

低温胁迫对烟苗叶形及生理特性的影响

李琦瑶^{1,2}, 王树声¹, 周培禄^{1,2}, 刘光亮¹, 曾文龙³, 周道金³, 郑璇^{1,2}, 陈爱国^{1*}

(1. 农业部烟草生物学与加工重点实验室, 中国农业科学院烟草研究所, 青岛 266101; 2. 中国农业科学院研究生院, 北京 100081; 3. 福建省烟草农业科学研究所龙岩分所, 福建 龙岩 364000)

摘要: 为了解低温胁迫后烟苗的生理机制及恢复生长后叶形变化规律, 以烤烟 K326 的 7 叶龄烟苗为试验材料, 测定了其在 4 °C 低温胁迫 3、6、12、24 和 48 h 后的相关生理指标, 并将 4 °C 低温胁迫后的烟苗于 25 °C (对照) 下恢复生长, 测量其叶长、叶宽变化。结果表明, 随低温胁迫时间增加, 相对电导率、脯氨酸含量和可溶性糖含量不断升高; 丙二醛 (MDA) 和叶绿素含量先升高后降低; 过氧化氢酶 (CAT) 活性不断降低; 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性和过氧化物酶 (POD) 活性变化不大。低温胁迫显著抑制叶片长、宽和叶面积, 对叶宽的抑制作用强于叶长, 从而增大叶片长宽比。低温胁迫后恢复生长 16 d, 叶片长宽比趋于稳定。不同低温胁迫时间诱导程度为 12 h>24 h>6 h>3 h>48 h。

关键词: 烟草; 低温胁迫; 叶形; 生理特性

中图分类号: S572.01

文章编号: 1007-5119 (2018) 01-0017-07

DOI: 10.13496/j.issn.1007-5119.2018.01.003

Effects of Low Temperature Stress on Leaf Shape and Physiological Characteristics in Tobacco Seedlings

LI Qiyao^{1,2}, WANG Shusheng¹, ZHOU Peilu^{1,2}, LIU Guangliang¹, ZENG Wenlong³, ZHOU Daojin³, ZHENG Xuan^{1,2}, CHEN Aiguo^{1*}

(1. Key Laboratory of Tobacco Biology and Processing, Ministry of Agriculture, Tobacco Research Institute of Chinese Academy of Agriculture Sciences, Qingdao 266101, China; 2. Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China; 3. Longyan Tobacco Agricultural Science Institute, Longyan, Fujian 364000, China)

Abstract: In order to study the physiological responses of tobacco seedlings to low temperature stress and the change of leaf shape after resuming growth, 7th-leaf stage tobacco seedlings of 'K326' were used to measure the physiological indicators of tobacco seedlings at 4 °C and 25 °C for 3, 6, 12, 24 and 48 h. After 4 °C low temperature stress the tobacco seedlings were returned to 25 °C to resume growth. The changes of leaf length and leaf width were measured. The results showed that the relative conductivity, proline content and soluble sugar content increased with the increase of low temperature stress time; the contents of malondialdehyde (MDA) and chlorophyll increased first and then decreased; the activity of catalase (CAT) decreased continuously; the activity of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) had no significant change. After low temperature stress, the leaf length, leaf width and leaf area were significantly inhibited, and the inhibition of leaf width was stronger than that of leaf length, thus increasing the length-width ratio of leaves. After low temperature stress, the length-width ratio of leaves tended to be stable after resuming growth for 16 days. The induction of stress responses of different low temperature stress time was 12 h> 24 h> 6 h> 3 h> 48 h.

Keywords: tobacco; low temperature stress; leaf shape; physiological characteristics

烟草移栽后因倒春寒带来的低温冷害问题在我国南方烟区普遍存在。低温致使烟苗生长缓慢或受阻, 造成烟叶产量和品质下降^[1]。前人研究表明, 烟草生长的最适温度为 25~28 °C, 1~2 °C 低温可使

幼苗死亡^[2]。烟草需达到一定苗龄才能具备感受低温的能力, 从而引起相关生理响应。韩锦峰等^[3]通过低温诱导顶芽发育及激素含量发现, 烟草 K326 在 6 片真叶之前对低温不敏感, 7 叶期才是烟草感

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项“低温诱导苗期烟叶多酚类物质形成的分子机制”{财教[2016]268 号};

福建省烟草公司龙岩市公司项目“龙岩特色烟叶开发”(LYK201302)

作者简介: 李琦瑶 (1993-), 男, 在读硕士, 研究方向为作物生理生态。E-mail: liqiyao930825@163.com。*通信作者, E-mail: chenaiguo@caas.cn

