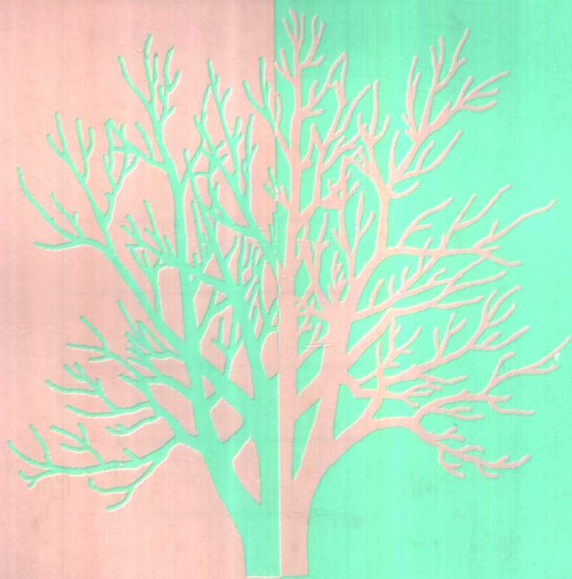


果树生殖学导论

吕柳新 林顺权 编著



中国农业出版社



果树生殖学导论

吕柳新 林顺权 编著

果树生殖学导论

吕柳新 林顺权 编著

责任编辑 宛秀兰

中国农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 北京市密云县印刷厂印刷

850×1168mm32开本 6.875印张 172千字

1995年7月第1版 1995年7月北京第1次印刷

印数1—3000册 定价13.60元

ISBN 7-109-04020-8/S·2513

序

人类对果树生殖的认识，发端于公元前五千年古巴比伦人和亚述人对雌雄异株的枣椰树的人工传粉。数千年来，人们在进行果树生产的同时，也在不断地探索着果树生殖的奥秘。由于果树生殖在果品生产中具有重要作用，如果树生产的重要基础——苗木，系来自胚胎发育和萌发的实生种苗或无性生殖的自根苗；果树育种的成效在很大程度上倚仗于对生殖机制的认识和掌握；果树业的主产品——人们所食用的果品，是有性生殖或无融合生殖的产物。因此，果树生殖问题历来为果树生产者和研究者所重视，而且越来越受重视。尤其是现代植物生殖生物学这一新学科的建立，进一步有力地促进果树生殖的研究进展，使这方面的知识迅速积累并加深着。

迄今，有关果树生殖方面的研究报道不但数量多，而且无论深度和广度都有了极大发展。但是，由于这是一个跨学科领域，因而这些报道没有集中的发表园地，而是散见于植物遗传学、生理学、胚胎学、细胞生物学、园艺学及果树学等各学科的浩瀚的文献海洋之中。一些已见到的就果树生殖的某个研究方面所作的综述报道，往往使同行们节约大量的查阅文献的时间，受益匪浅。日本大阪府立大学教授中川昌一于1978年编著的《果树园艺原论》（附题：以开花结实为中心）集中反映了至70年代末以开花结实为中心的果树学领域内的研究成果，广受欢迎。由此可见，总结前人有关果树生殖的大量研究结果，进一步建立与前述各学科相交叉的果树学分支学科，将不仅对从事果树生殖研究的人们有所裨益，而且对果树学科的发展有重要理论意义，对果品生产的

发展有实际意义。

有感于此，我们曾结合自己的研究和教学工作，尽可能地多收集一些前人研究资料。于1992年组织本校果树学科的研究生和中青年进修教师，开展了以果树生殖为中心内容的果树学进展讨论，整理形成了一个“果树生殖原理”的专题资料集。1993年后，以这个资料集为基础，经进一步讨论、修改和充实，形成本书的初稿。庆幸，在中国农业出版社的大力支持和帮助下，使本书纳入了正式出版计划。

本书稿虽然反映了福建农业大学果树学科长期以来，尤其80年代初以来围绕亚热带果树的生殖问题开展的有关研究，但是，本书的大部分资料系来自我国各地以至世界各地的研究者们对各种果树的生殖问题的研究所得。因此，倘若本书能有什么价值的话，应该说是世界各国众多的果树生殖研究者们长期的辛勤劳动的结晶。值此书出版之际，我们谨向所有为果树生殖学的研究付出辛劳、作出贡献的人们致以诚挚的敬意。正是他们的奋斗精神和工作成果透过文献的字里行间，鼓舞并激励着我们努力去探索，以促进果树生殖这一新学科能不断地充实、完善。

