

DOI: 10.3969/j.issn.1000-3142.2013.04.003

周琼, 周瑶瑶, 唐向民 等. 红麻细胞质雄性不育系与保持系花药活性氧代谢差异比较[J]. 广西植物, 2013, 33(4): 443-448

Zhou Q, Zhou YY, Tang XM, et al. Comparative research of reactive oxygen species metabolisms of the CMS line and the maintainer lines in Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) anther[J]. *Guihaia*, 2013, 33(4): 443-448

## 红麻细胞质雄性不育系与保持系 花药活性氧代谢差异比较

周 琼<sup>1</sup>, 周瑶瑶<sup>1</sup>, 唐向民<sup>2</sup>, 周瑞阳<sup>1\*</sup>, 李春瑶<sup>1</sup>

( 1. 广西大学 农学院, 南宁 530005; 2. 广西农科院, 南宁 530007 )

**摘 要:** 以红麻细胞质雄性不育系 L23A 及其保持系 L23B 为材料, 比较其花药淀粉及可溶性糖含量变化并分析呼吸速率、活性氧产生速率、丙二醛(MDA) 含量以及活性氧清除酶(POD、SOD) 含量变化, 来探讨活性氧伤害与红麻雄性不育的关系。结果表明: 在小孢子发育的单核期, 不育系呼吸速率与保持系差异不明显, 但不育系花药 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量高于保持系; 在双核期, 不育系的呼吸速率明显低于其保持系, 但不育系花药 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 含量与保持系花药相近; 不育系在单核期和双核期的呼吸速率几乎没有变化, 而保持系同一时期的呼吸速率呈明显增高趋势; 在不育系败育过程中, 药隔维管组织中的大颗粒淀粉含量几乎不变, 且不育系花药中的可溶性糖含量在单核期和双核期均低于保持系。推测是由于不育系花药中抗氰呼吸降低, 一方面导致花药物质代谢和能量代谢的紊乱, 不育系花药不能利用药隔组织中的淀粉粒, 另一方面不能有效将细胞内过多电子通过抗氰呼吸传至 O<sub>2</sub>, 引致不育花药中 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 升高, 从而导致 MDA 含量在单核期和双核期均高于保持系, 同时 POD 的活性在单核期及双核期均低于保持系, 而 SOD 活性在单核期高于保持系, 在双核期则低于保持系。不育系花药在发育中, 花药 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和 MDA 过量积累, 以及 SOD 和 POD 酶活性降低, 导致活性氧产生与清除失去平衡, 花粉败育。

**关键词:** 红麻; 细胞质雄性不育; 活性氧

中图分类号: Q945 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2013)04-0443-06

## Comparative research of reactive oxygen species metablisms of the CMS line and the maintainer lines in Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) anther

ZHOU Qiong<sup>1</sup>, ZHOU Yao-Yao<sup>1</sup>, TANG Xiang-Min<sup>2</sup>,  
ZHOU Rui-Yang<sup>1\*</sup>, LI Chun-Yao<sup>1</sup>

( 1. College of Agronomy, Guangxi University, Nanning 530005, China; 2. Guangxi  
Academy of Agricultural Science, Nanning 530007, China )

**Abstract:** Kenaf (*Hibiscus cannabinus*) anther of the cytoplasmic male-sterile( CMS) line L23A and its maintainer line L23B were employed as experimental materials to reveal the relationship between CMS and metabolisms of reactive oxygen species ( ROS) by observing changes of starch and soluble sugar contents and comparing productions of superoxide

收稿日期: 2013-02-06 修回日期: 2013-04-02

基金项目: 国家自然科学基金( 30471106 )

