

探讨种间传粉在杜鹃花属自然杂交物种形成中的作用

张敬丽^{1,2} 张长芹^{1*} 吴之坤^{1,2} 乔 琴^{1,2}

1 (中国科学院昆明植物研究所, 昆明 650204)

2 (中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 自然杂交是物种形成的一个途径, 在植物进化中起着重要的作用。自然杂交主要通过种间的基因交流, 花粉传递则是基因交流的主要途径。马缨花(*Rhododendron delavayi*)、大白花杜鹃(*R. decorum*)、迷人杜鹃(*R. agastum*)和露珠杜鹃(*R. irroratum*)是在云南广泛分布的杜鹃花种类, 马缨花与大白花杜鹃形态上区别明显, 而它们的可能杂交种迷人杜鹃和露珠杜鹃在形态上基本介于二者之间。本文对这4种杜鹃花的开花物候和访花昆虫的种类进行了观察, 并进行了其繁育系统和种子萌发的实验。我们发现马缨花的花期从3月初至5月底, 迷人杜鹃与露珠杜鹃花期基本一致, 为3月初至4月初, 二者同大白花杜鹃基本不存在花期重叠, 大白花杜鹃的花期为4月中旬至5月底。4种杜鹃花的开花期不同年份稍有变化, 其单花开花周期都在一周以上。4种杜鹃花的传粉昆虫虽然种类和数量上有所不同, 但都以膜翅目和双翅目昆虫为主, 中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)是其共有的传粉昆虫。繁育系统研究发现, 除露珠杜鹃外, 其余3种自花不育, 而种间杂交不存在任何生殖障碍, 可以产生萌发率很高的种子。通过分析4种杜鹃花开花物候重叠、共有传粉昆虫及种间杂交可育等现象, 探讨了传粉昆虫和异花授粉的机制在自然杂交物种形成中的作用及杂交种的适应能力。

关键词: 访花昆虫, 繁育系统, 开花物候, 物种进化, *Rhododendron*

The potential roles of interspecific pollination in natural hybridization of *Rhododendron* species in Yunnan, China

Jingli Zhang^{1,2}, Changqin Zhang^{1*}, Zhikun Wu^{1,2}, Qin Qiao^{1,2}

1 Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650204

2 Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049

Abstract: Natural hybridization mediated by pollen flow has been considered as an important factor to drive speciation in *Rhododendron*, one of the largest genera within alpine plants. The diversity of *Rhododendron* species is centered in southwestern China, yet the potential role of interspecific pollination in natural hybridization has not been empirically examined in this area. Here we investigated the flowering period and floral visitors, and conducted a series of pollination experiments to examine breeding systems and hybrid compatibility within four *Rhododendron* which are frequently sympatric in Yunnan Province. *Rhododendron delavayi* and *R. decorum* are clearly distinct by their morphological traits, but the putative hybrids *R. agastum* and *R. irroratum* are morphologically between the other two species. We observed that *R. delavayi* flowered from the beginning of March to the end of May, *R. agastum* and *R. irroratum* flowered from the beginning of March to the beginning of April, and after their flowering periods ended, *R. decorum* began to flower until the end of May. The anthesis of single flowers of the four *Rhododendron* species was almost one week. The floral visitors belong to the Hymenoptera and Diptera Orders, and *Apis cerana cerana* visited all of the four *Rhododendron* species. We found that *R. delavayi*, *R. agastum* and *R. decorum* are self-incompatible, but not *R. irroratum*. No breeding barrier between any of the four species was detected by artificial pollination,

收稿日期: 2007-03-07; 接受日期: 2007-06-13

基金项目: 国家自然科学基金(30770139)和国家科技部技术平台项目(1Z0005DKA21006)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: zhangchangqin@mail.kib.ac.cn

and the hybrid seeds were fertile. The hybrids between four species showed equivalent fitness to their parents. We suggest that the role of potential interspecific pollination is essential to hybrid speciation and evolution of *Rhododendron* species.

Key words: floral visitors, breeding system, flowering time, species evolution

自然杂交可引起遗传基因重组和重建新的进化路线, 从而被认为是物种形成的一个途径, 在植物进化中起着重要的作用(Arnold, 1996; Rieseberg, 1997, 2001; Barton, 2001)。近年来大量的研究方法被用于研究自然杂交, 如形态学(Albert *et al.*, 1997; Tsukaya, 2002; Ishida *et al.*, 2003; Eriksen & Topel, 2006)、人工杂交(Motley & Carr, 1998)、分子生物学(Milne *et al.*, 1999; Milne & Abbott, 2000; Ma *et al.*, 2006)等手段。然而, 杂交在进化中的作用仍然不是很清楚, 部分原因是缺乏对杂交种的形成、保持和适应的研究(Rieseberg, 1995)。传粉是种子植物受精的必经阶段, 花粉的运动在很大程度上限制了植物个体间的基因流和群体的交配方式, 从而影响后代的基因重组和遗传变异(黄双全和郭友好, 2000; 黄双全, 2004)。因此, 植物杂交种繁育系统的稳定性对自然杂交物种形成的过程是一个必不可少的组成部分(Wendt *et al.*, 2001)。

