

西瓜雄性不育系‘Se18’抗氧化酶活性和内源激素含量变化分析

王永琦^{1,2}, 杨小振¹, 莫言玲¹, 郑俊騫¹, 张 勇¹, 马建祥¹, 李 好¹,
张 显^{1,*}

(¹西北农林科技大学园艺学院, 农业部西北地区园艺作物生物学与种质创制重点实验室, 陕西杨凌 712100; ²汉中农业技术推广中心, 陕西汉中 723000)

摘 要: 以西瓜雄性不育系‘Se18’为试材, 研究开花期间花蕾和叶片中抗氧化酶活性和内源激素含量的变化。结果表明: 不育株雄花花蕾在整个发育时期, 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性升高, 过氧化氢酶(CAT)活性降低; 可育株中CAT活性升高, SOD和POD活性降低。不育株和可育株雄花花蕾中的生长素(IAA)、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、玉米素核苷(ZR)、茉莉酸(JA)和油菜素内酯(BR)及异戊烯基腺嘌呤核苷(IPA)等7种内源激素含量变化趋势不同, 且含量差异明显。其中, 不育株中IAA、GA₃、BR和IPA含量降低, JA含量升高; 可育株中JA、BR、GA₃和IPA含量降低, IAA和ZR含量升高。不育株叶片中的IAA、ZR和BR含量显著下降, ABA和JA含量显著上升; IAA/ABA、IAA/GA₃、IAA/JA、IAA/ZR、IAA/BR、IAA/IPA及ABA/GA₃、ABA/ZR在不育株和可育株间的变化趋势不一致, 且差异较大。因此推测上述抗氧化酶活性变化和内源激素含量异常可能与西瓜雄性不育的发生密切相关。

关键词: 西瓜; 隐性细胞核雄性不育; 花蕾; 抗氧化酶; 内源激素

中图分类号: S 651

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2016) 11-2161-12

Analysis of the Changes in Antioxidant Enzymes Activities and Endogenous Hormones Contents in Watermelon Male Sterile Line Se18 During Bud Development

WANG Yong-qi^{1,2}, YANG Xiao-zhen¹, MO Yan-ling¹, ZHENG Jun-qian¹, ZHANG Yong¹, MA Jian-xiang¹, LI Hao¹, and ZHANG Xian^{1,*}

(¹College of Horticulture, Northwest A&F University, Key Laboratory of Horticultural Plant Biology and Germplasm Innovation in Northwest China, Ministry of Agriculture of China, Yangling, Shaanxi 712100, China; ²Hanzhong Agricultural Technology Extension Center, Hanzhong, Shaanxi 723000, China)

Abstract: Watermelon male sterile line Se18 was used as the testing material, changes in antioxidant enzymes activities and endogenous hormones contents in the lamina and flower bud of this line were studied. The results showed that the activities of SOD and POD in sterile watermelon plants were

收稿日期: 2016-09-07; **修回日期:** 2016-11-01

基金项目: 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-26-18); 陕西省科技统筹创新工程计划项目(2014KTCL02-02)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: zhangxian098@126.com)

markedly increased, while the activity of CAT was declined. However, the activity of CAT in fertile watermelon plants was markedly increased, while the activities of SOD and POD were declined. Moreover, the contents of IAA, ABA, GA₃, ZR, JA, BR and IPA exhibited different variation trends between sterile and fertile plants throughout the whole male flow buds development stage, and the difference in contents between them was also significant at each stage. The declining of IAA, GA₃, BR and IPA contents and rising of JA content might be closely connected with the occurrence of watermelon male sterility. But the declining of JA, BR, GA₃ and IPA contents and rising of IAA and ZR contents in fertile watermelon plants. Significant declining of IAA, ZR and BR and distinctive rising of ABA and JA contents in the lamina of sterile plants were observed. Inconsistent variation trend was found in terms of IAA/ABA, IAA/GA₃, IAA/JA, IAA/ZR, IAA/BR, IAA/IPA, ABA/GA₃ and ABA/ZR between the male sterile and fertile plants and the difference was great. Therefore, we speculated that the changes in antioxidative enzymes activities and abnormal endogenous hormones levels might be responsible for the occurrence of male sterility in watermelon.

Key words: watermelon; recessive nuclear male sterility; bud; antioxidant enzyme; endogenous hormone

相关研究表明, 植物体在逆境胁迫以及由基因突变或核质遗传不协调等引起雄性不育的情况下, 常会产生大量的活性氧, 进而对细胞膜系统造成伤害(刘齐元等, 2011), 而植物体内进化出的抗氧化酶系统(包括超氧化物歧化酶 SOD、过氧化物酶 POD 和过氧化氢酶 CAT 等)能有效清除活性氧自由基, 从而控制植物体内活性氧的产生与清除处于动态平衡(陈全求等, 2015)。研究表明, 随着小孢子发育进程, 棉花细胞核雄性不育系花药与保持系花药相比, POD 活性明显偏高(李学斌, 1987; 宋宪亮等, 2003)。刘军和朱英国(1992)的研究表明, 在育性转换和不育基因表达过程中, 核不育水稻生长素(IAA)含量严重亏缺, POD 活性显著升高。

植物体的内源激素是调节其生长发育的重要因子, 对雄性不育的发生起着关键的调节作用(何长征等, 2002; 冯小磊等, 2012)。研究表明, 拟南芥 *GAL* 基因和 *COII* 基因发生突变后, 分别可以通过不同的激素途径影响赤霉素和茉莉素的功能, 从而使突变体表现出雄性不育(Sun & Kaimaya, 1994; 戴良英等, 2002)。黄厚哲等(1984)认为, 花药中 IAA 严重亏缺会使其营养物质不足, 引起小孢子发育异常, 导致雄性不育的发生。也有研究表明, 不育花药中 IAA 亏缺也会引起维管束发育异常, 导致水和营养物质无法正常分配而引起败育(贺浩华等, 2002; 吴钿等, 2002; 李六林和张绍玲, 2006)。体外培养试验表明, 两性花植物的雄蕊发育受到 IAA 抑制, 而雌蕊却被诱导生长(Shekhawat et al., 2009)。这些研究结果都表明植物雄性不育的发生涉及到抗氧化酶活性和内源激素含量的变化, 它们之间有着非常密切的关系。因此, 研究植物雄性不育花蕾发育过程中抗氧化酶活性和内源激素含量的变化, 对于探讨雄性不育发生机理以及在杂交种生产中实现育性调控具有重要的意义。近年来关于小麦(张建奎等, 2001)、白菜(王永勤等, 2003)、玉米(曹墨菊等, 2010)、辣椒(黄炜, 2012)等核雄性不育与抗氧化酶和内源激素关系的研究已有大量报道。

本试验中以西瓜隐性细胞核雄性不育系‘Se18’为研究材料, 通过分析叶片和花蕾在发育过程中 SOD、POD 和 CAT 等 3 种抗氧化酶活性和 IAA、脱落酸(ABA)、赤霉素(GA₃)、玉米素核苷(ZR)、茉莉酸(JA)、油菜素内酯(BR)及异戊烯基腺嘌呤核苷(IPA)等 7 种内源激素含量的动态变化, 以期为西瓜细胞核雄性不育机理的揭示提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料为西瓜隐性细胞核雄性不育系 'Se18', 由西北农林科技大学园艺学院西甜瓜课题组提供。该不育系经多代自交, 可育和不育的分离比例稳定在 1:1。试验在西北农林科技大学园艺学院新天地试验基地进行。西瓜材料于 2015 年 3 月 3 日播种育苗, 4 月 22 日定植, 共种植 4 行, 行长 40 m, 株距 40 cm, 行距 2 m。试验期间利用田间观察和镜检等方法, 在开花期逐株调查育性, 对不育株进行人工标记, 并分别采集可育株和不育株在不同发育时期的雄花蕾进行比较。