作者简介: 周琼( 1967- ) 女, 重庆人, 博士, 高级实验师, 主要从事植物学教学和科研工作 ( E-mail) qiong9578@126.com。

\* 通讯作者: 周瑞阳, 博士, 教授, 主要从事植物雄性不育与杂种优势利用研究 ( E-mail) ry\_zhou@tom.com。

anion radical( $O_2^- \cdot$ ), respiratory rate as well as content of malonadehyde (MDA) and active oxygen exterminating enzymes (SOD and POD). The results showed that there was no evident difference between respiratory rate of CMS line and that of maintainer line at mononuclear stage, but anther of CMS line had higher content of  $O_2^- \cdot$  than that of maintainer line at this stage. Respiratory rate in anther of the CMS was lower than that of maintainer line at binucleate pollen stage, while  $O_2^- \cdot$  content in sterile anther approximated to that in fertile anther of maintainer line. There was no evident change in respiratory rate of CMS line at mononuclear stage and binucleate pollen stage, but respiratory rate in anther of maintainer line obviously increased from mononuclear stage to binucleate pollen stage. With the growth of anther, big starch grains content in L23A connective did not change during its microsporogenesis and soluble sugar content in L23A was lower than that of L23B at both of mononuclear stage and binucleate pollen stage. This possibility gave rise to the speculations that the decline of cyanide-resistant respiration in anther lead to disturbance of material metabolism and energy metabolism and starch grains presented in the connective tissue were not utilized by anther of the CMS line, meanwhile the intracellular surplus electrons were not effectively passed on to  $O_2$  by cyanide-resistant respiration, which leads to increase  $O_2^- \cdot$  content in anther of CMS line so that there is higher MDA content in anther of CMS line at mononuclear stage and binucleate pollen stage. Simultaneously, POD activity was lower than that of its maintainer line at mononuclear stage and binucleate pollen stage. While activity of SOD was higher than that of its maintainer line at mononuclear stage, but lower than that of its maintainer line at binucleate pollen stage. During the abortion of CMS anther,  $O_2^- \cdot$  and MDA excessively accumulate in CMS anther and activity of SOD and POD would decline, which disrupted the balance between the production and elimination of ROS and made pollen mother cells apoptosis.

**Key words:** Kenaf; cytoplasmic male sterility; reactive oxygen species

植物细胞质雄性不育 (cytoplasmic male sterility, CMS) 是一种由细胞质基因控制的不能产生可育花粉的母性遗传性状, 利用 CMS 进行杂交制种, 可免去人工去雄, 节省大量的人力物力, 并可提高杂交种子的纯度, 增加农作物的产量, 是作物杂种优势利用的主要途径, 其机理的研究一直是国内外学者研究的重点和热点, 在细胞质雄性不育中, 胞质中线粒体的作用举足轻重, 线粒体既是呼吸代谢的重要场所, 也是活性氧形成的场所之一 (Touzet & Budar, 2004)。由于细胞质中的线粒体基因突变引起能量供求不平衡可能是造成细胞质雄性不育系花粉败育的直接原因; 另一方面也可能通过呼吸链电子漏途径产生超氧阴离子, 并通过链式反应形成对机体有损伤作用的活性氧导致 MDA 的积累, 对有机体的结构和功能造成伤害, 从而引起相关组织的生理生化紊乱 (Hanson *et al.*, 2004; 文李等, 2006)。其中, 过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 和超氧阴离子活性氧 ( $O_2^- \cdot$ ) 为最先产生的活性氧, 植物可通过体内非酶促或酶促反应来控制活性氧的浓度, 清除活性氧以避免对其生长造成伤害, 当不能维持活性氧的形成与清除之间的平衡关系时, 就会在植物体内积累活性氧, 从而影响植物的生长发育 (张明永等, 1997; 张建奎等, 2001), 大量的研究都表明活性氧伤害与植物雄性不育密切相关 (Li 等, 2004; 赵会杰等,

1996), 但红麻细胞质雄性不育的呼吸特性研究未见报道。红麻 (*Hibiscus cannabinus*) 为锦葵科木槿属 (*Hibiscus*) 纤维植物, 被认为是 21 世纪具有很大发展潜力的多用途作物 (李德芳, 2007)。红麻以收获韧皮纤维或茎秆为栽培目的, 易于获得杂种优势, 其杂种优势利用是国内外长期以来研究的热点和难点。周瑞阳于 2001 年在海南冬繁的野生材料中发现了 1 株雄性不育突变体, 以该突变体为材料于 2004 年选育出了红麻细胞质雄性不育系 K03A (桂科鉴字 [2004] 第 152 号)。2007 年又鉴定了包括 L23A 在内的 6 个细胞质雄性不育系, 被评价为国际同类研究的领先水平 (桂科鉴字 [2007] 第 177 号)。李德芳等 (2007) 报道发现的红麻雄性不育株为质核互作型雄性不育系, 但没报道其细胞质的来源。由于红麻为常异交作物, 其遗传基础较复杂, 环境因素与基因的互作常导致红麻雄性不育的不稳定。因此, 加强红麻雄性不育机理的基础科学研究, 就显得非常重要。细胞学研究表明 L23A 小孢子发育的不同阶段均出现败育现象, 最早的败育表现为花粉母细胞在减数分裂之前的退化解体, 最终形成空的花粉囊, 是一种无花粉粒的雄性不育 (周琼等, 2010), 雄性细胞退化早, 凋亡彻底, 同时又因红麻不以收获种子为栽培目的, 且具有无限花序, 花药多且大的特点, 为研究细胞质雄性不育机理提供了极为合适的

