

植物细胞工程在小麦抗赤霉病育种中的应用

王永刚¹, 张旭², 张鹏², 马鸿翔^{1*}

- 1.扬州大学农学院, 江苏省粮食作物现代产业技术协同创新中心, 江苏省作物基因组学与分子育种重点实验室; 植物功能基因组学教育部重点实验室, 江苏 扬州 225009;
- 2.江苏省农业科学院粮食作物研究所, 江苏省农业生物学重点实验室, 南京 210014

摘要: 小麦赤霉病是全球性小麦病害,严重影响小麦产量和品质,赤霉菌产生的毒素进一步威胁人畜安全,培育抗病品种是控制小麦赤霉病危害的根本途径。植物细胞工程技术可创造新的遗传变异、加快育种进程,已经广泛应用于小麦抗赤霉病育种。概述了体细胞无性系变异诱导、花药培养、小麦与玉米杂交培育加倍单倍体以及幼胚培养一年多代快速成苗等植物细胞工程技术研究进展,着重介绍了其在抗小麦赤霉病育种中的应用。最后对未来发展趋势做了展望,植物细胞工程结合分子育种技术将在小麦抗赤霉病品种培育中发挥更重要的作用。

关键词: 小麦;植物细胞工程;赤霉病;育种

DOI:10.19586/j.2095-2341.2021.0120

中图分类号:S435.121.4+5.Q813

文献标识码:A

Plant Cell Engineering Applied in Wheat Breeding for the Resistance to Fusarium Head Blight

WANG Yonggang¹, ZHANG Xu², ZHANG Peng², MA Hongxiang^{1*}

- 1.Jiangsu Key Laboratory of Crop Genomics and Molecular Breeding; Key Laboratory of Plant Functional Genomics of the Ministry of Education, Jiangsu Co-innovation Center for Modern Production Technology of Grain Crops, College of Agriculture, Yangzhou University, Jiangsu Yangzhou 225009, China;
- 2.Jiangsu Provincial Key Laboratory of Agrobiotechnology, Institute of Food Crops, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China

Abstract: Fusarium head blight is a worldwide destructive disease affecting the yield and quality in wheat, and *Fusarium* mycotoxin further threatens the health of human and livestock. Wheat resistant cultivars breeding is effective to control the disease. Plant cell engineering can produce novel genetic variation and accelerate the breeding process and has been successfully applied in wheat breeding for the resistance to Fusarium head blight. We reviewed the progress of plant cell engineering technologies such as somaclonal variation induction, anther culture, double haploid creation and immature embryo culture, and the application of these technologies in wheat breeding for the resistance to Fusarium head blight. Combination of plant cell engineering with molecular breeding will play a more important role in wheat breeding for the resistance to Fusarium head blight.

Key words: wheat; plant cell engineering; Fusarium head blight; breeding

植物细胞工程是以植物细胞全能性为理论基础,以植物组织与细胞培养为技术支持,在细胞和亚细胞水平对植物进行遗传操作,从而实现对植物的改良和利用^[1]。小麦赤霉病是危害全球小麦产量和品质最重要的病害之一,致病菌侵染后产

生的镰刀菌毒素进一步威胁着人畜健康与安全,培育与推广抗赤霉病品种是控制小麦赤霉病危害的根本途径^[2]。抗赤霉病育种与其他性状育种一样,是不断创造变异、选择变异和稳定变异并培育出新品种的过程。利用细胞工程创造新的体细胞

收稿日期:2021-06-16; 接受日期:2021-07-15

基金项目:国家现代农业产业技术体系项目(CARS-03)。

联系方式:王永刚 E-mail: Yg.Wang@yzu.edu.cn; * 通信作者 马鸿翔 E-mail: mahx@yzu.edu.cn

无性系变异,以及利用花药培养或胚拯救技术稳定变异在加速抗赤霉病育种进程方面发挥了重要作用。

1 体细胞无性系变异的诱导

植物组织培养脱分化再分化过程中产生的变异称作体细胞无性系变异^[3],是植物组织培养过程中的普遍现象,对各种植物体细胞无性系变异后代的分析已经证明,绝大多数变异是可遗传的,可在育种上加以利用。高明尉等^[4]以小麦幼胚为外植体育成了具有高产早熟抗病耐湿的小麦品种核组8号。

