

# DIECA 对小麦雄性育性的影响

刘海英<sup>1</sup>,孔陈源<sup>1</sup>,茹振钢<sup>2</sup>,董娜<sup>2</sup>,陈向东<sup>2</sup>,  
陈芸<sup>1</sup>,黄康兴<sup>1</sup>,黄紫薇<sup>1</sup>,聂莹莹<sup>1</sup>

(1.河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007;2.河南科技学院 小麦中心,河南 新乡 453003)

**摘要:**为探究 DIECA(sodiumdiethyldithiocarbamate,二乙基二硫代氨基甲酸钠)对小麦雄性育性的影响,以小麦温敏雄性不育系 BNS366 及其近等基因系郑麦 366 为试验材料,在正常秋季播种(2021-10-13)和晚播(2021-12-01)条件下,于 2022 年春季小麦雌雄蕊原基分化期至开花期采用酶联免疫法测定幼穗和花药中内源 MeJA 含量,采用 0(清水,CK)、0.1、1、5、10、20 和 30 mmol·L<sup>-1</sup> DIECA 水溶液对小麦进行全株喷施处理,用 I<sub>2</sub>-KI 法测定花粉可育率;用国内法和国际法测定自交结实率.结果表明:在正常秋季播种条件下,在花药母细胞期后,郑麦 366 内源 MeJA 含量出现了刺激性增长,BNS366 则出现不足现象;1 mmol·L<sup>-1</sup> 和 5 mmol·L<sup>-1</sup> DIECA 处理对正常秋季播种郑麦 366 的自交结实率具有显著降低效应,5 mmol·L<sup>-1</sup> DIECA 处理效应较强,其国内法自交结实率和国际自交结实率分别比对照降低了 39.82% 和 44.68%,在不同播期下,郑麦 366 和 BNS366 其他 DIECA 处理的花粉可育率、国内法自交结实率和国际法自交结实率与对照相比差异均不显著.DIECA 可能通过抑制郑麦 366 内源 MeJA 含量的刺激性增长,影响花药发育和正常开裂,降低了郑麦 366 的雄性育性,内源 MeJA 可能参与了 BNS366 雄性不育的发生.

**关键词:**小麦;DIECA;雄性育性

**中图分类号:**S512;S330

**文献标志码:**A

**文章编号:**1000-2367(2025)01-0032-11

小麦是我国主要粮食作物,采用光温敏核不育小麦进行二系法杂交育种是提高其产量的重要手段<sup>[1]</sup>.百农不育系(bainong sterility,BNS)是新型小麦温敏核不育系,在河南新乡正常秋季播种条件下(9月23日至10月17日)可形成不育系,在晚播条件下(11月18日以后)雄性育性逐渐转换为可育状态<sup>[2]</sup>.BNS366 由 BNS 与郑麦 366 杂交并饱和回交育成,其育性表现更加稳定<sup>[3]</sup>,目前,以 BNS366 为母本,以其他不同小麦品种为父本,已经筛选出超高产杂交组合<sup>[4-5]</sup>,在二系法杂交制种中的应用日益广泛.每年春季小麦幼穗发育关键期气温变化无常,进而诱发 BNS366 雄性育性出现波动,导致杂种种子纯度不够和不育系制种产量低,是杂交小麦高效制种体系中重要的风险来源,研究 BNS366 花粉败育的生理机制,并探索小麦穗发育过程中有效的栽培管理措施,对控制上述风险具有重要的理论价值.雄性不育的发生与植物内源激素的变化有密切的关系<sup>[6-7]</sup>.针对与 BNS366 雄性不育发生密切相关的内源激素,采用合适的外源物质处理,有可能对其生物合成途径造成干扰,引起内源激素含量的变化,进而实现对气温异常情况下育性波动现象的控制,但目前相关研究报道较少.

**收稿日期:**2023-08-10;**修回日期:**2023-11-19.

**基金项目:**国家自然科学基金(31701502);河南省科技厅科技攻关项目(222102110216);河南省重大科技专项(221100110300).

**作者简介:**刘海英(1974—),女,河南鹤壁人,河南师范大学副教授,研究方向为小麦雄性不育,E-mail:2217861000@qq.com.

**通信作者:**茹振钢,E-mail:rzgh58@163.com.

**引用本文:**刘海英,孔陈源,茹振钢,等.DIECA 对小麦雄性育性的影响[J].河南师范大学学报(自然科学版),2025,53(1): 32-42.(Liu Haiying,Kong Chenyuan,Ru Zhengang,et al.Effects of DIECA on wheat male fertility[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition),2025,53(1): 32-42.DOI: 10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.08.10.0001.)

茉莉酸(jasmonic acid, JA)与茉莉酸甲酯(methyl jasmonate, MeJA)参与植物的防御反应,调控小孢子发育和花药开裂,促进颖花开放<sup>[8]</sup>。二乙基二硫代氨基甲酸钠三水合物(sodium diethyldithiocarbamate trihydrate, DIECA)可以抑制亚麻酸到 13S-氢过氧亚麻酸的合成过程,进而抑制植物内源 JA 的合成<sup>[9]</sup>。采用外源 DIECA 处理可以诱导产生与内源 JA 相反的表型<sup>[10-12]</sup>。在植物小孢子发育调控方面,前人从分子遗传学角度开展了大量研究<sup>[13-14]</sup>,而采用外源 DIECA 处理等物质抑制内源 JA 的生物合成调控植物小孢子发育的研究则相对薄弱。本研究在大田条件下,选用郑麦 366 和 BNS366 为材料,采用前期研究方法构建实验模型,对幼穗发育进程以及同期日最低气温和内源 MeJA 含量进行了跟踪调查和检测,并开展了外源 DIECA 喷施处理,通过对小麦花粉可育率、国内法自交结实率和国际法自交结实率变化的分析,研究外源 DIECA 对小麦雄性育性的调控作用,深入认识茉莉酸类物质调控 BNS366 雄性不育的作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

以温敏核不育小麦 BNS366 及其近等基因系郑麦 366 为供试材料,种子由河南科技学院小麦中心提供。试验地点为河南师范大学小麦试验田,土壤质地为砂质壤土,0~30 cm 土层的有机质质量比为  $10.7 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,全氮质量比为  $0.76 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,碱解氮质量比为  $60.2 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,有效磷质量比为  $31.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,速效钾质量比为  $92.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ;在底墒足墒条件下,播种前施入大豆饼肥  $6\,000 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ,史丹利三安复合肥(18-18-18)折合为纯氮  $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 、 $\text{P}_2\text{O}_5$   $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ 和  $\text{K}_2\text{O}$   $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ;在正常秋季播种(2021-10-13)和晚播(2021-12-01)两个播期条件下,条播方式播种,小区面积  $4.5 \text{ m}^2$ ( $3.0 \text{ m} \times 1.5 \text{ m}$ ),行距 0.25 m,株距 0.1 m;拔节期灌水并追施纯氮  $100 \text{ kg} \cdot \text{hm}^{-2}$ ;孕穗期和灌浆初期灌水;其他栽培管理措施按一般大田管理方式进行。

### 1.2 试验设计

DIECA 购自上海麦克林生化科技有限公司,质量分数为 99%。试验设 DIECA 水溶液 0(清水)、0.1、1.5、10、20、30  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  共 7 个浓度水平,分别以 CK、DIECA<sub>0.1</sub>、DIECA<sub>1</sub>、DIECA<sub>5</sub>、DIECA<sub>10</sub>、DIECA<sub>20</sub> 和 DIECA<sub>30</sub> 表示,每个处理 3 行,随机区组排列,重复 3 次。正常秋季播种小麦从 2022 年 3 月 6 日至 4 月 11 日,晚播小麦从 2022 年 3 月 18 日至 4 月 20 日,即于 2022 年春季自小麦雌雄蕊原基分化期开始至开花期,每 3 d 全株喷施处理 1 次,喷施量为  $100 \text{ mL} \cdot \text{m}^{-2}$ 。各处理均以中性洗涤剂(0.5%,体积分数,下同)为助剂,以便其在叶片上黏附。

