

不同倍性柳枝稷 45S rDNA 的染色体定位研究

王璐, 王晓遇, 张媛, 罗向荣, 徐阳菁, 张平冬

(北京林业大学林木育种国家工程实验室, 北京 100083)

摘要: 以 3 个四倍体和 6 个八倍体栽培品种的根尖为材料, 利用荧光原位杂交技术, 在核型分析的基础上, 开展了不同倍性柳枝稷 45S rDNA 的染色体定位研究。研究表明, 四倍体柳枝稷核型公式为 $2n=4x=36=32m(SAT)+4sm$, 且 45S rDNA 在四倍体柳枝稷染色体上分布稳定, 位于 3 号染色体顶端。八倍体柳枝稷栽培品种以及同一栽培品种不同个体间 45S rDNA 信号分布位置和数目差异较大, 可大致分为四类: 第 I 类为较强的 45S rDNA 信号分别分布于染色体两臂的顶端; 第 II 类为较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂内部, 第 III 类为较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的顶端, 第 IV 类为较弱的 45S rDNA 位于染色体一臂内部。八倍体柳枝稷不同栽培品种以及同一栽培品种不同个体间 45S rDNA 信号复杂性的成因可能与染色体同源重组以及染色体结构变异密切相关。

关键词: 柳枝稷; 45S rDNA; 染色体核型; 荧光原位杂交; 染色体结构变异

Chromosome Localization of 45S rDNA in *Panicum virgatum* Cultivars with Different Ploidy

WANG Lu, WANG Xiao-yu, ZHANG Yuan, LUO Xiang-rong, XU Yang-jing, ZHANG Ping-dong

(National Engineering Laboratory for Forest Tree Breeding, Beijing Forestry University, Beijing 100083)

Abstract: *Panicum virgatum* L. is an important biomass energy plant. Its straw is rich in lignocellulose which can be used as raw material for ethanol production. An investigation on chromosome localization and distribution of 45S rDNA in *P. virgatum* cultivars with different ploidy would promote the cytogenetic study of the species. In this investigation, chromosome localization of 45S rDNA and karyotype analysis were conducted by fluorescence in situ hybridization using root tips of three tetraploids and six octaploids as materials. The results indicated that the karyotype formula of the tetraploids was $2n=4x=36=32m(SAT)+4sm$, and 45S rDNA was invariably located at one end of chromosome 3. Significant differences in number of chromosomes and location of 45S rDNA signals were found among different octaploid cultivars or different individuals of the same octaploid cultivar. Four types of 45S rDNA distribution in the octaploid cultivars existed. The first type had a strong 45S rDNA signal at the end of both arms of the chromosome. The second type had a strong 45S rDNA signal within one arm of the chromosome. The third type had a strong 45S rDNA signal at the end of one arm of the chromosome. The fourth type had a weak 45S rDNA signal within one arm of the chromosome. The complexity of the models of 45S rDNA signal distribution among different octaploid cultivars or different individuals of the same octaploid cultivar is inferred to be closely correlated to homologous recombination and structure variation of the chromosomes.

Key words: *Panicum virgatum* L.; 45S rDNA; karyotype; fluorescence in situ hybridization; structural variation of chromosomes

收稿日期: 2020-03-16 修回日期: 2020-04-08 网络出版日期: 2020-04-22

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20200316003>

第一作者研究方向为草地植物遗传育种, E-mail: 3027375788@qq.com

通信作者: 张平冬, 研究方向为植物细胞遗传学与多倍体育种, E-mail: zhangpd@bjfu.edu.cn

基金项目: 北京市大学生创新创业项目(S201910022112); 北京林业大学教育教学研究项目(BJFU2018JY045)

Foundation projects: Undergraduate Training Program for Innovation and Entrepreneurship in Beijing(S201910022112), Education and Teaching Research Project of Beijing Forestry University(BJFU2018JY045)

