

文章编号: 1000-5692(2001)02-0111-04

## 山核桃嫁接愈合过程的解剖学观察

黄坚钦<sup>1</sup>, 章滨森<sup>2</sup>, 陆建伟<sup>1</sup>, 付敢伟<sup>3</sup>

(1. 浙江林学院 资源与环境系 浙江 临安 311300; 2. 浙江省林业局 种苗站, 浙江 杭州 310007;  
3. 浙江省乐清市林业局, 浙江 乐清 325600)

**摘要:** 山核桃嫁接经过了愈伤组织形成、对接、维管束桥的形成及维管分化等过程。休眠的形成层薄, 只有3层左右细胞。嫁接后9 d, 愈伤组织首先发生于形成层, 再在皮层和韧皮部处发生; 14 d后, 愈伤组织对接, 呈点状分布, 隔离层也逐渐消失; 接后24 d, 维管束桥形成, 并进一步分裂分化产生输导组织, 实现嫁接体的完全愈合。山核桃形成层薄, 嫁接时很难与砧木准确对接, 这是山核桃嫁接成活率低的原因。以化香为砧木嫁接山核桃则存在不亲和现象。图1 参10

**关键词:** 山核桃; 嫁接; 愈伤组织; 营养繁殖

**中图分类号:** S723.2; Q944.53 **文献标识码:** A

山核桃为胡桃科山核桃属。山核桃属共有18种2亚种<sup>[1]</sup>, 大部分为美洲原产, 是重要的木本油料树种, 也是优质的食用干果。我国原产及引种栽培的有5种, 分别为山核桃(*Carya cathayensis*)、湖南山核桃(*C. hunanensis*)、越南山核桃(*C. lecontei*)、贵州山核桃(*C. kweichowensis*)和薄壳山核桃(*C. illinoensis*), 其中最有价值的是山核桃和薄壳山核桃。

山核桃又叫昌化山核桃, 原产我国, 在我国主要分布于浙江西北部和安徽东南交界的天目山区, 以浙江省临安市昌化为中心, 包括浙江的临安、淳安、安吉以及安徽的旌德、歙县、宁国和绩溪等县的部分山区, 29°~31°N, 118°~120°E。山核桃在这些地区的栽培已有五六百年历史, 但对山核桃的研究则较为薄弱。20世纪60年代以来, 许多单位对山核桃的生物学特性等进行了研究<sup>[2~3]</sup>, 并对山核桃进行了初步选优。但山核桃嫁接难以成活, 致使所选的优株无法进行无性系子代测定, 品种难以优化, 品质难以提高。为此, 林业工作者对山核桃嫁接进行了试验。钱尧林提出了室内切接和室外剥皮接2种嫁接新技术, 使山核桃嫁接最佳成活率达80%以上, 并且提早结果<sup>[4]</sup>。安徽宣州地区的研究使嫁接成活率达88%以上, 保存率为55%左右<sup>[5]</sup>。但上述的嫁接都是以化香(*Platycarya strobilacea*)为砧木, 在以后的生长过程中会陆续死去, 最后保存率仅17.6%<sup>[6]</sup>。因此, 山核桃本砧嫁接实际上没有得到实质性的突破。1998年开始, 我们对山核桃本砧嫁接进行了探索性的尝试, 并采用激素对接穗进行处理, 使1年生枝嫁接成活率最好的一种组合达90.48%。2000年我们进行重复试验, 嫁接平均成活率达93%。为进一步了解山核桃嫁接愈合的机理, 实现采用结果枝的嫁接突破, 我们在细胞及组织水平上研究了山核桃的嫁接过程。

收稿日期: 2000-11-20; 修回日期: 2000-12-18

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(300011)

作者简介: 黄坚钦(1964-), 男, 浙江乐清人, 副教授, 在职博士生, 从事植物学研究。

## 1 材料与方 法

试验材料取自浙江林学院山核桃试验基地。以1年生实生苗为砧木,1年生生长枝为接穗,采用切接。接后5 d开始取样,以后每2 d取2个嫁接茎段,用FAA(70%乙醇精配)固定。

沿切面切取2~5 mm的薄片,分上、中、下3段取材。材料经GMA包埋(Technovit 7100液体100 mL,与Technovit 7100粉剂(harder 1)充分溶解,作为渗透剂。以7100活化液15 mL加1 mL harder 2作为包埋剂)。旋转切片机切片,厚5  $\mu\text{m}$ 。切片烘干后用Giemsa染色3 min,自然风干后用加拿大树胶封片。

