

王杏利,石汶汶,鞠建伟,等. 基于发现系统的植物胚挽救研究热点分析[J]. 江苏农业科学,2018,46(23):27-30.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.23.007

基于发现系统的植物胚挽救研究热点分析

王杏利¹,石汶汶²,鞠建伟¹,许忠民²

(1. 西北农林科技大学图书馆,陕西杨凌 712100; 2. 西北农林科技大学园艺学院,陕西杨凌 712100)

摘要:基于超星发现系统的发现以及数据分析与文本聚类功能,本文拟分析植物胚挽救研究热点,并综述胚挽救技术在植物远缘杂交、挽救发育不良胚或早期退化胚、培育三倍体及新品种选育等方面的应用,分析培养时期、培养基及培养环境等因素对胚挽救效果的影响。

关键词:胚挽救;植物胚;幼胚;杂交;发现系统;三倍体培育;培养时间;培养基;环境因素

中图分类号: Q944.46 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)23-0027-04

植物胚是一个具有全能性的多细胞结构,通常有2种来源,一种是有性的合子胚,另一种是无性的不定胚或体细胞胚。由不同倍性间杂交或远缘杂交获得的合子胚,在胚发育的初期阶段就会退化或败育,从而降低了育种效率^[1-2]。胚挽救(embryo rescue)技术,是在适宜条件下对植物胚进行离体培养,使即将退化或败育的胚继续发育而形成再生植株,是作物育种的一项重要技术,利用该技术可以有效加快育种进程,对于农业生产具有重要意义。

在信息大爆炸的时代,随着网络资源的不断发展、搜索平台的不断完善,面对唾手可得的文献资源,如何快速聚焦研究热点,确立自己的研究方向,成为科研工作者面对的新问题。为了帮助作物育种工作者了解植物胚挽救的研究热点,本文以超星发现系统为数据统计源,通过数据分析与文本聚类等方法对该主题进行深入研究。

1 材料与与方法

超星发现系统是超星公司开发出来的一种文献检索系统,该系统是建立在海量元数据的基础上,通过知识挖掘、数据仓储、数据分析、资源整合、文献计量学等相关方法与技术,在一个文献检索平台上集成整合国内各种主要中文数据库资源,其文献类型包含专利、标准、中文期刊、学位论文、图书、会议论文、科技成果、视频等^[3]。通过发现系统的分面聚类、知识关联等可以聚焦研究主题的时序发展轨迹、研究热点、核心研究机构或研究团队,从而为相关研究人员快速了解该领域的研究前沿和热点、确立自己的研究方向与学术交流提供信息参考。

本文以超星发现系统为检索平台,以主题词=胚挽救为检索式进行检索,检索截止日期为2018年4月5日。

收稿日期:2018-04-28

基金项目:国家重点研发计划(编号:2016YFD0101702);国家大宗蔬菜产业技术体系建设项目(编号:CARS-23-G22);杨凌产学研协同创新重大项目(编号:2016CXY-10);陕西省社会科学基金(编号:2016N004)。

作者简介:王杏利(1971—),女,陕西渭南人,馆员,主要从事信息咨询与情报分析等研究工作。E-mail:tsqwxli@126.com。

通信作者:许忠民,博士,副研究员,主要从事园艺种质资源与遗传育种研究。E-mail:xuzhongmin2003@126.com。

2 结果与分析

2.1 文献计量分析

文献计量分析(bibliometric analysis)是情报研究的主要方法之一。科技文献是科研成果的主要表现形式,其数量反映科学研究的活跃程度及科研工作者对某一主题的关注度,对科技文献进行计量分析,可以使研究者快速明了相关主题的研究发展历史、聚焦研究方向。

2.1.1 文献类型及年份分布 依据上述检索策略,共检出文献597篇,其中期刊论文272篇,学位论文150篇,会议论文46篇,专利45项,科技成果81项,其他文献3篇。从文献出版年份统计分析可见,关于胚挽救技术的研究起步于20世纪80年代,进入21世纪,随着我国经济的发展和科研条件的不断改善,胚挽救研究在植物育种界得到了更广泛的关注。在2000—2009年的10年间,有221篇论文;在2010—2017年,相关文献量已有271篇。

