

前 言

苧麻起源于我国，素有“中国草”之称，是我国的特产和传统出口创汇物资，在国际市场竞争中占有绝对优势。随我国加入世界贸易组织和经济全球化进程的加快，我国的苧麻优势必将得到充分的发挥。苧麻产业在发展我国外向型农业中具有重要意义。

苧麻[*Boehmeria nivea* (L.) Gaud.]属于荨麻科 (*Urticaceae*) 苧麻属 (*Boehmeria*)，是一种多年生宿根性韧皮纤维作物。花单性，雌雄同株异花，复总状花序，风媒授粉。雌花序着生于茎梢，雄花序着生于茎中下部，交界处有少数花序混生雌雄两种花。长江流域年收三季，一般栽培苧麻是短日植物(short-day plant, SDP),仅三麻开花结实，8月中旬现雄蕾，9月上旬现雌蕾。瘦果，很小。

开花与性别表达是植物学研究的中心内容。然而长期以来，由于苧麻品种遗传基础单一，基础理论研究薄弱，关于苧麻成花与性别表达的研究明显不足，而苧麻高产、稳产、优质的育种目标以及苧麻综合利用对种质资源的拓展提出了新的要求。

1 问题的提出

已有研究证明，苧麻生殖生长对营养生长有强烈的抑制作用，开花结籽导致纤维产量和品质的下降，所以生产中要求控制开花结实。在自然条件下，多数苧麻品种在日照长度较短的9月份开花，人工短日照诱导提早开花，抑制营养器官的生长。例如鸡骨白65d短日照(10h/d)处理使株高减少53.4%，干物质减少25.7%；60d相同短日照处理，黄壳早株高减少28.6%，干物质减少25.7% (李宗道等，1957)。显然这种影响不是由光合作用时间缩短引起的。三麻苗期每日伸长4-5cm，现蕾开花期每日仅0.2-0.7cm，开花期花蕾干物重大于韧皮重18%，结实期种籽干物重仅小于韧皮重12%，麻茎粗细不匀，皮薄，纤维品质差 (李宗道等，1962)。因此麻区有“头麻铁，二麻钢，三麻一包糠”的说法。据测定，单株花器官干重多在10g以上，而高产单株的原麻重也不过5-6g (刘飞虎等，1998)。摘花试验表明，种籽干物质的积累影响纤维的形成，导致产量的下降 (徐俐，1999)。生长发育期用暗间断抑制开

花，使当年三麻原麻产量增加 12%-37%，次年头麻原麻产量提高 30%，原麻支数平均提高 23.25%（李宗道等，1992）。生产中麻农多采取三麻补施氮肥，或摘去花蕾的措施抑制生殖生长。

苧麻杂交育种和杂种优势利用要求能方便地诱导开花结实。周瑞阳（1993）鉴定了 NG 型苧麻，对其杂种优势利用研究表明，以 NG 型（光钝感生理雌性系，day-Neutral physiological Gynoecious ramie，原称“光钝感全雌性苧麻”）为母本，与在短日下才开花的普通雌雄同株苧麻（SM 型）组配 NS 组合，其纤维品质特优，纤维支数高达 2795 m/g，平均超过 2000m/g，产量的对照优势（细叶绿，CK）最高为 60.6%（周瑞阳，1994）。但 SM 苧麻只在三麻开花，诱导雄花需要环剥处理。苧麻油纤兼用要求纤用时无籽（一般头、二麻），油用时（一般三麻）早熟并结实量大（周瑞阳，1996a；徐俐，1999）。

由此可见，研究苧麻开花与性别表达的遗传及生理生化调节，包括对开花结籽的控制和开花的人工诱导，在苧麻育种与栽培生产中都具有重要意义。

2 前人的研究基础

2.1 三倍体无籽育种

为了从根本上解决苧麻开花结籽带来的产量和品质下降，选育遗传上稳定的无籽品种一直是育种工作者所追求的目标。多倍体植物结实率低，或发生不育和不孕性，例如生产中已大量应用的三倍体甜菜和三倍体无籽西瓜由于减数分裂时产生染色体不平衡，都是高度不育的。在水稻（张灵南和褚启人，1984）、高粱（罗耀武等，1985）中也曾得到三倍体无籽后代。所以，三倍体途径培育无籽品种在苧麻育种中具有重要地位。植物天然产生的多倍体现象相当常见，特别是异花授粉作物，由于群体中基因型自由组合，常为杂合体，遗传基础丰富，可塑性大，易于形成天然多倍体（潘家驹，1994），例如甘薯、苜蓿、三叶草等植物常具有天然多倍体，因此苧麻应具有形成和保持多倍性的有利条件。但苧麻在长期的进化过程中并没有形成多倍体（谢卓荣，1986），说明苧麻本身可能存在不利于形成多倍体的内在机制。

最早 Chi and Lai (1964) 进行了苧麻多倍体诱导研究。此后许多研

目 录

前言

1.1	问题的提出	
1.2	前人的研究基础	
1.2.1	三倍体无籽育种	
1.2.2	苧麻开花的人工调控	
1.2.3	开花与性别表达的生理生化基础研究	
1.3	雌性不育苧麻的发现及其意义	
1.4	本研究的目的及主要内容	
2	第一章苧麻光敏感雌性不育性的遗传分析	
2.1	材料与方法	
2.1.1	试验材料	
2.1.2	试验设计和方法	
2.2	结果与分析	
2.2.1	PFS 自交或兄妹交后代的育性表现	
2.2.2	光敏感基因对育性的影响	
2.2.3	光钝感细胞质的效应	
2.2.4	F ₂ 及 BF ₁ 代的育性表现	
2.3	讨论	
3	第二章光敏感雌性不育苧麻的光周期生理	
3.1	材料与方法	
3.1.1	试验材料	
3.1.2	试验方法	
3.2	结果与分析	
3.2.1	诱导雌性不育的临界日长	
3.2.2	雌性发育的光敏感期	
3.2.3	敏感期最短持续日数	
3.2.4	温度效应	
3.3	讨论	
3.3.1	光周期对成花诱导和育性诱导的不同作用	
3.3.2	光温条件对雄性和雌性的不同作用	
3.3.3	植物成花与性别表达的阶段划分	
4	第三章光敏色素与光敏感雌性不育苧麻育性转换	
4.1	材料与方法	
4.1.1	试验材料	
4.1.2	试验方法	
4.2	结果分析	
4.2.1	暗期光间断对 PFS2 雌性育性的效应	
4.2.2	暗期光间断对 PFS2 生育期的效应	
4.2.3	暗期间断对活性氧代谢相关酶的影响	
4.3	讨论	

□3.1	光敏色素与雌雄性育性诱导
□3.2	活性氧伤害影响败育的途径
□	第四章雌性不育性与活性氧代谢的关系
□1	材料与amp;方法
□1.1	研究材料
□1.2	不同光周期处理的设置
□1.3	测定方法
□2	结果与分析
□2.1	POD活性的节位梯度
□2.2	SOD活性的节位梯度
□2.3	CAT活性的节位梯度
□2.4	MDA含量的节位梯度
□3	讨论
□	参考文献
□	英文摘要
□	缩略词
□	致谢

究者利用多种试验材料和多种诱导方法进行苧麻多倍体的诱导研究（谢卓荣，1986；董延瑜等，1992；郑思乡等，1995；湖南农业大学苧麻倍性育种课题组，1995；郑思乡，1996；晏春耕等，1996），也曾得到一些多倍体试管苗，但未曾得到稳定的三倍体植株。即使是四倍体与二倍体的杂交后代也未能获得完全三倍体植株，其杂交后代染色体数目变化十分复杂，机理也不清楚（郑思乡等，1996）。即使选择到多倍体无籽麻株，其多倍性也可能影响纤维的形成，所以有多倍体苧麻纤维支数低于二倍体的报道（Chi and Lai, 1964）。在苧麻中，至今尚未选育出生产上可以推广利用的三倍体无籽品种。

2.2 苧麻开花的人工调控

根据植物激素对苧麻生长发育影响的研究（李宗道，1989），施用赤霉素可延迟或抑制开花结实，促进营养生长，有明显的增产效果，但同时带来纤维细度的显著下降，而严重影响品质。

李吉安等（1994）经多年试验研究出的苧麻控花剂 PGR1，能控制苧麻的花蕾分化，减少开花结实，纤维产量提高 7.8%-31.5%，纤维支数提高 112-591m/g。P³² 示踪表明，控花改变了营养物质的运输方向，使三麻韧皮部能获得更多的营养供应，改善和促进了纤维的形成。刘飞虎等（1998）试验也证明，三麻施用 PGR1 可增产 15%左右，支数提高 200-300m/g。但施用 PGR1 有明显的三个缺陷：(1)使用范围窄。据上述研究者的试验结果，以 280-320 μ L/L 为宜，生产中难以把握；(2)施用 PGR1 田间工作量大。李吉安等试验中喷药以叶片滴水为准，低量喷施难以奏效；(3)污染环境。另据蔡可（1992）试验，使用控花剂对纤维的形成仍不及人工去除花序。可见选育遗传稳定的二倍体无籽品种可望进一步提高产量和品质。

苧麻育种中的花期调节，目前利用三种方法：环剥、折梢（周瑞阳，1995；1997）和短日照处理。环剥和折梢可诱导头、二麻有花芽分化的品种开雄花，与 NG 型苧麻杂交制种可在头、二麻进行而不需隔离，但诱导效果存在较大的品种间差异。虽然短日处理能诱导所有光敏感品种提前开花，但处理费工费时。目前尚未见到用化学方法调节花期的报道。

2.3 开花与性别表达的生理生化基础研究

2.3.1 开花与性别表达的光周期生理

无论是花的诱导还是花的发育，都是相关基因在一定条件下按一定时空顺序的表达，任何关键环节如果对某种环境因子有特异要求或发生这种变异，就会表现相应的敏感性。如果这种要求不能满足，就会出现花器官或配子体发育的停止和败育。在多种作物中发现的光（温）敏雄性不育现象即是如此。光敏不育性，实质就是受光控制的不育基因的表达，涉及到受光调节的复杂的生理代谢途径的改变（肖翊华，1993；童哲，1998a）。

植物需要由光敏受体来感受光信号。目前在植物体内至少已发现三种光受体：红光和远红光受体即光敏色素（Phytochromes）、蓝光或紫光/紫外光-A受体即隐花色素（Cryptochrome 或 blue/UV-A receptor）和紫外光-B受体（UV-B receptor）。植物由感光性调节开花，是由光敏色素作为光受体实现的，也有其它色素（如隐花色素）的参与，前者在高等植物中普遍存在。经典的光敏色素红光/远红光可逆反应是鉴定对一个光调节的反应过程是否包含有光敏色素作为其光受体的实验标准，即：如果短时间的红光可诱导一个反应，这个反应还可以被随后立即照射的远红光所逆转，那么这个反应的光受体就是光敏色素（童哲，1987）。光敏核雄性不育水稻（PGMR）农垦 58s 属于晚粳类型的短日植物，对日照长度反应敏感，长日照诱导雄性不育。李合生等利用红光/远红光逆转的标准实验技术证实了光敏色素是农垦 58s 育性光敏性的光受体（李合生和卢世峰，1987；李合生等，1990）。Tong（1990），杨代常等（1990）也获得了相似的结果。谢国生（1992）研究指出，光敏色素的红光/远红光逆转效应检验水稻光敏核雄性不育性有效。

因此，只有完全揭示光周期现象以及光敏色素在植物光周期反应及育性转换中的光调节作用，同时广泛开展生理生化基础研究，才能实现开花和育性的人工调节。

2.3.2 植物败育与活性氧（Reactive Oxygen Species, ROS）伤害的关系

植物体的多种代谢活动（如光合作用、呼吸作用）会产生 ROS（王爱国，1998）。ROS 包括超氧物阴离子自由基（ O_2^- ）、羟自由基（ $OH\cdot$ ）、

单线态氧 (1O_2)、过氧化氢 (H_2O_2) 以及脂质过氧化的中间产物 $RO\cdot$ 、 $ROO\cdot$ 和 $ROOH$ 。其中具不成对电子的 $OH\cdot$ 、 o_2^- 、 $RO\cdot$ 和 $ROO\cdot$ 统称为氧自由基 (free oxygen radical), H_2O_2 、 $ROOH$ 和 1O_2 不是自由基, 却是潜在的自由基源, 间接表现毒性, 因此, 习惯上和自由基一起讨论 (陆定志等, 1997)。

生理条件下, 96%-99%的氧通过酶催化 (如细胞色素氧化酶) 还原为 H_2O , 尚有 1%-4% 转变为 o_2^- 和 H_2O_2 , 若得不到及时清除, 持续反应将生成毒性更大的 $OH\cdot$ (孙存普等, 1999)。虽然某些生化反应需要 ROS 参与, 其量极微弱, 也极其短暂。ROS 对植物细胞的结构和功能造成伤害, 并破坏膜系统, 损伤叶绿体和线粒体, 攻击生物大分子物质如蛋白质、核酸、糖分子; 启动膜脂过氧化链式反应, 生成更多的自由基和丙二醛(MDA)等毒害物 (陆定志等, 1997); ROS 还是引起光合作用光抑制的一个主要原因 (徐志防等, 1999)。然而植物在长期进化过程中获得了完备又高效的 ROS 清除系统, 它由抗氧化酶类和抗氧化剂构成 (Salin, 1988), 前者如 POD、SOD、CAT 等, 又称保护酶; 后者如维生素 E (Vte)、维生素 C (Vic)、类胡萝卜素 (CAR) 等。

通常情况下, ROS 及其清除系统之间是平衡的, 然而一些特殊情况 (如逆境胁迫) 导致体内 ROS 大量增生, 如果超出了清除能力, 便产生毒害反应 (宋纯鹏, 1998)。如果植物本身遗传基础变化导致代谢过程产生了较多的 ROS, 或 ROS 清除能力变弱, 也会发生 ROS 伤害。如果这种伤害在植物的生殖器官发生, 就可能引起不育。目前的研究已经说明, ROS 伤害是诱导细胞凋亡的重要原因 (孙存普, 1999)。

关于 ROS 伤害与不育关系的研究, 在水稻中已有详细的报道。PGMR 的幼穗或花药在长日下表现出 ROS 伤害的症状 (陈克成, 1990)。梁承邨等报道了水稻细胞质雄性不育和光敏核不育与氧自由基伤害的密切关系。其对雄性不育水稻小孢子三核期花粉内源产生 o_2^- 速率的测定表明, 7017 不育系是保持系的 4.1 倍, 二九矮不育系为保持系的 5.6 倍。PGMR 的小孢子败育伴随着明显的膜脂过氧化作用。从单核期到三核期 H_2O_2 和 o_2^- 水平增高, MDA 含量及抗氧化酶活性都呈显著的异常变化 (陈贤丰和梁承邨, 1991a; 1991b)。林植芳等 (1993) 利用电子自旋共振技术

(ESR) 检测水稻胞质雄性不育系 V₂₀A、珍汕 97A 以及光敏不育系农垦 58s、温敏不育系 W6154s 的有机自由基水平, 证明不育伴随着自由基代谢异常的发生。显然, 雄性不育系小孢子败育与三核期花药内源产生速率的显著增加有关。因为 O₂⁻ 或由 O₂⁻ 转化的 HO· 能启动膜脂过氧化链式反应, 并产生更多的有机自由基和无机自由基 (Asada and Takahashi, 1987) 导致不育花粉内膜及细胞质膜系统的崩溃。

