

文章编号: 1005-0906(2013)03-0076-06

玉米耐寒性生理生化机理与 分子遗传研究进展

马延华^{1,2}, 王庆祥¹, 陈绍江³

(1. 沈阳农业大学农学院, 沈阳 110866; 2. 黑龙江省农业科学院草业研究所, 哈尔滨 150086;

3. 中国农业大学/国家玉米改良中心, 北京 100193)

摘要: 玉米是对低温逆境较为敏感的重要禾谷类作物。早春低温冷害是我国北方春玉米区的主要自然灾害之一, 已成为影响玉米产量水平提高的重要因素。从膜脂过氧化、光合作用、外源激素以及脯氨酸、可溶性蛋白质含量等方面阐述玉米耐寒性生理生化机理研究进展, 简述近年来对玉米耐寒性 QTL 定位和分子信号转导以及基因克隆转化方面的研究概况, 对玉米耐寒性研究方面存在的问题及今后的研究方向进行探讨。

关键词: 玉米; 耐寒性; 生理生化机理; 分子遗传

中图分类号: S513.01

文献标识码: A

Research Progress on Physio-biochemistry and Molecular Genetics of Chilling Tolerance in Maize

MA Yan-hua^{1,2}, WANG Qing-xiang¹, CHEN Shao-jiang³(1. *Agronomy College, Shenyang Agricultural University, Shenyang 110866;*2. *Institute of Pratacultural Sciences, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086;*3. *China Agricultural University, National Maize Improvement Center of China, Beijing 100193, China*)

Abstract: As an important cereal crop, maize is sensitive to chilling stress. Early spring chilling damage is one of the main natural disasters in northern spring maize region. It has become an important factor that elevated maize yield level in this region. The research progress on physio-biochemistry of chilling tolerance in maize was summarized from the aspects of membrane lipid peroxidation, photosynthesis, exogenous hormones, proline and soluble protein content. Current advance in QTL analysis, molecular signal conduction, gene clone and transform for chilling tolerance in the recent years were reviewed. The problems and perspectives of maize chilling tolerance were also provided.

Key words: Maize; Chilling tolerance; Physio-biochemistry; Molecular genetic

玉米是重要的粮食、饲料和工业原料作物,也是世界上种植最广泛的作物之一。玉米低温冷害是我国东北和其他省份高寒山区严重的自然灾害,也是不少国家和地区普遍性的严重灾害^[1-4]。我国东北地区平均 3~4 年遭受一次冷害,在低温冷害严重年份

玉米减产达 20% 以上^[5]。近年来,气候异常导致极端天气频现,区域性和阶段性玉米低温冷害时有发生。春季低温冷害已成为限制东北地区玉米产量水平提高的主要环境因素之一。因此,深入开展玉米耐寒性研究,通过遗传改良提高玉米耐寒性,是保证北方春玉米区粮食安全生产的有效途径之一。

长期以来,植物学家对玉米适应低温胁迫的生理生化及分子遗传机制进行深入研究,以期能提高玉米的耐寒性。本文从玉米耐寒性生理生化机理、遗传和数量性状位点的分子检测、分子信号转导以及基因克隆转化等方面的研究进展进行综述,为进一步深入开展玉米耐寒性研究提供参考。

收稿日期: 2012-05-09

基金项目: 国际科技合作项目(2011DFR30840)

作者简介: 马延华(1977-),男,黑龙江延寿人,助理研究员,在读博士,主要从事玉米遗传育种研究。Tel: 13836161800

E-mail: mayanhua1234@163.com

王庆祥为本文通讯作者。

1 玉米耐寒性生理生化机理研究

玉米是喜温作物,在生长早期对低温特别敏感,品种对低温冷害所具有的抵抗性或忍耐性被称为耐寒性。玉米生长的最适宜温度为 30℃~35℃,当温度低于 10℃植株生长明显缓慢,6℃~8℃时停止生长,温度更低时细胞和组织产生不可逆的损害。芽期冷害引起出苗率降低、出苗迟缓、成苗率减少;苗期遭遇低温引起幼苗萎蔫,甚至死亡,导致巨大的产量损失^[6~7]。冷胁迫下玉米形态发生变化源于其体内所发生的一系列生理生化反应。

1.1 细胞膜组分及膜脂过氧化与玉米耐寒性

植物细胞膜系统是冷害过程最敏感部位。细胞膜在低温下由液相转变为凝胶相,膜外形和厚度发生变化,导致细胞膜透性上升,膜酶和酶系功能改变,引起细胞代谢紊乱。低温胁迫引起细胞膜结构破坏是导致植物冷害损伤和死亡的根本原因,而膜系统修复能力是膜功能得到有效行使的关键。相关研究表明,细胞膜结构的稳定性与玉米品种的耐寒性呈正相关,耐寒性强的玉米品种膜透性增大程度较慢,而耐寒性弱的品种膜透性增大迅速,造成细胞膜严重损伤^[8]。Kaniuga 等研究表明,玉米膜脂中不饱和脂肪酸含量与耐寒性呈显著正相关^[9]。