2.1.2 核心研究机构及地区 文献是科研成果的载体,文献数量与质量是研究机构科研能力的直接体现。通过对检出文献的研究机构进行统计分析可见,有关胚挽救的研究主要集中在西北农林科技大学、河北农业大学、华中农业大学等高校及中国农业科学院、云南省农业科学院等科研院所。省域分布主要为陕西省,占总文献量的31%,其次为湖北省、河北省。文献量较多的前10个省(市)及其占比见图1。

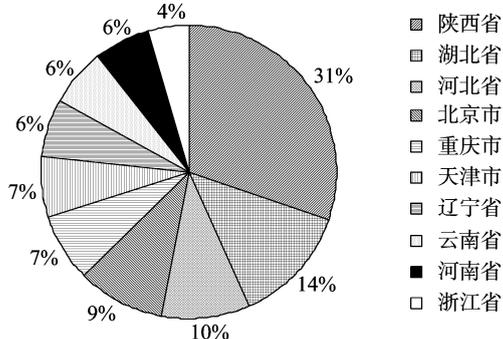


图1 植物胚挽救研究的主要地区

2.1.3 核心关键词 关键词是论文主题的直接体现,通过关键词聚类,特别是可视化后的聚类结果,可以直观快速地了解

主题的研究热点及相关性。对检出的 597 篇文献采用可视化分析,图 2 中的球体大小代表关键词出现频率,颜色深浅代表关键词与胚挽救的相关度。从图 2 可以看出,胚挽救研究以葡萄、百合、胚培养、远缘杂交、多倍体、组织培养等为主。

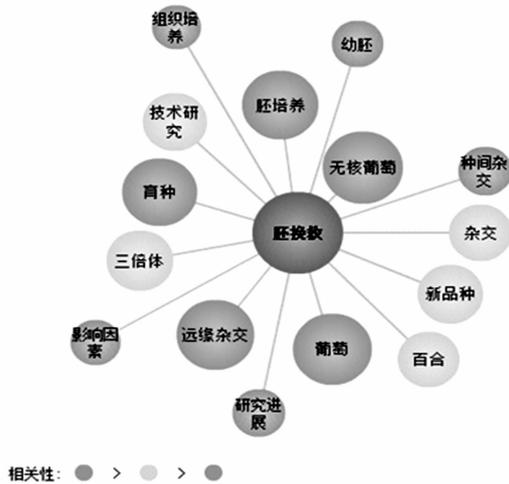


图2 植物胚挽救的主要关键词聚类

2.2 胚挽救研究的热点分析

2.2.1 早期退化或发育不良胚的挽救

胚挽救技术开始于 20 世纪初,近年来,有关离体胚挽救技术体系研究的方法有 3 种类型,第 1 种是离体培养,第 2 种是活体转移,第 3 种是活体培养。其中,尤以胚发育初期进行离体培养的研究最多,在通常情况下,远缘杂交和不同倍性杂交形成的合子胚都可以通过胚挽救形成再生幼苗。胚龄、培养基的成分、培养基中的激素配比等 3 种因素与离体培养再生幼苗获得的比例有关。利用离体胚挽救技术进行早期退化或发育不良胚的挽救,在桃育种中培育优质早熟桃品种的效果很好,并取得了成功。万春雁等为探索胚退化机制及早熟桃的胚挽救育种方法,以早熟桃品种华光为试验材料,以曙光为对照,从幼果期至后期观测种胚的形态指标和内源激素水平变化,结果表明,华光和曙光的种胚纵、横径、质量与胚性指数都与果实发育呈正相关,华光品种的上述指标在开花后 65 d 达到最大值后就迅速下降,但同时出现胚退化现象,而曙光的上述指标仍呈小幅上升的趋势^[4]。郭印山等针对早熟葡萄育种中胚发育不全的问题而进行的早熟葡萄胚抢救技术研究表明,影响各个组合早熟葡萄杂交后代成苗率最重要的因素是取胚时期^[5-7]。

