西北植物学报，2014，34(3)：0509－0515
Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.

文章编号：1000-4025(2014)03-0509-07　　**doi**：10.7606/j.issn.1000-4025.2014.03.0509

白菜型冬油菜不育系 LRCMS 花器生理生化特性及其雄蕊发育特征研究

鲁美宏，孙万仓*，孔德晶，杨宁宁，刘自刚

（甘肃省油菜工程技术研究中心；甘肃省作物遗传改良与种质创新重点实验室/甘肃省干旱生境作物学重点实验室；甘肃农业大学 农学院，兰州 730070）

摘　要：以白菜型冬油菜‘陇油 8 号’×‘陇油 9 号’杂交后代中选育出的不育系 LRCMS，以及代表性甘蓝型油菜不育系（J39A、J68A、Pol10A）和它们的保持系为材料，研究 LRCMS 在盛花期花蕾和花中 POD、SOD、CAT 活性和可溶性蛋白含量、过氧化物酶（POD）同工酶谱变化特征及其雄蕊败育过程。结果显示：(1)所有参试材料花朵中 POD 活性普遍高于花蕾。(2)不育材料 POD 活性高于保持材料，甘蓝型不育材料 POD 活性较保持材料增加幅度大于 LRCMS 与‘陇油 9 号’，LRCMS 花蕾与花的 POD 活性分别较保持系材料‘陇油 9 号’高出 15.0%和 9.0%；不育材料花的 CAT 活性高于保持系材料 89%～293%，而其花蕾的 CAT 活性低于保持系材料 25%～43%，LRCMS 与其它不育材料间无显著差异；不育系材料花 SOD 活性低于保持系材料 15%～25%，LRCMS 与其它不育材料无显著差异，其花蕾 SOD 活性高于保持材料 6%～112%，但 LRCMS 增加幅度低于其它不育材料；保持系材料花蕾与花中蛋白质含量为 0.014～0.020 mg/g，不育系材料花蕾与花中蛋白质含量为 0.012～0.016 mg/g，所有不育材料蛋白质含量均低于保持材料。(3)LRCMS 的 POD 同工酶谱在花中较对应的可育系‘陇油 9 号’和其它甘蓝型雄性不育多 1 条迁移率（*Rf*）为 0.623 的条带。(4)LRCMS 雄蕊败育起始于造孢细胞期，造孢细胞粘连，无核仁，绒毡层未发育，为无花粉囊型不育。研究表明，LRCMS 与其他类型油菜不育系有着不同的遗传背景，是一个新的白菜型冬油菜不育类型。

关键词：冬油菜；细胞质不育；生理生化；雄蕊发育

中图分类号：Q945.6；Q944.58　　**文献标志码**：A

Physiobiochemical Characteristics and Stamen Development Characteristics of LRCMS Flower in Winter Rapeseed (*Brassica campestris*)

LU Meihong, SUN Wancang*, KONG Dejing, YANG Ningning, LIU Zigang

(Rapeseed Engineering Research Center of Gansu Province, Crop Genetic Improvement and Germplasm Laboratory of Gansu Province/Gansu Provincial Key Laboratory of Arid Land Crop Sciences, Agronomy of Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: The LRCMS is a cytoplasmic male sterile material selected from the off springs of ‘Longyou 8’×‘Longyou 9’. POD, SOD, CAT activities and soluble protein content of LRCMS in flowering buds and flowers, peroxidase (POD) isozyme changes during the abortion process were investigated. The results showed that: (1) POD activity of all the tested materials in flower is generally higher than that of buds. (2) Sterile material POD activity is higher than that of maintainer line. Compared with the maintainer line, the increase of POD activity in kale sterile material is greater than that of LRCMS and ‘Longyou 9’. POD ac-

收稿日期：2013-09-27；**修改稿收到日期**：2014-01-27

基金项目：农业部公益性行业（农业）科研专项（200903002-04）；国家高技术研究发展计划（2011AA10A104）；现代农业产业技术体系建设专项（CARS-13）

作者简介：鲁美宏（1988－），女，在读硕士研究生，主要从事作物遗传育种研究。E-mail：18298332610@163.com

*通信作者：孙万仓，博士，教授，主要从事油菜育种及十字花科种质资源研究。E-mail：18293121851@163.com

tivities in LRCMS flowers and buds are 15.0% and 9.0% higher than that of the maintainer line. CAT activity in sterile material flowers is higher than that of maintainer line (89%～293% higher), while CAT activity in buds is lower than that of the maintainer line (25%～43% lower); and there is no significant difference between LRCMS and other sterile materials. SOD activity in sterile material flowers is lower than that of the maintainer line, while SOD activity in buds is higher than that of the maintainer line (6%～112% higher), and the increase in LRCMS is lower than that of other sterile materials. Flowers SOD activity is 15%～25% lower than that of the maintainer line and there is no significant difference between LRCMS and other sterile materials. Buds of the maintainer line and their protein content is 0.014～0.020 mg/g, while the protein content in buds of the sterile material is 0.012～0.016 mg/g. Protein contents of all sterile materials are lower than that of the maintainer line. (3)POD isoenzyme test indicated an Rf value of 0.623 band in flower of LRCMS which is missing in other male sterile lines and fertile line 'Longyou 9'. (4)LRCMS sterile stamens starting at the sporogenous cell, sporogenous cell adhesion, nuclear-free kernel, tapetum absence. The study find that LRCMS and other CMS have different genetic backgrounds. It is a new type of infertility.

