



牛庭莉,张树权,韩喜财,等.大麻雌化处理方法的研究进展[J].黑龙江农业科学,2022(1):100-103,104.

大麻雌化处理方法的研究进展

牛庭莉¹,张树权²,韩喜财³,牛江帅¹,吴 荣¹,程欣然¹,戴凌燕¹

(1.黑龙江八一农垦大学 生命科学技术学院,黑龙江 大庆 163319;2.黑龙江省农业科学院 经济作物研究所,黑龙江 哈尔滨 150086;3.黑龙江省科学院 大庆分院,黑龙江 大庆 163319)

摘要:为提高大麻育种效率,本文对诱导大麻雌株形成的物理化学方法、环境因素等及全雌种子产生的方法进行概述,并提出未来利用现代分子生物学技术对大麻进行雌化的可能途径。一方面是建立大麻植株性别早期鉴定技术,从而提高栽培效率并缩短育种进程;另一方面可通过分子设计育种来达到雌化目标,即建立稳定高效的大麻遗传转化体系和克隆大麻调控雌性分化的重要功能基因。

关键词:大麻;雌化;全雌种子;大麻素;处理方法

大麻(*Cannabis sativa* L.),又称寒麻、火麻和魁麻等,是大麻科大麻属植物。大麻的种植起源于中亚,而后进入东亚、南亚和欧洲,进而贯穿非洲和美洲大陆^[1]。大麻多为雌雄异株,在大田里,雌雄株比例接近 1:1,或比值小于 1^[2]。大麻雌株高大,叶片多,茎秆木质化晚;而雄株叶片较少,茎秆细,开花以后很快木质化。大麻的各个部位在生产上有许多用途^[3],可分为工业大麻和药用大麻,其本质区别是工业大麻中具有致幻作用的四氢大麻酚(THC)含量低于 0.3%。大麻茎秆中的纤维质量精良多用于纺织麻布、制绳子、造纸等^[4];种子可榨油作为油漆、涂料来使用;大麻仁可治疗多种疾病,也是保健食品的良好原料^[5]。大麻中的大麻素多集中在雌性植株表面的毛状体,大麻酚类多存在于雌花未结籽之前的花序及花序附近的叶片。最常见的大麻素为大麻二酚(CBD)和四氢大麻酚(THC),大麻二酚可消除四氢大麻酚对人体产生的致幻作用,并对抑郁症和儿童癫痫有较好的疗效,在医药领域有较高的商业价值。

在大麻制种时,雄株产生花粉量大并且散粉时期长,雌株数量对制种效率起决定作用。因此,在田间种植面积一定的情况下,雌株数量增多可

以有效增加繁殖倍数,提高经济效益。在利用大麻生产大麻二酚时,由于大麻素主要分布在雌株花萼等处的腺毛中,雌性植株所占比例直接影响大麻二酚产量,因此提高群体中雌株比例非常重要^[6],而大麻雌化是促使雌花增多或诱导形成雌雄同株进而获得全雌种子的方法。近年来,利用化学、物理及栽培管理等方法进行大麻雌化的研究正在开展,但所取得的成果应用很少。本文对目前已发表的大麻雌化的方法进行了整理,并提出未来利用现代分子生物学技术获得雌化的可能方法,以期为大麻的实际生产及科学研究提供一定的理论参考。

1 诱导雌株形成

植物性别的决定是基于遗传因素,而其性别的表达则依赖基因型和环境因素。目前可采用重金属盐、化学诱变剂、激素及激素抑制剂处理大麻使其雌花增多,雄花减少,增加雌株占比,在大麻种植管理方面,可以对光周期、温度和肥料等方面进行调控。

1.1 物理化学诱变

1.1.1 重金属盐(HM 盐) 大麻植物体内激素平衡可被外界因素影响,从而决定性别表达^[7]。Soldatova 等^[7]用重金属盐对不同熟期大麻品种的种子进行后可引起激素水平变化,进而影响性别表达。结果表明,与对照相比,施用CuSO₄和ZnSO₄后,早熟和晚熟品种的大麻雄花与雌花的比例显著降低,雌花数量增加,雄花数量减少 25.3%~28.4%;中、晚熟品种 GA 含量分别降低 47.1%和 50.5%,早熟品种 GA 含量在ZnSO₄处

