

杨树三倍体育种的研究现状

张焕玲, 贾小明, 汪爱兰, 孙军

(西北农林科技大学 林学院, 陕西 杨陵 712100)

摘要: 杨树三倍体培育主要有4种方法:选育天然三倍体;筛选天然未减数的2n花粉人工授粉;四倍体与二倍体杂交;化学物理诱导。选育天然三倍体是比较简单的方法,但可供选择的数量有限。用天然2n花粉杂交获得三倍体,具有偶然性、多变性的特点,且因2n花粉比率较低,利用比较被动,但天然2n花粉活力强,三倍体得率高。四倍体与二倍体杂交获得三倍体的方法具有较强的主动性,但要先得到四倍体,增加了育种难度及年限,在没有可供利用的四倍体的情况下,只能作为一种倍性育种的辅助途径。化学物理诱导获得三倍体具有机动灵活的特点,是一种获得三倍体最有效的途径。杨树三倍体育种要取得突破性进展,必须加强细胞学,尤其是染色体制片技术的研究。

关键词: 杨树三倍体;育种;研究现状

中图分类号: S722.35 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-7461(2004)03-0063-04

Recent Progress on Breeding of Poplar Triploids

ZHANG Huan-ling, JIA Xiao-ming, WANG Ai-lan, SUN Jun

万方数据

(College of Forestry, Northwest Sci-Tech Univ. of Agr. and For., Shaanxi, Yangling 712100, China)

Abstract: Methods for poplar triploid breeding mainly include selecting triploid from natural population, pollinating with 2n pollens, crossing between tetraploid and diploid, and physical and chemical induction. The first method is easier, but the triploids number is very limited in nature. The second method is accidental and changable, but because of higher vitality of natural 2n pollens, the frequency of obtaining triploid is higher. The third is only an auxiliary method, because it must obtain tetraploid first. The fourth method is effective. In order to make surmountable progress in poplar triploid breeding, reaserched on cytology, especially chromosome technigues, must be strengthened.

Key words: poplar triploid; breeding; renent progress

自然界杨树天然三倍体的偶然发现及其超速生性,引起了不少林木育种者的极大兴趣与研究热情。多个超速生人工三倍体的选育成功及投入生产,证明三倍体育种技术日益成熟,并逐渐成为杨树超速生品种选育的一条有效途径。本文对国内外有关杨树三倍体育种方面的研究进行综述,以期推动我国杨树倍性育种工作深入开展。

1 杨树天然三倍体发现及选育历史

在一些杨树种群中存在着天然三倍体,这些天然三倍体的发现推动了杨树倍性育种的开展。发现

有天然三倍体存在的第一个杨树树种是欧洲山杨(*Populus tremula*),是由 Nilsson - Ehle 于 1935 年在瑞典首次发现的^[1],经 Muntzing 镜检,证明其染色体数为 $57(2n = 3x = 57)$,与相同立地条件下的同龄二倍体相比,在树高、胸径和材积生长方面分别超出二倍体相应值的 11%、10% 和 36%^[2]。之后, Johnsson (1940, 1955) 又在瑞典的 20 个地区相继发现有欧洲山杨天然三倍体的存在^[6]。A. C 雅布洛柯夫, Bakulin, Tamm, Smilgn 等分别在原苏联的许多地区发现有生长与抗性均优的欧洲山杨天然三倍体的存在^[3-5]。Saruas 也在芬兰的欧洲山杨天然林中

发现了几个三倍体欧洲山杨无性系^[7]。同时,人们在美洲山杨(*P. deltoides*)、香脂杨天然林分中也发现了三倍体的存在,且存在形式除单株外,有时还以群体或林分形式存在。如 Gurreiro 在葡萄牙发现了香脂杨(*P. balsamifera*)天然三倍体^[8]。美国的 Vam Buijtenen 在对美洲山杨进行的研究中,发现五大湖地区有一片具 10 多个三倍体无性系的林分^[9]。Every 也在其它洲发现了 3 个美洲山杨三倍体^[10]。

