伞形花序, 自下而上依次开放 (图 1, A)。在单花开放过程中, 一片花瓣先打开, 随后其余 4 片花瓣依次顺序开放 (图 1, B、C、D), 一般在上午 10: 30 左右开放, 花冠呈蓝紫色, 开花当天蜜腺即有花蜜分泌, 访花昆虫开始到访。到第 3 天下午时, 花瓣开始向外卷曲, 颜色由蓝紫色逐渐变淡 (图 1, E), 蜜腺分泌大量花蜜, 访花昆虫种类与数量均有所增加。到第 5 天下午时, 花冠颜色变为黄白色 (图 1, F), 这是单花开始衰老标志, 但仍有较多访花者到访; 到第 6 天花瓣开始卷曲萎蔫变成棕黄色 (图 1, G), 访花者数量明显减少; 一般到第 7 天整朵花脱落。受精后的花 (图 1, H) 不会立即脱落, 其花期比未受精的短, 干枯后紧包着幼果 (图 1, I)。

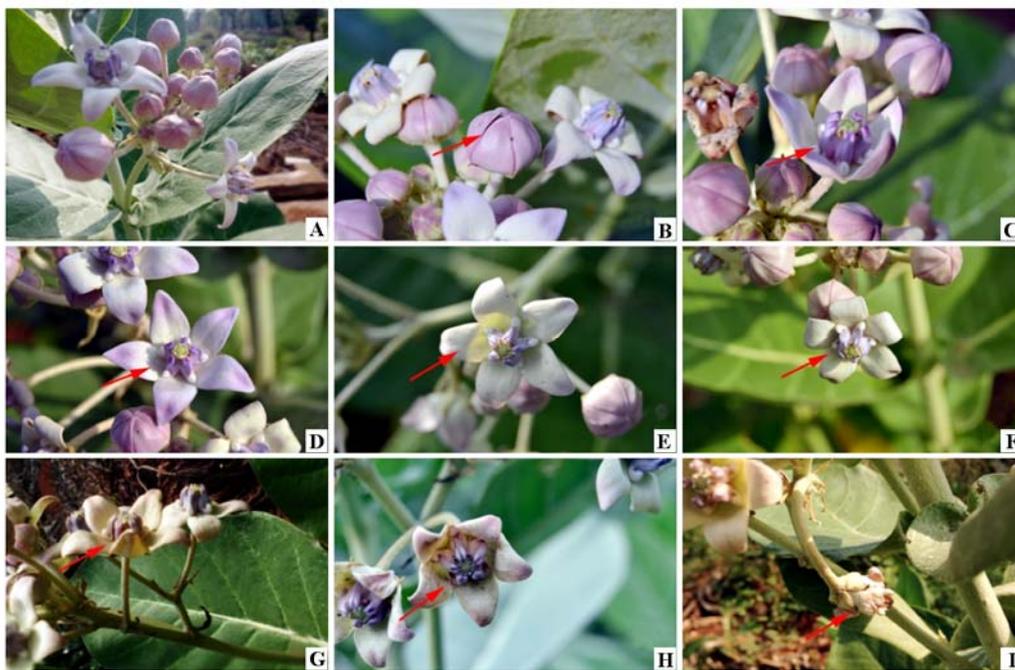


图1 牛角瓜单花开花动态

A: 呈聚伞形花序; B: 一片花瓣先松动; C: 花瓣依次打开; D: 完全打开的花, 花冠紫蓝色; E: 第3天花瓣开始向外卷曲, 紫蓝色逐渐变淡; F: 第5天花冠变为黄白色; G: 第6天即将枯萎的花; H: 受精后的花; I: 坐果后花未脱离。

Fig. 1 Flowering dynamics of *Calotropis gigantean* L.

A: Poly umbel of *Calotropis gigantean* L.; B: A petal first loose; C: Petals and then click open; D: Fully open flower, corolla color is purple blue; E: Petals start to curl outwards, violet blue gradually fades; F: Corolla color changes to yellow-white; G: Wilted flower; H: Flower after fertilization; I: Block did not fall after fruit flower.

2.2 花部综合特征

牛角瓜的花序(图2)腋生或顶生,是聚伞形花序,具有较长的总花梗。花序梗和花梗被灰白色绒毛,花梗长(3.14 ± 0.03) cm。花被由5个花萼和5个花瓣组成。花萼裂片卵圆形,内面基部具腺体,能分泌蜜汁。花冠紫蓝色,辐状,直径(3.33 ± 0.04) cm,裂片卵圆形,长(0.77 ± 0.01) cm,宽(0.27 ± 0.00) cm,急尖。牛角瓜的花最显眼的部分是副花冠,其为膜质,杯状,高(0.89 ± 0.01) cm,宽(0.18 ± 0.00) cm,从合蕊柱的基部长出且在基部包围着合蕊柱,副花冠裂片比合蕊柱高,裂片顶端内凹,基部有外卷的距,肉质(图2, A)。合蕊柱由平压状的干性柱头和雄蕊在花的中心互相愈合而成,合蕊柱呈五角形,高约(0.82 ± 0.02) cm,柱头的顶端有2裂(图2, B)。雌蕊由2枚离生心皮组成,子房上位,长(0.38 ± 0.01) cm(图2, C)。雄蕊5个,花药2室,每花药有花粉块2个,每药室藏1个,花粉块卵圆状,下垂,长(1.41 ± 0.01) mm,宽(0.59 ± 0.00) mm;相邻2药室中的2个花粉块分别通过2个花粉块柄固定在1个棕色的着粉腺上(图2, G、H)。着粉腺位于花药裂口上端,长约(0.55 ± 0.01) mm,宽(0.18 ± 0.00) mm(图2, D)。花药裂口通向柱头腔(图2, E、F)。子房内具多个胚珠(图2, I)。