收稿日期: 2017-09-20

修回日期: 2017-12-07

受低温最敏感的时期。当前,低温对烟草生长发育的影响以早花为主^[4],而针对我国南方烟区出现的因低温冷害带来的上部叶开片差问题的研究却未见报道。叶形变化是由量变到质变逐渐发展的过程,低温胁迫时间越长,叶形受到的抑制作用越明显^[5]。研究证实,低温对其影响主要体现在叶片基-顶轴和中-侧轴两个轴向生长共同决定的叶片长宽比上^[6]。

本试验选用对低温敏感且在我国广泛种植的烤烟品种 K326 为材料^[7-8],利用人工智能气候箱对烟草苗期进行低温胁迫处理,通过对相关生理指标的测定,探讨低温胁迫后的生理特性与恢复生长后叶片长宽比的关系,为揭示低温胁迫下烟苗叶形变化的生理机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2017 年 1—8 月在中国农业科学院烟草研究所即墨农场进行。供试品种烤烟 K326 由国家农作物种质资源平台烟草种质资源子平台(中国农业科学院烟草研究所)提供。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 将 25 °C 下长至 7 叶龄的烟苗置于人工智能气候箱内进行 4 °C 低温胁迫处理。前期预试验证明,4 °C 低温胁迫 48 h 后常温下难以恢复生长,故确定该胁迫温度的临界时长为 48 h。以常温(25 °C)生长的烟苗为对照,设置低温(4 °C)胁迫 3、6、12、24 和 48 h 为处理,处理后分别置于 25 °C 下恢复生长。

1.2.2 生理指标测定 低温胁迫结束时,每个处理设置 3 次重复,每个重复选取 3 株烟苗的自下而上第 4 叶位叶片,混合,进行相关生理指标测定。测定方法如下:

电导率的测定采用真空抽气法;丙二醛(MDA)含量的测定采用 2-硫代巴比妥酸显色法;可溶性糖含量的测定采用蒽酮比色法;脯氨酸含量的测定采用磺基水杨酸提取法;叶绿素含量的测定采用 80% 丙酮提取液浸提法;超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑(NBT)光还原法;过氧化物酶

(POD)活性的测定采用愈创木酚比色法;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用比色法。以上方法参照文献^[9]。

1.2.3 低温后恢复生长烟苗叶形测量 选择常温对照、低温胁迫 3、6、12、24 和 48 h 后恢复生长的烟苗,每隔 2 天用卷尺人工测量自下而上第 4 叶位叶片的叶长、叶宽,计算长宽比(叶长/叶宽),每处理重复测量 3 株。测量方法参考 YC/T 142—2010 烟草农艺性状调查测量方法。

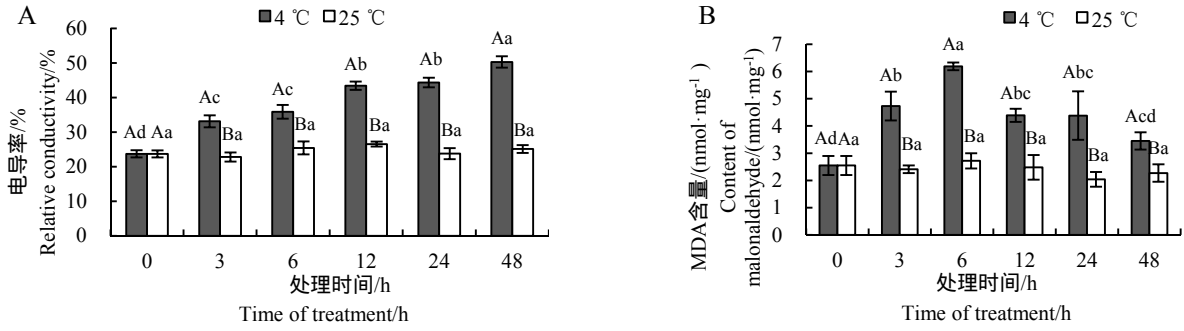
1.2.4 数据分析 利用 Microsoft Excel 2007 和 SAS 9.4 对数据进行处理、统计分析及图形制作。

2 结果

2.1 不同低温胁迫时间对烟苗生理特性的影响

2.1.1 不同低温胁迫时间对烟苗细胞膜系统的影响 图 1-A 示出,常温生长的烟苗 48 h 内电导率变化不大,而低温生长的烟苗相对电导率随胁迫时间的增加不断升高。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别增加 39.7%、51.3%、83.1%、87.0%、112.1%,均达显著性差异水平($p < 0.05$)。图 1-B 示出,常温生长的烟苗 48 h 内 MDA 含量变化不大,而低温生长的烟苗 MDA 含量随低温胁迫时间的增加先升高后降低。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别增加 80.5%、136.3%、67.6%、67.2%、31.7%。

