

黄闽敏, 张毅, 张强, 等. 核桃砧木优株外植体初代培养的影响因素[J]. 山西农业科学, 2026, 54(2): 54-61.

HUANG M M, ZHANG Y, ZHANG Q, et al. Factors affecting the primary culture of plus trees explants in walnut rootstock[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2026, 54(2): 54-61.

doi:10.26942/j.cnki.issn.1002-2481.2026.02.07

## 核桃砧木优株外植体初代培养的影响因素

黄闽敏<sup>1,2</sup>, 张毅<sup>1,3</sup>, 张强<sup>1,2</sup>, 宁万军<sup>1,2</sup>, 王宝庆<sup>1,2</sup>

(1.新疆维吾尔自治区林业科学院 经济林研究所, 新疆 乌鲁木齐 830063; 2.新疆阿克苏森林生态系统国家定位观测研究站, 新疆 阿克苏 843000; 3.石河子大学 农学院, 新疆 石河子 832000)

**摘要:**建立核桃砧木无性系的组培高效繁育体系,对于核桃专用砧木的品种形成及其规模化应用具有重要意义。为了探索新疆核桃砧木优株的最优组培方式,采用四因素三水平(L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>))的正交试验,研究了培养基种类(WPM培养基、DKW培养基、1/2 MS培养基)、抗褐化剂(PVP)(0.1、0.5、1.0 g/L)、激素种类(TDZ 0.5 mg/L、TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L、6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L)以及消毒方式(1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min、1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min+3.0 g/L 柠檬酸、1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 15 min)对核桃砧木外植体褐化、污染以及萌芽的影响。结果表明,消毒方式对核桃外植体初代培养影响最大,1.0 g/L HgCl<sub>2</sub>消毒10 min可以显著降低褐化率、污染率并提高萌芽率;PVP含量达到0.5 g/L时对降低褐化率、提高萌芽率起着重要作用;激素种类选择0.5 mg/L TDZ+0.1 mg/L IBA时可显著提高萌芽率并降低污染率。综合评价得出,核桃砧木外植体初代培养的最优培养方式为DKW+0.5 g/L PVP+0.5 mg/L TDZ+0.1 mg/L IBA+1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min。

**关键词:**核桃砧木;正交试验;褐化率;污染率;萌芽率

**中图分类号:**S664.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2481(2026)02-0054-08

## Factors Affecting the Primary Culture of Plus Trees Explants in Walnut Rootstock

HUANG Minmin<sup>1,2</sup>, ZHANG Yi<sup>1,3</sup>, ZHANG Qiang<sup>1,2</sup>, NING Wanjun<sup>1,2</sup>, WANG Baoqing<sup>1,2</sup>

(1.Economic Forestry Research Institute, Xinjiang Academy of Forestry Sciences, Urumqi 830063, China;

2.Forest Ecosystem National Positioning Observation and Research Station in Aksu Xinjiang, Aksu 843000, China;

3.Agricultural College, Shihezi University, Shihezi 832000, China)

**Abstract:** Establishing an efficient in vitro propagation system for walnut rootstock clones is of great significance for the cultivar development and large-scale application of specialized walnut rootstocks. To explore the optimal tissue culture method for plus trees of walnut rootstock from Xinjiang, in this study, an orthogonal experimental design with four factors and three levels L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>) was employed to investigate the effects of medium type(WPM, DKW, and 1/2 MS), anti-browning agent(PVP at 0.1, 0.5, and 1.0 g/L), plant growth regulator combination(TDZ 0.5 mg/L, TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L, and 6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L), and disinfection method(1.0 g/L of HgCl<sub>2</sub> for 10 min, 1.0 g/L of HgCl<sub>2</sub> for 10 min+3.0 g/L of citric acid, and 1.0 g/L of HgCl<sub>2</sub> for 15 min) on the browning, contamination, and germination of walnut rootstock explants. The results showed that the disinfection method had the greatest impact on the primary culture of walnut explants. Disinfection with 1.0 g/L of HgCl<sub>2</sub> for 10 min significantly reduced the browning and contamination rates while increasing the germination rate. A PVP concentration of 0.5 g/L played an important role in reducing browning rate and increasing germination rate. The selection of 0.5 mg/L of TDZ+0.1 mg/L of IBA as the plant growth regulator combination significantly increased the germination rate and reduced the contamination rate. Through comprehensive evaluation, the optimal culture method for the primary culture of walnut rootstock explants was determined to be DKW medium supplemented with 0.5 g/L of PVP, 0.5 mg/L of TDZ, and 0.1 mg/L of IBA, combined with disinfection using 1.0 g/L of HgCl<sub>2</sub> for 10 min.

