

•研究报告•

同域分布共享传粉者的鼠尾草属植物的生殖隔离

魏宇昆* 黄艳波 李桂彬

(上海辰山植物园, 中国科学院上海辰山植物科学研究中心, 上海 201602)

摘要: 生殖隔离是生物多样性产生的重要原因之一, 不同物种间的生殖隔离形成阶段、方式和强度不完全相同。为了揭示生殖隔离在鼠尾草属(*Salvia*)物种多样性产生和维持过程中的作用和特点, 本文研究了浙江天目山同域分布的舌瓣鼠尾草(*S. liguliloba*)和南丹参(*S. bowleyana*)的开花、传粉和生殖隔离, 利用人工授粉和杂交实验检测它们的种间遗传相容程度。结果表明, 在花的形态结构、花及花序的生长、着生方式与数量特征上, 2种鼠尾草属植物均差异显著($P < 0.05$)。2种鼠尾草属植物共享同一种有效传粉昆虫——三条熊蜂(*Bombus trifasciatus*), 但通过访花行为的显著差异和明显不同的花粉落置部位, 有效避免了异源花粉干扰。人工杂交授粉的结果表明2个物种间遗传相容性较高, 互为亲本的杂交结实率分别达到 $77.8 \pm 10.7\%$ 和 $78.7 \pm 11.2\%$ 。我们的研究表明, 同域分布、花期重叠且共享唯一传粉者的2种鼠尾草属植物, 以花部的传粉结构和传粉部位的差异, 产生了较高度度的传粉前生殖隔离, 避免了物种间的异源花粉干扰和自然杂交, 保障各自较高的繁殖成效, 以维持自然种群的多样性和遗传结构的稳定。

关键词: 机械隔离; 遗传相容性; 物种多样性; 自然杂交; 三条熊蜂

Reproductive isolation in sympatric *Salvia* species sharing a sole pollinator

Yukun Wei*, Yanbo Huang, Guibin Li

Shanghai Chenshan Plant Science Research Center, Chinese Academy of Sciences; Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602

Abstract: Reproductive isolation (RI) is one of the key factors for speciation and diversity maintenance, however, there are differences in formation stage, means, and strength of RI for different species. To assess the effects and the significance of reproductive isolation in *Salvia* species, we compared flowering, pollination, and reproduction characteristics of *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana*, which grow sympatrically and have overlapping flowering periods in the Tianmu Mountain, Zhejiang. Furthermore, artificial hybridization between the two species were conducted to estimate and understand their genetic compatibility and reproductive isolation. Results indicated that the two *Salvia* species considerably differed in their flower morphological structures, inflorescence organization, and the number of flowers produced per inflorescence. *Bombus trifasciatus* is the sole pollinator for these two species during the overlapping flowering period. However, different visitation behavior and floral structure ($P < 0.05$) leads to obviously different pollination patterns between the two species. Pollen is deposited on distinctly separate areas of the pollinator's body in a manner precluding contact with any heterospecific *Salvia* stigmata. Under natural condition, the two species are equally successful in reproduction (natural seed set $> 87\%$). Artificial pollination and hybridization experiments between these two species showed that they have a higher genetic compatibility. The cross seed sets are $77.8 \pm 10.7\%$ and $78.7 \pm 11.2\%$ when the two species are reciprocally cross parents. Our research suggests that for the two *Salvia* species lacking genetic incompatibility systems and relying on pollinators for outcrossing, there are differences in floral structures and pollen placement sites. The mechanical isolation (a form of pre-pollination RI) prevents heterospecific pollen interference and natural hybridization of the two

收稿日期: 2017-05-27; 接受日期: 2017-06-21

基金项目: 上海市绿化和市容管理局资助项目(G162408, G172410)

* 通讯作者 Author for correspondence. E-mail: ykwei@sibs.ac.cn

different species that grow sympatrically and have overlapping flowering periods, and also maintains species diversity and the constancy of species heredity.

Key words: mechanical isolation; genetic compatibility; species diversity; natural hybridization; *Bombus trifasciatus*

生殖隔离是物种形成和多样性产生的重要机制(Widmer et al, 2009; Baack et al, 2015), 也是避免物种自然杂交不利因素的重要途径。根据植物繁殖过程中隔离机制产生的阶段, 可将生殖隔离分为传粉前(pre-pollination)和传粉后(post-pollination)。传粉前隔离主要包括物种间的生态位分化(如地理隔离)、表型隔离(如物候花期不同、花传粉结构的差异等)和传粉者特化(物种间花粉干扰减少); 传粉后隔离包括不同来源花粉与柱头的竞争、杂交不亲和、杂交种子产量、活力以及 F_1 代幼苗适应能力降低等(Melo et al, 2014; Baack et al, 2015; Ma et al, 2016a)。不同物种的生殖隔离机制有所不同。对于同域分布物种而言, 花结构表型相似的物种对传粉者的竞争在被子植物花结构多样性分化中具有重要作用(Kipling & Warren, 2013)。

