

杉木种子园生殖系统 和遗传改良的研究

陈晓阳

北京林业大学

1994年9月

目 录

摘要

引言

一 种子园主要问题的研究进展

二 杉木种子园研究现状

三 本文研究思路和内容

四 研究基地概况

第一章 生殖器官的发育

一 材料与方法

二 结果与分析

(一) 球花外形构造

(二) 花芽分化

(三) 胚胎发育

三 讨论

第二章 开花物候与花粉传播

一 材料与方法

二 结果与分析

(一) 开花物候

1 种子园开花物候模式

2 无性系的花期

3 树冠部位的差异

4 林分条件对开花候的影响

(二) 花粉传播

1 花粉云密度的时间变化

2 花粉云密度的空间变化

3 不同林分的差异

4 花粉飞散距离

三 讨论

第三章 球花、球果和种子产量

一 材料与方法

二 结果与分析

摘要	1
引言	4
一 种子园主要问题的研究进展	4
二 杉木种子园研究现状	5
三 本文研究思路和内容	7
四 研究基地概况	8
第一章 生殖器官的发育	11
一 材料与方法	11
二 结果与分析	11
(一) 球花外形构造	11
(二) 花芽分化	12
(三) 胚胎发育	12
三 讨论	14
第二章 开花物候与花粉传播	17
一 材料与方法	17
二 结果与分析	18
(一) 开花物候	18
1 种子园开花物候模式	18
2 无性系的花期	21
3 树冠部位的差异	23
4 林分条件对开花候的影响	23
(二) 花粉传播	23
1 花粉云密度的时间变化	23
2 花粉云密度的空间变化	27
3 不同林分的差异	31
4 花粉飞散距离	33
三 讨论	35
第三章 球花、球果和种子产量	38
一 材料与方法	38
二 结果与分析	41

(一) 年龄和年份的差异	41
(二) 球花着生规律	42
(三) 无性系差异	48
(四) 无性系内分株间差异	52
(五) 植株生长与球果产量	53
(六) 球果解剖性状	55
(七) 促进开花结实试验	59
三 讨论	62
第四章 播种品质	65
一 材料与方法	65
二 结果与分析	67
(一) 种子园播种品质分析	67
1 年度差异	67
2 无性系的差异	67
3 种源与无性系的相对差异	70
4 无性系间与分株间的差异	70
5 树冠部位间的差异	70
6 球果的差异	74
(二) 交配试验种子品质的遗传分析	75
1 完全双列杂交试验	75
2 不连续半双列杂交试验	76
3 测交系交配试验	79
三 讨论	79
第五章 遗传变异与选择	85
一 材料与方法	85
二 结果与讨论	87
(一) 遗传测定	87
1 种源试验	87
2 优树自由授粉子代测定	89
3 种子园及优良家系区域化试验	91
4 控制授粉子代测定	93
(二) 家系选择的适宜年龄	94
三 讨论	101
第六章 种子园配子库遗传组成的数量分析	103

一 数量分析指标的研究	103
(一) 配子贡献的平衡指数	103
(二) 配子库遗传组成数学表达	106
(三) 配子数量指标	107
二 无性系配子贡献	110
(一) 配子数量的分析	110
(二) 开花物候的影响	112
(三) 综合分析	118
三 配子贡献对基因型值的影响	119
结论	122
主要参考文献	126
致谢	137

摘 要

1989~1994年,在贵州黎平、天柱、锦屏和四川洪雅杉木种子园,围绕种子产量和品质,从生殖生物学和遗传变异两个方面,开展了观察和研究:(1)了解了杉木球花构造,花芽分化时间,雌雄配子体形成、受精与胚胎发育过程,探讨了花芽诱导和涩籽形成原因;(2)对花期作了5年观察,了解了无性系、树冠部位和林分条件对花期的影响,分析了年份间的相关性,掌握了开花模式,探讨了无性系花期差异对播种品质、自交率、配子贡献的影响;(3)在3个种子园进行了花粉飞散规律的观测,结合散粉期的气候条件,讨论了种子园花粉云密度的时间和空间变化,分析了不同地形、林分郁闭度对花粉云密度的影响,以及花粉传播距离,为种子园花粉管理提供了依据;(4)观测了无性系雌雄球花、球果数量,花粉产量(ml)、数量(粒)与生活力,以及球果解剖性状,了解了雌雄球花、种子产量年龄和年度变化,球花的着生规律,无性系间的差异及其年龄和年份的相关性,并开展了GA₃处理、施肥、环割和断根等试验,提出了提高产量的对策;(5)根据不同年龄、年份、地点、无性系和树冠各部位种子品质调查,结合交配设计试验和辅助授粉效果,分析了影响种子播种品质的因素、空籽和涩籽产生的原因,提出了改善播种品质的主要措施;(6)利用黔东南杉木遗传测定林试验,分析了种源变异、种子园与家系相对差异,家系与地点的交互作用,估算了主要遗传参数和选择效果,分析了生长性状受遗传控制的方式,提出了家系选择的适宜年龄,探讨了黔东南杉木选择育种的策略;(7)用数量分析方法,从开花物候、雌雄配子数量和基因型值研究了种子园配子的遗传组成,提出了度量种子园配子贡献的平衡指数,讨论了不同无性系组成种子园的开花同步程度,配子贡献平衡性,及其对子代基因型值的影响。

