

网络出版时间:2016-06-08 16:21

DOI:10.13207/j.cnki.jnwfufu.2016.07.014

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20160608.1621.028.html

甜玉米单倍体诱导和加倍方法研究

姜 龙¹, 南 楠², 王薪淇¹, 李向永¹, 景桂昕¹, 邢 政¹, 赵仁贵¹

(1 吉林农业大学 农学院, 吉林 长春 130118; 2 东北师范大学 生命科学学院, 吉林 长春 130024)

【摘 要】 【目的】探索单倍体诱导系在甜玉米单倍体育种中应用的可能性及适宜的甜玉米单倍体诱导和加倍方法,为加快我国甜玉米育种进程、提高甜玉米育种效率奠定基础。【方法】采用 3 个诱导系和 4 个甜玉米杂交种,设计 4 种秋水仙素化学加倍甜玉米单倍体的方法,对提高甜玉米单倍体诱导率和加倍率的方法进行比较研究。【结果】甜玉米单倍体诱导试验表明,3 个单倍体诱导系的诱导率有极显著差异,其中以 TY1 的诱导率最高,为 7.99%;4 个甜玉米杂交种诱导率差异极显著,以“绿色先锋”的诱导率最高,为 7.57%。秋水仙素加倍甜玉米单倍体试验表明,浸芽法和针刺生长点法对植株伤害较严重,存活率低于 50%;浸种法(0.5 mg/mL 秋水仙素)和针刺生长点法(0.3 mg/mL 秋水仙素)的散粉率较高(48.4%,28.9%),相应的结实率也较高(15.2%,11.1%),说明浸种法处理效果最好,针刺生长点法次之。【结论】适宜的单倍体诱导和加倍方法能显著提高甜玉米单倍体的育种效率。

【关键词】 甜玉米;单倍体诱导;单倍体加倍;育种效率

【中图分类号】 S513.033

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2016)07-0095-06

Haploid inducing and doubling methods for sweet corn

JIANG Long¹, NAN Nan², WANG Xinqi¹, LI Xiangyong¹,
JING Guixin¹, XING Zheng¹, ZHAO Rengui¹

(1 College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin 130118, China;

2 School of Life Sciences, Northeast Normal University, Changchun, Jilin 130024, China)

Abstract: 【Objective】The possibility of applying inducing lines in breeding of sweet corn haploids and suitable methods for sweet corn haploids doubling were investigated to accelerate the breeding process and improve the breeding efficiency of sweet corn in China. 【Method】Three inducing lines and four hybrids were used to set four colchicine doubling methods. The results on improving inducing rate and doubling rate of sweet corn haploids were compared. 【Result】The inducing rates of three inducing lines were extremely significantly different with the highest value of 7.99% for TY1. The inducing rates of four sweet corn hybrids were also extremely significantly different with the highest values of 7.57% for Lüsèxiānfēng. Of the four haploid colchicine doubling treatments (dipping seeds, roots, buds and acupuncture growing point), the plant survival rates of dipping buds method and acupuncture growing point method were lower than 50%. Doubling frequencies of dipping seeds method at 0.5 mg/mL colchicine and acupuncture growing point method at 0.3 mg/mL colchicine performed better, with the fertile plants rates of 48.4% and 28.9% and plants seeding rates of 15.2% and 11.1%, respectively. Dipping seeds method was the best

【收稿日期】 2014-11-19

【基金项目】 国家星火计划项目(2011GA660005);吉林省财政厅科研育种项目(吉财 2012002);长春市科技支撑计划项目(长科技合 2011215 号)

【作者简介】 姜 龙(1988—),男,吉林农安人,博士,主要从事玉米种质资源创新与 DH 育种研究。

E-mail:jianglong335@sina.com

【通信作者】 赵仁贵(1966—),男,吉林松原人,教授,博士生导师,主要从事特用玉米遗传育种与新品种选育研究。

E-mail:zhaorengui@sina.com

followed by acupuncturing growing point method in chromosome doubling. 【Conclusion】 Suitable inducing and doubling methods could improve sweet corn breeding efficiency.

