

# 植物 DNA 甲基化与低温胁迫研究进展及展望

孟德斌<sup>1</sup>, 郭九峰<sup>1</sup>, 马梦宇<sup>1</sup>, 于林清<sup>2</sup>, 于利伟<sup>3</sup>

(1. 内蒙古大学 物理科学与技术学院, 内蒙古 呼和浩特 010021; 2. 中国农业科学院 草原研究所, 内蒙古 呼和浩特 010010; 3. 东北师范大学, 吉林 长春 130024)

**摘要:**非生物胁迫中能够影响植物产量和生长的因素包括高盐、干旱、低温等。过低的环境温度对植物造成低温胁迫,进而影响植物的生长、发育、产量以及种子品质。在调控表达真核生物基因的过程中,DNA 的甲基化起到了关键性的作用,并且是参与构成表观遗传学的主要成分。为使植物更好地适应冷胁迫,创造抗寒性新种质,通过对国内外植物 DNA 甲基化以及低温胁迫的研究进展进行综述,对应对低温胁迫,开展表观遗传研究提出展望。

**关键词:**非生物胁迫;低温胁迫;DNA 甲基化

**中图分类号:**Q945.78 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)08-0119-06 **DOI:**10.11942/j.issn1002-2767.2017.08.0119

纵观植物生命发生发展整个过程,从种子萌发到植物的衰老死亡,由于环境因素的变化植物本身都会伴随着 DNA 甲基化水平或状态的变化。这一变化,是植物对环境因素的积极响应,是环境与基因的相互作用,是对本身的保护措施之一。此外,植物的正常生长发育过程中,会维持一定的 DNA 甲基化水平。本文对植物 DNA 甲基化的由来、方式、类型、分析方法以及对基因的表达调控的影响等方面的研究进展进行简要的概述与总结,最后对植物 DNA 甲基化这个热点问题进行讨论和展望,以期在以后的科学研究中能通过相关技术手段调节甲基化的水平或状态,使植物更好的适应冷胁迫。尤其是我国北方寒冷地区,利用这项理论技术,创造抗寒性新种质,该研究也对一些植物的保护起到重要作用。

## 1 DNA 甲基化

### 1.1 DNA 甲基化的由来

“环境和基因的相互作用而出现新的表型”这一定义主要是用于描述表观遗传学,第一次提到表观遗传学的概念的是生物学家 Waddington<sup>[1]</sup>于 1942 年提出。DNA 甲基化主要是利用对基因的表达产生影响而改变其功能,但是基因的碱基序列不会因此发生变化,这是 Holiday<sup>[2]</sup>对于表

观遗传学系统性论断进行了更新后的定义。表观遗传变异是表观遗传学的主要研究目标,染色质重塑(chromatin remodeling)、小RNA(miRNA, siRNA)以及 DNA 甲基化(DNA methylation)都属于表观遗传变异的研究范畴,其中以 DNA 甲基化最为常见<sup>[3-4]</sup>。胞嘧啶中的 5 位碳原子上通过 DNA 甲基转移酶的作用,增加一个新的甲基基团,构成 5-甲基胞嘧啶(5mC)这一过程被称为 DNA 甲基化(DNA methylation)。

许多研究结果表明,DNA 甲基化现象在高等植物中普遍存在,DNA 甲基化水平在不同的物种中不尽相同,通常情况下,甲基化的胞嘧啶在基因组 DNA 中占有 30%~50%<sup>[5]</sup>,其中又以 CpNpG 三核苷酸以及 CpG 二核苷酸对中占有率最多。由于 DNA 甲基化对植物生命活动的重要调节作用,以及和转基因沉默、基因组印记、基因调控表达等生物进程的息息相关<sup>[6-8]</sup>,作为修饰表观遗传主要路径之一的 DNA 甲基化,成为近年来遗传学研究中的热门领域。

### 1.2 DNA 甲基化的方式

1.2.1 胞嘧啶甲基化 CpG(CNG,CCGG)位点胞嘧啶 C5 在 DMT(DNA 甲基转移酶)的作用下甲基化。

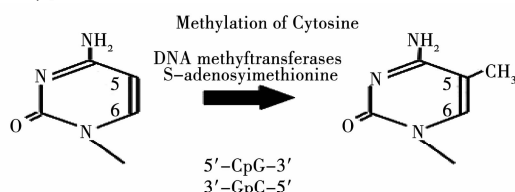


图 1 胞嘧啶甲基化过程

Fig. 1 Cytosine methylation process

收稿日期:2017-06-24

基金项目:国家自然科学基金资助项目(51467014)