在扫描电镜下,合蕊柱(图3, A)与一个传粉单元(图3, B)和花粉块放大图(图3, C)的形态。花粉粒从花粉块中萌发出花粉管(图3, D)。包裹在蜡质薄膜中的花粉粒(图3, E),花粉粒形态不一,花粉粒形态极面观呈多边形,有卵圆状(图3, E、H、I)、近方形(图3, F)、近三角状(图3, G)等。

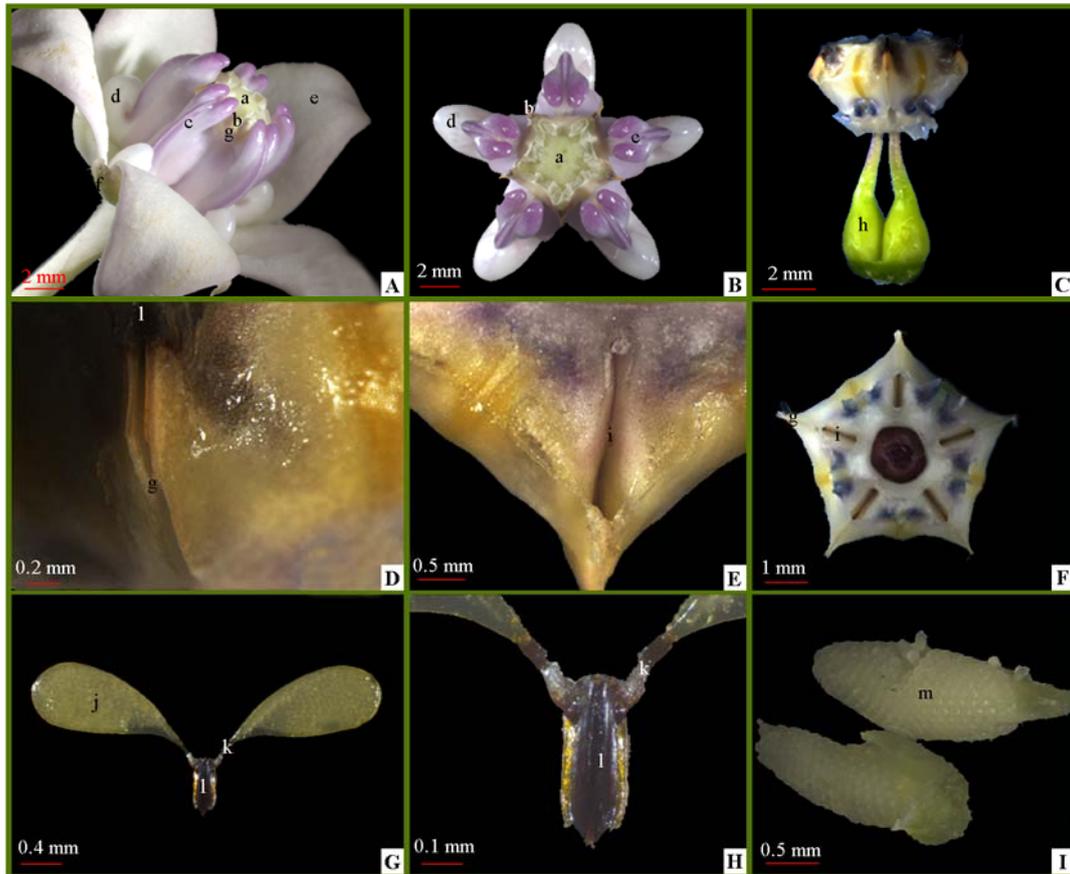


图 2 牛角瓜的花部特征

A: 开放的花朵; B: 合蕊柱; C: 两个心皮基部离生; D: 花药裂口; E: 柱头腔; F: 柱头横切面; G: 一个传粉单元; H: 着粉腺及花粉块柄放大图; I: 子房内的胚珠形态。a: 柱头; b: 花药; c: 副花冠; d: 距; e: 花瓣; f: 萼片; g: 花药裂口; h: 子房; i: 柱头腔; j: 花粉块; k: 花粉块柄; l: 着粉腺; m: 胚珠。

Fig. 2 Floral syndrome of *Calotropis gigantean* L.

A: Flower in full bloom; B: Gynostegium; C: The gynostegium consists of two pistils; D: Anther alit; E: Stigmatic chamber; F: Cross section showing the stigma; G: A pollinator unit; H: Enlarge figure of translator and corpusculum; I: Ovule of *Calotropis gigantean* L. a: Stigma; b: Anther; c: Cofona; d: Collar; e: Petal; f: Sepal; g: Anther alit; h: Pistil; i: Stigmatic chamber; j: Pollinia; k: Translator; l: Corpusculum; m: Ovule.

2.3 花粉活力与柱头可授性

花粉活力的高低以花粉离体萌发率为标准。开花当天的萌发率达到 93.11%，第 2 天、第 3 天均保持在 90% 以上，随后逐渐下降，但直到落花时花粉活力仍达到 63.12% (表 1)。

用联苯胺—过氧化氢法检验柱头的可授性，可以看出牛角瓜在整个花期都具有柱头可授性，从开花当天到第 3 天均具有强可授性，随后逐渐降低 (表 1)。

表 1 牛角瓜的花粉活力和柱头可授性

Table 1 Pollen viability and stigma receptivity of *Calotropis gigantean* L.