玉米在低温胁迫下细胞膜系统的损伤与自由基和活性氧引起的膜脂过氧化有关。自由基、活性氧和清除它们的酶类和非酶类物质在正常条件下维持平衡状态,但在低温冷害条件下,自由基清除系统物质的含量或活性下降,活性氧自由基明显增加,当其积累超过阈值时,就会引起膜脂过氧化。膜脂过氧化物丙二醛(MDA)大量积累,造成膜透性上升,电解质外渗,导致细胞膜系统严重损伤。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)及抗坏血酸氧化酶(ASP)等抗氧化酶和抗坏血酸、谷胱甘肽等抗氧化剂构成了植物的抗氧化系统。张毅等研究表明,低温胁迫导致玉米 SOD 活性急剧降低,耐寒性强的品种其 SOD 活性下降速率较耐寒性弱的品种缓慢^[10]。Ahmad 等利用抗坏血酸、过氧化氢处理玉米种子进行低温下发芽试验,结果表明,抗坏血酸、过氧化氢处理玉米种子,能增强过氧化氢酶及过氧化物酶活性,从而提高玉米萌发期耐寒性^[11]。高灿红等研究表明,低温胁迫下耐寒玉米自交系根、中胚轴、胚芽鞘 3 个部位的 CAT、POD 活性和变化率均高于寒敏感自交系。王瑞研究表明,玉米幼苗 POD 活性在低温胁迫的初期有所下降,在低温诱导下持

续增加,并随着胁迫程度的加强,POD 活性增加幅度也增大。耐寒性强的品种 POD 活性增加幅度小;低温胁迫下玉米幼苗叶片 SOD、CAT 活性变化随着温度降低先上升后下降,就同一温度而言,耐寒品种下降幅度明显小于不耐寒品种^[12]。

1.2 光合作用与玉米耐寒性

低温胁迫对植物光合色素含量、叶绿体亚显微结构、光合能量代谢及光合系统活性等一系列重要的生理生化过程均有明显影响。在低温处理下玉米的叶绿素含量明显下降。同时,低温冷害限制了玉米叶片生长,光合作用有效的叶片面积减小,抑制了玉米的光合作用^[13~15]。在低温胁迫下,随着温度下降和低温胁迫时间延长,玉米幼苗叶片叶绿素荧光参数呈上升趋势,而光系统 PS II 的潜在活性、最大光能转换效率均呈下降趋势^[16~18]。Feierabend 等研究发现,低温导致与光合作用有关的过氧化氢酶发生光失活和可变荧光参数下降,进而抑制玉米光合作用^[19]。Kingston-Smith 等发现,玉米在低温胁迫下,NADP 苹果酸脱氢酶和 Rubisco 活化酶活力很低^[20]。低温还会干扰韧皮部的装载,不同耐寒品种低温下韧皮部的装载能力与其耐寒性相一致^[21]。Fracheboud 等研究发现,低温下玉米不同耐寒品种光合速率变化的差异与其耐寒性相一致^[22]。王迎春等研究发现,光合速率降低幅度较小的玉米品种具有较强耐寒特性^[23]。

1.3 激素和 Ca²⁺ 等物质与玉米耐寒性

植物激素被认为是调控种子萌发和休眠的重要信号物质,可广泛参与各种生理过程的调节,通过调节某种平衡状态启动耐寒基因表达。脱落酸(ABA)、赤霉素(GA)、油菜素内酯(BR)、多胺等物质对植物耐寒性有明显调节作用。ABA 含量变化与玉米品种间耐寒性差异密切相关,Janowiak 等通过分析耐寒性具有明显差异的 20 个玉米品种在低温胁迫下 ABA 含量变化时发现,耐寒品种 ABA 积累量明显比寒敏感品种快^[24],在田间自然低温条件下也得到一致结果^[25];同样外源 ABA 处理也可以促进玉米低温下萌发能力,提高幼苗生长状况^[26]。BR 参与玉米对低温适应性的调节,对低温下膜结构和功能具有保护作用,从而提高玉米耐寒性^[27~29]。GA 可缓解低温胁迫对玉米种子萌发的抑制作用,明显促进低温条件下种子萌发^[30~31]。亚精胺(Spd)和精胺(Spm)处理能增强玉米种子的抗氧化胁迫能力,提高玉米种子吸胀期间的耐寒性,提高低温胁迫下种子发芽能力^[32~33]。

Ca²⁺ 能缓解低温下玉米质膜透性升高,维持线

粒体膜系统的稳定性,从而增强玉米的耐寒性^[34]。 Ca^{2+} 通过传递低温信息诱导耐寒基因的表达而提高玉米的耐寒性^[35~36]。

1.4 脯氨酸与玉米耐寒性

脯氨酸与构成蛋白质的其他氨基酸不同之处在于含有亚氨基,能促进蛋白质水合作用,使可溶性蛋白质沉淀,对植物具有一定的抗性和保护作用^[37]。因此,脯氨酸在植物体内作为一种理想的渗透调节物质受到广泛关注。已有研究表明,玉米游离脯氨酸含量与耐寒性呈正相关^[38]。高灿红等指出,玉米幼苗中胚轴对低温反应最敏感,中胚轴脯氨酸含量变化率与玉米耐寒性关系最密切。王迎春等研究表明,脯氨酸浓度提高显著的玉米品种具有较强的耐寒特性。简令成等研究表明,经过低温锻炼的玉米种苗脯氨酸含量较常温下生长的显著增加,可保护锻炼植株在冷胁迫中膜结构的稳定性,避免伤害^[39]。脯氨酸也可作为膜稳定剂防止细胞冰冻脱水而引起伤害^[40]。

