

三明野生蕉抗寒特性的形态学与生理生化研究

李丹¹, 黄玉吉¹, 朱宁¹, 刘范¹, 田娜¹, 徐涵^{1,2}, 程春振^{1*}, 赖钟雄^{1*}

(¹福建农林大学园艺植物生物工程研究所, 福州 350002; ²法国图卢兹综合科学研究所(IRIT-ARI), 法国图卢兹 31300)

摘要:【目的】探究三明野生蕉(*Musa itinerans*)抗寒的形态学和生理生化机制。【方法】以三明野生蕉为材料,以不耐寒‘天宝蕉’(*Musa acuminata* ‘Tianbaojiao’)为对照,采用石蜡切片法对比二者的叶片组织结构和在4℃低温处理24h前后的表型变化。同时,比较低温处理前后叶片叶绿素荧光参数,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性,丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)和可溶性糖(SS)含量的变化差异。【结果】三明野生蕉海绵组织较薄,叶片细胞结构紧密度(CTR)更高。低温处理后,三明野生蕉叶片挺立、无损伤,叶绿素荧光参数均处于较高水平,冷害对其光合系统损伤不明显;低温处理前后,三明野生蕉SOD、POD和PPO活性和Pro含量均显著高于‘天宝蕉’。低温会导致三明野生蕉PPO活性和MDA含量显著降低,而‘天宝蕉’则表现出相反的趋势。室温条件下,三明野生蕉CAT活性与‘天宝蕉’差异不大,低温处理后却显著高于‘天宝蕉’。【结论】三明野生蕉在低温处理前后的表型和叶绿素荧光参数变化不大,推测三明野生蕉抗寒特性与较高的CTR、抗氧化酶活性和Pro含量有关。

关键词: 三明野生蕉;细胞结构紧密度;叶绿素荧光;低温胁迫;抗氧化酶活性

中图分类号:S668.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2019)01-0076-10

A study on the phenotypical, physiological and biochemical characteristics of the cold resistant Sanming wild banana (*Musa itinerans*)

LI Dan¹, HUANG Yuji¹, ZHU Ning¹, LIU Fan¹, TIAN Na¹, XU Han^{1,2}, CHENG Chunzhen^{1*}, LAI Zhongxiong^{1*}

(¹Institute of Horticultural Biotechnology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002, Fujian, China; ²Institut de la Recherche Interdisciplinaire de Toulouse, Toulouse 31300, France)

Abstract:【Objective】Banana plants are generally low in cold resistance, and thus often suffer great yield losses in some cultivation regions in south China, such as Guangdong, Guangxi and Fujian provinces due to the chilling or freezing injuries. Fujian has rich wild banana resources, among which the Sanming wild banana (*Musa itinerans*) has been identified as the most cold-resistant one. The semi-lethal temperature for tissue cultured Sanming wild banana seedlings is $-1.776\text{ }^{\circ}\text{C}$, which is about $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ lower than most of the cultivated bananas. The clarification cold resistance mechanism of Sanming wild banana will undoubtedly provide a solid basis for the improvement of banana cold resistance, which is of great significance for reducing the loss of banana farmers and sustainable development of local banana industry. However, up to now, the mechanism is still unclear. In the present study, experiments were performed to reveal the cold resistance mechanism of Sanming wild banana.【Methods】To explore the phenotypical, physiological and biochemical characteristics that might contribute to the cold resistance of Sanming wild banana, 2-month-old plants were used, and the main banana variety of Fujian province ‘Tianbaojiao’ (*Musa acuminata*), a cold susceptible banana variety, was used as the control.

收稿日期:2018-05-28 接受日期:2018-09-29

基金项目:国家自然科学基金(31601713);国家香蕉产业体系专项资金(CARS-32-11);福建省中青年教育科研项目(JA15189, JAT160166);福建农林大学“校杰出青年科研人才”计划项目(xjq201721)

作者简介:李丹,女,在读硕士研究生,主要从事园艺植物逆境生理与分子生物学研究。Tel:13305929789, E-mail:1003411141@qq.com

*通信作者 Author for correspondence. E-mail:ld0532cheng@126.com, E-mail:Laizx01@163.com

We first compared the leaf tissue structures of Sanming wild banana and ‘Tianbaojiao’ using conventional paraffin sections. Then, they were subjected to low temperature treatment (4 °C, the critical temperature that causes chilling injury on most cultivated bananas). The phenotypic differences between Sanming wild banana and ‘Tianbaojiao’ banana before and after low temperature treatment were measured using the LemnaTec (Germany) plant phenotypic imaging system. Moreover, by using M-series modulated chlorophyll fluorescence imaging system IMAGING-PAM (Germany, Walz), the chlorophyll fluorescence parameters on the second leaf of the seedlings prior to and 24 h after low temperature treatment were measured. The measured indexes included the maximal photochemistry efficiency of PS II (F_v/F_m), non-photochemical and photochemical quenching coefficient (qP and qN), efficient quantum yield [$Y(II)$], yields of non-regulated and regulated energy dissipation of PS II [$Y(NPQ)$ and $Y(NO)$] and electron transport of PS II (ETR). Additionally, cold resistance related physiological and biochemical indexes, such as antioxidant enzyme activities [including superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and polyphenol oxidase (PPO)], and the contents of membrane lipid peroxidation products (malondialdehyde, MDA) and osmotants [proline (Pro) and soluble sugars (SS)] were assayed. **【Results】** Compared with the cold susceptible ‘Tianbaojiao’ banana, the palisade and spongy tissues of Sanming wild banana leaf were thinner and the cell tense ratio (CTR) was higher, while the spongy ratio (SR) was lower. After low temperature treatment, the Sanming wild banana plants were still upright without injury symptoms in their leaves, while leaf wilting and drooping was found in ‘Tianbaojiao’ banana and typical chilling injuries such as leaf softening and leaf margin browning appeared. After low temperature treatment, the F_v/F_m , qP , qN , $Y(II)$, $Y(NPQ)$ and ETR parameters of Sanming wild banana leaf still remained at a relatively high level. Its $Y(NO)$ value was stable, indicating that low temperature did not cause significant damage on its photosynthesis system. The chlorophyll fluorescence parameters of ‘Tianbaojiao’ banana, however, revealed a decreasing trend with reduced photosynthetic capacity after low temperature treatment. The $Y(NPQ)$ and qN values of ‘Tianbaojiao’ banana decreased slightly, and its F_v/F_m , qP , ETR, $Y(II)$ and $Y(NO)$ values were significantly decreased ($p < 0.01$), indicating that low temperature treatment damaged its PS II reaction center, induced the photoinhibitory effect, significantly decreased the chloroplast dissipated energy, and affected the carbon assimilation of photosynthesis. Before and after low-temperature treatment, the activities of SOD, POD and PPO, and the content of Pro in Sanming wild banana were all significantly higher than in ‘Tianbaojiao’ banana, suggesting that these physiological and biochemical indexes might contribute to the cold resistance of Sanming wild banana. Low temperature significantly reduced the PPO activity and MDA contents in Sanming wild banana, while those in ‘Tianbaojiao’ banana showed opposite change patterns. Before low temperature treatment, no significant difference in CAT activity was found between the two banana species. However, after low temperature treatment, the CAT activity in Sanming wild banana became significantly higher than in ‘Tianbaojiao’ banana. **【Conclusion】** The results suggest that the Sanming wild banana is adaptable to temperature due to its complex genetic background, and its ROS scavenging capacity is strong enough to eliminate excessive accumulation of free radicals, and thus reduce the cell membrane leakage. It is deduced that the cold-resistance characteristics of Sanming wild banana is, at least partially, dependent on its higher CTR, antioxidant capacity and proline content. **Key words:** Sanming wild banana (*Musa itinerans*); Cell tense ratio; Chlorophyll fluorescence; Cold stress; Antioxidant enzyme activity