1.1 影响体细胞无性系及变异发生的因素

影响体细胞无性系发生的主要因素包括基因型、外植体和培养条件等。基因型是影响体细胞无性系发生的重要因素,基因型对出愈率影响较小,主要影响绿苗分化率,绿苗分化率在基因型之间差异可达4倍以上^[5]。幼穗、幼胚、成熟胚、茎段和节等不同组织为外植体的体细胞变异诱导和分化方面存在明显差异,以幼胚为外植体的绿苗分化率最高,其次为幼穗,再次是成熟胚和茎段,节最低^[6-7]。

体细胞无性系变异频率受基因型和外植体影响。对体细胞无性系 R_1 和 R_2 代变异性状调查发现,不同性状和供体品种的变异频率差异很大,苏麦3号总变异频率仅为50%,而扬麦3号变异频率可达到73%^[5]。

1.2 以DON为选择压筛选细胞无性系变异

脱氧雪腐镰刀菌烯醇(deoxynivalenol, DON)是小麦赤霉病菌侵染小麦后产生的次生代谢产物,DON积累有利于赤霉病的扩展,试验证明,敲除病菌毒素产生关键酶基因 *Tri5* 的突变体菌株侵染寄主后病小穗率显著降低,扩展受到抑制^[8]。离体培养试验表明,将幼胚愈伤组织置于添加DON毒素的培养基上继代培养,两周后大部分细胞的生长和分裂受到抑制,抗病品种与感病品种的幼胚愈伤组织在毒素选择压下均出现愈伤组织褐化。毒素浓度为 $0.6 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,高抗赤霉病品种望水白的愈伤组织褐化率明显低于中抗品种温州红和尚和感病品种 Alondra,在 $0.8 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 毒素浓度时,温州红和尚品种的愈伤组织褐化率显著低于感病品种 Alondra,分别

为72.3%和84.1%^[6]。以DON为选择压在苏麦3号和绵阳11的抗性比较中也得到类似结论^[9]。培养过程中对诱导出的愈伤组织以分生孢子定量接种鉴定愈伤组织抗病性,可进一步将愈伤组织分为感病和抗病两种不同类型,在后代材料的赤霉病抗性上,由感病愈伤组织分化出的植株均表现出感病、无抗病植株,由抗病愈伤组织产生的植株则抗病与感病均有,在愈伤组织阶段进行抗病鉴定可大量淘汰感病材料^[10-11]。

加入培养基筛选的毒素可以使用纯DON毒素或者赤霉病菌提取的粗毒素^[12]。毒素对细胞毒害能力与处理浓度和时间有关,提高浓度和延长时间均会导致愈伤组织诱导率和绿苗分化率剧降,直至培养细胞全部死亡。为了提高细胞突变体的抗性,人们尝试采用从低毒素含量到高毒素含量的胁迫培养筛选方法^[13]。如将感病品种 Alondra 幼胚或幼胚愈伤组织置于添加了 $0.4 \times 10^{-4} \sim 1.0 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ DON毒素的培养基上筛选培养,经过2~3次筛选后将在毒素下存活并生长的愈伤组织转移至添加相同或更高浓度的毒素培养基上继续筛选,经过多次筛选最终获得耐毒素的细胞系^[14]。

1.3 体细胞无性系变异的分子与细胞学检测

体细胞无性系变异检测是探讨其变异规律、验证变异的稳定性、鉴定筛选有利变异并最终应用于育种工作的重要环节。体细胞无性系变异选择并非对所有作物都有效,相对而言,更适用于营养繁殖作物如马铃薯、甘蔗、香蕉等^[15],但已有报道证明,体细胞无性系变异选择对小麦同样有效。以宁麦3号、苏麦3号和扬麦3号等5个小麦品种经体细胞组织培养的再生植株当代及其自交后代为供体材料进行分子与细胞学检测,过氧化物酶和酯酶同工酶电泳发现体细胞无性系存在大量酶谱变异^[16]。小麦体细胞再生株(R_1)染色体变异分析发现 R_1 代有丝分裂表现为染色体数量变异,常见的有 $2n-2$ 类型,其次为 $2n-1$ 类型,也有少数为 $2n+1$ 或 $2n-4$ 等变异类型,再生植株 R_1 花粉母细胞减数分裂过程中出现单价体、多价体、染色体桥、落后染色体、断片和微核等异常现象^[17]。分子标记多态性研究发现,宁麦3号与抗赤霉病的体细胞无性系宁895004在分子水平上具有显著差异^[18]。扬麦158与其经幼胚组培产生的两个抗赤霉病突变系间的 AFLP 分析同样发现了多个

