

小麦耐热性鉴定方法及热胁迫应答机理研究进展

陈芳^{1,2}, 郑炜君^{2,3}, 李盼松^{2,3}, 于太飞², 刘生祥¹, 陈明², 李连城², 徐兆师², 马有志²

(¹宁夏大学农学院, 银川 750021; ²中国农业科学院作物科学研究所/国家农作物基因资源与基因改良重大科学工程/

农业部麦类生物学与遗传育种重点实验室, 北京 100081; ³西北农林科技大学农学院, 杨凌 712100)

摘要:小麦是全球最重要的粮食作物之一, 高温特别是开花期和灌浆期的高温胁迫严重影响小麦的产量和品质。本文分别从直接鉴定法和间接鉴定法两个方面入手, 介绍了小麦耐热性的评价指标; 阐述了在高温胁迫下温度信号的感知和传递, 以及植物对高温的响应机理; 从传统育种方法和基因工程策略两个方向综述了小麦耐热性改良的研究进展。最后, 提出了小麦耐热性研究存在的问题及措施, 以及今后小麦耐热性研究的发展方向。

关键词:小麦; 高温胁迫; 耐热; 机理; 研究策略

Progress of Evaluating Techniques and Potential Mechanism on Heat Tolerance in Wheat

CHEN Fang^{1,2}, ZHENG Wei-jun³, LI Pan-Song^{2,3}, YU Tai-fei², LIU Sheng-Xiang¹,
CHEN Ming², LI Lian-cheng², XU Zhao-shi², MA You-zhi²

(¹Agricultural College of Ningxia University, Yinchuan 750021; ²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences/National Key Facility for Crop Gene Resources and Genetic Improvement/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Triticeae Crops, Ministry of Agriculture, Beijing 100081;

³ College of Agronomy, Northwest A & F University, Yangling 712100)

Abstract: Wheat is one of the most important food crops in the world, but the heat stress hazards for wheat production, especially, flowering and grain filling stage of high temperature stress seriously affect the yield and quality of wheat. This article proposed evaluation indicators of wheat heat tolerance from two aspects, namely direct and indirect identification, and analyzed the temperature signal perception and transmission under heat stress as well as plant responsive mechanism to high temperature. In addition, we summarized the research progress of wheat heat tolerance improvement from the traditional breeding methods and genetic engineering strategies. In the end, we made a conclusion on improvement measures of the wheat heat tolerance and problems, and put forward the future wheat heat tolerance research prospects.

Key words: Wheat; heat stress; heat tolerance; mechanism; research strategy

小麦是全球最重要的粮食作物之一, 世界上 40% 的人口以小麦为主粮。按照目前世界人口增长趋势, 全球小麦产量必须每年增产 2% 才能满足消费需求^[1]。然而, 目前每年通过遗传改良途径增加的小麦产量不到 1%^[2], 高温特别是开花期和灌浆

期的高温胁迫严重影响小麦的产量和品质^[3]。因此, 研究小麦的耐热机理, 培育耐热性小麦品种对于保障小麦的安全生产有重要意义。

本文综述了小麦耐热性评价指标、小麦耐热性机理和耐热性小麦品种培育的研究进展等, 为进一

收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-09-25 网络出版日期: 2013-10-22

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20131022.1536.004.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目(31171546); 国家科技支撑计划项目(2011BAD35B03-5)

第一作者研究方向为作物遗传育种。E-mail: cf.3901-abc@qq.com; 郑炜君为共同第一作者

通信作者: 徐兆师, 主要从事植物抗逆分子生物学研究。E-mail: xuzhaoshi@caas.cn

步开展耐热小麦分子育种提供科学依据。

1 小麦耐热性的评价指标

当环境温度超出植物所能适应的温度阈值时,植物的生长发育会逐步减缓甚至停止。植物生长发育停止时的外界环境温度被称为植物的高温胁迫点温度。小麦灌浆期的适宜温度为 18 ~ 22 °C,上限温度为 26 ~ 28 °C,如果日平均气温在 30 °C 以上,通常伴随着干热风天气,提早结束灌浆,形成青枯逼熟,千粒重降低。在华北地区,小麦生育后期常出现高温天气,尤其是在干燥条件下,形成典型的干热风,导致小麦高温逼熟,减产幅度可达 10% ~ 30%,成为北方广大麦区小麦生产的主要胁迫因子之一^[4]。

小麦的不同物种之间或同一物种不同品种之间的高温胁迫阈值温度是不同的。这种不同品种间高温胁迫阈值温度的差异性为培育耐热性小麦品种的基础。因此建立合理的小麦耐热评价指标,筛选耐热性小麦,进而研究小麦耐热分子机理是开展耐热小麦品种改良的重要基础。小麦的耐热性鉴定方法可以分为直接鉴定法和间接鉴定法两种。

1.1 直接鉴定法

直接鉴定法是指在大田或在温室模拟大田环境下对小麦不同品种的耐热性进行评价。直接鉴定方法具有评价客观的特点,缺点是环境温度易发生变化,试验重复性差,试验一般需要多年多点的设计,费工费时。

1.1.1 田间直接鉴定法 田间直接鉴定法是指在自然高温条件下,以作物较为直观的性状变化指标为依据来评价作物品种的耐热性。这种方法比较客观,但试验结果易受地点和年份的影响,重复性较差。为获得可靠的结果,须进行多年多点的重复鉴定。

小麦生长期遭遇高温危害主要是干热风造成的。小麦开花期遇干热风而受害,表现为麦芒干枯,叶子萎蔫,颖壳发白,引起授粉不良而产生瘪粒;乳熟期遇干热风,则会使小麦植株体内的水分平衡失调、生理机能紊乱,加速衰老死亡;干物质积累提前结束,导致青枯逼熟,千粒重下降而减产,一般减产 5% ~ 10%,严重的减产幅度可达 30% 以上^[5-7]。因此,小麦直观的农艺性状可以作为是否耐高温的依据之一。

