

小麦 × 玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体育种技术的研究与进展

曾天云 林霞 郭总总 张文涛 朱昱
(石河子农业科学研究院,新疆石河子 832000)

摘要:小麦常规育种存在自交不亲和、育种及繁殖周期长、基因纯合度低等问题,小麦 × 玉米远缘杂交双单倍体育种技术为小麦快速创制新种质提供了新的途径和技术保障,有利于缩短育种周期,提升育种进程,提高选择效率,是小麦快速且有效育种的方法之一。针对小麦 × 玉米远缘杂交的育种技术研究现状,总结了单倍体产生、单倍体胚培养、染色体加倍技术及其影响因素的研究进展,可为小麦遗传育种提供技术和理论依据。

关键词:小麦 × 玉米;单倍体育种;远缘杂交;双单倍体

Research and Progress on Breeding Techniques of Induced Wheat Double Haploid by Wheat × Maize Distant Hybridization

ZENG Tianyun, LIN Xia, GUO Zongzong, ZHANG Wentao, ZHU Yu
(Shihezi Academy of Agricultural Sciences, Shihezi 832000, Xinjiang)

双单倍体育种是选育植物新品种的重要技术之一,其核心原理是利用植物配子(花粉或胚珠)培育成单倍体植株,再通过染色体加倍技术快速获得双单倍体纯合植株,具有缩短育种周期以及提高育种效率和质量等优点^[1-3]。双单倍体育种技术因其简化诱导程序、提高单倍体诱导频率的优势,备受育种家青睐。产生双单倍体的方法有辐射花粉诱导法^[4]、孤雌生殖、组织培养、药剂处理^[5]、远缘杂交^[6-7]等。小麦单倍体主要通过雄核发育或雌核发育产生^[8],获得单倍体植株后,常用秋水仙素处理使染色体加倍获得双单倍体植株并正常结实^[9]。其他作物,如马铃薯主要通过花粉诱导或子房离体培养获得双单倍体^[10];水稻主要通过微孢子培养或花药培养获得双单倍体^[11];玉米主要通过药

剂诱导孤雌生殖获得双单倍体,除此之外也可通过单倍体诱导系诱导种内杂交产生双单倍体^[5]。小麦常用的双单倍体诱导方法是花药培养法和玉米花粉诱导法^[12]。花药培养法能够高效获得单倍体,且操作过程比较简单,缺点是培育成本高、愈伤诱导率不高、成苗率和染色体加倍率低^[13-14]。玉米花粉诱导法的主要流程是通过玉米花粉的诱导使小麦产生单倍体胚,并在单倍体胚生长到一定时期时进行幼胚挽救^[15]。该方法优点是对小麦基因型的要求并不严格,此外,玉米花粉诱导法单倍体胚的诱导率更高,单倍体植株不会产生白化苗,成苗率高,从而显著提高植株的培养效率,获得更多的小麦单倍体植株^[16]。因此,玉米花粉诱导法相较于花药培养法具有更广阔的应用前景和更广泛的应用范围。本文通过对小麦 × 玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体育种技术的主要影响因素进行比较和论述,分析具体操作参数优缺点,旨在为小麦双单倍体育种技术工作提供参考,推进小麦快速育种工作的

基金项目:兵团农业关键核心技术攻关(2024AB006);自治区天山英才(青年科技拔尖人才项目);师市指导性计划项目(2024ZDNY14);师市重点领域科技攻关项目(2021NY01)
通信作者:林霞

进程。

1 远缘杂交诱导小麦单倍体发展历程

远缘杂交包括种间杂交、属间杂交^[17]。早在1970年就有学者通过球茎大麦和普通小麦杂交产生高频率单倍体小麦的报道。英国学者 Laurie 等^[18-19]证明,受精作用可以发生在普通小麦和玉米之间。1988年 Laurie 等^[20-21]首次利用小麦与玉米杂交获得小麦单倍体苗,且杂交得胚率比球茎大麦×普通小麦高出百倍。此后,研究人员陆续发表了普通小麦与黑麦、高粱、鸭茅状摩擦禾等杂交诱导产生小麦单倍体的研究论文^[22-24]。这些研究极大地推动了利用远缘杂交诱导小麦产生单倍体的理论与技术的发展。我国1973年首次从小麦花粉中诱导出单倍体苗,自此我国单倍体育种技术道路逐渐开辟出来^[25-26]。截至目前,小麦×玉米属间远缘杂交已经是最广泛和成功的单倍体诱导应用技术,在全世界小麦双单倍体品种中约占75%^[27-28]。

