

张 健,王沙沙,张文娥,等. 氮素形态及对比对泡核桃试管苗生根的影响[J]. 江苏农业科学,2020,48(10):176-181.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2020.10.032

氮素形态及对比对泡核桃试管苗生根的影响

张 健^{1,2}, 王沙沙^{1,2}, 张文娥², 潘学军^{1,2}

(1. 贵州省果树工程技术研究中心, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州大学农学院, 贵州贵阳 550025)

摘要:为了探索不同形态的氮素及氮素的不同对比对泡核桃(*Juglans sigillata* Dode.) 试管苗生根的影响, 采用以 DKW 为基础培养基配方, 对大量元素中的铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$) 和硝态氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$) 比例进行调整, 研究氮素形态及对比对泡核桃生根率的影响。结果表明, DKW 培养基中不添加铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N}$ 为 0 : 5) 可获得较高的生根率(71.75%) 和生根条数(2.67 条), 明显高于对照($\text{NH}_4^+ - \text{N} : \text{NO}_3^- - \text{N}$ 为 1 : 4), 提高 DKW 基本培养基中铵态氮的含量可制约泡核桃组培苗的生长, 最后使整棵小植株死亡; 大量元素中的 K、Mg 及微量元素中的 Mn、Cu、B 对泡核桃试管苗的生根可能起到了重要作用; 生根试管苗采用珍珠岩和营养土两步炼苗, 60 d 后成活率达到 92.00%。

关键词: 泡核桃; 培养基调配; 试管苗; 生根

中图分类号: S664.104+.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2020)10-0176-06

植物组织培养技术作为工厂化育苗的重要手段, 因其再生技术具有遗传稳定、繁殖系数高、繁殖率稳定、条件可控等特点已得到广泛应用, 且发展前景广阔^[1]。然而, 核桃属(*Juglans* Linn.) 植物是难生根的经济林树种, 我国于 20 世纪 80 年代初就已开始对核桃试管苗微繁殖的研究, 到 90 年代在生根方面已取得了一定进展^[2-4], 但核桃组培苗的生根问题一直是制约其工厂化育苗的瓶颈。因此, 如何提高核桃试管苗的生根率成为广大学者研究的

热点, 有研究表明, 核桃树体中的高含量酚类物质被氧化成核桃醌, 是导致核桃属植物难生根的主要因素^[5-6], 所以, 相比其他树种, 核桃试管苗的生根比较困难, 且因根系发育不良导致吸收功能较弱, 这些都限制了核桃试管苗的移栽成活率。运用植物生长调节剂和暗处理是诱导核桃根原基形成的重要措施^[7-8], 但是生根效果因种或品种不同而差异显著, 因此探索新方法解决核桃试管苗生根问题和提高移栽成活率成为研究的关键。

氮素是植物体内核酸、蛋白质、维生素、酶以及生物碱等次生代谢产物的重要组成部分, 是影响植物生长发育及产量和品质的重要因素, 在植物生命活动过程中具有重要的生理调节功能。一般来说, 植物对氮素的需求量高于其他各种元素, 氮素的主要作用是促进植物营养生长, 提高光合能力, 保证其正常生长发育。与此同时, 氮素也是植物生理代谢过程中起催化作用的主要物质。大多数的植物都是

收稿日期: 2019-05-20

基金项目: 贵州省科技重大专项子课题[编号: 黔科合重大专项字(2011)6011]。

作者简介: 张 健(1994—), 男, 安徽临泉人, 硕士研究生, 主要从事果树种质资源与生物技术育种研究。E-mail: 1047607911@qq.com。

通信作者: 潘学军, 博士, 教授, 主要从事果树种质资源与生物技术育种研究。E-mail: pxjun2050@aliyun.com。

[4] 黎 磊, 夏玉芳, 王忠卫, 等. 不同岩性土体上构树苗木的生长效应[J]. 山地农业生物学报, 2008, 27(3): 213-217.

[5] 戴丰瑞. 构树各器官及不同部位氮、磷、钾含量和干物质积累动态研究[J]. 河南农业大学学报, 1995, 29(3): 211-216.

