

枇杷 7 个脱水素基因表达差异分析

徐红霞^{1,2}, 李晓颖², 陈俊伟², 冯健君³, 徐昌杰^{1,*}

(¹浙江大学农业与生物技术学院, 农业部园艺作物生长发育和品质生物学实验室, 杭州 310058; ²浙江省农业科学院园艺研究所, 杭州 310021; ³浙江省宁海县农林局, 浙江宁海 315600)

摘要: 为进一步明确枇杷 (*Eriobotrya japonica* Lindl.) 中不同脱水素基因家族成员 (EjDHN) 的功能和响应机制, 以白沙枇杷品种 ‘宁海白’ 为试材, 分析了 7 个 EjDHN 基因在不同器官、果实发育期及 ABA 和干旱胁迫条件下的表达模式。结果表明, *EjDHN5* 在各器官中表达量都比较高, *EjDHN4* 主要在花中表达, *EjDHN2*、*EjDHN3*、*EjDHN6* 和 *EjDHN7* 主要在茎中表达。在果实发育过程中, 除 *EjDHN3* 外, 其他家族成员均与种子发育有关; 而 *EjDHN2* 和 *EjDHN5* 在果肉中表达量较高且与果肉发育有关。7 个 EjDHN 基因在枇杷叶片中的季节性表达变化趋势基本一致, 均在冬季表达量最高, 而 *EjDHN1*、*EjDHN2*、*EjDHN4* 和 *EjDHN5* 在初夏也有较高的表达量。在干旱胁迫后, 叶片中 7 个 EjDHN 基因的表达均出现显著增强趋势, 其中 *EjDHN6* 增幅最大。各基因对 ABA 处理也有不同响应, 以 *EjDHN6* 最为敏感。

关键词: 枇杷; 脱水素; 基因表达; 果实发育期; 季节性变化; 干旱胁迫; ABA

中图分类号: S 667.3

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2014) 08-1554-09

Expression Analysis of Seven Dehydrin Genes in Loquat

XU Hong-xia^{1,2}, LI Xiao-ying², CHEN Jun-wei², FENG Jian-jun³, and XU Chang-jie^{1,*}

(¹The State Agriculture Ministry Laboratory of Horticultural Plant Growth, Development and Quality Improvement, College of Agriculture and Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; ²Institute of Horticulture, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021, China; ³Department of Agricultural and Forestry of Ninghai County, Ninghai, Zhejiang 315600, China)

Abstract: In order to further reveal the possible functions of different dehydrin family members in loquat (*Eriobotrya japonica* Lindl.) (EjDHN), the expression patterns of seven EjDHNs were analyzed with various organs, fruit at different development stages, leaves from different seasons, leaves under drought stress and ABA treatment in cultivar ‘Ninghaibai’. It was observed that *EjDHN5* was highly expressed in all organs tested, *EjDHN4* was mainly expressed in flower, while *EjDHN2*, *EjDHN3*, *EjDHN6* and *EjDHN7* were expressed especially high in stem. In fruit, all members, only except for *EjDHN3*, responded to seed development. The expression levels of *EjDHN2* and *EjDHN5* were relatively high in pulp and responded to pulp development. In leaves during seasonal changes, the expression pattern of different EjDHN members was rather similar, with the highest transcript levels reached in winter, whereas the expression were also strong in early summer for *EjDHN1*, *EjDHN2*, *EjDHN4* and *EjDHN5*.

收稿日期: 2014 - 04 - 22; **修回日期:** 2014 - 07 - 21

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31101530); 浙江省农业新品种选育重大科技专项 (2012C12904-5); 宁波市科技计划项目 (2013C11022); 中国博士后科学基金项目 (2013M531482)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: chjxu@zju.edu.cn)

Under drought stress, the transcript levels of all seven genes increased in leaves, with *EjDHN6* most greatly increased. Moreover, expression of all these genes responded differently, with *EjDHN6* most sensitive, to ABA treatment.

Key words: loquat; dehydrin; gene expression; fruit developmental stage; seasonal changes; drought stress; ABA

脱水素是广泛存在于植物体内的一类具有高度热稳定性的亲水性蛋白(Welling & Palva, 2006)。脱水素基因的表达受低温、高温、干旱以及盐胁迫等多种导致植物细胞脱水的胁迫诱导(Nylander et al., 2001; Rampino et al., 2006; Wisniewski et al., 2006; 徐红霞 等, 2011; 陈新 等, 2013), 其在种子发育和成熟过程中也具有重要作用(Ali-Benali et al., 2005), 部分脱水素的表达还受 ABA 诱导(Wang et al., 2002)。不同脱水素基因所编码的蛋白质大小差异很大, 82~575 个氨基酸残基不等, 但在其 C 末端均至少有一个 K 片段, 即序列为 EKKGIMDKIKEKLPG 的保守片段(Close, 1997)。这些 K 片段可形成 α -螺旋并与膜脂结合(Eriksson et al., 2011), 在维持膜结构稳定性、防止生物膜功能损坏方面具有重要作用(Allagulova et al., 2003)。

近年来对脱水素基因家族的研究受到广泛关注。不同物种中脱水素基因家族成员数量不等, 其中拟南芥(Hundertmark & Hinch, 2008)、水稻(Wang et al., 2007)、大麦(Tommasini et al., 2008)、杨树(Liu et al., 2012)和苹果(Liang et al., 2012)分别报道有 10、8、13、11 和 9 个成员, 而葡萄则只有 4 个成员(Yang et al., 2012)。上述研究还指出脱水素基因家族不同成员在不同胁迫条件下的表达具有很大差异, 不同成员可能参与了不同的生理过程。

