

萝卜地方优良品种高制种潜力雄性不育系转育方法研究

张晓雪, 刘 阳, 宋江萍, 邱 杨, 王海平, 张晓辉, 李锡香

(中国农业科学院蔬菜花卉研究所 / 农业部园艺作物生物学与种质创制综合重点实验室 /

农业部蔬菜作物基因资源与种质创制北京科学观测实验站, 北京 100081)

摘要: 不育系的制种潜力是决定制种产量的重要因素。在前期选育过程中对不育系制种潜力关注不够, 往往导致所选育的品种制种产量低甚至无法制种, 造成品种无法推广。我国拥有丰富的优良地方品种萝卜资源, 但是存在着种质退化、栽培面积缩减、栽培区域小而分散的问题。培育杂交种是提升优良地方品种品质、维持栽培面积和扩大栽培地域的有效途径。本研究将 Ogura 胞质转育到 26 份优良地方品种萝卜资源, 发现其中 16 份种质资源在 Ogura 胞质中的不育率达到或接近 100%; 建立了一种基于网纱隔离和壁蜂授粉的鉴定方法, 用于分析这 16 份优良地方品种萝卜资源的保持系及其 Ogura 不育系的制种产量与潜力, 发现练丝萝卜和五月红两份资源的不育系和保持系都具有较高的角果产量, 有望转育成高制种潜力的不育系亲本, 红灯笼、大青皮和心里美 3 份资源中都分离出具有较高种子产量的胞质雄性不育单株, 但是其保持系种子产量很低, 需要提高保持系的种子产量; 小红袍水萝卜和扶沟萝卜的不育系和保持系的种子产量都处于中等水平, 具有优化和应用的潜力; 红水萝卜、青皮脆等 5 份资源不适合 Ogura 胞质不育系制种; 狗头罐、绛县白、象牙白 3 份资源是自交不亲和材料。本研究发现, Ogura 胞质的不同品种以及同一品种不同单株间制种产量差异巨大, 说明从转育初代开始逐代监测和筛选制种潜力是非常必要的。本研究介绍一种简易高效鉴定及筛选萝卜胞质不育系制种潜力的方法, 并用此方法初步筛选出一批高制种潜力的萝卜地方品种 Ogura 胞质雄性不育材料。

关键词: 萝卜; 地方品种; 遗传资源; 不育系; 授粉; 结实率

A Method for Transfer of Ogura Cytoplasmic Male Sterile into Radish Landraces with High Seed Production Potential

ZHANG Xiao-xue, LIU Yang, SONG Jiang-ping, QIU Yang, WANG Hai-ping, ZHANG Xiao-hui, LI Xi-xiang

(*Institute of Vegetables and Flowers, Chinese Academy of Agriculture Sciences/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops, Ministry of Agriculture/Beijing Research Station of Vegetable Crop Gene Resource and Germplasm Enhancement, Ministry of Agriculture, Beijing 100081*)

Abstract: The seed production potential of male sterile lines is the main factor affecting hybrid seed productivity. The lack of early selection method always leads to low hybrid seed yield and unsuitable for application. A collection of radish landraces with high quality have been developed in China over decades, but nowadays these germplasms showed characterization declining, cultivation area reducing and scattering. Hybrid breeding is an effective way to improve the agronomic quality, maintain the cultivation area and expand the planting region of the landraces. By hybridization using the Ogura cytoplasm with 26 radish landraces, 16 introgression lines were absolute or near absolute male sterile. A osmia pollination and nylon mesh isolation

收稿日期: 2018-09-28 修回日期: 2018-10-31 网络出版日期: 2018-12-17

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.s.20181214.1144.002.html>

第一作者研究方向为蔬菜遗传育种, E-mail: zhangxiaoxue2012@163.com

通信作者: 张晓辉, 研究方向为蔬菜种质资源, E-mail: zhangxiaohui01@caas.cn

李锡香, 研究方向为蔬菜种质资源, E-mail: lixixiang@caas.cn

基金项目: 国家重点研发计划 (2016YFD0100204-07); 国家自然科学基金 (31772301); 中国农业科学院创新工程 (CAAS-ASTIP-IVFCAAS)

Foundation project: National Key Research and Development Programme of China (2016YFD0100204-07), National Natural Science Foundation of China (31772301), Science and Technology Innovation Programme of the Chinese Academy of Agricultural Sciences (CAAS-ASTIP-IVFCAAS)

method were used to test the seed production potential of the male sterile and maintainer lines of these 16 landraces. The two accessions, Lian-si and May-Red, showed high silique yield in both male sterile and maintainer plants, with the potential of developing high-seed-yielding male sterile lines. The Red-lanterns, Big-green-skin and Beautiful-in-heart contain high silique yield plants in male sterile lines while all maintainer plants showed low yield. Improving the seed productivity of maintainer lines are needed for these three landraces. The Little-red-robe summer radish and Fu-gou radish produced medium quantity of siliques from both male sterile and maintainer plants, have application potential if substantial selection can improve the seed yield. The Red summer radish, Green crisp and three other landraces were proved not suitable to produce hybrid seeds use Ogura-CMS due to low yield. The Dog-Canister, Jiang-xian-white and Ivory were identified as self incompatibility materials. This study revealed that the seed yield are differing significantly among varieties and single plants, indicating a necessary of selecting the high-yielding plant descendants with generations. Thus, this worked reported a simple and efficient method for screening the seed production potential, which finally resulted in generation of seven Ogura-CMS radishes with high seed yielding potential.

