

# 茶树抗寒机理及其应用的研究进展

尹皓婵<sup>1</sup>, 李莉莉<sup>2</sup>, 宋宛霖<sup>2</sup>, 李晶晶<sup>3</sup>, 刘正一<sup>2\*</sup>, 杨剑超<sup>4\*</sup> (1. 浙江海洋大学, 浙江舟山 316022; 2. 中国科学院烟台海岸带研究所, 山东烟台 264003; 3. 河海大学, 江苏南京 210098; 4. 山东省烟台市农业科学研究院, 山东烟台 265500)

**摘要** 茶树原产于热带及亚热带地区, 是一种喜温畏寒的植物, 北方冬季寒冷干燥, 会造成茶树的冻害。因此, 茶树抗寒机理的研究对北方茶树的规模种植和增产具有重要意义。基于低温胁迫下茶树的主要生理变化, 从糖代谢途径、Ca<sup>2+</sup> 信号途径、ABA、CBF/DREB 诱导抗寒基因的表达几个方面综述了茶树的抗寒机理研究进展, 并介绍了抗寒机理在茶树育种、栽培中的应用。

**关键词** 低温胁迫; 抗寒机理; 茶树

中图分类号 S 571.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)04-0022-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.04.005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Research Progress on Cold Resistance Mechanism of *Camellia sinensis* and Its Application

YIN Hao-chen<sup>1</sup>, LI Li-li<sup>2</sup>, SONG Wan-lin<sup>2</sup> et al (1. Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022; 2. Yantai Institute of Coastal Zone, Chinese Academy of Sciences, Yantai, Shandong 264003)

**Abstract** *Camellia sinensis* was originated in the tropical and subtropical regions, which was suitable in warm rather than cold area. When planted in Northern China, tea plants were often usually destroyed by frozen damage in cold and dry winter. Therefore, researching the mechanism of cold resistance of *Camellia sinensis* was of great significance for the large-scale planting and yield increase of northern tea plant. In this research, we reviewed the main physiological changes and resistance mechanism of tea plant in low temperature with the aspects of carbohydrate metabolism pathway, Ca<sup>2+</sup> signaling pathway, ABA and CBF/DREB gene expression. In addition, application of the mechanism of cold resistance in tea plant breeding and cultivation was also introduced.

**Key words** Cold stress; Cold resistance mechanism; *Camellia sinensis*

低温胁迫(cold stress, CS)作为植物生长的非生物胁迫之一, 会表现在植物反应的不同方面, 限制植物种植、生长和地理分布。这些反应是通过 CS 影响光合作用、能量代谢、活性氧(ROS)稳定、膜流动性和细胞骨架结构等产生的。CS 可能通过一系列破坏过程引起植物损伤, 包括微细胞器破坏、细胞和组织脱水、细胞膜脂质相变、ROS 产生及其伴随的氧化活力等。由于细胞受到损伤, 一系列针对 CS 的细胞反应可归类为防御机制, 即调节植物代谢途径, 提高对低温的抵抗能力的过程, 称为冷驯化(cold acclimation, CA)。CA 是一个复杂的过程, 通过包括特定冷诱导基因的表达、诱导细胞渗透稳定化、改变脂质和脂肪酸膜成分、增加抗氧化活性、能量代谢等途径提高抗寒性<sup>[1-2]</sup>。

茶树(*Camellia sinensis*)是一种多年生常绿木本植物, 主要生长在热带和亚热带地区, 最适生长温度为 20~25 °C, 在我国主要分布于西南、华南、江南地区。20 世纪五六十年代, 经过一系列的试验实现了“南茶北引”, 在山东实现了茶树的规模种植, 但是北方的茶树在冬季和春季仍受到显著的低温胁迫。研究发现, 山东茶树中维生素、氨基酸、儿茶素和矿物质等成分的含量显著高于南方茶树, 保健效果也更显著<sup>[3]</sup>。自引种以来, 北方各茶树基地在茶树越冬防护技术方面取得

一系列进展, 例如设置防护屏障、行间铺草盖草、改良土壤、合理灌溉修剪、适量施肥等<sup>[4-5]</sup>。由于从冷驯化过程中获得的耐寒能力增强, 茶树进入冬眠休眠阶段, 以保障茶树越冬。然而, 茶树幼苗的萌芽期在春末易受霜冻影响, 在短期内遭受严重负面影响, 主要包括组织损伤和发育迟缓。因此解决冻害问题是提高北方茶树产量和品质的关键。

