

引文格式: 谢孟, 马永鹏, 曹毓蓉, 等. 极小种群野生植物波叶杜鹃的花部特征和繁育系统研究[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(1): 95–103. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202207033

极小种群野生植物波叶杜鹃的花部特征和繁育系统研究*

谢孟^{1,2}, 马永鹏³, 曹毓蓉¹, 刘德团³, 李正红¹, 马宏^{1,4**}

(1. 中国林业科学研究院 高原林业研究所, 云南 昆明 650001; 2. 南京林业大学 风景园林学院, 江苏 南京 210037;
3. 云南省极小种群野生植物综合保护重点实验室, 中国科学院 昆明植物研究所, 云南 昆明 650201;
4. 国家林业和草原局资源昆虫培育与利用重点实验室, 云南 昆明 650224)

摘要:【目的】研究极小种群野生植物波叶杜鹃 (*Rhododendron hemsleyanum*) 的花部特征和繁育系统, 为其作为乡土园林树种推广提供遗传育种理论基础。【方法】对四川峨眉山波叶杜鹃野生居群资源现状进行深入调查, 研究其花部形态、花粉—胚珠比、杂交指数和昆虫访花行为等, 并结合人工控制授粉试验对其繁育系统展开研究。【结果】5月中旬为波叶杜鹃的盛花期; 其杂交指数为 5, 花粉—胚珠比为 640.93 ± 65.52 ; 自然对照结实率为 56.67%, 异株异花传粉结实率为 86.67%; 主要访花者是中华蜜蜂 (*Apis cerana*) 和排蜂 (*A. dorsata*)。【结论】波叶杜鹃的最佳授粉时期为盛花期 (开花第 3~6 天), 其繁育系统是倾向于异交的混合交配系统, 自然条件下有效传粉者为中华蜜蜂和排蜂。

关键词: 极小种群野生植物; 波叶杜鹃; 花部特征; 繁育系统; 访花昆虫

中图分类号: S685.210.1

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2023) 01-0095-09

Research on Floral Syndrome and Breeding Systems of *Rhododendron hemsleyanum*, a Plant Species with Extremely Small Populations

XIE Meng^{1,2}, MA Yongpeng³, CAO Yurong¹, LIU Detuan³, LI Zhenghong¹, MA Hong^{1,4}

(1. Institute of Highland Forest Science, Chinese Academy of Forestry, Kunming 650001, China; 2. College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 3. Yunnan Key Laboratory for Integrative Conservation of Plant Species with Extremely Small Populations, Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650201, China; 4. Key Laboratory of Breeding and Utilization of Resource Insects, National Forestry and Grassland Administration, Kunming 650224, China)

Abstract: [Purpose] To study the floral syndrome and breeding system of *Rhododendron hemsleyanum*, a plant species with extremely small populations, and to provide a genetic breeding theoretical basis for the promotion of *R. hemsleyanum* as a native garden tree. [Methods] The status of the *R. hemsleyanum* wild population in Emei Mountain, Sichuan, were investigated, and its floral syndrome,

收稿日期: 2022-07-22

修回日期: 2023-03-02

网络首发日期: 2023-03-23

*基金项目: 云南省重大科技专项计划 (202202AE090012); 兴滇人才支持计划青年人才专项。

作者简介: 谢孟 (1998—), 男, 四川雅安人, 在读硕士研究生, 主要从事植物学研究。

E-mail: fondbotany@163.com

**通信作者 Corresponding author: 马宏 (1979—), 男, 山东威海人, 博士, 研究员, 主要从事资源植物种质评价及分子生物学研究。E-mail: hortsience@163.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20230322.1329.002.html>



pollen-ovule ratio, hybridization index and insects' flower-visiting behavior were studied, as well as its breeding system in combination with artificial controlled pollination tests was researched.

[**Results**] The blooming period of *R. hemsleyanum* was mid-May; the hybridization index was five, the pollen-ovule ratio was 640.93 ± 65.52 ; the fruiting rate of the natural control was 56.67%, and the fruiting rate of heterogeneous pollination was 86.67%; the main flower visitors were *Apis cerana* and *A. dorsata*. [**Conclusion**] The best pollination period for *R. hemsleyanum* is at the peak of flowering (the 3rd-6th day of flowering), its breeding system is a mixed mating system that tends to be heterozygous, and the effective pollinators are *A. cerana* and *A. dorsata*.

Keywords: plant species with extremely small populations; *Rhododendron hemsleyanum*; floral syndrome; breeding systems; flower visiting insects

繁育系统在影响植物表型和进化路线方面有着重要作用, 主要包括花部形态性状、开放式样、交配系统、传粉者类别和传粉频率等, 其中, 交配系统可以控制植物种群数量以及种群遗传变异情况, 在繁育系统中起着核心作用^[1-2]。相关研究认为: 植物繁育特性 (如开花传粉、交配系统、种子散布方式和进化历史) 对其遗传结构、遗传变异及分化和基因流等具有重要影响^[3]。植物授粉系统随着环境和授粉条件的变化而变化, 其繁育系统决定着植物的分布和扩散能力, 也影响着植物的进化潜力。有效传粉是植物果实和种子结实的首要条件, 决定着植物的生存潜力, 其中有效传粉者起着关键作用^[4]。了解繁育系统的生殖特性, 对于分析极小种群野生植物致危原因以及生存于恶劣环境导致传粉受限的物种有着重要的作用^[5]。

