

Embryoudvikling hos surkirsebærsorten 'Stevnsbær'

Development of the embryo of the sour cherry cultivar 'Stevnsbær'

Gert B. Poulsen

Resumé

Embryoer af surkirsebærsorten 'Stevnsbær' er udtaget på seks tidspunkter under modningsforløbet og overført til et kunstigt næringssubstrat. Ved de to seneste udtagningstider blev udtaget embryoer både med kimblade, og med kimbladene fjernet.

Embryoen udvikledes i løbet af 2–3 uger i frugtens anden vækstfase. Topvæksten af embryoer med kimblade kulminerede ved udtagningerne den 21. juni, mens embryoer uden kimblade havde topvækst et par uger senere. Den største udvikling af intakte planter blev opnået ved udtagning af embryoer uden kimblade kort før frugtmodningen.

Nøgleord: Embryokultur, surkirsebær, embryoudvikling.

Summary

Embryoes from the sour cherry cultivar 'Stevnsbær' were isolated six times during the growth period and cultured *in vitro*. At the two latest isolations, intact embryoes and embryoes with the cotyledons removed were isolated.

The embryoes developed into full size in 2–3 weeks of the second phase of fruit growth. Development of embryoes with the cotyledons retained were highest at the isolation on 21. June, while embryoes with cotyledons removed had increasing growth until a couple of weeks later.

The highest number of embryoes that developed root and top was obtained through isolations of embryoes with the cotyledons removed, from nearly mature fruits.

Key words: Embryoculture, sour cherries, embryo development.

Indledning

Formålet med nærværende projekt er for surkirsebærsorten 'Stevnsbær' at bestemme det tidspunkt, fysiologisk karakteriseret, hvor kimen er fuldt udviklet, samt hvornår den går i hvile.

Med denne viden vil det være muligt tidligt på foråret at foretage krydsninger på træer, der er

drevet i væksthushus, udtage kimen på det nærmere bestemte tidspunkt, inden hvilen indtræder, og dyrke den *in vitro*. Den plante, der udvikles, kan siden dyrkes på traditionel vis. Det vil på denne måde være muligt at »indtjene« et år i forædlingsarbejdet samtidig med, at vanskelige krydsninger kan bringes til fuld udvikling (Tukey, 1934).

Anatomisk udvikling

Den typiske udvikling af kimen hos kirsebær er beskrevet af Schanderl (1948).

1. periode: Efter afblomstringen begynder nucellus (frøkroppen) at vokse, uanset om der har fundet en befrugtning sted. Cellerne vokser mere i størrelse end i antal. De er geléagtige gennem-sigtige.

I det yderste integument (frøhinde) begynder differentieringen af ledningsstrenger, som har forbindelse med ledningsstrengen i funiculus (frø-strengen). Begge integumenter bliver senere til testa (frøhinden) (fig. 1a).

2. periode: Testa og nucellus har næsten opnået den endelige størrelse. Der differentieres et centralt rør i nucellus (haustorie rør) (fig. 1b).

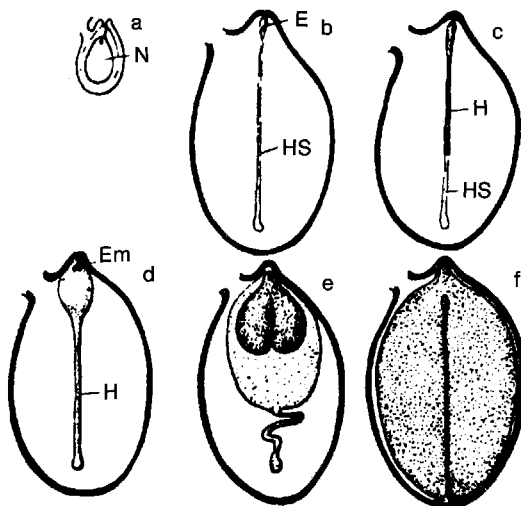


Fig. 1. Skematisk fremstilling af udvikling fra frøanlæg til frø i *Prunus*-slægten. (Schanderl, 1948). a: Frøanlæg i den færdige blomst. b: Differentiering af haustorierør midt i nucellus. c: Vækst af embryosækken i haustorierøret. d: Efter at haustoriet er færdigudviklet, begynder embryosækken at vokse i bredden, embryo kan skimtes. e: Embryosækken og embryo vokser. f: Færdigudviklet frø. Frøhinden stammer fra embryosækkens yderste lag og testa fra integumenterne.

