



## 雌雄异株植物长梗柳传粉系统和生殖策略研究

曾思文, 梁恬, 李林鑫, 邢晓阁, 陈泓朴, 何理

引用本文:

曾思文,梁恬,李林鑫,邢晓阁,陈泓朴,何理. 雌雄异株植物长梗柳传粉系统和生殖策略研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2022, 30(3): 357–366.

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11926/jtsb.4504>

---

### 您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

#### [对叶榕花序不同发育时期气味成分的变化及其对传粉者的吸引作用](#)

Odour Composition Variation at Different Stages of *Ficus hispida* Inflorescence and the Attraction to Pollinators

热带亚热带植物学报. 2019, 27(3): 299–308 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4016>

#### [多叶斑叶兰花蜜特征和分泌规律及其对昆虫访花的影响](#)

Nectar Secretion Characteristics and Their Effects on Insect Pollination of *Goodyera foliosa*, A Nectar Rewarding Orchid

热带亚热带植物学报. 2020, 28(3): 265–270 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4125>

#### [榕树高度专性共生体系内影响传粉蜂子代繁殖的因素](#)

Influence Factors on Offspring Reproduction of Pollinator in a Highly Species-specific Mutualism of *Ficus*

热带亚热带植物学报. 2017, 25(2): 163–170 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3667>

#### [3种雌雄异熟樟科植物开花动态的比较研究](#)

Comparison Study of Flowering Process in Three Dichogamous Lauraceae Species

热带亚热带植物学报. 2021, 29(2): 162–170 <https://doi.org/10.11926/jtsb.4266>

#### [橄榄种质资源花序表型性状遗传多样性研究](#)

Studies on Genetic Diversity on Inflorescence Phenotypic Characteristics of *Canarium album* Germplasm Resource

热带亚热带植物学报. 2019, 27(1): 1–10 <https://doi.org/10.11926/jtsb.3940>

[向下翻页，浏览PDF全文](#)

# 雌雄异株植物长梗柳传粉系统和生殖策略研究

曾思文<sup>1</sup>, 梁恬<sup>1</sup>, 李林鑫<sup>1</sup>, 邢晓阁<sup>1</sup>, 陈泓朴<sup>1</sup>, 何理<sup>1,2\*</sup>

(1, 福建农林大学林学院, 福州, 350000; 2, 上海辰山植物园, 华东野生濒危资源植物保育中心, 上海, 201602)

**摘要:** 为探讨长梗柳(*Salix dunnii*)的传粉系统和不同性别的生殖投资策略, 对居群性别比例、花部特征和访花昆虫进行了调查和观察, 采用气相色谱-质谱联用技术(GC-MS)检测了花序的挥发性成分。结果表明, 东边村居群的性别比例显著偏雄性( $\delta : \eta = 1.28 : 1$ ,  $P < 0.05$ ), 郭墩村和高地村的居群的性别比偏离不显著; 长梗柳雄株枝条的花序数显著多于雌株, 单花序的雄花数显著多于雌花, 雌花序平均长度显著大于雄花序; 长梗柳传粉系统是虫媒和风媒混合传粉系统, 主要访花昆虫为中华蜜蜂(*Apis cerana*)且显著偏好访问雌花; 吸引中华蜜蜂的挥发成分  $\beta$ -石竹烯的相对含量在雌花序中显著高于雄花序, 雌花序还具有  $\beta$ -榄香烯和芳香醇等吸引中华蜜蜂的特有挥发成分。因此, 长梗柳雄株在开花阶段投入了较多的资源产生雄花, 可能利于风媒传粉; 而雌株通过增加吸引传粉者的挥发成分来抵抗“传粉者限制”的效应, 可能利于虫媒传粉, 通过风媒和虫媒有效组合提升其繁殖效率。

**关键词:** 长梗柳; 生殖分配; 传粉系统; 访花频率; 花香挥发物

doi: 10.11926/jtsb.4504

## Pollination System and Reproductive Allocation Strategies of Dioecious Tree *Salix dunnii*

ZENG Siwen<sup>1</sup>, LIANG Tian<sup>1</sup>, LI Linxin<sup>1</sup>, XING Xiaoge<sup>1</sup>, CHEN Hongpu<sup>1</sup>, HE Li<sup>1,2\*</sup>

(1. College of Forestry, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China; 2. Eastern China Conservation Centre for Wild Endangered Plant Resources, Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602, China)

**Abstract:** To investigate the pollination system and reproductive investment strategies of *Salix dunnii*, the floral characteristics of flower and catkin and population sex ratio were investigated, the visiting insects were collected and their visiting frequency was calculated, the fruit and seed sets were calculated by bagging test, the volatile components of catkin were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). The results showed that the sex ratio of population in Dongbian Village was significantly male-biased ( $\delta : \eta = 1.28 : 1$ ,  $P < 0.05$ ), while it was in equilibrium in populations of Guodun and Gaodi Village. The catkin number of male branches was significantly higher than that of female branches ( $P < 0.05$ ), and the male flowers per catkins were significantly more than female flowers ( $P < 0.001$ ), but the average length of female catkins was notably longer than that of male catkins ( $P < 0.001$ ). *Salix dunnii* was wind- and insect-pollination, *Apis cerana* was the main visitor, which showed significant preference to visit female individuals ( $P < 0.001$ ). The relative content of  $\beta$ -caryophyllene in female, which is attractive to *A. cerana*, was significantly higher than the male ( $P < 0.001$ ). Furthermore,  $\beta$ -elemene and linalool were only identified in female catkins, which were attractive to honey bee too. Therefore, it was suggested that male *S. dunnii* allocated more resource in producing male flowers at flowering stage, which was probably beneficial for wind-pollination, while female plants fought against the “pollinator limitation” by

收稿日期: 2021-09-14

接受日期: 2021-11-30

基金项目: 国家自然科学基金项目(31800466, 32171813)资助

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31800466, 32171813).

作者简介: 曾思文, 女, 硕士研究生, 研究方向为柳属植物传粉生物学。E-mail: lxyzengsiwen@163.com

\* 通信作者 Corresponding author. E-mail: heli198724@163.com

increasing the variety and output of volatile to improve insect-pollination. *Salix dunnii* possibly improve the reproductive efficiency via the combination of wind- and insect-pollination.

**Key words:** *Salix dunnii*; Reproductive allocation; Pollination system; Visiting frequency; Floral volatile

雌雄异株植物约占被子植物的 5%~6%<sup>[1]</sup>, 其繁殖资源分配主要包括繁殖分配和性别分配<sup>[2]</sup>。雌雄异株不同性别植株在生殖功能上存在显著差异, 雄性生殖活动仅需要产生雄花, 而雌性在生殖过程中需要产生雌花和果实, 其能量消耗和资源分配远远大于雄性<sup>[3]</sup>。因此多年生植物中, 雄株常在开花阶段分配更多资源, 雌株则在结实阶段分配更多资源<sup>[4]</sup>。繁殖策略不仅与环境资源(如光、温、水等)有关, 还与植株大小、花结构及传粉系统等密切相关<sup>[2,5-6]</sup>。

