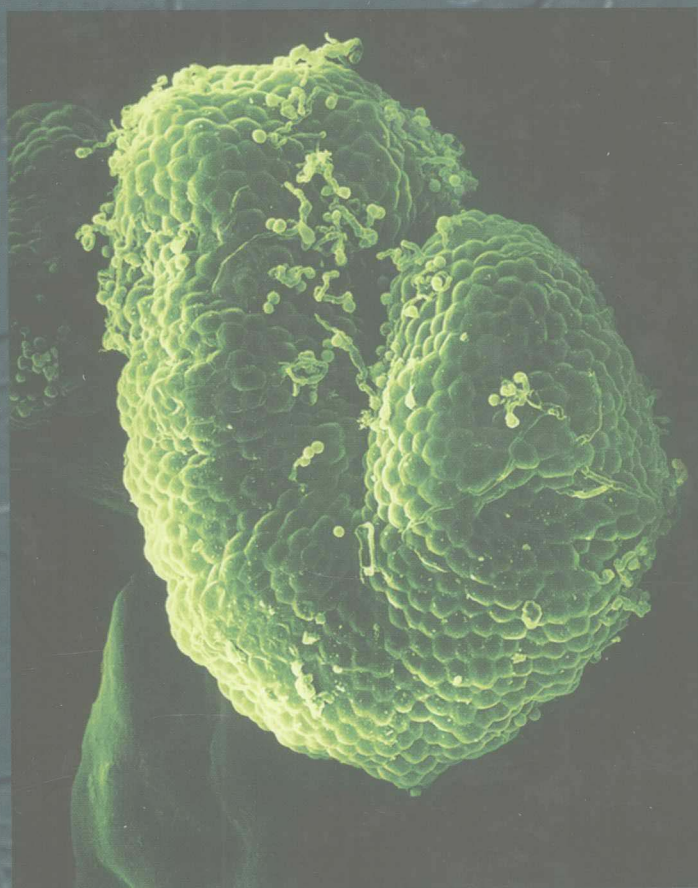


木本植物有性杂交 生殖生物学图谱

Reproductive Biology of Sexual
Hybridization in Woody Plants: an Atlas

李文钊 马丰山 编著



科学出版社

木本植物有性杂交生殖生物学图谱

Reproductive Biology of Sexual Hybridization in Woody Plants: an Atlas

李文钊 马丰山 编著



中国林业科学研究院
森林生态环境与保护研究所
资助出版

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书含 80 个图版, 其中彩版 35 版, 700 多幅照片。全书共三篇。第一篇, 杨树杂交胚胎学: 杂交亲本种子发育的规律; 组间和属间有性杂交发育的过程; 杂交成功的证明和杂交失败的障碍。第二篇, 杉木远缘杂交有性生殖生物学: 用软 X 射线检测和分子生物学技术证明了杉木与柳杉属间杂交的可配性; 从胚胎学角度, 揭示了杉木与侧柏科间杂交的不可配性。第三篇, 用细胞生物学技术克服杂交障碍: 用胚珠离体培养克服杨属组间和属间杂交中胚的败育, 获得了杂种苗; 为克服受精作用不能发生而探索雌、雄配子体外受精技术, 获得了杨、榆、松、杉等分离的雌、雄配子。

本书可供植物生殖生物学家、树木育种学家、大学生物学专业和林学专业学生以及相关人士参考。

图书在版编目(CIP)数据

木本植物有性杂交生殖生物学图谱 = Reproductive Biology of Sexual Hybridization in Woody Plants: an Atlas/李文钿, 马丰山编著. —北京: 科学出版社, 2011

ISBN 978-7-03-030472-8

I. 木… II. ①李… ②马… III. ①木本植物-有性杂交-繁殖-图谱 IV. ①Q949.403-64

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 037068 号

责任编辑: 张会格 李晶晶/责任校对: 宋玲玲

责任印制: 钱玉芬/封面设计: 耕者设计工作室

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

<http://www.sciencep.com>

北京天时彩色印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2011 年 3 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

2011 年 3 月第一次印刷 印张: 11 1/4

印数: 1—1 000 字数: 239 000

定价: 80.00 元

(如有印装质量问题, 我社负责调换)