但是，限于编著者的学识水平，未能形成高屋建瓴之势态，对于繁多资料的处理尚可能有挂一漏万之嫌，书中欠妥和错误之处更在所难免。故此，敬请诸位不吝赐教，予以批评指正，以便今后改进提高。让我们共同为果树生殖学知识的完善，为人类驾驭果树生殖机制、创造出更多更好的果品贡献一份力量。

在本书整理、编写过程中，我校园艺系教师 and 研究生胡又厘、王天池、俞长河、陈桂信和邱栋梁等曾协助进行部分章节资料的收集和整理，为本书共同付出了辛勤劳动。在此，我们向所有为帮助本书的编著和出版付出辛劳的诸位致以深深的谢意！

吕柳新 林顺权

一九九五年元旦

目 录

绪言	1
一、果树生殖学的定义、地位和作用	1
二、果树生殖学的研究简史	3
三、研究方法与技术	8
第一篇 有性生殖	12
引言	12
第一章 果树的性别	16
一、果树的性别类型 (sexual type; sex forms)	17
二、性别决定	19
三、花性分化及其有关因素	22
第二章 花芽分化	25
一、Ripeness-to-flower	26
二、环境信号的作用	29
三、特定的成花物质或内源激素的平衡	32
四、芽端细胞开花基因的表达——成花机理探讨	34
五、花芽形态分化	35
第三章 配子和配子体发生	38
一、花粉 (雄配子体)	38
二、胚囊 (雌配子体)	48
三、大小孢子和雌雄配子体形成的时期与外部形态特征的相关性	51
第四章 授粉受精	53
一、授粉	53
二、受精	53
三、雌、雄不育	55
四、交配不亲和性	59

第五章 胚胎发生发育	63
一、果树胚乳的发生发育	63
二、胚的发生发育	71
三、胚与胚乳生长的协调性及其与坐果的关系	73
四、胚培养及其在克服有性生殖障碍上的应用	76
第六章 种子发育与种子繁殖	81
一、果树种子及其组成	81
二、种子休眠	83
三、种子的萌发	91
第二篇 无融合生殖和单性结实	97
引言	97
第七章 配子体无融合生殖	102
一、配子体无融合生殖的发生	102
二、配子体无融合生殖的遗传学机理	106
三、花药培养诱发的孤雄生殖	110
四、无融合生殖在植物育种中的应用	113
第八章 不定胚	117
一、珠心胚的发生	118
二、珠心胚和合子胚的竞争	121
三、胚数及其影响胚数的因素	122
四、胚珠或珠心培养产生珠心胚	124
五、多胚性的遗传及多胚发生的机制	126
六、珠心胚的作用和利用	128
七、其他多胚现象	130
第九章 果树的单性结实	132
一、单性结实类型	132
二、单性结实的生理机理	135
三、单性结实的人工调控措施	137
第三篇 营养生殖	140
引言	140
第十章 自根繁殖的生物学基础	142

一、插条生根的解剖学基础	142
二、插条生根的生理学基础	145
三、插条生根的机理探讨	149
第十一章 嫁接繁殖中的生殖学基础	151
一、嫁接愈合成活过程及一般机理	151
二、嫁接亲和性	153
三、嫁接嵌合体	163
第十二章 离体繁殖	170
一、离体繁殖的细胞生物学基础	170
二、离体繁殖再生植株的途径	172
三、三个阶段的理论 and 应用	175
四、试管育苗需要估计的参数	178
五、人工种子	180
参考文献	186

绪 言

一、果树生殖学的定义、地位和作用

果树生殖学是研究果树的生殖方式、生殖过程和生殖机制的科学。

所谓生殖就是生物孽生后代的现象,是生命的基本特征之一。果树具有多种不同的生殖方式,但基本上可以分为三类:第一类是有性生殖,乃通过两性细胞(雌配子与雄配子或卵子与精子)的结合,发育为种子并进一步形成新个体;第二类是无融合生殖,通常指未受精的卵或胚珠内某些细胞直接发育成胚的现象。无融合生殖被认为是有性生殖的特殊方式或变态;第三类是营养生殖,是指由根、茎、叶等营养器官形成新个体的一种生殖方式,如分株、扦插等等。

