

倪 萌, 王 娟, 王 爽, 等. 克服萝卜自交不亲和性的化学试剂筛选[J]. 江苏农业学报, 2022, 38(4): 1042-1048.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2022.04.022

克服萝卜自交不亲和性的化学试剂筛选

倪 萌¹, 王 娟¹, 王 爽¹, 梅 燚², 柳李旺¹, 徐 良¹, 王 燕¹

(1. 南京农业大学作物遗传与种质创新国家重点实验室/农业农村部华东地区园艺作物生物学与种质创新重点实验室/园艺学院, 江苏 南京 210095; 2. 江苏沿海地区农业科学研究所, 江苏 盐城 224002)

摘要: 为探讨克服萝卜自交不亲和性的有效化学方法, 本研究选用不同浓度的槲皮素(Quercetin, QUE)、油菜素内酯(Bassinolide, BR)、褪黑素(Melatonin, MT)和激动素(Kinetin, KT) 4种化学试剂对3个萝卜自交不亲和系(NAU-YXYB、NAU-LV791、NAU-WXQ)进行花期柱头喷施处理。通过亲和指数、花粉体外萌发及柱头活性氧(Reactive oxygen species, ROS)强度测定, 筛选克服萝卜自交不亲和性的有效方法。结果表明, 4种试剂处理均能在一定程度上克服萝卜的自交不亲和性, 其中1.5 mmol/L QUE效果最佳, 其次是100 μmol/L MT和100 mg/L KT。本研究结果为建立高效的萝卜自交不亲和系亲本繁殖技术体系提供参考。

关键词: 萝卜; 自交不亲和性; 化学试剂; 花粉萌发; 活性氧

中图分类号: S631.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2022)04-1042-07

Screening of chemical reagents for overcoming the self-incompatibility of radish

NI Meng¹, WANG Juan¹, WANG Shuang¹, MEI Yi², LIU Li-wang¹, XU Liang¹, WANG Yan¹

(1. State Key Laboratory of Crop Genetics and Germplasm Enhancement/Key Laboratory of Biology and Genetic Improvement of Horticultural Crops (East China), Ministry of Agriculture and Rural Affairs/College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Institute of Agricultural Sciences in the Coastal District of Jiangsu Province, Yancheng 224002, China)

Abstract: In order to explore the effective chemical methods for overcoming the self-incompatibility of radish, four chemical reagents including quercetin (QUE), brassinolide (BR), melatonin (MT) and kinetin (KT) with different concentrations were used to spray the stigma of three self-incompatibility radish lines at flowering stage, such as NAU-YXYB, NAU-LV791 and NAU-WXQ. The effective methods to overcome self-incompatibility of radish were screened by affinity index, pollen germination *in vitro* and intensity of stigma reactive oxygen species (ROS). The results showed that the four reagents could overcome the self-incompatibility of radish to some extent, and 1.5 mmol/L QUE had the best effect, followed by 100 μmol/L MT and 100 mg/L KT. These results can provide a reference for the establishment of efficient technology system for parental reproduction of radish self-incompatibility.

Key words: radish; self-incompatibility; chemical reagent; pollen germination; reactive oxygen species

萝卜 (*Raphanus sativus* L.) 为十字花科重要根

菜类作物, 营养丰富、药用价值高^[1-2], 属于典型异花授粉植物, 杂种优势明显, 多具有自交不亲和性 (Self-Incompatibility, SI), 保证了遗传多样性^[3-4]。利用自交不亲和系进行杂交制种是利用杂种优势的重要途径之一, 避免了去雄操作, 具有优势强、选育易、周期短等优点。然而在实际生产中, 萝卜自交结籽困难限制了自交不亲和系的繁殖与保存, 不利于其在优势育种中的广泛应用。

收稿日期: 2021-12-30

基金项目: 中央高校基本业务费项目 (KYZZ2022004); 江苏省农业科技自主创新基金项目 [CX(19)3045]; 江苏高校优势学科建设工程项目 (PAPD)