黄玲等^[8]研究表明,同一品种蜡质含量的多少和干旱、高温等胁迫程度有关。抗旱耐高温的品种

叶片蜡质含量高,产量也较高。R. A. Richards 等^[9]对具有霜状蜡质的小麦品系研究发现,叶片表面蜡质能在正午时降低冠层温度。控制蜡质的基因数目和时空表达特性不同,蜡质在叶、茎、穗上分布的位置和多少不同,同时环境因素(如光强、温度、湿度、冷害等)也会影响蜡质的分泌。目前,关于蜡质含量与抗旱抗热性关系的研究还鲜有报道。

另外,据报道小麦出苗至分蘖期遭遇较高的温度会导致分蘖数目减少;拔节至开花期的高温则导致单株穗数、穗粒数或每穗小穗数和粒重等性状减少或降低^[10-16];此外,高温还导致株高降低和总干物重下降^[10]以及开花期提早^[12],最终使产量明显下降。小麦开花后至成熟期的温度条件主要影响子粒的发育及其品质性状,在开花后不久遇高温会导致子粒败育、畸形以及子粒变小;而灌浆成熟期高温虽能加快灌浆进程、缩短灌浆期最终会使小麦粒重降低^[10,12-13]。许为钢等^[17]认为高温胁迫下千粒重下降率可作为小麦耐热性评价的经济性状指标。董建力等^[18]以宁夏灌区大面积种植的 35 个小麦品种(系)为供试材料,在小麦灌浆后期通过人工升温鉴定耐热性,结果表明不同基因型热胁迫处理与正常环境相比千粒重降低幅度在 1.2% ~ 30.2% 之间,穗粒重降低幅度在 0.5% ~ 40.0% 之间。

1.1.2 人工模拟直接鉴定法 人工模拟直接鉴定法是指在模拟的高温胁迫条件下通过直观性状变化指标对作物耐热性进行评价。这种方法能克服田间鉴定的缺点,逆境条件容易控制,但并非所有自然条件均能完全模拟,且受设备投资和能源消耗等因素的限制,不能对大批材料进行鉴定。

在模拟的高温胁迫条件下,可依据经济性状的变化进行耐热性评价,也可用热感指数来鉴定小麦的耐热性。陈希勇等^[19]借助塑料大棚人工升温的办法模拟大田生产条件下小麦子粒灌浆期的高温胁迫环境,研究其耐热性表现和耐热性评价方法。结果表明,小麦不同基因型之间产量性状的遗传表达与耐热性呈显著相关,认为可以采用千粒重或穗粒重热感指数和几何平均产量两个指标相结合来鉴定和评价小麦品种的耐热性,这样可避免仅针对热感指数进行正向选择而遗失具有较高产量潜力和较高耐热性基因型的可能性,并定义耐热品种热感指数 $S < 1$,不耐热品种热感指数 $S > 1$ 。

1.2 间接鉴定法

在高温胁迫下,植物会产生应激性的生理反应。研究发现,耐热性不同的小麦品种在细胞膜的热稳

定性、冠层温度、叶绿素含量和活性氧清除相关酶类等生理指标方面存在显著差异,这些可以作为评价小麦耐热性的间接指标。同直接鉴定法相比,间接鉴定法有鉴定快速准确,不受植物生长季节的影响等优点;缺点是单一的指标不能客观反映小麦的耐热性,需要综合考虑,最终还需要大田试验。

1.2.1 细胞膜的热稳定性 植物的细胞膜是由磷脂和蛋白质组成的一层薄膜。细胞膜在维持细胞正常的生理和生化反应中发挥重要作用,特别是在调控离子转运方面。细胞膜的组成会在高温胁迫下发生适应性的变化,具体表现为当植物细胞膜感受到高温胁迫时,细胞膜的磷脂过氧化程度增加,膜的稳定性下降,电解质渗透率增加。耐热性不同的小麦品种在高温胁迫下,细胞膜的稳定性不同。因此,电解质渗透率可以作为一个筛选耐热性小麦的指标。A. Blum 等^[20]最早在研究中应用电解质渗透率作为筛选耐热性小麦的指标;进一步研究发现热稳定性高的小麦品种在高温胁迫下的增产潜力高,并且膜热稳定性和产量呈正相关^[21]。因此,细胞膜的热稳定性可以用作鉴定耐热性小麦的生理指标之一。

1.2.2 冠层温度 由于蒸腾作用,作物叶片温度低于周围空气的温度。冠层温度即空气温度和叶片温度的差值。冠层温度可以间接反映植株的水分状况和呼吸速率。不同小麦品种的冠层温度存在差异,耐热性小麦品种的冠层温度显著低于高温敏感性小麦的冠层温度,研究表明冠层温度是鉴定耐热性小麦的优良指标之一^[22]。耐热性小麦在灌浆结实期(开花到成熟)和标准品种相比冠层温度与之相当或持续偏低,且具有良好的代谢功能、组织结构和较强的抗逆性,非常利于高产、稳产^[23]。如耐热品种陕 160、小偃 107 和陕 229 始终保持相对较低的冠层温度,耐热性差的西农 1376 则表现出较高的冠层温度。大量研究表明,冠层温度低的小麦品种在田间表现为高产、适应性强、适宜种植区域广,说明冠层温度和产量增加呈正相关^[17]。

1.2.3 叶绿素含量与叶绿素荧光值 叶绿素是植物色素的一种,叶绿素缺失会形成黄萎病,引起作物生长减缓,最终导致减产^[24]。研究表明,当植物响应周围环境胁迫时,植物的叶绿素发生降解。不同小麦品种在高温胁迫下,叶绿素降解的速率不同,耐热性小麦在高温胁迫下保持较高的叶绿素含量。利用叶绿素仪可以快速测量不同小麦品种的叶绿素含量,为筛选耐热性小麦品种提供一种快速的选择指标。

