网络出版时间:2017-11-06　13:53　　DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2017.12.006
网络出版地址:http://kns.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20171106.1353.012.html

# Tg29 诱导糯玉米单倍体的效率及 DH 系鉴定

邢　政[1],姜　龙[1,2],王薪淇[1],邓昆鹏[1],任孝慈[1],赵仁贵[1]
(1 吉林农业大学 农学院,吉林 长春 130118;2 吉林农业科技学院 农学院,吉林 吉林 132101)

[摘　要] 【目的】检验新选诱导系 Tg29 诱导糯玉米单倍体的效率以及糯玉米 DH 系的稳定性,为单倍体技术在糯玉米育种上的应用提供参考。【方法】将玉米孤雌生殖诱导系 Tg29 与 16 份不同基因型的自交系和杂交种杂交,并根据籽粒 Navajo 斑纹和 ABPI 紫色植株显性双标记系统对所诱导的孤雌生殖单倍体进行筛选;分析从京糯 6/Tyc115 中诱导出的单倍体经秋水仙素加倍获得的 16 份 DH 系的田间和农艺性状表现,从而对糯玉米 DH 系进行鉴定。【结果】在 16 份糯玉米母本材料中,从 JN18、JN18/BN2 和 Tyc115 中诱导单倍体的频率较高,分别为 10.41%,9.79%和 9.25%;而从浚白 34 和京糯 6 中诱导单倍体的频率较低,分别为 3.45%和 3.13%;Tg29 的平均单倍体诱导率为 6.55%。在株高、穗位、株型性状上,糯玉米 DH 系内均呈高度的一致性,其中 Tyc115、京糯 6、JN18 等 DH 系在生长势和果穗性状上符合育种要求。【结论】利用 Navajo 斑纹和 ABPI 紫色植株显性双标记系统来鉴别杂交诱导的糯玉米单倍体是可靠的;Tg29 对不同糯玉米基因型材料均能诱导产生单倍体,但诱导率与母本基因型材料有很大关系;糯玉米单倍体加倍获得的 DH 系的群体遗传结构是同质的,是完全意义上的纯合。

[关键词] 糯玉米;单倍体;诱导系 Tg29;DH 系
[中图分类号] S513.032　　[文献标志码] A　　[文章编号] 1671-9387(2017)12-0038-06

# Tg29 waxy maize haploid induction efficiency and DH system identification

XING Zheng[1], JIANG Long[1,2], WANG Xinqi[1], DENG Kunpeng[1], REN Xiaoci[1], ZHAO Rengui[1]
(1 *College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun, Jilin* 130118, *China*;
2 *College of Agronomy, Jilin Agricultural Science and Technology University, Jilin, Jilin* 132101, *China*)

**Abstract**:【Objective】This study tested the induction efficiency of new breeding Tg29 waxy maize haploid and stability of waxy maize DH system.【Method】Using parthenogenesis induced department Tg29 and 16 waxy maize inbred lines with different genotype hybrids, the parthenogenesis induced by the haploid were screened according to the grain Navajo markings and ABPI purple plant dominant double marking system. The characters of 16 DH from Jingnuo 6/Tyc115 double haploid induced by colchicine were analyzed to identify waxy maize DH system.【Result】Among 16 female parent materials, haploid induction rates of JN18, JN18/BN2 and Tyc115 were the highest of 10.41%, 9.79% and 9.25%, and those of Junbai 34 and Jingnuo 6 were the lowest of 3.45% and 3.13%. The average haploid induction rate of Tg29 was 6.55%. The plant height, ear height, and plant type were highly consistent among DH system and Tyc115, Jingnuo 6, and JN18 met the breeding requirements.【Conclusion】Tg29 can produce haploid induction for

[收稿日期] 2016-10-10
[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)
[作者简介] 邢　政(1990－),男,吉林洮南人,硕士,主要从事糯玉米 DH 育种研究。E-mail:417860419@qq.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

different waxy maize genotypes, but the induction rates had correlation with maternal genotype materials. Genetic structure of the DH population from waxy maize haploid doubling was completely homogeneous.

