

刺槐和多花刺槐的有性生殖特性

毛秀红^{1,2}, 荀守华^{2,*}, 乔玉玲², 孙百友³, 张元帅³, 董玉峰², 位晓⁴, 郑勇奇^{1,*}

¹中国林业科学研究院林业所, 国家林木遗传育种重点实验室/国家林业局森林培育重点实验室, 北京100091; ²山东省林业科学研究院/山东省林木遗传改良重点实验室, 济南250014; ³费县大青山林场, 山东费县273402; ⁴胜利油田胜大集团, 山东东营257083

摘要: 为准确掌握刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)和多花刺槐(*Robinia neo-mexicana* var. *luxurians* Dieck)开花结实有性生殖生物学特性, 为杂交育种奠定基础, 对这两种刺槐的开花物候期、花器官形态结构、人工控制授粉结实率、自然授粉结实率、自花授粉结实率、孤雌生殖结实率、子房胚珠数和空胚率等开展了观测和试验研究。结果表明, 刺槐和多花刺槐在鲁中至鲁南地区的开花物候期在4月下旬至5月上旬; 刺槐始花期只有1 d, 盛花期2 d, 末花期2~3 d, 而多花刺槐始花期2 d, 盛花期3 d, 末花期4 d; 雌、雄蕊异熟; 刺槐自然授粉结实率个体之间差异显著, 平均结实率为26.02%, 而多花刺槐自然授粉结实率极低, 平均仅为0.11%, 因此只适宜做杂交父本; 刺槐种内无性系之间人工控制异花授粉结实率平均只有1.7%, 而刺槐种间人工控制异花授粉结实率只有0.21%; 刺槐自花授粉和孤雌生殖结实率分别是1.8%和0; 刺槐每个荚果胚珠数平均18个, 空胚率很高, 平均达53.94%, 而多花刺槐每个荚果胚珠数平均22个, 空胚率极高, 平均达87.61%; 刺槐自胚珠受精至种子生长发育成熟需要80~90 d, 而多花刺槐仅需要70~80 d。

关键词: 刺槐; 多花刺槐; 开花物候期; 异花授粉; 结实率

刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)为阔叶大乔木, 枝叶浓密, 花开芳香浓郁, 是优质蜜源树种; 刺槐木材坚韧、抗冲击、耐腐朽、耐水湿, 是重要的建筑、矿柱、车辆、造船用材; 刺槐木材热值高, 燃烧速度慢, 是优质薪炭材和优良生物质能源树种; 刺槐绿叶营养成分含量高, 无毒无味, 是上等牲畜饲料(Charles和Mary 1965)。刺槐原产美国, 1601年被引入欧洲(凯莱斯台舍1993)。19世纪末由德国人首次将刺槐种源引入中国青岛, 20世纪40年代又有来自日本、美国、朝鲜的几批刺槐种源种植在我国辽东、甘肃天水、湖南长沙和华北等地, 到20世纪80年代末, 我国有24个省、市、自治区栽植刺槐, 仅河北、河南、山东、山西、辽宁等6省就达40亿株(顾万春等1991), 成为我国黄河中下游、淮河流域、海河流域以及长江下游诸省的主要用材林、薪炭林、水土保持林、海堤及河堤防护林。多花刺槐(*Robinia neo-mexicana* var. *luxurians* Dieck)是新墨西哥刺槐(*R. neo-mexicana* L.)的变种(Charles和Mary 1965; 吕福原等2000), 为中小乔木, 花冠紫红色, 鲜艳亮丽, 花序浓密, 具有极高观赏价值, 适宜多种气候和土壤条件, 是优良园林绿化乔木树种。多花刺槐原产美国, 20世纪70年代引进中国, 至今已成为我国城镇绿化栽培的主要刺槐品种。刺槐和多花刺槐作为多价值、多用途、抗逆性好、适生能力强的好树种, 其优良新品种的应用前景十分广阔。我国自20世纪70年代

开展刺槐遗传育种至今, 人工育种技术仍以选择育种为主, 人工选育的优良品种应用少, 生产中主栽品种仍以刺槐原种或自然变种变型为主, 遗传改良成效较低, 尚有较大的种质创新潜力。为此, 我们以刺槐及种内优良无性系、多花刺槐等为育种亲本, 开展刺槐属种内和种间人工杂交育种研究, 以期培育出更高经济价值或观赏价值的刺槐优良新品种。

人工杂交育种必须利用有性生殖过程, 掌握杂交亲本的有性生殖生物学是开展有性杂交育种的理论基础。国外对刺槐属植物有性生殖生物学研究报道极少。近10年来我国学者对四倍体刺槐开花结实特性研究报道较多。姜金仲等(2011)研究了四倍体刺槐花器原基分化及其成熟表型变异; 郝晨(2006)初步研究了饲料型四倍体刺槐大小孢子发生、雌雄配子体发育过程和花芽形态; 贺佳玉(2008)研究了四倍体刺槐胚胎败育及幼胚离体培养挽救技术, 试验结果为胚珠的适宜离体培养时期是花后30 d, 萌动率47.7%; 姜金仲等(2011)开展了四倍体刺槐胚珠败育及其机制研究; 孙鹏等(2012)认为刺槐是以异交为主、部分自交亲和的交配方式; 戴丽等(2012)对比分析了刺槐、红花刺