鼠尾草属(*Salvia*)的物种丰富度很高, 分布较为广泛(魏宇昆等, 2015)。前期的研究表明鼠尾草属植物存在普遍的同域物种分布现象, 这可能与其花部结构和繁育系统的多样性密切相关(黄艳波等, 2014, 2015), 但是对鼠尾草属植物传粉和生殖隔离的研究有限。同域分布的多个鼠尾草属物种生殖隔离主要通过生态位分化、物候差异和传粉者特化等几种方式, 物种间的遗传不相容性非常低(Claßen-Bockhoff et al, 2004), 这说明传粉后隔离的程度很弱, 物种多样性的维持可能更多地取决于花的表型变化与传粉者, 以及不同类型的传粉前隔离等综合的生殖隔离机制。然而, 目前我们对鼠尾草属植物的传粉前隔离现象仍然了解不多, 对其隔离机制以及传粉者与植物的相互关系、生殖隔离对鼠尾草属物种多样性的维持作用认识不够。另一方面, 鼠尾草属植物普遍的同域物种分布现象(Claßen-Bockhoff et al, 2004)很可能会导致较高的自然杂交概率(Epling, 1947; Meyn & Emboden, 1987), 种间杂交和生殖隔离如何维持动态平衡以保持物种多样性的稳定, 它们与物种形成和演化关系等问题的阐明, 都需要对物种繁育系统和传粉生态学的深入了解和认识(Claßen-Bockhoff et al, 2003)。基于此, 本研

究以同域分布的2种鼠尾草属植物舌瓣鼠尾草(*Salvia liguliloba*)和南丹参(*S. bowleyana*)为研究对象, 研究比较2种植物的开花、传粉特征和繁殖; 通过人工杂交实验了解2个物种的遗传相容程度和杂交结实率, 以期能够认识2个物种的生殖隔离方式和强度, 为阐明鼠尾草属的物种多样性形成和维持机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样地选择和研究对象

样地位于浙江省天目山国家级自然保护区内(30°23'29.60" N, 119°29'01.77" E, 海拔677 m), 气候类型属北亚热带季风性气候, 植物区系的温带、亚热带东亚区系成分特征显著(杨逢春, 1992)。选择舌瓣鼠尾草和南丹参的天然混生群落为研究样地。将分布在样地内的植株移植到相邻的2个样方中, 组成个体数量相等的2个居群(各50株), 以利于在相同的条件下观察记录传粉昆虫的传粉行为和访花特征。研究的舌瓣鼠尾草为1–2年生草本植物, 天目山–黄山区系特有物种, 株高30–70 cm, 植株单一或偶有分枝, 以基生叶为主, 2–4对茎生叶; 南丹参为多年生草本植物, 广布于长江以南地区, 株高50–70 cm, 秋冬季以基生叶为主, 花果期主要为茎生叶, 分枝较多。2种植物在保护区内较多见, 常于林下、路边等生境形成优势种群; 物候特征基本相同, 花期为5月中旬至6月中旬, 果期从5月下旬开始, 6月初陆续进入成熟期。

1.2 花部结构测量统计

植物的花结构形态、组成和开花方式对传粉者行为有显著的影响, 因此我们对2种鼠尾草的花部结构形态、组成和开花方式做了测量和统计。随机选取样方内6个不同植株上完全开放的12朵小花, 用电子游标卡尺对各花部结构性状如花冠长、花冠宽、花冠高、冠筒长、冠口高、冠筒口高、冠筒口宽、花丝长、药隔长、雌蕊长等10个指标进行测量, 具体方法参考黄艳波等(2015)。鼠尾草属的花序由2个聚伞花序为基本单位, 组成2至多花的轮伞花序,

再由多个轮伞花序组成顶生假总状花序,或组成2个以上分枝的顶生假圆锥花序。属内不同鼠尾草的花序多样性表现在组成聚伞花序基本单位的小花数量、轮伞花序数和花序总数等。我们对2种鼠尾草花器官的不同生长方式、数量和开花特征进行统计,包括单株花序总数、单花序侧生分枝数、单一分枝的轮伞花序数、轮伞花序小花总数、轮伞花序同时开放小花数、单株总花数和单株总开花数。

