

# 低温对‘寒富’苹果花芽呼吸和抗氧化酶活性的影响

马怀宇, 刘国成, 吕德国, 秦嗣军

(沈阳农业大学 园艺学院, 北方果树育种与生理生态研究所, 辽宁 沈阳 110161)

**摘要:**以‘寒富’苹果花芽为试材, 设置梯度低温(−25、−30、−35 和 −40℃)处理, 研究顶花芽和腋花芽的呼吸速率和抗氧化酶活性对低温的响应特点。结果表明: 顶花芽呼吸速率随着温度的下降表现出先升高后显著下降再升高的趋势, 在 −30℃顶花芽呼吸速率降到最低点, 且明显低于腋花芽, 此后顶花芽的呼吸速率虽呈上升的趋势, 但一直处于较低水平。腋花芽呼吸速率在低温处理的前期呈逐渐降低的趋势, 在 −30℃降到最低点, 此后急速升高, 在 −35℃达到最高点后快速下降。2 种类型花芽的 SOD 酶活性在 −10~−25℃均是快速升高, 此后顶花芽的 SOD 酶活性急剧下降并一直处于较低水平, 腋花芽的 SOD 酶活性下降幅度较小且维持在较高的水平。顶花芽的 POD 酶活性变化呈升高-下降交替出现的特点, 在 −25℃和 −35℃出现峰值; 腋花芽则表现为降低-升高-降低的趋势, 在 −35℃达到峰值且高于顶花芽。顶花芽的 CAT 酶活性在低温下呈先升高后降低的变化趋势, 在 −25℃出现峰值; 腋花芽 CAT 酶活性则呈升高-降低交替出现的特点, 在 −25℃和 −35℃出现峰值。此外, 腋花芽的 POD 和 CAT 酶活性升高幅度明显高于顶花芽。由此认为, 腋花芽的呼吸途径活性受低温抑制的程度低于顶花芽, 以及其抗氧化酶清除活性氧的能力高于顶花芽, 都有利于减少低温胁迫引起的活性氧伤害。

**关键词:**‘寒富’苹果; 花芽; 抗寒性; 呼吸速率; 抗氧化酶; 活性氧

**中图分类号:** S 661.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2011)14-0001-05

冬季低温是一个影响果树生长发育的主要非生物胁迫因子。冬季的异常低温极易使果树花芽受害, 不能正常开花坐果, 严重影响当年的产量。研究表明, 线粒体不仅通过呼吸代谢为植物体的生命活动提供能量物质, 也是逆境胁迫过程中抗逆性表达的重要能量基础<sup>[1]</sup>。许多逆境能影响植物体内活性氧代谢系统的平衡, 如引起超氧阴离子( $O_2^-$ )、过氧化氢( $H_2O_2$ )、氢氧自由基( $HO^\cdot$ )等的大量积累。SOD、POD 和 CAT 是植物体内清除活性氧的主要抗氧化酶。有研究表明, 低温可使植物细胞内的 SOD 活性降低, 并表现为抗寒性差的品种 SOD 活性下降剧烈, 抗寒性强的品种 SOD 活性下降缓慢<sup>[2-4]</sup>。但也有报道提出, 低温能使植物 SOD 活性增强, 而且耐寒性强的品种提高幅度较大, 并认为 SOD、CAT 和 POD 活性提高可作为品种抗寒性

的生理指标之一<sup>[5-6]</sup>。  
‘寒富’苹果是目前我国栽培界限最北的一个优质、抗寒大苹果品种, 具有较强的腋花芽结果能力, 在冷凉地区表现出优良的环境适应性和巨大的发展潜力。在‘寒富’苹果集中分布的冷凉栽培区域, 冬季温度具有变化幅度大、降温速度快的特点。试验证明, ‘寒富’苹果腋花芽的低温适应性明显强于顶花芽<sup>[7-8]</sup>, 在出现异常低温的年份, ‘寒富’苹果顶花芽易遭受低温伤害, 但腋花芽几乎无冻害且能正常开花结果, 从而保证了当年的产量<sup>[9-11]</sup>。该试验根据辽宁地区冬季温度的变化特点设计温度处理, 研究降温过程中顶花芽和腋花芽线粒体呼吸途径活性和抗氧化酶活性的响应特点, 从维持细胞内活性氧代谢平衡的角度探讨抗氧化酶活性在 2 种类型花芽低温适应性形成中的作用。不仅有助于深入研究‘寒富’苹果的多抗性生理机制, 对果树的抗寒生理研究也是一个补充。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以 4 a 盆栽‘寒富’苹果为试材, 秋季上冻前将试材摆放于冷棚中, 冷棚覆膜并加盖保温被, 冬季冷棚内温度维持在 −8~−10℃。在试材进入休眠期以后, 剪

