

文章编号 :1003-8701(2012)02-0016-04

小麦抗寒性研究进展

崔 红

(辽宁现代服务职业技术学院,沈阳 110164)

摘 要 :本文主要从显微结构、生理及抗寒基因等方面对小麦抗寒研究进展进行了概述,针对现在研究中的局限性提出了看法和对未来研究的展望。

关键词 :小麦 ;抗寒 ;显微结构 ;生理 ;抗寒基因

中图分类号 :S512.1

文献标识码 :A

Progress of Researches on Cold Resistance of Wheat

CUI Hong

(Liaoning Vocational Technical College of Modern Service, Shenyang 110164, China)

Abstract: The progress of studies on cold resistance of wheat was summarized in the paper from the microstructure, physiology and cold-resistant gene. The opinion was given according to the limitations of researches and the outlook suggested.

Keywords: Wheat; Cold resistance; Microstructure; Physiology; Cold-resistant gene

1 小麦抗寒研究意义

小麦作为全世界种植面积最大的粮食作物之一,是全世界约40%人口的主要粮食。在中国,小麦的种植面积仅次于玉米和水稻,其营养丰富,是经济价值很高的商品粮。根据种植季节的不同,小麦分为春小麦和冬小麦两个生理型,在我国主要以冬小麦为主,其种植面积和产量均占小麦的80%以上。低温冻害对农作物的危害是一个世界性问题,也是我国农业生产中最主要的自然灾害之一。全球每年因低温冻害造成的农业损失高达数千亿元,研究并提高植物抗寒力具有重要的理论和现实意义。黑龙江省位于北温带寒冷地区,是我国重要的北方春麦区,但倒春寒、春旱、产量不稳等因素严重影响该区春小麦的产量,成为限制黑龙江春小麦种植发展的瓶颈问题,导致春小麦种植面积连年递减。据统计黑龙江春小麦种植面积已从200多万公顷下降到不足33.3万公顷。因此,如何提高小麦的抗寒性一直是学者们研究的

热门领域。培育抗寒性强的优质小麦品种也成为我国育种学者研究的主要目标之一。我国曾先后引进和鉴定大量国外小麦种质,并进行了大量的筛选和培育抗寒品种的工作,取得了骄人的成绩。培育抗寒小麦新品种,不仅可以减轻冻害损失,还可以扩大小麦的种植范围,提高土地复种指数,满足我国日益增长的粮食需求。

在分子生物学飞速发展的今天,随着生物技术的发展 and 抗寒性生理学研究的深入,有效开启植物本身的抗性机制和导入新的抗性基因已经成为现实^[1]。应用基因工程来改造小麦的抗寒能力,并配合进行小麦抗寒生理的研究,从基因及其表达产物水平来揭示低温对小麦的影响,将成为今后小麦抗寒性研究的一个重要目标。

2 小麦抗寒显微结构研究

抗寒显微结构的研究主要是借助于显微镜直接观察低温后细胞内部组织结构的动态变化。该研究的相关报道已有很多,主要常见于苹果^[2]、番荔枝^[3]、唐古特红景天^[4]、桃叶珊瑚^[5]、圆柏^[6]等低温较敏感或木本植物。在整理有关小麦抗寒方面的文献时发现,小麦抗寒性研究范围较广,但涉及小麦抗寒显微结构研究的却相对较少。早在1973年

收稿日期 :2011-11-04

作者简介 :崔红(1980-),女,硕士,助理讲师,从事植物生理生化与分子生物学研究。

简令成等研究了抗寒性强的小麦品种核仁体积的变化、核孔及原生质的状态,并发现抗寒性强的小麦液泡内可溶性蛋白质及 RNA 等大分子物质浓度增加,生长活动缓慢。于晶等^[7]应用光学显微镜和电子显微镜对不同低温下两个冬小麦品种的叶片显微、超微结构进行了比较,研究发现:在 5℃ 和 -15℃ 低温下,抗寒性较强的东农冬麦 1 号类囊体基粒片层和基质片层较济麦 22 蹂叠的更整齐,并沿叶绿体的长轴方向平行排列,在 -15℃ 时,两个品种叶肉细胞的线粒体皆肿胀呈圆形,嵴的结构模糊,且济麦 22 有个别线粒体嵴消失现象。相似报道也见于付连双等^[8]的研究中。

