

# 十三个核桃品种幼苗叶片解剖结构与抗寒性的关系

马 婷<sup>1,2,3</sup>, 李 静<sup>1,2,3</sup>, 肖良俊<sup>1,2,3</sup>, 宁德鲁<sup>1,2,3</sup>

(1. 云南省木本油料工程技术研究中心, 云南 昆明 650201; 2. 云南省木本油料研发省创新团队, 云南 昆明 650201;  
3. 云南省林业科学院 经济林研究所, 云南 昆明 650201)

**摘 要:**以 3 个种共 13 个品种的核桃幼苗为研究对象, 对其叶片解剖结构进行了观测和对比, 应用变异系数、聚类分析和相关分析筛选出影响抗寒性的主要指标, 并采用隶属函数对各品种的抗寒性进行综合评价。结果表明: 叶片组织结构疏松度、海绵组织厚度及叶片厚度是影响核桃抗寒性能的主要叶片组织结构指标, 13 个品种抗寒性能由高到低依次为: “辽核 4 号” > “温 185” > “新新 2 号” > “西藏核桃” > “铁核桃” > “麦穗虎头” > “云新 301” > “云新高原” > “云新 306” > “云新云林” > “漾濞泡核桃” > “漾江” > “漾杂 1 号”。种的抗寒性强弱排序为: 普通核桃 > 麻核桃 > 深纹核桃。

**关键词:**核桃幼苗; 叶片解剖结构; 抗寒性

**中图分类号:**S 664.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2016)03-0021-04

核桃(*Juglans regia* L.)为云南省最主要的木本油料树种,截至 2014 年底,核桃在云南省种植面积达 273.33 万  $\text{hm}^2$ ,产量 77 万 t,产值 239 亿元,名副其实成为云南第一经济林果。由于云南气候环境复杂多样,温度又为影响云南核桃分布最主要的因子<sup>[1]</sup>。冬季低温冻害、晚霜等灾害性天气使核桃受到不同程度的伤害,严重时甚至造成整个植株死亡,从而限制了其种植区域,也阻碍了云南核桃产业的发展。因此对核桃抗寒生理的研究及耐寒植株的选育已迫在眉睫<sup>[2-3]</sup>。

核桃幼苗枝条髓心大、水分多、抗寒性较核桃大树差,在部分核桃产区容易遭受冻害,且普遍存在越冬抽条现象,轻者造成树形紊乱,影响早期产量;严重者会整株干枯致死,给生产带来很大损失<sup>[4-6]</sup>。同时,核桃种质资源丰富,种质间抗寒性差异明显,寒害的发生也较为普遍。因此,对不同种质的核桃幼苗抗寒性进行研究,有利于在栽培时就能选择适合各区域发展的良种,避免低温自然灾害带来的巨大损失。该研究以 3 个核桃种,共 13 个品种核桃幼苗为研究对象,对其叶片解剖结构进行观测分析,从而对各品种的抗寒性能进行综合评

价,以期云南核桃抗寒良种选育以及适应区栽培提供参考依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试核桃叶片材料采自昆明树木园内核桃种质资源收集圃。13 个品种分别为:“漾濞泡核桃”(*Juglans sigillata*)、“铁核桃”(*J. sigillata*)、“漾江”(*J. sigillata*)、“漾杂 1 号”(*J. sigillata* × *J. sigillata*)、“新新 2 号”(*J. regia*)、“温 185”(*J. regia*)、“辽核 4 号”(*J. regia*)、“西藏核桃”(*J. regia*)、“云新高原”(*J. sigillata* × *J. regia*)、“云新云林”(*J. sigillata* × *J. regia*)、“云新 301”(*J. sigillata* × *J. regia*)、“云新 306”(*J. sigillata* × *J. regia*)和“麦穗虎头”(*J. hopeiensis*)。其中,“西藏核桃”为采自西藏的普通核桃(*J. regia*)种子,在昆明树木园内播种后所产生的实生苗,“铁核桃”为深纹核桃(*J. sigillata*)实生苗,其余品种均为嫁接苗。

