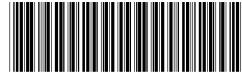


(19) 中华人民共和国国家知识产权局



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 101911900 A

(43) 申请公布日 2010. 12. 15

---

(21) 申请号 201010231922.5

(22) 申请日 2010.07.17

(71) 申请人 山西省农业科学院果树研究所

地址 030815 山西省太谷县省果树研究所

(72) 发明人 王国平 田建保 李晓梅 陈秋芳

张拥兵 李春燕 肖蓉

(74) 专利代理机构 山西太原科卫专利事务所

14100

代理人 朱源 王瑞玲

(51) Int. Cl.

A01G 1/06 (2006.01)

A01H 4/00 (2006.01)

---

权利要求书 1 页 说明书 4 页

(54) 发明名称

一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法

(57) 摘要

本发明涉及核桃苗木培育方法，具体为一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法，解决现有核桃繁殖方法存在繁殖系数低、成苗时间长、成活率不稳定等问题，(1) 砧木苗的培育；(2) 接穗的培养：包括无根试管苗的获得和无根试管苗的炼苗；(3) 柳皮的选择、生长调节剂溶液的制备与处理；(4) 嫁接：包括接穗的处理和砧木苗的处理，嫁接时将接穗的楔形部分插入砧木苗的垂直切口，然后将在生长调节剂溶液中浸过的柳皮取出，包住砧木苗劈开部位，用条状 parafilm 封口膜从下向上进行绑缚。该方法繁殖快、可以一年成苗，嫁接成活率从 45% 提高到 85% 以上，且伤口愈合快而牢固，该方法操作性强，简单实用，成本低、繁殖快，具有广阔的应用前景和显著的经济效益。

1. 一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法,其特征是包括以下步骤:

(1) 砧木苗的培育:用核桃种籽作砧种,经过浸种催芽处理,待6-8天后胚根长出,9-12天后胚芽露出,当幼苗高为9-11cm、真叶尚未展开、幼茎处于浅红色时,即可作为砧木苗;

(2) 接穗的培养:

①无根试管苗的获得:从母树上采下核桃嫩枝,在盖膜的培养瓶中利用培养基进行分阶段培养,当试管苗高为2.5~3.5cm、叶片5~6片时,即可得到无根试管苗;

②无根试管苗的炼苗:选择生长旺盛、粗壮的无根试管苗,将培养瓶先置于自然散射光下炼苗5天,然后揭去瓶膜,注入1cm高的自来水,继续炼苗2-3天,即可作为接穗进行嫁接;

(3) 柳皮的选择、生长调节剂溶液的制备与处理:选取表皮黄绿、光滑、结间长、无疤节、无病虫害的生长势强的柳枝,去掉叶片和梢部幼嫩部分,清洗干净,并用酒精擦拭表面进行消毒,备用;称取萘乙酸和吲哚丁酸各0.05g,用酒精溶解,然后稀释在1升的无菌水中,配成浓度为100mg/l的生长调节剂溶液;

(4) 嫁接:

①接穗的处理

首先将接穗下端切齐,留两片展开叶,将基部削成楔形,切面长1.5~2.0cm;

②砧木苗的处理

在砧木苗高为3~5cm处选一光滑、垂直处进行横切,再从茎中部由上向下切一个比接穗的楔形部分长0.2cm的垂直切口;

③嫁接

先在选好的柳枝上从基部竖切一刀达木质部,然后环柳枝切,取下柳皮放入生长调节剂溶液中浸3-5秒,备用;嫁接时将接穗的楔形部分插入砧木苗的垂直切口,然后将在生长调节剂溶液中浸过的柳皮取出,包住砧木苗劈开部位,使柳皮结合处处于砧木苗劈开方向的垂直方向,柳皮上端高于砧木苗横切口0.2cm,最后用条状parafilm封口膜从下向上将整个嫁接口进行绑缚。

