

文章编号:1001-1498(2014)01-0045-08

马占相思开花生物学特征研究

黄烈健, 詹妮, 李军

(中国林业科学研究院热带林业研究所, 广东 广州 510520)

摘要:利用光学显微镜和扫描电子显微镜(SEM),对马占相思开花物候、花部形态和传粉效率等进行了研究。结果表明:马占相思于9-11月开花,整个群体花期有6~7个小花期;单株开花同步性强,呈现“集中开花”模式;穗状花序由 172.7 ± 27.1 朵花组成,每个花序平均有 $(10.35 \pm 7.78)\%$ 的雄花,两性花具有雌蕊1枚,含 14.11 ± 1.05 粒胚珠;柱头凹陷,大小可容纳1~2粒直径为 $29 \sim 35 \mu\text{m}$ 的16合花粉粒, P/O' 为1.13/1;马占相思开花时,雌蕊先于雄蕊伸展并成熟,为雌蕊先熟;SEM结果显示:花药在开花第2、3阶段仅有开裂线,在第4阶段之后才开裂,即7:00-9:00开裂,9:00-12:00大量散粉;柱头在开花第1天上午可观察到分泌物,预示柱头可授。此研究结果将为今后加强相思种子园的管理及开展相思杂交育种奠定重要基础。

关键词:马占相思;开花物候;花部形态;传粉生物学

中图分类号:S718.4

文献标识码:A

Floral Biology of *Acacia mangium*

HUANG Lie-jian, ZHAN Ni, LI Jun

(Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, Guangdong, China)

Abstract: Pollination biology of *Acacia mangium* Willd. was investigated at aspects of floral phenology, floral morphology, anthesis, pollination success and so on through routine observation combined with optical microscopy and scanning electron microscopy (SEM) in clone seed orchard at Shazui Town, Jiangmen City, Guangdong Province. The result showed that the *A. mangium* flowers between Sep. and Oct. Its flowering was not continuous, containing 6 to 7 flowering stages. Individual plant flowered in synchrony, showing the “mass-flowering pattern”. The spike inflorescence consists of (172.7 ± 27.1) flowers, including hermaphrodite flowers and male flowers. The male flowers account to $(10.35 \pm 7.78)\%$ per spike. The pistil contained (14.11 ± 1.05) ovules with a long, solid style. Cup-liked stigma was suitable for one polyad, which comprising 16 pollen grains. The pollen to ovule (P/O') valued 1.13. When anthesis began, Pistil was the first organ to extend and receptive making protogynous sensible. SEM revealed that the dehiscent lines existed at Stage2 and 3; however, the anthers began to dehiscence at Stage 4, about 7:00-9:00 following abundant pollen shedding at 9:00-12:00. The stigmas gone through morphology changes showed as exudates were emerged apparently during the first half-day after anthesis, predicting the coming of receptivity period. The results will helpful for *Acacia breeding* in the future.

Key words: *Acacia mangium*; floral phenology; floral morphology; pollination biology

马占相思 (*Acacia mangium* Willd.) 系含羞草科 (Mimosaceae) 金合欢属 (*Acacia* Mill.) 的乔木树种,原产昆士兰北部、巴布亚新几内亚西部、伊里

安岛和印度尼西亚的鲁古群岛^[1]。马占相思干形通直、出材率高,可用作建筑材、纸浆材、家具材等;生物量大且具固氮作用,可用于改良土壤,荒

收稿日期:2012-11-02

基金项目:国家“十二五”科技支撑计划项目(No. 2012BAD01B0402)

作者简介:黄烈健(1971—),男,博士,副研究员,主要从事相思育种研究。Email: 13802987948@163.com

山绿化等;其经济价值和生态效益颇受关注,已在热带国家广泛引种。我国自1979年引入以来,已在广西、广东、福建、海南等省有大面积种植。据2002年不完全统计^[2],已有马占相思林25万 hm^2 。随着马占相思在我国栽培面积的不断扩大,对良种种子产量的需求和质量的要求也越来越高;然而,我国目前现有的种子园却存在着种子产量较低、质量较差等问题,难以满足生产要求。如何提高种子产量和质量从而满足生产需求,是当前相思研究中急需解决的问题。开展马占相思开花生物学方面的研究,是提高种子产量及质量的理论基础,对今后的种子园管理具有重要的指导意义,也是杂交育种工作的基础。

国内外对金合欢属树种开花生物学的研究比较零散,主要包括以下树种或相关方面的研究:Newman^[3-4]首先报道了贝利氏相思(*A. baileyana* F. Muell)的花粉为复合花粉及花粉的萌发和柱头相互亲和的关系。Sedgley等^[5]、Ibrahim等^[6]和Moncur等^[7]研究了大叶相思(*A. auriculaeformis* A. Cunn. ex Benth.)、马占相思及黑荆(*A. mearnsii* De Wild.)同一花序的雌雄花比例;Sornsathapornkul等^[8]和Bernhardt等^[9]认为,马大杂种相思(*A. mangium* × *A. auriculaeformis*)、树胶相思(*A. retinodes* Schltdl)为雌蕊先熟,并对雌蕊可授性进行了研究。Arroyo^[10]认为,花序是含羞草科(Mimosaceae)植物的生殖单元,因为单花太小而且繁多,这些特征使得本属植物的传粉生物学更为复杂。Tybirk^[11]、Tandon等^[12]对阿拉伯金合欢(*A. nilotica* (L.) Delile)、阿拉伯胶树(*A. senegal* (L.) Willd.)等40多种植物的传粉生物学或繁育系统开展了相关研究。