N: Nucellus, E: Embryosæk, HS: Haustorierør, H: Haustorium, Em: Embryo, I: Integumenter.

3. periode: Embryosækken begynder at vokse. I begyndelsen kun dens nederste del, idet den vokser kileformet ind i centralrøret i nucellus, hvor den udgør et haustorium, der optager næring fra nucellus. Samtidig vokser kernen i embryosækken, og udfylder til sidst denne (fig. 1c).

4. periode: Når den nederste del af embryosækken og haustoriet er færdigudviklet, begynder den øverste del, hvor embryoen er, at udvikle sig. Fra nu af kan embryosækken skelnes fra den geleagtige nucellus ved en fastere konsistens. Embryosækken udvikler sig i nucellusvævet, som den optager ved hjælp af haustoriet (fig. 1d).

5. periode: Nu begynder embryoen at vokse. Samtidig begynder den indre del af perikarpen (stenen) at udvikle sig på undersiden af frugtbladene. Embryosækkens haustorium optager fortsat nucellusvævet og udvikler endospermen (frøhviden). Embryoen optager det meste af denne, kun en lille rest bliver tilbage, der sammen med integumenterne danner testa (frøhinden). Embryoen udvikler kimblade som næringslager, de opfylder det meste af det oprindelige nucellusrum (fig. 1e og f).

Tukey (1934) har undersøgt frøudviklingen for tre surkirsebærssorter 'Early Richmond', 'Montmorency' og 'Skyggemorel'. Han opdeler udviklingen i tre faser, baseret på perikarpens udviklingsrytme (fig. 2).

1. fase: Hurtig udvikling af perikarpen kort efter befrugtning. Denne periode er af samme varighed for de tre undersøgte sorter.

2. fase: Standset eller svag udvikling af perikarpen. Det er i udstrækningen af denne periode, der er forskel mellem tidligt og sent modnende sorter.

3. fase: Perikarpen vokser hurtigt til fuld størrelse, den modner i denne periode og bliver blød. 3. fase er af samme varighed for de tre undersøgte sorter.

Under første fase udvikles den indre del af perikarpen, men den bliver først hård i begyndelsen af anden fase. Nucellus og integumenterne be-

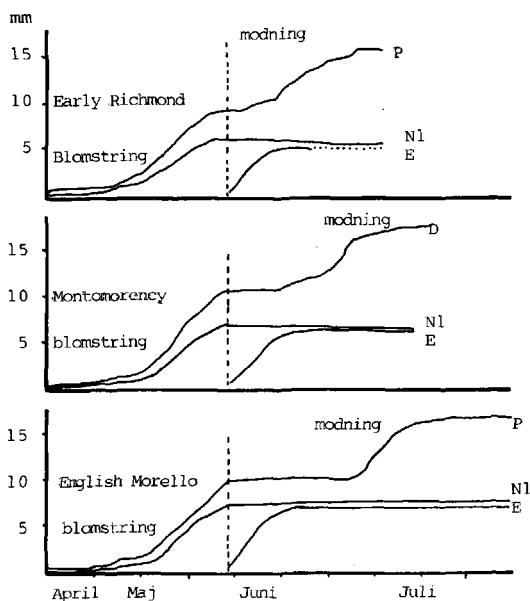


Fig. 2. Vækstkurve for frugtens pericarp (P), nucellus og integumenter (Nl) og embryo (E) af tre surkirsebær-sorter. (Tukey, 1934).

gynder en kraftig vækst omkring blomstringstidspunktet og afslutter væksten ved overgangen til anden fase.

Embryo begynder sin udvikling samtidig med anden fase. Den vokser hurtigt til fuld størrelse. Udviklingstiden er næsten ens for de undersøgte sorter. Dette udviklingsmønster er karakteristisk for stenfrugter (Lilleland, 1933).

Af fig. 2 ses, at ved tidligt modnende sorter dvs. sorter, der modner tidligere end 'Early Richmond', kan frugten modne, inden embryo er færdigudviklet. Det vil derfor ikke være muligt at anvende sådanne sorter som mødre i forædlingsprogrammer.

