

低温对枇杷苗叶片与根尖的生理状况及超微结构的影响

杜丽君^{1,2}, 牛先前³, 林晓红¹, 张玉容², 郑国华^{2*}

(1. 漳州城市职业学院, 福建 漳州 363000; 2. 福建农林大学园艺学院, 福州 350002; 3. 福建省热带作物科学研究所, 福建 漳州 363001)

摘要: 为探讨枇杷(*Eriobotrya japonica*)苗对低温伤害的响应, 采用人工降温的方法, 研究了‘解放钟’实生枇杷苗在低温胁迫下叶肉细胞与根细胞超微结构的变化, 同时测定叶片褐变率、根系活力和细胞质膜相对透性(PMP)。结果表明, 轻度低温(0℃)胁迫 12 h, 根系活力下降 26.09%, 叶片褐变率仅升高 17.15%, 根系 PMP 值持续升高而叶片呈下降趋势。电镜下观察, 根细胞和叶肉细胞均有明显线粒体增加现象。0℃胁迫 36 h 根细胞发生胞间结冰, 液泡消失、线粒体膨大变形、双层膜消失、嵴消失、细胞壁结构损伤, 而叶肉细胞仅表现叶绿体破坏、淀粉粒变小, 线粒体完整。重度低温(-3℃、-5℃)胁迫下, 根细胞和叶肉细胞均发生细胞内结冰, 且低温对根细胞的破坏程度明显高于叶肉细胞, 根细胞比叶细胞发生细胞结冰的时间更早, 受害更严重。这表明根细胞比叶肉细胞对低温更敏感, 因此, 在低温来临前对枇杷地下部采取保温措施, 对缓解地上部低温伤害具有积极作用。

关键词: 枇杷; 低温胁迫; 叶肉细胞; 根细胞; 超微结构

doi: 10.11926/jtsb.4001

Influence of Low Temperature on Physiological and Cell Ultrastructure of Leaves and Roots of *Eriobotrya japonica* Seedlings

DU Li-jun^{1,2}, NIU Xian-qian³, LIN Xiao-hong¹, ZHANG Yu-rong², ZHENG Guo-hua^{2*}

(1. Zhangzhou City College, Zhangzhou 363000, Fujian, China; 2. College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, China; 3. Fujian Science Technology of Tropical Crops, Zhangzhou 363001, Fujian, China)

Abstract: In order to understand the response to low temperature of loquat (*Eriobotrya japonica*) seedlings, the changes in cell ultrastructure of leaves and roots of ‘Jiefangzhong’ seedlings were studied under cold stress by artificial cooling, and leaf browning rate, root activity as well as plasma membrane permeabilities (PMPs) were measured. The results showed that the root activity decreased by 26.09%, and the leaf browning rate increased by 17.15% under light cold stress (0℃). The PMP of root increased and the PMP of leaf decreased. The number of mitochondria had significant increment in root and mesophyll cells under electron microscope, indicating that mesophyll cells and root cells resisted low temperature injury by enhancing respiration and energy metabolism. The intercellular freezing in roots was appeared at 0℃ for 36 h, causing vacuoles disappearance, mitochondrial enlargement, double membrane and cristae disappearance, cell wall structure damage, but in mesophyll cells, chloroplast destruction, starch grains became small, and mitochondria intact. Intracellular freezing would be caused in root cells and mesophyll cells at sever low temperature (-3℃, -5℃), and the damage degree in root cell

收稿日期: 2018-10-08 接受日期: 2018-12-07

基金项目: 国家科技支撑计划项目(2014BAD15B00); 福建省中青年教育科研项目(JAT171150); 漳州市自然科学基金计划项目(ZZ2017J42)资助
This work was supported by the the National Science and Technology Support Project (Grant No. 2014BAD15B00), the Project for Education-Science of Middle-aged and Young Teachers in Fujian Province (Grant No. JAT171150); and the Planning Project for Natural Science in Zhangzhou City (Grant No. ZZ2017J42).

作者简介: 杜丽君(1987~), 女, 硕士, 研究方向植物生理生化及次生物质代谢。E-mail: 690768293@qq.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: fafuzgh@126.com

wall under low temperature was more serious than that in mesophyll cell wall. The time of intracellular freezing in root cells was earlier than that in mesophyll cells. These were indicated that the root cell was high sensitive than mesophyll cell to low temperature. Thus, the insulation measure to underground parts of loquat before low temperature had positive roles in mitigating the injury to the aboveground parts.

Key words: *Eriobotrya japonica*; Low temperature stress; Mesophyll cell; Root cell; Ultrastructure

枇杷(*Eriobotrya japonica*)是著名的名优特水果,具有较高的经济价值。然而,枇杷开花座果期一般在11月至次年1月,此时正值一年中气温最低的季节,花果极易受冻。冻害是限制枇杷生产的重要因子。有关枇杷冻害发生机制的研究有较多报道,涉及叶片^[1-6]、幼果^[7-12]和枇杷外生菌(冰核细菌)^[8-10,13]、抗寒基因^[14-15]、转录组^[16]等方面。枇杷冻害机制的理论研究为解决枇杷冻害提供了思路,也为缓解枇杷冻害起到了积极作用,但低温仍然是限制枇杷生产的主要因子。前人的研究表明,枇杷叶片和幼果在耐寒生理方面具有密切相关性^[17],作为植物生产力和养分利用率的重要驱动者——地下部,直接参与养分活化、转化、吸收和运输等过程,通过紧密而复杂的物质和信息交换,实现各要素间的相互作用^[18]。地上部与地下部在资源获取和利用方面又具有相对独立性^[18]。已有研究表明,地下部的低温条件会造成地上部的低温伤害并影响其低温伤害程度^[19-20]。植物地下部能显著影响地上部的抗逆性,这在黄瓜(*Cucumis sativus*)^[21]、茄子(*Solanum melongena*)^[22]嫁接苗的抗冷性以及葡萄(*Vitis vinifera*)^[23]嫁接苗的抗旱性上均获得了证实。因此,研究枇杷地下部与地上部低温胁迫下的生理变化,认识枇杷地上与地下在耐寒生理方面的相关性,对解决枇杷冻害问题具有重要意义。本文以较不耐寒品种‘解放钟’枇杷苗为材料,人工模拟自然低温条件,在透射电镜下观察低温下根尖和叶片细胞超微结构的变化,并结合低温胁迫下的相关生理变化,探讨枇杷地上部与地下部的抗寒生理相关性,以为枇杷冻害问题提供解决思路。

