

# 美国山核桃扦插不定根形成的解剖学观察<sup>\*</sup>

刘壮壮<sup>1</sup>, 曹凡<sup>1,2</sup>, 彭方仁<sup>1</sup>, 张瑞<sup>1</sup>, 李永荣<sup>3</sup>, 梁有旺<sup>1</sup>, 谭鹏鹏<sup>1</sup>

(1.南京林业大学林学院, 南京 210037; 2.南通科技职业学院园林园艺系, 南通 226007;

3.南京绿宙薄壳山核桃科技有限公司, 南京 211500)

**摘要:** 采用石蜡切片法对美国山核桃硬枝扦插不定根形成过程进行了解剖学观察。结果表明: 美国山核桃硬枝插穗不定根的形成属愈伤组织生根型, 愈伤组织主要起源于形成层和维管射线薄壁细胞。不定根原基起源于已分化出再生结构的愈伤组织, 形成不定根原基前经历不定根原基发端细胞和分生组织的产生。愈伤组织是影响美国山核桃硬枝插穗难生根的关键因素。

**关键词:** 美国山核桃; 硬枝扦插; 解剖学观察; 不定根; 愈伤组织

## The Anatomical Characteristics of the Formation of the Adventitious Roots Developed from Pecan Hardwood Cuttings

LIU Zhuang-zhuang<sup>1</sup>, CAO Fan<sup>1,2</sup>, PENG Fang-ren<sup>1</sup>, ZHANG Rui<sup>1</sup>, LI Yong-rong<sup>3</sup>, LIANG You-wang<sup>1</sup>,  
TAN Peng-peng<sup>1</sup>

(1.College of Forestry, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, China; 2.Department of Landscape  
Architecture and Horticulture, Nantong Science and Technology College, Nantong 226007, China; 3.Nanjing  
Green Universe Pecan Science & Technology Co., Ltd, Nanjing 211500, China)

**Abstract:** Pecan hardwood cuttings were observed anatomically by paraffin method. The results showed that the adventitious roots developed from callus, which mainly originated from parenchyma cells of cambium and vascular ray. Adventitious root primordia originated from the callus that had differentiated into reproductive structure. Root initial and regenerate tissue generated before the formation of adventitious root primordia. This study demonstrated that the callus is the key factor affecting the rooting of pecan hardwood cutting.

**Key words:** *Carya illinoensis*; hardwood cuttings; anatomical observation; adventitious roots; callus

---

<sup>\*</sup> 基金项目: 江苏省林业三新工程项目[Lysx2014(047)]; 林业公益性行业科研专项(201304711); 江苏省高校优势学科建设工程资助项目(PAPD)。

第一作者简介: 刘壮壮((1991-), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为经济林栽培与利用。E-mail: zzliu666@126.com

通讯作者: 彭方仁(1963-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事森林培育与经济林栽培的教学与研究工作。E-mail: frpeng@njfu.edu.cn

美国山核桃[*Carya illinoensis* (Wangenh.) C. Koch]原产美国和墨西哥北部,是世界著名的干果树种之一,被引入我国已百余年。因其种仁营养丰富、品质优、生长快、材质佳等优点,近年来果园经营、园林绿化对美国山核桃苗木需求量不断增大,供不应求。美国山核桃的繁殖方式主要以实生苗嫁接为主<sup>[1]</sup>。这种繁殖方式的缺陷,一是种子价格昂贵,二是嫁接成活率相对较低以致成苗时间过长<sup>[2]</sup>,导致目前美国山核桃苗木成本过高,数量短缺,不能很好地满足市场的需求。扦插具有简单易行、繁殖速度快、繁殖系数较高、成本较低等优势,但美国山核桃无性系不易生根,扦插繁殖非常困难。即使使用激素,对扦插成活率也无显著提高,同时产生不一致的结果<sup>[3~5]</sup>。目前关于美国山核桃扦插的报道中,对其扦插繁殖技术的研究较多,而从解剖学等层面对美国山核桃扦插生根机理的研究很少,章建红等通过石蜡切片在解剖学层面对美国山核桃扦插生根原理进行了初步探讨,其解剖结果表明,美国山核桃扦插生根属愈伤组织生根型<sup>[6]</sup>。本试验通过石蜡切片对美国山核桃扦插中愈伤组织和不定根的形成过程以及二者之间的关系,作解剖学上进一步的研究,以期为揭示其扦插生根机理奠定基础,并为美国山核桃扦插快繁提供技术指导和理论依据。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料

