

Progress in Drought and Cold Resistance of Apple Dwarfing Rootstocks

Xingliang Li^{1,2}, Qiang Zhang^{1,2}, Jian Sun^{1,2}, Beibei Zhou^{1,2}, Jia Zhou^{1,2}, Qinqing Wei^{1,2*}

¹Institute of Forestry & Pomology, Beijing Academy of Agriculture & Forestry Sciences, Beijing

²Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (North China), Ministry of Agriculture, Beijing

Email: *qpwei@sina.com

Received: Nov. 25th, 2015; accepted: Dec. 26th, 2015; published: Dec. 31st, 2015

Copyright © 2015 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

Drought and low temperature are two important environmental stress factors in apple production in China, while dwarfing rootstocks show significantly impact on growth, yield and fruit quality formation of apple trees. Nowadays, high-efficiency intensive cultivation by using dwarfing rootstocks is the development trend of the world apple industry including China. In this paper, the methods of materials treatment, indicators measuring and the resistance evaluation in drought, cold resistance studies over the years are summarized systematically. Binding to the resistance mechanisms studies in model plants, both physiology and molecular mechanisms of drought, cold resistance of apple dwarfing rootstocks are reviewed. Summary analysis of evaluation and mechanism research in stress resistance will provide a reference for screening and evaluation of apple dwarfing rootstocks, and establish theoretical bases for new variety cultivation.

Keywords

Apple Dwarfing Rootstock, Stress Resistance, Breeding, Genetic Engineering

苹果矮化砧木抗旱、寒研究进展

李兴亮^{1,2}, 张强^{1,2}, 孙健^{1,2}, 周贝贝^{1,2}, 周佳^{1,2}, 魏钦平^{1,2*}

¹北京市农林科学院林业果树研究所, 北京

²农业部华北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 北京

Email: *qpwei@sina.com

*通讯作者。

收稿日期：2015年11月25日；录用日期：2015年12月26日；发布日期：2015年12月31日

摘要

干旱、低温是影响我国苹果生产的主要逆境因素，苹果矮化砧木直接影响着树体的生长发育、产量及果实品质的形成。苹果矮砧集约栽培已经成为世界栽培的发展方向，也是我国苹果产业的发展趋势。本文对苹果砧木抗旱、寒研究方法、试验材、相关指标测定和抗旱、寒性综合评价等方面进行了系统总结，并结合模式植物的抗性机理研究，对苹果矮化砧木抗旱、寒生理及分子机理研究进行了综述，为苹果矮化砧木的抗旱、寒筛选、评价和利用及新的矮化砧木培育提供理论依据和参考。

关键词

苹果矮化砧木，抗逆性，育种，基因工程

1. 引言

我国是世界第一苹果生产大国，栽培面积和产量分别占世界的52%和4% (联合国粮农组织FAO, 2013年统计)，同时苹果也是我国果树栽培面积最大、总产量最高的树种。苹果矮砧集约栽培已经成为世界栽培的发展方向，也是我国苹果产业的发展趋势[1] [2]。我国自20世纪60年代开始引进英国的M和MM系、美国的MAC系和CG系、波兰的P系、原苏联的B系等，70年代全国曾掀起研究和推广的高潮，由于砧木生态适应性、砧穗组合和栽培技术不配套等多种因素，仅有少量保留下来。近几年来，随着欧美国家苹果矮化新砧木的培育及在生产中的广泛应用，我国的苹果矮砧栽培再次掀起高潮，由于我国苹果种植主要集中在环渤海丘陵和西北干旱和半干旱区域，加之全球气候变暖导致的异常气候发生频率增加或强度加大等因素，倒春寒、霜冻及干旱性天气呈明显增多趋势，使苹果生产遭受了重大损失[3] [4]，苹果矮化砧木的抗旱、寒(抽条)问题已经成为制约我国苹果矮砧集约栽培的关键问题之一。本文就苹果矮化砧木抗旱、寒研究进行综述，为苹果矮化砧木的生态适应性研究、区域选择等提供借鉴和参考。

2. 抗旱、抗寒性研究方法

苹果砧木抗旱、寒评价的方法可分为田间自然条件和人工控制条件两种途径。前者简单易行，最为接近生产实际情况，通过旱季、越冬后的生长表现即可对树种的抗旱、抗寒能力进行评价，但这种方法时间周期长，需要进行多点、多年的试验研究。人工条件控制法是通过人为控水、控温或模拟极端气候条件，以研究单因素或多因素逆境对矮化砧木生长发育的影响，该方法需要有一定的试验设施条件，并对试材的树龄、物候期、砧穗组合和生长一致性等有较高要求。两种处理方法各有优缺点，前者气候条件不可掌控，试验周期长，但直接反应树种在生产中的表现；后者试验条件下的评价结果与实际生产中的表现不尽完全一致，但试验周期短，适于做初步评价。两种处理方法的采用需要因地制宜，综合考虑实地条件。

2.1. 抗旱性处理

1) 自然干旱法。试验要求选取长势整齐、健壮的植株每盆定植1株，并要防止根系扎入土壤吸水，在防雨棚下进行自然失水，并以人工正常浇水植株为对照[5]。该方法不能准确控制土壤含水量，但操作简单，适宜用作大量试材的抗旱性鉴定。

