

## 核桃属 4 树种展叶期抗寒性鉴定

田景花<sup>1</sup>, 王红霞<sup>2</sup>, 高 仪<sup>1</sup>, 张志华<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; <sup>2</sup>河北农业大学山区研究所, 河北保定 071001)

**摘 要:** 以普通核桃 (*Juglans regia* L.)、核桃楸 (*J. mandshurica* Maxim.)、河北核桃 (*J. hopeiensis* Hu) 和黑核桃 (*J. nigra* L.) 4 种核桃属植物的 20 份种质展叶期叶片为试验材料, 采用电导法并配合 Logistic 方程确定其低温半致死温度 (LT<sub>50</sub>); 分析了 LT<sub>50</sub> 与叶片解剖结构之间的相关性。结果表明, 随着处理温度的降低, 核桃叶片的相对电导率 (REC) 均呈上升趋势; 供试核桃种质间的抗寒性差异较大, 低温半致死温度在 -8 ~ 2 °C 之间, 在黑核桃、核桃楸及普通核桃中均有抗寒性强的种质资源。利用略高于大部分核桃种质 LT<sub>50</sub> 的温度 (0 °C 或 -3 °C) 处理叶片, 其相对电导率与低温半致死温度之间达到极显著正相关, 而且相关系数高, 此温度下处理 12 h 后叶片的相对电导率以及叶片的 LT<sub>50</sub> 均可作为鉴定展叶期核桃种质抗寒性强弱的物理指标。核桃属不同种间的叶片结构类似, 但各有特点。栅栏组织厚度和叶片总厚度与其 LT<sub>50</sub> 之间均达到极显著负相关, 可作为核桃叶片抗寒性鉴定的形态结构指标。

**关键词:** 核桃属; 展叶期; 抗寒性; 电导法; 半致死温度; 叶片解剖结构

**中图分类号:** S 664.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2012) 12-2439-08

## Evaluation on Cold Resistance of Four *Juglans* Species in Leaf-expansion Period

TIAN Jing-hua<sup>1</sup>, WANG Hong-xia<sup>2</sup>, GAO Yi<sup>1</sup>, and ZHANG Zhi-hua<sup>2,\*</sup>

(<sup>1</sup>College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; <sup>2</sup>Mountainous Areas Research Institute, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China)

**Abstract:** The test materials were leaves in leaf-expansion period of 20 *Juglans* germplasms that belong to four species including *J. regia* L., *J. hopeiensis* Hu, *J. mandshurica* Maxim., or *J. nigra* L. The semi-lethal temperatures (LT<sub>50</sub>) were estimated by electric conductivity method with Logistic equation. Leaf anatomical structures were observed with paraffin section. The correlations between leaf anatomical structures and its cold resistance were analyzed. The results as follows: The relative electrical conductivities (REC) of walnut leaves were rising with the decrease of the temperature. There were great differences in cold resistance of *Juglans* germplasms in leaf-expansion period. The semi-lethal temperatures of leaves were from -8 °C to 2 °C. There were cold resistant germplasms among *J. nigra* L., *J. mandshurica* Maxim. and *J. regia* L. in leaf-expansion period. There were significant positive correlations ( $P < 0.01$ ) between the LT<sub>50</sub> and REC of leaves treated at 0 °C or -3 °C, and the correlation coefficients were high. LT<sub>50</sub> and the REC of leaves treated at 0 °C or -3 °C for 12 h could be used as

**收稿日期:** 2012-08-20; **修回日期:** 2012-11-26

**基金项目:** 河北省自然科学基金项目 (C2010000773)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zzh@hebau.edu.cn; Tel: 0312-7526346)

physical indicators for cold resistance of *Juglans* leaves. The main structures of *Juglans* germplasms leaves were similar, meanwhile there were some specific characteristics for each species. There were significant negative correlations ( $P < 0.01$ ) between  $LT_{50}$  and the thickness of palisade tissue or leaf blade. The thickness of palisade tissue and leaf blade could be anatomical structure indicators for cold resistance of leaves.

**Key words:** *Juglans*; leaf-expansion period; cold resistance; electric conductivity method; semi-lethal temperature; leaf anatomical structure

核桃是喜温树种, 春季萌动后抗寒能力迅速下降, 因此晚霜是核桃生长发育的一个限制因子(陈金海和罗仁仙, 2011; 王三省, 2011), 选育并推广抗寒性强的品种是避免或减轻核桃寒害的有效途径之一。核桃属 (*Juglans*) 种质资源丰富, 而且各树种染色体数相等, 能互相杂交结实, 种间远缘杂交是核桃抗性改良的重要途径(郗荣庭和张毅萍, 1992; 吴国良等, 2009)。

