

秋水仙素对蚕豆胚根生长的影响 及多倍体诱导效应分析

闫秋洁, 杨琼

(绵阳师范学院 生命科学与技术学院, 四川 绵阳 621000)

摘要: 筛选秋水仙素诱导蚕豆胚根多倍体的最适诱导处理组合并分析其诱导效应。以秋水仙素 5 个浓度 (0.025%、0.050%、0.100%、0.150%、0.200%) 和 4 个诱导时间 (12、24、48、60 h) 正交组合 (蒸馏水处理为对照) 分别处理蚕豆胚根。以根尖诱导率和胚根膨大率的显著性差异确定蚕豆胚根多倍体的最适诱导处理组合, 并以胚根细胞染色体数目和幼叶气孔数目的变化对诱导效果进行鉴定, 分析其幼苗期的胚根数目和幼苗长度。结果表明: 秋水仙素最适诱导时间为 48 h 和浓度为 0.100%; 气孔数量在诱导时间和诱导浓度之间均有显著差异, 但幼苗期的胚根数量和幼苗长度在不同的诱导时间之间无显著差异, 诱导浓度之间差异显著。

关键词: 多倍体; 蚕豆; 秋水仙素; 胚根

中图分类号: Q319.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)03-0386-06

Influence of colchicine on radicle growth of *Vicia faba* and the polyploid inductive effect

YAN Qiu-Jie, YANG Qiong

(College of Life Sciences and Technology, Mianyang Normal University, Mianyang 621000, China)

Abstract: In order to test the optimum induction combination (time and concentration), and analyse the inductive effects of colchicine induced the radicle polyploid in *Vicia faba*. The radicle cells were treated with the colchicine of five concentrations (0.025%, 0.050%, 0.100%, 0.150%, 0.200%, respectively) combining various culture time (12, 24, 48, 60 h, respectively). And the radicle cell were treated with distilled water simultaneously, which were taken as the control. The optimum induction combination induced by colchicine was confirmed by significant difference of the root tip inductivity and the radicle expanding ratio. And the chromosome number of radicle cells and stoma number of seedling were detected to identify the induction effect. The radicle amount and seeding height were analyzed subsequently. The optimum inductive condition was 48 h combining colchicine concentration of 0.100%. There were significant differences in stoma number between inducted time and inducted concentration, however, the radicle number and height of *V. faba* seedling showed significant difference in inductive concentration but no significant difference in culture time.

Key words: polyploid; *Vicia faba*; colchicine; radicle

多倍体是高等植物染色体进化的显著特征 (梁凤山等, 1999), 植物多倍体使植株基因活性及酶的差异性增强, 从而加强了植株的生态适应力和对逆

境的抗性, 使其在生活力、对环境适应性, 抗旱、抗寒及抗病虫害等表现出明显的优势。目前, 使用最多、应用最广泛的化学诱导剂是秋水仙素。在一定浓度

* 收稿日期: 2011-08-23 修回日期: 2012-01-01

基金项目: 四川省教育厅青年基金(10ZB140); 绵阳师范学院创新基金(Mnucx09012)[Supported by the Foundation for Young Scholars of Education Bureau of Sichuan Province(10ZB140); Innovation Fund of Mianyang Normal College (Mnucx09012)]

作者简介: 闫秋洁(1980-), 女, 甘肃酒泉人, 硕士, 讲师, 主要研究方向为植物抗逆遗传, (E-mail) veronica008@163.com。

范围内,秋水仙素对新生细胞的染色体加倍诱导率高,对组织培养材料无特殊要求,处理一定时间的细胞可在药剂去除后恢复正常分裂,但秋水仙素对诱导时的浓度和时间组合要求较高,不同的植物对秋水仙素的浓度及时间处理表现不同,浓度和处理效果之间不成正比关系(薛艳等,2005)。因此,如何选用适宜的诱导方法进行多倍体诱导,并获得稳定生长的多倍体植株进行持续研究是实验室中亟待解决的问题。

本实验以蚕豆($2n=12$)胚根诱导率和胚根膨大率作为指标,筛选秋水仙素诱导的最佳浓度和处理时间组合,并以细胞学鉴定和形态学鉴定对多倍体诱导结果进行确定,同时,对获得的稳定生长的多倍体植株跟踪分析其胚根和幼苗的生长状况,以期秋水仙素诱导蚕豆胚根多倍体提供最佳的实验室方案。

1 材料与方法

1.1 材料

当年收获的蚕豆种子($2n=12$)为试材,购自绵阳市种子公司。

1.2 方法

1.2.1 蚕豆胚根的培养及秋水仙素处理方法 冲洗蚕豆种子后,室温浸种 24 h,25 °C 恒温箱连续光照培养。胚根长约 0.5~1.0 cm 时,选取胚根生长势整齐的种子用秋水仙素溶液浸泡。浓度分别为 0.025%、0.050%、0.100%、0.150%、0.200%,处理时间分别为 12、24、48、60 h,共 20 个处理,蒸馏水处理为对照。以上每处理 60 粒种子,3 次重复,除对照外均进行暗培养。将处理过的种子放在铺有两层湿润滤纸的培养皿中,放入光照培养箱中,25 °C 恢复培养 2 d。