研究 ROS 相关酶活性的变化也是研究 ROS 伤害的起点。张明永等 (1997) 研究也发现珍汕 97A 及其保持系珍汕 97B 花器官中抗氧化酶 (POD, SOD, CAT 等) 的活性、MDA 含量以及 O₂⁻、H₂O₂ 水平, 都有很大差异。其它通过农垦 58s 在长日照和短日照下敏感期叶片、花药或幼穗中抗氧化酶系统及 MDA 含量与雄性育性的关系的研究, 都揭示了 ROS 伤害在长日照诱导 PGMR 雄性不育中起的重要作用 (邹国林等, 1991; Zou et al, 1993)。Parups (1984) 研究指出稳定的自由基可刺激 IAA 降解和参与乙烯的形成, 而农垦 58s 败育与 IAA 严重亏缺有关 (Zhou et al, 1991)。

可见, ROS 伤害是植物雄性败育的原因之一, 但雌性败育是否与活性氧代谢有关, 尚不明确。

3 雌性不育苧麻的发现及其意义

周瑞阳在成花光敏感和成花光钝感苧麻中均发现了雌性不育材料 (周瑞阳, 1996b; 1999)。其中有的材料表现稳定的雌性不育性, 有的表现光周期敏感。前者对于培育无籽苧麻具有重要的应用价值。由于苧麻常采用无性繁殖, 育种中可以选育仅三麻开花并表现雌性不育的优良单株, 繁殖成为无性系品种。也可以与雄性不育苧麻杂交, 选择并培育雌雄均不育的无性系品种。如果雌性不育为显性, 可直接用于组配优势组合。与多倍体无籽育种途径相比, 这一途径具有不打破原来的染色体平衡和育种周期短, 技术要求低, 见效快的优点; 与施用苧麻控花剂相比, 既无污染之害, 又无施药之劳, 并可望进一步提高产量和品质。

光周期敏感雌性不育苧麻 (Photoperiod-sensitive Female Sterile ramie, PFS) 表现为三季麻雄性均发育正常, 但头、二麻雌性败育, 完全没有花柱, 三麻雌性发育正常。

PFS 作油纤兼用具有两个明显的优点：(1)头、二麻雌性败育早而彻底，适于收获纤维；三麻雌性可育，早熟，结实量大，适于收获种籽；(2)三麻雌雄可育，便于杂交转育。

同时，PFS 在植物生殖和发育的基础研究中具有重要的理论研究意义。目前包括光温敏雄性不育的多种雄性不育性得到了较好的研究和利用，但关于关于光敏感雌性不育的研究还是空白。PFS 在植物成花和性别表达及雌雄两性发育的关系研究中均有重要价值。

4 本研究的目 的及主要内容

(1)PFS 苧麻雌性不育性的遗传分析

PFS 姊妹系间相互杂交，由 F_1 代的育性表现，初步推测控制雌性不育性的基因对数及 4 种材料间的关系；PFS 与普通雌雄同株材料 (NM) 杂交， F_1 代自交同时与 PFS 回交，分析 F_1 、 BF_1 、 F_2 的育性表现，初步分析雌性不育性的遗传方式；利用 PFS 苧麻与 NG 型苧麻组配正反交组合，比较其 F_1 代的育性表现，初步分析细胞质效应。

(2)PFS 苧麻的光周期特性

根据成花及育性的表现分析光周期特性，初步确定诱导雌性不育的临界日长、光敏感期和光敏感期持续日数；根据育性随自然光温的变化，初步分析光周期与温度因子的作用。

(3)光敏色素与 PFS 苧麻的育性转换

利用不同的红光/远红光间断暗期处理，根据雌性育性有无红光/远红光可逆发生的发生，确定光敏色素是否是雌性育性光敏性的光受体。测定经红光/远红光间断暗期处理株 ROS 相关酶 (SOD、CAT 和 POD) 活性和 MDA 含量的变化，确定光敏色素与 ROS 相关酶代谢的关系。

(4)苧麻雌性不育性与活性氧相关酶代谢研究

利用 SOD、CAT、POD 的活性和 MDA 含量在可育与败育株叶片和花器官中的变化为指标，分析 PFS 苧麻在不同光温处理下 ROS 代谢与育性的关系。初步明确 ROS 伤害在雌性败育中的作用。

第一章 苎麻光敏感雌性不育性的遗传分析

分析光敏感雌性不育苎麻与正常可育苎麻的遗传关系,以及雌性的育性与光敏性之间的关系,是遗传育种中对光敏感雌性不育性利用的基础。本章试图从有性杂交后代雌性育性的分离规律入手,初步分析其遗传方式。

1 材料与方法

1.1 试验材料

PFS 苎麻:姊妹系 PFS1、PFS2、PFS3、PFS4 育性表现相同,株叶型差异明显;光钝感生理雌性系 NG1,成花对光周期反应钝感,头、二、三麻均开雌花,6-8 月砍秆可生大量雄花,雌雄正常可育(周瑞阳,1993;1997),其生育期与 PFS 苎麻基本一致;光钝感雌雄同株苎麻(NM 苎麻):NM1、NM2、NM3、NM4、NM5,成花对光周期反应钝感,头、二、三麻均开花,雌雄同株可育。所有供试亲本均无直接亲缘关系。

1.2 试验设计和方法

试验在湖北农学院试验农场(30°24'N)进行。试验田肥力中等。采用瓶插父本套袋杂交法。1997 年组配 NM×PFS 组合。1998 年对其 F₁ 代中分离的不育株和可育株分别自交的同时与 PFS 回交,并用 NG1 与 PFS 组配正反交组合,检验细胞质效应;PFS 间自交和兄妹交,以确定其基因型。

所有后代均于次年 3 月份播种,5 至 6 月移栽。雌花柱头伸长即认为可育,雌蕾变色即认为雌性败育。根据 1999 年对 PFS 观察结果,自然光周期 8 月 25 日以前为诱导 PFS 雌性不育的长日照(见第二章),因此,所有亲本及杂交后代以 8 月 20 日前的调查结果为准进行统计分析。凡有育性分离,均进行卡平方测验考察其适合性。

2 结果与分析

2.1 PFS 自交或兄妹交后代的育性表现

无论是 PFS 自交 S₁ 代或兄妹交 F₁ 代,不育株与可育株基本上呈 13:3 的分离(表 1),雌性育性符合两对基因的作用规律,其中一对为抑制基因,PFS 的四个姊妹系间基因等位。假定光敏感雌性可育基因为 F^{ph},

抑制基因为 I, I 对 F^{ph} 有显性上位抑制作用, PFS 的基因型为 $iiF^{ph}F^{ph}$, 其自交或互交 F_1 代基因型均表现 $9I_{-}F^{ph}_{-}:3I_{-}F^{ph}F^{ph}:3iiF^{ph}_{-}:1iiF^{ph}F^{ph}$ 分离比例, 育性表现 13S:3F 的分离, 其中仅 iiF^{ph}_{-} 表现雌性可育。但 PFS2×PFS3、PFS3×PFS2、PFS3×PFS4 三个组合不符合 13S:3F 的分离规律, 暗示还有其它基因的影响。

表 1 PFS 自交 S_1 代或兄妹交 F_1 代的育性表现

Table 1 Fertility expression of S_1 from self-crosses and F_1 from the crosses between PFS sibling lines

组合 Crosses	株数 Plant NO.		X ² c 值 Value of X ² _c	概率(13:3) Probability(13:3)
	S	F		
PFS2 ⊗	37	15	2.848	0.05-0.10
PFS3 ⊗	83	21	0.063	0.75-0.90
PFS4 ⊗	94	20	0.044	0.75-0.90
PFS1×PFS2	31	5	0.285	0.50-0.75
PFS1×PFS3	59	21	2.482	0.10-0.25
PFS1×PFS4	96	14	2.239	0.10-0.25
PFS2×PFS1	51	7	1.289	0.25-0.50
PFS2×PFS3	39	34		
PFS2×PFS4	4	1		
PFS3×PFS1	57	9	0.822	0.25-0.50
PFS3×PFS2	34	38		
PFS3×PFS4	34	41		
PFS4×PFS1	87	23	0.210	0.50-0.75
PFS4×PFS2	71	23	1.660	0.10-0.25
PFS4×PFS3	87	21	0.004	0.90-0.99

2.2 光敏感基因对育性的影响

以 NM 为母本与 PFS 不育株杂交 F_1 代均表现 3S:5F 分离 (表 2)。假定光敏感基因为 P, 当 P 隐性纯合时对光周期钝感, 那么 PFS 基因型为 $iiF^{ph}F^{ph}Pp$, NM 苧麻基因型为 $iiF^{ph}F^{ph}pp$, 然而杂交 F_1 代不表现 1S:1F

表 2 NM×PFS 的 F₁ 代育性表现

Table 2 Fertility expression of (NM×PFS) F₁

组合 Crosses	株数 Plant NO.		X ² 值 Value of X ² _c	概率(3:5) Probability(3:5)
	S	F		
NM1×PFS4	6	6	0.356	0.5-0.75
NM2×PFS2	21	40	0.132	0.5-0.75
NM2×PFS3	10	19	0.021	0.90
NM2×PFS4	3	11	0.933	0.25-0.50
NM3×PFS3	9	14	0.003	0.90-0.99
NM4×PFS2	2	1		
NM4×PFS3	33	59	0.046	0.75-0.90
NM5×PFS4	3	3	0.044	0.75-0.90

的分离。推测 3S:5F 分离的出现是由于细胞质基因为光钝感，核内的光敏感基因隐性纯合时，限制了抑制基因 I_L 的作用，使 I_L 只能抑制 F^{ph}F^{ph} 的表达，而不能抑制 F^{ph}F^{ph} 表达，即 N(I_LF^{ph}F^{ph}pp) 表现可育。光钝感细胞质对核基因表达的影响还需细胞质检验确定。(NM×PFS)F₁ 基因型分析如图 1 所示。

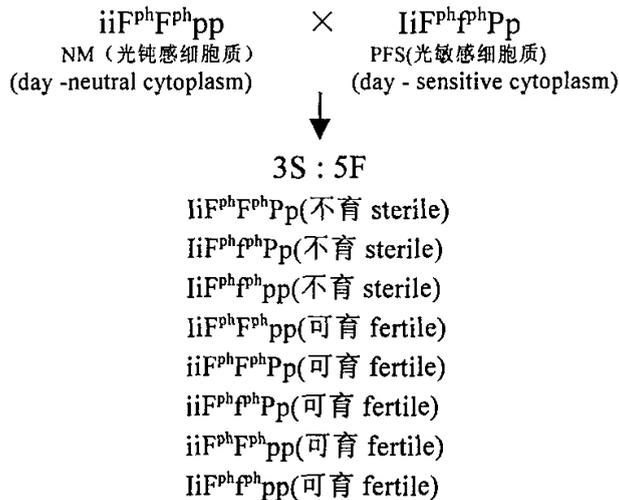


图 1 NM×PFS 的 F₁ 代基因型

Fig.1 Genotypes of F₁ from the crosses between NM and PFS

2.3 光钝感细胞质的效应

NG1 是目前研究较多的光钝感生理雌性系，其成花迟早与育性表达不受光周期的影响（周瑞阳，1997）。以 NG1 为母本的（正交） F_1 代，比以 PFS 为母本的（反交） F_1 代，有较低的不育株率（表 3），明显表现出光钝感细胞质对不育性的影响，或对抑制基因作用大小的限制。可见，细胞质的光敏感基因对育性的表达有极重要的作用。

表 3 NG1 与 PFS 杂交 F_1 代的育性表现

Table 3 Fertility expression of F_1 from the crosses between NG1 and PFS

组合 Crosses	株数 Plant NO.		X ² 值 Value of X ² .	概率 (遗传比率) Probability (genetic ratio)	不育株率 S/Total	光钝感胞质对 S 的抑制率 Inhibition of day- neutral cytoplasm to sterility
	S	F				
NG1 ⊗		8				
PFS1 × NG1	91	37	0.844	0.25-0.50(3:1)	0.711	
NG1 × PFS1	18	27	0.037	0.75-0.95(3:5)	0.400	0.437
PFS2 × NG1	62	58	0.075	0.75-0.90(1:1)	0.517	
NG1 × PFS2	39	57	0.278	0.50-0.75(3:5)	0.426	0.176
PFS3 × NG1	19	65	0.143	0.50-0.75(1:3)	0.226	
NG1 × PFS3	2	45			0.043	0.810
PFS4 × NG1	88	51	0.012	0.75-0.90(5:3)	0.633	
NG1 × PFS4	29	44	0.074	0.75-0.90(3:5)	0.397	0.373

据此分析，光钝感细胞质中表现不育的基因型为： $I_F^{ph}P_$ 、 $_f^{ph}f^{ph}$ 、 $I_F^{ph}f^{ph}pp$ ；表现可育的基因型为： $I_F^{ph}F^{ph}pp$ 、 $iiF^{ph}_ _$ 。表 3 所示以 NG1 为母本与 PFS 不育株杂交 F_1 代均表现 3S:5F 分离，与以 NM 为母本时的表现完全相同。以 PFS 为母本时，所组配的 4 个反交组合中仅有一个组合后代表现预期的 1S:1F 的分离，其余呈 3S:1F，1S:3F，5S:3F 分离（表 3）。推测光敏感基因为 2 至 3 对基因或若干修饰基因组成，不同 PFS 材料的光敏感基因不同。因此以不同 PFS 为母本的 F_1 代的光敏感基因型也不同，对抑制基因表达的影响不同。表 1 中与 PFS3 有关的组合偏离 13S:3F 的分离也可能是由于这种影响所致。

表 4 NM×PFS 组合 F₂ 及 BF₁ 基因型分析
 Fig. 4 Genotypes and fertility expected of F₂ and BF₁ from NM×PFS

F1		F2		BF1	
基因型 genotypes (S/F)	基因型 genotypes	育性(S:F) fertility	基因型 genotypes	育性(S:F) fertility	
IiF ^{ph} F ^{ph} Pp(S)	9I ^{ph} F ^{ph} Pp 3I ^{ph} F ^{ph} Pp	9S:7F	3iiF ^{ph} F ^{ph} Pp 6I ^{ph} F ^{ph} Pp	18I ^{ph} Pp 8iiF ^{ph}	21S:11F
IiF ^{ph} F ^{ph} Pp(S)	27I ^{ph} Pp 16iiF ^{ph} 3I ^{ph} F ^{ph} Pp	49S:15F	6I ^{ph} F ^{ph} Pp 12iiF ^{ph}	27I ^{ph} Pp 16iiF ^{ph} 3I ^{ph} F ^{ph} Pp	49S:15F
IiF ^{ph} F ^{ph} pp(S)	6I ^{ph} F ^{ph} pp 3I ^{ph} F ^{ph} pp	5S:3F	4iiF ^{ph} pp 2iiF ^{ph} F ^{ph} pp	9I ^{ph} Pp 8iiF ^{ph} 3I ^{ph} F ^{ph} pp	23S:9F
IiF ^{ph} F ^{ph} pp(F)	3I ^{ph} F ^{ph} pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp	1F	3I ^{ph} F ^{ph} pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp	6I ^{ph} Pp 3I ^{ph} F ^{ph} pp	9S:7F
iiF ^{ph} F ^{ph} Pp(F)	3iiF ^{ph} Pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp	1F	3iiF ^{ph} Pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp	6Ii ^{ph} Pp 1iiF ^{ph} F ^{ph} pp	7S:9F
iiF ^{ph} F ^{ph} Pp(F)	4iiF ^{ph} Pp 12iiF ^{ph}	1S:3F	4iiF ^{ph} Pp 12iiF ^{ph}	9Ii ^{ph} Pp 8iiF ^{ph} 1iiF ^{ph} F ^{ph} pp	19S:13F
iiF ^{ph} F ^{ph} pp(F)	无分离	1F	无分离	1iiF ^{ph} F ^{ph} pp 1iiF ^{ph} F ^{ph} pp 4iiF ^{ph}	3S:5F
iiF ^{ph} F ^{ph} pp(F)	1iiF ^{ph} pp 3iiF ^{ph} pp	1S:3F	1iiF ^{ph} pp 3iiF ^{ph} pp	3Ii ^{ph} Pp 4iiF ^{ph} 1iiF ^{ph} F ^{ph} pp	9S:7F

