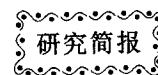


DOI: 10.3724/SP.J.1006.2008.02053



外源细胞分裂素对玉米叶原基分化类型的调控

马庆 齐璐璐 李晓玉 项艳 朱苏文 程备久*

(安徽农业大学生命科学学院, 安徽合肥 230036)

摘要: 以互生玉米自交系 H4d、8701d 为材料, 取自交授粉 12 d 的幼胚, 分别在含不同浓度 6-BA 的脱分化培养基上诱导愈伤组织, 筛选 II 型愈伤组织, 分别转入 0~3 mg L⁻¹ 6-BA 浓度梯度的分化培养基上诱导出芽。芽点出现时, 在解剖镜下剥离顶端分生组织, 电镜扫描观察叶原基形态, 并用 ELISA 反应测定顶端分生组织细胞分裂素 6-BA、ZR_s、DHZR_s、iPAS 和生长素 IAA、NAA 含量。结果表明, 外源细胞分裂素 6-BA 可调控互生基因型玉米材料幼苗叶原基转换为对生甚至畸形叶原基类型, 6-BA 浓度越高、处理越早, 出现对生叶原基、畸形叶原基的频率越高。ELISA 反应显示, 生长点激素含量的改变是外源激素的吸收累积造成的, 内源细胞分裂素的含量并未明显改变, 在互生基因型下通过增加外源细胞分裂素 6-BA 提高细胞分裂素/生长素值可导致叶原基分化类型向对生、畸形类型转换, 解除外源激素作用后, 生长点细胞分裂素/生长素值的恢复导致叶原基分化类型返回原始基因型类型。这进一步证实生长点细胞分裂素/生长素是决定玉米叶原基分化类型的关键因素。

关键词: 玉米; 6-BA; 叶原基分化; 组织培养

Differentiation of Leaf Primordium in Maize Regulated by Exogenous Cytokinin

MA Qing, QI Lu-Lu, LI Xiao-Yu, XIANG Yan, ZHU Su-Wen, and CHENG Bei-Jiu*

(School of Life Science, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, Anhui, China)

Abstract: The 12-day immature embryos of 2 maize (*Zea mays* L.) inbred lines with alternative phyllotaxy, 8701d and H4d, were cultured on media with different contents of 6-BA for 14 d to produce calluses, which were further subcultured twice on the same media. Type II calli were established on the differentiation mediums with 0–3 mg L⁻¹ of 6-BA content ladder to induce sprout formation. Sprouts in shoot tips were peeled off under a dissecting microscope and the images of the phyllotactic patterns of leaf primordium were taken by scanning electron microscope. The contents of 6-benzylaminopurine (6-BA), zeatin riboside group (ZR_s), dehydro zeatin riboside group (DHZR_s), isopentenyladenosine group (iPAs), naphthalene acetic acid (NAA), and indole-3-acetic acid (IAA) in shoot apical meristem were measured by ELISA method. Three phyllotactic patterns, namely opposite, misshapen, and alternate were observed in the leaf primordium. In H4d plants, exogenous application of the cytokinin 6-BA induced a change in the phyllotaxy of shoot apical meristem (SAM) from alternate to opposite and misshapen. Higher 6-BA content and earlier treatment led to higher proportions of SAM with misshapen leaf primordia and opposite leaf primordia. The cytokinin/auxin (CTK/AUX) ratio in SAM with misshapen leaf primordia was higher than that with decussate leaf primordia, which in turn, was higher than that with alternate leaf primordia. The accumulation of cytokinin 6-BA increased the levels of cytokinin in SAM, but did not change the levels of endogenous cytokinins (ZR_s, DHZR_s, and iPAs). The comeback of CTK/AUX ratio in tissue cultured immature seedlings could induce the leaf primordium of them to come back to the original phyllotactic patterns.

基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)项目(2006AA10Z1B4); 国家自然科学基金项目(30571130)

作者简介: 马庆, 男, 在读博士研究生, 研究方向: 细胞工程与分子育种。

* 通讯作者(Corresponding author): 程备久。Tel: 0551-5786464; E-mail: cbj1959@126.com

Received(收稿日期): 2008-03-07; Accepted(接受日期): 2008-06-08.

