

高温胁迫对‘黄冠’、‘翠玉’梨耐热生理指标及相关基因表达的影响

王子腾, 侯焯琪, 蒋向红, 朱立武, 衡伟*

(安徽农业大学园艺学院, 合肥 230036)

摘要: 为探讨高温胁迫对梨树的影响, 对2年生‘黄冠’(*Pyrus pyrifolia* ‘Cuiguan’)、‘翠玉’(*P. bretschneideri* × *P. pyrifolia*)盆栽苗胁迫后叶片的抗氧化物质、抗氧化酶、渗透物质和激素的变化进行了测定, 利用qRT-PCR分析了叶片中抗性基因的表达。结果表明, 在高温胁迫下, 梨树叶片的叶绿素含量明显下降, 而MDA含量则持续上升; 梨叶片中的POD和CAT活性总体呈下降趋势, 但‘黄冠’的POD和CAT活性均高于‘翠玉’; PRO含量随胁迫时间延长逐渐增加; ASA含量表现出先上升后下降, 且‘黄冠’的ASA含量高于‘翠玉’; IAA和ABA含量都随胁迫时间的延长呈下降趋势, 但‘黄冠’的IAA和ABA含量比‘翠玉’高。qRT-PCR结果表明, 叶片中相关基因的表达量与对应的ASA、IAA和ABA含量变化趋势基本一致。因此, ‘黄冠’比‘翠玉’抗高温性能强, 且高温处理第4天为‘黄冠’和‘翠玉’梨的生理变化转折点。

关键词: 梨; 高温; 胁迫; 生理指标; 基因表达

doi: 10.11926/jtsb.3616

Effects of High Temperature Stress on Heat Resistance and Related Genes Expression of Pear Trees

WANG Zi-teng, HOU Zhao-qi, JIANG Xiang-hong, ZHU Li-wu, HENG Wei*

(School of Horticulture, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China)

Abstract: To understand the effect of high temperature stress on *Pyrus* trees, the changes in antioxidant substance, antioxidant enzymet and osmotic substance in leaves of 2-year-old ‘Huangguan’ (*P. pyrifolia* ‘Cuiguan’) and ‘Cuiyu’ (*P. bretschneideri* × *P. pyrifolia*) seedlings were measured, and the expressions of related genes at different stages were analyzed by qRT-PCR. The results showed that under high temperature stress, the chlorophyll content in leaves of ‘Huangguan’ and ‘Cuiyu’ reduced, while MDA content gradually increased. The activities of POD and CAT in two cultivars were both reduced, but those in ‘Huangguan’ were higher than in ‘Cuiyu’. The Pro content in two cultivars was increased with stress time. And the ASA content increased at first and then decreased in two cultivars. The contents of IAA and ABA decreased with stress time in two cultivars, but those in ‘Huangguan’ were higher than in ‘Cuiyu’. The expressions of related genes in leaves were consistent with the changes in contents of ASA, IAA and ABA. Therefore, the heat resistance of ‘Huangguan’ was stronger than that of ‘Cuiyu’, and the turning point of physiological change in two cultivars was the fourth day under high temperature.

Key words: Pear; High temperature; Stress; Physiology index; Gene expression

收稿日期: 2016-04-13

接受日期: 2016-06-27

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-29-14); 国家自然科学基金项目(31101519)资助

This work was supported by the Projects of China Modern Agriculture Technology System Construction (Grant No. CARS-29-14), and the National Natural Science Foundation of China (Grant No. 31101519).

作者简介: 王子腾(1991~), 男, 在读硕士研究生, 主要从事果树分子生物学研究。E-mail: 18955021939@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: hengwei@ahau.edu.cn

随着全球变暖和气候异常,果树的生产栽培面临着高温胁迫的严峻挑战,成为影响果树产业发展的重要因素之一。柑橘(*Citrus reticulata*)在受到高温胁迫的情况下光合速率明显降低,叶片光系统活性的光化学效率也明显下降^[1]。苹果(*Malus pumila*)果实受到高温胁迫, O_2^- 含量增加,其超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)和过氧化物酶(Peroxidase, POD)活性下降且丙二醛(MDA)含量增加,细胞的膜脂过氧化作用加重^[2]。葡萄(*Vitis vinifera*)在正常光照下,40℃高温胁迫导致其叶片的 Pn 显著下降(不是气孔因子导致的结果,而是与非气孔因子 PS II 供体侧和反应中心活性以及激发能分配有关),不过能够较快地恢复^[3]。高温胁迫对枣树(*Ziziphus jujuba*)幼苗叶片相对含水量的影响并不明显,但随着高温胁迫的加剧,细胞膜脂过氧化程度和破坏程度增加,同时细胞失水也越来越严重^[4]。早期王进等^[5]对早熟梨的研究表明,高温胁迫会引起梨叶片的早期脱落,且叶片开始脱落的时间和完全脱落时间随胁迫时间的延长而提前。高温胁迫对梨的生理效应和伤害机理研究报道较少,因此,开展对梨的高温适应性研究十分必要。