1 材料和方法

1.1 材料

试验于2011年10月至2014年1月在福建农林大学园艺场进行。供试枇杷(*Eriobotrya japonica*)品种为‘解放钟’实生苗,选择长势健壮、无病虫害且整齐度高的1龄枇杷苗,移入培养钵(直径20 cm)

进行单株培养,培养基质为果园土:复合肥=20:1,统一管理。生长1年半后,选择株高30~35 cm,生长健壮、无病虫害的枇杷苗285株为低温处理试验材料。

1.2 低温处理

参考谢钟琛等^[24]的试验设计,设置3个处理温度:0℃、-3℃和-5℃。枇杷苗在10℃低温锻炼2 d后,采用梯度降温法,将植株放入改装的可控温冰柜(上海精创ETC-100通用型温控仪控温),以10℃ h⁻¹降温到4℃维持10 h,再以2℃ h⁻¹降温到设置温度。在0℃、-3℃、-5℃分别胁迫0(对照)、12、24、36、48、60和72 h后,将植株在10℃恢复生长2 d后统计枇杷苗受害情况,叶片以褐变面积大于总面积1/2判定为受冻害褐变^[13]。所有处理均在室内进行,每处理5株,重复3次。叶片褐变率=植株褐变叶片总数/植株叶片总数×100%。

1.3 电镜观察

取从顶叶算起第4片功能叶,取完为止,用蒸馏水洗净,吸干,然后用锋利刀片沿主脉中部两侧取0.5 mm×1 mm的组织块,每片叶在相同部位切取4片,重复5次。

割开营养钵后用自来水浸泡,待土松软后获得完整根系,用自来水洗净根系,再用蒸馏水清洗,吸水纸吸干,然后用锋利刀片从根尖向内1 cm处取0.5 mm×1 mm的组织块4片,重复5次。

参照郑国华等^[7]的方法制备超薄切片。将切取好的组织块迅速投入用含2%焦锑酸钾的磷酸缓冲液(pH 7.6)配制的3%戊二醛固定液中,脱气后于4℃固定1 d以上;用2%焦锑酸钾-0.1 mol L⁻¹磷酸氢二钾(pH 7.6)洗涤4次,每次30 min,4℃过夜;将材料转移至用含2%焦锑酸钾的磷酸缓冲液(pH 7.6)配制的1%锇酸中,4℃冰箱内固定4 h;然后重蒸水洗涤4次,每次30 min,冷乙醇梯度脱水,丙酮过渡,环氧树脂618包埋,LKB-5型超薄切片机切片(厚度50 nm),经醋酸双氧铀染色后,在JEM1010型透射电

镜(日本电子株式会社, 日本)下观察照相。

1.4 生理指标的测定

根系活力测定参考张志良等^[25]的方法; 细胞质膜相对透性(PMP)的测定参考李合生^[26]的方法。

1.5 数据处理

采用 DPS 软件的新复极差法对数据进行统计分析, 用 SigmaPlot 作图。

2 结果和分析

2.1 叶肉细胞超微结构的变化

透射电镜下, 正常枇杷叶肉细胞的细胞壁结构紧密, 细胞膜完整, 液泡很大占据中央; 叶绿体呈椭圆形或近圆形, 双层膜完整, 且沿细胞膜排列, 切面上可见叶绿体内嵌 3~5 个明亮的淀粉粒(图 1: A); 淀粉粒周围分布垛叠规则的类囊体片层, 并和基质片层连成整体(图 1: B); 线粒体分布在叶绿体周围, 呈圆形或椭圆形, 双层膜结构完整, 嵴清晰且数量较多(图 1: C)。

0℃胁迫 12 h 叶肉细胞的细胞壁未有明显变化(图 1: D), 叶绿体淀粉粒清晰, 基粒片层排列有序, 但片层之间出现明显间隙(图 1: D, E); 线粒体数量增加 2~3 倍且嵴更清晰(图 1: E)。胁迫 24 h 的叶绿体双层膜结构破坏, 淀粉粒清晰, 基粒片层垛叠程度降低; 线粒体结构保持完整且嵴数量明显增加(图 1: F)。胁迫 36 h 的叶绿体双层膜结构消失, 淀粉粒变小, 基粒片层结构解体明显(图 1: G); 线粒体膜及嵴模糊不清, 细胞内含物明显增多, 细胞壁变化不明显(图 1: G)。胁迫 48 h 的叶绿体边缘解体, 淀粉粒开始消失(图 1: H), 线粒体变形, 双层膜破裂, 嵴消失(图 1: I)。胁迫 60 h 细胞解体严重, 细胞内散布小泡、片层、絮状物, 细胞器只有线粒体依稀可辨(图 1: J)。

-3℃胁迫 12 h 的叶绿体发生膨胀、扭曲, 双层膜断裂, 基粒片层松散但排列依然整齐(图 1: K); 线粒体数量增多但嵴数量减少, 并少数出现空胞化(图 1: K)。胁迫 24 h 细胞壁完好, 液泡完全破裂, 叶绿体胀裂, 双层膜消失, 基粒片层松散并出现解体, 淀粉粒清晰(图 1: L); 细胞内出现大量絮状物, 线粒体明显空胞化但尚可辨认(图 1: M)。胁迫 36 h 后各细胞器解体严重, 形态紊乱, 细胞中零星分布残

存的小泡、颗粒和叶绿体片层(图 1: N)。胁迫 60 h 细胞器完全解体难以辨别(图 1: O)。

-5℃胁迫 12 h 的叶绿体膨涨变形, 淀粉粒清晰, 叶绿体被膜消失(图 1: P); 片层结构松散断裂(图 1: Q), 线粒体数量增加 2~3 倍, 嵴消失, 内部出现解体和空胞化, 细胞壁结构破坏明显(图 1: Q)。24 h 后原生质体缩成一团, 细胞器解体严重难以辨别(图 1: R)。

