



化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 对白菜型冬油菜生理生化特性的影响

赵彩霞^{1,2}, 赵艳宁², 孙万仓^{2*}, 尼玛卓玛¹, 刘自刚², 武军艳², 方彦²

(1 西藏自治区农牧科学院农业研究所, 拉萨 870032; 2 甘肃省干旱生境作物学重点实验室, 甘肃农业大学, 兰州 730070)

摘要:通过 2 年大田试验,研究了化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 诱导白菜型冬油菜‘陇油 6 号’不育过程中花药呼吸脱氢酶活性、游离脯氨酸含量、蛋白质含量和保护性酶活性的变化。结果显示:(1)SX-1 和 GSC 可以诱导白菜型冬油菜植株产生雄性不育,并以 0.6 mg/L 左右 GSC 或 9.0~10.0 mg/L SX-1 处理的不育株率最大,杀雄效果最好。(2)GSC 和 SX-1 处理后,白菜型冬油菜花药呼吸脱氢酶活性显著降低;油菜叶片中游离脯氨酸含量增加,而花蕾中的游离脯氨酸含量降低;叶片中可溶性蛋白质含量无显著变化,花蕾中蛋白质含量降低;叶片中 CAT 和 SOD 活性增加,POD 活性降低,而花蕾中 CAT 和 SOD 活性降低,POD 活性增加。研究表明,化学杀雄剂处理后,白菜型冬油菜的花药呼吸脱氢酶活性、花蕾和叶片的游离脯氨酸、可溶性蛋白含量和保护酶活性发生了异常,并随着处理浓度的增加而加剧,导致体内活性氧清除代谢速度降低,细胞内膜脂过氧化作用增强,膜结构遭到破坏,花粉发育受阻,最终引起雄性不育。

关键词:化学杀雄剂;白菜型冬油菜;雄性不育;GSC;SX-1

中图分类号:Q945.6⁺1 **文献标志码:**A

Physiological and Biochemical Characteristics of Winter Rapeseed Induced by CHA GSC and SX-1

ZHAO Caixia^{1,2}, ZHAO Yanning², SUN Wancang^{2*}, Nimazhuoma¹,
LIU Zigang², WU Junyan², FANG Yan²

(1 Tibet Autonomous Region Academy of Agricultural Sciences Pastoral, Lasa 870032, China; 2 Gansu Provincial Key Laboratory of Arid Land Crop Sciences, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: Chemical hybridizing agents GSC and SX-1, were applied to study anthers breathing dehydrogenase activity, free proline content, protein content and protective enzyme activities of winter *Brassica campestris* ‘Longyou 6’ for two years. The results showed that: (1) SX-1 and GSC can induce male sterility on *B. campestris* plants, and sprayed of GSC using 0.6 mg/L or SX-1 using 9.0~10.0 mg/L had the best inducing effect. (2) The anther breathing dehydrogenase activity was significantly decreased after GSC and SX-1 treatment; Free proline content in leaves increased, while decreased in buds; Protein content of leaves had no significant change, but protein content of buds decreased; CAT and SOD activities of leaves increased, POD activity decreased, while CAT and SOD activity of the flower buds decreased, POD activity increased. Research showed that anthers breathing dehydrogenase activity, free proline content, protein content and protective enzyme activities of buds and leaves appeared exception after CHA treatment, and the a-

收稿日期: 2013-11-18; 修改稿收到日期: 2014-01-24

基金项目: 国家现代农业产业技术体系(CARS-13); 国家行业科技项目(200903002-4); 国家 863 计划专项(2011AA10A104)

作者简介: 赵彩霞(1987-), 女, 在读硕士研究生, 主要从事油料作物遗传育种研究。E-mail: zhcx3694@163.com

* 通信作者: 孙万仓, 教授, 博士, 主要从事油菜育种及十字花科种质资源研究。E-mail: wancangsun2011@yahoo.com.cn

nomaly became more significant with concentration increased, resulting in a lower metabolic rate of oxygen scavenging activity, the cell membrane lipid peroxidation enhanced and membrane structure destroyed, pollen development blocked, eventually causing male sterility.

