北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

基于高配合力亲本的毛白杨三倍体诱导与优异种质选择

游凯然 凌傲宇 舒江海 张宇航 胡晓桐 谷志善 杜康 康向阳

Triploid induction and elite germplasm selection in *Populus tomentosa* based on high-combining-ability parents

You Kairan, Ling Aoyu, Shu Jianghai, Zhang Yuhang, Hu Xiaotong, Gu Zhishan, Du Kang, Kang Xiangyang

引用本文:
游凯然, 凌傲宇, 舒江海, 张宇航, 胡晓桐, 谷志善, 杜康, 康向阳. 基于高配合力亲本的毛白杨三倍体诱导与优异种质选择[J]. 北京林业大学学报, 2026, 48(7):69–81. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250481
You Kairan, Ling Aoyu, Shu Jianghai, Zhang Yuhang, Hu Xiaotong, Gu Zhishan, Du Kang, Kang Xiangyang. Triploid induction and elite germplasm selection in *Populus tomentosa* based on high–combining–ability parents[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(7):69–81. doi: 10.12171/j.1000–1522.20250481

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250481

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

低温诱导毛白杨花粉染色体加倍技术体系的优化
Technical systemic optimization of pollen chromosome doubling induced by low temperature in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2025, 47(9): 80–89. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250158

低温诱导毛白杨花粉染色体加倍选育三倍体
Pollen chromosome doubling induced by low temperature to produce triploid in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2025, 47(5): 26–36. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20250018

毛白杨耐寒种质资源遗传鉴定及评价
Genetic identification and evaluation of cold–resistant germplasm resources in *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2023, 45(12): 59–67. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220363

基于转基因741杨与新疆杨杂交创制抗虫非整倍体毛白杨新种质
Creating a new germplasm of aneuploid *Populus tomentosa* with insect–resistance based on hybridization of transgenic 741 poplar and *P. alba* var. *pyramidalis*
北京林业大学学报, 2024, 46(12): 92–102. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240021

毛白杨微核心种质构建方法的探讨
Study on construction method of microcore germplasm of *Populus tomentosa*
北京林业大学学报, 2023, 45(2): 58–67. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210150

宽窄行栽植模式下三倍体毛白杨小麦复合系统的细根分布及形态特征
Fine root spatial distribution and morphology of triploid *Populus tomentosa*–wheat agroforestry system under wide– and narrow–row spacing planting schemes
北京林业大学学报, 2021, 43(10): 73–80. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200420

DOI:10.12171/j.1000−1522.20250481

基于高配合力亲本的毛白杨三倍体诱导与优异种质选择

游凯然[1]　凌傲宇[1]　舒江海[1]　张宇航[1]　胡晓桐[1]　谷志善[2]　杜　康[1]　康向阳[1]
（1. 林木遗传育种全国重点实验室，北京林业大学生物科学与技术学院，北京 100083；2. 河北省威县杨树国家重点林木良种基地，河北 威县 054700）

摘要:【目的】基于不同配合力亲本组合，开展毛白杨高温诱导雌配子染色体加倍技术研究，确定雌配子染色体加倍有效处理时期，筛选三倍体优异种质，以期为毛白杨杂交育种、三倍体育种以及遗传改良提供重要参考与种质资源。**【方法】**立足于前期研究基础，基于分子遗传距离预测组配了高配合力、中等配合力以及低配合力的共 11 个毛白杨杂交亲本组合；利用花芽和柱头形态等与雌配子发生的对应关系即时判别大孢子母细胞减数分裂进程；根据最佳授粉时间决定胚囊染色体加倍有效处理时期；通过无性系苗期对比试验，结合布雷金多性状综合评定法及 *t* 检验显著性分析，对三倍体种质的生长表现进行综合评价，筛选获得毛白杨三倍体优异种质。**【结果】**(1)毛白杨雌花序基本伸出芽鳞、小花呈淡黄色、柱头由浅粉色转为粉红色，且分叉张角达到 30°～40°，即大孢子母细胞多处于减数分裂终变期时，为大孢子染色体加倍的最佳处理时期；而胚囊染色体加倍的有效处理时期为授粉后 24 h 前后。(2)高温诱导毛白杨雌配子染色体加倍共获得杂种三倍体 1 765 株，其中大孢子染色体加倍来源的三倍体 1 517 株，胚囊染色体加倍来源三倍体 248 株。(3)不同亲本组合的毛白杨三倍体子代苗期生长表现存在差异，三倍体平均苗高和地径生长量显著高于二倍体，高配合力亲本组合的三倍体更具生长优势，其株高和地径分别较中等配合力三倍体提高约 15% 和 5%，较低配合力三倍体提高约 78% 和 41%；经初选和复选，主要从 2 个高配合力亲本组合中筛选出了 38 个生长表现突出的毛白杨三倍体优异种质。**【结论】**雌花序形态变化和最佳授粉时期可作为毛白杨雌配子染色体加倍有效处理时期判别的重要依据。在此基础上，结合高配合力亲本组合，通过高温诱导雌配子染色体加倍，共筛选获得 38 个生长表现突出的毛白杨三倍体种质。后续可进一步开展遗传稳定性、无性繁殖及区域适应性评价等研究，为毛白杨优良三倍体新品种的选育与推广提供理论依据和种质基础。

关键词：毛白杨；配合力；三倍体；优异种质；杂交育种；多倍体育种；遗传改良
中图分类号：S792.11　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2026)07−0069−13
引文格式：游凯然，凌傲宇，舒江海，等. 基于高配合力亲本的毛白杨三倍体诱导与优异种质选择 [J]. 北京林业大学学报，2026，48(7)：69−81. You Kairan, Ling Aoyu, Shu Jianghai, et al. Triploid induction and elite germplasm selection in *Populus tomentosa* based on high-combining-ability parents[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2026, 48(7): 69−81.

Triploid induction and elite germplasm selection in *Populus tomentosa* based on high-combining-ability parents

You Kairan[1]　Ling Aoyu[1]　Shu Jianghai[1]　Zhang Yuhang[1]　Hu Xiaotong[1]
Gu Zhishan[2]　Du Kang[1]　Kang Xiangyang[1]
(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breedingt, College of Biological Sciences and Biotechnology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China;
2. National Key Poplar Improved Variety Base of Weixian, Weixian 054700, Hebei, China)

Abstract: [**Objective**] In poplar breeding, especially in *Populus tomentosa*, triploid breeding has emerged as an effective strategy for improving growth performance and forestry traits. This study aimed to investigate

收稿日期: 2025−11−27　**修回日期:** 2026−02−27
基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD2200105)。
第一作者: 游凯然。主要研究方向：林木细胞遗传与细胞工程育种。Email：Ykr1212@bjfu.edu.cn　地址：100083 北京市海淀区清华东路 35 号北京林业大学生物科学与技术学院。
责任作者: 康向阳，教授，博士生导师。主要研究方向：林木细胞遗传与细胞工程育种。Email：kangxy@bjfu.edu.cn　地址：同上。
本刊网址: https://j.bjfu.edu.cn；https://journal.bjfu.edu.cn

the technique of female gamete chromosome doubling in *P. tomentosa* using parental combinations with different combining abilities, and to select superior triploid offspring. The research provides important references and germplasm resources for hybridization and triploid breeding in *P. tomentosa*. [**Method**] Based on previous studies, 11 hybrid parental combinations with high, intermediate, and low combining abilities of *P. tomentosa* were predicted and configured according to molecular genetic distances. The meiotic process of megaspore mother cells was identified in real-time based on correlations between morphological traits and female gametophyte development. The effective treatment period for embryo sac chromosome doubling was determined based on the optimal pollination time. Superior triploid germplasms were identified through clonal seedling comparative trials based on the Breckin multi-trait comprehensive evaluation method and *t*-test significance analysis. [**Result**] (1) When the female inflorescences of *P. tomentosa* had basically emerged from the bud scales, the florets appeared pale yellow, the stigmas changed from light pink to pink, and the bifurcation angle reached 30°–40°, corresponding to the stage when most megaspore mother cells were at the terminal stage of meiosis, this period was identified as the optimal treatment stage for megaspore chromosome doubling. The effective treatment period for embryo sac chromosome doubling was approximately 24 hours after pollination. (2) A total of 1 765 triploids were obtained, including 1 517 from megaspore doubling and 248 from embryo sac doubling. (3) Hybrid triploids showed significantly greater height and diameter than diploids, with those from high combining ability combinations performing best. Specifically, seedling height and stem diameter of triploids from high combining ability combinations were approximately 15% and 5% higher than those from medium combining ability combinations, and 78% and 41% higher than those from low combining ability combinations, respectively. Thirty-eight superior triploid germplasms of *P. tomentosa* were selected from two high combining ability combinations. [**Conclusion**] Morphological changes in female inflorescences and the optimal pollination period can serve as important indicators for determining the effective treatment stage for female gamete chromosome doubling in *P. tomentosa*. Based on this, combined with parental combinations showing high combining ability, a total of 38 triploid germplasms with outstanding growth performance were obtained through high-temperature-induced female gamete chromosome doubling. These results provide a theoretical basis and germplasm resources for the breeding and promotion of elite triploid varieties of *P. tomentosa*.

