

综 述 Reviews

巴西橡胶树响应低温逆境的生理特征及其调控机制

王祥军, 李维国*, 高新生, 吴春太, 张晓飞

中国热带农业科学院橡胶研究所, 国家橡胶树育种中心, 农业部橡胶树生物学重点开放实验室, 海南儋州571737

摘要: 低温是非传统植胶区巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)种植的重要限制因子。低温能够引起巴西橡胶树细胞结构、原生质胶体特性、水分状况、细胞渗透压、光合作用、呼吸作用、物质代谢和保护酶系统等发生一系列改变, 最终影响植株的生长发育。目前已从巴西橡胶树中克隆出一些抗寒相关基因, 但是巴西橡胶树响应低温胁迫的调控机制仍不十分清楚。本文综述了巴西橡胶树对低温逆境响应的生理特征及其应答调控机制, 以期为深入研究巴西橡胶树抗寒机制提供参考。

关键词: 巴西橡胶树; 低温; 生理特征; 调控机制

Physiological Characteristics of *Hevea brasiliensis* in Response to Low Temperature Stress and Its Regulation Mechanisms

WANG Xiang-Jun, LI Wei-Guo*, GAO Xin-Sheng, WU Chun-Tai, ZHANG Xiao-Fei

Rubber Research Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Sciences; State Centre for Rubber Breeding; Key Laboratory of Rubber Biology, Ministry of Agriculture, Danzhou, Hainan 571737, China

Abstract: Low temperature is an important limiting factor for *Hevea brasiliensis* cultivating in the non-traditional areas. Changes referring to cell structure, colloid properties of protoplasm, water status, osmotic pressure of cell, photosynthesis, respiration, substance metabolism, and protective enzyme system, are induced by low temperature. Thus the growth of *H. brasiliensis* is influenced. Some genes related to cold resistance have been cloned in recent years, however, the mechanism of *H. brasiliensis* responded to low temperature is far to be clear. In this paper, we summarize the physiological characteristics of *H. brasiliensis* in response to low temperature stress and its regulation mechanisms. It provides references for further research on the mechanisms of cold resistance in *H. brasiliensis*.

Key words: *Hevea brasiliensis*; low temperature; physiological characteristics; regulation mechanisms

天然橡胶是植物所产生的最为重要的多聚物之一, 是重要的战略原料。在全世界2 500种以上的产胶植物中, 巴西橡胶树(*Hevea brasiliensis*)是商品天然橡胶的唯一来源(Hayashi 2009)。巴西橡胶树俗称橡胶树, 为大戟科橡胶树属落叶乔木, 原产巴西亚马逊河流域, 是一个典型的热带雨林树种, 喜高温高湿, 生长在南纬0~5°范围内的热带雨林中(何康和黄宗道1987)。南北纬10°的区域是橡胶树的传统种植区(Vinod等2010), 但是自上世纪70年代开始, 一方面为了躲避南美落叶病的危害, 另一方面受世界天然橡胶需求量的增长及其他农作物竞争的刺激, 橡胶树的种植开始向一些边缘地区扩展, 如印度东北部、越南中部高原和沿海、中国华南、泰国北部和东北部、科特迪瓦北部以及巴西南部高原(Mai等2009; Raj等2005)。在

这些非传统植胶区, 橡胶树的种植可能面临低温、台风和干旱等气候因素的威胁(Mai等2009)。

我国的植胶区分布于北纬18~24°的热带北缘地区(主要是海南、云南和广东), 属于非传统植胶区, 低温寒害每年都会发生, 严重影响橡胶单产及橡胶树的经济寿命, 特别是大寒入侵时橡胶生产往往遭受毁灭性的破坏(高新生等2008; 王树明等2008; 肖桂秀2001; 何康和黄宗道1987)。目前, 低温寒害已成为限制我国橡胶发展的主要原因(刘世

收稿 2011-12-26 修定 2012-02-21

资助 中国热带农业科学院橡胶研究所基本科研业务费专项[XJSYWFZX2010-04(N)], 现代农业产业技术体系建设专项(nyhyzx07-033-1)和南亚农技推广与体系建设专项(11RZNJ-07)。

