

赵雅儒, 邳植, 阚文亮, 等. 甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的育性鉴定及筛选 [J]. 福建农业学报, 2023, 38 (4): 417-422.

ZHAO Y R, PI Z, KAN W L, et al. Certifying Heredity Purity of Monogerm Cytoplasmic Male Sterile and Maintainer Sugar Beet [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38 (4): 417-422.

甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的育性鉴定及筛选

赵雅儒^{1,2}, 邳植^{1,2}, 阚文亮³, 吴则东^{1,2*}

[1. 黑龙江大学现代农业与生态环境学院, 黑龙江 哈尔滨 150080; 2. 黑龙江省普通高校甜菜遗传育种重点实验室 (黑龙江大学), 黑龙江 哈尔滨 150080; 3. 黑龙江省农垦科学院经济作物研究所, 黑龙江 哈尔滨 150080]

摘要:【目的】提高甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的育性纯度。【方法】对课题组现有的 40 对 (共计 620 个体植株) 甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系进行分子标记育性鉴定, 记录鉴定结果中显示不育系中混有的保持系植株和保持系中混有的不育系植株的对应编号; 在田间进行形态学验证, 同时剔除混杂株。【结果】利用分子标记育性鉴定共检测到 92 颗混杂植株的 DNA, 其中 73 颗为保持系中混有不育植株, 19 颗为不育系中混有可育植株; 在田间进行形态学育性鉴定时, 观察花粉鉴定植株育性的同时观察植株的粒性, 共有 122 株个体植株发生混杂 (包含分子标记育性鉴定为混杂的 92 颗植株), 即 73 株为保持系混杂, 49 株为不育系混杂。在田间验证时发现还有多胚植株混杂, 可能是在种子清选过程中, 有一定的概率混进了多胚种子。【结论】通过田间对混杂植株的剔除, 即保证了不育系与保持系的育性及粒性纯度, 又为这 40 对甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的遗传多样性分析提供了前提条件, 奠定了配制二元不育系的基础。

关键词: 甜菜; 分子标记; 育性鉴定; 形态学; 筛选

中图分类号: S566.3

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2023) 04-0417-06

Certifying Heredity Purity of Monogerm Cytoplasmic Male Sterile and Maintainer Sugar Beet

ZHAO Yaru^{1,2}, PI Zhi^{1,2}, KAN Wenliang³, WU Zedong^{1,2*}

[1. College of Advanced Agriculture and Ecological Environment, Heilongjiang University, Harbin, Heilongjiang 150080, China;

2. Key Laboratory of Sugar Beet Genetic Breeding (Heilongjiang University), Harbin, Heilongjiang 150080, China;

3. Heilongjiang Academy of Land Reclamation Sciences, Harbin, Heilongjiang 150080, China]

Abstract: 【Objective】To improve the fertility purity of beet monogerm cytoplasmic male sterile lines and maintainers.

【Method】Forty pairs of molecular markers from a collection of 620 monogerm cytoplasmic male sterile and maintainer sugar beet germplasms were identified. All genetically mixed markers in the sterile and maintainer plants were given specific codes and recorded. Subsequently, a morphological observation was carried out in the field to exclude genetically impure plants. 【Result】The verification of heredity purity by molecular markers revealed 92 DNA including 73 in the maintainers mixed with that of the sterile plant and 19 in the sterile lines contaminated with that belonged to the maintainer. The field examination on pollens and grains identified 122 plants (as compared to 92 isolated by the molecular marker verification) with 73 maintainers and 49 sterile lines to be promiscuous. In addition, polygerm plants were unexpectedly found in the lot that could have grown from the accidentally included seeds. 【Conclusion】By excluding adulterated plants in the field, the purity on heredity of sterile and maintainer lines could be assured. The procedure would provide the prerequisite essential for accurate

收稿日期: 2022-02-24 初稿; 2022-08-04 修改稿

作者简介: 赵雅儒 (1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向: 甜菜遗传及分子育种的研究 (E-mail: 931178094@qq.com)

* 通信作者: 吴则东 (1972-), 男, 博士, 研究员, 研究方向: 甜菜遗传及分子育种的研究 (E-mail: 1997009@hlju.edu.cn)

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目 (CARS-170111)

genetic diversity determination and successful preparation of binary sterile sugar beet lines.