Key words: *Populus tomentosa*; combining ability; triploid; superior germplasm; hybrid breeding; polyploid breeding; genetic improvement

林木育种是改良经济性状、选育优良品种以及提高森林生产力的重要途径。其中，常规育种是林木育种的核心和基石，而非常规育种是林木育种的创新和发展[1−2]。在属于林木非常规育种的多倍体育种中，特别是利用 2*n* 配子杂交的有性多倍化途径选育的三倍体品种，由于综合利用了倍性优势和杂合优势，展现了极大的发展潜力。国内外研究[3−4]普遍表明，多倍体植物由于染色体数目的增加，往往出现一系列性状变异，如营养生长加快、叶片增大、光合速率提高以及次生代谢产物含量增加等。这些生长变化来源于基因表达与调控的剂量效应，使多倍体林木在生长、抗性和材质方面表现出显著优势，展现出突出的育种潜力[5−7]。因此，多倍体育种已成为林木遗传改良的重要发展方向之一。目前，我国已经通过毛白杨（*Populus tomentosa*）天然 2*n* 花粉授粉杂交、花粉染色体加倍和雌配子染色体加倍杂交等途径，选育出了‘三毛杨 7 号’‘北林雄株 1 号’‘北林 5 号’杨、‘京丰 2 号’杨等系列三倍体毛白杨国家审定良种，经济、生态和社会效益显著[8−9]。

在三倍体创制过程中，2*n* 配子的高效诱导是决定育种效率的关键环节。已有研究[9]表明，不同诱导方式对应的有效处理时期存在明显差异：通过秋水仙碱等化学方法诱导配子染色体加倍的最佳处理时期为粗线期，而通过高温等物理方法诱导的最佳处理时期为终变期。相较于 2*n* 雄配子，2*n* 雌配子不存在单倍性配子竞争问题[10]，利用正常花粉授粉杂交可 100% 形成三倍体[11]，研究者逐渐转向雌配子染色体加倍，包括大孢子染色体加倍和胚囊染色体加倍[3]。其中，杨树属于典型的蓼型胚囊植物，其胚囊发育过程中需经历 3 次有丝分裂形成 8 核成熟胚囊，

在其任一有丝分裂中期阻断或抑制纺锤体形成，均可诱导产生染色体加倍的 2*n* 雌配子。但该时期果序发育缓慢、缺乏明确的形态学参照标记，一般胚囊染色体加倍多以最佳授粉期为参照点施加理化处理诱导三倍体[12−13]。而大孢子染色体加倍主要依赖雌雄花发育的时序相关性进行判别[14]，受生长发育环境条件影响，其有效处理时期判别可能存在一定误差，而采用雌花芽发育形态为参照即时判别毛白杨大孢子染色体加倍有效处理时期应该更为准确[15]。

除诱导技术外，亲本遗传背景及配合力也是影响三倍体育种效果的重要因素。已有研究[16−18]发现，不同杂交亲本获得的三倍体后代生长等性状表现存在一定差异。三倍体的生长等性状表现既有赖于染色体组加倍的剂量效应，也取决于亲本间的杂合效应[3]。因此，选择配合力高的亲本组合用于三倍体选育，可以获得更为突出的育种效果。就毛白杨三倍体育种而言，无论是半同胞杂交和三倍体子代生长表现，还是全同胞杂种三倍体后代生长性状观察，均表明三倍体育种同样需要重视亲本选配[19−20]。但半同胞家系研究难以确定父本贡献，而全同胞家系涉及亲本较少，有必要开展更为系统的基于亲本选配的三倍体育种研究。

毛白杨是我国重要的速生用材林木，广泛分布于华北、东北及西北部分地区。其生长速度快、材质均匀且适应性强，使其在木材、纸浆、能源及生态恢复等领域具有重要经济和生态价值。然而毛白杨育性较差，雌株作为亲本时尤为突出[21]。本研究基于课题组前期已有研究基础[18, 20]，选择育性相对良好的毛白杨雌雄亲本，依据分子标记遗传距离选择配合力不同的亲本组合，开展高温诱导雌配子染色体加倍研究，进而建立适用于毛白杨的稳定高效三倍体诱导体系。随后，对不同亲本组合获得的子代进行倍性鉴定与苗期生长测定，对比分析不同配合力组合三倍体子代以及二、三倍体子代在苗高、地径及生长势等方面的差异，探讨亲本遗传背景及配合力与三倍体生长表现之间的关系。在此基础上，结合苗期综合生长指标，对获得的三倍体无性系进行初步评价与筛选。该研究不仅有助于揭示亲本遗传效应对三倍体生长表现的影响，还可拓展毛白杨优质速生种质资源，为木材、纸浆及生态恢复等产业提供高产、高质的林木材料，同时为林木多倍体育种提供新的理论依据和实践方法，对提高育种效率和促进林业可持续发展具有重要意义。

1　材料与方法

1.1　材　料

根据配合力表现和配子可育性，选取毛白杨优良植株作为雌配子染色体加倍亲本材料。2023 年 1 月上旬，于山东省聊城市冠县北京林业大学科研基地采集毛白杨母本 3119、3-17-39 及父本 5412、5042、5088，其中编号首位数字 3 代表河南种源，位于毛白杨南部气候区；编号首位数字 5 代表陕西种源，位于毛白杨西北部气候区[18]。同时，于山西省朔州市金沙植物园采集毛白杨母本 sx141、sx95、sx71、sx140、sx169 等材料，因种质资源库搬迁移植时系号混淆导致种源难以辨别，从其适应山西朔州寒冷气候推测，均为来源于毛白杨西北部气候区或东北部气候区北部的种源[22]。

采集生长健壮、花芽饱满的雌、雄花枝后，以塑料膜包裹保湿，运至河北省邢台市威县苗圃场，于温室条件（10 ~ 25 ℃）下进行切枝水培用于染色体加倍和杂交。基于课题组前期研究[18,20]，基于分子标记遗传距离预测杂交组合包括如下 3 种类型：高配合力杂交组合 7 个，配合力中等杂交组合 5 个，低配合力杂交组合 9 个。不同配合力亲本组合情况见表 1。

因两地点现存的亲本植株数量不一，树体大小差异明显，所采集的用来收集花粉的雄花枝数量，以及用来高温加倍处理的雌花枝数量亦不相同。此外，不同毛白杨无性系均存在一定的配子败育问题，且受基因型与年度环境互作的影响，导致不同雄株产粉量随年度环境作用而有所差异。在加倍处理和授粉杂交时，尽可能保证目标处理组合及其重复数。一般每个杂交组合处理 40 ~ 50 个雌花枝，每个花枝保留 4 个果序，保证每个处理组合的种子产量。

表 1　毛白杨三倍体诱导亲本组合配合力情况

Tab. 1　Combining ability of parental combinations for triploid induction in *Populus tomentosa*