目前国内外有关核桃抗寒性的研究较少。Poirier 等(2006)利用电导法比较了法国中南部栽培的 7 个核桃品种及其与黑核桃的杂交种的抗寒性, 结果表明杂交种 NG38 的抗寒性明显强于普通核桃。吴国良等(1998)对引自意大利的 15 个核桃品种的研究表明, 叶片细胞膜透性与品种田间抽条率呈极显著正相关, 而细胞结构紧密度与品种田间抽条率呈极显著负相关。相昆等(2011)研究评价了鲁果 8 号、香玲、N13-1 等 6 个核桃品种(系)冬季枝条的抗寒性差异。鉴于中国北方常见核桃属植物春季展叶期的抗寒性尚未见报道, 且核桃展叶期正是晚霜多发期, 寒害时有发生, 因此本研究中以核桃属 4 个树种的 20 份种质资源为试验材料, 研究展叶期不同核桃种质的抗寒性差异; 分析抗寒性与其叶片解剖结构之间的相关性; 并确定早期快速鉴定核桃抗寒性的适宜指标, 为核桃抗寒性种质资源的开发、抗寒性品种的选育、新品种推广和栽培区划等提供依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

以 20 份核桃属种质资源的展叶期叶片为试验材料, 其中包括普通核桃 (*J. regia* L.) 15 份(早实品种有维纳、绿波、辽宁 4 号、辽宁 8 号和中林 1 号; 晚实品种及优系有清香、福兰克蒂、艾米格、晋龙 1 号、晋龙 2 号、哈特雷、礼品 2 号、礼品短枝、珍珠 1 号和珍珠 2 号), 河北核桃(*J. hopeiensis* Hu) 1 份(艺核 1 号), 核桃楸 (*J. mandshurica* Maxim.) 2 份, 黑核桃 (*J. nigra* L.) 2 份。于 2009 年 4 月 27 日从树体的东南向每份种质各采集 20 段展叶期一年生枝叶, 用冷藏箱带回实验室。其中核桃楸采自河北省赞皇县嶂石岩, 野生; 其余均采自赞皇县核桃种质资源圃。

### 1.2 材料低温处理及相对电导率的测定

采集的枝叶用自来水冲洗干净, 用去离子水漂洗 3 次, 滤纸吸干表面水分, 按照每份种质 5 个处理分装于塑料袋中。用梯度降温法分组置于程控式冷藏冷冻箱(海尔 BCD-252WBCS 型)中进行低温处理, 处理温度为 4、0、-3、-6 和 -8 °C。分别从 4 °C 开始, 按 4 °C · h<sup>-1</sup> 的速度降温, 至设定温度后保持 12 h, 再按 4 °C · h<sup>-1</sup> 的速度升温至 0 °C, 取出, 在 4 °C 下放置 2 h 解冻。

将低温处理后的叶片切成 0.5 cm 见方的叶块, 取 8 块放于 18 mm × 180 mm 试管中, 加入去离子水 10 mL。每处理重复 3 次。真空渗入 15 min, 封口膜封口, 于 25 °C 摇床上振荡浸提 10 h, 用 DDS-12A 型数显电导率仪(杭州东星仪器设备厂)测定各样品浸提液的电导值 ( $C_1$ )。然后将样品

浸提液在 80 °C 水浴中加热 20 min 杀死组织, 25 °C 下浸提 10 h 后再测定电导值, 作为总电导值( $C_2$ )。整个处理过程中, 试管均以封口膜封口, 以保持水量稳定。计算相对电导率[REC (%) =  $C_1/C_2 \times 100$ ]。

### 1.3 叶片解剖结构观测

取枝条中下部较成熟的叶片进行解剖结构观测, 从叶片的中脉两侧切取 0.5 cm × 0.5 cm 的叶块, 用 FAA 固定液固定。按常规石蜡切片法制片(李正理, 1987), 切片厚度为 10 ~ 12 μm, 番红—固绿染色, 加拿大树胶封片。

在 Olympus BH<sub>2</sub> 型显微镜(日本奥林巴斯株式会社)下观测叶片横切面的解剖结构, 用万能视频成像系统 LY-WN-HP CCD 观察、拍照, 用目镜测微尺分别测量叶片的总厚度、栅栏组织厚度和海绵组织厚度, 每处理观察 10 个切片, 每个切片测定 2 组数据。

计算叶片细胞结构紧密度[CTR (%) = 栅栏组织厚度 / 叶片厚度 × 100]和疏松度[SR (%) = 海绵组织厚度 / 叶片厚度 × 100]等。

### 1.4 数据处理与分析

试验数据采用 Excel 2003 进行处理; 利用不同温度下的相对电导率拟合改进的 Logistic 方程, 用 SPSS 13.0 分析确定低温半致死温度(Zhang et al., 2002)。数据的相关性分析、差异显著性测验以及聚类分析采用 DPS 7.05 完成。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温胁迫下核桃叶片的相对电导率及其低温半致死温度