3 小麦抗寒生理的研究

目前,关于小麦抗寒生理生化的报道已有很多。小麦经过抗寒锻炼后会发生一系列生理生化变化,现已确定一些指标可作为其抗寒性鉴定指标,如 MDA 含量、电导率、脂肪酸等可以作为生物膜透性的鉴定指标;可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸等可作为抗寒渗透调节物鉴定指标;SOD、POD、CAT 活性等可作为抗氧化作用指标。

3.1 生物膜透性

刘艳阳^[9]、Bohn^[10]研究均指出细胞膜透性可用来判断小麦抗寒性。马晓娣^[11]、巩振辉^[12]认为电导率能够反映出植物组织细胞膜受伤害的程度,当相对电导率达到 50% 时植物组织就已经死亡。朱根海等则利用电导率配以 logistic 方程求拐点温度准确的确定了植物组织的低温半致死温度(LT50),进而用来评价植物的抗寒性。还有研究表明,叶鞘电导率的大小能够反映小麦品种抗寒性的强弱,电导率小品种抗寒性强,反之则弱^[13]。

3.2 渗透调节物和抗氧化系统

于晶等^[14]在北方寒地田间自然条件下,通过对越冬期间抗寒小麦品种东农冬麦 1 号和非抗寒品种济麦 22 抗寒相关生理指标的测定发现,东农冬麦 1 号的可溶性糖、可溶性蛋白、脯氨酸、叶绿素含量以及超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)的活性均高于济麦 22。尤其是其分蘖节部位储备抗寒物质的能力最强,在东农冬麦 1 号安全越冬的过程中发挥了重要的作用。孙金月等^[15]在研究低温锻炼后富含羟脯氨酸糖蛋白(HRGP)在强抗寒品种和不抗寒品种小麦抗寒锻炼过程中的变化时发现,在两种小麦幼苗体内的游离脯氨酸、羟脯氨酸和糖蛋白含量均发生了变化。在强抗寒品种小麦中,游离脯氨酸、羟脯氨酸和糖蛋白含

量比未经低温驯化处理时高达数倍;而弱抗寒小麦品种(中国春、冬 103)各物质的增加量较小。冠菌素在低温条件下可以使小麦根冠比和叶绿素含量增加,能够促进可溶性糖和谷胱甘肽的积累,降低细胞膜透性,从而增强小麦的抗寒能力^[16]。陈璇等^[17]在研究抗寒性不同的两个小麦品种低温驯化后生长状态和脯氨酸含量时发现,低温驯化后两个小麦品种的生长状态出现差异,4℃ 低温胁迫 4 h 后,新冬 22 叶片的脯氨酸积累显著增加,而喀什白皮叶片的脯氨酸含量在 4℃ 低温胁迫 48 h 才开始积累,这说明新冬 22 抗寒性显著高于春小麦喀什白皮。

4 小麦抗寒基因的研究

近年来,随着基因工程和植物抗寒分子水平研究的不断深入,在许多植物中均发现了与抗寒胁迫有关的基因及其表达产物。自 1978 年 Kacperska 在研究小麦幼小植株的抗寒性时发现了影响小麦抗寒性的位点位于 5A、7A、1B、2B、1D、2D、4D 和 5D 染色体上以后,相关的报道屡见不鲜。如 Fowler 发现了位于硬粒小麦 5A 染色体上的抗寒性等位基因;Fridovich 等的研究更进一步证明了小麦 4D、5D 和 7A 染色体上的基因与抗寒性有关,并且对抗寒的影响有加合效应;Fletcher 研究发现,在小麦茎伸长期间,耐霜冻性的主效基因位于 5D 染色体上。植物抗寒性是一个复杂的性状,大量研究表明,在小麦的 21 对染色体中,与抗寒关系最为密切的是可能携带抗寒主效基因 5A 和 5D 染色体。现已证实,小麦的第 5 染色体长臂上的 Vrn 12Frl 区段对抗冻性起主要作用。Limin 等报道,D 染色体比 A 染色体对小麦抗寒性影响更大。Storlie 等已经证实,冬小麦的抗寒性不同是由于是有不同的 Vrn12Frl 区段^[18]。现阶段,许多研究人员在此基础上,对研究的小麦品种及研究条件作了更为细致的处理,使之应用性更强。牟永潮等^[19]在北方寒地自然条件下,利用抑制消减杂交技术构建东农冬麦 1 号低温胁迫相关基因的 cDNA 文库,克隆测序后,获得 230 条高质量的表达序列标签(ESTs)。通过对序列进行 BLAST 比对及功能注释发现,存在热激蛋白、CS66、Wcor8 等相关基因,这些基因可能与东农冬麦 1 号的强抗寒性有重要的相关性;另外,研究也发现有些未知基因,推测其在小麦的越冬期间发挥不容忽视的作用。现有的研究表明,在小麦、大麦、马铃薯等植物中,编码 LEA 蛋白的基因、