雄株	雌株						
	3119	3-17-39	sx141	sx95	sx71	sx140	sx169
5412	高配合力	高配合力	高配合力	低配合力	中等配合力	低配合力	低配合力
5042	高配合力	高配合力	高配合力	低配合力	中等配合力	低配合力	低配合力
5088	低配合力	中等配合力	低配合力	中等配合力	高配合力	中等配合力	低配合力

1.2 研究方法

1.2.1 毛白杨雄株水培与花粉收集、保存

2023 年 1 月中旬采集适量毛白杨雄花枝，置于河北省邢台市威县苗圃场温室条件下进行切枝水培，期间每 3～5 d 更换 1 次水。待雄花散粉后，按无性系分别收集花粉。将收集的花粉转移至 50 mL 西林瓶中，加入适量硅胶作为干燥剂，加橡胶塞密封后置于 4 ℃ 冰箱中保存备用。

1.2.2 毛白杨大孢子发育进程及雌花形态观察

为明确毛白杨雌配子发育进程与雌花外部形态变化之间的对应关系，以优良母本 3119 为材料，将毛白杨雌花枝置于温室条件下进行水培观察。授粉前，每日分别于 07:00 和 19:00 采用 FAA 固定液对雌花芽进行固定，每次固定 2～3 个花芽，并同步记录所固定雌花芽的外部形态特征变化。固定后的雌花芽置于 4 ℃ 条件下低温保存。每次固定后随机选取 2～3 个雌花芽，依次进行酒精脱水、二甲苯透明和石蜡包埋处理，切片厚度为 8 μm，采用铁矾苏木精染色。所有切片均在 OLYMPUS BX-51 型显微镜下进行明场观察，并使用 OLYMPUS DP70 数码成像系统进行拍照记录。通过结合组织学观察与雌花芽外部形态特征，系统分析毛白杨大孢子发育进程，建立其即时判别方法，为毛白杨大孢子染色体加倍处理时期的精准判定提供依据。

1.2.3 高温诱导毛白杨大孢子染色体加倍

根据前期研究[15, 23]，本次毛白杨大孢子染色体加倍的处理温度设定为 40 ℃。依据 1.2.2 建立的大孢子发育即时判别方法，通过外部形态等特征判断大孢子母细胞减数分裂进程，并在适宜时期将雌花枝置于 40 ℃ 恒温箱中处理 4 h。处理结束后转移至温室内继续水培，并适时采用毛白杨父本花粉授粉，分别收集各处理组种子进行播种育苗。

1.2.4 高温诱导毛白杨胚囊染色体加倍

根据前期研究[13]，本次毛白杨胚囊染色体加倍的处理温度设定为 40 ℃，采用毛白杨父本花粉授粉，大多数杂交组合于授粉后 12、24 和 48 h 于恒温箱内施加 40 ℃ 高温处理 4 h，个别杂交组合因恒温箱数量等限制，于授粉后 4、16、28 h 施加 40 ℃ 高温处理。处理后转移至温室继续水培至种子成熟，收集种子并播种育苗。

1.2.5 杂种后代倍性鉴定与三倍体得率统计

1.2.5.1 流式细胞仪倍性检测

采用 PARTEC 流式细胞分析仪检测杂种苗的倍性。取约 0.5 g 幼嫩叶片置于培养皿中，加入 1 mL 裂解液（0.2 mmol/L Tris-HCl，45 mmol/L $MgCl_2$，30 mmol/L 柠檬酸钠，20 mmol/L 4 磺酸丙基吗啉，1% 聚乙二醇辛基苯基醚，pH = 7.0），用单面刀片将叶片切碎获得含细胞核的提取液[24]。将含有细胞核的缓冲液经 40 μm 的尼龙网过滤，加入 20 μL 的 10 mg/mL DAPI，混合均匀，使用流式细胞仪检测，以已知倍性的二倍体作为对照。三倍体得率按每个处理倍性检测获得的三倍体株数占成苗数的比例计算。山东和山西亲本的平均三倍体得率为基于三倍体及成苗数加权计算的加权平均值。

1.2.5.2 染色体压片计数验证

参考康向阳[25]的方法，采取常规卡宝品红染色压片与去壁低渗制片相结合的方法进行体细胞染色体观察、计数。首先采集植株茎尖分生组织，对二氯苯预处理 3～4 h 后，用卡诺固定液在 4 ℃ 下固定 2～24 h，然后在浓 HCl 与乙醇混合液中解离 20～25 min，卡宝品红染色压片显微镜下观察。对初步观察为三倍体的植株，采用酶解、去壁低渗法加以确认。所有制片均在 Olympus BX51 型显微镜下观察，Olympus DP70 型数码摄像系统摄像。

1.2.6 杂种后代苗期管理及生长状况调查

为分析不同配合力亲本、不同倍性毛白杨杂种后代的苗期生长差异，对杂种后代进行统一培育和生长性状调查。收获的种子于温室内点播于瓦盆中，幼苗出现 4～6 片真叶后移入营养杯，置于温室大棚下常规管理。待幼苗长至 15 cm 高后移入大田，常规管理。2024 年春平茬，待 11 月上旬苗木封顶后，利用塔尺和游标卡尺对各杂交组合获得的三倍体和二倍体后代二根一干苗的苗高和地径生长量进行调查，并进一步计算各群体苗高和地径的变异系数。

1.2.7 毛白杨杂种三倍体优异种质评价与选择

为了筛选苗期生长表现优良的毛白杨杂种三倍体种质，采用布雷金多性状综合评定法[26]对三倍体苗期生长表现进行综合评价，计算公式为

$$Q_i = \sum a_i,\ a_i = \frac{X_{ij}}{X_{j\max}}$$

式中：Q_i 为第 i 个体的综合评价值，X_{ij} 为第 i 个体在第 j 个性状上的测量值，$X_{j\max}$ 为第 j 个性状的最优值（通常取群体最大值），a_i 为第 i 个性状的标准化得分。评定标准为

$$N = Q_i \pm kS$$

式中：N 表示综合评价值的分界区间或参考标准，用于确定优、劣个体，S 为标准差，k 为选优系数。

本研究采用“大群体、强选择”策略进行优异种质评价与选择，设定 k 为 1.6，选取 $Q_i \geqslant \overline{Q} + 1.6S$（$\overline{Q}$ 为全体个体综合评价值的平均值）的植株，确保选取三倍体群体中 5% 以上表现最优的个体，作为毛白杨杂种三倍体优异种质。

