

# 核桃花器官变异的研究

李 敏<sup>1</sup>, 刘 媛<sup>1</sup>, 赵勇刚<sup>1</sup>, 孙明高<sup>1</sup>, 张宪省<sup>2</sup>, 杨克强<sup>1,2\*</sup>, 王钧毅<sup>3</sup>,  
郭起荣<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> 山东农业大学农业生态与环境重点实验室, <sup>2</sup> 作物生物学国家重点实验室, 山东泰安 271018; <sup>3</sup> 山东泰安绿园经济林研究所, 山东泰安 271018; <sup>4</sup> 国际竹藤网络中心科技教育处, 北京 100102)

**摘 要:** 观察核桃 (*Juglans regia* L.) 花器官变异研究花器官变异类型及其特点, 制作石蜡切片对两性花变异类型的花芽分化进程进行了研究。用 6 个早实核桃材料和 2 个晚实核桃材料作亲本, 选配 10 个杂交组合, 得到 2 942 个实生杂种苗。在具有早实核桃为亲本的杂交组合和早实核桃自然授粉的 2 648 株实生单株中, 到播种后第 3 天累计结实率为 20.34%, 晚实核桃 294 株实生后代无早结果现象。在 538 株早实杂种苗中, 共有 12 个单株在 2 d 生时发生了花器变异, 变异类型包括两性花类型、穗状花类型、穗状花具分枝类型、穗状花雌雄同序类型、柱头变异类型和雌花序座莲座状类型。连续 5 年观察表明, 仅有来自于新 1 号 × 香玲杂交组合的 C3 单株二次花的雌雄同花变异在不同年份稳定表现。在一些早实品种 (如香玲) 的徒长枝上也具有两性花变异。核桃两性花变异的形态发育进程属于向心式: 花序原基—花原基—花被原基—雄蕊原基—雌蕊原基—子房原基。核桃的花器官变异是早实核桃二次开花过程发生的。早实核桃花器官变异类型的存在为核桃的早实特性和花器官发育研究提供了珍贵的材料。

**关键词:** 核桃; *Juglans regia* L.; 早实特性; 花器官变异; 两性花

**中图分类号:** S 664.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2009) 01-0021-06

## Studies on Floral Variation in Walnut (*Juglans regia* L.)

L I M in<sup>1</sup>, L U Yuan<sup>1</sup>, ZHAO Yong-gang<sup>1</sup>, SUN Ming-gao<sup>1</sup>, ZHANG Xian-sheng<sup>2</sup>, YANG Ke-qiang<sup>1,2\*</sup>,  
WANG Jun-yi<sup>3</sup>, and GUO Qi-rong<sup>4</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory of Agricultural Ecology and Environment of Shandong Agricultural University, Tai'an, Shandong 271018, China; <sup>2</sup> State Key Laboratory of Crop Biology, Tai'an, Shandong 271018, China; <sup>3</sup> Luyuan Forestry Institute of Shandong Tai'an, Shandong 271018, China; <sup>4</sup> International Center for Bamboo and Rattan, Beijing 100102, China)

**Abstract:** The type and character of floral organ variation in *Juglans regia* L. were observed, and the anatomy of hemaphroditic development was also analyzed through paraffin section. The 2 942 seedlings from cross combination were raised using 6 precocious forms, and 2 later mature forms. Among 2 648 seedlings from artificial cross by precocious forms and open pollination of precocious forms, 20.34% of the seedlings were produced flowers in the third year. The 294 seedlings from later mature forms produced no flowers in the third years. Twelve seedlings of the 538 precocious cross seedlings were observed on floral organ variations. The variation types including hemaphrodite flower, spike inflorescence, branch spike inflorescence, male and female flowers in one spike inflorescence, stigma variation, rosette female inflorescences. The study on floral organ variation was kept from 2003 to 2008. Stable inheritance of floral organ variation only appeared in C3 cross seedling from Xin 1 × Xiangling. The floral organ variation was found in adventitious shoots of Xiangling cultivar. The anatomy of hemaphrodite flower development procedure was: Inflorescence primordium - flower