1.2.2 多倍体诱导的形态学鉴定 与空白组对比,以胚根根尖区明显比后部伸长区膨大为诱导判断标准。统计各处理的根尖诱导数,计算其根尖诱导率和胚根膨大率(任露泉,2003;马育华,1978)。根尖诱导率为诱导膨大的根尖占该处理根尖总数的百分比,胚根膨大率为每个根尖膨大后离根尖 2 mm 处的周长比对照处理相应位置的周长。当植株根尖处理到第 10 天和第 15 天时分别统计各处理的胚根数量,并分别测量苗高。

1.2.3 多倍体诱导的细胞学鉴定 胚根细胞染色体

数目的鉴定:处理完毕后用卡诺固定液分组固定胚根 8 h,然后用流动的蒸馏水清洗 2 min,用 1 mol/L 盐酸 60 °C 解离 5 min,蒸馏水洗涤 5~6 次,用改良石碳酸品红染色 10 min,压片后在光学显微镜下观察。每个处理选取 20 个制片,随机选择其中的 10 个制片进行统计,共统计 200 个分裂中期细胞以及其中染色体加倍的细胞数(刘传军等,2008)。(依次制片过程中,排序在后的镜检材料分组移至 70%乙醇中,置 4 °C 冰箱保存,镜检时取出)。

气孔数量及保卫细胞的鉴定:当经秋水仙素处理过的幼苗和对照材料长出 2~3 片幼叶后,取第二片幼叶用锋利的刀片刮去叶片的上表皮及叶肉,剩余的下表皮用改良的石碳酸品红染液染色,普通复式光学显微镜下观察保卫细胞的大小,并统计不同处理下变异植株与对照二倍体植株叶片的气孔在 10×40 倍光学显微镜下一个视野内平均气孔数量数目。每个处理 10 张制片,随机统计 30 个视野内保卫细胞数量,重复 5 次,并拍照。

1.3 数据分析

试验数据利用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,采用 Duncan 法进行多重比较。

2 结果与分析

2.1 诱导条件的筛选

2.1.1 秋水仙素不同处理条件下对蚕豆根尖诱导率的影响 蚕豆根尖诱导率表现出随秋水仙素浓度的增加而变大的趋势(图 1)。从诱导时间来看,60 h 时根尖诱导率最大,12 h 时最小;诱导 12~48 h 时根尖诱导率快速增加,而诱导 60 h 和 48 h 之间时变化不大。从诱导浓度来看,秋水仙素浓度 0.100% 时,根尖诱导率最大,0.200% 时最小;在浓度为 0.025%、0.050% 和 0.100% 时,根尖诱导率随诱导浓度的增加而增加,而浓度为 0.150% 和 0.200% 时,根尖诱导率随诱导浓度的增加而降低;且与其它 3 种诱导浓度相比,在秋水仙素浓度为 0.150% 和 0.200% 时,根尖诱导率更低。表 1~3 结果表明:不同诱导时间之间根尖诱导率差异显著,各诱导浓度之间也有显著差异。

2.1.2 秋水仙素不同处理条件下对蚕豆胚根膨大率的影响 秋水仙素对蚕豆胚根膨大率表现出随浓度的增加而变大,随诱导时间的延长而变大的趋势(图 2)。从诱导时间来看,诱导时间越长,胚根膨大率越

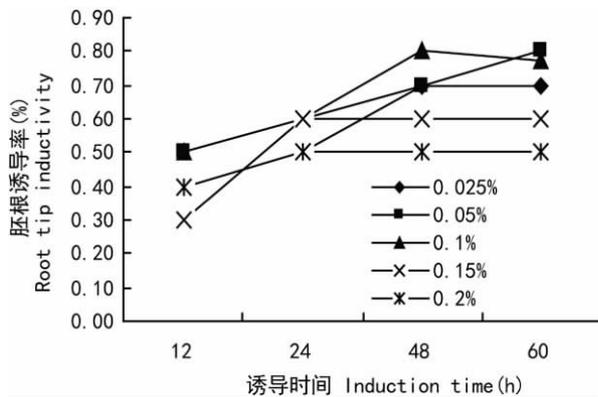


图1 不同处理下的蚕豆根尖诱导率

Fig. 1 Root tip inductivity of *Vicia faba* in different treatment combinations

大。从诱导浓度来看,在秋水仙素浓度为 0.025%、0.050%和 0.100%时,胚根膨大率随诱导浓度的增加而增加,0.100%时最高;浓度为 0.150%和 0.200%时,胚根膨大率随诱导浓度的增加而降低,0.150%时最低;且与其它 3 种低浓度相比,胚根膨大率在浓度为 0.150%和 0.200%时更低。表 1~3 结果表明:4 种诱导时间之间,胚根膨大率差异显著;诱导浓度在 0.025%、0.050%和 0.100%时胚根膨大率较高,且 3 种浓度之间无显著差异;0.150%和 0.200%时蚕豆根尖诱导率较低,两者之间无显著差异,但与其它浓度差异显著。

