

文章编号:1001-1498(2012)02-0236-05

西藏核桃叶片和坚果表型多样性及其相关关系研究

王金星^{1,3}, 潘刚², 王滑¹, 马和平², 赖家业³, 裴东^{1*}

(1. 林木遗传育种国家重点实验室, 中国林业科学研究院林业研究所, 北京 100091; 2. 西藏农牧学院, 西藏 林芝 850400;
3. 广西大学林学院, 广西 南宁 530004)

关键词: 西藏核桃; 叶片; 果实; 表型多样性; 相关性

中图分类号: S664.1

文献标识码: A

The Phenotypic Polymorphism of Walnut Leaves and Nuts and Their Correlations in Tibet

WANG Jin-xing^{1,3}, PAN Gang², WANG Hua¹, MA He-ping², LAI Jia-ye³, PEI Dong¹

(1. State Key Laboratory of Tree Genetics and Breeding, Research Institute of Forestry, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China;

2. Tibet Agricultural and Animal Husbandry College, Linzhi 850400, Tibet, China;

3. College of Forestry, Guangxi University, Nanning 530004, Guangxi, China)

Abstract: Based on pre-census survey, 36 representative walnut seedlings were selected to analyze the top leaf's five morphological traits and nut's eight morphological traits. The results showed: (1) In Tibet, the traits of nuts and leaves of walnuts changed in a large range, the ratio of the maximum and minimum values of the traits could be as high as 3.06, showing the leaf traits and nut traits with certain diversity. (2) The variation coefficients of leaf area, suture line height, husk thickness and nut weight were about 20%, the genetic diversity and these traits had greater selectivity in breeding, the variation coefficients of the indexes of leaf shape, nut length, nut height and the indexes of nut shape did not reach 10%, these traits kept stable. (3) There was a significantly positive correlation between leaf area and nut weight and suture line height, the correlation coefficients were 0.505 and 0.440, which noted that the larger the leaf area, the greater the height and the larger the suture, there was a significant positive correlation between leaf width and nut weight, the correlation coefficient was 0.561.

Key words: Tibet walnut; leaf; nut; phenotypic diversity; correlation

我国西藏地区地处青藏高原的核心区域,区内山系纵横交错,海拔落差大,形成许多独特的区域小气候特征^[1],为中国核桃(*Juglans regia* L.)的主产区之一。这里核桃遗传资源丰富,包含了实生农家类型以及天然居群等不同类型的群体,另外,西藏的核桃一直以实生繁殖为主^[2],在此过程中保留了大量丰富多样的遗传资源,这些类型是天然核桃种的“基因库”和演化进程的记录。植物学的形态性状

是植物相对稳定的遗传性状,广泛应用于植物分类,通过形态性状这一遗传上较为稳定的性状研究表型多样性,可以较好地揭示植物的遗传规律。西藏核桃历史悠久,但对西藏核桃表型性状的研究报道较少,在1973—1976年,中国科学院综考队曾对西藏核桃资源进行过调查,但是由于调查的时间仓促和地点的局限,仅是根据核桃坚果的特点进行了初步的划分,但未对核桃的形态性状、果实特征等指标进

收稿日期: 2010-12-24

基金项目: 林业公益性行业科研专项“核桃集约及可持续生产关键技术研究”(201004048)

作者简介: 王金星(1983—),男,在读硕士生。

* 通讯作者: 裴东(1964—),女,博士,研究员,博士生导师,主要从事植物生物技术的研究。E-mail: peigu@caf.ac.cn

行调查。段盛焯^[3]对西藏核桃资源进行了调查后提出西藏核桃可分为野生天然居群、过渡类型和栽培类型三种。至今未见关于西藏核桃优良的实生类型果实和叶片表型性状系统的调查研究。本研究利用数字图像分析技术^[4],以西藏核桃优良的实生类型为试材,对其叶、果的表型性状的多样性开展了详细研究,对于叶片和坚果表型性状的相关性进行了分析,以期深入认识西藏核桃实生类型的遗传资源,发现叶果性状之间的相互关系和遗传规律,为资源保护、育种的亲本选择和优良性状的早期鉴定提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在前期普查调研的基础上,依据地理生态环境(表1)的不同,于2009年10月中旬分别在西藏的米林、朗县、加查共采集了36个核桃实生单株(其中,米林10株,朗县14株,加查12株)。按随机取样的原则,参考UPOV核桃新品种测试指南中叶片和果实的形状测试方法,采集树冠外围正常发育的新梢中部完整的顶叶,每株树各取30片叶^[5],选择每株树东、南、西、北4个方向树冠中部的结果枝,在每株树上均随机采30个果实,树龄都在50年以上,将采集的叶和坚果分别标号、包装带回实验室。坚果去青皮、刷净,放至干燥通风处经自然风干3个月以上,至其恒质量。

