

葡萄品种“希姆劳德”无核性解剖组织学研究

牛建新 (译)

关于葡萄无核果形方面, Pearson 报道了‘汤姆逊’无核和无核紫等品种都有健全的花粉,但由于这些品种胚珠中多数都有异常珠被和胚囊,即使进行受精,胚乳组织也不能发育,因而不能形成种子。另外,笔者根据对‘高尾’无核果形成的研究,推测其无核性原因是由于开花前胚珠部附近胎座和内外珠被出现异常分裂而导致形态异常,妨碍花粉管进入胚珠,从而影响受精。

但是,关于‘希姆劳德无核’(以下称‘希姆劳德’)品种无核果形成的原因还不清楚。因此,本研究从‘希姆劳德’果实和种子(胚株)发育、单性结实性、花粉育性、子房内花粉管伸长、开花前后胚株和胚囊内部形态以及胚乳核和受精卵分裂等方面与‘康拜尔早生’进行了组织学比较,搞清了无核果形成机理。

1. 材料和方法

供试材料为大阪府立大学农学部田间栽培 20 年生无核品种‘希姆劳德’和有核品种‘康拜尔早生’。

1.1. 果实和种子(胚株)生长调查。从花期到成熟期每周用测径规测定一次作好标记 30 个果粒横径和纵径。另外,开花后每周测定一次种子大小。‘康拜尔早生’用测径规测定,‘希姆劳德’用石蜡切片在显微镜下用测微器测定。

1.2. 单性结实性调查。开花前 3 天每个品种选 10 个花穗,进行去雄套袋,花后 20 天调查座果情况,研究单性结实性。并在成熟期测定果实大小。

1.3. 花粉育性调查。开花时,收集花粉,用乙酰胆脂红(acetorecin)染色法调查花粉染色率和用琼脂培养法(蔗糖 20%、琼脂 1%)调查发芽率。将花粉播种到载玻片的培养基上,25℃条件下培养 6h,经棉蓝染色液染色后镜检,调查发芽情况。花粉管伸长到花粉直径二倍以上算发芽,每个均调查 600~800 个花粉。另外,被乙酰胆脂红染上色的花粉粒为可育花粉。

1.4. 子房内花粉管伸长情况观察。在授粉后 0、8、24、48、96h 分别用 FAA 液固定子房各 50 粒,然后用西山的方法制成 15m 厚的横向和纵向石蜡切片。这些切片参考 Martint 和 Majumder 的方法用 0.1% 苯胺兰(0.1N 的 K_3PO_4 水溶液),在室温下染色 4h。在落射

式荧光显微镜下用横切片观察花柱中部、子房上部、中部、下部和珠孔部的花粉管数,用纵切片观察花粉管伸长情况。

1.5. 胚株内部形态观察。从花前 2 天至花后 1 个月,每 3 天采一次果粒,用 FAA 液固定,然后制成 15mm 厚的石蜡连续纵切片,经常规方法二甲苯脱蜡后,放入 4% 铁矾水溶液媒染 12h 后,再用 0.1% 的苏木精水溶液染色 4h。在光学显微镜下观察胚株与胚囊的内部形态以及受精卵和胚乳核的分裂情况。

2. 结果

2.1. 果实和种子(胚株)的发育。‘康拜尔早生’果实生长发育呈双 S 型生长曲线,在盛花后 5 至 6 周左右生长第 2 期暂时停止生长。而‘希姆劳德’则没有明显的生长第 2 期。‘康拜尔早生’种子横径和纵径从开花至花后五周迅速增大,以后增加缓慢。‘希姆劳德’种子(胚株)在花后前二周略有增大,但以后停止生长。

2.2. 单性结实性。去雄套袋‘希姆劳德’座果率为 23.3% (单性结实率)(表 1)。自然授粉座果率为 35.2%。采收期前者的平均粒重为 1.53g,约为后者的 60%。去雄套袋的‘康拜尔早生’座果率为 15.9%,自然授粉座果率为 51.8%。去雄果粒重为 0.65g,约为自然授粉的 15%。两个品种去雄果实指数(横径/纵径)均比自然授粉大。

2.3. 花粉育性。‘希姆劳德’、‘康拜尔早生’花粉的乙酰胆脂红染色率分别为 90.4% 和 45.6%,前者比后者高,在琼脂培养基上的发芽率分别为 14% 和 22.5%,前者比后者低。