收稿日期:2021-09-08

基金项目:黑龙江省农业创新工程棚室种植技术(MLCX-16);黑龙江省麻类(药用)体系组培与克隆协同创新岗(YYM19STX-19)。

第一作者:牛庭莉(1997—),女,硕士研究生,从事大麻单细胞培养研究。E-mail:1074349711@qq.com。

通信作者:戴凌燕(1977—),女,博士,教授,从事植物生理相关研究。E-mail:dailingyan770416@126.com。

理后显著降低,而 CuSO_4 处理变化不明显。个体发育过程中性别分化和表达主要依赖于植物激素,其可在不同水平上调控蛋白质的合成、酶活性、呼吸速率、细胞分裂、生长和分化等^[7]。由于 3 对真叶期是茎尖端生长点从营养生长向生殖生长过渡的关键阶段,此时植物内源激素含量对于大麻的性别决定至关重要。HM 盐可通过影响大麻 3 对真叶期植物激素的平衡来调控性别表达。铜盐和锌盐的施用使植株中赤霉素含量显著减少,玉米素含量增加,从而导致植株变矮,雌花分化,但铜和锌是如何调控激素含量变化的机理还需要进一步研究。HM 盐处理晚熟品种时,由于其营养生长和生殖生长过程较长,使得 HM 盐在调控植物激素平衡状态中发挥更长、更稳定的作用,从而对植物性表达影响更强。此外,在野牛草、黄瓜、西洋山靛、大麻的根及叶片的研究结果都表明,赤霉素可诱导植物雄性化,细胞分裂素可诱导植物雌性化^[8-12]。

1.1.2 激素诱导 Chailakhyan^[13]早在 1937 年就提出,性激素调控植物从营养生长到开花的转变。据 Herich^[14]的研究,大麻种子浸泡在赤霉素中 24 h 可以诱导更多的大麻雌株。房郁妍^[15]发现 6-BA、3AA、IAA 处理后可使大麻产生雌花且雌株比例均在 70% 以上。而乙烯利作为乙烯来源之一,也可通过调控植物内源生长素水平来影响性别表达,研究表明,乙烯处理可使大麻雌株上诱导出雌花^[16-17]。Ram 等^[18]人也进行了乙烯利对大麻雌化的研究,采用低、中、高三种浓度的乙烯利对大麻幼苗进行处理。结果表明,乙烯利处理对大麻花器官发育及性别分化有较大影响,低浓度乙烯利处理的植株仅结有少数雌雄间花(代表了正常雄花向雌花转变的阶段)、雄蕊数目减少的花,没有雌花形成;中等浓度乙烯利处理的植株出现雌花,雌雄间花的节数较多,雄花的雄蕊数减少,且所有这些类型的花都可出现在同一簇中;而高浓度乙烯利处理植株雌化程度增强,但花的总数大幅度减少。这些数据表明,乙烯利处理大麻雄株可以改变花的性别表达,诱导雌花产生。此外,乙烯利处理也对大麻植株叶片发育和株高有影响,且浓度越高影响效果越明显,但在处理 10 d 后症状消失;同时乙烯利处理还会使大麻节间变短,但节数不变。

形态素(Morphactin),又称整形素,在农业上应用广泛,是一种暂时性的生长素运输抑制剂,被茎叶吸收后可通过韧皮部和木质部上下传导运输。形态素对大麻雌性植株处理没影响,但可对雄性植株产生影响。Ram 等^[19]选用不同浓度形态素 Morphactin IT 3456 [甲基-2-氯-9-羟基芴-(9)-羧酸盐]分别对大麻雄株叶片进行处理。结果发现,低浓度形态素处理 21 d 后植株上开始出现雌花;经中等和高等浓度形态素处理的植株开花延迟 14 d,新花表现为花部皱缩和不同程度的雌性化。当处理 42 d 后,施用低等或中等浓度形态素的植株恢复正常生长,并分化出雄花;而施用高浓度形态素的植株花仍然发育不良,只形成异常花。可见,中高浓度形态素处理可导致极端雌性化,但形态素的作用机理还不确定。