第一作者简介:孟德斌(1992-),男,内蒙古呼伦贝尔市人,在读硕士,从事环境生物物理研究。E-mail: 328894077@qq.com。

通讯作者:郭九峰(1964-),男,内蒙古赤峰市人,博士,研究员,硕士生导师,从事生物物理与生物技术研究。E-mail: guojf101@sina.com。

1.2.2 腺嘌呤甲基化 序列 GATC 能够被 DAM (DNA 腺嘌呤甲基转移酶) 识别, 并在该位置两条链的腺嘌呤 N-6 位置发生甲基化, 并且 SAM 转变为 SAH (S-腺苷高半胱氨酸)。

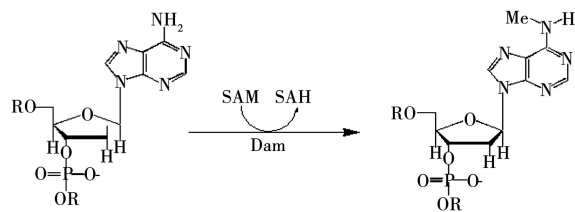


图2 腺嘌呤甲基化过程

Fig. 2 Adenine methylation process

### 1.3 DNA 胞嘧啶甲基化的类型

DNA 胞嘧啶利用甲基化酶甲基化的方法主要有两种。

第一种是从头甲基化 (de novo methylation) DNMT3a, DNMT3b 在完全没有甲基化的 DNA 上加上甲基, 即作用于非甲基化的 DNA 链, 产生半甲基化的 DNA。第二种是维持甲基化 (maintenance methylation) Met1, DNMT1 较特异地识别半甲基化状态的 DNA, 负责在细胞分裂过程中依据 DNA 母链的甲基化状态给新合成的 DNA 链上加上甲基。

甲基化酶是决定甲基化水平和甲基化产生高低的关键性因素。胞嘧啶甲基转移酶是真核生物中的唯一一种甲基化酶。植物中催化甲基化的酶有三种。第一种是和哺乳动物的 Dmmt3 相类似的重新甲基化酶, 对甲基化重新催化; 第二种是甲基化的位置在异染色质区序列, 并且只存在于植物中染色质甲基化酶; 第三种是家族, 维持在单拷贝和重复序列中的甲基化是其主要功能, 同时在重新甲基化中也能够发挥一定功能, 在序列处发生甲基化, 但主要是在序列上发生<sup>[9-11]</sup>。

### 1.4 基于基因组 DNA 甲基化分析方法

在不断深入的甲基化研究发展中, 由于在不同种类的研究中需求的不同, 研究者开发出多种多样的甲基化检测方式。近几年, 特定片段的甲基化检测以及基因组 DNA 甲基化分析是甲基化分析检测方法的主要适用对象。

早年间, 对基因组中 DNA 甲基化的分析方法种类繁多, 像 20 世纪 90 年代用重亚硫酸盐处理以限制性内切酶为基础的方法、免疫学抗体技术、氯乙醛反应技术、甲基转移酶分析技术等, 但

这些技术还存在分析前需要先获得待测 DNA 的序列、设计引物费时耗力、操作不简便等弊端, 使得这些技术在研究植物的过程中不能普及。对于植物中甲基化的分析模式在近几年常见有两种:

1.4.1 甲基化敏感扩增多态性 (MSAP) 技术 现阶段, 在植物和动物基因组甲基化程度的研究过程中, 利用最多的检测手段就是 DNA 甲基化敏感扩增多态性 (MSAP), 该检测方法具有实用性强、敏感性高的特点。扩增片段长度多态性 (AFLP) 是 DNA 甲基化敏感扩增多态性的发展基础, 它主要是通过 Msp I 和 Hpa II 两种对甲基化敏感的內切酶, 对 CCGG 位点的 mC (甲基化的胞嘧啶) 进行识别, 不过这两种酶不一样的甲基化位点的敏感程度: 外侧的 mC (m CCGG) 不被 Msp I 识别, 而双链的 mC 不能被 Hpa II 识别, 其只能对一条链上的 mC 进行识别, 所以能够在 CCGG 位点被 Msp I 识别后, 对于序列是不是出现甲基化的变化用 HpaII 来鉴定<sup>[12]</sup>。

1.4.2 高效液相色谱法 目前可以准确、简单、快速对 DNA 中 5mC 的含量进行测定的一种技术手段是高效液相色谱 (HPLC) 法。其主要技术原理是: 通过酶或酸的作用将基因组 DNA 进行裂解, 裂解后的碱基在流动相内能够溶解, 并且流经色谱柱位置时被分开, 对不同碱基在波长为 260~285 nm 的紫外光下的吸收峰进行测量并定量, 对比标准样的结果进行统计分析。DNA 总甲基的测定方法中最多见的就是 HPLC, 但是由于该方法不能对发生 DNA 甲基化的状态和具体位置进行确定, 所以具有一定程度的局限性<sup>[12]</sup>。

