

无核葡萄胚败育生理生化因子灰色关联分析

纪薇^{1,2,3,*}, 郭荣荣^{1,2,3,*}, 王静波^{1,2,3}, 焦晓博^{1,2,3}, 闫钊⁴, 昌秦湘⁴,
董志刚^{2,5}, 王跃进^{1,2,3,**}

(¹山西农业大学园艺学院, 山西太谷 030801; ²果树种质创制和利用山西省重点实验室, 太原 030031; ³农业部黄土高原作物基因资源与种质创制重点实验室, 太原 030031; ⁴太原学院, 太原 030032; ⁵山西省农业科学院果树研究所, 山西太谷 030815)

摘要: 以无核葡萄‘无核翠宝’、‘丽红宝’和有核葡萄‘赤霞珠’(对照)为试材, 观测其发育过程中果实和胚珠的形态学、生理学变化, 利用主成分分析法对 6 个生理生化指标进行分析, 结合灰色关联度分析, 筛选出与无核葡萄胚败育相关的主要生理生化因子。结果表明, ‘无核翠宝’和‘丽红宝’分别于花后 36 d 和 32 d 胚珠畸形率达最高, 开始败育。随着果实发育, 3 个葡萄品种胚珠中丙二醛(MDA)含量呈上升趋势; 果肉中可溶性糖和可溶性蛋白含量均呈上升趋势, 但在无核葡萄胚珠中先增后降, 在败育时期达到最大; POD 和 CAT 活性在两个无核品种中先升后降, 在败育时期的胚珠中显著高于有核葡萄, 而在果肉中显著低于有核葡萄; 胚珠的 SOD 活性在无核葡萄败育前显著增加, 在有核葡萄中则呈上升趋势。综合分析, 无核葡萄果肉中可溶性糖、可溶性蛋白含量和胚珠中 MDA、可溶性蛋白含量, SOD 活性等生理指标为无核葡萄胚败育的主要影响因子, 其中胚珠 SOD 活性与无核葡萄胚败育关联度最高, 其次是果肉可溶性蛋白含量和胚珠数。本研究为今后无核葡萄胚挽救育种采样时期的确定提供了理论指导。

关键词: 葡萄; 无核; 胚败育; 生理生化因子; 灰色关联度

中图分类号: S 663.1

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2019) 08-1473-13

Grey Correlation Analysis of Physiological and Biochemical Factors in Embryo Abortion of Seedless Grape

Ji Wei^{1,2,3,*}, Guo Rongrong^{1,2,3,*}, Wang Jingbo^{1,2,3}, Jiao Xiaobo^{1,2,3}, Yan Zhao⁴, Chang Qinxiang⁴,
Dong Zhigang^{2,5}, and Wang Yuejin^{1,2,3,**}

(¹College of Horticulture, Shanxi Agricultural University, Taigu, Shanxi 030801, China; ²Province Key Laboratory of Fruit Germplasm Development and Utilization, Taiyuan 030031, China; ³Key Laboratory of Crop Gene Resources and Germplasm Enhancement on Loess Plateau, Ministry of Agriculture, Taiyuan 030031, China; ⁴Taiyuan University, Taiyuan 030032, China; ⁵Pomology Institute, Shanxi Academy of Agricultural Sciences, Taigu, Shanxi 030815, China)

Abstract: This study was to determine the major physiological and biochemical factors affecting embryo abortion in seedless grape. Two seedless grape varieties, ‘Wuhe Cuibao’ and ‘Lihongbao’, and

收稿日期: 2019-03-20; **修回日期:** 2019-07-01

基金项目: 山西省重点研发计划(指南)项目(201703D221014-4); 山西省青年拔尖人才支持计划项目(2018); 山西省高等学校优秀青年学术带头人(2017); 山西农业大学青年拔尖创新人才支持计划项目

* 共同第一作者

** 通信作者 Author for correspondence (E-mail: wyjyxp@sohu.com)

one seeded variety, ‘Cabernet Sauvignon’ (control), were used. Morphological index, physiological and biochemical change in pulp and ovule were observed and measured at various days after full bloom. Major parameters related to embryo abortion were determined using principal component analysis and grey correlation analysis. The results showed that the rate of ovule deformity reached the highest at 36 days after full bloom for ‘Wuhe Cuibao’ and at 32 days after full bloom for ‘Lihongbao’, at those days the ovules began to abort. In the three grape varieties, the content of MDA in ovule and the content of soluble sugar and soluble protein in pulp increased with fruit development. In both seedless varieties, soluble sugar and protein in ovule reached the highest content during abortion, and then decreased. The activities of POD and CAT in seedless grapes first increased and then decreased. During abortion, ovule POD and CAT activities were significantly higher in the seedless varieties compared to the seeded variety, but the converse was also true for pulp POD and CAT activities. In the seedless varieties, the activity of SOD in ovule increased significantly before abortion; in the seeded variety, ovule SOD activity increased slowly with time. The analysis demonstrated that in seedless grape the major factors affecting embryo abortion are pulp soluble sugar and protein, ovule MDA, ovule soluble protein and ovule SOD. Among them, ovule SOD activity showed the best correlation with embryo abortion, followed by pulp soluble protein content and ovule number. This study could provide the theoretical guidance for determining sampling time in embryo-rescue breeding programs for seedless grape.

Keywords: grape; seedless; embryo abortion; physiological and biochemical factors; grey correlation

由于单性结实型 (Parthenocarpy) 葡萄缺少种子无法繁殖育种, 所以当前的无核葡萄品种多数由“假单性结实型 (Pseudo-parthenocarpy)”或“种子败育型 (Stenospermocarpy)”品种培育而来, 即发生正常受精作用, 但在发育过程中胚胎出现败育, 导致果实没有种子, 或种子呈干瘪状, 而子房壁和花托可以发育形成果实 (潘学军 等, 2011; Jiao et al., 2017)。

葡萄的无核性状一直是珍贵的品质特性之一 (Royo et al., 2018; 李志瑛 等, 2019), 提高育种效率已成为无核葡萄育种的主要任务之一。无核葡萄胚挽救技术很好地解决了传统杂交方法耗时长且后代无核率较低的问题 (Ji & Wang, 2013; 李志瑛和王跃进, 2019)。然而, 决定胚挽救成败的重要因子之一是确定最佳采样时期 (张剑侠 等, 2013), 研究清楚无核葡萄胚败育特性及其主要影响因素是做好这一工作的前提。研究认为, 无核葡萄胚败育是一种细胞程序性死亡现象 (魏蓉 等, 2013), 主要影响因素包括内源激素 (Tang et al., 2009; Li et al., 2014)、营养调节物质 (马丽 等, 2018)、活性氧代谢 (潘学军 等, 2011)、基因表达 (Hanania et al., 2009; Yang et al., 2018) 等。

本研究中选取‘无核翠宝’、‘丽红宝’和‘赤霞珠’葡萄为试验材料, 观察其发育进程中胚珠和浆果的形态变化, 并进行生理生化指标的测定; 利用主成分分析法对 6 个生理生化指标进行分析, 结合灰色关联分析, 确定与胚败育相关的主要生理生化因子, 旨在为杂交亲本的选择和胚挽救时期提供直观的科学依据, 为改良胚珠离体培养条件, 提高杂交坐果率、胚挽救成苗率等提供理论指导。

1 材料与方 法

1.1 试材及取样

选取种子败育型无核葡萄‘无核翠宝’和‘丽红宝’以及有核葡萄‘赤霞珠’（对照）为试材，于 2017 年 5 月，花后 20~60 d，每隔 4 d，于上午 9 时左右采集葡萄果实，置于冰盒中带回实验室。将胚珠和果肉剥离后，进行形态学指标测定和生理指标的测定。所有材料均取自山西省农业科学院果树研究所葡萄国家种质资源圃（E112°32′，N37°23′，海拔 833 m ± 4 m）。

1.2 葡萄发育过程中形态学指标测定

随机选取 10 粒葡萄果实，用 SI-234 万分之一天平称其总质量，并计算单粒质量，用 GB/T 21389 游标卡尺测量果粒横径、纵径，计算果粒体积；随后，剥离胚珠，统计 10 粒果实中的胚珠总数和畸形胚珠数；同时，随机选取 30 粒胚珠，称重，并计算单粒质量，测量胚珠横径、纵径，计算胚珠体积（胡子有，2018）。

1.3 葡萄发育过程中生理指标测定

MDA 含量的测定参考赵浩暖等（2016）的方法，略有改动，采用 0.5% 硫代巴比妥酸溶液进行显色反应；可溶性糖含量和可溶性蛋白含量的测定参考王丽丽等（2017）的方法，略有改动，样品中加入 5 mL 80% 乙醇提取可溶性糖；SOD、POD、CAT 活性的测定参考王海波等（2016）的方法。