2013年11月25日,试验材料采自江苏省句容市后白镇南京林业大学美国山核桃试验基地。选取了当年生优质实生苗休眠枝,统一截取成8cm长的插条,上切口剪成光滑的平面,下切口距休眠芽0.5cm处剪成光滑的斜面。插条剪好后每20根为一捆,共5捆,于室内进行沙藏3个月。

2014年3月2日,插穗取出后流水冲洗12h,然后用500ppmNAA浸泡6h。以珍珠岩为基质进行扦插。插条扦插后每隔7d喷施0.1%多菌灵进行病菌防治,并视插壤的干燥程度进行补水。

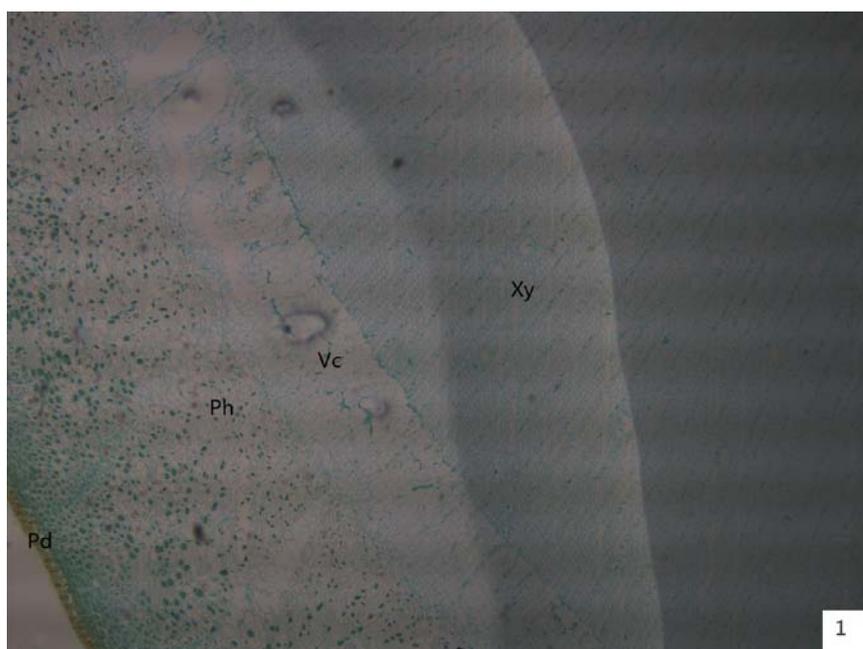
### 1.2 试验方法

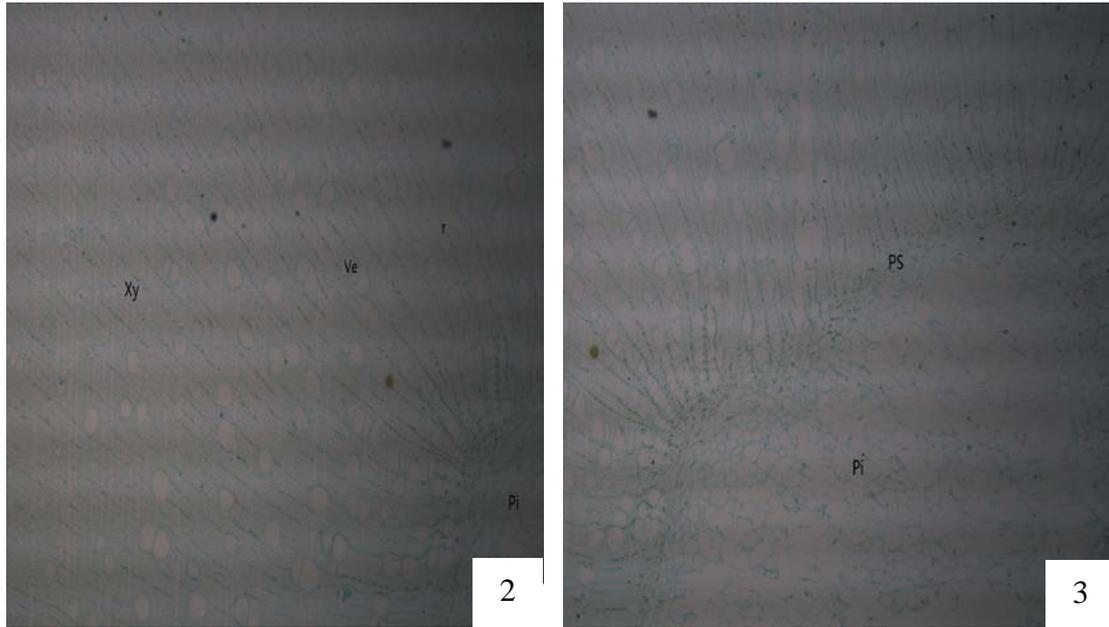
扦插后每隔一周取样一次,直至插穗生根后停止采样,每次随机抽取4根插穗。鲜样用蒸馏水洗净后,距插条切口1.0cm处截取基部茎段,截取的材料随即用FAA固定液固定,固定后用乙二胺进行软化处理。用石蜡切片法制片,番红-固绿染色,Nikon光学显微镜观察、拍照。

## 2 结果与分析

### 2.1 插穗茎的解剖构造

从美国山核桃硬枝插穗的横切面看，其次生构造从外向内由周皮、皮层、次生维管组织和髓组成（图 I，1、3）。周皮是由木栓层、木栓形成层和栓内层组成，上面具皮孔结构。次生维管组织由次生韧皮部、维管形成层和次生木质部组成（图 I，1）。次生韧皮部由筛管、伴胞、韧皮薄壁组织、韧皮射线和韧皮纤维等组成。次生木质部是茎中比较显著的组织，由导管、管胞、木薄壁组织、木射线和木纤维等组成（图 I，2）。美国山核桃硬枝内导管比较发达，导管孔分布不均匀且大小不一致，为环孔材，栗属、梓属、朴属、白蜡树、桑树、栎树、水曲柳等都为这种材质<sup>[7]</sup>。靠近髓的管孔稠密且大，有较多复管孔；靠近形成层的管孔稀疏，较髓附近小，多为单管孔。木射线为单列射线，从髓部呈辐射状发出，通过射线原始细胞与韧皮射线相连接，起着横向运输和贮藏物质的作用。髓位于茎的中心位置，内部由较大、形状不规则的薄壁细胞组成，外方有较小壁厚的细胞，二者界限分明，形成髓的一个明显的周围区即环髓带（图 I，3）。通过对茎的横切面与弦切面的观察，均未发现潜伏根原基的存在。