2.2.2 克服远缘杂交不亲和 植物多倍体育种和远缘杂交过程中常会出现胚败育现象,造成胚败育的有多种因素,如幼胚起源、胚乳与胚囊发育异常、激素与营养供应失调、基因调控和酶失活等。由于远缘杂交的合子胚和胚乳发育不协调,结果将会导致杂种胚退化或者败育,因此,胚挽救要在杂种胚退化或败育前进行离体培养,这是进行远缘杂交获得新种质一种重要途径^[8-9]。选育植物新品种时,远缘杂交技术通常是将野生种和野生近缘种的优良基因,通过杂交技术整合到优质栽培品种中,或者将不同种属优良基因通过杂交重组选育出优质多抗植物新品种,然而远缘杂交通常不亲和,而利用胚挽救技术则可克服这种现象。孙亮等以富士苹果为母本、金二十世纪梨和京白梨为父本进行属间杂交试验,以未授粉正常管理的果实为对照对授粉果实进行生物学观察,并对幼

胚进行挽救培养。结果发现,以金二十世纪梨为父本的杂交果实坐果率为 4.83%,以京白梨为父本的未坐果;杂交果实前期发育快,果实大于对照,后期发育慢,果实小于对照;果形指数前期小于对照,后期大于对照^[10]。2009 年扈新民等以甘蓝显性雄性不育系作母本,以萝卜自交系作父本进行授粉杂交,对胚珠、子房进行离体培养,结果表明,胚珠培养的效果较子房培养好,子房培养仅获得 3 株杂交苗,胚珠培养各处理共获得 29 株杂交苗^[11]。赵艳艳等为将油菜中根肿病抗性基因 *CRR* 导入甘蓝从而获得抗根肿病的结球甘蓝材料,以二倍体结球甘蓝与四倍体人工合成油菜为亲本进行正反杂交,采用 MS 和 B5 培养基对杂交子房和胚珠进行胚挽救试验,研究不同取样时期、培养基、基因型及暗处理对胚珠萌发率的影响,并采用流式细胞仪法对杂交后代幼苗倍性进行初步鉴定,结果表明,胚珠培养优于子房培养,以油菜为母本进行杂交,获得 57 株杂种苗,反交组合只得到 7 株^[12]。张朝君等为获得 OTO(黄天霸×西伯利亚)远缘杂交新材料,用东方百合品种西伯利亚与 OT 型百合黄天霸品种作为试验材料,通过离体受精技术和不同授粉方式,利用胚挽救进行离体培养,试验结果表明,通过非常规授粉方法进行授粉,子房膨大率较高;用常规方法授粉约 15~20 d 花瓣随即枯萎,子房没有膨大现象^[13]。通过子房切断的方法,黄天霸×西伯利亚子房的膨大率可以达到 50%;采用柱头嫁接的方法,西伯利亚×黄天霸子房的膨大率只有 14%。在正反交试验中,西伯利亚×黄天霸的杂交效果没有黄天霸×西伯利亚的好,后者成功得到远缘杂交材料。

2.2.3 植物新品种的选育

利用离体胚挽救技术体系选育植物新品种,在无籽葡萄育种方面取得了较大进展。无籽葡萄品种一般不能作为杂交母本,用有籽葡萄品种作为杂交母本,在后代中几乎很难得到无籽类型品系。离体胚挽救可以使用葡萄假单性结实的无籽品种作为母本进行杂交成为可能^[14-17]。陈昌文等通过胚挽救的方法获得了蟠桃品种中蟠桃 10 号^[18]。殷富有等经胚挽救成苗,进行回交、自交后育出云资粳 41 号^[8]。此后,植物细胞工程技术在农作物品种改良和培育中得到广泛应用。孙宁等应用细胞培养技术与常规育种方法进行水稻种质创新选育的研究,利用花粉培养建立了水稻的显白性状近等基因系,并成功选育出津稻 294 水稻新品系;通过胚挽救技术进行水稻杂交种及突变系的离体胚培养,成功获得了野生水稻与栽培稻杂交后代的永久营养体^[19]。在花卉方面,胚挽救也有应用,崔光芬等研究得出,金门百合是以 OT 百合 T11 作为杂交母本、以 D74 作为杂交父本,通过切割柱头进行人工授粉,并结合离体胚挽救获得的一种 OT 百合杂种系切花新品种^[20]。颜津宁等选育出的迎春 1 号是利用切割柱头杂交授粉、胚挽救、组培扩繁和种球复壮等技术,在开花后选取优良株系而获得的百合切花新品种,该品种植株健壮、花大色艳、香味浓郁、商品性好、抗病能力强^[21]。