收稿日期:2025-06-25

基金项目:“天山英才”培养计划科技创新团队项目(2023TSYCTD0006);新疆维吾尔自治区“三农骨干人才”项目(2022SNGGGCC033);新疆维吾尔自治区核桃产业技术体系(XJLGCYJSTX01-2026)

作者简介:黄闽敏,副研究员,硕士,主要从事核桃育种及栽培研究,E-mail:hmm1102@qq.com

通信作者:张强,研究员,硕士,主要从事核桃育种及高效栽培研究,E-mail:707237940@qq.com

**Keywords:** walnut rootstock; orthogonal experiment; browning rate; contamination rate; germination rate

核桃(*Juglans regia* L.)为胡桃科核桃属落叶乔木,是我国重要的经济树种之一,具有丰富的种质资源和悠久的栽培历史<sup>[1]</sup>。新疆是我国核桃重要产区,截至2023年末,新疆核桃种植总面积43.3万hm<sup>2</sup>(含兵团),总产量130.29万t。新疆在全国最早形成主栽品种并大规模应用在生产中,目前形成以温185+新新2、扎343+新丰为代表的2套主栽品种,约占全疆核桃总面积的70%,良种化率在全国首屈一指。

品种化栽培对新疆核桃产业高质量发展起着至关重要的作用。科研工作者在选育新品种时大多把关注点聚焦在核桃树的品种化,而对砧木品种化研究甚少,选育砧木品种的扩繁技术研究几乎是空白。我国核桃砧木培育研究起步较晚<sup>[2-5]</sup>,目前核桃砧木苗主要采用种子繁殖,但核桃为雌雄同株异花植物,种子繁殖实生砧木苗后代亲缘关系不清、个体遗传变异大,即使嫁接同一优良品种,良种的生长状况和品质也会有较明显差异。核桃树是公认的难生根树种之一,本身也不具分蘖繁殖特性,采用扦插等繁殖方法很难在短期内获得大量优质苗木。应用组培技术进行核桃砧木的扩繁,具有速度快、不受季节影响等特点,对于核桃优良砧木品种的推广具有重要的意义<sup>[6]</sup>。现阶段尽管组培技术研究已取得一定进展。张新超等<sup>[6-7]</sup>构建绿岭核桃初代培养、继代增殖、瓶内生根和移栽驯化的完整体系,发现外源K-IBA和IBA均对绿岭核桃瓶内生根有促进作用。李蒙蒙<sup>[8]</sup>以核桃叶片、叶柄、茎段为外植体,对其离体培养不同阶段的最佳培养基进行了筛选。李佳<sup>[9]</sup>在对胡桃楸带芽茎段进行离体培养时,发现0.1%HgCl<sub>2</sub>消毒10min的效果最好。丁文文<sup>[10]</sup>在对温185核桃成熟状态半木质化的带腋芽茎段进行离体培养时,发现消毒剂NaClO处理效果优于H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,用

1.0%NaClO消毒10~15min效果较好。王华<sup>[11]</sup>研究发现,对美国奇异核桃Vlach乌拉克组培苗暗培养10d或13d,生根效果最佳;蔗糖浓度为20g/L时,生根效果最佳。但由于植物品种之间基因型的差异使得不同品种的植物培养条件差异很大,且核桃遗传背景及倍性复杂,品种较多。因此,建立新疆核桃砧木无性系的组培高效繁育体系,对提高核桃砧木组培苗的规模化生产能力具有重要意义。

本研究以选育核桃砧木优株的新梢茎段为试材,对新梢茎段初代培养进行了研究,旨在建立新疆核桃砧木新梢茎段组织培养的快繁体系,为新疆核桃产业发展及砧木良种高效保存提供参考依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料及试剂

供试样株为核桃(*Juglans regia* L.)与黑核桃(*Juglans nigra* L.)自然杂交后代,由新疆维吾尔自治区林业科学院经济林研究所选育核桃砧木优株。采集核桃未木质化新枝,选取带有饱满芽体的枝段,剪成3~4cm,用自来水冲洗干净,无磷洗衣粉洗涤后自来水冲洗2h,吸干水分备用。

噻苯隆(TDZ)、6-苄基嘌呤(6-BA)、吲哚丁酸(IBA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)等均购自上海麦克林生化科技有限公司。

