

不同方法对海棠叶表皮的观察对比

陈奕凝, 谭文文, 彭冶*, 白玛玉珍, 杨美钰, 刘从敏, 严袖 (南京林业大学生物与环境学院, 江苏南京 210037)

摘要 为了比较不同海棠叶表皮结构的差异并选择出最佳观察方法, 选取西府海棠 (*Malus micromalus*)、湖北海棠 (*Malus hupehensis*) 及垂丝海棠 (*Malus halliana*), 使用撕取法、指甲油印迹法、白胶印迹法、氢氧化钠离析法及水杨酸甲酯透明法, 对不同种海棠的叶表皮进行观察比较并以撕取法为对照对不同方法进行归纳总结。结果显示: 3 种海棠叶片上下表皮结构基本相似, 上表皮均具有蜡质纹饰, 气孔器均为不规则类型。湖北海棠的叶片结构和垂丝海棠较相似, 其表皮细胞数据受方法影响不大。撕取法的清晰度最高; 指甲油印迹法操作方便, 但会使表皮细胞产生皱缩, 不同类型的指甲油试验结果存在差异; 白胶印迹法难以复刻叶表皮结构细节; 氢氧化钠离析法对时间的要求很高, 效果仅次于撕取法; 水杨酸甲酯透明法在透明不同树种时效果差异较大。综上所述, 撕取法适合西府海棠类较易撕取叶表皮的植物, 氢氧化钠离析法适用于如垂丝海棠难以撕取叶表皮的植物, 指甲油印迹法可以用于快速观察植物气孔形态, 水杨酸甲酯透明法受材料限制严重, 白胶印迹法不适用于叶表皮结构观察。

关键词 叶表皮观察; 撕取法; 印迹法; 离析法; 海棠

中图分类号 Q944.56 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2020)20-0127-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.20.034



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Observation and Comparison of Crabapple Leaf Epidermis by Different Methods

CHEN Yi-ning, TAN Wen-wen, PENG Ye et al (College of Biology and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)

Abstract In order to compare the differences of epidermis structure of different crabapple varieties and select the best method of observation, we selected *Malus micromalus*, *Malus hupehensis* and *Malus halliana*, using direct peeling method, nail polish blotting method, white glue blotting method, NaOH isolation method and methyl salicylate (MeSA) clearing method to observe and compare the leaf epidermis of different crabapples. To compare different methods with direct peeling method to summarize their characteristics. The results showed that both epidermis structures of three crabapples were basically similar. Upper epidermis had wax pattern, and stomatal apparatus was irregular. The leaf structure of *M. hupehensis* was like that of *M. halliana*, and its epidermal cell data were not affected by the method. Direct peeling method had the best clarity. Nail polish blotting method was convenient to operate, but the epidermis cells were shrunken, and the results of different types of nail polish were different. It is difficult to reproduce the details of leaf epidermis by white glue blotting method. NaOH isolation method had high demands on time, and the final effect was similar to the direct peeling method. The transparency of MeSA clearing method was various in different tree species. In conclusion, direct peeling method is suitable for the plants which are easy to peel leaf epidermis such as *M. micromalus*. NaOH isolation method is suitable for plants like *M. halliana*, which are difficult to peel the leaf epidermis. Nail polish blotting method can be used to quickly observe the stomatal morphology of plants. MeSA clearing method is seriously restricted by materials. White glue blotting method is not suitable for the observation of leaf epidermis.

Key words Observation of leaf epidermis; Direct peeling method; Blotting method; Isolation method; Crabapple

近年来全球环境的不断变化, 高温等极端天气增多, 随之而来的干旱、强光照等情况都对城市绿化树木的生存构成威胁。海棠作为常见的观赏树种在我国应用非常广泛, 道路、公园、小区、庭院等均有种植^[1-2]。探究其对恶劣环境的适应性, 有利于栽培管理。

叶片表皮结构特征在植物适应极端环境的研究中占有十分重要的地位。气孔是叶片表皮结构的重要组成, 作为植物叶片与外界进行气体交换的主要通道, 在植物光合作用、呼吸作用和蒸腾作用等方面具有非常重要的生理意义。气孔面积、气孔密度和气孔指数等数据也常被用来作为衡量植物抗逆性的指标^[3]。

