

doi:10.11937/bfyy.20164108

果树响应低温胁迫的分子机制及 抗寒性鉴定方法研究进展

刘贝贝, 陈利娜, 李好先, 张杰, 牛娟, 曹尚银

(中国农业科学院 郑州果树研究所, 河南 郑州 450009)

摘要: 适宜的温度是果树生存的必要条件之一, 它参与调控果树的整个生长发育过程, 是限制果树生长、发育和分布的一个主要环境因子。果树在受到低温胁迫时, 其本身会发生一系列的反应来应对逆境, 这些反应互相联系形成一套完整的分子应答机制。抗寒性是果树重要的抗逆指标之一, 是一系列反应体现在生理生化反应中的结果。该研究综述了果树响应低温胁迫的分子机制, 以及国内外抗寒性鉴定方法的原理、优缺点, 以期进一步揭示果树低温胁迫适应性的调控机制, 为果树的育种和栽培提供科学的参考依据。

关键词: 果树; 低温胁迫; 分子机制; 鉴定方法

中图分类号: S 66 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2017)15-0174-06

非生物胁迫尤其是冷害、干旱、盐害是造成全世界农作物减产的主要因素。冷害是果树生产中一种常见的自然灾害, 我国几乎每年都会发生不同程度的冷害。果树生长周期长, 一旦受到冷害将给生产上带来无法挽回的损失, 严重制约我国果树产业的发展。果树在低温胁迫下, 有一套分子应答机制来抵御逆境, 这一机制是涉及多基因、多基因表达产物、多信号传导途径的复杂过程, 主要表现在细胞内转录模式的改变, 出现新基因和新蛋白质的合成^[1-2]。果树的抗寒性是果树长期适应低温环境变化而形成的一种遗传特性, 抗寒性高低因品种不同、组织结构不同而异。因此揭示果树响应低温胁迫的分子机制、研究抗寒性鉴定的方法, 找出鉴定抗寒性最敏感的指标, 对减轻

冷害对果树生产造成的损失, 以及筛选杂交育种亲本, 培育抗寒新品种具有重要的意义。

1 果树冷胁迫过程中的应答机制

对果树冷胁迫下分子应答机制的研究表明, 果树的抗寒性是由许多基因共同控制的, 根据基因产物的不同可将其分为两大类^[3]: 一类为功能基因, 编码的产物在胁迫过程中直接发挥作用, 产物包括可溶性糖、脯氨酸及其它渗透调节物质; 抗冻蛋白、LEA 蛋白 (late embryogenesis abundant protein) 等功能蛋白质; 活性氧清除酶类等毒性降解物。另一类为调节基因, 其产物参与调控下游基因表达与信号传导过程, 包括参与胁迫信号传导的蛋白激酶, 以及参与胁迫信号传导的转录因子家族^[4]。

1.1 功能基因编码的渗透调节物质

1.1.1 可溶性糖

可溶性糖可以作为植物代谢的能源物质, 在果树的抗寒生理中起渗透调节作用, 其一般在秋季开始积累, 到冬季含量达到最高, 春季开始降低。低温胁迫下, 植物大量积累可溶性糖, 提高细

第一作者简介: 刘贝贝 (1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为果树遗传育种。E-mail: 756715323@qq.com.

责任作者: 曹尚银 (1961-), 男, 博士, 研究员, 现主要从事果树遗传育种等研究工作。E-mail: 13623848170@163.com.

基金项目: 国家科技基础性工作专项重点资助项目 (2012FY110100)。

收稿日期: 2017-02-07

胞的渗透势,增强细胞的保水能力,降低冰点,延缓细胞过度脱水,保护细胞质胶体不遇凝固^[5]。可溶性糖还能与细胞膜上的成分结合,防止有毒物质入侵膜,对细胞膜、原生质体以及叶绿体等具有保护作用;并能诱导抗寒基因的表达^[6]。邓庆菊等^[7]对 5 种野生蔷薇属植物抗寒力进行综合评价发现,随着温度的降低,这 5 个品种枝条中的可溶性糖含量明显增加。王丽雪等^[8]在葡萄枝条中研究还原糖与抗寒性的关系发现:同一时期内,抗寒性的葡萄品种可溶性糖含量高,抗寒锻炼期间增长速度快和幅度大;不抗寒的可溶性糖含量低,增加速度慢和幅度小。刘大林^[9]在研究番石榴叶片在低温下生理生化变化时得出,含糖量高的石榴品种抗寒性强。