[6] 李 涛, 夏玉芳, 谢 刚. 腐熟鸡粪基肥不同用量对构树苗木生长的影响[J]. 湖北农业科学, 2014, 53(7): 1513-1515, 1519.

[7] 袁首乾, 廖声熙, 刘方炎, 等. 不同施肥处理对短周期构树生长的影响[J]. 云南农业科技, 2014(4): 4-6.

[8] 中华人民共和国农业部. 植物中氮、磷、钾的测定: NY/T 2017—

2011[S]. 北京: 中国农业出版社, 2011.

[9] 哈德尔·依沙克, 木合塔尔·扎热, 马合木提·阿不来提, 等. 不同立地条件下哈密大枣果园营养特征及果实品质的研究[J]. 新疆农业科学, 2016, 53(4): 617-625.

[10] 克热曼·赛米, 岳朝阳, 巴哈尔古丽, 等. 不同立地条件下‘木纳格’葡萄果实品质和矿质元素含量[J]. 北方园艺, 2016(18): 9-13.

[11] 韦冬萍, 韦巧云, 梁振华, 等. 品种与种植地对麻疯树生长差异的影响[J]. 农业研究与应用, 2014(3): 14-17.

以土壤中的有机以及无机态的氮素作为氮源,只有部分植物是通过根瘤菌等固氮类的微生物固定大气中的氮元素作为氮素的来源。铵态氮与硝态氮是植物吸收的主要氮素形态,一些可溶性的有机氮(如尿素、氨基酸等)也是植物可以吸收及利用的。而不同的氮素形态对植物的生长及代谢过程有显著差异,进而会对植物产生不同的生理效应。

本试验以我国核桃特有种(泡核桃)的试管苗为材料,从调配 DKW 基本培养基中的氮元素入手,尝试推测泡核桃根系在发生发育过程中对不同氮素形态的喜好,以及对不同元素在其生根中可能起到的重要作用,为核桃属植物及难生根木本植物的生根研究提供科学的理论和技术借鉴。

1 材料与方法

1.1 材料

试验在贵州省果树工程技术研究中心进行。试材为在组织培养室内继代增殖 20 d 的泡核桃试管苗。

1.2 试验设计

以 DKW 培养基的配方为基础,对大量元素中的铵态氮($\text{NH}_4^+ - \text{N}$)和硝态氮($\text{NO}_3^- - \text{N}$)比例进行调整,设置处理 1(100% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 2(25% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + 75% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 3(40% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + 60% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 4(50% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + 50% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 5(60% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + 40% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 6(75% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ + 25% $\text{NO}_3^- - \text{N}$)、处理 7(100% $\text{NH}_4^+ - \text{N}$),即 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的配比分别为 0:5、1:4、2:3、1:1、3:2、4:1 和 5:0。这 7 个处理均按 DKW 基本培养基的配方分别加入微量元素、有机元素及铁盐。

1.3 试验方法

1.3.1 DKW 基本培养基中铵态氮和硝态氮比对泡核桃嫩茎生根的影响 以 DKW 培养基的配方为基础,对大量元素中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 比例进行调整,设置两者的比例为 0:5、1:4、2:3、1:1、3:2、4:1、5:0,其微量元素、有机元素和铁盐保持不变。其中,1:4 的处理(即 DKW 培养基的原始配方)为对照。采用“两步生根法”进行生根,第一步诱导培养基为 7 种不同配比的 DKW 培养基,并分别附加 5.0 mg/L IBA,暗培养 12 d 转入生根培养基;第二步生根培养基为不含生长调节剂的 7 种不同配比的 DKW 培养基,进行光培养 20 d 后统计生根率和生根