香蕉为芭蕉科芭蕉属(*Musa*)植物,原产于亚洲东南部热带地区,对温度要求较高,属冷敏感植物^[1]。我国是世界第二大香蕉生产国,主产区均位于低温寒流频发的非最适种植省份^[2]。冬春寒潮侵袭、气温骤降使得寒害成为制约我国香蕉产业健康发展的主要障碍之一。寒潮常导致我国南方亚热带香蕉种植区叶果受冻减产、果指品质下降或整株死亡,严重影响当年和翌年的收成及市场供给,蕉农经济损失惨重^[1]。资料显示,2015年,我国香蕉种植面积达41.16万hm²,年产超过1200万t^[3];2016年的种植面积为38万hm²,受极端寒潮影响,年产量锐减为893万t^[4]。因此,开展香蕉抗寒性相关研究,选育性状优良的香蕉抗寒品种迫在眉睫。

芭蕉属植物最适生长温度为24~30℃,通常认为4℃为芭蕉属植物受低温危害的临界温度,当温度下降到1~2℃时,叶片受害萎蔫严重,0℃即为普通芭蕉属植物的致死温度^[5-8]。香蕉寒害可分为冷害和冻害,经0℃以上低温冷害时,叶片最先受到伤害转黄呈现出水渍状受害斑点,逐渐黑褐色软化干枯^[9],细胞膜结构稳定性被打破,部分酶游离失活,活性氧代谢失衡,严重时造成膜脂过氧化,渗透调节物质含量发生变化,细胞内生理生化过程发生异常;经0℃以下持续低温受害为冻害,形成胞内和胞间结冰,导致植物细胞质膜及细胞器受害、原生质脱水及形成冰晶造成机械损伤,叶柄及假茎表现出浓黄褐色水渍后腐烂,继而整株死亡^[10]。

野生蕉的环境适应性及抗逆能力优于栽培蕉^[11-12],在植株的叶片形态结构和生理生化水平上与栽培蕉具有明显差异。在细胞形态学水平上,有研究指出福建传统主栽品种‘天宝蕉’的叶片较厚,上表皮细胞与抗寒能力强的柴蕉相比较为短小,气孔密度较小,表现更不耐寒^[13-14]。表明植物叶片组织结构紧密度(CTR)和疏松度(SR)与植物的耐寒性存在密切关系,可作为植物耐寒性的鉴定指标。

低温胁迫引起膜脂相变,叶绿体超微结构和光合机构损伤,光合受抑制^[15]。植物对逆境胁迫的生理响应中,光合作用最为敏感,光合作用与叶绿体类囊体膜上的光系统II(PS II)密切相关^[16]。叶绿素荧光由PS II反应中心产生,低温胁迫对PS II造成的损伤可以快速通过叶绿素荧光参数的变化来研究获知^[17]。叶绿素荧光技术的作用机制是以植物活体的叶绿素作为天然探针,探测逆境对植物光合生理影

响。另外,Ehlert等^[18]指出叶绿素荧光成像比电导率更能准确快速地反映叶片的损伤程度,分辨冻害叶面积,可用于大规模筛选植物的耐冻性。因此,叶绿素荧光参数和一些抗寒相关生理生化指标(包括细胞膜保护酶、渗透调节物质和生物膜系统等)被广泛应用于植物抗寒性研究。

福建野生蕉资源丰富,三明野生蕉(*Musa itinerans*)是目前发现的最抗寒的香蕉种质之一,其半致死温度为-1.776℃,组培苗在0℃条件下处理48h仍不会出现受冻表型^[11],甚至能够耐受-5℃以下的低温^[19]。目前,其抗寒机制尚未明确。为揭示其抗寒生理生化机制,笔者以三明野生蕉为材料,以冷敏感栽培蕉种质‘天宝蕉’(*Musa acuminata* ‘Tianbaojiao’)为对照,研究它们的叶片组织结构差异,比较分析它们在4℃低温处理前后植株表型、叶绿素荧光参数和抗寒相关生理生化指标的差异。本研究可在形态学和生理生化水平上较为系统地揭示三明野生蕉的抗寒特性,为三明野生蕉在抗寒香蕉种质创制中的应用提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

试验所用三明野生蕉和‘天宝蕉’材料均由福建农林大学园艺植物生物工程研究所提供。采用经同期增殖、生根、炼苗后长势相对一致的三明野生蕉和‘天宝蕉’幼苗移栽入营养土钵(110mm×130mm)中,置于人工气候室中培养,取2月龄、5叶1心的蕉苗作为材料用于后续研究。

1.2 叶片形态学制片观察

取三明野生蕉和‘天宝蕉’成熟功能叶各3枚,每叶在中段近中脉两侧取5~7mm²的正方形小块若干,浸没于福尔马林-乙酸-乙醇(FAA)固定液中立即抽真空2~3次(每次h)至沉底,室温固定过夜处理。经酒精与叔丁醇梯度脱水透明,60℃浸蜡逐级替换为纯石蜡,纸盒包埋固定,修片后用滑走切片机(Leica RM2255)切出厚度约12μm的横切面制片,TO型生物制片透明剂和乙醇逐级脱蜡,甲苯胺蓝染色,使用Olympus光学显微镜40×镜检叶片组织结构并拍照,各组样品分别统计30个视野,测微尺测量数据并记录分析。叶片组织细胞结构紧密度(CTR)和细胞结构疏松度(SR)按下列公式计算得出。