材料体系。为此,本研究拟以细胞质雄性不育系 L23A 和保持系 L23B 为材料,采用主要生理指标测定结合细胞学研究探讨红麻细胞质雄性不育与活性氧代谢的内在联系。

## 1 材料与方法

以红麻细胞质雄性不育系 L23A 及其保持系 L23B 为材料。2009 年 4 月播种,10 月中旬盛花期结合镜检,根据红麻单核期和双核期花蕾的大小、颜色,分别采红麻细胞质雄性不育 L23A 单核期和双核期的花蕾、保持系 L23B 单核期和双核期的花蕾,分别剥取花药顺序以 LA<sub>s</sub>、LA<sub>d</sub>、LB<sub>s</sub>、LB<sub>d</sub> 代表及叶片采摘从枝顶端第一片充分展开的向下数共采 10 片叶片,用于丙二醛含量、超氧负离子含量以及过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性和呼吸速率的测定。

取红麻植株主茎上不同发育时期的花蕾,在实验室内将已剥去花被的花蕊部分投入卡诺固定液中固定,用于切片。

可溶性糖含量测定采用蒽酮比色法(赵世杰等,1998);丙二醛(MDA)含量测定采用硫代巴比妥酸(TBA)法(赵世杰等,1998);超氧化物歧化酶(SOD)活性测定采用氮蓝四唑(NBT)还原法(赵世杰等,1998);过氧化物酶(POD)活性测定采用愈创木酚比色法(赵世杰等,1998);O<sub>2</sub><sup>-</sup>含量的测定采用羟胺反应法(薛应龙,1985);呼吸速率采用微量定积测压计测定呼吸作用(薛应龙,1985)。每样品测定重复 3 次取平均值。

梯度酒精脱水,TO 透明剂透明,石蜡包埋,连续切片,切片厚度设为 8~15 μm,用碘-碘化钾(I<sub>2</sub>-KI)等组织化学法针对淀粉进行定性染色(尤瑞麟,2008)。Leica DMLB 型光学显微镜下观察并拍照。

试验数据采用 SPSS 程序中通用线性模式型单因素变量分析法进行分析,用 Duncan 法进行多重比较。

## 2 结果与分析

### 2.1 雄性不育保持系 L23B 和 L23A 小孢子组织化学观察

由图版 I 可见红麻 L23B 花药从小孢子母细胞时期就含有较多的淀粉粒,分布在药隔维管束周围的颗粒较大也较多,其他组织的较小,整个花药染色

较深(图版 I:A、B)。从单核靠边期至双核期,除绒毡层含淀粉粒较多,药室壁其他组织染色变浅,同时小孢子外壁染色较深(图版 I:C),含有较多的淀粉,但维管束周围大颗粒淀粉减少,表明大颗粒淀粉被利用。L23A 花药在发育早期,有少量的淀粉分布于药隔维管束周围及药室壁周围,随着花药的发育,花药中的大颗粒淀粉粒不消失,但整个花药呈现变浅的正反应,在花粉母细胞时期大颗粒淀粉粒合成已经相对于保持系较少,且在花药发育过程中也未被花粉利用(图版 I:D、E)。

### 2.2 保持系和不育系单核期和双核期呼吸速率比较

由表 1 可见红麻保持系的双核期花药呼吸速率高于单核期,而红麻不育系双核期呼吸速率与单核期的无显著差异;在单核期红麻不育系与保持系的呼吸速率无显著差异,但在双核期,保持系的呼吸速率明显高于不育系,差异达到了极显著。

表 1 红麻不育系和保持系单核期和双核期呼吸速率和可溶性糖含量比较

Table 1 Comparison of respiratory rate and the soluble sugar content between the male sterile lines and its maintainer in mononucleate and binucleate in Kenaf

