

木薯品种华南 12 号 (SC12) 同源四倍体诱导及鉴定

曾文丹, 陆柳英*, 施平丽, 肖亮, 尚小红, 曹升, 吴正丹, 严华兵**

广西壮族自治区农业科学院经济作物研究所, 广西南宁 530007

摘要: 多倍化可伴随产生一些优良的农艺性状, 如抗逆性增强、器官体积变大、生物量增加等, 多倍体育种为木薯新品种培育提供了一个重要途径。本研究以木薯品种 SC12 离体单芽茎段为诱导材料, 比较不同浓度秋水仙素对外植体诱导率的影响, 并对木薯二倍体与同源四倍体不同株系进行形态学、解剖学和农艺特性比较。结果表明, 以 0.03 g/L 浓度的秋水仙素诱导 SC12 同源四倍体效率最高, 为 7.78%; 通过流式细胞仪和根尖染色体数目观察对筛选的 20 个植株进行倍性鉴定, 获得了 11 个同源四倍体和 5 个嵌合体植株, 同源四倍体为检测株系的 55%, 变异植株为检测株系的 80%; 二倍体和同源四倍体植株表现出显著的形态和生理差异, 在形态上表现为四倍体植株变矮、茎秆变粗、叶尖盾化, 叶片由披针形向拱形过渡, 同源四倍体裂叶长/裂叶宽显著降低、叶绿素含量显著增加; 通过解剖学发现四倍体叶片保卫细胞的长、宽、叶绿体数目均显著增加, 分别比二倍体增加 2.33%、28.99%、117.79%; 气孔数显著降低, 比二倍体减少 40.06%; 四倍体变异株保卫细胞呈椭圆形, 二倍体保卫细胞趋近于圆柱形; 四倍体叶片厚度和栅栏组织厚度均显著高于二倍体, 比对照分别增加 24.41%、43.88%, 栅栏组织/海绵组织是二倍体的 1.9 倍, 表明四倍体叶片的栅栏组织排列紧密, 但海绵组织不发达。测产结果表明, 多倍体株系 SC12-11 的单株薯重和收获指数分别为 3.30 kg 和 0.43, 显著高于对照二倍体 SC12。

关键词: 木薯; 同源四倍体; 鉴定; 种质创新

中图分类号: S31 文献标识码: A

Induction and Identification of Autotetraploid in Cassava Variety SC12 *in vitro*

ZENG Wendan, LU Liuying*, SHI Pingli, XIAO Liang, SHANG Xiaohong, CAO Sheng, WU Zhengdan, YAN Huabing**

Cash Crops Research Institute, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China

Abstract: Polyploidy can be accompanied by some super character, such as enhanced stress resistance, larger organ size, and increasing biomass. Polyploidy provides an important way for cassava varieties breeding. The single-node axillary buds of cassava variety SC12 were used as the explants to observe the effect of the different colchicine concentrations on autotetraploid induction rate. The morphology, anatomy and agronomic characteristics of autotetraploid and the diploid parents were compared. The highest efficiency of inducing autotetraploid of SC12 was 7.78% at the concentration of 0.03 g/L colchicine. The ploidy of 20 plants was identified by the flow cytometry and chromosome numbers counts in root tip cells. Consequently, a total of 11 tetraploid plants as well as 5 chimeric plants were obtained. Positive autotetraploid cassava lines accounted for 55% of all the tested lines, and the variation rate was 80% of the tested lines. Significant differences in morphology and anatomy were observed between the autotetraploid and the diploid parents. In morphology, the tetraploid plants became shorter, the stem became thicker, the leaf tip became shield, the leaves

收稿日期 2022-08-03; 修回日期 2022-08-31

基金项目 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD19245053); 广西农业科学院科技发展基金项目 (桂农科 2021YT057); 广西合浦特色薯类作物试验站项目 (No. TS202128)。

作者简介 曾文丹 (1982—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 块根类作物生物技术育种与良种繁育技术; *同等贡献作者: 陆柳英 (1982—), 女, 硕士, 副研究员, 研究方向: 块根类作物生物技术育种。 **通信作者 (Corresponding author): 严华兵 (YAN Huabing), E-mail: h.b.yan@hotmail.com。

changed from lanceolate to arch, the cleft leaf length/cleft width decreased significantly, and the chlorophyll content increased significantly. The length, width and chloroplast number of tetraploid guard cells was significantly increased by 2.33%, 28.99% and 117.79%, respectively, compared with that of diploid parent. Stomatal density was decreased by 40.06% compared with the control. The guard cells of tetraploid variant were oval, while those of diploid variant were cylindrical. The leaf thickness and palisade tissue thickness of tetraploids were significantly higher than those of diploids, and increased by 24.41% and 43.88% compared with the control, respectively. The palisade tissue / sponge tissues of autotetraploid plants were 1.9 times as large as the diploid line, indicating that the palisade tissue of tetraploid leaves was closely arranged, but the spongy tissue was not well developed. The results of yield detection showed that the tubers weight per plant and harvest index of polyploid line SC12-11 was 3.30 kg and 0.43, respectively, which was significantly higher than that of the control.