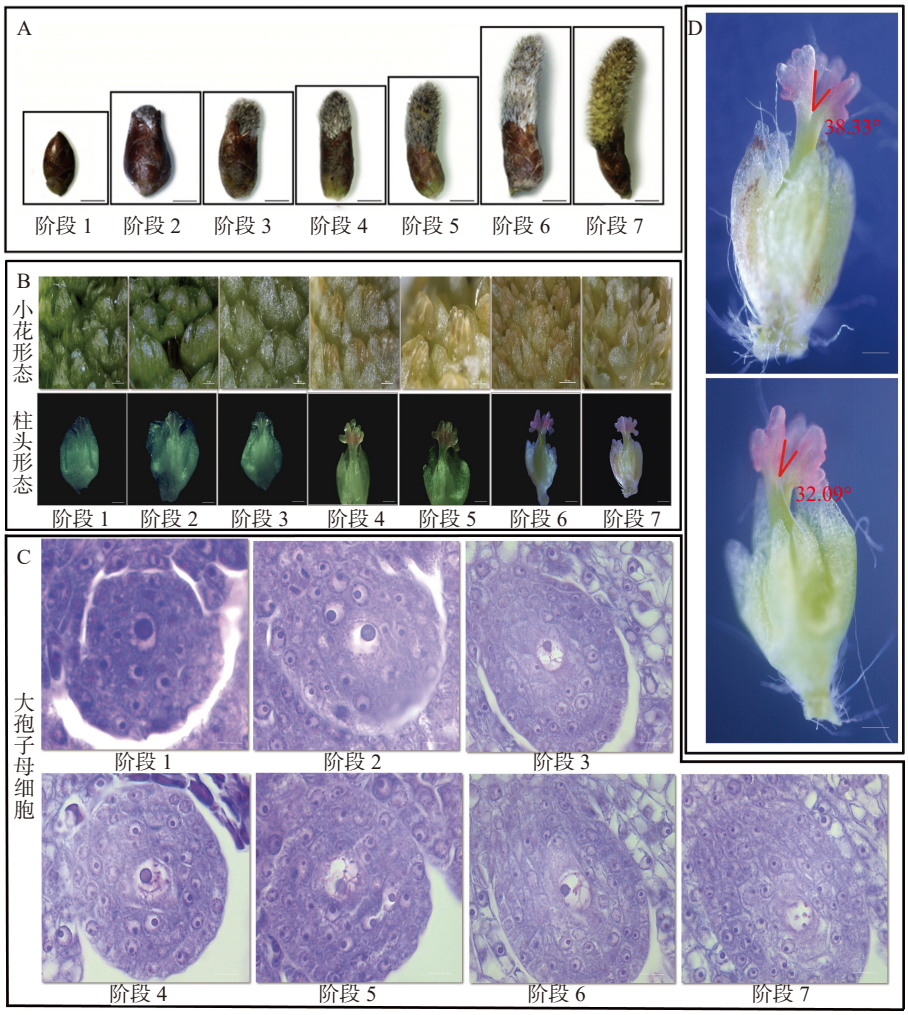
为进一步验证优异种质的稳定生长优势，于2025 年春，对筛选出的优异种质以‘小美旱’为砧木进行“炮捻法”嫁接扩繁，并于每个杂交组合各选择株高、地径生长接近三倍体后代群体平均值的平均苗木作为对照，其中 3119 × 5412 和 3119 × 5042 组合可供选择的个体充分，各取 3 株作为对照；而 sx71 × 5412 组合因剩余苗木较少，取 2 株作为对照；同样嫁接扩繁为无性系。共获得三倍体优异种质及对照无性系 754 株。

2025 年 11 月上旬苗木封顶后，对初选三倍体优异种质及对照无性系的苗高和地径进行了调查，并采用 *t* 检验分析其生长差异，复选出生长显著优于对照的优良三倍体无性系。

2　结果与分析

2.1　高温诱导毛白杨大孢子染色体加倍

毛白杨大孢子母细胞发育进程可划分为 7 个阶段，且其减数分裂进程与雌花外部形态变化之间存在较明显的对应关系（图 1）。阶段 1 时，雌花芽尚未露出鳞片，小花紧密包裹，颜色较深，此时大孢子母细胞尚处于孢原细胞时期。阶段 2 时，雌花芽开始微露鳞片，小花略为膨大但仍呈绿色，孢原细胞进一步分化，形成大孢子母细胞。阶段 3 时，雌花序继续伸长，鳞片间可见部分小花露出，花色转为浅绿，柱头明显伸长；进入减数分裂的大孢子母细胞以发育至细线期为主。阶段 4 时，雌花序约 1/4 伸出鳞片，小花进一步膨大，柱头伸展明显，体视显微镜下观察柱头局部出现浅粉色，进入减数分裂的大孢子母细胞多发育至粗线期。阶段 5 时，雌花序约 1/3 伸出鳞片，小花形态清晰，柱头开始轻度分叉并外展，体视显微镜下观察柱头大范围出现浅粉色，进入减数分裂的大孢子母细胞仍以发育至粗线期为主。阶段 6 时，雌花序约 1/2 伸出鳞片，小花颜色逐渐转浅，柱头明显伸出并张开，体视显微镜下观察柱头浅粉色



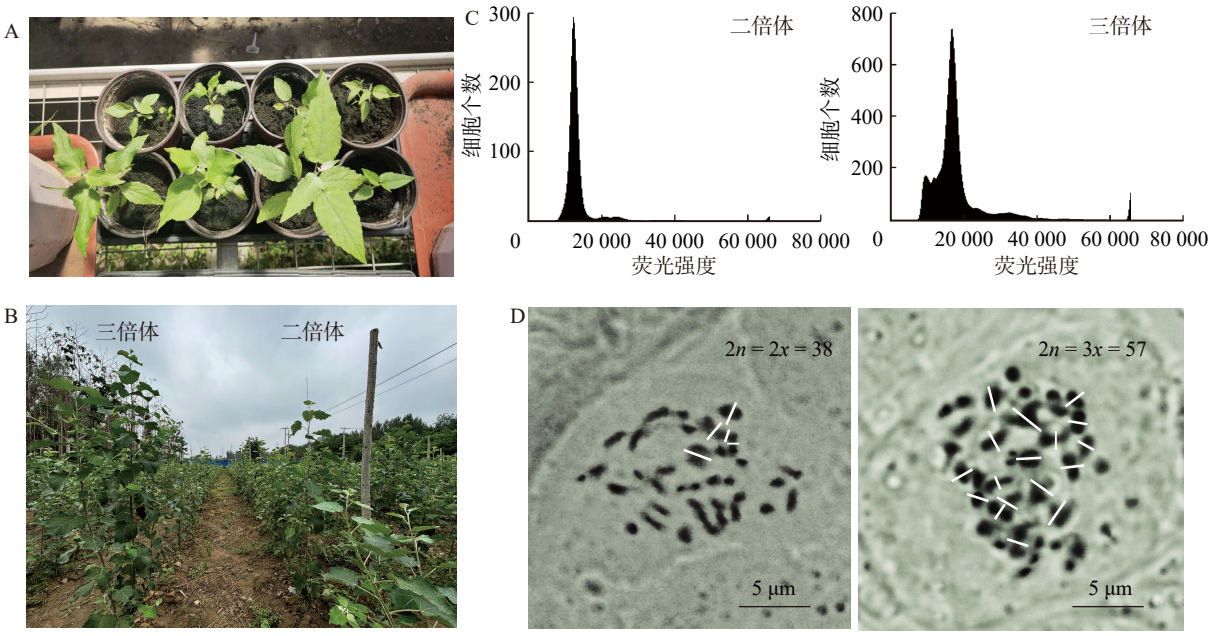
A. 毛白杨雌花芽发育过程中的形态变化，比例尺 = 5 mm。B. 7 个发育阶段相对应的雌花芽中小花外形、柱头形态，小花外形图中的比例尺 = 200 μm，柱头形态图中的比例尺=500 μm。C. 7 个阶段发育相对应的大孢子母细胞发育时期，比例尺 = 2 μm。D. 阶段7雌蕊及柱头夹角示例，比例尺 = 500 μm。

图 1　毛白杨雌花芽发育过程及其细胞学特征

Fig. 1　Developmental process of female flower buds and corresponding cytological characteristics in *P. tomentosa*

进一步加深，进入减数分裂的大孢子母细胞以双线期为主。阶段 7 时，雌花序基本伸出芽鳞，肉眼观察小花颜色转为淡黄色，体视显微镜下观察柱头由浅粉色变为粉红色，柱头分叉张角达到 30° ~ 40°（图 1D），进入减数分裂的大孢子母细胞以终变期为主。基于此，建立大孢子母细胞发育进程与雌蕊形态相关关系，该对应关系可用于构建雌配子发育的形态学判别体系，并为后续高温诱导毛白杨大孢子染色体加倍时期的精准判定提供参考。

前期研究[14−15]表明，大孢子母细胞由减数分裂进入终变期为高温诱导染色体加倍的最佳时期。基于上述毛白杨大孢子发育进程，确定阶段 7 为最佳处理时期。因而当毛白杨母本水培花芽发育到阶段 7 时，将其置于 40 ℃ 条件下高温处理 4 h 诱导大孢子染色体加倍，然后转移至温室继续水培。待雌蕊进入最佳授粉期后，根据杂交组合分别授以不同父本花粉进行杂交、收获种子、育苗（图 2A、B）并进行倍性鉴定等（图 2C、D）。本研究共进行了 10 个杂交组合的大孢子染色体加倍处理。各亲本组合大孢子染色体加倍诱导毛白杨三倍体的相关结果见表 2。