Key words: chemical hybridizing agent; winter *Brassica campestris*; male sterility; GSC; SX-1

化学杀雄剂常被称为化学杂交剂(chemical hybridization agents, CHA)。化学杀雄是指在花粉发育成熟以前将化学药剂喷施在植株上,抑制花粉正常发育或阻止花粉形成,达到自交不结实,即去雄的目的,为杂交制种提供母本。应用化学杀雄剂配制杂交种具有众多优点,如无需专门培育不育系和恢复系;可有效代替人工去雄,大大减轻育种工作量,大范围地选择亲本;周期短,可以利用优良品种作杂交亲本,在短时间内生产出足够数量的 F_1 代种子;可以辅助解决微粉问题等。CHA 已经成为目前油菜杂种优势研究利用的重要途径之一^[1]。

目前已有研究证实,杀雄剂 1 号(甲基砷酸锌)^[2]、杀雄剂 2 号(甲基砷酸钠)^[3]、KMS-1^[4]、化杀灵 WP^[5]、EXP^[6]、tribenuron-methyl^[7]、酰胺磺隆^[8]、苯磺隆^[9]等可诱导植物产生雄性不育现象,但其诱导植物产生雄性不育的机理均不相同。如杀雄剂 1 号诱导花粉中游离氨基酸消失或减少,花药中蛋白质代谢异常,导致甘蓝型油菜发生败育;范宝磊等^[10]、胡文智等^[11]研究表明,化学杀雄剂导致油菜叶片和花蕾的膜脂过氧化与油菜雄性不育具有相关性;于澄宇等^[6]报道,油菜不育株花蕾中的蛋白质含量较正常花蕾显著减少;另有试验研究表明,参与活性氧代谢的保护酶活性变化以及物质代谢的异常与雄性不育的发生有关^[12]。乙烯能够诱导水稻产生雄性不育,主要与花药和幼穗中过多积累活性氧和过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)活性下降有关^[13];广东省农作物杂种优势利用协作组^[14]研究水稻在喷杀雄剂 1 号后,花药中硫化化合物含量显著减少,琥珀脱氢酶和细胞色素氧化酶活性显著下降,导致呼吸强度仅为对照的二分之一甚至不到;广西师范学院生物系^[15]测定了水稻不育系花药中脯氨酸含量比正常植株普遍偏低,表明遗传不育的花药中脯氨酸含量较低。

白菜型冬油菜为异花授粉作物,具有强的自交不亲和性,喷施化学杀雄剂后,败育机理是否类似于自花授粉作物迄今均无研究报道。本试验研究了化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 诱导油菜雄性不育过程中叶片和花蕾中保护性酶(CAT、POD、SOD)活性、游离脯氨酸、蛋白质含量和花药脱氢酶活性等变化过程,

探讨油菜化学杀雄机理,为新型化学杀雄剂的开发和白菜型冬油菜杂种优势的利用作铺垫。

1 材料和方法

1.1 试验材料

参试材料为白菜型冬油菜品种‘陇油 6 号’,种子由甘肃农业大学提供;化学杂交剂 GSC 主要成分为 15% 苯磺隆和 85% 赤霉素的复合物, SX-1 由陕西杂交油菜研究中心李永红先生提供。

1.2 试验设计

试验于 2011~2013 年在甘肃中川镇进行 2 年大田试验,材料于 2011 年 8 月、2012 年 8 月分别播种于田间,在第 2 年 3 月中旬返青后开始试验。每个处理按小区种植,每个小区 3 行,行长 4 m,行距 0.4 m,株距 0.1 m,拔除杂苗、小苗,使长势整齐一致,每个处理重复 3 次。第 2 年现蕾期(50% 出现小花蕾)喷施第 1 次化学杀雄剂,10~12 d 后第 2 次喷施。其中, SX-1 第 1 次单株受药量 3~4 mL,第 2 次单株受药量 6~8 mL; GSC 第 1 次单株受药量 9~10 mL,第 2 次单株受药量 15~20 mL。化学杀雄剂 GSC 依照该地区对此类药物作为除草剂时的使用情况设置浓度梯度,依次为 0.2、0.4、0.6 和 1.0 mg/L 等 4 个水平, SX-1 依照提供单位建议调节浓度梯度,依次为 8.0、9.0、10.0 和 12.0 mg/L 等 4 个水平,以喷施清水对照(CK)。于第 2 次喷药后 10 d 取每个处理主茎花蕾剥取花药部分测花药脱氢酶活性,并用主茎花蕾和主茎倒数第二叶测定其它各指标,20 d 再次取样测定其它各指标。

1.3 测定指标及方法

花药呼吸的脱氢酶活性采用 TTC 还原法^[16]测定;游离脯氨酸含量采用茚三酮溶液显色法^[17]测定;可溶性蛋白质含量采用考马斯亮蓝 G-250 染色法^[18]测定;过氧化氢酶(CAT)活性的测定采用紫外吸收法^[19],用石英比色皿测量吸光值 A_{240} ,以每分钟减少 0.1 A_{240} 值为一个酶活性单位, CAT 活性单位为 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$;过氧化物酶(POD)活性的测定采用愈创木酚法^[19],用玻璃比色皿测量吸光值 A_{470} ,以每分钟增加 1 个 A_{470} 值为一个酶活单位, POD 活性单位为 $U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$;超氧化物歧化酶

