

DOI:10.11937/bfyy.201707042

# 萝卜抽薹机制及耐抽薹种质资源选育的研究进展

张万萍<sup>1</sup>, 李晓慧<sup>2</sup>, 马超<sup>2</sup>, 裴芸<sup>1</sup>, 邓代信<sup>1</sup>

(1. 贵州大学 农学院, 贵州 贵阳 550025; 2. 贵州省园艺研究所, 贵州 贵阳 550006)

**摘要:**萝卜是我国广泛栽培的重要蔬菜作物,但先期抽薹成为严重影响萝卜品质和产量的重要因素,选育耐抽薹萝卜品种是解决该问题的重要手段。该研究通过分析近年来在萝卜耐抽薹性的遗传、生理生化和分子机制,以及萝卜耐抽薹种质资源的鉴定和培育等方面的研究进展,旨在更深入地了解萝卜耐抽薹的机制、种质资源遗传多样性及雄性不育性等方面的理解和认识,从而为耐抽薹萝卜新种质创新提供理论指导。

**关键词:**萝卜;耐抽薹;遗传分析;雄性不育系;分子标记

**中图分类号:**S 631.102 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-0009(2017)07-0192-08

萝卜(*Raphanus sativus* L.)属十字花科萝卜属一年生植物,别名莱菔,以贮藏器官肉质根为主要产品,既可鲜食,又可加工,且耐贮运,是我国重要蔬菜作物之一,在全国各地广泛栽培。我国萝卜种质资源丰富,目前,已经选育出了适合不同季节栽培的萝卜,其中主要的环节是春季品种的选育,可实现萝卜的周年栽培,年栽培面积在 120 万  $\text{hm}^2$  左右。但由于萝卜是低温长日照植物,属于种子春化型,冬春播种的萝卜经低温春化影响,很快便开始花芽分化,然后在较长日照条件下转入花茎生长发育阶段,从而发生先期抽薹的问题,也称早期抽薹或未熟抽薹,即在肉质根尚未成熟时就出现开花抽薹现象<sup>[1]</sup>。萝卜抽薹后其根部不再生长,而是进入生殖生长,因此,肉质根内部积累合成的营养物质转而提供给植株用于开花结实,最终导致肉质根质地疏松(即糠心),严重影响其产量、营养和商品品质等<sup>[2]</sup>。因此,先期抽薹已成为萝卜育种生产中的一个难题。为解决该问题,前人已经在优化栽培措施、远缘杂交育种等方面开展了大量的研究工作,但最为有效的手段则是选育适宜的抗抽薹品种<sup>[3-4]</sup>。近年来,虽然我国的萝卜国内需求量和出口量均急剧增加,但目前国内萝卜

种子市场份额大多被日本和韩国品种占据,其主要原因是因日本和韩国品种具有耐抽薹、外形美观和产量高等优异性状<sup>[5]</sup>。因此,通过对萝卜耐抽薹的机制和种质资源遗传多样性等方面的研究和认识,加强对萝卜耐抽薹种质资源的收集、保存、鉴定和创新,对培育我国特有的耐抽薹萝卜品种、增强市场竞争力和出口创汇等方面均具有重要的意义。

## 1 植物抽薹及影响抽薹的因素

植物生长发育过程中由营养生长向生殖生长转变的一个标志性的节点是花芽的分化(flower bud differentiation),即植物茎尖组织不再产生叶原基或腋芽原基而分化出花或花序的过程;抽薹(bolting)是指从花芽分化发育的中途开始,由分化的花芽发育出来且从植物莲座叶丛抽出花薹的现象<sup>[6]</sup>。抽薹是十字花科蔬菜植物中存在的普遍现象,具有物种和遗传多样性。对于利用花茎、薹和角果为食用产品的物种来说,适度促进抽薹开花具有一定的经济价值;而对于以变态根、茎和叶等营养器官为食用对象的物种,如萝卜等,抑制先期抽薹开花是保障高产稳产的关键<sup>[6]</sup>。植物抽薹除了受内在的遗传机制控制外,外部环境因子和化学物质(如植物激素等)也会对抽薹产生重要的影响。

### 1.1 抽薹的遗传机制

抽薹多属于数量控制的性状,早抽薹相对于晚抽薹是显性性状。一般认为晚抽薹是由多基因控制的,如大白菜抽薹期受核基因控制,属于数量遗传,与细胞质遗传无关,因此该性状符合加性-显性-

**第一作者简介:**张万萍(1970-),女,博士,教授,现主要从事蔬菜遗传育种与栽培管理等研究工作。E-mail: zwp269@126.com.

**基金项目:**贵州省科技厅十二五重大专项资助项目(黔科合重大专项字[2013]6007号)。

**收稿日期:**2016-12-15

上位性遗传模型,其中加性基因效应比显性基因更为重要<sup>[7-8]</sup>。研究发现白菜类蔬菜 3 个 *FLC*(Flowering Locus C)同源基因(*BrFLC1*、*BrFLC2*、*BrFLC5*)与开花时间位点共分离,且以加性效应共同作用延迟开花<sup>[9]</sup>,而在不同群体和环境下的控制抽薹开花性状的 QTL 位点中,与 *BrFLC2* 紧密连锁的 QTL 位点效应值几乎占到开花时间总变异的一半<sup>[10-11]</sup>。因此,*BrFLC2* 对开花抽薹的效应贡献值最大。纪小红等<sup>[12]</sup>以抽薹指数、开花时间和薹长 5 cm 时间分别作为抽薹早晚的评价标准,应用植物数量性状主基因+多基因混合遗传模型,对晚抽薹大白菜高代自交不亲和系(P1)和易抽薹欧洲白菜型油菜自交系(P2)及杂交所获得的 F<sub>1</sub>、B<sub>1</sub>、B<sub>2</sub> 和 F<sub>2</sub> 各世代群体进行了联合遗传分析。结果表明,抽薹指数性状和薹长 5 cm 时间性状均受 2 对加性—显性—上位性主基因控制(B-1 模型),开花时间性状受 1 对加性—显性主基因+加性—显性—上位性多基因控制(D 模型),并提出对白菜抽薹性状的遗传改良应以主基因为主,适宜在早期世代进行选择并注意环境条件影响。