* 通讯作者(E-mail: 270957168@qq.com; Tel: 0898-23306599)。

红和田耀华2009), 因此, 进一步加强橡胶树抗寒性相关研究十分必要。

1 低温对巴西橡胶树生长和生理特性的影响

1.1 植株生长

橡胶树生长的最适温度条件为年平均温度(28±2) °C, 昼夜温差约7 °C (Rao等1998)。当月均温度低于18 °C时橡胶树生长减慢; 低于15 °C时生长基本停止; 低于10 °C时幼嫩组织受害; 低于5 °C时出现枝枯、茎枯、爆皮等寒害症状; 低于0 °C时, 胶树严重受害, 甚至死亡(莫廷辉等2009)。另外, 15 °C以下的低温明显推迟橡胶树种子萌发, 且萌发率下降(闫兴富和曹敏2009)。低温还使橡胶树叶片氮和钾含量下降, 镁含量增加, 而且不仅影响当年, 也影响第二年的叶片养分含量(梁尚初1986)。冬季低温条件下, 橡胶树的生长与其品种抗寒性有关, 抗寒品种叶面积扩展更快, 叶绿素发育更好, 相对生长率也更高(Vinod等2010)。

1.2 细胞结构

橡胶树受到零上低温伤害时, 细胞结构发生一系列变化: 细胞核膨大, 核里出现均匀颗粒, 凝结成“孔洞”, 断裂成小碎块, 或核质浓缩, 核缩小, 直至核解体散失在细胞质中; 叶绿体脱绿、膨大、变形或解体; 细胞产生质壁分离, 细胞质出现孔洞或成大空泡, 凝固成原生质块或断裂成小碎片(何景等1982)。随着秋冬气温的下降, 不同抗寒性无性系的细胞结构表现出明显差异, 抗寒性较强的品系许多细胞的质膜、线粒体膜出现弯曲波浪状, 细胞核、叶绿体、线粒体膜表面出现突起和内陷, 各自或彼此间发生镶嵌, 而且在人工低温条件下, 这种结构出现的频率增加, 同时出现内质网包绕线粒体等细胞器的构型。抗寒性弱的品系则几乎没有上述变化, 其细胞内各细胞器均遭受不同程度的破坏, 叶绿体被膜瓦解, 片层粘合紊乱, 线粒体内嵴断裂, 直至完全消失, 甚至细胞自溶, 呈现大空腔(林梅馨和杨汉金1988)。

1.3 原生质胶体特性

橡胶树质膜透性对低温的反应相当敏感(许闻献和潘衍庆1992), 在零上低温作用下, 各器官的细胞质膜透性随温度的下降和低温持续时间的延长而增大, 呈梯度递增, 其变动与降温强度正相关, 而且低温强度对叶片和绿色茎干质膜透性的影响

大于低温持续时间。在同等温度条件下, 同一植株不同部位的叶片和叶柄的质膜透性自下而上递减, 绿色茎干皮层则相反, 即自下往上递增。同品系不同树龄的细胞质膜透性不同, 叶片质膜透性随橡胶树生理年龄的增大而提高, 叶柄和绿色茎干则相反, 即随着树龄的增大而降低。同品系同植株叶片细胞质膜透性的增减与叶片的低温危害轻重相一致, 而与其茎干伤害并不完全一致(胡德友等1984)。

在冬季寒流的影响下, 橡胶树在寒害症状出现前, 原生质透性已增加, 表明膜结构已受到破坏, 但此时透性的增加仍然可逆。当细胞受害呈黄绿色时, 原生质透性和粘度不可逆地剧增, 随后细胞质收缩, 表面呈微粒状排列, 细胞即失去渗透特性(何景等1982)。

1.4 水分状况和细胞渗透压

橡胶树每遇低温(小于5 °C)冷害, 体内水分就发生一定的亏缺。冷害时束缚水逐渐减少, 水分子由结合状态转变为游离状态, 冷害发展到一定程度时这一过程由可逆转变为不可逆, 原生质结构遭受破坏, 生理反应也发生一系列演变, 最终导致细胞脱水死亡。橡胶树冷害是由低温和失水两个因素互相作用造成的, 而且水分与温度之间呈函数关系(吴以德1982; 吴以德和何景1980)。越冬期间, 橡胶树的蒸腾强度和水分代谢速度随温度的下降而减弱, 尤其当月平均最低温度低于15 °C时, 植株水分代谢速度急剧下降。自由水和束缚水含量在越冬期间随温度的升降而增减, 但并不像温带植物那样随温度下降而有规律地增长(刘金河1983, 1982)。