不同砧木(山核桃、化香)的嫁接苗,在完全愈合后,在切口处取样,FAA固定,PEG包埋,滑走切片机切片,厚20  $\mu\text{m}$ ,水溶性Acrydin-Cryosidin与水溶性Astrablue对染,加拿大树胶封片。

切片在Olympus显微镜下观察并拍摄照片。

## 2 观察结果

### 2.1 山核桃嫁接成活的形态学观察

4月嫁接时,山核桃芽呈黄灰色,2周后,芽陆续萌动,稍变青色,并有明显的生长。3周后,陆续展叶,叶呈黄绿色,稍皱。用结果枝接的穗条有的已经开花。5月中旬,叶片基本展平,叶面较绿,叶背较黄,接穗高生长明显。

### 2.2 接穗与砧木的结构

山核桃的接穗与砧木在结构上基本一致。从外至内,依次为周皮、皮层、韧皮部、形成层、木质部和髓(图1-1)。从周皮存在的位置看,它发生于皮层的深处,故在次生构造上皮层很薄。韧皮部十分发达,并具丰富的韧皮纤维。木质部的木纤维发达,射线多数为单列射线。山核桃的形成层很薄,在休眠时,它仅有3层细胞(图1-2)。

化香茎的结构与山核桃相似,皮层薄,韧皮部发达,形成层薄,环孔材,单列或二列射线。

### 2.3 山核桃嫁接愈伤组织的形成与分化

山核桃嫁接后5 d,从解剖构造上还看不出变化。接后9 d,接穗与砧木形成层都已经开始活动,并形成了至少7层以上的形成层区域。在切口处,形成层区域的细胞呈圆形,已失去了“砖头状”的形成层形态特征,表现出愈伤组织的特点(图1-3,4),而砧穗之间仍由隔离层(isolation layer)所隔开,部分细胞突破了隔离层,不断增大,并液泡化(图1-4)。切口处的皮层与韧皮部受创伤以后,细胞进行不断的自我解体,形成隔离层。隔离层内的一些薄壁细胞经脱分化,形成愈伤组织。这些愈伤组织进一步发育,形成点状分布的愈伤组织群(图1-5)。从形态上看,愈伤组织与空气接触的外部细胞常膨大,高度液泡化,强烈分裂的是内层细胞。从横切面上看,这几层细胞与形成层相似(图1-7),其分裂面基本上与切面相平行(图1-6,7)。接后14 d,砧木与接穗之间的愈伤组织相互对接,接合部呈点状分布。随着愈伤组织的进一步发育,隔离层不断被吸收,接合部连成片。接后24 d,砧、穗基本实现对接,并在内部形成维管束桥(图1-8)。维管束形成后,向外形成韧皮部,向内形成木质部,使砧、穗完全结合成一体(图1-9)。

## 3 分析与讨论

嫁接愈合过程可人为的分为4个阶段<sup>[7]</sup>或5个阶段<sup>[8]</sup>,其实质都是砧穗愈伤组织的产生、对接、愈合、维管束桥的形成与维管束的分化,砧、穗结合成一体的整个过程。在这个过程中,它涉及到细胞的分化与脱分化,砧穗之间亲合性,砧穗之间水分、物质和信息的传递等重大理论问题。

一般来说,形成层在嫁接中是举足轻重的,但随着双子叶草本植物及单子叶植物嫁接的成功,对形成层在嫁接愈合过程中的作用又有了新的认识<sup>[7]</sup>。认为是砧穗2个接触面上各种生活的薄壁细胞,在类似“密闭培养”的状态下都有可能脱分化产生愈伤组织<sup>[9]</sup>,并认为接穗与砧木间维管束连结不是嫁接成功的关键性标志<sup>[10]</sup>。在山核桃嫁接过程中,形成层确实必须准确对接,这是山核桃嫁接成功

