

胚挽救技术在葡萄育种上的研究及应用

梁树乐, 李林, 迟晓红, 刘少杰

(中国农业大学烟台研究院, 山东烟台 264670)

摘要: 胚挽救是指受精后胚在早期的发育阶段退化或败育, 然后通过早期胚的离体培养而发育成完整植株的过程。胚挽救技术在早熟葡萄育种率的提高、无核葡萄品种的培育、三倍体葡萄的育种以及葡萄远缘杂交等方面发挥着重要作用。综述了胚挽救的概念、影响胚挽救成功的因素、胚挽救技术在葡萄育种中的应用, 并提出了胚挽救技术在今后的研究和应用前景。

关键词: 无核葡萄, 胚挽救, 葡萄育种

中图分类号: S663.1 文献标识码: A 文章编号: 1002-2481(2019)03-0486-05

Research and Application for Embryo Rescue Technology in Breeding of Grape

LIANG Shule, LI Lin, CHI Xiaohong, LIU Shaojie

(Yantai Research Institute of China Agricultural University, Yantai 264670, China)

Abstract Embryo rescue refers to the process by which post-fertilization embryos degenerate or abort at an early developmental stage and then develop into intact plants by *in vitro* culture of early embryos. Embryo rescue technology plays an important role in the improvement of early maturing grape breeding rate, the cultivation of seedless grape varieties, the breeding of triploid grapes, and the distant hybridization of grapes. This paper reviews the concept of embryo rescue, the factors affecting the success of embryo rescue, the application of embryo rescue technology in grape breeding, and the future research and application prospects of embryo rescue technology are put forward.

Key words seedless grape; embryo rescue; grape breeding

无核葡萄是重要的鲜食葡萄品种。美国鲜食葡萄市场上 80% 是无核的, 98% 的葡萄干是用无核葡萄生产的。在我国, 鲜食葡萄的无核特性也越来越受到消费者的青睐, 无核葡萄的种植面积也在逐年增加, 品种从单调转向多样化。产生无核葡萄有 2 种途径: 一是在葡萄果实生长前期, 用赤霉素进行处理, 但是赤霉素的处理浓度不易掌握, 处理效果不稳定, 同时比较费工, 葡萄的品质也会有所下降; 另一种是直接培育无核葡萄品种。因此, 优质无核葡萄品种的培育, 已成为葡萄育种者的共同目标之一^[1]。为避免葡萄胚在发育过程中, 无核葡萄品种的合子胚败育, 传统的无核葡萄育种方法, 只能用有核葡萄品种作为母本、无核品种作为父本来获得杂交种子。然而, 这种杂交方法具有较少的无核后代, 并且育种效率非常低, 平均仅为 13.5%^[2]。而使用胚培养技术, 可以通过使用无核葡萄作母本、有核葡萄作父本, 或者利用无核葡萄与无核葡萄杂交的

方法, 有效地增加了杂种后代的无核比率。该方法的无核比率可达 50% 以上。自从 RAMMING 等^[3]于 1982 年首次使用胚挽救技术以来, 以无核葡萄作为母本的杂交成为现实, 无核后代的比例得到了提高, 从而使这种葡萄育种技术得到更广泛的应用^[4-12]。我国自 20 世纪 80 年代开始进行胚挽救的研究, 发展迅速, 国内部分高校和科研院所, 通过胚挽救技术进行无核葡萄的育种工作, 研究影响胚挽救的因素主要包括基因型、胚珠的接种时期、珠被处理方式、剥离后幼胚的培养基成分、培养环境、组培苗移栽等方面, 使胚挽救育种技术体系不断丰富和完善, 大大缩短了无核葡萄的育种周期, 充分说明利用胚挽救技术获得无核葡萄新品种, 是完全可行并具有重要意义^[13-23]。

1 胚挽救概述

无核葡萄根据其来源可以分为 2 类: 一类是子

收稿日期: 2018-09-27

基金项目: 烟台市科技计划项目(2014ZH119)