2.1.2 不同低温胁迫时间对烟苗保护酶系统的影响 图 2-A 所示,常温和低温生长的烟苗 48 h 内 SOD 活性变化不大。除低温胁迫 12 h 外,低温胁迫 3、6、24、48 h 较胁迫前分别增加 18.2%、16.8%、28.7%、28.4%。图 2-B 所示,常温和低温生长的烟苗 48 h 内 POD 活性变化也不明显。低温胁迫 3、6 h 较胁迫前分别降低 13.2%、2.6%;低温胁迫 12、24 h 分别增加 13.1%、3.6%;低温胁迫 48 h 降低 11.6%。图 2-C 所示,常温生长的烟苗 48 h 内 CAT 活性变化不大,而低温生长的烟苗 CAT 活性随胁迫时间的增加不断降低。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别降低 23.3%、35.2%、38.4%、35.4%、54.1%,均达显著性差异水平($p < 0.05$)。



注：小写字母不同表示同一温度不同处理时间之间差异显著 ($p < 0.05$)，大写字母表示同一时间不同温度处理之间差异显著 ($p < 0.05$)。下同。
 Note: Lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$) between different treatment times at the same temperature, and capital letters indicate significant difference ($p < 0.05$) between different temperature treatments at the same time. The same symbol is used for other tables.

图 1 低温胁迫对烟草苗期相对电导率和丙二醛含量的影响

Fig. 1 Effect of low temperature stress on relative conductivity and the content of malonaldehyde in tobacco seedlings

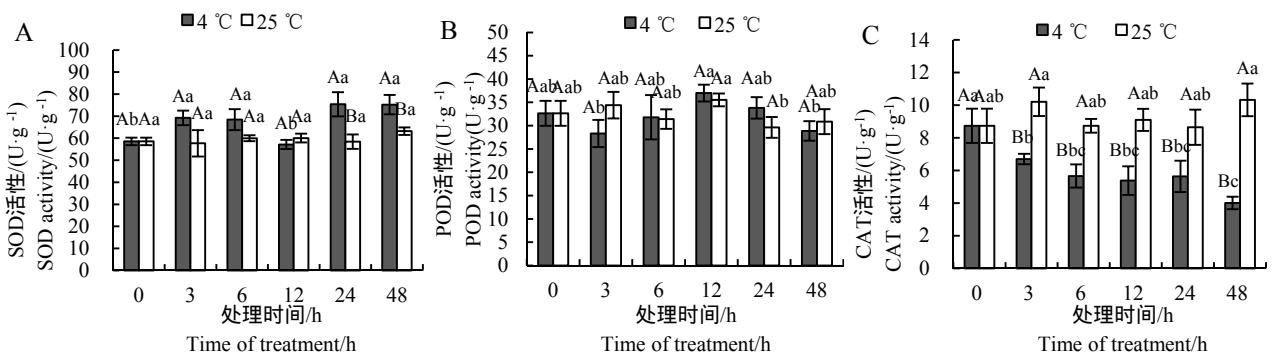


图 2 低温胁迫对烟草苗期 SOD、POD 和 CAT 活性的影响

Fig. 2 Effect of low temperature stress on SOD activity, POD activity and CAT activity in tobacco seedlings

2.1.3 不同低温胁迫时间对烟苗渗透调节物质的影响 图 3-A 所示, 常温生长的烟苗 48 h 内脯氨酸含量变化不大, 而低温生长的烟苗随胁迫时间的增加不断升高。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别增加 53.5%、101.1%、223.7%、254.5%、320.0%，均达显著性差异水平 ($p < 0.05$)。图 3-B 所示, 常温生长的烟苗 48 h 内可溶性糖含量变化不大, 而低温生长的烟苗随胁迫时间的增加不断升高。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别增加

118.0%、220.4%、286.7%、421.7%、436.1%，均达显著水平 ($p < 0.05$)。

2.1.4 不同低温胁迫时间对烟苗叶绿素含量的影响 图 4 示出, 常温生长的烟苗 48 h 内叶绿素含量变化不大, 而低温生长的烟苗随胁迫时间的增加先升高后降低。低温胁迫 3、6、12、24、48 h 较胁迫前分别增加 15.9%、20.5%、39.4%、65.2%、37.9%，均达显著性差异水平 ($p < 0.05$)。除胁迫前, 同一时间不同温度条件下的叶绿素含量也均达显著性差