### 1.2 试验方法

1.2.1 采样及处理 2015 年 5 月下旬,从管理条件一致、树龄相同、长势相似且无病虫害的 2 年生核桃幼苗上剪取 1 个小枝,每小枝带 3 对叶片,带回实验室用自来水冲洗干净表面污物,晾干水分后备用。

1.2.2 制片观察 用刀片切取叶片中部以主脉为中心两侧长约 1 cm 的小片段,混合均匀后作为 1 个样品,迅速放入 FAA 固定液中,真空抽气,固定 48 h 后,转入 70%乙醇中保存备用。用番红-固绿对染,采用石蜡制片法制片<sup>[7]</sup>。

**第一作者简介:**马婷(1983-),女,云南大理人,硕士,助理研究员,现主要从事经济林良种选育及栽培等研究工作。E-mail:blueair-01@163.com。

**责任作者:**宁德鲁(1974-),男,云南宣威人,硕士,研究员,现主要从事经济林良种选育及栽培等研究工作。E-mail:ningdelu@163.com。

**基金项目:**云南省应用基础研究计划青年资助项目(2012FD081)。

**收稿日期:**2015-09-24

### 1.3 项目测定

采用 Leica DM4000B 型光学显微镜观察、测量和显微拍照。利用 Photoshop CS 3.0 图像处理软件,测量角质层、上表皮、栅栏组织、海绵组织、下表皮、叶片厚度,每个品种的各指标均测定 30 个数据。同时计算叶片组织结构紧密度  $C_{T,R}(\%)$ 、叶片组织结构疏松度  $S_R(\%)$  以及栅栏组织/海绵组织值<sup>[8]</sup>。其中:叶片组织结构紧密度  $C_{T,R}(\%) = (\text{栅栏组织厚度}/\text{叶片厚度}) \times 100$ ;叶片组织结构疏松度  $S_R(\%) = (\text{海绵组织厚度}/\text{叶片厚度}) \times 100$ 。

### 1.4 数据分析

采用 Excel 软件对数据进行处理,应用 SPSS 18.0 数据系统软件进行聚类分析、方差分析和相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 叶片解剖结构特征比较

统计 13 个核桃品种叶片解剖结构的观测数据,并

表 1

13 个核桃品种叶片组织结构指标测定

Table 1

The leaf tissue structure indexes of 13 walnut cultivars

品种 Variety	X1/ $\mu\text{m}$	X2/ $\mu\text{m}$	X3/ $\mu\text{m}$	X4/ $\mu\text{m}$	X5/ $\mu\text{m}$	X6/ $\mu\text{m}$	X7/ $\mu\text{m}$	X8/ $\mu\text{m}$	X9
“漾濞泡核桃”“Yangbipao Hetao’	2.28	17.29	85.88	57.11	12.45	164.07	0.53	0.35	1.53
“铁核桃”“Tie walnut’	1.36	16.80	56.78	71.65	10.81	146.03	0.39	0.50	0.87
“漾江”“Yangjiang’	2.22	13.65	55.34	55.81	10.61	131.68	0.42	0.42	1.06
“漾杂 1 号”“Yangza No. 1’	1.67	9.51	64.35	55.20	9.17	137.02	0.46	0.41	1.21
“云新高原”“Yunxin Gaoyuan’	1.20	11.16	52.86	61.32	10.63	132.07	0.40	0.47	0.89
“云新云林”“Yunxin Yunlin’	2.96	12.35	73.45	58.95	10.30	145.68	0.50	0.41	1.30
“云新 301”“Yunxin 301’	1.46	14.90	62.78	65.00	10.27	149.29	0.42	0.43	0.98
云新 306”“Yunxin 306’	2.13	16.12	77.76	61.38	12.74	161.02	0.49	0.38	1.36
“新新 2 号”“Xinxin No. 2’	1.25	13.54	64.54	81.86	8.68	168.58	0.38	0.49	0.80
“温 185”“Wen 185’	2.39	15.66	77.58	85.29	11.18	184.61	0.43	0.46	1.01
“辽核 4 号”“Liaohu No. 4’	1.31	13.44	87.07	108.50	12.98	220.30	0.40	0.49	0.82
“西藏核桃”“Tibet walnut’	2.30	17.53	57.42	79.11	12.48	166.01	0.35	0.47	0.75
“麦穗虎头”“Maisuihutou’	1.62	12.13	54.74	55.80	8.49	122.36	0.63	0.59	1.11
F 值 F value	37.371 **	25.453 **	37.918 **	40.852 **	6.783 **	101.709 **	1.999 **	1.789 **	15.487 **
变异系数 Variable coefficient	0.39	0.25	0.23	0.29	0.32	0.18	0.66	0.56	0.38