真核生物中,核糖体是蛋白质的合成场所。一个完整的核糖体由 60S、40S 的大小亚基组成,而构成核糖体亚基的主要成分为核糖体-rRNA (rRNA) 和蛋白质。其中 rRNA 有 4 种不同类型,分别为 5S rRNA、5.8S rRNA、18S rRNA 以及 28S rRNA。18S rRNA 位于核糖体小亚基 40S 上,5S rRNA、5.8S rRNA 以及 28S rRNA 则位于大亚基上。编码上述几种 rRNA 的基因有 2 种,一种为 45S rDNA,另一种为 5S rDNA。45S rDNA 属于串联重复序列,位于核仁组织区域,每个串联重复单位依次编码 18S、5.8S 和 28S rDNA^[1]。5S rDNA 虽然亦是串联重复序列,但其不在核仁组织区域,每个重复单位仅编码 5S rRNA。

柳枝稷 (*Panicum virgatum* L.) 为禾本科黍属多年生 C4 植物,原产于美国,主要分布在美国中部和北部地区^[2]。它具有生长迅速、植株高大、根系发达^[3]、适应性强、生物质产量高、抗逆性强的特点^[4],是一种重要的可再生能源植物。其秸秆可通过热化学方法转换为酒精等可燃生物质能源。柳枝稷已成功引入我国北方地区,但还处于引种的初级阶段,种植规模不大。近年来,有关柳枝稷的研究主要集中于抗逆性^[5-8]、生物质能源预处理方法^[9]、栽培措施与产量的提高^[10-11]、基因功能分析等^[12-13]。而有关其细胞遗传学方面的研究鲜有报道,仅 Yang 等^[14]对柳枝稷着丝粒重复序列进行了研究,鉴定出 8 对着丝粒微卫星重复序列,其中 7 对微卫星重复序列与经典着丝粒重复序列相同,另 1 对微卫星重复序列与核糖体 5S 基因序列相同。本研究以柳枝稷根尖为材料,利用荧光原位杂交技术 (FISH),开展了不同倍性柳枝稷 45S rDNA 的染色体定位与变异研究,分析了 45S rDNA 在不同倍性柳枝稷染色体上的分布特点与规律,并进一步探讨不同倍性柳枝稷的进化关系,研究结果对推动柳枝稷细胞遗传学研究有重要参考价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

柳枝稷四倍体栽培品种 ‘Kanlow’、‘Liberty’、‘Summer’ 以及八倍体栽培品种 ‘Blackwell’、‘Pathfinder’、‘Shawnee’、‘Cave-in-rock’、‘Forestburg’、‘Sunburst’ 的种子由美国威斯康星大学麦迪逊分校园艺系蒋继明教授实验室提供。温室播种培养,待苗生长至 15~20 cm 高时,

取根尖,经饱和对二氯苯溶液预处理 2~3 h 后,转移至卡诺固定液中,4 ℃ 冰箱中固定 24 h 后待用。

1.2 研究方法

1.2.1 染色体制片 染色体制片采用涂片法^[15],将酶解好的根尖用 45% 乙酸充分分离后于 52 ℃ 热台上进行涂片,随后立即用卡诺试剂进行固定^[16],在 Olympus BX51 显微镜下进行拍照。选取染色体分散良好,形态清晰,背景干净的中期分裂相,测量每条染色体的长度、臂长,计算每条染色体的相对长度和臂比。

挑选中期分裂相多的染色体制片,经 70%、90%、100% 的系列酒精各脱水 5 min 后,空气干燥待用。

1.2.2 探针标记 所用含有 45S rDNA 序列克隆的大肠杆菌由美国威斯康星大学麦迪逊分校园艺系蒋继明教授实验室提供。参考 Yang 等^[14]的方法,以地高辛 (digoxigenin-dUTP) 为材料,利用缺口平移法进行探针标记。

1.2.3 FISH 杂交与 45S 信号检测 按照 Jiang 等^[17]的方法进行杂交混合液配置、探针变性、染色体变性以及荧光原位杂交,并利用罗丹明标记的抗体对携带有地高辛标记的 45S rDNA 进行杂交信号检测。杂交后的染色体制片经 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶 (DAPI) 复染后,利用 Olympus BX51 显微镜进行观察和图像采集。采用图像处理软件 Adobe Photoshop 7.0 调节图片亮度对比度。