1.5 可溶性蛋白与玉米耐寒性

在植物体内,可溶性蛋白可作为能量物质和信息传递物质在植物抵御逆境过程中起到较大作用。低温下可溶性蛋白含量提高,会增加细胞液渗透浓度和功能蛋白数量,有利于维持细胞正常代谢。因此,可溶性蛋白的含量与植物耐寒性间有密切关系。由于选用试验材料及低温处理方法不同,有关可溶性蛋白含量与玉米耐寒性关系的研究结论不一致。许多学者研究表明,耐寒性强的玉米品种可溶性蛋白含量高。随着低温胁迫深入,可溶性蛋白含量增加,耐寒性强的品种增加幅度大于耐寒性差的品种。王瑞研究表明,低温胁迫使玉米幼苗可溶性蛋白含量呈先上升后下降趋势,耐寒性强的品种变化幅度显著小于耐寒性差的品种。李俊明将玉米自交系3叶期幼苗在2℃低温下处理,处理过程中总蛋白含量减少,可溶性蛋白含量增加,耐寒性强的自交系比耐寒性弱的自交系可溶性蛋白含量低^[41]。

可溶性蛋白有相当一部分是参与生化反应的酶,这些酶受低温直接或间接影响而发生活性变化。SOD、POD、CAT等抗氧化酶系统在低温胁迫下,表现活力降低,经低温锻炼后,活性比未锻炼者高。同时,耐寒品种的相应酶活性比不耐寒品种高。ATP酶是膜束缚的一种功能性蛋白,在能量代谢等生理功能上具有重要作用。ATP酶活性较稳定的植物,其耐寒性较强。方华等研究发现,低温下玉米线粒体、叶绿体ATP酶活性下降,耐寒性强的自交系酶活性下降幅度远小于耐寒性弱的自交系^[42]。对过氧化氢

酶和过氧化物酶活力及其同工酶的大量研究表明,耐寒性强的玉米自交系比耐寒性弱的自交系过氧化物酶活力高,过氧化物酶同工酶数量多。Leipner等研究发现,在耐寒性较强的玉米品种中,作为 C_4 循环途径酶中主要酶的丙酮酸磷酸双激酶(PPDK)和苹果酸脱氢酶(MDH)活性明显高于寒敏感品种^[43]。Saczynska等发现,玉米耐寒性与叶绿体中半乳糖脂酶特性和水平有关,耐寒品种中该酶活较低,寒敏感品种中该酶活较高^[44]。

2 玉米耐寒性的分子遗传研究

玉米耐寒性属于数量性状遗传,受多基因控制,易受环境条件影响^[45~46]。随着高密度遗传连锁图谱构建,从分子水平上深入理解玉米耐寒性机理、挖掘耐寒性的QIL及候选基因成为可能。一些学者从玉米耐寒性QIL定位、耐寒基因克隆及转化等方面已经开展了一些相关研究。

2.1 玉米耐寒性QIL定位

近20年,相关玉米产量、品质、抗逆性和许多重要农艺性状的QIL定位已取得了很大成就,但国内外有关玉米耐寒遗传及数量性状基因定位的研究报道很少。Fracheboud等以BAC7643×Ac7729/TZ构建的RILs群体,对玉米幼苗在低温胁迫下光合作用系统的耐寒性进行QIL检测,检测到多个QIL中,其中位于第3染色体上的QIL为主效QIL,可解释28%的表型变异,该QIL在多个与光合作用相关指标中均能检测到,仅在低温胁迫下特异表达。Fracheboud等利用ETH-DH7×ETH-DL3构建的 $F_{2:3}$ 群体,以叶绿素荧光参数为鉴定指标,检测到玉米幼苗耐寒性主效QIL分布在第6染色体上,该QIL不仅能解释低温胁迫下慢性光抑制变异的37.4%,且与地上部分干物质重、暗反应速率等显著相关^[47]。Hund等利用Lo964×Lo1016构建 $F_{2:3}$ 群体,对低温胁迫下玉米幼苗根部和芽发育的QIL进行定位,共检测到20个QIL,其中位于第5染色体的QIL为主效QIL,能解释12%的萌芽指数变异以及14%的初生侧根长度变异^[48]。Jompuk等利用ETH-DH7×ETH-DL3构建的 $F_{2:3}$ 群体,以叶绿素荧光参数和叶绿素含量为指标,检测玉米苗期耐寒性主效QIL分布在第6染色体上^[49],而Leipner等利用这个群体对玉米幼苗在低温胁迫下光合作用系统的耐寒性进行QIL检测,检测到玉米幼苗耐寒性主效QIL分布在第3染色体上。Guerra-Peraza等利用B73×Mo17构建IBM302群体,以玉米叶片叶绿素含量及光合量