**Key words**: waxy maize; haploid; induced system Tg29; DH line

目前，基于孤雌生殖诱导的单倍体技术已成为国内外普通玉米的主流选系技术，该技术可大大缩短玉米选系时间，仅需 2 代即可获得 DH（doubled haploid）系，因而受到国内外各大公司、科研院所和高等院校的青睐[1]，但该技术在糯玉米育种相关研究方面却相对滞后。前人试验表明，玉米孤雌生殖诱导系杂交诱导单倍体的频率除了取决于其自身的遗传潜力外，还与被诱导材料的基因型有关[2]。Thiebaut 等[3]指出，从经过多次改良的材料中诱导孤雌生殖单倍体的频率高于未经改良的材料，单倍体的发生与母本产生的雌配子中存在的致死和半致死基因频率呈负相关。刘志增等[4]认为，从国内各类常用玉米自交系中诱导单倍体的效率存在一定差异。由此可见，不同母本基因型的易诱导性是有区别的。由于以往研究中单倍体的诱导频率很低，因而对不同被诱导材料单倍体发生率的差异难以进行准确推断[5]。尽管理论上糯玉米 DH 系应是基因组完全纯合稳定的自交系，但在糯玉米单倍体诱导、加倍、扩繁的一系列操作过程中，因选择标记不明显、串粉、机械混杂等仍有可能造成 DH 系不纯，从而削弱单倍体技术在糯玉米育种中的应用效果[6]。

鉴于此，本研究利用玉米孤雌生殖新选诱导系 Tg29 与 16 份不同基因型的自交系和杂交种杂交，根据籽粒 Navajo 斑纹和 ABPI 紫色植株显性双标记系统对所诱导的孤雌生殖单倍体进行筛选，进一步检验 Tg29 诱导单倍体的效率，并阐明母本基因型对单倍体诱导率的影响；同时分析京糯 6/Tyc115 中诱导出的单倍体经秋水仙素加倍获得的 16 份糯玉米 DH 系的田间和农艺性状表现，对糯玉米 DH 系进行鉴定，为孤雌生殖诱导系在糯玉米育种中的应用及加快糯玉米单倍体育种进程提供参考。

# 1　材料与方法

## 1.1　材　料

母本材料包括糯玉米杂交种和自交系，其中杂交种有万糯 2000、JN18/98W-2、DN01/7W68、京糯 6/Tyc115、JN18/Tyc115 和 JN18/BN2，自交系有 JN18（吉香糯 187 母本）、BN101（西糯 1 号母本）、W188（吉香糯 187 父本）、D6644（农科玉 368 父本）、7W68（万糯 2000 父本）、浚白 34（吉糯 288 父本）、京糯 6（京科糯 2000 母本）、JN28（吉糯 288 母本）、L66（雪糯 1 号父本）、Tyc115（吉糯 420 父本）。诱导系 Tg29（农大高诱 5 号/吉高诱 3）具有由 ACR-nj 显性基因控制的籽粒 Navajo 斑纹标记、由 ABPI 显性基因控制的紫色植株标记和大胚面不完全显性标记。

## 1.2　Tg29 诱导系玉米单倍体的获得与鉴定

2014 年冬在海南用 Tg29 分别给每个母本材料授粉 10～20 穗，收获后，根据 Chase[7] 提出的遗传标记法对收获的杂交种子逐粒鉴定，即：顶端胚乳糊粉层呈现紫色标记，胚芽部位无色，且胚面较小、呈三角形、凹陷较深的籽粒为单倍体籽粒，计算单倍体诱导率。单倍体诱导率[8]计算公式如下：