叶绿素 a 荧光由叶绿素分子吸收光量子后重新跃迁为基态时发射的长波红光。 F_0 即最小荧光(也叫初始荧光)是指经过暗适应的叶片在给予不足以引起 PS II 中心色素激发的弱光而产生的稳定荧光信号。借助分析叶绿素荧光参数,科学家已对小麦的耐热性进行了广泛的研究^[25]。研究表明, F_0 大小与样品的光化活性无关,而与类囊体膜的结构和状态有关。由于热胁迫会引起膜结构和状态的改变,因而 F_0 可作为检测热胁迫作用的灵敏生理指标。陈贻竹等^[26] 研究发现,在热胁迫状态下,类囊体膜结构发生改变,首先反映的是 F_0 的上升。耐热性强的作物品种在高温下具有较低的荧光信号(即 F_0),二者之间的相关性已在很多作物包括小麦中被报道^[27]。因此,荧光参数也可作为间接鉴定小麦耐热性的评价指标。

1.2.4 植物光合速率指标 植物在高温胁迫下,光合速率严重受阻,同化产物合成减缓,植物生长延缓。光系统 I 和光系统 II 复合物是参与光合反应的重要组成部分,而类囊体膜则是二者附着的支架。高温引起植物光合反应的抑制,类囊体膜的稳定性对高温条件下作物的光合效率有直接影响。马晓娣等^[28] 研究发现,高温下细胞的超微结构显示叶绿体膜出现不同程度的断裂,类囊体膜片层松散,排列紊乱。类囊体膜在高温条件下发生改变,引起 PS II 的失活,包括 PS II 外周天线和放氧复合物的脱落^[29]。此外,在高温条件下类囊体膜脂饱和程度的提高也能够增强膜的稳定性,从而有利于植物抵抗高温胁迫^[30-31]。在高温胁迫下,由于不同小麦品种的光合速率存在差异,因此,光合速率可以作为评价小麦耐热性的生理指标。

1.2.5 自由基清除酶类 高温胁迫下,植物的叶绿体和线粒体会产生大量的自由基,破坏细胞的膜系统,造成叶绿体和线粒体等亚细胞组织的损伤。自由基清除酶类如超氧化物歧化酶(SOD, superoxide dismutase)、过氧化氢酶(CAT, catalase)和过氧化物酶(POD, peroxidase)等可以快速清除自由基对细胞的毒害,保护细胞膜系统。刘萍等^[32] 研究表明,高温胁迫可诱导活性氧清除酶系统(SOD、POD 和 CAT)活性下降,植株体内保护酶系统趋于衰弱或崩溃,高温导致膜脂过氧化程度(MDA, malondialdehyde)加剧,衰老速度加快。高温胁迫条件下,随着温度的升高,SOD、POD 和 CAT 活性呈下降趋势,MDA 含量呈上升趋势。郭天财等^[33] 报道,后期高温促进了小麦根系和地上部的衰老,表现为叶片和

根系 SOD、POD 活性先升高后下降,且叶片酶活性下降较早,下降的幅度也较大。因此,通过分析自由基清除酶系统活性可以间接鉴定不同小麦品种的耐热性。

综上所述,小麦耐热性的鉴定目前尚无统一指标,利用单个指标评价小麦的耐热性局限性很大。因此,对于小麦耐热性的评价需要综合不同的鉴定方法,从生产实际出发,了解作物对热胁迫的反应,并结合直接鉴定和间接鉴定的方法,找出适宜的评价指标,从而为探索正确可靠且快速的耐热性鉴定方法提供先决条件。

2 小麦耐热性机理

小麦在生长发育过程中会受到各种非生物因子的胁迫。近年来,随着全球“温室效应”的加剧,气温上升,温度对小麦生长发育的影响加剧。一般认为,当温度高于环境温度 10 ~ 15 °C 时,植物就会产生热激反应,在数小时内迅速获得耐热性,以抵御致死高温;但是,高温会影响小麦的各种生理生化过程,如抑制光合作用、改变细胞膜稳定性、改变激素和次级代谢物的合成,甚至导致小麦植株死亡^[34],因此,探究小麦耐热性机理和分子机制对于提高小麦耐热性及小麦的引种选育都具有指导意义。小麦耐热性机理研究主要包括小麦如何感知外界高温信号以及小麦对高温胁迫的适应性响应。

2.1 温度信号感知和传递

植物细胞感知周围高温胁迫并传递胁迫信号到细胞内,引起细胞相应的保护性响应是植物产生耐热性的关键步骤。在微生物和昆虫中已发现相应的感知外界温度的传感器系统。高温下,细菌的传感器系统为 RNA 发夹结构的降解程度。昆虫通过触角来探测环境温度,最近科学家在果蝇身上发现了能探测环境温度的大型脑热响应神经元,脑神经元通过激发 dTrpA1 离子通道来对温度做出反应,该离子通道本身担任着温度传感的职责^[35]。然而,至今还没有在植物中找到对应的传感器系统。

近年来,有几种可能的植物温度传感器系统已经被几个研究小组报道。如高温下植物细胞膜的流动性发生显著变化,推测高温的最初感知体位于细胞膜内,但是现在还没有具体实验证明^[36]。细胞膜中的高温感知体感受高温信号后,将信号传递到位于细胞膜的 Ca^{2+} 通道蛋白,引起 Ca^{2+} 内流,导致细胞质内 Ca^{2+} 浓度增加。高温导致的 Ca^{2+} 内流会调控细胞内的多条信号通路^[37]。首先,细胞质内