不同植物由于叶片性状不同, 适用的观察方法也不同。目前, 观察植物叶表皮一般使用撕取法、刮制法、印迹法和离析法等方法^[3-5]。由于指甲油印迹法的操作简单, 因此使用频率逐渐升高。试验使用 3 种性质不同的指甲油分别制片观察, 对比其使用效果。

我国是海棠属植物的分布中心^[6], 但是原生种的保存与利用长期不受重视; 目前只有西府海棠 (*Malus micromalus*)、湖北海棠 (*Malus hupehensis*)、垂丝海棠 (*Malus halliana*) 等少数几个种类有实际应用^[7]。西府海棠和垂丝海棠是我国特有植物, 作为观赏植物已有很长的历史^[8-10]。西府海棠主要分布在我国北方地区。湖北海棠除了具有观赏价值外^[11], 还是重要的苹果砧木^[12], 原产于湖北^[13], 主要分布在我国中部地区^[14]。试验选取不同方法对这 3 种海棠叶表皮结构进行观察分析, 并对几种方法特性进行归纳, 以期为后续海棠抗逆性研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料 西府海棠、湖北海棠、垂丝海棠叶片均采自南京林业大学校园内。

1.2 方法

1.2.1 撕取法。取新鲜海棠叶片, 用镊子直接撕取叶片上下表皮置于滴过清水的载玻片上, 盖上盖玻片, 敲除气泡, 镜检。

1.2.2 指甲油印迹法。选用名创油性指甲油 06 亮油 (油性顶油)、悦诗风吟生机指甲底油 (油性底油)、名创一米阳光水性撕拉型指甲油 01 透明色 (水性指甲油) 对叶片表皮细胞进

基金项目 南京林业大学“教学质量提升工程”项目“显微技术课程研究型实验教学对创新思维培养的实践”。

作者简介 陈奕凝(1998—), 女, 江苏苏州人, 从事生物学研究。* 通信作者, 副教授, 博士, 从事植物发育生物学研究。

收稿日期 2020-03-15

行复刻。取新鲜的海棠叶片,在不同叶片的上下表面涂抹 6 cm^2 透明指甲油(2次,每次半刷:甲油刷提起后在瓶口刮去一半)。待指甲油完全干燥后撕下制片,进行观察。

1.2.3 白胶印迹法。取新鲜的海棠叶片,在叶片表面厚涂一层白胶[得力白胶(No.9070)],刚好纯白色不透明的厚度为宜。晾干后,制片观察^[3]。

1.2.4 氢氧化钠离析法。取新鲜的西府海棠叶片,用刀片去除上端1/3和下端1/3,在中间1/3主脉两侧各切下 $1\text{ cm}\times 1\text{ cm}$ 的叶片。将小叶片放入盛有70%FAA固定液的小瓶中进行固定。试验当天进行70%、50%、30%乙醇的梯度复水。在纯水中静置后,将小叶片放入装有3%氢氧化钠的离心管中进行水浴加热解离20 min^[15]。取出小叶片,刮去其上表皮和叶肉组织,制片观察。