单倍体诱导率＝单倍体籽粒数/杂交诱导总籽粒数×100％。

在所挑选的单倍体籽粒中可能存在由于标记不清楚而选入的二倍体籽粒，所以又根据 ABPI 标记能够在根部表达的特点，将单倍体籽粒在培养箱中避光发芽做进一步鉴定[9]。鉴定依据：二倍体具有 *ABPI* 基因，其根系能够产生花青素而呈紫色；单倍体不具有 ABPI 基因，则其根系为白色。Tg29 诱导单倍体的过程以及单倍体的鉴定程序见图 1。

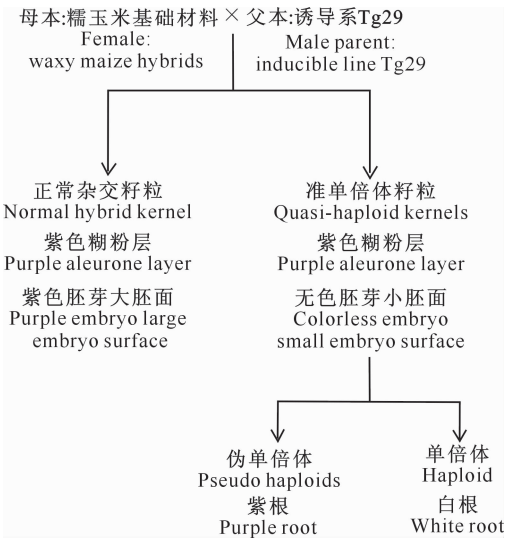


图 1　Tg29 诱导糯玉米单倍体及鉴定程序图

Fig. 1　Tg29 inducted waxy maize haploid and identification program

为了验证上述鉴定单倍体方法的可靠性，从白根籽粒中抽查了部分样品进行根尖压片，在显微镜

下观察细胞染色体的数目。以同一测交组合中不同果穗为重复数,按照重复数不等的完全随机模型对不同母本基因型材料的单倍体频率进行方差分析和多重比较。方差分析和多重比较在DPS7.1统计分析软件下进行[10]。

### 1.3 糯玉米DH系的获得

2014年冬在海南玉米育种基地筛选出的材料京糯6/Tyc115,其经Tg29诱导后所表现的单倍体植株整体较其他组合表现的更为一致,整个农艺性状以及所表现的白糯品质更倾向于市场需求。为此,本研究将京糯6/Tyc115中诱导出的单倍体经过秋水仙素加倍、田间去杂处理,最终获得16份DH系。将这16份DH系于2016年春种植于吉林农业大学作物育种基地,用于对糯玉米DH系进行鉴定。

## 2 结果与分析

### 2.1 Tg29诱导不同基因型糯玉米材料产生单倍体的频率

根据显微观察结果,所有被观察的白根籽粒的根尖染色体数目均为10条(图2)。证明通过籽粒Navajo斑纹和ABPI紫色植株显性双标记系统即可对所诱导的孤雌生殖单倍体进行确认[11]。因此,利用这一显性双标记系统来鉴别杂交诱导的孤雌生殖单倍体是可靠的。

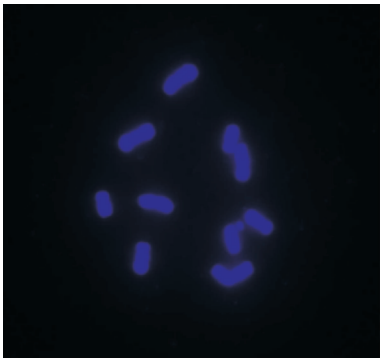

图2 糯玉米单倍体根尖染色体数目

Fig. 2 Chromosome number of waxy maize haploid root

单倍体诱导率的方差分析结果见表1。由表1可以看出,糯玉米基因型间的$F$测验值达到极显著水平,而基因型内差异不显著[12],这表明Tg29诱导单倍体的频率与母本基因型有关。

