

抗逆育种

第一节 逆境与抗逆育种

第二节 抗病育种

第三节 抗虫育种

第四节 抗旱与耐盐育种

第五节 抗寒育种

第六节 植物逆境信号传递与抗逆育种

第一节 逆境与抗逆育种

一、逆境（**stress environment**）

生存在自然界的植物，常常遇到某种对植物生长发育产生伤害的环境因子，称之为逆境或胁迫（**stress**）。

在自然界中，影响植物生长发育的胁迫因子很多，可以分为三类：

生物胁迫（病害、虫害及草害）

物理胁迫（冷害、冻害、热害及风害）

化学胁迫（旱害、涝害及盐害等）。

干旱、病虫害、草害、冻害及盐害等胁迫因子给农业生产带来的危害十分巨大，每年造成的直接经济损失达数万亿美元之多。

栗疫病（*Endothria parasitica* (Murr.) P.T.et H.W.Anderson）1938年在意大利首次被确认，到1965年就导致意大利的栗实产量缩减了85%。从年产量70万吨下降到10万吨。

2001年3月28日的晚霜（-2℃~-8℃），正值我国华北地区杏等核果类果树盛花期，造成近10万亩杏、大樱桃及李树花器官（雌蕊）的严重冻害，直接经济损失近5亿元。

我国干旱、半干旱地区约占国土面积的二分之一，即使在非干旱的主要农业区，也会不时地受到旱灾侵袭。干旱对世界作物产量的影响，在诸自然逆境中占首位，其危害相当于其它自然灾害之和（汤章城，1999）。

因此，如何控制逆境危害以及探索提高植物抗逆能力一直是各国科学家普遍关注的主要问题之一，是当前研究的热点，对现代农业生产具有重大意义。

二、逆境防治与抗逆育种

逆境防治

一是采取一些合理、有效的农业措施，防治或减轻逆境对作物造成的危害，诸如采用化学农药控制病虫害的发生。

二是提高植物的抗逆性

即提高植物抵抗各种胁迫因子的能力， **stress resistance**

提高植物的抗逆性也有两个基本途径：

一是采取一些农业措施，改变植物的生长发育节奏及内部的生理特性，从而提高植物的抗逆性，例如：

蔬菜作物逆境炼苗（蹲苗），控制植物的生长，增强植物的抗旱能力；

叶片上喷施抗蒸腾剂，促使气孔关闭，减少水分消耗，也可以在一定程度上提高植物的抗旱能力；

果树上，加强树体管理，减少负载量，养根壮树，从而提高抗病力；

利用一些诱导因子（生物因子和非生物因子）诱导植物产生抗病性，即诱导抗病性，近几年来在水稻等作物上大面积应用，取得了明显的防病效果。

提高植物抗逆性另一条途径就是采用有性杂交、系统选择及基因工程等方法培育抗逆性强的新品种，即抗逆育种（**breeding for stress resistance**），这是所有逆境伤害防治策略中最经济有效的方法。

第二节 抗病育种

一、植物抗病育种的意义

二、植物抗病性与病原物的遗传变异

三、抗病机制与抗病性的遗传

四、抗病性鉴定

五、抗病育种的方法

一. 植物抗病育种的意义

由真菌 (**Fungi**)、细菌 (**bacteria**)、病毒 (**virus**)、类病毒 (**viroid**)、植原体或类菌原体 (**Mycoplasma-like organism, MLO**) 及线虫 (**nematode**) 等病原物引起的植物病害是构成植物生产最大的威胁之一。

选育抗病品种是“综合防治”病害的基础。生产实践证明，选用抗病品种防治病害是经济有效、简单易行、而不污染环境的方法，对生产无公害植物产品具有重要意义。

二、植物抗病性与病原物的遗传变异

(一) 抗病性

植物抗病性是指植物对病原物危害的抵御能力，即阻止病原物侵入和在组织内持续增长的能力。

抗病性有许多类型：

从抗病程度上可分为免疫、高抗、中抗和低抗；

从抗病性的遗传方式，可分为质量遗传的抗病性（单基因抗病性）和数量遗传的抗病性（多基因抗病性）

从抗病的表现形式上可分为下列几种：

(1)抗侵入

病原物侵染植物的第一阶段是接触寄主和侵入。抗侵入主要是由于植物本身的形态特征、组织结构及生化特性，阻止了病原物的侵入。

(2)抗扩展

抗扩展指病原体侵入寄主后，植物限制了它进一步扩展的性能。

抗扩展有多种机制与表现，如产生保卫素杀死或抑制病原物，钝化病原物外酶，中和致病病毒，木栓化反应封锁病原物，限制病原物所需营养物质供应等机制，这种抗病性表现为：

- ①病斑小
- ②病斑扩展慢
- ③病斑数少等

其中最典型的是过敏性坏死反应，这也是抗病育种中利用和研究最多的一种抗性，由于过敏性坏死反应的强度和速度不同，因而形成了不同的抗病等级：免疫、高抗、中抗、中感和高感。