Key words: sweet corn; haploid induction; haploid doubling; breeding efficiency

甜玉米(*Zea mays* L. *saccharata* Sturt) 又称甜质玉米, 为玉米属(*Zea mays* L.) 的一个亚种, 是一种集果、蔬、饲、粮于一体的经济作物, 具备嫩、脆、香、黏、甜的特点, 素有“水果玉米”、“蔬菜玉米”之称。甜玉米鲜穗可直接食用或用于加工, 具有较高的营养价值, 深受消费者青睐。我国甜玉米育种起步较晚, 20 世纪 50 年代从美国引进了一批甜玉米材料, 开始了甜玉米育种的研究, 但是因为一些原因研究中断, 之后于 1968 年成功培育出第一个甜玉米品种“北京白砂糖”^[1]。20 世纪 80 年代, 中国农业科学院作物研究所成功培育了一批甜玉米新品种, 如“金穗 1 号”、“农梅 1 号”、“甜玉 2 号”、“东甜 2 号”等^[2]。20 世纪 90 年代以来广泛开展各项甜玉米育种项目, 一定数量的新品种相继问世^[3]。但目前我国的甜玉米种质资源仍较为匮乏, 育种者对种质资源了解程度不够, 对大量的种质资源缺乏有效的鉴定、筛选和评价, 从而导致甜玉米田间常规育种工作量大、组合组配盲目性高、育种效率比较低。

基于孤雌生殖诱导的单倍体技术可明显缩短玉米选系时间, 仅需 2 代即可获得 DH(Doubled Haploid) 系。国内外各大公司、科研院所和高等院校相继开展了玉米 DH 育种, 以加速玉米优良自交系培育及新品种育成步伐, 并应用于玉米育种实践。然而玉米 DH 育种受两个因素所限制: 一是难以获得

足够数量的单倍体, 即单倍体诱导率低, Stock6 现仅为 1.14%^[4]; 二是单倍体二倍化困难, 即加倍率低, 加倍率达 10% 以上尚很难实现^[5-7]。目前关于普通玉米单倍体的人工化学加倍方法的研究较多^[8-10], 其中秋水仙素对玉米种子、幼芽、花蕾、花粉和嫩枝都可产生诱变作用, 应用最为广泛^[11]。但关于采用单倍体技术选育甜玉米自交系, 并应用于甜玉米单倍体育种的相关研究却罕见报道。鉴于此, 本研究采用 3 个诱导系分别对东北地区推广面积较大的“绿色先锋”和“甜玉 8 号”以及吉林农业大学特用玉米育种组选育的 2 个甜玉米杂交种进行杂交诱导, 以获得甜玉米单倍体, 并通过设计 4 种秋水仙素化学加倍甜玉米单倍体的方式, 进一步探讨适宜的甜玉米单倍体加倍技术, 通过对甜玉米单倍体育种的初步探索, 以期为加快我国甜玉米育种的进程、提高甜玉米育种效率奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试材料

以 3 个单倍体诱导系 TY1、TY2、TY3 作父本, 以东北地区推广面积较大的甜玉米杂交种“绿色先锋”和“甜玉 8 号”以及吉林农业大学特用玉米育种组选育的甜玉米杂交种“吉甜 188”、“吉甜 99”为母本, 进行杂交诱导。父母本名称及血缘见表 1。

表 1 甜玉米单倍体诱导所用父母本名称及血缘

Talbe 1 Names and consanguinities of the parents used in this study

父本 Male		母本 Female	
名称 Name	血缘 Consanguinity	名称 Name	血缘 Consanguinity
TY1	Stock6/吉高诱 3//吉高诱 3	Stock6/Jigaoyou 3//Jigaoyou 3	甜玉 8 号 Tianyu 8 218×988
TY2	CAU5/吉高诱 3//吉高诱 3	CAU5/Jigaoyou 3//Jigaoyou 3	吉甜 188 Jitian 188 218×J208
TY3	RWS/吉高诱 3//吉高诱 3	RWS/Jigaoyou 3//Jigaoyou 3	绿色先锋 Lüsexianfeng SS3574×SS8611
			吉甜 99 Jitian 99 SS3574×J19