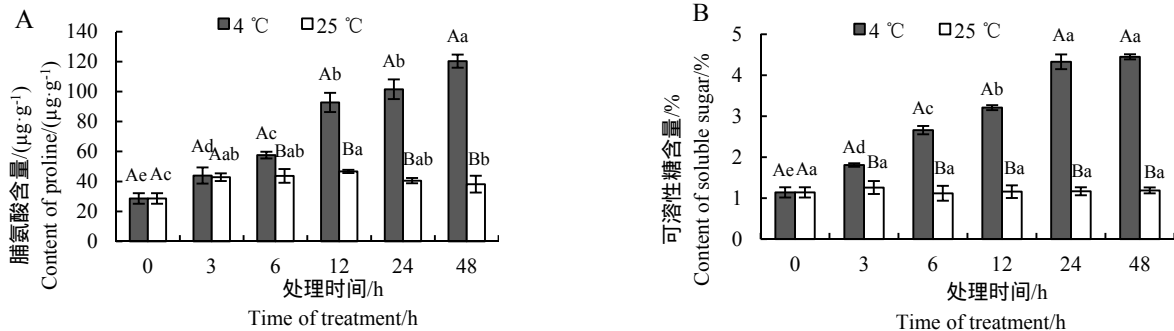


图 3 低温胁迫对烟草苗期脯氨酸和可溶性糖含量的影响

Fig. 3 Effects of low temperature stress on the content of proline and the content of soluble sugar in tobacco seedlings

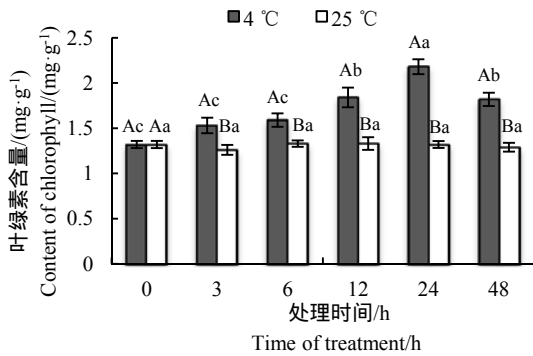


图4 低温胁迫对烟草苗期叶绿素含量的影响

Fig. 4 Effects of low temperature stress on the content of chlorophyll in tobacco seedlings

异水平 ($p < 0.05$)

2.2 不同低温胁迫时间对烟苗叶形指标的影响

由表1可知，低温处理前各处理烟苗叶形指标大致相同。低温胁迫48 h内烟苗均能恢复生长，但不同低温胁迫时间处理后烟苗叶长、叶宽和叶面积的生长速度及叶片长宽比的变化趋势较同期对照有所差异。低温胁迫后恢复生长第16天，所有处理的烟苗叶片长宽比趋于稳定。进一步对恢复生长20 d后叶形指标进行方差分析发现，不同低温胁迫时间处理的烟苗叶长较同期对照无明显差异，但叶宽、叶面积均显著小于同期对照，说明4 °C低温胁迫3 h即可对恢复生长后的叶面积造成不可逆的影响。叶片长宽比方面，常温生长的烟苗叶片长宽比未发生明显变化，维持在1.764~1.787，而低温处理后的烟苗均表现出长宽比增大趋势，整体来看，低温胁迫时间对叶片长宽比的影响程度为12 h>24 h>6 h>3 h>48 h，其中低温胁迫12 h显著大于同期对照 ($p < 0.05$)。低温胁迫3 h后叶片长宽比峰值出现在恢复生长后第10天，而低温胁迫6、12、24和48 h的峰值均都在第16天。

3 讨论

植物对低温胁迫的响应是一种积极主动的应激过程^[10-11]。大量研究表明^[12-14]，细胞膜的损伤与自由基、活性氧引起的膜脂过氧化和蛋白质活性降低甚至丧失有关^[15]。本试验中，不同低温胁迫时间

表1 低温后恢复生长阶段烟苗的叶形变化

Table 1 Change of leaf shape of tobacco seedlings in low temperature after resuming growth

