



慈佳宾, 杨巍, 任雪娇, 等. 玉米单倍体诱导及化学加倍方法的研究[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(3):49-53.

玉米单倍体诱导及化学加倍方法的研究

慈佳宾, 杨巍, 任雪娇, 崔学宇, 张野, 张艳辉, 杨伟光

(吉林农业大学农学院, 吉林 长春 130118)

摘要:【目的】玉米单倍体的诱导及加倍。【方法】以北方春玉米区高抗丝黑穗病自交系K88和高感丝黑穗病自交系G115的杂交F₁代作为母本,以5个诱导系(JS6-11~JS6-15)作为父本,进行单倍体杂交诱导试验;以秋水仙素作为玉米单倍体人工染色体加倍药剂,采取4种(浸根法、浸芽法、滴心叶法、针刺生长点法)处理方法,每种方法设置3个浓度梯度(0.2、0.4和0.6 mg·mL⁻¹),并分别以体积分数2% DMSO+5%甘油溶液作为辅助药剂,进行单倍体加倍试验。【结果和结论】花丝长短和授粉时间对单倍体诱导率有重要影响。延迟授粉(长花丝≥7cm)的平均单倍体诱导率为17.0%,约为正常授粉(短花丝≤4cm)条件下的3.3倍;伏后授粉的诱导率平均为18.4%,约为伏期授粉的3.4倍,证明延迟授粉时间和较低的温度有利于提高单倍体诱导率。秋水仙素加倍试验表明,浸根法对植株伤害较严重,存活率低于50%;针刺生长点法(0.6 mg·mL⁻¹)和滴心叶法(0.4 mg·mL⁻¹)的散粉率较高(45.9%, 28.9%),相应的结实率也较高(15.2%, 11.1%),说明针刺生长点法处理效果最好,滴心叶法次之。

关键词:玉米; 单倍体; 诱导率; 单倍体加倍

中图分类号:S513.032

文献标志码:A

文章编号:1001-411X(2015)03-0049-05

Studies on maize haploid inducing and chemical doubling monoploids

CI Jiabin, YANG Wei, REN Xuejiao, CUI Xueyu, ZHANG Ye, ZHANG Yanhui, YANG Weiguang
(College of Agronomy, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract:【Objective】To induce maize haploid and double monoploids. 【Method】The F₁ generation hybrids of high resistance head smut inbred line K88 and high sense of head smut inbred line G115 of North corn regional were chose as female parents, which hybridized with male parents of 5 haploid inducers (JS6-11~JS6-15) conduct maize haploid inducing test. Colchicine was used as maize haploid artificial chromosome doubling agent. Four approaches (dipping root method and dipping bud method, dipping heart leaf method and acupuncturing growing point method) were taken to conduct maize haploid doubling test and each set 3 concentration gradients (0.2, 0.4, 0.6 mg·mL⁻¹), using DMSO at volume fraction of 2% + glycerol solution 5% as auxiliary reagents. 【Result and conclusion】Filament lengths and the time of pollination had significant effects on the haploid induction. The haploid induced rate of longer silk (≥7 cm) pollination was 17.0% on average, almost 3.3 times higher than that of shorter silk (≤4 cm) pollination. Haploid induced rate of pollination was 18.4% on average after midsummer, almost 3.4 times higher than that in midsummer pollination. The results showed that late pollination and low temperature increased haploid inducing frequency. Maize haploid doubling tests showed that the plant survival rates of dipping root were lower than 50%. Acupuncturing growing point method at concentration of 0.6 mg·mL⁻¹ and dipping heart leaf method at concentration of 0.4 mg·mL⁻¹ with the fertility rate of plants 45.9% and 28.9%, respectively, with maturing rate of two methods, 15.2% and 11.1%, re-

收稿日期:2014-02-21 优先出版时间:2015-04-14

优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/detail/44.1110.s.20150414.0934.011.html>

作者简介:慈佳宾(1985—),男,博士研究生,E-mail:cjb6666@163.com;通信作者:杨伟光(1960—),男,教授,博士,E-mail:ywg789@126.com

基金项目:科技部农业科技成果转化基金(2011G132B100006);农业部948项目(2011-G1-21)

spectively. Acupuncture growing point and dipping heart leaf methods are better options for chromosome doubling.