我国朱之梯(1992)在对毛白杨基因资源搜集首次发现了 5 株三倍体毛白杨^[11],其中一株(B382)9 年生的材积生长量是对照的 254%,增产效益十分明显。因为这 5 株三倍体分别来自河北、陕西和安徽,三地相距甚远,于是推测我国毛白杨三倍体在各产区存在带有普遍性,毛白杨自然群体在遗传结构上可能是由一定比例的三倍体与二倍体构成的混杂群体。我国毛白杨三倍体的发现,是世界上第四个有天然三倍体检出的杨树树种,是继欧洲山杨、美洲山杨和香脂杨之后,第一次在亚洲发现的白杨三倍体^[12,13],它对我国杨树遗传育种研究和生产应用有着重要的价值。

万方数据

2 杨树人工三倍体的培育现状

杨树天然三倍体的发现,尤其是三倍体巨大的丰产幅度,激发了杨树育种工作者的极大热情,人们开始寻求人工创造三倍体的途径。纵观三倍体的育种史可以发现,人工获得三倍体的途径主要有 3 条,即收集天然未减数的 2n 花粉进行授粉杂交产生;化学物理诱导产生 2n 花粉并用其授粉杂交产生;或者先获得四倍体,再用四倍体和二倍体杂交产生。

2.1 利用天然未减数 2n 花粉授粉产生

1936 年 Muntzing 在确认欧洲山杨为三倍体后,在解释这一结果的成因时,认为天然三倍体是由一个正常的雌配子与一个未减数的 2n 花粉雄配子受精而成。他认为:花粉母细胞不正常的减数分裂可导致 2n 花粉产生,天然花粉中偶尔观察到的大花粉粒,可能就是没有减数的、含 2 套完整染色体组的 2n 花粉^[2]。1954 年 Seitz 则用试验方法证实了三倍体的产生可通过不减数花粉人工授粉获得,他挑选灰杨(*P. canescens*)两性花中体型特大的不减数花粉与同枝雌花授粉,结果获得了 1% 的三倍体^[14,15]。同样,原苏联的 Manzoz 在香脂杨上,通过挑选未减数的 2n 大花粉与雌花授粉,也获得了三倍体^[16]。Larsen 发现黑杨杂种(Heidemf)花序中存在未减数的 2n 花粉,他用这些花粉给美洲黑杨(*P. deltoides*)

授粉得到了一些三倍体植株^[17]。我国的朱之梯等(1995)利用毛白杨天然未减数花粉(将花粉用一定孔径的金属筛过筛,取筛子上的花粉授粉)与毛新杨、银腺杨杂交,最终获得了 20 个生长材质都优的人工三倍体^[11,13,18]。

2.2 三倍体或四倍体与二倍体杂交产生

由于杨树天然产生的 2n 花粉频率很低,不易采集利用,因此在人工三倍体育种中,最初是采用天然三倍体的花粉与二倍体雌株杂交获取三倍体,或先选育出四倍体,等四倍体开花后再与二倍体交配产生三倍体。Nilsson-Ehle(1938)最早用三倍体欧洲山杨与二倍体进行杂交试验,获得了一些三倍体、四倍体和混倍体植株^[19]。Bergstorm 通过类似的方法获得了欧洲山杨四倍体植株^[20]。此外,美国的 Harder 等也用美洲山杨三倍体的未减数花粉给正常二倍体授粉杂交获得了四倍体植株^[21]。这些事实证明,利用三倍体在其不规则的减数分裂中产生的可育 2n 花粉来诱导三倍体或四倍体是可能的,尽管该方法限于三倍体花粉的育性难以产生大量的杂种后代,致使可供选择的余地很小,但毕竟为以后的工作准备了一定的物质条件。20 世纪 60 年代以来,利用该途径开展卓有成效的三倍体育种工作主要在美国和原西德进行。美国的 Einspahr 等将受精的美洲山杨雌花序浸在 0.3% 的秋水仙素溶液中 24 h,一次获得 50 多株四倍体幼苗,创造性地提高了多倍体的诱导频率,待四倍体开花后,用二倍体与四倍体杂交得到了三倍体美洲山杨。此外他还引进了瑞典的四倍体欧洲山杨,使之与美洲二倍体山杨杂交获得了异源人工三倍体山杨,成效显著,为美国杨树纸浆材新品种培育作出了巨大的贡献^[22-25]。原西德的 Weisgerber 等人用欧洲山杨四倍体与美洲山杨二倍体杂交,选育出了人工杂种三倍体“*Astria*”。这一人工三倍体无性系树冠狭窄、适应性强,对光不敏感,比直接从山杨天然群体中选择出来的优树生长快,且抗锈病,已在生产上广泛应用^[26,27]。如今在北欧和美国的有些地区,甚至把育成的四倍体山杨雌株直接栽在优良的山杨林分中自由授粉,每年在四倍体山杨雌株上采种、育苗造林。目前我国还没有发现有毛白杨天然四倍体的存在,也未见到通过人工方法育成四倍体的报道,所以用这条途径获得毛白杨三倍体还是一个空白。根据国外的经验,这条途径培育毛白杨三倍体可能更有效,应该加强研究。