收稿 2017-01-03 修定 2017-03-20

资助 国家林业公益性行业专项(201304116)。

* 共同通讯作者(E-mail: xshsdxpz@163.com; zyg8565@126.com)。

槐、四倍体刺槐花粉体外萌发情况; 习洋等(2012)报道了刺槐未成熟合子胚的体细胞胚胎发生和植株再生情况; Yuan等(2013)研究了有关刺槐近交衰退问题; Lu等(2015)探索了普通二倍体刺槐与其他刺槐种类进行杂交的可行性; 姜丽娜等(2015)运用扫描电子显微镜观察了多花刺槐花粉与柱头形态及授粉亲和性; 荀守华等(2016)研究了刺槐无性系开花结实生殖特性及杂交亲本选配问题。有关刺槐自花授粉和孤雌生殖结实率、子房胚珠数量及空胚率、种子发育成熟期等尚没有研究报道。对多花刺槐开花结实生物学特性国内外研究报道极少。本文通过对刺槐和多花刺槐的开花物候期、花器官形态结构与功能、自花授粉结实率、异花授粉结实率、自然授粉结实率、荚果解剖结构等同时开展观测调查和试验研究, 摸清刺槐和多花刺槐开花始期、盛期和末期的持续时间以及雌雄蕊成熟期; 初步探索两种刺槐种间和种内异花授粉结实率和种子生长发育成熟需要的时间, 为今后刺槐属植物种内和种间杂交育种工作奠定基础。

材料与方 法

1 研究材料和地点

刺槐(*Robinia pseudoacacia* L.)研究材料选自3个地点, 分别是山东省济南市历下区燕山社区花园内刺槐, 实生树, 树龄二十年生; 山东省济南市历城区仲宫镇门牙村羊栏峪刺槐, 为实生树砍伐后萌蘖更新, 树龄八年生; 山东省费县大青山林场刺槐优良无性系种子园, 树龄五年生。多花刺槐(*R. neomexicana* var. *luxurians* Dieck)研究材料也选自3个地点, 分别是山东师范大学文东校园、师大新村和山东省警察学院校园内, 嫁接繁殖, 树龄七年生。

2 试验地点地理位置和气候条件

济南市历下区试点地处36°39'N 117°03'E, 海拔72 m, 常年平均温度为13.5°C, 1月份平均温度-2.7°C, 7月份平均温度27.4°C; 日平均气温大于10°C的天数有224 d; 年平均日照时数2 632 h; 年积温4 739.2°C; 常年平均降雨量700 mm, 常年平均无霜期190 d。

济南市历城区试点地处36°28'N 117°03'E, 海拔302 m。由于地处海拔较高的山坡, 常年平均温度较济南市历下区试点低3~5°C, 年降雨量与历下区相同。

山东省费县大青山林场试验点地处35°23'N 118°11'E, 海拔240 m。常年平均温度为13.8°C, 极端最高气温39.1°C, 极端最低气温-18.3°C; 日平均气温大于10°C的天数有212 d; 年平均日照时数2 588 h; 无霜期197 d; 常年平均降雨量836.6 mm, 年均蒸发量2 125 mm。

3 观测研究方法

开花物候期观测方法, 以单株为观测单位, 全株花序有5%~25%开放即为始花期, 全株花序有大于25%、少于75%开放即为盛花期, 全株花序有超过75%开放即为末花期。多个单株表现相同的开花时期, 即为一个植株群。

花器官形态、结构观测是在盛花期选取树冠中上部枝条的中上段花序, 进行目测和解剖观察。每株观测3个花枝, 每枝观测3个以上花序, 重复3次, 每重复35株。

花粉采收方法是先采集花序开放始期花枝, 收集旗瓣即将开张或者微微开张时花药, 用硫酸纸包好放在生石灰中干燥24 h, 然后轻轻碾压花药使其破裂散粉, 将花粉收集在玻璃小瓶中低温(0~4°C)贮藏备用。

人工控制授粉方法包括先选择旗瓣即将开张的花序, 然后用镊子去雄、用毛笔蘸取已经收集好的备用花粉授粉、套硫酸纸袋并挂标签。

刺槐异花授粉结实率是以刺槐不同无性系之间和刺槐种间杂交授粉试验结果为依据, 以鲁刺42、鲁刺152等品系为母本, 以鲁刺9、鲁刺68等品系为父本, 组成杂交组合。从2013年5月5日开始授粉, 至5月7日, 先后授粉3 d, 授粉母树17株, 授粉花序303个, 授粉小花2 831朵。2013年6月9日调查结实率, 7月15日再次调查结实率。刺槐种间杂交授粉试验是以刺槐为母本, 以多花刺槐为父本, 从2013年4月30日开始授粉, 至5月3日, 先后授粉4 d, 授粉母树12株, 授粉花序374个, 授粉小花5 236朵。2013年5月31日调查结实率, 6月12日和7月3日又做2次结实率调查。结实率(%)=荚果数/授粉花序小花数×100。