Key words: maize; haploid; induced rate; monoploid doubling

单倍体诱导技术是培育玉米新品种最快速、经济的手段. Stock6^[1]是玉米中发现的第1个孤雌生殖诱导系,利用其所选育的诱导系有 WS14^[2]、MHI^[3]等. 但 Stock6 在诱导率、繁殖性能等方面存在严重缺陷, 吉林农业大学玉米育种课题组对 Stock6 进行了遗传改良, 成功地获得了诱导率 10% 以上、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 JS6. 本研究以诱导系 JS6 的姊妹系 JS6-11 ~ JS6-15 作父本, 以高抗丝黑穗病自交系 K88 和高感丝黑穗病自交系 G115 的杂交 F₁ 代作为母本材料, 杂交诱导产生单倍体, 探讨不同诱导因素下单倍体诱导率的变化特点, 对有效利用单倍体诱导系及单倍体诱导技术, 提高育种效率并选育自有的单倍体诱导系, 快速培育玉米自交系并用其选育玉米新品种具有重要意义.

可供加倍的单倍体材料有限, 玉米单倍体加倍技术尚不成熟. 研究报道, 许多玉米材料单倍体自然加倍率低于 5%, 有些材料根本不发生自然加倍^[4-5]. 因此, 要获得大量玉米 Double haploid (DH) 系并从中选育出优良自交系供生产上利用, 必须借助单倍体人工染色体加倍. 玉米单倍体的化学加倍方法有很多^[5-9], 其中秋水仙素应用最为广泛. 本研究通过设计 4 种秋水仙素加倍方式, 进一步探讨秋水仙素加倍技术, 以期为生产上玉米单倍体的加倍提供理论参考.

1 材料与方法

1.1 杂交诱导试验

以高抗丝黑穗病自交系 K88 和高感丝黑穗病自交系 G115 的杂交 F₁ 代作为母本, 以吉林农业大学玉米育种课题组选育的 5 个诱导系 JS6-11 ~ JS6-15 作为父本, 于 2011 年在吉林农业大学育种基地杂交诱导单倍体. 试验设置花丝长短和授粉时期 2 个因素. 花丝长短设 2 个处理: 在长花丝 (≥ 7 cm) 和短花丝 (≤ 4 cm) 条件下用诱导系花粉授粉; 授粉时期设 2 个处理: 伏期 (07-15—08-01) 和伏后 (08-15—09-01) 授粉. 用于研究的母本材料分别于 2011 年 5 月中旬和 6 月上旬播种.

于母本吐丝后进行授粉, 收获后选择结实较好的果穗, 在果穗上挑选无色胚芽、紫色粒顶、胚近三

角形的准单倍体, 所有准单倍体于 2012 年春种植于吉林农业大学长春玉米育种基地进行鉴定. 其中单倍体植株田间表现为矮小、叶片和茎秆均呈绿色、多为不育. 根据杂交当代子粒和单倍体子粒数, 计算单倍体诱导率:

$$\text{单倍体诱导率} = \frac{\text{单倍体数}}{\text{杂交总粒数}} \times 100\%.$$

1.2 单倍体加倍试验

单倍体加倍药剂为西格玛 - 奥德里奇公司生产的秋水仙素原药、2% (φ) DMSO (二甲基亚砜) 和 5% (φ) 甘油辅助剂. 采取 4 种处理方法, 每种方法分 3 个浓度梯度 (0.2、0.4 和 0.6 mg · mL⁻¹). 1) 浸根法: 单倍体种子浸泡在清水中 6 h 后置于 28 ℃ 培养箱中催根, 待幼苗长到 2 ~ 3 片叶时, 将其置入 4 ℃ 冰箱中炼苗 2 ~ 3 h, 而后用自编的带有小孔且上面附有 1 层保湿滤纸的铁丝网将幼芽固定, 并将幼根浸泡于不同浓度 (0.2、0.4、0.6 mg · mL⁻¹) 的秋水仙素 + 2% (φ) DMSO + 5% (φ) 甘油溶液中, 溶液漫过幼根生长点, 浸泡 6 h 后, 再用流水清洗 2 h, 移栽至大田. 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 1 个小口 (但不要伤害到嫩芽), 将其在室温下密闭浸泡在不同浓度 (0.2、0.4、0.6 mg · mL⁻¹) 的秋水仙素 + 2% (φ) DMSO + 5% (φ) 甘油溶液中 6 h, 流水清洗 2 h 后将其种在育苗盘中, 幼苗长到 4 ~ 5 片叶时移栽至大田. 3) 滴心叶法: 选择长势一致的单倍体幼苗, 待其生长到 3 ~ 5 叶时, 分别抽取约 1 mL 的 (0.2、0.4、0.6 mg · mL⁻¹) 秋水仙素 + 2% (φ) DMSO + 5% (φ) 甘油溶液至单倍体植株的心叶处. 4) 针刺生长点法: 长势一致的单倍体幼苗田间长到 6 ~ 7 叶时, 用微量移液器抽取 5 μ L 的 (0.2、0.4、0.6 mg · mL⁻¹) 秋水仙素 + 2% (φ) DMSO + 5% (φ) 甘油溶液注射于幼苗茎秆的盾片节处的生长点.

加倍材料源于试验 1.1 中杂交诱导产生的单倍体, 将准单倍体均分 4 等份 (100 粒) 后根据不同的秋水仙素加倍处理后种植田间, 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. 以单倍体植株是否散粉和结实来判断玉米单倍体植株是否加倍成功. 为防外来花粉授粉结实, 试验选取单倍体自交后代结实较好的果穗于 2012 年冬和 2013 年

春分别在三亚和长春种植观察,以进一步鉴别其加倍情况。

$$\text{成活率} = \frac{\text{成活株株数}}{\text{单倍体总株数}} \times 100\%,$$

$$\text{散粉率} = \frac{\text{散粉株数}}{\text{单倍体总株数}} \times 100\%,$$

$$\text{结实率} = \frac{\text{自交结实株数}}{\text{单倍体总株数}} \times 100\%.$$

1.3 数据处理

数据采用 Excel 和 DPS^[10] 软件进行处理及分析。

2 结果与分析

2.1 不同因素对诱导率的影响

2.1.1 不同花丝长度的单倍体诱导率

从表 1 中可以看出,花丝长度对单倍体诱导率有很大影响,花丝 ≥ 7 cm 时的平均诱导率(17.0%)明显大于花丝长度 ≤ 4 cm 时的平均诱导率(5.2%)。其中在花丝长度 ≤ 4 cm 时的诱导系中,诱导率最高的是 JS6-14,诱导率为 7.9%。花丝长度 ≥ 7 cm 时诱导率最高的诱导系为 JS6-13,诱导率为 21.2%。诱导系长花丝处理单倍体诱导率高于短花丝处理,说明长花丝诱导效果比短花丝效果好。

2.1.2 花丝长度与诱导系对诱导率的影响 花丝长度和诱导系对诱导率的影响的方差分析见表 2。结果表明:不同诱导系诱导率存在显著差异,不同花丝长度诱导率存在极显著差异,说明诱导系和花丝长度对诱导率均有很大影响,且长花丝条件下授粉可以提高诱导率。