Tg29诱导糯玉米单倍体的频率及多重比较结果见表2。

**表1 糯玉米单倍体诱导率的方差分析**

Table 1 Variance analysis of way maize haploid induction rate

| 变异来源 Source of variation | 平方和 SS | 自由度 DF | 均方 MS | $F$值 $F$ value | $F_{0.01}$ |
|---|---|---|---|---|---|
| 基因型间 Among genotypes | 887.56 | 15 | 54.24 | 13.78 | 2.3 |
| 基因型内 Within genotypes | 611.32 | 148 | 5.11 | | |
| 总变异 Total variation | 1 237.58 | 163 | | | |

**表2 Tg29诱导糯玉米单倍体的频率及多重比较**

Table 2 Multiple comparison of Tg29 haploid induction frequency

| 母本材料 Female | 取样穗数 Ears | 单倍体籽粒 Haploid plants | 杂交诱导总粒数 Inducing kernels | 单倍体诱导率/% Average of inducing rate |
|---|---|---|---|---|
| JN18 | 11 | 163 | 1 566 | 10.41 a |
| JN18/BN2 | 13 | 71 | 725 | 9.79 ab |
| Tyc115 | 12 | 133 | 1 438 | 9.25 abc |
| JN18/Tyc115 | 11 | 105 | 1 216 | 8.63 abcd |
| JN28 | 6 | 107 | 1 298 | 8.24 bcd |
| L66 | 7 | 74 | 1 032 | 7.17 cde |
| JN18/98W-2 | 7 | 96 | 1 438 | 6.68 def |
| DN01/7W68 | 13 | 86 | 1 402 | 6.13 efg |
| 京糯6/Tyc115 Jingnuo 6/Tyc115 | 6 | 83 | 1 417 | 5.86 efg |
| BN101 | 8 | 48 | 820 | 5.85 efg |
| 万糯2000 Wannuo 2000 | 12 | 42 | 726 | 5.79 efg |
| W188 | 12 | 53 | 1 063 | 4.99 fgh |
| D6644 | 7 | 42 | 844 | 4.98 fgh |
| 7W68 | 14 | 42 | 946 | 4.44 gh |
| 浚白34 Junbai 34 | 14 | 52 | 1 509 | 3.45 h |
| 京糯6 Jingnuo 6 | 11 | 41 | 1 310 | 3.13 h |
| 平均 Average | | | | 6.55 |

注:同列数据后标不同小写字母表示差异显著。

Note: Different small letters within each column mean significant difference.

由表 2 可知，Tg29 从 JN18、JN18/BN2 和 Tyc115 中诱导单倍体的频率较高，分别达到 10.41%，9.79%和 9.25%；而从浚白 34 和京糯 6 中诱导的单倍体频率较低，分别为3.45%和 3.13%；最高诱导率较最低诱导率高 2.3 倍。由此可见，母本基因型对于单倍体诱导率具有重要影响。Tg29 诱导 16 个基因型材料产生单倍体的平均诱导率为 6.55%。

## 2.2　糯玉米 DH 系的鉴定

2.2.1　糯玉米 DH 系的整齐度表现　从 2016 年糯玉米 DH 系的田间表现来看，在京糯 6/Tyc115 的后代 DH 系穗行内，株高、穗位、株型等性状的表现非常一致（图 3-A），是常规选育自交系所无法比拟的；在果穗性状上，同一糯玉米 DH 系的不同自交果穗的穗型、粒型、粒色等特征性状均表现一致（图 3-B），在所有糯玉米 DH 系穗行中未发现任何变异类型。因此，DH 系穗行内所有个体间的基因型都是一致的，符合理论假设。

