

陈 珊, 王晓晨, 邝健飞, 等. 黄瓜果实耐冷性与 *CsHSFs* 基因表达关系的研究[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(5): 85-91.

黄瓜果实耐冷性与 *CsHSFs* 基因表达关系的研究

陈 珊, 王晓晨, 邝健飞, 陈建业, 陆旺金
(华南农业大学 园艺学院, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】研究 *CsHSFs* 基因的表达特征与热处理和冷锻炼处理提高黄瓜果实耐冷性的关系。【方法】测定了低温(8℃)贮藏过程中热处理(低温贮藏前50℃热水处理1min)、冷锻炼处理(15℃预贮2 d后再低温贮藏)和对照处理的黄瓜果实的相对电导率、可溶性固形物(TSS)含量、叶绿素含量和果实色泽等生理指标,并用qRT-PCR法检测 *CsHSFs* 基因的表达特征。【结果和结论】热处理和冷锻炼处理均可提高果实耐冷性,主要表现为热处理和冷锻炼处理均显著抑制了果实相对电导率的升高和叶绿素含量的降低,较好地保持了果实的色泽和商品性状,相比较而言,冷锻炼处理减轻果实冷害的效果比热处理明显,同时,热处理与冷锻炼处理都不影响果实 TSS 含量。并且, *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 基因表达水平与热处理和冷锻炼诱导的果实耐冷性密切相关,但其参与冷害的机制可能不同,体现为 *CsHSF7* 在酵母中具有转录激活活性,而 *CsHSF11* 在酵母中不具有转录激活活性。

关键词: 黄瓜果实; 热处理; 冷锻炼处理; 冷害; *CsHSFs* 基因
中图分类号: S642.2; S609.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-411X(2015)05-0085-07

The expressions of *CsHSFs* gene in relation to
chilling tolerance of cucumber fruits

CHEN Shan, WANG Xiaochen, KUANG Jianfei, CHEN Jianye, LU Wangjin
(College of Horticulture, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】The relationship between the expression patterns of *CsHSFs* genes and the chilling tolerance of cucumber fruits treated by heat shock and cold acclimation treatments were analyzed.【Method】Relative electrolyte leakages, total soluble solids (TSS), contents of chlorophyll and color in cucumber fruits pre-treated by heat shock (pre-treated by 50℃ hot water for 1 min) or cold acclimation (pre-storage at 15℃ for 2 day) were investigated during low temperature storage (8℃), and the expression of *CsHSFs* gene was determined using qRT-PCR.【Result and conclusion】The results showed that the pretreatments with heat shock and cold acclimation enhanced the chilling tolerance in cucumber fruit, reflected by inhiting increase in relative electrolyte leakages and a decrease in chlorophyll contents in heat shock or cold acclimation-treated fruits, with a stronger effect created by cold acclimation treatment. There was no significant difference in TSS content between the two treatments. Moreover, the expression levels of *CsHSF7* and *CsHSF11* genes significantly increased in heat shock and cold acclimation treatments compared to the control, suggesting that they were likely to get closely involved in the chilling tolerance induced by heat shock and cold acclimation in cucumber fruits. However, *CsHSF7* and *CsHSF11* genes might participate in the response to chilling with different mechanisms, as *CsHSF7* showed transcriptional activation in yeast cells, while *CsHSF11* did not.

Key words: cucumber fruit; heat shock; cold acclimation; chilling injury; *CsHSFs* gene

黄瓜 *Cucumis sativus* 又名胡瓜、青瓜. 我国是世界上黄瓜栽培面积最大、产量最高的国家^[1]. 冷害是果蔬采后低温贮运的主要胁迫^[2-4], 而黄瓜是典型的亚热带植物, 在贮藏温度低于 10 ℃ 时即容易出现冷害症状, 表现为果实萎蔫变黄, 失水严重, 出现水渍状凹陷, 清新气味消失, 严重影响果实的商品价值, 从而造成严重的经济损失^[5-6].

热处理和冷锻炼可以提高果实的耐冷性, 如热处理可提高枇杷^[7]、番茄^[8]、桃^[9-10]、柑橘^[11]、青椒^[12]等的耐冷性, 而冷锻炼也可以提高枇杷^[13]、葡萄柚^[14]、鳄梨^[15]、桃^[16]等的耐冷性, 并且转录因子与果实冷害密切相关^[17-18]. 虽然有报道表明, 热激转录因子参与植物的耐冷性^[19-20], 但目前热激转录因子与植物的抗逆性方面的研究主要集中在热激转录因子参与植物耐热性等方面^[21-22], 而有关黄瓜果实贮藏冷害与热激转录因子的关系目前鲜见报道. 为此, 本文以“沃林 17 号”黄瓜果实为试验材料, 研究了热处理和冷锻炼处理对低温贮藏过程中黄瓜外观、品质及生理生化变化的影响, 同时克隆了黄瓜的热激转录因子 *CsHSFs* 基因, 并检测了冷害过程中这些基因的转录水平, 分析了与果实冷害相关的 *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 蛋白的转录激活活性, 试图从生理和分子水平探讨热处理和冷锻炼处理提高黄瓜果实耐冷性的作用机理, 为热处理和冷锻炼处理在减轻果蔬冷害上的应用提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 供试材料