杜鹃属(*Rhododendron*)是杜鹃花科中最大的属, 也是中国和喜马拉雅植物区系成分中的大属之一。本属植物在园艺学上占有重要的位置, 自19世纪中期, 杜鹃属植物被大量发现, 被引种栽培的杜鹃已不下600种, 遍及世界许多国家。由于杜鹃属植物在自然界杂交现象普遍, 栽培条件下亦易于杂交变异(方瑞征, 1999; 张长芹, 2003)。目前, 对于杜鹃花自然杂交物种形成的研究仅见于Milne等(1999)、Milne和Abbott (2000)对杜鹃花*Rhododendron ponticum*的研究。

常绿杜鹃亚属(Subgenus *Hymenanthus*)约295种, 分属1组24亚组, 且均为二倍体(方瑞征和闵天禄, 1995)。本亚属叶大而常绿, 花大, 花簇多花, 形如绣球, 色泽鲜艳多样, 是世界著名的观赏花卉(闵天禄, 1984; 胡琳贞和方明渊, 1994)。马缨花(*Rhododendron delavayi*)、大白花杜鹃(*R. decorum*)、迷人杜鹃(*R. agastum*)与露珠杜鹃(*R. irroratum*)都属于常绿杜鹃亚属, 其中马缨花属于树形杜鹃亚组(Subsect. *Arborea*), 大白花杜鹃属于云锦杜鹃亚组(Subsect. *Fortunea*), 迷人杜鹃和露珠杜鹃属于露珠

杜鹃亚组(Subsect. *Irrorata*) (Chamberlain, 1982; 闵天禄, 1984; 胡琳贞和方明渊, 1994)。

英国杜鹃花专家Cox(1994)和Chamberlain(2003)根据形态提出迷人杜鹃可能是马缨花和大白花杜鹃的自然杂交种, 但并没有证实这种判断正确与否。露珠杜鹃是露珠杜鹃亚组的模式种, 没有任何文献提出它是自然杂交起源的可能性。张长芹等于20世纪80年代开始进行人工杂交种的培育研究, 发现马缨花与大白花杜鹃能够进行杂交, 并且它们的人工杂交种能够结出可育的种子(张长芹等, 1998)。马缨花与大白花杜鹃最明显的区别在于花色与叶背的毛被。例如: 从花色上看, 马缨花为大红色, 大白花杜鹃为白色至浅粉色, 迷人杜鹃明显介于二者之间, 为水红色, 露珠杜鹃大部分为黄色, 但粉红色也较常见。从叶背毛被的情况看, 马缨花具有明显的棕色毛被, 露珠杜鹃与大白花杜鹃没有任何毛被, 而迷人杜鹃具有少量丝状毛被, 介于马缨花与大白花杜鹃之间(吴征镒, 1986; 胡琳贞和方明渊, 1994)。通过野外观察, 马缨花、大白花杜鹃、迷人杜鹃和露珠杜鹃在地理分布上重叠, 从而认为露珠杜鹃可能是迷人杜鹃自然杂交物种形成过程中的亲本之一, 也可能是马缨花与大白花杜鹃的另一个自然杂交种。

为探讨马缨花、迷人杜鹃、露珠杜鹃和大白花杜鹃这4种植物种间杂交的可能性, 我们进行了传粉生物学特性的基本调查和多种形式的人工授粉实验, 并检验了杂交后代的表现(种子萌发率), 目的是了解以下问题: (1) 这4种杜鹃花的繁育系统是什么? (2) 种间杂交的亲性和如何? 它们是否可以同亲本回交? (3) 与亲本相比, 杂交种的表现或者说适合度如何? 是否具有更强的适应性?

1 材料与方法

1.1 研究地点自然概况

本研究的野外观察和实验地点设在云南省师宗县菌子山。菌子山位于云南省东部, 位于103°45′-103°46′14″E, 25°07′-26°06′N之间, 海拔

2,000–4,000 m, 土壤为酸性红壤, 这4种杜鹃花分布区域重叠, 主要与常绿栎属植物、落叶壳斗科植物和云南松 (*Pinus yunnanensis*) 林相伴生。2005年和2006年3月初至5月底, 在菌子山选取杜鹃花不同居群进行定位观察和实验。

1.2 研究方法

1.2.1 开花物候的观察

2005年和2006年3–5月, 对样地内高3 m以上的杜鹃花的开花情况及单花开花特性进行观察、记录。标记特定花序开花的时间, 在自然条件下连续数天定位观察并记录花朵的开放过程, 直至花瓣脱落(王仲礼等, 1997)。

