

热带亚热带植物学报
Journal of Tropical and Subtropical Botany
ISSN 1005-3395, CN 44-1374/Q

《热带亚热带植物学报》网络首发论文

题目：植物园迁地保护环境下纹瓣兰的繁殖生物学研究
作者：施嘉雯，钱永辉，罗艳，李青青
收稿日期：2022-12-08
网络首发日期：2023-06-09
引用格式：施嘉雯，钱永辉，罗艳，李青青. 植物园迁地保护环境下纹瓣兰的繁殖生物学研究[J/OL]. 热带亚热带植物学报.
<https://kns.cnki.net/kcms2/detail/44.1374.q.20230608.1045.002.html>



网络首发：在编辑部工作流程中，稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定，且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式（包括网络呈现版式）排版后的稿件，可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定；学术研究成果具有创新性、科学性和先进性，符合编辑部对刊文的录用要求，不存在学术不端行为及其他侵权行为；稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准，正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性，录用定稿一经发布，不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容，只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认：纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊（光盘版）》电子杂志社有限公司签约，在《中国学术期刊（网络版）》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版，以单篇或整期出版形式，在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊（网络版）》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物（ISSN 2096-4188，CN 11-6037/Z），所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

植物园迁地保护环境下纹瓣兰的繁殖生物学研究

施嘉雯^{1,2}, 钱永辉³, 罗艳², 李青青^{1,4*}

(1. 西南林业大学生命科学学院, 昆明 650224; 2. 中国科学院东南亚生物多样性研究中心和中国科学院西双版纳热带植物园综合保护中心, 云南 勐腊 666303; 3. 普洱学院生物与化学学院, 云南 普洱 665000; 4. 昆明翔昊科技有限公司, 昆明 650204)

摘要: 深入了解濒危物种的繁殖特性, 能为物种制定有效保护策略提供科学依据。该文于 2022 和 2023 年对中国科学院西双版纳热带植物园迁地保存的纹瓣兰(*Cymbidium aloifolium*)的繁殖生物学特征进行了观察和研究, 主要包括开花物候、繁育系统、花部形态特征、昆虫传粉特征以及花的挥发性成分等。结果表明, 纹瓣兰的盛花期在 4 月中旬, 单花花期 7 d; 群体花期约为 36 d。花粉活力在开花第 1 天时最高, 约为 47.15%, 之后呈下降趋势。柱头在整个单花期一直具可授性, 开花第 2 天可授性最强。人工授粉实验表明纹瓣兰自交亲和, 不存在无融合生殖和自动自花授粉, 繁育系统属于兼性异交繁育并依赖传粉者, 自然结实率较低为 6.9%。唇瓣的先端和基部的表皮细胞分别为锥形和指状突起, 基部的指状突起细胞外附着有油脂颗粒, 可能是传粉者的报酬。药帽黄色, 其表皮细胞为锥形细胞, 能够反射光线, 可能起到吸引昆虫的作用, 中华蜜蜂(*Apis cerana*)是纹瓣兰唯一的有效传粉昆虫。纹瓣兰的挥发性气味中(*E*)-乙酸-2-癸烯-1-醇酯含量最高。因此, 纹瓣兰的花部结构与传粉昆虫具有显著的适应性。

关键词: 迁地保护; 纹瓣兰; 花部特征; 繁育系统; 传粉特征; 中华蜜蜂

doi: 10.11926/jtsb.4764

Reproductive Biology of *Cymbidium aloifolium* (Orchidaceae) Under *ex situ* Conservation in Botanical Garden

SHI Jiawen^{1,2}, QIAN Yonghui³, LUO Yan², LI Qingqing^{1,4*}

(1. School of Life Science, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China; 2. Southeast Asia Biodiversity Research Institute, Chinese Academy of Sciences & Center for Integrative Conservation, Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla 666303, Yunnan, China; 3. School of Biological and Chemical Science, Puer University, Puer 665000, Yunnan, China; 4. Kunming Xianghao Technology Co. Ltd., Kunming 650204, China)

Abstract: Effective conservation strategies require an in-depth understanding of reproductive characteristics of plants. The reproductive biology of *Cymbidium aloifolium* was investigated in Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences in 2022 and 2023, including flowering phenology, breeding system, flower morphology, pollination characteristics and flower volatile components. The results showed that *C. aloifolium* flowers began to bloom during mid-April. An individual flower and the population of *C. aloifolium* lasted 7 and 36 days, respectively. The pollen viability peaked at 47.15% on the first day of flowering, and then decreased. The stigma remained receptive throughout the single flowering period, reaching peak on the second day. The breeding system was facultative outcross breeding and dependent on pollinators, and the natural seed setting rate was 6.9%. The epidermal cells at the apex of the labellum and at the base of the labellum were conical and fingerlike protuberances, respectively. The fingerlike protuberances at the base had oil particles attached outside the cells, which might be the reward of pollinators. The yellow cap had cone-shaped cells that reflect light and may attract insects. *Apis cerana* was the only effective pollinator of *C. aloifolium*. The content of (*E*)-2-decenyl acetate was the highest in the floral volatile odor of *C. aloifolium*. Therefore, it was suggested that the floral structure of *C. aloifolium* had significant adaptability to pollinators.

Key words: *Ex situ* conservation; *Cymbidium aloifolium*; Floral trait; Breeding system; Pollination character; *Apis*

收稿日期: 2022-12-08 接受日期: 2023-05-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(31860624, 32270225)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31860624, 32270225).

作者简介: 施嘉雯(1999年生), 女, 硕士研究生, 研究方向为发育生物学。E-mail: 657372700@qq.com

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

由于环境变化和人类活动的影响使得全球生物多样性维持和恢复能力大为下降,生物多样性保护成为了当前社会的重要课题。就地保护和迁地保护是生物多样性保护的两个重要措施,迁地保护是其中很重要的一个部分。许多野生植物所处的生境都遭到严重破坏,迁地保护成为防止濒危物种灭绝的有效保护手段^[1]。植物园是迁地保护的重要场所。繁殖是物种及其种群生存繁衍的过程,保证了生命的延续,并通过有性生殖产生了遗传多样性适应环境变化^[2]。成功培育和保护植物,必须了解其繁殖生物学,确保植物在迁地保护环境中能繁殖成功,这是评价迁地保护是否成功的基本标准^[3-5]。利用植物园的保育条件及科学技术手段,对珍稀濒危植物开展繁殖生物学方面的研究,包括开花生物学特征、繁育系统、有效传粉者等,才能有效地构建濒危植物的保护策略。

兰科是被子植物多样性最高的科,全世界约有 750 属,约 28 000 种^[6]。所有的野生兰科植物均被列入《野生动植物濒危物种国际贸易公约》的保护范围,是植物保护的旗舰类群^[7]。兰属(*Cymbidium*)是我国最重要的观赏兰,也称国兰,在中国具有上千年的栽培历史,是我国的十大花卉之一^[8]。兰属植物全世界约有 57 种,我国记载 57 种,其中 19 种为中国特有^[9]。兰属植物可以分为 3 亚属:兰亚属(subg. *Cymbidium*)、大花亚属(subg. *Cyperorchis*)和建兰亚属(subg. *Jensoa*)^[10]。在全球气候变化以及人类活动的影响下,兰属植物的生境遭到破坏,野生资源被过度采挖,迫切需要保护。目前兰属全部种类已列入我国重点保护野生植物名录中,其中 I 级保护 2 种,其他均为 II 级保护。我国兰属植物资源丰富,是迁地保护中的关键类群,成为全国各植物园及兰花种质资源圃重点收集的种质资源,但兰属植物的迁地保护理论及技术实践还存在许多不足。迁地保护为濒危植物提供了新栖息地,植物能否在新栖息地环境中完成繁殖过程对保护成效至关重要。对兰属的繁殖生物学的研究,我国仅对春兰(*C. goeringii*)、兔耳兰(*C. lancifolium*)、多花兰(*C. floribundum*)等少数种类有过报道^[11-13]。日本和印度等在寒兰(*C. kanran*)、春兰、冬凤兰(*C. dayanum*)、多花兰、硬叶兰(*C. mannii*)、纹瓣兰(*C. aloifolium*)等兰属植物有繁殖生物学报道^[14-18]。目前兰属的传粉者多为东方蜜蜂(Asian bee, *Apis cerana*)、熊蜂(bumble bees)、木蜂(carpenter bees)和无刺蜂(stingless bees)^[11-19]。兰属其他物种无论是野生环境或是迁地保护环境下的繁殖过程仍不清楚,对开花物候、繁育系统、传粉昆虫等仍未开展深入研究,因此不利于保护策略的实施和保护行动地开展。

