

# 低温胁迫对2种主要砧穗组合砂糖橘幼树抗寒性的影响

郭雁君<sup>1,2</sup>, 吉前华<sup>1,2\*</sup>, 杜鹏飞<sup>2</sup>, 黄火金<sup>2</sup>, 许冰玲<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>肇庆学院果树研究所, 广东肇庆 526061; <sup>2</sup>肇庆学院生命科学学院, 广东肇庆 526061)

**摘要:**【目的】探究广东肇庆主要使用的2种砧木对砂糖橘(*Citrus reticulata* ‘Shatangju’)抗寒性的影响,为优化其引种栽培和苗木繁育提供科学支撑。【方法】以枳壳[*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]砧、酸橘(*C. sunki* Hort. ex Tanaka)砧3年生砂糖橘为试材,在人工气候室中48 h内从10℃梯次降温至(3±0.5)℃、(-3±0.5)℃分别胁迫24 h,然后,经48 h梯次升温至10℃,24 h后转移至塑料温室中常规栽培90 d,期间调查测定落叶量、生长量、生物量,定期测试分析抗寒生理特性。【结果】在(3±0.5)℃、(-3±0.5)℃胁迫后栽培的90 d中,砂糖橘酸橘砧植株单株落叶数量减小幅度较枳壳砧植株分别大412.2%、134.5%,落叶质量减小幅度较枳壳砧植株分别大546.6%、1098.0%;胁迫后90 d酸橘砧植株株高降低幅度较枳壳砧植株分别大5.0%、16.3%,地径减小幅度较枳壳砧植株分别大75.0%、8.8%,冠幅减小幅度较枳壳砧植株分别大231.6%、52.2%,全株生物量减小幅度较枳壳砧植株分别大465.4%、45.6%。(3±0.5)℃、(-3±0.5)℃胁迫后90 d,酸橘砧植株叶片叶绿素含量(Chl c)降低幅度较枳壳砧植株分别大101.1%、27.0%,光合速率( $P_n$ )降低幅度分别大65.8%、52.2%,叶片蒸腾速率( $T$ )升高幅度较枳壳砧植株分别大44.1%、99.9%,叶片气孔导度( $G_s$ )升高幅度较枳壳砧植株分别大41.3%、39.7%。低温胁迫导致砂糖橘叶片碳同化关键酶(Rubisco)、FBP、Ald及PEPC的活性均较同期对照显著降低,叶片水分饱和亏缺(WSD)显著加重、丙二醛(MDA)含量显著升高,枳壳砧植株的变化幅度显著小于酸橘砧植株。【结论】砂糖橘枳壳砧植株抗寒性显著强于酸橘砧植株,其机制主要在于低温胁迫下落叶程度轻,根系较发达,叶片较厚重,光合效率较高,叶片抗脱水、抗膜脂过氧化能力强。

**关键词:** 柑橘; 砧木; 低温胁迫; 叶片气体交换; 碳同化关键酶; 膜脂过氧化

中图分类号: S666

文献标志码: A

文章编号: 1009-9980(2022)05-0784-16

## Effect of two main rootstock species on cold resistance of Shatangju mandarin saplings under low temperature stress

GUO Yanjun<sup>1,2</sup>, JI Qianhua<sup>1,2\*</sup>, DU Pengfei<sup>2</sup>, HUANG Huojin<sup>2</sup>, XU Bingling<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Fruit Research Institute, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, Guangdong, China; <sup>2</sup>College of Life Sciences, Zhaoqing University, Zhaoqing 526061, Guangdong, China)

**Abstract:** 【Objectives】This work aimed to explore the effects of two rootstocks mainly used in the citrus production of Zhaoqing, Guangdong on the cold resistance of the famous local citrus variety Shatangju mandarin (*Citrus reticulata* ‘Shatangju’) in order to provide a scientific basis for optimizing its introduction, cultivation and propagation of grafted seedlings. 【Methods】The three-year-old Shatangju mandarin plants grafted on trifoliolate orange [*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.] stock and sunki mandarin (*C. sunki* Hort. ex Tanaka) stock were used as experimental materials. The plants were placed in a low-temperature climate chamber, cooling down in steps, and suffered from low temperature stress under (3±0.5)℃ and (-3±0.5)℃ for 24 h, respectively. Then, the room temperature was raised to 10℃ in steps, and after 24 hours, they were transferred to plastic greenhouses for conventional cultivation. When cultivated for 90 d, all the plants were harvested and tested separately. During the period, the test and analy-

收稿日期: 2022-01-22 接受日期: 2022-03-26

基金项目: 财政部和农业农村部“国家现代农业产业技术体系”项目(CARS-26); 广东省科技厅农村科技特派员项目(2021-1056-9-4)

作者简介: 郭雁君, 副教授, 硕士, 从事柑橘栽培技术研究。Tel: 13824636009, E-mail: yjguo@163.com

\*通信作者 Author for correspondence. E-mail: qhgee@163.com

sis of the physiological characteristics were carried out. The plants not subjected to low temperature stress in each stock-scion combination were used as controls. **【Results】**The number of fallen leaves per plant of Shatangju mandarin grafted on sunki mandarin (Shatangju/sunki combination) decreased significantly, compared with the plant grafted on trifoliolate orange stock (Shatangju/trifoliolate combination) during 90 d of cultivation after stress at  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  and  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ , respectively, being 412.2% and 134.5% larger, and the weight reduction of the fallen leaves was 546.6% and 1 098.0% larger than that of Shatangju / trifoliolate combination, respectively; after 90 d of stress, the reduction of plant height of Shatangju /sunki combination was 5.0% and 16.3% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, and the reduction of ground diameter was 75.0% and 8.8% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively. The reduction of crown width was 231.6% and 52.2% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively; and the reduction of root biomass was 91.6% and 97.3% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively. The decrease of stem and branch biomass was 141.4% and 27.3% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively, and the decrease of leaf biomass was 47.5% and 11.7% larger than that of Shatangju /trifoliolate-combination, respectively. The decrease of biomass was 465.4% and 45.6% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively. Low temperature stress significantly decreased leaf chlorophyll content (Chl c) and photosynthetic rate ( $P_n$ ) of Shatangju mandarin. After 90 d of stress at  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  and  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ , the reduction of Chl c of Shatangju /sunki combination was 101.1% and 27.0% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively, and the reductions of leaf  $P_n$  were 65.8%, 52.2% larger respectively; the leaf transpiration rate ( $T_r$ ) increased significantly under low temperature stress for 30 d, and then tended to decrease but was still significantly higher than that of the control plant in the same period. The increase of  $T_r$  of Shatangju /sunki combination under  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  and  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress for 90 d was 44.1% and 99.1% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination, respectively. Stomatal conductance ( $G_s$ ) decreased significantly under low temperature for 30 d, and then increased but still was significantly lower than that of the control at the same period. The increase of leaf  $G_s$  of Shatangju / sunki combination was 41.3% and 39.7% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination respectively after  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  or  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress for 90 d. The activities of key enzymes of Rubisco, FBP, Ald and PEPC in the carbon assimilation of leaves of Shatangju mandarin significantly decreased by low temperature stress compared with the control plants at the same period. 90 d after  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress, the reduction degree of activities of the four enzymes of Shatangju /sunki combination was 216.3%, 46.7%, 168.7% and 47.2% lower respectively than that of Shatangju /trifoliolate combination, and 90 d after  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress, the reduction degree was 49.9%, 52.6%, 73.8% and 58.0% larger respectively. Low temperature stress led to a significant increase in water saturation deficit (WSD) and malondialdehyde (MDA) content in leaves of Shatangju mandarin; 90 d after  $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress, the increase of the WSD and MDA contents of Shatangju /sunki combination was 28.0% and 82.0% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination respectively, and the increase range 90 d after  $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$  stress was 49.3% and 79.5% larger than that of Shatangju /trifoliolate combination respectively. **【Conclusion】**These results fully demonstrated that the cold resistance of Shatangju /trifoliolate combination was significantly stronger than that of Shatangju /sunkicombination, and the grafted saplings of Shatangju /trifoliolate combination should be mainly propagated and cultivated in Shatangju mandarin production. The mechanism of Shatangju /trifoliolate combination having significantly stronger cold resistance under low temperature stress was mainly as follows: the degree of defoliation was lighter, the root system was more developed, the leaves were thicker, the photosynthetic efficiency was higher, and the leaves were resistant to dehy-

dration and membrane lipid peroxidation.

**Key words:** *Citrus*; Rootstock; Low temperature stress; Leaf gas exchange; Key carbon assimilation enzymes; Membrane lipid peroxidation

低温胁迫导致的寒冻灾害是柑橘栽培中的重要非生物胁迫。砧木是柑橘商业化生产的基础材料和重要元素,选育、利用优良砧木是柑橘繁育和栽培的关键技术,对柑橘品种抗寒性、树体生长发育、果实产量和品质均具有重大影响<sup>[1-2]</sup>。作为中国大宗栽培果树,柑橘抗寒生理特性研究一直为科技人员所关注,尤其在最近10年间做了一定研究,其中:马文涛等<sup>[3]</sup>对贵州3个野生柑橘种类和栽培品种默科特的抗寒性进行了测试分析和综合评价;陈文荣等<sup>[4]</sup>鉴定分析了与佛手冷敏感相关的差异表达基因,发现与植物防御/应激反应和光合作用有关的基因可能是造成佛手对寒冷敏感的主要原因;刘绍俊等<sup>[5]</sup>测试分析了广西桂林21个品种的柑橘树在不同胁迫时间和低温下的半致死温度和抗寒性排序;何利刚等<sup>[6]</sup>以湖北省极端低温灾害天气后历年来搜集的柑橘种质资源为试材,利用冬季自然低温筛选后采集健康无病害、规格一致的叶片进行了抗寒性测试分析;罗君琴等<sup>[7]</sup>测试分析了12份香酸类柑橘种质在浙江冬季-10~0℃低温下叶片相对电导率的变化;林绍生等<sup>[8]</sup>测试分析了浙江温州栽培的9个柑橘品种的叶片在-18~0℃下冷冻24h后电解质渗出率和低温半致死温度;侯茹平等<sup>[9]</sup>研究了-7℃胁迫对陕西汉中3种柑橘砧木幼苗生长和生理指标的影响及各自的抗寒冻能力。GRAS蛋白是植物特有的转录因子。最近,杨杰等<sup>[10]</sup>基于枳基因组数据,利用生物信息学方法从中鉴定出30个GRAS基因,并分析了它们对低温胁迫的响应,推测其中的*PtrGRAS*家族成员在枳抵抗低温胁迫中发挥重要作用。但是,这些研究主要针对柑橘品种抗寒性,次为柑橘砧木抗寒性,且主要以离体叶片为试材,整株水平上砧木对柑橘品种抗寒生理特性的影响尚未见报道。

砂糖橘(*Citrus reticulata* ‘Shatangju’)是广东肇庆著名地方柑橘品种,果实皮薄多汁,果肉鲜滑脆嫩、爽口化渣、清甜低酸、香蜜浓郁,深受消费者欢迎,但20世纪90年代中期以后方才受到专业研究机构关注。目前,砂糖橘已成为华南地区栽培面积和产量最大的柑橘品种,其科技文献相对较多的领域是新品种选育<sup>[11-13]</sup>、生长发育特性<sup>[14-18]</sup>、黄龙病发生与