**第一作者简介:** 马怀宇(1978-), 女, 博士, 讲师, 研究方向为果树栽培与生理生态。E-mail: mhyblackcurrent@163.com。  
**责任作者:** 吕德国(1967-), 男, 博士, 教授, 研究方向为果树栽培与生理生态。E-mail: lvdeguo@163.com。  
**基金项目:** 辽宁省教育厅资助项目(01042608006); 国家苹果产业技术体系苹果专项资助项目(nycyt-x-08-03-05)。  
**收稿日期:** 2011-04-28

取具有顶花芽和腋花芽的枝条,带回实验室进行低温处理,以未进行低温处理的盆栽树作为对照。

## 1.2 试验处理

用自来水冲洗掉枝条表面的尘垢,擦干枝条,用报纸包裹后放入低温冰箱中进行梯度低温处理。低温处理参考郑元、徐叶挺等<sup>[12-13]</sup>的方法,处理温度设定为-25、-30、-35和-40℃。从-10℃开始以3℃/h的速度降温,每个处理温度保持2h,处理后的材料用于各项生理指标的测定。

## 1.3 指标测定方法

呼吸速率测定参照李政红等<sup>[4]</sup>的方法。反应介质为20 mmol/L 磷酸缓冲液(pH 6.8),测定温度25℃。应用氧电极(Hansatech, Oxytherm Electrode Unit, UK)检测花芽的呼吸速率,单位以( $O_2$ ) $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ 表示。

超氧化物歧化酶(SOD)活性按邹琦<sup>[15]</sup>的方法测定,以抑制氮蓝四唑(NBT)光化还原50%为1个酶活力单位(U);过氧化物酶(POD)活性按照曾韶西等<sup>[2]</sup>的方法,以OD<sub>470</sub>增加0.01/min为1个酶活力单位(U);过氧化氢酶(CAT)活性按照邹琦<sup>[15]</sup>的方法测定,活性以OD<sub>240</sub>减少0.1/min所需的酶量为1个活力单位(U)。酶活性以U $\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白表示。线粒体的提取和纯化参照Bartoli等<sup>[6]</sup>的方法。

超氧阴离子( $O_2^-$ )含量的测定参照王爱国等<sup>[17]</sup>的方法,利用羟胺反应来检测花芽 $O_2^-$ 产生速率。1 mL线粒体提取液,加入0.1 mL 10 mmol/L的盐酸羟胺( $\text{NH}_2\text{HCl}$ )反应20 min,加入1%的 $\alpha$ -萘胺和0.33%的对氨基苯磺酸各1 mL,显色15 min,用3 mL正丁醇萃取,6 000 r/min离心10 min,取正丁醇2 mL在530 nm测光吸收,以亚硝酸钠( $\text{NaNO}_3$ )做标准曲线。单位为 $O_2^- \mu\text{mol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{protein} \cdot \text{min}^{-1}$ 。过氧化氢( $\text{H}_2\text{O}_2$ )含量测定参照Sergiev等<sup>[18]</sup>方法,取0.5 g花芽,加入预冷的5 mL 0.1%的三氯乙酸研磨,12 000 r/min离心20 min;取0.7 mL上清液,加0.7 mL 10 mmol/L的磷酸缓冲液和1.4 mL 1 mol/L的碘化钾,390 nm测定吸光值(单位:ng/g)。

各生理指标的结果以3次测定的平均值表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 低温对花芽呼吸速率的影响