Ca^{2+} 浓度增加会激活钙调蛋白的表达上调^[38],促进热激转录因子(HSF, heat stress transcription factor)的表达,最终导致热激蛋白(HSP, heat shock protein)的大量表达^[39]。其次,细胞质内 Ca^{2+} 浓度增加会激活钙依赖性蛋白激酶(CDPKs, calcium-dependent protein kinases)的表达,进而激活丝裂原活化蛋白激酶(MAPKs, mitogen-activated protein kinases)或具有降低活性氧功能的 NADPH 氧化酶(NADPH, nicotinamide adenine dinucleotide phosphate)^[40]。李利红等^[41]研究发现灌浆期叶面喷施 10 mmol/L CaCl_2 可以显著提高小麦的耐热性,进一步说明 Ca^{2+} 浓度增加会导致小麦产生耐热性响应。

H_2O_2 作为信号分子也参与高温信号的传导^[42]。热激条件下,15min 内拟南芥的 H_2O_2 浓度显著增加^[43]。 H_2O_2 信号可以传递高温信号到自由氧途径进而调控热激转录因子的表达,产生热激蛋白提高植物的耐热性^[44]。H. Konigshofer 等^[45]研究发现,32°C 到 38°C 的快速升温会导致烟草细胞中的 H_2O_2 产生短暂的刺激积累,而且 H_2O_2 是热信号通路最初的成分,会迅速地响应膜流动性的变化及 SHS 合成所需的磷活化。此外,组蛋白也是一种高温传感器。高温会引起组蛋白的乙酰化、甲基化、泛素化、磷酸化和糖基化等作用^[46]。这些组蛋白氨基酸末端的修饰会抑制或激活核小体中与组蛋白结合的基因的表达^[47]。最近,在拟南芥中发现组蛋白 H2A.Z 出现在 HSP70 和其他高温胁迫下上调表达基因的启动子区^[48]。推测组蛋白 H2A.Z 可能作为一个直接温度传感器,通过核小体占用的方式调控高温响应基因的表达。

2.2 小麦对高温的响应机理

2.2.1 相容渗透剂 高温下,小麦主要通过合成大量小分子量的相容渗透剂来维持其细胞离子的稳定性。常见的小分子渗透剂包含糖类、脯氨酸、季胺盐和叔胺盐等。其中甜菜碱作为一种相容渗透剂在保护植物细胞结构的完整性方面发挥重要作用。研究发现,脯氨酸和甜菜碱能够提高小麦的耐热性主要是通过减少小麦细胞的过氧化原电势,限制自由氧的产生;在高温胁迫下,脯氨酸以特定的形式加强蛋白质的水合作用,从而减弱蛋白质的变性失活程度,有利于小麦在高温胁迫下维持细胞的结构和功能,而且游离脯氨酸积累程度与品种耐热性呈正相关^[49]。

2.2.2 热激蛋白 在长期进化过程中,无论是真核

生物还是原核生物都形成了自身特有的完整的高温胁迫响应机制。当高温胁迫发生时,生物体内会产生一系列的应激反应,迅速合成相当数量的新生蛋白以维持细胞内部生理状态的平衡,这些蛋白中最主要的就是热激蛋白。作为分子伴侣的热激蛋白可以帮助靶蛋白重新折叠、稳定、组装、胞内运输和降解^[50],缓解或者解除高温胁迫造成的破坏,使植物在逆境中得以生存。

热激蛋白的积累是生物对于高温的基本响应,这个反应从细菌到人类都存在^[51]。根据分子量的大小,热激蛋白分为 3 类:HSP90、HSP70 和小分子热激蛋白。高温下,HSP90 和 HSP70 的表达量的变化倍数一般在 10 倍左右,小分子热激蛋白的表达倍数在 200 倍左右。热激蛋白通常分布在细胞壁、叶绿体、核糖体和线粒体中^[52-53],这些组织都是高温传感器分布的部位。在正常生理状态下,热激蛋白主要存在于细胞质中;应激状态时,热激蛋白迅速进入细胞核和核仁行使功能。小分子热激蛋白形成的热激因子在高温胁迫下分解是植物细胞在持续的高温胁迫下保持活性的首要条件^[54]。此外,在拟南芥中研究发现,HSP70 正向调控细胞的耐热性,HSP90 负向调控细胞的耐热性^[55]。耐热性的表现和消失与热激蛋白的诱导积累和降解呈显著正相关^[56],不能产生热激蛋白的突变体在热诱导时不能获得耐热性。C. Blumenthal 等^[57]曾对 5 个小麦品种的热激蛋白与耐热性进行了研究,发现具有不同耐热性的品种在亚致死温度条件下,热诱导产生热激蛋白的种类、所需时间和获得热保护时间的长短等都存在着较大的差异。

2.1.3 热激响应信号传导机制 在分子水平上,高温会诱导热激蛋白的迅速合成与积累,而热激蛋白的表达主要受热激转录因子的调控。在高温胁迫下,热激转录因子与热激蛋白启动子区热激元件(HSE,heat shock element)特异性结合,从而调控热激蛋白基因的开启与关闭,完成相应的生物学功能。

关于小麦热激转录因子和热激蛋白之间的关系,A. Hahn 等^[58]提出了一个模型:(1)在通常情况下,HsfA1a(A1)与 Hsp70、Hsp90 结合并以一种非激活状态存在,而 HsfB1 保持低程度的表达量。(2)高温胁迫发生时,HsfA1a 和 HsfB1 从 Hsp70/Hsp90 上解离下来,并受到高温诱导表达,HsfA1a 和 HsfB1 共同调节热激基因的表达(Hsp70、Hsp90、Hsp17 和 HsfA2),HsfA1 和 HsfB1 复合体可以募集 HAC/CBP 组蛋白乙酰转移酶。(3)长时间的高温

胁迫使得 HsfA2 积累并形成 HsfA1/HsfA2 超级复合体。一部分新合成的热激蛋白和 HsfA2 聚集成了高分子量的热激颗粒(HSG,heat stress granules)。(4)在高温胁迫退却阶段,HsfA1 和 Hsp70、HsfB1 和 Hsp90 恢复结合,使得热激蛋白的量急剧下降,Hsp90 和 Hsp70 从 HSG 上解离下来。从中可以看出,小麦热激转录因子和热激蛋白之间存在着复杂的相互作用关系。