1.2 杂交诱导试验

父母本于 2013 年 12 月种植于吉林农业大学(三亚)作物育种基地, 每个试验材料种植 2 行, 行距 90 cm, 密度为 7.5 万株/hm², 采用随机区组设计, 3 次重复。于母本吐丝后 3~4 d 进行杂交诱导, 每个试验材料 10~20 穗, 收获结实性好的果穗, 自然风干后混合脱粒, 进行单倍体的初步鉴定。根据 Chase^[12]提出的遗传标记法对收获的杂交种籽粒进行逐粒鉴定, 即胚乳糊粉层呈现紫色标记、胚芽部位

无色、胚面较小且凹陷较深的籽粒为准单倍体籽粒。根据杂交当代籽粒总粒数和准单倍体籽粒数, 计算单倍体诱导率:

单倍体诱导率=(准单倍体籽粒数/诱导的总籽粒数)×100%。

1.3 加倍试验

加倍药剂为上海如吉生物试剂经销有限公司生产的秋水仙素原药和 2.5% 二甲基亚砜(DMSO)。采取浸种法、浸芽法、浸根法、针刺生长点法 4 种处

理方法,每种方法分 3 个质量浓度梯度(0.1,0.3,和 0.5 mg/mL)进行。

(1)浸种法。先将甜玉米种子清水浸泡 10 h,然后用 0.1,0.3,0.5 mg/mL 秋水仙素溶液浸泡 24 h,再用清水浸泡 6.5 h,流水清洗 1.5 h 后播种。

(2)浸芽法。采用毛巾卷法催芽,当幼芽长约 2 cm 时用刀片将幼芽顶端胚芽鞘切掉 1~2 mm,使之露出一个小口(但不要伤害到嫩芽),将其在室温下密闭浸泡在不同质量浓度(0.1,0.3,0.5 mg/mL)的秋水仙素+2% DMSO 溶液中,浸泡 6.5 h,流水清洗 1.5 h 后播种在育苗盘中,待幼苗长到 4~5 片叶时移栽至大田。

(3)浸根法。将甜玉米单倍体种子在清水中浸泡 6.5 h 之后,置于 27.5 ℃ 培养箱中催根,待幼苗长到 2~3 叶时,将其置于 4 ℃ 冰箱中炼苗 2~3 h,而后用自编的带有小孔且上面覆有一层保湿滤纸的铁丝网固定幼芽而将幼根浸泡于不同质量浓度 0.1,0.3,0.5 mg/mL 的秋水仙素+2% DMSO 溶液中,保持秋水仙素溶液漫过幼根生长点,浸泡 6.5 h 后,再用流水清洗 1.5 h,然后移栽至大田。

(4)针刺生长点法。在田间长势一致的甜单倍体幼苗长至 6~7 叶时,用微量移液器抽取 5 μL 的不同质量浓度(0.1,0.3,0.5 mg/mL)秋水仙素+2% DMSO 溶液注射于幼苗茎秆盾片节处的生长点。

加倍材料源于试验 1.2 中杂交诱导产生的甜玉米单倍体,将准单倍体籽粒根据不同的秋水仙素加倍处理需求种植田间,去除非单倍体植株。田间观

察成活率、散粉率、结实率和药害情况。以甜玉米单倍体植株是否散粉和结实来判断其是否加倍成功。试验于 2014 年 5 月在吉林农业大学作物育种基地(长春)进行。成活率、散粉率、结实率采用以下公式进行计算:

成活率=(单倍体株数/单倍体籽粒数)×100%;

散粉率=(散粉株数/单倍体总株数)×100%;