2.4. 花粉管在子房内伸长情况。两个品种子房内各部位花粉管数在授粉后 24~48 小时内,均表现为随时间增长而增加(表 2)。花柱中部花粉管数‘希姆劳德’比‘康拜尔早生’的多,但珠孔部‘希姆劳德’却比‘康拜尔早生’的少。两个品种花粉管均在授粉后 8h 开始到达珠孔部,48 小时则达到最高值,两个品种在同一时间到达胚株的花粉管比率差别却不大。但是,‘希姆劳德’的花粉管进入胚株的时间要比‘康拜尔早生’略晚一点。

表 1. 去雄对‘希姆劳德’座果的影响

品 种	平均每花穗			座果率 (%)	采收时平均果粒径			采收时平 均果粒重
	花数	落果数	结果数		横径 (mm)	纵径 (mm)	果形指 数	
希姆劳德	182.5	140	42.5	23.3	13.2	12.9	1.02	1.53
	(410.8)y	(266.0)	(144.8)	(35.2)	(15.9)	(16.3)	(0.98)	(2.58)
康拜尔早生	121.2	101.9	19.3	15.9	9.7	9.2	1.05	0.65
	(202.0)	(97.4)	(104.6)	(51.8)	(19.1)	(19.6)	(0.97)	(4.4)

z: 横径/纵径的值 y: ()内的数字为自然授粉时的值

表 2. 授粉后花粉管在‘希姆劳德’子房内伸长情况^z

品种	授粉后时间 (小时)	子房内各部位花粉管数(个数)				花粉管到达胚珠的比率 (%)
		花柱中部	子房上部	子房中部	珠孔部	
希姆劳德	0	0.1	0.0	0.0	0.0	0.0
	8	35.0	10.3	2.8	0.8	30.8
	24	40.1	13.6	3.4	1.0	53.2
	48	38.0	14.2	6.3	2.1	80.4
	96	38.5	13.8	6.6	2.0	78.3
康拜尔早生	0	0.5	0.0	0.0	0.0	0.0
	8	6.5	10.4	3.8	2.1	40.3
	24	21.6	13.6	8.4	2.7	82.1
	48	29.0	14.5	7.8	3.2	86.2
	96	23.4	8.8	7.3	2.9	87.7

z. 各处理平均调查 50 个子房

表 3. 开花时‘希姆劳德’胚珠的内部形态^z
(占调查胚珠的比率%)

品种	胚珠倒生状况		珠心组织发育状况		外珠被分裂状况		内珠被分裂状况	
	倒生	未倒生	发达	不发达	正常	异常	正常	异常
希姆劳德	95.2	4.8	100.0	0.0	89.5	10.5	13.3	86.7
康拜尔早生	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0	100.0	0.0

z. 每个品种均调查 200 个胚珠

2.5. 胚珠内部形态。开花时, 两个品种胚珠几乎全部倒生, 珠心组织也完全分化, 而且发达。与内珠被和外珠被都正常的‘康拜尔早生’相比, ‘希姆劳德’的外珠被大多是正常的, 但内珠被却特别长, 而且珠孔部宽而大, 其异常比率高达 86.7% (表 3)。开花时, 在‘康拜尔早生’的大部分胚囊里都观察到了二个助细胞和一个卵细胞构成的卵器以及连接胚囊中部或卵器的极核(中央核)。而‘希姆劳德’的大部分胚囊里虽有极核, 但多数缺少卵细胞和助细胞, 或助细胞异常肥大和变形以及完全退化, 其异常卵器比率占整个胚珠的 86.5% (表 4)。关于胚乳核的分裂情况见表 5。‘康拜尔早生’从花后三天开始分裂, 以后继续分裂, 到第 4 周后, 胚囊内充满胚乳。而‘希姆劳德’在开花后, 仅能观察到极少数胚珠的胚乳核进行 2~3 次分裂, 而大部分胚珠的胚乳核不分裂就渐渐退化了。另外还观察到‘希姆劳德’胚珠萎缩从花后一周开始迅速增加。三周

后达到 90% 以上(表 5)。^z ‘康拜尔早生’受精卵在花后三周前未见分裂, 但以后开始分裂, 直至分化发育成胚。而‘希姆劳德’则不分裂就渐渐退化了。

表 4. 开花时‘希姆劳德’胚囊的内部形态^z
(占调查胚囊的比率%)