作者简介: 倪 萌 (1997-), 女, 山东枣庄人, 硕士研究生, 主要从事蔬菜分子遗传育种工作。

通讯作者: 王 燕, (E-mail) wangyanhs@njau.edu.cn

为提高自交不亲和系的繁殖效率,育种工作者对克服 SI 的物理方法、化学方法、生物方法进行了研究。目前广泛应用的 CO_2 处理^[5]、高温处理^[6]、钢刷授粉^[7]、射线辐射^[8]等方法均可在一定程度上提高自交结实率,但操作困难,且效果不稳定,难以实现广泛应用。近年来,研究人员尝试利用多种化学方法进行 SI 的克服,如利用盐硼溶液(5%的氯化钠与 2%的硼酸的复合溶液)、植物激素处理。结果表明,化学试剂能够明显提高甘蓝、白菜等芸薹属作物的亲和性^[9-10]。汪骞等^[11]发现,3%的 NaCl 溶液能有效提高萝卜的亲和性,可接近人工蕾期授粉效果。花期喷施 NaCl 溶液虽然具有价格低廉、节省人力物力的优点,但是效率不高,且在应用上易造成作物盐胁迫。此外,吲哚乙酸(IAA)、萘乙酸(NAA)、细胞分裂素(6-BA)、赤霉素(GA_3)等植物激素被发现可有效抑制芸薹属植物、百合和矮牵牛等植物的自交不亲和性,但不同作物之间差异较大,且在萝卜属作物上克服自交不亲和性的效果尚未明确。因此,急需寻找一种提高萝卜自交不亲和系亲本繁殖效率的方法。

孢子体自交不亲和主要表现为花粉水合与花粉管进入柱头受到阻碍,导致受精过程不能完成。近期研究报道,孢子体 SI 植物的自交不亲和性与柱头活性氧(ROS)强度呈正相关^[12-15]。在大白菜柱头发育后期,自花花粉能够诱导花期柱头产生过量 ROS,从而阻止花粉的萌发与花粉管的生长^[15]。而在亲和拟南芥中,自花授粉后 ROS 在柱头中含量显著降低,花粉能够正常水合。因此,花粉管生长情况与柱头 ROS 强度可作为判断自交不亲和性的依据。

本研究利用不同浓度的槲皮素(Quercetin, QUE)、油菜素内酯(Bassinolide, BR)、褪黑素(Melatonin, MT)和激动素(Kinetin, KT)对 3 份萝卜高代自交系花期柱头进行喷施处理,比较不同处理下萝卜的结荚率和亲和指数。同时结合花粉管体外萌发及柱头 ROS 强度变化的差异,筛选克服自交不亲和性的最优化学方法,以建立克服萝卜自交不亲和性技术体系,进一步提高萝卜自交不亲和材料的繁殖效率,促进萝卜杂种优势的大面积应用。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用 3 个萝卜高代自交系为试验材料(表 1)。种子消毒后在培养皿中催芽 1~2 d, 4 ℃ 春

化 30 d, 2020 年 8 月播种于南京农业大学白马教学科研基地的温室大棚。化学处理及授粉试验于 2020 年 11 月至 2021 年 5 月进行。

表 1 供试萝卜材料

Table 1 Radish genotypes used in this study

基因型	亲和指数	根形	肉质根皮色	肉质根颜色	叶形
NAU-YXYB	0.24	长圆柱	白	白	花叶
NAU-LV791	0.21	粗圆柱	绿	绿	花板叶
NAU-WXQ	0.33	长圆柱	绿	绿	花叶

1.2 试验方法

1.2.1 化学处理 本试验设置不同浓度的 QUE、BR、MT 和 KT 共 10 个处理(表 2),其中 100 mg/L 激动素为本研究室前期筛选,空白对照组为去离子水处理,同时进行花期自交(Flowering pollination, FP)与蕾期自交(Bud pollination, BP)处理。选取各自交系长势一致的植株,提前套袋,隔离授粉。于盛花期选取当天开的花进行喷施处理,每个处理 5 次重复,每个重复处理 20~30 朵花,柱头干后进行人工自花授粉。其中 MT 易光解,处理后需要进行遮光处理。授粉 5 d 后拆袋,30~45 d 后,待种子成熟后收获。

表 2 化学试剂及其处理浓度

Table 2 Chemical reagents and their concentrations

化学试剂	浓度 1	浓度 2	浓度 3
QUE (mmol/L)	1.000	1.500	2.000
BR (mg/L)	0.001	0.010	0.100
MT ($\mu\text{mol/L}$)	50.000	100.000	200.000
KT (mg/L)	100.000	—	—