(3)耐病 耐病是指某品种植株与其它品种植株受等量的病原物感染，虽然都出现感病症状，但该品种受害较轻，产量和质量损失较少。耐病性可能带来严重的不利因素，这些因素作为潜在的病源，尽管它本身是安全的，但可能对其它品种造成严重危害。

(4)避病 从严格意义上讲，避病不是真正的抗病，避病的植物本身可能是感病的，仅由于作物生育阶段与病原物的发生发展不遇，而使作物免受病原菌侵害造成损失。例如，苹果、葡萄及大樱桃等果树的一些早熟或特早熟品种，很少发生果实病害，即属于避病。

（二）病原物的遗传变异

1. 致病性 病原物的致病性经常发生两个方面的变异，即毒性（**Virulence**）和侵袭力（**Aggressivity**）的变异。

“毒性”是指病原物克服某一专化抗病基因而能侵染该寄主品种的能力，它决定着能否侵染哪一个或哪几个品种，是质量性状。

“侵袭力”是指病原物在能侵染寄主的前提下，病原物在寄主中生长、繁殖速度、强度等多种特性的综合体，它决定着侵染寄主的难易和生长旺盛程度，是一种数量性状，如病原菌的潜育期及产孢能力等特性。

2. 生理小种

在自然生态系统中，植物与病原物是遗传上多样的异质群体，双方在长期共同进化过程中，植物逐渐形成了类型多种多样，程度强弱不同的抗病性，而得以生存和繁衍种族。

相应地，在同一个病原菌的种或变种内，通过有性杂交、无性杂交（异核体作用）及基因突变等过程，不断地分化出致病力不同的生理类型，叫做生理小种（**Physiologic race**）。

在气候特别有利于病原物流行的年份，病害严重发生，寄主抗病性受到选择，而当寄主群体抗病力提高后，又促使病原物致病性的选择，这样就形成了一种动态平衡。

寄主（植物）与病原物这种协同进化问题得到了**Flor(1955)**提出的基因对基因理论（**gene for gene theory**）的支持和验证。

根据基因对基因的理论，对应于寄主的每一个决定抗病性的基因，病菌也存在一个决定致病性的基因。寄主——病原物体系中，任何一方的每个基因，都只有在另一方相应基因的作用下才能被鉴定出来。这就是寄主与病原物关系的基本模式。

一般病原物的寄主水平愈高，寄主抗病特异性越强，则相应病原物的生理分化也愈强烈，病原物生理小种越多。

因此，抗病育种是与生产发展同步的长期而艰巨的任务，是植物育种者永恒的课题。

三、抗病机制与抗病性的遗传

（一）植物的抗病机制

植物能产生各种各样的与植物抗病性有关的生理活性物质，这些抗菌物质包括两类：

一类是植物本身固有的，如酚类化合物、有机硫化合物、不饱和内脂等。

另一类是通过病原物诱导产生的，主要有：

（1）植物保卫素（**phytoalexin**），又称为植物抗毒素或植保素。

目前已经在22科75种植物中发现了150种植保素，并就其生物合成、化学结构、诱导机制及抗病机理进行了研究，是植物病理学最活跃的研究领域。植物产生的植保素种类及目前已明确化学结构的见下表

园艺植物产生的部分植保素

序号	植物保卫素	寄主植物
1	金雀异黄素 (genistein)	菜豆
2	吉维酮(kievitone)	法国菜豆
3	牛角花酮(vestitol)	牛角花
4	菜豆素(phaseollin)	法国菜豆、豇豆
5	7-羟基黄烷(7-hydroxyflavan)	黄水仙
6	白藜芦醇(resveratrol)	葡萄
7	花椒素(xanthoxylin)	柑橘
8	α -viniferin	葡萄
9	Moracin A	桑
10	辣椒素(capsidiol)	辣椒、烟草
11	日齐素(rishitin)	马铃薯、番茄
12	茄香根酮(solavetivone)	马铃薯、烟草
13	鲁比米素(lubimin)	马铃薯、茄子
14	块茎防疫素(phytuberin)	马铃薯
15	蚕豆酮酸(wyerone acid)	蚕豆
16	弗尔卡林醇(falcarinol)	番茄、胡萝卜
17	红门兰醇(orchinol)	兰花
18	肉啉醇(hircinol)	兰花
19	红花醇(safynol)	兰花
20	烯胆碗豆素(lathodoratin)	香豌豆

(2)免疫信息物质

免疫信息物质（**immunosignal substance**）是经过生物因子或理化因子诱导产生的具有免疫特异性的蛋白质。可通过韧皮部在植株上下部移动。目前，植物诱导抗性研究中，使植物获得免疫信息物质是最诱人的研究方向。