关于茶树抗寒性, 前期研究主要集中在生物膜保护系统的组分含量和活性与抗寒性的关系, 如茶树冷驯化前后蛋白含量、糖含量的变化, 从而在揭示抗寒性与膜保护系统、冷诱导特异蛋白的变化关系方面取得一定进展<sup>[6-10]</sup>。此外, Wang 等<sup>[11]</sup>利用 RNA 测序(RNA-Seq)和数字基因表达(DGE)技术初步阐明了自然冷驯化期间成熟茶叶抗寒性的机制, 鉴定的差异表达转录物表明“糖类代谢途径”和“Ca<sup>2+</sup>途径”可能在茶树对低温胁迫的反应中起关键作用。2018 年高立志界上分布最广的中国种茶树全基因组被破解, 为抗寒性在基因层面的研究创造了有利条件。笔者基于低温胁迫下茶树的主要生理变化, 从糖代谢途径、Ca<sup>2+</sup> 信号途径, ABA、CBF/DREB 诱导抗寒基因的表达几个方面对茶树的抗寒机理研究进行介绍。此外, 对抗寒机理在茶树育种、栽培中的应用也进行了介绍<sup>[12-13]</sup>。

### 1 低温胁迫下茶树的生理变化

当茶树受到低温胁迫时, 一些生理指标可以反应茶树受到冻害的程度, 包括细胞膜的损伤, 可溶性蛋白、可溶性糖、束缚水、自由水含量的变化及酶活性、叶绿素荧光参数的变化。原生质膜透性会发生不同程度的增大, 导致原生质不同程度的外渗, 从而介质电导率会有不同程度的加大, 电导率越大表明受冻害愈严重<sup>[14]</sup>。茶叶叶片的含水量也会发生变化, 随着温度下降, 束缚水含量上升, 自由水含量下降<sup>[15]</sup>。

**基金项目** 国家重点研发计划(2017YFC0506205); 海洋经济创新发展示范项目(YHCX-SW-L-201702); 海洋经济创新发展示范项目(国海科学[2016]496号); 山东省 2017 年农业重大应用技术创新项目(设施茶园精准管理智慧系统关键技术研发与示范)。

**作者简介** 尹皓婵(1995—), 女, 山东青岛人, 硕士研究生, 研究方向: 植物生理及分子生物学研究。\* 通信作者: 刘正一, 助理研究员, 博士, 从事海藻的保护利用一体化研究; 杨剑超, 农艺师, 博士, 从事果树营养研究。

**收稿日期** 2018-08-20

李叶云等<sup>[16]</sup>研究发现,茶树叶片中的脯氨酸、可溶性蛋白和可溶性糖这 3 种渗透调节物质的含量均随低温胁迫的加剧呈先升后降的变化趋势。可以通过糖的积累降低冰点,增强细胞的保水能力;通过糖的代谢,产生其他保护性物质及能源<sup>[17]</sup>。受低温胁迫的直接间或影响茶树体内的多种酶发生活性变化。黄华涛等<sup>[18]</sup>的研究结果表明,受冬季低温影响,茶树叶片中过氧化氢酶(CAT)和过氧化物酶(POX)活性提高,且 POX 同工酶谱带同时增加。黄建安<sup>[19]</sup>对越冬期间成熟叶片进行低温(0~15℃)处理,结果表明各品系中过氧化物歧化酶(SOD)和 CAT 活性随温度的降低和处理时间的延长呈不同程度的降低,SOD 同工酶总活性及酶带数在不同的处理温度和处理时间也不不同程度的降低或减少。Li 等<sup>[20]</sup>研究发现短期低温胁迫后,与成熟叶片相比,茶树幼叶表现出褐变,电解质渗漏显著增加,并且叶绿素荧光参数(Fv/Fm)的最大光化学效率显著降低。

