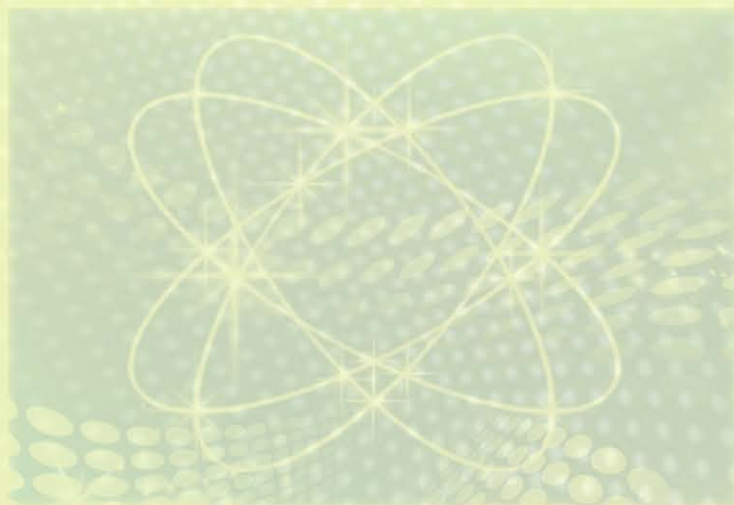


葡萄与葡萄酒文摘 (2010)

主编：王 华

编委：张艳芳 郭安鹊



陕西出版集团
陕西人民出版社

葡萄与葡萄酒文摘

(2010)

主编：王 华

编委：张艳芳 郭安鹊

陕 西 出 版 集 团

陕 西 人 民 出 版 社

图书在版编目 (CIP) 数据

葡萄与葡萄酒文摘. 2010 / 王华主编. —西安: 陕西人民出版社, 2011
ISBN 978-7-224-09678-1

I. ①葡… II. ①王… III. ①葡萄栽培—论文—内容提要—2010②葡萄酒—论文—内容提要—2010
IV. ①Z89: S663.1 ②Z89: TS262.6

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2011) 第 044161 号

葡萄与葡萄酒文摘(2010)

主 编 王 华

出版发行 陕西出版集团 陕西人民出版社

(西安北大街 147 号 邮编: 710003)

印 刷 陕西龙源印务有限公司

开 本 880mm×1230mm 16 开 19.5 印张

字 数 575 千字

版 次 2011 年 4 月第 1 版 2011 年 4 月第 1 次印刷

印 数 1-1000

书 号 ISBN 978-7-224-09678-1

定 价 38.00 元

目 录

第一部分 2010 届博士论文

西北农林科技大学

- 1.人工接种白粉菌诱导的葡萄抗白粉病相关基因的表达研究 桑春果 李嘉瑞
- 2.无核葡萄杂交胚挽救新种质创建与技术完善 唐冬梅 王跃进
- 3.不同经济作物养分吸收与累积规律研究 马文娟 同延安

上海交通大学

- 根域限制对葡萄果实发育、源库器官及其输导组织结构的影响 谢兆森 王世平

浙江大学

- 几种典型植物对大气 CO₂ 浓度升高的生理和病理响应研究 刘俊稚 田光明

山东大学

- 葡萄子原花青素抗再灌注性心律失常作用的比较蛋白质组学研究 赵改霞 高海青

第二部分 2010 届硕士论文

西北农林科技大学

- 1.葡萄酒多酚 HPLC 指纹图谱的初步研究 韩国民 王 华
- 2.整形方式对赤霞珠病害和果实品质的影响 华玉波 张振文
- 3.中国葡萄酒主产区酒球菌的鉴定及 SE-AFLP 分析 金 刚 王 华 李 华
- 4.泾阳产区葡萄与葡萄酒质量研究 刘 玲 张振文
- 5.山东省酿酒葡萄气候区划与品种区域化研究 宋华红 王 华 李 华
- 6.酿酒葡萄“爱格丽”组织培养及工厂化育苗初探 苏 娟 李 华 王 华
- 7.葡萄废弃物中可溶性膳食纤维提取工艺的研究 孙 艳 刘树文 房玉林
- 8.宁夏酿酒葡萄气候区划与品种区域化研究 王兰改 王 华 李 华
- 9.套袋对酿酒葡萄果实及葡萄酒的影响 王 睿 张振文
- 10.优选酿酒酵母菌株活性干粉的制备 王学锋 刘延琳
- 11.瑞士引种葡萄 Granior 工厂化高效育苗技术研究 王艳妮 王 华
- 12.中国野生毛葡萄和葡萄酒抗氧化能力的研究 吴 莹 李 华
- 13.河北省酿酒葡萄气候区划与品种区划研究 颜 雨 李 华
- 14.酒球菌不同菌株 16S rDNA PCR-RFLP 分析 余东亮 刘树文