中文版前言

自 2006 年我们的 *Reproductive Biology of Sexual Hybridization in Woody Plants: an Atlas* (《木本植物有性杂交生殖生物学图谱》英文版) 出版以来, 同行们鼓励有加, 不少国内同行建议出版中文版, 以更好地服务于中文读者。于是我们决定以英文版为蓝本写作中文版, 但本书并不完全是从英文版照译过来的。

如今是科学发展日新月异的时代, 植物有性杂交生殖生物学也不例外, 它也跟着时代的步伐前进。英文版出版四年来, 这个领域有了一些新进展, 应该补充到中文版中。同时, 我们发现原书有些不足和疏漏之处, 也应该在中文版里做一些修改和补充。

在写作本书时, 我们的具体做法是: 保留了英文版中的全部 80 个图版, 因为它们 是图谱中的核心部分; 订正了英文版文字部分的错漏和误排; 增述了近几年来的一些新进展。另外, 除了增加本篇前言外, 还增加了导言和后记。书末附加了索引, 以便于读者查阅。最后, 装订也做了一些变动: 将文字部分和图版部分各自集中, 以降低出版成本和书价。

在本书即将出版之时, 我衷心感谢中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所领导们对我的关怀和鼓励, 正是由于他们的经费支持, 本书才得以出版。

李文钊

2010 年 7 月于北京

英文版前言 (译)

人工有性杂交是杨属 (*Populus*) 育种最重要的手段。在过去的几十年中, 人们已经靠这种方法获得了无数的杂种杨树, 其中许多显示了所期望的林学/生态学性状。但是, 人们对一些深层的奥秘却知之甚少。最常提出的一些问题是: 杂交亲本种子发育的普遍模式是什么? 从胚胎学的角度看, 对于杂交组合的成功, 我们懂得多少? 更重要的是, 失败的杂交组合的障碍是什么? 又该怎样去克服这些障碍? 自 20 世纪 80 年代初以来, 我们开展了杨树杂交胚胎学的研究。用杨属 5 组 (section) 中有代表性的种 (species) 进行了多个组间杂交 (intersectional cross) 试验。结果表明, 尽管障碍可能发生于杂交进程中的任何时期, 而胚的败育是一个普遍的障碍。为了克服这个障碍, 我们采用胚珠离体培养技术, 成功地挽救了杂种胚的败育, 从而获得了小叶杨 (*P. simonii*) $\times$ 美杨 (*P. pyramidalis*)、小叶杨 (*P. simonii*) $\times$ 大叶杨 (*P. lasiocarpa*) 和小叶杨 (*P. simonii*) $\times$ 胡杨 (*P. euphratica*) 等杂种植株。此外, 我们还研究了杨柳科的一个属间杂交——小叶杨 (*P. simonii*) $\times$ 旱柳 (*Salix matsudana*), 发现少数胚珠确实发生了受精作用, 而胚的大量败育则是造成只能得到极少数杂种种子的原因。

之后, 我们将研究范围扩展到了松杉类远缘杂交生殖生物学。杉木 (*Cunninghamia lanceolata*) 是广泛分布于我国中部和南部的重要造林树种。20 世纪 50 年代末期, 叶培忠教授曾报道杉木 $\times$ 柳杉 (*Cryptomeria fortunei*) 和杉木 $\times$ 侧柏 (*Platycladus orientalis*) 两者均获成功。前者为属间杂交, 而后者为科间杂交。然而这个远缘杂交结果却引起了科学家们的质疑。为解答这个质疑, 我们重复了这两组杂交试验。利用软 X 射线图像分析技术, 证实由杉木 $\times$ 柳杉获得的少数杂种种子里, 的确含有发育完全的胚, 而且能够萌发, 形成幼苗。同时, 对杂种苗进行的 PCR 和 RFLP 分析也确认了杉木 $\times$ 柳杉的杂种性质。相反, 杉木 $\times$ 侧柏的胚胎学研究表明, 尽管有疑似的受精作用, 但未能得到成熟的种子。