2.3 化学物理诱导

鉴于天然花粉中 $2n$ 花粉比例很小,一些学者进行了人工诱导 $2n$ 花粉的研究工作。其中1937年Blakslee和Avery关于秋水仙素(Colchicine)能抑制细胞分裂中纺锤丝的收缩,使细胞染色体加倍的发现^[13],在技术上为人们提供了染色体加倍的手段,有力地推动了人工 $2n$ 花粉诱导工作的进行。20世纪60~70年代,利用秋水仙素人工加倍以期获得三倍体和四倍体的育种达到高潮^[28-30]。Mattila^[31]、Einspahr^[28]、Zufa^[13]、Winton^[11]等人用秋水仙素诱导、成功的获得欧洲山杨、美洲山杨、或欧洲山杨杂种的三倍体和四倍体。我国张志毅(1993)用0.2%~0.5%的秋水仙素溶液处理发育到一定阶段的毛新杨(*P. tomentosa* × *P. bolleana*)雄花序诱导不减数 $2n$ 花粉也取得了成功。他用这些 $2n$ 花粉人工授粉,最终获得了6株三倍体^[32]。在 $2n$ 花粉诱导方面,Mashkina的研究更具有开创性,她用高温代替秋水仙素诱导,使杨树 $2n$ 花粉得率提高到94%,使由此授粉的三倍体得率提高到了81.7%^[33],为解决三倍体育种中三倍体得率低的问题奠定了基础。

药剂处理花芽诱导 $2n$ 花粉时,除考虑药剂的浓度外,药剂的始处理时期和持续作用时间(处理次数)亦很关键,在减数分裂的终变期之前处理较好。高温处理时温度及处理时期是关键。毛白杨小孢子母细胞的减数分裂过程与花序形态及花药颜色变化有一定的相关关系,在用秋水仙素溶液进行 $2n$ 花粉诱导时,可根据花枝的水培时间、花芽形态和花药颜色变化对减数分裂始处理时期进行估测。一般在水培40h左右,花序出露 $1/4$,花药由淡绿转为绿黄色且未变红前处理,基本能使处理时期控制在终变期之前,可取得较好的效果。对处理的持续或终止时间的预测,则可根据处理一定时间的花芽中染色体集聚成团状的细胞比率来确定,一般当这种细胞比率为80%~90%时,最终可取得65%~85%的 $2n$ 花粉。秋水仙素处理存在一个药剂的渗透过程,而高温处理时热量传导快,可直接发挥作用,所以高温处理时期应晚于秋水仙素化学处理的时期,以终变期到中期I左右处理最佳,在38℃下,最高可以取得87.6%的 $2n$ 花粉。此外,在提高三倍体得率有效性上,康向阳提出可根据花粉倍性对辐射的敏感性差异,通过施加一定剂量的 γ 射线辐射来刺激 $2n$ 花粉发育,同时抑制或杀死部分 $1n$ 花粉来达到,有效处理剂量为1500~2500 R^[18,34]。