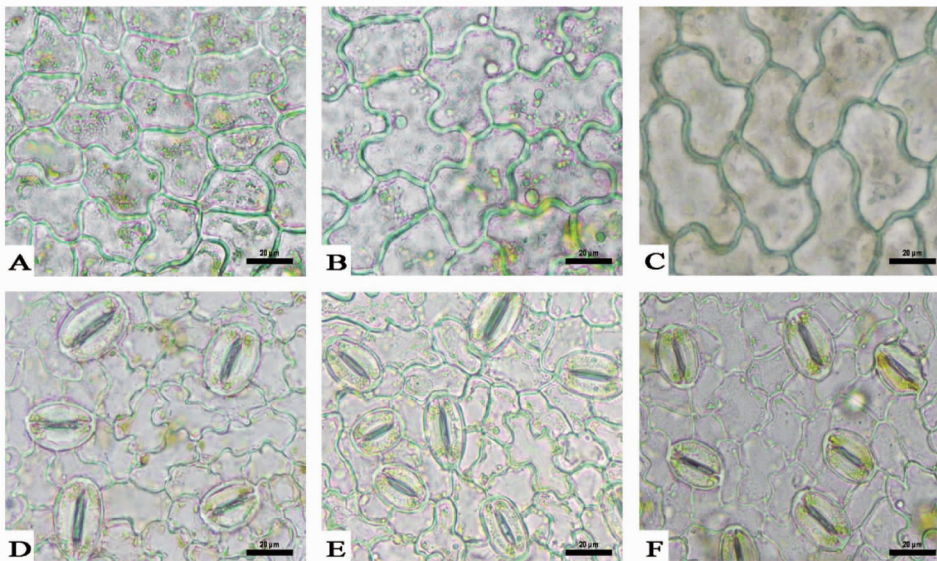
1.2.5 水杨酸甲酯透明法。取“1.2.3”中同时固定的小叶片,用70%乙醇洗涤3次,每次30 min。随后80%、85%、90%、95%、100%乙醇脱水,每梯度1 h,20 min换一次乙醇。乙醇:水杨酸甲酯(3:1、1:1、1:3)各浓度梯度过渡1 h后用纯水杨酸甲酯浸泡至叶片可透光^[16-17]。

1.3 叶片表皮观察与数据处理 在40倍物镜下,每种样品选取3个视野进行观察,每个视野选10个气孔测量其直径与宽度,10个表皮细胞测量其面积。试验均使用尼康50i研究级显微镜观察并拍照,使用Photoshop CS6进行数据测量前处理,使用Image J(1.52a)进行数据测量,使用SPSS 25进行数据处理。

2 结果与分析

2.1 3种海棠叶表皮结构特征 由图1可知,3种海棠的上、下表皮细胞结构基本相似,上表皮均具有蜡质纹饰,细胞面积均大于下表皮。垂丝海棠与湖北海棠的上表皮细胞较西府海棠更大,并且更不规则,镶嵌结构更加明显。

3种海棠的气孔器均为不规则气孔类型^[18-19],由2个肾形的保卫细胞和若干副卫细胞组成;副卫细胞与普通表皮细胞未有明显不同,气孔保卫细胞两极有“T”型加厚。3种海棠的气孔在叶片下表皮分布不均匀,不同位置气孔密度不同(表1)。湖北海棠的保卫细胞中具有更多的内含物。方差分析结果表明,垂丝海棠和湖北海棠在叶片表皮结构上具有更强的相似性。



注:A.西府海棠上表皮;B.垂丝海棠上表皮;C.湖北海棠上表皮;D.西府海棠下表皮;E.垂丝海棠下表皮;F.湖北海棠下表皮

Note: A. Upper epidermis of *M. micromalus*; B. Upper epidermis of *M. halliana*; C. Upper epidermis of *M. hupehensis*; D. Lower epidermis of *M. micromalus*; E. Lower epidermis of *M. halliana*; F. Lower epidermis of *M. hupehensis*

图1 不同海棠叶片上下表皮

Fig.1 Both epidermis of different crabapples

表1 3种海棠叶表皮特征比较

Table 1 Comparison of three different crabapple leaves' epidermis characteristics