2) 定量控水法。盆栽人工控水是研究苹果砧木抗旱性的常用方法,可通过称重定量、TDR 表层式水分探头或水势仪精确测定土壤含水量及水势[6]-[8]。土壤水分梯度一般设置为正常处理(70%~80%)、轻度胁迫(50%~60%)、中度胁迫(35%~45%)和重度胁迫(30%以下),并根据日失水量加以补充调节。

3) PEG 渗透胁迫法。通过向水培、组培、外植体培养基质中加入不同浓度的聚乙二醇(PEG6000)增加基质渗透势,设置不同渗透胁迫程度,模拟干旱以使植株受到失水胁迫[9]-[11]。PEG 渗透胁迫法适宜做快速脱水胁迫检测,可对不同品种苹果砧木作粗略的抗性评价分级。

2.2. 抗寒性处理

1) 田间自然鉴定法。通过观察苹果砧木的越冬表现,结合越冬期间的气象条件对砧木的冻害情况进行调查,该方法简单易行,在自然低温下直接反应砧木的抗寒性。但试验较大程度上受地域和气候条件限制,往往需要在不同地域进行多年观察才能确凿反应出砧木的抗寒能力[12] [13]。

2) 人工低温冷冻法。在冬季苹果砧木进入休眠期后,选取充分成熟、芽眼饱满、粗度均匀一致的枝条,去掉顶端向下截取 20-30cm 长的枝段,塑料包裹后在变温冰箱中进行梯度降温处理;降温速度一般为 3~5℃/h,处理温度-15℃至-40℃,处理一定时长(8~12 h)后再逐步升温。人工低温冷冻法处理条件容易控制,适宜用作大量试材的抗寒处理及初步的抗寒能力分级;在低温处理后通过电导率、酶活等推算出半致死温度,后期再结合生产实际表现加以矫正。

3) 人工气候室法。人工气候室是一种综合性控制环境条件的自动化设施,在不受外界环境条件干扰下,借助自动空调装置模拟自然气候。在对盆栽砧木低温处理下,通过调节土壤含水量、风速、空气湿度、光强等气象因子以模拟冬季或春季气候条件,不受季节限制地进行苗木的抗寒评价。此外,通过不同气象因素的组合处理,分析各因素对砧木抗寒性的影响程度,可为田间低温下砧木的防寒保护提供借鉴措施[14] [15]。

3. 抗旱、抗寒性相关指标的测定

苹果矮化砧木的抗旱、寒强弱与地上部枝条和叶片的发育状态、营养物质含量、生理生化代谢和充实度有密切的关系,并受到地下部根系的形态结构、类型、肥水吸收利用和分配的影响。筛选获得抗旱、寒显著相关指标一直是砧木抗性育种的努力方向。关于苹果矮化砧木的抗旱、抗寒相关指标大体可分为形态指标、生理指标和生产力指标。

3.1. 抗旱性检测

1) 旱害指数。自然或人为控水条件下,通过对矮化砧木在干旱下的旱害表现进行抗旱性评价。可分为 4 个级别:0 级表现为正常生长,无旱害现象;1 级为轻度旱害,表现为叶片出现轻微黄化或萎蔫;2 级为中度旱害,叶片萎蔫,叶缘焦枯;3 级为重度旱害,大部分叶片焦枯,出现严重落叶;4 级为极度旱害,枝条枯死。

2) 电导率。植物细胞在一定程度逆境胁迫下,细胞膜结构受到破坏,细胞外渗物质增加从而引起电导率的变化。在干旱胁迫下,苹果砧木叶片电导率与旱害指数呈极显著负相关,是评价砧木抗旱性的可靠指标[16] [17]。

3) 净光合速率。该指标检测用于反应植株在逆境条件下的光合能力,即抗旱生产力;净光合速率与砧木旱害后的生长恢复及生物量的积累较为相关。

4) 生化指标。生化指标的测定包括两类,一类为渗透调节蛋白、可溶性糖含量的测定,一类为抗氧化酶活性的测定。适宜用作苹果砧木抗旱性指标的有可溶性蛋白、SOD、POD 活性及过氧化产物 MDA

含量。在多种植物中，通常认为游离脯氨酸含量变化与多种抗性相关，但在苹果砧木中，是否适宜作为抗旱性指标应视不同砧木品种具体测定选用。

5) 生物量。主要包括树高、冠径、新梢生长量等，是对砧木抗旱能力的综合评价[5] [18]。生物量的测定指标相对较多，可根据树龄、品种特性、试材处理方式等因素选用。

3.2. 抗寒性检测

1) 电导率。电导率的测定是检测砧木抗寒性的首要指标，在持续低温处理下，苹果砧木电导率随着温度的降低表现为S型曲线上升，与砧木抗寒性呈显著负相关。

2) 恢复生长法。试材经低温处理后，对其恢复正常生长条件下的愈伤产生、生根、萌芽等情况进行统计，是鉴定树种抗寒性的常用方法。

3) 组织褐变法。砧木枝条切面在低温处理下往往会出现不同程度的褐化，根据褐化程度与砧木抗寒性的反比关系，从而量化砧木的抗寒能力。试验的切面部位(韧皮部、木质部、次生木质部)、低温后再处理方式(光照、避光、沙藏、水培)、处理时长及褐化程度定量等在不同砧木品种抗寒性检测中有较大不同，需根据测定经验具体限定[19] [20]。