### 1.3 测定项目及方法

#### 1.3.1 内源 MeJA 含量测定

参照文献<sup>[15]</sup>于 2022 年春季方法确定小麦幼穗发育时期标准,并结合田间形态和显微观察确定发育时期,在雌雄蕊原基分化期、药隔期、花粉母细胞期、二分体期、四分体期、单核中位期、单核靠边期、二核期、三核期和开花期剥取主茎及大分蘖幼穗中部小穗第 1、2 位小花的花药,样品充分混匀后称重,液氮冷冻 30 min 后转入  $-80 \text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。采用间接酶联免疫法测定内源茉莉酸甲酯含量,试验所用试剂盒由江苏酶免生物科技有限公司提供,每样品测定 3 次,取平均值。

#### 1.3.2 花粉可育率测定

当小麦主茎穗进入开花期(正常秋季播种小麦在 2022-04-10,晚播小麦在 2022-04-18),于上午 09:00,在中间行的中部位置随机选取临近开花状态(雌蕊羽状柱头完全打开,穗中部个别小穗第 1、2 位小花雄蕊伸出,中部大部分小穗第 1、2 位小花雄蕊花丝伸长,花药即将伸出颖壳,正常秋季播种 BNS366 基本参照上述农艺性状,但其花药一般难以见到伸出颖壳现象)小麦 10 株,取其主茎穗置于 FAA 固定液(50%乙醇,冰醋酸,甲醛溶液的体积比为 18:1:1)中,常温常压下抽真空 30 min 后,在  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  条件下固定 24 h,然后移除 FAA 固定液,用 70%乙醇溶液置换 30 min,然后转入盛有 70%乙醇溶液的棕色瓶中保存备用<sup>[16]</sup>。从麦穗上部、中部和下部小穗的第 1 位小花各取 1 枚花药,将 3 枚花药的花粉等量混合(全穗取粉),用  $\text{I}_2$ -KI 法检测花粉育性<sup>[17]</sup>,花粉可育率 = (可育花粉粒数/花粉粒总数)  $\times 100\%$ <sup>[18]</sup>,并判断花粉不育程度<sup>[19]</sup>。

### 1.3.3 自交结实率测定

当小麦进入三核期(正常秋季播种小麦在 2022-04-07,晚播郑麦 366 在 2022-04-16,晚播 BNS366 在 2022-04-11),在中间行的中部位置随机选取 10 株小麦主茎穗用玻璃纸袋套;在成熟期,收取套袋穗,按国内法、国际法调查和统计自交结实率<sup>[3]</sup>,取平均值。

### 1.4 数据统计分析

用 SPSS 27.0 统计分析软件对数据进行方差分析和显著性检验,采用 S-N-K 法进行多重比较,采用独立样本 *T* 检验进行两组数据差异性分析,用 Excel 2019 进行数据处理及作图。

## 2 结果与分析

### 2.1 发育进程与温度分析

郑麦 366 与 BNS366 发育阶段基本吻合(附录表 S1 和图 S1),不同之处在于与郑麦 366 相比,BNS366 发育进程略快。在正常秋季播种条件下,郑麦 366 在 3 月 5 日至 15 日,BNS366 在 3 月 5 日至 12 日,处于雌蕊原基分化期至药隔期,日最低气温在 8 °C 上下波动;郑麦 366 在 3 月 15 日至 3 月 27 日,BNS366 在 3 月 12 日至 3 月 24 日,处于药隔期至花粉母细胞期,其中在 3 月 16 日至 23 日,连续 8 d 日最低气温为 1~6 °C,是整个幼穗发育过程中日最低气温最低且持续时间最长的阶段;郑麦 366 在 3 月 27 日至 31 日,BNS366 在 3 月 24 日至 28 日,处于花粉母细胞期至四分体期,前者所处时段日最低气温在 8 °C 上下波动,后者所处时段后 4 d 日最低气温均低于 8 °C;郑麦 366 在 3 月 31 日至 4 月 10 日,BNS366 在 3 月 28 日至 4 月 10 日,处于四分体期至开花期,二者在 4 月 3 日至 10 日,连续 8 d 日最低气温高于 8 °C。在晚播条件下,郑麦 366 在 3 月 17 日至 24 日,BNS366 在 3 月 17 日至 23 日,处于雌蕊原基分化期至药隔期,二者在 7 d 重叠时段日最低气温为 1~6 °C;郑麦 366 在 3 月 24 日至 4 月 5 日,BNS366 在 3 月 23 日至 4 月 1 日,处于药隔期至花粉母细胞期,日最低气温在 8 °C 上下波动;郑麦 366 在 4 月 5 日至 7 日,BNS366 在 4 月 1 日至 3 日,处于花粉母细胞期至四分体期,前者日最低气温均高于 8 °C,后者日最低气温在 8 °C 上下波动;郑麦 366 在 4 月 7 日至 4 月 18 日,BNS366 在 4 月 3 日至 18 日,处于四分体期至开花期,前者前 8 d 和后者前 12 d 日最低气温均高于 8 °C。

### 2.2 在正常秋季播种和晚播条件下郑麦 366 和 BNS366 幼穗与花药中 MeJA 含量的动态变化

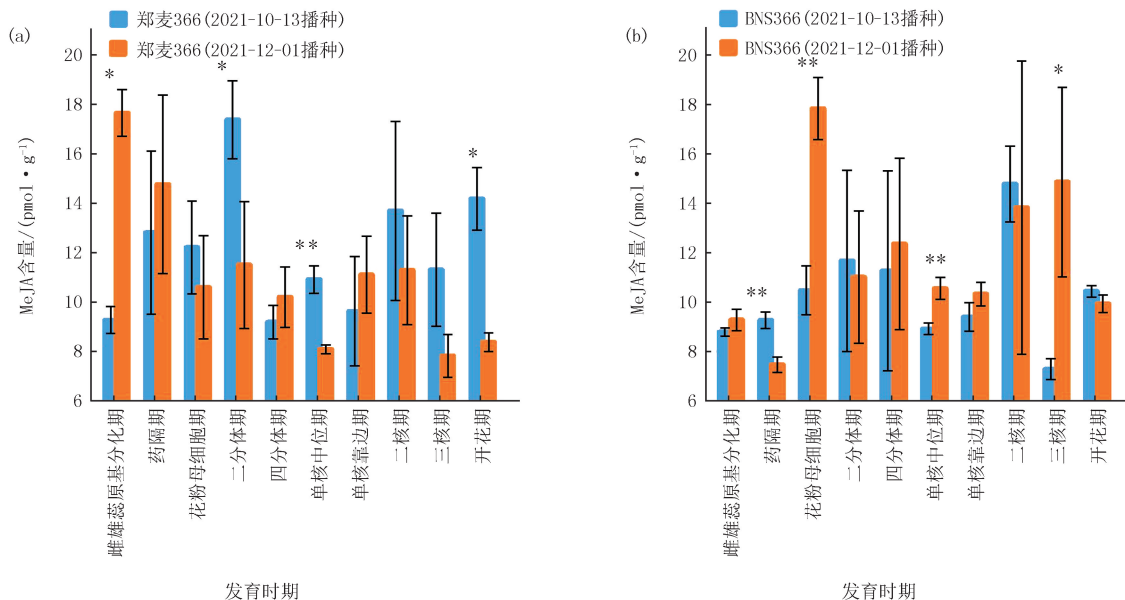
由图 1 可知,不同播期郑麦 366 和 BNS366 幼穗和花药中 MeJA 含量基本呈双峰曲线变化趋势。与晚播条件下相比,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 在雌蕊原基分化期幼穗中 MeJA 含量较低,在二分体期幼穗中,在单核中位期和开花期花药中 MeJA 含量均较高;BNS366 在药隔期幼穗中 MeJA 含量较高,在花粉母细胞期幼穗中,在单核中位期和三核期花药中较低,上述差异均达到显著或极显著水平。表明与晚播条件下相比,在正常秋季播种条件下,在雌蕊原基分化期至药隔期,郑麦 366 幼穗中 MeJA 含量偏低,在药隔期至花粉母细胞期之间遭遇低温刺激下,在花粉母细胞期之后时段内,郑麦 366 幼穗和花药中 MeJA 含量偏高,BNS366 则表现出与郑麦 366 相反的差异,即与郑麦 366 相比,在正常秋季播种条件下,BNS366 在花粉母细胞期之后存在 MeJA 含量不足现象。