1.2 取 样

在开花期随机选择生长势相近的可育和不育植株各 20 株, 分别采集主蔓生长端的幼嫩叶片, 以及各时期的雄花蕾, 立即放入液氮中速冻, 并保存于 -80 °C 冰箱备用。根据花药发育时期与雄花蕾大小的关系 (薛光荣 等, 1988; 刘海河 等, 2006; 李娟, 2008), 将不同大小的雄花蕾分为 4 个时期: 花粉母细胞期、减数分裂期、单一双核小孢子期和花粉粒成熟期, 花蕾长度分别为 0.5 ~ 1.5 mm、2 ~ 3 mm、4 ~ 5 mm 和当天开放的雄花。雄花蕾长以花托至花蕾顶部的长度为准。

1.3 测定项目与方法

SOD 活性测定采用氮蓝四唑 (NBT) 法, 以抑制氮蓝四唑光反应 50% 为 1 个酶活性单位; POD 活性测定采用愈创木酚法, 以 OD_{470 nm} 每分钟增加 0.1 为 1 个酶活性单位; CAT 活性测定采用紫外吸收法, 以 OD_{240 nm} 每分钟减少 0.01 为 1 个酶活性单位 (高俊凤, 2006)。

内源激素 IAA、ABA、GA₃、ZR、JA、BR 和 IPA 的提取参照黄志 (2010) 的方法, 激素测定采用酶联免疫法 (ELISA), 试剂盒由中国农业大学化学控制中心提供。

每个样品均重复测定 3 次。利用 PASW Statistics 18 软件进行差异显著性分析, 数据整理和图表制作在 Microsoft Excel 2010 中进行。

2 结果与分析

2.1 花蕾抗氧化酶活性的变化

从图 1 可以看出, 在花蕾发育过程中, 可育株雄花蕾的 SOD 活性呈下降趋势, 在花粉粒成熟期出现最低值为 142.3 U · g⁻¹ FW; 而不育株表现为先降后升再降的变化趋势, 除了在减数分裂期略低于可育株外, 其余各时期均高于相应的可育株雄花蕾, 尤其在单一双核小孢子期和花粉粒成熟期, 分别是相应时期可育株雄花蕾的 1.1 倍和 1.7 倍。

从花粉母细胞至花粉粒成熟期, 不育雄花蕾的 POD 活性变化趋势与可育雄花蕾明显不同, 且各时期均显著高于相应的可育雄花蕾 ($P < 0.05$), 分别为可育雄花蕾的 3.7 倍、1.4 倍、1.8 倍和 2.9 倍 (图 1)。

不育株与可育株的 CAT 活性变化趋势完全相反。不育株呈下降趋势, 在花粉母细胞期最高为 10.3 μmol · g⁻¹ · s⁻¹, 是此时期可育雄花蕾的 2.8 倍。而可育株表现为逐渐升高, 最高值出现在花粉粒成熟期, 除了在花粉母细胞期低于不育株外, 其他时期均高于相应的不育株雄花蕾, 分别为不育雄花蕾的 1.4 倍、1.7 倍和 2.6 倍 (图 1)。

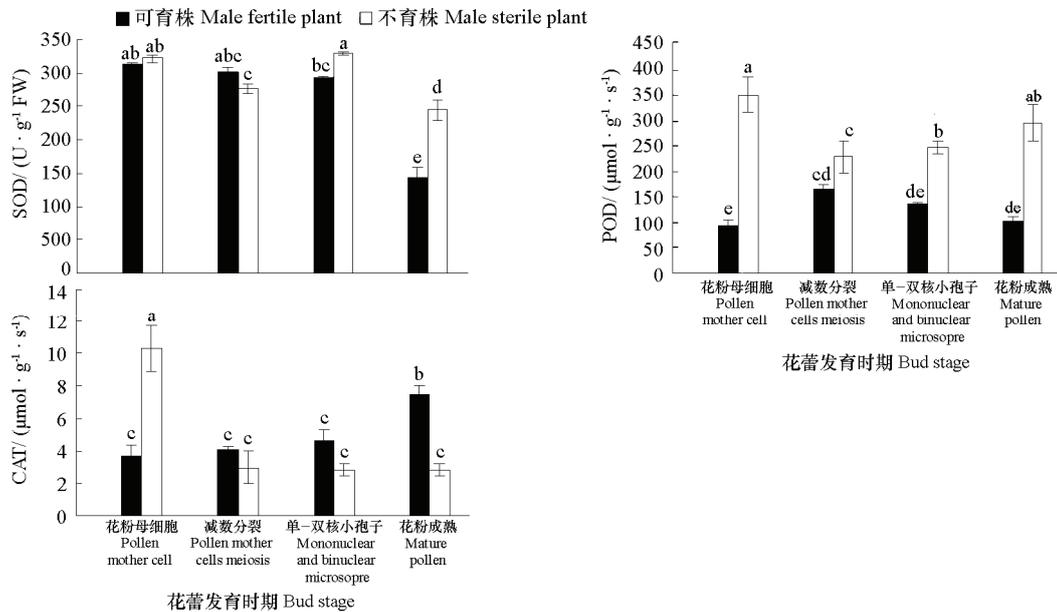


图 1 西瓜不同发育时期雄花蕾中 SOD、POD 和 CAT 活性变化

Fig. 1 The variation of SOD, POD and CAT activities in watermelon buds at different development stages

2.2 花蕾内源激素含量的变化

从表 1 可以看出, 不育株与可育株雄花蕾的 IAA 含量变化趋势明显不同, 不育株在花蕾发育过程中先升高后降低, 而可育株表现为先降低后升高, 各个时期的不育株雄花蕾中的 IAA 含量均低于可育株雄花蕾, 尤其在花粉母细胞期和花粉粒成熟期二者 IAA 含量差异显著。对于正常育性的花药而言, 从减数分裂期开始到花粉粒成熟期, 在物质代谢与合成方面会十分旺盛, 需要大量的物质和能量 (刘红艳 等, 2014), 为满足这一需要, 可育株花药中 IAA 含量也相应地增加, 到花粉粒成熟期达到了最高值 $97.4 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 而此时不育雄花蕾中 IAA 含量仅为可育雄花蕾的 67%。

在花蕾发育的整个过程中, 不育和可育雄花蕾中的 ABA 含量的动态变化趋势不同。不育雄花蕾中的 ABA 含量是先降后升再降, 出现了 2 个峰值, 显著高于相应的可育雄花蕾; 而可育雄花蕾中的 ABA 含量却是先升后降, 只有 1 个峰值。在花粉母细胞时期, 不育雄花蕾 ABA 含量为 $81.8 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 约为可育雄花蕾的 1.3 倍, 进入单一双核小孢子时期, 不育雄花蕾 ABA 含量达到第 2 个峰值 ($87.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$)。

在花蕾发育的整个过程中, 不育和可育雄花蕾中的 GA_3 含量变化趋势基本一致, 都是先降后微升, 而且一直都是可育株高于不育株 (表 1)。在花粉母细胞时期, 可育株 GA_3 含量为 $15.9 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 显著高于不育株, 约为不育株 GA_3 含量的 1.58 倍。