1.2.2 传粉昆虫的观察

在不同的杜鹃花盛花期间, 每种杜鹃花分别选取5株已开放的植株进行标记, 从早上7:00至晚上20:00, 连续观察1周, 记录每个花序的访花昆虫种类。观察不同天气情况下昆虫的传粉情况。采集传粉昆虫进行种类鉴定。

1.2.3 繁育系统研究

为了检测这4种杜鹃花的繁育系统, 我们在研究地点于2005–2006年连续两年进行了人工授粉实验, 设置了如下7个处理, 并统计结实率(由于4种杜鹃花都为顶生花序, 故以花序为单位进行处理, 各处理为5–10个花序, 每花序有花5–20朵): (1)自然对照, 不作任何处理, 挂牌直至果实成熟; (2)不去雄开花前套袋, 检验是否自花授粉; (3)开花前去雄不套袋, 判断是否存在虫媒异花授粉, 及其对昆虫的酬物; (4)人工自花授粉后, 去雄, 套袋, 鉴定是否自交亲和; (5)同种异株人工授粉; (6)种间人工授粉, 包括①以马缨花为母本, 露珠杜鹃、迷人杜鹃和大白花杜鹃为父本, ②以露珠杜鹃为母本, 马缨花和迷人杜鹃为父本, ③以迷人杜鹃为母本, 马缨花和露珠杜鹃为父本, ④以大白花杜鹃为母本, 马缨花杜鹃为父本; (7)去雄套网, 检测是否存在风媒传粉(王仲礼等, 1997; Wendt *et al.*, 2001)。

我们对人工授粉实验所得到的种子在人工气候培养箱中按照同一条件(每天光照时间为12 h, 光照强度为2,000 lx, 温度为20℃), 进行种子萌发实验, 在播种40 d时统计其萌发率, 3次重复, 结果取3次萌发的平均值。

2 结果

2.1 4种杜鹃花的开花物候

通过对这4种杜鹃花两年的开花物候观察, 发现不同种在不同年份开花时间随气候也有变化。马缨花的开花期最长, 大约从3月初至5月底。露珠杜鹃与迷人杜鹃开花比马缨花稍晚, 大约从3月中旬开始至4月中旬。大白花杜鹃的开花时间最晚, 从5月初至5月底或6月初。迷人杜鹃和露珠杜鹃的花期基本一致, 二者与大白花杜鹃的开花期没有重叠(图1)。这4种杜鹃花的单花开花时间都在1周以上。基本都是在花冠未展开前1–2 d柱头已具有极少量粘液; 在开花后2–4 d, 柱头粘液最多, 花粉则成丝状散出, 具粘性; 在开花5 d后, 柱头粘液渐少, 花粉已基本完全散出; 开花一周左右, 柱头开始枯萎, 花冠脱落, 雄蕊也开始脱落, 已基本完成单花开花周期。在观察中我们发现马缨花与迷人杜鹃具有在花朵未开放前柱头先伸出花冠的现象(图2)。

2.2 传粉昆虫的观察结果

4种杜鹃花的访花昆虫都在单花开花2–4 d内较多。访花昆虫活动高峰期, 随太阳照射的强度而改变, 在晴朗的天气为上午8:00至中午12:30左右, 下午13:00–15:00, 太阳光最强时访花昆虫较少, 到了下午16:00阳光照射强度变弱, 昆虫又开始活动, 直至晚上19:00太阳落山。阴雨天气几乎没有见到昆虫访花。

对不同种的杜鹃花我们记录到的访花者在种类和数量上有所不同, 但都以膜翅目和双翅目昆虫为主, 常见的访花者为: 中华蜜蜂(*Apis cerana cerana*)、分舌蜂(*Colletes* sp.)、高值熊蜂(*Bombus*

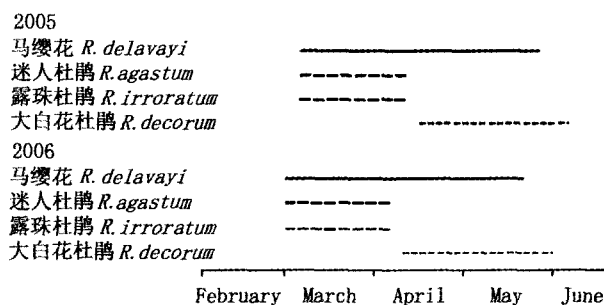


图 1 四种杜鹃花的开花期比较

Fig. 1 Flowering periods of the four *Rhododendron* species studied

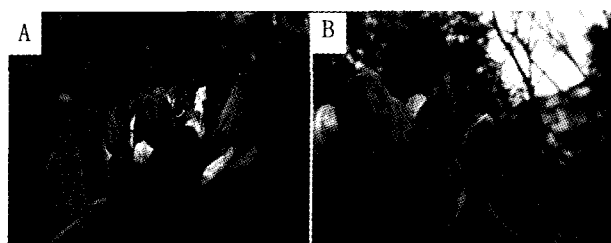


图2 马缨花(A)和迷人杜鹃(B)开花前柱头形态特征(示雌蕊先熟)

Fig. 2 Protogyny in (A) *Rhododendron delavayi* and (B) *R. agastum*. The stigma is extruding from corolla.