长期以来, 实现离体受精一直是植物生物学家们的梦想。1991 年, Kranz 等首次报道用分离的单个玉米配子进行离体受精获得成功。这个结果鼓舞我们按照这一“细胞—细胞”技术路线来探讨远缘杂交受精失败的问题。我们从杨属和松杉类一些树种的雄配子和雌配子的分离着手, 获得了活的精子和一些雌性成分 (胚囊、卵器甚至单个的卵)。用聚乙二醇 (polyethylene glycol) 为介质进行的融合实验显示, 雄配子和雌配子相互附着, 但尚未实现精卵完全融合。我们相信, 沿此方向深入探索, 肯定会进一步拓展杂交胚胎学的领域, 为树木远缘杂交开辟一条新路。

本书用图片的形式概括了我们过去 20 多年的研究成果。研究过程中, 拍摄了许多照片, 为了写这本书, 我们从中选出了 700 余幅, 集成 80 个图版 (其中 35 版为彩版)。有些照片从未在其他地方发表过。这些资料描述了人工有性杂交的过程、杂交障碍的秘、克服杂种胚败育的胚珠离体培养技术以及分离雌配子和雄配子的操作。这是一本关

于木本植物有性生殖生物学基础和树木育种实验生物技术学的图谱。我们希望本书对植物胚胎学家和树木育种学家有所裨益。此外，它也可以作为植物生物学和林学高年级学生的参考书。

科学正以空前的步伐前进。毛果杨 (*Populus trichocarpa*) 的基因组测序最近已经完成，火炬松 (*Pinus taeda*) 的基因组计划也正在顺利进行之中。这两个树种在经济上和生态上都非常重要，它们同时又是非常好的模式植物，一个代表被子植物，另一个代表裸子植物。有了这些基因组信息资源，我们就有了崭新的机会去研究有性杂交时种间相互作用的分子生物学和遗传学机理。这些机会提供了一个平台，使我们有可能在分子和遗传调控的背景下展示本书所记录的胚胎学和细胞学事件。这方面的新发现必将极大地提高我们对那些亲和组合的识别过程的认识；同样，在破解杂交障碍机制的探索中也可望有突破性的进展。这些领域都将是未来多年的兴趣所在。

李文钊

2005 年 7 月于北京

致 谢

我深深地感谢北京大学李正理教授和胡适宜教授以及《植物学报》原特约英文编辑沈淑瑾教授。他们细心地阅读了本书原英文版（2006 年）手稿，提出了非常宝贵的意见并加以审定。我要对我以前的学生朱彤博士¹、徐涵博士²、马丰山博士³和成小飞博士⁴，以及曾在我实验室工作的同事奇文清博士⁵和李江山先生致以深切的谢意。他们参加了课题研究并获得了优异的成绩。他们成果的一部分，已收录于本书中。使我感到非常高兴的是，多年来能和他们这些努力向上的年轻人在一起进行积极的研究，为写作这本书累积了素材。我尤其感谢马丰山博士为手稿提供的意见和所做的校订，几年来我们对本书的内容进行了反复的讨论和推敲，度过了愉快的时光。蒋君娥女士制作了许多精美的显微切片，徐炳文女士提供了电子显微技术支持，李蕊女士协助进行图像处理，李鹏先生和张培义先生拍摄了优美的外形照片。我对他们致以衷心的感谢。我永远不会忘记科学出版社的庞在堂先生。庞先生是原英文版的责任编辑，曾给予我耐心和热情的帮助。本来，我们相约 2008 年再度合作出版中文版。不料，就在英文版面世不久，竟传来了庞先生因病英年早逝的噩耗！在此谨致以深切的悼念。

李文钊

2010 年 8 月于北京

现工作单位：

¹ Tong Zhu, Syngenta Research and Technology, San Diego, California

² Han Xu, IRIT-ARI, Toulouse

³ Fengshan Ma, Wilfrid Laurier University, Waterloo, Ontario

⁴ Xiaofei Cheng, Molecular and Biological Materials Core Facility, Samuel Roberts Noble Foundation, Ardmore, Oklahoma

