

玉米花粉植株的诱导及其后代的观察*

陈曼琳 杭 玲 吴茂刚

陈 先 玲

(广西壮族自治区玉米研究所)

(北京市海淀区东北旺公社试验站)

缪树华 郭仲琛 桂跃林 孙安慈 顾淑荣 陆文樑

(中国科学院植物研究所)

摘 要

本文报道了近两年来玉米花药培养研究中所取得的主要实验结果。

接种花药时花粉发育时期对诱导频率影响很大,单核中期诱导率最高,一般为 3—7%,个别可达 15.6%。各发育时期的花粉对 15% 的蔗糖都产生较好的反应。在诱导培养基中加入适当配比浓度的激素(2,4-D 2 毫克/升和激动素 1 毫克/升)及一定浓度的酪朊水解物(500 毫克/升)和活性炭(0.5%)能明显提高诱导频率。

通过花药压片和切片的显微镜观察,已见到 2—4 个细胞的花粉粒和多细胞团,同时也发现部分花药的药壁或药隔细胞活化和增生而形成愈伤组织。植株根尖压片染色体数为 10,证明是来源于花粉的单倍体植株。单倍体植株移入土中,经加倍处理后于 1977 年 4 月有一株同时抽雄、吐丝,通过人工自交授粉,于 6 月 1 日收获一个有 65 粒种子的果穗。7 月下旬播种出苗后,又对其后代进行了比较观察。

1970 年以来,我国科学工作者在花药培养研究方面已取得了不少成绩,有十多种作物获得花粉植株。利用花药培养的单倍体育种法,水稻、小麦已获得品种^[1],玉米也得到具有雌、雄花穗和自交结籽的花粉植株^[2]。所有这些成果的取得,对更广泛地运用花粉单倍体育种这一技术,展示了更美好的前景。

由于单倍体育种的研究对加快获得自交系,为杂交育种提供大量而丰富的原始材料方面,有着很大潜力,所以一开始就引起国内外玉米育种工作者的普遍注意。1972 年,村上道夫等也曾通过培养玉米花药得到了单倍体愈伤组织,但未能进一步分化出苗^[3]。目前,国际上对这方面的研究工作还未见有进一步的报道。从 1975 年以来,我国已有不少单位通过培养玉米花药得到了单倍体的愈伤组织和花粉植株^[4]。1977 年 4 月下旬,我们协作组还从移栽加倍后的花粉植株中获得一株雌、雄花协调的植株,经人工自交授粉后,于 5 月下旬得到一个有 65 粒种子的果穗;7 月份播种后,还由它繁殖出花粉植株后代。

一、材料与 方法

本工作除采用各种杂交组合的玉米花药作试验外^[5],主要以单杂交种(小八穗×水白)F₁为

* 本文 1977 年 11 月 30 日收到。

† 此总结由中国科学院植物研究所整理。

材料, 所用基本培养基为 N_6 ^[9] 加或不加不同浓度的 2, 4-D、激动素、酪朊水解物及活性炭。蔗糖浓度一般为 12—15%, pH5.8。供接种的雄穗用饱和漂白粉上清液(或 0.1% 二氯化汞)消毒 10—15 分钟, 或只用 70% 的酒精棉球擦拭包裹幼穗的剑叶进行消毒。除供做发育时期试验和特别注明的以外, 其他试验花药中花粉的发育时期均为单核中期。培养过程中的光照、温度条件及移苗、加倍等技术均如文献[4]所述。于接种后的一定时间内对花药作了醋酸洋红压片及石蜡切片, 以供细胞学和组织学观察。根尖细胞染色体的检查系用饱和对二氯代苯预处理 2 小时, 然后用酒精-醋酸(3:1)固定 4 小时, 用孚尔根染色法染色后, 再制片观察。

二、观察结果

1. 玉米花药产生愈伤组织或胚状体的细胞学及组织学观察

玉米离体花药的愈伤组织或胚状体, 一般约在接种后 30 天左右就开始出现, 35—45 天出现最多, 而接种 80—90 天后还可继续少量的产生。愈伤组织或胚状体, 多半从棕黄色的花药一侧突破药壁长出, 少数也有从花药一端长出的(但并非花丝愈伤组织)。在玉米离体花药的培养中, 有的一开始就出现为胚状体, 以后在其上又形成愈伤组织, 也有的花药既产生愈伤组织, 同时又产生胚状体, 或一个花药内同时出现几个胚状体。