A. 二倍体与三倍体子代盆栽苗生长对比（2 株叶片大且生长旺盛的为三倍体）。B. 二倍体与三倍体子代大田苗生长对比。C. 毛白杨二倍体与三倍体的流式细胞图。D. 毛白杨二倍体与三倍体染色体计数。

图 2 二倍体与三倍体毛白杨子代的倍性鉴定及生长表型比较

Fig. 2 Identification of ploidy level and comparison of growth performance between diploid and triploid *P. tomentosa* progeny

表 2 高温诱导毛白杨大孢子母细胞染色体加倍选育三倍体

Tab. 2 Triploid breeding of *P. tomentosa* via high-temperature-induced chromosome doubling of megaspore mother cells

	杂交组合	种子数	成苗数	三倍体数	三倍体得率/%
山东母本	3119 × 5412	3 722	1 171	1 007	85.99
	3119 × 5042	3 097	738	349	47.29
	3-17-39 × 5412	2 232	58	9	15.52
	3-17-39 × 5088	998	27	5	18.52
	山东总计（平均）	10 049	1 994	1 370	（68.71）
山西母本	sx141 × 5088	1960	635	118	18.58
	sx140 × 5042	2 389	228	3	1.32
	sx95 × 5088	482	138	7	5.07
	sx95 × 5042	277	115	6	5.22
	sx71 × 5412	1 120	78	6	7.69
	sx169 × 5088	516	12	7	58.33
	山西总计（平均）	6 744	1 206	147	（12.19）
总计（平均）		16 793	3 200	1 517	（47.41）

由表 2 可知，收获种子 16 793 粒，成苗 3 200 株，从中鉴定出大孢子母细胞染色体加倍来源的三倍体 1 517 株。不同杂交组合的三倍体得率差异较大，总体范围为 1.32% ~ 85.99%，平均得率为 47.41%。其中，山东冠县种质资源库来源的杂交组合获得的三倍体比率较高，三倍体得率在 15.52% ~ 85.99% 之间，平均得率为 68.71%。而采用相同加倍诱导条件的山西朔州种质资源库来源的杂交组合获得的三倍体比率相对较低，三倍体得率介于 1.32% ~ 58.33% 之间，平均得率为 12.19%。

2.2　高温诱导毛白杨胚囊染色体加倍

本研究共进行了 10 个毛白杨杂交组合的高温诱导胚囊染色体加倍处理，全部杂交组合均获得了一定数量的杂交种子，其中 9 个杂交组合获得了一定数量的杂种苗。由表 3 可知，高温诱导毛白杨胚囊染色体加倍各处理组合共收获种子 4 075 粒，成苗 657 株，从中鉴定出胚囊染色体加倍来源的三倍体 248 株。不同杂交组合及授粉后高温处理时间对毛白杨胚囊染色体加倍效果影响差异显著，三倍体得率范围介于 0 ~ 100% 之间，平均为 37.75%。不同母本间胚囊染色体加倍效果差异明显，其中，毛白杨 3119 相关处理组合均表现出较高三倍体诱导率，而 sx95 × 5088、sx140 × 5042 及 sx141 等组合整体诱导效率较低。此外，处理时间对胚囊染色体加倍效果亦具有显著影响，大多数组合在授粉后 24 h 处理时诱导率较高，提示该时期可能为胚囊染色体加倍的相对适宜时期。

综合表 2 和表 3，不同杂交组合的保存率差异明显，各组合保存率从 0 ~ 41.52% 不等。其中，3119 × 5412、3119 × 5042、sx95 × 5042 等组合保存率较高，成苗数量相对较多；而 sx140 × 5412、sx95 × 5088 等处理组合未获得子代，保存率为 0。不同亲本的可育性对成苗保存率影响显著，如母本 3119 分别与 5412、5042 父本杂交时，保存率范围为 11.85% ~ 31.46%；父本 5088 分别与 sx141、sx95、sx169 等母本杂交时，保存率在 1.26% ~ 32.40% 之间。

2.3　杂种后代苗生长状况调查及优异种质选择

2.3.1　三倍体优异种质初选

本研究完成了 11 对毛白杨杂交组合的雌配子染色体加倍处理，各杂交组合均获得了杂交种子以及子代苗木，合计成活保存株数为 1 961 株，其中三倍体植株 1 327 株、二倍体植株 634 株。对这些杂交和处理组合的三倍体和二倍体子代苗木平均地径、平均苗高、标准差及变异系数等进行统计，由表 4 可

表 3　高温诱导毛白杨胚囊染色体加倍选育三倍体

Tab. 3　Triploid breeding of *P. tomentosa* via high-temperature-induced chromosome doubling of the embryo sac

杂交组合	处理时间/h	种子数	成苗数	三倍体数	三倍体得率/%
3119 × 5412	4	268	86	52	60.47
	12	620	107	88	82.24
	24	128	31	26	83.87
3119 × 5042	12	268	27	16	59.26
	24	78	14	14	100.00
sx140 × 5042	12	128	26	0	0.00
	24	134	13	1	7.69
sx169 × 5088	24	4	0	0	0.00
	48	155	2	2	100.00
sx169 × 5042	24	38	6	3	100.00
	48	151	10	6	60.00
sx141 × 5088	16	424	70	1	11.11
	28	21	4	0	0.00
sx95 × 5088	24	3	0	0	0.00
	48	466	61	5	8.20
sx140 × 5412	12	158	0	0	0.00
sx71 × 5412	24	355	48	24	50.00
sx95 × 5042	48	676	152	10	6.58
合计（平均）		4 075	657	248	（37.75）

表 4 不同毛白杨杂交组合的三倍体与二倍体群体苗期生长量

Tab. 4 Seedling growth of triploid and diploid populations among different *P. tomentosa* hybrid combinations

杂交组合	倍性	苗高		地径	
		平均值/m	变异系数/%	平均值/cm	变异系数/%
3119 × 5042	三倍体	2.05	25.56	2.03	30.99
	二倍体	2.06	27.23	2.11	34.12
3119 × 5412	三倍体	2.17	22.00	2.25	29.56
	二倍体	1.83	28.10	1.95	34.68
3-17-39 × 5412	三倍体	1.88	38.66	2.00	56.56
	二倍体	1.69	31.88	1.56	35.89
3-17-39 × 5088	三倍体	2.54	7.58	2.69	9.82
	二倍体	1.71	35.95	1.55	32.47
sx71 × 5412	三倍体	1.77	38.9	2.01	55.74
	二倍体	1.00	16.98	1.00	29.50
sx95 × 5088	三倍体	1.50	81.38	1.90	74.14
	二倍体	1.45	31.35	1.33	32.60
sx95 × 5042	三倍体	1.58	31.67	2.01	49.15
	二倍体	1.23	44.76	1.44	48.73
sx140 × 5042	三倍体	1.44	20.01	1.89	25.27
	二倍体	1.58	38.19	1.58	37.29
sx141 × 5088	三倍体	1.04	46.35	1.40	47.75
	二倍体	1.09	36.71	1.28	39.85
sx169 × 5042	三倍体	1.54	17.58	1.59	13.95
sx169 × 5088	三倍体	1.65	38.80	2.29	42.60
总计	三倍体	2.09	25.60	2.16	31.60
	二倍体	1.72	37.50	1.80	40.48

