

DOI:10.11937/bfyy.201606017

两种报春苣苔属(苦苣苔科)植物传粉生物学研究

黄石连^{1,2}, 王鸥文^{3,4}, 温放^{2,4}

(1. 华南农业大学 生命科学院, 广东 广州 510642; 2. 广西壮族自治区中国科学院 广西植物研究所, 广西 桂林 541006;
3. 安徽师范大学 生命科学院, 安徽 芜湖 241000; 4. 中国苦苣苔科植物保育中心, 广西 桂林 541006)

摘要:以原产于广西阳朔的漓江报春苣苔(*Primulina lijiangensis*)和心叶报春苣苔(*P. cordata*) 2种报春苣苔属植物为试材,从开花生物学、花粉活力和柱头可授性、花粉/胚珠(P/O)比率、访花昆虫种类和访花行为、杂交指数(OCI)以及繁育系统等方面对2种报春苣苔属植物的传粉生物学进行比较研究。结果表明:2种报春苣苔属植物花期长度相近,均约45 d,心叶报春苣苔开花较早;前者单花周期短,花小,每花序花多,开花式样大;后者单花周期相对较长,花大,每花序花少,开花式样小;花粉/胚珠比率(P/O)分别为 290.85 ± 5.34 和 331.76 ± 13.08 ;二者均为雌雄异熟(雄蕊先熟),柱头和花药存在空间隔离,可以避免自花传粉,但自交亲和,需要依靠传粉媒介完成异花传粉或自花传粉,传粉者黄纹无刺蜂(*Trigona ventralis*)扮演很重要的角色,相同的传粉者在不同的物种中表现出不同的传粉行为;二者OCI指数均 ≥ 4 ,为异交型,自交亲和,不存在无融合生殖现象,自然授粉结实率均低于人工授粉结实率,前者自然结实率高于后者自然结实率,二者自然结实率差异不显著。

关键词:繁育系统;传粉生物学;漓江报春苣苔;心叶报春苣苔

中图分类号:S 682.1⁺5 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)06-0064-06

漓江报春苣苔(*Primulina lijiangensis* B. Pan & W. B. Xu)和心叶报春苣苔(*P. cordata* W. T. Wang)是2种苦苣苔科植物,二者均分布在阳朔,前者生长在漓江河岸,后者生长在石灰岩石山阴湿处,二者分布在不同的地点,分布局限^[1-4]。这2种苦苣苔科植物均属于报春苣苔属(*Primulina*),2011年基于分子生物学证据重新修订后,此属成为我国苦苣苔科植物的第一大属^[5-7]。对于此属传粉生物学研究资料较少,目前只有对光萼报春苣苔(*Primulina anachoreta*)^[8]、桂林报春苣苔(*P. guilinensis*)^[9]、黄花牛耳朵(*P. lutea*)^[10]、阳朔小花苣苔(*P. glandulosa* var. *Yangshuoensis*)、桂林小花苣苔(*P. repanda* var. *Guilinensis*)^[11]这5种植物传粉生物学的报道,主要集中在开花物候、访花昆虫种类以及访花行为、花部结构与昆虫的相互适应、繁育系统等方面。

漓江报春苣苔目前仅发现一个分布点^[4];心叶报春苣苔也已知只有一个分布点,且由于分布点附近已开发为旅游区,花期易遭人采摘,人为影响较大,目前其生存现状被评定为极危(critically Endangered, CR B2a+b (ii, iii))^[2-3]。现从开花物候、花粉柱头的生物学活性、访花昆虫种类和访花行为以及繁育系统(花粉/胚珠比率、OCI指数、套袋试验的结实率)等方面对这2种珍稀濒危植物的繁育系统和传粉生物学特性进行研究,旨在了解其开花特性、传粉系统以及繁育特征,为这2种植物的保护及引种栽培等提供科学依据,同时可以了解该属植物的传粉生物学特性,为该属该科植物的保护生物学以及居群遗传学等提供新资料。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

漓江报春苣苔的野外观察与试验地点位于广西壮族自治区阳朔县兴坪镇漓江沿岸,北纬 $24^{\circ}54'9.47''$,东经 $110^{\circ}33'19.26''$,海拔139 m;心叶报春苣苔的野外观察与试验地点位于广西壮族自治区阳朔县城周边,北纬 $24^{\circ}48'10.46''$,东经 $110^{\circ}29'43.56''$,海拔124 m。

1.2 试验材料

试验材料为漓江报春苣苔(图1-A1)和心叶报春苣苔(图1-B1)。

第一作者简介:黄石连(1989-),男,硕士研究生,研究方向为分子生物学与传粉生物学。E-mail: Shiil_Huang@163.com.

