

花柱卷曲性的维持及功能性别特化

孙 杉* 操国兴 罗燕江 李庆军

中国科学院西双版纳热带植物园, 云南勐腊, 666303

摘 要 花柱多态型的型比通过选型交配形成的负频率依赖的选择来维持。种群空间格局对于频率依赖选择所维持的花柱多态型是至关重要的。该研究使用摆放实验构建不同型比的马来良姜(*Alpinia mutica*)人工种群, 以评价花柱卷曲性促进选型交配的功能。使用邻域模型调查了云南草蔻(*Alpinia blepharocalyx*)种群中的目标植株的坐果数、结籽数及其邻域中花序的数量和型偏以探讨在局域尺度上目标植株的雌性适合度是否受负频率依赖的选择。通过比较云南草蔻上举型和下垂型各繁殖性状的差异以及两型的功能性别的计算以评估两型功能性别可能存在的特化趋势。摆放实验结果说明花柱卷曲性形成的二型种群可以促进型间花粉传递。在局域尺度上, 云南草蔻两型倾向于同型聚集分布, 这一分布特点反映出其克隆生长特性。统计结果说明: 邻域中异型花粉供体相对丰富度对两型目标植株都无影响; 目标植株雌性适合度在邻域中不受负频率依赖选择的影响。这一结果并不支持负频率依赖的选择在该研究尺度上是影响种群型比结构的主要机制。云南草蔻两型个体在花期和果期的繁殖指标上不存在显著差异; 功能性别计算结果显示选型交配是种群内唯一的交配模式时, 下垂型功能性别偏雌性而上举型功能性别偏雄性。这一功能性别特化的趋势可能是通过对上举型的雄性功能的选择而造成的, 并可能与种群型结构相关。当功能性别计算只考虑自交而忽略近交衰退时, 种群功能性别偏向雌性。

关键词 选型交配, 花柱卷曲性, 频率依赖的选择, 功能性别, 型偏

Maintenance and functional gender specialization of flexistylus

SUN Shan*, CAO Guo-Xing, LUO Yan-Jiang, and LI Qing-Jun

Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Mengla, Yunnan 666303, China

Abstract

Aims In stylar polymorphous species, the morph ratios are maintained by negative frequency-dependent selection through disassortative mating. The spatial context of a population is of crucial importance to maintain this stylar polymorphism. Under particular circumstances, disassortative mating in such species may promote the evolution of a dimorphism by gender specialization. We asked whether flexistylus can promote sufficient disassortative mating, whether the female fitness of focal plant is affected by negative frequency-dependent selection at local level, and whether the two morphs in flexistylous plants differ in gender specialization.

Methods We used open-pollinated flexistylous *Alpinia mutica* to compare fertility in anaflexistylous, cataflexistylous and dimorphic arrays. Second, we used neighborhood models to investigate spatial distribution of morphs at local level within the population on reproductive output in the flexistylous, *A. blepharocalyx*. We quantified the distribution of the morphs in terms of neighborhood morph bias. We then measured the effect of neighborhood morph bias on open-pollinated reproductive output. Third, the reproductive characters were examined in anaflexistylous and cataflexistylous morphs of *A. blepharocalyx*. We assessed functional genders of two morphs based on their allocations associated with times-dependent mating opportunities and the mean number of seeds produced by anaflexistylous and cataflexistylous plants with morph frequency in the population.

Important findings Dimorphic arrays have higher female fertility than monomorphic arrays, demonstrating the flexistylus promotes inter-morph pollen transfer. Results from *A. blepharocalyx* indicate that at the neighborhood scale, the two morphs have an aggregate distribution due to clonal growth. At this scale, focal plants showed no evidence of frequency-dependent total fruits and seeds per plant or seeds per flower. These results do not support frequency-dependent selection as a major mechanism affecting morph frequencies in *A. blepharocalyx* within the context of this study. There are no significant differences between two morphs in flower and fruit characters. Functional gender analyses indicate that when illegitimate fertilization is negligible, the morphs are specialized in

their later sexual functions, mediated by anaflexistylous morph through male fitness gained; however, when self-fertilization is included, the two morphs are both specialized in their female functions due to the lack of inbreeding depression in the formulas.

Key words disassortative mating, flexistily, frequency-dependent selection, functional gender, morph bias

自达尔文以来,花柱多态型的进化和维持一直是进化生态学研究热点(Barrett *et al.*, 2000)。花柱多态型植物种群由2或3种表型的雌雄同花植株组成。种群内的植株在性器官的长度和定位上存在差异,这些差异通常与遗传不亲合性相结合而决定着非随机交配(选型交配)的比例。花柱多态型的维持通常作为频率依赖(frequency-dependent selection)选择的结果。频率依赖的选择影响着局域种群的进化轨迹和遗传多样性(Sinervo & Calsbeek, 2006)。频率依赖的选择要求个体间的性状分布是频率依赖或个体间存在相互作用。正频率依赖的选择和常见型的优势可导致单型;负频率依赖的选择导致稀有表型优势和多态型。研究发现,频率依赖的选择有助于维持三型花柱植物*Lythrum salicaria*自然种群的型比(Eckert *et al.*, 1996)。种群空间格局对于依赖频率选择所维持的花柱多态型是至关重要的。种群内个体的邻域密度可影响局域花粉库的大小(Graff, 1999)。如果花粉流是高度局域时,个体植株的繁殖成功可能对邻域花粉供体相当敏感。如果某一表型植株在局域稀少时,数量占优的另一表型植株则有较少的异型花粉供体和花粉受体,因而种群内二型植株的空间分布可对二型植株雌性和雄性适合度施加不同的选择压力。同时,很多传粉者的最优觅食方式对种群密度的局域变异敏感(Kunin, 1997)。目前负频率依赖选择与植物多态型维持的研究集中在异型花柱系统(Stehlik *et al.*, 2006; Brys *et al.*, 2007, 2008)和雌全异株系统上(Graff, 1999; Cuevas *et al.*, 2008)。

具有多态型的雌雄同体植物虽然在繁殖策略上存在差异,但在功能性别(基因通过雄性和雌性功能传递的比例)上可能是相等的(Gleiser *et al.*, 2008b)。然而,在特殊情况下,选型交配可通过促进多态型物种功能性别特化而向性别分离进化。在选型交配的植物中,功能性别特化的机制包括:1)个体可以从直接特化成某一性别中获得高收益。比如个体特化成为雄性则可通过吸引大量传粉者获得高回报(Gleiser *et al.*, 2008a)。2)在花柱二型物种中,

传粉者类群的改变可通过性别特化而驱动功能性别二态的进化(Lloyd, 1979)。3)在异型雌雄异熟植物中,两型随繁殖季节进程在交配机会和种子生产(或大小)上存在差异时可驱动性别特化(Pendleton *et al.*, 2000; Pannell & Verdu, 2006)。比如, Gleiser等(2008b)通过亲本分析和时间依赖的功能性别分析,说明异型雌雄异熟植物*Acer opalus*种子大小随繁殖季节的进程而减小时,可选择支持二型植株向其最先行使的性别功能特化。