风媒传粉系统及虫媒传粉系统被认为是雌雄异株植物主要的传粉系统, 两种及以上传粉系统同时出现在同种植物中即称为混合传粉系统<sup>[7]</sup>。风媒花一般通过增加雄花数量来维持花粉可用性以确保繁殖成功率<sup>[8-10]</sup>。虫媒花中, 昆虫为了获得花报酬(如花粉、花蜜等)而进行访花<sup>[11]</sup>。“传粉者限制假说(Pollinator limitation hypothesis)”认为传粉者通常因雄花能同时提供花粉和花蜜 2 种花报酬, 而歧视只提供花蜜的雌花, 出现偏好访问雄花的现象<sup>[12]</sup>。为平衡传粉者偏好访问的选择压力, 雌花会通过气味模仿<sup>[13]</sup>、奖励机制<sup>[14-15]</sup>, 以及欺骗引导<sup>[16]</sup>等策略来吸引传粉昆虫, 以提升繁殖效率。对于具有混合传粉系统的雌雄异株植物, 如何在雌雄个体中进行生殖资源分配来提升繁殖效率值得深入研究。

大多数植物是依赖花部释放的挥发物向传粉者传递信息<sup>[17-18]</sup>。Tollsten 等检测了柳属(*Salix*)植物黄花柳(*S. caprea*)、灰柳(*S. cinerea*)和 *S. repens* 的雌雄花序挥发物, 认为柳属植物雌雄株的挥发物保持了高度的相似性, 推测雌雄花序相似的挥发物能诱使传粉者同时访问雌雄花, 保证传粉的有效性<sup>[13,15]</sup>。Dötterl 等<sup>[19]</sup>对黄花柳花香挥发物进行了研究, 认为雄株的 1,4-二甲氧基苯含量比雌株更高, 因而更具吸引力。在自然居群中黄花柳雌株明显多于雄株, 雌雄花序挥发物的相似性或雌株具有更高比例的吸引传粉者的挥发物, 都能减少花粉限制的风险<sup>[20]</sup>。这一现象是否在其他柳属植物中存在, 仍需进一步研究。

杨柳科(Salicaceae)柳属在全球约有 450 种<sup>[21]</sup>, 均为雌雄异株植物。该属植物传粉系统常为风媒和虫媒混合的传粉系统<sup>[7,22]</sup>。不同地区和不同物种柳属植物的虫媒和风媒的传粉效率占比不同, 从几乎

完全风媒到几乎完全虫媒不等, 如 *S. lasiolepis* 虫媒传粉效率达 99%, 即几乎完全虫媒<sup>[23]</sup>; 而 *S. lanata* 和 *S. myrsinites* 的虫媒传粉效率仅 8%和 2%, 即几乎完全风媒; 另外, *S. lapponum*、*S. herbacea*、*S. reticulata* 的虫媒传粉效率分别为 47%、57%和 52%, 是典型的混合传粉系统<sup>[24]</sup>。而柳属植物在雌雄株中如何平衡生殖投资策略, 同时满足风媒和虫媒条件以提升繁殖效率, 这尚需深入探讨。

本文以长梗柳(*Salix dunnii*)为研究对象, 通过调查福建省长梗柳野外居群的传粉系统、主要访花昆虫, 性别比例、花和花序特征、挥发物的种类及相对含量, 探讨长梗柳的传粉机制和生殖分配策略。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究地点

本研究主要在 3 个野外居群开展, 福建省三明市沙县沙溪支流的郭墩村(117°38'55" E, 26°25'39" N, 海拔 190~229 m)和高地村(117°39'48" E, 26°24'59" N, 海拔 217.4~224.2 m), 及福建省武夷山市崇阳溪的东边村(118°2'46" E, 27°46'45" N, 海拔 205~212 m), 均处于亚热带海洋性气候区, 三明市年均温 20.9 °C, 年均降水量 1 268 mm, 武夷山市年均温 21.1 °C, 年均降水量 1 158 mm, 气候温和湿润。

### 1.2 花和花序的特征统计和性别比例

对郭墩村和高地村 2 个长梗柳野外自然居群的雌雄株花序进行抽样调查和测量<sup>[20,25]</sup>。在调查地沿岸随机抽取长势良好的植株, 两地各选择 4~5 棵雌株和雄株进行调查(两地共 19 株, 雌、雄分别为 9 和 10 株), 每株选择树冠下部长势良好、长度大于 20 cm 的末端分枝枝条 5~13 根, 统计和测量分枝长度和花序数, 计算单位长度的花序数, 使用精度为 0.01 mm 的游标卡尺测量花序长度, 并利用体视显微镜(LEICA DFC550)拍摄花部。此外, 每株统计 8~46 个单花序的花数量, 枝条单位长度花序数 = 单枝条花序数 / 枝条长度, 单位长度以 1 cm 计。雌花序直接用计数法进行统计; 雄花序近 5 朵小花排列成一轮(图 1: A), 因此雄花序花数量以轮数 × 5 进行统计。

两地随机抽取雌雄各4株进行统计分析。以植株性别为因变量,即1(雄性)或0(雌性),以株数为数据分组(表1),随机不放回抽取2个居群雌雄株各20根枝条和分别300、40个花序,统计枝条单位长度花序数、花序长度和花序单花数,运用广义线性混合模型(generalized linear mixed model, GLMM)<sup>[26-27]</sup>对长梗柳雌雄株枝条单位长度花序数、花序长度和单花序花总数差异进行显著性程度检验( $P<0.05$ )。使用Microsoft Excel 2016进行数据统计计算。

根据线路调查法,对郭墩村、高地村和东边村河流两岸分布的长梗柳雌雄株个体数量进行统计。使用Pearson's Chi-squared test对性别比例(雌/雄)偏离1:1零假设的显著性程度( $P<0.05$ )进行检验。

### 1.3 长梗柳传粉系统

选择郭墩村和高地村长梗柳各5棵雌株,分别编号为XG1~XG5和LT1~LT5,于3月2日和3日(长梗柳初花期)进行套袋套网试验<sup>[23-24,28]</sup>。长梗柳花小且多,因此本试验对枝条整枝进行套袋套网。设置3个处理,每株设置3个重复:①套硫酸纸袋;②套100目圆柱尼龙网袋,用铁丝网支撑;③仅标记不套袋。分别检测长梗柳无融合生殖、风媒传粉和自然结实情况。

花期过后(约4月下旬)将网袋和硫酸纸袋摘除,于果期采收枝条,利用体视镜统计正常发育的果和空果数量,以及果内发育和败育的种子数量,计算座果率和结实率,座果率=(每个花序正常发育的果实数/该花序所有果实数) $\times 100\%$ ;结实率=发育正常的种子数/总种子数 $\times 100\%$ ,其中,正常发育果实内含至少1粒发育正常的种子,而败育果实则含败育种子或空果;发育正常的种子为绿色、圆润,而败育种子为枯黄色、皱缩<sup>[29]</sup>。使用单因素方差分析(ANOVA)来检验平均座果率、平均结实率是否在不同处理(套硫酸纸袋、套网袋及无处理)之间存在差异。

### 1.4 主要访花昆虫和访花频率

选择郭墩村长梗柳盛花期长势良好的雌雄株进行连续3d观察,每日观察和捕捉时间为8:00—18:00(计划观察时间为2019年3月12—14日,由于3月14日阴雨天气,为了数据准确稳定,顺延至3月15日),观察访花昆虫种类和访花频率<sup>[30-31]</sup>。我们对访问并停留在花序上超过0.5 min的昆虫进行

捕捉,捕捉范围网杆(5 m)所能及高度内的访花昆虫,雌雄株每30 min交替捕捉,统计每30 min雌雄株上出现的昆虫数量,将捕获的昆虫放入装有乙酸乙酯的毒瓶中杀死,制成标本,标本交由中国科学院动物研究所鉴定。