Key words: winter rapeseed; cytoplasmic male sterile(CMS); physiology and biochemistry; stamen development

雄性不育克服了人工去雄杂交的困难，使杂交变得容易、简单、方便，为生产上利用杂种提供了有力工具，成为农作物利用杂种优势研究的重要内容。油菜是成功利用杂种优势的大田作物之一。油菜雄性不育的研究主要集中在甘蓝型油菜方面，且生产上以傅廷栋 1972 年发现的细胞质雄性不育系 Polcms 为主[1]，芥菜型油菜在中国也已实现“三系”配套[2]。白菜型油菜的雄性不育研究也开展较早，四川省农业科学院最先报道了白菜型油菜细胞质雄性不育材料，并育成了‘天 A’不育系与‘阿油 A’不育系[3]。胡宝成等[4]报道了白菜型油菜细胞质雄性不育材料(81008×托品)，陈凤祥等[5]利用白菜型油菜品种‘广丰油菜’中的雄性不育株通过测交、选择和回交，创制了白菜型雄性不育材料‘广丰 A’。白菜型油菜的早熟性及其对旱、涝、冻等的特殊适应能力，在多熟制中有着甘蓝型油菜难以替代的作用。由于存在自交不亲和以及选育恢复系困难等问题，白菜型油菜雄性不育材料尚未应用于生产[6]。

过氧化物酶不仅与组织的呼吸和物质的氧化等生理生化过程密切相关，同时又在呼吸代谢和氧自由基清除中有积极功能。超氧化物歧化酶和过氧化氢酶能清除植物代谢中产生的氧自由基，防止活性氧在植物体内积累过多导致脂膜受损。超氧化物歧化酶是活性氧清除系统的重要保护酶之一，它能有效地阻止高浓度氧的积累，防止膜脂的过氧化，使植物维持正常的生长和发育。抗氧化物酶与雄性不育有一定关系。蒋培东等[7]对棉花不育系花蕾发育的研究发现，不育系中超氧化物歧化酶的活性下降，致使活性氧水平升高，导致膜脂过氧化，从而引起雄性不育；但余筱南等[8]报道，不育系花蕾中超氧化物歧化酶活性水平高于可育系，认为这是不育系对其体内活性氧水平升高的应答反应。过氧化氢酶在清除和维持植物体内活性氧的水平及光呼吸中起作用，而且分解过多的活性氧，减轻对植物产生伤害，从而维持膜的稳定性。在雄性不育花器中膜脂的破坏比可育花器中的要快许多[9]。可溶性蛋白包含了各种酶原、酶分子和代谢调节物，在花药和小孢子的发育过程中具有决定意义。研究发现油菜 CMS 不育系和保持系之间的 POD 同工酶谱带存在差异，且不同不育系之间酶谱条带的差异说明两者之间的遗传背景不同，为两个不育系的比较研究提供了证据。据报道，酶类活性的变化会引起花粉粒内新陈代谢紊乱，最后导致蛋白质合成减弱或停止，影响小孢子的发育而造成雄性不育[10]。

另外，雄性不育与花药发育关系密切，余凤群等[11]、杨光圣等[12]通过对多个油菜可育品种研究，将可育油菜的花药发育过程分为孢原细胞时期、造孢细胞时期、花粉母细胞减数分裂至四分体时期、单核花粉期、二细胞和三细胞花粉期等；并且根据败育时期的不同，将多个油菜不育系分成无花粉囊型、花粉母细胞败育型和单核花粉败育型等 3 类。陈平平[13]发现转基因雄性不育系‘湘 15A’的败育发生在四分体至小孢子期，属单核花粉败育型；董军刚等[14]研究发现甘蓝型油菜生态雄性不育系 533S 花药不能形成正常的孢原细胞，属无花粉囊败育型；危文亮等[15]的观察表明，来自甘蓝型油菜和埃塞俄比亚远缘杂交后代的甘蓝型油菜雄性不育系 NCa 花药败育发生在单核晚期。本研究以强冬性白菜型冬

油菜‘陇油 8 号’和‘陇油 9 号’杂交后代中发现的细胞质雄性不育材料 LRCMS 为试验材料，通过对其花器生理生化特征及雄蕊发育特性的观察，为白菜型冬油菜雄性不育材料的选育提供理论依据。