$CTR/\% = \text{栅栏组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100$;

$SR/\% = \text{海绵组织厚度} / \text{叶片厚度} \times 100$ 。

1.3 低温处理

选取长势均匀的三明野生蕉和‘天宝蕉’各6株,分成2组,每组3株。一组在光照培养箱(GXZ-280C,中国宁波)中4℃处理,另一组25℃处理。处理时间为24 h,光照度为:(1500±200)lx,光周期为:12 h/12 h。

1.4 相关指标的测定

1.4.1 表型观测 处理24 h后,将材料从光照培养箱中取出,在LemnaTec(Germany)植物表型成像系统下观察植株表型。

1.4.2 叶绿素荧光参数测定 使用M系列调制叶绿素荧光成像仪IMAGING-PAM(Germany, Walz),测定25℃条件下和4℃低温处理后幼苗第二叶的叶绿素荧光参数,包括PS II最大光合效率(F_v/F_m)、PS II光化学和非光化学猝灭系数(qP 与 qN)、实际光合效率[Y(II)]、PS II调节性和非调节性能量耗散的量子产额[Y(NPQ)与Y(NO)]和表观电子传递速率(ETR)等指标。测定前对各处理的叶片暗适应遮光20 min,以确保PS II反应中心完全开放,根据仪器说明书设定工作参数进行操作,各组处理设置3次重复,每样品测定5个区域。检测光合有效辐射

(PAR)为22 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 的光响应曲线,每20 s打开一次饱和脉冲,系统运行结束后自动给出参数值,PS II最大光合效率通过公式 $F_v/F_m = (F_m - F_0) / F_m$ 计算获得。

1.4.3 抗寒生理指标测定 取功能叶测定超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)活性,丙二醛(MDA)、脯氨酸(Pro)和可溶性糖(SS)含量等相关生理生化指标,3次重复。测定均采用苏州科铭生物技术有限公司的试剂盒,使用紫外可见分光光度计测定相关波长下的吸光值(谱析T6新世纪,中国北京),按照相关说明书进行操作和计算。

1.5 数据统计分析

试验所得数据用Microsoft Excel 2016录入,采用SPSS 17.0软件检验差异显著性。

2 结果与分析

2.1 低温胁迫前后表型差异

比较2种香蕉种质低温处理前后表型差异(图1)发现,三明野生蕉(SM)植株在低温处理前后无明显差异,4℃处理24 h后叶片仍挺立,未见任何受害症状;而‘天宝蕉’(TB)经低温处理后心叶症状明显,第1叶和第2叶叶片完全萎蔫卷曲下垂,叶缘软



图1 低温胁迫对香蕉幼苗表型的影响

Fig. 1 Effect of cold stress on banana morphology

化、失水干枯、冻斑褐变。

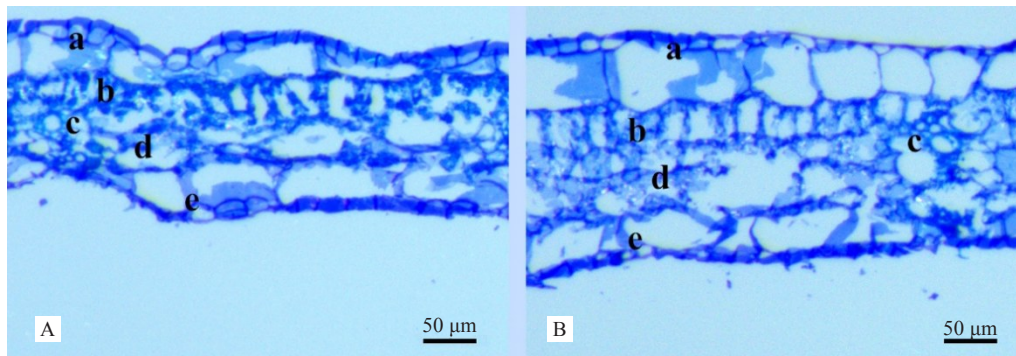
2.2 叶片细胞组织结构差异

由图2可见,2种质香蕉的叶片都由上表皮层(上表皮细胞及其亚表皮细胞)、栅栏组织、海绵组织和下表皮层(下表皮细胞及其亚表皮细胞)组成。栅栏组织由多层紧密排列的长柱状细胞构成,被叶绿体及其他内含物填充。海绵组织排列疏松,细胞较大。栅栏组织和海绵组织之间还存在维管组织,细胞大小不规则排列围绕其周。从40×显微视野中可

看出,三明野生蕉具有1~2层细长短小排列紧密的栅栏组织,所含叶绿体填充数目多于‘天宝蕉’,栅栏组织和海绵组织的比值高于‘天宝蕉’,但叶肉细胞中表皮细胞、栅栏组织以及海绵组织的厚度之和明显低于‘天宝蕉’,CTR值极显著($p < 0.01$)高于‘天宝蕉’,SR值则极显著($p < 0.01$)低于‘天宝蕉’(表1)。

2.3 低温对叶绿素荧光参数的影响

F_v/F_m 表示植物在暗适应条件下PS II最大光合



A. 三明野生蕉; B. 天宝蕉; a. 上表皮层; b. 栅栏组织; c. 维管组织; d. 海绵组织; e. 下表皮层。

A. Sanming wild banana; B. Tianbaojiao banana; a. Upper epidermis; b. Palisade tissue; c. Vascular tissue; d. Sponge tissue; e. Lower epidermis.

