

3 种桉树组培苗不定根发生发育过程的解剖学观察

韩 超¹, 徐晓立²

(1 中国林业科学研究院 热带林业研究所, 广州 510520; 2 华南农业大学 测试中心, 广州 510642)

摘 要:以巨尾桉‘GL9’、尾巨桉‘DH32-29’和尾边桉‘XF35’3种桉树无性系组培生根苗为材料,采用常规石蜡切片技术,对石蜡切片制作过程中的固定环节进行了优化,观察了桉树不定根的发生发育过程。结果表明:(1)采用 FAA 固定液固定材料,可获得染色清晰,组织完整的桉树根系切片。(2)‘GL9’和‘DH32-29’在生根诱导 8 d 后生出不定根,生根类型为皮部生根;‘XF35’在生根诱导 12 d 后生出不定根,生根类型为愈伤组织生根;‘GL9’不定根的根尖和根基处均有细胞旺盛分裂,‘DH32-29’不定根只在根尖有细胞旺盛分裂,‘XF35’不定根则只在其根基处有大量旺盛分裂的细胞。

关键词:桉树;根系;石蜡切片;不定根发育

中图分类号: Q944.54; S791.248.05

文献标志码: A

Research of Anatomy Observation on Adventitious Rooting Genesis and Development of Three Rooting Culture Seedlings of *Eucalyptus*

HAN Chao^{1*}, XU Xiaoli²

(1 Research Institute of Tropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Guangzhou 510520, China; 2 Instrumental Analysis & Research Center, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract: This paper optimized the fixing procedure of the routine paraffin section technology and observed the process of adventitious rooting development of three culture rooting seedlings of *Eucalyptus* clones ‘DH32-29’, ‘GL9’ and ‘XF35’. The results showed that: (1) FAA fixing solution was better with clear staining and tissue integrity root slice on *Eucalyptus*. (2) Adventitious roots of ‘DH32-29’ and ‘GL9’ originated after 8 days being induced and belongs to cortices rooting type. Adventitious roots of ‘XF35’ originated after 12 days being inducted and belongs to callus rooting type. Active-division cells are in root tip and root foundation of ‘GL9’ adventitious root. Active-division cells are only in root tip of ‘DH32-29’ adventitious root. Active-division cells are only in root foundation of ‘XF35’ adventitious root.

Key words: *Eucalyptus*; root; paraffin section; adventitious roots development

采用石蜡切片法观察植物生长发育过程是一种 较为传统和成熟的技术^[1],应用也较为广泛,且已在

很多种植物上有成功应用的报道^[2-3]。然而因不同植物在组织结构和组成成分上的差异性,且石蜡切片操作步骤多,对最终制片效果的影响因素多,因此,加大了获得较为理想的石蜡切片的难度,不易取得理想的观察效果。因此,在许多研究领域,都需要对石蜡切片技术进行改良^[4-6]。

桉树是桃金娘科(Myrtaceae)桉木属(*Angophora*)、伞房属(*Corymbia*)和桉属(*Eucalyptus*)树种的统称^[7],是一种外来树种。现在对其研究主要集中在杂交育种、优良无性系选育、分子育种及生态效应等方面^[8-11],对其不定根诱导特性及机理的研究报道较少。本研究以尾叶桉×巨桉无性系‘DH32-29’(*Eucalyptus urophylla* × *E. grandis*)、巨桉×尾叶桉无性系‘GL9’(*E. grandis* × *E. urophylla*)和尾叶桉×边沁桉无性系‘XF35’(*E. urophylla* × *E. benthamii*)为对象,改良了石蜡切片制片过程,对不同发育时期的根进行发育解剖学研究,揭示了桉树组培苗不定根的形成及发育进程和特性。

