

大扁杏嫁接愈合过程中几种生化物质含量的变化

曲云峰^a, 赵 忠^b, 张小鹏^b

(西北农林科技大学 a 学生处, b 林学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】了解大扁杏嫁接愈合过程中几种生化物质含量的变化,为提高大扁杏嫁接成活率提供理论依据。【方法】以2年生山杏实生苗为砧木,以大扁杏品种“龙王帽”1年生枝条为接穗,通过带木质部芽接试验,对春季和夏季大扁杏嫁接愈合过程中几种生化物质含量的变化进行了研究。【结果】嫁接愈合过程中,嫁接苗形成层水分含量与2年生山杏实生苗(对照苗)变化趋势基本一致,嫁接苗水分含量略低于对照苗,但二者相差不大;嫁接苗形成层的可溶性蛋白含量在愈合过程中始终高于对照苗;愈合前期嫁接苗形成层木质素含量高于对照苗,后期低于对照苗;嫁接苗多酚含量在愈合期间高于对照苗,且嫁接苗与对照苗形成层多酚含量变化趋势基本一致;春季芽接成活率为85.6%,夏季芽接成活率为92.3%。【结论】形成层高含量的可溶性蛋白、对愈合起促进作用的多酚及前期高含量的木质素,均有利于嫁接体的成活;在嫁接技术成熟的前提下,水分含量不是影响嫁接成活的重要因素。

【关键词】 大扁杏;嫁接;愈合;生化物质含量

【中图分类号】 S662.204⁺.3

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)05-0073-06

The content changes of several biochemistry substances of grafted armeniaca surviving

QU Yun-feng^a, ZHAO Zhong^b, ZHANG Xiao-peng^b

(a Division of Student's Affairs, b College of Forestry, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 This study was to find out the influence of biochemistry substances changes in surviving process after grafting. 【Method】 Two *Armeniaca* varieties, i. e. *Prunus sibirical* and *Prunus armeniaca*, were employed as the plant materials. Two-year-old *Prunus sibirical* coming from seeds were treated as rootstock (CK). Full bud with xylem of one-year trees of *Prunus armeniaca* (Long wangmao) were selected to graft on *Prunus sibirical* (grafted seedling). The change of several biochemistry substances contents in formation of callus after grafting in spring and summer were studied. 【Result】 The trend of content change of cambium's water of grafted seedling was basically the same in two years *Prunus sibirical* (control seeding abbreviated as CK) and the grafted seedling, the latter was just little lower than control seedling. There were no or little difference in the content of water between grafted seedling and CK. The content of cambium of soluble protein of grafted seedling was higher than that of CK during the whole cicatrisation. The content of lignin of grafted seedling in cambium was higher than that of CK in prophase of cicatrisation and lower than that of CK in anaphase. The hydroxybenzene content of cambium of grafted seedling was higher than that of the CK during the whole course of cicatrisation. And the trend of change was similar. the surviving ratio of the grafted seedling in spring was 85.6% and in summer was 92.3%. 【Conclusion】 High quantity of soluble protein, stimulative hydroxybenzene for cicatrisation and lignin in prophase would be good for the survival of grafted seedlings. In the precondi-

* 【收稿日期】 2007-06-05

【基金项目】 国家林业局科学研究与示范项目(2003-030-L30)

【作者简介】 曲云峰(1974—),男,山西运城人,讲师,在读硕士,主要从事林木培育理论与技术研究。

【通讯作者】 赵 忠(1958—),男,甘肃宁县人,教授,博士生导师,主要从事林木培育理论与技术研究。E-mail: zhaozh@nwsuaf.edu.cn

tion of good graft technic,the quantity of water in cambium was not the important factor of graft surviving.