(SOD)活性的测定采用氮蓝四唑光还原法^[19],用玻璃比色皿测量吸光值 A_{560} ,SOD 活性单位为 $U \cdot g^{-1}$ 。

1.4 数据处理

采用 Microsoft Office 2007 软件和 SPSS 19.0 软件对实验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 各化学杀雄剂处理对冬油菜的杀雄效果比较

SX-1 和 GSC 可以诱导白菜型冬油菜植株产生雄性不育,不同浓度的化学杀雄剂的杀雄效果不同,且随着化学杀雄剂浓度的增加,不育株率也逐渐增加(表 1)。其中,0.6 mg/L GSC 处理的不育株率达 98.0%,不育花粉率达到 98.7%,9.0~10.0 mg/L SX-1 处理的不育株率和不育花粉率均达 95.0% 以上,2 种药剂在此浓度杀雄效果最好,不育株率达到最大,并且用此浓度处理均没有出现药害株;1.0 mg/L GSC 和 12.0 mg/L SX-1 处理的植株不育性比较彻底,但是分别出现 17.6%、16.3% 的药害株,甚至部分植株叶片变黄,出现干枯现象。因此,0.6 mg/L 左右 GSC 或 9.0~10.0 mg/L SX-1 处理的白菜型油菜不育株率最大,杀雄效果最好。

2.2 化学杀雄剂对冬油菜花药呼吸脱氢酶活性的影响

不同浓度的 2 种化学杀雄剂处理后冬油菜花药脱氢酶活性变化可以用 TTC 还原强度表示。由图 1 可知,2 种化学杀雄剂处理植株的花药呼吸脱氢酶活性均显著低于对照,且有随着化学杀雄剂浓度的增加而逐渐降低的趋势。其中,0.6 mg/L GSC 处理植株花药的 TTC 还原量较对照显著降低 1.5 个单位,且与其余浓度 GSC 处理差异显著;9.0 mg/L SX-1 的处理植株花药 TTC 还原量较对照显著降低

1.58 个单位,其与 10.0 mg/L SX-1 处理间的花药脱氢酶活性无显著差异,但两者与其余浓度 SX-1 处理差异均达显著水平($P < 0.05$)。因此,从 TTC 还原强度均下降水平上可知,各浓度的 2 种化学杀雄剂均使白菜型冬油菜花药呼吸脱氢酶活性受到显著抑制,抑制程度随杀雄剂浓度增加而增强,呼吸强度的降低可能导致花药结构畸变和花粉败育。

2.3 化学杀雄剂对冬油菜叶片和花蕾游离脯氨酸、可溶性蛋白含量的影响

2.3.1 游离氨基酸含量 由图 2 可知,经化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 处理后,无论是第 2 次喷药后 10 d 取样还是 20 d 取样,花蕾的游离脯氨酸含量均低于对照,叶片的游离脯氨酸含量均高于对照,并且随着化学杀雄剂浓度的增加,花蕾中游离脯氨酸含量呈降低趋势,叶片中的游离脯氨酸含量呈增加趋势。分析认为叶片可能是合成游离脯氨酸的主要场所,

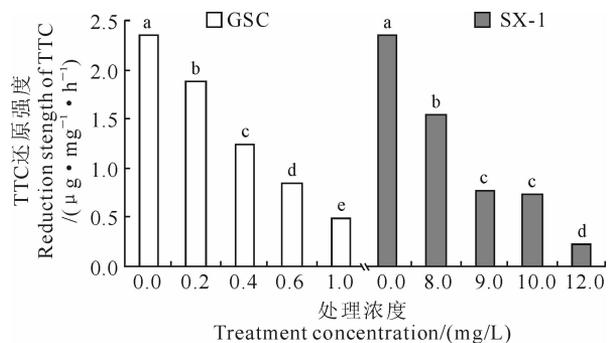


图 1 冬油菜花药呼吸的脱氢酶活性随杀雄剂浓度的变化
不同小写字母表示处理间在 0.05 水平存在显著性差异;下同
Fig. 1 Changes of anther dehydrogenase activity in winter rapeseed with the concentrations of chemical hybridizing agent
The different normal letters indicate significant difference among treatments at 0.05 level; The same as below

表 1 不同浓度化学杀雄剂对冬油菜植株育性的影响

Table 1 The effect of CHA with different concentrations on plant fertility for winter *B. campestris*