2 小麦×玉米单倍体诱导率的主要影响因素

2.1 基因型对小麦单倍体的影响 小麦和玉米基因型对小麦×玉米单倍体诱导率均具有一定影响。Kour 等^[29]认为不同小麦品种或基因型对产生单倍体有极大影响。Matzk 等^[30]研究报道称小麦×玉米产生单倍体对小麦基因型选择并不敏感,通过此方法获得单倍体,对小麦品种选择差异不显著,1993年他们在四倍体硬粒小麦的研究中得出,不同基因型或不同类型小麦均可产生单倍体,通过花药离体培养能成功获得单倍体,说明诱导单倍体的产生对小麦基因型无特殊的选择性。乔祥梅等^[31]对9个F₂小麦材料与2种玉米类型授粉研究得出,小麦基因型、玉米基因型以及二者互作效应对单倍体诱导率均有极显著影响,但玉米基因型的影响更大,是小麦基因型的4.85倍。赵翠荣等^[32]用4个玉米基因型对5个小麦晚播材料进行花粉诱导,最高诱导得胚率可达22.2%。Suenaga 等^[33]利用4个玉米单交品种对1个小麦材料授粉,得胚率最高可达31.9%,组合间差异显著。陈新民等^[34]利用3个玉米单交品种对小麦材料授粉,得胚率达13.3%~33.1%,且组合间差异显著。丁明亮等^[35]利用8个玉米品种对6个小麦DH系进行双单倍体诱导,得胚率最高可达38.17%。所以,筛选得胚率高的玉米基因型,可显著提高单倍体诱导效率。

2.2 环境条件对小麦单倍体的影响 环境条件如空气湿度、温度、授粉环境、土壤营养或营养液成分等对单倍体胚的发育均有不同程度的影响,其中空气湿度的影响较大。1998年中国农业科学院进行小麦×玉米杂交试验发现,得胚率在相同授粉条件下产生显著差异,温室杂交平均得胚率(29.2%)比大田高8倍,这可能是由于单倍体胚生长发育更适于温室的光照、温度和湿度条件,特别是对温度和湿度的要求更敏感,这也是导致大田试验不同年份间得胚率差异较大的因素^[36]。云南省农业科学院的相关报道也得出类似结论,授粉后立即浇水比不浇水得胚率提高3%~7%,饱粒率提高19%;授粉后空气湿度>85%和<70%两类天气下得胚率和结实率分别较低空气湿度下提高13.39%和30.32%;说明授粉后充足的土壤水分和适当的空气湿度可大大提高得胚率^[37]。但地区环境差异较大,在一些气候干燥地区,即便在人工气候箱内培养,湿度同样是相对难调控的因素之一。湿度在同一培养周期内均匀调控,且最大湿度调整到75%~85%,在实际操作中较难实现,因此湿度忽高忽低将极大地降低单倍体诱导率。

2.3 授粉方式对小麦单倍体的影响

2.3.1 授粉方法 授粉方法不同对得胚率有显著影响。1997年我国学者对3种授粉方法包括不去雄授粉技术、改良版垂直剪颖剪药技术和常规去雄授粉技术比较发现,得胚率之间具有显著差异^[36]。Inagaki 等^[38]通过对常规去雄授粉技术、割穗离体培养+常规去雄授粉技术及割穗离体培养+热水杀雄技术3种方法进行比较发现,得胚率并无显著差异,但采用热水杀雄可统一管理,3min快速杀雄,与常规去雄授粉技术相比速度快几倍,且割穗离体培养可人为调节植株生长发育条件,节省空间,有效提高试验效率。常规授粉技术比改良版垂直剪颖技术得胚率高8.5%,缺点是相对费工费时。改良版垂直剪颖技术无需整穗,流程和操作简单,可作为首选授粉方法。郑琪^[39]研究得出,割穗离体培养得胚率是田间自然生长的2倍以上。Campbell 等^[40]使用刷子、毛笔等蘸取玉米花粉与常规去雄小麦逐朵小花进行杂交,每小时每人可完成杂交40~50穗,但效率难以满足授粉需要。2006年云南省农业科学院发明了去雄技术+“滚粉法”,每小时每人最少完成