Key words: Sugar beet; molecular marker; heredity certification; morphology; screening

0 引言

【研究意义】糖用甜菜是我国重要的糖料作物，能够产生一定的经济效益。甜菜的糖分主要来自块根，其含糖量通常在 13%~20%^[1]。甜菜种植时施加甜菜滤泥，在一定程度上能够提高甜菜产量，在增加收益的同时还能够减少环境污染^[2]。甜菜的产量与环境、气候条件紧密相关，为了在外界环境变化较大时依旧能保证甜菜能够高产，则保证产量的稳定性是育种家们面临的主要问题^[3]。并且，种植密度的大小也会对甜菜的产量产生影响^[1]。【前人研究进展】Owen 的甜菜核质互作假说已经得到普遍认可，当细胞质为 S 型，细胞核基因型为 xxzz 时，则为不育系；细胞质为 N 型且细胞核基因型也为 xxzz 时，则为保持系^[4]。细胞质雄性不育 (CMS) 是许多作物杂交育种的重要特性，甜菜的杂交育种也不例外。植物雄性不育的表现特征为雌蕊发育正常而雄蕊败育，但雌蕊能够接受外来花粉的授粉从而达到受精目的^[5]。在研究植物育性时，可以选择表型鉴定或分子标记法鉴定植株育性。前人试验研究表明，采用分子标记法对甜瓜幼苗育性进行鉴定，并在田间检验比对，证实了分子标记法鉴定甜瓜幼苗育性的方法可行^[6]。柴军琳等^[7]对一种普通小麦的自然突变雄性不育材料进行表型观察并确定了它的不育类型。刘一珺^[8]对二年生甜菜利用分子标记育性鉴定和形态学观察相结合的方法证实了分子标记法鉴定甜菜细胞质育性的方法可行。甜菜线粒体基因组中的 4 个 TR 序列 (TR1、TR2、TR3、TR4) 之间无同源性，除 TR1 位点为多拷贝序列，其余三个 TR 位点均为单拷贝序列^[9]。本试验所用的材料均为 Owen 型不育系和保持系，通过对 TR1 位点的多态性进行分析，在 TR1 位点上利用分子标记法能够有效鉴定出甜菜细胞质育性^[10]。目前，分子标记育性鉴定在水稻^[11]、大豆^[12]、小麦^[13]中均有研究，关于甜菜分子标记育性鉴定的研究也日益增多，并且有学者已经表明能够利用分子标记技术对甜菜的细胞质、细胞核的育性进行鉴定。【本研究切入点】目前，我国甜菜生产中所用到的单胚品种均为三交种，需要利用单胚细胞质雄性不育系和异型保持系来配制二元不育系以获得更多甜菜品种。成对的单胚细胞质雄性不育系与保持系的数量能够决定配制

二元不育系的数量。因此，保证不育系与保持系的育性纯度是二元不育系配制的基本条件。本研究用到的 40 对甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系大多是通过多胚保持系改良而成的，经多年田间选育，成对的不育系和保持系的核基因接近于纯合。由于成对的不育系与保持系之间在之前的选育过程中种植距离较近，在收获时，偶尔会出现不育系与保持系相互掺杂的现象，影响甜菜品系的纯度。需要将全部的混杂植株在扣罩授粉前剔除。【拟解决的关键问题】利用分子标记法能够直接对甜菜幼苗期的植株进行细胞质育性的鉴定。同时，利用田间形态学观察进行验证，以保证在甜菜扣罩授粉前将混杂植株全部淘汰。通过本次试验，首先能够保证在本次甜菜生长繁殖过程中不育系与保持系之间无混杂植株，其次为这 40 对甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系进行遗传多样性分析提供良好的条件，为二元不育系的配制奠定稳定的基础。