收稿日期: 2008 - 10 - 13; 修回日期: 2008 - 12 - 24

基金项目: 国家科技基础条件平台建设项目; 山东省良种产业化工程项目; 山东省自然科学基金项目 (2007ZRB01554); 山东省人事厅资助项目 (200603039); 山东省教育厅资助项目 (J07WF06)

\* 通讯作者 Author for correspondence (E-mail: ykq@sda.u.edu.cn; Tel: 0538-8242216; Fax: 0538-8249164)

primordium - bract primordium stamen primordium - stigma primordium - ovary primordium. The floral organ variation only took place in the second shoots and flowers. The walnut with floral organ variation is a valuable material to study the earlier fruiting character and the floral organ development of walnut.

**Key words:** walnut; *Juglans regia* L.; precocious trait; floral variation; hemaphrodite flower

核桃 (*Juglans regia* L.) 中存在着一类播种当年或第二年就能开花结实的早实类型。我国从 20 世纪 50 年代曾开展了大规模的新疆早实核桃引种和杂交育种工作 (杨文衡和张建光, 1983)。Germain 等 (1997) 曾报道在引入法国西部的中亚和乌克兰早实核桃中, 不仅表现结果早、侧芽结果为主、抽生二次枝、开二次花等特性, 而且还具有两性花 (Hemaphrodite flower) 变异的现象。Bretton 等 (2004) 发现, 早实核桃在组培过程中能分化出两性花, 并用同源序列法从组培材料中扩增获得其花器官相关基因 *JA G* 和 *JA P3*。王国安等 (2004) 也曾报道我国新疆早实核桃有二次开花, 二次花结实和两性花变异的现象。本研究中通过对不同杂交组合中核桃花器官变异的系统观察, 研究了我国核桃花器官变异的类型及其特点和两性花的形态发育特征, 以期核桃早实特性和核桃花器官发育研究提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验地点

田间试验于 2002—2008 年在山东农业大学林学综合实验站和山东省泰安绿园经济林研究所进行。所在地海拔 150 m, 属温带季风性气候。年平均气温 12.8℃, 无霜期 187 d, 年平均降水量 600~800 mm。土壤为壤土, 肥力中等偏上, 水肥条件好。室内研究在山东农业大学作物生物学国家重点实验室和山东农业大学农业生态与环境重点实验室进行。

### 1.2 试验材料

2002 年选取香玲、鲁光、丰辉、元林 4 个早实品种, 新 1 号、新 3 号 2 个早实优系, 青林 1 个晚实品种, T25 号 1 个晚实优系为亲本, 配置香玲 × 新 1 号、新 1 号 × 香玲、香玲 × 新 3 号、新 3 号 × 香玲、鲁光 × 新 1 号、鲁光 × 新 3 号、丰辉 × 新 3 号、丰辉 × 新 1 号、元林 × 青林、香玲 × T25 号 10 个杂交组合, 进行套袋杂交。当年秋季收获种子, 并收集了元林、新 1 号和青林、T25 号单株的自然授粉种子。2003 年春季播种于山东泰安经济林研究所, 得到 2 942 个实生单株。

### 1.3 试验方法

2003—2005 年连续观察了全部供试实生单株的开花结实特性。2005 年秋季对具有花器官变异的单株收集保存, 定植于山东农业大学林学综合实验站, 观察其开花结实特性至 2008 年。具体观测参照刘庆忠和张力思 (2006) 的方法。

2007 年 5 月上旬树体抽生二次枝时, 在具有稳定花器官变异特性的单株上选择树冠中部外围生长健壮的二次枝, 每 3 d 从第一次取样枝条形成的顶梢下第 2 芽位取其侧芽制作石蜡切片, 直至 9 月中旬。