位点的变异^[19]。

1.4 体细胞无性系变异培育抗赤霉病小麦品种

江苏省农业科学院利用宁麦3号、扬麦3号、扬麦5号和扬麦158等农艺性状优良且丰产稳产品种的幼胚、幼穗及其培养物,幼胚经脱分化形成愈伤组织再脱分化成苗,得到绿苗3 000丛,经过选择和鉴定,获得了一批抗小麦赤霉病且农艺性

状优良的育种材料。以宁麦3号为供体获得体细胞无性系变异,经农艺性状及赤霉病抗性鉴定,育成了生抗1号,于1999年通过江苏省品种审定。以扬麦158幼胚为外植体,诱导再生成苗,经农艺性状和抗病性鉴定,育成了赤霉病抗性较供体显著提高的小麦品种——生选3号^[20](图1),于2001年通过江苏省品种审定。

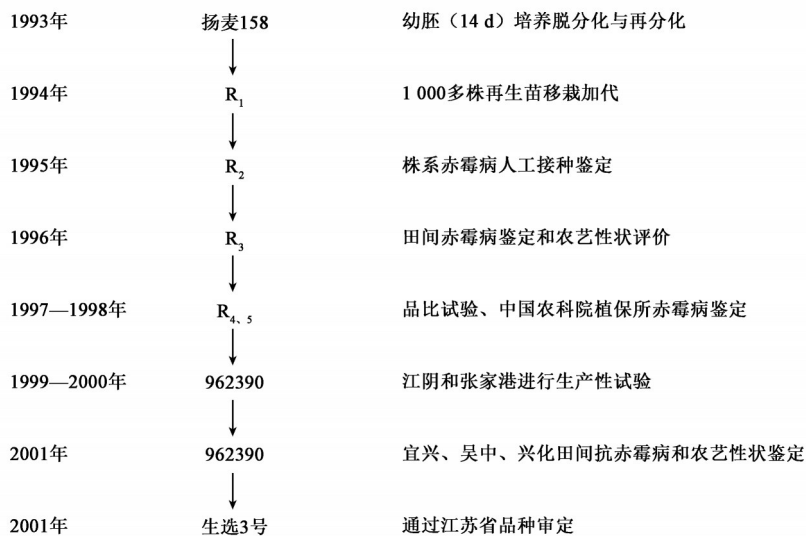


图1 生选3号选育过程

Fig.1 Breeding process of Shengxuan 3

2 加倍单倍体培育与应用

有性杂交是有目的培育抗赤霉病品种的有效途径。有性杂交后代重组基因型的纯合速度影响着常规育种的效率。为了加快基因型纯合速度,加倍单倍体技术在抗赤霉病育种中得到了研究与应用。

2.1 花药培养诱导加倍单倍体

培养基和基因型是影响花药培养效果的重要因素。不同基因型绿苗产出率差异很大,Alondra与苏麦3号相比绿苗产出率相差10倍^[6]。不同杂交组合的花药培养出愈率和绿苗分化率也存在显著差异,最高出愈率达85.32%,最低4.0%,绿苗分化率最高达17.9%,最低为0。杂交组合父本、母本对F₁花粉绿苗产量的影响明显,以扬麦158为母本、望水白为父本的F₁代花粉绿苗比例为6.79%;以苏麦3号、繁60096为父本的F₁代花粉绿苗比例分别是1.62%和0.99%。不同世代小麦

花药培养的遗传效应分析发现出愈率主要受显性效应影响,而绿苗分化率以加性和显性效应为主,也存在上位效应和基因间的互作^[21]。培养基比较试验中,C17和W14两种培养基较适合小麦花药培养,添加低浓度生长调节剂4PU-30可改善愈伤组织质量,从而提高绿苗分化率^[22]。