表 1 不同花丝长度授粉单倍体诱导率

Tab. 1 Haploid induced rates at different silk length pollination

父本材料	花丝长度 ≤ 4 cm			花丝长度 ≥ 7 cm		
	总籽粒数/粒	单倍体数/个	诱导率/%	总籽粒数/粒	单倍体数/个	诱导率/%
JS6-11	3 960	150	3.8	4 360	680	15.6
JS6-12	3 640	215	5.9	3 880	501	12.9
JS6-13	3 980	255	6.4	4 320	916	21.2
JS6-14	4 000	316	7.9	3 560	708	19.9
JS6-15	4 200	92	2.2	3 740	576	15.4

表 2 花丝长度与诱导系间的方差分析

Tab. 2 Variance analysis between the silk length and inducer

变异来源	自由度	平方和	均方	F ¹⁾
诱导系	4	59.5	11.9	5.7*
花丝长度	1	338.9	338.9	77.4**
误差	4	21.9	4.4	
总变异	9	420.4		

1) “*”、“**”分别表示达 5%、1% 显著水平。

2.1.3 不同授粉时期的单倍体诱导率 由表 3 可知,授粉时期对单倍体诱导率亦有很大影响,伏后授粉时的平均诱导率(18.4%)明显大于伏期授粉时的平均

诱导率(5.4%)。其中在伏期授粉时,诱导率最高的是诱导系 JS6-14(8.1%)。伏后授粉时诱导率最高的诱导系为 JS6-13(22.8%)。诱导系伏后授粉时单倍体平均诱导率(18.4%)高于伏期授粉(5.4%),说明伏后授粉效果更好。

2.1.4 授粉时期与诱导系对诱导率的影响 授粉时期和诱导系对诱导率的影响的方差分析见表 4。结果表明:诱导系、授粉时期诱导率均达到了极显著水平,说明不同授粉时期对诱导率有很大影响,且伏后授粉时可以提高单倍体诱导率。此外,相对于花丝长度,授粉时期对诱导率影响更大。

表 3 不同授粉时期单倍体诱导率

Tab. 3 Haploid induced rates at different pollinating dates

父本材料	伏期处理(07-15—08-01)			伏后处理(08-15—09-01)		
	总籽粒数/粒	单倍体数/个	诱导率/%	总籽粒数/粒	单倍体数/个	诱导率/%
JS6-11	3 754	161	4.3	4 181	717	17.1
JS6-12	3 521	228	6.5	3 493	496	14.2
JS6-13	4 085	241	5.9	3 975	907	22.8
JS6-14	3 943	319	8.1	3 269	712	21.8
JS6-15	4 454	92	2.1	3 549	577	16.3

表4 授粉时期与诱导系间的方差分析

Tab. 4 Variance analysis between the pollinating dates and inducer

变异来源	自由度	平方和	均方	F ¹⁾
诱导系	4	61.7	14.7	6.2 **
授粉时间	1	398.5	338.9	79.7 **
误差	4	22.1	4.3	
总变异	9	454.4		

1)“**”表示在1%水平差异显著。

2.2 不同方法对单倍体加倍效果的影响

2.2.1 加倍方法对单倍体植株成活率的影响 从表5可知,滴心叶法的适宜浓度为 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$,浸芽法的适宜浓度为 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。针刺生长点法的适宜浓度为 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。在秋水仙素各浓度梯度下浸根法处理时单倍体植株受害程度比其他3种方法严重, 0.2 、 0.4 、 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 存活率分别为39.3%、42.2%和25.6%。

2.2.2 加倍方法对单倍体植株散粉和结实的影响

由表5可知,4种加倍方法中,针刺生长点法的效果最好,散粉率均超过10%,在秋水仙素为 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时散粉率达到45.9%;结实率也最高,为15.2%。滴心叶法在 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 下散粉率为28.9%,结实率为11.1%;浸根法的散粉率都低于10%,在秋水仙素为 0.4 和 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 下结实率都极低(1.1%);浸芽法虽在 $0.4 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 下散粉率超过10%,但其结实率却很低(1.1%)。综上可以看出,在散粉性和结实率方面,针刺生长点法和滴心叶法相对较好。