责任作者:温放(1976-),男,博士,副研究员,现主要从事植物分类与保育和园林植物等研究工作。E-mail: wenfang760608@139.com.

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31260038;31460159)。

收稿日期:2015-12-18



注:A. 漓江报春苣苔;B. 心叶报春苣苔;1. 植株;2. 黄纹无刺蜂;3. 柱头与花药位置关系测量方法;4、5. 害虫;6. 盗蜜者。

Note: A. *Primulina lijiangensis*; B. *Primulina cordata*; 1. Plant; 2. *Trigona ventralis*; 3. Method of measuring 'horizontal distance' and 'vertical distance' between stigma and anther; 4, 5. Injurious insects; 6. Nectar stealer.

图 1 2 种植物的访花者和柱头与花药位置关系测量方法

Fig. 1 Flower visitors and method of measuring 'horizontal distance' and 'vertical distance' between stigma and anther of the two species

1.3 试验方法

1.3.1 开花生物学观察 2010 年与 2011 年的 6—8 月对 2 个物种的受监测居群在其开花期间监测所有的植物,进行物候观察、记录并拍照。观察 2 种植物自然居群中各自的初花期、盛花期、末花期并记录,当个别植株开始开花时为始花期,50%以上的植株开花时为盛花期,少于 10%植株仍在开花为末花期。在盛花期随机标记 20 朵花蕾从 08:00—18:00 观察,每隔 2 h 观察其花冠裂片打开过程,在即将开放时,间隔缩短为 1 h;同时标记 15 朵即将开放的花蕾,在花冠的一侧割开一个小口(图 1-A3、B3),在割开处涂抹凡士林以免花朵感染(避免花感染而影响花的正常开放),每天 3 次观察柱头和花药的位置关系变化,直至萎蔫。标记 10 朵即将开放的花蕾,不做任何处理,观察花冠开放动态,从花冠开始开放到花冠脱落记录单花周期。同时,随机选取 15 朵盛开的花观察并测量萼片长度、花冠长度、花筒中部直径、花筒中部高度、花筒口部直径、花筒口部高度、上唇裂片长度、下唇裂片长度、雌蕊长度、柱头长度、雄蕊长度、花药长度。

1.3.2 花粉活性与柱头可授性检测 花粉活性采用 MTT 法测定^[12],将新鲜适量的花粉置于载玻片上待检,同时用经过高温烘烤杀死的花粉样品作对照。取少量 37℃ 预热的 MTT 溶液混入花粉样品中,充分混匀,静置风干后再重复置 1 次,干后在显微镜下观察并统计着色花粉粒和未着色的花粉粒数目(每片花粉数>500 粒,重复 10 朵花)。若花粉变蓝黑色则表明有活力,若无变化或黄褐色则表明为无活性。柱头可授性采用 3% 的双氧水(H_2O_2)检测法^[13]:将新鲜柱头(30 朵花)完全浸泡在 3% 的双氧水反应液中,如果柱头具可授性则有气泡产生,否则无气泡产生。每个物种标记 50 朵花蕾,每天记录开花情况,并且按照花蕾期、开花第 1 天、开花第 2 天等每个阶段采集 5~7 朵花,记录花粉活性和柱头可授性的变化情况。

1.3.3 花粉/胚珠比率(P/O)测定 1)每个物种随机选择 2 个居群各 10 株植株,每株上选择花朵发育正常的花蕾(花朵裂片未打开以保证花药不曾开裂与散粉),用 FAA 固定后带回实验室备用。小心取出花药,用 1.0 mol/L 的 HCl 软化花药壁,在显微镜下解剖花药,用解剖针小心将花药内壁内的花粉粒小心全部剥离并将所有花粉移入 1 个 1 mL 的离心管内,小心定容到 1 mL,多次震荡均匀后用移液枪吸取 1 μ L 的花粉液于载玻片上,每个花药共制作 10 个同样的载玻片以供观察,在光学显微镜下仔细统计花粉数量;2)将子房置于载玻片上,在解剖镜下细心解剖开子房,并将胚珠从胎座中解出,观察并计数统计;3)每朵花的花粉/胚珠比率由花药中的花粉总数除以该花药所在的花朵的子房中的胚珠