### 2.3 DIECA 对不同播期郑麦 366 和 BNS366 雄性育性的影响

#### 2.3.1 DIECA 对正常秋季播种郑麦 366 雄性育性的影响

由图 2 和表 1 可知,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 的 CK 和 DIECA 处理组花粉可育率为 57.67%~81.88%,均达到正常可育(花粉可育率>0%)水平,国内法自交结实率为 38.24%~78.06%,国际法自交结实率为 65.70%~110.38%,表现正常可育。与 CK 相比,DIECA 处理组的花粉可育率有一定程度的提高,且随着 DIECA 处理浓度的增加,花粉可育率的提高幅度呈先下降后回升的变化趋势,以 DIECA<sub>20</sub> 处理最低,但差异均不显著。与 CK 相比,DIECA 处理组的国内法自交结实率和国际法自交结实率有不同程度降低,且随着 DIECA 处理浓度的升高,降低幅度呈先增加后减小的变化趋势,以 DIECA<sub>5</sub> 处理最低,DIECA<sub>1</sub> 处理次之。DIECA<sub>5</sub> 处理的国内法自交结实率和国际法自交结实率绝对数值分别比对照降低了 39.82%和 44.68%,相对下降幅度分别为 51.01%和 40.48%,极显著低于对照和其他 DIECA 处理。DIECA<sub>1</sub> 处理的国内法自交结

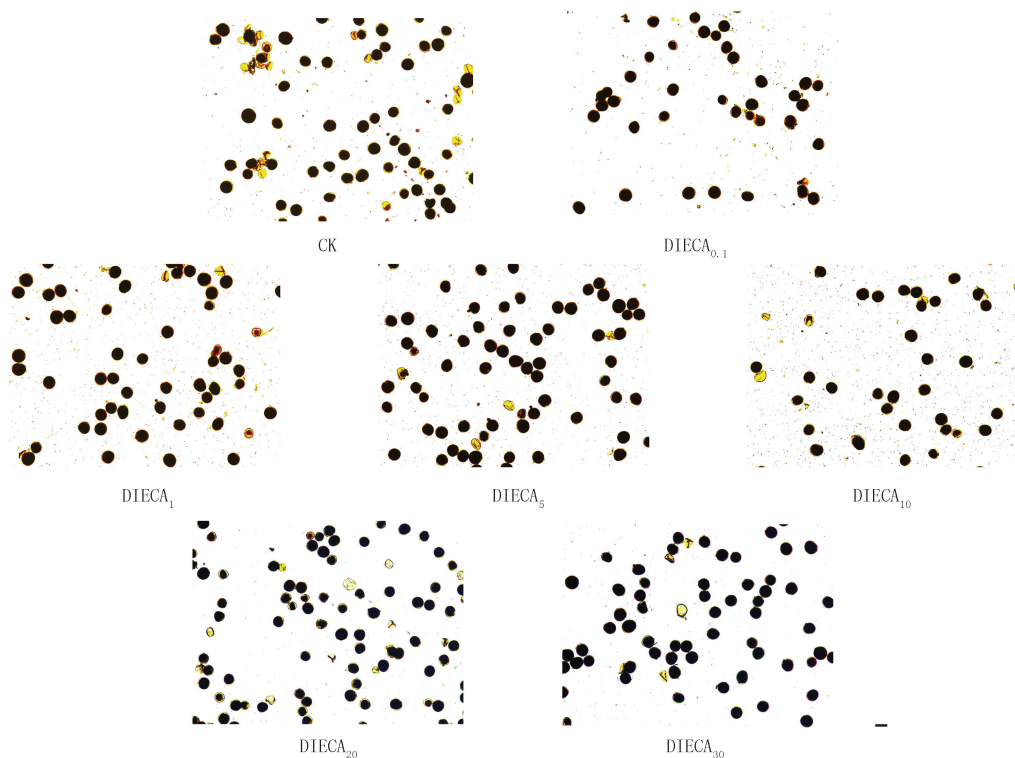
实率绝对数值比对照降低了 16.57%, 相对下降幅度为 21.23%, 差异达到显著水平. 表明, 在正常秋季播种条件下, 不同浓度 DIECA 处理对郑麦 366 花粉可育率无显著调控效应; DIECA<sub>1</sub> (国内法) 和 DIECA<sub>5</sub> (国内法和国际法) 2 个处理对自交结实率表现出降低效应, 以 DIECA<sub>5</sub> 处理效应较强.



注: \*和\*\*分别表示差异在0.05和0.01水平上达到显著, 下同.

图1 小麦幼穗发育过程中MeJA含量的动态变化(2022年)

Fig.1 Dynamic changes of MeJA content during developmental stages of wheat young panicle(2022)



注: 标尺为100 μm, 全文同.

图2 DIECA处理下正常秋季播种郑麦366花粉I<sub>2</sub>-KI染色结果(2022年)

Fig.2 I<sub>2</sub>-KI staining results of normal autumn sowing Zhengmai 366 pollen under DIECA treatments(2022)

表 1 DIECA 处理下正常秋季播种郑麦 366 花粉可育率和自交结实率统计结果(2022 年)

Tab. 1 Frequency of fertile pollen grains and self-seeds rate of normal autumn sowing Zhengmai 366 under DIECA treatments(2022)

处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%	处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%
CK	57.67aA	78.06aA	110.38aA	DIECA <sub>10</sub>	70.26aA	70.34abA	90.31abAB
DIECA <sub>0.1</sub>	78.58aA	67.09abA	104.39aA	DIECA <sub>20</sub>	66.50aA	68.65abA	91.44abAB
DIECA <sub>1</sub>	73.68aA	61.49bA	86.62abAB	DIECA <sub>30</sub>	81.88aA	67.94abA	107.62aA
DIECA <sub>5</sub>	71.59aA	38.24cB	65.70bB				

注:数据后不同小写和大写字母分别表示在 0.05 和 0.01 水平上差异显著,全文同。

2.3.2 DIECA 处理对晚播郑麦 366 雄性育性的影响

由图 3 和表 2 可知,在晚播条件下,郑麦 366 的 CK 和 DIECA 处理组花粉可育率为 90.06%~97.00%,均达到正常可育水平,国内法自交结实率为 81.72%~91.61%,国际法自交结实率为 121.45%~171.35%,表现正常可育。不同浓度 DIECA 处理的上述 3 个指标与 CK 相比均无显著差异。表明,在晚播条件下,不同浓度 DIECA 处理对郑麦 366 花粉可育率、国内法自交结实率和国际法自交结实率均无显著调控效应。

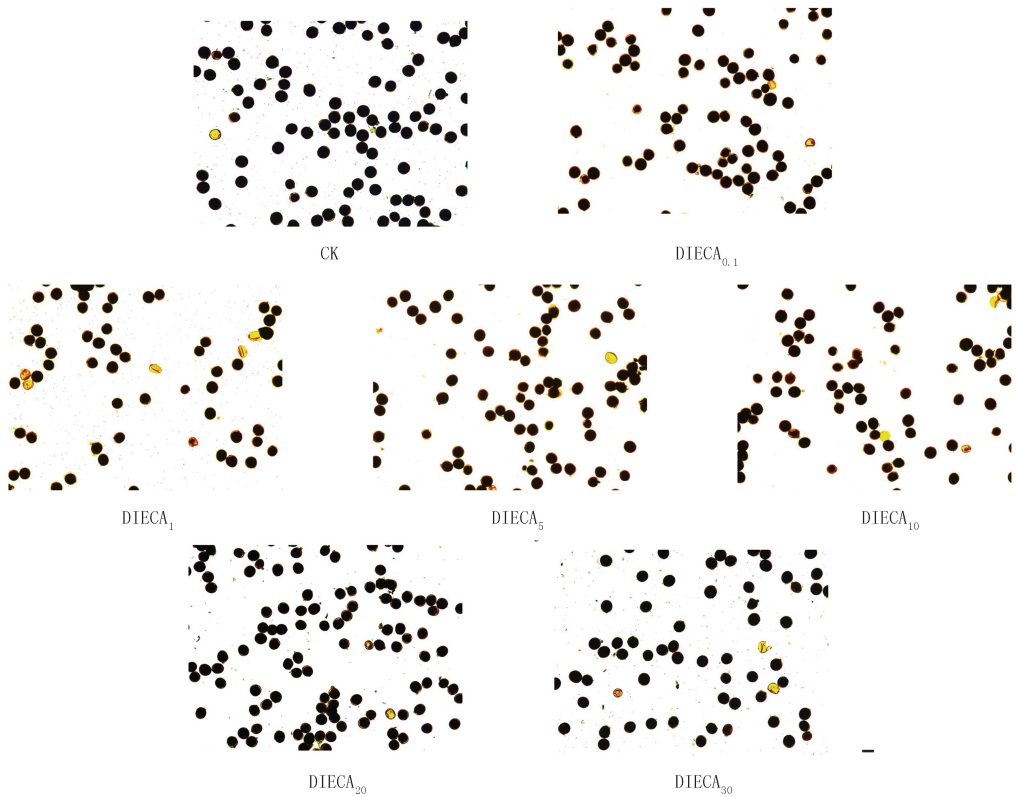


图3 DIECA处理下晚播郑麦366花粉I<sub>2</sub>-KI染色结果(2022年)