1　材料和方法

1.1　材　料

白菜型冬油菜不育材料 LRCMS 和可育系‘陇油 9 号’；甘蓝型油菜不育材料‘Pol10A’、捷克引进的‘捷甘 39A’、‘捷甘 68A’以及保持系材料‘捷甘 39B’、‘捷甘 68B’。试验材料均由甘肃农业大学提供，种植于兰州市沙井驿，每个材料种 4 m^2，300 株，田间管理同大田生产。

1.2　测定指标及方法

1.2.1　不育系和可育系保护酶性活性　在盛花期取 0.2 g 花蕾与花朵的鲜样，立即放入冰槽，在冰浴下匀浆，12 000 r/min 下离心 10 min，取上清液用于保护酶活性测定。过氧化物酶（POD）活性测定采用愈创木酚法[16]，以每分钟吸光度值 A_{470} 变化 0.1 为一个相对酶活单位（U），计算植物组织内过氧化物酶活力的大小，表示为 U/g。超氧化物歧化酶（SOD）活性测定采用 NBT 光还原法[17]，以每 1.0 g 鲜样抑制 NBT 光化还原 50% 为一个酶活单位（U），表示为 U/mg。过氧化氢酶（CAT）活性测定采用紫外吸收法[17]，以每分钟 A_{240} 下降 0.1 为一个酶活单位（U），并计算过氧化氢酶活力的大小，表示为 U/g。可溶性蛋白含量用考马斯亮蓝 G-250 法测定，单位表示为 mg/g[17]。

1.2.2　不育系与可育系 POD 同工酶分析　取样方法同 1.2.1，用 pH 7.8 的磷酸缓冲液（含 ASA、EDTA-Na_2）在冰浴下匀浆，12 000 r/min 下离心 10 min，取上清液于 −20 ℃冰箱中保存备用。采用聚丙烯酰胺凝胶电泳，分离胶和浓缩胶浓度分别为 7%和 4%，pH 分别为 8.8 和 6.8。电极缓冲液用 Tris-甘氨酸系统（pH 8.3）。上样量为 30 μL。电泳开始时，稳压 100 V，样品过浓缩胶后调制成 200 V，电泳时间约 5 h。电泳完成后放入染色液（联苯胺溶液）中染色直至可见清晰的蓝色条带，流水冲洗后，照相保存。迁移率 Rf 为原点到条带的迁移距离/原点到指示剂的距离。

1.2.3　不育系与可育系雄蕊发育细胞学观察　细胞学观察采用石蜡切片法。在现蕾期，取不育与可育的材料并按其不同大小（花蕾直径 1～2 mm、3～4 mm、5～6 mm）分装于事先配好的 FAA（70%乙醇：甲醛：冰乙酸＝90：5：5）固定液中，固定时长大于 24 h，于 4 ℃保存，各梯度体积分数酒精脱水，二甲苯透明，石蜡（熔点 47 ℃～49 ℃）包埋，切片，蛋白粘片，自然条件通风处放置 3 d 脱蜡，苏木精染色，显微镜观察并照相。在显微镜下观察小孢子发生和花粉的败育过程，并进行比较，以确定不育系的败育时期和细胞学特征。

2　结果与分析

2.1　LRCMS 不育系和保持系花器形态比较

图 1 显示，LRCMS 与保持材料花器特征差异明显，LRCMS 花瓣瘦长皱缩，基部皱缩尤为明显；且雄蕊退化，长度约为雌蕊的一半左右，花药空瘪、瘦小；柱头发育正常，略弯曲。

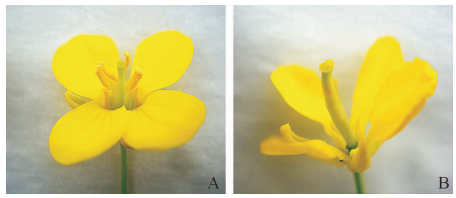

图 1　白菜型冬油菜‘陇油 9 号’（A）及不育系 LRCMS（B）的形态比较

Fig. 1　The flower morphology comparison between *Brassica* winter oilseed rape ‘Longyou 9’（A）and LRCMS（B）CMS

2.2　各油菜不育系和保持系花蕾和花朵中保护酶活性、可溶性蛋白含量比较

2.2.1　POD 活性　测定结果（图 2，A）显示，不育材料（LRCMS、J39A、J68A）POD 活性高于保持材料（‘陇油 9 号’、J39B、J68B），甘蓝型不育材料 POD 活性较保持材料增加幅度大于 LRCMS 和‘陇油 9 号’，LRCMS 花蕾与花 POD 活性较保持材料‘陇油 9 号’高 15.0%与 9.0%。但不同不育系之间花朵中 POD 活性相差不大。

2.2.2　SOD 活性　从 SOD 活性测定结果（图 2，B）来看，不育材料（LRCMS、J39A、J68A）花中 SOD 活性低于保持材料（‘陇油 9 号’、J39B、J68B），而花蕾 SOD 活性高于保持材料，不育材料花蕾 SOD 活性较保持材料高 6%～112%，LRCMS 增加幅度低于其它不育材料；花中 SOD 活性较保持材料低 15%～25%，LRCMS 与其它不育材料（J39A、J68A、Pol10A）在花蕾中无显著差异。