橡胶树冬季遭遇低温, 细胞渗透压升高。当细胞受害呈黄绿色时, 渗透压达最大值; 当发展到黄棕色或棕褐色时, 细胞即完全失去渗透特性。回春时, 随气温上升, 抗寒性强的橡胶树细胞渗透压逐渐下降, 而抗寒性弱的橡胶树细胞渗透压则剧烈上升, 表明细胞严重脱水, 这类植株随后便会枯死(何景等1982)。

1.5 光合作用

在低温气候条件下生长的橡胶树的净光合速率(net photosynthetic rate, P_n)、用于CO₂同化的表观量子效率、体内羧化效率以及光系统II (photo-

system II, PS II)实际光化学量子效率均较温暖气候条件下生长时低,但是高CO₂浓度可以改善橡胶树低温下生长的光化学效率(Alarm等2005)。10 °C处理1~7 h,橡胶树叶片非光化学淬灭(non-photochemical quenching, NPQ)升高, P_n 急剧下降,但PS II最大光化学量子效率(maximal photochemical efficiency of PS II, F_v/F_m)受影响很小,说明低温对 P_n 的抑制要大于光化学活性;另外,气孔导度增大,说明低温引起 P_n 下降的原因并非是由于气孔关闭。10 °C处理24~96 h, P_n 继续下降, F_v/F_m 也开始明显下降,并且随着 F_m 的减小, NPQ也开始降低(Mai等2009)。

1.6 呼吸作用

冬季,橡胶树实生母树、无性系幼苗、幼树的枝条和叶片的呼吸强度均随温度的升降而增减,而且其数值大小与品种抗寒力强弱成相反关系(唐友林等1985)。在人工零上低温下,橡胶树的呼吸强度和ATP含量均随处理时间的延长而持续下降(林梅馨和杨汉金1994)。呼吸强度降低和代谢迟缓是橡胶树适应环境的一种表现(许闻献和潘衍庆1992),但另一方面供能水平也出现下降,说明线粒体结构可能受到损伤,氧化磷酸化系统遭到破坏(林梅馨和杨汉金1993)。

1.7 物质代谢

冬季自然寒流和人工低温的影响下,初期橡胶树的糖代谢总趋势仍以合成为主,之后随着温度的下降,叶片碳水化合物总量、可溶性糖和还原糖的含量均趋于下降,其中淀粉和蔗糖下降较明显(王以柔等1978)。零上低温促使橡胶树氮代谢趋向分解,叶片中蛋白氮含量降低,非蛋白氮含量提高(唐友林等1985;王以柔等1978),其中氨基氮、酰胺氮和铵态氮的含量均不同程度提高,并积累大量氨(王以柔等1978)。与未受胁迫时相比,受到低温胁迫的橡胶树叶片中游离氨基酸及有机酸种类无差异,但越冬初期寒流较弱时,二者含量略有提高;中期温度进一步下降,寒流持续时间延长或出现霜冻,蛋白质强烈分解,丙氨酸、谷氨酸和天门冬氨酸等氨基酸以及有机酸含量显著提高;后期,叶片受伤严重,某些氨基酸趋向分解,有机酸含量亦降低。零上低温还促使橡胶树幼苗对³²P和³⁵S的吸收、转运及合成有机物的能力降低,同

时磷化合物的分解加快。另外,在低温条件下,橡胶树幼苗叶片丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量极显著增加(陈根辉等2008),说明叶片发生了强烈的膜脂过氧化作用。

1.8 保护酶系统

从常温到-4 °C,橡胶树过氧化物酶的活性波动较大,但与超氧阴离子自由基产生速率的变化趋势一致。从常温到4 °C,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)的活性基本保持不变,但从4 °C降低到-4 °C, SOD活性迅速提高,而CAT活性快速下降,说明CAT可被认为不是橡胶树低温伤害的主要保护酶(刘世红等2011)。经低温(10 °C)处理,在一定时间范围内,橡胶树脱氢抗坏血酸过氧化物酶(dehydroascorbate reductase, DHAR)、谷胱甘肽还原酶(glutathion reductase, GR)、抗坏血酸过氧化物酶(ascorbate peroxidase, APX)和SOD的活性显著上升,同时诱导DHAR、GR、APX、谷胱甘肽过氧化物酶基因GPX和叶绿体Cu-Zn SOD等相关抗氧化基因的表达,但是酶基因表达量的变化与酶活性的变化并不一致,说明橡胶树的抗氧化防御机制比较复杂,并且受到多种水平的调控。10 °C处理96 h后, DHAR、GR和APX的活性已大大增强,但此时MDA含量和电解质外渗率也最大,说明这3种酶的保护并不足以使橡胶树细胞膜结构免受活性氧的伤害(Mai等2009)。

