

黑龙江大学博士文库

植物生态研究

中国山杨与美洲山杨 杂交种新品系选育

● 邢亚娟 / 著

Zhongguo Shan Yang yu Meizhou Shan Yang
Jiaoyazhong Xinpinxi Xuan Yu

黑龙江人民出版社

黑龙江大学博士文库

——植物生态研究

中国山杨与美洲山杨杂交种 新品系选育

邢亚娟 著

黑龙江人民出版社

图书在版编目(CIP)数据

植物生态研究 / 王庆贵 邢亚娟 孙龙 著. — 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 2006. 10

ISBN 7-207-07150-7

I. 植... II. ①王... ②邢... ③孙... III. 冷杉—植物生态学—研究 IV. S791.140.2

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2006) 第 121817 号

责任编辑: 刘恺汐

植物生态研究

中国山杨与美洲山杨杂交种新品系选育

Zhongguoshanyang Yu Meizhoushanyang

Zajiaozhong Xinpinxi Xuanyu

邢亚娟 著

出版发行 黑龙江人民出版社

通讯地址 哈尔滨市南岗区宣庆小区 1 号楼 (150008)

网 址 www.longpress.com E-mail hljrmcbs@yeah.net

印 刷 哈尔滨市工大节能印刷厂

开 本 850×1168 毫米 1/32

印 张 18

字 数 420 000

版 次 2005 年 10 月第 1 版 2006 年 10 月第 1 次印刷

书 号 ISBN 7-207-07150-7/S·100

定价: 32.00 元 (全三册)

(如发现本书有印刷质量问题, 印刷厂负责调换)

前 言

根据我国林业及木材产品需求的实际情况，特别是杨木在纸浆和人造板加工中的适宜性，以及我国气候类型复杂多样，天然杨树物种资源居世界之首等现实，在今后相当长一个时期内，我国杨树育种要遵守生态育种和可持续发展的基本原则，坚持短期目标和长期改良并重路线，以品种不断创新的应用性研究为主，强化具开拓效应的原创性基础研究，坚持科研与市场需求的紧密结合，以常规育种为主导，同时注重生物高新技术与常规育种技术的融合，创造杨树遗传育种改良体系，并有重点的跟踪国际前沿研究领域。因此，当前杨树育种应紧紧围绕工业用材林和生态工程林两大体系建设开展，从环境、资源和可持续发展需求出发，突出适应及抗性育种和材质育种研究，使我国杨林人工林的定向培育目标得以低成本高效实现。

山杨正是适合工业用材和生态工程林的树种，发展山杨造林，对绿化大面积的荒山荒地，提高森林覆被率，增加林产品生产具有重要意义。但是由于多年的盲目采伐，优良的山杨林已遭到严重的破坏，未经选育的山杨存在很大缺陷，大大限制了山杨的推广利用。

1995年，黑龙江省林业科学研究所与美国明尼苏达大学和加拿大北方林业研究中心开展了中国山杨与美洲山杨杂交育种

合作研究,获得的杂种后代表现出很显著的杂种优势,通过选择育种,选育出了优良的杂种无性系。本书详细地介绍了中美山杨杂交育种技术、选育技术及无性繁殖技术,并对杂种各性状进行了全面地分析。

本书是在导师杨传平教授和张含国教授的悉心指导下完成的。导师踏实严谨、精益求精、勇于创新的治学态度给予我极大的鞭策和启迪,在此表示最诚挚的谢意!同时还要感谢刘培林研究员的指导和张静硕士的合作。

真诚的期盼各位读者和同行、专家对本书提出宝贵的意见和建议,这对我今后的研究将带来莫大的鼓励和帮助,让我们共同推进我国山地杨树的研究及其事业的发展。

目 录

1 绪论	(1)
1.1 林木杂交育种进展	(1)
1.1.1 林木杂交育种策略的发展	(1)
1.1.2 林木育种中的杂种优势	(2)
1.1.3 杨树杂交育种进程	(4)
1.1.4 山杨杂交育种研究概况	(9)
1.2 山杨三倍体与突变	(14)
1.2.1 三倍体的特点	(14)
1.2.2 人工诱导三倍体	(15)
1.3 山杨遗传改良目标与方法	(21)
1.4 杨树无性繁殖技术	(22)
1.4.1 杨树无性繁殖配套技术	(22)
1.4.2 组织培养及其影响因素	(23)
1.5 遗传多样性与分子标记	(30)
1.5.1 遗传多样性的含义	(30)
1.5.2 遗传多样性的研究方法	(31)
1.5.3 SSR 标记及其生物遗传多样性研究现状	(39)
1.5.4 杨树分子标记研究现状	(46)
1.6 开展中美山杨杂交育种研究的目的及理论意义	(49)