研究认为,从开花结实角度,对无性系进行再选择是提高种子园产量和播种品质的根本措施;林分郁闭度对球花在树冠分布、单株产量、花期和花粉云密度影响较大,应及时疏伐和加强树体管理;自交是涩籽产生的主要原因,空籽主要是受粉不足造成的,辅助授粉是提高种子园播种品质的有效措施。黔东南是杉木优良种源区,立足本地育种资源,在单亲子代测定的基础上,开展双亲子代测定,家系与家系内配合选择,是改良的基本策略;家系间的选择可在3~4年生进行,家系内选择晚于家系选择;配子贡献应纳入种子园遗传增益的核算。

关键词 杉木,种子园,生殖生物学,遗传变异,配子遗传组成

STUDIES ON REPRODUCTION BIOLOGY AND GENETIC VARIATIONS OF CLONES
IN SEED ORCHARDS OF CHINESE FIR (*CUNNINGHAMIA LANCEOLATA*)

ABSTRACT From 1989 to 1994 the reproduction biology of clones and genetic variations of provenances and families in four seed orchards of Chinese fir, located in Liping, Jingping and Tianzhu counties, Guizhou province and Hongya county, Sichuan province were studied for improving seed quality and raising seed yield. The main results are as follows:

(1) The anatomies of reproduction organ development were observed. Through the observation the cause of aborted seeds was clarified. Tannic seeds appeared during the stage of primary embryo cell. Selfing is one of the main factors of producing tannic seeds. Emptied seeds were mainly caused by shortage of pollen grains in ovules and directly connected with pollen density in the seed orchard and rainfall during the period of pollen release. In addition, the optimum time of GA₃ treatment for promoting flowering was determined.

(2) Based on the continuous observations of flowering phenology for 5 years, the differences of flowering phenology among clones, at different positions of crowns and under various plantation conditions were investigated. The relationship of flowering periods of the same clones in different years were analyzed and the patterns of flowering phenology were built. In addition, impact of flowering phenology on sowing qualities of seeds, the rate of selfing and on gamete contribution were discussed.

(3) The effective distances of pollen migration were determined for 2 years in Jinping county. In order to reduce pollen contamination, isolation distance for the seed orchards should not be less than 600 m. Based on the data of pollen flights observed in the 3 seed orchards over 3 years, the dynamic models of pollen densities with times, heights and directions were analyzed and described in accordance with climate factors, topographical and plantation conditions.

(4) In addition to above-mentioned, investigation of flowering and strobilus traits, GA₃ treatment, fertilization, root pruning and stem girdling were carried out. The differences of seed qualities of seeds from different clones, ages, years, sites, positions of crown were analyzed, and the

effects of diverse mating designs and supplemental pollination were examined. GA₃ treatment, root cutting and stem girdling were effective measures for promoting cone buds. Supplemental pollination was effective to improve quality of the seeds. Consequently, the measures of raising seed production and qualities were put forward.

(5) According to the experiment plantations in Guizhou province, the growth variations of provenances, families derived from seed orchards all over the country and Guizhou province were studied, and the interaction between families and plantations were also analyzed. The main genetic parameters and selection efficiency were estimated. Based on the information, the strategies of genetic improvement of Chinese-fir for southeast of Guizhou were discussed.

(6) The uniformity index of estimation of parental gamete contributions in the seed orchards were proposed. Gamete genetic composition of the seed orchards were studied in accordance with flowering phenology, amount of male and female gametes and genetic values estimated by means of quantitative analysis methods. Moreover, the effect of synchronous degrees of flowering phenology and gamete contribution on progeny genetic value were discussed.

Therefore, the author regards the re-selection of clones as the radical measure to raise the quality and quantity of seeds and suggest that it should be done on the basis of flowering traits of clones in combination with their progeny performance. Roguing or thinning of seed orchards should be carried out in time since canopy densities have great influence on yield of male and female strobile, and study on pruning techniques should be strengthened. Southeast Guizhou is one of superior provenances for Chinese-fir. In this area, genetic improvement basically relies on individual selection from local resources with the addition of introduction of excellent individuals from other superior provenances, and mating among them for sustained development. Family selection might be carried out at the age of 3-4 for shortening breeding cycle.