果树因其生殖方式不同,生殖过程也就不同。有性生殖是一个很复杂的过程,在花芽开始分化之后,根据不同种类遗传特点不同,经一系列的生理变化,可能形成具有不同性别的花朵,有两性花,单性花(雄性或雌性),还有一些雌性或雄性一方发育不全的过渡型的花朵。在两性花里,雄性方面的小孢子囊、小孢子的发生以及雄配子体的形成和雌性方面的大孢子囊、大孢子的发生以及雌配子体的形成,大致上是同步进行的。在开花之后,经过授粉、受精,接着是受精卵进行胚胎发育直至形成种子,完成有性生殖过程。无融合生殖经历的过程,通常没有发生受精或受精不良,由未受精卵或胚珠内某些细胞直接产生胚,胚胎发育也较特别。营养生殖过程相对简单,只需由母体的某个器官或孢子体的一部分从母体上隔离开来,再长出所欠缺的孢子体部分就可

形成一个完整的新个体。

生殖机制是生殖学中最复杂的一个问题。有性生殖的机制涉及在分化的花器里，借助于绒毡层的隔离作用，经 $2n$ 的细胞脱分化产生了大（小）孢子母细胞，大（小）孢子母细胞经减数分裂，产生单 n 的雌（雄）性配子，雌雄配子结合复又形成 $2n$ 的合子，合子的生长和分化导致新个体的形成。从上述简单的叙述中可以看出生殖机制涉及多门学科，包括遗传学、细胞学、生物化学、植物生理学和植物胚胎学等。无融合生殖的机制与有性生殖有一些相同的地方，但在一些情况下，前者要比后者更复杂一些，甚至有些细节至今仍不清楚。无性生殖的机制相对简单些，通常只涉及脱分化和再生（或再分化），但在嫁接生殖里，还涉及到接穗与砧木之间的互作问题。

果树生殖学的地位和作用是很重要的，至少有如下几方面：

（一）果树生殖学与果品生产的关系 人们所食用的果品是由与有性生殖和无融合生殖有关的过程产生的，像核桃、板栗等食用的种仁是有性生殖的直接产物。柑桔、苹果、葡萄等食用的部分虽然不是种子，而是果实的其它部分，但果实的这些部分正常发育通常必须接受来自种子发育的刺激，这已是众所周知的事实。特殊地说，像香蕉以及一些种类的柑桔、葡萄等水果虽是无籽的，然而这些单性结实者，通常需要通过授粉或受精的刺激，属于一种特殊的无融合结实的方式。因此，人类通过了解和驾驭果树的生殖机制，可以创造更为丰富的优质果品。

果树生产过程若干主要环节也与生殖学紧密相关。如果树生产所需要的苗木是果树生殖的直接产物。实生苗是由种子萌发而来，而种子的萌发的核心是胚胎的进一步发育，自根苗、嫁接苗以及新近发展起来的组培苗均是无性生殖的产物，为了获得人类所需要的优质苗木，完全有必要了解生殖学的原理。

此外，近年来由于大量的植物生长调节剂的开发和利用，人们已能够用其进行花性别比例的调节，花果量的调节，获得无籽

果实等等。在进行上述这些操作的时候，为了得到人类所预想或比较理想的效果，人们就必须对有性生殖的过程和机制有所了解，了解得越透彻，越能有的放矢。

(二) 果树生殖学与果树育种的关系 众所周知，决定果品生产的规模和效益的至关重要的因素是果树品种的优劣。长期以来，研究者和生产者一直致力于培育良种。能否培育出良种受诸多因素的制约，而是否了解和掌握果树生殖的机制就是诸多因素中的一个要素。就杂交育种来说，起码应该了解研究对象的花器构造，花性类别，才能有效地进行人工授粉工作，而所选择的父母本是亲和的还是不亲和？不亲和者属于孢子体不亲和还是配子体不亲和？杂种胚发育如何？了解这些才能在育种工作中克服盲目性。

(三) 果树生殖学与基础生物学的关系 生殖学在生物学中占据着很重要的地位。生殖学是遗传学的基础，不了解生殖学，遗传学的研究和讨论就无法展开，正因为如此，所以在普通遗传学内容中都包括世代交替、生命循环，减数分裂和授粉受精等生殖学内容。植物生理学也与生殖学紧密相关，生殖生理是生理学中的重要组成部分，要是不能概略地了解生殖过程，就谈不上研究生殖生理。反之，对生殖过程有了透彻的了解，就为生殖生理的研究奠定了很好的基础。而植物胚胎学与生殖学之间具有相互交叉和相互渗透的关系。生殖过程还可为生物化学的研究提供丰富的研究材料和实验体系。总之，生殖学与许多基础学科紧密相关，是上述学科的一个边缘交叉学科。

