

GA₃ 处理影响菠菜性别及其株型发育

张玉兰,王丽颖,梁艺涛,陈宁,李书粉,高武军

(河南师范大学 生命科学学院,河南 新乡 453007)

摘要:赤霉素(gibberellic acids, GAs)是一种重要的植物激素,但其对菠菜生长发育的影响尚未系统报道.以菠菜亚属 PI647862 为材料,研究了外源赤霉素(GA₃)处理后对菠菜的性别转换、开花时间、花粉活力及植株发育等重要性状的影响.结果表明,用质量浓度为 25 mg/L 的 GA₃ 对 2 叶期菠菜进行处理后,约 13% 的菠菜雌株转换为雄株,且转换株的花粉数目、形态及活力均和对照无显著差异.但是,转换雄株的开花时间显著早于对照雄株.研究结果也表明,GA₃ 处理后菠菜植株的高度、叶面积及叶柄长度均显著高于对照植株.进一步分析发现,株高的增加是由于节间细胞纵向伸长所导致的,叶面积的增加是叶细胞面积增加引起的.GA₃ 可诱导菠菜雌株发生雄性化转变,促进菠菜早花,同时促使株高、叶面积和叶柄长度也显著增加.研究结果为全面探究 GA₃ 对于菠菜性别转换和株型发育的影响奠定了基础.

关键词:菠菜;GA₃;性别转换;株型发育

中图分类号:S636;Q945

文献标志码:A

文章编号:1000-2367(2024)02-0130-09

菠菜,藜科菠菜属 1 至 2 年生雌雄异株植物,群体中雌雄比例接近 1 : 1^[1-2].菠菜作为典型的雌雄异株代表植物,其性别决定和分化主要受遗传调控,但也容易受到外源激素和环境等因素的影响^[3-4].早期的研究表明,外源施加细胞分裂素、生长素和脱落酸,处理菠菜根部能够促进菠菜群体中雌株比例的增加;赤霉素则促进菠菜群体中雄性比例的增加^[5].2018 年 WEST 等^[6]使用赤霉素处理菠菜幼苗发现,一定比例的植株发生了性别转换,但是没有明确的证据能够证明性别转换的方向.近年来研究人员通过深入分析菠菜雌雄基因组差异,发现了一些重要的性别连锁分子标记.T11A 是一种雄性连锁的分子标记,其在菠菜雌雄植株中均能扩增出大小为 810 bp 的条带,而特异地在雄株中扩增出一条 320 bp 的条带^[7].SpoX 是一个 X 特异的单核苷酸多态性分子标记^[8],能够用于识别菠菜中的 YY 个体.这些分子标记的发现,为菠菜幼苗早期性别鉴定提供了分子支持.

赤霉素作为一种重要的植物激素,不仅影响植物性别,还参与种子萌发、株型建立、开花结实等多种重要的生长发育过程^[9-12].已有文献报道,外源赤霉素处理能增加苦荞株高^[13]和大豆的茎粗^[14],对莴笋株高、节间长度和产量也具有促进作用^[15];赤霉素尤其是 GA₄ 促使水稻节间的伸长使水稻适应水淹^[16].此外,外源赤霉素处理可以促使拟南芥等多种植物提前开花^[17].使用赤霉素能促进草莓吐蕾提早开花^[18];开花前 10 d 用赤霉素处理可以使“蜂后”葡萄提早开花^[19].施加赤霉素可诱导植物产生不同的形态和性状变化,但尚未有人对外源赤霉素处理菠菜发生的表型变化,尤其是对不同性别的菠菜性状产生的影响进行详细的数据统计及结果分析.

收稿日期:2023-07-05;**修回日期:**2023-09-14.

基金项目:国家自然科学基金(32100285);河南省高等学校重点科研项目(21A180016);河南师范大学博士启动基金(qd19047).

作者简介:张玉兰(1985—),女,河北保定人,河南师范大学讲师,博士,研究方向为植物性别决定与分化的分子机制, E-mail:zhyl-yu@163.com.

通信作者:高武军,gaowujun@htu.edu.cn.

引用本文:张玉兰,王丽颖,梁艺涛,等.GA₃ 处理影响菠菜性别及其株型发育[J].河南师范大学学报(自然科学版),2024, 52(2):130-138.(Zhang Yulan, Wang Liying, Liang Yitao, et al.GA₃ treatment affects sex expression and plant architecture in spinach[J].Journal of Henan Normal University(Natural Science Edition), 2024, 52(2):130-138. DOI:10.16366/j.cnki.1000-2367.2023.07.05.0003.)

本研究采用外源赤霉素处理受试菠菜植株,观察处理前后雌雄性别、开花周期、花粉数目和活性以及菠菜株型如株高、茎节、叶面积等变化情况,用以探究 GA₃ 促进菠菜性别分化和植株生长的组织学基础,为菠菜进一步的相关研究奠定基础。

1 材料和方法

1.1 实验材料

菠菜(*Spinacia oleracea* L. subsp. *Turkestanica*, PI647862)种子去壳浸泡于单蒸水中,放置 100 r/min, 20 °C 的摇床中过夜培养后转移于培养皿中,4 °C 条件下培养 7 d,每天换水 2 次,生根后移栽到土壤(培养土、蛭石体积比为 1:1)中,并放置在光照培养箱中培养,培养温度为 20 °C (16 h:8 h,光暗比),湿度为 70% RH,光照为 14 400 lx。