数而得出。

1.3.4 访花昆虫种类和访花行为的观察 传粉昆虫的行为观测选择在 2010 年与 2011 年的 7、8 月 2 种物种的盛花期进行。在 06:30—19:00 的时间段内利用样方法和追踪法^[14],同时利用数码摄影机拍摄昆虫访花和飞行过程^[15-17],持续记录 5 d,实时记录昆虫访花时间、昆虫数量、昆虫种类、停留时间、同一昆虫在同一时间段内访问的花朵数量等数据,详细描述昆虫的访花行为,访花频率使用 times flower/min 表示。根据昆虫的访花行为,如接触花药及柱头等,判定该类昆虫是否为有效的传粉者。昆虫捕捉后迅速置于 95%乙醇溶液中,杀死制成标本,带回鉴定。

1.3.5 漓江报春苣苔和心叶报春苣苔的杂交指数(OCI)观测 OCI 由 3 个花部特征决定^[13]:1)单花或头状花序直径。分成 4 个等级, ≥ 1 mm 计为 0;大于 1 mm 小于等于 2 mm 计为 1;大于 2 mm 小于等于 6 mm 计为 2; > 6 mm 计为 3。2)花药开裂和柱头可授性在时间上可能是不一致的。雌雄蕊同熟和雌蕊先熟计为 0,雄蕊先熟计为 1;3)柱头和花药在空间上的相对位置。假如柱头和花药在同一个水平位置,二者间有可能接触计为 0,假如二者在空间上存在隔离,不能接触,计为 1。累计分值:OCI=0,为闭花授精型(cleistogamy);OCI=1,为专性自交型(obligate autogamy);OCI=2,为兼性自交型(facultative autogamy),有一定异交可能;OCI=3,为兼性异交型(facultative xenogamy),自交亲和,但假如雌雄异熟则趋向于雌蕊先熟,这类型的植物常产生蜜汁,部分种需要传粉者;OCI ≥ 4 ,为异交型(xenogamy),部分自交亲和,异交,多数种要传粉者。

1.3.6 繁育系统 在花冠裂片未张开前,随机选择位于不同花序上的花朵进行不同的处理,人工授粉时间均在花冠裂片张开后的第 4 天进行,(A)自然授粉(对照):不做任何处理,挂牌至试验结束,用于检测自然条件下的传粉状态;(B)人工同株异花授粉:在花开之前去雄套袋,花开后用同株成熟开放散粉的花进行人工授粉,并于授粉后套袋,检测自交亲和性;(C)人工异株异花授粉:花开套袋,观察到花冠裂片全部自然张开时去除花药,使用同一居群 10 m 以外的个体花药人工授粉,套袋,用于检测是否杂交亲和;(D)无处理套袋:花冠裂片打开前套袋,直至花凋落,检测是否需要传粉者;(E)去雄套袋:花冠裂片张开前将花冠打开,仔细去雄,勿伤害到雌蕊,套袋,用于检测是否存在无融合生殖;(F)去雌套袋:花冠打开前将花冠打开,仔细去掉柱头部分,套袋,与(E)一样,用于检测是否存在无融合生殖;(G)去花冠不套袋:在蕾期即去除花冠,不套袋,自由传粉,用于检测花冠对结实的贡献程度。由于居群内的数量均不多,以上每一个处理方法均为随机选择 10 个单株,每个

单株选 6 朵花进行标记,每个处理共有 60 朵花。

1.4 数据分析

使用 Excel 和 SPSS 19 统计分析软件中的 One Way ANOVA 和 Post Hoc Tests LSD 分析繁育系统处理 2 个物种居群内结实率差异,统计数据用平均值±标准误差表示。图用 Origin Pro 8 绘制。