花药培养诱导加倍单倍体技术已成功用于赤霉病抗性遗传改良。江苏省农业科学院利用花药培养诱导双单倍体技术结合常规育种选育出了生抗2号、生选6号等赤霉病抗性改良的小麦新品种。其中生选6号是以矮秆、大穗、中感赤霉病的宁麦8号为母本,以高产、中抗赤霉病的弱筋小麦宁麦9号为父本,杂交种子经花药培养、诱导单倍体、秋水仙素获得加倍,后代经性状鉴定与田间筛选,于2008年通过国家品种审定(图2)。据国家区试2005—2009年的鉴定结果,在421个参试品种(系)中,22个品种(系)在一年鉴定中达到“抗”,而生选6号连续两年鉴定结果都为“抗”^[23]。

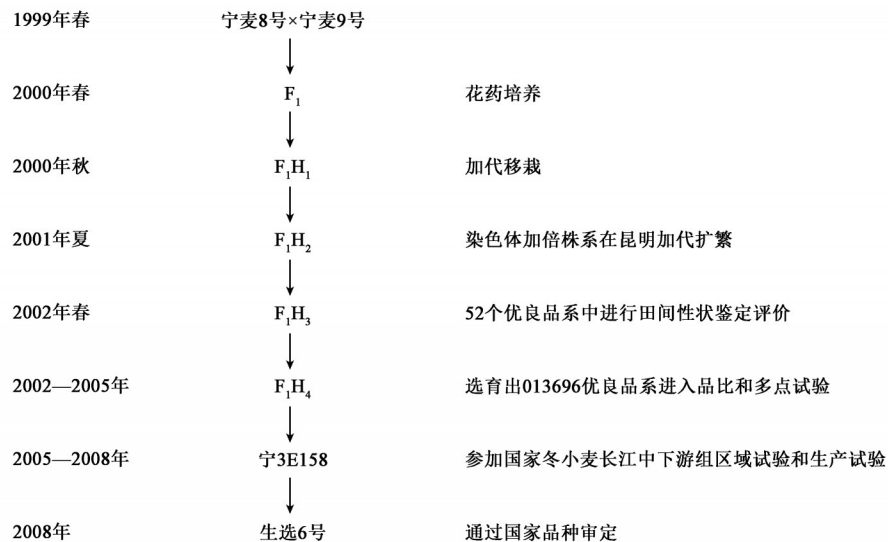


图2 生选6号选育过程

Fig.2 Breeding process of Shengxuan 6

2.2 玉米授粉诱导小麦加倍单倍体

玉米授粉诱导加倍单倍体的原理是:小麦玉米杂交后,在最初的3次细胞分裂中来自玉米花粉的染色体被逐渐排除掉,只剩下21条来自母本小麦的染色体,形成了小麦单倍体胚,单倍体胚培养成苗经染色体加倍可获得纯合的加倍单倍体。

玉米基因型、玉米与小麦花期的匹配度、2,4-D处理及培养条件影响着玉米授粉诱导加倍单倍体的效率。广甜2号(甜玉米)、中北407(普通玉米)、爆裂玉米和中糯2号(糯玉米)的得胚率分别为35.7%、10.3%、8.7%和5.9%^[24]。甜玉米、糯玉米、普通玉米得胚率逐步降低^[25]。小麦与玉米杂交必须保证花期相遇,常采用分期播种并配合适当的设施条件以及加强肥水管理等方法来调节花期,或利用夏季气温较低地区的繁殖以解决小麦与玉米花期不遇的问题。玉米花粉的新鲜度也影响得胚率,以开花第1天取得的玉米花粉对小麦授粉得胚率最高,此后逐渐降低^[26]。玉米花粉授粉的小麦胚乳严重败育或异常退化,使得杂种幼胚在生长发育早期因胚乳营养供应不足而夭亡,可应用2,4-D处理授粉后的杂交穗或小花,促进小麦子房发育膨大,直至能进行离体培养。2,4-D的处理方法中以喷洒柱头法得胚率高,其次为节间注射法,100 mg·L⁻¹的2,4-D浓度得胚率最高^[27]。