1.2 实验方法

1.2.1 菠菜幼苗早期性别的鉴定

使用超光速 mix 试剂盒快速提取菠菜幼苗 DNA,取少量菠菜叶片进行研磨后加入裂解液并煮沸 5 min, 12 000 r/min 离心,取上清作为模板用 T11A 引物进行 PCR 扩增,引物序列为 T11A-F, 5'-CCCTAATTA-ACTCCTCTTTACCCAA-3'; T11A-R, 5'-TACAAGCCCCATTATCATAACAGTC-3'。

PCR 反应总体积为 20 μL,包含 1 μL 模板 DNA, 10 μL PCR mix, 1 μL T11A 引物对和 8 μL ddH₂O;其扩增程序为:预变性 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 56 °C 30 s, 72 °C 30 s, 进行 30 个循环, 72 °C 5 min。最后通过质量分数 0.8% 琼脂糖凝胶电泳观察条带,确定每株菠菜幼苗的性别并做标记。待植株开花后根据花的结构进一步判断植株性别,确定 T11A 标记的可靠性。

1.2.2 菠菜植株的 GA₃ 处理

根据前期的研究结果^[20],采用 25 mg/L GA₃ 按照表 1 的处理时期及方式对菠菜进行喷施处理。对照组只喷水,且每个处理重复 3 次。根据早期性别鉴定及植株开花后性别的比较,统计菠菜性别出现转换的时期、转换率及对开花时间的影响。

1.2.3 GA₃ 处理后性别转换株花粉活力检测

在上午 10 点左右收集处理组雌转雄株以及对照组雄株中 3 个成熟的未开裂的花药收集花粉粒,用于花粉形态、数目和活力的分析。

I₂-KI 染色:将收集的花药,置于 1.5 mL EP 管中,并向其中加入 500 μL I₂-KI 染色液,在涡旋仪上短暂震荡,以释放花粉粒,离心机中短暂离心,收集花粉粒,吸取适量溶液于载玻片,加上盖玻片,在光学显微镜下观察。统计花粉的染色率。

Alexander 染色:花药转于含有少量单蒸水 EP 管中,在涡旋仪上短暂离心,吸取底部花粉于载玻片上,并在上面滴加一滴 Alexander 染液,盖上盖玻片,之后在显微镜下观察。

1.2.4 GA₃ 对菠菜株高的影响

土培 40 d 后,对 GA₃ 处理组及对照组的菠菜植株随机选取 30 株进行株高、茎节数量、节间长度测量,从植株基部到最上层叶尖的长度为株高,2 个茎节之间的长度为节间长度。并使用 GraphPad Prism 5 进行数据的处理分析;最后对显著变化的茎节进行徒手切片,制临时装片,在光学显微镜下观察节间细胞;同时将茎节细胞在扫描电镜下观察。对植株的茎节使用 FAA 固定(V_{70%乙醇}:V_{乙酸}:V_{37%甲醛}=90:5:5),将材料置于固定液之中之后抽真空 5~10 min,直至材料固定完全。2~6 h 之后更换新的 FAA 固定液,4 °C 过夜。然后分别在 50%、70%、80%、90%、100%、100%、100% 乙醇中进行梯度脱水,每次 20~30 min。转移到叔丁醇处理 20 min,其中 5~10 min 更换一次新的叔丁醇。最后将材料在液氮中速冻 5~10 min 之后转移到真空冷冻干燥机干燥 2~3 h,将干燥后的材料进行喷金处理,喷金时电流设为 10 mA,每次喷金 20 s,间隔 1 min 之后进行下一次喷金,可处理 4~6 次。处理好的材料在扫描电镜下观察。

1.2.5 GA₃ 处理对菠菜叶面积、表皮细胞大小及叶柄长度的影响

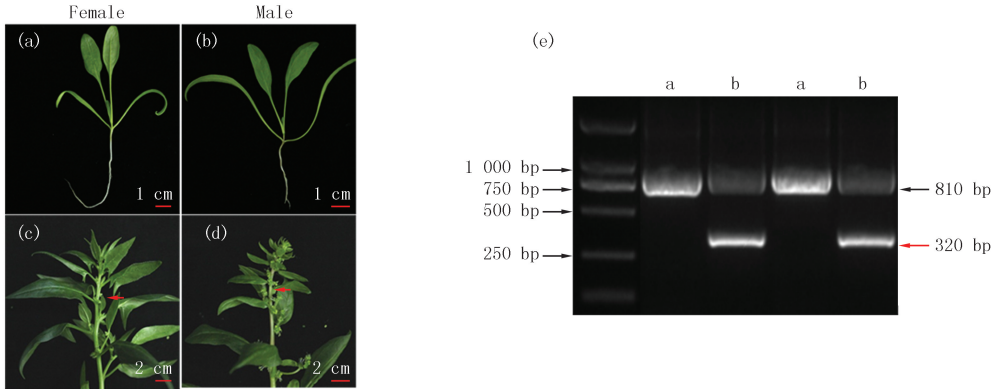
取处理组和对照组 2 叶期至 10 叶期成熟叶片,对表皮细胞进行染色,利用 Image J 软件测量叶片的长

度、宽度、叶面积和表皮细胞大小,采用软尺测量叶柄长度,测量数据使用 GraphPad Prism 5 软件进行处理分析,实验重复 3 次.