图 3　京糯 6/Tyc115DH 系的田间表现及果穗性状

Fig. 3　Field performance and ear traits of Jingnuo 6/Tyc115 DH lines

2.2.2　糯玉米 DH 系农艺性状的表现　京糯 6/Tyc115 的 16 个后代糯玉米 DH 系的性状表现见表 3。

**表 3　京糯 6/Tyc115 后代 DH 系农艺性状的表现**

Table 3　Performance of DH lines of Jingnuo 6/Tyc115 offspring

| 行号 Row | 株高/cm Plant height | 穗位/cm Ear height | 雄穗分枝数 Branches of tassel | 穗长/cm Ear length | 秃尖长/cm Bald tip length | 穗粗/cm Ear width | 穗行数 Ear number | 行粒数 Row kernels | 百粒质量/g 100 grain weight |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| D-40 | 180 | 60 | 10 | 30.9 | 0.48 | 4.72 | 19.2 | 37.2 | 39.5 |
| D-41 | 165 | 60 | 23 | 31.5 | 0.00 | 4.00 | 12.0 | 39.7 | 49.2 |
| D-42 | 160 | 50 | 14 | 29.2 | 0.00 | 4.22 | 16.8 | 34.6 | 35.4 |
| D-43 | 170 | 63 | 14 | 30.4 | 1.74 | 4.46 | 16.4 | 38.4 | 38.1 |
| D-44 | 145 | 46 | 16 | 29.2 | 0.00 | 4.10 | 17.2 | 36.6 | 38.2 |
| D-45 | 120 | 54 | 15 | 27.4 | 0.00 | 3.55 | 13.0 | 30.0 | 35.7 |
| D-46 | 150 | 55 | 19 | 26.8 | 0.00 | 3.80 | 15.2 | 33.4 | 31.3 |
| D-47 | 135 | 55 | 10 | 26.3 | 0.00 | 3.54 | 12.0 | 32.0 | 40.9 |
| D-48 | 107 | 50 | 16 | 30.3 | 0.00 | 3.86 | 15.6 | 36.0 | 34.0 |
| D-49 | 170 | 50 | 15 | 29.5 | 0.00 | 4.10 | 11.6 | 38.0 | 36.0 |
| D-50 | 170 | 70 | 21 | 30.1 | 0.00 | 4.52 | 14.6 | 40.4 | 39.1 |
| D-51 | 110 | 35 | 9 | 32.5 | 0.00 | 3.62 | 14.0 | 44.8 | 34.0 |
| D-52 | 150 | 50 | 8 | 31.1 | 2.33 | 3.73 | 16.7 | 37.3 | 31.6 |
| D-53 | 155 | 60 | 21 | 27.3 | 0.00 | 4.12 | 13.6 | 31.0 | 45.0 |
| D-54 | 160 | 40 | 17 | 30.9 | 0.00 | 4.42 | 15.6 | 36.4 | 46.3 |
| D-55 | 165 | 55 | 17 | 26.2 | 0.00 | 4.20 | 17.6 | 31.8 | 33.8 |

由表 3 可以看出，不同 DH 系间在所考察的性状上存在明显差异，标志植株生长势的株高、穗位和

雄穗分枝数的变异范围分别为:107～180 cm、35～70 cm、8～23 个,其中株高≥140 cm、穗位≥40 cm 的 DH 穗行有 12 个,仅就生长势而言,在糯玉米育种上是可以接受的。在果穗性状上,各 DH 系的分离范围为:穗长 26.2～32.5 cm,穗粗 3.54～4.72 cm,百粒质量 31.3～49.2 g,穗行数 11.6～19.2,行粒数 30.0～44.8。在 16 份 DH 系中,穗行数≥14 者有 11 个,行粒数≥35 粒者 10 个,百粒质量≥38 g 者 8 个,3 个条件均具备或接近者有 D-40、D-43、D-44、D-50 和 D-54 共 5 个穗行,它们的植株生长势也达到了育种上的要求。当然,上述 DH 系的表现与其遗传来源有直接关系,说明从 DH 系中选育出农艺性状符合育种要求的类型是完全可能的。