纹瓣兰为兰属中的附生种类,主要分布于南亚和东南亚的热带亚热带森林中,产于我国的广东、广西、云南和贵州等省区^[10]。纹瓣兰植株强健,抗病力强,具有较高观赏价值,可全草入药,具有治疗肺热咳嗽、肺结核、咽喉炎、腮腺炎等功效^[20]。目前,野生纹瓣兰种群的规模和数量骤减,已经威胁到了种群的繁衍。目前纹瓣兰在我国基本实现初步的就地保护和迁地保护,例如在广西弄岗自然保护区、西双版纳国家级自然保护区等有野生种群的分布,同时许多国内的植物园,包括北京植物园、华南植物园、西双版纳热带植物园等各大植物园均有纹瓣兰的引种收集。我国分布的纹瓣兰尚无野生居群的繁育系统及昆虫传粉特征报道。目前仅有印度分布的纹瓣兰报道过其传粉昆虫为印度蜜蜂(*Apis cerana indica*)^[18]。

本研究对纹瓣兰在中国科学院西双版纳热带植物园迁地环境中的开花生物学特性、花部结构特征、繁育系统、传粉者及其传粉效率、花的挥发性气味等进行了研究,确定迁地保护条件下的纹瓣兰是否能完成开花结果的繁殖过程,以期探讨兰科植物的繁殖生物学特征及与传粉者的适应关系对迁地保护的意义,为合理制定兰科植物迁地保护方案提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 研究材料和研究地点

纹瓣兰(*Cymbidium aloifolium*)分布于我国广东、广西、贵州和云南东南部至南部等地区,生长于海拔 100~1 100 m 的疏林中或灌木丛中树上或溪谷旁岩壁上^[10]。中国科学院西双版纳热带植物园自 2012 年起,陆续从西双版纳勐海、勐腊等地引种了纹瓣兰进行迁地保存,在专类园收集区共生长约 10 丛,个体间相隔约 50~100 m。纹瓣兰附着生长于树干上或假山石上,模拟野生生境,生境处于开放状态。

本研究的试验地位于中国科学院西双版纳热带植物园(101°25' E, 21°41' N, 海拔 570 m, 热带季风气候, 年平均气温 21.4 °C)。该区域主要为兰科、蕨类、天南星科(Araceae)、姜科(Zingiberaceae)等植物收集区。

1.2 开花物候和花的形态特征

2022 年 4—5 月, 我们对西双版纳热带植物园荫生园园区内纹瓣兰的物候进行观察记录, 包括始花期、盛花期、末花期、自然结果等情况。随机标记 120 朵未开花, 详细记录单花开放和凋谢的时间。

随机选取 15 朵刚开放的花用游标卡尺(精度 0.01 cm)测量, 包括花瓣长(沿花瓣中脉由基部到顶端的位置)、宽(与花瓣中脉垂直的最宽处)、萼片长(沿萼片中脉由基部到顶端的位置)、宽(与萼片中脉垂直的最宽处)、唇瓣长(沿唇瓣基部到最底端)、唇瓣宽(与唇瓣中脉垂直的最宽处)。

取唇瓣和药帽置于 FAA 固定液(50%酒精:甲醛:冰醋酸=90:5:5)中 24 h, 取出切成 2 mm 的小块, 经酒精系列脱水、临界点干燥(EM CPD300)和离子溅射镀膜仪(Q150R S)喷金后, 在扫描电镜(EVO LS10)下观察唇瓣、花药帽外壁纹饰特征, 拍照记录。

1.3 花粉活力与柱头可授性检测

花粉活力 自开花至凋零, 每天随机选择已标记的 3 朵花, 取下花粉块并将花粉混合均匀备用。花粉活力采用培养液萌发法进行测定。花粉放入离心管内, 加入 2 mL 花粉培养液(0.1 g/mL 蔗糖+0.1 mg/mL H_3BO_3 +0.08 mg/mL $CaCl_2$) 摇匀, 静置 1 h 后, 置于 25 °C 培养箱培养 48 h 后, 显微镜下观察花粉的萌发状况, 镜检计数。每样品做 2 个平行玻片, 每玻片取 3 个视野进行统计。计数以花粉管长度超过花粉粒直径作为萌发标准, 记录花粉萌发情况, 重复 3 次。花粉活力(%)=萌发花粉数/观测花粉总数 \times 100%。

柱头可授性 摘取不同开花天数的纹瓣兰花朵, 每个阶段随机选择 3 朵。采用联苯胺-过氧化氢法测定^[21], 将联苯胺-过氧化氢反应液(1%联苯胺:3%过氧化氢:水=4:11:22)滴到柱头腔中, 若反应液呈蓝色并出现大量气泡则柱头有可授性, 颜色不变蓝且无气泡则无可授性, 根据气泡多少和蓝色深浅判断柱头可授性的强弱。

1.4 繁育系统实验

随机选择当天开放的花进行自花授粉(用来源于自身的花粉授粉后套袋)、异花授粉(用来源于不同株的花朵的花粉授粉后套袋)、去雄套袋(去除花粉块后套袋)、直接套袋(不做任何处理套袋)等 4 种人工授粉处理, 每处理 6 株, 每株随机处理 5 朵, 每种方式共处理 30 朵。自花授粉、异花授粉后去除唇瓣以避免昆虫访花再进行传粉。花期结束后统计不同处理的结实率。

1.5 传粉过程观察及传粉效率

2022 年 4 月 18—27 日连续 10 d 的 8:00—18:00 在纹瓣兰的盛花期进行访花昆虫观察, 记录所有访花者的访花行为、访问时间、每次访问花朵数、单花停留时间、单次访花总时长等, 同时用摄像机记录访花过程和行为。并在 18:00 随机标记完整的花, 第 2 天 8:00 检查是否有花粉块移出和沉降, 以此排除了有夜间传粉者的可能性。观察结束后, 捕捉每一种访花昆虫, 制作标本, 进行种类鉴定。

随机标记 72 朵花, 每天统计花粉块移走数、花粉块沉降数(粘有花粉块的柱头数目)。计算花粉块移出率(被移走花粉块的花数目占统计的花数目的百分比)及花粉块沉降率(柱头粘有花粉块的花数目占统计的花数目的百分比)。

1.6 花部传粉功能性状与昆虫的形态特征

随机选取 15 朵开放的花用游标卡尺对花部传粉功能性状进行测量, 包括入口高(蕊喙到唇瓣中裂片的垂直距离)、入口宽(唇瓣两侧裂片间的水平距离)、入口深(唇瓣的侧裂片至唇瓣基部的水平距离)、蕊柱长、柱头高(唇瓣中裂片表面到柱头的距离)。随机捕获 5 只传粉昆虫, 测量体长、胸高和胸宽。利用 SPSS 21.0 软件对数据进行独立样本 *t* 检验分析, 结果以平均值 \pm 标准误差表示, 结果进行差异显著性分析, 以 $P<0.05$ 表示差异显著。