20 份核桃种质的叶片在梯度低温处理下的相对电导率及其低温半致死温度(LT<sub>50</sub>)见表 1。可以看出, 随着处理温度的降低, 不同核桃种质叶片的相对电导率均呈上升趋势, 说明随着温度下降, 叶片细胞膜受到的损伤加重, 膜透性增加。中林 1 号抗寒性差, 4 °C 处理时叶片的相对电导率高于 50%, 其它 19 种核桃种质叶片的相对电导率与处理温度之间的关系均呈“S”型曲线。非线性回归分析结合改进的 Logistic 方程拟合出温度拐点, 即为核桃种质叶片的 LT<sub>50</sub>。由于中林 1 号叶片在 4 °C 下的相对电导率已高于 50%, 用 Logistic 方程估算的 LT<sub>50</sub> 误差大, 因此直接利用梯度低温下的相对电导率进行了估计。结果表明, 供试核桃种质叶片的低温半致死温度差异较大, 在 -8 ~ 2 °C 之间。

展叶期抗寒性强的种质包括黑核桃 1 号、哈特雷、珍珠 2 号、珍珠 1 号、礼品 2 号、福兰克蒂、核桃楸 1 号、核桃楸 2 号和辽宁 8 号, 半致死温度在 -7.8 ~ -5.6 °C 之间; 抗寒性中等的种质包括礼品短枝、艺核 1 号、黑核桃 2 号、清香、艾米格、绿波、辽宁 4 号和维纳, 半致死温度在 -4.8 ~ -3.0 °C 之间; 抗寒性弱的种质包括中林 1 号、晋龙 2 号和晋龙 1 号, 半致死温度在 -2.2 ~ 2 °C 之间。这一结果与各梯度低温处理后叶片的水渍状褐变情况基本一致。说明利用梯度低温处理后叶片的相对电导率结合 Logistic 方程来估算核桃叶片的 LT<sub>50</sub> 准确度高。黑核桃、核桃楸及普通核桃中均有抗寒性强的种质资源。普通核桃的早实性和晚实性与其叶片的抗寒性不存在显著相关。

分析表明, 同一温度处理下不同核桃种质的相对电导率达到极显著差异, 说明各种质叶片细胞膜受到的损伤程度不同。对同一温度下不同种质的相对电导率与其 LT<sub>50</sub> 进行线性回归分析表明, 4、0、-3 和 -6 °C 处理下叶片的相对电导率与其 LT<sub>50</sub> 之间均达到极显著正相关, 相关系数分别为: 4 °C 下,  $r = 0.7941^{**}$ ; 0 °C 下,  $r = 0.8610^{**}$ ; -3 °C 下,  $r = 0.8456^{**}$ ; -6 °C 下,  $r = 0.7846^{**}$ 。可以看出,

利用略高于大部分核桃种质  $LT_{50}$  的温度处理叶片 ( $0\text{ }^{\circ}\text{C}$  或  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$ )，其相对电导率与  $LT_{50}$  之间的相关系数高，与其它温度处理相比能更准确的反映核桃种质的抗寒性。

表 1 低温处理下核桃叶片的相对电导率及其低温半致死温度  
Table 1 The relative electrical conductivities (REC) of leaves under different low temperatures and estimates of  $LT_{50}$

种 Species	种质 Germplasm	相对电导率/ % REC					半致死温度/ $^{\circ}\text{C}$ $LT_{50}$
		$4\text{ }^{\circ}\text{C}$	$0\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-3\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-6\text{ }^{\circ}\text{C}$	$-8\text{ }^{\circ}\text{C}$	
普通核桃 <i>J. regia</i> L.	清香 Qingxiang	27.57 D	28.15 F	31.13 J	93.46 B	90.87 HI	-3.60
	礼品 2 号 Lipin 2	24.43 EF	26.32 G	36.06 H	63.16 M	91.17 H	-6.80
	礼品短枝 Lipin Duanzhi	38.04 C	27.88 F	63.89 D	89.90 E	88.67 N	-3.04
	辽宁 4 号 Liaoning 4	20.90 H	27.85 F	54.69 E	64.22 L	89.96 JKL	-4.47
	辽宁 8 号 Liaoning 8	27.64 D	24.92 H	27.48 K	73.84 J	90.42 HIJ	-5.75
	绿波 Lübo	27.14 D	23.09 J	35.80 H	84.95 G	88.82 MN	-4.14
	维纳 Vina	24.93 E	24.33 I	30.71 J	81.24 H	90.44 HIJ	-4.76
	福兰克蒂 Franquette	17.92 K	24.13 I	25.99 L	56.87 N	89.10 LMN	-6.72
	爱米格 Amigo	22.94 G	36.78 C	48.92 F	88.67 F	89.56 KLM	-3.68
	晋龙 1 号 Jinlong 1	23.96 F	31.49 D	70.55 C	90.37 DE	91.39 GH	-2.17
	晋龙 2 号 Jinlong 2	41.12 B	55.04 B	75.63 B	76.57 I	93.54 DE	-0.40
	哈特雷 Hartley	24.49 EF	24.49 HI	28.20 K	47.77 P	88.62 N	-7.38
	中林 1 号 Zhonglin 1	50.66 A	68.32 A	88.25 A	94.28 A	94.06 CD	2.00
	珍珠 1 号 Zhenzhu 1	15.87 L	16.39 M	17.96 N	46.06 Q	95.61 B	-6.78
珍珠 2 号 Zhenzhu 2	19.01 J	19.54 L	22.26 M	46.45 Q	90.22 IJK	-7.06	
河北核桃 <i>J. hopeiensis</i> Hu	艺核 1 号 Yihe 1	22.68 G	21.91 K	31.60 J	92.40 C	92.13 FG	-3.41
核桃楸 <i>J. mandshurica</i> Maxim.	核桃楸 1 号 <i>J. mandshurica</i> 1	13.88 N	15.89 NO	14.55 O	64.58 L	94.70 C	-5.89
	核桃楸 2 号 <i>J. mandshurica</i> 2	14.82 M	15.54 O	17.25 N	67.42 K	97.56 A	-5.68
黑核桃 <i>J. nigra</i> L.	黑核桃 1 号 <i>J. nigra</i> 1	18.12 K	16.02 MN	33.55 I	54.89 O	92.97 EF	-7.74
	黑核桃 2 号 <i>J. nigra</i> 2	20.19 I	29.31 E	39.70 G	90.78 D	92.81 EF	-3.25