（二）抗病性的遗传

对植物抗病性遗传规律的深入研究和了解，有助于育种者正确的选择与选配亲本，提高抗病育种的效率。例如，苹果黑星病，研究结果表明，存在着三种遗传机制：

单基因显性遗传，研究最多也是最有希望的是来自多花海棠821株系的抗性基因**Vf**，以这个抗源为基础已育成了一批苹果抗病品种；

两个抗性显性基因**Vm**和**Vb**分别来自西府海棠和山定子；

多基因数量遗传，已知较好的多基因抗源，有安托诺夫卡（Antonovka）及其近缘类型。

四、抗病性鉴定

(一) 鉴定方法

根据现有的文献资料，植物抗病育种研究采用的鉴定方法主要有以下几种：

1. 田间自然鉴定：自然病圃法

2. 温室或田间接种鉴定

接种的方法有点滴法、喷雾法、浸根法、摩擦法及注射法等，

3. 离体接种鉴定

（二）抗病性分级标准及病情归类

鉴定方法不仅因作物、病菌种类而异，而且抗病性分级标准也因作物、病原菌的种类不同而存在很大的差别，现举例如下：

1、 分级标准

白菜霜霉病

0级：无病；

1级：接种叶片上有稀疏的褐色斑点，不扩展；

3级：叶片上有较多的病斑，多数凹陷、无霉层；

5级：叶片病斑向四处扩展，叶背生少量的霉层；

7级：病斑扩展面积达 $1/2 \sim 2/3$ ，有较多的霉层；

9级：病斑扩展达 $2/3$ 以上，有大量霉层。

黄瓜霜霉病（李树德，1995）

0级：无病斑；

1级：病斑面积不超过叶面积的1/10；

3级：病斑面积占叶面积的1/10~1/4；

5级：病斑面积占叶面积的1/4~1/2；

7级：病斑面积占叶面积的1/2~3/4；

9级：病斑面积占叶面积的3/4以上。

葡萄白粉病（田间自然鉴定，贺普超，1995）

- 0级：全果穗无病粒；**
- 1级：果穗上感病果粒在10%以下；**
- 3级：果穗上感病果粒在10%~25%；**
- 5级：果穗上感病果粒在25%~50%；**
- 7级：果穗上感病果粒在50%~75%；**
- 9级：果穗上感病果粒在75%以上。**

苹果黑星病及白粉病（田间自然鉴定，H.Kemp,1999）

- 0级：no symptoms found**
- 1级：very low susceptibility**
- 3级：low susceptibility**
- 5级：moderate susceptibility**
- 7级：high susceptibility**
- 9级：very high susceptibility**

2. 病情归类

病情指数 = $\frac{\sum [\text{病级株 (叶、果等) 数} \times \text{该级代表数值}]}{\text{调查总株 (叶、果等)} \times \text{发病最高一级代表数值}} \times 100$