2.4 F₂ 及 BF₁ 代的育性表现

以细胞质光钝感的 NM 为母本, 以 PFS 为父本组配的杂交 F₂ 代以及 F₁ 与 PFS 回交得到的 BF₁ 代, 其细胞质均为光钝感, 其基因型与育性的分析如表 4 所示。F₁ 代基因型为 IiF^{ph}F^{ph}Pp 的不育株 F₂ 代出现 9S:7F 的分离, 回交 BF₁ 代出现 21S:11F 的分离; 基因型为 IiF^{ph}F^{ph}pp、iiF^{ph}F^{ph}Pp 及 iiF^{ph}F^{ph}pp 的可育株 F₂ 代育性不分离, 均可育。1999 年考察了移栽较早, 育性表现充分的部分 F₂ 及 BF₁ 群体, 结果 (表 5) 与上述分离比例有较好的吻合, 验证了以上分析。

表 5 部分 NM×PFS 的 F₂ 及 BF₁ 代的育性表现

Table 5 Fertility expression of some F₂ from crosses of NM×PFS

组合 Crosses	株数 Plant NO.		X ² _c 值 Value of X ² _c	概率(遗传比率) Probability (genetic ratio)	F ₁ 基因型 F ₁ genotypes
	S	F			
NM2×PFS4 FF 株 F ₂		22			IiF ^{ph} F ^{ph} pp、iiF ^{ph} F ^{ph} Pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp
NM5×PFS4 FF 株 F ₂		27			IiF ^{ph} F ^{ph} pp、iiF ^{ph} F ^{ph} Pp iiF ^{ph} F ^{ph} pp
NM3×PFS3 FS 株 F ₂	58	40	0.234	0.5-0.75(9:7)	IiFphFphPp
NM3×PFS3 FS 株 BF ₁	49	28	0.061	0.75-0.90(21:11)	IiFphFphPp

3. 讨论

所有杂交组合后代均出现了雌性育性的分离, 雌性不育株在头、二、三麻与亲本 PFS 有相同的表现。雄性有稳定一致的可育表现, 不受组合方式的影响, 验证了 PFS 变异只涉及雌性而雄性不受影响, 而且雌性不育性可由雌配子或雄配子传递给后代。雌雄系统关于育性的遗传途径是相对独立的。由于败育发生早而彻底, 同一株所生配子育性无分离, 为孢子体败育类型。

光敏感雌性不育的表达, 实质是受光周期控制的不育基因的表达。据本文分析, PFS 苎麻光敏感基因存在于细胞质和细胞核之中, 共同参与控制育性的光敏感特性。这种质核共同控制的光敏不育性与其它作物核质互作雄性不育性有很大的差别。核质互作雄性不育性由细胞质不育

基因和相对应的核基因所决定的，只有当胞质不育基因与核内隐性不育基因同时存在时，个体才表现不育。而 PFS 苎麻雌性不育性涉及核光敏感不育基因、上位抑制基因、核内多对光敏感基因和细胞质光敏感基因。细胞质光敏感基因与核内光敏感基因共同参与控制核显性抑制基因对核光敏感不育基因的抑制作用。不同的组合方式育性不同。这种相互作用方式依赖于更深入的遗传分析加以证明和完善。通常生态型雄性不育性涉及多对基因间的互动，特别是环境敏感基因与育性基因间的互动，例如玉米（李竞雄等，1998）、小麦（杨存义等，1997）以及多数水稻（李志新等，1999）的光敏感雄性不育系均是如此。油菜生态雄性不育系 AB1 存在核基因、质基因以及不育基因和环境敏感基因的互动（杨光圣，1995），湘油 91S 由 2 至 3 对不育基因和 1 至 2 对温敏基因控制，而且存在上位互动效应（席代汶等，1996）。

由于群体大小和时间的限制，本文只能对遗传分析结果做一简要的总结。随着遗传研究的深入，必将清晰揭示其遗传规律，为育种中雌性不育性的应用奠定基础。另外，雌性不育性对产量和品质的效应如何，有待下一步试验分析。

第二章 光敏感雌性不育苳麻的光周期生理

关于光周期对植物雄性育性的影响,在光敏核不育水稻中已有系统的研究,在生产中亦开始应用于两系法生产杂交种。但光周期的影响在雌性和雄性之间,以及在双子叶植物及单子叶禾本科植物之间是否会有-定的差异?对光周期诱导 PFS 苳麻雌性育性转换的条件及敏感时期也缺乏系统的研究。

苳麻为无限花序,从孕蕾到开花的一定时期内不同节位自上而下存在花芽分化的时间梯度,即不同节位处于不同的花芽分化阶段。因此,同一日开始的光周期处理对不同节位的成花和育性诱导可能有不同的作用,利用这一特性可以方便地研究光敏感期。采用不同的光周期处理不仅可以初步了解雌性育性转换的临界日长,而且根据雌性发育在不同光周期条件下的表现,可了解 PFS 苳麻的光周期特性。

1 材料与amp;方法

1.1 试验材料

PFS1、PFS2、PFS3 和 PFS4

1.2 试验方法

1.2.1 光周期处理

试验于 1999 年在湖北农学院试验农场(30° 24' N)于自然光周期中日照最长的二麻期(6 至 7 月)进行。现蕾期和开花期以有效茎的 1/3 现蕾或开花为准。

人工光周期利用自然日照结合每日早晚遮光控制日照长度。暗期遮光用 1.5m 高自制竹架,加盖遮光罩(由 PVC 遮阳膜制成,透气,反光面朝外)完全遮光。每处理每材料 4 蔸。设以下处理:

(1)诱导雌性不育临界日长试验

株高 40cm 左右(尚未现蕾)开始以不同日照长度的人工光周期处理至雌性育性完全表达(可育或败育)。日照长度设 12.5h/d、13.0h/d、13.5h/d、14.0h/d 四个梯度。

(2)雌性发育光敏感时期试验

SD+LD 处理：自株高 40cm 左右（尚未现蕾）开始，以 SD（11h/d）处理至雌花节段基部 1 至 2 节可育完全表达（雌花开放，柱头伸长），然后置于自然长日照条件下（7 月上旬），记载自然长日照处理前后各节位的发育时期及长日照处理后雌雄性育性。如果上部相邻节位发生从可育到不育转变，则自下而上发生育性转变的第一个节位，在进入自然长日照处理时的发育时期即光敏感期。

LD+SD 处理：在自然长日照条件下（6 月下旬），自雌花节段基部有 1 至 2 节明显表现败育（雌蕾发育停止，枯死并脱落），然后以 SD（11h/d）处理，记载 SD 处理前后各节位发育时期及雌雄性育性。如果上部相邻节位发生从不育到可育转变，则自下而上发生育性转变的第一个节位，在进入 SD 处理时的发育时期即光敏感期。

(3) 敏感期最短持续日数试验

在自然日照条件下，自雌花节段基部 1 至 2 节明显表现败育，然后以 SD（11h/d）人工光周期分别处理 3d、6d 和 9d 后置于自然长日照条件下，记载各节位雌雄性育性的变化。

1.2.2 温度效应分析方法

1999 年除正常现秆期（6 月 4 日和 8 月 5 日）砍秆外，留部分不砍秆，观察自然光温条件下其育性变化情况。荆州（30° 24' N）和武汉（30° 27' N）纬度相近，日照长度相差不大，根据中国科学院紫金山天文台测算的武汉地区日出日没时刻表（中国科学院紫金山天文台，1986）计算。气温资料以湖北农学院气象站在试验区的测定结果为准。根据各季麻及未砍秆头、二麻现蕾期（包含敏感期）的光温条件，分析育性表现与日照长度和温度的关系。

2 结果与分析

2.1 诱导雌性不育的临界日长

经不同日照长度人工光周期处理，PFS1 和 PFS2 雄性开花期（开始处理至雄性开花所需的平均日数）及雌性育性如表 6 所示。

日照长度小于或等于 13.0h/d 的处理雌性表现可育，日照长度大于或等于 13.5 h/d 的处理雌性表现败育，两种 PFS 苧麻材料表现一致，说明在荆州地区 6 至 7 月的温度条件下，诱导 PFS 苧麻育性转换的临界日长在 13.0 h/d 至 13.5h/d 之间。育性转换是一个跃变的过程，无中间

状态，这是由于雌性败育发生较早导致的。

表 6 不同日照长度 (h/d) 对 PFS 苜蓿的效应

Table 6 The effects of day-length (h/d) on PFS ramie

基因型 Genotypes	自处理至雄性开花的日数 (日) Days from starting SD to male flowering					雌性育性 Female sterility or fertility				
	12.5	13.0	13.5	14.0	CK	12.5	13.0	13.5	14.0	CK
	PFS1	10	14	19	42	42	F	F	S	S
PFS2	12	15	19	41	46	F	F	S	S	S

注：¹⁾F=雌性可育；²⁾S=雌性不育

Notes: ¹⁾F=female Fertile; ²⁾S=female Sterile.

无论何种处理雄性均正常现蕾开花，雄性可育，如同在自然光周期条件下一样。说明试验所涉及的长、短日照均是雄性发育的适合光周期。随着日照时数的增加，从开始处理至雄性开花所需天数增加，12.5h/d 处理需 10-12d，而 14.0h/d 和 CK（自然长日照）需 42-46d。从 13.5h/d 到 14.0h/d 表现为跃变。可见，光周期对雌性和雄性的效应完全不同。

2.2 雌性发育的光敏感期

如图 2 所示，当 SD 处理至下部雌花节位可育完全表达以后的 LD 可以诱导上部节位（雌蕾）表现雌性不育；当 LD 处理至下部雌花败育完全表达以后，SD 处理可以诱导上部节位（雌蕾）表现雌性可育；在不育和可育的相邻节位之间表现为无过渡区，变化明显。自下而上，发生可育到不育转变或发生不育到可育转变的第 1-2 个节位的雌蕾在改变光周期处理前，刚出现明显的花轴或花轴分枝，根据雌花的花芽分化顺序（李宗道和胡久清，1987），此期为花序分化期或花被形成期。由于在不育与可育节段相邻节位之间无过渡区，变化明显，说明敏感期之前的处理没有后效应，而且也说明了相邻节位之间没有光周期诱导的传递效应。

2.3 敏感期最短持续日数

当下部节位育性表达以后，给予 3d、6d、9d 的 11h/d 短日照处理，败育节位上部相邻几个节位全部表现可育，说明有效短日处理日数为 3d 或更短，即敏感期最短持续日数为 3d 或更短。



图 2 SD+LD 和 LD+SD 处理对 PFS 的效应

Fig. 2 The effects of SD+LD and LD+SD on PFS

注：¹⁾A: 先用 13h/d 处理至雌性开花，种子开始发育，而后自然日照处理，上部雌花败育；B: 先在自然日照下处理至雌性败育发生（一些雌花停止发育颜色变深），而后 11h/d 日照处理 3d，上部雌花可育。²⁾FF=雌性可育；FS=雌性不育。

Notes: ¹⁾A: PFS grew under 13 h day-length until female flowered, the developing seeds can be seen; and then under natural day-length, the upper female flowers have become sterile; B: PFS grew under natural day-length until some female flowers died and the others stopped developing with darkish color; and then treated with 11h day-length for three days, the upper female flowers became fertile; ²⁾ FF= female sterile; FS= female fertile.

在自然长日照条件下，雌花将停留在敏感期至枯死脱落（即败育表现），经 3d 或 3d 以上的短日处理，尚未败育的雌蕾迅速恢复发育，并开花结实表现可育。已初步发生雌性败育的雌蕾表现为蕾色由浅变深，

不能被短日照诱导而发生育性转换，说明长日照下，幼蕾变色是雌性败育表现的标志。

2.4 温度效应

除 PFS3 现蕾略迟外，PFS1、PFS2 和 PFS4 雌雄花现蕾期、开花期或败育期基本相同，表现稳定。根据 1999 年观察，如果 PFS1 和 PFS4 每季按期砍杆，头麻 5 月 7 日雌性现蕾，5 月 24 日雌性败育表现；二麻 6 月 20 日雌性现蕾，7 月 5 日败育表现；三麻 8 月 14 日现蕾，8 月 20 日败育表现，与败育节位（1-2 节）相邻的上部节位 8 月 29 日雌蕾恢复发育，花轴分枝伸长，并逐渐开花，即 8 月 29 日以后现蕾的各节位依次表现可育。由于三麻仅在初期少数节位败育，一般认为是可育的。头麻和二麻若不砍杆，则顶梢不断形成雌蕾并逐渐败育，直到 8 月 25 日以后各节位依次表现可育并开花结实。即对按期砍杆的三麻来说，自 8 月 29 日以后的自然光周期诱导可育，对没有砍杆的头麻、二麻来说 8 月 25 日以后的自然光周期诱导可育。可见，8 月 25 日至 8 月 29 日的自然光周期是诱导雌性育性转换的临界光周期。没有砍杆的头、二麻发生由败育到可育转换比 8 月 5 日砍杆的三麻略早，这是由营养器官的生理年龄差异引起的。通常植物的年龄对光周期诱导成花也会有所影响。

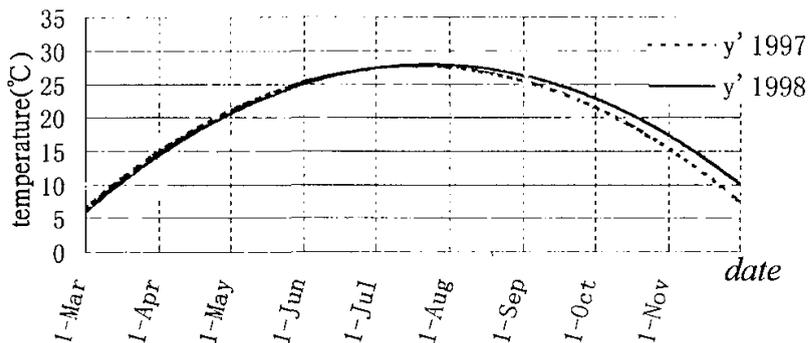


图3 温度趋势线

Fig.3 Temperature trend lines

如图 3 所示，从 1997 年、1998 年的日均温变化趋势线上，8 月 25 日至 29 日平均温度为 26-27°C，以后逐渐下降，均表现雌性可育，而头麻 5 月 7 日现蕾时温度约 21°C，5 月 24 日败育时温度约 25°C 左右，

以后逐渐上升，却表现雌性败育。说明温度的变化与育性表现之间没有联系。而且，敏感期不超过三天，日均温的起伏波动是较大的（如图 4 所示）。5 月 24 日至 8 月 25 日，1998 年日均温在 19.2-32.6℃ 间，1997 年在 16.1-31.7℃ 之间，8 月 29 日至 10 月 15 日（三麻 PFS 实际现蕾持续期）1997 年 16.1-31.7℃ 之间，1998 年 17.9-19.9℃ 之间。可见，PFS 雌性育性的变化不是受温度控制的，至少温度不是主要因子。