伴随着花蕾发育进程, 不育株雄花蕾中 ZR 含量变化趋势是先降后升再降, 呈“S”形; 可育株雄花蕾中 ZR 含量是先降后升, 呈“V”形。而且除了在单一双核小孢子时期, 不育株雄花蕾中 ZR 含量高于可育株雄花蕾外, 在其余 3 个时期均低于可育株雄花蕾。在花粉粒成熟期, 不育株雄花蕾中 ZR 含量为 $9.1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 仅为可育雄花蕾的 68%, 差异显著。

在花蕾发育过程中, 不育株和可育株 JA 含量变化趋势不同, 不育株 JA 含量总体呈现上升趋势, 除了在花粉母细胞期, 其余各时期都显著高于可育雄花蕾, 而可育株 JA 含量变化比较平缓, 呈现下降趋势 (表 1)。在 4 个生长发育时期, 不育雄花蕾 JA 含量分别为可育雄花蕾的 1.1 倍、1.7 倍、

1.6 倍和 2.3 倍。

从花粉母细胞至花粉粒成熟期, 不育雄花蕾中 BR 含量变化波动不大, 表现为在单一双核小孢子期出现最高值 $6.3 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 其他时期均低于可育株; 可育雄花蕾中 BR 含量呈现倒抛物线形, 在花粉母细胞时期 BR 含量最高为 $9.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 而此时期不育株雄花蕾 BR 仅有 $5.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 是可育株雄花蕾的 54%, 差异显著; 在花粉粒成熟期, 可育雄花蕾中 BR 含量为 $7.5 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 而此时期不育株雄花蕾 BR 仅有 $5.1 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 显著低于可育株雄花蕾 BR 含量, 是可育株雄花蕾的 67%。

伴随着雄花蕾的发育进程, 可育株 IPA 含量变化呈现先降后升的趋势, 各个时期也均明显高于不育株; 而不育株 IPA 含量则呈现逐渐下降的趋势, 尤其在花粉粒成熟期 IPA 含量最低为 $4.8 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$, 仅为此时期可育雄花蕾的 47%, 差异显著。

表 1 西瓜不同发育时期雄花蕾中 IAA、ABA、GA₃、ZR、JA、BR 和 IPA 含量变化
Table 1 The variation of IAA, ABA, GA₃, ZR, JA, BR and IPA contents in watermelon buds at different development stages

材料	发育时期	IAA	ABA	GA ₃	JA	ZR	BR	IPA
Material	Bud stage	ng · g ⁻¹						
可育 Fertile	花粉母细胞	91.963 ± 1.261 b	65.008 ± 1.225 e	15.933 ± 0.368 a	20.438 ± 0.439 de	12.762 ± 0.280 ab	9.592 ± 0.073 a	10.970 ± 0.375 a
	减数分裂	76.224 ± 0.752 d	76.436 ± 0.953 c	12.531 ± 0.311 b	18.747 ± 0.276 ef	11.435 ± 0.152 b	5.232 ± 0.154 d	8.961 ± 0.183 c
	母细胞减数分裂	88.942 ± 0.574 c	70.082 ± 2.379 d	9.356 ± 0.199 de	17.745 ± 0.314 fg	9.482 ± 0.204 c	5.146 ± 0.180 d	7.678 ± 0.213 d
	单—双核小孢子							
	Mononuclear and binuclear microspore							
不育 Sterile	花粉母细胞	66.376 ± 1.138 e	81.841 ± 1.679 b	10.063 ± 0.182 d	21.862 ± 0.278 d	12.077 ± 0.227 ab	5.228 ± 0.135 d	9.746 ± 0.198 b
	减数分裂	74.373 ± 0.538 d	64.288 ± 0.909 e	8.904 ± 0.279 e	31.264 ± 0.991 b	9.226 ± 0.254 c	4.726 ± 0.161 d	7.554 ± 0.234 d
	母细胞减数分裂	87.350 ± 1.201 c	87.457 ± 1.083 a	8.639 ± 0.335 e	28.929 ± 1.188 c	11.915 ± 0.364 ab	6.254 ± 0.207 c	7.642 ± 0.140 d
	单—双核小孢子							
	Mononuclear and binuclear microspore							
	花粉粒成熟	97.421 ± 0.738 a	63.359 ± 1.483 e	11.145 ± 0.115 c	16.170 ± 0.635 g	13.152 ± 0.236 a	7.492 ± 0.296 b	10.211 ± 0.155 b
	Mature pollen							
	花粉母细胞	66.376 ± 1.138 e	81.841 ± 1.679 b	10.063 ± 0.182 d	21.862 ± 0.278 d	12.077 ± 0.227 ab	5.228 ± 0.135 d	9.746 ± 0.198 b
	减数分裂	74.373 ± 0.538 d	64.288 ± 0.909 e	8.904 ± 0.279 e	31.264 ± 0.991 b	9.226 ± 0.254 c	4.726 ± 0.161 d	7.554 ± 0.234 d
	母细胞减数分裂	87.350 ± 1.201 c	87.457 ± 1.083 a	8.639 ± 0.335 e	28.929 ± 1.188 c	11.915 ± 0.364 ab	6.254 ± 0.207 c	7.642 ± 0.140 d
	单—双核小孢子							
	Mononuclear and binuclear microspore							
	花粉粒成熟	65.889 ± 0.502 e	63.717 ± 1.148 e	8.946 ± 0.112 e	36.679 ± 0.773 a	9.066 ± 0.979 c	5.073 ± 0.179 d	4.758 ± 0.104 e
	Mature pollen							

注: 表中数据为均值 ± 标准差。不同字母表示差异在 $P < 0.05$ 水平显著。下同。

Note: All values shown are mean ± SD. The different letters mean significance at $P < 0.05$. The same below.

2.3 叶片内源激素含量的比较

比较了不育株与可育株开花期主蔓生长端幼嫩叶片内源激素的含量, 结果如表 2 所示。不育株叶片中除了 GA₃ 和 IPA 外, 其余 5 种激素的差异都达到显著水平。其中不育株叶片的 IAA、ZR 和 BR 含量分别为 60.138 、 9.434 和 $4.309 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$ (表 2), 与雄花蕾含量相当 (表 1), 但仅为可育株的 77%、75%和 57%, 表明在不育株系中不论是叶片还是花蕾, 其 IAA、ZR 和 BR 含量都表现缺乏。而不育株 ABA 和 JA 含量高于可育株, 分别是可育株叶片的 1.06 倍和 1.08 倍, 与雄花蕾结果 (表 1) 相似。

表 2 西瓜细胞核雄性不育叶片中各种激素含量的比较
Table 2 Comparison of various hormones levels in leaves of watermelon nuclear male sterility line

激素	可育	不育
Hormone	Fertile	Sterile
IAA	77.530 ± 2.739 a	60.138 ± 1.652 b
ABA	61.564 ± 1.364 b	65.026 ± 4.153 a
GA ₃	7.559 ± 0.290 e	6.824 ± 0.265 de
JA	18.350 ± 0.802 c	19.759 ± 1.169 c
ZR	12.565 ± 0.855 d	9.434 ± 0.264 d
BR	7.663 ± 0.367 e	4.309 ± 0.298 e
IPA	9.398 ± 0.126 e	8.297 ± 0.437 d