## 2 糖类相关基因与抗寒性的关系

越冬期间,茶树糖类相关基因的差异表达以及总糖和几种特定糖(包括蔗糖,葡萄糖和果糖)含量的变化说明了冷

化过程中糖类代谢的重要作用,但 CA 和糖类之间在茶树中的相互作用仍然不清楚<sup>[21-22]</sup>。Yue 等<sup>[23]</sup>调查了整个冬季茶叶中糖含量的变化和大量糖相关基因的表达。在 CA 期,糖类代谢相关基因表现出不同的表达模式,其中  $\beta$ -淀粉酶基因(*CsBAM*),转化酶基因(*CsINV5*)和棉子糖合成酶基因(*CsRS2*)参与淀粉、蔗糖和蔗糖棉子糖代谢而且分别稳定上调;除了 *CsSWEET2,3,16,CsERD6.7* 和 *CsINT2* 下调外,糖转运蛋白的表达普遍受到刺激;糖信号相关的 *CsHXK3* 和 *CsHXK2* 在 CA 早期具有相反的表达模式。这些提供了 CA 对碳水化合物影响的相关信息,表明糖积累有助于茶树在冬季的耐寒性,并提出了一种简单的糖调节模型来响应低温胁迫。当植物感受到低温胁迫时,CBF 转录因子刺激了大量与冷相关的基因。糖类代谢基因,决定冷应激反应的糖含量变化。糖类可作为主要的渗透保护剂,糖类的积累可作为能量、基质等方面的资源储备,因此糖含量积累的越多,茶树的耐寒性越高。糖类通过其调节剂激发一系列转录程序的信号,例如 *SnRK1*,*HXK* 和 *TOR* 以调节与低温相关的基因表达,并可以介导 ABA 或乙烯合成以提高对低温的应力(图 1)。

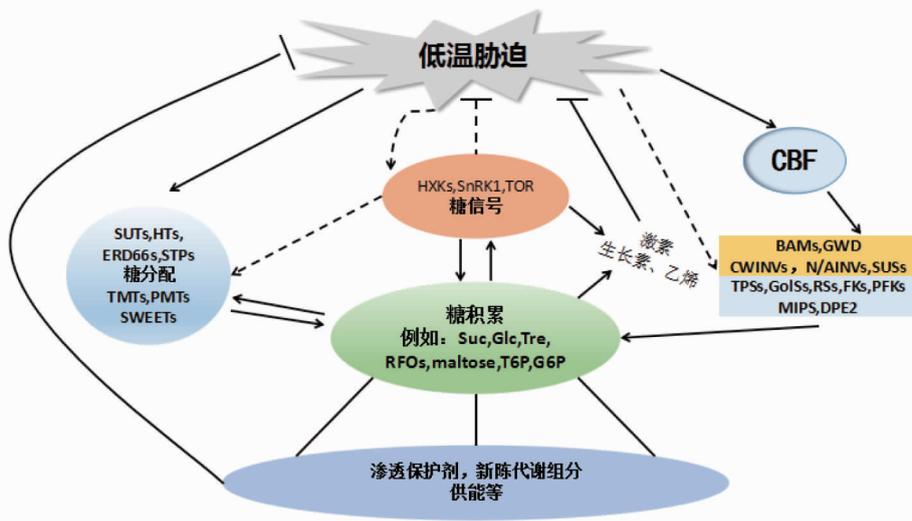


图 1 糖类调节机制模型图<sup>[23]</sup>

Fig.1 Model map of carbohydrate regulatory mechanism

## 3 $Ca^{2+}$ 和 ABA 对茶树抗寒基因表达的诱导作用

**3.1  $Ca^{2+}$**  植物遭受低温胁迫时主要调节途径之一是  $Ca^{2+}$  信号通路<sup>[24]</sup>,CaM 是细胞内  $Ca^{2+}$  信号的一种重要受体蛋白,是钙离子信号通路传递的第一关,CaM 参与信号转导、酶活性调控、光合作用、花粉萌发和激素反应、抵御逆境胁迫等各种生命活动过程<sup>[25-27]</sup>。黄玉婷等<sup>[28]</sup>以获得的茶树冷驯化转录组数据为基础,低温胁迫下 *CsCaM* 含量逐渐增加,推测 CaM 蛋白能够通过钙信号通道发挥作用,进而与茶树的抗寒性有关。通过分析 *CsCaMs* 在低温条件下施用外源钙调素拮抗剂 W7、钙离子通道抑制剂 LaCl<sub>3</sub> 以及外源 CaCl<sub>2</sub> 处理下的表达情况可知,抑制剂导致钙离子信号通道受阻。