Key words: *Prunus armeniaca*;grafting;cicatrization;content of biochemical substance

山杏(*Prunus armeniaca* var. *ansu*)为蔷薇科(Rosaceae)李亚科(Prunoideae)李属(*Prunus*)植物,在我国北方地区广泛分布,其植株抗寒、抗旱、耐瘠薄^[1-2],是丘陵山区阳坡、半阳坡造林绿化的先锋树种。大扁杏(*P. armeniaca* × *sibirica*)为杏(*P. armeniaca*)与西伯利亚杏(*P. sibirica*)的天然杂交种,是我国北方地区重要的干果树种。大扁杏种子仁大、壳薄、味甜,为我国传统的出口创汇产品,具有极高的经济价值。但是仁用杏嫁接成活较困难^[3-5],已成为影响仁用杏良种苗木生产的重要因素之一。因此,研究以山杏为砧木,以不同品种大扁杏为接穗嫁接苗的成活机理,对促进西北地区仁用杏快速发展及生态环境建设具有重要意义。

前人对杏树的研究较多,但主要集中在栽培方法、嫁接技术和嫁接后管理等方面,而对杏树生理生理生化指标的变化研究,国内外少见报道。本研究从仁用杏嫁接愈合过程中相关的生化物质含量变化入手,对影响嫁接成活的生理生化因子进行了探讨,旨在为提高大扁杏嫁接成活率提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验地概况

试验地设在甘肃省泾川县高新农业示范园区。该地年平均气温 10℃,无霜期 174 d,年平均降雨量 555 mm,且多集中于夏季。年日照 2 274 h,空气相对湿度 69%,常年多东北风,年蒸发量 1 339.6 mm。

1.2 供试材料

1.2.1 砧木 2004 年春季,采用沙藏山杏种子播种育苗,2005 年春季苗木萌动前在离地 5 cm 处进行平茬处理,以促进砧木根的加深生长和茎的加粗生长,促进砧木与接穗的接合。2006 年春季嫁接前再次在距地面 12 cm 处进行平茬处理。

1.2.2 接穗 2006 年春季(3 月中旬)从西北农林科技大学实验苗圃 6 年生的龙王帽树上,采集生长充实、无病虫害的 1 年生枝条作接穗,蜡封切口后带至试验地沙藏,04-29 进行芽接;夏季(08-02)自甘肃省苗木良种繁育中心 6 年生龙王帽树体上,采集带有饱满芽的当年抽发枝条作接穗,枝条采下后摘去叶片,保留叶柄,放入装满清水的桶内,迅速送嫁接地进行芽接。本试验春季共嫁接苗木 1 万余株,

夏季共嫁接苗木 2 万余株。用于统计成活率的苗木与环剥苗木属于同一批苗木。

1.3 仪器与试剂

1.3.1 仪器 岛津-UV1206 型分光光度计,水浴锅,恒温箱。

1.3.2 试剂 氯化钡(天津市博迪化工有限公司),重铬酸钾溶液、硫代硫酸钠、酒石酸铁、没食子酸(sigma 公司),牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G-250(中国科学院上海生化研究所)。

1.4 嫁接方法

2 次嫁接均采用带木质部芽接法。春季嫁接选择在树液流动后、树木形成层开始活动而芽未萌动时进行。夏季嫁接选择在夏秋之交、气温在 20~25℃时进行,过早嫁接芽当年易萌发,冬季易冻坏;过晚嫁接则愈合困难,成活率低。

1.5 采样

嫁接当天即进行第一次采样,以后隔天采样 1 次,同时,从山杏 2 年生实生苗相应部位采集成层作为对照样品。春季共采样 5 次,夏季 6 次,每次各采样 40 株。按区组重复取样,试验设置 10 个重复。在各区组内依据“品”字形原则,选择中庸的、面积为 1 m×0.7 m 的样地,每块样地内采 4 株。采样时先用剪刀在嫁接部位 2 cm 左右范围内采下嫁接茎,迅速用锋利的刀片刮去表面周皮层及次生韧皮部,轻轻剥取形成层,立即装入布袋,放入液氮罐中保存。

1.6 测定方法

从液氮罐中取出样品,置于烘箱中 105℃杀青 20 min,然后在 85℃烘干 24 h 至恒重,测定样品含水量(% ,质量分数)^[9]。降至室温后用组织粉碎器粉碎,放入磨口试剂瓶,贴上标签,用于木质素、多酚和可溶性蛋白含量的测定。木质素含量(% ,质量分数)测定采用重铬酸钾溶液-硫代硫酸钠滴定法^[10-11],多酚含量(% ,质量分数)测定采用酒石酸铁比色法^[12-13],可溶性蛋白含量(mg/g)测定采用 Coomassie brilliant blue 比色法^[9-11]。