2 结果与分析

2.1 菠菜幼苗早期性别的鉴定

为了明确区分开花前菠菜幼苗的性别,使用了雄性特异分子标记 T11A 进行菠菜幼苗(图 1(a,b))早期性别的鉴定,由(图 1(e))可以看出,仅在 810 bp 处有一条带的为雌株,同时有一条 320 bp 条带的为雄株,100 株菠菜幼苗早期和开花期性别的鉴定结果与植株开花后花器官表现的性别均一致(图 1(c-e)),其中雄株 52 株,雌株 48 株,雌雄比例接近 1 : 1,说明该方法确定的菠菜幼苗早期的性别是可靠的.



注: (a, c) 为同一株野生型菠菜雌株在幼苗期 (a) 和开花期 (c) 的形态; (b, d) 为同一株野生型菠菜雄株在幼苗期 (b) 和开花期 (d) 的形态; (e) 利用 T11A 分子标记鉴定菠菜性别. (c) 中红色箭头指示雌花; (d) 中红色箭头指示雄花; (e) 中红色箭头指示雄性特异条带.

图1 菠菜性别的鉴定

Fig.1 Gender identification of spinach plants

2.2 GA₃ 处理引起菠菜性别转换时期的确定

表 1 结果表明,GA₃ 处理能够引起菠菜发生雌株转换为雄株的性别转换,所有处理的平均转换率为 13.42%,且引起转换的处理时期为 2 叶期.说明赤霉素处理菠菜使其性别发生转换是由性别转换关键期 2 叶期喷洒导致,而非多次喷洒积累导致.

表 1 GA₃ 影响菠菜性别转换时期的鉴定

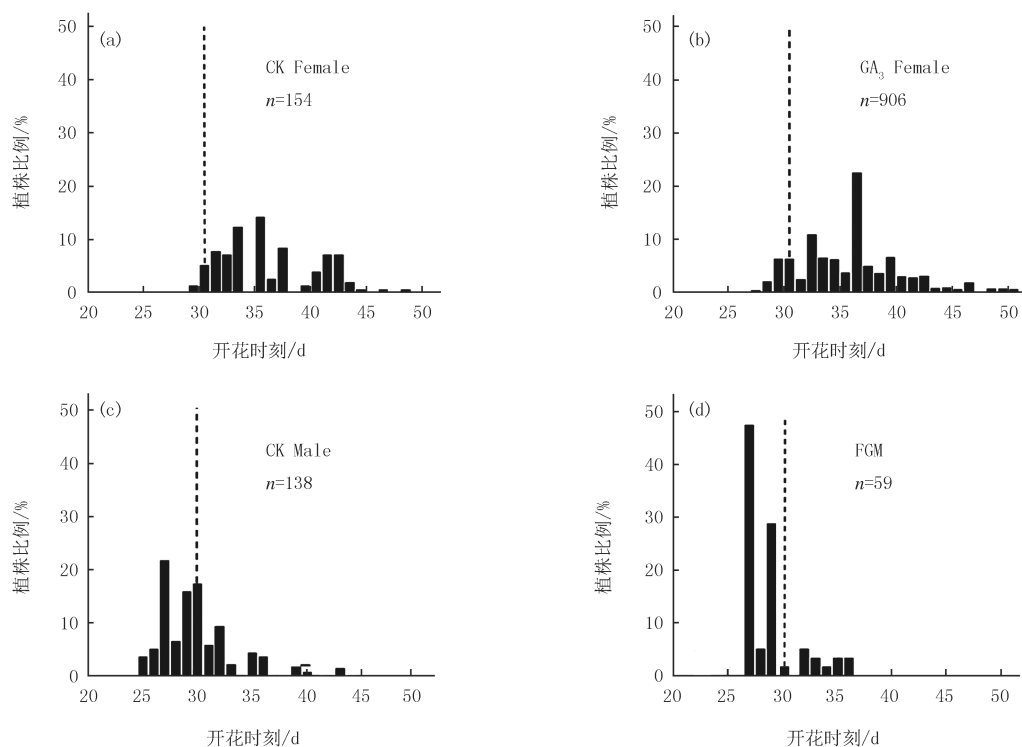
Tab. 1 GA₃ affects the period of sexual conversion in spinachs

处理方式	处理组序号	子叶期	2 叶期	4 叶期	6 叶期	转换率/%
处理一	CK	-	-	-	-	0
	I	+	-	-	-	0
	II	-	+	-	-	13.00±0.03
	III	-	-	+	-	0
	IV	-	-	-	+	0
处理二	CK	-	-	-	-	0
	I	+	-	-	-	0
	II	+	+	-	-	13.50±0.03
	III	+	+	+	-	12.00±0.02
	IV	+	+	+	+	14.00±0.09
处理三	CK	-	-	-	-	0
	I	+	+	+	+	14.24±0.08
	II	-	+	+	+	13.78±0.05
	III	-	-	+	+	0
	IV	-	-	-	+	0

注: +, 喷洒 GA₃; -, 不喷洒 GA₃.

2.3 GA₃ 处理对菠菜开花周期的影响

通过统计菠菜的开花时间可以看出,对照组雌(CK Female)和 GA₃ 处理组雌(GA₃ Female)的开花时刻差异不显著,均是在第 30 d 左右开始开花(图 2(a,b)).而对照组雄(CK Male)和经 GA₃ 处理后由雌株转换的雄株(female was treated with GA₃ and than transformed into male,FGM)的开花时间显著早于雌花,分别是在第 26 d 和第 22 d 开花(图 2(c,d)),说明 GA₃ 处理后不仅能引起菠菜雌株的雄性化转换,也能促进开花.



不同性别菠菜的开花时间, n 为样本量, 虚线表示开花时间为 30 d.