图 2 三明野生蕉和‘天宝蕉’幼苗叶片横切面结构

Fig. 2 Transsections of leaves of Sanming wild banana and ‘Tianbaojiao’ banana

表 1 三明野生蕉和‘天宝蕉’叶片细胞组织结构比较

Table 1 Parameters of cellular and tissue structure of the leaves of Sanming wild banana and ‘Tianbaojiao’ banana

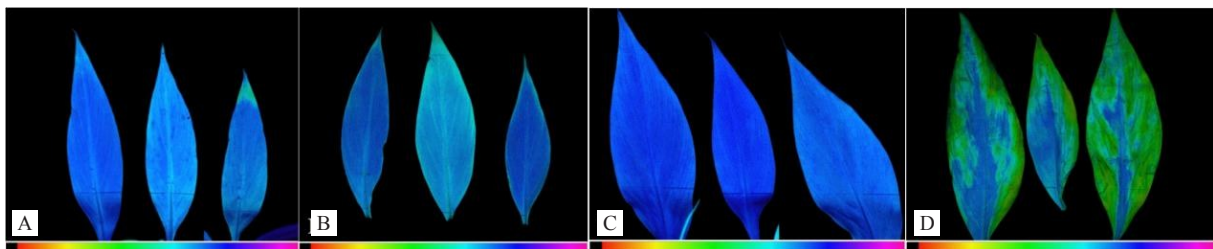
种质类型 Germplasm types	叶片组织厚度 Leaf tissue thickness/ μm					CTR/%	SR/%
	I	II	III	IV	Total		
三明野生蕉 Sanming wild banana	44.30 \pm 7.78	42.36 \pm 4.23	45.17 \pm 4.61	44.91 \pm 7.89	176.75 \pm 13.62	24.01 \pm 2.07**	25.56 \pm 1.76**
天宝蕉 Tianbaojiao banana	54.42 \pm 7.06	44.56 \pm 4.14	66.97 \pm 9.72	53.70 \pm 6.78	219.65 \pm 15.38	20.33 \pm 1.81	30.46 \pm 3.65

注: I. 上表皮层; II. 栅栏组织; III. 海绵组织; IV. 下表皮层; Total. 全叶。各类数据均为 30 个样品的均值和标准差。“**”代表 student t 检验组间存在显著性差异($p < 0.01$)。

Note: I. Upper epidermis; II. Palisade tissue; III. Sponge tissue; IV. Lower epidermis; Total. Full leaf thickness. All kinds of data are the average and standard deviation of 30 samples. “**” represents a significant difference of the student’s t test ($p < 0.01$).

效率, F_v/F_m 下降代表植物受到逆境胁迫。以 F_v/F_m 为低温损伤指标, 低温处理后三明野生蕉和‘天宝蕉’ F_v/F_m 相比对照均有所下降, 其中三明野生蕉 F_v/F_m 与对照相比无明显差异, 而‘天宝蕉’ F_v/F_m 极显著

($p < 0.01$) 低于对照, 降幅为 27.8%。由 F_v/F_m 的标准荧光成像结果(图 3)可以看出, ‘天宝蕉’叶面各部位均出现不同程度的损伤, 其中叶缘及叶尖损伤严重。



A. 三明野生蕉 25 °C; B. 三明野生蕉 4 °C; C. 天宝蕉 25 °C; D. 天宝蕉 4 °C。

A. Sanming wild banana at 25 °C; B. Sanming wild banana after 4 °C treatment; C. Tianbaojiao banana at 25 °C; D. Tianbaojiao banana after 4 °C treatment.

图 3 低温胁迫前后两种香蕉幼苗叶片 F_v/F_m 的标准荧光成像

Fig. 3 Standard fluorescence images of F_v/F_m in leaves of two banana germplasm before and after cold treatment

qP 是由光合作用引起的荧光淬灭, 与植物光合活性的能力呈正相关; qN 则反映了植物耗散过剩光能为热的能力。从表 2 可看出, 低温处理后, 三

明野生蕉和‘天宝蕉’的 qP 和 ETR 均有所下降, qP 降幅分别为 9% 和 49.4%, ETR 降幅分别为 11.6% 和 61.6%, ‘天宝蕉’ qP 和 ETR 差异均达到极显著水平

表2 低温胁迫下香蕉幼苗叶绿素荧光参数的变化

Table 2 Effects of cold stress on chlorophyll fluorescence parameters of banana leaf (Mean±SD)

叶绿素荧光参数 Chlorophyll fluorescence parameters	三明野生蕉 Sanming wild banana		天宝蕉 Tianbaojiao banana	
	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C
F_v/F_m	0.673±0.017 Aa	0.665±0.033 Aa	0.709±0.014 Aa	0.512±0.043 Bb
qP	0.922±0.006 Aa	0.839±0.036 ABab	0.767±0.045 Bb	0.388±0.064 Cc
qN	0.514±0.071 Ab	0.547±0.048 Aab	0.687±0.072 Aa	0.599±0.091 Aab
Y(II)	0.518±0.015 Aa	0.455±0.025 ABab	0.403±0.054 Bb	0.154±0.031 Cc
Y(NPQ)	0.182±0.035 Ab	0.217±0.019 Ab	0.329±0.066 Aa	0.318±0.069 Aa
Y(NO)	0.300±0.025 Bb	0.327±0.033 Bb	0.268±0.014 Bb	0.527±0.087 Aa
ETR	4.767±0.136 Aa	4.213±0.220 ABab	3.727±0.500 Bb	1.433±0.291 Cc

注: 同行数据后不同小写字母表示不同温度处理间显著差异($p < 0.05$), 不同大写字母表示不同温度处理间显著差异($p < 0.01$), 下同。

Note: Different small letters in the same line of data indicate significant differences among different temperature treatments ($p < 0.05$), different capital letters indicate significant difference ($p < 0.01$). The same below.

($p < 0.01$)。三明野生蕉 qN 在低温下有所上升, 但‘天宝蕉’低温下 qN 却低于对照, 说明‘天宝蕉’热耗散机能降低, 低温胁迫对其叶片天线系统损伤较大。

植物在暗适应后测定的 PS II 实际量子产能即为植物的实际光合效率 Y(II), 低温胁迫下, 三明野生蕉和‘天宝蕉’的 Y(II) 均有所下降, 三明野生蕉降幅为 12.2%, 与对照差异较小, ‘天宝蕉’降幅为 61.8%, 达到极显著水平($p < 0.01$), 说明低温胁迫造成‘天宝蕉’实际光化学转化效率的下降。逆境胁迫

下三明野生蕉 Y(NPQ) 增大, 说明三明野生蕉的热耗散效率高于‘天宝蕉’。此外, ‘天宝蕉’在低温处理后 Y(NO) 相比对照升高近一倍, 升幅为 96.6%, 差异极显著($p < 0.01$)。而三明野生蕉 Y(NO) 在低温处理后仅升高 9%, 说明其光损伤程度较低。

2.4 低温下三明野生蕉抗寒生理生化指标的变化

低温处理后三明野生蕉的 SOD、POD 和 CAT 等细胞膜保护酶活力均高于‘天宝蕉’(表3)。室温下的三明野生蕉 SOD 活性极显著($p < 0.01$) 高于‘天宝蕉’, CAT 活性相差不大; 在低温胁迫下, 二者