试验数据用 SPSS 12.0 软件进行分析并作图。

2 结果与分析

2.1 大扁杏嫁接成活率调查

由表 1 可知,嫁接 4 周后,春季芽接的大扁杏平均嫁接成活率为 85.6%,夏季为 92.3%,夏季芽接

成活率高于春季。这主要是由于夏季气温较春季高,而且树液流动及树体生长较为旺盛,与生长、发育、分化相关的生物活性物质含量均处于较高水平,有利于愈伤组织的愈合。

2.2 大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中含水量的变化

由图 1 可知,春季嫁接后,大扁杏嫁接苗含水量始终低于对照苗,而且二者含水量变化趋势较为一致;夏季嫁接后,大扁杏嫁接苗形成层含水量亦始终低于对照苗,但二者在 08-12 含水量差别不大,在整个采样期间的含水量变化趋势也基本相同,均逐渐上升。春季和夏季嫁接试验说明,在嫁接技术较为成熟、保水措施较为得力的前提下,大扁杏嫁接苗形成层水分含量变化对愈伤组织的形成影响不大。也

就是说,在嫁接技术成熟、嫁接后塑料带绑扎密封完好时,水分不是影响愈伤组织形成的限制因素。

表 1 大扁杏不同季节的嫁接成活率

Table 1 Surviving ratio of grafted armeniaca in different seasons %

小区 Section	成活率 Surviving ratio	
	春季 Spring	夏季 Summer
A	84.7	91.5
B	87.1	93.5
C	86.5	92.8
D	86.1	93.6
E	83.5	93.2
F	86.7	92.5
G	85.6	93.5
H	84.3	91.6
I	85.9	91.8
J	86.0	93.5

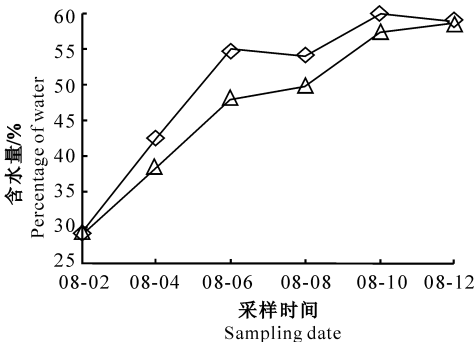
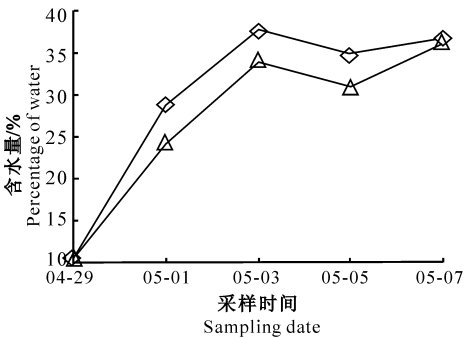


图 1 春季与夏季大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中含水量的变化
—◇—, 对照苗; —△—, 嫁接苗

Fig. 1 The quantitative change of water during the formation of callus after grafting in spring and summer

—◇—, CK; —△—, Grafted seedling

2.3 大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中可溶性蛋白含量的变化

从图 2 可以看出,春季和夏季嫁接后,大扁杏嫁接苗形成层可溶性蛋白含量均始终高于对照苗。从总体上看,不同季节大扁杏嫁接苗可溶性蛋白含量

的变化趋势与其对照苗基本一致,但春季嫁接苗形成层可溶性蛋白含量变化幅度较小,而夏季嫁接苗变化幅度较大,且夏季嫁接苗形成层可溶性蛋白含量总体上高于春季嫁接苗。这是由于夏季气温较高,植物生长、代谢旺盛所致。

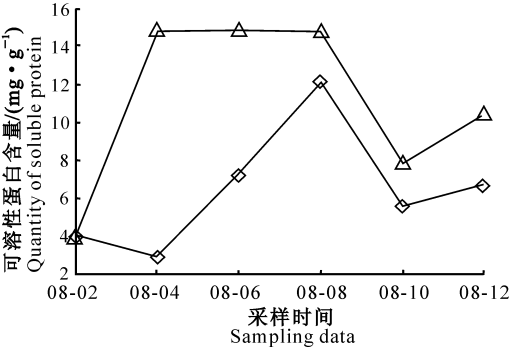
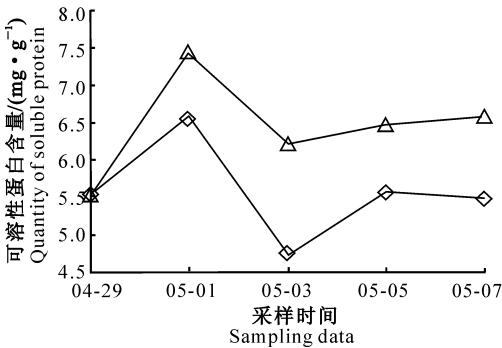