⁵ Wenqing Qi, The University of Arizona, Tucson, Arizona

目 录

中文版前言	
英文版前言 (译)	
致谢	
导言	1

第一篇 杨树杂交胚胎学

1 性器官的发育	15
1.1 花和花序	15
1.2 花部形态	15
1.3 花粉的发育	16
1.3.1 花药	16
1.3.2 小孢子发生	17
1.3.3 营养细胞和生殖细胞的形成	17
1.4 胚囊的发育	18
1.4.1 大孢子发生	18
1.4.2 雌配子发生	18
1.5 小结	19
参考文献	19
2 分泌型柱头	21
2.1 光镜显微术和细胞化学	21
2.1.1 整装制片	21
2.1.2 石蜡切片和树脂半薄切片	22
2.2 扫描电镜术	22
2.3 透射电镜术	22
2.3.1 “典型湿型”柱头的特征	22
2.3.2 “典型干型”柱头的特征	23
2.4 大叶杨柱头细胞 ATP 酶的活性	23
2.5 小结	23
参考文献	23
3 花粉-柱头相互作用	25
3.1 萌发的花粉粒及其壁雕纹	26
3.2 花粉管在柱头上的行为	26

3.2.1	同种交配	27
3.2.2	组间杂交	27
3.3	讨论和小结	28
	参考文献	28
4	前配子阶段	30
4.1	同种交配	30
4.1.1	小叶杨×小叶杨	30
4.1.2	胡杨×胡杨	31
4.2	组间杂交	31
4.2.1	以小叶杨(青杨组)为母本	31
4.2.2	以胡杨(胡杨组)为母本	32
4.2.3	以银白杨(白杨组)为母本	32
4.3	属间杂交:小叶杨×旱柳	33
4.3.1	小叶杨和旱柳雌蕊和花粉粒的形态特征	33
4.3.2	花粉管在柱头、花柱和子房腔中的行为	33
4.4	小结	34
	参考文献	34
5	双受精作用	36
5.1	同种交配	36
5.1.1	小叶杨×小叶杨	36
5.1.2	胡杨×胡杨	36
5.2	组间杂交	37
5.2.1	小叶杨(青杨组)作为母本	37
5.2.2	胡杨(胡杨组)作为母本	38
5.2.3	银白杨(白杨组)作为母本	38
5.3	属间杂交:小叶杨×旱柳	39
5.4	小结	39
	参考文献	39
6	胚乳和胚的发育	41
6.1	同种交配	41
6.1.1	小叶杨×小叶杨	41
6.1.2	胡杨×胡杨	42
6.2	组间杂交	43
6.2.1	小叶杨×美杨	43
6.2.2	小叶杨×胡杨	43
6.2.3	以银白杨为母本	43
6.3	属间杂交:小叶杨×旱柳	44
6.4	小结	44

参考文献	44
------------	----

第二篇 杉木远缘杂交有性生殖生物学

7 杉木与柳杉的属间杂交	49
7.1 人工授粉和杂种种子的产生	49
7.2 杂种种子的软 X 射线检测	49
7.3 种子萌发和杂种幼苗	50
7.4 PCR 和 RFLP 分析	50
7.5 小结	52
参考文献	52
8 杉木与侧柏的科间杂交	53
8.1 人工授粉和样品制备	53
8.2 花粉萌发和花粉管生长	53
8.3 受精作用和受精后动态	53
8.4 小结	54
参考文献	54

第三篇 用细胞生物学技术克服杂交障碍

9 杨树胚珠离体培养	57
9.1 胡杨的胚珠离体培养	57
9.1.1 不定芽和不定枝的诱导	57
9.1.2 不定根的诱导	58
9.2 组间杂交的胚珠离体培养	58
9.2.1 胚珠发育时期的影响	58
9.2.2 植物生长调节物质浓度的效应	59
9.2.3 不定芽和丛枝的解剖	59
9.2.4 从插枝诱导生根	59
9.3 属间杂交: 小叶杨×旱柳	59
9.4 小结	59
参考文献	60
10 生活配子的分离: 向着离体受精的目标探索	62
10.1 被子植物	62
10.1.1 生活精子的分离	62
10.1.2 胚囊及其组分的分离	65
10.2 裸子植物	67

10.2.1 配子的分离	67
10.2.2 配子融合的试验	68
10.3 小结	69
参考文献	69
索引	73
图版中的名词缩写	76
图版	79
后记	159