2.2.3　CAT 活性　测定结果（图 2，C）显示，不育材料（LRCMS、J39A、J68A）花中 CAT 活性高于保持

材料('陇油 9 号'、J39B、J68B),而花蕾 CAT 活性低于保持材料,不育材料花中 CAT 活性较保持材料高 89%～293%,花蕾 CAT 活性较保持材料低 25%～43%,LRCMS 与其它不育材料(J39A、J68A、Pol10A)无显著差异。

2.2.4 可溶性蛋白含量 图 2,D 显示,保持材料('陇油 9 号'、J39B、J68B)花蕾与花中蛋白质含量在 0.014～0.020 mg/g,不育材料(LRCMS、J39A、J68A、Pol10A)为 0.012～0.016 mg/g,所有不育材料蛋白质含量均低于保持材料。

综上结果可知,白菜型冬油菜雄性不育系 LRCMS 与其保持系'陇油 9 号'相比,花蕾和花中的 POD、SOD 和 CAT 活性及可溶性蛋白含量表现出明显的差异,这些生理生化指标可能受花发育的影响,而在花蕾和花中表现出不同程度的升高或降低趋势。但不育系 LRCMS 与其他不育系材料 J39A、J68A、Pol10A 在 POD、SOD 和 CAT 活性以及可溶性蛋白含量上均没有显著差异。

2.3 LRCMS 不育系花蕾和花朵中 POD 同工酶酶谱特征

通过对白菜型和甘蓝型的不育系及可育系的花蕾和花的 POD 同工酶酶谱分析表明(图 3),甘蓝型油菜 J39A、J68A、J39B、J68B、Pol10A 在花蕾和开放的花中带型虽一致,但对应的酶带染色深浅明显不同,酶带染色深者活性相对较强,并以花朵中酶活性较强。这可能是由于花在开放过程中新陈代谢加强,从而促进花中酶活性提高。其中,白菜型冬油菜不育系 LRCMS 与甘蓝型不育系 J39A、J68A、Pol10A 的 POD 同工酶谱不同,主要表现在酶带数目不同(带型不同),多了1条迁移率(Rf)为0.623的迁移率最

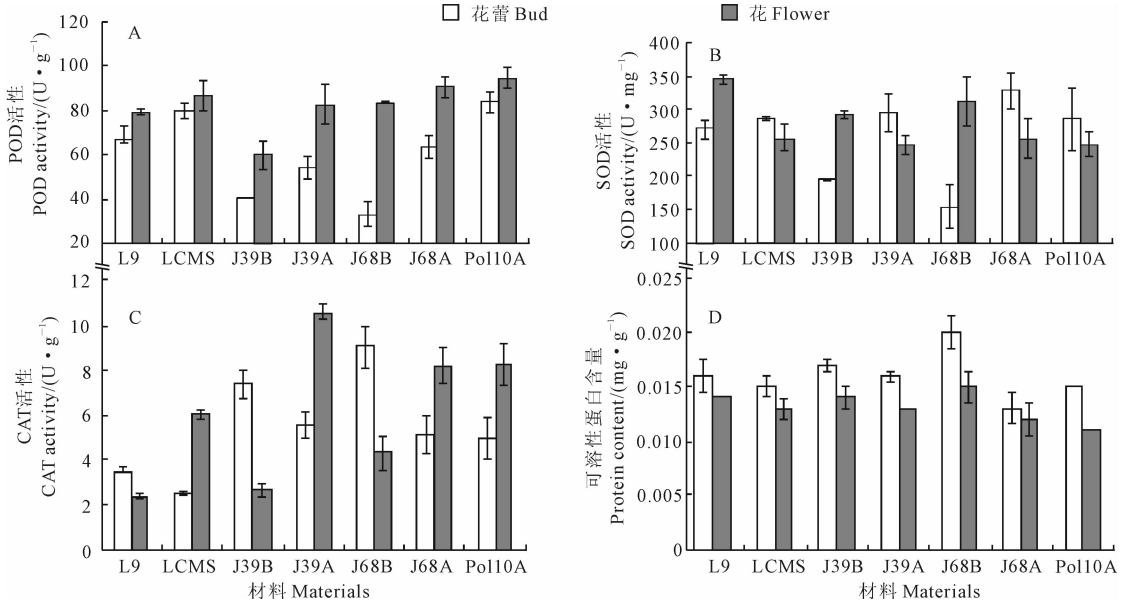

图 2 各类型不育系和保持系花蕾和花朵 POD、SOD 和 CAT 活性以及可溶性蛋白含量比较

L9. 可育材料'陇油 9 号';LCMS、J39A、J68A、Pol10A. 不育系;J39B、J68B. 保持系

Fig. 2 POD, SOD, CAT activities and soluble protein content of CMS and maintainer lines in flowers and buds