2.2 根细胞超微结构的变化

透射电镜下观察, 常温下枇杷根细胞有明显的质壁分离, 中央液泡很大并将其他细胞器挤到边缘, 细胞中无叶绿体(图 2: A), 液泡膜结构清晰可见, 线粒体呈圆形或椭圆形, 双层膜结构明显, 嵴清晰(图 2: B)。

0℃胁迫 12 h, 根细胞液泡膜破裂, 泡内基质外流; 线粒体数量增多 2~3 倍(图 2: C), 双层膜结构完整、嵴清晰, 细胞壁有破坏现象(图 2: C)。胁迫 24 h, 细胞壁结构变得松散, 内侧出现絮状物(图 2: D); 线粒体变形, 双层膜模糊, 但嵴依然清晰(图 2: E)。胁迫 36 h, 细胞壁破坏加剧, 线粒体膜破裂, 嵴消失, 空胞化严重(图 2: F)。胁迫 48 h 时, 细胞壁结构出现明显间隙(图 2: G), 线粒体少量依稀可辨, 大部分被膜破裂或消失, 嵴严重解体(图 2: H)。胁迫 60 h 时, 细胞壁破坏严重, 线粒体解体为絮状物难以辨别(图 2: I)。

-3℃胁迫 12 h, 细胞膜结构破坏明显, 液泡消失, 原生质体缩成一团聚在中间(图 2: J), 细胞壁边缘解体出现絮状物(图 2: K), 线粒体数量增多 2~3 倍, 形态完整但嵴的数目明显减少且部分出现空胞化(图 2: L)。胁迫 24 h 时细胞壁胞内一侧解体加剧(图 2: M), 线粒体依稀可辨, 嵴严重解体或消失(图 2: N)。胁迫 36 h 后, 细胞严重破坏, 细胞器完全解体, 无法辨认(图 2: O)。

-5℃胁迫 12 h, 细胞器聚成一团, 线粒体外膜破裂、内嵴解体, 较难识别(图 2: P)。胁迫 24 h 时, 细胞壁破坏严重, 细胞器解体, 残体散落在细胞各处(图 2: Q)。胁迫 36 h 后, 细胞器完全解体, 细胞内充满絮状物(图 2: R)。

2.3 叶片受害情况

低温胁迫下, 最先出现低温伤害症状的是幼叶(约占 20%)、其次为成熟功能叶(约占 60%)、最不

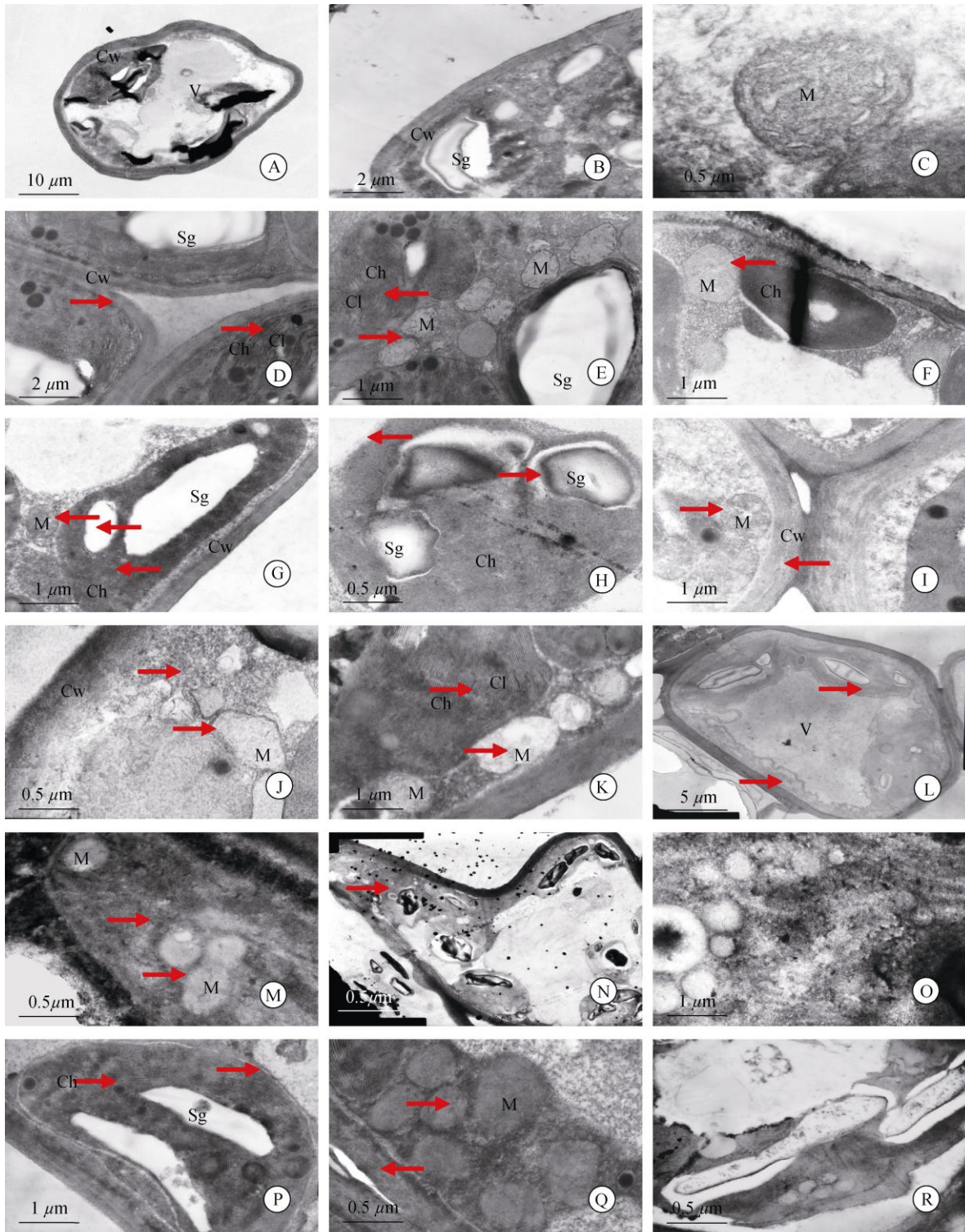


图 1 低温胁迫下叶肉细胞的结构变化(箭头)。A~C: 正常细胞; D, E: 0°C 胁迫 12 h; F: 0°C 胁迫 24 h; G: 0°C 胁迫 36 h; H, I: 0°C 胁迫 48 h; J: 0°C 胁迫 60 h; K: -3°C 胁迫 12 h; L, M: -3°C 胁迫 24 h; N: -3°C 胁迫 36 h; O: -3°C 胁迫 60 h; P, Q: -5°C 胁迫 12 h; R: -5°C 胁迫 24 h。V: 液泡; Ch: 叶绿体; Cl: 叶绿体片层; Cw: 细胞壁; M: 线粒体; Sg: 淀粉粒。下同。