Key words: radish; landrace; genetic resource; CMS line; pollination; fruit-setting rate

萝卜起源于我国上古时期,具有悠久的栽培驯化历史,种植面积和产量仅次于白菜,是我国第二大蔬菜作物。虽然在全世界都有萝卜种植和消费,但是唯独我国拥有最丰富的品种多样性。国家蔬菜种质资源中期库收集保存了 3000 余份萝卜种质资源,这些种质资源大多数是我国的地方品种,收集于 20 世纪 80 年代,保存了较原始而纯正的品种特性和遗传完整性。前人对这些资源进行了核心种质构建^[2-4],从中筛选出抗病毒病^[5-6]、抗黑腐病^[7-8]、抗根肿病^[9]、耐抽薹^[10]、高菜菔子素^[11]的种质资源。尽管这些地方品种具有很多优良性状,但由于综合性状如产量、综合抗性、整齐度、极端气候耐受性等方面弱于主流商业品种,造成地方品种种植面积萎缩。因而,需要在保留地方品种优良品质特色的基础上提高其综合性状,将地方品种转育成杂交种是提高综合性状的有效方式。

配制杂交种可用自交不亲和系及雄性不育系两种方式^[12]。雄性不育系配制的杂交种具有纯度高、品种保护效力强的优势^[13]。萝卜中已经发现了多种雄性不育源,如 Ogura CMS^[14]、Kosena CMS^[15]、DCGMS^[16],其中 Ogura 不育源应用最广泛。Ogura 不育基因 *Orf138* 是来自线粒体的突变^[17];Ogura 的恢复基因 *Rfo* 是一个核基因,编码 PPR (Pentatricopeptide Repeat) 家族蛋白,抑制 *Orf138* 的表达^[18-19];另两个被克隆的恢复基因 *ORF687* 和 *RsRf3* 也编码 PPR 家族蛋白^[20-21]。早期 Ogura 不育源存在花蕾早期黄花、蜜腺不发达等缺陷,现在已有经过改良的 Ogura 胞质,很大程度

上克服了这些缺陷^[22-24]。然而,在 Ogura 胞质雄性不育系转育过程中,利用人工授粉回交 6~8 代以纯合核基因,往往等到投入生产时才发现制种产量低。导致前期投入的巨大浪费和育种工作不可逆的延滞。萝卜地方品种种类繁多,每个品种的播种面积不大,决定了对地方品种资源的改良上投入力度有限,抗风险能力较弱。因而,亟需一种简易有效的方法检测不育系的制种潜力,及时终止和淘汰制种潜力差的种质或株系,逐代筛选制种潜力高的种质或株系。

本研究利用壁蜂独居生活,能够容忍狭窄空间的特性^[25],建立一种依赖壁蜂授粉的不育系制种潜力鉴定和筛选技术。对本课题组前期筛选纯化的 26 份优良地方品种萝卜资源转育 Ogura 胞质不育系,对其中不育率达到或接近 100% 的 16 份地方品种 Ogura 胞质初代转育材料进行制种潜力鉴定。验证该方法的实用性,并筛选高制种潜力的萝卜地方品种资源,为大规模创制高制种产量的优良地方品种不育系亲本提供技术支撑和材料准备。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本研究中所用的优良地方品种萝卜材料来自国家蔬菜种质资源中期库。材料的基本信息见表 1。材料可以从国家蔬菜种质资源中期库引种。国家蔬菜种质资源中期库设立在中国农业科学院蔬菜花卉研究所。

表1 萝卜优良地方品种资源基本信息

Table 1 The basic information of radish landraces

| 编号 ID | 品种名称 Landraces name | 来源地 Origin | 自交纯化代数 Selfed generation |
|----------|------------------------|---------------|-----------------------------|
| IA01 | 红水萝卜 | 内蒙古乌兰浩特市 | S9 |
| IA02 | 红水萝卜 | 内蒙古乌兰浩特市 | S9 |
| IA03 | 白萝卜 | 浙江 | S12 |
| IA04 | 白萝卜 | 浙江 | S12 |
| IA05 | 白萝卜 | 浙江 | S13 |
| IA06 | 绛县白 | 山西绛县 | S11 |
| IA07 | 心里美萝卜 | 北京 | S5 |
| IA08 | 小辛庄青 | 天津南郊区 | S8 |
| IA09 | 象牙白 | 天津西郊区 | S4 |
| IA10 | 灯笼红 | 吉林扶余市 | S4 |
| IA11 | 五月红 | 安徽淮南市 | S4 |
| IA12 | 大青萝卜 | 安徽寿县 | S7 |
| IA13 | 小红袍水萝卜 | 四川荣经县 | S4 |
| IA14 | 练丝萝卜 | 安徽阜阳县 | S7 |
| IA15 | 狗头罐 | 甘肃平凉市 | S3 |
| IA16 | 二股长萝卜 | 陕西城固县 | S3 |
| IA17 | 乌萝卜 | 四川西阳县 | S1 |
| IA18 | 商丘坠肚 | 河南商丘县 | S1 |
| IA19 | 扶沟罐萝卜 | 河南扶沟县 | S1 |
| IA20 | 金线吊葫芦 | 河南荥阳县 | S3 |
| IA21 | 升筒萝卜 | 湖南长沙市 | S2 |
| IA22 | 新闻红萝卜 | 江苏常州市 | S1 |
| IA23 | 浙大长 | 浙江杭州市 | S3 |
| IA24 | 大青皮 | 宁夏银川市 | S7 |
| IA25 | 青皮脆 | 内蒙古林西县 | S3 |
| IA26 | 心里美 | 山东泰安泰山区 | S8 |