由于抽薹在理论和实践上的重要性,利用遗传标记来研究抽薹性状已经成为近年来十字花科作物分子遗传育种的重要手段。例如,AJISAKA 等<sup>[13]</sup>利用 BSA 策略获得了一个与大白菜极晚抽薹性状紧密连锁的 RAPD 标记 RA1255C,并成功将其转化为共显性 RFLP 标记,该 QTL 可以解释 77% 的表型变异,为晚抽薹的分子标记辅助育种奠定了重要基础。LI 等<sup>[14]</sup>利用大白菜和白菜型油菜的 F<sub>2</sub> 群体,检测到与控制抽薹的 10 个 QTL 位点并将这些位点定位在 6 个连锁群,另外还检测到控制开花时间的 14 个 QTL 位点并定位在 8 个连锁群。张磊<sup>[15]</sup>用包含 161 个 DNA 标记的白菜遗传连锁图谱为基础,对白菜抽薹相关性状进行了 QTL 定位分析,在 8 个连锁群上共检测到控制抽薹相关性状的 46 个 QTL 位点。其中一些 QTL,尤其是那些在 A02、A06 和 A07 连锁群上检测出的 QTL 可用于抽薹相关性状的基因图位克隆和晚抽薹类型白菜的标记辅助选育(MAS)。

### 1.2 外界条件对抽薹的影响

研究发现,十字花科植物的抽薹受到多种因素的影响和调控,如温度、光照、水分、植物激素等<sup>[6,16-17]</sup>。对拟南芥开花抽薹的研究表明,可能有多个途径参与控制这一过程,如光周期途径(photoperiodism pathway)及昼夜节律钟(circadian clock)、春化途径(vernalization pathway)、自主途径(autonomous

pathway)、赤霉素途径(gibberellin pathway)、年龄途径(aging pathway)和外界温度途径(ambient temperature pathway)等<sup>[6]</sup>。

春化作用是植物诱导成花抽薹的必要阶段,根据植物对温度感应的发育阶段春化可以分为 2 种类型:一是种子春化型,如白菜、萝卜和芥菜等;二是绿体春化型,如大蒜、洋葱和芹菜等。春化的温度高低和天数对抽薹的影响也有所不同,如萌动的萝卜种子经 1~10 ℃ 处理 10~20 d 就可以达到春化效果<sup>[18]</sup>,而大白菜完成春化的最适温度为 5~8 ℃<sup>[19]</sup>。西藏的大白菜品种在露出胚根后转入低温(3 ℃)春化 28~35 d,可以达到理想的加代,而耐抽薹的材料则需要经过 42 d 的春化可以达到理想的加代目的<sup>[20]</sup>。

光照对植物的抽薹和成花具有显著的影响。PRESSMAN 等<sup>[21]</sup>认为,光照强度与形成的花芽数量成正比,光强减弱会使花芽数目大大减少。张鲁刚等<sup>[22]</sup>研究发现,大白菜幼苗在无光照的条件下,即使低温春化 29 d 也没有出现抽薹,而在有光照的条件下则全部抽薹。另外,光周期和光质也与花芽分化和抽薹关系密切。如拟南芥中与生物钟相关的某些基因可以在转录水平上通过调控一个关键的开花因子,即包含 CCT 功能域的转录因子 CO(CONSTANS)来控制花芽的分化<sup>[16]</sup>;而利用竞争植物来实现遮荫或者将植物置于较低的红光/远红光比例的条件下,则可以促进植物的开花<sup>[23]</sup>。

在调控抽薹开花的植物激素中,对赤霉素(gibberellins, GAs)作用的研究最为深入<sup>[6,16-17]</sup>。例如,随着萝卜春化作用的进行,内源 GA<sub>3</sub> 含量逐渐升高,而一旦花芽形成,GA<sub>3</sub> 的水平则迅速下降<sup>[24]</sup>;外源赤霉素处理则可以促进白菜和萝卜等作物的抽薹开花<sup>[25-27]</sup>。从拟南芥 cDNA 文库中分离得到的促进开花因子 1 基因(flowering promoting factor 1, FPF1 编码一种蛋白),据推测 FPF1 基因主要是在赤霉素途径中起介导作用<sup>[27]</sup>。

## 2 萝卜耐抽薹的遗传、分子和生理生化机制研究进展

### 2.1 萝卜耐抽薹的遗传机制研究

目前,对萝卜耐抽薹的遗传机制尚不是很清楚。赵丽萍<sup>[28]</sup>的研究发现,萝卜抽薹性状符合 2 对主基因+多基因遗传模型(E-0, E-1)。在 E-0 模型中,2 对主基因均以加性效应为主,分别为 -12.344 和 -8.600,主基因遗传率和多基因遗传率分别为

75.50%和0.22%,总遗传率为75.72%。而在E-1模型中,F2群体2对主基因以加性效应为主,分别为-7.818和-5.084,主基因遗传率和多基因遗传率分别为70.97%和1.86%,总遗传率为72.83%,多基因加性效应和显性效应分别为负效应和正效应。KANEKO等<sup>[29]</sup>在萝卜异源染色单体中发现了1个早抽薹基因,它对于控制Tokinashi栽培种晚抽薹性状的几个基因都呈现显性效应。

与白菜和甘蓝等相比,萝卜耐抽薹QTL定位方面的研究亦相对滞后,目前尚鲜见相关主效QTL的报道<sup>[6]</sup>。在萝卜抽薹相关的基因克隆和功能预测方面亦有较多报道。许园园等<sup>[30]</sup>采用电子克隆与基因组步移(Genome walking)策略分离出萝卜*RsFPF1*基因gDNA和cDNA及启动子序列,同时证明,*RsFPF1*基因能够促进萝卜提早开花,其表达可能受光调控,在调控萝卜抽薹开花及花发生相关的基因表达方面起重要作用。YI等<sup>[31]</sup>利用从头组装的转录组策略在萝卜中分离得到了3个*FLC*的同源基因*RsFLC1*,*RsFLC2*和*RsFLC3*。这3个*FLC*基因在非春化的植物中高表达,且被春化作用所抑制。在拟南芥中过表达这3个*FLC*基因可以显著延迟开花,证明其可能起着开花抑制子的功能。ZHANG等<sup>[32]</sup>和郭军等<sup>[33]</sup>的研究结果表明,在普通萝卜和野生萝卜中各有2个旁系同源基因(*RsFLCa*和*RsFLCb*及*RrFLCa*和*RrFLCb*),认为萝卜属*FLC*基因的多拷贝现象可能也是伴随萝卜基因组的多倍化而产生的。萝卜、甘蓝和白菜的*FLC*转录因子编码区相似度达96.13%。另外,王夏等<sup>[34]</sup>通过构建萝卜抽薹开花相关基因的cDNA文库,获得了大量的EST序列,并进行了*FLC*、*FT*、*LFY*等关键基因在萝卜EST序列中同源片段的克隆,从而可以结合萝卜基因组测序,用于萝卜抽薹基因的功能验证和全基因组调控模式的研究。