1.4 数据分析

各处理均设 3 组重复，利用 Excel 10.0 进行数据统计分析，GraphPad Prism 5.0 作图，SPSS21.0 对各指标测定结果进行主成分分析。利用灰色关联分析评价与葡萄胚败育关联的生理指标（李桂荣等，2018）。计算关联系数， $\xi_i(k) = [\min\Delta_i(k) + \rho\max\Delta_i(k)] / [\Delta_i(k) + \rho\max\Delta_i(k)]$ 。式中： $\min\Delta_i(k)$ 、 $\max\Delta_i(k)$ 分别为所有比较数列绝对差值的最小值和最大值， $\Delta_i(k)$ 为第 i 个比较数列绝对差值。本研究中 $\min\Delta_i(k)$ 为 0、 $\max\Delta_i(k)$ 为 0.98； ρ 为分辨系数， $0 < \rho < 1$ ，通常取 0.5。

关联度， $\gamma_i = \frac{1}{N} \sum_{k=1}^N \xi_i(k)$ ， γ_i 为第 i 个比较数列与参考数列的等权关联度， N 为样本数量。

2 结果与分析

2.1 不同品种葡萄发育过程中果实与胚珠的质量变化

随着果实发育，3 个葡萄品种的浆果质量，均呈持续上升的趋势，呈“S”曲线（图 1）。两个无核葡萄品种的胚珠质量呈现单峰曲线，且均在花后 32 d 达到峰值，分别为 0.44 和 2.24 g，之后，部分胚珠停止正常发育，出现败育；而有核对照品种‘赤霞珠’的胚珠呈现上升后趋于平缓的趋势。

2.2 不同品种葡萄发育过程中果实与胚珠的横、纵径和体积的变化

‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠横、纵径与体积均在发育前期呈现显著增加，达到较大值后降低的趋势（图 2），其中在花后 32 d 胚珠纵径和体积均达到峰值，花后 36 d 胚珠横径均达到最大值；且在整个发育过程中，‘丽红宝’的胚珠横、纵径和体积显著小于‘无核翠宝’。

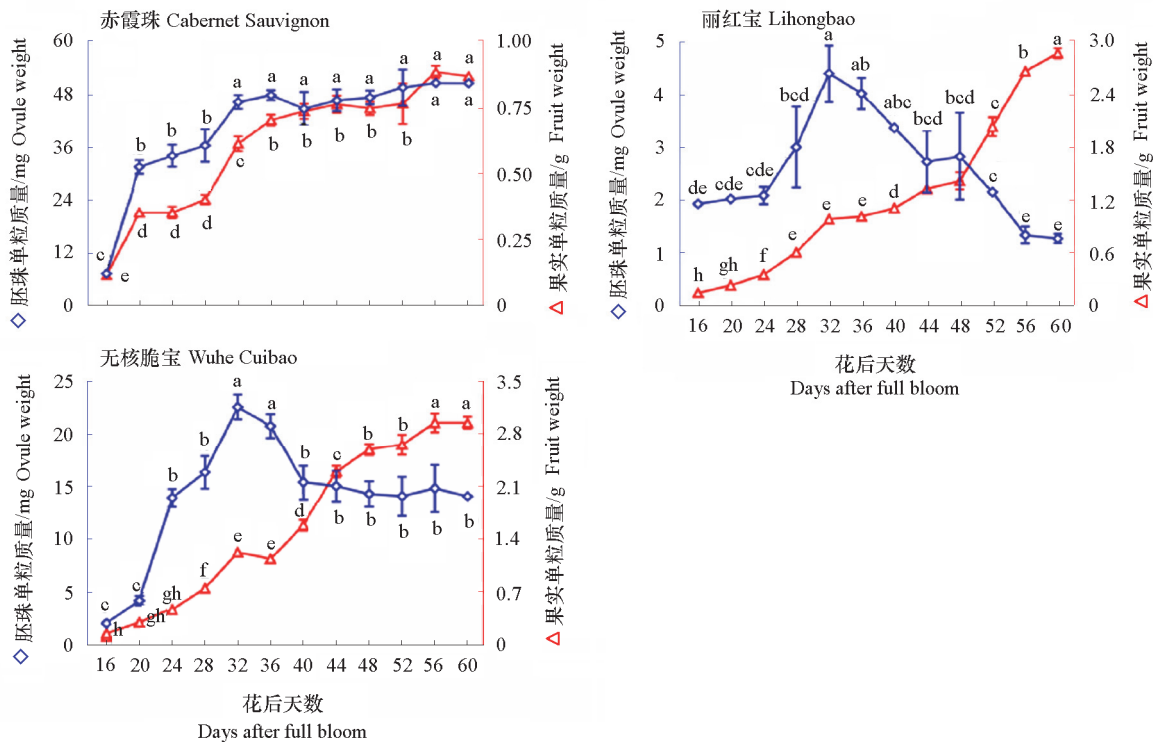
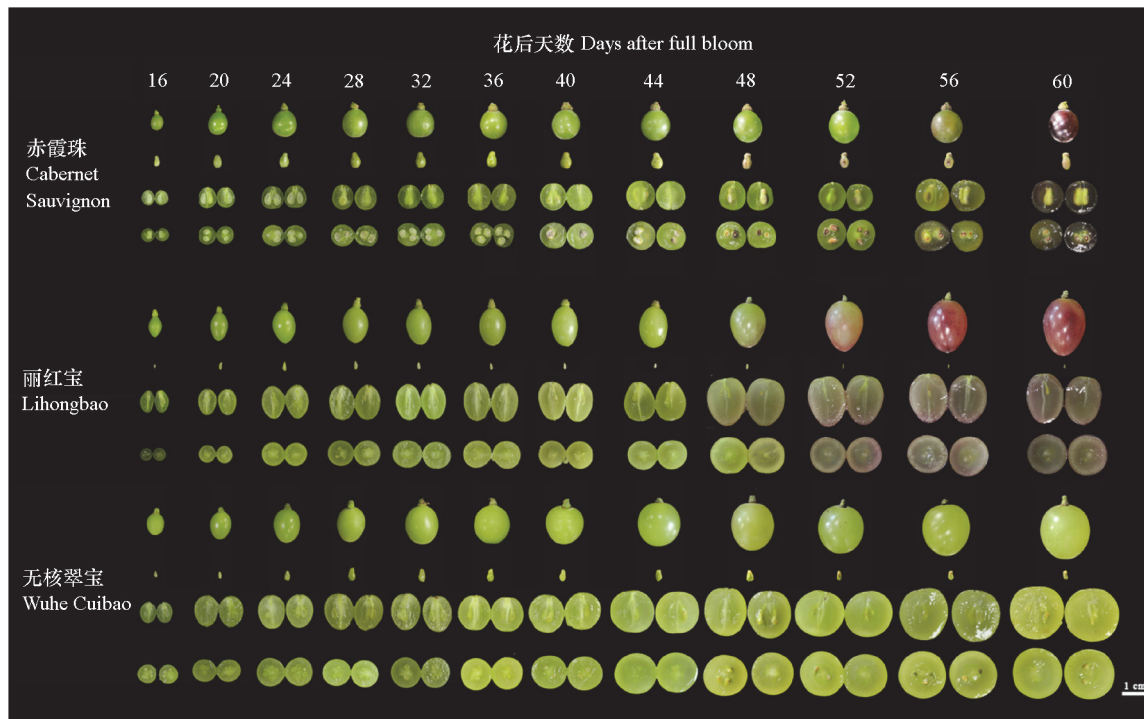


图 1 不同时期葡萄果实和胚珠发育动态

图中不同小写字母表示同一品种不同取材时期在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异, 下同。

Fig. 1 Dynamics of grape fruit and ovule development in different periods

The different letters mean the difference at the $P < 0.05$ level of the same cultivar at different development stages. The same below.