1 材料和方法

1.1 材料及主要试剂、仪器

切片材料为尾巨桉‘DH32-29’、巨尾桉‘GL9’和尾边桉‘XF35’组培生根苗的根尖,实验材料于2015年8月份在中国林业科学研究院热带林业研究所组培室内经过增殖和生根诱导获得,其中‘DH32-29’和‘GL9’为易生根组培苗,‘XF35’为难生根组培苗。熔点为56~58℃的切片石蜡(上海标本模型厂),TO透明剂(TO型生物制片透明剂,广西岑溪县松香厂产品),KD-202A轮转式切片机(浙江金华市科迪仪器设备厂),Leica DM4000B正置荧光显微镜(德国Leica公司)。

1.2 方法

1.2.1 取材与固定 桉树组培苗开始生根培养后,分别在生根后2、5、8、10和12 d选取粗细长短一致的不定根根尖(长约1 cm),每次取6份材料,3份置于FAA固定液(50%乙醇:冰醋酸:38%甲醛=18:1:1),另外3份置于卡诺氏固定液(100%乙醇:冰醋酸=3:1)中固定24 h,目的是筛选出针对桉树制片效果较好的固定液。固定后,洗涤、脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、复水、染色、透明和封片等步骤参考常规切片方法^[3]。

1.2.2 洗涤 将固定后的材料依次移入50%乙醇、70%乙醇(2次),分别洗涤15 min,再将材料移

入70%乙醇保存备用。

1.2.3 脱水 将洗涤后的材料依次移入85%乙醇、95%乙醇,分别脱水1 h,再将材料移入无水乙醇(2次)分别脱水40 min。

1.2.4 透明 将脱水后的材料依次移入TO透明剂和无水乙醇的等体积混合液、TO透明剂(2次)分别处理1 h。

1.2.5 浸蜡包埋与切片 加入碎的纯石蜡后,将装有材料的纯TO透明剂瓶置于恒温烘箱中42℃过夜,然后将烘箱升温至60℃,并间隔不同时间(2和6 h)换纯蜡2次。换纯蜡后按照石蜡切片制作方法进行包埋和切片,切片厚度为8 μm。

1.2.6 脱蜡与染色 用TO透明剂对切片进行脱蜡,石蜡完全脱去后用番红-固绿染色,中性树胶封片。

1.2.7 不定根发育过程观察 用Leica DM4000B正置荧光显微镜分别观察3种不同材料的生根发育过程,选取较清晰的视野拍照。

2 结果与分析

2.1 不同固定液对切片的影响

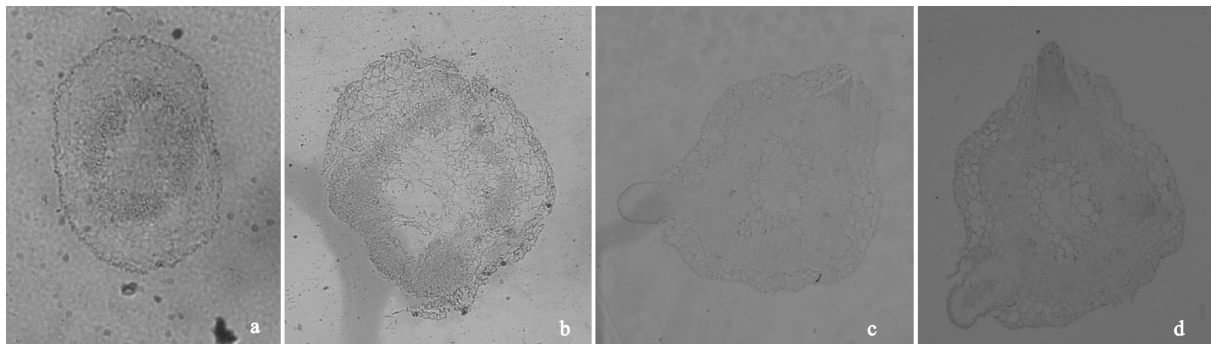
用卡诺氏固定液固定材料切片时材料从蜡中脱离,形成空洞的蜡带,无法制得可以观察的切片;用FAA固定液固定材料切片时材料与蜡带结合紧密,无裂纹,染色后材料内部组织较完整,细胞界限清晰。