图 2 春季与夏季大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中可溶性蛋白含量的变化
—◇—, 对照苗; —△—, 嫁接苗

Fig. 2 The quantitative change of soluble protein during the formation of callus after grafting in spring and summer
—◇—, CK; —△—, Grafted seedling

2.4 大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中木质素含量的变化

从图 3 可以看出,春季嫁接后,大扁杏嫁接苗形成层木质素含量在大部分采样期明显高于对照苗,但在后期(05-07)又低于对照苗;夏季在嫁接后 2~6 d,嫁接苗形成层木质素含量高于对照苗,而在嫁接

后 8 d 又低于对照苗,至 08-12 嫁接苗与对照苗形成层木质素含量差别不大。总体上看,不同季节的大扁杏嫁接苗,其愈伤组织形成过程中形成层木质素含量变化趋势基本一致,但春季嫁接苗木质素含量在采样期间变化幅度较大,夏季嫁接苗形成层木质素含量远高于春季嫁接苗。

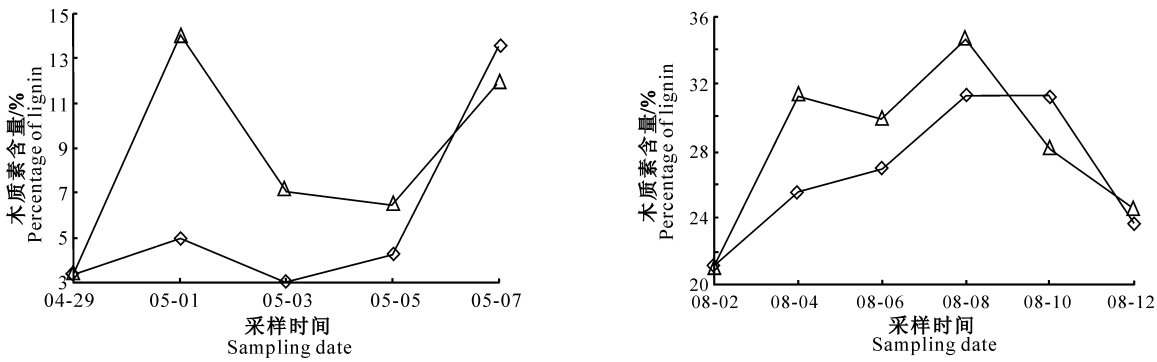


图 3 春季与夏季大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中木质素含量的变化
—◇—, 对照苗; —△—, 嫁接苗

Fig. 3 The quantitative change of lignin during the formation of callus after grafting in spring and summer