枇杷在生长过程中经常会遭受低温、高温、干旱等胁迫而严重影响其产量和品质。徐红霞等(2011)的研究发现低温胁迫能诱导枇杷幼果中 *EjDHN1* 和 *EjDHN2* 表达; 后来从枇杷中分离出 *EjDHN* 基因家族 7 个成员, 并发现它们对维持低温胁迫后的枇杷幼果细胞膜稳定性具有重要作用(Xu et al., 2014)。但是, 这些成员的其他功能并不明确, 在枇杷植株的胁迫响应中是否也具有重要作用等需要进一步研究。为此, 本研究中针对已经获得的 *EjDHN* 家族 7 个成员, 对其在枇杷不同器官、不同发育阶段的果实、不同季节的叶片以及受干旱胁迫和 ABA 处理后的叶片中的表达模式进行了分析, 以初步判断其在枇杷果实发育过程以及响应各种胁迫中的作用, 为今后枇杷品种选育和改良提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料处理

试验于 2012—2013 年在浙江省农业科学院园艺研究所试验基地进行。试验材料为‘宁海白’枇杷(*Eriobotrya japonica* Lindl. ‘Ninghaibai’)。不同器官(根除外)、不同发育阶段果实以及不同季节的叶片均取自 8 年生健康植株, 根以及干旱和 ABA 处理的叶片取自 2 年生盆栽实生苗。

分别取枇杷根、茎、叶、花、果皮、果肉和种子进行表达分析。于 2012 年 12 月取花, 于 2013 年 5 月下旬取根、茎、叶、果皮、果肉和种子(根系为直径 0.2 cm 以下的细根, 茎为新梢嫩枝, 叶片为充分成长的叶片, 果皮、果肉和种子来自成熟果实)。

分别于 2013 年 3 月和 4 月采集幼果(S1)、膨大期果实(S2), 5 月采集转色期果实(S3)、完全转色但未成熟果实(S4)和成熟果实(S5), 将果肉和种子分开, 分别用液氮冷冻, -70℃低温冰箱贮存备用。

从 2012 年 9 月到 2013 年 8 月, 每月 25 日左右采取枇杷成熟叶片, 取后立即放入液氮中速冻, -70°C 低温冰箱贮存备用。

以长势一致的两年生‘宁海白’实生苗为材料, 于 2013 年 5 月进行干旱胁迫和 ABA 处理。干旱胁迫处理: 在植株停止浇水后 0、2、4、6、10 和 14 d 取叶样。ABA 处理: 用 $100\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ ABA 喷施盆栽苗后 0、2、4、8、12 和 24 h 取叶样。以上取样均重复 3 次。

1.2 总 RNA 提取和 cDNA 合成

按 Shan 等 (2008) 描述的 CTAB 法提取总 RNA。用 TURBO DNase (Ambion, USA) 去除 RNA 中残余的微量基因组 DNA。所提取的 RNA 用 PrimeScriptTM 1st Strand cDNA Synthesis Kit (TaKaRa) 逆转录成 cDNA, 起始 RNA 量为 $1.0\ \mu\text{g}$ 。

1.3 荧光定量 PCR 分析

根据先前研究得到的 7 条 *EjDHN* 基因序列 (Xu et al., 2014), 应用 Primer Premier 5 (Premier Biosoft International) 设计实时荧光定量 PCR (Q-PCR) 引物; 对于 *EjDHN1*、*EjDHN2* 和 *EjDHN3*, 根据 3' 端非编码区序列设计引物, 而对于其它 4 个基因则根据其序列比对结果, 在序列差异区域设计引物。采用 ABI 7900 (USA) 实时荧光定量系统进行基因表达分析。根据 Q-PCR 产物溶解曲线确定引物的特异性, 并对 Q-PCR 产物进行克隆测序, 用于检测 Q-PCR 扩增引物是否是目标基因的特异性引物。最后, 筛选出扩增正确的特异性引物用于后续表达分析 (表 1)。

Q-PCR 反应体系为 $10\ \mu\text{L}$: 模板 cDNA $0.1\ \mu\text{L}$, 上下游引物分别为 $0.4\ \mu\text{L}$, SYBR[®] Premix Ex TaqTM (TaKaRa) $5\ \mu\text{L}$, ddH₂O $4.1\ \mu\text{L}$ 。反应程序为: $95^{\circ}\text{C}\ 5\ \text{min}$; $95^{\circ}\text{C}\ 30\ \text{s}$, $55^{\circ}\text{C}\ 20\ \text{s}$, $72^{\circ}\text{C}\ 30\ \text{s}$, 40 个循环。相对表达量计算公式为 $2^{-(\text{Ct}_{\text{Target}} - \text{Ct}_{\text{Actin}})}$ (Feng et al., 2012)。