1.2 壁蜂

本研究所用的授粉壁蜂购自烟台必丰农业科技有限公司。壁蜂以蜂茧形态购买,于0℃存储。于25℃孵化和投放。

1.3 不育系转育

以Ogura不育系CMS17-13为母本,26份地方品种为父本,通过人工授粉,获得F₁杂种。每份F₁杂种植15株,花期调查花药发育情况和花粉有无,判断其育性,确定各地方品种对Ogura胞质的恢保关系。

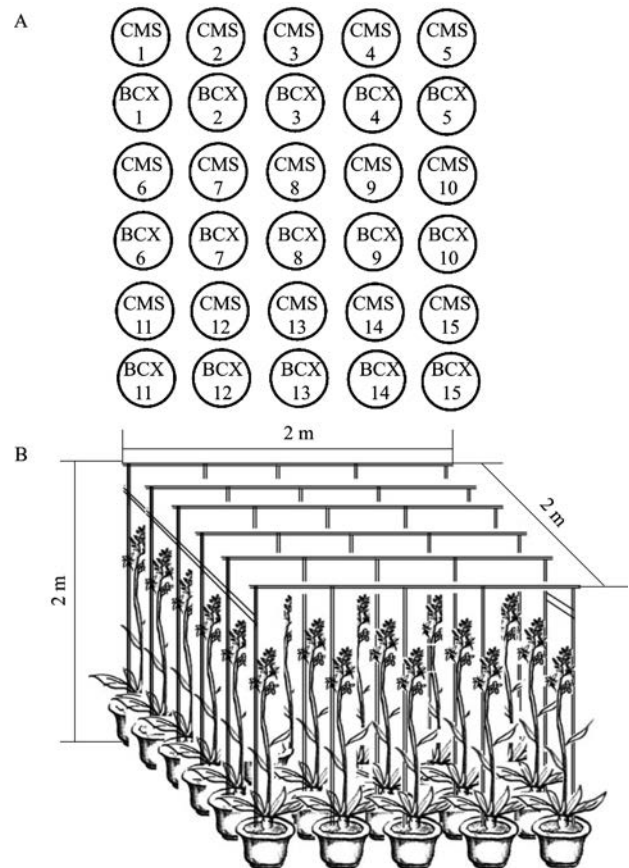
1.4 育苗

萝卜种子催芽后放置在4℃冰箱春化20d。播种于32孔穴盘,日光温室育苗。育苗基质为1:1草

炭拌蛭石。幼苗长至2叶1心时移栽到20cm×20cm的圆形花盆。

1.5 植株布局、隔离与壁蜂授粉

植株主茎开花,调查育性之后,选取不育系15株、保持系15株,按图1A所示交叉摆放。每盆插1根2m长的竹竿,植株剪去侧枝,留单支花茎捆绑固定在竹竿上。再将竹竿横向及纵向固定,构建成如图1B所示的稳定结构。摘除已开的花朵后,用长、宽、高各2m的40目尼龙网罩罩住该装置的前后左右及顶部。网纱罩底部接地部分用重物压实,在其中一侧面中间位置开一条1m长带粘扣的开口,用作投蜂口。将蜂茧从冷库取出,在室温缓置1d后,用纸盒盛放,从投蜂口投放,每个装置内每次投放蜂茧30头,每周投放1次,共投放4次。



A: 不育株(CMS)与地方品种保持系(BCX)布局平面图,不育株与保持株各15株分3行交叉布置;B: 授粉装置立体示意图,长、宽、高各2m的支架外罩40目网纱罩,内部投放壁蜂

A: The planting chart of sterile line (CMS) and Landrace maintenance line (BCX), each 15 plants of CMS and BCX were intersecting in 6 rows, B: Three dimensional sketch of pollination device, the length, width and height of the supports were two meters, 40 mesh nylon mesh covered outside, the Osmia were released in the device

图1 壁蜂授粉装置示意图

Fig.1 Schematic diagram of moson bee pollination device

1.6 调查与统计

植株的育性依据主蔓上盛开花朵的花粉有无来判断,每份材料调查 15 单株。从第 1 次投放壁蜂计 30 d 后取下网纱罩,剪除花枝,留下角果。调查每株植株角果数。统计每份材料不育系和保持系的角果数平均值和标准差。

2 结果与分析

2.1 萝卜地方品种与 Ogura 不育系的恢保关系

为了将萝卜优良地方品种资源转育成胞质不育系,本研究从国家蔬菜种质资源中期库中筛选纯化出 26 份优良地方品种,通过人工授粉,与 Ogura 不育系 CMS17-13 杂交。每份 F₁ 材料种植 15 株,调查育性。由表 2 可知,15 份地方品种资源转育 Ogura 胞质后 100% 不育,是优良的保持系。有 4 份资源的不育株率在 53.3%~93.3% 之间,表明这些资源中的恢复基因处于杂合状态,需要进一步筛选纯化,以获得 100% 不育率的保持系。有 7 份资源转育后全部可育,表明这些资源含有恢复基因,不能转育成不育系。值得注意的是,本研究所用的 2 份心里美萝卜(CMS07 和 CMS26)转育后的育性完全相反,表明同一个地方品种的不同样本(accession)的 Ogura 胞质的恢保关系可能是不同的。