注:X1,角质层厚度;X2,上表皮厚度;X3,栅栏组织厚度;X4,海绵组织厚度;X5,下表皮厚度;X6,叶片厚度;X7,细胞结构紧密度( $C_{T,R}$ );X8,细胞结构疏松度( $S_R$ );X9,栅栏比。表中 \*\* 表示在 0.05 水平上差异显著,以下各图、表中,X1、X2、X3、X4、X5、X6、X7、X8、X9 代表的含义与表 1 同。

Note: X1, cuticle thickness; X2, the thickness of surface; X3, palisade tissue thickness; X4, spongy tissue thickness; X5, lower epidermis thickness; X6, leaf thickness; X7, cellular structure tightness( $C_{T,R}$ ); X8, cellular structure looseness( $S_R$ ); X9, ratio of palisade tissue to spongy tissue. \*\* represent significant difference at 0.05 level, the same as following figure and table, X1, X2, X3, X4, X5, X6, X7, X8, X9 represent the same meaning as Table 1.

### 2.2 13 个核桃品种抗寒性的综合评价

2.2.1 叶片抗寒性组织结构指标筛选 测定的 9 项叶片解剖结构指标,并非彼此独立。只有选择彼此独立且具有代表性的指标进行抗寒性评价,才能获得可靠的结果。因此,该研究对 9 项叶片解剖结构进行聚类分析。聚类结果如图 1 所示,9 个指标明显聚为 3 类,第一类包括:紧密度、疏松度、栅海比、角质层厚度、上表皮厚度和下表皮厚度 6 个指标;第二类包括:栅栏组织厚度和海绵组织厚度 2 个指标;第三类仅叶片厚度 1 个指标。从图 1 可以看出,3 类之间距离较大,说明各类间的相关性较小。根据统计学原理,在一组指标中选变异系数较大

进行方差分析求得变异系数和  $F$  值。由表 1 可以看出,9 项测定指标在各品种间均存在显著差异。“云新云林”角质层最厚为  $2.96 \mu\text{m}$ ,最薄是“云新高原”为  $1.20 \mu\text{m}$ ;“西藏核桃”上表皮最厚为  $17.53 \mu\text{m}$ ,”漾杂 1 号”最薄为  $9.51 \mu\text{m}$ ;栅栏组织以“辽核 4 号”品种最厚为  $87.07 \mu\text{m}$ ,”云新高原”最薄为  $52.86 \mu\text{m}$ ;海绵组织最厚的是“辽核 4 号”为  $108.50 \mu\text{m}$ ,”漾杂 1 号”最薄为  $55.20 \mu\text{m}$ ;下表皮最厚的是“辽核 4 号”品种为  $12.98 \mu\text{m}$ ,最薄是“麦穗虎头”品种  $8.49 \mu\text{m}$ ;叶片厚度最厚是“辽核 4 号”品种为  $220.30 \mu\text{m}$ ,最薄的是“麦穗虎头”品种为  $122.36 \mu\text{m}$ ;叶片结构紧密度最大是“麦穗虎头”为 0.63,最小的是“西藏核桃”为 0.35;叶片结构疏松度最大的是“麦穗虎头”为 0.59,最小的是“漾濞泡核桃”为 0.35;栅海比以“漾濞泡核桃”最大为 1.53,”西藏核桃”最小为 0.75。