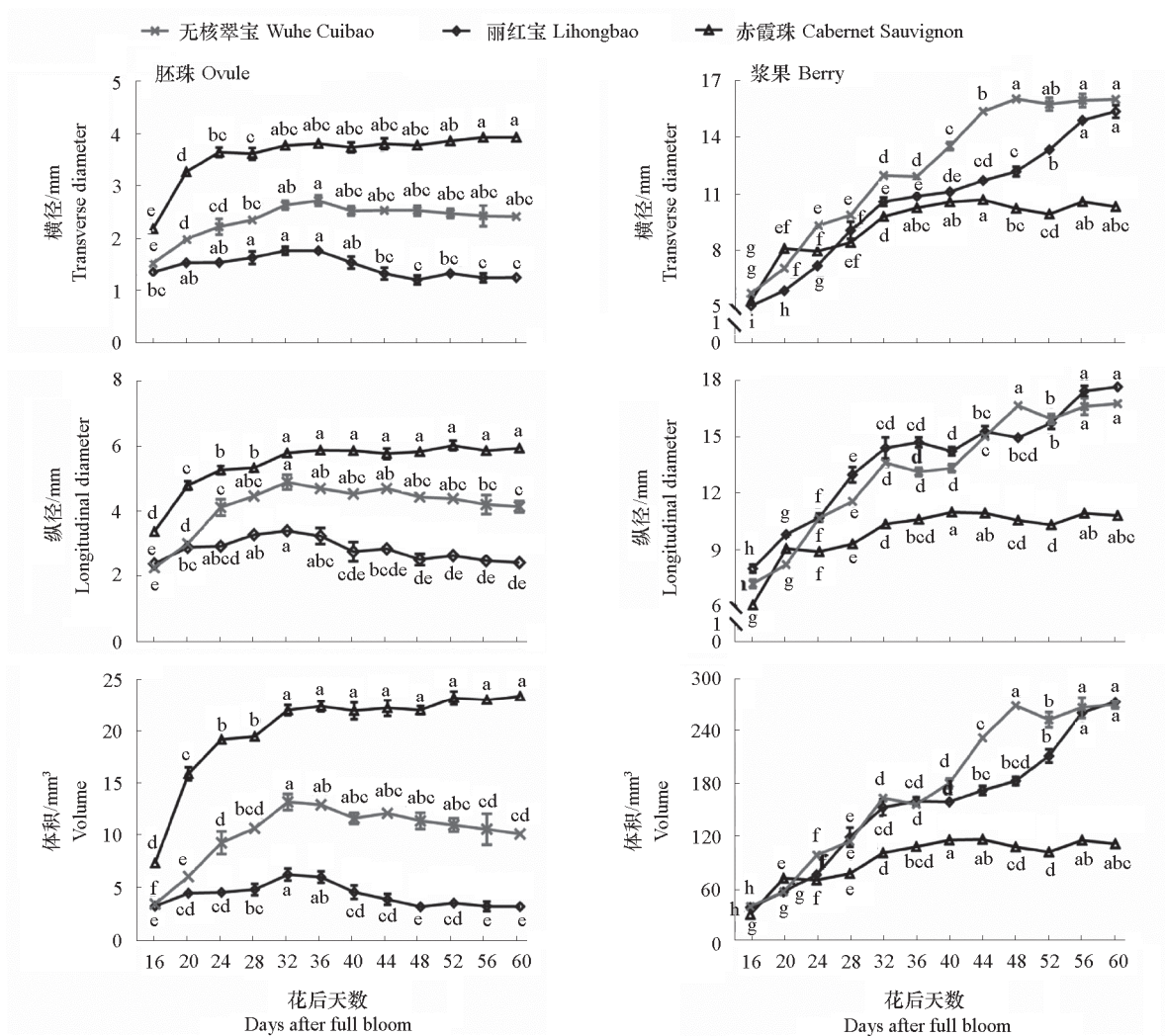


图 2 不同品种葡萄发育过程中胚珠、浆果横径与体积

Fig. 2 The transverse, longitudinal diameter and volume of ovules and berries during the development

两个无核葡萄浆果横径、纵径和体积均呈现持续增大的趋势，与浆果质量变化趋势类似，其中‘无核翠宝’的浆果横径在花后 24 d 之后始终高于‘丽红宝’，而其纵径在花后 24 ~ 60 d 多低于‘丽红宝’。对照品种有核的‘赤霞珠’胚珠和浆果的横径、纵径和体积先快速增长后变化平稳，其中胚珠的横、纵径和体积均在花后 40 d 左右达到峰值，之后变化较小。由此说明败育型葡萄胚珠在生长后期发育停滞，种腔逐渐空瘪，胚珠横、纵径与体积的变化与胚珠鲜质量的变化较为一致。

2.3 不同品种葡萄发育过程中胚珠数量的变化

随着果实的发育，败育型葡萄‘无核翠宝’和‘丽红宝’的胚珠畸形率均显著增加，‘无核翠宝’在花后 36 ~ 40 d，其胚珠畸形率由 28.3% 增加至 60.8%，花后 60 d 增加至 85% 以上，而‘丽红宝’在花后 32 ~ 36 d，其胚珠畸形率由 20.9% 增长到 46.1%，并且在花后 60 d，上升至 96.1%。而有核品种‘赤霞珠’的胚珠在发育前期会出现部分胚珠畸形，但胚珠的畸形个数始终小于两个种子

败育型的无核品种，随着胚珠的发育，畸形胚珠逐渐消失，且于花后 52 d 全部消失，正常胚珠数达到 100%。由此说明，‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠分别于花后 36 和 32 d 开始败育。

表 1 不同类型葡萄发育过程中胚珠数量
Table 1 The number of ovules during the development of different types of grapes

| 花后天 数/d Day after full bloom | 胚珠总数 Number of total ovules | | | 畸形胚珠数 Number of malformed ovules | | | 畸形胚珠百分数/% Percentage of malformed ovules | | |
|------------------------------------------|--------------------------------|------------------|------------------------------|-------------------------------------|------------------|------------------------------|---------------------------------------------|------------------|------------------------------|
| | 无核翠宝 Wuhe Cuibao | 丽红宝 Lihongbao | 赤霞珠 Cabernet Sauvignon | 无核翠宝 Wuhe Cuibao | 丽红宝 Lihongbao | 赤霞珠 Cabernet Sauvignon | 无核翠宝 Wuhe Cuibao | 丽红宝 Lihongbao | 赤霞珠 Cabernet Sauvignon |
| 16 | 15.7±0.8 c | 17.7±0.7 a | 16.0±0.6 d | 3.7±0.3 f | 3.3±0.7 d | 2.7±0.3 a | 21.5±1.4 de | 18.8±3.6 ef | 16.6±1.7 ab |
| 20 | 19.0±1.0 bc | 18.3±0.3 a | 16.7±0.3 cd | 2.7±0.3 f | 2.3±0.3 d | 2.3±0.3 ab | 13.8±1.8 e | 12.8±2.0 f | 14.1±2.3 ab |
| 24 | 21.7±2.6 ab | 19.3±0.9 a | 16.0±1.5 d | 3.0±0.0 f | 4.0±1.2 d | 2.3±0.9 ab | 18.1±1.0 e | 20.6±6.0 ef | 14.5±4.7 ab |
| 28 | 21.2±1.9 ab | 16.7±1.5 a | 16.7±0.7 cd | 5.0±0.6 ef | 4.3±0.9 d | 2.0±0.0 ab | 29.2±2.4 d | 25.5±3.1 e | 12.0±0.5 abc |
| 32 | 25.3±1.1 a | 19.3±0.9 a | 18.3±0.9 cd | 7.0±0.6 e | 4.0±0.6 d | 3.3±0.3 a | 26.3±2.2 d | 20.9±3.6 ef | 18.3±2.1 a |
| 36 | 22.7±1.3 ab | 16.7±0.9 a | 20.0±1.2 bc | 6.3±0.3 e | 7.7±0.3 c | 2.0±0.6 ab | 28.3±0.6 d | 46.1±0.8 d | 9.9±2.8 bcd |
| 40 | 21.3±1.1 ab | 16.3±1.2 a | 19.7±1.7 bcd | 12.0±1.2 d | 9.0±0.6 c | 1.0±0.6 bc | 60.8±1.4 c | 55.2±1.2 d | 5.2±3.2 cde |
| 44 | 22.8±1.2 ab | 18.7±0.9 a | 18.7±1.3 cd | 16.3±1.2 c | 15.0±1.5 ab | 2.3±0.3 ab | 74.8±2.8 b | 79.9±4.7 bc | 12.5±1.4 abc |
| 48 | 22.5±0.8 ab | 17.7±0.9 a | 22.7±0.7 ab | 18.0±1.2 bc | 13.0±1.5 b | 1.0±0.6 bc | 76.2±5.4 b | 73.2±5.5 c | 4.5±2.6 de |
| 52 | 21.0±0.8 ab | 17.0±1.0 a | 22.7±1.3 ab | 18.3±1.2 abc | 14.7±0.9 ab | 0.0±0.0 c | 85.9±2.5 a | 86.3±1.6 ab | 0 e |
| 56 | 21.7±1.2 ab | 18.3±0.9 a | 23.0±2.1 ab | 20.7±1.2 a | 17.3±1.3 a | 0.3±0.3 c | 90.1±3.5 a | 94.3±3.2 a | 1.7±1.7 e |
| 60 | 20.8±1.0 b | 17.7±0.7 a | 24.3±0.3 a | 19.7±0.3 ab | 17.0±1.2 a | 0.3±0.3 c | 86.9±2.2 a | 96.1±3.9 a | 1.4±1.4 e |

注：不同小写字母表示同一品种不同取材时期在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异。

Note: The lowercases mean the difference at the $P < 0.05$ level of the same cultivar at different development stages.