2.2 萝卜地方品种保持系结实率

对 15 份不育株率 100% 及 1 份不育株率 93.3% 的 Ogura 胞质地方品种及其保持系按图 1 所示配组,利用壁蜂授粉,4 周后调查结实率。其中,自交系(保持系)的结实率也是制种的一个重要指标。如表 3 所示,有 5 份地方品种的自交系壁蜂授粉结实率达 100%,最高单株角果数在 42~233 之间,平均单株角果数在 19.8~124.1 之间。表明这些品种资源具有较高的制种产量。其中,IA03 和 IA04 两份材料已经自交 12 代,仍然保持较高的自交结实率。尽管如此,单株间的结实率仍然存在很大差异,早期筛选高结实率植株仍有必要。有 8 份地方品种资源的结实株率在 10%~84.6% 之间。这些资源都含有壁蜂授粉不结实的单株。其中 4 份资源的最高单株角果数达 83~303,表明这些资源可以通过单株筛选获得高结实率的株系。另外 4 份资源最高单株角果数只有 1~15,平均单株角果数只有 0.1~2.14,表明这些资源不适合壁蜂授粉。有 3 份资源壁蜂授粉完全不结实,表明这些资源是严格的自交不亲和材料。

表 2 萝卜优良地方品种转育 Ogura 胞质后的雄性育性统计

Table 2 The male fertility of Ogura cytoplasm transformed radish landraces

| 编号 ID | 保持系品种 Maintainer | 不育株率(%) Sterile plant rate |
|-------|---------------------|-------------------------------|
| CMS01 | 红水萝卜 | 100 |
| CMS02 | 红水萝卜 | 100 |
| CMS03 | 白萝卜 | 100 |
| CMS04 | 白萝卜 | 100 |
| CMS05 | 白萝卜 | 100 |
| CMS06 | 绛县白 | 100 |
| CMS09 | 象牙白 | 100 |
| CMS10 | 灯笼红 | 100 |
| CMS11 | 五月红 | 100 |
| CMS13 | 小红袍水萝卜 | 100 |
| CMS14 | 练丝萝卜 | 100 |
| CMS15 | 狗头罐 | 100 |
| CMS24 | 大青皮 | 100 |
| CMS25 | 青皮脆 | 100 |
| CMS26 | 心里美 | 100 |
| CMS19 | 扶沟罐萝卜 | 93.3 |
| CMS16 | 二股长萝卜 | 66.7 |
| CMS17 | 乌萝卜 | 60 |
| CMS22 | 新闸红萝卜 | 53.3 |
| CMS07 | 心里美萝卜 | 0 |
| CMS08 | 小辛庄青 | 0 |
| CMS12 | 大青萝卜 | 0 |
| CMS18 | 商丘坠肚 | 0 |
| CMS20 | 金线吊葫芦 | 0 |
| CMS21 | 升筒萝卜 | 0 |
| CMS23 | 浙大长 | 0 |

表3 优良萝卜地方品种保持系壁蜂授粉结实率

Table 3 The seed productivity of maintainer radish landraces

| 编号 ID | 品种 Landraces | 结实株百分率(%) Percentage of fruiting plants | 最高单株角果数 The maximum silique number per plant | 最低单株角果数 The minimum siliques number per plant | 平均角果数 The mean of silique number | 标准误 SE |
|----------|-----------------|---|--|---|--|-----------|
| IA11 | 五月红 | 100 | 233 | 18 | 124.1 | 26.9 |
| IA03 | 白萝卜 | 100 | 181 | 49 | 104 | 15.4 |
| IA04 | 白萝卜 | 100 | 150 | 59 | 99.7 | 10.2 |
| IA14 | 练丝萝卜 | 100 | 48 | 15 | 32.2 | 5.5 |
| IA19 | 扶沟罐萝卜 | 100 | 42 | 2 | 19.8 | 4.5 |
| IA05 | 白萝卜 | 84.6 | 303 | 0 | 158.4 | 27.9 |
| IA13 | 小红袍水萝卜 | 80 | 83 | 0 | 23 | 15.3 |
| IA01 | 红水萝卜 | 75 | 225 | 0 | 88.6 | 29.8 |
| IA25 | 青皮脆 | 30 | 93 | 0 | 11.3 | 10.2 |
| IA26 | 心里美 | 25 | 6 | 0 | 1.5 | 1.5 |
| IA24 | 大青皮 | 14.3 | 15 | 0 | 2.14 | 2.14 |
| IA10 | 灯笼红 | 11.1 | 8 | 0 | 0.9 | 0.9 |
| IA02 | 红水萝卜 | 10 | 1 | 0 | 0.1 | 0.1 |
| IA06 | 绛县白 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| IA09 | 象牙白 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| IA15 | 狗头罐 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