表1 3个采样地点及气候条件

地点	海拔 /m	经度 (E)	纬度 (N)	年降水量 /mm	年平均气温 /℃
林芝米林	3 700	92°11'42.1"	29°13'23.2"	600.0	8.2
林芝朗县	3 200	92°51'26.2"	29°04'54.1"	600.0	11.2
山南加查	3 200	94°44'12.8"	29°04'36.4"	492.7	8.9

1.2 研究方法

1.2.1 果实表型性状测定

1.2.1.1 横径、纵径、侧径、缝合线高度、硬壳厚度的测定 用直尺测坚果的横径、纵径、侧径。将果底

朝下放置核桃,测量与核桃坚果壳的胴部处于同一水平面处的缝合线,用游标卡尺测其高度,记为缝合线高度。取核桃坚果壳的胴部,用螺旋测微尺测其厚度,为硬壳厚度。精密度0.01 mm,每株树测量30个果。

1.2.1.2 果质量的测定 用天平称量坚果质量,称量精度0.01 g,每株树测量30个果。

1.2.1.3 果形指数、出仁率的计算 果形指数 = 纵径/横径,出仁率 = 仁质量/坚果质量

1.2.2 叶表型性状测定

1.2.2.1 图像的获取 图像获取设备采用了Epson4990型平面扫描仪,将叶片表面泥土等杂物清除,再用压叶板将表面干净的叶片样品平展,将其平行于右侧刻度标尺放置扫描仪右上方,采用白色扫描背景以获得待测样品的最佳效果。

1.2.2.2 图像的分析 采用WinFolia软件(加拿大Regent Instrument公司)进行图像分析,分析模式为Leaf Morphology,刻度单位为cm,精确至0.01,定义宽长比为其叶型指数^[6]。

1.2.3 数据的分析 数据分析和制图采用Excel2003和SPSS13.0统计软件分析。

2 结果与分析

2.1 叶片的表型多样性

表2显示:叶长的变幅为12.91~22.26 cm,均值为18.67 cm,变异系数为11.8%;顶叶宽度的变幅为6.88~11.68 cm,均值为9.64 cm,变异系数为13.5%;叶周长的变幅为39.48~60.84 cm,均值为49.96 cm,变异系数为12.2%;叶面积的变幅为66.48~174.65 cm²,均值为126.85 cm²,变异系数为23.1%;叶型指数的变幅从0.41~0.60,均值为0.52,变异系数为9.6%。从以上数据来看,西藏核桃实生类型叶片表型性状变幅相对较大,从变异程度和变异范围分析来看,不同叶片表型性状在变异过程中形成了相对稳定的特征,存在特征值。

表2 叶片数量性状基本统计分析

性状	最小值	最大值	均值	极差	标准差	变异系数/%
叶长(LL)/cm	12.91	22.26	18.67	9.35	2.19	11.8
叶宽(LW)/cm	6.88	11.68	9.64	4.80	1.31	13.5
叶周长(LP)/cm	39.48	60.84	49.96	21.36	6.08	12.2
叶面积(LA)/cm ²	66.46	174.65	126.85	108.19	29.36	23.1
叶型指数(ILS)	0.41	0.60	0.52	0.19	0.05	9.6

2.2 果实的表型多样性

表3显示:西藏核桃实生类型坚果表型性状存在的类型较为丰富,其中坚果的三径中的纵径最长,变幅为29.38~43.96 mm;纵径和横径的平均值分别为36.88、32.61 mm,变异系数分别为10.8%、9.1%,说明西藏核桃坚果大小多处于中等水平;缝合线高度平均为4.98 mm,变幅为2.57~7.86 mm,

变异系数为19.8%;硬壳厚度平均为1.46 mm,变幅为0.89~2.28,变异系数为23.2%;单果质量平均为13.08 g,变幅也较大,从单果质量仅有6.87 g的珍珠核桃到单果质量为19.97 g大核桃,变异系数为23.5%;果形指数平均为1.135,变幅为0.95~1.33,变异系数为8.8%;出仁率平均为45%,变幅为35%~55%,变异系数为11%。