## 2.2 萝卜耐抽薹的分子机理

随着高通量测序和组学等现代技术的快速发展和应用,对萝卜抽薹的分子机制有了新的认识和发展。例如,利用mRNA-seq转录组测序技术,ZHANG等<sup>[32]</sup>分析了萝卜叶片的全基因表达,KEGG分析结果提示剪切体(spliceosome)的组装和生物碱合成途径等在萝卜抽薹阶段发挥重要作用。NIE等<sup>[35]</sup>用RNA-seq系统分析了迟抽薹萝卜品种‘NAU-LU127’在从营养生长到生殖生长转换过程中的差异基因表达情况,共检测到了5 922个差异表达基因,其中779个上调表达,5 143个下调表达;功

能富集研究结果共检测到37个与抽薹开花相关的激素信号途径基因和95个与抽薹开花基因转录调控有关的基因具有明显的差异表达。研究还分析了与开花抽薹相关的关键基因,如*FT*、*CO*、*SOC1*、*FLC*和*LFY*等,为深入理解萝卜抽薹开花在分子水平上的调控机制提供了直接的理论证据。

另外,最近在萝卜抽薹的表观遗传学研究方面也有了新的发现。如宋贤勇<sup>[36]</sup>的研究表明,在未现蕾—现蕾—抽薹过程中基因组DNA甲基化水平降低,随着花茎的伸长又逐渐上升,在各个时期的CCGG内侧胞嘧啶完全甲基化程度均高于半甲基化的程度。同时还表明,MSAP技术在检测萝卜花芽分化过程中5-mC的程度具有敏感性高和特异性强等优点。在较高纯度的模板DNA基础上,利用HpaII *MspI*-*EcoRI*酶切连接体系可获得稳定的MSAP银染指纹图谱,该优化体系可用于抽薹过程中甲基化样式分析<sup>[37]</sup>。NIE等<sup>[38]</sup>构建了萝卜迟抽薹品种‘NAU-LU127’在不同生长发育时期,包括四叶期(FS)、营养生长期(VS)、抽薹期(BS)和生殖生长期(RS)的small RNA文库,然后用Solexa测序手段分析了miRNA在调控抽薹开花过程中的功能。结果表明,从2个文库中共获得了94个已知miRNAs(包括21个保守和13个非保守的miRNAs家族)以及44个新的miRNAs。其中,差异表达显著的miRNAs中有42个已知的和17个新的miRNAs可能与萝卜抽薹过程有关。另外,还鉴定到了154个与50个抽薹相关的miRNAs靶基因。这些最新的研究结果为解析萝卜抽薹开花的分子机制和调控网络提供了新的研究思路 and 方向。

## 2.3 影响萝卜抽薹的主要因素

2.3.1 春化作用 低温春化作用可以促进萝卜花芽分化。邓俭英<sup>[39]</sup>的研究表明,萌动的萝卜种子经5℃处理诱导花芽分化的效果优于10℃处理,表现为达到花芽分化所需时间短。已萌动的萝卜种子在2~4℃条件下,在10~30 d范围内随着春化天数的增加,萝卜抽薹开花期提前,且抽薹率提高。而春化处理的时间越长,萝卜现蕾、抽薹及开花的时间就越短<sup>[18]</sup>。不同的品种对处理条件的要求也不同,与其遗传背景有关。刘可群等<sup>[40]</sup>根据萝卜发育对低温春化的反应特点建立了萝卜抽薹生育期的数学模拟模型,其中播种至抽薹生育期所需天数的模拟值与实测值之间误差最小,平均绝对误差不足3 d,平均相对误差5%左右,模型可以很好地预测萝卜的抽薹期,从而可以用于指导萝卜的栽培生产。

2.3.2 内源化学物质 春化处理可以显著促进萝卜体内的可溶性蛋白质含量、可溶性糖含量、游离氨基酸含量、POD 和 CAT 活性。在整个开花过程中,除可溶性糖表现为降低的趋势外,其它均表现为先升高后降低的趋势。春化处理时间越长,萝卜叶片中的 MDA 含量越高,在萝卜开花进入衰败期时,MDA 含量会再次升高。而耐抽薹的萝卜品种的可溶性蛋白质和可溶性糖含量明显低于易抽薹品种,游离氨基酸含量则相反<sup>[18]</sup>。为了弄清是否有抗抽薹开花的物质存在,YOSHIDA 等<sup>[41]</sup>利用早抽薹萝卜品种‘Taibyout-soubutori’和迟抽薹品种‘Haruhajime’分离鉴定出了多种抗抽薹化合物,如乙酸乙酯、茉莉酸、茉莉酮酸甲酯、活性氧等。其中一个抗抽薹的化合物,根据结构鉴定为  $\alpha$ -hexadecatrienoic acid monoglyceride (16:3 monoglyceride)(六碳三烯酸单甘油酯),该化合物不能抑制顶端分生组织部位的叶的生长,但是具有明显的抑制萝卜抽薹开花的活性,而该化合物在春化作用后抽薹之前则在组织内消失。因此,该研究结果提示春化作用对该化合物抑制作用的解除反过来促进抽薹的发生。