表5 不同方法、不同浓度秋水仙素处理单倍体的成活、散粉和结实情况

Tab. 5 The survival, fertility and seed setting of haploid plants under different colchicines concentrations and methods

方法	$\rho / (\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1})$	%		
		成活率	散粉率	结实率
浸根法	0.2	39.3	8.3	2.4
	0.4	42.2	3.4	1.1
	0.6	25.6	3.5	1.2
浸芽法	0.2	78.6	3.1	3.1
	0.4	59.2	10.8	1.1
	0.6	58.4	4.4	1.1
滴心叶法	0.2	54.8	19.0	3.6
	0.4	52.2	28.9	11.1
	0.6	26.6	8.9	5.1
针刺生长点法	0.2	38.2	12.2	4.9
	0.4	50.0	15.0	7.5
	0.6	59.6	45.9	15.2

3 讨论与结论

3.1 诱导条件对玉米单倍体诱导率的影响

在花丝长度 $\geq 7 \text{ cm}$ 和花丝长度 $\leq 4 \text{ cm}$ 授粉时进行杂交诱导,前者单倍体诱导率较高(21.2%);在伏期授粉(07-15—08-01)时的单倍体诱导率(8.1%)远低于伏后授粉(08-15—09-01)的单倍体诱导率(22.8%)。其中花丝长度对玉米单倍体诱导率的影响可能原因是花粉中2个精细胞形成雄性生殖单位是保证2个精核同步转运的重要条件,较长的花丝增加了2个精核在花粉管中运输的不同步性^[11]。刘志增等^[12]研究表明,精核间距在诱导单倍体过程中起重要作用,花丝长使得花粉粒萌发后花粉管到达胚囊距离延长,进而造成2个精核的间距加大,更容易诱导形成单倍体。授粉时期对单倍体诱导率的影响可能同气温有密切关系。授粉期早时温度相对较高,玉米花粉管生长速度快,新陈代谢非常旺盛,能量和物质的消耗都加快了,而供给的能量和物质不会相应地增加,相对于本身内含物就很少的玉米孤雌生殖诱导系花粉粒来说,这种状况会加速花粉管的衰老,不正常花粉的竞争力减弱,从而导致单倍体的产生减少。而授粉晚时,温度相对较低,新陈代谢相对较慢,玉米孤雌生殖诱导系的不正常花粉粒的2个精核在花粉管中有充足的时间分开运输,从而单受精产生玉米单倍体。

姜龙等^[13]以玉米单倍体诱导系JS6-1为父本和8个不同母本基础组合在长春、长岭和三亚的研究结果表明,不同基因型诱导基础材料的单倍体诱导率为海南三亚冬繁明显高于长春和长岭,表明昼夜温差大有利于玉米单倍体的诱导。

花丝长短和授粉时期也可能影响了精卵结合的过程,随着花丝的增长,但极核和卵核接受精核的能力均减弱,极核与精核结合的能力相对较强,由此导致胚乳正常发育,而雌配子由于没有受精而发育为单倍体。低温对受精过程也可能有类似影响。从花丝不同时期接受花粉的能力来看,雌穗在吐丝后3~4 d内抽出的花丝活力较强^[14],6~9 d后活力开始下降^[15]。考虑到本研究母本基因型较少,有关温度、花丝活力和母本基因型等因素对诱导性能的影响仍需进一步研究。

3.2 人工染色体加倍处理对玉米单倍体加倍的影响

Chase^[16]曾提出用秋水仙素溶液注射玉米幼苗的盾片节进行加倍,Gayen等^[17]曾采用浸种法,使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浓度的秋水仙素配以DMSO注射处理茎

尖生长点,发现在6叶期,以0.5%(φ)秋水仙素配以2.0%(φ)的DMSO处理效果最好,加倍率高达32.3%。敬成俊等^[19]研究表明秋水仙素加倍作用是通过与幼嫩组织正在分裂的细胞接触,引起纺锤丝缩减并且结构发生变化,细胞整齐地被阻止在分裂中期,因而使重组核具有加倍的染色体数。秋水仙素在植物组织中迅速扩散,通过维管系统在植物体内运转,实现使植株组织加倍达到长效的目的^[9]。