1.1.3 其他方法 有些化学诱变剂处理可起到雌化作用,用 N-二硝基甲基脲处理雌雄异株的大麻种子, M_1 代雄株减少 5%~7%;用硫酸二甲脲处理则减少 1%~5%;当用 0.015% 的 N-二硝基甲基脲处理雌雄同株的种子,则雄株完全消失;秋水仙碱对大麻性比例变化产生更实质的影响,增加雌株的比例,且产生的影响可传递给后代^[20]。另外,利用物理方法伽马射线处理雌雄同株和雌雄异株的大麻种子,由于雌性种子对射线不敏感,而雄性种子因耐放射性能力低而导致雄株减少,从而增加雌株的比例,也可达到雌化的目的^[20]。

1.2 环境因素

大麻是短日植物,在夏季播种,由于日照时间长,群体中的雌雄株正常生长,雌雄比例变化不大,但若在日照时间较短的秋季播种,就会有 50%~90% 雄株转为雌株^[21]。也有研究表明,大麻若在 12 月进行温室内播种,则有 50%~90% 的雌株转为雄株,以至最后全变为雄株^[22]。辛培尧等^[23]认为冬季自然短日照可以使大麻性别发生逆转,可能是雄性变雌性,也可能是雌性变雄性;而人工短日照处理并不会使大麻性别发生逆转。同样是适宜大麻性别分化的短日照条件,却在自然条件和温室状态下表现出不同的结果,究其原因,可能是大麻性别分化是生长环境中光周期和温度协同作用的结果。自然条件中光周期和温度变化较大,温室中光周期和温度基本无变化,而在适宜的光周期下,低温和较大的昼夜温差都

会促进雌花分化。

另外,在田间生产管理时,氮肥增加有利于雌花分化。Werf 等^[24]研究表明,大麻生长期间,随氮肥施用量增加,雌株比例显著增加。当使用 8 倍于克氏溶液的氮肥时,可得到 100% 的雌株^[25]。但是,氮肥会抑制大麻生殖生长,采用高浓度氮肥诱导雌株的方法用于生产依然不可取。

1.3 其他因素

还有一些研究表明大麻花和叶片酶活性及蛋白质含量与植物性别分化相关。强晓霞^[26]研究发现,成熟期大麻雌株的花和叶片中过氧化物酶(POD)活性和可溶性蛋白质含量均显著高于雄株。在苦瓜上也得到类似的结论,张玲玲^[27]在全雌系、强雌系和弱雌系 3 种性型苦瓜上的研究表明,POD 活性与雌性呈正相关;汪俏梅等^[28]对苦瓜雌花、雄花的可溶性蛋白质进行分析,发现了一些与性别分化有关的特异蛋白质,推测一个 11 kD 的蛋白质可能是雌花分化程序表达中的一种“关键蛋白”。可见,高 POD 活性及高可溶性蛋白质含量均与植株雌性分化正相关,这也可能成为未来大麻雌化方法建立的一个方向。

2 诱导全雌种子形成

雌雄异株大麻制种时工作量大,成本高,效率低,且后代植株雌雄各半。使用乙烯拮抗剂硫代硫酸银(STS)、乙烯合成抑制剂氨基氧乙酸(AOA)和银离子可诱导大麻雌株产生雄花而变为雌雄同株,从而获得全雌性种子,可为大麻中酚类物质(如 CBD)的提取提供优异种质资源。

硫代硫酸银(STS)是效果显著的乙烯拮抗剂,因其制备简单,在花卉保鲜上被广泛使用。近年来,STS 在大麻上被用来制作全雌种子。陈璇等^[29]用自制 STS 诱导大麻雌株变为雌雄同株,完成自由传粉,再将得到的种子种植并二次诱导后,无需去雄即可获得纯雌性工业大麻种子。此方法基于工业大麻为雌雄异株的现状,用化学诱导的方法对其特定的生长时期处理,进而得到纯雌性工业大麻种子,成本低,操作简便,对于简化工业大麻杂交制种过程及纯化方法方面有较好应用前景。但要注意银离子是重金属,使用后的废液要集中处理避免对环境造成污染。