1.3 传粉和杂交实验

利用SONY数码摄录机(HDR-CX510E)记录样方内2种鼠尾草属植物单株的昆虫访花情况。在天气晴好的情况下,从8:00–18:00进行不间断录像,记录访花昆虫和访花时间,鉴定昆虫的种类,统计昆虫的数量和访花次数,重复录制3天。统计分析有效传粉昆虫对2种植物的访花相对频次(relative frequency, F)、单花访花时间、活跃度(activity rate, AR)和访花频率。活跃度以单只昆虫每分钟的访问花朵数量表示,代表了此种昆虫对某一种植物花的偏好程度和传粉潜力;访花频率用指数 $I_{VR} = F \times AR$ 表示,表示单株植物的昆虫访花频率,该指数同时考虑了昆虫的活跃度及其访花相对频次(黄艳波等, 2015)。

本研究对2种鼠尾草分别进行异交、自交和种间杂交的人工授粉实验,对比分析3种处理下的植株结实率,了解2个物种的繁育系统,验证生殖隔

离的方式和程度。对舌瓣鼠尾草和南丹参各15株分别进行异株异花授粉和同株异花授粉实验,杂交实验以舌瓣鼠尾草和南丹参交互作为父本和母本进行人工授粉,2种杂交组合各重复5株。作为父本的鼠尾草取花药刚开裂时的具较高活力的花粉,母本的材料作去雄处理,待雌蕊成熟后进行人工授粉,对于选取进行授粉实验的花序,在开花前至结实的过程中作套袋处理,避免传粉昆虫干扰。结实率计算待果实完全成熟后进行,根据整株植物的总花朵数和小坚果总数计算结实率,方法如下:结实率(%) = 小坚果总数/总胚珠数 $\times 100$ 。最后采用SPSS 21和Excel 2016对各组数据进行统计学和差异显著性分析。

2 结果

2.1 花部结构和开花特征

对花部结构的测量结果表明,2种鼠尾草形态特征差异显著(图1)。舌瓣鼠尾草花冠颜色由白色过渡至浅粉色,药隔上臂较其他部分的颜色更深;而南丹参花冠整体浅黄色具紫色斑点,其下唇和雄蕊下臂顶端为显著的紫红色。舌瓣鼠尾草整体形态呈细长筒形,花冠水平直伸,冠口部略大,高与宽近乎相等,浅黄色花药紧贴上层;而南丹参冠筒细窄至冠口显著开张,其整体形态呈镰刀状,花冠高远大于宽,花药完全内藏于两侧紧密折合的上唇之内。从花形态结构测定指标可以看出,2种鼠尾草除

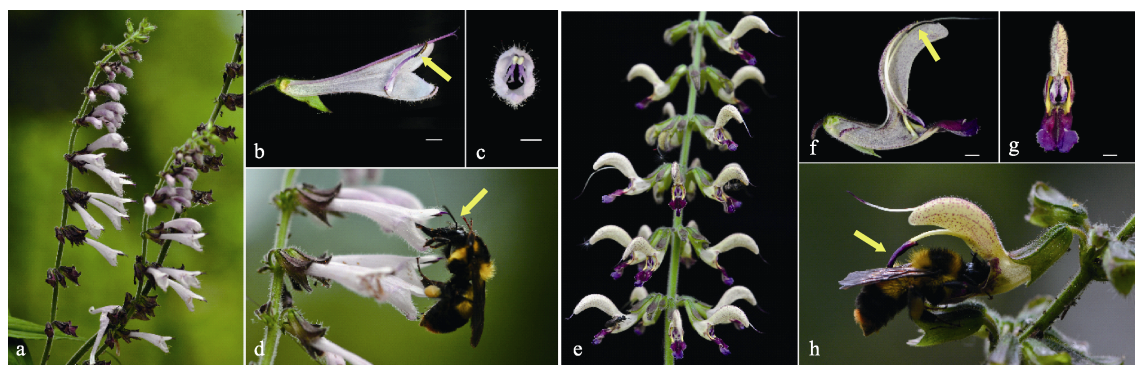


图1 舌瓣鼠尾草和南丹参的花序、花结构及昆虫传粉特征(图中标尺均为2 mm)。(a)舌瓣鼠尾草花序;(b)舌瓣鼠尾草花冠纵切(箭头所示为雄蕊花药);(c)舌瓣鼠尾草花正面观;(d)三条熊蜂访问舌瓣鼠尾草及其传粉过程(箭头所示为传粉部位);(e)南丹参花序;(f)南丹参花冠纵切(箭头所示为雄蕊花药);(g)南丹参花正面观;(h)三条熊蜂访问南丹参及其传粉过程(箭头所示为传粉部位)。

Fig. 1 Comparison of inflorescences, flower structures, and insect pollinations of *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana* (Bar = 2 mm). (a) Inflorescences of *S. liguliloba*; (b) Flower lateral dissection of *S. liguliloba* (the arrow indicates anther); (c) A front view of *S. liguliloba* flower; (d) *Bombus trifasciatus* is visiting flowers and pollinating *S. liguliloba* (the arrow indicates pollen placement sites on bumblebee); (e) Inflorescences of *S. bowleyana*; (f) Flower lateral dissection of *S. bowleyana* (the arrow indicates anther); (g) A front view of *S. bowleyana* flower; (h) *Bombus trifasciatus* is visiting flowers and pollinating *S. bowleyana* (the arrow indicates pollen placement sites on bumblebee).