注：表中同列数字后的字母表示邓肯氏新复极差测验达到 1% 的极显著水平。

Note: Different letters in the same column show significant differences at 1% level by Duncan's test.

## 2.2 核桃叶片组织结构及其与抗寒性之间的关系

图 1 为从 20 份种质中选出的 8 份结构典型的核桃叶片显微照片，可以看出，各核桃种质叶片横切面的基本构造类似。上表皮均由排列紧密的单层细胞组成，无气孔；其下排列的是整齐而紧密的栅栏组织 (P)，不同种质之间栅栏组织细胞的大小、层数以及排列的紧密度有差异，栅栏组织细胞多长柱形，多数种质由 2 层细胞组成，少数排列有 3 层细胞；栅栏组织下面为排列疏松多孔的海绵组织 (S)，海绵组织细胞排列的疏松度以及厚度差异明显，细胞多为不规则球形；海绵组织外侧为下表皮，也由单层细胞组成，各种质叶片下表皮的上的气孔密度不同。

将显微镜观测结果以及计算出的叶片细胞结构紧密度 (CTR)、疏松度 (SR) 等取平均值列于表 2。可以看出，20 份核桃属种质的叶片厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度和 CTR 值等均达到极显著差异。叶片厚度在  $109.34 \sim 175.88\ \mu\text{m}$  之间，相差 1.6 倍；栅栏组织厚度为  $40.90 \sim 74.36\ \mu\text{m}$ ，相差 1.8 倍；海绵组织厚度为  $32.88 \sim 88.24\ \mu\text{m}$ ，相差 2.7 倍。

核桃属不同种间的叶片解剖结构各具特点 (图 1, 表 2)。核桃楸 (图 1, 1、2) 的叶片较薄，栅栏组织细胞较长，在叶片厚度中占的比例大，海绵组织厚度最小，CTR 值超过 0.56，极显著高于

其它种质; 河北核桃‘艺核 1 号’(图 1, 3) 的叶片厚度接近核桃楸, 但栅栏组织的细胞形态接近普通核桃, 厚度较小, CTR 值接近普通核桃; 普通核桃中不同品种间的各个观测值差异极显著, 以辽宁 8 号(图 1, 4)、珍珠 2 号(图 1, 5) 的叶片和栅栏组织厚度较大, 而且珍珠 2 号的栅栏组织排列有 3 层细胞, 以中林 1 号(图 1, 6) 的叶片和栅栏组织厚度最小; 而黑核桃(图 1, 7、8) 叶片的海绵组织厚度大, CTR 值极显著小于其它种类, 其中黑核桃 1 号的叶片最厚。