The CTK/AUX ratio is the determinative factor that regulates the differentiation of maize leaf primordium.

Keywords: Maize; 6-BA; Differentiation of leaf primordium; Tissue culture

一般禾本科植物叶片都是互生, 正常玉米(*Zea mays* L.)叶片也是互生, 但存在对生突变体, 即茎秆同一节位上的果穗和叶片都相对且成对而生, 它是一个极具研究价值的遗传资源^[1]。玉米对生叶片一般12~16对, 全株叶片可达36~39片^[2]。在叶的发育过程中, 决定植物叶大小、颜色、形状等差别的调控机制长期以来是人们关注的重点。叶发育的调控机理十分复杂, 植物自身发育过程中基因的作用和环境因素都不是孤立起作用的, 环境因素可以引发某些与发育有关的基因表达, 发育前期表达的基因产物可能引发发育后期的基因的表达, 基因产物的作用可以改变细胞内激素的平衡, 激素反过来又可以调节另一些重要基因的表达。这些作用交错在一起共同完成叶的发育过程^[3]。植物激素在叶原基的诱导和叶形态建成中具有十分重要的作用^[4]。玉米 *abphyl1* 突变体的叶序排列呈对生, *abphyl1* 表达产物为 ABPH 蛋白, 这是一类细胞分裂素调控蛋白, 其表达受植物内源细胞分裂素的诱导, 在内源细胞分裂素的作用下其在玉米顶端分生组织的空间表达改变迅速, 造成叶原基排布发生改变^[5]。

本实验室存有多套对生玉米、互生玉米近等基因系材料。通过对它们不同时空内源细胞分裂素和内源生长素含量的分析, 发现对生玉米材料生长点内源细胞分裂素含量显著高于对应互生材料。对生材料的内源细胞分裂素/内源生长素值显著高于近等基因系的互生材料, 显示出该比值变化调控着玉米生长点叶原基分化类型(未发表)。另一方面, 我们在常规互生玉米的组织培养过程中常常发现有大量畸形苗、对生苗的产生, 这些幼苗栽培一段时间后可以恢复为正常的互生植株。在玉米组织培养过程中细胞分裂素是必需的^[6], 这种现象的产生可能与移栽后失去外源细胞分裂素的作用有关。关于玉米的组织培养已有大量报道, 但关于组培过程中植物激素对叶原基分化类型的调控研究未见报道^[7-10]。为进一步了解细胞分裂素, 特别是细胞分裂素/生长素值是否可以调节玉米叶原基对生与互生分化类型的转换, 本研究利用功能相似的外源细胞分裂素 6-BA 添加给特殊的互生基因型自交系材料, 分析外源激素诱导对玉米叶原基分化类型的转换调控及其与 CTK/AUX 值的关系, 为揭示玉米叶原基分化的激素调控机制提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料及愈伤组织培养

互生玉米自交系 H4d、8701d 均为本实验室保存。2006年6月5日在安徽农业大学实验田, 按照常规地膜覆盖方式种植, 取自交受粉12 d的幼穗, 剥离苞叶, 70%酒精灭菌, 剥取幼胚, 盾片向上接入愈伤组织诱导培养基,

培养基基本配方为 N6B5^[11]。以细胞分裂素为单一的研究因子, 设置不同浓度梯度。愈伤组织诱导培养基共3种, 其配方分别为 N6B5 + NAA 0.5 mg L⁻¹ + 2,4-D 1.5 mg L⁻¹ + L-Pro 500 mg L⁻¹ + CH500 mg L⁻¹; N6B5 + 6-BA 0.25 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + 2,4-D 1.5 mg L⁻¹ + L-Pro 500 mg L⁻¹ + CH 500 mg L⁻¹; N6B5 + 6-BA 0.5 mg L⁻¹ + NAA 0.5 mg L⁻¹ + 2,4-D 1.5 mg L⁻¹ + L-Pro 500 mg L⁻¹ + CH500 mg L⁻¹。接种后 28℃暗培养, 3 d 后切幼芽一次, 继续暗培养, 2 周后转入继代培养基^[12]。继代培养基配方与愈伤组织诱导培养基相同, 26℃下暗培养2周^[13], 继代2次。