Fig.3 I<sub>2</sub>-KI staining results of late sowing Zhengmai 366 pollen under DIECA treatments(2022)

表 2 DIECA 处理下晚播郑麦 366 花粉可育率和自交结实率统计结果(2022 年)

Tab. 2 Frequency of fertile pollen grains and self-seeds rate of late sowing Zhengmai 366 under DIECA treatments(2022)

处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%	处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%
CK	94.74aA	82.40aA	128.29aA	DIECA <sub>10</sub>	93.36aA	87.99aA	137.28aA
DIECA <sub>0.1</sub>	90.63aA	91.61aA	171.35aA	DIECA <sub>20</sub>	97.00aA	88.50aA	121.45aA
DIECA <sub>1</sub>	90.06aA	81.72aA	123.35aA	DIECA <sub>30</sub>	95.22aA	85.52aA	144.82aA
DIECA <sub>5</sub>	92.56aA	89.45aA	141.83aA				

2.3.3 DIECA 对正常秋季播种 BNS366 雄性育性的影响

由图 4 和表 3 可知,在正常秋季播种条件下,BNS366 的 CK 和 DIECA 处理组花粉粒绝大多数形状不规则,且 I<sub>2</sub>-KI 染色结果为不正常深褐色,为典败型花粉,其中 DIECA<sub>1</sub>、DIECA<sub>10</sub> 和 DIECA<sub>20</sub> 3 个处理的花粉可育率在 0.06%~0.36% 之间,达到高不育水平(花粉可育率<5%),CK 和其他 3 个 DIECA 处理组花粉可育率均为 0,达到全不育水平(花粉可育率为 0).除 DIECA<sub>30</sub> 有少量结实情况外,CK 和其他 5 个 DIECA 处理的国内法自交结实率和国际法自交结实率均为 0.不同浓度 DIECA 处理的上述 3 个指标与 CK 相比均无显著差异.表明,在正常秋季播种条件下,不同浓度 DIECA 处理对 BNS366 花粉可育率、国内法自交结实率和国际法自交结实率均无显著调控效应.

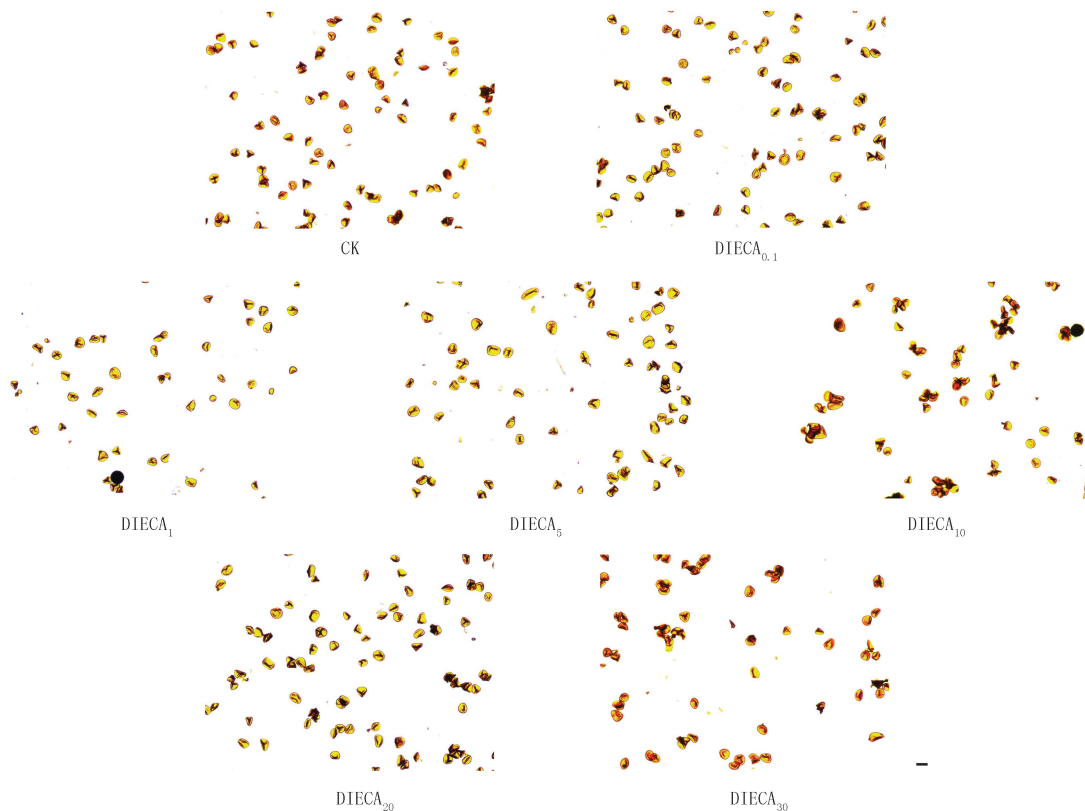


图 4 DIECA 处理下正常秋季播种 BNS366 花粉 I<sub>2</sub>-KI 染色结果(2022 年)

Fig. 4 I<sub>2</sub>-KI staining results of normal autumn sowing BNS366 pollen under DIECA treatments(2022)

表 3 DIECA 处理下正常秋季播种 BNS366 花粉可育率和自交结实率统计结果(2022 年)  
Tab. 3 Frequency of fertile pollen grains and self-seeds rate of normal autumn sowing BNS366 under DIECA treatments(2022)

处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法%)	自交结实率(国际法%)	处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法%)	自交结实率(国际法%)
CK	0.00aA	0.00aA	0.00aA	DIECA <sub>10</sub>	0.36aA	0.00aA	0.00aA
DIECA <sub>0.1</sub>	0.00aA	0.00aA	0.00aA	DIECA <sub>20</sub>	0.08aA	0.00aA	0.00aA
DIECA <sub>1</sub>	0.06aA	0.00aA	0.00aA	DIECA <sub>30</sub>	0.00aA	1.81aA	3.35aA
DIECA <sub>5</sub>	0.00aA	0.00aA	0.00aA				

2.3.4 DIECA 处理对晚播 BNS366 雄性育性的影响

由图 5 和表 4 可知,在晚播条件下,BNS366 的 CK 和 DIECA 处理组花粉粒多数为典败型或圆败型(花粉粒形状为圆形,且 I<sub>2</sub>-KI 染色结果为不正常深褐色),少数为可育花粉粒,花粉可育率为 5.01%~22.53%,达到半不育水平(花粉可育率 5.00%~30.00%).国内法自交结实率为 0~3.50%,国际法自交结实率为 0~

4.60%, 结实率低或完全不能结实. 与 CK 花粉可育率相比, DIECA<sub>20</sub> 略低, 其他 DIECA 处理略高. 与 CK 国内法自交结实率相比, 除 DIECA<sub>1</sub> 和 DIECA<sub>5</sub> 略低(均为 0)外, 其他 DIECA 处理均略高, 且以 DIECA<sub>30</sub> 最高. 与 CK 相比, DIECA 处理组的国际法自交结实率均略低. 不同浓度 DIECA 处理上述 3 个指标与 CK 相比之间差异均不显著. 表明, 在晚播条件下, 不同浓度 DIECA 处理对 BNS366 花粉可育率、国内法自交结实率和国际法自交结实率均无显著调控效应.

