

## 薄壳山核桃嫁接苗“小脚”现象的导管分子特性

孙志超, 程 慧, 常爱玲, 靡瑶琦, 黄瑞敏, 王正加\*

(浙江农林大学亚热带森林培育国家重点实验室培育基地, 临安 311300)

**摘 要:**为探究薄壳山核桃“小脚”现象的导管分子特性,采用组织离析法与显微照相技术,观察以‘Mahan’品种为砧木,‘Pawnee’品种为接穗的嫁接苗与非嫁接苗(‘Mahan’)导管分子类型及大小。结果表明,与非嫁接苗相比,嫁接苗砧木根段不同尾类型导管分子数目未见变化,两端壁水平导管分子数目多 38.46%;砧木茎段两端无尾导管分子数目多 50.00%,砧木茎段两端壁水平导管分子数目多 92.31%;砧木根段平均倾斜角度比根小 36.57%、砧木茎段平均倾斜角度比茎下部小 30.56%;砧木根段平均长度比根短 12.62%,平均宽度比根小 4.18%,砧木茎段平均长度比茎下部短 3.89%,平均宽度比茎下部宽 11.68%。综上所述,嫁接薄壳山核桃“小脚”现象可能与砧木根段和砧木茎段木质部导管分子的形态与大小变化有关。

**关键词:**薄壳山核桃; 导管分子; “小脚”现象

中图分类号: S723.2; S664.1

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2016)06-0915-04

### Male flower development and pollen germination of ‘Mahan’ pecan

SUN Zhichao, CHENG Hui, CHANG Ailing, MI Yaoqi, HUANG Ruimin, WANG Zhengjia

(State Key Laboratory Breeding Base of Subtropical Forest Culture, Zhejiang Agriculture and Forestry University, Linan 311300)

**Abstract:** In order to study the development of male flowers and pollen germination of pecan, ‘Mahan’ was systematically observed under microscope using paraffin sections for its staminal flowering habit. The structure and germination characteristics of the pollen grain were also observed using scanning electron microscope. The results showed that the male flower primordium took shape on the top of stamen in late March and began to differentiate in early April. In late April, the pollen sac formed in anther and the pollen mother cell began meiosis to tetrad stage. Then the tetrad produced pollen grains of single cell nucleus and the tapetum disappeared gradually in the developmental process. The pollen grain was fully developed when it had two nuclei. A stigma in the receptive period after pollination showed wave crests and papillary cells at the top of the carpel. Pollen germinated on a stigma four hours after pollination. More pollen germinated on stigma and pollen tubes grown toward ovary 12 hours after pollination. Pollen began collapse 24 hours after pollination and pollen tubes began collapse, and papillary cells at the top of the carpel began depression and collapse 3 days after pollination.

**Key words:** *Carya illinoensis*; vessel element; stock under growth

薄壳山核桃 (*Carya illinoensis*) 别名美国山核桃、长山核桃, 胡桃科山核桃属, 原产美国和墨西哥, 坚果壳薄, 出仁率高, 种仁营养丰富, 具有较高的不饱和脂肪酸和对人体有益的各种氨基酸, 是世界著名的干果之一<sup>[1-5]</sup>。中国引种薄壳山核桃已有百年历史, 但由于薄壳山核桃实生苗幼童期长、种子变异大等原因, 限制了薄壳山核桃在国内的种

植发展。薄壳山核桃嫁接苗则成为发展薄壳山核桃的必然趋势。

嫁接的亲合性影响着嫁接苗后期的生长、结果、适应性和抗病性等<sup>[6]</sup>。在实际生产中, 常用“大脚”(砧木比接穗主干粗)与“小脚”(砧木比接穗主干细)来表示嫁接亲合性问题的存在, 在东京山核桃 (*Carya tonkinensis*) 做砧木嫁接薄壳山核桃的研究

收稿日期: 2015-11-02

基金项目: 浙江省林业厅项目(2014B01)和浙江省农业新品种选育重大科技专项(2012C12904)资助。

作者简介: 孙志超, 硕士研究生, E-mail: szc2926@163.com

\* 通信作者: 王正加, 博士, 副教授。E-mail: wzjh21@163.com

中发现, 树体后期出现了“小脚”现象, 且树高、冠幅及单株累计产坚果量受到严重影响<sup>[7]</sup>; 在梓砧嫁接榿树中也存在“小脚”现象, 这种小脚现象的存在使得树体极易感染根瘤线虫, 制约着榿树优良品种的发展<sup>[6]</sup>, 同时“小脚”现象的存在, 会使得嫁接苗因“头重脚轻”而被风折。