作者简介: 梁树乐(1971-) 男, 山东莱阳人, 副教授, 博士, 主要从事设施园艺及植物组织培养的教学及研究工作。

房未经受精发育成无胚果实,称单性结实^[24];另一类是虽然受精,受精后胚很快停止发育而导致无核果实产生,称假单性结实,无核葡萄中超过85%的为假单性结实类型。假单性结实葡萄的幼胚可以在停止发育之前,将胚从幼果中取出,然后在体外进行培养,以发育成成熟胚,进而在试管中培育成完整的植株。可以看出,胚挽救是指由于营养或生理原因,在胚发育的早期阶段,胚败育最终难以形成幼苗,而需要在败育前将胚进行早期体外培养。无核葡萄胚培养的步骤通常分2步进行,以无核葡萄作母本,授粉后30~60 d,此时无核葡萄胚很小,很难在胚珠中分离,在培养基中培养也是非常困难的,通常需要先进行胚珠培养一段时间,然后将胚珠中的胚芽剥离,再接种到培养基上以促进胚的萌发和幼苗形成。这种2步胚培养的方法,正日益成为无核葡萄胚挽救过程中的常规技术措施。

2 影响无核葡萄胚挽救的因素

胚挽救技术难度较大,需要严格操作。而且每个环节都受到很多因素的影响,直接影响胚萌发的效率。总体来说,主要包括以下几个因素。

2.1 亲本基因型

亲本的基因型对胚挽救的成功影响很大,特别是母本的基因型,母本胚的可挽救性直接决定胚挽救的效率。胚的发育受基因型控制,品种不同形成合子胚的能力不同。白柯林斯、黑柯林斯和红柯林斯等单性结实品种不会形成合子胚,因此,它们不能用作杂交的母本^[25]。大约85%的假单性结实品种如无核白、奥兰多无核、莱克蒙特等受精很容易形成合子胚,可以作为母本使用^[26]。然而,不同品种形成合子胚的能力也不同,在同一采样期内,利用相同的培养基成分,以火焰无核为母本,进行胚培养,胚萌发率以及成苗率明显高于以Perlette和Sultanina为母本,GOLDY^[27]采用离体胚培养了10个无核葡萄品种的胚珠,结果显示,胚萌发率从0(Reliance)到45%(Venus)不等。红宝石无核葡萄是一种假单性结实品种,具有相对较大的胚珠,纵向直径可达3.48 mm,这为胚挽救的成功提供了先决条件。此外,父本对胚发育率和萌发率也有显著影响,不同父本对胚发育率、萌发率和成苗率的影响均有显著差异。无核葡萄自交后,胚的成苗率一般不高。因此,在利用胚挽救培育无核葡萄时,率先使用无核性状传递力强的葡萄品种作父本,如无核白和无核黑等。

2.2 培养基种类及激素选择

培养基对未剥离胚珠的发育以及不同发育阶段的成熟胚培育有重要的影响。一般认为,胚发育的基本培养基使用Nitsch或NN较好^[28],1/2 MS培养基用于胚萌发和幼苗生长。在胚培养中,培养基中添加0.3%左右的活性炭^[29],可有效防止胚培养期间的褐变。

蔗糖被用作胚挽救的能量来源,同时可以保持适当的渗透压,这有利于无核葡萄的胚胎培养。在无核葡萄未成熟胚的挽救初期,蔗糖浓度通常较高,含有6%蔗糖的培养基,可促进无核葡萄胚和胚珠生长更快,胚珠质量增加^[30];在胚挽救的后期,将蔗糖的浓度降低为2%^[31],有利于胚萌发及成苗。

不同的激素类型、浓度对胚萌发及幼苗生长影响很大^[32],其中,以赤霉素和生长素最为重要,添加IAA 10^{-5} mol/L和GA₃ 10^{-6} mol/L到Nitsch培养基中,对于无核葡萄品种的胚挽救至关重要^[33],如果不添加IAA和GA₃,再生率非常低,仅为3%~5%。GA₃可以促进根茎的生长,而幼苗的正常生长可以促进胚胎的早期萌发。IAA和IBA可促进根系生长,抑制茎和幼苗过度生长。添加KT和ZT可以增加胚的存活概率,这与诱导细胞分裂有关,2,4-D可以促进体细胞胚的产生。因此,为了达到预期的效果,胚挽救时,必须注重选择合适的激素类型和用量。