KEY WORDS *Cunninghamia lanceolata*, seed orchard, reproduction biology, genetic variation, gamete composition

引言

专门建园以生产林木种子的想法始见于1787年。当时德国的F. A. L. von Burgsdorf建议用无性繁殖来进行这项工作[40]。1880年荷兰人在爪哇营建了金鸡纳种子园,以提高奎宁的含量。1919年马来西亚建立了橡胶种子园。本世纪初,G. Anderson(1906)、W. Johannsen(1909)和A. Opperman(1923)等进一步探讨了有关种子园生产良种的思想。1931年,J. Scrymgeour-Wedderburn在苏格兰他私人庄园建立了欧洲落叶松种子园。1934年,C. S. Larson在《林木育种》中比较系统地论述了营建无性系种子园的主张,对种子园的发展起了重要作用。四十年代后期,瑞典和丹麦开始营建欧洲赤松和落叶松种子园。五十年代,种子园得到发展,六十年代,风靡世界[40, 110, 168, 110, 173]。我国的种子园于六十年代起步,七十年代全面发展,近十年在技术上有很大提高[170, 174, 189, 200]。

一. 种子园主要问题的研究进展

种子园的主要任务是大量生产遗传品质和播种品质优良的林木种子。因此,提高种子园种子产量和品质一直是种子园研究的重点。内容包括园址选择、亲本开花结实习性、传粉和受粉、土壤管理、树体管理、病虫害防治等方面。普遍认为,园址选择是重要的因子之一,要考虑的有积温与总热量、霜冻、日照时数与光周期、干旱季节、风、花期降雨量和土壤肥力等。适度迁移到温暖和低海拔地方建立种子园,可以提高种子产量,也有利于避免花粉污染[131, 168, 173]。亲本开花结实习性研究报道较多。许多树种研究结果表明,不同无性系开花物候差异明显,而且遗传力较高[6, 30, 35, 37, 42]。雌雄球花和球果产量的广义遗传力属中等,与年度和地点有明显的互交作用,无性系花粉和球果贡献不平衡,但随年龄的增加有所缓和。从开花结实对无性系进行再选择,是提高种子园种子产量的有力措施[99, 103, 169, 171, 172, 198]。八十年代初以来,利用同功酶作标记深化了种子园交配系统的研究。影响种子园传粉的因素有花期、散粉期内的风力与风向和植株间的距离[93, 109, 182, 178]。外源花粉对种子园的污染率普遍比较严重,如湿地松、欧洲赤松、欧洲云杉、黑云杉、花旗松等树种研究外源花粉污染率为6%~83.5%,多数研究为30%左右[29, 36, 96]。有关花粉动态、自交、选择授精和败育等研究也有进展[21, 28, 34, 67, 71, 77, 108, 109, 154]。种子园施肥问题比较复杂,与树种、母树、土壤养分状况、施肥方法和季节有关,贫瘠土壤施肥,效果显著[14, 54, 65, 94, 134, 152, 153, 199]。树体管理是个难题,国外对火炬松、花旗松、湿地松和日本落叶松等,国内对马尾松、樟子松和落叶松等树种开展了研究,取得了一定的经验。

目前,美国和澳大利亚等国已建立了第二代种子园。我国杉木等树种已开始筹

建第二代种子园，迫切需要解决多世代育种的理论和技术问题。多世代育种的首要问题是各种功能群体的组建。美国北卡罗来纳州树木改良组(1980)从不断提高遗传增益和保持广泛遗传基础两个方面考虑，将林木育种上的种群划分为基本群体、育种群体和生产群体三种 [110, 172]。为了延缓近交的发展，S. E. McKeand 于 1980 年提出了复合群体交配设计，将育种群体划分为若干亚群体，亚群体内可以有近交，亚群体间隔离繁殖，通过子代测定，从每个亚群体中选择最优单株建立无性系种子园 [64]。80 年代末，Cotterill, P. P. 提出核心育种系统，将育种群体划分为主群体和核心群体两部份，通过主群体保持有较宽的遗传基础，又通过建立核心群体，强度选择，提高遗传增益 [25]。多世代育种另一个关键问题是材料的组建。对材料的要求是遗传增益高的家系或优良单株，没有亲缘关系，能保持子代遗传多样性。林木育种周期长是多世代育种的主要障碍，加速育种世代仍是当今林木育种研究的热点。目前通过解析木和子代测定林的年龄相关研究，已确定了一些树种提早选择的有效年龄 [23, 59~62, 107, 110, 200]。近十年，模拟自然条件观测生长和生理生化指标的研究增多，提高了早期选择的预测能力 [12, 208]。在提早开花结实方面，松属树种采用 GA₄/7 处理，杉科和柏类使用 GA₃ 诱导，效果明显。在温室盆栽，采取一定的高温、干旱和激素处理效果更好 [78, 81, 84~88]。由于我国林木育种工作开展较晚等原因，在多世代育种在理论、技术和材料方面的研究还比较薄弱。

二. 杉木种子园研究现状

杉木生长快，材质好，用途多，栽培历史悠久，造林面积大，木材产量占商品材的 1/5~1/4，是我国特有的重要用材树种，深受产区人民的喜爱。杉木种子园始建于 1964 年，1972 年后发展较快，现已普及到南方 12 个省(区)及河南与陕西南部地区，建园面积约 2000 余 ha。叶培忠和陈岳武先生为杉木种子园开创和发展做出了突出贡献。尽管杉木也可以用无性系造林，但是实生苗造林仍是主要的，种子园是杉木良种繁殖的主要方式。