2.2.4 利用胚挽救技术选育三倍体

三倍体和多倍体植物具有高度不育性,不能形成正常种子,二倍体和四倍体植株杂交后,利用胚挽救进行离体培养可以获得部分三倍体植株。在植物育种方面,柑橘和葡萄的应用较多,由于这 2 种果树的三倍体果实具有果大、无籽等优良特性,对葡萄二倍体和四倍体进行杂交,在幼胚败育前对杂交种胚珠进行离体胚挽救,利

用这种胚挽救技术已经获得大量三倍体葡萄植株。石艳等为了选育三倍体无核葡萄新品种,以二倍体欧洲葡萄无核品种爱莫无核、红宝石无核、黎明无核与欧山杂种北醇以及四倍体欧美杂种藤稔、黑奥林为亲本,进行了5个组合的杂交,通过胚挽救技术获得杂种幼苗41株,并利用染色体计数法与流式细胞仪等方法对所获得的再生植株进行倍性鉴定,结果表明,有10株杂种为三倍体,6株为四倍体,4株为非整倍体,其余21株为二倍体^[22]。2014年,郭印山等以二倍体葡萄品种和四倍体葡萄品种为亲本进行正反杂交试验,对杂交胚珠进行胚挽救,利用染色体计数法和流式细胞仪等对杂交后代幼苗倍性进行了鉴定,结果表明,无核红宝石×香悦于开花后60d接种胚珠萌发率最高,为8.33%,得到杂种再生植株8株,其中有1株为三倍体植株(12.5%);香悦×无核红宝石在花后83d接种胚珠萌发率最高,为29.38%,获得杂种再生幼苗56株,其中有16株为三倍体幼苗(27.59%)^[23]。由于柑橘三倍体植株具有果大、无籽、抗病性强等特性,因而育种者都把三倍体作为一个重要育种目标。虽然获得柑橘三倍体植株的途径很多,但是二倍体和四倍体杂交具有一定的优势,该方法可以在短时间内有效地聚合二者的优良性状,所以是柑橘三倍体育种的一种最重要的途径。高清华等提到,1957年,Ohta等首次对柑橘胚进行离体培养,并获得成功,研究结果表明,以多胚性柑橘品种作母本可获得成熟种子,但其实生后代中的杂种苗比例均较低^[1]。刘可慧等以3个柑橘异源四倍体体细胞杂种为父本,分别与二倍体单胚性沙田柚进行属间杂交,在胚败育前,利用胚抢救技术进行离体培养,利用流式细胞分析仪进行检测,结果表明,获得的再生植株为柑橘三倍体植株^[24]。

2.2.5 胚挽救在分子标记方面的应用 近几年来,随着分子标记技术的快速发展,进一步挖掘野生植物有益基因已经日益成为现代植物育种的一条重要途径^[25]。余文贵等采用构建野生番茄渐渗系途径,不但加快了有用性状筛选,而且可以缩短育种时间,进一步促进了数量性状遗传的基础研究^[26]。2005年郭海江等报道,以欧洲无核葡萄品种作母本、以欧洲普通葡萄品种和中国野生葡萄品种为父本杂交了16个组合,利用离体胚挽救获得再生植株55个^[27]。刘仕琴等将长雄野生稻和泰国籼稻RD23杂交,利用离体胚挽救获得再生植株F₁代,随后利用泰国籼稻RD23作为轮回亲本和F₁代连续回交得到BC₆群体,并对红米基因进行分子定位研究,为红米的遗传基因定位研究奠定了基础^[28]。周国治等通过胚挽救技术获得番茄抗根结线虫杂种^[29]。赵鹤等通过幼胚挽救培养获得秘鲁番茄LA3858植株^[30]。

2.3 胚挽救技术成功应用于植物育种实践的影响因素

2.3.1 培养时期 朱际君等认为,胚的发育阶段不同,其培养成功的概率也是不同的,胚龄越小,培养成功率越低^[31-32]。在胚发育早期,合子胚其实完全处于异养状态,其发育所需条件和营养要求比较复杂,离体培养很难成功。可是在胚发育后期,又会因为母体内发育不协调而导致幼胚退化或败育。因而离体培养最好选择幼胚发育程度较高,而且生活力最强时期。董晓玲等利用胚挽救技术对葡萄无核品种杨格尔的研究发现,在开花后27~33d间进行胚离体培养的成功率较高^[15]。李桂荣等以金光杏梅胚为材料的研究结果表明,金光杏梅在落花后49d左右进行离体培养效果最佳,在此时期胚乳开始退

