

# GA<sub>3</sub> 和 6-BA 对核桃果壳发育的影响

赵书岗<sup>1</sup>, 刘 凯<sup>2</sup>, 文 菁<sup>2</sup>, 王红霞<sup>3,\*</sup>, 张志华<sup>3,\*</sup>, 滑 磊<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>河北农业大学生命科学学院, 河北保定 071001; <sup>2</sup>河北农业大学园艺学院, 河北保定 071001; <sup>3</sup>河北农业大学山区研究所, 河北保定 071001; <sup>4</sup>河北省英烈纪念馆, 石家庄 050000)

**摘 要:** 核桃 (*Juglans regia*) 薄壳品种的裂果和露仁问题影响坚果及种仁的品质。为了研究果壳发育与植物激素的关系, 为调控果壳发育提供理论依据, 以‘赞美’(厚壳类型)和‘辽核 2 号’(薄壳类型)核桃为试材, 通过 Wiesner 染色法研究其果壳的发育过程, 对硬核关键时期的 IAA、GA、ZR 和 ABA 含量进行了测定; 以‘清香’(中等壳厚类型)核桃为试材, 用不同浓度 6-BA、GA<sub>3</sub> 以及 GA 合成抑制剂多效唑 (PAC) 处理幼果, 对成熟果实果壳外观形态、内部结构和组分进行了观察分析。结果表明: ‘赞美’和‘辽核 2 号’坚果硬壳发育分别始于花后 45 和 51 d, 花后 60 d 坚果果壳均初步成型, 此后果壳内木质素逐渐沉积。硬核期内果皮的 GA、IAA、ZR 含量整体呈下降趋势, ABA 含量呈先降后升趋势。50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理‘清香’幼果后, 其果壳石细胞层和纤维化细胞层厚度增大, 硬壳变厚, 缝合线紧密度增强, 100 mg · L<sup>-1</sup> PAC 处理使石细胞层、厚壁化细胞层和纤维化细胞层均减小, 木质素和酚类物质含量下降, 硬壳变薄, 缝合线紧密度下降; 100 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 处理后坚果纵径、横径和棱径均显著变小, 但果壳结构并未改变。综上, ‘辽核 2 号’坚果果壳发育晚于‘赞美’, 50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理‘清香’后果壳(石细胞层)增厚, 而 100 mg · L<sup>-1</sup> PAC 抑制果壳(石细胞层、厚壁化细胞层和纤维化细胞层)增厚, 说明 GA 参与了果壳发育的调控过程; 100 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 处理后坚果变小但果壳结构无显著变化。

**关键词:** 核桃; 果壳; 植物激素; 木质素

**中图分类号:** S 664.1

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2019) 11-2119-10

## Effect of GA<sub>3</sub> and 6-BA on the Development of Walnut Shell

ZHAO Shugang<sup>1</sup>, LIU Kai<sup>2</sup>, WEN Jing<sup>2</sup>, WANG Hongxia<sup>3,\*</sup>, ZHANG Zhihua<sup>3,\*</sup>, and HUA Lei<sup>4</sup>

(<sup>1</sup>College of Life Sciences, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001; <sup>2</sup>College of Horticulture, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001; <sup>3</sup>Mountainous Area Research Institute, Agricultural University of Hebei, Baoding, Hebei 071001, China; <sup>4</sup>Memorial Garden for Heroes and Martyrs, Shijiazhuang 050000, China)

**Abstract:** The dehiscent nut and incomplete hulls of thin-shelled walnut (*Juglans regia*) seriously influenced the quality of nuts and kernels. In order to explore the relationship between the development of nut shell and phytohormones, and to provide a theoretical basis for regulating the nut shell development. In this study, ‘Zanmei’ (thick-shell cultivar) and ‘Liaohe 2’ (thin-shell cultivar) walnut as material, the development of thin-shell and thick-shell nut shell was studied by Wiesner reaction. IAA, GA, ZR and ABA contents were determined during the process of shell differentiation. ‘Qingxiang’ (moderate thickness shell

**收稿日期:** 2019-08-08; **修回日期:** 2019-10-31

**基金项目:** 河北省自然科学基金项目 (C2019204270); 河北省科学技术研究与发展计划项目 (16226312D-5)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: whx@hebau.edu.cn, zzh@hebau.edu.cn)

cultivar) walnut as material, the characteristic, structure and components of mature nutshell were evaluated after treated by 6-BA, GA<sub>3</sub> and paclobutrazol (PAC, a specific inhibitor of gibberellin biosynthesis) at different concentrations during shell development. The results showed that the shell development of 'Zanmei' and 'Liaohu 2' began at 45 days and 51 days after anthesis (DAF) respectively and the nut shell initially formed at 60 DAF, and then lignin within the shell deposited gradually. In pericarp, the GA, IAA and ZR content of decreased, and ABA content decreased firstly and then increased during the period of shell differentiation. 50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> increased the thickness of the stone cell layer and fiber-cell layer, thickened the shell, enhanced suture force grade, and 100 mg · L<sup>-1</sup> PAC decreased the contents of lignin and polyphenol with the thinner of sclereid layer, sclerenchymatous cell layer and fiber-cell layer. 100 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA treatment decreased the longitudinal diameter, transverse diameter and side diameter of nuts significantly, but there was no change in the structure of the shell tissue. Conclusion: Shell development of 'Zanmei' was earlier than that of 'Liaohu 2'. For 'Qingxiang', 50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> increased the thickness of sclereid layer, and 100 mg · L<sup>-1</sup> PAC inhibits the thickening of nut shell, indicating that GA is involved in the regulation of nut shell development. The nut became smaller after treated by 100 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA, but there was no change in the structure of shell tissue.