综上所述，果树生殖学在果树基础科学和果品生产中都具有重要的地位和作用。它是从事果树教学、科研和指导生产的人员的必备知识。

二、果树生殖学的研究简史

果树生殖学并不是独立发展的，而是与其他植物的生殖学研究熔于一炉。不过，关于果树生殖的研究也有其自身特点，并且

是源远流长的。

历史上人们在生产实践中对于性别的认识和利用，可以认为是植物生殖学研究的萌芽。根据记载，远在公元前五千年，古巴比伦人和亚述人已认识到枣椰（即伊拉克蜜枣）有雌雄性之分，公元前两千年时，第一次记载了人工授粉，那时就已知道，为了获得枣椰的丰收，每年举行一次人工传粉的仪式。

在两千多年前，我国西汉时成书的《尔雅》中，已有“无核枣”和“桑半有榘”等的记载。说明当时对生殖方式已有所了解。东汉成书的《四民月令》中已记述了果树埋枝繁殖法；在北魏贾思勰所著的《齐民要术》（533—544）中，已介绍了不少卓有成效的果树嫁接方法，还论述了接穗与砧木的亲合关系。这些都是对植物无性生殖的较早认识。

然而，人们有意识地逐步深入地开展植物生殖方面的研究，应该说是从17世纪末才开始的。第一个进行这样的研究的是Camerarius。他于1694年发现桑树在附近若无雄性植株时，只形成败育的种子。此后，他用其他植物进行雌株隔离的试验后，写成了“植物的性”的著名论文，阐明了雌雄性的依存性，并详细描述了花、花药、花粉及胚珠。这项开拓性的工作引起了不少生物学研究者的注意，并开展进一步的研究工作。

伟大的生物学家达尔文在花朵对于异花受精的适应性方面进行了大量观察和试验的基础上，发表了《植物界异花受精和自花受精的效果》这本极有价值的著作，在这本著作里他提出了传粉生物学中的一个重要规律，即：异花受精有利，自花受精有害。

1824年，意大利科学家Amici在显微镜下观察马齿苋的柱头时，发现了花粉粒附着在柱头毛上，突然，花粉粒裂开，从中伸出一小管，小管进入柱头组织。这个现象在许多其他植物上得到证实。Amici（1830）还成功地追踪到花粉管经过花柱组织而进入胚珠中。

此后，人们开始把花粉管与胚的发生联系起来。但却出现了

两派不同的见解。一派以德国著名植物学家 Schleiden 为代表，他认为花粉管带有“胚泡”（embryonal vesicle）——未来植株的雏型，而胚囊只是胚泡的孵化器，胚泡在胚囊中取得营养而形成新的小植株（Schleiden, 1837）。由于 Schleiden 有很高的学术地位，他的这种现在看来是荒谬的观点在当时得到很多人的拥护。另一派的见解是以 Amici 为代表的。认为花粉管带到胚珠中的只是受精物质，在花粉管进入胚囊之前，胚囊中已存在“芽泡”（germinal vesicle）。

这两种见解的争论持续了十多年。直至 1849 年 Hofmeister 发表了“显花植物胚的发生”这篇著名的论文后，问题才得到了解决。他观察了 19 属 38 种植物，其观察结果完全支持 Amici 的看法。证明胚都是起源于胚囊中存在的一个细胞。后来人们称之为卵细胞，而并非由花粉管的末端产生。至此，人们对于胚的起源问题才有了比较正确的认识。

Hofmeister 对于有性生殖研究的进展作出了多方面的贡献。他还详细地描述了小孢子母细胞形成四分体的过程（1848）；首先区分出胚囊两极中的细胞群（1849）。

继 Hofmeister 之后，德国植物学家 Strasburger 成为当时有性生殖研究的权威。他确定了花粉粒中具二核的普遍性（1877）；对叉分蓼的胚囊起源和发育进行了详细的描述，这就是后来被确定是大多数植物胚囊发育的一种方式——蓼型（1879）；他首先在被子植物观察到配子融合（1884），同年发表论文，详细描述了被子植物的受精。不过，他虽然知道花粉管经常放出两个雄配子，一个与卵子受精，另一个精子的去向他却不清楚。直至 1898 年，才由俄国植物学家 Nawashin 首先提出被子植物的双受精。