见，不同杂交组合及倍性的苗期生长量差异显著，三倍体苗木整体生长优于二倍体，同时高配合力组合的苗木生长显著优于低配合力组合。三倍体平均苗高为 2.09 m，平均地径为 2.16 cm；二倍体平均苗高为 1.72 m，平均地径为 1.80 cm，三倍体苗木的苗高和地径分别比二倍体高约 21.5% 和 20.0%。进一步按亲本配合力分析，高配合力杂交组合（3119 × 5042、3119 × 5412、3-17-39 × 5412）表现最优，三倍体苗高均在 1.88 ~ 2.17 m 之间，地径 2.00 ~ 2.25 cm。遗传距离中等的组合（3-17-39 × 5088、sx71 × 5412、sx95 × 5088）次之，其中 3-17-39 × 5088 的三倍体生长最为突出，苗高达到 2.54 m，地径 2.69 cm。低配杂交组合（sx95 × 5042、sx140 × 5042、sx141 × 5088、sx169 × 5042、sx169 × 5088）整体生长较弱，三倍体苗高多在 1.04 ~ 1.65 m 之间，地径 1.40 ~ 2.29 cm。高配合力亲本组合三倍体群体的平均株高和地径分别较中等配合力三倍体提高约 15% 和 5%，较低配合力三倍体提高约 78% 和 41%。结果表明，高配合力亲本组合在促进三倍体苗期生长方面具有更明显的优势。在同一杂交及倍性组合内，不同个体间的生长差异亦较明显。变异系数最大的是 sx95 × 5088 三倍体组合（苗高 CV 81.38%，地径 CV 74.14%），显示该组合后代分化程度高；变异系数最小的是 3-17-39 × 5088 三倍体组合（苗高 CV 7.58%，地径 CV 9.82%），说明其群体生长较为一致。

在此基础上，采用布雷金多性状综合评定法对不同杂交组合的二倍体和三倍体实生苗进行综合评价。结果（表 5）表明，筛选获得的优异个体主要集中于 3119 × 5412、3119 × 5042 和 sx71 × 5412 这 3 个杂交组合，共初步筛选获得 47 株三倍体优异种质。毛白杨三倍体优异种质群体的平均苗高和地径分别达到 3.00 m 和 3.64 cm，较染色体加倍获得的全部三倍体后代群体平均值分别提高约 44% 和 69%，表明不同杂交组合三倍体后代个体差异显著，通过筛选能够获得生长优势极为突出的优异种质。

2.3.2 初选种质无性系化验证及三倍体优异种质复选

将初步筛选获得的毛白杨三倍体优异种质及其作为对照的平均苗木嫁接扩繁成无性系，于封顶后

表 5　毛白杨初选三倍体优异种质及其苗高和地径生长量

Tab. 5　Primary selected superior triploid germplasms of *P. tomentosa* with seedling height and ground diameter growth

杂交组合	优异种质	苗高/m	地径/cm	优异种质	苗高/m	地径/cm
3119 × 5412	1	3.56	3.48	19	2.96	4.02
	2	2.73	3.50	20	3.14	3.30
	3	2.82	3.36	21	3.13	3.65
	4	2.81	3.37	22	2.80	3.39
	5	2.96	3.44	23	2.84	3.62
	6	3.12	3.52	24	2.95	3.25
	7	2.98	4.06	25	3.24	3.66
	8	2.69	4.07	26	2.82	3.52
	9	3.43	4.02	27	3.26	4.29
	10	2.77	3.46	28	2.82	3.36
	11	3.02	3.40	29	2.78	3.83
	12	3.74	3.89	30	3.22	4.52
	13	3.03	3.33	31	2.92	3.84
	14	2.87	3.75	32	3.28	3.38
	15	3.22	3.24	33	2.80	3.60
	16	2.66	3.86	34	2.74	3.56
	17	2.69	3.70	35	2.84	3.34
	18	3.08	3.93	36	3.04	3.61
3119 × 5042	37	3.14	3.33	42	2.76	3.35
	38	2.91	3.33	43	3.18	3.95
	39	3.62	3.36	44	2.67	3.41
	40	2.93	3.50	45	3.45	3.39
	41	2.94	3.44			
sx71 × 5412	46	2.74	3.69	47	2.99	5.14

注: 表中三倍体优异种质的苗高平均值为3.00 m, 地径平均值为3.64 cm。

进行苗高和地径生长量调查统计发现，这些三倍体初选优异种质无性系化后的大多数仍保持较强的生长优势。由表 6 可知，三倍体初选优异种质无性系的平均苗高和地径分别为 2.21 m 和 1.71 cm，均显著高于 8 株作为对照的三倍体平均苗木平均值，分别高出约 56.7% 和 58.3%。其中，株高生长以 21 号初选优异种质表现最好，平均达到 2.80 m，较对照高出约 98.6%；以 29 号初选优异种质表现最差，平均仅为 1.13 m，较对照低 19.9%。地径生长以 26 号优异种质表现最好，平均达到 2.36 cm，较对照高出约 118.5%；以 39 号初选优异种质表现最差，平均仅为 1.01 cm，较对照低 6.5%。*t* 检验表明，大多数三倍体初选优异种质无性系与对照相比，其苗高和地径生长均达到显著或极显著差异水平，表现出明显的生长优势。而 31、33、35、45 等三倍体初选优异种质无性系与对照相比，仅苗高或地径单一生长指标达到显著或极显著差异水平，仍需进一步试验对比观察。1、13、18、20、29、30、36、37、39 等三倍体初选优异种质无性系的苗高和地径与对照差异均不显著，生长势表现较弱，因此在复选过程中对这 9 个无性系予以剔除，最终复选获得 38 个生长稳定、综合表现优良的毛白杨三倍体优异种质(表 6)。

3　讨　　论

3.1　毛白杨大孢子染色体加倍有效处理判定方法

研究[10]表明，花粉加倍的有效处理时期可通过醋酸洋红等涂片即时观察，但 2*n* 花粉存在萌发迟缓、竞争力较低问题，导致三倍体得率偏低，限制了该途径在实际育种中的应用。为突破这一局限，研究者逐渐转向从雌配子途径实现染色体加倍诱导。然而，由于植物雌配子发生与发育过程深埋于胚珠内部，无法像花粉那样进行实时显微观察，因此，准确判别雌配子发育进程成为诱导成功的关键。已有研究[14]表明，在相同培养条件下，杨树雌雄配子发生发育进

表 6 毛白杨三倍体初选优异种质无性系一年生苗平均株高和地径生长量

Tab. 6 Average seedling height and ground diameter growth of one-year-old clonal lines of preliminarily selected superior triploid *P. tomentosa* genotypes

杂交组合	无性系	苗高/m	地径/cm	无性系	苗高/m	地径/cm
3119 × 5412	1	1.52	1.17	**19**	2.43**	2.12**
	2	2.08**	1.66**	20	1.56	1.04
	3	2.27**	1.60**	**21**	2.80**	1.72*
	4	2.43**	2.07**	**22**	2.37**	1.88**
	5	2.21**	1.85**	**23**	2.34**	1.99**
	6	2.13**	1.79**	**24**	2.63**	2.04**
	7	2.11**	1.91**	**25**	2.14**	1.62**
	8	2.16**	1.56**	**26**	2.55**	2.36**
	9	2.40**	1.77**	**27**	2.22**	1.91**
	10	2.39**	1.68**	**28**	2.25**	1.87**
	11	2.63**	2.04**	29	1.13	1.02
	12	2.20*	1.82*	30	1.32	1.16
	13	1.38	1.30	**31**	1.78	1.63**
	14	2.45**	1.89**	**32**	2.33**	1.83**
	15	2.18**	1.87**	**33**	1.75	1.59*
	16	2.41**	1.97**	**34**	1.82**	1.77**
	17	1.79*	1.52**	**35**	1.74	1.79**
	18	1.50	1.26	36	1.34	1.18
3119 × 5042	37	1.52	0.97	**42**	2.21**	1.46**
	38	2.39**	1.55**	**43**	2.79**	1.94**
	39	1.55	1.01	**44**	2.61**	1.85**
	40	2.46**	1.77**	**45**	2.03**	1.30
	41	2.21**	1.41*			
sx71 × 5412	**46**	2.54**	2.11**	**47**	2.31**	1.92**

注：初选优异种质苗高平均值为2.21 m，地径平均值为1.71 cm；复选优异种质苗高平均值为2.31 m，地径平均值为1.79 cm。三倍体平均苗木（对照）苗高平均值为1.41 m，地径平均值为1.08 cm。**表示与对照相比差异极显著（$P < 0.01$），*表示差异显著（$P < 0.05$）。加粗无性系为复选得到的38个优异种质。