杉木种子园普遍存在着 3 个主要问题。第一，种子产量不高，也不稳定。例如，贵州省天柱杉木种子园，于 1984 年产种，截止 1992 年，平均每亩年产种 0.446kg，最低年份亩产才 0.173kg，最高年份也仅达 0.72kg。但是，浙江姥山种子园有亩产 11kg 的记录，这表明，种子园的生产潜力没有充分发挥出来；第二，种子播种品质差。根据天柱杉木种子园 1985~1992 年的统计，健全种子率平均 38.38%，涩籽率为 33.29%，空籽率为 27.32%，全国情况大体相仿 [193]；第三，部分种子园遗传增益还不够理想 [164]。针对上述问题，各地作了大量的研究。

在杉木花芽分化和胚胎发育方面，蒋恕(1980)和俞新妥(1981)分别观察了南京和福建南平杉木花芽分化时期 [150, 197]；蒋恕(1984)在南京对杉木大小孢子、受

精和胚胎发育作过观察，董金生(1985)报道了南昌杉木小孢子发生与花粉发育的研究[189]。

杉木种子园无性系开花物候的差异是明显的，但开花物候模式的报道有所不同，多数局限于一年的观察结果[111, 127, 133, 143]。杉木球花球果产量差异近几年的报道增多，均反映无性系间的差异十分悬殊。这种差异既受遗传控制，也受环境影响[130, 136, 194, 204]。陈岳武(1979)等观测过杉木雄球花花粉数量，并估算了进入结实盛期的花粉产量，认为种子园花粉数量已达到中等或较高水平，但由于60%以上的雄球花分布在树冠下部，50%雌花在上部，树冠上部授粉不足，辅助授粉仍然必要[120]。此外，张卓文(1987~1990)对雄球花和小孢子囊的花粉量也作过观测[201~203]。

各地杉木花粉传播观测结果不一致。陈岳武等(1985)在福建官庄林场利用一小片杉木人工林在距林缘400m内和林内设点观测，园外花粉传播的距离由100~150米不等，林内花粉传播距离一般在20~30m[126]。张卓文(1990)在姚山林场对杉木花粉传播观察发现，树冠下部比上部花粉密度大，在距离花粉源600m范围内花粉浓度约为6%，如果考虑阵风的影响，花粉可能传播1~3km以外[203]。

杉木种子园涩籽率普遍高达30%以上，对种子播种品质影响很大。南京林业大学从解剖学和交配方式研究认为，涩粒是自交导致胚败育，进而造成胚乳变化，形成单宁物质而丧失生活力的种子。在福建洋口涩粒形成于6月中旬，涩籽率受遗传控制，也受年份的影响[193]。何富基(1985)研究表明，当原胚细胞产生后就发生败育，在幼胚形成40天后败育率最高，8月次之，9月趋于稳定。影响涩籽率的主要因素有：无性系、种子发育过程中的天气状况、自交率、病害、立地条件[140]。

为了提高杉木种子园种子产量，目前主要采取三个方面的措施：首先，在保证遗传品质好的前提下选择球花球果产量高的无性系进入种子园[172]；第二，注意选择园址。迟健(1988)认为，种子园从中心产区适当南移或北移，可望增加种子产量[131]，多数学者认为选择具体的立地条件，如坡向、海拔和土壤肥力适宜的地点建园也能提高种子产量。第三，加强经营管理。迟健对杉木种子园施肥还作了不少研究。认为施肥要根据土壤对症下药，施肥时间6月最关键，其次为8月和4月，每年施2次最好[134]。何富基的试验结果与上述一致[142]。及时疏伐不仅能改善种子园的光照，有利于花粉传播，从疏伐到产量恢复需要3年[173, 181]。有关疏伐的时间和疏伐后能维持的年限尚需研究。病虫害防治、纠正偏冠、辅助授粉、激素处理和机械创伤对于提高种子园的产量都有效[211]。

选择育种是当前杉木遗传改良的主要途径，也是提高种子园水平的基础。杉木种源研究始于50年代末。从1976年起，全国杉木种源协作组先后布置了两次全分布区种源试验，对杉木种源变异、种源区划和优良种源选择作了系统研究，有关报道

较多[144~145]。地理变异的基本规律是,种源间在绝大多数性状上都存在显著的差异,从中心产区到边缘产区,多数性状呈南北渐变趋势,中心产区生长快,但适应性不如非中心产区。70年代以来,随着杉木种子园的发展,各地在选优和子代测方面作了大量的研究,取得显著的成效。例如,广西省选择杉木优树2207株,对1408个家系进行了子代测定,营造子代测定林和示范林4000多亩,子代平均树高、胸径和材积分别大于对照5.3%、7.0%和23.7%,最优家系材积大于对照79.1%[156]。全国杉木种子园协作组主持开展了全国杉木种子园优良家系区域化试验,揭示了杉木多层次遗传变异模式,开展了联合选择、基因型与环境的交互作用的研究。研究表明,测定地点间、种子园间、园内家系间以及种子园与地点、园内家系与地点的交互作用都达到极显著水平,广西、湖南、福建和广东北部种子园大部分家系树高生长优势明显。从中选择出19个稳定速生型家系和23个速生,与地点交互效应明显的家系[146,169,177]。