1.7 挥发性成分检测

在中国科学院西双版纳热带植物园于 2023 年 4 月中旬上午(11:00—12:00)采集开放的纹瓣兰花 8 朵置于 20 cm \times 25 cm 的 Teflon 袋子中, 重复 3 次, 并采集 1 个空气对照, 采用 100 μ m PDMS 萃取头顶空固相微萃取 1 h, 萃取完成后, 取出纤维头, 插入 GC-MS 进样口, 解析 1.5 min 后, 采用气相色谱-质谱联用仪

(Agilent 7890B-5977B)分析挥发性成分。色谱条件: HP-5MS 石英毛细管色谱柱(30 m×250 μm×0.25 μm), 流速 1 mL/min, 载气为高纯度氦气(99.999%), 不分流模式。程序升温: 进样口温度 250 °C, 柱温 50 °C 保持 4 min, 以 10 °C/min 上升到 280 °C, 保持 20 min。质谱条件: 进样口温度维持在 250 °C; EI 热源加热至 230 °C; 电子能量 70 eV; GC-MS 传输线温度为 250 °C; MS 四极杆加热到 150 °C; 扫描范围为 28.5~300 amu, 阈值为 10。

2 结果和分析

2.1 开花物候和花的形态特征

纹瓣兰的群体花期为 4 月 6 日—5 月 12 日, 总花期为 36 d, 其中盛花期为 4 月 14—27 日。单花花期为(7.06±0.65) d ($n=120$), 花序的花期为(17.95±2.63) d ($n=40$), 授粉后 1 d 内柱头即开始膨大完全覆盖住柱头腔, 使柱头不能被授粉, 3~4 d 花瓣开始萎焉。

纹瓣兰的总状花序下垂, 一丛花具 6~10 个花序, 每个花序具 15~25 朵花。花萼片与花瓣淡黄色至奶油黄色, 中央有宽的紫色条纹, 花瓣大小为(1.89±0.11) cm×(0.52±0.04) cm, 中萼片大小为(2.06±0.07) cm×(0.54±0.05) cm, 侧萼片大小为(2.09±0.12) cm×(0.52±0.07) cm; 唇瓣密布紫色条纹, 大小为(1.27±0.05) cm×(0.63±0.02) cm, 基部有 2 条纵脊, 中央有 2 个(0.65±0.03) cm×(0.26±0.02) cm 大小的椭球状的黄色胼胝体(图 1: B); 合蕊柱紫色, 顶端为黄色的花药, 药帽大小为(0.324±0.01) cm×(0.247±0.01) cm; 花粉块位于药帽中, 基部具透明的粘盘; 花粉团 4 个, 形成不等大的 2 对, 蜡质, 黄色, 近方形(图 1: E); 柱头窝位于花药下方, 口径约(0.265±0.01) cm (图 1: C); 花内无花蜜或其它分泌物。纹瓣兰开花时, 唇瓣可为供昆虫降落的平台, 下弯的唇瓣先端、黄色的药帽、唇瓣上的胼胝体在一个平面, 正对着迎面而来的访花昆虫, 唇瓣和合蕊柱形成了可供传粉者进出的通道(图 1: A, D)。

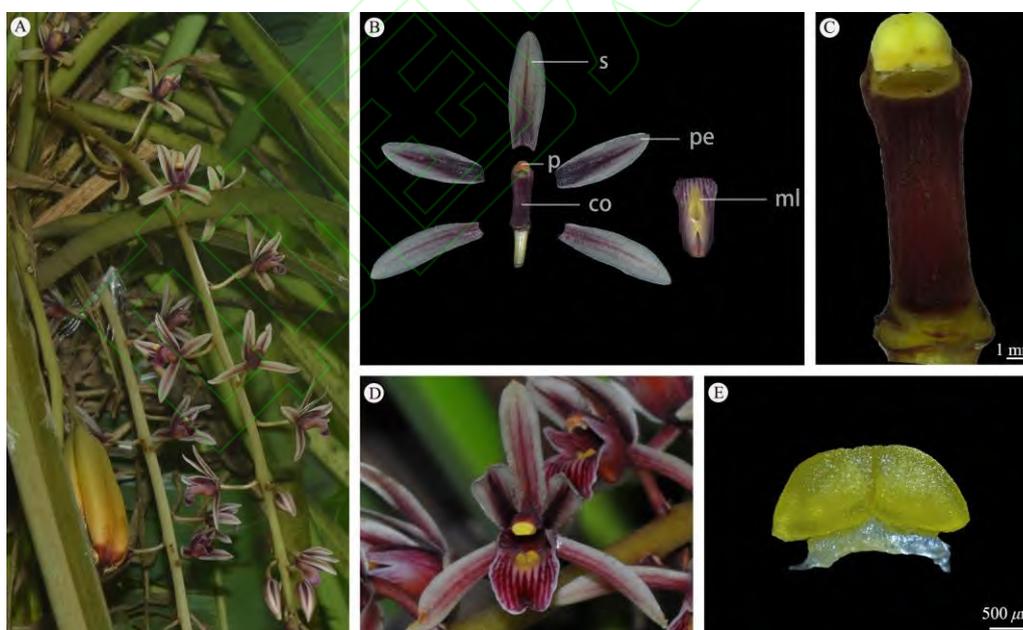


图 1 纹瓣兰的花部特征。A: 花序; B: 花的结构; co: 蕊柱; ml: 唇瓣中裂片; p: 花药; pe: 花瓣; s: 萼片; C: 合蕊柱; D: 花; E: 花粉块。

Fig. 1 Flower structure of *Cymbidium aloifolium*. A: Inflorescence; B: Flower structure; co: Column; ml: Mid-lobe of labellum; p: Anther; pe: Petal; s: Sepal; C: Column; D: Flower; E: Pollinaria.

扫描电子显微镜观察, 唇瓣不同部位的表皮细胞各异(图 2: A)。唇瓣先端的表皮细胞近长方形, 排列整齐, 细胞中央有明显的高约 34 μm 的锥形突起(图 2: F, G)。唇瓣基部的纵脊和唇盘上的胼胝体表面细胞都为指状的毛状体细胞, 高约 50 μm, 但椭球状胼胝体的毛状体细胞光滑无纹饰(图 3: D, E), 而唇瓣基部

纵脊处的毛状体细胞外部散落分布有屑块状物质，可能为毛状体细胞分泌形成的油脂颗粒(图 2: B, C)。药帽的表皮细胞为锥形细胞，大小约 $30\ \mu\text{m} \times 42\ \mu\text{m}$ ，排列紧密，细胞表面密被条带状蜡质纹饰，形成密集的纵沟，偶有气孔分布(图 2: H, I, J)。