2.2 ‘DH32-29’不定根发育过程解剖结构观察

‘DH32-29’组培苗生根诱导2 d后,其基部茎段内维管组织和皮层交界处出现了若干团与周围细胞结构明显不同的薄壁细胞,这些薄壁细胞体积较小、细胞密度较大,细胞质浓(染色后颜色较深,图1, a),细胞团继续分化至诱导5 d形成根原基并开始有向外扩张趋势(图1, b),至诱导8 d根原基继续向外生长,外表皮破裂(图1, c),诱导10 d不定根已完全突破表皮,根尖细胞数大量增加(图1, d),根增大增粗,根形态初步形成,外观可见。

2.3 ‘GL9’不定根发育过程解剖结构观察

‘GL9’生根诱导第2天时,茎的形成层形态结构未见明显变化(图2, a),至诱导第5天时,维管细胞从形成层位置开始向韧皮部方向加宽成多列,形成了排列紧密的与周围细胞有明显区别的圈状薄壁细胞团(图2, b),至诱导第8天时既观察到有不定根已经充分伸展和长出,又有根尖突破表皮形成肉眼可见的不定根突起(图2, c),至第10天观察到生出的不定根内已有呈椭圆形的侧根中柱细胞团(图2, d)。

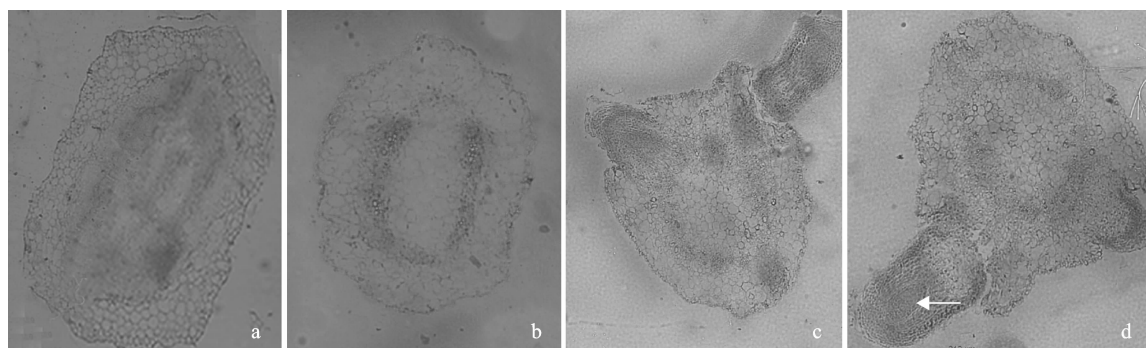


a. 生根诱导 2 d; b. 生根诱导 5 d; c. 生根诱导 8 d; d. 生根诱导 10 d

图 1 ‘DH32-29’不定根发育过程切片观察

a. 2 days after rooting induction; b. 5 days after rooting induction; c. 8 days after rooting induction; d. 10 days after rooting induction

Fig. 1 Anatomical observation on adventitious rooting of ‘DH32-29’



a. 生根诱导 2 d; b. 生根诱导 5 d; c. 生根诱导 8 d; d. 生根诱导 10 d。箭头所指为侧根中柱细胞

图 2 ‘GL9’不定根发育过程切片观察

a. 2 days after rooting induction; b. 5 days after rooting induction; c. 8 days after rooting induction; d. 10 days after rooting induction. Stele cells of lateral root were pointed out with black arrow

Fig. 2 Anatomical observation on adventitious rooting of ‘GL9’