导管分子是木质部运输水分和矿质营养的基本结构, 导管长度与直径的大小对木质部运输水分有重要作用, 对植物的抗旱性有一定的影响<sup>[8-11]</sup>。在薄壳山核桃的嫁接苗中以‘Mahan’为砧木, ‘Pawnee’为接穗的嫁接山核桃出现了“小脚”现象(图1)。在杏叶梨与杜梨的嫁接体研究中发现, 多酚氧化酶、苯丙氨酸解氨酶及木质素与嫁接愈合能力有关<sup>[12]</sup>, 这些因素可能影响导管分子的分化, 进而改变导管分子的性状, 而有关“小脚”现象导管分子特性方面的研究还未见报道。为此, 本研究以未嫁接的薄壳山核桃为对照, 解析薄壳山核桃嫁接苗出现“小脚”现象的导管分子特性。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验于 2015 年 7 月在浙江农林大学果木园进行。随机选取长势相似、健康的 3 年生的‘Mahan’为砧木, ‘Pawnee’为接穗的嫁接薄壳山核桃与‘Mahan’非嫁接山核桃各 3 株。在距树基部 40 cm、深 40 cm 处, 各取直径为 5 mm 左右的根段, 去皮后, 将木质部劈为细丝状, 混合均匀后, 嫁接苗与非嫁接苗各一个样。此外, 在嫁接苗砧木茎段(stem segment of stock, SSS)、接穗(scion)部位, 分别取其边材, 制成样品, 在非嫁接苗相同高度和方位, 取茎下部(lower part of stem, LPS)和茎上部(upper part of stem, UPS)的边材, 厚度均为 0.5 cm, 制成样品作为对照, 共得 6 个样品。

### 1.2 方法

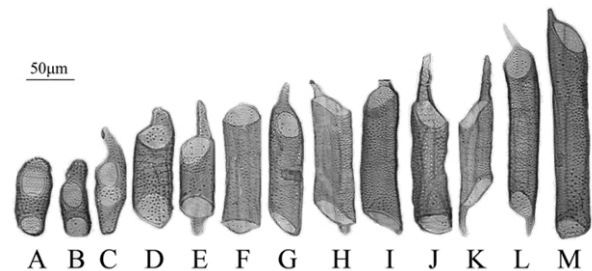
材料经离析液<sup>[13]</sup>离析, 1%番红染色制片, 显微镜观察并拍照, 每个样品测定 50 个导管分子, 依据 Tippo<sup>[14]</sup>的方法对导管分子进行描述, 利用 SPSS17.0 专业版数据处理系统处理数据。

## 2 结果与分析

### 2.1 导管分子类型特征

在所观察的样品中均发现如下类型的导管分子(图1), 从导管分子侧壁次生增厚和木质化的方式看, 均属于孔纹导管。从纹孔的排列看, 导管分子管间纹孔均属于互列纹孔式。从尾的长短来看, 可

观察到有具长尾导管分子(图1, J、K)、具短尾导管分子(图1, D、H、I、M)以及在有尾和无尾间过渡阶段的导管(图1, A)。从尾的有无来看, 有的两端具尾(图1, C、E、H、K、L), 有的一端具尾(图1, A、B、D、G、I、J、M), 有的两端无尾(图1, F)。从穿孔板的式样看, 在所观察的材料中, 导管分子均为单穿孔(图1)。从导管分子端壁倾斜性来看, 可观察到从比较倾斜的端壁类型(图1, B、C、D、K、L)经中间过渡类型(图1, E、H、I)一直到两端壁近水平类型(图1, F)。



A、B、D、G、I: 两端倾斜, 一端具尾; C、E、H、K、L: 两端倾斜, 两端具尾; J、M: 一端近水平, 一端具尾; F: 两端近水平, 两端无尾

A,B,D,G and I: both end walls are slope, and tail in one end wall; C, E, H, K and L: both end walls are slope, and tails in both end walls; J and M: one end wall is horizontal, and tail in one end wall; F: both end walls are horizontal, and no tail in both end walls

图1 导管分子形态

Figure 1 Vessel element shape

表1 导管分子不同尾类型的情况

材料	Material	两端具尾	一端具尾	两端无尾
		Both tails	One tail	No tail
嫁接苗	砧木根段 RSS	3	19	28
Grafted	砧木茎段 SSS	7	17	27
seedling	接穗 Scion	10	16	24
非嫁接苗	根 Root	5	19	26
Non-grafted	茎下部 LPS	8	24	18
seedling	茎上部 UPS	10	25	15