采用Microsoft Excel 2016和R v3.6.3进行数据统计计算并出图,使用Pearson's Chi-squared test对访花频率进行显著性程度检验( $P<0.05$ ),按访花昆虫对长梗柳每个性别平均日访花次数确定该昆虫访花频率<sup>[30]</sup>。

### 1.5 花序挥发物分析

取东边村长梗柳盛花期长势良好的雌株和雄株各4株,每株采集3个重复,共计24个花序样品;同时收集当地空气作为空白对照。采集的花序送往福州大学国家科技园测试中心测定挥发物。

利用顶空固相微萃取(SPME)法对长梗柳花序挥发物进行采集,选用非极性的PDMS萃取头(65  $\mu\text{m}$  PDMS/DVB),利用全二维气相色谱-高分辨飞行时间质谱联用仪(LECO GC $\times$ MS PEGASUS HRT 4D plus)进行分析。采气前孵化(35  $^{\circ}\text{C}$ )1 h,使花香挥发,同时萃取头在280  $^{\circ}\text{C}$ 下老化0.5 h,以后萃取前均280  $^{\circ}\text{C}$ 老化5 min。将老化的萃取头插入采样瓶中,置于待测样品上方约1 cm处萃取0.5 h,拔出针头后入GC-MS进样口解吸4 min。一维GC条件为:Rxi-5ms石英毛细管柱(30 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ),进样采用不分流模式,柱温40  $^{\circ}\text{C}$ 保持7 min,以3  $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 升温至260  $^{\circ}\text{C}$ ,保持10 min。传输线温度280  $^{\circ}\text{C}$ ,进样口温度280  $^{\circ}\text{C}$ 。载气为高纯氦气,流速为1.4 mL/min。二维GC条件为:Rxi-17Sil石英毛细管柱(2 m $\times$ 0.25 mm $\times$ 0.25  $\mu\text{m}$ ),二维炉温在一维炉温基础上+5  $^{\circ}\text{C}$ ,调制器温度在二维炉温基础上+15  $^{\circ}\text{C}$ ,调制周期4 s,每次热吹0.8 s,每次冷吹1.2 s。MS条件为:以电子轰击方式(EI)电离,扫描范围35~500 amu,电子能量为70 eV;离子源温度250  $^{\circ}\text{C}$ ,溶剂延迟240 s,扫描速度200谱图/s,一维和二维MS条件一致。

挥发物鉴定首先利用仪器自带的标准谱库(NIST 2017库)和增加wiley10数据库检索,并参阅文献资料加以确定化合物。可能由于样品浓度过低或仪器质谱检测限较高导致2个雌花序样本和1个雄花序样本数据无法使用,最终我们使用了10个雌花序样本及11个雄花序样本进行后续统计分析。

根据 CAS 号, 利用化源网(<https://www.chemsrc.com/>) 确定化合物名称。对雌雄花序挥发物含量的分析时, 要求各个样本挥发物的筛选条件为相对含量大于 1%且与标准谱库的相似度大于 85%, 筛选过后有 1 个雌花序样本不满足上述条件, 因此仅使用了 9 个雌花序样本及 11 个雄花序样本进行 NMDS 分析。

根据非度量多维标度分析法(NMDS), 使用 Vegan (<https://github.com/vegandevs/vegan>) (R v3.6.3) 对雌雄株花序挥发物组成成分进行划分, 以 Stress 值(值越小, 拟合效果越好)作为判断 NMDS 排序结

果拟合优度的标准, 并对不同样本的相似性在二维平面进行可视化展示<sup>[32]</sup>。采用 Mann-Whitney *U* test 对长梗柳雌雄花序挥发物相对含量进行显著性检验。

## 2 结果和分析

### 2.1 花和花序统计及性别比例情况

长梗柳花期在 3 月上旬至 4 月下旬, 花药颜色为黄色, 雄花和雌花均含有腺体(图 1: A), 可以为蜜蜂提供花蜜来源。

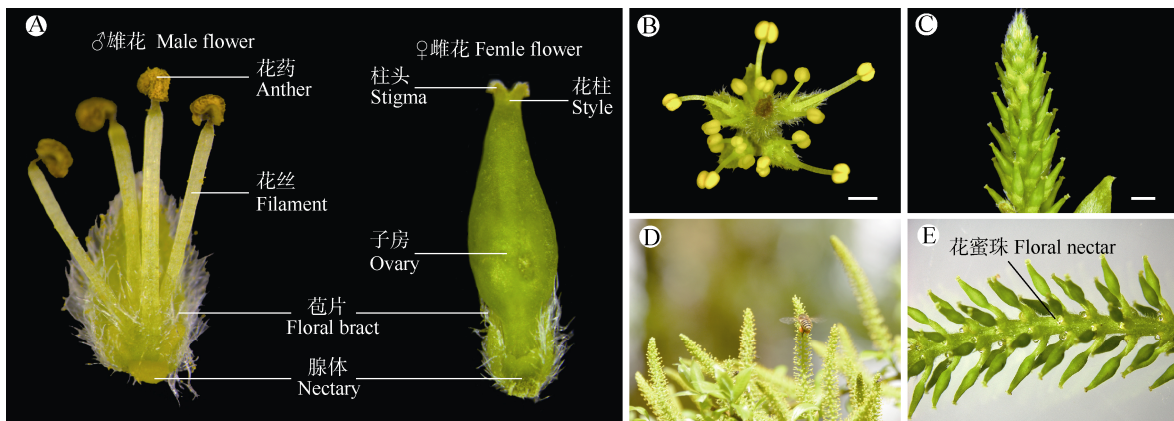


图 1 长梗柳雌雄花和花序形态。A: 雄花和雌花; B: 花序横切, 示着生方式, 单花约 5 朵一轮; C: 雌花序; D: 中华蜜蜂访问雄花序; E: 雌花序花蜜珠。标尺 = 1 mm

Fig. 1 Morphology of male and female flowers and catkins of *Salix dunnii*. A: Male and female flower; B: Cross section of male catkin showing about five flowers per round; C: Female catkin; D: *Apis cerana* was visiting male catkin; E: Nectar of female catkin. Bars = 1 mm

运用 GLMM 对长梗柳雌雄株 1 cm 枝条花序数、花序长度和单花序花数进行统计(表 1), 共测量 197 根枝条(雌株 88 根, 雄株 109 根)、3 044 个花序(雌花序 1 199 个, 雄花序 1 845 个), 并统计 375 个花序

(雌花序 134 个, 雄花序 241 个)上的花。结果表明, 雄株单位长度枝条的花序数显著多于雌株(M: 0.53±0.03, *n*=40; F: 0.41±0.03, *n*=40; *F*=8.31, *P*=0.005); 此外雄株单花序的花朵数也明显多于雌株(M: 110±2,

表 1 长梗柳雌雄株的花序特征

Table 1 Catkin characters of female and male of *Salix dunnii*

花序 Catkin		郭墩村 Guodun Village	高地村 Gaodi Village	总数 Total
枝条花序数 Catkin number per cm of branch	雌株 Female	0.34±0.03 (20)	0.45±0.03 (20)	0.41±0.03 (40)
	雄株 Male	0.37±0.03 (20)	0.66±0.03 (20)	0.53±0.03 (40)
	<i>P</i>	0.630 <sup>ns</sup>	<0.0001 <sup>***</sup>	0.005 <sup>**</sup>
长度 Catkin length (mm)	雌花序 Female catkin	67.43±1.22 (300)	62.37±0.83 (300)	65.17±0.75 (600)
	雄花序 Male catkin	59.05±1.22 (300)	60.24±0.83 (300)	60.47±0.75 (600)
	<i>P</i>	<0.0001 <sup>***</sup>	0.068 <sup>ns</sup>	<0.0001 <sup>***</sup>
花数 Flower number per catkin	雌花序 Female catkin	61±2 (40)	59±2 (40)	60±1 (80)
	雄花序 Male catkin	110±2 (40)	112±2 (40)	110±2 (80)
	<i>P</i>	<0.0001 <sup>***</sup>	<0.0001 <sup>***</sup>	<0.0001 <sup>***</sup>

\*: *P*<0.05; \*\*: *P*<0.01; \*\*\*: *P*<0.001; ns: 不显著; 括号内数字为样品数。

\*: *P*<0.05; \*\*: *P*<0.01; \*\*\*: *P*<0.001; ns: Not significant. Data in brackets indicate number of sampling.