花柱卷曲性(flexistily)是一种见于姜科山姜属(*Alpinia*)和砂仁属(*Amomum*)植物中的独特的型二态现象(崔晓龙等, 1995; Li *et al.*, 2001, 2002; Zhang *et al.*, 2003; Takano *et al.*, 2005; 王英强等, 2005; Ren *et al.*, 2007)。这一繁殖策略联合了由花药开裂和柱头可授性时间变化形成的异型雌雄异熟(刘敏等, 2007)和由花柱运动形成的雌雄异位。具有这一性表达机制的植物种群包括两种表型的个体:上举型(anaflexistylous morph)和下垂型(cataflexistylous morph),其差异表现在它们开花过程中花柱运动和花药开裂时间不同,即上举型和下垂型分别相当于异型雌雄异熟系统中的雌先熟型和雄先熟型。两种表型的花期都是1天。下垂型个体的花在开放时花药开裂散出花粉,但此时其柱头却向上弯曲远离传粉通道;而上举型个体在上午开花时柱头向下弯曲可接受传粉昆虫拜访,但其自身的花药并不开裂。两种花型的花柱在中午开始向各自相反的方向运动:上举型个体的花柱向上卷曲,当其柱头离开能够接触传粉者的位置后,它的花药开裂散粉;下垂型个体的花柱向下弯曲,其柱头逐渐进入昆虫拜访的通道。花柱卷曲性通过这种独特的花柱互补式运动和花粉散布的时间差异,以及与传粉者拜访频率的巧妙结合,组成一个精巧的行为机制(张玲和李庆军, 2002)。

本研究关注与花柱卷曲性植物的多态型维持及功能性别特化紧密相关的3个问题:1)花柱卷曲性可否促进选型交配(型间交配)? 2)在种群局域空间尺度上,邻域植株的密度和型结构对目标(focal)植

株繁殖成功的作用如何? 3)花柱卷曲性植物是否存在功能性别特化? 我们采用人工摆放构造的马来良姜(*Alpinia mutica*)单型上举型和下垂型种群以及型比1:1的二型种群, 比较每类摆放中植株的结籽数以检验型间传粉的效率。本实验所用马来良姜为引种植物, 只栽培于中国科学院西双版纳热带植物园苗圃(XTBG, 21°45' N, 101°02' E; 海拔580 m)内, 野外并无其自然种群, 这就保证无外源花粉的输入对摆放实验结果的影响。通过使用邻域模型调查野外云南草蔻(*Alpinia blepharocalyx*)种群以目标植株为中心、半径为3 m的圆形邻域(以下简称邻域)中型比结构和密度以及目标植株的坐果结籽数, 以探讨种群内型比结构与雌性适合度的关系, 即负频率依赖的选择是否决定着目标植株的雌性适合度。最后, 我们使用云南草蔻作为研究材料以检验花柱卷曲性植物两型间可能存在的功能差异。我们首先比较两型个体在花期和果期重要繁殖指标间的差异以了解两型个体的性别分配。然后, 通过繁殖成功指标(每型所产的平均种子数)和种群型比计算了两型的功能性别以评估种群功能特化。

1 材料和方法

1.1 物种

马来良姜为自交亲和的多年生姜科草本植物。高1–3 m; 披针型单叶丛生; 顶生的圆锥花序。花内鲜艳的花瓣状退化雄蕊(唇瓣)游离与可育雄蕊愈合形成筒状花冠。其中唇瓣的主要功能是为传粉者的登陆提供平台, 花冠管的长度与传粉者喙的长度密切相关。花序每天开花数在1–5之间, 单花花期近24 h。摆放实验在2008年9月20日至10月3日间进行。

云南草蔻为多年生草本植物, 高1–3 m。花序和花部特征同马来良姜。种群中两种表型几乎同时开花, 花期持续约1个月。每个花序花数从25到70不等, 花序每天开花数在1–10之间, 单花花期都是近24 h。花期从3月到4月底, 蒴果在8–9月间成熟。云南草蔻管状的花冠构造适应于长喙型采蜜动物的拜访。野外观察发现云南草蔻最有效的传粉者是熊蜂属的萃熊蜂(*Bombus eximius*)和瑞熊蜂(*Bombus richardis*)。这些个体较大的熊蜂能够在访花的过程中触及花药和柱头, 并且它们具有长距离觅食能力(Zhang *et al.*, 2003)。

1.2 样地

研究样地位于云南省普洱市景阳河自然保护区核心区(22°30' N, 101°22' E, 海拔1 200 m)内, 该区年降水量1 547.6 cm, 年平均温度17.7 °C。海拔1 100 m以下为热带沟谷雨林, 1 100 m以上为常绿阔叶林和针阔混交林。样地的上层树种以栲树(*Alnus nepalensis*)和西南桦(*Betula alnoides*)为主, 下层以云南草蔻为主。样地种群中上举型和下垂型的异交率($t \pm SD$)分别为 0.751 ± 0.097 和 0.615 ± 0.115 (Sun *et al.*, 2007)。野外种群调查工作在2007年和2008年3月中旬至4月中旬进行。

1.3 方法

1.3.1 摆放实验

为了检验花柱卷曲性能否促进选型交配, 使用引种植物马来良姜构建3类实验种群: 全下垂型(C), 全上举型(A)和下垂型与上举型比为1:1的二型(D)种群。摆放实验在中国科学院西双版纳热带植物园苗圃中进行。在二型种群的每一次摆放实验中, 我们排列相等数目的上举型和下垂型植株。所有摆放实验包含16株植株, 且每日的花展示固定为每株2朵。摆放按D、A、C顺序进行。每一类摆放实验连续进行4天, 然后隔日再进行另一类摆放实验。总共有89株植株进行摆放实验, 其中C、A和D各用33株、30株和26株。实验期间, 只有摆放植株每日从9:00到19:00接受自然传粉者的拜访。每日实验结束, 所用植株被套袋。在果期我们记录每一摆放实验的坐果数和每果的种子数。使用每株种子总数作为雌性适合度的测量指标。

1.3.2 种群型结构与繁殖成功

种群大小和型结构是以花序为测量单位进行的(以下株均指花序)。我们在景阳河云南草蔻种群内随机选取植株的一个花序作为目标植株, 然后调查记录以目标植株为中心、半径为3 m的圆形邻域中开放花序的型和数目。对标记的目标植株, 记录型和花序的花数。两个目标植株的距离大于10 m。2007年总共标记78株, 2008年标记110株。计数每个半径3 m圆形样方中每型花序的数目(包括目标植株, 以下简称样方), 分别加总所有样方每型的数据作为种群型比的估计值。以目标植株邻域中开放花序的数目作为邻域密度指标。同时, 使用型偏作为邻域型结构的测量指标以反映邻域中两型花粉供体间的相对丰富度。型偏(morph bias)是邻域中上举

型与下垂型花序数目之差除以邻域密度(总花序数)得到的;其取值从-1(只有下垂型)到0(两型频率相等)到1(只有上举型)。我们使用花序数而不是基株数测量种群密度和型比是因为花序数在任何一年都可更好地反映配偶数目和受精可用的花粉数目。克隆的大小及其花序数存在年际间差异。同时花序数也决定局域花粉库的大小。为了调查种群型结构对繁殖成功的作用,我们在果实成熟前后剪取已标记的目标植株花序分别装袋保存。测量记录目标植株的坐果数,每果的结籽数。以每株坐果数和结籽数作为雌性适合度组分。

1.3.3 繁殖性状的调查

1.3.3.1 花展示大小和每花序花数的调查 我们使用每花序每日开放的花数测度花展示大小。随机标记同步开花两型个体(> 30),每个体随机选择一个花序,调查花数。2007年从3月22日至4月15日隔日记录每个花序当日开放的花数,2008年,从3月27日至4月7日逐日记录开放花数。统计每型在抽样时期平均日开放花数作为花展示的指标。

