

多球果型马尾松的形态和生殖生物学特征研究^{*}

王孜昌^{1,2,3**} Gerd hause³ 邓伦秀¹ 王宏艳¹ 刘开跃⁴ 任志得⁵ 江艺⁶ 徐涵²

(1 贵州省林业科学研究院; 2 IR IT-AR I Toulouse, France;

3 BioCenter, Halle University, Halle, Germany; 4 贵州省天柱县林木种苗站;

5 贵州省黄平县国有林场; 6 贵州省锦屏县林业局种苗公司)

摘要: 本文对多球果型马尾松和常见型马尾松在生长状态、形态结构、生殖发育等方面的差异进行研究和分析。

在多球果型马尾松雌性生殖枝上, 能够着生 40~ 80 个球果(大孢子叶球), 有的甚至可以达到 193 个以上。而在常见型马尾松的雌性生殖枝上, 通常只着生有 1~ 8 个球果, 最常见的是着生 2~ 4 个球果。

多球果型马尾松和常见型马尾松在雌球花的芽组织结构和雌球花的分化过程中有着明显的差异。通过显微分析我们发现: 多球果型马尾松雌球花原基的发育在当年生过冬顶芽的下部, 在它的上部, 还发育有一系列的营养芽原基(10 列以上)。而常见型马尾松雌球花原基的发育在当年生过冬顶芽的顶端。雌球花发育机理的不同, 决定了多球果型马尾松球果的着生部位发生了变异。多球果型马尾松球果着生在春梢的下(基)部, 常见型马尾松球果着生在春梢的顶部。

多球果型马尾松与常见型马尾松球果(大孢子叶球)的发育过程和发育起始时间不相同。通过对 8~ 12 月标本进行显微切片分析, 多球果型马尾松球果的发育起始时间在当年的 8 月(过冬顶芽开始形成的同时), 与小孢子叶球的发育起始时间同步。常见型马尾松球果的发育起始时间是当年的 11 月, 两种类型马尾松的大孢子叶球都是在次年 4 月受粉, 到第三年的 11 月种子成熟。多球果型马尾松球果比常见型马尾松球果多 3 个月的发育时间。

多球果型马尾松个体大量的长串状多球果性状在历年都能重复出现, 这说明该性状具有个体水平的稳定性。

无性繁殖研究证明, 多球果型马尾松的长串状多球果性状, 可以通过嫩枝嫁接的方式, 进行性状的传递。对多球果型马尾松进行有性繁殖研究时我们发现, 多球果型马尾松的球果可以发育出种子, 且成熟种子的发芽率为 60%~ 76%。这说明多球果型马尾松与常见型马尾松一样, 可以用种子进行后代繁殖。

多球果型马尾松与常见型马尾松在形态和生长速率方面没有明显差异。

关键词 马尾松 多球果 顶芽 种子 无性繁殖

Morphology and Reproduction Analysis of a Novel Genotype of *Pinus massoniana* Polycone

Wang Zichang^{1,2,3} Gerd Hause³ Lun Xiudeng¹

Hong Yanwang¹ Ren Gengyuan⁴ Kai Yueliu⁴ Zhi Deren⁵ Xu Xuhan²

(1. Guizhou Provincial Academy of Forestry, Guiyang, China;

2. IR IT-AR I, Toulouse, France; 3. BioCenter, Halle University, Halle, Germany;

4. Station of Forest Tree Seeds and Seedlings, Tianzhu County, Guizhou, China;

5. Base of Forest Tree Seeds and Seedlings, Huangping County, Guizhou, China;

6. Station of Forest Tree Seeds and Seedlings, Jinping County, Guizhou, China)

Abstract Study of Characters in Shape and Procreation Biology of Multiple Cone type *Pinus Massoniana* Lamé. This article is to research and analyze the differences of the state of growth, shape-structure, procreation-development between the multiple cone type *Pinus massoniana* Lamé and the common type *Pinus massoniana* Lamé.

On the female procreation branch of the multiple cone type *Pinus massoniana* Lamé, it can

* 项目来源: 2000 年度中国国家留学基金委员会春晖计划中-法合作项目; 2001 年贵州林业重点项目(2001-15); 2002 年贵州省自然科学基金项目(2002-3042)。

** 作者简介: 王孜昌(1957-), 男, 贵州, 贵阳, 贵州省林业科学研究院, 法国 IR IT-AR I 客座研究员, 长期从事林木遗传育种研究。

produce 40~ 80 cones, even up to or over 193 ones. However, on the female procreation branch of the common type *Pinus massoniana* Lamé, the common number is 2~ 4

There exists obvious differences in the tissue-structure of the buds and in the disintegration process, in the female cone flowers of *Pinus massoniana* Lamé between the multiple cone type and the common type. Through the microscope analysis, we can find: the anlagen of the female cone flower of the multiple cone type often grows from the bottom of the top bud that grows in that year's winter, on the top of the top bud, there exists a series of anlagen of the nutrition bud too (more than 10 lines). However, the anlagen of the female cone flower of the common type often grows from the top of the top bud that grows in that year's winter. The aberrance of the growth parts of the multiple cone type's cones depends on the difference of the growth mechanism of the female flower. The cones of the multiple cone type often originate from the bottom of the tip of a branch in spring, however, the common type's cones often originate from the top. The development process and starting time of the cones between the multiple cone type and the common type are different. Through the analysis of microscope section from 8~ 12 month specimen, the cone's development starting time of the multiple cone type is often on August in that year, in synchronization with the microspore leave-ball. comparatively, the development starting time of the common type's cones is often on November. Both kinds of megaspore leave-ball of *Pinus massoniana* Lamé are pollinated in next year, and the seeds are often mature on November in the third year. The development time of the multiple cone type is three months longer than that of the common type

The character of a lot of long string cones of the multiple cone type *Pinus massoniana* Lamé appears frequently every year, which indicates that the property has a stability at individual level

The researches of the agamogenesis prove the property of long string cone can be transmitted in the way of wand's inoculation

From the researches of the sex reproduction of the multiple cone type, we can find that the cones of the multiple cone type can produce seeds and the pullulating percentage is from 60 to 76. This indicates that the multiple cone type *Pinus massoniana* Lamé can be reproduced by seeds as the common type do.