Keywords: cassava; autotetraploid; identification; germplasm innovation

DOI: 10.3969/j.issn.1000-2561.2023.06.005

木薯 (*Manihot esculenta* Crantz) 是大戟科 (Euphorbiaceae) 木薯属 (*Manihot*) 植物, 是一种富含淀粉的块根作物, 有“淀粉之王”、“地下粮仓”等美称。木薯不仅是重要的非主粮生物质能源作物, 也是重要的经济作物, 用途广泛, 可食用、饲用和加工成各种工业产品, 如淀粉、酒精等^[1-2]。然而, 中国木薯产业目前存在种植品种单一、单产低、淀粉含量低和比较经济效益低等突出问题^[3], 多倍化可伴随产生一些优良的农艺性状, 如抗逆性增强、器官体积变大、生物量增加等, 被广泛应用于培育植物新品种^[4-6]。如印度三倍体木薯品种 Sree Harsha 在株型、块根产量、淀粉含量、抗性方面均优于二倍体亲本^[7]; 在巴西, NASSAR 的研究团队通过秋水仙素诱导染色体加倍、远缘杂交等技术, 获得了优良的木薯多倍体, 如 UnB201、UnB310 在长势、块根产量、蛋白质含量等方面表现出明显优势^[8-9]。因此, 多倍体育种为木薯品种培育提供了一个重要途径。

本研究以木薯品种 SC12 为对象, 探讨不同浓度秋水仙素对木薯组培苗诱导率的影响, 并对二倍体与同源四倍体组培苗及大田材料进行形态学、解剖学和农艺性状比较。以期为提升木薯产量并创制新种质奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

SC12 木薯组培苗来自广西壮族自治区农业科学院经济作物研究所。

1.2 方 法

1.2.1 木薯同源四倍体离体诱导 以无菌水处理作为对照, 将木薯组培苗的单芽茎段用 0.03~0.20 g/L 的秋水仙素溶液, 避光震荡培养 48 h 后,

用无菌水冲洗 4 次, 转接到 MS+0.02 mg/L 6-BA+0.02 mg/L NAA+20 g/L 蔗糖+6.3 g/L 琼脂的继代培养基上。培养条件: 培养温度(25±1)℃, 光照强度为 18.75~25.00 μmol/(m·s), 光照时间 16 h/d。45 d 后, 统计各浓度下的茎段成活率。各处理设 3 个重复, 每个重复接种 10 瓶, 每瓶接种 3 株。

1.2.2 倍性鉴定 流式细胞仪鉴定: 通过形态学初步观察, 筛选叶色加深、叶片变宽等具有四倍体形态学特性的植株进行流式细胞仪倍性检测, 检测方法参考 ZHOU 等^[10]的方法。染色体压片鉴定: 检测方法参考周慧文^[11]的压片方法, 待组培苗根尖长至 1~2 cm 时, 取幼嫩生长旺盛的根尖, 将其浸泡在 0.002 mol/L 八羟基喹啉:0.1%秋水仙素溶液 1:1 的溶液中, 进行预处理。随后用卡诺固定液固定 20 h。于高渗溶液 (0.075 mol/L KCl) 浸泡 30 min 后用 2.5%纤维素酶与 2.5%果胶酶 1:1 混合酶液处理根尖 8 h, 蒸馏水洗净后用卡宝品红染色 5 min。用光学显微镜观察根尖体细胞染色体数。

1.2.3 二倍体与同源四倍体离体观察比较 将鉴定为同源四倍体的木薯组培苗株系 (SC12-4、SC12-11) 与二倍体对照接种至 MS+0.02 mg/L NAA+20 g/L 蔗糖+6.3 g/L 琼脂的生根培养基上。30 d 后统计组培苗的株高、茎粗、叶厚、裂叶长、裂叶宽、叶绿素 SPAD 值等。各处理设 3 个重复, 每个重复接种 15 瓶, 每瓶接种 6 株。

1.2.4 二倍体与同源四倍体形态观察比较 将鉴定为同源四倍体的木薯组培苗株系 (SC12-4、SC12-11) 与二倍体组培苗移栽大棚炼苗后移栽至大田, 观察不同倍性植株移栽大田 60 d (苗期)、120 d (块根形成期)、180 d (块根膨大期)、240 d (成熟期) 的生长情况。统计不同时期植株的株

高、茎粗、叶厚、裂叶长、裂叶宽、叶绿素 SPAD 值；成熟期的单株薯种、地上部重、收获指数。各处理设 3 个重复，每个重复 9 株。收获指数=单株薯种/(单株薯种+地上部重)。

1.2.5 二倍体与四倍体解剖学观察比较 保卫细胞观察：选取二倍体与四倍体木薯株系 (SC12-4、SC12-11) 成熟叶片，将叶片下表皮朝上放置。用镊子撕取叶片下表皮置于载玻片上，滴一滴 0.5% 的碘-碘化钾溶液，染色 30~60 s 后覆上盖玻片。使用光学显微镜 Olympus BH-2 型 40× 物镜观察并拍照，测量保卫细胞长、宽，对保卫细胞内叶绿体数目进行计数，并对一个视野内保卫细胞个数进行计数。每个倍性统计 5 株，每株观察测量 30 个保卫细胞。

叶片横切面：采用番红固绿染色法观察木薯二倍体及同源四倍体的叶片横截面，用光学显微镜观察并拍照，测量叶片横截面、栅栏组织和海绵组织厚度。

叶片组织紧密度 (CTR) = 栅栏组织厚度 (PPT) / 叶片厚度

叶片组织疏松度 (SR) = 海绵组织厚度 (SPT) / 叶片厚度

1.3 数据处理

采用 SPSS 18.0 和 Excel 2010 软件对数据进行处理与统计分析。

2 结果与分析

2.1 木薯同源四倍体诱导

经秋水仙素浸泡处理的木薯单芽茎段 15 d 左右开始萌发，随着秋水仙素浓度的升高，单芽茎段的存活率降低，0.03% 的秋水仙素处理 48 h 后，单芽茎段的成活率为 42.2%；当秋水仙素浓度升至 0.10 g/L 时，存活率仅为 8.9%；浓度升至 0.20 g/L 时，单芽茎段无一存活 (表 1)。

