

张椿浩,刘庆帅,薛晓晓,等. GA₃ 和 ABA 对 2 个黑穗醋栗品种二次萌发超微结构的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(13):147-150.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.13.035

GA₃ 和 ABA 对 2 个黑穗醋栗品种 二次萌发超微结构的影响

张椿浩,刘庆帅,薛晓晓,秦 栋,霍俊伟

(东北农业大学园艺园林学院/农业部东北地区园艺作物生物学与种质创新重点实验室,黑龙江哈尔滨 150030)

摘要:以黑穗醋栗品种黑丰和亚德为试验材料,以清水为对照,利用不同浓度的外源激素 GA₃ 和 ABA 对黑穗醋栗进行处理,观察比较二次萌发的超微结构特征,以期从细胞学角度解释黑穗醋栗二次萌发的发生机理。结果表明:黑穗醋栗二次萌发现象实际上是解除休眠的过程。GA₃ 有利于黑穗醋栗的二次萌发,而 ABA 则恰恰相反。GA₃ 可以促进不易二次萌发品种黑丰萌发;ABA 则可抑制易二次萌发品种亚德不萌发。通过细胞超微结构发现,胞间连丝是否分化是黑穗醋栗二次萌发的关键所在。本试验发现,只要细胞分化出胞间连丝,黑穗醋栗均发生了二次萌发。清水处理条件下,黑丰始终未分化出胞间连丝,亚德细胞则观察到了胞间连丝存在;亚德细胞质壁分离现象消失也要早于黑丰,黑丰细胞淀粉粒最终未完全分解,亚德细胞中淀粉粒则完全分解。与清水处理对照,GA₃ 对各个细胞器分化均有明显促进作用,加快了解除休眠的进程,加速质壁分离现象消失;促进胞间连丝的分化;内质网与线粒体结构更加完整,数量更多;淀粉粒完全分解,为细胞提供了充足能量;中心大液泡加速形成。ABA 对细胞超微结构影响与清水处理相比,变化不大;仅使细胞分化时期延迟,淀粉粒分解并不彻底。ABA 抑制了黑丰细胞液泡中电子致密物质分解,亚德对 ABA 的抑制作用具有一定抗性,其液泡中电子致密物质仍然彻底分解。

关键词:黑穗醋栗;二次萌发;赤霉素(GA₃);脱落酸(ABA);超微结构

中图分类号:S663.901 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)13-0147-04

黑穗醋栗(*Ribes migrum* L.) 别称黑加仑,俗称黑豆,属虎耳草科(Saxifragaceae)茶藨子属^[1],非常适宜寒地栽培,在我国已有百年的栽培史,迄今是黑龙江省的特色浆果树种之一^[2]。黑穗醋栗果实中含有多种类黄酮、氨基酸、矿物质(其中 Ca 含量为水果之最)、醇类、酯类以及维生素(富含大量维生素 A、B、C 和 B₃)^[3]。其中所含维 C 含量居我国现有野生浆果资源之首,有“维 C 王果”的美誉^[4]。果汁中含有能够阻断强致癌物质亚硝基吗啉合成的物质,具有一定抑制癌细胞的作用。黑穗醋栗籽中的 γ -亚麻酸是人体必需脂肪酸之一,具有降血脂作用,并且它可通过减少前列腺素 E2 的产生可减轻炎症反应^[5]。黑穗醋栗色素属于花色苷类,在食品、医药、日用化学工业上有着广阔的应用前景^[6]。

黑穗醋栗作为寒地小浆果的代表树种,黑龙江种植面积较大,产量可以占到全国的 75% 左右^[7]。但是在实际生产中,黑龙江地区黑穗醋栗种植常伴有“二次萌发”现象,严重威胁产业发展。二次萌发现象发生在 8 月,黑龙江地区有短