表1 舌瓣鼠尾草与南丹参的花部结构比较(平均值 ± 标准差)
Table 1 Comparison of flower structures between *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana* (mean ± SD)

	花冠长 Corolla length	花冠宽 Corolla width	花冠高 Corolla height	冠筒长 Tube length	冠口高 Entrance height	冠筒口高 Tube entra- nce height	冠筒口宽 Tube entra- nce width	花丝长 Filament length	药隔长 Connective length	雌蕊长 Pistil length
舌瓣鼠尾草 <i>S. liguliloba</i>	23.7 ± 0.74 ^a	5.31 ± 0.34 ^a	7.30 ± 0.67 ^b	19.5 ± 0.8 ^a	4.87 ± 0.61 ^b	4.87 ± 0.61 ^a	4.41 ± 0.52 ^a	2.39 ± 0.14 ^b	5.19 ± 0.33 ^b	23.7 ± 0.43 ^b
南丹参 <i>S. bowleyana</i>	22.8 ± 1.10 ^b	4.47 ± 0.26 ^b	16.6 ± 0.94 ^a	12.4 ± 0.76 ^b	11.2 ± 0.80 ^a	4.47 ± 0.28 ^a	3.21 ± 0.23 ^b	4.30 ± 0.26 ^a	14.3 ± 0.68 ^a	26.1 ± 1.85 ^a
<i>P</i>	0.0407	0.000	0.000	0.000	0.000	0.0585	0.000	0.000	0.000	0.0011

统计分析使用 t -检验, 同一列不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。The different letters for the same column indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ by t -test.

表2 舌瓣鼠尾草和南丹参花及花序数量特征(平均值 ± 标准差)
Table 2 Comparisons of flowering and inflorescence between *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana* (mean ± SD)

	单株花序总数 No. of inflorescence in individual plant	假圆锥花序分枝数 No. of branch in a false panicle	假总状花序的轮伞花序数 No. of verticillaster in a false raceme	轮伞花序小花总数 No. of flower in a verticillaster	轮伞花序同时开放小花数 No. of flowering in a verticillaster	单株总花数 Total no. of flower in individual plant	单株总开花数 Total no. of flowering in individual plant
舌瓣鼠尾草 <i>S. liguliloba</i>	2.0 ± 2.1 ^a (n = 35)	2.0 ± 1.9 ^b (n = 39)	9.3 ± 2.4 ^a (n = 83)	5.6 ± 1.1 ^b (n = 93)	1.4 ± 1.7 ^b (n = 234)	262 ± 299 ^b (n = 26)	21 ± 30 ^a (n = 36)
南丹参 <i>S. bowleyana</i>	2.2 ± 0.45 ^a (n = 5)	5.8 ± 3.0 ^a (n = 11)	9.5 ± 1.9 ^a (n = 40)	9.8 ± 1.9 ^a (n = 160)	1.8 ± 1.0 ^a (n = 160)	891 ± 472 ^a (n = 5)	48 ± 56 ^a (n = 16)
<i>P</i>	0.681	0.0020	0.7166	0.000	0.0053	0.0005	0.089

统计分析使用 t -检验, 同一列不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。Different letters for the same column indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ by t -test.

了冠筒口高外, 其他各项指标均差异显著($P < 0.05$) (表1), 舌瓣鼠尾草的花冠长、花冠宽、冠筒长、冠筒口宽显著大于南丹参, 而南丹参的花冠高、冠口高、花丝长、药隔长和雌蕊长则显著大于舌瓣鼠尾草, 其中两者的药隔长度差异极显著($P < 0.01$)。

本研究的2种鼠尾草在花部着生和排列方式, 以及单株的花朵和开花数量上都有所不同(表2)。统计结果表明, 南丹参的假圆锥花序分枝数、轮伞花序小花总数、轮伞花序同时开放小花数和单株总花数均明显多于舌瓣鼠尾草($P < 0.05$)。而单株花序总数和假总状花序的轮伞花序数2种植物并没有显著差异, 尽管南丹参的单株总开花数要多于舌瓣鼠尾草, 但两者差异并不显著。总体而言在单株水平上, 南丹参的花器官组成较舌瓣鼠尾草更复杂, 花朵数量更多, 可能会影响传粉昆虫对2种植物的传粉行为。