用于试验的“沃林 17 号”黄瓜购于番禺区广东省农业科学院基地. 果实顺直、饱满, 粗细及成熟度基本一致, 无机械伤及病虫害. 采收后立即运抵华南农业大学园艺学院实验室, 20 ℃ 预冷过夜, 自来水清洗晾干待用.

1.2 热处理与冷锻炼处理

选取上述黄瓜果实分为 3 组, 采用打孔的聚乙烯薄膜袋对果实进行包装. 第 1 组直接置于 8 ℃ 恒温箱中贮藏, 作为冷害对照 (CK); 第 2 组用果蔬热处理保鲜机 (BX-4015), 50 ℃ 热水处理 1 min, 恢复室温后, 置于 8 ℃ 恒温箱中贮藏 (简称热处理); 第 3 组于 15 ℃ 预贮 2 d 后再转移到 8 ℃ 恒温箱中贮藏 (简称冷锻炼处理). 分别在贮藏的 0、3、6、9、12 和 15 d 时取样, 进行相关生理指标的测定; 所有处理取 3 条果实并均分为上、中、下 3 部分, 取部分果实切块混匀后用液氮速冻, -80 ℃ 储存, 用于后续分析.

1.3 黄瓜果实生理指标的测定

相对电导率: 在黄瓜果实 3 等分处切片, 用打孔器制成厚薄均匀、大小一致的组织圆片 (直径 0.5 cm) 置于三角锥瓶中, 双蒸水洗 2 次, 用滤纸吸干水

分, 准确称取 2.0 g 圆片, 加入 30 mL 双蒸水, 在 25 ℃ 条件下保温 30 min, 用 DDS-11c 型电导率仪测 C_1 , 加热煮沸 15 min 后迅速冷却, 再测 C_2 , C_1/C_2 即为相对电导率, 每处理 3 个重复, 每个重复测 3 次.

可溶性固形物 (TSS) 含量: 整个果实榨汁过滤后, 采用 PR-32 α (Minolta) 数字折光仪直接读数, 每处理 3 个重复, 每个重复测 3 次.

叶绿素含量: 参考文献^[23], 采用浸提法, 每个处理 3 个重复, 每个重复测 3 次.

颜色的测定: 采用日本 Minolta CR-300 全自动测色色差计测量 h^* , 每处理 3 个重复, 每个重复 4 个果实, 分别在每根黄瓜果实的两侧面画圈固定位置进行测定, 测定每个果实对称的 6 个部位.

1.4 黄瓜果实 RNA 提取及第 1 链 cDNA 合成

采用热硼酸法^[24], 从黄瓜果皮和果肉混合样品中提取总 RNA, 以黄瓜果实总 RNA 为模板, 采用 Reverse Transcription M-MLV (RNase H-) 试剂盒 (TaKaRa 公司) 反转录合成第 1 链 cDNA, 用于基因克隆和荧光定量 PCR 分析.

1.5 *CsHSFs* 基因的生物信息学分析

从网上登录的黄瓜基因组信息 (<http://cucumber.genomics.org.cn/page/cucumber/index.jsp>) 中挑选了 21 个 *HSF* 基因, 用 Clustal X 软件进行相似性进化分析, 并通过 MEGA5.0 采用邻接法 (Neighbor-join) 构建系统进化树.

1.6 *CsHSFs* 基因的 Real-time 定量 RT-PCR (qRT-PCR) 分析

根据进化分析结果, 选取 7 个不同亚族的 *CsHSFs* (5、6、7、9、11、13、17) 进行荧光定量分析. 采用 Primer 5.0 软件筛选用于 qRT-PCR 的引物, 用 *CsActin1* 作为内参基因^[25]. qRT-PCR 使用的荧光染料为 TaKaRa SYBR Green I, 使用仪器为 BIO-RAD-CFX9600. 20 μ L qRT-PCR 反应液中含有 40 ng 的 cDNA 和 5 μ mol $\cdot$ L⁻¹ 基因特异引物. qRT-PCR 溶液配制具体操作过程见 TaKaRa SYBR Green I 试剂盒说明书, 并用相对定量软件对 PCR 结果的溶解曲线和标准曲线进行分析、定量. 荧光定量反应程序: 95 ℃ 预变性 3 min; 95 ℃ 变性 5 s, 55 ℃ 退火 10 s, 72 ℃ 延伸 30 s, 40 个循环. 溶解曲线分析从 60 ~ 95 ℃, 第 1 步维持 45 s, 以后每升高 1 ℃ 维持 5 s. 荧光定量引物见表 1.