There are no obvious differences in the shape and the growth speed between the multiple cone type and the common type *Pinus massoniana* Lamé

Key words Bud Palycone *Pinus massoniana* Reproduction Seed

马尾松(*Pinus massoniana* Lamé)是中国松属树种中分布最广、数量最多的树种^[1]。在中国森林总蓄积量中,马尾松森林蓄积量居第四位,面积居全国针叶林首位^[2]。全国有 17 个省、市(自治区)广泛分布。其水平分布为北纬 21。41'~ 35。56',东经 102。10'~ 123。14';其分布的垂直高度在 200~ 1500m 海拔之间,是中国南方主要山地造林树种和主要工业用材树种^[3]。马尾松有较强的耐脊薄性和宽泛的生态适应性,特别是在森林植被遭受严重破坏和群落演替已沦为稀草裸地状态阶段,马尾松常为首选造林树,被称为山地造林“先锋树种”^[4]。马尾松又是中国重要的造纸制浆原料树种。其木材纤维含量为 45.5%~ 61.91%,纤维长度为 4.4~ 6.5mm^[5],管胞长宽比在 61~ 76,壁腔比、腔径比均达到和超过造纸纤维的标准^[6]。对该树种的研究和利用对中国南方的生态林建设及整个中国的林业产业建设均有着重要的影响。

马尾松的扩大繁殖方式与大多数的松科树种一样,主要是通过种子的有性繁殖进行,而马尾松的种子是产生于雌球果之中。所以在研究马尾松的扩大繁殖问题中,对马尾松雌球果性状的研究,具有重要的意义。通常所见的马尾松雌球果单生或 2~ 4 个着生于新长枝的近顶端^[1],也有文献提到有 34 个雌球花芽着生于新梢顶芽的周围^[7]。值得指出的是,所描述马尾松雌球花芽的发育和雌球果的着生部位,都是新梢顶端。

1997 年,在实施贵州省“九五”重点林业科研项目“马尾松多世代育种”研究过程中,我们从 252 个优良家系,约 36000 株马尾松个体中,发现了 8 株具有“长串状球果群多结球果”特征的多球果型马尾松个体。这些个体具有

两点明显的特异表现: 一是有几十个甚至上百个的雌球果出现在果枝上; 二是着生部位不在新梢顶端, 而是新梢的基部, 从而在新长枝的基部, 形成 20~ 45cm 长的串状球果群。

我们对马尾松这种多球果性状的特征进行研究, 期望能挖掘出更多的优良繁殖材料, 丰富马尾松基因资源, 在马尾松的遗传改良研究和良种生产中发挥作用, 以期马尾松树种的开发和利用提供更好的物质材料和技术参数。

1 研究材料及原生地自然条件

1.1 研究材料原生地自然条件

研究材料来源于中国贵州省黔东南苗族侗族自治州境内的马尾松良种基地。属中亚热带温暖湿润气候。年均气温 15.7~ 16.1, 一月均 4.7~ 5.0, 7 月均 26.2~ 26.7。海拔高度在 420~ 650m。土壤均为山地黄壤, 地型为低山丘陵, 土壤 PH 为 5.5~ 6.5, 土层厚度 100cm 左右。年降水 1120~ 1250mm, 年日照时数 1156.9~ 1157.4h, 年辐射量 348.28~ 414.4 兆焦/m²。该地区是中国南方森林分布的主要林区之一, 也是中国马尾松的主要产区和优良种源区之一。

1.2 研究材料

我们发现的 8 个多球果型马尾松的个体, 初步确定是第一代马尾松优良育种群体 252 个无性系中的 3 个无性系。这个育种群体的个体单元数约为 36000 株。研究材料发现时, 其 8 个多球果型马尾松的个体中, 有 3 株树龄为 8 年, 5 株树龄为 13 年。

用于调查和研究的材料有: 13 年树龄常见型马尾松和多球果型马尾松个体; 两种类型马尾松当年生过冬顶芽; 两种类型马尾松雌球果; 两种类型马尾松雌花芽、雄花芽; 两种类型马尾松种子; 两种类型马尾松当年生新梢的嫩枝; 常见型马尾松 2 年生幼树。

2 研究方法

2.1 形态学研究

2.1.1 多球果型马尾松和常见型马尾松个体的生长进行状态调查

2000 年, 对 13 年生的 5 株多球果型马尾松个体以及相邻的 15 株常见型马尾松个体进行了的树高, 胸高直径, 嫁接接口直径, 冠幅长度等项目进行调查。调查精度: 树高为 cm, 胸高直径为 mm, 嫁接接口直径为 mm, 冠幅长度为 cm。常见型马尾松调查个体入选方法: 每株多球果型马尾松个体周围 3 株同样年龄且生长正常的常见型马尾松个体 (共 15 株)。

2.1.2 多球果型马尾松和常见型马尾松雌球果形状和大小检测

2001 年, 我们在多球果型马尾松与常见型马尾松各自的混合样品中, 各随机抽取 100 个球果, 进行纵、横径的检测。检测工具 0.02mm 精度的游标卡尺, 检测精度 mm。

2.1.3 多球果性状年度表现及马尾松多球果型马尾松和常见型马尾松雌球果着生方式和挂果量调查

2002 年春, 我们选择了一株多球果型马尾松的个体, 在同一个结果枝上进行了连续 3 年的结实串挂果量调查。

1997 年~ 2002 年连续 6 年, 对 8 株多球果型马尾松和相邻的 15 株常见型马尾松个体的全株进行雌球果着生方式调查。

2002 年 6 月, 对多球果型马尾松和常见型马尾松个体可视树冠面单果枝雌球果的发育数量进行调查。

2.2 生殖生理学研究

2.2.1 多球果型马尾松与常见型马尾松雌、雄球花的物候发育过程和着生方式调查

分别在 1998 年、1999 年、2000 年 3 年的 11 月~ 次年 4 月对多球果型马尾松与常见型马尾松雌、雄球花的物候发育过程和雌、雄球花的着生方式进行常规 (肉眼) 方式调查。在 11 月~ 次年 1 月, 每 15 天观察一次; 次年 2 月~ 3 月上旬, 每 10 天观察一次; 次年 3 月中旬~ 4 月中旬, 每 3 天观察一次。

2.2.2 多球果型马尾松与常见型马尾松的授粉期及不同授粉方式的授精情况

于 2001 年 3 月下旬~ 4 月上旬, 对多球果型马尾松与常见型马尾松的雌、雄球花撒粉开始时间和雌球花绽

开时间进行调查。于 2001 年 4 月, 随机抽取多球果型马尾松的 10 个结果枝, 进行人工辅助授粉。并在 2001 年 8 月, 在调查人工辅助授粉多球果型马尾松 10 个结果枝球果授精情况的同时, 选择生长发育正常的多球果型马尾松和常见型马尾松个体, 在树冠的上、中、下, 坡上、下方向的三个部位和方向, 各选一枝结果枝, 对自然条件下, 球果授精情况进行调查。