1.1.2 脯氨酸

脯氨酸是植物蛋白质的组分之一,并以游离状态广泛存在于植物体内。低温逆境下,树体会下调脯氨酸脱氢酶基因的表达即抑制脯氨酸的降解,上调脯氨酸合成酶基因的表达即激活植物体内脯氨酸的生物合成,因此脯氨酸积累量增多,并且主要发生在叶片和枝干上^[10]。脯氨酸不仅能作为细胞渗透调节物质,还具有极强的亲水性,能降低冰点,防止细胞脱水。脯氨酸还参与植物体内的很多细胞反应,促进蛋白质的合成,增大蛋白质的亲水面积,使植物在低温时免受伤害^[11]。冷胁迫解除后,脯氨酸会被迅速的分解利用^[12]。张艳侠等^[13]对 5 个石榴品种进行低温处理,低温下 5 个石榴品种的脯氨酸含量均呈上升趋势。

1.2 功能基因编码的功能蛋白质

1.2.1 抗冻蛋白

鱼和昆虫处于低温时为了防止体内冰晶和冰核的形成,会大量合成抗冻蛋白。低温胁迫时,植物体内的抗冻蛋白也能被诱导表达,并且与冰表面形成晶体。ANTIKAINEN 等^[14]研究发现,低温时黑麦的抗冻蛋白在茎尖和叶片中积累。TREMBLAY 等^[15]发现,小麦品种的抗寒水平与抗冻蛋白中的重结晶抑制蛋白的转录激活水平相关,推测小麦抗冻蛋白有亮氨酸富集区。GRIF-FITH 等^[16]进一步研究表明,抗冻蛋白能降低冰延伸和重结晶的速度,减小低温对植物的伤害,并预测黑麦抗冻蛋白有 β 折叠,没有保守序列或结构域。WISNIEWSKI 发现桃的一个抗冻蛋白有

抗冻活性^[17]。

1.2.2 LEA 蛋白

LEA 蛋白普遍存在于各类植物中,是种子在胚胎发育后期高度表达的一种具有高度亲水性的蛋白质。LEA 蛋白不仅能在种子中积累,在营养组织和花粉管中也均有表达^[17]。LEA 蛋白的亲水性和其氨基酸组成有关,其中甘氨酸、丝氨酸、苏氨酸、丙氨酸含量较高,半胱氨酸和色氨酸的含量较低或没有,这些特点与其功能密切相关^[18]。LEA 蛋白在保证植物的正常生长发育以及对逆境胁迫抗性方面发挥重要的作用。植物体在低温胁迫下,能检测到其 LEA 蛋白的表达量有所提高^[19]。目前研究认为,LEA 蛋白的作用机制可能是通过与游离水分子结合,形成一个保护性膜来维持亚细胞结构和生物大分子结构的完整,从而使其发挥正常功能^[20]。YIN 等^[21]将马铃薯中的 LEA 蛋白 DHN24 转入黄瓜后,转基因黄瓜的抗寒性得到提高。

1.3 功能基因编码的活性氧清除酶类

在适宜的生长环境下,植物体内的活性氧比较稳定。但当植株遭受逆境时,活性氧就会大量爆发,破坏细胞膜和蛋白质,对植物造成伤害。此时植株就会通过保护酶系统来清除活性氧,如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD),保护细胞膜不被过氧化^[22]。SOD 的基质是超氧阴离子,所以 SOD 能够清除组织和细胞内的超氧阴离子,减小超氧阴离子对细胞膜的伤害;POD 能分解 H_2O_2 ,使细胞膜免受伤害。杨建民^[23]测定 5 个杏品种不同器官的抗寒性时发现,杏树的抗寒性与体内 SOD 活性有一定关系,抗寒品种的 SOD 活性高于不抗寒品种。金明丽^[24]在苹果砧木实生后代抗寒性鉴定中表明,POD 随温度的下降活性增强,抗寒性强的枝条 POD 活性上升的速率快且变化幅度大。