1.7 *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 基因克隆

挑选与黄瓜果实冷害相关的基因 *CsHSF7* 和 *CsHSF11*, 使用 Primer 5 软件设计基因特异性引物, 引物序列见表 1. 经过一系列的 PCR 扩增、产物凝胶回收、载体连接 (TaKaRa pMD20-T)、转化 (酵母感受态细胞 TaKaRa DH5 α)、蓝白斑筛选后, 送广州英潍捷基生物技术有限公司进行测序确认.

1.8 转录激活活性分析

采用 Matchmaker Gold Yeast Two-Hybrid System 系统 (Clontech) 进行分析 *CsHSF7/11* 的转录激活活性. 选取合适的酶切位点, 将 *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 基因全长基因片段及相应的区段从 pMD20-T 载体转移至 BD 载体 pGBKT7 载体上, 并保证构建后的重组质粒读码正确. 连接 BD 载体时使用的是 In-fusion PCR Cloning Kit (Clontech), 构建重组 BD 载体所需的引物见表 1. 在 LiAc 介导下将质粒转入酵母 Y2HGold 菌株中, 3 d 之后, 如果酵母在相应的平板上面有生

长, 则挑取单克隆涂布在 SD-Trp-His-Ade/Kan 平板上, 3 d 之后如果有生长, 则向酵母菌落上滴加 α -Gal 溶液并观察酵母颜色的变化. 如果 10 min 后酵母变蓝, 则说明转入的重组 BD 质粒激活了酵母内下游报告基因的表达, 说明加入 BD 载体中的目的蛋白具有转录激活能力.

1.9 数据统计与分析作图

采用 Excel 2007、Origin7 和 Photoshop 软件进行数据统计分析及绘图.

表 1 本文所用引物序列
Tab.1 The primer sequences used in this study

引物名称	核苷酸序列(5'→3')	用途
<i>CsHSF5</i> -qPCRFor	CGACCTTGTTGGTGGGACG	qPCR
<i>CsHSF5</i> -qPCRRev	AGCTCCGCCATGTAACAATCTC	qPCR
<i>CsHSF6</i> -qPCRFor	CAGTGGAAGAATAGAAGAAGGCGA	qPCR
<i>CsHSF6</i> -qPCRRev	GATTGAACCTAAATAGCCGAAGCG	qPCR
<i>CsHSF7</i> -qPCRFor	ATACGGACAGTGAGGACGATGA	qPCR
<i>CsHSF7</i> -qPCRRev	CATCCAACCTTGTTGTATCCCA	qPCR
<i>CsHSF9</i> -qPCRFor	GCCAACGGAAGTATTCCTATAGAT	qPCR
<i>CsHSF9</i> -qPCRRev	CCTCATCATCCTGACATGGACT	qPCR
<i>CsHSF11</i> -qPCRFor	GATAACGGTAGAAGCGAGGATG	qPCR
<i>CsHSF11</i> -qPCRRev	TCCGCCGACTTCATTGCCTT	qPCR
<i>CsHSF13</i> -qPCRFor	TTGGCAGAGGGTATTCTTCAGTC	qPCR
<i>CsHSF13</i> -qPCRRev	GCTAACCACCTTATCTGTGCTCGAAT	qPCR
<i>CsHSF17</i> -qPCRFor	GACATCCAGAAGAAGCCACAAT	qPCR
<i>CsHSF17</i> -qPCRRev	TCAACGAGTTCCTGCAAGTCCT	qPCR
<i>CsActin1</i> -qPCRFor	TTCTGGTGATGCTGTGAGTC	qPCR
<i>CsActin1</i> -qPCRRev	GGCAGTGCTGCTGAACATG	qPCR
<i>CsHSF7</i> -For	ATGGTGAAATCCGCGGCGG	克隆全长
<i>CsHSF7</i> -Rev	TCAATCAGATGCCAAATAGTCCATCT	克隆全长
<i>CsHSF11</i> -For	ATGGCACAGAGATCGCTCCC	克隆全长
<i>CsHSF11</i> -Rev	TCAGTTGCAGACATTGCTGCTC	克隆全长
<i>CsHSF7</i> -BDFor	CATGGAGGCCGAATTCATGGTGAAATCCGCGGCGG	构建 BD 载体
<i>CsHSF7</i> -BDRev	GCCGCTGCAGGTCGACGTCAATCAGATGCCAAATAGTCCATCT	构建 BD 载体
<i>CsHSF11</i> -BDFor	CATGGAGGCCGAATTATGGCACAGAGATCGCTCCC	构建 BD 载体
<i>CsHSF11</i> -BDRev	GCCGCTGCAGGTCGACGTCAAGTTGCAGACATTGCTGCTC	构建 BD 载体