2.1.3 秋水仙素诱导蚕豆胚根多倍体的“处理时间×处理浓度”的最佳组合 秋水仙素处理浓度和处

表 1 各变量在不同诱导时间和诱导浓度下的方差分析

Table 1 Variance analysis of different variations in different induction time by induction concentrations (P value, $\alpha=0.05$)

变异来源 Source of variation	诱导时间 Induction time	诱导浓度 Induction concentration	诱导时间×诱导浓度 Induction time× Induction concentration
根尖诱导率 Root tip inductivity (%)	0.000	0.000	0.008
胚根膨大率 Radicle expanding ratio (%)	0.000	0.000	0.000
气孔数量 Stoma number	0.000	0.000	0.007
10 d 后胚根数量 Radicle number after 10 d	0.171	0.000	0.322
15 d 后胚根数量 Radicle number after 15 d	0.766	0.000	0.980
10 d 后幼苗长度 Seedling height after 10 d (cm)	0.182	0.000	0.063
15 d 后幼苗长度 Seedling height after 15 d (cm)	0.657	0.000	0.815

表 2 各变量在不同诱导时间下的多重比较

Table 2 Multiple-comparison of different variations respectively in different induction time

诱导时间 Induction time (h)	根尖诱导率 Root tip inductivity (%)	胚根膨大率 Radicle expanding ratio (%)	气孔数量 (个) Stoma No.	10 d 后胚根数量 (条) Radicle No. after 10 d	15 d 后胚根数量 (条) Radicle No. after 15 d	10 d 后幼苗长度 (cm) Seedling height after 10 d	15 d 后幼苗长度 (cm) Seedling height after 15 d
12	0.3500C	0.3475D	4.2300A	3.7000A	4.2800A	2.3867A	3.6533A
24	0.4667B	0.4217C	4.1967A	4.1500A	4.5300A	2.5760A	3.7517A
48	0.5500A	0.5225B	3.9183B	3.9000A	4.3800A	2.6650A	3.6783A
60	0.5625A	0.6171A	3.8367B	4.2300A	4.4800A	2.2567A	3.3383A

注: $\alpha=0.05$

理时间对蚕豆胚根多倍体诱导存在交互作用(表 1),两因素共同作用下,根尖诱导率和胚根膨大率均达到极显著水平。从对浓度和时间的多重比较结果来看,蚕豆胚根多倍体的最适诱导时间为 48 h,秋水仙素最佳浓度为 0.100%。

2.2 诱导效果鉴定

2.2.1 蚕豆胚根细胞染色体数目的变化 在秋水仙素不同处理下,蚕豆胚根根尖细胞染色体均出现了多倍化现象(图 3)。在正常二倍体($2n=12$)的基础上,出现了四倍体($2n=24$)和八倍体($2n=24$)细

胞。但未观察到异形染色体的变化,也没有大小染色体发生交错的现象,诱导后除倍性发生变化外,染色体结构特征与二倍体一致。

2.2.2 蚕豆幼叶气孔数量的变化 秋水仙素不同处理下的幼叶的气孔明显减少(图 4),秋水仙素处理组在 10×40 倍显微镜下一个视野平均气孔数约为 3~4 个,而空白组则平均约 6 个,说明诱导后的变异植株气孔密度明显减小。不同处理下,气孔数量在诱导时间之间,诱导浓度之间,以及“时间×浓度”之间差异显著(表 1)。方差分析表明:诱导时间 12

表 3 各变量在秋水仙素不同诱导浓度下的多重比较

Table 3 Multiple-comparison of different variations respectively by different induction concentrations

秋水仙素诱导浓度 Colchicine induction concentration (%)	根尖诱导率 Root tip inductivity (%)	胚根膨大率 Radicle expanding ratio (%)	气孔数量 (个) Stoma No.	10 d 后胚根数量 (条) Radicle No. after 10 d	15 d 后胚根数量 (条) Radicle No. after 15 d	10 d 后幼苗长度 (cm) Seedling height after 10 d	15 d 后幼苗长度 (cm) Seedling height after 15 d
0.000	0.0000D	0.0000C	5.9100A	18.2800A	20.6000A	4.4400A	7.1600A
0.025	0.5750B	0.6131A	3.8650B	1.1800B	1.2500B	3.2500B	4.3450B
0.050	0.6500A	0.6238A	3.5750C	1.3000B	1.3800B	2.5575C	3.4975BC
0.100	0.6687A	0.6356A	3.5450C	1.0000B	1.0000B	1.9200D	2.6850CD
0.150	0.5250BC	0.4938B	3.7050BC	1.0800B	1.0800B	1.5900D	2.3075DE
0.200	0.4750C	0.4969B	3.6725BC	1.1500B	1.2300B	1.0700E	1.6375E