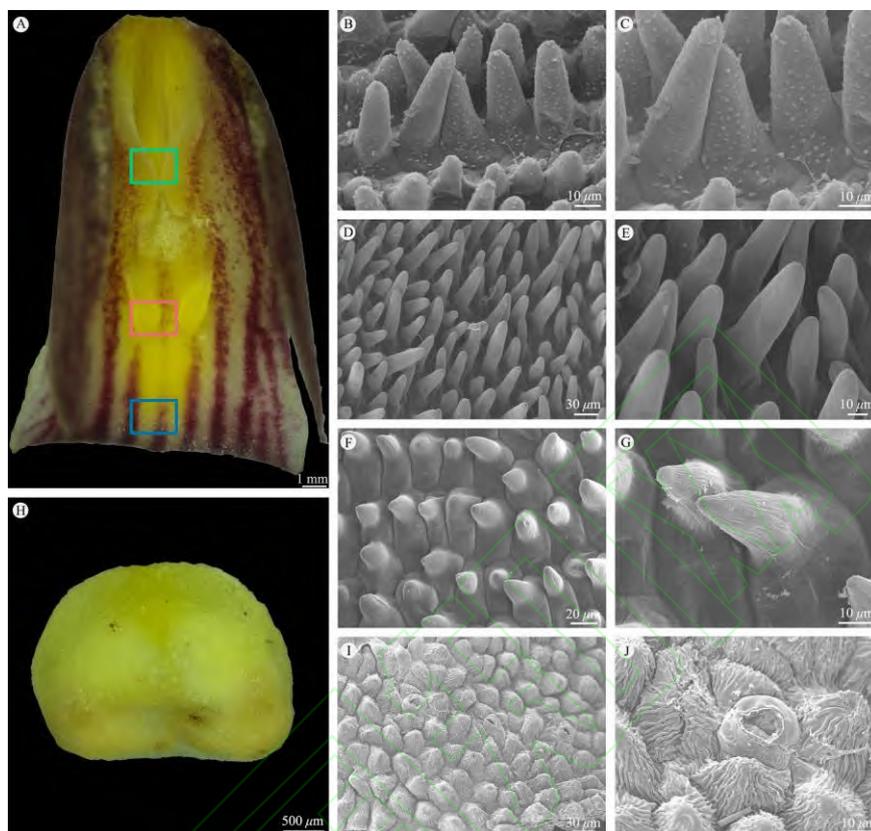


图 2 纹瓣兰唇瓣和药帽的表皮微形态(电子显微镜下)。A: 唇瓣，绿色、粉色和蓝色框分别为唇瓣基部、唇盘胼胝体和唇瓣先端；B, C: 唇瓣基部脊突的表皮细胞，附着油脂颗粒；D, E: 唇盘胼胝体的表皮细胞；F, G: 唇瓣先端的表皮细胞；H: 药帽；I, J: 药帽的表皮细胞。

Fig. 2 Epidermal micromorphology of lip and anther cap in *Cymbidium aloifolium* under SEM. A: Lip, green, pink and blue boxes showing lip base, callus on lip disk and lip apex, respectively; B, C: Epidermic cell of crisped lamellae on lip base, attached with lipid granules; D, E: Epidermic cell of callus on lip disk; F, G: Epidermic cell of lip apex; H: Anther cap; I, J: Epidermic cells of anther cap.

2.2 不同花期花粉活力和柱头可授性的测定

由表 1 可见，纹瓣兰的花粉团在整个开花期间都具有活力，开花第 1 天的花粉活力最高，为 47.15%，随开花时间的延长花粉活力逐渐下降，开花第 7 天的花粉活力仅为 2.02%；柱头在开花第 1 天即具备可授性，第 2 天最强，此后气泡逐渐减少，柱头可授性逐渐减弱。

表 1 纹瓣兰花粉活力和柱头可授性

Table 1 Pollen viability and stigma receptivity of *Cymbidium aloifolium*

开花天数 Days after flowering	花粉活力 Pollen viability /%	柱头可授性 Stigma acceptability
1	47.15	弱 Low
2	17.34	强 Strong
3	6.94	中等 Midium
4	6.22	中等 Midium
5	5.07	中等 Midium
6	3.13	中等 Midium
7	2.02	弱 Low

2.3 繁育系统

自然条件下观察了纹瓣兰 72 朵花，结实率为 6.9% (表 2)。直接套袋的结实率为 0，说明纹瓣兰不存在自动的自花授粉现象，必须通过传粉昆虫才能实现传粉过程。去雄套袋的结实率为 0，说明纹瓣兰不存在无融合生殖。套袋后自花授粉、异花授粉结实率分别达到 83.3% 和 96.7%，表明纹瓣兰的繁育系统是高度自交亲和，兼性异交。同时，纹瓣兰的花粉移出率高达 0.28%，沉降率仅有 6.9%，传粉效率指数为 13:1，属于典型的高移出低沉降。

表 2 纹瓣兰不同授粉方式的结实率

Table 2 Fruit setting in different pollination types of *Cymbidium aloifolium*

授粉方式 Pollination type	花数 Number of flower	结实数 Number of fruit	结实率 Fruit setting /%
自花授粉 Self-pollination	30	25	83.3
异花授粉 Cross-pollination	30	29	96.7
去雄套袋 Emasculated and bagged	30	0	0
套袋 Bagged	30	0	0
自然授粉 Nature pollination	72	5	6.9

2.4 传粉过程观察

对纹瓣兰进行了约 100 h 的访花昆虫观察，共观察到 4 种访花昆虫：中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)、2 种蚂蚁和 1 种甲虫。其中，甲虫为植食性昆虫，啃食花瓣，蚂蚁主要在花序上活动，不进入花内。只有中华蜜蜂是唯一有效的传粉昆虫(图 3: D)，访花行为规律，在 100 h 内共访花 117 次，携带花粉团 65 次，访花时间一般在上午 10:00 以后，高峰期集中在 10:00-14:00，阴天或雨天未见访花(图 4)。中华蜜蜂的单花访花时间为(13.667±8.324) s (n=18)，单次访花时间为(80.6±59.815) s (n=5)。中华蜜蜂访花时，通常直接降落于纹瓣兰的唇盘上，足部抓住唇瓣，快速钻入由唇瓣与合蕊柱形成的传粉通道(图 3: A, B)。中华蜜蜂的头部和胸部进入到传粉通道内，腹部留在通道外，钻入后停留约 6~7 s 后开始后退，当中华蜜蜂退出的时候，中华蜜蜂由于药帽的阻挡，向外挣扎退出，中胸会随着挣扎而拱起，接触到合蕊柱上部，与花药接触(图 3: C)，花粉块连同药帽一起被粘到中华蜜蜂的中胸背部(图 3: D、F)。若中华蜜蜂立刻访问下一朵花，由于药帽的阻挡，无法携带花粉块进入下一朵花中；若中华蜜蜂没有立刻访问下一朵花，那么在飞行途中身体的运动会使药帽脱落，花粉块暴露，当带着脱去药帽的花粉块的中华蜜蜂进入另一朵花时，花粉块会被粘附在充满粘液的柱头上，完成授粉(图 3: E)。同时，在访花过程中，中华蜜蜂更倾向访问药帽未掉的纹瓣兰，在 10 次访花中，仅有 1 次飞进了药帽缺失的纹瓣兰中。



图 3 中华蜜蜂的传粉过程。A, B: 中华蜜蜂进入纹瓣兰花中；C, D: 中华蜜蜂从纹瓣兰花内退出，并携带整个花药；E: 中华蜜蜂携带花药访花；F: 携带着花粉块的中华蜜蜂。

Fig. 3 Pollination process of *Apis cerana*. A, B: *A. cerana* is entering into flower of *Cymbidium alofolium*; C, D: *A. cerana* is exiting flower with pollinaria on its throat; E: *A. cerana* is visiting another flower with an anther; F: *A. cerana* with pollinaria.