结实率=(单倍体自交结实株数/单倍体总株数)×100%。

1.4 统计方法

利用 Excel 2007 和 DPS 7.1 软件对试验数据进行计算与分析^[13]。

2 结果与分析

2.1 甜玉米杂交诱导试验

2.1.1 杂交诱导后诱导率的统计 母本甜玉米杂交种经父本诱导系杂交诱导后的诱导率见表 2。由表 2 可知,单倍体诱导系 TY1 的平均诱导率最高,为 7.99%;TY3 的平均诱导率最低,为 3.15%;3 个单倍体诱导系间平均诱导率的差异达极显著水平。表明单倍体诱导系 TY1 是一个较好的甜玉米单倍体诱导系。4 个甜玉米杂交种经诱导系诱导后,诱导率均值以“绿色先锋”最高(7.57%),极显著高于“吉甜 188”、“吉甜 99”和“甜玉 8 号”;“吉甜 188”和“吉甜 99”间诱导率差异不显著,但均极显著高于“甜玉 8 号”。

表 2 3 个诱导系诱导 4 个甜玉米杂交种的诱导率
Talbe 2 Inducing rates of four sweet corn hybrids haploids by three haploid inducing lines %

品种名称 Variety name	TY1			TY2			TY3			均值 Mean value
	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	重复 1 Repeat 1	重复 2 Repeat 2	重复 3 Repeat 3	
甜玉 8 号 Tianyu 8	5.28	5.32	5.54	2.35	2.51	2.84	1.82	1.99	2.31	3.20 cC
吉甜 188 Jitian 188	8.18	8.31	8.76	3.36	3.84	4.72	2.45	2.56	3.05	4.83 bB
绿色先锋 Lusexianfeng	10.20	10.80	11.40	6.09	6.53	7.32	4.51	4.89	5.32	7.57 aA
吉甜 99 Jitian 99	6.74	7.27	8.04	3.87	4.29	4.45	2.45	3.04	3.37	5.01 bB
均值 Mean value	7.99 aA			4.31 bB			3.15 cC			

注:不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$)。
Note:Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$),while different uppercase letters indicate extremely significant difference ($P<0.01$).

2.1.2 诱导率的方差分析及差异显著性检验 由表 3 可知,3 个单倍体诱导系间、4 个甜玉米杂交种间、不同诱导系对不同甜玉米杂交种的诱导率间差异均达极显著水平,试验中的区组间差异极显著说明试验设计达到了局部控制效果。

2.2 甜玉米杂交种的加倍试验

2.2.1 不同加倍方法对甜玉米单倍体植株成活率

的影响 表 4 结果表明,采用不同的加倍处理方法时,随着秋水仙素质量浓度的增加,甜玉米单倍体植株的成活率整体均呈下降趋势。其中浸根法中秋水仙素的适宜质量浓度为 0.1 mg/mL (成活率为 74.5%),针刺生长点法中秋水仙素的适宜质量浓度为 0.3 mg/mL(成活率为 42.7%)。在每种质量浓度下,浸芽法和针刺生长点法中的成活株数均较浸

根法少,受害程度都较为严重,其中浸芽法在秋水仙素 3 种质量浓度下的存活率分别仅为 38.6%,

表 3 甜玉米杂交诱导率的方差分析
Table 3 of Variance analysis of inducing rates of sweet corn

变异来源 Variation of source	DF	SS	MS	F	F _{0.05}	F _{0.01}
区组间 Between group	2	4.26	3.89	9.27**	3.64	5.92
处理间 Treatment	11	238.34	40.72	96.95**	3.46	3.39
母本 Female	3	78.82	49.27	117.32**	3.25	5.02
父本 Male	2	152.76	142.85	340.11**	3.64	5.92
母本×父本 Female×Male	6	7.16	2.26	5.38**	2.75	3.96
误差 Error	22	5.12	0.42			
总变异 Total variation	35	243.26	7.14			

注: ** 表示差异达极显著。
Note: ** means extremely significant difference.

表 4 不同质量浓度秋水仙素加倍处理时甜玉米单倍体的成活情况
Table 4 Survival rates of sweet corn haploid plants at different colchicines concentrations

处理 Treatment	秋水仙素质量浓度/(mg·mL ⁻¹)Colchicine concentration								
	0.1			0.3			0.5		
	成活株数 Survival number	总株数 Sum of strains	成活率/% Survival rate	成活株数 Survival number	总株数 Sum of strains	成活率/% Survival rate	成活株数 Survival number	总株数 Sum of strains	成活率/% Survival rate
浸根法 Dipping root method	76	102	74.5	54	92	58.7	43	90	47.8
浸芽法 Dipping bud method	32	83	38.6	34	88	38.6	21	85	24.7
针刺生长点法 Acupuncturing growing point method	34	83	41.0	38	89	42.7	20	78	25.6

注:由于浸种后直接播种,故未统计浸种法的成活率。
Note:Due to direct sowing after dipping,there is no statistical survival rate for dipping seeds method.