暂的温度骤升阶段,有研究表明短暂的高温处理会解除果树休眠^[8-10],而此时的芽再次萌发使树势遭到破坏,树体营养严重流失,影响翌年产量。前人在研究过程发现杨树的芽季节性休眠中会发生细胞壁加厚、阻断胞间连丝影响细胞间联系的现象,从而起到促进休眠发生的作用^[11]。冬小麦在春化解除休眠过程中,茎尖细胞发生了核膜孔开放,线粒体数量增加等现象^[12]。这都说明了植物解除休眠进程与细胞超微结构有着相应的关系,但研究大多集中在细胞超微结构与春季萌发方面,二次萌发相关研究却甚少。有关黑穗醋栗二次萌发的调控,笔者所在课题组已进行初步研究,发现 25 mg/L GA₃ 可明显促进二次萌发,而 50 mg/L ABA 则会抑制二次萌发的发生^[13]。本试验以黑穗醋栗不易二次萌发品种黑丰和易二次萌发品种亚德为试验材料,从细胞超微结构入手,通过不同激素处理比较芽细胞的特征变化,以期从细胞学角度揭示二次萌发现象的机理,为全面揭示黑穗醋栗二次萌发的机理提供科学依据,为人工调控黑穗醋栗二次萌发提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2015 年 8 月在东北农业大学黑穗醋栗种质资源圃进行,选择 8 年生生长势相对一致的黑丰和亚德各 15 株,试材常规管理,长势中庸。黑丰属于我国自己选育品种,自然条件下不易二次萌发,亚德是从俄罗斯引进品种,具有易二次萌发的特性。

收稿日期:2017-02-13

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金(编号:31201584);东北农业大学“青年才俊”项目(编号:16QC07)。

作者简介:张椿浩(1991—),男,黑龙江哈尔滨人,硕士研究生,主要从事小浆果栽培生理研究。E-mail:275481294@qq.com。

通信作者:秦 栋,博士,副教授,硕士研究生导师,主要从事小浆果栽培生理的研究工作。E-mail:dongq9876@126.com;霍俊伟,教授,主要从事小浆果种质资源收集、评价与利用研究工作。E-mail:junweihuo@aliyun.com。

1.2 试验方法

1.2.1 试验处理 配制 30 mg/L GA_3 、50 mg/L ABA, 以清水处理为对照, 在果实采收后开始处理, 于 2015 年 8 月 12 日进行第 1 次采样, 作为取样空白对照。从 8 月 13 日开始, 连续 3 d 对黑丰植株进行处理, 喷施 GA_3 、ABA 和清水各 5 株, 叶片滴水为止, 然后剪取 1 年生枝条带回试验室, 将芽剥离并进行超微结构试验观察固定。从 8 月 16 日开始观察芽的形态学, 在芽萌发的各个时期取 1 年生枝条的芽进行固定, 用于超微结构观察。

1.2.2 透射电镜观察 将取回的芽修成 1 mm × 3 mm 大小, 用 2.5% 戊二醛固定 2 h, 然后用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (pH 值 6.8) 漂洗 3 次, 再用 1% 锇酸固定液固定 2 ~ 3 h, 用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液再漂洗 3 次。在 4 ℃ 冰箱中按浓度梯度为 50%、70%、90%、100% 的乙醇分别进行 15 ~ 20 min 的脱水处理, 后在室温下用 100% 丙酮进行 5 ~ 10 min 的脱水处理。用纯丙酮和包埋液在室温下进行浸透, 次日包埋。待包埋液聚合后修块, 用 ULTRACUT - E 超薄切片机切成 50 ~ 60 nm 的薄片, 再用醋酸铀 - 枸橼酸铅双染色, 在东北农业大学生命科技中心电镜室内通过 H - 7650X 型透射电镜观察并拍片。