亚洲地区发现的杜鹃属 (*Rhododendron*) 植物多达 900 余种, 且一半以上分布在中国; 中国 74% 以上的杜鹃花为特有种, 以云南、贵州和四川最为丰富, 构成了杜鹃属植物的现代分布和演化中心^[6-7]。有学者对极小种群野生植物杜鹃属的物种遗传多样性进行了研究, 如宽杯杜鹃 (*R. sinofalconeri*)^[8] 和红萼杜鹃 (*R. meddianum*)^[9]。近年来, 杜鹃属植物繁育系统与环境关系的研究备受关注, 大部分杜鹃花属植物的繁育系统倾向于异交的复合交配方式^[10-14], 而宽杯杜鹃^[15] 和长梗杜鹃 (*R. longipedicellatum*)^[16] 的繁育系统为自交和异交的混合交配系统, 但有关波叶杜鹃繁育系统的研究尚未见报道。

波叶杜鹃 (*R. hemsleyanum*) 是杜鹃属常绿灌木, 花冠白色宽钟状, 边缘波状, 其分布海拔

低, 生长适应性强, 有较高的观赏价值, 是一种极具开发应用潜力的野生花卉资源。波叶杜鹃仅分布于四川峨眉山, 该地处于旅游开发区, 其野生资源受人为干扰严重, 分布区域狭窄并多伴有人为建筑, 生境破碎化, 种群数量稀少。在《中国高等植物受威胁物种名录》^[17]《中国生物多样性红色名录》^[18]《IUCN 红色名录》^[19] 和《The Red List of Rhododendrons》^[20] 中, 波叶杜鹃被评估为极度濒危物种。经过多次实地考察, 课题组发现波叶杜鹃在峨眉山仅有 6 个分布单元, 现存个体数 163 株, 种群更新较弱, 是典型的极小种群野生植物。本研究对四川峨眉山的野生波叶杜鹃资源现状进行深入调查, 观察其花部形态和昆虫访花行为, 结合杂交指数、花粉—胚珠比和人工控制授粉等试验揭示其繁育系统特征, 并提出其有效合理的保护措施, 为其作为乡土园林树种推广和极小种群杜鹃属植物资源的可持续利用提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 研究区概况

研究区位于四川省峨眉山市峨眉山长老坪 (N29°57'16.6", E103°36'63.9", 海拔 1 449 m) 和石笋沟 (N29°55'88.8", E103°37'11.1", 海拔 1 191 m)。该区为中亚热带季风气候, 年均温 17 ℃, 年平均降水量 1 555 mm, 空气相对湿度达 80% 以上^[21]; 坡度较陡; 土壤多为黄壤和棕壤, 少见黄棕壤^[22]。波叶杜鹃群落结构复杂, 伴生植物乔木层以樟科 (*Lauraceae*) 为主, 伴有日本柳杉 (*Cryptomeria japonica*)、鞘柄木 (*Torreliella tiliifolia*)、杨叶木姜子 (*Litsea populifolia*) 和锐齿

槭 (*Acer sikkimense*), 灌木层以桫欏属 (*Eurya*) 为主, 伴有勾儿茶 (*Berchemia sinica*) 和箭竹 (*Fargesia spathacea*) 等植物^[23]。

1.2 研究材料

供试波叶杜鹃为研究区生长的野生波叶杜鹃。

1.3 研究方法

1.3.1 花期物候与花部特征观察

2021 年 5—6 月对峨眉山长老坪和石笋沟的波叶杜鹃野外居群进行群体花期物候观察。随机挑选波叶杜鹃 10 株记录其始花、终花以及花期持续时间和开花同步性; 在波叶杜鹃花期随机挑选 10 株, 每株均随机挂牌花序 3 个, 每天观察和统计花序新增的开花数量和开放持续时间; 在盛花期, 观察并统计波叶杜鹃花部形态特征并随机挂牌花朵 30 朵, 记录单花花期时间和形态变化, 记录始花、终花时间及花期同步指数^[24]。

$$\text{花期同步指数} = \frac{1}{N} \left(\frac{1}{T_K} \right) \sum_{J=K}^N R_{J \neq K}。$$

式中: 花期同步指数范围为 0~1; N 为种群个体总数; T_K 为单个花期时间; R_J 为个体 K 和个体 J 的花期重复时间。

1.3.2 花粉活力和柱头可授性检测

波叶杜鹃开花当日花粉活力测定: 随机选取当日开花的单花 15 朵, 从 9:00—21:00 每 2 h 取花粉 1 次, 将其涂抹于载玻片, 用 5.0% 蔗糖与 0.5% 氯化三苯基四氮唑 (TTC) 的混合液进行染色, 放入培养皿 (内置湿润滤纸), 25 ℃、无光条件静置 2 h, 于显微镜下观察染色情况, 重复 3 次。染色花粉数与观察花粉总数比值的百分数为波叶杜鹃的花粉活力值。

波叶杜鹃花期的花粉活力测定: 标记花蕾期 (主要指开花前 1~2 d) 和开花后 1~8 d 的花朵 30 朵, 每天 9:00 随机选取单花 3 朵测其花粉活力, 重复 3 次。测定方法同开花当日花粉活力的测定。

波叶杜鹃开花过程中柱头可授性测定: 每天 11:00 随机选取花蕾期和开花后 1~8 d 的单花 3 朵, 共选取 30 朵, 参照 DAFNI^[25] 的方法, 将柱头置于凹面载玻片上, 滴加反应液 ($V_{3\% \text{ 过氧化氢}}: V_{1\% \text{ 联苯胺}} = 11:22:4$) 后观察柱头是否染色。根据颜色和气泡判定柱头的可授性, 具体标准为: 柱头接触反应液后无气泡和颜色出现, 为不具有可授性, 记为 0; 柱头接触反应液后产生