2.4 花蕾中内源激素之间的平衡关系

不同种类的植物激素在植物体中会产生相互促进或拮抗的生理效应，对植物生长发育的影响往往是综合作用的结果（吴智明等，2010）。分析了花蕾发育过程中7种激素间比值的动态变化过程，结果见表3。可以看出，对于 IAA/ABA，不育株中的比值变化趋势与可育株中的比值走势完全相反，除了在第2个时期高于可育株外，其余3个时期的比值都低于可育株。对于 IAA/GA₃，在前3个时期，它随着花蕾的发育不断上升，而且是不育株的比值高于可育株，进入到花粉粒成熟期，不育株和可育株比值都下降，但是不育株下降幅度比可育株大。对于 IAA/JA，从花粉母细胞时期到单一双核小孢子期，不育株和可育株比值变化趋势都是先降后升，但在花粉粒成熟期，可育株比值继续升高，达到最高值（6.0），不育株比值下降，达到最低值（1.8）。对于 IAA/ZR，不育株和可育株比值变化趋势完全不同，可育株的最高值出现在单一双核小孢子期，不育株则出现在减数分裂期。对于 IAA/BR，同样是可育株的最高值出现在单一双核小孢子期，不育株出现在减数分裂期，它们的变化趋势大致相同，都是先升后降。IAA/IPA，不育株比值随着花蕾的发育不断上升，在花粉粒成熟期达到最高值，而可育株比值则呈现先升后降的趋势。ABA/GA₃，不育株和可育株比值变化趋势明显不同，虽然都在单一双核小孢子期出现最高值，但是不育株比值始终高于可育株。对于 ABA/ZR，不育株和可育株比值变化趋势都是先升后降，但不育株比值变化较为平缓，且在花粉母细胞和花粉粒成熟期都明显高于可育株。

表3 西瓜不同发育阶段雄花蕾中激素含量比值的变化
 Table 3 Hormones ratio in watermelon buds at different developmental stages

材料 Material	发育时期 Bud stage	IAA/ABA	IAA/GA ₃	IAA/JA	IAA/ZR	IAA/BR	IAA/IPA	ABA/GA ₃	ABA/ZR
可育 Fertile	花粉母细胞 Pollen mother cell	1.4	5.8	4.5	7.2	9.6	8.4	4.1	5.1
	减数分裂 Pollen mother cells meiosis	1.0	6.1	4.1	6.7	14.6	8.5	6.1	6.7
	单一双核小孢子 Mononuclear and binuclear microspore	1.3	9.5	5.0	9.4	17.3	11.6	7.5	7.4
不育 Sterile	花粉粒成熟 Mature pollen	1.5	8.7	6.0	7.4	13.0	9.5	5.7	4.8
	花粉母细胞 Pollen mother cell	0.8	6.6	3.0	5.5	12.7	6.8	8.1	6.8
	减数分裂 Pollen mother cells meiosis	1.2	8.4	2.4	8.1	15.7	9.8	7.2	7.0
	单一双核小孢子 Mononuclear and binuclear microspore	1.0	10.1	3.0	7.3	14.0	11.4	10.1	7.3
	花粉粒成熟 Mature pollen	1.0	7.4	1.8	7.3	13.0	13.8	7.1	7.0

3 讨论

3.1 雄性不育与抗氧化酶活性的关系

SOD、POD、CAT 等是植物体内清除活性氧的主要抗氧化物质（张文静等，2016），具有重要的生理功能，与雄性不育现象有着直接关系（刘淑娟等，2014）。研究表明，植物在利用氧进行一系列生理生化反应的过程中，体内会产生一些有毒害作用的活性氧，若不及时清除会对植物产生伤害，并引起相应的生理生化紊乱（刘淑娟等，2014）。张建奎等（2001）研究发现，温光敏核雄性不育小麦 C49S 在花粉母细胞减数分裂期不育花药的 SOD 活性显著高于可育花药。陈良碧和周广洽（1997）对温敏核不育水稻花粉母细胞形成期和减数分裂期幼穗花药 POD 活性进行测定，结果表明，不育株幼穗花药中 POD 活性高于可育株，差异达到极显著水平。张明永等（1994）研究发现，光（温）敏核雄性不育水稻 8902s 和培矮 64s 在从不育阶段向可育阶段转变过程中，幼穗不育期的 CAT 活性均低于可育期。本研究中，伴随着花药败育过程，SOD 活性表现为先降后升再降的趋势，除了在减

数分裂期略低于可育株外, 其余各时期 SOD 活性均高于相应的可育株雄花蕾; POD 活性变化表现为不育雄花蕾高于可育雄花蕾; 而 CAT 活性变化则表现为下降趋势, 除了花粉母细胞期高于可育雄花蕾外, 其他时期均低于相应的可育雄花蕾。

另外, 有研究表明, POD 活性高低对控制植物体内 IAA 水平变化起着关键作用, 而体内 IAA 含量与花药内营养物质的积累密切相关。不育系 POD 活性升高, 可大量分解和氧化 IAA, 造成雄性器官发育过程中 IAA 的亏缺, 物质代谢紊乱、能量亏损, 从而引起雄性不育的发生 (胡美华 等, 2000)。也有研究表明, 内源 ABA 含量增加可以诱导应激基因的高量表达, 提高植物细胞内保护酶的活性, 降低膜脂过氧化物的积累, 保证膜结构的稳定性, 增强植物抗性 (Chen & Li, 2002; Yang et al., 2011)。

3.2 雄性不育与内源激素含量的关系

IAA 多数集中分布在植物体内生长代谢旺盛组织内, 主要是促进植物生长发育, 对植物生长的影响随着浓度的增加而增加, 但是超过一定的浓度反而会抑制生长 (刘红艳 等, 2014)。王永勤等 (2003) 研究发现, 白菜核雄性不育两用系可育株群小花蕾、中花蕾和大花蕾的 IAA 含量分别比不育株群高 22.7%、92.1%和 38.3%, 说明不育株群花蕾的 IAA 缺乏。同样, 在玉米 (汤继华 等, 2003)、小麦 (Zhang et al., 2006) 等核雄性不育系研究中也得到了类似的结果。本研究结果表明, 在西瓜 ‘Se18’ 隐性核不育花药败育过程中, 雄花蕾 IAA 含量一直低于可育花药, 且叶片含量也低于可育株, 说明 IAA 严重亏缺, 与前人 (刘海河 等, 2006) 研究结果一致。黄厚哲等 (1984) 认为, IAA 亏缺会使其内营养物质不足, 引起小孢子发育异常最终败育, 导致雄性不育的发生。然而也有报道得到相反的结果, 其原因可能是 IAA 的浓度过高引发乙烯的过量产生, 从而促进雌性表达或诱导雄性不育 (Shannon & de La, 1969)。

ABA 作为植物体内重要的生长抑制剂, 具有抑制细胞分裂和伸长的作用 (冯小磊 等, 2012)。刘红艳等 (2014) 认为 ABA 盈积可能会伴随着花粉母细胞的衰老和死亡, 与花粉败育和雄性不育的发生密切相关。在本研究中, 不育株雄花蕾中的 ABA 含量分别在花粉母细胞期和单一双核小孢子期达到峰值, 均高于可育株相应时期的 ABA 含量, 且叶片中 ABA 含量也高于可育株, 因此认为 ABA 波动异常与不育雄花蕾较早凋落有关。但也有相反的例子, 赵玉锦等 (1996) 观察到在长日照不育条件下光敏核不育水稻农垦 58S 繁殖器官中 ABA 含量低于农垦 58。其原因可能是 ABA 含量的降低未能诱导与抗性相关的某些酶的重新合成来增强植物的抗逆性 (段娜 等, 2015), 导致植物不能主动适应或抵抗外界环境变化, 故可能就有了雄性不育的结果 (杨海燕, 2006)。