条数。共 7 个处理,以上各处理均接种 60 瓶,每瓶 2 个外植体,每 20 瓶为 1 个重复,重复 3 次。

1.3.2 泡核桃生根苗与未生根苗的营养元素含量的测定 在获得不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比(0:5、1:4、1:1)的生根苗和未生根苗之后,以这 3 个处理的生根试管苗为材料,测定其全株的营养元素含量。其中,1:4 的处理为对照。在测定 3 个处理的生根苗和未生根苗中的营养元素含量时,首先将不同处理的生根苗和未生根苗从培养基中取出,分别小心地去掉根系和愈伤上的培养基,再按以下顺序对样品进行洗涤:自来水→0.1% 中性洗涤剂溶液→2 次自来水→3 次蒸馏水→2 次重蒸水,整个洗涤过程不超过 2 min,然后将样品置于 105 ℃烘箱内杀青 30 min,并在 80 ℃条件下烘至恒质量,最后用塑料粉碎机将样品粉碎,过 65 目尼龙筛后,装入密封袋保存备用。样品的测定方法如下:N 含量用凯氏定氮法测定,P 含量用钒钼黄比色法测定,K 含量用火焰光度计法测定;Ca、Mg、Fe、Zn、Cu、Mn 含量用原子吸收分光光度计法测定,B 含量用姜黄素比色法测定^[9]。

1.3.3 泡核桃生根苗的炼苗移栽 选取根长 2 cm 以上,有 2~3 条根,苗高 4~5 cm 的生根试管苗,在强光(3 000 lx)下锻炼 7 d 后,无菌条件下将生根苗从培养基中取出,用无菌水洗净根部培养基,0.1% KMnO_4 浸根 10 s,移栽至盛有灭菌珍珠岩的营养钵中,浇灌 100 mL 1/8 DKW 营养液(以后每隔 7 d 浇 1 次),加盖与营养钵同样大小的塑料杯(保持湿度)后,放入培养室中培养 2~3 d 后,浇灌 4% 的多菌灵(以后每隔 7 d 浇 1 次)。培养室温度为(25 ± 1) ℃,培养初期光照时间为 12 h/d,15 d 后增至 16 h/d。培养室锻炼 30 d,地上部叶色加深后转移到盛有营养土的营养钵中进行温室锻炼,生长 30 d 左右,移栽到大田定植。

1.4 培养条件

上述不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比的生根培养基中,1 L 均添加 20 g 蔗糖和 6 g 琼脂,pH 值为 5.8~6.2。培养温度为(25 ± 1) ℃,光周期为 16 h/d,光照度为 40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。

1.5 数据统计分析

采用 Excel 软件统计数据,并用 DPS v7.05 软件进行数据处理和统计分析。

生根率 = 诱导生根茎段数/原接种茎段数 × 100%;
生根条数即每茎段平均生根数;

移栽成活率 = 移栽成活数 / 总移栽数 × 100%。

2 结果与分析

2.1 不同铵态氮和硝态氮配比对泡核桃嫩茎生根的影响

由表 1 可知,7 种不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比对泡核桃嫩茎的生根率、生根条数和根系生长情况影响显著。当配比为 0 : 5 时,生根率和生根条数最高,分别为 71.75% 和 2.67 条,显著高于其他处理,其根细长,叶绿色,生长正常;配比为 1 : 1 时的生根率为 57.50%,显著高于配比为 1 : 4 的 (48.50%),而两者的生根条数无差异,分别为 1.67

和 1.25 条,根粗壮;当配比为 2 : 3、3 : 2、4 : 1 和 5 : 0 时,嫩茎的生根率和生根条数均为 0,且叶片干枯凋落,最后整株死亡,这是由于 NH_4^+ 浓度高时出现了氨中毒现象。说明, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 的适宜配比 (0 : 5) 有利于泡核桃试管苗的生根,生根率明显高于 DKW 原始配方 (处理 1 : 4),而 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量稍高即可制约泡核桃组培苗的生长,使整棵小植株死亡 (图 1 - A 至图 1 - E)。从配比为 0 : 5 和 5 : 0 的根生长情况可以看出培养基中 N 素的形态对根的诱导有明显的影响。当配比为 0 : 5 和 1 : 4 时的根生长情况可以看出单一的 N 素不如 2 种混合使用的效果好。