图2 菠菜的开花时间

Fig.2 The flowering time of spinach plants

2.4 GA₃ 对菠菜花粉活力的影响

为了检测转换雄株的花粉形态及功能是否正常,利用 I₂-KI 和 Alexander 对花粉染色后发现,相同稀释比例下,转换雄株的花粉量和对照雄株基本一致(图 3(a,e)).花粉形态近似球状,花粉着色较深,说明转换株的花粉形态正常(图 3(b,f));其次,根据 Alexander 染色的结果可以看出,转换株的花粉约 85% 被染成深红色,表明其花粉原生质体具有很好的活力(图 3(c,g)).用转换株的花粉对正常雌株进行授粉后发现,其平均结实率为 80%,和对照组实验结果差异不显著(图 3(d,h)),说明赤霉素处理引起的雌株转换后的雄株花粉具有正常的授粉活性.

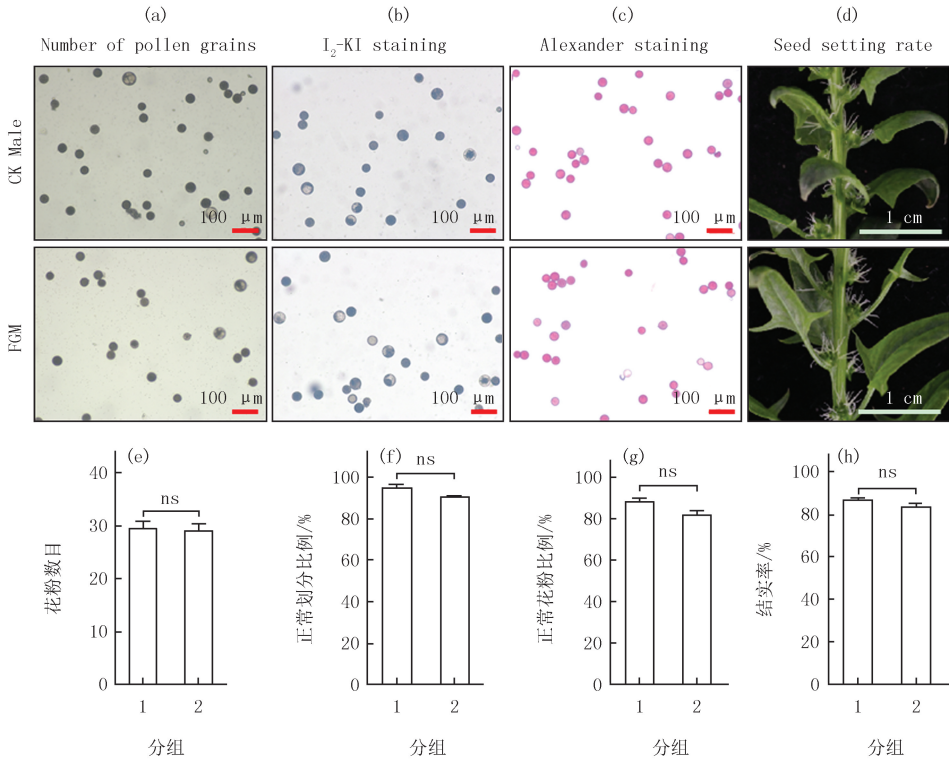
2.5 GA₃ 处理对菠菜株高的影响

从图 4 中可看出,GA₃ 处理后菠菜植株的高度显著高于对照植株(图 4(a)).为了分析株高的增加是节间数量的增加还是节间长度的增加,统计处理组和对照组节间数量及长度后发现,处理组植株所有节间的长度均出现增加,但是第 3、4 和第 6 节间的长度增加达到极显著水平,其他茎节也呈现增加的趋势但未存在明显的统计学差异(图 4(b,c)).进一步通过徒手切片和扫描电镜观察显著增加的第 3、4 茎节中节间细胞的形态发现,节间的伸长是由节间细胞纵向长度增加所导致的(图 4(d,e)).

2.6 GA₃ 对菠菜叶面积和表皮细胞大小的影响

叶面积和菠菜产量及质量密切相关,通过对处理组和对照组 2 叶期至 10 叶期的成熟叶片的叶面积比较发现,除 10 叶期的叶片长度和叶面积与对照组无显著差异外,其余时期的叶片长度和叶面积均显著大于对照组.其中叶片长度差异最明显的是 2 叶期和 4 叶期,分别是对照组的 1.27 倍和 1.38 倍.叶面积差异最明显的也是 2 叶期和 4 叶期,分别是对照组的 1.22 倍和 1.28 倍.但处理组叶片的宽度与对照相比差异较小