L9. The fertile lines; LCMS, J39A, J68A, Pol10A. Male sterile line; J39B, J68B. Maintainer line

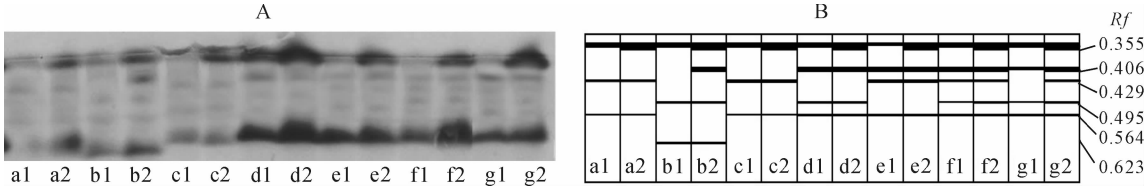

图 3 不育系与保持系花蕾与花的 POD 同工酶酶谱图(A)及其模式图(B)

a.'陇油 9 号';b. LRCMS;c. J39B;d. J39A;e. J68B;f. J68A;g. Pol10A;1. 花蕾;2. 花朵

Fig. 3 POD isoenzyme zymogram(A)and its pattern(B) of CMS and maintainer lines in flowers and buds

a. 'Longyou 9'; b. LRCMS; c. J39B; d. J39A; e. J68B; f. J68A; g. Pol10A; 1. Bud; 2. Flower

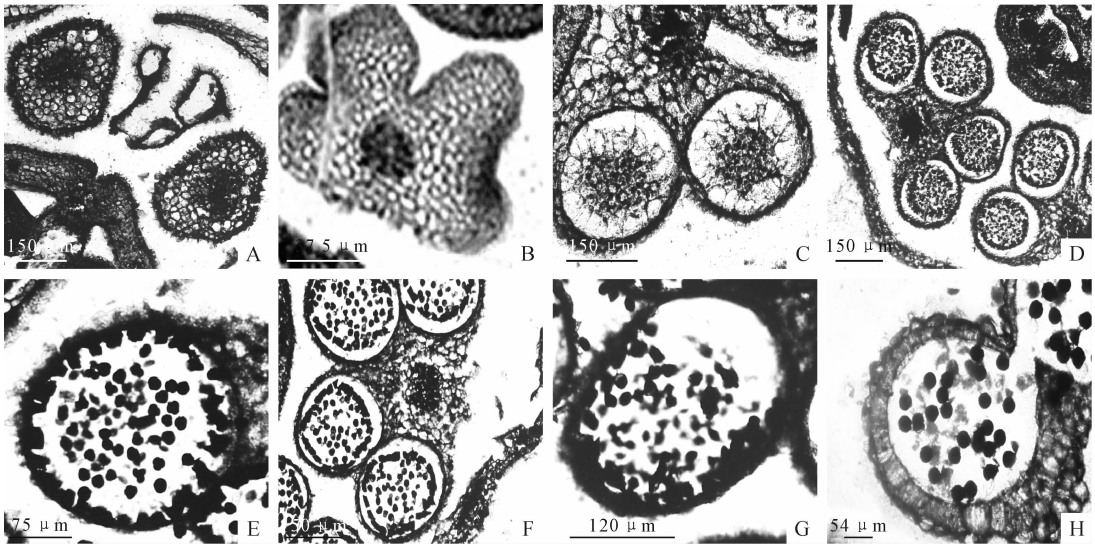

图 4　可育材料‘陇油 9 号’、J39B 和 J68B 花药发育过程

A. 孢原细胞时期，×40；B. 造孢细胞时期，×40；C. 减数分裂时期，×100；D、E. 四分体时期，×40；F、G. 花药单细胞期（箭头所指为正在解体的绒毡层），×40；H. 花粉成熟期，×100

Fig. 4　Microstructure of development anther of ‘Longyou 9’, J39B and J68B

A. Sporogonium stage, ×40; B. The sporogenous cell stage, ×40; C. The meiosis stage, ×100; D, E. The tetrad stage, ×40; F, G. The anthers at the mononuclear cell stage (The arrows indicate the disintegrating tapetum), ×40; H. The pollen maturation stage, ×100

快的酶带，且 Rf 为 0.495 的谱带为所有不育系共有；LRCMS与‘陇油9号’的酶谱带也明显不同，主要表现在 LRCMS 比‘陇油 9 号’也多了一条 Rf 为 0.623 的迁移率最快的酶带。