图版目录

图版 1	杨属的花和花序	79
图版 2	小叶杨花粉的发育	80
图版 3	胡杨花粉的发育	81
图版 4	胡杨小孢子发生过程中胼胝质的变化和乌氏体	82
图版 5	小叶杨胚囊的发育	83
图版 6	胡杨的大孢子发生	84
图版 7	胡杨大孢子发生过程中胼胝质的沉积	85
图版 8	胡杨胚囊的发育	86
图版 9	柱头分泌物的细胞化学反应: 胡杨	87
图版 10	柱头分泌物的细胞化学反应: 银白杨	88
图版 11	柱头分泌物的细胞化学反应: 小叶杨和大叶杨	89
图版 12	柱头分泌物的细胞化学反应: 欧洲黑杨	90
图版 13	柱头分泌物的 SEM 观察: 胡杨	91
图版 14	柱头分泌物的 SEM 观察: 银白杨和小叶杨	92
图版 15	柱头分泌物的 SEM 观察: 大叶杨和欧洲黑杨	93
图版 16	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 胡杨 (1)	94
图版 17	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 胡杨 (2)	95
图版 18	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 银白杨 (1)	96
图版 19	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 银白杨 (2)	97
图版 20	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 小叶杨	98
图版 21	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 大叶杨	99
图版 22	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 欧洲黑杨 (1)	100
图版 23	柱头细胞的超微结构及其分泌物: 欧洲黑杨 (2)	101
图版 24	大叶杨柱头 ATP 酶活性的超微结构定位 (1)	102
图版 25	大叶杨柱头 ATP 酶活性的超微结构定位 (2)	103
图版 26	杨属萌发的花粉粒及其外壁雕纹	104
图版 27	花粉管在柱头上的行为——以小叶杨 (青杨组) 为母本的组间杂交	105
图版 28	花粉管在柱头上的行为——以欧洲黑杨 (黑杨组) 为母本的组间杂交	106
图版 29	花粉管在柱头上的行为——以银白杨 (白杨组) 为母本的组间杂交	107
图版 30	花粉管在柱头上的行为——以大叶杨 (大叶杨组) 为母本的组间杂交	108
图版 31	花粉管在柱头上的行为——以胡杨 (胡杨组) 为母本的组间杂交	109
图版 32	小叶杨: 前配子阶段	110
图版 33	胡杨: 花粉管进入胚珠	111
图版 34	小叶杨×美杨: 前配子阶段	112
图版 35	小叶杨×胡杨: 前配子阶段	113

图版 36	胡杨×小叶杨：前配子阶段	114
图版 37	胡杨×小叶杨：花粉管的生长和 MGU 的形成	115
图版 38	以银白杨为母本的杨属组间杂交：前配子阶段	116
图版 39	小叶杨与旱柳的属间杂交：前配子阶段	117
图版 40	小叶杨的双受精作用	118
图版 41	胡杨的双受精作用：精卵融合	119
图版 42	胡杨的双受精作用：三核融合	120
图版 43	小叶杨（青杨组）× 美杨（黑杨组）的双受精作用	121
图版 44	小叶杨（青杨组）× 胡杨（胡杨组）的双受精作用	122
图版 45	胡杨（胡杨组）× 小叶杨（青杨组）的受精失败	123
图版 46	以银白杨（白杨组）为母本的组间杂交的受精作用和胚胎发育	124
图版 47	小叶杨（杨属）× 旱柳（柳属）属间杂交的受精作用和胚胎发育	125
图版 48	小叶杨胚乳和胚的发育	126
图版 49	胡杨胚乳和胚的发育	127
图版 50	小叶杨×美杨组间杂交：胚乳和胚的发育	128
图版 51	小叶杨×胡杨组间杂交：胚乳和胚的发育	129
图版 52	杉木与柳杉的属间杂交	130
图版 53	杉木与侧柏的科间杂交	131
图版 54	实验胚胎学在树木育种中的应用	132
图版 55	胡杨不定芽的发生	133
图版 56	胡杨不定枝和不定根的发生	134
图版 57	胡杨的再生植株	135
图版 58	胡杨种子萌发形成幼苗	136
图版 59	胡杨不定芽的解剖构造	137
图版 60	胡杨不定芽的发生	138
图版 61	小叶杨×美杨胚珠离体培养不定芽的诱导	139
图版 62	小叶杨×美杨的胚珠离体培养：不定芽的发生和再生植株的形成	140
图版 63	小叶杨×胡杨和小叶杨×大叶杨的胚珠离体培养	141
图版 64	小叶杨×旱柳的胚珠离体培养和种子萌发	142
图版 65	小叶杨×旱柳的胚珠离体培养	143
图版 66	白榆生活精细胞的发育	144
图版 67	pH 对胡杨花粉管生长的效应	145
图版 68	胡杨生活精细胞的发育和分离（1）	146
图版 69	胡杨生活精细胞的发育和分离（2）	147
图版 70	牡丹生活精细胞的发育和分离	148
图版 71	小叶杨生活精细胞的发育和分离	149
图版 72	胡杨固定胚珠的酶法分离	150
图版 73	胚珠、胚囊和卵器的分离：胡杨、小叶杨和白榆	151
图版 74	银白杨胚囊的酶解分离	152
图版 75	松属生活配子的分离	153