芽体材料用 FAA 固定液 (福尔马林 5 mL, 冰醋酸 6 mL, 50% 酒精 89 mL, 再加入 5 mL 甘油, 放置 24 h, 备用) 固定 24 h 以上。石蜡切片制作方法参照李正理和张新英 (1996) 的方法。Nikon 90i 生物显微镜下观察并拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 核桃早实特性观察结果

从 2003 年杂种苗播种当年开始对其结实情况进行了调查。结果显示, 以早实类型核桃为亲本的

杂交组合和早实材料自然授粉的 2 648株实生单株中, 有 0. 15%的实生苗播种当年开花, 有 5. 85%的实生苗第 2年开花, 有 14. 31%的实生苗第 3年开花, 累计 3年早实率为 20. 34%。各杂交组合中实生苗的早实率差别较大, 最高为 44. 59%, 最低为 10. 35%。294株晚实核桃实生苗无早实现象, 具体结果见表 1。早实杂种单株 2年生结实情况如图版 , A所示。

表 1 核桃杂交实生苗结实和花器官变异类型观察结果

Table 1 Results of precocious and variant flower of walnut seedlings

杂交组合 Hybridized combination	株数 Number of seedlings	开花单株数 Number of flowering seedlings			早实率 / % Precocious plants	花器官变异单株数 Seedlings with variant flower
		2003	2004	2005		
香玲 ×新 1号 Xingling ×Xin 1	362	0	18	38	15. 47	1
新 1号 ×香玲 Xin 1 ×Xiangling	277	1	12	33	16. 61	4
香玲 ×新 3号 Xiangling ×Xin 3	338	0	10	25	10. 35	1
新 3号 ×香玲 Xin 3 ×Xiangling	217	0	14	47	28. 11	1
鲁光 ×新 1号 Luguang ×Xin 1	234	0	36	40	32. 48	3
鲁光 ×新 3号 Luguang ×Xin 3	347	0	15	42	16. 43	0
丰辉 ×新 1号 Fenghui ×Xin 1	130	0	4	33	28. 46	1
丰辉 ×新 3号 Fenghui ×Xin 3	215	0	11	28	18. 14	0
元林 ×青林 Yuanlin ×Qinglin	157	2	19	49	44. 59	0
香玲 ×T25号 Xiangling ×T25	248	1	12	34	18. 95	1
新 1号自然授粉 Open pollination of Xin 1	123	0	4	10	11. 38	0
青林自然授粉 Open pollination of Qinglin	158	0	0	0	0	0
T25自然授粉 Open pollination of T25	136	0	0	0	0	0
合计 Total	2 942	4	155	379		12

## 2.2 核桃花器官变异类型观察结果

2004年观察供试材料开花习性时发现早实核桃杂种苗二次生长枝上花器官变异的现象, 在 538株中共有 12个单株具花器官变异, 且以新 1号作为亲本的杂交组合为多。这些变异类型可以归纳为以下 6类。