Pd-周皮 Ph-韧皮部 Vc-维管形成层 Xy-木质部 r-维管射线 Ve-导管 Pi-髓 PS-环髓带

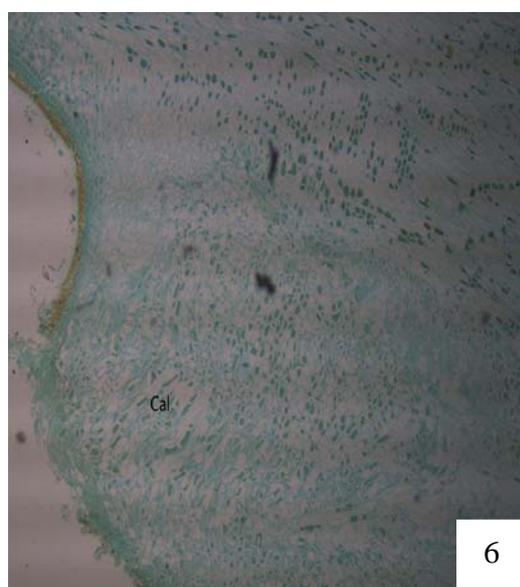
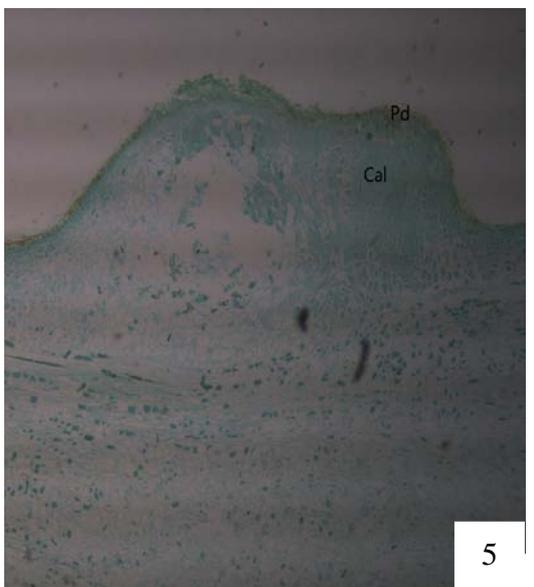
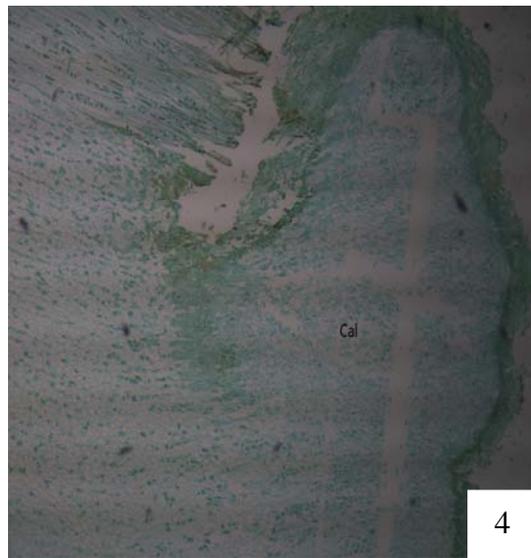