1~6 个气泡且未出现蓝色反应, 为部分具有可授性, 记为 1; 柱头 1/2 面积产生气泡且有微弱的蓝色反应出现, 为具有可授性, 记为 2; 柱头 2/3 面积产生大量气泡且蓝色加深, 为可授性较强, 记为 3; 整个柱头几乎都有气泡产生且有明显的蓝色反应, 为可授性强, 记为 4。

1.3.3 估算杂交指数和花粉—胚珠比

于波叶杜鹃盛花期, 随机挑选其花序 30 个 (每株单株 3 个花序, 共 10 株单株), 观察其花部特征, 参照 DAFNI 等^[26] 的标准 (花冠直径、花部特征和柱头可授性) 计算其杂交指数, 并评估波叶杜鹃的繁育系统。

随机挂牌标记已开放但是花药还未开裂的花蕾 30 个 (每株单株采集 3 个花序, 共 10 株单株), 将其采集到室内, 待花药开裂后将其制作成花药悬浮液, 于体式显微镜下观察并计数其花粉量。摘除波叶杜鹃花瓣、花萼、花冠和雄蕊, 将子房在解剖镜下用解剖刀切开, 找出胚珠, 记录胚珠数。参照 CRUDEN^[27] 的标准评估波叶杜鹃的繁育系统, 即花粉—胚珠比为 244.7~2 588.0 时, 繁育系统为兼性异交, 花粉—胚珠比越小则近交程度越强, 花粉—胚珠比越大则远交程度越强。

1.3.4 授粉方式研究

选取峨眉山长老坪的波叶杜鹃开花植株, 根据 TAMURA 等^[28] 的方法对其进行 6 种不同授粉方式的处理: (1) 未开花前去雄蕊, 套硫酸纸袋处理 (孤雌生殖); (2) 花蕾期去雄蕊, 不套任何袋 (传粉媒介介导的异花授粉); (3) 整个单花花期套网袋 (自花授粉); (4) 花蕾期去雄蕊并套硫酸纸袋, 开花到第 3 天时用同株但不同花的花粉授粉并套硫酸纸袋 (同株异花授粉); (5) 花蕾期去雄套袋, 第 3 天使用间隔一定距离 (10 m) 且单花开放的植株花粉授粉, 授粉完成后套袋 (异株异花授粉); (6) 自然对照。所有处理挂牌标记, 种子成熟时统计结实率。结实率=成熟果实数/处理花朵数×100%。

1.3.5 访花昆虫及其行为观察

2021 年 5 月中旬 (波叶杜鹃盛花期) 进行连续 3 d 访花昆虫观察, 记录访花昆虫种类、数量和行为等。用捕虫网收集访花昆虫并置于 75% 酒精中保存, 用于后续鉴定。根据 STOUT^[29] 判定有效访花昆虫的标准 (即具有携带花粉的能力又能触碰柱头的昆虫), 明确波叶杜鹃的有效传粉者。

2 结果与分析

2.1 花期物候与花部特征

波叶杜鹃为顶生总状伞形花序，每个花序花朵数 7~16 朵，花朵展示醒目。波叶杜鹃 5 月初始花出现，5 月中旬为盛花期，6 月初花期结

束，单花开花 6~10 d，单花开放进程可划分为花蕾期、盛花期和凋谢期 (图 1)。单株开花同步性较高，花期同步指数为 0.72 ± 0.31 ，呈多峰曲线式开花进程，开花数量于始花出现后第 6 天达到峰值 (图 2)。



注: a) 花蕾期; b) 盛花期; c) 凋谢期; 标尺=1 cm。
Note: a) bud stage; b) blooming stage; c) withering stage; bars=1 cm

图 1 波叶杜鹃开花周期
Fig. 1 Flowering stage of *Rhododendron hemsleyanum*

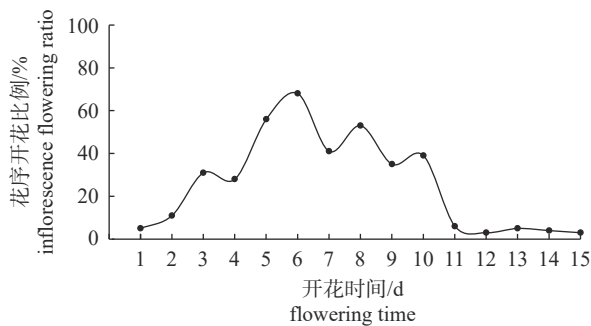


图 2 波叶杜鹃的开花振幅
Fig. 2 Amplitude of inflorescence in *R. hemsleyanum*

波叶杜鹃花冠呈白色宽钟状，直径 30.17~76.47 mm，7 裂，裂片扁圆形，顶端有缺刻；雄蕊不等长，平均 14~16 mm，花药白色长椭圆形。波叶杜鹃花部主要形态指标见表 1。花蕾期时，波叶杜鹃柱头被花瓣包裹，花朵顶部淡红，剖开花朵后发现柱头白色未成熟，柱头未分泌黏液；盛花期时，花瓣变为白色，完全打开，柱头弯曲呈拱形，有黏液，雄蕊和雌蕊分离；凋谢期时，花瓣边缘卷曲呈褐色，柱头颜色逐渐变为褐色，有黏液。