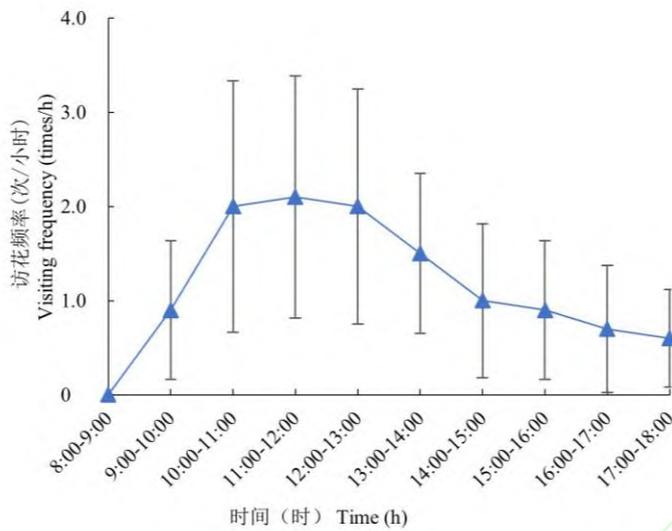


图4 中华蜜蜂对纹瓣兰的白天访花动态

Fig. 4 Visitation dynamic of *Apis cerana* to flowers of *Cymbidium alofolium*

2.5 花部传粉功能性状与昆虫形态的符合度

纹瓣兰的传粉通道入口深和入口宽分别为 (1.01 ± 0.03) 和 (0.62 ± 0.02) cm, 较中华蜜蜂的平均体长和胸宽 [分别为 (1.10 ± 0.01) 、 (0.41 ± 0.01) cm](表 3)要大。而通道入口高为 (0.37 ± 0.02) cm, 要略低于中华蜜蜂的胸高 (0.38 ± 0.01) cm。纹瓣兰的蕊柱长和入口高分别为 (1.12 ± 0.03) 和 (0.38 ± 0.01) cm (表 1, 4), 与中华蜜蜂的体长和胸高接近。

表 3 纹瓣兰与其传粉者的功能性状比较

Table 3 Comparison of functional traits of *Cymbidium alofolium* and its pollinators

物种 Species	数量 Number	入口高/胸高 Height of entrance/ mesothorax (cm)	入口宽/体宽 Width of entrance/ mesothorax (cm)	入口深/体长 Length of entrance/ body (cm)	蕊柱长/体长 Length of column/ body (cm)
纹瓣兰 <i>Cymbidium alofolium</i>	15	0.37 ± 0.02	$0.62 \pm 0.02a$	$1.01 \pm 0.03a$	1.12 ± 0.03
中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	5	0.38 ± 0.01	$0.41 \pm 0.01b$	$1.10 \pm 0.01b$	1.10 ± 0.01

同列数据后不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Data followed different letters indicate significant difference at 0.05 level.

2.6 花的挥发性成分

对刚开放的纹瓣兰花朵的挥发性成分进行检测, 去除空气对照中的对二甲苯和双酚, 主要成分有 3-乙基-4-甲基-1-戊醇、萜品油烯、壬醛、(E)-4,8-二甲基壬-1,3,7-三烯、乙酸苄酯、乙酸正壬酯、(E)-乙酸-2-癸烯-1-醇酯、(Z,E)-A-法尼烯。这些化合物可以归为 4 大类, 包括 2 种萜烯类化合物、3 种脂类化合物、1 种醇类化合物和 1 种醛类化合物, 其中(E)-乙酸-2-癸烯-1-醇酯的含量最高。

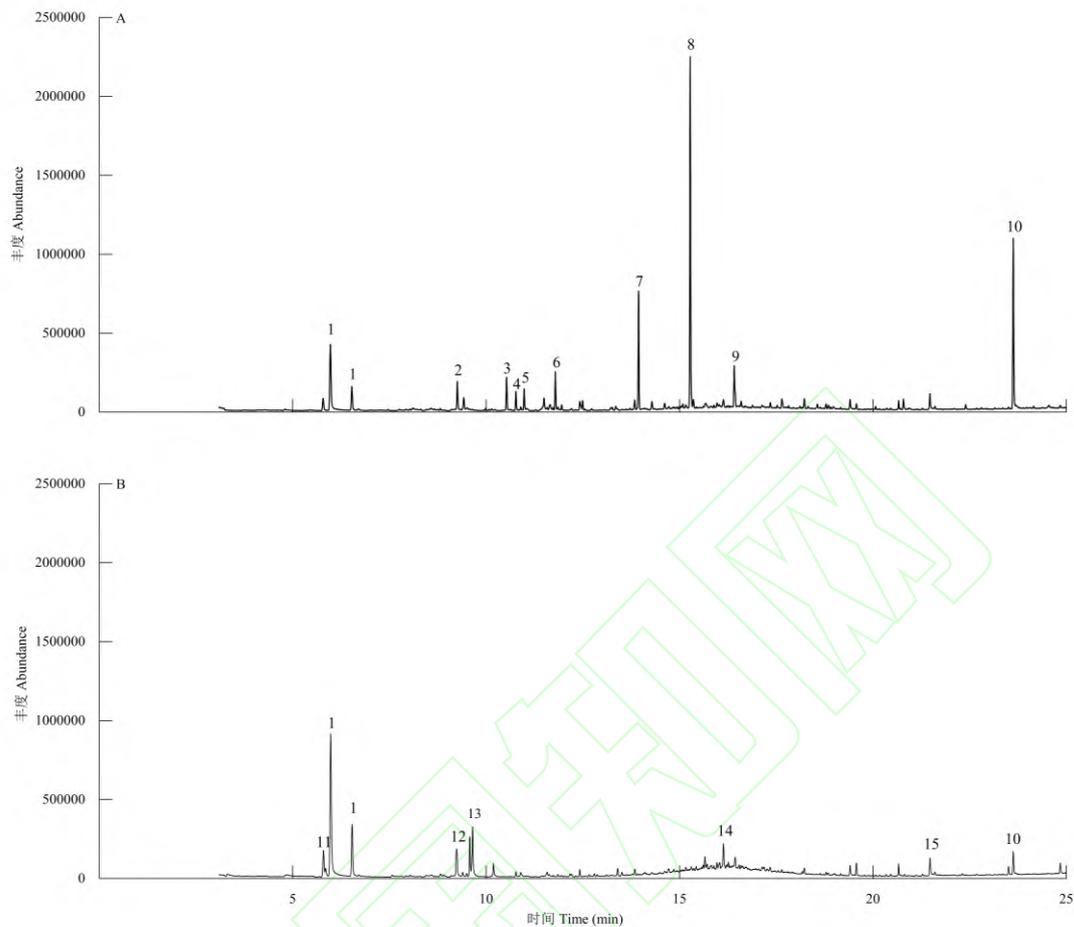


图 5 挥发性气味离子图。A: 纹瓣兰花; B: 空气(对照); 1: 对二甲苯; 2: 3-乙基-4-甲基-1-戊醇; 3: 萘品油烯; 4: 壬醛; 5: (*E*)-4,8-二甲壬-1,3,7-三烯; 6: 乙酸苄酯; 7: 乙酸正壬酯; 8: (*E*)-乙酸-2-癸烯-1-醇酯; 9: (*Z,E*)-*A*-法尼烯; 10: 双酚; 11: 乙基苯 (1) 对二甲苯; 12: 二丙二醇; 13: 2-(2-羟基丙氧基)-1-丙醇; 14: Decahydro-1,1,4a,5,6-pentamethylnaphthalene; 15: 棕榈酸。

Fig. 5 Total ion chromatogram of volatile components. A: Fresh flower of *Cymbidium aloifolium*; B: Air (control); 1: *p*-Xylene; 2: 3-Ethyl-4-methylpentan-1-ol; 3: Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethylidene); 4: Nonanal; 5: (*E*)-4,8-Dimethylnona-1,3,7-triene; 6: Acetic acid, phenylmethyl ester; 7: Acetic acid, nonyl ester; 8: (*E*)-2-Decenyl acetate; 9: 1,3,6,10-Dodecatetraene,3,7,11-trimethyl-, (*Z,E*)-; 10: Phenol, 4,4'-(1-methylethylidene)bis-; 11: Ethylbenzene (1) *p*-Xylene; 12: 2-Propanol,1,1'-oxybis-; 13: 1-Propanol, 2-(2-hydroxypropoxy)-; 14: Decahydro-1,1,4a,5,6-pentamethylnaphthalene; 15: *n*-Hexadecanoic acid.