本研究秋水仙素处理结果表明:浸根法对植株伤害较严重,存活率低于50%;针刺生长点法(0.6 mg·mL⁻¹)和滴心叶法(0.4 mg·mL⁻¹)的散粉率较高(45.9%,28.9%),相应的结实率也较高(15.2%,11.1%),说明针刺生长点法处理效果最好,滴心叶法次之。其生理生化机制可能是:

1)玉米根系的最重要功能是从土壤中吸收水分和营养物质,当用一定浓度的秋水仙素处理后,玉米根系的发育受到一定的阻碍,而且秋水仙素也破坏了玉米根系中的根毛和根尖幼嫩组织。移栽到大田后,幼苗吸收水分和营养物质困难,容易过早死亡。二倍体植株具有发达的根系,相对于单倍体根系具有较强的抵抗秋水仙素药害的作用,因此在田间发育良好^[20]。

2)针刺生长点法是处理茎尖分生组织,相对于浸根法、浸芽法来说造成的损伤较大,其原因可能是针刺生长点法中秋水仙素注射于茎尖分生组织后并长期作用于茎尖分生组织,而且田间的高温加重了药害,植株的死亡率也很高,即使植株存活下来也表现为叶片发黄、萎缩,但由于秋水仙素长期有效地作用于茎尖分生组织,对植株的加倍效果也很明显,只要植株成活都有可能加倍成功^[21]。

3)针刺生长点法和滴心叶法结实率不高的原因可能是多方面的,除了上述秋水仙素造成的药害外,还有加倍成功的植株雌雄花期不协调和生殖器官变态等原因,这样的植株也不会散粉和结实^[9]。

综上所述,在浸根法和浸芽法中,应该降低秋水仙素的浓度以减小药害,同时浸根法中应该尝试着处理侧根以使植株移栽到大田后能吸收水分和营养物质。针刺生长点法中处理后,应当多浇水,做好田间管理以增加植株存活率。

参考文献:

- [1] COE E H. A line of maize with high haploid frequency [J]. Am Nat, 1959, 93: 381-382.
- [2] LASHERMES P, BECKERT M. Genetic control of maternal haploid in maize (*Zea mays* L.) and selection of haploid inducing lines [J]. Theor Appl Genet, 1988, 76: 405-410.
- [3] CHALYK S T. Creating new haploid inducing lines of maize [J]. Maize Genet Coop Newslett, 1999, 73: 53-54.
- [4] WAN Y, WIDHOLM J M. Effect of chromosome-doubling agents on somaclonal variation in the progeny of doubled haploids of maize [J]. Plant Breed, 1995, 114(3): 253-255.
- [5] 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.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] 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.
- [9] 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: 3.
- [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.
- [11] 胡适宜.雄性生殖单位和精子异型性研究的现状[J].植物学报,1990, 32 (3): 230-240.
- [12] 刘志增,宋同明.玉米孤雌生殖单倍体的诱导与父本花粉在离体萌发花粉管中精核间距的相关性分析[J].西北植物学报,2000,20(4): 495-502.
- [13] 姜龙,慈佳宾,张野,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): 23-29.
- [14] 胡寅华,郑卓琳.玉米子粒类型及与成粒的关系[J].河北农业大学学报,1991,14(3): 11-15.
- [15] 汪茂华.玉米花粉、柱头活力及其开花生物学的观察[J].农业学报,1959,10(2): 121-128.
- [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 Newslett, 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,2001, 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.
- [20] 文科,黎亮,刘玉强,等.高效生物诱导玉米单倍体及其加倍方法研究初报[J].中国农业大学学报,2006, 11(5): 17-20.
- [21] 季洪强,刘慧,宋桂良,等.玉米单倍体诱导与加倍方法研究[J].河南农业大学学报,2012,46(1): 12-15.