处理药物 Chemical	处理浓度 Concentration (mg/L)	处理株数 Treatment plant	不育株数 Sterility plant	不育株率 Sterility percentage/%	药害株率 Percentage of damaged plants/%	不育花粉率 Percentage of sterile pollens/%
CK	0.0	120	0	0.0	0.0	0.0
GSC	0.2	118	104	88.1	0.0	10.5
	0.4	122	115	94.2	0.0	50.3
	0.6	122	120	98.0	0.0	98.7
	1.0	119	98	82.4	17.6	100.0
	12.0	124	86	69.4	0.0	34.6
SX-1	9.0	122	117	95.9	0.0	96.4
	10.0	121	117	96.7	0.0	97.2
	12.0	123	103	83.7	16.3	100.0

喷施化学杀雄剂后,叶片不能正常供给脯氨酸于花蕾,使花蕾中脯氨酸含量降低。其中,化学杀雄剂 GSC 处理后(图 2, A),10 和 20 d 取样的叶片脯氨酸含量均在 0.6 mg/L 浓度处理下才较对照显著增加,而 10 和 20 d 取样的花蕾脯氨酸含量分别在 0.2 和 0.4 mg/L 浓度处理下较对照显著降低;化学杀雄剂 SX-1 处理后(图 2, B),10 和 20 d 取样的叶片脯氨酸含量分别在 9.0 和 10.0 mg/L 浓度处理下较对照显著增加,而 10 和 20 d 取样的花蕾脯氨酸含量分别在 8.0 和 9.0 mg/L 浓度处理下较对照显著降低。可见,花蕾对于化学杀雄剂的敏感度高于叶片;同时无论哪种化学杀雄剂处理,叶片的游离脯氨酸含量在 10 d 取样时均高于花蕾,而在 20 d 取样时则明显低于花蕾,这可能是在第 2 次喷药后 20 d 时叶片已将部分游离脯氨酸供应给花蕾,植株育性有恢复的趋势。

2.3.2 可溶性蛋白质含量 两种化学杀雄剂处理后,冬油菜叶片的可溶性蛋白含量随浓度增加而逐

渐升高,而花蕾的可溶性蛋白含量却逐渐降低(图 3)。其中,化学杀雄剂 GSC 处理后(图 3, A),无论是 10 d 还是 20 d 取样,叶片的可溶性蛋白质含量较对照均无显著差异;而 10 d 取样和 20 d 取样的花蕾可溶性蛋白质含量分别在 0.4 和 0.6 mg/L 浓度处理时较对照显著降低。化学杀雄剂 SX-1 处理后(图 3, B),10 d 取样的叶片可溶性蛋白质含量直到处理 12.0 mg/L 浓度时才较对照显著增加,而 20 d 取样的叶片各浓度均与对照无显著差异;10 d 取样和 20 d 取样的花蕾可溶性蛋白质含量分别在 9.0 和 10.0 mg/L 浓度处理时较对照显著降低。可见,喷施两种化学杀雄剂并不能显著影响冬油菜叶片中可溶性蛋白质含量,而使花蕾中可溶性蛋白质含量迅速降低。蛋白质作为花蕾中的一大类重要物质,对植物体具有非常重要的功能,其含量多少还影响到植物的育性,冬油菜败育的发生可能与植株体中特异蛋白质的消失,可溶性蛋白质总含量、合成和分解等方面密切相关。

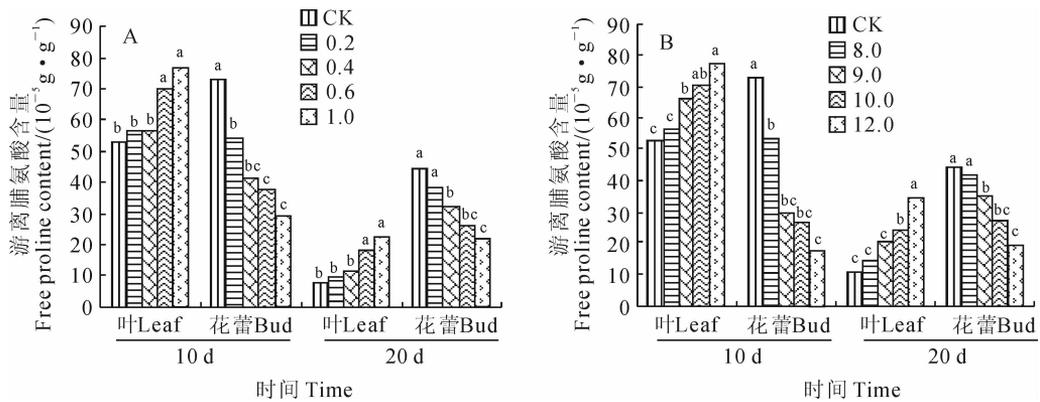


图 2 GSC(A)和 SX-1(B)处理冬油菜叶片和花蕾中游离脯氨酸含量的变化
Fig. 2 Changes of free proline content in bud and leaf of winter rapeseed treated by chemical hybridizing agent GSC(A) and SX-1(B)