2.2 2种鼠尾草的传粉机制比较

植物的传粉机制与其花形态结构和传粉者的行为密切相关。我们的观察结果表明, 样地中的舌瓣鼠尾草与南丹参共享一种有效传粉昆虫即三条熊蜂(*Bombus trifasciatus*)来完成各自的授粉。从传粉过程来看, 南丹参为经典的背部杠杆传粉机制,

传粉昆虫三条熊蜂落至花冠下唇后进入冠筒吸食花蜜, 在此过程中推动雄蕊药隔下臂向内运动的同时, 药隔上臂的花药向下运动, 雄蕊花丝与药隔连接部分具有一个可往复运动的“轴”, 该结构使得传粉昆虫进出冠筒时, 药隔能够稳定、准确地将花药的花粉涂抹于三条熊蜂的背部, 当昆虫退出花冠后雄蕊又能恢复到最初的位置。南丹参精确传粉的关键在于其结构特化的雄蕊和与其相适应的花冠形态, 如显著伸长的雄蕊上臂, 可运动的“轴”以及两侧折合呈镰刀状的上唇, 保证了传粉时雄蕊以杠杆方式运动, 非传粉时上唇对花药的保护; 2个雄蕊药隔下臂的退化花药联合形成的衍生组织和较窄的花冠口宽度, 使得传粉昆虫进入冠筒时必须推动下臂才能够获取花蜜, 保证了传粉的专一性和稳定性。

舌瓣鼠尾草则采用了完全不同的传粉模式, 表现在传粉昆虫进入花部的方式和传粉部位与南丹参完全不同, 而这些均缘于舌瓣鼠尾草特有的雄蕊结构和相应的花冠形态。舌瓣鼠尾草花部整体较小, 上下唇均较短且无明显区别, 相应的雄蕊花丝和药隔也明显比南丹参短。三条熊蜂取食花蜜时无法落

表3 三条熊蜂对2种鼠尾草的访花行为比较(平均值 ± 标准差)
Table 3 Comparisons of flower visiting behavior of *Bombus trifasciatus* between *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana* (mean ± SD)

	相对频次 Relative frequency	单花访问时间 Visit time per flower (s)	活跃度 Activity rate	访花频率 Visitation rate
舌瓣鼠尾草 <i>S. liguliloba</i>	0.14 ± 0.017 ^b (n = 3)	2.01 ± 0.85 ^a (n = 30)	9.71 ± 3.15 ^b (n = 7)	1.36 ± 0.17 ^b (n = 3)
南丹参 <i>S. bowleyana</i>	0.86 ± 0.017 ^a (n = 3)	1.80 ± 0.63 ^a (n = 30)	16.2 ± 3.4 ^a (n = 52)	13.9 ± 0.28 ^a (n = 3)
<i>P</i>	0.000	0.2758	0.000	0.000

统计分析使用 t -检验, 同一列不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。The different letters for the same column indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ by t -test.