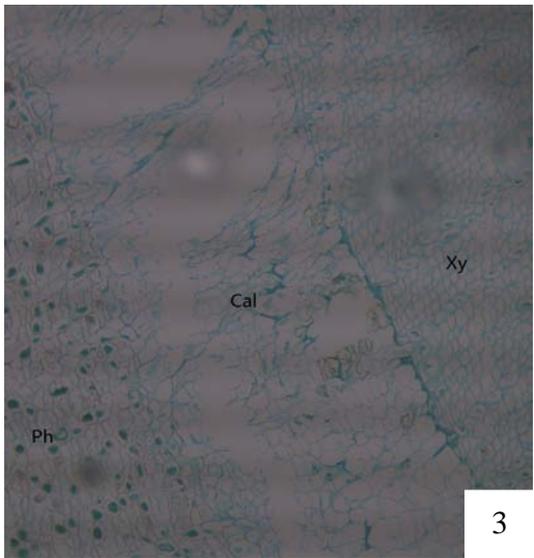
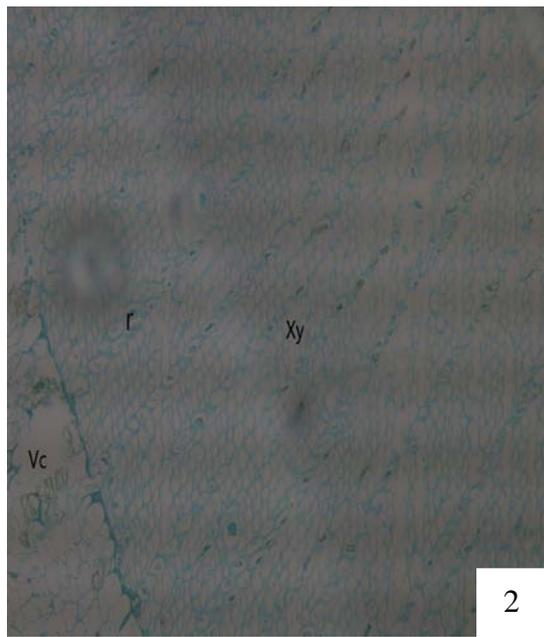
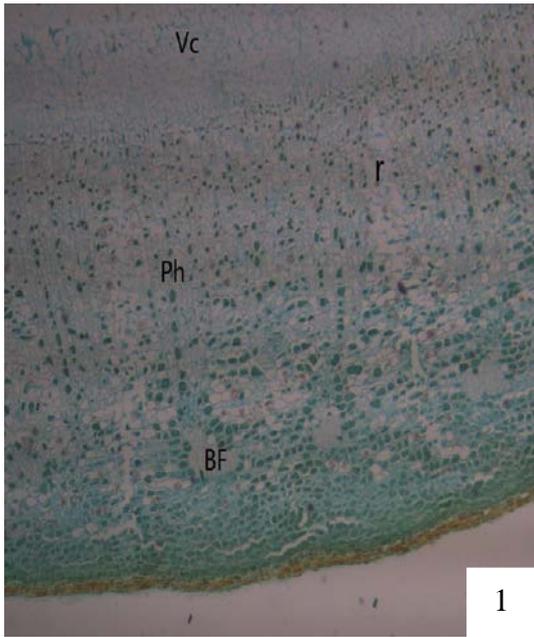
图 I 美国山核桃硬枝插穗茎的解剖结构（扦插后 1 周，维管形成层处已有愈伤组织生成）