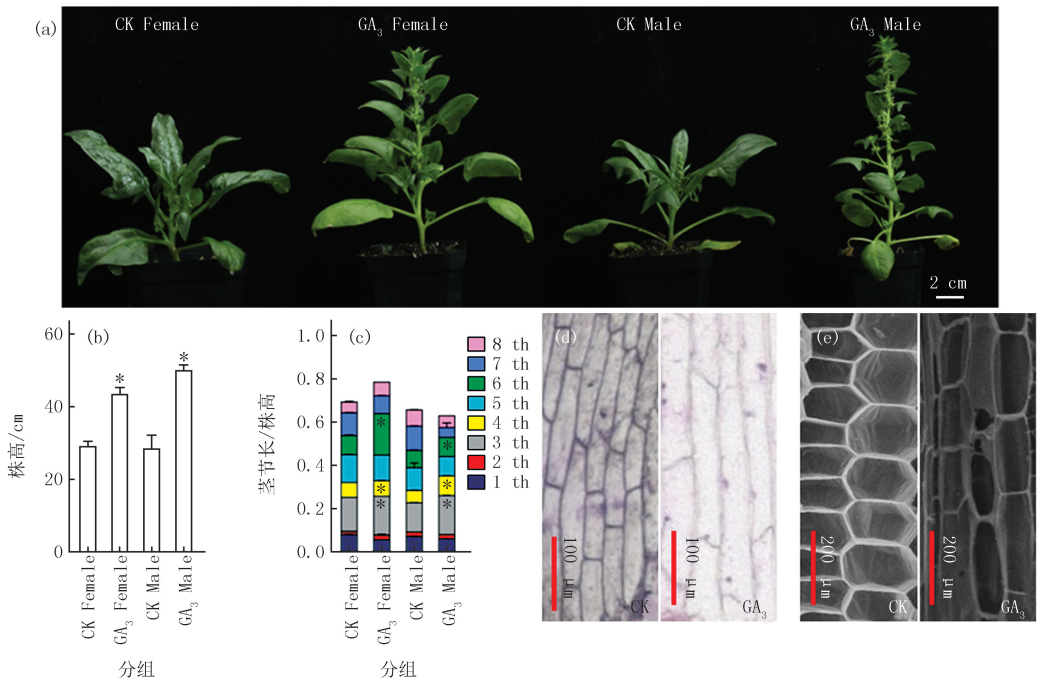
(图 5(a)).说明 GA_3 处理促使菠菜叶片长度的增加从而引起叶面积的增大.



(a, e) 转换株花粉与对照雄株花粉的数量比较; (b, f) 利用 I_2 -KI 染色检测转换株花粉的活力; (c, g) 利用 Alexander 染色检测转换株花粉的原生质体活力; (d, h) 利用杂交实验检测转换株花粉的授粉活力. ns 表示无显著差异. 1:CK Male; 2:FGM.

图3 菠菜的花粉数目和花粉活力检测

Fig.3 Pollen counting and pollen viability staining of spinach plants

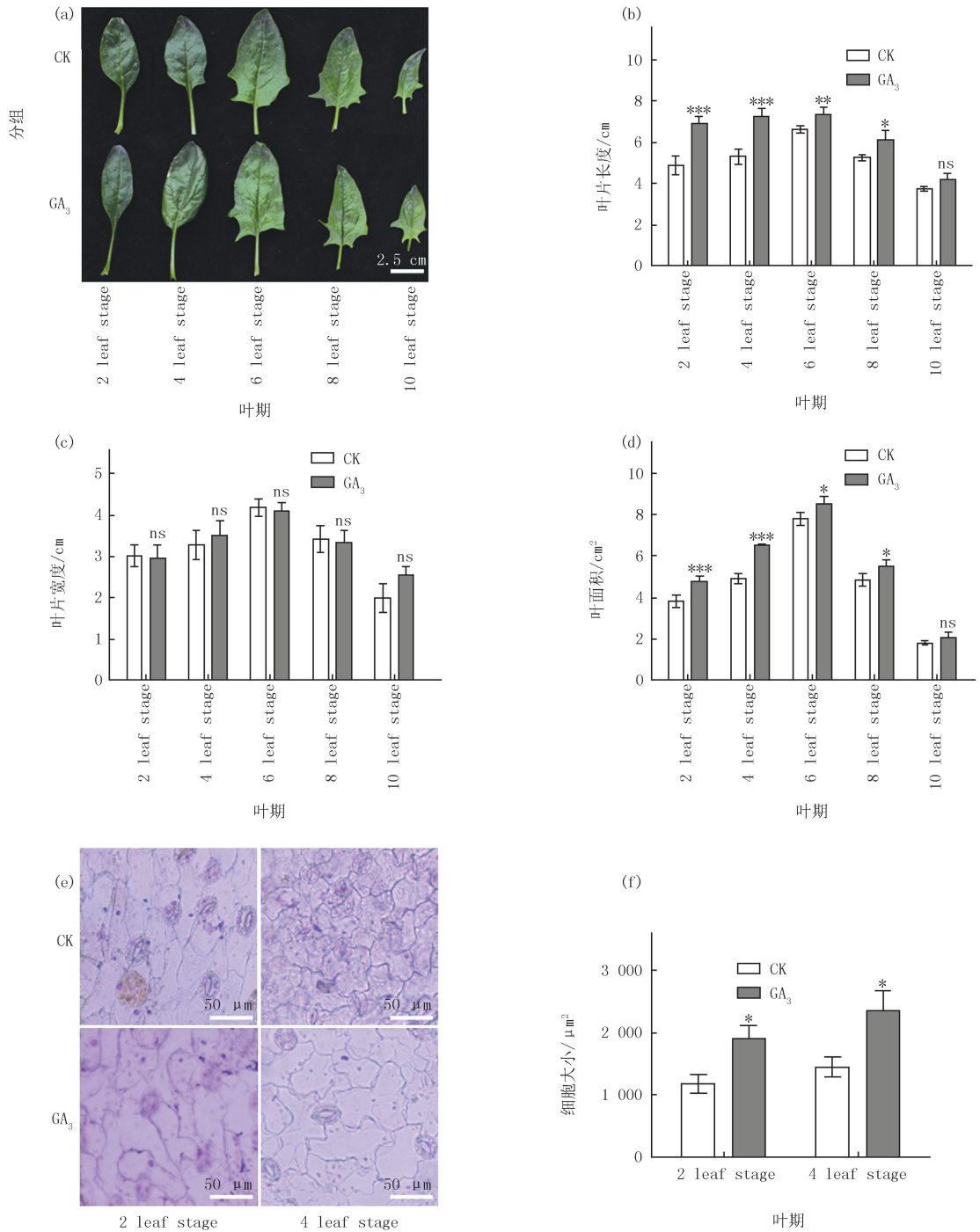


(a) 为 GA_3 处理后菠菜植株的高度; (b) 为植株高度; (c) 为茎节长占植株高度的比例; (d) 为茎节光学显微镜图; (e) 为茎节扫描电镜图. *表示 $P < 0.01$.