授粉 600~800 穗,得胚率和结实率最高可达 19.94% 和 88.77%^[15,37]。此外,刘莹等^[41]在去雄前割穗离体培养,整穗后将穗头和玉米花粉装入纸袋,剧烈晃动纸袋进行授粉,得胚率最高可达 33.6%。

2.3.2 授粉次数 授粉次数不同,杂交后得胚率不同^[42]。1 次授粉得胚率显著低于 2 次授粉,这可能是由于同一麦穗不同位置的小花开花时间不一致,2 次授粉可弥补第 1 次的授粉不完全,使不同位置小花在最佳时间授粉,从而提高得胚率^[43]。此外,来长凯等^[44]在第 1 次授粉后 24h 进行第 2 次授粉,得胚率最高可达 11.2%。所以,玉米花粉与麦穗小花的总授粉时间、授粉面积以及授粉花粉量对单倍体诱导效率的影响较大。

2.4 单倍体胚发育及培养对小麦单倍体的影响

小麦与玉米杂交产生的单倍体胚得不到胚乳营养供应,只能发育到球形胚或原胚之前,所以早期会出现植株夭亡的现象^[12]。实际生产中使用植物激素 2,4-D 对杂交后的麦穗、小穗或小花进行处理,可使单倍体胚膨大直至离体培养^[45]。

2,4-D 处理方法主要分为 5 种,包括小花滴注处理、节间注射处理、蘸穗处理、割穗离体处理和喷洒柱头处理。喷洒柱头处理得胚率高,操作简便;割穗离体处理可控条件多,易获得高得胚率。2,4-D 处理浓度、时间以及处理次数对单倍体胚发育和得胚率的提高有显著影响。王广金^[46]使用 100mg/kg 2,4-D 得胚率最高。Zhang 等^[47]用小穗培养法通过 2,4-D 处理杂交穗发现,高浓度药剂更有利于得胚率和幼胚数量的提高。Laurie 等^[21]发现,授粉后 4h 或 24h 通过节间注射 50~100mg/kg 2,4-D,得胚率可有效提高。蔡华等^[48]研究指出,重复用 2,4-D 处理可显著提高得胚率;授粉后 5h 进行 100mg/kg 2,4-D 处理,平均得胚率达 7.5%,24h 后同一浓度再进行一次 2,4-D 处理,平均得胚率可达 9.5%;其原因可能是重复处理补充了对小穗或节间的药剂流失或剂量不足,也可能是 2,4-D 处理促进了单倍体胚细胞分裂和生长发育,使得子房快速膨大从而提高得胚率。

胚的胚龄和大小、培养基类型、离体培养时间和培养条件对单倍体胚的发育均有明显影响。单倍体胚离体培养最佳时间是 14d 左右,此时幼胚直径在 0.5~1.0mm 之间,是胚挽救的最佳时期^[37,49]。

培养基对不同植物的种类有选择特异性。杨忠慧等^[15]和 Shirdelmoghanloo 等^[50]认为,小麦适合用 1/2MS、C7、W14 培养基。吴晓军等^[51]的研究表明,MC3 培养基在不同小麦材料中培养效果最好,平均萌发率 65.6%,平均成苗率 38.2%。除了培养基,还可以添加谷氨酰胺、活性炭、肌醇、脯氨酸、椰子汁等有机添加剂^[52]。陈新民等^[42]采用不添加任何激素的 1/2MS 培养基+生长素+细胞分裂素培养单倍体幼胚,成苗率可达 80% 左右。高艳等^[53]研究认为,1/2 MS+1.0mg/L KT+3.0mg/L 多效唑+100mg/L 肌醇+5% 蔗糖+0.6% 琼脂,pH5.8 处理后成苗率最高达 52.51%。末永一博等^[54]指出,单倍体胚离体培养受光照、温度等环境影响。Riera 等^[55]设置光温培养箱 32℃ 暗培养 3d+26℃ 培养处理,成苗率最高达到 37.92%;在 25℃/12℃(白天/黑夜)、16h 光照处理条件下进行幼胚培养,成苗率最高达到 81%。