**Keywords:** walnut; shell; phytohormone; lignin

长久以来人们多关注核桃种仁的品质与营养, 往往忽视硬壳在核桃的生长发育、运输、漂洗甚至贮藏过程中的重要作用(赵悦平等, 2007; Zhao et al., 2019)。

核桃果壳是果实的内果皮, 其发育过程是由分生组织分裂产生薄壁组织, 再由薄壁组织木质化形成石细胞(肖玲等, 1998), 并逐渐沉积大量木质素, 形成次生壁发达的厚壁组织。薄壁细胞木质化是核桃果壳发育的重要环节。Zhao等(2016)证实核桃果壳发育过程与木质素合成密切相关, 而植物激素在厚壁组织的形成及木质素的合成过程中具有关键作用(Zhao & Dixon, 2011; Park et al., 2015)。在烟草(*Nicotiana tabacum*)中超表达赤霉素(GA)合成相关基因*AtGA20ox*可增加木质化导管的数量(Biemelt et al., 2004), 超表达*PdGA20ox1*可增加杂交杨(*Populus alba* × *Populus tremula*)的纤维含量(Park et al., 2015); GA处理可下调黄金梨(*Pyrus pyrifolia* Nakai)果肉中木质素合成相关酶基因表达量进而降低果肉中木质素含量(Yang et al., 2015)。Mohr和Cahill(2007)的研究表明脱落酸(ABA)可以抑制拟南芥抗病反应中木质素合成基因的表达, 从而抑制木质素的合成; GA合成抑制剂多效唑(PAC)可提高小麦茎秆中木质素相关酶的活性, 进而提高木质素的含量(陈晓光等, 2011)。此外, 通过改变IAA/GA的比值可调节彩叶草(*Coleus blumei*)中紫丁香基木质素和愈创木基木质素的相对含量(Aloni et al., 1990); 罗自生(2006)认为ABA/GA<sub>3</sub>比值的变化对于竹笋木质化起着关键的调控作用。研究植物激素对果实厚壁细胞形成及木质素合成的影响, 有利于揭示坚果果壳形成机制。

有研究表明核桃果壳形成过程中薄壁组织可为种仁发育提供营养(Wu et al., 2009), 并且果壳结构与种仁商品品质密切相关(赵悦平等, 2007)。近年来, 中国核桃尤其薄壳品种栽培面积迅速增长, 由于品种混杂, 栽培管理不善, 坚果果壳发育不良等问题频现, 部分产区大量出现裂果露仁现象, 影响了坚果及种仁的商品品质(樊春芬等, 2010; 牛广彦和李立颖, 2016)。因此, 探讨植物激素与坚果果壳形成的关系, 可为制定合理的生产措施, 减少裂果及露仁的发生提供理论依据。

## 1 材料与方 法

试验地位于定州市小奇连村河北省定州德胜农林科技有限公司。选取厚壳（平均厚度 1.23 mm）品种‘赞美’（赵书岗 等, 2013）、中等厚度果壳（平均厚度 1.1 mm）品种‘清香’和薄壳（平均厚度 0.7 mm）品种‘辽核 2 号’（张美勇 等, 2008）为试材, 树龄均为 8 年。选取无病, 生长健壮一致的‘赞美’和‘辽核 2 号’（二者物候期相近）各 5 株挂牌标记, 2015 年从果壳分化期至采收期采集果实用于木质素沉积变化研究, 在果壳成形期（5 月 25 日至 6 月 15 日）每 3 d 采集 1 次样品, 用于果壳发育期内源激素测定。5 月 25 日选取生长健壮一致, 无病的‘清香’植株树冠外围果实, 分别喷布 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC（多效唑, GA 合成抑制剂）, 各设 50、100 和 150 mg · L<sup>-1</sup> 3 个水平, 以清水为对照, 滴水为度, 单株小区, 5 次重复。采收期（9 月 10 日）每个处理采摘 20 个果实, 用于果壳结构和成分的测定。

取新鲜样品, 用锋利刀片沿坚果缝合线方向纵切, 采用 Wiesner 法检测木质素沉积变化（Alba et al., 2010）。IAA、GA、ABA 和 ZR 的测定参照刘丙花等（2008）的方法, 木质素含量测定参照李靖等（2006）的方法, 多酚含量测定参照王岸娜等（2008）的方法, 纤维素含量参照熊素敏等（2005）的方法。坚果纵经、横径、棱径、硬壳厚度、缝合线紧密度采用赵悦平等（2007）的方法。果壳组织观察采用冰冻切片法（Zhao et al., 2019）, 取坚果胴部硬壳, 沿纵径方向切成 1.0 cm × 0.5 cm 小块, 置于 10%甘油中 4 h, 用冰冻切片机（KEDEE KD-255, 金华市科迪仪器设备有限公司）切片, Olympus 显微镜（BH-2）观察, 并测量果壳各部分结构。

采用 Excel 和 SPSS 20.0 软件对数据进行方差分析及相关性分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 核桃硬核期内果皮木质素的沉积

由图 1 可以看出, 果壳形成过程中内果皮的 Wiesner 染色有显著变化, 即从无到有, 由外至内, 由浅红至深红, 从部分着色到整体着色, 说明内果皮中木质素由外向内逐渐沉积, 直到硬壳形成。5 月 25—28 日薄壳品种‘辽核 2 号’和厚壳品种‘赞美’均未被染色; 5 月 31 日（花后 45 d）‘赞美’果顶（珠孔端）方向果壳顶部附近出现微红, ‘辽核 2 号’胎座位置着淡红色, 说明此时木质素开始逐渐沉积; 6 月 3—9 日可观察到在内果皮与中果皮交接位置出现淡黄色果壳, 但木质素尚未出现大量沉积, 仅在坚果顶部和底端沉积, ‘辽核 2 号’在 6 月 6 日（花后 51 d）果尖才出现微红, 说明‘辽核 2 号’果壳发育较‘赞美’略晚; 从 6 月 12 日开始, ‘赞美’的果壳完全呈现, 木质素由外向内开始加速沉积, 此时坚果形状不再发生改变, ‘辽核 2 号’坚果果壳轮廓也基本呈现; 至 6 月 25 日, ‘赞美’果壳呈鲜艳粉红色, 说明此时已沉积大量木质素, 8 月 6 日, 果壳逐渐增厚, 8 月 20 日果壳明显增厚, 且染色更深, 说明在采收前仍然有大量木质素沉积, ‘辽核 2 号’与之类似。综上, ‘辽核 2 号’果壳发育较‘赞美’晚, 在成熟前其果壳染色相对‘赞美’较浅, 这与该品种壳薄的特点一致。