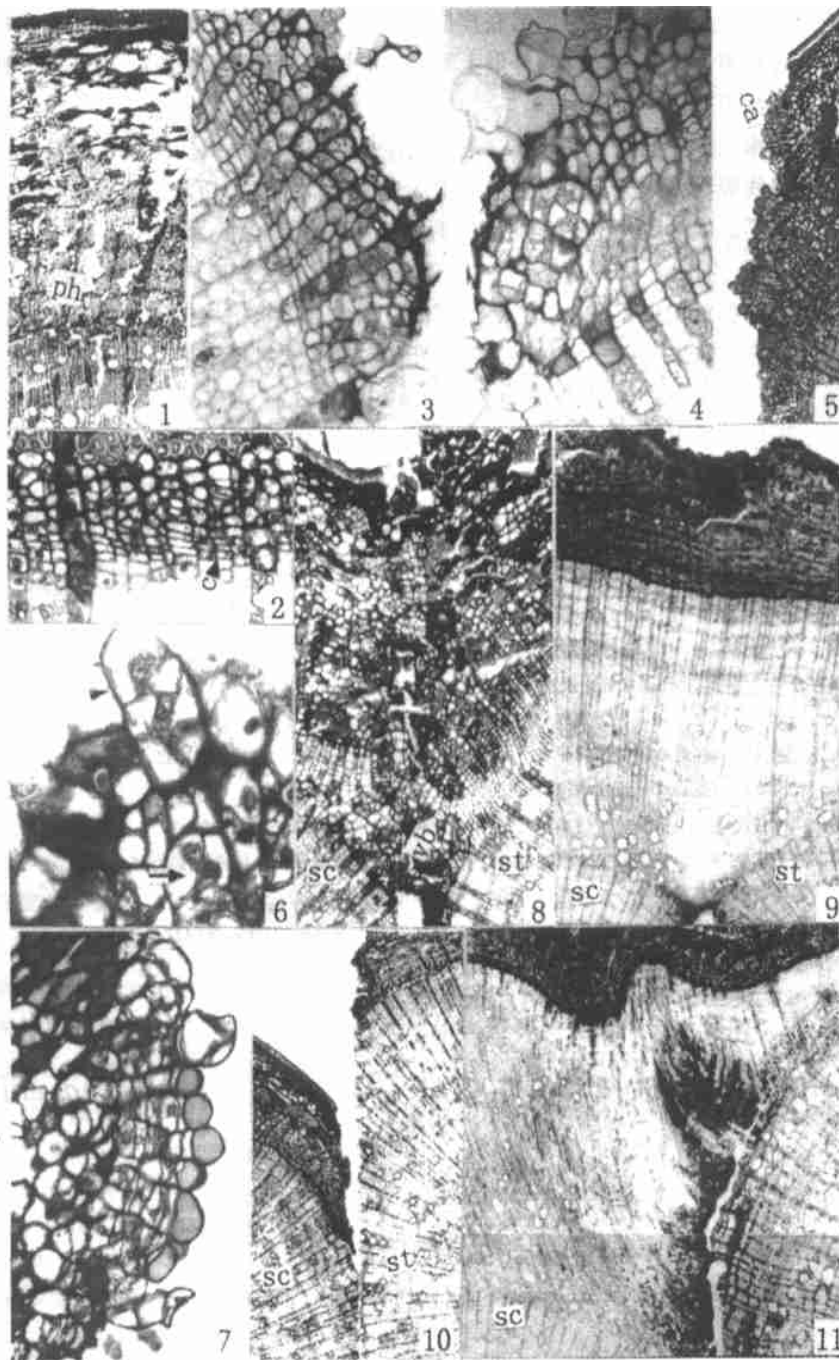


图 1 山核桃嫁接愈合解剖

1. 山核桃 2 年生茎横切 (28×); 2. 嫁接前接穗横切 (150×); 3. 接后 9 d, 砧木切口中部横切 (160×); 4. 接后 9 d, 接穗横切, 愈伤组织形成 (160×); 5. 接后 14 d, 接穗皮层和韧皮部大量形成愈伤组织 (28×); 6. 愈伤组织形成时细胞分裂 (160×); 7. 愈伤组织细胞分裂与切口平行 (160×); 8. 接后 24 d 维管束桥形成 (60×); 9. 本砧嫁接愈合情况 (28×); 10. 本砧嫁接时对接不准, 导致嫁接失败 (20×); 11. 化香为砧木嫁接愈合情况 (28×)

(ph 为韧皮部; c 为形成层; ca 为愈伤组织; st 为砧木; sc 为接穗; vb 为维管束桥)

Figure 1 Anatomical photographs in graft union of *Carya cathayensis*

1. transverse of two-year old stem (28×); 2. transverse of scion before grafting (150×); 3. 9 days after grafting, transverse of stock at middle part of cutting (160×); 4. transverse of scion in 9 days shows a great number of callus formed (160×); 5. 14 days later, a great number of callus formed at cortex and phloem of scion (28×); 6. cell fission in callus (160×); 7. the face of cell fission is parallel to the cutting (160×); 8. the formation of vascular bridge in 24 days (60×); 9. the grafting union developed well in *Carya cathayensis* as stock (28×); 10. the cambium of scion and stock meet incorrectly will cause failure in grafting (20×); 11. the grafting union developed unwell in *Platycarya strobilacea* as stock (28×)

(ph—phloem, c—cambium, ca—callus, st—stock, sc—scion, vb—vascular bridge)