QUE: 槲皮素; BR: 油菜素内酯; MT: 褪黑素; KT: 激动素。

1.2.2 亲和性测定 待种荚成熟后,计算各处理与对照的结荚率及亲和指数。萝卜自交不亲和性判定参照标准:亲和指数小于 0.5 为强自交不亲和,0.5~2.0 为弱自交不亲和,大于 2.0 为自交亲和^[16]。

1.2.3 花粉萌发试验 取各处理及对照自交授粉后 4.0 h 及 48.0 h 花柱,固定于 FAA 固定液(50%乙醇:冰乙酸:甲醛=18:1:1,体积比)中,4.0 h 后倒掉固定液,用 ddH_2O 清洗干净并转入 10 mol/L NaOH 中,42 ℃ 软化 0.5 h,用去离子水冲洗 3 次左右,加入适量 0.1% 苯胺蓝染液(苯胺蓝溶于 1%的 K_3PO_3)染色 0.5 h 以上^[17-18]。样品置于荧光显微镜奥林巴斯 BX53[®] DAPI 通道,观察花粉萌发状

态。每个处理至少取 5 个柱头。

1.2.4 柱头 ROS 测定 取各处理花柱浸入 MES-KCl(各试剂终浓度为:10 mmol/L MES,5 μ mol/L KCl,5 μ mol/L CaCl₂,pH=6.5)缓冲液中,抽真空 10 min 后,移至新鲜 MES-KCl 缓冲液中。用 50 μ mol/L 的 2',7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯(2',7'-Dichlorodihydrofluorescein diacetate,H₂DCF-DA,购自索莱宝科技有限公司)荧光染料黑暗染色 1 h^[19]。样品于奥林巴斯 BX53[®] 荧光显微镜 GFP 通道下观察 ROS 强度,曝光时间为 800~900 ms^[17],每个处理至少取 5 个柱头。

1.3 数据处理

数据的统计整理采用 Image J 及 Excel 软件,差异显著性分析采用 IBM SPSS Statistics Base V20.0 软件和 GraphPad Prism 软件。

2 结果与分析

2.1 化学试剂类型对萝卜自交结实性的影响

与对照相比,本试验所选用的 4 种化学试剂均能在一定程度上克服萝卜自交不亲和性,可有效提高结荚率和亲和指数(表 3)。其中 100 mg/L KT 处理后亲和指数可达 2.45,接近于 BP 处理(2.85),与王琴^[20]的试验结果一致;QUE 试剂不同浓度处理平均亲和指数可达 2.10,亲和性显著提高;BR 和 MT 处理

后亲和指数分别是 1.26 和 1.73,也提高了自交亲和性。结荚率的平均效应与亲和指数趋势基本一致,各试剂处理后,结荚率高于 FP 处理和 CK(表 3)。

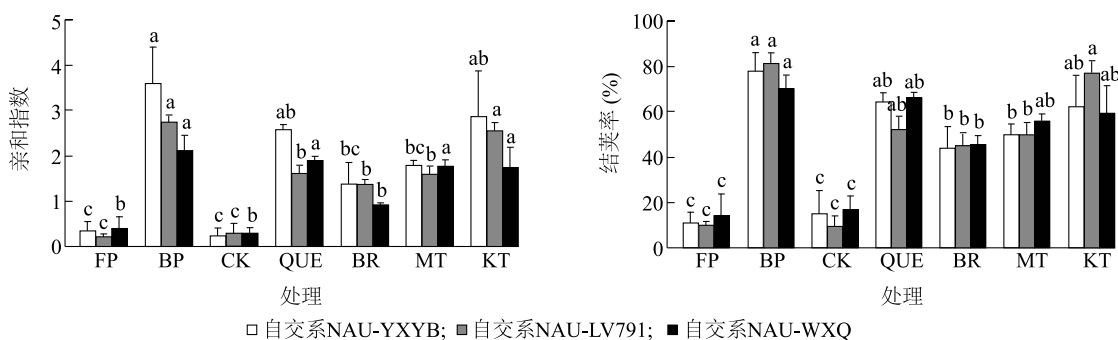
表 3 化学试剂对萝卜自交亲和指数和结荚率的平均效应

Table 3 Average effects of chemical reagents on self-compatibility index and pod setting rate of radish