Figure I The stem structure of pecan hardwood cuttings (one week after cutting, the callus has occurred in vascular cambium)

## 2.2 不定根的起源与形成

### 2.2.1 愈伤组织的形成

解剖观察发现，扦插 1 周后，有的韧皮射线向皮层方向加宽成多列（图 II, 1），部分木射线向韧皮部方向加宽成两列但向髓心的一侧仍为单列射线（图 II, 2）。维管形成层处首先形成由形状不规则的薄壁细胞构成的愈伤组织（图 II, 3），由维管形成层及维管射线与维管形成层交叉处的薄壁细胞分化而来。随着愈伤组织的发生，加宽的维管射线薄壁细胞不断分化并参与愈伤组织的形成，通过对扦插 4 周后的插穗形态和解剖上的观察，发现插穗切口面有纵向凸起的、较大面积的团状愈伤组织的出现（图 II, 4）。此外还有愈伤薄壁细胞穿过韧皮部、皮层挤压周皮甚至冲破周皮或其皮孔（图 II, 5、6）。



1、2、3 为插穗茎的横切面；4、5、6 为插穗茎的弦切面

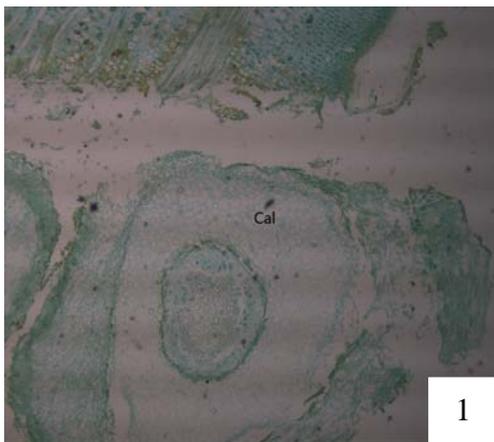
BF-韧皮纤维 Ph-韧皮部 r-维管射线 Vc-维管形成层 Xy-木质部 Cal-愈伤组织 Pd-周皮