1.2 芽的诱导

选取松散、淡黄的愈伤组织, 分别转入分化培养基, 不同愈伤组织诱导出的愈伤组织分开处理, 分化培养基基本配方为 MS, 分别添加 0、0.5、1.0、1.5、2.0、2.5 和 3.0 mg L⁻¹ 6-BA。分化培养温度为 26℃, 光照时间 14 h d⁻¹。

1.3 叶原基形态及细胞分裂素含量测定

从芽点出现开始, 取每个处理组合下诱导出的幼芽各30个, 芽数不够的组合以可获得的总芽数为准, 在解剖镜下剥离幼芽顶端分生组织, 电镜扫描成像。顶端分生组织材料处理方法为剥取茎尖、FDA 固定过夜(抽真空)、剥取顶端分生组织、还氧树脂处理过夜、去还氧树脂、喷金、扫描成像^[14-15]。将不同叶原基形态分类, 解剖镜下统计不同处理组合下各形态的比率。

在解剖镜下将顶端分生组织分类。由于 ELISA 反应需要顶端分生组织 0.5 g, 单一处理组合下获得的各形态顶端分生组织数目不能满足测定最低需求, 因此对各处理组合下获得的不同形态类型顶端分生组织进行分类聚合。取不同形态的顶端分生组织 0.5 g, 采用 ELISA 反应测定激素 6-BA、ZRs、DHZRs、iPAs、IAA 和 NAA 的含量^[16], 比较不同叶原基形态顶端分生组织的 CTK/AUX 值, CTK 值为 6-BA、ZRs、DHZRs 和 iPAs 含量相加, AUX 值为 NAA 和 IAA 含量相加。

1.4 生根试验

本试验主要研究 6-BA 单一因素对玉米叶原基分化的影响, 生根培养基未使用激素诱导生根, 将4~5叶的芽苗转入未添加激素的基本培养基中, 利用植物内部合成的生长素自然生根, 生根后1周出瓶炼苗, 人工气候箱温度 28℃、光照 200 μmol L⁻¹ s⁻¹, 相对湿度 75%, 炼苗1周后于自然条件培养^[17]。

2 结果与分析

2.1 愈伤组织诱导、继代与分化出芽

玉米愈伤组织有 I 型和 II 型^[18], I 型愈伤组织水渍状, 继代过程中褐变、死亡, II 型愈伤组织呈结构松散的淡黄

色, 易于诱导出芽。愈伤组织类型受玉米基因型及培养条件的影响^[19], 在不同 6-BA 处理浓度下 H4d 的 II 型愈伤组织诱导率均高于 8701d, 随 6-BA 处理浓度的增加 H4d、8701d 的 II 型愈伤组织诱导率下降。由于 8701d 的 II 型愈伤组织诱导率较低, 因此, 在下一步的研究中, 选择 H4d 的愈伤组织作为诱导出芽的材料。不同诱导培养基上诱导出的 H4d 愈伤组织在相同的分化培养基上出芽率不同。相同诱导培养基上诱导出的 H4d 愈伤组织在不同的分化培养基上出芽率不同。

2.2 外源激素对叶原基分化类型的调控

解剖镜下剥取顶端分生组织, 观察叶原基有互生、对

生、畸形 3 种类型(图 1)。各处理组合下, 3 种叶原基类型芽苗的比率不同(表 1)。从表 1 可以看出, 不同愈伤组织诱导培养基上诱导出的 H4d II 型愈伤组织的在相同的出芽培养基上诱导出芽, 随愈伤组织诱导培养基 6-BA 浓度的增加, H4d II 型愈伤组织诱导的对生芽频率逐渐增加, 诱导的互生芽频率逐渐减少; 相同诱导培养基上诱导出 H4d II 型愈伤组织在不同出芽培养基上诱导出芽, 随着出芽培养基 6-BA 浓度的增加, H4d II 型愈伤组织诱导的畸形芽频率逐渐增加, 诱导的互生芽频率逐渐降低, 诱导的对生芽频率先升高后降低。由此说明, 6-BA 在芽苗叶序类型分化过程中具有重要作用。