线粒体被喻为细胞的动力工厂,为细胞生理功能的表达提供能量和物质。尤其在逆境胁迫过程中,能否维持能量的代谢水平是决定植物抗逆性的一个重要因素。该试验中,低温下‘寒富’苹果的顶花芽和腋花芽呼吸速率都有明显的变化,且二者的变化趋势明显不同。顶花芽呼吸速率随着温度的下降表现出先升高后显著下降再升高的趋势。在-30℃,顶花芽呼吸速率降到最低点,且明显低于腋花芽,此后顶花芽的呼吸

速率虽曾上升的趋势但一直处于较低水平。腋花芽的呼吸速率在低温处理的前期呈逐渐降低的趋势,在-30℃降到最低点,此后急速升高,在-35℃达到最高点后又快速下降。由此看出,顶花芽和腋花芽线粒体呼吸途径对低温的耐受程度明显不同(图1)。

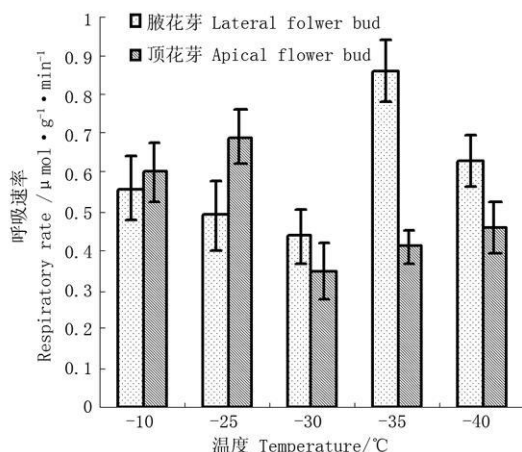


图1 低温对‘寒富’苹果花芽呼吸速率的影响  
Fig. 1 Effect of low temperature on respiratory rate in ‘Hanfu’ apple flower buds

### 2.2 低温对花芽SOD酶活性的影响

‘寒富’苹果顶花芽和腋花芽的SOD酶活性的响应特点不同。低温处理初期,2种类型花芽的SOD酶活性均是快速升高,在-25℃到达最高点。但此后随着温度的继续下降,顶花芽和腋花芽的SOD酶活性变化趋势明显不同。-25℃之后,顶花芽的SOD酶活性显著下降,在-30℃降到最低点,且显著低于同期的腋花芽SOD酶活性,虽然此后略有升高(-35℃),但酶活性一直处于较低水平。腋花芽SOD酶活性在-25℃之后降低幅度较小,且在-30~-35℃之间一直保持较高

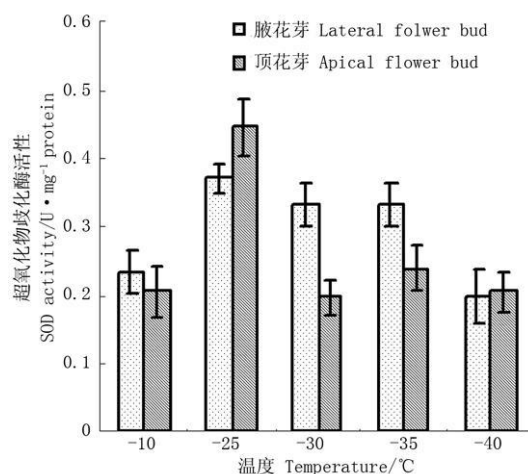


图2 低温对‘寒富’苹果花芽SOD酶活性的影响  
Fig. 2 Effect of low temperature on SOD activity in ‘Hanfu’ apple flower buds

水平的酶活性, -35℃之后开始明显下降(图2)。

2.3 低温对花芽 POD 酶活性的影响

低温下‘寒富’苹果顶花芽和腋花芽 POD 酶活性的变化趋势明显不同。顶花芽 POD 酶活性呈升高-下降交替出现的变化特点, POD 酶活性在-25 和-35℃各出现 1 个峰值, 但前者的变化幅度(181.5%)显著高于后者(97.4%)。腋花芽 POD 酶活性在低温下呈降低-升高-降低的变化特点。在-10~-25℃之间略有下降, 随后快速升高, 在-35℃达到峰值, 变化幅度达 212.8%。 -35℃之后, 2 种类型花芽的 POD 酶活性均明显降低(图3)。