玉米授粉诱导产生的单倍体胚还需进行胚拯

救,胚拯救成苗效率受胚龄、幼胚大小及培养条件的影响^[28-29],在授粉后12~16 d选择0.5~1.0 mm的幼胚进行离体培养可获得更高的成苗率^[30]。此外,幼胚离体培养产生的单倍体植株须经加倍获得纯合的加倍单倍体,用秋水仙素溶液对具有2~3个分蘖的单倍体植株进行浸根处理,并向其中加入20 mL·L⁻¹的二甲基亚砜(DMSO)的处理效果更好^[31]。

江苏省农业科学院在玉米授粉培育加倍单倍体研究基础上育成了抗赤霉病的小麦品种宁麦20。宁麦20是以矮秆、多穗、抗赤霉病新品系Y18为母本,与高产、中抗赤霉病、高抗小麦黄花叶病的生选4号为父本杂交,经玉米杂交的染色体消失技术创制加倍单倍体,经性状鉴定筛选培育而成,于2012年通过江苏省品种审定(图3)。经多年人工单花滴注接种鉴定和省区域试验指定单位鉴定,宁麦20赤霉病抗性达到“抗”级。2009—2011年江苏省2年区域试验鉴定结果显示,宁麦20赤霉病反应级为0.95~1.2,抗病对照苏麦3号为0.9~1.1^[32]。

3 幼胚培养快速成苗

促进作物的发育进程是加快作物育种速度、提高作物改良效率的重要方向。王海波等^[33]提出利用“幼胚培养”省去种子发育时间,通过理化调

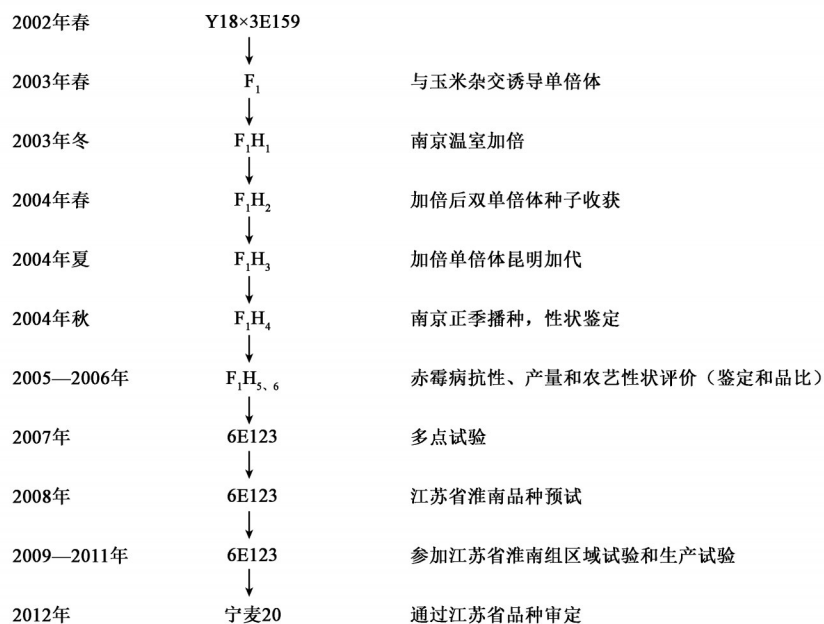


图3 宁麦20选育过程

Fig.3 Breeding process of Ningmai 20

控加快植株发育速度的作物快速发育技术。利用幼胚离体培养技术打破种子休眠,加快植株生长,可实现一年多代的育种目标,对于利用分子标记辅助选择转移抗赤霉病QTL位点尤为重要。