2.3 萝卜地方品种 Ogura 不育材料用壁蜂授粉的结实率

在上述 16 个组合试验中,地方品种 Ogura 胞质不育材料的结实率统计见表 4,有 2 份材料在壁蜂授粉时的结实率为 100%,4 份材料的结实株比率高于 50%,最高单株角果数量达到 53~256 枚,表明这些材料具有良好的制种潜力。同时值得注意,这些材料仍然含有低结果单株和 0 角果单株,如果不加筛选盲目加代,有可能丧失其制种潜能。有 8 份材料不论结实株率还是单株角果数都很低,表明这些材料的壁蜂制种产量较低。有 1 份材料(象牙白)完全不结实。

2.4 高制种潜力优良地方品种胞质不育系及保持系初选

根据不育系和保持系结实率来初步筛选具有较高制种潜力的萝卜地方品种。如图 2 所示,练丝萝卜和五月红无论是不育系还是保持系都具有较高

的角果产量,通过进一步筛选和纯化,有望育成高制种产量的不育系亲本。红灯笼、大青皮和心里美 3 份资源中都分离出具有较高种子产量的胞质雄性不育单株,但是其保持系种子产量很低。首先,需要通过喷盐水等方法处理,提高保持系的种子量。其次,应该防控多轮回交后,所筛选的不育系材料的结实率大幅下降。小红袍水萝卜和扶沟萝卜的不育系和保持系的种子产量都处于中等水平。如果用作亲本配组获得的品种综合性状优异,这种中等种子产量的不育系资源也有实用价值。3 份白萝卜及红水萝卜、青皮脆这 5 份资源父本种子产量高,胞质不育植株种子产量很低,表明这些资源不适合使用本研究所用的 Ogura 不育胞质制种。狗头罐、绛县白、象牙白 3 份资源的父本植株和胞质不育母本植株的结实率都趋近于 0,表明这些材料可以利用自交不亲和性来配制杂交种,而难以利用 Ogura 胞质不育制种。

表 4 优良地方品种萝卜不育系壁蜂授粉结实率

Table 4 The silique productivity of CMS radish landraces pollinated with moson bee

| 编号 ID | 品种 Landraces | 结实株率 (%) Percentage of fruiting plants | 最高单株角果数 The maximum silique number per plant | 最低单株角果数 The minimum siliques number per plant | 平均单株角果数 The mean of silique number | 标准误 SE |
|----------|-----------------|---|---|--|---------------------------------------|-----------|
| CMS14 | 练丝萝卜 | 100 | 256 | 39 | 106.4 | 27.6 |
| CMS10 | 灯笼红 | 100 | 147 | 12 | 48.9 | 12.9 |
| CMS24 | 大青皮 | 91.7 | 140 | 0 | 26.6 | 10.8 |
| CMS11 | 五月红 | 83.3 | 142 | 0 | 46.5 | 13 |
| CMS13 | 小红袍水萝卜 | 71.4 | 53 | 0 | 18.6 | 7.4 |
| CMS26 | 心里美 | 66.7 | 91 | 0 | 21.6 | 7.6 |
| CMS19 | 扶沟罐萝卜 | 50 | 99 | 0 | 9.6 | 6.9 |
| CMS06 | 绛县白 | 46.7 | 3 | 0 | 0.8 | 0.3 |
| CMS03 | 白萝卜 | 28.6 | 13 | 0 | 1.4 | 0.9 |
| CMS05 | 白萝卜 | 26.7 | 39 | 0 | 4.9 | 3 |
| CMS15 | 狗头罐 | 16.7 | 2 | 0 | 0.25 | 0.18 |
| CMS02 | 红水萝卜 | 14.3 | 28 | 0 | 2.5 | 2 |
| CMS25 | 青皮脆 | 7.7 | 8 | 0 | 0.62 | 0.62 |
| CMS01 | 红水萝卜 | 7.7 | 1 | 0 | 0.08 | 0.08 |
| CMS04 | 白萝卜 | 6.7 | 5 | 0 | 0.3 | 0.3 |
| CMS09 | 象牙白 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