采用 SPSS (11.5) 软件进行数据分析, 显著水平为 $P < 0.05$ 。

表 1 用于 Q-PCR 扩增的引物序列
Table 1 Primers used for Q-PCR amplification

基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank accession No.	上游引物 Forward primers (5' - 3')	下游引物 Reverse primer (5' - 3')	产物大小/bp Product size
<i>EjDHN1</i>	FJ472835	CCCGGCGGAAACCACTAGTGATATA	TGTATTAGCCGCACCAGAGCTGATC	141
<i>EjDHN2</i>	FJ472836	CTCCTCCCTGTGATGGGTGGTTTAT	GTCTCTCCCAAACCAAGAGAACCCT	111
<i>EjDHN3</i>	KF277187	CTGGTGTATAATAAGGGAGCGTCTG	CTGCTCTCAGAAATTAGCGCACAC	163
<i>EjDHN4</i>	KF277188	TCAGAACCAACACGGTGCAACACGC	CGTACCCGGTTGTGGCGGTACAGAA	107
<i>EjDHN5</i>	KF277189	GGAGAAGCCAGCTTCTTATCAGGAG	TGATGTGTACTGATCAGGAGCCGGT	109
<i>EjDHN6</i>	KF277190	CAATATGACACAACGCCCAAGAC	CAGTACCGGTCTGGGCATTCGATGA	316
<i>EjDHN7</i>	KF277191	CGCACCGAGTAGATCACCATCCCGT	ACACCAGTGCGAACGTGGATCACC	131
<i>Actin</i>	JN004223	GGATTTGCTGGTGATGATGC	CCGTGCTCAATGGGATACTT	172

2 结果与分析

2.1 *EjDHN* 基因在不同器官中的表达特征分析

EjDHN 家族不同成员在不同器官中的表达量如表 2 所示。*EjDHN1* 在各器官中表达量都较低; 而 *EjDHN2*、*EjDHN3*、*EjDHN6* 和 *EjDHN7* 都是在茎中表达量最高, 在其它器官中表达量都较低。*EjDHN4* 在花中有较高的表达量, 而在其它器官中表达量很低; *EjDHN5* 在不同器官中均有较高的表达, 在茎和果肉中的表达量最高, 其次是果皮。

表 2 EjDHN 基因在不同器官中的表达
Table 2 Expression of EjDHNs in different organs of loquat

部位 Position	<i>EjDHN1</i>	<i>EjDHN2</i>	<i>EjDHN3</i>	<i>EjDHN4</i>	<i>EjDHN5</i>	<i>EjDHN6</i>	<i>EjDHN7</i>
叶 Leaf	0	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0	0.22 ± 0.01	0.04 ± 0.00	0.02 ± 0.00
根 Root	0.02 ± 0.00	0.07 ± 0.00	0.03 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.36 ± 0.04	0.04 ± 0.00	0.07 ± 0.00
茎 Stem	0.10 ± 0.00	1.84 ± 0.06	3.53 ± 0.17	0.04 ± 0.00	2.12 ± 0.08	2.79 ± 0.05	21.02 ± 0.99
花 Flower	0.07 ± 0.00	0.06 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0.92 ± 0.06	0.38 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.08 ± 0.00
果肉 Pulp	0.03 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0	0.00 ± 0.00	2.12 ± 0.25	0.01 ± 0.00	0
果皮 Peel	0.05 ± 0.01	0.05 ± 0.01	0	0.00 ± 0.00	0.76 ± 0.02	0.09 ± 0.01	0
种子 Seed	0.04 ± 0.00	0.01 ± 0.00	0	0.08 ± 0.01	0.25 ± 0.02	0.01 ± 0.00	0.02 ± 0.00

2.2 EjDHN 基因在果实发育过程中的表达

不同 EjDHN 基因在枇杷果实发育过程中表达水平的变化具有很大差异（图 1）。*EjDHN1* 在幼果期果肉和种子中的表达量都比较低。随着果实发育，在种子中的表达迅速上升，转色期（S3）达到最高，随后又迅速下降；在果肉中的表达呈上升趋势，在成熟期（S5）中的表达量约为幼果期（S1）