两种分析方法各有优缺点, 甲基化敏感扩增多态性 (MSAP) 可以对整个基因组内的发生甲基化的位置进行扫描, 能够利用切割生成的短序列对中胞嘧啶在整个 DNA 序列中的甲基化情况和程度进行反映。MSAP 是最典型的研究甲基化的手段, 该方法的优点是方便理解、明确的甲基化位点、廉价的成本以及简便的操作。而除了 CCGG 序列, 其它序列中也能存在 CG 的情况会被忽视, 这种检测手段只适用于和转录有关的重要性位置的甲基化水平的检测情况。高效液相色谱 (HPLC) 方法只能得到 DNA 总体甲基化水平。很多实验将两种方法结合起来检测植物 DNA 甲基化水平, 结果表明, HPLC 的检测结果与

MSAP 结果类似。

## 2 低温胁迫与植物 DNA 甲基化

### 2.1 DNA 甲基化在植物响应冷胁迫中的作用

当植物生长的环境温度比其正常生长温度低时,由于植物的呼吸作用变强,光合作用减少,阻碍其体内物质的合成和能量的产生,使植物消耗增多,不足以提供植物生长所需,对植物的正常生育产生了严重影响,甚至引起其死亡。低温胁迫下植物的响应是主动的应激过程而不是被动反应。据研究显示,在植物的生长过程中,甲基化起着关键的作用。植物发生生理性质以及形态上的改变常是由于甲基化程度的不正常导致的。能够对植物应对环境胁迫、抗病性、生育期、花器官发育、植物株高等都产生影响,在植物响应环境胁迫以及生长发育等 7 d 生命进程中,DNA 甲基化都起到了重要作用。

在各种逆境之下,生物体的主要应对机制就是 DNA 去甲基化和甲基化<sup>[13]</sup>。近几年,据研究显示,DNA 的甲基化程度会受到低温胁迫的影响,但在不同类型的植物中,结果不尽相同,体现出组织、品种(物种)的特异性。盖树鹏<sup>[14]</sup>等研究显示,在牡丹中,基因组全甲基化程度和总甲基化程度随着低温积量的增加而呈降低趋势,推测去甲基化和甲基化在牡丹的基因表达中起着调控作用,牡丹芽的休眠由此决定。Steward 等<sup>[15]</sup>研究表明,玉米幼苗的基因组甲基化程度会受到低温环境胁迫的影响而下降。

马铃薯茎尖玻璃化法超低温保存及其遗传稳定性研究中,超低温处理马铃薯茎尖后,其体内会产生甲基化和去甲基化,甲基化是其体内的主要变化方式<sup>[16]</sup>。研究 DNA 甲基化是否参与茶树的低温响应中,研究对象选择驯化前(11 月 2 日)、驯化后(12 月 19 日)、脱驯化(2014 年 2 月 20 日)三个时期的样品,DNA 甲基化水平在脱驯化和冷驯化后的样品中显著升高。表明茶树在抗寒响应中出现 DNA 甲基化现象,且冷驯化提高了茶树基因组 DNA 的甲基化水平<sup>[17]</sup>。

Zhang<sup>[19]</sup>发现在低温诱导草莓休眠时,其甲基化水平呈显著升高的趋势,而 Burn 等<sup>[18]</sup>研究表明,拟南芥受到低温处理后甲基化水平降低。Pan 等<sup>[20]</sup>在水稻的低温胁迫情况其基因组的甲基化水平研究中发现,耐寒品种 LTH 在苗期圆锥花序中发生去甲基化,而在其根部甲基化水平

显著提高;在低温敏感品种 IR64 的孕穗期,圆锥花序中发生去甲基化,而其叶片在经受低温胁迫后,甲基化水平显著提高。Mayer 等<sup>[21]</sup>研究表明,低温驯化后的 4 个大麻品种,其体内甲基化程度获得了不同幅度的上升,其中一个品种与对照相比甲基化程度较低,另一个始终保持较高水平,但其中两个下降为没驯化前的程度,体现出了显著的品种特异性。