2.4 不同品种葡萄胚珠和果肉发育过程中生理指标的变化

2.4.1 丙二醛 (MDA) 的含量

由图 3 可知，在胚珠发育前期（花后 16~48 d），伴随着胚败育的发生，‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠中 MDA 含量持续增加，但显著低于有核品种‘赤霞珠’，而在花后 52 d 后又高于‘赤霞珠’，且‘无核翠宝’始终高于‘丽红宝’。果肉中，MDA 含量在‘无核翠宝’发育中期显著高于对照品种‘赤霞珠’，‘丽红宝’则与对照的变化趋势类似，均是先降低后升高。结果表明，胚珠中的膜脂过氧化物随着胚败育的发生逐渐积累，且在生长发育末期，MDA 含量达最大值，此时胚已完全败育。由此可知，MDA 含量与胚发育可能有关，MDA 含量的增加可能抑制胚的发育，导致胚败育的发生。

2.4.2 可溶性糖和可溶性蛋白含量

从图 3 还可看出，可溶性糖和可溶性蛋白含量在 3 个葡萄品种胚珠中均是先升后降的趋势，‘无核翠宝’中于花后 40 d 增长至峰值，‘丽红宝’中于花后 36 d 达最大值，此后随着种胚败育而下降。可溶性糖含量在无核葡萄品种胚珠发育前期花后 16~28 d 和后期花后 44~60 d 显著高于有核品种‘赤霞珠’；但可溶性蛋白含量始终低于有核品种。

可溶性糖与可溶性蛋白含量在 3 个葡萄品种果肉中均呈增加趋势，且胚败育前期增长缓慢；在胚败育后期，两个无核品种果肉中可溶性糖含量显著高于对照，可溶性蛋白含量显著低于有核对照。由此可得，随着胚珠中可溶性糖和可溶性蛋白含量的降低，可能造成胚珠中胚的发育受阻，从而导致胚败育的发生。

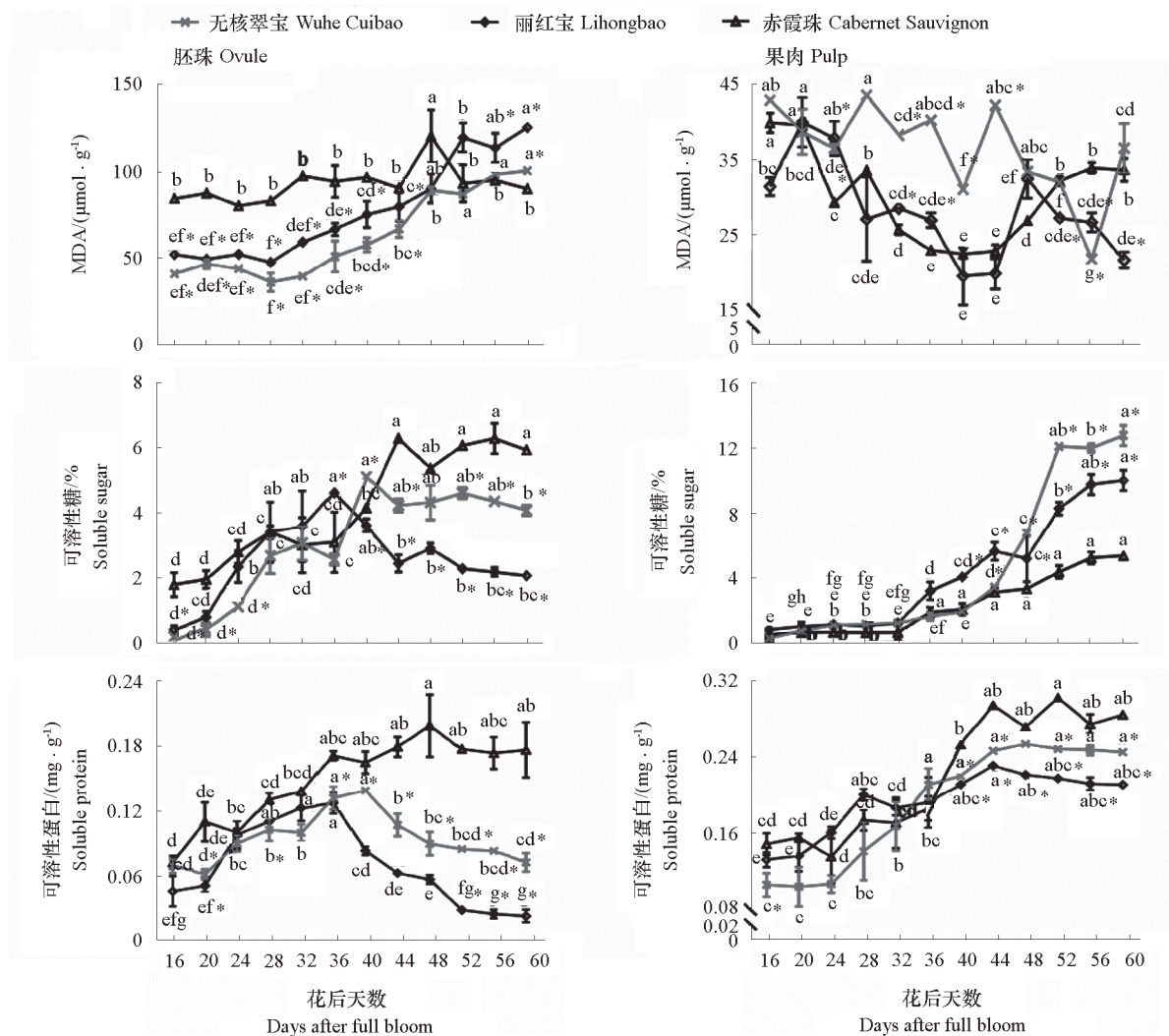


图3 葡萄发育过程中MDA、可溶性糖、可溶性蛋白含量的变化

图中不同小写字母表示同一品种不同取材时期在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异,

* 表示同一取材时期与对照组在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异。

Fig. 3 Changes of MDA, soluble sugar, soluble protein content during grape development

The lowercases mean the difference at the $P < 0.05$ level of the same cultivar at different development stages,

* means the difference at the $P < 0.05$ level of the same period with control group.

2.4.3 过氧化物酶 (POD) 活性

胚败育品种‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠中 POD 活性呈先升后降的变化趋势, 分别在花后 32 和 24 d 达到最大值, 且‘无核翠宝’除花后 60 d, 其余时期均高于对照, ‘丽红宝’在胚败育前期 (花后 16 ~ 32 d) 高于对照, 对照波动较小, 始终处于较低水平 (图 4)。无核葡萄果肉中 POD 活性显著低于对照, 且在胚败育前期花后 16 ~ 32 d 呈上升趋势, 之后下降, 后期回升至最初水平。由此可得, 在‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠败育前期 POD 活性的升高, 并且 POD 活性的升高早于大量畸形胚珠出现的时期。

2.4.4 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性

3 个葡萄品种胚珠中 SOD 活性基本呈逐渐上升趋势, 且‘无核翠宝’显著高于对照。‘无核翠

宝’ SOD 活性在花后 16~36 d 增长了 89.4%，胚珠败育后下降幅度较小。‘丽红宝’ 胚珠中的 SOD 活性于花后 16~20 d 显著下降，随着胚珠的发育急剧上升。由此说明，在 SOD 活性较高的条件下种胚的生长发育会受到一定程度的抑制而逐渐败育。

果肉的 SOD 活性在无核葡萄中显著高于对照，但在胚珠败育前均有一个显著下降的时期。‘无核翠宝’ 在花后 24~28 d 下降了 69.4%，此后变化幅度较小；‘丽红宝’ 花后 20~24 d 降幅为 36.3%，之后变化不显著。