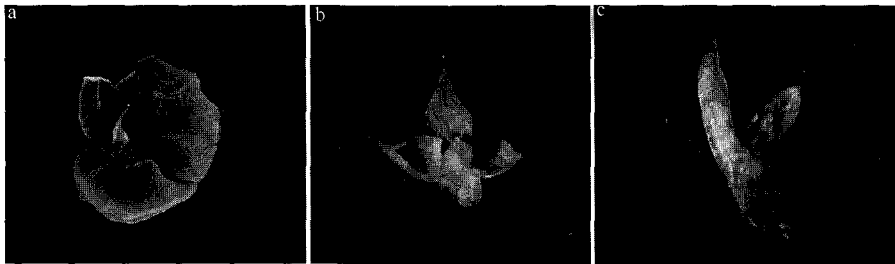


图 1 不同类型叶原基形态
Fig. 1 Pictures of different patterns of leaf primordium
a: 畸形叶原基; b: 对生叶原基; c: 互生叶原基。

a: misshapen leaf primordium; b: decussate leaf primordium; c: alternative leaf primordium.

表 1 H4d 不同处理组合下叶原基类型
Table 1 Leaf primordium patterns induced from H4d on different media

6-BA 含量	6-BA content (mg L ⁻¹)	总出芽数 No. of sprouts	互生率 Rate of alternative sprouts (%)	对生率 Rate of decussative sprouts (%)	畸形率 Rate of misshapen sprouts (%)
愈伤组织诱导培养基 Callus induction medium	芽诱导培养基 Sprouts induction medium				
0	0	5.0	100.0	0	0
0	0.5	11.0	100.0	0	0
0	1.0	30.0	93.3	6.7	0
0	1.5	30.0	86.7	0	3.3
0	2.0	30.0	50.0	36.7	13.3
0	2.5	30.0	13.3	30.0	56.7
0	3.0	30.0	6.7	13.3	80.0
0.25	0	7.0	100.0	0	0
0.25	0.5	15.7	96.7	3.3	0
0.25	1.0	30.0	90.0	6.7	3.3
0.25	1.5	30.0	83.3	10.0	6.7
0.25	2.0	30.0	36.7	40.0	23.3
0.25	2.5	30.0	6.7	23.3	70.0
0.25	3.0	30.0	3.3	6.7	90.0
0.5	0	10.7	100.0	0	0
0.5	0.5	17.3	96.7	3.3	0
0.5	1.0	30.0	80.0	16.7	3.3
0.5	1.5	30.0	66.7	20.0	13.3
0.5	2.0	30.0	23.3	43.3	33.3
0.5	2.5	30.0	3.3	10.0	86.7
0.5	3.0	30.0	0	0	100.0

2.3 不同类型叶原基激素含量分析

由表 2 可见, H4d 在不同培养基上诱导的不同类型叶原基 6-BA 含量差异较大, ZRSs、DHZRSs、iPAs 和 IAA 含量差异较小。畸形、对生、互生叶原基 6-BA 含量依次降低, 外源激素 6-BA 处理不能引起内源激素 ZRSs、DHZRSs

和 iPAs 含量改变。畸形叶原基、对生叶原基、互生叶原基 CTK/AUX 值依次降低, 差异明显。由于 6-BA 与 ZRSs、DHZRSs, iPAs 具有相似的生理功能^[20], 在互生基因型材料中通过离体培养添加外源细胞分裂素 6-BA, 其吸收累积可导致 CTK/AUX 值提高, 引发互生叶原基分化类型向对

表 2 H4d 不同类型叶原基激素含量及细胞分裂素/生长素值
Table 2 Hormone contents and CTK/AUX value in different patterns of shoot tips

叶原基类型 Pattern of leaf primordium	6-BA (ng g ⁻¹)	ZRS (ng g ⁻¹)	DHZRS (ng g ⁻¹)	iPAS (ng g ⁻¹)	IAA (ng g ⁻¹)	NAA (ng g ⁻¹)	CTK/AUX
畸形 Misshapen	1524.6 a	601.3 a	645.8 a	500.2 a	520.7 a	203.1 a	4.5 a
对生 Decussate	1141.2 b	586.6 a	652.4 a	514.8 a	508.1 a	213.5 a	4.0 b
互生 Alternative	613.3 c	576.7 a	636.1 a	517.5 a	513.5 a	194.7 a	2.9 c

Data in the table are the means of 3 replicates.
Values followed by the same letter are not significantly different at the 5% probability level according to LSD test.