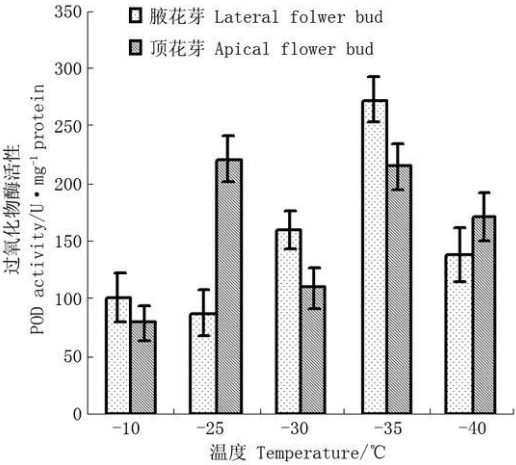


图3 低温对‘寒富’苹果花芽 POD 酶活性的影响  
Fig.3 Effect of low temperature on POD activity in ‘Hanfu’ apple flower buds

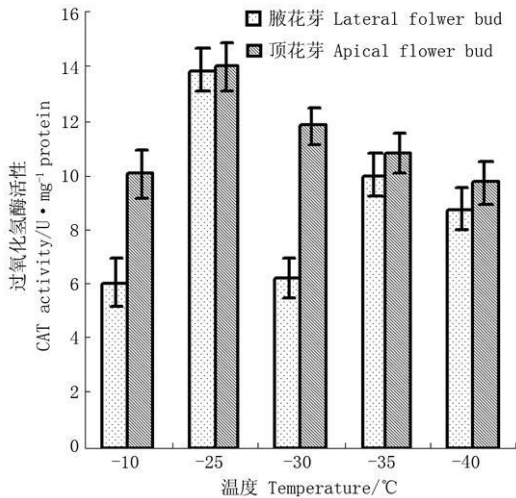


图4 低温对‘寒富’苹果花芽 CAT 酶活性的影响  
Fig.4 Effect of low temperature on CAT activity in ‘Hanfu’ apple flower buds

2.4 低温对花芽过氧化氢酶活性的影响

在低温处理过程中,‘寒富’苹果顶花芽的 CAT 酶

活性水平一直高于腋花芽, 且变化幅度小于腋花芽。低温下, 顶花芽的 CAT 酶活性呈先升高后降低的变化趋势, 在-25℃出现峰值后逐渐降低, CAT 酶活性从-10℃到-25℃的升高幅度为 39.7%。腋花芽 CAT 酶活性则是呈升高-下降交替出现的变化特点, 在-25℃出现第 1 个峰值, 升高幅度为 129.4%, 显著高于顶花芽。但此后快速降低, 在-30℃降到最低点, 然后又快速升高, 在-35℃出现第 2 个峰值, 但升高幅度(60.5%)明显低于第 1 个峰值。从整体来看, 腋花芽 CAT 酶活性的变化幅度明显高于顶花芽(图4)。

2.5 低温对花芽 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的影响

在花芽中, 线粒体电子传递链是超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)的主要来源, 低温胁迫能增加线粒体电子漏, 促进线粒体中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的积累。低温下,‘寒富’顶花芽和腋花芽 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的变化趋势和幅度明显不同。顶花芽 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量呈下降-升高交替出现的变化趋势, 在-25℃后急剧增加, 在-30℃达到峰值, 随后大幅度降低, 35℃后又逐渐升高。腋花芽 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量在低温处理过程中呈降低-升高的变化趋势。在-10~-30℃之间变化幅度很小, 此后明显降低, 在-35℃降到最低点, 然后又快速升高(图5)。