恢复时间 Resuming time	叶形指标 Leaf shape index	低温胁迫时间 Low temperature stress time					
		CK	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
处理前 Before treatment	叶长/cm Leaf length/cm	19.53a	19.07a	18.87a	18.70a	19.03a	19.00a
	叶宽/cm Leaf width/cm	10.93a	10.7a	10.50a	10.53a	10.60a	10.73a
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	135.75a	129.68a	126.03a	125.89a	128.45a	129.40a
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.786a	1.781a	1.798a	1.777a	1.797a	1.770a
2 d	叶长/cm Leaf length/cm	20.00	19.43	19.20	19.20	19.33	—
	叶宽/cm Leaf width/cm	11.27	10.83	10.67	10.70	10.60	—
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	143.12	133.87	130.12	131.26	130.15	—
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.777	1.792	1.801	1.796	1.825	—
4 d	叶长/cm Leaf length/cm	20.40	19.73	19.67	19.70	19.70	19.60
	叶宽/cm Leaf width/cm	11.53	11.00	10.83	10.83	10.77	11.07
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	149.36	138.01	135.25	136.36	134.74	137.63
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.770	1.793	1.817	1.820	1.830	1.771
6 d	叶长/cm Leaf length/cm	20.77	20.03	19.90	20.17	20.00	19.83
	叶宽/cm Leaf width/cm	11.73	11.13	10.90	10.97	10.87	11.17
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	154.70	141.87	137.69	141.20	138.04	140.52
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.772	1.798	1.827	1.840	1.841	1.776
8 d	叶长/cm Leaf length/cm	21.17	20.20	20.00	20.57	20.37	20.07
	叶宽/cm Leaf width/cm	11.93	11.27	11.00	11.00	11.00	11.30
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	160.34	144.78	139.64	143.92	142.29	143.87
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.776	1.792	1.820	1.871	1.853	1.776
10 d	叶长/cm Leaf length/cm	21.47	20.83	20.57	21.00	20.87	20.37
	叶宽/cm Leaf width/cm	12.13	11.33	11.03	11.07	11.03	11.40
	叶面积/cm ² Leaf area/cm ²	165.35	150.17	144.03	148.30	146.21	147.32
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.773	1.837	1.866	1.898	1.893	1.787

表 1 (续)
Table 1 (Continued)

恢复时间 Resuming time	叶形指标 Leaf shape index	低温胁迫时间 Low temperature stress time					
		CK	3 h	6 h	12 h	24 h	48 h
12 d	叶长/cm	21.83	20.93	20.70	21.57	21.17	20.67
	Leaf length/cm						
	叶宽/cm	12.33	11.40	11.13	11.13	11.13	11.47
	Leaf width/cm						
	叶面积/cm ²	170.93	151.73	146.26	153.07	149.60	150.36
	Leaf area/cm ²						
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.774	1.835	1.860	1.939	1.903	1.802
14 d	叶长/cm	22.17	21.03	20.90	21.80	21.30	20.87
	Leaf length/cm						
	叶宽/cm	12.50	11.50	11.17	11.23	11.17	11.50
	Leaf width/cm						
	叶面积/cm ²	175.92	153.81	148.10	156.08	150.97	152.26
	Leaf area/cm ²						
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.777	1.828	1.873	1.943	1.908	1.814
16 d	叶长/cm	22.47	21.13	21.20	22.10	21.50	21.10
	Leaf length/cm						
	叶宽/cm	12.63	11.53	11.20	11.30	11.20	11.57
	Leaf width/cm						
	叶面积/cm ²	180.24	155.03	150.72	159.04	152.86	154.85
	Leaf area/cm ²						
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.782	1.831	1.894	1.956	1.921	1.824
18 d	叶长/cm	22.83	21.23	21.43	22.33	21.67	21.27
	Leaf length/cm						
	叶宽/cm	12.80	11.63	11.33	11.43	11.30	11.67
	Leaf width/cm						
	叶面积/cm ²	185.65	157.08	154.18	162.53	155.45	157.43
	Leaf area/cm ²						
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.787	1.824	1.893	1.955	1.919	1.823
20 d	叶长/cm	23.20a	21.47a	21.70a	22.50a	21.83a	21.50a
	Leaf length/cm						
	叶宽/cm	13.03a	11.73b	11.50b	11.50b	11.40b	11.80b
	Leaf width/cm						
	叶面积/cm ²	192.06a	160.18b	158.40b	164.70b	157.96b	160.97b
	Leaf area/cm ²						
	叶长/叶宽 Length-width ratio	1.784b	1.828ab	1.889ab	1.958a	1.916ab	1.822b

注：小写字母表示同一恢复时间不同处理差异显著 ($p < 0.05$)。

Note: Lowercase letters indicate significant difference ($p < 0.05$) between different treatments at the same resuming time.