表3 核桃坚果数量性状基本统计分析

性状	最小值	最大值	平均值	极差	标准差	变异系数/%
纵径(NL)/mm	29.38	43.96	36.88	14.58	3.99	10.8
横径(NWi)/mm	25.05	37.35	32.61	12.30	2.97	9.1
侧径(NH)/mm	25.82	38.55	32.39	12.73	3.11	9.6
缝合线高度(SLH)/mm	2.57	7.86	4.98	5.29	0.99	19.8
硬壳厚(HT)/mm	0.89	2.28	1.46	1.39	0.34	23.2
单果质量(NW)/g	6.87	19.97	13.08	13.10	3.08	23.5
果形指数(INS)	0.95	1.33	1.135	0.38	0.10	8.8
出仁率(KR)/%	35	55	45	20	5	11

2.3 叶、果间表型性状的相关性分析

对叶片的5个表型性状和坚果的8个表型性状的相关性进行了分析,相关系数进行了显著性检验,结果(表4)表明:(1)叶片宽度与坚果质量达到了极显著正相关,其相关系数为0.561,与果实的纵径、横径、侧径、缝合线高、硬壳厚均显著正相关,说明叶片越宽则坚果质量越大、三径值越大、缝合线越高、硬壳越厚。因此,在核桃育种中,可以根据顶叶宽来预测果实的三径、坚果质量、缝合线高、硬壳厚。(2)顶叶面积与坚果质量和缝合线高度极显著正相关,其相关系数分别为0.505和0.440,与三径、硬壳厚显著正相关,说明顶叶面积越大则三径值越大、缝

合线越高、硬壳越厚、坚果越重。因此,在核桃育种中,可利用顶叶面积来预测果实的三径、坚果质量、缝合线高度、硬壳厚。(3)核桃顶叶周长与坚果质量和缝合线高度具有显著的正相关性,说明叶周长越长则坚果越重、缝合线越高。因此,在核桃实生预选中,可以利用顶叶周长对坚果质量和缝合线高度进行选择 and 鉴定。(4)顶叶长与缝合线高度显著正相关,说明顶叶越长则缝合线越高,因此在核桃预选中可利用叶长度预测果实的缝合线高度。(5)叶型指数与坚果横径、侧径、坚果质量达到了显著的相关性,说明宽长比越大则坚果横径、侧径和坚果质量越大。

表4 西藏核桃实生类型叶片与坚果性状间的相关分析

性状	纵径(NL)	横径(NWi)	侧径(NH)	坚果质量(NW)	缝合线高度(SLH)	硬壳厚(HT)	出仁率(KR)	果形指数(INS)
叶周长(LP)	0.272	0.310	0.310	0.389*	0.468*	0.322	-0.209	0.019
叶长(LL)	0.221	0.217	0.187	0.282	0.397*	0.316	-0.175	0.053
叶宽(LW)	0.404*	0.470*	0.473*	0.561**	0.403*	0.374*	-0.309	-0.07
叶面积(LA)	0.364*	0.412*	0.409*	0.505**	0.440**	0.377*	-0.295	0.010
叶型指数(ILS)	0.282	0.354*	0.397*	0.413*	0.075	0.130	-0.213	-0.050

注:*0.05显著水平,**0.01显著水平。

2.4 叶、果间表型性状的回归分析

根据所有性状的各种统计量,用spss13.0软件依次对叶宽、叶面积与纵径,叶宽、叶面积、叶型指数与横径,叶宽、叶面积、叶型指数与侧径,叶宽、叶面

积、叶周长、叶长与缝合线高度,叶宽、叶面积与硬壳厚,叶宽、叶面积、叶型指数、叶周长与坚果质量进行回归分析,所得结果见表5。

从表5中坚果与叶的直线回归关系式明显看

出:在西藏核桃36个品系间顶叶大小的数量性状指标(长、宽、周长、面积)越高的品系,坚果大小的数量指标(三径、壳厚、坚果质量、缝合线高)也越高,坚果的纵径、硬壳厚随其顶叶宽度和叶面积的增大而增加,横径和侧径随着叶宽、叶面积、叶型指数的