两性花类型: 在同一个花芽上同时出现萼片、雄蕊和雌蕊, 无花瓣 (图版 , B)。

穗状花类型: 雌花穗状着生于伸长的花轴上 (图版 , C)。

穗状花具分枝类型: 穗状花序出现分枝, 花芽着生其上 (图版 , D)。

穗状花雌雄同序类型: 在伸长的穗状花序上同时着生雌花和雄花 (图版 , E)。

柱头变异类型: 雌蕊柱头具 3裂 (图版 , B、E)。

雌花序莲座状类型: 雌花莲座状轮生于一个花托组织上 (图版 , F)。

核桃花器官变异伴随着二次生长和二次开花出现。

## 2.3 花器官变异类型特性的观察结果

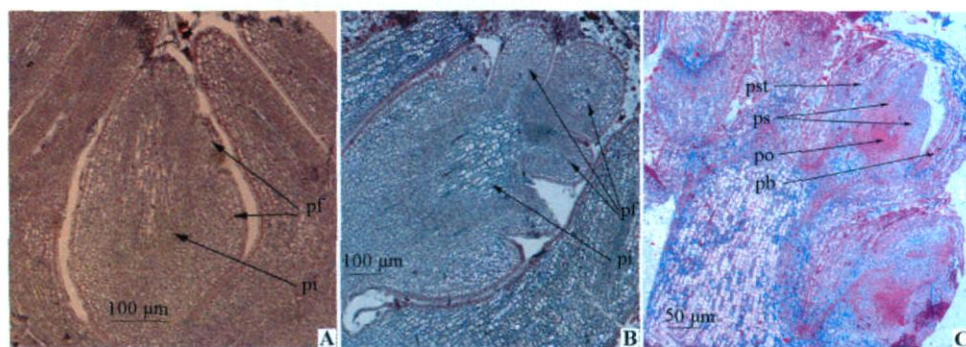
2005—2008年, 对 12个花器官变异类型单株定点观察发现, 有 11个单株春季花芽开放都为正常花, 这些单株虽然保持着二次生长和二次开花的习性, 但花器官变异消失。仅有新 1号 ×香玲杂交得到的 4个花器官变异单株中的 1个单株 (编号为 C3) 变异现象持续存在, 其春季第一次开花均为正常花, 但在二次花上依然保留着雌雄同花变异特性 (图版 , D)。而且这种特性在 2004—2008年每年都稳定出现, 二次花上的两性花还能结果, 平均单果质量 3. 5 g。

观察中还发现, 2008年 5月中旬在香玲的徒长枝顶端抽生了穗状二次花, 其上着生两性花, 但未能坐果 (图版 , G~H)。



图版 I 说明: A. 2 年生苗结果状两性花; B. 两性花变异; C. 穗状雌花序; D. 穗状雌花序具分枝; E. 穗状花序雌雄同序; F. 莲座状雌花; G. 2008 年香玲徒长枝抽生的穗状花序; H. 2008 年香玲徒长枝穗状花序两性花; I. 2008 年 C3 号单株穗状两性花变异的结果状。

**Explanation of plate I :** A. Seedling fruits in two-year-old; B. Hermaphrodism; C. Spike inflorescences; D. Branch spike inflorescences; E. Male and female flowers in one spike inflorescence; F. Rosette female inflorescences; G. Spike inflorescence in adventitious shoot of Xiangling; H. Hermaphrodism of Xiangling; I. Fruiting of C3 cross seedlings at hermaphrodism inflorescence in 2008.



图版 II 说明: A. 穗状花序原基出现期; B. 穗状花序原基出现期; C. 穗状花序两性花成熟期。pi. 花序原基; pf. 花原基 pst. 雄蕊原基; ps. 雌蕊原基; po. 子房原基; pb. 花被原基。

**Explanation of plate II :** A. Primordial of spike inflorescence appearance; B. Primordial of flower appearance; C. Formation of hermaphrodism. pi. primordial of inflorescence; pf. primordial of flower; pst. primordial of stamen; ps. primordial of stigma; po. primordial of ovary; pb. primordial of bract.

## 2.4 核桃花器官变异类型的发育特点

对稳定花器官变异单株 C3号两性花变异的发育进程通过石蜡切片观察表明, 在 5月上旬二次枝抽生的同时, 二次枝的侧芽首先分化出穗状花序原基, 接着在花序原基上分化出花原基, 单花分化从外到内依次分化出花被、雄蕊和雌蕊, 花器官发育成熟, 并在当季开放 (图版 , A ~C)。

## 3 讨论

普通核桃从幼年期向性成熟期转换的时间较长, 一般七、八年才开花, 而早实类型核桃播种当年或第二年就能开花结实。本研究杂交试验的结果表明, 早实核桃开始结果的年龄是连续的, 播种当年有 0.15%的实生苗开花, 有 5.85%的实生苗第 2年开花, 有 14.31%的实生苗第 3年开花, 3年累计早实率为 20.34%。但早实类型和晚实类型杂交及晚实类型和早实类型杂交后代中出现早实类型单株的比例没有典型的孟德尔分离比例 (表 1), 这些结果与奚声珂 (1987) 研究的结果相一致。