基因沉默的激活需要通过协调去甲基化的解除和甲基化的抑制过程进行作用,是基因的一种调控手段。特异性和非特异性去甲基化是去甲基化两种方式。现阶段,真核生物去甲基化的机制尚未明确。在去甲基化的体外实验研究中发现,去甲基化是核苷酸通过先切掉在连接的方式利用在甲基化酶的催化下代替核苷酸同时被 RNA 分子调控过程。甲基化不可以遗传的主要原因是,由于在 DNA 进行复制时,半甲基化 DNA 受到 DNA 上的核因子的妨碍而不能被 MTase 进行识别,在世代传递的进程中,甲基化在原始的 DNA 模板上被慢慢消失。基因表达的时控特性由于组织特异性和阶段特异性同时存在的异性去甲基化而存在。

最初出现在植入期,推测由于特异性甲基化的出现,使得甲基化出现在大多数的基因中,尚未甲基化的只有岛,在这一过程中,锚定在岛特异位点蛋白对甲基化酶活性的激活产生影响,并且基因周围的顺式作用元件被反式作用因子所识别进行调节,目前已经证明序列存在于接近全部的岛中,在避免岛出现重新甲基化的过程中,这个顺式调节元件起着重要意义。

由此证明,甲基化变异广泛存在于高等真核生物中,甲基化变异的存在给予生物的进化以及种类的多样性新的机遇,并且给予新品种的培育以及遗传资源扩大化新的优良路径,让人们了解的同时能够更好的进行使用。

### 2.2 DNA 甲基化与基因表达调控

大量实验表明,植物在遭受胁迫时,能够利用自身甲基化程度(去甲基化和甲基化)的改变调控基因表达来应对。FLC 基因在冷胁迫处理时间延长的情况下发生基因沉默,抑制植物开花作用<sup>[23]</sup>。而 met1 的突变体,不需要冷处理来诱导开花,说明这种发育的转变是由表观控制的。在玉米根部,但是不进行低温处理 met1 的突变体也能够使其开花,表明开花这一生长的转变过程

主要是通过表观来调控的。玉米的根部中 DNA 甲基化程度在核小体核心区域的降低和 ZmM11 在冷诱导下的表达相关。在恢复后的一周,冷诱导后的甲基化程度也未恢复到正常程度。组织经过冷处理以后,能够强烈抑制 DNA 的复制,所以推断不是被动的去甲基化而是主动的甲基化导致基因组的低甲基化水平。染色质结构的松弛和去甲基化发生在核小体核心区域受冷诱导后,能够调控很多胁迫调控基因的转录水平。其它的一些研究表明,当植物受到胁迫时,被迫其发生甲基化的变化来适应。烟草中的 Nt GPDH 基因在受到冷、盐、除草剂和铝胁迫时,去甲基化会发生在该基因序列中。在植物的发育生长进程中,植物基因的表达受到 DNA 甲基化调控从而调控其发育,在植株的转基因、植物花器官的发育以及开花作用中,DNA 甲基化都起到了关键性的作用<sup>[24]</sup>。

对抑制非编码 DNA(潜在的具有活性的转座子、重复元件以及内含子)的长期沉默,作为一种能够遗传的修饰手段,DNA 甲基化带来了一种有效的抑制方式,DNA 复制后,DNA 的构象会由于胞嘧啶的甲基化而发生改变,使得 DNA 结合蛋白和 DNA 的大沟不能正常结合,因此这些非编码区维持长期的沉默无活性水平。即使在高度甲基化的非转录区域,非甲基化的启动子也能够激活有转录活性的基因进行表达转录,启动子同样能够参与调控以及使转录开始<sup>[25]</sup>。在植物的生长过程中,基因组 DNA 的甲基化水平也会随周围条件的改变而发生对应的改变。因此,可以利用甲基化、去甲基化和从头甲基化来控制植物内基因的表达模式,需要表达是开启,不需要是沉默。因此,在不同生长阶段和不同的环境水平下,都能对植物的基因进行时空表达,在植物的多个生物进程起到关键性的作用。

植物基因中的转座子会受到甲基化的作用而被抑制,其属于植物基因组中的关键构成。转座子的激活有可能会因为环境因子导致的 DNA 去甲基化产生。

冷胁迫诱导金鱼草(*Antirrhinum majus* L.) 中的 Tam-3 转座子和低甲基化的转座,其甲基化水平的降低能够通过低温处理获得,DNA 复制后,在 GCHCG 位点会快速结合 Tam3 转座子的转座酶,使转座子 Tam3 的切割程度提高,避免序列发生重新甲基化。并且发现品种经胁迫处理后,提出了一个开花基因 CONSTANS 即水稻同

源基因的中 mPing 转座的假说,转座子经环境胁迫后能够使基因组适应冷环境<sup>[27]</sup>。Song<sup>[28]</sup> 研究显示,转座的元件和转座的衍生物大量的出现在性基因(R-gene)中,能够使得该家族基因具有多样性。同样对这一观点持有赞同态度的有 Barbara Mc Clintock,并认为环境胁迫能够激活植物基因组的转座子从而使其发生改变<sup>[29]</sup>。