调查总株 (叶、果等) × 发病最高一级代表数值 × 100

病情指数反应了病害的普遍率和严重程度，指数越大，说明病情越严重，寄主的抗病性越差；指数越小，说明病情越轻，寄主的抗病性越强。

根据病情指数，可将植物对一些病害的抗病性进行分类，例如白菜霜霉病适用下列标准：

免疫 (I)：病情指数**0**

高抗 (HR)：病情指数**0.01~15.00**

抗病 (R)：病情指数**15.00~35.00**

中抗 (MR)：病情指数**35.00~55.00**

感病 (S)：病情指数**55.00~75.00**

高感 (HS)：病情指数**75.00~100.00**

五、抗病育种的方法

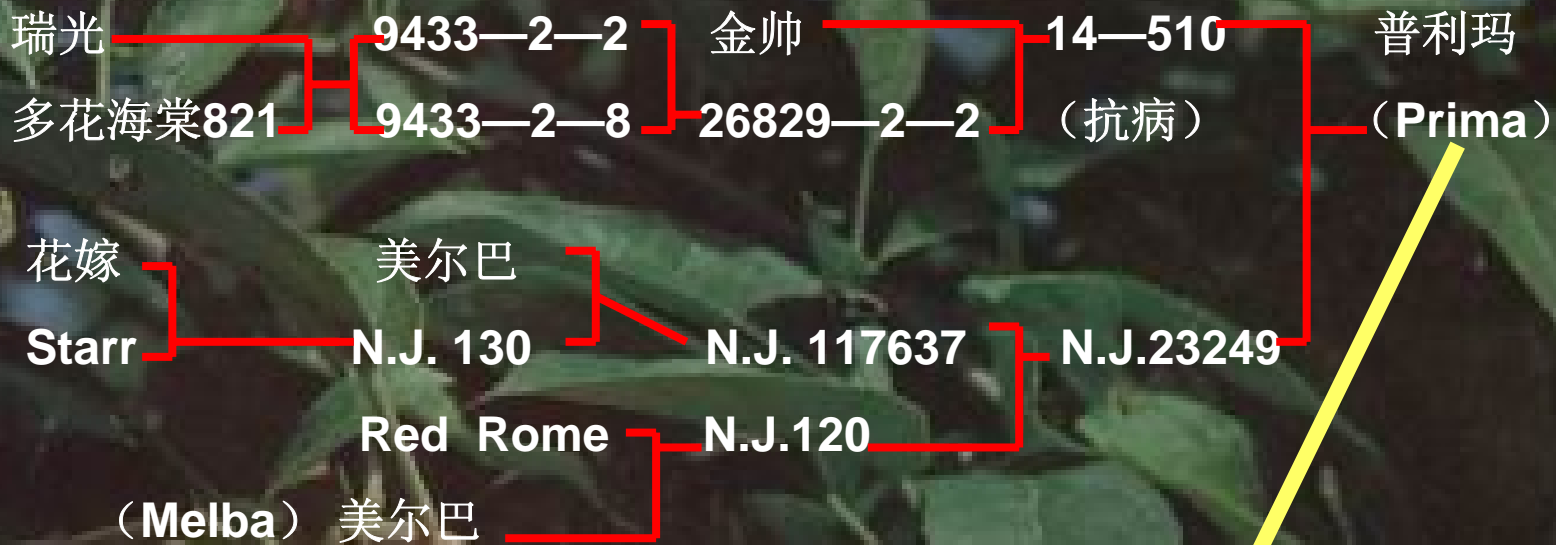
（一）选种

抗病性选种常常结合种质资源的抗病性鉴定进行，通过鉴定淘汰，将筛选出的抗病材料单株自交或成对交配，几次筛选后，通常可获得比其他种质材料抗病性强的稳产材料供生产或进一步育种应用。

（二）杂交育种

杂交育种是培育抗病品种的一条重要途径，例如普利玛及新金冠等一批优质抗病苹果品种就是通过反复杂交育成的（见下图）。

抗病苹果育种



（三）基因工程

随着现代分子生物学的发展以及植物基因工程技术的日趋完善，人们开始着眼于鉴定和克隆抗病相关蛋白的基因，并期望通过将外源抗病基因导入植物从而提高植物对病害的抗性。在植物抗病病毒基因工程方面，已经有几种成功的策略，诸如向植物中转入病毒的外壳蛋白基因，病毒的卫星**RNA**基因以及利用病毒的反义**RNA**等，新的方法也逐渐成熟。并获得一批转基因抗病毒植株，有的已进入田间试验并应用于生产。

近年来，随着对植物抗病机制及病原菌致病机理的深入研究，加上植物抗病基因的克隆，使得利用基因工程技术控制植物真菌和细菌病害成为可能。最主要的是利用植物抗病基因（**K**）及植物防御反应有关的基因，例如编码几丁质酶（**chitinase**）、葡聚糖酶（**glucanase**）、核糖体灭活蛋白（**RIP**）、植保素（**phytoalexin**）、病原相关蛋白（**PR**）、溶菌酶（**lysozyme**）及富含羟脯氨酸糖蛋白（**HGRP**）等蛋白的基因导入植物，使它们在植物体内表达从而提高植物的抗病能力。

第三节 抗虫育种

一、抗虫机制

二、抗虫性的遗传

三、植物抗虫性鉴定

四、抗虫育种的方法

一、抗虫机制

抗虫性是寄主植物抵御或减少昆虫危害的能力。1. 植物抗虫育种所利用的遗传抗性包括三个方面：

①拒虫性：即植物的化学或形态特征使害虫不能取食、产卵或栖息。

②抗虫性：指植物体内的某些化学物质不利于取食害虫的存活、生长发育及繁殖，使害虫饥饿、慢性中毒或死亡。

③耐虫性：指植物对害虫的危害具有较强的恢复和补偿能力，即使受害也不造成减产，不影响产品的质量。

耐虫性完全着眼于植物对害虫危害的承受力，而拒虫性及抗虫性着眼于减少危害。

耐虫性有几个优点：

- ①由于作物的耐虫性，尽管虫量较大，仍无需用杀虫剂来削减害虫群体；
- ②害虫有可能产生出新的生物型来克服拒虫性和抗虫性，但对耐虫性却无法产生出新的生物型；
- ③耐虫性在面对害虫危害的情况下，寄主植物有重新确立内部平衡的一种自发生理过程，因此是特别可取的。

2. 植物品种的抗虫性机制，还可分为形态学、解剖学和生物化学抗性三方面：

①形态抗性，指植株的形态、颜色等外部特征不利于害虫的取食、栖居和产卵。观察发现，马铃薯叶片上的毛状体分泌一种胶状物质，能粘住昆虫的跗足或口器，而后迅速凝固变黑，使之不能移动，不能取食而死亡。

②解剖学抗性，是植株的组织结构不利于害虫的取食、侵入。

③化学抗性：即植物体内的某些化学物质影响害虫的栖居、产卵和取食。十字花科蔬菜中含芥子油葡萄糖甘、黑芥子甘。严重影响菜青虫、粉纹夜蛾、小菜蛾的产卵和幼虫发育。**Fiori**等（1976）发现，抗梨木虱（**Psylla pyricola**）的梨实生苗韧皮部细胞汁的PH值比感虫的实生苗低。山核桃具有胡桃酮和1.4—萘醌类物质，欧洲榆小蠹不愿取食。

二、抗虫性的遗传

国内外的研究表明，植物各种抗虫性状的遗传，一般可分为以下几种类型（水稻等作物）：

1. 单基因抗性
2. 寡基因抗性
3. 多基因抗性
4. 细胞质抗性

三、植物抗虫性鉴定

在田间或人工控制环境条件下对植物种质材料抵御害虫能力的测试和评价，称之为植物抗虫性鉴定（**identification of insect resistance in plant**）。通过抗虫性鉴定可以筛选出对害虫具有抗性的品种或种质材料，应用于生产或育种实践。