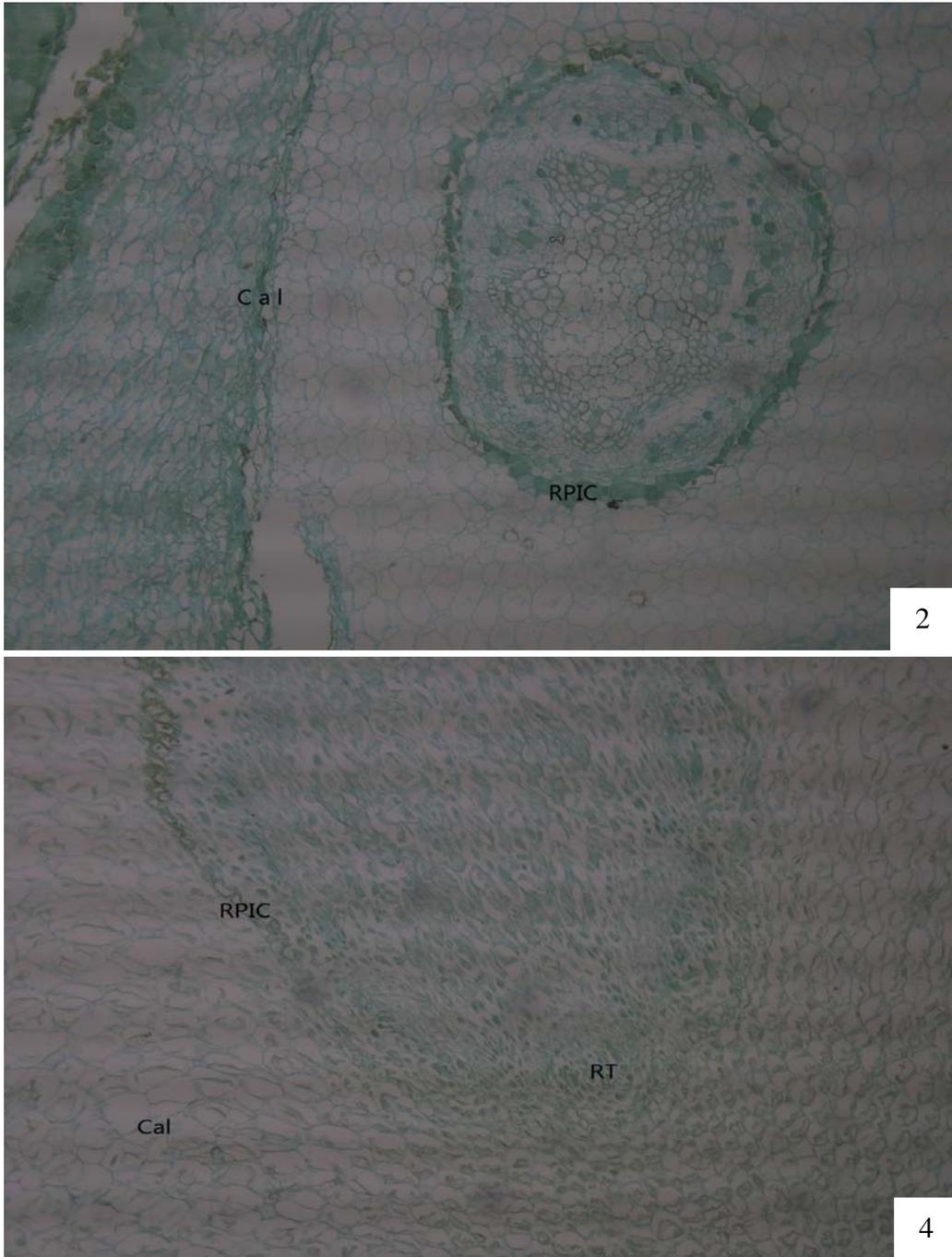
图 II 美国山核桃硬枝插穗愈伤组织形成及发育的解剖结构

Figure II The structure of the formation and development of callus in pecan hardwood cuttings

### 2.2.2 愈伤组织产生不定根

愈伤组织在发育进程中，其薄壁细胞不断分裂，使其范围不断扩大，当增大到一定程度时开始分化出各种组织，如再生皮层、再生木质部和再生维管形成层。通过对生根时期插穗的切片观察发现，愈伤组织再生结构内部的薄壁细胞恢复分生能力，随着细胞的分裂，新生的薄壁细胞群中心位置的细胞体积变小，细胞排列紧密，向四周分裂成染色较深、排列紧密与周围细胞有明显区别的薄壁细胞团。这团薄壁细胞不断向四周分裂，在外围产生一圈细胞核较大、细胞质较浓、染色极深的根原基发端细胞，即根原始体(图 III, 1、2)。先端的根原基发端细胞及其内部紧邻的薄壁细胞团表现出很强的分裂能力，向着皮层方向持续分裂，逐渐形成几个由体积较小、染色较深的分生细胞构成的分生组织，外围细胞层由于受到细胞分裂的挤压而发生变形向外凸出(图 III, 3、4)。远离先端的根原基发端细胞分裂能力较弱，细胞壁逐渐加厚，失去分生能力。分生组织细胞会继续进行平周和垂周分裂，最终形成不定根原基。通过系列切片的观察，插穗茎内未见其他组织细胞分化出的不定根原基。