Dette var årsagen til, at Tukey (1933) startede med at dyrke kirsebærembryoer på et kunstigt næringssubstrat. Siden har Krapf og Theiler (1968) gennemført et forædlingsprojekt, hvor de dyrkede afkommet *in vitro*.

Fysiologisk udvikling

Abou-Zeid og Gruppe (1972) og Abou-Zeid et al. (1972) finder, at umodne kirsebærembryoer kan

dyrkes *in vitro*, når de bliver udtaget i første halvdel af frugtudviklingens anden fase. Herefter vil de gå i hvile.

Efter dette tidspunkt blev både skud og rodvækst fremmet ved at reducere kimbladenes størrelse, mens fuldstændig fjernelse af kimbladene kun stimulerede skudvæksten (Abou-Zeid et al., 1972).

Abou-Zeid og Gruppe (1972) fandt ved at tilføje et ethanolekstrakt fra modne kuldebehandlede kirsebærfrø ikke nogen effekt på intakte embryoer. På embryoer med 50% reducerede kimblade, var der kun lille virkning, mens der iagttoges en stor vækstfremmende virkning på embryoer, hvorfra kimbladene var helt fjernet. Dette indikerer, at den for hvilen betydende faktor befinder sig i kimbladene. De fandt også, at embryoer, der er gået i hvile, behøver 9 ugers kuldebehandling ved 4°C for at kunne spire.

Disse resultater tolkes på følgende måde (Abou-Zeid & Neumann, 1980): Udviklingen af toppen er uafhængig af komponenter fra ekstrakten, da den nødvendige næringsstoffer og vækstregulatorer er til stede i næringsopløsningen. Rodudviklingen er indtil dette tidspunkt hæmmet.

Med den fremadskridende udvikling af embryoen bliver rodens udvikling i stigende grad fremmet, da den er betinget af stoffer fra ekstrakten.

Når koncentrationen af disse stoffer overskrider en bestemt tærskelværdi, bliver toppen hæmmet i sin udvikling. Ved denne koncentration er rodens udvikling endnu ikke nedsat. Først ved en endnu højere koncentration kommer det også til en hæmning af rodudviklingen. Denne koncentration svarer til, at frøhvilen er nået.

Ovenstående resultater er opnået med *Prunus avium*, men Abou-Zeid og Gruppe (1972) fandt, at *Pr. avium*, *Pr. cerasus* og *Pr. mahaleb* udviklede sig meget ens, når man ser bort fra de forskellige modningstider.

Materialer og metoder

Der er anvendt frugter fra træer af *Prunus cerasus* L. 'Stevnsbær' fra en plantage i Lille Værløse ved København. Plantagen bestod udelukkende af

sorten 'Stevnsbær', så det er rimeligt at antage, at frugterne er udviklet fra selvbe-frugtninger. Dette er tilstræbt for at have et ensartet udgangsmateriale.

Der blev foretaget 6 udtagninger i løbet af vækstsæsonen 1981 hhv. 5. juni, 14. juni, 21. juni, 4. juli, 18. juli og 30. juli.

Ved hver udtagning blev perikarpens diameter målt i frugtbladets længderetning (frugtens højde). De hele frugter blev steriliseret i 10% natriumhypochlorit i 10 min. Ved de 4 første udtagninger blev der udtaget 50 embryoer med kimblade, og ved de 2 sidste blev der udtaget 40 embryoer med kimblade og 40 embryoer, hvorfra kimbladene blev fjernet (kimakser). Dette blev gjort for at undersøge, om årsagen til frøhvilen findes i kimbladene. Embryoernes længde blev målt ved hjælp af et måleokular. Præpareringerne blev udført sterilt i en podebænk.

Embryoerne blev overført til rørglas (25 × 150 mm) med 10 ml M/S vækstsubstrat (Murashige & Skoog, 1962).

Efter præpareringen blev rørglassene anbragt i vækstska-b ved 18°C, med 16 timers daglængde. Lyskilden bestod af to lysstofrør, type: Thorn 15w/28 – HOMELITE, pr. 0,25 m² placeret 0,15 m over bundpladen. Opgørelsen fandt sted den 8. september.