化,幼胚刚出现畸形,核也开始出现木质化,果实体积达到总体积的77.9%^[33]。顾爱侠等研究认为,大白菜和甘蓝进行种间杂交,授粉后5~7d进行子房离体培养的效果最好^[34]。

2.3.2 培养条件和培养基 离体胚挽救成功的关键是适宜的培养基。研究表明,植物幼胚的发育时期与物种不同,胚挽救需要的培养基也不尽相同。影响离体培养的环境因子很多,如温度、pH值与光照度。植物胚在不同发育时期需要不同的pH值。Kantharajah等用MS与MT为基本培养基进行猕猴桃和柑橘离体培养,取得了较好的效果^[35]。Carimi等研究表明,在柑橘胚挽救培养时,在培养基中添加麦芽提取物可以提高成苗率^[36]。李玉玲等对葡萄杂交胚珠进行胚挽救的研究表明,在花前2周喷施5mg/L 6-BA(6-苄氨基腺嘌呤)可以提高火洲黑玉的成苗率;在继代培养基中加入CCC(氯化氯代胆碱)可以壮苗,提高移栽成活率^[37]。赵凯等以败育型无核葡萄为母本、以欧山杂种作父本进行人工杂交,对杂交胚珠进行离体培养,结果表明,在3种胚珠培养基中,以ER(一种培养基)+500mg/L水解络蛋白(CH)+0.5mg/L GA₃(赤霉素)+1.5mg/L IAA(吡啶-3-乙酸)培养基的胚发育率和成苗率最高,其结果也表明,CH和GA₃、IAA的添加对胚发育率和成苗率均没有显著影响^[38]。

2.3.3 激素水平 生长调节剂在胚挽救中也起着至关重要的作用,幼胚正常生长需要较低浓度的细胞分裂素,而高浓度细胞分裂素会抑制胚生长,甚至会促进胚形成非器官性愈伤组织,胚离体培养过程中细胞分裂素和生长素分别起到促进胚嫩芽分化与生根作用。1984年Wang对草莓胚进行离体培养研究,结果表明,用MS培养基不添加激素仅诱导出愈伤组织,用含有0.5mg/L BA的MS培养基或5~20mg/L 2,4-D的MS培养基进行培养,可以诱导成胚并形成组织^[39]。武书哲等以杂交后代未败育种胚为试验材料进行离体胚挽救,研究6-BA对无核葡萄希姆劳特胚发育的影响,结果表明,希姆劳特在含有0.5mg/L 6-BA、1.5mg/L IAA、0.5mg/L GA₃、5g/L琼脂、60g/L蔗糖、1.0mg/L活性炭,pH值为5.8的Nitsch培养基中胚发育成功率最佳^[40]。田淑芬等为了研究外源添加物对无核葡萄胚珠发育与胚培养的影响,以希姆劳特×玫瑰香优系、红宝石无核×玫瑰香优系杂交胚为试验材料,研究6-BA、甘氨酸与活性炭的不同浓度对比对葡萄胚珠生长发育的影响,结果表明,在红宝石无核×玫瑰香优系胚发育率最适激素浓度方面,6-BA为0.5mg/L,甘氨酸为4.00mmol/L;在希姆劳特×玫瑰香优系杂交胚发育的最适浓度方面,甘氨酸是1.00mmol/L,相应的诱导率为17.33%;2个组合最适的活性炭浓度为1.0g/L^[41]。夏晶等用西伯利亚与黄天霸为亲本进行百合杂交试验,研究亲本花粉活力,结果表明,GA₃有利于胚发育前期迅速萌发,但后期发育长势细弱,不利于成球^[42]。杜学梅等对六月鲜枣幼胚进行离体培养研究,用开花后12~82d的胚进行离体培养,结果表明,开花后70~72d的胚适宜培养基为1/2MS+0.4mg/L IBA(吡啶丁酸)+0.8mg/L BA+500mg/L LH(黄体生成素)+5mg/L GA₃+5%蔗糖,胚培苗经过扩繁后转入1/2MS+1.0mg/L IBA+0.06mg/L IAA+2%蔗糖培养基上,获得了健壮生根苗,生根苗移栽成活率达85%以上^[43]。