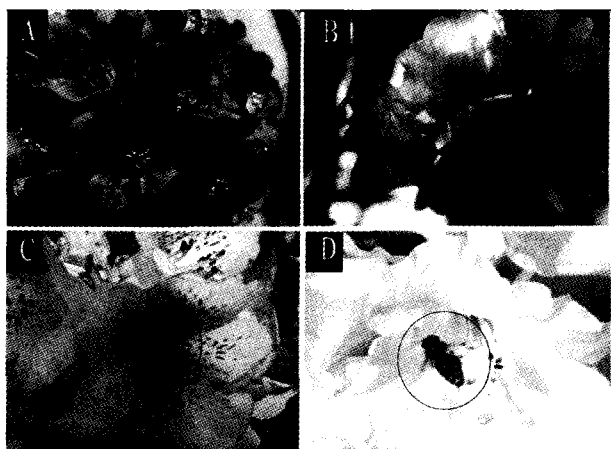


图3 马缨花(A)、迷人杜鹃(B)、露珠杜鹃(C)和大白花杜鹃(D)传粉昆虫观察

Fig. 3 Floral visitors of (A) *R. delavayi*, (B) *R. agastum*, (C) *R. irroratum* and (D) *R. decorum*.

montivolans)、食蚜蝇(*Sericomyia* sp.)、黄脚虎头蜂(*Vespa velutina*)、虻(*Psilocephala* sp.)和蝇(*Parasarcophaga* sp.)。它们访花所得的酬物都为花蜜和花粉,各种蜂类携带的花粉较多,是有效的传粉者。其中中华蜜蜂在4种杜鹃花上都比较常见(图3),分舌蜂是迷人杜鹃和露珠杜鹃专有的传粉昆虫;高值熊蜂、食蚜蝇、黄脚虎头蜂、虻和蝇则为大白花杜鹃所专有(表1)。

2.3 繁育系统与种子萌发

7个人工授粉组合的结果及所得到的种子萌发结果如表2所示。(1)自然对照,4种杜鹃花在自然条件下结实率在76.4%以上。其中迷人杜鹃自然状态下结实率高达100%,种子萌发率也较高,在54.0%以上。大白花杜鹃的萌发率高达90.5%。(2)直接套袋,只有露珠杜鹃少量结实,且种子具有一定的萌发率,其余3种都没有结实。(3)去雄不套袋,4种杜鹃

花都能少量结实,但结实率明显下降,不到50.0%,而且果实非常小,仅露珠杜鹃的果实有少量种子(萌发率高达82.0%),其余3个种的杜鹃花没有种子。(4)人工自花授粉处理只有露珠杜鹃少量结实,其种子萌发率高达79.0%。(5)同种异株人工授粉表明,4种杜鹃花同种异株之间相互授粉能结实,结实率都在70.0%以上,种子萌发率都高达85.0%以上。(6)对这4种杜鹃花进行种间人工授粉能结实,以马缨花为母本,以迷人杜鹃、大白花杜鹃和露珠杜鹃为父本,得到的结实率分别为76.9%,76.6%和84.4%,这些杂交所得的种子也具有一定的萌发率,分别为34.0%,89.5%和29.7%;以迷人杜鹃为母本,以马缨花和露珠杜鹃为父本,得到的结实率也较高,分别为89.5%和85.0%,其种子萌发率高达89.0%和95.5%;以露珠杜鹃为母本,马缨花和迷人杜鹃为父本,得到的结实率为91.3%和92.0%,其种子萌发率为75.5%和68.0%;以大白花杜鹃为母本,马缨花为父本,得到的结实率为89.1%,种子萌发率为94.5%(由于迷人杜鹃和露珠杜鹃与大白花的花期没有重叠,对二者与大白花杜鹃的人工杂交实验无法进行)。(7)去雄套网实验中4种杜鹃花都没有结实。