COR 蛋白、抗冻蛋白与其抗寒性关系密切。

4.1 LEA 蛋白

Dure 等首次在棉花(*Gossypium hirsutum* L.) 胚胎的干燥种子发育成熟过程中检测到 LEA 蛋白。研究发现, LEA 蛋白广泛存在于高等植物的胚中, 并与种子的脱水性密切相关。在植物幼苗期和成熟期, LEA 蛋白受 ABA、低温、干旱等因素的诱导胁迫, 具有保护植物组织的作用。LEA 蛋白的表达不存在组织特异性, 它们在种子、子叶、胚轴、茎、根和叶片等组织中均有表达, 但主要存在于细胞质中。最近也有发现细胞核中含有 LEA 蛋白。利用免疫化学分析发现, Pvlea218 定位于细胞核和细胞质中, 特别是干旱胁迫条件下, 该基因在初生木质部细胞和根分生组织中表达量较丰富。Ukaji 等对低温驯化的桑树研究发现, 北海道地区自然条件下生长的山桑(*Morus bombycis* Koidz) 经冷驯化后有 小热激蛋白(small heat-shock protein homologs, HSPs)和胚胎后期富集蛋白(LEA)产生。经鉴定, 小热激蛋白是低温诱导基因(*Wap27*)的产物。该基因具有组织特异性表达, 桑树皮层、木质部和芽在低温条件下都能检测到丰富的转录产物, 而叶片中含量较少。

4.2 COR 蛋白

cor 基因是一组编码极端疏水 COR 蛋白的基因, 一些 COR 蛋白在结构上类似于抗冻蛋白, 可在一定程度上增强植物的抗冻性。在小麦中两个 COR-DHN 亚科已经被鉴定。*Wcs120* 及其相关基因, 包括 *Wcor39*、*Wcor80*、*Wcs6*、*Wcor726* 和 *Wcor200* 在低温下可以表达。大麦的 *cor14b* 是谷物 cor 基因家族中唯一的成员, 它编码酸性蛋白质 COR14b。该蛋白与拟南芥 COR15a 蛋白类似, 是叶特异蛋白。不同的是, 大麦的 COR14b 具有很强的疏水性, 而且表达受光周期的影响。在小麦中, 唯一一个 *cor* 基因就是编码碱性(pI=8.8)蛋白 WCS19 蛋白的 *wcs19* 基因, 在冷驯化期间被转运到叶绿体的间质层。小麦的 WCS19 与大麦的 COR14b 显示出低水平的同源性。Tsvetanov^[20]等研究发现, 在没有冷驯化的对照组没有检测到 *wcor14* 的同源转录物, 而在 4℃冷驯化后的 3~6 h 里 *wcor14* 的同源转录物迅速积累。转录物在冷驯化 3 d 时达到最高值, 随后转录水平下降, 但在 20 d 后维持一稳定水平。将植物转移至室温下, 3 h 后检测不到该基因的转录物。*wcor14* 基因表达, WCOR14 蛋白的积累物和抗冻之间的关系需要进一步研究。*Wcs120*、*Wcor410* 和 *Wcor14* 转录

物在叶片和冠组织中表达不同, 低温驯化 2d 后四种基因型中的 *Wcs120* 在叶片和冠组织中有很大的增加量, 7 d 后叶片中每个基因型中转录物减少一半。在叶片和冠组织中 *cor* 基因转录物和蛋白质的浓度都有很大的不同^[21]。