2.2.2 不同加倍方法对单倍体植株散粉和结实的 影响 不同质量浓度秋水仙素加倍处理时甜玉米单

表 5 不同质量浓度秋水仙素加倍处理时甜玉米单倍体的散粉情况
Table 5 Fertility rate of sweet corn haploid plants at different colchicines concentrations

处理 Treatment	秋水仙素质量浓度/(mg·mL ⁻¹)Colchicine concentration								
	0.1			0.3			0.5		
	散粉株数 Fertile number	总株数 Sum of strains	散粉率/% Fertility rate	散粉株数 Fertile number	总株数 Sum of strains	散粉率/% Fertility rate	散粉株数 Fertile number	总株数 Sum of strains	散粉率/% Fertility rate
浸种法 Dipping seed method	9	81	11.1	11	79	13.9	44	91	48.4
浸根法 Dipping root method	3	103	2.9	10	93	10.8	4	91	4.4
浸芽法 Dipping bud method	7	84	8.3	3	89	3.4	3	86	3.5
针刺生长点法 Acupuncturing growing point method	16	84	19.0	26	90	28.9	7	79	8.9

表 6 不同质量浓度秋水仙素加倍处理时甜玉米单倍体的结实情况
Table 6 Seed rates of sweet corn haploids at different colchicine concentrations

处理 Treatment	秋水仙素质量浓度/(mg·mL ⁻¹)Colchicine concentration								
	0.1			0.3			0.5		
	结实株数 Seed number	总株数 Sum of strains	结实率/% Seed rate	结实株数 Seed number	总株数 Sum of strains	结实率/% Seed rate	结实株数 Seed number	总株数 Sum of strains	结实率/% Seed rate
浸种法 Dipping seed method	4	82	4.9	6	80	7.5	14	92	15.2
浸根法 Dipping root method	3	103	2.9	1	93	1.1	1	91	1.1
浸芽法 Dipping bud method	2	84	2.4	1	89	1.1	1	86	1.2
针刺生长点法 Acupuncturing growing point method	3	84	3.6	10	90	11.1	4	79	5.1

由表 5,6 可知,在 4 种加倍方法中,浸种法的加倍效果最好,3 种秋水仙素质量浓度处理下的散粉

率均超过10%,在秋水仙素质量浓度为0.5 mg/mL时散粉率达到最高,为48.4%,此时结实率也最高,为15.2%。针刺生长点法在0.3 mg/mL秋水仙素处理下的散粉率为28.9%,结实率为11.1%;而浸根法和浸芽法的散粉率均低于10.8%,在秋水仙素质量浓度为0.3和0.5 mg/mL时的结实率均在1.2%以下。由此可以看出,在散粉性和结实率方面,浸种法和针刺生长点法的加倍效果相对较好。

3 讨 论

3.1 甜玉米单倍体的诱导

虽然杜邦先锋、孟山都等国际公司已经大规模运用玉米DH育种技术实现了玉米种子的“工厂化”生产^[14-15],但在主要技术上仍存在严重缺陷。其中,单倍体诱导率低是限制玉米DH育种的瓶颈。吉林农业大学以“吉高诱3号”为轮回亲本,从中选育出诱导率在10%以上且遗传标记明显、花粉量大、持粉时间长、抗病性好的新型诱导系TY1~TY3。2013年,吉林农业大学特用玉米育种组以玉米单倍体诱导系TY1~TY3为材料,研究了诱导系对不同甜玉米基因型材料的诱导效果,结果表明,TY1~TY3对甜玉米杂交种具有诱导产生单倍体的能力,该诱导系的育成,对甜玉米DH育种将有一定的促进作用。