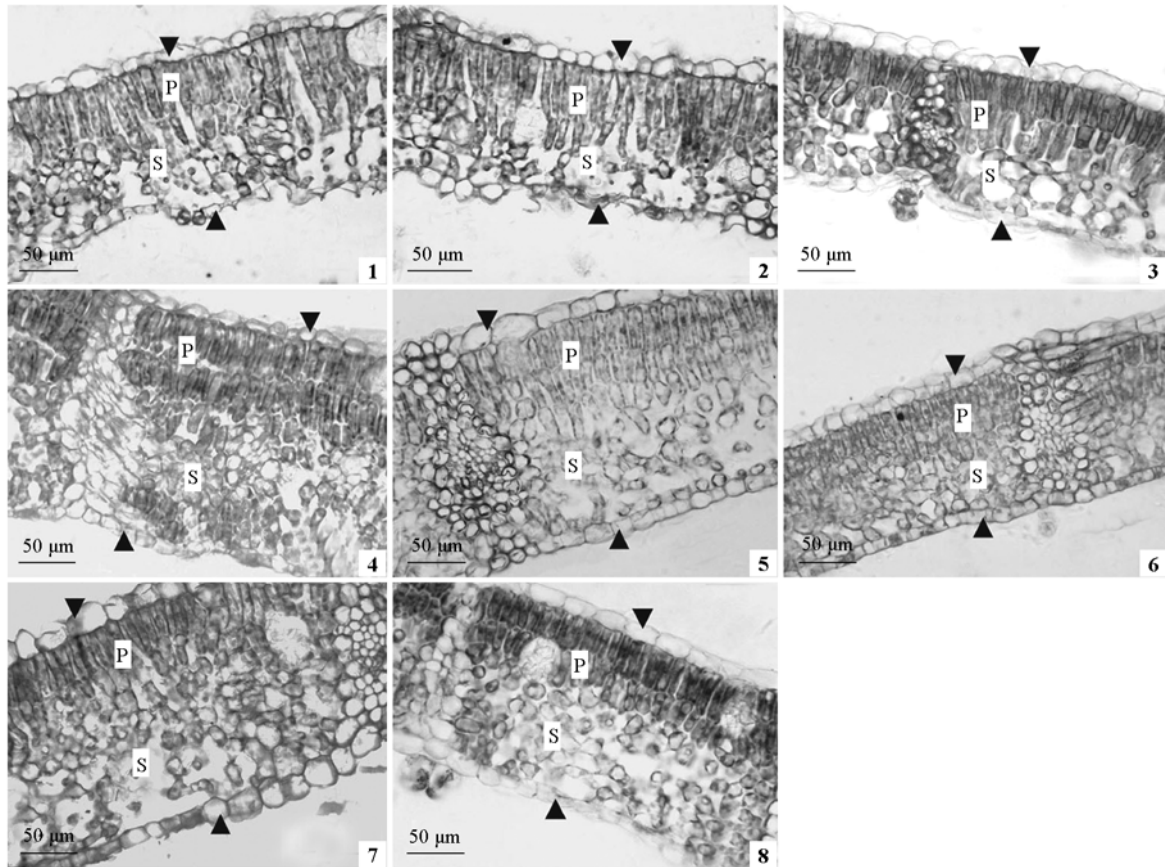


图 1 核桃属种质资源叶片解剖结构

1: 核桃楸 1 号; 2: 核桃楸 2 号; 3: 艺核 1 号; 4: 辽宁 8 号; 5: 珍珠 2 号; 6: 中林 1 号;  
7: 黑核桃 1 号; 8: 黑核桃 2 号。

▼: 上表皮; ▲: 下表皮; P: 栅栏组织; S: 海绵组织。

Fig. 1 Leaf anatomical structures of *Juglans* germplasm

1: *J. mandshurica* 1; 2: *J. mandshurica* 2; 3: Yihe 1; 4: Liaoning 8; 5: Zhenzhu 2;  
6: Zhonglin 1; 7: *J. nigra* 1; 8: *J. nigra* 2.

▼: Upper epidermis; ▲: Lower epidermis; P: Palisade tissue; S: Spongy tissue.

对 20 份核桃种质叶片解剖结构的数据与其  $LT_{50}$  之间进行线性回归分析表明, 叶片厚度和栅栏组织厚度与  $LT_{50}$  之间均达到极显著负相关, 而 CTR 值、SR 值、气孔密度等与其  $LT_{50}$  之间相关性不显著; 其中叶片厚度与  $LT_{50}$  之间的相关系数  $r = -0.6223^{**}$ , 栅栏组织厚度与  $LT_{50}$  之间的相关系数  $r = -0.6397^{**}$ 。可见核桃叶片的栅栏组织厚度和叶片厚度二者共同影响叶片的抗寒性, 均可作为核桃叶片抗寒性鉴定的形态结构指标。