2.2 木薯诱变材料的倍性鉴定

共得到存活组培苗 74 株，其中 38 株存在叶片异形、黄化、颜色变深、叶尖钝化、叶片变宽等不同程度的形态变异。从中挑选疑似四倍体的组培苗进行继代增殖，每一株组培苗的继代植株作为一个株系，每次均挑选疑似四倍体的变异植株进行继代。继代 4 次后，一共获得 20 个株系进行流式细胞仪检测，在同一参数下，二倍体植株在荧光强度 6750 处出现 1 个主峰 (图 1A)，四倍体植株在荧光强度 13 500 处出现 1 个主峰 (图

表 1 秋水仙素诱导木薯品种 SC12 腋芽茎段结果
Tab. 1 Results of colchicine inducing axillary bud stem segment of cassava variety SC12

处理浓度 Concentration/(g · L ⁻¹)	外植体数 Number of explants	存活数 Number of surviving	同源四倍体数 Number of autotetraploids	同源四倍体诱导率 Autotetraploid induction rate/%
0(CK)	90	90	0	0.00
0.03	90	38	7	7.78
0.05	90	17	3	3.33
0.07	90	11	1	1.11
0.10	90	8	0	0.00
0.20	90	0	0	0.00

1B)，四倍体植株的 DNA 相对含量是二倍体的 2 倍。除二倍体植株和四倍体植株，通过流式细胞仪鉴定还检测到多种嵌合体植株 (图 1C、图 1D)。其中，11 个株系为同源四倍体，5 个株系为嵌合体，4 个株系为二倍体。同源四倍体为检测株系的 55%，为 74 个存活株系的 21.62%，即加倍率为 21.62%。

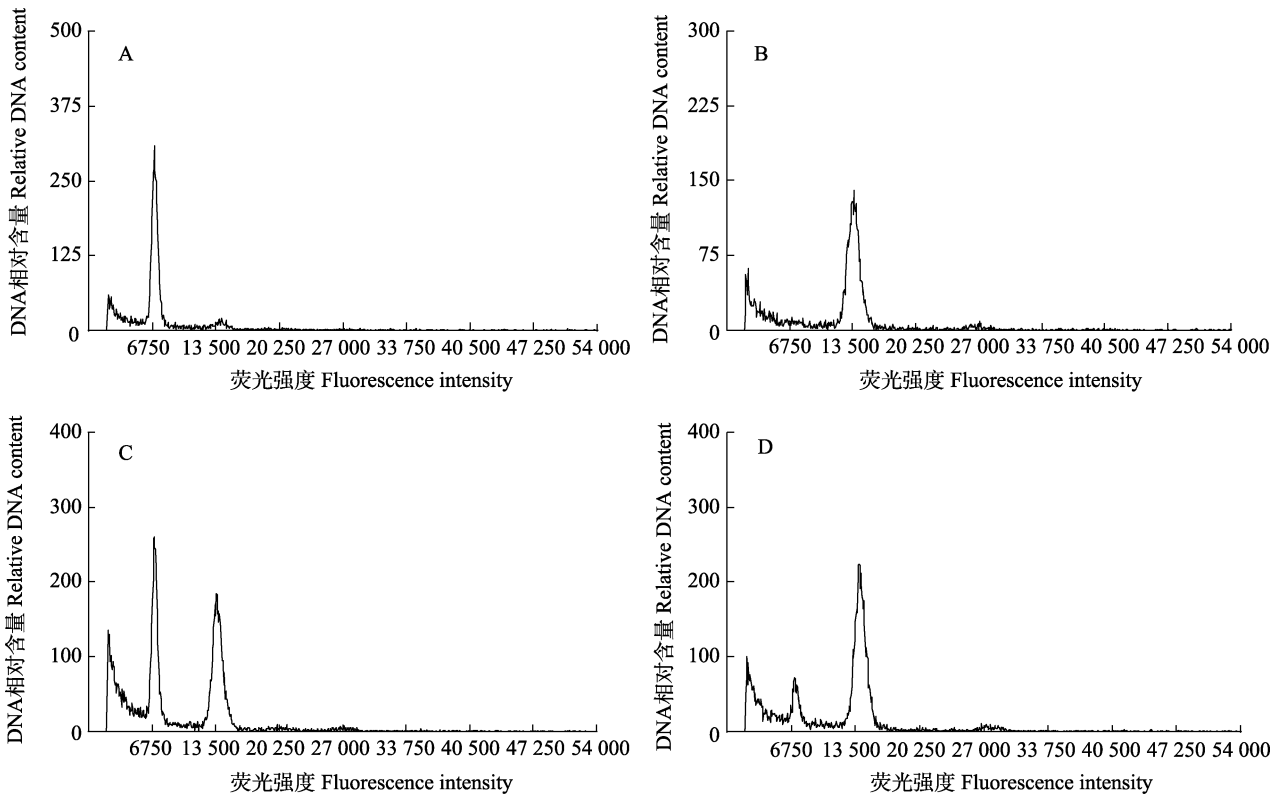
根据流式细胞检测结果，将鉴定为四倍体的株系进行细胞学鉴定，结果表明二倍体植株的根尖细胞染色体数目均为 $2n=2x=36$ ，而四倍体植株根尖细胞染色体数目为 $2n=4x=72$ 。

2.3 二倍体与同源四倍体株系组培苗观察比较

继代培养 30 d 后，二倍体与四倍体不同株系植株生长情况如表 2 所示。二倍体组培苗的株高、裂叶长、裂叶长/裂叶宽显著高于四倍体组培苗，而裂叶宽、叶绿素 SPAD 值、植株鲜重、干重显著低于四倍体，说明四倍体组培苗相比二倍体植株矮壮、叶片浓绿、干物质积累多，生长势较旺盛。

2.4 二倍体与同源四倍体大田植株形态观察比较

将鉴定为四倍体的木薯组培苗株系 (SC12-4、SC12-11) 与二倍体组培苗移栽至大田，并于植后 60 d (苗期)、120 d (块根形成期)、180 d (块根膨大期)、240 d (成熟期) 对生长情况进行调查。如图 2 所示，不同时期的多倍体的株高低于二倍体，但差异不显著；多倍体的裂叶宽显著高于二倍体，裂叶长显著低于二倍体，裂叶长/裂叶宽显著降低，在叶片形态上表现为叶尖盾化，叶片由披针形向拱形过渡；大田生长的四倍体均呈现叶片厚、茎秆粗和叶色深等性状，与四倍体组培苗植株表现一致。四倍体株系 SC12-11 的单株块根



A: 二倍体; B: 四倍体; C、D: 嵌合体。

A: Diploid; B: Tetraploid; C, D: Chimera.