防控<sup>[19-22]</sup>以及采后贮藏保鲜<sup>[23-25]</sup>。与砧木有关的砂糖橘文献目前共有8篇,多数出自陈杰忠研究团队,其中:刘延涛等<sup>[26]</sup>、王南南等<sup>[27]</sup>分别测试分析了砧木种类对砂糖橘树体内P、Ca元素含量的影响;刘翔宇等<sup>[28]</sup>研究了枳壳和红黎檬砧木对砂糖橘果实糖分积累、相关酶活性与基因表达水平的影响及激素在其中发挥的作用;刘振等<sup>[29]</sup>研究了粗柠檬等8种砧木对砂糖橘果实内在和外观品质的影响;Liu等<sup>[30]</sup>研究了5种砧木对砂糖橘植株生长的影响及其转录组差异表达;刘梦梦等<sup>[31]</sup>研究了8种砧木的砂糖橘树势与叶片、枝条解剖结构及叶片中过氧化物酶和生长素氧化酶活性的关系;李娟等<sup>[32]</sup>研究了嫁接在5种砧木上的砂糖橘树的生长和光合生理特性;郭玲霞等<sup>[33]</sup>研究了5种中间砧对砂糖橘树体生长和果实产量与品质的影响。这些文献可为全面、深入认识砧木与砂糖橘抗逆性关系提供借鉴。然而,迄今未见砧木与砂糖橘抗寒性关系的文献报道。砂糖橘栽培区正在向北方、向山区延伸,越来越远离其原产地(北回归线附近的平原地区),低温危害日益突出。鉴于此,笔者以广东肇庆砂糖橘生产实践中主要使用的2种砧木的3年生嫁接树为试材研究了砧木对砂糖橘抗寒生理特性的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料培养及处理

砂糖橘树苗均为18个月龄的嫁接苗,所用柑橘砧木为枳壳[*Poncirus trifoliata* (L.) Raf.]、酸橘(*Citrus sunki* Hort. ex Tanaka)实生苗,共计4种砧-穗组合的柑橘苗,1月下旬栽植于盆高40cm、上口直径35cm、下口直径25cm的陶瓷盆中,每盆1株。栽培基质组成及比例(质量比)为普通耕作土:草炭:河沙=80%:15%:5%,拍碎、混匀、过筛。盆栽基质中含有有机质1.72%、速效氮55.6mg·kg<sup>-1</sup>、速效磷32.5mg·kg<sup>-1</sup>、速效钾115.8mg·kg<sup>-1</sup>,pH6.5。称量、记载每盆基质质量,保持一致。在温室中避雨栽培18个月,期间视季节和天气情况,每周浇水1~2次、每次每株1000mL,每30d施复合肥1次、每次每株5g。盆底放置圆形浅壁塑料托盘。温室内气温高于30℃,湿

帘降温系统自动启动。翌年7月下旬(嫁接苗3年生),选择生长势及树体大小相当植株进行低温胁迫。处理前7 d暂停浇水。为保证参试植株一致性,所有植株见花蕾即摘除。

低温处理前进一步选择砂糖橘苗木,在低温人工气候室中(光照度 $150 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,照光时间 $10 \text{h}\cdot\text{d}^{-1}$ )进行24 h的 $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、 $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 低温胁迫。达到 $(3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 前的降温过程是 $10^\circ\text{C}$  24 h、 $5^\circ\text{C}$  48 h,低温胁迫结束后运回温室前的升温过程是 $5^\circ\text{C}$  48 h、 $10^\circ\text{C}$  24 h;达到 $(-3\pm 0.5)^\circ\text{C}$ 前的降温过程是: $10^\circ\text{C}$  24 h、 $5^\circ\text{C}$  36 h、 $1^\circ\text{C}$  12 h,低温胁迫结束后运回温室前的升温过程是 $1^\circ\text{C}$  12 h、 $5^\circ\text{C}$  36 h、 $10^\circ\text{C}$  24 h。低温处理结束后,转运至原来栽培的温室中继续栽培。以在温室中常规栽培、不经低温胁迫的植株为对照。共计6种处理(包括对照),每处理6株(每重复2株,3次重复),参试植株共36株。处理后的水分管理与之前相同,第30、60天时每株各施复合肥7 g。期间每天定时收集落叶,分别记录每株的落叶数并称质量;处理前(0 d)及处理后30、60、90 d时,分别取样测试叶片叶绿素含量和气体交换参数、叶片水分饱和亏缺和丙二醛含量及碳同化关键酶活性,每处理重复数>3次。至90 d时收获,立即按植株分别称量根、茎、叶鲜生物量。收获前,测量各处理植株的株高、地径和冠幅。

## 1.2 分析测试方法

1.2.1 植株生物量 按植株收集的落叶及时烘干,以FA1004型电子天平(0.001 g)称质量,按1~30、31~60、61~90、1~90 d汇总。生长量指标株高、冠幅用WK331025型钢卷尺测量,冠幅取东西径和南北径的平均值,地径用530-118型游标卡尺测量。生物量用VP1002型电子天平(0.01 g)称质量,根、茎、叶生物量之和为全株生物量;收获时,立即称量鲜生物量,编号带回实验室分摊开存放45 d(自然干燥)后再次称质量(干质量),文中使用的生物量均为干质量。

1.2.2 叶绿素提取及含量 按株取树冠中部外围成龄叶(枝条顶端下部第4~5枚叶片)3枚,擦净表面污物,去除中脉后剪碎,称取混合样品0.2 g,3份,用95%乙醇浸提,以UV-6300B型紫外可见分光光度计测定A<sub>665</sub> nm、A<sub>649</sub>的值,分别计算叶绿素a和叶绿素b质量浓度(Ca、Cb,  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )。其中:Ca= $13.95A_{665}-6.88A_{649}$ , Cb= $24.96A_{649}-7.32A_{665}$ 。叶绿素浓度为Ca、Cb之和。叶绿素含量(w)( $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$ )=(叶

绿素浓度×提取液体积×稀释倍数)/样品鲜质量。

1.2.3 叶片气体交换参数 净光合速率( $P_n$ ,  $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )、蒸腾速率( $T_r$ ,  $\text{mmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )和气孔导度( $G_s$ ,  $\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ )采用LI-6400 XT型便携式光合仪测定。测定条件:温度为 $20\sim 25^\circ\text{C}$ ,光照度为 $800 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ ,叶室 $\text{CO}_2$ 浓度为 $400 \mu\text{mol}\cdot\text{mol}^{-1}$ ,流速为 $500 \mu\text{mol}\cdot\text{s}^{-1}$ 。测定时间为上午9:30—11:30、下午2:00—4:00,从不同处理的砂糖橘树冠中部外围按植株各选取3枚成龄叶进行。各处理的测试结果取上午、下午的平均值。

1.2.4 碳同化关键酶活性 Rubisco(RuBP羧化酶)活性测定参照Liley等的方法<sup>[34]</sup>。研磨液为 $33 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 7.5)缓冲液,内含 $0.67 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ,  $33 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ 和 $10 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ 。反应体系含 $100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 8.0),  $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ,  $20 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ ,  $10 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  DTT,  $10 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  ATP,  $0.4 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NADH,  $140 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NaHCO}_3$ , 1 U 3-磷酸甘油激酶, 2.5 U 3-磷酸甘油醛脱氢酶,  $0.06 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  RuBP和 $25 \mu\text{L}$ 酶液。在340 nm处检测3 min内吸光值的变化。

果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)活性测定采用酶联免疫试剂盒法测定。研磨液为 $50 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 8.0)缓冲液,内含 $100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  4-羟乙基哌嗪乙磺酸钠。 $12\ 000\times\text{g}$ 离心提取液5 min,上清液在340 nm处检测1 min内吸光值的变化。

果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(Ald)活性测定参照Mustroph等<sup>[35]</sup>的方法。研磨液为 $50 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 6.8)缓冲液(内含 $5 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{MgCl}_2$ 、 $5 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$   $\beta$ -巯基乙醇、15%甘油、 $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA、 $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EGTA、 $0.1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  PMSF)。粗提液 $12\ 000\times\text{g}$ 离心20 min,取上清液在 $4^\circ\text{C}$ 下透析24 h获得酶液。透析液组成: $10 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 6.8),  $1 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA。反应体系含 $0.4 \text{mL}$   $100 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  Tris-HCl(pH 7.2,内含 $2 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  EDTA)、 $0.1 \text{mL}$   $1.4 \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$  NADH、 $0.1 \text{mL}$  10 U磷酸丙糖异构酶、 $0.1 \text{mL}$  10 U NAD-葡萄糖3-磷酸脱氢酶、 $100 \mu\text{L}$ 酶液,加入 $200 \mu\text{L}$   $5 \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$  D-果糖1,6-二磷酸启动反应,在340 nm处检测吸光值。

磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)活性测定参照Blanke等<sup>[36]</sup>的方法。叶样0.50 g,加入3 mL预冷的提取介质研磨,滤液在 $4^\circ\text{C}$ 下 $15\ 000\times\text{g}$ 离心20 min,上清液为酶粗提液。试管中依次加入反应

缓冲液 1.0 mL, 40 mmol·L<sup>-1</sup> PEP, 1 mg·mL<sup>-1</sup> NADH (pH 8.9), 10 μg·mL<sup>-1</sup> 苹果酸脱氢酶(MDH)和酶提取液各0.1 mL, 超纯水 1.5 mL, 保温 10 min, 在 340 nm 处测定吸光值(OD<sub>0</sub>), 加入 100 mmol·L<sup>-1</sup> NaCO<sub>3</sub> 0.1 mL 启动反应, 每隔 20 s 测定 1 次吸光值(OD<sub>t</sub>), 测定 3 min 内吸光值的变化。

1.2.5 叶片水分饱和亏(WSD) 按饱和重量法测定出叶片相对含水量(RWC), WSD(%)=100-RWC。RWC(%)=(W<sub>t</sub>-W<sub>d</sub>)/(W<sub>t</sub>-W<sub>d0</sub>)×100。式中:W<sub>t</sub>指叶片自然鲜质量;W<sub>t</sub>指叶片被水分饱和后的质量;W<sub>d</sub>指叶片恒干质量;以OLABO型电子天平(0.000 1 g)称质量;每处理3次重复,每样取2枚完整叶片。