$n=80$ ;  $F: 60 \pm 1, n=80; F=611.63, P<0.000 1$ ), 而雌株的平均花序长度显著长于雄株[ $F: (65.17 \pm 0.75) \text{ mm}, n=600; M: (60.47 \pm 0.75) \text{ mm}, n=600; F=19.81, P<0.000 1$ ]. 可见, 长梗柳雌雄株的枝条花序数、花序长度和单花序花数的差异均达到显著水平。

居群的性别比调查结果表明(图 2), 东边村显著偏雄( $\delta : \text{♀}=1.28 : 1, n=336 : 263, \chi^2=4.22, P=0.04<0.05$ ), 郭墩村( $\delta : \text{♀}=1.21 : 1, n=318 : 263, \chi^2=2.423, P=0.12$ )和高地村( $\delta : \text{♀}=1.06 : 1, n=132 : 125, \chi^2=0.049, P=0.83$ )均不显著偏离 1 : 1。

### 2.2 座果率及结实率

由于雨水和人为等因素的干扰, 部分套袋被破坏, 排除被破坏的套袋数据后, 最终统计了 4 棵长

梗柳雌株(郭墩村 XG1、XG2 和高地村 LT1、LT3)共 4 053 个果实 16 930 粒种子。其中, 套硫酸纸袋的枝条共产生 297 个空果, 没有成熟果, 座果率 0.00%; 套网袋的枝条共产生 562 个空果和 427 个成熟果, 座果率达 43.90%, 成熟果里有 718 粒发育种子和 61 粒败育种子; 自然状态下的枝条共产生 116 个空果和 2 551 个成熟果, 座果率高达 90.90%, 成熟果中含 14 844 粒发育种子和 1 307 粒败育种子。经单因素方差分析(ANOVA)表明, 自然传粉的座果率显著高于套网袋处理( $F=9.63, P=0.02$ ), 套网袋处理显著高于套硫酸纸袋处理( $F=8.94, P=0.02$ ); 自然传粉的结实率与套网袋处理的差异不显著( $F=0.87, P=0.39$ ), 套网袋处理的平均座果率显著高于套硫酸纸袋处理( $F=14.53, P<0.05$ ) (表 2)。

表 2 长梗柳的座果率和结实率

Table 2 Fruiting rate and setting rate of *Salix dunnii*

	套硫酸纸袋 Sulphuric acid paper bagging		套网袋 Mesh bagging		自然传粉 Natural pollination	
	FS /%	SS /%	FS /%	SS /%	FS /%	SS /%
XG1	0.00	0.00	8.62	16.00	85.09	80.33
XG2	0.00	0.00	31.39	89.80	94.12	87.71
LT1	0.00	0.00	63.21	82.65	84.74	91.65
LT3	0.00	0.00	72.48	97.67	99.58	97.52
平均 Mean	0.00	0.00	43.93**	71.53*	90.88**	89.30

FS: 座果率; SS: 结实率; \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ 。

FS: Fruiting rate; SS: Setting rate. \*:  $P<0.05$ ; \*\*:  $P<0.01$ .

### 2.3 主要访花昆虫及访花频率

本研究共捕获和鉴定长梗柳的访花昆虫 4 目 22 科 40 属 44 种(表 3), 主要是膜翅目(Hymenoptera)的蜜蜂科(Apidae)、隧蜂科(Halictidae)、胡蜂科(Vespidae)、地蜂科(Andrenidae)和叶蜂科(Tenthredinidae); 双翅目(Diptera)的实蝇科(Tephritidae)、食蚜蝇科(Syrphidae)、花蝇科(Anthomyiidae)、丽蝇科(Calliphoridae)、麻蝇科(Sarcophagidae)、舞虻科(Empididae)、毛蚊科(Bibionidae)和蝇科(Muscidae); 鞘翅目(Coleoptera)的瓢虫科(Coccinellidae)、伪叶甲科(Lagriidae)、花萤科(Cantheridae)、步甲科(Carabidae)、大萼甲科(Erotylidae)、象甲科(Curculionidae)和天牛科(Cerambycidae); 半翅目(Hemiptera)的蝽科(Pentatomidae)和叶蝉科(Cicadellidae)。雌雄株共有访花昆虫包括蜜蜂科、隧蜂科、胡蜂科、叶蜂科、丽蝇科、毛蚊科、舞虻科、食蚜蝇科、花萤科昆虫, 雌株独有的访花昆虫主要包括隧蜂科隧蜂属、胡蜂

科约马蜂(*Polistes jokahamae*)、舞虻科平须舞虻属、麻蝇科昆虫, 雄株独有的访花昆虫主要包括瓢虫科红颈盘瓢虫(*Lemnia melanaria*)以及伪叶甲科昆虫。

主要访花昆虫为蜜蜂科膜翅目的中华蜜蜂(*Apis cerana*, 1 793)和隧蜂科淡脉隧蜂属昆虫(*Lasioglossum* sp. 1 和 sp. 2)。中华蜜蜂占雄株总访花昆虫的 45.65%, 占雌株总访花昆虫的 52.50%, 淡脉隧蜂属昆虫次之, 分别占雄雌株访花昆虫的 18.84%♂和 11.00%♀, 且停留时间为 0.5~5 min。其他访花昆虫分别占雄雌株总访花昆虫的 35.51%♂和 36.50%♀。

对访花的中华蜜蜂进行 3 d 网捕, 结果表明(图 2), 12 日访问雌花的中华蜜蜂(37 只)多于访问雄花的(12 只), 13 日访问雌花的中华蜜蜂(24 只)与访问雄花的(26 只)相近, 15 日访问雌花的中华蜜蜂(44 只)多于访问雄花的(25 只), 中华蜜蜂显著倾向访问雌花( $\chi^2=8.07, P=0.018<0.05$ )。