刺槐自然授粉结实试验是在刺槐花期选择3株刺槐, 每株选10个花序挂牌, 测数每个花序的小花数, 后期调查结实情况。2013年5月3日试验挂牌, 6月3日调查结实率, 7月3日再次调查结实率。刺槐自花授粉结实试验是对花朵尚未开放的花序

去雄后套袋, 试验花序6个, 试验小花107朵。2013年5月3日试验挂牌, 6月3日调查结实率, 7月3日再次调查结实率。刺槐孤雌生殖结实试验是对花瓣尚未开放的花序直接套袋, 试验花序6个, 试验小花85朵。2013年5月3日试验挂牌, 6月3日调查结实率, 7月3日再次调查结实率。结实率(%)=荚果数/每花序小花数×100。

在刺槐花期70 d调查天然授粉荚果的解剖结构, 采集3株刺槐树上荚果, 每株50~60个, 沿荚果背缝线剖开露出种子及胎座, 分别测数成熟种子数、败育种子即秕种数、虫蛀及染菌种子数、空胚数, 统计荚果胎座上的胚珠数, 每个荚果的胚珠总数=成熟种子数+败育种子数+虫蛀及染菌种子数+空胚数, 空胚率(%)=空胚数/胚珠总数×100。多花刺槐同样在花期70 d对天然授粉荚果进行解剖结构调查, 分别采集5株树上所有荚果, 进行解剖、测数、统计, 方法同刺槐。

实验结果

1 刺槐和多花刺槐开花物候期及其差异

1.1 刺槐开花物候期及不同地点不同单株之间的差异

刺槐在山东省济南市历下区、济南市历城区和费县大青山林场的开花物候期是4月下旬至5月上旬(表1)。始花期从4月26日开始至5月5日, 盛花期从4月27日开始至5月6日, 末花期从4月29日开始至5月8日。3个地点单株刺槐开花持续时间相同, 始花期只有1 d, 盛花期2 d, 末花期2~3 d; 单株中龄刺槐树从开花始期至开花末期只有6 d时间, 单株幼龄和老龄刺槐树从开花始期至开花末期只

有5 d时间。由于个体之间生长势有差异, 同一地点不同植株开花时期有差异, 尤其在山坡地、瘠薄干旱立地上的刺槐要比土层深厚立地上开花早, 海拔低处要比海拔高处开花早, 前后相差1~4 d。

济南市历下区燕山社区花园内刺槐始花期从4月26日开始持续3 d, 盛花期从4月27日开始持续4 d, 末花期从4月29日开始持续5 d。济南市历城区仲宫镇门牙村羊栏峪刺槐始花期比燕山社区晚5 d, 也是持续3 d, 盛花期也相应的晚5 d, 即从5月2日开始持续4 d, 末花期从5月4日开始也是持续5 d, 比燕山社区晚6 d。山东省费县大青山林场刺槐无性系之间开花始期差异明显, 第一无性系植株群开花最早, 5月2日为始花期; 第二植株群开花较早, 5月3日为始花期; 第三植株群开花处于中期, 5月4日为始花期; 第四植株群开花最晚, 5月5日为始花期(表1)。第一植株群比第四植株群开花始期早3 d。

1.2 多花刺槐开花物候期及不同地点不同单株之间的差异

多花刺槐在山东省济南市历下区3个地点即山师大校园、山东警察学院校园和师大新村的开花物候期在4月下旬至5月上旬。始花期从4月27日开始至4月30日, 盛花期从4月29日开始至5月2日, 末花期从5月2日开始至5月5日。多花刺槐在3个地点开花持续时间相同, 始花期2 d, 盛花期3 d, 末花期4 d。单株多花刺槐树从开花始期到开花末期有9 d(表2)。

2 刺槐和多花刺槐生殖器官的形态和结构

刺槐属植物的花为两性花, 总状花序, 腋生, 花序轴下垂; 花萼钟状, 5齿裂, 上方2萼齿近合生;

表1 刺槐开花物候期调查表

Table 1 Blossom phenophase of *R. pseudoacacia*

地点	植株群	纬度	经度	海拔/m	始花期	盛花期	末花期
济南市历下区	1	36°39.108'N	117°03.089'E	72	4月26日	4月27~28日	4月29日~5月1日
	2	36°39.108'N	117°03.089'E	72	4月27日	4月28~29日	4月30日~5月2日
	3	36°39.108'N	117°03.089'E	72	4月28日	4月29~30日	5月1~3日
济南市历城区	1	36°28.321'N	117°03.371'E	302	5月1日	5月2~3日	5月4~6日
	2	36°28.321'N	117°03.371'E	302	5月2日	5月3~4日	5月5~7日
	3	36°28.323'N	117°03.361'E	306	5月3日	5月4~5日	5月6~8日
费县大青山林场	1	35°23.513'N	118°11.738'E	240	5月2日	5月3~4日	5月5~6日
	2	35°23.513'N	118°11.738'E	240	5月3日	5月4~5日	5月6~7日
	3	35°23.583'N	118°11.672'E	250	5月4日	5月5~6日	5月7~8日
	4	35°23.583'N	118°11.672'E	250	5月5日	5月6~7日	5月8~9日