1.2.6 叶片丙二醛(MDA)含量 参照林植芳等<sup>[37]</sup>的方法测定,与碳同化关键酶活性及WSD的测定同时取样。

### 1.3 数据处理

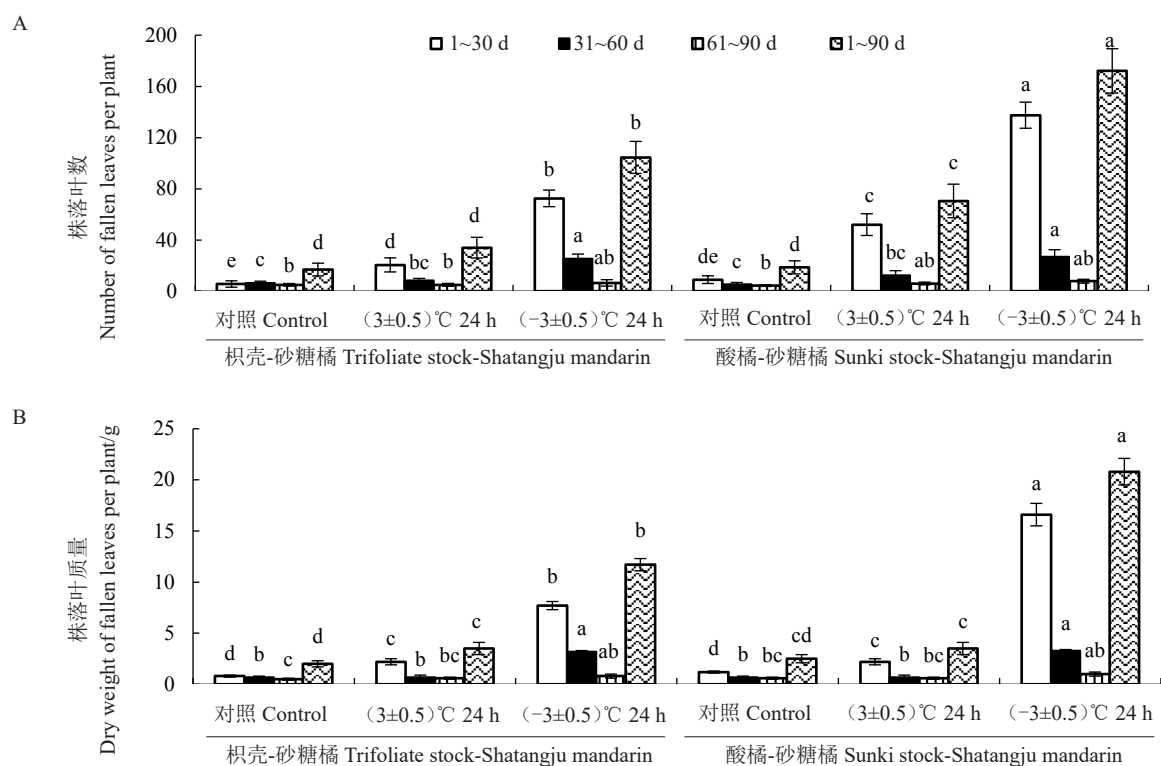
采用 Microsoft Excel 2010 和 SPSS 18.0 进行数据统计分析和作图。实验中所获得的所有数据均以(平均数±标准差)表示,各处理平均数间的差异显

著性用 Duncan's 多重比较法检验。同一指标的数值,其后标记的小写字母不相同,表示它们之间的差异显著( $p < 0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 砧木对低温胁迫后砂糖橘幼树落叶量的影响

逐渐降温至(3±0.5)℃、(-3±0.5)℃后胁迫24 h,结束时2种砧-穗组合的砂糖橘植株叶片未出现叶缘卷曲、叶面呈水渍状等明显受害症状,但在其后的48 h内所有植株均表现为叶片萎蔫,7 d后开始落叶,落叶最多的时期是胁迫后30 d内,持续至61~90 d时均与对照无显著差异。由图1-A可见,2种组合的对照植株,落叶数量(片·株<sup>-1</sup>)在实验的3个时期之间均无显著差异;低温胁迫温度对植株落叶数量的影响程度明显与砧木种类有关:(3±0.5)℃胁迫24 h,枳壳-砂糖橘植株在1~30 d、31~60 d、61~90 d的落叶量分别较同期对照增大264.3%、34.9%、2.0%,但均与各自对照均未达显著差异水平,而酸橘-砂糖橘植株的落叶量分别较其同期对照增大478.9%、



不同小写字母表示差异显著( $p < 0.05$ )。下同。

Different small letters mean significant difference at  $p < 0.05$ . The same below.

图 1 砧木种类对低温胁迫后砂糖橘幼树落叶量的影响

Fig. 1 The effect of rootstock species on the number and dry weight of fallen leaves of Shatangju mandarin saplings suffered low temperature stress

135.8%、39.5%,其中1~30 d的落叶量与对照达显著差异水平。 $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的影响,落叶量不仅表现在砧-穗组合差异上,也扩大到胁迫后不同时期:枳壳-砂糖橘植株在1~30 d、31~60 d的落叶量分别较同期对照增大1194.6%、304.8%,较同期 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的增大255.4%、200.0%,差异均达显著水平;酸橘-砂糖橘植株的落叶量分别较其同期对照增大1427.8%、405.7%,较同期 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的增大164.4%、114.4%,差异同样达显著水平,且显著大于枳壳-砂糖橘植株的相应数值。

在整个90 d内的落叶数量,2种组合之间、2种低温温度之间差异更大,均达显著水平,其中:枳壳-砂糖橘植株, $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量较其对照增大101.2%, $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量较对照增大518.3%、较 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量增大207.4%;酸橘-砂糖橘植株, $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量较对照增大279.0%, $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量较对照增大825.3%、较 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫24 h的落叶数量增大244.1%。落叶量差异性以落叶干质量( $g\cdot株^{-1}$ )为指标统计的结果与以落叶数量为指标统计的结果基本一致,但增大幅度在 $(3\pm 0.5)$  °C低温胁迫下较小、在 $(-3\pm 0.5)$  °C低温胁迫下更大(图1-B),总体上落叶数量的差异性较落叶质量更精准。结果表明,起源于南亚热带地区的砂糖橘抗寒性都比较弱,持续24 h的3 °C低温即可造成显著危害;砧木种类对其抗寒性有显著影响:以枳壳嫁接的植株抗寒性显著强于以酸橘为砧木嫁接的植株。

## 2.2 砧木对低温胁迫后砂糖橘幼树生长量和生物量的影响

2种砧-穗组合的3年生砂糖橘植株,对照(未低温胁迫)之间株高、地径、冠幅均无显著性差异,无论枳壳或酸橘砧木对这3项生长量指标的影响均不显著,但总体上以枳壳砧植株较酸橘砧植株强壮,前者这3项指标的值依次分别比后者大4.1%、9.1%、7.9%(图2)。 $(3\pm 0.5)$  °C、 $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫后,90 d时的调查测定结果表明,2种砧-穗组合砂糖橘植株的株高、地径、冠幅生长均受到抑制,胁迫温度越低抑制程度越大,且以酸橘砧植株受抑制程度最大: $(3\pm 0.5)$  °C低温胁迫后,2种砧木的植株3项生长量指标的值均与对照差异不显著,枳壳砧植株的值依次分别较对照降低6.0%、5.2%、3.8%,酸橘砧植株的值依

次分别较对照降低6.3%、9.1%、12.6%; $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫后,2种砧木的植株株高和地径的值均与对照差异显著、冠幅的值与对照差异不显著,枳壳砧植株3项生长量指标的值依次分别较对照降低13.5%、11.3%、13.8%,酸橘砧植株依次分别较对照降低15.7%、12.3%、21.0%,酸橘砧植株的降低幅度较枳壳砧植株分别大16.3%、8.8%、52.2%;以 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫后的3项指标为对照, $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫后枳壳砧植株的值依次分别降低7.9%、6.3%、12.6%,酸橘砧植株依次分别降低10.0%、12.4%、14.5%,酸橘砧植株的降低幅度较枳壳砧植株分别大26.6%、96.8%、15.1%(图2-A)。

2种组合砂糖橘对照植株,根、茎和全株生物量无显著差异,其中酸橘砧植株相应指标的值较枳壳砧植株分别小6.7%、8.2%、26.5%,但叶生物量酸橘砧植株较枳壳砧植株大18.8%,差异显著; $(3\pm 0.5)$  °C、 $(-3\pm 0.5)$  °C低温胁迫后90 d,2种砧-穗组合砂糖橘植株根、茎、叶及全株生物量均减小,胁迫温度越低减小幅度越大,且同样以酸橘砧植株减小幅度最大: $(3\pm 0.5)$  °C低温胁迫后90 d,枳壳砧植株根、茎及全株生物量均与对照无显著差异,减小幅度分别为9.5%、11.1%、11.6%,但叶生物量较对照减小16.2%、达显著差异水平,酸橘砧植株根生物量较对照减小18.2%,无显著差异,但茎、叶及全株生物量均与显著小于对照,减小幅度分别为26.8%、23.9%、23.0%; $(-3\pm 0.5)$  °C低温胁迫后90 d,酸橘砧组合的植株根、茎、叶及全株生物量均较其对照显著减小,其减小幅度分别为29.4%、37.3%、44.5%、36.4%,但枳壳砧植株根生物量较对照减小14.9%、未达显著差异水平,茎、叶及全株生物量显著小于对照,减小幅度分别为29.3%、33.4%、25.0%,3种器官及全株生物量减小幅度分别较枳壳砧植株大97.3%、27.3%、11.7%、45.6%;以 $(3\pm 0.5)$  °C胁迫后的生物量指标为对照, $(-3\pm 0.5)$  °C胁迫后2种组合的植株根、茎及全株生物量之间均无显著差异,但叶生物量均进一步显著减小,减小幅度枳壳砧植株为20.5%、酸橘砧植株为27.2%(图2-B)。结果进一步表明,砂糖橘抗寒性较弱,砧木种类对砂糖橘植株抗寒性影响显著,枳壳砧植株抗寒性显著强于酸橘砧植株。

## 2.3 砧木对低温胁迫后砂糖橘幼树叶片光合生理的影响

### 2.3.1 叶片叶绿素含量

从7月底到10月底,正常

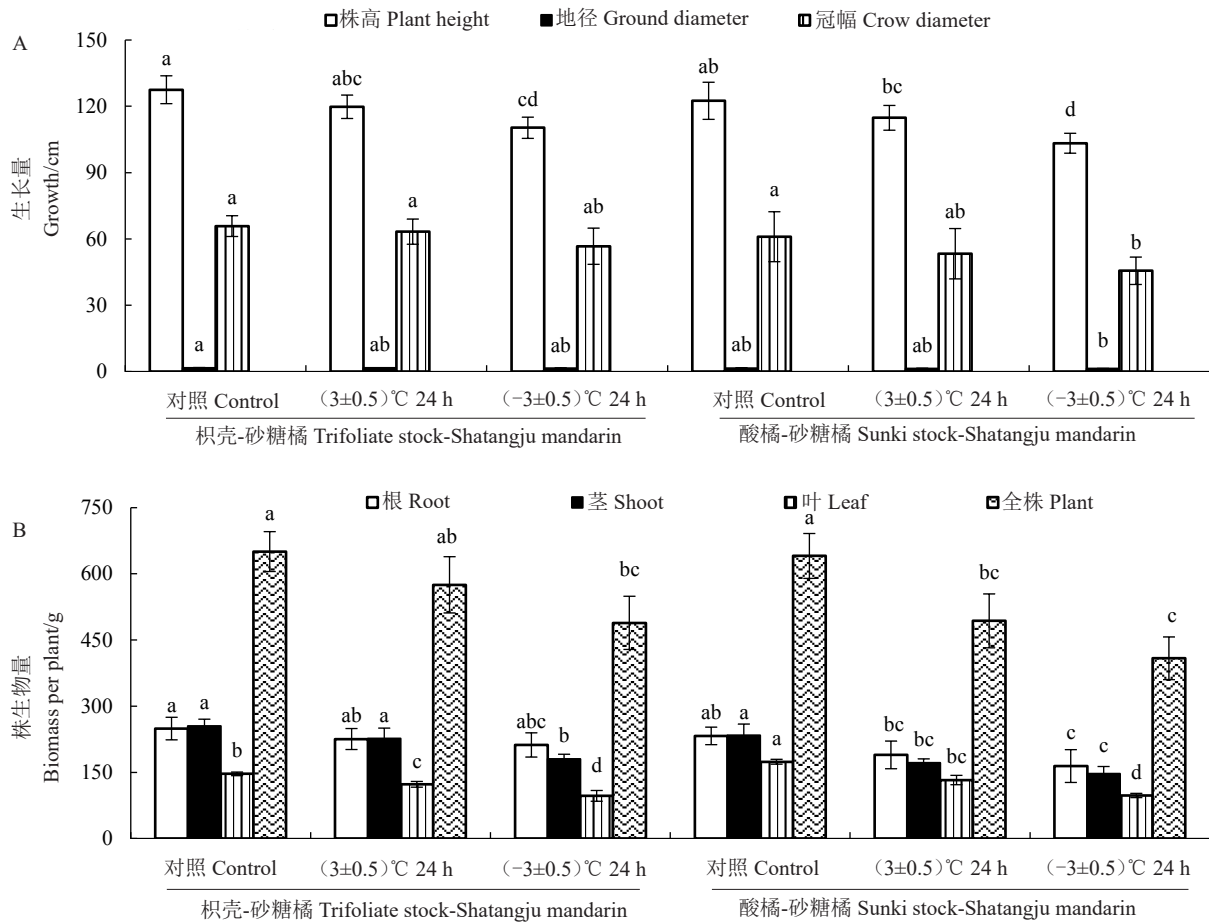


图 2 砧木种类对低温胁迫 90 d 后砂糖橘幼树生长量和生物量的影响

Fig. 2 The effects of rootstock species on the growth and biomass of Shatangju mandarin saplings suffered low temperature stress