1 试验材料与amp;方法

1.1 试验材料

试验材料为黑龙江大学甜菜改良团队的 40 对甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系 (均属于 Owen 型细胞质)。试验母根于 2021 年 4 月种植于黑龙江省哈尔滨市呼兰区甜菜研究所试验基地；成对的不育系与保持系种植在同一垄上，每对相同的不育系和保持系在每垄上有 1~4 组，每组中不育系与保持系各种植 3 颗，按照不育系在东侧，保持系在西侧的原则进行栽植。在种植区域内，保证其余条件相同。材料序号及名称如表 1 所示，材料 HD-CMS1 与 HD-O1 为成对的单胚细胞质雄性不育系与保持系。按田间种植的顺序 (其中有部分不育系与保持系的母根不足 9 颗或多于 9 颗，材料共计 620 颗)，依次取样并编号 (如表 2 中的 1-1~1-9)。其余材料以此类推。田间种植示意图如图 1 所示。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取及检测 取甜菜叶丛形成期的嫩叶，用 CTAB 法提取甜菜基因组 DNA，用 NanoDrop 2000 紫外分光光度计对提取的甜菜基因组 DNA 进行浓度及纯度的测定。以 OD_{260}/OD_{280} 的值在 1.8~2.0 来判定 DNA 纯度；检测 DNA 浓度后，将浓度标记在管壁上并抽取部分溶液稀释至 $100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 备用，其余 DNA 原液则放入 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中进行储存。

表1 40对供试材料序号及名称
Table 1 Codes and names of 40 pair test materials

序号 Serial number	名称 Name	序号 Serial number	名称 Name	序号 Serial number	名称 Name	序号 Serial number	名称 Name
1	HD-CMS1	21	HD-CMS11	41	HD-CMS21	61	HD-CMS31
2	HD-O1	22	HD-O11	42	HD-O21	62	HD-O31
3	HD-CMS2	23	HD-CMS12	43	HD-CMS22	63	HD-CMS32
4	HD-O2	24	HD-O12	44	HD-O22	64	HD-O32
5	HD-CMS3	25	HD-CMS13	45	HD-CMS23	65	HD-CMS33
6	HD-O3	26	HD-O13	46	HD-O23	66	HD-O33
7	HD-CMS4	27	HD-CMS14	47	HD-CMS24	67	HD-CMS34
8	HD-O4	28	HD-O14	48	HD-O24	68	HD-O34
9	HD-CMS5	29	HD-CMS15	49	HD-CMS25	69	HD-CMS35
10	HD-O5	30	HD-O15	50	HD-O25	70	HD-O35
11	HD-CMS6	31	HD-CMS16	51	HD-CMS26	71	HD-CMS36
12	HD-O6	32	HD-O16	52	HD-O26	72	HD-O36
13	HD-CMS7	33	HD-CMS17	53	HD-CMS27	73	HD-CMS37
14	HD-O7	34	HD-O17	54	HD-O27	74	HD-O37
15	HD-CMS8	35	HD-CMS18	55	HD-CMS28	75	HD-CMS38
16	HD-O8	36	HD-O18	56	HD-O28	76	HD-O38
17	HD-CMS9	37	HD-CMS19	57	HD-CMS29	77	HD-CMS39
18	HD-O9	38	HD-O19	58	HD-O29	78	HD-O39
19	HD-CMS10	39	HD-CMS20	59	HD-CMS30	79	HD-CMS40
20	HD-O10	40	HD-O20	60	HD-O30	80	HD-O40