生、畸形类型转换。

2.4 H4d 组培苗叶序类型分析

H4d 前期高细胞分裂素浓度处理下的幼苗叶序呈畸形、对生, 低细胞分裂素浓度下呈互生, 不同形态的组培幼苗照片如图 2。将幼苗放入生根培养基 2 周后生根, 出瓶移栽在人工气候箱内炼苗, 玉米幼苗定植后, 在无菌条件下形成的幼叶逐渐衰老死亡, 顶端部位重新发育新

叶, 6 个出芽配方下诱导出的幼苗新叶最终均呈互生排列。有趣的是, 试验中发现了前期为对生叶的幼苗后期变成了互生叶幼苗(图 3), 畸形幼苗难以移栽成活。由于生根培养基未添加激素, 本试验将对生幼苗在生根培养基中培养 4 周, 结果同定植后的现象一致, 在失去外源细胞分裂素 6-BA 的作用后, 对生幼苗新发叶片叶序恢复为互生排列(图 4)。

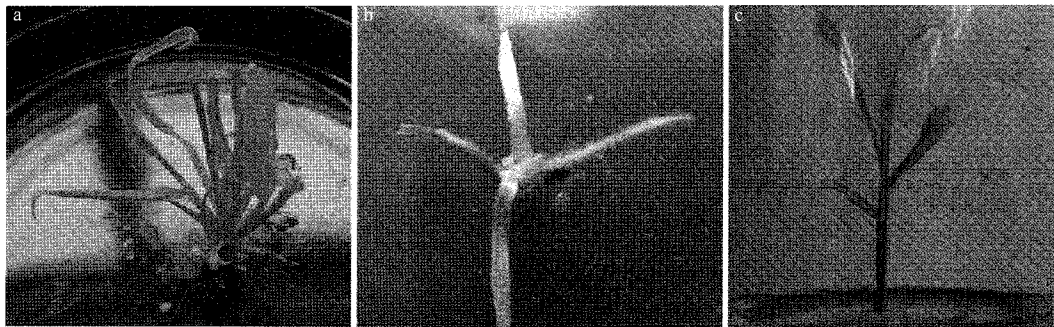


图 2 H4d 不同叶序类型组培幼苗
Fig. 2 Pictures of H4d immature seedlings with different phyllotaxys
a: 畸形幼苗; b: 对生幼苗; c: 互生幼苗。

a: misshapen immature seedlings; b: decussate immature seedlings; c: alternative immature seedlings.

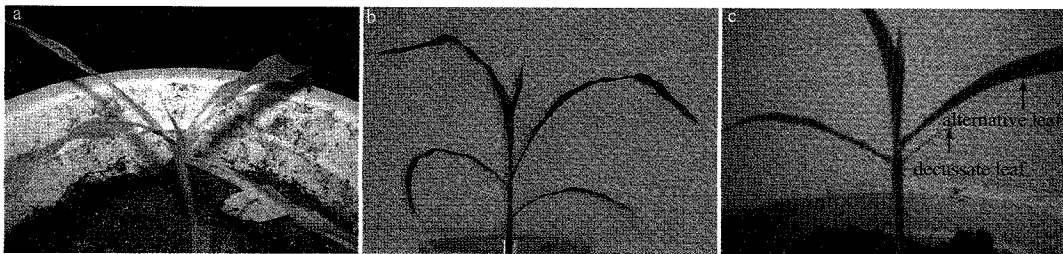


图 3 H4d 不同叶序类型组培定植苗
Fig. 3 Pictures of H4d planted seedlings with different phyllotaxys
a: 对生定植苗; b: 互生定植苗; c: 先对生后互生定植苗。

a: decussate planted seedlings; b: alternative planted seedlings; c: changed from decussate to alternative planted seedlings.