处理	结荚率(%)	亲和指数
FP	11.97 \pm 2.19e	0.33 \pm 0.07d
BP	76.81 \pm 3.21a	2.85 \pm 0.38a
CK	12.34 \pm 2.34e	0.27 \pm 0.04d
QUE	61.46 \pm 3.08bc	2.10 \pm 0.06ab
BR	45.49 \pm 4.65d	1.26 \pm 0.22c
MT	51.98 \pm 1.82cd	1.73 \pm 0.04bc
KT	67.45 \pm 8.09ab	2.45 \pm 0.50ab

FP:花期自交;BP:蕾期自交;CK:对照组,去离子水处理;QUE:槲皮素处理;BR:油菜素内酯处理;MT:褪黑素处理;KT:激动素处理。同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

所选用的化学试剂虽然均能不同程度地提高萝卜自交亲和性,但也受品种基因型的影响。在 NAU-YXYB 和 NAU-LV791 中,KT 克服萝卜自交不亲和性的效果最显著,亲和指数分别提高至 2.90 与 2.58;其次为 QUE、MT;BR 效果不明显。而对自交系 NAU-WXQ,QUE 处理效果较好(图 1)。



FP、BP、CK、QUE、BR、MT、KT 见表 3 注。不同小写字母表示处理间差异显著($P<0.05$)。

图 1 不同化学试剂处理下萝卜自交亲和指数(A)和结荚率(B)

Fig.1 Self-compatibility index(A) and podding rate(B) of radish under different chemical reagents treatments

2.2 化学试剂浓度对萝卜结实性的影响

适宜的试剂浓度对提高萝卜的亲和性至关重要。本研究选用的 3 个浓度的 QUE 处理均能在一定程度上提高萝卜亲和性,其中 1.5 mmol/L QUE 效果最显著,3 个自交系处理后其亲和性均大幅提高;不同浓度的 MT 效果差异较大,100 μ mol/L 为最

优处理浓度,可大幅提高不亲和自交系的结荚率和亲和指数,过高或过低的浓度效果不理想。100 mg/L KT 在各基因型萝卜中克服自交不亲和性的效果显著,普适性较好。BR 在不同基因型中效果差异较大,广谱性也未得到证明(表 4、图 2)。

综上所述,克服萝卜自交障碍的最优化学试剂

为 1.5 mmol/L QUE、100 μ mol/L MT 和 100 mg/L KT,这些化学试剂处理均能有效克服萝卜自交障碍,提高萝卜自交亲和性。

表 4 不同浓度化学试剂对萝卜自交亲和性的影响

Table 4 Effects of chemical reagents with different concentrations on self-compatibility of radish

处理	结莢率(%)			亲和指数		
	NAU-YXYB	NAU-LV791	NAU-WXQ	NAU-YXYB	NAU-LV791	NAU-WXQ
FP	11.58 \pm 4.47d	9.99 \pm 1.32d	14.33 \pm 9.33d	0.36 \pm 0.20c	0.24 \pm 0.07d	0.43 \pm 0.26ef
BP	77.88 \pm 8.23a	81.75 \pm 4.44a	70.25 \pm 6.19a	3.60 \pm 0.81a	2.76 \pm 0.15a	2.14 \pm 0.34ab
CK	14.68 \pm 10.24d	9.20 \pm 4.76d	16.77 \pm 5.81d	0.26 \pm 0.17c	0.31 \pm 0.22d	0.32 \pm 0.12f
1.0 mmol/L QUE	56.74 \pm 9.31abc	50.63 \pm 11.57abc	60.59 \pm 6.63ab	1.92 \pm 0.30abc	1.54 \pm 0.47bc	1.43 \pm 0.20bcd
1.5 mmol/L QUE	66.01 \pm 4.41a	70.47 \pm 2.74ab	73.97 \pm 5.95a	3.18 \pm 0.19ab	2.35 \pm 0.18a	2.45 \pm 0.16a
2.0 mmol/L QUE	70.81 \pm 4.67a	41.40 \pm 10.55bcd	65.11 \pm 6.68ab	2.51 \pm 0.37abc	1.18 \pm 0.24c	1.83 \pm 0.32abc
0.001 mg/L BR	32.10 \pm 10.15cd	52.86 \pm 12.83abc	66.01 \pm 10.40ab	1.25 \pm 0.47abc	1.38 \pm 0.39bc	1.28 \pm 0.11cd
0.010 mg/L BR	50.51 \pm 7.51abc	61.08 \pm 5.25abc	41.15 \pm 7.85bc	1.52 \pm 0.42abc	2.08 \pm 0.24ab	1.00 \pm 0.15cde
0.100 mg/L BR	53.55 \pm 11.63abc	26.18 \pm 7.71cd	33.79 \pm 8.31cd	1.48 \pm 0.64abc	0.81 \pm 0.25cd	0.70 \pm 0.26def
50 μ mol/L MT	37.33 \pm 7.75bcd	57.87 \pm 5.36abc	53.20 \pm 4.67abc	1.08 \pm 0.33bc	1.51 \pm 0.22bc	1.20 \pm 0.22cde
100 μ mol/L MT	68.42 \pm 6.80a	75.89 \pm 6.48ab	62.16 \pm 5.59ab	2.93 \pm 0.58ab	2.80 \pm 0.22a	2.51 \pm 0.09a
200 μ mol/L MT	52.58 \pm 8.92abc	27.60 \pm 9.07cd	52.58 \pm 8.92abc	1.82 \pm 0.38abc	0.83 \pm 0.32cd	1.82 \pm 0.38abc
100 mg/L KT	62.59 \pm 13.97ab	77.52 \pm 4.94ab	59.38 \pm 12.34ab	2.89 \pm 0.98ab	2.58 \pm 0.18a	1.76 \pm 0.44abc