2.3.3 植物激素的影响 植物激素对调控萝卜的抽薹开花起着至关重要的作用。王淑芬等<sup>[26]</sup>对萝卜抽薹过程中  $GA_3$  和 IAA 含量的测定结果表明, $GA_3$  在抽薹前夕有一个明显的高峰,而 IAA 含量在花芽分化及抽薹时明显增加。宋贤勇等<sup>[42]</sup>研究发现,在现蕾抽薹过程中多种激素的平衡比单一激素对萝卜抽薹开花的影响更大。其中,在萝卜抽薹过程中, $GA_4$  与现蕾抽薹密切相关,起着主导作用;而 iPA/ABA 的比值增大且  $GA_4$ /iPA 和  $GA_4$ /IAA 值变小,则有利于花芽分化后植株的抽薹开花。李盛<sup>[18]</sup>的研究认为,春化处理可以改变萝卜开花过程中内源激素的变化,随着春化处理时间的延长会在一定程度上降低现蕾之前 IAA 的水平,而  $GA_3$  和 ABA 则有一定的提高。另外,外源激素处理对抽薹开花也具有调控作用。王淑芬等<sup>[43]</sup>的研究结果表明,在萝卜 3~4 叶期喷施赤霉素( $GA_3$ )  $500\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ,每隔 7 d 喷 1 次,连喷 3 次,可以明显促进萝卜的抽薹和开花。秦成萌等<sup>[44]</sup>的研究结果表明,喷施烯效唑(S3307)、脱落酸(ABA)、青鲜素(MH)和矮壮素(CCC)等处理后,萝卜幼苗表现为不同程度的矮化、健壮,抽薹率分别比对照降低 42.1%、14.1%、90.6%、23.7%,其中 MH 处理严重抑制生长。 $600\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  烯效唑处理使萝卜叶片内 C/N 下降 80.2%,可有效地降低植株的现蕾率、抽薹率。

2.3.4 品种的差异 目前,筛选耐抽薹品种已经成为萝卜遗传育种最为有效的手段。不同萝卜品种对环境的适应能力不同,而且不同萝卜品种在从播种到现蕾、抽薹和开花所需的时间以及所需的适宜低温处理条件(温度、处理时间)等均有显著的差异<sup>[45]</sup>。汪炳良等<sup>[46]</sup>的研究结果也表明,从播种至现蕾、抽薹和开花所需的时间不仅在品种间和播种期之间存在显著差异,且品种与播种期之间的互作效应也达到极显著水平。播种后现蕾、抽薹时间越短,现蕾时叶片数也越少、初花期植株越矮小。

### 3 萝卜耐抽薹种质资源的鉴定和遗传分析

#### 3.1 萝卜种质的遗传多样性

我国萝卜种质资源极其丰富,迄今为止,在中国农业科学院国家蔬菜种质资源中期库中保存的萝卜种质资源至少有 2 100 份<sup>[47]</sup>。但目前国内对于萝卜种质资源的研究尚不够系统深入,一定程度上限制了萝卜优质资源的利用和转化。在进化起源上,萝卜属的前身可能为野生萝卜属(*R. rapanistrum*),其包括 3 个亚种 subsp. *Maritimus*、subsp. *Raphanistrum* 和 subsp. *Landra*,但也有研究表明萝卜可能起源于 *R. maritimus* 和 *R. landra* 的杂交种或者是由于不同亲本的种间杂交的结果<sup>[48]</sup>。王明霞<sup>[49]</sup>的研究结果表明,萝卜属与芸薹属可独立聚类,但它们之间的遗传相似性较高,萝卜变种“蓝花子”“美泰黑森”与芸薹属的亲缘关系比普通栽培种要近。萝卜品种可以根据地理起源与根皮色来进行划分。方平等<sup>[50]</sup>的研究结果显示,不同肉色的萝卜间亲缘关系较密切,在分类上红色肉质萝卜可能是白色萝卜的一个变种。杨丽娟<sup>[51]</sup>的研究分析表明,无论从植物学形态性状还是从疏代葡萄糖苷标记分析,其聚类结果都与形态特征相关。利用形态性状对萝卜种质分类时,首先考虑的是根的性状,其次是颜色,最后是叶的性状。根据形态性状萝卜可分为 3 类:长根型萝卜、短根型萝卜和扁圆形萝卜。而孔秋生<sup>[52]</sup>的研究表明,利用形态性状对萝卜分类时,首先考虑的是颜色,其次是根的性状,最后是叶的性状。种质的分类表现出了与根皮色密切相关的特征,基本上是根皮色为红色的聚为一个亚组,根皮色为白色和绿白色的聚为一个亚组。韩太利等<sup>[53]</sup>利用形态学与 AFLP 标记研究栽培萝卜种质亲缘关系发现,萝卜种质分类与根皮色相关,大致可分为绿皮萝卜组、白皮萝卜组、红皮萝卜组。王夏等<sup>[54]</sup>认为,对萝卜种质进行主成分分析分类时,应依次考虑的因素分别为植株颜色、植株株型、叶部特征、根部特征和根部颜色;进行

聚类分析时萝卜种质能够分成 3 个类别,即普通红萝卜、樱桃型萝卜和非红普通萝卜。

### 3.2 萝卜种质资源的遗传鉴定方法

3.2.1 萝卜耐抽薹性的常规鉴定方法 张素君等<sup>[3]</sup>提出了不同萝卜品种耐抽薹性的鉴定方法。其中,显蕾期和开花期的相关性达到极显著水平,抽薹速度分别与花期薹高、薹高差、抽薹天数的相关性达到极显著水平;花期薹高与薹高差、抽薹速度的相关性极显著。因此,认为显蕾期和开花期均可作为评价萝卜抽薹早晚的指标。抽薹速度、花期薹高、薹高差、抽薹天数这 4 个指标可用于评价抽薹能力。邓俭英<sup>[39]</sup>的研究认为,叶片的淀粉含量、蛋白质含量可以作为花芽分化早期鉴定的一个生理指标,同时用主成分分析和隶属函数法评价进行田间鉴定评价萝卜种质的耐抽薹性。宋倩<sup>[55]</sup>通过对多种性状(可溶性糖、纤维素、单根质量、肉质根直径和长度以及株幅等)的相关性进行分析,对 22 个自交系的抽薹性状进行了鉴定。而张秋萍等<sup>[56]</sup>则采用心叶蜡粉显现、心叶正常或细长、花蕾显现和花茎(薹)长度、开花、单根质量达到食用成熟期的程度等作为形态指标,形成 6 级调查分级标准和 5 个评价等级。但总体而言,根据性状和形态的常规指标对鉴定抽薹数量性状存在指标不准确、受环境和时间影响大、费时费力、随意性大、不同品种间差异大等缺点。因此,利用遗传学进行萝卜的种质资源进行鉴定越来越受到人们的重视。