2（10 倍镜）为 1（4 倍镜）的放大镜像；4（10 倍镜）为 3（4 倍镜）的放大镜像

Cal-愈伤组织 RPIC- 根原基原始细胞 RT-分生组织

图 III 薄壳山核桃硬枝插穗不定根形成的解剖结构

Figure III The anatomical structure of adventitious roots in pecan hardwood cuttings

### 3 结论与讨论

美国山核桃硬枝内未发现潜伏根原始体，这与柳属的某些种<sup>[8-9]</sup>、圆柏<sup>[10]</sup>、黑穗醋栗<sup>[11]</sup>等枝条内存在潜伏不定根原基的树种有着显著的差别。潜伏不定根原基生根型是较易生根的类型，诱生根原始体型分为愈伤组织生根型、皮部生根型和综合生根型，其中愈伤组织生根型是难生根的类型<sup>[12]</sup>，成活率较低。美国山核桃与翅果油树<sup>[13]</sup>、皱皮木瓜<sup>[14]</sup>等类似，不定根原基从愈伤组织内部分化而出，属诱生根原始体生根型中的愈伤组织生根型，这与黄有军<sup>[15]</sup>和章建红<sup>[6]</sup>等人的研究一致。但这种生根型在有些树种中并不单独存在，比如红桤木和红皮云杉的插条除愈伤组织生根外还存在皮部生根型<sup>[16-17]</sup>。

费约果<sup>[18]</sup>、板栗<sup>[19]</sup>、红桤木<sup>[16]</sup>等树种扦插难生根，与其插条茎的结构中存在的厚壁组织有很密切的关系。有研究表明，在没有环状厚壁组织或厚壁组织不连续时，不定根的发生较容易，反之，若厚壁组织呈环状或多层则生根困难<sup>[20]</sup>。美国山核桃的茎的横切解剖结构显示，初生韧皮部中韧皮纤维细胞组成团状结构，彼此间断排列(图 II, 1)，可知其对不定根原基的发生不存在抑制作用。而且这种间断排列不妨碍愈伤组织的形成和径向发育，加上愈伤组织较容易穿过切口进行纵向伸展，这在部分插穗基部和切口表面观察到较多愈伤组织的结果相一致。

愈伤组织主要起源于形成层和维管射线薄壁细胞，随着愈伤组织的形成与发育，部分愈伤组织分化出再生结构，如愈伤组织木质部，进而在愈伤组织内部分化出根原始体。愈伤组织是产生不定根的先决条件，但观察发现，在产生愈伤组织的插穗中只有部分插穗可以产生不定根，这就表明即使插穗产生了愈伤组织也不一定能产生不定根。有文献报道，红豆杉属植物细胞生长过程中，会分泌一些次生代谢产物—棕红色的酚类物质，这种酚类渗出物的积累会造成组织褐化、细胞死亡以及培养基变色<sup>[21]</sup>。在美国山核桃硬枝扦插过程中，植物细胞有可能分泌出一些酚类化合物等次生代谢物质，导致愈伤组织停止生长，甚至老化、死亡以致不能产生不定根。关于这个问题的具体原因还有待于进一步探索。此外，经观察，部分插穗不能分化出愈伤组织，前述讨论提到茎的解剖结构对愈伤组织在茎内的分化不会产生抑制作用，应另有原因待于研究。因为愈伤组织是产生不定根的先决条件，而且据李俊南等报道，相同母树年龄的插穗其愈伤组织产生率和生根率呈正相关关系<sup>[22]</sup>。因此为提高美国山核桃硬枝扦插的生根率，应在研究清楚影响愈伤组织分化的因素的基础上探索有效的措施以进一步促进愈伤组织的产生。不过，在实际的扦插试验中发现美国山核桃硬枝插穗较容易产生愈伤组织，其难生根的关键应在影响愈伤组织分化出不定根的因素上。