品种	胚囊的有无		极核的有无		卵器状况		不完全卵器的状况		
	有	无	有	无	完全	不完全	缺少卵器	细胞卵器衰变	完全退化
希姆劳德	87.5	12.5	94.1	5.9	13.5	86.5	15.4	33.5	37.8
康拜尔早生	83.3	16.7	97.2	2.8	88.4	11.6	2.4	3.4	5.8

z. 每个品种均调查 200 个胚囊

表 5 ‘希姆劳德’葡萄开花后胚乳细胞分裂情况^z

品种	开花后天数	游离胚乳核数					萎缩胚珠 (%)
		1	2—4	5—8	9—16	16 以上	(%)
希姆劳德	0	97.1	2.9	0.0	0.0	0.0	8.2
	3	97.4	2.6	0.0	0.0	0.0	11.1
	6	95.5	4.5	0.0	0.0	0.0	30.3
	9	92.8	7.1	0.0	0.0	0.0	60.7
	12	87.7	5.6	6.7	0.0	0.0	86.5
	15	90.4	6.5	3.1	0.0	0.0	81.8
	21	94.1	5.9	0.0	0.0	0.0	93.3
康拜尔早生	0	95.2	4.8	0.0	0.0	0.0	6.8
	3	89.7	10.2	0.0	0.0	0.0	3.9
	6	71.1	26.2	2.6	0.0	0.0	21.7
	9	11.6	81.4	4.7	2.3	0.0	17.1
	12	10.6	70.0	10.0	5.0	5.2	11.2
	15	4.4	28.6	44.9	12.2	10.2	14.4
	21	0.0	0.0	4.1	6.1	89.7	

z. 各处理均调查 40 个子房

3. 讨论

无核品种可分两种类型, 一种是未经受精而结果的品种, 如‘黑珍珠’、‘白珍珠’等。另一种是必须经授粉受精才能结果的品种。如‘汤姆逊无核’和‘无核紫’等。前者为单性结实, 后者为假单性结实。本研究弄清了无核品种‘希姆劳德’具有不经受精(授粉)就能单性结实的特性。但不授粉得到的果实平均粒重比自然授粉的正常果粒小, 这暗示了与授粉有关的某些物理、化学因素可影响到以后果粒生长。Coombe(1960)报道了易单性结实的葡萄品种, 花药和花粉中含有赤霉素。由此可以推测‘希姆劳德’花粉也可能含有赤霉素等植物激素。这些激素随着花粉管的伸长而移到子房内, 对果粒以后生长产生影响。另一方面, 还可考虑由于花粉管伸长的物理刺激可使花柱或子房中合成促进果粒生长物质代谢活跃, 从而对其生长产生影响。

一般认为如果葡萄花粉发芽率在 6% 以上就能进行受精, 就能得到含有育性种子的果粒。本试验‘希姆劳德’乙酰胭脂红染色法花粉育性率比有核品种‘康拜

尔早生’高，花粉发芽率为14%。所以，很难认为无种子是因花粉不育所致。根据花粉管伸长子房内部情况来看，虽然‘希姆劳德’比‘康拜尔早生’略晚一些，但授粉后48h花粉管已有80%以上进入胚珠内。由此说明已进行了授粉。花粉管到达胚珠内天数苹果为3~5天，桃12~24天，葡萄品种‘希姆劳德’和‘康拜尔早生’则短得多。从授粉到受精仅需2天。

一般被子植物，花粉管到达胚囊时，2个精核分别与卵细胞和极核接合，进行双受精。受精完了一个指标是胚乳核开始分裂。据报道，多数有核葡萄品种的胚乳核是在授粉后2~4天内开始分裂的。本试验，观察到‘康拜尔早生’的胚乳核是在授粉后第3天开始分裂的，与以往的研究结果一致。‘希姆劳德’的胚珠中虽然也可看到胚乳核分裂，但绝大部分都不分裂。即使观察到胚乳核分裂，也仅为2~3次，没有更多次的分裂。因此可以认为，‘希姆劳德’的大部分胚株都未进行受精。

葡萄发育成2~8细胞胚所需的时间因品种而异。据报道，‘弗来多尼’需要23天，‘金玫瑰’19~20天，‘康可’14~16天。‘康拜尔早生’的胚发育比‘康可’晚，与‘弗来多尼’和‘金玫瑰’基本一致。但是，‘希姆劳德’的受精卵没有分裂就退化了。未受精的胚珠是不能进行胚分化的，但极少数受精的胚珠也未能进行胚分化。这可能与胚乳核早期停止分裂有关。胚乳核早期停止分裂的原因虽还未弄清，但可以推测原因之一是开花后内源激素的不均衡所带来的生理影响所致。