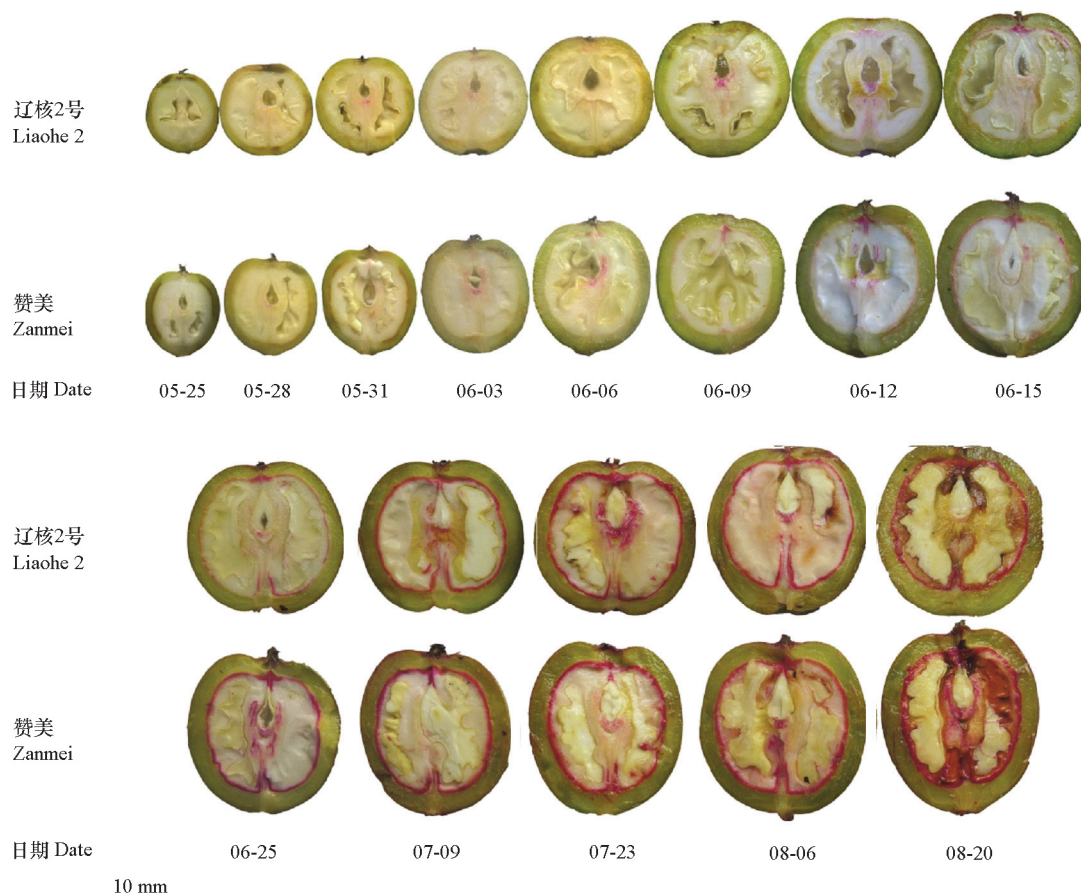


图1 核桃内果皮中木质素沉积变化

红色为木质素沉积位置。

Fig. 1 Lignin deposition process in walnut pericarp

Red section is the part of lignin deposition.

## 2.2 核桃硬核期内果皮内源激素含量的变化

鉴于5月25日至6月15日期间核桃果实内果皮从薄壁细胞转化为厚壁组织，并且木质素沉积从无至有，故对该时期内果皮内源激素含量进行测定。由图2可知，厚壳品种‘赞美’和薄壳品种‘辽核2号’内果皮中的GA含量变化趋势相似，整体呈现下降趋势。但6月初‘赞美’和‘辽核2号’出现回升，此后逐渐下降，并趋于稳定。6月3日前‘赞美’内果皮中GA含量高于‘辽核2号’，之后含量相近。

两个品种ABA含量变化规律相似，均呈先下降后期升高的趋势。5月25—31日均出现下降，‘赞美’高于‘辽核2号’，5月31日后均出现先升高后下降的变化趋势，6月3日之后两个品种均呈先下降后显著上升的趋势，6月15日‘赞美’和‘辽核2号’的分别为95.3和105.02 ng·g<sup>-1</sup>FW，二者含量差异不大。两个品种IAA含量呈现先上升后显著下降趋势，‘辽核2号’和‘赞美’内果皮分别在5月28日和31日出现峰值（107.61 ng·g<sup>-1</sup>FW和102.7 ng·g<sup>-1</sup>FW），此后二者均呈下降趋势。ZR含量与IAA变化趋势相近，在5月31日，两个品种均出现高峰，之后均呈逐渐下降趋势。