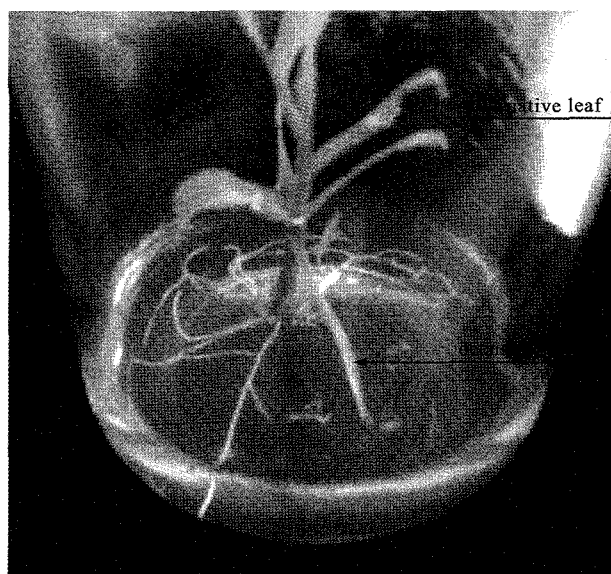


图 4 生根四周的 H4d 组培苗

Fig. 4 Result of H4d immature seedling with decussate phyllotaxy set on root induction medium for 4 weeks

3 讨论

对生玉米突变体的形成机制一直是本实验室的研究重点。现有的对生玉米材料田间表现并不完全一致, 有的品种叶序排列为规则的十字状, 有些呈平行对生, 8701D 的部分田间材料排列方式极不规则, 呈盘旋对生排列, 有的会出现基部叶片对生、顶部双茎旗叶互生或一茎对生一茎互生的特殊形态, 这种现象的出现可能与内源激素含量分配有关, 前期的 ELISA 反应测定结果显示, 对生玉米内源细胞分裂素 ZRs、DHZRs、iPAs 均高于近等基因系的互生玉米。在常规互生玉米的组织培养过程中经常会发现组培幼苗形状与常规播种的互生玉米不同, 但幼苗移栽定植后逐步恢复为正常的互生植株, 这可能与离开含高细胞分裂素的出芽培养基后幼苗所吸收的外源细胞分裂素压力逐步丧失有关, 但也有研究报道认为是细胞分裂素调控基因 *ZMRR3* 突变引起的^[5], 通过对本试验对生玉米材料的分子检测, 并未发现该基因的转座。对生玉米形成机制存在多样性, 但可能都与细胞分裂素的调控机制有关。

关于外源细胞分裂素对玉米叶原基分化类型转换的调控, 冷泉港(Cold Spring Harbor)实验室发现高浓度的外源细胞分裂素会造成互生玉米幼胚 SAM 位点的膨大, 但并未获得对生植株, 这可能与获得的玉米幼胚材料叶原基已经形成有关^[21]。本试验对玉米幼胚脱分化后形成愈伤组织, 进一步诱导分化出苗, 细胞分裂素可以直接对细胞发生作用, 因此获得了不同类型叶原基的幼苗。

我们的前期研究表明, 对生玉米内源细胞分裂素含量以及内源 CTK/AUX 高于同期近等基因系的互生玉米材料(未发表)。本试验表明, 用外源细胞分裂素 6-BA 处

理未分化的互生玉米细胞可以诱发不同的叶原基形态。处理浓度高、处理早, 获得畸形、对生的频率增加, 外源激素 6-BA 在不同叶原基形态的顶端分生组织中含量不同, 含量分布表现为畸形、对生、互生依次降低, 外源细胞分裂素对叶原基形态的影响是通过自身的吸收、积累形成的, 并未发现外源激素 6-BA 会引起内源激素 ZRs、DHZRs 和 iPAs 含量改变; 畸形植株、对生植株、互生植株的 CTK/AUX 值依次降低。由此可见, CTK/AUX 值是决定玉米叶序类型的重要因素。