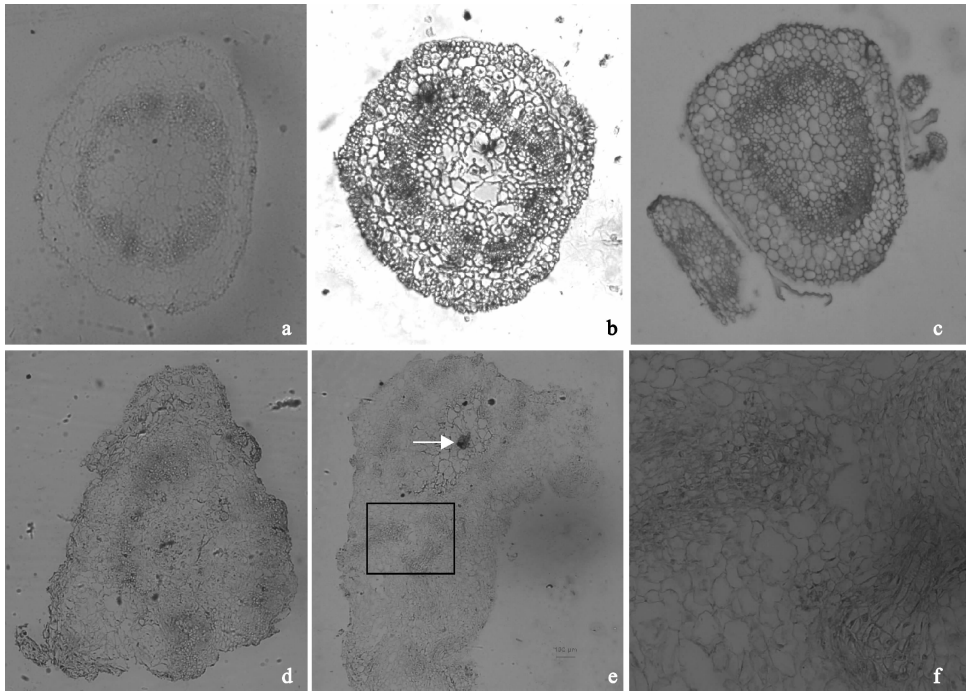
2.4 ‘XF35’不定根发育过程解剖结构观察

‘XF35’组培苗生根诱导开始后 2 ~ 8 d 内发现形成层与皮层之间的一层细胞相比周围的细胞密度更大且呈现不断密集的状态,但是未发现有向外分化的趋势(图 3, a~c)。至诱导第 10 天出现由大量薄壁细胞形成的愈伤组织,在愈伤组织形成后,其内部的一些细胞脱分化不断分裂分化,逐渐发育成若干团细胞核明显、细胞质浓、大小均一的根原基(图 3, d)。诱导 12 d 后不定根已形成,在已形成的不定根中继续出现根原基(图 3, e ~ f)。

2.5 不同无性系桉树生根发育过程比较

切片观察发现,‘DH32-29’和‘GL9’都是皮部生根的类型,‘XF35’是愈伤组织生根的类型。组培苗外部形态观察可知,‘DH32-29’和‘GL9’生根速度明显快于‘XF35’,切片的观测结果也验证了这点,‘XF35’在第 8 天时尚未形成明显的细胞层面的突起和变异。

3 种材料的解剖结构在接种后的最初几天内较相似,都是以维管形成层和皮层之间细胞的分裂活动为主,但是‘DH32-29’和‘GL9’形成了相对明显的根的原始形态,‘XF35’则未有明显的根原始体发现。对比生根时间,‘DH32-29’和‘GL9’在生根苗接种 8 d 后已经形成了较为完整的根结构,‘XF35’生根苗接种 12 d 后形成根结构。对照切片观察结果,发现根内细胞分裂越旺盛,生根所需时间越短。对比根的分裂情况,‘DH32-29’根内细胞分裂旺盛区域集中在根尖;‘GL9’根内的细胞分裂旺盛区域既出现在根尖,又出现在根基;‘XF35’根内细胞分裂旺盛区域主要分布在根基。‘XF35’是在愈伤组织的中层部位首先产生点状的分裂群,然后,这些分裂群的一部分向外延展,形成不定根。和‘GL9’一样,它也是在不定根着生的基部分裂旺盛,从而推动根不断地向外伸长。



a. 生根诱导 2 d; b. 生根诱导 5 d; c. 生根诱导 8 d; d. 生根诱导 10 d; e. 生根诱导 12 d, 箭头所指为维管组织; f. 生根诱导 12 d(局部)