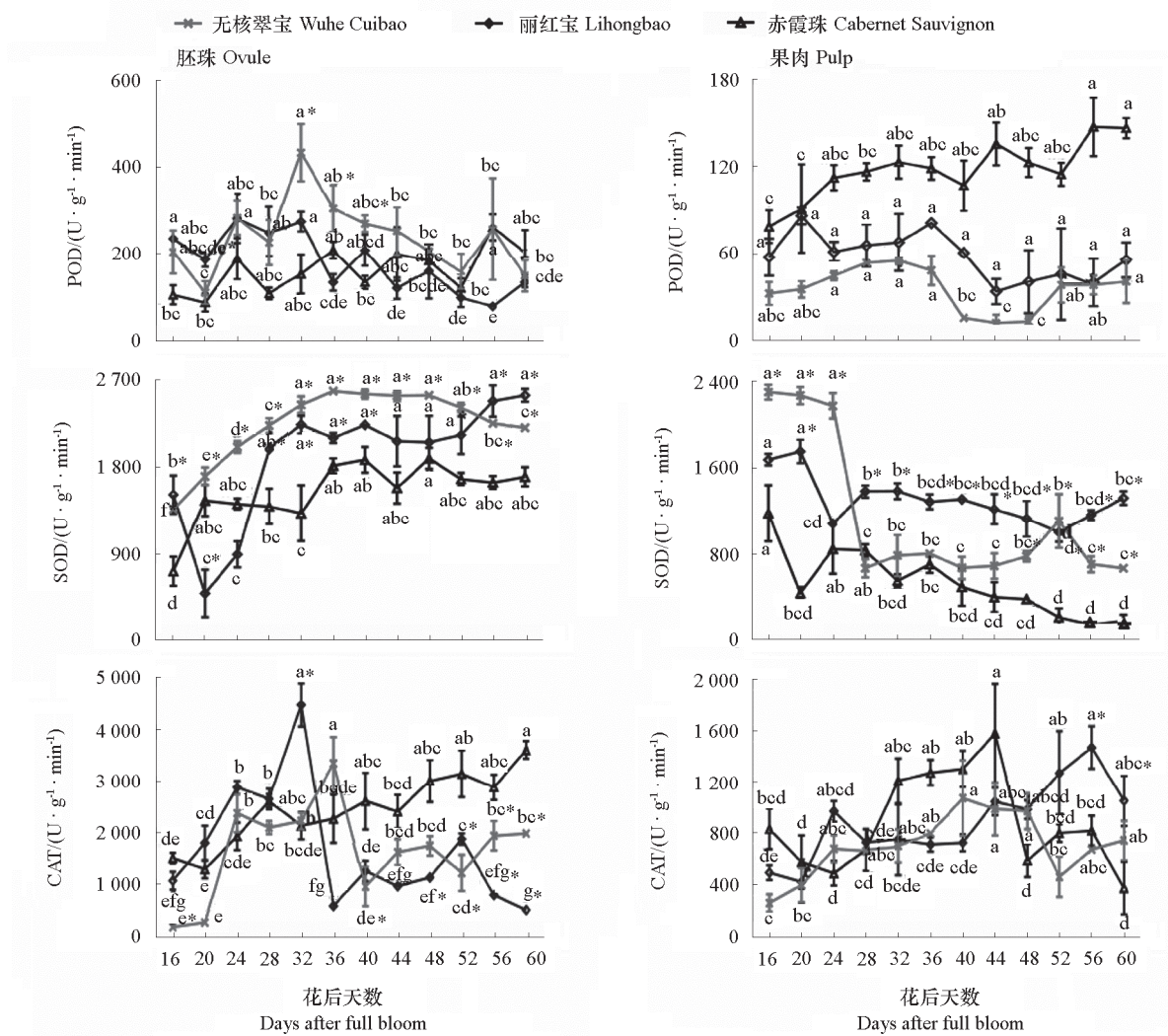


图 4 葡萄发育过程中 POD、SOD、CAT 活性的变化

图中不同小写字母表示同一品种不同取材时期在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异，
 * 表示同一取材时期与对照组在 $P < 0.05$ 水平上有显著差异。

Fig. 4 Changes of activities of POD, SOD and CAT during grape development

The lowercases mean the difference at the $P < 0.05$ level of the same cultivar at different development stages,

* means the difference at the $P < 0.05$ level of the same period with control group.

2.4.5 过氧化氢酶 (CAT) 活性

‘无核翠宝’ 胚珠的 CAT 活性于花后 20~24 d、32~36 d 两个阶段显著上升，在胚败育（花后 36 d）时达到峰值 $3\ 350.0\ \text{U} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$ ，此后开始下降；‘丽红宝’ 花后 16~32 d 增加至 $4\ 483.6$

$U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, 胚败育后显著下降, 降幅达 87.1%; 而对照呈现逐渐上升的趋势, 且在花后 48 ~ 60 d 显著高于两个无核品种。3 个葡萄品种果肉 CAT 活性均是先升高后降低, ‘无核翠宝’花后 40 d 达最大值 $1\ 078.0 U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$; ‘丽红宝’花后 52 d 达到峰值; 对照在花后 44 d 时达 $1\ 584.0 U \cdot g^{-1} \cdot min^{-1}$, 显著高于始末期。前期败育型葡萄胚珠中 CAT 酶的活性增加, 峰值出现在胚珠大量败育的始期, 说明此过程有大量过氧化氢产生, 败育之后 CAT 活性下降。有核 ‘赤霞珠’ 胚珠 CAT 活性的变化则是波动性增长, 说明在有核葡萄成熟过程中, 过氧化氢持续产生。

2.5 不同生理生化指标主成分分析

通过对无核葡萄的生理生化指标信息进行 PCA 分析, 选取特征值最高的前 4 个主成分因子, 累计贡献率为 80.10 % (表 2)。

表 2 各指标主成分的特征向量及贡献率
 Table 2 Characteristic vector and contribution rate of principal components of each indicator

| 部位 Position | 指标 Index | 编号 Code | 特征向量 Characteristic vector | | | |
|--------------------------------------|------------------------------|------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | | | 主成分 1 Principal component 1 | 主成分 2 Principal component 2 | 主成分 3 Principal component 3 | 主成分 4 Principal component 4 |
| 浆果 Berry | 单粒质量 Single weight | k1 | 0.95 | - 0.10 | - 0.09 | 0.14 |
| | 横径 Transverse diameter | k2 | 0.98 | - 0.08 | - 0.10 | 0.02 |
| | 纵径 Longitudinal diameter | k3 | 0.88 | - 0.38 | 0.14 | 0.08 |
| | 体积 Volume | k4 | 0.94 | - 0.25 | - 0.11 | 0.12 |
| 果肉 Plup | 果形指数 Fruit shape index | k5 | - 0.73 | - 0.39 | 0.37 | 0.18 |
| | 丙二醛 MDA | k6 | - 0.43 | 0.49 | - 0.36 | 0.26 |
| | 可溶性糖 Soluble sugar | k7 | 0.88 | - 0.24 | - 0.13 | 0.20 |
| | 可溶性蛋白 Soluble protein | k8 | 0.83 | 0.09 | 0.27 | - 0.13 |
| | CAT | k9 | - 0.36 | - 0.21 | 0.51 | 0.50 |
| | SOD | k10 | - 0.64 | - 0.41 | - 0.37 | - 0.06 |
| | POD | k11 | 0.49 | - 0.19 | 0.38 | - 0.04 |
| 胚珠 Ovule | 单粒质量 Single weight | k12 | 0.14 | 0.90 | - 0.25 | 0.14 |
| | 横径 Transverse diameter | k13 | 0.20 | 0.93 | - 0.17 | 0.09 |
| | 纵径 Longitudinal diameter | k14 | 0.26 | 0.93 | - 0.02 | 0.09 |
| | 体积 Volume | k15 | 0.27 | 0.92 | - 0.13 | 0.09 |
| | 胚珠数 Total ovules | k16 | - 0.59 | - 0.27 | 0.06 | - 0.43 |
| | 胚珠败育率 Ovule degradation rate | k17 | 0.94 | - 0.20 | - 0.04 | - 0.06 |
| | 丙二醛 MDA | k18 | 0.82 | - 0.49 | 0.02 | 0.09 |
| | 可溶性糖 Soluble sugar | k19 | 0.60 | 0.40 | 0.38 | - 0.37 |
| | 可溶性蛋白 Soluble protein | k20 | - 0.15 | 0.75 | 0.37 | - 0.33 |
| | CAT | k21 | - 0.26 | 0.62 | 0.22 | 0.06 |
| | SOD | k22 | 0.68 | 0.36 | 0.03 | - 0.20 |
| POD | k 23 | - 0.10 | 0.41 | 0.61 | 0.30 | |
| 特征值 Eigen value | | | 9.50 | 6.10 | 1.76 | 1.07 |
| 方差贡献率/% Variance contribution rate | | | 41.29 | 26.51 | 7.67 | 4.63 |
| 累计贡献率/% Cumulative contribution rate | | | 41.29 | 67.80 | 75.47 | 80.10 |

第 1 主成分主要有果实单粒质量、果实横径、果实纵径、果实体积、果形指数、果肉可溶性糖、果肉可溶性蛋白以及胚珠败育率、丙二醛含量、SOD 活性, 其特征值为 9.50, 累计方差贡献率为 41.29%; 第 2 主成分主要有胚珠质量、胚珠横径、胚珠纵径、胚珠体积、胚珠可溶性蛋白, 其特征值为 6.13, 贡献率为 26.51%; 第 3 主成分主要有胚珠 CAT 活性, 其特征值为 1.76, 贡献率为 7.67%; 第 4 主成分主要有胚珠数和果肉 POD 活性, 其特征值为 1.07, 累计方差贡献率为 4.63%。综合分析前 4 个主成分, 贡献率较大的果肉可溶性糖、可溶性蛋白和胚珠丙二醛含量、可溶性蛋白、SOD 活

性等生理指标，是无核葡萄胚败育过程中胚败育的主要影响指标。

2.6 不同生理生化指标灰色关联分析

对无核葡萄生理生化数据进行标准化处理后进行灰色关联分析。由表 3 可知，胚珠中 SOD 活性与胚败育关联度的平均值最大，其次分别是：果肉可溶性蛋白含量 > 胚珠数 > 果肉 MDA 含量 > 果实纵径等。