3 小麦单倍体加倍率的主要影响因素

通过单倍体胚发育产生的单倍体苗不能进行自然加倍或直接用于遗传育种^[56]。单倍体染色体加倍分为人工加倍和自然加倍 2 种,人工加倍目前一般采用化学加倍,加倍率较高;自然加倍通过自发加倍,加倍率低^[57]。单倍体苗染色体加倍的化学药剂主要有秋水仙素、普罗胺、甲基氨丙磷、氟乐灵等,其中,大多采用秋水仙素进行染色体加倍,用其处理后加倍率较高,缺点是毒性大,需要在通风橱处理^[35]。Mjueeb-Kazi 等^[43]通过浸根法进行染色体加倍,加倍率最高可达 70%。尹米琦等^[58]对分蘖节注射法、叶片涂抹法、培养基添加秋水仙素和培养基添加除草剂的研究显示,培养基添加 20mmol/L 秋水仙素加倍率最高可达 85.7%。此外,浸根时长、避光处理、分蘖节打孔或分蘖节切口、通气处理对单倍体苗染色体加倍均有显著影响^[33,59]。

4 单双倍体的鉴定途径

植物的倍性鉴定是鉴别和筛选单倍体植株的必经之路,在小麦^[60]、白菜^[61]、水稻^[62]、油菜^[63]、大麦^[64]、黑麦^[65]、西瓜^[66]等多种作物中均有报道。鉴定方法包括形态学鉴定、解剖学鉴定、细胞学鉴定、生理生化特征鉴定、流式细胞仪鉴定、分子标记鉴定等,其中主要通过形态学鉴定、细胞学鉴定和流式细胞仪鉴定方法进行鉴定^[67]。不同鉴定方法各有特

点,在鉴定植株倍性时应结合实际,选择合适的一种或几种方法鉴定。

4.1 形态学鉴定 形态学鉴定是主要的传统倍性鉴定方法。Compton 等^[68]研究表明,花粉囊直径、雄花花瓣、子房直径等是西瓜倍性鉴定指标。同源多倍体通常表现为植株粗壮、根系旺盛伴有叶片皱缩以及生长期滞后等。优点是方法简单直观,缺点是易受主观和环境影响,可靠性和准确性不稳定。

4.2 解剖学鉴定 解剖学鉴定主要选取植物生长期新鲜嫩叶,取叶片下表皮,通过显微镜观察植物组织或细胞结构,如花粉粒大小或形状、气孔的大小或密度、叶绿素数量以及保卫细胞的形态等^[69]。该方法操作简便,相较于形态学鉴定更加准确,且对组织发生层的3层细胞都可以进行鉴定。

4.3 细胞学鉴定 细胞学鉴定又被称为染色体计数鉴定,是最直接、最可靠的倍性鉴定方法之一^[70]。方法是根尖制片或嫩梢压片,主要步骤包括根尖提取、预处理、固定、解离、染色、压片等步骤,该方法优点是结果可靠,缺点是操作复杂、对专业和技术经验要求高,检测速率低,不适用于大批量试验样品鉴定。

4.4 生理生化特征鉴定 生理生化特征鉴定主要通过鉴定植物组织酶活性、营养物质来判断植物倍性,具有准确、直接的优点^[71]。多倍体植物通常水分含量高、渗透压较高、蒸腾作用和呼吸作用弱,营养物质及代谢物质含量低,开花和熟期早。单倍体植物则水分含量较低、渗透压较低、蒸腾作用和呼吸作用较强,营养物质及代谢物质含量高,开花和熟期较晚。

4.5 分子标记鉴定 分子标记鉴定是现代分子标记技术的产物,该方法具有稳定性强、不受环境因素影响、操作简单、快速,结果准确等优点,可用于数量性状遗传规律的研究。常用的分子标记包括 AFLP、RAPD、ISSR、SSR 等,用于不同植物后代的倍性鉴定^[69]。单一分子标记均有一定局限性,不能揭示足够的遗传信息,所以需要结合几种分子标记技术,才能对植株倍性和遗传组成进行全面的分析。

4.6 流式细胞仪鉴定 流式细胞仪鉴定通过检测细胞分裂期间 DNA 的含量,在计算机分析下,绘制 DNA 含量曲线变化图,以已知倍性植物作为对照,判断待测植株的倍性,是最准确、最简便、最快捷的

倍性鉴定方法^[72]。此外,应用流式细胞仪还可检测混倍体。该方法优点是快速、准确,缺点是在纯系育种工作中,无法鉴定出自然加倍的双单倍体植株是否纯合。

5 小麦双单倍体育种技术存在的问题及展望

小麦常规育种存在育种周期长、基因型纯合速度慢、性状改良精准性差等缺点,小麦×玉米远缘杂交双单倍体育种技术极大地解决了这一问题,提高了育种家的选择效率,被广泛地应用到小麦遗传育种工作中。但受到地区环境条件、试验方法、操作流程等影响,导致单倍体得胚率不稳定,单倍体苗加倍率、加倍效率低等,还需技术优化与创新,开发高效、低毒、环保的诱导和加倍方法,提高单倍体胚诱导频率、萌发率及染色体加倍效率。