15. 优选酿酒酵母菌株酿酒特性的比较研究 苑 伟 刘延琳
16. 不同整形方式对赤霞珠葡萄酒质量的影响 张军贤 张振文
17. 橡木片及超声波催干红葡萄酒的研究 周晓芳 高 畅
18. 金属离子对斯达油脂酵母发酵产油脂的影响 李 静 王 华 王 梅
19. 葡萄皮渣超微粉微波干燥工艺和抗氧化性的研究 苏 明 王 华
20. 新疆酿酒葡萄气候区划与品种区域化研究 汪 慧 李 华
21. 尿素包合法分离月见草油中 γ -亚麻酸 杨 琦 王 华 薛 刚
22. 沙城地区葡萄酒相关酵母菌和乳酸菌的分离、鉴定和代谢安全性评价
..... 张 剑 刘树文 熊正河
23. 中国野生华东葡萄新基因乙二醛氧化酶基因遗传转化部分葡萄的研究 关 心 王跃进
24. 新疆三个主栽葡萄品种秋季喷肥的效应研究 苏 婷 郭春会
25. 葡萄白粉菌侵染过程及其对叶片相关生理生化指标的影响 王 伟 张军科
26. 葡萄抗、感白粉病植株叶片蛋白质组差异比较研究 张玉洁 张军科
27. 白粉菌诱导的中国野生毛葡萄抑制消减文库构建及 EST 序列分析 赵素平 王西平
28. 叶面追肥对新疆两个葡萄品种产量和品质的影响 车俊峰 郭春会
29. 白粉菌诱导的中国野生葡萄环化 cDNA 文库中抗病基因筛选 杜 敬 张军科
30. 利用分子标记辅助选择抗病无核葡萄新优系 王 勇 张剑侠
31. 中国野葡萄锌指蛋白基因克隆及葡萄再生体系的建立 文志丰 王西平
32. 中国野生华东葡萄抗白粉病转录因子基因 *VpRFP1* 功能分析 余义和 王跃进
33. 中国野生华东葡萄抗白粉病新基因 *VpGLOX* 的表达与功能分析 赵合情 王跃进
34. 中国野生华东葡萄抗白粉病基因 (*VpUSP*) 克隆及表达分析 赵 莘 王跃进
35. 负载量及套袋对木纳格葡萄产量和品质的影响 肖 凡 王西平
36. 河北昌黎 5 个酿酒葡萄品种比较研究 陈海菊 徐凌飞 柴菊华
37. 户县秦岭北麓葡萄生态旅游景观带规划研究 乔轶佗 邹志荣
38. 嘉峪关地区酿酒葡萄良种选择及栽培技术研究 王向宏 吴万兴
39. 控制灌溉的土壤水分探头合理埋设深度研究 汪羽宁 李世清 樊 军
- 河北农业大学**
1. 硫解—高效液相色谱法测定水果及其制品中的原花色素 李 晔 崔 同
2. 张家口葡萄产区土壤元素空间变异性及其环境风险评价研究 张铁铮 刘树庆 李博文
3. 张宣葡萄产区硒元素生物地球化学特征研究 周丽娜 刘树庆
- 延边大学**
- 葡萄 *SVP-like MADS-box*、*MADS12* 基因的克隆与植物表达载体的构建
..... 赵巍巍 宗成文 曹后男
- 内蒙古农业大学**
- 中国葡萄炭疽病病原菌的鉴定及种群分化的研究 尚晶晶 周洪友 李兴红
- 塔里木大学**
- 南疆八个葡萄品种 (系) 形态学及 RAPD 亲缘关系分析 王晶晶 高疆生
- 兰州大学**
- 葡萄籽原花青素治疗大鼠复发性溃疡性结肠炎的作用及其机理研究 王艳红 吴勇杰
- 北京印刷学院**
- 缓释杀菌保鲜包装薄膜的研究 魏 华 许文才 李东立

西安理工大学

- 1.垂直线源灌溉土壤水分运动与葡萄生长特性的试验研究程慧娟 王全九
- 2.极端干旱区成龄葡萄深层坑渗灌试验研究与应用李 涛 张建丰
- 3.土石混合介质入渗与干旱区滴灌葡萄生长发育特征试验研究杨艳芬 王全九

中国农业科学院

- 1.葡萄炭疽病发生规律及防治药剂筛选的研究苏奎丽 王忠跃 李兴红
- 2.山葡萄种质资源耐盐性评价研究秦红艳 沈育杰
- 3.我国葡萄卷叶病病原分子检测技术研究裴光前 董雅凤
- 4.新疆葡萄加工品质评价和基础数据库建立汤兆星 王 强

西南大学

- 葡萄种植户技术选择意向研究李艳芬 李 容

吉林大学

- 山葡萄籽多酚提取物及抗氧化活性的研究贾 荣 倪海镜 赵春芳

四川外语学院

- 生态批评视角下《愤怒的葡萄》的和谐思想研究赵 慧 肖 谊

宁夏大学

- 1.延迟采收对红地球葡萄树体营养和果实品质的影响刘 亮 平吉成 单守明
- 2.阴阳结合型温室环境特征及红地球葡萄的生长状况对比分析李丽平 张亚红
- 3.蔗糖代谢相关酶在葡萄果实糖积累中的作用闫梅玲 王振平 代红军
- 4.设施红地球葡萄、中油4号油桃及幸运李子生长期生理变化研究解艳玲 谢应忠 张亚红
- 5.几个葡萄砧木品种的组织培养研究刘晓芹 平吉成 冯 美
- 6.外源刺激对酿酒葡萄白藜芦醇诱导合成的影响范 永 王振平
- 7.PLC与组态王在葡萄酒发酵控制系统中的应用马金雷 虎恩典
- 8.不同整形方式对设施红地球葡萄产量和品质的影响周 明 王振平 单守明