2 结果与分析

2.1 开花生物学特性

2.1.1 开花物候及花的综合特征 漓江报春苣苔的始花期为 6 月底至 7 月初,花期结束在 8 月中旬至 8 月底,

表 1

漓江报春苣苔和心叶报春苣苔花部特征比较

Table 1

Comparison of floral syndrome of *Primulina lijiangensis* and *Primulina cordata*

mm

物种 Species	萼片 Sepal	花冠 Corolla	花筒中部直径 Diameter of middle of corolla	花筒中部高度 Height of middle of corolla	花筒口部直径 Diameter of mouth of corolla	花筒口部高度 Height of mouth of corolla
漓江报春苣苔 <i>Primulina lijiangensis</i>	12.92±0.40	26.72±0.50	2.61±0.14	2.92±0.13	3.43±0.10	4.34±0.16
心叶报春苣苔 <i>Primulina cordata</i>	17.85±0.67	55.53±2.10	9.96±0.48	11.73±0.61	12.26±0.40	12.68±0.71
物种 Species	上唇裂片 Adaxial lip	下唇裂片 Abaxial lip	雌蕊 Pistil	柱头 Stigma	雄蕊 Stamen	花药 Anther
漓江报春苣苔 <i>Primulina lijiangensis</i>	8.87±0.39	13.87±0.48	17.94±0.90	0.69±0.09	16.97±0.37	2.46±0.12
心叶报春苣苔 <i>Primulina cordata</i>	13.47±0.80	17.03±0.98	36.47±1.66	3.67±0.25	30.71±1.01	5.73±0.11

2.1.2 开花动态 花开放时间不固定,开花时下唇左或右裂片先展开(多数为左裂片先展开),另外一个裂片后展开,下唇中间裂片展开后,上下唇瓣分离,花即开放。心叶报春苣苔雌蕊在花蕾期短于雄蕊,柱头在花药后方,开花后花药基本上停止生长,而雌蕊继续伸长,第 2 天时雌蕊长度超过雄蕊,柱头位于花药前方,雌蕊在伸长的同时,花柱上部、柱头开始向内折,少数甚至内折至花药后方,在第 4 天左右时,雌蕊不再生长。漓江报春苣苔雌雄蕊生长动态与心叶报春苣苔类似,在第 1 天或第 2 天时柱头经过花药上方,此时柱头已有可授性,但是花药开裂的位置在下面,可避免自花授粉,在第 3 天或第 4 天时雌雄蕊都停止生长,柱头位于花药前下方或下方,此时柱头的可授面背对着花药,同时避免了自花授粉。

2.2 漓江报春苣苔和心叶报春苣苔的花粉活性和柱头可授性变化

漓江报春苣苔和心叶报春苣苔在开花前花粉均有较强的活力,漓江报春苣苔花粉活力在开花第 2 天达到峰值,随后急剧下降,到第 3 天或第 4 天已经很难从花药中收集到花粉;而心叶报春苣苔在开花前 1 d 活力达到峰值,一直持续到开花第 2 天,第 3 天开始下降,第 4 天降到低谷,从第 4 天开始,只能从花药中收集少量的花粉。在花粉活力急剧下降前,花粉被外界和自身的各种因素移出花药,从一个方面实现花粉利用效率的最大化。

漓江报春苣苔和心叶报春苣苔在开花前均未发现

整个花期长约 45 d,其中盛花期长约 20 d,单花周期为 4~6 d;心叶报春苣苔的始花期为 6 月下旬,花期结束在 7 月底至 8 月初,整个花期长约 45 d,其中盛花期长约 20 d,单花周期为 6~8 d。从表 1 可以看出,2 个物种上唇瓣较下唇瓣小,心叶报春苣苔较漓江报春苣苔花各部大,花筒直径差异可以直观的猜测出二者传粉昆虫体型的差异。漓江报春苣苔和心叶报春苣苔均为多年生草本,叶基生,草质;花冠 5 裂;花期 7—8 月。漓江报春苣苔花较小,每花序花数较多,单花周期较短,但二者居群花期和居群盛花期长度相近。

柱头有可授性,前者在开花第 1 天开始约 80% 花的柱头具可授性,在开花后保持可授性,直至柱头上落有花粉;后者在开花第 1 天约 30% 花的柱头具有可授性,在开花后第 2 天开始 90% 以上花的柱头具有可授性。

2.3 漓江报春苣苔和心叶报春苣苔的花粉/胚珠比率

漓江报春苣苔单花的花粉量为 $(2.04 \pm 0.03) \times 10^5$,胚珠数为 715.52 ± 10.70 ,花粉/胚珠比率(P/O)为 290.85 ± 5.34 ;心叶报春苣苔单花的花粉量为 $(3.25 \pm 0.07) \times 10^5$,胚珠数为 $1\,008.55 \pm 18.10$,花粉/胚珠比率(P/O)为 331.76 ± 13.08 。