3.1 幼胚培养快速成苗影响因素

胚龄是培养成苗的重要因素,小麦花后8~16 d的幼胚均能培养成苗,胚龄越大成苗率越高,以花后12~14 d的幼胚培养较好^[34]。培养基及激素配比也影响幼胚成苗,以12 d胚龄的幼胚进行培养,向培养基中添加0.1 mg·L⁻¹萘乙酸(NAA)后幼胚成苗率、生根苗率、平均根长、茎粗等性状显著高于其他浓度,且侧根数量也多^[34],在培养基中添加2,4-D,生根率则随着2,4-D浓度的增加而显著降低。添加麦芽提取物可显著促进幼胚萌发和生长,表现为成苗率高、根系生长快、侧根多、幼苗茎粗、植株高、单株根数多^[34]。同时在培养基中添加0.5%麦芽提取物和0.1 mg·L⁻¹的NAA时,除幼胚苗根长高于单一使用麦芽提取物的处理外,其余性状没有显著差异^[35]。

3.2 幼胚培养结合标记辅助选择培育抗赤霉病小麦材料

以抗赤霉病小麦品种苏麦3号为赤霉病抗性供体,感赤霉病小麦扬麦15为轮回亲本,采用幼胚离体培养和分子标记辅助选择相结合将苏麦3

号的主效抗赤霉病QTL向扬麦15转移,提高后代材料的赤霉病抗性。对杂交或回交后代在苗期提取DNA进行分子标记检测,保留阳性植株与扬麦15进行回交,授粉后12~14 d取麦穗剥出籽粒经75%乙醇消毒30 s和0.1%氯化汞消毒10~15 min后,无菌水冲洗3~5次,在无菌条件下剥出幼胚,将幼胚尖端向下接种在培养基上,放入25℃培养室中培养,接种4 d后置于2~4℃条件下春化15 d,然后移栽至钵钵中生长。利用生长室和温室,13个月内完成了5代回交,接着在生长室内进行自交,获得了稳定的育种材料。对亲本材料扬麦15、苏麦3号以及回交高代材料进行单花滴注接种鉴定,发现携带与苏麦3号主效QTL连锁分子标记的BC₅F₄代植株病小穗率在16.72%~40.08%之间,而对照扬麦15的病小穗率为48.75%^[36]。

4 展望

植物细胞工程应包括胚胎培养、加倍单倍体、体细胞无性系变异、原生质体培养、体细胞杂交、组织培养快速繁殖、细胞悬浮培养及固定化细胞培养等^[1],本文着重总结了以抗小麦赤霉病育种为目标在植物细胞工程技术方面的研究与应用进展。实践表明,运用体细胞无性系变异的诱导、加

倍单倍体培育和幼胚快速成苗等细胞工程技术可增加遗传变异范围,提高常规育种效率,20多年来已经育成了生抗1号、生抗2号、生选3号、生选4号、生选6号、宁麦20等小麦品种,分别通过国家或省小麦品种审定。育成品种的赤霉病抗性较供体或对照品种均有所提高,其中生选6号和宁麦20在国家和省统一品种试验的病害抗性鉴定中表现为抗赤霉病^[23,32]。

细胞工程技术在小麦育种中应用也存在着一定局限性,比如,体细胞无性系突变的多方向性、遗传稳定性、部分基因型再生困难,以及在组织培养中的变异愈伤组织再生能力下降等都是该技术应用于小麦育种所面临的问题^[37]。加倍单倍体培育是杂交后基因型快速纯合的重要途径,花药或小孢子离体培养诱导阶段受诸多因素影响,体外再生的优化同样复杂而困难,存在基因型依赖性和单倍体诱导率低等问题^[38]。小麦与玉米杂交的染色体消失法避免了小麦基因型的限制,是目前在小麦育种中应用较多的加倍单倍体培育方法^[39]。近年发展起来的不依赖于离体培养的靶向着丝点操纵法(targeted centromere manipulation, CENH3),通过CENH3的靶向调控导致不同作物的纺锤体附着缺陷,进而导致单倍体诱导系的缺失,类似于玉米的诱导系,有可能在将来的育种中得到应用^[40]。

植物细胞工程是建立在现代生物科学和工程技术基础上的技术,其发展有赖于植物学、植物生理学、遗传育种学、基因组学、分子生物学、植物营养学等学科的发展与进步。随着学科的发展,植物细胞工程技术不限于植物组织和细胞培养直接在育种上的应用,而更多地小麦赤霉病抗性遗传机制和分子机制研究的基础上,利用细胞生物学、系统生物学、基因组学、蛋白组学、代谢组学等研究成果,与分子标记辅助选择、遗传转化或基因组编辑等分子育种技术相结合,在分子水平上对小麦赤霉病抗性进行遗传改良^[41-42]。