2 巴西橡胶树应答低温逆境的调控机制

2.1 CBF/DREB1 (C-repeat binding factor/dehydration-responsive element binding factor 1)冷响应途径

对于植物适应低温逆境的调控机制,目前了解相对清楚的是CBF/DREB1冷响应途径(Novillo等2004; Fowler和Thomashow 2002; Thomashow 2001; Medina等1999; Jaglo-Ottosen等1998; Gilmour等1998; Stockinger等1997)。CBF/DREB1转录因子是植物冷驯化信号途径中重要的转录调节因子,它们属于AP2/EREBP (APETALA2/ethylene responsive element binding protein) DNA结合蛋白家族,识别冷和脱水响应DNA调节元件CRT/DRE (C-repeat elements/dehydration-responsive element)。CRT/DRE元件含有一个保守的核心序列

CCGAC, 该序列存在于拟南芥许多冷和脱水响应基因(包括*COR*基因)的启动子区域。冷驯化过程中, CBF/DREB1转录因子被激活, 进而诱导大量含有CRT/DRE元件的功能基因表达, 最终使植物获得冰冻耐受能力(李慧和强胜2007)。*CBF/DREB1*类基因最初是在拟南芥(*Arabidopsis thaliana*) (Liu等1998; Stockinger等1997)中发现的, 随后在小麦(*Triticum aestivum*)、黑麦(*Secale cereale*)、番茄(*Lycopersicon esculentum*)、油菜(*Brassica napus*) (Gao等2002; Jaglo等2001)、玉米(*Zea mays*) (Qin等2004; Kizis和Pagès 2002)、大麦(*Hordeum vulgare*) (Xue 2003, 2002)、水稻(*Oryza sativa*) (Dubouzet等2003)和棉花(*Gossypium hirsutum*) (黄波等2006)中也发现了这类基因。

巴西橡胶树中同样也存在着类似于拟南芥的CBF/DREB1信号通路, 目前已从橡胶树中克隆到*HbCBF1* (程汉等2005)和*HbCBF2* (蔡海滨等2008) 2个CBF/DREB1类基因。*HbCBF1*和*HbCBF2*均能被低温诱导表达, 相比而言, *HbCBF2*更为迅速地被诱导。*HbCBF1*在组成型强启动子*CaMV35S*驱动下, 能在正常生长的转基因拟南芥中表达, 并且能够诱导拟南芥*COR15a*和*RD5a*基因的表达(蔡海滨2008)。体外结合实验结果表明, *HbCBF1*蛋白具有CRT序列特异结合活性, 表明*HbCBF1*也具有结合调控下游基因的功能(程汉等2008)。但是通过EST序列比对及简并引物扩增等方法均无法在橡胶树中找到*COR*同源基因, 推测橡胶树的CBF途径可能是不完整的, 缺少下游功能基因。但是在转基因拟南芥(蔡海滨2008)和烟草(程汉等2010)中过量表达*HbCBF1*基因均能提高植株的抗寒能力, 因此, *HbCBF1*可能是通过其他途径发挥抗寒调控作用, 如促进植物细胞内代谢产物的积累, 增加细胞内容物, 增强其膜系统的稳定性, 从而起到提高细胞抗寒力的作用(程汉等2010)。

2.2 胁迫诱导DNA甲基化

环境胁迫可以直接影响橡胶树的基因组, 并诱导其产生位点特异性DNA甲基化。在不同的农业气候条件下(较冷凉气候和典型热带气候), 橡胶树一些基因核心DNA结合位点的甲基化模式存在显著变异, 其中一些模式可能与橡胶树适应极端条件时的胁迫响应机制有关, 例如在遭遇冷胁迫

时, CAAT盒甲基化对橡胶树抗寒与否可能起着至关重要的作用。对此可能的一种解释是: 冷诱导相关基因或受低温影响的一些基因, 其启动子区域包含一个DNA调控元件, 即CAAT结合盒, 低温条件下, CBF蛋白与该元件结合, 控制相关基因的表达, 由此使植物获得对低温胁迫的抗性, 这些DNA结合位点一旦被甲基阻塞, CBF蛋白的结合便受到限制, 从而影响下游基因的表达, CBF冷响应途径因此而中断, 导致橡胶树易受低温危害。但是, 由于CBF蛋白调控下游基因表达的确切方式并不完全清楚, 因此, 甲基化影响CBF蛋白介导的基因调控的精确结果目前仍然无法预测(Uthup等2011)。