表3 低温胁迫对香蕉幼苗生理生化指标的影响

Table 3 Effects of cold stress on physiological and biochemical indexes of banana (Mean±SD)

生理生化指标 Physiological and biochemical indexes	三明野生蕉 Sanming wild banana		天宝蕉 Tianbaojiao banana	
	25 °C	4 °C	25 °C	4 °C
SOD 活性 SOD activity/(U·g ⁻¹)	189.06±11.16 Bb	225.52±12.91 Aa	126.40±9.86 Cd	150.48±11.73 Cc
CAT 活性 CAT activity/(nmol·min ⁻¹ ·g ⁻¹)	72.32±14.11 Bc	158.20±10.36 Aa	81.36±6.78 Bc	124.30±17.06 Ab
POD 活性 POD activity/(U·g ⁻¹)	117.93±9.31 Aa	132.67±8.23 Aa	74.18±7.95 ABb	104.62±26.40 Ba
PPO 活性 PPO activity/(U·g ⁻¹)	188.40±6.76 Aa	129.60±0.60 Bb	87.80±1.83 Dd	105.60±0.60 Cc
MDA 含量 MDA content/(nmol·g ⁻¹)	10.92±1.94 Bb	7.91±0.30 Bc	9.63±0.65 Bbc	19.26±0.83 Aa
w(Pro)/(μg·g ⁻¹)	9.11±0.30 Bb	12.95±0.48 Aa	6.17±0.51 Cd	7.63±1.23 BCc
w(SS)/(mg·g ⁻¹)	2.82±0.06 Bb	3.65±0.31 Aa	3.33±0.35 ABa	3.79±0.13 Aa

SOD 和 CAT 活性均显著上升($p < 0.05$), 三明野生蕉上升幅度显著高于‘天宝蕉’, 说明三明野生蕉活性氧清除系统活力更高。POD 活性水平上, 2 个香蕉种质在低温胁迫下均处于上升的趋势, 三明野生蕉 POD 活性在低温处理前后差异不显著, 而‘天宝蕉’却表现出显著升高($p < 0.05$)。

室温下的三明野生蕉 PPO 活性显著高于‘天宝蕉’, 而在低温胁迫后, 三明野生蕉的 PPO 活性显著

下降, 而‘天宝蕉’的 PPO 活性显著上升($p < 0.05$)。

低温处理前, 三明野生蕉和 MDA 含量水平相当, 而‘天宝蕉’在低温处理后, MDA 含量极显著升高($p < 0.01$)。

室温条件下, 三明野生蕉 Pro 含量极显著高于‘天宝蕉’($p < 0.01$), 低温处理后, 三明野生蕉和‘天宝蕉’Pro 含量均显著升高($p < 0.05$), 但‘天宝蕉’Pro 含量仍极显著低于三明野生蕉。低温处理后, 三

明野生蕉和‘天宝蕉’SS含量差异不大,三明野生蕉SS含量与对照相比极显著升高($p < 0.01$),‘天宝蕉’SS含量有所升高但未达到显著水平。

3 讨 论

3.1 三明野生蕉在低温胁迫下的表型和叶绿素荧光参数变化不大

低温胁迫下,三明野生蕉与对照相比叶片无明显受害表型,而‘天宝蕉’冷害表型严重,叶片失水萎蔫下垂,叶缘软化干枯褐变。

由于叶绿素荧光技术操作简单、适用性强、无损伤性,能够快速有效地对植物受到逆境胁迫的影响程度作出真实评价,已被广泛地应用于园艺作物在温度胁迫下对光合机构损伤机制的深层研究以及筛选抗逆种质的技术性应用中^[20-22]。大量研究表明,逆境胁迫常导致植物 F_v/F_m 、 qP 、 $Y(II)$ 和ETR的下降,而 qN 则增加^[23-24]。

低温下的 F_v/F_m 与植物的耐寒性呈负相关^[25], F_v/F_m 的标准荧光成像可作为植物逆境伤害程度及筛选耐寒性的评价方式也有大量报道^[18,21]。本研究中,低温胁迫下,三明野生蕉的 F_v/F_m 与对照相比略微降低,而‘天宝蕉’极显著降低($p < 0.01$), F_v/F_m 的标准荧光成像直观显示出‘天宝蕉’叶面各部位的伤害程度显著大于三明野生蕉,表明其PS II反应中心受损明显,光抑制作用显著,而三明野生蕉潜在光合能力更高,对4℃低温响应不敏感。与张进忠等^[26]对桂林野生蕉低温下的 F_v/F_m 下降幅度显著小于威廉斯香蕉的分析结果一致。

2个香蕉种质叶片的 qP 和ETR在冷害下均呈下降趋势,三明野生蕉与对照相比差异性水平不明显,而‘天宝蕉’ qP 和ETR极显著低于对照($p < 0.01$),由此可见,低温胁迫使‘天宝蕉’类囊体膜上的PS II反应中心和捕光复合体II结构发生变化,光合链上的电子传递轨道受阻,导致光抑制程度加剧;耐寒性的三明野生蕉的 qN 在低温下与对照相比呈上升趋势,‘天宝蕉’趋势相反,与王春萍等^[24]研究的耐冷性水稻幼苗的 qN 较对照升幅显著,其他水稻品种则较对照均显著下降的结果一致,由此笔者推测三明野生蕉通过增加 qN 以热的形式将低温下积累的过剩光能耗散掉,形成机体自我保护机制,热耗散机能较高降低了低温胁迫对光合机构的损伤。低温胁迫下,‘天宝蕉’的 $Y(II)$ 与对照相比显著降低,说

明低温胁迫造成‘天宝蕉’实际光化学转化效率的下降,造成PS II反应中心功能受损和破坏。与对照相比,低温下的三明野生蕉 $Y(NPQ)$ 呈上升趋势且显著低于‘天宝蕉’,其热耗散效率明显高于‘天宝蕉’,说明低温受害时三明野生蕉叶片将不能作为光化学反应的部分过剩光能通过叶黄素循环和光呼吸等调节机制耗散为热能,从而保护其机体避免因过剩光能诱导产生单线态氧和自由基对PS II的损伤和破坏。‘天宝蕉’在低温下 $Y(NO)$ 显著升高,三明野生蕉无明显差异,表明‘天宝蕉’在4℃胁迫下用于光合的光化学能量转换和植物自身的保护调节机制较弱而无法耗散掉过剩光能,引起光和机构的失活和破坏。