GA₃ 可以促进雄花分化 (段娜 等, 2015), 与植物花药发育和花粉成熟有着密切的关系 (冯小磊 等, 2012)。黄炜 (2012) 对辣椒核雄性不育两用系 HW58AB 研究发现, 在小孢子发育的不同时期, 不育株花蕾中 GA₃ 含量均显著低于可育株, 仅为后者的 30.19% ~ 84.5%。本研究中, 4 个不同发育时期不育株雄花蕾 GA₃ 含量均低于可育株, 其中花粉母细胞期、减数分裂期和花粉粒成熟期 GA₃ 含量差异都达显著水平, 且不育株叶片 GA₃ 含量也低于可育株。有研究认为, GA₃ 含量的下降可能引起多胺的合成降低, 进而导致乙烯的增加, 这可能与雄性不育的发生有关 (游年顺 等, 1997)。也有研究认为, GA₃ 含量的下降可能与质体等细胞器功能的损坏有关。因为质体是细胞中赤霉素类前体合成的部位 (童哲, 1998), 在四分体时期, 不育花蕾的四分孢子体中的质体等细胞器明显减少, 细胞结构遭到破坏 (刘玉梅, 2003), 导致 GA₃ 含量下降, 因此 GA₃ 缺乏可能与不育的发生有关。

ZR 是活性很高的天然细胞分裂素, 除了能抑制叶绿素降解, 它还在细胞分裂 (主要是胞质分裂)、延缓老化及促进营养物质运输等方面具有促进作用 (吴则东 等, 2006)。本研究结果表明, 除

了单一双核小孢子时期,不育株雄花蕾中 ZR 含量高于可育株雄花蕾外,其余 3 个时期均低于可育株雄花蕾。纵观整个发育期,不育株雄花蕾 ZR 含量总体呈现亏缺现象。与刘海河等(2006)关于西瓜核雄性不育两用系雄花蕾 ZR 含量变化的研究结果相反。原因可能是不育系花药组织中较高含量的玉米素类物质主要是通过抑制或阻止抗氧呼吸途径或部分抑制细胞色素途径而降低了花药的总呼吸强度,从而导致小孢子败育和雄性不育的发生(Miller, 1985)。

JA 是广泛存在于植物中的一类激素类物质,不仅参与植物自身的防御系统、生长发育,还调控种子的萌发和生长、花和果实及花粉的育性等(郭航等, 2015)。通过对拟南芥突变体的研究表明,若 JA 生物合成关键酶基因发生突变或 JA 信号途径发生突变都表现为花粉发育不正常,最终导致雄性不育(Feys et al., 1994; Browse, 2009; Santino et al., 2013); Bae 等(2010)对水稻的研究也表明了 JA 参与调控水稻花粉的发育过程。但也有研究表明,JA 能抑制植物生长、抑制种子和花粉萌发,促进器官衰老和脱落等,与 ABA 有相似之处(葛云侠等, 2008)。本研究中,不育雄花蕾的 JA 含量始终高于可育雄花蕾,出现了严重的盈积,因此过多的 JA 积累可能与不育的发生密切相关。

BR 是一种十分重要的甾醇类激素,参与调控植物多方面的生长发育过程,在细胞伸长与分裂、植物育性等方面发挥重要的调节作用。尤其在雄性器官发育方面,油菜素内酯有着不可替代的作用(郑洁和王磊, 2014)。Ye 等(2010)对拟南芥花粉发育关键基因表达研究发现,BR 缺陷及不敏感株系中绒毡层和小孢子发育异常,尤其是孢子母细胞、小孢子以及花粉数量显著减少,并且认为这是造成雄性不育的主要原因。在本研究中,不育雄花蕾中 BR 含量在单一双核小孢子期出现最高值外,其余 3 个时期均低于可育株;尤其在花粉母细胞时期,可育株雄花蕾 BR 含量最高为 $9.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$,而同时期不育株雄花蕾 BR 仅有 $5.2 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$,是可育株雄花蕾的 54%;叶片 BR 含量也低于可育株,总体来说叶片和花蕾都发生了亏缺现象。

IPA 是细胞分裂素的一种,是某些 tRNA 的组成部分,可能与蛋白质的合成有关(吴则东等, 2006)。本研究结果表明,不育株 IPA 含量在花蕾发育各个时期均明显低于可育株,且随着花蕾发育进程呈下降的趋势,尤其在花粉粒成熟期 IPA 含量最低为 $4.8 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1} \text{ FW}$,仅为同期可育雄花蕾的 47%。说明 IPA 含量的亏缺可能导致某些与育性有关的蛋白质不能合成或合成减少,进而导致不育的发生(吴则东等, 2006)。

3.3 雄性不育与激素比值的关系

由于各种激素在植物体内都不是单独存在的,它们通过相互促进或者拮抗对植物的生长发育起调控作用,所以雄性不育的发生不仅取决于某种激素含量的增加或减少,更重要的是取决于激素间的平衡(童哲等, 1992; 何长征等, 2002; 吴则东等, 2006)。本研究结果表明,不育株中各激素间比值呈现 3 种变化趋势,都与可育株中对应的比值变化趋势明显不同。IAA/ABA、IAA/GA₃、IAA/ZR、IAA/BR 和 ABA/ZR 比值表现为先升后降; IAA/JA 和 ABA/GA₃ 比值表现为先降后升再降;而 IAA/IPA 比值表现为一直上升的趋势,在花粉粒成熟期达到最高值。因此,不育株中多种激素间的动态平衡关系发生了改变,最终可能导致了不育的发生。与辣椒(沈火林等, 2006)、芝麻(刘红艳等, 2014)等细胞核雄性不育材料中对内源激素平衡关系研究的结果类似,即各激素间比值等在不育与可育材料之间存在明显差异。

植物雄性不育是自然界中的一种普遍现象(冯小磊等, 2012),可分为遗传因素控制的雄性不育、生境敏感的雄性不育和生理雄性不育等类型(王永勤, 2003)。本试验材料西瓜细胞核雄性不育系‘Se18’属于遗传因素控制的雄性不育类型,隐性核不育由细胞核内一对隐性等位基因控制。研究表明,温(光)敏型雄性不育是一种特殊类型的不育材料(沈亮余等, 2012),属于生境敏感型

雄性不育, 其具有不育基因型的植株在一定的温(光)等条件下表现为雄性不育, 而在适当的温(光)等条件下恢复可育。尽管这种不育类型像生理不育类型一样, 只要条件适合就能恢复育性, 但其不育性是可遗传的, 是由特定的基因型决定的(刘忠松 等, 2001)。这一点与本试验材料相同, 都是不育基因的表达导致了小孢子的败育, 使其生理生化特性发生显著变化(王永锐和陈宏光, 1989)。

综上所述, 可以推测出雄花蕾中 SOD、POD 和 CAT 的活性变化与雄性不育的发生密切相关, 而且激素对西瓜隐性细胞核雄性不育的发生是一种动态平衡的调控机制, 主要表现为 IAA、GA₃、BR 和 IPA 的亏缺, JA 的升高, ABA 和 ZR 的异常波动以及各激素间的失衡。