参 考 文 献

- [1] 汪勋清,刘录祥.植物细胞工程研究应用与展望[J].核农学报,2008,22(5):635-639.
- [2] MA H, ZHANG X, YAO J, et al.. Breeding for the resistance to *Fusarium* head blight of wheat in China [J]. Front. Agric. Sci. Eng., 2019, 6(3):251-264.
- [3] LARKIN P J, SCOWCROFT W R. Somaclonal variation—a novel source of variability from cell-cultures for plant improvement [J]. Theor. Appl. Genet., 1981, 60: 197-214.
- [4] 高明尉,成雄鹰,胡天赐,等.小麦体细胞无性系变异新品种核组8号的选育与表现[J].浙江农业科学,1992(6):261-263.
- [5] 马鸿翔,陆维忠.小麦赤霉病抗性改良研究进展[J].江苏农业学报,2010,26(1):197-203.
- [6] 陆维忠,余建明,吴鹤鸣,等.小麦幼穗、茎、节组织培养和植株再生[J].江苏农业学报,1988,4(1):14-18.
- [7] 陆维忠,程顺和,沈晓蓉,等.细胞工程在小麦抗赤霉病育种中的利用[J].江苏农业学报,1998, 14(1):9-14.
- [8] BAI G H, DESJARDINS A E, PLANTTNER R D. Deoxynivalenol-nonproducing *Fusarium graminearum* causes initial infection, but does not cause disease spread in wheat spikes [J]. Mycopathologia, 2002, 153(2):91-98.
- [9] YANG Z, YANG X, HUANG D. Studies on somaclonal variants for resistance to scab in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) through in vitro selection for tolerance to deoxynivalenol [J]. Euphytica, 1998, 101(2):213-219.
- [10] 郭丽娟,姚庆筱,胡启德,等.通过组织培养筛选小麦抗赤霉病突变体的研究[J].遗传学报,1992,19(3):259-265.
- [11] 郭丽娟,姚庆筱,张春,等.利用细胞工程技术筛选小麦抗病新种质的研究[J].遗传学报,1996,23(1):40-47.
- [12] 王裕中,陈怀谷,杨新宁,等.禾谷镰刀菌粗毒素的生物活性及其在小麦品种抗赤霉病性鉴定中的应用[J].中国农业科学,1989,22(4):54-57.
- [13] 陈耀锋,韩德俊,李春莲,等.普通小麦抗赤霉细胞工程育种研究I.抗镰刀菌毒素细胞变异系的分离[J].农业生物技术学报,1998,6(3):217-221.
- [14] 陆维忠,蒋宁,周楠,等.小麦抗赤霉病无性系变异的研究与应用[J].农业生物技术学报,1995,3(2):7-11.
- [15] 刘进平,郑成木,胡新文.体细胞无性系变异研究进展[J].华南热带农业大学学报,2001,7(2):22-29,34.
- [16] 周楠,陆维忠,葛美蓉.小麦体细胞无性系变异的同工酶分析[J].江苏农业学报,1991,7(3):17-22.
- [17] 吴鹤鸣,陆维忠,周楠.小麦体细胞再生株(R1)的染色体变异分析[J].植物学报,1992,34(3):226-232.
- [18] 沈晓蓉,陆维忠,许仁林,等.小麦体细胞无性系895004与供体亲本的抗赤性农艺性状比较和RAPD分析[J].江苏农业学报,1996,12(1):7-10.
- [19] 向阳海,陆维忠,朱作为,等.小麦品种"扬麦158"与其两个抗赤霉病突变系的 AFLP 分析[J].江苏农业学报,2001,17(3):190-192.
- [20] 陆维忠,程顺和,马鸿翔,等.优质、高产、抗赤霉病小麦新品种—生选3号[J].江苏农业学报,2003,19(2):69.
- [21] 黄承彦,颜廷进,张存良,等.不同世代小麦花药培养的遗传效应分析[J].作物学报,1991,17(4):304-310.
- [22] 章静娟,沈晓蓉,周森平,等.不同杂交组合对小麦花粉植株再生的影响[J].江苏农业学报,1998,14(4):198-202.
- [23] 陆维忠,马鸿翔.高产抗赤霉病小麦新品种生选6号的选育[J].江苏农业科学,2010(5):153-154.
- [24] 蔡华,马传喜,周森平,等.小麦与玉米远缘杂交诱导小麦单倍体的研究[J].麦类作物学报,2004,24(2):11-14.
- [25] 王广金.小麦与玉米杂交产生单倍体频率的研究[J].麦类作物学报,1998,18(6):12-14.
- [26] 蔡华,马传喜,黄正来,等.小麦×玉米诱导小麦单倍体高效系