2 结果与分析

2.1 热处理及冷锻炼处理对黄瓜果实外观的影响

在低温(8℃)贮藏下, 黄瓜果实 3 d 时出现微小凹陷的冷害症状, 6 d 时开始出现明显的冷害症状, 而经过热处理和冷锻炼处理的黄瓜果实在整个贮藏期间保持了较好的外观, 至 9 d 时才开始出现微小的冷害症状, 表明热处理及冷锻炼处理均可提高果实低温耐冷性.

2.2 热处理及冷锻炼处理对黄瓜果实相对电导率的影响

相对电导率是反映果实细胞膜透性的指标. 如图 1 所示, 低温(8℃)条件下, 随着贮藏时间的延长, 果实的相对电导率呈现上升趋势. 在贮藏第 9 天, 经过热处理和冷锻炼处理的黄瓜果实相对电导率分别为 50.70% 和 42.17%, 而此时对照果实达到 67.55%, 说明 2 种处理均能减缓果实相对电导率的升高, 减轻黄瓜果实的冷害, 并且冷锻炼处理的效果比热处理明显.

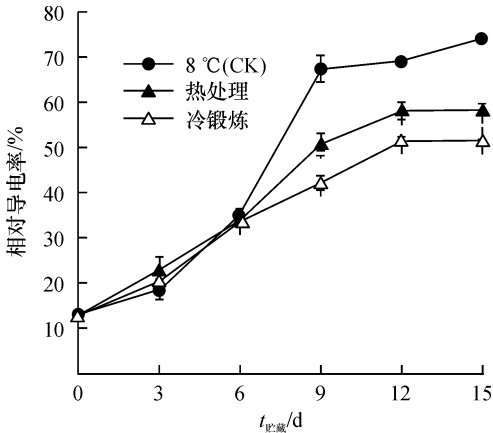
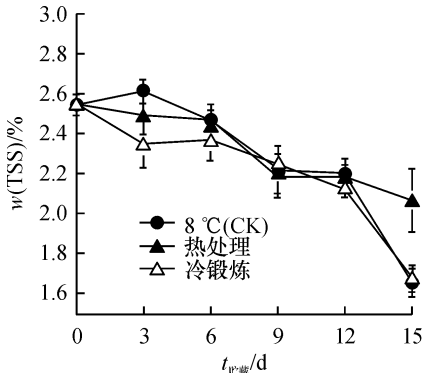


图1 热处理及冷锻炼对黄瓜果实相对电导率的影响
Fig. 1 Changes in relative electrolyte leakages of cucumber fruits pre-treated by heat shock and cold acclimation



2.3 热处理及冷锻炼处理对黄瓜果实 TSS 和叶绿素含量的影响

如图2所示,低温条件下(8 °C),黄瓜果实 TSS 和叶绿素含量总体呈逐渐下降趋势. TSS 含量在各处理组间无明显差异,表明热处理和冷锻炼处理均不影响果实的 TSS 含量. 在叶绿素含量方面,对照果实的叶绿素含量下降明显,在贮藏的第6天,叶绿素的质量分数为 $0.1962\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,并随着贮藏时间的延长而继续下降,到第15天下降至 $0.1449\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,而经过热处理和冷锻炼处理的黄瓜果实的叶绿素在第6天时分别为 0.2176 和 $0.2414\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,在第15天时分别为 0.1609 和 $0.1654\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,均明显高于对照果实,且冷锻炼处理的叶绿素含量下降比热处理慢,说明冷锻炼和热处理均有效延缓了黄瓜果实叶绿素的降解.

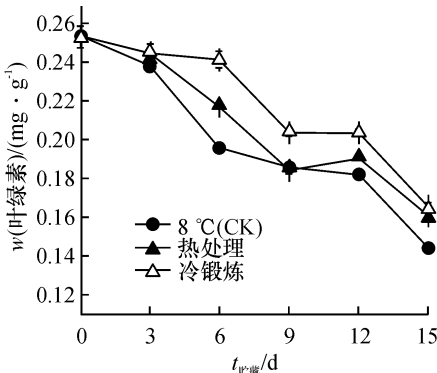


图2 热处理及冷锻炼对黄瓜果实 TSS 和叶绿素含量的影响

Fig. 2 Changes in TSS and chlorophyll contents in cucumber fruits pre-treated by heat shock and cold acclimation

2.4 热处理及冷锻炼处理对黄瓜果实色泽的影响

果皮颜色是影响果实商品性的重要指标之一,如图3所示,冷锻炼处理的 h^* 一直维持稳定水平,并且在贮藏末期呈上升趋势. 而热处理和对照果实的 h^* 均呈逐渐下降的趋势,其中下降最明显的是对照果实,至贮藏末期对照果实的 h^* 为120.74,热处理的 h^* 在整个贮藏期均高于对照. 说明热处理和冷锻炼处理较好地保持了黄瓜果实的色泽.