**3.2 ABA** 早在 20 世纪八十年代,就有研究证明植物的抗寒性与 ABA 有关。外源 ABA 能诱导基因的表达,从而提高植物的抗寒性。植物激素在低温胁迫反应中也是重要的信

号调节剂,特别是调节多种信号,如低温、光照、生长和代谢,根据基因表达对 ABA 的依赖与否,可将低温下信号传导 ABA 诱导的基因分为 3 类:①基因表达依赖 ABA 的传导,如种子贮藏蛋白基因和逆境诱导基因;②冷诱导基因表达不依赖 ABA 的传导途径;③ABA 与低温共同作用控制基因的表达<sup>[29]</sup>。Xu 等<sup>[30]</sup>研究显示,低温胁迫诱导 ABA 的合成,且外源 ABA 能够提高植株的抗寒性,说明 ABA 在植物适应低温环境中具有重要作用。Yue 等<sup>[31]</sup>鉴定了参与编码 GA 和 ABA 代谢和信号传导途径关键酶的 30 个基因,评估的基因在不同的茶植物器官中表现出组织特异性表达模式,多样性与茶树的幼芽活性—休眠周期有关。这些结果均表明,参与 GA 和 ABA 代谢和信号转导的基因对调节茶树幼芽的活性—休眠转换至关重要。

#### 4 CBF/DREB 调控茶树抗寒基因表达

一些冷诱导基因已经从茶树中分离出来,如恢复/脱水反应元件结合因子基因 *CsCBF1* 和 *CsCBF3*<sup>[21,32-33]</sup>,水通道蛋白基因 *CsTIP1;1* 和 *CsTIP1;3*,碱性亮氨酸拉链转录因子基因 *CsbZIP15*<sup>[34]</sup>,和己糖激酶基因 *CsHXK3* 和 *CsHXK4*<sup>[35]</sup>。

CBF/DREBs 的刺激可诱导大量冷应答基因 (CORs) 的表达,可调控多个低温基因的表达。转录组分析已经鉴定了 DREB1A 的 100 多个下游靶基因<sup>[36-40]</sup>。这些基因在植物中的许多产物,包括晚期胚胎含有丰富的蛋白质、渗透保护剂生物合成的酶、转录因子和蛋白激酶已被证明在获得胁迫耐受性和进一步调节应激反应中起作用。诱导 *DREB1* 基因触发冷应激诱导的转录级联反应,然后诱导许多冷应激反应和耐寒性中起作用的基因。Kidokoro 等<sup>[41]</sup> 研究显示,CaM 结合转录激活因子 3 (CAMTA3) 和 CaM 结合转录激活因子 5 (CAMTA5) 参与了快速低温,但不是逐渐降低温度的冷应答信号传导途径。Yin 等<sup>[21]</sup> 研究结果发现,除茶叶中的低温胁迫,脱落酸和干旱处理诱导了 *CsCBF3* 外,还观察到 *CsCBF3* 基因调节冷应答途径的下游基因如 *AtCOR15a* 和 *AtCOR78* 的表达。这些结果均表明,*CsCBF3* 在响应冷胁迫中起重要作用,并为提高茶树耐冷性的分子育种研究提供了方向。此外,Zhu 等<sup>[42]</sup> 研究结果表明 *CsSPMS* 基因能够快速诱导冷胁迫。Wu 等<sup>[43]</sup> 研究结果表明,*AP2/ERF TFs* 可能在茶树异常温度胁迫反应中发挥重要作用。

#### 5 提高茶树抗寒性的方法

**5.1 施用外源物质** 研究发现,对茶树施用外源物质可提高其抗寒性,主要表现为提高其可溶性糖、可溶性蛋白、酶活性、氨基酸含量等。褪黑素涉及植物发育和非生物胁迫反应,Li 等<sup>[44]</sup> 研究发现,与对照相比,在 4 °C 低温处理的茶树中观察到叶片中叶绿素含量降低和丙二醛水平升高。与低温处理相比,褪黑素处理后茶叶叶绿素含量显著增加,丙二醛水平显著降低。此外,外源褪黑素通过增加保护性酶的活性来增强抗氧化能力。黄玉婷等<sup>[45]</sup> 施用钙离子信号抑制剂 W-7、LaCl<sub>3</sub> 处理均能提高与抗寒性相关的茶树叶片生理指标,钙离子信号系统在茶树抗寒过程中发挥了重要作用。通过研究发现,在越冬期施用含有褐藻寡糖的海藻发酵液在提高茶树抗寒性时效果最优,表现为提高茶树的保护酶活性、可溶性糖、可溶性蛋白含量,降低茶树叶片的相对电导率,促进植物根系生长。褐藻寡糖与茶树抗寒性之间的机理有待进一步研究。