### 1.2 试验方法

2024年5月在新疆林果树种选育与栽培重点实验室组培室进行试验,选定培养基种类、防褐化剂聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、不同激素种类和消毒方式为4个因素,每个因素3个水平(表1),进行四因素三水平(L<sub>9</sub>(3<sup>4</sup>))的正交试验,分析其对核桃砧木组培苗褐化、污染以及萌芽的影响,以找到核桃砧木组培苗初代培养基的最佳配方和外植体最佳消毒方法。

表1 核桃砧木初代培养的正交试验的因素和水平

Tab.1 The orthogonal experimental factors and levels for primary culture of walnut rootstock

水平 Level	因素 Factor			
	培养基种类(A) Culture medium type(A)	聚乙烯吡咯烷酮(B) PVP(B)	激素(C) Hormone(C)	消毒方式(D) Sterilization method(D)
1	WPM培养基	0.1 g/L	TDZ 0.5 mg/L	1.0 g/L HgCl <sub>2</sub> 10 min
2	1/2 MS培养基	0.5 g/L	TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L	1.0 g/L HgCl <sub>2</sub> 10 min+3.0 g/L 柠檬酸
3	DKW培养基	1.0 g/L	6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L	1.0 g/L HgCl <sub>2</sub> 15 min

在 3 种基础培养基中分别添加不同浓度抗褐化剂 PVP 和激素,准备好培养基。在超净工作台中的无菌条件下将洗净的枝段按照 3 种消毒方式分别处理后,无菌水清洗 4 次,吸干水分接入培养基中,共设 9 个处理,重复 3 次,每个重复 12 瓶,每瓶接 1 个茎段,培养室环境条件:温度(25±2)℃,湿度 50%~60%,光照 12~16 h/d,光照强度 3 000 lx。

### 1.3 测定指标及方法

培养 20 d 后,记录褐化、污染和萌芽情况,统计褐化率、污染率、萌芽率。

褐化率<sup>[12]</sup> = 外植体褐化数/接种外植体总数 × 100% (1)

污染率<sup>[12]</sup> = 外植体污染数/接种外植体总数 × 100% (2)

萌芽率<sup>[12]</sup> = 萌发外植体数/接种外植体总数 × 100% (3)

### 1.4 数据分析

数据采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同培养条件和消毒方式对褐化率的影响

2.1.1 正交试验结果 因素主次以极差 R 的大小来衡量。R 大表明因素对试验结果影响大,此因素比较重要;反之,R 小则表明其对试验的影响小,此因素相比较为次要<sup>[13-14]</sup>。从核桃砧木外植体褐化率和各因素 K 值及 R 值(表 2 和图 1、2)可知,因素 D 消毒方式的 R 值最大,为 38.72;因素 B 防褐化剂 PVP 次之,为 15.71;因素 C 激素,R 值为 13.13;最后是因素 A 培养基种类,即因素影响大小顺序为 D>B>C>A。说明参试因素中因素 D 对核桃砧木外植体褐化的效应最大,因素 B 次之。

表 2 核桃砧木初代培养褐化率的正交试验结果

Tab.2 Orthogonal experiment for the primary culture of walnut rootstock

试验号 Number	A	B	C	D	褐化率/% Browning rate
1	1	1	1	1	13.77±1.55eE
2	1	2	3	2	37.32±1.63bB
3	1	3	2	3	30.14±2.59cC
4	2	1	2	3	23.42±0.96dD
5	2	2	3	1	0.00±0.00gF
6	2	3	1	2	67.55±4.07aA
7	3	1	3	2	33.61±3.76bcBC
8	3	2	1	3	21.81±2.22dD
9	3	3	2	1	8.54±0.58fE
K1	27.08	23.60	34.38	7.44	
K2	30.33	19.71	23.09	46.16	
K3	21.32	35.41	21.25	25.12	
R	9.00	15.71	13.13	38.72	

注:表中同列大小写字母分别表示 0.01 和 0.05 水平上差异显著。表 4、5、7、8、10 同。

Note: The uppercase and lowercase letters in the same column represented significant differences at the 0.01 and 0.05 levels, respectively. The same as Tab.4, 5, 7, 8, 10.