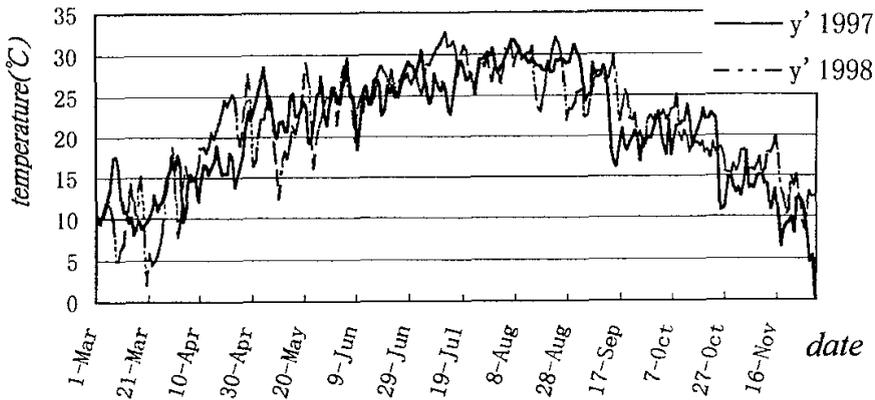


图4 日均温变化

Fig. 4 Changs of average temperature

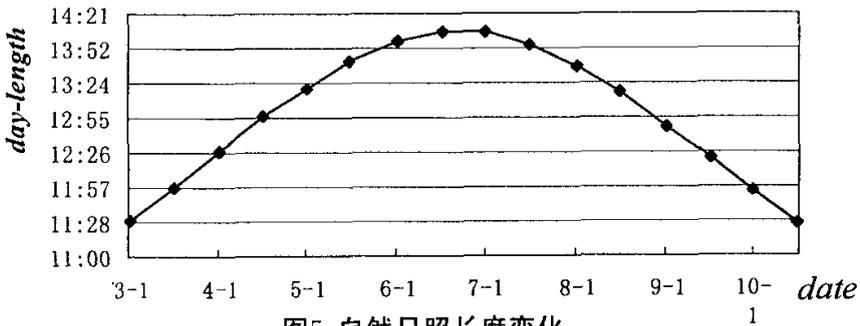


图5 自然日照长度变化

Fig. 5 Changes of natural day-length

根据中国科学院紫金山天文台提供的武汉日出日没时刻表（精度为 1 分钟），确定的自然日照长度（扣除有效曙暮光后的可照长度）变化趋势线如图 5 所示（由于没有对临界光强进行测定，暂以可照时间为

准)。5月24日至8月25日，武汉(30° 27' N)日照长度13:00(时:分)至14:07之间，8月29日以后从12:53逐渐缩短。头麻4月14日左右日照长度与8月29日相近，但此时尚未现蕾，可见雌性的育性表现是由日照长度控制的。可以想象，如果4月14日前有一定的营养生长量，而且现蕾，一定能表现雌性可育。

如果不计曙暮光，那么育性转换的临界日长在12:53到13:00之间。如果不考虑苧麻砍杆时期和曙暮光的影响，8月29日(或前三天内)可照日长即12:53h/d，就是自然日照诱导转换临界日长，而实际人工光周期处理育性转换的临界日长在13.0h/d至13.5h/d之间。所以曙暮光的有效长度应该为7-37min。据武汉地区在7至8月日出前和日落后大于50lux的曙暮光平均每日历时约25min左右，而50lux是水稻农垦58s诱导雄性育性转换的临界光强(张自国和元生朝,1989)。可以推测，诱导PFS苧麻雌性败育的临界光强也在50 lux左右。

3 讨论

3.1 光周期对成花诱导和育性诱导的不同作用

本研究认为，光周期对成花诱导和育性诱导的作用不同。光周期对植物成花和育性诱导都是很重要的，但其作用却不一样，至少表现在以下几个方面：(1)同一植物诱导成花与育性表达所需的日照长度不同；如PGMR水稻和PFS苧麻；(2)温度因子影响光诱导的方式不同，在水稻农垦58s成花诱导中表现高温促进、低温抑制，而对雄性育性则相反(李泽炳, 1995)；(3)诱导信号的传递能力不同。育性诱导不存在节位间的传递效应，例如光照诱导PGMR雄性的育性转换作用只限于当季当代接受处理的茎蘖，在主茎与分蘖、分蘖与分蘖、头季稻与再生稻之间没有传递效应(肖翊华, 1993)。对PFS进行LD+SD和SD+LD处理，结果也说明短日对雌性育性的诱导在相邻的上下节位间不传导。相同点在于成花诱导和育性诱导的光受体都是光敏色素(如PGMR水稻)，对光质和光强的要求也基本一致(李泽炳, 1995)。据此认为光周期诱导成花与育性表达的作用途径是相对独立的，例如PGMR水稻成花感光性和育性光敏性不是同一遗传行为(张志钰, 1996)，成花诱导和育性诱导敏感期也不同(元生朝, 1976；元生朝等, 1988)。

但育性诱导建立在成花基础之上，二者不能绝对分开，都是基因在不同环境条件下的顺序表达。如果光敏感基因发生变异，光敏性就会改变，甚至成为光周期钝感类型。成花对光周期钝感就成为日中性植物，NG1 苎麻即是如此。

3.2 光温条件对雄性和雌性的不同作用

本研究还认为，雄性和雌性对光周期的要求也是相对独立的。PFS 苎麻雌性和雄性成花对光周期反应不同（表 6），NG1 在 6-8 月份砍秆可大量产生雄花（周瑞阳，1997）可能正是光周期反应不同引起的。除了 PGMR 水稻等多种生态雄性不育和 PFS 苎麻外，许多植物都是如此，如矮雪轮（*Silene pendula*）是长日植物，LD 下很快进行花芽分化，长日照促进雌蕊发育，雌蕊显著增大，雄蕊被抑制而表现雄性败育，初期放在短日照 40-50d 时雄性育性恢复（Heslop-Harrison and Heslop-Harrison, 1958）。光周期敏感雄性不育和光周期敏感雌性不育都反映这种差异。雌性和雄性对温度的要求也会是不同的，植物温敏不育性即是如此。太行花的雄蕊和雌蕊对温度要求不同，雄蕊发育的温度要求比雌蕊低，控制温度可得到单性雄花(1-3℃)、单性雌花(6-26℃)和两性花(6-12℃)（陆文樑，1996）。水稻杂交技术中温气杀雄也体现雄蕊和雌蕊对温度的不同要求。然而关于植物开花的理论（包括光周期和春化作用）都基于雌雄两性的一致性。

3.3 植物成花与性别表达的阶段划分

Kniet(1985)曾按植物成花和花器官发育对光周期的不同要求分为 5 种类型：(1)诱导和发育需要同一种光周期；(2)诱导为光周期控制而发育为日中性；(3)诱导为日中性而发育为光周期控制；(4)诱导与发育需不同的光周期；(5)诱导与发育均为日中性。长短日植物和短长日植物也是对于成花诱导和花器官发育对光周期的双重要求而言的。这些划分方法均是基于雌雄两性对光周期反应的同一性，也没有单独涉及光周期对育性的诱导，难以解释光敏感雌性或雄性不育的现象。因此有学者提出 PGMR 雄性发育两个光周期反应（元生朝等，1988）。

根据目前对各种光周期（温度）敏感雄性不育材料以及 PFS 苎麻的研究，不同植物的成花和育性诱导相对独立，雌性和雄性系统的发育

途径也相互独立的事实，可将植物成花与性别表达的阶段划分为：

(1) 成花诱导阶段。即发育诱导阶段，是环境因子诱导下花序分生组织出现过程，使植物从营养生长进入生殖生长阶段。包括低温诱导（春化作用）和光周期诱导。

(2) 育性诱导阶段。表现为雌雄配子体的形成过程对环境因子的敏感性。如果条件得不到满足，选择性败育就会发生，形成不育，是性别决定阶段。

(3) 育性表达阶段。是性别决定之后的表达过程，最后表现出花器官的形成并开放和雌雄配子体的形成。

影响成花诱导和育性诱导的环境因子是很多的，最主要的是光周期和温度。这里仅以光周期为例加以探讨。

成花诱导阶段和育性诱导阶段具有相对独立的光周期敏感期和临界日长。在 PGMR 中，也称为第一光周期反应和第二光周期反应（元生朝，1988）。相对长日植物和相对短日植物的成花诱导临界日长不明显。在育性表达阶段，一定光周期的影响对维持育性表达是很重要的。在这三个发育阶段，可能相应的基因分别控制着对光周期的敏感或钝感反应。在成花诱导阶段，日中性植物表现光周期的钝感性，只要达到一定的生理年龄（花熟状态）即可开花，甚至种子萌发后即可形成花芽，如拟南芥的 *emf* (*embryonic flower*) 突变体 (Sung et al, 1992)；在育性诱导阶段的钝感型表现为一旦花诱导成功即可进入表达阶段形成正常有功能的配子，多数植物为这种类型。育性诱导敏感型即光敏雄性或雌性不育。在育性表达阶段，敏感类型表现为需要一定的光周期来维持，或特定的日照加速其发育进程，敏感时期不如前两个阶段有严格的划分。也可能是育性诱导持续到了育性表达的整个过程。

这种发育阶段的划分在不同植物的不同性型中有不同的表现。在同一植物不同性型的表现也可能不同。在光敏核不育水稻中，各阶段都有明确划分（元生朝，1988），其雌性和雄性发育在育性诱导阶段对光周期的需求不同。对于苧麻的雌性发育，根据成花诱导对光周期反应不同分为成花光钝感品种和成花光敏感品种。前者如 NG 型苧麻，后者如多数栽培品种。PFS 苧麻育性诱导阶段对光周期反应敏感，而其它育性光

钝感的苧麻的育性不受特定光周期诱导。在育性表达阶段，多数栽培品种雌性发育需要短日照来维持，而 NG 型苧麻和 PFS 苧麻无此需求。可见 NG 型苧麻表现各阶段对光周期的钝感性，不需要短日照的诱导，也不能被长日照所逆转，而 PFS 苧麻的成花诱导和育性诱导对光周期均敏感。前一阶段表现为短日照促进发育，后一阶段表现为长日照诱导雌性不育而短日照诱导雌性可育。

植物的生殖和发育是一种极其复杂的过程。以上成花与性别表达阶段的划分既不是严格的，也不是绝对的，更是浅显的，需要广泛研究多种材料各个发育阶段的生态反应，才能取得更深入的理解。

PFS 苧麻雌性不育性的光周期效应是否由光敏色素作为光受体参与调节，将在下一章分析讨论。

第三章 光敏色素与光敏感雌性不育苧麻育性转换

光敏色素是一种植物幼嫩细胞中的色素蛋白复合体，作为接受光信息的第一信使，对植物的生长、发育、生理代谢起着重要的调控作用。特别是在成花诱导中被认为是光周期反应的光受体，也是 PGMR 雄性育性光敏性的感光受体（李合生，1993）。基因表达完成于其编码的蛋白质的产生，研究受光调节的酶的活性的变化规律与育性表达之间的关系对了解光对基因表达的调节以及植物的败育途径都是很重要的。

前面已经说明了 PFS 苧麻光周期反应特性，已知其雌性育性主要由日照长度控制。本章试图研究暗期光间断（红光/远红光）对 PFS 苧麻成花与育性表达，以及对活性氧（ROS）代谢相关酶如超氧化物歧化酶（SOD）（E.C.1.15.1.1）、过氧化氢酶（CAT）（E.C.1.11.1.6）、过氧化物酶（POD）（E.C.1.11.1.7）的酶活性和丙二醛（MDA）含量变化的影响，藉以探讨光敏色素与 PFS 苧麻感光性和不育性的关系，进一步阐明期光周期效应，研究光周期调节育性的生理过程。

1 材料与方法

1.1 试验材料

光周期敏感雌性不育苧麻 PFS2；普通雌雄同株苧麻 NM1。

1.2 试验方法

1.2.1 暗期光间断

PFS2 于头麻（3 月）大盆移栽，自然生长，6 月 20 日砍杆。二麻自 7 月 6 日（株高 40cm 左右，有较小的花芽分化）开始 10h/d 短日照处理，同时进行暗期间断处理至雌雄性完全表达（开花或败育）。每处理两盆。短日处理利用自然日照结合暗期暗室完全遮光。暗间断使用李合生和卢世峰（1987）的方法，红光（R）光源为 6 支 20W 荧光灯通过红色滤光板（日本三菱莱阳株式会社产品），波长 600-690nm，光能量为 $400\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ；远红光（FR）光源为 150W 照相用放大灯 1 支，100W 普通白炽灯 2 支，通过远红光滤光板（日本旭化成株式会社产品），波长 700-790nm，光能量为 $500\mu\text{W}/\text{cm}^2$ ，红光和远红光各照光 15 分钟，暗间断处理于暗期中段自制照光箱内进行，以暗绿色光源作为安全灯。

以上滤光板由华中农业大学李合生教授提供。调查雌性现蕾期（以总有效茎的 1/3 现蕾为现蕾期），及雌性和雄性的育性。

1.2.2 测定方法

(1) 取样

选择株高和花期一致、雌雄花节数相近的单株，每材料每处理每次 5 茎，将同节位叶片或花器官合并。取样时间为每日上午 8 时。取生长良好，无病虫害的植株。

(2) 雌雄花（蕾）发育时期的划分方法

为便于研究，将雌雄花的发育时期粗略分级，并用以下编号表示（表 7）：

表 7 雌雄花（蕾）发育时期的分级方法
Table 7 Dividing of developing stages for male and female flowers (buds)

发育时期 developing stages	雌性不育花(蕾) sterile flowers (buds)	雌性可育花(蕾) fertile flowers (buds)
梢部 ↓	A1 花芽分化期	花芽分化期
	A2 始蕾期	始蕾期
	A3 雌蕾略变色	雌花柱头伸长期
	A4 雌蕾枯死初期	雌花盛开
	A5 雌蕾全部枯死	种籽开始膨大
	B4 雌雄同序节位雌蕾枯死初期雄花盛开	雌雄同序节位雌雄花盛开
基部	C4 雄花盛开	雄花盛开

(3) 样品预处理

将所取样品洗净，吸水纸吸干水分，于 4℃ 冰箱预冷，各样品同节位叶片叠合，避开主脉和叶缘，剪取 0.5g 左右叶片。花器官须除去花梗，各样品同节位花器官取大约相同大小合并，称取 0.5g 左右。以 4℃ 预冷的 0.1mol.L⁻¹，pH7.8 磷酸缓冲液为提取介质，叶片按 1g:20ml 的比例，花器官以 1g:10ml 的比例加提取液冰浴研磨匀浆。匀浆液用 BECKMAN 公司（U.S.A, 1994）产 J2-HS 型冷冻离心机 4℃, 15000r.min⁻¹ 离心 10min，取上清液作粗酶液保存备用。