关于遗传参数,由于试验点、参试家系不同和测定年龄不同等原因,估算结果有一定的差异。多数研究结果是树高、结顶期和分枝数的遗传力较高,胸径的遗传力相对较低[123~124,135,139,184,187,190~192]。杂交子代的表现是一般配合力、特殊配合力和正反交效应综合作用结果,一般配合力的方差分量最大[122,196]。种内个体间或种源间杂交可以产生杂交优势,自交引起种子播种品质和生长衰退,但不同个体衰退程度有差异[189]。

为缩短杉木育种周期,各地开展了生长性状与年份的相关研究,南京林业大学等主张3~4龄初选,7~8龄复选[195],但也有不同的看法[157]。此外,四川林科院对树脂萜烯组分、浙江林科所对叶绿素a、b、亚林所对硝酸还原酶的活力和含氮化合物、南京林业大学和四川林科院对同功酶等生理生化早期鉴定方法作了探讨。1986年南京林业大学和亚热带林业研究所在总结当时育种研究成果的基础上,制定了杉木育种程序[189]。

三、本文研究思路和内容

从繁殖角度看,种子园是一个生殖系统,从生态学角度看,种子园又是一个遗传生态系统。根据自然辩证法的观点,对任何物质系统都可以从系统与要素、结构和功能、系统与环境这些方面进行分析。种子园在种子生产上应发挥出4个主要功能:即遗传增益显著、种子产量高、播种品质好和保持树种遗传多样性。这些功能的发挥受种子园生殖和选择育种两个子系统的控制。一个理想的生殖系统应具备下列基本条件:(1)没有国外花粉侵入;(2)实行随机交配;(3)没有自交或近交[38,42]。这些条件与无性系着花能力、花期相遇程度、园内花粉云密度、花粉传播距离、受精和胚胎发育状况有密切的关系,此外,还受环境条件的制约。变异是选择

育种的基础。树种变异可划分为种源、林分、家系、单株或无性系等层次。了解树种遗传变异特点,充分利用林木多层次的变异,采取科学的育种策略,才能有效地提高种子园遗传改良效果。然而,种子园的遗传增益不仅取决于建国无性系自身的遗传品质,而且还与交配过程有密切关系。根据数量遗传学理论,群体的遗传增益,是由群体基因频率和育种值决定的。种子园基因频率由无性系配子贡献来体现,也受园外花粉侵染的影响。综上所述,只有深入系统地了解种子园生殖生物学和生态学特性的基础上,通过优化种子园配子的遗传组成,才能从整体上充分发挥种子园的功能。因此,本文侧重研究种子园生殖系统中的基本要素及其关系。基本思路是,以系统科学为指导,将杉木种子园生殖生物学和育种材料遗传学特性相结合,从整体出发,以整体为归宿,达到种子园最佳整体效益。