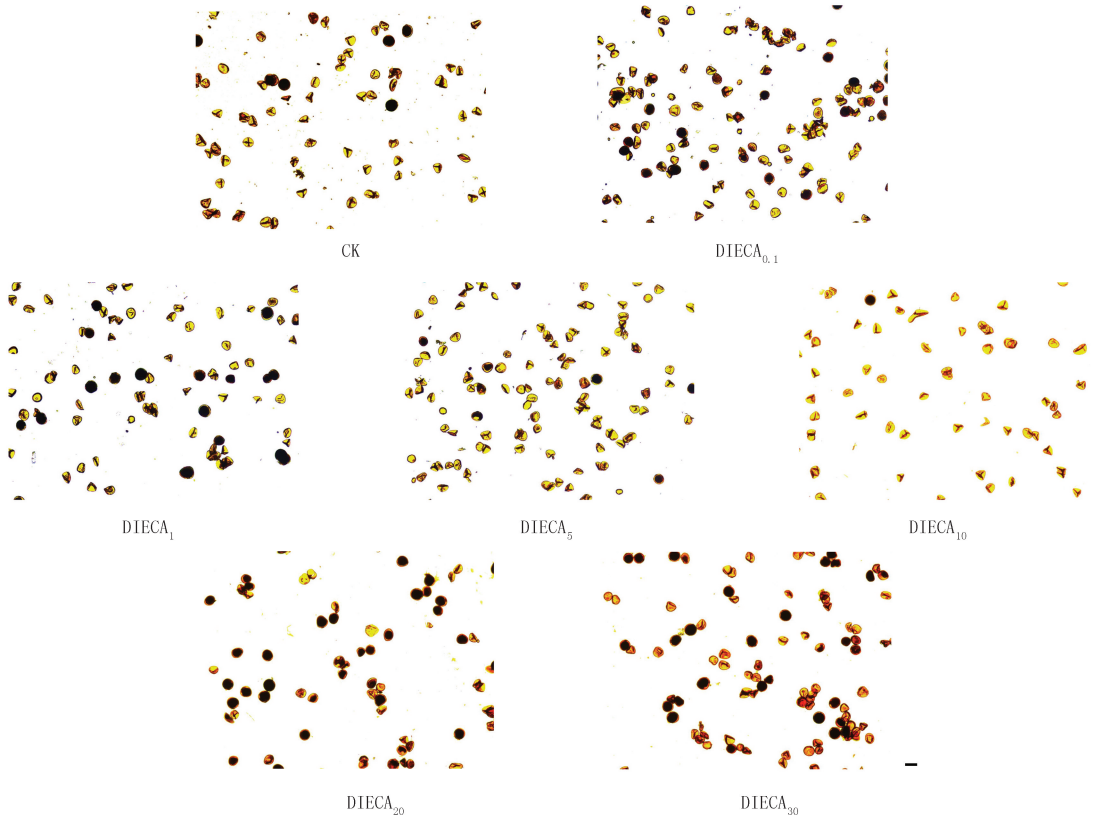


图5 DIECA处理下晚播BNS366花粉I<sub>2</sub>-KI染色结果(2022年)

Fig. 5 I<sub>2</sub>-KI staining results of late sowing BNS366 pollen treated under DIECA treatments(2022)

表 4 DIECA 处理下晚播 BNS366 花粉可育率和自交结实率统计结果(2022 年)

Tab. 4 Frequency of fertile pollen grains and self-seeds rate of late sowing BNS366 under DIECA treatments(2022)

处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%	处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%
CK	16.45aA	0.78aA	4.60aA	DIECA <sub>10</sub>	16.78aA	1.97aA	4.05aA
DIECA <sub>0.1</sub>	20.45aA	1.61aA	2.40aA	DIECA <sub>20</sub>	5.01aA	0.97aA	0.97aA
DIECA <sub>1</sub>	22.53aA	0.00aA	0.00aA	DIECA <sub>30</sub>	22.94aA	3.50aA	4.48aA
DIECA <sub>5</sub>	17.03aA	0.00aA	1.43aA				

## 3 讨 论

### 3.1 发育进程与温度分析

已有研究指出, BNS 感受低温的敏感部位为发育的幼穗, BNS 育性转换敏感期在抽穗前 5~18 d, 即雌蕊原基分化期至四分体期, 在温度敏感期内最低温度低于 8 °C 时表现彻底不育, 8~12 °C 是育性转换温度, 温度高于 12 °C 时表现完全可育, 且此过程中前期低温刺激可被后期高温逆转<sup>[2,20]</sup>. BNS366 与 BNS 的育

性转换规律相似<sup>[3]</sup>,有理由推测 BNS366 具有与 BNS 相似的低温敏感部位、时期和温度敏感区间。在本实验条件下,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 和 BNS366 在药隔期至花粉母细胞期连续 8 d 日最低气温低于 8 °C,且郑麦 366 在花粉母细胞期至四分体期日最低气温在 8 °C 上下波动,BNS366 同发育时期(历时 5 d)的后 4 d 日最低气温均低于 8 °C;在晚播条件下,郑麦 366 和 BNS366 在雌雄蕊原基分化期至药隔期连续 7 d 日最低气温低于 8 °C,之后在四分体期之前日最低气温高于 8 °C 或在 8 °C 上下波动。因而,本实验条件下,郑麦 366 和 BNS366 在 2 个播期条件下,次年春季均能在合适的发育时期遭遇合适的温度诱导,能够基本满足不同材料育性表现的温度要求。

### 3.2 内源 MeJA 含量动态变化分析

本课题前期研究中,在正常秋季播种(2018-10-10)和晚播(2018-12-02)两个播期条件下,比较郑麦 366 和 BNS366 幼穗和花药中 MeJA 含量的动态变化,从与晚播条件相比涨落幅度(%)角度分析,在正常秋季播种条件下,BNS366 在四分体期至单核靠边期幼穗和花药中内源 MeJA 含量不足<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,与晚播条件下相比,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 在花粉母细胞期之后幼穗和花药中 MeJA 含量较高,而同期 BNS366 幼穗和花药中 MeJA 含量较低,意味着在四分体期之前低温诱导下,郑麦 366 在花粉母细胞期之后出现了 MeJA 含量的刺激性增长,而 BNS366 则一定程度上缺失了 MeJA 含量刺激性增长甚至保持正常 MeJA 水平的能力,这与前期研究结果相一致,因此,本实验条件下,郑麦 366 和 BNS366 在 2 个播期条件下,次年春季幼穗和花药中 MeJA 含量基本重演了与前期研究结果中相似的变化规律,这为 BNS366 雄性不育的发生与 MeJA 含量不足有关的理论推测增加了新的证据。

### 3.3 DIECA 对不同播期郑麦 366 和 BNS366 雄性育性的影响

#### 3.3.1 不同播期郑麦 366 和 BNS366 的育性表现

研究发现,在豫北地区 9 月 23 日至 10 月 17 日播种,BNS 稳定表现彻底不育,可以用于生产杂交种;11 月 18 日以后播种均表现完全可育,可以自交繁殖不育系种子<sup>[20]</sup>。本研究结果显示,在 2021 年,10 月 13 日正常秋季播种和 12 月 2 日晚播条件下,郑麦 366 均可育,BNS366 在正常秋季播种条件下不育,在晚播条件下育性有一定程度恢复(在 2022 年 3 月 23 日至 4 月 3 日,药隔期至四分体期,在 11 d 内有 7 d 日最低气温低于 8 °C 情况,导致其育性恢复度偏低),这与已有报道<sup>[15]</sup>基本一致,表明本实验设置的不同材料的育性差异能够表现出来,为上述内源 MeJA 含量检测及后续 DIECA 对小麦雄性育性影响研究建立的试验模型安全可靠。