通过对离体培养花药压片观察发现, 大部分花药中的花粉在培养过程中变为空瘪而死亡, 只有很少量花粉的细胞核显著增大, 原生质变浓厚。有的形成为二个等分的细胞, 或表现为多核的细胞。花粉中细胞的继续分裂将形成为 4—6 个细胞及多细胞团(图版 I, 图 6—9)。

胚状体的发育过程与单子叶植物的合子胚大致相似, 但也有近似于双子叶植物胚而具两个子叶的情况。其详细发育过程, 还有待进一步进行系统的比较观察。

在花粉进行脱分化、再分化过程的同时, 从压片及石蜡切片中也观察到有花药二倍体组织活化的现象。它们可以由于药壁或药隔细胞的逐渐增大及进行分裂而产生愈伤组织(图版 I, 图 3, 5), 这种来源于二倍体组织的愈伤组织, 最早在 15 天内就可出现, 比来源于花粉的愈伤组织要早。关于它们产生的条件及对花粉愈伤组织或胚状体形成的影响, 目前仍不清楚。

对加倍前的 3—5 片叶的小植株根尖的压片观察, 其染色体数一般为 $n=10$, 表明是来源于花粉的单倍体植株。在有的根尖压片材料中, 也有同时具有染色体数为 10 或 20 及非整倍数的, 这种结果可能与培养过程中某些激素成分的直接影响有关。

2. 影响花粉愈伤组织或胚状体产生和分化的几种因素

1) 花粉发育时期和蔗糖浓度对愈伤组织诱导频率的影响。文献[4]已报道, 在接种玉米花药时, 花粉发育时期的选择是否适宜, 对诱导愈伤组织的频率影响很大, 而接种时花药中花粉为单核中期是最适时期。

我们在文献[4, 8]曾谈到, 15% 蔗糖对诱导花药愈伤组织效果较好, 为了说明花粉发育时期和蔗糖浓度对诱导频率的影响, 1977 年我们又作了如表 1 所示的试验。

试验结果表明, 当蔗糖浓度为 5% 时, 所列花粉发育时期的花药均未启动。在蔗糖浓度为 10%、15%、20% 的所有情况下, 以单核中期诱导频率最高, 这与 1976 年多次试验的结果是一致的。在蔗糖浓度为 15% 时, 对各发育时期花粉的启动都能产生较好的效果平常接种时, 在发育时期不能完全准确掌握的情况下, 这对提高接种花药的诱导频率是一个有利的条件。而

表 1 花粉发育时期和蔗糖浓度对愈伤组织诱导频率的影响*

花粉发育时期	四分体时期				单核中期				单核晚期				双核时期			
蔗糖浓度(%)	5	10	15	20	5	10	15	20	5	10	15	20	5	10	15	20
接种花药数	480	400	640	480	560	800	800	1040	560	640	180	100	480	320	400	320
产生胚状体或愈伤组织数	0	0	10	5	0	7	56	163	0	1	21	16	0	2	2	1
频率(%)	0	0	1.57	1.04	0	0.88	7.00	15.67	0	0.63	4.35	4.00	0	0.63	0.50	0.31

* 所用培养基为 N6 + 2, 4-D 2 毫克/升 + 激动素 1 毫克/升 + 肌醇 50 毫克/升 + 活性炭 0.5% + 蔗糖。

20% 的蔗糖浓度只对单核中期的花粉诱导频率最高, 这一结果因未作多次重复, 尚需进一步用试验来确证。

表 2 附加 NaCl, KCl 甘露醇代替部分蔗糖对诱导愈伤组织的影响*

蔗 糖(%)	12	9	6	3	9	6	3	9	6	3
I NaCl (%)		0.25	0.5	0.75						
II KCl (%)					0.33	0.66	0.99			
III 甘露醇(%)								1.6	3.2	4.8
接种花药数	850	850	950	950	900	900	900	1050	1000	1000
产生愈伤组织数	10	5	0	0	1	0	0	6	1	0
诱导频率(%)	1.18	0.59			0.11			0.57	0.10	