4) 生理指标。主要是结合水/自由水、可溶性蛋白、SOD酶活性及MDA含量的测定[21]。

不同苹果砧木抗逆机理不尽相同，在抗逆检测方法上也有所不同。如不同苹果砧木在干旱胁迫条件下，M9、MM106、泰山海棠、小金变叶中游离脯氨酸含量极显著上升，而雅江变叶、德钦海棠等游离脯氨酸含量则无明显变化[22] [23]。此外，同一品种砧木在不同生长阶段下对逆境的生理反应也不尽相同，如当植物由代谢旺盛的生长期转入休眠期时，体内结合水与自由水的比值升高，抗旱、寒能力增强，结合水/自由水比例成为休眠枝条抗性的主要参考指标；而在萌芽期或生长期，植株代谢旺盛，自由水含量上升，结合水与自由水比值下降，可溶性糖、蛋白含量及抗氧化酶活性成为抗旱、寒的主要因素[24] [25]。因此，砧木抗逆性的评价需要先期通过较全面的抗性指标筛查，在特定生长时期、组织部位、选取适宜的抗性指标进行测定才能更具有重复性、准确地评价抗逆能力。

4. 抗旱、寒能力的综合评价

采用多元统计方法将砧木多项抗性指标综合起来加以分析，从而将抗性能力的强弱量化成数值，更加方便地评价品种间的抗性差异。苹果砧木抗旱、寒能力评价常用的统计分析方法有：

4.1. 平均隶属函数法

平均隶属函数法因其算法简单易懂而成为目前应用最为普遍的一种抗逆性的综合评价方法。通过计算出各相关指标的隶属函数值，再取平均值即可用于反应试材的抗性强弱[11]。该方法计算值可用以反映各指标统计下试材的综合抗逆能力，但不能反应出各抗性指标对试材抗性能力贡献的大小。

4.2. 主成分分析法

主成分分析法是将原始较多的测定指标转换为新的较少的综合指标进行分析，以避免因指标间存在相关性而产生的数据信息偏差[22] [26]。主成分分析法获得的度量值在完成综合评价的同时，还可以给出各指标对抗逆性的贡献率的大小，从而可以分析影响砧木抗逆性强弱的直接和间接因素。

4.3. 聚类分析法

聚类分析法主要用于对砧木抗性的分级评价。可以以平均隶属函数法或主成分分析法获得的度量值进行聚类分析，还可将一项或两项测定指标值，如旱害指数、生长量、半致死温度等进行聚类分析。

通过聚类分析可将试材分级为不抗旱、中等抗旱、抗旱；或弱抗寒、抗寒、强抗寒等级别[22] [27] [28]。

5. 苹果砧木抗旱、寒分子机理研究

在模式植物中，抗旱、抗寒机理研究已有较多报道，形态、生理、分子水平研究也已较深入。植物体对抗旱、抗寒的调节可归纳为四种途径：渗透调节、抗氧化调节、胁迫蛋白调节和信号转导调节(表 1)。各调节途径组分多、家族成员数量不等且在不同物种中抗性贡献不尽相同。随着更多物种抗旱、抗寒机理研究的开展，发现多种调节组分在不同物种中的抗性功能呈现出多样性。如被广泛认为参与抗旱胁迫的游离脯氨酸，在拟南芥、烟草、玉米等干旱胁迫下含量显著增加，而在草莓、柑橘及部分小麦品种中与抗旱能力却无显著相关性。苹果砧木抗旱、抗寒机理的研究还很有限，在借鉴其他物种研究结果的同时，还需要有大量的前期基础研究。

5.1. 生理组分调节

渗透调节研究中，苹果砧木的研究对象主要有游离脯氨酸、甜菜碱、壳聚糖和山梨醇。其中，检测游离脯氨酸含量变化能否作为抗旱、抗寒指标的研究最为广泛。据报道，低温胁迫下，M26、SH12、新疆野苹果等砧木中游离脯氨酸大量合成[21] [29]；干旱胁迫下，除雅江变叶、德钦海棠外，楸子等砧木品种中游离脯氨酸的合成受干旱诱导，但诱导强度、时间与抗性的相关程度不尽相同[17] [22]。向碧霞(1995)等通过检测电导率、SOD 活性、丙二醛(MDA)含量、气孔导度、游离脯氨酸含量等指标系统调查了 16 种乔化砧木的抗旱性，但结果显示脯氨酸含量变化与砧木的抗旱能力不存在显著相关性[17]。

此外，通过内源调节或外施增加壳聚糖、甜菜碱或山梨醇等有机小分子浓度，提高细胞渗透势或抗氧化能力能够增强砧木的抗旱、抗寒能力。但在渗透调节组分中，尚没有公认的与抗旱、抗寒性显著相关的检测指标；且包括游离脯氨酸及其他渗透调节组分在内，在干旱、低温逆境中的含量变化，是属于主动应答调节还是逆境伤害导致的结果，尚没有明确的研究结论。

活性氧(ROS)是植物体遭受干旱、低温、病害等多种生物/非生物胁迫的防卫性反应，但同时过多活性氧的产生亦使植物体自身受到氧化胁迫[30]-[32]。在干旱、低温胁迫下，苹果砧木活性氧含量迅速上升，活性氧的清除能力在一定程度上反应了砧木的抗旱、抗寒能力[33] [34]。活性氧过氧化产物 MDA 含量与砧木抗性呈显著负相关，是评价各种苹果砧木抗旱、抗寒能力最为稳定的重要指标[35] [36]。在植物体内，活性氧清除系统包含多个组分，主要有超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、抗坏血酸过氧化物酶(APX)、谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和脱氢抗坏血酸还原酶(DHAR)六大酶系，活性氧的清除是多种酶系的协同作用(图 1) [37]-[39]。在轻度或短期水分胁迫下，苹果砧木 SOD 活性呈上升趋势，而在严重或长期胁迫条件后期则出现下降走向，综合表现为抗旱性强的品种较抗旱性弱的品种