表2 多花刺槐开花物候期调查表

Table 2 Blossom phenophase of *R. neo-mexicana* var. *luxurians*

地点	植株群	纬度	经度	海拔/m	始花期	盛花期	末花期
济南市山师大校园	1	36°39.253'N	117°02.127'E	58	4月27~28日	4月29日~5月1日	5月2~5日
	2	36°39.253'N	117°02.127'E	58	4月28~29日	4月30日~5月2日	5月3~6日
济南市警察学院	1	36°39.183'N	117°02.817'E	69	4月28~29日	4月30日~5月2日	5月3~6日
	2	36°39.183'N	117°02.817'E	69	4月29~30日	5月1~3日	5月4~7日
济南市师大新村	1	36°38.810'N	117°05.925'E	127	4月29~30日	5月1~3日	5月4~7日
	2	36°38.810'N	117°05.925'E	127	4月30日~5月1日	5月2~4日	5月5~8日

花冠蝶形,花瓣5,分为旗瓣1、翼瓣2和龙骨瓣2;雌蕊花柱长于雄蕊花丝;雄蕊10,其中9个基部连为一体,1个独立,称为二体雄蕊;子房上位,心皮单生,1室,边缘胎座,胚珠多数。荚果扁平条形,果顶有短芒尖,沿腹缝线有窄翅;种子褐色至黑色,多数扁肾形,少数形状不规则。

2.1 刺槐雌雄蕊成熟期和子房胚珠数量

刺槐每个花序有20~40朵小花,小花朵长1.5~2.5 cm,花萼绿色至褐色,花冠白色,旗瓣中脉中下部有黄绿色斑块。旗瓣先开张,2个翼瓣后开张,2个龙骨瓣包被雄蕊和雌蕊不开张,直到花瓣枯萎。单朵小花开放时间(从旗瓣开张至旗瓣枯萎)只有2~3 d;雄蕊从花药成熟到散粉时间很短,当旗瓣张开时,花药即破裂散粉;此时柱头尚未分泌黏液,雌蕊成熟期要晚1 d,所以刺槐是雌雄异熟植物。每朵小花子房有胚珠12~25个,多数集中在16~23个,平均胚珠18个。

2.2 多花刺槐花雌雄蕊成熟期和子房胚珠数量

多花刺槐每个花序有小花10~20朵,小花朵长2.0~3.0 cm,花萼紫褐色,花冠紫红色,旗瓣中脉中下部有黄色斑块。旗瓣先开张,2个翼瓣后开张,2个龙骨瓣包被雄蕊和雌蕊不开张,直到花瓣枯萎。单朵小花开放时间(从旗瓣开张至旗瓣枯萎)只有3~4 d;雄蕊从花药成熟到散粉时间很短,当旗瓣张开时,花药即破裂散粉;此时柱头尚未分泌黏液,雌蕊成熟期要晚1 d。每朵小花子房有胚珠16~26个,多数集中在20~24个,平均胚珠数22个。

3 刺槐和多花刺槐授粉结实率

3.1 刺槐自然授粉、异花授粉和自花授粉结实率试验

多年来对刺槐自然授粉结实情况观察表明,刺槐是以风媒传粉和虫媒传粉两种方式进行,这

与孙鹏等(2012)的研究结果不同,单株个体之间结实率差异显著。通过对30个花序花期后30和60 d结荚情况调查,结果表明刺槐自然授粉结实率平均为26.02%(表3)。

刺槐自胚珠受精至种子生长发育成熟需要80~90 d;成熟荚果果皮质地由革质变木质,果皮光滑无毛。

通过对刺槐种内不同无性系之间人工控制授粉后30和70 d结荚情况调查,结果表明刺槐异花授粉结实率平均只有1.7%;通过对刺槐和多花刺槐人工控制授粉后30和60 d结荚情况调查,结果表明刺槐种间异花授粉结实率平均只有0.21%(表4)。

通过对刺槐自花授粉花期30和60 d结荚情况调查,结果表明刺槐自花授粉结实率平均只有1.8%。通过对刺槐孤雌生殖试验花期30和60 d结荚情况调查,结果表明刺槐孤雌生殖结实率为0(表5)。

3.2 多花刺槐自然授粉结实率调查

通过对济南市3个地点多花刺槐多年开花结荚情况调查,多花刺槐自然授粉结实率极低,单株结荚果只有几个至几十个,部分植株不结果。对30个花序441朵小花自然授粉结实进行挂牌试验,30 d后调查结荚情况结果为0。以单株开花量平均600个花序、每个花序有小花平均15朵、结荚果平均10个计算,多花刺槐自然授粉结实率仅为0.11%。自胚珠受精至种子生长发育成熟需要70~80 d,成熟荚果颜色由绿色变褐色,果皮质地由革质变木质,果皮毛被由软变硬。