开花天数 Days of flowering	花粉活力/% Pollen viability	柱头可授性 Stigma receptivity
1	93.11 ± 2.88 a	+++
2	91.57 ± 4.01 ab	+++
3	90.37 ± 2.18 ab	+++
4	87.04 ± 2.05 bc	++
5	84.79 ± 1.37 c	++
6	75.64 ± 2.01 d	+
7	63.12 ± 1.39 e	+

注: +++: 强可授性, ++: 较强可授性, +: 有可授性。

Note: +++ means higher stigma receptivity; ++ means high stigma receptivity; + means normal stigma receptivity.

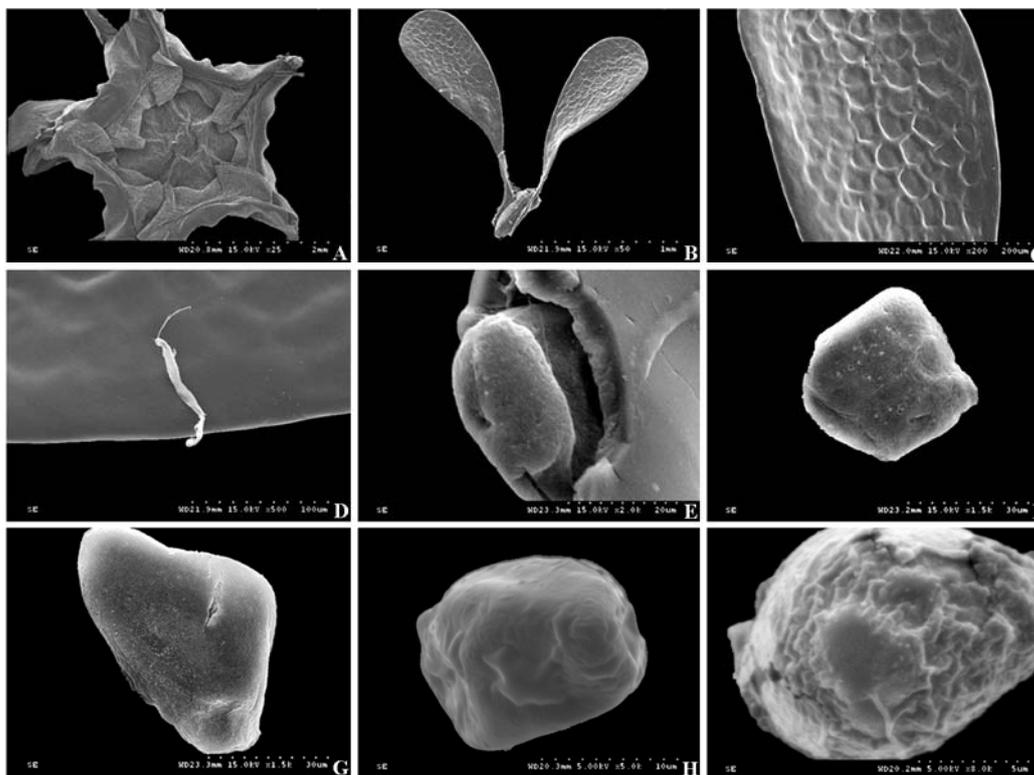


图3 合蕊柱、花粉块及花粉粒扫描电镜图

A: 合蕊柱; B: 一个传粉单元; C: 花粉块放大图; D: 花粉粒从花粉块中萌发出花粉管; E: 包裹在蜡质薄膜中的花粉粒;
F: 方形花粉粒; G: 三角状花粉粒; H、I: 卵圆形花粉粒。

Fig. 3 SEM of gynostegium, pollinia and pollen grain

A: Top view of the gynostegium by SEM; B: SEM of a pollinator unit; C: Enlarge figure of the pollinia; D: Pollen grain germination of pollinia from the pollen by SEM; E: Wrapped in waxy pollen grain in the film; F: Square pollen grain;
G: Triangle pollen grain; H, I: Oval pollen grains.

2.4 花粉管在雌蕊组织中的生长途径

花粉管在荧光显微镜下呈现强烈的黄绿色荧光。可以看到牛角瓜花粉块里的花粉最初是从柱头腔开始萌发(图4, A、B), 然后生长到花柱(图4, C), 再延伸到子房, 穿梭子房壁与外珠被之间的空间, 然后进入内珠被形成的珠孔, 经珠孔进入胚囊(图4, D)。

2.5 杂交指数(OCI)的估算

根据 Dafni (1992) 的标准, 牛角瓜花序和花朵直径均大于 6 mm, 记为 3; 牛角瓜为两性花, 花粉聚集在一起形成花粉块, 不能散落到柱头, 开花时花药低于柱头且存在隔离, 两者无法接触, 记为 1; 花粉和柱头同步成熟, 记为 0。据此, 牛角瓜的杂交指数为 4, 其繁育系统为异交为主, 部分自交亲和, 需要传粉者。

2.6 访花昆虫及其访花行为

在牛角瓜花序上观察到的访花昆虫共有 10 余种。在 4 月和 9 月, 牛角瓜花上的访花者种类有所不同, 但均以膜翅目和鳞翅目昆虫为主(表 2, 图 5)。膜翅目的昆虫在访花时, 其头部朝下, 足

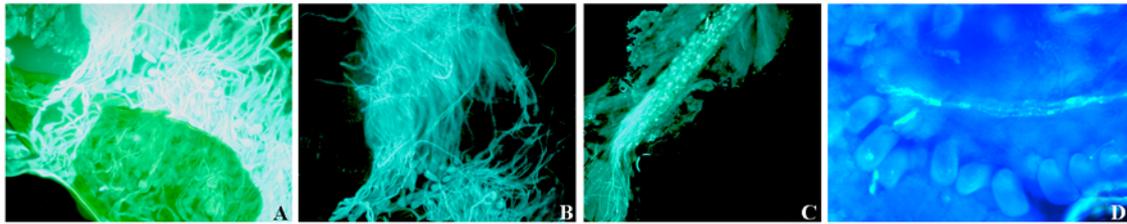


图 4 花粉管在雌蕊组织中的生长途径

A, B: 花粉在柱头腔萌发; C: 花粉管在花柱中生长; D: 花粉管在子房内生长。

Fig. 4 Pollen tube growth in the pistil tissue pathways

A, B: Pollen germination in the stigmatic chamber; C: Pollen tube growth in the style; D: Pollen tube growth in the ovary.