Fig. 1 Changes in structure of mesophyll cell under low temperature stress (arrows). A~C: Normal mesophyll cell; D, E: Under 0°C for 12 h; F: Under 0°C for 24 h; G: Under 0°C for 36 h; H, I: Under 0°C for 48 h; J: Under 0°C for 60 h; K: Under -3°C for 12 h; L, M: Under -3°C for 24 h; N: Under -3°C for 36 h; O: Under -3°C for 60 h; P, Q: Under -5°C for 12 h; R: Under -5°C for 24 h. V: Vacuole; Ch: Chloroplast; Cl: Chloroplast lamellae; Cw: Cell wall; M: Mitochondria; Sg: Starch grain. The same is following Figure.

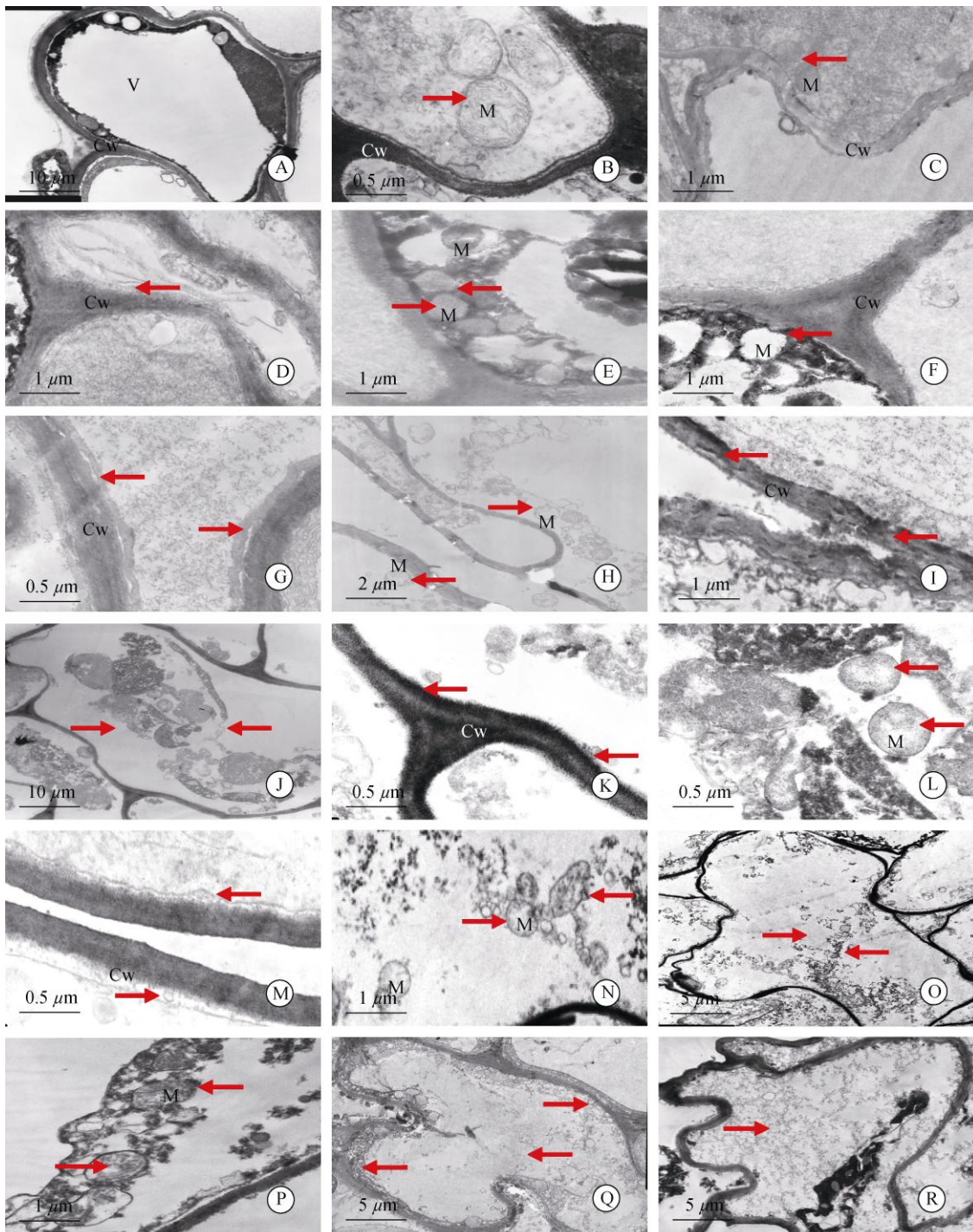


图 2 低温胁迫过程中根细胞结构的变化(箭头)。A, B: 正细胞; C: 0°C 胁迫 12 h; D, E: 0°C 胁迫 24 h; F: 0°C 胁迫 36 h; G, H: 0°C 胁迫 48 h; I: 0°C 胁迫 60 h; J~L: -3°C 胁迫 12 h; M, N: -3°C 胁迫 24 h; O: -3°C 胁迫 36 h; P: -5°C 胁迫 12 h; Q: -5°C 胁迫 24 h; R: -5°C 胁迫 36 h。

Fig. 2 Changes in structure of root cells under low temperature stress (arrows). A, B: Normal cel; C: Under 0°C for 12 h; D, E: Under 0°C for 24 h; F: Under 0°C for 36 h; G, H: Under 0°C for 48 h; I: Under 0°C for 60 h; J~L: Under -3°C for 12 h; M, N: Under -3°C for 24 h; O: Under -3°C for 36 h; P: Under -5°C for 12 h; Q: Under -5°C for 24 h; R: Under -5°C for 36 h.