1.3.3.2 花粉数和胚珠数的测定 2007年随机标记同步开花的两型个体(下垂型38株,上举33株),上举型在开花当日上午,下垂型在开花前3 h采集所有开放和即将开放的花的花粉囊和子房并固定于FAA(甲醛:醋酸:乙醇=1:3:9)中,带回实验室备用。从3月24日至4月15日隔日采集花粉囊和子房。在解剖镜下计数每花胚珠数。每花的花粉配成5 mL的悬浮液(冰乙酸:甘油=3:1),然后每次吸取20 μ L悬浮液在血球计数板计数花粉数目,每样品重复8次取平均数估计每花的花粉。测定所有样品的花粉和胚珠数做为繁殖指标和计算功能性别。

1.3.3.3 果期指标的测定 使用目标植株的每花种子数,每株坐果数和每株结籽数作为果期指标。

1.3.4 功能性别的计算

功能性别即功能雌性可以使用雌性和雄性繁殖投入(花粉和种子)或产出(种子)来测量。从适合度的角度来看,使用种子可能更接近与现实的繁殖成功。因而,功能性别就成为测量每型通过雌性和雄性功能所获的平均适合度收益。在本研究中功能性别的计算包括忽略自交和考虑自交两种情形。种群精确的功能性别极可能位于这二者之间。原因如下:1)同型的花粉必须要与大量的异型花粉竞争交配机

会。2)自花花粉的竞争能力低于异型花粉。3)同型花粉受精所产的种子有较低的适合度(双亲近交衰退)。

我们使用Gleiser等(2008b)提出的时间依赖的功能性别计算公式。这一计算公式综合考虑了性别分配和时间依赖的交配机会。根据云南草薹的单花花期、交配系统和选型交配的特点,我们对此做出相应的修改,分两种情形分别计算功能性别:

1)不存在同型(包括自交和型内交配)交配时,选型交配是唯一的交配方式(在以下的计算中忽略型内交配)。i型j个体日产花粉数和胚珠数分别为 p_{ij} 和 c_{ij} ,则个体j当日的雌性($w_{f,ij}$)和雄性($w_{m,ij}$)的期望适合度为:

$$w_{f,ij} = c_{ij}$$

$$w_{m,ij} = \frac{p_{ij}}{P_i} C_{\bar{i}}$$

其中, $\bar{i}$ 表示与i相反的表型。 P_i 是i型当日所产的总花粉数, $C_{\bar{i}}$ 是当另一型所产的总胚珠数,即 $P_i = P_{ij}$, $C_{\bar{i}} = C_{i-k}$ 。总适合度为 $w_{t,ij} = w_{f,ij} + w_{m,ij}$,而功能性别 $G_{ij} = w_{f,ij}/w_{t,ij}$ 。

2)存在自交而不存在型内交配时,个体通过自交可从雌雄两条途径增加适合度。此时,个体j的雌性和雄性的期望适合度为:

$$w_{f,ij} = c_{ij}(1 + s_i)$$

$$w_{m,ij} = c_{ij}s_i + \frac{p_{ij}}{P_i} C_{\bar{i}}(1 - s_{\bar{i}})$$

其中, s_i 和 $s_{\bar{i}}$ 分别为两型的自交率。这一方程假设自交后代和异交后代具有相同的适合度,即不存在近交衰退以及自交率为定值不随年际变化。分别计算每个采样日的雌性和总适合度,然后分别加总数据以求得个体功能性别 $G_{ij} = \sum_t w_{f,ij} / \sum_t w_{t,ij}$ 。根据2007年花粉和胚珠连续采样的数据,分别计算了两种情形下两型随时间变化的雌性雄性适合度及个体的功能性别。由于性表达可能是大小依赖的,我们需要了解功能性别和植株大小间的关系(Sarkissian *et al.*, 2001)。我们测量了株高、地面以上1 m处的植株直径、植株大小以圆柱体体积近似估计。

如果将种群参数代入上式,可以得出如下的功能性别公式(以上举型为例):

$$\overline{G_a} = \frac{n_a \overline{d_a}}{n_a \overline{d_a} + n_g \overline{d_g}}$$

$$\overline{G_a} = \frac{n_a \overline{d_a} (1 + s_a)}{n_a \overline{d_a} (1 + 2s_a) + n_g \overline{d_g} (1 - s_g)}$$

其中, n_a 和 n_c 分别为种群中上举型和下垂型的个体数或其频率, d_a 和 d_c 分别为上举型和下垂型个体平均所产的胚珠数或种子数, s_a 和 s_c 分别为上举型和下垂型的自交率。上述两式的假设同前。同理, 我们也可以计算下垂型的功能雌性(G_c)。我们将2007年和2008年抽样调查的种群中两型的频率及平均每花序的总种子数代入上述公式分别计算有无自交时两型的功能性别。

1.3.4 统计分析

各实验种群间雌性适合度(每株种子总数)的差异使用单因素方差进行检验。各摆放实验的均值进行多重比较, p 值采用Bonferroni校正。

种群型比是否显著偏离1:1采用pooled goodness-of-fit G 检验。目标植株邻域密度及型偏在两型间的差异使用单因素方差进行检验。其中目标植株邻域密度作平方根转换。邻域密度与型偏的相关性使用Spearman秩检验。

型偏、邻域密度和目标植株表型对雌性适合度组分的作用使用广义线性模型分析(准泊松分布)。型偏平方作为固定因子, 这是因为负频率依赖的选择导致在均衡型比(morph bias = 0)时, 雌性适合度最大并随型比偏离1:1而减少。在模型中, 目标植株的雌性适合度的组分(每株的坐果数和种子数)作为独立变量, 而型偏、型偏的平方、型和目标植株的花数作为固定变量。模型也检验目标植株表型和型偏的交互作用, 这可反映两型对邻域花粉供体相对丰富度响应的差异。

两型在繁殖指标的差异均采用两个独立样本的 t 检验。功能性别的大小依赖性使用多元线性回归分析, 功能性别作为独立变量, 植株大小作为连续变量, 花序大小作为协变量。同时我们构建 G_j 的累计频度分布。使用Kolomogorov-Smirnov双样本检验忽略自交和考虑自交时 G_j 分布的差异。所有的统计检验均使用R 2.8.1 (R Development Core Team, 2008)。

2 结果

2.1 摆放实验

摆放实验期间, 主要的传粉昆虫是体型较小的彩带蜂(*Nomia yunnanensis*), 而体型较大的有效传粉者木蜂的拜访频率极低。A、C和D种群的坐果总数分别为17、51和41。统计结果显示, 摆放的类型显著影响植株生产种子的总数($F_{2,9} = 4.66, p = 0.04$) (图1), 二型种群的雌性适合度高于单型种群。这说明二型种群可通过选型交配增加适合度收益。多重比较结果显示, A的种群雌性适合度显著低于D ($p = 0.043$), 而和C的雌性适合度与D ($p = 0.859$)和A ($p = 0.275$)都无差异。单型种群间坐果结籽数的差异反映出由两型同型交配(包括自交和型内交配)间的差异。上举型低的雌雄功能重叠的程度减少了单型种群内同型交配的机会, 因而具有更低的坐果结籽数。全下垂型种群和二型种群具有相同的雌性适合度, 说明二型种群的维持需要种群个体通过型间交配而获得较高的雄性适合度收益。