材料 Material	呼吸速率 Respiratory rate ( $\mu\text{L O}_2 \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ )	可溶性糖含量 Soluble sugar content (%)
L23Bs	18.69±2.85Bb	2.00±0.21Bc
L23Bd	27.84±4.04Aa	2.89±0.14Aa
L23As	14.38±1.13Bb	1.32±0.06Cd
L23Ad	18.80±1.74Bb	2.50±0.24Ab

注:数据后字母表示差异显著性,大、小写字母分别表示在 0.01,0.05 水平下的差异显著程度,字母相同表示差异不显著。下同。

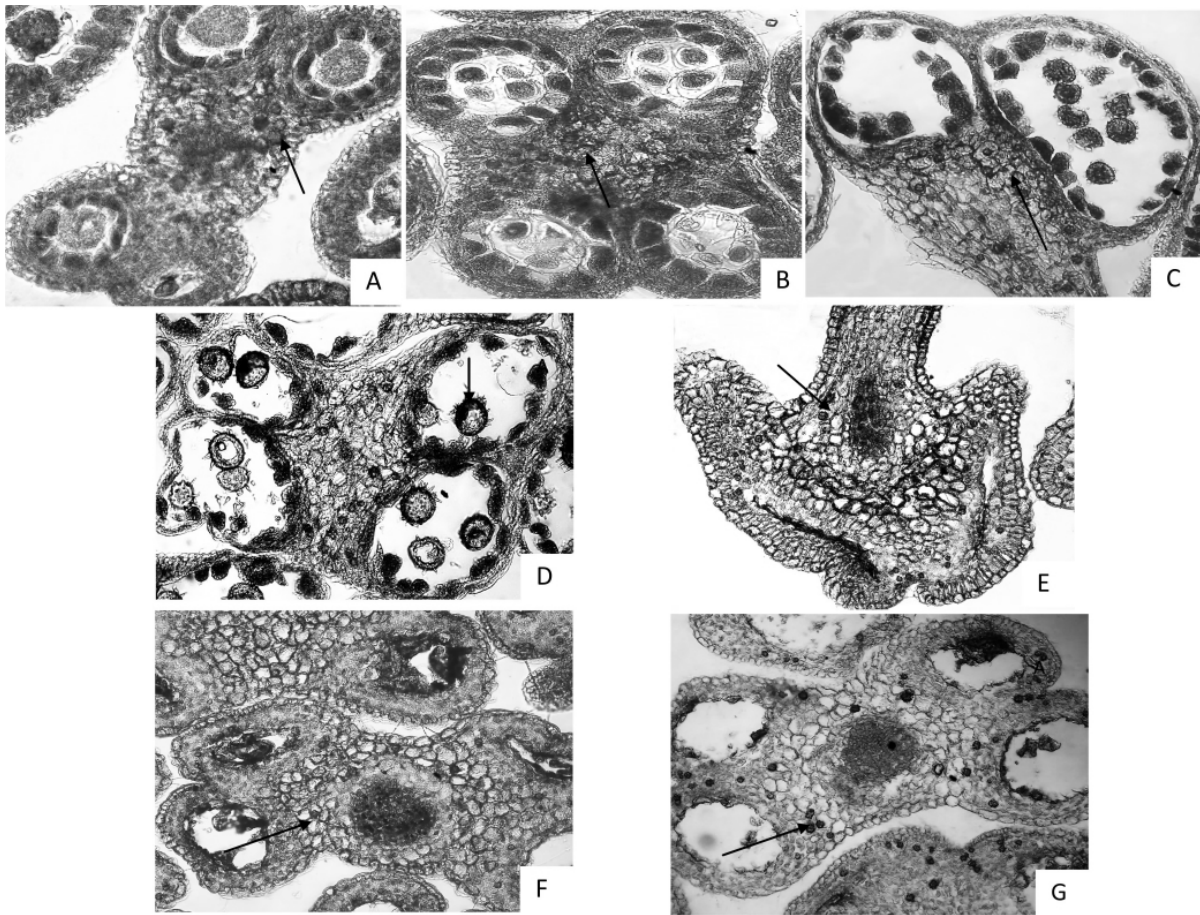
Note: The letters mean significant differences, significant at 0.01 level for the capital letter and 0.05 level for the small letter respectively, the same letters mean no significant differences. The same below.