* 接种的花药中花粉为单核中晚期。

蔗糖作为培养基中的主要碳源, 不单是调节渗透压, 可能还有一些对花粉脱分化和再分化产生有利效应。为了了解蔗糖的作用, 我们曾以 12% 蔗糖为对照, 分别以甘露醇, 氯化钠, 氯化钾来代替部分蔗糖进行对比试验, 结果如表 2 所示。

试验表明: 在仅用 12% 蔗糖的对照组中, 愈伤组织的诱导频率最高, 其他用了不同浓度代替物的三个大组里, 虽然总的渗透压都与 12% 的蔗糖相当, 但诱导频率远低于对照组。在 I、II、III 组内比较, 凡是以 9% 蔗糖为基础然后再加代替物的, 愈伤组织的诱导频率都高于以 3%, 6% 蔗糖为基础的各组。因此, 与其说玉米花粉通常要求高渗的培养基, 不如说要求高的蔗糖浓度, 这一点与 Clapham 在大麦中的研究结果类似^[10]。

2) 不同激素及附加物对诱导愈伤组织或胚状体和分化幼苗的影响。激素的作用: 玉米对 2, 4-D 的反应不如其它作物敏感。在所试各种浓度配比的 2, 4-D 和激动素的诱导培养基上, 几乎都能产生胚状体或愈伤组织 (表 3)。在 2, 4-D 高达 8 毫克/升和 K1 毫克/升的情况下, 个别的也能在诱导培养基上直接产生植株。另外, 在无激素的培养基上诱导频率也在 0.8%, 这说明玉米花药所具有的内源激素可以保证花粉的启动和再分化。外源激素并不一定是必须的。但是如表 1, 3, 4 所示, 在一定激素浓度配比的情况下, 对提高玉米花粉的诱导和分化频率仍然有利。

在单用 2, 4-D 作为唯一外源激素的情况下, 各浓度 (0.4, 2, 8, 16 毫克/升) 的影响效果不明显, 产生愈伤组织少, 在转移至分化培养基后, 易长根或出现芽状突起, 无明显的苗的分

化。而在单用激动素的情况下,浓度为 1 毫克/升时,诱导频率比只有激动素的其他各组为高,在愈伤组织或胚状体转入分化培养基后且产生正常植株。其他各浓度(0.4, 4, 8 毫克/升)则诱导胚状体或愈伤组织的频率都很低。转移后有的也产生绿芽,但常常无根的分化。

表 3 不同激素对比对玉米愈伤组织或胚状体诱导频率的影响

培养基激素配比 情况(毫克/升)	接种花药数	产生愈伤组织、胚状体数	诱导率(%)
0	248	2	0.8
2, 4-D 0.4	429	3	0.69
2, 4-D 2	561	3	0.53
2, 4-D 8	586	3	0.51
2, 4-D 16	562	4	0.71
K 0.4	451	3	0.66
K 1	397	6	1.76
K 4	564	3	0.54
K 8	320	2	0.62
K1 2, 4-D 0.4	456	7	1.54
K1 2, 4-D 2	493	12	2.43
K1 2, 4-D 8	526	11	2.09
K1 2, 4-D 16	536	18	1.49

表 4 不同激素浓度对愈伤组织或胚状体分化的影响

分化培养基(毫克/升)	愈伤组织或 胚状体数	正常绿苗数	根或芽的分化数		正常绿苗分化频率(%)
			芽	根	
对 照*	9	2	1	1	22.2
+K1	10	6	2	1	60.0
+BA2	9	3	1	3	33.3
+NAA0.5	9	4	0	2	44.4
+K1+BA2	9	2	1	4	22.2
+K1+BA2+NAA0.5	9	0	0	3	0

*对照为 N6 (铁盐为 10 毫克/升+活性炭 0.5%, 蔗糖5%)