图4 菠菜的节间伸长

Fig.4 Internode elongation of spinach plants

对处理组和对照组 2 叶期和 4 叶期的表皮细胞进行染色,通过显微镜观察发现,处理组 2 叶期表皮细胞平均大小为 1 914.4 μm²,对照组为 1 186.8 μm²,即处理组表皮细胞大小为对照的 1.61 倍,而处理组 4 叶期表皮细胞大小为对照的 1.63 倍(图 5(e,f)).这说明赤霉素引起菠菜叶面积增加的主要原因是叶细胞大小的增加。



(a~d) 为处理组和对照组2叶期至10叶期的叶片参数比较; (e, f) 为处理组和对照组2叶期和4叶期表皮细胞比较。*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$; ***表示 $P < 0.001$ 。

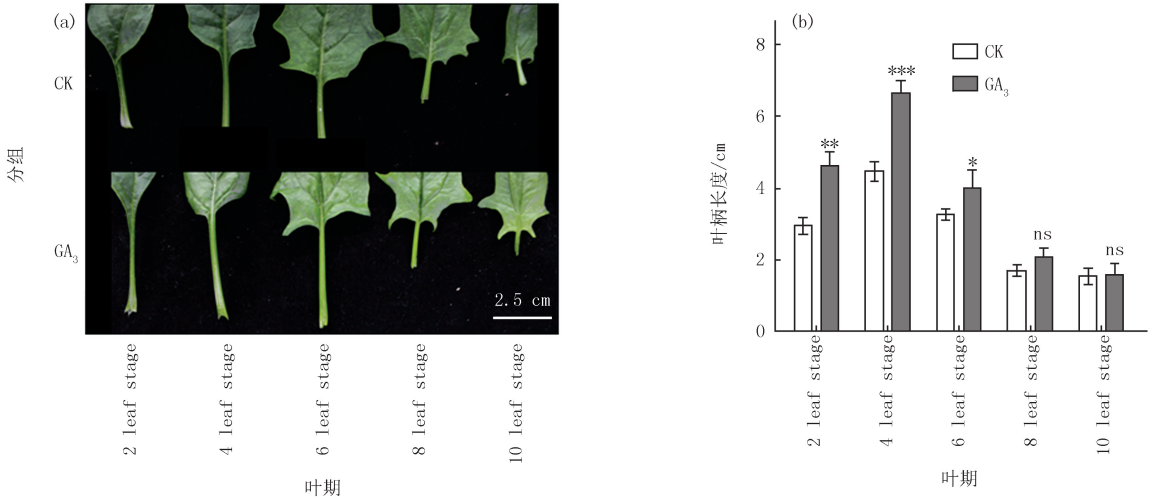
图5 菠菜叶面积和表皮细胞大小

Fig.5 Leaf area and epidermal cell size of spinach plants

2.7 GA₃ 对菠菜叶柄长度的影响

叶柄长度是菠菜株型的重要指标之一,通过对 2 叶期至 10 叶期的叶柄长度进行比较,结果表明,GA₃

处理后,除 8 叶期和 10 叶期叶柄长度与对照组无显著差异外,其余时期叶柄长度均显著增长(图 6(a)).其中叶柄长度差异最明显的为 2 叶期和 4 叶期,分别为对照组的 1.57 倍和 1.49 倍(图 6(b)),说明喷洒赤霉素可以促进菠菜叶柄伸长.



*表示 $P < 0.05$; **表示 $P < 0.01$; ***表示 $P < 0.001$.

图6 菠菜叶柄长度

Fig.6 Length of spinach petiole

3 讨论

已有研究表明,赤霉素作为一种重要的植物生长调节激素能够参与植物花器官的形成或性别发育.如毛白杨(*Populus tomentosa*)雄花中赤霉素相关基因的表达量高于雌花,且比雌花中表达时期要早^[21],暗示赤霉素具有促进毛白杨雄性化的作用,而用赤霉素抑制剂处理雌雄异株植物番木瓜(*Carica papaya*)能够促进雄花的心皮发育^[22].同样在雌雄同株异花植物黄瓜花中也发现雄花中内源赤霉素含量比雌花的更高^[23].这说明赤霉素具有促使单性花雄性化发育的作用.在菠菜性别发育过程中,赤霉素通常被认为是重要的生理调控因子^[24].从菠菜形成第二对真叶至花序发育期间,对其进行外源 GA₃ 的喷洒处理,结果 78% 的植株表现为雄株^[5],证明了赤霉素的雄性化作用.其他相关的菠菜研究中,均从幼苗早期进行外源激素处理,并表明菠菜发育早期阶段对其性别分化是关键的^[6,22,25],但菠菜群体水平雌雄比例的改变,无法支持在单株水平上进行性别转换的形态观察和机制研究.本文建立了菠菜雄性特异标记与雌雄花形态的稳定性关系,最终确定了外源 GA₃ 诱导菠菜雌株发生性别转换的时期为 2 叶期.