图 3 ‘XF35’不定根发育过程解剖观察

- a. 2 days after rooting induction; b. 5 days after rooting induction; c. 8 days after rooting induction; d. 10 days after rooting induction; e. 12 days after rooting induction and vascular tissue was pointed out with arrow; f. 12 days after rooting induction (local enlarged)

Fig. 3 Anatomical observation on adventitious rooting of ‘XF35’

3 讨 论

石蜡切片技术作为组织学观察的常用技术,在桉树根系形态和发育研究中的报道却很少。本研究选取不同生根难度的桉树组培苗,比较并优化了石蜡切片制作过程中的固定操作(因为优化固定操作后,采用常规的切片制作方法,即取得了理想的切片观察效果),利用优化后的石蜡切片法获得了结构清晰的桉树组织切片。

通过对比本研究,并结合铃木^[12]、杨树^[13]、四倍体刺槐^[14]的生根解剖观察,无论是皮部生根还是愈伤生根,生根发育过程都是先在形成层形成一小团与周围细胞在外观上有明显差异的薄壁细胞群,这群细胞体积明显比周围细胞小(因为这团细胞核被染色的比例明显高于周围细胞,因此,可以推测出这团细胞正在进行旺盛分裂),排列紧凑、细胞核在细胞中占比例较大。该群细胞切向分裂速度明显大于横向和径向分裂速度,形成一个穿过韧皮部及维管束鞘、突入皮层的乳头状不定根原基。随着根原基的不断生长,皮层细胞被挤压,破裂,形成缺口,此

时,根原基内细胞则在一定部位进行旺盛分裂,推动根原基不断向外伸长,形成外露的不定根。

不定根按其形成部位可分为皮部生根型(也称直接发生)、愈伤组织生根型(也称间接发生)和混合生根型^[15]。本研究通过观察 3 种桉树组培苗生根发育过程,发现‘DH32-29’和‘GL9’组培苗不定根生根类型为皮部生根,‘XF35’组培苗不定根生根类型为愈伤组织生根。除桉树外,Koyuncu 等^[16]研究证实茶树插穗的不定根原基起源于维管形成层和次生韧皮薄壁细胞,为皮部生根;王清民等^[17]研究核桃试管嫩茎的诱导生根过程发现,核桃嫩茎不定根原基起源于形成层细胞,也为皮部生根。而孙婷婷等^[18]则发现黄刺玫扦插生根是由愈伤组织木质部外侧具有根原始体特征的细胞不断分化而来的,为愈伤生根;扈顺^[15]研究中发现四合木茎插穗不定根由诱生根原基发育而来,诱生根原基则是由愈伤组织的薄壁细胞反分化形成,也为愈伤生根。张梅春等^[19]研究紫衫扦插插穗生根过程,结果发现紫衫插穗有两种生根类型,其嫩枝插条为愈伤组织生根,由愈伤组织中大量的维管组织结节分化形成;其木质

化插穗是皮部生根和愈伤组织生根并存,先是皮部生根且大部分是皮部生根。由此可见,木本植物的生根类型主要包含愈伤生根和皮部生根2种,也有混合生根型的存在。皮部生根的树种,由于本来就有根原基,扦插后可以很快长出根系,比较容易成活。但是,那些根原基较少的树种如毛白杨,扦插后由根原基长出的不定根数量少,比较不易成活。所以像毛白杨类的树种,虽然也是皮部生根类型,但不容易扦插成活,需要采取嫁接、ABT生根粉或生长素、腐殖酸钠等药剂的处理等方法来诱导生根。愈伤组织生根的树种,首先形成由薄壁细胞组成的愈伤组织,然后,不定根原始体在其内部或表皮部位形成,不断生长发育后形成不定根。通常情况下,皮部生根因无需诱导愈伤,因此生根会比较快,愈伤生根则经常需要更多的时间。从桉树来看,‘DH32-29’和‘GL9’是皮部生根,且较易生根,推测是其形成层已存在可生根的根原基;‘XF35’是愈伤生根,推测‘XF35’可能缺少根原基,才需要诱导愈伤生根。