2 中国山杨与美洲山杨杂交育种	(51)
2.1 试验材料和方法	(51)
2.1.1 试验材料	(51)
2.1.2 试验方法	(52)
2.2 结果与分析	(60)
2.2.1 山杨与美洲山杨花粉生命力测定	(60)
2.2.2 山杨与美洲山杨杂交种了比较	(63)
2.2.3 杂种苗苗期选择	(66)
2.2.4 优良家系及优良单株选择	(71)
2.2.5 杂交子代无性系测定	(75)
2.2.6 优良杂交组合筛选	(89)
2.2.7 三倍体山杨检测	(94)
2.3 本章小结	(97)
3 山杨优良杂种无性系微体繁育技术	(98)
3.1 材料与方法	(98)
3.1.1 材料	(98)
3.1.2 方法	(98)
3.2 结果与分析	(100)
3.2.1 影响初始培养芽分化的因素	(100)
3.2.2 影响继代增殖效果的因素	(122)
3.2.3 山杨杂种苗愈伤组织的再生途径	(131)
3.2.4 影响组织培养生根的因素	(135)
3.2.5 无菌苗微体扦插	(139)

3.2.6 炼苗移栽	(143)
3.3 本章小结	(148)
3.3.1 影响中美山杨杂种无性系初始培养芽分化的 因素	(148)
3.3.2 影响中美山杨杂种无性系继代增殖效果的 因素	(149)
3.3.3 山杨杂种苗愈伤组织的再生途径	(149)
3.3.4 影响组织培养生根的因素	(149)
3.3.5 无菌苗微体扦插	(150)
3.3.6 炼苗移栽	(150)
4 利用 SSR 分子标记研究山杨杂种无性系的 遗传多样性	(151)
4.1 材料与方法	(151)
4.1.1 试验材料	(151)
4.1.2 试验方法	(151)
4.2 结果分析	(162)
4.2.1 等位基因与多态百分率	(163)
4.2.2 DNA 水平的遗传变异	(164)
4.2.3 遗传一致度和遗传距离	(165)
4.3 本章小结	(167)
结论	(169)
讨论	(174)
参考文献	(176)

1 绪 论

杂交作为一种科学方法不仅促进了遗传学的诞生和发展,而且历来就是育种学家创造变异和培育新品种的主要手段。随着现代遗传学理论不断发展,人工创造新变异的方法以及新的育种途径也不断出现,但到目前为止,最有成效的育种方法还是杂交育种。与农作物相比,林木育种水平在整体上相对落后,但杂交育种也一直是最受重视的育种方法之一,并取得了丰硕成果。近年来,林木杂交育种在理论和实践上都取得了长足的进展,特别是分子标记技术的发展为杂交育种这一古老的方法注入了新的活力。

1.1 林木杂交育种进展

1.1.1 林木杂交育种策略的发展

由于长期以来植物学家把一个物种作为一个遗传上同质个体的集群看待,认为同一物种的不同个体的基本特性和遗传效应是相似的,所以,在林木杂交育种的早期都用种内随机遇到的、未经选择的个体作杂交亲本,而研究的主体是对F₁代的选择,这种策略可称为CS(Cross 和 Selection)二阶段育种程序。近30a的林木遗传研究发现,种内变异在多水平上,即在产地间、群体间、个体间和个体内广泛存在,学者们开始修改杂交育种策略,以便把群体间和群体内基因型的变异都用于杂交亲本选择,从而使杂交育种进入了SCS (Selection、Cross 和 Selection)三

阶段育种时代。随着轮回选择和配合力育种理论在农作物育种中的有效应用和发展,以及在林木育种中对性状遗传控制方式和遗传参数信息的获得,育种学家认识到要提高林木育种效果,育种策略必须由一次性短周期育种研究向以轮回选择为基础的多世代长期改良方向发展,使每一轮育种都能从一个全新的育种基本群体开始。1981年意大利学者提出了在两个杂交用亲本种中先进行配合力测定和改良,再用高配合力基因型作种内和种间杂交亲本的育种策略,可称作 BSCS (Breeding、Selection、Cross 和 Selection) 四阶段育种程序。这一育种策略把亲本的改良放在杂交育种的优先位置上,改变了长期以来把 F₁ 代的选择作为杂交育种主体,每次育种都从零开始的传统做法,利用多群体、多世代改良提高杂交育种的预见性和效率,从而使育种过程系统化、多世代化。