表 1 不同配比对泡核桃生根的影响

铵态氮:硝态氮	生根率 (%)	生根条数 (条)	根生长情况
0 : 5	71.75 ± 4.60a	2.67 ± 0.87a	根细长,叶绿色,正常
1 : 4	48.50 ± 2.12c	1.25 ± 0.46b	根较粗壮,叶绿色,正常
2 : 3	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00c	未生根,叶片凋落,死亡
1 : 1	57.50 ± 3.54b	1.67 ± 0.50b	根乳白色,粗壮,叶绿色,正常
3 : 2	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00c	叶片干枯凋落,死亡
4 : 1	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00c	叶片干枯凋落,死亡
5 : 0	0.00 ± 0.00d	0.00 ± 0.00c	叶片干枯凋落,死亡

注:同列数据后不同小写字母表示 0.05 水平上差异显著。下同。

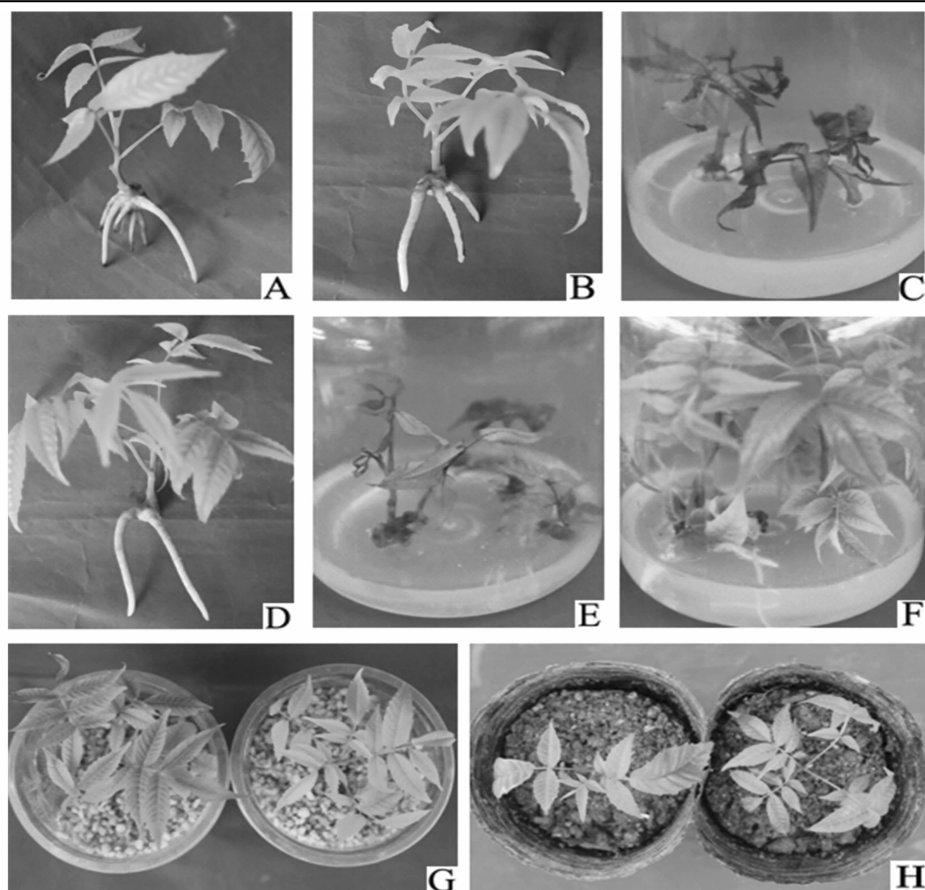
2.2 不同铵态氮和硝态氮配比对试管苗大量元素含量的影响

由表 2 可见, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比为 0 : 5 时,泡核桃生根苗和未生根苗的 N 含量之间无显著差异,P 含量间有较小差异,达不到显著水平,而 K、Ca、Mg 含量间存在显著差异。其中,生根苗的 K 含量 (4.53%) 显著高于未生根苗 (4.35%),而 Ca 和 Mg 的含量 (0.87% 和 0.09%) 显著低于未生根苗 (0.96% 和 0.13%)。当 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比为 1 : 4 和 1 : 1 时,生根苗的 N、P、Ca、Mg 含量明显低于未生根苗,而两者的 K 含量之间无显著差异。由于 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比为 0 : 5 时获得了泡核桃试管苗的高生根率 (71.75%),而该配比的生根苗中的 K 含量最高,Mg 含量最低,且差异显著,因此,试验初步认为大量元素 K 和 Mg 对泡核桃试管苗的生根起到了重要作用。