IAA 和 ZR 的显著变化均出现在幼果迅速增大的时期。

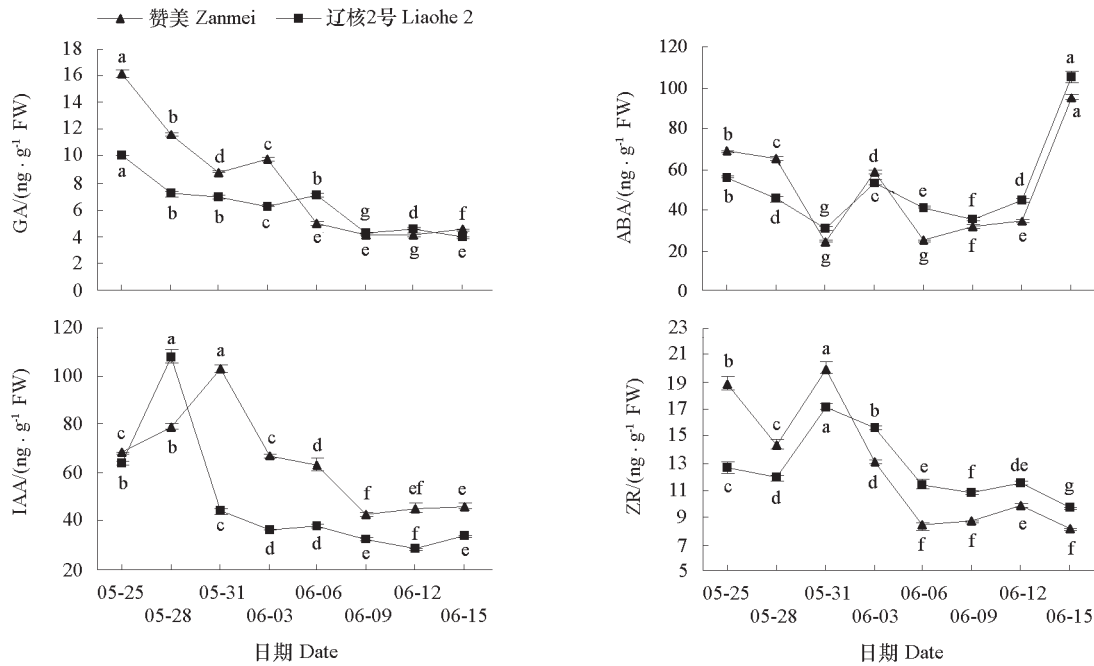


图 2 核桃坚果壳分化期中内源激素含量变化

同一品种不同字母表示不同发育时期差异显著 ( $P < 0.05$ )。下同。

Fig. 2 Changes of endogenous hormones content during walnut shell differentiation

The different letters symbolize the significant difference at  $P < 0.05$  among the different developmental stages of same cultivar. The same below.

如图 3 所示, 5 月 25 日至 6 月 15 日 ABA/GA 比值虽有波动但整体呈现上升趋势, 特别是 6 月 12 日之后比值迅速上升, 至 6 月 15 日 ‘赞美’ 和 ‘辽核 2 号’ ABA/GA 比值分别达 21.2 和 26.8, 分析认为是 ABA 含量迅速升高, 而 GA 含量趋稳引起的。

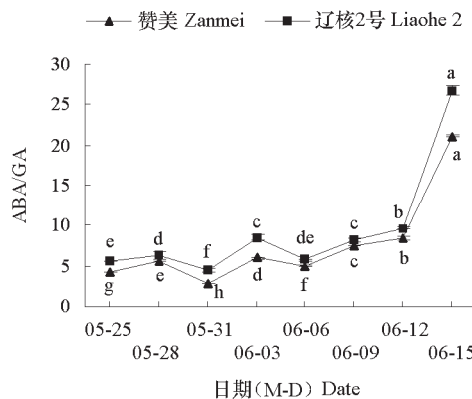


图 3 核桃坚果壳分化期 ABA/GA 比值变化

Fig. 3 Changes of ABA/GA ratio during walnut shell differentiation

### 2.3 外源 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC 对核桃果壳结构及组成的影响

‘清香’核桃硬核期幼果经不同浓度的外源 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC 处理后，部分坚果果壳外观发生改变（表 1）。100 mg · L<sup>-1</sup> 6-BA 处理后坚果的纵径、横径和棱径均显著变小，壳厚及缝合线紧密度未出现显著变化，150 mg · L<sup>-1</sup> 处理后果壳的棱径变大，而壳厚及缝合线紧密度也未出现显著变化。50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理后，坚果的纵径、横径和棱径未发生显著变化，但硬壳厚度和缝合线紧密度显著大于对照，分别为 1.15 mm 和 209.47 N，其他浓度处理坚果纵径、横径和棱径无显著变化。高浓度 PAC（150 mg · L<sup>-1</sup>）处理，果实生长受到抑制，不能正常发育；50 和 100 mg · L<sup>-1</sup> 的 PAC 处理后，坚果的纵径、横径和棱径未发生显著变化，但 100 mg · L<sup>-1</sup> 处理的果壳厚度显著小于对照，仅为 0.81 mm，缝合线紧密度（191.64 N）也显著低于对照。试验结果说明，外源 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC 均对果壳发育产生影响，其中 50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理可增加果壳的厚度和缝合线紧密度，而 100 mg · L<sup>-1</sup> 的 GA 合成抑制剂 PAC 处理使果壳变薄。

表 1 外源 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC 对‘清香’核桃硬壳结构的影响  
Table 1 Effect of 6-BA, GA<sub>3</sub> and PAC on the shell structure of ‘Qingxiang’ walnut