2. 根据权利要求1所述的一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法,其特征是无根试管苗培养时,先将核桃嫩枝在MS初培培养基中培育,再在增殖培养基中继续培养,增殖培养基为DKW附加BA1.2mg/l,IBA0.01mg/l,最后在MS壮苗培养基中培育。

## 一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法

### 技术领域

[0001] 本发明涉及一种核桃苗木的培育方法,具体为一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法。

### 背景技术

[0002] 核桃 (*Juglans regia L.*) 为胡桃科 (*Juglandaceae*) 胡桃属,是经济、生态及社会效益名列前茅的广域经济林树种,位于世界四大干果之列。随着核桃的营养价值被广泛认知,核桃市场需求空间的剧增,以及果树生产、管理技术的发展和普及,核桃生产正从过去的粗放、半粗放经营状态向科学管理、集约化经营方向转变,随之而来的是对核桃优良品种及其苗木的大量需求,但是不完善的繁殖技术一直是制约核桃优良品种推广及规模化发展的巨大障碍。

[0003] 传统的核桃繁殖方法主要是实生繁殖和嫁接繁殖,这两种核桃繁殖技术在实际应用中存在以下缺点:实生繁殖属于有性繁殖,其后代往往发生性状分离,不能保持母株的优良性状;常规大田嫁接繁殖属于无性繁殖,后代虽然能保持母株的优良性状,但存在繁殖系数低、速度慢、成苗时间长、成本高、成活率不稳定、受穗条数量限制等不利因素,尤其是当接穗插入砧苗接口后所形成的嫁接口未作适当处理,极易被污染,难于愈合,造成自身营养成份的流失,从而大大影响了核桃的嫁接成活率,这是造成核桃苗繁殖系数低的一个关键问题。

### 发明内容

[0004] 本发明为了解决现有核桃嫁接无性繁殖方法存在繁殖系数低、成苗时间长、成本高、成活率不稳定等问题,提供一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法。

[0005] 本发明是采用如下技术方案实现的:一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法,包括以下步骤:

[0006] (1) 砧木苗的培育:用核桃种籽作砧种,经过浸种催芽处理,待 6-8 天后胚根长出,9-12 天后胚芽露出,当幼苗高为 9-11cm、真叶尚未展开、幼茎处于浅红色时,即可作为砧木苗;

[0007] (2) 接穗的培养:①无根试管苗的获得:从母树上采下核桃嫩枝,在盖膜的培养瓶中利用培养基进行分阶段培养,当试管苗高为 2.5-3.5cm、叶片 5-6 片时,即可得到无根试管苗;②无根试管苗的炼苗:选择生长旺盛、粗壮的无根试管苗,将培养瓶先置于自然散射光下炼苗 5 天,然后揭去瓶膜,注入 1cm 高的自来水,继续炼苗 2-3 天,即可作为接穗进行嫁接;

[0008] (3) 柳皮的选择、生长调节剂溶液的制备与处理:选取表皮黄绿、光滑、结间长、无疤节、无病虫害的生长势强的柳枝,去掉叶片和梢部幼嫩部分,清洗干净,并用酒精擦拭表面进行消毒,备用;称取萘乙酸和吲哚丁酸各 0.05g,用酒精溶解,然后稀释在 1 升的无菌水中,配成浓度为 100mg/1 的生长调节剂溶液;

[0009] (4) 嫁接 :①接穗的处理 :首先将接穗下端切齐,留两片展开叶,将基部削成楔形,切面长 1.5~2.0cm ;②砧木苗的处理 :在砧木苗高为 3~5cm 处选一光滑、垂直处进行横切,再从茎中部由上向下切一个比接穗的楔形部分长 0.2cm 的垂直切口 ;③嫁接 :先在选好的柳枝上从基部竖切一刀达木质部,然后环柳枝切,取下柳皮放入生长调节剂溶液中浸 3~5 秒钟,备用 ;嫁接时将接穗的楔形部分插入砧木苗的垂直切口,然后将在生长调节剂溶液中浸过的柳皮取出,包住砧木苗劈开部位,使柳皮结合处处于砧木苗劈开方向的垂直方向,柳皮上端高于砧木苗横切口 0.2cm,最后用条状 parafilm 封口膜从下向上将整个嫁接口进行绑缚。所述 parafilm 封口膜为现有公知产品,具有防水防湿的性能,有效阻止柳皮上的生长调节溶液挥发,避免受到污染,同时具有良好的韧性,便于绑扎。