## 3 讨 论

本研究结果表明,利用玉米孤雌生殖诱导系 Tg29 与 16 份不同基因型的自交系和杂交种杂交,并根据籽粒 Navajo 斑纹和 ABPI 紫色植株显性双标记系统鉴定所诱导孤雌生殖单倍体是可靠的;Tg29 对不同基因型材料均能诱导产生单倍体,但其诱导效率与被诱导材料的基因型有很大关系,不同母本基因型对单倍体诱导率的影响相差数倍。Chase[13]研究认为,母本基因型材料对玉米单倍体诱导率的影响,是由于母本基因型所产生的雌配子中有害基因的频率不同所造成的。但在本试验中,诱导率不同的测交组合中并未发现结实率有明显差异。如果雌配子中具有隐性致死基因,则至少应产生胚乳发育正常的无胚籽粒,而在一些组合中发现的这类籽粒似乎与诱导率无关。另外,单倍体发生频率较低的浚白 34 和京糯 6 均为纯合自交系,其中存在隐性致死基因的可能性很小。因此推测诱导率的差异可能与母本材料对于诱导系的环境作用有关,或者说不同母本材料雌穗的花柱生理环境有助于(或不利于)具有诱导单倍体能力的花粉管的发育。

在本试验母本基因型中,以从 JN18、Tyc115 和 JN18/BN2 中诱导的单倍体频率较高,在 9%以上,而从浚白 34 和京糯 6 诱导的单倍体频率较低。同是以 Tg29 作为诱导系,对 JN18 的单倍体诱导率达 10.41%,而对京糯 6 的诱导率仅为 3.13%,因此对于诱导系诱导单倍体频率的表示应该同时说明被诱导的材料,否则从不同材料中所获得的单倍体诱导率没有可比性。所有被诱导材料产生单倍体频率的平均值应该说代表诱导系诱导单倍体的一般水平。以此标准,Tg29 的一般诱导率水平为 6.55%。

由单倍体加倍所获得的 DH 系在所有可观测性状上均表现为高度的一致性,表明其群体遗传结构是同质的,是完全意义上的纯合。因此,在其繁殖过程中自交和姊妹交的效果是一样的,不会发生自交退化或遗传漂移。就 DH 系农艺性状而言,部分 DH 系的表现在育种上是可以接受的。Chalyk[14]和 Lashermes 等[15]的试验也得出了同样的结论。但是从打破不利基因连锁来看,以常规选育的自交系更为有利。因为 DH 系仅经过一次减数分裂,其交换位点数只有 50%,而自交系经过连续多次的减数分裂重组,所以其交换位点数逐代增加。Murigneux 等[16]对 DH 系和单粒传系的 RLFP 位点分析发现,经过 5 次减数分裂的单粒传系的 RLFP 重组片段比仅经过 1 次减数分裂的 DH 系多 1 倍,其中交换值大于 0.2 的片段多 13%,交换值介于 0.1～0.2 的片段多 37%,而交换值小于 0.1 的小片段多 155%。对于 DH 系,基因重组频率的不足可以通过以下几种方式解决:(1)通过扩大群体来加以弥补。由于 DH 系的性状是按配子体方式发生分离,所以其选择群体理论上仅需要二倍体分离群体的平方根数。(2)选择适当的基础材料。如选择已经发生多次基因重组的群体或由遗传相近的材料组配的近交杂交种等来加以克服。(3)采用 DH 系重组再诱导的方法。通过诱导单倍体途径获得目标性状符合育种要求的 DH 系是完全可能的。

总之,利用单倍体方法进行糯玉米育种,可以大大缩短糯玉米自交系的选育周期,同时还可以实现配子体选择,提高有利基因型的入选频率等[17]。因此其成功应用无疑将是糯玉米育种技术上的一个重大进步,并将给糯玉米种质改良、品种选育和种子生产等带来一系列变化。

## [参考文献]

[1] 陈 琦,马海霞,尹高龙,等.玉米孤雌生殖单倍体诱导及加倍机理研究新进展[J].植物遗传资源学报,2015,16(4):759-764.
Chen Q,Ma H X,Yi G L,et al. Corn parthenogenesis induced the research progress and mechanism of double haploid [J]. Journal of Plant Genetic Resources,2015,16(4):759-764.