2 结果与分析

2.1 四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的核型分析

柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 为四倍体,体细胞内有 36 条染色体 (图 1)。其核型公式为 $2n=4x=36=32m(\text{SAT})+4sm$ 。按染色体长度排序后发现,除 4 号染色体为近中部着丝点染色体 (sm) 以外,其他染色体均为中部着丝点染色体 (m)。此外,5 号染色体组中有一条同源染色体短臂上的随体清晰可见。染色体相对长度范围介于 7.79%~15.91% 之间,最长与最短染色体长度比值为 2.04; 臂比值范围介于 1.80~1.09 之间,未出现臂比值大于 2 的染色体 (表 1); 核不对称系数为 55.76%,故该柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的核型属于 1B 型。FISH 杂交结果显示,45S 重复序列分布于四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的 3 号染色体顶端,且信号较强。

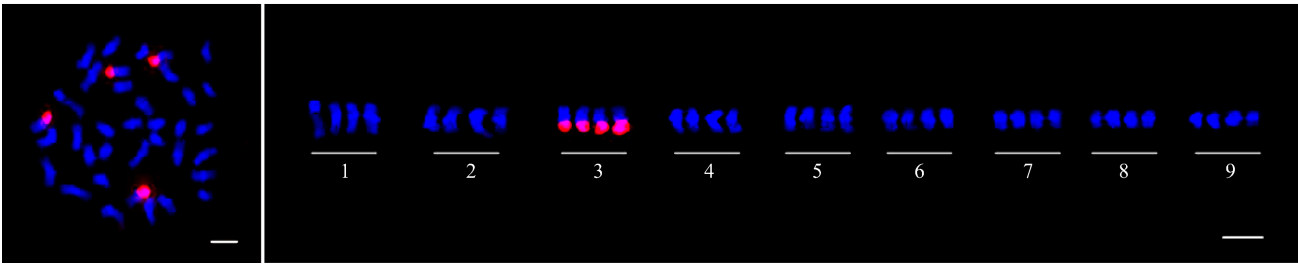


图 1 柳枝稷 ‘Summer’ 中期染色体及核型 (标尺 =5 μm)

Fig. 1 Metaphase chromosomes and karyotype of *Panicum virgatum* L. ‘Summer’ (Scale bar=5 μm)

表 1 柳枝稷 ‘Summer’ 核型数据

Table 1 Karyotype parameters of *Panicum virgatum* L. ‘Summer’

染色体序号 Chromosome number	相对长度 (%) Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	15.91 ± 0.10	1.21 ± 0.02	m
2	13.38 ± 0.07	1.31 ± 0.03	m
3	12.26 ± 0.07	1.10 ± 0.02	m
4	11.60 ± 0.05	1.80 ± 0.02	sm
5	11.03 ± 0.02	1.31 ± 0.03	m*
6	10.08 ± 0.04	1.18 ± 0.03	m
7	9.48 ± 0.04	1.27 ± 0.06	m
8	8.48 ± 0.04	1.27 ± 0.02	m
9	7.79 ± 0.08	1.22 ± 0.08	m