应进一步深入研究单倍体诱导和染色体加倍的遗传机理,如利用基因编辑技术精准调控相关基因表达,同时,双单倍体育种应结合杂交育种和分子标记辅助选择等技术,精准快速鉴定与筛选单、双单倍体,提高育种效率,创制新的种质资源,提高遗传的多样性。同时,双单倍体育种技术在单倍体诱导过程中能将隐性基因突变筛选出来,有利于基因功能的研究,对基因组学、转基因和基因编辑等方面也具有非常重要的应用价值。未来伴随染色体工程和基因工程的逐渐完善和应用,远缘杂交诱导小麦双单倍体育种技术将会有更广阔的发展前景。

参考文献

- [1] Kalinowska K, Chamas S, Unkel K, Demidov D, Lermontova I, Dresselhaus T, Kumlehn J, Dunemann F, Houben A. State-of-the-art and novel developments of in vivo haploid technologies. *Theoretical and Applied Genetics*, 2019, 132 (3): 593
- [2] Bi Y, Zheng L, An L, Wang Y, Zhang Y, Qian C. Production and identification of melon double haploid induced by wide hybridization between melon and cucumber. *Euphytica*, 2024, 220 (11): 165
- [3] Dong S, Zheng W, Wang Z, Li J, Zhang X, Liu Z, Zhang Y. Low-toxicity herbicide dicamba promotes microspore embryogenesis and plant regeneration for doubled haploid production in purple cauliflower. *Scientia Horticulturae*, 2024, 336: 113405
- [4] 刘慧颖,冯翠,吉茹,钱巍,倪维晨,钱春桃,苏小俊. 瓜类作物辐射花粉诱导双单倍体技术研究进展. *长江蔬菜*, 2023 (18): 37-40
- [5] 韩雅利,史丽丽,王磊,史明山,范子洋,焦宏业. 玉米孤雌生殖诱导育种法的研究进展. *山西农业科学*, 2021, 49 (10): 1242-1246
- [6] Ding M L, Zhao H, Gu J, Li H S, Liu K, Yang M J, Li S X. Research and breeding application progress of the technique of producing