2.4　LRCMS 及其它不育材料雄蕊发育细胞学比较

2.4.1　可育材料　本研究观察结果表明，可育保持材料雄蕊发育有以下几个时期：(1)孢原细胞时期：‘陇油9号’、J39B、J68B花蕾横切面上可见1个雌蕊和 6 个雄蕊，雄蕊呈椭圆形或肾形，细胞染色均匀，雄蕊内无子房腔的分化（图 4，A）。(2)造孢细胞时期：花药横切面呈蝶形，绒毡层不易辨认；花粉囊内的细胞连成一片均被染色，染色深浅一致（图 4，B）。(3)花粉母细胞减数分裂至四分体时期：早期的花粉母细胞仍然相互连成一片，但比起造孢细胞时期略为分散，各个细胞的胞间层逐渐溶解，细胞之间的间隔隐约可见（图 4，C）。花粉母细胞和周围的细胞在形态、界限上区别明显，花粉母细胞趋近花粉囊中央，与绒毡层细胞在空间上区分开来（图 4，D）。四分体时期绒毡层细胞呈四边形且染色较深，规则地贴着药室内壁排列（图 4，E）。(4)单核花粉粒早期：花粉粒细胞壁很薄而不明显，细胞质浓厚而染色较深，细胞核位居细胞中央，绒毡层细胞依旧贴壁整齐排列；随着小孢子进一步发育，绒毡层细胞离开药室内壁，开始解体（图 4，F）。细胞内开始液泡化，随着液泡的逐渐增大，迫使细胞核移向细胞一侧（图 4，G）。成熟时期绒毡层消失，花粉粒散出（图 4，H）。

2.4.2　不育材料　Pol10A 的发育过程在造孢时期花药横切面呈蝶形（图 5，A），在四分体前就已开始退化（图 5，B），没有花粉囊的形成，花药发育受阻于造孢细胞至四分体前（图 5，C）。LRCMS 在孢原时期呈椭圆形，细胞染色均匀，雄蕊内无子房腔的分化（图5，D），在未发育成4个药室的时候就已开始退化，没有造孢细胞和壁细胞的分化（图 5，E）。但在发育后期有微量花粉散出（图 5，F）。甘蓝型不育材料（J39A、J68A）在四分体前期仍然在发育（图 5，G）；在单核晚期，花粉囊内陷，小孢子相互挤压（图 5，H）；绒毡层退化解体，败育较彻底（图 5，I）。LRCMS 与其他甘蓝型不育材料（J39A、J68A、Pol10A）的差异主要表现在退化时期在造孢时期，退化较早。

3　讨　论

3.1　不育材料花蕾与花中 POD、SOD、CAT 和可溶性蛋白与不育的关系

过氧化物酶是一种含铁卟琳的线粒体外末端氧化酶，是植物体内普遍存在且活性较高的一种酶。正常情况下，植物体内过氧化物酶活性维持一定水平，以去除不断产生的活性氧，使植物体内过氧化物酶活性和活性氧含量达到一定平衡[7]。本研究发现，白菜型冬油菜不育系LRCMS的过氧化物酶活