表2 40对供试材料取样编号
Table 2 Specimen codes of 40 pair test materials

序号 Serial number	名称 Name	编号 Number								
1	HD-CMS1	1-1	1-2	1-3	1-4	1-5	1-6	1-7	1-8	1-9
2	HD-O1	2-1	2-2	2-3	2-4	2-5	2-6	2-7	2-8	2-9

1.2.2 PCR反应 PCR反应体系(10 μL): 超光速 Mix 5 μL , 正反向 TR1 引物(10 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)各 0.2 μL , 模板 DNA (100 $\text{ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$) 2 μL , 最后加 ddH₂O 至 10 μL 。

PCR反应程序: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 25 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 25 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 60 s, 28 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min, 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 储存。

1.2.3 电泳 用含有红色荧光核酸染料的 1% 琼脂糖凝胶电泳, 以 500 bp 或 2000 bp marker 为 DNA 分子量标准比对。上样量均为 5 μL , 在 130 V 恒压条件下电泳 30 min。电泳结束后, 用紫外凝胶成像仪观

察条带并拍照保存。

1.2.4 田间混杂鉴定 记录分子标记育性鉴定结果为混杂的 DNA 模板所对应的植株编号; 甜菜现蕾后, 在田间进行混杂鉴定与验证, 观察不育系与保持系的花粉, 同时观察植株的粒性。对育性混杂和粒性混杂的植株进行田间剔除。由于甜菜是无限花序, 剔除混杂株后, 为避免非同对不育系与保持系之间授粉, 保证不育系与保持系的结实纯合度, 需要将已开花的花序剪掉, 并以一组为单位进行扣罩处理。

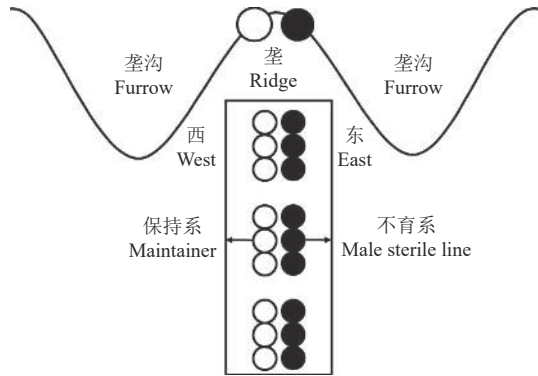


图 1 田间种植示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sugar beet planting in the field

2 结果与分析

2.1 分子标记育性鉴定

利用 TR1 引物对供试材料的细胞质育性进行鉴

定, 对 620 颗田间采样的甜菜基因组 DNA 进行分子标记育性鉴定, 共检测出 92 颗供试材料的 DNA 发生混杂, 其中不育系中混有 N 型细胞质的共计 19 颗, 保持系中混有 S 型细胞质的共计 73 颗。当电泳条带大小接近 500 bp 时, 则该甜菜的细胞质为不可育, 即 S 型细胞质; 当电泳条带大小接近 750 bp 时, 则该甜菜的细胞质为可育, 即 N 型细胞质。如图 2 和图 3, 材料 15、75 为甜菜单胚细胞质雄性不育系, 扩增得到的条带大小应当在 500 bp 左右; 材料 16、76 为甜菜单胚细胞质雄性不育系的保持系, 扩增得到的条带大小应当在 750 bp 左右。材料 16 中的 4 号模板扩增得到的条带大小接近 500 bp、材料 75 中 9 号模板扩增得到的条带大小接近 750 bp, 则其为混杂植株的模板, 应当记录编号并在田间将其剔除。