从本试验结果可以看出,3个供试诱导系对不同甜玉米杂交种的诱导率均存在极显著差异,诱导率高的诱导系对不同遗传背景材料的诱导率也显著高于其他诱导系。因此,与普通玉米杂交种单倍体育种中选育高诱导率的诱导系相同,选育适合于甜玉米杂交种的高诱导率诱导系,对于提高甜玉米单倍体的育种效率非常重要。

3.2 甜玉米单倍体的加倍

Chase^[16]提出用秋水仙素溶液注射普通玉米幼苗的盾片节进行加倍。Gayen等^[17]采用浸种法,使普通玉米单倍体加倍率达到了18%。魏俊杰等^[18]在6叶期和拔节期用不同质量浓度的秋水仙素配以DMSO注射处理普通玉米茎尖生长点,发现在6叶期以0.5%秋水仙素配以2.0% DMSO的处理效果最好,加倍率高达32.3%。

本试验结果表明:浸芽法和针刺生长点法对玉米植株伤害较严重,存活率均低于50%;浸种法(0.5 mg/mL秋水仙素)和针刺生长点法(0.3 mg/mL秋水仙素)的散粉率较高(48.4%,28.9%),相应的结实率也较高(15.2%,11.1%),

说明浸种法处理效果最好,针刺生长点法次之。综上所述可知,浸种法和针刺生长点法对甜玉米单倍体的加倍效果较好,散粉率和结实率相对较高。

敬成俊等^[19]研究表明,秋水仙素加倍作用是通过其与幼嫩组织正在分裂的细胞接触,引起纺锤丝立刻缩减并且在结构上也发生变化,细胞整齐地被阻止在分裂中期,从而使重组核具有加倍的染色体数。而且其还通过在植物组织中迅速扩散及使维管系统在植物体内运转,使植株组织加倍效果达到长效的目的。若将秋水仙素长期作用于植物组织,会破坏植物组织的正常生理环境,进而会使植物的生长发育产生异常表现。但由于处理方法不同,对植物所造成的伤害也可能不同。为了规避上述问题,本课题组提出在甜玉米单倍体的浸根法和浸芽法加倍处理中,应该降低秋水仙素的质量浓度以减小药害,同时浸根法中应该尝试处理侧根以使植株移栽到大田后能继续吸收水分和营养物质,而采用针刺生长点法时应注意在注射完后,多浇水并做好田间管理以增加植株存活率。

[参考文献]

- [1] 石德权,郭庆法,汪黎明,等.我国玉米品质现状、问题及发展优质食用玉米对策[J].玉米科学,2001,9(2):3-7.
Shi D Q, Guo Q F, Wang L M, et al. The situation of maize quality and development priority of high quality food maize in China [J]. Journal of Maize Sciences, 2001, 9(2): 3-7.
- [2] 梁志杰,陆卫平,苑 荣,等.特用玉米[M].北京:中国农业出版社,1997:79-104.
Liang Z J, Lu W P, Wan R, et al. Particular kind of maize [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1997: 79-104.
- [3] 郑锦荣,韩福光,李智军.国内外甜玉米产业现状与发展趋势[J].广东农业科学,2009(10):35-38.
Zheng J R, Han F G, Li Z J, et al. Domestic and international situation and development trend of sweet corn industry [J]. Journal of Guangdong Agricultural Science, 2009(10): 35-38.
- [4] 刘治先,张铭堂.玉米Stock6的遗传特性及其在玉米育种上的应用[J].山东农业科学,1996(3):4-7.
Liu Z X, Zhang M T. Genetic characteristics of maize inbred Stock6 and its application in breeding [J]. Journal of Shandong Agricultural Science, 1996(3): 4-7.
- [5] 张姿丽,冯发强,蒋 锋,等.玉米Stock6诱导单倍体研究进展[J].仲恺农业工程学院学报,2011,24(3):58-62.
Zhang Z L, Feng F Q, Jiang F, et al. Development in the research of haploid breeding by Stock6 in maize [J]. Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering, 2011, 24(3): 58-62.
- [6] Zabirowa E R, Shatskaya O A, Shcherbak V S. Line 613/2 as a source of a high frequency of spontaneous diploidization in corn

[J]. Maize Genet Coop News Lett,1993,67:67.