表 2 4 月与 9 月访花昆虫种类比较

Table 2 The variety of visitors on *Calotropis gigantean* L. flowers between April and September

月份	Mouth	膜翅目 Hymenoptera	半翅目 Hemiptera	鳞翅目 Lepidoptera
4		黑小蜜蜂 <i>Micromicrapis andreniformis</i> Smith 中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i> Fabricius 圆柄木蜂 <i>Xylocopa tenuiscapa</i> 木蜂 <i>Xylocopa</i> sp. 光亮举腹蚁 <i>Crematogaster politula</i> Forel	斑红蝽 <i>Physopelta</i> sp. 二星蝽 <i>Eysacoris guttiger</i>	玉带凤蝶 <i>Papilio polytes</i> Rothschild 青斑蝶 <i>Tirumala limniace</i> 金斑蝶 <i>Danaus chrysippus</i> 幻紫斑蝶 <i>Euploea core</i> 蛇眼蛱蝶 <i>Junonia lemonias</i> 金蛱蝶 <i>Hypolimnas missipus</i> 迁粉蝶 <i>Catopsilia pomona</i> Fabricius
9		黑小蜜蜂 <i>Micromicrapis andreniformis</i> Smith 圆柄木蜂 <i>Xylocopa tenuiscapa</i> 木蜂 <i>Xylocopa</i> sp. 光亮举腹蚁 <i>Crematogaster politula</i> Forel	斑红蝽 <i>Physopelta</i> sp. 二星蝽 <i>Eysacoris guttiger</i>	玉带凤蝶 <i>Papilio polytes</i> Rothschild 青斑蝶 <i>Tirumala limniace</i> 金斑蝶 <i>Danaus chrysippus</i> 幻紫斑蝶 <i>Euploea core</i> 蛇眼蛱蝶 <i>Junonia lemonias</i> 金蛱蝶 <i>Hypolimnas missipus</i>

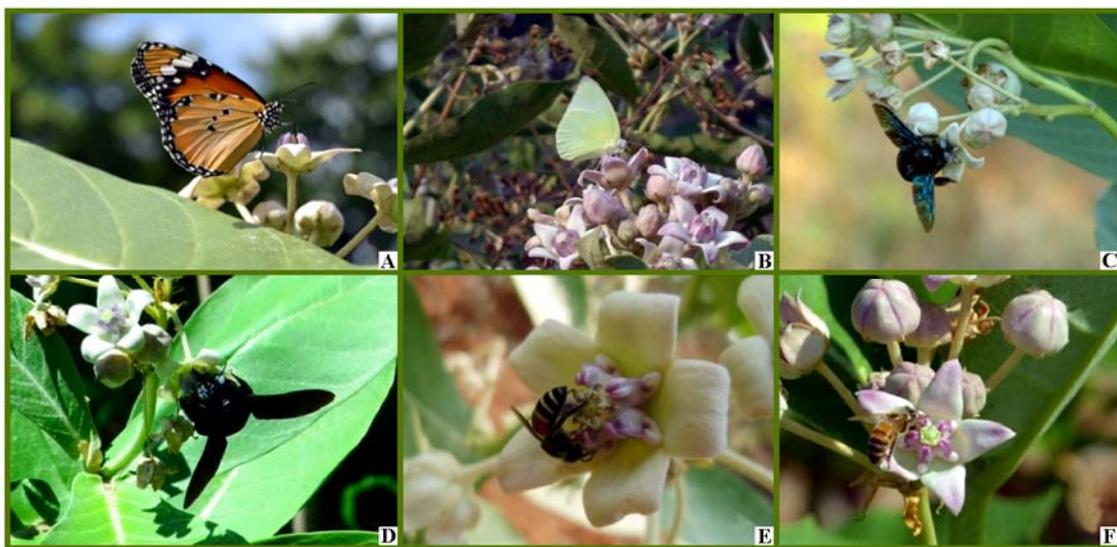


图 5 牛角瓜的主要传粉昆虫

A: 金斑蝶; B: 迁粉蝶; C: 木蜂; D: 圆柄木蜂; E: 黑小蜜蜂; F: 中华蜜蜂。

Fig. 5 The main visiting insects of *Calotropis gigantean* L.

A: *Danaus chrysippus*; B: *Catopsilia pomona* Fabricius; C: *Xylocopa* sp.; D: *Xylocopa tenuiscapa*; E: *Micromicrapis andreniformis* Smith;
 F: *Apis cerana cerana* Fabricius.