增大而增大,坚果质量随着叶宽、面积、叶型指数、周长的增加而增大,缝合线高随着叶宽、叶长、叶周长、叶面积的增大而增加。叶形态性状与其相对应的坚果形态性状呈正比关系,即叶形态性状数值越大其相应的果形态性状数值也越高。

表5 西藏核桃实生类型叶片与坚果性状间的回归分析

性状	叶宽(LW)	叶面积(LA)	叶型指数(ILS)	叶周长(LP)	叶长(LL)
纵径(NL)	$Y_{NL} = 1.23X_{LW} + 24.98$	$Y_{NL} = 0.05X_{LA} + 30.61$			
横径(NW)	$Y_{NW} = 1.07X_{LW} + 22.29$	$Y_{NW} = 0.04X_{LA} + 27.32$	$Y_{NW} = 20.49X_{ILS} + 22.0$		
侧径(NH)	$Y_{NH} = 1.13X_{LW} + 21.52$	$Y_{NH} = 0.043X_{LA} + 26.895$	$Y_{NH} = 23.97X_{ILS} + 19.97$		
缝合线高度(SLH)	$Y_{SLH} = 0.30X_{LW} + 2.04$	$Y_{SLH} = 0.015X_{LA} + 3.10$		$Y_{SLH} = 0.08X_{LP} + 1.18$	$Y_{SLH} = 0.18X_{LL} + 1.64$
硬壳厚(HT)	$Y_{HT} = 0.10X_{LW} + 0.53$	$Y_{HT} = 0.004X_{LA} + 0.91$			
坚果质量(NW)	$Y_{NW} = 1.32X_{LW} + 0.33$	$Y_{NW} = 0.05X_{LA} + 6.37$	$Y_{NW} = 24.72X_{ILS} + 0.28$	$Y_{NW} = 0.20X_{LP} + 3.25$	

3 讨论

3.1 西藏核桃的表型多样性

表型变异是基因的遗传变异与环境相互作用的结果,形态或表型特征变异能反映出基因型、群体或生态型的变异^[7],从表型性状上来检测遗传变异是简便易行的方法,很早就被国内外学者广泛应用^[8-11]。在长期进化过程中,西藏核桃表型性状发生了一定程度的变异,叶片变异程度依次为叶面积 > 叶宽 > 叶周长 > 叶长 > 叶型指数,叶型指数形态性状的变异系数均小于10%,形成了相对固定的特征值,是稳定的植物学性状,而面积的变异系数达到了23.1%,遗传多样性丰富,进一步选择的潜力很大^[12-13]。坚果的表型性状变异程度依次为:单果质量 > 硬壳厚 > 缝合线高 > 出仁率 > 纵径 > 侧径 > 横径 > 果形指数,果实横径、侧径等形态性状的变异系数均低于10%,是相对稳定的植物学性状,而平均单果质量、仁质量与硬壳厚等性状的变异系数均高于20%,遗传多样性相对丰富,进一步选择的潜力很大。

8个数量性状中变异程度最高的是坚果质量,变异系数为23.5%,其次为果壳厚度,变异系数为23.2%,变异系数最低的是果形指数,变异系数为8.8%。很多性状如:单果质量、硬壳厚、缝合线高都表现出较大的变异幅度,其中缝合线高的最大值为7.86 mm,是最小值的3.06倍,单果质量的最大值为19.97 g,是最小值的2.9倍,同其他的研究结果^[14]相比,西藏核桃坚果的遗传多样性还是比较丰富的。

3.2 西藏核桃叶与果表型性状的关系

西藏核桃顶叶叶片、坚果的一些性状间表现出

显著或极显著的相关性,并且这些相关结果在其他研究中也得到了证实,金峰学等^[15]认为,黑糯玉米杂交种叶面积与单株产量呈极显著正相关;李宏等^[16]对元宝枫叶片和果实性状的相关性进行了分析,发现叶性状中叶长、叶宽、叶鲜质量、叶干质量与果实的长、宽、千粒质量呈显著正相关,以叶宽和果实千粒鲜质量相关系数最高;王冬梅等^[17]对苹果杂种实生树的叶片和果实的部分性状进行了调查分析,表明果实横径与叶片长度、宽度、面积、体积和质量均极显著正相关,果实质量与叶片长度、面积、体积质量极显著正相关。由此可见,一些性状的相关性相对稳定,在种内均具有较好的一致性,这意味着这些器官的性状可能分属相同的连锁基因群,同一连锁群基因所控制的表型性状表现出相关关系。