2 结果与分析

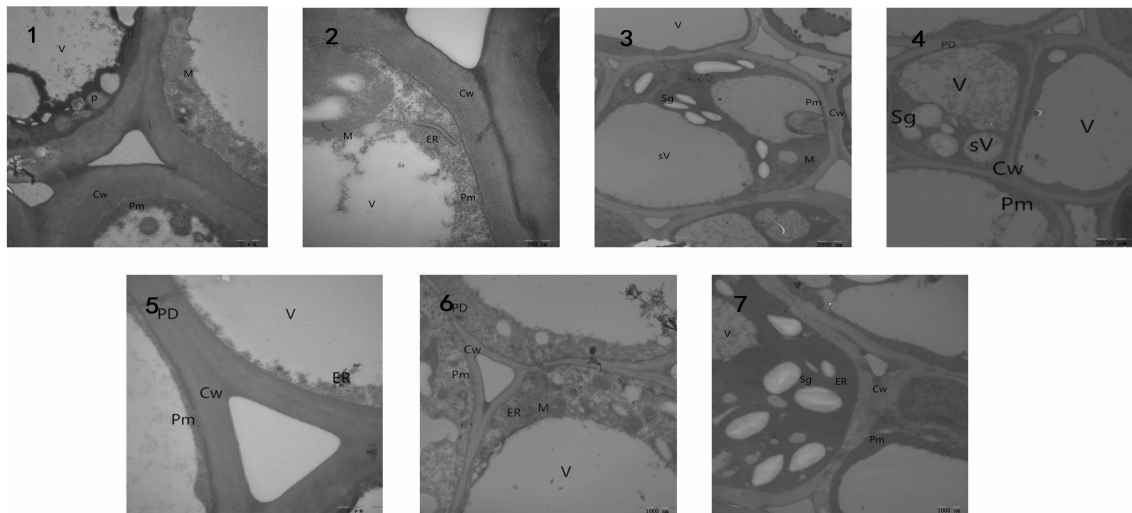
2.1 黑丰芽内超微结构特征及变化

2.1.1 清水处理下黑丰芽内超微结构特征及变化 不易二次萌发品种黑丰在清水处理下芽内超微结构并没有发生显著变化。选择处理前 (8 月 12 日)、处理后 3 d (8 月 17 日) 和处理后 9 d (8 月 21 日) 进行对比分析, 8 月 12 日采集的芽处于

质壁分离状态, 细胞中游离淀粉粒, 液泡中有电子致密物质, 未观察到有线粒体、内质网和胞间连丝出现 (图 1-1)。8 月 17 日采集的芽仍处于质壁分离状态, 可清晰观察到内质网和线粒体, 并且结构分化很完整; 未观察到有胞间连丝出现 (图 1-2)。8 月 21 日采集的芽细胞中质壁分离现象已经消失, 大部分细胞已经形成中心大液泡, 部分细胞液泡中仍有电子致密物质未分解; 细胞中游离着淀粉粒未分解, 可以清晰观察到线粒体存在, 并且结构分化很完整; 未观察到胞间连丝 (图 1-3)。

2.1.2 GA_3 处理下黑丰芽内超微结构特征及变化 不易二次萌发品种黑丰在 GA_3 处理下芽内超微结构发生显著的变化。选择处理前 (8 月 12 日)、处理后 3 d (8 月 17 日) 和处理后 7 d (8 月 21 日) 进行对比分析, 8 月 12 日采集的芽处于质壁分离状态。8 月 17 日采集的芽细胞质壁分离现象已经消失, 中心大液泡基本形成, 液泡中的电子致密物质已经分解; 可以观察到细胞中存在较大体积的淀粉粒, 线粒体结构明显, 体积较大; 观察细胞壁可发现胞间连丝分化, 细胞壁周围有内质网存在 (图 1-4、图 1-5)。8 月 21 日采集的芽细胞中心大液泡已经形成, 细胞质中游离少量淀粉粒, 淀粉粒与 17 日相比体积明显变小; 线粒体体积减小, 但数量增加; 可以观察到胞间连丝 (图 1-6)。

2.1.3 ABA 处理下黑丰芽内超微结构特征及变化 不易二次萌发品种黑丰在 ABA 处理下芽内超微结构发生较大的变化。选择处理前 (8 月 12 日) 和处理后 7 d (8 月 21 日) 进行对比分析, 8 月 21 日采集的芽细胞处于质壁分离状态; 液泡中存在较多电子致密物质; 淀粉粒数量较多, 且体积较大; 可以观察到内质网存在; 线粒体和胞间连丝未发现 (图 1-7)。



1—8 月 12 日, 清水处理; 2—8 月 17 日, 清水处理; 3—8 月 21 日, 清水处理; 4—8 月 17 日, GA_3 处理; 5—8 月 17 日, GA_3 处理; 6—8 月 21 日, GA_3 处理; 7—8 月 21 日, ABA 处理。Pm—质膜; V—中央大液泡; sV—小液泡; Sg—淀粉粒; Cw—细胞壁; M—线粒体; ER—内质网; N—细胞核; PD—胞间连丝; 下同