- 统的建立[J]. 核农学报, 2006, 20(2): 90-94.
- [27] 蔡华, 马传喜, 司红起, 等. 利用小麦与玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体的研究进展[J]. 麦类作物学报, 2006, 26(4): 154-157.
- [28] 陈新民, 徐惠君, 周俊芳, 等. 提高小麦×玉米胚培养植株产生频率的研究[J]. 中国农业科学, 1996, 29(4): 29-32.
- [29] 吕国锋, 范金萍, 高德荣, 等. 胚龄对小麦×玉米单倍体植株产生的影响[J]. 江苏农业学报, 2003, 19(1): 59-60.
- [30] 蔡华, 马传喜, 乔玉强, 等. 小麦×玉米单倍体植株再生体系的建立[J]. 激光生物学报, 2007, 16(1): 43-48.
- [31] 陈新民, 张文祥, 崔淑兰, 等. 小麦×玉米产生小麦单倍体的染色体加倍研究[J]. 中国农业科学, 2002, 35(4): 447-450.
- [32] 陆维忠, 姚金保, 马鸿翔. 抗赤霉病小麦新品种宁麦 20 的选育[J]. 江苏农业科学, 2013, 41(7): 86-87.
- [33] 王海波, 王彦霞, 赵和. 如何加快作物遗传改良的速度[J]. 河北农业科学, 2003, 7(3): 50-56.
- [34] 张鹏, 霍燕, 马鸿翔. 外源添加物对小麦幼胚成苗质量的影响[J]. 麦类作物学报, 2009, 29(1): 31-34.
- [35] 张鹏, 霍燕, 马鸿翔. 麦芽提取物对小麦幼胚成苗培养及淀粉酶活性的影响[J]. 江苏农业学报, 2009, 25(3): 703-705.
- [36] 张鹏, 王磊, 杨学明, 等. 幼胚培养与标记辅助选择培育抗赤霉病小麦新种质[J]. 江苏农业科学, 2012, 40(11): 70-71.
- [37] REICHERT N A. History of plant genetic mutations ± human influences [J/OL]. In Vitro Cell. Dev. Biol. Plant, 2021, doi: 10.1007/s11627-021-10182-4[2021-08-10]. <https://doi.org/10.1007/s11627-021-10182-4>.
- [38] DWIVEDI S L, BRITT A B, TRIPATHI L, *et al.* Haploids: constraints and opportunities in plant breeding [J]. Biotechnol. Adv., 2015, 33(6): 812-829.
- [39] NIU Z, JIANG A, HAMMAD W A, *et al.* Review of doubled haploid production in durum and common wheat through wheat×maize hybridization [J]. Plant Breed., 2014, 133(3): 313-320.
- [40] LYU J, YU K, WEI J, *et al.* Generation of paternal haploids in wheat by genome editing of the centromeric histone *CENH3* [J]. Nat. Biotechnol., 2020, 38(12): 1397-1401.
- [41] RÓEWICZ M, WYZIŃSKA M, GRABIŃSKI J. The most important fungal diseases of cereals-problems and possible solutions [J/OL]. Agronomy, 2021, 11(4): 714[2021-08-10]. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040714>.
- [42] FERNANDO W G D, OGHENEKARO A O, TUCKER J R, *et al.* Building on a foundation: advances in epidemiology, resistance breeding, and forecasting research for reducing the impact of Fusarium head blight in wheat and barley [J]. Can. J. Plant Pathol., 2021, 43(4): 495-526.