[7] 慈佳宾,李继竹,刘振库,等. 抗微管除草剂对玉米单倍体加倍效果研究 [J]. 玉米科学,2012,20(5):10-14.

Ci J B,Li J Z,Liu Z K,et al. Doubling effect of anti-microtubule herbicides on the maize haploid [J]. Journal of Maize Sciences, 2012,20(5):10-14.

[8] 刘志增,宋同明. 玉米单倍体雌雄育性的自然恢复以及染色体的化学加倍 [J]. 作物学报,2000,26(6):947-952.

Liu Z Z,Song T M. Fertility spontaneously restoring of inflorescence and chromosome doubling by chemical treatment in maize haploid [J]. Acta Agronomica Sinice,2000,26(6):947-952.

[9] 邢锦丰,张如养,段民孝,等. 单倍体技术在玉米育种中的应用及其问题探讨 [J]. 作物杂志,2012(2):15-17.

Xing J F,Zhang R Y,Duan M X,et al. Discussion on problems for utilization of haploid breeding of maize [J]. Crops, 2012(2):15-17.

[10] 惠国强,杜何为,杨小红,等. 不同除草剂加倍玉米单倍体的效率 [J]. 作物学报,2012,38(3):416-422.

Hui G Q,Du H W,Yang X H,et al. Doubling efficiency of maize haploids treated by different herbicides [J]. Acta Agronomica Sinice,2012,38(3):416-422.

[11] 陈绍江,黎 亮,李浩川,等. 玉米单倍体育种技术 [M]. 2 版. 北京:中国农业大学出版社,2012.

Chen S J,Li L,Li H C,et al. Maize haploid breeding [M]. 2nd ed. Beijing:China Agriculture University Press,2012.

[12] Chase S S. Monoploids and monoploid derivatives of maize (*Zea mays* L.) [J]. Bot Review,1969,35:117-167.

[13] 唐启义,冯明光. 实用统计分析及其 DPS 数据处理系统 [M]. 北京:科学技术出版社,2002:304-311.

Tang Q Y,Feng M G. Practical statistical analysis and DPS data processing system [M]. Beijing: Science Technology Press,2002:304-311.

[14] 姜 龙,慈佳宾,崔学宇,等. 不同生态条件下玉米单倍体诱导率和加倍率研究 [J]. 吉林农业大学学报,2014,36(2):139-143.

Jiang L,Ci J B,Cui X Y,et al. Study on induction rate and doubling rate of maize haploid under different ecological conditions [J]. Jouranal of Jilin Agricultural University,2014,36(2):139-143.

[15] 刘培勋,刘和平,罗仁革,等. 单倍体诱导技术在玉米育种中的应用 [J]. 种子,2014,35(5):49-52.

Liu P X,Liu H P,Luo R G,et al. Application of haploid induction breeding technology in maize [J]. Seed,2014,35(5):49-52.

[16] Chase S S. Production of homozygous diploids of maize from monoploids [J]. Agron J,1952,44:263-267.

[17] Gayen P,Maden J K,Kumar R,et al. Chromosome doubling in haploids through colchicines [J]. Maize Genet Coop News Lett,1994,68:64-65.

[18] 魏俊杰,张小丽,陈梅香,等. 6 叶期秋水仙素注射处理玉米单倍体的加倍效果研究 [J]. 玉米科学,2007,15(4):49-51.

Wei J J,Zhang X L,Chen M X,et al. Analysis of the results of injection treatment with colchicines in six leaf stage to maize haploid [J]. Journal of Maize Sciences,2007,15(4):49-51.

[19] 敬成俊,李昌庭,邓亚平,等. 秋水仙素间断式诱导植物多倍体研究 [J]. 西南大学学报(自然科学版),2013,35(7):46-51.

Jing C J,Li C T,Deng Y P,et al. A study of intermittently induced polyploidy by colchicine in plant [J]. Journal of Southwest University(Natural Science Edition), 2013,35(7):46-51.