生长的砂糖橘植株叶片叶绿素含量呈现 8 月小幅升高然后小幅降低的季节响应特点；酸橘砧植株叶片叶绿素含量略高于枳壳砧植株，但 2 种砧-穗组合间及处理前后的 4 个时期均无显著性差异；低温胁迫均显著降低 2 种组合的植株的叶片叶绿素含量，低温越低叶绿素含量降低幅度越大，但枳壳砧植株的降低幅度明显小于酸橘砧植株；降低幅度最大时期在低温胁迫后 30 d，此后明显恢复，在胁迫后 90 d 仍趋向恢复，但酸橘砧植株恢复速度明显较枳壳砧植株的小(图 3-A)。由图 3-A 可见，(3±0.5) °C 低温胁迫后 30、60、90 d，枳壳砧植株叶绿素含量分别较同期对照降低 24.2%、16.2%、11.2%，酸橘砧植株叶绿素含量则分别较同期对照分别降低 38.7%、31.1%、22.5%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 60.3%、92.0%、101.1%；(-3±0.5) °C 低温胁迫后 30、60、90 d，枳壳砧植株叶绿素含量分别较同期对照降低 56.1%、39.4%、34.7%，酸橘砧植株叶绿素

含量则分别较同期对照分别降低 63.4%、49.9%、44.1%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 13.0%、26.6%、27.0%。

2.3.2 叶片气体交换参数 砂糖橘对照植株叶片光合速率季节变化特点及因胁迫温度和砧木种类不同而产生的差异同叶片叶绿素含量指标的相似：光合速率在 8 月小幅升高，然后逐渐降低，酸橘砧植株叶片光合速率略高于枳壳砧植株，不同时期及组合间无显著差异；低温胁迫导致光合速率显著降低，同一时期不同低温胁迫间以及与对照之间均呈显著差异，但以胁迫后 30 d 的降低幅度最大，之后逐渐恢复；枳壳砧植株恢复速度明显快于酸橘砧植株(图 3-B)。由图 3-B 可见，(3±0.5) °C 低温胁迫后 30、60、90 d，枳壳砧植株光合速率分别较同期对照降低 27.5%、21.3%、11.9%，酸橘砧植株光合速率则分别较同期对照降低 31.2%、20.0%、19.8%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 13.3%、6.3%、65.8%；

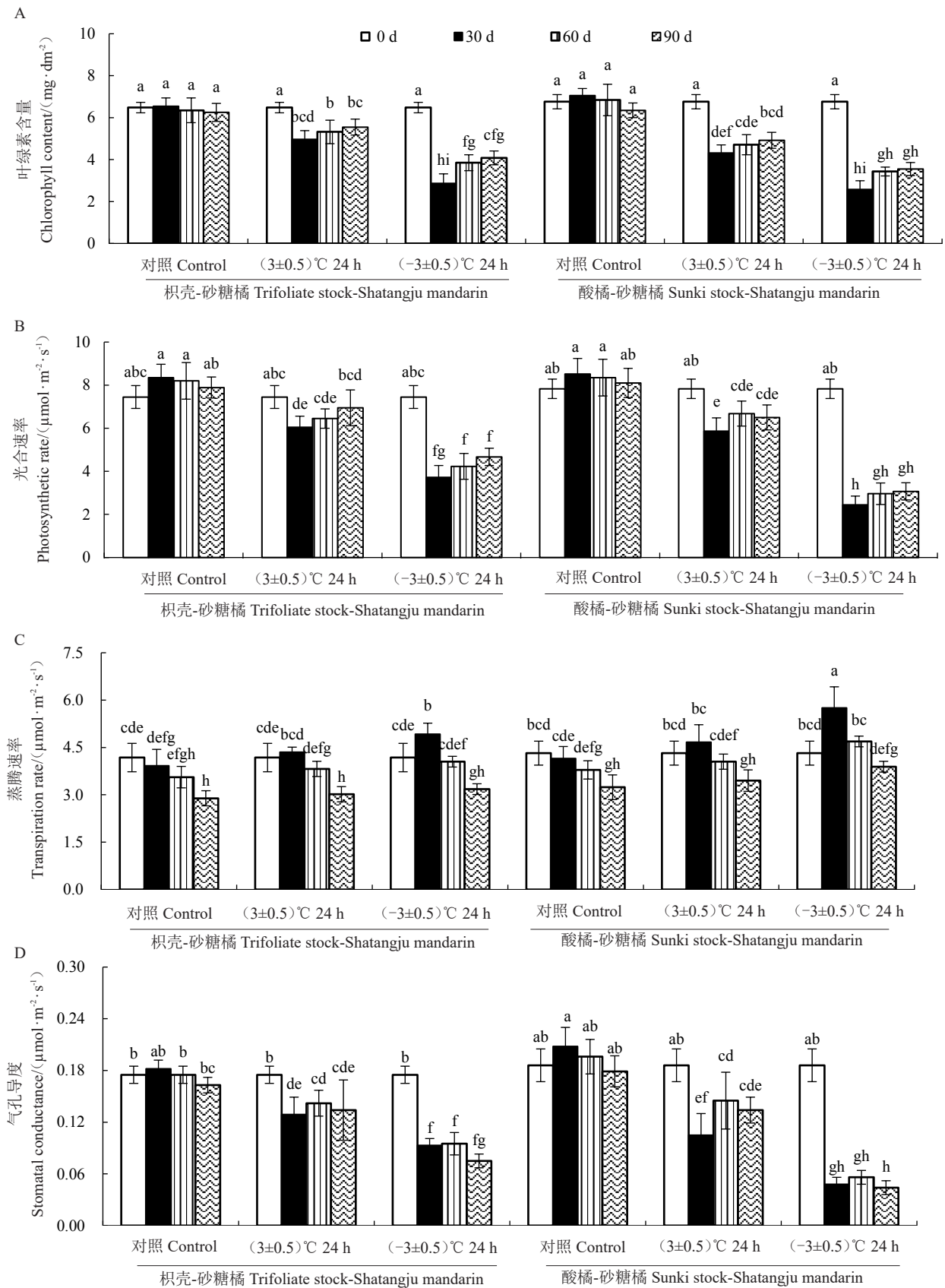


图3 砧木种类对低温胁迫后砂糖橘幼树叶片叶绿素含量和气体交换参数的影响

Fig. 3 The effect of rootstock species on the chlorophyll content and gas exchange parameters of Shatangju mandarin saplings suffered low temperature stress



( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株光合速率分别较同期对照降低55.4%、48.4%、40.8%, 酸橘砧植株光合速率则分别较同期对照分别降低达71.2%、64.6%、62.1%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大28.5%、33.3%、52.2%。

从7月底到10月底, 砂糖橘对照植株叶片蒸腾速率季节变化呈降低趋势, 至90 d时显著低于对照, 2种组合的植株间无显著差异; 低温胁迫显著扰乱砂糖橘植株蒸腾作用, 叶片蒸腾速率在胁迫后的30 d明显升高, 此后虽然降低但仍明显高于同期对照; 低温胁迫温度越低蒸腾速率升幅越大, 酸橘砧植株变化幅度大于枳壳砧植株(图3-C)。计算分析表明, ( $3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株蒸腾速率分别较同期对照升高11.0%、7.3%、4.5%, 酸橘砧植株蒸腾速率则分别较同期对照升高12.5%、6.9%、6.5%, 酸橘砧植株升高幅度较枳壳砧植株分别大14.2%、6.1%、44.1%; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株蒸腾速率分别较同期对照高25.5%、13.8%、10.0%, 酸橘砧植株蒸腾速率则分别较同期对照分别升高达38.6%、23.7%、20.1%, 酸橘砧植株升高幅度较枳壳砧植株分别大51.1%、72.5%、99.9%(图3-C)。

相较于7月底的数值, 8月底的砂糖橘对照植株叶片气孔导度升高, 此后降低, 但在2种组合间及胁迫前后的4个时期里均无显著差异; 低温胁迫显著扰乱砂糖橘叶片气孔调节作用, 气孔导度在胁迫后的30 d显著降低, 此后虽然升高但明显低于同期对照; 低温胁迫温度越低气孔导度变化幅度越大, 酸橘砧植株变化幅度大于枳壳砧植株(图3-D)。计算分析表明, ( $3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株气孔导度分别较同期对照降低29.1%、18.9%、17.8%, 酸橘砧植株气孔导度则分别较同期对照降低49.5%、26.0%、25.1%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大70.1%、37.6%、41.0%; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株气孔导度分别较同期对照降低48.9%、33.1%、54.0%, 酸橘砧植株气孔导度则分别较同期对照分别降低达76.9%、71.4%、75.4%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大57.3%、115.7%、39.6%(图3-D)。

**2.3.3 碳同化关键酶活性** 7月底至10月底, 砂糖橘植株叶片碳同化中RuBP羧化酶(Rubisco)、果糖-1,6-二磷酸酶(FBP)、果糖-1,6-二磷酸醛缩酶(Ald)

及磷酸烯醇式丙酮酸羧化酶(PEPC)等4种关键酶的活性均呈微幅升高趋势, 至10月底时Ald的活性甚至显著高于7月底; 低温胁迫后, 砂糖橘2种砧木植株的这4种碳同化关键酶活性均较同期对照显著降低, 均表现为胁迫后30 d时下降幅度最大、此后呈逐渐升高的态势, 恢复程度及进程与低温胁迫温度和砧木种类密切相关; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后至多恢复至同期对照活性的1/3水平, 枳壳砧植株恢复程度显著强于酸橘砧植株, 对酸橘砧植株叶片碳同化关键酶活性的影响尤为显著(图4)。