表 2 叶片解剖结构测定结果

Table 2 The average values of walnut leaf anatomical structures

种 Species	种质 Germplasm	栅栏组织厚/ $\mu\text{m}$ Palisade tissue thickness	海绵组织厚/ $\mu\text{m}$ Spongy tissue thickness	叶片厚/ $\mu\text{m}$ Leaf thickness	细胞结构紧 密度 CTR	细胞结构疏 松度 SR
普通核桃 <i>J. regia</i> L.	清香 Qingxiang	50.50 K	71.67 G	146.49 N	0.345 J	0.489 E
	礼品 2 号 Lipin 2	62.07 E	77.78 DE	159.94 F	0.389 F	0.486 EF
	礼品短枝 Lipin Duanzhi	60.85 F	67.30 I	147.41 M	0.412 D	0.458 H
	辽宁 4 号 Liaoning 4	58.48 H	78.60 D	162.80 E	0.361 I	0.481 G
	辽宁 8 号 Liaoning 8	67.30 C	88.24 A	172.17 B	0.395 EF	0.516 B
	绿波 Lübo	62.96 D	81.63 B	168.81 D	0.374 GH	0.483 FG
	维纳 Vina	67.69 C	71.17 G	156.22 I	0.434 C	0.455 H
	福兰克蒂 Franquette	57.04 IJ	69.99 H	153.72 J	0.371 GH	0.455 H
	爱米格 Amigo	41.49 N	51.98 L	116.84 S	0.358 I	0.442 IJ
	晋龙 1 号 Jinlong 1	56.25 J	80.97 BC	158.49 G	0.358 I	0.508 C
	晋龙 2 号 Jinlong 2	48.85 L	51.91 L	122.59 R	0.399 E	0.423 K
	哈特雷 Hartley	59.37 G	77.42 E	157.04 H	0.380 G	0.491 E
	中林 1 号 Zhonglin 1	40.90 N	47.64 M	109.34 T	0.374 GH	0.436 J
	珍珠 1 号 Zhenzhu 1	59.90 G	66.31 J	150.90 K	0.398 E	0.439 J
珍珠 2 号 Zhenzhu 2	74.36 A	74.66 F	171.18 C	0.435 C	0.436 J	
河北核桃 <i>J. hopeiensis</i> Hu	艺核 1 号 Yihe 1	48.66 L	59.07 K	131.55 O	0.370 H	0.449 I
核桃楸 <i>J. mandshurica</i> Maxim.	核桃楸 1 号 <i>J. mandshurica</i> 1	72.33 B	32.88 N	128.61 P	0.562 B	0.256 L
	核桃楸 2 号 <i>J. mandshurica</i> 2	72.88 B	32.91 N	127.13 Q	0.573 A	0.260 L
黑核桃 <i>J. nigra</i> L.	黑核桃 1 号 <i>J. nigra</i> 1	57.73 HI	88.24 A	175.88 A	0.328 K	0.502 D
	黑核桃 2 号 <i>J. nigra</i> 2	44.15 M	80.08 C	149.48 L	0.295 L	0.537 A

注：表中同列数字后的字母表示邓肯氏新复极差测验达到 1% 的极显著水平。

Note: Different letters in the same column show significant differences at 1% level by Duncan's test.

### 3 讨论

#### 3.1 展叶期核桃种质的抗寒性

植物受到低温影响后，细胞膜透性增加，电解质大量外渗，电导率增大。电导率越高，说明受到的寒害越重，抗寒性越弱 (Lyons & Raison, 1970)。因此，测定低温胁迫后外渗液的电导值变化可以比较、鉴定植物的抗寒性。目前利用电导法判断低温伤害程度是植物抗寒性鉴定最常用的方法，被作为植物抗寒力鉴定的理化指标之一，在各种果树上已广泛应用 (Lu & Mark, 1990; Azzarello et al., 2009; 岳海 等, 2010; Liu et al., 2012)，其鉴定结果与低温后田间调查、生长恢复的结果基本一致 (邓仁菊 等, 2009)。本研究中发现，0 °C 或 -3 °C 下处理 12 h 后核桃叶片的相对电导率与其  $LT_{50}$  表现极显著正相关，而且相关系数高，可作为核桃叶片抗寒性鉴定的物理指标，简便易行，可以同时处理大量材料。另外，利用电导法测定  $LT_{50}$  时，必须先了解供试种质大致的半致死温度范围，选择适宜的温度梯度，尽量使供试种质的低温半致死温度落入系列处理温度的中部区域，以得到较规则的“S”型曲线，减小误差。

果树抗寒性是由微效多基因控制的，目前对果树抗寒基因的了解较少 (沈洪波 等, 2002)。抗寒种质资源的筛选是果树抗寒育种的前提。有研究表明，普通核桃与抗寒性较强的黑核桃杂交后，获得了抗寒性明显强于普通核桃的子代 (Poirier et al., 2006)。本研究，哈特雷、珍珠 2 号、珍珠 1 号、礼品 2 号、福兰克蒂等核桃品种在展叶期抗寒性强，核桃楸和黑核桃中也均有抗寒性强的

种质资源, 为抗寒育种亲本的选择以及抗寒品种的推广等提供了依据。

### 3.2 核桃叶片组织结构与展叶期抗寒性的关系

吴国良等(1998)观察了 Franquette、Corne、Payne、Vina 等 15 个引自意大利的核桃品种, 发现其叶片横切面的构造通常由 1 层栅栏细胞组成。本研究观察到, 核桃叶片的栅栏组织通常由 2 层排列整齐而紧密的细胞组成, 而珍珠 2 号有 3 层栅栏细胞。

河北核桃为核桃楸与核桃的天然杂交种, 在核桃属植物分类中(核桃组、核桃楸组和黑核桃组)河北核桃被归类为核桃楸组(郗荣庭和张毅萍, 1992)。运用 RAPD 对核桃属种间亲缘关系的研究表明, 在河北核桃形成过程中, 核桃楸的遗传贡献率大于核桃(吴燕民等, 2000)。而且河北核桃的净光合速率低于普通核桃, 接近于核桃楸(王红霞等, 2005)。本研究中所选用的河北核桃品种艺核 1 号除了叶片厚度接近核桃楸外, 其栅栏组织的细胞形态和厚度、CTR 值以及展叶期抗寒性(LT<sub>50</sub>)等均接近普通核桃。