3 讨论

3.1 开花物候期重叠为杜鹃花自然杂交物种形成提供了条件

对自然杂交的研究Focke做了总结并提出了理论推测:自然杂交最可能发生在某一亲本的数量远小于另一亲本的居群中(Carney *et al.*, 1994; Rieseberg & Carney, 1998),这可能是由于某一亲本稀有或者不同种间开花物候(*flowering phenology*)的变化。Arnold等验证了Focke的推测并提出当两个亲本都大量存在时,种间的花粉竞争阻止了杂种产生(Carney *et al.*, 1994)。我们在研究中发现,大白花杜鹃在野外自然环境下,种群数量远小于马缨花;而且,两个可能杂交种迷人杜鹃与露珠杜鹃与另一亲本大白花杜鹃存在不同的开花物候。马缨花与迷人杜鹃、露珠杜鹃、大白花杜鹃的花期都存在重叠,迷人杜鹃与露珠杜鹃的花期基本一致,而二者与大白花杜鹃不存在花期重叠。这说明在一定的条件下,马缨花与后三者发生自然杂交是有可能的;迷人杜鹃和露珠杜鹃花期的一致性,说明二者也存在相互

表1 4种杜鹃花的访花昆虫

Table 1 Floral visitors of the four *Rhododendron* species

被访植物 Visited plants	访花昆虫 Floral visitors	目 Order	科 Family
马缨花 <i>R. delavayi</i>	中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae
迷人杜鹃 <i>R. agastum</i>	分舌蜂 <i>Colletes</i> sp.	膜翅目 Hymenoptera	分舌蜂科 Colletidae
	中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae
露珠杜鹃 <i>R. irroratum</i>	分舌蜂 <i>Colletes</i> sp.	膜翅目 Hymenoptera	分舌蜂科 Colletidae
	中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae
大白花杜鹃 <i>R. decorum</i>	高值熊蜂 <i>Bombus montivolans</i>	膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae
	食蚜蝇 <i>Sericomyia</i> sp.	双翅目 Diptera	食蚜蝇科 Syrphidae
	黄脚虎头蜂 <i>Vespa velutina</i>	膜翅目 Hymenoptera	胡蜂科 Vespidae
	虻 <i>Psilocephala</i> sp.	双翅目 Diptera	剑虻科 Therevidae
	蝇 <i>Parasarcophaga</i> sp.	双翅目 Diptera	麻蝇科 Sarcophagidae
	中华蜜蜂 <i>Apis cerana cerana</i>	膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae

杂交的可能性;而迷人杜鹃和露珠杜鹃与大白花杜鹃的花期没有重叠,表明它们不可能与大白花杜鹃发生自然杂交;从花期上看,大白花杜鹃只有与马缨花发生自然杂交的可能性。

3.2 共有传粉昆虫和人工杂交种的可育性

通过对传粉昆虫的观察,这4种杜鹃花除了各自专有的传粉昆虫之外,还共有传粉昆虫中华蜜蜂,说明它们之间存在发生自然杂交的可能性;同时,两个可能杂交种迷人杜鹃与露珠杜鹃专有的分舌蜂却并没有在亲本马缨花与大白花杜鹃上发现,这不仅为杂交种与亲本的隔离创造了条件,而且表明在杂交物种形成之后,两个杂交种之间存在花粉传递。

我们的观察和人工授粉组合的实验结果表明,同种异株和不同种杜鹃花之间可以相互授粉成功,并且得到可育的种子,但不同的组合种子萌发率有差异(表2)。除了以马缨花为母本以迷人杜鹃和露珠杜鹃为父本进行杂交,种子萌发率仅为34.0%和29.7%外,其余杂交组合的种子萌发率都在68.0%以上,最高者达到94.5%,说明它们之间存在自然杂交形成物种的可能性,但马缨花在与可能杂交种进行人工授粉时可能发生了部分不育现象,这种现象有待于进一步的研究。4种杜鹃花都不是风媒传粉,除露珠杜鹃部分自交能育外都是依赖虫媒传粉,花冠颜色、花粉和花蜜是吸引昆虫传粉的重要条件。

这4种杜鹃花的繁育系统特征,包括共有传粉昆虫、异种间容易杂交,都为杜鹃花自然杂交物种形成提供了繁育系统上的可能性。可能杂交种可与亲本回交并产生可以萌发的种子也为杂交物种形成提供了延续的保障。露珠杜鹃的自花能育,则表

明露珠杜鹃可能是后来的或近期的自花授粉的后代(Stebbins, 1957; Solbrig & Rollins, 1977; Jarne & Charlesworth, 1993)。