2.2.3 多球果型马尾松和常见型马尾松种子出籽率、千粒重及发芽率

2001 年冬, 采集在自然授粉形成的多球果型马尾松和常见型马尾松球果各 5kg。对采集的球果用相同的处理方法获得种子。测定千粒重和出籽率。

2002 年 2 月 18 日, 用获得的多球果型马尾松和常见型马尾松种子, 各取 300 粒, 100 粒为一组, 检测发芽率。

2.2.4 多球果型马尾松的有性繁殖技术研究

1999 年 12 月采收自然授粉多球果型马尾松球果, 获得种子后于 2000 年 3 月播种, 同年 5 月进行调查。又于 2001 年 12 月采收人工辅助授粉多球果型马尾松球果, 于 2002 年 5 月将获得种子, 用水选法对种子进行筛选后播种, 同年 8 月进行调查。

2.3 多球果型马尾松与常见型马尾松雌、雄球花的发育及着生状态的显微分析

对多球果型马尾松和常见型马尾松的芽组织结构、大小孢子叶原基的发生和发育等方面进行研究。

2.3.1 采集方法

我们在 2000 年 7 月~ 2001 年 4 月和 2001 年 7 月~ 2002 年 4 月, 这三个年度, 开展采集多球果型马尾松与常见型马尾松的冬芽标本。采集时间密度 7 月~ 次年 12 月为每十天一次, 1 月~ 2 月为每十五天一次, 3 月~ 4 月为每 5 天一次。处理方法为: 将标本纵向切削 1/3 后, 用 FAA 溶液固定, 存放于 13 × 100mm 的试管中。

2.3.2 分析方法

2003 年 4 月, 在国家教育部的资助下, 通过中国- 法国- 德国科技合作的形式, 我们在德国马丁路德大学生物中心植物显微实验室和法国 TOULOUSE 综合科学研究所对这批多球果型马尾松与常见型马尾松的冬芽标本开展了, 包埋、切片、制作压片、显微分析、显微摄影、三维成像等系列研究和分析。标本的切片厚度为 4 微米, 每个标本的每个块切样都进行了 100 张以上的连续切片。总数约 3 000 余切片。

2.3.3 使用设备

德国产的 HM 355 切片机, EE ISS A x i o s k o p 2 显微镜, Sony 3CCD 全电脑彩色显微照相机。

2.4 多球果型马尾松的无性繁殖技术研究

2000 年 4 月, 以多球果型马尾松当年生嫩枝为接穗, 以常见型马尾松 2 年生的幼树为砧木。用髓心形成层对接法, 从多球果型马尾松个体上切取 20 条春梢的嫩枝, 分别嫁接在 20 株常见型马尾松 2 年生的幼树的顶梢上。2000 年 6 月解绑。2001 年春, 对嫁接条件、嫁接的技术保障、嫁接成活率、嫁接后的性状表达等方面进行研究。2002 年 4 月相同的实验又重复进行, 但嫁接的无性系幼树为 30 株, 同样在嫁接成活一年后进行调查。

3 研究结果与分析

3.1 营养生长和树形发育调查

多球果型马尾松与常见型马尾松相比较, 在生殖发育中表现了明显的差异现象, 它们在形态和生长速率的表现怎样? 我们重点对两种类型马尾松的营养生长和树体发育进行调查和研究(见表 1、图 1)。

调查结果表中 U 值($Z_{0.025} = 1.96$)和差异分析直方图得出: 多球果型马尾松与常见型马尾松在营养生长量和树体形态发育方面无明显差异。

表 1 两种类型马尾松生长调查汇总表

项目	树高 (m)	胸高直径 (cm)	嫁接口直径 (cm)	冠长 (m)
多球果型	10.24	19.3	22.9	9.5
常见型	10.75	19.65	23.09	9.86
U 值	1.223	0.636	0.228	0.885

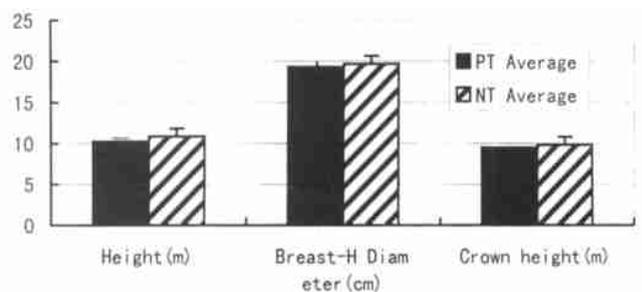


图 1 多球果与常见型马尾松个体的生长和差异分析直方图
表中 PT Average: 多球果型马尾松平均值; NT Average: 常见型马尾松平均值; Height: 树高平均值; Breast-H: 胸高直径平均值; Crown height: 冠幅平均值。

3.2 球果形态和大小研究

纵、横径的检测结果显示: 大多数多球果型马尾松球果纵径长度范围在 4.5~ 2.2cm 之间, 横径长度范围在 3.2~ 1.8cm 之间; 球果最大纵径长度为 6.4cm, 最大横径长度为 3.5cm。平均纵径长度 3.7 cm, 平均横径长度为 1.9cm。球果形状多数为纺锤型, 少数为近圆球型; 纺锤型的球果个体大于近圆球型球果个体。常见型马尾松球果的纵径平均长度为 6.3cm, 横径平均长度为 3.3cm。球果形状为纺锤型。

与其它常见型马尾松球果一样: 在多球果型马尾松球果上有一层鳞片紧包着球果。发育良好的种子均生长在球果的中上部。球果颜色为绿色, 成熟后为深褐色。

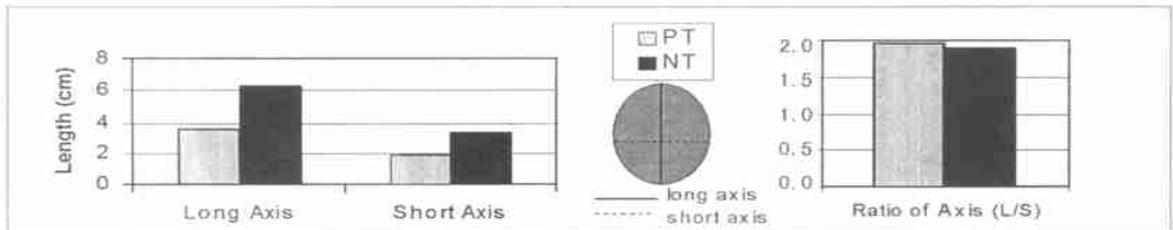


图 2 多球果型马尾松与常见型马尾松球果比较图

图中 PT: 多球果型马尾松; NT: 常见型马尾松; Long Axis: 球果的纵径平均值; Short Axis: 球果的横径平均值; (L/S): 球果的纵径平均值与横径平均值比。