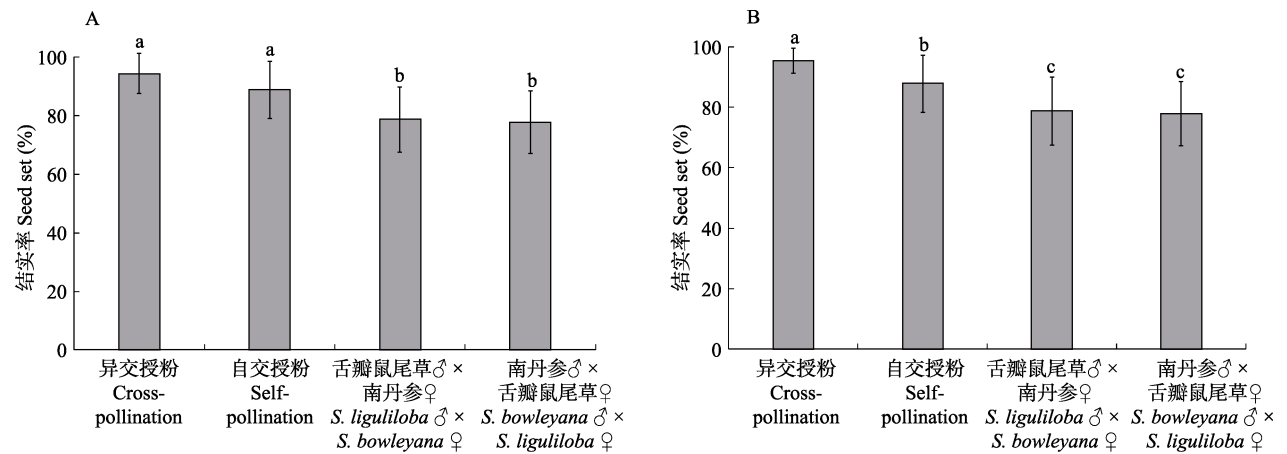


图2 2种鼠尾草的种内异交、自交和种间杂交结实率比较(平均值 ± 标准差)。(A)舌瓣鼠尾草异交、自交以及与南丹参杂交的结实率多重比较结果;(B)南丹参异交、自交以及与舌瓣鼠尾草杂交的结实率多重比较结果。统计分析采用 t -检验, 不同字母代表差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 2 Comparisons of cross-pollination, self-pollination, and hybridization of *Salvia liguliloba* and *S. bowleyana*. (A) and (B) show *S. liguliloba* and *S. bowleyana*, respectively. Different letters indicate significant difference at the level of $P < 0.05$ by t -test.

至花冠下唇而是直接接近冠筒, 额部抵住花冠上唇吸食花蜜, 此时位于上唇内侧的雄蕊花药接触熊蜂的额部, 当其离开时即带走花粉。在整个传粉过程中, 雄蕊的位置没有发生改变, 花丝和药隔连接部位没有类似南丹参的可保证雄蕊运动的“轴”结构。舌瓣鼠尾草通过较小的冠口、较长的花冠筒和紧贴上唇的雄蕊花药, 同样保证了三条熊蜂传粉过程的专一、稳定、精确和有效。

访花行为的研究结果表明, 三条熊蜂对南丹参的访花相对频次($P < 0.001$)、活跃度($P < 0.001$)和访花频率($P < 0.001$)均显著高于舌瓣鼠尾草(表3), 传粉昆虫对舌瓣鼠尾草的单花访问时间稍长于南丹参, 但差异不显著($P = 0.2758$)。结果表明, 在单株水平上, 三条熊蜂对南丹参的访花频率更高。

2.3 繁育系统和种间杂交

从舌瓣鼠尾草和南丹参各自异交和自交授粉实验可以看出, 2种植物的结实率都很高, 但它们的异交和自交结实率之间的差异有所不同(图2)。舌瓣

鼠尾草异交和自交的结实率没有显著差异($P = 0.0996$), 异交结实率($94.4 \pm 6.8\%$)略高于自交结实率($88.9 \pm 9.7\%$); 南丹参的异交结实率($95.3 \pm 4.1\%$)也同样高于自交($87.8 \pm 9.5\%$), 但两者具有显著性差异($P < 0.05$)。2个物种间的交互杂交结果表明, 舌瓣鼠尾草和南丹参互为父母本的杂交结实率分别为 $78.7 \pm 11.2\%$ 和 $77.8 \pm 10.7\%$, 种间的遗传相容性很高。但不论舌瓣鼠尾草还是南丹参, 其异交和自交的结实率均显著高于种间的杂交结实率($P < 0.05$)。

3 讨论

在天目山同域分布的舌瓣鼠尾草和南丹参具有共同的传粉昆虫, 在自然生境中, 2种鼠尾草之间形成了较完备的生殖隔离, 同时与传粉者均具有专一性的花粉传递、分发和授粉机制, 表现出对传粉者资源的充分利用。鼠尾草属具有高度适应传粉昆虫的花形态结构, 物种共生进化程度较高, 突出表现在花粉输出的稳定性、精确性和有效性, 同时与

传粉者形成专一程度和忠实性较高的共存关系(黄艳波等, 2014)。传粉者特化能够促进生殖隔离和物种多样性的产生(Baack et al, 2015)。本文和以往的研究均表明, 以适应传粉者的植物花部结构特化进而引发的物种多样性分化, 可能是鼠尾草属植物多样性形成的关键因素(Claßen-Bockhoff et al, 2004; Wester & Claßen-Bockhoff, 2007)。2种鼠尾草尽管具有相似的花形态, 但基于雄蕊结构的细微差别, 各自独特的传粉结构, 通过各异的传粉方式, 都能够稳定、精确而有效的传递花粉, 同时利用同一传粉者不同传粉部位的有效机械隔离, 避免发生种间自然杂交的可能, 从而形成了一种较完备的传粉前生殖隔离机制, 以维持同域分布物种的遗传稳定性和物种多样性。