2.3 接种时期

胚培养的取样和接种期非常重要,一般认为,当胚发育程度最高且尚未败育时接种效果最好^[34]。因此,确定胚珠接种的最佳时期,是胚挽救成功的前提和关键;同一品种胚的败育并不是同步的,每个品种胚都有一个急剧败育时期,而不同品种胚的急剧败育期则不同^[21]。然而,当胚胎发育阶段较高时,进行体外培养,培养条件相对简单且易于成苗。通常以开花后的天数或者授粉后的天数作为接种期的依据,用来反映胚珠的发育程度^[11]。不同品种杂交组合,胚挽救的时期不同,一般在授粉后20~50 d。然而,胚珠在不同品种、不同部位、不同年份、不同气候条件其发育水平是不同的^[35],而开花后天数的定义可能会影响胚挽救效果的稳定性。由于胚的发育与果实成熟期密切相关,因此,一些研究人员使用浆果开始着色期作为形态指标来确定最佳的胚挽救接种期。

2.4 培养环境的影响

无核葡萄的胚挽救也受到光、温度和湿度等培

养条件的影响。其中,温度是胚挽救成功的重要条件。在离体胚胎的拯救中,利用最佳温度并保持恒温,可使培养物加速生长。通常 $(25 \pm 2)^\circ\text{C}$ 的温度适合大多数植物,葡萄适合 $25 \sim 28^\circ\text{C}$ 。光照促进植物胚的发育及生长,在胚挽救过程中,光强度为 $2\ 000 \sim 3\ 000\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光照为每天 12 h。一般认为,光照促进胚芽生长,而黑暗利于胚根生长^[36]。在胚珠内源培养阶段中,交替光照和黑暗为好,一般光周期为 12~16 h,光强为 $50 \sim 100\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,培养时间是 56~84 d^[37-39]。

3 葡萄育种中的胚挽救应用

3.1 早熟葡萄的选育

胚挽救技术在早熟葡萄育种方面显示出巨大的优势,在葡萄杂交育种中,后代的成熟期有趋于早熟的趋势,特别是当 2 个亲本的成熟期接近或早熟的品种用作母本时,这种趋势更为明显^[42],这有利于早熟葡萄的培育。由于早熟品种生长期短,胚发育较差,因此,不容易形成饱满的种子。而对于早熟葡萄,采用胚挽救的育种,目前已取得了一定的成果^[40-42]。

3.2 无核葡萄的培育

胚挽救作为一种高效的育种技术,已广泛应用于葡萄无核育种。无核品种的培育主要采用胚培养技术,以无核作为母本,无核或有核作为父本进行杂交,可有效提高杂交后代的无核率。目前,通过胚挽救技术已选育出了数十种新的无核葡萄品系。国内外专家学者也正在利用这种手段进行无核葡萄的选育,到目前为止,法国^[43]、美国^[44]、日本^[45]、中国^[46]等许多国家创造出了大量的无核葡萄新种质。

3.3 远缘杂交育种的应用

由于远缘杂交亲缘关系较远,植物组织或器官如胚、胚乳和子房之间缺乏协调,从而导致部分或全部胚坏死。受精后的幼胚停止发育或败育,以至于很难获得杂交苗。而远缘杂交获得的杂交胚通过胚挽救,则可以增加所获得杂种苗的比例。如圆叶葡萄(*Vitis rotundifolia*, $2n = 40$)抗病性强,对葡萄根瘤蚜免疫,在葡萄的抗病性育种中作为重要的杂交亲本而被欧美葡萄育种家应用,但由于圆叶葡萄和真葡萄亚属($2n = 38$)内的葡萄种类亲缘关系相距较远,染色体数不同。因此,在常规育种中难以获得杂交种子或杂交苗,为培育抗病葡萄品种,利用圆叶葡萄作亲本进行远缘杂交受到了广泛关注。1989 年, GOLDY 等^[47]利用胚挽救技术,获得无核葡