从表 1 可以看出,红麻保持系与不育系单核期花药中的可溶性糖含量均低于双核期,达到了极显著差异;单核期不育系的花药中可溶性糖含量极显著( $P<0.01$ ) 低于保持系,达 51.5%,双核期不育系花药中可溶性糖含量也显著( $P<0.05$ ) 低于保持系,达 15.6%。

### 2.3 保持系和不育系材料中丙二醛、超氧负离子含量和 POD、SOD 活性比较

由表 2 可见,红麻不育系和保持系花药中的丙二醛含量由单核期到双核期均成下降趋势,差异达到极显著;而不育系单核期和双核期花药中的丙二醛含量分别均比保持系的高,分别比保持系高 205.5% 和 135.5%,差异达到极显著,且单核期

的差异比双核期大;红麻不育系叶片中的丙二醛含量也比保持系的高,达到极显著差异。



图版 I 碘-碘化钾反应显示淀粉粒 ( $\times 400$ ) L23B (A-D) A. 花粉母细胞和药室壁含丰富淀粉粒示大颗粒淀粉(箭头); B, C. 四分体时期及单核期小孢子及绒毡层含丰富的淀粉粒示大颗粒淀粉(箭头); D. 成熟花药小孢子壁含丰富淀粉粒(短箭头)示大颗粒淀粉(长箭头); L23A (E-G) E-F. 花粉母细胞时期和单核期含少量淀粉粒示大颗粒淀粉(箭头); G. 花药成熟期含少量淀粉粒示大颗粒淀粉(箭头)。  
Plate I Anther section tested for polysaccharides with  $I_2$  ( $\times 400$ ) L23B (A-D) A. Section of an anther showing many starches in the microspore mother cells and its wall layers with big starches in the connective tissue (shown by arrow); B, C. Section of an anther at tetrad stage and mononuclear stage showing many starches in microspores and tapetum with big starches in the connective tissue (shown by arrow); D. Section of an anther at binucleate showing many starches in shell of pollen (shown by short arrow) with big starches (shown by long arrow) in the connective tissue; L23A (E-G) E-F. Section of an anther showing a few starches in the microspore mother cells and mononuclear stage with big starches (shown by arrow) in the connective tissue; G. Section of an anther at binucleate showing a few starches in it with big starches (shown by arrow) in the connective tissue.

红麻不育系和保持系花药中  $O_2 \cdot$  含量由单核期到双核期均成升高趋势,差异达到极显著;而在单核期花药中,不育系的  $O_2 \cdot$  含量要比保持系的高,比保持系高 163.3%,到了双核期不育系与保持系花药的  $O_2 \cdot$  产生效率无明显差异;在叶片中不育系的  $O_2 \cdot$  产生效率要比保持系的高,达极显著差异。

红麻不育系和保持系花药中的过氧化物酶(POD)活性由单核期到双核期均呈升高趋势,差异达到极显著,其中保持系双核期过氧化物酶(POD)活性比单核期高了 116%,而不育系双核期过氧化物酶(POD)活性比单核期高了 225.7%;且保持系

单核期和双核期花药中的过氧化物酶活性均比不育系的高,差异达到极显著,单核期时保持系花药中的过氧化物酶活性比不育系的高 108.3%,双核期时保持系花药中的过氧化物酶活性比不育系的高 38.1%。

与红麻花药中的过氧化物酶活性变化相反,红麻不育系和保持系花药中的超氧化物歧化酶(SOD)活性由单核期到双核期呈下降趋势,差异达到极显著;单核期红麻不育系花药中的超氧化物歧化酶(SOD)活性比保持系的高 101.6%,双核期花药中的超氧化物歧化酶(SOD)活性比保持系的

低 15.2% , 差异达到极显著; 叶片中保持系 SOD 和 POD 活性均比不育系高, 差异显著。

表 2 红麻保持系和不育系中丙二醛、超氧负离子含量和 POD、SOD 活性

Table 2 Contents of MDA,  $O_2^- \cdot$ , POD and SOD activities in the male sterile lines and its maintainer in Kenaf