的关键。愈伤组织首先发生在形成层,而后在皮层和韧皮部发生。愈合后,形成层桥的形成是嫁接成活的标志之一。这过程需1个月时间。从外形上看,这时的接穗呈黄绿色,叶片平展。这时基本上就可以判断出嫁接的成活情况。

山核桃嫁接成活率低,一般认为是单宁含量高<sup>[5]</sup>,愈伤组织难形成。确实,山核桃在结构上韧皮纤维很发达,单列射线等都是十分不利于愈伤组织的形成的,并且,切口细胞容易死亡,这些对山核桃嫁接产生较大的难度。但从我们进一步的研究看,接穗的单宁含量为 $20 \sim 50 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,远没有柿树(*Diospyros kaki*)和杨梅(*Myrica rubra*)的高。单宁不是影响山核桃嫁接成活的主要因素。从愈伤组织发生上看,山核桃的愈伤组织也还是比较容易形成的。因此,山核桃嫁接成活率低主要原因是由于山核桃形成层很薄,仅3层左右,在嫁接时很难实现准确对接。若对接不准,愈伤组织虽也能形成,但难以使砧穗对接(图1-10),难以使嫁接成活。

化香为砧木,当年成活率在88%以上<sup>[5]</sup>,但以后的保存率仅17.6%<sup>[6]</sup>。从解剖构造上看,化香为砧木的嫁接,砧穗的愈伤组织都能形成,并能进一步愈合和分化为木质部与韧皮部,但接合部的分化并不完善(图1-11)。这种情况在进一步生长过程中,会出现水分与养料的供应不足,导致连续死亡。因此,化香作砧木与山核桃的嫁接存在着不亲合现象。

#### 参考文献:

- [1] 俞德浚. 中国果树分类学[M]. 北京: 农业出版社, 1979.
- [2] 谷澍芳. 山核桃雌花芽的分化与雌花发育的观察[J]. 浙江林学院学报, 1984, 1(1): 15-20.
- [3] 黎章矩. 山核桃芽、梢发芽状况与结果关系的研究[J]. 浙江林学院学报, 1985, 2(2): 27-32.
- [4] 钱尧林, 程益鹏, 程渭水. 山核桃嫁接新技术[J]. 浙江林业, 1995, (2): 17.
- [5] 汪祥顺, 蔡传山, 徐德传, 等. 山核桃嫁接技术研究[J]. 林业科技通讯, 1997, (11): 30-32.
- [6] 章小明, 汪祥顺, 黄奎武, 等. 山核桃嫁接技术的可行性分析[J]. 林业科技开发, 1999, (5): 45-47.
- [7] 王淑英, 石雪晖, 谷继成. 葡萄嫁接愈合过程[J]. 葡萄栽培与酿酒, 1988, (4): 12-14.
- [8] 丁平海, 沙立杰, 郝荣庭. 核桃苗木枝接愈合过程观察[J]. 河北农业大学学报, 1986, 9(4): 6-11.
- [9] 杨雄, 李正理, 沈雪珍, 等. 银杏雌雄株间嫁接的愈伤组织发生[J]. 植物学报, 1995, 37(1): 909-912.
- [10] 杨世杰. 高等植物嫁接过程的组织学和细胞学研究[J]. 植物学通报, 1985, 3(3): 1-7.

## Anatomical observation in graft union of *Carya cathayensis*

HUANG Jian-qin<sup>1</sup>, ZHANG Bin-sen<sup>2</sup>, LU Jian-wei<sup>1</sup>, FU Gan-wei<sup>3</sup>

(1. Department of Resources and Environment, Zhejiang Forestry College, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 2. Forest Station of Seeds and Nursery Stocks, Forestry Department of Zhejiang Province, Hangzhou 310004, Zhejiang, China; 3. Forest Enterprise of Yueqing County, Yueqing 325600, Zhejiang, China)

**Abstract:** The graft union of *Carya cathayensis* had these progresses range from callus formation, callus contract with each other, vascular bridges formation, to vascular difference. The cambium, composed of only three layer cells in it's domant, was the first location to form callus after 9 days grafting. After that, callus generated at cortex and phloem. Two weeks later after grafting, the callus contacted with each other and the isolated layer was absorbed gradually. In 24 days, vascular bridge formed, which further divided and gave difference to form vascular tissue, then to cause success of grafting. It also gave an analysis to the anatomical reason for lower percent of grafting in this species, and provided an anatomical basis on in-compatibility in grafting of *C. cathayensis* (scion) with *Platycarya strobilacea* (stock).

**Key words:** *Carya cathayensis*; grafting; calli; vegetative propagation