马占相思是从国外引进的树种,其在我国的开花生物学特征必然会随着环境的改变而有所不同,笔者不能直接照搬国外的相关研究结果,国内却未见相关报道。因此,本文通过对马占相思的开花生物学特征开展系统研究,以期为加强我国马占相思种子园管理提高种子产量和质量及今后的杂交育种研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

本研究的野外工作主要在广东省江门市相思良种繁育基地完成,该基地位于江门市新会区沙堆镇

南坑林场(113°08'E, 22°18'N),属亚热带海洋性气候,年平均气温21.8℃,降水集中在4—9月,年降水量1789.2mm。马占相思的无性系种子园于1998年1月建立,面积共4.2 hm^2 ,园内植株株行距为5m×8m。

1.2 花期物候及花的形态特征观察

2008—2009年连续2年对种子园内马占相思的开花物候进行观察。

群体水平上,记录林分中群体始花日期、开花高峰期、延续时间和终花日期,统计每次开花植株数目(按种子园的标准,群体水平以25%的个体开花视为始花日期,50%的个体开花达到高峰视为群体开花高峰期,95%的植株开花结束视为群体终花日期^[13])。

个体水平上,记录个体的始花时间、开花持续时间,统计最小花枝上花序总数和开放花序数目,以掌握个体水平开花特征(花序和个体的始花时间为第1朵花在花序和个体上开花的日期)。

花序水平上,随机选取5株,分别在树冠的不同方向和高度选取15~20个待开花序,每天于8:00、11:00、14:00、17:00定时观察,记录花序和单花水平的开花特征,包括花序始花时间、开花持续时间、凋谢时间,观察座果时间及荚果成熟后开裂时间。

单花水平上,选取10株马占相思,利用直尺(精确度0.5mm)测量花枝长度(基部花序至顶芽的距离)、每花枝上花序数目、花序长度、每花序上小花数目(每单株花枝或花序样本数为25)。利用游标卡尺(精确度0.01mm),借助放大镜或体视镜测量花大小(长×宽)、花被长度、雄蕊长度、雌蕊长度、每朵花雄蕊数目等指标(每单株样本数为10~15)。在开花期选取5株马占相思,在每株不同方向和高度上选取10个开花花序,解剖花序上所有小花,记录雄花和两性花的数目。

1.3 单花花粉量、胚珠数和P/O'的测定

随机选取7株马占相思,每株随机采取20~25朵花,剥离雌蕊,用FAA溶液(50%乙醇90mL+冰醋酸5mL+福尔马林5mL)固定后带回实验室。采用Tandon和Shivann^[14]的方法检测胚珠数量,首先用1mol·L⁻¹NaOH于60℃浸泡样品15min,然后用醋酸洋红染色,轻压玻片使胚珠全部挤出子房外,在Olympus BH-2显微镜下观察计数。

单花花粉量 = 每朵花雄蕊数 × 每雄蕊所含花粉数。

单个复合花粉粒的花粉数与单花胚珠数的比例 (P/O') = $16/\text{单花胚珠数目}^{[15]}$

1.4 开花的时序特征观察

开花前对花序和花苞进行跟踪观察,开花过程中 24 h 记录各花部器官伸展的时序特征、形态变化并结合光学显微镜观察开放至各阶段雌雄蕊的显微变化,用 Canon EOS 450D 拍摄开花的进程。采集开放至不同阶段的单花,经 2.5% 戊二醛固定过夜,后用磷酸缓冲液 (pH 值 7.2) 漂洗,用 1% 的锍酸固定 1 h,用乙醇梯度溶液至 100% 脱水,临界点干燥后将样品粘台,离子溅射镀膜后用 PHILIPS SEM XL-30 电子显微镜于 20 kV 下观察花药的开裂情况及雌蕊柱头的分泌物。

1.5 雄蕊散粉

在盛花时期选择 3 株马占相思,连续 3 d 分别于 6:00、8:00、9:00、10:00、11:00、12:00、14:00、16:00、18:00 采取开花花序,每个单株上每次随机采取 3 个花序,将花序样本轻轻的在透明胶带粘性面上滚一周,以获得花药和花粉的数目。散粉前,粘在胶带上的花药多,而花粉很少;花药开裂散粉时,留在胶带上花粉数目多,花药少。花粉和花药的比值在散粉过程中会增大,通过这一比值,可以反映出雄蕊的散粉情况。每个花序样本对应一个胶带片段,胶带置于 Olympus BH-2 显微镜下观察,每个样本读取 6 个视野,统计花粉数目和花药数目。数据用 ANOVA 分析处理^[3-4]。