注: $\alpha=0.05$

h 和 24 h 下差异不显著, 48 h 和 60 h 下差异显著, 但这两组间差异显著(表 2)。从诱导浓度来看, 秋水仙素浓度为 0.025% 时气孔数量最多, 与浓度为 0.050% 和 0.100% 时气孔数量有显著差异, 但与 0.150% 和 0.20% 下气孔数量无显著差异。秋水仙素浓度为 0.10% 时气孔数量最少, 但与浓度为 0.050%、0.150% 和 0.200% 下气孔数量无显著差异(表 3)。

2.2.3 保卫细胞大小变化 由图 5 可以看出, 在秋水仙素作用下, 保卫细胞比空白对照都有不同程度变大的趋势。不同浓度之间, 以 0.100% 水平处理的保卫细胞最大。

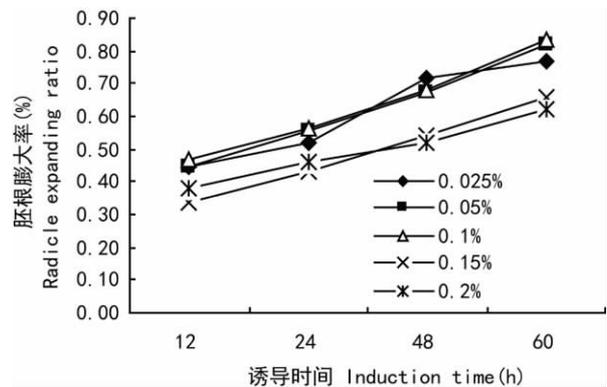


图 2 不同处理下的蚕豆胚根膨大率
Fig. 2 Radicle expanding ratio of *Vicia faba* in different treatment combinations

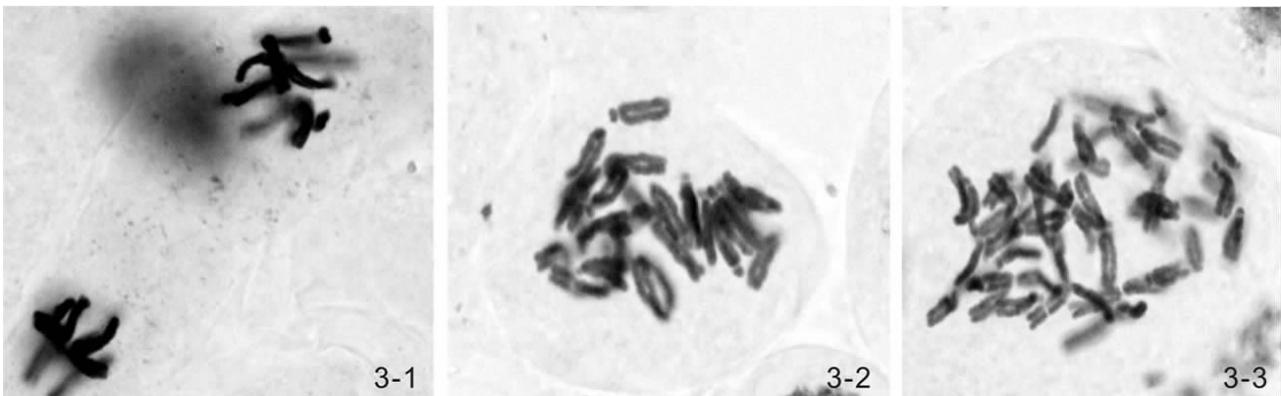


图 3 秋水仙素处理后蚕豆根尖细胞染色体多倍化
Fig. 3 Chromosome polyplodization of *Vicia faba* root tip cells induced by colchicine

3-1. 二倍体细胞 ($2n=12$); 3-2. 四倍体细胞 ($2n=24$); 3-3. 八倍体细胞 ($2n=48$).
3-1. Diploid cell ($2n=12$); 3-2. Tetraploid cell ($2n=24$); 3-3. Octoploid cell ($2n=48$).

2.3 秋水仙素诱导后蚕豆苗期的生长

2.3.1 秋水仙素对幼苗生长高度的影响 经秋水仙素诱导处理后, 幼苗生长 10 d 时(图 6), 苗高在各处理时间之间未表现出显著差异(表 1), 在处理浓度之间表现出随处理浓度升高而苗高减少的趋势。除空白对照外, 0.025% 水平处理时苗高最高, 0.200% 水

平处理时苗高最低。除 0.100% 水平和 0.150% 水平之间无显著差异外, 各处理浓度间均有显著差异(表 3)。幼苗生长 15 d 时(图 7), 苗高在各处理时间之间仍未表现出显著差异(表 2), 在处理浓度之间也表现出随处理浓度升高而苗高减少的趋势。但按照浓度梯度, 相邻浓度之间差异不显著, 相隔浓度