综上,三明野生蕉在低温胁迫下的各项叶绿素荧光参数与对照相比均无显著差异,说明4℃冷害对其影响不大,光合系统损伤不明显。

3.2 三明野生蕉抗寒特性与其较高的叶片CTR有关

香蕉叶片受冬春寒潮危害明显,因此,叶片形态常被用作香蕉寒害表型最直观的参考依据。香蕉寒害机制的研究也最先是叶片组织结构展开^[6],研究发现植物叶片的CTR值与耐寒能力呈正相关,SR则相反^[14],是判断植物抗寒能力最有力的参数指标之一^[27]。迄今为止,这种判定标准已广泛应用于柑橘^[28]、荔枝^[29]、紫花苜蓿^[30]、核桃^[31]和香蕉^[32]等多种植物的抗寒性评价研究中。三明野生蕉和‘天宝蕉’叶片组织结构观察结果显示,三明野生蕉栅栏组织和海绵组织更紧密,细胞质更浓厚,叶片CTR值更高,SR值更小,与‘天宝蕉’相比均达到极显著水平。因此,三明野生蕉耐寒能力表现更优,细胞形态学结果与低温下的表型观测结果一致。

3.3 三明野生蕉抗寒特性与其较高的抗氧化酶活性和脯氨酸含量相关

低温下,植物细胞膜系统最先对低温作出响应。逆境下植物细胞质膜液化,自由基代谢动态平衡状态被打破,不饱和脂肪酸与自由基作用产生过量活性氧(ROS)而造成膜的过氧化和膜脂脱酰化伤害。为抵御逆境胁迫,植物体内的多种抗氧化酶保护机制被激活,植物细胞需氧有机体通过酶促或非酶促抗氧化防御系统生成各类物质,降低逆境胁迫下产生的过剩自由基对膜系统的损伤。

SOD、CAT和POD作为重要的ROS自由基清除酶,其活性的高低与植物的抗氧化胁迫能力的强弱有关,可作为植物抗逆性的评价指标。笔者对比2个香蕉2种质的抗氧化酶活性,发现低温处理前后三明野生蕉SOD和POD活性均显著高于冷敏感种质‘天宝蕉’。在室温条件下,三明野生蕉CAT活性与‘天宝蕉’差异不大,低温处理后却显著高于‘天宝蕉’。说明三明野生蕉对温度变化适应性强,在低温胁迫下其细胞膜保护酶显著升高以清除过剩自由基,降低细胞膜透性,减少低温对细胞膜结构和植物机体的伤害,一定程度上反映了较高的SOD和CAT活性可能参与了三明野生蕉的抗寒机制。PPO是酚酸类物质氧化降解的关键酶,低温受害表型最典型的表型特征之一即叶片水渍褐变,有研究认为这种褐变是由PPO造成^[33],在辣椒^[34]和甜柿^[35]等果实贮藏冷害生理研究中同样得到证实。室温下,三明野生蕉基底PPO活性极显著高于‘天宝蕉’。低温处理使得三明野生蕉PPO活性降低,却提高了‘天宝蕉’PPO活性,推测三明野生蕉经受低温后并不表现出叶片水渍褐变症状可能与PPO活性的降低有关。

MDA是膜脂过氧化作用的最终产物,其含量与植物的抗寒性呈负相关,一定程度上反映了膜结构损伤程度和对低温的敏感性。‘天宝蕉’幼苗叶片在低温胁迫下膜脂过氧化程度加剧而产生过量的MDA,与对照相比急剧增加,膜系统伤害程度更高,细胞损伤失水严重。三明野生蕉在低温下的MDA与对照相比显著降低,受损伤程度小,对低温环境耐受能力表现更强,与李朝生等^[36]发现的二倍体野生蕉在低温下MDA显著下降的结果一致,类似的结果在耐寒性强的黄杨^[37]中也有报道,可见不同物种在低温胁迫下体内的MDA含量变化趋势不同。大量研究表明,植物的抗寒性与SS含量呈显著正相关^[38]。笔者发现,低温胁迫下三明野生蕉的SS含量极显著增加,SS含量的升高有助于提高叶片细胞液浓度,从而提供充足的养分和底物以诱导Pro合成等其他生理生化作用过程,进而降低细胞原生质胁迫下的脱水程度,表现出抗寒特性。此外,三明野生蕉Pro含量极显著高于‘天宝蕉’且低温处理下Pro含量大幅积累,推测更高的Pro基底含量和低温下Pro的快速积累对于三明野生蕉细胞代谢平衡和细胞结构稳定性的维持、细胞渗透压的调节大有裨益。

4 结 论

与不耐寒的栽培蕉‘天宝蕉’相比,三明野生蕉栅栏组织、海绵组织更紧密,叶片CTR值更高,SR值则更小;低温处理前后,其表型和叶绿素荧光参数变化均无明显变化,光保护能力较强;低温胁迫24 h后,SOD、CAT和POD等细胞膜保护酶活性较高,PPO活性和MDA含量显著降低,SS和Pro极显著增加以调节植株渗透压平衡。笔者推测三明野生蕉抗寒特性与其较高的叶片细胞结构紧密度、抗氧化酶活性和脯氨酸含量有关。

参考文献 References:

- [1] 刘德兵. 低温胁迫对香蕉幼苗生理特性的影响及冷诱导相关基因的分离[D]. 儋州:华南热带农业大学,2007.
LIU Debing. Effects of low temperature stress on banana seedling physiology characteristic and separation of banana cold-induced relative gene[D]. Danzhou: South China University of Tropical Agriculture, 2007.
- [2] 王安邦,金志强,刘菊华,贾彩红,张建斌,苗红霞,徐碧玉. 香蕉寒害研究现状及展望[J]. 生物技术通报,2014(8): 28-33.
WANG Anbang, JIN Zhiqiang, LIU Juhua, JIA Caihong, ZHANG Jianbin, MIAO Hongxia, XU Biyu. The current situation and prospects of banana chilling stress[J]. Biotechnology Bulletin, 2014(8): 28-33.
- [3] 张慧坚. 2015年香蕉产业发展报告及形势预测[J]. 世界热带农业信息,2016(8): 31-37.
ZHANG Huijian. Development report and situation forecast of banana industry in 2015[J]. World Tropical Agriculture Information, 2016(8): 31-37.
- [4] 王芳,过建春,柯佑鹏,李长明. 2016年我国香蕉产业发展报告及2017年发展趋势[J]. 中国热带农业,2017(3): 25-29.
WANG Fang, GUO Jianchun, KE Youpeng, LI Changming. China banana industry development report 2016 and development trend 2017[J]. China Tropical Agriculture, 2017(3): 25-29.
- [5] 黄朝荣. 气象条件对香蕉生长和产量影响初步分析[J]. 中国农业气象,1993,14(2): 7-10.
HUANG Chaorong. Preliminary analysis of the influence of meteorological conditions on the growth and yield of banana[J]. Chinese Journal of Agrometeorology, 1993, 14(2): 7-10.
- [6] 黄晓钰,季作樑,李沛文. 香蕉冷害征状及生理指标和有效防寒措施研究[J]. 华南农业大学学报,1982,3(4): 1-12.
HUANG Xiaoyu, JI Zuoliang, LI Peiwen. A study on the injury symptoms and physiological quota of banana and an effective measure for cold injury protection[J]. Journal of South China Agricultural College, 1982, 3(4): 1-12.
- [7] DIXON R A, ACHNINE L, KOTA P, LIU C J, REDDY M S S,