1.6 柱头可授性测定

为了解雌蕊的可授期和可授性特征,以 3 d 花期为 1 个周期,对开放至不同程度的柱头进行连续取样测量。具体方法为:自开花第 1 天起,于 8:00、10:00、12:00、14:00、16:00、18:00 分别剖取雌蕊花柱上部,用联苯胺-过氧化氢反应液 (1% 联苯胺:3% 过氧化氢:水 = 4:11:22, v/v) 测定柱头的可授性^[16]。若柱头进入最佳可授期,则柱头周围呈现深蓝色并伴有大量气泡出现。每次测定 40 个柱头,共测定 3 个周期。

染色程度可量化,柱头以及下方完全染色为深蓝的记作“++++”,赋值 4;未染色记作“-”,赋值 0,轻微染色记作“+”,赋值 1;“++”和“+++”分别赋值为 2 和 3。赋值后的染色程度求平均,绘制曲线。

2 结果与分析

2.1 马占相思花期物候观察

马占相思群体始花期在 9 月,10 月为盛花期,11 月下旬为终花期。群体花期呈现非持续性,由 3~5 d 的小花期和 6~15 d 的非花期循环形成。整个林分共有 6~7 次小花期 (图 1),在 2009 年主要有 7 次小花期,其中,3 次开花规模较大,开花植株约占总林分的 80%,开花时间集中于 10 月,为群体开花高峰期。个体首花时间为 8 月下旬,有 3~4 次小花期,开花同步性很强,呈现“集中开花模式”^[17]。小花期内,所有成熟花序将在 3~4 d 内由花枝低端向上顺次开放,每个花序开花持续时间为 3 d,第 4~5 天凋谢,凋谢后花序变成凸梗,随后 1~2 天凸梗也掉落。受精的花会宿留于花梗上,发育成果荚,15 d 左右肉眼可见,次年 6—7 月果荚成熟。

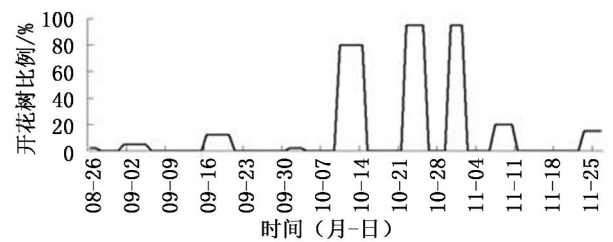


图 1 2009 年马占相思各小花期开花个体比例

2.2 马占相思花形态特征

马占相思花序呈穗状,1~8 个小花枝簇生于花枝的叶腋处,最常见的是 2~4 个小花枝。小花枝长 (17.3 ± 5.7) cm,排列有 (35 ± 14) 个花序 ($n = 51$),花序的发育程度差异大,位于花枝下部的花序发育快,先开放,而顶部的花序发育慢,滞后 1~2 月开放 (图 2A)。小花期内,单个花枝上有 30%~40% 的花序开放 (平均 11 个花序),因此,花枝上所有花序的开放需 3~4 次,这也解释了为什么单株有 3~4 次的小花期。

穗状花序长 (8.33 ± 1.27) cm,由 (172.72 ± 27.06) 个单花组成 (表 1)。小花以螺旋状排列于花序轴上,每轮排列 6~8 朵。花杂性,除了两性花外,花序上还有少量雄性花,表现为缺少雌蕊或者雌蕊萎缩。对 5 个单株的 50 个花序解剖后 (共 6 293 朵) 发现,每个花序上雄花所占比例变幅大,为 0.68%~42.98%,其均值为 (10.35 ± 7.78)%;而在 5 个单株间雌雄花差异并不明显。

表1 马占相思花部器官的数量特征

花部位	观察样本数	变异范围	均值±方差	差异显著性($P < 0.01$)
花序大小(长×宽)/(cm×cm)	59个花序	(6.0~10.7)×(0.944~1.170)	(8.33±1.27)×(1.067±0.045)	不显著
每花序花数	405个花序	100~257	172.72±27.06	极显著
花大小(长×宽)/(mm×mm)	87朵花	(4.24~5.76)×(2.86~6.76)	(4.95±0.34)×(4.73±0.86)	不显著
雄蕊长/mm	91个雄蕊	3.34~5.16	4.04±0.35	不显著
雌蕊长/mm	91个雌蕊	3.8~5.44	4.53±0.38	极显著
每花雄蕊数	153朵花	63~135	83.2±10.3	极显著
每个子房胚珠数	150个子房	12~16	14.11±1.05	不显著
每花序花粉数	-	-	114 949	-

花,白色,直径小于5 mm,花冠五裂,基部联合,伸展后长约0.2 mm。雄蕊群数目庞大,在63~135个之间,花药黄色,垂直位于白色花丝顶端,成熟时纵裂。花药壁由表皮和药室内壁组成,表皮具丰富的角质脊,内壁密布球形的颗粒。花药2室,每室由4个花粉囊组成,每个花粉囊产生1粒复合花粉。复合花粉的直径为29~35 μm ,它由16粒单花粉结合为一体(图2B)。每朵花有雌蕊1枚,偶见2枚,雌蕊长(4.55±0.38) cm;花柱细长,具实心引导组织(图2C);柱头小,凹陷呈杯状(图2D),凹陷大小恰能容纳1粒复合花粉;子房呈梭形,密被长绒毛,含12~16粒胚珠(图2E)。