表 3 长梗柳主要访花昆虫名录

Table 3 List of main flower-visiting insects of *Salix dunnii*

	属 Genus	种 Species	数量 Number (n)				频率 Frequency (N/d)		
			N <sub>f</sub>	%	N <sub>m</sub>	%	VF <sub>f</sub>	VF <sub>m</sub>	P
共有 Common	蜜蜂属 <i>Apis</i>	中华蜜蜂 <i>A. cerana</i>	105	52.50	63	45.65	35.00	21.00	0.018
	淡脉隧蜂属 <i>Lasioglossum</i>	sp.1	15	7.50	17	12.32	5.00	5.67	0.590
		sp.2	7	3.50	9	6.52	2.33	3.00	0.810
	马蜂属 <i>Polistes</i>	斯马蜂 <i>P. snelleni</i>	2	1.00	1	0.72	0.67	0.33	0.220
	胡蜂属 <i>Vespa</i>	黄脚胡蜂 <i>V. velutina</i>	3	1.50	2	1.45	1.00	0.67	0.400
雌株 Female	马蜂属 <i>Polistes</i>	约马蜂 <i>P. jokahamae</i>	2	1.00	-	-	0.67	-	-
	果实蝇属 <i>Bactrocera</i>	sp.1	1	0.50	-	-	0.33	-	-
		sp.2	1	0.50	-	-	0.33	-	-
	和瓢虫属 <i>Harmonia</i>	红肩瓢虫 <i>H. imidiata</i>	1	0.50	-	-	0.33	-	-
	隐胫瓢虫属 <i>Aspidimerus</i>	红褐隐胫瓢虫 <i>A. ruficrus</i>	1	0.50	-	-	0.33	-	-
雄株 Male	马蜂属 <i>Polistes</i>	陆马蜂 <i>P. rothmey</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-
	木蜂属 <i>Xylocopa</i>	赤足木蜂 <i>X. rufipes</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-
	叶实蝇属 <i>Philophylla</i>	爰叶实蝇 <i>P. aethiops</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-
	墨蚜蝇属 <i>Melanostoma</i>	东方墨蚜蝇 <i>M. orientale</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-
	带食蚜蝇属 <i>Episyrphus</i>	黑带食蚜蝇 <i>E. balteatus</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-
	盘瓢虫属 <i>Lemnia</i>	红颈盘瓢虫 <i>L. melanaria</i>	-	-	2	1.45	-	0.67	-
	斑步甲属 <i>Anisodactylus</i>	点翅斑步甲 <i>A. punctatipennis</i>	-	-	1	0.72	-	0.33	-

-: 无数据; N<sub>f</sub>、N<sub>m</sub> 分别为访问雌、雄株的昆虫数量; VF<sub>f</sub>、VF<sub>m</sub> 分别为每天访问雌、雄株的昆虫数量。

-: No data. N<sub>f</sub> and N<sub>m</sub> are number of visiting insects of female and male plant, respectively. VF<sub>f</sub> and VF<sub>m</sub> represent the number of visiting insects per day of female and male, respectively.

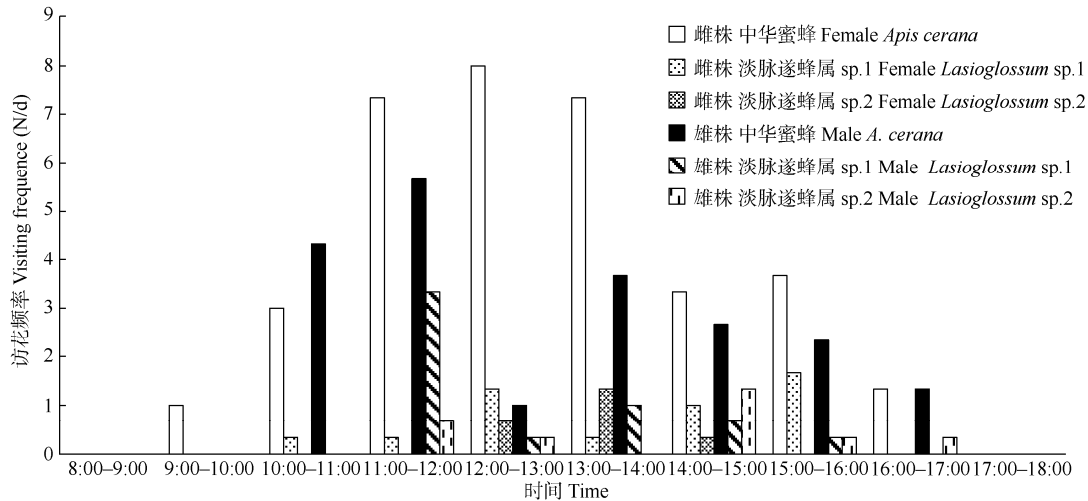


图 2 长梗柳雌雄株主要访花昆虫日访花频率

Fig. 2 Daily visiting frequency of main visiting insects of male and female *Salix dunnii*

2.4 花序挥发物

雌株和雄株共有挥发物 14 种, 雌株特有的 9 种, 雄株特有的 15 种(表 4)。雌雄株花序共有挥发性成分相对含量有所差异, 雌株比雄株多的有: β-石竹烯 (P<0.001)、2-甲基丁腈(P<0.05)、环五聚二甲基硅氧烷(P<0.001)、2,2,4,6,6-五甲基庚烷(P<0.001)、八甲基环四硅氧烷(P<0.001)、Germacrene D 和 2,3-dimethyl butanedinitrile; 雄株比雌株多的有: α-蒎

烯、桉烯、trans-α-ocimene、月桂烯、(-)-β-蒎烯、(S)-(-)-柠檬烯和(3E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯。

对雌雄花序中 14 种共有挥发性成分进行 NMDS 分析(Stress=0.16), 结果表明雌雄花序挥发性成分存在部分重叠, 但分离显著(图 3)。对雌雄花序不同挥发性成分相对含量进行 Shapiro 正态性检验, Mann-Whitney U test 比较结果表明, β-石竹烯在雌花序中的含量与雄花序呈极显著差异(P=0.000 093 62<0.001)。