北京化工大学

- 白藜芦醇的提取纯化及性能研究蔡杨柳 陈劲春

海南大学

- 紫外诱导对葡萄和花生幼苗中白藜芦醇及其衍生物含量的影响陈贵娜 黄绵佳 李景明

西南交通大学

- 威龙葡萄酒山东区营销战略研究王 磊 史本山

浙江大学

- 1.根域限制栽培对“巨玫瑰”葡萄生长及果实品质的影响卢彩玉 滕元文
- 2.我国南方葡萄设施栽培营养障碍诊断及优质施肥技术研究雷 平 石伟勇

西北大学

- 红提葡萄白腐病拮抗微生物的选育及生物防治的应用巩 洁 陈五岭

第三部分 2010年中文期刊

葡萄学

- 1.葡萄遗传育种
- 2.葡萄栽培

- 3.葡萄病虫害及其防治
- 4.葡萄采后生理与贮藏保鲜

葡萄酒学

- 1.葡萄酒工艺
- 2.葡萄酒微生物

葡萄酒化学

- 1.葡萄与葡萄酒分析检测
- 2.葡萄与葡萄酒功能成分研究

葡萄酒工程学

葡萄酒市场与营销学

附 录

第四部分 1999~2010 年葡萄与葡萄酒自然科学基金已批项目

1999~2010 年葡萄与葡萄酒自然科学基金已批项目

后 记

第一部分 2010 届博士论文

人工接种白粉菌诱导的葡萄抗白粉病相关基因的表达研究

UNCINULA NECATOR INOCULATION INDUCED GENE EXPRESSION PROFILE OF DISEASE RESISTANCE RELATED GENES IN GRAPEVINE

作者：桑春果 导师：李嘉瑞

西北农林科技大学 果树学 2010 届博士

摘 要

葡萄白粉病是葡萄重要的真菌病害之一，研究并分离葡萄抗白粉病基因对于研究葡萄抗病机理和利用抗病基因资源有重要价值。本文以抗白粉病的中国野生种华东葡萄白河 35-1、感病欧洲葡萄品种佳丽酿及其 F1 代抗病株系 6-12-4 和感病系 6-12-2 为材料，研究了葡萄白粉菌在人工接种诱导后在不同抗病性葡萄上的侵染过程以及接种诱导后葡萄基因表达的变化动态，以期分离和鉴定与抗白粉病侵染进程相关的抗病基因，从而分离和克隆抗白粉病基因，探讨白粉病抗病机制，为中国野生葡萄抗白粉病基因资源的利用奠定基础。

对人工接种后白粉病的侵染进程的研究结果表明：（1）田间自然条件下和田间人工套袋隔离 2 w 后，葡萄抗、感白粉病植株的新梢叶片均存在自然带菌现象，但抗病植株带菌率较低；（2）接种 3 d 后感病葡萄植株叶片表面的菌丝数量快速增加，但抗病葡萄植株表面的菌丝数量增加仍然较慢，接种后 3 天内是白粉菌能否侵染的关键时期；（3）葡萄白粉病的侵染过程为：分生孢子萌发形成芽管，然后在芽管顶端萌发形成附着胞，附着胞下方长出侵染丝并侵入叶片，完成侵染过程。

采用葡萄基因表达芯片分析人工接种白粉菌后不同抗病性葡萄基因表达结果表明：

（1）欧洲葡萄基因芯片可以检测到中国野生葡萄中大约 11000 个以上基因的表达，约占探针总数的 70%，说明欧洲葡萄基因芯片可以用于检测中国野生葡萄基因的表达。

（2）人工接种诱导前，抗病葡萄上可检测到的基因数多于感病葡萄可检测到的基因数，抗病和感病葡萄植株的基因表达存在明显差异，抗病葡萄中上调表达的基因 871 个，下调表达的基因 954 个，其中上调表达倍数高的基因比例较大，上调基因主要为未知基因和细胞结构相关基因；而下调表达的基因中，下调表达倍数低的基因比例较大，下调表达的基因主要为分子功能基因，生物过程基因上调和下调的数量基本相等。

（3）人工接种白粉菌诱导 24 h 以后，抗病葡萄上可检测到的基因数多于感病葡萄可检测到的基因数，抗病葡萄中上调表达的基因 526 个，下调表达的基因 796 个，其中下调表达倍数高的基因比例较大，上调基因主要为细胞结构相关基因，下调表达的基因主要为未知基因，生物过程和分子功能基因上调和下调的数量基本相等。

（4）人工接种白粉菌诱导 48 h 以后，抗病葡萄上可检测到的基因 11839 个，少于感病葡萄可检测到的 11906 个基因数；抗病葡萄中上调表达的基因 467 个，下调表达的基因 346 个，其中上调表达倍数高的

基因比例较大,上调基因主要为分子功能相关基因,下调表达的基因主要为未知基因,生物过程和细胞结构组分相关基因,上调和下调的比例基本相等。

(5) 差异表达的基因数量与接种后时间的相关分析表明:在抗病和感病葡萄中,接种诱导后 48 h 诱导的上调基因数量多于 24 h 诱导的上调基因的数量;抗病葡萄上调基因数量的增加比例高于感病葡萄;接种诱导后 48 h 诱导的下调基因数量多于 24 h 诱导的下调基因的数量;抗病葡萄下调基因数量的增加比例低于感病葡萄。

(6) 通过芯片分析,获得了接种前、接种后 24 h 和接种后 48 h 基因表达明显上调和下调的基因清单。

关键词 葡萄 葡萄白粉病 人工接种 抗病基因 基因表达

Abstract

Powdery mildew of grapevine caused by *Uncinula necator* is one of the most important fungi diseases all over the world. Isolate powdery mildew resistance gene is of great value for resistance machineries and resistant germplasm usage. With the material of Chinese wild grapevine specie *Vitis pseudoreticulata* cv Baihe 35-1, *V. vinifera* cv Carignane, and their resistant and susceptible F1 individual 6-12-4 and 6-12-2, the invasion procedure and inoculation induced gene expression profile at different invasion stage were analyzed to isolate and certificate the pathogenesis related genes, therefore lay a valuable basis for resistant germplasm development and application. The results were as follows:

The result of invasion procedure of *Uncinula necator* after inoculation were (1)The hyphae of *Uncinula necator* were found on the surface of resistant and susceptible grapevine after two weeks bagging and under field conditions, the positive rate was lower in resistant plant than in susceptible one;(2)3 days after inoculation, the pathogen on the susceptible plant grow much quicker than that of resistant one, 3 day is the critical point for pathogenesis; (3) The anatomic structure of infected leaves showed that the procedure of invasion was as follows: spore germinated and formed germ tube after 1~3 days after inoculation, then an appressorium cell was formed at the end of germ tube, at last the new mycelium was formed from appressorium and penetrated through the epidermis and completed infection procedure.

The gene expression analysis using *Vitis vinifera* microarray showed that:

(1) More than 11000 probe sets on the microarray were positive in detecting the Chinese wild grapevine gene expression, more than 70 % of the total, implied the *Vitis vinifera* microarray can be used for Chinese wild grapevine gene expression detection.

(2) Before inoculation, there is a significant difference between resistant and susceptible plant, genes present in R plant was much more than that of S plant, the up-regulated genes and the down-regulated genes were 871 and 954, respectively. In the down-regulated genes most of them had high fold of expression, encoding unknown and cell component genes, while in the down-regulated genes, most of them had low fold expression, encoding molelare function.

(3) 24 h after inoculation, genes present in R plant was much more than that of S plant, the up-regulated genes and the down-regulated genes were 526 and 796, respectively. In the down-regulated genes most of them had high fold of expression, encoding unknown genes, while in the up-regulated genes, most of them had low fold expression, encoding cell component genes.

(4) 48 h after inoculation, number of genes present in R plant (11839) was less than that of S plant (11906),

the number of up-regulated genes and the down-regulated genes were 467 and 346, respectively. In the up-regulated genes most of them had high fold of expression, encoding molecular function genes, while in the down-regulated genes, most of them had low fold expression, encoding biology process, cell component and unknown genes.

(5) the number of differential expressed gene after 48 h was much more than that after 24 h in both resistant and susceptible plant; resistant plant had more up-regulated gene ratio than that of sensitive plant; but resistant plant had less down regulated gene ratio than that of susceptible plant.

(6) by the microarray analysis, the most up-regulated and down-regulated genes of before inoculation, 24 h after inoculation and 48 h after inoculation were listed out.

Key words Grapevine Uncinula necator Disease resistance gene Gene expression Artificial inoculation

无核葡萄杂交胚挽救新种质创建与技术完善

NOVEL GERMPLASM INNOVATION OF SEEDLESS GRAPES BY EMBRYO RESCUE AND TECHNIQUE IMPROVEMENT

作者：唐冬梅 导师：王跃进

西北农林科技大学 果树学 2010 届博士

摘 要

无核葡萄是世界范围内主要的葡萄育种目标之一。现有的无核葡萄品种多属于欧亚种群 (*Vitis vinifera* L.)，抗逆性普遍较差，市场上急需培育出抗逆、大粒及符合各种消费和农艺生产要求的优质无核葡萄新品种。传统的无核葡萄育种方法，由于无核品种的合子胚在发育进程中发生败育，只能以有核品种做母本获得有发芽力的杂交种子，而以无核品种做父本来传递无核性状，但用这种有核×无核杂交方式获得的无核后代较少，育种效率很低。利用胚挽救技术，可以用无核×无核的杂交方法来有效的提高杂交后代的无核比率。同时在杂交培育三倍体无核葡萄品种时，胚挽救技术有助于克服二倍体和四倍体之间杂交胚珠的败育。为了增强无核葡萄的抗逆性，充分利用原产我国的野生葡萄抗病和抗寒资源，用无核葡萄和中国野生葡萄进行杂交；同时为培育三倍体大粒无核葡萄品种，用二倍体和四倍体品种进行杂交，借助胚挽救技术获得杂交后代新种质，是选育抗逆、大粒、优质的无核葡萄新品种的有效途径。

本研究主要以欧亚种 (*Vitis vinifera* L.) 无核葡萄品种“无核白”、火焰无核、底来特、黎明无核、红宝石无核、森田尼无核、无核紫、皇家秋天奥兰多无核等 9 个品种和欧蔓杂种 00-3-1 ([爱莫无核×蔓莫 (*V. thunbergii* Sieb. et Zucc.)]) 为母本，与中国野生刺葡萄 (*V. davidii* Foex.) 塘尾和雪峰、山葡萄 (*V. amurensis* Rupr.) 双优及欧山杂种 (*V. vinifera* × *V. amurensis*) 北醇、无核品种火焰无核、森田尼无核、皇家秋天、奥兰多无核，欧亚种有核葡萄品种红地球、新葡一号、新郁、紫霞、里扎马特进行杂交，以及二倍体欧亚种底来特、黎明无核、森田尼无核、新郁与四倍体欧美杂种 (*V. vinifera* × *V. labrusca*) 品种巨峰、藤稔、紫珍珠、高妻之间进行杂交，共计 32 个杂交组合，运用胚挽救技术创建无核葡萄新种质；同时以优无核、奇妙无核、奥迪亚无核及以上无核葡萄品种和组合为试材，在前期试验的基础上，对葡萄胚挽救育种技术加以改进完善，主要获得了以下结果：