图版 76	松属卵细胞的细胞化学反应	154
图版 77	松属分离卵细胞的超微结构	155
图版 78	杉木生活卵细胞的分离和融合	156
图版 79	杉木生活精细胞的分离以及精卵细胞的融合	157
图版 80	侧柏生活雄配子和雌性成分的分离和融合	158

导 言

20 世纪 60 年代以来,传统的植物胚胎学与细胞生物学和现代生物技术相结合,逐渐发展成为植物有性生殖生物学。但是,国内外在该领域的研究工作侧重于草本植物,对木本植物的研究很少,尤其是对木本植物有性杂交生殖生物学的专题研究更少。我长期在林业高等院校和研究机构工作,深知植物学基础学科结合林学专业实际的必要性和重要性。于是,我们在 1980 年开始了“杨树杂交胚胎学的研究”,并紧跟国际潮流,从传统植物胚胎学转轨,进入“杨树远缘杂交不亲和性和控制受精的研究”,再而扩展至“杉木远缘杂交有性生殖生物学的研究”,最后迈入了“林木体外受精的研究”之门。科学的发展在于不断探索,不断创新;经过 20 多年的努力,我们开辟了一条多学科、多方位和多层次的综合研究木本植物有性杂交生殖生物学的途径。这期间,我们的系列课题先后 7 次获得国家自然科学基金资助,取得了一些可喜的成果;又在国家自然科学基金研究专著出版基金的资助下,于 2006 年出版了 *Reproductive Biology of Sexual Hybridization in Woody Plants: an Atlas* (《木本植物有性杂交生殖生物学图谱》英文版)。现在这个中文版是由原英文版修订增补而来的。为帮助读者更好地使用本书,特地写了这篇导言。

全书分为三篇,共 10 章。每章都有大量的图片资料,共计有 700 多幅图片,绝大多数是显微照片,包括许多扫描电镜和透射电镜照片,排成图版 80 个,其中黑白图版 45 个,彩色图版 35 个。第一篇为杨树杂交胚胎学:阐述了杂交亲本种子发育的一般规律;提供了杂交亲和组合的胚胎学证明;揭示了杂交困难组合的杂交障碍。第二篇为杉木远缘杂交有性生殖生物学:根据植物胚胎学、软 X 射线图像分析和分子生物学技术分析(PCR 和 RFLP),肯定了杉木与柳杉属间杂交的可配性;确认了杉木与侧柏科间杂交的不可配性。第三篇为用细胞生物学技术克服杂交障碍:针对杨树杂种胚败育,采用胚珠离体培养技术;针对受精失败,进行了离体受精的探索。书中图文相映,从不同角度和深度全面地展示了木本植物有性杂交的生殖生物学过程中的细胞/组织/器官的三维形象。

第一篇 杨树杂交胚胎学(第 1~6 章)

20 世纪初叶, Henry (1914) 在英国伦敦皇家植物园开始了杨树的人工杂交育种,用棱枝杨(*Populus angulata*) $\times$ 毛果杨(*P. trichocarpa*)育成了第一个人工杨树杂种格氏杨(*P. \times generosa* Henry)。在德国, von Wettstein-Westersheim (1933a, 1933b) 用切枝水培法进行了大量的杨树杂交试验,并编制了杨树种间杂交的可配性表。在我国,杨树育种起步较晚。1946~1947 年,叶培忠在甘肃天水开始了杨树杂交育种,获得了河北杨(*P. hopeiensis*) $\times$ 山杨(*P. davidiana*)与河北杨 $\times$ 毛白杨(*P. tomentosa*)的杂