3.2.2 萝卜耐抽薹性的遗传鉴定 自 20 世纪 80 年代以来,分子标记技术得到了快速发展,已被广泛应用于准确估计控制数量性状的基因数目以及研究它们的遗传效应和作用方式。采用 RAMP、SSR、ISSR、RAPD、RFLP、AFLP 等分子标记,同时结合系统聚类分析、主坐标分析、主成分分析等方法,可较为准确有效地进行萝卜的遗传多样性分析与种质鉴定<sup>[47,57]</sup>。王明霞<sup>[49]</sup>和李芳等<sup>[58]</sup>的研究表明 RAMP 以及 IRAP 分子标记技术是评价十字花科种属间遗传多样性与亲缘关系的有效方法,每份种质都有独特的指纹图谱,认为 RAMP 标记在萝卜  $F_2$  分离群体主要是呈正常孟德尔遗传,因此,可以有效地应用于萝卜种质鉴定和指纹图谱的构建。KONG 等<sup>[47]</sup>研究了 156 份栽培萝卜品种的遗传多样性,并将它们划分为 3 类:hortensis Becker, sativus 和 niger Kerner。其中,hortensis Becker 种质具有最丰富的遗传多样性。孔秋生<sup>[52]</sup>的研究结果表明 RAPD 标记和 AFLP 标记都适用于对萝卜种质资源遗传多样性的

研究,且 2 种标记均表现出了高度的相似性,显示出栽培种之间存在着较丰富的遗传多样性,系统聚类分析及主坐标分析 2 种分类方法结果基本一致,基于分子标记的分类与种质的表型基本吻合,主坐标分析能更为直观和清楚地反映群体之间的关系<sup>[59-60]</sup>。周娜等<sup>[61]</sup>研究认为采用 ISSR、RAPD 与 RAMP 3 种分子标记综合聚类与各标记单独聚类之间存在一定的差异,综合聚类分析结果更加直观的反映出材料间的亲缘关系,聚类结果表现与材料来源、根肉色及根形关系较为密切,与园艺学性状的一致性比任何单一标记都要高。赵丽萍<sup>[28]</sup>采用抽薹差异显著、遗传性状稳定的优良高代自交系,构建遗传分离群体,并采用 BSA 与 GRA 策略,对萝卜抽薹性状进行多种遗传标记分析,获得了可能与抽薹性主效位点紧密连锁的 6 个 RAPD 标记、1 个 ISSR 标记、1 个 SRAP 标记,并将其中筛选出的可能与抽薹基因位点紧密连锁的 1 个 RAPD 分子标记 LBRp10-557 转化成 SCAR 标记。徐文玲等<sup>[62]</sup>运用 AFLP 分子标记技术与 BSA 法相结合,获得了 2 个与萝卜耐抽薹基因相连锁的 AFLP 标记(遗传距离分别为 14.6 cM[centimorgan]和 9.1 cM),并将其中一个标记转化成 SCAR 标记(遗传距离为 7.5 cM),从而克服了 AFLP 分子标记的缺点,为实现萝卜耐抽薹性状的分子标记辅助育种奠定了重要的基础。

## 4 耐抽薹萝卜不育系的研究

在植物中,细胞质雄性不育(cytoplasmic male sterility, CMS)是一种不能产生正常功能花粉的母性遗传性状,被广泛地应用于商业化生产  $F_1$  代杂种。我国杂交一代萝卜多采用雄性不育系进行制种,因此,选用优异的萝卜雄性不育系是成功选育耐抽薹萝卜杂交品种的关键。

樊志明<sup>[63]</sup>对萝卜不育系的细胞学切片观察结果表明,不育系花粉败育发生的关键时期在四分体至单核期。蒋振等<sup>[64]</sup>认为青花菜与萝卜属间杂种植株杂种植株包含了双亲的遗传信息,杂种植株的生长势明显强于父本和母本,表型和细胞学观察显示杂种植株具有类似母本的雄性不育特性。在分子水平上,CMS 可能是由于位于线粒体基因组上的一些嵌合基因表达引起的<sup>[65-66]</sup>。而大多情况下,某些显性的核基因,即育性恢复基因(restorers of fertility, Rf)可以控制或影响 CMS 相关基因的表达,从而可以恢复含有 CMS 线粒体基因组的植物的育性<sup>[65,67]</sup>。

汪志伟<sup>[68]</sup>获得了一个萝卜 CMS 系统,该系统由不育系 9803A、保持系 9802B 和恢复系 9802H 组

成,9802A 雄性不育的育性恢复受单一显性基因控制。同时,RT-PCR 分析表明 *Rfo-like* 基因可能是一个新的萝卜 CMS 恢复基因,在萝卜的根、茎、叶、花和嫩莢中均有表达。SUN 等<sup>[69]</sup> 分别从萝卜的 CMS 恢复系和保持系中分离获得了一个 *Rs-Rfl* 和一个 *Rs-rfl* 基因,并根据这 2 个等位基因的 *SspI* 限制性酶切位点的差异,将其发展为鉴定区分纯合和杂合育性等位系的功能性分子标记,利用该标记可以成功地鉴定筛选耐抽薹萝卜的保持系,从而加速耐抽薹萝卜雄性不育系的选育过程。谭婷婷等<sup>[70]</sup> 的研究结果表明,将萝卜包含 *ORF138* 基因片段的 Ogura CMS 分子标记应用于不育基因的转育工作中,可以显著提高选择效率,缩短育种年限。胡天华等<sup>[71]</sup> 以秋冬萝卜雄性不育系浙 3A 为不育源,耐抽薹萝卜自交系 CL09 等为回交父本,通过连续回交,选育出耐抽薹萝卜雄性不育系 CL09A。该不育系耐抽薹性强,不育性稳定,不育株率高达 100%,开花结实性状优良,经济性状好,因此,利用 CL09A 选配的杂交组合具有较强的杂种优势。利用雄性不育系自主育成的一个耐抽薹的白萝卜新品种“天正萝卜 14 号”,具有抗病、高产、耐抽薹、适宜生食等优点,可以成为替代韩、日白萝卜的理想品种<sup>[72]</sup>。