1. 通过无核葡萄胚挽救技术获得了葡萄田间杂交 32 个组合的葡萄新种质 1337 份。其中无核葡萄×中国野生葡萄或欧山杂种杂交组合 6 个，获得杂交植株 153 个；无核葡萄×无核葡萄杂交组合 6 个，获得杂交植株 401 个；无核葡萄×有核葡萄杂交组合 9 个，获得杂交植株 353 个；二倍体×四倍体组合 7 个，四倍体×二倍体组合 4 个，共获得杂交植株 430 个。分批次对这些杂交苗进行炼苗移栽，已有 509 个株系在大田移栽成活。

2. 对以无核白和火焰无核做亲本的 191 个杂交株系用无核探针 GSLP1 进行检测，有 77 个株系扩增出 569bp 特异带，占 40.3%。对火焰无核×塘尾杂交组合后代 84 个株系用抗黑痘病 RAPD 标记 S183-1354 进行检测，有 41 个株系扩增出 1354bp 特异带，占 48.8%。综合两种标记的检测结果，有 24 个株系同时能扩增出无核和抗黑痘病的特异带。

3. 用倍性分析仪对二倍体和四倍体之间的 12 个杂交组合 409 个后代株系进行倍性鉴定, 得到 8 个三倍体杂种株系。用胚挽救获得的成苗率明显高于成熟种子播种萌发成苗率; 以 $x \times 4x$ 的杂交方式, 比 $4x \times 2x$ 能得到更多的杂交后代, 但 $4x \times 2x$ 的杂交后代中三倍体的获得比率高于 $2x \times 4x$ 。

4. 对 10 个无核葡萄品种的胚挽救难易程度和适宜取样接种时期进行了试验评价。以相同果粒中获得的最多发育胚数和萌发胚数为评价标准, 各品种胚挽救从易到难的顺序为: 奥迪亚无核、奇妙无核、火焰无核、优无核、无核紫、皇家秋天、底来特、黎明无核、无核白、森田尼无核; 其适宜的取样接种时期分别为: 花后 40d、60d、40d、50d、70d、70d、60d、55d、35d、40d。

5. 在前期研究的基础上, 对无核葡萄胚挽救过程各个培养阶段的适宜培养条件进一步完善确定, 认为: 在胚珠发育阶段, 以 MM3 和 Nitsch+GA₃0.5 mg · L⁻¹+IAA1.5 mg · L⁻¹ 做胚珠发育培养基, 其次是 ER 培养基; 在常温下进行固液双相暗培养, 有助于提高胚发育率; 在胚萌发阶段, 使用 WPM + BA 0.2 mg · L⁻¹ 培养基, 添加 2~5 mM 腐胺有利于提高无核葡萄的幼胚萌发率, 胚的萌发率与胚的大小相关; 在萌发成苗阶段, 胚萌发形成正常苗的比率与其母本胚的发育程度有关, 白化苗的发生主要与母本基因型有关, 畸形苗在 MS + BA 2.0 mg · L⁻¹ + IBA 0.5 mg · L⁻¹ 中易于诱导形成正常茎叶, 之后接种在生根培养基 1/2 MS + IBA 0.2 mg · L⁻¹ 上可形成正常完整小植株; 在胚挽救苗的炼苗移栽阶段, 宜选择 30d 苗龄的壮苗, 对基质用高压灭菌及无菌水浇透, 每周浇 1/4 B5 培养基大量元素溶液有利于胚挽救苗的成活生长。

6. 为提高胚珠败育较早的无核葡萄品种火焰无核、无核白、森田尼无核的胚挽救成苗率, 试验确定了针对不同品种外施植物生长调节剂的适宜的药剂种类浓度和施用时期: 森田尼无核为花前 14d 施用 100 ~ 500 mg · L⁻¹ 的矮壮素; 无核白为花前 10d 施用 500 mg · L⁻¹ 的矮壮素; 火焰无核为花前 20d 施用 30 mg · L⁻¹ 的 BA。

关键词 葡萄 无核性 胚挽救 杂交育种 种质 抗逆育种

Abstract

Development of seedless grapes is one of principle objectives of grape breeders worldwide. Since the major commercial seedless grape cultivars are derived from *Vitis vinifera*, a species susceptible to diseases, it is necessary to develop new resistant, big berries and high quality seedless cultivars for meeting the demand of consumers and grapevine growers. In conventional seedless grape breeding program, seeded grape varieties were used as female parents, while seedless cultivars were used only as male parents to transmit seedless trait due to the zygotic embryo abortion. But the proportions of seedless offspring were quite low and the breeding programs were inefficient. The development of embryo rescue techniques had ensured more seedless progenies using seedless cultivars as female and male parents, and utilized to obtain triploid hybrid seedlings from crosses between diploid and tetraploid cultivars. To introgression disease resistance of China wild *Vitis* species as pollen parent into seedless *Vitis vinifera* as female parent through controlled crosses, and to produce more efficiently triploid hybrids from crosses between diploid and tetraploid grapes, it should be reliable to breed new seedless and disease resistance, large-sized berries cultivars through using embryo rescue technique.