在诱导愈伤组织或胚状体进行分化时,培养基中补加不同的激素,对愈伤组织或胚状体的分化也有明显的影响,其结果列于表 4。

从表 4 可以看出,单加激动素 K1 毫克/升或单加萘乙酸(NAA)0.5 毫克/升的培养基对愈伤组织或胚状体的分化较为有利。

活性炭的作用。培养基中加入 0.5%的活性炭,对提高愈伤组织或胚状体诱导频率的效果十分明显。在我们所进行的对比试验中,加有 0.5%活性炭的,其诱导频率为 3.93%,对照只有 1.68%。个别的试验组内,有的可提高频率达 8—9 倍。在分化培养基中加入 0.5%的活性炭,还能使分化的幼苗健壮,根系发达。活性炭的这些良好效果,与在烟草及银莲花的培养中所得到的结果一致^[11-13]。活性炭的作用,可能是吸附了培养物在培养过程中分泌的有毒代谢产物,而给花粉细胞的分裂、分化和幼苗的生长创造了有利的环境条件。

酪朊水解物的作用。以往曾有报道^[4],酪朊水解物对促进愈伤组织或胚状体的形成,有显著作用。文献[4]曾谈到,在培养基中加有 500 毫克/升酪朊水解物(CH)的,对愈伤组织的诱

导可以从对照组 0.28% 提高至 1.49%。为了进一步确定酪朊水解物浓度的影响,我们又作了浓度对比试验(表 5)。

表 5 不同酪朊水解物浓度对愈伤组织诱导频率的影响

酪朊水解物浓度(毫克/升)	接种花药数	产生愈伤组织及胚状体数	诱导频率(%)
对 照	938	23	2.45
500	795	38	4.79
1000	839	16	1.92
2000	768	17	2.21

表 5 说明,在起促进作用方面,酪朊水解物 500 毫克/升的浓度比其他各组的浓度更为适当一些。

3. 玉米花粉植株的移栽加倍和后代观察

1) 植株的移栽和加倍。苗的移栽,以小苗具 3—4 片正常叶和 2—3 条根时移栽较好,此时小苗应当根系发达,且刚出现新根,才易于成活。小苗移栽成活的另一重要因素是温度。我们从 1976 年 11 月份在广西南宁地区移栽和 77 年 7—8 月在广西靖西县移栽的结果看,白天气温的变化幅度均在 23°—27°C,其移栽成活率约为 70%。而在温度太低及太高时,对移栽都不利。如 1977 年 1 月当时南宁温度 7—15°C,移栽 49 株成活 9 株,6—8 月(气温 30°C 以上)移栽 78 株成活 2 株,死亡率达 90% 以上。小苗死亡时大部分都表现为基部发黄,变软,以后倒伏。从死亡植株外形及显微镜检查结果判断,死亡可能是高温导致细菌性病害而引起的。

移栽的玉米苗待长出新叶后,可用 0.025—0.05% 的秋水仙碱液进行加倍处理。其适宜时间以小苗生长正常及抽出新叶后,在幼穗分化前进行为宜。太早幼苗容易死亡,太晚难于加上倍。1977 年在用 11 株材料进行的加倍试验中,采用秋水仙碱液滴心叶和棉蕊穿过“茎”基部引入药液的办法处理。其中 6 株在移栽后 12 天(5—8 片叶)进行,结果都已成活,并有一株结籽;5 株是移栽 5 天(4—5 片叶)后进行,加倍处理后全部死亡。看来,加倍时植株的年龄也是提高加倍成活率的重要一环。

2) 花粉植株后代观察。1976 年在我们得到的二百多棵玉米花粉植株中,经移栽、加倍等试验处理后,有 24 株成活,1977 年 4 月,已先后抽雄、吐丝,其形态表现为:

i. 能正常开花结实的一株。在小苗移入土后,正值玉米播种季节,植株生长健壮。1977 年 4 月抽雄时,雄花有九个分枝,颖片能正常张开、花药外伸,正常散粉,散粉时正是雌花吐丝盛期,所以能顺利的进行自交授粉,且获得 65 颗种子(图版 II,图 2,4)。

ii. 雌雄花都有,但却发育不正常,雄花抽出很久才吐丝,共有五株。雄花颖片不张开,花药不外伸,没有散粉。通过镜检花药中的花粉绝大部分是空瘪的。

iii. 只长雌花,不长雄花。植株节间缩短,形同丛生,这有十四株。节上的腋芽很多能发育成雌穗,雌穗小花中的卵细胞多数发育不正常,我们曾就其中 10 株用普通玉米花粉进行人工授粉,结果只有三株分别得 1、6 和 11 粒种子。

iv. 四株只长营养体,无雌雄花发育,植株矮小而弱,叶片狭窄、叶色特别浓绿。

以上所有各种植株形态,其共同点是比原来杂交组合(小八穗×水白) F_1 要矮小。原杂交组合植株(冬季)高 110—120 厘米,而花粉植株则为 20—40 厘米,最高的也只有 74 厘米,叶片