图 1 外植体发生褐化(处理 6)

Fig.1 Explant browning (Treatment 6)



图 2 外植体未褐化(处理 5)

Fig.2 No browning explant (Treatment 5)

2.1.2 方差分析 对核桃砧木初代培养褐化率的

方差分析,得出 4 组因子对核桃砧木外植体褐化的

影响都很大,均达到了极显著水平( $P<0.01$ )(表3)。

表3 核桃砧木初代培养褐化率的方差分析

Tab.3 Analysis of variance(ANOVA) of browning rate in the primary culture of walnut rootstock

变异来源 Source	SS	df	MS	F	显著水平 Significant level	变异来源 Source	SS	df	MS	F	显著水平 Significant level
A	374.32	2	187.16	34.61	0.000 1**	D	6 763.81	2	3 381.91	625.36	0.000 1**
B	1 204.05	2	602.03	111.32	0.000 1**	误差 Error	97.34	18	5.41		
C	909.61	2	454.81	84.10	0.000 1**						

注:\*\*表示在0.01水平上差异极显著。表6,9同。

Note: \*\* indicated extremely significant differences at the 0.01 level. The same as Tab.6, 9.

2.1.3 主效应因素的多重比较 对核桃砧木初代培养褐化率各因子水平进行差异显著性比较,结果表明(表4),A因素不同水平中,A3相对于A1和A2,核桃砧木外植体的褐化率有明显降低,这说明DKW培养基相对于其余2种培养基更有利于降低核桃砧木外植体的褐化率;B因素不同水平中,B2褐化率明显低于B1和B3,表明防褐化剂PVP在质量浓度为0.5 g/L时,对核桃砧木防褐化效果最明显,过高和过低浓度均不利于降低褐化率;C

因素不同水平中,C3即激素为6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L时褐化率最低,显著低于C1( $P<0.05$ ),与C2褐化率差异不大,表明添加激素6-BA对核桃砧木防褐化效果有显著影响;D因素不同水平中,D1相对于D2和D3,核桃砧木外植体的褐化率有显著降低,在方差分析水平上达到极显著水平( $P<0.01$ ),这说明1.0 g/L HgCl<sub>2</sub>消毒10 min的消毒方式相对于其余2种处理更利于降低褐化率。

表4 核桃砧木初代培养褐化率各因子水平的差异显著性

Tab.4 Significance of differences in browning rate across factor levels in the primary culture of walnut rootstock

水平	Level	A均值 A mean	B均值 B mean	C均值 C mean	D均值 D mean
1	1	27.08±10.58bA	23.60±8.83bB	34.38±5.24aA	7.44±6.09cC
2	2	30.33±9.78aA	19.71±6.29cC	23.09±9.67bB	46.16±16.38aA
3	3	21.32±11.08cB	35.41±5.97aA	21.25±7.92bB	25.12±4.21bB

2.1.4 最佳培养方式的确定 经综合分析,确定防止核桃砧木褐化的最优培养方式为A3B2C3D1,即DKW+PVP 0.5 g/L+6-BA 1.0 mg/L+IBA 0.1 mg/L+1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min。

## 2.2 不同培养条件和消毒方式对污染率的影响

2.2.1 正交试验结果 不同处理对核桃砧木外植体污染影响见表5和图3、4。从核桃砧木外植体污

染率和各因素K值及极差R值的结果可以看出,本试验因素D消毒方式的R值最大,为14.65,因素C激素次之,为12.93,然后是因素B防褐化剂PVP,R值为3.98,最后是因素A培养基种类,说明参试因素中因素D对核桃砧木外植体污染的效应最大,因素C次之,然后是因素B,最后是因素A。因此,因素影响大小顺序为D>C>B>A。

表5 核桃砧木初代培养污染率的正交试验结果

Tab.5 Orthogonal experiment for the primary culture of walnut rootstock

试验号	Number	A	B	C	D	污染率/%	Contamination rate
1	1	1	1	1	1	6.68±1.56dD	
2	2	1	2	3	2	12.61±2.33cC	
3	3	1	3	2	3	30.27±1.29aA	
4	4	2	1	2	3	30.48±3.78aA	
5	5	2	2	3	1	23.06±2.39bB	
6	6	2	3	1	2	6.60±0.54dD	

续表 5 核桃砧木初代培养污染率的正交试验结果

Tab.5(Continued) Orthogonal experiment for the primary culture of walnut rootstock

试验号	Number	A	B	C	D	污染率/%	Contamination rate
7		3	1	3	2	20.05±2.27bB	
8		3	2	1	3	21.31±2.87bB	
9		3	3	2	1	8.37±0.80dCD	
K1		16.52	19.07	11.53	12.70		
K2		20.05	18.99	17.16	13.09		
K3		16.58	15.09	24.46	27.35		
R		3.53	3.98	12.93	14.65		



图 3 外植体发生污染 (处理 4)

Fig.3 Explant contamination (Treatment 4)