程之间存在一定的时序相关性：当花粉发育至单核靠边期时，大孢子母细胞通常处于减数分裂粗线期至中期Ⅰ之间，此时施加处理可获得较好的染色体加倍效果。然而，由于杨树花粉单核靠边期是一个较长的发育阶段，其起始与终止界限无显著形态学参照，难以对大孢子母细胞减数分裂进程，以及大孢子染色体加倍有效处理时期进行精确把控，在环境条件变化较大的情况下判别误差可能更大。因此，需要探索更为精准且稳定的大孢子发生进程判别方法。本研究以毛白杨 3119 为材料，结合柱头形态和小花颜色等特征解析了雌配子发生发育进程，用于明确大孢子染色体加倍有效处理时期的形态学判别依据。结果表明，阶段 7 的大孢子母细胞主要处于减数分裂终变期，其典型形态表现为雌花序基本伸出芽鳞、小花呈淡黄色、柱头由浅粉色转为粉红色，且分叉张角达到 30°～40°。以该形态特征作为高温诱导大孢子染色体加倍有效处理时期的判别依据，在与 3119 相同生长环境的山东冠县种质资源库母本中获得了 15.52%～85.99% 的三倍体得率，平均为 68.71%。与李艳华等[23]基于雌、雄配子发生发育进程时序相关性确定染色体加倍时期的研究相比，本研究大孢子染色体加倍有效处理时期判别更为精准，三倍体诱导效率更为稳定而高效。

需要特别说明的是，来源于山西朔州种质资源库母本的三倍体诱导效果较差，三倍体得率为 1.32%～58.33%，平均仅为 12.19%。这可能是由于山西朔州地处毛白杨分布北界，其现存毛白杨种质资源与山东冠县之间不存在重复基因型，群体遗传结构差异较大、遗传距离相对较远；同时，两地气候条件存在差异，进而对花芽及配子发生发育进程产

生影响。此外，由于毛白杨育性较差[21]，导致一些杂交组合获得的杂种后代苗木较少，加之不同基因型对高温处理敏感性不同，使得加倍诱导效率存在波动。因此，有必要进一步针对不同种源与不同无性系亲本开展更为细致的研究，以提高判别与诱导稳定性。

3.2　基于高配合力亲本的毛白杨三倍体诱导

在林木三倍体选育过程中，除了需要精准确定雌配子染色体加倍有效处理时期等诱导条件外，优异亲本的科学选配同样决定着三倍体育种成效[16−18]。Bai 等[19]通过山东冠县毛白杨种质资源库内 43 个半同胞子代测定，证明毛白杨雌株存在育性差异，可筛选出具有一定可育性及一般配合力较高的杂交母本。Han 等[20]从中选择 77 个优良单株进行 SSR 分子标记分析，为 59 个优良单株鉴定出唯一父本，包括 49 个子代生长表现不同的杂交亲本组合。康宁等[13]选择其中育性较好的毛白杨雌株 3119、3532、8212，通过高温诱导胚囊染色体加倍获得了一大批杂种三倍体，对杂种后代生长性状观察结果表明，三倍体后代明显优于二倍体后代，但不同杂交组合存在差异，说明亲本选择对杨树三倍体育种具有重要影响。耿喜宁等[14]同样发现不同杂交组合的杂种三倍体在苗高和地径生长方面存在差异，进一步表明三倍体育种过程中需重视亲本配合力的匹配问题。

由于毛白杨育性较差[21]，由于部分杂交组合存在花粉不足、授粉不良、雌配子或合子及幼胚败育，以及幼苗生长衰弱（如图 2A，图 2B）等问题，未能完成杂交或仅获得少量杂种后代，难以开展稳定的生长性状统计分析。因此，本研究仅对获得三倍体数量不少于 3 株的全同胞后代进行统计分析。结果表明，在所有可分析的杂交组合中，三倍体与二倍体杂种后代苗期生长量均存在显著差异：毛白杨杂种三倍体的平均苗高和地径分别为 2.09 m 和 2.16 cm，显著高于杂种二倍体的 1.72 m 和 1.80 cm，增幅分别为 21.5% 和 20.0%。

不同配合力组合的三倍体和二倍体杂种后代苗期生长量亦存在明显差异，总体上，高配合力组合（如 3119 × 5042、3119 × 5412 和 3-17-39 × 5412）的二倍体和三倍体苗高与地径生长显著优于中、低配合力组合，且变异系数较低。其中，3119 × 5412 组合的三倍体后代表现最为突出，平均苗高和地径分别为 2.17 m 和 2.25 cm。相比之下，配合力中等的 3-17-39 × 5088 组合在部分性状上表现较高，可能与其三倍体样本数量较少导致的抽样误差有关。

3.3　毛白杨三倍体苗期优异种质选择

与优树选择相比，异交树种中遗传结构相似群体内个体单杂交的改良效果是不显著的，因此，基于育种群体轮回选择的常规育种是林木遗传改良的核心和基石[1−2]。而从遗传结构不同群体选择亲本杂交，可以获得遗传增益更为突出的品种，但需要通过区域试验为获得的杂交品种选配适宜栽培区域。从本研究选配的毛白杨杂交组合来看，子代生长表现突出的杂交组合的亲本均来源于毛白杨南部气候区与西北部气候区，而子代生长表现较差的杂交亲本组合来源于毛白杨西北部气候区，或部分母本来源于毛白杨东北部气候区。

在本研究初选的 47 株三倍体优异种质中，绝大多数来源于高配合力组合 3119 × 5042 和 3119 × 5412，其中 3119 × 5412 组合贡献最多（36 株），3119 × 5042 组合获得 9 株；低配合力组合中仅 sx71 × 5412 获得 2 株三倍体优异种质。高配合力的 3-17-39 × 5412 组合未筛选出优异种质，可能与其三倍体后代数量较少导致的抽样误差有关。对三倍体初选优异种质进行嫁接无性系化后一年生苗的生长表现分析表明，其中 38 个三倍体无性系在株高或地径上仍保持显著生长优势，而 9 个无性系生长表现与初选结果不同，推测原因可能与接穗萌发和缓苗差异、原株微环境条件以及砧木与接穗基因型互作产生的负效应等有关。经复选剔除生长退化的 9 个无性系后，最终获得 38 个三倍体优异种质，其平均苗高和地径分别为 2.31 m 和 1.79 cm，均显著高于对照三倍体，增幅分别为 63.8% 和 65.7%。

综上，本研究从山东冠县和山西朔州两地毛白杨种质资源库选择育性相对较好的父母本，组配 11 个预测高配合力、配合力中等以及低配合力的杂交组合，在有效处理时期即时判别的基础上，开展高温诱导毛白杨大孢子和胚囊染色体加倍技术研究，共获得杂种三倍体 1 765 株，其中大孢子染色体加倍来源三倍体 1 517 株，胚囊染色体加倍来源三倍体 248 株；进而经初选和复选对不同亲本组合的三倍体子代苗期生长表现进行了测定分析，主要从 2 个高配合力亲本组合中筛选出了 38 株表现突出的三倍体优异种质。研究结果为毛白杨杂交和三倍体育种提供了理论依据和资源基础。

4　结　　论

本研究针对毛白杨雌配子染色体加倍有效处理时期精准判别，以及亲本配合力影响等问题，在选配不同配合力杂交亲本组合的基础上，开展了高温诱导雌配子染色体加倍技术，以及三倍体优异种质选择研究。得到主要结论如下。

（1）建立了基于雌花序形态特征的大孢子母细

胞发育进程判别体系，明确雌花序基本伸出芽鳞、小花呈淡黄色、柱头由浅粉色转为粉红色且分叉张角30°～40°时，大孢子母细胞主要处于减数分裂终变期，可作为大孢子染色体加倍的关键判别依据。而胚囊染色体加倍的有效处理时期为授粉后 24 h 前后。

（2）不同亲本组合能够显著影响三倍体后代苗期生长表现，高配合力组合三倍体生长优势最为明显，其苗高和地径分别较中等配合力提高约 15% 和 5%，较低配合力提高约 78% 和 41%。