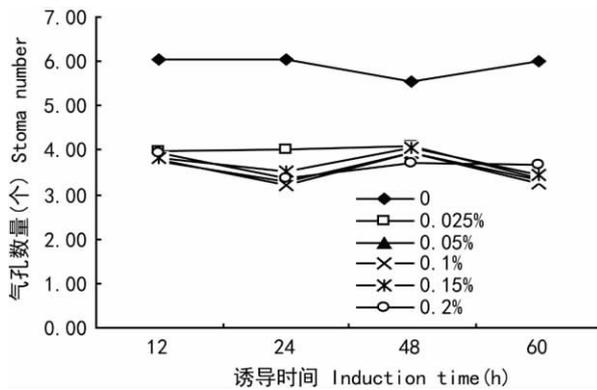


图 4 10×40 倍一个显微镜视野内的气孔数量

Fig. 4 Stoma number of one microscope field magnified at 10×40

之间差异显著。

2.3.2 秋水仙素对胚根数量的影响 从胚根生长 10 d 和 15 d 时来看,秋水仙素诱导抑制了胚根的生长,空白对照的胚根数量在 10 d 和 15 d 时分别为 18.28 和 20.60 条,而秋水仙素各处理下仅为 1.00 ~1.38 条,且各浓度与空白对照间均有极显著的差异(表 1)。但各处理在诱导浓度和诱导时间之间均未表现出显著差异(表 2,表 3)。

3 结论与讨论

秋水仙素是一种微管特异性生物碱,能够破坏生物细胞纺锤丝的形成,使分生细胞复制的染色体

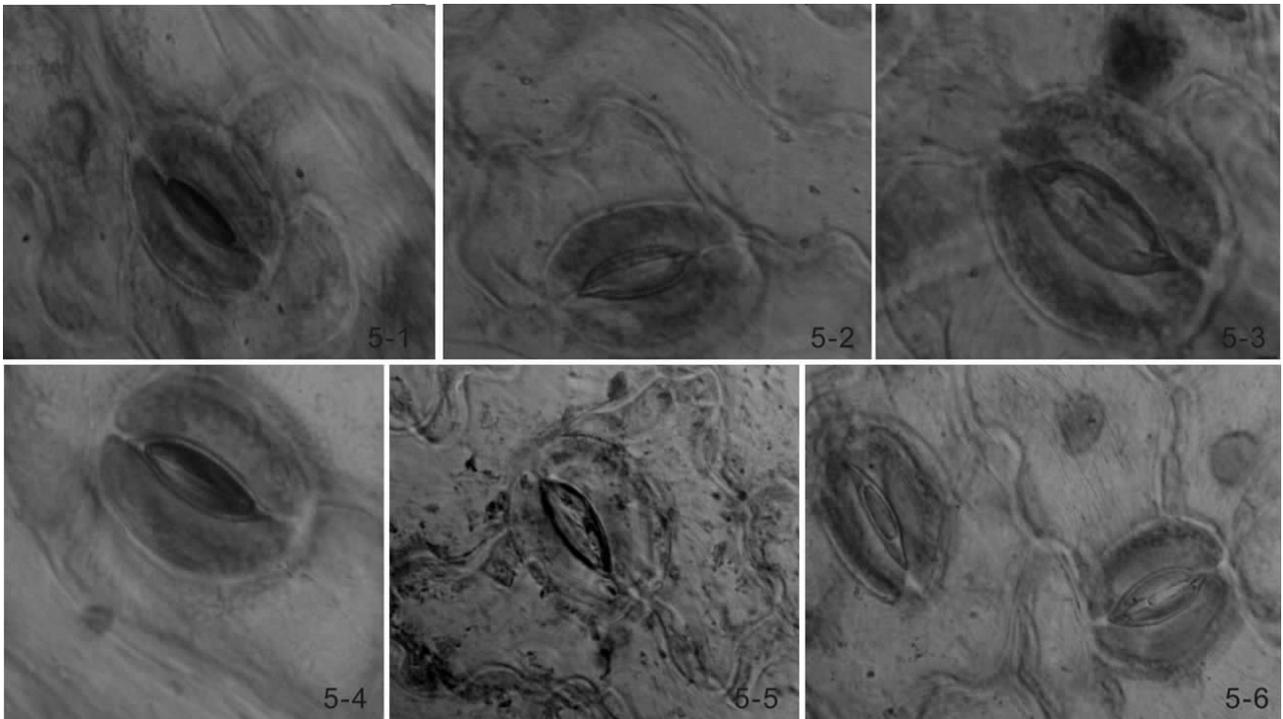


图 5 秋水仙素溶液处理蚕豆胚根后的幼叶保卫细胞 (P: 10×40 局部视野)

Fig. 5 Spire guard cell of *Vicia faba* radicle induced by colchicine

5-1. 秋水仙素浓度为 0.200%; 5-2. 秋水仙素浓度为 0.150%; 5-3. 秋水仙素浓度为 0.100%;

5-4. 秋水仙素浓度为 0.050%; 5-5. 秋水仙素浓度为 0.025%; 5-6. 空白对照。

5-1. Colchicine concentration is 0.200%; 5-2. Colchicine concentration is 0.150%; 5-3. Colchicine concentration is 0.100%;

5-4. Colchicine concentration is 0.050%; 5-5. Colchicine concentration is 0.025%; 5-6. Control.