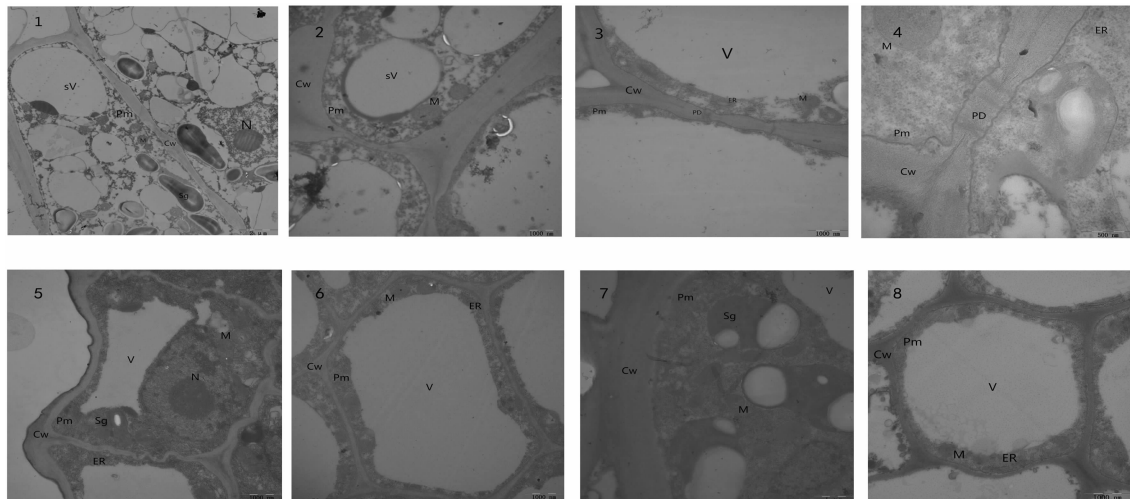
图 1 激素处理对黑丰二次萌发芽超微结构影响

2.2 亚德芽内超微结构特征及变化

2.2.1 清水处理下亚德芽内超微结构特征及变化 易于二次萌发品种亚德在清水处理下芽内超微结构变化明显。选择处理前 (8 月 12 日)、处理中 (8 月 14 日) 和处理后 14 d (8 月 26 日) 进行对比分析, 结果表明, 8 月 12 日采集的芽细胞并没有发生质壁分离现象; 液泡占据细胞大部分体积; 细胞中游离

许多体积较小的线粒体; 此时并未发现内质网和胞间连丝结构 (图 2-1)。8 月 14 日细胞中液泡体积进一步增加, 线粒体结构更加完整, 体积变大; 此时仍未观察到内质网和胞间连丝出现 (图 2-2)。8 月 26 日细胞形成中心大液泡; 淀粉粒消失, 线粒体数量减少, 体积明显增大, 可以观察到内质网和胞间连丝 (图 2-3)。

2.2.2 GA_3 处理下亚德芽内超微结构特征及变化 8 月 12 日芽细胞内各类细胞器均存在,并未发生质壁分离现象(图 2-1)。8 月 14 日细胞液泡通过水合作用逐步扩大;线粒体结构清晰,体积增大;可清楚观察到胞间连丝(图 2-4)。8 月 21 日细胞分化出细胞核,可以观察到核仁的存在;细胞中形成了单独的大液泡;淀粉粒数量明显减少,线粒体数量进一步增加,体积变大;内质网出现在细胞壁附近(图 2-5)。8 月 29 日亚德已完全二次萌发,芽细胞已经形成中心大液泡,



1—8 月 12 日,清水处理;2—8 月 14 日,清水处理;3—8 月 26 日,清水处理;4—8 月 14 日, GA_3 处理;5—8 月 21 日, GA_3 处理;6—8 月 29 日, GA_3 处理;7—8 月 14 日, ABA 处理;8—8 月 26 日, ABA 处理