部抓在合蕊柱和副花冠上以固定身体，吸食花蜜；而鳞翅目的昆虫因其有较大的翅膀，其一般会用足部抓在合蕊柱上，用较长的喙去吸食花底部的蜜钱。

牛角瓜的访花昆虫主要有黑小蜜蜂、圆柄木蜂、木蜂、中华蜜蜂、光亮举腹蚁、迁粉蝶、金斑蝶、斑红蜻等。捕捉访花昆虫检测，黑小蜜蜂、圆柄木蜂、木蜂、中华蜜蜂、迁粉蝶、金斑蝶带有花粉块，是有效的传粉昆虫。4 月牛角瓜的访花昆虫主要以黑小蜜蜂、迁粉蝶、圆柄木蜂、木蜂为主；9 月的访花昆虫则以圆柄木蜂、木蜂为主。牛角瓜的有效传粉昆虫主要是膜翅目的黑小蜜蜂、圆柄木蜂、木蜂。

经 2014 年 4 月和 9 月调查发现：黑小蜜蜂访花集中在 10: 00—17: 00，一般在单花上停留 15~20 s；迁粉蝶访花高峰集中在 11: 00—15: 00，访花时一般在单花上停留 3~4 s；圆柄木蜂、木蜂访花集中在 9: 30—16: 40，一般在单花上停留 10 s。观察发现，天气对访花昆虫的影响很大，在阴雨天所有的访花者的数量及频率都较晴朗天气低很多，阴雨天限制了传粉昆虫的活动，进而影响了传粉的成功率。

2.7 人工控制授粉试验结果

由表 3 可以看出，牛角瓜自然坐果率很低，仅为 1.99%，人工辅助授粉后可以大幅提高坐果率，说明牛角瓜在自然条件下存在一定的传粉限制。

不论去雄与否，套袋处理的均未结果实，可以说明牛角瓜不存在自花授粉机制，也无法进行无融合生殖，在自然情况下必须依靠传粉媒介才能完成受精过程。

人工自花授粉、人工异株授粉和人工异花授粉（父本为白花牛角瓜）授予柱头表面的处理均不结果实，说明牛角瓜的花粉块在柱头表面不能够完成授粉受精过程；而人工自花授粉、人工异株授粉和人工异花授粉（父本为白花牛角瓜）将花粉块通过花药裂口插入柱头腔的处理均结有果实，说明花粉块在花药裂口内可以完成传粉受精过程，由此可以得出，牛角瓜的授粉位置不在柱头表面而在柱头腔，也可以说明其繁育系统为异交为主，部分自交亲和，验证了杂交指数的试验结果。

表 3 人工授粉试验结果

Table 3 Fruit sets of *Calotropis gigantean* L. under different pollination treatments

编号 Number	处理方式 Treatment	处理花数 Number of flowers	结果数 Number of fruits	坐果率/% Fruit set
1	不去雄，不套袋，自然授粉 Unemasculatation, unbagged, open pollination	201	4	1.99
2	不去雄，套袋，自然自花授粉 Unemasculatation, unbagged, free self-pollination	50	0	0
3	去雄，套袋，不授粉 Emasculatation, bagged, no pollination	50	0	0
4	人工自花授粉（柱头） Manual self-pollination (Stigma)	50	0	0
5	人工自花授粉（柱头腔） Manual self-pollination (Stigmatic chamber)	50	19	38.00
6	人工异株异花授粉（柱头） Manual cross-pollination (Stigma)	50	0	0
7	人工异株异花授粉（柱头腔） Manual cross-pollination (Stigmatic chamber)	50	38	76.00
8	人工异花授粉（父本为白花牛角瓜，柱头） Manual cross-pollination (Paternal for <i>C. procera</i> , stigma)	50	0	0
9	人工异花授粉（父本为白花牛角瓜，柱头腔） Manual cross-pollination (Paternal for <i>C. procera</i> , stigmatic chamber)	50	33	66.00

通过人工授粉观察, 发现受精的花比未受精的花提前枯萎, 说明未受精的花有等待传粉者的行为, 这种生殖策略可为尚未授粉的花提供更多的授粉机会, 这种现象在青阳参 (王定康 等, 2009) 和白及 (王彩霞 等, 2012) 等植物中也存在。

3 讨论

3.1 花部特征与传粉者的关系

花部特征与传粉者行为、传粉机制和植物适合度间有着内在联系。达尔文认为, 花的结构、颜色、气味和蜜汁产量多少都与传粉昆虫的生活方式相适应 (吴燕如, 2000)。传统的传粉综合征理论认为具有特殊结构 (特化) 的花往往被特定的传粉者访问, 植物与传粉者的互作在推动物种进化的同时也形成了相互适应的协同关系, 即传粉者的活动规律也与植物的花期、花的开放动态以及花的泌蜜动态等同步 (Fenster et al., 2004)。牛角瓜花朵为鲜艳的紫蓝色或紫红色, 花冠较大, 居群中大量花序同时开放, 并且能够分泌蜜汁, 这些花部特征都是适应虫媒传粉的有利特征。萝藦科的植物中, 花冠的特殊结构在引导昆虫的附属结构到花药裂口的入口处发挥重要的作用。花药裂口对于萝藦科植物有着特殊的用途。Kunze (1991) 认为花药裂口有精确捕捉花粉块和引导传粉者将花粉块通过花药裂口插入柱头腔的功能。尤其是在封闭花的种类中, 例如 *Sisyranthus* 和 *Microlooma*, 这样的导向结构是有必要的。牛角瓜的花为开放式的花朵, 通过花药裂口这一导向结构有利于昆虫将花粉块插入柱头腔中。这些花部特征都高度适应虫媒传粉机制。