嫁接苗与非嫁接苗不同部位导管分子具尾类型情况如表1。与非嫁接苗不同部位相比, 砧木根段不同尾类型导管分子数目未见变化; 砧木茎段两端具尾的导管分子数目基本相同, 两端无尾导管分子数目多 50.00%, 一端具尾少 29.17%; 接穗两端具尾的导管分子数目基本相同, 两端无尾的导管分子数目多 60.00%, 一端具尾少 36.00%。可见, 与非嫁接苗相比, 嫁接苗砧木茎段两端无尾较多、一端具尾较少。

嫁接苗与非嫁接苗不同部位导管分子端壁倾斜类型情况如表 2。与非嫁接苗不同部位相比, 嫁接苗砧木根段两端壁水平导管分子数目多 38.46%, 一端壁倾斜少 41.67%, 两端壁倾斜少 41.67%, 砧木茎段两端壁水平导管分子数目多 92.31%, 一端壁倾斜少 53.33%。方差分析表明, 嫁接苗与非嫁接苗砧木根段/根、砧木茎段/茎下部、接穗/茎上部导管分

子端壁倾斜角度达到差异极显著水平(表 3), 两种山核桃不同部位导管分子倾斜角度进行比较其结果为: 砧木根段平均倾斜角度比根小 36.57%、砧木茎段平均倾斜角度比茎下部小 30.56%(表 3)。可见, 嫁接苗砧木根段、砧木茎段导管分子两端壁水平数目较多, 一端倾斜与两端倾斜较少, 两端壁倾斜角度变小。

表 2 导管分子端壁类型的情况

Table 2 Frequency of different end wall tilt types in vessel elements

材料		两端倾斜	一端倾斜	两端水平
Material		Slop in both end walls	Slop in one end wall	Horizontal at both end walls
嫁接苗 Grafted seedling	砧木根段 RSS	7	7	36
	砧木茎段 SSS	19	7	25
	接穗 Scion	21	12	17
非嫁接苗 Non-grafted seedling	根 Root	12	12	26
	茎下部 LPS	22	15	13
	茎上部 UPS	14	16	20

表 3 导管分子长度与宽度比较

Table 3 Comparisons of length and width of vessel element

材料	Material	长度/ $\mu\text{m}$ Length		宽度/ $\mu\text{m}$ Width		端壁倾度/ $^{\circ}$ End wall slope	
		嫁接苗	非嫁接苗	嫁接苗	非嫁接苗	嫁接苗	非嫁接苗
		Grafted seedling	Non-grafted seedling	Grafted seedling	Non-grafted seedling	Grafted seedling	Non-grafted seedling
砧木根段/根	RSS/Root	416.58 $\pm$ 110.29 <sup>b</sup>	476.76 $\pm$ 115.43 <sup>a</sup>	319.81 $\pm$ 88.13 <sup>a</sup>	333.77 $\pm$ 92.79 <sup>a</sup>	9.68 $\pm$ 16.33 <sup>c</sup>	15.26 $\pm$ 16.36 <sup>b</sup>
砧木茎段/茎下部	SSS/LPS	431.16 $\pm$ 138.20 <sup>b</sup>	448.59 $\pm$ 116.19 <sup>a</sup>	244.07 $\pm$ 72.05 <sup>b</sup>	218.55 $\pm$ 93.15 <sup>b</sup>	18.81 $\pm$ 18.96 <sup>b</sup>	27.09 $\pm$ 17.56 <sup>a</sup>
接穗/茎上部	Scion/UPS	520.69 $\pm$ 167.59 <sup>a</sup>	400.12 $\pm$ 106.11 <sup>b</sup>	185.04 $\pm$ 73.97 <sup>c</sup>	170.83 $\pm$ 76.17 <sup>c</sup>	26.94 $\pm$ 20.8 <sup>a</sup>	22.76 $\pm$ 19.46 <sup>a</sup>

注: 不同字母表示差异显著。Note: Different letter showed significant difference.