处理的烟苗相对电导率和 MDA 含量均显著高于同期对照，其中 MDA 含量在低温胁迫 12 h 后开始降低，其原因可能是烟苗在经历一定时间的冷驯化后，

细胞内不饱和脂肪酸和磷脂含量有所增加，细胞膜的流动性增强，抗寒性得到提高^[16-17]。SOD、POD 和 CAT 等抗氧化酶能清除体内活性氧，是植物应对逆境胁迫的天然保护体系^[18]。本试验中，不同低温胁迫时间处理后 SOD 和 POD 活性变化不大。前人研究发现，POD 在酶促保护系统中具有双重性，可能参与活性氧的生成和叶绿素的降解，并可能引发膜脂过氧化作用，表现出一定的伤害效应^[19]。此外，低温影响 NADP⁺的供给过程，电子传递失衡导致活性氧含量增加也会影响 SOD 和 POD 的活性^[20]。另有报道称，生长素的生物合成直接参与叶片形态决定^[21]。研究发现^[22]，拟南芥 *CAT2* 突变体中，生长素的含量受到过氧化氢的调控，并且由过氧化氢调节导致的生长素含量的降低是与植物偏下性生长的叶片表型相连锁的。本研究中，CAT 活性随低温胁迫时间的增加不断降低，与杨雪梅等^[23]测定结果并不一致，其原因有待进一步研究。

低温胁迫会使植物细胞内主动积累大量统称为渗透溶质的小分子代谢物质，包括氨基酸、糖以及季铵类化合物（如甜菜碱等）等，其含量的增加有助于细胞持水和生物大分子结构的稳定^[24]。本试验中，不同低温胁迫处理的烟苗脯氨酸和可溶性糖含量均显著高于同期对照，且均在低温胁迫 12 h 时出现大幅增加，说明烟草 K326 在低温胁迫 12 h 其耐冷性与脯氨酸和可溶性糖的积累有一定的相关性^[25]。低温会打破叶绿素原有的合成和降解平衡，从而导致叶绿素含量发生变化^[26]。随低温胁迫时间的延长，叶绿素含量先升高后降低，一方面可能是胁迫后期叶绿素合成酶活性降低，叶绿体合成受阻而造成，另一方面也可能是低温引起了叶绿体功能的紊乱^[27]，或加速了叶绿素的分解和叶绿体形态结构的受损使叶绿素含量降低^[28]，同样的研究结论在不同杨树耐冷的生理研究中也得到验证^[29]。

我国南方烟区因早春低温冷害带来的早花、上部叶开片差等问题严重影响烟叶的产量和品质^[30]。本试验中，4 °C 低温胁迫显著抑制叶长和叶宽的生长，且对叶宽的抑制作用强于对叶长的抑制作用，说明 4 °C 低温胁迫对叶片中-侧轴的影响高于基-顶

轴,叶宽生长停滞的响应要早于叶长,从而增大叶片长宽比,这与前人研究夜间低温对红花大金元、云烟 87 叶形的影响研究结果一致^[7]。恢复生长 16 d 后,不同处理的叶片长宽比均达最高峰,此后趋于稳定。分析恢复生长 20 d 后各叶形指标发现,低温胁迫 3 h 处理就对恢复生长后的烟苗叶面积造成不可逆的影响,且恢复生长 20 d 后不同低温胁迫时间处理烟苗的叶面积无明显差异,而此时低温胁迫 12 h 处理的烟苗叶片长宽比显著大于同期对照及其他低温处理叶片长宽比,进一步说明 12 h 的低温胁迫对叶片横向生长影响程度较大。

对于温敏性较强的品种 K326,在受到 4 °C 低温胁迫生长时,应在低温时间 48 h 内采取措施,避免叶形狭长及叶片生长延缓甚至停滞的现象。前人研究发现^[7],低温对烤烟 K326 苗期叶长叶宽生长存在累加效应,夜间低温处理时间越长累加效应越明显,烟叶长宽生长停滞累加效应叶宽效果要明显于叶长。本试验中,不同低温胁迫时间对叶片长宽比增大的诱导程度为 12 h > 24 h > 6 h > 3 h > 48 h,低温胁迫 12~24 h 对叶形影响最大,但胁迫 48 h 后影响效果又有所减小,原因有待进一步研究。此外,本研究选取的烤烟生长阶段为苗期,胁迫温度为 4 °C,具有生长阶段针对性和温度局限性,其他胁迫温度或苗期以外的生长时期能否得出相同的结论还有待进一步试验和探索。

4 结 论

随着低温胁迫时间的增加,相对电导率、脯氨酸含量和可溶性糖含量不断升高;MDA 含量和叶绿素含量先升高后降低;CAT 活性不断降低;SOD 和 POD 活性变化不大。4 °C 低温胁迫抑制恢复生长后叶片叶长、叶宽和叶面积的生长,对叶宽的抑制作用强于对叶长的抑制作用,叶片长宽比增大。不同低温胁迫时间对叶片长宽比增大的诱导程度为 12 h > 24 h > 6 h > 3 h > 48 h。

参考文献

[1] 肖立增. 苗期低温对烟草 BR 信号通路关键基因表达及发育进程的影响[D]. 重庆:西南大学,2016.
XIAO L Z. Influence of BR signaling pathway key gene

expression and the development process under low temperature induction in tobacco seedling stage[D]. Chongqing: Southwest University, 2016.