图 4 外植体未污染 (处理 1)

Fig.4 Uncontaminated explant (Treatment 1)

2.2.2 方差分析 核桃砧木初代培养污染率的方差分析结果如表 6 所示,4 组因子对核桃砧木外植

体污染的影响都很大,差异均达到了极显著水平 ( $P<0.01$ )。

表 6 核桃砧木初代培养污染率的方差分析

Tab.6 Analysis of variance(ANOVA) of contamination rate in the primary culture of walnut rootstock

变异来源	SS	df	MS	F	显著水平	变异来源	SS	df	MS	F	显著水平
Source					Significant level	Source					Significant level
A	73.44	2	36.72	7.50	0.004 3**	D	1 254.64	2	627.32	128.19	0.000 1**
B	93.41	2	46.70	9.54	0.001 5**	误差 Error	88.08	18	4.89		
C	756.44	2	378.22	77.29	0.000 1**						

2.2.3 主效应因素的多重比较 对核桃砧木初代培养污染率各因子水平进行差异显著性比较,结

果如表 7 所示。

表 7 核桃砧木初代培养污染率各因子水平的差异显著性

Tab.7 Significance of differences in contamination rate across factor levels in the primary culture of walnut rootstock

水平	Level	A 均值	A mean	B 均值	B mean	C 均值	C mean	D 均值	D mean
1		16.58±8.74bB		19.07±8.59aA		11.53±7.51cC		12.70±7.90bB	
2		20.05±8.81aA		18.99±5.32aA		17.16±8.18bB		13.09±6.06bB	
3		16.52±6.54bB		15.09±7.44bB		24.46±5.07aA		27.35±5.16aA	

从表 7 可以看出,A 因素不同水平中,A1 和 A3 相对于 A2,核桃砧木外植体的污染率有明显降低,这说明 WPM 和 DKW 培养基相对于 1/2 MS 培养基更有利于降低核桃砧木外植体的污

染率;B 因素不同水平中,B3 污染明显低于 B1 和 B2,表明防褐化剂 PVP 在质量浓度为 1.0 g/L 时,对核桃砧木防污染效果最明显;C 因素不同水平中,C1 即激素为 TDZ 0.5 mg/L 时污染率最低,显

著低于C2和C3,与褐化率呈现相反的趋势;D因素不同水平中,D1和D2相对于D3,核桃砧木外植体的污染率有显著降低,达到极显著水平( $P < 0.01$ ),说明1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min的消毒方式更有利于降低核桃砧木外植体的污染率,消毒时间延长和在3.0 g/L柠檬酸中切割均会增大污染概率。

2.2.4 最佳培养方式的筛选 经直观和方差分析,确定防止核桃砧木污染的最优培养方式为A3B3C1D1,即DKW+1.0 g/L PVP+0.5 mg/L TDZ+1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min。

### 2.3 不同培养条件和消毒方式对萌发率的影响

2.3.1 正交试验结果 不同处理对核桃砧木外植体萌发的影响见表8和图5、6。从核桃砧木外植体萌发率和各因素的K值及极差R值的结果可以看出,因素D消毒方式的R值最大,为42.10,因素B防褐化剂PVP次之,为15.32,然后是因素C激素,R值为12.15,最后是因素A培养基种类,说明参试因素中因素D对核桃砧木外植体萌发的效应最大,远远高于其他3种因素,因素C次之,然后是因素B,最后是因素A。

表8 核桃砧木初代培养萌芽率的正交试验结果

Tab.8 Orthogonal experiment for primary culture of walnut rootstock

试验号	Number	A	B	C	D	萌芽率/%	Germination rate
1	1	1	1	1	1	80.20±2.81bB	
2	2	1	2	3	2	49.50±1.04dD	
3	3	1	3	2	3	38.64±2.51eE	
4	4	2	1	2	3	61.05±1.62cC	
5	5	2	2	3	1	91.72±2.88aA	
6	6	2	3	1	2	26.39±1.91fF	
7	7	3	1	3	2	52.29±3.75dD	
8	8	3	2	1	3	50.06±3.36dD	
9	9	3	3	2	1	82.56±2.89bB	
K1		56.12	64.52	52.22	84.83		
K2		59.72	63.76	64.37	42.73		
K3		61.64	49.20	60.89	49.92		
R		5.52	15.32	12.15	42.10		



图5 腋芽未萌发 (处理3)

Fig.5 No germination axillary bud (Treatment 3)



图6 腋芽已萌发 (处理5)

Fig.6 Axillary bud germination (Treatment 5)