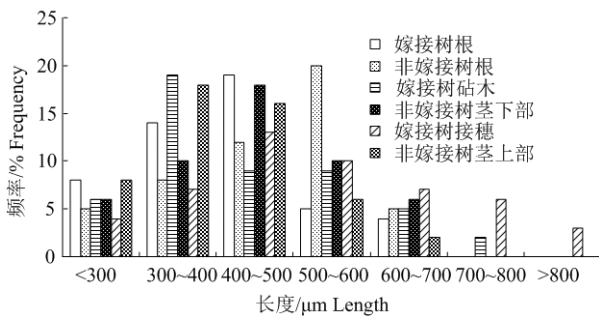


图 2 导管分子长度分布情况

Figure 2 Distribution of the length in vessel elements

## 2.2 导管分子长度特征

方差分析表明, 嫁接苗与非嫁接苗砧木根段/根、砧木茎段/茎下部、接穗/茎上部导管分子长度均达到差异极显著水平(表 3)。

从表 3 可以看出, 嫁接苗不同部位导管分子长度由大到小的顺序为: 接穗(520.69  $\mu\text{m}$ ) > 砧木茎段(431.16  $\mu\text{m}$ ) > 砧木根段(416.58  $\mu\text{m}$ ), 非嫁接苗为根(476.76  $\mu\text{m}$ ) > 茎下部(448.59  $\mu\text{m}$ ) > 茎上部(400.12  $\mu\text{m}$ )。两种薄壳山核桃不同部位导管分

子长度进行比较其结果为: 砧木根段平均长度比根短 12.62%, 砧木茎段平均长度比茎下部短 3.89%。

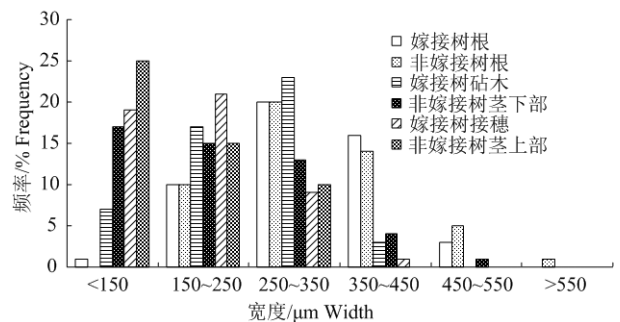


图 3 导管分子宽度分布情况

Figure 3 Distribution of the width in vessel elements

从图 2 可以看出, 两种材料的不同部位导管分子长度主要分布在 300~600  $\mu\text{m}$  之间, 与非嫁接苗不同部位相比, 嫁接苗砧木根段长度大于 500  $\mu\text{m}$  的导管分子要少 64.00%。由此可以看出, 嫁接苗砧木根段导管分子长度较短, 具有短导管性。

### 2.3 导管分子宽度特征

方差分析表明, 嫁接苗与非嫁接苗砧木根段/根、砧木茎段/茎下部、接穗/茎上部导管分子宽度均达到差异极显著水平(表3)。

从表3可以看出, 嫁接苗不同部位导管分子宽度由大到小的顺序为: 砧木根段(319.81  $\mu\text{m}$ ) > 砧木茎段(244.07  $\mu\text{m}$ ) > 接穗(185.04  $\mu\text{m}$ ), 非嫁接苗为: 根(333.77  $\mu\text{m}$ ) > 茎下部(218.55  $\mu\text{m}$ ) > 茎上部(170.83  $\mu\text{m}$ ); 两种山核桃不同部位导管分子宽度进行比较其结果为: 砧木根段平均宽度比根小4.18%, 砧木茎段平均宽度比茎下部大11.68%。

从图3可以看出, 两种山核桃不同部位导管分子宽度均分布在150~350  $\mu\text{m}$ , 与非嫁接苗不同部位相比, 嫁接苗砧木茎段宽度大于250  $\mu\text{m}$ 的导管分子要多30.77%。综上所述, 嫁接苗砧木茎段导管分子具有宽导管性。

## 3 讨论

### 3.1 导管分子类型多样性可能的原因

从离析后的导管分子看, 嫁接苗导管分子类型多样, 嫁接后砧木导管分子向两端无尾、两端壁水平变化。在细枝木麻黄的研究中发现, 无尾的导管可以提高水分运输效率, 加速生长发育<sup>[15]</sup>。同样导管分子端壁水平, 面积小, 可使水分及矿质营养运输阻力变小<sup>[16-17]</sup>。现在生存的植物木质部中结构上的差异是功能适应于生长环境的进化变化结果, 这种适应性的变化是由于各种植物类群的不同生长环境的选择压力而引起的<sup>[18]</sup>。嫁接数导管分子的分化和形成过程中, 必然也受到这些因子的影响和制约, 故出现嫁接后砧木根段与茎段导管分子向无尾及端壁倾角变小的趋势。