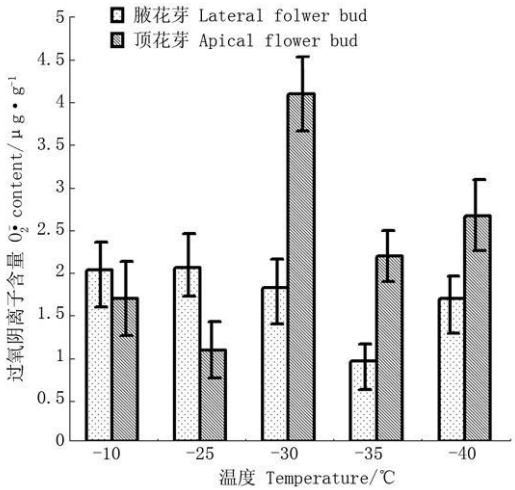


图5 低温对‘寒富’苹果花芽 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的影响  
Fig.5 Effect of low temperature on O<sub>2</sub><sup>-</sup> content in ‘Hanfu’ apple flower buds

2.6 低温对花芽 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的影响

‘寒富’苹果顶花芽过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)含量随着温度的降低逐渐升高。腋花芽的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量则是呈升高-降低-升高的变化特点, 在-10℃和-25℃腋花芽中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量没有明显变化, 此后明显升高, 在-30℃达到第 1 个峰值后开始下降, -35℃后又开始快速升高(图6)。

3 讨论

呼吸代谢为植物生长、发育和其它生理功能得以

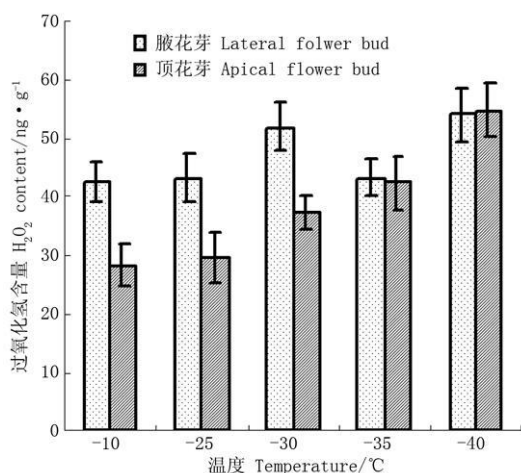


图6 低温对‘寒富’苹果花芽 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的影响

Fig. 6 Effect of low temperature on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> content in ‘Hanfu’ apple flower buds

顺利进行提供了物质、能量和信息的保证,呼吸速率的高低直接影响了植物对逆境的响应能力<sup>[19]</sup>。该试验中,在低温处理的前期,‘寒富’苹果顶花芽的呼吸速率高于腋花芽,但随着温度的不断降低,腋花芽的呼吸速率快速升高且显著高于顶花芽。说明2种类型花芽呼吸途径的活性对温度的响应能力明显不同。-30℃对顶花芽而言是一个抗寒力表达的转折点,在-30℃之前,顶花芽呼吸途径能表现出较高的活性,即有较高的能量代谢水平;但在-30℃之后,顶花芽的呼吸速率一直处于较低的水平,认为顶花芽的呼吸途径已经明显受到低温的抑制。腋花芽的呼吸速率虽然在低温处理的前期略有降低,但在-30℃之后的急剧升高,说明此前腋花芽呼吸途径并没有受到低温的不可逆伤害。

众所周知,许多逆境都能影响植物体内活性氧的代谢平衡,即导致如 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 和 HO· 的大量积累。SOD、CAT 和 POD 是植物体内主要的活性氧清除酶,其活性变化幅度直接影响植物对逆境的适应能力,下降幅度越小,抗逆性越强<sup>[2-5]</sup>。其中,SOD 在 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 的代谢中处于重要地位,能够把 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 歧化生成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,CAT 和 POD 则是细胞中清除 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的主要抗氧化酶。结合花芽中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量的变化特点可知,在-10~-35℃之间,腋花芽 SOD 酶活性下降幅度明显小于顶花芽,说明腋花芽中 SOD 酶活性受低温的抑制作用明显低于顶花芽,2种类型花芽中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量的变化特点也证明了这一点。腋花芽 POD 和 CAT 酶活性在-35℃之前交替升高,使细胞中的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量维持在一个相对稳定的范围之内。说明在腋花芽 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 代谢中,