## 5 展望

先期抽薹是影响萝卜产量和品质的重要因素,但抽薹是由多基因控制的数量性状,受多因素的影响和控制,除了选育耐抽薹品种以外,在生产中尚缺乏更为有效可行的途径和办法。但由于我国萝卜种子市场长期被国外耐抽薹品种挤占,目前自主选育出的优质耐抽薹萝卜品种还极少。随着植物分子生物技术及基因组学研究的快速发展及应用,深入研究萝卜抽薹性状的遗传规律、影响萝卜抽薹开花的机理和调控机制,可使人们在品种选育过程中避免盲目性,从而提高育种效率。由于抽薹性状多为数量遗传,仅仅根据后代的表型选择优异基因型的效率较低,而借助与抽薹性状紧密连锁的分子标记进行间接选择则可以提高选育效率。另外,由于利用田间试验和品种的园艺学性状来进行优良品种的鉴定容易受到环境因素的影响,主观性较大,利用分子标记指纹图谱则可以准确客观快速地进行品种鉴定。同时,不育系将是未来萝卜耐抽薹杂交品种培育的重要手段。总之,应加强分子标记鉴定方法和相关体系的优化,以及在耐抽薹萝卜雄性不育系的选育过程中的应用,为萝卜种质资源遗传多样性的收集整理、筛选鉴定和创新培育提供新的技术手段,

从而加速选育耐抽薹萝卜优良品种的进程。

## 参考文献

- [1] NISHIJIMA T, KATSURA N, KOSHIOKA M, et al. Role of endogenous gibberellins in cold-induced stem elongation and flowering of Japanese radish (*Raphanus sativus* L.) [J]. J Japan Soc Hort Sci, 1998, 67: 319-324.
- [2] 张美霞, 杨延杰, 林多. 抽薹进程中萝卜肉质根主要质地指标变化的研究[J]. 北方园艺, 2013(24): 6-10.
- [3] 张素君, 邱杨, 宋江萍, 等. 萝卜种质资源耐抽薹性鉴定评价[J]. 植物遗传资源学报, 2014, 15(2): 262-269.
- [4] 杨金兰, 刘艳波, 张舜. 萝卜生产中抽薹的原因及其预防措施[J]. 北方园艺, 2015(23): 71-73.
- [5] 王阳. 11 个萝卜自交系的杂种优势及配合力分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [6] 汪精磊, 李锡香, 邱杨, 等. 十字花科蔬菜抽薹开花性状的调控机理和分子育种研究进展[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(6): 1283-1289.
- [7] 程斐, 李式军. 大白菜抽薹性状的遗传规律研究[J]. 南京农业大学学报, 1999, 22(1): 26-28.
- [8] 余阳俊, 张凤兰, 赵帕云, 等. 大白菜及种内杂种小白菜×大白菜、芜菁×大白菜的晚抽薹遗传效应研究[J]. 华北农学报, 2005, 20(3): 17-21.
- [9] SCHRANZ M E, QUIJADA P, SUNG S B, et al. Characterization and effects of the replicated flowering time gene FLC in *Brassica rapa* [J]. Genetics, 2002, 162(3): 1457-1468.
- [10] ZHAO J, KULKARNI V, LIU N, et al. *BrFLC2* (FLOWERING LOCUS C) as a candidate gene for a vernalization response QTL in *Brassica rapa* [J]. J Exp Bot, 2010, 61(6): 1817-1825.
- [11] KITAMOTO N, YUI S, NISHIKAWA K, et al. A naturally occurring long insertion in the first intron in the *Brassica rapa* FLC2 gene causes delayed bolting[J]. Euphytica, 2014, 196(2): 213-223.
- [12] 纪小红, 尹乐, 沈宝宇, 等. 白菜抽薹相关性状遗传分析[J]. 中国农学通报, 2013, 29(4): 76-82.
- [13] AJISAKA H, KUGINUKI Y, YUI S, et al. Identification and mapping of a quantitative trait locus controlling extreme late bolting in Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis* syn. *Campestris* L.) using bulked segregant analysis[J]. Euphytica, 2001, 118: 75-81.
- [14] LI X N, RAMCHIARY N, DHANDAPANI V, et al. Quantitative trait loci mapping in *Brassica rapa* revealed the structural and functional conservation of genetic loci governing morphological and yield component traits in the A, B, and C subgenomes of *Brassica* species[J]. DNA Res, 2013, 20(1): 1-16.
- [15] 张磊. 白菜抽薹相关性状 QTL 定位分析[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2014.
- [16] JUNG C, MÜLLER A E. Flowering time control and applications in plant breeding[J]. Trends Plant Sci, 2009, 14(10): 563-573.
- [17] JARILLO J A, PINEIRO M. Timing is everything in plant development. The central role of floral repressors[J]. Plant Science, 2011, 181(4): 364-378.
- [18] 李盛. 春化处理对萝卜抽薹和开花的影响[D]. 洛阳: 河南科技大学, 2014.
- [19] ELLERS B, WIEBE H J. Flower formation of Chinese cabbage.