（3）通过初选与复选，从 2 个高配合力亲本组合中共筛选获得 38 个生长表现突出的三倍体优异种质，其平均株高和地径生长较作为对照的三倍体平均苗木的平均值分别提高 63.8% 和 65.7%。

本研究结果为毛白杨雌配子染色体加倍时期的精准判定及高效三倍体诱导提供了理论依据，同时为优良亲本组合选配及三倍体种质创新提供了重要材料基础。未来可进一步开展优异三倍体的遗传稳定性、无性繁殖表现及区域适应性评价，以加快其在生产中的应用与推广。

致谢 每年采集并高温加倍处理近千毛白杨花枝，授粉、套袋数千果序，收获并播种 10 余万粒种子，流式细胞仪倍性鉴定及移栽数千株杂种苗木，加之优良株系的繁殖、测试等，都离不开河北威县、山东冠县两个国家重点林木基地以及山西朔州植物园领导、技术人员以及同门的大力支持和帮助，在此一并致以衷心的感谢！

参 考 文 献

［1］ 康向阳. 论林木常规育种与非常规育种及其关系 [J]. 北京林业大学学报, 2023, 45(6): 1−7.
Kang X Y. On conventional and unconventional tree breeding and their relationships [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2023, 45(6): 1−7.

［2］ 康向阳. 我国林木育种与良种应用需重视的问题再思考 [J]. 林业科学, 2025, 61(6): 224−231.
Kang X Y. Rethinking the issues that need to be taken seriously in forest tree breeding, seed production of improved variety and their application in China [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2025, 61(6): 224−231.

［3］ 康向阳. 林木三倍体育种研究进展及展望 [J]. 中国科学: 生命科学, 2020, 50(2): 136−143.
Kang X Y. Research progress and prospect of triploid breeding of forest trees [J]. Scientia Sinica Vitae, 2020, 50(2): 136−143.

［4］ Kang X Y, Wei H R. Breeding polyploid *Populus*: progress and perspective [J]. Forestry Research, 2022, 2(1): 25−34.

［5］ Chen H, Wu W, Du K, et al. The interplay of growth-regulating factor 5 and BZR1 in coregulating chlorophyll degradation in poplar [J]. Plant, Cell & Environment, 2024, 47(10): 3766−3779.

［6］ Chen H, Wu W, Du K, et al. CCT39 transcription factor promotes chlorophyll biosynthesis and photosynthesis in poplar [J]. Plant, Cell & Environment, 2025, 48(5): 3136−3150.

［7］ Du K, Liao T, Ren Y, et al. Molecular mechanism of vegetative growth advantage in allotriploid *Populus* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2020, 21(2): 441.

［8］ 朱之悌, 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.
Zhu Z T, Lin H B, Kang X Y. Studies on allotriploid breeding of *Populus tomentosa* B301 clones [J]. Scientia Silvae Sinicae, 1995, 31(6): 499−505.

［9］ 康向阳, 王君著. 杨树多倍体诱导技术研究 [M]. 北京: 科学出版社, 2010.
Kang X Y, Wang J. Poplar polyploid induction technology research[M]. Beijing: Science Press, 2010.

［10］ 康向阳, 朱之悌. 白杨 2n 花粉生命力测定方法及萌发特征的研究 [J]. 云南植物研究, 1997, 19(4): 395−401.
Kang X Y, Zhu Z T. A study on the 2n pollen vitality and germinant characteristics of white Poplars [J]. Acta Botanica Yunnanica, 1997, 19(4): 395−401.

［11］ 康向阳. 林木多倍体育种研究进展 [J]. 北京林业大学学报, 2003, 25(4): 70−74.
Kang X Y. Advances in researches on polyploid breeding of forest trees [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2003, 25(4): 70−74.

［12］ Lu M, Zhang P, Kang X. Induction of 2n female gametes in *Populus adenopoda* Maxim by high temperature exposure during female gametophyte development [J]. Breeding Science, 2013, 63(1): 96−103.

［13］ 康宁, 白凤莹, 张平冬, 等. 高温诱导胚囊染色体加倍获得毛白杨杂种三倍体 [J]. 北京林业大学学报, 2015, 37(2): 79−86.
Kang N, Bai F Y, Zang P D, et al. Inducing chromosome doubling of embryo sac in *Populus tomentosa* with high temperature exposure for hybrid triploids [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2015, 37(2): 79−86.

［14］ 耿喜宁, 任勇谕, 韩志强, 等. 高温诱导大孢子染色体加倍选育毛白杨杂种三倍体 [J]. 北京林业大学学报, 2018, 40(11): 12−18.
Geng X N, Ren Y Y, Han Z Q, et al. Production of hybrid triploids via inducing chromosome doubling of megaspore with high temperature treatment in *Leuce* poplar [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2018, 40(11): 12−18.

［15］ 李艳华, 马洁, 康向阳. 白杨大孢子母细胞减数分裂进程及其即时判别 [J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(2): 70−74.
Li Y H, Ma J, Kang X Y. Stages of MMC meiosis and its timely discrimination of white poplars [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2005, 27(2): 70−74.

［16］ 康向阳. 关于林木无性系育种策略的思考 [J]. 北京林业大学报, 2019, 41(7): 1−9.
Kang X Y. Thinking about clonal breeding strategy of forest trees [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2019, 41(7): 1−9.

［17］ Han Z Q, Geng X N, Du K, et al. Analysis of genetic composition

and transmitted parental heterozygosity of natural 2n gametesin *Populus tomentosa* based on SSR markers [J]. Planta, 2018, 247(6): 1407−1421.

[18] Han Z Q, Han Q, Xia Y F, et al. Construction of a breeding parent population of *Populus tomentosa* based on SSR genetic distance analysis [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 18573−18573.

[19] Bai F Y, Kang N, Zhang P D, et al. Selection of female parents with high fertility and high combining abilities for cross-breeding *Populus tomentosa* [J]. Journal of Forestry Research, 2018, 4: 1−6.

[20] Han Z Q, Gao P, Geng X N, et al. Identification of the male parent of superior half-sib *Populus tomentosa* individuals based on SSR markers [J]. Molecular Breeding, 2017, 37(12): 155.

[21] 康向阳. 毛白杨花粉败育机制的研究 [J]. 林业科学, 2001, 37(3): 35−39.
Kang X Y. Study on mechanism of pollen abortion in Chinese white poplar (*Populus tomentosa* Carr.) [J]. Scientia Silvae Sinicae, 2001, 37(3): 35−39.

[22] 杜康, 王加焕, 李俊恒, 等. 毛白杨耐寒种质资源遗传鉴定及评价 [J]. 北京林业大学学报, 2023, 45(12): 59−67.
Du K, Wang J H, Li J J, et al. Genetic identification and evaluation of cold-resistant germplasm resources in *Populus tomentosa* [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2023, 45(12): 59−67.

[23] 李艳华, 康向阳. 诱导大孢子染色体加倍选育白杨杂种三倍体 [J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(5): 22−25.
Li Y H, Kang X Y. Triploid induction in white poplar by chromosome doubling of megaspore [J]. Journal of Beijing Forestry University, 2007, 29(5): 22−25.

[24] Loureiro J, Rodriguez E, Doležel J, et al. Two new nuclear isolation buffers for plant DNA flow cytometry: a test with 37 species [J]. Annals of Botany, 2007, 100(4): 875−888.

[25] 康向阳. 毛白杨细胞遗传与三倍体选育 [M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2002b.
Kang X Y. Cellular genetics and triploid breeding of *Populus tomentosa*[M]. Beijing: China Environmental Science Press, 2002b.

[26] 周永学, 苏晓华, 樊军锋, 等. 引种欧洲黑杨无性系苗期生长测定与选择 [J]. 西北农林科技大学学报 (自然科学版), 2004, 32(10): 102−106.
Zhou Y X, Su S H, Fan J F, et al. Growth determination and selection of introduced *Populus nigra* clones in seedling stage [J]. Journal of Northwest A&F University (Natural Science Edition), 2004, 32(10): 102−106.

（责任编辑　赵田芸
责任编委　马履一）