- double haploid of wheat by wide hybridization between wheat and maize. *Agricultural Science & Technology*, 2017, 18 (12): 2202–2208
- [7] Satpathy P, Fuente S A, Ott V, Müller A, Büchner H, Daghma D E S, Kumlehn J. Generation of doubled haploid barley by interspecific pollination with *Hordeum bulbosum*. *Methods in Molecular Biology*, 2021, 2287: 215–226
- [8] 刘龙, 陈笑, 王义, 冯献忠. 农作物单倍体诱导技术研究进展. *分子植物育种*, 2022 (2): 1–11
- [9] 车京玉, 王洪军, 时家宁. 小麦与玉米杂交诱导单倍体技术的应用与研究进展. *农业科技通讯*, 2009 (5): 53–55
- [10] 白继鹏, 王洪洋, 李灿辉. 马铃薯双单倍体诱导及辅助育种研究进展. *中国瓜菜*, 2021, 34 (4): 1–7
- [11] 黄安平, 谭炎宁, 王伟平. 水稻双单倍体育种技术研究进展. *杂交水稻*, 2022, 37 (6): 1–5
- [12] 李根英, 孟庆华, 隋新霞, 管延安, 黄承彦. 玉米花粉诱导小麦单倍体的研究进展. *山东农业科学*, 2003 (1): 52–54
- [13] 冯红玉, 姚碧娇, 陈媚, 高玲. 单倍体育种技术的应用进展. *中国农学通报*, 2021, 37 (30): 1–6
- [14] 毕珍珍, 郑艳, 李辉, 李晓建, 刘雯, 母学荣, 朱娜, 郑佳乐, 宋瑜龙, 闵东红, 张小红. 小麦 DH 系创制中培养基、秋水仙浓度的筛选及其 HMW-GS 组成分析. *麦类作物学报*, 2024, 44 (8): 1–8
- [15] 杨忠慧, 杨木军, 李绍祥, 丁明亮, 刘琨, 顾坚, 李宏生. 小麦 DH 高效生产技术体系在云南的研究与应用. *麦类作物学报*, 2023, 43 (10): 1311–1318
- [16] 马强, 余国东, 李伯群, 任正隆, 周凤云, 李泽碧, 廖敦秀. 小麦单倍体诱导技术研究进展. *南方农业*, 2010, 4 (6): 72–76
- [17] 刘倩倩, 张小娟, 王立峰, 凌冬, 张鹏飞. 小麦单倍体诱导技术研究进展. *中南农业科技*, 2024, 45 (11): 218–225
- [18] Laurie D A, Bennett M D. Wheat × maize hybridization. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 1986, 28: 313–316
- [19] Laurie D A, Bennett M D. The effect of the crossability loci *Kr1* and *Kr2* on fertilization frequency in hexaploid wheat × maize crosses. *Theoretical and Applied Genetics*, 1987, 73: 403–409
- [20] Laurie D A. Factors affecting fertilization frequency in crosses of *Triticum aestivum* cv. ‘Highbury’ × *Zea mays* cv. ‘Seneca 60’. *Plant Breeding*, 1989, 103: 133–140
- [21] Laurie D A, Reymondie S. High frequencies of fertilization and haploid seedling production in crosses between commercial hexaploid wheat varieties and maize. *Plant Breeding*, 1991, 106 (3): 182–189
- [22] 王萍, 武镛祥. 普通小麦和黑麦的双单倍体与六倍体小黑麦 3 种间杂交的研究. *东北农学院学报*, 1988, 19 (4): 337–347
- [23] 孙敬三, 路铁刚, 刘辉. 小麦 × 高粱的受精率和小麦单倍体的诱导(简报). *实验生物学报*, 1996, 29 (2): 191–195
- [24] 赵翠荣, 余华强. 利用玉米和鸭茅状摩擦禾诱导小麦单倍体和双单倍体的研究进展. *湖北农业科学*, 2014, 53 (1): 8–12
- [25] Ouyang J W, Hu H, Chuang C C, Tseng C C. Induction of pollen plants from anthers of *Triticum aestivum* L. Cultured *in vitro*. *Science in China, Ser. A*, 1973, 16 (1): 79–95