表 3 不同时期葡萄生理生化指标灰色关联分析
 Table 3 Grey relational analysis of physiological and biochemical indicators of grape in different periods

| | DAF | 关联系数 Correlation coefficient | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|-----------|------|------------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | | k1 | k2 | k3 | k4 | k5 | k6 | k7 | k8 | k9 | k10 | k11 | k12 | k13 | k14 | k15 | k16 | k17 | k18 | k19 | k20 | k21 | k22 | k23 |
| 无核 | 16 | 0.35 | 0.45 | 0.49 | 0.35 | 0.67 | 0.97 | 0.33 | 0.46 | 0.53 | 1.00 | 0.37 | 0.47 | 0.73 | 1.00 | 0.62 | 0.50 | 0.39 | 0.42 | 1.00 | 0.41 | 0.48 | 0.51 | 1.00 |
| 翠宝 | 20 | 0.36 | 0.51 | 0.53 | 0.37 | 0.62 | 0.81 | 0.34 | 0.45 | 0.56 | 0.97 | 0.40 | 0.38 | 0.57 | 0.67 | 0.42 | 0.80 | 0.36 | 0.44 | 0.50 | 0.42 | 0.39 | 0.59 | 0.59 |
| Wuhe | 24 | 0.37 | 0.52 | 0.54 | 0.37 | 0.61 | 0.75 | 0.35 | 0.46 | 0.69 | 0.90 | 0.48 | 0.36 | 0.53 | 0.52 | 0.37 | 0.64 | 0.38 | 0.43 | 0.38 | 0.39 | 0.58 | 0.69 | 0.34 |
| Cuibao | 28 | 0.39 | 0.53 | 0.56 | 0.38 | 0.63 | 1.00 | 0.35 | 0.53 | 0.88 | 0.41 | 0.47 | 0.35 | 0.51 | 0.50 | 0.37 | 0.71 | 0.39 | 0.41 | 0.35 | 0.38 | 0.50 | 0.78 | 0.35 |
| | 32 | 0.40 | 0.55 | 0.59 | 0.39 | 0.63 | 0.80 | 0.35 | 0.59 | 0.92 | 0.43 | 0.48 | 0.35 | 0.48 | 0.48 | 0.35 | 0.71 | 0.42 | 0.42 | 0.35 | 0.38 | 1.00 | 0.90 | 0.35 |
| | 36 | 0.42 | 0.57 | 0.57 | 0.40 | 0.59 | 0.86 | 0.36 | 0.76 | 0.75 | 0.43 | 0.52 | 0.36 | 0.48 | 0.49 | 0.35 | 0.75 | 0.56 | 0.45 | 0.35 | 0.37 | 0.62 | 1.00 | 0.34 |
| | 40 | 0.48 | 0.65 | 0.59 | 0.44 | 0.54 | 0.63 | 0.36 | 0.80 | 0.40 | 0.41 | 0.65 | 0.36 | 0.49 | 0.49 | 0.36 | 0.75 | 0.57 | 0.47 | 0.34 | 0.36 | 0.56 | 0.98 | 0.37 |
| | 44 | 0.58 | 0.74 | 0.67 | 0.51 | 0.55 | 0.94 | 0.40 | 0.97 | 0.38 | 0.41 | 0.60 | 0.36 | 0.49 | 0.49 | 0.36 | 0.73 | 0.69 | 0.51 | 0.34 | 0.38 | 0.54 | 0.96 | 0.35 |
| | 48 | 0.65 | 0.80 | 0.70 | 0.57 | 0.54 | 0.68 | 0.51 | 1.03 | 0.39 | 0.42 | 0.59 | 0.36 | 0.49 | 0.50 | 0.36 | 0.68 | 0.60 | 0.63 | 0.34 | 0.39 | 0.48 | 0.97 | 0.35 |
| | 52 | 0.88 | 0.88 | 0.79 | 0.68 | 0.55 | 0.65 | 0.90 | 0.99 | 0.59 | 0.49 | 0.42 | 0.36 | 0.50 | 0.50 | 0.36 | 0.88 | 0.74 | 0.62 | 0.34 | 0.39 | 0.43 | 0.88 | 0.36 |
| | 56 | 0.93 | 0.91 | 0.84 | 0.75 | 0.56 | 0.49 | 0.89 | 0.98 | 0.59 | 0.41 | 0.47 | 0.37 | 0.50 | 0.51 | 0.36 | 1.00 | 0.89 | 0.69 | 0.34 | 0.39 | 0.54 | 0.79 | 0.35 |
| 60 | 1.00 | 1.00 | 0.87 | 0.89 | 0.55 | 0.75 | 1.00 | 0.96 | 0.62 | 0.41 | 0.50 | 0.37 | 0.50 | 0.52 | 0.37 | 1.07 | 0.84 | 0.71 | 0.34 | 0.40 | 0.43 | 0.77 | 0.35 | |
| 丽红宝 | 16 | 0.35 | 0.43 | 0.51 | 0.34 | 1.00 | 0.64 | 0.34 | 0.51 | 1.00 | 0.64 | 0.42 | 0.57 | 0.87 | 0.91 | 0.75 | 0.62 | 0.38 | 0.46 | 0.50 | 0.46 | 0.51 | 0.54 | 0.37 |
| Lihongbao | 20 | 0.36 | 0.45 | 0.56 | 0.35 | 0.98 | 0.86 | 0.35 | 0.52 | 0.35 | 0.67 | 0.41 | 0.54 | 0.73 | 0.69 | 0.52 | 0.57 | 0.36 | 0.45 | 0.40 | 0.45 | 0.46 | 0.38 | 0.35 |
| | 24 | 0.38 | 0.50 | 0.60 | 0.37 | 0.77 | 0.79 | 0.35 | 0.58 | 0.36 | 0.48 | 0.59 | 0.52 | 0.72 | 0.68 | 0.51 | 0.54 | 0.38 | 0.46 | 0.35 | 0.38 | 0.66 | 0.43 | 0.34 |
| | 28 | 0.39 | 0.52 | 0.60 | 0.38 | 0.72 | 0.56 | 0.35 | 0.71 | 0.40 | 0.55 | 0.49 | 0.47 | 0.68 | 0.61 | 0.46 | 0.74 | 0.40 | 0.44 | 0.34 | 0.37 | 0.53 | 0.68 | 0.34 |
| | 32 | 0.39 | 0.51 | 0.63 | 0.38 | 0.77 | 0.59 | 0.35 | 0.66 | 0.43 | 0.55 | 0.50 | 0.44 | 0.63 | 0.59 | 0.43 | 0.61 | 0.38 | 0.48 | 0.34 | 0.37 | 0.57 | 0.79 | 0.34 |
| | 36 | 0.42 | 0.54 | 0.64 | 0.40 | 0.72 | 0.56 | 0.39 | 0.68 | 0.34 | 0.53 | 0.49 | 0.49 | 0.63 | 0.62 | 0.43 | 0.56 | 0.48 | 0.51 | 0.34 | 0.37 | 0.41 | 0.72 | 0.41 |
| | 40 | 0.43 | 0.62 | 0.69 | 0.45 | 0.64 | 0.47 | 0.42 | 0.76 | 0.33 | 0.53 | 0.49 | 0.53 | 0.73 | 0.73 | 0.52 | 0.59 | 0.53 | 0.55 | 0.34 | 0.39 | 0.48 | 0.78 | 0.36 |
| | 44 | 0.44 | 0.68 | 0.84 | 0.52 | 0.67 | 0.47 | 0.47 | 0.86 | 0.37 | 0.51 | 0.63 | 0.58 | 0.90 | 0.71 | 0.64 | 0.62 | 0.74 | 0.57 | 0.35 | 0.42 | 0.40 | 0.71 | 0.37 |
| | 48 | 0.45 | 0.71 | 0.83 | 0.54 | 0.65 | 0.66 | 0.45 | 0.81 | 0.44 | 0.49 | 0.60 | 0.63 | 1.09 | 0.83 | 1.00 | 0.65 | 0.67 | 0.64 | 0.35 | 0.43 | 0.43 | 0.71 | 0.36 |
| 52 | 0.74 | 0.83 | 0.92 | 0.70 | 0.61 | 0.57 | 0.58 | 0.79 | 0.52 | 0.46 | 0.78 | 0.70 | 0.89 | 0.78 | 0.70 | 0.75 | 0.83 | 0.91 | 0.35 | 0.62 | 0.39 | 0.74 | 0.35 | |
| 56 | 0.83 | 0.90 | 0.98 | 0.83 | 0.60 | 0.56 | 0.67 | 0.76 | 0.41 | 0.50 | 1.00 | 0.83 | 1.01 | 0.85 | 0.88 | 0.70 | 0.96 | 0.84 | 0.35 | 0.71 | 0.37 | 0.93 | 0.38 | |
| 60 | 0.89 | 0.98 | 1.00 | 1.00 | 0.59 | 0.49 | 0.69 | 0.76 | 0.38 | 0.53 | 0.63 | 1.01 | 1.00 | 0.88 | 0.94 | 0.77 | 1.00 | 1.00 | 0.35 | 0.79 | 0.41 | 0.97 | 0.42 | |
| γ | | 0.59 | 0.72 | 0.75 | 0.56 | 0.72 | 0.75 | 0.53 | 0.79 | 0.57 | 0.60 | 0.59 | 0.53 | 0.73 | 0.71 | 0.57 | 0.77 | 0.63 | 0.61 | 0.42 | 0.47 | 0.55 | 0.83 | 0.43 |
| 排序 | | 14 | 7 | 5 | 17 | 8 | 4 | 20 | 2 | 15 | 12 | 13 | 19 | 6 | 9 | 16 | 3 | 10 | 11 | 23 | 21 | 18 | 1 | 22 |
| Sequence | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

注：DAF：花后天数。k1 - k23 代表指标详见表 2。

Note: DAF: Days after full bloom. Representational indicators of k1 - k23 are detailed in Table 2.