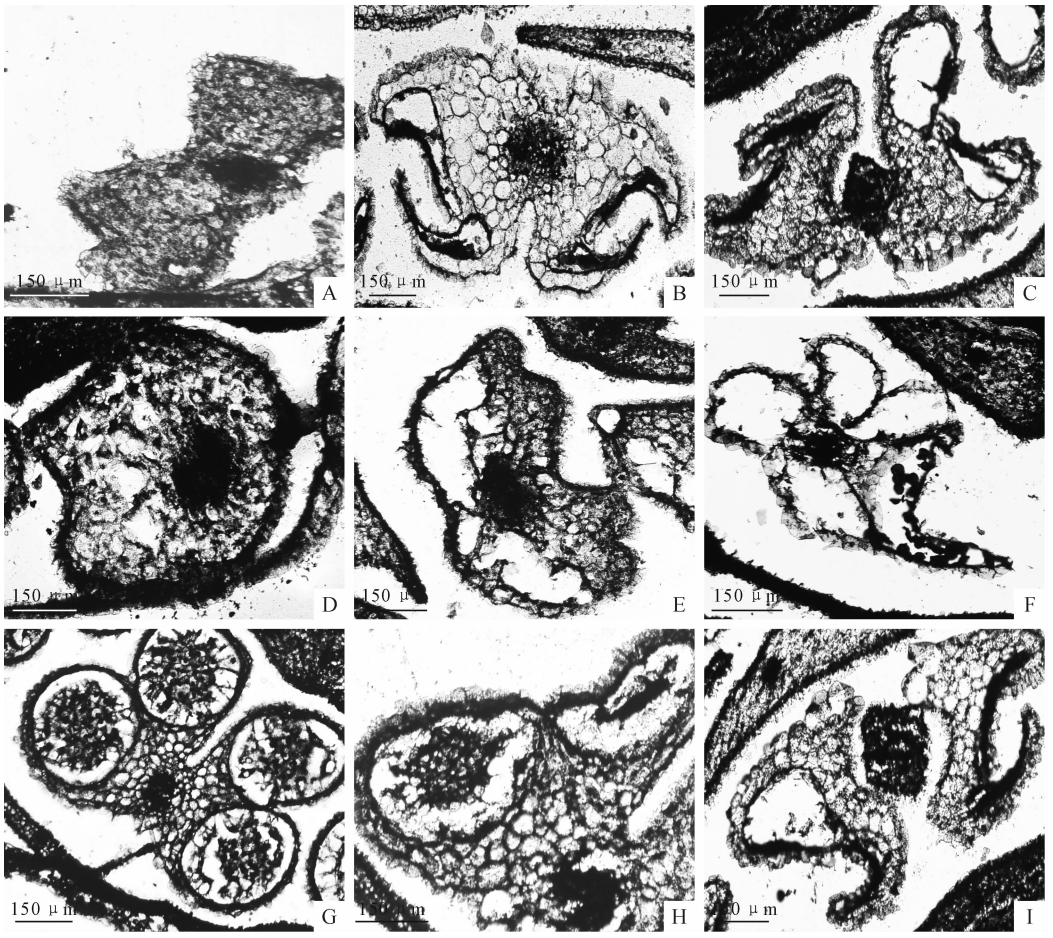

图 5 Pol10A、LRCMS 和 J39A、J68A 的花药发育过程

A. Pol10A 造孢细胞时期，×40；B. Pol10A 在造孢期开始退化，×40；C. Pol10A 花粉的退化，×40；D. LRCMS 孢原细胞时期，×40；E. LRCMS 在孢原细胞时期就开始退化，没有造孢细胞和壁细胞的分化，×40；F. LRCMS 在后期有的雄蕊有微量花粉散出，×40；G. J39A、J68A 四分体时期，该时期持续时间较长，×40；H. J39A、J68A 单核晚期，花粉囊内陷，小孢子相互挤压，×100；I. J39A、J68A 小孢子解体消失，×40

Fig. 5 The anther development of Pol10A, LRCMS, J39A and J68A

A. The sporogenous cell of the Pol10A, ×40; B. The sporogenous of Pol10A degenerated at the sporogenous stage, ×40; C. Pollen degeneration of the Pol10A, ×40; D. The Sporogonium cell of the LRCMS, ×40; E. The anther of LRCMS degenerated at the sporogonium stage without sporogenous cell and wall cell, ×40; F. The anther of LRCMS has some trace pollen, ×40; G. The tetrad period lasts for a long time of J39A and J68A, ×40; H. The period of late mononuclear; the pollen sacs were invaginated, the tapetum has degenerated, the microspores of J39A and J68A extrude mutually, ×100; I. The microspores of J39A and J68A degenerated and disappeared, ×40

性和超氧化物歧化酶活性在花蕾发育过程中迅速升高，显著高于保持系材料和可育系，在两类甘蓝型不育材料中也存在类似现象；不育系过氧化氢酶活性在开放的花中显著升高，高于可育系和保持系。同时，切片观察结果显示，LRCMS 在孢原时期或造孢时期就已经退化，并未形成绒毡层，所以抗氧化物酶活性在不育材料 LRCMS 的花蕾中迅速升高可能与绒毡层异常现象有关。另外，不育系可溶性蛋白含量也显著低于可育系，主要是由于雄性发育受到抑制导致蛋白质合成异常，花药发育所需物质和能量的匮乏，是最终导致雄性不育的重要因素。这与前人在不结球白菜不育系研究上得到的结果[18]类似。

3.2 白菜型冬油菜不育系 LRCMS 花蕾与花的 POD 同工酶谱

同工酶谱分析直接反映基因在生理生化水平的表达与调控情况[19]。本研究对 POD 同工酶酶谱分析表明，LRCMS 不育系在开放的花中较可育系中的酶谱谱带数明显增多，且迁移距离不同；LRCMS 较‘陇油 9 号’多了 1 条 Rf 值为 0.623 的谱带，且在现有的甘蓝型不育材料也缺乏此带。因此，此带

可视为 LRCMS 白菜型冬油菜不育的特征带，这条特异带的存在可能与育性有关。

3.3　白菜型冬油菜不育系 LRCMS 花药发育进程

本实验研究发现，甘蓝型不育系（J39A、J68A）花药发育受阻于四分体至单核花粉期，四分体以后，花药发育出现异常，小孢子释放困难，不分裂解体，表现延迟退化现象；Pol10A 和白菜型冬油菜不育系 LRCMS 属于无花粉囊型，它们的大部分花药发育一直处于孢原细胞时期或造孢细胞时期，没有壁细胞的分化，从而不能形成花粉囊。这与余凤群等[20]在‘陕 2A’等不育材料研究中得到的结果一致。

综上所述，白菜型冬油菜细胞质雄性不育系 LRCMS 花朵中 POD 活性普遍高于花蕾，其花朵中 POD、CAT 活性高于相应可育系‘陇油 9 号’，而花蕾中 SOD 活性、蛋白质含量低于可育系‘陇油 9 号’。LRCMS 与可育系‘陇油 9 号’及 Pol10A 等甘蓝型不育材料 POD 同工酶谱带差异明显，LRCMS 花中多 1 条 Rf 为 0.623 的谱带，且为 LRCMS 不育系特有的谱带。与 Pol10A 等甘蓝型不育材料在雄蕊发育上不同之处在于 LRCMS 雄蕊发育在造孢时期受到抑制。可见，LRCMS 是在白菜型冬油菜中发现的一种新型白菜型不育系。

参考文献：

[1] FU T D(傅廷栋)，YANG X N(杨小牛)，YANG G SH(杨光圣). Development and studies on polima cytoplasmic male sterile “Three Lines” in *Brassica napus* L. [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*(华中农业大学学报)，1989，**8**(3)：201－207(in Chinese).