3.3 刺槐和多花刺槐荚果结种量和空胚率研究

通过对刺槐花期后70 d自然授粉荚果解剖结构调查结果表明,刺槐每个荚果发育成熟种子几粒至十几粒不等,平均近8粒,成熟种子占总胚珠数达42%;每个荚果空胚率较高,平均达53.94%;

表3 刺槐自然授粉结实率

Table 3 Natural pollination seed setting rate of *R. pseudoacacia*

挂牌日期	每花序小花数/朵	荚果数/个	结实率/%	挂牌日期	每花序小花数/朵	荚果数/个	结实率/%
5月2日	22	6	27.27	5月3日	22	7	31.82
5月2日	23	10	43.48	5月3日	36	10	27.78
5月2日	24	5	20.83	5月3日	25	4	16.00
5月2日	23	4	17.39	5月3日	24	8	33.33
5月2日	23	8	34.78	5月3日	28	10	35.71
5月2日	23	6	26.08	5月3日	35	6	17.14
5月2日	25	7	28.00	5月3日	23	4	17.39
5月2日	27	7	25.92	5月3日	28	6	21.43
5月2日	34	12	35.29	5月3日	35	8	22.86
5月2日	26	7	26.92	5月3日	22	5	22.73
5月2日	29	8	27.58	5月3日	23	8	34.78
5月2日	31	8	25.80	5月3日	38	5	13.16
5月2日	22	6	27.27	5月3日	26	4	15.38
5月2日	23	10	43.48	5月3日	25	5	20.00
5月2日	24	5	20.83	5月3日	38	11	28.95
合计379	合计109	平均28.73		合计428	合计101	平均23.90	

表4 刺槐和多花刺槐人工授粉结实率

Table 4 Artificial pollination seed setting rate of *R. pseudoacacia* and *R. neo-mexicana* var. *luxurians*

授粉日期	人工授粉(鲁刺42×鲁刺68, 等)				授粉日期	人工授粉(刺槐×多花刺槐)			
	授粉花序/个	授粉小花数/朵	荚果数/个	结实率/%		授粉花序/个	授粉小花数/朵	荚果数/个	结实率/%
5月5日	50	428	0	0	4月30日	36	504	3	0.6
5月6日	125	1 098	18	1.6	5月1日	110	1 540	3	0.19
5月7日	105	1 119	30	2.68	5月2日	100	1 400	4	0.29
					5月3日	128	1 792	1	0.06
合计303	合计2 831	合计48	平均1.7	合计374	合计5 236	合计11	平均0.21		

表5 刺槐自花授粉和孤雌生殖结实率

Table 5 Self-fertilization and parthenogenesis seed setting rate of *R. pseudoacacia*

套袋日期	自花授粉			套袋日期	孤雌生殖		
	每花序小花数/朵	荚果数/个	结实率/%		每花序小花数/朵	荚果数/个	结实率/%
5月6日	25	2	8	5月6日	7	0	0
5月6日	17	0	0	5月6日	12	0	0
5月6日	17	0	0	5月6日	16	0	0
5月6日	17	0	0	5月6日	12	0	0
5月6日	15	0	0	5月6日	17	0	0
5月6日	16	0	0	5月6日	21	0	0
合计107	合计2	平均1.8		合计85	合计0	平均0	

每个荚果小秕粒种子即败育种子数较少, 平均0.41粒, 占总胚珠数的2.27%; 虫蛀及染菌种子也较少, 平均0.3粒, 占总胚珠数的1.72% (表6)。

通过对多花刺槐花期后70 d自然授粉荚果解剖结构调查结果表明, 多花刺槐每个荚果成熟种

子在1粒至6粒, 平均2.5粒, 成熟种子占总胚珠数仅为11.25%; 每个荚果空胚率极高, 平均达87.61%; 每个荚果小秕粒种子即败育种子数极少, 平均0.24粒, 占总胚珠数的1.10%; 尚无虫蛀及染菌种子(表7)。

表6 刺槐荚果解剖结构

Table 6 Pods' anatomical structure of *R. pseudoacacia*

植株	调查荚果/个	胚珠数/个	成熟种子		败育种子		空胚		虫蛀及染菌种子	
			数量/粒	比例/%	数量/粒	比例/%	数量/个	比例/%	数量/粒	比例/%
1	51	18.61	6.58	35.38	0.30	1.61	11.47	61.63	0.25	1.36
2	52	18.06	7.05	39.04	0.34	1.88	0.28	56.92	0.39	2.19
3	62	18.09	9.37	51.80	0.60	3.32	7.83	43.28	0.29	1.60
平均	55	18.25	7.67	42.07	0.41	2.27	9.86	53.94	0.31	1.72