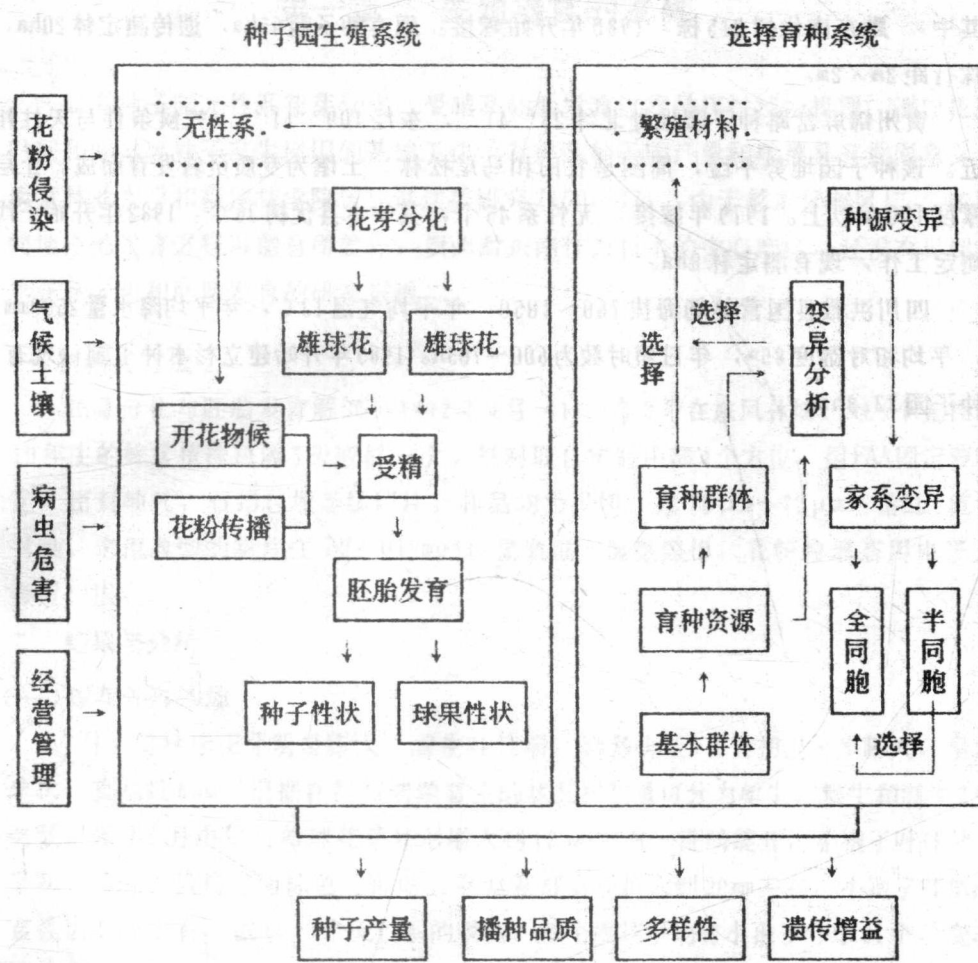
种子园生殖生物学已有大量的研究,为提高种子园产量和品质提供了依据。然而,普遍存在两个问题:一是局限于定性描述,如开花同步性,配子贡献平衡性等缺乏数量评价指标;二是把亲本育种值作为计算种子园遗传增益的唯一依据,没有将亲本配子贡献纳入遗传增益核算,也没有用数量方法分析开花物候、亲本花量等生殖生物学特性对种子遗传增益的影响。为此,本文还将从种子园配子遗传组成入手,研究提高种子园整体育种效益的理论和技術,力求使种子园生殖生物学的研究由定性描述向定量分析推进。本文的研究思路和内容可见下图。

四. 研究基地概况

1989年春,经导师沈熙环教授的介绍,我到贵州黎平县东风林场合作开展杉木种子园技术工作,后来协作面扩展到锦屏、天柱和四川洪雅林场杉木种子园。几年来,与贵州省林科院密切配合,在当地政府、林业局、林场的支持下,和有关科技人员一道,开展了杉木种子园生殖生物学和生态学观测、提高种子产量和品质技术和遗传测定等研究工作。

贵州黔东南苗族侗族自治州是全国杉木中心产区之一。杉木林的面积和木材蓄积量分别占全州森林总面积和蓄积的18.5%和29.3%。州内清水江和都柳江两岸的杉木生长快,树干通直,耐腐性强,在国内久负盛名。1972年,省林科所锦屏杉木研究站在当地选优,建立了贵州省第一个杉木种子园。从1976年开始由林业部和贵州省联合投资,在黎平东风林场、天柱林木良种繁育场建立了杉木初级无性系种子园。此外,剑河县的关口、锦屏岔路口、春蕾林场等地自建了杉木种子园。到目前为止,已选择优树800余株,建园面积2000余亩。在省林科院主持下,从1980年开始,测定优树自由授粉家系414个,分析了遗传型与环境的交互作用,并根据生长和抗病能力选择优良家系86个。在种子园经营管理上,开展了嫁接、施肥、环剥和辅助授粉等试验。在遗传测定上,还开展了两次全分布区种源试验、全国种子园优良家系

区域化试验、控制授粉试验和育种资源同功酶研究 [175~177, 204]。



提高种子园整体效益的研究思路和内容示意图

贵州黎平县国营东风林场地处北纬 $26^{\circ}14'$ ，东经 $109^{\circ}09'$ 。海拔400~600m，年平均气温 15.6°C ，有效积温 4757°C ，无霜期230天，降水量1322mm，年平均相对湿度83%，年日照时数1318h。母岩为砂页岩和石灰岩，黄壤，土层厚度100cm以上，坡度 15° 左右。1978年以来，收集本省、湖南、广西、广东、福建、江西、浙江、四川等省杉木优树623株，1979年开始嫁接，采用髓心形成层贴接法。现有初级无性系种子园60ha，株行距多为 $5\text{m}\times 5\text{m}$ ，1.5代种子园10ha，优树收集圃10ha，种源、子代遗传测定林10ha，株行距 $2\text{m}\times 2\text{m}$ 。

贵州天柱县林木良种繁场地处北纬 $26^{\circ}56'$ ，东经 $109^{\circ}12'$ 。海拔500~600m，年平均气温 16.1°C ，有效积温 5011°C ，无霜期238天，降水量1280mm，年平均相

对湿度83%，日照时数1150.9h。母岩为砂页岩和石灰岩，黄壤，土层厚度100cm以上，坡度25°。1978年以来，收集本省、湖南、广西、广东、福建杉优树369株，其中，黔东南优树215株。1980年开始嫁接。现有种子园65ha，遗传测定林20ha，株行距2m×2m。