2.3 其他调控机制

陈根辉(2008)和安泽伟等(2010)利用cDNA-AFLP技术获得了12条在橡胶树抗寒和不抗寒无性系中表现一致的差异片段, 其中9条在GenBank未比对到同源序列, 另外3条片段(TDF7-8、TDF5-15、TDF16-10)分别与植物抗逆相关的ABC转运蛋白(ATP-binding cassette transporter)多药耐药性相关蛋白(multi-drug resistance-associated protein, MRP)亚族、3-脱氧-D-阿拉伯庚酮糖-7-磷酸合成酶(3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate synthase, DAHPS)、*WRKY*基因有较高相似性。低温诱导下TDF7-8编码的橡胶树MRP基因的大量表达, 有助于维持细胞的光合作用和清除活性氧, 从而减少低温对橡胶树的伤害, 使其在低温下能正常生长。TDF5-15片段与DAHPS基因同源, 在寒害胁迫下该基因表达量显著增加, 呈上调表达, 可能是由于在低温胁迫下, 苯丙氨酸代谢途径增强(Guy等2008), 产生木质素等与抗逆相关的代谢物质(Nair等2004; Yazaki等2001), 从而提高橡胶树对寒害的抵抗能力。TDF16-10片段与大豆、烟草等植物的*WRKY*基因高度同源, 在常温下未见表达, 在低温胁迫下则表达, 说明该橡胶树*WRKY*基因受低温诱导, 可能在橡胶树响应低温胁迫时起调控作用。

张燕燕(2010)对通过cDNA阵列获得的橡胶树低温胁迫下基因表达谱进行分析, 推断橡胶树对低温胁迫的响应可能是一个复杂的多基因协同作用的过程, 涉及基本的新陈代谢、胁迫信号转导与基因的表达调控、细胞壁组分、蛋白质合成和降解、光合作用、核糖体合成等多种途径。同时

还筛选出了一些可能的抗寒相关基因,包括转录因子[锌指蛋白基因和MYB (v-myb avian myeloblastosis viral oncogene homolog)转录因子]、蛋白质合成降解相关的泛素/26S蛋白酶体,以及能量代谢相关的过氧化物酶体腺苷酸载体基因和半乳糖-1-磷酸尿苷转移酶。

3 结语与展望

低温使橡胶树的生理特征发生一系列变化,最终影响到植株整体的生长发育。但是迄今为止,橡胶树应答低温胁迫的调控机制仍不十分清楚。已有研究表明,橡胶树对低温胁迫的应答涉及物质代谢、光合作用、呼吸作用和胁迫信号转导等诸多过程,这为橡胶树低温胁迫研究带来了难度。目前虽然已经克隆出一些橡胶树抗寒相关基因,但是这些基因在橡胶树转化植株上的功能验证仍未见报道,而且基因的最终表达往往受到DNA转录、mRNA翻译及翻译后蛋白质的修饰等多层次调控,因此,基因与表型之间尚无法建立必然的联系。由于DNA、mRNA和蛋白质并非表型的直接体现,基于这3种水平的研究,对于全面揭示橡胶树抗寒机制可能仍显不足。

代谢组学研究的兴起,为植物抗逆性研究提供了新的思路。DNA、mRNA以及蛋白质的存在为生物过程的发生提供了物质基础,而代谢物质和代谢表型所反映的是已经发生了的生物学事件,是基因型与环境共同作用的综合结果,是生物体系生理和生化功能状态的直接体现,因此,代谢组学可以更好地反映体系表型(滕中秋等2011)。代谢组学方法已经在拟南芥(Maruyama等2009; Cook等2004; Kaplan等2004)和水稻(Morsy等2007)应答温度胁迫的研究中得到了很好的应用。开展橡胶树应答低温胁迫的代谢组学研究,可以促进对于橡胶树应答低温胁迫代谢规律的系统认知,拓展对橡胶树抗寒分子机理的认识,然后再通过代谢组学、蛋白质组学、转录组学和基因组学的整合,有助于从整体水平上把握橡胶树应答低温胁迫的调控机制。另外,借助代谢组学技术大规模鉴定植物在逆境胁迫下差异表达的代谢物,以此推理其应答胁迫的代谢调控网络,找出代谢网络交叉节点的关键基因或影响各代谢途径的特定环境因子,通过遗传转化或环境改造的方法,最终使抗逆