如图4-A所示, ( $3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株Rubisco活性分别较同期对照降低25.0%、17.8%、9.7%, 酸橘砧植株Rubisco则分别较同期对照降低50.7%、40.8%、30.5%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大102.7%、128.9%、216.3%; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株Rubisco分别较同期对照降低63.2%、56.0%、45.5%, 酸橘砧植株Rubisco则分别较同期对照分别降低81.3%、74.2%、68.1%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大28.6%、33.4%、49.9%。总体看, 除枳壳砧植株Rubisco活性在低温胁迫后90 d与同期对照无显著性差异外, 其余值均与相应对照差异显著, 表明砂糖橘叶片Rubisco活性对低温胁迫相当敏感。

如图4-B所示, ( $3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株FBP活性分别较同期对照降低23.0%、16.0%、10.9%, 酸橘砧植株FBP则分别较同期对照降低33.1%、22.1%、15.9%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大43.7%、37.7%、46.7%; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株FBP分别较同期对照降低41.8%、36.5%、33.0%, 酸橘砧植株FBP则分别较同期对照分别降低达62.4%、59.0%、50.2%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大49.0%、62.0%、52.6%。总体看, 砂糖橘叶片FBP活性对低温胁迫较Rubisco更敏感, 酸橘砧植株较枳壳砧植株受低温胁迫的影响更大。

如图4-C所示, ( $3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧植株Ald活性分别较同期对照降低29.9%、23.7%、10.1%, 酸橘砧植株Ald活性则分别较同期对照降低43.2%、35.3%、27.1%, 酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大44.4%、48.7%、165.8%; ( $-3\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 低温胁迫后30、60、90 d, 枳壳砧

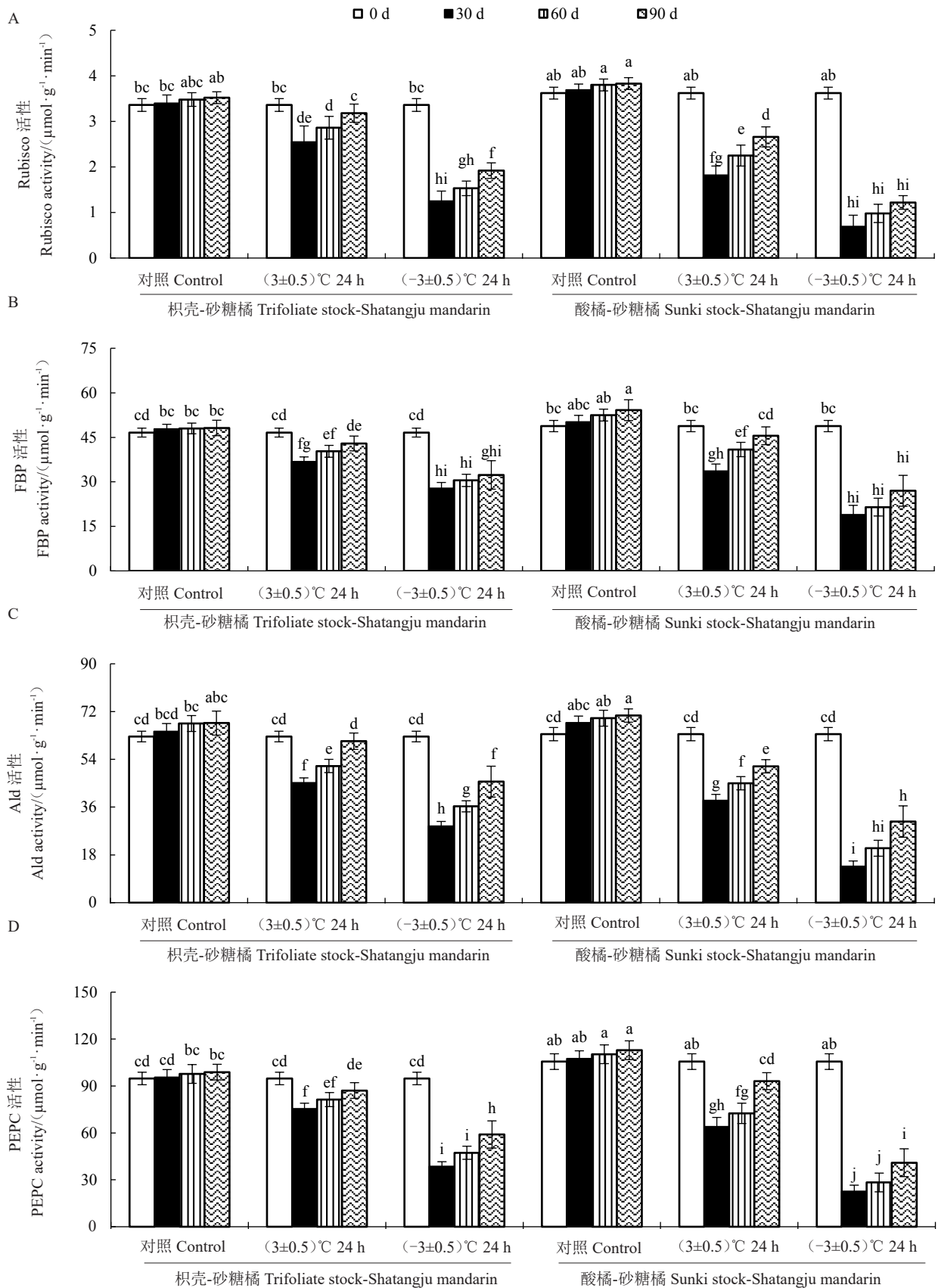


图4 砧木种类对低温胁迫后砂糖橘幼树叶片碳同化关键酶活性的影响

Fig. 4 The effect of rootstock species on the activities of leaf key carbon assimilation enzymes of Shatangju mandarin saplings suffered low temperature stress

植株 Ald 分别较同期对照降低 55.3%、46.2%、32.6%，酸橘砧植株 Ald 则分别较同期对照分别降低 79.8%、70.5%、56.7%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 44.4%、52.5%、73.8%。结果表明，2 种砧木组合的植株胁迫后 Ald 活性均与各自对照差异显著，Ald 活性对低温胁迫同样敏感。

如图 4-D 所示， $(3\pm 0.5)$  °C 低温胁迫后 30、60、90 d，2 种砧木砂糖橘植株叶片 PEPC 活性均较同期对照降低，其中枳壳砧植株 PEPC 活性分别较同期对照降低 20.9%、16.8%、11.9%，酸橘砧植株 PEPC 则分别较同期对照降低 40.6%、34.3%、17.5%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 93.7%、104.2%、47.2%； $(-3\pm 0.5)$  °C 低温胁迫后 30、60、90 d，枳壳砧植株 PEPC 分别较同期对照降低 59.6%、51.6%、40.3%，酸橘砧植株 PEPC 则较同期对照分别降低 79.0%、74.3%、63.7%，酸橘砧植株降低幅度较枳壳砧植株分别大 32.6%、44.1%、58.0%。结果表明，砂糖橘叶片 PEPC 活性对低温胁迫响应敏感，低温胁迫对酸橘砧砂糖橘叶片 PEPC 活性的抑制明显更大。

#### 2.4 砧木对低温胁迫后砂糖橘幼树叶水分状况和 MDA 含量的影响

水分饱和亏(WSD)是植物体内水分状况最重要的指标，MDA 含量是膜脂过氧化作用标志性指标。从7月底到10月底，砂糖橘对照植株叶片 WSD 和 MDA 含量随季节变化均逐渐降低，但 2 种砧木的植株间以及不同时期均无显著差异；相反，低温胁迫导致砂糖橘植株 WSD 显著加重、MDA 含量显著升高，枳壳砧植株受影响显著小于酸橘砧植株，结果进一步表明枳壳砧砂糖橘植株抗寒性强于酸橘砧砂糖橘植株(图 5)。

如图 5-A 所示， $(3\pm 0.5)$  °C 低温胁迫后 30、60、90 d，2 种砧木砂糖橘植株叶片 WSD 均较同期对照增大，其中枳壳砧植株 WSD 分别较同期对照增大 86.6%、46.2%、40.0%，酸橘砧植株 WSD 则分别较同期对照增大 93.8%、64.8%、51.2%，酸橘砧植株增大幅度较枳壳砧植株分别大 8.3%、40.3%、28.0%； $(-3\pm 0.5)$  °C 低温胁迫后 30、60、90 d，枳壳砧植株 WSD 分别较同期对照增大 165.9%、107.7%、65.3%，酸橘砧植株 WSD 则较同期对照分别增大 215.5%、159.1%、97.6%，酸橘砧植株增大幅度较枳壳砧植株分别大 29.9%、47.7%、49.3%。

如图 5-B 所示， $(3\pm 0.5)$  °C 低温胁迫后 30、60、

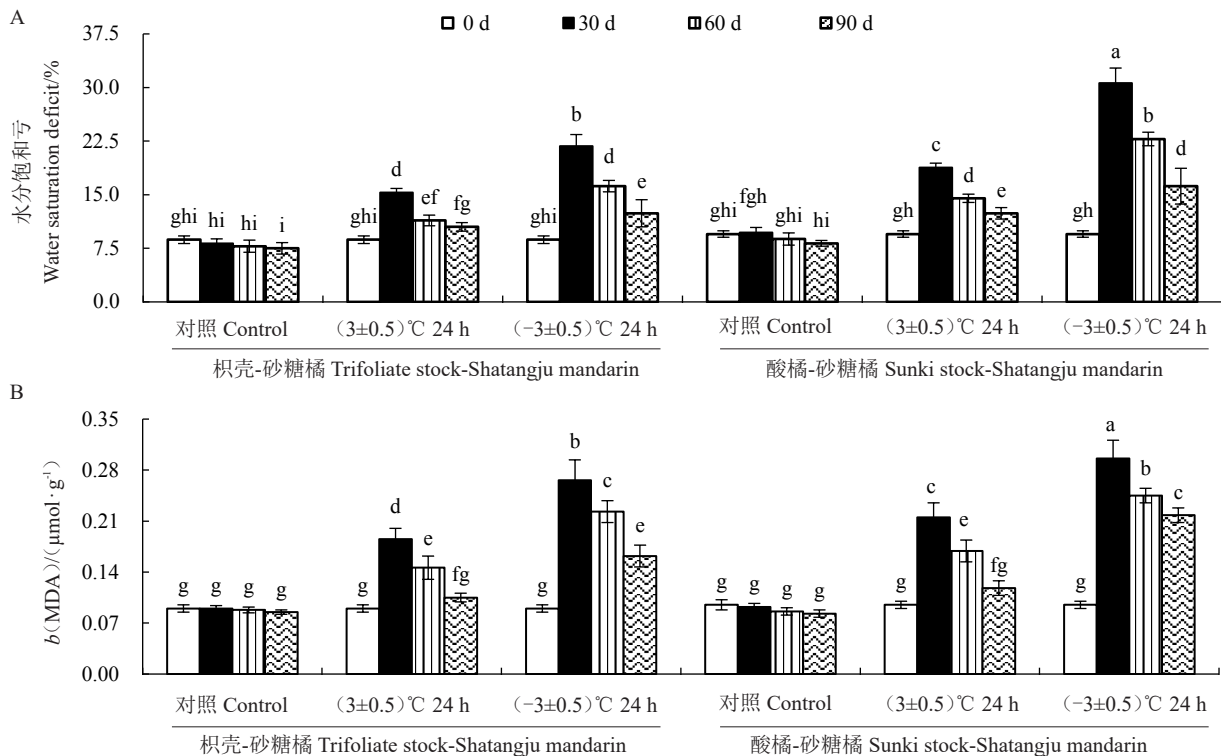


图 5 砧木种类对低温胁迫后砂糖橘叶片水分状况和 MDA 含量的影响

Fig. 5 The effects of rootstock species on leaf water status and MDA contents of Shatangju mandarin saplings suffered low temperature stress