有研究发现,茎段皮层的构造对不定根的发生有一定影响^[20],如果皮层中存在环状厚壁组织时,生根则较难,反之,生根则相对容易。如枣树枝条靠近真皮部的皮层薄壁组织间有一带状厚壁组织,对扦插后根原基形成和生长发育产生了障碍作用^[21];银桦插穗茎的韧皮部外方具有5层韧皮纤维细胞,不呈环状连续排列^[22],这些厚壁组织导致其生根困难。本研究通过切片观察发现,3个桉树无性系的茎段均无厚壁组织,说明3个无性系均无阻碍其生根的细胞结构。‘DH32-29’和‘GL9’在生根苗接种8d后形成了较为完整的根结构,‘XF35’在生根诱导12d后生根,推测原因是‘XF35’直到接种第10天才形成愈伤组织。另外,虽然‘XF35’生根速度较

慢,但是,若从其愈伤上开始生根的时间节点开始计算,其生根则只需要2~4d,4d后可形成长度超过2mm的不定根,生成愈伤后的生根速度是‘DH32-29’和‘GL9’的2倍。查阅其他植物诱导不定根的报道发现,杨树组培苗生根诱导8d,可以直接观察到不定根发生;诱导10d后,外观能看到粗而长的根^[13],由此可见,组培诱导时,这2种植物生根速度趋于一致。此外,马尾松^[23]、欧李^[24]、四倍体刺槐^[14]等木本植物嫩枝扦插诱导不定根产生所需时间比桉树长,而桉树与杨树^[25]、牡丹^[26]等植物的不定根发生所需时间相似。因此,桉树属于不定根诱导产生速率较快的树种。

从已形成根的解剖结构看,不同桉树之间根的生长状态的差异体现在分裂旺盛区域的不同,‘DH32-29’根内的细胞分裂旺盛区域既出现在根尖,又出现在根基;‘GL9’根内细胞分裂旺盛区域集中在根尖;‘XF35’根内细胞分裂旺盛区域主要分布在根基。对比其他植物的根发育情况,王宁等^[27]研究发现草莓侧根细胞分裂旺盛的区域集中在根尖,王云丽^[28]的观察发现沙棘扦插后不定根细胞分裂旺盛区域集中在根尖,谢志南等^[29]观测到三角梅的扦插生根过程中根尖细胞分裂较旺盛,而分裂旺盛区域出现在根基的植物则未见报道。

本研究对3种桉树组培苗的不定根发育过程进行了石蜡切片观察,为发现桉树组培苗不定根的形成和发育过程提供了解剖学依据。另外,如果能够结合生根诱导过程的激素调控和分子层面的转录组表达研究,则可将桉树不定根的发育机理研究推向深入。而更多有价值的生根机理的发现,可为提高桉树不定根,特别是难生根桉树不定根的诱导率提供理论支持。

参考文献:

[1] 王原媛,张定宇,黄春国. 植物石蜡切片的固定与保存[J]. 安徽农学通报, 2010, **16**(1): 198-200.
WANG Y Y, ZHANG D Y, HUANG C G. Research of plant paraffin sections fixation and preservation [J]. *Anhui Agricultural Science Bulletin*, 2010, **16**(1): 198-200.

[2] HOOPERT M. Light Microscopy. Microscopic Techniques in Biotechnology [M]. Weinheim, FRG: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2005.

[3] 李和平. 植物显微技术(第2版)[M]. 北京: 科学出版社, 2009.

[4] 张新梅,董晓英,沈仁芳. 水稻幼嫩根尖常规石蜡切片制作技

术改良[J]. 江苏农业科学, 2013, **41**(12): 71-73.
ZHANG X M, DONG X Y, SHEN R F. Improvement of traditional paraffin section preparation on immature rice root apices [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2013, **41**(12): 71-73.