表4 长梗柳雌、雄株花序的挥发性成分

Table 4 Volatile compounds in female and male catkins of *Salix dunnii*

序号 No.	挥发性成分 Volatile compound	雌花序 Female catkin (n=10)		雄花序 Male catkin (n=11)		CAS 号 CAS No.	分子式 Molecular formula
		RC /%	O	RC /%	O		
1	$\beta$ -石竹烯 $\beta$ -Caryophyllene	14.58±8.34	9	1.36±1.71	5	87-44-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
2	$\alpha$ -蒎烯 $\alpha$ -Pinene	14.29±20.85	4	24.09±32.8	5	80-56-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
3	2-甲基丁腈 2-Methylbutyronitrile	10.56±15.34	5	0.32±1.07	1	18936-17-9	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> N
4	二环[3.1.0]己烷, 4-甲基-1-(1-甲基乙基)-, 二氢派生 Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methyl- 1-(1-methylethyl)-, dihydro deriv.	10.70±21.23	2	-	-	58037-87-9	-
5	环五聚二甲基硅氧烷 Decamethylcyclopentasiloxane	8.48±5.81	8	0.98±1.19	5	541-02-6	C <sub>10</sub> H <sub>30</sub> O <sub>5</sub> Si <sub>5</sub>
6	2,2,4,6,6-五甲基庚烷 2,2,4,6,6-Pentamethylheptane	6.16±6.90	8	0.25±0.83	1	13475-82-6	C <sub>12</sub> H <sub>26</sub>
7	二丙烯酸乙二醇酯 Ethylene diacrylate	5.91±17.72	1	-	-	2274-11-5	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
8	桉烯 Sabinene	5.19±4.70	6	13.99±13.4	7	3387-41-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
9	<i>trans</i> - $\alpha$ -Ocimene	4.96±8.89	3	6.95±21.8	2	6874-10-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
10	八甲基环四硅氧烷 Octamethylcyclotetrasiloxane	4.46±3.86	7	0.15±0.49	1	556-67-2	C <sub>8</sub> H <sub>24</sub> O <sub>4</sub> Si <sub>4</sub>
11	Germacrene D	4.35±4.27	6	1.20±1.60	5	23986-74-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
12	2,3-Dimethylbutanedinitrile	3.14±9.43	1	1.15±3.29	2	16411-13-5	C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub>
13	月桂烯 $\beta$ -Myrcene	2.08±2.23	5	5.94±5.24	9	123-35-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
14	(-)- $\beta$ -蒎烯 (-)- $\beta$ -Pinene	1.57±3.85	2	4.06±9.80	2	18172-67-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
15	(S)-(-)-柠檬烯 (S)-(-)-Limonene	1.12±1.73	3	2.15±2.87	5	5989-54-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
16	$\beta$ -Cubebene	0.73±1.46	2	-	-	13744-15-5	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
17	(3E)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯 (3E)-4,8-Dimethylnona-1,3,7-triene	0.33±0.99	1	0.86±1.57	3	19945-61-0	C <sub>11</sub> H <sub>18</sub>
18	<i>cis</i> -Bisabolene	0.31±0.94	1	-	-	53585-13-0	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
19	左旋- $\alpha$ -蒎烯 (-)- $\alpha$ -Pinene	0.27±0.80	1	-	-	7785-26-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
20	$\beta$ -Copaene	0.25±0.76	1	-	-	18252-44-3	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
21	芳樟醇 Linalool	0.22±0.66	1	-	-	78-70-6	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O
22	$\beta$ -榄香烯 $\beta$ -Elemene	0.18±0.54	1	-	-	515-13-9	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
23	$\Delta$ -杜松烯 (+)- $\delta$ -Cadinene	0.18±0.53	1	-	-	483-76-1	C <sub>15</sub> H <sub>24</sub>
24	(+)-柠檬烯 (+)-Limonene	-	-	14.37±18.32	6	5989-27-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
25	(Z)-3,7-二甲基-1,3,6-十八烷三烯 (Z)-3,7-Dimethylocta-1,3,6,-triene	-	-	6.06±8.95	5	3338-55-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
26	4-仲丁基-2,6-二叔丁基苯酚 2,6-Di-tert-butyl-4-sec-butylphenol	-	-	3.76±10.78	2	17540-75-9	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O
27	罗勒烯 (Z)- $\beta$ -Ocimene	-	-	2.06±6.01	2	13877-91-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
28	$\gamma$ -松油烯 $\gamma$ -Terpinene	-	-	1.98±3.37	4	99-85-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
29	萜品油烯 Terpinolene	-	-	1.98±2.85	5	586-62-9	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
30	水芹烯 $\alpha$ -Phellandrene	-	-	1.75±5.82	1	99-83-2	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
31	3,7-二甲基-1,3,7-辛三烯 (3E)-3,7-Dimethylocta-1,3,7-triene	-	-	1.67±5.55	1	502-99-8	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
32	$\beta$ -蒎烯 $\beta$ -Pinene	-	-	0.82±2.73	1	127-91-3	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
33	(E)- $\beta$ -罗勒烯 <i>trans</i> - $\beta$ -Ocimene	-	-	0.57±1.28	2	3779-61-1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
34	戊腈 Valeronitrile	-	-	0.59±1.94	1	110-59-8	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> N
35	茨烯 Camphene	-	-	0.43±0.96	2	565-00-4	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
36	别罗勒烯 <i>cis</i> -Allocimene	-	-	0.21±0.70	1	7216-56-0	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
37	(+)-茨烯 (+)-Camphene	-	-	0.16±0.52	1	79-92-5	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>
38	2,6-二甲基-2,4,6-辛三烯 2,6-Dimethyl-2,4,6-octatriene	-	-	0.14±0.45	1	3016-19-1	C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>

RC: 相对含量; O: 检测到的次数; -: 未检出。

RC: Relative content; O: Detected times; -: Not detected.

### 3 结论和讨论

#### 3.1 长梗柳的传粉系统

套硫酸纸袋试验结果表明, 长梗柳不存在无融

合生殖的现象; 套网袋的平均座果率为 43.9%, 而套硫酸纸袋的为 0.00%, 二者差异显著, 说明风媒传粉具有重要作用; 自然状态的平均座果率为 90.9%, 较套网袋处理的显著增加, 说明昆虫传粉也具有重要



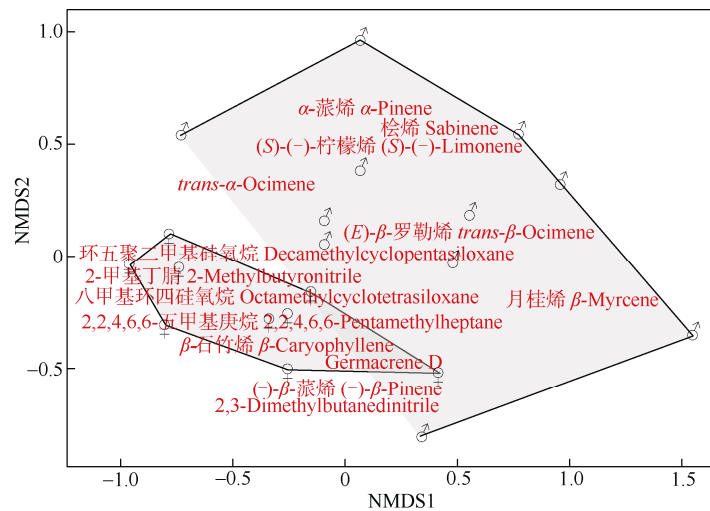


图 3 长梗柳雌雄花序共有挥发物 NMDS 分析

Fig. 3 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) analysis of volatile components shared in male and female catkins of *Salix dunnii*

作用<sup>[23]</sup>, 因此长梗柳传粉系统为风媒和虫媒混合系统, 平均风媒、虫媒传粉效率分别为 71.5% 和 28.5%, 说明风媒传粉效率更高, 这与 Tamura 等<sup>[7]</sup>对 *S. miyabeana* 和 *S. sachalinensis* 传粉系统的研究结果一致。雌雄株上同时出现且数量最丰富的昆虫是膜翅目蜜蜂科蜜蜂属的中华蜜蜂(45.65%♂, 52.50%♀), 其次是膜翅目膜隧蜂科淡脉隧蜂属(*Lasioglossum*)的昆虫(18.84%♂, 11.00%♀), 是长梗柳潜在的主要传粉者, 中华蜜蜂访问雌花频率显著高于雄花( $P=0.018$ ), 淡脉隧蜂属的 2 种昆虫访雌雄花频率差异不显著。这进一步支持蜂类是柳属植物的主要传粉者<sup>[19,33]</sup>。

### 3.2 长梗柳的生殖投资策略

雌花序长度明显大于雄花序, 较长的花序可能更有利于扩大吸附花粉的面积和访花昆虫的落脚面积, 从而提升结实率, 达到资源配比的最优值<sup>[24]</sup>。雄株的平均单枝着生花序数和平均花序花数均明显多于雌株, 这与人<sup>[8,19,22]</sup>的研究结果一致, 可能利于风媒传粉。

繁殖资源分配在个体水平可以体现在两性的性别比例上<sup>[6,34]</sup>, 长梗柳的 3 个野外居群中雄株数量均较雌株多, 但其中 2 个居群差异不显著, 仍需长期更大尺度的调查, 以进一步确定<sup>[34-36]</sup>。在雌雄异株多年生植物中, 雄性早于雌性成熟的现象普遍存在, 性别比例会有所偏倚, 这可能是性分配差异所致<sup>[36-37]</sup>。此外, Pucholt 等<sup>[38]</sup>报道 *S. viminalis* 的雌雄株性比偏倚与 ZW 性别决定系统有关, 而长梗柳偏雄性比是否与其具有的 XY 性别决定系统<sup>[39]</sup>有关