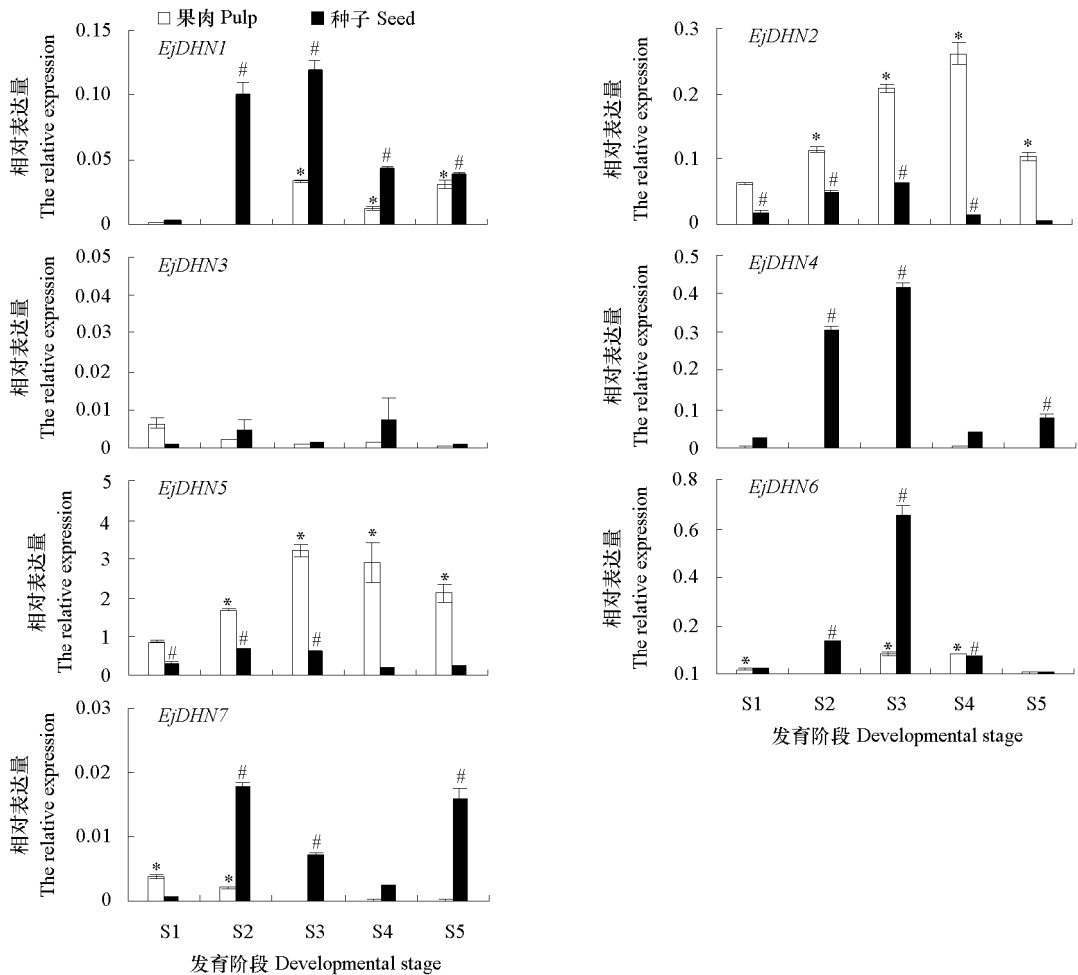


图 1 EjDHN 基因在枇杷果实发育过程中表达变化

S1: 幼果; S2: 膨大; S3: 转色; S4: 未成熟; S5: 成熟; * 果肉, $P < 0.05$; # 种子, $P < 0.05$ 。

Fig. 1 Expression patterns of EjDHNs at different fruit developmental stages in loquat

S1: Fruitlet; S2: Enlargement; S3: Breaker; S4: Immature; S5: Mature; * Pulp, $P < 0.05$; # Seed, $P < 0.05$.

的 18.6 倍。在整个果实发育过程中, *EjDHN2* 表达先上升后下降, 且在果肉中的表达水平显著高于种子; 果肉中在果实完全转色但未成熟期 (S4) 表达最强, 而种子中在转色期 (S3) 表达最强。*EjDHN3* 在不同发育阶段的果肉和种子中的表达量都较低, 且没有显著变化。*EjDHN4* 在种子发育过程中也呈现出先上升后下降的趋势, 在转色期 (S3) 的表达量最高, 是幼果期 (S1) 的 15.5 倍, 而在果肉中表达量低且没有显著变化。果肉中 *EjDHN5* 表达随着果实发育快速上升, 转色期 (S3) 后缓慢下降; 而种子中在幼果期 (S1)、膨大期 (S2) 和转色期 (S3) 要显著高于成熟期 (S5), 最高峰的表达量是最弱时的 3.5 倍。*EjDHN6* 表达量在种子中变化比较剧烈, 先是迅速上升, 转色期 (S3) 达到最大值后又迅速降低, 最高表达量约是最低表达量的 123 倍, 而在果肉中表达量相对稳定, 转色期 (S3) 和未成熟期 (S4) 显著高于其它时期。*EjDHN7* 在果实中表达较弱, 其在种子中呈现“升—降—升”的变化趋势, 而在果肉中呈下降趋势。

2.3 *EjDHN* 基因在叶片中的季节性表达变化

EjDHN 家族 7 个成员在枇杷叶片中的季节性表达变化趋势基本一致, 均在冬季出现一个高峰, 且在平均气温最低的 12 月出现最大值 (图 2)。此外, *EjDHN1*、*EjDHN2*、*EjDHN4* 和 *EjDHN5* 在初夏 (6 月) 表达增强。