性表型在植物中得以表达。这一类似逆代谢工程的策略,在橡胶树抗寒性改良的研究中必然会有很好的应用前景。

参考文献

- 安泽伟,陈根辉,程汉,赵彦宏,谢黎黎,黄华孙(2010). 橡胶树冷应答转录组cDNA-AFLP分析. 林业科学, 46 (3): 61~67
- 蔡海滨(2008). 橡胶树CBF信号通路相关基因的克隆表达及*Hb-CBF1*功能研究[学位论文]. 海口: 海南大学
- 蔡海滨,胡彦师,黄华孙,程汉(2008). 巴西橡胶树*CBF2*基因的克隆和表达分析. 热带农业科技, 31 (3): 1~5, 12
- 陈根辉(2008). 橡胶树抗寒生理特性和cDNA-AFLP分子标记研究[学位论文]. 海口: 海南大学
- 陈根辉,黄华孙,安泽伟(2008). 橡胶树不同品种幼苗抗寒生理指标研究初报. 热带农业科技, 31 (2): 1~3
- 程汉,安泽伟,蔡海滨,高静,黄华孙(2010). 转移巴西橡胶树*Hb-CBF1*基因提高烟草抗寒能力的研究. 热带作物学报, 31 (9): 1433~1438
- 程汉,安泽伟,黄华孙(2005). 巴西橡胶树*CBF1*基因的克隆和序列分析. 热带作物学报, 26 (3): 50~55
- 程汉,高静,张燕燕,黄华孙(2008). 橡胶树HbCBF1蛋白的原核表达及其CRT结合活性分析. 分子细胞生物学报, 41 (5): 423~428
- 高新生,李维国,黄华孙,张伟算(2008). 海南中西部橡胶主栽品种寒害适应性调查. 广东农业科学, (11): 14~16
- 何景,杨汉金,林梅馨(1982). 巴西橡胶树零上低温伤害的细胞生理及形态特征. 厦门大学学报(自然科学版), 21 (1): 85~91, 112~113
- 何康,黄宗道(1987). 热带北缘橡胶树栽培. 广州: 广东科技出版社, 3~4
- 胡德友,蔡秀玲,吴长宣(1984). 橡胶树在零上低温过程中细胞质膜透性变化的研究. 热带作物学报, 5 (2): 9~18
- 黄波,金龙国,刘进元(2006). 棉花中一个类DREB1/CBF基因(*Gh-DREB1L*)的分子克隆及其功能分析. 中国科学C辑: 生命科学, 36 (5): 390~397
- 李慧,强胜(2007). 植物冷驯化相关基因研究进展. 植物学通报, 24 (2): 208~217
- 梁尚初(1986). 低温及元素间关系对橡胶树叶片养分含量的影响. 热带农业科学, (2): 14~18
- 林梅馨,杨汉金(1988). 零上低温橡胶树细胞超微结构的变化. 厦门大学学报(自然科学版), 27 (3): 344~348
- 林梅馨,杨汉金(1993). 零上低温对巴西橡胶树、小粒种咖啡线粒体结构功能的影响. 厦门大学学报(自然科学版), 32 (4): 484~488
- 林梅馨,杨汉金(1994). 橡胶树低温伤害的生理反应. 热带作物学报, 15 (2): 7~11
- 刘金河(1982). 巴西橡胶树的水分状况与生长和产胶量的关系. 生态学报, 2 (3): 217~224
- 刘金河(1983). 巴西橡胶树越冬期的水分代谢初步研究. 热带作物学报, 4 (2): 27~33