尚需进一步研究。

长梗柳雌花  $\beta$ -石竹烯的相对含量 $[(14.58 \pm 8.34)\%]$ 显著高于雄花( $P < 0.001$ ), 而  $\beta$ -榄香烯 $[(0.18 \pm 0.54)\%]$ 、芳樟醇 $[(0.22 \pm 0.66)\%]$ 仅在雌花序中检出。这些花香挥发性成分在吸引中华蜜蜂及其他访花昆虫中起到关键信号作用<sup>[40-43]</sup>。根据 NMDS 结果, 雌雄花序挥发性成分仅有部分重叠, 分离达到了显著水平, 而雄性占据了更多的面积代表雄花序挥发性成分的相对含量更多, 但吸引主要访花昆虫中华蜜蜂的物质  $\beta$ -石竹烯在雌花序中的含量极显著( $P < 0.001$ )高于雄花序。有研究表明, 温带和寒带柳属植物的挥发性成分中均有对访花昆虫具有吸引作用的 1,4-二甲氧基苯<sup>[44-45]</sup>, 但我们在亚热带的长梗柳中并没有鉴定出 1,4-二甲氧基苯, 这可能是由于植物的花香气味受到地理环境因素的影响而产生了相应的变化<sup>[46]</sup>。然而长梗柳花序挥发性成分多达 38 种, 含量较高的挥发性成分, 如  $\alpha$ -蒎烯、2-甲基丁腈、环五聚二甲基硅氧烷和 2,2,4,6,6-五甲基庚烷等是否具有吸引访花昆虫的作用尚不明确。

综上所述, 长梗柳雄株在早期繁殖资源分配中投入更多的能量, 体现在花朵和花序数量上, 这是确保风媒传粉效率的前提; 雌株则通过产生吸引访花昆虫的挥发性成分来抵抗“传粉者限制”效应, 或许可以加强虫媒传粉的效率。本研究支持长梗柳为虫媒风媒的混合传粉系统, 通过风媒和虫媒有效组合提升繁殖效率。

**致谢** 特别感谢福州大学测试中心刘薇老师对挥发性成

分进行测试, 中国科学院动物研究所吴超老师鉴定访花昆虫, 福建农林大学马晓开老师对本文提出的建设性建议。

## 参考文献

- [1] RENNER S S. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: Dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database [J]. *Am J Bot*, 2014, 101(10): 1588–1596. doi: 10.3732/ajb.1400196.
- [2] PENG D L, ZHANG Z Q, NIU Y, et al. Advances in the studies of reproductive strategies of alpine plants [J]. *Biodiv Sci*, 2012, 20(3): 286–299. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.14039.
- 彭德力, 张志强, 牛洋, 等. 高山植物繁殖策略的研究进展 [J]. *生物多样性*, 2012, 20(3): 286–299. doi: 10.3724/SP.J.1003.2012.14039.
- [3] BOECKLEN W J, PRICE P W, MOPPER S. Sex and drugs and herbivores: Sex-biased herbivory in arroyo willow (*Salix lasiolepis*) [J]. *Ecology*, 1990, 71(2): 581–588. doi: 10.2307/1940311.
- [4] FREEMAN D C, KLIKOFF L G, HARPER K T. Differential resource utilization by the sexes of dioecious plants [J]. *Science*, 1976, 193(4253): 597–599. doi: 10.1126/science.193.4253.597.
- [5] ZHANG D Y. *Plant Life History Evolution and Reproductive Ecology* [M]. Beijing: Science Press, 2004.
- 张大勇. *植物生活史进化与繁殖生态学* [M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [6] HUTCHINGS M J. Resource allocation patterns in clonal herbs and their consequences for growth [M]// BAZZAZ F A, GRACE J. *Plant Resource Allocation*. San Diego: Academic Press, 1997: 161–181. doi: 10.1016/B978-012083490-7/50008-6.
- [7] TAMURA S, KUDO G. Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis* [J]. *Plant Ecol*, 2000, 147(2): 185–192. doi: 10.1023/A:1009870521175.
- [8] SINCLAIR J P, EMLER J, FREEMAN D C. Biased sex ratios in plants: Theory and trends [J]. *Bot Rev*, 2012, 78(1): 63–86. doi: 10.1007/s12229-011-9065-0.
- [9] BURD M, ALLEN T F H. Sexual allocation strategy in wind-pollinated plants [J]. *Evolution*, 1988, 42(2): 403–407. doi: 10.1111/j.1558-5646.1988.tb04145.x.
- [10] WHITEHEAD D R. Wind pollination: Some ecological and evolutionary perspectives [M]// REAL L. *Pollination Biology*. Orlando: Academic Press, 1983. doi: 10.1016/B978-0-12-583980-8.50012-0.
- [11] WANG Q, DENG H P, DING B, et al. Comparison of floral morphology and pollination characteristics between the sexes in *Eurya obtusifolia* [J]. *Acta Ecol Sin*, 2012, 32(12): 3921–3930. doi: 10.5846/stxb201108081162.
- 王茜, 邓洪平, 丁博, 等. 钝叶栎不同性别花的花部形态与传粉特征比较 [J]. *生态学报*, 2012, 32(12): 3921–3930. doi: 10.5846/stxb201108081162.
- [12] CHARLESWORTH D. Why are unisexual flowers associated with wind pollination and unspecialized pollinators? [J]. *Am Nat*, 1993, 141(3): 481–490. doi: 10.1086/285485.
- [13] TOLLSTEN L, KNUDSEN J T. Floral scent in dioecious *Salix* (*Salicaceae*): A cue determining the pollination system? [J]. *Plant Syst Evol*, 1992, 182(3/4): 229–237. doi: 10.1007/BF00939189.
- [14] HEMBORG Å M, BOND W J. Different rewards in female and male flowers can explain the evolution of sexual dimorphism in plants [J]. *Biol J Linn Soc*, 2005, 85(1): 97–109. doi: 10.1111/j.1095-8312.2005.00477.x.
- [15] WILLSON M F, ÅGREN J. Differential floral rewards and pollination by deceit in unisexual flowers [J]. *Oikos*, 1989, 55(1): 23–29. doi: 10.2307/3565868.
- [16] DUFAÏ M, ANSTETT M C. Cheating is not always punished: Killer female plants and pollination by deceit in the dwarf palm *Chamaerops humilis* [J]. *J Evol Biol*, 2004, 17(4): 862–868. doi: 10.1111/j.1420-9101.2004.00714.x.
- [17] KNAUER A C, SCHIESTL F P. Bees use honest floral signals as indicators of reward when visiting flowers [J]. *Ecol Lett*, 2015, 18(2): 135–143. doi: 10.1111/ele.12386.
- [18] SRINIVASAN M V, ZHANG S W, ZHU H. Honeybees link sights to smells [J]. *Nature*, 1998, 396(6712): 637–638. doi: 10.1038/25272.
- [19] DÖTTERL S, GLÜCK U, JÜRGENS A, et al. Floral reward, advertisement and attractiveness to honey bees in dioecious *Salix caprea* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(3): e93421. doi: 10.1371/journal.pone.0093421.
- [20] ELMQVIST T, ÅGREN J, TUNLID A. Sexual dimorphism and between-year variation in flowering, fruit set and pollinator behaviour in a boreal willow [J]. *Oikos*, 1988, 53(1): 58–66. doi: 10.2307/3565663.
- [21] HE L, WAGNER N D, HÖRANDL E. Restriction-site associated DNA sequencing data reveal a radiation of willow species (*Salix* L., Salicaceae) in the Hengduan Mountains and adjacent areas [J]. *J Syst Evol*, 2021, 59(1): 44–57. doi: 10.1111/jse.12593.
- [22] KARRENBERG S, KOLLMANN J, EDWARDS P J. Pollen vectors and inflorescence morphology in four species of *Salix* [J]. *Plant Syst Evol*, 2002, 235(1/2/3/4): 181–188. doi: 10.1007/s00606-002-0231-z.
- [23] SACCHI C F, PRICE P W. Pollination of the arroyo willow, *Salix lasiolepis*: Role of insects and wind [J]. *Am J Bot*, 1988, 75(9): 1387–1393. doi: 10.1002/j.1537-2197.1988.tb14200.x.
- [24] PEETERS L, TOTLAND Ø. Wind to insect pollination ratios and