对10株马占相思的花部器官进行测量,结果(表1)表明:花部一些特征,如花序大小、花大小、雄蕊长度等在林分内差异并不显著,但花序所含花数目、雌蕊长度及每朵花所含雄蕊数目在林分内却存在极显著差异。

2.3 单花花粉量、胚珠数和花粉/胚珠比率(P/O)

对7株马占相思的雌蕊胚珠数统计得知:平均每个雌蕊含(14.11±1.05)个胚珠,单株间存在显著差异($P < 0.05$),通常每个雌蕊含有12~16个胚珠,含14个胚珠的频率最高。P/O和繁育体系关系密切,Crudén^[15]认为,P/O的大小从自交到异交逐渐增加,P/O能反映物种的交配系统。马占相思的P/O值为754.75,P/O'=1.13,为高度异交植物。

2.4 开花的时序特征观察

花序一般在下午至夜间开放,小花由花序底部向顶端开放。花序的开放需要1夜,而单花仅需要4~5 h。依据开花过程中形态和显微上的变化,将花的开放划分为5个阶段^[18],见表2。

开花多发生在午后,少数花冠首先裂开为5瓣,呈锯齿状直立或展开,为阶段1(图2F、G)。16:00之后较为明显,花序下部1/3~1/2的花蕾先裂开,而花序顶部的开裂较晚,一般在19:00左右。花冠开裂后随即露出柱头,伸出花柱长达1~3 mm,这

一时期为阶段2(图2H)。随着花冠的展开,雄蕊也开始伸展,这一时期为阶段3(图2I);雄蕊从弯曲成团到分散直立需要较长时间,观察到21:00左右花序下部的小花雄蕊开始伸展,0:00时,花序顶部还有20多个小花雄蕊未伸展;清晨7:00-8:00时,所有花全部开放并伴随着浓郁的芳香,为阶段4(图2J);此时,雄蕊呈伞形展开,几乎与雌蕊齐平,花药由花丝托起至最大高度准备开裂散粉(图2M)。

表2 马占相思开花的时序特征

开花阶段	状态	时间
0	花芽黄色	开花前3 d
1	花冠开裂	开花前天 14:00-19:00
2	柱头伸长(雌蕊期)	开花前天 16:00-20:00
3	花丝伸长	开花前天 21:00 至开花当天 7:00
4	花完全开放(盛花期)	开花当天 8:00
4.1	花药开裂,花粉散粉	开花当天 9:00-12:00
4.2	雌蕊可授性高峰,柱头出现分泌物	开花当天 10:30
4.3	花萎蔫	开花后第3 d
4.4	花凋谢	开花后 3~4 d

SEM结果表明:雌蕊是第一个伸出花冠的器官(下午至晚上伸出),使雌蕊先熟成为可能。笔者曾对此时的柱头进行过人工授粉试验,受精率达10.28%(观察样本数 $n = 360$),表明雌蕊在这一时期具有可授性,而此时的花药只有开裂线(图2K、L)。因此,认为马占相思为雌蕊先熟。

此外,在阶段3之前花药仅形成开裂线,而在阶段3,个别雄蕊伸展开后会较先开裂,但大部分雄蕊于清晨7:00-9:00可完全开裂。9:00-12:00有大量花粉散出,花粉逐粒散出且具黏性,常见3~4粒花粉粘于花药壁上。从形态学上讲,这样的花粉并不适合风媒。SEM可以观察到花蕾期的柱头光滑凹陷(图2D),而在开花第1天10:00之后,观察到柱头有大量分泌物(图2N),推测与最佳可授期有关。开花第3天,很多柱头已经落置有花粉,并且花粉四周的分泌物开始干枯(图2O、P)。