- 刘世红, 田耀华(2009). 橡胶树抗寒性研究现状与展望. 广东农业科学, (11): 26~28
- 刘世红, 田耀华, 魏丽萍, 周会平(2011). 西双版纳30个橡胶树品种的低温半致死温度及低温对抗氧化系统的影响. 植物生理学报, 47 (5): 505~511
- 莫廷辉, 张影波, 黄俊生, 解辉(2009). 橡胶树不同品种(系)抗寒性的室内鉴定. 安徽农业科学, 37 (11): 8257~8259
- 唐友林, 陈绵达, 周永成(1985). 不同抗寒力巴西橡胶树生理特性的研究. 广西植物, 5 (4): 381~388
- 滕中秋, 付丹青, 贾少华, 孟薇薇, 戴荣继, 邓玉林(2011). 植物应答非生物胁迫的代谢组学研究进展. 植物生态学报, 35 (1): 110~118
- 王树明, 钱云, 兰明, 李芹(2008). 滇东南植胶区2007/2008年冬春橡胶树寒害初步调查研究. 热带农业科技, 31 (2): 4~8
- 王以柔, 刘鸿先, 郭俊彦(1978). 零上低温对三叶橡胶树物质代谢的影响. 植物学报, 20 (1): 44~53
- 吴以德(1982). 热带植物冷害时体内水分变化. 植物生理学报, 8 (1): 17~25
- 吴以德, 何景(1980). 三叶橡胶树束缚水指标与抗寒性关系. 植物生理学报, 6 (2): 107~114
- 肖桂秀(2001). 云南省热区1999/2000年冬橡胶树寒(冻)害调研报告. 云南热作科技, 24 (增刊): 31~34
- 许闻献, 潘衍庆(1992). 我国橡胶树抗寒生理研究的进展. 热带作物学报, 13 (1): 1~6
- 闫兴富, 曹敏(2009). 种皮和环境温度对橡胶树种子萌发的影响. 热带亚热带植物学报, 17 (6): 584~589
- 张燕燕(2010). 利用cDNA阵列筛选橡胶树抗寒相关基因的研究[学位论文]. 海口: 海南大学
- Alarm B, Nair DB, Jacob J (2005). Low temperature stress modifies the photochemical efficiency of a tropical tree species *Hevea brasiliensis*: effects of varying concentration of CO₂ and photon flux density. *Photosynthetica*, 43 (2): 247~252
- Cook D, Fowler S, Fiehn O, Thomashow MF (2004). A prominent role for the CBF cold response pathway in configuring the low-temperature metabolome of *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101: 15243~15248
- Dubouzet JG, Sakuma Y, Ito Y, Kasuga M, Dubouzet EG, Miura S, Seki M, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2003). *OsDREB* genes in rice, *Oryza sativa* L., encode transcription activators that function in drought-, high-salt- and cold-responsive gene expression. *Plant J*, 33 (4): 751~763
- Fowler S, Thomashow MF (2002). *Arabidopsis* transcriptome profiling indicates that multiple regulatory pathways are activated during cold acclimation in addition to the CBF cold response pathway. *Plant Cell*, 14 (8): 1675~1690
- Gao MJ, Allard G, Byass L, Flanagan AM, Singh J (2002). Regulation and characterization of four CBF transcription factors from *Brassica napus*. *Plant Mol Biol*, 49 (5): 459~471
- Gilmour SJ, Zarka DG, Stockinger EJ, Salazar MP, Houghton JM, Thomashow MF (1998). Low temperature regulation of the *Arabidopsis* CBF family of AP2 transcriptional activators as an early step in cold-induced *COR* gene expression. *Plant J*, 16 (4): 433~442
- Guy C, Kaplan F, Kopka J, Selbig J, Hinch DK (2008). Metabolomics of temperature stress. *Physiol Plantarum*, 132 (2): 220~235
- Hayashi Y (2009). Production of natural rubber from Para rubber tree. *Plant Biotechnol*, 26 (1): 67~70
- Jaglo KR, Kleff S, Amundsen KL, Zhang X, Haake V, Zhang JZ, Deits T, Thomashow MF (2001). Components of the *Arabidopsis* C-repeat/dehydration-responsive element binding factor cold-response pathway are conserved in *Brassica napus* and other plant species. *Plant Physiol*, 127 (3): 910~917
- Jaglo-Ottosen KR, Gilmour SJ, Zarka DG, Schabenberger O, Thomashow MF (1998). *Arabidopsis CBF1* overexpression induces *COR* genes and enhances freezing tolerance. *Science*, 280 (5360): 104~106
- Kaplan F, Kopka J, Haskell DW, Zhao W, Schiller KC, Gatzke N, Sung DY, Guy CL (2004). Exploring the temperature-stress metabolome of *Arabidopsis*. *Plant Physiol*, 136: 4159~4168
- Kizis D, Pagès M (2002). Maize DRE-binding proteins DBF1 and DBF2 are involved in *rab17* regulation through the drought-responsive element in an ABA-dependent pathway. *Plant J*, 30 (6): 679~689
- Liu Q, Kasuga M, Sakuma Y, Abe H, Miura S, Yamaguchi-Shinozaki K, Shinozaki K (1998). Two transcription factors, DREB1 and DREB2, with an EREBP/AP2 DNA binding domain separate two cellular signal transduction pathways in drought- and low-temperature-responsive gene expression, respectively, in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 10 (8): 1391~1406
- Mai J, Herbette S, Vandame M, Kositsup B, Kasemsap P, Cavaloc E, Julien J, Ameglio T, Roedel-Drevet P (2009). Effect of chilling on photosynthesis and antioxidant enzymes in *Hevea brasiliensis* Muell. Arg. *Trees*, 23 (4): 863~874
- Maruyama K, Takeda M, Kidokoro S, Yamada K, Sakuma Y, Urano K, Fujita M, Yoshiwara K, Matsukura S, Morishita Y et al (2009). Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A. *Plant Physiol*, 150: 1972~1980
- Medina J, Bargues M, Teril J, Perez-Alonso M, Salinas J (1999). The *Arabidopsis CBF* gene family is composed of three genes encoding AP2 domain-containing proteins whose expression is regulated by low temperature but not by abscisic acid or dehydration. *Plant Physiol*, 119 (2): 463~469
- Morsy MR, Jouve L, Hausman JF, Hoffmann L, Stewart JM (2007). Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa* L.) genotypes contrasting in chilling tolerance. *J Plant Physiol*, 164: 157~167
- Nair RB, Bastress KL, Ruegger MO, Denault JW, Chapple C (2004). The *Arabidopsis thaliana* *REDUCED EPIDERMAL FLUORESCENCE1* gene encodes an aldehyde dehydrogenase involved