2.4 访花昆虫和访花行为

2 种植物的主要有效传粉者为黄纹无刺蜂(*Trigona ventralis*) (图 1-A2、B2),由于花大小不同,同样的传粉者在不同的植物中表现出不一样的访花行为。漓江报春苣苔花较小,传粉者降落在花瓣下唇裂片上,爬行进入花筒的时候背部会碰到的是下弯的柱头,接着从 2 个花丝之间穿过寻找花蜜,此时花药被外力影响而开裂,花粉下落到传粉者的背部,当传粉者访问下朵花时,背部碰到柱头完成传粉过程;除了花蜜是访花报酬外,花粉也是另外一种报酬,传粉者采集花粉时会从下方抱着花药转动,花药开裂花粉下落到传粉者胸腹部以及腿部,柱头在距离花药不远处,由于传粉者的移动,可使之完成自花传粉,当访问下一朵花时完成异花传粉。心叶报春苣苔花较大,当传粉者着落在下唇瓣爬行进入花筒时背部不会碰到柱头,穿过 2 个花丝之间或从花丝一侧进入花筒底部寻找花蜜,即使花粉落到传粉者背部,当访

问下一朵花时也不会完成传粉行为;完成传粉的过程主要发生在传粉者采集花粉时。此外,在心叶报春苣苔中发现有较多的花蜜,而在漓江报春苣苔中未发现花蜜或花蜜极少难以观察以及收集。

在二者中均有其它访花者发现,在心叶报春苣苔中发现有灰蝶科(Lycaenidae sp.)、蜗牛科(Fruticicolidae sp.)等,在野外观察期间发现它们并不是有效传粉者,灰蝶主要吸食花蜜(图 1-B6),蜗牛和尺蠖及蛾类幼虫常以花冠为食(图 1-A4、B4、B5),在取食花冠过程中偶尔会造成传粉效应,但对花冠的严重破坏往往会影响到居群的结实率。此外蜗牛和蛞蝓类常以营养丰富的花粉为食,在取食花粉的过程中偶尔会造成传粉效应,但在大多数情况下仍然是该种报春苣苔传粉过程的打断者或破坏者,该现象在广西植物研究所和中国苦苣苔科植物保育中心(Gesneriad Conservation Center of China, GCCC)的

表 2

漓江报春苣苔和心叶报春苣苔的杂交指数

Table 2

Out-crossing index of *Primulina lijiangensis* and *Primulina cordata*

物种 Species	花朵直径 Diameter of flowers	花药散粉与柱头可授期时间间隔 Temporal separation of anther dehiscence and stigma acceptability	柱头与花药的空间间隔 Spatial positioning of stigma and anthers	OCI 值 OCI value	繁育系统类型 Type of breeding system
漓江报春苣苔 <i>Primulina lijiangensis</i>	2.61 mm=2	雄蕊先熟=1 protandry=1	=1	4	异交型(Xenogamy),部分自交亲和的异交型
心叶报春苣苔 <i>Primulina cordata</i>	9.96 mm=3	雄蕊先熟=1 protandry=1	=1	5	异交型(Xenogamy),部分自交亲和的异交型

表 3

漓江报春苣苔和心叶报春苣苔的套袋试验结实率统计

Table 3

Bagged test results (fruit setting percentage) of *Primulina lijiangensis* and *Primulina cordata*

%

物种 Species	生境 Habitat	处理 Treatment							去花冠 Corolla moved
		自然授粉 Open pollination (CK)	无处理套袋 Bagged, no emasculation	去雄套袋 Bagged and emasculation	去雌套袋 Bagged and stigma cut	人工同株异花授粉 Artificial geitonogamy	人工异株异花授粉 Artificial xenogamy	去花冠 Corolla moved	
漓江报春苣苔 <i>Primulina lijiangensis</i>	崖壁下 洞穴内及周边	65.00±0.06a	6.67±0.03a	0	0	66.67±0.06a	80.00±0.06a	1.67±0.02a	
心叶报春苣苔 <i>Primulina cordata</i>	崖壁下 洞穴内及周边	66.67±0.08a	5.00±0.02a	0	0	75.00±0.04b	72.5±0.05a	5.00±0.02b	
		56.67±0.07a	5.83±0.02a	0	0	65.00±0.04c	85.00±0.04a	5.00±0.02a	
		46.83±0.08a	6.67±0.02a	0	0	71.67±0.05a	81.75±0.05a	3.33±0.02a	