FP、BP、CK、QUE、BR、MT、KT 见表 3 注。同一列数据后不同小写字母表示处理间差异显著 ($P<0.05$)。

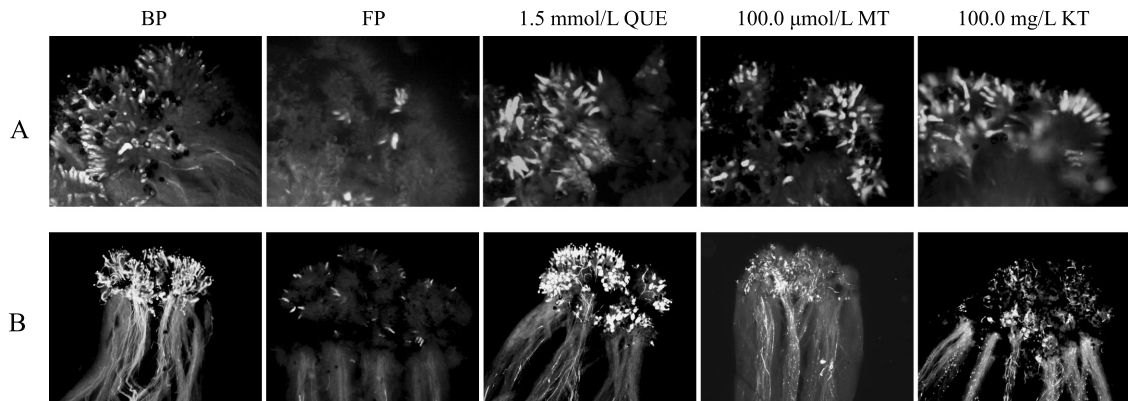


图 2 强自交不亲和系 NAU-YXYB 自花授粉 4.0 h (A) 及 48.0 h (B) 后花粉管生长情况

Fig.2 Pollen tube growth of the strongly self-incompatible line NAU-YXYB after self-pollination for 4.0 h (A) and 48.0 h (B)

2.3 化学试剂对萝卜自花授粉后花粉管生长的影响

采用苯胺蓝染色法进一步探究化学试剂对萝卜自花授粉后花粉管生长的影响。结果发现,自花授粉后,强不亲和系 NAU-YXYB 柱头上几乎无萌发的花粉粒;而蕾期授粉 4.0 h 后,柱头上可清楚看到大量花粉粒萌发,并随时间的延长花粉管成束穿过柱头乳突细胞进入花柱组织。说明供试材料花期自交