实际上,热激转录因子调控热激蛋白的表达只是高温胁迫响应过程中的一小部分。细胞膜、细胞骨架、包括新陈代谢网络在内的细胞内其他部分都能感知温度的变化并产生诸如 Ca^{2+} 、NO、ROS、代谢产物和脂质等信号,而这些信号也有可能参与高温胁迫响应^[59-62]。对植物而言,高温胁迫往往伴随有水分缺失、营养流失、光照胁迫、氧化胁迫等。另外,除了热激转录因子之外的其他类型的转录因子^[63]、胁迫诱导蛋白、新陈代谢产物、miRNA、激素(ETH、ABA、SA 和 JA)等都会参与到这些复杂的胁迫响应过程中^[40,63]。由此可见,包括高温胁迫在内的各种胁迫响应相互交织在一起形成了错综复杂的信号传导网络,因而仅仅关注热激响应本身是不够的。

3 小麦耐热性遗传改良

通过遗传改良的方法提高小麦的耐热性可以通过两条途径:传统育种方法和基因工程的方法。

3.1 传统育种方法

植物耐热性是一个受多基因控制的复杂数量性状,因而给育种带来一定困难。目前,我国小麦耐热性育种尚处于初级阶段,对耐热种质的地理分布还没有详细的研究。但从物种进化的观点来看,在一些严重热胁迫的地区可能存在着许多耐热的种质资源;如我国北方冬麦区,特别是小麦生长后期高温频率较高、干热风常发生的地区,以及干旱半干旱地区的小麦品种很可能具有不同类型的耐热优良种质资源。另外,由于小麦生长后期气温日趋增高,所以早熟可以被认为是发育特性的避热方式,另一方面晚熟品种也可能具有较好的耐热性。因此,广泛地开展小麦抗热性种质资源方面的有关研究是小麦抗热性育种的基础。

育种方法对育种成效至关重要。孙其信^[64]对四倍体小麦耐热性基因染色体定位的研究表明,3A、3B、4A、4B 和 5A 染色体上具有耐热基因位点,而细胞膜热稳定性一般也认为属于数量遗传。W. C. Wang^[65]曾报道小麦细胞的耐热性与某些特殊热

激蛋白的产生呈显著正相关,并通过离体细胞选择技术获得了耐热性明显优于对照的耐热细胞系。J. M. Moffatt 等^[66]根据叶绿素荧光测定的研究认为,小麦品种的耐热性具有较高的一般配合力和具有一定的细胞质效应,而且认为轮回选择也是积累小麦耐热基因的有效途径。正确选择小麦抗热性育种方法,进一步深入研究小麦的耐热性遗传机理,将使小麦耐热性的育种途径日趋清晰,更好地提高小麦的耐热性。

3.2 基因工程辅助技术

增强小麦耐热性,选育耐热小麦新品种将是缓解灌浆期遭遇高温造成产量损失的有效途径,也是今后一段时期我国小麦遗传育种工作面临的重要任务之一。但是,我国小麦耐热种质资源尚缺乏系统的鉴定,育种材料单一,小麦产量提高速度趋缓,单产处于徘徊状态。因此,迫切需要研发快速、高效的定向改良品种的新方法、新技术。挖掘小麦耐热基因,利用转基因和常规育种技术相结合,创制转基因耐热小麦新种质、选育转基因耐热小麦新品种将显得更为迫切。

通过基因工程的方法可以定向改良小麦的耐热性,加速选育进程。提高转基因植株耐热性的基因包括逆境传递信号网络中的激酶或者磷酸酶、渗透压保护剂和抗逆直接相关基因^[67]。然而,植物的抗逆性是一个多基因参与的协同防御反应,因此,利用一个关键调控基因促进多个功能基因的表达,增强植物的抗逆性,已经成为国际植物抗逆基因工程的新策略。

转录因子通过与靶基因启动子中的顺式元件结合,调控一组防御性基因的表达,接收信号传递启动下游基因表达。转录因子的功能及其作用机制的研究成为植物分子生物学等领域的研究热点。转录因子分为若干个家族,如 b-ZIP、MYB/C、WRKY、DREB、ERF 和 HSF 等。近年来,对介导热胁迫信号传导的转录因子的研究倍受关注。

据报道,热激转录因子在提高植物抗性中起着重要的作用。已经证实,植物 HsfA2 受高温胁迫的强烈诱导,并在高温胁迫响应过程中起至关重要的作用^[68-73]。如番茄 HsfA2 可以在高温胁迫条件下迅速积累,自身形成同源三聚体;另外可以与 HsfA1 形成异源复合体,这两种形式都可以促使热激蛋白基因的表达。对 HsfA2 基因缺失突变体进行多种胁迫处理发现,拟南芥 HsfA2 除了参与高温胁迫响应之外,还可以通过调控 GOLS1 (galactinol synthase 1)

和 APX2 (ascorbate peroxidase 2) 的表达而参与光照胁迫、氧化胁迫和缺氧胁迫的信号传导^[71,73]。拟南芥 HsfA2 过表达植株较野生型植株不仅表现出更高的耐高温水平,而且在耐盐、耐氧化、耐缺氧胁迫等方面的能力也有很大提高^[43]。此外,水稻 HsfA2e 在植物抗高温胁迫和盐胁迫方面的作用也已经被证实。热激转录因子是植物热胁迫响应基因转录水平上的中心调控者,在植物耐热性产生过程中发挥着不可替代的作用,将其超表达可以增加 HSPs 和其他胁迫相关基因的表达提高耐热性,这类基因在提高植物耐热性过程中具有广阔的应用前景^[74]。因而,热激转录因子可以作为改良植物耐热性的主要候选基因之一。