本世纪开始，有性繁殖的研究进入了一个新的纪元。如 Wulff 等人在精子的形态结构和雄配子体的研究；Johnson 和 Johri 等对于胚囊发育的研究；Soueges 等对于大量属和种的胚胎发育的研究等等。这些在 Schnarf 所著的两本著作——《被子植物胚胎学》

(1929) 和《被子植物比较胚胎学》(1931) 中的得到了很好的总结。

本世纪的 30 年代起, 印度著名的胚胎学家 Maheshwari 等开展了内容广泛的实验胚胎学研究。实验胚胎学的研究也导致植物育种者利用有性生殖的知识去加速植物的育种和繁殖。众所周知的花粉培养诱导单倍体就是个突出例子 (Maheshwari, 1964、1966)。

这一时期的有性生殖的研究已引起了全世界植物学家的关注, 植物学家们感到有必要召开本门学科的定期的国际会议。1968 年法国胚胎学家发起组织, 在巴黎召开了《植物有性生殖细胞学问题》讨论会之后, 每隔两年就召开一次国际会议。已分别在法国、意大利、荷兰、波兰等国举行过, 1990 年在原苏联的列宁格勒召开了第十一届会议。各次会议的主题均是与生殖过程有关的问题。我国也于 1983 年成立了以王伏雄教授为第一届主任委员的“植物生殖生物学专业委员会”, 有力地推动我国植物生殖学方面研究, 以尽快赶上世界先进水平。

有性生殖研究的进展是生殖生物学发展史中的主线。下面简要地分别回顾一下无融合生殖和无性生殖研究的重大历史进程。

早在 1719 年 Leeuwenhoek 已经指出柑桔种子中存在数个胚, 但到了 1878 年才由 Strasburger 证明了多胚乃由珠心细胞发育而来的。后来, 著名的胚胎学家 Maheshwari (1957) 又描述了芒果中的珠心胚现象。19 世纪已发现珠心胚外的不少其它无融合生殖现象。1908 年 Winkler 把无融合生殖定义为不受精进行繁殖。按这种定义, 无性繁殖也包括在内。以后, 不同的作者曾赋予无融合生殖以不同的定义和范围。1963 年 Battaglin 把无融合生殖定义为: 由配子体产生孢子体而不经配子融合的生殖过程。按照这个定义, 无性繁殖已不包括在无融合生殖的范围内。这一定义更为广泛被接受。

关于无性繁殖的研究历史亦是纷纭复杂的, 我国是全世界公

认的最早发明嫁接方法的国家，除了前述 2000 多年前成书的《尔雅》外，记载植物嫁接的古农书还有公元前一世纪我国农学家氾胜之所著《氾胜之书》，还有《农政全书》、《花镜》等。关于嫁接成活的机理，《王桢农书》里说砧木和接穗“一经接搏，二气相通”，《花镜》里说“树以皮行汁，斜断相交则生”。这些解释虽然粗陋，但却符合砧木和接穗是通过两者韧皮部和木质部的营养输送，而达到嫁接成功的基本原理。16 世纪，名医兼植物学家李时珍还认识到砧木和接穗的相互影响：“李接桃而本强者其实毛，梅接杏而本强者其实甘”。

关于果树嫁接成活力和亲和力的较系统的理论研究，则是本世纪 60 年代至 80 年代之间由美国、日本等国的园艺学家进行的。其中，最著名的有庵原、Moore 和 Jeffree 等。果树的扦插繁殖也以我国为最早，在两千年以前就已开始，在我国的古农书《齐民要术》、《农政全书》、《群芳谱》等书籍中，均有这方面的记载（胡一民，1986）。只不过是应用的范围多限于一些扦插容易生根的果树种类，如葡萄、无花果、醋栗等。1935 年人工合成生长素的成功，以及 40 年代后人工弥雾装置的运用，促使扦插生根的研究进入了一个新的阶段，在多种果树扦插获得成功。80 年代开始，人们开始了扦插生根机理的研究。（大石惊，1980；Dhua，1983 等等）。

关于离体繁殖的研究，美国的 Ball (1946) 培养白羽扇豆和旱金莲的茎尖获得植株，被誉为“离体繁殖之父”。1974 年，Murashige 对离体繁殖工作进行系统的概括，提出了著名的“三个阶段”的理论，使离体繁殖在果树等木本植物得到了成功的应用。最早繁殖木本果树获得实际成功的是 Jones (1981)，是在繁殖苹果砧木上取得的。