氨基氧乙酸(AOA)常用来处理鲜切花,延长插花寿命,还用来抑制植物的偏上性生长,AOA

能阻断植物合成乙烯。AOA 本身并不稳定,通常都是与酸生成氨基氧乙酸盐后进行保存。董晓慧等^[30]采用异亚丙基氨基氧乙酸和挥发性酸反应生成的混合物来诱导纯雌性工业大麻。此方法可减少去雄过程中的人工劳动时间,且对水和环境的污染也大大降低,获得大麻纯雌性种子效率提升,适合市场推广。

李骏等^[31]使用纳米银胶体喷雾处理工业大麻雌株诱导其转换为雌雄同株,分化出雄花,经自由授粉,结籽得到全雌性工业大麻种子,纯度可达到 96% 以上。所需胶体银溶液量较少,诱导成本降低、程序简化,诱导雌化成功率高且稳定。

3 展望

目前,对大麻性别诱导的研究主要在环境和化学试剂等方面,但可能由于其他因素的干扰,性别转化的结果不稳定^[32]。本文介绍的大麻雌化方法中,化学试剂诱导可能会对环境造成污染并对人体产生伤害;物理方法可能见效不明显,还会受自然环境因素影响使得效果不稳定。到目前为止,受大麻种植法律法规的影响,研究者们几乎全是针对工业大麻进行雌化,而对药用大麻的雌化研究未见报道。建议以获取大麻药用成分为目标的生时,针对药用大麻进行雌化试验,可在降低成本的同时,大大增加花叶的产量。

未来随着遗传学和分子生物学领域方法和技术的快速发展,可采用现代分子生物学技术在大麻早期性别鉴定及分子设计育种等方面开展相关研究,来实现大麻雌化的目的。参考其他作物,未来在大麻雌化方面可能采取的措施主要有两方面。一方面是,建立大麻性别早期鉴定技术,可从生理生化、细胞组织学和分子标记等方面入手,力求从不同程度和不同水平上,在幼苗期就能鉴别出植株个体的性别,从而提高栽培效率并缩短育种进程。近年来,应用分子标记技术辅助育种已经在各类作物中广泛应用。而用于植物性别分化研究的分子标记主要是随机扩增多态性 DNA(RAPD)和限制性片段多态性 DNA(RFLP)技术。RAPD 因不需要放射性同位素标记,且所需样品量少等特点而成为常用标记。目前大多数利用 RAPD 技术所使用的标记大部分是雄性特异性的,可参考使用大麻近缘种的 RAPD 标记在苗期鉴定出雄性植株,反向来达到雌化的效果。也可针对雌雄同株大麻进行研究来获得与雌雄同株

密切相关的分子标记。

另一方面,可通过分子设计育种来达到雌化目标,可采取将正调控雄性分化重要基因进行基因编辑或 RNA 干扰技术来达到基因敲降,或使正调控雌性分化关键基因过量表达等方式;也可对一些酶(如 POD)、雌性分化的特异关键蛋白、激素(主要是乙烯和细胞分裂素)合成关键酶进行分子设计育种来提高大麻雌化。

但是,分子设计育种的前提是必须要建立稳定高效的大麻遗传转化体系和克隆大麻调控雌性分化的重要功能基因,目前这两方面研究还尚处于起步阶段,均未达到要求。相信在未来的研究中,随着分子技术的快速发展,在国家和各级政府的大力支持下,大麻科研工作者会早日突破大麻性别分化的“瓶颈”,为农业、工业、军需、航空及医药等领域提供更多优质的大麻原材料。

参考文献:

- [1] 张建春,关华,刘雪强,等. 汉麻种植与初加工技术[M]. 北京:化学工业出版社,2009.
- [2] 李仕金,辛培尧,周军,等. 大麻性别研究进展[J]. 中国麻业科学,2008(2):110-113.
- [3] 陈其本. 大麻利用的新趋势[J]. 中国麻作,1999(1):49-50.
- [4] 赵铭森,康红梅. 山西省发展大麻生产的现状及构想[J]. 安徽农学通报,2007,13(10):140.
- [5] 尹燕霞,吴和珍,魏群. 火麻仁的研究进展[J]. 中国中医药信息杂志,2003,10(6):92-94.
- [6] 吴娜. 外源激素对大麻中大麻素含量的影响及转录组分析[D]. 北京:中国农业科学院,2020.
- [7] SOLDATOVA N A, KHRYANIN V N. The effects of heavy metal salts on the phytohormonal status and sex expression in marijuana[J]. Russian Journal of Plant Physiology, 2010, 57(1):96-100.
- [8] YIN T J, QUINN J A. Tests of a mechanistic model of one hormone regulating both sexes in *Buchloe dactyloides* (Poaceae)[J]. American Journal of Botany, 1995, 82(6):745-751.
- [9] YIN T J, QUINN J A. Tests of a mechanistic model of One hormone regulating both sexes in *Cucumis sativus* (Cucurbitaceae)[J]. American Journal of Botany, 1995, 82(12):1537-1546.
- [10] BOISSAY E, DELAIGUE M, SALLAUD C, ESNAULT R, KAHLEM G. Predominant expression of a peroxidase gene in staminate flowers of *Mercurialis annua* [J]. Physiologia Plantarum, 1996, 96(2):251-257.
- [11] CHAILAKHYAN M K, KHRYANIN V N. The role of roots in sex expression in hemp plants[J]. Planta, 1978, 138(2):185-187.
- [12] CHAILAKHYAN M K, KHRYANIN V N. The role of

leaves in sex expression in hemp and spinach[J]. Planta, 1979, 144(2):205-207.

- [13] CHAILAKHYAN M K. Gormonal' naya teoriya razvitiya rastenii. Hormonal theory of plant development[M]. Moscow: AkadNaukSSSR, 1937.
- [14] HERICH R. Gibberellin and sex differentiation of flowering plants[J]. Nature(Lond.), 1960, 188:599-600.
- [15] 房郁妍. 不同药剂对大麻性别分化的影响[J]. 黑龙江农业科学, 2010(10):38-39.
- [16] RAM H Y M, JAISWAL V S. Induction of male flowers of female plants of *Cannabis sativa* by gibberellin and its inhibition by abscisic acid [J]. Planta, 1972, 105(3):263-266.
- [17] RAM H Y M, JAISWAL V S. Induction of female flowers on male plants of *Cannabis sativa* L. by 2-chloroethanephosphonic acid[J]. Experientia, 1970, 26(2):214-216.
- [18] RAM H Y M, SETT R. Induction of fertile male flowers in genetically female *Cannabis sativa*, plants by silver nitrate and silver thiosulphate anionic complex[J]. Theoretical and Applied Genetics, 1982, 62(4):369-375.
- [19] RAM H Y M, JAISWAL V S. Feminization of male flowers of *Cannabis sativa* L. by a morphactin[J]. Die Naturwissenschaften, 1971, 58(3):149-150.
- [20] 关凤芝. 大麻遗传育种与栽培技术[M]. 哈尔滨:黑龙江人民出版社, 2010.
- [21] 龚军辉. 环境与性别分化[J]. 高等函授学报(自然科学版), 2005, 19(3):48-49.
- [22] 李广华. 环境对于植物性别分化的影响[J]. 生物学杂志, 2004, 21(4):61.
- [23] 辛培尧,何承忠,孙正海,等. 短日照处理对大麻开花及性别表达的影响[J]. 湖北农业科学, 2008(7):776-778.
- [24] WERF H M G, BERG W. Nitrogen fertilization and sex expression affect size variability of fibre hemp (*Cannabis sativa* L.) [J]. Oecologia, 1995, 103(4):462-470.
- [25] 陈其本,余立惠,杨明,等. 大麻栽培利用及发展对策[M]. 成都:电子科技大学出版社, 1993.
- [26] 强晓霞. 大麻性别分化的生理学研究[D]. 南京:南京农业大学, 2012.
- [27] 张玲玲. 苦瓜性别分化的形态学及生理基础研究[D]. 南宁:广西大学, 2006.
- [28] 汪俏梅,曾广文. 苦瓜性别分化特异蛋白质的研究[J]. 植物学报, 1998, 40(3):241-246.
- [29] 陈璇,杨明,郭鸿彦,等. 一种诱导纯雌性工业大麻的方法:CN104335895A[P]. 2015-02-11.
- [30] 董晓慧,景玉良,史冬梅,等. 一种诱导纯雌性工业大麻的方法:CN111328711A[P]. 2020-06-26.
- [31] 李骏,刘祥忠,汤小苏. 一种工业大麻植株的高效雌化方法:CN11265548A[P]. 2021-04-16.
- [32] 崔丹丹,杨瑞芳,余玮,等. 工业大麻性别鉴定研究进展[J]. 中国麻业科学, 2018, 40(5):244-248.