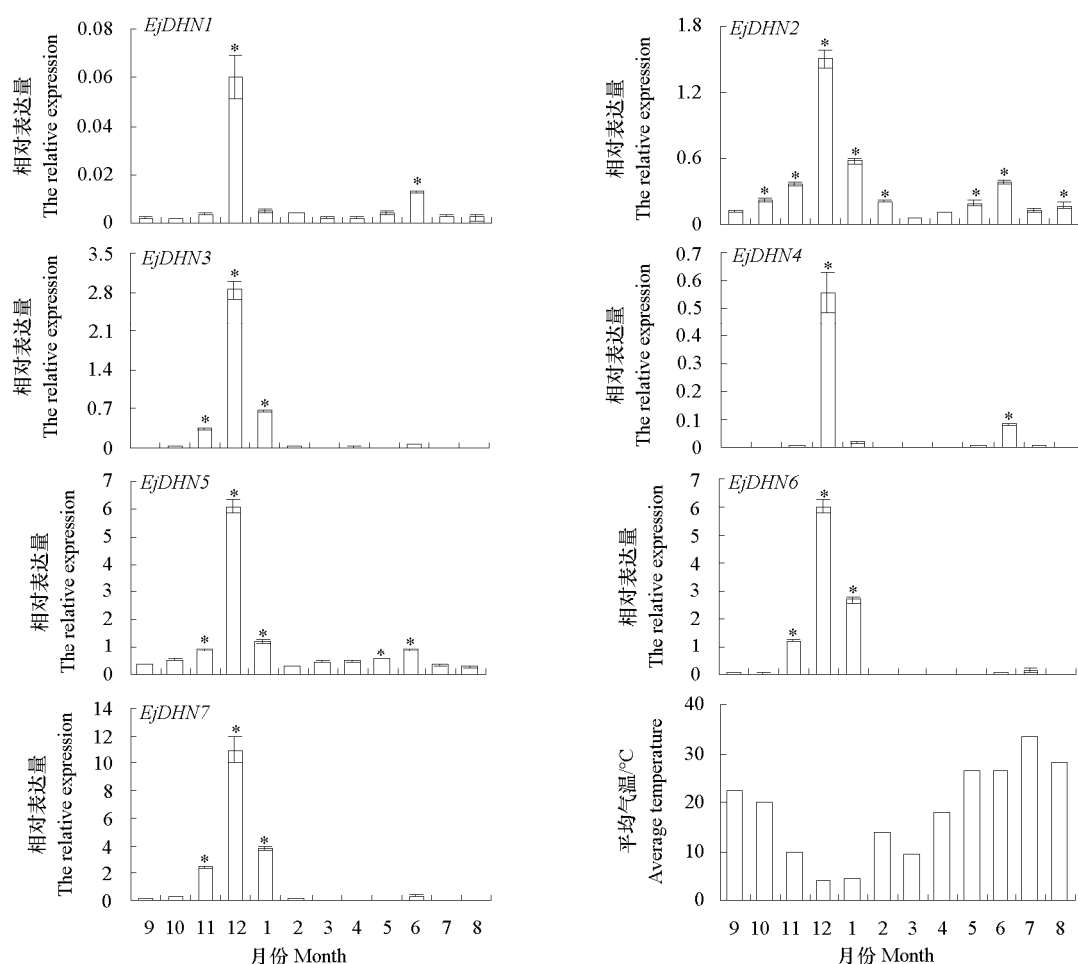


图 2 枇杷叶片中 *EjDHN* 基因季节性表达变化

Fig. 2 Seasonal changes in *EjDHN*s expression in leaves of loquat

* $P < 0.05$.

2.4 EjDHN 基因在干旱胁迫下的表达

7 个 *EjDHN* 基因在干旱胁迫后表达显著增强 (图 3)。*EjDHN1*、*EjDHN3*、*EjDHN4*、*EjDHN6* 和 *EjDHN7* 的表达水平在干旱胁迫处理的前 10 d 都相对稳定, 而在 10 d 后开始迅速上升, 其中 *EjDHN6* 表达水平增加幅度最大, 在处理 14 d 时是未处理时的 66.6 倍。*EjDHN2* 和 *EjDHN5* 在干旱处理的前 5 d 表达变化不大, 而在 5 d 后显著上升, 在 14 d 时达到最大值, 分别比未处理时增加了 2.74 和 1.08 倍。

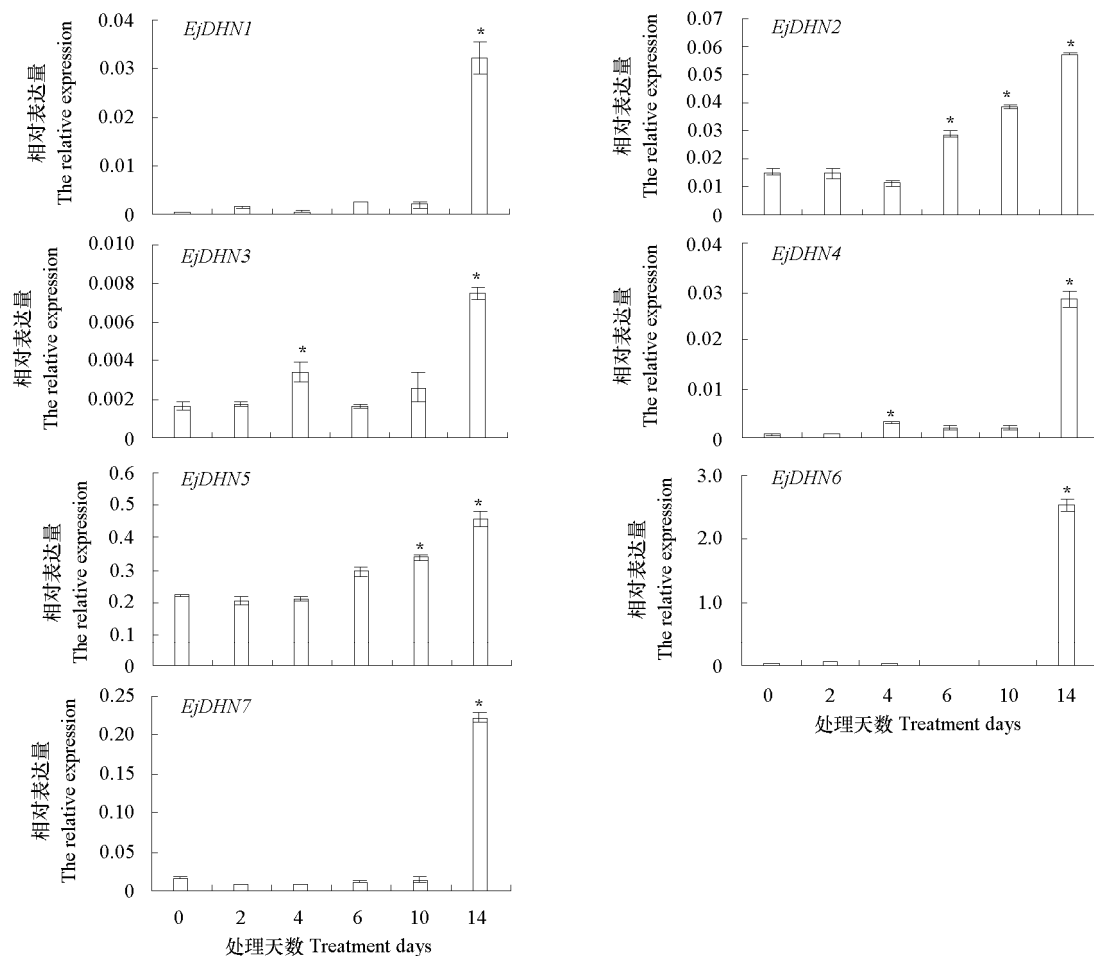


图 3 *EjDHN* 基因在干旱胁迫下的表达变化

Fig. 3 Changes in *EjDHN*s expression in response to drought stress in loquat

* $P < 0.05$.