**5.2 冷驯化** 研究结果表明,在一定时间和程度的低温胁迫下,茶树发生适应性变化,能够在一定程度上提高抗寒性,这个过程称为冷化<sup>[46]</sup>。杨亚军等<sup>[47]</sup> 将茶树在 15 °C 平衡生长 15 d,将所处环境降低 4~5 °C 驯化 21 d 后脱驯化 7 d,发现驯化后相比未经驯化的茶树抗寒能力有所提升,表明茶树抗寒力获得需要经过一定的驯化才能表现出来。

**5.3 培育优良品种** 近年来我国也相继培育出一些抗寒性强的优良茶树品种,如安徽农业大学茶学系选育出特早生特抗寒茶树新品种“农抗早”和早生抗寒优质茶树新品系“茶

农 1 号”;浙江大学茶叶研究所选育出早生优质抗寒茶树新品种“浙农 117”;泰安市泰山林业科学研究院选育出“罗汉 1 号”<sup>[6]</sup>,主要表现为发芽早,倒春寒对其伤害小。传统的茶叶繁殖过程(由于其木质、多年生和自交不亲和等特性而更复杂。因此,将标记辅助选择(MAS)、基因组选择(GS)与传统应用方法适当结合对于茶树育种技术改进十分必要。目前,茶树种群的遗传多样性评估已用不同的标记进行<sup>[48]</sup>。研究发现分子标记在种质多样性评估和茶树育种中很受欢迎<sup>[49]</sup>。茶树育种的成功在很大程度上取决于对遗传背景、多样性、关系和评估的正确认识。利用高通量分子标记可以确定具有可遗传或可重现特征的个体选择<sup>[50]</sup>。

#### 6 展望

自 20 世纪五六十年代开始,引种茶树于北方在农艺方面取得了许多进展,目前山东已建立了茶树种植基地,研究结果发现北方茶树具有氨基酸含量高、矿物质丰富、对人体保健功能尤为显著等特点。由于北方的气候原因,每年茶树都会受到不同程度的冻害,因此解决北方茶树的冻害问题是提高茶树产量和品质的重要途径。目前在茶树的抗寒机制研究方面取得了许多进展,包括调控茶树抗寒基因表达的研究、调控茶树抗寒的信号通路研究、茶树的抗性育种研究以及施加外源物质提高茶树抗寒性的研究。但在茶树抗寒机理和育种方面尚有难点值得深入研究,需要通过遗传学、分子生物学、植物学、蛋白质组学、代谢组学等学科研究人员共同努力,从而在提高茶树抗寒性及抗寒育种方面取得进展。

#### 参考文献

- [1] KAZEMI-SHAHANDASHTI S S, MAALI-AMIRI R. Global insights of protein responses to cold stress in plants: Signaling, defence, and degradation [J]. *Journal of plant physiology*, 2018, 226: 123-135.
- [2] SHABALA S, MANAVALAN L P, NGUYEN H T, et al. *Plant stress physiology* [M]. Oxfordshire, UK: CABI Publishing, 2017: 21.
- [3] 韩同春. 北方茶事——“南茶北引”工程与山东茶的种植和发展 [J]. *农业考古*, 2013(2): 283-287.
- [4] 张明欣. 北方茶树安全越冬技术 [J]. *农业科技通讯*, 2011(5): 142, 187.
- [5] 姚元涛, 王长君, 田丽丽, 等. 北方茶园冻害防治方法及补救措施 [J]. *茶叶*, 2011, 37(2): 106-107.
- [6] 孙海伟, 曹德航, 尚涛, 等. 茶树抗寒育种及转基因研究进展 [J]. *山东农业科学*, 2013, 45(6): 119-122, 129.
- [7] 房用, 李秀芬, 慕宗昭, 等. 茶树抗寒性研究进展 [J]. *经济林研究*, 2004(2): 69-72.
- [8] 赵洋, 刘振, 杨培迪, 等. 茶树抗寒性研究进展及展望 [J]. *茶叶通讯*, 2010, 37(4): 23-25.
- [9] 王栋. 茶树抗寒性研究进展 [J]. *茶叶科学技术*, 2010(1): 5-8.
- [10] 邱丽玲, 孙威江, 陈志丹. 茶树抗寒性研究进展 [J]. *福建茶叶*, 2012, 34(2): 2-5.
- [11] WANG X C, ZHAO Q Y, MA C L, et al. Global transcriptome profiles of *Camellia sinensis* during cold acclimation [J]. *BMC Genomics*, 2013, 14(1): 1-14.
- [12] 林郑和, 钟秋生, 单睿阳, 等. 茶树抗寒基因 *CsCBF1* 与 *CsICE1* 低温下的表达分析 [J]. *核农学报*, 2016, 30(9): 1693-1698.
- [13] 黄玉婷. 茶树 *CsCaMs*、*CsCDPKs* 基因家族的克隆与表达分析 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [14] 林郑和, 钟秋生, 陈常颂, 等. 低温对茶树新品系叶绿素与电导率的影响 [J]. *福建茶叶*, 2014, 36(5): 10-11.
- [15] 赵洋, 刘振, 杨培迪, 等. 茶树抗寒性研究进展及展望 [J]. *茶叶通讯*, 2010, 37(4): 23-25.
- [16] 李叶云, 庞磊, 陈启文, 等. 低温胁迫对茶树叶片生理特性的影响 [J]. *西北农林科技大学学报(自然科学版)*, 2012, 40(4): 134-138.
- [17] 岳川. 茶树糖类相关基因的挖掘及其在茶树冷驯化中的表达研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2015.