植物生长调节剂 Plant growth regulator	浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> ) Concentration	纵径/mm Longitudinal diameter	横径/mm Transverse diameter	棱径/mm Side diameter	壳厚/mm Shell thickness	缝合线紧密度/N Shell seal grade
6-BA	0	43.21 a	36.88 a	37.03 b	1.03 a	201.17 a
	50	43.44 a	37.43 a	37.72 b	1.07 a	202.26 a
	100	41.18 b	35.43 b	35.73 c	1.02 a	200.58 a
	150	44.45 a	38.08 a	39.02 a	1.05 a	200.44 a
GA <sub>3</sub>	0	43.21 a	36.88 a	37.03 a	1.03 b	201.17 b
	50	44.05 a	37.20 a	37.21 a	1.15 a	209.47 a
	100	43.65 a	36.66 a	36.52 a	1.01 b	203.16 b
	150	42.87 a	36.72 a	37.04 a	0.96 b	199.95 b
PAC	0	43.21 a	36.88 ab	37.03 ab	1.03 a	201.17 a
	50	43.27 a	35.86 b	36.11 b	0.94 ab	203.12 a
	100	43.77 a	38.10 a	38.25 a	0.81 b	191.64 b
	150	—	—	—	—	—

注：150 mg · L<sup>-1</sup> PAC 处理后果实未正常发育，因此各项未得到数据，用“—”表示。数据经邓肯氏新负级差法测验，不同小写字母表示同一植物生长调节剂不同浓度在 0.05 水平差异显著。下同。

Note: After 150 mg · L<sup>-1</sup> PAC treatment, the walnut fruit development was abnormal, bars indicate no data available. Data are analyzed by Duncan's new multiple range test. Different lowercase letters indicate that there are significant differences in different concentrations of the same plant growth regulator at 0.05 level. The same below.

一般认为果壳属于厚壁组织，由多层石细胞组成。本试验中利用冰冻切片法，对‘清香’核桃果壳的组成结构进一步观察发现，坚果成熟后果壳由石细胞层、厚壁化细胞层和纤维化细胞层 3 部分组成。其中石细胞次生壁完全增厚，厚壁细胞次生壁部分增厚，纤维化细胞次生壁近乎未增厚但细胞收缩严重。不同浓度 6-BA 处理对果壳厚度没有显著影响（表 1），但切片观察（表 2）发现，150 mg · L<sup>-1</sup> 的 6-BA 处理增大了纤维化细胞层厚度，50 mg · L<sup>-1</sup> 的 6-BA 处理可显著增加果壳中多酚的含量。50 mg · L<sup>-1</sup> 的 GA<sub>3</sub> 处理的使果壳石细胞层和纤维化细胞层厚度显著增大（这也是果壳厚度增大、缝合线紧密度增强的原因），150 mg · L<sup>-1</sup> 的 GA<sub>3</sub> 处理可显著减小纤维化细胞层厚度。随着 GA 合成抑制剂 PAC 处理浓度的增大，果壳石细胞层、厚壁化细胞层和纤维化细胞层厚度均呈变小的趋势，其中 100 mg · L<sup>-1</sup> 处理均达显著水平，并且果壳木质素和多酚含量较对照显著降低，说明其不仅改变了果壳的结构也改变了果壳的组分，这是果壳变薄、缝合线紧密度下降的主要原因。

表 2 外源 6-BA、GA<sub>3</sub> 和 PAC 对‘清香’核桃硬壳组织结构及组分的影响  
Table 2 Effect of 6-BA, GA<sub>3</sub> and PAC on structure and component of ‘Qingxiang’ walnut shell

植物生长调节剂 Plant growth regulator	浓度/ (mg · L <sup>-1</sup> ) Concentration	石细胞层 厚度/μm Thickness of Sclereids layer	厚壁化细胞 层厚度/μm Thickness of Sclerenchyma cell layer	纤维化细胞 层厚度/μm Fiber-cell layer	石细胞 大小/μm Stone cell perimeter	纤维素含 量/% Cellulose content	木质素含 量/% Lignin content	多酚含量/ (mg · L <sup>-1</sup> ) Polyphenol content
6-BA	0	864.21 ab	83.27 a	84.73 b	28.06 ab	15.01 a	49.80 a	32.76 b
	50	894.93 a	71.50 a	86.43 b	31.45 a	15.42 a	50.33 a	34.16 a
	100	854.59 ab	77.00 a	88.17 b	31.61 a	15.49 a	49.99 a	32.91 b
	150	813.50 b	85.78 a	143.93 a	26.84 b	15.15 a	49.54 a	33.06 ab
GA <sub>3</sub>	0	864.21 b	83.27 ab	84.73 b	28.06 a	15.01 a	49.80 a	32.76 a
	50	916.00 a	101.94 a	123.88 a	27.30 a	14.97 a	50.65 a	32.29 a
	100	860.55 b	87.58 ab	70.00 b	32.16 a	15.10 a	49.70 a	32.12 a
	150	845.09 b	68.38 b	48.00 c	27.37 a	15.16 a	49.69 a	31.59 a
PAC	0	864.21 a	83.27 a	84.73 a	28.06 a	15.01 a	49.80 a	32.76 a
	50	811.36 a	64.00 b	70.25 b	27.57 a	15.00 a	49.90 a	28.93 b
	100	687.28 b	66.88 b	66.36 b	27.56 a	14.35 a	48.86 b	27.87 b
	150	—	—	—	—	—	—	—