3 结语

在植物特异种质资源创制和新品种选育研究方面, 胚挽救技术应用特别广泛, 其发展速度也很快, 可以加快植物育种进程。由于每种植物胚的发育条件差异, 同时影响胚离体培养的因素很多, 因而经常是不同作物胚挽救技术差别可能很大, 甚至同一作物不同组合的胚挽救技术也有较大差异, 很难一致化和程序化, 因此在对植物进行胚挽救时对已有的相关胚挽救体系进行参考, 并优化各种影响因素。

参考文献:

- [1] 高清华, 叶正文, 殷丽青, 等. 果树胚挽救技术育种研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(增刊1): 113-116, 120.
- [2] 顾爱侠, 冯大领, 轩淑欣, 等. 胚挽救技术在植物育种中的应用[J]. 河北林果研究, 2010, 25(1): 30-33.
- [3] 王弋, 王亚秋, 王煦. 基于知识发现系统的学科知识图谱可视化实证研究——以知识产权研究文献为例[J]. 高校图书馆工作, 2015, 35(6): 45-48.
- [4] 万春雁, 韩明玉, 糜林, 等. 早熟桃胚退化的相关因子研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2010, 38(12): 185-189, 196.
- [5] 郭印山, 张海娥, 郭修武, 等. 早熟葡萄胚抢救技术研究[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2006(1): 11-15.
- [6] Jiao Y T, Li Z Q, Xu K Y, et al. Study on improving plantlet development and embryo germination rates in *in vitro* embryo rescue of seedless grapevine [J]. New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science, 2018, 46(1): 39-53.
- [7] Li J, Wang X H, Wang X P, et al. Embryo rescue technique and its applications for seedless breeding in grape[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2015, 120(3): 861-880.
- [8] 殷富有, 李维蛟, 郭怡卿, 等. 野栽交育成粳稻新品种云资粳41号[J]. 杂交水稻, 2010(增刊1): 216-217.
- [9] 王玉柱, 孙浩元, 杨丽. 核果类果树胚培养研究进展与育种成效[J]. 果树学报, 2004, 21(1): 59-63.
- [10] 孙亮, 冷平. 苹果和梨属间杂交及其幼胚挽救研究[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(2): 25-29.
- [11] 扈新民, 李锡香, 梁燕, 等. 甘蓝与萝卜属间杂交及其胚挽救技术优化[J]. 中国蔬菜, 2009(10): 7-12.
- [12] 赵艳艳, 蒋武生, 原玉香, 等. 结球甘蓝与油菜杂交胚挽救及其后代倍性鉴定[J]. 河南农业科学, 2016, 45(9): 88-93.
- [13] 张朝君, 郑思乡, 许超. OT型百合与O型百合远缘杂交试验[J]. 贵州农业科学, 2010, 38(4): 17-18, 22.
- [14] 陈香波, 曹孜义. 离体葡萄未成熟胚成苗途径研究[J]. 果树学报, 2000, 17(4): 261-264.
- [15] 董晓晓, 贺普超. 无核葡萄杨格尔的胚发育及胚珠培养[J]. 果树科学, 1991, 8(2): 87-90.
- [16] Gary D J, Fisher L C, Mortensen J A. Comparison of methodologies for *in vitro* embryo rescue of seedless grapes [J]. HortScience, 1987, 22(6): 1334-1335.
- [17] Ebadi A, Aalifar M, Farajpour M, et al. Investigating the most effective factors in the embryo rescue technique for use with 'Flame Seedless' grapevine (*Vitis vinifera*) [J]. Journal of Horticultural Science & Biotechnology, 2016, 91(5): 441-447.
- [18] 陈昌文, 朱更瑞, 王力荣, 等. 蟠桃新品种'中蟠桃10号'的选育[J]. 果树学报, 2015, 32(2): 339-340, 172.
- [19] 孙宁, 王松文, 崔晶, 等. 利用细胞培养选育水稻变异体的初步研究[J]. 天津农学院学报, 2015, 22(1): 29-32.
- [20] 崔光芬, 王祥宁, 蒋亚莲, 等. OT百合新品种'金门'[J]. 园艺学报, 2014, 41(7): 1517-1518.