1.4 调控基因表达的调节蛋白质

1.4.1 蛋白激酶

果树在低温胁迫条件下,首先要感知、传递、识别、传导低温信号,然后发生一系列的生理生化反应来应对低温胁迫,而低温信号的传递需要蛋白激酶的参与。蛋白激酶是种磷酸转移酶,可以把 ATP 的 γ 磷酸基团转移到底物的氨基酸残基

上,把蛋白质磷酸化。蛋白质磷酸化可以使低温信号传递开始,传递完成后,通过蛋白质去磷酸化终止。树体可以通过膜受体蛋白激酶感知低温,使细胞内一些分子和离子浓度发生改变,如钠离子、钙离子、脱落酸等,不同的蛋白磷酸化途径被开启,不断放大低温信号,激活抵御低温基因的转录表达,进而发生一系列的生理生化反应来应对低温胁迫^[25-29]。

1.4.2 转录因子

转录因子是能够与真核基因启动子区域中顺式作用元件发生特异性结合,并对下游基因表达起调控作用的DNA结合蛋白,是转录起始所需的辅助因子,激活或抑制基因转录^[30]。近年来,研究比较多的与植物抗逆相关的转录因子分别为:NAC类转录因子、WRKY类转录因子、bZIP类转录因子、MYB类转录因子、AP2/EREBP类转录因子^[31-32]。含有AP2/EREBP结构域的转录因子广泛存在于各种植物中,如拟南芥、番茄、水稻、葡萄等,与细胞生长发育和逆境信号的传递有关。而在果树逆境胁迫中研究最多的就是AP2/EREBP家族中的CBF类转录因子。1997年STOCKINGER在研究拟南芥低温驯化期间如何调节COR(cold-responsive)表达的分子机理时,从拟南芥cDNA文库中首次克隆出一段cDNA序列,这种cDNA能编码一种转录激活因子,并能与CRT/DRE(C-repeat/dehydration responsive element)结合,这段cDNA序列被命名为CBF1(CRT/DRE binding factor 1)^[33]。继CBF1转录因子后,在拟南芥中又相继发现了CBF2、CBF3和CBF4、CBF5、CBF6这6种转录因子,它们共同构成一个小的CBF基因家族^[34-36]。CBF1、CBF2、CBF3也被称为DREB1,DREB1在低温下大量表达且不依赖ABA^[37]。DREB1转录因子能激活启动子中含有CRT/DRE元件的一系列基因的表达,如RD29A、COR15a、RAB18、ERD11等。这些基因的表达产物都能在低温胁迫中发挥功能,从而提高树体的抗寒性^[38]。DREB1转录激活因子就像是一个总开关,综合激活冷驯化反应的多种组成因子。目前人们已经从其它植物如小麦、烟草、结缕草、大豆、茶树、葡萄、香蕉中克隆CBF同源基因^[39-41]。

2 果树抗寒性鉴定方法

可靠的植物抗寒性鉴定方法是研究植物低温伤害、抗寒机制和选育抗寒良种必不可少的。目前国内外测定果树抗寒性的方法可归纳为以下几类:寒冻灾害调查法、生长恢复法、组织褐变法、生理生化指标测定法、同工酶谱法、电阻抗图谱法等。每种方式都是有利有弊的,应根据试验材料的实际情况选择相适应的方法。

2.1 寒冻灾害调查法

自然界发生的寒冻灾害虽然会造成重大损失,但却是研究植物抗寒性的极佳时期,在植物抗寒性研究中是传统、重要、直观、可靠的方法。1999年广东发生了严重的冻害,统计不同柑橘栽培品种的受冻情况得出:主栽品种沙田柚冻害程度为2~3级,而温州蜜柑为1~2级、无死树现象^[42]。2015年发生了严重的低温冻害,使郑州果树研究所石榴资源圃中软籽石榴品种被冻死3/2(地上部分),而大部分硬籽石榴品种存活下来了,从一定程度上能说明硬籽石榴品种的抗寒性比软籽的强。

2.2 生长恢复法

生长恢复法是根据果树受低温胁迫后恢复生长的能力来判断其抗寒性。具体方法:把经过低温处理的枝条,放在培养箱内水培或沙培,每天喷水,培养一段时间后统计萌芽率,确定临界致死温度^[43]。苏向辉等^[44]对天山樱桃进行资源评价时采用了4种不同的抗寒性鉴定方法,根据主成分分析各抗寒指标的得分结果显示,恢复生长法(92.4%)和电导率法(85.6%)标准贡献率达85.928%。生长恢复法建立在寒冻灾害调查法基础之上,是判断组织受冻害是否还有生命力的一种比较可靠、直观的方法。并且不需要复杂、昂贵的仪器设备,成为其它鉴定方法的对照方法。