通过比较可以看出, a 多球果型马尾松与常见型马尾松的球果在大小上有明显差异。它们纵径平均值 (Long Axis) 的差率为 0.587, 横径平均值 (Short Axis) 差率为 0.575。在多球果型马尾松与常见型马尾松球果比较直方图中可明显看到它们的差别。 b 分析多球果型马尾松与常见型马尾松球果的各自纵径平均值与横径平均值之比 (Long Axis/Short Axis), 多球果型马尾松纵径平均值与横径平均值之比为 1.947, 常见型马尾松纵径平均值与横径平均值之比为 1.909, 说明多球果型马尾松与常见型马尾松的球果在形态上没有明显差异。 c 常见型马尾松的球果通常只能见到纺锤型一种形态, 而多球果型马尾松有纺锤型和近圆球型两种形态, 但大多数为纺锤型。

3.3 雌球果挂果数量及年度表达分析

8 株多球果型马尾松个体从 1997 年被我们发现至今, 每年都能重复出现大量的长串状多球果结果现象, 并且没有发现常见型马尾松所表达的雌球果单生或 2~ 4 个着生于新长枝近顶端的表达模式。

同一个结果枝连续 3 年的结实串挂果量调查结果: 2001 年结实串长 32cm, 挂果 71 个; 2000 年结实串长 43cm, 挂果 109 个; 1999 年结实串长 35cm, 挂果量有 67 个。其中 2000 年和 1999 年球果的种子已经飞撒, 但球果还保留在枝条上。2001 年的球果正在成熟过程中。2002 年在同一个结果枝上又有大量的花芽产生。

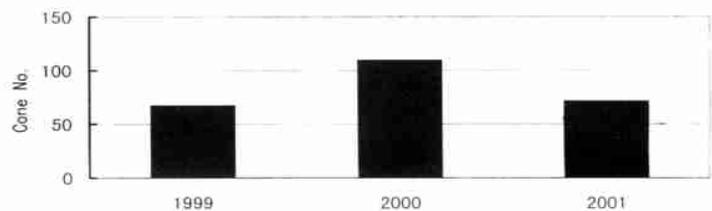


图 3 多球果型马尾松雌球果的长串状结果数量多年度调查直方图

图中: 纵坐标表示球果数量 (Cone No.); 横坐标表示调查年份。

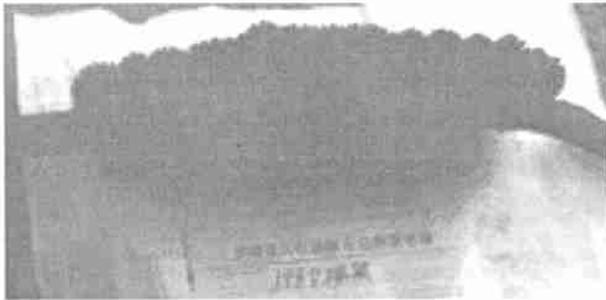
调查结果显示, 多球果型马尾松的长串状多结果性状具有: a 多年度稳定的重复表达性; b 呈现为全株性和具唯一性 (只有长串状多结果性状) 的表达模式; c 随大结实小年的变化, 结实串也表现出相应的挂果数量变化。

3.4 单果枝雌球果的发育数量和着生状态调查

在天然授粉情况下, 在常见型马尾松每个生殖枝的顶端, 通常发育 1~ 8 个雌球果; 在多球果型马尾松每个生殖枝的中下 (基) 部, 通常发育 40~ 80 个雌球果, 单个球果串最高挂果数可达到 193 个 (见照片 1、2)。通过调查, 常见型马尾松的每个生殖枝, 平均每个生殖枝发育 2.1 个雌球果。同样授粉情况下, 多球果型马尾松的每个生殖枝, 平均每个生殖枝发育 41.5 个雌球果 (见图 4 及照片)。

从照片和图 4 可以看出: a. 多球果型马尾松与常见型马尾松球果的着生方式和部位明显不同, b. 多球果型马尾松与常见型马尾松每个生殖枝平均雌球果发育数存在显著差异。

3.5 多球果型马尾松与常见型马尾松雄、雌球花物候及着生部位的调查(常规)



照片 1: 多球果型



照片 2: 常见型

(1) 雄球花: 多球果型马尾松雄球花芽在每年的 12 月中旬开始出现, 并着生在当年冬芽的下(基)部, 冬芽上部是休眠的叶芽。在第二年的 2 月上旬以前, 它和休眠的叶芽一起被苞片紧紧地包裹在休眠的冬芽上。到 2 月中旬~ 3 月上旬期间, 在冬芽开始萌动抽长的同时, 雄球花芽开始膨胀, 可看见几十个或几百个凸起的球状体, 聚生在抽长的冬芽下部, 呈螺旋状排列。到 3 月中旬, 这些几十个或几百个凸起的球状体顶部开始出现淡淡的黄色。3 月下旬~ 4 月上旬, 小孢子囊破裂, 开始撒粉。常见型马尾松的雄球花芽与多球果型马尾松雄球花芽的物候发育过程完全相同, 具有一致的物候规律和相同的着生方式。



图 4 多球果型马尾松与常见型马尾松果枝结实量直方图分析

注: 纵坐标: 平均每个生殖枝雌球果发育数, NT Average: 常见型马尾松每个生殖枝平均雌球, 果发育数 PT Average: 多球果型马尾松每个生殖枝平均雌球果发育数。

(2) 雌球花: 每年的 12 月中旬可以看见, 在当年发育冬芽的下(基)部有一段明显的凸起部分, 多球果型马尾松的雌球花芽就发育在其中。从开始发育到次年的 2 月上旬以前, 多球果型马尾松的雌球花芽与雄球花芽的外部形态难于区别。两者的着生部位都是在当年冬芽的下(基)部, 上部同样是休眠的叶芽。它和休眠的叶芽一起被苞片紧紧地包裹在休眠的冬芽上。到 2 月中旬~ 3 月上旬期间, 冬芽开始萌动抽长, 雌球花芽开始膨胀, 可看见几十个或几百个凸起的球状体, 聚生在抽长的冬芽下部, 呈螺旋状排列。从这时起, 多球果型马尾松的雌花球与雄球花芽, 在形态上有了一定的区别。到 3 月中旬, 这些几十个或几百个凸起的球状体顶部开始出现清晰的紫红色。3 月下旬~ 4 月上旬, 多球果型马尾松的雌花球开始生长, 在适合的气候条件下, 苞鳞开张, 进入受粉阶段。常见型马尾松的雌球花芽与多球果型马尾松雌球花芽的物候发育过程相同, 但着生部位和方式有着显著的变化。多球果型马尾松的雌球花芽, 着生部位是抽长冬芽的下(基)部, 着生方式是几十个或几百个呈螺旋状排列, 形成长为 20~ 45cm 串状球果群; 常见型马尾松的雌球花芽, 着生部位是抽长冬芽的顶部, 着生方式是 1~ 8 个呈单轮排列。