Resultater

Udviklingen af perikarp og embryo i forsøgsperioden er vist i fig. 3.

Perikarpens højde tyder på, at frugterne var i anden fase af frugtudviklingen ved forsøgets start. Tredie vækstfase begynder omkring udtagningen den 18. juli. Embryoens fulde udvikling er nået i løbet af 2–3 uger midt i frugtens anden vækstfase.

Embryovækst in vitro

Ved opgørelsen blev planterne opdelt i to grupper, planter med topvækst og planter med både top- og rodvækst. Der var ingen planter, der kun havde rodvækst (fig. 3).

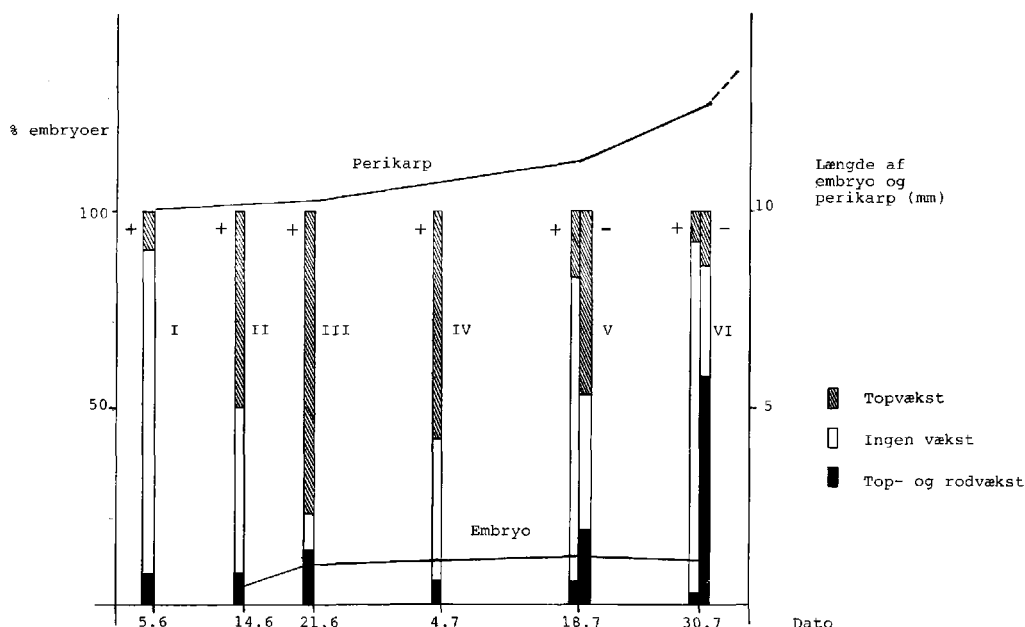


Fig. 3. Perikarp- og embryoudvikling, samt det relative antal embryoer der udvikles in vitro, ved forskellige udtagningstidspunkter + – –, angiver med og uden kimblade.

Topvæksten af embryoer med kimblade kulminerede ved frugthøst omkring 21. juni, hvorefter den aftog stærkt. Embryoer uden kimblade havde derimod topvækst er par uger senere. Kun få embryoer med kimblade havde rodvækst.

Diskussion

Kurven for perikarpudviklingen er ikke så markeret som iagttaget af *Tukey* (1934) for f.eks. *English Morello* i fig. 2. Det skyldes, at undersøgelsen helt overvejende er udført i anden vækstfase, der er meget lang hos 'Stevnsbær'.

Embryoens udvikling forløber som iagttaget af *Tukey* (1934). Han finder, at udviklingstiden for 'Skyggemorel' fra fuld blomstring til embryoen har nået sin endelige størrelse er 38 dage. Den tilsvarende periode er her fundet til 39 dage for 'Stevnsbær'.

Embryoens evne til at vokse er størst ved frugthøst den 21. juni, det vil sige efter det tidspunkt, hvor embryoen har nået sin fulde størrelse. Såvel antal af embryoer, der kun udvikler top, som antal af embryoer, der udvikler både top- og rodvækst, falder fra dette tidspunkt og hen imod modningen. Dette er overensstemmende med, at hvilen opbygges gradvis (*Abou-Zeid & Neumann*, 1980).