Table 1. Regulation pathway and major components in fruit trees under stress conditions

表 1. 果树逆境调节途径及其主要组分

渗透调节 Osmotic regulation	抗氧化防御调节 Antioxidant defense regulation	胁迫蛋白调节 Stress proteins regulation	信号转导调节 Signal transduction regulation
游离脯氨酸 Free proline	超氧化物歧化酶(SOD)	胚胎发生后期丰富蛋白(LEA)水通	脱落酸(Abscisic acid, ABA)
甜菜碱 Betaine	过氧化氢酶(CAT)	道蛋白(AQP)	DREB1/CBF, DREB2
海藻糖 Trehalose	抗坏血酸过氧化物酶(APX)	抗冻蛋白(AFP)	bZIP, WRKY
甘露醇 Mannitol	谷胱甘肽还原酶(GR)	磷脂酰甘油(PG)	MYC/MYB
无机离子 Inorganic ions	谷胱甘肽过氧化物酶 (GPX)	脂酰载体蛋白(ACP)	ICE

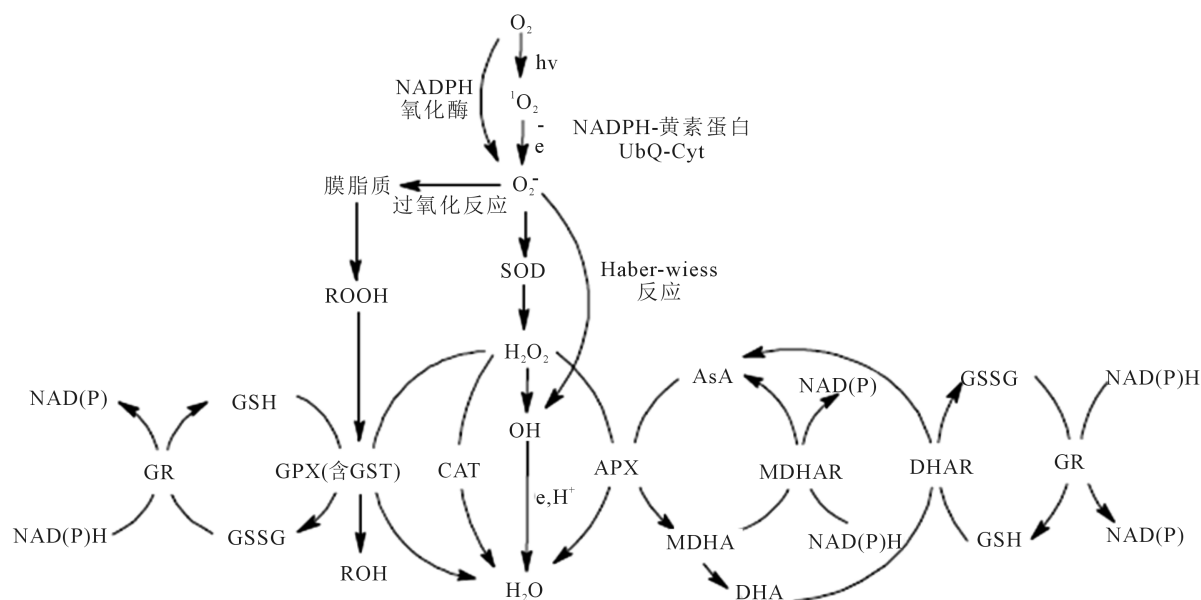


Figure 1. The production and scavenging system of reactive oxygen species in plants [38]

图 1. 植物体活性氧的产生及清除系统[38]

能够维持较高的 SOD 活性，而 CAT 活性则呈双峰曲线变化。在抗旱能力相差较大的新疆野苹果和平邑甜茶砧木的对比研究中，抗旱性较强的新疆野苹果 APX、GR、DHAR 酶活性本底水平及干旱诱导下的上升幅度均高于抗旱性较差的平邑甜茶[40]。前人研究表明，干旱胁迫下抗旱性较强的砧木品种往往表现出较高的抗氧化酶活性。

苹果砧木在干旱、低温逆境条件下，各酶系活性/含量的上调先于渗透调节物质的积累。当活性氧含量超出清除酶系的抗氧化能力时，细胞结构与功能的完整性受到破坏，各酶系活性、活性氧及MDA含量迅速降低，而后脯氨酸、可溶性糖等含量开始上升。综合已有研究报道，本底水平的活性氧清除酶系是苹果砧木应对逆境胁迫的第一道屏障，而游离脯氨酸、可溶性糖等渗透调节物质的含量变化更大程度上是细胞遭受氧化胁迫的结果而非抗氧化过程的主动应答反应，活性氧清除酶系是苹果砧木抗旱、抗寒能力的首要构成。

5.2. 信号转导调节

随着模式植物抗逆机制研究的日益深入，抗逆信号转导路径中越来越多关键组分功能得以阐明，从信号感知、传递、基因调控、蛋白表达到生理生化机制的阐明，模式植物为果树抗逆机理的研究提供了丰富的借鉴信息(图 2) [41] [42]。随着苹果基因组序列的公布，越来越多的以苹果砧木为试材的抗旱、抗寒调控基因获得克隆。