- Response to vernalization and photoperiods[J]. *Scientia Horticulture*, 1984, 22(3): 219-231.
- [20] 蒋兵涛. 西藏大白菜抽薹影响因素及耐抽薹品种选育研究进展[J]. *现代农业科技*, 2016(1): 127-128.
- [21] PRESSMAN E, SHAKCD R. Bolting and flowering of Chinese cabbage as affected by the intensity and source of supplementary light[J]. *Scientia Horticulturae*, 1988, 34(4): 177-187.
- [22] 张鲁刚, 孔小平, 惠麦侠, 等. 大白菜幼苗春化对低温、光照和苗龄的要求[J]. *园艺学报*, 2008, 35(11): 1676-1680.
- [23] MÖLLER-STEINBACH Y, ALEXANDRE C, HENNIG L. Flowering time control[M]//HENNIG L, KÖHLER C (eds.). *Plant developmental biology, methods in molecular biology*. London: Springer Science and Business Media, LLC, 2010.
- [24] NAKAMA L, KATSURA N, KOSHIOKA M, et al. Role of endogenous gibberellins in cold-induced stem elongation and flowering of Japanese radish[J]. *Japan Soc Horticulture Sci*, 1998, 67: 325-330.
- [25] 侯雷平, 王丽, 李梅兰. 赤霉素处理促进白菜开花的效应分析[J]. *中国农学通报*, 2009(6): 171-174.
- [26] 王淑芬, 徐文玲. 赤霉素对耐抽薹萝卜抽薹开花的影响[J]. *山东农业科学*, 2002(6): 14-16.
- [27] MELZER S, KAMPMANN G, CHANDLER J, et al. *FPF1* modulates the competence to flowering in *Arabidopsis*[J]. *Plant J*, 1999, 18(4): 395-405.
- [28] 赵丽萍. 萝卜抽薹性遗传分析与春萝卜种质标记鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [29] KANEKO Y, BANG S W. Early-bolting trait and RAPD markers in the specific monosomic addition of radish carrying type e-chromosome of *Brassica oleracea*[J]. *Plant Breeding*, 2000, 119: 137-140.
- [30] 许园园, 王燕, 柳李旺, 等. 萝卜抽薹开花促进因子 *RsFPF1* 基因克隆与功能分析[J]. *南京农业大学学报*, 2014, 37(4): 31-38.
- [31] YI G, PARK H, KIM J S, et al. Identification of three FLOWER-ING LOCUS C genes responsible for vernalization response in radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. *Hort Environ Biotechnol*, 2014, 55(6): 548-556.
- [32] ZHANG L, JIA H, YIN Y, et al. Transcriptome analysis of leaf tissue of *Raphanus sativus* by RNA sequencing[J/OL]. *PLoS One*, 2013, 8(11): e80350. doi:10.1371/journal.pone.0080350.
- [33] 郭军, 祖艳侠, 吴永成, 等. 萝卜属抽薹开花相关基因 *FLC* 的预测及分析[J]. *浙江农业学报*, 2014, 26(3): 656-660.
- [34] 王夏, 孙菲菲, 郇月红, 等. 萝卜抽薹开花相关基因的研究进展[J]. *金陵科技学院学报*, 2014, 30(3): 68-71.
- [35] NIE S, LI C, WANG Y, et al. Transcriptomic analysis identifies differentially expressed genes (DEGs) associated with bolting and flowering in radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016(7): 1-12.
- [36] 宋贤勇. 萝卜花芽分化、抽薹与内源激素和 DNA 甲基化关系的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [37] 柳李旺, 宋贤勇, 龚义勤, 等. 萝卜 MSAP 体系优化与抽薹过程中 MSAP 分析[J]. *江苏农业科学*, 2006(6): 203-206.
- [38] NIE S, XU L, WANG Y, et al. Identification of bolting-related microRNAs and their targets reveals complex miRNA-mediated flowering-time regulatory networks in radish (*Raphanus sativus* L.)[J]. *Scientific Reports*, 2015(5): 1-15.
- [39] 邓俭英. 萝卜花芽分化形态发育及其生理生化研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2003.
- [40] 刘可群, 邱正明, 聂启军, 等. 基于春化效应的高山萝卜生育期模拟模型研究[J]. *中国农学通报*, 2016, 32(13): 39-43.
- [41] YOSHIDA Y, TAKADA N, KODA Y. Isolation and identification of an anti-bolting compound, hexadecatrienoic acid monoglyceride, responsible for inhibition of bolting and maintenance of the leaf rosette in radish plants[J]. *Plant Cell Physiol*, 2010, 51(8): 1341-1349.
- [42] 宋贤勇, 柳李旺, 龚义勤, 等. 春萝卜抽薹过程中内源激素含量变化分析[J]. *植物研究*, 2007(27): 182-185.
- [43] 王淑芬, 徐文玲, 何启伟, 等. 春化深度对萝卜抽薹的影响及抽薹过程中 GA<sub>3</sub> 和 IAA 含量的变化[J]. *山东农业科学*, 2003(6): 20-21.
- [44] 秦成萌, 林多. 不同植物生长调节剂抑制反季节萝卜抽薹效应的研究[J]. *北方园艺*, 2012(2): 23-25.
- [45] 张延恒, 黄怡弘, 刘海平. 耐抽薹萝卜品种比较试验[J]. *浙江农业科学*, 2010(4): 726-727.
- [46] 汪炳良, 邓俭英, 曾广文. 播种期和品种对萝卜现蕾、抽薹和开花的影响[J]. *种子*, 2003(3): 15-17.
- [47] KONG Q, LI X, XIANG C, et al. Genetic diversity of radish (*Raphanus sativus* L.) germplasm resources revealed by AFLP and RAPD markers[J]. *Plant Mol Biol Rep*, 2011, 29: 217-223.
- [48] SHEN D, SUN H, HUANG M, et al. Comprehensive analysis of expressed sequence tags from cultivated and wild radish (*Raphanus* spp.)[J]. *BMC Genomics*, 2013(14): 721.
- [49] 王明霞. 萝卜及其近缘属种亲缘关系分析与遗传图谱构建[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [50] 方平, 陈发波, 姚启伦, 等. 肉质色不同萝卜遗传多样性的 SSR 分子标记分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2012(2): 226-232.
- [51] 杨丽娟. 硫代葡萄糖苷标记鉴定萝卜种质资源遗传多样性的研究[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2010.
- [52] 孔秋生. 萝卜种质资源遗传多样性和亲缘关系的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2003.
- [53] 韩太利, 李可峰, 谭金霞. 利用形态学与 AFLP 标记研究栽培萝卜种质亲缘关系[J]. *中国蔬菜*, 2008(9): 15-18.
- [54] 王夏, 孙菲菲, 王强. 萝卜种质资源的遗传多样性和聚类分析[J]. *江西农业学报*, 2013, 25(9): 37-40.
- [55] 宋倩. 耐抽薹萝卜优质自交系的筛选及 3 种植物生长调节剂对抽薹的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
- [56] 张秋萍, 苏小俊, 蔡善亚. 棚室栽培冬春萝卜抗先期抽薹鉴定方法的技术要点[J]. *长江蔬菜*, 2016(15): 37-38.
- [57] WANG Q, ZHANG L, ZHENG P. Genetic diversity and evolutionary relationship analyses within and among *Raphanus* species using EST-SSR markers[J/OL]. *Molecular Breeding*, 2015, 35: 62. doi: 10.1007/s11032-015-0261-1.
- [58] 李芳, 徐良, 魏美甜, 等. 萝卜 IRAP 技术体系建立与品种指纹图谱构建[J]. *江苏农业学报*, 2015, 31(1): 143-148.
- [59] 孔秋生, 李锡香, 向长萍, 等. 沈镛栽培萝卜种质亲缘关系的 AFLP 分析[J]. *中国农业科学*, 2005, 38(5): 1017-1023.
- [60] 孔秋生, 李锡香, 向长萍, 等. 萝卜种质资源亲缘关系的 RAPD 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2004, 5(2): 156-160.
- [61] 周娜, 李丹丹, 陶伟林, 等. 萝卜种质遗传多样性的 ISSR、RAPD 与 RAMP 分析[J]. *西南农业学报*, 2015(28): 704-711.