在植物的生长过程中,DNA 甲基化发挥着关键的调节功能。一般情况下,DNA 的去甲基化可以提高植物的转录水平,起到表达促进作用,甲基化会抑制基因的表达<sup>[30]</sup>。阳光等<sup>[31]</sup> 研究表明,通过 DNA 甲基化敏感扩增多态性方法对冷胁迫处理后玉米幼苗分析其在不同时刻中的甲基化改变程度。结果显示,对处理组进行冷胁迫后,和对照组相比,其甲基化程度显著提高。选取了 211 个具有差异的序列片段进行回收测序,分析后发现能够比对到同源基因的仅有 28 个,在玉米发育生长的进程中,存在很多过程和这些基因相关系。由此可知,玉米的转座子能够在冷处理情况下被激活,其应对冷胁迫的方式就是产生甲基化。

华扬等<sup>[32]</sup>对水稻 9311 叶片进行 48 h 的 5℃ 冷处理后,分析其 DNA 胞嘧啶甲基化模式发现,在处理后的水稻中,去甲基化和重新甲基化发生在基因组中一些 CCGG 位点上,在冷处理后,获得了甲基化的 CIDM7 片段,冷胁迫后 CIDM7 的强表达利用 Northern 杂交得到了证实。以前的研究也显示,基因的表达抑制能够受基因的邻近区域和内部甲基化的调控,而基因的激活表达又受到去甲基化的调控<sup>[33]</sup>。所以,推测部分基因表达的必须条件是去甲基化。

甲基化调控植物基因表达的基础特点就是调控植物的发育生长作用。首先,它会对植物的正常发育生长进行调控,植物正常的发育生长的维持,需要甲基化 DNA 以不同的程度和数量存在于生物体内。当植物自身甲基化水平较低时,则或影响植物的正常发育产生异常表型。

植物发育生长的进程中,如果某个基因出现重新甲基化的位置在编码区或者启动子区域,那么就会关闭这个基因,抑制其转录水平,使其表达终止<sup>[34]</sup>。基因表达受 DNA 甲基化影响的方法作用有两种,一是间接影响:甲基 CPG 结合蛋白或称为特异蛋白质会结合在甲基化 DNA 上,DNA 甲基化的结合位点会被该蛋白和转录因子一起争夺,由此产生一个多蛋白质复合体在甲基化 DNA

上,染色体组蛋白发生乙酰化变化会由于多蛋白质复合体导致,使得转录受到抑制<sup>[35]</sup>。二是直接影响:DNA 和转录因子的结合会受到 DNA 的甲基化的直接扰乱,使得正常转录不能够进行,基因表达的抑制通常不以这种形式进行。

研究发现,DNA 甲基化水平在小麦、甘蓝、拟南芥等植物中下降时,能够导致植株产生结实率低、丛状株、叶片变小、植株矮化等现象<sup>[36]</sup>。

植物在不同发育时期有不同的甲基化水平,植物内源基因的转录水平的调控,利用改变其体内 DNA 的甲基化水平,能够使基因的关闭和开启在不同时期按需进行,实现基因调控的时空表达模式。基因表达受到甲基化的调节主要是在进行转录时,以转录的最初阶段为主。此外,植物体内甲基化水平的降低是由于植物体受到低温胁迫的影响,该机制使得甲基化程度的减少和春化作用诱导植物开花紧密联系。利用去甲基化试剂 5-氮胞苷和低温分别处理拟南芥,拟南芥在两种情况下都呈现出开花提前的现象,同时其甲基化程度的降低在两种处理中都有发现。但是利用 5-氮胞苷处理对春化作用不敏感的植物时,不会诱导其开花,这表明春化作用是通过去甲基化来解除开花的启动障碍<sup>[18]</sup>。说明开花被春化作用诱导,可能是由于去甲基化发生在诱导开花相关基因或者基因的启动子区域,使基因表达受到促进,而重新甲基化发生在抑制开花的基因中,使其表达终止,从而使植物产生生理生化变化,促进其开花。春化的分子基础是去甲基化<sup>[22]</sup>。