2.3.2 方差分析 核桃砧木初代培养萌芽率的方差分析结果如表9所示,4组因子对核桃砧木外植

体萌发的影响都很大,差异均达到了极显著水平( $P < 0.01$ )。

表9 核桃砧木初代培养萌芽率的方差分析

Tab.9 Analysis of variance(ANOVA) of germination rate in the primary culture of walnut rootstock

变异来源	SS	df	MS	F	显著水平	变异来源	SS	df	MS	F	显著水平
Source					Significant level	Source					Significant level
A	141.46	2	70.73	9.98	0.001 2**	D	9 128.73	2	4 564.37	644.19	0.000 1**
B	1 341.50	2	670.75	94.67	0.000 1**	误差 Error	127.54	18	7.09		
C	704.74	2	352.37	49.73	0.000 1**						

2.3.3 主效应因素的多重比较 对核桃砧木初代培养萌发率各因子水平进行差异显著性比较,结果(表 10)表明,A 因素不同水平中,A2 和 A3 相对于 A1,对核桃砧木外植体的萌发率有明显提高,这说明 DKW 和 1/2MS 培养基相对于 WPM 培养基更有利于提高核桃砧木外植体的萌发率;B 因素不同水平中,B1 和 B2 萌发率明显高于 B3,表明防褐化剂 PVP 在质量浓度为 0.1~0.5 g/L 时,对

核桃砧木外植体萌发最有利,浓度过高反而不利于萌发;C 因素不同水平中,C2 即激素为 TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L 时萌发率最高,显著高于 C2 和 C3;D 因素不同水平中,D1 萌发率显著高于 D2 和 D3,说明 1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min 的消毒方式对核桃砧木外植体的萌发效果最好,消毒时间过长和在 3 g/L 柠檬酸中切割均不利于萌发。

表 10 核桃砧木初代培养萌芽率各因子水平的差异显著性

Tab.10 Significance of differences in germination rate across factor levels in the primary culture of walnut rootstock

水平	Level	A 均值	A mean	B 均值	B mean	C 均值	C mean	D 均值	D mean	%
1		56.12±18.77bB		64.52±12.61aA		52.22±13.48cC		84.83±5.82aA		
2		59.72±18.36aA		63.76±11.09aA		64.37±19.13aA		42.73±12.50cC		
3		61.64±15.98aA		49.20±15.67bB		60.89±10.59bB		49.92±9.96bB		

2.3.4 最佳培养方式的筛选 经综合分析,确定核桃砧木萌发的最优培养方式为 A3B1C2D1,即 DKW+PVP 0.1 g/L+TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min。

### 3 结论与讨论

核桃外植体结构复杂消毒难,初代培养污染率高。影响消毒效果的因素很多,品种与种类、外植体生长部位以及取材时间、消毒剂浓度与消毒时间等<sup>[15-16]</sup>,消毒时间太短达不到灭菌目的,时间太长外植体容易被杀死,因此,消毒时间很难控制<sup>[17]</sup>。有研究报道,选核桃楸当年生半木质化枝条为外植体,采用 0.1%HgCl<sub>2</sub> 灭菌 8 min,污染率和褐化率均相对较低,但生长效果不理想<sup>[8]</sup>,本试验与其研究结果不同,得出核桃砧木优株初代培养,消毒方式不当及消毒时间过长或过短都不利于茎段成活,适当的消毒方式及时间能有效地避免外植体污染和褐化并促进芽体萌发。1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min 处理对核桃砧木优株外植体污染和褐化均有良好的抑制作用,且对萌发具有较好的促进作用。

褐变是由植物组织中酚类物质经多酚氧化酶氧化后产生棕褐色的醌类物质造成<sup>[18]</sup>。一般外植体褐变的发生受多因子影响。刘兰英<sup>[19]</sup>研究发现,培养基中无机盐含量和激素浓度、培养温度等都与褐变程度有关,较高培养温度(25±2)℃、培养基中较高无机盐浓度、较高激素浓度及木质化程度高的外植体都会促进褐化的发生。PVP 是组织培

养过程中常用的抗褐化剂,它是一种水溶性物质,通过氢键与酚类物质结合,减少酚类物质的毒害,起到减轻褐化的作用<sup>[20]</sup>。本试验结果显示,PVP 含量对核桃砧木褐化率和萌芽率均起着重要的作用,控制褐化率最优剂量为 0.5 g/L。