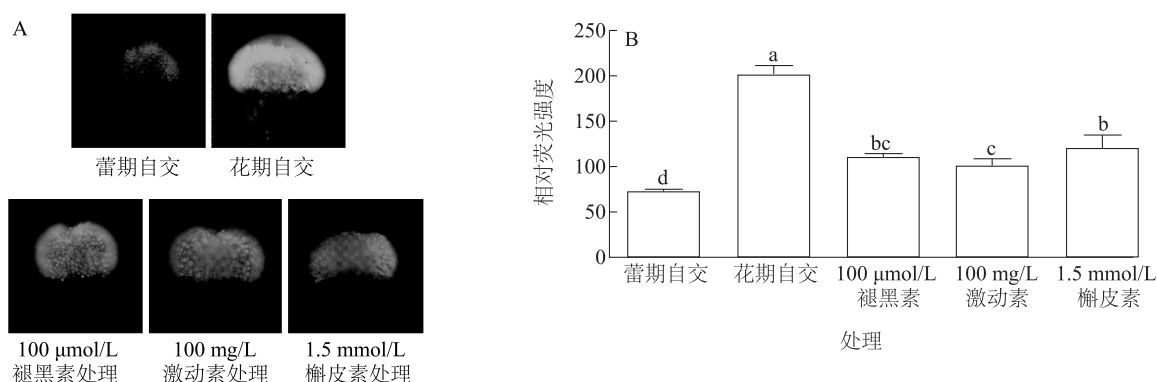
不亲和性明显。

分别用 1.5 mmol/L QUE、100 μ mol/L MT 和 100 mg/L KT 处理新鲜花朵后,柱头上粘附的花粉粒与未处理相比增多,苯胺蓝染色结果(图 3)显示,花粉能正常在柱头上萌发,授粉 48.0 h 后能在柱头下部观察到延伸的花粉管。以上试剂均能打破柱头屏障,使花粉粒正常水合、萌发,且花粉管伸长进入子房,完成受精作用。

2.4 不同化学试剂处理对萝卜花期柱头 ROS 强度的影响

有研究表明,孢子体自交不亲和植物的自交不亲和性与柱头活性氧强度呈正相关。Lan 等^[21]对不同发育阶段柱头的蛋白组学分析发现,成熟期柱头中参与 ROS 代谢的多个蛋白质表达明显上调,推测柱头 ROS 强度是影响自交不亲和的原因之一。利用荧光 ROS 检测剂 H_2DCFDA 对对照蕾

期、花期雌蕊及化学试剂处理后的花期雌蕊进行了染色并在荧光显微镜下成像记录图像,进行 ROS 差异分析。结果(图 3)表明,对照蕾期柱头 ROS 强度远低于花期柱头,约为花期柱头的 36%,而 1.5 mmol/L QUE、100 μ mol/L MT 和 100 mg/L KT 处理后的花期柱头 ROS 强度均有所下降,与对照花期柱头相比,下降幅度均在 40%~50%。



不同小写字母表示处理间差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 不同化学试剂处理后 H_2DCFDA ROS 探针染色柱头照片 (A) 与荧光强度 (B)

Fig.3 Images of stigma stained with H_2DCFDA ROS probe (A) and fluorescence intensity (B) after treatment with different chemical reagents

3 讨论

在杂交育种实践中,利用自交不亲和系配制杂种是萝卜杂种优势利用的重要途径^[22]。但是由于萝卜本身自交亲和性差,结籽率低,杂交亲本繁殖与保存工作存在一定困难。因此,如何克服萝卜的自交障碍,实现自交不亲和系的高效繁殖成为萝卜 F_1 代杂交种生产实践中亟待解决的关键问题。为了克服自交障碍,育种工作者已尝试蕾期授粉、高温处理后授粉^[6]、电助授粉^[23]等多种物理及生物学方法,但均由于操作复杂、生产成本高等缺点的限制,难以广泛应用。花期喷施盐硼溶液、植物激素等方法在甘蓝、白菜等芸薹属植物中取得了很好的效果,这些方法操作简单、效率高、成本低,适合应用于大面积田间制种。

本研究对克服萝卜自交不亲和性的最优化学方法进行了筛选。通过比较不同化学试剂 (QUE、BR、MT、KT) 克服萝卜自交不亲和性的效应,发现 1.5

mmol/L QUE、100 μ mol/L MT 和 100 mg/L KT 3 种试剂处理能够大幅提高萝卜的自交亲和性,处理后亲和指数均达到 2.0 以上,可有效替代剥蕾授粉法在杂交亲本繁殖中的应用。