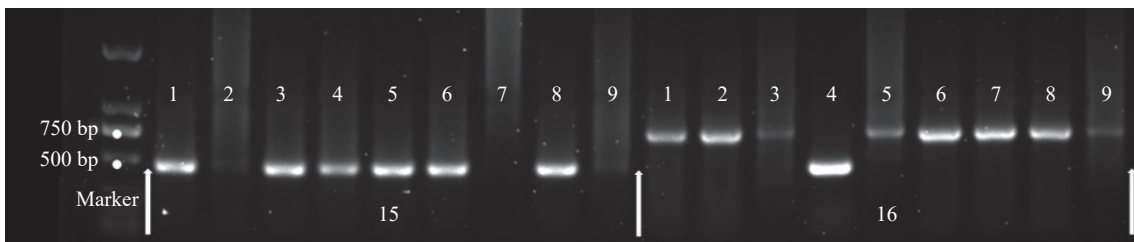


图 2 甜菜单胚细胞质雄性不育系 15 与保持系 16 的分子标记育性鉴定条带

Fig. 2 Molecular identifications for Male Sterile Line No.15 and Maintainer No.16

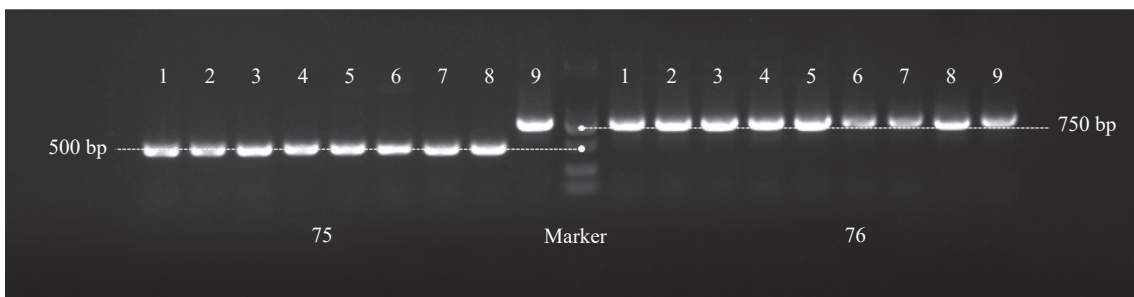


图 3 甜菜单胚细胞质雄性不育系 75 与保持系 76 的分子标记育性鉴定条带

Fig. 3 Molecular identifications for Male Sterile Line No.75 and Maintainer No.76

2.2 田间形态学育性鉴定

在甜菜现蕾期, 通过田间观察植株花粉进行形态学育性鉴定, 花蕊柱头上为黄色且有花粉则为可育植株, 白色或绿色且无花粉则为不育植株。在田间进行粒性观察时发现还混有个别的多胚植株, 可能是种子在清选过程中混有的个别多胚种子。多胚植株在甜菜开花期对其他单胚植株授粉后会使其后代成为多胚。因此不仅需要将在不育系中的保持系、保持系中的不育系剔除, 还需要将多胚植株剔除。形态学育性鉴定结果表明, 在 620 颗供试

材料中共有 122 株混杂植株。通过观察花粉发现混杂株 118 株, 包括不育系中混杂可育株共计 49 株, 保持系中混杂不育株共计 69 株; 经查验, 有 4 株本应为单胚保持系的植株的分子标记育性鉴定结果显示其细胞质育性为不育型, 田间鉴定结果表示植株可育, 则该植株同样为混杂植株。需要将这些混杂植株 (共 122 株) 全部在田间剔除。

2.3 分子标记育性鉴定与田间育性鉴定比较

在 620 颗供试材料中, 分子标记育性鉴定结果显示共有 92 颗植株发生混杂; 田间形态学育性鉴定中

发现共 122 颗植株发生混杂（包含分子标记育性鉴定混杂的 92 颗植株）。在田间形态学鉴定中发现有 30 颗不育系植株和 4 颗保持系植株的育性与分子标记育性鉴定结果不同，其余植株的育性鉴定结果均相同（如表 3）。在鉴定结果不同的 30 颗不育系植株中，共有 12 株为多胚植株，即种植时其母根为混杂的多胚母根；其余的 18 株均为单胚植株，利用分子标记法鉴定其细胞质为不育型（即 S 型细胞质），但在田间形态学鉴定时，发现植株的花蕊上