的指标有利于合理评价。因此,可从每类中选择 1 个相关性最大的指标,用于抗寒性的综合评价。各类中典型指标的选择根据相关指数的大小确定,相关指数计算公式为: $R_i^2 = \sum r^2 / (n-1)$ , $R_i^2$  为每类中每个指标的相关指数, $n$  为每类中指标个数, $i=1,2,\dots,n$ , $r$  为同类中某指标与其它指标的相关系数(表 2)。指标的相关指数越大,代表性越强<sup>[8]</sup>。根据相关指数计算公式,得出每个指标的相关指数,并对其进行排序。由表 3 得到,第一类中,X8(叶片组织结构疏松度)的相关指数最大,确定为该类的典型指标;第二类中,栅栏组织厚度和海绵组织厚度相关指数相等,海绵组织变异系数较大为 29%(表 1),因

此确定为该类的典型指标;第三类仅叶片厚度 1 个指标,确定为典型指标。

2.2.2 抗寒性综合评价 根据抗寒指标筛选结果,利用模糊隶属函数法<sup>[9]</sup>综合评价 13 个品种核桃幼苗抗寒性的强弱。并以平均隶属度来评价核桃品种的抗寒性,平均隶属度越大则抗寒性越强。由表 4 可以看出,抗寒性能由高到底依次为:“辽核 4 号”>“温 185”>“新新 2 号”>“西藏核桃”>“铁核桃”>“麦穗虎头”>“云新 301”>“云新高原”>“云新 306”>“云新云林”>“漾濞泡核桃”>“漾江”>“漾杂 1 号”。

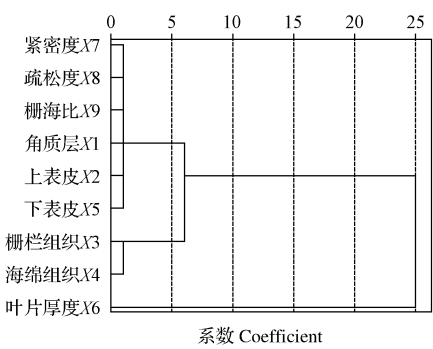


图 1 9 项指标的变量聚类分析

Fig.1 Variable cluster analysis of 9 indexes

表 2 叶片结构的相关矩阵

Table 2 Correlative matrix of leaf structural parameters

	X1	X2	X3	X4	X5	X6	X7	X8	X9
X1	1								
X2	0.115 *	1							
X3	0.188 **	0.161 **	1						
X4	-0.149 **	0.136 **	0.112 *	1					
X5	0.073	0.247 **	0.184 **	0.138 **	1				
X6	0.005	0.280 **	0.535 **	0.741 **	0.266 **	1			
X7	0.027	-0.067	0.187 **	-0.187 **	-0.013	-0.310 **	1		
X8	-0.113 *	-0.065	-0.134 **	0.226 **	-0.023	-0.184 **	0.841 **	1	
X9	0.243 **	0.004	0.554 **	-0.698 **	0.020	-0.211 **	0.263 **	-0.282 **	1

表 3 各类中相关指标及排序

Table 3 Correlative indexes and order of parameters in each cluster

分类	指标	相关指数	类中排序
Category	Index	Correlative index	Order of parameter
第一类	X7	0.156 4	2
	X8	0.160 9	1
	X9	0.041 6	3
	X1	0.018 2	4
	X2	0.016 6	5
	X5	0.013 5	6
第二类	X3	0.012 5	1
	X4	0.012 5	1
第三类	X6	1.000 0	1