POD 和 CAT 共同发挥作用,且能够互补。而在顶花芽中,-25℃之后,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量呈逐渐升高的趋势,与此同时顶花芽的 CAT 酶活性呈不断下降的趋势,虽然 POD 酶活性在-35℃有1个明显升高的过程,但对顶花芽中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的含量没有明显的影响,推测 CAT 酶在顶花芽 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的代谢调控中起主导作用。

### 参考文献

- [1] Rhoads D M, Umbach A L, Subbaiah C C, et al. Mitochondrial reactive oxygen species contribution to oxidative stress and interorganellar signaling [J]. Plant Physiol, 2006, 141: 357-366.
- [2] 曾韶西,王以柔,李美如.不同胁迫预处理提高水稻幼苗抗寒期间膜保护系统变化比较[J].植物学报,1997,39(4):308-314.
- [3] Miyagawa Y, Tamoi M, Shigeoka S. Evaluation of the defense system in chloroplasts to photooxidative stress caused by paraquat using transgenic tobacco plants expressing catalase from *Escherichia coli* [J]. Plant Cell Physiol, 2000, 41(3): 311-320.
- [4] Lafuente M T, Sala J M, Zacarias L. Active oxygen detoxifying enzymes and phenylalanine ammonia-lyase in the ethylene induced chilling tolerance in citrus fruit [J]. Journal Agric Food Chem, 2004, 52(11): 3606-3611.
- [5] 刘德立,禹邦超,余世明,等.超氧化物歧化酶(SOD)与植物抗逆性的关系[J].华中师范大学学报(自然科学版),1993,27(1):83-85.
- [6] Sala J M, Lafuente M T. Catalase in the heat-induced chilling tolerance of cold-stored hybrid Fortune mandarin fruits [J]. Journal Agric Food Chem, 1999, 47(6): 2410-2414.
- [7] 王贺,刘国成,吕德国,等.‘寒富’苹果与亲本系品种抗寒生理指标的比较研究[J].北方园艺,2007(10):32-34.
- [8] 赵德英,刘国成,吕德国,等.寒富苹果特异性状评价[J].果树学报,2009,26(1):6-12.
- [9] 李怀玉,李家福.寒富苹果试栽表现及应注意的问题[J].中国果树,1997(4):40.
- [10] 王德生.抗寒优质苹果新品种—寒富及其生产栽培技术[J].烟台果树,2000(1):32.
- [11] 李怀玉,刘国成,吕德国.寒富苹果的冻害调查[J].北方果树,2001(6):21-22.
- [12] 郑元,杨途熙,魏安智.低温胁迫对仁用杏几个抗寒生理指标的影响[J].西北农林科技大学学报,2008,36(1):163-167.
- [13] 徐叶挺,李疆,罗淑萍.低温胁迫下野生巴旦杏抗寒生理指标的测定[J].新疆农业大学学报,2008,31(4):1-4.
- [14] 李政红,高东升,李宪利.桃芽自然休眠与两条主要电子传递途径变化的关系[J].植物生理与分子生物学报,2006,32(2):156-162.
- [15] 邹琦.植物生理学实验指导[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [16] Bartoli C G, Yu J P, Gomez F. Inter-relationships between light and respiration in the control of ascorbic acid synthesis and accumulation in *Arabidopsis thaliana* leaves [J]. Journal Exp Bot, 2006, 57: 1621-1631.
- [17] 王爱国,罗广华.植物的超氧自由基与羟胺反应的定量关系[J].植物生理学通讯,1990(6):55-57.
- [18] Sergiev I, Alexieva V, Karanov E. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants [J]. Compt Rend Acad Bulg Sci, 1997, 51: 121-124.
- [19] 梁铮,梁厚果.植物呼吸代谢.植物生理与分子生物学[M].2版.北京:科学出版社,1998:344-365.