[2] YU M N(俞咪娜)，DONG Y Y(董媛媛)，XU P F(徐攀峰)，*et al*. Progresses on studying infertility-related genes of cytoplasmic male sterility in *Brassica napus* L. [J]. *Journal of North China Agriculture*(华北农学报)，2008，23(S)：7－11(in Chinese).

[3] HU B CH(胡宝成). Progress of study on cytoplasmic male sterility in oilseed rape[J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*(中国农学通报)，1994，**10**(1)：15－18(in Chinese).

[4] HU B CH(胡宝成)，WANG Y(王　毅)，ZHAO R Q(赵仁渠)，*et al*. Discovery and observation of male-sterile materials of rapeseed(*B. campestris*)[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*(安徽农业科学)，1992，**20**(1)：45－47(in Chinese).

[5] CHEN F X(陈凤祥)，HU B CH(胡宝成). Preliminary study on cytoplasmic male sterile line“Guangfeng A” in *Brassica chinensis*[J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*(安徽农业科学)，1993，**21**(4)：337－339(in Chinese).

[6] 刘后利. 实用油菜栽培学[M]. 上海：上海科学技术出版社，1987：32－36.

[7] JIANG P D(蒋培东)，ZHU Y G(朱云国)，WANG X L(王晓玲)，*et al*. Metabolism of reactive oxygen species in the cytoplasmic male-sterile cotton anther[J]. *Scientia Agricultura Sinica*，2007，**40**(2)：244－249(in Chinese).

[8] YU X N(余筱南)，ChEN J X(陈金湘)，LI R L(李瑞莲)，*et al*. Study on the selection and application of cotton thermo-sensitivesterility line“Temian S-1”[J]. *Cotton Science*(棉花学报)，2003，**15**(6)：380－381(in Chinese).

[9] DUAN J(段　俊)，LIANG CH Y(梁成邺)，ZHANG M Y(张明永). The relationship between membrane lipid peroxidation and cytoplasmic male sterility in maize[J]. *Plant Physiology Communications*(植物生理学通讯)，1996，**32**(5)：331－334(in Chinese).

[10] LU H D(逯红栋)，GONG ZH H(巩振辉)，HUANG W(黄　炜). Physiological and biochemical characteristics of flower buds in nine male sterile lines of pepper(*Capsicun annuum*)[J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*(西北植物学报)，2006，**26**(4)：832－835(in Chinese).

[11] YU F Q(余凤群)，FU T D(傅廷栋). Cytological research on anther development of several varieties in *Brassica napus* L. [J]. *Chinese Oil*(中国油料)，1988，(4)：23－25(in Chinese).

[12] YANG G SH(杨光圣)，QU B(瞿　波). Cytological study of microsporogenesis in three recessive genic male sterile lines of *Brassica napus* L. [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*(华中农业大学学报)，1999，**18**(6)：520－523(in Chinese).

[13] 陈平平. 两个新型油菜雄性不育系 681A 和 trans Ⅰ的细胞学机理的研究[D]. 长沙：湖南农业大学，2004.

[14] DONG J G(董军刚)，DONG ZH SH(董振生)，LIU X X(刘绚霞)，*et al*. Cytological studies on anther development of ecological male sterile line 533S in *Brassica napus* L. [J]. *Journal of Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry*(Nat. Sci. Ed.)(西北农林科技大学学报·自然科学版)，2004，**32**(7)：61－66(in Chinese).

[15] WEI W L(危文亮)，WANG H ZH(王汉中)，LIU G H(刘贵华). Anatomical observations of anther development of NCa，a cytoplasmic male sterile line in rapeseed(*Brassica napus* L.)[J]. *Scientia Agricultura Sinica*(中国农业科学)，2005，**38**(6)：1 232－1 237(in Chinese).

[16] 刘祖祺，张石诚. 抗性生理学[M]. 北京：中国农业出版社，1990：371－372.

[17] 邹　琦. 植物生理学实验指导[M]. 北京：中国农业出版社，2000：7.

[18] TANG W H(汤伟华)，ZHANG SH N(张蜀宁)，KONG Y E(孔艳娥)，*et al*. Comparison on physiological and biochemical properties of Pol CMS lined and 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).

[19] 王中仁. 植物等位酶分析[M]. 北京：科学出版社，1998.

[20] YU F Q(余凤群)，FU T D(傅廷栋). Cytomorphological research on anther development of several male-sterile lines in *Brassica napus* L. [J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*(武汉植物学研究)，1990，**8**(3)：210－214(in Chinese).