2.2 种群型比与邻域型结构

2007年和2008年的样方中花序总数分别为1 693个和1 835个。由样方数据估计的整个种群上举型花序的频率在2007年和2008年分别为0.444 ($G_{\text{pooled}} = 2\ 780.742, df = 1, p < 0.000\ 1$)和0.439 ($G_{\text{pooled}} = 2\ 344.79, df = 1, p < 0.000\ 1$)。在种群范围内上举型花序数显著少于下垂型的。种群平均花序密度和(mean $\pm$ SD)在2007年和2008年为(0.768 $\pm$ 0.328)个 $\cdot$ m $^{-2}$ 和(0.590 $\pm$ 0.261)个 $\cdot$ m $^{-2}$ 。上举型和下垂型目标植株的邻域密度在2007年和2008年分别为20.72 $\pm$ 9.38和20.69 $\pm$ 9.29; 15.74 $\pm$ 7.68和15.6 $\pm$ 7.16。两型间都无差异(2007年: $F_{1,76} = 0.005\ 8, p = 0.939$; 2008年: $F_{1,108} = 0.000\ 6, p = 0.981$)。然而, 邻域中型偏在两型间存在差异, 特别是在2008年差异显著(2007年: $F_{1,76} = 3.744, p = 0.056\ 7$; 2008年: $F_{1,108} = 18.417, p < 0.001$) (图2)。目标植株的邻域中型偏在两年显示出相同的模式: 在目标植株的邻域中, 与目标植株相同的型的频率大于异型频率, 即邻域的型偏偏向目标植株的表型(图2)。邻域密度和型偏间在两年都不存在相关关系(Spearman秩检验, 2007年: $\rho = -0.118, p = 0.303$; 2008年: $\rho = -0.141, p = 0.143$)。

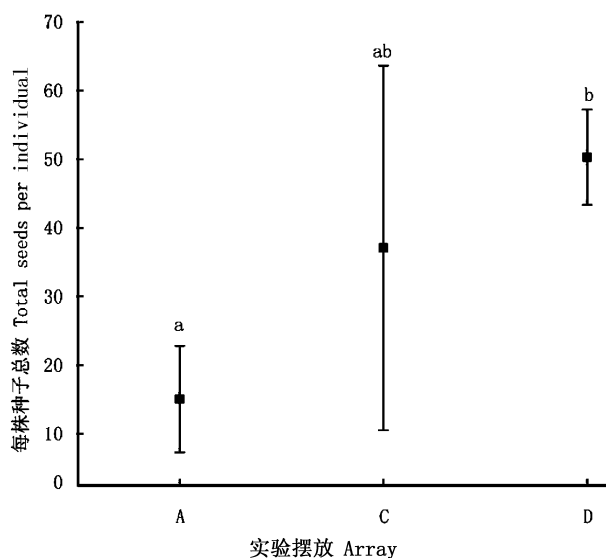


图1 不同实验摆放对每株种子总数的作用。A, 全上举型; C, 全下垂型; D, 二型。误差棒表示平均值的标准偏差。不同的字母表示不同差异显著($p < 0.05$)。

Fig. 1 The effect of experimental array on the total number of seeds per plant. A, entirely anaflexistylous; C, entirely cataflexistylous; D, dimorphic. Bars indicate SD of mean values. Different letters indicate significantly different at $p < 0.05$ level.

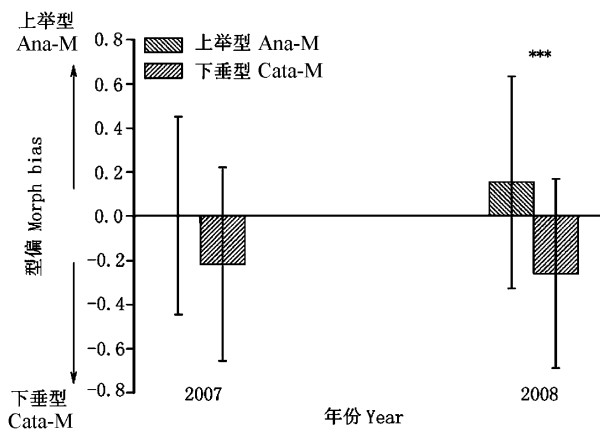


图2 上举型和下垂型目标植株邻域中平均型偏。误差棒表示平均值的标准偏差。***, $p < 0.001$ 。

Fig. 2 Mean morph bias in neighborhoods surrounding anaflexistylous (Ana-M) and cataflexistylous (Cata-M) focal plants. Bars indicate SD of mean values. ***, $p < 0.001$.

2.3 负频率依赖的选择与目标植株适合度

广义线性模型分析表明, 两年期间目标植株雌性适合度组分与型偏平方间无显著的回归关系(表1)。相对于频率依赖选择理论预期, 我们的调查结果发现, 目标植株雌性适合度在邻域中不受负频率

依赖选择的作用, 即目标植株的雌性适合度(Y =每株坐果数或结籽数)与型偏(x =型偏)间并未出现负频率依赖选择理论所预期 $Y = Ax^2 + C$ ($a < 0$)的关系(图4)。邻域密度、型偏和表型对目标植株每花结籽数无显著作用(表1)。邻域密度与雌性适合度无关说明在我们的研究尺度上并无密度依赖作用。同时, 目标植株表型和邻域型偏间的交互作用对目标植株雌性适合度无影响, 说明二型植株对邻域中花粉供体的相对丰富度的响应无差异。目标植株的每株坐果和结籽数只与其个体的状态显著相关, 即花序花数多的个体坐果和结籽数也相应的高(表1)。

2.4 繁殖性状和功能性别

云南草蔻两型在花期和果期的各繁殖性状均不存在显著差异(表2)。这也说明两型在繁殖投入和产出间不存在差异。云南草蔻的两型繁殖性状的信息提示种群两型的功能性别可能相等。

在本研究中, 这两种方法计算的功能性别反映出相同的两型功能性别特化趋势和程度, 即选型交配是唯一的交配模式时, 下垂型功能偏雌性而上举型偏雄性。根据改进公式使用繁殖投入计算的适合度和 G_j 累计频率分布得出: 1)在忽略自交时, 种群平均功能性别是0.504 (95%CI = 0.492–0.515)。两型偏向不同的性别特化。下垂型向雌性功能特化(平均功能性别0.539 (95%CI = 0.529–0.549))而上举型向雄性功能特化(平均功能性别0.462 (95%CI = 0.451–0.474))。种群中功能雌性的频率范围分别为0.385–0.599。2)当考虑自交时, 种群平均功能性别是0.571 (95%CI = 0.566–0.578)。两型均向雌性功能特化。下垂型和上举型的平均功能性别分别为0.578 (95%CI = 0.571–0.585)和0.563 (95%CI = 0.554–0.571)。种群功能性别偏雌, 即所有个体的功能性别均不小于0.05 (频率范围为0.503–0.611)。自交对 G_j 累计频率分布有显著作用(Kolomogorov-Smirnov双样本检验, $D = 0.7042$, $p < 0.0001$)。自交可使种群具有偏雌的功能性别分布(图4)。从表3可以看出, 云南草蔻种群只存在选型交配时两型对种群雌性功能的贡献相当。上举型相比于下垂型通过雄性功能获得较高的适合度, 即上举型对种群的雄性功能贡献较大。但自交可降低上举型的雄性适合度。而自交对下垂型的适合度影响甚少。因此当选型交配是种群唯一的交配模式时, 两型具有功能性别特化的倾向, 即下垂型功能偏雌性而上举型偏雄性。这

表1 2007年和2008年型偏的平方、型偏、目标植株表型、邻域密度和目标植株花数对目标植株雌性适合度的作用。分析使用广义线性模型(准泊松分布)