子效率为指标,检测到玉米耐夜间低温的主效 QIL 分布在第 5 染色体上,推测可能位于编码花青素合成酶基因位点^[50]。

通过玉米耐寒性 QIL 定位,可获得与耐寒基因紧密连锁的分子标记,为开展玉米耐寒分子标记辅助选择提供标记资源。并且可以对在多个环境下稳定表达的耐寒主效 QIL 进行精细定位和图位克隆,为利用转基因技术提高玉米耐寒能力提供基因资源。

2.2 信号分子转导

植物感受低温胁迫后,将其形成的信号在体内进行一系列传递,最终激活特定基因表达,在生理生化上做出应答反应。植物对低温胁迫信号转导途径主要有依赖 Ca^{2+} 的 MAPK 信号转导、不依赖 Ca^{2+} 的 MAPK 信号转导途径及依赖 Ca^{2+} 的 SOS 信号转导^[51]。低温能诱导玉米胚芽中编码两种脯氨酸富集蛋白基因 *HyRP* 和 *HRGP* 表达,这两种蛋白均有明显提高玉米耐寒性能力^[52]。Berberich 等研究表明,低温可诱导玉米 *ZmCDPK1* 基因,该基因编码一种钙依赖蛋白激酶,因此, Ca^{2+} 信号对于玉米响应冷胁迫十分重要^[53]。低温胁迫产生的信号能够诱导抗氧化酶基因表达,进而启动抗氧化系统,从而保护细胞内各个器官组织免遭破坏。玉米中存在着不依赖于 ABA 信号转导途径,Qin 等研究表明,冷胁迫诱导玉米产生 ERF/AP2 类型的转录因子,这些转录因子中的 *ZmDREB1A* 在冷胁迫下诱导表达,但不被 ABA 诱导^[54]。刘晓敏从玉米基因组中分离得到低温、干旱诱导型启动子(LsP),并转入烟草进行 GUS 检测,证明该启动子具有低温诱导活性。因此,可用该启动子启动抗低温基因提高植物耐寒性^[55]。

2.3 玉米耐寒基因克隆与转化

随着分子生物学技术的快速发展,玉米耐寒基因源鉴定、重要基因分离、克隆和转化等方面取得了较大进展。Berberich 等分离到玉米脂肪酸去饱和酶基因 *ZmFAD8*,发现低温能诱导其在玉米幼苗叶片中表达^[56]。Al-Abed 等利用 Split-seed 方法将拟南芥中的 *CBF3* 基因转入到玉米基因组中,结果显示,低温胁迫诱导的 *CBF3* 过表达具有提高玉米耐寒性能力^[57]。Kemodle 等克隆了玉米叶绿体 *Cu/ZnSOD* 基因的部分片段,其启动子区含有与光、低温胁迫有关的反应元件^[58]。Breusegem 等将烟草 *MnSOD* 和拟南芥的 *FeSOD* 分别转化玉米,结果使玉米的抗氧化能力和耐寒性均得到提高,在低温胁迫下转基因玉米生长速率高于对照^[59]。刘汉梅等采用 RT-PCR 方法克

隆过氧化氢酶 *CAT3* 基因,能清除在低温胁迫下线粒体内产生的过量 H_2O_2 、降低氧化对植物产生的伤害,从而提高玉米耐寒性^[60]。刘汉梅等用 mRNA 差异显示技术分离玉米幼苗在不同低温处理下 10 条差异表达的基因,结果表明,*MC116*、*Cat3* 等基因受低温诱导表达,对提高玉米耐寒性起积极作用^[61]。Prasad 等研究了玉米经冷锻炼后与氧化胁迫有关酶类表达及活性变化,利用差减杂交方法克隆了 3 个受低温诱导表达的基因^[62]。王琦等应用生物信息学分析,筛选获得了玉米中的 3 个 CIPK 功能基因,其中 *ZmCIPK17* 和 *ZmCIPK18* 基因在干旱和低温胁迫下发挥重要的调控作用^[63]。刘彦丹等从玉米抗旱自交系 CN165 中克隆得到了与逆境胁迫相关的 *bZIP* 基因 *ZmbZIP71*,在低温(4°C) 处理条件下,该基因在根中出现明显的上调表达趋势,因此推测 *ZmbZIP71* 基因可能在玉米低温胁迫响应过程中具有重要作用^[64]。Yang 等利用电子克隆方法克隆出 3 个新的玉米抗冷相关基因,分别命名为 *ZmMAPKKK*、*ZmCLC-D* 和 *ZmRLK*,qRT-PCR 结果表明,冷胁迫强烈诱导这 3 个基因的表达,利用农杆菌介导法对玉米进行了遗传转化,得到再生植株 56 株^[65]。Kong 等从郑单 958 根系中分离到一个促分裂原活化蛋白激酶 C 族 MAPKK 基因(命名为 *ZmMKK4*),对其序列特征、表达模式以及过表达转基因拟南芥的抗逆生理功能进行研究,结果表明,低温处理条件下,过量表达 *ZmMKK4* 基因的转基因拟南芥幼苗比野生型拟南芥幼苗叶绿素含量高,转基因拟南芥植株比野生型拟南芥植株存活率高,表明玉米 *ZmMKK4* 基因表达可提高转基因拟南芥植株耐寒性^[66]。Quan 等将胆碱脱氢酶 *betA* 基因转入玉米中,在低温条件下种子表现出较强萌发力,转基因植株的其他各项耐寒性指标均有显著提高^[67]。Ohta 等将编码玉米丙酮酸磷酸双激酶(PPDK)基因转化导入玉米中,在低温条件下,转基因植株比非转基因植株的耐寒性明显增强^[68]。