萄和圆叶葡萄的杂种苗,从而实现抗病基因在无核葡萄中的渗透。通过远缘杂交建立了新的育种方法,将抗病基因和无核基因有效聚合到一起。

3.4 多倍体育种

多倍体植物重要的特点是器官的巨大性,通过葡萄多倍体育种可以获得大粒品种。20 世纪 40 年代就已开始果树的多倍体育种,并取得了一些进展。葡萄中最有价值的多倍体是三倍体和四倍体,大多三倍体葡萄是粒大无核的,四倍体葡萄是粒大、少核或无核的。通常三倍体是通过四倍体和二倍体杂交获得的,但由于染色体数量不同,胚和胚乳发生败育,不能得到有生活力的种子,然而通过胚挽救技术可以克服败育的障碍。山东农业大学潘春云等^[48]利用二倍体葡萄与四倍体杂交,通过胚挽救培育出 2 个三倍体葡萄新品系。日本育种专家 YAMASHITA 等^[49-51]较早通过胚培养获取三倍体葡萄品种。由于二倍体和四倍体之间的杂交,合子胚会早期退化。因此,获得三倍体后代的目标可以通过二倍体和四倍体杂交结合胚挽救技术来实现。

4 葡萄胚挽救育种的前景

世界上 100 多个无核葡萄品种中的大多数现在来自无核白、无核紫或其衍生的无核品种,并且基因型相对简单。作为一种经济、高效、快速的无核葡萄育种方法,胚培养在过去的 20 a 中发展迅速。自 20 世纪 80 年代后期以来,我国的高校及科研院所对无核葡萄胚胎培养的研究已经开展,亓桂梅^[52]、徐海英等^[53]、王跃进等^[54]、刘小宁等^[55]、郝燕等^[56]、蒋爱丽等^[57]、李世诚等^[58]对无核葡萄的胚培养技术做了大量的工作,并培育出一些新种质。由于无核葡萄的选育周期长,传统杂种后代性状的鉴定需要 6 a 以上。目前,在常规杂交育种的基础上,配合分子标记辅助育种,可以大大加快葡萄育种的进程。通过分子标记可以把杂种进行早期选择,把与目标性状不密切相关的杂种从后代群体中淘汰掉,有利于提高无核葡萄育种的效率。在过去的 10 a 中, DNA 标记技术在葡萄无核品种的选择上取得了很大进展。国内外的研究人员开始专注于构建分子标记和遗传图谱,获得与无核基因相关的 DNA 分子标记,葡萄无核性状的提早检测极大地加速了胚挽救的进程。

参考文献:

[1] 王跃进, 万怡震. 美国加州的葡萄生产与科研[J]. 西北农林科技

- 大学学报, 2002, 143(1): 134-140.
- [2] SNYDER E, HARMON F N. Grape breeding summary 1932-1952 [J]. Proc Amer Soc Hort Sci, 1952, 60: 243-246.
- [3] RAMMING D W, EMERSHAD R L. In ovule embryo culture of seeded and seedless *Vitis vinifera* L. (Abst.) [J]. Hortscience, 1982, 17: 487.
- [4] RAMMING D W, EMERSHAD R L. Stenospermocarpic seedless *Vitis vinifera* × *Vitis rotundifolia* hybrid developed by embryo rescue [J]. Hortscience, 2000, 35(4): 732-734.
- [5] BHARATHY P V, KARIBASAPPA G S, PATIL S G et al. In ovule rescue of hybrid embryos in Flame seedless grapes-influence of pre-bloom sprays of benzyladenine [J]. Scientia Horticulturae, 2005, 106: 353-359.
- [6] AMARALA L, OLIVEIRA P R, CZERAINSKI A B et al. Embryo growth stages on plant obtention from crosses between seedless grape parents [J]. Rev Bras Frutic, 2001, 23(3): 647-651.
- [7] GRAY D J, MORTENSEN J A, BENTON C M. Ovule Culture to obtain progeny from hybrid seedless bunch grapes [J]. J Amer Soc Hort Sci, 1990, 115(6): 1019-1024.
- [8] GOLDY R G, EMERSHAD R L. Embryo culture as a means of introgressory seedlessness from *Vitis vinifera* to *V. rotundifolia* [J]. Hortscience, 1988, 23(5): 886-889.
- [9] EMERSHAD R L, RAMMING D W. Somatic embryo genesis and plant development from immature zygotic embryos of seedless grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. Plant Cell Reports, 1994, 14: 6-12.
- [10] GRAY D J. 亓桂梅, 译. 利用组织培养方法从无核葡萄杂交中获得后代 [J]. 葡萄栽培与酿酒, 1993, 6(3): 35-38.
- [11] LEDBETTER C A, RAMMING D W. Seedlessness in grapes [J]. Horticultural Review, 1989, 11: 159-181.
- [12] LEDBETTER C A, SHONNERD C B. Improved seed development and germination of stenospermic grapes by plant growth regulators [J]. Horticultural Sci, 1990, 65(3): 269-274.
- [13] 孟新法, 张利, 张潞生, 等. 无核葡萄胚发育及早期离体培养的研究 III. 培养方式对离体胚发育影响 [J]. 北京农业大学学报, 1992, 18(4): 393-395.
- [14] 孟新法, 张利, 张潞生, 等. 无核葡萄胚发育及早期离体培养的研究 IV. 胚珠接种时期对胚发育的影响 [J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(1): 45-47.
- [15] 张宏明, 孟新法, 张潞生. 无核葡萄胚珠发育及早期离体培养的研究 I. 激素对胚珠离体培养的影响 [J]. 北京农业大学学报, 1990, 16(3): 227-282.
- [16] 张利, 孟新法, 张潞生, 等. 无核葡萄胚珠发育及早期离体培养的研究 II. 无核葡萄胚发育的特点 [J]. 北京农业大学学报, 1991, 17(4): 55-59.
- [17] 亓桂梅, 潘春云, 汤小宁, 等. 无核葡萄杂交胚珠的培养技术 [J]. 果树科学, 1998, 15(4): 364-367.
- [18] 亓桂梅, 杨立英. 植物生长调节剂对假单性结实葡萄种子发育和萌发的影响 [J]. 山东农业科学, 2001, 32(5): 21-22.
- [19] DING H F, QI G M. Ovules culture and plant formation of hybrid progeny of seedless grape [J]. Journal of Agriculture in the Tropics and Subtropics, 2001, 102(2): 147-152.
- [20] 董晓玲, 贺普超. 无核葡萄杨格乐的胚发育及胚培养 [J]. 果树科学, 1991, 8(2): 55-58.
- [21] 郭海江, 王跃进, 张剑侠, 等. 葡萄抗病无核胚挽救育种及分子标记辅助选择 [J]. 西北植物报, 2005, 25(2): 2395-2401.
- [22] 李桂荣, 王跃进, 唐冬梅, 等. 无核白葡萄胚挽救育种技术研究 [J]. 西北植物学报, 2001, 21(3): 432-436.
- [23] 王飞, 王跃进, 周建锡. 无核葡萄与中国野生葡萄杂种的胚挽救技术研究 [J]. 园艺学报, 2006, 33(5): 1079-1082.
- [24] 刘加驹, 卢春生. 无核葡萄 [J]. 果树科学, 1985(1): 15-20.
- [25] 张潞生, 孟新法. 大粒无核葡萄品种选育技术 [J]. 北京农业大学学报, 1993, 19(4): 92-97.
- [26] SPIEGEL-ROY, SAHAR P N, BARON J et al. In vitro culture and plant formation from grape culture with abortive ovules and seeds [J]. Amer Soc Hort Sci, 1985, 110: 109-112.
- [27] GOIDY R G. In vitro cultivability of ovules from 10 seedless grape clones [J]. Hortscience, 1987, 22(5): 952.
- [28] 马远, 张振文, 杨玉洁, 等. 葡萄组织培养应用研究进展 [J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2002(4): 23-26.
- [29] CAIN D W, EMERSHAD R L, TRAILO R E. In-ovule embryo culture and seedling development of seeded and seedless grapes (*Vitis vinifera* L.) [J]. Vitis, 1983, 22: 9-14.
- [30] EMERSHAD R L, RAMMING D W, SERPE M D. In ovule plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera* [J]. L Amer J Bot, 1989, 76(3): 397-402.
- [31] 王跃进, 张剑侠, 李桂荣, 等. 采用胚挽救技术获得抗病无核葡萄新材料的研究 [J]. 甘肃农业大学学报, 2001, 36(专辑): 105-111.
- [32] ALBERTO C, SUZANNE M, PETHIER R. By growth of immature peach embryos in response to media ovule support method and ovule perforation [J]. Hortscience, 1994, 29(9): 1081-1083.
- [33] GRIBAUDO I, ZANETTI R, BOTTA R et al. In ovule embryo culture of stenospermocarpic grapes [J]. Vitis, 1993, 32: 9-14.
- [34] 贺普超, 董晓玲. 极早熟葡萄胚珠培养技术的研究 [J]. 果树科学, 1989, 6(4): 199-204.
- [35] 陈香波, 曹孜义. 离体葡萄未成熟胚成苗途径研究 [J]. 果树科学, 2000, 17(4): 261-264.
- [36] 颜昌敬. 植物组织培养手册 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1990.
- [37] AGÜERO C, GERGORI M T, PONCE M T et al. An improved germination of stenospermic grape fertilized ovules cultured by low temperature [J]. Biocell, 1996, 20(2): 123-126.
- [38] BURGER P, TRAUTMANN I A. Manipulations of ovules to improve in vitro development of *Vitis vinifera* L. embryos [J]. Acta Horticulturae, 2000, 528: 613-619.
- [39] GARCIA E, MARTINEZ A, GARCIA DE LA CALERA E et al. In vitro culture of ovules and embryos of grape for the obtain of new seedless table grape cultivars [J]. Acta Horticulturae, 2000, 528: 663-666.
- [40] 郭印山, 张海娥, 郭修武, 等. 早熟葡萄胚挽救技术研究 [J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2006(1): 11-15.
- [41] RAMMING D W, EMERSHAD R L. Embryo culture of early ripening seeded grape (*Vitis vinifera*) genotypes [J]. Hort science, 1990, 25(3): 339-342.