#### 3.3.2 DIECA 对不同播期郑麦 366 和 BNS366 雄性育性的调控效应

研究发现,JA 可以刺激植物的呼吸代谢,保障植物能量供应,对提高植物的抗逆能力具有积极的作用<sup>[21-22]</sup>。花粉不可育、花丝不能伸长和花药开裂延迟均可以导致植物的雄性不育,能量不足是雄性不育的重要原因之一<sup>[23]</sup>。JA 参与了光温敏水稻农垦 58S 和 D52S 雄性不育的发生,外源 MeJA 喷施处理可使二者雄性不育植株育性恢复,外源喷施 JA 生物合成抑制剂水杨基羟肟酸(salicydroxamic acid, SHAM)则分别使二者雄性可育植株花粉高不育和全不育<sup>[24]</sup>。DIECA 与 SHAM 常用于阻断内源 JA 的生物合成以逆转 JA 的生物学表型,具有相似的调控效应<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,在正常秋季播种条件下,DIECA 水溶液喷施处理对郑麦 366 的花粉育性无显著性影响,但 DIECA<sub>1</sub> 处理的国内法自交结实率、DIECA<sub>5</sub> 处理的国内法自交结实率和国际法自交结实率均低于对照,且以 DIECA<sub>5</sub> 处理最低,表明抑制 JA 的生物合成可以抑制郑麦 366 的雄性育性,且其影响不在于花粉的发育,可能与 DIECA 对花丝伸长和花药开裂的影响等有关,这与本实验前期理论推测和前人研究结果基本一致。分析原因可能在于,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 受雌雄蕊原基分化期至四分体期低于 8 °C 日最低气温的影响,郑麦 366 在花粉母细胞期之后花药和幼穗中 MeJA 含量出现刺激性增长,对照植株体内可以合成足够量的 JA,以刺激呼吸作用,保障 ATP 供应,花粉、花丝和花药发育均正常,自交结实率正常;DIECA<sub>1</sub> 和 DIECA<sub>5</sub> 2 个处理,尤其是后者,在一定程度上抑制了 JA 的生物合成,不能有效刺激呼吸作用增强,导致 ATP 供应不足,花丝不能伸长,花药不能开裂,其自交结实率低于对照,遗憾的是,在 2023 年 DIECA<sub>5</sub> 处理对正常秋季播种郑麦 366 的雄性育性没有显著调控效应。将两年间上述数据对比分析发现,不同播期郑麦 366 和 BNS366 的发育进程(附录表 S2)在年度间基本吻合,在 2023 年,发育略快;在幼穗发育过程中,日最低气温(附录图 S2)普遍偏高且低温持续时间短;与在晚播条件下相比,



在正常秋季播种条件下,郑麦 366 幼穗和花药中内源 MeJA 含量(附录图 S3)基本保持稳定,BNS366 表现出与 2022 年相似的不足现象;郑麦 366 和 BNS366 育性表现(附录图 S4 和附录表 S3)与 2022 年基本一致,BNS366 在晚播条件下雄性育性恢复度较高,这与本课题前期研究基本一致<sup>[15]</sup>;表明,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 幼穗和花药中 MeJA 含量的刺激性增长或保持稳定是其保持正常育性的重要原因,BNS366 由于缺乏这种能力导致了其雄性不育的发生,这与前人在水稻上的研究基本吻合<sup>[25]</sup>.本研究所设置的 DIECA<sub>5</sub> 处理可能仅对在正常秋季播种郑麦 366 内源 MeJA 含量的刺激性增长具有抑制作用,进而降低其雄性育性,但在 MeJA 含量基本稳定条件下该处理则没有明显的抑制效应(附录图 S5 和附录表 S4),这反映了 MeJA 生物合成及其与小麦雄性育性关系的复杂性,对此尚待进一步研究.这也意味着,当出于防治白粉病等目的采用外源 DIECA 对小麦进行喷施处理时,需要考虑其对小麦雄性育性的可能影响,以免对小麦高产带来负面效应.

在晚播条件下,DIECA 下,郑麦 366 的花粉可育率和自交结实率与对照相比均无显著差异,即 DIECA 对晚播郑麦 366 雄性育性无显著调控效应.分析原因可能在于,在晚播条件下,幼穗发育关键时期滞后,郑麦 366 尽管在雌雄蕊原基分化期至花粉母细胞期日平均气温低于 8 °C,但之后出现连续 5 d 高于 8 °C 的日最低气温对前期低温具有一定程度的逆转效应,即使外源 DIECA 喷施处理理论上对 JA 生物合成具有抑制作用,进而会降低郑麦 366 的雄性育性,但在本实验条件下,郑麦 366 自身呼吸代谢较强,能量供应充足,能够保障雄蕊的正常发育,花粉可育率和自交结实率均正常.

在正常秋季播种条件下,BNS366 由于自身 MeJA 含量不足,花粉败育彻底,理论上讲 DIECA 抑制内源 JA 类物质的生成以进一步降低雄性育性的可能性不大,本实验结果也表明不同浓度 DIECA 处理与对照均为全不育或高不育水平,对其雄性育性无显著调控效应.

在晚播条件下,BNS366 表现为低不育,可能与其在雌雄蕊原基分化期至花粉母细胞期遭遇日最低气温低于 8 °C 低温刺激有关,即使在四分体后出现连续 5 d 高于 8 °C 日最低气温,其体内仍然 DIECA 抑制作用也不明显.分析原因可能在于,BNS366 遭遇低温刺激下,即使是气温波动条件下,体内缺乏合成足够量 JA 的能力,因此不能刺激呼吸作用的增强,不能保障低温下 ATP 的供应,不能保障花粉和雄蕊的正常发育,花粉可育率和自交结实率均达不到正常水平.因此,正常秋播和晚播 BNS366 在遭遇低温时表现出类似的不育现象,且由于两个播期 BNS366 本身已经处于完全不育和低不育水平,采用 DIECA 处理进一步抑制 JA 的合成以诱发更严重的雄性不育效果不显著.

综上所述,在 2022 年,在正常秋季播种条件下,郑麦 366 幼穗和花药中内源 MeJA 含量出现了刺激性增长,DIECA<sub>1</sub> 和 DIECA<sub>5</sub> 2 个处理对正常秋季播种郑麦 366 的花粉可育率没有显著调控效应,但对自交结实率具有降低效应.以 DIECA<sub>5</sub> 处理效应较强,DIECA 可能通过抑制上述刺激性增长,影响花药发育和正常开裂,降低了郑麦 366 的雄性育性,这为内源 MeJA 参与 BNS366 雄性不育的发生提供了有力的证据.

附录见电子版(DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.08.10.0001).

## 参 考 文 献

- [1] VISARADA KANTI MEENA K B R S. Induction of male sterility: a boon for plant breeding[J]. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 2021, 10(2): 1084-1101.
- [2] 张自阳,胡铁柱,冯素伟,等.温敏核雄性不育小麦 BNS 的育性转换规律初探[J].河南农业科学,2010,39(7):5-9.  
ZHANG Z Y, HU T Z, FENG S W, et al. A preliminary study on fertility alteration of thermo-sensitive genic male sterile wheat line BNS [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2010, 39(7): 5-9.
- [3] 周美兰,扬庚武,孔得群,等.小麦温敏不育系 BNS366 育性研究[J].麦类作物学报,2014,34(10):1303-1311.  
ZHOU M L, YANG G W, KONG D Q, et al. Study on fertility of thermo-sensitive male sterile wheat line BNS366 [J]. Journal of Triticeae Crops, 2014, 34(10): 1303-1311.
- [4] 宁江权,茹振刚,郑炜君,等.BNS 小麦雄性不育性表现及其恢复性的研究[J].麦类作物学报,2011,31(4):642-647.  
NING J Q, RU Z G, ZHENG W J, et al. Male sterility and restoration of thermo-photo-sensitive male sterile line BNS of common wheat