在伴随二次生长所开的二次花上, 早实类群核桃雌花存在着两性花类型、穗状花类型、穗状花具分枝类型、穗状花雌雄同序类型、柱头变异类型和雌花序莲座状类型 6类花器官变异类型 (图版 , B ~F), 花器官变异株率约为 2.23% (表 1)。除了两性花变异类型能稳定表现外, 其它变异类型后来消失, 一些栽培品种如香玲的徒长枝上形成的二次花也有花器官的变异出现。这说明核桃花器官变异与环境 and 植株本身的发育状况有关。模式生物花发育研究结果也表明在成花诱导和花分生组织决定过程中都要受到环境因子的调节 (Boss et al, 2004)。核桃早实类型变异起源于中亚和我国新疆地区, 这一地区降雨少, 蒸发量大, 气候极端干燥, 但地下水较丰富, 光照充足, 特别是生长期日照长, 气温高, 昼夜温差大。这些气候条件是形成核桃早实特性的重要生态学基础 (张新时, 1973; 谷瑞升和郝荣庭, 1991; Germain et al, 1997; Atefi, 2001)。

核桃两性花变异的发育进程属于向心式: 花序原基—花原基—花被原基—雄蕊原基—雌蕊原基—子房原基。根据花器官发育的 ABCDE模型, A类基因和 E类基因共同决定萼片的发育, A类基因和 B类基因连同 E类基因决定花瓣的发育, B类基因和 C类基因连同 E类基因决定雄蕊的发育, C类基因和 E类基因决定雌蕊的发育, 而心皮的发育经由 D类基因和 E类基因决定, A类基因和 C类基因互相拮抗 (Krizek et al, 2005)。裸子植物和玉米等同株异花植物花器官决定基因的研究结果表明, B类基因和 C类基因与性器官的分化有关。在玉米 (*Zea mays*) 中业已分离了 *silky1* (*sil*) 和拟南芥 *AP3* (*APETALA 3*) 基因同源 (B类基因), *zag1* 和拟南芥 *AG* (*AGAMOUS*) 基因同源 (C类基因) (Theissen et al, 2007; Bortiri et al, 2007)。Bretón等 (2004) 在核桃两性花材料中分离了得到了核桃的 *jaP3* 和 *AG* 基因, Northern杂交显示 *jaAG* 和 *jaP3* 都能在花器中表达。这 2个基因和拟南芥 *AG* 和 *AP3* 同源, 核桃两性花变异也可能与 B、C两类基因的表达和调控有关。合适的花器官突变体是分离鉴定基因和研究基因调控的基础, 核桃早实特性及其花器官变异类型的发现和观察研究, 为进一步的工作奠定了基础。

## References

- Atefi J. 2001. Comparison of some promising Iranian walnut clones and foreign varieties. *Acta Horticulturae*, 544: 51 - 59.
- Bretón C, Comu D, Dominique D, Sauvanet A, Capelli I, Jay-Allemand. 2004. Somatic embryogenesis, micropropagation and plant regeneration of "Early Mature" walnut trees (*Juglans regia*) that flower in vitro. *Tree Physiology*, 24: 425 - 435.
- Bortiri E, and Hake S, 2007. Flowering and determinacy in maize. *Journal of Experimental Botany*, 58 (5): 909 - 916.
- Boss P K, Bastow R M, Mylne J S, Dean C. 2004. Multiple pathways in the decision to flower: Enabling, promoting, and resetting. *The Plant Cell* (Supplement), 16: 18 - 31.
- Germain E, Delort F, Kanivets V. 1997. Precocious maturing walnut populations originating from central Asia: their behaviour in France. *Acta Horticulturae*, 442: 83 - 89.