[2] 韩锦峰. 烟草栽培生理[M]. 北京:中国农业出版社,1996.
HAN J F. Tobacco cultivation physiology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996.

[3] 韩锦峰,岳彩鹏,刘华山,等. 烤烟生长发育的低温诱导研究 I. 苗期低温诱导对烤烟顶芽发育及激素含量的影响[J]. 中国烟草学报,2002,8(1):25-29.
HAN J F, YUE C P, LIU H S, et al. Studies of low temperature induction on the development of flue-cured tobacco I. The influence of low temperature to the development and plant hormones in the apical bud of tobacco at seedling stage[J]. Acta Tabacaria Sinica, 2002, 8(1): 25-29.

[4] 王小彦. 低温诱导烟草早花相关因子的分析[D]. 郑州:河南农业大学,2009.
WANG X Y. Analysis of factors correlated with early-flowering induced by low temperature in tobacco[D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University, 2009.

[5] 汪炳良,邓俭英,曾广文. 萌动种子低温处理对萝卜花芽分化及植株生长的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版),2003,29(5):504-508.
WANG B L, DENG J Y, ZENG G W. Effects of low temperature pretreatment of germinated seeds on floral bud differentiation and plant growth in radish(*Raphanus sativus* L)[J]. Journal of Zhejiang University (Agric. & Life Sci.), 2003, 29(5): 504-508.

[6] TSUKAYA H. Mechanism of leaf-shape determination[J]. Annual Review of Plant Biology, 2006, 57(1): 477.

[7] 黄璇. 夜间低温和短时高温对不同烤烟品种生长影响的研究[D]. 长沙:湖南农业大学,2014.
HUANG X. Effects on the growth of different varieties of flue-cured tobacco for nocturnal low temperature and short time high temperature[D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.

[8] 宋正熊,朱列书,尹佳,等. 低温胁迫对烟草幼苗生化指标的影响及相关性分析[J]. 江西农业学报,2014,26(2):99-101.
SONG Z X, ZHU L S, YIN J, et al. Effects of chilling stress on biochemical indexes of tobacco seedlings and correlation analysis[J]. Acta Agriculturae Jiangxi, 2014, 26(2): 99-101.

[9] 张宪政. 作物生理研究方法[M]. 北京:农业出版社,1992:144-216.
ZHANG X Z. Crop physiology research methods[M]. Beijing: Agricultural Press, 1992: 144-216.

[10] 张操昊,方俊,田云,等. 植物响应低温胁迫的应答机制[J]. 植物生理学通讯,2009,45(7):721-726.
ZHANG C H, FANG J, TIAN Y, et al. The response mechanism of plant to cold stress[J]. Plant Physiology Communications, 2009, 45(7): 721-726.

[11] 李文明,辛建攀,魏驰宇,等. 植物抗寒性研究进展[J]. 江苏农业科学,2017,45(12):6-11.