有黄色花粉，表现为可育，则说明这些单胚植株细胞核的育性基因中有显性可育基因。4 株保持系植株均为单胚植株，分子标记法鉴定其细胞质为不育型（S 型）；田间形态学观察发现植株可育，则细胞核育性呈显性基因（同上 18 株单胚不育系植株），这些植株的细胞质与细胞核的育性均发生混杂。需要将所有混杂植株剔除，以保证不育系与保持系的育性纯度。

表 3 分子标记育性鉴定与形态学育性鉴定混杂株数目比较
Table 3 Number of plants with mixed genes determined by molecular and morphological verifications (单位: 颗)

混杂类型 Mixed type	分子标记育性鉴定 Identification of fertility by molecular markers	田间形态学育性鉴定 Morphological fertility identification in the field		
		与分子标记鉴定结果相同 With the same results	与分子标记鉴定结果不同 With the different results	
			多胚植株 Polyembryony plant	细胞核育性混杂 The nuclei are promiscuous
不育系混杂 Mixed sterile lines	19	19	12	18
保持系混杂 Mixed Maintainer line	73	69	0	4

3 讨论与结论

甜菜的种植过程中，每一步都尤为重要，种植土壤中的盐分、生长环境中的干旱、甚至是甜菜的贮藏都会影响甜菜的产量^[14-16]。因此，培育出优良的甜菜品种是甜菜高产、稳产的重要任务。甜菜的育性对甜菜二元不育系的配制起到决定性作用。由于甜菜属于无限花序，进行人工去雄的难度较大，所以甜菜育种工作者对不育系和保持系的培育非常重视^[17]。细胞质雄性不育是甜菜杂交制种的基础，并且对保持系的鉴定也需要用 CMS 进行杂交来确定。Moritani 等^[18]发现了能够在幼苗期检测保持系的分子标记方法，但依然存在着不能够有效识别出保持性良好的植株的局限性。已有学者对甜菜种质资源的育性进行鉴定，发现不同育性类型的甜菜种质资源，并且研究出快速鉴定甜菜育性的方法^[19,20]。孟祥雯等^[21]在核质互作型甜菜的花蕾中发现了 4 个能够相互作用于甜菜育性的阳性差异片段。

本试验通过记录分子标记育性鉴定结果显示混杂植株的 DNA 的对应编号，之后在甜菜现蕾期对应混杂的编号进行形态学验证，将分子标记育性鉴定与田间育性鉴定结果有异的植株全部剔除。其中共有 34 株植株二者鉴定的结果不同：12 株多胚植株；22 株单胚植株，根据表型推测这 22 株材料可能是由于受到多胚发育影响或污染后，核不育基因（隐

性）被显性恢复基因功能覆盖所导致，说明研究中的分子标记检测法虽然有效，但是并不完善。由于分子标记育性鉴定是在甜菜幼苗时期取其嫩叶提取基因组 DNA，以此来鉴定甜菜细胞质的育性。此部分仅能检验出植株的细胞质育性，不能鉴定植株的粒性；也不能够避免在田间种植过程中其他多胚植株对单胚植株授粉，使其子代成为多胚从而发生混杂。因此进一步进行田间形态学鉴定极其重要。利用 TR1 位点的分子标记检测仅能检验细胞质的育性，细胞核的育性则还需要其他引物来测定，若今后想要利用分子标记法同时检验细胞质与细胞核育性，还需要改进与完善当前的鉴定方法。

在今后的种植中，为了避免已经剔除混杂株的不育系和保持系再次发生混杂，种植时可与玉米采用“1+1+1”的模式，即“一行保持系+一行玉米+一行不育系”的模式将不育系与保持系间隔开来；在收获母根时，不同品系分开收获，单独装袋并记录编号；收获甜菜种子时，按编号将不同品系的种子分别收割并装袋。清选种子时，采用人工打种，严格按照不同品系分开打种。