Table 1 The effect of (morph bias)², morph bias, morph, neighborhood density and the number of flowers per focal plant on female fitness of focal plants in 2007 and 2008, respectively, analyzed with generalized linear models with the log link function for quasi-poisson variables

变量 Variable	2007 (n = 56)		2008 (n = 89)	
	估计值 Estimate	p	估计值 Estimate	p
坐果数/株 Fruits/plant				
(型偏) ² (Morph bias) ²	-0.482 2	0.480 8	-1.421 2	0.150 1
型偏 Morph bias	-0.274 2	0.498 2	-0.296 1	0.595 0
目标植株的表型 Focal plant morph	0.074 1	0.730 9	-0.500 9	0.093 0
邻域密度 Neighborhood density	0.007 8	0.326 6	-0.000 2	0.990 6
(型偏) ² ×目标植株表型 (Morph bias) ² × focal plant morph	0.477 6	0.596 5	1.514 4	0.200 6
型偏×目标植株表型 Morph bias× focal plant morph	0.054 3	0.914 7	0.178 0	0.788 4
目标植株的花数 No. flowers in focal plant	0.026 9	0.000 4 ***	0.019 0	0.112 0
结籽数/株 Seeds/plant				
(型偏) ² (Morph bias) ²	-0.362 3	0.597 6	-2.038 0	0.104 9
型偏 Morph bias	-0.169 7	0.671 1	-0.634 9	0.380 7
目标植株的表型 Focal plant morph	0.121 8	0.574 9	-0.469 0	0.163 7
邻域密度 Neighborhood density	0.000 9	0.909 2	-0.002 1	0.896 7
(型偏) ² ×目标植株表型 (Morph bias) ² × focal plant morph	0.076 3	0.933 2	1.946 6	0.176 6
型偏×目标植株表型 Morph bias× focal plant morph	0.134 0	0.794 0	0.463 4	0.573 6
目标植株的花数 No. flowers in focal plant	0.025 2	0.001 0 ***	0.032 4	0.018 6 *

括号中的值表示样本数。*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$.
Values in parentheses are numbers of plants sampled. *, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$.

表2 云南草蔻两型繁殖特征(平均值±标准偏差)

Table 2 Reproductive character means for anaflexistylous (Ana-M) and cataflexistylous (Cata-M) morphs of *Alpinia blepharocalyx* (mean ± SD)

表型 Morph	2007			2008		
	下垂型 Cata-M	上举型 Ana-M	p	下垂型 Cata-M	上举型 Ana-M	p
花序花数/株 Flowers/plant	46.89 ± 9.54 (69)	47.84 ± 10.13 (58)	0.59	41.24 ± 10.97 (89)	39.80 ± 12.90 (81)	0.43
花展示 Display	2.11 ± 0.46 (38)	2.01 ± 0.45 (33)	0.59	2.67 ± 0.34 (41)	2.47 ± 0.26 (38)	0.13
花粉数/型/日 Pollen grains/morph/day	78 300 ± 17 500 (38)	82 000 ± 21 900 (33)	0.63	—	—	
胚珠数/型/日 Ovules/morph /day	79 ± 20 (38)	76 ± 18 (33)	0.78	—	—	
种子数/花 Seeds/flower	8.24 ± 5.02 (31)	9.56 ± 4.68 (25)	0.31	3.54 ± 3.32 (45)	2.85 ± 3.80 (44)	0.37
坐果数/株 Fruits/plant	14.00 ± 7.56 (31)	12.29 ± 8.51 (25)	0.43	6.51 ± 5.95 (45)	5.16 ± 5.78 (44)	0.28
结籽数/株 Seeds/plant	378.81 ± 252.00 (31)	430.84 ± 238.50 (25)	0.43	159.84 ± 147.50 (45)	131.86 ± 175.85 (44)	0.45

括号中的值表示样本数。
Values in parentheses are numbers of plants sampled.

一功能性别特化的模式可能反映了两型在花期的交配机会间存在差异, 并可能是通过对上举型的雄性功能的选择而造成的。两型交配机会的差异可能与两型的花展示大小有关。回归分析结果表明功能性别独立于植株大小(忽略自交: $t = -0.051$, $p =$

0.960 ; 考虑自交: $t = 0.055$, $p = 0.956$)和花序大小(忽略自交 $t = -0.219$, $p = 0.827$; 考虑自交: $t = 0.307$, $p = 0.759$), 即不存在大小依赖的功能性别。

基于平均种子数和种群型频率计算的两型功能性别反映出与上述相同的性别特化模式。2007年

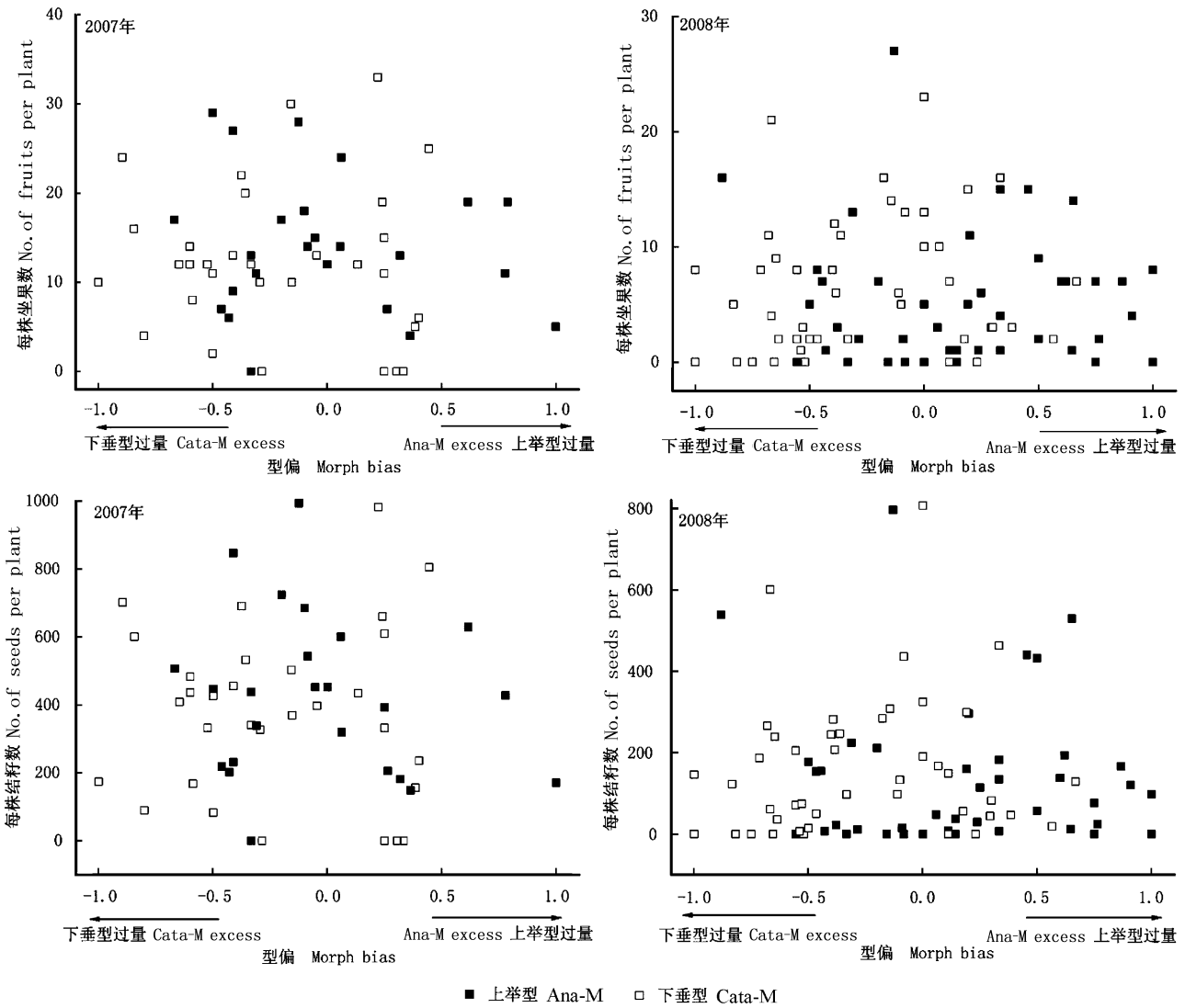


图3 型偏与目标植株雌性适合度的散点图。详细的统计结果见表1。Ana-M, Cata-M, 同图2。
Fig. 3 Scatter plot between female fitness of focal plant and morph bias. Statistical details see Table 1. Ana-M, Cata-M, See Fig. 2.