植物的形态结构是对环境长期适应的结果, 叶片的形态结构与其抗寒性密切相关, 但在不同植物上的研究结果不同。吴林等(2005)研究表明, 越橘叶片的栅栏组织厚度与海绵组织厚度比值越大、SR 值越小, 抗寒性越强。荔枝叶片的栅栏组织厚度与下部紧密组织厚度之和与叶片厚度的比值(CTR 值)与材料的耐寒性呈正相关(余文琴和刘星辉, 1995)。而对澳洲坚果叶结构特征的研究表明, 其 SR 和 CTR 值与品种抗寒性均关系不大, 认为气孔密度小、叶片表皮及角质层厚度大和叶脉突起度大是抗寒性强的性状(李国华等, 2009)。在番荔枝上也证明品种的抗寒性与 CTR 值和 SR 值没有明显相关性, 认为表皮毛长、叶脉突起度大是抗寒性强的性状(刘世彪等, 2004)。本研究结果表明, 核桃种质叶片的栅栏组织厚度和叶片厚度与其 LT<sub>50</sub> 之间均呈极显著负相关, 可作为鉴定展叶期核桃抗寒性的形态结构指标; 而 CTR 值、SR 值等与抗寒性相关不显著, 这可能与核桃属种质之间的叶片厚度、栅栏组织厚度和海绵组织厚度等差异大有关。

## References

- Azzarello E, Mugnai S, Pandolfi C, Masi E, Marone E, Mancuso S. 2009. Comparing image (fractal analysis) and electrochemical (impedance spectroscopy and electrolyte leakage) techniques for the assessment of the freezing tolerance in olive. *Trees: Structure and Function*, 23 (1): 159 - 167.
- Chen Jin-hai, Luo Ren-xian. 2011. Influence of late frost and freezing damage on walnut industry and some countemeasures. *Nonwood Forest Research*, 29 (2): 119 - 123. (in Chinese)
- 陈金海, 罗仁仙. 2011. 晚霜与冰雪灾害对核桃产业的影响及应对措施. *经济林研究*, 29 (2): 119 - 123.
- Deng Ren-ju, Fan Jian-xin, Wang Bin, Cai Yong-qiang. 2009. Preliminary study on determination of chilling-resistance in pitaya (*Hylocereus* spp.). *Plant Physiology Communications*, 45 (10): 1023 - 1026. (in Chinese)
- 邓仁菊, 范建新, 王彬, 蔡永强. 2009. 火龙果抗寒性检测初探. *植物生理学通讯*, 45 (10): 1023 - 1026.
- Li Guo-hua, Xu Tao, Chen Guo-yun, Yue Hai, Liang Guo-ping. 2009. Anatomical structure of leaves of 10 macadamia cultivars. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 30 (10): 1437 - 1441. (in Chinese)
- 李国华, 徐涛, 陈国云, 岳海, 梁国平. 2009. 10 个品种澳洲坚果叶片解剖学的比较研究. *热带作物学报*, 30 (10): 1437 - 1441.
- Li Zheng-li. 1987. *Plant section technique*. Beijing: Science Press: 138 - 149. (in Chinese)
- 李正理. 1987. *植物制片技术*. 北京: 科学出版社: 138 - 149.
- Liu Shi-biao, Chen Jing, Hu Zheng-hai. 2004. Studies on the relationship between leaf structure and cold resistance of 7 species of Annonaceae fruit trees. *Journal of Fruit Science*, 21 (3): 241 - 246. (in Chinese)
- 刘世彪, 陈菁, 胡正海. 2004. 7 种番荔枝果树的叶片结构及其与抗寒性关系研究. *果树学报*, 21 (3): 241 - 246.
- Liu W P, Su S C, Liu X, Hou Z X. 2012. Comparison of different cultivars of blueberry overwintering ability in Qingdao of China. *American Journal*