狭窄, 宽 2—3 厘米(取穗下一片叶统计), 节间明显缩短。

抽样作根尖压片镜检, 发现其染色体数大部分为 15—16 个, 个别的达 30—40 个, 同一根尖细胞中, 染色体数目并不一致, 非整倍及混倍现象非常严重。

来源于同一杂交组合, 由花药所诱导的不同植株, 在生育期方面表现出广泛的多样性。从出苗到成熟可经 130—180 天。叶片数由 9 片到 21 片不等(一般为 16—18 片叶)。

玉米花粉植株在形态和性状上的广泛多样性, 对今后进行遗传学的研究及育种工作中的选择, 都会提供丰富的资料。

在雌雄花协调, 经人工自交授粉而获得的 65 粒种子中, 经过检查, 其中有 8 粒有胚, 占总数 12.3%。播种后, 8 粒有胚的种子中, 仅有一粒发芽长成植株。成长的玉米花粉植株后代, 在三片叶时, 均比亲本(小八翘×水白) F_1 瘦弱, 叶片细长呈黄绿色。偏向于父本水白, 当生长到 11 片叶时, 株型直立, 叶片较窄, 植株形态偏向于母本小八翘。但叶片呈黄绿色及叶面光滑这特点像水白。叶片上有微皱纹的特点则属于两亲本中间类型, 即与(小八翘×水白) F_1 相似。

经对花粉植株后代的高度和生育期等方面的比较, 均属(小八翘×水白) F_1 及其亲本的中间型, 其详细结果见表 6。

表 6 花粉植株后代及其亲本比较调查表

品 系	播种期 (月/日)	出苗期 (月/日)	抽穗期 (月/日)	吐丝期 (月/日)	株高 (公分)	穗位高 (公分)	一株叶 片数	平均每 叶生长 天数	出苞叶 位数	出苞叶位数的 长与宽		雄穗长 (公分)	雄穗分 支数	一株雄 穗小穗 数
										长 (公分)	宽 (公分)			
花粉植株(一代)	7/20	7/29	9/14	9/15	154	41	17	2.7	11	69	6.5	28	8	351
杂交种 (小八翘×水白)	7/20	7/25	9/2	9/7	209.1	82.5	19	2.1	13	86.3	10.7	36.6	20	1401
小 八 翘	7/20	7/25	9/12	9/17	129.6	54.3	19	2.6	13—14	66.1	6.9	22.9	9	520
水 白	7/20	7/25	9/7	9/5	170.1	65.2	19	2.3	14	74	9.8	25.7	20	726

如表 6 所示, 花粉植株后代于 9 月 14 日抽雄穗共 251 个小穗, 其中有 79 个比较饱满, 小花内花粉发育正常, 其余的小花中, 花药多空瘪, 只有少量花粉。

通过花粉当代植株及后代植株表现的比较观察, 说明单倍体的花粉植株只是部分地加上倍。

三、讨 论

几年来, 随着玉米花药培养工作的不断深入, 对玉米花粉愈伤组织及胚状体的形成和分化问题, 已逐渐引起人们的注意。很多科学工作者曾观察到, 在不少作物的花药培养中, 如烟草可以一致地诱导产生出胚状体^[14], 而水稻、小麦、玉米等禾本科植物的情况则不同, 它既产生愈伤组织, 也产生胚状体, 特别是在玉米中, 这种现象很普遍。一般说来玉米的花粉胚状体较易发育成苗, 有时在诱导培养基上就能直接成苗; 而愈伤组织则较难分化, 大部分即使转移至分化培养基上也只增大体积, 或分化出大量的根。基于玉米花粉诱导中的这一情况, 从而大大影响了玉米花药培养中总的分化成苗频率。

从组织学及细胞学的观察证明, 玉米花药培养中所产生的愈伤组织, 既可以来源于二倍体的药隔或药壁(图版 I, 图 5), 也可以来源于花粉。这种不同倍性愈伤组织来源的复杂性及其