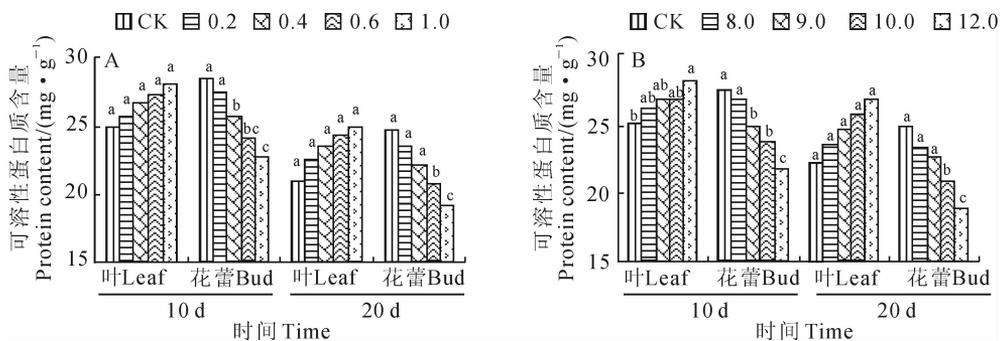


图 3 化学杀雄剂 GSC(A)和 SX-1(B)处理冬油菜叶片和花蕾中蛋白质含量的变化
Fig. 3 Changes of protein content in bud and leaf of winter rapeseed treated by chemical hybridizing agent GSC(A) and SX-1(B)

2.4 化学杀雄剂对冬油菜叶片和花蕾保护性酶活性的影响

2.4.1 CAT 活性 经化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 诱导处理后,冬油菜叶片中 CAT 活性均随着化学杀雄剂浓度的增加而逐渐增加,而其花蕾的 CAT 活性却逐渐降低(图 4, A、B)。其中,10 d 取样的叶片 CAT 活性经 0.4 mg/L GSC 和 9.0 mg/L SX-1 处理后已较对照显著提高,此时花蕾的 CAT 活性在 0.6 mg/L GSC 和 9.0 mg/L SX-1 处理后较对照显著降低,并且每增加一个浓度梯度花蕾的 CAT 活性较前一个浓度处理均差异显著。20 d 取样测得结果表明,叶片 CAT 活性在化学杀雄剂处理前后无显著差异,而花蕾 CAT 活性经 0.6 mg/L GSC 和 10.0 mg/L SX-1 处理后已较对照显著降低。另外,化学杀雄剂处理的冬油菜 CAT 活性在同期表现为叶片明显高于花蕾,在同一器官中表现为处理

20 d 高于处理 10 d,且在叶片中表现得尤为明显。

2.4.2 SOD 活性 经 2 种化学杀雄剂处理后,冬油菜叶片和花蕾中 SOD 活性随浓度的变化趋势与 CAT 活性相似(图 5, A、B)。其中,10 d 取样的叶片 SOD 活性经 0.6 mg/L GSC 和 10.0 mg/L SX-1 处理时才较对照显著升高,而花蕾的 SOD 活性经 0.4 mg/L GSC 和 9.0 mg/L SX-1 处理时就较对照显著降低。冬油菜花蕾和叶片的 SOD 活性在处理 20 d 的变化趋势类似于处理 10 d,但在更高的杀雄剂浓度处理后才出现显著变化,如叶片经 1.0 mg/L GSC 和 12.0 mg/L SX-1 处理后,花蕾经 0.6 mg/L GSC 和 10.0 mg/L SX-1 处理后,才较对照出现显著差异。另外,两种杀雄剂处理冬油菜花蕾中 SOD 活性均明显高于同期叶片,这与 CAT 活性表现不同。