植物离体快繁中,基本培养基中含有植物正常生长所必需的营养元素,是离体植物生长和分化的基础<sup>[21]</sup>。激素在调控离体器官发生中起着关键作用,细胞分裂素与生长素的比值影响着植株分化再生的方向<sup>[22]</sup>,选择适宜的植物激素种类及浓度对抗褐化效果也不同<sup>[23]</sup>。黄丽辉等<sup>[24]</sup>研究发现,基本培养基和细胞分裂素共同影响小果甜柿组培继代苗的褐化程度、增殖效果。本试验研究得出,激素对萌发率影响较大,对污染率影响相对较小,因此,在核桃砧木初代培养配方中选择培养基种类为 DKW 培养基,激素为 TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L。因此,核桃砧木初代培养最优培养方式为 DKW+PVP 0.5 g/L+TDZ 0.5 mg/L+IBA 0.1 mg/L+1.0 g/L HgCl<sub>2</sub> 10 min。

#### 参考文献:

- [1] 李淑芳,习学良,杨建华,等.我国核桃产业标准化现状与进展[J].北方园艺,2016(22):185-188.  
LI S F, XI X L, YANG J H, et al. Present situation and progress of standardization of walnut industry in China[J]. Northern Horticulture, 2016(22): 185-188.
- [2] 王建议.不同核桃砧木品种特性比较研究[J].山西农业大学学报(自然科学版),2012(6):526-529.  
WANG J Y. Study on variety characteristics of different walnut