敏感的是老叶(约占 20%)。由图 3 可见, 0°C 胁迫 12~36 h, 叶片褐变率仅增加 5.02%, 受冻叶片基本为幼叶, 而在低温持续 48 h 后, 成熟叶片出现伤害

症状, 胁迫 60 h 后 51.37% 的叶片呈现低温受害症状。而 -3°C 胁迫 12 h 的伤害症状与 0°C 胁迫 60~72 h 的相当。枇杷苗在 -5°C 胁迫 12 h 后表现出完全

冻害症状。这说明叶片褐变率与胁迫温度呈反比, 与胁迫时间呈正比, 且-3℃胁迫 36 h 和-5℃胁迫 12 h 即表现完全冻害症状。

2.4 低温对根系活力的影响

由图 3 可见, 在 0℃、-3℃、-5℃下, 枇杷苗的根系活力随胁迫时间的延长整体呈下降趋势, 且温度愈低, 根系活力下降幅度愈大。0℃胁迫 12 h 的根系活力显著下降 26.09% ($P<0.05$), 之后根系活力缓慢下降但未达到显著水平, 说明随 0℃胁迫时间的延长, 根系受害程度增加。-3℃胁迫 0~12、12~24 h 的根系活力分别下降 32.74%和 26.01%, 均达极显著差异, 胁迫 24 h 后变化平缓, 说明-3℃胁迫

根系即持续受害。-5℃胁迫 12 h 的根系活力极显著下降 42.13% ($P<0.01$), 之后则下降平缓, 说明-5℃胁迫使根系受害严重。

2.5 细胞质膜相对透性(PMP)的变化

由图 4: A 可见, 在 0℃、-3℃和-5℃胁迫下, 叶片的 PMP 随胁迫时间的延长呈持续上升趋势, 且温度越低上升幅度越高。0℃胁迫 12 h, PMP 显著上升 37.47% ($P<0.05$), 胁迫 48 h 的 PMP 仅上升 23.6%, 与胁迫 12 h 的差异不显著。-3℃胁迫下, PMP 随胁迫时间的延长持续上升, 不同时间均达到差异显著水平。-5℃胁迫 12 h 的 PMP 极显著上升 51.19% ($P<0.01$), 之后仍缓慢上升, 说明低温胁迫对叶片造成受害。

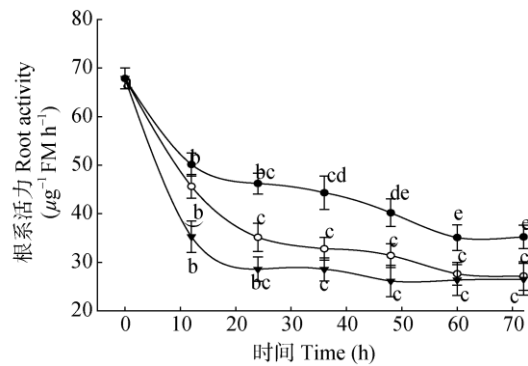
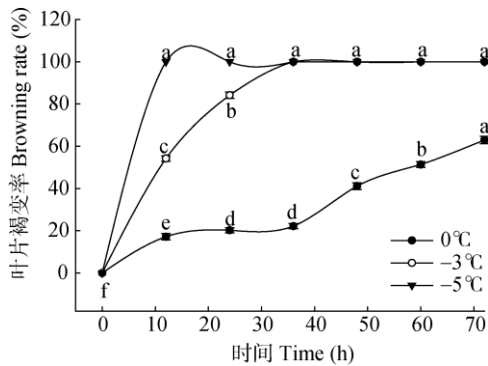


图 3 低温胁迫下枇杷苗叶片褐变率和根系活力的变化。不同英文字母表示差异显著($P<0.05$)。下同。

Fig. 3 Changes in leaf browning rate and root vigor of loquat seedlings under low temperature stress. Different letters indicate significant difference at 0.05 level. The same is following figure.

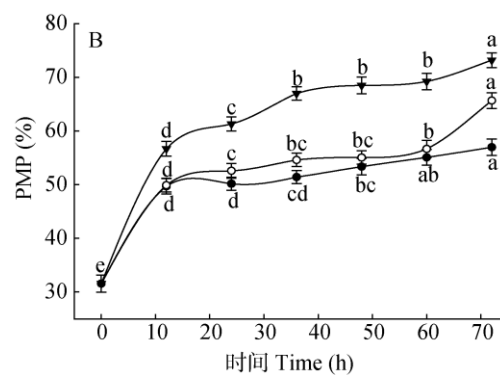
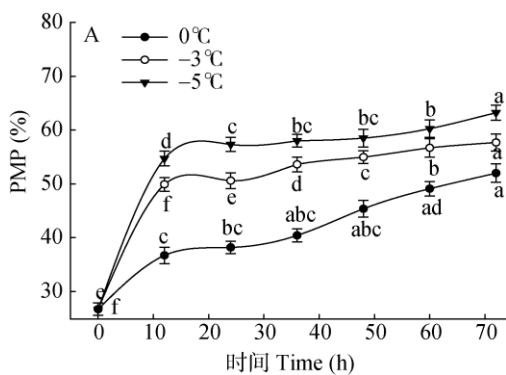


图 4 低温胁迫对枇杷苗叶(A)、根(B)的 PMP 变化

Fig. 4 Changes in leaf (A) and root (B) PMP of *Eriobotrya japonica* under low temperature stress

由图 4: B 可见, 在 0℃、-3℃、-5℃胁迫下, 根系的 PMP 随胁迫时间的延长均呈上升趋势, 且胁迫温度愈低, PMP 上升愈高。0℃胁迫 12 h 的 PMP 极显著上升 36.49% ($P<0.01$), 之后缓慢上升。-3℃胁迫

12、72 h PMP 分别比胁迫 0、60 h 显著上升了 36.74% 和 13.72% ($P<0.05$)。-5℃胁迫 12、24 和 36 h 的 PMP 分别比胁迫 0、12、24 h 显著上升 44.32%、7.53% 和 8.46% ($P<0.05$)。