一些萝藦科植物的传粉昆虫是专一的, 如青阳参 (王定康 等, 2009), 而牛角瓜的传粉昆虫种类较多。部分萝藦科植物依靠传粉昆虫的喙在吸食花蜜的过程中带出花粉块, 如 *Secamone alpinii*, *Tylophora spec.*, *Sisyranthus triflorus* 等 (Kunze, 1991), 但在捕捉的牛角瓜传粉昆虫中还未见到喙上有花粉块的现象, 均是在昆虫的足部上发现花粉块。牛角瓜花粉块通过两个花粉块柄连在上端的着粉腺上形成一个倒 V 形, 位于副花冠之间, 着粉腺高于合蕊柱, 这个特有的结构适应于昆虫的足部将其成功移出。蜜腺位于花朵最下面, 增加了昆虫的足部将花粉块插入花药裂口的机会。花药裂口本身特殊的结构有利于引导传粉者将花粉块插入其中。昆虫利用喙在花的底部采食花蜜时, 其足部通常留在合蕊柱上, 在转动位置时, 可能会伸入到花药裂口中, 传粉者离开时, 其足部会将整个花粉块从花粉囊中拔出并带走; 当其访问另一朵花时, 带有花粉块的足部可能接触到花药裂口, 通常会伴随着一个花粉块的插入。由于花药裂口的特殊结构, 中部宽两头窄, 有利于将花粉块留在柱头腔中并有固定的作用, 萝藦科有些植物如青阳参 (王定康 等, 2009) 的花药裂口处有刺毛, 当传粉昆虫离开时, 会阻挡已插入花粉块的离开, 花粉块柄断裂, 花粉块留在柱头腔中, 花粉粒在柱头腔中萌发, 花粉管进入柱头腔, 通过花柱, 最终进入子房, 一次完整的传粉过程结束。

3.2 繁育系统

按照 Dafni (1992) 建议的标准进行杂交指数 (OCI) 测定, 牛角瓜 OCI 值为 4, 说明其繁育系统为异交为主, 部分自交亲和, 需要传粉者, 人工控制授粉试验和野外访花昆虫观察结果表明牛角瓜繁育系统以异花授粉为主, 需要传粉者, 这与 OCI 测定牛角瓜繁育系统结果一致。在自然界中, 因异交有利于遗传多样性的提高, 植物通常会通过花柱异长、雌雄异熟、自交不亲和机制等多种方式来保证异株异花授粉, 以确保其后代能够拥有对环境更强的适应能力。牛角瓜的花药与柱头空间分离, 说明牛角瓜单花自交受到限制; 花粉粒聚合为花粉块, 不易被风吹走, 在自然条件下, 必须

有传粉者才能完成授粉过程；柱头表面为干性柱头，不适宜接收花粉块完成授粉等。牛角瓜的这些特征都说明其繁育系统为依靠昆虫传粉的异交为主，而自交趋向衰退。所以，牛角瓜像其他大多数萝藦科植物一样是以异交为主的植物。这与 Wyatt 和 Broyles (2000) 提出的观点相吻合。

牛角瓜自然坐果率仅为 1.99%，远低于人工授粉的结实率，说明野外牛角瓜居群存在一定的传粉限制。由于在开花过程中，牛角瓜柱头表面一直处于干燥状态，不适合授粉，结合人工授粉试验结果得出，牛角瓜授粉位置比较特殊，不在柱头表面而是花粉块通过花药裂口进入柱头腔中实现受精结实。而在萝藦科花粉块通过花药裂口进入柱头腔中完成受精并不是唯一的方式，如 *Microloma* 的花粉块很难顺应性插入花药裂口，*Microloma* 的花粉管在位于蜜腺的位置之下生长到花药裂口的入口，再生长到柱头腔中，以完成授粉 (Kunze, 1991)，这可能是 *Microloma* 的一种生殖补偿机制。本研究并未发现牛角瓜存在类似这样的生殖补偿机制。但在开花期间牛角瓜的花粉一直保有活力和具有柱头可授性，这可能与花粉块的特殊结构有关，花粉块由一层薄的膜所包裹，使其能够较长时间的保持活力 (Morse, 1987)，并能够扩散较远的距离，花粉块的活力不会随着花的衰老而迅速降低；而柱头一直具有可授性，这可能是对其的一种响应机制，是对传粉效率低下的一种适应。这也说明花粉活力和柱头可授性不是主要影响牛角瓜坐果率低的主要原因。牛角瓜雌蕊由 2 枚离生心皮组成，但在自然条件下结的果实大多数为单果，说明大多数花只有一个心皮发育成果实而另一个心皮败育，这可能与牛角瓜 5 个柱头腔、2 个离生心皮特殊结构和传粉方式有关，关于这方面的原因有待进一步研究。

植物的传粉系统由 3 个部分组成：花粉、柱头和传粉媒介 (黄双全和郭友好, 2000)。花粉活力和柱头可授性都有利于牛角瓜传粉的成功，牛角瓜自然传粉成功率低的原因可能是在花粉块到达花药裂口的这个过程。花粉块一直隐藏于花药囊中，体型较小的访花昆虫 (如光亮举腹蚁等) 没有足够的力量将其拔出，不能行使传粉的功能，在一定程度上限制了牛角瓜的传粉昆虫的种类。花药裂口与花粉块的关系类似于锁和钥匙的关系 (Holm, 1950)，只有花粉块通过花药裂口进入柱头腔中才能完成授粉，而花粉块在昆虫足部的位置并不固定，这极大的增加了传粉昆虫完成授粉的难度，所以精确插入花药裂口的成功率很低，导致牛角瓜在自然授粉的情况下坐果率也很低，有性繁殖主要受到花粉限制的影响。结合本试验研究结果，要增加牛角瓜果实产量，可在牛角瓜种植基地饲养牛角瓜的主要传粉昆虫黑小蜜蜂、圆柄木蜂、木蜂等。