苹果砧木中，DREBs 家族广泛参与抗逆调控，DREB1/CBFs、DREB2 分别在抗旱、抗寒信号转导应答中发挥功能[42]-[44]。Du 等通过对低温处理后苹果叶片基因的表达变化，证实 DREB1/CBFs 为受低温诱导最为强烈的基因成员[45]。Zhao 等检测了苹果基因组中 68 个 DREB 家族成员，分别鉴定获得了干旱、低温应答基因[43]。在 ABA 调控路径中，Kondo 等克隆获得了 ABA 合成关键酶基因 *MdNCEDs* 及 ABA 活性调节基因 *MdCYP707A*，并对其在干旱胁迫下的表达模式进行了分析[46]。此外，转录因子家族 MYB [47] [48]、bZIP [49]、MAPK [50]及信号组分 ICE [51]、LOS5 [52]等在植物抗旱、抗寒调节中起着重要作用，并在苹果砧木中已有较多获得了克隆。相对于拟南芥、小麦等草本植物，苹果砧木中基因家族成员

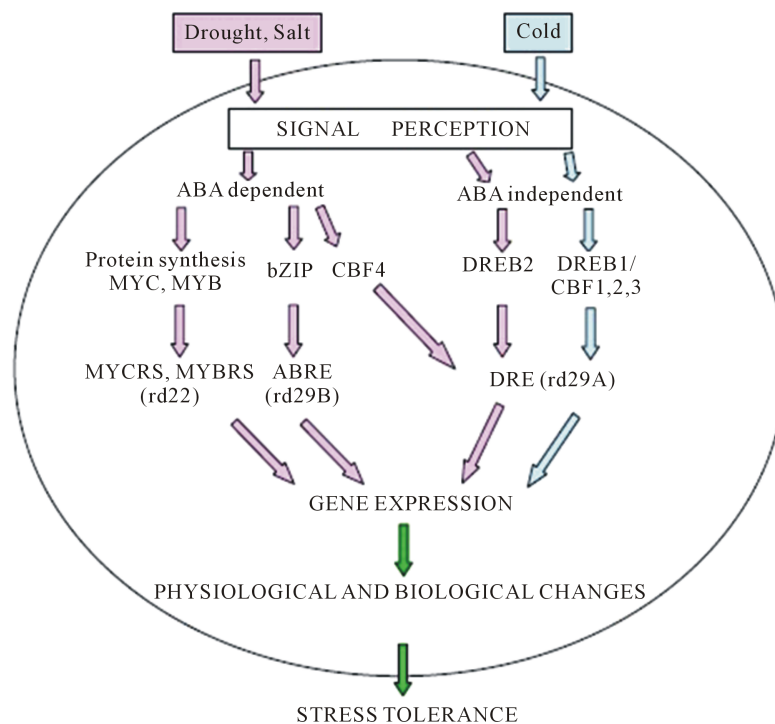


Figure 2. Schematic representation of cellular signal transduction pathways between stress signal perception and gene expression and the cis- and trans-elements involved in stress responsive gene expression [42]

图 2. 干旱、低温逆境下植物信号转导调节路径[42]

数量更多，通过借鉴途径开展苹果砧木研究，难度在于如何从众多家族成员中鉴定出相应的主效基因及其功能的验证。

除通过借鉴模式植物同源获得功能基因外，苹果砧木抗旱、抗寒研究通过消减杂交、转录组测序、分子标记等方法也获得了较多原初抗性基因。Feng 等利用苹果数据库表达序列标签，调取了 bHLH 转录因子家族，通过 RT-PCR 法鉴定出了低温胁迫应答成员[53]。Wang 等以楸子叶片为试材构建了干旱胁迫下抑制消减杂交(SSH) cDNA 文库，分离获得了苹果属首个 RBP 家族抗旱相关基因 *MpGR-RBP1* [54]。此外，Wisniewski 等以嘎啦苹果为试材，分别进行干旱、低温处理，构建了叶片、韧皮部、木质部、根组织的转录组文库，获得了大量干旱、低温调节基因，其中 20% 为新发现基因[55]。以苹果栽培品种/砧木为试材获得原初抗性基因，构建基于试材本身的信号转导路径，是促进分子标记技术从随机扩增向功能基因标记转变的必要前期基础。同时，挖掘试材自身的功能基因进行遗传转化，将减少依赖源自拟南芥、农杆菌、病毒、动物等外源基因改善砧木抗性的现状，避免物种间的基因交叉，减少转基因育种的安全隐患和公众顾虑。

6. 结语

苹果矮化自根砧宽行密植栽培模式是现代苹果栽培的发展方向，相对于矮化中间砧，自根砧具有缩短苗木繁育周期，矮化效果显著、树势整齐，早果丰产的特点。但同乔化砧相比，矮化自根砧抗逆能力相对较差。多年来，我国对苹果砧木的抗旱、抗寒研究主要是针对乔化砧木的评价，对矮化砧的研究相对较少，针对矮化自根砧木的抗性比较与评价工作尚处在起步阶段。筛选抗旱、抗寒性强的矮化自根砧木是苹果栽培生产的发展要求，同时，抗旱、抗寒机理的研究也是砧木育种不可或缺的工作。抗性指标