### 3 讨论与展望

DNA 甲基化的发生比例在不同种类的组织 and 高等植物中不尽相同,且差异较大,大部分的 DNA 甲基化比例小于 50%<sup>[37-39]</sup>。

植物的分布和发育受到重要影响的环境条件之一是低温胁迫,研究显示,植物需要经历一定时间的低温驯化才能产生抗寒性,也与植物自身的遗传特性有关,由于部分和抗寒相关的基因在驯化过程中产生改变,使得植物能够响应低温<sup>[40]</sup>。现阶段,在小麦<sup>[42]</sup>、拟南芥<sup>[41]</sup>等多个物种中已经获得证明,同时在转录组测序中,对茶树进行分析获得了大量有关于冷驯化的基因,这类基因上下的表达会受到冷驯化的调控<sup>[43]</sup>。在众多调控基因表达的机制中,DNA 甲基化是其中一种关键的调控方式<sup>[37]</sup>。

结合本文所述,低温环境下植物均会出现甲

基化水平的变化。一般来说抗性较好(耐低温,耐盐碱,耐干旱等)的品种甲基化程度变化较抗性敏感品种变化小,而且种内和种间都存在差异,且具有时期和组织特异性。相关基因在受到低温胁迫下的表达方式会受到甲基化状态和程度的调节,从而使植物适应环境温度的变化,是一个主动的响应过程。

在分子生物持续发展的进程中,现在已经从生理层面转变到分子层面对植物对逆境适应的原理进行研究,可让人们更深层次的了解植物对逆境的冷响应机制。植物在低温胁迫下,通过各种生理生化变化来适应环境胁迫,作为冷响应之一的 DNA 甲基化,其变化水平与低温胁迫有着密切的联系,植物通过 DNA 甲基化水平和模式的改变及调控相关基因的表达以适应低温胁迫。

DNA 甲基化作为从细菌到人类最普遍的表现遗传方式,已成为当前科学研究热点,人类已经实现利用分子生物学技术对细胞特异表型的发生和甲基化的关系,以及功能基因表达与甲基化的影响进行研究。但是,去甲基化的意义和手段、细胞特定代谢环境和甲基化的协调机制、功能基因的表达受到甲基化调控以及甲基化的时空修饰等问题仍需解决。植物的环境胁迫中,把植物中调节代谢的体系和调节环境诱导信息以及动态的甲基化资讯进行相互联系,是将来利用分子生物学技术完成植物胁迫问题的关键举措。

### 参考文献:

- [1] Waddington C H. Canalization of development and the inheritance of acquired characters [J]. Nature, 1942, 150(3811):563-565.
- [2] Holliday R. The inheritance of epigenetic defects[J]. Science, 1987, 238(4824):163-170.
- [3] Rassoulzadegan M, Grandjean V, Gounon P, et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse[J]. Nature, 2006, 441(7092): 469-474.
- [4] Wu C T, Morris J R. Genes genetics and epigenetics: a correspondence[J]. Science, 2001, 29(3): 1103-1105.
- [5] Chan S W, Henderson I R, Jacobsen S E. Gardening the genome: DNA methylation in *Arabidopsis thaliana* [J]. Nat Rev Genet, 2005, 6(5): 351-360.
- [6] Adams K L, Percifield R, Wendel J F. Organ-specific silencing of duplicated genes in a newly synthesized cotton allotetraploid [J]. Genetics, 2004, 168(4): 2217-2226.
- [7] Jullien P E, Kinoshita T, Ohad N, et al. Maintenance of DNA methylation during the *Arabidopsis* life cycle is essential for parental imprinting [J]. Plant Cell, 2006, 18(1): 1360-1372.
- [8] Wang W, Zhao X, Pan Y, et al. DNA methylation changes