3 讨论

胚败育是许多植物中普遍存在的细胞程序性死亡的现象(贺军虎等, 2012; Zhang et al., 2015)。李登科等(2016)对‘太谷酸枣’、‘冷白玉’、‘襄汾圆枣’等品种的胚败育动态进行了研究,发现枣胚的大量败育在花后 28 d; 贺军虎等(2012)研究发现‘金煌’杧果在花后 20~30 d 为胚败育时期; 刘巧等(2016)研究发现无核葡萄品种‘木星’、‘海王星’分别于花后 38 和 36 d 开始败育。不同葡萄品种的胚发生败育的时期也不尽相同,这主要是由品种自身特性和遗传因素所决定的。李

顺雨等(2009)研究发现‘红宝石无核’葡萄胚珠的横径、纵径、体积及鲜质量均在花后 34 d 达到最大值,‘森田尼无核’葡萄花后 30~33 d 胚珠质量、大小出现显著下降,最终种胚干瘪败育(Wang et al., 2016)。
‘金田皇家无核’葡萄随着果实发育,胚珠没有败育而是继续发育变大并肉质化,且胚珠数量变化不明显(裴晓英等, 2015)。研究发现,田间调查畸形胚败育率也可以一定程度上反映胚败育的进程(李登科等, 2016)。本研究发现有核葡萄‘赤霞珠’在生长发育前期因授粉受精不良也存在一定的胚败育现象,但随着胚珠的生长发育,有核葡萄‘赤霞珠’胚珠畸形率逐渐下降。
‘无核翠宝’和‘丽红宝’在授粉受精不良导致的败育之后,又出现了由遗传基因控制的胚珠发育不协调性,畸形胚珠大量产生,珠被凹陷、干瘪,进而畸形率上升。此外,主成分分析结果表明无核葡萄胚珠外观形态指标大多在第二主成分中,因此认为无核葡萄胚败育始期的确定,需考虑畸形胚珠的数量、体积、质量以及外观特征变化来综合评判,胚珠外观形态特征可以作为最直观、快捷反映胚败育的方式之一。

可溶性糖和可溶性蛋白是植物体内基本的营养物质,具有渗透调节、催化活性等作用(Balic et al., 2018)。董姝娟等(2008)的研究表明,在生长发育前期,无核葡萄与有核葡萄的营养物质变化类似,但在后期却出现很大差异。李明芳等(2016)对无核荔枝生理特性的研究认为,随着荔枝的胚胎发育,可溶性蛋白含量有所下降,且大核荔枝可溶性蛋白始终高于焦核。本试验中,败育型葡萄‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠内可溶性糖含量在生长发育前期大量积累,随着胚珠败育的发生,可溶性糖含量也随之下降;胚珠可溶性蛋白含量呈现先升后降的趋势,且始终低于对照品种,此结果与前人研究结果(董姝娟等, 2008; 李明芳等, 2016)一致。无核品种‘无核翠宝’和‘丽红宝’前期的胚珠发育与有核葡萄类似,较多的营养物质积累促进细胞的有序生长发育,但是随着胚败育的发生,细胞分化停滞,营养物质下降,致使胚胎发育缺乏必要的营养,最终发生胚败育解体。

无核葡萄胚珠、果肉内抗氧化酶活性和膜脂过氧化物含量能一定程度上反映胚败育进程。董姝娟等(2008)研究发现,保护酶活性的增加和膜脂过氧化物含量的增加可能与‘金星无核’葡萄胚败育相关。潘学军等(2011)认为胚珠败育前,抗氧化酶活性和膜脂过氧化物含量的增加可保护胚珠生长发育,而随着胚珠败育,抗氧化酶活性降低。本试验中,‘无核翠宝’和‘丽红宝’胚珠中的 POD 和 CAT 活性在胚珠败育前逐渐升高,在胚珠败育后显著降低;3 个参试葡萄胚珠 MDA 含量和 SOD 活性均呈现增长趋势,在生长后期,无核葡萄 MDA 含量趋近甚至高于有核葡萄,但‘丽红宝’胚珠中的 SOD 活性在 DAF 16~20 d 显著下降,在胚珠败育前期(花后 20~32 d)显著增加,随后变化幅度较小。表明抗氧化酶活性和膜脂过氧化物与葡萄胚胎发育密切相关,抗氧化酶活性和 MDA 含量的升高可能不利于胚珠的发育,最后导致胚败育,而因品种间的差异,抗氧化酶活性高低略有不同。

本试验中通过主成分分析和灰色关联度分析对无核葡萄的胚败育的影响因子进行了研究,发现胚珠 SOD 活性与胚败育的关联度最高,且果实单粒质量、果横径、果纵径、果实体积、果形指数、果肉可溶性糖含量、果肉可溶性蛋白含量、胚珠败育率、胚珠丙二醛含量为影响胚败育的主因子,这一研究结果为今后无核葡萄胚挽救育种采样时期的确定提供了科学依据和理论指导。关于胚败育的分子生物学机理有待继续研究,今后将从分子生物学水平进一步探究无核葡萄胚败育的机制。

References

- Balic I, Vizoso P, Nilo-Poyanco R, Nilo-Poyanco R, Sanhueza D, Olmedo P, Sepúlveda P, Arriagada C, Defilippi B, Meneses C, Campos-Vargas R. 2018. Transcriptome analysis during ripening of table grape berry cv. Thompson Seedless. PLoS ONE, 13 (1): e0190087.