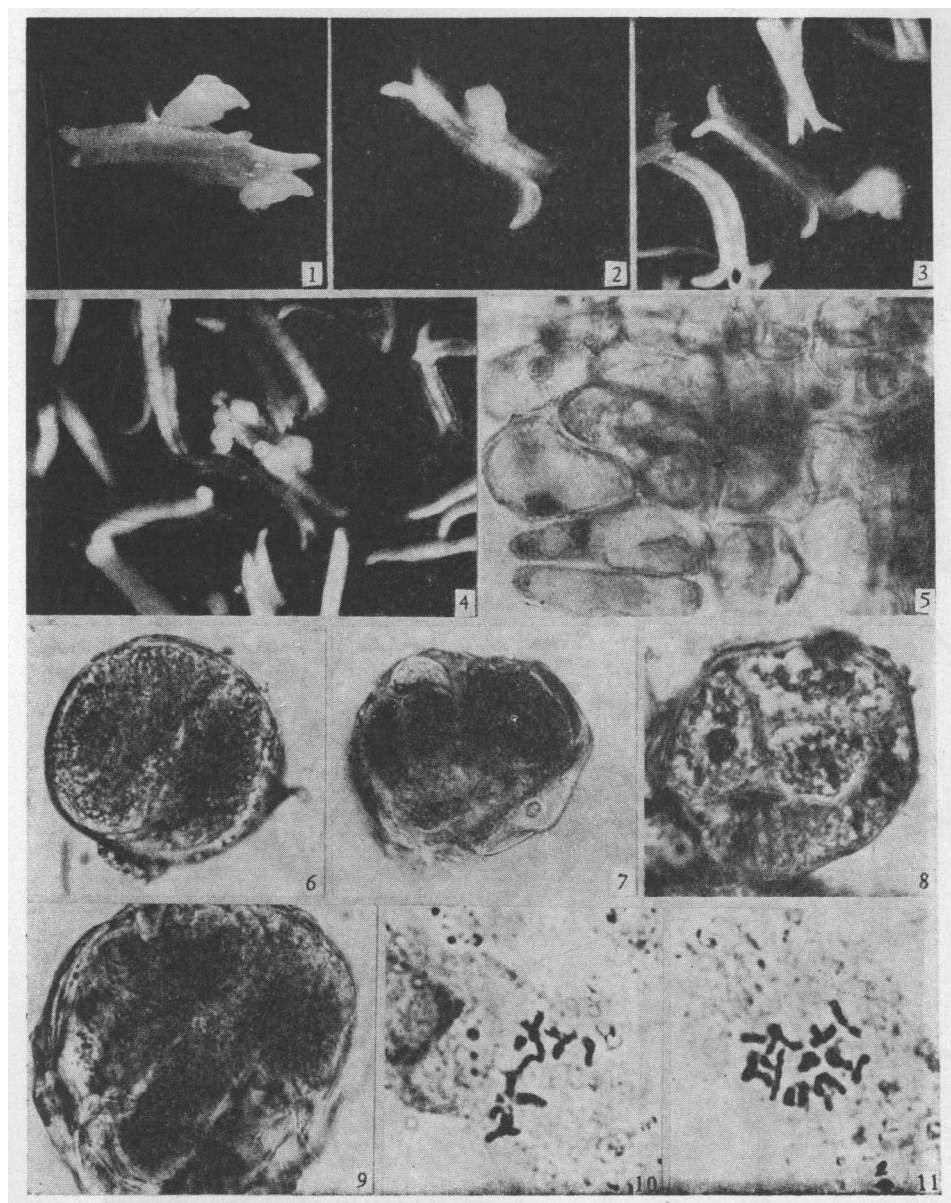
与花粉胚状体发生及成苗的关系,现在还不清楚。而当前加强探索如何进一步提高玉米花粉愈伤组织分化的频率,及如何控制使玉米花粉通过胚状体途径成苗,这对推进玉米花药培养工作的进展有着十分现实的意义。