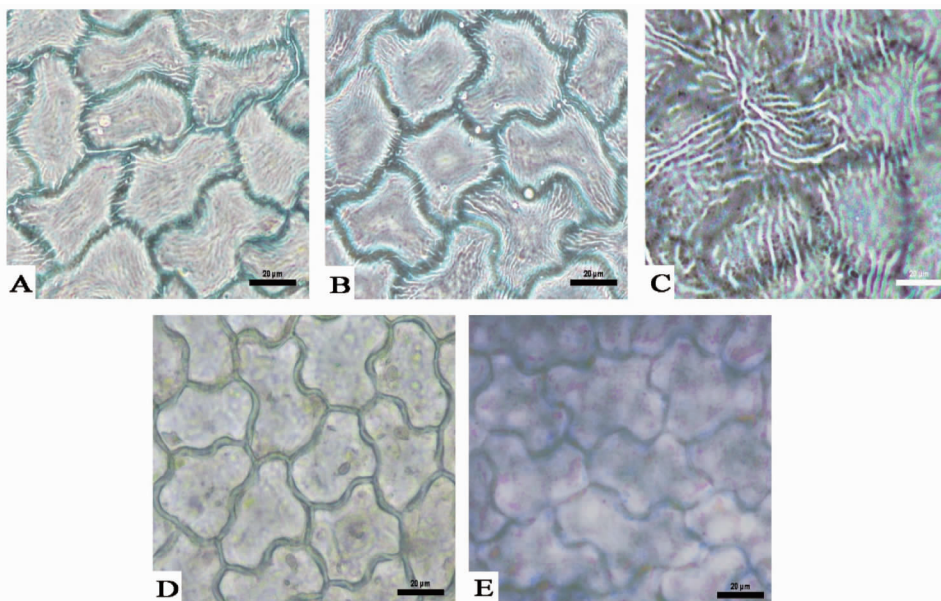
项目 Project	长轴 Long axis// μm	短轴 Short axis// μm	下表皮细胞面积 Area of lower epidermis// μm^2	上表皮细胞面积 Area of upper epidermis// μm^2	气孔密度 Stomatal density//个/ mm^2
西府海棠 <i>M. micromalus</i>	33.02 ± 0.60	20.98 ± 0.23	353.24 ± 18.10	563.54 ± 26.69	200.00 ± 19.90
垂丝海棠 <i>M. halliana</i>	30.79 ± 0.51	19.55 ± 0.20	334.30 ± 19.64	831.84 ± 27.36	256.41 ± 33.50
湖北海棠 <i>M. hupehensis</i>	27.55 ± 0.35	18.96 ± 0.24	388.18 ± 26.77	901.26 ± 29.29	251.28 ± 15.10

2.2 不同制片方法获得的显微图像比较 如图2D、3D所示,在使用撕取法获得的图像中,气孔和表皮细胞形态清晰可见,轮廓边缘十分明朗,并且依稀可见胞内内含物。

指甲油印迹法得到的图像在显微镜相称模式下极具立

体感。2种油性指甲油呈现的图像(图2A、2B)没有显著区别,均可提取清晰的上表皮细胞纹饰并较为精准地复刻气孔形态,但是无法呈现出清晰的细胞边界,图像中下表皮细胞难以辨认(图3A、3B)。使用水性指甲油得到的图像(图2C、

3C), 无论是上表皮还是下表皮都不够清晰, 存在边缘线涣散 和部分区域变形等问题。

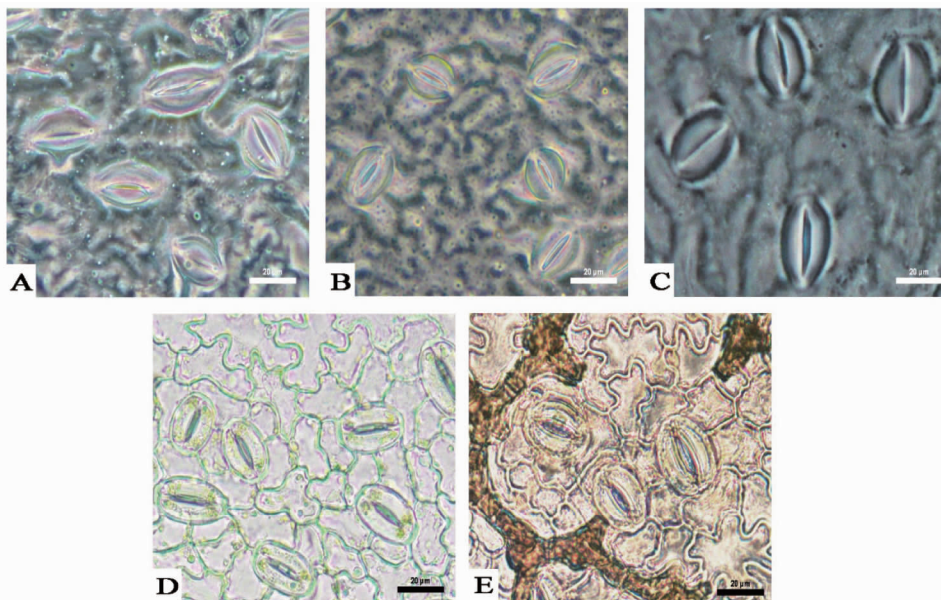


注: A.指甲油印迹法(油性底油); B.指甲油印迹法(油性顶油); C.指甲油印迹法(水性指甲油); D.撕取法; E.水杨酸甲酯透明法

Note: A.Nail polish blotting method(oily base polish); B.Nail polish blotting method(oily top polish); C.Nail polish blotting method(water-based polish); D.Direct peeling method; E.MeSA clearing method