高温胁迫过程中,果树会发生氧代谢失调,过氧化氢(H_2O_2)增多,若不及时清除,会引起细胞的破坏。而抗坏血酸过氧化物酶(Ascorbate peroxidase, APX)是利用抗坏血酸(Ascorbic acid, AsA)为电子供体的 H_2O_2 的清除剂^[6]。高温胁迫下果树体内各种酶活性下降,生理代谢发生紊乱,内源激素脱落酸(Absciscic acid, ABA)能维持 SOD 和 POD 的活性,有效降低膜脂过氧化作用。9-顺环氧类胡萝卜素双加氧酶(9-*cis*-Epoxy-carotenoid dioxygenase, NCED)是高等植物 ABA 生物合成的关键酶之一^[7-8]。高温胁迫会导致吲哚乙酸(Indole-3-acetic acid, IAA)含量降低,使果树生长速率减慢,从而缓解因水分不足对植株完成正常生理活动造成的压力。而生长素酰胺合成酶(Gretchen hagen 3, GH3)是果树 IAA 生物合成的关键酶之一^[9-10]。因此, APX、NCED 和 GH3 基因在缓解果树受高温胁迫伤害起着重要的作用。

‘黄冠’(*Pyrus pyrifolia* Nakai ‘Cuiguan’)和‘翠玉’(*P. bretschneideri* × *P. pyrifolia*)梨是我国广为栽培的优良品种,深受广大消费者喜爱。本试验以盆栽梨苗进行高温处理,测定叶片的抗氧化酶活性、抗氧化物质和渗透调节物质含量,采用 qRT-PCR 方法分析叶片中 APX、NCED 和 GH3 基因表达量的

变化,以探讨高温胁迫对梨叶片的影响,为梨的抗热性研究奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

选取大小、长势基本一致,叶片完全成熟的‘黄冠’(*Pyrus pyrifolia* Nakai ‘Cuiguan’)、‘翠玉’(*P. bretschneideri* × *P. pyrifolia*)品种 2 年生幼苗各 9 株,在高温胁迫前 1 周左右将幼苗移至人工气候室,3 株为 1 小区,光暗周期 12 h/12 h,日夜温度 25℃/17℃,光照强度 $72 \mu\text{mol m}^{-2}\text{s}^{-1}$,相对湿度为 75%。

高温胁迫期间湿度保持在 78%,光暗周期 12 h/12 h。将 1 d 分为 6 个时间段(20:00–24:00、0:00–04:00、04:00–08:00、08:00–12:00、12:00–16:00 和 16:00–20:00),对应的温度为 32℃、36℃、40℃、42℃、38℃和 36℃。材料在人工气候室内随机排列,高温胁迫期间每天 18:00 浇 1 次水,以保证水分充足,并按照顺序变换位置以保证生长条件一致。梨幼苗高温处理 8 d,每 2 d 取 1 次叶片,取样时间定为 13:00,取样按照上、中、下随机取样,以未处理植株为对照。重复 3 次。叶片经液氮速冻后保存于 -80℃ 冰箱中。

1.2 方法

叶绿素含量、丙二醛(MDA)、抗坏血酸(ASA)含量和脯氨酸(Pro)含量参照陈建勋等^[11]的方法进行测定。

过氧化物酶(POD)和过氧化氢酶(CAT)活性参照高俊凤等^[12]的方法测定。

采用反相高效液相色谱 HPLC 技术,参考前人^[13-16]的方法测定内源激素含量。

1.3 高温胁迫相关基因的表达分析

分别以‘黄冠’和‘翠玉’高温处理 0、2、4、6 和 8 d 的叶片总 RNA 为模板,反转录合成 cDNA 第一链,根据 NCBI 已获得的 NCED、GH3 和 APX 基因的全长序列,使用 Primer premier 5.0 设计特异性引物 PbNCED-F 和 PbNCED-R、PbGH3-F 和 PbGH3-R、PbAPX-F 和 PbAPX-R (表 1),以梨 *Actin* 基因为内参,引物为 Actin-F 和 Actin-R,3 次重复。使用 STEPONE 荧光定量 PCR 仪进行定量分析,试剂采用 TaKaRa 公司的 SYBR® Premix Ex Taq™ II,操作按照试剂

表 1 荧光定量 PCR 扩增所需引物及其序列

Table 1 qRT-PCR amplification required primers and sequences

| 引物 Primer | 序列 Sequence (5'~3') | 引物 Primer | 序列 Sequence (5'~3') |
|-----------|------------------------|-----------|-----------------------|
| PbNCED-F | GTACGGTGGTGACCGTTTT | PbAPX-F | TCGGACACGGAGAGGGAAA |
| PbNCED-R | ACCGTAGCCTCCAACCTTCAT | PbAPX-R | ATCCGTAAAGATGAACCGGCA |
| PbGH3-F | GTGTGTGAATTTCTCGCCCATC | Actin-F | TGGTGTTCATGGTTGGTATGG |
| PbGH3-R | CTACGTTGTTCTGGGGTCCA | Actin-R | CAGGAGCAACACGAAGTTCA |