图 1 流式细胞倍性检测结果

Fig. 1 Results of detecting ploidy-level of cassava using FCM

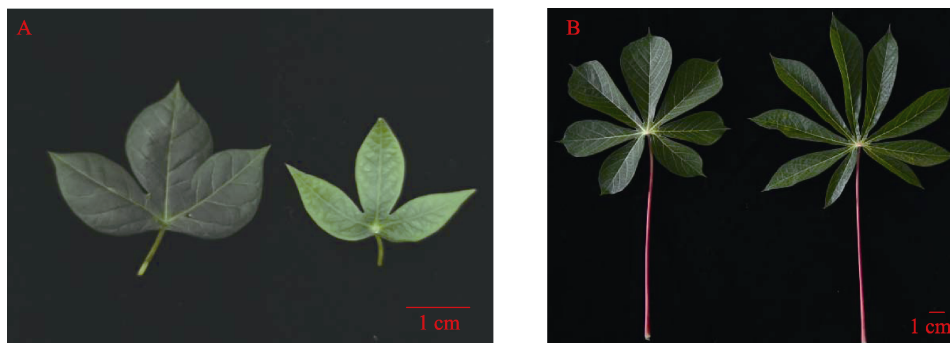
表 2 木薯 SC12 二倍体与同源四倍体组培苗生长情况比较

Tab. 2 Comparison of growth of diploid and autotetraploid tissue culture seedlings of cassava variety SC12

品种 Variety	株高 Plant height/cm	裂叶宽 Lobe width/cm	裂叶长 Lobe length/cm	裂叶长/ 裂叶宽 Lobe length/ lobe width	叶厚 Leaf thick- ness/mm	茎粗 Stem di- ameter/cm	SPAD 值 SPAD value	植株鲜重 Fresh weight/g	植株干重 Dry weight/g
SC12	4.91±0.78 ^a	0.69±0.05 ^b	1.53±0.09 ^a	2.23±0.07 ^a	0.12±0.01 ^a	0.94±0.08 ^a	30.58±0.13 ^b	0.33±0.02 ^c	0.04±0.01 ^b
SC12-4	3.58±0.30 ^b	0.79±0.05 ^{ab}	1.31±0.08 ^b	2.26±0.06 ^b	0.13±0.01 ^a	1.00±0.04 ^a	34.65±1.86 ^a	0.57±0.02 ^b	0.08±0.01 ^a
SC12-11	3.73±0.27 ^b	0.88±0.08 ^a	1.50±0.08 ^a	2.28±0.08 ^b	0.13±0.02 ^a	1.06±0.01 ^a	35.32±1.36 ^a	0.70±0.03 ^a	0.10±0.01 ^a

注：同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ($P < 0.05$).



A: 组培苗叶片 (左: 四倍体; 右: 二倍体); B: 大田叶片 (左: 四倍体; 右: 二倍体); Bar=1 cm。

A: Leaves *in vitro* (left: tetraploid; right: diploid); B: Leaves in field (left: tetraploid; right: diploid); Bar=1 cm.

图 2 木薯 SC12 四倍体和二倍体叶片

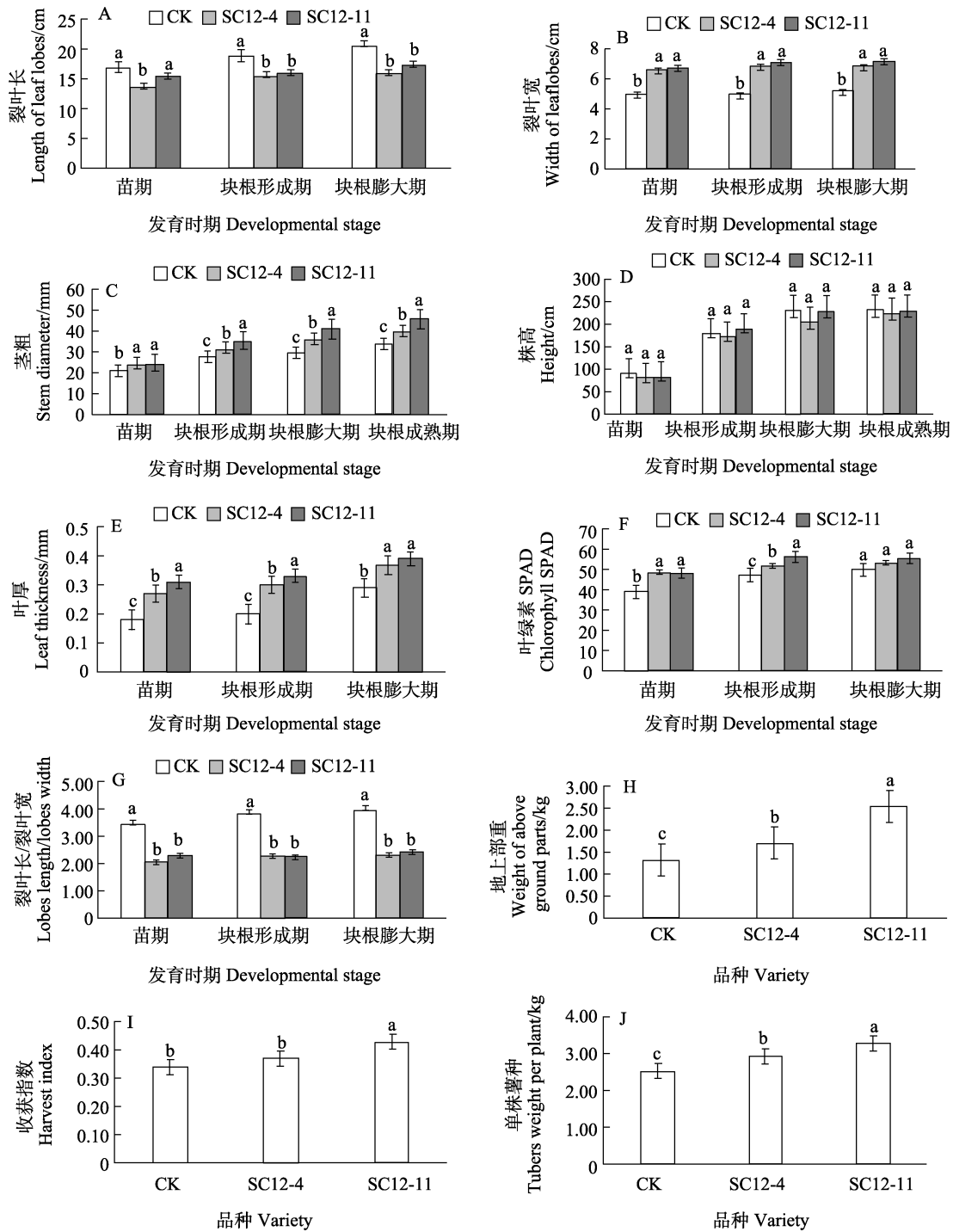
Fig. 2 Tetraploid and diploid leaves of cassava variety SC12