有核葡萄品种，开花时正常的胚囊内有2个助细胞和卵细胞构成的卵器和极核（中央核）。本试验中的有核品种‘康拜尔早生’与以往的报道相同，而无核品种‘希姆劳德’大部分胚珠虽都有极核（中央核），但卵细胞和助细胞多数都是异常的。因此，可以认为‘希姆劳德’的无核主要是由于卵细胞和助细胞的异常而导致不能受精所致。

译自《园艺学会杂志》59卷第3号455—462页

作者：王近伟等

校者：舒艳

（新疆石河子大学农学院园艺园林工程系 邮编832003）

定稿日期：1996年10月3日

在苹果树管理措施中，环剥技术是其中之一。由于环剥的目的不同，其环剥的时期及宽度也不同，现将苹果树的环剥技术简介如下：

一、促进成花结果 在苹果树花芽生理分化期开始之际进行，约在五月下旬至六月上旬，剥口宽度2—3毫米。此法可在四年生以后的树上均可采用。

二、控制旺长 仅限于生长旺盛的树，环剥时期在新梢生长高峰期内，剥口宽度3—4毫米。

三、注意事项 1. 剥口宽度 宁窄勿宽，以免造成

葡萄硬枝接绿枝法

所谓葡萄“硬枝接绿枝”，就是用冬季修剪后经贮存处理的葡萄一年生枝（即硬枝）单芽接穗，采用劈接方法嫁接在砧木当年抽发的新梢（即绿枝）上。现将具体方法介绍如下：

一、嫁接前准备：冬剪时，将计划改接的植株在主干离地面约20厘米处截干。翌春萌芽后，选留2个~3个健壮萌蘖条，在每根萌蘖条旁边插一根1米多高的小竹杆，把萌蘖条捆绑固定在竹杆上，以防被风吹折或人、畜碰断。接穗选用良种母株上成熟度高、粗度约8毫米左右的优质一年生枝砂藏，到2月中下旬取出再放入冰箱内保温（2摄氏度—5摄氏度）保湿冷藏备用。

二、嫁接方法：4月底到5月初，当砧木萌蘖条长到与接穗粗度相仿时开始嫁接。首先，在嫁接前一天把贮存的接穗取出放入清水中浸泡12小时，晾干后在每个接穗芽的下端削成长3厘米~4厘米的楔形，剖面要求对称、平整、光滑。然后在芽的上端留2厘米~3厘米平切取下。其次，在每株砧木上选一粗度与接穗相仿的绿枝，用刀片在第3节或第4节的中间横切割断。在割口正中向下纵切一刀，深度与穗剖面长度相同，用拇指和食指掐牢绿枝砧木切口两侧，把削好的接穗插入劈开的砧木中，插入深度以接穗稍露白为宜，并使接穗、砧木形成层对准。再次，用薄膜带从砧木顶部开始向下绑紧，再自下向上直到接穗顶端（仅露出接穗芽眼）包扎封严。最后，把砧木上所有芽眼或副梢抹净，丰木上未嫁接的绿枝同时抹去。

三、嫁接后管理：（1）如遇干旱，要灌水保墒，保持土壤湿润；（2）及时抹除砧木上的萌芽；（3）当接穗萌芽抽梢达20厘米以上时，将新梢扶绑在砧木旁的小竹杆上；（4）根据新梢生长情况，做好摘心、除卷须等夏季修剪工作，对部分新梢上出现的小花序，除用作品种鉴别外，也应及早摘除。

实践证明，葡萄采用硬枝接绿枝嫁接提早20天左右，因而发芽早、生长快、生长量大、当年嫁接，第二年即可挂果。此法尤其适用于品种更新。

死枝或死树。2. 剥口位置 在平滑、无伤疤、无分枝、易操作且距作用部位近处进行。3. 剥口深度 切断韧皮部，去掉外皮，不伤木质部。4. 剥口要求 整齐且不得用手触摸，以免影响愈合。5. 环剥次数 一个大枝，一般每年仅剥一次，特别旺的树枝剥口可微宽一点。6. 环剥法不如环割法好，安全可靠。（刘）

果树环剥的应用