的选定及生理、分子机理的阐明一方面有利于从我国丰富的野生果树种质资源蕴藏中挖掘优良抗性性状,另一方面分离、克隆拥有自主知识产权的抗性基因,在多基因聚合、功能基因组合筛选、无标记转化等方面积累更多经验。苹果矮化砧木基础研究工作的开展将有利于丰富基因工程途径改良砧木抗性的资源储备,完善分子辅助育种等现代生物技术在砧木育种工作中的应用,从而为苹果砧木抗性定向改良建立可持续的发展基础。

基金项目

北京市自然科学基金(6132013); 国家苹果产业技术体系建设专项(CARS-28); 北京市农林科学院青年科研基金(QNJJ201313)。

参考文献 (References)

- [1] Hrotko, K. (2013) Development in Fruit Trees Production Systems. *AgroLife Scientific Journal*, **2**, 28-35.
- [2] 李丙智, 韩明玉, 张林森, 等. 我国苹果矮化砧木应用现状及适应性调查[J]. 果农之友, 2010(2): 4-5.
- [3] 李学营, 鄢新民, 王献革, 等. 低温异常气候对石家庄平原区富士苹果生长的影响及对策[J]. 河北农业科学, 2011(15): 35-36.
- [4] 窦志平. 异常气候对苹果优质生产的影响及对策[J]. 山西气象, 2002(1): 23-24.
- [5] Atkinson, C.J., Polcarpo, M., Webster, A.D. and Kuden, A.M. (1999) Drought Tolerance of Apple Rootstocks: Production and Partitioning of Dry Matter. *Plant and Soil*, **206**, 223-235. <http://dx.doi.org/10.1023/A:1004415817237>
- [6] Liu, S.Z., Zhang, Q., Liu, J., Sun, J. and Wei, Q.P. (2014) Effect of Partial Root-Zone Irrigating Deuterium Oxide on the Properties of Water Transportation and Distribution in Young Apple Trees. *Journal of Integrative Agriculture*, **13**, 1268-1275. [http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119\(13\)60623-1](http://dx.doi.org/10.1016/S2095-3119(13)60623-1)
- [7] Einhorn, T.C., Caspari, H.W. and Green, S. (2012) Total Soil Water Content Accounts for Augmented ABA Leaf Concentration and Stomatal Regulation of Split-Rooted Apple Trees during Heterogeneous Soil Drying. *Journal of Experimental Botany*, **63**, 5365-5376. <http://dx.doi.org/10.1093/jxb/ers195>
- [8] 邹养军, 魏钦平, 李嘉瑞, 等. 根系分区灌水对苹果叶片内源激素及生长的影响[J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1039-1041.
- [9] 闫芬芬, 张学英, 孙建设. 水分胁迫对苹果矮化砧木主要光合参数的影响[J]. 安徽农业科学, 2010(23): 12574-12576.
- [10] Danial, G.H., Ibrahim, D.A., Khalil, B.M. and Musa, V.M. (2014) *In Vitro* Drought Tolerant of Rootstock Apple (*Malus domestica* Borkh.) and Pear (*Pyrus calleryana*). *Journal of Zankoy Sulaimani*, **16**, 109-116.
- [11] 张静, 赵亮明, 邹志荣. 不同苹果砧木组培苗抗旱性的比较研究[J]. 果树学报, 2013(1): 88-93.
- [12] Mirabdolbaghi, M., Zarghami, R. and Azghandi, A. (2010) Cold Hardiness of Different Apple Rootstock Clones. *International Journal of Agriculture & Biology*, **12**, 153-156.
- [13] 李荣富, 蒋亲贤, 梁艳荣, 等. 苹果砧木的抗寒性田间鉴定[J]. 内蒙古农业科技, 2003(6): 7-8.
- [14] Heide, O.M. and Prestrud, A.K. (2005) Low Temperature, but Not Photoperiod, Controls Growth Cessation and Dormancy Induction and Release in Apple and Pear. *Tree Physiology*, **25**, 109-114. <http://dx.doi.org/10.1093/treephys/25.1.109>
- [15] Liu, D., Liu, A., He, C., Wang, J. and Wang, Y. (2012) Response of Organic Acids to Zinc Homeostasis in Zinc-Deficient and Zinc-Toxic Apple Rootstock Roots. *Pedosphere*, **22**, 803-814. [http://dx.doi.org/10.1016/S1002-0160\(12\)60066-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1002-0160(12)60066-6)
- [16] Bolat, I., Dikilitas, M., Ercisli, S., Ikinci, A. and Tonkaz, T. (2014) The Effect of Water Stress on Some Morphological, Physiological, and Biochemical Characteristics and Bud Success on Apple and Quince Rootstocks. *The Scientific World Journal*, **2014**, 1-8. <http://dx.doi.org/10.1155/2014/769732>
- [17] 向碧霞, 成明昊, 李晓林, 等. 苹果砧木资源的抗旱性研究[J]. 西南农业大学学报, 1995, 17(5): 381-385.
- [18] 魏钦平, 刘松忠, 王小伟, 等. 分根交替不同灌水量对苹果生长和叶片生理特性的影响[J]. 中国农业科学, 2009, 42(8): 2844-2851.
- [19] Moran, R.E., Sun, Y., Geng, F. and Zhang, D. (2011) Cold Temperature Tolerance of Trunk and Root Tissues in One- or Two-Year-Old Apple Rootstocks. *HortScience*, **46**, 1460-1464.