90 d, 2种砧木砂糖橘植株叶片MDA含量均较同期对照升高,其中枳壳砧植株MDA含量分别较同期对照升高105.6%、65.9%、23.5%,酸橘砧植株MDA含量则分别较同期对照升高133.7%、96.5%、42.2%,酸橘砧植株升高幅度较枳壳砧植株分别大26.7%、46.4%、79.2%;(-3±0.5)℃低温胁迫后30、60、90 d,枳壳砧植株MDA含量分别较同期对照升高195.6%、153.4%、90.6%,酸橘砧植株MDA含量则分别较同期对照分别升高达221.7%、184.8%、162.7%,酸橘砧植株升高幅度较枳壳砧植株分别大13.4%、20.5%、79.5%。

### 3 讨论

嫁接是世界上一项古老而又有无穷生命力的植物繁殖技术,在农林业的诸多方面都有不可替代的价值。中国是全世界公认的最早发明嫁接技术的国家。利用嫁接的最初目的是进行植物的营养繁殖,充分发挥栽培品种优良特性,现代嫁接技术主要用来改良植物性状。利用嫁接产生的可遗传变异目前是国内外植物生物学的研究热点之一<sup>[38-40]</sup>。钱学森<sup>[41]</sup>认为:剪枝整形和嫁接技术在农业、林业中大有前途,开发一门技术性科学——“植物嫁接改造学”,它的作用决不亚于基因工程学。商业化栽培的柑橘苗木几乎悉数通过嫁接繁育,砧木是其繁育中的最基本元素。本文对广东肇庆2种主要砧木的砂糖橘幼树的试验结果清楚表明,砧木种类对品种抗寒性有重大影响:以枳壳为砧木的砂糖橘植株抗寒性显著强于以酸橘为砧木的植株。

砧木种类对砂糖橘植株抗寒性的影响,主要表现在落叶量、株高生长以及地上部生物量特别是叶生物量指标的差异,这些指标可作为抗寒性鉴评的关键性生物学指标。以往的大量研究认为,生长状况是植物对逆境胁迫响应的综合表现,特别是新梢生长对胁迫非常敏感<sup>[42-44]</sup>。低温胁迫导致包括柑橘在内的果树落花落果的研究多,但关于叶片脱落鲜有报道<sup>[45-47]</sup>。本文的试验研究表明,砂糖橘叶片对低温胁迫的响应远较新梢生长敏感,落叶导致的叶生物量虽然能在后期植株恢复生长中得到一定程度抵消,但因此而使整个植株生长受抑制的趋势较难改变。枳壳砧砂糖橘植株因低温胁迫而导致的落叶量和生长抑制显著轻于酸橘砧砂糖橘植株,而(3±0.5)℃低温胁迫对其植株生长和生物量积累基本不

产生显著抑制或伤害,这一性状和发现对砂糖橘经济栽培具有非常重要的利用价值和潜在意义,当地砂糖橘规范化栽培应充分吸收此一进展。

基于本文的研究内容,枳壳砧砂糖橘植株抗寒性显著强于酸橘砧植株的一个重要作用机制应在于低温胁迫后仍能保持较强的光合作用。低温胁迫后,枳壳砧砂糖橘植株落叶显著较轻、生长发育明显较好,这是其仍能保持良好光合作用的生理基础。低温冷害可导致植物许多生理过程的紊乱<sup>[48]</sup>,而光合作用是植物受低温冷害影响最明显的生理过程之一<sup>[49]</sup>。低温胁迫对植物光合作用的影响首先是由于低温直接影响叶绿素合成、光合器官的结构与功能,同时也影响植物的其他生理过程,从而间接抑制光合作用,引起水分胁迫、气孔对CO<sub>2</sub>扩散阻力增大、光合产物运输受阻等。低温胁迫下,植物叶绿素降解、光合速率下降、蒸腾作用加强、气孔导度减小、光合水分利用效率降低<sup>[50-52]</sup>。本研究结果与此一致,但即使是低温胁迫后90 d,低温胁迫对砂糖橘叶片光合作用的影响仍很显著。这可能是由于低温胁迫对砂糖橘叶片叶绿体结构破坏,造成叶片光合器官损伤、光合色素降解或合成能力不足所致,但枳壳砧植株所受抑制显然轻得多或基本不受影响,暗示枳壳较酸橘明显有利于保护低温胁迫下砂糖橘光合器官结构的完整性、功能的稳定性。

枳壳砧砂糖橘植株抗寒性显著强于酸橘砧植株,应该与其低温胁迫后光合作用关键酶能够保持更高活性有密切关系。光合作用是植物产量形成的基础。柑橘类植物均属C<sub>3</sub>植物,碳同化关键酶有Rubisco、PEPC、FBP和Ald。有研究表明,Rubisco含量和活性对光合作用中叶肉导度限制起主导作用,在低温胁迫下其活性降低程度与光合效率降低呈正相关;FBP催化水解果糖-1,6-二磷酸,活性强弱直接影响碳水化合物累积和光合效率;Ald催化卡尔文循环中三碳化合物转化为六碳化合物,是碳同化过程中重要的限速酶<sup>[53-54]</sup>。在本文的研究中,2种砧-穗组合的柑橘植株经受(3±0.5)℃、(-3±0.5)℃低温胁迫24 h后在温室中恢复90 d,无论Rubisco、PEPC、FBP或Ald,酶活性降低幅度均以酸橘砧植株最大、枳壳砧植株明显较小,与叶片叶绿素含量和气体交换参数的变化趋势完全一致,表明枳壳砧较酸橘砧能增强砂糖橘叶片CO<sub>2</sub>固定能力和同化效率,有利于同化力(NADPH和ATP)积累和糖酵解代

谢,增强光能利用率,缓解产物反馈抑制,加速卡尔文循环运转。

枳壳砧砂糖橘植株抗寒性明显强于酸橘砧植株,与它们能保护相对较好的水分状况和抗膜脂过氧化作用有关。低温对于植物的危害,轻则失水萎蔫,重则干枯死亡,这是自然界的普遍现象,其中一个很重要原因在于植物体水分亏缺和膜脂过氧化作用<sup>[55]</sup>。体内水分亏缺有其独立性,但与膜脂过氧化作用又紧密相关,而后者则几乎可对植物整个生命活动产生重要影响,如对蛋白质的破坏、膜系统的损伤及细胞程序性死亡、对光合作用效率的抑制等。有不少研究报道了低温胁迫对果树膜脂过氧化作用的影响<sup>[56-58]</sup>,但对水分亏缺鲜有测试分析。本文的结果进一步表明,低温胁迫导致2种砧木的砂糖橘植株叶片WSD显著加重、MDA含量显著升高,低温越低胁迫越大,砧木种类对砂糖橘植株抗寒性具深刻影响。

砧木和接穗之间的相互关系、作用机制很复杂,基本特性是相互依赖、相互制约,其中砧木对接穗的影响是相互关系中居主导地位,主要体现在对营养物质的吸收、同化和运输与内源激素和生物活性物质的代谢两方面。以枳壳为砧木的砂糖橘植株抗寒性明显强于以酸橘为砧木的植株,应该有着深刻的内在机制。基于笔者目前的研究,除前文所述,还有两方面原因:一是枳壳砧砂糖橘植株根系较发达、毛细根多,暗示其对矿质营养吸收能力强;二是砧木种类对砂糖橘叶形塑造有重要影响,酸橘砧对砂糖橘叶片形态影响较小,叶形和质量参数未发生较大变化,而枳壳砧对砂糖橘叶片参数影响较大,叶片明显较厚、较重,作者将另文报道解剖学、生化和分子生物学方面的测试分析结果。

砧木无疑在砂糖橘植株抗寒性及其表达中起重要作用,然而,由于测试对象为盆栽植株且相对高大,对于不同砧穗组合的半致死温度(LT<sub>50</sub>)这一常用指标本文未能作出预测。目前,包括柑橘在内的植物抗寒生理研究中抗寒性测试方法的报道较少,但鉴定方法已形成一定特色<sup>[59-60]</sup>,主要有露地栽培鉴定法、寒冻灾害调查法、人工模拟寒冻天气法以及建立数学模型预测法,测试方法则主要有植物生长状况测试法、冻害指数调查法、电解质渗出率法、生物电阻抗图谱法等,基于蛋白组、基因组、代谢组的组学技术是抗寒性鉴定和抗寒生理研究的重要方向,

综合应用抗寒性鉴定与测试方法是相关研究的重要注意事项。不同砧穗组合砂糖橘的抗寒特性及其机制,作者将进一步探究。

## 4 结 论

对2种主要砧木嫁接繁育的3年生砂糖橘树的研究结果表明,无论从落叶量、生长量和生物量,还是叶片叶绿素含量、气体交换参数、碳同化关键酶活性,或是从叶片水分亏缺和膜脂过氧化状况评判,枳壳砧砂糖橘植株抗寒性均显著强于酸橘砧砂糖橘植株,育苗实践中应克服不便、主要培育枳壳砧嫁接苗。枳壳砧砂糖橘植株抗寒性明显强于酸橘砧植株的机制主要是:枳壳砧植株落叶较轻,根系较发达,叶片较厚重,光合效率较高,抗脱水 and 过氧化能力强。

## 参考文献 References:

- [1] BARRETT H C, RHODES A M. A numerical taxonomic study of affinity relationships in cultivated *Citrus* and its close relatives[J]. *Systematic Botany*, 1973, 1: 105-136.
- [2] 周开隆,沈廷厚,李学柱,蒋元晖,黄良炉,叶萌民,周承禹,王代武. 柑橘[M]//中国农业科学院. 中国果树栽培学. 北京:农业出版社,1987:865-951.  
ZHOU Kailong, SHEN Tinghou, LI Xuezhu, JIANG Yuanhui, HUANG Lianglu, YE Mengmin, ZHOU Chengyu, WANG Daiwu. *Citrus*[M]//Chinese Academy of Agricultural Sciences. Chinese Fruit Cultivation. Beijing: Agricultural Press, 1987: 865-951.
- [3] 马文涛,樊卫国. 贵州野生柑橘的抗寒性测定和综合评价[J]. 西北植物学报, 2014, 34(10):2063-2069.  
MA Wentao, FAN Weiguo. Determination and comprehensive evaluation on cold tolerance of wild citrus from Guizhou[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2014, 34(10): 2063-2069.
- [4] 陈文荣,叶杰君,李永强,张真真,曹诣斌,郭卫东. 佛手低温胁迫相关基因的差异表达[J]. 生态学报, 2013, 33(5): 1594-1606.  
CHEN Wenrong, YE Jiejun, LI Yongqiang, ZHANG Zhenzhen, CAO Yibin, GUO Weidong. Analysis of cold-regulated gene expression of the Fingered Citron (*Citrus medica* L. var. *sarcodactylis* Swingle) [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2013, 33(5): 1594-1606.
- [5] 刘绍俊,牛英,陈国平,刘冰浩,刘萍,范七君. 电导法配合 Logistic 方程测定柑桔品种幼树抗寒性的研究[J]. 中国南方果树, 2014, 43(2):57-59.  
LIU Shaojun, NIU Ying, CHEN Guoping, LIU Binghao, LIU Ping, FAN Qijun. Study on conductivity method combined with logistic equation to determine the cold resistance of citrus saplings [J]. *South China Fruits*, 2014, 43(2):57-59.
- [6] 何利刚,蒋迎春,吴黎明,全铸,王志静,许淼,孙中海. 几种柑