3.3 传粉生物学研究与杜鹃花自然杂交物种形成及适应性的探讨

自然杂交主要通过种间的基因交流,花粉传递则是基因交流的主要途径。传粉系统是理解自然选择和进化之间相互作用的一个模型(Real, 1983),植物的传粉系统和繁育系统及其对基因流的限制,直接影响到居群内个体变异的发生以及居群间隔离与分化程度及多样性的保留(陈家宽和杨继, 1994)。前人对迷人杜鹃可能是马缨花与大白花杜鹃自然杂交种的可能性推测是建立在形态学的基础之上(Cox, 1994; Chamberlain, 2003)。张长芹等(1998)根据多年人工杂交繁育杜鹃花的经验与野外观察相结合,发现马缨花与大白花杜鹃很容易人工杂交;露珠杜鹃在形态上更接近于迷人杜鹃,而且在分类学上,二者还属同一个亚组,从而认为二者存在更近的亲缘关系;露珠杜鹃可能是迷人杜鹃的一个亲本,也可能和迷人杜鹃一样,是马缨花与大白花杜鹃的自然杂交种。我们也对这4种杜鹃花的形态进行了部分统计,如前所述,迷人杜鹃与露珠杜鹃在形态上介于马缨花与大白花杜鹃之间,二者形态相近,但不属于同一个种(胡琳贞和方明渊, 1994; Chamberlain, 2003)。从我们对这4种杜鹃花传粉生物学和繁育系统的研究结果可以看出,花期的重叠、共有传粉昆虫和异种之间容易杂交,说明它们之间可能发生自然杂交物种形成。

植物物种的隔离机制可以归结为3个主要方面:

(1)地理隔离, (2)生态隔离, (3)生殖隔离, 生殖隔离

表2 4种杜鹃花不同人工授粉组合的结实率和种子萌发率
Table 2 Fruit sets and seed germination rates of the four *Rhododendron* species under different hand pollination treatments

Hand pollination treatment	代码 Code	马缨花 <i>R. delavayi</i> ♀				迷人杜鹃 <i>R. agastum</i> ♀				露珠杜鹃 <i>R. irroratum</i> ♀				白花杜鹃 <i>R. decorum</i> ♀			
		结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)	结实率 Fruit set (%)	萌发率 Germination rate (%)
(1) 自然对照 Natural pollination	A	(81/106) 76.4	54	(15/15) 100	75.5	(23/24) 95.8	79.5	(23/25) 92	90.5	(0/10) 0	-	(6/15) 40	-	(7/10) 70	87.5	(41/46) 89.1	94.5
(2) 直接套袋 Spontaneous selfing	B	(0/40) 0	-	(0/14) 0	-	(5/15) 30	19.5	(6/14) 42.9	82	(3/18) 16.7	79	(27/33) 81.8	85	(7/10) 70	87.5	(41/46) 89.1	94.5
(3) 去雄不套袋 Insect-pollination	C	(8/34) 23.5	-	(5/12) 41.7	-	(6/14) 42.9	82	(6/14) 42.9	82	(6/14) 42.9	82	(6/14) 42.9	82	(6/14) 42.9	82	(6/14) 42.9	82
(4) 人工自花授粉 Self-pollination	D	(0/73) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-
(5) 同种异株人工授粉 Cross-pollination	E	(34/44) 77.3	86.5	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84	(26/30) 86.7	84
(6) 异种人工授粉 Interspecific pollination	F-1	<i>R. agastum</i> ♂ (40/52) 76.9	34.0	<i>R. delavayi</i> ♂ (17/19) 89.5	89.0	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5	<i>R. delavayi</i> ♂ (21/23) 91.3	75.5
	F-2	<i>R. decorum</i> ♂ (49/64) 76.6	89.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5	<i>R. decorum</i> ♂ (17/20) 85.0	95.5
	F-3	<i>R. irroratum</i> ♂ (38/45) 84.4	29.7	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-	<i>R. irroratum</i> ♂ (0/69) 0	-
(7) 去雄套网 Wind-pollination	G	(0/69) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-	(0/15) 0	-

又可以分为授粉前和授粉后生殖隔离两个方面 (Grant, 1981)。我们所研究的这4种杜鹃花分布区域重叠, 生长环境主要与常绿栎属植物、落叶壳斗科植物和云南松林相伴生, 不存在地理隔离与生态隔离。在同域生长的植物中间, 开花期的不同和访花昆虫的行为(授粉前生殖隔离)对于它们的物种隔离机制起着非常重要的作用(Wendt *et al.*, 2001)。马缨花与大白花杜鹃的开花期重叠, 且二者共有传粉昆虫中华蜜蜂, 起着种间杂交的作用; 相反地, 迷人杜鹃和露珠杜鹃专有的分舌蜂则为可能杂交种与亲本的生殖隔离提供了保障。