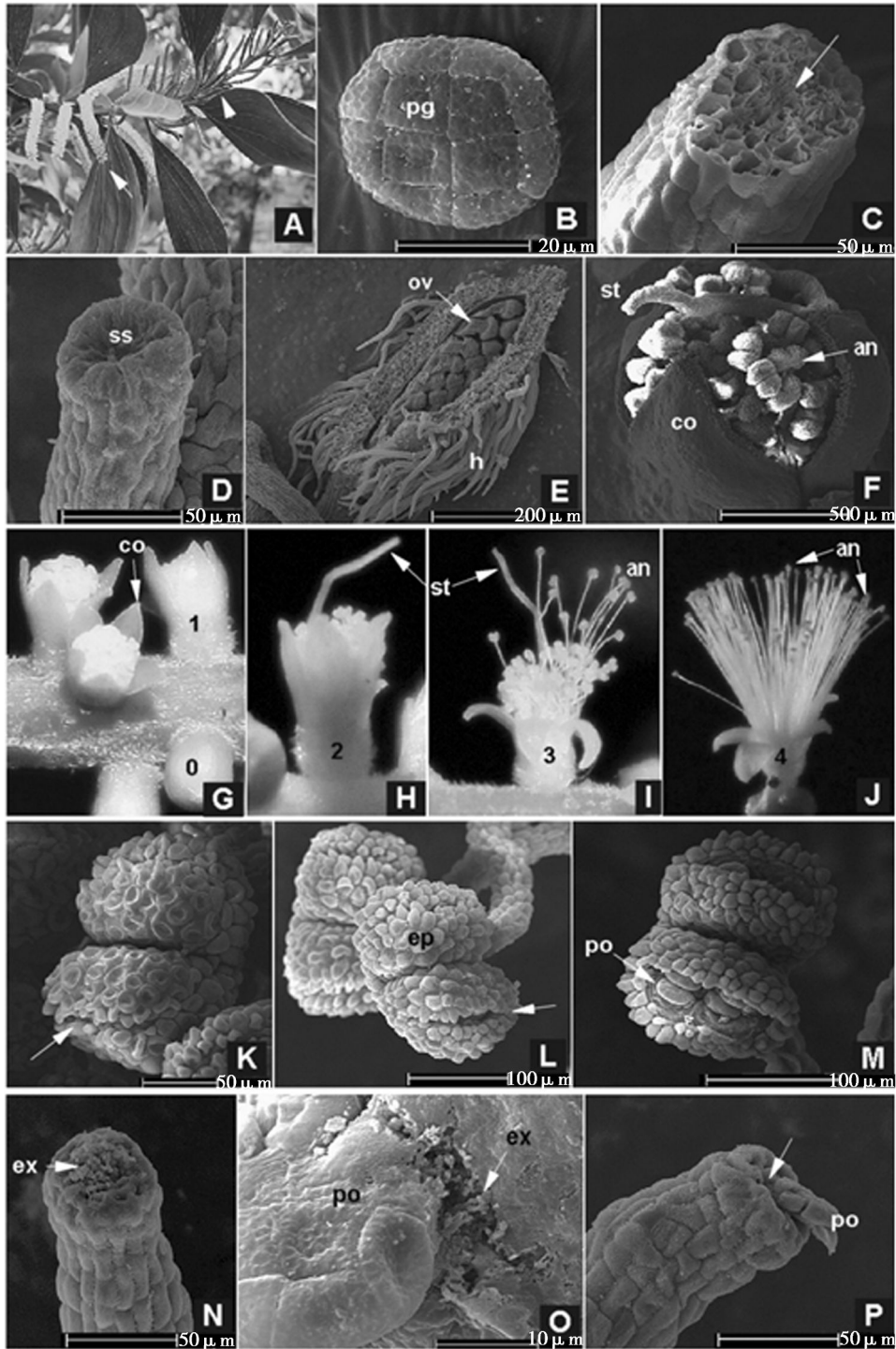


图2 马占相思花部形态特征

(A) 马占相思花枝,开花的花序(箭头所指)和未开花花序(箭头所指)并存;(B) 复合花粉的 SEM 图,示 16 合花粉排列方式:中间 8 粒,分上下层;四周围绕 8 粒;(C) 花柱截面图,实心花柱,箭头所指为引导组织;(D) 柱头凹陷呈杯状;(E) 子房解剖 SEM 图,示子房密被长绒毛及内含多数胚珠;(F) 开花阶段 2,雌蕊先于雄蕊伸出花冠。(G)~(J) 开花的不同阶段:(G) 示阶段 0 的黄色花蕾和阶段 1,花冠裂开;(H) 阶段 2,雌蕊首先伸出花冠,为雌蕊先熟;(I) 阶段 3,部分雄蕊开始伸展;(J) 阶段 4,雄蕊伞状伸展开,花完全开放。(K) 图 1F 中花药放大,示阶段 2 已形成开裂线;(L) 阶段 3 花药,示开裂线;(M) 阶段 4 花药,花药开裂并露出花粉。(N)~(P) 柱头的 SEM 图:(N) 解剖自第 1 天开放的花,示柱头有分泌物;(O)、(P) 解剖自开放第 2 天的花,柱头有花粉落置并且仅容纳 1 粒花粉,花粉和柱头接触的地方有分泌物残留。Pg: 花粉粒; ss: 柱头表面; ov: 胚珠; st: 柱头; an: 花药; co: 花冠; ep: 表皮细胞; Po: 复合花粉; ex: 分泌物。

2.5 雄蕊散粉

Stone 等^[19]最先在研究相思类植物传粉生物学时采用透明胶带粘取花粉和花药,由于此法简洁和便于操作,后被多人用于检测相思类植物的散粉中。本研究用此方法检测到马占相思散粉随时间的变化(图3),图3中每条折线代表1个植株,大约9:00-12:00大量花粉散出,10:00时散粉量达到高峰,下午散粉以较低水平持续。推测花药在10:00之前,大约7:00-9:00开裂,与显微观察结果相似。中午过后散粉量略有减少,但散粉仍持续到18:00之后。

2.6 雌蕊可授性

用联苯胺-H₂O₂溶液染色柱头10 min即可观察到变色反应,有活力的柱头其表面甚至连同下方组织会染为深蓝色,并伴随气泡产生。从染色柱头所占比例(图4)及染色深浅程度(图5)可看出:在开花第1天,测得染色柱头所占比例由42.5%上升至82.1%,平均染色程度也有所加深,在下午之后染色程度稍显平缓;开花第2天柱头仍保持有较高活性,87.8%~72.5%的柱头均可染上色,但染色程度明显下降,因此活力也在下降;开花第3天比第2天下降幅度更大。由此可得出,从开花起至落花,马占相思的雌蕊柱头活力可保持3 d。最佳可授期为开花第1天10:00至开花第2天下午。