- [26] Wang C C, Chu C C, Sun C S, Wu S H, Yin K C, Hsu C. The androgenesis in wheat (*Triticum aestivum*) anthers cultured *in vitro*. *Science in China, Ser. A*, 1973, 16 (2): 218–225
- [27] Devaux P. Production of wheat doubled haploids through intergeneric hybridization with maize. *Doubled Haploid Technology*, 2021, 17: 267–279
- [28] Devaux P, Luis C. Wheat doubled haploids: production to sequencing. What makes them so appealing?. *The World Wheat Book, A History of Wheat Breeding*, 2016, 3 (2): 885–938
- [29] Kour A, Bhatt U, Grewal S, Singh N K, Khanna V K. Effect of wheat and maize genotypes for wheathaploid production in wheat × maize crosses. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding*, 2008, 68 (2): 201–203
- [30] Matzk F, Mahn A. Improved techniques for haploid production in wheat using chromo some elimination. *Plant Breeding*, 1994, 113 (2): 125
- [31] 乔祥梅, 王志伟, 王志龙, 程加省, 刘列, 施吉嵘, 于亚雄. 云南省玉米地方品种对诱导不同基因型小麦单倍体胚得胚率的影响. *分子植物育种*. <https://link.cnki.net/urlid/46.1068.s.20231226.1732.020>
- [32] 赵翠荣, 刘莹, 王立峰, 唐清, 彭萍, 陈科海, 杨青, 余华强, 陈新民. 基因型对小麦 × 玉米单倍体胚产生频率的影响. *湖北农业科学*, 2014, 53 (24): 5935–5938
- [33] Suenaga K, Nakajima K. Efficient production of haploid wheat (*Triticum aestivum*) through crosses between Japanese wheat and maize (*Zea mays*). *Plant Cell Reports*, 1989, 8 (5): 263
- [34] 陈新民, 陈孝. 小麦 × 玉米产生单倍体及双单倍体研究进展. *麦类作物学报*, 1998, 18 (3): 4–7
- [35] 丁明亮, 李宏生, 杨木军, 杨忠慧, 李绍祥, 顾坚, 赵红, 黄格, 崔永祯, 刘琨. 玉米基因型对小麦 × 玉米杂交单倍体胚得胚率的影响. *江苏农业学报*, 2019, 35 (4): 764–769
- [36] Chen C X, Zhu L H, Sun S J. Molecular evidence on maize specific DNA fragment transferred into wheat through sexual hybridization. *Science China (Life Sciences)*, 1998, 41 (2): 126–132
- [37] 顾坚, 刘琨, 李绍祥, 田玉仙, 杨和仙, 单芹丽, 杨木军. 昆明自然条件下利用小麦 × 玉米诱导小麦单倍体的研究初报. *麦类作物学报*, 2006, 26 (4): 23–26, 148
- [38] Inagaki M N, Nagamine T, Mujeeb-Kaz A. Use of pollen storage and detached tiller culture in wheat polyploid production through wide crosses. *Cereal Research Communications*, 1997, 25: 7–13
- [39] 郑琪. 玉米诱导小麦杂种 F₁ 代 DH 系研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020
- [40] Campbell A W, Griffin W B, Burritt D J, Conner A J. The importance of light intensity for pollen tube growth and embryo survival in wheat × maize crosses. *Annals of Botany*, 2001, 87 (4): 517
- [41] 刘莹, 张小娟, 凌冬, 左珍喜, 谭靖, 王立峰. 大棚玉米诱导小麦单倍体育种关键技术研究. *安徽农业科学*, 2021, 49 (5): 53–55
- [42] 陈新民, 赖桂贤, 陈孝, 周俊芳, 刘俊秀, 孙芳华. 不同小麦组合与