图 2 5 种方法获得的湖北海棠上表皮

Fig.2 Upper epidermis of *M.hupehensis* with five different methods



注: A.指甲油印迹法(油性底油); B.指甲油印迹法(油性顶油); C.指甲油印迹法(水性指甲油); D.撕取法; E.氢氧化钠离析法

Note: A.Nail polish blotting method(oily base polish); B.Nail polish blotting method(oily top polish); C.Nail polish blotting method(water-based polish); D.Direct peeling method; E.NaOH isolation method

图 3 5 种方法获得的垂丝海棠下表皮

Fig.3 Lower epidermis of *M.haliانا* with five different methods

白胶印迹法成膜效果非常好,干燥后易撕取。但由于各种原因无法完成聚焦得到较清晰的图片,故在此未展示。

水杨酸甲酯透明法试验中,只有湖北海棠叶片透明的效果较好(图 2E),转换焦平面可依次观察上表皮细胞、叶肉细胞等。其余 2 种海棠使用这种透明方法均不成功。

氢氧化钠离析法得到的图像(图 3E)颜色不太干净,部

分叶肉组织难以去除对聚焦产生影响。整体效果与撕取法差不多,可见较清晰的气孔和表皮细胞形态及轮廓。

上述几种制片方法除白胶印迹法外都可以清晰呈现出气孔形态。撕取法的清晰度极高,可以提供表皮细胞和气孔数据的无障碍测量。从表 2,3 中可以看出:氢氧化钠离析法的清晰度仅次于撕取法,但制片时间较长;其测量数据与撕

取法对比存在部分差异。指甲油印迹法的制片时间更短、定位性更高,但是其测量数据分析后与撕取法存在较大差异。在此次试验中,湖北海棠的测量数据似乎受方法影响不大,推测与其叶表皮特性有关(表3)。

3 讨论

3.1 撕取法 通过对试验过程和数据处理结果的综合对比,撕取法在显微测量方面展现出更大的优势。撕取法结合熟练刮除手法,可以得到较完整、近全透明的叶片上下表皮用于观察气孔和叶片表面其他形貌特征,清晰的图像也使数据测量十分方便。同时,未经过药品处理的叶表皮所提供的形态和尺寸信息更接近真实,也更具有说服力。在需要对数据进行精准测量的时候,建议使用撕取法。

3.2 印迹法 相比撕取法的“原件”,指甲油印迹法中用于

表2 不同制片方法比较

Table 2 Comparison of different methods

方法 Method	制片时间 Production time//min	定位性 Localiza- tion	清晰度 Clarity
撕取法 Direct peeling method	—	差	高
指甲油印迹法(油性底油) Nail polish blotting method(oily base polish)	4	好	较低
指甲油印迹法(油性顶油) Nail polish blotting method(oily top polish)	6	好	较低
指甲油印迹法(水性指甲油) Nail polish blotting method(water-based polish)	40	好	低
白胶印迹法 White glue blotting method	90	好	低
水杨酸甲酯透明法 MeSA clearing method	>4 500	好	中等
氢氧化钠离析法 NaOH isolation method	>200	较差	较高