2.5 CsHSFs 的系统进化分析

为了研究黄瓜果实耐冷性的分子机理,从黄瓜基因组序列中获得了21个HSFs氨基酸序列,命名为CsHSF1~CsHSF21,并对其相似性进行了聚类进化分析,结果(图4)显示,CsHSFs可分为3大类(I、II和III),其中I类又可以分为4个亚类(A、B、C、D):CsHSF6、10、17、20、21属于IA类,CsHSF4、7属于IB类,CsHSF1、5、13属于IC类,CsHSF9属于ID类,CsHSF3、8、11、12、14、15、16、18属于II类,CsHSF2、19属于III类.

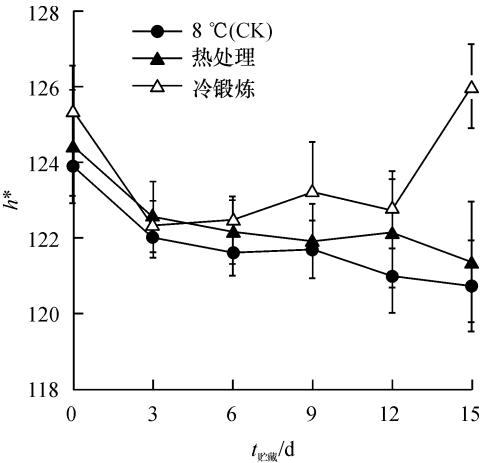


图3 热处理及冷锻炼处理对黄瓜果实 h^* 的影响
Fig. 3 Changes in h^* of cucumber fruits pre-treated by heat shock and cold acclimation

2.6 CsHSFs 基因在黄瓜冷害过程中的表达分析

根据CsHSFs的系统进化分析结果,采用荧光定量方法,检测了其中的7个不同亚族的CsHSFs基因(包括CsHSF5、6、7、9、11、13、17等)在低温下的表达特征. 结果显示,与对照相比,热处理和冷锻炼处理在贮藏的前6d显著提高了CsHSF7和CsHSF11的

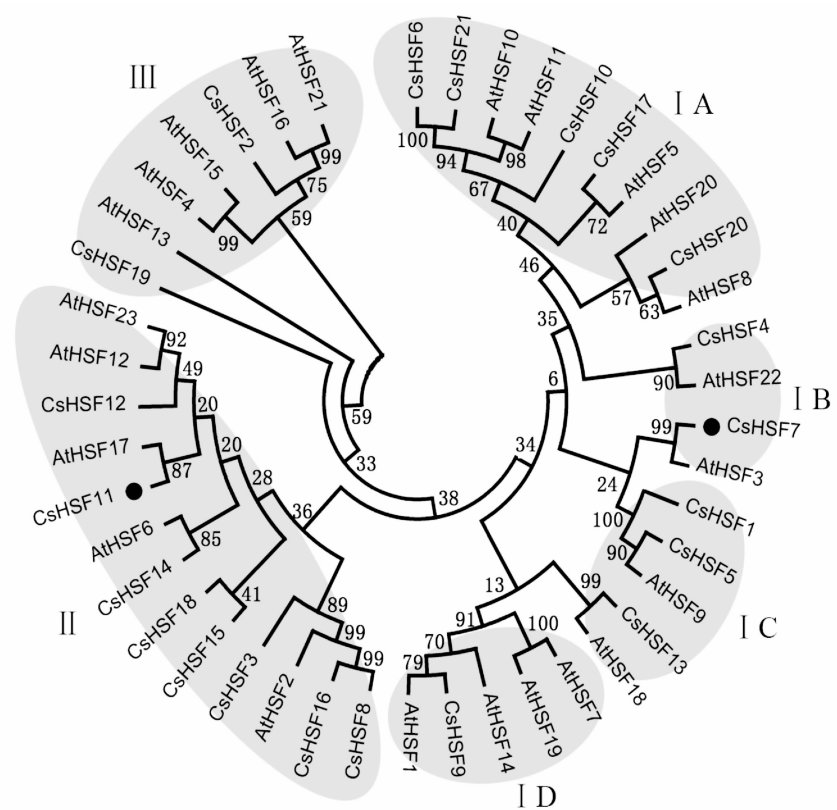


图4 *CsHSFs* 与拟南芥 *AtHSFs* 蛋白的进化关系

Fig.4 Phylogenetic tree of *CsHSFs* and *AtHSFs* from *Arabidopsis*

表达量,且热处理的表达要显著高于对照及冷锻炼处理(图5),说明 *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 的基因表达与热处理和冷锻炼处理诱导的果实耐冷性有关.而