* 为随体染色体,随体长度未计算在内

*SAT chromosome, of which the length of the satellite was not counted

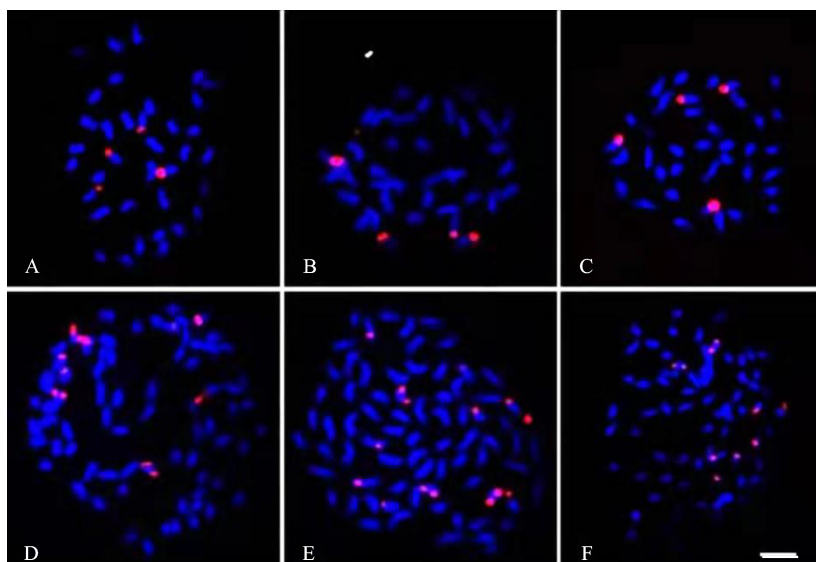
2.2 四倍体和八倍体柳枝稷 45S rDNA 信号分布特点

四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Liberty’、‘Kanlow’、‘Summer’ 以及八倍体栽培品种 ‘Cave-in-rock’、‘Forestburg’、‘Blackwell’ 的 45S rDNA 重复序列荧光原位杂交信号分布如图 2。从图 2 中可以看出, 3 个四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Liberty’ (图 2A)、‘Kanlow’ (图 2B)、‘Summer’ (图 2C) 均具有 4 个 45S rDNA 信号位点, 且位于 3 号染色体端部。其中 2 个 45S rDNA 信号较强, 另外 2 个 45S rDNA 信号则相对较弱。与四倍体柳枝稷栽培品种相比, 八倍体栽培品种 ‘Cave-in-rock’、‘Forestburg’、‘Blackwell’ 的 45S rDNA 信号数目明显增加, 且与染色体数目增加的倍数并不一致。不同八倍体柳枝稷栽培品种的 45S rDNA 信号强弱、分布的位置亦不相同 (图 2D、F)。根据八倍体柳枝稷不同栽培品种中 45S rDNA 信号强弱及分布位置等特点,

可将 45S rDNA 信号分布模式分为 4 种类型: 第 I 种为较强的 45S rDNA 信号分布于同一条染色体两臂的顶端 (图 3A) ; 第 II 种为较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部 (图 3B) ; 第 III 种为较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的顶端 (图 3C) ; 第 IV 种为较弱的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部 (图 3D)。

2.3 45S rDNA 在八倍体不同栽培品种之间的信号分布差异

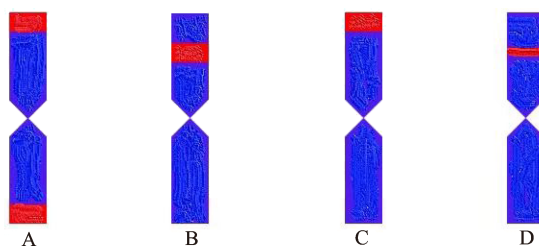
四倍体柳枝稷栽培品种的 45S rDNA 信号分布模式属于第 III 种类型 (图 2A、C)。八倍体柳枝稷栽培品种 45S rDNA 信号分布模式比较丰富, 4 种类型均存在, 且不同栽培品种间 45S rDNA 分布模式存在一定的差异。6 个八倍体柳枝稷栽培品种 ‘Blackwell’、‘Pathfinder’、‘Shawnee’、‘Cave-in-rock’、‘Forestburg’、‘Sunburst’ 的 45S rDNA 荧光原位杂交结果见图 4。



A: 四倍体 'Liberty'; B: 四倍体 'Kanlow'; C: 四倍体 'Summer'; D: 八倍体 'Cave-in-rock'; E: 八倍体 'Forestburg'; F: 八倍体 'Blackwell'
A: Tetraploid 'Liberty', B: Tetraploid 'Kanlow', C: Tetraploid 'Summer', D: Octoploid 'Cave-in-rock',
E: Octoploid 'Forestburg', F: Octoploid 'Blackwell'

图 2 45S rDNA 信号在四倍体和八倍体柳枝稷栽培品种中的分布 (标尺 =5 μm)

Fig. 2 Distribution of 45S rDNA signals in tetraploid and octoploid *Panicum virgatum* L. cultivars (Scale bar=5 μm)



A: 较强的 45S rDNA 信号分布于同一条染色体两臂的顶端 (I); B: 较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部 (II);

C: 较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的顶端 (III); D: 较弱的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部 (IV)

A: Strong 45S rDNA signals at the end of both arms of the chromosome arms (I), B: Strong 45S rDNA signal within one arm of the chromosome (II),
C: Strong 45S rDNA signal at the end of one arm of the chromosome (III), D: Weak 45S rDNA signal within one arm of the chromosome (IV)