图2 激素处理对亚德二次萌发芽超微结构影响

3 讨论

黑穗醋栗富含多种维生素、糖类和有机酸,是制作果酱、果酒、饮料等不可或缺的原料。我国目前的栽培面积已有 5 000 多 hm^2 ^[14],但黑龙江地区在实际生产过程中出现的二次萌发现象严重影响了产业的健康发展。笔者所在课题组前期通过试验已证明 GA_3 和 ABA 可有效调控黑穗醋栗二次萌发现象^[13],但黑穗醋栗二次萌发的研究机理尚不清楚,尤其是细胞学方面。黑丰作为我国自主选育品种,具有不易二次萌发的优良特性,本试验通过激素处理,利用电镜观察芽的细胞超微结构,以期从细胞学角度解释二次萌发的发生机理。

黑丰作为不易二次萌发的黑穗醋栗品种,在黑龙江地区具有较强的种植优势。亚德作为从俄罗斯引进品种,具有早熟等优良性状,但在秋季易发生二次萌发。本试验通过 GA_3 与清水处理的对比、ABA 与清水的对比发现, GA_3 可有效促进质壁分离现象消失;而 ABA 则恰恰相反。丁小余等指出,细胞在休眠期普遍发生质壁分离现象,说明 GA_3 可以促进黑穗醋栗打破休眠,从而促进二次萌发,ABA 则是起抑制作用^[15]。黄义江等对 5 个苹果属果树品种抗寒性的研究中指出,质壁分离现象与胞间连丝关系密切,当质壁分离时胞间连丝相应中断,二者成正比关系^[16]。不易二次萌发的黑丰进行 GA_3 处理,可以在芽细胞中观察到胞间连丝出现,而清水和 ABA 处理黑丰均未发现胞间连丝分化。对易于二次萌发的亚德进行 ABA 处理,发现细胞未分化胞间连丝。与黑穗醋栗二次萌发情况相对应,总结出只有细胞分化出胞间连丝黑穗醋栗芽才可萌发。研究指出,崇明水仙顶端生长点进行超微

细胞核分解消失;细胞壁周围分布了丰富的线粒体和内质网,胞间连丝对胞间联系起到了积极作用(图 2-6)。

2.2.3 ABA 处理下亚德芽内超微结构特征及变化 ABA 处理下亚德芽内超微结构并未发生明显变化。8 月 14 日亚德芽细胞发生了部分质壁分离,并且淀粉粒体积较大;线粒体数量较多,但体积较小(图 2-7)。8 月 26 日亚德芽细胞处于质壁分离状态,淀粉粒已消失;细胞形成中心大液泡;线粒体和内质网数量与之前相比明显减少(图 2-8)。

结构观察,在营养生长期胞间连丝处于“通路状态”;休眠期间胞间连丝会被电子致密物质堵塞;随休眠解除,电子致密物质会逐渐分解,胞间连丝回复畅通^[17]。Jian 等通过研究推测胞间连丝是否通畅可作为休眠或解除休眠一种响应机制^[18]。本试验并未观察到胞间连丝的闭塞状态,但激素处理具有鲜明对比,诱导胞间连丝分化可加强细胞间联系,从而起到诱导黑穗醋栗二次萌发的效果。由此可看出,胞间连丝是黑穗醋栗能否二次萌发的关键所在。

每个植物细胞均有形成胞间连丝的潜在能力,通过胞间连丝的转运功能,因此完整植物可以看成一个共质体^[19]。质膜和内质网桥构成了共质体通道,因此内质网与细胞间物质运输有密切关联,对植物的解除休眠有一定影响。简令成等对杨树芽进行短日照处理诱导其进入休眠期,发现内质网发生收缩,打破了膜系统之间的联系;长日照处理的内质网收缩消失^[20]。本试验通过 GA_3 和 ABA 处理黑穗醋栗,与长短日照起类似作用, GA_3 处理后芽细胞内质网出现更早,长度更长。由此推测内质网在黑穗醋栗二次萌发过程中起重要作用。

线粒体作为细胞发生氧化还原反应和能量转换的主要场所,线粒体敏感而容易发生变化^[21]。高文远等在浙贝母休眠前后超微结构比较中提出,细胞间物质与信息交换增加是细胞活跃指标之一,线粒体大量出现在细胞壁周围与胞间联系增加有关^[22]。通过对 GA_3 处理的黑丰与亚德进行超微结构观察发现,细胞中线粒体均出现在细胞壁胞间连丝周围,这说明二次萌发过程中线粒体非常活跃,为细胞间的联系提供能量保障。 GA_3 处理后线粒体分化数量明显多于清水处理,并且结构更加完整,体积更大,可以为细胞代谢提供充足能