CsHSF5 及 *CsHSF17* 的表达总体上呈下调的趋势, *CsHSF6*、*CsHSF9* 和 *CsHSF13* 的表达与黄瓜果实耐冷性的增强关系不大.

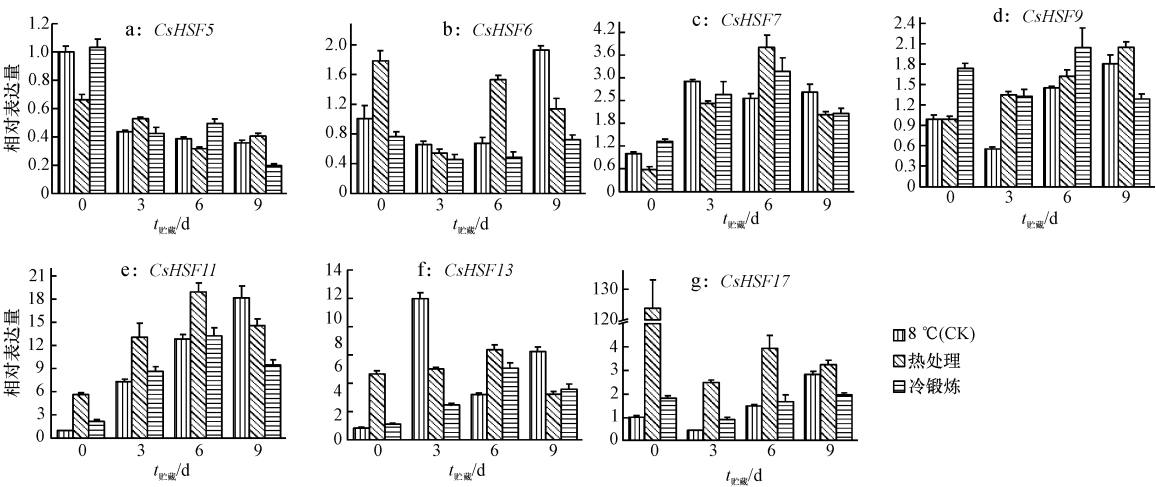


图5 低温贮藏下不同预处理黄瓜果实中 *CsHSFs* 基因的表达特征

Fig.5 Expression patterns of *CsHSFs* genes in cucumber fruits during low temperature storage in different pretreatments

2.7 *CsHSF7* 和 *CsHSF11* 在酵母内的转录活性分析

为了深入研究 *CsHSF7/11* 基因参与调控黄瓜果实冷害的机制,我们分析了这2个基因在酵母菌内的转录活性.将 *CsHSF7/11* 的 ORF 连接到 GAL4 系统的 DNA 结合域,将构建而成的 DBD-*CsHSF7* 和

DBD-*CsHSF11* 分别转入酵母菌 Y2HGOLD 菌株,确认其在 SD/-Trp 的培养基上能够生长,表明各质粒都转入酵母菌中.将转化了质粒的酵母菌株接种于含有金担子素 A (AbA) 的营养缺陷型培养基 SD/-Trp-His-Ade 上,发现转入 DBD-*CsHSF7* 和阳性对照 DBD-P53 + T-antigen 的酵母菌株可以正常生长且 x-

α-Gal 活性检测变蓝,而转入 DBD-CsHSF11 和阴性对照 DBD-EMPTY 的酵母菌株不能正常生长(图 6),说明 CsHSF7 在酵母细胞中具有转录激活活性,而 CsHSF11 则不具有转录激活活性.