赤霉素通过抑制负调控因子 DELLA 蛋白来调控拟南芥的开花时间,并与其他主要的开花遗传途径协同影响开花^[26].本研究中处理组雌株的开花时间与对照组雌株的开花时间相比无明显提前,而雌转雄植株的开花时间则明显提前,且早于正常的雄株.此结果一方面提示了赤霉素促进开花的作用,另一方面也暗示了菠菜开花时间与性别之间的相关性.此外,研究还发现转换后雄株的花粉具有与对照组雄株相同的活力和授粉结实能力,说明赤霉素对菠菜的有性生殖尤其是雄性发育具有积极的影响.

株高和叶片大小是决定植物株型的重要参数.由于每株植物的参数不完全相同,导致植物的株型出现多样性.外源施加 GA₃ 可调节细胞的分裂或伸长,影响植物的节间数目和长度,进而促进植株生长^[27].叶面喷施 GA₃ 可以促进黄瓜植株茎的伸长和增粗^[28],用赤霉素处理草莓后其叶柄长度和叶面积均有明显增加^[18].我们通过对 GA₃ 处理后的菠菜株型变化如株高、茎节、细胞数目和大小,叶面积、叶片长度和叶柄长度等数据的统计,确定了经 GA₃ 处理,菠菜株高的增加伴随着节间细胞的纵向伸长,叶面积增加表现为表皮细胞的增大.

4 结论

外源 GA₃ 处理可诱导菠菜性别发生转换,且菠菜性别转换的关键期为 2 叶期,平均性别转换率约为

13.42%。GA₃诱导的雌转雄植株开花时间比雄株的开花时间提前,二者均早于雌株,且雌转雄植株与雄株的花粉活性和授粉结实能力相似。GA₃促进植株增高是通过节间细胞伸长导致节间伸长引起的,叶面积的增加是叶细胞增大引起的。

参 考 文 献

- [1] KHATTAK J Z K, TORP A M, ANDERSEN S B. A genetic linkage map of *Spinacia oleracea* and localization of a sex determination locus[J]. *Euphytica*, 2006, 148(3): 311-318.
- [2] SATHER D N, GOLENBERG E M. Duplication of AP1 within the *Spinacia oleracea* L. AP1/FUL clade is followed by rapid amino acid and regulatory evolution[J]. *Planta*, 2009, 229(3): 507-521.
- [3] MITCHELL C H, DIGGLE P K. The evolution of unisexual flowers: morphological and functional convergence results from diverse developmental transitions[J]. *American Journal of Botany*, 2005, 92(7): 1068-1076.
- [4] 董伟欣, 张迎迎. 赤霉素对拟南芥非生物逆境响应的研究[J]. *河南农业大学学报*, 2019, 53(2): 236-243.
DONG W X, ZHANG Y Y. Study on the response of GA to abiotic stress tolerance in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Henan Agricultural University*, 2019, 53(2): 236-243.
- [5] CHAILAKHYAN M K, KHRYANIN V N. Effect of growth regulators and role of roots in sex expression in spinach[J]. *Planta*, 1978, 142(2): 207-210.
- [6] WEST N W, GOLENBERG E M. Gender-specific expression of gibberellic acid insensitive is critical for unisexual organ initiation in dioecious *Spinacia oleracea*[J]. *The New Phytologist*, 2018, 217(3): 1322-1334.
- [7] AKAMATSU T, SUZUKI T, UCHIMIYA H. Determination of male or female of spinach by using DNA marker[J]. *Sakata no tane KK*, Japan, 1998.
- [8] WADLINGTON W H, MING R. Development of an X-specific marker and identification of YY individuals in spinach[J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2018, 131(9): 1987-1994.
- [9] GOLENBERG E M, WEST N W. Hormonal interactions and gene regulation can link monoecy and environmental plasticity to the evolution of dioecy in plants[J]. *American Journal of Botany*, 2013, 100(6): 1022-1037.
- [10] MOON J, SUH S S, LEE H, et al. The SOC1 MADS-box gene integrates vernalization and gibberellin signals for flowering in *Arabidopsis*[J]. *The Plant Journal*, 2003, 35(5): 613-623.
- [11] SUN T P. The molecular mechanism and evolution of the GA-GID1-DELLA signaling module in plants[J]. *Current Biology*, 2011, 21(9): 338-345.
- [12] VERA-SIRERA F, GOMEZ M D, PEREZ-AMADOR M A. DELLA proteins, a group of GRAS transcription regulators that mediate gibberellin signaling[M]. Amsterdam: Elsevier, 2016: 313-328.
- [13] 王强, 向达兵, 魏威, 等. 赤霉素对苦荞生长、结实和产量的影响[J]. *南方农业学报*, 2022, 53(2): 441-450.
WANG Q, XIANG D B, WEI W, et al. Effects of gibberellin on the growth, fruiting and yield of Tartary buckwheat[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2022, 53(2): 441-450.
- [14] 韩毅强, 石英, 高亚梅, 等. 赤霉素及烯效唑对大豆形态、光合生理及产量的影响[J]. *中国油料作物学报*, 2018, 40(6): 820-827.
HAN Y Q, SHI Y, GAO Y M, et al. Effects of gibberellins and uniconazole on morphology, photosynthetic physiology and yield of soybean[J]. *Chinese Journal of Oil Crop Sciences*, 2018, 40(6): 820-827.
- [15] 杨佳文, 李浩, 王强, 等. 直播莴笋喷施赤霉素时期和浓度的探讨[J]. *四川农业科技*, 2022(2): 54-55.
YANG J W, LI H, WANG Q, et al. Discussion on the period and concentration of gibberellin spraying on direct-seeding lettuce[J]. *Sichuan Agricultural Science and Technology*, 2022(2): 54-55.
- [16] KUROHA T, NAGAI K, GAMUYAO R, et al. Ethylene-gibberellin signaling underlies adaptation of rice to periodic flooding[J]. *Science*, 2018, 361(6398): 181-186.
- [17] YAMAGUCHI N, WINTER C M, WU M F, et al. Gibberellin acts positively then negatively to control onset of flower formation in *Arabidopsis*[J]. *Science*, 2014, 344(6184): 638-641.
- [18] 谭国华, 赵统利, 李荣花, 等. 赤霉素对温室草莓生育状况的影响[J]. *北方果树*, 1996(1): 10-11.
TAN G H, ZHAO T L, LI R H, et al. Effect of gibberellin on strawberry growth in greenhouse[J]. *Northern Fruits*, 1996(1): 10-11.
- [19] 唐丁, 温腾建, 卢龙, 等. 赤霉素处理对峰后葡萄开花期的影响及其分子机理[J]. *中国农业大学学报*, 2015, 20(6): 92-98.
TANG D, WEN T J, LU L, et al. Effects of gibberellin treatment on flowering-time of 'Fenghou' grapevine and its molecular mechanisms[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2015, 20(6): 92-98.
- [20] 朱红伟. GA₃引起菠菜性别转换的表型及分子机制研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2021.
ZHU H W. The phenotypic and molecular mechanisms of GA₃ induced on sex conversion in *Spinacia oleracea*[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2021.