2.5 EjDHN 基因在 ABA 处理下的表达变化

EjDHN 家族不同成员的表达对 ABA 处理有不同响应 (图 4)。*EjDHN1* 在 ABA 处理后表达量呈先上升后下降再上升的变化趋势; *EjDHN2*、*EjDHN3*、*EjDHN4*、*EjDHN5* 和 *EjDHN7* 在 ABA 处理后表达量出现先下降后上升又下降的变化过程; *EjDHN6* 对 ABA 处理最敏感, 在 ABA 处理后表达迅速增强, 在处理 8 h 时达到最强 (为未处理的 60 倍), 此后保持稳定。

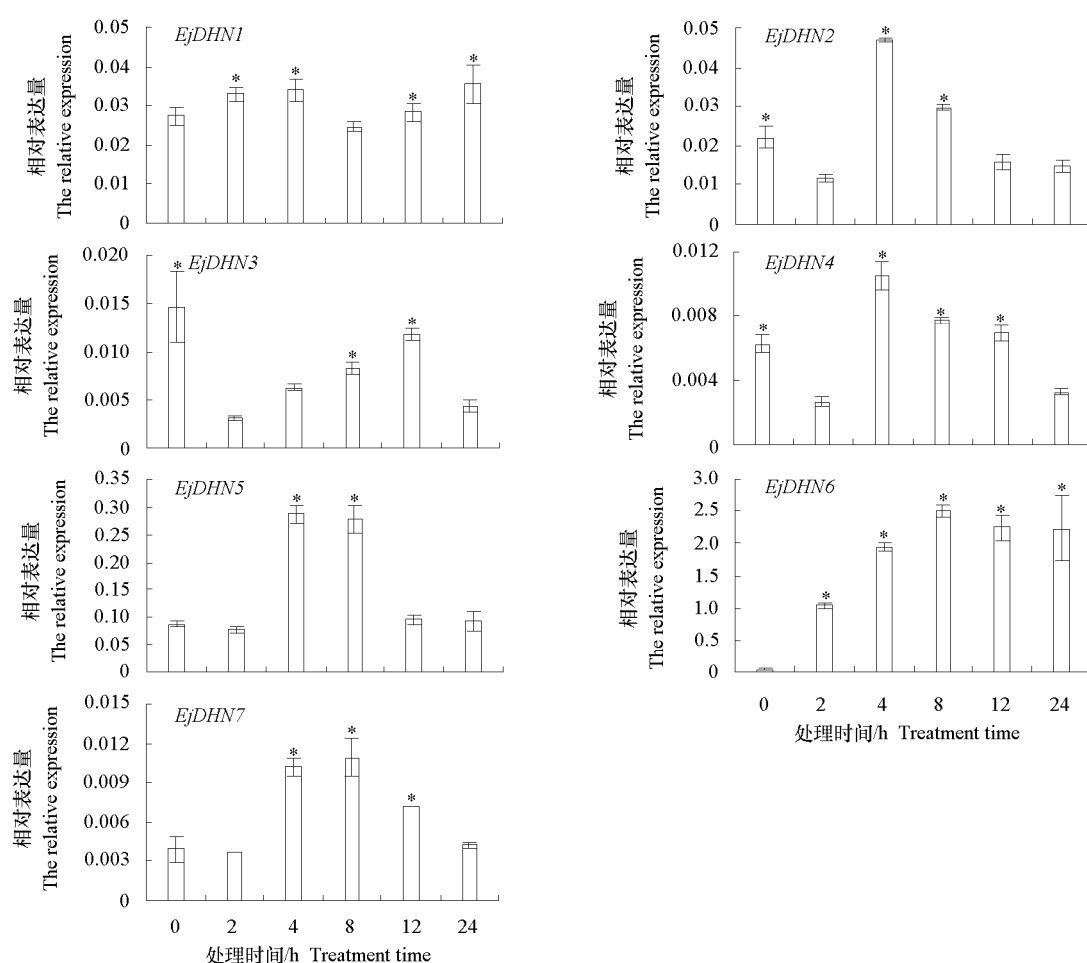


图4 EjDHN 基因在 ABA 处理下的表达变化

Fig. 4 Changes in EjDHN expression in response to ABA treatment in loquat

* $P < 0.05$.