张文忠,马湛,芦明,等.青贮玉米新品种长玉 908 选育及应用[J].黑龙江农业科学,2022(1):104-107.

青贮玉米新品种长玉 908 选育及应用

张文忠¹,马 湛²,芦 明¹,王慧慧¹,中海斌¹

(1. 山西农业大学 谷子研究所,山西 长治 046011; 2. 长治市农业技术推广中心,山西 长治 046000)

摘要:为促进青贮玉米新品种长玉 908 的推广应用,本文简要介绍了长玉 908 的选育经过、特征特性、产量表现、栽培技术及育种体会。长玉 908 是山西农业大学谷子研究所自选系 C1628 为母本,外引系 BS1074 为父本组配而成的优良玉米品种,2021 年通过山西省农作物品种审定委员会审定,编号为晋审玉 20210128。该品种具有生物产量高、品质优良、抗病抗倒性好、适应性广等优点,综合 4 年多地点试验结果,其平均生物产量(干重)为 28 371.0 kg·hm⁻²,比对照中北 410 平均增产 9.2%,最低增产达 3.1%以上。长玉 908 适宜在山西省青贮玉米主产区和其他省份同一生态区推广。

关键词:青贮玉米新品种;长玉 908;品种选育

青贮玉米是指在适宜收获期内收获包括果穗在内的地上全部绿色植株,经切碎、加工,用发酵的方法来制作青贮饲料饲喂以牛、羊等为主的草食牲畜的一种玉米,它是一种单位面积产量最为高效的绿色农作物。相比于欧美国家,我国存在对青贮玉米认识水平低、利用率低、产业成熟度差、科研力量薄弱、优质品种少等问题^[1]。2016 年

农业部颁发了《全国草食畜牧业发展规划》(2016—2020 年)的通知,要求饲草产业坚持“以养定种”的原则,以全株青贮玉米、优质苜蓿、羊草等为主,因地制宜推进优质饲料生产。青贮玉米作为草食动物养殖过程中一种品质优良的饲料原料,其种植面积和产量会在社会需求和国家政策支持下获得巨大提高,预计在 10 年内青贮玉米种植面积可以达到玉米总体种植面积的 15%~20%^[2]。青贮玉米的大力发展可以有效满足我国广大人民群众对高品质、高营养和多样化食品的需求,促进现代化农业生产进程^[3]。

收稿日期:2021-10-08

基金项目:山西农业大学生物育种工程(yzgc023)。

第一作者:张文忠(1973—),男,学士,副研究员,从事玉米育种及栽培工作。E-mail:gzswwz@163.com。

Research Progress on Female Treatment of *Cannabis*

NIU Ting-li¹, ZHANG Shu-quan², HAN Xi-cai³, NIU Jiang-shuai¹, WU Rong¹, CHENG Xin-ran¹, DAI Ling-yan¹

(1. College of Life Science and Technology, Heilongjiang Bayi Agricultural University, Daqing 163319, China; 2. Institute of Industrial Crops, Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China; 3. Daqing Branch, Heilongjiang Academy of Sciences, Daqing 163319, China)

Abstract: In order to improve the efficiency of hemp breeding, this paper summarized the physicochemical methods and environmental factors of inducing the formation of female plants of hemp and the methods of producing all female seeds, and put forward the possible ways of using modern molecular biology technology to feminize hemp in the future. On the one hand, it is the early sex discrimination technology of hemp plants, so as to improve the cultivation efficiency and shorten the breeding process; On the other hand, we can achieve the goal of feminization through molecular design breeding, that is, to establish a stable and efficient genetic transformation system of hemp and clone the important functional genes of hemp regulating female differentiation.

Keywords: *Cannabis*; feminization; all-female seeds; cannabinoid; treatment method