本试验利用分子标记法对田间种植的甜菜不育系和保持系进行育性鉴定，并在田间进行形态学验证，能够保证甜菜在本次种植过程中无混杂，并对每对不育系和保持系在授粉前进行扣罩处理，有效

地为得到纯合的不育系与保持系提供保障。综上所述, 共有 122 株个体植株发生混杂。从全部供试材料来看, 有超过 1/6 的植株发生混杂, 数量较多。将所有混杂植株剔除, 能够保证进行遗传多样性研究的可行性, 为这 40 对甜菜单胚细胞质雄性不育系与保持系的遗传多样性分析和二元不育系的配制奠定基础。

参考文献:

- [1] IVANA V, ZDENKO L, SUZANA K, et al. Sugar beet root yield and quality with leaf seasonal dynamics in relation to planting densities and nitrogen fertilization [J]. *Agriculture*, 2021, 11 (5): 407.
- [2] 苏欣欣, 胡晓航, 马亚怀, 等. 滤泥施用量对不同品种甜菜产量及土壤中氮磷钾含量的影响 [J]. *中国农学通报*, 2022, 38 (11): 38-45.
SU X X, HU X H, MA Y H, et al. Effect of sugar mill filter mud application rate on yield of sugar beet varieties and contents of nitrogen, phosphorus and potassium in soil [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2022, 38 (11): 38-45. (in Chinese)
- [3] EBMEYER H, FIEDLER-WIECHERS K, HOFFMANN C M. Drought tolerance of sugar beet - Evaluation of genotypic differences in yield potential and yield stability under varying environmental conditions [J]. *European Journal of Agronomy*, 2021, 125: 126262.
- [4] OWEN F V. The sugar beet breeder's problem of establishing male-sterile populations for hybridization purposes [J]. *Proc Am Soc Sugar Beet Technol.*, 1950, 6: 191-194.
- [5] 冯小磊, 范光宇, 苏旭, 等. 植物雄性不育生理生化研究进展 [J]. *作物杂志*, 2012 (3): 6-11.
FENG X L, FAN G Y, SU X, et al. Advances in physiological and biochemical study on plant male sterility [J]. *Crops*, 2012 (3): 6-11. (in Chinese)
- [6] 王昱丹. 甜瓜雄性不育苗期早期鉴定方法[D]. 大庆: 黑龙江八一农垦大学, 2018.
WANG Y D. Early identification method of male sterility in muskmelon seedling stage[D]. Daqing: Heilongjiang Bayi Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [7] 柴军琳, 孙阳阳, 贾小平, 等. 一种普通小麦细胞质雄性不育系的鉴定及恢保关系研究 [J]. *麦类作物学报*, 2016, 36 (8): 1003-1007.
CHAI J L, SUN Y Y, JIA X P, et al. Identification and restoring-maintaining relationship of a cytoplasmic male sterile line in common wheat [J]. *Journal of Triticeae Crops*, 2016, 36 (8): 1003-1007. (in Chinese)
- [8] 刘一珺. 甜菜Owen型育性分子鉴定及分子辅助育种研究[D]. 哈尔滨: 哈尔滨工业大学, 2015.
LIU Y J. Molecular identification and molecular-assisted breeding of Owen type fertility in sugarbeet[D]. Harbin: Harbin Institute of Technology, 2015. (in Chinese)
- [9] NISHIZAWA S, KUBO T, MIKAMI T. Variable number of tandem repeat loci in the mitochondrial genomes of beets [J]. *Current Genetics*, 2000, 37 (1): 34-38.
- [10] 刘巧红, 程大友, 罗成飞, 等. 甜菜TR1位点多态性分析及细胞质育性鉴定 [J]. *中国甜菜糖业*, 2013 (1): 18-20,24.
LIU Q H, CHENG D Y, LUO C F, et al. TR1 allele polymorphism analysis and cytoplasm fertility identification for 8 sugar beet material populations [J]. *China Beet & Sugar*, 2013 (1): 18-20,24. (in Chinese)
- [11] 唐文帮, 肖应辉, 王建龙, 等. 水稻光温敏核不育系株系育性鉴定纯法原种生产技术 [J]. *杂交水稻*, 2010, 25 (5): 25-27,33.