# 小管出流条件下土壤水分对树莓果实品质的影响

李 波, 赵 莹, 王铁良, 马世林, 孙 健, 沈亚西

(沈阳农业大学 水利学院, 辽宁 沈阳 110161)

**摘 要:** 在滑动式防雨棚下的测坑中进行了小管出流条件下土壤水分对树莓生产的影响试验, 对比分析树莓可溶性固形物、可溶性蛋白质、有机酸、维生素 C、可溶性糖、超氧化物歧化酶(SOD)、糖酸比 6 种品质指标的同时, 采用主成分分析的方法综合评价了小管出流条件下不同水分处理对树莓果实品质的影响。结果表明: 在树莓整个生育期内当土壤水分控制在田间持水量的 50%~60% 时, 树莓果实品质最佳。

**关键词:** 小管出流; 树莓; 果实品质; 主成分分析

**中图分类号:** S 663.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2011)14—0005—04

树莓是蔷薇科悬钩子属多年生灌木型果树, 已经逐渐发展成为第三代新兴水果<sup>[1]</sup>。大量研究表明<sup>[2-6]</sup>, 灌水增加了作物的产量, 却同时降低了果实糖、有机酸等可溶性物的含量以及干物质的含量; 田义、刘海涛等研究了水分对番茄果实品质的影响; 刘明池等研究了不同灌溉时期对树莓果实品质和产量的影响。目前, 土壤水分对树莓果实品质影响的研究国内还未见报道。该试验研究了小管出流条件下土壤水分对树莓的果实品质的

影响, 以期为树莓灌溉制度的确定提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

田间试验于 2010 年 5 月 8 日至 10 月 16 日在沈阳农业大学水利学院综合试验场中滑动式防雨棚下的测坑中进行, 树莓生长中的水量完全可控。供试土壤为重壤土, 供试土壤的基本理化性质如表 1 所示。供试作物为树莓, 移栽时为 2 a 生, 品种为“秋福”。

### 1.2 试验设计

采用重力式小管出流灌水方式。试验共设置 4 个水平: 对照处理(CK)、高水处理、中水处理和低水处理。各处理土壤含水率控制下限分别为 80%~90% $\theta_f$ , 70%~80% $\theta_f$ , 60%~70% $\theta_f$ , 50%~60% $\theta_f$ , 其中  $\theta_f$

## Research on the Effect of Low Temperature on Respiratory Rate and Antioxidant Enzymes Activities in ‘Hanfu’ Apple Flower Buds

MA Huai-yu, LIU Guo-cheng, LV De-guo, QIN Si-jun

(Horticultural College, Shenyang Agricultural University, Research Institute for Breeding and Physiology-Ecology of Northern Fruit, Shenyang, Liaoning 110161)

**Abstract:** In order to research the response characteristics of respiratory rate and antioxidant enzymes activities in apical flower buds and lateral flower buds under low temperature treatment (−25, −30, −35 and −40 °C), ‘Hanfu’ apple flower buds were used as materials. The results showed that the respiratory rate of apical flower buds increased firstly and decreased sharply to the lowest point at −30 °C which was lower than that of lateral flower buds, and then kept at a relative low level although it increased slightly. In contrast, respiratory rate of lateral flower buds decreased firstly to the lowest point at −30 °C and increased sharply to peak at −35 °C, and then decreased again. In both apical flower buds and lateral flower buds, SOD activity displayed fast increasing trend when temperature went down from −10 °C to −25 °C, and then SOD activity in apical flower buds decreased sharply and kept at a relatively low level, while SOD activity in lateral flower buds only decreased slightly and kept at a relatively high level. POD activity in apical flower buds changed in zigzag mode, appeared peaks at −25 °C and −35 °C; however, POD activity in lateral flower buds decreased firstly and increasing subsequently to the peak at −35 °C which was higher than that of apical flower buds, and then decreased again. CAT activity in apical flower buds increased firstly to the peak at −25 °C and decreased subsequently, in contrast, CAT activity in lateral flower buds was changing zigzag with peaks at −25 °C and −35 °C. The increasing ranges of POD and CAT activity in lateral flower buds were obvious higher than that of apical flower buds additionally. It was hypothesized that higher respiratory rate and ability of eliminating ROS in lateral flower buds were contributed to alleviating oxidative stress induced by cold temperature.

**Key words:** ‘Hanfu’ apple; flower buds; cold tolerance; respiratory rate; antioxidant enzymes; reactive oxygen