References

- Asbofi A, Bahreini Z. 2009. Evaluation of *Calotropis gigantea* as a promising raw material for fiber - reinforced composite. *Journal of Composite Materials*, 43 (11): 1297 - 1304.
- Bookman S S. 1981. The floral morphology of *Asclepias speciosa* (Asclepiadaceae) in relation to pollination and a clarification in terminology for the genus. *American Journal of Botany*, 68: 675 - 679.
- Dafni A. 1992. *Pollination ecology: A practical approach*. New York: Oxford University Press.
- Endress M E, Liede-Schumann S, Meve U. 2007. Advances in Apocynaceae: The enlightenment, an introduction. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94: 259 - 267.
- Endress P K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press.
- Fallen M E. 1986. Floral structure in the Apocynaceae: Morphological, functional, and evolutionary aspects. *Botanische Jahrbucher fur Systematik*, 106: 245 - 286.
- Fenster C B, Armbruster W S, Wilson P, Dudash M R, Thomson J D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 35 (1): 375 - 403.

- Gao Zhu, Wang Xiao-ling, Ma Huan-cheng, Zhang Yin-ju, He Yu, Yu Fa-xin. 2012. Breeding technology and seedling growth rhythm of *Calotropis gigantean* L. in dry-hot valley. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 27 (4): 503 - 507. (in Chinese)
- 高 柱, 王小玲, 马焕成, 张银菊, 贺 瑜, 余发新. 2012. 干热河谷牛角瓜育苗技术及幼苗生长节律. *云南农业大学学报*, 27 (4): 503 - 507.
- He Ya-ping, Liu Jian-quan. 2003. A review on recent advances in the studies of plant breeding system. *Acta Phytoecologica Sinica*, 27 (2): 151 - 163. (in Chinese)
- 何亚平, 刘建全. 2003. 植物繁育系统研究的最新进展和评述. *植物生态学报*, 27 (2): 151 - 163.
- Hee K H, Loh C S, Yeoh H H. 2007. Early in vitro flowering and seed production in culture in *Dendrobium Chao Praya Smile* (Orchidaceae). *Plant Cell Reports*, 26 (12): 2055 - 2062.
- Holm R W. 1950. The American species of *Sarcostemma* R.Br. (Asclepiadaceae). *Ann Missouri Bot Gard*, 37: 477 - 560.
- Hu Shi-yi. 1993. Experimental methods in plant embryology (I) Determination of pollen viability. *Chinese Bulletin of Botany*, 10 (2): 60 - 62. (in Chinese)
- 胡适宜. 1993. 植物胚胎学实验方法 (一) 花粉生活力的测定. *植物学通报*, 10 (2): 60 - 62.
- Huang Shuang-quan, Guo You-hao. 2000. Advances in pollination biology. *Chinese Science Bulletin*, 45 (3): 225 - 237. (in Chinese)
- 黄双全, 郭友好. 2000. 传粉生物学的研究进展. *科学通报*, 45 (3): 225 - 237.
- Jeff O. 1997. Pollination systems in the Asclepiadaceae: A survey and preliminary analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 62: 593 - 610.
- Kattankulathur, Kancheepuram D T, Tamilnadu. 2012. Antimicrobial activity of leaves and latex extract of the herbal plant *Calotropis gigantean* (Erukku In Tamil). *IJBPAS*, 1 (3): 261 - 270.
- Kiuchi F, Fuakao Y, Maruyama T, Obata T, Tanaka M, Sasaki T, Mikage M, Haque M E, Tsuda Y. 1998. Cytotoxic principles of a Bangladeshi crude drug, akond mul (Roots of *Calotropis gigantean* L.). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*, 46: 528 - 530.
- Kumar P S, Chezhian A, Raja P S, Sathiyapriya J. 2012. Computational selections of terpenes present in the plant *Calotropis gigantea* as mosquito larvicide's by blocking the sterol carrying protein, AeSCP-2. *Bangladesh J Pharmacol*, 7 (1): 1 - 5.
- Kunze H. 1981. Morphogenese und Synorganization des Bestäubungsapparates einiger Asclepiadaceen. *Beitrage zur Biologie der Pflanzen*, 56: 133 - 170.
- Kunze H. 1991. Structure and function in *asclepiad* pollination. *Plants Systematics and Evolution*, 176: 227 - 253.
- Kunze H. 1995. Floral morphology of some *Gonolobeae* (Asclepiadaceae). *Botanische Jahrbucher fur Systematik*, 117: 211 - 238.
- Kunze H. 1996. Morphology of the stamen in the Asclepiadaceae and its systematic relevance. *Botanische Jahrbucher fur Systematik*, 118: 547 - 579.
- Lhinhatrackool T, Sutthivaiyakit S. 2006. 19-nor- and 18,20-epoxy-card-enolides from the leaves of *Calotropis gigantean*. *Journal of Nature Products*, 69 (18): 1249 - 1251.
- Li Ke-lie, Luo Lian-zhong, Chen Wei, Xu Li, Li Zhi-ying, Ma Qian-quan, Huang Bi-lan. 2007. Tissue culture of *Calotropis gigantean*. *Journal of Guangxi Agric and Biol Science*, 26 (3): 247 - 249. (in Chinese)
- 李克烈, 罗联忠, 陈 伟, 徐 立, 李志英, 马千全, 黄碧兰. 2007. 牛角瓜的组织培养. *广西农业生物科学*, 26 (3): 247 - 249.
- Li Rui, Zeng Jian-li, Wang Xiao-dong, Zhao Bing, Wang Yu-chun. 2007. Energy-produced components in *Calotropis gigantean*. *The Chinese Journal of Process Engineering*, 7 (6): 1217 - 1220. (in Chinese)
- 李 瑞, 曾建立, 王晓东, 赵 兵, 王玉春. 2007. 耐盐碱植物牛角瓜产能成分分析. *过程工程学报*, 7 (6): 1217 - 1220.
- Liede S. 1994. Some observations on pollination in Mexican Asclepiadaceae. *Madrono*, 41: 266 - 276.
- Morse D H. 1987. Roles of pollen and ovary age in follicle production of the common milkweed *Asclepias synaca*. *Oecologia*, 53: 187 - 196.
- Nart T, Poonsab S, Gritsanaruck T. 1984. The environmental implications of the use of *Calotropis gigantea* as a textile fabric. *Agriculture, Eco-system and Environment*, 11: 203 - 212.
- Ollerton J, Liede S. 1997. Pollination systems in the Asclepiadaceae: A survey and preliminary analysis. *Biological Journal of the Linnean Society*, 62: 593 - 610.
- Pauw A. 1998. Pollen transfer on bird's tongue. *Nature*, 394: 731 - 732.
- Quaquebeke E V, Simon G, André A, Dewelle J, Yazidi M E, Bruyneel F, Tuti J, Nacoulma O, Guissou P, Decaestecker C, Braekman J C,