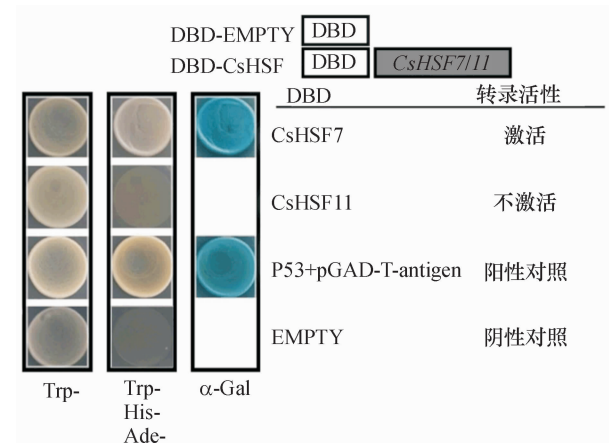


图 6 CsHSF7 和 CsHSF11 在酵母细胞内的转录活性
Fig.6 Transcriptional activities of CsHSF7 and CsHSF11 in yeast cells

3 讨论与结论

3.1 热处理与冷锻炼处理对黄瓜果实冷害的影响

目前,控制果蔬采后冷害的方法主要有物理方法、化学方法和生物技术 3 大类.随着生活水平的提高,人们希望能吃到天然、安全、营养的食品,传统的热处理、低温贮藏方法以其安全、无污染等优点,在果蔬保鲜应用上越来越受到重视.热处理可以减轻采后果实的冷害,这已在枇杷^[7]等果实上得到证实;冷锻炼处理减轻采后果实的冷害也已在葡萄柚^[14]等果实上得到证实.本研究结果表明,采用热处理(50℃1 min 转移至 8℃)和冷锻炼处理(15℃2 d 转移至 8℃),可以减轻“沃林 17 号”黄瓜果实在 8℃贮藏下采后冷害的影响,并且热处理不影响果实的外观及品质,为在生产中采用热处理及冷锻炼减轻果实冷害提供了可行的方法.

3.2 HSF 参与果实耐冷性

植物在各种各样的胁迫如盐胁迫、高温胁迫、干旱胁迫、低温胁迫、氧化胁迫下,都会活化热激转录因子,从而诱导热激蛋白的表达和积累^[26-29].目前,已从许多植物中分离出转录因子 HSFs,特别是在番茄、拟南芥和水稻等模式植物中的 HSFs 研究较多^[30-33],我们在对黄瓜基因组中的 21 个 HSFs 进行了系统进化分析的基础上,检测了 7 个不同亚族的 CsHSFs 基因在低温下的表达特征,结果显示 CsHSF7 和 CsHSF11 基因响应低温胁迫并与黄瓜果实耐冷性有关,并分析了其转录激活活性,CsHSF7 在酵母中具有转录激活活性,而 CsHSF11 在酵母中不具有转

录激活活性.为进一步分析 HSFs 基因调控黄瓜果实耐冷性机制如:HSFs 是否通过与其他蛋白互作或直接与下游的功能基因的启动子结合而调控耐冷性等提供了基础.

参考文献:

[1] 王志坤,秦智伟,周秀艳. 黄瓜果实成熟衰老过程中几种物质的变化[J]. 中国蔬菜, 2010(12):41-45.

[2] 胡位荣. 荔枝(*Litchi chinensis* Sonn.)果实冷害生理及冰温贮藏技术的研究[D]. 广州:华南农业大学, 2003.

[3] 王艳颖,胡文忠,刘程惠,等. 低温贮藏引起果蔬冷害的研究进展[J]. 食品科技, 2010,35(1):72-75.

[4] 王平. 基于乙烯信号转导元件的采后枇杷果实冷害木质化机制研究[D]. 杭州:浙江大学, 2011.

[5] 杨绍兰. 1-MCP 处理对黄瓜冷藏期间保鲜效果的影响[J]. 中国农学通报, 2009, 25(6):70-72.

[6] MAO L, PANG H, WANG G, et al. Phospholipase D and lipoxygenase activity of cucumber fruit in response to chilling stress [J]. Postharvest Biol Tec, 2007, 44(1):42-47.

[7] 吴光斌,陈发河,张其标,等. 热激处理对冷藏枇杷果实冷害的生理作用[J]. 植物资源与环境学报, 2004, 13(2):1-5.

[8] ZHANG X H, SHEN L, LI F J, et al. Arginase induction by heat treatment contributes to amelioration of chilling injury and activation of antioxidant enzymes in tomato fruit [J]. Postharvest Biol Tec, 2013,79:1-8.

[9] CAO S F, HU Z C, ZHENG Y H, et al. Synergistic effect of heat treatment and salicylic acid on alleviating internal browning in cold-stored peach fruit [J]. Postharvest Biol Tec, 2010, 58(2):93-97.

[10] LAUXMANN M A, BORSANI J, OSORIO S, et al. Deciphering the metabolic pathways influencing heat and cold responses during post-harvest physiology of peach fruit [J]. Plant Cell Environ, 2014, 37(3):601-616.

[11] BASSAL M, EL-HAMAHMY M. Hot water dip and pre-conditioning treatments to reduce chilling injury and maintain postharvest quality of Navel and Valencia oranges during cold quarantine [J]. Postharvest Biol Tec, 2011,60(3):186-191.