（一）鉴定方法

1. 田间自然鉴定法

在虫口密度较大的地区和年份采用，即依靠自然界发生的害虫群体鉴定不同种质材料的抗性程度。在鉴定期间，不喷施化学农药。

2. 田间接种虫源、增加危害压力法

在虫口发生较少的地区和年份采取补充接种一定数量的虫源，以增加害虫对作物的危害压力，强化种质材料间的抗虫性差异。

田间接种法，只适合于在蔬菜种质材料种质范围较小，害虫飞翔能力较弱的情况下进行，要特别注意接种后对周围其他非鉴定作物的影响。

3. 温室接种法

在温室条件下，将饲养的害虫接种到待鉴定植物，经过一定时间观察，从中筛选出抗虫性强的种质材料。

4. 网室鉴定法

在田间建造的网室内种植被鉴定的种质材料，并接种一定数量的害虫，可将害虫控制在一定范围内危害。此法较为可靠，但成本高。

（二）鉴定内容

主要有害虫产卵植株的选择性，种质材料的抗虫性和害虫的危害程度等。

①研究害虫对不同植物种质材料产卵的选择性，调查统计某种害虫在某一种质材料植株上产卵的多寡，是评价其是否抗虫的重要指标之一。

②研究害虫取食不同种质材料后的发育速度及成活率。

③研究害虫对不同种质材料的危害程度。须通过调查虫口密度、种质材料的被害程度（包括被害植株率、死苗率、被害果率等）、产量损失等因素评价其抗虫程度。

（三）抗虫性鉴定的调查及评价标准

被害程度的调查和评价标准，因害虫及寄主种类而异，例如桃种质资源抗蚜评价标准为：

1级：未发现蚜虫

2级：有蚜虫，但未造成为害

3级：轻微为害，仅有少量卷叶

4级：为害较重，卷叶数量超过叶量的**50%**

5级：为害极重，所有新梢叶都卷叶

根据叶片的受害级别，计算虫害指数。

虫害指数 = Σ （虫害级别 × 该级株数） / （最高级别 × 总株数） × **100**

四、抗虫育种的方法

（一）植物抗虫育种资源的收集及鉴定

广泛收集植物种质资源，对其抗虫性进行全面鉴定和评价，筛选抗虫性强的种质材料，即可应用于生产，亦可作为进一步育种的种质材料。植物与害虫的共同原产地，一般蕴藏着丰富的抗性类型。所以，可从植物起源中心及虫害常发地区搜集抗源。例如美国昆虫学家**Eckenrode**和育种学家**Diokson**合作，对十字花科蔬菜品种抗菜粉蝶、菜粉纹夜蛾、小菜蛾进行了系统的抗虫性鉴定，并育成了对这三种害虫免疫的结球甘蓝和花椰菜新品种；对**600**个马铃薯品种进行了抗虫性评价，从而育成了抗马铃薯甲虫、桃蚜、蚕豆微叶蝉等害虫的新品种。

（二）杂交育种

抗虫育种最常用的方法是杂交育种，辅之以辐射诱变。对于寡基因抗性，可采用回交育种法，将抗性转入综合性状优良的轮回亲本中去。在杂交后代选择时，由于需要兼顾抗性、农艺性状和其它育种目标所要求的性状，特别是要求兼抗多种害虫，要适当加大后代群体数量，以利于提高选择效果。同时，要在各个分离世代，采用人工接种的办法，加大对虫害抗性的选择压力，进行多代严格筛选，以提高群体内抗虫基因出现频率。

（三）分子抗虫育种

自**1987**年获得第一株抗虫转基因烟草以来，已相继获得了番茄、马铃薯、核桃、菊花、棉花、玉米、水稻、杨树等抗虫转基因植物，从而开辟了一条抗虫育种的新途径。

目前应用的抗虫基因主要有，苏云金杆菌晶体蛋白基因（**Bt cry**基因），包括特异毒杀鳞翅目昆虫的**Cry I**基因，对鳞翅目和双翅目特异的**Cry II**基因，对鞘翅目特异的**Cry III**及对双翅目特异的**Cry IV**基因；蛋白酶抑制剂（**PI**）基因以及一些植物来源的凝集素（**lectin**）基因等，有关这些基因的克隆、转化等操作技术，请参阅有关专业书籍。

第三节 抗旱与耐盐育种

一、干旱伤害与抗旱生理

二、盐害与耐盐

三、抗旱性鉴定

四、耐盐性鉴定

五、植物抗旱耐盐的基因工程

一、干旱伤害与抗旱生理

(一) 干旱伤害

水分亏缺 (**plant water deficit**) 伤害是由于长期无降水或降水显著偏少，以及无水灌溉或灌溉不足即干旱，使植物生长发育所需要的水分得不到满足而造成的伤害现象。一般表现为出苗不齐、萎蔫、生长滞缓、落花落果、产量下降、品质变劣，严重时导致植株死亡。水分亏缺按其成因可分为土壤干旱和大气干旱两种。在高温、低湿并有风的条件下形成的大气干旱，使植株蒸腾作用加强，导致植株水分收支失调，影响光合作用，破坏细胞的透性，严重时引起体内蛋白质分解及有益中间代谢物质积累过高，导致植株死亡。