表 1 波叶杜鹃花部特征
Tab. 1 Floral syndrome of *Rhododendron hemsleyanum*

指标 indexes	最小值 minimum	最大值 maximum	平均值 mean	标准差 standard deviation	变异系数/% coefficient of variation
花瓣长/mm petal length	16.11	28.57	23.54	2.59	11.00
花瓣宽 /mm petal width	15.59	24.01	18.11	3.14	17.33
花冠直径/mm flower diameter	30.17	76.47	43.05	4.11	9.55
柱头宽 /mm stigma diameter	3.01	4.79	4.34	0.92	21.20
花柱长/mm style length	39.34	52.07	45.29	3.79	8.37
花梗长/mm pedicel length	26.55	46.59	34.31	4.17	12.15
花丝长/mm filament length	19.17	28.03	24.59	4.77	19.40
花萼长/mm calyx length	1.12	1.76	1.47	0.74	50.34
花药长/mm anther length	2.87	4.52	3.62	1.01	27.90
子房长/mm ovary length	6.21	8.27	7.14	3.14	44.00
子房宽/mm ovary width	4.14	7.69	5.29	1.02	19.28
柱头与花药最短距离/mm shortest distance of stigma to anthers	16.74	41.20	28.43	3.57	12.56

2.2 花粉活力及柱头可授性

由图 3 可知: 开花当天, 波叶杜鹃的花粉活力在 11:00 最高 (90.25%), 之后呈逐渐降低趋势, 17:00 时最低 (48.67%), 之后缓慢上升; 花蕾期的花粉活力为 87.11%, 随着花朵开放和花药开裂, 花粉活力上升, 花粉活力在开花第 1 天最大 (91.05%), 之后花粉活力逐日下降, 花药和柱头颜色逐渐变黑, 随着花粉散出其活力逐渐下降, 至凋谢期时 (花期第 9~10 天) 花粉活力仍保持在约 30%, 可见, 自然状态下波叶杜鹃能长期保持较高的花粉活力。此外, 在花期第 1 和 2 天时, 波叶杜鹃柱头不产生黏液, 未出现呈蓝色的颜色反应, 不具有可授性; 在开花后 3~7 d, 柱头与反应液反应逐渐剧烈, 蓝色逐渐明显, 气泡增多; 在第 6 和 7 天柱头与反应液反应剧烈, 柱头产生气泡最多, 可授性最强; 在第 8 和 9 天柱头与反应液反应逐渐减弱, 蓝色变浅的同时气泡变少; 开花第 10 天, 野外观察到波叶杜鹃花瓣和雄蕊开始脱落, 柱头可授性结果显示无颜色反应和未产生气泡, 此时波叶杜鹃失去柱头可授性。

2.3 杂交指数与花粉—胚珠比

按照 DAFNI 等^[26]的标准估算波叶杜鹃杂交指数。波叶杜鹃花冠直径为 (43.05 ± 4.11) mm>6 mm, 记为 3; 其同时具有雌蕊和雄蕊, 其中雄蕊先熟, 记为 1; 开花时柱头弯曲且位置高于花药, 产生空间分离现象, 记为 1。因此, 波叶杜鹃杂交指数为 $3+1+1=5$, 可推断波叶杜鹃繁育系统部分自交亲和。

波叶杜鹃单花花粉数量为 $416\,289\pm 5\,125.71$, 单花胚珠数量为 649.51 ± 67.45 , 因此, 其花粉—胚珠比为 640.93 ± 65.52 , 根据 CRUDEN^[27]对繁育系统的评判标准, 判断波叶杜鹃繁育系统为兼性异交。

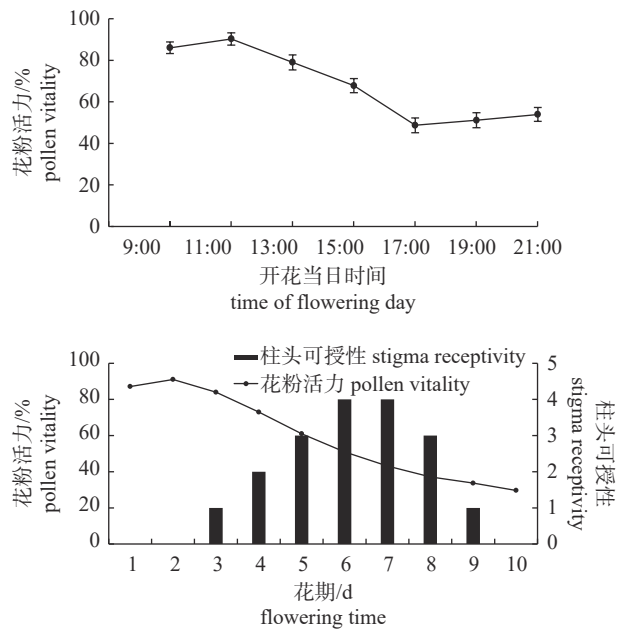


图 3 波叶杜鹃在花朵开放时期的花粉活力和柱头可授性
Fig. 3 Pollen vitality and stigma receptivity during flower stage of *R. hemsleyanum*

2.4 不同授粉方式对波叶杜鹃结实率影响

由表 2 可知: 自然对照组果实 17 个, 结实率 56.67%, 说明波叶杜鹃能在峨眉山野生居群下自然结实, 但结实率较差; 去雄套袋果实数和结实率均为 0, 说明波叶杜鹃不存在孤雌生殖现象; 去雄不套袋果实数和结实率均略低于自然对照组, 说明波叶杜鹃可以在虫媒帮助下授粉结实, 且基本能达到自然条件下的结实率; 自花授粉能产生 2 个果实, 结实率为 6.67%, 判断波叶杜鹃能通过自交结实, 具有一定程度的自交亲和性; 异株异花授粉和同株异花授粉的果实数和结实率均明显高于自然对照组, 进一步说明波叶杜鹃异交传粉机制有效, 主要以异交为主, 其结实受传粉者限制。