产量和收获指数较高, 分别为 3.30 kg 和 0.43, 显著高于二倍体株系 (图 3)。

2.5 二倍体与四倍体解剖学观察比较

与二倍体对照材料相比, 变异四倍体叶片保卫细胞长、宽、叶绿体数目均显著增加, 分别比

二倍体增加 2.33%、28.99%、117.79%; 气孔数显著降低, 比对照减少 40.06% (表 3); 四倍体变异株保卫细胞呈椭圆形, 二倍体保卫细胞趋近于圆柱形 (图 4)。叶片横截面观察结果表明 (表 4), 四倍体叶片厚度和 PPT 均显著高于二倍体, 比对



不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图 3 二倍体与同源四倍体材料不同时期的生理特性比较

Fig. 3 Comparison of physiological characteristics between diploid and autotetraploid materials at different stages

照分别增加 24.41%、43.88%; SPT 比对照显著降低, 降低了 22.33%; PPT/SPT 是对照的 1.9 倍。四倍体叶片的组织紧密度 (CTR) 为 0.61 高于二倍体 (0.52), 叶片组织疏松度 (SR) 为 0.41 显著低于二倍体 (0.25), 说明四倍体叶片的栅栏组

表 3 木薯二倍体与四倍体叶片保卫细胞解剖测量结果
Tab. 3 Result of the measurement in guard cells between the diploid and tetraploid

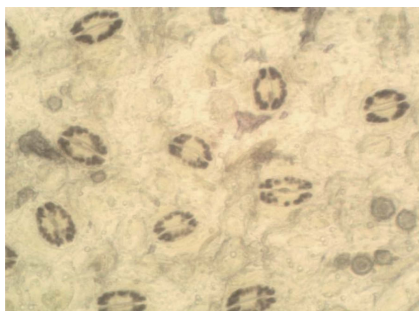
倍性 Ploidy-level	保卫细胞长 Length of guard cells/ μm	保卫细胞宽 Width of guard cells/ μm	叶绿体数目 Chloroplast numbers	气孔数 Stomata numbers
2x	26.86 \pm 2.25 ^b	16.57 \pm 0.52 ^b	5.17 \pm 0.16 ^b	81.8 \pm 1.23 ^a
4x	33.13 \pm 0.78 ^a	21.37 \pm 0.32 ^a	11.26 \pm 0.22 ^a	58.4 \pm 0.75 ^b

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ($P < 0.05$)

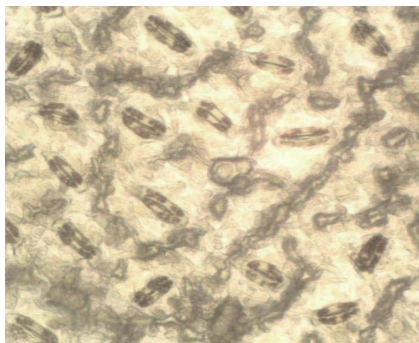
表 4 木薯二倍体与四倍体叶片横截面测量结果
Tab. 4 Result of the measurement in transverse sections of leaves between the diploid and the tetraploid

倍性 Ploidy-level	栅栏组织厚度 PPT/ μm	海绵组织厚度 SPT/ μm	叶厚 Leaf thickness/ μm	PPT/SPT
2x	72.33 \pm 2.69 ^b	56.17 \pm 1.60 ^a	136.57 \pm 2.23 ^b	1.28 \pm 0.04 ^b
4x	104.07 \pm 4.90 ^a	43.63 \pm 3.92 ^b	169.90 \pm 6.74 ^a	2.41 \pm 0.33 ^a

注: 同列数据后不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。
Note: Different lowercase letters after the same column of data indicate significant difference ($P < 0.05$)



四倍体



二倍体

图 4 SC12 木薯四倍体和二倍体保卫细胞
Fig. 4 Anatomical results of guard cells of cassava diploid and tetraploid