—◇—, CK; —△—, Grafted seedling

2.5 大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中多酚含量的变化

从图 4 可以看出,春季和夏季嫁接后,大扁杏嫁接苗形成层多酚含量大部分时间高于对照苗,仅在

08-12 较对照略有降低。总体来看,大扁杏春季嫁接苗形成层多酚含量变化趋势与其对照苗基本一致,夏季嫁接苗的形成层多酚含量远高于春季嫁接苗。

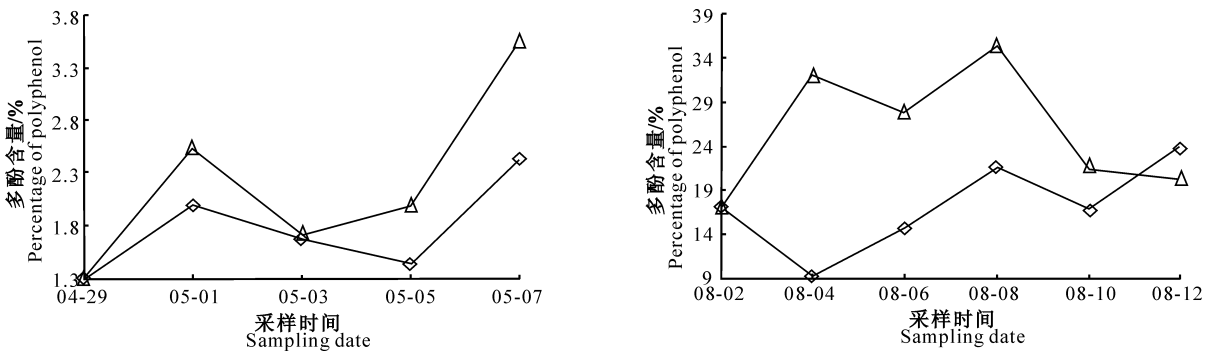


图 4 春季与夏季大扁杏嫁接苗愈伤组织形成过程中多酚含量的变化
—◇—, 对照苗; —△—, 嫁接苗

Fig. 4 The quantitative change of Polyphenol during the formation of callus after grafting in spring and summer

—◇—, CK; —△—, Grafted seedling

3 结论与讨论

影响大扁杏嫁接成活的生理生化因素是复杂的,本研究侧重于讨论从嫁接初期至愈伤组织形成这段时间内,与嫁接体发育相关的生化物质含量的变化。

水是植物体内新陈代谢物质的运输主体。自由

水含量越高,细胞渗透活动越活跃,越有利于细胞的分裂、生长和繁殖,从而促进愈伤组织的形成。但对于树木嫁接而言,自由水含量过高又会引起伤流液过多,从而使得砧木与接穗连接处被水淹而缺氧,导致嫁接成活率下降。而水分亏缺又会降低原生质、特别是叶绿素的水合程度,引起胶体结构的变化和酶活性的降低,从而使许多代谢过程的速率降低。

因此,脱水对嫁接愈合的影响比其他代谢过程更大。本研究结果表明,不同季节大扁杏嫁接苗形成层的水分含量与对照苗差别不大,并且变化趋势基本一致,只是嫁接苗含水量略低于对照苗,说明嫁接过程中产生的切口必然会导致部分水分散失,但在嫁接技术成熟、保水措施得力的前提下,水分含量并不是影响愈伤组织形成和嫁接成活的重要因素。

砧穗中蛋白质和可溶性糖含量等生理生化因子的变化,对嫁接成活过程具有显著影响^[14]。不同季节嫁接苗可溶性蛋白含量的变化趋势与其对照苗基本一致,并且嫁接苗形成层可溶性蛋白含量高于对照苗。这是由于愈伤组织的形成需要营养物质和能量,蛋白质在生命活动极为旺盛的形成层附近积蓄越多,越能增进嫁接后细胞分裂和愈伤组织的形成。本试验还发现,夏季嫁接苗可溶性蛋白含量高于春季嫁接苗。这一方面是由于夏季气温有利于植物生长,所以表现为形成层组织代谢更为旺盛,物质运输、转换速率更快;另一方面也说明营养物质的积累,对于嫁接体的发育很重要,形成层可溶性蛋白含量高,有利于细胞分化和愈伤组织形成。

木质素为植物的次生代谢产物,是构成细胞壁次生结构的主要成分,木质素对细胞壁的强化作用不仅能够使植物保持直立姿态,抗御压力和风力,而且能使植物形成足够强度的木质部导管分子,进行水分的长距离运输。木质素还具有防御功能,可以抑制真菌及其分泌的酶和毒素对细胞壁的穿透能力。嫁接体的发育实质上是一个以维管束功能恢复为主的、砧木与接穗间结构和功能重构及贯通的过程,而木质素在此过程中起着决定性作用。大扁杏于不同季节嫁接后,在愈伤组织形成过程中,嫁接苗形成层木质素含量变化趋势与其对照苗基本一致,并且嫁接苗形成层中木质素含量高于对照苗。夏季嫁接苗形成层木质素含量远高于春季嫁接苗,说明夏季高温有利于木质素的合成和运转。嫁接后,前期形成层木质素合成量较多,这不仅有利于木质部导管组织的快速形成,对机体的自我防御及防止水分散失也具有积极作用。本试验结果与前人在其他植物材料上的研究结果相同^[15-16]。

植物体内的多酚物质是受生物和非生物胁迫如紫外线辐照、高光、低温、创伤、营养不良、病原体侵袭等诱导而产生的,用以适应外界环境^[17]。多酚类物质还能使愈伤组织对生长促进类物质无反应和降低维管束的分化^[15-16]。有人认为,植物嫁接体难以成活,酚类物质的总含量不一定是主要原因,而某些