(4) 生理测定

SOD 活性按邹国林等（1986）改进的邻苯三酚自氧化法，以

$\Delta O.D325nm.mg^{-1}$ 酶蛋白 $\cdot min^{-1}$ 表示, 酶活性单位以 U 表示, 即 $U = \Delta O.D325nm.mg^{-1}$ 酶蛋白 $\cdot min^{-1}$; POD 活性按张志良 (1990) 引进的 Kochba(1977)方法, $U = \Delta O.D470nm.mg^{-1}$ 酶蛋白 $\cdot min^{-1}$; CAT 活性按王春台等 (1987) 紫外分光光度法测定, $U = mgH_2O_2 \cdot mg^{-1}$ 酶蛋白 $\cdot min^{-1}$; 以上测定均用上海分析仪器厂 (1993) 产 GW-751 分光光度计比色。MDA 含量按张宪政 (1990) 方法, 以 $nmol \cdot g^{-1}FW$ 表示; 粗酶液蛋白质含量按 G-250 法 (西北农业大学, 1986) 测定, 以牛血清蛋白为标准。MDA 及蛋白质含量用上海第三分析仪器厂 (1995) 产 722 分光光度计比色。每样品测定重复三次取平均值。

2 结果分析

2.1 暗期光间断对 PFS2 雌性育性的效应

由表 8 可见, 当以红光 (R) 间断长暗期时, 表现与 LD 处理相同的雌性不育, 其效应可被随后的远红光所逆转, 表现雌性可育, 如果再以红光间断, 又表现雌性不育。以远红光 (FR) 间断长暗期, 则表现与 SD 处理相同的雌性可育, 随后的红光使之逆转而表现雌性不育。也就是说, 其雌性育性的表现只取决于暗间断中最后照射的光的光质 (波长), 红光和远红光之间可以多次相互逆转, 这说明光敏色素作为光受体, 参与了 PFS 苜蓿雌性的育性调节。这与光敏色素对 PGMR 水稻雄性的育性调控相一致。NM1 表现雌雄性正常可育。PFS2 雄性在任何暗期间断的处理中都表现可育, 雌花接受其花粉可以结实。

表 8 暗期 R/FR 间断对 PFS2 的效应

性别	PFS2								NMI (CK)	
	SD Male or Female (10h/d)	LD (>14h/d)	R	R+FR	FR	FR+R	R+FR+R	R+FR+R+FR*	LD (>14h/d)	R
雌性 female	F	S	S	F	F	S	S		F	F
雄性 male	F	F	F	F	F	F	F	F	F	F

注: ¹⁾ * 处理结束 (8月25日) 仍未开花, 处于现蕾状态且发育缓慢, 未败育; ²⁾ F 可育, S 败育。

Notes: ¹⁾ * At the end of the treatment, female buds which was not flowered developing slowly, but had not died. ²⁾ F=Fertile, S=Sterile.

2.2 暗期光间断对 PFS2 生育期的效应

如图 6 所示, 于 PFS 成花 (现蕾) 而言, 短日诱导使成花提前, 而红光间断暗期减小或抵消诱导暗期的诱导效果, 表现出对成花的抑制效应, 使现蕾期推迟。远红光间断没有明显的抑制效应 (比 SD 处理推迟 2d 现蕾), 红光之后的远红光表现明显的对红光抑制效应的逆转效应, 但不完全。因此, R+FR 处理比 SD 处理推迟 4d 现雌蕾, 比 R 处理提前 4d 现雌蕾。说明光敏色素调节 PFS2 成花与其它植物是一致的。由于红光间断长暗期对成花的抑制和远红光逆转效应不完全, 随着暗期间断时间的延长, 现蕾和开花期相应推迟, 所以以一小时的照光间断暗期 (R+FR+R+FR), 即使以 FR 结束, 也不能在 SD 条件下迅速开花。

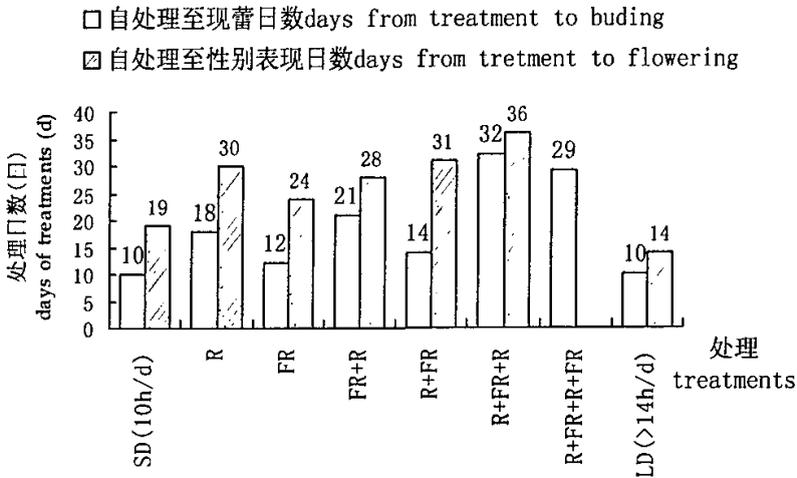


图6 暗期R/FR间断对PFS2雌性发育的效应

Fig. 6 The effects of R/FR during dark period on female development

间断长暗期抑制 SD 对成花的诱导效果的同时, 也抑制花的发育。暗期间断时间越长, 从现蕾到开花的时间也越长。对败育 (以 R 结束的处理) 的发生有促进作用, 表现为暗期间断时间越长, 从现蕾到败育的时间越短 (图 7)。例如 SD、FR、R+FR 处理从现蕾到开花的时间分别为 9d、12d、17d; R、FR+R、R+FR+R 及 LD 处理现蕾到败育的时间分别为 12d、7d、4d 和 4d。

由以上分析可知，光敏色素是 PFS 苧麻雌性发育感光性（成花诱导）和育性光敏性的光受体，参与了 PFS 苧麻雌性育性表达的调节，也说明了其雌性育性的转换的确是受光周期控制的。红光与远红光之间对成花没有完全的逆转效应，FR 间断长暗期与 SD 处理以及 R 间断长暗期与 LD 处理之间也有一定的差异，暗示可能有其它不具备红光/远红光逆转效应的色素参与了成花调控。

2.3 暗期间断对活性氧代谢相关酶的影响

(1) 暗期间断对叶片的效应

如图 7、图 8，POD 活性和 SOD 活性在不同节位的叶片中都表现为：以 R 结束暗间断处理的败育株比以 FR 结束暗间断处理的可育株有更高的酶活性，并且节位间波动较大。CAT 活性的变化也有基本相似的规律（图 9），R+FR 间断的可育株茎梢和基部比 FR+R 间断的不育株还高，原因尚不清楚。三种酶活性基本上都具有 R+FR 比 FR 高，FR+R 比 R 高的规律，这与暗期间断处理时间越长，抑制成花，促进败育是相一致的。叶片的 MDA 含量（如图 10），以 R 结束的处理株比以 FR 结束的处理株含量高。

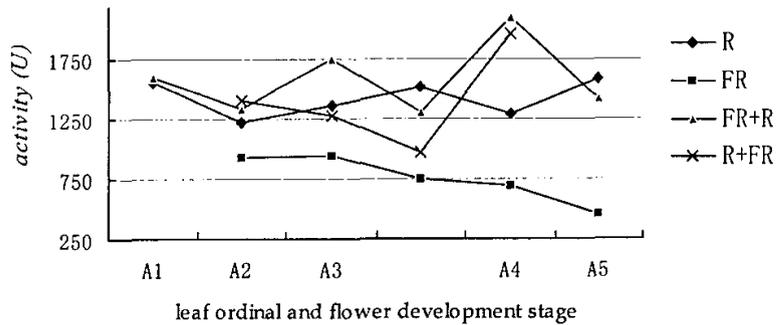


图7 暗间断对PFS2叶片POD活性的效应

Fig.7 The effects of dark-breaking on POD activity of PFS2 leaves

注释：1)花发育的时期均自上而下标注于相同生育期的第一个节位

Notes: 1) Flower developing stages were marked at the first node of which in the same stage from the top to bottom

2) 以下各图与此同

2) Following note is similar

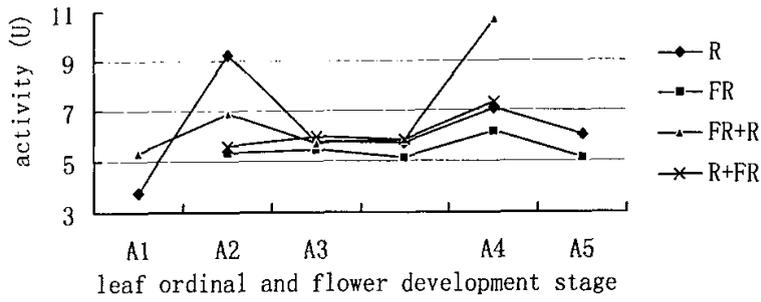


图8 暗间断对PFS2叶片SOD活性的效应

Fig.8 The effects of dark-breaking on SOD activity of PFS2 leaves

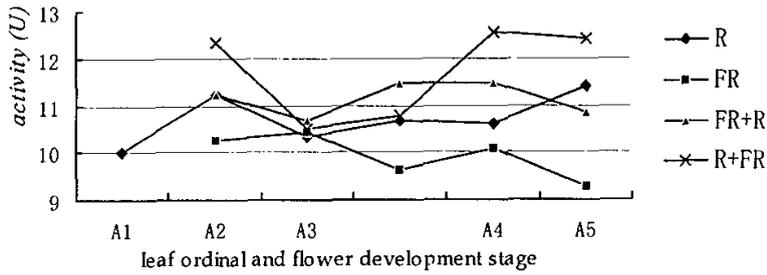


图9 暗间断对PFS2叶片CAT活性的效应

Fig.9 The effects of dark-breaking on CAT activity of PFS2 leaves

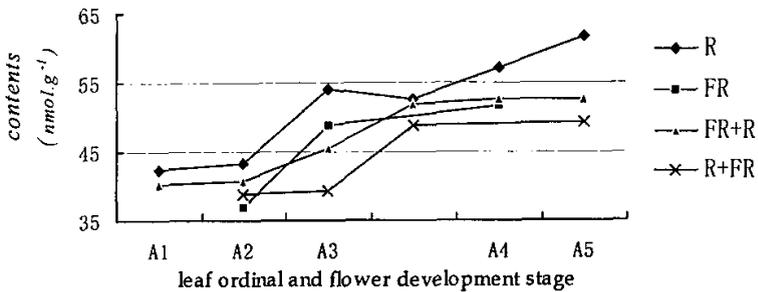


图10 暗间断对PFS叶片MDA含量的效应

Fig.10 The effects of dark-breaking on MDA contents of PFS2 leaves

可见叶片中 ROS 代谢水平的红光/远红光逆转效应明显，和雌性育性相一致，也是受光敏色素调控的。

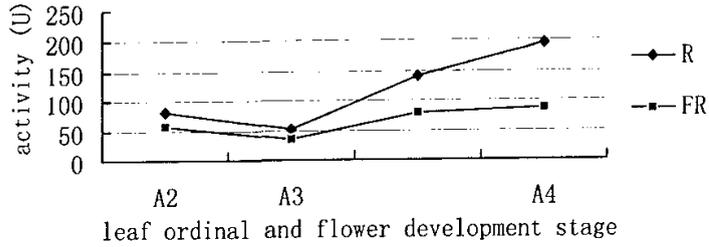


图11 暗间断对PFS2花器官POD活性的效应

Fig.11 The effects of dark-breaking on POD activity of PFS2 flowers

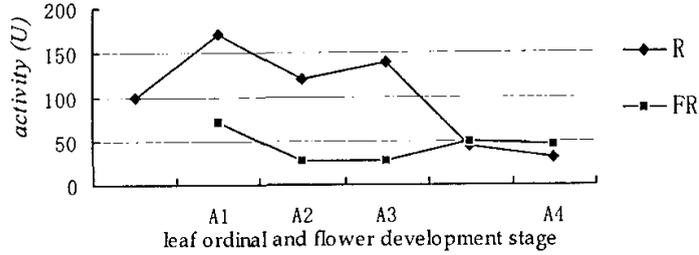


图12 暗间断对PFS2花器官SOD活性的效应

Fig.12 The effects of dark-breaking on SOD activity of PFS2 flowers

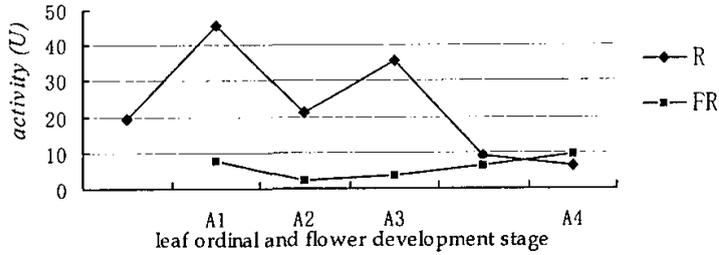


图13 暗间断对PFS2花器官CAT活性的效应

Fig.13 The effects of dark-breaking on CAT activity of PFS2 flowers

(2) 暗期间断对花器官的效应

如图 11、图 12、图 13 所示，POD、SOD 和 CAT 的活性均表现为以 R 结束的间断处理远高于以 FR 结束的间断处理，而且前者节位间差异大，后者差异小。梢部 SOD 和 CAT 活性在不同处理间差异大，POD 差异小，基部相反。说明随着梢部不断地现蕾，败育由基部向上发生，各节位先有 SOD 和 CAT 活性的升高，而后 POD 活性升高，或各节位产生的 ROS 构成有差别。

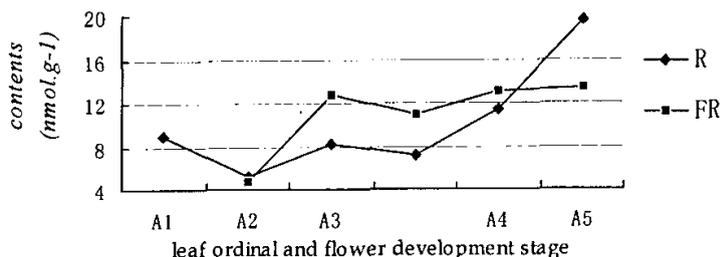


图14 暗间断对PFS2花器官MDA含量的效应

Fig.14 The effects of dark-breaking on MDA contents of PFS2 flowers

花器官中 MDA 含量 (如图 14) 经以 R 结束的间断处理引起的不育株, 除梢部刚现蕾节位外, 基本呈上升趋势, 而可育株 (以 FR 结束的间断处理株) 上升不明显。表现不同的节位梯度。可见, 花器官与叶片一样, ROS 代谢水平明显受到光敏色素调控。

3 讨论

3.1 光敏色素与雌雄性育性诱导

本研究说明了光敏色素是 PFS 苧麻雌性育性光周期调控的光受体。对多数植物而言, 光敏色素参与成花诱导已成定论。光敏色素是一类研究得最清楚的植物光敏受体, 目前已研究过的高等植物均含有光敏色素基因的家族, 已在不同的植物中分离出不同的光敏色素基因。例如拟南芥中至少有 5 个不同的光敏色素基因, 分别为 PHYA、PHYB、PHYC、PHYD 和 PHYE (许智宏, 1999)。已有充分的证据表明, PHYA 和 PHYB 基因在植物发育中在不同光条件下各自介导对光信号不同的响应, 因为这两种基因的突变产生完全不同的表现型 (许智宏和刘春明, 1997)。目前包括苧麻在内的多种植物中鉴定的雌性和雄性具有不同光周期反应的突变类型, 以及同一性别成花诱导和育性诱导对光周期独立应答的突变类型, 可能都是不同光敏色素基因发生变异的结果。