### 3 讨论

激素对调控植物生长发育具有重要意义,特别是对细胞的分裂、生长及细胞壁的形成起着至关重要的作用,多种植物激素参与次生壁形成及木质素合成的调控过程(胡尚连等,2009; Didi et al., 2015; Park et al., 2015)。前人研究表明,赤霉素处理可诱导拟南芥(*Arabidopsis thaliana*)微管切割蛋白基因 *AtKSS* 的表达(Didi et al., 2015),而 *AtKSS* 在纤维细胞伸长和膨大过程及细胞壁形成中起到关键作用(Burk et al., 2001)。本研究中核桃花后 39 d (5月25日)至 54 d (6月9日)为果实膨大期,此时内果皮薄壁细胞迅速分裂并膨大(Zhao et al., 2019),而此过程中内果皮 GA 含量逐渐降低,推测认为前期高 GA 含量促进了相关基因表达,内果皮细胞迅速分裂及膨大,之后随着 GA 含量降低,内果皮细胞分裂及增大也逐渐放缓。Guo 等(2015)研究表明 GA<sub>3</sub> 可促进白桦(*Betula platyphylla*)下胚轴木质部的发育,而 PAC 具有抑制作用,本研究中发育期核桃幼果经 50 mg · L<sup>-1</sup> GA<sub>3</sub> 处理,果壳石细胞层和纤维化细胞层厚度增加,而 GA 抑制剂 PAC 处理后抑制了石细胞层、厚壁细胞层和纤维化细胞层厚度的增加,进一步证实 GA 在厚壁细胞分化中的作用。GA 还参与细胞壁木质素的合成。Li 等(1970)发现低浓度 GA 可促进木质素的合成,也有人认为高浓度 GA 可诱导春小麦薄壁组织向纤维的转化(Levyadun et al., 1999)。本研究中核桃花后 54 d (6月9日)果壳木质素大量沉积时 GA 维持在较低水平,也可能促进了木质素沉积。

ABA 参与木质素合成的调控过程。Basra 等(1992)认为 ABA 通过降低 POD 的活性进而调控次生壁的形成, Mohr 和 Cahill (2007)认为在拟南芥抗病过程中, ABA 为水杨酸及木质素合成的抑制因子;但 Yang 等(2001)的研究表明棉纤维次生壁加厚开始前,其 ABA 含量出现高峰;此外 ABA 处理大麦(*Hordeum vulgare* L.)后可诱导与细胞次生壁形成相关的 *HvNAC* 等表达,且 ABA 调控具有时间特异性(Christiansen et al., 2011)。本研究中核桃坚果果壳形成后迅速木质化时 ABA 含量显著上升,说明其参与了内果皮木质化的调控过程,但推测仅具有短时的调控作用。也有研究表明采后竹笋木质素关键酶活性与 ABA/GA 的比值呈正相关(罗自生, 2006),本研究中发现,核桃果壳出现后 ABA/GA 比值的升高可能加速了木质素沉积。

前人的研究表明,生长素和细胞分裂素在初生壁伸展及次生壁的增厚过程中具有调控作用(Singh et al., 2009; Didi et al., 2015)。例如 NAA 处理拟南芥可导致 *MYB26* 的表达量下降,并抑



制早期木质化,说明生长素在木质化过程中具有负调控作用(Cecchetti et al., 2013);刘小阳等(2006)也证实高浓度的 IAA 对梨果实石细胞的形成具有抑制作用。本研究中 IAA 含量在核桃花后 40 d 左右出现波动并随后迅速下降,而此时为果壳石细胞快速形成期及木质素沉积期(Zhao et al., 2019),说明 IAA 含量下降也可促进薄壁细胞的木质化。与生长素类似,超表达细胞分裂素信号途径中关键基因 *AHP* 可抑制细胞次生壁的形成(Jung et al., 2008);高浓度 ZR 也可以抑制梨石细胞的形成(刘小阳等, 2006)。本研究中核桃果壳形成期 ZR 含量虽有变化波动,但整体呈现下降趋势,与生长素变化相近。 $150 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  的 6-BA 促进核桃内果皮纤维化细胞的增多,说明细胞分裂素也可能影响厚壁细胞的形成。

在核桃果实发育过程中,花后 35 ~ 60 d 是果壳成形的关键时期,内果皮从外向内逐渐硬化为果壳,两个品种果壳木质化始于果顶(珠孔端),其后内果皮其他部位迅速木质化,这与前人(Pinney & Polito, 1983; Zhao et al., 2016)的研究结果一致。但鱼尚奇等(2019)认为纸皮核桃果皮木质化在整个内果皮上几乎同时发生,推测认为品种或取样时期差异导致结果不尽相同。此外本研究中通过 Wiesner 反应表明核桃在果实成熟前 30 d,出现木质素的迅速沉积,这与前期研究结果(Zhao et al., 2019)也是一致的。对于核桃内果皮发育后期木质化的机制还有待于进一步研究。

## References

- Alba C M, Forchetti S M D, Tigier H A. 2010. Phenoloxidase of peach (*Prunus persica*) endocarp: its relationship with peroxidases and lignification. *Physiologia Plantarum*, 109 (4): 382 - 387.
- Aloni R, Tollier M T, Monties B. 1990. The role of auxin and gibberellin in controlling lignin formation in primary phloem fibers and in xylem of *Coleus blumei* stems. *Plant Physiology*, 94 (4): 1743 - 1747.
- Basra A S, Sarlach R S, Dhillon-Grewal R, Malik C P. 1992. Calcium-mediated changes in peroxidase and *O*-diphenol oxidase activities of cotton fibres (*Gossypium* spp.) and its possible relationship to ABA. *Plant Growth Regulation*, 11 (2): 159 - 164.
- Biemelt Sophia, Tschiersch Henning, Sonnwald Uwe. 2004. Impact of altered gibberellin metabolism on biomass accumulation, lignin biosynthesis, and photosynthesis in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 135 (1): 254 - 265.
- Burk D H, Liu B, Zhong R Q, Morrison W H, Yea Z H. 2001. A katanin-like protein regulates normal cell wall biosynthesis and cell elongation. *Plant Cell*, 13: 807 - 827.
- Cecchetti V, Altamura M M, Brunetti P, Petrocelli V, Falasca G, Ljung K, Costantino P, Cardarelli M. 2013. Auxin controls *Arabidopsis* anther dehiscence by regulating endothecium lignification and jasmonic acid biosynthesis. *Plant Journal*, 74 (3): 411 - 422.
- Chen Xiaoguang, Shi Yuhua, Wang Chengyu, Yin Yanping, Ning Tangyuan, Shi Chunyu, Li Yong, Wang Zhenlin. 2011. Effects of nitrogen and PP<sub>333</sub> application on the lignin synthesis of stem in relation to lodging resistance of wheat. *Scientia Agricultura Sinica*, 44 (17): 3529 - 3536. (in Chinese)
- 陈晓光, 石玉华, 王成雨, 尹燕萍, 宁堂原, 史春余, 李勇, 王振林. 2011. 氮肥和多效唑对小麦茎秆木质素合成的影响及其与抗倒伏性的关系. *中国农业科学*, 44 (17): 3529 - 3536.
- Christiansen M W, Holm P B, Gregersen P L. 2011. Characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) NAC transcription factors suggests conserved functions compared to both monocots and dicots. *BMC Research Notes*, 4 (1): 302.
- Didi V, Jackson P, Hejatko J. 2015. Hormonal regulation of secondary cell wall formation. *Journal of Experimental Botany*, 66 (16): 5015 - 5027.
- Fan Chunfen, Kong Fanhao, Jia Aijun, Yang Lifang, Zhang Xiaoyu. 2010. The cause and solution of shrivelled kernel and incomplete hulls precocious walnut. *Hebei Fruits*, (3): 19 - 20. (in Chinese)
- 樊春芬, 孔凡号, 贾爱军, 杨丽芳, 张晓玉. 2010. 早实核桃“仁秕、露仁”的原因及解决方法. *河北果树*, (3): 19 - 20.