表3 不同方法与撕取法制片效果的差异性比较

Table 3 Comparison between different methods and direct peeling method

品种 Variety	方法 Method	长轴 Long axis	短轴 Short axis	下表皮细胞面积 Area of lower epidermis	上表皮细胞面积 Area of upper epidermis
西府海棠 <i>M. micromalus</i>	指甲油印迹法(底)	*	*	*	—
	指甲油印迹法(顶)	*	*	—	*
	氢氧化钠离析法	*	—	无	—
垂丝海棠 <i>M. haliana</i>	指甲油印迹法(底)	—	*	*	*
	指甲油印迹法(顶)	*	*	*	—
	氢氧化钠离析法	—	*	无	—
湖北海棠 <i>M. hupehensis</i>	指甲油印迹法(底)	*	—	—	—
	指甲油印迹法(顶)	—	*	—	—
	氢氧化钠离析法	—	*	无	—

注:各方法分别与撕取法进行比较,“*”表示差异显著,“—”表示差异不显著

Note: Different methods compared with direct peeling method. ‘*’ meant significant difference; ‘—’ meant no significant difference

观察的是“复刻件”。油性指甲油会使下表皮细胞皱缩,图像失真十分严重;其中油性底油较顶油形成的油膜较脆,撕取时容易开裂;水性指甲油本身性质柔软,在撕取制片过程中容易变形。由于印迹法通过覆膜进行表面信息提取,并通过油膜不同厚度的成像,“复刻件”图像本身存在误差;后期测量时,由于细胞的边缘存在模糊,会使误差更大。虽然不建议在需要精准数据时使用指甲油印迹法,但是这种方法方便,在快速观察气孔形态和提取叶片表面纹饰方面还很优秀,在3种指甲油中油性顶油的效果最好。

白胶溶于水,且溶解速度非常快,制片时会在极短时间内产生浑浊。若用无水乙醇进行制片,胶膜会收缩打卷,镜检效果不好,不能复刻出叶片表面的细节,不建议使用。

3.3 水杨酸甲酯透明法 用水杨酸甲酯对叶片进行整体透明,成功时的图像非常有趣。虽然清晰度比不上撕取法,但呈现出的细胞形态不错,基本会保持在植物细胞的生活状态;缺点是不是所有植物的叶片都可以顺利被透明。

3.4 氢氧化钠离析法 氢氧化钠离析法的操作过程十分繁琐,对受试样品和操作者都有较高的要求。前期固定和复水的时间较长,样品进入氢氧化钠水浴后,会出现发黑的情况:小叶片变得漆黑不透明,无法分清叶片上下表面;进行指定面表皮提取的障碍非常大。经离析后的叶片表皮不可以整张剥离,需要配合刮除法清理叶肉细胞。出于时间考虑,

不推荐使用。

4 结论

通过对5种方法的比较,撕取法制取的表皮区域是随机的,定位性较差,但是具有清晰度高、真实性强等特点,可用于数据测量,适合西府海棠这样叶脉较少、容易撕取叶片表皮的植物。氢氧化钠离析法的定位性好,不受材料限制,虽然操作繁琐,但适合像垂丝海棠这样不易撕取叶表皮的叶片。水杨酸甲酯透明法的清晰度、定位性和真实度都十分可观,但是受材料限制严重,具体使用条件还需要再继续探索。指甲油印迹法中效果最好的是油性顶油,可用于快速观察气孔形态;指甲油会使表皮细胞皱缩,虽然可能对湖北海棠类似叶片的影响不大,但仍然不建议用于数据测量。不推荐使用白胶印迹法。

试验发现,分布相似的湖北海棠和垂丝海棠在叶表皮形态结构上明显更具有相似性,而分布在较北方的西府海棠的叶表皮结构与前两者的差异较大,更小的气孔密度也许意味着更强的抗逆性。选择最合适海棠叶表皮观察方法得到精确的显微结构,对进一步研究不同海棠的抗逆生理具有重要的辅助作用。同时,了解其叶片表皮结构与环境的关系,有利于对不同品种海棠区别应用,特别是作为城市绿化植物的栽培管理和苹果嫁接砧木方面的选择。

(下转第139页)

实现了高效、长效、低毒、低污染和使用安全等特性的统一^[13-14]。该试验中,10%吡虫啉微胶囊施用4 500和6 750 mL/hm²,蛴螬的防治效果较好,且商品率比空白对照提高了60%以上,建议施用量为4 500 mL/hm²。