织排列紧密, 但海绵组织不发达。

3 讨论

多倍体植物因其遗传物质倍增, 从而表现出植株生长健壮、器官变大、抗逆性增强、营养物质和代谢物含量增多的特性, 因此多倍体诱导在种质资源创新方面发挥着重要作用^[12-13]。雷美艳等^[14]经过 3 a 的栽培试验均发现, 百合多倍体株系 JD-h-12 和 JD-h-15 平均鳞茎重量优于对照; 怀地黄同源四倍体的 2 个株系分别比二倍体亲本增产 26.6% 和 56.7%^[15]; 紫雏菊四倍体株系不仅菊苣酸含量较二倍体亲本高, 而且生物学产量也增加^[16]。潞党参的多倍体株系 LDSS-5 与二倍体相比, 块根产量增加了 76.0%, 其叶、花、茎、种子及多糖含量均表现出巨大性或优异性^[17]。但是, 木薯品种新选 048 和华南 8 号的四倍体单株的淀粉含量及鲜薯产量均低于二倍体亲本^[18]。本研究仅发现 2 个四倍体株系的单株薯种比二倍体亲本显著增加。张晓霞等^[19]对 16 个白花除虫菊同源四倍体和二倍体的农艺性状进行比较分析, 发现 11 个株系的总除虫菊酯含量高于二倍体株系, 仅有 7 个株系干花中的总除虫菊酯含量高于 1.4%, 研究结果与本研究结果一致。因此, 考查四倍体的农艺性状需要对所获得的株系材料均进行鉴定评价, 否则试验结果可能出现偏差。

只有在一定的处理浓度范围内, 秋水仙素才能有效诱导多倍体发生。不同的基因型之间, 适宜的诱变剂浓度和处理时间存在差异。聂杨眉^[20]利用秋水仙素对 5 个木薯品种的无菌腋芽进行诱导处理, 0.5 g/L 的秋水仙素浓度处理 SC5 6~9 h 时, 诱导率最高, 可达 66.67%, 而 0.1 g/L 的秋水仙素浓度处理 6~9 h 为 NZ199 最佳诱导浓度, 但诱导率仅为 16.67%; 周慧文等^[21]认为 0.05~0.1 g/L 是诱导木薯组培苗单芽茎段获得四倍体的最宜浓度范围。本研究表明, 木薯品种 SC12 对秋水仙素较为敏感, 当秋水仙素浓度为 0.03 g/L 时, 成活率为 42.4%, 四倍体诱导率最高; 当秋水仙素浓度提升到 0.05 g/L 时, 成活率仅为 19.4%。不同木薯品种最适宜的秋水仙素处理浓度范围差异显著。

CHEN 等^[22]发现四倍体芦笋的气孔密度约为二倍体的一半, 而叶绿体数量是二倍体的 2 倍, 以及气孔长度和宽度略大于二倍体植株。董一昕等^[23]也发现四倍体艾纳香植株叶片保卫细胞长

和宽, 均较二倍体差异显著或极显著。草棉二倍体、三倍体以及四倍体通过细胞学鉴定发现, 随着倍性的增加, 气孔密度呈下降趋势, 而气孔长度和叶绿体数均呈上升趋势^[24]。本研究发现木薯变异四倍体叶片保卫细胞长、宽、叶绿体数目均显著增加, 分别比二倍体增加 2.33%、28.99%、117.79%; 气孔密度显著降低, 比对照减少 40.06%。本研究结果和前人^[25-26]研究结果一致。所以气孔密度、保卫细胞的长度和叶绿体数目也是鉴定植株倍性的重要依据, 该方法易取材, 损伤小, 操作简单。

叶片的组织结构在一定程度上反映植物响应外界环境的生理特性, 可作为种质资源评价、育种和抗逆性研究的重要依据^[27-29]。栅栏组织是光合作用特化而来的细胞群, PPT/SPT 越大, 栅栏组织更发达, 有利于光合作用和提高光合效能, 并增加抗旱性。另外, 叶片的 CTR 越大, SR 越小说明栅栏组织排列紧密, 海绵组织不发达, 从而减少蒸腾作用, 更有效地减少水分流失^[30-31]。本研究发现, 木薯 SC12 同源四倍体植株的 PPT 显著高于二倍体亲本, 而 SPT 显著低于亲本, 四倍体 PPT/SPT 是对照的 1.9 倍, 且紧密度高, 进一步说明其抗旱性高。

本研究以木薯品种 SC12 离体单芽茎段为诱导材料, 0.03 g/L 浓度的秋水仙素处理 48 h 后, 同源四倍体效率最高, 为 7.78%; 经过流式细胞仪、染色体技术、细胞解剖学比较鉴定, 获得了 10 个同源四倍体和 6 个嵌合体植株。二倍体和同源四倍体植株表现出显著的形态和生理差异, 同源四倍体叶片变厚, 裂叶长/裂叶宽显著降低, 叶绿素含量显著增加; 四倍体株系 SC12-11 的单株薯重和收获指数分别为 3.30 kg 和 0.43, 显著高于对照二倍体株系。