3 讨论和结论

3.1 纹瓣兰适应传粉昆虫的花部特征

花结构在传粉过程中起着重要的作用。纹瓣兰的花开放时,唇瓣形成降落的平台,供传粉昆虫降落,并由唇瓣侧裂片、花瓣、唇盘与合蕊柱形成了一个入口通道,而入口的高度和宽度接近中华蜜蜂的胸高和体宽,因此中华蜜蜂能够顺利进入花内觅食。与纹瓣兰花的形态结构类似的多花兰(*C. floribundum*)、兔耳兰(*C. lancifolium*)、春兰(*C. goeringii*)等都是由中华蜜蜂传粉^[11-13]。而兰属的一些大花种类,如虎头兰(*C. hookeriana*)和美花兰(*C. insigne*)则是由个体较大的熊蜂(*Bombus* spp.)传粉^[22-23]。纹瓣兰的合蕊柱长度约(1.12±0.03) cm,中华蜜蜂访花钻入花中的时候,纹瓣兰的合蕊柱位于中华蜜蜂上部,长度正好与中华蜜蜂的头胸部吻合,在中华蜜蜂后退的时候,长满绒毛的胸背部正好可以蹭到花药的位置,而纹瓣兰的花粉块具粘性物质,就可以牢牢地粘在蜜蜂的胸背部被带走。但纹瓣兰花药帽与花粉团结合紧密,在传粉者访花

时与花粉团一起被昆虫带走。中华蜜蜂的 65 次携带纹瓣兰花粉块的访花记录中, 有 57 次访花时都将花粉连同药帽一起带走。由于带着药帽增加了中华蜜蜂的胸高, 便会阻拦它进入下一朵花, 只有药帽脱落, 才能让蜜蜂顺利钻入下一朵花中。这一行为可以有效地避免中华蜜蜂连续访问同一朵花所导致的自花授粉, 同时也可以一定程度上避免同株异花授粉。这种药帽和花粉团都被传粉昆虫带走的现象也在一些兰属及兰科其他物种中发现过^[11-12]。Adit 等^[18]观察到已背负药帽和花粉块的印度蜜蜂在继续访问纹瓣兰花的过程中会用中足将药帽分开只留下花粉块, 但我们并没有观察到在中华蜜蜂有此行为, 药帽的脱落可能是由于中华蜜蜂在飞行途中身体的振动^[12]。

3.2 中华蜜蜂访花的吸引机制

本研究观察到的在植物园迁地保护条件下的纹瓣兰的唯一有效传粉昆虫是中华蜜蜂。目前已在兔耳兰、春兰、足茎毛兰(*Eria coronaria*)、禾叶贝母兰(*Coelogyne viscosa*)、多叶斑叶兰(*Goodyera foliosa*)等兰科物种中均已报道发现中华蜜蜂为有效传粉昆虫^[11-12,24-26]。中华蜜蜂为这些兰花传粉的行为基本一致, 花粉团均是粘在中华蜜蜂的中胸背部, 中华蜜蜂访花时先降落在唇瓣上, 随后调整身体的方向进入花中, 退出时由于药帽的阻挡需要借助后足的蹬力退出花朵, 在挣扎过程中, 花粉块粘附在中华蜜蜂的胸部^[11-12,24-25]。而中华蜜蜂在为多叶斑叶兰传粉时则是被粘在口器上, 直至访问下一朵花时口器伸入花内, 花粉粘在柱头上从而完成授粉^[26]。目前中华蜜蜂作为兰科植物传粉昆虫的报道并不少见。

植物与传粉昆虫之间往往存在着互利关系^[27], 昆虫为植物传粉, 植物为传粉者提供花蜜或者脂类物质作为报酬^[28], 但在兰科植物中约 1/3 的兰花通过欺骗传粉者从而完成授粉^[29]。但春兰、多花兰、兔耳兰都被认为属于食源性欺骗来吸引传粉者^[11-13], 中华蜜蜂从这些兰花中未获得任何报酬。经过我们对纹瓣兰唇瓣的扫描电镜观察, 唇瓣基部纵脊部位的表皮细胞具有毛状突起, 在突起上分布有细小的屑块状物质, 可能是一些油脂颗粒(图 2: B, C)。中华蜜蜂访花时都是毫不犹豫地由唇瓣入口处钻入唇瓣基部, 并且在花中停留时间近 11 s。我们推测中华蜜蜂可能是在纹瓣兰唇瓣基部进行采食, 而分布于唇瓣基部毛状细胞上的油脂颗粒很可能是中华蜜蜂的采食的对象。Adit 等^[18]也认为纹瓣兰并非欺骗性传粉, 可以给印度蜜蜂提供富含脂肪酸的油脂作为报酬, 由于唇瓣中油脂量极少, 中华蜜蜂需要多次访花来收集油脂从而完成授粉。

花的颜色是吸引传粉者的主导因子^[30], 一些研究表明蜜蜂能够识别黄色^[31]。纹瓣兰的药帽为鲜黄色, 开花时位于传粉通道的上方, 非常显著, 药帽表皮细胞为锥形细胞, 密布条形纹饰, 形成了深的纵沟(图 2: I, J), 这些立体的表皮细胞结构可能引起了光的折射或反射, 起到了吸引蜜蜂访花的作用^[32]。纹瓣兰传粉通道入口处的两个椭圆形胼胝体也为黄色, 这些胼胝体的表皮细胞呈毛状体, 与唇瓣基部纵脊处的细胞形态一致, 但是没有屑状颗粒残留, 我们猜测胼胝体可能起到了引导访花者访花的假蜜导作用。此前报道的足茎毛兰也可能是通过唇瓣上鲜明的黄色斑块吸引中华蜜蜂来进行传粉^[24]。泛化的食源性欺骗兰花所散发的挥发性成分对昆虫也有明显的吸引作用^[33]。许多兰科植物也是通过气味来吸引传粉昆虫。研究最深入的是多花兰, 可以通过散发含有 3-羟基辛酸与(E)-10-羟基-2-癸烯酸混合物来吸引大量日本蜜蜂(*Apis cerana japonica*)为其传粉^[16]。(E)-乙酸-2-癸烯-1-醇酯是纹瓣兰挥发性气味的主要成分, 而该化合物也存在于大蜜蜂(*A. dorsata*)的工蜂的尾刺中, 可能是蜜蜂的一种信息素^[34], 因此推测纹瓣兰花的挥发性气味很可能与蜜蜂的行为相关, 起到了吸引中华蜜蜂访花的作用, 但还需要验证和进一步研究。