说明书进行, 采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 公式计算基因相对表达量。

2 结果和分析

2.1 高温胁迫对叶绿素和 MDA 含量的影响

在高温胁迫下, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片中的叶绿素含量均随胁迫时间的延长而下降。‘黄冠’叶片中的叶绿素含量在胁迫 8 d 时与胁迫 0 d 时相比下降了 33.0%, ‘翠玉’的下降了 31.9%。同时, ‘黄冠’叶片中的叶绿素含量在胁迫期间一直比‘翠玉’中的含量高(图 1: A)。

在高温胁迫下, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片中 MDA 含量均持续增加。胁迫处理 2 d 的‘黄冠’叶片 MDA 含量比处理前增加了 33.6%, 处理 4 d 后又增加了 8.5%, 处理 6 d 又增加了 33.2%, 处理 8 d 又增加了 19.5%。胁迫 2 d 的‘翠玉’叶片 MDA 含量比处理前增加了 21.7%; 处理 4 d 比处理前略微下降了 0.8%; 处理 6 d 又增加了 20.8%; 处理 8 d 比处理前增加了 12.3%。说明细胞膜在高温胁迫下受到了一定程度的伤害, 而且‘翠玉’受到的影响大于‘黄冠’(图 1: B)。

2.2 高温胁迫对 Pro 含量的影响

在高温胁迫下, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片中 Pro 含量都随胁迫时间的延长而显著增加(图 1: D)。高温胁迫处理 8 d 的‘黄冠’叶片 Pro 含量比处理前增加了 117.6%; 处理的前 2 d 增长缓慢, 仅增加了 17.3%, 处理 4 d 的增长速率加快, 增加了 102.6%, 处理 6~8 d 缓慢增长了 19.4%。‘翠玉’叶片中的 Pro 含量在处理前期增长缓慢, 增幅为 14.3%; 处理 2 d 后增长加快, 增幅为 93.2%; 处理 4~6 d 和 6~8 d 的增长较慢, 分别增加了 20.5%和 0.7%。可见, ‘黄冠’和‘翠玉’都是抗旱性较强的品种, 但相比而言, ‘黄冠’的抗旱性要强于‘翠玉’。

2.3 高温胁迫对 ASA 含量、POD 和 CAT 活性的影响

在高温胁迫下, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片中 ASA 含

量的变化趋势相同, 均为先升高后下降(图 1: C)。在胁迫前 2 d ‘黄冠’叶片中的 ASA 含量增长较快, 与处理前相比增加了 149.4%; 胁迫处理 6 d 后, ASA 含量持续下降, 下降了 37.6%。而‘翠玉’叶片中的 ASA 含量在处理前 2 d 增加了 142.6%, 在处理 4 d、6 d 和 8 d 分别下降了 18.9%、18.2%和 33.7%; 可以看出‘翠玉’受到高温胁迫的影响比‘黄冠’大。

在高温胁迫下, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片的 POD 活性均表现为先下降后上升再下降的趋势(图 1: E)。「黄冠」和「翠玉」叶片 POD 活性在处理前 4 d 持续下降, 胁迫 2 d ‘黄冠’和‘翠玉’叶片的 POD 活性与处理前分别下降 17.7%和 10.2%, 处理 4 d 又分别下降了 36.4%和 25.4%, ‘黄冠’叶片 POD 活性下降幅度比‘翠玉’大。处理 6 d ‘黄冠’和‘翠玉’叶片的 POD 活性分别比处理前上升了 13.4%和 13.1%, 处理 8 d ‘黄冠’叶片的 POD 活性与处理前的下降幅度比‘翠玉’小, ‘翠玉’下降了 37.1%, 而‘黄冠’只下降了 23.5%。高温胁迫对‘黄冠’叶片 POD 活性的影响与‘翠玉’基本相似, 均随胁迫时间的延长 POD 活性下降。

高温胁迫下, ‘黄冠’叶片的 CAT 活性呈先下降后上升再下降的趋势, 而‘翠玉’的呈“W”形(图 1: F)。处理 2 d ‘黄冠’叶片的 CAT 活性急剧下降, 下降了 60.7%, ‘翠玉’的下降了 59.6%, 均降至低谷。处理 4 d 时‘黄冠’和‘翠玉’叶片的 CAT 活性比处理前分别上升了 107.6%和 383.6%。处理 6 d 时‘黄冠’叶片的 CAT 活性缓慢下降, 降幅为 11.2%, 同期‘翠玉’下降了 72.2%。处理 8 d ‘黄冠’叶片的 CAT 活性继续下降, 降幅为 16.7%, 而‘翠玉’急剧上升, 增加了 375.61%。胁迫初期‘黄冠’叶片 CAT 活性比‘翠玉’高, 随着胁迫时间的延长, ‘黄冠’叶片的 CAT 活性下降, 而‘翠玉’上升, 后期‘翠玉’高于‘黄冠’, 表明‘翠玉’叶片清除活化氧的能力低于‘黄冠’。