3.3 核桃表型性状相关性分析应用前景

植物的基因资源是育种的根本,丰富的基因资源是保证育种工作开展的先决条件^[18]。核桃在西藏分布范围广袤,栽培历史悠久,加之茶马古道促进了地域贸易的往来,丰富了西藏核桃的种质资源。另外,由于长期的实生繁殖,形成了性状繁多和类型多样的实生单株。因此,不仅可以通过直接选育优良实生品种栽培利用,而且为核桃杂交育种提供了丰富的种质资源。核桃的营养期一般在6年左右,晚实核桃的营养生长期更长,有些植株到10年还不能结果,由于核桃只有在结果后才能根据果实性状优选或淘汰,耗费了育种人大量的时间和精力,如果能根据幼苗期的性状进行预先选择,就能够加速育种进程,提高育种效果,运用本研究提出回归方程提前预测出核桃坚果大小(如三径,质量)和果壳的厚薄,进行选择,尽早淘汰小果、壳厚的类型,以达到节

省人力和缩短育种年限的目的。考虑到表型特征受环境条件的影响,杂交后代表型特征的复杂性及部分表型性状可能还需经过多个世代的稳定等问题,还需对核桃叶片与坚果的相关性作进一步探讨。

参考文献:

- [1] 孙继林,杨帆,左林. 西藏林芝地区生物资源的特点及价值[J]. 中南林业调查规划,2003,22(1):59-61
- [2] Wang H, Pei D, Gu R S, et al. Genetic diversity and structure of walnut populations in central and southwestern china revealed by microsatellite markers[J]. J Am Soc Hort Sci, 2008,133(2):197-203
- [3] 段盛焱,宗学普,段玉春. 核桃原产西藏初探[J]. 园艺学报,1984,11(4):231-236
- [4] 周静. 月季品种图像分析与 SSR 标记测试技术[D]. 北京:中国林业科学研究院,2009
- [5] Zenelia G., Kolab H, Dida M. Phenotypic variation in native walnut populations of Northern Albania[J]. Scientia Horticulturae, 2005, 105: 91-100
- [6] 吴万波,朱益川,韩华柏,等. 油橄榄不同品种叶片表型性状浅析[J]. 经济林研究,2005,23(1):60-61
- [7] 马玉敏. 泰山板栗良种选育及高效优质栽培技术研究[D]. 泰安:山东农业大学,2004
- [8] 王洪新,胡志昂,钟敏,等. 毛乌素沙地锦鸡儿种群形态变异[J]. 生态学报,1994,14(4):366-370
- [9] 葛颂,洪德元. 泡沙参复合体(桔梗科)的物种生物学研究[J]. 植物分类学报,1994,32(6):489-503
- [10] Hsiao C, Wang R C, Dewey D R. Karyotype analysis and genome relationships of 22 diploid species in the tribe Triticeae Can[J]. 1986,28:109-120
- [11] Kellogg E A. Variation and names in the *Poa secunda* complex[J]. J Range Management,1985,38(6):516-521
- [12] Chen X S, Feng T, Zhang Y M, et al. Genetic diversity in *Malus sieversii*(Lebed.) Roem. III. Genetic diversity of volatile components in *M. sieversii*[J]. Acta. Genetica Sinica,2007,34(2):171-179
- [13] Zhang C Y, Chen X S, He T M. Genetic structure of *Malus sievesii* population from Xinjiang, China, revealed by SSR markers[J]. J Genet Genomics,2007,34(10):947-955
- [14] 齐静. 中国主栽区核桃坚果品质研究[M]. 保定:河北农业大学,2009:7-11
- [15] 金峰学,李艳茹. 黑糯玉米杂交种、亲本自交系果穗三叶性状的相关性分析[J]. 延边大学农学学报,2002,24(3):178-182
- [16] 李宏,程洪涛,吴学靖,等. 元宝枫叶片与果实性状相关性分析[J]. 西南林学院学报,2008,28(2):10-12
- [17] 王东梅,伊凯,柳枝,等. 苹果杂种叶片与果实相关性的研究[J]. 北方果树,2004(增刊):72-73
- [18] 简尼克. 果树育种方法[M]. 北京:中国林业出版社,1997