在细胞分裂时不能分向两极,从而导致新生细胞的染色体加倍。秋水仙素具有一定的毒性,太长处理时间的秋水仙素会对被处理的植物材料产生较大的毒害(Morejohn 等,1987),但在暗条件或弱光条件下诱导可减轻对植株的伤害(陈显双等,2008),对染色体的结构并无显著的影响,在遗传上很少发生其他不利的变异(Stanys 等,2006)。从实验结果可以

看出,秋水仙素在同一浓度下,植株细胞加倍率随处理时间的增加呈上升趋势,在相同的处理时间下,细胞加倍率随秋水仙素浓度的上升呈先上升后下降趋势。所以,在诱变过程中应权衡诱导效果与诱导处理浓度的平衡,进行适宜浓度的最佳诱导时间处理。

不同材料对秋水仙素的敏感性存在差异,用秋水仙素处理大葱愈伤组织时,浓度和处理时间的较

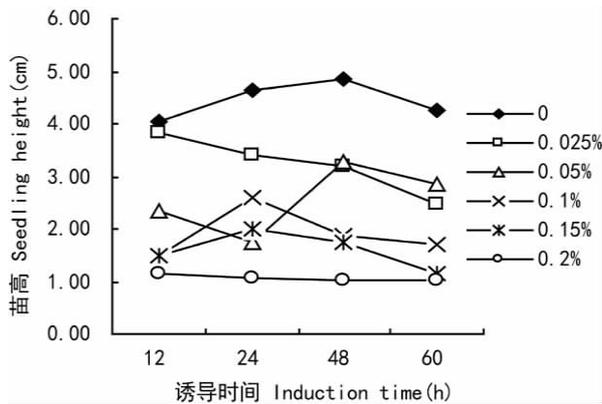


图 6 幼苗萌发 10 d 时各处理下的苗高 (cm)

Fig. 6 Seedling heights after 10 d in different treatment combinations

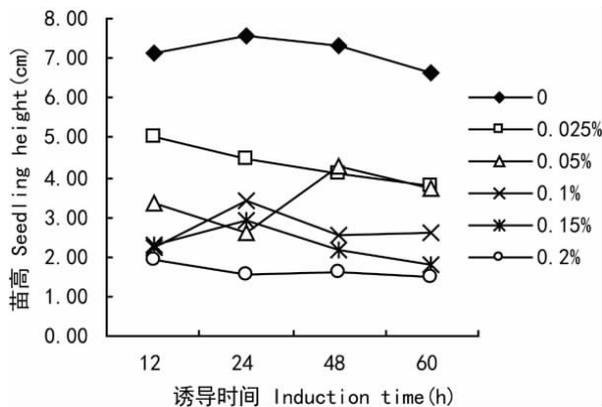


图 7 幼苗萌发 15 d 时各处理下的苗高 (cm)

Fig. 7 Seedling heights after 15 d in different treatment combinations

好组合是 0.06% 和 72 h (张数鑫等, 2005); 用 0.2% 的秋水仙素对大白菜浸根处理 8 h 可达到最高的诱导率 (刘学岷等, 2004); 以秋水仙素溶液诱导临猗梨枣、冬枣和辣椒枣时, 临猗梨枣的最佳处理组合为 0.15% 的秋水仙碱处理 18 h, 诱变率为 50%; 辣椒枣和冬枣的最佳处理组合分别为 0.1% 的秋水仙碱 30 h 和 0.15% 的秋水仙碱 18 h, 诱变率均为 43% (蒋洪恩等, 2004)。本实验中秋水仙素溶液处理蚕豆胚根的最佳浓度和处理时间组合是 0.100% 和 48 h, 根尖诱导率和胚根膨大率分别可达 55% 和 52%。

多倍体诱导过程中出现嵌合体是经常的现象, 即一部分细胞或器官为二倍体, 而另一部分则为多倍体 (陶抵辉等, 2007)。这是由于细胞分裂不同步而产生的。在一个生长周期中, 处于分裂中期的细胞较少, 所以尽管秋水仙素对细胞有一定毒害作用, 但低浓度处理较短的时间后去掉秋水仙素, 细胞能