DREB 转录因子也参与了植物耐热响应。据报道,拟南芥 DREB2A 调节干旱、高盐和低温等多种胁迫响应。有研究显示,当受到高温胁迫时,DREB2A 可以直接结合 HsfA3 的启动子并启动 HsfA3 的表达,从而提高植株耐高温能力;而 DREB2A 的缺失突变体则表现为耐高温能力下降^[71]。这说明 DREB 转录因子不仅在干旱胁迫响应方面发挥作用,而且可能是高温胁迫信号通路的一部分。因而,DREB 转录因子也可以作为改良植物耐热性的主要候选基因之一。

翻译延伸因子 (EF-Tu, elongation factor) 是参与蛋白翻译延伸的一类重要的蛋白质,通过在核糖体上催化氨基酸链的延伸而推动、控制蛋白质的合成,其中延伸因子 EF-Tu 是细胞内与翻译机制有关的蛋白质中含量最高的蛋白,在原核生物以及植物线粒体和质体等细胞的蛋白质合成延伸阶段发挥着重要的作用^[75]。J. Fu 等^[76]推测 EF-Tu 基因的过量表达可能会加强作物的耐热性。在耐热玉米系 ZP-BL1304 的研究中,最早报道了质体 EF-Tu 的诱导表达和积累,并初步认为是 45kD 的热激蛋白^[77],在玉米的一些杂交种中质体 EF-Tu 的积累与耐热性呈正相关^[78]。在高温胁迫(或高温干旱双重胁迫)条件下能够诱导质体 EF-Tu 蛋白的合成和积累^[79];在成熟春小麦中热胁迫可以同时诱导 EF-Tu 和 EF-1 α 的表达和积累^[80],可以看出 EF-Tu 对植物耐热性起着重要的作用。

近年通过转基因手段获得了一些转基因植株^[81]。目前,通过多个抗性遗传背景快速聚合,或通过一个或少数几个重要功能调控基因的导入来调控下游一系列基因的快速、高效表达,以提高作物抗性的转基因育种方法是近年来基因工程育种的

热点。

利用转基因小麦特异种质,通过温室加代、幼胚培养、分子标记选择、有限回交/滚动回交等手段,开展转基因小麦新品系、新种质的快速、定向培育,提升我国小麦品种耐热性的总体水平,是对常规育种技术的改良。该技术的优点是可以当地推广品种为回交材料,将转基因技术与回交育种技术相结合,可以定点改良当地品种的某一缺点,准确性更高;另外通过连续回交加速了目的基因在后代植株中的纯合与稳定,大大缩短了育种年限。

由此可见,挖掘农作物耐热关键基因,采用转基因、分子标记、抗旱性选择手段与常规育种技术的密切结合,开展转基因小麦育种是改良小麦耐热性的有效途径之一,也是今后小麦耐热育种的一个发展方向。

4 问题与展望

高温胁迫是影响农作物生长和限制作物产量提高的主要的非生物胁迫因素之一,培育耐高温农作物品种是当前和今后作物育种工作面临的一个重要课题。目前,关于植物耐热的研究主要集中在拟南芥、水稻等少数植物,而小麦耐热基因的克隆与功能分析则鲜有报道,对于小麦耐热机理的研究仍处于起始阶段^[82]。近年来,小麦的耐热性研究逐渐成为小麦研究的热点,合理高效耐热种质资源的筛选,现有植物感受高温信号通路的研究和小麦耐热机理的揭示都将为培育耐热性小麦奠定良好的基础。

通过基因工程改良小麦耐热性的难点在于优良耐热基因的发掘与小麦的遗传转化效率的提高。尽管我国小麦转基因研究已经有了很大发展,但是具有自主知识产权的有育种价值的重要基因(尤其耐热基因)不多,还需要进一步加强有重要利用价值基因的挖掘工作。目前,小麦基因组测序已经完成^[83],这将会显著提高耐热小麦基因的挖掘速度。进一步明确小麦中的高温传感器和高温胁迫传导通路上的关键点是小麦耐热性研究的重点,这也将为以后用基因工程的方法研究和培育新的耐热性小麦品种奠定良好的基础。