2.3 组织褐变法

组织褐变法也称全株冰冻测试法,是鉴定果树抗寒性的传统方法之一。具体方法:样本低温处理后进行温育,观察组织褐变,最后检测枝条、花、根系等器官组织的褐变情况,并以此作为检验植株抗寒性的依据^[45]。高爱农等^[46]用51个苹果品种枝条为材料,研究组织褐变法与抗寒性的关

系,认为组织褐变法比较直观,不需要复杂计算。主要优点是:能准确预测全株的死亡率,是估测真实抗寒性的最有效的选择。缺点:破坏样本至少需 8 d 才能得到结果;对于小量样本,测定精度低;对受害组织和活组织目测分级时存在主观性误差;对于大量的苗木样本不实用,无论是贮藏或是在生长室温育期间,均需较大的实验室^[47]。

2.4 生理生化指标测定法

低温胁迫下树体内一些生理、生化指标如电解质渗透率、可溶性糖、可溶性蛋白质、脯氨酸、自由水和束缚水,活性氧清除酶系统,会发生相应的变化,由于这种变化明显地出现在外部形态变化之前,可以通过测定这些指标的变化来鉴定果树抗寒性^[48]。具体方法:把植株的离体器官按不同的温度梯度、降温速度和处理时间进行低温胁迫,叶片要保证正常供水,茎段要用塑料薄膜袋和蜡封严,然后进行各项指标的测定。该方法的优点是:几天内就可以得到结果,并可以大量重复;除制冷设备外,其它设备相对低廉。缺点是:由于在离体条件下进行,得出的结果有可能误差较大,甚至导致错误结论。为此,应注意通过延长低温处理后的温育时间以改善数据质量^[49]。

2.5 组织细胞结构观察法

植物的组织结构是对环境长期适应的结果,树体的组织细胞结构与抗寒性有一定的关系。郭修武等^[50]利用 5 个抗寒力不同的葡萄品种进行了电镜扫描,分析根系结构与抗寒性关系得出:细胞大小、密度可以作为抗寒性鉴定的一个指标;导管大小、密度与抗寒性顺序比较一致;品种越抗寒皮层比例越低。也可以通过对叶片角质层细胞数量、角质层厚度、栅栏组织厚度、海绵组织厚度、叶片厚度等指标的观测,来鉴定果树的抗寒性。赵德英等^[51]研究指出,抗寒的苹果品种生长早期气孔开放较大,晚期则较小,保卫细胞及栅栏细胞较小,栅栏细胞较细长,胞内叶绿体数目较多。田景花等^[52]对核桃属 4 个树种展叶期抗寒性鉴定的研究表明,核桃叶片的叶片厚度和栅栏组织厚度与其半致死温度之间呈极显著负相关,可作为鉴定核桃展叶期抗寒性的指标之一。

2.6 同工酶谱法

同工酶是指催化相同反应而结构及理化性质

不同的一组酶,它们几乎存在于所有生物中。广泛存在于植物体内的过氧化物酶同工酶是植物体适应环境变化并做出灵敏反应的一类酶,被认为是植物抗逆能力大小的标志^[53]。陈艳秋等^[54]通过对抗寒不同的苹果品种的过氧化物酶同工酶谱分析发现:抗寒品种均有一条明显的抗寒酶带,抗寒性的强弱与该酶带的强弱大体相符;抗寒性弱的没有明显的不抗寒酶带。此结果与枝条皮部、叶柄的酶谱分析结果一致。

2.7 电阻抗图谱法

生物的电阻抗是一种物理量,这种物理量是一种电学特性,它可以体现出生物体、组织、器官乃至细胞的特性。电阻抗图谱法可以得到一些参数,如胞外电阻、胞内电阻、弛豫时间、弛豫时间分布系数等^[55]。以往的研究表明,胞外电阻在正常情况下是决定冷冻后抗寒性的最适合参数^[56]。用电阻抗图谱法测定果树的抗寒性不用进行繁琐的试验,也不用对果树的样本进行温育。