生物防治安全性好,不污染环境,但成本高、效果不稳定、见效慢、难贮藏且难以商品化等局限,目前使用范围小。而且,蛴螬生活在地下,环境温湿度较高,没有紫外线影响,环境适于线虫、真菌和细菌的发生,且蛴螬幼虫期长,感病期也长,因此,随着研究技术的不断提高,相信生物防治技术必将成为蛴螬防治的关键手段^[15]。绿僵菌、白僵菌等病原真菌的施用可在田间形成长效持续的作用,在澳大利亚牧场施用绿僵菌后当年减少虫害57.8%,继续检测3年发现,田间仍能减少虫害60%以上,证明昆虫病原真菌在防治蛴螬危害中,可发挥稳定持续的作用。应用昆虫病原真菌防治害虫要把握防治时机、掌握施用方法,尽量与害虫发育生长过程及田间环境相适应,才能取得良好的防治效果^[16]。

绿僵菌、白僵菌防治效果与大田环境密切相关。施用方法、病虫虫龄、接种量等因素均能影响其防治效果。绿僵菌、白僵菌需要高温高湿的环境来保证其孢子萌发和菌丝生长,存在易受环境因子影响、防治效果较为缓慢、质量稳定性较差等弊端,存在地域性的限制,而北方地区的温湿度条件不适合病原真菌的使用,一定程度上限制了其在农田或草原等地的实际使用效果^[17],从而限制了在蛴螬生物防治中的应用^[18]。

由于绿僵菌、白僵菌防治效果与大田环境密切相关,且单纯用绿僵菌、白僵菌防治蛴螬见效慢、效果不稳定,且杀虫谱较窄,绿僵菌与其他杀虫剂的混合制剂对蛴螬有增效作用^[19],试验证明绿僵菌与倍硫磷混用对东北大黑鳃金龟有增效作用^[20],因此绿僵菌、白僵菌在甘薯大田防治蛴螬的应用有待进一步试验。

(上接第130页)

参考文献

- [1] 武春霞,杨静慧,索何凤,等.3种海棠叶片解剖结构与抗旱性的关系[J].天津农业科学,2016,22(12):11-14,27.
- [2] 邢英丽,姜永峰,唐世勇,等.北方城市观赏海棠品种及在园林绿化中的应用[J].农业科技通讯,2010(2):161-163.
- [3] 杨芳,蒲训.被子植物叶片气孔制片方法研究[J].现代农业科技,2010(22):33-34,37.
- [4] 方纯娇,韩雪,史冬燕,等.牡丹叶片气孔观察方法的比较研究[J].安徽农业科学,2016,44(13):41-42,76.
- [5] 叶春秀,庄振刚,李有忠,等.棉花叶片气孔制片方法比较及改良[J].分子植物育种,2014,12(3):543-546.
- [6] 刘志强,汤庚国.南京地区垂丝海棠品种分类研究[J].南京林业大学学报(自然科学版),2004,28(1):101-106.
- [7] 唐菲,丁增成,任杰,等.我国观赏海棠种类及品种概述[J].安徽农业科学,2015,43(16):190-195,218.
- [8] 刘云鹏.宁南山区西府海棠栽培管理技术[J].宁夏农林科技,2018,59(6):24-25.
- [9] 李艳辉.西府海棠在北方园林中的应用[J].绿色科技,2018(17):129-