3.3 繁殖生物学资料为兰科植物迁地保护成功奠定基础

兰科植物是受威胁最严重的一类植物, 作为生物多样性保护的旗舰类群, 是迁地保护的重要对象。纹瓣兰及兰属植物是我国重要的国兰资源, 我国大多数植物园及一些种质资源圃均有收集引种, 是园艺品种培育的重要遗传资源。植物的繁殖生物学不仅具有重要的系统演化意义^[35], 同时对受威胁的物种进行有效保护策略的制定方面也具有重要参考价值^[36-37]。本研究表明, 在云南西双版纳地区迁地保护的纹瓣兰花期为 4 月 6 日—5 月 12 日, 自然状态下单花花期为 6~8 d, 单株花期为 15~21 d。纹瓣兰的花粉与柱头在整个开花期间都具有活力, 可自交亲和, 但是未发现主动自交以及无融合生殖等现象, 需传粉者参与才能完成授粉过程。这些开花物候特征和繁育系统特征与近期报道的分布于印度特里普拉邦的纹瓣兰野生居群的结果相同^[18]。繁殖生物学基本特征对迁地引种尤为重要, 基于这些特征我们可对该物种制定管理养护、人工繁殖等方面策略。本观测结果显示中华蜜蜂为纹瓣兰的唯一传粉昆虫, 将迁地保护环境中是否分布有中华

蜜蜂这一因素考虑在迁地保护策略的制定中, 能够提高该物种迁地保护条件下的生存率, 保证繁殖成功。纹瓣兰目前在西双版纳热带植物园保存的种群约有 10 余丛, 其自然结实率还低于野外居群, 访花频率也相对较低, 一方面可能仍需要再继续扩大保存遗传多样性丰富的个体, 另一方面还需要引入中华蜜蜂的蜜源植物, 增加中华蜜蜂数目。而西双版纳热带植物园地处热带区域, 一些兰科种类种植在露天的专类园中, 昆虫种类非常丰富, 具备新建种群的有利条件。

中华蜜蜂是东方蜜蜂的一个地理亚种, 是我国独有的蜜蜂品种, 是我国分布广泛的地方优势种和传粉昆虫之一, 为很多农作物和野生植物授粉, 还是兰科很多种类的专性传粉者^[11-12,23-25,38-39]。中华蜜蜂分布广, 有利于兰科植物迁地保护的开展, 表明这些兰科种类均可在环境条件适宜的地区进行迁地保护, 在有中华蜜蜂活动的区域均可正常结实, 同时对于开展野外回归重建珍稀濒危的中华蜜蜂传粉的兰科种类也较为有利。但近年来由于自然环境的破坏和人类活动造成中华蜜蜂的栖息地破坏和蜜源植物减少, 以及农药、环境污染等问题, 威胁着中华蜜蜂的种群生存^[39]。中华蜜蜂数量的减少将有可能直接导致依赖中华蜜蜂传粉的兰科植物的数量和种群的减少甚至灭绝。在保护拯救兰科植物的同时, 应该关注兰科植物传粉昆虫的生存状态, 传粉昆虫的保护与对兰科植物资源本身的保护具有同样重要的意义。

综上, 本研究通过对纹瓣兰的繁殖生物学调查, 明确了其繁育系统和传粉特征, 表明纹瓣兰在西双版纳热带植物园露天栽培的环境中, 由于有传粉昆虫中华蜜蜂的存在, 可以正常完成开花和自然结实, 已初步实现迁地保护条件下的种群延续。本研究为制定纹瓣兰的迁地保护和野外回归策略提供了科学依据。繁殖成功是迁地保护的物种保育成功的评价标准之一, 而兰科植物的繁殖通常是受传粉者限制的, 因此, 在制定濒危兰科植物的迁地保护方案时, 应首先了解兰科植物的繁殖特性和专性传粉者, 明确迁地保护场所是否存在传粉者, 减少杀虫剂的使用, 保护传粉者, 保证濒危兰科植物的可持续发展。但由于兰科的生活史较为特殊, 种子缺少胚乳, 还必须依赖专一性的真菌促进萌发, 实现从种子到种子的生活史还需要进行共生真菌的进一步研究和实践, 对兰科植物实现在迁地保护条件下的新种群的建立还存在极大的挑战。

致谢 中国科学院西双版纳热带植物园汪正威、姜立举、王晓静协助观察和实验, 谨致谢意。

参考文献

- [1] SWARTS N D, DIXON K W. Terrestrial orchid conservation in the age of extinction [J]. *Ann Bot*, 2009, 104(3): 543-556. doi: 10.1093/aob/mcp025.
- [2] MAYNARD-SMITH J. The Evolution of Sex [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1978: 55-67.
- [3] XU Z F. Principle and Methodology of Ex Situ Conservation for Rare and Endangered Plants [M]. Kunming: Yunnan Science and technology Press, 1998: 80. [许再富. 稀有濒危植物迁地保护的原理与方法 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1998: 80.]
- [4] KOUL M, BHATNAGAR A K. Plant reproductive biology studies crucial for conservation [J]. *Curr Sci*, 2007, 92(9): 1207.
- [5] PHILLIPS R D, REITER N, PEAKALL R. Orchid conservation: from theory to practice [J]. *Ann Bot*, 2020, 126(3): 345-362. doi: 10.1093/aob/mcaa093.
- [6] CHASE M W, CAMERON K M, FREUDENSTEIN J V, et al. An updated classification of Orchidaceae [J]. *Bot J Linn Soc*, 2015, 177(2): 151-174. doi: 10.1111/boj.12234.
- [7] LUO Y B, JIA J S, WANG C L. A general review of the conservation status of Chinese orchids [J]. *Biodiv Sci*, 2003, 11(1): 70-77. [罗毅波, 贾建生, 王春玲. 中国兰科植物保育的现状和展望 [J]. 生物多样性, 2003, 11(1): 70-77. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2003.01.010.]
- [8] CHEN X Q, LUO Y B. Advances in some plant groups in China: I. A retrospect and prospect of orchidology in China [J]. *Acta Bot Sin*, 2003, 45(S1): 2-20. [陈心启, 罗毅波. 中国几个植物类群的研究进展 I. 中国兰科植物研究的回顾与前瞻 [J]. 植物学报, 2003, 45(S1): 2-20.]
- [9] ZHOU Z H, SHI R H, ZHANG Y, et al. Orchid conservation in China from 2000 to 2020: achievements and perspectives [J]. *Plant Diver*, 2021, 43(5): 343-349. doi: 10.1016/j.pld.2021.06.003.
- [10] Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences. *Flora Reipublicae Popularis Sinicae*, Tomus 18 [M]. Beijing: Science Press, 1999: 194-196. [中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志, 第18卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1999: 194-196.]
- [11] YU X H, LUO Y B, DONG M. Pollination biology of *Cymbidium goeringii* (Orchidaceae) in China [J]. *J Syst Evol*, 2008, 46(2): 163-174. [庾晓红, 罗毅波, 董鸣. 春兰(兰科)传粉生物学的研究 [J]. 植物分类学报, 2008, 46(2): 163-174.]