- 橘资源的抗寒性测定及初步评价[J]. 农业科技通讯, 2015(5): 176-178.
- HE Ligang, JIANG Yingchun, WU Liming, TONG Zhu, WANG Zhijing, XU Miao, SUN Zhonghai. Determination and preliminary evaluation of cold resistance of several citrus resources [J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2015(5): 176-178.
- [7] 罗君琴,王平,柯甫志,聂振朋,徐建国. 香酸类柑橘种质耐寒力比较研究[J]. 浙江柑橘, 2018, 35(4): 14-17.
- LUO Junqin, WANG Ping, KE Fuzhi, NIE Zhenpeng, XU Jianguo. Comparative study on cold tolerance of citrus germplasm [J]. Zhejiang Ganju, 2018, 35(4): 14-17.
- [8] 林绍生,刘冬峰,宋洋,郭秀珠,李发勇,黄品湖,徐文荣. 柑橘不同品种、类型抗寒性差异研究[J]. 农业科技通讯, 2019(3): 127-130.
- LIN Shaosheng, LIU Dongfeng, SONG Yang, GUO Xiuzhu, LI Fayong, HUANG Pinhu, XU Wenrong. Study on differences in cold resistance of different citrus varieties and types[J]. Bulletin of Agricultural Science and Technology, 2019(3): 127-130.
- [9] 侯茹平,陈小兰,蒋景龙,阳妮,孙旺,李丽,吴三桥. 三种柑橘砧木幼苗抗冻性比较[J]. 分子植物育种, 2020, 18(6): 1991-1998.
- HOU Ruping, CHEN Xiaolan, JIANG Jinglong, YANG Ni, SUN Wang, LI Li, WU Sanqiao. Comparison of the frost resistance on three varieties of *Citrus* rootstock seedlings [J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(6): 1991-1998.
- [10] 杨杰,陈蓉,胡文娟,吴巧玲,佟晓楠,李兴涛. 枳 *GRAS* 基因家族鉴定及其对低温胁迫的响应[J]. 植物生理学报, 2021, 58(1): 130-140.
- YANG Jie, CHEN Rong, HU Wenjuan, WU Qiaoling, TONG Xiaonan, LI Xingtao. Genome-wide identification and low-temperature response analysis of *GRAS* gene family in *Poncirus trifoliata* [J]. Plant Physiology Journal, 2021, 58(1): 130-140.
- [11] 华农. 桔树新品种无籽砂糖橘[J]. 广东农业科学, 2006, 32(3): 11.
- HUA Nong. A new citrus variety: Seedless Shatangju[J]. Guangdong Agricultural Science, 2006, 32(3): 11.
- [12] 秦永华,叶自行,胡桂兵,李谷雨,陈杰忠,林顺权. 晚熟柑橘新品种‘华晚无籽砂糖橘’[J]. 园艺学报, 2013, 40(7): 1411-1412.
- QIN Yonghua, YE Zixing, HU Guibing, LI Guyu, CHEN Jiezhong, LIN Shunquan. A new late-ripening citrus variety ‘Huawan Seedless Shatangju’ [J]. Acta Horticultural Sinica, 2013, 40(7): 1411-1412.
- [13] 江东,杨邦模,舒俊元. 砂糖桔早熟新品种‘华葵’的选育[J]. 中国南方果树, 2021, 50(4): 37-38.
- JIANG Dong, YANG Bangmo, SHU Junyuan. Breeding of a new early-maturing variety ‘Huakui’ of Shatangju [J]. South China Fruits, 2021, 50(4): 37-38.
- [14] YE W J, QIN Y H, YE Z X, JAIME A, DA SILVA T, ZHANG L X, WU X Y, LIN S Q, HU G B. Seedless mechanism of a new mandarin cultivar ‘Wuzishatangju’ (*Citrus reticulata* Blanco.)[J]. Plant Science, 2009, 177(1): 19-27.
- [15] 李娟,梁春辉,陈杰忠,刘翔宇,周武,姚青,周碧燕. 锌对砂糖橘果实发育过程细胞壁代谢的影响[J]. 热带作物学报, 2013, 34(10): 1982-1986.
- LI Juan, LIANG Chunhui, CHEN Jiezhong, LIU Xiangyu, ZHOU Wu, YAO Qing, ZHOU Biyan. Effects of Zn<sup>2+</sup> treatments on cell wall metabolism in ‘Shatangju’ mandarin fruits during development and ripening[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2013, 34(10): 1982-1986.
- [16] 李国良,周昌敏,杨苞梅,何兆桓,徐培智,杨少海,姚丽贤,涂仕华. 砂糖橘养分累积分布特性研究[J]. 热带作物学报, 2015, 36(12): 2166-2170.
- LI Guoliang, ZHOU Changmin, YANG Baomei, HE Zhaohuan, XU Peizhi, YANG Shaohai, YAO Lixian, TU Shihua. The accumulation and distribution characteristics of mineral nutrients in ‘Shatangju’ Mandarin[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2015, 36(12): 2166-2170.
- [17] 黄永敏,吴文,曾继吾,陈杰忠,张瑞敏,朱从一. 夏梢生长条件下树干供糖对砂糖橘幼果糖代谢及脱落的影响[J]. 热带作物学报, 2019, 40(8): 1522-1528.
- HUANG Yongjing, WU Wen, ZENG Jiwu, CHEN Jiezhong, ZHANG Ruimin, ZHU Congyi. Effects of trunk injection sucrose on sugar metabolism and abscission of fruitlet in ‘Shatangju’ under summer shoot growth condition[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2019, 40(8): 1522-1528.
- [18] 唐文武,吴秀兰. 砂糖橘 S-腺苷甲硫氨酸脱羧酶基因克隆及表达分析[J]. 南方农业学报, 2020, 51(6): 1369-1376.
- TANG Wengu, WU Xiulan. Cloning and expression analysis of S-adenosylmethionine decarboxylase gene (*CrSAMDC*) in Shatangju[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51(6): 1369-1376.
- [19] 黄宏明,王茜,徐宁,韦宗便,廖惠红. 广西砂糖橘黄龙病亚洲种的 Nested-PCR 检测[J]. 南方农业学报, 2013, 44(12): 1997-2000.
- HUANG Hongming, WANG Qian, XU Ning, WEI Zongbian, LIAO Huihong. Nested-PCR detection for *Candidatus Liberibacter asiaticus* of Shatangju in Guangxi[J]. Journal of Southern Agriculture, 2013, 44(12): 1997-2000.
- [20] 李皓,谢鹏,梁关生,韩群鑫. 亚洲柑橘木虱雌成虫对砂糖橘幼嫩部位的产卵选择性研究[J]. 应用昆虫学报, 2018, 55(4): 608-614.
- LI Hao, XIE Peng, LIANG Guansheng, HAN Qunxin. Preferred oviposition sites of the female of Asian citrus psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Psyllidae) on *Citrus reticulata* cv. Shatangju[J]. Chinese Journal of Applied Entomology, 2018, 55(4): 608-614.
- [21] 郭亨玉,罗小玲,李桃,邓晓玲,郑正. 柑橘黄龙病菌在染病贡柑枝条和果实橘络内的分布规律[J]. 植物病理学报, 2020, 50(5): 543-548.
- GUO Hengyu, LUO Xiaoling, LI Tao, DENG Xiaoling, ZHENG Zheng. Distribution of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in Huanglongbing-affected *Citrus reticulata* Blanco cv. Gongkan branches and the fruit pith [J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2020, 50(5): 543-548.
- [22] 李桃,郑正,邓晓玲. 离体砂糖橘黄龙病病果中病菌浓度变化规律的探究[J]. 植物病理学报, 2021, 51(2): 298-302.
- LI Tao, ZHENG Zheng, DENG Xiaoling. Quantitative analysis of *Candidatus Liberibacter asiaticus* in the excised citrus fruits[J]. Acta Phytopathologica Sinica, 2021, 51(2): 298-302.
- [23] 庞学群,陈燕妮,黄雪梅,汪跃华,胡位荣,张昭其. 冷害导致