参考文献(References):

- [1] Nilima N. Renukdas, Muthusamy Manoharan, James O. Garner, et al. In vitro propagation of pecan [*Carya illinoensis* (Wangenh) K.Koch][J]. Plant Biotechnology, 2010, 27: 211-215.
- [2] 耿国民, 周久亚, 朱灿灿. 薄壳山核桃扦插繁殖技术初报[J]. 江苏农业科学, 2011, 39 (6): 249-250.
- [3] Brusch MO, Allan P, Wolstenholme BN. The anatomy of adventitious root formation in adult phase pecan [*Carya illinoensis* (Wang) K. Koch] stem cuttings[J]. Hort Res, 1977, 17: 23-31.
- [4] Smith IE, Wolstenholme BN, Allan P. Rooting and establishment of pecan [*Carya illinoensis* (Wang) K. Koch] stem cuttings[J]. Agropiantae, 1974, 7: 21-28.
- [5] Wolstenholme BN, Allan P. Progress and problems in pecan clonal propagation by stem cuttings[J]. Gewasproduksie/Crop Production, 1975, IV: 29-32.
- [6] 章建红, 施娟娟, 夏国华, 等. 薄壳山核桃硬枝扦插及生根机理研究[J]. 安徽农业大学学报, 2014, 41 (2): 203-208.
- [7] 李正理, 张新英. 植物解剖学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1983.
- [8] Carlson M C. The formation of nodal adventitious root in *Salix cordata*[J]. Am.J.Bot., 1938, 25: 721-725.
- [9] Carlson M C. Nodal adventitious roots in Willow stems of different ages[J]. Am.J. Bot. ,1950,37: 551-561.
- [10] 马德滋, 赵玉珑. 圆柏先成不定根原基的观察[J]. 林业科学, 1983, 19 (1): 98-100.
- [11] 林金莲, 王馥兰. 黑穗醋栗(*Ribes nigrum* L.)茎的解剖结构与不定根形成的研究[J]. 东北农学院学报, 1990, 21 (3): 284-294.
- [12] 郭素娟. 林木扦插生根的解剖学及生理学研究进展[J]. 北京林业大学学报, 1997, 19 (4): 64-69.
- [13] 庞晓慧. 翅果油树扦插繁殖技术及生根机理研究[D]. 河北: 河北农业大学, 2007.
- [14] 曹玉翠. 木瓜扦插繁殖技术及生根机理研究[D]. 山东: 山东农业大学, 2010.
- [15] 黄有军, 王正加, 郑炳松, 等. 植物生长调节剂对薄壳山核桃硬枝扦插生根的影响[J]. 西南林学院学报, 2006, 26 (5): 42-44.
- [16] 鲁丹, 张瑞, 彭方仁, 等. 红桧木扦插繁殖技术及生根过程的解剖学观察[J]. 西南林业大学学报, 2013, 33 (2): 24-28.
- [17] 姜静, 翁玉辉, 刘桂丰. 红皮云杉茎的解剖结构与插条不定根形成的研究[J]. BULLETIN OF BOTANICAL RESEARCH, 1994, 14 (4): 448-452.
- [18] 张猛, 王丹, 汤浩茹, 等. 费约果茎解剖结构与插条不定根的形成[J]. 林业科学, 2010, 46 (7): 183-188.
- [19] 刘勇, 肖德兴, 黄长干, 等. 板栗嫩枝扦插生根解剖学特征研究[J]. 园艺学报, 1997, 24 (1): 8-12.

- [20] 王涛. 植物扦插繁殖技术[M]. 北京: 北京科学技术出版社, 1989.
- [21] 刘铁燕, 刘昀, 赵彩凤, 等. 东北红豆杉愈伤组织诱导及组织培养研究[J]. 东北师大学报自然科学版, 2002, 34 (2): 67-71.
- [22] 李俊南, 李莲芳, 熊新武, 等. 插穗母树年龄和粗度对薄壳山核桃硬枝扦插的影响[J]. 西北林学院学报, 2013, 28 (4): 94-97.