2.3 不同铵态氮和硝态氮配比对试管苗微量元素含量的影响

通常植物以 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 为氮源时,有利于对阴离

子的吸收,而以 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为氮源时,有利于对阳离子的吸收,这是由于植物吸收 NH_4^+ 和 NO_3^- 后体内保持电荷平衡所决定的。由表 3 可见, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比为 0 : 5 时,泡核桃生根苗中的 Fe、Mn、Cu、B 含量显著高于未生根苗,而两者的 Zn 含量之间无差异;当配比为 1 : 4 时,生根苗的 Fe、Mn、Cu、B 含量与未生根苗存在明显差异,而 Zn 含量之间无差异。其中,生根苗的 Mn 含量 (145.08 mg/kg) 显著高于未生根苗 (127.48 mg/kg),而 Cu、Fe、B 含量明显低于未生根苗;配比为 1 : 1 时,生根苗和未生根苗的 Fe、Mn、Zn、B 含量之间差异显著,而两者的 Cu 含量之间无明显差异。由于 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比为 0 : 5 (生根率 71.75%) 的生根苗中的 Mn、Cu、B 含量较其他处理最高,且差异显著,因此,试验认为以 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 为主要氮源时,泡核桃对以阳离子为主要吸收形态的 Mn、Cu 等元素的吸收积累量提高,说明微量元素 Mn、Cu、B 可能对泡核桃试管苗的生根起到了重要作用。



A—0 : 5; B—1 : 4; C—2 : 3; D—1 : 1; E—3 : 2、4 : 1 和 5 : 0; F—生根苗; G—珍珠岩炼苗; H—移栽成活

图1 不同氨态氮和硝态氮配比泡核桃试管苗

表2 不同铵态氮和硝态氮对比泡核桃大量营养元素含量的影响

处理	类型	全株大量元素含量(%)				
		氮	磷	钾	钙	镁
0 : 5	生根苗	3.45 ± 0.05d	0.95 ± 0.04ab	4.53 ± 0.04a	0.87 ± 0.02c	0.09 ± 0.00d
	未生根苗	3.21 ± 0.10d	1.01 ± 0.02a	4.35 ± 0.03b	0.96 ± 0.01b	0.13 ± 0.00b
1 : 4	生根苗	6.31 ± 0.05bc	0.70 ± 0.04d	2.78 ± 0.04c	0.81 ± 0.00d	0.10 ± 0.00c
	未生根苗	6.79 ± 0.24a	0.73 ± 0.05cd	2.53 ± 0.04c	1.02 ± 0.01a	0.13 ± 0.00ab
1 : 1	生根苗	6.07 ± 0.10c	0.84 ± 0.05bcd	2.75 ± 0.00d	0.69 ± 0.04e	0.10 ± 0.00c
	未生根苗	6.52 ± 0.05ab	0.87 ± 0.11abc	2.51 ± 0.02d	0.98 ± 0.01ab	0.14 ± 0.00a

表3 不同铵态氮和硝态氮对比泡核桃微量元素含量的影响

处理	类型	全株微量元素含量(mg/kg)				
		铁	锰	铜	锌	硼
0 : 5	生根苗	369.95 ± 30.48bc	298.53 ± 4.05a	114.55 ± 5.51a	92.19 ± 9.39b	45.12 ± 0.64a
	未生根苗	247.82 ± 8.13d	147.12 ± 1.74c	25.00 ± 0.00e	79.59 ± 9.07b	11.85 ± 0.43d
1 : 4	生根苗	305.30 ± 32.51cd	145.08 ± 4.63c	53.23 ± 4.13c	95.62 ± 0.65b	14.13 ± 0.21c
	未生根苗	280.87 ± 22.35d	127.48 ± 4.05d	71.72 ± 2.75b	89.67 ± 9.07b	13.22 ± 1.07cd
1 : 1	生根苗	489.21 ± 32.51a	144.26 ± 1.16c	38.62 ± 0.00d	96.31 ± 3.56b	15.95 ± 0.21b
	未生根苗	423.25 ± 31.70ab	166.73 ± 0.69b	37.01 ± 0.00d	136.73 ± 12.43a	12.58 ± 0.26d