- 砂糖橘果实品质劣变[J]. 园艺学报, 2008, 35(4): 509-514.
- PANG Xuequn, CHEN Yanni, HUANG Xuemei, WANG Yuehua, HU Weirong, ZHANG Zhaoqi. Chilling temperature enhances quality reduction in postharvest 'Shatangju' (*Citrus reticulata* Blanco) fruit[J]. Acta Horticultural Sinica, 2008, 35(4): 509-514.
- [24] LI Q, WU F W, LI T T, SU X G, JIANG G X, QU H X, JIANG Y M, DUAN X W. 1-Methylcyclopropene extends the shelf-life of 'Shatangju' mandarin (*Citrus reticulata* Blanco) fruit with attached leaves[J]. Postharvest Biology and Technology, 2012, 67: 92-95.
- [25] 徐呈祥, 郑福庆, 马艳萍, 张少平, 陈小婷, 叶思敏. 贮藏温度对耐贮性不同的柑橘品种果皮蜡质含量及其化学组成的影响[J]. 食品科学, 2021, 42(13): 223-232.
- XU Chengxiang, ZHENG Fuqing, MA Yanping, ZHANG Shaoping, CHEN Xiaoting, YE Simin. Effect of storage temperature on peel wax content and chemical composition of *Citrus* cultivars with different storability[J]. Food Science, 2021, 42(13): 223-232.
- [26] 刘延涛, 樊小林, 郑丽行. 砧木对砂糖橘树体各器官磷素营养水平的影响[J]. 热带作物学报, 2010, 36(6): 945-948.
- LIU Yantao, FAN Xiaolin, ZHENG Lixing. Effects of rootstocks on phosphate nutrition of organs in Shatang Mandarin trees[J]. Journal of Tropical Crops, 2010, 36(6): 945-948.
- [27] 王南南, 樊小林, 王翠琴, 史丹藏, 郑丽行. 不同砧木砂糖橘树体内 Ca 含量的分布特点[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(1): 167-172.
- WANG Nannan, FAN Xiaolin, WANG Cuicui, SHI Danwei, ZHENG Lixing. Concentration of Ca in the tree body of Shatang mandarin on different rootstocks[J]. Journal of Northwest A & F University (Natural Science Edition), 2010, 38(1): 167-172.
- [28] 刘翔宇, 李娟, 黄敏, 梁春辉, 陈杰忠. 柑橘砧木对砂糖橘果实糖积累的影响[J]. 中国农业科学, 2015, 48(11): 2217-2228.
- LIU Xiangyu, LI Juan, HUANG Min, LIANG Chunhui, CHEN Jiezhong. Research on influences of rootstock on sugar accumulation in 'Shatangju' tangerine fruits[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(11): 2217-2228.
- [29] 刘振, 洪励伟, 李娟, 陈杰忠, 罗小燕, 覃燕. 不同柑橘砧木对砂糖橘果实品质的影响[J]. 广东农业科学, 2016, 43(8): 39-44.
- LIU Zhen, HONG Liwei, LI Juan, CHEN Jiezhong, LUO Xiaoyan, QIN Yan. Effects of different rootstocks on fruit quality of 'Shatangju' mandarin [J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2016, 43(8): 39-44.
- [30] LIU X Y, LI J, LIU M M, YAO Q, CHEN J Z. Transcriptome profiling to understand the effect of *Citrus* rootstocks on the growth of 'Shatangju' mandarin[J]. PLoS One, 2017, 12(1): e0169897.
- [31] 刘梦梦, 洪励伟, 李娟, 陈杰忠, 姚青. 不同砧木嫁接的砂糖橘解剖结构及酶活性研究[J]. 热带作物学报, 2018, 39(2): 209-216.
- LIU Mengmeng, HONG Liwei, LI Juan, CHEN Jiezhong, YAO Qing. The anatomical structure and enzyme activity of 'Shatangju' mandarin grafted on different rootstocks [J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2018, 39(2): 209-216.
- [32] 李娟, 贺世雄, 涂攀峰, 潘建军, 高美玲, 吴韞里, 陈杰忠, 徐海权, 姚青. 不同砧木对砂糖橘生长势、光合作用和碳水化合物含量的影响[J/OL]. 热带作物学报: 1-8[2021-06-18]http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1019.S.20210618.1015.002.html.
- LI Juan, HE Shixiong, TU Panfeng, PAN Jianjun, GAO Meiling, WU Yunli, CHEN Jiezhong, XU Haiquan, YAO Qing. Effects of rootstocks on tree growth, photosynthesis and carbohydrate content of 'Shatangju' mandarin[J/OL]. Chinese Journal of Tropical Crops: 1- 8[2021- 06- 18]http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1019.S.20210618.1015.002.html.
- [33] 郭玲霞, 陈鹏, 孙元学, 刘顺, 李菲菲, 陈艳玲, 李先信. 不同中间砧对金秋砂糖橘树体生长及果实品质的影响[J]. 江西农业大学学报, 2021, 43(6): 1278-1286.
- GUO Lingxia, CHEN Peng, SUN Yuanxue, LIU Shun, LI Feifei, CHEN Yanling, LI Xianxin. Effects of different interstocks on tree growth and fruit quality of Jinqiushatangju [J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2021, 43(6): 1278-1286.
- [34] LILLEY R M, WALKER D A. An improved spectrophotometric assay for ribulose-bisphosphate carboxylase [J]. Biochim Biophys Acta, 1974, 358(1): 226-229.
- [35] MUSTROPH A, ALBRECHT G. Tolerance of crop plants to oxygen deficiency stress: Fermentative activity and photosynthetic capacity of entire seedlings under hypoxia and anoxia [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 117(4): 508-520.
- [36] BLANKE M M, EBERT G. Phosphoenolpyruvate carboxylase and carbon economy of apple seedlings[J]. Journal of Experimental Botany, 1992, 43(7): 965-968.
- [37] 林植芳, 李双顺, 林桂珠, 孙谷畴, 郭俊彦. 水稻叶片的衰老与超氧化物歧化酶活性及脂质过氧化作用的关系[J]. 植物学报, 1984, 26(6): 605-615.
- LIN Zhifang, LI Shunshun, LIN Guizhu, SUN Guchou, GUO Junyan. Superoxide dismutase activity and lipid peroxidation in relation to senescence of rice leaves[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1984, 26(6): 605-615.
- [38] AN N, FAN S, YANG Y, CHEN X L, DONG F, WANG Y B, XING L B, ZHAO C P, HAN M Y. Identification and characterization of mirnas in self-rooted and grafted malus reveals critical networks associated with flowering[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2018, 19(8): 2384-2384.
- [39] ALESSANDRA Z, ERICA M, SERGIO P, RITA P, PAOLO V, GIOVAN B M, LUIGI C, PAOLO S. Berry quality of grapevine under water stress as affected by rootstock-scion interactions through gene expression regulation[J]. Agronomy, 2020, 10(5): 680-680.
- [40] CAMALLE M D, SIKRON N, ZURGIL U, KHADKA J, PIVONIA S, PĚNČÍK A, NOVÁK O, FAIT A, TEL Z N. Does scion-rootstock compatibility modulate photoassimilate and hormone trafficking through the graft junction in melon-pumpkin graft combinations?[J]. Plant Science, 2021, 306: 110852.
- [41] 钱学森. 钱学森先生谈植物生理学与农业的一封信[J]. 植物生理学通讯, 1993, 29(6): 458.
- QIAN Xuesen. A letter from Mr. Qian Xuesen on plant physiology and agriculture[J]. Plant Physiology Communications, 1993, 29(6): 458.
- [42] 刘友良, 汪良驹. 植物对盐胁迫的响应及其耐盐性[M]//余叔文, 汤章城. 植物生理学与分子生物学. 2 版. 北京: 科学出版社, 1998: 752-769.
- LIU Youliang, WANG Liangju. Plant response to salt stress and salt tolerance[M]// YU Shuwen, TANG Zhangcheng. Plant phys-

- iology and molecular Biology. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1998:752-769.
- [43] 徐呈祥. 提高植物抗寒性的机理研究进展[J]. 生态学报, 2012,32(24):7966-7980.  
XU Chengxiang. Research progress on the mechanism of improving plant cold hardiness[J]. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(24):7966-7980.
- [44] 赵秀婷,王延双,段劼,马履一,何宝华,贾忠奎,桑子阳,朱仲龙. 盐胁迫对红花玉兰嫁接苗生长和光合特性的影响[J]. 林业科学, 2021,57(4):43-53.  
ZHAO Xiuting, WANG Yanshuang, DUAN Jie, MA Lüyi, HE Baohua, JIA Zhongkui, SANG Ziyang, ZHU Zhonglong. Effects of salt stress on growth and photosynthetic characteristics of *Magnolia wufengensis* grafted seedlings[J]. Scientia Silvae Sinicae, 2021, 57(4):43-53.
- [45] 刘升锐. 柑橘高密度遗传连锁图谱的构建及落叶性状的QTL定位[D]. 武汉:华中农业大学, 2016.  
LIU Shengrui. Construction of a high-density genetic linkage map of citrus and QTL mapping for defoliation traits[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016.
- [46] 董倩倩. 柑橘生理落果与果实各部位4种内源激素含量关系分析[D]. 重庆:西南大学, 2019.  
DONG Qianqian. Analysis on the relationship between physiological fruit drop and content of four endogenous hormones in different parts of fruit in citrus[D]. Chongqing: Southwest University, 2019.
- [47] 崔雪婧. 柑橘落果与果实内生真菌关系的研究[D]. 武汉:华中农业大学, 2020.  
CUI Xuejing. Study on the relationship between citrus fruit drop and fruit endophytic fungi[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2020.
- [48] THEOCHARIS A, CLÉMENT C, BARKA E A. Physiological and molecular changes in plants grown at low temperatures[J]. Planta, 2012, 235 (6): 1091-1105.
- [49] BILSKA A, SOWINSKI P. Closure of plasmodesmata in maize (*Zea mays*) at low temperature: A new mechanism for inhibition of photosynthesis[J]. Annals of Botany, 2010, 106 (5):675-686.
- [50] 黄伟,曹坤芳. 几内亚格木和降香黄檀对热带北缘地区冬季低温的光合适应[J]. 植物分类与资源学报, 2014, 36(3):310-320.  
HUNG Wei, CAO Kunfang. Photosynthetic acclimation of *Erythrophleum guineense* and *Dalbergia odorifera* to winter low temperature in a marginal tropical area[J]. Plant Diversity and Resources, 2014, 36(3):310-320.
- [51] 吕星光,周梦迪,李敏. 低温胁迫对甜瓜嫁接苗及自根苗光合及叶绿素荧光特性的影响[J]. 植物生理学报, 2016, 52(3):334-342.  
LÜ Xingguang, ZHOU Mengdi, LI Min. Effects of low temperature stress on photosynthesis and chlorophyll fluorescence characteristics of grafted and self-rooted seedlings of melon[J]. Plant Physiology Journal, 2016, 52(3):334-342.
- [52] 韩敏,曹逼力,刘树森,徐坤. 低温胁迫下番茄嫁接苗根穗互作对叶片光合作用及氮代谢的影响[J]. 园艺学报, 2018, 45 (5):897-907.  
HAN Min, CAO Bili, LIU Shusen, XU Kun. Effects of root-stock and scion interaction on photosynthesis and nitrogen metabolism of grafted tomato seedlings leaves under low temperature stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(5):897-907.
- [53] CRAFTS- BRANDNER S J, SALVUCII M E, EGLI D B. Changes in ribulose biphosphate carboxylase / oxygenase and ribulose 5-phosphate kinase abundances and photosynthetic capacity during leaf senescence[J]. Photosynthesis Research, 1990, 23(2):223-230.
- [54] HAAKE V, ZRENNER R, SONNEWALD U, STITT M. A moderate decrease of plastid aldolase activity inhibits photosynthesis, alters the levels of sugars and starch, and inhibits growth of potato plants [J]. Plant Journal, 1998, 14(2): 147-157.
- [55] 苏维埃. 植物对温度逆境的适应[M]// 余叔文, 汤章城. 植物生理学与分子生物学. 2版. 北京: 科学出版社, 1998:721-738.  
SU Weiai. Plant adaptation to temperature adversity[M]// YU Shuwen, TANG Zhangcheng. Plant physiology and molecular biology. 2nd ed. Beijing: Science Press, 1998:721-738.
- [56] 令凡,焦健,李朝周,金庆轩,赵曼利. 不同油橄榄品种对低温胁迫的生理响应及抗寒性综合评价[J]. 西北植物学报, 2015, 35(3):508-515.  
LING Fan, JIAO Jian, LI Chaozhou, JIN Qingxuan, ZHAO Manli. Physiological response and comprehensive evaluation of cold resistance under cold stress for different varieties of *Olea europaea*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2015, 35(3):508-515.
- [57] 蒋景龙. 外源H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>对低温胁迫下柑橘叶片抗寒性的影响[J]. 西北植物学报, 2016, 36(3):499-505.  
JIANG Jinglong. Effect of exogenous H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> treatment on cold resistance of *Citrus reticulata* leaves under low temperature stress[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2016, 36(3): 499-505.
- [58] 徐卫平,蒋景龙,任绪明,李丽,李新生,赵桦. 低温胁迫对3种柑橘幼苗细胞膜及渗透调节的影响[J]. 分子植物育种, 2017, 15(3):1104-1108.  
XU Weiping, JIANG Jinglong, REN Xuming, LI Li, LI Xincheng, ZHAO Hua. Effect of low temperature stress on cell membrane and osmoregulatory substance in three varieties of *Citrus reticulata* Blanco seedlings[J]. Molecular Plant Breeding, 2017, 15(3):1104-1108.
- [59] 陈惠,杨凯,李政,陈福梓,彭继达,林晶,李丽纯,唐力生,马治国. 3种热带特色果树寒冻害低温等级指标的确定[J]. 果树学报, 2018, 35(1):82-93.  
CHEN Hui, YANG Kai, LI Zheng, CHEN Fuzi, PENG Jida, LIN Jing, LI Lichun, TANG Lisheng, MA Zhiguo. Determination of cold and freezing injury grade indexes for three tropical characteristic fruit trees[J]. Journal of Fruit Science, 2018, 35 (1):82-93.
- [60] 徐呈祥. 植物抗寒性鉴定与测试方法研究进展[J]. 广东农业科学, 2014, 41(16):50-54.  
XU Chengxiang. Progress on identification and test methods of plant cold hardiness[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2014, 41(16):50-54.