以上，介绍了在生殖学的研究历史上作出贡献的一些研究者，他们的贡献无疑是值得称道的。然而，他们的成功是建立在数不清的其他研究者的辛勤劳动和点滴经验上的。

三、研究方法与技术

生殖学的研究涉及到多个学科的研究方法与技术。其中，与其关系最密切的有：解剖学技术、生理生化方法、染色体技术和离体培养技术等。这里，简要介绍几种特别常用技术的基本原理以及这些技术在生殖学研究中的应用，目的是为使读者在阅读后续各章节内容时，不至于感到生疏和难以理解。至于上述各种技术的具体操作规程这里一概略去，需要者可参阅有关的技术书籍。

(一) **显微技术** 植物的生殖器官的内部结构如何？生殖过程是怎样发生变化？要回答这样的一些问题，都必须对植物的一些器官或部位进行解剖。但是解剖开来的植物器官的内构用肉眼难以分辨清楚，因此就必须借助各种显微镜。一种显微镜显微水平高低的最主要指标是分辨率(R)，而分辨率又与镜口率($N.A.$)和光的波长(λ)有关，目前在实用范围内物镜的最大镜口率为1.4，可见光最短波长为 $0.4\mu\text{m}$ ，则 $R = 0.61 \times \lambda / N.A. = 0.61 \times 0.4 / 1.4 = 0.17$ ，即光学显微镜的最大分辨率为 $0.2\mu\text{m}$ ，约为可见光最短波长($0.4\mu\text{m}$)的一半，相当于人眼分辨率的500倍(人眼的分辨率约为 $100\mu\text{m}$ ，即距离25cm能分辨出两个点)。如果能进一步缩短光源的波长，就可以再提高分辨率，于是有了用波长更短的紫外光作为光源的显微镜，其分辨率又可提高一倍。但这仍不能满足研究生物体内部亚显微结构的需要，于是又有进一步利用波长比普通光波短得多的电子波来代替光波，创制了电子显微镜。它的分辨率已达到2埃($1\mu\text{m} = 10\,000\text{\AA}$)，比光学显微镜分辨率提高1000倍。

显微镜技术是生殖学研究中最常用的技术，整个生殖学研究的几乎每一个领域都要用到显微镜。可以说没有显微镜，就无法深入研究生殖学。

(二) **生化技术** 生殖学研究常用到生化技术中的离心技术、电泳技术、层析技术和放射性同位素技术。现分述如下：

1. 离心技术 离心技术是根据不同的颗粒（如各种细胞器、蛋白质分子等）在同一个离心场中以不同的速度沉降，分聚于不同的层面，从而把它们一一分离开来的。例如，把细胞打碎，把它装入以蔗糖为介质作悬浮液的离心管中，经过离心，就可以把核、叶绿体等细胞器分开。

离心技术又分为差级离心、密度梯度离心、等密度离心、平衡等梯度离心等。

离心技术可用于生殖学研究中的大、小孢子发生，胚胎发生，无融合生殖和营养生殖机理研究中涉及细胞学和分子生物学精细分析。

2. 电泳技术 带电的颗粒在电场中，向着与其电荷相反的电极移动，称为电泳。生殖学上的一些有重要意义的分子，如核酸、蛋白质、酶均具有可电离的基团，因此，在溶液中能够形成带电荷的阴离子或阳离子。即使有相同电荷的分子，由于它们在分子量上的区别而有不同的荷质比（电荷与质量的比值）。这些差异的存在，足以使得溶液中的离子在电场中有不同的迁移率，这就是电泳的原理。

大家所熟悉的同工酶电泳就是一个例子。电导法测果树的抗寒性也是利用了类似的原理。

电泳的方法以其支持物或介质的不同又可分为好多种，这里就不一一列述。常见的分离同工酶是以聚丙烯酰胺凝胶为支持物的。

电泳方法用在分子水平上研究生殖学的机制。

3. 层析技术 层析技术的原理与电泳技术的原理有相似之处，也是用以从一个混合物上分离和纯化出一种或几种化合物，但是层析技术不同于电泳技术那样其介质支持物为一相的，层析技术是利用混合物中的各种物质在互不相容的两个相中分配的不同而把它们分离开。这两个相中一个是固定不动的固定相，另一个是可以移动的移动相。例如离子交换层析就是以离子交换树脂作