Thirteen seedless cultivars/line (including 'Thompson Seedless', 'Flame Seedless', 'Delight', 'Dawn Seedless', 'Ruby Seedless', 'Cenennial Seedless', 'Black Monukka', 'Autumn Royal', 'Orlando Seedless', 'Superior Seedless', 'Fantasy Seedless', 'Otilia Seedless', '00-3-1') and twelve seeded cultivars (including 'Tangwei', 'Xuefen'g, 'Shuangyou', 'Beichun', 'Kyoho', 'Takatsuma', 'Zizhenxiang', 'Fujiminori', 'Xinyu', 'Red Globe', 'Zixia', 'Rizamat', 'Xinpu-1') were used in this study. 'Tangwei' and 'Xuefen' are *V. davidii*

cultivars. ‘Shuangyou’ is *V. amurensis* cultivar. ‘Beichun’ is European-Amur hybrid with *V. vinifera* and *V. amurensis*. Line ‘00-3-1’ is European-Wild hybrid with *V. vinifera* and *V. thunbergii*, ‘Kyoho’, ‘Takatsuma’, ‘Zizhenxiang’, ‘Fujiminori’ are tetraploid cultivars and European-American hybrids with *V. vinifera* and North American species (*V. spp.*), while the other cultivars are diploid and *V. vinifera* cultivars. Thirty-two crosses, including seedless×China wild *Vitis* species (and hybrid ‘Beichun’), seedless×seedless, seedless×seeded, interploid crosses between diploid and tetraploid cultivars, were carried out in order to obtain the novel seedless germplasm through embryo rescue. Meanwhile the cultivars and hybrid ovules above were used to improve the technique of embryo rescue on the basis of previous study, involved in demonstrating the effect of influence factors during different embryo rescue stages and the effect of exogenous application of plant growth regulators on development of ovule and subsequent embryo rescue of stenospermic grape. The main results were in the following:

1. We had obtained 1337 hybrid seedlings from 32 crosses through embryo rescue technique, including 153 hybrid seedlings from 6 crosses of seedless×China wild *Vitis* species (or Beichun), 401 hybrid seedlings from 6 crosses of seedless×seedless, 353 hybrid seedlings from 9 crosses of seedless×seeded, 430 hybrid seedlings from 8 crosses of diploid×tetraploid and 4 crosses of tetraploid×diploid. The hybrid seedlings had acclimatized and transplanted into seedling nursery in batches, 509 survival lines were obtained.

2. The detection of the seedlessness in 191 hybrid lines was performed using seedless specific probe GSLP1, 77 lines (40.3%) amplified the 569 bp specific band. Assistant selection of RAPD marker S183-1354 of resistance to anthracnose was carried out for the cross of ‘Flame Seedless’×‘Tangwei’. 41 lines (48.8%) amplified the 1354 bp specific band from 84 lines. After comprehensive detection using the two molecular markers, 24 lines of seedlessness and resistance to anthracnose as well were selected.

3. Eight triploid hybrid progenies were obtained from 409 lines of the 12 crosses between diploid and tetraploid grapes by flow cytometry identification. The results showed that regeneration rate of hybrid seedlings obtained by embryo rescue were obviously higher than that of obtained by sowing mature seeds. It could be confirmed that larger amount of hybrid seedlings were obtained from the cross form of $2x \times 4x$ than the cross form $4x \times 2x$, while more triploid hybrid progenies were obtained from the cross form of $4x \times 2x$ than the cross form of $2x \times 4x$.

4. The investigation was conducted to evaluate the feasibilities and optimal sampling periods of 10 seedless grape cultivars. By measuring in terms of most number of developed embryos or germinated embryos per berries, the result showed that the order from ease to difficulty of embryo rescue was ‘Otilia Seedless’, ‘Fantasy Seedless’, ‘Flame Seedless’, ‘Superior Seedless’, ‘Black Monukka’, ‘Autumn Royal’, ‘Delight’, ‘Dawn Seedless’, ‘Thompson Seedless’, and ‘Centennial Seedless’. The optimal sampling dates of above cultivars for embryo rescue were 40 DAB, 60 DAB, 70 DAB, 40 DAB, 50 DAB, 70 DAB, 70 DAB, 60 DAB, 55 DAB, 35 DAB, 40 DAB, respectively.

5. The effects of various correlative factors on embryo rescue *in vitro* were investigated at every culture stage on the basis of previous experiment. At the stage of ovule culture, the results indicated that MM3 and Nitsch + GA_3 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IAA $1.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ medium were most suitable for embryo development, and the next was ER medium. Solid-liquid double phase medium and room temperature had positive effect on embryos development *in vitro*. At the stage of embryo germination, WPM + BA $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ medium, and supplemented with 2~5 mM Put had positive effect on embryos germination. It showed that embryo germination correlated with size of embryo. At the stage of plantlet regeneration, the results indicated that rates of normal plantlets was relative to zygotic embryo

development degree of grape cultivars, and the emergence of albino seedlings connected with maternal genotypes. The optimal medium of converting abnormal plantlets was MS + BA $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + IBA $0.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, the plantlets with normal shape stems and leaves produced roots on MS medium supplemented with $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ IBA, therefore normal plantlets were regenerated from abnormal plantlets. At the stage of plantlet acclimatization and transplantation, the suitable seedling age was 30 days. It was beneficial to survival of embryo rescue seedlings that mixture substrate was autoclave sterilized and the solution of 1/4 B5 macro element irrigated seedlings every week.

6. The effects of exogenous application of plant growth regulators on embryo rescue of high abortion cultivars 'Centennial Seedless', 'Thompson Seedless' and 'Flame Seedless' were discussed. The optimum concentration and period of application of plant growth regulators was determined: $100\sim 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ chlormequat application in 'Centennial Seedless' 14 days before bloom, $500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ chlormequat application in 'Thompson Seedless' 10 days before bloom, $30 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ benzyl adenine application in 'Flame Seedless' 20 days before bloom.