1.1.2 林木育种中的杂种优势

1.1.2.1 杂种优势的遗传学机理

杂种优势是指两个遗传性不同的亲本杂交所产生的杂种一代在生长势、生活力、繁殖力、抗逆性、产量和品质上比双亲优异的现象。关于杂种优势的遗传学理论很多,其中最主要的是“显性学说”(非等位基因间的遗传互补)和“超显性学说”(等位基因间的遗传互补),在林业上也提出“杂种生境”假说,但都不能解释这一现象的复杂机制。近年来从生理生化角度和分子水平的研究表明,杂种优势的遗传原因在功能上表现为基因的刺激、抑制、互补和协调。并指出杂种优势与结构基因和调节基因都可能有关,并与细胞核-细胞质互作有关,而且也受整个遗传系统(基

因背景)的影响。所以情况极为复杂,有许多问题尚待进一步深入研究。

1.1.2.2 杂种优势的早期预测

关于杂种优势早期预测的最早报道见于 Rob-bins 对番茄的研究,他通过人工培养番茄的幼根,发现纯系 1 对吡哆醇有较大的反应,纯系 2 对烟碱酸有较大的反应,而这两个品种的杂种一代既能合成吡哆醇又能合成烟碱酸,且产生这两种维生素的能力均超过亲本,从而揭示了遗传学上“显性学说”和“超显性学说”的生化基础,并为 F₁ 代杂种优势育种实践中有效的选配亲本和早期预测杂种优势提供了根据。早在 1962 年 Schwartz 就将同工酶技术用于玉米杂种优势的预测,他在授粉 16d 的不同玉米自交系胚乳中发现了迁移率明显不同的酯酶同工酶,杂种胚乳中除具有两亲本的同工酶带以外,还出现了迁移率介于两亲本之间,而又为亲本所没有的新的同工酶(杂种酶),并认为这一现象可能与杂种优势有关。黄敏仁等对鹅掌楸属自然和人工杂种进行了过氧化物酶同工酶分析,发现杂种不仅具有双亲的特征酶带,而且还有双亲所没有的“杂种酶带”,为杂种优势的早期预测提供了依据。

根据杂种优势遗传解释的显性学说和超显性学说,获得杂种优势的双亲要存在遗传差异,遗传距离作为衡量双亲遗传差异大小的一个参数,必然和杂种优势有一定联系,因而,常被用于亲本选配和杂种优势预测。在这一方面最早的报道是 Pater-niani, Lonquist (1963) 对玉米的研究,并发现二者之间存在线性正相关。虽然在早期研究中亲本遗传差异的度量多基于形

态标记或生化标记,近年来多基于分子标记,从总的研究结果看二者之间存在相关性,包括直线相关和曲线相关,当然也有例外情况,而且与所研究的性状有关。

1.1.3 杨树杂交育种进程

1.1.3.1 杨树育种进展

最早从事杨树杂交育种工作的是 Henrya 教授,他于 1912 年在英国用棱枝杨(*Populus deltoids* var *Angulata*)与毛果杨(*Populus trichoarpa* Torr.)进行人工杂交,选育出了速生、适应性强的格氏杨(*Populus generosa* Henry)。在意大利,已建立起了包括多个种源在内的欧美杨育种群体,培育出具有适合不同栽培目的的优良无性系。美国从 1924 年起,进行了系统的杨树杂交工作,用美洲山杨(*Populus tremuloides*)、银白杨(*Populus alba* L.)等 34 个不同植株,做了 100 个杂交组合,得到了上万株杂种。在明尼苏达州大学北方中心实验站,进行了毛果杨和不同种源的美洲黑杨(*Populus deltoids* March.)杂交,以速生、抗寒和抗病为目标选育出了 NE-311、NE-296、NE-200 等杂种无性系。在加拿大安大略省,以速生、抗寒和提高插穗生根能力为目标,选育出了最佳杂交组合美洲山杨×大齿杨(*Populus grandidentata*)。在法国还发现欧洲山杨(*Populus tremula*)×美洲山杨、欧洲山杨×银白杨的杂种具有明显的杂种优势。在前苏联,1933 年开始进行杨树杂交育种工作,从银白杨×新疆杨中选出莫斯科银毛杨和苏维埃塔型杨,从欧洲山杨×新疆杨中选出雅布洛考夫杨。