TANG W B, XIAO Y H, WANG J L, et al. A foundation seed production method to ensure seed purity of rice PTGMS lines by fertility identification of plant lines [J]. *Hybrid Rice*, 2010, 25 (5): 25-27,33. (in Chinese)
- [12] 张井勇. 大豆细胞质雄性不育“三系”异交率相关性状及其异交率鉴定方法的研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2018.
ZHANG J Y. Study on outcrossing rate related characters of soybean cytoplasmic male sterility “three lines” and its identification method[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2018. (in Chinese)
- [13] 杨金华, 杜黎君, 贾菲芸, 等. 基于冬季负积温预测小麦BNS雄性不育系育性的转换率 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2021, 56 (4): 31-35,42.
YANG J H, DU L J, JIA F Y, et al. Prediction of fertility conversion rate of wheat BNS male sterile lines based on negative accumulated temperature in winter [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2021, 56 (4): 31-35,42. (in Chinese)
- [14] BLUMWALD E, POOLE R J. Salt tolerance in suspension cultures of sugar beet: Induction of Na⁺/H⁺ antiport activity at the tonoplast by growth in salt [J]. *Plant Physiology*, 1987, 83 (4): 884-887.
- [15] HAJHEIDARI M, ABDOLLAHIAN-NOGHABI M, ASKARI H, et al. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress [J]. *Proteomics*, 2005, 5 (4): 950-960.
- [16] KLEUKER G, HOFFMANN C M. Causes of different tissue strength, changes during storage and effect on the storability of sugar beet genotypes [J]. *Postharvest Biology and Technology*, 2022, 183: 111744.
- [17] 王良, 白晨, 李晓东, 等. VNTR分子标记技术在甜菜不育系选育中的应用 [J]. *华北农学报*, 2014, 29 (4): 135-139.
WANG L, BAI C, LI X D, et al. VNTR molecular marker technology in the application of beet sterile lines breeding [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, 29 (4): 135-139. (in Chinese)
- [18] MORITANI M, TAGUCHI K, KITAZAKI K, et al. Identification of the predominant nonrestoring allele for Owen-type cytoplasmic male sterility in sugar beet (*Beta vulgaris* L.): Development of molecular markers for the maintainer genotype [J]. *Molecular Breeding*, 2013, 32 (1): 91-100.
- [19] 石好琪, 吴则东, 兴旺, 等. 甜菜多胚种质资源育性组成的分子标记分析 [J]. *中国糖料*, 2021, 43 (4): 26-31.
SHI H Q, WU Z D, XING W, et al. Molecular marker analysis of fertility composition of sugarbeet multi-embryo germplasm resources [J]. *Sugar Crops of China*, 2021, 43 (4): 26-31. (in Chinese)
- [20] 石好琪, 丁刘慧子, 邳植, 等. 利用分子标记快速鉴定甜菜育性的研究 [J]. *中国农学通报*, 2021, 37 (3): 61-65.
SHI H Q, DING L H Z, PI Z, et al. Study on rapid identification of sugarbeet fertility by molecular markers [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37 (3): 61-65. (in Chinese)
- [21] 孟祥雯, 程大友, 崔杰, 等. 甜菜Owen型质核互作雄性不育系及保持系花蕾cDNA-AFLP多态性分析 [J]. *分子植物育种*, 2016, 14 (1): 135-140.
MENG X W, CHENG D Y, CUI J, et al. Bud of sugar beet cDNA-AFLP polymorphism analysis of Owen-type male sterile line and maintainer line [J]. *Molecular Plant Breeding*, 2016, 14 (1): 135-140. (in Chinese)

(责任编辑: 于洪杰)