References

- Bae H K, Kang H G, Kim G J, Eu H J, Oh S A, Song J T, Chung I K, Eun M Y, Park S K. 2010. Transgenic rice plants carrying RNA interference constructs of AOS (allene oxide synthase) genes show severe male sterility. *Plant Breeding*, 129 (6): 647 - 651.
- Browse J. 2009. Jasmonate passes muster: a receptor and targets for the defense hormone. *Annual Review of Plant Biology*, 60: 183 - 205.
- Cao Mo-ju, Cheng Jiang, Wang Jing, Zhang Cai-bo, Pan Guang-tang, Rong Ting-zhao. 2010. Relationship between phytohormones and genic male sterility induced by space flight in maize. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 24 (3): 447 - 452. (in Chinese)
- 曹墨菊, 程 江, 汪 静, 张采波, 潘光堂, 荣廷昭. 2010. 太空诱变玉米核雄性不育与植物激素的关系. *核农学报*, 24 (3): 447 - 452.
- Chen Liang-bi, Zhou Guang-qia. 1997. Heat shock win min light nuclear sterility rice the influence of several kinds of enzyme activity. *Acta Scientiarum Naturalium Universtis Normalis Hunanensis*, 20 (20): 79 - 81. (in Chinese)
- 陈良碧, 周广洽. 1997. 热激对光温敏核不育水稻几种酶活性的影响. *湖南师范大学自然科学学报*, 20 (20): 79 - 81.
- Chen Quan-qi, Lan Jia-yang, Han Guang-ming, Zhang Zhi-yong. 2015. Antioxidant enzyme activity change and heterosis analysis of hybrid cotton of nuclear sterile lines in the different growing stage. *Hubei Agricultural Sciences*, 54 (24): 6173 - 6177. (in Chinese)
- 陈全求, 蓝家祥, 韩光明, 张志勇. 2015. 核不育系杂交棉不同发育时期抗氧化酶活性变化及其杂种优势分析. *湖北农业科学*, 54 (24): 6173 - 6177.
- Chen W P, Li P H. 2002. Membrane stabilization by abscisic acid under cold aids proline in alleviating chilling injury in maize (*Zea mays* L.) cultured cells. *Plant Cell and Environment*, 25 (8): 955 - 962.
- Dai Liang-ying, Xu Ling-hui, Huang Da-fang, Li Xun, Luo Kuan, Guan Chun-yun. 2002. The protein complex of ASK1 and COI1 and conditioned male sterile in *Arabidopsis thaliana*. *Science in China: Series C*, 32 (5): 399 - 404. (in Chinese)
- 戴良英, 徐领会, 黄大昉, 李 桐, 罗 宽, 官春云. 2002. 拟南芥 ASK1 与 COI1 形成蛋白复合体并调控雄性不育. *中国科学: C 辑*, 32 (5): 399 - 404.
- Duan Na, Jia Yu-kui, Xu Jun, Chen Hai-ling, Sun Peng. 2015. Research progress on plant endogenous hormones. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 31 (2): 159 - 165. (in Chinese)
- 段 娜, 贾玉奎, 徐 军, 陈海玲, 孙 鹏. 2015. 植物内源激素研究进展. *中国农学通报*, 31 (2): 159 - 165.
- Feng Xiao-lei, Fan Guang-yu, Su Xu, Song Guo-liang, Shi Gao-lei, Wang Feng, Qiu Feng-cang, Wang Xiao-ming, Zhao Zhi-hai. 2012. Advances in physiological and biochemical study on plant male sterility. *Crops*, 3: 6 - 11. (in Chinese)
- 冯小磊, 范光宇, 苏 旭, 宋国亮, 史高雷, 王 峰, 邱风仓, 王晓明, 赵治海. 2012. 植物雄性不育生理生化研究进展. *作物杂志*, 3: 6 - 11.
- Feys B J, Benedetti C E, Penfold C N, Turner J G. 1994. *Arabidopsis* mutants selected for resistance to the phytotoxin coronatine are male sterile, insensitive to methyl jasmonate, and resistant to a bacterial pathogen. *The Plant Cell*, 6 (5): 751 - 759.
- Gao Jun-feng. 2006. *Experimental guidance for plant physiology*. Beijing: Higher Education Press: 214 - 216. (in Chinese)
- 高俊风. 2006. *植物生理学实验指导*. 北京: 高等教育出版社: 214 - 216.
- Ge Yun-xia, Xu Jian-qi, Liu Yan-ji, Li Yang, Shi Zhen-sheng. 2008. Study the action of jasmonic acid in plant senescence. *J Anhui Agri Sci*, 36 (22): 9395 - 9396. (in Chinese)
- 葛云侠, 许建秋, 刘延吉, 李 阳, 史振声. 2008. 茉莉酸在植物衰老中的作用. *安徽农业科学*, 36 (22): 9395 - 9396.
- Guo Hang, Wang Zhi-ming, Tang Qing-lin, Tian Shi-bing, Yang Yang, Song Ming. 2015. Progress on regulation of anther dehiscence by jasmonic

- acid. *Biotechnology Bulletin*, 31 (2): 10 - 17. (in Chinese)
- 郭航, 王志敏, 汤青林, 田时炳, 杨洋, 宋明. 2015. 茉莉酸调控花药开裂的研究进展. *生物技术通报*, 31 (2): 10 - 17.
- He Chang-zheng, Xiao Lang-tao, Liu Zhi-min, Zou Xue-xiao. 2002. The research progresses in the relationship between phytohormones and plant male sterility. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 18 (3): 65 - 69. (in Chinese)
- 何长征, 萧浪涛, 刘志敏, 邹学校. 2002. 植物激素与雄性不育关系的研究进展. *中国农学通报*, 18 (3): 65 - 69.
- He Hao-hua, He Guo-liang, Zhu Chang-lan, Liu Yi-bai, Peng Xiao-song. 2002. The ultrastructural study of pollen abortion in Pingxiang dominant genic male sterile rice. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 22 (6): 1401 - 1405. (in Chinese)
- 贺浩华, 贺国良, 朱昌兰, 刘宜柏, 彭小松. 2002. 萍乡显性雄性核不育水稻超微结构研究. *西北植物学报*, 22 (6): 1401 - 1405.
- Hu Mei-hua, Chen Zhu-jun, Wang Bing-liang. 2000. Study on peroxide and esterase isoenzymes in the cytoplasm male sterile line and its maintainer line for tuber mustard. *Acta Agriculturae Zhejiangensis*, 18 (3): 65 - 69. (in Chinese)
- 胡美华, 陈竹君, 汪炳良. 2000. 榨菜胞质雄性不育系及其保持系过氧化物酶和酯酶同工酶的比较研究. *浙江农业学报*, 18 (3): 65 - 69.
- Huang Hou-zhe, Lou Shi-lin, Wang Hou-cong, Chen Ru-ming. 1984. Auxin destruction and male sterility in rice. *Journal of Xiamen University: Natural Science*, 23 (1): 82 - 97. (in Chinese)
- 黄厚哲, 楼士林, 王侯聪, 陈如铭. 1984. 植物生长素亏缺与雄性不育的关生. *厦门大学学报: 自然科学版*, 23 (1): 82 - 97.
- Huang Wei. 2012. Breeding of genic male sterile line and studies on sterile mechanism in pepper [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 黄炜. 2012. 辣椒核雄性不育两用系创制及其不育机理研究 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Huang Zhi. 2010. Studies on the physiological effect and mechanisms of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in drought resistance of melon [Ph. D. Dissertation]. Yangling: Northwest A & F University. (in Chinese)
- 黄志. 2010. 丛枝菌根真菌对甜瓜抗旱性的生理效应及分子机制的研究 [博士论文]. 杨凌: 西北农林科技大学.
- Li Juan. 2008. Watermelon anther microspore culture and technology research [M. D. Dissertation]. Ya'an: Sichuan Agricultural University. (in Chinese)
- 李娟. 2008. 西瓜花药和小孢子培养研究 [硕士论文]. 雅安: 四川农业大学.
- Li Liu-lin, Zhang Shao-ling. 2006. Regulative effects of plant growth substances on male fertility. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 22 (5): 211 - 215. (in Chinese)
- 李六林, 张绍铃. 2006. 植物生长物质对雄性育性的调控作用. *中国农学通报*, 22 (5): 211 - 215.
- Li Xue-bin. 1987. The biochemical research of cotton male sterility. *Journal of Hunan Agricultural*, (3): 15 - 23. (in Chinese)
- 李学斌. 1987. 棉花雄性不育的生化研究. *湖南农学院学报*, (3): 15 - 23.
- Liu Hai-he, Hou Xi-lin, Zhang Yan-ping, Yin Ya-le. 2006. Changes of endogenous hormones and polyamines in male flower buds of nuclear male sterile G17AB line watermelon. *Acta Horticulturae Sinica*, 33 (1): 143 - 145. (in Chinese)
- 刘海河, 侯喜林, 张彦萍, 尹雅乐. 2006. 西瓜核雄性不育系雄花蕾发育过程中内源激素和多胺动态变化分析. *园艺学报*, 33 (1): 143 - 145.
- Liu Hong-yan, Wu Kun, Yang Min-min, Zhou Xin-an, Zhao Ying-zhong. 2014. Variation of soluble sugar, starch and plant hormones contents in sesame dominant genic male sterile line during bud development. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 36 (2): 175 - 180. (in Chinese)
- 刘红艳, 吴坤, 杨敏敏, 周新安, 赵应忠. 2014. 芝麻显性细胞核雄性不育系内源激素、可溶性糖和淀粉含量变化. *中国油料作物学报*, 36 (2): 175 - 180.
- Liu Jun, Zhu Ying-guo. 1992. Regulation of the activities of IAA oxidase and peroxidase by light length in HPGMR. *Journal of Wuhan University: Natural Science Edition*, (2): 107 - 111. (in Chinese)
- 刘军, 朱英国. 1992. 光照长度对湖北光敏感核不育水稻 IAA 氧化酶过氧化物酶活性的调控. *武汉大学学报: 自然科学版*, (2): 107 - 111.
- Liu Qi-yuan, Cheng Yuan-qiang, Zhu Xiao-wen, Fan Dong-dong, Li Li-xin. 2011. Studies on SOD, POD and CAT activities in flower buds of tobacco of cytoplasm male sterility. *Acta Tabacaria Sinica*, 17 (5): 34 - 39. (in Chinese)
- 刘齐元, 程元强, 朱肖文, 范东东, 李立新. 2011. 雄性不育烟草花蕾中 SOD、POD 和 CAT 活性研究. *中国烟草学报*, 17 (5): 34 - 39.
- Liu Shu-juan, Zhu Qi, Xing Xue-jun, Wang Bi-qin, Yu Fa-xin, Zhou Hua. 2014. Advanced research on male sterility of plant. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 30 (34): 46 - 50. (in Chinese)
- 刘淑娟, 朱祺, 幸学俊, 王碧琴, 余发新, 周华. 2014. 植物雄性不育影响因素研究进展. *中国农学通报*, 30 (34): 46 - 50.