中国杨树育种工作始于 20 世纪 40 年代,但真正有计划的

杨树育种研究是从 50 年代中开始的。叶培忠 1946 年在甘肃省天水县水土保持推广站首次进行了河北杨 (*Populus hopeiensis*) 与山杨 (*Populus davidiana*), 河北杨与毛白杨 (*Populus tomentosa* Carr.) 杂交试验。当时所用亲本仅限于白杨派, 采用的是立木人工授粉法, 并未从这些种间杂种育成可用无性系, 可称之为我国杨树杂交育种探索阶段。1954 年, 在徐纬英领导下开始了我国大规模有计划的杂交育种项目研究。这一时期可称为杨树育种的繁荣期。首先是徐纬英等人进行了白杨派及青杨派与黑杨派的有性杂交, 杂交后代中美杨×加杨杂种的适应性有很大提高。1956 年, 他们以改良青杨和扩大适应范围为目的, 以钻天杨为父本, 以青杨为母本, 采用常规杂交, 选育出北京杨杂种系列, 其中以北京杨 3 号、0567 号和 8000 号表现最好。1957 年, 徐纬英等以小叶杨为母本, 以钻天杨和旱柳混合花粉为父本, 成功地选育出速生、耐旱和耐盐碱的群众杨杂种系列。鹿学程等 1964 年用赤峰杨为母本, 以欧洲黑杨、钻天杨和青杨的混合花粉为父本, 杂交选育出速生、耐旱、耐寒和抗病的“昭林 6 号”, 成为内蒙古推广的主要优良品种之一。到 20 世纪 70 年代末 80 年代初, 随着吴中伦等人 1972 年从意大利引进美洲黑杨无性系 69 杨和 63 杨显示出的速生性和对亚热带气候的适应性, 及其进入结实阶段, 我国开始了以这两个美洲黑杨无性系为亲本的新杂交育种时代。到 20 世纪 90 年代即已选出一批新无性系, 其中包括中林系统、南林系统和陕林系列, 黑龙江省刘培林等在已选良种的基础上, 开展杂交, 选育出黑林系列品系。黑林 1 号、2 号、3 号、B6、窄冠杨系列在东北、内蒙等地得到广泛

栽培。1983 年开始了国家科技攻关,取得了可喜成果,毛白杨、山杨、河北杨、欧美杨等得到系统研究,并选育出一大批优良品种。

50 多年来,我国杨树育种经历了探索期(40~50 年代前)、繁荣期(50~60 年代)和恢复期或新生期(70~90 年代)。90 年代中期以来杨树育种向创新期发展,即我国杨树良种选育研究是以产品和技术服务需求和理论有所创新为指导,并在两个巨大转变基础上开展的。其一是认识到必须因材种需求有相应培育技术配套,良种的基础作用才能真正充分发挥出来,因而把育种和栽培研究结合在一起进行研究,以求为生产提出操作性强的良种与方法配套的经营体系。其二是认识到新种质引进和现代分子技术是提高育种效率,扩展育种目标的关键,所以强化了主要杨树基因资源收集和重要经济性状分子水平上操纵技术的研究。杨树改良目标以由通用性向专用性育种过渡,由单一的产量指标向优质高抗多性状综合改良转变,力求育种与环境林种和材种需求紧密统一。近 20 年已选育出许多与 50~60 年代明显不同的杨树优良新品种,新品种平均材积生长量提高 20%以上,木材密度提高 3%以上,纤维含量增加 2%以上。一大批新品种、新种质陆续投入生产。90 年代后期 108 杨和三倍体毛白杨杂种更成为苗木市场的新热点。不仅乡土树种基因资源的收集和研究有了长足进展,而且在“948”国际农业引进项目资助下,从国外引进了我国十分短缺又迫切需求的美洲黑杨、欧洲黑杨等遗传种质资源,使我国杨树遗传资源研究有了新的开端。杨树基因工程育种在技术和成效上也取得可观的突破。不仅转化成

功的抗食叶害虫基因工程杨树已实现商品化,抗蛀干害虫天牛转基因杨树株系也获得成功,使我国在这一领域进入世界先进行列。杨树分子标记辅助育种研究也取得了一定的进展。获得与杨树抗病紧密连锁的分子标记,为抗病基因定位、分离及克隆奠定了初步基础;已开展的对控制杨树生长、物候、材性等重要性状的 QTL 作图研究也为加速这些性状的早期选择做了理论和方法上的准备。