- detected by methylation-sensitive amplified polymorphism in two contrasting rice genotypes under salt stress[J]. J Genet Genomics, 2011, 38(9): 419-424
- [9] Cao X, Springer N M, Muszynski M G, et al. Conserved plant genes with similarity to mammalian de novo DNA methyltransferases[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(9): 4979-4984.
- [10] Lindroth A M, Cao X, Jackson J P, et al. Requirement of CHROMOMETHYLASE3 for maintenance of Cp Xp G methylation[J]. Science, 2001, 292(5524): 2077-2080.
- [11] Tompa R, Mc Callum C M, Delrow J, et al. Genome-wide profiling of DNA methylation reveals transposon targets of CHROMOMETHYLASES3 [J]. Current Biology Cb, 2002, 12(1): 65-68.
- [12] 沈佳尧, 侯鹏, 祭美菊, 等. DNA 甲基化方法研究现状[J]. 生命的化学, 2003, 23(2): 149-151.
- [13] Grant-Downton R T, Dickinson H G. Epigenetic and its implication for plant biology: 2. The 'epigenetic Epiphany': epigenetics, evolution and beyond[J]. Annals of Botany, 2006, 97(1): 11-27.
- [14] 盖树鹏, 张风, 张玉喜, 等. 低温解除牡丹休眠进程中基因组 DNA 甲基化敏感扩增多态性(MSAP)分析[J]. 农业生物技术学报, 2012, 20(3): 261-267.
- [15] Steward N, Ito M, Yamaguchi Y, Koizumi N, Sano H. Periodic DNA methylation in maize nucleosomes and demethylation by environmental stress[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(40): 37741-37746.
- [16] 石茹. 马铃薯茎尖玻璃化法超低温保存及其遗传稳定性研究[D]. 青海: 青海大学, 2011: 36-39.
- [17] 周艳华, 曹红利, 岳川, 等. 冷驯化不同阶段茶树 DNA 甲基化模式的变化[J]. 作物学报, 2015, 41(7): 1047-1055.
- [18] Burn J E, Bagnall D J, Metzger J D, et al. DNA methylation, vernalization, and the initiation of flowering[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(1): 287-294.
- [19] Zhang L, Wang Y, Zhang X H, et al. Dynamics of phytohormone and DNA methylation patterns changes during dormancy induction in strawberry (*Fragaria ananassa* Duch)[J]. Plant Cell Rep, 2012, 31(1): 155-165.
- [20] Pan Y J, Wang W S, Zhao X Q, et al. DNA methylation alterations of rice in response to cold stress [J]. Plant Omics, 2011, 4(7): 364-369.
- [21] Mayer B F, Ali-Benali M A, Demone J, et al. Cold acclimation induces distinctive changes in the chromatin state and transcript levels of COR genes in *Cannabis sativa* varieties with contrasting cold acclimation capacities[J]. Physiologia Plantarum, 2015, 155(3): 281-281.
- [22] 杨静. 苦瓜耐低温研究机制 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008: 11-15.
- [23] Finnegan E J, Genger R K, Kovac K, et al. DNA methylation and the promotion of flowering by vernalization[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(10): 5824-5829.
- [24] Muhammad T, Jerzy P. DNA and histone methylation in plants[J]. Trends in Genetics, 2004, 20(6): 244-251.
- [25] 郑小梅, 伍宇丰. DNA 甲基化作用的生物学功能[J]. 中国农业科技导报, 2009, 11(1): 33-39.
- [26] 魏华丽, 杨文华, 韩素英, 等. 表观遗传学在木本植物中的研究策略及应用[J]. 中国农业科学导报, 2009, 11(2): 10-16.
- [27] Jiang N, Bao Z, Zhang X, et al. An active DNA transposon family in rice [J]. Nature, 2003, 421(6919): 163-167.
- [28] Song W Y, Pi L Y, Wang G L, et al, Ronald P C. Evolution of the rice Xa21 disease resistance gene family[J]. Plant Cell, 1997, 9(8): 1279-1287.
- [29] McClintock B. The significance of respons of the genome to challenge[J]. Science, 1984, 226(4676): 792-801.
- [30] Kovarik A, Koukalovd B, Bezdek M, et al. Hypermethylation of tobacco heterochromatic loci in response to osmotic stress[J]. Theoretical & Applied Genetics, 1997, 95(1-2): 301-306.
- [31] 阳光. 玉米苗期冷响应分子机理的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2010: 113-124.
- [32] Hua Y, Chen X F, Xiong J H, et al. Isolation and analysis of differentially-methylated fragment CIDM7 in rice induced by cold stress[J]. Hereditas, 2005, 27(4): 595-600.
- [33] Grunau C, Renault E, Rosenthal A, Roizes G. MethDB—a public database for DNA methylation data [J]. Nucleic Acids Research, 2001, 29(1): 270-274.
- [34] Wassenegger M, Pelissier T. A model for RNA-mediated gene silencing in higher plants[J]. Plant Mol Biol, 1998, 37(2): 349-362.
- [35] Curradi M, Izzo A, Badaracco G, Landsberger N. Molecular mechanisms of gene silencing mediated by DNA methylation [J]. Molecular & Cellular Biology, 2002, 22(9): 3157-3173.
- [36] King G J. Morphological development in *Brassica oleracea* is modulated by in vivo treatment with 5-azacytidine[J]. Journal of Horticultural & Biotechnology, 1995, 70(2): 333-342.
- [37] Li X L, Lin Z X, Nie Y C, et al. MSAP analysis of epigenetic changes in cotton (*Gossypium hirsutum* L.) under salt stress[J]. Acta Agron Sin, 2009, 35(4): 588-596.
- [38] 潘雅娇, 傅彬英, 王迪, 等. 水稻干旱胁迫诱导 DNA 甲基化时空变化特征分析 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(9): 3009-3018.
- [39] Richards E J. DNA methylation and plant development[J]. Trends in Genet Tig, 1997, 13(8): 319-323.
- [40] Kalberer S R, Wisniewski M, Arora R. Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts[J]. Plant Sci, 2006, 171(1): 3-16.
- [41] Thomashow M F. Plant cold acclimation: Freezing tolerance genes and regulatory mechanisms[J]. Annual Review of Plant Biology, 1999, 50(50): 571-599.
- [42] Christov N K, Yoneyama S, Shimamoto Y, et al. Differential expression of wheat genes during cold acclimation[J]. Cytol Genet, 2007, 41(3): 142-150.
- [43] 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): 415-423.