孢子体自交不亲和细胞学反应涉及花粉与柱头的相互作用,通过阻止花粉粒的水合与活化或限制花粉管发育而发生;反应的信号传导主要通过同一 S 单倍型的 *SRK* 与 *SCR/SP11* 相互识别,并激活下游信号传导通路而发生^[24-26]。QUE 在克服孢子体自交不亲和性上已有一定研究。作为一种蛋白激酶抑制剂,QUE 可以抑制甘蓝柱头中 *SRK* 活性,克服甘蓝自交不亲和性^[27-30]。本研究对 QUE 克服萝卜自交不亲和性能力及处理浓度进行探究,发现浓度 1.0~2.0 mmol/L 的 QUE 均能提高萝卜的自交亲和性。MT 作为新型激素能增加受旱棉花雌蕊中物质和能量的供应,促进花粉管伸长和胚珠受精^[31]。本研究首次应用 MT 克服萝卜自交不亲和性,适宜浓度的 MT 克服萝卜自交不亲和性的效果十分明显。

100 mg/L KT 对萝卜自交不亲和性的克服具有显著效果,这与松原幸子等^[32]的研究结果一致。

近年来,对 SI 机制的研究聚焦于柱头 ROS 积累抑制自身花粉萌发上,Lan 等^[21]利用蛋白质组学的研究方法研究发现,ROS 代谢相关的蛋白质在羽衣甘蓝柱头发育成熟期明显富集;Zhang 等^[15]的研究结果表明,柱头活性氧强度与大白菜自交不亲和性呈正相关作用,作用分子机制为活性氧合成酶受到上游调控因子 Rac/ROP 小 G 蛋白及细胞表面受体激酶 *FERONIA* 的调控,抑制该信号通路则阻止自花授粉引起的柱头活性氧强度升高,使柱头不再抑制自花花粉的萌发。本研究利用荧光 ROS 检测剂 H₂DCF-DA 对未使用化学试剂处理(对照)蕾期、花期及使用化学试剂处理后的花期雌蕊进行 ROS 差异分析,发现与未使用化学试剂处理的花期柱头相比,1.5 mmol/L QUE、100 μmol/L MT 和 100 mg/L KT 处理后的花期柱头 ROS 强度均有所下降,下降幅度为40%~50%,这与在白菜及羽衣甘蓝中的研究结果一致;同时与花期自交授粉相比,试剂处理后柱头胼胝质的产生明显被抑制,萌发的花粉数及伸长的花粉管显著增加。推测可能是所选化学试剂处理通过降低花期柱头 ROS 强度,打破了柱头对自花花粉的屏障作用,从而提高了亲和性,其具体分子机制有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 汪隆植,何启伟. 中国萝卜[M]. 北京:科学技术文献出版社, 2005.
- [2] 李 超. 萝卜 MADS-box 转录因子基因家族分析与 *RsFLC* 和 *miR172* 生物功能验证[D]. 南京:南京农业大学, 2016.
- [3] 唐碧瑜,党江波,夏清清,等. 多倍体植物自交不亲和性研究进展[J]. 南方农业, 2020, 14(7):44-49.
- [4] 傅 强. 羽衣甘蓝杂交育种前期研究及其它芸薹属观赏品系的培育[D]. 武汉:华中农业大学, 2006.
- [5] 张 旸,胡中影,李 娜,等. 高压静电场对羽衣甘蓝自交不亲和和种子基因组 DNA 甲基化的影响[J]. 华北农学报, 2015, 30(增刊):8-18.
- [6] ROGGEN H, DIJK A. 'Thermally aided pollination': a new method of breaking self-incompatibility in *Brassica oleracea* L.[J]. Euphytica, 1976, 25(1):643-646.
- [7] ROGGEN H, DIJK A, DORSMAN C. Electric aided pollination: a method of breaking incompatibility in *Brassica oleracea* L.[J]. Euphytica, 1972, 21(2):181-184.
- [8] STONE S L, ARNOLDO M, GORING D R. A breakdown of *Brassica* self-incompatibility in *ARCI* antisense transgenic plants[J]. Science, 1999, 286(5445):1729.
- [9] 杨红丽,胡靖峰,徐学忠,等. 氯化钠硼砂溶液克服萝卜自交不亲和性的研究[J]. 北方园艺, 2018(6):39-41.
- [10] 吴龙生,刘汪君,吴丽霞. 甘蓝自交不亲和系的留种方法研究[J]. 现代农业科技, 2018(12):74-75.
- [11] 汪 骞,胡靖峰,朱 红,等. NaCl 溶液克服萝卜自交不亲和性研究[J]. 长江蔬菜, 2011(14):14-16.
- [12] JANY E, NELLES H, GORING D R. The molecular and cellular regulation of *Brassicaceae* self-incompatibility and self-pollen rejection[J]. International Review of Cell and Molecular Biology, 2019, 343:1-35.
- [13] DOUCET J, LEE H K, GORING D R. Pollen acceptance or rejection: a tale of two pathways[J]. Trends in Plant Science, 2016, 21(12):1058-1067.
- [14] CHEN L, LIAN P S, YU X, et al. Pollen PCP-B peptides unlock a stigma peptide-receptor kinase gating mechanism for pollination[J]. Science, 2021, 372(6538):171-175.
- [15] ZHANG L, HUANG J, SU S, et al. *FERONIA* receptor kinase-regulated reactive oxygen species mediate self-incompatibility in *Brassica rapa*[J]. Science Direct, 2021, 31(14):3004-3016.
- [16] 赵天荣,龚义勤,柳李旺,等. 萝卜自交不亲和特性的荧光快速鉴定[J]. 南京农业大学学报, 2007, 30(4):30-34.
- [17] DUAN Q H, KITA D, JOHNSON E A, et al. Reactive oxygen species mediate pollen tube rupture to release sperm for fertilization in *Arabidopsis*[J]. Nature Communications, 2014, 5(1):547-572.
- [18] SU S Q, DAI H M, WANG X Y, et al. Ethylene negatively mediates self-incompatibility response in *Brassica rapa*[J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2020, 525(3):600-606.
- [19] 宋珊珊. 活性氧和 Ca²⁺ 含量对大白菜自交不亲和性的影响研究[D]. 泰安:山东农业大学.
- [20] 王 琴. 萝卜自交不亲和性克服方法与 S 单倍型鉴定[D]. 南京:南京农业大学, 2020.
- [21] LAN X, JIA Y, KUMAR J A, et al. Flavonoids and ROS play opposing roles in mediating pollination in ornamental kale (*Brassica oleracea* var. *acephala*)[J]. Molecular Plant, 2017, 10(10):1361-1364.
- [22] 周艳孔,龚义勤,柳李旺,等. 萝卜和青花菜自交不亲和性快速鉴定[C]. 南京:中国科学技术出版社, 2007.
- [23] 杨 杰. 激光和高压静电场对百合交配不亲和性影响的研究[D]. 哈尔滨:东北林业大学, 2004.
- [24] SAKAMOTO K, KUSABA M, NISHIO T. Polymorphism of the S-locus glycoprotein gene (*SLG*) and the S-locus related gene (*SLR1*) in *Raphanus sativus* L. and self-incompatible ornamental plants in the *Brassicaceae*[J]. Molecular and General Genetics, 1998, 258(4):397-403.
- [25] SATO Y, OKAMOTO S, NISHIO T. Diversification and alteration of recognition specificity of the pollen ligand *SP11/SCR* in self-incompatibility of *Brassica* and *Raphanus*[J]. Plant Cell, 2004, 16