3 展望

3.1 深入开展玉米耐寒性遗传机制研究

玉米耐寒性生理途径及遗传机制复杂,涉及光合作用、呼吸作用及抗氧化胁迫等多条代谢途径。不同品种可能具有不同的耐寒机制,即使同一个品种在不同生育阶段其耐寒机制可能存在差异。因此,有关玉米耐寒性具体的遗传机制仍不是十分清楚,特别是对冷信号转导机制、冷调控基因表达方式及产物的功能等知之甚少。今后应进一步加强玉米耐寒

性遗传机制研究,为高效耐寒育种提供技术与理论基础。

3.2 加强玉米耐寒性的分子标记定位研究

相关学者检测到一些与玉米耐寒性相关的 QIL,由于采用的作图群体、环境条件以及统计分析方法不同,所检测到的耐寒性 QIL 数量和染色体上的位置不一致,且已鉴定的大多数玉米耐寒 QIL 区间较大,属初级定位,还需对这些区域进行精确定位。因此,今后应继续加强玉米耐寒性基因定位研究工作,通过高密度遗传图谱构建、作图群体改进、定位统计方法的完善以及采用多年多点耐寒性鉴定,找出能够重复检测、对表型变异解释较大并能稳定遗传的 QIL。通过获得与玉米耐寒基因紧密连锁的分子标记,进行分子标记辅助选择育种,为加速耐寒玉米品种选育提供高效快捷手段。

3.3 开展玉米耐寒性信号分子转导研究

在耐寒性信号分子转导方面已发现分子信号转导途径及关键性的中间信号介导物质,在玉米低温胁迫信号响应及转导分子机理上还未进行深入研究。因此,今后应对低温胁迫下信号转导的整个过程和多个途径开展深入研究,从耐寒性信号转导分子机理上,揭示玉米耐寒性本质。

3.4 多功能基因、主效基因和微效基因相结合

玉米耐寒性属于受多基因控制的数量性状遗传,在进行玉米耐寒性生理及基因工程研究中,应注意研究多种控制玉米耐寒关键因子的协同作用。目前控制玉米耐寒性的关键因子不清楚,应根据已有的玉米耐寒生理背景,继续开展耐寒基因分离与克隆和转化研究,提高转化效率、实现定点整合、无筛选标记基因和规模化筛选及多基因转化,创造出耐寒性极强的玉米品种,从根本上解决玉米低温冷害问题。

参考文献:

- [1] Rodriguez V M, Romay M C, Ordas A, et al. Evaluation of European maize germplasm under cold conditions [J]. Genet. Resour. Crop Evol., 2010, 57: 329-335.
- [2] Mock J J, McNeill M J. Cold tolerance of maize inbred lines adapted to various latitudes in North America [J]. Crop Science, 1979, 19(2): 239-242.
- [3] 谭振波,刘 昕,曹鸣庆.玉米抗寒性的研究进展 [J]. 玉米科学, 2002, 10(2): 56-60.
- [4] Marocco A, Lorenzoni C, Fracheboud Y. Chilling stress in maize [J]. Maydica, 2005, 50: 571-580.
- [5] 马树庆,袁祝香,王 琪.中国东北地区玉米低温冷害风险评估研究 [J]. 自然灾害学报, 2003, 12(3): 137-141.
- [6] Stamp P. Chilling tolerance of young plants demonstrated on the example of maize [J]. Journal of Agronomy and Crop Science, 1984, 7: 1-83.
- [7] Miedema P. The effects of low temperature on *Zea mays* L. [J]. Advances in Agronomy, 1982, 35: 93-128.
- [8] 高灿红,胡 晋,郑昀晔,等.玉米幼苗抗氧化酶活性、脯氨酸含量变化及与其耐寒性的关系 [J]. 应用生态学报, 2006, 17(6): 1045-1050.
- [9] Kaniuga Z, Saezyska V, Miskiewicz E, et al. The fatty acid composition of phosphatidylglycerol and sulfoquinovosyldiacylglycerol of *Zea mays* genotypes differing in chilling susceptibility [J]. Journal of Plant Physiology, 1999, 154(2): 256-263.
- [10] 张 毅,顾蔚连,戴俊英,等.低温对玉米幼苗超氧化物歧化酶活性和膜脂过氧化作用的影响 [J]. 沈阳农业大学学报, 1992, 23(2): 140-142.
- [11] Ahmad I, Khaliq T, Ahmad A, et al. Effect of seed priming with ascorbic acid, salicylic acid and hydrogen peroxide on emergence, vigor and antioxidant activities of maize [J]. African Journal of Biotechnology, 2012, 11 (5): 1127-1137.
- [12] 王 瑞.春玉米苗期抗冷性鉴定及其生理生化基础研究 [D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2007.
- [13] 张 毅,顾蔚连,戴俊英.低温对玉米光合作用、超氧化物歧化酶活性和子粒产量的影响 [J]. 作物学报, 1992, 18(5): 397-400.
- [14] Leipner J, Fracheboud Y, Stamp P. Effect of growing season on the photosynthetic apparatus and leaf antioxidative defenses in two maize genotypes of different chilling tolerance [J]. Environmental and Experimental Botany, 1999, 42(2): 129-139.
- [15] Kosa E, Szego D, Horvath E, et al. Effect of S-methylmethionine on the photosynthesis in maize at different chilling temperatures [J]. Central European Journal of Biology, 2011, 1: 75-83.
- [16] Gray G R, Hope B J, Qn X, et al. The characterization of photoinhibition and recovery during cold acclimation in *Arabidopsis thaliana* using chlorophyll fluorescence imaging [J]. Physiologia Plantarum, 2003, 119(3): 365-375.
- [17] 杨 猛,魏 玲,庄文锋,等.低温胁迫对玉米幼苗电导率和叶绿素荧光参数的影响 [J]. 玉米科学, 2012, 20(1): 90-94.
- [18] 徐田军,董志强,兰宏亮,等.低温胁迫下聚糖素合剂对玉米幼苗光合作用和抗氧化酶活性的影响 [J]. 作物学报, 2012, 38(2): 352-359.
- [19] Feierabend J, Schaan C, Hertwig B. Photoinactivation of catalase occurs under both high- and low-temperature stress conditions and accompanies photoinhibition of photosystem II [J]. Plant physiology, 1992, 100(3): 1554-1561.
- [20] Kingston-Smith A H, Harbinson J, Williams J, et al. Effect of chilling on carbon assimilation, enzyme activation, and photosynthetic electron transport in the absence of photoinhibition in maize leaves [J]. Plant Physiology, 1997, 114(3): 1039-1046.
- [21] Sowinski P, Rudzinska-Langwald A, Dalbiak A, et al. Assimilate export from leaves of chilling-treated seedlings of maize [J]. Plant Physiology and Biochemistry, 2001, 39(10): 881-889.
- [22] Fracheboud Y, Ribaut J M, Vargas M, et al. Identification of quantitative trait loci for cold tolerance of photosynthesis in maize [J]. J. Exp. Bot., 2002, 53: 1967-1977.
- [23] 王迎春,褚金翔,孙忠富,等.玉米对低温胁迫的生理响应及不同品种间耐低温能力比较 [J]. 中国农学通报, 2006, 22(9): 210-212.