- Dong Shu-juan, Guo Xiu-wu. 2008. Change of protective enzyme activity, contents of MDA and inner nutriments during the embryonic development of several grape cultivars. *Sino-Overseas Grapevine & Wine*, (2): 12 - 16. (in Chinese)
- 董姝娟, 郭修武. 2008. 几个葡萄品种胚胎发育过程中保护酶活性、丙二醛及内含营养物质含量的变化. *中外葡萄与葡萄酒*, (2): 12 - 16.
- Hanania U, Velcheva M, Sahar N, Flaishman M, Or E, Degani O, Perl A. 2009. The ubiquitin extension protein S27a is differentially expressed in developing flower organs of Thompson seedless versus Thompson seeded grape isogenic clones. *Plant Cell Reports*, 28 (7): 1033 - 1042.
- He Jun-hu, Ma Feng-wang, Shu Huai-rui, Chen Ye-yuan, Zhao Xiao-qing, Wei Jun-ya, Chen Hua-rui. 2012. The Change of Endogenous hormones in 'Jinhuang' mango fruit with normal and aborted embryo. *Acta Horticulturae Sinica*, 39 (6): 1167 - 1174. (in Chinese)
- 贺军虎, 马锋旺, 束怀瑞, 陈业渊, 赵小青, 魏军亚, 陈华蕊. 2012. '金煌' 芒果胚正常与胚败育果实内源激素的变化. *园艺学报*, 39 (6): 1167 - 1174.
- Hu Zi-you. 2018. Growth and development of 'Wink' grape with fruit vlume, longitudinal diameter and transverse diameter. *Northern Horticulture*, (20): 48 - 51. (in Chinese)
- 胡子有. 2018. 基于果粒体积和横径及纵径 '温克' 葡萄果实生长发育规律分析. *北方园艺*, (20): 48 - 51.
- Ji W, Wang Y. 2013. Breeding for seedless grapes using Chinese wild *Vitis* spp. II. *In vitro* embryo rescue and plant development. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93: 3870 - 3875.
- Jiao Y, Li Z, Xu K, Guo Y, Zhang C, Li T, Jiang Y, Liu G, Xu Y. 2017. Study on improving plantlet development and embryo germination rates in *in vitro* embryo rescue of seedless grapevine. *New Zealand Journal of Crop & Horticultural Science*, 46 (1): 1 - 15.
- Li Deng-ke, Xue Xiao-fang, Wang Yong-kang, Zhao Ai-ling, Ren Hai-yan, Sui Chuan-ling, Shi Mei-juan, Du Xue-Mei, Liang Qian. 2016. Observation of embryo development and abortion in Chinese jujube (*Ziziphus jujuba* Mill). *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 25 (9): 1379 - 1385. (in Chinese)
- 李登科, 薛晓芳, 王永康, 赵爱玲, 任海燕, 隋串玲, 石美娟, 杜学梅, 梁 芊. 2016. 枣胚胎发育及胚败育动态观察. *西北农业学报*, 25 (9): 1379 - 1385.
- Li G, Ji W, Wang G, Zhang J X, Wang Y J. 2014. An improved embryo-rescue protocol for hybrid progeny from seedless *Vitis vinifera* grapes × wild Chinese *Vitis* species. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant*, 50 (1): 110 - 120.
- Li Gui-rong, Cheng Shan-shan, Zhang Shao-wei, Hu Hui-ling, Lian Yan-hui, Zhou Rui-jin, Zhu Zi-guo. 2018. Grey correlation analysis of physic-biochemical indexes related to cold tolerance in different grapes. *Journal of Northeast Forestry University*, 46 (10): 40 - 47, 53. (in Chinese)
- 李桂荣, 程珊珊, 张少伟, 扈惠灵, 连艳会, 周瑞金, 朱自果. 2018. 葡萄抗寒相关生理生化指标灰色关联分析. *东北林业大学学报*, 46 (10): 40 - 47, 53.
- Li Ming-fang, Lu Cheng, Liu Xing-di, Wang Xiang-she, Zheng Xue-qin. 2016. Research progress of seedless and stenospermocarpic mechanism in litchi. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 37 (5): 1043 - 1049. (in Chinese)
- 李明芳, 卢 诚, 刘兴地, 王向社, 郑学勤. 2016. 荔枝无核和焦核机理的研究进展. *热带作物学报*, 37 (5): 1043 - 1049.
- Li Shun-yu, Pan Xue-jun, Zhang Wen-e, Liu Chong-huai. 2009. Study on macroscopic morphology of ovule abortion in 'Ruby Seedless'. *Northern Horticulture*, (4): 33 - 36. (in Chinese)
- 李顺雨, 潘学军, 张文娥, 刘崇怀. 2009. 红宝石无核胚珠败育的直观形态学研究. *北方园艺*, (4): 33 - 36.
- Li Zhi-ying, Luo Qiang-wei, Wang Yue-jin. 2019. Nucleus-free grape embryo rescue breeding and molecular marker-assisted selection of hybrid progeny. *Journal of Fruit Science*, 36 (1): 1 - 18. (in Chinese)
- 李志瑛, 骆强伟, 王跃进. 2019. 无核葡萄胚挽救育种与杂种后代分子标记辅助选择. *果树学报*, 36 (1): 1 - 18.
- Li Zhi-ying, Wang Yue-jin. 2019. Observation of development and abortion process of embryo and endosperm in 'Fresno Seedless' grape. *Northern Horticulture*, (1): 1 - 6. (in Chinese)
- 李志瑛, 王跃进. 2019. 'Fresno Seedless' 葡萄幼胚和胚乳发育及败育的组织学观察. *北方园艺*, (1): 1 - 6.
- Liu Qiao, Zhang Li-hua, Wang Yue-jin, Zhang Jian-xia. 2016. Cytological study of embryo and endosperm abortion in two seedless grape varieties. *Northern Horticulture*, (3): 31 - 35. (in Chinese)

- 刘 巧, 张立华, 王跃进, 张剑侠. 2016. 两个无核葡萄品种胚及胚乳败育的细胞学研究. 北方园艺, (3): 31 - 35.
- Ma Li, Sun Ling-jun, Zhao Wen-dong. 2018. Changes in nutrient contents of berry during grape embryo development and abortion. *J Anhui Agric Sci*, 46 (11): 37 - 38. (in Chinese)
- 马 丽, 孙凌俊, 赵文东. 2018. 葡萄胚珠发育及败育过程中果实主要营养成分变化. 安徽农业科学, 46 (11): 37 - 38.
- Pan Xue-jun, Li Shun-yu, Zhang Wen-e, Liu Chong-huai. 2011. Changes of antioxidant and malondialdehyde contents in ovules of seed abortive grapes before and after abortion. *Acta Horticulturae Sinica*, 38 (Sup): 2482. (in Chinese)
- 潘学军, 李顺雨, 张文娥, 刘崇怀. 2011. 种子败育型葡萄胚珠败育前后抗氧化物质及丙二醛含量的变化. 园艺学报, 38 (增刊): 2482.
- Pei Xiao-ying, Xiang Dian-fang, Wang Na. 2015. Dynamics of seed abortion in 'Jintian Royal Seedless' grape. *Journal of Hebei Forestry Science and Technology*, (1): 20 - 22. (in Chinese)
- 裴晓英, 项殿芳, 王 娜. 2015. '金田皇家无核' 葡萄种子败育的动态变化. 河北林业科技, (1): 20 - 22.
- Royo C, Torres-Pérez R, Mauri N, Diestro N, Cabezas J, Marchal C, Lacombe T, Ibáñez J, Tornel M, Carreño J, Martínez-Zapater M, Carbonell-Bejerano P. 2018. The major origin of seedless grapes is associated with a 4 missense mutation in the MADS-box gene *VviAGL11*. *Plant Physiology*, 177 (3): 1234 - 1253.
- Tang D, Wang Y, Cai J, Zhao R H. 2009. Effects of exogenous application of plant growth regulators on the development of ovule and subsequent embryo rescue of stenospermic grape. *Scientia Horticulturae*, 120 (1): 51 - 57.
- Wang Hai-bo, Cheng Lai-liang, Chang Yuan-sheng, Sun Qing-rong, Tao Ji-han, Li Lin-guang. 2016. Physiological and transcriptome response of apple dwarfing rootstock to cold stress and cold-resistant genes screening. *Acta Horticulturae Sinica*, 43 (8): 1437 - 1451. (in Chinese)
- 王海波, 程来亮, 常源升, 孙清荣, 陶吉寒, 李林光. 2016. 苹果矮化砧 '71-3-150' 对冷胁迫的生理与转录组响应. 园艺学报, 43 (8): 1437 - 1451.
- Wang L, Hu X, Jiao C, Li Z, Fei Z, Yan X, Liu C, Wang Y, Wang X. 2016. Transcriptome analyses of seed development in grape hybrids reveals a possible mechanism influencing seed size. *BMC Genomics*, 17 (1): 898.
- Wang Li-li, Luan Bing-hui, Liu Xue-qing, Wang Pei-song, Wang Ying-zi. 2017. Relationship between the contents of nutrients and chlorophylls in leaves of different grape varieties and their resistance to *Apolysgus lucorum* (Hemiptera: Miridae). *Acta Entomologica Sinica*, 60 (5): 570 - 575. (in Chinese)
- 王丽丽, 栾炳辉, 刘学卿, 王培松, 王英姿. 2017. 葡萄叶片中营养物质和叶绿素含量与其对绿盲蝽抗性的关系. 昆虫学报, 60 (5): 570 - 575.
- Wei Rong, Gong Pei-jie, Li Shu-xiu, Zhang Chao-hong, Wang Yue-jin. 2013. Cloning and functional analysis of the promoter of grape *βVPE* gene. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (Sup): 2591. (in Chinese)
- 魏 蓉, 巩培杰, 李树秀, 张朝红, 王跃进. 2013. 葡萄 *βVPE* 基因启动子的克隆与功能分析. 园艺学报, 40 (增刊): 2591.
- Yang D, Huang Z, Jin W, Xia P, Jia Q, Yang Z, Hou Z, Zhang H, Ji W, Hana R. 2018. DNA methylation: a new regulator of phenolic acids biosynthesis in *Salvia miltiorrhiza*. *Industrial Crops and Products*, 124: 402 - 411.
- Zhang Jian-xia, Niu Ru-xuan. 2013. The present situation and prospect of embryo rescue technique research in seedless grape breeding. *Acta Horticulturae Sinica*, 40 (9): 1645 - 1655. (in Chinese)
- 张剑侠, 牛茹萱. 2013. 无核葡萄胚挽救技术的研究现状与展望. 园艺学报, 40 (9): 1645 - 1655.
- Zhang S, Ding F, He X, Luo C, Huang G, Hu Y. 2015. Characterization of the 'Xiangshui' lemon transcriptome by de novo assembly to discover genes associated with self-incompatibility. *Molecular Genetics and Genomics*, 290 (1): 365 - 375.
- Zhao Hao-nuan, Wang Hai-ning, Cong Ming-yan, Hu Shun-qing, Zhu Shu-hua. 2016. Effect of nitric oxide and low temperature treatment on storage quality of jufeng grape fruits. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 31 (Sup): 188 - 194. (in Chinese)
- 赵浩暖, 王海宁, 丛明燕, 胡顺卿, 朱树华. 2016. 一氧化氮与低温协同处理对巨峰葡萄果实贮藏品质的影响. 华北农学报, 31 (增刊): 188 - 194.