Key words Grapevine Seedlessness Embryo rescue Hybrid breeding Seedlings Breeding for stress resistance

不同经济作物养分吸收与累积规律研究

RESEARCH ON NUTRIENTS UPTAKE AND ACCUMULATION IN DIFFERENT CASH CROPS

作者：马文娟 导师：同延安

西北农林科技大学 土壤学 2010 届博士

摘 要

氮、磷、钾等大量营养元素是植物生长所必需的营养物质，它与蛋白质、酯类、核酸、维生素等密切相关，对植物各种生理过程的关键步骤起调控作用。本研究以红地球葡萄、线辣椒、马铃薯为试材，研究了葡萄树根系分布情况、主要生长期各器官及木质部和皮层的生物量、养分含量、养分累积量变化动态；探讨了平衡施肥对线辣椒和马铃薯产量、品质及养分累积的影响。取得的主要研究结果如下：

1. 葡萄树生长动态与根系分布研究

本试验选取陕西省扶风县新集村 7 年树龄的葡萄园为试验果园，在不同生育阶段对葡萄树进行刨根、肢解，以测定各器官生物量、养分含量及累积量的变化。结果显示，该葡萄园年生物量增加 12369 kg/hm^2 。其中枝条（除新梢外其他枝条）与主干生物量增加 2481 kg/hm^2 和 1939 kg/hm^2 ，占生物量总累积的 19% 和 15%。新生器官即叶、果实、新梢生物量分别为 2357 、 4866 、 6118 kg/hm^2 ，新梢旺长期之后，新生器官生物量累积迅速。根系生物量在主要生长期变化不大，在 $2302 \text{ kg/hm}^2 \sim 4132 \text{ kg/hm}^2$ 范围内波动，但总体呈增加趋势，生物量净增加 1830 kg/hm^2 ，占整株的 14.8%。葡萄根系不同时期在土壤中的分布情况变化不大，主要分布在 $0 \sim 40 \text{ cm}$ 的土层，占总根量的 86.7%。随着土壤深度的增加，葡萄树根量减少。 $40 \sim 60 \text{ cm}$ 的根量占了 7.4%， $60 \sim 80 \text{ cm}$ 的根量只有 3.6%， $80 \sim 100 \text{ cm}$ 土层中仅为 2.3%。5 月 10 日至 6 月 30 日为 $0 \sim 20 \text{ cm}$ 根系的一次生长高峰。

2. 葡萄树对氮素的吸收利用与累积规律

该葡萄园鲜果产量 18 t/hm^2 ，年吸收氮素总量为 97.13 kg/hm^2 ，主要在新梢旺长期和果实膨大期，分别占吸收总量的 39% 和 30.5%。每形成 1000 kg 葡萄，需要吸收氮素 5.4 kg 。氮素在红地球葡萄树各器官中的分布为：叶片 > 果实 > 新梢 > 根系 > 枝条 > 主干；皮层 > 木质部。地上部分氮素累积量 94.49 kg/hm^2 ，占氮素吸收总量的 97%；根系氮素累积量 2.64 kg/hm^2 ，占氮素吸收总量的 3%；叶片和果实带走的氮素量分别为 35.09 kg/hm^2 和 32.27 kg/hm^2 ，占氮素吸收量的 36% 和 33%。新生枝条累积的氮素量为 23 kg/hm^2 ，占氮素吸收量的 23.7%，每年修剪枝条带走的氮素量为 5.11 kg/hm^2 ，占氮素吸收量的 5%。叶片、果实与修剪枝条带走的氮素需要施肥予以补偿。据此计算该葡萄园合理施氮量为 $\text{N } 129.5 \text{ kg/hm}^2$ （产量 18 t/hm^2 ），其中基施 39.4 kg/hm^2 ，新梢旺长期和果实膨大期分别施 50.7 kg/hm^2 和 39.4 kg/hm^2 。

3. 葡萄树对磷素的吸收利用与累积规律

早期果树器官建造主要利用树体贮存的磷素，且磷的分配随生长中心的转移而转移，同一物候期器官皮层与木质部磷含量顺序均为：根系 > 枝条 > 主干。葡萄树体年吸收磷素 33.1 kg/hm^2 ，地上部累积 29.3 kg/hm^2 ，占累积总量的 88.5%。叶与果实分别携走 3.1 kg/hm^2 和 11.9 kg/hm^2 ，每年修剪枝条带走的磷素量

为 1 kg/hm^2 。新梢、枝条（除新梢外其他枝条）、主干年累积磷素为 9.1 kg/hm^2 、 3.5 kg/hm^2 、 1.6 kg/hm^2 ，根系累积 3.8 kg/hm^2 。果实膨大期果树吸收磷素量较大，为 15.4 kg/hm^2 ，占总吸收量的 47%，是磷素营养最大效率期。本试验每形成 1000 kg 经济产量需要 P_2O_5 量为 1.84 kg ，推荐葡萄树年施纯磷 55.1 kg/hm^2 （产量 18 t/hm^2 ），果实收获后秋季基施 29.2 kg/hm^2 ，果实膨大期之前追施磷 25.9 kg/hm^2 。