试验还说明 SD 处理中暗期间断对 PFS 苧麻的雌性和雄性有不同的效应, 雄性的育性不受暗间断的影响, 而雌性对光周期存在明显的红光/远红光逆转效应。雄花的育性对光周期反应钝感, 而雌花敏感。光敏感雌性不育可能是相应的光敏色素基因发生变异引起的, 而这种变异对雄性育性没有影响。进一步说明了雌性和雄性对光周期反应具有相对独立性。

另外，对短日植物矮牵牛的研究结果表明(加藤幸雄和志佐诚,1987)，诱导暗期的第 8 小时和在长暗期之初给予 R 或 FR 引起的反应和逆转效应有差别，在长暗期之初给予 FR 也能抑制成花，并可被随后 R 完全抵消。可见，长暗期中光间断的时间也可能是一个值得考虑的因素。

3.2 活性氧伤害影响败育的途径

本试验的研究结果说明 ROS 相关酶的代谢水平也是受光敏色素调节的。PGMR 水稻功能叶 POD 活性也是受光敏色素调节的(李合生, 1990)。植物光敏色素以受光调节可以相互转变的两种方式存在，即红光吸收型(P_r)和远红光吸收型(P_{fr})。无光时体内合成 PHYA 为 P_r 型，吸收红光转变为 P_{fr} 型，而 P_{fr} 型吸收远红光后又可转变为 P_r 型。普遍认为 P_{fr} 具有生物学活性，负责引起一系列信号传递的级联反应，最后导致发育的响应。但有时 P_r 型也会对生理效应起作用(许志宏和刘春明, 1997)。无论是那种形式，本身并不移动到核里去直接调节目的基因的表达，而是通过调节各种生理代谢反应起作用(Quail, 1991)。光敏色素在 PFS 苎麻中介导了 ROS 代谢的失衡和雌性表达的异常，ROS 代谢的变化在先，而后才是不育性的表达，因此 ROS 伤害是原因而不是结果，ROS 代谢失衡是育性异常反应的一个中间步骤。这与 ROS 伤害导致衰老一样(陆定志等, 1997)。这暗示一种光周期调节育性表达的可能途径是光敏色素接受光周期信号，诱导植物体内代谢过程发生改变，引起 ROS 代谢的失衡而发生败育。

本试验 ROS 代谢的异常变化是由暗期间断诱导的，但长日照下的败育株是否也具有相同的异常反应？其回答对于证实光周期反应(光敏色素)调节 ROS 代谢以及 ROS 代谢与雌性不育的关系是很重要的，这是下一章研究的内容。

第四章 雌性不育性与活性氧代谢的关系

已有的研究表明, 细胞质雄性不育水稻和光敏核不育水稻(农垦 58s)的雄性败育与氧自由基的伤害有关, 长日(LD)对农垦 58s 是一种逆境胁迫(童哲, 1998a; Zou et al, 1993)。那么雌性不育苜蓿的雌性败育发生过程中, ROS 伤害是否起着重要的作用呢? 本研究试图以 PFS 苜蓿为材料, 以超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)的酶活性和丙二醛(MDA)含量在可育与败育株叶片和花器官中的变化为指标, 探索这一问题。这对阐明雌性不育机理, 了解雌性与雄性系统之间的关系, 以及研究植物的氧代谢有着重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究材料

PFS 苜蓿姊妹系: PFS1、PFS2; 光钝感生理雌性系: NG1。

1.2 不同光周期处理的设置

为排除温度的影响, 与自然光周期的二、三麻相比较, 1999 年 7-8 月设人工光周期处理: 13.0h/d(日照时间: 6:00-19:00), 13.5h/d(日照时间: 5:30-19:00)。每材料每处理 4 苑。方法同第二章。

1.3 测定方法

取样及生理测定方法同第三章, 节位较多时取雌花茎段、雄花茎段和雌雄同序段取最上最下节位, 中间隔节取样。

2 结果与分析

2.1 POD 活性的节位梯度

PFS 叶片中(图 15), 三麻可育株在雌花刚开的节位 A3(柱头略有伸长)有一较小的谷值, 向下逐渐升高。二麻不育株在雌性开始败育的节位 A3(雌蕾略变色, 处于敏感期)而向下急剧升高, 达到一较高的峰值后, 在败育表达的节位 A4(雌蕾开始枯死)回到未败育的梢部水平, POD 活性较低。雌雄同序节位叶片的 POD 活性为一谷值。自梢部至雌花败育各节位 POD 活性远高于可育株。在人工光周期处理(图 16)的可育株和不育株叶片 POD 活性均随着雌花的开放(13.0h/d)或败育(13.5h/d), 自梢部向基部升高, 但同一材料不育株叶片 POD 活性比可育株高。

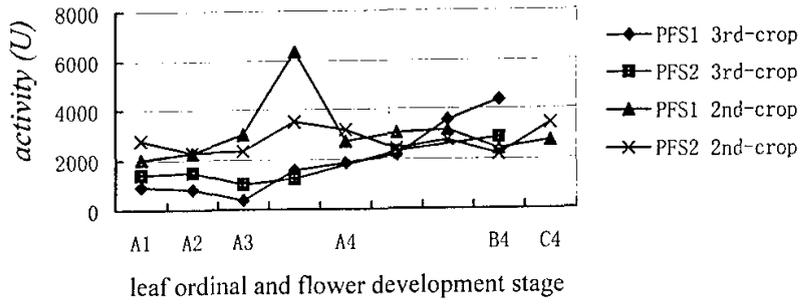


图15 PFS二、三麻叶片POD活性梯度
Fig.15 POD activity gradient of PFS leaves in the 2nd and 3rd crops

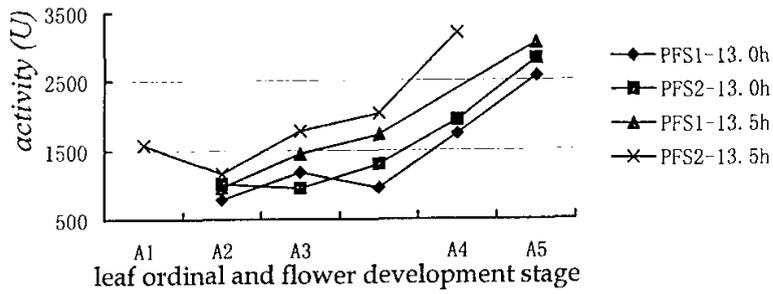


图16 PFS人工光周期叶片POD活性梯度
Fig.16 POD activity gradient of PFS leaves under artificial photoperiod

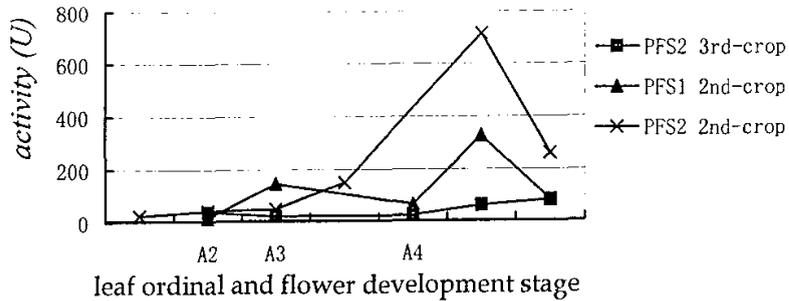


图17 PFS二、三麻花器官POD活性梯度
Fig.17 POD activity gradient of PFS flowers in the 2nd and 3rd crops

在二麻败育株的花器官中（图 17），POD 活性从雌蕾始败育（略变色）的节位向下呈逐渐升高之势，达到峰值后下降。人工光周期 13.5h/d 处理的败育株的花器官 POD 活性表现相似（图 18）。三麻或 13.0h/d 处理的可育株的花器官 POD 活性自上而下略有下降，在雌花盛开的 A4 节位 POD 活性升高，但远低于不育株相应节位，其差异比叶片更为显著。

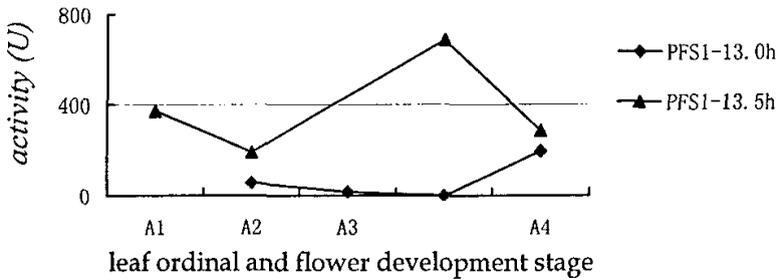


图18 PFS人工光周期花器官POD活性梯度
Fig.18 POD activity gradient of PFS flowers under artificial photoperiod

可见，败育株无论叶片或花器官中 POD 活性水平比可育株高，在敏感期开始败育的节位(A2)升高，雌性开始败育，向下叶片和雌蕾 POD 活性先后达到峰值。

2.2 SOD 活性的节位梯度

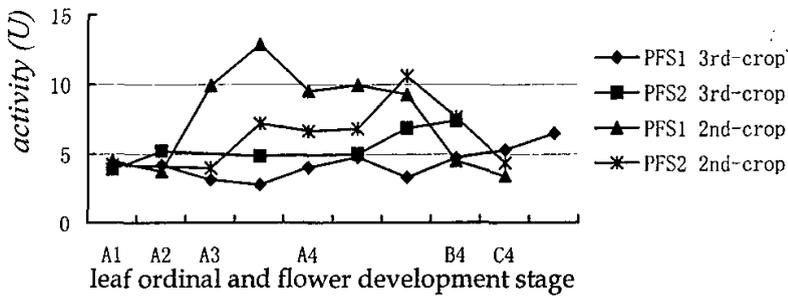


图19 PFS二、三麻叶片SOD活性梯度
Fig.19 SOD activity gradient of PFS leaves in the 2nd and 3rd crops

二、三麻叶片的 SOD 活性 (图 19)，梢部刚现蕾节位叶片 SOD 活性差异不大。自梢部而下，不育株各节位维持在较高的水平，节位间波动较大。在雌雄同序的节位降低，雄花开放的节位达到最低值；而可育株一直处于和现蕾期相近的水平，雌花盛开后有所升高。在雌花茎段，从 A2 节位起，各节叶片 SOD 活性远高于可育株相对应各节叶片。人工光周期处理 (图 20) 的同一材料败育株比可育株 SOD 活性高，也有较大的峰值出现。

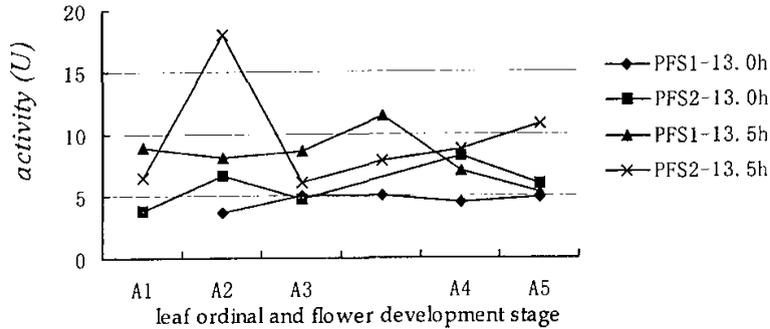


图20 PFS人工光周期叶片SOD活性梯度
Fig.20 SOD activity gradient of PFS leaves under artificial photoperiod

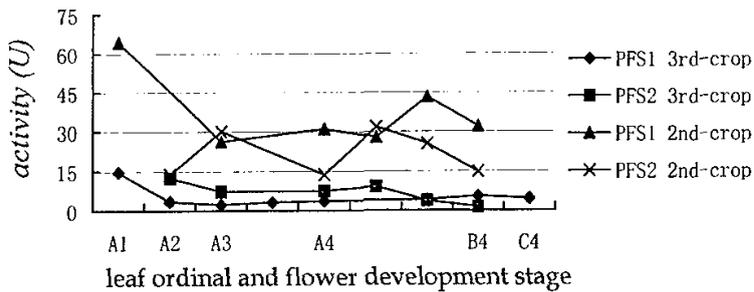


图21 PFS二、三麻花器官SOD活性梯度
Fig.21 SOD activity gradient of PFS flowers in the 2nd and 3rd crops

二、三麻或人工光周期处理的花器官中 (图 21 和图 22)，败育株各节花器官 SOD 活性远高于可育株，而且败育株节位间差异大，可育株各节维持在相近的水平，起伏不大。败育株梢部刚现雌蕾节位间差异

也较大, 说明 ROS 的累积发生较早。

可见, 败育株的叶片和花器官中均有较高的 SOD 活性水平。

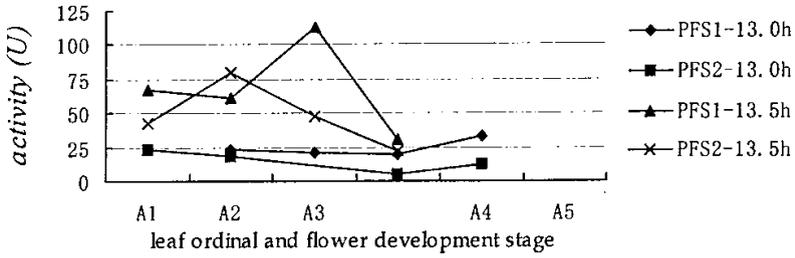


图22 PFS人工光周期花器官SOD活性梯度

Fig.22 SOD activity gradient of PFS flowers under artificial photoperiod

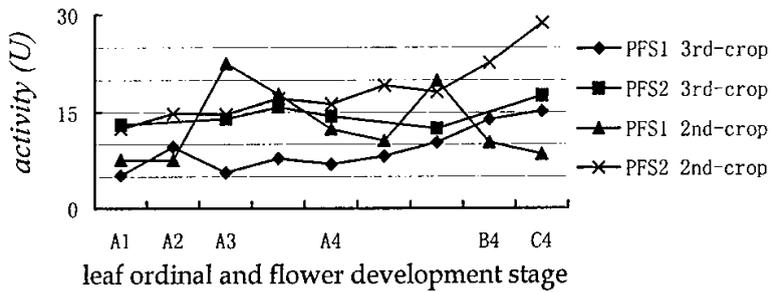


图23 PFS二、三麻叶片CAT活性梯度

Fig.23 CAT activity gradient of PFS leaves in the 2nd and 3rd crops

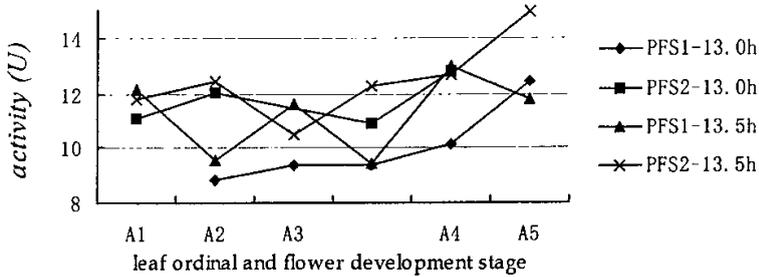


图24 PFS人工光周期叶片CAT活性梯度

Fig.24 CAT activity gradient of PFS leaves under artificial photoperiod

2.3 CAT 活性的节位梯度

叶片的 CAT 活性 (图 23, 图 24) 表现为: 同一材料不育株和可育株刚现蕾节位差异不大, 以下节位, 败育株活性比可育株高, PFS1 比 PFS2 更加明显。而且, PFS2 的 CAT 活性较高, PFS1 可育株活性最低且节位间变化平缓, 败育株 CAT 活性节位间差异大, 比可育株高。可见不同材料间的基因型有差异。二、三麻花器官中 (图 25) 除了刚现蕾的节位, 可育株活性低, 起伏不大, 败育株活性高, 节位间差异大。