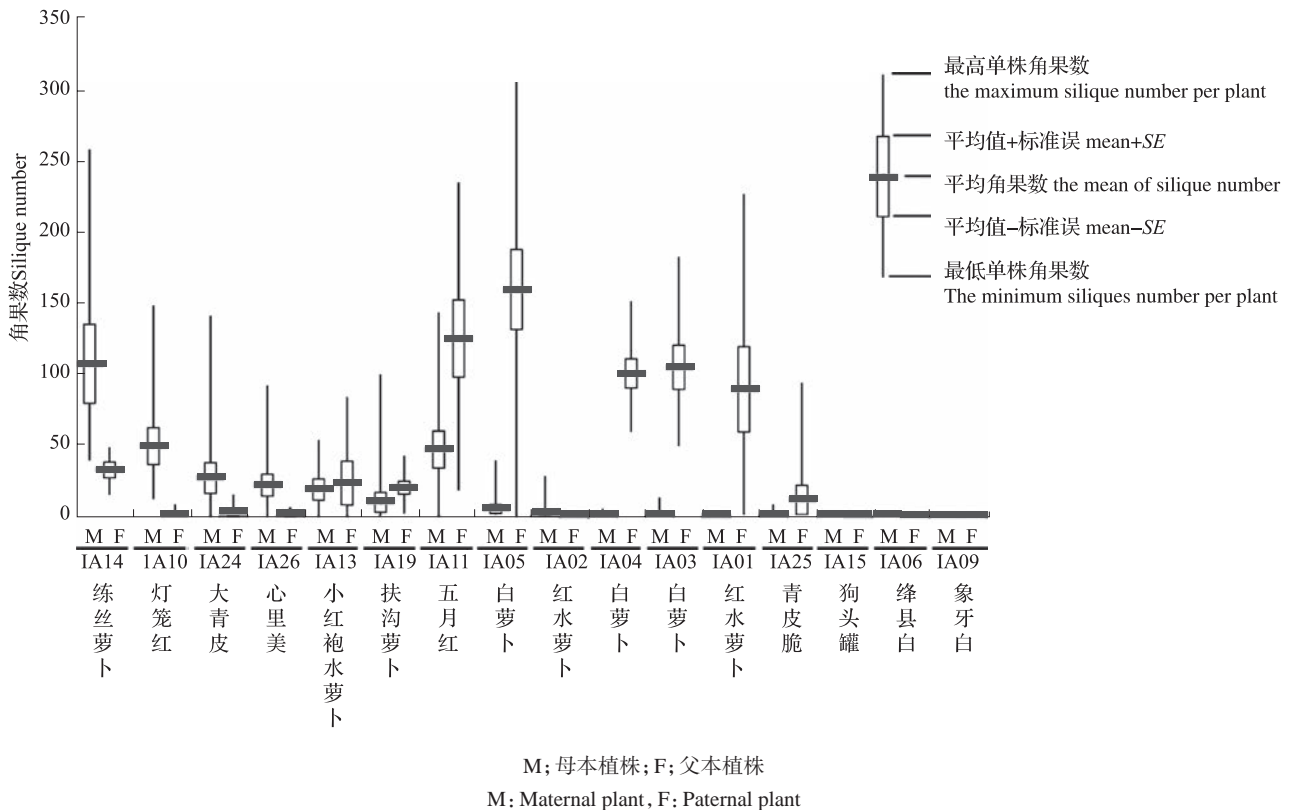


图 2 壁蜂授粉时地方品种萝卜不育系与保持系结实量比较

Fig.2 Comparison of the silique yields of radish CMS and maintainer lines among landraces under moson bee pollination

3 讨论

地方品种资源的开发和利用是资源保护工作的一个重要内容,生产利用是对资源的最有效保护。我国具有丰富的蔬菜品种资源,国家资源库中已编目的萝卜地方品种资源超过 3000 份,其中不乏优良的传统品种,但是,这些地方品种面临着品种退化、种植面积减少甚至消失、种植区域边远化、碎片化等问题。为了使优良地方品种资源重新利用起来,亟需在保留地方品种品质特色的前提下提高产量、抗性、外观品质和整齐度,缩短与主栽品种在经济效益上的差距。杂种优势的利用是解决这一问题的一个有效方法,虽然有少量优良地方品种已经被育成杂交种并逐步推广^[26-28],但大部分优良地方品种仍然是常规种或农家自留种。因此,需要一种经济有效的不育系转育和自交不亲和系筛选技术,对优良地方品种大规模改良和提升。

传统的不育系转育依靠人工授粉多代回交,一旦投入生产往往发现种子产量极低,制约了推广利用。本研究发现,在不育系转育的初代,制种产量就显示出严重的分离。如果不监测制种潜力,盲目的人工授粉加代转育,极有可能选出无法生产利用的不育系和保持系,造成前期投入的人力、物力、时间、机会成本的巨大浪费。本研究发明了一项简单易操作的技术,从不育系转育的早期世代开始,利用壁蜂授粉模拟实际生产,筛选种子产量高的单株,保证在加代转育的过程中不遗失制种潜力;同时,利用壁蜂独立生活的特性,代替蜜蜂(社会性群居生活,需要蜂巢和蜂王),在小容积网纱罩内授粉,节约了用地成本;并且,用壁蜂替代人工授粉,也节约了日益增长的人工成本。

Ogura 胞质雄性不育系制种产量低是一个普遍存在的问题,大多数研究从改良胞质入手以期解决这一问题。但是,本研究发现同一个 Ogura 胞质,在不同种质资源中及同一份种质资源不同个体上结实率差异巨大,说明核基因也是影响胞质不育系制种潜力的重要因素。影响不育系制种产量的因素众多,诸如花期是否相遇,花器官结构是否适合蜜蜂传粉,柱头是否外露方便接收花粉,蜜腺是否发达以吸引授粉蜂采蜜,花色、次生代谢物是否吸引授粉蜂停留,父本花粉是否与母本亲和等都影响着种子产量。这些因素背后的遗传机制极其复杂,短期内无法完全揭示清楚。本研究发明的这种方法最真实地模拟实际制种环境,直接检测各单株的结实率,达到早期筛选结实率高的基因型,最终转育出高制种潜力不

育系及配套保持系的目的。

除了筛选高制种潜力不育系以外,本方法也可以用来筛选自交亲和及自交不亲和材料。自交亲和或自交不亲和材料在萝卜及其他十字花科作物中也具有重要的应用价值。同时,该方法也可以用于白菜、甘蓝等其他十字花科作物种质资源的制种潜力鉴定和筛选。

本研究筛选获得的高制种潜力优良地方品种资源具有很好的应用前景。由于本研究只是初代转育结果,还有待利用本次获得的高结实率株系进行更高代的回交转育。对于本研究中发现结实率低的种质资源,可以通过扩大试验植株数量、更换该品种的其他样本等方法尝试筛选出更高结实率的材料;此外,还可以更换不育源,仍用此方法鉴定筛选高制种潜力的不育系和保持系。对于此方法筛选出的自交不亲和材料,也可以用来配制杂交种。