3 果树抗寒研究的展望

果树在低温胁迫下的分子应答机制的研究虽然取得了一定的成就,但大多都局限于单一途径的探索,这些途径没有形成一个完整的网络,还需进一步深入探索。目前鉴定果树抗寒性的方法不少,但还没有一种方法是真实可靠、快捷高效,每种方法都各有优缺点和适用范围,因此对果树抗寒性进行评价时,选取的研究方法不能单一和过简单化。选择鉴定方法时要考虑通过其它方法来克服某一种方法存在的局限性,要把抗寒性的测定与其它质量的测定结合起来进行综合评定。近年来,基因工程和分子生物学技术在果树领域被广泛的应用,因此代谢组学、基因组学、蛋白质组学应是研究果树冷胁迫分子应答机制和抗寒性鉴定的新方向。

参考文献

- [1] HUANG G T, MA S L. Signal transduction during cold, salt, and drought stresses in plants[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39: 969-987.
- [2] 葛伟文,王之贤. 温度适应的分子机制[J]. 生理科学进展, 1997, 28(3): 268-270.
- [3] SHINOZAKI K, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K. Molecu-

- lar responses to dehydration and low temperature; Differences and cross-talk between two stress signaling pathways[J]. *Curr Opin in Plant Biol*, 2000(3): 217-223.
- [4] HAAKE V, COOK D, RIECHMANN J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*[J]. *Plant Physiol*, 2002, 130: 639-648.
- [5] SOPPELA S K, LANKILA J, LAHDESMÄKI P, et al. Response of protein and carbohydrate metabolism of Scots pine seedlings to low temperature[J]. *Plant Physiology*, 2002, 159(2): 157-180.
- [6] 付晓伟, 张倩, 刘崇怀, 等. 评价葡萄根系抗寒性指标的确定[J]. *果树学报*, 2014, 31(1): 52-59.
- [7] 邓庆菊, 李淑斌. 五种野生蔷薇属植物抗寒力的综合评价[J]. *西南师范大学学报*, 2012, 37(4): 70-75.
- [8] 王丽雪, 李荣富. 葡萄枝条中淀粉、还原糖和脂类物质变化与抗寒性的关系[J]. *内蒙古农牧学院学报*, 1994, 15(4): 1-6.
- [9] 刘大林. 低温胁迫下番石榴叶片生理生化变化的探讨[J]. *林业科学*, 2003, 39(1): 38-39.
- [10] VERBRUGGEN N, VILLARROEL R, van MONTAGU, et al. Osmoregulation of a pyrroline-5-carboxylate reductase gene in *Arabidopsis thaliana*[J]. *Plant Physiol*, 1993, 103: 771-781.
- [11] 苏李维, 李胜, 李绍英, 等. 葡萄抗寒性综合评价方法的建立[J]. *草业学报*, 2015, 24(3): 71-75.
- [12] TROTEL-AZIZ P, NIOGRET M F, DELEU C, et al. The control of proline consumption by abscisic acid during osmotic stress recovery of canola leaf discs[J]. *Physiology Plantarum*, 2003, 117: 213-221.
- [13] 张艳侠, 罗华. 五个石榴品种的抗寒性评价[J]. *浙江农业学报*, 2015, 27(4): 549-554.
- [14] ANTIKAINEN M, GRIFFITH M, ZHANG J, et al. Immunolocalization of antifreeze proteins in winter rye leaves, crowns, and roots by tissue printing[J]. *Plant Physiol*, 1996, 110: 845-857.
- [15] TREMBLAY K, OUELLET F, FOURNIER J, et al. Molecular characterization and origin of novel bipartite cold-regulated ice recrystallization inhibition proteins from cereals[J]. *Plant Cell Physiol*, 2005, 46: 884-891.
- [16] GRIFFITH M, YAISH M W. Antifreeze proteins in overwintering plants: A tale of two activities[J]. *Trends Plant Sci*, 2004(9): 399-405.
- [17] 章镇, 韩镇海. 果树分子生物学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2012: 186-193.
- [18] 赵美荣, 李永春, 王玮. 扩展蛋白与植物抗逆性关系研究进展[J]. *植物生理学报*, 2012, 48(7): 637-642.
- [19] GRELET J, BENAMAR A, TEYSSIER E, et al. Identification in pea seed mitochondria of a late-embryogenesis abundant protein able to protect enzymes from drying[J]. *Plant Physiol*, 2005, 137: 157-167.