表 2 两种类型马尾松雄、雌球花物候及着生部位调查表

	雄花序			雌花序		
	发育时期	着生部位	物候出现期	发育时期	着生部位	物候出现期
常见型	12 月~ 4 月	抽长冬芽下(基)部	3 月出现黄色球体 4 月开始撒粉	次年 2 月~ 4 月	抽长冬芽(春梢)顶部	3 月出现紫红色球体 4 月鳞片打开
多球果型	12 月~ 4 月	抽长冬芽下(基)部	3 月出现黄色球体 4 月开始撒粉	12 月~ 4 月	抽长冬芽(春梢)下(基)部	3 月出现紫红色球体 4 月鳞片打开

从常规调查的结果我们看到:

a 常见型马尾松与多球果型马尾松雄花芽的物候发育过程相同。

b 马尾松与多球果型马尾松雌球花芽的物候发育过程不同。用常规(肉眼)调

查方法, 常见型马尾松的雌球花芽出现在次年的 2 月, 而多球果型马尾松的雌球花芽则出现在头年的 12 月。

c 常见型马尾松与多球果型马尾松雄花芽的着生部位和方式相同, 都发育在抽长冬芽下(基)部。

d 多球果型马尾松与常见型马尾松雌花芽的着生部位和方式发生了显著的变异。常见型马尾松雌花芽的着生部位在抽长冬芽(春梢)的顶部,以单轮生方式排列。多球果型马尾松雌花芽的着生部位在抽长冬芽(春梢)的下(基)部,以长串状多轮生方式排列。

3.6 授粉期和授精情况研究

多球果型马尾松与常见型马尾松雄球花开始撒粉放的时间相同,都是 4 月 1~3 日开始出现。多球果型马尾松与常见型马尾松雌球花鳞片开放时间也相同,多球果型马尾松雌球花绽开期始于是 4 月 3 日,常见型马尾松雌球花绽开期始于 4 月 1 日~5 日。

2001 年 8 月份对球果授精情况进行调查,多球果型马尾松雌球果在自然授粉状况下,最低一个果枝的授精率有 30%,平均授精率为 45%,少数一个果枝的授精率有 80%;在人工辅助授粉下,授精率可达到 90% 以上。受精后的大孢子叶球继续发育生长,而未受精的花芽则相继脱,但在果枝留下一个清晰可见的球果痕。

常见型马尾松雌球果在自然授粉状况下,授精率在 90% 以上(调查了 25 个家系)。

从(图 5)可以看出: a 多球果型马尾松雌球果的自然授精率较低,平均自然授精率只有 45%,这意味着有 55% 的雌球果要发生败育。 b 通过适当的人工干预,进行人工辅助授粉,多球果型马尾松雌球果的授精率可以达到 90% 以上,与常见型马尾松雌球果的授精率相同。

3.7 多球果型马尾松与常见型马尾松雌、雄球花的发育及着生状态的显微分析

分析样品的采样和标本固定在国内进行;处理、制作细胞切片、切片显微摄影和显微分析在德国和法国进行。

在 8 月的多球果型马尾松和常见型马尾松分析标本中,马尾松的过冬顶芽开始形成的同时,马尾松的花芽原基也开始发育。这时的多球果型马尾松和常见型马尾松的过冬顶芽的(基)下部都发现有串状着生的生殖芽原基在发育。在它的上部,大约有 10 层左右的叶芽原基发育。在过冬顶芽的顶部,除有非常活跃的顶端分生组织外,没有发现其它的组织结构(见版图 1 中图 1)。

在 9~10 月的多球果型马尾松和常见型马尾松分析标本中,过冬顶芽(基)下部具有串状生殖芽原基的标本发生了分化。部分具串状生殖芽原基的标本在其体积增大的同时,串状生殖芽原基的发生部位,出现了小孢子囊状结构,说明雄性生殖芽开始发育(见版图 2 中图 2)。也有部分具串状生殖芽原基的标本仅仅在发生体积增大,串状生殖芽原基的形态没有发生改变。

在 11 月的多球果型马尾松和常见型马尾松分析标本切片中,过冬顶芽(基)下部具有串状生殖芽原基的标本进一步发生了分化。在串状生殖芽原基的发生部位,出现了明显的小孢子双囊结构,并能观察到花粉粒(见版图 2 中图 4),从而在过冬顶芽(基)下部形成长串状的小孢子叶球原基。

在 11 月的另一些具有串状生殖芽原基的标本切片中,出现了明显显示出具大孢子叶球特征的苞鳞和珠鳞原始结构(见版图 2 中图 5、6),并在过冬顶芽的(基)下部形成长串状的大孢子叶球原基群。在常见型马尾松 11 月的分析标本切片中,冬芽的顶部也出现了明显的苞鳞和珠鳞原始结构,但仅形成单轮生排列的少量的数个大孢子叶球原基。

从 12 月~次年 2 月的多球果型马尾松和常见型马尾松分析标本切片中,没有发现各种组织和结构的近一步分化。说明,在马尾松的过冬顶芽进入休眠期,各种分化活动停止。

从显微分析可以看出:

多球果型马尾松和常见型马尾松雄球花的发育过程和发生部位都没有差异。两种类型马尾松的雄球花在 8 月开始发育,9~10 月形成小孢子囊状,11 月出现花粉母细胞,12 月~次年 2 月进入休眠期。雄球花芽原基着生于过冬顶芽(基)下部,形成长串状生殖芽原基群。到次年春天,两种类型马尾松的过冬顶芽开始萌动,在抽长新梢