3 讨论

3.1 开花动态与繁育系统

二者花刚开放时花粉活性已经很高,粘连的花药在无外力的情况下不会开裂,而此时柱头可授性很低;随着花的继续开放,柱头慢慢伸长,同时活性增强,当伸长到花药上方时,花粉活性和柱头可授性均较高,但花药开裂位置位于下方,此时柱头和花药空间上不可接触;柱头继续生长超过花药长度,位于花药前方,柱头方向也由原来的水平方向变为垂直方向,此时是柱头接受传粉者携带花粉的最好时期,此时柱头和花药空间上不可接触;当长时间无异花花粉落到柱头上时,此时柱头会向内弯曲,至花药下方,但柱头可授面背对着花药裂口,而且此时花药中只能收集到很少的花粉。这些动态都是为了防止自花授粉的发生,也可以从无处理套袋试验结果中得出,二者自花授粉的几率很低。

苗圃中也有观察到。

2.5 杂交指数(OCI)观测

从表 2 可以看出,2 种报春苣苔属植物的杂交指数均大于或等于 4,为异交型,部分自交亲和,异交,需要传粉者。

2.6 繁育系统

2 种报春苣苔属植物的繁育系统比较情况详见表 3。二者自然授粉结实率均低于人工授粉结实率,漓江报春苣苔自然授粉结实率高于心叶报春苣苔;无处理套袋结实,说明无传粉者的情况下,也会发生传粉,不过几率很低;去雌套袋、去雄套袋无结实,说明二者不存在无融合生殖现象;去花冠处理结实率低,说明花冠对传粉过程的贡献很大;2 个物种自然授粉结实率、去花冠结实率、人工异株异花授粉结实率差异不显著。

3.2 开花式样大小、花部结构、传粉媒介与繁育系统

开花式样大小是对开花数目的描述,是开花式样中最为表观的特征,对植物繁育系统的影响主要是通过影响传粉者吸引,进而影响花粉散布来达到^[18]。一般来说,开花式样大能吸引更多的传粉者访花^[19-21],从而导致较高的坐果和花粉输出率^[22]。

漓江报春苣苔开花式样大,花冠颜色较深,但花小,单花花粉量少,未发现花蜜,由于每朵花提供给传粉者的报酬较少,单花停留时间较短,传粉者会通过访问更多的花来收集到足够的报酬,使得访花频率增高;心叶报春苣苔开花式样小,花大,使得小的传粉者有足够的空间在花内寻找食物,而不用碰触到柱头,但是心叶报春苣苔单花花粉量大,花蜜较多,报酬的增多延长了传粉者的单花停留时间,使传粉者有足够的空间和时间进行不同的传粉行为,最终完成传粉过程。从表 3 可以看出,漓江报春苣苔的自然结实率高于心叶报春苣苔,从

一个方面证实了开花式样大吸引更多的传粉者,进而导致较高的坐果率,近年来人们发现开花式样大小对传粉者的影响与开花背景,如植株密度有一定的关系^[20],而漓江报春苣苔植株密度要比心叶报春苣苔植株密度大,也是一种吸引昆虫的辅助手段。所以,开花式样大小与环境因素和植株自身其它因素相结合影响传粉者传粉。