2.4.3 POD 活性 经化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 处理后,冬油菜叶片和花蕾中 POD 活性随浓度的变化

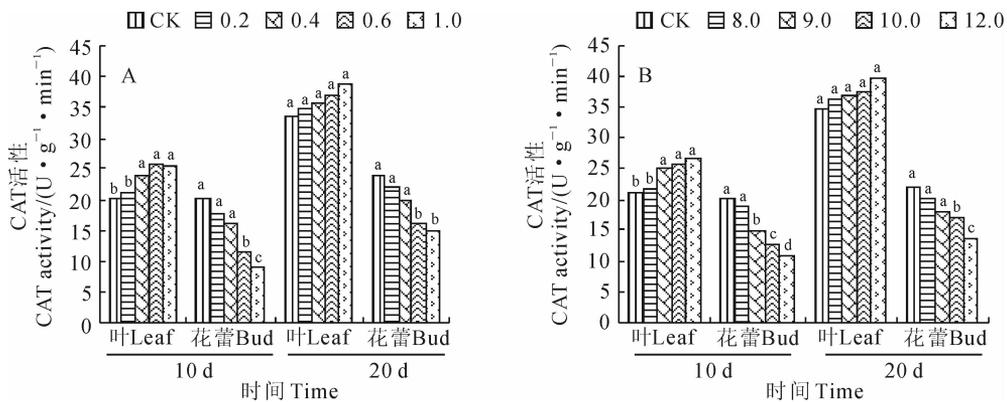


图 4 化学杀雄剂 GSC(A)和 SX-1(B)处理冬油菜叶片和花蕾中 CAT 活性的变化
Fig. 4 Changes of CAT activity in bud and leaf of winter rapeseed treated by chemical hybridizing agent GSC(A) and SX-1(B)

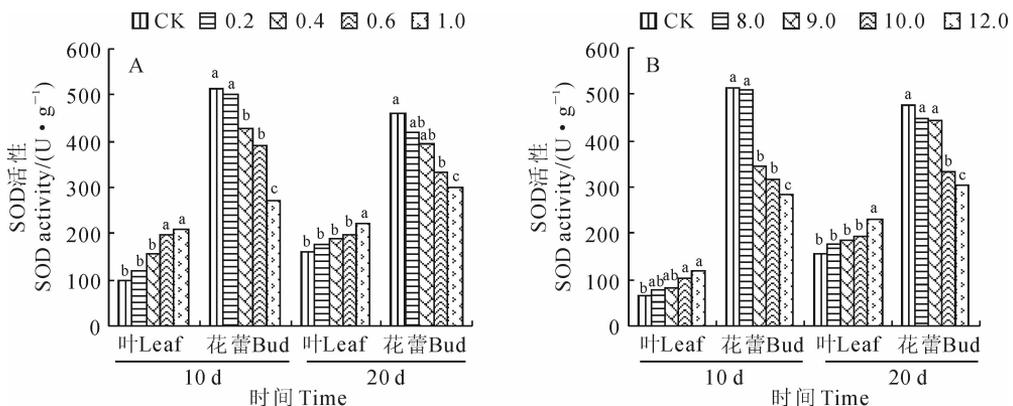


图 5 化学杀雄剂 GSC(A)和 SX-1(B)处理冬油菜叶片和花蕾中 SOD 活性变化
Fig. 5 Changes of SOD activity in bud and leaf of winter rapeseed treated by chemical hybridizing agent GSC(A) and SX-1(B)

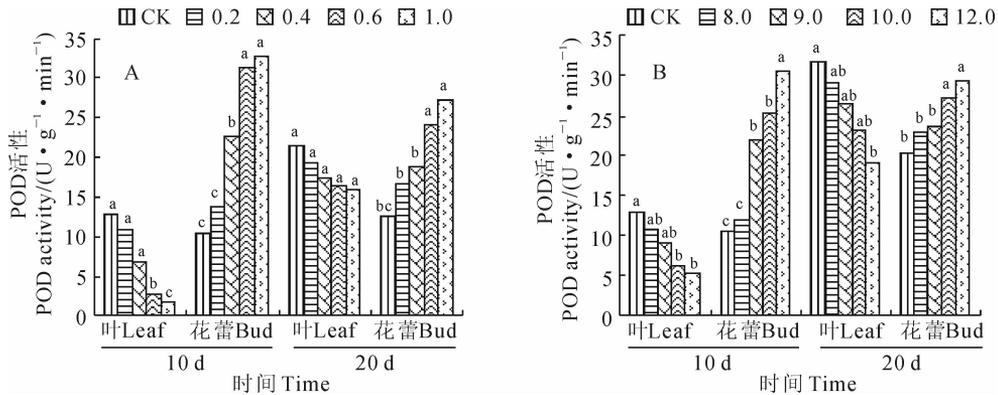


图 6 化学杀雄剂 GSC(A)和 SX-1(B)处理冬油菜叶片和花蕾中 POD 活性的变化

Fig. 6 Changes of POD activity in bud and leaf of winter rapeseed treated by chemical hybridizing agent GSC(A) and SX-1(B)

趋势与 CAT、SOD 活性明显不同,表现为叶片 POD 活性逐渐降低,而花蕾中却逐渐升高(图 6, A、B)。据 10 d 取样测得结果,叶片的 POD 活性在 0.6 mg/L GSC 和 10.0 mg/L SX-1 处理后较对照显著降低;花蕾的 POD 活性经 0.4 mg/L GSC 和 9.0 mg/L SX-1 处理后就较对照显著升高。而 20 d 取样的叶片和花蕾中 POD 活性变化趋势类似于 10 d 取样,但叶片 POD 活性在 GSC 处理前后与对照无显著差异,而经 12.0 mg/L SX-1 处理后才较对照显著降低;花蕾 POD 活性经 0.6 mg/L GSC 和 10.0 mg/L SX-1 处理才较对照显著升高。