关于激素对胚状体形成的控制,曾有过不少报道。在合理使用一定配比激素的情况下,对提高胚状体产生的频率有显著作用^[15]。但也有报道,在无激素培养基上,水稻和小麦的花粉都能产生花粉胚和植株^[16]。从玉米看来,在无激素的培养基或有高浓度激素配比的培养基上,均可产生植株。在无激素培养基上可以分化出植株这与朱至清等在水稻、小麦上所观察到的结果一致。它说明玉米花药本身所含内源激素足以保证花粉的启动和进一步分裂、再分化。但在我们的实验中也看到,在一定配比的激素作用下,可以大大提高花粉愈伤组织或胚状体的诱导及分化出苗的频率(表1,3,4)。所以可以认为,激素对玉米胚的建成过程仍是一个重要的因素。考虑到酪朊水解物及椰子乳等附加成分曾对不少植物胚状体的形成有良好的影响^[4,11],今后广泛摸索一下各种激素配比及附加成分对花粉胚形成的作用就很有必要。

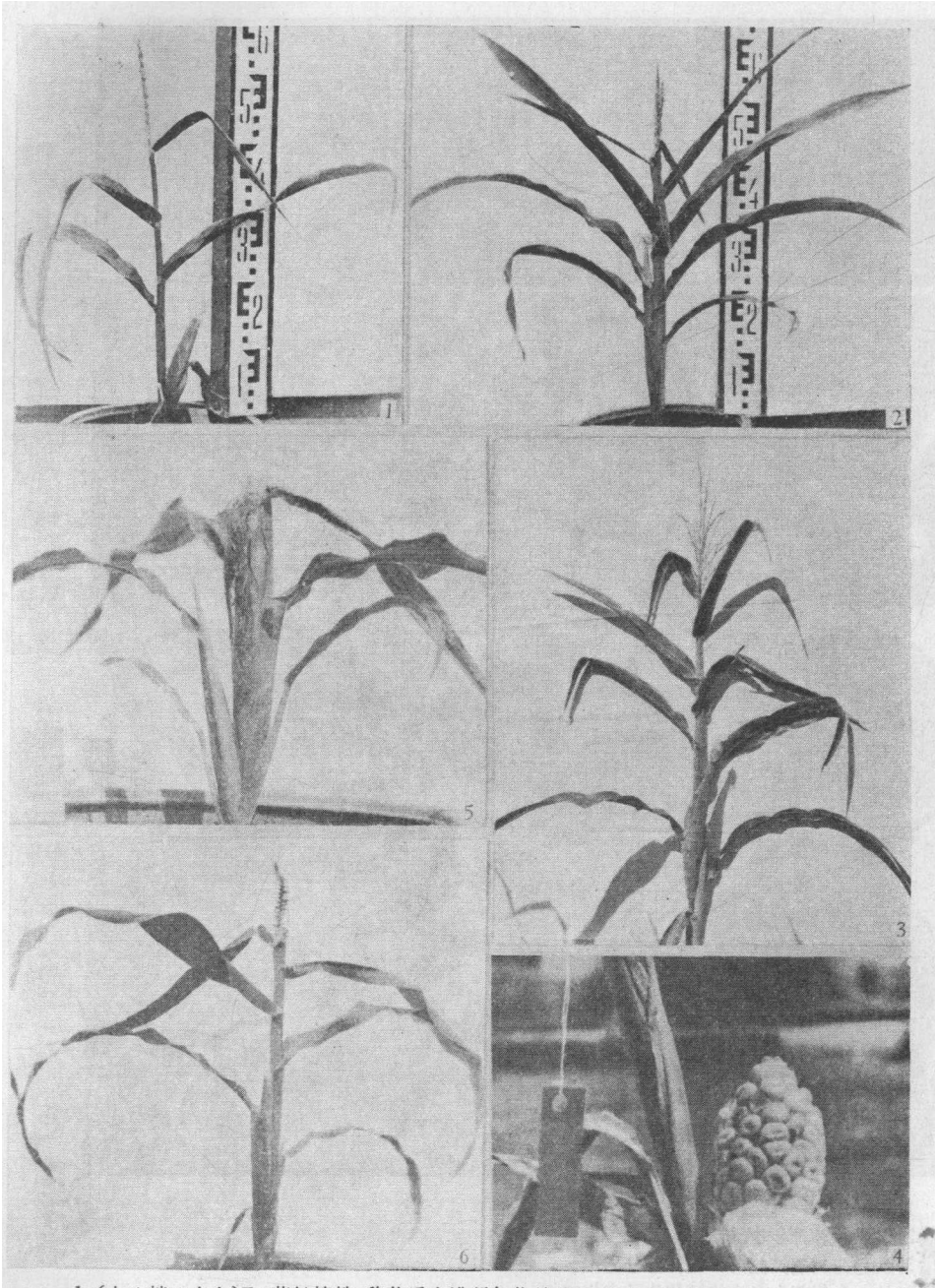
总的看来,通过近几年来我国玉米花药培养工作的日益深入研究,已取得不少可喜的进展。有很多单位相继诱导出了愈伤组织和单倍体苗,有的还在单倍体苗移栽,加倍后又得到了种子。这些成绩的取得,对于希望将这一工作应用于玉米育种实践,提供了有利条件。但也应看到,要使这一方法成为育种的常规有效手段,而在生产上预期获得有价值的自交系,还需在克服材料间差异,提高愈伤组织或胚状体诱导和分化频率,花粉植株移栽,加倍等理论和技术问题上,进一步做很多工作。我们相信,通过更广泛的试验与探索,可以预期在不久的将来,会同烟草、水稻等作物上的应用情况一样,在玉米的育种实践中作出切实的贡献。