Topvæksten af embryoer uden kimblade er også faldende hen imod modningstidspunktet, men faldet er ikke så kraftigt som for intakte embryoer. Dette kan forklares ved, at nogle af embryoakserne på udtagningstidspunktet havde modtaget tilstrækkelig inhibitor til at hæmme topvæksten. Det kraftige fald hos de intakte embryoer skyldes, at de udvikler sig efter udtagningen, som de ville have gjort *in vivo* – det vil sige at syntesen af inhibitorer i kimbladene fortsætter. Dette forklarer også, hvorfor udviklingen af planter med rod hæmmes i de intakte embryoer.

Embryoakserne har derimod ikke fået den for roddannelsen hæmmende koncentration af inhibitor på udtagningstidspunktet. Derfor stiger antallet af planter, der også udvikler rod, efterhånden som de er fysiologisk udviklet til det.

Da embryoakserne ikke er i kontakt med kimbladene, går de ikke i hvile. Det må derfor

formodes, at en udtagning senere end den sidst udførte vil give endnu flere intakte planter.

Hvis man ønsker at spire frø af kirsebær samme år, som de er dannet, kan følgende metoder anvendes:

1: Høste hvilende frø, udtage embryoen, og kuldebehandle den i 9 uger ved 4°C (*Abou-Zeid & Gruppe*, 1972).

2: Høste frø i første halvdel af frugtudviklingens anden fase, 35–40 dage efter fuld blomstring, og overføre embryo direkte til kunstigt næringssubstrat. Udviklingsstadiet er ens for de fleste sorter på dette tidspunkt, og metoden må derfor være bredt anvendelig.

3: Høste frø fra midten af frugtudviklingens anden fase til omkring frugtmodning. Embryoen udpræpareres uden kimblade og overføres til kunstigt næringssubstrat.

Erkendtlighed

Dette arbejde er udført i forbindelse med et projekt »Sortsudvikling i surkirsebær«, der har været finansieret ved bevillinger fra Gartneriets Afsætningsudvalg og Det Jordbrugs- og Veterinærvidenskabelige Forskningsråd til *J. Vittrup Christensen*, Institut for Frugt og Bær.

Litteratur

- Abou-Zeid, A., Gruppe, W. & Neumann, K. H.* (1972): Eine Methode zur Anzucht normalwachsender Kirschsämlinge aus Embryoachsen. *Gartenbauwissenschaft* 37, 399–407.
- Abou-Zeid, A. & Gruppe, W.*, (1972): Das Wachstum von Kirschembryonen verschiedener Arten und Sorten in Abhängigkeit von dem Grad der Embryoentwicklung, Temperaturbehandlung und Nährmedien. *Gartenbauwissenschaft* 37, 225–238.
- Abou-Zeid, A. & Neumann, K. H.*, (1973): Preliminary investigations on the influence of cotyledons on the development of cherry embryos (*Prunus avium* L.): *Z. Pflanzenphysiologie* 69, 299–305.
- Abou-Zeid, A. & Neumann, K. H.*, (1980): Untersuchung zur Ausbildung der Dormanz, während der Embryonalentwicklung von *Prunus avium*. *Angew. Bot.* 54, 247–253.

- Krapf, B. & Theiler, R., (1968): Beitrag zur Züchtung neuer Kirschsorten. Schweiz. Zeitsch. f. Obst- und Weinbau 104, 665–670.
- Lilleland, O. (1933): Growth study of the peach fruit. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 29, 8–12.
- Murashige, T. & Skoog, F. (1962): A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue culture. Physiol. Plant 15, 473–497.
- Schanderl, H. (1948): Die Entwicklungsgeschichte des Embryos bei den Rosaceengattungen *Prunus*, *Pirus* und *Malus*. Der Züchter 19, 206–210.
- Tukey, H. B. (1933): Artificial culture of sweet cherry embryos. J. Heredity 24, 7–12.
- Tukey, H. B. (1934): Growth of the embryo, seed and perikarp of the sour cherry (*Prunus cerasus*) in relation to season of fruit ripening. Proc. Amer. Soc. Hort. Sci. 31, 125–144.

Manuskript modtaget den 22. juli 1982.