### 3.2 导管分子特性与“小脚”现象的关系

导管分子对于疏导水分和矿质营养具有重要作用, 宽度大的导管分子输水能力强, 营养交换阻滞较小, 树木长势旺盛, 宽度小的导管分子则呈相反趋势。本研究发现, 嫁接苗砧木茎段导管分子直径变大。有研究认为, 嫁接出现“大小脚”现象, 是养分流动受妨碍的结果<sup>[19]</sup>。嫁接苗出现小脚现象, 可能与物质交换有关, 砧木茎段形成层细胞分裂受到抑制, 致使嫁接山核桃导管宽度出现代偿性增大, 这可能是其砧木负性生长的结构原因。

综上所述, 嫁接苗“小脚”现象的出现可能是由于其导管分子宽度增大所引起的。因此, 为提高

薄壳山核桃的生态适应性, 扩大种植面积, 在生产实践中应多关注接穗与砧木的互作关系。针对本文给出的“小脚”现象出现的结构机理, 为避免“小脚”现象的出现, 在生产实践中, 应及时给予处理, 例如激素处理, 使砧木茎段导管分子分裂正常。

### 参考文献:

- [1] 王正加, 黄有军, 罗秀强, 等. 山核桃优树采穗圃构建及生长量分析[J]. 西南林学院学报, 2006, 26(3): 37-39.
- [2] 吴克强, 任洪海. 世界著名干果美国山核桃[J]. 云南林业, 2005(6): 19-20.
- [3] 习学良, 范志远, 董润泉, 等. 美国山核桃在云南的引种研究进展及发展前景[J]. 江西林业科技, 2001(6): 39-41.
- [4] 凌骅, 黄坚钦, 温国胜, 等. 5种美国山核桃苗叶片光合生理特性比较[J]. 林业科学, 2014, 50(8): 174-178.
- [5] 张汇慧, 吴彩娥, 李永荣, 等. 不同品种薄壳山核桃营养成分比较[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2014, 38(3): 55-58.
- [6] 王新建, 何威, 杨淑红, 等. 豫楸1号4种砧木嫁接苗对干旱胁迫的生理响应[J]. 林业科学, 2008, 44(5): 31-37.
- [7] 习学良, 范志远, 邹伟烈, 等. 东京山核桃砧对美国山核桃嫁接成活率及树木生长结果的影响[J]. 西北林学院学报, 2006, 21(2): 76-79.
- [8] 郭学民, 肖啸, 徐兴友, 等. 21世纪桃树次生木质部导管分子特征的观察[J]. 果树学报, 2008, 25(1): 22-26.
- [9] 李吉跃, 翟洪波. 木本植物水力结构与抗旱性[J]. 应用生态学报, 2000, 11(2): 301-305.
- [10] 郭学民, 肖啸, 梁丽松, 等. ‘21世纪’桃对其砧木毛桃根系导管分子性状的影响[J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1147-1152.
- [11] 孙志超, 程慧, 郭文磊, 等. 山核桃枝叶耐旱特性分析[J]. 果树学报, 2015, 32(4): 633-640.
- [12] 黄曼娜, 孙华丽, 宋健坤, 等. ‘杏叶梨/杜梨’嫁接愈合过程的解剖学与生理学研究[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2014, 31(3): 177-182.
- [13] 李正理. 植物组织制片学[M]. 北京: 北京大学出版社, 1996: 91-92.
- [14] TIPPO O. A list of diagnostic characteristics for description of dicotyledonous woods[J]. Tran Illinois Acad Sci, 1941, 34: 105-106.
- [15] 陈树思. 细枝木麻黄导管分子及穿孔板解剖学研究[J]. 热带亚热带植物学报, 2006, 14(5): 433-438.
- [16] 张大维, 石福臣. 黑龙江桦木科植物导管分子解剖学研究[J]. 植物研究, 2004, 24(2): 158-161.
- [17] 董星光, 曹玉芬, 王昆, 等. 中国3个主要梨砧木资源木质部导管分子结构及分布比较[J]. 植物学报, 2015, 50(2): 227-233.
- [18] CARLQUIST S. Wood anatomy of Coriariaeae: phylogenetic and ecological implications[J]. Syst Bot, 1985, 10(2): 174-183.
- [19] 胡江琴, 王利琳, 沈晓璟. 凹叶厚朴细弱枝与粗壮枝导管分子的比较研究[J]. 植物研究, 2005, 25(2): 151-154.