- [42] SHARMA DR ,KAUR R ,KUMAR K. Embryo rescue in plants-a review[J]. Euphytica ,1996 ,89 :325-337.
- [43] BOUQUET A ,DAVIS H P. In vitro ovule and embryo culture for breeding seedless table grapes (*Vitis vinifera* L.)[J]. Agronomie , 1989 ,9 :565-574.
- [44] RAMMING D W. The use of embryo culture in fruit breeding[J]. Hortscience ,1990 ,25(4) :393-398.
- [45] NOTSUKA K ,TSURU T ,SHIRAIISHI M. Seedless-seedless grape hybridization via in ovule embryo culture [J]. Jap Soc Hortic Sci , 2001 ,70 :7-15.
- [46] 郭修武,郭印山,张海娥,等. 接种时期和培养基对无核葡萄胚挽救的影响[J]. 园艺学报 2007 ,34(2) :329-332.
- [47] GOLDY R G ,Ramming D W ,Emershad R L ,Chaparro J X. Increasing production of *Vitis vinifera* × *V. rotundifolia* hybrids through embryo rescue[J]. Hortscience, 1989(24) :820-822.
- [48] 潘春云,亓桂梅,汤小宁,等. 葡萄三倍体育种初报[J]. 山东农业大学学报,1998 ,29(3) :299-302.
- [49] YAMASHITA H ,HORIUCHI S ,TAIRA T. Development of seeds and the growth of triploid seedlings obtained from reciprocal crosses between diploids and triploid grapes [J]. Jap Soc Hortic Sci , 1993 ,62 :249-255.
- [50] YAMASHITA H ,HANIUDA T ,SHIBA H. In vitro culture of embryos obtained by crossing tetraploid grape cultivar Kyoho with diploid cultivars[J]. Jap Soc Hortic Sci ,1995 ,63 :719-724.
- [51] YAMASHITA H ,SHIGEHARA I ,HANIUDA T. Production of triploid grapes by in ovulo embryo culture [J]. Vitis ,1998 ,37 : 113-117.
- [52] 亓桂梅. 无核葡萄杂交胚珠的培养及萌发成苗的若干影响因素[J]. 中外葡萄与葡萄酒 ,2001(4) :24-27.
- [53] 徐海英,阎爱玲,张国军. 葡萄二倍体与四倍体品种间杂交胚珠的离体培养[J]. 果树学报 2001 ,18(6) :317-320 .
- [54] 王跃进 ,LAMIKANRA O. 葡萄无核基因的 RAPD 标记的序列分析[J]. 西北农业大学学报 ,1997 ,25(4) :1-5.
- [55] 刘小宁,王跃进,张剑侠,等. Flame Seedless 葡萄胚珠、胚乳及胚发育与败育的研究 [J]. 西北植物学报 ,2005 ,25(10) : 1947-1953.
- [56] 郝燕,王发林,杨瑞,等. 无核葡萄胚败育时期的确定及接种时间对胚萌发的影响 [J]. 甘肃农业大学学报 ,2006 ,41(4) : 45-48.
- [57] 蒋爱丽,李世诚,金佩芳,等. 大败育型无核葡萄胚珠培养成苗技术研究[J]. 上海交通大学学报(农业科学版) 2002 ,20(1) : 45-48.
- [58] 李世诚,金佩芳,蒋爱丽,等. 二倍体与四倍体杂交的无核葡萄胚珠培养获得三倍体植株 [J]. 上海农业学报 ,1998 ,14(4) : 13-17.