[2] 黎 亮,李浩川,徐小炜,等.玉米孤雌生殖单倍体诱导效率优化方法研究[J].中国农业大学学报,2012,17(1):9-13.
Li L,Li H C,Xu X W,et al. The maize parthenogenesis haploid induction efficiency optimization method research [J]. Journal of China Agricultural University,2012,17(1):9-13.

[3] Thiebaut J,Kasha K J,Tsai A. Influence of plant development

stage，temperature，and plant hormones on chromosome doubling of barley haploids using colchicines [J]. Can J Bot，1979，57：480-483.

[4] 刘志增，宋同明. 玉米杂交诱导孤雌生殖单倍体研究进展 [J]. 玉米科学，1999，7(2)：16-19.
Liu Z Z，Song T M. Hybrid maize haploid induced parthenogenesis research progress [J]. Journal of Maize Sciences，1999，7(2)：16-19.

[5] 刘治先，杨　菲，丁照华，等. 玉米单倍体诱导材料的鉴定和快速选系技术研究 [J]. 玉米科学，2008，16(3)：12-14，18.
Liu Z X，Yang F，Ding Z H，et al. Identification of maize haploid induction materials and rapid Xuanxi technology research [J]. Journal of Maize Sciences，2008，16(3)：12-14，18.

[6] 葛　超，赵成昊，陈得义，等. 玉米单倍体 DH 系特色及应用研究进展 [J]. 种子，2012，12(4)：52-53.
Ge C，Zhao C H，Chen D Y，et al. Maize haploid DH system characteristics research progress and application [J]. Seeds，2012，12(4)：52-53.

[7] Chase S. Monoploid frequencies in a commercial doublecross hybrid maize and its component singlecross hybrids and inbred lines [J]. Genetics，1949，34：328-332.

[8] 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 technology [M]. 2nd ed. Beijing：China Agricultural University Press，2012.

[9] 刘纪麟，马克军. 诱发单倍体快速选系育种：单倍体-纯合二倍体选系方法 [J]. 玉米科学，2003，11(专刊)：70-72.
Liu J L，Ma K J. Cause rapid Xuanxi haploid breeding：haploid，homozygous diploid Xuanxi method [J]. Journal of Maize Sciences，2003，11(Specialissue)：70-72.

[10] 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 and Technology Press，2002：304-311.

[11] 武振华，牛炳韬，王新宇. 药用植物染色体加倍的研究进展 [J]. 西北植物学报，2005，25(12)：2569-2574.
Wu Z H，Niu B T，Wang X Y. The research progress of the chromosome doubling of medicinal plant [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica，2005，25(12)：2569-2574.

[12] 黎　亮. 玉米单倍体育种技术研究及单倍体诱导性状机理探讨 [D]. 北京：中国农业大学，2010.
Li L. Maize haploid breeding technology and mechanism of haploid induction properties study [D]. Beijing：China Agricultural University，2010.

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

[14] Chalyk S T. Creating new haploid-inducing lines of maize [J]. Maize Genet Coop Newslett，1999，73：53-54.

[15] Lashermes P，Beckert M. Genetic control of maternal haploidy in maize(*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines [J]. Theor Appl Genet，1988，76：405-410.

[16] Murigneux A，Baud S，Beckert M. Molecular and morphologica evaluation of doubled-haploid lines in maize：2. Comparison with single-seed-descent lines [J]. Theor Appl Genet，1993b，87：287-290.

[17] 李向永，姜　龙，王薪淇，等. 糯玉米单倍体诱导和加倍的研究 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版)，2016，44(8)：91-96.
Li X Y，Jiang L，Wang X Q，et al. Studyon waxy maize haploid inducing and doubling rate [J]. Journal of Northweat A&F University(Nat Sci Ed)，2016，44(8)：91-96.