表 2 不同授粉方式处理后波叶杜鹃的结实率
Tab. 2 Fruit set of *R. hemsleyanum* under different pollination treatments

授粉方式 pollination treatments	花序数量 number of inflorescences	授粉花数量 number of flowers	果实数量 number of fruits	结实率/% fruit set
自然对照 natural pollination	10	30	17	56.67
去雄套袋 emasculated and bagged	10	30	0	0
去雄不套袋 emasculation is not bagged	10	30	15	50.00
自花授粉 autonomous self-fertilization	10	30	2	6.67
同株异花授粉 strains cross-pollination	10	30	23	76.67
异株异花授粉 different strains cross-pollination	10	30	26	86.67

2.5 访花昆虫及其行为

波叶杜鹃访花昆虫主要包括蜜蜂科 (Api-

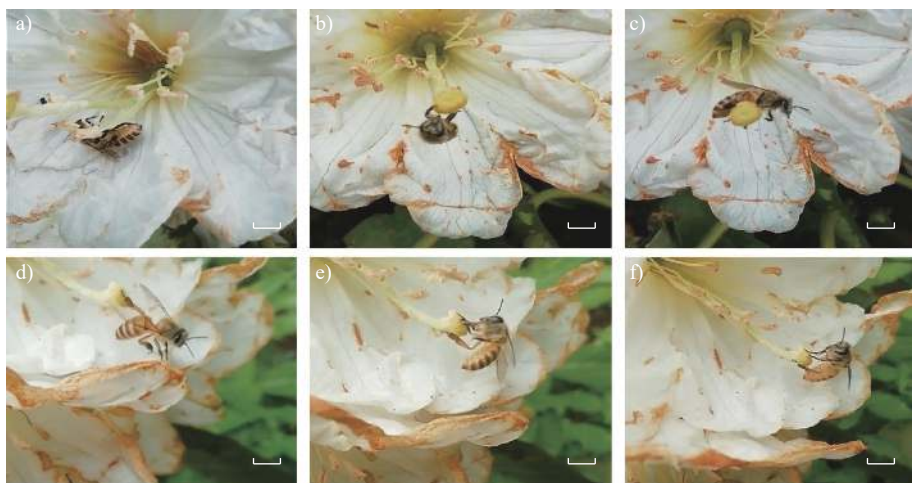
dae)、蚁科 (Formicidae)、食蚜蝇科 (Syrphidae) 和蚜总科 (Aphidoidea) (表 3)。

表 3 波叶杜鹃访花昆虫
Tab. 3 Flower visiting insects of *R. hemsleyanum*

目 order	科 family	种 species	是否为有效传粉者 effective pollinator or not
膜翅目 Hymenoptera	蜜蜂科 Apidae	中华蜜蜂 <i>A. cerana</i>	是 yes
		排蜂 <i>A. dorsata</i>	是 yes
	蚁科 Formicidae	蚁科某种 Formicidae sp.	否 no
双翅目 Diptera	食蚜蝇科 Syrphidae	灰带管蚜蝇 <i>Eristalis cerealis</i>	否 no
		黑带食蚜蝇 <i>Episiphus balteatus</i>	否 no
同翅目 Homoptera	蚜总科 Aphidoidea	蚜总科某种 Aphidoidea sp.	否 no

中华蜜蜂访花前先在空中盘旋, 之后停留在某一植株上访花, 落到波叶杜鹃花冠上时头部伸入花腔内, 通过其细长的口器吸食花蜜或花粉, 转动身体, 后足更换着力点, 行动较为缓慢, 在同一朵花上停留数分钟, 在此过程中身体沾到大量花粉, 能有效地为波叶杜鹃传粉 (图 4a~c)。排蜂靠近波叶杜鹃花朵时, 悬空震动翅膀, 前足先接触花冠, 然后采粉, 随之晃动使得花粉粘在其头部和身体上, 用其足部刮刷, 将花粉聚集到其花粉筐中 (图 4d~f); 当排蜂进入另一朵花时, 就将其携带的花粉授到柱头上, 能有效地为波叶杜

鹃传粉。而黑带食蚜蝇 (*Episiphus balteatus*)、蓟马 (*Thrips*) 和蚂蚁等小型的昆虫主要以盗取花蜜为主, 身体各部均不携带花粉且不接触柱头。因此, 判定波叶杜鹃白天的有效传粉者是中华蜜蜂和排蜂。此外, 观察发现传粉者的传粉活动可能受自然因素的影响较大, 波叶杜鹃开花时期, 温度较高且天气晴朗的时候访花者频率较高, 主要是由于波叶杜鹃花朵展示醒目并散发芳香味道, 吸引传粉者; 而盛花期时阴雨天较多, 空气湿度低, 温度较低, 影响访花者活动频率。



注: a)~c) 中华蜜蜂; d)~f) 排蜂; 标尺=1 cm。
Note: a)-c) *Apis cerana*; d)-f) *A. dorsata*; bars=1 cm

图 4 波叶杜鹃主要访花者/传粉者
Fig. 4 Major visitors/pollinators of *R. hemsleyanum*

3 讨论

3.1 波叶杜鹃花粉活力及花部特征

本研究中, 波叶杜鹃花冠为大型花冠, 开花

呈伞形花序, 开花时花朵白色, 花香浓郁, 花瓣不折叠, 开花量较大且同步较高, 具有蜜腺, 增加花展示面积的同时可吸引中华蜜蜂和排蜂传粉。开花式样通过吸引传粉者影响花粉散布方式,