2.4 高温胁迫对叶片内源 IAA 与 ABA 的影响

‘黄冠’叶片中 IAA 含量呈先增加后下降趋势, 而‘翠玉’的呈阶梯状起伏(图 2: A)。「黄冠」的变化幅

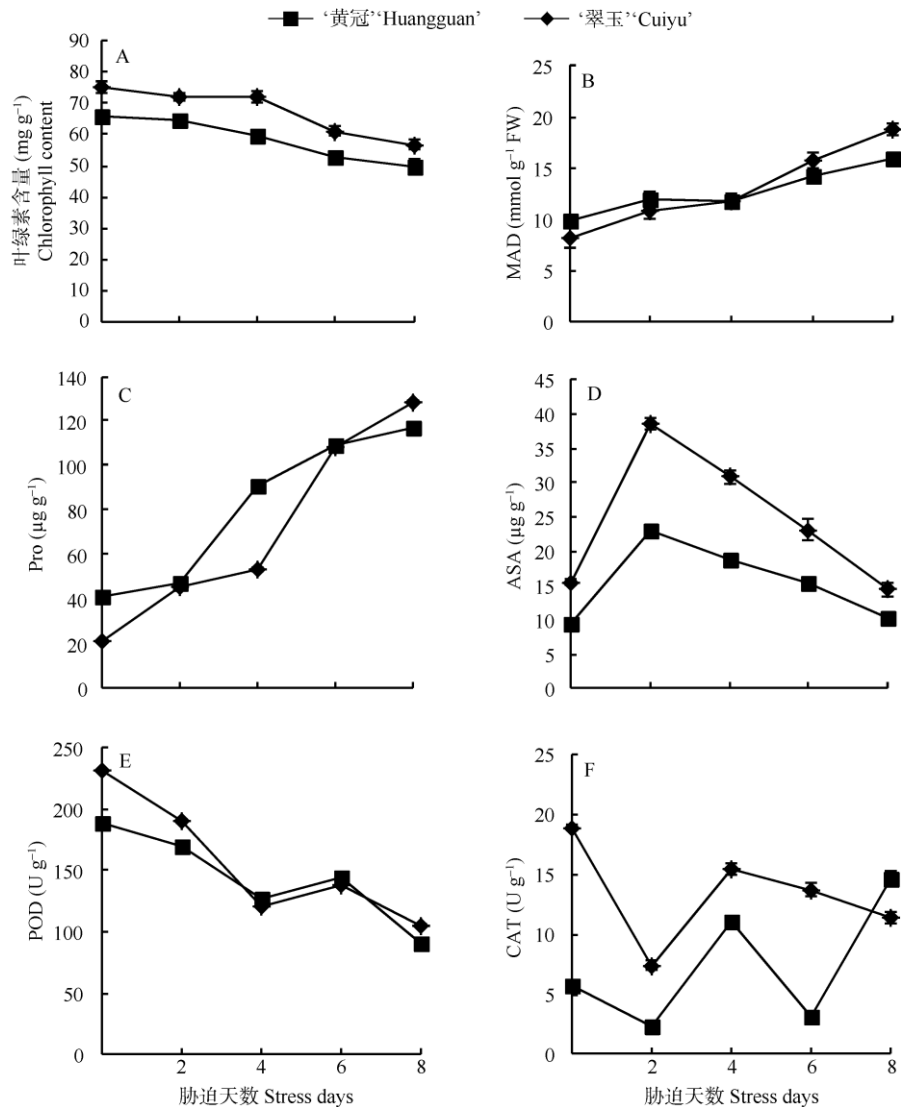


图 1 高温胁迫对梨叶片中叶绿素(A)、MAD (B)、Pro (C)、ASA (D)含量、POD (E)和 CAT (F)活性的影响

Fig. 1 Effects of high temperature stress on contents of chlorophyll (A), MAD (B), Pro (C), ASA (D), activities of POD (E) and CAT (F) in 'Huangguan' and 'Cuiyu'

度比较大, 而'翠玉'的较小, 并且'黄冠'叶片中 IAA 含量始终比'翠玉'高。高温处理的第 4 天, IAA 含量在两种梨叶片中的变化趋势都发生了改变, 说明第 4 天是其生理变化的转折点。

'黄冠'和'翠玉'叶片中 ABA 含量整体呈上升趋势, '翠玉'的 ABA 含量均比'黄冠'低(图 2: B)。高温胁迫下两种梨叶片中的 ABA 含量升高, 说明 ABA 能缓解因高温胁迫造成的水分亏缺。

2.5 高温胁迫下 *PbAPX*、*PbGH3* 和 *PbNCED* 的表达分析

在高温胁迫下, *PbAPX* 基因在'黄冠'和'翠玉'

叶片中的表达量均先下降再升高, 且以处理 2 d 时最低(图 3: A)。*黄冠*叶片中 *PbAPX* 基因表达量均高于'翠玉', 这与高温胁迫下 ASA 含量的变化趋势一致, 说明'黄冠'抵御膜脂氧化的能力强于'翠玉'。

在高温胁迫下, *PbGH3* 基因在两种梨叶片中以处理 4 d 时的表达量最大, 除对照外, '黄冠'叶片中 *PbGH3* 基因表达量都要高于'翠玉'(图 3: B)。这与高温胁迫 4 d 时 IAA 含量达到最大相吻合。在高温胁迫 4 d、6 d 和 8 d 时, *PbGH3* 基因在'黄冠'和'翠玉'中的表达量均存在显著差异。