- [20] 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(1): 17-21.
- [21] 梅立新, 蒋宝, 赵政阳, 等. 几种方法测定苹果矮化砧木枝条抗寒性指标的比较[J]. 西北农业学报, 2008, 17(6): 103-106.
- [22] 徐启贺. 苹果砧木对干旱胁迫的生理响应及抗旱性评价[D]:[硕士学位论文]. 北京: 中国农业科学院果树研究所, 2010.
- [23] Alizadeh, A., Alizade, V., Nassery, L. and Eivazi, A. (2011) Effect of Drought Stress on Apple Dwarf Rootstocks. *Technical Journal of Engineering and Applied Sciences*, **1**, 86-94.
- [24] Ketchie, D.O. (1984) Cold Resistance of Apple Trees through the Year and Its Relationship to the Physiological Stages. *Proceedings of the II Symposium on Winter Hardiness in Woody Perennials*, **168**, 131-138.
- [25] 马宝妮, 徐继忠, 骆德新, 等. 不同矮化中间砧红富士苹果越冬期间枝条内水份变化与抽条的关系[J]. 河北农业大学学报, 1999, 22(4): 34-37.
- [26] Pavicic, N., Jemric, T., Kurtanjek, Z., Cosic, T., Pavlovic, I. and Blaskovic, A. (2004) Relationship between Water-Soluble Ca and Other Elements and Bitter Pit Occurrence in Idared Apples: A Multivariate Approach. *Annals of Applied Biology*, **145**, 193-196. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1744-7348.2004.tb00375.x>
- [27] 叶乃好, 翟衡, 杜中军, 等. 水分胁迫条件下 10 种苹果砧木抗旱性评价[J]. 果树学报, 2004(5): 395-398.
- [28] Boonanut, S., Krisanapook, K., Boonprakob, U., Pichakum, A. and Phavaphutanon, L. (2014) Suitable Criteria for Drought-Tolerant Peach Rootstocks Grown in Northern Thailand. *Maajo International Journal of Science and Technology*, **8**, 190-197.
- [29] 文玉珍, 徐晖, 于玮玮, 等. 低温胁迫下新疆野苹果离体叶片生理特性分析[J]. 天津农学院学报, 2014, 21(1): 39-42.
- [30] Brien, J.A.O., Daudi, A., Butt, V.S. and Bolwell, G.P. (2012) Reactive Oxygen Species and Their Role in Plant Defence and Cell Wall Metabolism. *Planta*, **236**, 765-779. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-012-1696-9>
- [31] Bailey-Serres, J. and Mittler, R. (2006) The Roles of Reactive Oxygen Species in Plant Cells. *Plant Physiology*, **141**, 311. <http://dx.doi.org/10.1104/pp.104.900191>
- [32] Gill, S.S. and Tuteja, N. (2010) Reactive Oxygen Species and Antioxidant Machinery in Abiotic Stress Tolerance in Crop Plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, **48**, 909-930. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2010.08.016>
- [33] Zhang, J., Kong, Y., Wang, S.H. and Yao, Y.C. (2010) Activities of Some Enzymes Associated with Oxygen Metabolism, Lipid Peroxidation and Cell Permeability in Dehydrated *Malus micromalus* Seedlings. *African Journal of Biotechnology*, **9**, 2521-2526.
- [34] Liu, B.H., Cheng, L., Ma, F.W., Liang, D. and Zou, Y.J. (2012) Influence of Rootstock on Drought Response in Young "Gala" Apple (*Malus domestica* Borkh.) Trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **92**, 2421-2427. <http://dx.doi.org/10.1002/jsfa.5647>
- [35] Wang, S.C., Liang, D., Li, C., Hao, Y.L., Ma, F.W. and Shu, H.R. (2012) Influence of Drought Stress on the Cellular Ultrastructure and Antioxidant System in Leaves of Drought-Tolerant and Drought-Sensitive Apple Rootstocks. *Plant Physiology and Biochemistry*, **51**, 81-89. <http://dx.doi.org/10.1016/j.plaphy.2011.10.014>
- [36] Wang, G.P., Wang, J.Z., Xue, X.M., Lu, C. and Nie, P.X. (2013) Research Progress and Identification Method of Apple Stress Resistance. *Agricultural Science & Technology*, **14**, 1413-1416.
- [37] Ma, Y.H., Ma, F.W., Wang, Y.H. and Zhang, J.K. (2011) The Responses of the Enzymes Related with Ascorbate-Glutathione Cycle during Drought Stress in Apple Leaves. *Acta Physiologiae Plantarum*, **33**, 173-180. <http://dx.doi.org/10.1007/s11738-010-0535-5>
- [38] 吴志华, 曾富华, 马生健, 等. 水分胁迫下植物活性氧代谢研究进展[J]. 亚热带植物科学, 2004(2): 77-80.
- [39] Li, Y.L., Liu, Y.F. and Zhang, J.G. (2010) Advances in the Research on the AsA-GSH Cycle in Horticultural Crops. *Frontiers of Agriculture in China*, **4**, 84-90. <http://dx.doi.org/10.1007/s11703-009-0089-8>
- [40] 马春花, 李明军, 李翠英, 等. 不同抗性苹果砧木叶片抗坏血酸代谢对干旱胁迫的响应[J]. 西北植物学报, 2011(8): 1596-1602.
- [41] Mahajan, S. and Tuteja, N. (2005) Cold, Salinity and Drought Stresses: An Overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, **444**, 139-158. <http://dx.doi.org/10.1016/j.abb.2005.10.018>
- [42] Agarwal, P.K., Agarwal, P., Reddy, M.K. and Sopory, S.K. (2006) Role of DREB Transcription Factors in Abiotic and Biotic Stress Tolerance in Plants. *Plant Cell Reports*, **25**, 1263-1274. <http://dx.doi.org/10.1007/s00299-006-0204-8>
- [43] Zhao, T., Liang, D., Wang, P., Liu, J.Y. and Ma, F.W. (2012) Genome-Wide Analysis and Expression Profiling of the DREB Transcription Factor Gene Family in *Malus* under Abiotic Stress. *Molecular Genetics and Genomics*, **287**, 423-436. <http://dx.doi.org/10.1007/s00438-012-0687-7>