- Liu Yu-mei. 2003. Cytological features, biochemical basis and molecular marker of dominant genic male sterility in cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L.) [Ph. D. Dissertation]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Science. (in Chinese)
- 刘玉梅. 2003. 甘蓝显性细胞核雄性不育的细胞学特征、生化基础及其分子标记的研究[博士论文]. 北京: 中国农业科学院.
- Liu Zhong-song, Guan Chun-yun, Chen She-yuan. 2001. Research and application for plant male sterility mechanism. Beijing: China Agriculture Press. (in Chinese)
- 刘忠松, 官春云, 陈社员. 2001. 植物雄性不育机理的研究及应用. 北京: 中国农业出版社.
- Miller C O. 1985. Possible regulatory roles of cytokinins. *Plant Physiology*, 79: 908 - 910.
- Santino A, Taurino M, de Domenico S. 2013. Jasmonate signaling in plant development and defense response to multiple (a) biotic stresses. *Plant Cell Reports*, 32 (7): 1085 - 1098.
- Shannon S, de La Guardia M D. 1969. Sex expression and the production of ethylene induced by auxin in cucumber (*Cucumis sativus* L.). *Nature*, 223: 186.
- Shekhawat G S, Mathur S, Batra A. 2009. Role of phytohormones and nitrogen in somatic embryogenesis induction in cell culture derived from leaflets of *Azadirachta indica*. *Biologia Plantarum*, 53 (4): 707 - 710.
- Shen Huo-lin, An Yan, Qiao Zhi-xia. 2006. The contents changes of endogenous hormones in CMS and GMS of pepper (*Capiscium annuum* L.). *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 21 (1): 68 - 71. (in Chinese)
- 沈火林, 安岩, 乔志霞. 2006. 胞质雄性不育和核雄性不育辣椒内源激素含量的变化. *华北农学报*, 21 (1): 68 - 71.
- Shen Liang-yu, Li Rong-chong, Wang Rui-xue, Zou Yan, Zhang Tao, Gong Hui-ming. 2012. Changes of protective enzyme activities in male sterile line 160S during fertility transformation. *Journal of Chongqing Normal University: Natural Science*, 29 (1): 82 - 86. (in Chinese)
- 沈亮余, 李荣冲, 王瑞雪, 邹燕, 张涛, 龚慧明. 2012. 油菜雄性不育系 160S 育性转换中保护酶活性变化. *重庆师范大学学报: 自然科学版*, 29 (1): 82 - 86.
- Song Xian-liang, Sun Xue-zhen, Wang Ming-lin, Liu Ying-xin, Liu Ji-hua. 2003. Preliminary study on the changes of POD activity and phytohormones in anthers of double recessive genetic sterile line of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Scientia Agricultura Sinica*, 36 (7): 861 - 863. (in Chinese)
- 宋宪亮, 孙学振, 王明林, 刘英欣, 刘继华. 2003. 陆地棉双隐性核不育系 (ms₅ms₆) 花药发育过程中 POD 活性和内源激素动态变化初探. *中国农业科学*, 36 (7): 861 - 863.
- Sun T, Kaimaya Y. 1994. The *Arabidopsis* GAL locus encodes the cylasseent-kaurene synthetase A of gibberellin biosynthesis. *Plant Cell*, 6 (10): 1509 - 1518.
- Tang Ji-hua, He Zhong-you, Chen Wei-cheng, Tan Shu-yi, Xie Hui-ling, Li Yong-liang. 2003. Relationship between fertility conversion and endogenous hormones in a maize thermo-sensitive genic male-sterile line. *Acta Agronomica Sinica*, 29 (3): 336 - 338. (in Chinese)
- 汤继华, 赫忠友, 陈伟程, 谭树义, 谢惠玲, 李永亮. 2003. 玉米温敏核雄性不育性转换与内源激素的关系. *作物学报*, 29 (3): 336 - 338.
- Tong Zhe. 1998. Studies on photoperiod-sensitive genic malesterile rice in terms of developmental biology. *Acta Botanica Sinica*, 40 (3): 189 - 199. (in Chinese)
- 童哲. 1998. 光敏核不育水稻的发育生物学研究评述. *植物学报*, 40 (3): 189 - 199.
- Tong Zhe, Shao Hui-de, Zhao Yu-jin. 1992. The second messenger of regulation fertility in photoperiod-sensitive male sterile rice//Yuan Long-ping. *Proceedings of in two-line hybrid rice research*. Beijing: Agriculture Press: 176 - 181. (in Chinese)
- 童哲, 邵慧德, 赵玉锦. 1992. 光敏核不育水稻中调节育性的第二信使//袁隆平. 两系法杂交水稻研究论文集. 北京: 农业出版社: 176 - 181.
- Wang Yong-qin. 2003. Expression analysis of fertility genes from genic male sterility A/B line and isolation of genes related to microspore development in chinese cabbage-pak-choi (*Brassica campestris* L. ssp. *Chinensis* Makino) [Ph. D. Dissertation]. Hangzhou: Zhejiang University. (in Chinese)
- 王永勤. 2003. 白菜核不育两用系育性基因表达特征分析及其小孢子发育相关基因的分离[博士论文]. 杭州: 浙江大学.
- Wang Yong-qin, Cao Jia-shu, Yu Hui-fang, Ye Wan-zhi, Yu Xiao-lin, Xiang Xun, Lu Gang. 2003. Analysis on physiological and biochemical characteristics between male sterile and fertile plants of genic male sterile AB line in Chinese cabbage. *Acta Horticulturae Sinica*, 30 (2): 212 - 214. (in Chinese)
- 王永勤, 曹家树, 虞慧芳, 叶纨芝, 余小林, 向珣, 卢钢. 2003. 白菜核雄性不育两用系生理生化特性的分析. *园艺学报*, 30 (2): 212 - 214.
- Wang Yong-rui, Chen Hong-guang. 1989. Primary studies on pollen morphology and stability of fertility transformation of HPGMR (*Oryza sativa* L. *Sinica*, Nong Ken 58A). *Sun Yatsen University Forum*, 8 (5): 44 - 49. (in Chinese)
- 王永锐, 陈宏光. 1989. 光敏核不育水稻花粉形态和育性稳定性及转换. *中山大学学报论丛*, 8 (5): 44 - 49.