对愈合起抑制作用的酚类物质,如香豆酸及某些未知的酚类物质的存在,或对愈合起促进作用的酚类物质的缺少,可能是影响嫁接成活的主要原因^[18-20]。当植物受到伤害后,多酚氧化酶与多酚类化合物接触并相互作用,将多酚氧化成有活性的醌,醌自发聚合并与蛋白质中的氨基酸基团反应,产生黑色或褐色物质,形成隔离层。因此,当植物受到伤害时,醌的活性会升高,这是抑制嫁接成活的一个原因。丁平等^[21-22]用伤流液和蒸馏水分别浸泡核桃接穗,研究酚类物质对嫁接的影响,认为伤流液对核桃嫁接成活的影响是水淹所致,并非酚类物质作用的结果。本试验中不同季节的大扁杏嫁接苗形成层多酚含量与对照苗变化趋势基本一致,并且嫁接苗形成层多酚含量高于对照,夏季嫁接苗形成层多酚含量又远高于春季嫁接苗,说明多酚有利于嫁接体的成活。

综上分析认为,影响大扁杏嫁接愈合的因素,不是单一的某类物质,而是多种物质协同作用的结果。另外,季节条件对嫁接体的愈合也起着重要作用。芽接的季节不同,影响愈合的生化物质活性和含量也有不同变化,夏季是嫁接的最适时间。嫁接初期,接口内部为了适应突然的变化,进行了物质的合成与转化,产生了大量的可溶性蛋白和木质素,用于细胞分裂与分化;并产生了大量的对愈合起促进作用的多酚,以抵御昼夜温差、创伤和外源病原物的侵入;同时,形成层适当的水分含量保证了嫁接体的成活。因此,在以后的嫁接过程中,应综合考虑影响嫁接成活的各个因素,更好地利用辅助性的额外添加剂来提高嫁接成活率。

[参考文献]

- [1] 全国李杏资源调查协作组. 中国杏资源分布及利用[J]. 中国果树, 1990(4): 29-34.
Resource research group of plum-armeniaca. The distribute and utilizing of the armeniaca resource in China [J]. Journal of China Fruit Tree, 1990(4): 29-34. (in Chinese)
- [2] 楚燕杰, 张国宝, 李秀英. 仁用杏丰产栽培[M]. 北京: 中国农业出版社, 1994: 37-40.
Chu Y J, Zhang G B, Li X Y. Fertility and plant of kernel armeniaca [M]. Beijing: The Publishing Company of China Agriculture, 1994: 37-40. (in Chinese)
- [3] 罗正荣, 胡春根, 蔡礼鸿. 嫁接及其在植物繁殖和改良中的应用[J]. 植物生理学通讯, 1996, 32(1): 59-63.
Luo Z R, Hu C G, Cai L H. The utilizing of graft in plant reproducing and improvement [J]. Journal of Plant Physiology, 1996, 32(1): 59-63. (in Chinese)