- [24] Janowiak F, Maas B, Dorffling K. Importance of abscisic acid for chilling tolerance of maize seedlings [J]. *J. Plant Physiol*, 2002, 159 (6): 635–643.
- [25] Janowiak F, Luck E, Dorffling K. Chilling tolerance of maize seedlings in the field during cold periods in spring is related to chilling-induced increase in abscisic acid level [J]. *J. Agron. Crop Sci.*, 2003, 189(3): 156–161.
- [26] 张雪峰. 低温胁迫对玉米种子萌发过程中内源激素含量变化的影响 [J]. *沈阳农业大学学报*, 2011, 42(2): 147–151.
- [27] 姜亦巍, 王光洁. Ca^{2+} 、BR 对玉米呼吸器官耐冷性的影响 [J]. *华北农学报*, 1996, 11(3): 73–76.
- [28] 周天, 周晓梅, 胡勇军, 等. 油菜素内酯对玉米幼苗抗冷性的影响 [J]. *吉林师范大学学报*, 2004(1): 6–8.
- [29] 王光洁, 何若焜, 陈艳茹, 等. 油菜素内酯对玉米种耐冷性的生理效应 [J]. *沈阳农业大学学报*, 1992, 23(3): 215–217.
- [30] 胡海军, 王志斌, 陈凤玉, 等. SGM 对玉米发芽率及幼苗抗冷效果的影响 [J]. *玉米科学*, 2009, 17(1): 102–104.
- [31] 王庆祥, 吕桂兰. GA 和 Kinetin 在低温下对玉米和大豆种子萌发及幼苗发育影响的研究 [J]. *作物学报*, 1999, 25(3): 363–372.
- [32] 郑昉, 曹栋栋, 张胜, 等. 多胺对玉米种子吸胀期间耐冷性和种子发芽能力的影响 [J]. *作物学报*, 2008, 34(2): 261–267.
- [33] Songstad DD, Duncan DR, Widholm J M. Proline and polyamine involvement in chilling tolerance of maize suspension cultures [J]. *J. Exp. Bot.*, 1990, 41(3): 289–294.
- [34] Jian L C, Sun L H, Li J H, et al. Ca^{2+} homeostasis differs between plant species with different cold-tolerance at 4°C chilling [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2000, 42: 358–366.
- [35] Chen WP, Li P H. Chilling-induced Ca^{2+} overload enhances production of active oxygen species in maize cultured cells: the effect of abscisic acid treatment [J]. *Plant Cell Environ*, 2001, 24(8): 791–800.
- [36] 李海燕. 冷激诱导玉米幼苗耐冷性的生理机制及 Ca^{2+} -CaM 的调控作用 [D]. 昆明: 云南师范大学, 2003.
- [37] Yang S L, Lan S S, Gong M. Hydrogen peroxide-induced proline and metabolic pathway of its accumulation in maize seedlings [J]. *Journal of Plant Physiology*, 2009, 166(15): 1694–1699.
- [38] Szabados L, Savoure A. Proline: a multifunctional amino acid [J]. *Trends in plant science*, 2010, 15(2): 89–97.
- [39] 简令成, 卢存福, 李积宏, 等. 适宜低温锻炼提高冷敏感植物玉米和番茄的抗冷性及其生理基础 [J]. *作物学报*, 2005, 31(8): 971–976.
- [40] Xin Z, Li P H. Relationship between proline and ABA in the induction of chilling tolerance in maize suspension cultured cells [J]. *Plant Physiol*, 1993, 103(2): 607–613.
- [41] 李俊明, 耿庆汉. 低温下玉米不同耐冷类型自交系的生理生化变化 [J]. *华北农学报*, 1989, 4(2): 15–19.
- [42] 方华, 马中义, 吕学文, 等. 我国玉米抗冷性研究与抗冷杂种优势利用 [J]. *北京农业大学学报*, 1993, 19(增刊): 37–43.
- [43] Leipner J, Mayer E. QTL mapping in maize seedlings reveals little relevance of C_4 cycle enzymes and antioxidants for genotypic differences in chilling tolerance of photosynthesis [J]. *Maydica*, 2008, 53: 269–277.
- [44] Saczynska V, Kargul J, Kaniuga. Discrimination between chilling-sensitive and chilling-resistant plants based on measurements of free fatty acid accumulation and inactivation of oxygen evolution in aged chloroplasts [J]. *Acta Biochimica Polonica*, 1993, 40 (4): 507–513.
- [45] Hodges D M, Andrews C J, Johnson D A, et al. Sensitivity of maize hybrids to chilling and their combining abilities at two developmental stages [J]. *Crop Science*, 1997(37): 850–856.
- [46] Leipner J, Stamp P. Chilling stress in maize seedlings [J]. *Biomedical and Life Sciences*, 2009, 10: 291–310.
- [47] Fracheboud Y, Jompuk C, Ribaut J M, et al. Genetic analysis of cold tolerance of photosynthesis in maize [J]. *Plant Mol. Biol.*, 2004, 56: 241–253.
- [48] Hund A, Fracheboud Y, Soldati A, et al. QTL controlling root and shoot traits of maize seedlings under cold stress [J]. *Theor. Appl. Genet.*, 2004, 109: 618–629.
- [49] Jompuk C, Fracheboud Y, Stamp P, et al. Mapping of QTL associated with chilling tolerance in maize seedlings grown under field conditions [J]. *J. Exp. Bot.*, 2005, 56: 1153–1163.
- [50] Guerra-Peraza O, Leipner J, Reimer R, et al. Temperature at night affects the genetic control of acclimation to cold in maize seedlings [J]. *Maydica*, 2011, 56: 367–377.
- [51] Xiong L M, Schumaker K S, Zhu J K. Cell signaling during cold, drought, and salt stress [J]. *The Plant Cell*, 2002, 14(1): 165–183.
- [52] 杨德光, 吴广霞, 唐心龙, 等. 植物在低温胁迫下的分子反应机制研究进展 [J]. *玉米科学*, 2009, 17(2): 99–101.
- [53] Berberich T, Kusano T. Cycloheximide induces a subset of low temperature inducible genes in maize [J]. *Molecular and General Genetics*, 1997, 254: 275–283.
- [54] Qin F, Sakuma Y, Li J, et al. Cloning and functional analysis of a novel DREB1/CBF transcription factor involved in cold-responsive gene expression in *Zea mays* L. [J]. *Plant and Cell Physiology*, 2004, 45(8): 1042–1052.
- [55] 刘晓敏. 玉米低温和干旱诱导型启动子的克隆及功能分析 [D]. 长春: 吉林大学, 2011.
- [56] Berberich T, Harada M, Sugawara K, et al. Two maize genes encoding ω -3 fatty acid desaturases and their differential expression to temperature [J]. *Plant Mol. Biol.*, 1998, 36(2): 297–306.
- [57] Al-Abed D, Madasamy P, Talla R, et al. Genetic engineering of maize with the Arabidopsis DREB1A/CBF3 gene using split-seed explants [J]. *Crop Sci.*, 2007, 47(6): 2390–2402.
- [58] Kemodle S P, Scandalios J G. Structural organization, regulation, and expression of the chloroplastic superoxide dismutase *Sod1* gene in maize [J]. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 391(1): 137–147.
- [59] Breusegem F V, Slooten L, Stassart J M, et al. Overproduction of Arabidopsis thaliana FeSOD confers oxidative stress tolerance to transgenic maize [J]. *Plant Cell*, 1999, 40(5): 515–523.
- [60] 刘汉梅. 玉米抗寒基因的克隆与表达的研究 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2004.
- [61] 刘汉梅, 张怀渝, 谭振波, 等. 玉米抗寒基因的克隆与表达研究 [J]. *玉米科学*, 2007, 15(2): 26–30.
- [62] Prasad T K, Anderson M D, Martin B A, et al. Evidence for chilling-induced oxidative stress in maize seedlings and a regulatory role for hydrogen peroxide [J]. *The Plant Cell*, 1994, 6(1): 65–74.