- 玉米杂交产生单倍体的差异. 作物学报, 1996, 22 (4): 437-441
- [43] Mujeeb-Kazi A, Riera-Lizarazu O. Polyhaploid production in the triticeae: wheat $\times$ tritacum crosses. Crop Science, 1993, 33 (5): 973-976
- [44] 来长凯, 王成社, 闫林. 冬小麦 $\times$ 玉米远缘杂交产生小麦单倍体胚的研究. 麦类作物学报, 2007, 27 (2): 193-196
- [45] 蔡华, 马传喜, 司红起, 乔玉强, 陆维忠. 利用小麦与玉米远缘杂交诱导小麦双单倍体的研究进展. 麦类作物学报, 2006, 26 (4): 154-157
- [46] 王广金. 小麦与玉米杂交产生单倍体频率的研究. 麦类作物学报, 1998, 18 (6): 15-17
- [47] Zhang J, Friebe B, Raupp W J, Harrison S A, Gill B S. Wheat embryogenesis and haploid production in wheat $\times$ maize hybrids. Euphytica, 1996, 90 (3): 315-324
- [48] 蔡华, 马传喜, 周森平, 马鸿翔, 陆维忠. 小麦与玉米远缘杂交诱导小麦单倍体的研究. 麦类作物学报, 2004, 24 (2): 11-14
- [49] 杨雁. 玉米诱导小麦双单倍体育种技术的研究. 杨凌: 西北农林科技大学, 2023
- [50] Shirdelmoghanloo H, Moieni A, Mousavi A. Effects of embryo induction media and pretreatments in isolated microspore culture of hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Falat). African Journal of Biotechnology, 2009, 8 (22): 6134-6140
- [51] 吴晓军, 胡喜贵, 陈向东, 姜小苓, 胡铁柱, 李笑慧, 程威, 茹振钢. 生长环境及培养基对小麦单倍体胚萌发率和成苗率的影响. 河南农业科学, 2020, 49 (6): 23-29
- [52] Prem D, Gupta K, Sarkar G, Agnihotri A. Activated charcoal induced high frequency microspore embryogenesis and efficient doubled haploid production in *Brassica juncea*. Plant Cell Tissue & Organ Culture, 2008, 93 (3): 269-282
- [53] 高艳, 唐建卫, 殷贵鸿, 韩玉林, 黄峰, 王丽娜, 于海飞, 李楠楠, 吕永军, 张倩, 李顺成, 杨光宇, 李新平. 培养基对小麦单倍体胚成苗率的影响. 中国农学通报, 2015, 31 (21): 107-110
- [54] 宋永一博, 伊尚武. 与玉米杂交获得小麦双单倍体系统的方法. 国外农学: 麦类作物, 1991 (4): 29-31
- [55] Riera L, Mujeeb-Kazi O A. Maize (*Zea mays* L.) mediated wheat (*Triticum aestivum* L.) polyhaploid production using various crossing methods. Cereal Research Communications, 1990 (18): 339-345
- [56] Ahmadi B, Ebrahimzadeh H. In vitro androgenesis: spontaneous vs. artificial genome doubling and characterization of regenerants. Plant Cell Reports, 2020, 39 (3): 299-316
- [57] 卜华虎, 任志强, 王晓清, 肖建红. 植物单倍体育种研究进展. 山西农业科学, 2017, 45 (12): 2032-2037
- [58] 尹米琦, 张双喜, 范春桐, 王坤杨, 王静, 王珂, 杜丽璞, 叶兴国. 不同化学试剂和处理方式加倍小麦单倍体植株的效果. 中国农业科学, 2018, 51 (5): 811-820
- [59] 顾坚, 杨木军, 李绍祥, 田玉仙, 李宏生, 杨和仙, 刘琨, 赵红. 提高小麦 $\times$ 玉米中小麦单倍体苗加倍率的研究. 西南农业学报, 2012, 25 (1): 19-21
- [60] 刘小娟, 柳欣, 张明虎, 郝明, 甯顺踪, 袁中伟, 黄林, 刘登才, 张连全. 利用远缘杂交和未减数配子基因创制小麦加倍单倍体. 作物学报, 2023, 49 (12): 3154-3161
- [61] 张帅宇, 常玉瑾, 郝广华, 王彦华, 顾爱侠, 罗双霞, 马利松, 轩淑欣, 申书兴. 大白菜抗根肿病 DH 系的创制与鉴定. 华北农学报, 2024, 39 (3): 187-194
- [62] 张能义, 薛庆中. 水稻 DH 群体数量性状的遗传分析. 作物学报, 1997, 23 (1): 123-126
- [63] 赵卫国, 王灏, 田建华, 赵亚军, 罗斌, 王爱娜, 李保军, 赵小萍, 关周博, 李永红, 栗茂腾. 甘蓝型油菜 DH 群体若干数量性状的遗传分析. 中国农学通报, 2014, 30 (15): 86-91
- [64] 费新茹. 大麦 DH 群体主要农艺性状及黄花叶病抗性的遗传分析与 QTL 定位. 扬州: 扬州大学, 2017
- [65] Sharma P, Chaudhary H K, Manoj N V, Singh K, Relan A, Sood V K. Haploid induction in triticales $\times$ wheat and wheat $\times$ rye derivatives following *Imperata cylindrica*-mediated chromosome elimination approach. Cereal Research Communications, 2019, 47: 701-713
- [66] 闵子扬, 邹甜, 阮万辉, 孙小武. 西瓜离体雌核发育诱导单倍体植株再生. 分子植物育种, 2019, 17 (13): 4404-4409
- [67] 徐向帅. 油茶辐射授粉结合胚抢救培育单倍体研究. 长沙: 中南林业科技大学, 2023
- [68] Compton M E, Gray D J, Elmstrom G W. Identification of tetraploid regenerants from cotyledons of diploid watermelon cultured *in vitro*. Euphytica, 1996, 87 (3): 165-172
- [69] 张咪. 不结球白菜“五月慢”游离小孢子培养及其同源四倍体的鉴定. 南京: 南京农业大学, 2022
- [70] 尹丽莎, 陈杰, 周军, 何承忠, 李斌, 张辉, 罗一然, 辛培尧. 滇杨根尖细胞染色体制片技术优化. 南方农业学报, 2015, 46 (7): 1253-1258
- [71] 耿小丽, 魏臻武, 姚喜红. 采用流式细胞仪鉴定紫花苜蓿花药愈伤组织的变异. 草业学报, 2011, 20 (3): 156-161
- [72] 李元会, 赵凡, 张姗姗, 李媛蓉, 曾秀丽. 核果类果树倍性育种研究进展. 西藏农业科技, 2021, 43 (1): 93-95

(收稿日期: 2024-12-19)

书讯

**《种子法律实务一本通：
145 个实务问答与 38 个植物
新品种典型案例精解》签名版**

实务问题 + 案例解析，一本书读懂《种子法》相关问题！本书以《种子法》的第四次修改为背景，立足行业实际，对实务中的普遍性、多发性问题进行了解答，同时筛选 38 个典型案例，对实践中的司法适用问题及争议解决方式等进行了深入分析。2022 年 6 月由中国法制出版社出版。

书籍信息及购买方式

王海阳著，中国法制出版社出版，定价：89.00 元 / 本，中国种业读者优惠购买 50 元 / 本。数量有限，售完为止。

联系人：逮锐

手机：15510281796 微信同号