材料 Material	丙二醛 MDA content ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	超氧负离子 含量 $O_2^- \cdot$ ( $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)	过氧化物 酶活性 POD activity ( $\Delta\text{OD}_{470} \cdot \text{g}^{-1}$ $\cdot \text{min}^{-1}$ FW)	超氧化物 歧化酶活性 SOD activity ( $\text{U} \cdot \text{g}^{-1}$ FW)
L23B 叶	213.27± 6.72Cd	161.69± 10.22Dd	27.99± 1.68Cc	263.02± 8.10Cc
L23A 叶	532.80± 14.57Ab	213.77± 11.48Cc	25.76± 1.46Cd	254.62± 10.31CDc
L23Bs	181.82± 8.79De	119.65± 12.21Ee	20.98± 1.11De	542.16± 14.30Bb
L23Bd	120.94± 8.85Ef	610.66± 10.25Aa	45.31± 1.20Aa	268.97± 5.98Cc
L23As	555.55± 13.69Aa	315.08± 13.71Bb	10.07± 0.54Ef	740.31± 14.01Aa
L23Ad	284.77± 10.40Bc	626.65± 11.32Aa	32.81± 1.19B b	233.48± 12.48Dd

### 3 结论与讨论

植物细胞质雄性不育是一种母性遗传现象, 细胞质线粒体的作用至关重要。花粉的正常发育被破坏是线粒体机能障碍的结果(He *et al.*, 1996; Gutierrez *et al.*, 1997)。大量的胞质雄性不育系的研究表明, 不育系花药的呼吸速率低于保持系(张明永等, 1998), 且不育系抗氰呼吸速率占总呼吸的比率远低于保持系(夏涛等, 1988), 甚至发现不育系缺乏抗氰呼吸途径, 而保持系花蕾中的抗氰呼吸途径正常存在(陈贤丰等, 1990)。呼吸速率是生物体能量代谢程度的宏观表现, 总呼吸速率的降低, 可能会导致花药物质和能量代谢的紊乱, 造成能量供应不足, 引起小孢子发育异常。通过对本次试验结果的分析发现: 在单核期红麻不育系花药呼吸速率与保持系的差异不明显, 但在双核期呼吸速率明显低于相应的保持系, 保持系的呼吸速率从单核期到双核期是明显增高的趋势, 而不育系在单核期和双核期的呼吸速率几乎无变化, 同时观察到不育系花药花粉母细胞时期药隔维管组织周围及药室壁中的大颗粒淀粉的量相对于保持系较少, 至花药成熟时期其大颗粒淀粉的量没有发生明显变化, 表明不育系花药不能利用药隔组织中的淀粉粒, 并且不育系单核期花药和双核期花药中可溶性糖含量明显低于保持系。糖是输入花药的主要营养物质, 不育

系药隔中的大颗粒淀粉不能被利用, 同化物运输受阻使得花药中可溶性糖缺乏。推测在单核期呼吸作用已经异常, 导致花药物质代谢和能量代谢的紊乱, 从而不能利用药隔组织中的淀粉粒, 最终对小孢子的发育产生严重影响, 从另一侧面佐证呼吸代谢参与了红麻细胞质雄性不育。

$O_2$  是植物生命活动所必需的, 呼吸代谢与活性氧的形成均涉及电子传递到氧的问题, 呼吸代谢将电子传递到氧形成  $H_2O$ , 而后者将氧单电子还原形成  $O_2^- \cdot$  (王爱国等, 1989)。在高等植物导致氧还原的两条电子传递途径中, 抗氰呼吸途径只有一个末端氧化酶(alternative oxidase, AOX), 它不合成 ATP, 只起平衡代谢和传递电子的作用, 可以防止电子传递链过度还原产生活性氧(潘瑞炽等, 1995)。交替呼吸的正常运转是有效减少呼吸电子传递途径中形成  $O_2^- \cdot$  的必要条件(Boveris, 1978)。抗氰呼吸的可能作用之一是在逆境条件下耗散细胞内的过多电子, 将之传递至  $O_2$  形成  $H_2O$ , 减少  $O_2^- \cdot$  形成的可能(Purvis, 1997)。本实验中, 不育系的  $O_2^- \cdot$  含量比保持系的高, 但在双核期呼吸速率明显低于相应的保持系, 保持系的呼吸速率从单核期到双核期是明显增高的趋势, 不育系在单核期和双核期的呼吸速率几乎无变化, 这个结果可能是不育系花药中的抗氰呼吸低下, 不能有效地将细胞内过多电子通过抗氰呼吸传至  $O_2$ , 导致不育花药中  $O_2^- \cdot$  形成较高的原因之一。植物可通过活性氧清除系统来控制体内活性氧的浓度, 以避免植物由于活性氧过量积累造成的伤害。植物的 ROS 清除系统包括 ROS 清除酶如 POD、SOD、CAT 等。POD 能催化  $H_2O_2$  和  $O_2$ , SOD 是一种十分典型的诱导酶, 既可被  $O_2$  诱导而活性提高, 又能催化  $O_2^- \cdot$  发生歧化反应, 生成  $H_2O_2$  和  $O_2$  (潘瑞炽等, 1995)。关于作物雄性不育与活性氧代谢及抗氧化酶活性变化关系, 前人分别从胞质差异或质核差异角度对不同作物(赵会杰等, 1996; 黄晋玲等, 2004) 做过研究, 表明活性氧代谢失调, 物质代谢紊乱是导致作物雄性不育的重要原因, 但涉及活性氧清除酶系统活性变化规律上结论不尽一致, 本研究结果表明与清除活性氧有关的酶如 POD 的活性低于保持系, 且从单核期到双核期二者均呈升高趋势, 但 SOD 与前人的研究结果不一致, 本研究发现在单核期不育系 SOD 活性高于保持系, 结果与本课题另一研究内容 SSH 文库的结果吻合(周琼, 2010)。即在单核期与双核期, 不育系花药中与超氧化物歧化酶的相关基因均上调表达, 但在双核期上