3 讨论

许多研究表明,低温胁迫下植物细胞会出现质壁分离现象^[6],因质壁分离可以引起液泡脱水,从而使液泡缩小以增加原生质浓度来减轻低温伤害^[27]。质壁分离程度越高,对细胞结构的破坏程度越大,表明细胞抗低温能力越弱^[28]。本研究中枇杷植株在 10℃低温锻炼 2 d 后,根细胞出现质壁分离和液泡缩小现象,而叶肉细胞结构略有变化但未出现质壁分离现象,说明根细胞的抗低温能力弱于叶肉细胞。

低温胁迫下细胞可以通过消耗呼吸底物,增强呼吸作用,提高能量代谢来抵抗低温伤害。电镜下观察表明,低温胁迫后线粒体和嵴数量增多^[8]。本研究中,轻度低温(0℃)胁迫下根细胞和叶肉细胞的线粒体和嵴数量均明显增多,这与前人的研究结果一致。随胁迫时间的延长,根细胞和叶肉细胞对低温表现出明显差异,根细胞线粒体双层膜破裂、嵴消失的现象比叶肉细胞早发生 12 h,这可能是叶肉细胞中的淀粉粒为逆境呼吸提供了更多的呼吸底物。淀粉是葡萄糖分子聚合而成的长链化合物,逆境下淀粉粒可以重新分解为葡萄糖,作为呼吸底物,参加三羧酸循环。而根细胞比叶肉细胞缺少了淀粉粒,这可能是导致地下部抗寒性低于地上部的一个重要因素。

膜体系的损伤是造成植物受害的根本机制^[29-30]。细胞发生冰冻伤害会产生冰晶,造成细胞脱水^[8],脱水时的收缩直接造成了质膜的破坏,表现为液泡破裂、原生质体浓缩、叶绿体膨大、线粒体肿胀,类囊体排列不规则,线粒体膜和嵴消失、细胞内出现空泡化等现象^[31]。本研究在-3℃和-5℃胁迫下,根细胞和叶肉细胞内均结冰,导致一系列受害现象,叶绿体解体和线粒体的内嵴破坏,都是不可逆的,并最终导致植株死亡^[32]。

本研究在透射电镜下观察表明,低温不仅会损伤膜系统,还会对细胞壁造成破坏。细胞壁主要由纤维素、半纤维素和果胶质构成,结构高度复杂^[33],细胞壁表面糖蛋白脱落到细胞间隙中或凝集成块进入细胞内部都是导致个体间抗寒性差异的原因^[31]。因细胞壁本身没有生命迹象,所以不会因低温而产生直接破坏。而细胞结冰就会对细胞壁造成机械伤害^[8]。轻度低温胁迫 36 h,叶肉细胞壁无明显受害症状,而根细胞壁明显破坏,且先发生在细胞壁内

侧。从细胞壁的破坏程度和发生位置可以推测,轻度低温胁迫引起了根细胞胞间结冰。胞间因吸水导致体积膨胀,细胞内因缺水导致收缩,是细胞壁外侧光滑而内侧首先损伤的根本原因^[8]。

叶片褐变率、根系活力和 PMP 指标可以直接反映叶片和根的冻害程度。轻度低温胁迫 12 h 后,根系活力下降 26.09%,而叶片褐变率仅升高 17.15%,胁迫 12~48 h 根系 PMP 值持续升高而叶片 PMP 值升高不显著,表明 0℃下枇杷苗根部表现持续受害,而叶片则表现出较强的适应性,受害症状不明显。这说明地下部较地上部对低温更敏感。

综上所述,枇杷苗叶肉细胞比根细胞对低温具有更强的适应性,一方面是因为不同器官在不同环境下长期的适应性,可能导致地下部根细胞的适应性弱于地上部叶肉细胞;另一方面是与底物贮藏量有关,低温胁迫下细胞通过增强呼吸作用提高抗逆性,而无论是三羧酸循环还是抗氰呼吸在胁迫环境下都需要消耗大量底物,枇杷苗根细胞底物的储备量相对叶肉细胞的少,因此更容易受低温危害。

枇杷苗根尖比叶对低温更敏感,因此从防御策略上,对枇杷园进行生草栽培,或在极端低温到来之前实施地表覆草、覆盖等保温措施,提高地温,并结合喷洒防霜剂和植物生长调节剂类物质^[10],来提高枇杷耐寒能力,以期达到更好的防寒效果。因本研究仅是对较不耐寒品种,对耐寒品种地下部与地上部低温胁迫下的反应有待进一步研究。

参考文献

- [1] ZHENG G H, ZHANG H Y. Changes in ultrastructure of *Eriobotrya japonica* leaves under different lower temperature stress [J]. Acta Agric Univ Jiangxi, 2008, 30(5): 783-786. doi: 10.3969/j.issn.1000-2286.2008.05.005. 郑国华, 张贺英. 不同低温胁迫下枇杷叶片细胞超微结构的变化 [J]. 江西农业大学学报, 2008, 30(5): 783-786. doi: 10.3969/j.issn.1000-2286.2008.05.005.
- [2] NIU X Q, DU L J, ZHENG G H. Effects of exogenous Ca^{2+} on the intracellular calcium distribution and antioxidant enzymes activities of *Eriobotrya japonica* seedlings and leaves [J]. Fujian J Agric Sci, 2013, 28(8): 770-775. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2013.08.009. 牛先前, 杜丽君, 郑国华. 外源 Ca^{2+} 对枇杷苗叶细胞钙分布及抗氧化系统的影响 [J]. 福建农业学报, 2013, 28(8): 770-775. doi: 10.19303/j.issn.1008-0384.2013.08.009.
- [3] ZHENG G H, PAN D M, NIU X Q, et al. Changes in cell Ca^{2+} distribution in loquat leaves and its effects on cold tolerance [J]. Kor J