- [18] 黄华涛,刘祖生,庄晚芳.茶树抗寒生理的研究:酶和细胞膜透性与茶树抗寒性[J].茶叶科学,1989,6(1):41-48.
- [19] 黄建安.茶树保护性酶类与抗寒性的关系[J].茶叶科学,1990,10(1):35-40.
- [20] LI N N, YUE C, CAO H L, et al. Transcriptome sequencing dissection of the mechanisms underlying differential cold sensitivity in young and mature leaves of the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of plant physiology, 2018, 224-225: 144-155.
- [21] YIN Y, MA Q P, ZHU Z X, et al. Functional analysis of *CsCBF3* transcription factor in tea plant (*Camellia sinensis*) under cold stress [J]. Plant growth regulation, 2016, 80(3): 335-343.
- [22] CHEN L Q, CHEUNG L S, FENG L, et al. Transport of sugars [J]. Annual review of biochemistry, 2015, 84(1): 865-894.
- [23] YUE C, CAO H L, WANG L, et al. Effects of cold acclimation on sugar metabolism and sugar-related gene expression in tea plant during the winter season [J]. Plant molecular biology, 2015, 88(6): 591-608.
- [24] SANDERS D, BROWNLEE C, HARPER J F. Communicating with calcium [J]. Plant cell, 1999, 11(4): 691-706.
- [25] ZHOU R G, LI B, LIU H T, et al. Progress in the participation of  $Ca^{2+}$ -calmodulin in heat shock signal transduction [J]. Prog Nat Sci, 2009, 19(10): 1201-1208.
- [26] AL-QURAAN N A, LOCY R D, SINGH N K. Expression of calmodulin genes in wild type and calmodulin mutants of *Arabidopsis thaliana* under heat stress [J]. Plant Physiol Biochem, 2010, 48: 697-702.
- [27] XU Y G, ROCHA P S C F, WANG M L, et al. A novel rice calmodulin-like gene, *OsMSR2*, enhances drought and salt tolerance and increases ABA sensitivity in *Arabidopsis* [J]. Planta, 2011, 234: 47-59.
- [28] 黄玉婷,钱文俊,王玉春,等.茶树钙调素基因 *CsCaMs* 的克隆及其低温胁迫下的表达分析[J].植物遗传资源学报,2016,17(5):906-912.
- [29] 丁杨林,施怡婷,杨淑华.植物响应低温胁迫的分子机制研究[J].生命科学,2015,27(3):398-405.
- [30] XU X X, SHAO H B, MI Y Y, et al. Biotechnological implications from abscisic acid (ABA) roles in cold stress and leaf senescence as an important signal for improving plant sustainable survival under abiotic-stressed conditions [J]. Critical reviews in biotechnology, 2010, 30(3): 222-230.
- [31] YUE C, CAO H L, HAO X Y, et al. Differential expression of gibberellin and abscisic acid-related genes implies their roles in the bud activity-dormancy transition of tea plants [J]. Plant cell reports, 2017, 37(3): 425-441.
- [32] WANG Y, JIANG C J, LI Y Y, et al. CsICE1 and CsCBF1: Two transcription factors involved in cold responses in *Camellia sinensis* [J]. Plant cell reports, 2012, 31(1): 27-34.
- [33] YUE C, CAO H L, WANG L, et al. Molecular cloning and expression analysis of tea plant aquaporin (*AQP*) gene family. [J]. Plant physiology & biochemistry, 2014, 83: 65-76.
- [34] CAO H L, WANG L, YUE C, et al. Isolation and expression analysis of 18 *CsbZIP* genes implicated in abiotic stress responses in the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Plant physiology & biochemistry, 2015, 97: 432-442.