- [21] 颜津宁, 杨贺, 胡新颖, 等. "迎春1号"百合新品种选育与应用[J]. 北方园艺, 2016(9): 170-172.
- [22] 石艳, 张剑侠, 王跃进, 等. 利用胚挽救技术创制葡萄多倍体种质的研究[J]. 果树学报, 2012, 29(2): 269-273, 322.
- [23] 郭印山, 陈文玲, 郭修武, 等. 二倍体与四倍体葡萄品种杂交胚挽救及后代倍性鉴定[J]. 沈阳农业大学学报, 2014, 45(3): 274-278.
- [24] 刘可慧, 于方明, 张秋明, 等. 应用胚挽救技术获得三倍体柑橘植株[J]. 广西植物, 2010, 30(2): 246-249.
- [25] 张春芝, 孙玉燕. 番茄渐渗系群体及其利用研究进展[J]. 园艺学报, 2010, 37(11): 1863-1872.
- [26] 余文贵, 赵统敏, 沈新莲. 野生番茄单片段渐渗系的创建及应用[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 197-202.
- [27] 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]. 西北植物学报, 2005, 25(12): 2395-2401.
- [28] 刘仕琴, 周家武, 李静, 等. 长雄野生稻红米基因的发掘定位研究[J]. 云南农业大学学报, 2009, 24(3): 336-339.
- [29] 周国治, 叶青静, 王荣青, 等. 胚挽救和分子标记辅助筛选获得番茄抗根结线虫杂种[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2010, 36(3): 255-261.
- [30] 赵鹤, 王孝宣, 杜永臣, 等. 秘鲁番茄与栽培番茄回交一代的获得及其染色体片段分析[J]. 中国蔬菜, 2013(14): 53-58.
- [31] 朱际君, 吴鹤鸣, 汪祖华. 桃早熟品种种胚培养技术研究[J]. 江苏农业科学, 1983(9): 33-35.
- [32] Chaparro J X, Sherman B W. Culture date and germination procedure affects success of nectarine ovule and embryo culture[J]. Fruit Varieties Journal, 1994, 48(3): 173-175.
- [33] 李桂荣, 张玉园, 朱自果, 等. 金光杏梅胚挽救最佳取样时期的研究[J]. 吉林农业科学, 2013, 38(4): 59-62.
- [34] 顾爱侠, 申书兴, 陈雪平, 等. 大白菜与结球甘蓝杂交获得异源三倍体及其生殖特性的研究[J]. 园艺学报, 2006, 33(1): 73-77.
- [35] Kantharajah A S, McConchie C A, Dodd W A. *In vitro* embryo culture and induction of multiple shoots in lychee (*Litchi chinensis* Sonn.) [J]. Annals of Botany, 1992, 70(2): 153-156.
- [36] Carimi F, de Pasquale F, Puglia A M. *In vitro* rescue of zygotic embryos of sour orange, *Citrus aurantium* L., and their detection based on RFLP analysis[J]. Plant Breeding, 1998, 117(3): 261-266.
- [37] 李玉玲, 王勇, 孙锋, 等. 火洲黑玉和品系 SP87-13-3 胚挽救体系的建立[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2013(3): 18-20, 26.
- [38] 赵凯, 刘巧, 张剑侠, 等. 抗寒无核葡萄胚挽救影响因素的研究[J]. 北方园艺, 2013(17): 11-15.
- [39] Wang D, Wergin W P, Zimmerman R H. Somatic embryogenesis and plant-regeneration from immature embryos of strawberry [J]. HortScience, 1984, 19(1): 71-72.
- [40] 武书哲, 张娜, 田淑芬. 无核葡萄希姆劳特胚挽救中影响胚发育的因子[J]. 河北林业科技, 2014(增刊1): 41-43.
- [41] 田淑芬, 路凤珍, 温晓敏, 等. 外源添加物对无核葡萄胚挽救及胚珠发育的影响[J]. 中外葡萄与葡萄酒, 2016(5): 33-36.
- [42] 夏晶, 吴学尉, 崔光芬, 等. 西伯利亚与黄天霸正反交实验及杂种胚离体培养[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2010, 32(6): 64-68.
- [43] 杜学梅, 李登科, 王永康, 等. 枣胚培技术体系的建立[J]. 园艺学报, 2005, 32(3): 496-499.