（二）抗旱生理

渗透调节的主要作用是维持细胞膨压，即推迟植物在水分胁迫下膨压丧失的时间。由于渗透调节是植物抗旱的重要生理机制之一，因此提高作物渗透调节能力就成了抗旱育种的一种手段，通过大量研究，目前已具备把渗透调节应用于育种的可能性：(1)已在多种作物上发现了渗透调节的遗传变异，其大小因物种不同而有差异；(2)渗透调节由单基因或少数几个基因控制，这为应用常规育种和生物技术方法进行渗透调节改良提供了方便；(3)渗透调节的简便测定技术逐步完善；(4)基本可以肯定渗透调节对提高产量是有益的。**Moore**等（**1995**）确立了一个负责细胞渗透调节繁荣质膜还原蛋白，当该蛋白被修饰后，细胞的抗旱和抗寒力显著增强。这方面的研究对提高抗旱性等指出了一个新的方向。

二、盐害与耐盐

(一) 盐害表现

盐害的特点是：(1)新叶生长速率减慢是植物对盐渍响应最敏感的生理过程，生长减慢的程度与根际渗透压呈正比；(2)盐渍条件下，无排盐结构的植物，由于蒸腾作用，地上部盐分不断积累，造成叶片含盐量过高，老叶死亡。其死亡的时间主要取决于根际的盐浓度、根系拒盐能力以及影响蒸腾速率的环境条件；(3)当叶片死亡率大于生长速率时，单位叶面积下降，贮存的碳水化合物越来越少，不能满足生长和代谢活动的需要，导致植株死亡。因此，提高植物耐盐性的基本原则是增加新叶的生长速率，提高叶片耐盐阈值，减低地上部盐分浓度，增加叶片光合效率（刘友良，**1987**）。

(二) 植物的耐盐性

植物对土壤的反应因物种而异，即使同一种内不同品种，也存在着明显的差异。耐盐性是指植物在盐胁迫下维持生长、形成经济产量或完成生活史的能力。植物按照对盐渍的反应，可分为盐生植物(**halophyte**)和淡土植物（**glycophyte**）两类。

（三）耐盐机理

降低地上部盐分浓度是植物耐盐的重要机理之一，膜结构和功能的完整性是控制离子运输和分配的主导因子，膜系统是植物盐害的主要部位。辣椒萎蔫突变体是基因通过膜成分和功能的改变，控制 Na^+ 、 K^+ 吸收和运输的一个典型事例（Tal,1995）。

液泡是植物成熟细胞最大的细胞器，能贮存营养和代谢产物，避免有毒溶质对细胞质的伤害，大大提高细胞质表面积与体积之比，有利于细胞与环境间的物质交换，在细胞化学能利用、信号转导、膨压调节和耐盐性中起重要作用。盐生植物和较耐盐淡土植物细胞所吸收的 Na^+ 、 Cl^- 主要分布于液泡中作为渗透剂。苜蓿悬浮培养细胞液泡中 Na^+ 、 Cl^- 分别占原生质 Na^+ 、 Cl^- 总量的73.8%~91.2%和74%~89.4%。盐分积累于液泡中是维持细胞质中高 K^+/Na^+ 的最有效机理之一。

渗透调节能力是植物耐盐的最基本特征之一，与耐旱性不同，参与盐渍中植物渗透调节过程的不仅包括小分子有机物，还有多种无机盐离子（ K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 等）。虽然从能量消耗角度看，积累有机溶质需要多消耗几十倍的能量，但作为“亲和性溶质”，对于植物生存是必要的，尤其对于诸如果树等以生产果实为目标的植物来说，体内积累过多的盐离子将影响果实的品质。

三、抗旱性鉴定

（一）抗旱鉴定的方法

1、田间直接鉴定法：

就是将待鉴定的材料直接播种或定植于大田利用自然降水不足或控制浇水等方法，造成干旱胁迫，在整个生育期内测定一些与抗旱有关的形态或生理生化指标，最后测定产量，计算抗旱系数、抗旱指数等。这种方法投资少、简单易行，无需特殊设备，又有产量结果作保证，容易被人们接受，但受环境因素影响严重，年间变化大，重复性差。

2、盆栽鉴定法

就是将鉴定材料种质于花盆内，人工控制浇水，可以根据实验目的，在任何生育期内进行不同程度的干旱胁迫处理，但工作量大，不能大批量进行。

3、人工气候室与旱棚鉴定

效果好，结果稳定，但投资大，设备复杂，只能用于对少量材料的深入研究。

4、室内模拟干旱胁迫法

就是在实验室内人工模拟干旱条件，具体做法可以用**PEG**、甘露醇或发芽垫蒸干等方法，造成干旱胁迫，方法简单，重复性好，但只能做萌发期、苗期鉴定，后期鉴定比较困难。