- Wu Dian, Gao Xiu-mei, Zhang Jian-zhong. 2002. Anatomical study of fertility and anther development in photo-thermo-sensitive genic male sterile rice. *Journal of Southwest Agricultural University*, 24 (2): 138 - 140. (in Chinese)
吴 钿, 高秀梅, 张建中. 2002. 光温敏核不育水稻的育性及花药的发育解剖学研究. *西南农业大学学报*, 24 (2): 138 - 140.
- Wu Ze-dong, Wang Hua-zhong, Han Ying. 2006. Relation between cytoplasmic male sterility and cytokinin content of bud in sugarbeet. *Sugar Crops of China*, (4): 16 - 18. (in Chinese)
吴则东, 王华忠, 韩 英. 2006. 甜菜细胞质雄性不育与花蕾细胞分裂素含量的关系. *中国糖料*, (4): 16 - 18.
- Wu Zhi-ming, Hu Kai-lin, Fu Ji-qin, Qiao Ai-min. 2010. Relationships between cytoplasmic male sterility and endogenous hormone content of pepper bud. *Journal of South China Agricultural University*, 31 (2): 1 - 4. (in Chinese)
吴智明, 胡开林, 符积钦, 乔爱民. 2010. 辣椒胞质雄性不育与花蕾内源激素含量的关系. *华南农业大学学报*, 31 (2): 1 - 4.
- Xue Guang-rong, Yu Wen-yan, Yang Zhen-ying, Sun Rui-xing. 1988. Inducing pollen plants of watermelon and observations of their progenies. *Hereditas*, 10 (2): 5 - 8. (in Chinese)
薛光荣, 余文炎, 杨振英, 孙瑞星. 1988. 西瓜花粉植株的诱导及其后代初步观察. *遗传*, 10 (2): 5 - 8.
- Yang Hai-yan. 2006. The relationship between fertility alternation and plant hormones in the thermo-photo-sensitive genic male sterile wheat [M. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
杨海燕. 2006. 温光敏核不育小麦育性转换与激素间关系的研究[硕士论文]. 重庆: 西南大学.
- Yang W, Liu X D, Chi X J, Wu C A, Li Y Z, Song L L, Liu X M. 2011. Dwarf apple *MbDREB1* enhances plant tolerance to low temperature, drought and salt stress via both ABA-dependent and ABA-independent pathways. *Planta*, 233 (2): 219 - 229.
- Ye Q, Zhu W, Li L, Zhang S, Yin Y, Ma H, Wang X. 2010. Brassinosteroids control male fertility by regulating the expression of key genes involved in *Arabidopsis* anther and pollen development. *Proc Natl Acad Sci*, 107: 6100 - 6105.
- You Nian-shun, Lei Jie-cheng, Huang Li-xing, Zheng Xiang-hua, Zhu Xiong-tao. 1997. Comparing analysis of endogenous IAA, GA₁₊₃₊₄₊₇ in rice male-sterile line with all-plasm-homokaryon. *Journal of Fujian Academy of Agricultural Sciences*, 12 (1): 7 - 11. (in Chinese)
游年顺, 雷捷成, 黄利兴, 郑向华, 朱雄涛. 1997. 水稻同核异质体雄性不育系内源激素 IAA、GA₁₊₃₊₄₊₇ 比较. *福建省农业科学院学报*, 12 (1): 7 - 11.
- Zhang J-K, Zong X-F, Yu G-D, Li J-N, Zhang W. 2006. Relationship between phytohormones and male sterility in thermo-photo-sensitive genic male sterile (TGMS) wheat. *Euphytica*, 150: 241 - 248.
- Zhang Jian-kui, Zong Xue-feng, Wang Jun-yi, Gao Dong-ying, Yu Guo-dong, Shi You-ming. 2001. Changes of activity of protective enzymes in anther of thermo-photo-sensitive genic male-sterile wheat. *Journal of Triticeae Crops*, 21 (4): 26 - 30. (in Chinese)
张建奎, 宗学风, 王俊义, 高东迎, 余国东, 石有明. 2001. 温光敏核雄性不育小麦花药中保护酶活性的变化. *麦类作物学报*, 21 (4): 26 - 30.
- Zhang Ming-yong, Liang Cheng-ye, Huang Yu-wen, Li Yuan-qing. 1994. Some physiological characters in panicles and anthers of photoperiod/temperature-sensitive genic male-sterile rice (P/TGMR) during transferring from sterility to fertility. *Journal of Tropical and Subtropical Botany*, 2 (2): 71 - 76. (in Chinese)
张明永, 梁承邨, 黄毓文, 黎垣庆. 1994. 光(温)敏核雄性不育水稻育性转换中幼穗和花药的某些生理指标变化. *热带亚热带植物学报*, 2 (2): 71 - 76.
- Zhang Wen-jing, Liu Liang, Huang Zheng-lai, Zhou Xiao-nan, Mi Lu, Jia Yuan-yuan. 2016. Effect of low temperature on antioxidative enzymes activity and endogenous hormone content in wheat root of rice-wheat rotation. *Journal of Triticeae Crops*, 36 (4): 501 - 506. (in Chinese)
张文静, 刘 亮, 黄正来, 周晓楠, 米 璐, 贾远远. 2016. 低温胁迫对稻茬小麦根系抗氧化酶活性及内源激素含量的影响. *麦类作物学报*, 36 (4): 501 - 506.
- Zhao Yu-jin, Tong Zhe, Chen Hua-jun. 1996. Relationship between male fertility and endogenous phytohormones in photoperiod-sensitive genic male-sterile rice. *Acta Botanica Sinica*, 38 (12): 936 - 941. (in Chinese)
赵玉锦, 童 哲, 陈华君. 1996. 内源植物激素与光敏核不育水稻农垦 58S 育性的关系. *植物学报*, 38 (12): 936 - 941.
- Zheng Jie, Wang Lei. 2014. Advance in mechanism of brassinosteroids in plant development. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 16 (1): 52 - 58. (in Chinese)
郑 洁, 王 磊. 2014. 油菜素内酯在植物生长发育中的作用机制研究进展. *中国农业科技导报*, 16 (1): 52 - 58.