表7 多花刺槐荚果解剖结构

Table 7 Pods' anatomical structure of *R. neo-mexicana* var. *luxurians*

植株	调查荚果/个	胚珠数/个	成熟种子		败育种子		空胚		虫蛀及染菌种子	
			数量/粒	比例/%	数量/粒	比例/%	数量/个	比例/%	数量/粒	比例/%
1	13	22.23	2.69	12.10	0.31	1.44	19.23	86.50	0	0
2	8	22.5	3.50	15.56	0.25	1.11	18.75	83.33	0	0
3	16	22.75	2.69	11.82	0.13	0.57	19.94	87.65	0	0
4	6	23.17	2.67	11.52	0	0	20.50	88.48	0	0
5	2	19	1.00	5.26	0.5	2.63	17.50	92.11	0	0
平均	9	21.93	2.51	11.44	0.24	1.10	19.18	87.46	0	0

讨 论

1 刺槐和多花刺槐开花物候期

开展植物杂交育种工作的前提是有效掌握杂交亲本的开花物候期, 由于刺槐和多花刺槐花期较短、花期不遇且花粉活力低(戴丽等2012; 姜丽娜等2016), 因此研究两者的开花物候期对于刺槐属植物遗传改良工作显得尤其重要。刺槐和多花刺槐在鲁北至鲁中南地区正常年份开花物候期在4月下旬至5月上旬。单株中龄刺槐树从开花始期至开花末期只有6 d时间, 单株幼龄和老龄刺槐树从开花始期至开花末期只有5 d时间, 刺槐单株花期前后相差1~4 d。这与中科院地理研究所的观测资料“刺槐花期短, 9~17 d”基本一致。但是该资料还记载: 长沙和成都刺槐花期可长达21 d及33 d。这不仅是由于个体之间生长势有差异, 还与所处立地条件、气候条件、海拔高度等有差异相关。单株多花刺槐树从开花始期至开花末期有9 d时间, 因为其花期比刺槐更长且花冠颜色紫红亮丽, 所以更适合用于园林绿化及庭院美化。

2 刺槐和多花刺槐雌雄蕊成熟期与人工控制授粉

刺槐单朵小花开放时间(从旗瓣开张至旗瓣枯萎)只有2~3 d, 雌、雄蕊异熟, 雄蕊比雌蕊成熟

期早1 d, 这与孙鹏等(2012)的研究结果“雌雄蕊同熟”不同; 多花刺槐单朵小花开放时间只有3~4 d, 雄蕊比雌蕊成熟期也是早1 d, 所以也属于雌雄蕊异熟。因此当人工授粉杂交育种时, 应该选择合适的雌雄蕊成熟时机, 即在蝶形花旗瓣即将张开或者微微张开雄蕊成熟时采集花药, 在杂交母本旗瓣即将张开且还未张开时完成去雄、授粉等工作, 以免母本自身制造的花粉干扰或者影响杂交研究结果。另外还需尽量选择花期基本一致的父母亲本, 以期提高杂交育种结实率。

3 刺槐和多花刺槐自然授粉和人工授粉结实率研究

刺槐自然授粉是借助风媒传粉和虫媒传粉两种方式, 而刺槐种内和种间人工控制授粉包括去雄、授粉、套袋、去袋等工作。本研究刺槐自然授粉结实率平均为26.02%, 而种内不同无性系之间人工控制授粉结实率平均只有1.7%, 和自花授粉结实率1.8%相当。分析刺槐自然授粉结实率显著高于人工异花授粉的主要原因是没有人为触碰花瓣、雄蕊和雌蕊, 对花器官的自然结构没有损伤, 从而结实率较高。孙鹏等(2012)也发现刺槐杂交结实率非常低(3.56%), 特别是去雄和套袋操作对刺槐的授粉受精和坐果影响严重。本课题组

2014年刺槐种内杂交结实率最高21.28%,结实率最低为0,平均8.47%,主要原因是不同刺槐无性系有性生殖能力差异较大,从而人工授粉结实率差异较大(荀守华等2016)。分析刺槐自然授粉结实率显著高于自花授粉的主要原因是雌雄蕊异熟和自交不亲和。刺槐和多花刺槐种间人工控制授粉结实率平均只有0.21%,而多花刺槐自然授粉结实率更低,平均仅为0.11%,均显著低于刺槐种内杂交平均结实率1.7%,因此得出结论多花刺槐只适宜做杂交父本,除非后期发现或者选育出发生遗传变异能够大量开花结实的多花刺槐。总之,本次研究发现选用刺槐或者多花刺槐作杂交亲本进行人工控制授粉获得杂种几率非常低,杂交授粉工作操作技术要求高,难度大,杂交育种困难很大。因此急需改良人工授粉方法和手段,研制先进的授粉工具,以期提高刺槐杂交育种结实率,为后续的亲子代遗传学研究打好基础。