杂交不亲和与杂交不育(授粉后生殖隔离)的机制能够阻止杂交发生, 但我们的研究表明不同种杜鹃花之间, 杂交没有受到限制。同样地, 种子萌发的结果也表明杂交与回交没有受到任何限制。尽管我们所做的杂交组合是双向的, 但由于花期的不同, 我们没有做迷人杜鹃和露珠杜鹃二者与大白花杜鹃的杂交组合实验。马缨花与迷人杜鹃、露珠杜鹃和大白花杜鹃的杂交组合实验表明, 马缨花与这3种杜鹃花之间都不存在生殖隔离, 表明它们存在发生自然杂交的可能性。杂交种迷人杜鹃与露珠杜鹃的专有传粉昆虫分舌蜂在马缨花和大白花杜鹃上没有发现, 据此可以推测, 杂交种形成以后, 如果在某一时期缺失了与其可能亲本共有的传粉昆虫中华蜜蜂, 可能杂交种就与其推测亲本产生了生殖隔离, 则使杂交性状得以保存, 从而保持了种的独立性。同时也表明, 在分布重叠区域, 可能杂交种不但可以与其推测亲本回交, 而且它们之间还可能相互杂交现象, 在杂交群中也可能存在不同杂交水平的后代。

由于杂交种通常不适应亲本生长环境, 有人认为自然杂交对物种进化没有任何意义(Mayr, 1963, 1992; Wagner, 1970)。然而, 近年来的研究发现, 由于基因的重组与分化, 有些杂交种反而更能适应亲本生长的环境(Arnold & Hodges, 1995)。可能杂交种迷人杜鹃和露珠杜鹃与推测亲本马缨花和大白花杜鹃一样在云南省分布比较广泛, 且二者在任何杂交组合中结实率都高于其推测亲本马缨花和大白花杜鹃(表2), 杂交得到的种子都具有相当高的萌发率, 这表明可能杂交种迷人杜鹃和露珠杜鹃具有至少和其推测亲本一样的适应能力。

本文研究的这4种杜鹃花属于同一个亚属、同一个组和3个不同的亚组(胡琳贞和方明渊, 1994; 吴征镒, 1986)。传粉生物学的证据已表明, 常绿杜鹃亚属3个不同亚组之间没有生殖隔离, 这不仅为杜鹃花自然杂交物种形成提供了条件, 同时也为分类学和系统进化提供了进一步研究的内容。我们下一步的工作, 主要以居群为单位进行调查, 从形态学和分子生物学方面做深入的研究, 以期得到足够的证据来证明迷人杜鹃与露珠杜鹃的自然杂交物种形成。

致谢:衷心感谢云南大学生命科学院王丽珍教授对传粉昆虫进行种类鉴定。

参考文献

- Albert ME, D'Antonio CM, Schierenbeck KA (1997) Hybridization and introgression in *Carpobrotus* spp. (Aizoaceae) in California. I. Morphological evidence. *American Journal of Botany*, **84**, 896–904.
- Arnold ML (1996) *Natural Hybridization and Introgression*. Princeton University Press, Princeton.
- Arnold ML, Hodges SA (1995) Are natural hybrids fit or unfit relative to their parents? *Trends in Ecology and Evolution*, **10**, 67–71.
- Barton NH (2001) The role of hybridization in evolution. *Molecular Ecology*, **10**, 551–568.
- Carney SE, Cruzan MB, Arnold ML (1994) Reproductive interactions between hybridizing Irises: analyses of pollen-tube growth and fertilization success. *American Journal of Botany*, **81**, 1169–1175.
- Chamberlain DF (1982) A revision of *Rhododendron*. II. Subgenus *Hymenanthus*. *Notes from the Royal Botanic Garden, Edinburgh*, **39**, 209–486.
- Chamberlain DF (2003) Rhododendrons in the wild: a taxonomist's view. In: *Rhododendrons in Horticulture and Science* (eds Argent G, Mcfarlane M), pp. 42–52. The Royal Botanic Garden, Edinburgh.
- Chen JK (陈家宽), Yang J (杨继) (1994) *Plant Evolutionary Biology* (植物进化生物学). Wuhan University Press, Wuhan. (in Chinese)
- Cox PA (translated by Shen RX (沈仁湘)) (1994) Note of natural hybrids and intraspecific variation of *Rhododendron* in China. In: *Scientific Investigation of the Plant on Cangshan Mountain* (苍山植物科学考察) (ed. Duan CZ (段承忠)), pp. 132–133. Yunnan Science and Technology Press, Kunming. (in Chinese)
- Eriksen B, Topel M (2006) Molecular phylogeography and hybridization in members of the circumpolar *Potentilla* sect. *Niveae* (Rosaceae). *American Journal of Botany*, **93**, 460–469.
- Fang RZ (方瑞征) (1999) Ericaceae. In: *Florae Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志), Tomus 57 (1) (ed. Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academicae Sinicae Edita (中国科学院中国植物志编辑委员会), pp. 13–14. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Fang RZ (方瑞征), Min TL (闵天禄) (1995) The floristic study on the genus *Rhododendron*. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **17**, 359–379. (in Chinese with English abstract)
- Grant V (1981) *Plant Speciation*, 2nd edn. Columbia University Press, New York.
- Hu LC (胡琳贞), Fang MY (方明渊) (1994) Ericaceae. In: *Florae Reipublicae Popularis Sinicae* (中国植物志), Tomus 57 (2) (ed. Delectis Florae Reipublicae Popularis Sinicae Agendae Academicae Sinicae Edita (中国科学院中国植物志编辑委员会), pp. 1–6. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Huang SQ (黄双全) (2004) On several scientific terms in pollination biology and their Chinese translation. *Acta Phytotaxonomica Sinica* (植物分类学报), **42**, 284–288. (in Chinese with English abstract)
- Huang SQ (黄双全), Guo YH (郭友好) (2000) New advances in pollination biology. *Chinese Science Bulletin* (科学通报), **45**, 225–237. (in Chinese)
- Ishida TA, Hattori K, Sato H, Kimura MT (2003) Differentiation and hybridization between *Quercus crispula* and *Q. dentata* (Fagaceae): insights from morphological traits, amplified fragment length polymorphism markers, and leaf miner composition. *American Journal of Botany*, **90**, 769–776.
- Jarne P, Charlesworth D (1993) The evolution of the selfing rate in functionally hermaphrodite plants and animals. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 441–466.
- Ma XF, Szmidt AE, Wang XR (2006) Genetic structure and evolutionary history of a diploid hybrid pine *Pinus densata* inferred from the nucleotide variation at seven gene loci. *Molecular Biology and Evolution*, **23**, 807–816.
- Mayr E (1963) *Animal Species and Evolution*. Harvard University Press, Cambridge, MA.
- Mayr E (1992) A local flora and the biological species concept. *American Journal of Botany*, **79**, 222–238.
- Milne RI, Abbott RJ (2000) Origin and evolution of invasive naturalized material of *Rhododendron ponticum* L. in the British Isles. *Molecular Ecology*, **9**, 541–556.
- Milne RI, Abbott RJ, Wolff K, Chamberlain DF (1999) Hybridization among sympatric species of *Rhododendron* (Ericaceae) in Turkey: morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany*, **86**, 1776–1785.
- Min TL (闵天禄) (1984) A revision of subgenus *Hymenanthus* (*Rhododendron* L.) in Yunnan and Xizang. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **6**, 141–171. (in Chinese with English abstract)
- Motley TJ, Carr GD (1998) Artificial hybridization in Hawaiian endemic genus *Labordia* (Logoniaceae). *American Journal of Botany*, **85**, 650–660.
- Real L (1983) *Pollination Biology*. Academic Press, Florida.