参考文献

- [1] 郭小丁,谢一芝,马佩勇,等.鲜食甘薯生产施用“地蚜灵”防治蛴螬效果[J].江苏农业科学,2011,39(3):146-147.
- [2] 闫会,薛程,李强,等.甘薯田蛴螬防治的现状与展望[J].江苏农业科学,2014,42(12):191-194.
- [3] 王容燕,高波,李秀花,等.河北省甘薯主产区蛴螬的发生为害调查[J].河北农业科学,2016,20(4):23-26.
- [4] 谢木发.草坪地下害虫蛴螬及防治[J].广东园林,1999(1):46-47.
- [5] 赵志强,曲明静,李晓,等.花生蛴螬三大优势种及其防治研究[C]//吴孔明.植保科技创新与病虫防控专业化——中国植物保护学会2011年学术年会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2011:587-595.
- [6] 赵书义,氟虫腈(5%悬浮种衣剂)防治玉米蛴螬田间药效试验[J].河南农业,2016(16):28.
- [7] 陈鹏,王守国,曹雅忠,等.氟虫腈·毒死蜱处理花生种子防控蛴螬效果评价[J].中国植保导刊,2014,34(5):55-57.
- [8] 郑方强,刘忠德,裴翠花.无公害杀虫剂防治韭蛆的药效试验及苦参碱杀虫作用的研究[J].农药,2002,41(6):26-28.
- [9] 程辉彩,刘丽云,张丽萍,等.绿僵菌防治铜绿丽金龟蛴螬药效试验[J].现代农药,2007,6(5):40-41,48.
- [10] 农向群,李存焕,张泽华,等.绿僵菌防治高尔夫草坪蛴螬效果[J].植物保护,2007,33(2):118-121.
- [11] 林华峰,王萍莉,张磊,等.布氏白僵菌和金龟子绿僵菌两变种的生长性状的毒力测定[J].中国生物防治,2006,22(2):123-127.
- [12] 李霞荣,张兴桃,陈军,等.绿僵菌与几种药剂防治花生蛴螬的比较试验[J].宿州学院学报,2011,26(2):74-75,80.
- [13] 陈浩,钟宏,黄河,等.农药微胶囊技术的研究现状与发展[J].化工时刊,2008,22(3):50-53.
- [14] 黄大明,蒋相国,李红梅,等.30%辛硫磷微囊悬浮剂防治花生地蛴螬的效果[J].湖北农业科学,2010,49(7):1624-1626.
- [15] 胡琼波,任顺祥,黄振.蛴螬生物防治研究进展[C]//李典谟,伍一军,武春生,等.当代昆虫学研究——中国昆虫学会成立60周年纪念大会暨学术讨论会论文集.北京:中国农业科学技术出版社,2004:488-493.
- [16] 刘迅,农向群,刘春琴,等.花生播种期施用绿僵菌防治蛴螬的研究[J].中国生物防治学报,2011,27(4):485-489.
- [17] 王海龙.病虫害生物防治中绿僵菌的应用现状[J].农业与技术,2017,37(16):34.
- [18] 程坤.地下害虫蛴螬的生物防治技术研究进展[J].吉林农业,2018(12):66.
- [19] 贾春生.利用绿僵菌防治舍恩菲尔德异丽金龟研究[D].哈尔滨:东北林业大学,2002.
- [20] 贾春生,由士江,张少柱.利用绿僵菌与倍硫磷混用防治东北大黑鳃金龟研究[J].北华大学学报(自然科学版),2003,4(1):78-79.

130.

- [10] 曹颖,韩仪善.垂丝海棠栽培管理与观赏应用[J].农业开发与装备,2016(7):153.
- [11] 何秀娟,邱文明,徐育海.湖北海棠观赏型新品系筛选研究[J].湖北林业科技,2014,43(4):5-8.
- [12] 邱文明,何秀娟,徐育海.矮化型湖北海棠种质资源评价与鉴定[J].中国南方果树,2014,43(4):104-106,110.
- [13] 俞德浚.中国果树分类学[M].北京:农业出版社,1991.
- [14] 陈琳琳,吴瑞蛟,刘连芬,等.湖北海棠的研究进展及应用前景[J].北方园艺,2013(16):217-221.
- [15] 温寿星,郭祥桃,黄镜浩,等.观察柑橘叶片表皮细胞与气孔结构的简易制片方法[J].东南园艺,2016,4(6):21-23.
- [16] 陈庆亮,翟志席,杨重军,等.肉苁蓉种子和胚的整体透明染色技术研究[J].中草药,2005,36(10):1559-1561.
- [17] 李彦坤,臧巩固,赵立宁,等.整体透明技术观察悬铃木茎麻胚胎发育的方法研究[J].中国麻业科学,2011,33(3):142-146.
- [18] 杨芳,蒲训.植物气孔类型初步分类考证[J].现代农业科技,2010(22):193-196.
- [19] 金延明,李胜华,蔡少青.中药材中常见气孔类型与特征鉴别[J].中国中药杂志,1994,19(5):267-268.