进而影响植物的交配系统^[30]。波叶杜鹃雄蕊和雌蕊成熟时期不同,根据观察发现其雄蕊先熟;其花粉活力在开花当天 11:00 达到峰值 (90.27%), 低于宽杯杜鹃 (花粉活力最高达 92.80%)^[15]和长梗杜鹃 (花粉活力最高达 92.18%)^[31], 高于锈叶杜鹃 (*R. siderophyllum*, 花粉活力最高达 83.95%)^[13]和大喇叭杜鹃 (*R. excellens*, 花粉活力最高达 84.43%)^[14]。波叶杜鹃花粉活力保持在 50% 以上的时间有 7 d, 花朵开放时期的花粉活力均在 40% 以上, 推断波叶杜鹃具有大量花粉及高效保持花粉活力的机制以保证其传粉成功。凋谢期时, 波叶杜鹃的花粉活力仍可保持在 29% 以上, 推断这可能是由于盛花期未成熟花粉逐渐成熟并累积到凋谢期所致。

本研究表明: 波叶杜鹃柱头可授性最强时, 花粉活力仍保持在 40% 以上; 野外观察发现: 雄蕊和雌蕊有一段短暂的同时期表达时段, 但该时期波叶杜鹃花柱弯曲呈拱形, 花柱悬垂, 导致雄蕊和雌蕊产生空间异位现象, 根据自花授粉结果, 推断雌雄异位现象有效避免了自花传粉的可能性。两性植物保证异交成功的花部特征是花朵雌雄异位现象, 可以避免自交和有性功能干扰的机制^[32-33]; 同时波叶杜鹃花柱的悬垂形状还有效避免了雨水对柱头花粉和表面黏液的冲刷, 这与人研究结果^[34-35]一致。开展遗传育种时, 作为父本的波叶杜鹃花粉活力在开花当天 11:00 达到最高值, 此时采集花粉进行人工授粉试验可能最为有利。

3.2 波叶杜鹃繁育系统和授粉方式

根据 DAFNI 等^[26]和 CRUDEN^[27]的划分标准, 波叶杜鹃繁育系统类型为兼性异交, 且自然条件下其结实率达 56.67%。然而, 在野生居群中极少发现波叶杜鹃实生苗, 说明该物种存在自然更新障碍, 这可能与生境土层浅薄和郁闭度高等立地条件导致的种子萌发困难有关。FREE^[36]和 READER^[37]研究表明大多数杜鹃花科植物都具有自交亲和性, 波叶杜鹃自花授粉结实率 6.67%, 判断其能通过自交结实。野外调查发现: 波叶杜鹃在开花第 3~7 天时花药逐渐散落且花粉呈线状; 开花第 8~10 天, 花冠开始枯萎下垂, 花托开始与基部分离, 导致花瓣和雄蕊向花柱偏移, 花粉黏附在花柱上实现部分自交, 故判断波叶杜鹃具有一定程度的自交亲和性, 与马雄杜鹃 (*R. maxionense*)^[12]、锈叶杜鹃^[13]和大喇叭杜鹃^[14]的繁

育系统一致。本研究推断波叶杜鹃繁育系统由自交向异交演化的可能性较大, 因为波叶杜鹃同长梗杜鹃^[31]、牛皮杜鹃 (*R. aureum*)^[38]等大部分杜鹃花一样进化出柱头呈拱形悬垂状的特征, 通过雄蕊和雌蕊空间异位避免自花授粉现象。波叶杜鹃分布在陡壁悬崖边和沟谷地, 种间距离较远, 传粉媒介较为缺乏, 异交受到限制, 部分自交亲和可能是为适应群落特征而产生的补偿作用。频繁的远交和近交都会导致其繁育系统适合度下降, 因此, 最适合的交配方式是实现适度的杂交^[39], 波叶杜鹃的花药和柱头在空间上异位, 这将大大降低自花授粉, 防止自交衰退, 增强子代的适应能力。本研究认为波叶杜鹃部分自交亲和, 这与 LEE 等^[40]的观点一致, 即: 起源于较小奠基者种群的物种, 在分布区域狭窄、生境破碎化和种群数量较小时, 为了种群繁育经常会发生近交现象。自交物种的环境适应能力及形成新种的潜力较弱, 自交不适宜作为长期生殖策略^[41]。将波叶杜鹃选作母本时, 其柱头可授性在花朵开花后第 6 和 7 天最强, 此时通过人工异花授粉的方式可提高波叶杜鹃自然条件下异交的概率, 促进不同种群间的基因交流。

3.3 访花昆虫

国内已报道大喇叭杜鹃^[14]、长梗杜鹃^[16]和大叶金顶杜鹃 (*R. prattii* Franch.)^[42]的有效传粉昆虫分别为中华蜜蜂、熊蜂和食蚜蝇类。本研究中, 波叶杜鹃白天的主要访花者为中华蜜蜂和排蜂, 且中华蜜蜂访问对象偏向初开期花朵, 此时花粉活力强且散出量大, 能保证传粉的时效性。蜜蜂访问频次可能与其耐热性、耐寒性、抗逆性和花粉传递效率等相关^[43]。日间蝴蝶并没有访问过波叶杜鹃, 这种差异可能是由于生境的环境气候条件所致^[44]。据观察, 蓟马和蚂蚁等小型的昆虫主要盗取花蜜, 根据 BASNETT 等^[39]提出“盗蜜者和传粉者授粉能力可能相同”的观点, 推测蓟马和蚂蚁盗取花蜜的行为可能有利于波叶杜鹃花部特征的进化。HUANG 等^[45]研究表明: 白色芳香杜鹃花的日间传粉者主要是蜜蜂和蝴蝶, 夜间则会吸引蛾类授粉者。然而, 由于夜间环境条件恶劣加之分布地紧邻悬崖峭壁, 未开展夜间传粉观察, 未来有条件需开展波叶杜鹃夜间有效传粉者的观察研究。在通过人工繁育等方法扩大波叶杜鹃群体数量的同时, 应在花期结合释放有效访花