2.4 泡核桃试管苗的驯化移栽

参照潘学军等的葡萄炼苗移栽方法^[10], 温室中珍珠岩炼苗 30 d 后, 泡核桃生根苗的成活率为 100%; 转入营养土炼苗 30 d 最后定植于大田, 成活率为 92.0% (图 1-G、1-H)。

3 讨论与结论

植物组织培养中, 培养基主要是提供植物组织生长和维持发育的养料, 一般都含有碳水化合物、含氮物质、无机盐 (包括微量元素) 以及维生素和水分等。起初在培养基的使用方面, 主要有 White's、Cheng's、MS 和 B5 等类型, 这些培养基所含的营养成分及浓度不同, 其中, MS 培养基的主要特点是无机盐浓度高, 特别是硝酸盐、钾离子和铵离子含量丰富, 元素平衡性好, 缓冲性好, 微量及有机成分含量齐全且较丰富, 是目前使用最广的培养基; White's 为低无机盐含量培养基; B5 为高硝酸钾含量培养基^[11]。总体上来说, 培养基类型多种多样, 应用比较广泛, 但各种不同培养基都有自身的优点和不足, 没有任何一种培养基能够满足所有植物的养分需求, 因此, 有些学者开展了培养基调配的研究, 如 Driver 和 Kuniyuki 研制出了核桃的专用培养基 (DKW 培养基), 并广泛用于核桃属植物的组织培养上^[4]。DKW 培养基主要用于木本植物的组培, 用于不同培养目的 (增殖或生根) 时, 只需将其中的生长调节剂水平或个别营养成分做适当调整, 即可获得令人满意的结果, 如袁巧平等又对 DKW 培养基中的一些营养成分作了适当调整并获得了适宜于普通核桃生长的改良 DKW 培养基^[12], 这个培养基也被许多学者采纳并应用^[13-14]。车代弟等以花粉萌发率和花粉管的长度作为求算培养基组分的衡量指标^[15], 与花粉在活体中的生长情形相近, 优化获得的培养基配方效果较好, 这对于研究者有针对性地解决植物组培工作中的某个难点有一定启发。

植物在生长进化过程中形成了对不同形态氮素的利用特性, 有一些表现出喜硝性, 另一些表现出喜铵性, 大多数种类在混合氮源中比在单一氮源中生长好^[16-17]。与此同时, 越来越多的报道也证实混合氮源比单一形态的硝态氮或铵态氮更有利于植物的生长, 混施等比例的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 能够改善泡核桃根际生态环境, 促进实生苗的生长^[18]。且 2 种氮源对植物地上和地下部的生长影

响也不同, 较高浓度的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 有抑制植物根系生长的作用, 而适量的 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 则能促进根系的生长^[19]。根系是植物吸收并转运养分的重要器官, 对植物生长起着关键作用。施用一定量的硝态氮可明显促进侧根的生长。而过多的铵态氮则会导致根系变短、侧根减少、根活力下降, 进而影响根的生理功能。有研究表明, 泡核桃对不同形态氮肥的吸收没有明显偏好, 但施用相同比例的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 能够促进根系发育、苗木生长、营养元素吸收及提高净光合速率^[20-21]。Smith 等研究报道, 外用硝态氮较铵态氮更能促进植物光合碳同化, 且硝态氮能够更好地促进蔗糖积累, 而铵态氮则有利于叶片中淀粉的累积^[22]。一般认为, 供给铵态氮营养, 植物会具有较高的光合作用, 而硝态氮甚至在一定程度上抑制植物的光合作用, 但多数研究认为, 混合氮源对植物光合作用的促进效应更强, 铵硝比则与植物以及植物的生长时期有关。