以上结果表明,冬油菜叶片中 CAT 和 SOD 活性随杀雄剂浓度增加而逐渐上升,而其 POD 活性则逐渐降低;花蕾中 CAT 和 SOD 活性随浓度升高而逐渐降低,而其 POD 活性则逐渐升高。同时,花蕾中 3 种保护酶活性对杀雄剂的敏感性强于叶片。

3 讨论

呼吸作用和能量代谢是花药中花粉生长发育的生理基础,TTC 还原强度能够指示脱氢酶活性进而体现油菜花药代谢强度^[20]。杨交礼等^[21]在甘蓝型油菜上研究发现,油菜花药呼吸强度的降低和能量的供应不足能够导致雄性结构畸变和花粉败育。本研究结果表明,喷施化学杀雄剂 GSC 和 SX-1 对白菜型冬油菜均有不同的杀雄效果,且当 GSC 以 0.6 mg/L 左右浓度,SX-1 以 9.0~10.0 mg/L 浓度分别进行喷施时效果最佳;经化学杀雄剂 GSC、SX-1 处理后,冬油菜花药呼吸脱氢酶活性降低,并且随着杀雄剂的浓度增加脱氢酶活性的被抑制作用更加显著。这可能是喷施化学杀雄剂后,花药代谢强度降

低,花粉发育所需能量供应不足,最终导致花粉败育。

范宝磊^[5]用 WP 和 YB 处理甘蓝型油菜发现,花蕾中游离脯氨酸含量降低幅度很大,叶片中游离脯氨酸含量增加;刘宏伟等^[22]用化学杀雄剂 CENESIS 诱导的小麦不育幼穗和花药中可溶性蛋白质含量比对照明显降低;王强等^[23]用化学‘杀雄剂 1 号’处理棉花后,棉花叶片中可溶性蛋白质含量增加,花药中可溶性蛋白质含量显著低于对照。本实验发现经化学杀雄剂 GSC、SX-1 诱导后,白菜型冬油菜叶片中游离脯氨酸含量明显高于对照,花蕾中游离脯氨酸含量较对照显著降低;而叶片中可溶性蛋白质含量有所增加,但较对照差异不显著;花蕾中可溶性蛋白质含量较对照减少,并随着化学杀雄剂浓度的增加,表现出显著差异。叶片合成的脯氨酸可能是花粉中脯氨酸的主要来源,脯氨酸在叶片中过多积累,而不运往花药,最终导致花药败育。花药中可溶性蛋白质含量的显著降低,标志着蛋白质代谢发生障碍,这与前人研究结果部分相似,为今后选择有效的生理生化途径研究油菜败育过程提供了依据。

另外,本研究发现经化学杀雄剂 GSC、SX-1 诱导后,无论是喷药后 10 d 还是 20 d,白菜型冬油菜叶片的 CAT 和 SOD 活性增加,POD 活性降低;花蕾的 CAT 和 SOD 活性降低,POD 活性增加。油菜叶片和花蕾的保护性酶活性变化说明,植物雄性不育与其活性氧清除、酶活性降低或细胞内活性氧过多积累可能存在密切联系。这与王瑞雪等^[24]和范宝磊等^[10]的研究结果相似,而与汤伟华等^[25]的研究结果相异,具体的还需要进一步试验。

参考文献:

- [1] 傅廷栋. 杂交油菜的育种与利用[M]. 武汉:湖北科学技术出版社,1995:124—129.
- [2] GUAN CH Y(官春云),WANG G H(王国槐),ZHAO J T(赵均田). A preliminary study on the effect of male sterility and its mechanism male induced by GAMETOCIDE No. 1 of rape[J]. *Hereditas(遗传)*,1981,**3**(5):15—17(in Chinese).
- [3] CHEN X J(陈新军),QI C K(戚存扣),ZHANG J F(张洁夫). The application of chemical GAMETOCIDE No. 2 on *Brassica napus* L.[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences(江苏农业科学)*,2002,**30**(6):19—22(in Chinese).
- [4] GUAN CH Y(官春云),WANG G H(王国槐),LI X(李 恂). The mechanism of male sterility induced by chemical hybridization agent II. KMS-1 on fertility in *Brassica napus* L. [J]. *Crop Research(作物研究)*,1998,**20**(3):1—4(in Chinese).
- [5] 范宝磊. 新型化学杀雄剂 WP 和 YB 诱导油菜雄性不育机理初探[D]. 武汉:华中农业大学,2007.
- [6] YU CH Y(于澄宇),HU SH W(胡胜武),ZHANG CH H(张春宏). The effect of chemical hybridizing agent EXP on oilseed rape[J]. *Acta Agronomica Sinica(作物学报)*,2005,**35**(11):1 455—1 459(in Chinese).
- [7] YU C,HU S,HE P. Inducing male sterility in *Brassica napus* by a sulfonylurea herbicides,tribenuron-methyl[J]. *Plant Breeding*,2006,**125**(1):61—64.
- [8] YU C,DONG J,HU S,*et al.* Efficiency of a novel gametocide amidosulfuron on rapeseed (*Brassica napus*)[J]. *Plant Breeding*,2009,**128**(5):538—540.
- [9] ZHANG B J(张宝娟),ZHAO H X(赵惠贤),HU SH W(胡胜武). Male sterile inducing ability of tribenuron-methyl to rapeseed cultivar Zhongshuang 9[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences(中国油料作物学报)*,2010,**32**(4):467—471(in Chinese).
- [10] FAN B L(范宝磊),YUE X L(岳霞丽),ZHENG Q(郑 青). Study on the SOD,CAT and POD activity in leaves and buds of rape induced by WP and YB[J]. *Hubei Agricultural Sciences(湖北农业科学)*,2008,**47**(4):406—408(in Chinese).
- [11] HU W Z,CHENG K,YAN J,*et al.* Effect of chemical gametocide EXP on membrane lipid peroxidation and protective enzyme activity in rapeseed(*Brassica napus*)[J]. *Agricultural Science & Technology*,2008,**9**(4):18—20,33.
- [12] ZHANG M Y(张明永),LIANG CH Y(梁承邺),DUAN J(段 俊). Reactive oxygen species metabolic of male sterile line during the development of rapa cytoplasmic[J]. *Acta Botanica Sinica(植物学报)*,1997,**39**(5):480—482(in Chinese).
- [13] JIANG L C(蒋梁材),LIU Q X(刘启鑫). Studies on the physiological and biochemical characters in developing bud of male sterile of *Brassica napus*[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences(中国油料作物学报)*,1994,**16**(1):11—14(in Chinese).
- [14] Research group of Guangdong Province utilization of heterosis in crops. Male-Gametocide No1. induction of male sterility of rice[J]. *Acta Botanica Sinica(植物学报)*,1978,**20**(4):305—313(in Chinese).
- [15] Biology Department of Guangxi Teachers Education University. “Three lines” in rice research group. The determination of proline in “three lines” and hybrid rice anther[J]. *Acta Botanica Sinica(植物学报)*,1997,**19**(1):25—27(in Chinese).
- [16] 张志良. 植物生理学实验指导(第3版)[M]. 北京:高等教育出版社,2004.
- [17] 陈建勋,汪晓峰. 植物生理学实验指导[M]. 广州:华南理工大学出版社,2002,(54):117—118.
- [18] 西北农业大学. 基础生物化学实验指导[M]. 西安:陕西科学技术出版社,1986,(68):66—68.
- [19] 李合生. 孙 群. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京:北京教育出版社,2000.
- [20] GUAN CH Y(官春云). Several points about the rape of chemical hybridizing hybrid description[J]. *Crop Investigations(作物研究)*,1995,**9**(S):10—11(in Chinese).
- [21] YANG J L(杨交礼),WANG G H(王国槐). Two application of new male sterilizing drugs in rape[J]. *Crop Investigations(作物研究)*,2006,**20**(3):227—230(in Chinese).
- [22] LIU H W(刘宏伟),ZHANG G SH(张改生),WANG J W(王军卫). Preliminary studies on male sterility in wheat induced by new chemical hybridizing agent GENESIS[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.(西北植物学报)*,1998,**18**(2):218—222(in Chinese).
- [23] WANG Q(王 强),WANG B J(王邦俊),LI X G(李学刚). Study of male GAMETOCIDE No. 1 on cotton peroxidase,invertase activity of chemical[J]. *Cotton Science(棉花学报)*,2003,**15**(6):353—356(in Chinese).
- [24] WANG R X(王瑞雪),SHEN L Y(沈亮余),ZOU Y(邹 燕). Studies on the physiological and biochemical characters in developing bud of male sterile line 09A of *Brassica napus*[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin(中国农学通报)*,2011,**27**(9):176—179(in Chinese).
- [25] TANG W H(汤伟华),ZHANG SH N(张蜀宁),KONG Y E(孔艳娥). Comparison on physiological and biochemical properties of pol CMS line sand their maintainer lines in different ploid materials of non heading Chinese cabbage[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.(西北植物学报)*,2009,**29**(1):80—84(in Chinese).