- [62] 徐文玲,王淑芬,牟晋华,等. 萝卜抽薹基因连锁的 AFLP 和 SCAR 分子标记鉴定[J]. 分子植物育种,2009,7(4):743-749.
- [63] 樊志明. 萝卜甘蓝双二倍体雄性不育性的遗传及细胞学研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [64] 蒋振,张晓辉,蒋磊,等. 青花菜与萝卜属间杂种的表型和分子鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(4):859-864.
- [65] BROWN G G, FORMANOVA N, JIN H, et al. The radish Rfo restorer gene of *Ogura cytoplasmic* male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats[J]. Plant J, 2003, 35(2):262-272.
- [66] SCHNABLE P S, WISE R P. The molecular basis of cytoplasmic male sterility and fertility restoration[J]. Trends Plant Sci, 1998, 3(5):175-180.
- [67] KOIZUKA N, IMAI R, FUJIMOTO H, et al. Genetic characterization of a pentatricopeptide repeat protein gene, *orf687*, that restores fertility in the cytoplasmic male-sterile *Kosena* radish[J]. Plant J, 2003, 34(4):407-415.
- [68] 汪志伟. 萝卜细胞质雄性不育胞质和核基因分子标记的开发及其分子特征[D]. 武汉:华中农业大学,2006.
- [69] SUN X, LIU Y, WANG L, et al. Molecular characterization of the *Rs-Rf1* gene and molecular marker-assisted development of elite radish (*Raphanus sativus* L.) CMS lines with a functional marker for fertility restoration[J]. Mol Breeding, 2012, 30:1727-1736.
- [70] 谭婷婷,刘立峰,陈伟,等. 利用分子标记鉴定萝卜细胞质雄性不育种质的研究[J]. 山东农业科学,2011(8):8-13.
- [71] 胡天华,毛伟海,包崇来,等. 耐抽薹萝卜雄性不育系 CL09A 的选育及利用[J]. 浙江农业科学,2015,56(9):1430-1432.
- [72] 刘贤嫻,徐文玲,刘辰,等. 早春耐抽薹萝卜新品种“天正萝卜 14 号”的选育[J]. 山东农业科学,2016,48(8):23-25.

## Research Progress on Mechanism of Bolting and Selection and Breeding of Anti-bolting Germplasms in *Raphanus sativus* L.

ZHANG Wanping<sup>1</sup>, LI Xiaohui<sup>2</sup>, MA Chao<sup>2</sup>, PEI Yun<sup>1</sup>, DENG Daixin<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025; 2. Guizhou Province Horticulture Research Institute, Guiyang, Guizhou 550006)

**Abstract:** *Raphanus sativus* L. is one of the most important vegetative crops cultivated widely in China. However, pre-mature bolting has become one of the limiting factors for the yield and quality of *Raphanus sativus* L.. The effective approach to solve this problem is to breeding the anti-bolting lines. This study reviewed the recent progress on the genetic, physiological, biochemical and molecular mechanisms of anti-bolting in radish, as well as that about the screening and identification of *Raphanus sativus* L. germplasms related to anti-bolting. It would help us to gain deeper understanding about the anti-bolting mechanisms and the genetic diversity, as well as the CMS in *Raphanus sativus* L., thus benefiting the breeding program for anti-bolting varieties in *Raphanus sativus* L. in China.

**Keywords:** *Raphanus sativus* L.; anti-bolting; genetic analysis; CMS; molecular marker

## 预防春萝卜先期抽薹的一些措施

## 知识窗

春季栽培萝卜如果先期抽薹,就会严重影响萝卜的品质,使之丧失营养和食用价值。可采取以下几种措施防治春季栽培萝卜抽薹。

播种前土壤须提早耕翻,以腐熟有机肥和化肥作为基肥。一般在萝卜播种前,每 667 m<sup>2</sup> 施入畜禽粪便 2 500~4 000 kg,活土肥 5 000 kg,过磷酸钙 15~20 kg。

选择冬性较强的品种。种子萌发后,10℃以下经历 15 d,苗期光照时长 13~14 h,肉质根成熟前不抽薹开花。这类品种全国大约有 180 个,如甘肃的“红蛋子”,黑龙江的“明水萝卜”,新疆的“水萝卜”“红蛋子”“白蛋子”,山东蓬莱的“春萝卜”“四缨子”,宁夏的“小五缨”,江苏的“扬花萝卜”“泡里红”“五月红”“红鸡心”“大白泡子”,湖北的“醉仙桃”,河南的“水萝卜”,甘肃的“白热萝卜”“水萝卜”“红头萝卜”,安徽的长金“酱水萝卜”等。

适期晚播。一般来讲,同一品种在同一地区播种越早,抽薹率越高,这是由于早播,气温、地温尚低,容易通过春化阶段。但是,播种过迟即使不抽薹,由于营养生长期短产量也低。因此,春萝卜播种应适当晚播。

加强栽培管理,提高萝卜的生长势。苗期勤中耕,提高地温,有利于促进萝卜的生长发育。同时加强肥水管理,能抑制萝卜抽薹。

(来源:中国百科网)