- Gu Rui-sheng, Xi Rong-ting 1991. Early cropping character of walnut (*J. regia* L.). Acta Hebei Agricultural University, 14 (1): 100 - 103. (in Chinese)
- 谷瑞升, 郗荣庭. 1991. 核桃早实特性的研究现状. 河北农业大学学报, 14 (1): 100 - 103.
- Krizek B A, Jennifer C F. 2005. Molecular mechanisms of flower development: An amchair guide. Nature Reviews Genetics, 6: 688 - 698.
- Li Zheng-li, Zhang Xin-ying 1996. Methodologies of plant tissues slice. Beijing: Beijing University Press: 130 - 145. (in Chinese)
- 李正理, 张新英. 1996. 植物组织制片学. 北京: 北京大学出版社: 130 - 145.
- Liu Qing-zhong, Zhang Li-si 2006. Descriptors and data standard for walnut (*Juglans regia* L.). Beijing: China Agriculture Press: 47 - 56. (in Chinese)
- 刘庆忠, 张力思. 2006. 核桃种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国农业出版社: 47 - 56.
- Theissen G, Melzer R. 2007. Molecular mechanisms underlying origin and diversification of the angiosperm flower. Annals of Botany, 100: 603 - 619.
- Wang Guo-an, Ai Li, Hu Hai-fang 2004. The second fruit of walnut is new material for breeding. Northern Fruit, 1: 13 - 14. (in Chinese)
- 王国安, 艾力, 虎海防. 2004. 核桃二次果是遗传育种的新型试材. 北方果树, 1: 13 - 14.
- Xi Sheng-ke 1987. Gemplasm of *Juglans* L. and breeding of *Juglans regia* L. in our country. Scientia Silvae Sinica, 23 (3): 342 - 349. (in Chinese)
- 奚声珂. 1987. 我国核桃属 (*Juglans* L.) 种质资源与核桃 (*Juglans regia* L.) 育种. 林业科学, 23 (3): 342 - 349.
- Yang Wen-heng, Zhang Jian-guang 1983. Advances in walnut research during the latest twenty-odd years (1960 - 1982). Acta Hebei Agricultural University, 6 (1): 1 - 13. (in Chinese)
- 杨文衡, 张建光. 1983. 廿年来核桃科研的进展. 河北农业大学学报, 6 (1): 1 - 13.
- Zhang Xin-shi 1973. On the eco-geographical characters and the problems of classification of the wild fruit-tree forest in the Ili valley of Sinkiang. Journal of Integrative Plant Biology, 15 (2) 239 - 252. (in Chinese)
- 张新时. 1973. 新疆野果林的生态地理特征和群落学问题. 植物学报, 15 (2): 239 - 252.

## 《园艺学报》最新被引频次和影响因子

据中国科学技术信息研究所 2008 年 10 月统计,《园艺学报》总被引频次为 4213, 影响因子为 1.323。他引率 0.917, 引用期刊数 405。

## 欢迎订阅 《园艺学报》

《园艺学报》是中国园艺学会主办的学术期刊,创刊于 1962 年,刊载有关果树、蔬菜、观赏植物、茶及药用植物等方面的学术论文、研究简报、专题文献综述、问题与讨论、新技术新品种以及园艺研究动态与信息,适合园艺科研人员、大专院校师生及农业技术推广部门专业技术人员阅读参考。

《园艺学报》是中国科技核心期刊,被中国科学引文数据库 Chinese Science Citation Database 等多家重要数据库收录,2005 年荣获第三届全国期刊奖,2006—2008 年连续 3 年获中国科协精品科技期刊工程项目 (B 类) 资助。2008 年度报告《园艺学报》总被引频次 4213 次,影响因子 1.323。

《园艺学报》为月刊,每月 25 日出版。每期定价 15.00 元,全年 180.00 元。国内外公开发行,全国各地邮局办理订阅,国内邮发代号 82 - 471,国外发行由中国国际图书贸易总公司承办,代号 M448。漏订者可直接寄款至本编辑部订购。

编辑部地址:北京市海淀区中关村南大街 12 号 中国农业科学院蔬菜花卉研究所《园艺学报》编辑部。

邮政编码:100081; 电话: (010) 82109523. E-mail: [yuanyixuebao@126.com](mailto:yuanyixuebao@126.com); 网址: <http://www.ahs.ac.cn>