1.1.3.2 我国杨树良种发展存在的问题及需求

我国杨树育种研究虽然已有 50 多年历程,并育成了一些品种。但迄今为止,我国各杨树栽培区中占主导地位的品种多数仍是较温暖的平原地区品种。这些品种虽然比较速生,但对气候和土壤要求较高,主要适应于黄河、长江中下游生态条件优异的立地,在水肥不能稳定保证供应地区,高生产潜力不能得到充分发挥。而在辽阔的“三北”地区由于年积温低和普遍干旱缺水,长期缺少能代替 50~60 年代我国育成的第一代品种的更新换代品种。近期推广的少数国外引入品种则因遗传基础狭窄,生态可塑性差,不能满足生态多样性需求。大面积出现生长差、材质难以利用的小老树和病虫害蔓延,达不到欲求的生态和经济效益,致使一些省区不得不大量、甚至全部伐除已有杨树林木(如甘肃东部、宁夏河套地区)。因缺少更替新品种,这些地区的新一代用材林和防护林难以高标准营造。可以认为,迄今为止,我国各杨树栽培区在不同程度上都缺少适应性好、经济效益高、能保证杨树产业持续发展的良种。随着国家林业六大工程启动和西部大开发的迅猛发展,老工业基地建设事业的开展,特别是各地以杨树

为原料的加工业快速发展,培育有地域特色和加工专用性的杨树良种,已成为当前市场对杨树育种工作的迫切需求。因此根据市场发展需求,有目的、有计划地选育能满足各种经营需求的抗逆性强、经营成本低的杨树新品种,这已成为我国杨树发展中迫切需要解决的问题。

1.1.3.3 我国杨树育种发展对策

根据我国林业及木材产品的近期需求实际情况,特别是杨木在纸浆和人造板加工中的适宜性,以及我国气候类型复杂多样,天然杨树物种资源居世界之首等现实,在今后相当长一个时期内,我国杨树育种要遵守生态育种和可持续发展的基本原则,坚持短期目标和长期改良并重路线,以品种不断创新的应用性研究为主,强化具开拓效应的原创性基础研究,坚持科研与市场需求的紧密结合,以常规育种为主导,同时注重生物高新技术与常规树种技术的融合,创造杨树遗传育种改良体系,要有重点跟踪国际前沿研究领域。当前杨树育种应紧紧围绕工业用材林和生态工程林两大体系建设开展,从环境、资源和可持续发展需求出发,突出适应及抗性育种和材质育种研究,使我国杨树人工林的定向培育目标得以低成本高效实现。应采取的对策为:

(1) 强化重要杨树乡土树种及外来树种基因资源和育种群体的建立及管理研究,务必按生态区域划分几个育种群体,为拓宽育种材料的遗传背景和制定不同天然管理和保护服务;

(2) 开展杨树抗性和营养生理的分子育种研究,侧重利用基因工程手段培育转基因抗干旱、耐盐碱的抗病虫优良新品种,为西部大开发,振兴东北老工业基地建设的良种需求服务;

(3)开展杨树产量与质量多样性状早期联合选育技术研究,以缩短育种周期,加速新品种选育过程,提高育种的经济投入回报率;

(4)积极开展生理生态遗传学研究,推进高效型品种选育,探索不同林种、材种品种的选育程序和方法,以及相适宜的集约栽培体制,以降低集约人工林经营成本,有利杨树产业化进程。

1.1.4 山杨杂交育种研究概况

1.1.4.1 山杨特性

杨树分为白杨派、大叶杨派、青杨派、黑杨派和胡杨派。白杨派又分为白杨亚派和山杨亚派,山杨亚派主要有:欧洲山杨、美洲山杨、日本山杨、山杨(中国山杨)、响叶杨、河北杨和大齿杨等。

美洲山杨分布在北美,是北美分布最广的树种,从阿拉斯加至纽芬兰,延至大草原东部的太湖地区南部,西至沿海地区和落基山脉及墨西哥,在海拔 2 000~3 000m 的地区,都有大面积的山杨林分布。美洲山杨是先锋树种,在森林更替中占有重要的作用。随着对山杨材性的认识加深,美洲山杨的研究与利用越来越得到重视。

在我国境内有中国的特有种山杨(*Populus Davidiana* Dode)。中国山杨在我国广泛分布于 $N20^{\circ} \sim N55^{\circ}$, $E100^{\circ} \sim E135^{\circ}$ 范围,从东北大小兴安岭、完达山达华北、西北、华中乃至西南,海拔 200~3 500m 均可见成片的纯林或混交的、散生的山杨。山杨对土壤要求不严,可在棕壤、草甸土、河岸沙土甚至轻度盐碱土生长。它的根蘖能力强,可形成侵移林分,强阳性,可在密