4 刺槐和多花刺槐种子生长发育期和空胚率研究

由于刺槐花期短,且人工杂交育种结实率特别低,因此科研工作者辛辛苦苦在短短有限的几天杂交得到的荚果数目特别少,如果不及时采摘,很可能发生虫蛀、发霉或者被动物采食;如果采摘过早,又会发生种子尚未发育成熟,影响其萌发成苗,因此研究种子发育成熟期具有重要意义。本研究发现刺槐自胚珠受精至种子生长发育成熟需要80~90 d,而多花刺槐仅需要70~80 d,以期为刺槐杂交育种研究者提供参考。关于刺槐和多花刺槐空胚率研究尚未见报道,本研究发现刺槐每个荚果空胚率很高,平均达53.94%,而多花刺槐每个荚果空胚率极高,平均达87.61%。为什么两者的空胚率如此之高,值得后续研究其发生机制。

参考文献

- Charles EF, Mary WG (1965). Manual of the Trees of North America. New York: Dover Publications, 622–625
- Dai L, Sun P, Jiang JY, Hu RY, Sun YH, Yuan CQ, Li Y (2012). Comparative analysis of pollen germination between different black locusts. *J Northeast For Univ*, 40 (1): 1–5 (in Chinese with English abstract) [戴丽, 孙鹏, 蒋晋豫, 胡瑞阳, 孙宇涵, 袁存权, 李云(2012). 刺槐、红花刺槐、四倍体刺槐花粉体外萌发对比. *东北林业大学学报*, 40 (1): 1–5]
- Gu WC, Wang QY, Zhang YT, Zhou ZH, Liu DA (1991). Genetic differences and selection evaluation of secondary provenance of *Robinia pseudoacacia*. In: Science and Technology Division of Forestry Department (ed). Genetic Improvement on Broad-leaf Trees—Symposium on Selection and Breeding of Main Fast-growing Species with High Yield in the “seventh five-year” National Technology Research and Development Program. Beijing: Scientific and Technical Documents Publishing House, 231–237 (in Chinese with English abstract) [顾万春, 王全元, 张英脱, 周之和, 刘德安(1991). 刺槐次生种源遗传差异及其选择评价. 见: 林业部科技司主编. 阔叶树遗传改良——“七·五”国家科技攻关主要速生丰产树种良种选育文集. 北京: 科学技术文献出版社, 231–237]
- Hao C (2006). Preliminary study on reproduction biological characteristic of Gigas Typy tetraploid black locust (*Robinia pseudoacacia* L.) (Master's thesis). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [郝晨(2006). 饲料型四倍体刺槐生殖生物学特性的初步研究(硕士论文). 北京: 北京林业大学]
- He JY (2008). Studies on the dynamic abortion of embryo and the rescuing techniche of tetraploid *Robinia pseudoacacia* (Master's thesis). Beijing: Beijing Forestry University (in Chinese with English abstract) [贺佳玉(2008). 四倍体刺槐胚胎败育及其挽救技术研究(硕士论文). 北京: 北京林业大学]
- Jiang JZ, Li Y, He JY, Hao C, Wang SQ, Wen FG (2011). Ovule abortion and its mechanism for tetraploid *Robinia pseudoacacia*. *Sci Silv Sin*, 47 (5): 40–45 (in Chinese with English abstract) [姜金仲, 李云, 贺佳玉, 郝晨, 王淑琴, 温富贵(2011). 四倍体刺槐胚珠败育及其机制. *林业科学*, 47 (5): 40–45]
- Jiang LN, Xun SH, Zhang YS, Mao XH, Qiao YL, Dong YF, Sun BY (2016). Morphology and pollination compatibility of the pollen and stigma in *R. neo-mexicana* var. *luxurians*. *Acta Bot Boreal-Occident Sin*, 36 (5): 938–944 (in Chinese with English abstract) [姜丽娜, 荀守华, 张元帅, 毛秀红, 乔玉玲, 董元夫, 孙百友(2016). 多花刺槐花粉与柱头形态及授粉亲和性研究. *西北植物学报*, 36 (5): 938–944]
- Keresztesi B (1993). *Robinia pseudoacacia* L. Wang SJ, Zhang DL translate. Beijing: China Science and Technology Publishing House (in Chinese) [凯莱斯台舍(1993). 刺槐. 王世绩, 张敦伦译. 北京: 中国科学技术出版社]
- Lu N, Dai L, Wu B, Zhang Y, Luo ZJ, Xun SH, Sun YH, Li Y (2015). A preliminary study on the crossability of *Robinia pseudoacacia* L. *Euphytica*, 206 (3): 555–566
- Lü FY, Ou CX, Chen YZ, Qi YS, Lü JC (2000). Trees of Taiwan. Vol. 1. Taiwan, China: Fang Yuan Commercial Photographic Printing Ltd. Co., 200–201 (in Chinese) [吕福原, 欧辰雄, 陈运造, 祁豫生, 吕金诚(2000). 台湾树木图志. 第1卷. 中国台湾: 方圆商业摄影印刷有限公司, 200–201]
- Sun P, Dai L, Hu RY, Xi Y, Li YF, Yuan CQ, Sun Y, Li Y (2012). Flowering characteristics and pollination and mating patterns of *Robinia pseudoacacia*. *J Northeast For Univ*, 40 (1): 6–12 (in Chinese with English abstract) [孙鹏, 戴丽, 胡瑞阳, 刁洋, 李允菲, 袁存权, 孙妍, 李云(2012). 刺槐开花传粉及交配方式. *东北林业大学学报*, 40 (1): 6–12]
- Xi Y, Hu RY, Wang H, Sun P, Yuan CQ, Li YF, Dai L, Li Y (2012). Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature zygotic embryos of Black Locust (*Robinia pseudoacacia*). *Sci Silv Sin*, 48 (1): 60–68 (in Chinese with English abstract) [刁洋,