表 4 13 个核桃品种抗寒性综合评价

Table 4 Comprehensive evaluation on cold resistance of 13 walnut cultivars

品种	海绵组织厚度	叶片厚度	叶片组织结构疏松度	平均 Average	排序 Rank
Variety	Spongy tissue thickness	Leaf thickness	Cellular structure looseness		
“漾濞泡核桃”“Yangbipao Hetao”	0.035 8	0.425 9	0.000 0	0.153 9	11
“铁核桃”“Tie walnut”	0.308 7	0.241 7	0.580 8	0.377 1	5
“漾江”“Yangjiang”	0.011 4	0.095 3	0.311 7	0.139 5	12
“漾杂 1 号”“Yangza No.1”	0.000 0	0.149 7	0.256 8	0.135 5	13
“云新高原”“Yunxin Gaoyuan”	0.114 9	0.099 2	0.483 5	0.232 5	8
“云新云林”“Yunxin Yunlin”	0.070 4	0.238 2	0.240 4	0.183 0	10
“云新 301”“Yunxin 301”	0.184 0	0.275 0	0.355 4	0.271 5	7
云新 306“Yunxin 306”	0.116 0	0.394 8	0.127 7	0.212 8	9
“新新 2 号”“Xinxin No.2”	0.500 2	0.472 0	0.569 5	0.513 9	3
“温 185”“Wen 185”	0.564 6	0.635 6	0.446 0	0.548 7	2
“辽核 4 号”“Liaohu No.4”	1.000 0	1.000 0	0.593 9	0.864 6	1
“西藏核桃”“Tibet walnut”	0.448 7	0.445 7	0.522 0	0.472 1	4
“麦穗虎头”“Maisuihutou”	0.011 4	0.000 0	1.000 0	0.337 1	6

### 3 结论与讨论

该研究利用隶属函数法,对 13 个核桃品种幼苗的角质层厚度、上表皮厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、下表皮厚度、叶片厚度、叶片细胞结构紧密度、叶片细胞结构疏松度和栅海比 9 项叶片解剖结构指标进行了统计分析,并对其抗寒性进行评价。结果表明,抗寒性能由强到弱依次为:“辽核 4 号”>“温 185”>“新新 2 号”>“西藏核桃”>“铁核桃”>“麦穗虎头”>“云新 301”>“云新高原”>“云新 306”>“云新云林”>“漾濞泡核桃”>“漾江”>“漾杂 1 号”。根据其种来进行划分,排名前 4 位的品种均为普通核桃种(*J. regia*),麻核桃种(*J. hopeiensis*)抗寒性能在普通核桃之后,除“铁核桃”外深纹核桃种(*J. sigillata*)抗寒性能都在末位,而深纹核桃与普通核桃的杂交种(*J. sigillata* × *J. regia*)抗寒性能在普通核桃与深纹核桃之间。目前,云南省大部分地区栽培的核桃种仍为本土的深纹核桃(*J. sigillata*),但根据长期观测结果综合该研究结果,该种显示出不耐寒的特性。因此,云南应根据不同种的抗寒性能,加强引种选育以及杂交育种工作,从而为云南冬冷地区提供可利用的抗寒良种。

前人对核桃大树做过叶片解剖结构与抗逆性方面的研究<sup>[8,10-11]</sup>,但对核桃幼苗解剖结构与抗寒性方面少见报道。实际上,当核桃树成年后,叶片、枝条和整个树体的营养物质得以积累,其抗寒性能较幼苗有大幅度提高,往往核桃苗最易受到低温、寒害的影响。因此该研究对核桃苗的抗寒性能进行研究,更有利于不同的气候、环境区域选择合适的良种。

根据统计学原理,如果选入了叶片结构变异过小的指标,不仅不会使分析结果准确、合理,反而给分析带来不便<sup>[8]</sup>。同时为了避免单一指标的片面性,隶属函数分

析提供了一条在多指标测定基础上对研究对象某一特征进行综合评价的途径<sup>[12]</sup>。因此,该研究使用变异系数、聚类分析以及相关性分析,从而筛选出与抗寒相关性较大的叶片组织结构疏松度、海绵组织以及叶片厚度 3 个指标,再采用隶属函数法对其抗寒性进行综合评价,保证了分析结果的准确性。除叶片解剖结构外,核桃抗寒性能还受众多因素影响,要准确进行评价,还需结合抗寒生理、生化指标,并结合田间冻害情况及冻害后的生长恢复情况加以综合考虑。