- rootstock[J]. Journal of Shanxi Agricultural University (Natural Science Edition), 2012(6): 526-529.
- [3] 王贵, 王建义, 贺奇, 等. 晋RS-1系核桃砧木的选育研究[J]. 山西林业科技, 2011, 40(4): 1-5.  
WANG G, WANG J Y, HE Q, et al. Study on breeding of Jin RS-1 walnut rootstock[J]. Shanxi Forestry Science and Technology, 2011, 40(4): 1-5.
- [4] 邵慰忠, 李川, 常君, 等. 薄壳山核桃优质砧木的培育技术[J]. 经济林研究, 2011, 29(4): 111-115.  
SHAO W Z, LI C, CHANG J, et al. Cultivation techniques of fine rootstock in *Carya illinoensis*[J]. Nonwood Forest Research, 2011, 29(4): 111-115.
- [5] 苏彦苹, 任俊杰, 齐国辉, 等. 核桃砧木评价与应用研究进展[J]. 河北林果研究, 2014(2): 154-159.  
SU Y P, REN J J, QI G H, et al. The research progress in evaluation and application of walnut rootstock[J]. Hebei Journal of Forestry and Orchard Research, 2014(2): 154-159.
- [6] 张新超, 张新宇, 唐敏, 等. 植物生长调节剂对‘绿岭’核桃组培苗瓶内生根及内源激素含量的影响[J]. 河北农业大学学报, 2021, 44(1): 51-56.  
ZHANG X C, ZHANG X Y, TANG M, et al. Effects of plant growth regulators on endogenous hormone contents and *in vitro* rooting of ‘Lvling’ walnut tissue culture seedlings[J]. Journal of Agricultural University of Hebei, 2021, 44(1): 51-56.
- [7] 张新超, 张新宇, 张雪梅, 等. ‘绿岭’核桃带芽茎段的组织培养和快速繁殖[J]. 北方园艺, 2023(24): 38-44.  
ZHANG X C, ZHANG X Y, ZHANG X M, et al. Tissue culture and rapid propagation of ‘Lvling’ walnut stems with axillary buds[J]. Northern Horticulture, 2023(24): 38-44.
- [8] 李蒙蒙. 核桃组织培养研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.  
LI M M. Researches on tissue culture of *Juglans regia* L.[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013.
- [9] 李佳. 胡桃楸组培过程中外植体褐化机理的研究[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2022.  
LI J. Study on browning mechanism of explants during tissue culture of *Juglans mandshurica*[D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University, 2022.
- [10] 丁文文. 新疆薄壳核桃组织培养技术研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2023.  
DING W W. Tissue culture technology research on Xinjiang thin-shelled walnut[D]. Ala'er: Tarim University, 2023.
- [11] 王华. 美国奇异核桃 Vlach(乌拉克)组培技术研究[J]. 山西林业科技, 2016, 45(3): 17-19.  
WANG H. Tissue culture rooting technical research of *Juglans hindsii* × *J. regia* (Vlach)[J]. Shanxi Forestry Science and Technology, 2016, 45(3): 17-19.
- [12] 丁文文, 张锐, 武鹏雨, 等. ‘新疆 185’核桃茎段快繁技术体系的优化[J/OL]. 分子植物育种, 2023: 1-24. [2025-01-01]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.s.20230921.1943.016>.  
DING W W, ZHANG R, WU P Y, et al. Optimization of the rapid propagation technology system for stem segments of ‘Xinwen 185’ walnut[J/OL]. Molecular Plant Breeding. 2023: 1-24. [2025-01-01]. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.s.20230921.1943.016>.
- [13] 王钦德, 杨坚. 食品试验设计与统计分析[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.  
WANG Q D, YANG J. Food experimental design and statistical analysis[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2003.
- [14] 黄闽敏, 刘晓芳, 曹青爽, 等. 离体培养高山杜鹃增殖的影响因子研究[J]. 新疆农业科学, 2010, 47(2): 256-259.  
HUANG M M, LIU X F, CAO Q S, et al. Researches on the factors influencing the protocorm propagation of *Rhododendron lapponicum* with *in vitro* culture[J]. Xinjiang Agricultural Sciences, 2010, 47(2): 256-259.
- [15] 张新超, 张新宇, 董一, 等. 消毒剂对‘绿岭’核桃茎段组织培养的影响[J]. 林业与生态科学, 2019, 34(2): 158-166.  
ZHANG X C, ZHANG X Y, DONG Y, et al. The effect of sterilization methods on tissue culture of ‘Lvling’ walnut nodes[J]. Forestry and Ecological Sciences, 2019, 34(2): 158-166.
- [16] 胡文斌, 张少飞, 孙娜, 等. 核桃茎段组织培养无菌芽苗的诱导[J]. 甘肃农业科技, 2018, 49(5): 36-39.  
HU W B, ZHANG S F, SUN N, et al. Induction of aseptic bud seedling of walnut stem in tissue culture[J]. Gansu Agricultural Science and Technology, 2018, 49(5): 36-39.
- [17] GUO L J, ZHI L, FU C H, et al. Research on the disinfection of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) explants[J]. Botanical Research, 2015, 4(6): 117-124.
- [18] 姚洪军, 罗晓芳, 田砚亭. 植物组织培养外植体褐变的研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1999, 21(3): 78-84.  
YAO H J, LUO X F, TIAN Y T. Development of explant browning researches[J]. Journal of Beijing Forestry University, 1999, 21(3): 78-84.
- [19] 刘兰英. ‘薄壳香’核桃组培中的褐化及防止措施研究[J]. 园艺学报, 2002, 29(2): 171-172.  
LIU L Y. Studies on browning of walnut explants in *in vitro* culture[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2002, 29(2): 171-172.
- [20] 韦莹, 余丽莹, 黄雪彦, 等. 两面针茎段组织培养及防褐化技术研究[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(22): 194-197.  
WEI Y, YU L Y, HUANG X Y, et al. Study on anti-browning and stem tissue culture of *Zanthoxylum nitidum* (Roxb.) DC. [J]. Hubei Agricultural Sciences, 2019, 58(22): 194-197.
- [21] 李畅. 阳丰甜柿组织培养及微型嫁接技术研究[D]. 长沙: 中南林业科技大学, 2016.  
LI C. Research on *in vitro* regeneration system and micrografting of *Diospyros kaki* cv. Youhou[D]. Changsha: Central South University of Forestry & Technology, 2016.
- [22] 郭素娟, 孙小兵, 秦天天, 等. 板栗成熟胚再生体系的建立与优化[J]. 西北林学院学报, 2015, 30(3): 89-93.  
GUO S J, SUN X B, QIN T T, et al. Establishment and optimization of *in vitro* regeneration system of mature embryo of *Castanea mollissima*[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2015, 30(3): 89-93.
- [23] 高洁, 张萍, 薛璟祺, 等. 酚类物质及其对木本植物组织培养褐变影响的研究进展[J]. 园艺学报, 2019, 46(9): 1645-1654.  
GAO J, ZHANG P, XUE J Q, et al. Advances in phenolic substances and their effects on browning in woody plant tissue culture[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2019, 46(9): 1645-1654.
- [24] 黄丽辉, 叶冬梅, 覃换玲, 等. ‘小果甜柿’组织培养中的抗褐化研究[J]. 陕西农业科学, 2024, 70(3): 14-18.  
HUANG L H, YE D M, QIN H L, et al. Study on anti-browning in tissue culture of ‘Xiaoguo sweet persimmon’[J]. Shaanxi Journal of Agricultural Sciences, 2024, 70(3): 14-18.