表3 2007年两性雄性、雌性和总适合度
Table 3 Male, female and total prospective fitness for the morphs in 2007

表型 Morph	自交率 Selfing rate	雄性适合度 Male fitness	雌性适合度 Female fitness	总适合度 Total fitness
下垂型 Cata-M	0.385	0.485 (0.465)	0.415 (0.415)	0.447 (0.435)
上举型 Ana-M	0.249	0.659 (0.441)	0.409 (0.369)	0.514 (0.397)

适合度计算分忽略自交和存在自交(括号中)两种情况。适合度根据每列最大值标准化。Ana-M, Cata-M, 同图2。
Fitness values were calculated both assuming negligible selfing and using selfing rates (in parentheses). Fitness values were standardized according to the highest value within each category. Statistical details see Table 1. Ana-M, Cata-M, See Fig. 2.

的结果与使用花粉胚珠计算的结果基本一致。2008年的结果反映出两性通过雌性和雄性功能获得适合度收益的差异增大(表4)。自交的存在也使种群的性别功能偏雌性。种群的型比可反映频率依赖的选择。从表4也可看出, 云南草蔻种群中较低频率的上

举型向雄性功能特化。负频率依赖的选择使得上举型具有较高的雄性适合度优势, 但这一优势随着其频率的增加而降低。因而当选型交配的水平高于随机交配时, 负频率依赖的选择是稳定异型雌雄异熟而不是导致性别特化的进化。

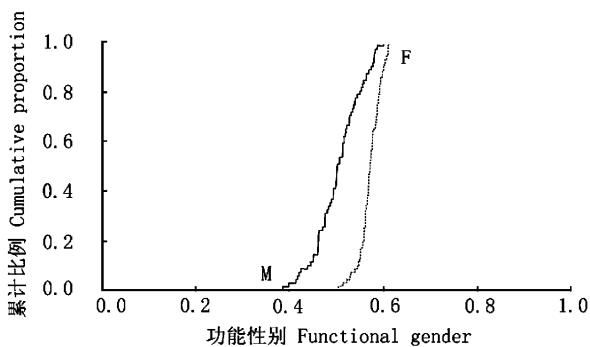


图4 种群中抽样植株功能性别的累积频度图。M, $G_j = 0$, 个体只有雄性功能; F, $G_j = 1$, 个体只有雌性功能。实线和虚线分别表示忽略自交和存在自交。

Fig. 4 The cumulative frequency distribution of functional gender for plants sampled from the population. M, $G_j = 0$, for pure males; F, $G_j = 1$ for pure females. Values of the functional gender were calculated both assuming negligible selfing (solid) and using selfing rates (dotted).

表4 2007年和2008年上举型和下垂型植株功能性别($\overline{G_x}$)
Table 4 Functional gender ($\overline{G_x}$) of anaflexistylous and cataflexistylous plants for 2007 and 2008

表型 Morph	表型频率 Morph frequency	功能性别	
		Functional gender	
		$\frac{n_x}{n_a + n_c}$	$\frac{\overline{d}_x}{\overline{G}_x}$
2007			
下垂型 Cata-M	0.556	378.81	0.524 (0.565)
上举型 Ana-M	0.444	430.84	0.476 (0.574)
2008			
下垂型 Cata-M	0.561	159.84	0.610 (0.615)
上举型 Ana-M	0.439	131.86	0.390 (0.468)

n_x , 上举型或下垂型植株数; n_a , n_c , 分别为上举型和下垂型植株数; $\overline{d_x}$, 平均每株所产的种子数。功能性别计算分忽略自交和存在自交(括号中)两种情况。
 n_x , the number of either anaflexistylous or cataflexistylous plants; n_a , n_c , number of anaflexistylous and cataflexistylous plants, respectively; $\overline{d_x}$, the average number of seeds produced per plant. Values were calculated both assuming negligible selfing and using selfing rates (in parentheses).

3 讨论

3.1 种群结构与花柱卷曲性的进化维持

联合摆放实验构建的种群和自然种群的调查探讨了花柱卷曲性的功能及其维持机制。花柱卷曲性形成的二型种群可以促进型间花粉传递和选型交配。云南草蔻自然种群表现出尺度依赖效应, 在种群水平上, 下垂型的频率显著高于上举型; 而在局域尺度上, 两型倾向于同型聚集分布。统计分析

结果说明: 目标植株对邻域中花粉供体相对丰富度的反应在两型间无差异; 目标植株雌性适合度在邻域中不受负频率依赖选择的作用。

多数花柱多态型植物的进化生态学研究都试图证明达尔文异交传粉假说, 即二型花柱物种柱头和花粉囊的互补配置(互补的雌雄异位)可通过花粉在传粉者身体上的隔离和型间花粉散布而促进有效传粉(Brys *et al.*, 2007)。虽然花柱卷曲性植物在花内并不具有柱头和花粉囊的互补结构, 但是由花柱运动形成的雌雄异位可在同一时间段中使种群中两型间的花粉散布和柱头可授性相匹配。两型间雌雄功能匹配可使种群形成“暂时性雌雄异株(temporal dioecy)”进而促进选型交配。三类实验种群结果说明花柱卷曲性二型种群的雌性适合度显著高于全上举型种群(图1)。这说明单型上举型种群的型内交配机会有限。上举型的雌性功能先于雄性功能且花柱运动使个体的雌雄功能完全分离, 限制了个体间的交配和自交。因而上举型型内交配的发生可能与传粉者的负载效应相关。单型上举型种群有限的交配机会降低个体雌雄两方面的适合度而使其不足以稳定存在。但是全下垂型种群的坐果数多于二型种群且每株结籽数在两类种群间无差异(图1)。下垂型有着较高的自交率和后自交机会。比如云南草蔻的下垂型有较高的自交率(Sun *et al.*, 2007)。在下垂型中, 花粉的移除受传粉者调控, 花粉在花内的续存时间即雌雄功能隔离程度是有效拜访频率的函数。在缺乏有效传粉者和传粉者在上午拜访频率较低时, 下垂型雌雄功能在下午的重叠可促进型内交配。在实验期间, 彩带蜂有较高的拜访频率但花粉负载较小, 这也增加了下垂型的坐果数。虽然单型下垂型种群可能与二型种群的雌性适合度相等, 但单型下垂型也面临着因近交衰退和雌雄性别干扰而造成的雌性和雄性适合度损失。因而上举型突变体入侵单型下垂型种群的需要上举型通过减少雌雄性别干扰而提高雄性适合度来实现。这也说明单型雌性异熟面临着性比选择, 即在种群水平上可用花粉和胚珠存在时间不匹配时, 选择不支持雌雄异熟(Sargent *et al.*, 2006)。