- 胡瑞阳, 王欢, 孙鹏, 袁存权, 李允菲, 戴丽, 李云(2012). 刺槐未成熟合子胚的体细胞胚胎发生和植株再生. 林业科学, 48 (1): 60–68]
- Xun SH, Qiao YL, Mao XH, Sun BY, Zhang YS, Dong YF, Jiang LN (2016). Biological characteristics on sexual reproduction and selection on hybrid parents of clones from *Robinia pseudoacacia*. J Northeast For Univ, 44 (11): 13–18 (in Chinese with English abstract) [苟守华, 乔玉玲, 毛秀红, 孙百友, 张元帅, 董元夫, 姜丽娜(2016). 刺槐无性系开花结实生殖特性及杂交亲本选配. 东北林业大学学报, 44 (11): 13–18]
- Yuan CQ, Li YF, Wang L, Zhao KQ, Hu RY, Sun P, Sun YH, Li Y, Gu WX, Zhou ZY (2013). Evidence for inbreeding depression in the tree *Robinia pseudoacacia* L. (Fabaceae). Genet Mol Res, 12 (4): 6249–6256

Sexual reproduction characteristic of *Robinia pseudoacacia* and *Robinia neo-mexicana* var. *luxurians*

MAO Xiu-Hong^{1,2}, XUN Shou-Hua^{2,*}, QIAO Yu-Ling², SUN Bai-You³, ZHANG Yuan-Shuai³, DONG Yu-Feng², WEI Xiao⁴, ZHENG Yong-Qi^{1,*}

¹State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding/Key Laboratory of Silviculture of the State Forestry Administration, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China; ²Shandong Provincial Key Laboratory of Forestry Tree Genetic Improvement / Shandong Academy of Forestry, Jinan 250014, China; ³Daqingshan Forest Farm, Fei County, Shandong 273402, China; ⁴Shengda Group, Shengli Oilfield, Dongying, Shandong 257083, China

Abstract: Observation and experiments were performed on blossom phenophase, flower organ morphology, maturing rate of artificial cross-pollination, natural pollination, self-fertilization and parthenogenesis, ovary ovule number and empty embryo rate etc. to accurately grasp the biological characteristics of flowering, fructification and sexual reproduction of *Robinia pseudoacacia* and *R. neo-mexicana* var. *luxurians*, which can lay a foundation for cross breeding. The results were as follows. The blossom phenophase of the two plants was from the end of April to early May in the middle and the southern region of Shandong Province. Early flowering season of *R. pseudoacacia* lasted only 1 d, full-bloom stage sustained 2 d, and at the end of the flowering continued 2–3 d, while early flowering season of *R. neo-mexicana* var. *luxurians* lasted 2 d, full-bloom stage sustained 3 d, and at the end of the flowering was 4 d. The two species were dichogamous. The natural pollination rate of *R. pseudoacacia* was significantly different between individuals with the average maturing rate was 26.02%, whereas the natural pollination seed setting rate of *R. neo-mexicana* var. *luxurians* was extremely low with an average of only 0.11%, therefore it is only suitable for male parent. The manual cross-pollination seed setting rate of *R. pseudoacacia* intraspecific clones and interspecific acacias was only 1.7% and 0.21%, respectively. The maturing rate of self-fertilization and parthenogenesis in *R. pseudoacacia* are 1.8% and 0. There were 18 and 22 ovules on average in each pod of *R. pseudoacacia* and *R. neo-mexicana* var. *luxurians*, respectively. Empty embryo rate of each pod in *R. pseudoacacia* is very high, with an average of 53.94%, while the empty embryo rate of each pod in *R. neo-mexicana* var. *luxurians* is extremely high, with an average of 87.61%; The seeds of *R. pseudoacacia* and *R. neo-mexicana* var. *luxurians* needed 80–90 d and 70–80 d from fertilization of the ovule to maturation, respectively.

Key words: *Robinia pseudoacacia*; *Robinia neo-mexicana* var. *luxurians*; blossom phenophase; cross-pollination; seed setting rate

Received 2017-01-03 Accepted 2017-03-20

This work was supported by the Special Fund Project for the Scientific Research of the Forest Public Welfare Industry (Grant No. 201304116).

*Co-corresponding author (E-mail: xshsdpxz@163.com; zyzq8565@126.com).