总之,本研究介绍一种简易高效的鉴定、筛选萝卜种质资源制种潜力的方法。利用此方法鉴定出 2 份制种产量高,有作为优良不育系亲本应用潜力的地方品种资源;鉴定出 3 份制种产量中等,但仍有筛选和改良空间的萝卜地方品种资源;证明了 5 份萝卜地方品种不适合用作 Ogura 不育系亲本;鉴定出 3 份自交不亲和的萝卜地方品种资源。

参考文献

- [1] 王方艳. 我国萝卜产业发展问题及对策. 中国农机化学报, 2016, 37(11): 188-191
Wang F Y. Problems and countermeasures of radish industry development in China. Journal of Chinese Agricultural Mechanization, 2016, 37(11): 188-191
- [2] 孔秋生,李锡香,向长萍,王海平,宋江萍. 萝卜种质资源亲缘关系的 RAPD 分析. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2): 156-160, 169
Kong Q S, Li X X, Xiang C P, Wang H P, Song J P. Analysis on the phylogenetic relationship of radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm resources with RAPD. Journal of Plant Genetic Resources, 2004, 5(2): 156-160, 169
- [3] 孔秋生,李锡香,向长萍,邱杨,沈镛. 栽培萝卜种质亲缘关系的 AFLP 分析. 中国农业科学, 2005, 38(5): 1017-1023
Kong Q S, Li X X, Xiang C P, Qiu Y, Shen D. Phylogenetic analysis of cultivated radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm with AFLP. Scientia Agricultura Sinica, 2005, 38(5): 1017-1023
- [4] 邱杨,李锡香,李清霞,陈亦辰,沈镛,王海平,宋江萍. 利用 SSR 标记构建萝卜种质资源分子身份证. 植物遗传资源学报, 2014, 15(3): 648-654
Qiu Y, Li X X, Li Q X, Chen Y C, Shen D, Wang H P, Song J P. Establishment of the molecular identification for radish germplasm using SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2014, 15(3): 648-654
- [5] 李红双,李锡香,沈镛,杨宇红,邱杨,王海平,龚慧芝. 萝卜优异种质对芜菁花叶病毒抗性的遗传分析. 植物遗传资源学报, 2010, 11(2): 152-156
Li H S, Li X X, Shen D, Yang Y H, Qiu Y, Wang H P, Gong H Z.