4. 葡萄树对钾素的吸收利用与累积规律

主要生长期葡萄树叶钾含量呈先升高后降低的趋势，新梢与果实钾含量在生育期内持续下降，相同物候期不同器官钾含量总趋势为新生器官（新梢、叶片和果实）高于成龄器官（枝条、主干、根系）。生长期葡萄树体共吸收钾素 140.52 kg/hm^2 ，其中叶与果实携走钾素为 17.24 kg/hm^2 、 64.29 kg/hm^2 ，每年修剪枝条带走的钾素量为 3.47 kg/hm^2 ；新梢、枝条、主干分别累积钾素 31.63 kg/hm^2 、 8.43 kg/hm^2 、 7.06 kg/hm^2 ，根系累积 11.87 kg/hm^2 。新梢旺长期和果实膨大期需钾量较大，分别吸收钾素 38.59 kg/hm^2 和 64.29 kg/hm^2 ，占全年总吸收量的 27.5% 和 45.8%。本试验每形成 1000 kg 经济产量需要 K_2O 量为 7.8 kg ，推荐施 K_2O 量为 175.6 kg/hm^2 （产量 18 t/hm^2 ），基施 46.9 kg/hm^2 ，新梢旺长期和果实膨大期分别追施 48.3 kg/hm^2 和 80.4 kg/hm^2 。

5. 平衡施肥对线辣椒产量、品质及养分累积的研究

田间试验于 2007—2008 年在陕西凤翔县彪角镇李家堡进行，试验设 NPK、PK、NK、NP、CK 5 个处理。结果表明：平衡施肥可使产量最高达 22001 kg/hm^2 ，纯收益 18830 元/hm^2 。NPK、PK、NK、NP 比 CK 处理分别增产 38.9%、22%、28.4% 和 17.2%。每施入 1 kg N 、 $1 \text{ kg P}_2\text{O}_5$ 、 $1 \text{ kg K}_2\text{O}$ 线辣椒产量依次增加 11 kg 、 10 kg 、 17 kg 。每形成 100 kg 经济产量吸收的养分量为： N 1.87 kg 、 P_2O_5 0.42 kg 、 K_2O 1.42 kg 。NPK 处理养分累积量均最高，分别为 410 kg/hm^2 、 93 kg/hm^2 、 311 kg/hm^2 。PK 处理使辣椒果实硝态氮与维生素 C 含量分别降低 2.3 mg/kg 和 223 mg/kg ，差异显著；NK 处理维生素 C 含量降低 51 mg/kg ；NP 处理使辣椒果实的硝态氮含量提高了 9.6 mg/kg ，维生素 C 含量下降了 279 mg/kg 。本试验氮肥利用率 38.4%，磷肥利用率 17.6%，钾肥利用率 37.4%。按照合理施肥量 = （肥料吸收量 - 土壤天然供肥量）/ 肥料利用率（%）公式计算，推荐 NPK 施用量分别为 262 kg/hm^2 、 155 kg/hm^2 、 213.6 kg/hm^2 。适宜的 $\text{N}:\text{P}_2\text{O}_5:\text{K}_2\text{O}$ 为 $1:0.59:0.82$ 。氮磷钾肥平衡施用才能保证线辣椒产量高、品质好、效益佳。

6. 马铃薯对氮磷钾的肥效反应田间试验在陕西华县与米脂县同时进行

两试验均为 NPK、PK、NK、NP、FP、CK 6 个处理，各处理施肥量不同。受土壤及气候类型影响，氮磷钾肥对两地块马铃薯产量影响顺序也不同，华县表现为： $\text{N} > \text{K} > \text{P}$ ， 1 kg N 、 $1 \text{ kg P}_2\text{O}_5$ 、 $1 \text{ kg K}_2\text{O}$ 分别增产马铃薯 32.6 kg 、 4.3 kg 、 24.7 kg ，平衡施肥最高产量可达 47916 kg/hm^2 ；米脂表现为： $\text{K} > \text{N} > \text{P}$ ， 1 kg N 、 $1 \text{ kg P}_2\text{O}_5$ 、 $1 \text{ kg K}_2\text{O}$ 分别增产马铃薯 16.8 kg 、 4.7 kg 、 21.6 kg ，平衡施肥最高产量可达 26527 kg/hm^2 。对马铃薯不同处理经济效益分析表明，科学施用化肥既能节约成本，又能提高马铃薯的经济效益。米脂马铃薯生育前期生长较快后期缓慢，华县相反。华县试验氮、磷、钾吸收量分别为 232.7 kg/hm^2 、 46.4 kg/hm^2 、 210.8 kg/hm^2 ，而米脂氮、磷、钾吸收量为 170.4 kg/hm^2 、 32.4 kg/hm^2 、 162.8 kg/hm^2 。本试验推荐施肥量，华县 N 363 kg/hm^2 、 P_2O_5 86 kg/hm^2 、 K_2O 301 kg/hm^2 ，米脂 N 258 kg/hm^2 、 P_2O_5 82 kg/hm^2 、 K_2O 58 kg/hm^2 （注：推荐量上下波动 20% 均为合理范围）。

7. 葡萄与线辣椒施肥现状评估

前文已对葡萄和线辣椒做了大量研究，并提出了推荐施肥量，为了结合农民实际情况并提出合理的施肥建议，于 2008 年 11 月 28 日至 11 月 30 日在揉谷乡、合阳县和凤翔县进行葡萄、线辣椒种植与施肥情况调查。结果表明：（1）葡萄种植户中，氮肥用量偏高、合适与偏低的农户分别占 86.9%、8.3% 和 4.8%；磷肥用量偏高、合适与偏低的农户分别为 72.6%、16.7% 和 10.7%；钾肥用量偏高、合适与偏低的农户分别为 20.3%、6% 和 74.7%；建议农户降低氮磷肥的用量，增加钾肥的施用量。（2）线辣椒氮肥用量偏高、