（二）抗旱鉴定的指标

抗旱鉴定的指标可分为两大类：

一是形态指标，如株高、生长速度、叶片形态、旱害指标、抗旱指数及抗旱系数等；

二是生理生化指标，如相对含水量、自由水、束缚水、叶水势、渗透势、叶保水力、呼吸、光合、气孔扩散阻力、蒸腾、叶绿素含量、可溶性物质、**SOD**酶活性、生物碱及渗透调节等。

(二) 耐盐性鉴定

植物耐盐性鉴定筛选方法主要有以下三种：

1、萌发试验法

即通过播种在装有能控制盐分浓度的土壤或砂的容器中，从而根据种子萌发和幼苗发育的表现来鉴定植物的耐盐性。

2、营养液栽培法

即将供试材料进行砂培或水培，控制培养液的盐分和营养成分，根据其生长表现测定其耐盐性。

3、田间试验法

即将供试材料在适当程度的盐碱地上进行栽培试验，根据植株的生长状况及产量表现评定其耐盐性。实际上在盐分胁迫下的田间表现是其抗耐性的最可靠标志。

四、植物抗旱耐盐的基因工程

渗透调节作为一种植物抗旱耐盐机制已为人们所公认，一些相容性（**compatible**）渗透调节物质，如脯氨酸、甜菜碱、甘油、山梨醇、甘露醇、肌醇及其衍生物，在植物或微生物中的代谢途径已基本明确。因此，代谢改造以提高这些渗透调节物质的生物合成水平也就成为植物抗旱耐盐基因工程的首选策略。**Tarczynski**等（**1992**）将来自大肠杆菌的甘露醇磷酸脱氢酶基因(**MtID**)成功地导入烟草并提高了转基因植株内甘露醇的水平，同时也增强了转基因植株的耐盐能力。近几年来，中国科学院遗传研究所及山东农业大学等单位已将来自山菠菜的甜菜醛脱氢酶基因（**BADH**）导入烟草、草莓、水稻、葡萄及杨树等植物，提高了转基因植物的耐盐能力。

第四节 抗寒育种

- 一、抗寒生理
- 二、抗寒性鉴定
- 三、果树抗寒育种的方法

一、抗寒生理

寒害可分为冻害和低温冷害两种。冻害 (**cold injury**) 指 0°C 以下低温对越冬作物所造成的伤害。我国北方地区晚秋和早春，寒流入侵，气温骤然下降，常常造成越冬作物和果木的严重伤害。冷害 (**chilling damage**) 是作物在生长季节内 0°C 以上低温对植物的伤害，常会引起喜温植物（热带和亚热带作物）的生理障碍，代谢失调，受伤甚至死亡。冷害对植物的伤害程度，除取决于低温外，还取决于低温维持时间的长短。冷害对蔬菜生理的影响主要表现为削弱光合作用，减少养分吸收，影响养分运转。其结果是苗弱、植株生长迟缓、萎蔫、黄化、局部坏死、坐果率低、产量降低和品质变劣等，由此引起植物群体生长发育的不均一性，对机械收获十分不利（王毅等，1994）。

二、抗寒性鉴定

抗寒性鉴定可分为田间自然鉴定和实验室间接鉴定两种。田间自然鉴定就是在冻害发生期（晚秋及早春）对冻害进行实地调查，然后根据冻害情况评价抗寒性。实验室间接鉴定，就是根据作物某些生理生化指标及物理指标间接推断供试材料的抗寒性，包括如下几种方法：

1. 电导率法

脂膜对寒害最敏感，寒害能使脂膜受损伤，透性加大，细胞内离子（主要**K⁺**离子）外渗增多，电导率加大。因此可以用电导仪测定溶液的电导率。

2. 生理生化指标测定法

主要包括超氧化物歧化酶（**SOD**）、过氧化物酶（**POD**）及过氧化氢酶（**CAT**）活性测定及同工酶分析、丙二醛（**MDA**）、可溶性糖、淀粉及脯氨酸含量以及束缚水/自由水比值等。

三、果树抗寒育种的方法

在果树作物上，选育抗寒品种主要采用实生选种、芽变选种及杂交育种等常规方法，利用细胞工程及基因工程进行抗寒育种，虽然已经取得了一些很好的进展，但离实际应用仍有相当的差距。

（一）实生选种

利用这个方法选出一批抗寒果树品种，例如小苹果中的红心子、黄太平、北方人，大苹果中的拉宝（**Loba**）、美尔巴（**Melba**）、旭（**McIntosh**）；梨的矮香；中国李的缓枝红、奎丰及北方2号等；柑橘中的朱橘、桃叶橙等都是由实生后代中选育的抗寒性新品种。

（二）芽变选种

果树的抗寒芽变通常是在严寒的年份受冻害严重的果园中，对植物进行调查后发现的。已在柑橘、梨及猕猴桃等果树上发现了抗寒性芽变，并育成了抗寒新品种。例如**1976**年江苏省无锡在冬季冻害后，选出一株抗寒芽变温州蜜柑**16**号，历经**1977~1980**年三次低温考验没有发生冻害，还具有熟期早、产量高、品质优等优点。