PbNCED 基因在'黄冠'叶片中的表达量呈阶梯状起伏, 而'翠玉'呈先减少后增加趋势, 且均以对

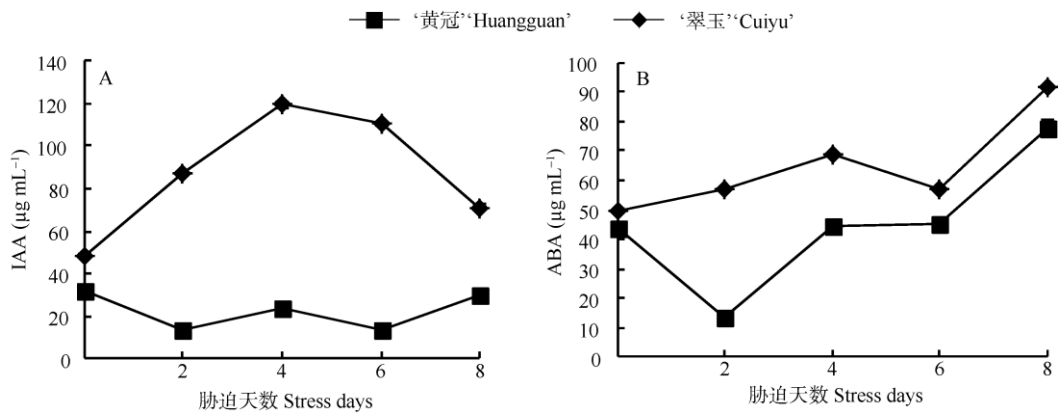


图 2 高温处理‘黄冠’和‘翠玉’叶片的 IAA (A)和 ABA (B)含量

Fig. 2 Contents of IAA and ABA in leaves of ‘Huangguan’ (A) and ‘Cuiyu’ (B)

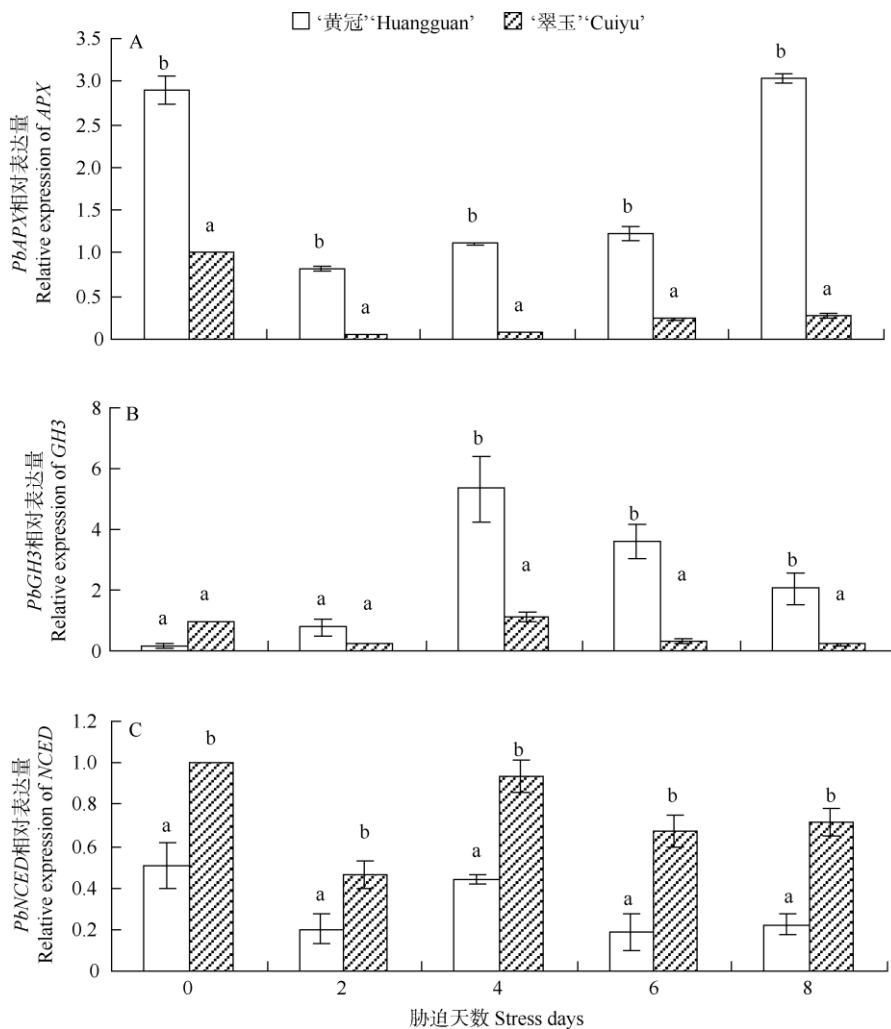


图 3 高温处理‘黄冠’和‘翠玉’叶片中 *PbAPX* (A)、*PbGH3* (B)和 *PbNCED* (C)基因表达

Fig. 3 Relative expression of *PbAPX* (A), *PbGH3* (B) and *PbNCED* (C) in leaves of ‘Huangguan’ and ‘Cuiyu’