- [13] Agrawal G K, Jwa N S, Rakwal R. Rice proteomics: ending phase I and the beginning of phase II[J]. *Proteomics*, 2009, 9: 935–963.
- [14] Finnie C, Svensson B. Barley seed proteomics from spots to structures [J]. *J. Proteomics*, 2009, 72: 315–324.
- [15] Blomqvist L A, Ryberg M, Sundqvist C. Proteomic analysis of the e-tioplast inner membranes of wheat (*Triticum aestivum*) by two-dimensional electrophoresis and mass spectrometry[J]. *Physiol Plant*, 2006, 128: 368–381.
- [16] Blomqvist L A, Ryberg M, Sundqvist C. Proteomic analysis of highly purified prolamellar bodies reveals their significance in chloroplast development[J]. *Photosynth Res.*, 2008, 96: 37–50.
- [17] Komatsu S, Ahsan N. Soybean proteomics and its application to functional analysis[J]. *J. Proteomics*, 2009, 72: 325–336.
- [18] Damerval C, de Vienne D, Zivy M, et al. Technical improvements in two-dimensional electrophoresis increase the level of genetic variation detected in wheat-seedling proteins[J]. *Electrophoresis*, 1986, 7: 52–54.
- [19] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. *Anal. Biochem.*, 1976, 72: 248–254.
- [20] O'Farrell P H. High resolution two-dimensional electrophoresis of proteins[J]. *J. Biol. Chem.*, 1975, 250: 4007–4021.
- [21] Foad Fatehi, Abdolhadi Hosseinzadeh, Houshang Alizadeh, et al. The proteome response of salt-resistant and salt-sensitive barley genotypes to long-term salinity stress[J]. *Mol. Biol. Rep.*, 2012, 39: 6387–6397.
- [22] 李冠军, 付凤玲. 玉米叶片总代白提取和双向电泳技术的改进[J]. *玉米科学*, 2006, 14(6): 100–103.
- [23] Quesada V, Garcia-Martinez S, Piqueras P, et al. Genetic architecture of NaCl tolerance in *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Physiol.*, 2002, 130: 951–963.
- [24] 山东省农业科学院玉米研究所. 玉米生理[M]. 北京: 农业出版社, 1987.
- [25] Peng Z, Wang M, Li F, et al. A proteomic study of the response to salinity and drought stress in an introgression strain of bread wheat[J]. *Mol. Cell Proteomics*, 2009, 8: 2676–2686.
- [26] Meloni D A, Oliva M A, Martinez C A, et al. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salinity stress[J]. *Environ. Exp. Bot.*, 2003, 49: 69–76.
- [27] Hu F, Kang Z H, Qiu S C, et al. Overexpression of OsTLP27 in rice improves chloroplast function and photochemical efficiency[J]. *Plant Sci.*, 2012, 195: 125–134.

(责任编辑: 朴红梅)

(下转第 86 页)

(上接第 81 页)

- [63] 王琦, 王伟, 申腾飞, 等. 玉米中 3 个 *CIPK* 同源基因在干旱和低温胁迫下的表达分析[J]. *华中农业大学学报*, 2011, 30(5): 545–551.
- [64] 刘彦丹, 英生, 张登峰, 等. 玉米逆境胁迫响应基因 *ZmZIP71* 的克隆与表达分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(5): 775–781.
- [65] Yang G, Zou H, Wu Y, et al. Identification and characterisation of candidate genes involved in chilling responses in maize (*Zea mays* L.) [J]. *Plant cell, tissue and organ culture*, 2011, 106(1): 127–141.
- [66] Kong X P, Pan J W, Zhang M Y, et al. *ZmMKK4*, a novel group C mitogen-activated protein kinase kinase in maize (*Zea mays* L.), confers salt and cold tolerance in transgenic *Arabidopsis* [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2011, 34(8): 1291–1303.
- [67] Quan R, Shang M, Zhang H, et al. Improved chilling tolerance by transformation with *betA* gene for the enhancement of glycinebetaine synthesis in maize[J]. *Plant Science*, 2004, 166(1): 141–149.
- [68] Ohta S, Ishida Y, Usami S. High-level expression of cold-tolerant pyruvate, orthophosphate dikinase from a genomic clone with site-directed mutations in transgenic maize[J]. *Mol. Breeding*, 2006, 18(1): 29–38.

(责任编辑: 姜媛媛)