- Hort Sci Technol, 2014, 32(5): 607–613. doi: 10.7235/hort.2014.13009.
- [4] CHEN Y Q, YE B Y, GAO Y P, et al. Changes of the level of Ca^{2+} in cells of loquat leaflets under low temperature stress [J]. J Wuhan Bot Res, 2000, 18(2): 138–142. doi: 10.3969/j.issn.2095-0837.2000.02.011. 陈由强, 叶冰莹, 高一平, 等. 低温胁迫下枇杷幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构变化的研究 [J]. 武汉植物学研究, 2000, 18(2): 138–142. doi: 10.3969/j.issn.2095-0837.2000.02.011.
- [5] WU J C, CHEN Y, WU B S, et al. Effects of calcium on Ca^{2+} -ATPase activity and lipid peroxidation level of loquat seedling under low temperature stress [J]. J NW Agric For Univ (Nat Sci), 2016, 44(2): 121–128. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2016.02.017. 吴锦程, 陈宇, 吴毕莎, 等. 钙处理对低温胁迫下枇杷幼苗 Ca^{2+} -ATPase 活性和膜脂过氧化水平的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(2): 121–128. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2016.02.017.
- [6] ZHENG G H, ZHANG H Y, ZHONG X R. Changes in cell ultrastructure, membrane permeability and protective enzyme activity in *Eriobotrya japonica* Lindl. leaves under cold stress [J]. Chin J Eco-Agric, 2009, 17(4): 739–745. doi: 10.3724/SP.J.1011.2009.00739. 郑国华, 张贺英, 钟秀容. 低温胁迫下枇杷叶片细胞超微结构及膜透性和保护酶活性的变化 [J]. 中国生态农业学报, 2009, 17(4): 739–745. doi: 10.3724/SP.J.1011.2009.00739.
- [7] ZHENG G H, ZHANG H Y. Ultrastructural changes of Jiefangzhong loquat young fruits under low temperature stress [J]. J Putian Univ, 2008, 15(2): 52–55. doi: 10.3969/j.issn.1672-4143.2008.02.013. 郑国华, 张贺英. 低温胁迫下解放钟枇杷幼果细胞超微结构的变化 [J]. 莆田学院学报, 2008, 15(2): 52–55. doi: 10.3969/j.issn.1672-4143.2008.02.013.
- [8] NIU X Q, ZHENG G H, LIN X X, et al. Effect of INA bacteria on pulp cell ultrastructure of young loquat fruit [J]. Chin J Eco-Agric, 2010, 19(2): 388–393. doi: 10.3724/SP.J.1011.2011.00388. 牛先前, 郑国华, 林秀香, 等. 冰核细菌对低温胁迫下枇杷幼果中果肉超微结构的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2011, 19(2): 388–393. doi: 10.3724/SP.J.1011.2011.00388.
- [9] WANG H, PENG J P, FANG S M, et al. Relationship between ice nucleation bacteria in loquat and frost [J]. Plant Prot, 2008, 34(2): 43–46. doi: 10.3969/j.issn.0529-1542.2008.02.011. 王慧, 彭建平, 方树民, 等. 枇杷幼果中定殖的冰核细菌与冻害关系 [J]. 植物保护, 2008, 34(2): 43–46. doi: 10.3969/j.issn.0529-1542.2008.02.011.
- [10] ZHENG G H, NIU X Q, FANG S M. Influence of INA bacteria on the content of endogenous hormones in loquat fruit [J]. Chin J Trop Crops, 2009, 30(3): 259–263. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2009.03.003. 郑国华, 牛先前, 方树民. 冰核细菌对枇杷幼果中内源激素的影响 [J]. 热带作物学报, 2009, 30(3): 259–263. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2009.03.003.
- [11] YANG W, GONG R G, LIAO M A, et al. Effects of low temperature stress on antioxidant enzyme system and microstructure of young loquat fruit [J]. J NW Agric For Univ (Nat Sci), 2016, 44(4): 195–202. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2016.04.026. 杨伟, 龚荣高, 廖明安, 等. 低温胁迫对枇杷幼果抗氧化酶系统和组织结构的影响 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2016, 44(4): 195–202. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2016.04.026.
- [12] ZHENG G H, ZHANG H Y. Effects of chilling stress on cell ultrastructure and membrane permeability and protective enzyme activity in young loquat fruits [J]. Chin J Trop Crops, 2009, 29(6): 730–737. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2008.06.011. 郑国华, 张贺英. 低温胁迫对枇杷幼果细胞超微结构及膜透性和保护酶活性的影响 [J]. 热带作物学报, 2009, 29(6): 730–737. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2008.06.011.
- [13] ZHENG G H, PAN D M, NIU X Q, et al. Effect of low temperature stress and INA bacteria on parameters of photosynthesis and chlorophyll fluorescence in loquat leaf [J]. Chin J Eco-Agric, 2010, 18(6): 1251–1255. doi: 10.3724/SP.J.1011.2010.01251. 郑国华, 潘东明, 牛先前, 等. 冰核细菌对低温胁迫下枇杷光合参数和叶绿素荧光参数的影响 [J]. 中国生态农业学报, 2010, 18(6): 1251–1255. doi: 10.3724/SP.J.1011.2010.01251.
- [14] WU H B, ZHENG G H, NIU X Q, et al. Isolation of the cold stress genes in loquat fruit by DDRT-PCR technique [J]. Chin J Trop Crops, 2010, 31(3): 416–421. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2010.03.015. 吴海波, 郑国华, 牛先前, 等. DDRT-PCR 技术分离枇杷幼果低温诱导相关基因 [J]. 热带作物学报, 2010, 31(3): 416–421. doi: 10.3969/j.issn.1000-2561.2010.03.015.
- [15] XU H X, CHEN J W, YANG Y, et al. Isolation and expression analysis of *DHN* gene in loquat fruit under cold stress [J]. Acta Hort Sin, 2011, 38(6): 1071–1080. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2011.06.011. 徐红霞, 陈俊伟, 杨勇, 等. 枇杷果实 *DHN* 基因克隆及其在低温胁迫下的表达分析 [J]. 园艺学报, 2011, 38(6): 1071–1080. doi: 10.16420/j.issn.0513-353x.2011.06.011.
- [16] YANG W, GONG R G, SHI J J, et al. *De novo* assembly and functional annotation of the loquat young fruit transcriptome under chilling stress [J]. J NW Agric For Univ (Nat Sci), 2014, 42(8): 138–146. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.013. 杨伟, 龚荣高, 石佳佳, 等. 低温胁迫下枇杷幼果转录组的 *de novo* 组装和功能注释 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2014, 42(8): 138–146. doi: 10.13207/j.cnki.jnwafu.2014.08.013.