种(叶培忠 1955)。50 年代,徐纬英用美杨(*P. pyramidalis*)×青杨(*P. cathayana*)育成了北京杨(*P. ×pekinensis*),用小叶杨(*P. simonii*)×美杨育成了合作杨(*P. ×opera*) (徐纬英 1988);60 年代,黄东森用小叶杨×欧洲黑杨(*P. nigra*)育成了小黑杨(*P. ×xiaohai*) (黄东森和佟永昌 1991)。胡杨(*P. euphratica*)是一个公认的杂交比较困难的树种,但董天慈于 1964 年成功地获得了小叶杨×胡杨的杂种(董天慈 1980)。

从世界各地进行的大量人工杂交的实践经验来看,在杨属 5 组中,黑杨组(Sect. *Aigeiros*)和青杨组(Sect. *Tacamahaca*)杂交容易成功;以白杨组(Sect. *Leuce*)为母本,杂交困难;大叶杨组(Sect. *Leuroides*)只和黑杨组杂交可以成功,和其他各组杂交都困难;以胡杨组(Sect. *Turanga*)为母本从未成功(Hyun and Hong 1959;徐纬英 1988;Willing and Pryor 1976;Stanton and Villar 1996)。可是杂交育种的实践经验只告诉人们应当怎样选配杂交亲本才可望得到生命力强的杂种后代,而没有解释杂交成功或失败的原因,是所谓“知其然而不知其所以然”。为了解答“所以然”,人们逐渐意识到杨树杂交胚胎学研究的必要性和重要性。

20 世纪 60 年代, von Melchior 和 Seitz (1968) 在“杨属黑杨组种间杂交的不育性”一文中报道:在欧洲黑杨(*P. nigra*)×美洲黑杨(*P. deltoides*)的杂交中,美洲黑杨的花粉可以在欧洲黑杨的柱头上萌发,并且花粉管可以伸入珠孔,但杂交没有成功,而只在虚空的胚囊里见有死亡的合子和早期胚的残迹。因此,不育性的机制是在雌、雄配子融合之后发生的。

20 世纪 70 年代, Knox 和他的合作者们(1972a)提出了“识别物质”(recognition substance)的概念。简言之,在亲和杂交中,当花粉粒与柱头接触时,花粉内壁释放出的蛋白质(即“识别物质”)迅速扩散至柱头表面,花粉和柱头得以相互识别,于是花粉管穿入柱头;而在不亲和的杂交中则无此反应。他们还据此设计了一种克服杂交不亲和的方法(Knox *et al.* 1972b),即把亲和的花粉用 γ 射线灭活,作为“识别花粉”(“辐射蒙导花粉”;IMP)与不亲和的花粉(目的花粉)混合后授于柱头上,于是识别花粉释放出识别物质,而不亲和的花粉“借”此识别物质而萌发,花粉管进入柱头,最终获得杂种种子。

为了进一步探讨蒙导花粉的作用,Stettler 等(1980)用不亲和的杂交组合美洲山杨(*P. tremuloides*)×毛果杨(*P. trichocarpa*)进行了辐射蒙导花粉试验:将经过⁶⁰Co 照射的美洲山杨的花粉(IMP)和毛果杨的花粉(不亲和的花粉)混合,授于美洲山杨柱头上。扫描电镜观察的结果显示:美洲山杨的花粉管(IMP)为短管,可以进入柱头,而毛果杨的花粉管仍为扭曲管,不能进入柱头。这就是说,加入蒙导花粉并不能改变不亲和花粉管在异己柱头上的行为。Stettler 等的结论是:“我们的记录一点儿也不支持这个假说。”

此后不久, Gaget 等(1984)再次用扫描电镜研究杨树种间杂交(黑杨组和白杨组)花粉-雌蕊的相互作用,结果认为以白杨组为母本,黑杨组为父本的杂交组合中花粉管不能进入柱头;而在反交组合中花粉管可以进入柱头和花柱,但花粉管在花柱中生长时,先端沉积胼胝质,而且在与花粉管相邻的花柱组织中也出现胼胝质拒绝反应。Villar 等(1987)用杨属柱头具有二型性,即具有干型(欧洲黑杨)和湿型(银白杨)柱头