[5] 张伟,周永梅,陈明城,等. 快速石蜡切片法在免疫组化染色中的应用[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2011, **20**(4): 372-373.
ZHANG W, ZHOU Y M, CHEN M C, et al. The application of rapid paraffin section method in immunohistochemical staining [J]. *Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, 2011, **20**(4): 372-373.

[6] 苏印泉,彭锋,黎斌,等. 桦树松萝的石蜡切片方法改良

- 及形态学研究[J]. 西北植物学报, 2007, **27**(5): 859-863.
- SU Y Q, PENG F, LI B, *et al.* Improvement of paraffin section methods and morphological studies on *Usnea betulina*[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2007, **27**(5): 859-863.
- [7] 王豁然. 桉树生物学概论[M]. 北京: 科学出版社, 2010.
- [8] 黄崇辉, 杨朝辉, 陈文平, 等. 桉树杂交育种技术在雷州林业局的应用[J]. 桉树科技, 2008, **2**(25): 55-60.
- HUANG C H, YANG Z H, CHEN W P, *et al.* Application of Cross Breeding Technology of *Eucalyptus* in Leizhou Forestry Bureau [J]. *Eucalypt Science & Technology*, 2008, **2**(25): 55-60.
- [9] 张磊, 熊涛, 王建忠, 等. 广西东门林场桉树无性系选育研究概述[J]. 桉树科技, 2015, **1**(32): 45-49.
- ZHANG L, XIONG T, WANG J Z, *et al.* Eucalyptus clonal breeding at Guangxi Dongmen Forest Farm [J]. *Eucalypt Science & Technology*, 2015, **1**(32): 45-49.
- [10] 欧阳乐军, 曾富华. 桉树分子育种研究进展[J]. 分子植物育种, 2008, **6**(6): 1146-1152.
- OUYANG L J, ZENG F H. Advances in molecular breeding of *Eucalyptus*[J]. *Molecular Plant Breeding*, 2008, **6**(6): 1146-1152.
- [11] 徐大平, 张宁南. 桉树人工林生态效应研究进展[J]. 广西林业科学, 2006, **35**(4): 179-187.
- XU D P, ZHANG N N. Study development of ecological effect of *Eucalyptus* plantation [J]. *Guangxi Forestry Science*, 2006, **35**(4): 179-187.
- [12] 潘健, 夏日红, 程家寿, 等. 桉木插条生根的解剖学研究[J]. 植物资源与环境学报, 2008, **17**(1): 62-65.
- PAN J, XIA R H, CHENG J S, *et al.* Anatomical study on rooting of *Eurya japonica* cutting [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2008, **17**(1): 62-65.
- [13] 董宁光. 杨树嫩茎生根机理及调控激素的组织细胞原位分析[D]. 北京: 北京林业大学, 2012.
- [14] 权金娥, 朱海兰, 张春霞, 等. 四倍体刺槐茎段组织石蜡切片的制作方法[J]. 西北林学院学报, 2014, **29**(3): 140-144.
- QUAN J E, ZHU H L, ZHANG C X, *et al.* Preparation of paraffin section of tetraploid *Robinia pseudoacacia* stem segment tissue [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2014, **29**(3): 140-144.
- [15] 扈顺. 四合木繁殖特性及扦插生根解剖学研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2014.
- [16] KOYUNCU F, BALTA F. Adventitious root formation in leaf-bud cuttings of tea (*Camellia Sinensis L.*) [J]. *Pakistan Journal of Botany*, 2004, **36**(4): 763-768.
- [17] 王清民, 彭伟秀, 张俊佩, 等. 核桃试管嫩茎生根的形态结构及激素调控研究[J]. 园艺学报, 2006, **33**(2): 255-259.
- WANG Q M, PENG W X, ZHANG J P, *et al.* Histological and hormonal characters during the rhizogenesis of *in vitro* Walnut shoots [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2006, **33**(2): 255-259.