- Guo H, Wang Y, Liu H, Hu P, Jia Y, Zhang C, Wang Y, Gu S, Yang C, Wang C. 2015. Exogenous GA<sub>3</sub> application enhances xylem development and induces the expression of secondary wall biosynthesis related genes in *Betula platyphylla*. *International Journal of Molecular Sciences*, 16 (9): 22960 - 22975.
- Hu Shanglian, Jia Juqing, Chen Hongchun, Cao Ying, Sun Xia, Lu Xueqin, Han Ying. 2009. Effects of GA<sub>3</sub> and IAA spraying on the correlated enzyme activities in the lignin biosynthesis of *Neosinocalamus affinis* and its relationships with the lignin content and S/G. *Bulletin of Botanical Research*, 29 (5): 571 - 576. (in Chinese)
- 胡尚连, 贾举庆, 陈红春, 曹 颖, 孙 霞, 卢学琴, 韩 颖. 2009. GA<sub>3</sub> 和 IAA 对慈竹木质素生物合成相关酶活性调控及与木质素含量和 S/G 的关系. *植物研究*, 29 (5): 571 - 576.
- Jung K W, Oh S I, Kim Y Y, Yoo K S, Cui M H, Shin J S. 2008. *Arabidopsis* histidine-containing phosphotransfer factor 4 (AHP4) negatively regulates secondary wall thickening of the anther endothecium during flowering. *Molecules & Cells*, 25 (2): 294 - 300.
- Levyadun S, Beharav A, Dinur R, Abbo S. 1999. Gibberellic acid (GA) increases fibre cell differentiation and secondary cell-wall deposition in spring wheat (*Triticum aestivum* L.) culms. *Plant Growth Regulation*, 27 (3): 161 - 165.
- Li H C, Rice E L, Rohrbaugh L M, Wender S H. 1970. Effects of abscisic acid on phenolic content and lignin biosynthesis in tobacco tissue culture. *Physiologia Plantarum*, 23 (5): 928 - 936.
- Li Jing, Cheng Zhou, Yang Xiaoling, Li Shan, Gu Min, Wan Shuwen, Zhang Wenju, Chen Jiakuan. 2006. Determination of lignin content in tiny *Panax ginseng* by UV spectrophotometry. *Journal of Chinese Medicinal Materials*, 29 (3): 239 - 241. (in Chinese)
- 李 靖, 程 舟, 杨晓伶, 李 珊, 顾 敏, 万树文, 张文驹, 陈家宽. 2006. 紫外分光光度法测定微量人参木质素的含量. *中药材*, 29 (3): 239 - 241.
- Liu Binghua, Jiang Yuanmao, Peng Futian, Zhao Fengxia, Wang Haiyun, Zhao Lin. 2008. Dynamic changes of endogenous hormone contents in the pulp and seeds of sweet cherry fruit during growth and development. *Journal of Fruit Science*, 25 (4): 593 - 596. (in Chinese)
- 刘丙花, 姜远茂, 彭福田, 赵凤霞, 王海云, 赵 林. 2008. 甜樱桃红灯果实发育过程中果肉及种子内源激素含量变化动态. *果树学报*, 25 (4): 593 - 596.
- Liu Xiaoyang, Li Ling, Cai Yongping. 2006. Effect of light intensity for formation of stone cell and correlation between activity of endogenous IAA, ZR and ABA and formation of stone cell in *Pyrus* spp. *Acta Laser Biology Sinica*, 15 (2): 161 - 166. (in Chinese)
- 刘小阳, 李 玲, 蔡永萍. 2006. 光强对砀山酥梨石细胞形成的影响及其与内源 IAA, ZR 和 ABA 含量的关系. *激光生物学报*, 15 (2): 161 - 166.
- Luo Zisheng. 2006. The relationship between lignification and endogenous hormone content of excised bamboo shoots. *Scientia Agricultura Sinica*, 39 (4): 792 - 797. (in Chinese)
- 罗自生. 2006. 采后竹笋木质化与内源激素的关系. *中国农业科学*, 39 (4): 792 - 797.
- Mohr P G, Cahill D M. 2007. Suppression by ABA of salicylic acid and lignin accumulation and the expression of multiple genes, in *Arabidopsis* infected with *Pseudomonas syringae* pv. tomato. *Functional & Integrative Genomics*, 7 (3): 181 - 191.
- Niu Guangyan, Li Liying. 2016. Experiment on cultivation technique against incomplete hulls of walnut in Liao lines. *Deciduous Fruits*, 48 (4): 10 - 11. (in Chinese)
- 牛广彦, 李立颖. 2016. 辽系核桃防露仁栽培技术试验. *落叶果树*, 48 (4): 10 - 11.
- Park E J, Kim H T, Choi Y I, Lee C, Nguyen V P, Jeon H W, Cho J S, F R, Pharis R P, Kurepin L V, Ko J. 2015. Overexpression of *gibberellin 20-oxidase1* from *Pinus densiflora* results in enhanced wood formation with gelatinous fiber development in a transgenic hybrid poplar. *Tree Physiology*, 35 (11): 1264 - 1277.
- Pinney K, Polito V S. 1983. English walnut fruit growth and development. *Scientia Horticulturae*, 21 (1): 19 - 28.
- Singh B, Cheek H D, Haigler C H. 2009. A synthetic auxin (NAA) suppresses secondary wall cellulose synthesis and enhances elongation in cultured