从2种鼠尾草的单花结构、花序组成和开花方式的显著差异中我们可以看出, 它们对同一传粉者三条雄蜂的吸引方式、相互作用(传粉机制)和传粉特征均有所不同。南丹参具备的淡黄色花冠、紫红色的下唇和雄蕊下臂可能具有比舌瓣鼠尾草更强的吸引传粉昆虫的能力, 反映在传粉者对南丹参的访花频次显著高于舌瓣鼠尾草, 可能暗示三条熊蜂对南丹参的黄色或较深的紫红色具有偏好。尽管南丹参的昆虫访花频次、访花相对频率明显较舌瓣鼠尾草更高($P < 0.05$), 但两者自然条件下的结实率相当(南丹参: $87.8 \pm 11.8\%$; 舌瓣鼠尾草: $87.2 \pm 7.6\%$; $P = 0.880$), 说明舌瓣鼠尾草的昆虫授粉效率更高, 传粉效果更好。由此, 我们推测2种鼠尾草采用了不同的传粉策略, 利用一种传粉者同时达到了较高的繁殖成效。南丹参借助更多的花朵数量、对传粉者更强的吸引力提高三条熊蜂的访花频率, 减少访问时间, 完成异花授粉和较高的雄性适合度; 舌瓣鼠尾草尽管单位时间访花数量较少, 但通过更高效的单花访花过程, 或是更理想的植物与传粉者互作, 达到同样高水平的繁殖成效和雄性适合度。

鼠尾草属与传粉者的高度协同的传粉关系暗示传粉者物种数量不应少于宿主的物种数, 我们的野外调查和以往报道也显示, 一种鼠尾草通常有多种传粉者(或称传粉功能群)完成授粉过程, 2种鼠尾草共用一种传粉者的情况并不常见(Claßen-Bockhoff et al, 2004)。对玉凤花属(*Habenaria*)和凤仙花属(*Impatiens*)同域共存的多物种传粉研究表明, 每个物种既有特定传粉者, 也有相同的传粉者, 在共

享同一传粉者的情况下, 花传粉结构和传粉部位差异综合作用才可能保证物种间的生殖隔离(Pedron et al, 2012; Ruchisansakun et al, 2016)。本文结果显示同域分布的2种鼠尾草对传粉者资源的利用效率很高, 是高度适应环境的结果。尽管通过花粉落置部位的差异, 在共用一种传粉者时能够避免大多数情况的花粉干扰, 但这并非绝对, 小概率的花粉干扰事件可能无法避免(Huang & Shi, 2013)。对于亲缘关系较远的物种而言, 因其遗传不相容或花粉柱头无法识别, 不会影响各自的繁殖成功(Huang et al, 2015), 但对于舌瓣鼠尾草和南丹参2个没有遗传不相容性的物种来说, 如何尽可能降低少量的花粉干扰值得深入研究。

舌瓣鼠尾草和南丹参的花期完全重叠, 在共享同一种传粉昆虫的情况下, 通过机械隔离机制(传粉部位的差异)避免了自然杂交后代的产生, 是一种典型的传粉前隔离机制, 这种方式保证了2种鼠尾草属植物较高的传粉专一性, 也暗示了该类群在植物与传粉昆虫进化的程度较高。传粉者介导的不同传粉模式能够促进花的分化及其引起的生殖隔离, 表明其在植物多样性起源中的重要作用, 但很少有研究能够阐明具有不同传粉模式的多个物种的共存机制(Pauw, 2013)。对于植物生殖隔离的进化而言, 传粉前隔离通常比传粉后隔离更为重要(Ma et al, 2016a,b)。鼠尾草属生殖隔离的产生可能源于该属物种快速形成过程中的物种分化或局地环境适应, 但其起源机制仍不清楚, 这种较完备的传粉前机械隔离是如何产生的? 这需要更广范围的调查取样以及对2种鼠尾草及其近缘物种的系统进化和谱系地理学分析。生殖隔离可能更强烈地依赖于植物的传粉系统而不是植物本身, 换言之, 植物生殖隔离的进化更有可能受到其传粉昆虫的影响和选择(Hopkins, 2013)。但同时我们看到, 2组人工杂交组合尽管有较高的结实率, 但比2个鼠尾草亲本各自的同种异花授粉结实率仍低了10–20% (图2), 说明舌瓣鼠尾草和南丹参之间仍存在较弱的传粉后隔离。

综上所述, 未来对2物种重叠分布区传粉昆虫种类、传粉行为、传粉报酬、物候等传粉前隔离方式和传粉后生殖隔离的花粉竞争能力、杂交种子活力和 F_1 代生存力的比较研究, 将有助于更全面地认识鼠尾草属的生殖隔离模式。