### 参考文献

- [1] 肖良俊,马婷,宁德鲁. 云南省核桃主产区气候因子分析[J]. 广东农业科学,2013(9):29-31.
- [2] 李小琴,彭明俊,段安安,等. 低温胁迫对 8 个核桃无性系抗寒生理指标的影响[J]. 西北林学院学报,2012,27(6):12-15.
- [3] 潘莉,范志远,曾清贤,等. 低温胁迫下云南 3 个核桃品种抗寒生理生化指标的变化[J]. 西部林业科学,2014,43(6):72-75.
- [4] 韩玉虎,王勇,程慧,等. 金薄香核桃枝条电导率测定[J]. 华北农学报,2007,22(1):56-58.
- [5] 相昆,张美勇,徐颖,等. 不同核桃品种耐寒特性综合评价[J]. 应用生态学报,2011,29(2):119-123.
- [6] 李静,宁德鲁,马婷,等. 12 个核桃品种低温半致死温度与抗寒性的关系[J]. 湖南农业科学,2015(3):73-75.
- [7] 李正理. 植物制片技术[M]. 北京:科学出版社,1978.
- [8] 刘杜玲,张博勇. 基于旱实核桃不同品种叶片组织结构的抗寒性划分[J]. 果树学报,2012,29(2):205-211.
- [9] 王宇超,王得祥,彭少兵,等. 干旱胁迫对木本滨藜生理特性的影响[J]. 林业科学,2010,46(1):61-67.
- [10] 白重炎,高尚风,张颖. 12 个核桃品种叶片解剖结构及其抗旱性研究[J]. 西北农业学报,2010,19(7):125-128.
- [11] 白重炎,陈超,张颖. 12 个核桃品种叶片解剖结构比较研究[J]. 江苏农业科学,2010(4):129-130.
- [12] 韩瑞宏,卢欣石,高桂娟,等. 紫花苜蓿抗旱性主成分及隶属函数分析[J]. 草地学报,2006,14(2):142-146.

## Study on the Relationship Between Cold Hardiness and Leaf Anatomy of Thirteen Walnut Cultivars in Seedling

MA Ting<sup>1,2,3</sup>, LI Jing<sup>1,2,3</sup>, XIAO Liangjun<sup>1,2,3</sup>, NING Delu<sup>1,2,3</sup>

(1. The Woody Oil Engineering Research Center of Yunnan Province, Kunming, Yunnan 650201; 2. Oil Research and Development of Provincial Innovation Team, Kunming, Yunnan 650201; 3. Yunnan Academy of Forestry, Economic Forest Institute, Kunming, Yunnan 650201)

**Abstract:** 3 species, 13 walnut cultivars in seedling were used as experimental materials. Leaf tissue structure indexes were screened via coefficient of variation, analysis of correlation and hierarchical cluster analysis, and comprehensive evaluation on cold resistance for each variety was done by subordinate function. The results showed that organizational structure loose degree, spongy tissue and leaf thickness were the main factors related to the hardiness; the cold resistance for 13 cultivars was in order of ‘Liaohu No 4’ > ‘Wen 185’ > ‘Xinxin No 2’ > ‘Tibet walnut’ > ‘Tie walnut’ > ‘Maisuihutou’ > ‘Yunxin 301’ > ‘Yunxin Gaoyuan’ > ‘Yunxin 306’ > ‘Yunxin Yunlin’ > ‘Yangbipao Hetao’ > ‘Yangjiang’ > ‘Yangza No. 1’; the cold resistance for 3 species was in order of *Juglans regia* > *Juglans hopeiensis* > *Juglans sigillata*.

**Keywords:** walnut in seedling; leaf anatomy; cold hardiness