- (*Triticum aestivum* L.)[J].Journal of Triticeae Crops,2011,31(4):642-647.
- [5] 丁位华,冯素伟,姜小琴,等.播期、密度和行距对 BNS 型杂交小麦光合及产量的影响[J].麦类作物学报,2017,37(3):366-375.  
DING W H,FENG S W,JIANG X L,et al.Effect of sowing date,density and row spacing on photosynthetic characteristic and yield of BNS hybrid wheat[J].Journal of Triticeae Crops,2017,37(3):366-375.
- [6] SHUKLA A,SAWHNEY V K.Abscisic acid;one of the factors affecting male sterility in Brassica napus[J].Physiologia Plantarum,1994,91(3):522-528.
- [7] 李英贤,张爱民,梁振兴.小麦雄性不育的发生与花药组织内激素平衡的关系[J].农业生物技术学报,1998,6(1):71-75.  
LI Y X,ZHANG A M,LIANG Z X.Relationship between the occurrence of male sterility in wheat and hormone balance in anther tissue [J].Journal of Agricultural Biotechnology,1998,6(1):71-75.
- [8] 李清清,李大鹏,李德全.茉莉酸和茉莉酸甲酯生物合成及其调控机制[J].生物技术通报,2010,26(1):53-57.  
LI Q Q,LI D Q.The research progress in biosynthesis and regulation of jasmonates[J].Biotechnology Bulletin,2010,26(1):53-57.
- [9] FARMER E E,CALDELARI D,PEARCE G,et al.Diethyldithiocarbamic acid inhibits the octadecanoid signaling pathway for the wound induction of proteinase inhibitors in tomato leaves[J].Plant Physiology,1994,106(1):337-342.
- [10] ZHANG J,ZHANG X,YE M,et al.The jasmonic acid pathway positively regulates the polyphenol oxidase-based defense against tea geometrid caterpillars in the tea plant(*Camellia sinensis*)[J].Journal of Chemical Ecology,2020,46(3):308-316.
- [11] 胡靖宇.水稻和薏苡颖花开放的调控[D].南昌:江西农业大学,2011.
- [12] LI Y H, QIU L N, ZHANG Q, et al. Exogenous sodium diethyldithiocarbamate, a Jasmonic acid biosynthesis inhibitor, induced resistance to powdery mildew in wheat[J].Plant Direct,2020,4(4):e00212.
- [13] DELKER C,STENZEL I,HAUSE B,et al.Jasmonate biosynthesis in *Arabidopsis thaliana*:enzymes,products,regulation[J].Plant Biology,2006,8(3):297-306.
- [14] 陈国菊,徐飞,雷建军,等.利用 DAD1 反义片段转化创建菜薹可调控雄性不育材料[J].园艺学报,2009,36(5):685-692.  
CHEN G J,XU F,LEI J J,et al.Development of adjustable male sterile plant in Chinese flowering cabbage by antisense DAD1 fragment transformation[J].Acta Horticulturae Sinica,2009,36(5):685-692.
- [15] 刘海英,冯必得,茹振钢,等.BNS 和 BNS366 小麦雄性不育与内源激素的关系[J].中国农业科学,2021,54(1):1-18.  
LIU H Y,FENG B D,RU Z G,et al.Relationship between phytohormones and male sterility of BNS and BNS366 in wheat[J].Scientia Agricultura Sinica,2021,54(1):1-18.
- [16] 刘海英,甄俊琦,茹振钢,等.不同乙醇置换处理对小麦小孢子和花粉育性检测的影响[J].麦类作物学报,2020,40(8):930-937.  
LIU H Y,ZHEN J Q,RU Z G,et al.Effect of different ethanol replacement treatments on microspore development and pollen fertility detection of wheat[J].Journal of Triticeae Crops,2020,40(8):930-937.
- [17] 刘海英,甄俊琦,茹振钢,等.不同取样方法对小麦小孢子和花粉育性检测的影响[J].麦类作物学报,2021,41(1):30-36.  
LIU H Y,ZHEN J Q,RU Z G,et al.Effect of different sampling methods on microspore development and pollen fertility detection of wheat[J].Journal of Triticeae Crops,2021,41(1):30-36.
- [18] 周美兰,茹振刚,骆叶青,等.两系小麦不育系 BNS 雄性育性的转换[J].核农学报,2010,24(5):887-894.  
ZHOU M L,RU Z G,LUO Y Q,et al.Male fertility transformation of two-line wheat sterile lines bns[J].Journal of Nuclear Agricultural Sciences,2010,24(5):887-894.
- [19] 陈佳娜,周美兰,茹振刚,等.两系小麦 BNS 花粉育性与气象因子的关系[J].作物研究,2012,26(4):344-349.  
CHEN J N,ZHOU M L,RU Z G,et al.Relationship between pollen fertility and climate factors of BNS[J].Crop Research,2012,26(4):344-349.
- [20] 张自阳.小麦温敏核雄性不育系 BNS 育性转换规律及其恢复性研究[D].新乡:河南科技学院,2010.
- [21] 吴文华,杜凤,文正在,等.茉莉酸甲酯对水稻幼苗呼吸代谢途径的影响[J].湖北大学学报(自然科学版),1998,20(1):82-85.  
WU W H,DU F,WEN Z Z,et al.Effect of ja-me on the pathway of respiratory metabolism of rice(*Oryza sativa* L.)seedlings[J].Journal of Hubei University(Natural Science),1998,20(1):82-85.
- [22] HU Y R,JIANG Y J,HAN X,et al.Jasmonate regulates leaf senescence and tolerance to cold stress;crosstalk with other phytohormones [J].Journal of Experimental Botany,2017,68(6):1361-1369.
- [23] 刘盖.红莲型细胞质雄性不育水稻线粒体蛋白质组学分析[D].武汉:武汉大学,2011.
- [24] HE Y,LIU C,ZHU L,et al.Jasmonic acid plays a pivotal role in pollen development and fertility regulation in different types of P(T) GMS rice lines[J].International Journal of Molecular Sciences,2021,22(15):7926.

[25] 张占芳.茉莉酸拮抗油菜素内酯诱导的水稻叶倾角增大和参与调控细胞质雄性不育的研究[D].南京:南京农业大学,2014.

## Effects of DIECA on wheat male fertility

Liu Haiying<sup>1</sup>, Kong Chenyuan<sup>1</sup>, Ru Zhengang<sup>2</sup>, Dong Na<sup>2</sup>, Chen Xiangdong<sup>2</sup>,  
Chen Yun<sup>1</sup>, Huang Kangxing<sup>1</sup>, Huang Ziwei<sup>1</sup>, Nie Yingying<sup>1</sup>

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China; 2. Center of Wheat Research,  
Henan Institute of Science and Technology, Xinxiang 453003, China)

**Abstract:** In order to investigate the effects of sodium diethyldithiocarbamate(DIECA) on wheat male fertility, the thermo-sensitive genic male sterile wheat BNS366 and its near-isogenic line Zhengmai366 were used as materials. The two materials were sown under conditons of normal sowing in autumn(2021-10-13) and late sowing(2021-12-01), respectively. In the spring of 2022, indirect enzyme-linked immunosorbent assays method was used to endogenous methyl jasmonate(MeJA) content in young panicles and anthers from the differentiation stage of pistil and stamen primordium to anthesis, and the wheat was sprayed with 7 different concentrations(0(water/CK)、0.1、1、5、10、20 and 30  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) of DIECA solution.  $\text{I}_2$ -KI method was used to detect the frequency of fertile pollen grains at anthesis stage. National and international methods were used to determine the self-seeds rate. The results showed that under the condition of normal sowing in autumn, after the pollen mother cell stage, there was stimulating growth in the content of endogenous MeJA in Zhengmai366, however, there was shortage in BNS366. Under the condition of normal sowing in autumn, sprayed with 1  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DIECA and 5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DIECA the self-seeds rate of Zhengmai366 were decreased which meant the male fertility of Zhengmai366 was decreased, and the treatment of 5  $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DIECA had stronger effect on it ,i.e., the self-seeds rates by national and international methods were reduced by 39.82% and 44.68% respectively compared with the control group. the frequency of fertile pollen grains and the self-seeds rates by national and international methods of Zhengmai366 and BNS366 under other DIECA treatments were not significantly different from the control. It was probable that DIECA inhibited the stimulating growth above mentioned, that affected the anther development and dehiscence regularly that decreased the male fertility of Zhengmai366, and the endogenous MeJA might involved the occurrence of male sterility in BNS366.