- (12):3230-3241.
- [26] 高长斌. 甘蓝型油菜自交不亲和恢复机理研究及应用[D]. 武汉:华中农业大学, 2013.
- [27] 吴能表,朱利泉,王小佳. 槲皮素对 SI 甘蓝授粉引起的 PK 活性及相关指标的影响[J]. 作物学报, 2004, 30(10): 996-1001.
- [28] 李成琼,周庆红,宋洪元,等. 槲皮素对甘蓝自交不亲和性及 SRK 活性的影响[J]. 园艺学报, 2005, 32(5): 113-115.
- [29] 张开京,吴景玉,刘晓迪,等. 芥蓝自交不亲和性克服方法研究[J]. 广东农业科学, 2013, 18(40): 25-27.
- [30] 刘 璐. 化学药剂处理克服甘蓝自交不亲和性效应研究[D]. 重庆:西南大学, 2010.
- [31] 胡 伟,刘 玉,王珊珊,等. 干旱胁迫对棉花花粉管伸长的影响及调控措施的探索[C]. 杭州:中国科学技术出版社, 2019.
- [32] 松原幸子,陈建兴,陈清西. 应用氨基酸维生素和植物激素处理克服萝卜的自交不亲和性[J]. 中国蔬菜, 1986, 1(4): 23-25.

(责任编辑:陈海霞)