- [44] Yang, W., Liu, X., Chi, X., Wu, C., Li, Y., Song, L., Liu, X., Wang, Y., Wang, F., Zhang, C., Liu, Y., Zong, J. and Li, H. (2011) Dwarf Apple MbDREB1 Enhances Plant Tolerance to Low Temperature, Drought, and Salt Stress via Both ABA-Dependent and ABA-Independent Pathways. *Planta*, **233**, 219-229. <http://dx.doi.org/10.1007/s00425-010-1279-6>
- [45] Du, F., Xu, J., Li, D. and Wang, X. (2015) The Identification of Novel and Differentially Expressed Apple-Tree Genes under Low-Temperature Stress Using High-Throughput Illumina Sequencing. *Molecular Biology Reports*, **42**, 569-580. <http://dx.doi.org/10.1007/s11033-014-3802-5>
- [46] Kondo, S., Sugaya, S., Sugawa, S., Ninomiya, M., Kittikorn, M., Okawa, K., Ohara, H., Ueno, K., Todoroki, Y., Mizutani, M. and Hiran, N. (2012) Dehydration Tolerance in Apple Seedlings Is Affected by an Inhibitor of ABA 8'-Hydroxylase CYP707A. *Journal of Plant Physiology*, **169**, 234-241. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jplph.2011.09.007>
- [47] Abe, H., Yamaguchi-Shinozaki, K., Urao, T., Iwasaki, T., Hosokawa, D. and Shinozaki, K. (1997) Role of *Arabidopsis* MYC and MYB Homologs in Drought- and Abscisic Acid-Regulated Gene Expression. *Plant Cell*, **9**, 1859-1868.
- [48] Cao, Z.H., Zhang, S.Z., Wang, R.K., Zhang, R.F. and Hao, Y.J. (2013) Genome Wide Analysis of the Apple MYB Transcription Factor Family Allows the Identification of *MdoMYB121* Gene Confering Abiotic Stress Tolerance in Plants. *PLoS ONE*, **8**, e69955. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0069955>
- [49] Kim, J.C., Jeong, J.C., Park, H.C., Yoo, J.H., Koo, Y.D., Yoon, H.W., Koo, S.C., Lee, S.H., Bahk, J.D. and Cho, M.J. (2001) Cold Accumulation of SCOF-1 Transcripts Is Associated with Transcriptional Activation and mRNA Stability. *Molecules and Cells*, **12**, 204-208.
- [50] Moustafa, K. (2014) Improving Plant Stress Tolerance: Potential Applications of Engineered MAPK Cascades. *Trends in Biotechnology*, **32**, 389-390. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.06.005>
- [51] Miura, K. and Furumoto, T. (2013) Cold Signaling and Cold Response in Plants. *International Journal of Molecular Sciences*, **14**, 5312-5337. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms14035312>
- [52] Xiao, B.Z., Chen, X., Xiang, C.B., Tang, N., Zhang, Q.F. and Xiong, L.Z. (2009) Evaluation of Seven Function-Known Candidate Genes for Their Effects on Improving Drought Resistance of Transgenic Rice under Field Conditions. *Molecular Plant*, **2**, 73-83. <http://dx.doi.org/10.1093/mp/ssn068>
- [53] Feng, X.M., Zhao, Q., Zhao, L.L., Qiao, Y., Xie, X.B., Li, H.F., Yao, Y.X., You, C.X. and Hao, Y.J. (2012) The Cold-Induced Basic Helix-Loop-Helix Transcription Factor Gene *MdCibHLH1* Encodes an ICE-Like Protein in Apple. *BMC Plant Biology*, **12**, 22. <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2229-12-22>
- [54] Wang, S.C., Liang, D., Shi, S.G., Ma, F.W., Shu, H.R. and Wang, R.C. (2010) Isolation and Characterization of a Novel Drought Responsive Gene Encoding a Glycine-Rich RNA-Binding Protein in *Malus prunifolia* (Willd.) Borkh. *Plant Molecular Biology Reporter*, **29**, 125-134. <http://dx.doi.org/10.1007/s11105-010-0221-1>
- [55] Wisniewski, M., Bassett, C., Norelli, J., Macarasin, D., Artlip, T., Gasic, K. and Korban, S. (2008) Expressed Sequence Tag Analysis of the Response of Apple (*Malus x domestica* "Royal Gala") to Low Temperature and Water Deficit. *Physiologia Plantarum*, **133**, 298-317. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3054.2008.01063.x>