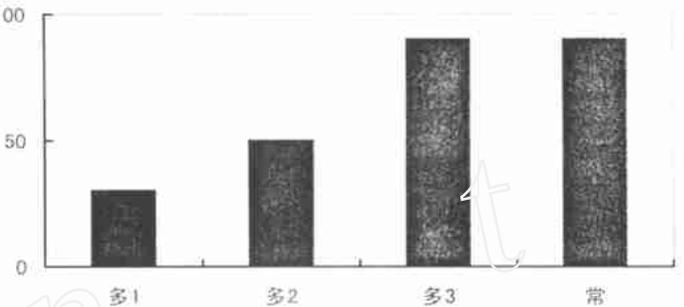


图 5 多球果型与常见型马尾松授精率比较

注:多 1(多球果马尾松在自然情况下最小授精率),多 2(多球果马尾松在自然情况下平均授精率),多 3(多球果马尾松在人工授粉情况下授精率),常(常见型马尾松在自然情况下授精率)。

的(基)下部, 显现出串状的小孢子球群(雄球花串)。

多球果型马尾松与常见型马尾松雌球花的发育过程、发生数量和发生部位存在明显的差异。a 大孢子叶球原基发育的时间起点不同。多球果型马尾松雌球花开始发育的时间是过冬顶芽开始形成的 8 月份, 而常见型马尾松雌球花开始发育的时间是 11 月份; 多球果型马尾松雌球花比常见型马尾松雌球花的发育期长 3 个月。b 两种类型马尾松的大孢子叶球原基发生数量存在极大的差异。多球果型马尾松大孢子叶球原基呈长串状螺旋排列, 数十至上百个的发生; 而常见型马尾松大孢子叶球仅仅出现少量的几个。c 大孢子叶球原基发生部位有明显的差异。多球果型马尾松大孢子叶球原基着生于过冬顶芽的(基)下部; 而常见型马尾松大孢子叶球着生于过冬顶芽的顶端。

3.8 种子出籽率、千粒重及发芽率分析

多球果型马尾松的串状多结球果性状是否可以遗传, 对该性状的深入研究和开发利用有着重要的意义。经过多年的调查, 多球果马尾松的球果每年都有种子产生。通过研究和分析, 这些种子具有正常的可育能力(见表 3、图 6)。

表 3 两种马尾松种子播种品质调查汇总表

项目	出籽率	千粒重	发芽率
多球果型	1.098	4.055	61.6
常见型	2.698	9.825	65.0
U 值	13.9	32.6	1.515

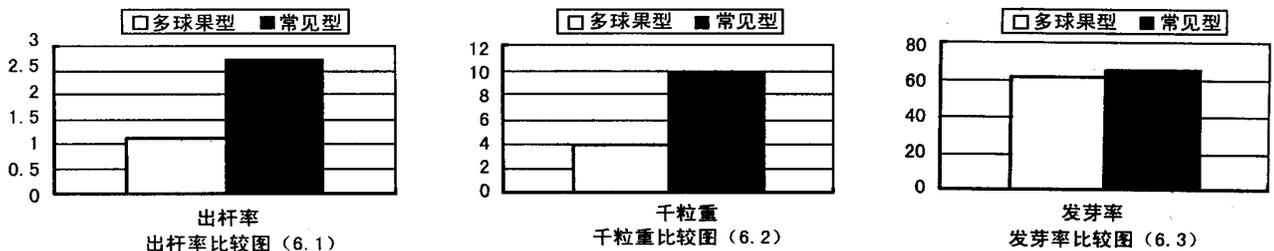


图 6 两种类型马尾松种子比较图

研究结果显示: 在自然授粉条件下, a 多球果型马尾松的球果出籽率和种子千粒重都显著的小于常见型马尾松。b 多球果型马尾松的种子发芽率与常见型马尾松相似 ($U = 1.515 < 1.96$)。

3.9 有性繁殖实验分析

在 2000 年的第一次有性繁殖育苗实验中, 多球果型马尾松播种 182 粒, 长出 62 株幼苗, 场圃发芽率为 34.6%。2002 年的第二次实验中, 经过水洗漂选多球果型马尾松种子 234 粒后播种, 长出 180 株幼苗, 场圃发芽率为 76.92%。通过这两次有性繁殖育苗实验可以充分证明: a 多球果型马尾松可以利用其种子, 用常规的育苗方法, 获得有性繁殖的后代。b 多球果型马尾松其成熟种子的场圃发芽率, 完全可以满足林木育苗的要求 (GB 一级种子 = 75%, 二级种子 = 60%)。c 由于多球果型马尾松球果着生密集, 自然授粉条件下受精率较低。可以通过改进授粉条件和对种子进行水洗处理, 提高多球果型马尾松种子的播种品质和场圃发芽率。

表 4 一年生多球果型马尾松无性系幼树调查表

项目	嫁接株数	成活株数	成活率 (%)	多球果表达株数	表达率 (%)
2001 年	20	13	65	3	23
2004 年	30	22	73	5	22.7
平均			69		22.85

3.10 无性繁殖实验研究

通过对多球果马尾松与常见型马尾松的营养发育研究表明: 多球果型马尾松的冬芽萌动、春梢抽长、针叶展开和春梢径生长发育的时间和速率等方面与常见型马尾松有相同的表达。根据这一特征, 多球果型马尾松接穗和嫁接砧木的选择条件与常见型马尾松相同。最佳嫁接时间随当年的物候变化而定。应是新梢的针叶刚开始在叶鞘中发育出露, 但仍未展开与新梢形成角度之前。

2001 年 4 月对第一次无性繁殖实验进行调查显示: 嫁接多球果型马尾松无性系幼树 20 株, 嫁接成活 13 株, 嫁接成活率 65%。嫁接成活 13 株中, 有 3 株一年生幼树表现出多球果型马尾松串生多球果性状, 表达率 23%。

2004 年 4 月对第二次无性繁殖实验进行调查显示: 嫁接多球果型马尾松无性系幼树 30 株, 嫁接成活 22 株, 嫁接成活率 73%。嫁接成活 22 株中, 有 5 株一年生幼树表现出多球果型马尾松串生多球果性状, 表达率 22.7%。

根据两次不同年度的重复实验可以得出: a 多球果型马尾松的无性繁殖可以直接利用现有的马尾松无性系嫁接技术。b 多球果型马尾松的嫁接成活率为 70% 左右, 与目前常规条件下常见型马尾松嫁接成活率相同。

(60% ~ 85%)。c 多球果马尾松的串生多球果性状是可以经过无性繁殖(嫁接)技术传递和扩大种群数量。d 实验中多球果型马尾松的串生多球果性状,在无性繁殖一年生幼树中的表达率仅有 22.85%。这是因为马尾松的嫁接植株通常情况下,需要 3~5 年后才能进入正常的生殖发育阶段。