致谢: 感谢中国科学院上海辰山植物科学研究中心严岳鸿研究员对文章撰写提出的中肯建议; 同时感谢两位匿名审稿专家的宝贵意见和耐心细致的修改。

参考文献

- Baack E, Melo MC, Rieseberg LH, Ortiz-Barrientos D (2015) The origins of reproductive isolation in plants. *New Phytologist*, 207, 968–984.
- Claßen-Bockhoff R, Speck T, Tweraser E, Wester P, Thimm S, Reith M (2004) The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): a key innovation for adaptive radiation? *Organisms Diversity & Evolution*, 4, 189–205.
- Claßen-Bockhoff R, Wester P, Tweraser E (2003) The staminal lever mechanism in *Salvia* L. (Lamiaceae): a review. *Plant Biology*, 5, 33–41.
- Epling C (1947) Natural hybridization of *Salvia apiana* and *S. mellifera*. *Evolution*, 1, 69–78.
- Hopkins R (2013) Reinforcement in plants. *New Phytologist*, 197, 1095–1103.
- Huang S, Shi X (2013) Floral isolation in *Pedicularis*: how do congeners with shared pollinators minimize reproductive interference? *New Phytologist*, 199, 858–865.
- Huang YB, Wei YK, Ge BJ, Wang Q (2014) Research progress in pollination biology of genus *Salvia* (Lamiaceae) and their pollination mechanisms in East Asia (China). *Acta Ecologica Sinica*, 34, 2282–2289. (in Chinese with English abstract) [黄艳波, 魏宇昆, 葛斌杰, 王琦 (2014) 鼠尾草属东亚分支的传粉模式. *生态学报*, 34, 2282–2289.]
- Huang YB, Wei YK, Wang Q, Xiao YE, Ye XY (2015) Floral morphology and pollination mechanism of *Salvia liguliloba*, a narrow endemic species with degraded lever-like stamens. *Chinese Journal of Plant Ecology*, 39, 753–761. (in Chinese with English abstract) [黄艳波, 魏宇昆, 王琦, 肖月娥, 叶喜阳 (2015) 舌瓣鼠尾草退化杠杆雄蕊的相关花部特征及传粉机制. *植物生态学报*, 39, 753–761.]
- Huang Z, Liu H, Huang S (2015) Interspecific pollen transfer between two coflowering species was minimized by bumblebee fidelity and differential pollen placement on the bumblebee body. *Journal of Plant Ecology*, 8, 109–115.
- Kipling R, Warren J (2013) How generalists coexist: the role of floral phenotype and spatial factors in the pollination systems of two *Ranunculus* species. *Journal of Plant Ecology*, 7, 480–489.
- Ma YP, Xie WJ, Sun WB, Marczewski T (2016a) Strong reproductive isolation despite occasional hybridization between a widely distributed and a narrow endemic *Rhododendron* species. *Scientific Reports*, 6, 19146.
- Ma YP, Zhou RC, Milne R (2016b) Pollinator-mediated isolation may be an underestimated factor in promoting homoploid hybrid speciation. *Frontiers in Plant Science*, 7, 1183.
- Melo MC, Greal A, Brittain B, Walter GM, Ortiz-Barrientos D (2014) Strong extrinsic reproductive isolation between parapatric populations of an Australian groundsel. *New Phytologist*, 203, 323–334.
- Meyn O, Emboden WA (1987) Parameters and consequences of introgression in *Salvia apiana* × *S. mellifera* (Lamiaceae). *Systematic Botany*, 12, 390–399.
- Pauw A (2013) Can pollination niches facilitate plant coexistence? *Trends in Ecology & Evolution*, 28, 30–37.
- Pedron M, Buzatto CR, Singer RB, Batista JAN, Moser A (2012) Pollination biology of four sympatric species of *Habenaria* (Orchidaceae: Orchidinae) from southern Brazil. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 170, 141–156.
- Ruchisansakun S, Tangtorwongsakul P, Cozien RJ, Smets EF, Niet TVD (2016) Floral specialization for different pollinators and divergent use of the same pollinator among co-occurring *Impatiens* species (Balsaminaceae) from Southeast Asia. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 181, 651–666.
- Wei YK, Wang Q, Huang YB (2015) Species diversity and distribution of *Salvia* (Lamiaceae). *Biodiversity Science*, 23, 3–10. (in Chinese with English abstract) [魏宇昆, 王琦, 黄艳波 (2015) 唇形科鼠尾草属的物种多样性与分布. *生物多样性*, 23, 3–10.]
- Wester P, Claßen-Bockhoff R (2007) Floral diversity and pollen transfer mechanisms in bird-pollinated *Salvia* species. *Annals of Botany*, 100, 401–421.
- Widmer A, Lexer C, Cozzolino S (2009) Evolution of reproductive isolation in plants. *Heredity*, 102, 31–38.
- Yang FC (1992) Comprehensive Investigation Report on Natural Resource of Tianmu Mountain Nature Reserve. Zhejiang Science and Technology Press, Hangzhou. (in Chinese) [杨逢春 (1992) 天目山自然保护区自然资源综合考察报告. 浙江科学技术出版社, 杭州.]

(责任编辑: 严岳鸿 责任编辑: 时意专)