调表达的量比单核期少,导致在双核期,不育系 SOD 活性比保持系低。由以上结果分析可看出在单核期红麻胞质雄性不育系花药  $O_2^- \cdot$  产生量增加,诱导 SOD 活性提高,不育系中 SOD 迅速将  $O_2^- \cdot$  催化转变成  $H_2O_2$ ,但 POD 不足以迅速清除  $H_2O_2$ ,从而造成不育株中  $H_2O_2$  积累,而  $H_2O_2$  在金属离子作用下产生羟基自由基(OH $\cdot$ )它是化学性质最活泼的活性氧,几乎能和生物体内的所有分子发生反应(Halliwe, 1981)。这可能是造成 MDA 含量在单核期和双核期均高于保持系原因之一。但由于维持这种现状能力有限,到了双核期,POD 活性增高,而 SOD 活性下降,清除  $O_2^- \cdot$  能力下降,因而  $O_2^- \cdot$  产生速率增大,虽然 MDA 含量下降,但高于保持系,最终活性氧的产生与清除的平衡被破坏。推测红麻不育系不能将体内形成的活性氧及时清除掉,因而导致红麻体内活性氧过量积累,膜脂过氧化,引起丙二醛积累,致使红麻花粉发育不正常,导致败育。

#### 参考文献:

- 王爱国,罗广华,邵从本,等. 1989. 植物的氧代谢及活性氧对细胞的伤害[M]//中国科学院华南植物研究所集刊(第5集),北京:科学出版社:11-23
- 尤瑞麟. 2008. 植物学实验技术教程[M]. 北京:北京大学出版社:72-78
- 周琼. 2010. 红麻 CMS 小孢子败育的细胞学特征、生理生化基础及不育系与保持系 cDNA 差减文库的构建[D]. 南宁:广西大学农学院
- 赵世杰,刘华山,董新纯. 1998. 植物生理学实验指导[M]. 北京:中国农业科技出版社:10:120-164
- 薛应龙. 1985. 植物生理学试验[M]. 北京:高等教育出版社
- 潘瑞炽,董愚得. 1995. 植物生理学(第三版)[M]. 北京:高等教育出版社:319-320, 220-221
- Boveris A. 1978. Antimycin-and cyanide-resistant respiration and superoxide anion production in fresh and aged potato tuber mitochondria[J]. *FEBS Lett* **92**:333-338
- Chen XF(陈贤丰),Liang CY(梁承邨). 1990. Study on the relationship between cytoplasmic male-sterility and cyanide-resistant respiration of tissues in rice(*Oryza sativa*) (水稻细胞质雄性不育性与组织抗氰呼吸关系的研究)[J]. *Chin J Rice Sci*(中国水稻科学) **4**(2):92-94
- Gutierrez S, Sabar M, Lelandais C, et al. 1997. Lack of mitochondrial and nuclear-encoded subunits of complex I and alteration of the respiratory chain in nicotiana sylvestris mitochondrial deletion mutants[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*. **94**:3436-3441
- Halliwell B. 1981. The Structure and Function of Chloroplasts in Green Leaf Cells, in Chloroplast Metabolism [M]. Oxford: Charendon Press:186
- Hanson MR, Bentolila S. 2004. Interaction of mitochondrial and nuclear genes that affect male gametophyte development[J]. *Plant Cell*: **16**:154-169
- He S, Abad AR, Gelvin SB, et al. 1996. A cytoplasmic male sterility-associated mitochondrial protein causes pollen disruption in transgenic tobacco[J]. *Proc Natl Acad Sci USA* **93**:11763-11768
- Huang JL(黄晋玲),Yang P(杨鹏),Li BL(李炳林). 2004. Study on activity of several enzymes of cytoplasmic male-sterile cotton Line Jin A(棉花晋 A 细胞质雄性不育系酶活性的研究)[J]. *Acta Gossyp Sin*(棉花学报) **16**(4):229-232
- Li DF(李德芳). 2007. A new use and international cooperation on Kenaf/Jute(红/黄麻新用途综合开发与国际合作)[J]. *Plant Fiber Sci Chin*(中国麻业科学)(增刊):411-414