3 结论与建议

从杨树自然群体中选育天然三倍体是比较简单的方法,但前提条件是自然群体中必须有三倍体存在,而且得有一定的数量可供选择。此外必须得找到一种简便易行的鉴定三倍体的方法。三倍体大树与二倍体很难从表型上区分,最可靠的方法是直接检查染色体,由于杨树染色体数量多、体积小,常规染色体制片很难记数,所以必须加强杨树染色体制片技术的研究,找到一种适合杨树的制片方法,得到分散很开、较清晰的染色体切片。这一问题的解决,对杨树三倍体的鉴定,乃至整个三倍体育种工作具有重要的实用价值。

利用天然 $2n$ 花粉杂交获得三倍体,因 $2n$ 花粉的产生往往受树种自身遗传因素和外部环境的双重影响,具有偶然性、多变性,且因 $2n$ 花粉比率很低,所以利用比较被动。但由于天然 $2n$ 花粉同人工加倍 $2n$ 花粉相比,具有生命力强、在相同比例下其三倍体得率较高的优势,所以当有足够的天然 $2n$ 花粉可供利用时,效果还是比较理想的^[17,18,28],其技术关键为找到一种 $1n$ 花粉与 $2n$ 花粉的简便分离方法。

四倍体与二倍体杂交获得三倍体的方法具有较强的主动性,但要先得到四倍体,育种年限至少增加了1倍,而且四倍体的培育本身就是一个技术性很强的工作,所以除非有天然四倍体可供利用,否则该方法只能作为一种倍性育种的辅助途径。

化学物理诱导获得三倍体具有机动灵活的特点,但其成功与否往往受树种自身遗传条件、花枝培养条件、诱变剂的处理条件、施加诱变剂时的配子发育状况以及获得 $2n$ 配子后与异性配子的配合情况等诸多可控与不可控因素的影响,技术要求高,难度相对更大^[18,28,32,34]。但只要克服了以上问题,这条途径无疑是一种获得三倍体最有效的途径。

无论从那种途径获得三倍体,都要选择适宜的育种材料,对倍性育种而言,选择适宜的育种材料,必须在相关的细胞遗传学规律指导下完成。杨树三倍体育种要取得突破性进展,首先必须攻克染色体制片技术的难关,只有这样才能有效的揭示相关的细胞遗传学规律,再结合多种途径开展选育工作。

参考文献:

- [1] Nilsson-Ehle H. Note regarding the gigas form of *Populus tremula* found in nature[J]. Hereditas, 1936, 21: 372-382.
- [2] Muntzing A. The chromosomes og a giant *Populus tremula*[J].