**Keywords:** wheat; DIECA; male fertility

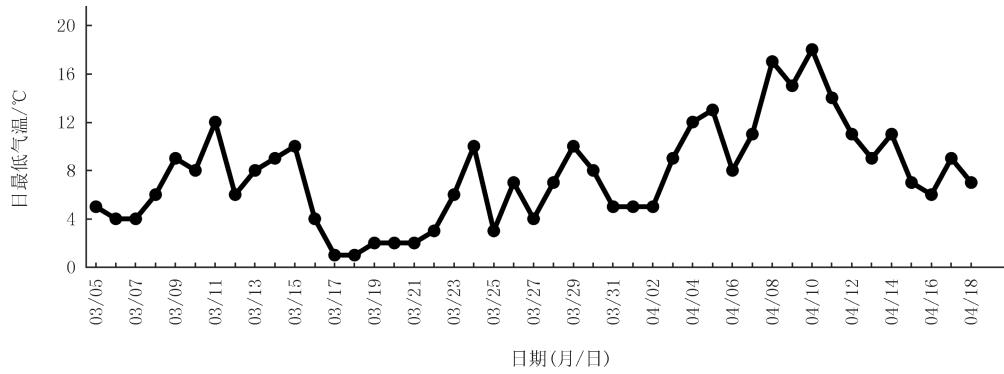
[责任编辑 刘洋 赵晓华]

附 录

表 S1 不同材料不同发育时期的取样日期

Tab. S1 The exact sampling dates of different materials in different development stages

材料	2021 年			2022 年							
	播种期 (月/日)	雌雄蕊原 基分化期	药隔期	花粉母 细胞期	二分 体期	四分 体期	单核中 位期	单核靠 边期	二核期	三核期	开花期
郑麦 366	10/13	03/05	03/15	03/27	03/29	03/31	04/02	04/02	04/04	04/07	04/10
	12/01	03/17	03/24	04/05	04/07	04/07	04/07	04/08	04/11	04/16	04/18
BNS366	10/13	03/05	03/12	03/24	03/27	03/28	03/31	03/31	04/04	04/07	04/10
	12/01	03/17	03/23	04/01	04/03	04/03	04/07	04/07	04/09	04/11	04/18



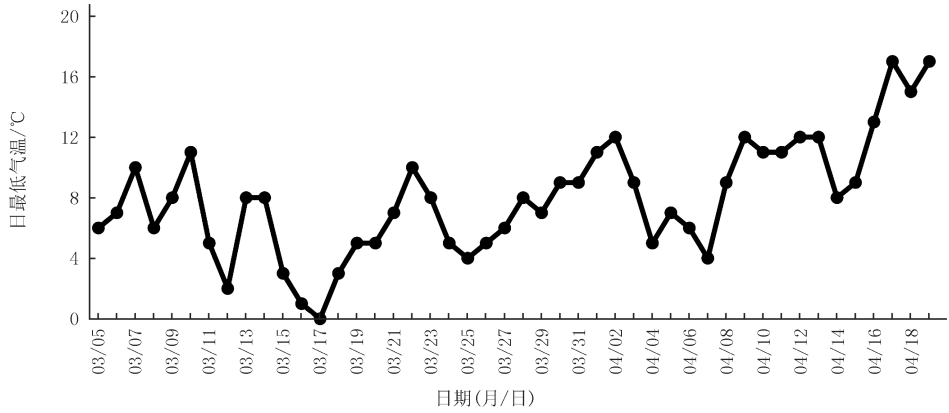
图S1 不同材料取样期间的温度(2022年)

Fig.S1 The daily temperature of different materials during the sampling stage(2022)

表 S2 不同材料不同发育时期的采样日期

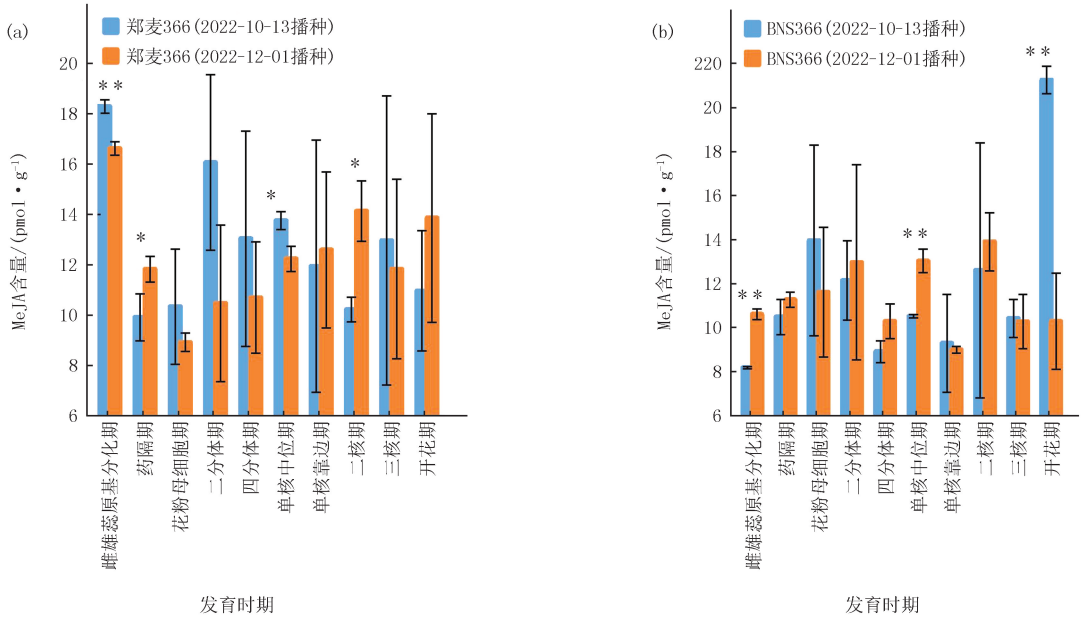
Tab. S2 The exact sampling dates of different materials in different development stages

材料	2022 年			2023 年							
	播种期 (月/日)	雌雄蕊原 基分化期	药隔期	花粉母 细胞期	二分 体期	四分 体期	单核中 位期	单核靠 边期	二核期	三核期	开花期
郑麦 366	10/11	03/05	03/13	03/24	03/27	03/27	03/27	03/30	04/02	04/05	04/10
	12/01	03/21	03/24	04/02	04/04	04/04	04/07	04/10	04/14	04/17	04/19
BNS366	10/11	03/05	03/13	03/24	03/27	03/27	03/30	03/30	04/02	04/05	04/11
	12/01	03/13	03/21	03/28	03/31	03/31	04/04	04/07	04/11	04/14	04/17



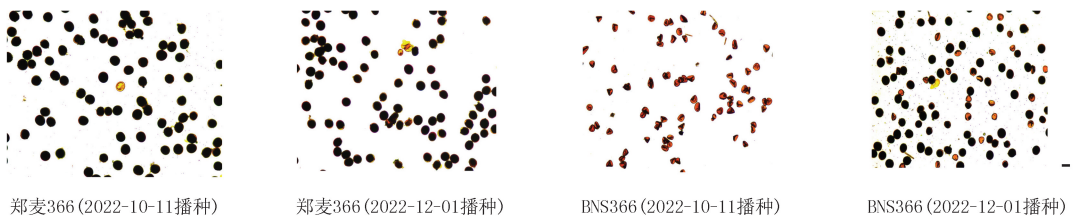
图S2 不同材料取样期间的温度(2023年)

Fig.S2 The daily temperature of different materials during the sampling stage(2023)



图S3 小麦幼穗发育过程中MeJA含量的动态变化(2023年)

Fig.S3 Dynamic changes of MeJA content during developmental stages of wheat young panicle(2023)



郑麦366 (2022-10-11播种)

郑麦366 (2022-12-01播种)

BNS366 (2022-10-11播种)

BNS366 (2022-12-01播种)

图S4 小麦花粉I<sub>2</sub>-KI染色结果(2023年)

Fig.S4 I<sub>2</sub>-KI staining results of wheat pollens(2023)

表 S3 小麦育性表现

Tab. S3 Fertility performance of wheat

材料	播期	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%
郑麦 366	2022-10-11	86.99aA	65.63bB	132.29aA
	2022-12-01	86.87aA	89.02aA	143.57aA
BNS366	2022-10-11	0.00bB	0.00dD	0.00cC
	2022-12-01	73.74aA	20.61cC	36.56bB



图S5 DIECA处理下正常秋季播种郑麦366花粉I<sub>2</sub>-KI染色结果(2023年)

Fig. S5 I<sub>2</sub>-KI staining results of normal autumn sowing Zhengmai 366 pollen under DIECA treatments(2023)

表 S4 小麦育性表现(2023年)

Tab. S4 Fertility performance of wheat(2023)

处理	花粉可育率/%	自交结实率(国内法)/%	自交结实率(国际法)/%
CK	87.29	68.33	132.03
DIECA <sub>5</sub>	82.39	70.72	141.92