- Kiss R, Darro F. 2005. Identification of a novel cardenolide (2-oxovorucharin) from *calotropis is procera* and the hemisynthesis of novel derivatives displaying potent *in vitro* antitumor activities and high *in vivo* tolerance: Structure-activity relationship analyses. *J Med Chem*, 48 (3): 849 - 856.
- Verhoeven R L, Venter H J T. 2001. Pollen morphology of the *Periplocoideae*, *Secamonoideae*, and *Asclepiadoideae* (Apocynaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 88: 569 - 582.
- Wang Cai-xia, Tian Min, Li Quan-jian, Liu Fen. 2012. Floral syndrome and breeding system of *Bletilla striata*. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (6): 1159 - 1166. (in Chinese)
- 王彩霞, 田敏, 李全建, 刘芬. 2012. 白及的花部特征与繁育系统. *园艺学报*, 39 (6): 1159 - 1166.
- Wang Ding-kang, Sun Gui-fang, Zhai Shu-hua, Guo Li-hong, Xiao Feng-hui. 2009. The floral syndrome and its pollination in *Cynanchum otophyllum* (Asclepiadaceae). *Acta Botanica Yunnanica*, 31 (1): 8 - 14. (in Chinese)
- 王定康, 孙桂芳, 翟书华, 郭丽红, 萧凤回. 2009. 青阳参花部特征及其传粉适应性. *云南植物研究*, 31 (1): 8 - 14.
- Wang Mao-yuan. 2008. Physiologically active constituents of *Calotropis gigantean* L. [Ph. D. Dissertation]. Haikou: Hainan University. (in Chinese)
- 王茂媛. 2008. 牛角瓜的生理活性成分研究[博士论文]. 海口: 海南大学.
- Wiemer A P, Sersic A N, Marino S, Simoes A O, Cocucci A A. 2012. Functional morphology and wasp pollination of two South American asclepiads (Asclepiadoideae - Apocynaceae). *Annals of Botany*, 109 (1): 77 - 93.
- Wu Yan-ru. 2000. *Animal Insecta Chinese*. Vol. 20. Beijing: Science Press: 21 - 44. (in Chinese)
- 吴燕如. 2000. 中国动物志昆虫纲. 第二十卷. 北京: 科学出版社: 21 - 44.
- Wyatt R. 1983. Pollinator-plant interactions and the evolution of breeding systems//Real L. *Pollination biology*. Orlando: Academy Press: 51 - 95.
- Wyatt R, Broyles S B. 1994. Ecology and evolution of reproduction in milkweeds. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25: 423 - 441.
- Wyatt R, Broyles S B. 2000. Pollen-ovule ratios in *Milkweeds* (Asclepiadaceae): An exception that probes the rule. *Systematic Botany*, 25 (2): 171 - 180.
- Wyatt R, Lypow S R. 2007. A new explanation for the evolution of pollinia and loss of carpel fusion in *Asclepias* and the *Apocynaceae* s.l. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 94: 474 - 484.

征订

欢迎订阅 2016 年《保鲜与加工》

《保鲜与加工》为中文核心期刊、中国科技核心期刊、中国农业核心期刊、中国北方优秀期刊、中国学术期刊(光盘版)收录期刊、美国《化学文摘》(CA)收录期刊、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)收录期刊、英国《食品科技文摘》(FSTA)收录期刊。据中国知网的最新统计结果,5年复合影响因子为1.234。本刊主要报道农产品保鲜与加工相关领域基础理论、新技术、新工艺、新设备、新材料的研究成果及国内外相关行业的动态与信息。主要设置专家论坛、保鲜研究、加工研究、检测分析、专题论述、技术指南、行业资讯、科普沙龙、科技前沿、政策法规等栏目。适于科技人员、农业技术推广人员、相关企业管理和技术人员、大专院校师生及广大从事保鲜与加工技术研发领域的人士参阅。

主管单位:天津市农业科学院。主办单位:国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津)。国际标准连续出版物号:ISSN 1009-6221;国内统一连续出版物号:CN 12-1330/S。邮发代号:6-146。双月刊,逢单月10日出版,单价10元,全年60元。

欢迎在全国各地邮局(所)或本编辑部订阅,欢迎广大读者踊跃投稿,并诚邀刊登各类相关广告。

通讯地址:天津市西青区津静公路17公里处,国家农产品保鲜工程技术研究中心(天津)《保鲜与加工》编辑部,邮编:300384

电话:022-27948711,联系邮箱:bxyjg@163.com,投稿平台:www.bxyjg.com