照的表达量最高(图 3: C)。这与 ABA 在高温胁迫下的变化趋势基本吻合。高温胁迫下, *PbNCED* 基因在‘黄

冠’和‘翠玉’叶片中的表达量均存在显著性差异。

将本试验中 ASA、IAA 和 ABA 含量分别与

PbAXP、*PbGH3* 和 *PbNCED* 基因表达量进行相关性分析。结果表明, ‘黄冠’和‘翠玉’中 *PbAXP* 表达量与 ASA 含量均呈显著负相关, 相关系数分别为 -0.913 和 -0.747, 这是由于 *PbAXP* 是合成抗坏血酸过氧化物酶的基因, 当基因表达下降时, ASA 的含量呈上升趋势; ‘黄冠’的 *PbGH3* 基因表达量与 IAA 含量呈显著正相关, 相关系数为 0.884; 但‘翠玉’的 *PbGH3* 表达量与 IAA 含量呈正相关, 相关系数为 0.447。‘黄冠’的 *PbNCED* 基因表达量与 ABA 含量呈负相关, 相关系数为 -0.308, ‘翠玉’中则表现为正相关, 相关系数为 0.386。

3 讨论

植物在受到高温胁迫时, 其内部生理生化反应和基因表达都会发生一系列变化, 主要表现为光合作用下降, 呼吸作用减弱, 细胞膜透性增大, 活性氧的含量增加, 启动抗氧化酶和非酶抗氧化物质发生应答性变化^[17]。

从生理方面来说, 经过高温胁迫后的梨树, 叶片中的叶绿素相对含量、净光合速率和 PSII 的最大光化学效率都有所下降。在本研究中, 经过高温处理后, ‘黄冠’和‘翠玉’叶片中抗氧化物质、抗氧化酶、渗透性物质含量发生了显著变化。叶绿素含量发生明显的下降, 同时 MDA 含量表现为持续的上升, 这与罗聪等^[19]的研究结果一致; 保护酶方面, 两种梨中的 POD 和 CAT 活性总体表现为下降趋势, 但‘黄冠’中 POD 和 CAT 的含量均高于‘翠玉’这表明‘黄冠’中保护酶的保护能力要强于‘翠玉’。这与刘冬峰等对‘翠冠’和‘圆黄’梨进行短期持续高温胁迫处理和长时间高温胁迫处理的结果一致^[18]。

植物体内抗氧化物质含量被认为是植物在逆境胁迫下受伤害的指标^[20], 本试验中 ASA 含量在‘黄冠’和‘翠玉’叶片中均为先升高后下降的趋势, 这与 *PbAPX* 基因的表达量相反, 这是由于 APX 用于清除 ASA 产生的过氧化氢, 当 ASA 含量下降后植物需要较多的 APX 清除过氧化氢, 这说明高温胁迫后‘黄冠’细胞膜的过氧化程度比‘翠玉’轻、抗逆性更强。

抗氧化酶是植物体内的保护酶, 在植物受到胁迫伤害时能清除体内的活性氧和自由基, 植物体内的保护酶系统如超氧化物歧化酶、过氧化物酶、过氧化氢酶等可以清除活性氧自由基, 防止自由基的

毒害, 使自由基保持在较低的水平^[21]。但随着高温胁迫程度加强, 植物自身的抗氧化酶逐渐减少, 酶活性下降, 导致植物活性氧的积累^[21]。ASA 是植物在逆境胁迫环境下非常重要的抗氧化物质, 是启动氧化还原途径 ASA-GSH 的重要组成部分^[22]。本研究结果表明, ‘黄冠’清除体内活性氧和自由基的能力要比‘翠玉’强, 在高温胁迫的第 2 天 ASA-GSH 循环开始启动, ASA 不断被消耗, 从而抵抗外界的胁迫影响。植物体内的内源激素在植物受到逆境条件下会促进气孔关闭, 减少水分的散失, 提高植株对水分的调节能力^[23-24]。

‘黄冠’的渗透调节物质 MDA 和 PRO 含量都高于‘翠玉’, 这也解释了‘黄冠’的耐热性要高于‘翠玉’。在内源激素方面, IAA 和 ABA 含量都随着处理时间的延长呈下降趋势, 但‘黄冠’叶片中的含量都比‘翠玉’高, IAA 和 ABA 含量的变化趋势与基因 *PbGH3* 和 *PbNCED* 变化趋势基本吻合。

从基因方面来说, 经高温胁迫后 *PbAPX*、*PbGH3* 和 *PbNCED* 基因表达量均发生了显著变化, 带动植物体内相对应的 ASA、IAA 和 ABA 含量变化, 从而抵抗高温胁迫。‘黄冠’中的 *PbGH3* 表达量在受高温胁迫后的含量显著高于‘翠玉’, 且‘黄冠’中的相关基因表达量与相应的物质含量的相关性要高于‘翠玉’, 从而说明‘黄冠’针对高温胁迫的反应能力要强于‘翠玉’。