（三）杂交育种

杂交育种是抗寒育种的主要方法。目前已通过有性杂交育成了苹果、梨、葡萄及李等果树一大批抗寒新品种，这些抗寒新品种的育成，丰富了我国北方地区的品种组成，在生产上发挥了巨大作用（表10.4）。

在进行杂交育种时，亲本的选择特别重要，双亲中的一方应具有较强的抗寒力，最好选用寒地栽培或半栽培的抗寒品种。如果选用抗寒野生种应尽可能选择野生种的大果型和酸涩味较轻的类型作亲本。亲本的另一方，应尽量选择具有优良经济性状，同时具有较强抗寒力的品种，如苹果上可选择国光、旭等品种作为杂交亲本。

第六节 植物逆境信号传递与抗逆育种

植物生长在多变的环境中，往往同时或相继遭受多种逆境因子（病虫、干旱、盐渍及冷冻等）的影响。从环境胁迫到植物作出反应（产生抗性 or 伤害）实际是一系列复杂的逆境信号传递过程，这一过程涉及植物对刺激的感受与识别、逆境信使的产生和传输以及反应部位对逆境信使的识别与转导等3个阶段（**Davies WJ**等，1991）。大量研究表明蛋白质的磷酸化与去磷酸化过程在细胞的信号识别与转导中起重要作用，它是生物体中普遍存在的一种调节机制。蛋白质的磷酸化作用是蛋白激酶将**ATP** γ 位的磷酸基团转移到底物氨基酸残基上的过程。目前已在番茄、芒果和苹果果实等几乎所有植物器官中检测到蛋白激酶的存在。与逆境信号传递关系最密切的蛋白激酶主要有：分裂原激活蛋白激酶（**mitogen-activated protein kinase, MAPK**）、钙依赖而钙调素不依赖的蛋白激酶（**calcium-dependent and calmodulin-independent protein kinase, CDPK**）、受体蛋白激酶（**receptor protein kinase, RPK**）、核糖体蛋白激酶（**ribosomal-protein kinase**）及转录调控蛋白激酶（**transcription-regulation protein kinase**），其中研究比较清楚的是**MAPK**（杨洪强，2001）。目前的研究表明，脱落酸（**ABA**）及游离钙离子等是重要的信使物质，在逆境信号传递过程中起重要作用（图10-2）。

植物逆境信号传递是一个复杂的系统工程，其中的一些分子机制正被逐步阐明，但未知数仍然很多，诸如：①胁迫信号是怎样被植物细胞识别的？②内源**ABA**的识别作用机制是什么？③怎样有效的培育出高品质的抗逆作物新品种？等，对于最后一个问题，我们注意到，一个调控或转录因子往往可以调控几个功能基因的表达，因此，在提高植物对环境胁迫抗性的分子育种中，与逐个改良或导入功能基因来获得抗性的传统方法相比，从改良或增强一个关键的转录因子的表达或调控能力着手，也许是提高植物抗逆性更为有效的方法和途径。

第六节 植物逆境信号传递与抗逆育种

植物生长在多变的环境中，往往同时或相继遭受多种逆境因子（病虫、干旱、盐渍及冷冻等）的影响。从环境胁迫到植物作出反应（产生抗性 or 伤害）实际是一系列复杂的逆境信号传递过程，这一过程涉及植物对刺激的感受与识别、逆境信使的产生和传输以及反应部位对逆境信使的识别与转导等**3**个阶段（**Davies WJ**等，**1991**）。大量研究表明蛋白质的磷酸化与去磷酸化过程在细胞的信号识别与转导中起重要作用，它是生物体中普遍存在的一种调节机制。蛋白质的磷酸化作用是蛋白激酶将**ATP** γ 位的磷酸基团转移到底物氨基酸残基上的过程。目前已在番茄、芒果和苹果果实等几乎所有植物器官中检测到蛋白激酶的存在。与逆境信号传递关系最密切的蛋白激酶主要有：

分裂原激活蛋白激酶（**mitogen-activated protein kinase, MAPK**）、钙依赖而钙调素不依赖的蛋白激酶（**calcium-dependent and calmodulin-independent protein kinase, CDPK**）、受体蛋白激酶（**receptor protein kinase, RPK**）、核糖体蛋白激酶（**ribosomal-protein kinase**）及转录调控蛋白激酶（**transcription-regulation protein kinase**），其中研究比较清楚的是**MAPK**（杨洪强，2001）。目前的研究表明，脱落酸（**ABA**）及游离钙离子等是重要的信使物质，在逆境信号传递过程中起重要作用。

植物逆境信号传递是一个复杂的系统工程，其中的一些分子机制正被逐步阐明，但未知数仍然很多，诸如：①胁迫信号是怎样被植物细胞识别的？②内源**ABA**的识别作用机制是什么？③怎样有效的培育出高品质的抗逆作物新品种？等，对于最后一个问题，我们注意到，一个调控或转录因子往往可以调控几个功能基因的表达，因此，在提高植物对环境胁迫抗性的分子育种中，与逐个改良或导入功能基因来获得抗性的传统方法相比，从改良或增强一个关键的转录因子的表达或调控能力着手，也许是提高植物抗逆性更为有效的方法和途径。