- Rieseberg LH (1995) The role of hybridization in evolution: old wine in new skins. *American Journal of Botany*, **82**, 944–953.
- Rieseberg LH (1997) Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **28**, 359–389.
- Rieseberg LH, Carney SH (1998) Plant hybridization. *New Phytologist*, **140**, 599–624.
- Rieseberg LH (2001) Chromosomal rearrangements and speciation. *Trends in Ecology and Evolution*, **16**, 351–358.
- Solbrig OT, Rollins RC (1977) The evolution of autogamy in species of the mustard genus *Leavenworthia*. *Evolution*, **31**, 265–281.
- Stebbins GL (1957) Self-fertilization and population variation in higher plants. *The American Naturalist*, **861**, 337–354.
- Tsukaya H (2002) Leaf anatomy of a rheophyte, *Dendranthema yoshinaganthum* (Asteraceae), and of hybrids between *D. yoshinaganthum* and a closely related non-rheophyte, *D. indicum*. *Journal of Plant Research*, **115**, 329–333.
- Wagner WH (1970) Biosystematics and evolutionary noise. *Taxon*, **19**, 146–151.
- Wang ZL (王仲礼), Liu DL (刘德林), Tian GW (田国伟), Shen JH (申家恒) (1997) Flowering and pollination biology of *Eleutherococcus brachypus*. *Chinese Biodiversity* (生物多样性), **5**, 251–256. (in Chinese with English abstract)
- Wendt T, Canela MBF, Faria APG, Rios RI (2001) Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromellicaceae). *American Journal of Botany*, **88**, 1760–1767.
- Wu CY (吴征镒) (1986) Ericaceae. In: *Florae Yunnanica* (云南植物志), Tomus 4 (ed. Institutum Botanicum Kunmingense Academiae Sinicae Editio (中国科学院昆明植物研究所), pp. 336–355. Science Press, Beijing. (in Chinese)
- Zhang CQ (张长芹) (2003) *Rhododendron* (杜鹃花). China Architecture and Building Press, Beijing. (in Chinese)
- Zhang CQ (张长芹), Feng BJ (冯宝钧), Lu YL (吕元林) (1998) The study of hybridization of *Rhododendron*. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **20**, 94–96. (in Chinese with English abstract)

(责任编辑: 黄双全 责任编辑: 周玉荣)