量;ABA 处理则可明显观察到线粒体体积与数量减小。清水处理条件下,亚德细胞中线粒体数量明显多于黑丰。本试验观察到在二次萌发后期黑丰细胞中线粒体成纺锤状,说明此时线粒体处于积极增殖时期^[23];而亚德细胞中线粒体此时已经结构非常完整,内部嵴状结构清晰,已经可以充分供能。

从超微结构观察发现,黑穗醋栗芽细胞主要以淀粉粒的方式储藏能量。随着二次萌发进程的加深,淀粉粒体积不断变小,数量减少,说明淀粉粒通过自身水解为细胞代谢提供能量。孙红梅等发现,兰州百合在解除休眠过程中淀粉含量逐渐减少,这与本试验观察淀粉粒体积和数量变化相吻合^[24]。本试验发现,不同激素处理会对淀粉粒分解产生一定影响,GA₃ 处理后细胞中淀粉粒完全分解,而 ABA 处理的细胞中仍可以观察到淀粉粒存在。清水处理下,易二次萌发的亚德细胞中淀粉粒完全分解,而不易二次萌发的黑丰细胞中仍有淀粉粒剩余。这说明淀粉粒水解产生的能量对黑穗醋栗二次萌发起着重要作用。

液泡作为一个水相体系,积极地参与细胞代谢活动,对外界环境具有缓冲作用,维持胞内环境稳定。本试验发现 8 月 12 日黑丰液泡中存在电子致密物质,侯燕平等通过观察冬季珍珠梅顶芽细胞结构得出结论,液泡中电子致密物质的积累是植物抗寒的一种预防机理^[25]。清水处理下,黑丰与亚德细胞在二次萌发过程中液泡电子致密物质均发生降解,说明细胞处于解除休眠的过程中。ABA 处理 9 d 后,黑丰液泡中仍可以观察到有电子致密物质存在,而亚德细胞液泡中电子致密物质完全降解。液泡中电子致密物质未分解,则液泡浓度提高。方强恩在苜蓿根颈芽中同样发现了液泡大量内吞的现象,认为提高液泡浓度、降低冰点,有利于提升抗寒性^[26]。因此,不易二次萌发的黑丰对于不良环境的抗逆性要强于亚德。

4 结论

黑穗醋栗二次萌发实际上是解除休眠的过程,休眠进程与细胞超微结构有着密切联系。本试验通过对 2 种黑穗醋栗进行激素处理,通过电镜观察发现,GA₃ 可加快细胞代谢,促进细胞加速休眠期解除进程。GA₃ 与 ABA、清水处理最大区别在于是否诱导了胞间连丝的分化。胞间连丝在胞间信息与物质传递过程中有着不可或缺的重要作用,这可能是决定黑穗醋栗是否可以二次萌发的关键原因。通过观察其他细胞器,GA₃ 处理下线粒体、内质网、淀粉粒均较 ABA 和清水处理更加活跃,这为二次萌发提供了物质基础。质壁分离为检验细胞是否在休眠期中的一个指标,GA₃ 处理大大加快了细胞打破休眠,而 ABA 则起抑制作用。液泡作为最敏感的细胞器,ABA 处理使液泡中电子致密物质不分解,大大提高了植物预防不利环境因素的能力。

本试验初步推测了黑穗醋栗二次萌发各个细胞器的代谢规律,但未与黑穗醋栗春季萌发相对比。在下一阶段试验中会加强这部分的研究,以期从细胞学的角度解释黑穗醋栗二次萌发的发生机理。

参考文献:

[1] Goetz P K, Jeune R L. *Ribes nigrum* L. [J]. *Phytotherapie*, 2008 (6): 125 - 128.

[2] 贾春丽,周世,戚玉龙. 黑穗醋栗良种“黑林穗宝醋栗”丰产栽培技术推广示范[J]. *现代农村科技*, 2016(2): 37 - 37.