- floral traits in five alpine *Salix* species [J]. *Can J Bot*, 1999, 77(4): 556–563. doi: 10.1139/b99-003.
- [25] ELMQVIST T, CATES R G, HARPER J K, et al. Flowering in males and females of a Utah willow, *Salix rigida* and effects on growth, tannins, phenolic glycosides and sugars [J]. *Oikos*, 1991, 61(1): 65–72. doi: 10.2307/3545407.
- [26] BOLKER B M, BROOKS M E, CLARK C J, et al. Generalized linear mixed models: A practical guide for ecology and evolution [J]. *Trends Ecol Evol*, 2009, 24(3): 127–135. doi: 10.1016/j.tree.2008.10.008.
- [27] KABIR F, MORITZ K K, STENBERG J A. Plant-sex-biased tritrophic interactions on dioecious willow [J]. *Ecosphere*, 2014, 5(12): 1–9. doi: 10.1890/ES14-00356.1.
- [28] DOUGLAS D A. Pollination, capsule damage, and the production of seeds in *Salix setchelliana* (Salicaceae), an Alaskan glacial river gravel bar willow [J]. *Can J Bot*, 1997, 75(7): 1182–1187. doi: 10.1139/b97-831.
- [29] GRAMLICH S, HÖRANDL E. Fitness of natural willow hybrids in a pioneer mosaic hybrid zone [J]. *Ecol Evol*, 2016, 6(21): 7645–7655. doi: 10.1002/ece3.2470.
- [30] GONG Y B, HUANG S Q. On methodology of foraging behavior of pollinating insects [J]. *Biodiv Sci*, 2007, 15(6): 576–583. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2007.06.002.  
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): 576–583. doi: 10.3321/j.issn:1005-0094.2007.06.002
- [31] LI Y Q, ZHANG D X. Fly pollination of *Antidesma montanum* (Euphorbiaceae) in Hainan, China [J]. *Acta Phytotaxon Sin*, 2007, 45(2): 217–226.  
李永泉, 张奠湘. 山地五月茶的蝇类传粉研究 [J]. *植物分类学报*, 2007, 45(2): 217–226.
- [32] FÜSSEL U, DÖTTERL S, JÜRGENS A, et al. Inter-and intraspecific variation in floral scent in the genus *Salix* and its implication for pollination [J]. *J Chem Ecol*, 2007, 33(4): 749–765. doi: 10.1007/s10886-007-9257-6.
- [33] SIMON S J, KEEFOVER-RING K, PARK Y L, et al. Characterization of *Salix nigra* floral insect community and activity of three native *Andrena* bees [J]. *Ecol Evol*, 2021, 11(9): 4688–4700. doi: 10.1002/ece3.7369.
- [34] ALSTRÖM-RAPAPORT C, LASCOUX M, GULLBERG U. Sex determination and sex ratio in the dioecious shrub *Salix viminalis* L. [J]. *Theor Appl Genet*, 1997, 94(3/4): 493–497. doi: 10.1007/s001220050442.
- [35] CRAWFORD R M M, BALFOUR J. Female predominant sex ratios and physiological differentiation in arctic willows [J]. *J Ecol*, 1983, 71(1): 149–160. doi: 10.2307/2259968.
- [36] UENO N, SUYAMA Y, SEIWA K. What makes the sex ratio female-biased in the dioecious tree *Salix sachalinensis*? [J]. *J Ecol*, 2007, 95(5): 951–959. doi: 10.1111/j.1365-2745.2007.01269.x.
- [37] YIN C Y, LI C Y. Gender differences of dioecious plants related sex ratio: Recent advances and future prospects [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2007, 13(3): 419–425.  
尹春英, 李春阳. 雌雄异株植物与性别比例有关的性别差异研究现状与展望 [J]. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(3): 419–425.
- [38] PUCHOLT P, HALLINGBÄCK H R, BERLIN S. Allelic incompatibility can explain female biased sex ratios in dioecious plants [J]. *BMC Genom*, 2017, 18(1): 251. doi: 10.1186/s12864-017-3634-5.
- [39] HE L, JIA K H, ZHANG R G, et al. Chromosome-scale assembly of the genome of *Salix dunnii* reveals a male-heterogametic sex determination system on chromosome 7 [J]. *Mol Ecol Resour*, 2021, 21(6): 1966–1982. doi: 10.1111/1755-0998.13362.
- [40] GERLACH G, SCHILL R. Composition of orchid scents attracting euglossine bees [J]. *Bot Acta*, 1991, 104(5): 379–384. doi: 10.1111/j.1438-8677.1991.tb00245.x.
- [41] LUO C W, HUANG Z Y, LI K, et al. EAG responses of *Apis cerana* to floral compounds of a biodiesel plant, *Jatropha curcas* (Euphorbiaceae) [J]. *J Econ Entomol*, 2013, 106(4): 1653–1658. doi: 10.1603/ec12458.
- [42] ZHANG X M. Floral volatile sesquiterpenes of *Elsholtzia rugulosa* (Lamiaceae) selectively attract Asian honey bees [J]. *J Appl Entomol*, 2018, 142(3): 359–362. doi: 10.1111/jen.12481.
- [43] BHOWMIK B, SARITA S, ALOK S, et al. Role of insect pollinators in seed yield of coriander (*Coriandrum sativum* L.) and their electroantennogram response to crop volatiles [J]. *Agric Res J*, 2017, 54(2): 227–235. doi: 10.5958/2395-146X.2017.00042.4.
- [44] DÖTTERL S, FÜSSEL U, JÜRGENS A, et al. 1,4-Dimethoxybenzene, a floral scent compound in willows that attracts an oligolectic bee [J]. *J Chem Ecol*, 2005, 31(12): 2993–2998. doi: 10.1007/s10886-005-9152-y.
- [45] FOWLER R E, ROTHERAY E L, GOULSON D. Floral abundance and resource quality influence pollinator choice [J]. *Insect Conserv Divers*, 2016, 9(6): 481–494. doi: 10.1111/icad.12197.
- [46] MAJETIC C J, RAGUSO R A, ASHMAN T L. Sources of floral scent variation: Can environment define floral scent phenotype? [J]. *Plant Sign Behav*, 2009, 4(2): 129–131. doi: 10.4161/PSB.4.2.7628.