本试验对 DKW 基本培养基中的 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比进行了调整, 发现不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比对泡核桃嫩茎的生根有重要影响, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 含量稍高即会制约泡核桃组培苗的生长, 最后使整棵小植株死亡, 这是由于 NH_4^+ 浓度较高时出现氨中毒现象, 典型症状是叶片出现灼烧状斑驳坏死, 严重时小苗死亡^[23], 而适宜的配比 0 : 5 (即培养基中的氮元素全为 $\text{NO}_3^- - \text{N}$) 可以获得较高的生根率 (71.75%) 和生根条数 (2.67 条)。因此, 试验又对不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比处理后得到的生根苗和未生根苗检测其营养元素, 发现 0 : 5 (高生根率) 的配方与其他配比 (1 : 4 和 1 : 1) 相比, 生根苗中有较高含量的 K、Mn、Cu、B 和较低含量的 Mg, 综合分析认为 K 和 Mg 可能对泡核桃试管苗的生根起到了重要作用, 这与 Cheniany 等对核桃生根中矿质代谢的研究结果部分吻合, 即 Cheniany 等以 2 个生根率差异大的普通核桃品种 'Howard' (37%) 和 'Sunland' (85%) 为材料, 对其不定根分化的主要阶段中的营养元素进行比较, 发现 Ca、Mg 和 Na 可能是影响生根的主要因素^[24]。

$\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 混合更能促进植物叶绿素的合成, 提高 (1, 5 - 二磷酸核酮糖激酶) RuBPCase 含量以及 2 个光系统活性^[25], 提高叶片 CO_2 同化速率以及光合磷酸化能力。其次 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 混合更能促进根系生长, 提高根系表面

积、体积和根系生物量,增加根长、根尖数^[26],进而提高根系活力,促进地上部生长。研究表明, $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 混合还能促进植物对氮素的吸收能力,提高根系和叶片中氮代谢关键酶的活性,促进植物叶片氮的同化能力及根中 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 向叶片运输能力^[27],增加 P、K、Ca、Fe 等的积累水平。通过研究不同 $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ 和 $\text{NO}_3^- - \text{N}$ 配比的配方发现, K^+ 含量在 3 个配方中相同,而 0 : 5 配方中的 Mg^{2+} 含量是 1 : 4 (DKW 基本培养基) 和 1 : 1 配方中的 2.5 倍,但是获得最高生根率的配方(0 : 5) 的生根苗中却含有最少的 Mg 含量,可能是因为泡核桃嫩茎对 Mg^{2+} 的吸收具有选择性,当培养基中含有 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 时,嫩茎对 Mg^{2+} 的吸收量减少,而对 NO_3^- 的吸收增大,从而提高了生根率。而 DKW 基本培养基(1 : 4) 中只含有 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 其生根苗中的 Mg 含量较高,可能是由于嫩茎对 SO_4^{2-} 存在排斥吸收的缘故。因此,当生根培养基中有较高含量的硝态氮或存在 $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 时,可能有利于泡核桃嫩茎的生根,具体促进生根的原因还需深入研究。因此,建议今后在核桃属植物和难生根木本植物上可以采用调整培养基配方的方法来获得较优的组培效果,为今后核桃组培研究提供借鉴。

参考文献:

- [1] 裴东,袁丽钗,奚声珂,等. 核桃品种试管嫩茎生根的研究[J]. 林业科学,2002,38(2):32-37.
- [2] Gale M, Charles A L. *In vitro* propagation of mature Persian walnut cultivars[J]. HortScience,1988,23(1):220.
- [3] Tarrazo A R, de Sebastian J I, Revilla M A, et al. Influence of the phenological state of field grown walnut buds on their *in vitro* establishment[J]. Acta Horticultrure,1993,311:153-156.
- [4] Driver J A, Kuniyuki A H. *In vitro* propagation of Paradox walnut rootstock[J]. Horticulture Science,1984,19:507-509.
- [5] Cheniany M, Ebrahimzadeh H, Masoudi - Nejad M, et al. A effect of endogenous phenols and some antioxidant enzyme activities on rooting of Persian walnut (*Juglans regia* L.) [J]. African Journal of Plant Science,2010,4(12):479-487.
- [6] Wang W, Pei D. Effects of juglone on adventitious root formation of stem cuttings in '84K - Poplar' (*Populus alba* × *P. glandulosa* cv. 84K) [R]. Book of Abstracts VII International Walnut Symposium,2013.
- [7] 王清民,彭伟秀,张俊佩,等. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及生长调节剂调控研究[J]. 园艺学报,2006,33(2):255-259.
- [8] 李春燕,肖蓉,张拥兵,等. IBA 和暗处理对核桃组培苗生根的影响[J]. 山西林业科技,2011,40(4):30-31.
- [9] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京:中国农业出版社,2000:263-268.
- [10] 潘学军,王跃进,张剑侠,等. 葡萄胚挽救苗移栽技术的研究[J]. 西北植物学报,2004,24(6):1077-1082.
- [11] 王蒂. 植物组织培养[M]. 北京:中国农业出版社,2004.
- [12] 袁巧平,董茂山, Jay - Allemand C. 离体培养条件下核桃器官发生和体细胞胚胎发生[J]. 林业科学,1990,26(6):495-499,581.
- [13] 张进,张燕,吴国良,等. 核桃茎段组织培养[J]. 经济林研究,2005,23(2):36-38.
- [14] 张建成,吴国良,屈红征,等. 培养基及培养条件对核桃试管芽苗继代增殖的影响[J]. 山西农业大学学报(自然科学版),2005,25(1):45-48.
- [15] 车代弟,樊金萍,王金刚,等. 东方百合花粉萌发培养基组分的优化[J]. 植物研究,2003,23(2):178-181.
- [16] 张彦东,范志强,王庆成,等. 不同形态 N 素对水曲柳幼苗生长的影响[J]. 应用生态学报,2000,11(5):665-667.
- [17] 薛明,李玉玺,马超,等. 氮素形态对比对白浆土活性有机碳的调控影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(1):224-227.
- [18] 樊卫国,罗燕,吴素芳,等. 氮肥形态及对比对铁核桃根际环境及幼苗生长的影响[J]. 园艺学报,2014,41(3):437-446.
- [19] Bauer G A, Bernison G M. Ammonium and nitrate acquisition by plants in response to elevated CO_2 concentration: the roles of root physiology and architecture[J]. Tree Physiology,2001,21(2/3):137-144.
- [20] 樊卫国,葛慧敏,吴素芳,等. 氮素形态及对比对泡核桃实生苗生长及营养吸收的影响[J]. 林业科学,2013,49(5):77-84.
- [21] 樊卫国,葛慧敏,吴素芳,等. 不同形态氮素及其对比对铁核桃实生苗叶片光合特性和养分含量的影响[J]. 果树学报,2013,30(3):437-443.
- [22] Smith V R. Effect of nutrients on CO_2 assimilation by mosses on a sub - Antarctic island[J]. New Phytology,1993,12(3):693-697.
- [23] 廖红,严小龙. 高级植物营养学[M]. 北京:科学出版社,2003:154-156.
- [24] Cheniany M, Ebrahimzadeh H, Masoudi - nejad A, et al. Mineral metabolism during *in vitro* root development in microcuttings of *Juglans regia* L. cultivars [R]. Book of Abstracts VII International Walnut Symposium,2013.
- [25] 肖凯,张树华,邹定辉,等. 不同形态氮素营养对小麦光合特性的影响[J]. 作物学报,2000,26(1):53-58.
- [26] 刘晓静,叶芳,张晓玲. 外源氮素形态对紫花苜蓿不同生育期根系特性的影响[J]. 草业学报,2015,24(6):53-63.
- [27] 唐辉,李婷婷,沈朝华,等. 氮素形态对香榧苗期光合作用、主要元素吸收及氮代谢的影响[J]. 林业科学,2014,50(10):158-163.