- WANG L. The phenylpropanoid pathway and plant defence-a genomics perspective[J]. *Molecular Plant Pathology*, 2010, 3(5): 371-390.
- [8] SHMUELI E. Chilling and frost damage in banana leaves[J]. *Bulletin of the Research Council of Israel*, 1960, 1: 225-238.
- [9] 李茂富, 李绍鹏, 吴凡, 赵维峰. 香蕉抗寒性的研究进展[J]. *华南热带农业大学学报*, 2005, 11(1): 51-54.
LI Maofu, LI Shaopeng, WU Fan, ZHAO Weifeng. Study progress on freeze-resistance of banana[J]. *Journal of South China University of Tropical Agriculture*, 2005, 11(1): 51-54.
- [10] 刘长全. 香蕉寒害研究进展[J]. *果树学报*, 2006, 23(3): 448-453.
LIU Changquan. Advances in research on chilling injury in banana[J]. *Journal of Fruit Science*, 2006, 23(3): 448-453.
- [11] 陈芳兰. 野生蕉 β -1,3 葡聚糖酶基因克隆及抗寒相关功能分析[D]. 福州: 福建农林大学, 2016.
CHEN Fanglan. Cloning and cold resistance analysis of β -1, 3Glucanase gene (*Mugsp*s) from wild banana[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forestry University, 2016.
- [12] LIU W H, CHENG C Z, LAI G T, LIN Y L, LAI Z X. Molecular cloning and expression analysis of *KIN10* and cold-acclimation related genes in wild banana 'Huanxi' (*Musa itinerans*) [J]. *Springerplus*, 2015, 4(1): 829.
- [13] 陈清西, 廖镜思, 王明双, 黄亚彬. 食用蕉若干品种类型叶片组织结构的比较观察[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 1992, 21(4): 406-412.
CHEN Qingxi, LIAO Jingsi, WANG Mingshuang, HUANG Yabin. Comparison and observation on structure of leaves among several banana varieties or types[J]. *Journal of Fujian Agricultural College (Naturd Science Edition)*, 1992, 21(4): 406-412.
- [14] 刘星辉, 王宏华, 蔡建明, 魏学贵. 香蕉叶片组织细胞结构和生理特性与耐寒性的关系[J]. *福建农学院学报*, 1990, 19(2): 181-185.
LIU Xinghui, WANG Honghua, CAI Jianming, WEI Xuegui. The relationship between the cell structure and biochemical characteristics in banana leaf tissue and their cold tolerance[J]. *Journal of Fujian Agricultural College*, 1990, 19(2): 181-185.
- [15] 李新国, 毕玉平, 赵世杰, 孟庆伟, 何启伟, 邹琦. 短时低温胁迫对甜椒叶绿体超微结构和光系统的影响[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(6): 1226-1231.
LI Xinguo, BI Yuping, ZHAO Shijie, MENG Qingwei, HE Qiwei, ZOU Qi. Effects of short-term chilling stress on the photosystems and chloroplast ultrastructure in sweet pepper[J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2005, 38(6): 1226-1231.
- [16] 陶宏征, 赵昶灵, 李唯奇. 植物对低温的光合响应[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2012, 28(6): 501-508.
TAO Hongzheng, ZHAO Changling, LI Weiqi. Photosynthetic response to low temperature in plant[J]. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 2012, 28(6): 501-508.
- [17] SMILLIE R M, HETHERINGTON S E. Stress tolerance and stress-induced injury in crop plants measured by chlorophyll fluorescence *in vivo*: chilling, freezing, ice cover, heat, and high light[J]. *Plant Physiology*, 1983, 72(4): 1043-1050.
- [18] EHLERT B, HINCHA D K. Chlorophyll fluorescence imaging accurately quantifies freezing damage and cold acclimation responses in *Arabidopsis* leaves[J]. *Plant Methods*, 2008, 4(1): 1-7.
- [19] 赖钟雄, 陈源, 林玉玲, 赵巧阳, 陈义挺, 张知通. 三明野生蕉基本生物学特性调查[J]. *亚热带农业研究*, 2006, 2(4): 241-244.
LAI Zhongxiong, CHEN Yuan, LIN Yuling, ZHAO Qiaoyang, CHEN Yiting, ZHANG Zhitong. Investigation of basic biological characteristics of wild banana (*Musa* spp, 'AB' group) in Sanming city[J]. *Subtropical Agriculture Research*, 2006, 2(4): 241-244.
- [20] MISHRA A, MISHRA K B, H ERMILLER I I, HEYER A G, NEDBAL L. Chlorophyll fluorescence emission as a reporter on cold tolerance in *Arabidopsis thaliana* accessions[J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2011, 6(2): 301-310.
- [21] MISHRA A, HEYER A G, MISHRA K B. Chlorophyll fluorescence emission can screen cold tolerance of cold acclimated *Arabidopsis thaliana* accessions[J]. *Plant Methods*, 2014, 10(1): 1-10.
- [22] 李光庆, 谢祝捷, 姚雪琴, 陈学好. 花椰菜叶绿素荧光参数与耐寒性的关系研究[J]. *园艺学报*, 2010, 37(12): 2001-2006.
LI Guangqing, XIE Zhuojie, YAO Xueqin, CHEN Xuehao. Studies on the relationship between chlorophyll fluorescence parameters and cold tolerance of cauliflower[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2010, 37(12): 2001-2006.
- [23] FRACHEBOUD Y, HALDIMANN P, LEIPNER J, STAMP P. Chlorophyll fluorescence as a selection tool for cold tolerance of photosynthesis in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Journal of Experimental Botany*, 1999, 50(338): 1533-1540.
- [24] 王春萍, 雷开荣, 李正国, 林清, 吴红. 低温胁迫对水稻幼苗不同叶龄叶片叶绿素荧光特性的影响[J]. *植物资源与环境学报*, 2012, 21(3): 38-43.
WANG Chunping, LEI Kairong, LI Zhengguo, LIN Qing, WU Hong. Effects of chilling stress on chlorophyll fluorescence characteristics of seedling leaves with different leaf ages of *Oryza sativa* [J]. *Journal of Plant Resources and Environment*, 2012, 21(3): 38-43.
- [25] 王国莉, 郭振飞. 低温对水稻不同耐冷品种幼苗光合速率和叶绿素荧光参数的影响[J]. *中国水稻科学*, 2005, 19(4): 381-383.
WANG Guoli, GUO Zhenfei. Effects of chilling stress on photosynthetic rate and the parameters of chlorophyll fluorescence in two rice varieties differing in sensitivity[J]. *Chinese Journal of Rice Science*, 2005, 19(4): 381-383.
- [26] 张进忠, 韦绍龙, 孙嘉曼, 田丹丹, 周维, 韦弟. 二倍体与三倍体香蕉苗对冷胁迫的生理响应[J]. *核农学报*, 2014, 28(8): 1528-1533.