3 讨论

低温、高温、干旱以及盐碱等环境胁迫对植物细胞产生伤害的机理是相似的，它们都能造成细胞脱水，进而影响其正常的生理功能。脱水素蛋白具有高度的水合能力，能与膜脂结合，阻止细胞内水分过多流失，维持膜结构的水合保护体系，使生物膜和膜蛋白结构免受破坏（Close, 1996; Allagulova et al., 2003），从而减轻胁迫和脱水过程对植物细胞的伤害。因此，同一脱水素基因能同时对多种脱水相关胁迫产生响应。然而，不同脱水素基因所编码的脱水素蛋白的结构和理化特性差异很大，不同类型的脱水素蛋白对不同胁迫的响应也有不同。一般认为中性或碱性脱水素（如 Y_nSK_n ）通常受干旱或者 ABA 诱导，但不受低温诱导；而酸性脱水素（如 K_n 型、 SK_n 型和 Y_nK_n 型）更容易受低温胁迫所诱导（Rorat, 2006）。

本研究发现，*EjDHN1* 的表达水平受果实发育阶段、季节变化、干旱胁迫处理等影响，表明其参与了枇杷果实发育以及抵抗低温和干旱胁迫的调控。*EjDHN5* 在各器官和组织中表达量都较高，且受季节变化、干旱胁迫和果实发育等因素影响，说明其是枇杷中比较重要的一类脱水素基因，可能参与了果实发育和各种胁迫响应。*EjDHN2* 的氨基酸序列与 *EjDHN5* 同源性高达 86%（Xu et al., 2014），且在枇杷果实发育及各种胁迫后的表达也类似，因此可能具有与之类似的功能。*EjDHN3*

在果实发育过程中的表达没有明显变化, 说明其不参与果实和种子发育过程调控; 此外, 在叶片中的表达在冬季迅速增强, 说明它是低温响应基因, 可能与枇杷抗低温胁迫有关。EjDHN4 在叶片中的表达量在气温最低的 12 月份是温度适宜的 9 月份的 346 倍。EjDHN4 所编码的蛋白是一类 K_n 型脱水素蛋白, 有研究证明 K_n 型脱水素与植物抗低温能力有关(Choi et al., 1999; Dhanaraj et al., 2005)。作者以前的研究也发现 EjDHN4 在枇杷幼果中对低温胁迫最敏感, 低温处理后其表达水平升高倍数远高于其他 EjDHN 成员(Xu et al., 2014), 因此推测 EjDHN4 在枇杷中的主要功能是参与抗低温胁迫过程, EjDHN4 在花中的表达水平显著高于其他组织, 可能与花是在气温较低的冬季采集有关。EjDHN6 在果实发育期间和各种胁迫处理中表达量均有强烈变化, 可能在调控果实发育和参与多方面的抗性(特别是抗干旱胁迫)中具有重要作用。EjDHN7 在果实发育过程中表达量很低, 但在干旱胁迫后期以及在冬季叶片中的表达迅速增强, 表明其可能与抗干旱胁迫以及低温胁迫有关。

ABA 信号途径参与了低温、干旱、盐等胁迫反应(Mahajan & Tuteja, 2005), 能诱导脱水素基因的转录和表达(Choi et al., 1999; Wang et al., 2002)。一些脱水素基因, 如拟南芥 *rab18* (Lang et al., 1994) 和玉米 *rab17* (Busk et al., 1997) 的启动子中含有 ABA 响应元件(ABA-responsive element, ABRE)。前人的研究表明, ABA 能激活 bZIP (basic-domain leucine zipper) 转录因子, 使其能够与脱水素启动子中的 ABRE 元件结合, 从而启动脱水素基因表达, 并且需要多拷贝的 ABRE 才能对 ABA 产生应答(Allagulova et al., 2003)。不同 EjDHN 基因受 ABA 处理的影响存在显著差异, 可能与这些基因的启动子中含有 ABA 响应元件的多寡有关。另外, 7 个 EjDHN 基因的表达量在其它条件下的变化趋势与其在 ABA 处理后的变化趋势有很大差异, 说明存在多种调控途径和机制。这一现象在其它植物中也有发现, 如拟南芥 ABA 缺陷型(*aba-1*)突变体植株中的脱水素基因 *lit45* 和 *lit30* 受水分胁迫诱导而对 ABA 处理响应较弱, 相反, *rab18* 主要受 ABA 诱导, 但 *cor4* 则同时受水分胁迫和 ABA 处理所诱导(Gilmour & Thomashow, 1991; Welin et al., 1994)。因此, 枇杷不同 EjDHN 基因对环境胁迫与 ABA 处理的不同响应机制以及他们之间的联系尚需进一步研究。

References

- Ali-Benali M A, Alary R, Joudrier P, Gautier M F. 2005. Comparative expression of five *Lea* genes during wheat seed development and in response to abiotic stresses by real-time quantitative RT-PCR. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1730 (1): 56 - 65.
- Allagulova C R, Gimalov F R, Shakirova F M, Vakhitov V A. 2003. The plant dehydrins: Structure and putative functions. *Biochemistry*, 68: 945 - 951.
- Busk P K, Jensen A B, Pages M. 1997. Regulatory elements *in vivo* in the promoter of the abscisic acid responsive gene *rab17* from maize. *Plant Journal*, 11: 1285 - 1295.
- Chen Xin, Liang Li-song, Ma Qing-hua, Zhao Tian-tian, Liu Qing-zhong, Wang Gui-xi. 2013. Cloning and expression characteristics of a novel dehydrin gene from hazelnut (*Corylus heterophylla* Fisch.). *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (1): 32 - 40. (in Chinese)
- 陈 新, 梁丽松, 马庆华, 赵天田, 刘庆忠, 王贵禧. 2013. 平榛脱水素基因的克隆与表达分析. *园艺学报*, 40 (1): 32 - 40.
- Choi D W, Zhu B, Close T J. 1999. The barley (*Hordeum vulgare* L.) dehydrin multigene family: Sequences, allele types, chromosome assignments, and expression characteristics of 11 *Dhn* genes of cv Dicktoo. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 1234 - 1247.
- Close T J. 1996. Dehydrins: Emergence of a biochemical role of a family of plant dehydration proteins. *Physiologia Plantarum*, 97: 795 - 803.
- Close T J. 1997. Dehydrins: A commonality in the response of plants to dehydration and low temperature. *Physiologia Plantarum*, 100: 291 - 296.
- Dhanaraj A, Slovin J P, Rowland L J. 2005. Isolation of a cDNA clone and characterization of expression of the highly abundant, cold acclimation-associated 14 kDa dehydrin of blueberry. *Plant Science*, 168: 949 - 957.
- Eriksson S K, Kutzer M, Procek J, Gröbner G, Harryson P. 2011. Tunable membrane binding of the intrinsically disordered dehydrin Lti30, a cold-induced plant stress protein. *The Plant Cell*, 23: 2391 - 2404.