[12] 王慧,张艳梅,王大鹏,等. 热激处理对青椒耐冷性及抗氧化体系的影响[J]. 食品科学, 2013,34(2):312-316.

[13] CAI C, XU C, SHAN L, et al. Low temperature conditioning reduces postharvest chilling injury in loquat fruit [J]. Postharvest Biol Tec, 2006,41(3):252-259.

[14] MAUL P, MCCOLLUM G, GUY C L, et al. Temperature conditioning alters transcript abundance of genes related to

- chilling stress in 'Marsh' grapefruit flavedo [J]. Postharvest Biol Tec, 2011,60(3):177-185.
- [15] WOOLF A B, COX K A, WHITE A, et al. Low temperature conditioning treatments reduce external chilling injury of 'Hass' avocados [J]. Postharvest Biol Tec, 2003,28(1):113-122.
- [16] JIN P, WANG K, SHANG H, et al. Low-temperature conditioning combined with methyl jasmonate treatment reduces chilling injury of peach fruit [J]. J Sci Food Agric, 2009,89(10):1690-1696.
- [17] SHAN W, KUANG J F, LU W J, et al. A banana fruit NAC transcription factor MaNAC1 is a direct target of MaICE1 and involved in cold stress through interacting with MaCBF1 [J]. Plant Cell Environ, 2014, 37(9): 2116-2127.
- [18] ZHAO M L, WANG J N, SHAN W, et al. Induction of jasmonate signalling regulators MaMYC2s and their physical interactions with MaICE1 in methyl jasmonate-induced chilling tolerance in banana fruit [J]. Plant Cell Environ, 2013,36(1): 30-51.
- [19] ZHANG S, XU Z, LI P, et al. Overexpression of *TaHSF3* in transgenic *Arabidopsis* enhances tolerance to extreme temperatures [J]. Plant Mol Biol Rep, 2013,31(3):688-697.
- [20] LI H Y, CHANG C S, LU L S, et al. Over-expression of *Arabidopsis thaliana* heat shock factor gene (*AtHsfA1b*) enhances chilling tolerance in transgenic tomato [J]. Bot Bull Acad Sin, 2003, 44(2): 129-140.
- [21] VON KOSKULL-DORING P, SCHARF K D, NOVER L. The diversity of plant heat stress transcription factors [J]. Trends Plant Sci, 2007, 12(10):452-457.
- [22] LIU J, SUN N, LIU M, et al. An autoregulatory loop controlling *Arabidopsis HsfA2* expression: Role of heat shock-induced alternative splicing [J]. Plant Physiol, 2013, 162(1):512-521.
- [23] 韩雅珊, 刘惠君. 食品化学实验指导 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1996:75-77.
- [24] WAN C Y, WILKINS T A. A modified hot borate method significantly enhances the yield of high quality RNA from cotton (*Gossypium hirsutum* L.) [J]. Anal Biochem, 1994,223(1):7-12.
- [25] WAN H, ZHAO Z, QIAN C, et al. Selection of appropriate reference genes for gene expression studies by quantitative real-time polymerase chain reaction in cucumber [J]. Anal Biochem, 2010,399(2):257-261.
- [26] 翁锦周, 洪月云. 植物热激转录因子在非生物逆境中的作用 [J]. 分子植物育种, 2006, 4(1):88-94.
- [27] 伊淑莹. 植物热激因子网络 [J]. 生命的化学, 2008, 28(4):383-387.
- [28] MITTAL D, CHAKRABARTI S, SARKAR A, et al. Heat shock factor gene family in rice: Genomic organization and transcript expression profiling in response to high temperature, low temperature and oxidative stresses [J]. Plant Physiol Biochem, 2009,47(9):785-795.
- [29] SCHARF K, BERBERICH T, EBERSBERGER I, et al. The plant heat stress transcription factor (Hsf) family: Structure, function and evolution [J]. BBA-Gene Regul Mech, 2012, 1819(2):104-119.
- [30] 王国栋, 孔凡英, 孟庆伟. 番茄热激转录因子研究进展 [J]. 植物生理学报, 2013,49(3):217-224.
- [31] HÜBEL A, SCHÖFFL F. *Arabidopsis* heat shock factor: Isolation and characterization of the gene and the recombinant protein [J]. Plant Mol Biol, 1994,26(1):353-362.
- [32] NOVER L, BHARTI K, DÖRING P, et al. *Arabidopsis* and the heat stress transcription factor world: How many heat stress transcription factors do we need? [J]. Cell Stress Chaperon, 2001,6(3):177-189.
- [33] WU C. Heat shock transcription factors: Structure and regulation [J]. Ann Rev Cell Dev Biol, 1995,11(1):441-469.

【责任编辑 李晓卉】