4.3 小麦抗冻蛋白

抗冻蛋白最初是在极区海鱼中发现的一种低温特异蛋白质, 它能阻止细胞内冰核的形成与生长, 维持细胞的非冰冻状态, 提高生物的抗冻性, 并且只在抗冻的单子叶植物叶片质外体中积累。早在 1970 年 Weiser 就提出, 植物在抗寒锻炼中合成了新的蛋白质, 其中包括抗寒锻炼的一系列酶, 在这些酶的催化下, 合成抗寒的物质基础。自 20 世纪 60 年代至今, 已经在鱼类、昆虫、真菌、无脊椎动物和脊椎动物中发现抗冻蛋白的存在, 植物抗冻蛋白的研究相对较晚。直到 1992 年, 加拿大 Griffith 等首次获得了植物内源 AFPs, 他们从经过低温锻炼的冬黑麦(*Secale cereale*)叶片质外体中得到并部分纯化了抗冻蛋白^[22]。Kuiper 等^[23]发现在多年生黑麦草(*Lolium perenne*)中的抗冻蛋白两侧各有一个缚冰域, 这两个缚冰域能折叠成 β -转角, 以增加其缚冰能力。黑麦的每个抗冻蛋白虽然仅含一个缚冰域, 但是它们能聚集在一起形成寡聚体, 从而产生多个缚冰域。1992 年, 简令成比较研究了 4 个不同抗寒性冬小麦品种在抗寒锻炼中蛋白质合成的变化, 发现新合成的蛋白质种类数量与品种抗寒性呈正相关。来自冬黑麦中的这 2 个抗冻蛋白基因, 均已被转化到大肠杆菌中。检测结果表明, 表达蛋白具有抗冻活性^[24]。王多佳等^[25]在对东农冬麦 1 号的研究中发现: 在低温条件下, 东农冬麦 1 号分蘖节的全蛋白中出现 7 条对冰晶有修饰作用的特异性蛋白。在 -20℃以后分蘖节产生两条特异蛋白, 推测其可能是产生修饰冰晶能力的抗冻蛋白。新近克隆到的植物抗冻蛋白基因还包括黑麦草 1117kD 的 AFPs 的 cDNA。冬黑麦中 3117 kD 的 AFPs 的 *cht9* 基因, 2418kD 的 AFPs 的 *cht46* 基因。

5 小麦抗寒研究中的问题及前景

总体来讲, 小麦抗寒性的研究是一个前景广阔而研究相对薄弱的领域。随着生理生化、基因遗传不断发展, 新的小麦抗寒品种不断出现, 小麦抗寒性研究已成为众多学者研究的热点, 但在以往的研究中也存在一些问题亟待解决。如之前对小麦抗寒性的研究主要集中在室内模拟低温条件下

进行,该方法受到光照、自然降温等因素的影响,研究条件与实际生产有一定的偏差,导致实验数据的指导性不强;研究材料较为单一的集中在小麦苗期幼叶,而忽视了真正实现小麦越冬的地下器官的研究;对于小麦抗寒的生理研究较多,而分子领域的研究相对薄弱。因此在以后的科研中可以加强以下方面的研究:①在小麦抗寒的研究中应重视膜的研究,因为膜是小麦低温伤害的主要器官。②虽然有些研究已经克隆得到一些抗寒相关的基因,但这些基因在小麦抗寒过程中是否起到一定的作用尚不确定,并且植物的抗寒性是由多基因控制的,已经克隆得到的基因之间是协同作用,还需进行更深入的研究。③自然条件对作物的影响往往是多方面共同作用的结果,在以后的研究中应注意将旱、涝、盐碱等与小麦的抗寒研究有机的结合。只有将这些问题逐一解决,才能真正实现为小麦抗寒新品种培育和生产上的科学栽培提供依据,解决生产实际中遇到的问题。

参考文献:

- [1] Thomashow MF. So what is new in the field of plant cold acclimation Lots[J]. *Plant Physiol*, 2001(125):89-93.
- [2] 刘 艳,李晓燕,王丽雪,等. 苹果枝条冬季淀粉粒动态变化与抗寒力的关系 [J]. *内蒙古农业大学学报(自然科学版)*, 2006,27(2):79-83.
- [3] 刘世彪,陈 菁,胡正海. 7种番荔枝果树的叶片结构及其与抗寒性关系研究[J]. *果树学报*, 2004,21(3):241-246.
- [4] 卢存福,陈玉珍,简令成,等. 高山植物唐古特红景天粘液细胞及叶肉细胞表面糖蛋白与抗冻性的关系[J]. *应用与环境生物学报*, 2003,9(1):16-20.
- [5] 高述民,程朋军,郭惠红,等. 日本桃叶珊瑚的冷驯化及抗寒机制研究[J]. *西北植物学报*, 2003,23(12):2113-2119.
- [6] 张有福,陈银萍,张满效,等. 两种圆柏属植物不同季节显微和超微结构变化与耐寒性的关系 [J]. *应用生态学报*, 2006,17(8):1393-1397.
- [7] 于 晶,周子珊,牟永潮,等. 低温下不同抗寒性冬小麦叶片组织结构比较[J]. *东北农业大学学报*, 2010,41(4):7-11.
- [8] 付连双,王晓楠,王学东,等. 低温驯化及封冻后不同抗寒性小麦品种细胞超微结构的比较[J]. *麦类作物学报*, 2010,30(1):66-72.
- [9] Liu Y-Y, Li J-Z, Chen L, et al. Effect of low temperature stress on peroxidation product of membrane lipids and activity of related enzymes in wheat seedling leaves [J]. *J. Triticeae Crops*, 2006,26(4):70-73.
- [10] Bohn M, Luthje S. Plasma membrane lipid alterations induced by cold acclimation and abscisic acid treatment of winter wheat seedlings differing in frost resistance[J]. *Plant Physiol*, 2007(164):146-156.
- [11] Ma X-D, Wang L, Wang M. Difference in relative conductivity and ultrastructure of leaf between two wheat cultivars with different thermotolerance under heat acclimation and heat stress[J]. *J China Agric Univ*, 2003,8(5):4-8.
- [12] Gong Z-H. *Plant Breeding* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2008:281-284.
- [13] 曹文昕,万映秀,赵 斌,等. 小麦不同生育期抗寒性研究 [J]. *安徽农学通报*, 2009,15(17):57-59.
- [14] 于 晶,张 林,崔 红,等. 高寒地区冬小麦东农冬麦1号越冬前的生理生化特性 [J]. *作物学报*, 2008,34(11):2019-2025.
- [15] Sun J-Y, Zhao Y-T, Liang B-W, et al. Changes of hydroxyproline-rich glycoprotein wheat under cold stress and its relationship to cold resistance [J]. *J Plant Genet Resour*, 2004,5(1):6-11.
- [16] 杨春玲,宋志均,陈玉香,等. 小麦抗寒性机理研究[J]. *山西农业科学*, 2008,36(1):49-52.
- [17] 陈 璇,李金耀,马 纪,等. 低温胁迫对春小麦和冬小麦叶片游离脯氨酸含量变化的影响[J]. *新疆农业科学*, 2007,44(5):553-556.
- [18] 倪胜利,张国宏,李兴茂. 小麦抗寒性研究概述[J]. *甘肃农业科技*, 2008(8):23-26.
- [19] 牟永潮,崔 红,于 晶,等. 低温胁迫下东农冬麦1号分蘖节 SSH 文库的构建及文库中3个基因的表达模式[J]. *作物学报*, 2011,37(5):918-923.
- [20] Tsvetanov S, Tsuda K, Takumi S, et al. New members of a cold-responsive group-3 Lea/Rab-related Cor gene family from common wheat[J]. *Genes Genet*, 2000,4(75):179-188.
- [21] Ganeshan S. WCS120 protein family and proteins soluble upon boiling in cold-acclimated winter wheat [J]. *Plant Physiology*, 2000,164(9):1197-1207.
- [22] 任 敏,毛雪飞. 植物抗冻蛋白及其基因工程研究[J]. *河北农业科学*, 2008,12(2):14-16.
- [23] Kuiper M J. A theoretical model of a plant antifreeze protein from *Lolium perenne*[J]. *Biophys J*, 2001,81(6):3560-3565.
- [24] 王瑞云,李润植,孙振元,等. 抗冻蛋白与植物低温胁迫反应 [J]. *应用生态学报*, 2006,17(3):551-556.
- [25] 王多佳,曾 俨,牟永潮,等. 高寒地区冬小麦东农冬麦1号抗冻蛋白的研究[J]. *麦类作物学报*, 2009,29(5):823-826.