贵州锦屏岔路种子园地处北纬26°41′，东经109°11′。气候条件与天柱相近。该种子园地势平缓，周围是农田和马尾松林。土壤为变质页岩发育而成。土层厚度100cm以上。1979年嫁接，无性系45个，其中本县优树36个。1982年开始子代测定工作，现有测定林8ha。

四川洪雅县国营林场海拔760~1050，年平均气温13℃，年平均降水量2500mm，平均相对湿度85%，年日照时数为600~705h。1985年开始建立杉木种子园，现有种子园33.8ha。



第一章 生殖器官的发育

研究种子园无性系花芽分化、受精和胚胎发育过程是探讨授粉机理、诱导花芽时间和胚败育种子产生原因的基础工作, 对提高种子园产量和质量具有重要意义。南京林业大学和福建林学院曾作过这类研究 [150, 197]。由于杉木分布区广, 在不同地点的发育进程可能有所差异, 贵州黔东南作为杉木的中心产区, 还没有见到杉木花芽分化和胚胎发育的研究报道。

一. 材料与方法

花芽分化与胚胎发育解剖: 1992年4月~1993年3月在东风林场, 对3个无性系10年生的嫁接植株每隔5天取材一次。材料取自树冠中部4个方位, 用FAA固定液固定, 密封抽气。石蜡包埋连续切片, 样品均为纵切, 厚 $10\mu\text{m}$ ~ $12\mu\text{m}$, 番红-固绿对染。选用典型的制片在BH2 Olympus显微镜下显微照相。花粉粒形态用电子显微镜扫描。

二. 结果与分析

(一) 球花外形构造

7月下旬雄球花芽明显膨大, 着生在枝端, 容易辨认。9月初进一步膨大, 呈扁球状, 直径约6mm。根据在侧枝梢端着生的状况和数量可分为单生、簇生和混生3种类型。翌年2月中旬, 雄球花芽外形增大到12mm左右, 芽鳞绽开, 小孢子叶球伸长, 早期为绿色, 散粉前为棕色, 此时, 花盘基部直径扩大到20mm左右, 小孢子叶球的直径达4mm左右。据对40个无性系的观测, 每个雄花平均有小孢子叶球21个, 变动幅度为1~52个, 无性系间平均值变动幅度为14~27个。小孢子叶球为圆柱状, 散粉前平均长度为17mm。在纵剖面上, 许多小孢子叶围绕中轴螺旋排列, 每个小孢子叶基部有3个小孢子囊。散粉后, 小孢子叶球松软、干枯, 存留在枝条上。

雌球花芽于12月中旬外形明显膨大, 直径约4mm, 单生或2~4个簇生于枝梢。翌年2月中旬进一步膨大, 直径约7mm, 芽鳞绽开, 苞鳞露出, 并逐步伸长, 开始呈绿色, 到达可授期时呈肉红色, 直径达10mm, 长度为20mm左右。此时, 雌球花下垂, 苞鳞由上至下张开, 露出绿色膨胀的胚珠, 胚珠顶端充满分泌物, 并溢出胚珠外, 成为传粉滴, 以接受花粉。在纵剖面上, 苞鳞沿雌花中轴螺旋排列, 每片苞鳞的近轴面基部形成珠鳞, 珠鳞基部着生3个胚珠。受粉后, 珠鳞和苞鳞闭合, 球果转青, 4~6月球果体积增长迅速, 6月下旬增长缓慢, 球果中轴木质化, 球果基本定型, 种子呈淡黄色, 8月以后, 球果不再增长, 苞鳞木质化, 种子大小基本定型, 种皮逐渐变成褐色, 9月, 种皮呈褐色, 坚硬。到了10月中、下旬种子完全成熟。

(二)花芽分化

1. 雄花芽分化与发育

1) 小孢子叶球原基分化

在5月下旬以前,雄花芽在形态上未见分化,芽的生长锥顶部尖锐,周围被斜长的鳞片叶包围。雄球花芽分化最早在5月下旬,最晚在7月下旬。芽生长锥近顶部的原套原体细胞分裂速度加快,横径加宽,两侧苞片原基突起(照片1-1)。7月中旬,生长锥中央的细胞进一步延长成柱状,形成中轴(照片1-2)。8月上旬,在雄花芽中轴及苞片腋部的细胞分裂,分化为锥状突起,为小孢子叶球原基(照片1-3)。随后,小孢子叶球原基近顶部的细胞分裂和分化,锥状突起变钝,在其周围逐渐形成许多小突起,即小孢子叶原基;到9月中旬,可见到已形成中轴的小孢子叶球雏形,四周的小孢子叶呈螺旋状排列(照片1)。