[3] 白超,祖洪元,黄玉敏. 中国黑加仑浆果资源开发[J]. *酿酒*, 2008, 35(2): 10 - 12.

[4] 王迎辉,张丹丹. 黑加仑综合开发与利用浅析[J]. *粮食问题研究*, 2016(2): 51 - 53.

[5] 张亚楼,温浩. 黑加仑营养成分及保健功能研究进展[J]. *国外医学(卫生学分册)*, 2004, 31(2): 108 - 111.

[6] 卫红军,尹建元,卫永弟,等. 黑加仑色素浸膏营养价值分析[J]. *人参研究*, 1998(3): 38 - 40.

[7] Qin D, Huo J, Wei S, et al. Black currant production, breeding and processing in China[J]. *Acta Horticulturae*, 2012, 926(926): 119 - 122.

[8] 谭钺,冷传远,李玲,等. 高温和单氰胺对油桃休眠花芽呼吸代谢的影响[J]. *应用生态学报*, 2012, 23(9): 2504 - 2508.

[9] 王海波,高东升,王孝娣,等. 短时间高温对‘曙光’油桃芽自然休眠调控的研究[J]. *园艺学报*, 2006, 33(3): 601 - 604.

[10] 董杰. 短时高温打破桃花芽休眠效应及机理研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2006.

[11] Ling C J, Li P H, Sun L H. Alterations in ultrastructure and subcellular localization of Ca²⁺ in poplar apical bud cells during the induction of dormancy[J]. *Journal of Experimental Botany*, 1997, 48(311): 1195 - 1207.

[12] 赵德刚,孟繁静. 冬小麦低温春化过程中茎尖细胞超微结构的变化与玉米赤霉烯酮的关系[J]. *植物学报*, 1997, 39(6): 570 - 573.

[13] 王欢欢,霍俊伟,秦栋,等. 赤霉素与脱落酸对黑穗醋栗二次萌发形态指标的影响[J]. *北方园艺*, 2015(18): 13 - 17.

[14] 霍俊伟,李著花,秦栋. 黑穗醋栗营养成分和保健功能及产业发展前景[J]. *东北农业大学学报*, 2011, 42(2): 139 - 144.

[15] 丁小余,施国新,陈维培,等. 茭白冬芽的发育及抗寒性的形态学研究[J]. *植物科学学报*, 1993(2): 104 - 110.

[16] 黄义江,王宗清. 苹果属果树抗寒性的细胞学鉴定[J]. *园艺学报*, 1982, 9(3): 23 - 30.

[17] 邓新杰. 崇明水仙休眠机理研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2011.

[18] Jian L C, Wang H. Plasmodesmatal dynamics in both woody poplar and herbaceous winter wheat under controlled short day and in field winter period[J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(2): 230 - 235.

[19] Hagemann W. The relationship of anatomy to morphology in plants: a new theoretical perspective[J]. *International Journal of Plant Sciences*, 1992, 153(3): S38 - S48.

[20] 简令成,李积宏,李本湘,等. 杨树顶芽细胞内质网与其他膜系统的结构联系及其在休眠过程中的变化[J]. *植物学报*, 2000, 42(8): 803.

[21] 翟中和,王喜忠,丁明孝. 细胞生物学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2000.

[22] 高文远,李志亮,肖培根,等. 浙贝母鳞片细胞休眠解除前后超微结构的变化[J]. *广西植物*, 1997(1): 86 - 89, 98 - 99.

[23] 刘芳,王家艳,王晓丽,等. 细叶百合鳞茎在低温解除休眠过程中茎尖细胞超微结构的变化[J]. *园艺学报*, 2013, 40(6): 1110 - 1118.

[24] 孙红梅,李天来,李云飞. 不同贮藏温度下兰州百合种球淀粉代谢与萌发关系初探[J]. *园艺学报*, 2004, 31(3): 337 - 342.

[25] 侯燕平,牛吉山,杨煜升. 珍珠梅顶芽抗寒机理的超微结构研究[J]. *山西农业大学学报(自然科学版)*, 1998(1): 63 - 64.

[26] 方强恩. 紫花苜蓿根颈芽发育成枝及越冬休眠特性研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.