3 结论与讨论

3.1 花期物候和花形态特征

开花物候是植物重要的生活史特征之一^[20],对植物生殖成功有一定的影响^[21]。马占相思在世界各地的开花时间不同,但大都是雨季过后开花,开花特征在各地相似^[5]。群体开花具有较强的同步性,尤其在盛花期,开花个体比例超过80%,开花期主要集中在3个峰值(图1)。对植株个体而言,在开花的3~4 d内,每天有数万朵花开放,表现出“集中开花模式”^[22]。Gentry^[23]认为,个体短时间大量开花是应对昆虫竞争的一种策略,大量开花可以吸引大量昆虫访花,可以增加传粉成功率。笔者推测这种开花模式除了更好地吸引访花昆虫外,最大可能就是加强个体间的花粉流动,促进异株传粉,这种推测也符合其异交的交配系统。如同 Augspurger^[24]提出的假说:对于自交不亲和物种,“集中开花”模式能够增加异交的几率;但是这一推测和假说的验证还需要进一步研究予以证明。

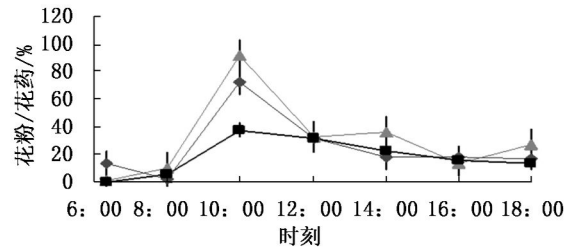


图3 马占相思雄蕊散粉图

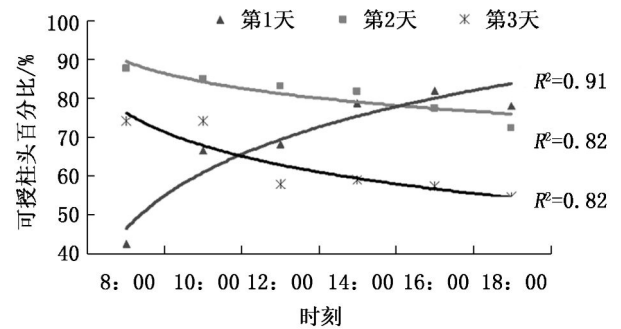


图4 联苯胺法测定柱头染色率

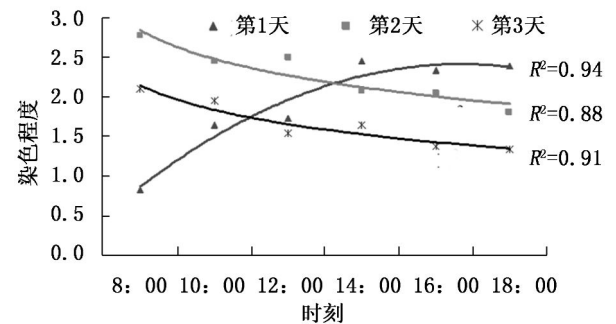


图5 联苯胺法测定柱头染色程度

根据最优资源分配假说, Bertin^[25]认为,一旦通过果实生产实现的适合度达到饱和,继续在雌性功能上投入就是浪费,因而产生只有雄性功能的花将是一种经济有效的策略。生产雄花所需要的能量比两性花要少,能够节省资源投入,因此,生产雄花可增加适合度^[26]。雄性花和两性花存在于同一花序在本属许多植物中均有报道^[27]。本实验中,马占相思雄花比例达(10.35 ± 7.78)%,在马来西亚仅有4%的雄花^[6],而在澳大利亚连续2年测得雄花比例分别为31.8%和23.4%^[5];可见,雄花数目并不是一个稳定性状,是一个可变和可塑性特征,是个体在花发育过程中对环境条件和资源的适应。这种可塑性即能够维持花粉的产量又能够降低植物在雌性功能上分配的能量,实为两全策略^[28]。

3.2 雄蕊散粉和花粉收集

雄蕊散粉时间和散粉量直接影响到昆虫访花行为。所测3株马占相思的散粉时间具有同步性,散粉高峰是重叠的。显然,散粉时间的重叠增加了对访花昆虫需求的压力,因为只有传粉者足够多才能保证每个单株都受访;同时,也是促进异交的一种机制,昆虫在频繁收集不同植株花粉的同时,也行使了异株传粉功能。

微环境对散粉影响较大,尤其是相对湿度^[29]。观察到下雨或雾天对散粉影响很大,表明马占相思同样对湿度有较高的要求,其花药的开裂要在适宜的湿度下。8:00之前,林分内露水和雾气较多,不利于花药开裂;太阳升起之后,温度上升,湿度变小,花药很快开裂。如同显微所示的许多花药在8:00还在开裂,而9:00之后就有大量花粉露出花药,10:00散粉量达到峰值。