目前种群空间结构与花柱多态型繁殖成功间关系的研究主要在种群和个体两个空间尺度上进行。然而, 影响植物繁殖成功的生态作用可能在较小的空间尺度描述更为恰当(Spigler & Chang, 2008)。比如, 由于资源是高度局域分布的而植物是

固着生长的, 个体间的资源竞争的作用是局域空间尺度上的特征。在本研究中, 目标植株邻域中两型的分布表现出相同模式, 即两型趋向于聚集分布(图2)。这一分布特点反映出云南草蔻的克隆生长特性, 即每一基株及其分株间都是聚集生长的。邻域密度和型偏对两型目标植株雌性适合度无显著作用以及型偏的平方与目标植株雌性适合度无显著回归关系, 说明二型植株对邻域中花粉供体的相对数量并不敏感, 同时在邻域尺度上不存在负频率依赖的选择。这些结果也表明雌性适合度负频率依赖的选择在我们研究的邻域尺度上并不作为影响型比结构的主要机制。我们未能检测到负频率依赖选择的可能原因包括: 1) 邻域大小的选择可能不恰当。种群内邻域研究都是尺度依赖的, 我们的研究缺乏多个空间尺度的比较分析。比如, 花粉限制和资源限制可能发生在不同邻域尺度上。在不同邻域大小对 *Sabatia angularis* 坐果结籽作用的研究中发现, 在局域水平上, 邻域密度在1–4 m间增加时目标植株的坐果率显著增加; 而邻域密度在1 m内增加时结籽率却显著减低。这一相反作用可能反映出资源竞争发生在较小尺度范围内(Spigler & Chang, 2008)。2) 缺乏局域度对花粉沉积影响的调查。邻域密度不但影响传粉者的拜访频次, 也影响花粉传递数量(Aizen, 1997)。如果花粉流是高度局域时, 负频率依赖的选择才可被检测。传粉者在花序间移动和在单个花序停留时间与局域尺度关系有待进一步调查。3) 不同的传粉者可能对邻域密度具有不同的反应。比如, Zorn-Arnold和Howe (2007)研究 *Penstemon digitalis* 种群密度与结籽率关系时, 发现体型较大且机动性较差的长舌蜂(*Bombus fervidus*, *B. pennsylvanicus*和*Xylocopa virginica*)选择密度较大的邻域以最小化邻域间飞行代价; 而体型较小且具有更好的机动性的短舌蜂(*B. bimaculatus*, *B. griseocollis*和*B. impatiens*)在密度较小邻域中有较高的拜访频率。

3.2 选型交配与功能性别

基于花柱卷曲性物种两型在P/O比上的差异(Wang *et al.*, 2004), Pannell和Verdu (2006)认为这可能提示了某种程度的性别特化。在7种山姜属花柱卷曲性植物中, 上举型单花花粉量和P/O显著高于下垂型, Wang等(2004)据此推测花柱卷曲性植物处于从雌雄同体到雌雄异株变迁的中间状态。Takano

等(2005)讨论了花柱卷曲性植物 *Alpinia nieuwenhuizii* 的性别特化问题, 提出上举型花功能偏雌而下垂型花功能偏雄。这一性别特化的理由包括: 1) 传粉者在上午有较高的拜访频次。2) 相比于上举型植株, 下垂型植株有较低的坐果率和较多的花数。这是因为下午上举型植株花粉散布受到下垂型花粉的干扰, 同时这也降低了下垂型植株的雌性功能, 所以在同型内植株中下午的功能性别的效力低于上午的功能性别。根据Bateman法则, 雌性功能更多地受资源限制, 而雄性功能则受制于交配机会(Burd, 1994)。在异型雌雄异熟植物 *Grayia Brandegei* 中研究发现, 雄先熟型的雌性功能频繁地受制于生境中的资源而经历更大的选择压力, 因而两型繁殖成功的差异在很大程度上归结于雄先熟型个体减少雌性功能。这种资源限制对雄先熟型雌性功能的选择可能导致异型雌雄异熟通过雄全异株作为过渡状态而进化为雌雄异株(Pendleton *et al.*, 2000)。然而, 我们的研究并未发现两型在繁殖指标间存在差异。这提示在繁殖进程中, 可用资源或交配机会并不构成云南草蔻功能性别特化的选择压力。

在本研究中, 两种方法计算的云南草蔻的功能性别反映出相同的功能性别特化趋势, 即选型交配是种群内唯一的交配模式时, 下垂型功能偏雌性而上举型偏雄性。这一功能性别特化的模式可能是通过对上举型的雄性功能的选择而造成的, 这一性功能选择可以与种群中由选型交配形成的负频率依赖选择有关。云南草蔻种群内较低频率上举型植株更具雄性功能优势。因此, 这种功能性别特化的趋势更可能与种群空间格局和型结构相关。而且, 云南草蔻克隆生长形成的空间聚集分布可加重种群的型比偏离和负频率依赖的选择进而影响个体的资源分配。

当功能性别计算考虑自交时, 种群功能性别偏向雌性, 这与我们计算公式的假设相关。在计算公式中, 我们未考虑近交衰退的影响。在不存在近交衰退时, 自交增加个体的雌性适合度同时也减少提供给异型竞争受精的胚珠数。然而, 根据近交系数 F 的改变检测, 发现云南草蔻存在近交衰退(Sun *et al.*, 2007)。近交衰退可减少个体通过自交增加的适合度而使功能性别的累计频度分布曲线向左移动。另外我们也假设自交率不存在年际变化。这一假设可能是不正确的。同时我们在所有计算中都忽略型

内交配。如果云南草蔻种群存在型内交配时, 上举型的功能性别计算公式应改为:

$$\overline{G_a} = \frac{n_a \overline{d_a} (1 + s_a)}{n_a \overline{d_a} (1 + 2s_a + r_a) + n_g \overline{d_g} (1 - s_g)}$$

其中, r_a 是上举型型内交配的比例。型内交配增加雄性适合度而降低功能雌性。花柱卷曲性植物两型雌雄功能重叠程度不同, 所以型内交配比例也可能存在较大的差异。下垂型型内交配比例应高于上举型的 ($r_c > r_a$), 因此型内交配存在时, 下垂型的功能性别将减少。选型交配和两型间型内交配的差异可维持种群平衡的功能性别。型内交配可能面临双亲近交的问题。如果型内个体间既遗传相关又有花粉交换发生时, 那么双亲近交(biparental inbreeding)将会发生。双亲近交是精细尺度(fine-scale)上植物种群空间遗传结构与局域传粉联合的一个结果(Eckert & Herlihy, 2004)。双亲近交对个体适合度具有相互对立的作用: 一方面, 亲属间的交配减少异交的遗传代价, 进而减少自交的传递优势。另一方面, 异交后代由于双亲近交而产生近交衰退时, 将减少对异交的选择。因此, 型内交配对功能性别的影响可能比较复杂。另外, 我们也假设自交率为常数, 这一假设可能是不正确的。最近在 *Aquilegia canadensis* 中的研究表明, 自交亲和植物的自交率存在年际间变异(Eckert *et al.*, 2009)。自交率的动态变化对选型交配种群功能性别的作用需要从理论和实验进行更进一步的研究。