本研究证实细胞分裂素对玉米形态建成的影响, 为研究对生玉米突变体的形成机制提供了新思路。我们将在分子水平上对细胞分裂素合成基因及相关调控基因进行深入研究, 以期进一步揭示对生突变体的形成机制。

References

- [1] Li L-Y(李凌雨), Yan C-Q(闫彩清), Zhang M-C(张名昌), Dong M-T(董民堂), Wang X-X(王学雄), Zhao F(赵飞). Study progress in oppositifolious maize. *J Maize Sci* (玉米科学), 2004, 12(2): 21–25 (in Chinese with English abstract)
- [2] Cai Y-P(蔡永萍), Tao H-Z(陶汉之), Cheng B-J(程备久). Studies on different characters of leaftranspirationand photosynthetic in opposite maize. *J Anhui Agric Univ* (安徽农业大学学报), 1996, 23(4): 474–477(in Chinese with English abstract)
- [3] Huang H(黄海). Recent progresses from studies of leaf development. *Chin Bull Bot* (植物学通报), 2003, 20(4): 416–422 (in Chinese with English abstract)
- [4] Jackson D, Veit B, Hake S. Expression of maize KNOTTED1 related homeobox genes in the shoot apical meristem predicts patterns of morphogenesis in the vegetative shoot. *Development*, 1994, 120: 405–413
- [5] Giuliani A, Wang J, Jackson D. Control of phyllotaxy by the cytokinin-inducible response regulator homologue *ABPHYL1*. *Nature*, 2004, 430: 1031–1034
- [6] Wang J-X(王景雪), Sun Y(孙毅), Hu J-J(胡晶晶), Cui G-M(崔贵梅). Factors affecting the frequencies of callus induction and plantlet regeneration in maize immature embryo culture. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2004, 30(4): 598–402(in Chinese with English abstract)
- [7] Duncan D R, William M E, Zehr B E, Widholm J M. The production of callus capable immature embryos of numerous *Zea mays* genotypes. *Planta*, 1985, 65: 322–332
- [8] Bommineni V R, Walden D B, Greyson R I. Recovery of fertile plants fromisolated, cultured maize shoot apicos. *Plant Cell Tissue Organ Cult*, 1989, 19: 225–234
- [9] Santos M A, Tome J M, Blaneo J L. Methods of obtaining maize to tipotent tissues: I. Seedling segments culture. *Plant Sci Left*, 1984, 33: 309–315
- [10] Rhodes C A, Gren C E, Phillips R L. Factors affecting tissue culture initiation from maize tassels. *Plant Sci*, 1986, 46: 225–232
- [11] Xiang Y(项艳), Jiang H-Y(江海洋), Ma Q(马庆), Zhu S-W(朱

苏文), Cheng B-J(程备久). Studies on transformation RNA interference expression vector of starch branching enzyme gene into maize inbred lines by *Agrobacterium tumefaciens*. *Acta Laser Biol Sin* (激光生物学报), 2006, 15(4): 399–404 (in Chinese with English abstract)

[12] Armstrong C L, Green C E. Establishment and maintenance of friable, embryogenic maize callus and involvement of L-proline. *Planta*, 1985, 164: 207–214

[13] Green C E, Philips R I. Plant regeneration from tissue cultures of maize. *Crop Sci*, 1975, 15: 417–418

[14] Jackson D, Hake S. Control of phyllotaxy in maize by the *ABPHYL1* gene. *Development*, 1999, 126: 315–323

[15] Du J(杜娟), Chang G-Q(常国权), Ji J(季静), Wang G(王罡). Observation with scanning electron microscope and analysis of RAPD on tissue culture and embryogenesis of inbreds of *Zea mays*. *Acta Agron Sin* (作物学报), 2002, 28(2): 282–285(in Chinese with English abstract)

[16] Li Z-T(李宗霆), Zhou X(周燮). Plant Hormone and ELISA Detection Technique (植物激素及其免疫检测技术). Nanjing: Jiangsu Science & Technology Publishing House, 1996. pp 124–132 (in Chinese)