对于种子园的管理来说,了解这一特征,就可以选择合适的时间和湿度收集花粉。如果是野外收集,晴朗无风天气是最好的,最佳收集花粉时间为9:00-11:00。摇曳或者轻弹花序,大量花粉会落在收集物上。花粉一般用硫酸纸来收集,但二者颜色太接近不宜观察,可用玻璃或透明塑料纸张,收集到的花粉便于观察和转移。如果是室内收集花粉,需要在8:00-9:00之前将花序采集完毕,并于阴凉通风处摊晾数小时,可揉搓花序以加快花粉的散落。收集到的花粉、花药及杂质要过筛,筛子规格为200目(孔径0.074 mm),过筛的花粉干燥后低温保存。

3.3 雌蕊先熟及柱头可授性

雌蕊先熟在金合欢属比较常见^[8]。树胶相思表现出明显的雌蕊先熟性,柱头在花药开裂前1d即可授^[9]。Sedgley等^[5]认为,*A. iteaphylla*、马占相思、大叶相思为雌蕊先熟性,柱头在花药开裂前可授。马占相思为雌蕊先熟这一结果在国外及国内是一致的。此外,还观察到花柱在雌蕊伸出花冠之前4~6折弯曲于花冠内。这种弯曲机制被认为是保证花柱的迅速伸展以及柱头可接受花粉^[30]。在雌蕊先熟的相思物种中,花柱规则或不规则弯曲于未开花的花蕾内,雌蕊受到花冠包裹的阻力,一旦突破,很容易成为第一个露出花冠的器官,使得雌蕊先熟成为可能^[6,30]。

联苯胺-H₂O₂是测定柱头活力常用方法之一,此方法已用来测定一些物种的雌蕊可授性,如杨树^[16],但是未见有测定相思类植物的报道。用此方

法检测马占相思开花1~3d的柱头,50%以上的柱头都可以染上色,即使第3天部分花已经开始凋谢,但柱头仍可以轻微染色,说明第3天柱头仍有一定活力;然而,柱头具有活性与其可授性是否一致,还需要进行不同时期的人工授粉试验加以验证。

许多相思物种在开花时柱头形态发生变化^[18,29,31]。凹陷的柱头在成熟时会分泌粘液以便接受花粉。在实验中,笔者发现马占相思在花蕾时期(阶段0)的柱头组织切片中就有泡状分泌物,分泌小泡分布于细胞间隙及表皮细胞下方。在阶段3时有大量分泌物出现,即略微早于花柱完全伸展^[18]。以此推测柱头分泌物可能与花粉的识别以及花粉管萌发有关。Knox等^[32]检测到柱头分泌物含有蛋白质、碳水化合物、脂类及酚类物质,同时发现有脂酶的活动^[29],脂酶的活动可能会触发花粉的识别^[33]。因此,通过分泌物有无可以判断雌蕊是否可授。马占相思在开花第1天8:00-11:00柱头凸起的比例增加,表明柱头开始分泌粘液,可能预示着雌蕊可授。

柱头显微变化和联苯胺-H₂O₂检测结果对于后期的控制授粉有很好的指导作用。人工授粉时,如果收集鲜花粉,授粉时间应控制在10:00-12:00间;如果用保存的花粉进行授粉,授粉时间可以延长,从开花第1天10:00起至开花第2天下午。开花第3天柱头活力较小,不建议授粉。

3.4 复合花粉和胚珠的关系

Kenrick^[27]提出,本属所有植物的柱头在形态上有着很高的相似性,即柱头中间凹陷,边缘环状包围,如同浅杯,为接受花粉的区域。这种结构可容纳1~2粒复合花粉粒,在其他相思植物研究中都有报道^[5-6,29,34]。不难发现复合花粉所含雄配子数目(16)和雌蕊所含胚珠数目(12~16)是如此接近。根据这种现象,Knox等^[32]推测,1粒复合花粉已经具备使所有胚珠受精的潜力,并且统计到在16合花粉的相思树种中,其16合花粉和胚珠数目比值多为16/12或16/14,花粉数目总是比胚珠数目多,这样才能保证在一次传粉事件后获得最大的种子数目。

由于复合花粉和雌蕊所含胚珠数目之间存在的特殊关系,16合花粉与胚珠数目比值显得尤为重要。Cruden^[15]认为,以复合花粉和花粉块方式传粉的植物,如金合欢属植物,其复合花粉的花粉数目与胚珠比值(P/O')比花粉产量与胚珠比值(P/O)更能反映繁育体系。本研究中,马占相思的P/O值为

754.75, P/O' 值为 1.13, 为高度异交植物。

参考文献:

- [1] Doran J C, Skelton D J. *Acacia mangium* seed collections for international provenance trials [R]. Forest genetic resource information No. 11 Rome: Food and Agriculture Organization, 1982:47-53
- [2] 李芳, 邓桂英. 从文献计量分析看我国马占相思的研究现状 [J]. 广西林业科学, 2002, 31(4):215-217
- [3] Newman I V. Studies in the Australian *Acacia* II. The life history of *Acacia baileyana* (F. V. M) part 1. Some ecological and vegetative features, spore production and chromosome number [J]. Linnean Journal of Botany, 1933, 49:145-171
- [4] Newman I V. Studies in the Australian *Acacia* IV. The life history of *Acacia baileyana* (F. V. M) part 2. Gametophytes, fertilization, seed production and germination, and general conclusion [C]. Proceedings of the Linnean society of new south wales, 1934, 59: 277-313
- [5] Sedgley M, Harbard J, Smith R M, et al. Reproductive biology and interspecific hybridization of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* A. Cunn. ex Benth. (Leguminosae: Mimosoideae) [J]. Australian Journal of Botany, 1992, 40: 37-48
- [6] Ibrahim Z, Awang K. Comparison of floral morphology, flower production and pollen yield of *Acacia mangium* and *A. auriculiformis* [C]. Advances in tropical acacia research, 1991, 35: 26-29
- [7] Moncur M W, Moran G F, Grant J E. Factors limiting seed production in *Acacia mearnsii* [R]. Advances in Tropical Acacia Research, 1991, 35: 64-66
- [8] Sornsathapornkul P, Owens J N. Pollination Biology in a Tropical *Acacia* Hybrid (*A. mangium* × *A. auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.) [J]. Annals of botany, 1998, 81: 631-645
- [9] Bernhardt P, Kenrick J, Knox R B. Pollination biology and the breeding system of *Acacia retinodes* (Leguminosae: Mimosoideae) [J]. Annals of the Missouri Botanical Garden, 1984, 71: 17-29
- [10] Arroyo M T K. Breeding system and pollination biology in leguminosae [R]. Advance in legume systematics, Part II, 1981: 723-769
- [11] Tybirk K. Flowering, pollination and seed production of *Acacia nilotica* [J]. Nordic Journal of Botany, 1989, 9: 375-381
- [12] Tandon R, Shivanna K R. Pollination biology and breeding system of *Acacia senegal* [J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2001, 135: 251-262
- [13] 马文宝, 施翔, 张道远, 等. 准格尔无叶豆的开花物候与生殖特征 [J]. 植物生态学报, 2008, 32(4): 760-767
- [14] Tandon R, Shivanna K R. Pollination biology and breeding system of *Acacia senegal* [J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2001, 135:251-262
- [15] Cruden R W. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants [J]. Evol, 1977, 31: 32-46
- [16] 李艳华, 康向阳. 白杨派树种雌蕊柱头可授性及其检测方法的研究 [J]. 西北植物学报, 2007, 27(5): 859-863
- [17] Herrera J. Flowering and fruiting phenology in the coastal shrublands of Dofiana South Spain [J]. Vegetatio, 1986, 68: 91-98
- [18] Sornsathapornkul P, Owens J N. Pollination Biology in a Tropical *Acacia* Hybrid (*A. mangium* × *A. auriculiformis* A. Cunn. ex Benth.) [J]. Annals of botany, 1998, 81: 631-645
- [19] Stone G, Willmer P, Nee S. Daily partitioning of pollinators in an African *Acacia* community [J]. Proc R Soc Lond B, 1996, 263: 1389-1393
- [20] Ollerton J, Lack A. Flowering phenology: an example of relaxation of natural selection [J]. Trends in Ecology & Evolution, 1992, 7: 274-276
- [21] Ollerton J, Diaz A. Evidence for stabilizing selection acting on flowering time in *Arum maculatum* (Araceae): the influence of phylogeny on adaptation [J]. Oecologia, 1999, 119: 340-348
- [22] Herrera J. Flowering and fruiting phenology in the coastal shrublands of Dofiana South Spain [J]. Vegetatio, 1986, 68: 91-98
- [23] Gentry A H. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae [J]. Biotropica, 1974, 6: 64-68
- [24] Augspurger C K. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs [J]. Biotropica, 1983, 15: 257-267
- [25] Bertin R I. The evolution and maintenance of andromonoecy [J]. Evolution Theory, 1982, 6: 25-32
- [26] Solomon B P. Sexual allocation and andromonoecy: resource investment in the male and hermaphrodite flowers of *Solanum carolinense* (Solanaceae) [J]. American Journal of Botany, 1986, 73: 1215-1221
- [27] Kenrick, J. Review of pollen-pistil interactions and their relevance to the reproductive biology of *Acacia* [J]. Australian Systematic Botany, 2003, 16(1): 119-130
- [28] Baranelli J L, Cocucci A A, Anton A M. Reproductive biology in *Acacia caven* (Mol.) Mol. (Leguminosae) in the central region of Argentina [J]. Biological Journal of the Linnean Society, 1995, 119: 65-76
- [29] Corbet S A, Chapman H, Saville N. Vibratory pollen collection and flower form; bumble bees on *Actinidia*, *Symphytum*, *Borago* and *Polygonatum* [J]. Functional Ecology, 1988, 2(2): 147-155
- [30] Kenrick J, Knox R B. Structure and histochemistry of the stigma and style of some Australian species of *Acacia* [J]. Australian Journal of Botany, 1981, 29: 733-745
- [31] Tandon R and Shivanna K R. Pollination biology and breeding system of *Acacia senegal* [J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2001, 135: 251-262
- [32] Knox R B, Kenrick J. Polyad function in relation to the breeding system of *Acacia* [J]. Pollen biology, 1983: 411-417
- [33] Wagner D. Pollen viability reduction as a potential cost of ant association for *Acacia constricta* (Fabaceae) [J]. American Journal of Botany, 2000, 87(5): 711-715
- [34] Tybirk K. Flowering, pollination and seed production of *Acacia nilotica* [J]. Nordic Journal of Botany, 1989, 9: 375-381