- of Plant Sciences, 3: 391 - 396.
- Lu S L, Mark R. 1990. Cold acclimation of young kiwifruit vine under artificial hardening conditions. HortScience, 25 (12): 1628 - 1630.
- Lyons J M, Raison J K. 1970. Oxidative activity of mitochondria isolated from plant tissues sensitive and resistant to chilling injury. Plant Physiol, 45: 386 - 389.
- Poirier M, Bodet C, Ploquin S, Saint-Joanis B, Lacoïnte A, Ameglio T. 2006. Walnut cultivar performance of cold resistance in south-central France. Acta Horticulturae, 705: 281 - 285.
- She Wen-qin, Liu Xing-hui. 1995. The relationship between leaf cell structure in litchi and its cold tolerance. Acta Horticulturae Sinica, 22 (2): 185 - 186. (in Chinese)
- 余文琴, 刘星辉. 1995. 荔枝叶片细胞结构紧密度与耐寒性的关系. 园艺学报, 22 (2): 185 - 186.
- Shen Hong-bo, Chen Xue-sen, Zhang Yan-min. 2002. Advances of the studies on the inheritance and breeding of cold hardiness variety in fruit crops. Journal of Fruit Science, 19 (5): 292 - 297. (in Chinese)
- 沈洪波, 陈学森, 张艳敏. 2002. 果树抗寒性的遗传与育种研究进展. 果树学报, 19 (5): 292 - 297.
- Wang Hong-xia, Zhang Zhi-hua, Wang Wen-jiang, Gao Yi, Sun Hong-chuan. 2005. Studies on photosynthetic characteristics of *Juglans hopeiensis* Hu in the field. Acta Horticulturae Sinica, 32 (3): 392 - 396. (in Chinese)
- 王虹霞, 张志华, 王文江, 高 仪, 孙红川. 2005. 河北核桃 (*Juglans hopeiensis* Hu) 光合特性的研究. 园艺学报, 32 (3): 392 - 396.
- Wang San-sheng, Cai Zong-ke, Li Rang-le, Lü Cheng-li, Wang Ming-ke, Liang Nai, Li Zhi, Yang Guang-yuan. 2011. Investigation report on freezing injury of walnut in Lingyou and Longxian counties. Shaanxi Forest Science and Technology, (3): 20 - 22. (in Chinese)
- 王三省, 蔡宗科, 李让乐, 吕成利, 王明科, 梁 乃, 李 志, 杨光远. 2011. 麟游、陇县核桃低温冻害调查及预防措施. 陕西林业科技, (3): 20 - 22.
- Wu Guo-liang, Chang Liu-yin, Chen Guo-xiu, Zhao Liang-jun, Shi Yan-shan. 1998. The relationship between leaf characters of walnut seedling and its cold resistance. Chinese Bulletin of Botany, 15 (Suppl): 111 - 113. (in Chinese)
- 吴国良, 常留印, 陈国秀, 赵梁军, 史燕山. 1998. 核桃实生苗叶性状与抗寒性关系. 植物学通报, 15 (增刊): 111 - 113.
- Wu Guo-liang, Liu Qun-long, Zheng Xian-bo, Song Yu-qin, Jian Zai-hai, Peng Gong-bo. 2009. Advances in research on the worldwide walnut germplasm. Journal of Fruit Science, 26 (4): 539 - 545. (in Chinese)
- 吴国良, 刘群龙, 郑先波, 宋宇琴, 简在海, 彭功波. 2009. 核桃种质资源研究进展. 果树学报, 26 (4): 539 - 545.
- Wu Lin, Liu Hai-guang, Liu Ya-juan, Lin Dong-hui, Li Ya-dong. 2005. Studies on leaf tissue structure and its relations to cold resistance of blueberry. Journal of Jilin Agricultural University, 27 (1): 48 - 50, 54. (in Chinese)
- 吴 林, 刘海广, 刘雅娟, 林东慧, 李亚东. 2005. 越橘叶片组织结构及其与抗寒性的关系. 吉林农业大学学报, 27 (1): 48 - 50, 54.
- Wu Yan-min, Pei Dong, Xi Sheng-ke, Li Jia-rui. 2000. A study on the genetic relationship among species in *Juglans* L. using RAPD markers. Acta Horticulturae Sinica, 27 (1): 17 - 22. (in Chinese)
- 吴燕民, 裴 东, 奚声珂, 李嘉瑞. 2000. 运用 RAPD 对核桃属种间亲缘关系的研究. 园艺学报, 27 (1): 17 - 22.
- Xi Rong-ting, Zhang Yi-ping. 1992. Chinese walnut. Beijing: China Forestry Publishing House: 110 - 250. (in Chinese)
- 郝荣庭, 张毅萍. 1992. 中国核桃. 北京: 中国林业出版社: 110 - 250.
- Xiang Kun, Zhang Mei-yong, Xu Ying, Wang Xiao-fang, Yue Lin-xu. 2011. Cold-tolerance of walnut cultivars: A comprehensive evaluation. Chinese Journal of Applied Ecology, 22 (9): 2325 - 2330. (in Chinese)
- 相 昆, 张美勇, 徐 颖, 王晓芳, 岳林旭. 2011. 不同核桃品种耐寒特性综合评价. 应用生态学报, 22 (9): 2325 - 2330.
- Yue Hai, Li Guo-hua, Li Guo-wei, Chen Li-lan, Kong Guang-hong, Liang Guo-ping. 2010. Studies on cold resistance of different *Macadamia* cultivars. Acta Horticulturae Sinica, 37 (1): 31 - 38. (in Chinese)
- 岳 海, 李国华, 李国伟, 陈丽兰, 孔广红, 梁国平. 2010. 澳洲坚果不同品种耐寒特性的研究. 园艺学报, 37 (1): 31 - 38.
- Zhang G, Ryyppö A, Repo T. 2002. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine needles during cold acclimation. Physiol Plant, 115: 385 - 392.