[0010] 无根试管苗培养时,先将核桃嫩枝在 MS 初培培养基中培育,再在增殖培养基中继续培养,增殖培养基为 DKW 附加 BA1.2mg/l, IBA0.01mg/l, 最后在 MS 壮苗培养基中培育。其中 MS 培养基是目前使用最普遍的培养基,其具有较高的无机盐浓度,能够保证组织生长所需的矿质营养还能加速愈伤组织的生长;DKW 成分及比例也是本领域普通技术人员所熟知的,包括硝酸铵、硼酸、无水氯化钙等十几种成分,其附加的 BA1.2mg/l, IBA0.01mg/l 也是本领域公知产品。

[0011] 与现有技术相比,本发明提供的核桃试管苗试管外嫁接成活的方法,由于嫁接口用浸过生长调节剂溶液的新鲜柳皮进行包裹,并用 parafilm 封口膜绑缚,可以减少嫁接口污染,促进嫁接口愈合,保持嫁接口湿度,从而提高试管苗试管外嫁接成活率,这种方法繁殖快、可以一年成苗,节约人力、物力和时间,嫁接成活率从 45% 提高到 85% 以上,且伤口愈合快而牢固,随着嫁接部位的愈合和增粗,柳皮和 parafilm 封口膜自动开裂、脱落,不用人工解除。总之,本方法操作性强,取材方便,简单实用,成本低、繁殖快、可以周年生产、种苗整齐,将育苗损失降低到最低水平,具有广阔的应用前景和显著的社会经济效益。

## 具体实施方式

[0012] 一种核桃试管苗试管外嫁接成活的方法,包括以下步骤:

[0013] (1) 砧木苗的培育:

[0014] 选择个大、种仁饱满、无病害、外种皮脱干净的核桃种子作砧种,在温水中浸泡 3 天,每天换水 1~2 次。将充分吸水后的种子放到温室消过毒的湿沙中进行催芽。沙的湿度不能太大,手握成团,松开即散则可,并且要保湿。待 6~8 天后胚根长出,9~12 天后胚芽露出,当幼苗高为 9~11cm、真叶尚未展开、幼茎尚处于浅红色时,即可作为砧木苗。取出时,注意一定要小心不能将胚芽、胚根或核桃等任一部分碰掉,并且在外不能搁置时间太长,以防刚萌发的幼嫩胚根或胚芽失水,应边取边嫁接;

[0015] (2) 接穗的培养:

[0016] ①无根试管苗的获得:在春天,将生长旺盛的核桃嫩梢从大田采回,经过常规灭菌处理后,切成单芽茎段,置于初培培养基(为 MS 培养基)(盖膜的培养瓶中,下同);1 个月后,将萌发的生长正常的侧芽切下,继代于添加不同种类、不同浓度生长调节物质的培养基中,选择增殖率最高的生长调节物质配比培养基作为增殖培养基(培养基为 DKW 附加 BA1.2mg/l, IBA0.01mg/l);将增殖的无根试管苗转入壮苗培养基(为 MS 基本培养基),当试管苗高约 2.5~3.5cm、叶片 5~6 片时,即可进行炼苗;

[0017] ②无根试管苗的炼苗：选择生长旺盛、粗壮的无根试管苗，将培养瓶先置于自然散射光下炼苗5天，这期间逐渐增强光照，防止突然光照太强，使无根试管苗萎焉。然后揭去瓶膜，注入1cm高的自来水，继续炼苗2-3天。若环境干净，培养基污染较轻时，可以适当延长炼苗时间。炼苗后即可作为接穗进行嫁接；