对于花柱卷曲性的维持和功能性别的研究, 我们的工作只是开始。今后进一步研究需要揭示两型型内交配的比例。同时也要从个体和种群两个水平多尺度研究花柱多态型维持机制。功能性别的研究需要从雄性适合度的测量入手, 通过亲本分析技术更为精确地计算雄性适合度, 进而深入了解种群功能性别分布和探讨选型交配的维持和二态型种群通过性别特化而向雌雄异株进化的可能性。

致谢 国家杰出青年科学基金(30225007)及中国科学院“百人计划”项目资助。

参考文献

- Aizen MA (1997). Influence of local floral density and flower-phase sex ratio on pollen receipt and seed output: empirical and experimental results in dichogamous *Alstroemeria aurea* (Alstroemeriaceae). *Oecologia*, 111, 404–412.
- Barrett SCH, Jesson LK, Baker AM (2000). The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany*, 85 (Suppl. A), 253–265.
- Brys R, Jacquemyn H, Beeckman T (2008). Morph-ratio variation, population size and female reproductive success in distylous *Pulmonaria officinalis* (Boraginaceae). *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1281–1289.
- Brys R, Jacquemyn H, Hermy M (2007). Impact of mate availability, population size and spatial aggregation of morphs on sexual reproduction in a distylous, aquatic plant. *American Journal of Botany*, 94, 119–127.
- Burd M (1994). Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. *Botanical Review*, 60, 83–139.
- Cuevas E, Parker IM, Molina-Freaner F (2008). Variation in sex ratio, morph-specific reproductive ecology and an experimental test of frequency-dependence in the gynodioecious *Kallstroemia grandiflora* (Zygophyllaceae). *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 1117–1124.
- Cui XL (崔晓龙), Wei RC (魏蓉城), Huang RF (黄瑞复) (1995). A preliminary study on the genetic system of *Amomum tsao-ko*. *Journal of Yunnan University (Natural Sciences Edition)* (云南大学学报(自然科学版)), 17, 290–297. (in Chinese with English abstract)
- Eckert CG, Manicacci D, Barrett SCH (1996). Frequency-dependent selection on morph ratios in tristylous *Lythrum salicaria* (Lythraceae). *Heredity*, 77, 581–588.
- Eckert CG, Herlihy CR (2004). Using a cost-benefit approach to understand the evolution of self-fertilization in plants: the perplexing case of *Aquilegia Canadensis* (Ranunculaceae). *Plant Species Biology*, 19, 159–173.
- Eckert CG, Ozimec B, Herlihy CR, Griffin CA, Routley MB (2009). Floral morphology mediates temporal variation in the mating system of a self-compatible plant. *Ecology*, 90, 1540–1548.
- Gleiser G, Segarra-Moragues JG, Pannell JR, Verdu M (2008a). Siring success and paternal effects in heterodichogamous *Acer opalus*. *Annals of Botany*, 101, 1017–1026.
- Gleiser G, Verdu M, Segarra-Moragues JG, Gonzalez-Martinez SC, Pannell JR (2008b). Disassortative mating, sexual specialization, and the evolution of gender dimorphism in heterodichogamous *Acer opalus*. *Evolution*, 62, 1676–1688.
- Graff A (1999). Population sex structure and reproductive fitness in gynodioecious *Sidalcea malviflora* (Malvaceae). *Evolution*, 53, 1714–1722.
- Kunin WE (1997). Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology*, 85, 225–234.
- Li QJ, Kress WJ, Xu ZF, Xia YM, Zhang L, Deng XB, Gao JY

- (2002). Mating system and stigmatic behaviour during flowering of *Alpinia kwangsiensis* (Zingiberaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 232, 123–132.
- Li QJ, Xu ZF, Kress WJ, Xia YM, Zhang L, Deng XB, Gao JY, Bai ZL (2001). Flexible style that encourages outcrossing. *Nature*, 410, 432–432.
- Liu M (刘敏), Sun S (孙杉), Li QJ (李庆军) (2007). The relation between stigma position and receptivity in two flexistylous gingers. *Biodiversity Science* (生物多样性), 15, 639–644. (in Chinese with English abstract)
- Lloyd DG (1979). Evolution towards dioecy in heterostylous populations. *Plant Systematics and Evolution*, 131, 71–80.
- Pannell JR, Verdu M (2006). The evolution of gender specialization from dimorphic hermaphroditism: paths from heterodichogamy to gynodioecy and androdioecy. *Evolution*, 60, 660–673.
- Pendleton RL, Freeman DC, McArthur ED, Sanderson SC (2000). Gender specialization in heterodichogamous *Grayia brandegei* (Chenopodiaceae): evidence for an alternative pathway to dioecy. *American Journal of Botany*, 87, 508–516.
- R Development Core Team (2008). R: a language and environment for statistical computing. In: *R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, Austria. <http://www.R-project.org>.
- Ren PY, Liu M, Li QJ (2007). An example of flexistylous in a wild cardamom species (*Amomum maximum* (Zingiberaceae)). *Plant Systematics and Evolution*, 267, 147–154.
- Sargent RD, Mandegar MA, Otto SP (2006). A model of the evolution of dichogamy incorporating sex ratio selection, anther-stigma interference and inbreeding depression. *Evolution*, 60, 433–444.
- Sarkissian TS, Barrett SCH, Harder LD (2001). Gender variation in *Sagittaria latifolia* (Alismataceae): Is size all that matters? *Ecology*, 82, 360–373.
- Sinervo B, Calsbeek R (2006). The developmental, physiological, neural, and genetical causes and consequences of frequency-dependent selection in the wild. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 37, 581–610.
- Spigler R, Chang SM (2008). Effects of plant abundance on reproductive success in the widespread, native biennial *Sabatia angularis* (Gentianaceae): spatial scale matters. *Journal of Ecology*, 96, 323–333.
- Stehlik I, Caspersen JP, Barrett SCH (2006). Spatial ecology of mating success in a sexually polymorphic plant. *Proceedings of the Royal Society of London-Biological Sciences*, 273, 387–394.
- Sun S, Gao JY, Liao WJ, Li QJ, Zhang DY (2007). Adaptive significance of flexistylous in *Alpinia blepharocalyx* (Zingiberaceae): a hand-pollination experiment. *Annals of Botany*, 99, 661–666.
- Takano A, Gisil J, Yusoff M, Tachi T (2005). Floral and pollinator behaviour of flexistylous Bornean ginger, *Alpinia nieuwenhuizii* (Zingiberaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 252, 167–173.
- Wang YQ, Zhang DX, Chen ZY (2004). Pollen histochemistry and pollen: ovule ratios in Zingiberaceae. *Annals of Botany*, 94, 583–591.
- Wang YQ (王英强), Zhang DX (张奠湘), Chen ZY (陈忠毅) (2005). Pollination biology of *Alpinia hainanensis* (Zingiberaceae). *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), 43, 37–49. (in Chinese with English abstract)
- Zhang L (张玲), Li QJ (李庆军) (2002). Flexistylous and its evolutionary ecological significance. *Acta Phytocologica Sinica* (植物生态学报), 26, 385–390. (in Chinese with English abstract)
- Zhang L, Li QJ, Deng XB, Ren PY, Gao JY (2003). Reproductive biology of *Alpinia blepharocalyx* (Zingiberaceae): another example of flexistylous. *Plant Systematics and Evolution*, 241, 67–76.
- Zorn-Arnold B, Howe HF (2007). Density and seed set in a self-compatible forb, *Penstemon digitalis* (Plantaginaceae), with multiple pollinators. *American Journal of Botany*, 94, 1594–1602.

责任编辑: 刘建全 责任编辑: 李 敏