- [17] ZHENG G H, NIU X Q, ZHANG J B, et al. Differential frost tolerance and enzymatic activities in the leaves and immature fruits of loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) [J]. *Kor J Hort Sci Technol*, 2015, 33(3): 309–316. doi: 10.7235/hort.2015.13062.
- [18] ZHAN S X, ZHENG S X, WANG Y et al. Response and correlation of above- and below-ground functional traits of *Leymus chinensis* to nitrogen and phosphorus additions [J]. *Chin J Plant Ecol*, 2016, 40(1): 36–47. doi: 10.17521/cjpe.2015.0164.
詹书侠, 郑淑霞, 王扬, 等. 羊草的地上-地下功能性状对氮磷施肥梯度的响应及关联 [J]. *植物生态学报*, 2016, 40(1): 36–47. doi: 10.17521/cjpe.2015.0164.
- [19] SUN L L, GENG Q W, XING H, et al. Effect of low temperature treatments in root of grapevine on PSII activity in leaves [J]. *Chin Bull Bot*, 2017, 52(2): 159–166. doi: 10.11983/CBB16030.
孙鲁龙, 耿庆伟, 邢浩, 等. 低温处理葡萄根系对叶片 PSII 活性的影响 [J]. *植物学报*, 2017, 52(2): 159–166. doi: 10.11983/CBB16030.
- [20] SUZUKI K, OHMORI Y, NAGAO M. Accumulation of nitrate and nitrite in chilled leaves of rice seedlings is induced by high root temperature [J]. *Plant Cell Physiol*, 2013, 54(11): 1769–1779. doi: 10.1093/pcp/pct120.
- [21] YU X C, XING Y X, MA H, et al. Effect of different rootstocks and scions on chilling tolerance in grafted cucumber seedlings [J]. *Sci Agric Sin*, 1998, 31(2): 41–47. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.1998.02.008.
于贤昌, 邢禹贤, 马红, 等. 不同砧木与接穗对黄瓜嫁接苗抗冷性的影响 [J]. *中国农业科学*, 1998, 31(2): 41–47. doi: 10.3321/j.issn:0578-1752.1998.02.008.
- [22] ZHANG X Y, XU K. Effect of interaction between rootstock and scion on chilling tolerance of grafted eggplant seedlings under low temperature and light conditions [J]. *Sci Agric Sin*, 2009, 42(10): 3734–3740. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2009.10.0045.
张晓艳, 徐坤. 低温弱光条件下砧穗互作对茄子嫁接苗抗冷性的影响 [J]. *中国农业科学*, 2009, 42(10): 3734–3740. doi: 10.3864/j.issn.0578-1752.2009.10.0045.
- [23] TRAMONTINI S, VITALI M, CENTIONI L, et al. Rootstock control of scion response to water stress in grapevine [J]. *Environ Exp Bot*, 2013, 93: 20–26. doi: 10.1016/j.envexpbot.2013.04.001.
- [24] XIE Z C, LI J. Definition on freezing injury temperature of ‘Zaozhong 6’ loquat young fruits and division of suitable cultivating area [J]. *Fujian Fruits*, 2006(1): 7–11.
谢钟琛, 李健. 早钟 6 号枇杷幼果冻害温度界定及其栽培适宜区划 [J]. *福建果树*, 2006(1): 7–11.
- [25] ZHANG Z L, ZHAI W J. The Experimental Guide for Plant Physiology [M]. 3rd ed. Beijing: Higher Education Press, 2003: 37–38.
张志良, 翟伟菁. 植物生理学实验指导 [M]. 第 3 版. 北京: 高等教育出版社, 2003: 37–38.
- [26] LI H S. Principles and Techniques of Plant Physiological Biochemical [M]. Beijing: Higher Education Press, 2000: 258–263.
李合生. 植物生理生化实验原理和技术 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2000: 258–263.
- [27] HAN S H, WANG S. Origin of vesicular inclusions in the vacuoles of *Ammopiptanthus mongolicus* [J]. *Acta Bot Boreali-Occid Sin*, 2005, 25(6): 1072–1076. doi: 10.3321/j.issn:1000-4025.2005.06.002.
韩善华, 王双. 冬季沙冬青叶肉细胞液泡中泡状内含物的研究 [J]. *西北植物学报*, 2005, 25(6): 1072–1076. doi: 10.3321/j.issn:1000-4025.2005.06.002.
- [28] ZHANG W J, HUANG Z L, ZHANG X Q, et al. Effect of freeze injury on cell structure in tiller node of different types of winter wheat in Yangtze-Huaihe Region [J]. *J Trit Crop*, 2012, 32(5): 918–922. doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2012.05.019.
张文静, 黄正来, 张向前, 等. 江淮地区低温冻害对不同类型小麦幼茎细胞结构的影响 [J]. *麦类作物学报*, 2012, 32(5): 918–922. doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2012.05.019.
- [29] LEVITT J. Responses of Plants to Environmental Stress, Chilling, Freezing and High Temperature Stresses [M]. New York: Academic Press, 1980: 497–512.
- [30] STEPONKUS P L. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation [J]. *Ann Rev Plant Physiol*, 1984, 35(1): 543–584. doi: 10.1146/annurev.pp.35.060184.002551.
- [31] XU W, YANG J, ZHENG M M, et al. Changes of cell structure and the surface glycoproteins in the leaves of wheat under cold stress at tillering stage [J]. *J Trit Crop*, 2014, 34(3): 403–411. doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2014.03.18.
徐雯, 杨景, 郑明明, 等. 低温胁迫下分蘖期小麦叶片细胞结构及表面糖蛋白的变化 [J]. *麦类作物学报*, 2014, 34(3): 403–411. doi: 10.7606/j.issn.1009-1041.2014.03.18.
- [32] HERMAN E M, ROTTER K, PREMAKUMAR R, et al. Additional freeze hardiness in wheat acquired by exposure to -3°C is associated with extensive physiological, morphological, and molecular changes [J]. *J Exp Bot*, 2007, 58(6): 1557–1557. doi: 10.1093/jxb/erm088.
- [33] ZHANG B C, ZHOU Y H. Plant cell wall formation and regulation [J]. *Sci Sin Vit*, 2015, 45(6): 544–556. doi: 10.1360/N052015-00076.
张保才, 周奕华. 植物细胞壁形成机制的新进展 [J]. *中国科学: 生命科学*, 2015, 45(6): 544–556. doi: 10.1360/N052015-00076.