恢复正常的分裂功能, 由于二倍体细胞的数目多于多倍体细胞, 所以二倍体细胞数目的增长指数快, 相比较而言低浓度、短时间处理时产生细胞加倍率很低的嵌合体。当处理时间延长或处理浓度增加时, 间歇的二倍体细胞到了中期, 由于秋水仙素的作用而变成多倍体细胞, 致使植株中四倍体和高倍体细胞的数量继续增多, 二倍体细胞相对数量不断减少, 因此植株中出现了加倍率稍高的嵌合体植株, 这种现象在不对细胞造成功能性损伤的前提下存在剂量效应和时间效应 (Khosravi 等, 2006)。从嵌合体的分离来看, 田间条件下可采用修剪法对嵌合体进行纯化, 即在新生植株生长过程中, 不断剪除未变异枝条, 可促进枝条基部隐芽的萌发或剪口处不定芽的生成, 但未得到纯合多倍体植株 (蒋洪恩等, 2004)。

由于表型特征与遗传特征关系密切, 表型变异特征可作为多倍体鉴定的形态学指标 (张正海等, 2006)。经秋水仙素处理后, 保卫细胞数量减少, 形状变大。朱慧琴等通过烟草染色体倍性检测发现, 用气孔保卫细胞叶绿体数目预测植株倍性, 准确率高达 93.52% (朱慧琴等, 2006; Stanys 等, 2006), 利用保卫细胞性状进行倍性鉴定不失为一种经济快速的鉴定方法, 对于加速多倍体育种进程有重要意义。

秋水仙素会抑制胚根的形成和发育, 而胚根的数量会直接影响植物矿质元素的吸收, 从而影响植株的生长发育。秋水仙素处理后的幼苗高度及胚根的数量明显低于空白对照, 这是由于残留在组织内的秋水仙素容易向植物分生组织中运输积累, 从而对茎的分生长产生了一定的抑制作用 (马爱红等, 2005)。但这些形态变异是否影响多倍体的生殖发育, 是否能稳定形成多倍体后代, 仍需进一步的研究。

参考文献:

- 马育华. 1978. 田间试验与统计分析[M]. 北京: 中国农业出版社: 57-60
- 任露泉. 2003. 试验优化设计与分析[M]. 北京: 高等教育出版社: 26-36
- Chen XS(陈显双), Wei LJ(韦丽君), Tian YN(田益农), et al. 2008. Regeneration of polyploidy plants of cassava induced with colchicines(木薯多倍体植株的诱导研究)[J]. *Chin J Trop Agric* (热带农业科学), 1: 17-20
- Jiang HE(蒋洪恩), Liu MJ(刘孟军). 2004. Studies on polyploid induction of Chinese jujube with colchicine(秋水仙碱诱导枣多倍体的研究)[J]. *Acta Horti Sin* (园艺学报), 31(5): 647-650
- Khosravi P, Kermani MJ, Nematzadeh GA, et al. 2006. Role of mitotic inhibitors and genotype on chromosome doubling of Rosa (下转第 385 页 Continue on page 385)

显著差异时, F₂ 籽粒往往表现为较低含量。因此, 为了能得到较高的 F₂ 可溶性总糖、蔗糖、可溶性蛋白含量, 尽量选择具有高可溶性总糖、蔗糖、淀粉、可溶性蛋白含量亲本, 且亲本间无显著差异。

参考文献:

李合生. 2000. 植物生理生化实验原理和技术[M]. 北京: 高等教育出版社: 164-169, 184-185, 260-261
 蒋德安. 1999. 植物生理学实验指导[M]. 四川: 成都科技大学出版社: 63-65
 Azanza F, Klein BP, Kuvik JA. 1996. Sensory characterization of sweet corn lines differing in physical and chemical composition [J]. *J Food Sci*, **61**(1): 253-257
 Azanza F, Tadmor Y, Petc KB. 1996. Quantitative trait loci influencing chemical and sensory characteristics of eating quality in sweet corn [J]. *Genome*, **9**: 40-50
 Bar ZA, Schaffer A. 1993. Size and carbohydrate content of ears of baby corn in relation to endosperm type (Su, su, se, sh₂) [J]. *J Am Soc Hort Sci*, **118**(1): 141-144
 Borowski AM, Fritz VA, Waters L. 1995. Seed maturity and desiccation affect carbohydrate composition and leachate conductivity in shrunken-2 sweet corn [J]. *Hort Sci*, **30**(7): 1396-1399
 Boyer CD, Shannan JC. 1982. The Use of Endosperm Gene in Sweet Corn Improvement [M] // Janice J (ed). Plant breeding reviews I. AV1 Publ. Co. Westport. CT: 139-161
 Chen XY (陈骁熠), Li JS (李建生). 2002. Nutrition changes of sweet corn in ripe stage (甜玉米乳熟期营养成分变化规律的研究)