参考文献

- [1] 李永锋, 赵光龙, 张志强, 薛行华. 国内木薯淀粉化学改性的研究进展[J]. 热带农业科学, 2007, 27(5): 64-72.
LI Y F, ZHAO G L, ZHANG Z Q, XUE X H. Advances on chemical modification of cassava starch[J]. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2007, 27(5): 64-72. (in Chinese)
- [2] 张鹏, 杨俊, 周文智, 王红霞, 马秋香. 能源木薯高淀粉抗逆分子育种研究进展与展望[J]. 生命科学, 2014, 24(5): 465-472.
ZHANG P, YANG J, ZHOU W Z, WANG H X, MA Q X. Progress and perspective of cassava molecular breeding for bioenergy development[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2014, 24(5): 465-472. (in Chinese)
- [3] 严华兵, 叶剑秋, 李开绵. 中国木薯育种研究进展[J]. 中国农学通报, 2015, 31(15): 63-70.
YAN H B, YE J Q, LI K M. Progress of cassava breeding in China[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(15): 63-70. (in Chinese)
- [4] 党江波, 宋琴, 李彩, 郭启高, 梁国鲁. 园艺植物中三倍体的应用现状及育种前景分析[J]. 园艺学报, 2018, 45(9): 1813-1830.
DANG J B, SONG Q, LI C, GUO Q G, LIANG G L. Application status and breeding prospects of triploid in horticultural plant[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2018, 45(9): 1813-1830. (in Chinese)
- [5] 吴婷, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 于晓南, 国圆, 葛红. 蝴蝶兰多倍体育种研究进展与展望[J]. 园艺学报, 2022, 49(2): 448-462.
WU T, JIA R D, YANG S H, ZHAO X, YU X N, GUO Y, GE H. Research advances and prospects on *Phalaenopsis* polyploid breeding[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2022, 49(2): 448-462. (in Chinese)
- [6] 周辉明, 林辉锋, 莫智龙, 陈昌铭, 曹奕鸯, 熊君. 四倍体白掌新品种‘绿萌’的选育[J]. 热带作物学报, 2022, 43(5): 964-970.
ZHOU H M, LIN H F, MO Z L, CHEN C M, CAO Y Y, XIONG J. Breeding a new tetraploid *Spathiphyllum floribundum* ‘Lvmeng’ variety[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(5): 964-970. (in Chinese)
- [7] SREEKUMARI M T, JOS J S, NAIR S G. “Sree Harsha”: a superior triploid hybrid in cassava [J]. Euphytica, 1999(106): 1-6
- [8] NASSAR N, BOMFIM N N, ELSAYED A Y. Interesting cassava cultivars UnB 201[J]. Geneconserve, 2011(40): 163-165.
- [9] RIBEIRO D G, NASSAR N M A. A comparative anatomical study in cassava diploid and tetraploid hybrids[J]. Plant Systematics and Evolution, 2012(298): 1711-1721.
- [10] ZHOU H W, ZENG W D, YAN H B. *In vitro* induction of tetraploids in cassava variety ‘Xinxuan 048’ using colchicine[J]. Plant Cell Tissue and Organ Culture, 2017(128): 723-729.
- [11] 周慧文. 木薯四倍体离体诱导与诱变材料评价研究[D]. 南宁: 广西大学, 2016.
ZHOU H W. Studies on tetraploid induction of cassava *in vitro* and evaluation of the mutagenic material[D]. Nanning: Guangxi University, 2016. (in Chinese)
- [12] 张锡庆, 汪莲娟, 曹钦政, 贾桂霞. 有斑百合多倍体诱导