- [18] 孙婷婷, 胡宝忠, 陈玉霞, 等. 黄刺玫(*Rosa xanthina* Lindl.)嫩枝扦插生根过程的解剖学研究[J]. 东北农业大学学报, 2008, **39**(7): 53-56.
- SUN T T, HU B Z, CHEN Y X, *et al.* Anatomical study on rooting of the green shoot cutting propagation of *Rosa xanthina* Lindl [J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2008, **39**(7): 53-56.
- [19] 张梅春, 杨立新. 紫杉扦插插穗生根过程的研究[J]. 内蒙古农业科技, 2007, (2): 48-50.
- ZHANG M C, YANG L X. Study on cutting rooting process to yew [J]. *Inner Mongolia Agricultural Science and Technology*, 2007, (2): 48-50.
- [20] 王涛. 植物扦插繁殖技术[M]. 北京: 科学技术出版社, 1989.
- [21] 森下义郎, 大山浪雄. 植物扦插理论与技术[M]. 北京: 中国林业出版社, 1988.
- [22] 易咏梅, 罗世家, 李鑫, 等. 珙桐茎的解剖构造及愈伤组织形成的研究[J]. 湖北民族学院学报(自然科学版), 2000, **18**(3): 4-6.
- YI Y M, LUO S J, LI X, *et al.* Studies on anatomical structure of dove tree stem and its formation of the callus [J]. *Journal of Hubei Institute for Nationalities (Nat. Sci.)*, 2000, **18**(3): 4-6.
- [23] 李校雨, 吕成群, 黄宝灵, 等. 马尾松组培苗不定根诱导及不定根解剖观察[J]. 西北林学院学报, 2009, **24**(3): 80-84.
- LI X Y, LÜ C Q, HUANG B L, *et al.* Adventitious roots' induction of *Pinus massoniana* shoots in test tubes and anatomical observation [J]. *Journal of Northwest Forestry University*, 2009, **24**(3): 80-84.
- [24] 杨秀峰, 李凤兰, 孙旭红, 等. 欧李扦插影响因子及生根机理的研究[J]. 安徽农业科学, 2009, **37**(14): 6347-6349.
- YANG X F, LI F L, SUN X H, *et al.* Research on influence factors and rooting mechanism in cutting process of *Prunus humilis* (Bge). Sok [J]. *Journal of Anhui Agriculture*, 2009, **37**(14): 6347-6349.
- [25] 董宁光. 741 杨叶不定根发生调控及 IAA 免疫化学分析[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2008.
- [26] 贺丹, 王政, 何松林. 牡丹试管苗生根过程解剖结构观察及相关激素与酶变化的研究[J]. 园艺学报, 2011, **38**(4): 770-776.
- HE D, WANG Z, HE S L. Adventitious root generating process and hormone and enzyme changes *in vitro* *Paeonia suffruticosa* [J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2011, **38**(4): 770-776.
- [27] 王宁, 齐永志, 时荣荣, 等. 草莓根系的石蜡切片制作及侧根发育过程的观察[J]. 河北农业大学学报, 2013, **36**(3): 34-38.
- WANG N, QI Y Z, SHI R R, *et al.* Manufacture of paraffin section on starwberry root and observation on the development of lateral [J]. *Journal of Agriculture University of Hebei*, 2013, **36**(3): 34-38.
- [28] 王云丽. 沙棘嫩枝微扦插的研究[D]. 太原: 山西大学, 2013.
- [29] 谢志南, 赖瑞云, 林雨仙, 等. 三角梅插穗扦插生根过程解剖学观察[J]. 闽西职业技术学院学报, 2008, **10**(3): 97-99.
- XIE Z N, LAI R Y, LIN L X, *et al.* Anatomical observation on the rooting of the cutting of *Bougainvillea spectabilis* [J]. *Journal of Minxi Vocational and Technical College*, 2008, **10**(3): 97-99.