参考文献

- [1] GUO Y P, ZHOU H F, ZENG G H, et al. Effects of high temperature stress on net photosynthetic rate and photosystem II activity in *Citrus* [J]. *Chin J Appl Ecol*, 2003, 14(6): 867-870.
郭延平, 周慧芬, 曾光辉, 等. 高温胁迫对柑橘光合速率和光系统 II 活性的影响 [J]. *应用生态学报*, 2003, 14(6): 867-870.
- [2] LI Y L, GUO X M, ZHANG J G, et al. Influences of high temperature stress on antioxidative capacity of apple fruit peel [J]. *J Agri Univ Hebei*, 2005, 28(1): 18-20. doi: 10.3969/j.issn.1000-1573.2005.01.006.
李英丽, 果秀敏, 张建光, 等. 高温胁迫对苹果果皮组织抗氧化特性的影响 [J]. *河北农业大学学报*, 2005, 28(1): 18-20. doi: 10.3969/j.issn.1000-1573.2005.01.006.
- [3] LUO H B, MA L, DUAN W, et al. Influence of heat stress on photosynthesis in *Vitis vinifera* L. cv. Cabernet Sauvignon [J]. *Sci Agri Sin*, 2010, 43(13): 2744-2750. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2010.13.014.
罗海波, 马琴, 段伟, 等. 高温胁迫对‘赤霞珠’葡萄光合作用的影响

- [J]. 中国农业科学, 2010, 43(13): 2744–2750. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2010.13.014.
- [4] TIAN C P, YAO Y T. Effect of heat stress on physiological index of jujube [J]. Tianjin Agri Sci, 2011, 17(3): 15–17. doi: 10.3969/j.issn.1006-6500.2011.03.005.
田彩萍, 姚延栋. 高温胁迫对枣树幼苗生长发育的影响 [J]. 天津农业科学, 2011, 17(3): 15–17. doi: 10.3969/j.issn.1006-6500.2011.03.005.
- [5] WANG J, OU Y, WU Z, et al. Effects of high temperature stress on physiological indicators, early defoliation of early-maturing pear [J]. SW China J Agri Sci, 2011, 24(2): 546–551. doi: 10.3969/j.issn.1001-4829.2011.02.033.
王进, 欧毅, 武峥, 等. 高温胁迫对早熟梨生理效应和早期落叶的影响 [J]. 西南农业学报, 2011, 24(2): 546–551. doi: 10.3969/j.issn.1001-4829.2011.02.033.
- [6] SUN W H, WANG W Q. Functional mechanism and enzymatic and molecular characteristic of ascorbate peroxidase in plants [J]. Plant Physiol Commun, 2005, 41(2): 143–147.
孙卫红, 王伟青. 植物抗坏血酸过氧化物酶的作用机制、酶学及分子特性 [J]. 植物生理学通讯, 2005, 41(2): 143–147.
- [7] REN J, WU J F, LENG P, et al. Cloning and expression analysis of *NCED* gene from sweet cherry fruit [J]. Acta Hort Sin, 2010, 37(6): 891–898.
任杰, 吴洁芳, 冷平, 等. 甜樱桃果实 *NCED* 基因的克隆及其表达 [J]. 园艺学报, 2010, 37(6): 891–898.
- [8] GUO X R. Function of ABA to the increasing resistance of *Cantharanthus roseus* seedlings to high temperature and its proteomic investigation [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2004: 1–78.
郭晓瑞. ABA 对长春花耐受高温胁迫的作用及其蛋白质组学研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2004: 1–78.
- [9] ZENG W F, PAN L, NIU L, et al. Bioinformatics analysis and expression of the nectarine indole-3-acetic acid-amido synthase (*GH3*) gene family during fruit development [J]. Acta Hort Sin, 2015, 42(5): 833–842. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2014-1002.
曾文芳, 潘磊, 牛良, 等. 桃 *GH3* 基因家族的生物信息学分析及其在果实发育中的表达 [J]. 园艺学报, 2015, 42(5): 833–842. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2014-1002.
- [10] LI J, CUI J Z, MI X J. Progress of studies on relationship between auxin and plant response to abiotic stress [J]. Biotechn Bull, 2012(6): 13–17.
李静, 崔继哲, 弭晓菊. 生长素与植物逆境胁迫关系的研究进展 [J]. 生物技术通报, 2012(6): 13–17.
- [11] CHEN J X, Wang X F. Experiment Instruction of Plant Physiology [M]. Guangzhou: South China University of Technology Press, 2002.
陈建勋, 王晓峰. 植物生理学实验指导 [M]. 广州: 华南理工大学出版社, 2002.
- [12] GAO J F. Experiment Technology of Plant Physiology [M]. Xi'an: World Publishing Corporation, 2000.
高俊凤. 植物生理学实验技术 [M]. 西安: 世界图书出版公司, 2000.
- [13] DING J, SHEN Z D, FANG Y X, et al. Extraction and identification of plant endogenous hormone [J]. Plant Physiol Commun, 1979(2): 27–39, 50.
丁静, 沈镇德, 方亦雄, 等. 植物内源激素的提取分离和生物鉴定 [J]. 植物生理学通讯, 1979(2): 27–39, 50.
- [14] CHEN K S, XU C J, LI F, et al. An improved HPLC method for analyzing endogenous IAA and ABA in fruit tissues [J]. J Fruit Sci, 2003, 20(1): 4–7. doi: 10.3969/j.issn.1009-9980.2003.01.002.
陈昆松, 徐昌杰, 李方, 等. HPLC 法检测果实组织中内源 IAA、ABA 方法的改进 [J]. 果树学报, 2003, 20(1): 4–7. doi: 10.3969/j.issn.1009-9980.2003.01.002.
- [15] CHEN Y P, YANG W Y. Determination of GA₃, IAA, ABA and ZT in dormant buds of *Allium ovalifolium* by HPLC [J]. J Sichuan Agri Univ, 2005, 23(4): 498–500. doi: 10.3969/j.issn.1000-2650.2005.04.026.
陈远平, 杨文钰. 卵叶韭体眠芽中 GA₃、IAA、ABA 和 ZT 的高效液相色谱法测定 [J]. 四川农业大学学报, 2005, 23(4): 498–500. doi: 10.3969/j.issn.1000-2650.2005.04.026.
- [16] ZENG Q Q, CHEN H B, LU C H, et al. An optimized HPLC procedure for analyzing endogenous hormones in different organs of litchi [J]. J Fruit Sci, 2006, 23(1): 145–148. doi: 10.3969/j.issn.1009-9980.2006.01.036.
曾庆钱, 陈厚彬, 鲁才浩, 等. HPLC 测定荔枝不同器官中内源激素流程的优化 [J]. 果树学报, 2006, 23(1): 145–148. doi: 10.3969/j.issn.1009-9980.2006.01.036.
- [17] YE X Y, MA F W, WANG S C, et al. Physiological effects of kiwifruit lamina under high temperature stress [J]. J NW Sic-Tech Univ Agri For (Nat Sci), 2004, 32(12): 33–37. doi: 10.3321/j.issn:1671-9387.2004.12.007.
耶兴元, 马锋旺, 王顺才, 等. 高温胁迫对猕猴桃幼苗叶片某些生理效应的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(12): 33–37. doi: 10.3321/j.issn:1671-9387.2004.12.007.
- [18] LIU D F. Studies on the response of sand pear to high-temperature and heat-tolerance mechanism [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2014: 1–131.
刘冬峰. 砂梨对高温胁迫的响应及耐热机理研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2014: 1–131.