- ZHANG Jinzhong, WEI Shaolong, SUN Jiaman, TIAN Dandan, ZHOU Wei, WEI Di. Physiological responses of diploid and triploid banana plantlets to chilling stress[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2014, 28(8): 1528-1533.
- [27] 吕庆芳, 丰锋, 张秀枝. 香蕉叶片组织细胞结构特性与耐寒性的关系[J]. 广东海洋大学学报, 2000, 20(2): 48-51.
LÜ Qingfang, FENG Feng, ZHANG Xiuzhi. Cold tolerance of banana in relation to cell structure in leaf tissue[J]. Journal of Zhanjiang Ocean University, 2000, 20(2): 48-51.
- [28] 简令成, 孙德兰, 施国雄, 曾秋涛. 不同柑桔种类叶片组织的细胞结构与抗寒性的关系[J]. 园艺学报, 1986, 13(3): 163-168.
JIAN Lingcheng, SUN Delan, SHI Guoxiong, ZENG Qiutao. Leaf tissue structure in the cell of different kinds of *Citrus* and its relation to cold hardiness[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1986, 13(3): 163-168.
- [29] 余文琴, 刘星辉. 荔枝叶片细胞结构紧密度与耐寒性的关系[J]. 园艺学报, 1995, 22(2): 185-186.
SHE Wenqin, LIU Xinghui. The relationship between leaf cell structure in *Litchi* and its cold tolerance[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1995, 22(2): 185-186.
- [30] 崔国文, 马春平. 紫花苜蓿叶片形态结构及其与抗寒性的关系[J]. 草地学报, 2007, 15(1): 70-75.
CUI Guowen, MA Chunping. Research on leaf morphology and cold resistance of alfalfa[J]. Acta Agrestia Sinica, 2007, 15(1): 70-75.
- [31] 刘杜玲, 张博勇, 彭少兵, 朱海兰, 刘淑明, 杜婷. 基于早实核桃不同品种叶片组织结构的抗寒性划分[J]. 果树学报, 2012, 29(2): 205-211.
LIU Duling, ZHANG Boyong, PENG Shaobing, ZHU Hailan, LIU Shuming, DU Ting. Cold resistance division based on leaf tissue structure of early-fruiting walnut cultivars[J]. Journal of Fruit Science, 2012, 29(2): 205-211.
- [32] 何海旺, 赵明, 武鹏, 龙芳, 邹瑜. 基于香蕉叶片解剖结构的抗寒性评价[J]. 西南农业学报, 2017, 30(1): 193-198.
HE Haiwang, ZHAO Ming, WU Peng, LONG Fang, ZOU Yu. Cold resistance evaluation based on leaf anatomy structure of banana[J]. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 2017, 30(1): 193-198.
- [33] SHAFRAN E, DUDAI N, MAYER A M. Polyphenol oxidase in *Ocimum basilicum* during growth, development and following cold stress[J]. Journal of Food Agriculture & Environment, 2007, 5(3): 254-257.
- [34] BOONSIRI K, KETSA S, DOORN W G V. Seed browning of hot peppers during low temperature storage[J]. Postharvest Biology & Technology, 2007, 45(3): 358-365.
- [35] 张宇, 饶景萍, 孙允静, 李珊珊. 1-甲基环丙烯对甜柿贮藏中冷害的控制作用[J]. 园艺学报, 2010, 37(4): 547-552.
ZHANG Yu, RAO Jingping, SUN Yunjing, LI Shanshan. Reduction of chilling injury in sweet persimmon fruit by 1-MCP[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2010, 37(4): 547-552.
- [36] 李朝生, 韦莉萍, 孙嘉曼, 韦绍龙, 龙盛风, 张进忠. 野生二倍体香蕉(*Musa acuminata*, AA group)对冷害的生理响应[J]. 南方农业学报, 2017, 48(8): 1367-1373.
LI Chaosheng, WEI Liping, SUN Jiaman, WEI Shaolong, LONG Shengfeng, ZHANG Jinzhong. Physiological responses of wild diploid banana (*Musa acuminata*, AA group) to chilling injury[J]. Journal of Southern Agriculture, 2017, 48(8): 1367-1373.
- [37] 聂庆娟, 孟朝, 梁海永, 孟庆瑞, 李彦慧. 低温胁迫对4种常绿阔叶植物膜脂过氧化及保护酶活性的影响[J]. 植物研究, 2007, 27(5): 578-581.
NIE Qingjuan, MENG Zhao, LIANG Haiyong, MENG Qingrui, LI Yanhui. Effect on low temperature stress on lipid peroxidation and activity of cell defense enzymes of four evergreen broadleaved tree species [J]. Bulletin of Botanical Research, 2007, 27(5): 578-581.
- [38] 颀建明, 郁继华, 颀敏华, 冯致. 低温弱光下辣椒3种渗透调节物质含量变化及其与品种耐性的关系[J]. 西北植物学报, 2009, 29(1): 105-110.
JIE Jianming, YU Jihua, JIE Minhua, FENG Zhi. Changes of three osmotic regulatory metabolites in leaves of pepper under low temperature and poor light stress and relations between its and varietal tolerance[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2009, 29(1): 105-110.