4 讨论

4.1 多球果型马尾松与常见型马尾松的显著差别有三点: a 结果数量差别。多球果型马尾松在每一个雌性生殖枝,能够着生 40~80 个大孢子叶球(球果),甚至可以能够着生 100 个以上大孢子叶球,而常见型马尾松每一个雌性生殖枝上通常只有 2~4 个大孢子叶球着生。b 着生部位不同。多球果型马尾松的大孢子叶球,着生在当年春梢的基部,而常见型马尾松的大孢子叶球则着生在当年春梢的顶端。c 着生方式不同。多球果型马尾松的大孢子叶球以多轮生螺旋状方式排列在雌性生殖枝中,形成一个 20~45cm 的串状大孢子叶球群(多球果群)。常见型马尾松的大孢子叶球则单个或几个,以单轮生方式排列在雌性生殖枝的顶端。

4.2 多球果型马尾松的变异机制形成于每年 8 月发生的越冬顶芽中。每年的 8 月份,马尾松的侧枝顶端开始出现越冬顶芽的发育。a 通过显微分析发现,多球果型马尾松的雌球花原基基本上是和越冬顶芽同时发育,它们出现在当年 8 月在越冬顶芽的基部。正因为有这样的机制存在,形成了多球果型马尾松的大孢子叶球着生部位的变异。b 多球果型马尾松的雌球花原基比常见型马尾松的雌球花原基早 3 个月(8 月份)发育,而每年的 6、7、8、9 月份正是马尾松营养物质发育和积累的旺盛时期。多球果型马尾松在这个时期出现,可以得到更多营养物质的供应,从而具备了实现孕育大量雌球花原基的物资基础。也正是由于这种机制的存在,形成了多球果型马尾松长串状大孢子叶球群(多球果群)特征的发生。

4.3 多球果型马尾松是马尾松种群中种内的一种生殖变异类型。经过多重、多项目的实验和研究分析,这种大量结实现象,并没有连锁影响树体的营养生长和树形发育。没有发现这种特异性生殖发育变异与营养发育之间的关联。

4.4 多球果型马尾松的长串状多球果特征具有高度的年重复性,可以认为这种特殊变异性状,在个体水平上有稳定的表达能力。通过无性繁殖实验证明,可以通过嫁接的方式实现长串状多球果性状的无性传递,并可以通过这种方法扩大种群的数量和进行异地基因保存。

4.5 多球果型马尾松花期的物候发育与常见型马尾松同步,所以其自然受精率也有 40% 左右。如果对长串状多球果群通过人工辅助授粉,可以使受精率达 90%。

4.6 生物界中的某些变异类型,在发生变异的同时往往也丧失繁殖后代的能力。经过有性繁殖实验,多球果型马尾松成熟种子的发芽率为 60%~76%。它们可以同常见型马尾松一样,通过种子进行后代繁殖。

4.7 多球果型马尾松遗传变异的分子生物学研究,有待在以后的研究中进行。

4.8 多球果型马尾松长串状多球果群特异性性状,能否在 F_1 代表达? 这种特异性性状生殖发育的变异,在 F_1 代的遗传力有多少? 更待以后的研究。

版图 1

1、多球果型马尾松越冬顶芽 8 月份标本切片显微图片(合成)

17-2-2-4-a3-4 为冬芽的前段,17-2-2-4-a2-4 和 17-2-2-4-a1-4 为冬芽的中段,17-2-1-6-b-4 为冬芽的后段。多球果型马尾松的生殖芽原基只出现在冬芽的后段,中段和前段只出现营养芽。

2、多球果型马尾松冬芽的顶端

3、4、多球果型马尾松冬芽中腋芽(营养芽)原基的着生部位和的发育状态

在 1-1-1-10-a-10(图 4)中有明显的芽鳞、苞叶和针叶原基组织。

5、6、多球果型马尾松冬芽中的生殖芽原基放大图

版图 2

图 1 多球果型马尾松生殖芽原基 8 月份的发育状态,未出现雌、雄分化

图 2 多球果型马尾松生殖芽原基 10 月份的发育状态,出现雄球花

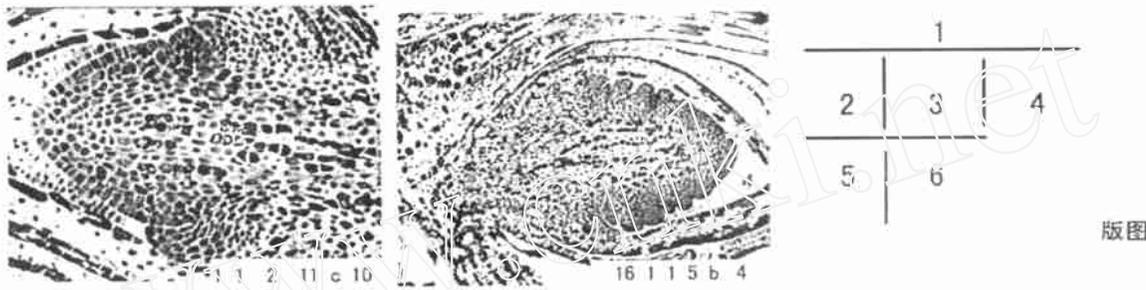
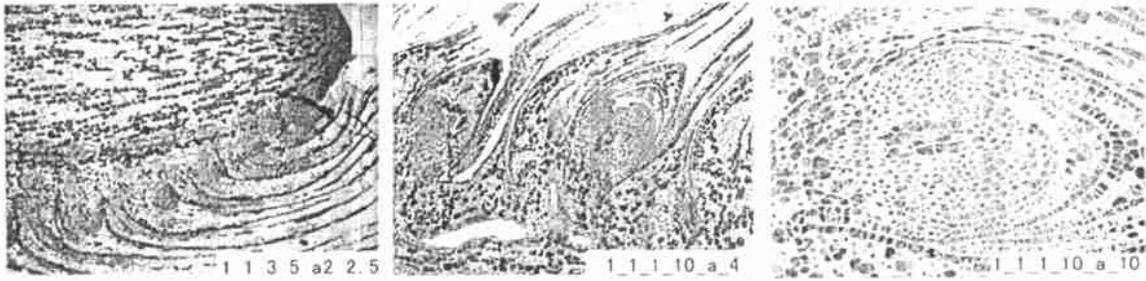
图 3 多球果型马尾松生殖芽原基 9 月份的发育状态