参考文献

- [1] Rosegrant M W, Cline S A. Global food security: challenges and policies [J]. *Science*, 2003, 302: 1917-1919
- [2] Sayre K D, Rajaram S, Fischer R A, et al. Yield potential progress in short bread wheats in northwest Mexico [J]. *Crop Sci*, 1997, 37: 36-42
- [3] Nagarajan S. Can India produce enough wheat even by 2020? [J]. *Curr Sci*, 2005, 89: 1467-1471
- [4] 王绍忠, 郑天存, 郭天财, 等. 河南小麦育种栽培研究进展 [M]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2007: 250-255
- [5] 柴春祥, 施婉君, 蔡悦, 等. 电子鼻检测鸡肉新鲜度的研究 [J]. *食品科学*, 2009, 30(2): 170-173
- [6] 刘辉, 牛智有. 电子鼻技术及其应用研究进展 [J]. *中国测试*, 2009, 35(3): 6-10
- [7] 贾宗艳, 任发政, 郑丽敏. 电子鼻技术及在乳制品中的应用研究进展 [J]. *中国乳品工业*, 2006, 34(4): 35-38
- [8] 黄玲, 张正斌, 崔玉亭, 等. 小麦叶片蜡质含量与水分利用效率和产量的关系 [J]. *麦类作物学报*, 2003, 23(3): 41-44
- [9] Richards R A, Rawson H M, Johnson D A. Glaucousness in wheat; its development and effect on water-use efficiency, gas exchange and photosynthetic tissue temperature [J]. *Aust J Plant Physiol*, 1986, 13: 465-473
- [10] Fischer R A, Maurer O R. Crop temperature modification and yield potential in a dwarf spring wheat [J]. *Crop Sci*, 1976, 16: 855-859
- [11] He Z H, Rajaram S. Differential response of bread wheat characters to high temperature [J]. *Euphytica*, 1994, 72: 197-203
- [12] Johnson R C, Kanemasu E T. Yield and development of winter wheat at elevated temperatures [J]. *Agron J*, 1983, 75: 561-565
- [13] Smika D E, Shawcroft R W. Preliminary study using a wind tunnel to determine the effect of hot wind on a wheat crop [J]. *Field Crop Res*, 1980, 3: 129-135
- [14] Rahman M S, Wilson J H. Determination of spikelet number in wheat III. effect of varying temperature in ear development [J]. *Aust J Agr Res*, 1978, 29: 459-467
- [15] Friend D J C. Ear length and spikelet number of wheat grown at different temperatures and light intensities [J]. *Can J Bot*, 1965, 43: 345-353
- [16] Frank A B, Bauer A. Effect of air temperature and water stress on apex development in spring wheat [J]. *Crop Sci*, 1987, 27: 113-116
- [17] 许为钢, 胡琳, 盖钧镛, 等. 小麦耐热性研究 [J]. *华北农学报*, 1999, 14(2): 1-5
- [18] 董建力, 李树华, 王敬东, 等. 热胁迫下春小麦品种产量性状耐热性差异及相关分析 [J]. *西北农业学报*, 2008, 17(2): 70-73
- [19] 陈希勇, 孙其信, 孙长征, 等. 春小麦耐热性表现及其评价 [J]. *中国农业大学学报*, 2000, 5(1): 43-49
- [20] Blum A, Ebercon A. Cell membrane stability as a measure of drought and heat tolerance in wheat [J]. *Crop Sci*, 1981, 21: 43-47
- [21] Blum A, Klueva N, Nguyen H T. Wheat cellular thermo tolerance is related to yield under heat stress [J]. *Euphytica*, 2001, 117: 117-123
- [22] Balota M, Amani I, Reynolds M P, et al. Evaluation of membrane thermo stability and canopy temperature depression as screening traits for heat tolerance in wheat [M]. Mexico: CIMMYT, 1993
- [23] 张嵩午, 刘党校. 冷型小麦品质稳定性的研究 [J]. *自然科学进展*, 2007, 17(1): 29-30
- [24] Khoshkholgh A, Ando B. Effect of food environments, particularly sodium ion on the synthesis of chlorophyll and plant growth C4 [C]//Abstracts Third Crop Science Congress of Iran. Iran: Tabriz University, 1995
- [25] Klinkovsky T, Naus J. Sensitivity of the relative Fpi level of chlorophyll fluorescence induction in leaves to the heat stress [J]. *Photosynth Res*, 1994, 39: 201-204
- [26] 陈哈竹, 李晓萍, 夏丽, 等. 叶绿素荧光技术在植物环境胁迫研究中的利用 [J]. *热带亚热带植物学报*, 1995, 3(4): 79-86
- [27] Mofat J M, Sears G, Cox T S, et al. Wheat high temperature tolerance during reproductive growth. I. Evaluation by chlorophyll fluorescence [J]. *Crop Sci*, 1990, 30: 881-885
- [28] 马晓娣, 王丽, 江矛, 等. 不同耐热性小麦品种在热锻炼和热