昆虫的方式, 全面提高波叶杜鹃在自然条件下的异交结实率。

4 结论

波叶杜鹃繁育系统是倾向于异交的混合交配系统, 自然条件下有效传粉者为中华蜜蜂和排蜂。波叶杜鹃花部特征表现出对虫媒传粉的适应性, 在单株和群体水平上波叶杜鹃具有较高的开花同步性, 可吸引较多访花者, 产生较高的结实率, 其雄蕊和雌蕊的空间异位可在一定程度上避免自交。波叶杜鹃野生分布地处于旅游开发区, 受人为干扰程度较强, 可通过人工繁育等方式扩大其种群, 也可在花期释放有效昆虫等提高其自然条件下异交的概率。

[参考文献]

- [1] 张大勇. 植物生活史进化和繁殖生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2004.
- [2] 牟勇, 张云红, 娄安如. 稀有植物小丛红景天花部综合特征与繁育系统[J]. 植物生态学报, 2007, 31(3): 528. DOI: 10.17521/cjpe.2007.0066.
- [3] 陈伯望, 洪菊生, 施行博. 杉木和秃杉群体的叶绿体微卫星分析[J]. 林业科学, 2000, 36(3): 46. DOI: 10.3321/j.issn:1001-7488.2000.03.008.
- [4] GAIRA K S, RAWAL R S, SINGH K K. Variations in pollinator density and impacts on large cardamom (*Amomum subulatum* Roxb.) crop yield in Sikkim Himalaya, India[J]. Journal of Asia-Pacific Biodiversity, 2016, 9(1): 17. DOI: 10.1016/j.japb.2015.12.010.
- [5] BASNETT S, DEVY S M. Phenology determines leaf functional traits across *Rhododendron* species in the Sikkim Himalaya[J]. Alpine Botany, 2021, 131(1): 63. DOI: 10.1007/s00035020-00244-5.
- [6] 方瑞征, 闵天禄. 杜鹃属植物区系的研究[J]. 云南植物研究, 1995, 17(4): 359.
- [7] CHAMBERLAIN D F, HYAM R, ARGENT G, et al. The genus *Rhododendron*: its classification and synonymy[M]. Edinburgh: Royal Botanic Garden Edinburgh, 1996.
- [8] 张序, 张秀姣, 李正红, 等. 基于GBS简化基因组技术的宽杯杜鹃遗传多样性分析[J]. 植物研究, 2021, 41(3): 7. DOI: 10.7525/j.issn.1673-5102.2021.03.013.
- [9] ZHANG X J, LIU X F, LIU D T, et al. Genetic diversity and structure of *Rhododendron meddianum*, a plant species with extremely small populations[J]. Plant Diversity, 2021, 43(6): 472. DOI: 10.1016/j.pld.2021.05.005.
- [10] JAIN A, PANDIT M K, ELAHI S. Reproductive behaviour and genetic variability in geographically isolated populations of *Rhododendron arboretum* (Ericaceae)[J]. Current Science, 2000, 79(9): 1377.
- [11] ESCARAVAGE N, WAGNER J. Pollination effectiveness and pollen dispersal in a *Rhododendron ferrugineum* (Ericaceae) population[J]. Plant Biology, 2004, 6(5): 606. DOI: 10.1055/s-2004-821143.
- [12] 易陈燃, 郑硕理, 刘巧, 等. 马雄杜鹃的繁育系统和杂交育种研究初探[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2018, 33(1): 99. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).201611062.
- [13] 白天, 关文灵, 宋杰, 等. 锈叶杜鹃的开花特性及繁育系统研究[J]. 西部林业科学, 2014(1): 47. DOI: 10.3969/j.issn.1672-8246.2014.01.009.
- [14] 田晓玲. 大喇叭杜鹃繁殖生物学研究[D]. 南京: 南京林业大学, 2011.
- [15] 张序. 宽杯杜鹃繁殖生物学与保护遗传学研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2020.
- [16] LI T Q, LIU X F, LI Z H, et al. Study on reproductive biology of *Rhododendron longipedicellatum*: a newly discovered and special threatened plant surviving in limestone habitat in southeast Yunnan, China[J]. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 33. DOI: 10.3389/fpls.2018.00033.
- [17] 覃海宁, 赵莉娜. 中国高等植物濒危状况评估[J]. 生物多样性, 2017, 25(7): 7. DOI: 10.17520/biods.2017146.
- [18] 环境保护部, 中国科学院. 中国生物多样性红色名录: 高等植物卷[R/OL]. (2013-09-02) [2022-07-13]. <https://www.mee.gov.cn/gkml/hbb/bgg/201309/W020130917614244055331.pdf>.
- [19] IUCN. IUCN red list categories and criteria: version 3.1[R/OL]. (2013-09-12) [2022-07-13]. <https://www.iucn-redlist.org/>.
- [20] GIBBS D, CHAMBERLAIN D, ARGENT G. The red list of Rhododendrons[M]. Richmond: Botanic Gardens Conservation International, 2011.
- [21] 谷海燕, 李策宏. 峨眉山常绿落叶阔叶混交林的生物多样性及植物区系初探[J]. 植物研究, 2006, 26(5): 618. DOI: 10.3969/j.issn.1673-5102.2006.05.021.
- [22] 裴林英. 峨眉山藓类植物区系的研究[D]. 济南: 山东师范大学, 2006.
- [23] 李振宇, 石雷. 峨眉山植物[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 2007.
- [24] MCINTOSH M E. Flowering phenology and reproductive output in two sister species of *Ferocactus* (Cactaceae)[J]. Plant Ecology, 2002, 159(1): 1. DOI: 10.1023/A:1015589002987.
- [25] DAFNI A. Pollination ecology: a practical approach[M]. New York: Oxford University Press, 1992.
- [26] DAFNI A, MAUÉS M M. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity[J]. Sexual Plant Reproduction, 1998, 11(3): 177. DOI: 10.1007/s004970050138.
- [27] CRUDEN R W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants[J]. Evolution, 1977, 31(1): 32. DOI: 10.2307/2407542.
- [28] TAMURA S, KUDO G. Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis*[J]. Plant Ecology, 2000, 147(2): 185. DOI: 10.1023/A:1009870521175.
- [29] STOUT J C. Pollination of invasive *Rhododendron ponticum* (Ericaceae) in Ireland[J]. Apidologie, 2007, 38(2): 198. DOI: 10.1051/apido:2006071.