- [4] Jonard R. Micrograft in gandits applications to tree improvement[M]//Bajaj Y P. Biotechnology in agriculture and forestry: Trees I. Berlin, Heidelberg, NewYork, Tokyo: Springer Verlag, 1986.
- [5] 张加延, 张 魁, 马兴华, 等. 关于开发辽西仁用杏产业的建议[J]. 北方果树, 2001(6): 25-27.
- Zhang J Y, Zhang K, Ma X H. et al. The advice for utilizing Liaoxi kerneal armeniaca industrial [J]. Journal of Fruit Tree of North China, 2001(6): 25-27. (in Chinese)
- [6] 王乃江, 赵 忠. 三种杏抗旱生理特性比较研究[J]. 西北林学院学报, 2001(1): 1-4.
- Wang N J, Zhao Z. Compare of anti-drought in physiology in three different armeniaca[J]. Journal of Northwest Forestry, 2001(1): 1-4. (in Chinese)
- [7] Yildiz K, Yildiz H. Effect of transplanting rootstocks before grafting on xylem exudation and graft success in almond [J]. Journal of the American Pomological Society; 2003, 57(4): 143-146.
- [8] Garcia N F, Carvajai M E. Graft union formation in tomato plants; peroxidase and catalase involvement [J]. Annals of Botany, 2004, 93(1): 53.
- [9] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术[M]. 北京: 科学出版社, 2002.
- Chen Y Q. Experimental method and technology of biochemistry[M]. Beijing: The Publishing Company of Science, 2002. (in Chinese)
- [10] 波钦诺克 X H. 植物生物化学分析法[M]. 北京: 科学出版社, 1981.
- Boqinuok X H. Analytical method of plant biochemistry [M]. Beijing: The Publishing Company of Science, 1981. (in Chinese)
- [11] 熊素敏, 左秀凤, 朱永义. 稻壳中纤维素、半纤维素和木质素含量的测定[J]. 粮食与饲料工业, 2005(8): 40-42.
- Xiong S M, Zuo X F, Zhu Y Y. Content of mensuration of cellulose hemicellulose and lignin in rice shell [J]. Foodstuff and Feedstuff Industry, 2005(8): 40-42. (in Chinese)
- [12] 滕 冰, 吴宗璞. 大豆种粒中多酚含量的分析方法[J]. 大豆科学, 1999, 16(3): 265-268.
- Ten B, Wu Z P. Analysis method of hydroxybenzene content in soybean grain [J]. Soybean Science, 1999, 16(3): 265-268. (in Chinese)
- [13] 夏锦尧. 有机化合物及药物的比色法、荧光法分析[M]. 北京: 中国人民公安大学出版社, 1989.
- Xia J Y. Colorimetric and fluorescence analysis of organic compound and pharmacy [M]. Beijing: The Publishing Company of People's Public Security University, 1989. (in Chinese)
- [14] 郑炳松. 山核桃嫁接成活的生理生化特性分析[J]. 福建林学院学报, 2002, 22(4): 320-324.
- Zhen B S. The analysis of physiology and biochemistry characteristic of grafted walnut [J]. Journal of Fujian Forestry, 2002, 22(4): 320-324. (in Chinese)
- [15] Nakashima J, Washington T, Cheng G, et al. Immunocytochemical localization of phenylalanine ammonialyase and cinamyl alcohol dehydrogenase in differentiating tracheary elements derived from Zinnia mesophyll cells [J]. Plant Cell Physiology, 1997, 38(2): 113-123.
- [16] Tubery R H, Northcote D H. Site of phenylalanine ammonialyase activity and synthesis of lignin during xylem differentiation [J]. Nature (London), 1986, 210: 1230-1234.
- [17] 潘瑞炽, 董愚得. 植物生理学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1998.
- Pan R Z, Dong Y D. Plant physiology [M]. Beijing: The Publishing Company of High Education, 1998. (in Chinese)
- [18] 张蜀秋, 杨世杰, 马龙彪. 嫁接组合形成过程中两种酶活性的动态变化 [J]. 北京大学学报, 1990, 16(2): 149-152.
- Zhang S Q, Yang S J, Ma L B. The dynamic change of two enzymes in formation of graft combination [J]. Journal of Beijing University, 1990, 16(2): 149-152. (in Chinese)
- [19] Jacobs W P. The role of auxin in differentiation of xylem around a wound [J]. Amer J Bot, 1952, 39: 301-308.
- [20] 余沛涛, 薛应龙. 植物苯丙氨酸解氨酶 PAL 在细胞分化中的作用 [J]. 植物生理学报, 1986, 12(1): 37-38.
- Yu P T, Xue Y L. The function of plant PAL in cell differentiation [J]. Journal of Plant Physiology, 1986, 12(1): 37-38. (in Chinese)
- [21] 丁平海, 郝荣庭. 酚类物质对核桃嫁接成活的影响[J]. 河北农业大学学报, 1991(4): 23-25.
- Ding P H, Xi R T. The influence of surviving of hydroxybenzene in grafted walnut [J]. Journal of Hebei Agriculture University, 1991(4): 23-25. (in Chinese)
- [22] 丁平海, 郝荣庭, 李金空. 核桃愈伤组织形成条件及形成部位的解剖观察 [J]. 河北农业大学学报, 1989(1): 32-35.
- Ding P H, Xi R T, Li J K. Anatomize observing of callus formation and position in walnut [J]. Journal of Hebei Agriculture University, 1989(1): 32-35. (in Chinese)