- Genetic analysis of the resistance to TuMV in elite radish germplasm. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2010, 11 (2): 152-156
- [6] 杨好慧, 邱杨, 宋江萍, 张晓辉, 王鸿娜, 王超楠, 王海平, 李锡香. 萝卜种质资源对芜菁花叶病毒的抗性鉴定与评价. *植物遗传资源学报*, 2017, 18 (5): 810-818
Yang H H, Qiu Y, Song J P, Zhang X H, Wang H N, Wang C N, Wang H P, Li X X. Identification and evaluation for the resistance of radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm resources to turnip mosaic virus. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18 (5): 810-818
- [7] 李红双, 李锡香. 萝卜抗源抗黑腐病性状的遗传分析. 北京: 中国园艺学会十字花科分会第七届学术研讨会, 2009
Li H S, Li X X. Genetic analysis of black rot resistance in radish resistant resource. Beijing: The 7th Symposium of the Chinese Horticultural Society Crucifer Branch, 2009
- [8] 段韞丹, 邱杨, 汪精磊, 王海平, 张晓辉, 沈镛, 宋江萍, 李锡香. 萝卜不同抗源对黑腐病抗性的遗传分析. *植物遗传资源学报*, 2015, 16 (1): 1-6
Duan Y D, Qiu Y, Wang J L, Wang H P, Zhang X H, Shen D, Song J P, Li X X. Genetic analysis on the resistance of different radish germplasm to black rot. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16 (1): 1-6
- [9] 杨好慧, 原玉香, 张晓辉, 魏小春, 邱杨, 宋江萍, 吴春晖, 段蒙蒙, 李锡香. 萝卜种质资源对根肿病抗性的鉴定. *园艺学报*, 2017, 44 (S1): 2534
Yang H H, Yuan Y X, Zhang X H, Wei X C, Qiu Y, Song J P, Wu C H, Duan M M, Li X X. Identification of radish germplasm resources resistance to clubroot disease. *Acta Horticulturae Sinica*, 2017, 44 (S1): 2534
- [10] 张素君, 邱杨, 宋江萍, 王海平, 张晓辉, 沈镛, 李锡香. 萝卜种质资源耐抽薹性鉴定评价. *植物遗传资源学报*, 2014, 15 (2): 262-269
Zhang S J, Qiu Y, Song J P, Wang H P, Zhang X H, Shen D, Li X X. Identification for the tolerance to bolting of radish germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2014, 15 (2): 262-269
- [11] 华贝贝, 邱杨, 段韞丹, 崔娜, 张晓辉, 沈镛, 宋江萍, 李锡香. 萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 种质莱菔子素含量分析与评价. *植物遗传资源学报*, 2013, 14 (6): 1038-1044
Hua B B, Qiu Y, Duan Y D, Cui N, Zhang X H, Shen D, Song J P, Li X X. Analysis and evaluation sulforaphene content in radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm resources. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, 14 (6): 1038-1044
- [12] 李晓琪, 李锡香, 罗越华, 邱杨, 沈镛, 王海平. 萝卜自交不亲和基因 *SLG6* 的 CAPS 标记的开发. *植物遗传资源学报*, 2009, 10 (1): 118-125
Li X Q, Li X X, Luo Y H, Qiu Y, Shen D, Wang H P. CAPS marker for self-incompatible gene *SLG6* in *Raphanus sativus*. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2009, 10 (1): 118-125
- [13] Bohra A, Jha U C, Adhimoalam P. Cytoplasmic male sterility (CMS) in hybrid breeding in field crops. *Plant Cell Reports*, 2016, 35 (5): 967-993
- [14] Ogura H. Studies on the new male-sterility in Japanese radish with special references to the utilization of this sterility towards the special raising of hybrid seeds. *Mern Fac Agricultural Kagoshima University*, 1968, 6 (2): 39-78
- [15] Iwabuchi M, Koizuka N, Fujimoto H, Sakai T, Imamura J. Identification and expression of the kosenra radish (*Raphanus sativus* cv. Kosenra) homologue of the ogura radish CMS-associated gene, *orf138*. *Plant Molecular Biology*, 1999, 39 (1): 183-188
- [16] Park J Y, Lee Y P, Lee J, Choi B S, Kim S, Yang T J. Complete mitochondrial genome sequence and identification of a candidate gene responsible for cytoplasmic male sterility in radish (*Raphanus sativus* L.) containing DCGMS cytoplasm. *Theoretical and Applied Genetics*, 2013, 126 (7): 1763-1774
- [17] Duroc Y, Hiard S, Vrielynck N, Ragu S, Budar F. The Ogura sterility-inducing protein forms a large complex without interfering with the oxidative phosphorylation components in rapeseed mitochondria. *Plant Molecular Biology*, 2009, 70: 123-137
- [18] Desloire S, Gherbi H, Laloui W, Marhadour S, Clouet V, Cattolico L, Falentin C, Giancola S, Renard M, Budar F, Small, Caboche M, Delourme R, Bendahmane A. Identification of the fertility restoration locus, *Rfo*, in radish, as a member of the pentatricopeptide-repeat protein family. *EMBO Reports*, 2003, 4 (6): 588-594
- [19] Brown G G, Formanová N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang J, Cheung W Y, Landry B S. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *Plant Journal for Cell and Molecular Biology*, 2003, 35 (2): 262-272
- [20] Koizuka N, Imai R, Fujimoto H, Hayakawa T, Kimura Y, Kohno-Murase J, Sakai T, Kawasaki S, Imamura J. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile Kosenra radish. *Plant Journal*, 2003, 34 (4): 407-415
- [21] Wang Z W, Wang C, Gao L, Lei G, Shi Y, Yuan Z, Chang P X, Ting W. Heterozygous alleles restore male fertility to cytoplasmic male-sterile radish (*Raphanus sativus* L.): a case of overdominance. *Journal of Experimental Botany*, 2013, 64 (7): 2041
- [22] Menczel L, Morgan A, Brown S, Maliga P. Fusion-mediated combination of Ogura-type cytoplasmic male sterility with *Brassica napus* plastids using X-irradiated CMS protoplasts. *Plant Cell Reports*, 1987, 6 (2): 98-101
- [23] Jarl C I, van Grinsven M Q, van den Mark F. Correction of chlorophyll-defective male-sterile winter oilseed rape (*Brassica napus*) through organelle exchange: molecular analysis of the cytoplasm of parental lines and corrected progeny. *Theoretical and Applied Genetics*, 1989, 77 (1): 135-141
- [24] Kirti P B, Banga S S, Prakash S, Chopra V L. Transfer of Ogu cytoplasmic male sterility to *Brassica juncea* and improvement of the male sterile line through somatic cell fusion. *Theoretical Applied Genetic*, 1995, 91 (3): 517-521
- [25] 徐立功, 韩太利. 十字花科蔬菜亲本制种采用壁蜂授粉的实用技术. *中国蔬菜*, 2014 (9): 74-76
Xu L G, Han T L. Practical techniques for pollination of cruciferous vegetable parents using wall bee pollination. *China Vegetables*, 2014 (9): 74-76
- [26] 张丽, 王庆彪. 萝卜新品种京红 5 号的选育. *中国蔬菜*, 2017 (7): 73-75
Zhang L, Wang Q B. A New radish F1 hybrid- 'Jinghong No.5'. *China Vegetables*, 2017 (7): 73-75
- [27] 张丽, 王庆彪. 水果萝卜新品种“京脆 2 号”的选育. *北方园艺*, 2017 (10): 156-158
Zhang L, Wang Q B. Breeding of a new fruit-type radish hybrid 'Jingcui No.2'. *Northern Horticulture*, 2017 (10): 156-158
- [28] 郎丰庆, 王施慧, 刘淑梅, 侯丽霞. 秋萝卜天正秋红 1 号及其栽培技术要点. *中国蔬菜*, 2017 (4): 102-103
Lang F Q, Wang S H, Li S M, Hou L X. Autumn radish Tianzheng qihong No. 1 and its cultivation techniques. *China Vegetables*, 2017 (4): 102-103