- [12] CHENG J, LIU S Y, HE R, et al. Food-deceptive pollination in *Cymbidium lancifolium* (Orchidaceae) in Guangxi, China [J]. Biodiv Sci, 2007, 15(6): 608–617. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2007.06.006. [程瑾, 刘世勇, 何荣, 等. 兔耳兰食源性欺骗传粉的研究 [J]. 生物多样性, 2007, 15(6): 608–617. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2007.06.006.]
- [13] LUO H L, CHEN X H, XIAO H W, et al. Pollination biology of *Cymbidium floribundum* (Orchidaceae) [J]. Ecol Sci, 2022, 41(5): 72–80. doi: 10.14108/j.cnki.1008-8873.2022.05.009. [罗火林, 陈兴惠, 肖汉文, 等. 多花兰传粉生物学研究 [J]. 生态科学, 2022, 41(5): 72–80. doi: 10.14108/j.cnki.1008-8873.2022.05.009.]
- [14] TSUJI K, KATO M. Odor-guided bee pollinators of two endangered winter/early spring blooming orchids, *Cymbidium kanran* and *Cymbidium goeringii*, in Japan [J]. Plant Species Biol, 2010, 25(3): 249–253. doi: 10.1111/j.1442-1984.2010.00294.x.
- [15] MATSUDA Y, SUGIURA N. Specialized pollination by honeybees in *Cymbidium dayanum*, a fall-winter flowering orchid [J]. Plant Species Biol, 2019, 34(1): 19–26. doi: 10.1111/1442-1984.12231.
- [16] SUGAHARA M, IZUTSU K, NISHIMURA Y, et al. Oriental orchid (*Cymbidium floribundum*) attracts the Japanese honeybee (*Apis cerana japonica*) with a mixture of 3-hydroxyoctanoic acid and 10-hydroxy- (*E*)-2-decenoic acid [J]. Zool Sci, 2013, 30(2): 99–104. doi: 10.2108/zsj.30.99.
- [17] VERMA J, THAKUR K, SEMBI J K, et al. Pollination in *Cymbidium pendulum* (Roxb.) Sw. (Orchidaceae) [J]. Vegetos, 2012, 25(2): 298–302.
- [18] ADIT A, KOUL M, CHOUDHARY A K, et al. Interaction between *Cymbidium aloifolium* and *Apis cerana*: Incidence of an outlier in modular pollination network of oil flowers [J]. Ecol Evol, 2022, 12(3): e8697. doi: 10.1002/ece3.8697.
- [19] DAVIES K L, STPICZYŃSKA M, TURNER M P. A rudimentary labellar speculum in *Cymbidium lowianum* (Rchb. f.) Rchb. f. and *Cymbidium devonianum* Paxton (Orchidaceae) [J]. Ann Bot, 2006, 97(6): 975–984. doi: 10.1093/aob/mcl065.
- [20] Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences. Flora Yunnanica, Tomus 14 Spermatophyta [M]. Beijing: Science Press, 2003: 423–426. [中国科学院昆明植物研究所. 云南植物志, 第14卷 种子植物 [M]. 北京: 科学出版社, 2003: 423–426.]
- [21] DAFNI A, MAUÉS M M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity [J]. Sex Plant Reprod, 1998, 11(3): 177–180. doi: 10.1007/s004970050138.
- [22] DUPUY D J. A taxonomic revision of the genus *Cymbidium* Sw. (Orchidaceae) [D]. Birmingham: University of Birmingham, 1986.
- [23] KJELLSSON G, RASMUSSEN F N, DUPUY D. Pollination of *Dendrobium infundibulum*, *Cymbidium insigne* (Orchidaceae) and *Rhododendron lyi* (Ericaceae) by *Bombus eximius* (Apidae) in Thailand: A possible case of floral mimicry [J]. J Trop Ecol, 1985, 1(4): 289–302. doi: 10.1017/S0266467400000389.
- [24] SHANGGUAN F Z, CHENG J, XIONG Y X, et al. Deceptive pollination of an autumn flowering orchid *Eria coronaria* (Orchidaceae) [J]. Biodiv Sci, 2008, 16(5): 477–483. [上官法智, 程瑾, 熊源新, 等. 足茎毛兰的欺骗性传粉研究 [J]. 生物多样性, 2008, 16(5): 477–483. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2008.05.008.]
- [25] WANG X J. Pollination biology of *Dendrobium fimbriatum* and *Coelogyne viscose* (Orchidaceae) [D]. Xishuangbanna: Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, 2009: 1–55. [王晓静. 流苏石斛与禾叶贝母兰的传粉生物学研究 [D]. 西双版纳: 中国科学院西双版纳热带植物园, 2009: 1–55.]
- [26] ZHA Z B, TANG J, LIANG Y L, et al. Breeding system and pollination biology of *Goodyera foliosa* (Orchidaceae) [J]. J Trop Subtrop Bot, 2016, 24(3): 333–341. [查兆兵, 唐静, 梁跃龙, 等. 多叶斑叶兰繁育系统与传粉生物学研究 [J]. 热带亚热带植物学报, 2016, 24(3): 333–341. doi: 10.11926/j.issn.1005-3395.2016.03.012.]
- [27] KAISER-BUNBURY C N, MOUGAL J, WHITTINGTON A E, et al. Ecosystem restoration strengthens pollination network resilience and function [J]. Nature, 2017, 542(7640): 223–227. doi: 10.1038/nature21071.
- [28] BRONSTEIN J L. The exploitation of mutualisms [J]. Ecol Lett, 2001, 4(3): 277–287. doi: 10.1046/j.1461-0248.2001.00218.x.
- [29] COZZOLINO S, WIDMER A. Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception? [J]. Trends Ecol Evol, 2005, 20(9): 487–494. doi: 10.1016/j.tree.2005.06.004.
- [30] GALIZIA C G, KUNZE J, GUMBERT A, et al. Relationship of visual and olfactory signal parameters in a food-deceptive flower mimicry system [J]. Behav Ecol, 2005, 16(1): 159–168. doi: 10.1093/beheco/arh147.
- [31] PAPIOREK S, JUNKER R R, ALVES-DOS-SANTOS I, et al. Bees, birds and yellow flowers: pollinator-dependent convergent evolution of UV patterns [J]. Plant Biol, 2016, 18(1): 46–55. doi: 10.1111/plb.12322.

- [32] WANG S, ZHANG Y, LI Y H. Research progress on the mechanism of petal conical epidermal cells formation and attraction to pollinating insects [J]. Acta Horti Sin, 2012, 39(9): 1781–1792. [王卅, 张昉, 李玉花. 花瓣锥形表皮细胞形成及对授粉昆虫吸引作用机制研究进展 [J]. 园艺学报, 2012, 39(9): 1781–1792. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2012.09.001.]
- [33] REN Z X, WANG H, LUO Y B. Deceptive pollination of orchids [J]. Biodiv Sci, 2012, 20(3): 270–279. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.10046. [任宗昕, 王红, 罗毅波. 兰科植物欺骗性传粉 [J]. 生物多样性, 2012, 20(3): 270–279. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.10046.]
- [34] BLUM M S, FALES H M, MORSE R A, et al. Chemical characters of two related species of giant honeybees (*Apis dorsata* and *A. laboriosa*): Possible ecological significance [J]. J Chem Ecol, 2000, 26(4): 801–807. doi: 10.1023/A:1005476405192.
- [35] ANDERSON GJ. Systematics and reproductive biology [M]// HOCH P C, STEPHENSON A G. Experimental and Molecular Approaches to Plant Systematics, Monographs in Systematic Botany, vol. 53. St. Louis: Missouri Botanical Garden Press, 1995: 263–272.
- [36] BERNARDELLO G, ANDERSON G J, LOPEZ S P. Reproductive biology of *Lactoris fernandeziana* (Lactoridaceae) [J]. Am J Bot, 1999, 86(6): 829–840. doi: 10.2307/2656704.
- [37] HOLSINGER K E. Conservation of genetic diversity in rare and endangered plants [C]// DUDLEY E C. The Unity of Evolutionary Biology: The Proceedings of the Fourth International Congress of Systematic and Evolutionary Biology. Portland: Dioscorides Press, 1991: 626–633.
- [38] FANG F, CHEN X S, LV J, et al. Population structure and genetic diversity of Chinese honeybee (*Apis cerana cerana*) in central China [J]. Genes, 2022, 13(6): 1007. doi: 10.3390/genes13061007.
- [39] ZHAO J Y, LONG J K, DAVID T C, et al. Mitochondrial DNA diversity of *Apis cerana* in Guizhou Province [J]. J Environ Entomol, 2022, 44(3): 595–605. [赵金玉, 龙见坤, DAVID T C, 等. 贵州省东方蜜蜂 *Apis cerana* 线粒体 DNA 遗传多样性研究 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44(3): 595–605. doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2022.03.10.]