参考文献

- [1] 王文采,潘开玉,李振宇. 中国植物志(第 69 卷)[M]. 北京:科学出版社,1990:125-131,476-482.
- [2] 韦毅刚. 华南苦苣苔科植物[M]. 南宁:广西科学技术出版社,2010:284-390.
- [3] 王印政,李振宇. 中国苦苣苔科植物[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2004:171-200.
- [4] XU W B, PAN B, HUANG Y S, et al. *Chirita lijiangensis* (Gesneriaceae), a new species from limestone area in Guangxi, China [J]. Ann Bot Fennici, 2011, 48: 188-190.
- [5] WANG Y Z, MAO R B, LIU Y. Phylogenetic reconstruction of *Chirita* and *Allies* (Gesneriaceae) with taxonomic treatments[J]. Journal of Systematics and Evolution, 2011, 49: 50-64.
- [6] WEBER A, MIDDLETON D J, FORREST A. Molecular systematics and remodelling of *Chirita* and associated genera (Gesneriaceae)[J]. Taxon, 2011, 60: 767-790.
- [7] WEBER A, CLARK J L, MÖLLER M. A new formal classification of Gesneriaceae[J]. Selbyana, 2013, 31: 68-94.
- [8] 何禾. 光萼唇柱苣苔繁殖生态学[D]. 广州:华南师范大学, 2008.
- [9] 蒲高忠, 潘玉梅, 唐赛春, 等. 桂林唇柱苣苔传粉生物学及生殖配置研究[J]. 植物研究, 2009, 29(2): 169-175.
- [10] 唐赛春, 蒲高忠, 潘玉梅, 等. 黄花牛耳朵(苦苣苔科)的传粉生物学研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2009, 17(4): 328-333.
- [11] 温放, 符龙飞, 韦毅刚. 两种广西特有报春苣苔属(苦苣苔科)植物传粉生物学研究[J]. 广西植物, 2012, 32(5): 571-578.
- [12] RODRIGUEZ-RIANO T, DAFNI A. A new procedure to assess pollen viability[J]. Sex Plant Reprod, 2000(12): 242-244.
- [13] DAFNI A. Pollination Ecology: A Practical Approach[M]. Oxford: Oxford University Press, 1992: 1-250.
- [14] 龚燕兵, 黄双全. 传粉昆虫行为的研究方法探讨[J]. 生物多样性, 2007, 15(6): 576-582.
- [15] STRICKLER K. Specialization and foraging efficiency of solitary bees [J]. Ecology, 1979, 60: 998-1009.
- [16] WASER N M, PRICE M V. The effect of nectar guides on pollinator preference: experimental studies with a montane herb[J]. Oecologia, 1985, 67: 121-126.
- [17] CATAR R V. A test of risk-sensitive foraging in wild bumble bees[J]. Ecology, 1991, 72: 888-895.
- [18] 唐璐璐, 韩冰. 开花式样对传粉者行为及花粉散布的影响[J]. 生物多样性, 2007, 15(6): 680-686.
- [19] BUIDE M L. Pollination ecology of *Silene acutifolia* (Caryophyllaceae) floral traits variation and pollinator attraction [J]. Annals of Botany, 2006, 97: 289-297.
- [20] MAKINO T T, OHASHI K, SAKAI S. How do floral display size and the density of surrounding flowers influence the likelihood of bumble bee revisitation to a plant? [J]. Functional Ecology, 2007, 21: 87-95.
- [21] STEPHENSON A G. An evolutionary examination of the floral display of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae)[J]. Evolution, 1979, 33: 1200-1209.
- [22] ISHII H S, SAKAI S. Temporal variation in floral display size and individual floral sex allocation in racemes of *Nartheicum asiaticum* (Liliaceae) [J]. American Journal of Botany, 2002, 89: 441-446.

Pollination Biology Research of Two *Primulina* Species (Gesneriaceae)

HUANG Shilian^{1,2}, WANG Ouwen^{3,4}, WEN Fang^{2,4}

(1. College of Life Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong 510642; 2. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and the Chinese Academy of Science, Guilin, Guangxi 541006; 3. College of Life Sciences, Anhui Normal University, Wuhu, Anhui 241000; 4. Gesneriad Conservation Center of China, Guilin, Guangxi 541006)

Abstract: Pollination and breeding system of two species of *Primulina* (Gesneriaceae), *P. lijiangensis* B. Pan & W. B. Xu and *P. cordata* W. T. Wang, native to Yangshuo, Guangxi, were compared in this study. Flowering biology, pollen activity and stigma receptivity, P/O value, flower visitors and their behavior, outcrossing index (OCI), and breeding system were determined. The results showed that the duration of the flowering period of two species was about 45 days, the latter one bloom earlier, the former had a shorter single flower period, smaller flower and more flowers in one inflorescence; the mean P/O value was respectively 290.85 ± 5.34 and 331.76 ± 13.08 . The two species were protandrous and there was spatial separation between stigma and anthers, these could prevent self-pollination, but self-compatibility. Pollinator (*Trigona ventralis*) played a very important role in the process of pollination, the same pollinator had different behavior in different species. Their $OCI \geq 4$, xenogamy, self-compatibility, there were no agamospermy, natural setting lower than artificial setting rate, the former species's natural setting was higher than the lateral one. No significant difference in the natural pollination maturing rate of the two species was found.

Keywords: breeding system; pollination biology; *Primulina lijiangensis*; *Primulina cordata*