- Li DF(李德芳),Chen AG(陈安国),Tang HJ(唐慧娟). 2007. Discovery and primary development of cytoplasmic-nuclear male sterility in Kenaf(红麻质核互作型雄性不育系的发现及初步创制). *Plant Fiber Sci Chin*(中国麻业科学) **2**:78
- Li SQ,Wan CX,Kong J et al. 2004. Programmed cell death during microgenesis in a Honglian CMS line of rice is correlated with oxidative stress in mitochondria[J]. *Funct Plant Biol* **31**:369-376
- Purvis AC. 1997. Role of the alternative oxidase in limiting superoxide production by plant mitochondria[J]. *Physiol Plant* **100**:165-170
- Touzet P, Budar F. 2004. Unveiling the molecular arms race between two conflicting genomes in cytoplasmic male sterility?[J]*Trends Plant Sci* **9**(12):568-570
- Wen L(文李),Liu G(刘盖),Zhang ZJ(张再君),et al. 2006. Preliminary proteomics analysis of the total proteins of HL type cytoplasmic male sterility rice anther(红莲型水稻细胞质雄性不育花药蛋白质组学初步分析)[J]. *Hereditas*(遗传) **28**(3):311-316
- Xia T(夏涛),Liu JL(刘纪麟). 1988. Study on the relation between cytoplasmic male sterility in maize and cn-resistant respiration in tissues(玉米胞质雄性不育与组织抗氰呼吸关系的研究)[J]. *Sci Agric Sin*(中国农业科学) **21**(5):39-43
- Zhang YM(张明永),Liang CY(梁承邨),Duan J(段俊). 1997. Study on activated oxygen metabolism in the cytoplasmic male sterility line and its maintainer of polima rape(油菜细胞质雄性不育系发育进程中活性氧的代谢)[J]. *Acta Bot Sin*(植物学报) **39**(5):480-482
- Zhang YM(张明永),Liang CY(梁承邨),Huang YW(黄毓文) et al. 1998. Comparison of respiratory of CMS and its maintainer rice(*Oryza sativa* L.) (水稻细胞质雄性不育系与保持系的呼吸途径比较)[J]. *Acta Phytophysiol Sin*(植物生理学报) **24**(1):55-58
- Zhang JK(张建奎),Zong XF(宗学凤),Wang JY(王俊义) et al. 2001. Changes of activity of protective enzymes in anther of thermo-photo-sensitive genic Male-sterile wheat(温光敏核雄性不育小麦花药中保护酶活性的变化)[J]. *J Triticeae Crops*(麦类作物学报) **21**(4):26-30
- Zhao HJ(赵会杰),Liu HS(刘华山),Lin XW(林学梧) et al. 1996. Study on relationship between anther abortion of cytoplasmic male-sterile wheat lines and metabolism of active oxygen(小麦胞质不育系花药败育与活性氧代谢关系的研究)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报) **22**(3):365-367
- Zhou Q(周琼),Li H(黎桦),Zhao J(赵嘉) et al. 2010. Cytological and cytochemical observation on microspore abortion of GMS and CMS in Kenaf(*Hibiscus cannabinus* L.) (红麻 GMS 与 CMS 小孢子败育过程的细胞学及组织化学比较)[J]. *Acta Agron Sin*(作物学报) **36**(8):1414-1424