- 胁迫下叶片相对电导率及超微结构的差异[J]. 中国农业大学学报, 2003, 8(3): 4-8
- [29] 刘东焕, 赵世伟, 高芙孚, 等. 植物光合作用对高温的响应[J]. 植物研究, 2002, 22(2): 205-212
- [30] Sundby C, Melis A, Maenpaa P, et al. Temperature-dependent changes in the antennae size of Photosystem II: Reversible conversion of Photosystem II α to Photosystem II β [J]. Biochim Biophys Acta, 1986, 851: 475-483
- [31] Pete G. Increased thermostability of pigment-protein complexes of pea thylakoids following catalytic hydrogenation of membrane lipids [J]. Biochim Biophys Acta, 1986, 849: 131-140
- [32] 刘萍, 郭文善, 浦汉春, 等. 灌浆期高温对小麦剑叶抗氧化酶及膜脂过氧化物的影响[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2403-2407
- [33] 郭天财, 王晨阳, 朱云集, 等. 后期高温对冬小麦根系及地上部衰老的影响[J]. 作物学报, 1998, 24(6): 957-962
- [34] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: an overview [J]. Environ Exp Bot, 2007, 61: 199-223
- [35] Hamada F N, Rosenzweig M, Kang K, et al. An internal thermal sensor controlling temperature preference in *Drosophila* [J]. Nature, 2008, 72(1): 217-220
- [36] Ward J M. Plant ion channels: gene families, physiology and functional genomics analyses [J]. Annu Rev Physiol, 2009, 71: 59-82
- [37] Reddy A S. Coping with stresses: roles of calcium and calcium/calmodulin-regulated gene expression [J]. Plant Cell, 2011, 23: 2010-2032
- [38] Snedden W A, Fromm H. Calmodulin as a versatile calcium signal transducer in plants [J]. New Phytol, 2001, 151: 35-66
- [39] Liu H C. The role of class A1 heat shock factors (HsFA1s) in response to heat and other stresses in *Arabidopsis* [J]. Cell Stress Chaperone, 2011, 34: 738-751
- [40] Mittler R, Vanderauwera S, Suzuki N, et al. ROS signaling: the new wave? [J]. Trends Plant Sci, 2011, 16: 300-309
- [41] 李利红, 杨亚军, 赵会杰, 等. 外源 Ca²⁺ 对高温强光胁迫下灌浆期小麦叶片光合机构运转的影响[J]. 植物生理学通讯, 2009(9): 851-854
- [42] Neill S J, Desikan R, Clarke A, et al. Hydrogen peroxide and nitric oxide as signalling molecules in plants [J]. J Exp Bot, 2002, 53: 1237-1247
- [43] Banti V, Mafessoni F, Loreti E, et al. The heat-inducible transcription factor HsfA2 enhances anoxia tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2010, 152: 1471-1483
- [44] Volkov R A, Panchuk I, Mullineaux P M, et al. Heat stress-induced H₂O₂ is required for effective expression of heat shock genes in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2006, 61: 733-746
- [45] Konigshofer H, Tromballa H W, Loppert H G. Early events in signalling high-temperature stress in tobacco BY2 cells involve alterations in membrane fluidity and enhanced hydrogen peroxide production [J]. Plant Cell Environ, 2008, 31: 1771-1780
- [46] Clapier C R, Cairns B R. The biology of chromatin remodeling complexes [J]. Annu Rev Biochem, 2009, 78: 273-304
- [47] Liu C, Lu F, Cui X, et al. Histone methylation in higher plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 2010, 61: 395-420
- [48] Kumar S V, Wigge P A. H2A. Z-containing nucleosomes mediate the thermosensory response in *Arabidopsis* [J]. Cell, 2010, 140: 136-147
- [49] Wahid A, Gelani S, Ashraf M, et al. Heat tolerance in plants: an overview [J]. Environ Exp Bot, 2007, 61(3): 199-223
- [50] Boston R S, Viitanen P V, Vierling E. Molecular chaperones and protein folding in plants [J]. Plant Mol Biol, 1996, 32(1-2): 191-222
- [51] Vierling E. The role of heat shock proteins in plants [J]. Annu Rev Plant Biol, 1991, 42: 579-620
- [52] Nieto-Sotelo J, Martínez L M, Ponce G, et al. Maize HSP101 plays important roles in both induced and basal thermotolerance and primary root growth [J]. Plant Cell, 2002, 14: 1621-1633
- [53] Yang K, Lim C J, Hong J K, et al. Identification of cell wall genes modified by a permissive high temperature in Chinese cabbage [J]. Plant Sci, 2006, 171: 175-182
- [54] Miroschnichenko S, Tripp J, Nieden U, et al. Immunomodulation of function of small heat shock proteins prevents their assembly into heat stress granules and results in cell death at sublethal temperatures [J]. Plant J, 2005, 41: 269-281
- [55] Yamada K, Fukao Y, Hayashi M, et al. Cytosolic HSP90 regulates the heat shock response that is responsible for heat acclimation in *Arabidopsis thaliana* [J]. J Biol Chem, 2007, 282: 37794-37804
- [56] Macleod L C. Reduced starch content and source synthesis activity in developing endosperm of barley plant grown at elevated temperatures [J]. Funct Plant Biol, 1988, 15: 367-375
- [57] Blumenthal C. The acquisition and maintenance of thermotolerance in Australian wheats [J]. Funct Plant Biol, 1990, 17: 37-47
- [58] Hahn A, Bublak D, Schleiff E, et al. Crosstalk between Hsp90 and Hsp70 chaperones and heat stress transcription factors in tomato [J]. Plant Cell, 2011, 23: 741-755
- [59] McClung C R, Davis S J. Ambient thermometers in plants: from physiological out-puts towards mechanisms of thermal sensing [J]. Curr Biol, 2010, 20(24): 1086-1092
- [60] Ruelland E, Zachowski A. How plants sense temperature? [J]. Environ Exp Bot, 2010, 69: 225-232
- [61] Saidi Y, Peter M, Finka A, et al. Membrane lipid composition affects plant heat sensing and modulates Ca²⁺-dependent heat shock response [J]. Plant Signal Behav, 2010, 51: 1530-1533
- [62] Saidi Y, Finka A, Goloubinoff P. Heat perception and signalling in plants: a tortuous path to thermo tolerance [J]. New Phytol, 2011, 190: 556-565
- [63] Kotak S, Vierling E, Baumlein H, et al. A novel transcriptional cascade regulating expression of heat stress proteins during seed development of *Arabidopsis* [J]. Plant Cell, 2007, 19: 182-195
- [64] 孙其信. 四倍体小麦耐热性基因的染色体定位[C]//第二届全国青年作物遗传育种学术论文集. 北京: 中国科学出版社, 1991: 93-96
- [65] Wang W C. Thermal stress evaluation of suspension cell cultures in wheat [J]. Plant Cell Rep, 1988, 8: 108-111
- [66] Moffatt J M. Wheat high temperature tolerance during reproductive growth I. Genetic analysis of chlorophyll II fluorescence [J]. Crop Sci, 1990, 30: 886-889
- [67] Katiyar-Agarwal S, Agarwal M, Grover A. Heat-tolerant basmati rice engineered by over-expression of hsp101 [J]. Plant Mol Biol, 2003, 51: 677-686
- [68] Heerklotz D, Doring P, Bonzelius F, et al. The balance of nuclear import and export determines the intracellular distribution and function of tomato heat stress transcription factor HsfA2 [J]. Mol Cell Biol, 2001, 21: 1759-1768
- [69] Mishra S K, Tripp J, Winkelhaus S, et al. In the complex family of heat stress transcription factors, HsfA1 has a unique role as master regulator of thermo tolerance in tomato [J]. Gene Dev, 2002, 16: 1555-1567
- [70] Scharf K D, Rose S, Zott W, et al. Three tomato genes code for heat stress transcription factors with a region of remarkable homology to the DNA-binding domain of the yeast HSF [J]. EMBO J, 1990, 9: 4495-4501
- [71] Schramm F, Ganguli A, Kiehlmann E, et al. The heat stress transcription factor HsfA2 serves as a regulatory amplifier of a subset of genes in the heat stress response in *Arabidopsis* [J]. Plant Mol Biol, 2006, 60: 759-772
- [72] Chang Y Y, Liu H C, Liu N Y, et al. A heat-inducible transcription factor, HsfA2, is required for extension of acquired thermo tolerance in *Arabidopsis* [J]. Plant Physiol, 2007, 143: 251-262