可见, 败育株叶片或花器官具有较高的 CAT 酶活性, 具有与可育株完全不同的节位梯度。

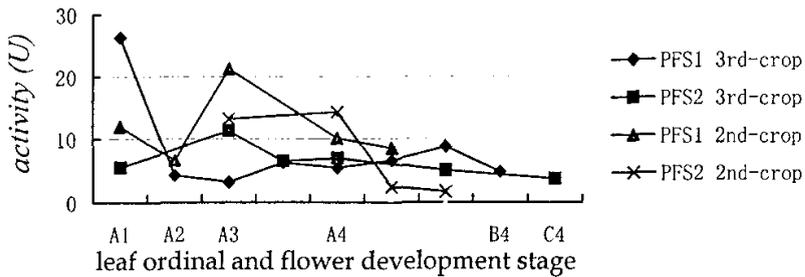


图25 PFS二、三麻花器官CAT活性梯度
Fig.25 CAT activity gradient of PFS flowers in the 2nd and 3rd crops

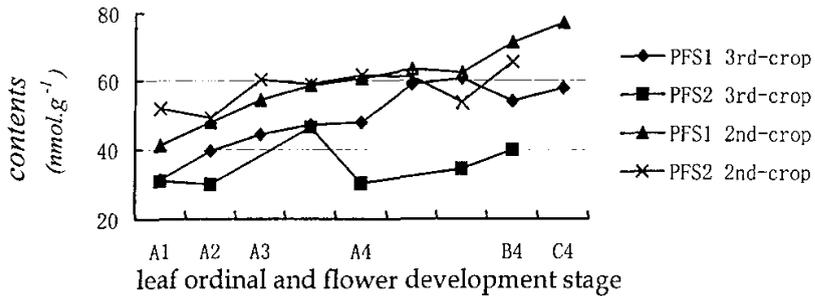


图26 PFS二、三麻叶片MDA含量梯度
Fig.26 MDA content gradient of PFS leaves in the 2nd and 3rd crops

2.4 MDA 含量的节位梯度

如图 26 所示, 同一材料二麻败育株各节叶片 MDA 含量高于三麻

可育株的对应节位，即使刚现蕾的节位也是如此。PFS1 与 PFS2 的变化趋势略有不同。人工光周期处理（图 27）与自然光周期（二、三麻）的测定结果基本相似，不育株与可育株差别明显。

如图 28 所示，三麻可育株雌花开放的下部节位的花器官较低，上部节位较高，而败育株相反，上低下高，规律完全不同，反映了膜脂过氧化程度的差异。

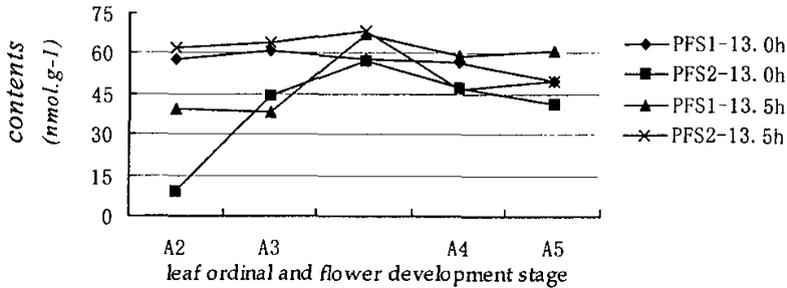


图27 PFS人工光周期叶片MDA含量梯度

Fig.27 MDA content gradient of PFS leaves under artificial photoperiod

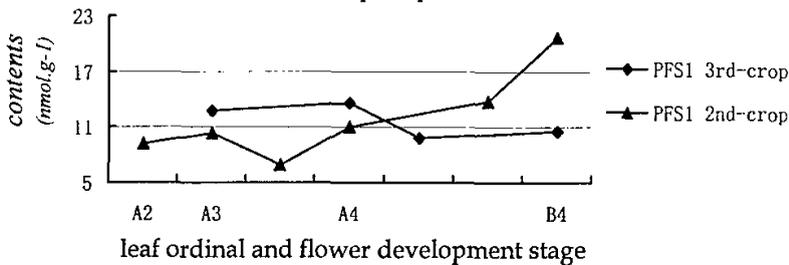


图28 PFS二、三麻花器官MDA含量梯度

Fig.28 MDA content gradient of PFS flowers in the 2nd and 3rd crops

3 讨论

本试验说明了 ROS 伤害在雌性不育苎麻雌性败育中起重要作用。研究表明，二、三麻和人工光周期处理的麻株，均表现 ROS 代谢水平的异常和雌性不育性密切相关，验证了第三章的结论。

ROS 毒害是由于 ROS 的产生与清除系统之间的平衡被打破而造成

的。根据多种处理下可育株与败育株叶片和花器官的保护酶（POD、SOD、CAT）活性变化及脂质过氧化产物 MDA 含量的比较分析可知，败育株与可育株完全不同，表现为敏感期及败育过程中保护酶活性的普遍升高和 MDA 的积累，可育株维持在一个相对较低的水平。相对可育株而言，败育株远离了 ROS 产生与清除系统间的平衡状态。

ROS 代谢失衡与 PFS 雌性败育是密切相关。表现为从 PFS 现蕾后的光敏感期开始及败育的全过程，伴随着 SOD、POD 和 CAT 活性的升高。特别是 SOD 活性变化趋势最明显，而 SOD 是一种十分典型的诱导酶（Kappus, 1985），它的升高是植株细胞 O_2^- 含量变化的晴雨表。 O_2^- 在 SOD 催化下发生歧化反应 $2 O_2^- + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2 + O_2$ ， H_2O_2 是一种具有潜在毒害的物质，其本身可能是植物程序性细胞死亡（programmed cell death, PCD）的始发因子（朱美君等, 1999）， H_2O_2 能发生 Huber-Wesiz（Kappus, 1985）反应： $H_2O_2 + O_2^- \longrightarrow O_2 + OH + OH$ 。 OH 是一种极强的毒害物，是启动膜脂过氧化反应的直接因子，能直接攻击叶绿体和线粒体（王爱国, 1998），并对 DNA 的发生定位损伤（刘晓麒和曹恩华, 1994）。CAT 和 POD 能催化 H_2O_2 生成 H_2O 和 O_2 ，避免毒害反应的发生。在 PFS 苧麻叶片和花器官中 CAT 和 POD 酶活性均有所升高，但最终没有完全制止毒害反应的发生，因为膜脂过氧化产物 MDA 含量在不育株中高于可育株。可见败育伴随着严重的 ROS 伤害的发生。这与水稻雄性不育性与 ROS 伤害密切相关的研究结果基本一致。

POD 是一类具有多种功能的保护酶，如坑坏血酸过氧化物酶、细胞色素过氧化物酶、辅基 II 过氧化物酶、木质素过氧化物酶等。POD 广泛参加植物生长发育过程中包括成花和性别表达的多种代谢过程。据周瑞阳（1996c）对苧麻成花和性别表达过程中 POD 活性变化的系统研究，POD 活性在正常可育苧麻中随不同的发育阶段而异。说明 POD 活性的升降是一种内在的调节机制。不育基因控制的是生理代谢途径的改变，ROS 伤害导致包括 POD 活性升高在内的多种生理变化，例如 PGMR 水稻从氨基酸、特异蛋白、酶活性、钙信使系统、植物激素等多种变化与花粉败育有关（肖翊华, 1993），ROS 伤害从中起了重要作用。

植物单性花由选择性败育而产生（许智宏和刘春明, 1997）。雌性

不育株由于雌性败育而表现雄性化，可能也是一种选择性败育。生态型不育的实质是依赖于环境因子表达的选择性败育。选择性败育又被认为是一种 PCD 过程，是植物发育对环境应答反应主动的细胞死亡过程（宋纯鹏，1998；朱美君等，1999），是受遗传控制的。PCD 过程与 ROS（自由基）伤害密切相关（孙存普等，1999）。植物败育很可能就是代谢过程的改变启动了植物生殖器官 PCD 过程的发生。本试验的结果也是一个很好的例证。

通过以上的分析可以知道，光敏色素作为光周期反应的光受体，介导 ROS 伤害，而 ROS 伤害在雌性败育中起很重要作用。现有的资料说明，大部分通过光敏色素吸收的光的作用都在转录水平上调节基因的表达（童哲，1998b），光敏色素作用的膜假说认为光敏色素位于膜上，通过与膜系统的相互作用起反应（潘瑞炽和董愚得，1995），而抗氧化酶类对维持膜的正常生理功能是必需的。如此紧密的联系与光敏性基因与不育基因间的互作是相辅相成的。本研究说明 POD、SOD、CAT 都由光敏色素感光而受光调节，可能还有与其它代谢有关的酶类与之有关。这其中涉及到多代谢途径（基因）的互作，与控制育性的基因不止一对也是相符的。

很明显，生殖器官是很脆弱的，易于受到伤害，大量雄性不育植物的发现便是证明。而 PFS 苎麻雄性并没有发生败育。其 ROS 代谢水平如何？是否雄性器官具有更强的抗氧化机制？有待进一步深入研究。

目前对苎麻雌性不育性的研究还非常有限，还不能深入阐明败育发生的机理。随着研究的深入和多种更为先进的研究方法与技术的运用，一定能逐步解开植物的败育之谜，实现植物成花与性别的人工调控，推动植物遗传育种和生殖生物学的发展。

参考文献

- 1 中国科学院紫金山天文台. 1987-1996 十年袖珍月历. 上海, 上海科学技术出版社, 1986, 62-71
- 2 元生朝. 晚粳稻和国际稻若干品种光温反应的观察. 湖北农业科学, 1976 (5): 11-16
- 3 元生朝, 张自国, 许传桢. 光照诱导湖北光敏感核不育水稻育性转变的敏感期及其发育阶段的探讨. 作物学报, 1988, 14 (1): 7-12
- 4 王春台, 徐同, 刘学群. 紫外分光光度法测定过氧化氢酶的活性. 华中农业大学学报, 1987, 6 (1): 77-81
- 5 王爱国. 植物的氧代谢. 见: 余叔文, 汤章城主编, 植物生理与分子生物学(第二版). 北京, 科学出版社, 1998, 366-389
- 6 邓启云, 袁隆平. 光敏核不育水稻育性的稳定性及其鉴定技术. 中国水稻科学, 1998, 12 (4): 200-206
- 7 加藤幸雄, 志佐 诚[日]. 植物生殖生理学. (周永春, 刘端征译). 北京, 科学出版社, 1987, 9-10
- 8 刘飞虎, 梁雪妮, 刘隆旺, 张寿文, 黄由生, 曾晓春, 张耐根. 苎麻化学调控研究. 江西农业大学学报, 1998, 20 (3): 322-328
- 9 刘晓麒, 曹恩华. 脂质过氧化引起 DNA 损伤研究进展. 生物化学与生物物理进展, 1994, 29 (3): 218-222
- 10 西北农业大学. 基础生物化学实验指导. 西安, 陕西科学技术出版社, 1986, 66-68
- 11 朱美君, 王学臣, 陈珈. 植物的编程性细胞死亡. 植物生理学通讯, 1999, 35 (5): 353-358
- 12 许智宏, 刘春明. 植物发育的分子机理. 北京, 科学出版社, 1997, 216-217
- 13 许智宏. 植物发育与生殖的研究: 进展和展望. 植物学报, 1999, 41 (9): 909-920
- 14 孙存普, 张建中, 段绍瑾. 自由基生物学导论. 合肥, 中国科学技术大学出版社, 1999, 18-20, 149-159
- 15 李吉安, 肖伯文, 庄庆丰, 王智姣, 陈保虎, 朱惠香, 黄亚坤, 胡国民. 苎麻控花剂 PGR1 的应用研究. 中国麻作, 1994, 16(3): 17-19

- 16 李志新, 郑卓, 马来运, 戴绍钧. 光敏核不育水稻研究利用中存在的若干问题. 湖北农学院学报, 1999, 19(1): 74-78
- 17 李竞雄, 周洪生, 孙荣锦. 玉米雄性不育生物学. 北京, 中国农业出版社, 1998, 22-29
- 18 李宗道, 裴新澍, 彭淡利. 苳麻阶段发育分析. 农业学报, 1957, 8(3): 347-360
- 19 李宗道, 彭淡利, 陈学贞. 苳麻生长发育中一些生理规律的研究. 作物学报, 1962, 1(3): 294-302
- 20 李宗道, 胡久清. 麻类形态学. 北京, 科学出版社 1987, 71
- 21 李宗道. 苳麻生理生化与遗传育种. 北京, 农业出版社, 1989, 26-37
- 22 李宗道. 夜间断对苳麻开花的抑制效应. 见: 李宗道著, 李宗道苳麻研究学术文集. 长沙, 湖南科学技术出版社, 1992, 121-126
- 23 李泽炳. 光敏感核不育水稻育性转换机理与应用研究. 武汉, 湖北科学技术出版社, 1995, 69-71
- 24 李合生, 卢世峰. 光敏感核不育水稻育性转换与光敏色素相关性的初步研究. 华中农业大学学报, 1987, 5(4): 397-398
- 25 李合生, 陈吉平, 卢世峰, 刘学群. 暗期光间断中光质对湖北光敏感核不育水稻育性转换的影响. 湖北农业科学, 1990, (1)3-5
- 26 李合生. 光敏色素与光形态建成. 见: 肖翊华主编, 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉, 武汉大学出版社, 1993, 42-61
- 27 吴文华. Ca^{2+} 、CaM 及叶绿体 Ca^{2+} -ATP 酶在 HPGMR 育性转换中的作用. [硕士学位论文]. 武汉, 华中农业大学, 1992
- 28 肖翊华. 光周期与光敏核不育水稻雄性不育的生理学调控及其利用展望. 见: 肖翊华主编, 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉, 武汉大学出版社, 1993, 3-31
- 29 何觉民, 戴君惕, 邹应斌, 张海清, 刘雄伦, 欧仕益, 周美兰. 生态遗传雄性不育理论与两系杂交植物 I. 生态遗传雄性不育理论. 湖南农学院学报, 1994, 20(1): 1-5
- 30 邹国林, 桂兴芬, 钟晓凌, 株汝璠. 一种 SOD 的测定方法—邻苯三酚自氧化法的改进. 生物化学与生物物理进展, 1986, (4): 71-73
- 31 邹国林, 刘俊松, 陈克成, 张劲松, 肖翊华. 光敏核不育水稻育性转变的敏感期超氧化物歧化酶与丙二醛的变化. 武汉大学学报(自然科学版), 1991(4): 95-100