[J]. *Food Res Dev* (食品研究与开发), **21**(4): 28-33
 Chen XY (陈骁熠), Wu MC (吴谋成). 2000. Locating harvest time of sweet corn by means of fuzzy (用模糊数学的方法确定甜玉米采收期) [J]. *J Xiangfan Univ* (襄樊学院学报), **21**(5): 47-50
 Doehlert DC, Kuo TM, Juvik JA, et al. 1993. Characteristics of carbohydrate metabolism in sweet corn (sugary-1) endosperms [J]. *J Am Soc Hort Sci*, **118**(5): 661-666
 Huelsen WA. 1954. Sweet Corn [M]. New York: Inter Sci Publishers: 3-86
 Jinping H, Yongzhong X, Weiren W. 2003. Single locus heterotic effects and dominance by dominance interactions Can adequately explain the genetic basis of heterosis in an elite rice hybrid [J]. *PNAS*, **5**: 2574-2579
 Sun YT (孙月婷), Zhang BS (张宝石), Zhang Y (张宇), et al. 2009. Analysis of heterosis of kernel correlated character in maize (玉米籽粒相关性状的杂种优势分析) [J]. *Rain Fed Crops* (杂粮作物), **29**(2): 68-71
 Tsafaris SA. 1995. Molecular aspects of heterosis in crop plants [J]. *Physiol Plant*, **94**(2): 362-370
 Wang X (王萱), Wang HJ (王化俊), Liu PF (刘鹏飞), et al. 2010. Heterosis and inheritance analysis on ae gene of amylase in maize (玉米直链淀粉 ae 基因的遗传与杂种优势分析) [J]. *J Gansu Agric Univ* (甘肃农业大学学报), **6**(3): 69-73
 Wu MC (吴谋成), Chen XY (陈骁熠). 1999. Nutritional Characters of sweet corns in kernel milky maturity (玉米乳熟期的营养学特性) [J]. *J Chin Cereals Oils Assoc* (中国粮油学报), **14**(3): 1-4

(上接第 391 页 Continue from page 391)

[J]. *Euphytica*, **1**: 267-275
 Liang FS (梁凤山), Luo YW (罗耀武). 1999. Polyploid and its utilization in agriculture production (多倍体及其在农业生产中的应用) [J]. *Rain Fed Crops* (国外农学: 杂粮作物), **19**(2): 20-23
 Liu CJ (刘传军), Wang XJ (王晓军), Hao XY (郝秀英), et al. 2008. *In vitro* induction of tetraploid *Fritillaria pallidiflora* schrenk (离体培养条件下伊犁贝母四倍体诱导及筛选) [J]. *Lishizhen Med Mat Med Res* (时珍国医国药), **19**(12): 2849-2851
 Liu XM (刘学岷), Cao CX (曹彩霞), Wang YH (王玉海), et al. 2004. Studies on methods to induce diploid into tetraploid of Chinese cabbage (大白菜四倍体诱导方法的研究) [J]. *J Hebei Agric Sci* (河北农业科学), **8**(3): 14-16.
 Ma AH (马爱红), Fan PG (范培格), Sun JS (孙建设), et al. 2005. Study on induction of tetraploid grapes (四倍体葡萄诱导技术的研究) [J]. *Sci Agric Sin* (中国农业科学), **38**(8): 1645-1651
 Morejohn LC, Burearu TE, Tocchi L P, et al. 1987. Resistance of *Rosa microtubule* polymerization to colchicine results from a low-affinity interaction of colchicines and tubulin [J]. *Planta*, **170**: 230-241
 Stanys V, Weckman A, Staniene G, et al. 2006. *In vitro* induction of polyploidy in Japanese quince (*Chaenomeles japonica*) [J].

Plant Cell Tiss Org Cult, **84**: 263-268
 Tao DH (陶抵辉), Liu MY (刘明月), Xiao JZ (肖君泽), et al. 2007. Advances in the research on induction means of biopolyploid (生物多倍体诱导方法研究进展) [J]. *Life Sci Res* (生命科学研究), **11**(4)S1: 006-013
 Xue Y (薛艳), Shen ZG (沈振国), Zhou DM (周东美). 2005. Difference in heavy metal uptake between various vegetables and its mechanism (蔬菜对土壤重金属吸收的差异与机理) [J]. *Soils* (土壤), **37**(1): 32-36
 Zhang SX (张数鑫), Xie ZX (谢芝馨), Yu YJ (于元杰), et al. 2005. Study of colchicines to induce polyploid on onion in tissue culture (秋水仙素结合组织培养技术诱导大葱多倍体的研究) [J]. *Biotechnology* (生物技术), **15**(4): 67-70
 Zhang ZH (张正海), Kang XY (康向阳). 2006. Advances in researches on genetic markers of 2n gametes 植物 2n 配子发生及其遗传标记研究进展 [J]. *Hereditas* (遗传), **28**(1): 105-109
 Zhu HQ (朱慧琴), Zhang XY (张宪银), Xue QZ (薛庆中). 2006. Rapid determination of ploidy level of chromosome in tobacco (*Nicotiana tabacum*) (烟草染色体倍性快速鉴定方法) [J]. *J Agric Biotechnol* (农业生物技术学报), **14**(2): 255-258