- Hereditas, 1936, 21: 383-389.
- [3] Bakukin V T. A triploid clone of Aspen in the forests of the Novosibirsk region[J]. Gemetika, 1966, (11): 56-68.
- [4] Smilga F, Jeruekilga I. Triploid Aspen in Latvian SSR[J]. Jau-nakais Mezsaimnieciba, 1978, 20: 23-32.
- [5] Tamm Yu A, Yarvekyul L Ya. Results of searches for triploid Aspen in Estonia[J]. Lesovedenid. 1975, (6): 19-26.
- [6] Johnsson H. Cytological studies of driplod and triploid *Populus tremula* and of crosses between them[J]. Hereditas, 1940, 26: 321-325.
- [7] Nilsson - Ehle H. Production of forest trees with increased chromo-some number and increased timber yield[J]. Svensk Papp Tidn. 1938, (2): 5.
- [8] Gurreiro M Gomes. The silvicultural improvement of *Populus*, publ. Serv. flor. aquic[J]. Portugal. 1944, 11(1/2): 53-117.
- [9] Buijitenen J P, Van, Joranson P N, Einspahr D W. Naturally oc-curring triploid Quaking Aspen in the United States[M]. Proe. Soc. Amer. For. . 1957, 62-64.
- [10] Every A D, Wiens D. Triploidy in Utah Aspen[J]. Madrono. 1971, 21(3): 138-147.
- [11] 朱之梯, 康向阳, 张志毅. 毛白杨天然三倍体选种研究[J]. 林业科学, 1998, 34(4): 22-30.
- [12] 姚春丽, 蒲俊文. 三倍体毛白杨化学组分纤维形态及制浆性能的研究[J]. 北京林业大学学报, 1998, 20(5): 18-20.
- [13] 朱之梯, 林惠斌, 康向阳. 毛白杨异源三倍体 B301 等无性系选育的研究[J]. 林业科学, 1995, 31(6): 499-505.
- [14] Seitz F W. Results of selfing and crossing using pollen of the dillingen ardrogynous Grey Poplar[J]. Abstr. In Z. Forstgenet. 1954, 3(6): 141.
- [15] Seitz F W. The occurrence of triploids after self-pollination of a-nomalous and rognynous floueers of a Grey Poplar[J]. Z. Forst-genet, 1954, 3(1): 1-6.
- [16] Manshkina O S, Pozdnjakov L K. A triploid form of *Larix gmelini* in Central[J]. Yakutia. Dokl. Akad. Nauk, SSSR. , 1960, 130(2): 437-439.
- [17] 南京林产工程学院. 林木遗传育种科学[M]. 北京: 科学出版社, 1980.
- [18] 康向阳. 毛白杨细胞遗传学与三倍体选育的研究[D]. 北京: 北京林业大学博士论文, 1996.
- [19] Nilsson-Ehle H. The giant Aspen. The recent Swedish discovery in forest improvenent [J]. Nord. Familjeboks Manadslrnrika. 1938, 1(2): 6.
- [20] Bergstrom I. On the progeny of diploid x triploid *Populus tremula* with special reference to the occurrence of tetraploid[J]. Heredi-tas. 1940, (26): 191-201.
- [21] Harder M L, Verhafen S, Winton L, Einspahr D W. Tetraploid Aspen production using unreduced pollen from triploid males[J]. For. Sci. , 1976, 22(3): 329-330.
- [22] Einspahr D W, Wyckoff G W. Aspen hybrids promise future source of Lake states fiber[J]. Pulp and Paper, 1975, 49(12): 118-119.
- [23] Einspahr D W. Colohicine treatment of newly fromed embryos of Quaking Aspen[J]. For. Sci. , 1965, 11(4): 456-459.
- [24] Einspahr D W, Benson M K, Harder M L. Within-tree variation specific gravity of young Quaking Aspon[J]. Genetics and Physi-ology Notes, Institute of Paper Chmistry, 1972(13): 8.
- [25] Einspahr D W. Production and utillzation of triploid hybrid Asp-en Iowa State[J]. Journal of Research, 1984, 58(4): 401-409.
- [26] 张杰. 毛白杨的起源、分类与分布研究概述[A]. 见中国林科院林科所育种二室编著, 杨树遗传改良[C]. 北京: 北京农业大学出版社, 1991. 274-281.
- [27] Weisgerber H, Rau H M, et al. 25 years of forest tree breeding in Hessen[J]. Allgemeing-forstzeitschrift. 1980(26): 285-289.
- [28] W. H. 路易斯主编, 鲍文奎等译. 多倍体在植物和动物中的地位[M]. 贵阳: 贵州人民出版社, 1984.
- [29] Л. А. 巴拉诺夫. 多倍体问题(现状及其问题)[J]. 植物学报, 1959, 8(1): 51-57.
- [30] 裴新澍. 多倍体诱导与育种[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1963.
- [31] Mattila R E. On the production of the tetraploid hybrid Aspen by colchicine treatment[J], Hereditas, 1961, 47(3/4): 631-640.
- [32] 张志毅, 李凤兰. 白杨染色体加倍技术研究及三倍体育种(I)——花粉染色体加倍技术[J]. 北京林业大学学报, 1992, 14(增3): 15-18.
- [33] Mashkina O S, Burdaeva L M, Belozeroval, et al. Method of ob-taining diploid pollen of woody species[J]. Lesovedenie, 1989, (1): 19-25.
- [34] 康向阳, 朱之梯, 林惠斌. 杨树花粉染色体加倍有效处理时期研究[J]. 林业科学, 1999, 35(4) 23-24.