[0018] (3) 柳皮的选择、生长调节剂溶液的制备与处理：选取表皮黄绿、光滑、结间长、无疤节、无病虫害的生长势强的柳枝，去掉叶片和梢部幼嫩部分，带回炼苗室，用自来水清洗干净，并用75%酒精擦拭表面进行消毒，放一边备用，柳皮的作用是既可保持接口部位不失水，减少伤口褐化，又能提供促进愈伤愈合的水杨酸；称取萘乙酸和吲哚丁酸各0.05g，用酒精溶解，然后稀释在1升的无菌水中，配成浓度为100mg/l的生长调节剂溶液，嫁接时将经过消毒的柳皮在生长调节剂溶液中浸3~5秒钟，然后包裹在接口部位，经过生长调节剂溶液的处理，可以促进接穗和砧木连接处愈伤的形成，以促进接口部位的早期愈合；

[0019] (4) 嫁接：与常规嫁接一样，常用的有腹接、劈接等方法。但本发明经过实践验证，最有效的方法为劈接

[0020] ①接穗的处理

[0021] 将经过炼苗的无根试管苗带培养瓶一起运送到炼苗室，用镊子取出试管苗，洗干净上面的残留培养基，放于盛无菌水的盆中将多余叶片连同叶柄一起去掉，将基部削成楔形，切面长约1.5-2.0cm，注意不能用力过猛，以免割断试管苗，导致接穗过短而不能利用。削好的接穗放无菌水中备用；

[0022] ②砧木苗的处理

[0023] 在砧木苗高为3-5cm处选一光滑、垂直处进行横切，再从茎中部由上向下切一个比接穗的楔形部分长0.2cm的垂直切口，小心用力，不能切偏；

[0024] ③嫁接

[0025] 先在选好的柳枝上从基部竖切一刀达木质部，然后环柳枝切，使取下的柳皮的长度比砧木上的切口长度稍长0.3-0.5cm，取下柳皮放入生长调节剂溶液中浸3-5秒，备用；嫁接时先用右手将切好的砧木掰开，左手拿着削好的接穗，将楔形部分沿砧木的垂直切口向下靠一边与形成层对齐，然后松手由切开的砧木将接穗夹住，即将接穗的楔形部分插入砧木苗的垂直切口，然后将在生长调节剂溶液中浸过的柳皮取出，形态学上端向上，包住砧木苗劈开部位，使柳皮结合处处于砧木苗劈开方向的垂直方向，柳皮上端高于砧木苗横切口0.2cm，最后用条状parafilm封口膜从下向上将整个嫁接口进行绑缚。注意不能太紧或太松。所用parafilm条不能拉成细线状，必须平展缠于接口处，以防勒进砧木幼嫩皮层，形成环切状，影响上下营养的输通，导致嫁接失败。

[0026] ④嫁接后的管理

[0027] 将嫁接苗放于温室营养钵中，营养钵下部铺约7cm营养土（营养土以细沙，腐殖土，园土按3:1:1配制并搅匀，浇透水），上铺2cm的干净细沙以保持洁净和湿度。为保证嫁接苗生长环境湿度，搭好塑料小拱棚。开始1周，要保持拱棚内湿度近100%，每天上午，下午各进行1次弥雾喷水，以薄膜上的露珠不消失为宜，以防接穗萎蔫。同时，白天棚内最高温度不能超过28℃，从第3天起，每天放风2次，保证棚内足够的新鲜空气。为防止病菌感染，每隔1周喷一次800倍的甲基托布津。约10天左右，新梢开始生长，15天左右长出约3-4片新叶，新长嫩梢高约7-8cm。可以逐渐增加放风次数，直到嫁接苗完全适应外部环

境。经长期试验验证,用该嫁接方法,嫁接成活率从 45%提高到 85%以上。且伤口愈合快而牢固,随着嫁接部位的愈合和增粗,柳皮和 parafilm 膜自动开裂、脱落,不用人工解除。