(上接第 475 页)

- 矿业纵横 2004 ,13(2) :75-81.
- [13] 王志福,管杰,苏再兴. 基于 Logistic 模型的中国人口增长预测 [J]. 渤海大学学报 2010 ,31(4) :326-330.
- [14] 陈其清. 逻辑斯蒂增长曲线预测在农业经济领域中的应用 :以湖北省为例[J]. 商场现代化 2007(13) :335-336.
- [15] 王青林. 供给侧改革背景下农业产业集群升级的价值链分析 [J]. 商业经济 2016(12) :14-16.
- [16] 王秀忠. 集群式发展农产品加工业的对策 [J]. 专访论坛 2005

(9) 9-10.

- [17] 胡坤,项喜章,吴素春. 农产品加工产业集群的动态演化分析 [J]. 江苏农业科学 2012 ,40(5) :392-394.
- [18] 严飞. 农产品加工业集群与农村城镇化互动发展研究述评[J]. 经济研究 2013 ,11(5) :66-69.
- [19] 段伟伟. 引入产业集群模式助推农产品加工产业 [J]. 吉林农业 2016(24) :30-31.
- [20] 郝水明. 发挥优势突出重点 推进产业集群和基地建设[J]. 农产品加工 2006(7) :58-60.

(上接第 485 页)

- Research 2009 ,126(4) :390-395.
- [31] CHANG Z J ,ZHANG X J ,YANG Z J et al. Characterization of a partial wheat-*Thinopyrum intermedium* amphiploid and its reaction to fungal diseases of wheat [J]. Hereditas 2011 ,147(6) : 304-312.
- [32] 张晓军,畅志坚,阎晓涛,等. 2 个抗白粉病小麦异附加系的 GISH 鉴定[J]. 山西农业科学 2011 ,39(2) :103-105.
- [33] 石丁溧,傅体华,任正隆,等. 抗白粉病小麦 - 中间偃麦草染色体小片段易位系的选育与鉴定 [J]. 植物病理学报 2008 ,38 (3) :298-303.
- [34] DVORÁK J ,LASSNER M W ,KOTA R S et al. The distribution of the ribosomal RNA genes in the *Triticum speltoides* [J]. Canadian Journal of Genetics & Cytology ,1984 ,26(5) :628-632.

- [35] 辛志勇,周广和. 应用生物技术向小麦导入黄矮病抗性的研究 [J]. 中国科学 ,1991(1) :36-42.
- [36] 张增艳,辛志勇,马有志,等. 用分子标记定位源于中间偃麦草的小麦抗黄矮病基因[J]. 中国科学 ,1999 ,29(4) :413-417.
- [37] 董玉琛. 小麦远缘杂交育种 [C]// 小麦遗传育种国际学术讨论会. 郑州 :中国农学会 ,2001.
- [38] 刘新伦,王超,牛丽华,等. 普通小麦 - 十倍体长穗偃麦草衍生新品种抗赤霉病基因的分子鉴别 [J]. 中国农业科学 2017 ,50 (20) :3908-3917.
- [39] GUO J ,ZHANG X ,HOU Y et al. High-density mapping of the major FHB resistance gene *Fhb7* derived from *Thinopyrum ponticum* and its pyramiding with *Fhb1* by marker-assisted selection [J]. Theoretical & Applied Genetics 2015 ,128(11) :1-16.