- 32 张志良. 过氧化物酶活性的测定(比色法). 见: 植物生理学实验指导. 第二版. 北京, 北京高等教育出版社, 154-155
- 33 张志钰. 水稻温敏不育基因在不同遗传背景中的表达特性研究. [硕士学位论文]. 武汉, 华中农业大学, 1996
- 34 张明永, 梁承邨, 段俊, 黄毓文, 刘鸿先. CMS 水稻不同器官的膜脂过氧化水平. 作物学报, 1997, 23(5): 603-606
- 35 张自国, 元生朝. 曙暮光在光敏核不育水稻两个光周期反应中的作用. 中国水稻科学, 1989, 3 (3): 107-112
- 36 张自国, 曾汉米, 元先朝. 论光敏核不育水稻育性转换的光温作用模式. 华中农业大学学报, 1992, 11(1): 1-6
- 37 张灵南, 褚启人. 栽培稻体细胞无性系及其后代的性状与染色体变异. 中国农业科学, 1984, 4: 14-19
- 38 张宪政. 作物生理研究法. 北京, 农业出版社, 1992, 215-216
- 39 宋纯鹏. 植物衰老生物学. 北京, 北京大学出版社, 1998
- 40 陆文樑. 太行花性器官发育的研究—两性花中雌雄性器官发育对温度的不同要求. 植物学报, 1996, 38(3): 174-179
- 41 陆定志, 傅家瑞, 宋松泉. 植物衰老及其调控. 北京, 中国农业出版社, 1997: 17-20
- 42 陈克成, 刘俊松, 邹国林, 肖翊华. 不同光照长度和光质对湖北光敏核不育水稻代谢与育性的影响. 见: 中国植物生理学会, 中国植物生理学会第五次全国会议论文摘要汇编. 1990. 239-240
- 43 陈贤丰, 梁承邨. HPGMR 不育花药能量代谢, H_2O_2 的积累与雄性不育的关系. 植物生理学通讯, 1991a, (1): 21-24
- 44 陈贤丰, 梁承邨. 水稻不育花药 H_2O_2 的积累与膜脂过氧化的加剧. 植物生理学报, 1991b, 17 (1): 44-48
- 45 林植芳, 梁承邨, 孙谷畴, 林桂珠. 雄性不育水稻小孢子败育与花药的有机自由基水平. 植物学报, 1993, 35 (3): 215-221
- 46 杨存义, 何蓓如, 孟荣华. 小麦光温敏“两系”材料研究利用现状. 麦类作物, 1997, 17 (1): 25-27
- 47 杨光圣. 甘蓝型油菜生态雄性不育两用系的研究 I. 雄性不育两用系的遗传. 作物学报, 1995, 21(2): 129-135
- 48 杨代常, 朱英国. 红光与远红光对农垦 58s 花粉育性的逆转性. 华中农业大学

- 学报 1990, 9 (4): 461-463
- 49 罗耀武, 阎学忠, 陈士林, 乔子靖. 高粱同源四倍体及四倍体杂交种. 遗传学报, 1985, 12 (5): 339-343
 - 50 周瑞阳. 光周期钝感全雌性苧麻特征特性的初步鉴定. 中国麻作, 1993 (2): 1-6
 - 51 周瑞阳, 魏中一, 何芷芬, 陈容春. 光周期钝感雌性苧麻杂种优势利用的初步研究. 湖北农学院学报, 1994, 143): 31-35,
 - 52 周瑞阳. 环剥对苧麻开花的诱导效应. 作物学报, 1995, 21(2): 240-243
 - 53 周瑞阳. 光周期钝感苧麻种子油用价值研究简报. 湖北农学院学报, 1996a, 16 (1): 319
 - 54 周瑞阳. 苧麻雌性不育株的发现. 中国农业科学, 1996 b, (5): 96
 - 55 周瑞阳. 碳氮比及过氧比物酶活力与苧麻成花及性别表达的关系. [博士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学, 1996c
 - 56 周瑞阳. 苧麻光周期钝感生理雌性系的光温效应研究. 中国麻作, 1997, 19 (1): 1-3, 6
 - 57 周瑞阳, 魏中一, 未正蓉. 环剥及折稍诱导苧麻开花的比较研究. 作物学报, 1997, 23(1): 66-69
 - 58 周瑞阳. 苧麻雌性不育性的遗传分析 I. 表现型分类, 中国学术期刊文摘, 1999 (8): 1053-1054
 - 59 郑思乡, 罗慧敏, 董延瑜, 洪亚辉, 王春桃, 李宗道, 程尧楚, 刘国民. 组织培养在苧麻多倍体研究中的应用初报. 湖南农业大学学报, 1995, 21(3): 446-450
 - 60 郑思乡, 王春桃, 晏春耕, 崔国贤, 程尧楚, 李宗道. 苧麻多倍体及其杂交后代的细胞学观察. 见: 李宗道主编. 苧麻生物技术研究进展. 长沙, 湖南科学技术出版社. 1996, 207-215
 - 61 席代汶, 陈卫江, 宁祖良, 李莓. 甘蓝型油菜细胞核生态雄性不育及利用研究III. 湘油 91S 的遗传分析. 湖南农业科学 1996(5): 12-14
 - 62 晏春耕, 王春桃, 郑思乡, 崔国贤, 程尧楚, 李宗道. 苧麻孤雌生殖后代染色体倍性的初步观察. 见: 李宗道主编. 苧麻生物技术研究进展. 长沙, 湖南科学技术出版社. 1996, 252-258
 - 63 徐志防, 罗广华, 王爱国, 陈贻竹. 光合作用的光抑制与光合器官的活性氧代谢. 植物生理学通讯, 1999, 35 (4): 325-332
 - 64 徐俐. 苧麻油纤兼用的可行性分析及育种材料的鉴定与选择研究. [硕士学位论文

- 论文]. 武汉, 华中农业大学, 1999
- 65 梁健洪, 王本宣, 元生朝. 诱导光敏核不育水稻两个光周期反应的临界光强. 华中农业大学学报, 1990, 9 (4): 363-368
 - 66 梁承邨, 陈贤丰. 水稻不育系与其保持系花药中的内源多胺和抗氧化代谢. 植物生理学报, 1993, 19 (1): 82-88
 - 67 董延瑜, 郑思乡, 洪亚辉, 任春梅, 刘国民., 邓明其, 程尧楚. 苧麻多倍体诱导的基础研究. 湖南农学院学报, 1992, 18(3): 529-537
 - 68 童哲. 光形态建成. 见: 北京植物生理学会编. 植物生理生化进展(第五期). 北京, 科学出版社. 1987. 98-112
 - 69 童哲. 光敏核不育水稻的发育生物学研究评述. 植物学报, 1998a, 40 (3): 189-199
 - 70 童哲. 光敏色素及光形态建成. 见: 余叔文, 汤章城主编, 植物生理与分子生物学(第二版). 北京, 科学出版社, 1998b, 633-653
 - 71 湖南农业大学苧麻倍性育种课题组. 苧麻倍性育种中染色体数目变化研究简报. 湖南农业大学学报, 1995, 21(4): 361-365
 - 72 谢卓荣. 苧麻多倍体诱导的研究. 中国农业科学, 1986(2): 49-53
 - 73 谢国生. HPGMR 农垦 58s 及其转育的核不育系光温敏性研究. [硕士学位论文]. 武汉: 华中农业大学, 1992
 - 74 蔡可. 利用控花剂对抑制苧麻开花结实和调节植株体内的物质运输分配与纤维产量的关系研究. 见: 湖南沅江植物生长调节技术研究所, 化工部沈阳华工研究院和湖南沅江东南湖芦苇场科技站编, 苧麻控花技术研究鉴定材料. 1992
 - 75 潘瑞炽, 董恩得. 植物生理学. 北京: 高等教育出版社, 1995, .
 - 76 潘家驹. 作物育种学总论. 北京: 农业出版社, 1994, 141
 - 77 Asada k, M Takahashi. Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Kyle D G (ed). Photoinhibition. Amsterdam: Elsevier. 1987, 237-238
 - 78 Cheng S H, Sun Z X, Si H M, Zhuo L S .Classification of fertility response to photoperiod and temperature in dual purpose genic male sterile lines (*Oryza sativa* L.). *Scientia agricultura sinica*, 1996,29 (4):11-16
 - 79 Chi C Y, Lai M L. Producing new ramie varieties through mutation induced by colchicine. *Proe Soil Crop Sci Fla*. 1964,24: 405-408

- 80 Heslop-Harrison J, Heslop-Harrison Y. Long day and auxin induce male sterile in *Silene pendula* L. *Port Acta Biol.* 1958, (5): 79-94
- 81 Kappus H. Lipid peroxidation: mechanisms, analysis, enzymology and biological relevance. In: Sies H. ed, *Oxidative Stress*, New York & London. Academic press, 1985:273-309
- 82 Kniep J M. ed. *The physiology of Flowering, Vol III. The Development of Flowers.* CRC press, 1982.64
- 83 Mohr H, Schpfer P(eds).. *Plant Physiology.* (Lawlor G, Lawlor D W. trans). Heidelberg . Springer-Verlag,Berlin, 1995,427
- 84 Parups E V. Free radicals and free radical scavenger effect on indole-3-acetic acid levels and ethylene production . *Physiol. Plant* .1984,60: 149-153
- 85 Quail P H. Phytochrome: A light-activated molecular switch that regulates plant gene expression. *Annu Rev Genet* .1991, 15:389-340
- 86 Salin M L, Toxic oxygen species and protective systems of the chloroplast. *Physiol Plant*. 1988, 72: 681-689
- 87 Sung Z R, Belachew A , Bai S L. EMF, an Arabidopsis gene required for vegetative shoot development. *Science*, 1992, 258: 1645-1647
- 88 Tong Z, Wang T, Xu Y. Evidence for involvement of phytochrome regulation in male sterility of a mutant of *Oryza sativa* L. *Phytochem Photobiol.* 1990, 52 (1): 161-164
- 89 Zhou X, Zhang N G, Wang S B, Xiao Y H. IAA deficiency and male sterility in rice. Abstract of 14th International Conference on Plant Growth Substance, IPGSA, Natherland, 1991, 85
- 90 Zou G L, Chen K C, Xiao Y H, Metabolism of enzymes related to Oxygen Free Radical during photoperid sensitive stage of fertility changes in PGMR. 见: 肖翊华主编. 光敏核不育水稻的光周期及其生理学. 武汉: 武汉大学出版社, 1993. 266-271

Inheritance and Photoperiod of Photoperiod-sensitive Female Sterility and its Relationship with Enzymes Related to Reaction Oxygen Species in Ramie

Liu Hengwei

(Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070)

Abstract

Photoperiod-sensitive Female Sterile ramie (PFS) flowers in three crops, and the female is sterile in the 1st and 2nd crops, but fertile in the 3rd crop, while the male develops normally. These properties express steadily in years. Genetic analysis and studies on photoperiodical reaction of PFS were carried out. The relationship between PFS and Reaction Oxygen Species (ROS) was determined. These would lay a theoretic foundation for the control of flowering and sex expression of ramie.

1 Genetic analysis of PFS

When the four sibling lines of PFS were self-crossed or crossed reciprocally, fertility segregation ratios of F_1 were fitted to the segregation of two pairs of genes (13S:3F), one of which is inhibitor, another is photoperiod-sensitive fertility gene and sterile is recessive. Genotype of PFS is $liF^{ph}F^{ph}$. All the (NM×PFS) F_1 have the same segregation ratio of 3S:5F, of which was not the expected ratio of IS:IF. Thus the interaction of neutral cytoplasm and nucleic photosensitive genes was suggested. When cytoplasmic neutral gene (N) and nucleic homozygous recessive photoperiod-sensitive gene both exist, I (inhibitor gene) has no effect on the gene ($F^{ph}F^{ph}$), so the plants with $N(I F^{ph}F^{ph}pp)$ are FF (Female Fertile). This model of gene interaction is verified by fertility segregation of F_1 from the four combinations of $NGI \times PFS$, but the F_1 of the four reciprocal crosses were 3S:IF, IS:IF, IS:3F or 5S:3F. It was inferred that there are two or three major photoperiod-sensitive nucleic genes or more minor effecting genes according to different PFS lines.

2 Photoperiodical reaction property of PFS

(1) The photoperiod-sensitive critical day-length of female sterility is between 13.0h and 13.5h in June or July. The female flowers abort early and thoroughly. There isn't any intermediate state between fertile and sterile flowers.

(2) The plants treated with SD+LD and LD+SD showed a sudden change of FF to FS. The development stage of the flower at the neighbor node could be as female photoperiod-sensitive critical stage. It was defined as inflorescence differentiation stage or

49

perianth formation stage. The sensitive time is 3 days or shorter.

(3) Analyzed with the changing of the natural temperature and day-length. It is considered that the female fertility is mainly controlled by day-length and the temperature has no distinct effect.

3 phytochrome and Fertility transformation of PFS

The long dark-period of PFS was broke with R/FR light, which is the standard reverse technique. The results showed that R-breaking induced FS and deferred squaring and flowering. These effects could be reversed by FR-breaking afterwards. Dark-breaking had no effects on male flowers. It was indicated that phytochrome is the photosensor of female sterility.

The activities of enzymes (POD, SOD, and CAT) related to Reactive Oxygen Species (ROS) and the contents of MDA (Malondialdehyde) in the leaves and flowers of the plants with R-breaking were higher than that with FR-breaking. The reversal action also existed. The results showed that phytochrome induced the breaking of the balance of the ROS metabolism, which was related to FS induction obviously.

4 Phthoperiod-sensitive female fertility and enzymes related to ROS

The activities of POD, SOD and CAT and the contents of MDA in the leaves and flowers of the plants of 2nd, 3rd crops and SD treatments were tested individually. The results showed that their activities of the plants of 2nd crop and the plants treated with 13.5h SD is higher than those of the plants of 3rd crop and treated with 13.0h SD. The contents of MDA had the same regularity in the main.

Based on the results mentioned above, it was suggested that ROS toxicity play an important role in the female sterility of PFS. It could be a key link between the FS gene and the expression of sterility.

Key words: Ramie; Photoperiod-sensitive Female Sterility; Inheritance; phytochrome; Enzymes Related to Reaction Oxygen Species

50

缩 略 词

Abbreviations

PFS	Photoperiod-sensitive Female Sterile ramie	光敏感雌性不育苧麻
NG	day Neutral physiological Gynoecious ramie	苧麻光钝感生理雌性系
NM	day Neutral Monoecious ramie	光钝感雌雄同株苧麻
PGMR	Photoperiod-sensitive Genic Male-sterile Rice	光敏核不育水稻
ROS	Reactive Oxygen Species	活性氧
POD	Peroxidase	过氧化物酶
SOD	Superoxide dismutase	超氧化物歧化酶
CAT	Catalase	过氧化氢酶
MDA	Malondialdehyde	丙二醛
SD	Short-Day treatment	短日照处理
LD	Long-Day treatment	长日照处理
R	Red light	红光
FR	Far-Red light	远红光
PCD	Programmed Cell Death	编程性细胞死亡

致 谢

Acknowledgements

本文是周瑞阳教授主持的国家自然科学基金项目“苧麻雌性不育性的遗传分析”的一部分。在研究和写作过程中得到导师周瑞阳教授的悉心指导。恩师那严谨求实的治学态度、孜孜以求的探索精神和富于创新的科研思想值得我永远学习。

课题组的其他成员，尤其是湖北农学院张祖新副教授、徐俐老师、浙江大学的姜华武博士给予了无私的帮助。华中农业大学李合生教授提供了珍贵的滤光材料，并对光周期试验作了具体的指导。湖北农学院的陶采成教授、李煦远教授、戴绍钧教授、马来运教授、余泽高副教授和田志宏博士多次给予指点，光温分析还得到王荣堂教授的指导。华南师范大学陈大清博士提出了很好的建议。李志新老师、何玉池老师也多次表示关心。实习生刘胜环、袁兴海、牛英、易晓卉、孟会荣、钟巍、许杰丰等同学协助了调查和测定。师弟杨杰也给予了帮助。谨在此一并深表谢意！

衷心感谢多年以来教诲、关心、支持过我的师长、亲人和朋友们！

刘恒蔚

二〇〇〇年五月