- LI W M, XIN J P, WEI C Y, et al. Research progress of plant cold resistance[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2017, 45(12): 6-11.
- [12] 邵怡若, 许建新, 薛立, 等. 低温胁迫时间对 4 种幼苗生理生化及光合特性的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(14): 4237-4247.
- SHAO Y R, XU J X, XUE L, et al. Effects of low temperature stress on physiological-biochemical indexes and photosynthetic characteristics of seedlings of four plant species[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(14): 4237-4247.
- [13] 刘奕清. 低温胁迫下两种桉树的生理响应特征及转录表达差异研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2015.
- LIU Y Q. Physiological response characteristics and transcriptomic comparison of two *Eucalyptu* trees under low temperature stress[D]. Beijing: China Agricultural University, 2015.
- [14] 张淑英, 褚贵新, 梁永超. 不同铵硝配比对低温胁迫棉花幼苗生长及抗氧化酶活性的影响[J]. 植物营养与肥料学报, 2017, 23(3): 721-729.
- ZHANG S Y, CHU G X, LIANG Y C. Impacts of different ammonium/nitrate ratios on the growth and antioxidant defense enzyme activities in cotton seedlings exposed to low-temperature stress[J]. Journal of Plant Nutrition and Fertilizer, 2017, 23(3): 721-729.
- [15] 吴中军, 赵亚特. 低温胁迫对彩叶草幼苗生理生化特性的影响[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2009, 31(2): 132-135.
- WU Z J, ZHAO Y T. Effect of low temperature stress on physiological and biochemical characteristics of *Coleus blumei* seedlings[J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2009, 31(2): 132-135.
- [16] CYRIL J, POWELL G L, DUNCAN R R, et al. Changes in membrane polar lipid fatty acids of seashore paspalum in response to low temperature exposure[J]. Crop Science, 2002, 42(6): 2031-2037.
- [17] 葛体达, 隋方功, 白莉萍, 等. 水分胁迫下夏玉米根叶保护酶活性变化及其对膜脂过氧化作用的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(5): 922-928.
- GE T D, SUI F G, BAI L P, et al. Effects of water stress on the protective enzyme activities and lipid peroxidation in roots and leaves of summer maize[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(5): 922-928.
- [18] HUDA K M K, BANU M A S, YADAV S, et al. Salinity and drought tolerant *OsACA6* enhances cold tolerance in transgenic tobacco by interacting with stress-inducible proteins[J]. Plant Physiology & Biochemistry, 2014, 82(3): 229-238.
- [19] 杜秀敏, 殷文璇, 赵彦修, 等. 植物中活性氧的产生及清除机制[J]. 生物工程学报, 2001, 17(2): 121-125.
- DU X M, YIN W X, ZHAO Y X, et al. The production and scavenging of reactive oxygen species in plants[J]. Chinese Journal of Biotechnology, 2001, 17(2): 121-125.
- [20] 何雨沅. 低温胁迫下草莓 NADPH 氧化酶在 ROS 形成中的作用[D]. 成都: 四川农业大学, 2015.
- HE Y W. Effect of low temperature stress the role of NADPH oxidase in strawberry (*Fragaria × ananassa*)[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2015.
- [21] 李林川, 瞿礼嘉. 生长素对拟南芥叶片发育调控的研究进展[J]. 植物学通报, 2006, 23(5): 459-465.
- LI L C, QU L J. Regulation of leaf development by auxin in Arabidopsis[J]. Chinese Bulletin of Botany, 2006, 23(5): 459-465.
- [22] GAO X, YUAN H M, HU Y Q, et al. Mutation of Arabidopsis CATALASE2 results in hyponastic leaves by changes of auxin levels[J]. Plant Cell & Environment, 2014, 37(1): 175.
- [23] 杨雪梅, 苑兆和, 尹燕雷, 等. 不同石榴品种抗寒性综合评价[J]. 山东农业科学, 2014, 46(2): 46-51.
- YANG X M, YUAN Z H, YIN Y L, et al. Comprehensive evaluation on cold resistance of different pomegranate cultivars[J]. Shandong Agricultural Sciences, 2014, 46(2): 46-51.
- [24] VERBRUGGEN N, HERMANS C. Proline accumulation in plants: a review[J]. Amino Acids, 2008, 35(4): 753-759.
- [25] 王以斌, 缪锦来, 姜英辉, 等. 脯氨酸和可溶性糖在南极冰藻低温适应机制中的作用[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 198-202.
- WANG Y B, MIAO J L, JIANG Y H, et al. Roles of proline and soluble sugar in the cold-adaptation of Antarctic Ice Microalgae[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2): 198-202.
- [26] 宋广树, 孙忠富, 孙蕾, 等. 东北中部地区水稻不同生育时期低温处理下生理变化及耐冷性比较[J]. 生态学报, 2011, 31(13): 3788-3795.
- SONG G S, SUN Z F, SUN L, et al. Comparison between physiological properties and cold tolerance under low temperature treatment during different growing stages of rice in northeast central region of China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(13): 3788-3795.
- [27] WANG Y, YANG H F, LI S D. Studies on chilling injury and cold hardiness of horticultural crops: a literature review[J]. Acta Horticulturae Sinica, 1994, 21(3): 239-244.
- [28] LIANG L H, MEI X, LIN F, et al. Effect of low temperature stress on tissue structure and physiological index of cashew young leaves[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2009, 18(1): 317-320.
- [29] 江锡兵, 宋跃朋, 马开峰, 等. 低温胁迫下美洲黑杨与大青杨杂种无性系若干生理指标变化研究[J]. 北京林业大学学报, 2012, 34(1): 58-63.
- JIANG X B, SONG Y P, MA K F, et al. Changes of several physiological indices in hybrid clones of *Populus deltoides* Bartr. × *P.ussuriensis* Kom. under low temperature stress[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2012, 34(1): 58-63.
- [30] 易建华, 孙在军. 烟草光合作用对低温的响应[J]. 作物学报, 2004, 30(6): 582-588.
- YI J H, SUN Z J. Responses of photosynthesis to different low temperatures in tobacco seedlings leaves[J]. Acta Agronomica Sinica, 2004, 30(6): 582-588.