[17] Wang Z-B(王志斌), Yang D-W(杨大威), Wang H-W(王宏伟), Shi Z-S(史振声), Wang J-D(王建东). Allus initiation and plant regeneration from immature embryos of maize. *J Shenyang Agric Univ* (沈阳农业大学学报), 2000, 33(5): 321–323(in Chinese with English abstract)

[18] Huang L(黄璐), Wei Z-M(卫志明). Differeces in regeneration capacity between five elite varieties of maize and the DNA differences between embryogenic callus and nonembryogenic callus. *Acta Physiol Sin* (植物生理学报), 1999, 25(4): 332–338 (in Chinese with English abstract)

[19] Wei Z-M(卫志明), Huang J-Q(黄健秋), Wu M-S(吴敏生). Establishment of highly efficient regeneration system of maize. *Acta Physiol Sin* (植物生理学报), 2001, 27(6): 489–494(in Chinese with English abstract)

[20] Fan Y-Q(范玉清), Che D-C(车德才). The relations among the five kinds of plant hormones. *J Shanxi Norm Univ* (山西师范大学学报), 1996, 10(2): 39–41 (in Chinese with English abstract)

[21] Bowman J L, Eshed Y, Baum S F. Establishment of polarity in angiosperm lateral organs. *Trends Genet*, 2002, 18: 134–141

更正

对刊登在本刊 2008 年第 9 期上的莫惠栋等的文章“田间试验的一种新设计——数独方”作以下 4 项更正。更正后的版本可在本刊网站免费下载(<http://www.chinacrops.org/zwxzb>)。

No.	页码	位置	正确	错误																																																																								
1	1491	图 3	<table><tr><td>3</td><td>1</td><td>5</td><td>4</td><td>6</td><td>2</td></tr><tr><td>2</td><td>6</td><td>4</td><td>3</td><td>5</td><td>1</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td><td>3</td><td>2</td><td>4</td><td>6</td></tr><tr><td>6</td><td>4</td><td>2</td><td>1</td><td>3</td><td>5</td></tr><tr><td>4</td><td>2</td><td>6</td><td>5</td><td>1</td><td>3</td></tr><tr><td>5</td><td>3</td><td>1</td><td>6</td><td>2</td><td>4</td></tr></table>	3	1	5	4	6	2	2	6	4	3	5	1	1	5	3	2	4	6	6	4	2	1	3	5	4	2	6	5	1	3	5	3	1	6	2	4	<table><tr><td>3</td><td>1</td><td>5</td><td>4</td><td>6</td><td>2</td></tr><tr><td>2</td><td>6</td><td>4</td><td>3</td><td>5</td><td>1</td></tr><tr><td>1</td><td>5</td><td>3</td><td>2</td><td>4</td><td>6</td></tr><tr><td>6</td><td>4</td><td>2</td><td>1</td><td>3</td><td>5</td></tr><tr><td>4</td><td>2</td><td>6</td><td>5</td><td>1</td><td>3</td></tr><tr><td>5</td><td>3</td><td>1</td><td>6</td><td>2</td><td>4</td></tr></table>	3	1	5	4	6	2	2	6	4	3	5	1	1	5	3	2	4	6	6	4	2	1	3	5	4	2	6	5	1	3	5	3	1	6	2	4
3	1	5	4	6	2																																																																							
2	6	4	3	5	1																																																																							
1	5	3	2	4	6																																																																							
6	4	2	1	3	5																																																																							
4	2	6	5	1	3																																																																							
5	3	1	6	2	4																																																																							
3	1	5	4	6	2																																																																							
2	6	4	3	5	1																																																																							
1	5	3	2	4	6																																																																							
6	4	2	1	3	5																																																																							
4	2	6	5	1	3																																																																							
5	3	1	6	2	4																																																																							
2	1492	左栏第 1 行	$\sum_1^k \rho_l = \sum_1^k \gamma_m = 0$	$\sum_1^k \rho_l \sum_1^k \gamma_m = 0$																																																																								
3	1492	表 2 第 2 列	$k-1$	$K-1$																																																																								
4	1493	参考文献[9]	农业试验统计	农业试验设计																																																																								