- [30] 唐璐璐, 韩冰. 开花式样对传粉者行为及花粉散布的影响[J]. 生物多样性, 2007, 15(6): 680. DOI: [10.3321/j.issn:1005-0094.2007.06.016](#).
- [31] 李太强. 极小种群野生植物长梗杜鹃的保护生物学研究[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2018.
- [32] BHARDWAJ M, ECKERT C G. Functional analysis of synchronous dichogamy in flowering rush, *Butomus umbellatus* (Butomaceae)[J]. American Journal of Botany, 2001, 88(12): 2204. DOI: [10.2307/3558382](#).
- [33] ANDERSON B, MIDGLEY J J, STEWART B A. Facilitated selfing offers reproductive assurance: a mutualism between a hemipteran and carnivorous plant[J]. American Journal of Botany, 2003, 90(7): 1009. DOI: [10.3732/ajb.90.7.1009](#).
- [34] 刘林德, 陈磊, 张丽, 等. 华北蓝盆花的开花特性及传粉生态学研究[J]. 生态学报, 2004, 24(4): 6. DOI: [10.3321/j.issn:1000-0933.2004.04.010](#).
- [35] SUN J F, GONG Y B, RENNER S S, et al. Multifunctional bracts in the dove tree *Davidia involucrata* (Nyssaceae: Cornales): rain protection and pollinator attraction[J]. The American Naturalist, 2008, 171(1): 119. DOI: [10.1086/523953](#).
- [36] FREE J B. Insect pollination of crops[M]. San Diego: Academic Press, 1993.
- [37] READER R J. Bog ericad flowers: self-compatibility and relative attractiveness to bees[J]. Canadian Journal of Botany, 1977, 55(17): 2279. DOI: [10.1139/b77-259](#).
- [38] KUDO G. Relationship between flowering time and fruit set of the entomophilous alpine shrub, *Rhododendron aureum* (Ericaceae), inhabiting snow patches[J]. American Journal of Botany, 1993, 80(11): 1300. DOI: [10.1002/j.1537-2197.1993.tb15368.x](#).
- [39] BASNETT S, GANESAN R, DEVY S M. Floral traits determine pollinator visitation in *Rhododendron* species across an elevation gradient in the Sikkim Himalaya[J]. Alpine Botany, 2019, 129(2): 81. DOI: [10.1007/s00035-019-00225-3](#).
- [40] LEE P L M, PATEL R M, CONLAN R S, et al. Comparison of genetic diversities in native and alien populations of hoary mustard (*Hirschfeldia incana* [L.] Lagreze-Fossat)[J]. International Journal of Plant Sciences, 2004, 165(5): 833. DOI: [10.1086/422043](#).
- [41] 何亚平, 刘建全. 植物繁育系统研究的最新进展和评述[J]. 植物生态学报, 2003, 27(2): 151. DOI: [10.17521/cjpe.2003.0024](#).
- [42] 余海清, 帅伟, 姜欣华, 等. 大叶金顶杜鹃繁育系统研究[J]. 四川林业科技, 2021, 42(5): 40. DOI: [10.12172/202108110001](#).
- [43] RADER R, EDWARDS W, WESTCOTT D A, et al. Diurnal effectiveness of pollination by bees and flies in agricultural *Brassica rapa*: implications for ecosystem resilience[J]. Basic and Applied Ecology, 2013, 14(1): 20. DOI: [10.1016/j.baae.2012.10.011](#).
- [44] AHMAD M, UNİYAL S K, BATISH D R, et al. Flower phenological events and duration pattern is influenced by temperature and elevation in Dhauladhar mountain range of Lesser Himalaya[J]. Ecological Indicators, 2021, 129: 107902. DOI: [10.1016/j.ecolind.2021.107902](#).
- [45] HUANG S Q, GUO Y H. New advances in pollination biology and the studies in China[J]. Chinese Science Bulletin, 2000, 45(16): 1441. DOI: [10.1007/BF02898884](#).

责任编辑: 何馨成