- [20] MAUREL C, CHRISPEELS M J. Aquaporins: A molecular entry into plant water relations[J]. *Plant Physiology*, 2001, 25: 135-138.
- [21] YIN Z M, RORAT T, SZABALA B M, et al. Expression of a *Solanum sogarandinum* SK 3-type dehydrin enhances cold tolerance in transgenic cucumber seedlings[J]. *Plant Sci*, 2006, 170: 1164-1172.
- [22] TRKAN I, BOR M, KOCA H. Different responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress[J]. *Plant Sci*, 2005, 168: 223-231.
- [23] 杨建民. 杏花器官霜冻害生理机制研究[D]. 保定: 河北农业大学, 2009.
- [24] 金明丽. 苹果砧木实生后代抗寒性鉴定[D]. 保定: 河北农业大学, 2011.
- [25] LEE S K, KIM B G, KWON T R, et al. Overexpression of the mitogen-activated protein kinase gene *OsMAPK33* enhances sensitivity to salt stress in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. *J Biosci*, 2011, 36(1): 139-151.
- [26] XING H T, GUO P, XIA X L, et al. PdERECTA, a leucine-rich repeat receptor-like kinase of poplar, confers enhanced water use efficiency in *Arabidopsis*[J]. *Planta*, 2011, 234(2): 229-241.
- [27] 裴丽丽, 郭玉华, 徐兆师, 等. 植物逆境胁迫相关蛋白激酶的研究进展[J]. *西北植物学报*, 2012, 32(5): 1052-1061.
- [28] TUTEJA N. Absciscic acid and abiotic stress signaling[J]. *Plant Signal Behav*, 2007, 2(3): 135-138.
- [29] 杨乐, 齐妍, 刘生祥, 等. 植物抗逆相关蛋白激酶的结构与功能[J]. *植物遗传资源学报*, 2013, 14(4): 659-667.
- [30] 刘强, 张贵友, 陈受宜. 植物转录因子的结构与调控作用[J]. *科学通报*, 2000, 45(14): 1465-1474.
- [31] SINGH K B, FOLEY R C, ONATE-SANCHEZ L. Transcription factors in plant defense and stress responses[J]. *Curr Opin Plant Biol*, 2002, 5(5): 430-436.
- [32] UMEZAWAT F M, YAMAGUCHI-SHINOZAKI K, SHINOZAKI K. Engineering drought tolerance in plants discovering and tailoring genes to unlock the future[J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2006, 17(2): 113-122.
- [33] 臧建磊, 刘庆中, 李亚东, 等. 植物 CBF 转录因子及其在植物抗寒中的作用[J]. *安徽农业科学*, 2011, 39(41): 6329-6331.
- [34] HAAKE V, COOK D, RIECHMANN J L, et al. Transcription factor CBF4 is a regulator of drought adaptation in *Arabidopsis*[J]. *Plant physiology*, 2002, 130(2): 639-648.
- [35] SAKUMA Y, LIU Q, DUBOUZET J G, et al. DNA-binding specificity of the ERF/AP2 domain of *Arabidopsis* DREBs, transcription factors involved in dehydration and cold-inducible gene expression[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 290: 998-1009.
- [36] STOCKINGER E J, MAO Y, REGIER M K, et al. Transcriptional adaptor and histone acetyltransferase proteins in *Arabidopsis* and their interactions with CBF1 a transcriptional activator involved in cold-regulated gene expression[J]. *Nucleic Acids*

Res, 2001, 29(7): 1524-1533.

[37] 冯勋伟, 才宏伟. 结缕草 *CBF* 基因的同源克隆及其转基因拟南芥的抗寒性验证[J]. 作物学报, 2014, 40(9): 1572-1578.

[38] 郭惠明, 李召春. 棉花 *CBF* 基因的克隆及其转基因烟草的抗寒性分析[J]. 作物学报, 2011, 37(2): 286-293.

[39] YANG X W, WANG X Y, JI L, et al. Overexpression of a *Miscanthus lutarioriparius* NAC gene *MINAC5* confers enhanced drought and cold tolerance in *Arabidopsis*[J]. Plant Cell Rep, 2015, 34: 943-985.