2) 花粉母细胞和花粉形成

10月上旬,小孢子叶球背腹面出现颜色较深的孢子囊原基,12月中旬,可观察到紧密排列的多变形的造孢细胞(照片2)。翌年1月下旬,由一群核大质浓的细胞组成小孢子囊壁,最外面的一层是囊壁细胞,最内一层为绒毡层细胞,里面可见多边形的初生造孢细胞,排列比较紧密,而且在绒毡层细胞中,有的已形成双核(照片3)。2月上旬,小孢子母细胞变圆,彼此分离、壁薄,随后减数分裂,分裂出四分体(照片4)。2月下旬,小孢子囊壁的绒毛层细胞已经消失,可见2核、多核花粉粒(照片5,6)。3月初小孢子成熟,囊壁开裂,散粉。照片7是在电子显微扫描下观察到的花粉粒形态。

2. 雌花芽分化与发育

1) 大孢子叶球原基分化

10月上旬雌球花原基分化,生长点顶端两侧细胞加速分裂,由尖变钝(照片1-4)。10月下旬,生长点两侧出现小突起,随后增多。小突起是孢鳞原基,到11月下旬,原体近基部的体细胞通过延长形成中轴,进而形成顶部钝圆的大孢子叶球雏形(照片1-5,1-6)。

2) 珠鳞、胚珠原基和胚珠形成

2月上旬,苞鳞近轴面基部与轴之间腋部出现一团染色较深的组织为珠鳞原基(照片8),远轴的珠鳞原基细胞分裂较快,向远轴方向发展为珠鳞,近轴的珠鳞原基进一步分化扩大,同时在其内侧出现新突起,即胚珠原基。2月下旬珠鳞、胚珠原基联合体增长加快,珠鳞原基两侧细胞减数分裂进一步形成珠被,中心细胞发育成核(照片9)。3月初幼胚珠形成,每个珠鳞内可见到3个倒生的幼胚。

(三)胚胎发育

1) 雄配子体形成

花粉由珠孔进入花粉室，常见2~4粒(照片10)，在珠心分泌物的刺激下，萌发出花粉管(照片12)，随着花粉管的移动，单核细胞在5月中旬开始分裂成生殖细胞和管核细胞，两者大小基本相等，生殖细胞周围被一团染色深的物质所包围。5月下旬，生殖细胞经再次分裂形成一个不育细胞和一个精原细胞，加上管核，成三核状态，即成熟的雄配子体(照片11)。6月上旬，花粉管到达复合颈卵器上方，与颈卵器顶端的接受液泡接触。6月中旬，花粉管内的精原细胞分裂出两个精子，不育细胞和管核逐渐变小，最后消失。

2) 雌配子体形成

传粉结束后，在胚珠的珠心内产生一个较大的大孢子母细胞，经减数分裂成4分体后，近珠孔的3个不久消失，距珠孔较远的大孢子发育成雌配子体。4月上旬，留存的大孢子母细胞进行减数分裂，但不形成细胞壁，此时为游离核初期，游离核达20个左右(照片13)。随后核分裂加快，4月中旬可见到200个左右的游离核。5月中旬，雌配子体的细胞壁已形成，中央有个椭圆形的大液泡，约1mm，胞壁周围有3~4层海棉组织，为雌配子提供营养。(照片14)。6月上旬，雌配子体珠孔出现了复合颈卵器，颈卵器的原始细胞经过中央细胞和初生颈细胞阶段后，中央细胞再分裂为卵细胞和腹沟细胞，随着卵细胞的增大，腹沟细胞逐渐变小，最后消失，到了6月中旬，可见颈卵器中椭圆形的卵细胞和许多大小不一的蛋白泡(照片15)。

3) 受精

6月中旬，花粉管穿过珠心到达颈卵器上方的接受泡(照片17)，花粉管破裂释放出两个精子，精子进入颈卵器后，其中一个精子与卵接触，卵核朝向精子一面凹陷。6月下旬，精卵结合完成受精，另一精子逐渐变小，最后消失。

4) 胚胎发育

受精的合子经过3次分裂，形成8个游离核细胞，上层为开放层，其上方不形成细胞壁，以后发育为原胚柄。下层为胚细胞群，以后经分裂形成初生胚(照片19)。7月上旬，当原胚柄细胞延长伸出颈卵器末端，便进入初生胚胎发育阶段。此时，原胚柄细胞开始伸长，将胚细胞群推入雌配子体中，由于原胚柄延伸程度不同，其长短不一，顶端的胚细胞位于各种不同水平上。此时，出现裂生多胚现象，但只有进入雌配子体最深处的胚才能正常分化发育为成熟的胚。其余的在发育过程中被吸收。7月上旬，初生胚细胞经过多次分裂，开始形成胚细胞的胚团，然后形成心形胚(照片20)，接着圆柱形胚远离珠孔端的细胞进行减数分裂，向珠孔端分裂产生胚根组织，接着产生胚轴的原形成层细胞，最后形成胚轴。到了7月下旬，胚的各部分已分化结束，可见到胚根、胚芽、胚轴和两片子叶(照片21)。在胚根底部有一些残留胚柄。在胚发育的同时，珠心细胞被逐渐吸收，仅留下一层珠心表皮。雌配子