- [35] LI N N, QIAN W J, WANG L, et al. Isolation and expression features of hexose kinase genes under various abiotic stresses in the tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Journal of plant physiology, 2016, 209: 95-104.
- [36] MARUYAMA K, SAKUMA Y, KASUGA M, et al. Identification of cold-inducible downstream genes of the *Arabidopsis* DREB1A/CBF3 transcriptional factor using two microarray systems [J]. Plant journal for cell & molecular biology, 2004, 38(6): 982-993.
- [37] MARUYAMA K, TAKEDA M, KIDOKORO S, et al. Metabolic pathways involved in cold acclimation identified by integrated analysis of metabolites and transcripts regulated by DREB1A and DREB2A [J]. Plant Physiology, 2009, 150(4): 1972-1980.
- [38] PARK S, LEE C M, DOHERTY C J, et al. Regulation of the *Arabidopsis* CBF regulon by a complex low-temperature regulatory network [J]. Plant journal, 2015, 82(2): 193-207.
- [39] SEKI M, NARUSAKA M, ABE H, et al. Monitoring the expression pattern of 1300 *Arabidopsis* genes under drought and cold stresses by using a full-length cDNA microarray [J]. Plant cell, 2001, 13(1): 61-72.
- [40] ZHAO C Z, ZHANG Z J, XIE S J, et al. Mutational evidence for the critical role of CBF transcription factors in cold acclimation in *Arabidopsis* [J]. Plant physiology, 2016, 171(4): 2744-2759.
- [41] KIDOKORO S, YONEDA K, TAKASAKI H, et al. Different cold-signaling pathways function in the responses to rapid and gradual decreases in temperature [J]. Plant cell, 2017, 29(4): 760-774.
- [42] ZHU X J, LI Q H, HU J Y, et al. Molecular cloning and characterization of spermine synthesis gene associated with cold tolerance in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Applied biochemistry & biotechnology, 2015, 177(5): 1055-1068.
- [43] WU Z J, LI X H, LIU Z W, et al. Transcriptome-based discovery of AP2/ERF transcription factors related to temperature stress in tea plant (*Camellia sinensis*) [J]. Functional & integrative genomics, 2015, 15(6): 741-752.
- [44] LI J H, ARKORFUL E, CHENG S Y, et al. Alleviation of cold damage by exogenous application of melatonin in vegetatively propagated tea plant (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. Scientia horticulturae, 2018, 238: 356-362.
- [45] 黄玉婷,钱文俊,王博,等.外源  $Ca^{2+}$  及钙离子信号抑制剂对茶树抗寒性的影响[J].茶叶科学,2015,35(6):520-526.
- [46] 曹红利,岳川,郝心愿,等.茶树胆碱单加氧酶 *CsCMO* 的克隆及甜菜碱合成关键基因的表达分析[J].中国农业科学,2013,46(15):3087-3096.
- [47] 杨亚军,郑雷英,王新超.冷驯化和 ABA 对茶树抗寒力及其体内脯氨酸含量的影响[J].茶叶科学,2004,24(3):177-182.
- [48] CHEN L, YAMAGUCHI S. RAPD markers for discriminating tea germplasms at the inter-specific level in China [J]. Plant breeding, 2005, 124(4): 404-409.
- [49] HAZRA A, DASGUPTA N, SENGUPTA C, et al. Extrapolative microRNA precursor based SSR mining from tea EST database in respect to agronomic traits [J]. BMC Research Notes, 2017, 10(1): 261.
- [50] HAZRA A, DASGUPTA N, SENGUPTA C, et al. Next generation crop improvement program: Progress and prospect in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. Annals of agrarian science, 2018, 16(2): 128-135.