- Feng C, Chen M, Xu C J, Bai L, Yin X R, Li X, Allan A C, Ferguson L B, Chen K S. 2012. Transcriptomic analysis of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) fruit development and ripening using RNA-Seq. *BMC Genomics*, 13: 19.
- Gilmour S J, Thomashow M F. 1991. Cold acclimation and coldregulated gene expression in ABA mutants of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 17: 1233 – 1240.
- Hundertmark M, Hinch D K. 2008. LEA (Late Embryogenesis Abundant) proteins and their encoding genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 9: 118.
- Lang V, Mantyla E, Welin B, Sundberg B, Palva E T. 1994. Alterations in water status, endogenous abscisic acid content, and expression of *rab18* gene during the development of freezing tolerance in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 104: 1341 – 1349.
- Liang D, Xia H, Wu S, Ma F W. 2012. Genome-wide identification and expression profiling of dehydrin gene family in *Malus domestica*. *Molecular Biology Reports*, 39: 10759 – 10768.
- Liu C C, Li C M, Liu B G, Ge S J, Dong X M, Li W, Zhu H Y, Wang B C, Yang C P. 2012. Genome-wide identification and characterization of a dehydrin gene family in polar (*Populus trichocarpa*). *Plant Molecular Biology Reports*, 30: 848 – 859.
- Mahajan S, Tuteja N. 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 444: 139 – 158.
- Nylander M, Svensson J, Palva E T, Welin B V. 2001. Stress-induced accumulation and tissue-specific localization of dehydrins in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 45: 263 – 279.
- Rampino P, Pataleo S, Gerardi C, Mita G, Perrotta C. 2006. Drought stress response in wheat: Physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell & Environment*, 29: 2143 – 2152.
- Rorat T. 2006. Plant dehydrins-tissue location, structure and function. *Cell & Molecular Biology Letters*, 11: 536 – 556.
- Shan L L, Li X, Wang P, Cai C, Zhang B, Sun C D, Zhang W S, Xu C J, Ferguson L, Chen K S. 2008. Characterization of cDNAs associated with lignification and their expression profiles in loquat fruit with different lignin accumulation. *Planta*, 227: 1243 – 1254.
- Tommasini L, Svensson J T, Rodriguez E M, Wahid A, Malatrasi M, Kato K, Wanamaker S, Resnik J, Close T J. 2008. Dehydrin gene expression provides an indicator of low temperature and drought stress: Transcriptome-based analysis of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Functional & Integrative Genomics*, 8: 387 – 405.
- Wang X J, Loh C S, Yeoh H H, Sun W Q. 2002. Drying rate and dehydrin synthesis associated with abscisic acid-induced dehydration tolerance in *Spathoglottis plicata* orchidaceae protocorms. *Journal of Experimental Botany*, 53: 551 – 558.
- Wang X, Zhu H, Jin G, Liu H, Wu W, Zhu J. 2007. Genome-scale identification and analysis of LEA genes in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*, 172: 414 – 420.
- Welin B V, Olson A, Nylander M, Palva E T. 1994. Characterization and differential expression of *dhn/lea/rab*-like genes during cold acclimation and drought stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology*, 26: 131 – 144.
- Welling A, Palva E T. 2006. Molecular control of cold acclimation in trees. *Physiologia Plantarum*, 127: 167 – 181.
- Wisniewski M E, Bassett C L, Renaut J, Farrell R J, Tworkoski T, Artlip T S. 2006. Differential regulation of two dehydrin genes from peach (*Prunus persica*) by photoperiod, low temperature and water deficit. *Tree Physiology*, 26: 575 – 584.
- Xu Hong-xia, Chen Jun-wei, Yang Yong, Sun Jun-wei, Yan Cheng-qi. 2011. Isolation and expression analysis of DHN gene in loquat fruit under cold stress. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (6): 1071 – 1080. (in Chinese)
- 徐红霞, 陈俊伟, 杨勇, 孙俊威, 严成其. 2011. 枇杷果实 DHN 基因克隆及其在低温胁迫下的表达分析. *园艺学报*, 38 (6): 1071 – 1080.
- Xu H X, Yang Y, Li X, Li X Y, Feng C, Chen J W, Xu C J. 2014. Involvement of multiple types of dehydrins in the freezing response in loquat (*Eriobotrya japonica*). *PLoS ONE*, 9 (1): e87575.
- Yang Y Z, He M Y, Zhu Z G, Li S X, Xu Y, Zhang C H, Singer S D, Wang Y J. 2012. Identification of the dehydrin gene family from grapevine species and analysis of their responsiveness to various forms of abiotic and biotic stress. *BMC Plant Biology*, 12: 140.