# 美国俄亥俄州保护性耕作体系情况与 黑龙江省农业持续发展建议

盖志佳,赵文军,刘婧琦,蔡丽君,杜佳兴,赵桂范,张敬涛  
(黑龙江省农业科学院 佳木斯分院,黑龙江 佳木斯 154007)

**摘要:**2016年9月17日-11月17日,应美国俄亥俄州立大学南部中心菲克·伊斯兰姆博士邀请出访美国学习先进的保护性耕作技术。通过2个月的学习、培训、交流了解到美国俄亥俄州先进的保护性耕作模式主要有3种,第一种是大豆-冬小麦-玉米3年期的轮作,其中冬小麦收获后可引入大豆作为保护性覆盖作物;第二种是大豆-玉米的隔年轮作;第三种是大豆-玉米轮作中引入黑麦等覆盖作物。该保护性耕作技术体系十分成熟,处于世界领先地位,结合黑龙江省农业发展现状,3种先进的保护性耕作模式中,大豆-玉米隔年轮作的保护性耕作技术适宜在黑龙江省大面积推广。

**关键词:**俄亥俄州;黑龙江省;大豆;玉米;保护性耕作体系

**中图分类号:**S34(712);S-0 **文献标识码:**A **文章编号:**1002-2767(2017)08-0125-05 DOI:10.11942/j.issn1002-2767.2017.08.0125

黑龙江省农业科学院佳木斯分院作为国家引智基地,2014年引进美国保护性耕作专家,2015

年分院研究科研人员陆续出访美国进行学习培训,真正作到了“引进来交流,走出去学习”,有利于引智基地服务推广能力的提升以及引智成果的示范、推广,为进一步加强未来黑龙江省农业科学院佳木斯分院与美国俄亥俄州立大学的合作研究奠定了基础。目前,作为国家粮食“压仓石”的黑龙江省有关作物保护性耕作的研究及应用已经取得了一些有益的成果。如垦区的大豆玉米原垄卡少耕种植技术,黑龙江省农业科学院佳木斯分院可持续农业技术研究所研制的窄行大豆免耕技术

**收稿日期:**2017-06-28  
**基金项目:**黑龙江省现代农业生产协同创新体系东部大豆综合试验站资助项目;黑龙江省农业科学院院级科研资助项目(2017JS07)  
**第一作者简介:**盖志佳(1985-),男,黑龙江省佳木斯市人,博士,助理研究员,从事大豆栽培生理与耕作研究。E-mail:gaizhijia@163.com。  
**通讯作者:**张敬涛(1964-),男,黑龙江省富锦市人,硕士,研究员,从事大豆栽培与耕作研究。E-mail:Zhangjt@163.com。

## Research Progress and Prospect of Plant DNA Methylation and Low Temperature Stress

MENG De-bin<sup>1</sup>, GUO Jiu-feng<sup>1</sup>, MA Meng-yu<sup>1</sup>, YU Lin-qing<sup>2</sup>, YU Li-wei<sup>3</sup>

(1. Physical Science and Technology College, Inner Mongolia University, Hohhot, Inner Mongolia 010021; 2. Grassland Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Hohhot, Inner Mongolia 010010; 3. Northeast Normal University, Changchun, Jilin 130024)

**Abstract:** Abiotic stresses, such as drought, salinity and chilling, negatively influence survival, biomass production and crop yield. Low temperature or cold stress, causes cold damage to plants, and affects plant growth, development, as well as quality of seed. In the process of regulating the expression of eukaryotic genes, DNA methylation is an important component of the epigenetic, and it plays a key role in regulating gene expression. In order to make plants better adapt to cold stress, new germplasm with cold resistance was created. This paper briefly discusses the relationship between Plant Chilling Stress and plant DNA methylation, and advances in research at home and abroad. And put forward the prospect of how to deal with low temperature stress and carry out epigenetic research.

**Keywords:** abiotic stresses; low temperature stress ; DNA methylation