- [21] SONG Y P, MA K F, CI D, et al. Sexual dimorphic floral development in dioecious plants revealed by transcriptome, phytohormone, and DNA methylation analysis in *Populus tomentosa*[J]. *Plant Molecular Biology*, 2013, 83(6): 559-576.
- [22] KUMAR A, JAISWAL V S. Sex reversal and fruit formation on male plants of *Carica Papaya* L by etrel and chlorflurenol[J]. *Proceedings: Plant Sciences*, 1984, 93(6): 635-641.
- [23] 陈学好, 曾广文, 曹碯生. 黄瓜花性别分化和内源激素的关系[J]. *植物生理学通讯*, 2002, 38(4): 317-320.
CHEN X H, ZENG G W, CAO B S. Relationship between sex differentiation of cucumber flowers and endogenous hormones[J]. *Plant Physiology Journal*, 2002, 38(4): 317-320.
- [24] AKAGI T, HENRY I M, OHTANI H, et al. A Y-encoded suppressor of feminization arose via lineage-specific duplication of a cytokinin response regulator in kiwifruit[J]. *The Plant Cell*, 2018, 30(4): 780-795.
- [25] DIGGLE P K, DI STILIO V S, GSCHWEND A R, et al. Multiple developmental processes underlie sex differentiation in angiosperms[J]. *Trends in Genetics: TIG*, 2011, 27(9): 368-376.
- [26] BAO S J, HUA C M, SHEN L S, et al. New insights into gibberellin signaling in regulating flowering in *Arabidopsis*[J]. *Journal of Integrative Plant Biology*, 2020, 62(1): 118-131.
- [27] 邓惠惠, 白龙强, 于贤昌, 等. 日光温室早春黄瓜叶片喷施赤霉素对生长和生理及产量的影响[J]. *园艺学报*, 2016, 43(5): 983-990.
DENG H H, BAI L Q, YU X C, et al. Effects of foliar-applied GA₃ on physiological characteristics, yield and quality of early spring cucumber in greenhouse[J]. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(5): 983-990.
- [28] PAROUSSI G, VOYIATZIS D G, PAROUSSIS E, et al. Growth, flowering and yield responses to GA₃ of strawberry grown under different environmental conditions[J]. *Scientia Horticulturae*, 2002, 96(1/2/3/4): 103-113.

GA₃ treatment affects sex expression and plant architecture in spinach

Zhang Yulan, Wang Liying, Liang Yitao, Chen Ning, Li Shufen, Gao Wujun

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: Gibberellic acids (GAs) play an important role in plant growth regulation. To explore the effects of GAs on sex expression and plant architecture of spinach, we studied the effects of exogenous GA₃ on sex conversion, flowering time, pollen viability, and other key traits of spinach inbred PI647862. After being treated with 25 mg/L GA₃, about 13% of the female spinach plants underwent masculinization, and the pollen morphology and vitality of the converted plants were similar as those of the control males. However, the converted male plants flower significantly earlier than male plants. Additionally, the height, leaf area, and petiole length of spinach plants treated with GA₃ were significantly higher than control plants. Further analysis showed that plant height was increased as a result of longitudinal elongation of internode cells, and leaf area increased due to an increase in leaf cells area. 25 mg/L GA₃ induced a higher frequency of masculinization conversion in female spinach plants at the two-leaf stage and promoted flowering. The converted males had the same morphology and function as normal males and increased the plant height, leaf area, and petiole length significantly. The results laid the foundation for a comprehensive exploration of the effects of GA₃ on sex conversion and plant architecture in spinach.

Keywords: spinach; GA₃; sex conversion; plant architecture

[责任编辑 刘洋 杨浦]