- in ferulic acid and sinapic acid biosynthesis. *Plant Cell*, 16 (2): 544~554
- Novillo F, Alonso JM, Ecker JR, Salinas J (2004). CBF2/DREB1C is a negative regulator of *CBF1/DREB1B* and *CBF3/DREB1A* expression and plays a central role in stress tolerance in *Arabidopsis*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 101 (11): 3985~3990
- Qin F, Sakuma Y, Li J, Liu Q, Shinozaki K, Yamaguchi-Shinozaki K (2004). Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in *Zea mays* L. *Plant Cell Physiol*, 45 (8): 1042~1052
- Raj S, Das G, Pothen J, Dey SK (2005). Relationship between latex yield of *Hevea brasiliensis* and antecedent environmental parameters. *Int J Biometeorol*, 49 (3): 189~196
- Rao PS, Saraswathyamma CK, Sethuraj MR (1998). Studies on the relationship between yield and meteorological parameters of para rubber tree (*Hevea brasiliensis*). *Agr Forest Meteorol*, 90 (3): 235~245
- Stockinger EJ, Gilmour SJ, Thomashow MF (1997). *Arabidopsis thaliana* *CBF1* encodes an AP2 domain-containing transcriptional activator that binds to the C-repeat/DRE, a cis-acting DNA regulatory element that stimulates transcription in response to low temperature and water deficit. *Proc Natl Acad Sci USA*, 94 (3): 1035~1040
- Thomashow FM (2001). So what's new in the field of plant cold acclimation? lots! *Plant Physiol*, 125 (1): 89~93
- Uthup TK, Ravindran M, Bini K, Thakurdas S (2011). Divergent DNA methylation patterns associated with abiotic stress in *Hevea brasiliensis*. *Mol Plant*, 4 (6): 996~1013
- Vinod KK, Rajeswari Meenattoor J, Nanja Reddy YA, Priyadarshan PM, Chaudhuri D (2010). Ontogenetic variations in flush development are indicative of low temperature tolerance in *Hevea brasiliensis* clones. *Ann Forest Res*, 53 (2): 95~105
- Xue GP (2002). An AP2 domain transcription factor HvCBF1 activates expression of cold-responsive genes in barley through interaction with a (G/a)(C/t)CGAC motif. *Biochim Biophys Acta*, 1577 (1): 63~72
- Xue GP (2003). The DNA-binding activity of an AP2 transcriptional activator HvCBF2 involved in regulation of low-temperature responsive genes in barley is modulated by temperature. *Plant J*, 33 (2): 373~383
- Yazaki K, Matsuoka H, Shimomura K, Bechthold A, Sato F (2001). A novel dark-inducible protein, LeD1-2, and its involvement in root-specific secondary metabolism in *Lithospermum erythrorhizon*. *Plant Physiol*, 125 (4): 1831~1841