- [19] TOAN C V, LUO C, HE X H, et al. Effect of high temperature stress on physiology indices of mango seedlings [J]. *Chin J Trop Crops*, 2016, 37(1): 53–58. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2016.01.010.
TOAN C V, 罗聪, 何新华, 等. 高温胁迫对芒果幼苗生理生化指标的影响 [J]. *热带作物学报*, 2016, 37(1): 53–58. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2016.01.010.
- [20] YIN X G, LUO Q X, WANG W Q, et al. Studies on methodology for identification of heat tolerance of tomato [J]. *SW China J Agri Sci*, 2001, 14(2): 62–65. doi: 10.3969/j.issn.1001-4829.2001.02.017.
尹贤贵, 罗庆熙, 王文强, 等. 番茄耐热性鉴定方法研究 [J]. *西南农业学报*, 2001, 14(2): 62–65. doi: 10.3969/j.issn.1001-4829.2001.02.017.
- [21] WAN Q. Effect of brassinolide on biochemical substances in strawberry seedlings under high temperature stress [J]. *S China Fruits*, 2016, 45(3): 117–121,125. doi: 10.13938/j.issn.1007-1431.20160024.
万群. 芸薹素内酯对高温胁迫下草莓幼苗生物物质的影响 [J]. *中国南方果树*, 2016, 45(3): 117–121,125. doi: 10.13938/j.issn.1007-1431.20160024.
- [22] SUBBAIAH C C, BUSH D S, SACHS M M. Elevation of cytosolic calcium precedes anoxic gene expression in maize suspension-cultured cells [J]. *Plant Cell*, 1994, 6(12): 1747–1762. doi: 10.1105/tpc.6.12.1747.
- [23] CHEONG J J, YANG D D. Methyl jasmonate as a vital substance in plants [J]. *Trends Genet*, 2003, 19(7): 409–413. doi: 10.1016/S0168-9525(03)00138-0.
- [24] CHEN P Q, YU S L, ZHAN Y N, et al. Effects of jasmonate acid on thermotolerance of grape seedlings [J]. *J Shihezi Univ (Nat Sci)*, 2006, 24(1): 87–91. doi: 10.3969/j.issn.1007-7383.2006.01.022.
陈培琴, 郁松林, 詹妍妮, 等. 茉莉酸对葡萄幼苗耐热性的影响 [J]. *石河子大学学报(自然科学版)*, 2006, 24(1): 87–91. doi: 10.3969/j.issn.1007-7383.2006.01.022.