参 考 文 献

- [1] 天津市农业科学研究所水稻室、中国科学院遗传研究所三室二组,遗传学报, **3** (1976), 19—24.
- [2] 尹光初等,中国科学, **2** (1976), 191—199.
- [3] 云南省昆明市农业科学研究所小麦组,遗传学通讯, **4** (1974), 5—7.
- [4] 广西壮族自治区玉米研究所、北京市海淀区东北旺公社试验站、中国科学院北京植物研究所,植物学报, **19** (1977), 89—94.
- [5] ———,植物杂志, **5** (1977), 13.
- [6] 村上道夫、高橋信夫、原田賢之,京都府大学学术報告,農学, **24** (1972), 1—10.
- [7] 中国科学院遗传研究所组织培养研究室、四室一组,遗传学报, **2** (1975), 138—142.
- [8] 北京市海淀区东北旺公社试验站、中国科学院北京植物研究所,植物学报, **18** (1976), 180—181.
- [9] 朱至清等,中国科学, **5** (1975), 484—490.
- [10] Clapham, D., *Z. Pflanzenzuchtg*, **69** (1973), 142—155.
- [11] 中村朋夫、板垣隆三,育種学雜誌, **23** (1972), 71—78.
- [12] Anagnostakis, S.L., *Planta (Berl.)*, **115** (1974), 281—283.
- [13] Johanson, L., et al *Physiologia Plantarum*, **40** (1977), 172—174.
- [14] 郭仲琛等,植物学报, **15** (1973), 37—48.
- [15] 北京市农业科学院蔬菜研究所、中国科学院北京植物研究所,植物学报, **17** (1975), 323—324.
- [16] 朱至清等,植物学报, **18** (1976), 240—244.



1. 玉米花药产生胚状体；
2. 玉米花药产生愈伤组织；
3. 从花药尖端产生的二倍体愈伤组织；
4. 从一个花药上产生的胚状体及愈伤组织；
5. 药壁细胞活化，分裂产生的新的愈伤组织细胞；
6. 花粉分裂产生两个细胞；
7. 多细胞团，可见花粉壁上的萌发孔；
- 8—9. 花粉分裂产生的多细胞团；
10. 花粉植株根尖压片，染色体数 $n=10$ ；
11. 花粉植株根尖压片，染色体数为 15



1. (小八穗×水白) F_1 花粉植株, 移栽后未进行加倍处理;
2. (小八穗×水白) F_1 花粉植株移栽加倍后, 雌雄花穗发育正常;
3. 图 2 花粉植株, 经人工自交结籽, 并于 1977 年 7 月播种后得到的花粉植株后代;
4. 图 2 花粉植株, 经人工自交后结实的果穗;
5. (小八穗×水白) F_1 发育不正常的花粉植株, 顶端为雌穗;
6. (小八穗×水白) F_1 发育不正常的花粉植株, 顶端开雌花经人工杂交后结籽