来解释杨树杂交中的单向不亲和现象, 详见第一篇。

综上所述, 直至 20 世纪 80 年代末期, 国外植物胚胎学家大多侧重于花粉与柱头的相互作用, 很少涉及杂交有性生殖全过程的研究; 而且实验材料多是欧美的杨树, 如美洲山杨、美洲黑杨、欧洲黑杨和毛果杨等, 很少或甚至没有涉及我国重要的和特有的杨树。

我国杨树资源丰富, 含有杨属所有的 5 组, 60 余种。其中有的是我国的特有种, 如响叶杨 (*P. adenopoda*)、毛白杨 (*P. tomentosa*)、大叶杨 (*P. lasiocarpa*)、椅杨 (*P. wilsonii*)、小叶杨 (*P. simonii*) 和青杨 (*P. cathayana*); 有的耐干旱和耐盐碱, 是荒漠地区的重要造林树种, 如胡杨 (*P. euphratica*); 还有从国外引进的, 如美杨 (*P. pyramidalis*) 和加杨 (*P. × canadensis*)。数十年来, 我国杨树育种学家们进行了大量的杂交组合试验。和国外的工作结果相似, 青杨组和黑杨组容易杂交, 如前所述, 得到了北京杨(黑杨组×青杨组)、合作杨(青杨组×黑杨组)、小黑杨(青杨组×黑杨组)等杂种, 但从未对它们进行过细胞胚胎学鉴定; 同时, 一些被看好的亲本却往往杂交困难或失败(例如, 以白杨组和胡杨组为母本的杂交组合), 对这些有障碍的杂交组合也没有研究过其细胞胚胎学的机理。

我们自 1980 年起开展的杨树杂交胚胎学的研究, 目的就是要为杂交成功的组合提供细胞胚胎学证明, 为杂交失败的组合查明杂交障碍的原因, 进而为克服杂交障碍寻求解决的方法。

当我们开始工作的时候, 正是植物胚胎学向着植物生殖生物学转轨的时候。植物胚胎学与细胞生物学和分子生物学交叉, 扩展了研究内容的深度和广度。在这样的背景下, 我们的计划是从基础做起, 稳步前进, 向纵深发展。首先用传统的树木育种学有性杂交的方法(切枝水培法)和植物胚胎学常用的石蜡切片法, 进行了杂交亲本小叶杨(青杨组)和胡杨(胡杨组)有性生殖全过程(从授粉至胚胎发育成熟)的观察; 接着又对 3 个组间杂交组合(小叶杨×美杨、小叶杨×胡杨和胡杨×小叶杨)的有性生殖全过程进行了同样的观察。结果发现: 小叶杨×美杨杂交容易, 小叶杨×胡杨杂交困难, 胡杨×小叶杨杂交失败。主要结果如下:

(1) 查明了杂交亲本(小叶杨和胡杨)种子发育的基本规律(李文钿等 1982; 李文钿和朱彤 1988, 1989), 并以此作为研究杂交组合有性生殖过程的参考。

(2) 证明了杂交成功、亲和性强的组合(小叶杨×美杨)有性过程正常, 花粉管可以顺利地进入柱头, 双受精作用可以发生, 胚和胚乳绝大多数发育正常, 少数败育, 可以得到杂种种籽(李文钿等 1983)。

(3) 揭开了杂交困难、亲和性弱的组合(小叶杨×胡杨)有性过程的复杂表现, 许多花粉管在柱头上遇到严重的障碍, 不能进入柱头, 只有少数花粉管可以进入柱头, 甚至可以发生受精作用, 胚大多数败育, 仅少数可以发育, 却往往不饱满(李文钿和朱彤 1986)。

(4) 确定了杂交失败组合(胡杨×小叶杨)失败的主要原因是受精作用不能发生。因此, 完全没有可能获得杂种种籽(李文钿和朱彤 1986)。

(5) 明确了克服杂交障碍的技术路线, 针对杂种胚败育, 采用胚珠离体培养技术