图 4 多球果型马尾松 11 月份小孢子叶球(雄球化)的分化状态

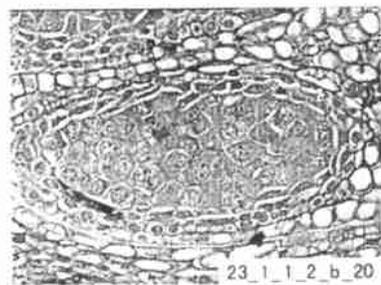
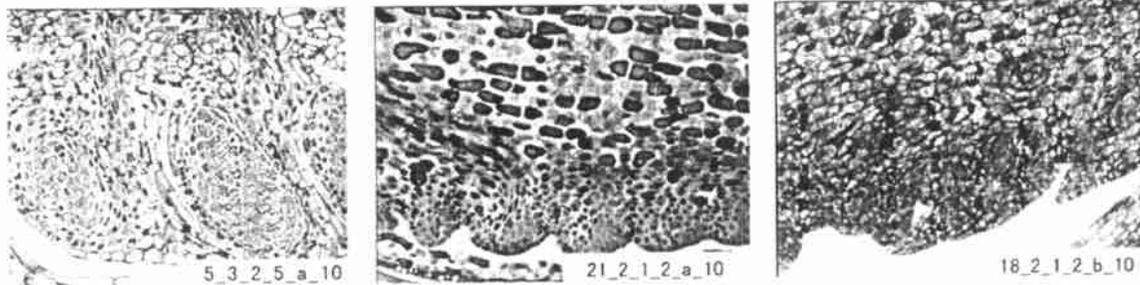
图 5 多球果型马尾松 11 月份大孢子叶球(雌球花)的分化姿态

图 6 可明显看到大孢子叶球的苞叶、苞鳞和珠鳞组织结构

图 7 可明显看到小孢子叶球的小孢子壁、绒毡层细胞和造孢组织等机构



版图 1



版图 2
(下转 42 页)

本一致。

4 讨论

4.1 四唑溶液浓度、染色温度、染色时间三者之间关系密切, 改变三者中的某一者或二者, 均会对其他二者或一者产生影响。从实际生产需要出发, 通过减少四唑溶液浓度, 降低染色温度, 而延长染色时间可以达到节约成本的目的。如果没有加热设备, 可以在室温 (10~20) 下进行染色, 通过加大四唑溶液浓度和延长染色时间来达到测定生活力的目的。通过加大四唑溶液浓度, 提高染色温度, 可以达到缩短测定时间, 快速得出测定结果的目的。

4.2 尽管用四唑法测定种子生活力, 具有原理可靠, 结果准确, 不受休眠限制, 方法简便, 省时快速等特点^[2]。但通过试验发现, 所测得的种子生活力值均高于实际发芽率。因此, 生活力测定值只能用于估测种子的潜在发芽能力, 而不能完全取代发芽试验。

4.3 不同四唑溶液浓度, 不同染色温度和不同染色时间对任豆种子生活力测定有一定的影响, 通过改变三者中的一者或二者可以达到改变其他二者或一者的目的, 但是这种改变是有限度的。按照《1993 国际种子检验规程》^[4]的规定, 林木种子四唑染色浓度不宜超过 1.0%, 因此 1.0% 可作为四唑溶液浓度的上限; 本次试验中, 发现四唑浓度为 0.01% 时, 种子着色的效果很差, 几乎不着色, 当浓度为 0.009% 和 0.007% 时, 种子不着色, 所以 0.01% 可作为四唑溶液浓度的下限。适宜的染色温度为 20~45 , 低于 15 , 高于 50 , 染色的时间不好控制, 染成的颜色也不理想。在一定温度范围内, 四唑溶液浓度越高, 染色温度越高, 所需染色时间越短, 因此控制适宜的染色时间十分重要, 否则染成的颜色不理想, 给鉴定带来困难, 影响测定结果。本次试验过程中, 当四唑溶液浓度为 0.1%, 染色温度为 15 时, 染色结果就存在这个问题, 由于放置时间较长, 染色溶液变成红色, 而种子染成的颜色很淡, 这可能是由于种子内已染色的红色物质扩散至溶液, 给鉴定带来困难, 所以染色的时间一般不宜超过 24h。当然, 如果染色时间太短, 染色效果不好, 也同样会影响鉴定结果。

表 2 热水预处理后任豆种子生活力测定结果

组合号	温度 (°C)	浓度 (%)	时间 (h)	染色	未染色	生活力 (%)
1	15	0.1	23	39	11	78
2	15	0.2	20	34	16	68
3	15	0.5	18	45	5	90
4	20	0.1	21	41	9	82
5	20	0.2	18	42	8	84
6	20	0.5	16	44	6	88
7	25	0.1	19	41	9	82
8	25	0.2	12	40	10	80
9	25	0.5	7	41	9	82
10	30	0.1	10	44	6	88
11	30	0.2	6	45	5	90
12	30	0.5	4.5	46	4	92

注: 热水预处理种子发芽率的测定值为 65%。

参考文献

- 1 国家林业局国有林场和林木种苗工作总站编 中国木本植物种子. 北京: 中国林业出版社, 2001, 301~ 303
- 2 周陞勋等编著 林木种子检验 北京: 中国标准出版社, 1986, 63~ 117
- 3 国家质量技术监督局 中华人民共和国国家标准 GB 2772-1999《林木种子检验规程》北京: 中国标准出版社, 1999
- 4 李家义, 支巨振, 黄亚军等译 1993 国际种子检验规程 上海: 上海科学技术出版社, 1995

(上接 39 页)

参考文献

- 1 贵州森林编辑委员会 贵州森林 北京: 中国林业出版社, 1992, 142
- 2 周政贤 中国马尾松 北京: 中国林业出版社, 2001, 1~ 4
- 3 中国主要造林树种编辑委员会 中国主要造林树种 北京: 中国林业出版社, 1976, 85~ 102
- 4 周政贤, 杨世逸 马尾松在南方用材林基地建设中的地位及其在经营中存在问题的解决途径 贵州: 贵州农学院丛刊(4), 1984, 5~ 7
- 5 王章荣, 陈天华 马尾松木材性状的遗传变异与改良潜力 种子园技术 北京: 科学技术出版社, 1992, 109~ 113
- 6 鲍甫成, 江泽慧 中国主要人工林树种木材性质 北京: 中国林业出版社, 1998, 36~ 49
- 7 王培蒂 马尾松雌雄球花形态发育 马尾松种子园建立技术论文集 北京: 学术期刊出版社, 1990, 107~ 111
- 8 周坚 马尾松器官发生和发育的形态学初步观察 马尾松种子园建立技术论文集 北京: 学术期刊出版社, 1990, 101~ 106