[40] CHOI D W, RODRIGUEZ E M, CLOSE T J. Barley *cbf3* gene identification, expression pattern, and map location[J]. Plant Physiol, 2002, 129: 1781-1787.

[41] 林茂, 闫海霞. 植物 *CBF* 转录因子及其在基因工程中的应用[J]. 广西农业科学, 2008, 20(1): 21-25.

[42] 王玉珍. 韶关地区柑橘冻害调查分析与防冻技术措施[J]. 韶关学院学报(自然科学版), 2001, 22(9): 108-112.

[43] 牛立新, 贺普超. 生长法作葡萄抗寒性的研究[J]. 果树科学, 1991, 8(1): 40-42.

[44] 苏向辉, 秦伟, 刘立强, 等. 低温胁迫对李属 4 种砧木几个抗寒指标的影响[J]. 新疆农业大学学报, 2012, 35(2): 112-115.

[45] GLERUM C. Frost hardiness of coniferous seedlings; Principles and applications[M]//DURYEA M L ed. Evaluating seedling quality: principles, procedures, and predictive abilities of major tests. Forest Res Lab, Oregon St Univ, Corvallis, 1985: 107-123.

[46] 高爱农, 姜淑荣, 赵锡温, 等. 苹果品种抗寒性测定方法的研究[J]. 果树科学, 2000, 17(1): 17-20.

[47] BURR K E, TINUS R W, WALLNER S J, et al. Compari-

son of three cold hardiness tests for conifer seedlings[J]. Tree Physiology, 1990(6): 351-369.

[48] SUKUMAKAN N P, WEISER C J. Method of determining cold hardiness by electrical conductivity in potato[J]. Hort Science, 1972(7): 467-468.

[49] 张钢. 国外木本植物抗寒性测定方法综述[J]. 世界林业研究, 2005, 18(5): 14-20.

[50] 郭修武, 傅望衡. 葡萄根系抗寒性的研究[J]. 园艺学报, 1989, 16(1): 17-22.

[51] 赵德英, 程存刚, 张少瑜, 等. 果树对低温的响应及抗寒评价体系研究进展[J]. 中国林副特产, 2010(6): 81-84.

[52] 田景花, 王红霞. 核桃属 4 树种展叶期抗寒性鉴定[J]. 园艺学报, 2012, 39(12): 2439-2449.

[53] 王振英, 祁忠占, 杨吉, 等. 低温胁迫下植物体内 POD、COD、ATPase 同工酶的变化[J]. 南开大学学报(自然科学版), 1996, 29(3): 29-34.

[54] 陈艳秋, 曲柏宏, 代志国, 等. 应用过氧化物酶同工酶谱测定苹果新品种的抗寒性[J]. 延边大学农学学报, 2009, 22(3): 221-222.

[55] REPO T, ZHANG G, RYYPO A, et al. The electrical impedance spectroscopy of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.) shoots in relation to cold acclimation[J]. Journal of Experimental Botany, 2000, 51: 2095-2107.

[56] MANCUSO S, NICESE F P, MASI E, et al. Comparing fractal analysis, electrical impedance and electrolyte leakage for the assessment of cold tolerance in *Callistemon* and *Grevillea* spp [J]. J Hort Sci Biotech, 2004, 79: 627-632.

Molecular Mechanism of Fruit Trees Response to Low Temperature Stress and Research Progress on Identification Methods for Cold Resistance

LIU Beibei, CHEN Lina, LI Haoxian, ZHANG Jie, NIU Juan, CAO Shangyin

(Zhengzhou Fruit Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 450009)

Abstract: Temperature is a necessary growth condition to fruit trees implicated in the regulation of the entire process of growth and development and is a major limiting factor for fruit tree growth, development and distribution. Fruit trees under the cold stress can produce a series of reactions to cope with adversity by changing pattern of expression and transcription in cells, synthesizing new gene and protein. These reactions can form a set of complete molecular response mechanism. Cold resistance is one of the important stress tolerance indexes and is the result of physiological and biochemical reaction. This study reviewed the molecular mechanism of fruit trees response to low temperature stress and the principle, advantages and disadvantages of methods of evaluating cold resistance, in order to further reveal the regulatory mechanism of fruit trees in low temperature stress and provide scientific cultivation and theory basis.

Keywords: fruit trees; low temperature stress; molecular mechanism; identification methods