- cotton fiber. *Plant Cell Reports*, 28 (7): 1023 - 1032.
- Wang Anna, Xu Shanbao, Liu Xiaoyan, Wu Ligen. 2008. Study on determination of content of phenol in kiwifruit by folin method. *Food Science*, 29 (7): 398 - 401. (in Chinese)
- 王岸娜, 徐山宝, 刘小彦, 吴立根. 2008. 福林法测定猕猴桃多酚含量的研究. *食品科学*, 29 (7): 398 - 401.
- Wu G L, Liu Q L, Teixeira da Silva J A. 2009. Ultrastructure of pericarp and seed capsule cells in the developing walnut (*Juglans regia* L.) fruit. *South African Journal of Botany*, 75 (1): 128 - 136.
- Xiao Ling, Xu Yaoping, Zhao Xiangui, Luo Jihua. 1998. The developmental anatomy on the pericarp of *Juglans regia*. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 18 (4): 577 - 580. (in Chinese)
- 肖玲, 胥耀平, 赵先贵, 骆吉花. 1998. 核桃果皮的发育解剖学研究. *西北植物学报*, 18 (4): 577 - 580.
- Xiong Sumin, Zuo Xiufeng, Zhu Yongyi. 2005. Determination of cellulose, hemi-cellulose and lignin in rice hull. *Cereal & Feed Industry*, (8): 40 - 41. (in Chinese)
- 熊素敏, 左秀凤, 朱永义. 2005. 稻壳中纤维素、半纤维素和木质素的测定. *粮食与饲料工业*, (8): 40 - 41.
- Yang S L, Zhang X N, Lu G L, Wang C G, Wang R. 2015. Regulation of gibberellin on gene expressions related with the lignin biosynthesis in 'Wangkumbae' pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai) fruit. *Plant Growth Regulation*, 76 (2): 127 - 134.
- Yang Y M, Xu C N, Wang B M, Jia J Z. 2001. Effects of plant growth regulators on secondary wall thickening of cotton fibres. *Plant Growth Regulation*, 35 (3): 233 - 237.
- Yu Shangqi, Jia Changlu, Song Yan, Liu Chunhua, Guo Yongcui, Zhang Wentao, Chen Liping, Zhang Rui. 2019. Screening and functional prediction of differential expression genes at lignification stage of endocarp in Zhipi walnut. *Journal of Fruit Science*, 36 (4): 410 - 420. (in Chinese)
- 鱼尚奇, 贾昌路, 宋岩, 刘春花, 郭永翠, 张文涛, 陈立平, 张锐. 2019. 纸皮核桃内果皮硬化期差异表达基因筛选及功能预测. *果树学报*, 36 (4): 410 - 420.
- Zhang Meiyong, Xu Ying, Liu Jiafen, Xu Lin. 2008. Analyses the nut qualities of different walnut cultivars. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 24 (12): 313 - 316. (in Chinese)
- 张美勇, 徐颖, 刘嘉芬, 许林. 2008. 核桃不同品种果实坚果品质分析. *中国农学通报*, 24 (12): 313 - 316.
- Zhao Q, Dixon R A. 2011. Transcriptional networks for lignin biosynthesis: more complex than we thought? *Trends in Plant Science*, 16 (4): 227 - 233.
- Zhao S G, Niu J M, Yun L Y, Liu K, Wang S, Wen J, Wang H X, Zhang Z H. 2019. The relationship among the structural, cellular, and physical properties of walnut shells. *HortScience*, 54 (2): 275 - 281.
- Zhao Shugang, Wang Hongxia, Gao Yi, Chu Fachao, Zhang Zhihua, Guo Jianchao, Lei Ling. 2013. A new precocious walnut cultivar 'Zanmei'. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (6): 1207 - 1208. (in Chinese)
- 赵书岗, 王红霞, 高仪, 褚发朝, 张志华, 郭建朝, 雷玲. 2013. 早实核桃新品种 '赞美'. *园艺学报*, 40 (6): 1207 - 1208.
- Zhao S G, Wen Ji, Wang H X, Zhang Z H, Li X B. 2016. Changes in lignin content and activity of related enzymes in the endocarp during the walnut shell development period. *Horticultural Plant Journal*, 2 (3): 141 - 146.
- Zhao Yueping, Zhao Shugang, Wang Hongxia, Zhang Zhihua, Gao Yi. 2007. The relations between shell structures and kernel qualities of *Juglans regia*. *Scientia Silvae Sinicae*, 43 (12): 81 - 85. (in Chinese)
- 赵悦平, 赵书岗, 王红霞, 张志华, 高仪. 2007. 核桃坚果壳结构与核仁商品品质的关系. *林业科学*, 43 (12): 81 - 85.