- 及鉴定[J]. 北京林业大学学报, 2017, 39(7): 96-102.
- ZHANG X Q, WANG L J, CAO Q Z, JIA G X. Polyploidy induction and identification in *Lilium concolor* var. *pulchellum*[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2017, 39(7): 96-102. (in Chinese)
- [13] 倪成凤, 冷青云, 虞道耿, 张瑜, 刘国道, 杨虎彪. 秋水仙素对猪屎豆的诱变及同源四倍体种质创制的研究[J]. 热带作物学报, 2022, 43(10): 2047-2056.
- NI C F, LENG Q Y, YU D G, ZHANG Y, LIU G D, YANG H B. Study on mutagenesis of *Crotalaria pallida* by colchicine and autotetraploid germplasm innovation[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2022, 43(10): 2047-2056. (in Chinese)
- [14] 雷美艳, 杨利平, 杨天建, 符勇耀, 韩量, 全健, 蒲盛才. 卷丹多倍体新品种‘渝百合 1 号’的培育[J]. 分子植物育种, 2020, 18(14): 4714-4724.
- LEI M Y, YANG L P, YANG T J, FU Y Y, HAN L, QUAN J, PU S C. Cultivation of a new polyploid *Lilium lancifolium* variety ‘Yu Baihe 1’[J]. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(14): 4714-4724. (in Chinese)
- [15] 王建军. 怀地黄四倍体诱导及生物学特性研究[D]. 新乡: 河南师范大学, 2012.
- WANG J J. *In vitro* production and biology characteristics research of autotetraploids of *Rehmannia glutinosa* F. *hueichingensis* (Chan et Seih) hsiao[D]. Xinxiang: Henan Normal University, 2012. (in Chinese)
- [16] CHEN R, JIANG W Z, LI Q L, LI X L, CHEN X L, YANG Y S, WU H. Comparison of seven colchicine-induced tetraploid clones with their original diploid clones in purple coneflower (*Echinacea purpurea* L.)[J]. Euphytica, 2016, 207: 387-399.
- [17] 李香串. 潞党参四倍体优良株系 LDSS-5 号的性状观察及多糖含量研究[J]. 中国野生植物资源, 2014, 33(6): 21-25.
- LI X C. Studies on the character observation and determination of polysaccharide content in tetraploid elite plant strain (LDSS-5) of *Radix Codonpis pilosulae*[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2014, 33(6): 21-25. (in Chinese)
- [18] 安飞飞, 陈松笔, 李庚虎, 周锴, 李开绵. 华南 8 号木薯及其四倍体块根淀粉及蛋白表达谱的差异分析[J]. 中国农业科学, 2015, 48(13): 2656-2665.
- AN F F, CHEN S B, LI G H, ZHOU K, LI K M. Comparison analysis of starch and protein expression profiles on cassava tuberous roots cv. SC8 and its tetraploid[J]. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(13): 2656-2665. (in Chinese)
- [19] 张晓霞, 高山林, 高艳丽, 邵春月, 焦小珂. 白花除虫菊同源四倍体株系花期除虫菊酯含量及农艺性状分析[J]. 植物资源与环境学报, 2008(3): 67-72.
- ZHANG X Y, GAO S L, GAO Y L, SHAO C Y, JIAO X K. Analyses on pyrethrins content and agronomic traits of autotetraploid lines of *Pyrethrum cinerariifolium* in flowering stage[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2008, (3):67-72. (in Chinese)
- [20] 聂扬眉. 木薯同源多倍体诱导及叶肉原生质体分离研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011.
- NIE Y M. Cassava autopolyploid induction and mesophyll protoplast isolation[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011. (in Chinese)
- [21] 周慧文, 肖亮, 曾文丹, 严华兵. 木薯同源四倍体的离体诱导及鉴定[J]. 核农学报, 2019, 33(4): 647-652.
- ZHOU H W, XIAO L, ZENG W D, YAN H B. *In vitro* induction and identification of autotetraploid cassava[J]. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2019, 33(4): 647-652. (in Chinese)
- [22] CHEN H L, LU Z W, WANG J. Induction of new tetraploid genotypes and heat tolerance assessment in *Asparagus officinalis* L.[J]. Scientia Horticulturae, 2020, 264: 109-168.
- [23] 董一昕, 冶泽青, 杨越, 夏美佳, 李宗朔, 孟秋实, 李卫东. 四倍体艾纳香植株诱导及其倍性鉴定[J]. 中国野生植物资源, 2018, 37(6): 43-46.
- DONG Y X, YE Z Q, YANG Y, XIA M J, LI Z S, MENG Q S, LI W D. Tetraploid induction and ploidy identification of *Blumea balsamifera*[J]. Chinese Wild Plant Resources, 2018, 37(6): 43-46. (in Chinese)
- [24] 杨亚杰, 李昱樱, 申状状, 陈天, 荣二花, 吴玉香. 草棉同源多倍体后代筛选及性状鉴定[J]. 生物技术通报, 2022, 38(5): 64-73.
- YANG Y J, LI Y Y, SHEN Z Z, CHEN T, RONG E H, WU Y X. Selection and character identification for autopolyploid progenies of *Gossypium herbaceum*[J]. Biotechnology Bulletin, 2022, 38(5): 64-73. (in Chinese)
- [25] 陆柳英, 曹升, 谢向誉, 周慧文, 曾文丹, 严华兵. 木薯成熟种茎多倍体诱导及鉴定[J]. 热带作物学报, 2014, 35(9): 1764-1770.
- LU L Y, CAO S, XIE X Y, ZHOU H W, ZENG W D, YAN H B. Induction of cassava polyploid by using mature stems and the identification of polyploid[J]. Chinese Journal of Tropical Crops, 2014, 35(9): 1764-1770. (in Chinese)
- [26] 聂扬眉, 文峰, 郭文武. 秋水仙素诱导获得 5 个木薯品种的同源四倍体植株[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(6):8-12.
- NIE Y M, WEN F, GUO W W. Colchicine-induced autotetraploids of five cassava cultivars[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2013, 32(6): 8-12. (in Chinese)
- [27] 张源源, 岳秦伊, 濮寿琴, 郑瑶, 祝青, 方家林, 黄肖, 李维国. 橡胶树四倍体来源鉴定及不同倍性叶片解剖结构

- 比较[J]. 植物遗传资源学报, 2019, 20(6): 1597-1605.
- ZHANG Y Y, YUE Q Y, PU S Q, ZHENG Y, ZHU Q, FANG J L, HUANG X, LI W G. Source identification of tetraploids and comparison of leaf anatomy structure of different ploidy in *Hevea brasiliensis* (Willd. ex A. Juss.) Müll. Arg[J]. Journal of Plant Genetic Resources, 2019, 20(6): 1597-1605. (in Chinese)
- [28] 肖芳, 冯天杰, 吴娜. 野芙蓉叶片解剖结构与其抗旱性关系的研究[J]. 河北农业大学学报, 2006(3): 33-35.
- XIAO F, FENG T J, WU N. The relation between leaf anatomical structure and drought resistance of *Abelmoschus manihot* (Linn.) Medicus[J]. Journal of Hebei Agricultural University (Social Science), 2006(3): 33-35. (in Chinese)
- [29] 李嘉诚, 罗达, 史彦江, 宋锋惠. 平欧杂种榛叶片解剖结构的抗旱性研究[J]. 西北植物学报, 2019, 39(3): 462-471.
- LI J C, LUO D, SHI Y J, SONG F H. Study on drought resistance of leaf anatomical structure of *Corylus heterophyllax* *Corylus avellana*[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2019, 39(3): 462-471. (in Chinese)
- [30] 钟灶发, 张利娟, 高思思, 彭婷. 干旱胁迫下 4 种柑橘砧木叶片细胞学特征及抗旱性比较[J]. 园艺学报, 2021, 48(8): 1579-1588.
- ZHONG Z F, ZHANG L J, GAO S S, PENG T. Leaf cytological characteristics and resistance comparison of four citrus rootstocks under drought stress[J]. Acta Horticulturae Sinica, 2021, 48(8): 1579-1588. (in Chinese)
- [31] 王兆成, 王磊, 周梦钰, 何的明, 毕慧慧, 葛翔, 沈军城, 傅松玲. 3 个薄壳山核桃品种叶片结构特征和枝条导水功能比较[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(3): 38-45.
- WANG Z C, WANG L, ZHOU M Y, HE D M, BI H H, GE X, SHEN J C, FU S L. Comparison on leaf structure characteristics and branch hydraulic function of three *Carya illinoensis* cultivars[J]. Journal of Plant Resources and Environment, 2021, 30(3): 38-45. (in Chinese)