图 3 八倍体柳枝稷 45S rDNA 信号模式图

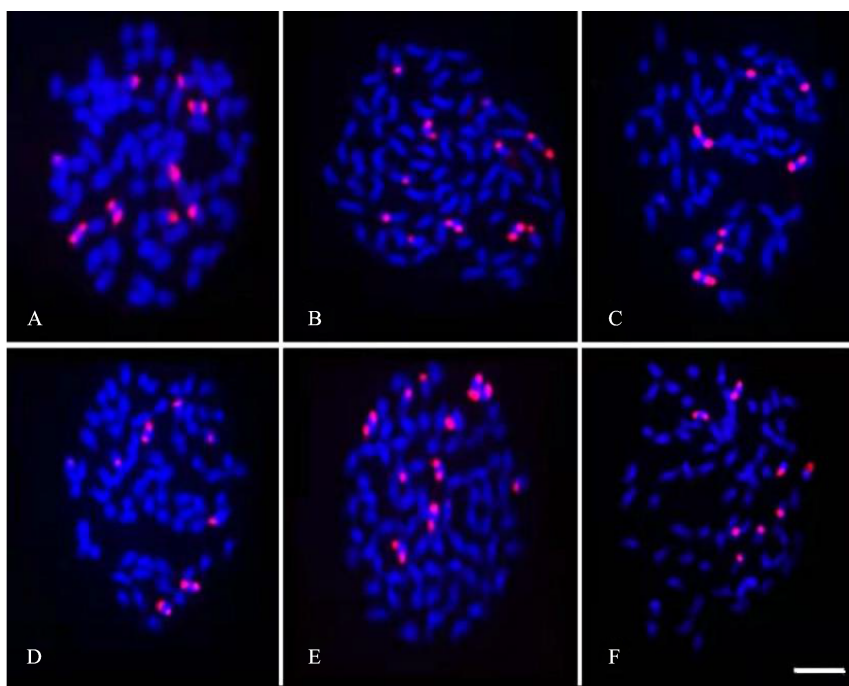
Fig. 3 Diagram showing types of 45S rDNA signal distribution in octoploid *Panicum virgatum* L.

从图 4 可以看出, 八倍体柳枝稷栽培品种 'Cave-in-rock'、'Forestburg' 以及 'Shawnee' 的 45S rDNA 信号模式最丰富, 包含了上述 4 种信号类型, 分别为 3 I+ II+3 III+2 IV、4 I+3 II+3 III+ IV、3 I+3 II+ III+ IV; 八倍体栽培品种 'Pathfinder'、'Sunburst' 以及 'Blackwell' 的 45S rDNA 信号数目稍少, 各包含 3 种信号分布类型, 分别为 4 I+4 II+2 IV、6 I+2 II+ IV、2 I+4 II+2 III。其中 'Pathfinder'、'Sunburst' 中未出现第 III 类 45S rDNA 信号类型, 'Blackwell' 未出现第 IV 类 45S rDNA 信号类型。同时可以发现, 尽管不同栽培品种的信号类型不尽相同, 但第 I 类信号类型出

现的次数最多, 而第 IV 类信号类型出现的次数最少。

2.4 八倍体栽培品种内不同个体间 45S rDNA 信号分布差异

柳枝稷八倍体栽培品种间 45S rDNA 信号数目和位置存在明显差异。同一八倍体栽培品种不同个体间 45S rDNA 信号数目和位置是否一致? 为了回答这一问题, 本研究选取八倍体栽培品种 'Shawnee' 的 6 个单株为研究对象, 对同一八倍体栽培品种不同个体间 45S rDNA 信号分布类型进行了研究。八倍体栽培品种 'Shawnee' 6 个单株的 45S rDNA 原位杂交结果见图 5。柳枝稷八倍体栽



A: 'Cave-in-rock', B: 'Forestburg', C: 'Pathfinder', D: 'Shawnee', E: 'Sunburst', F: 'Blackwell'

图 4 不同八倍体柳枝稷栽培品种的 45S rDNA 信号分布模式(标尺=5 μm)

Fig. 4 45S rDNA signal distribution in octoploid *Panicum virgatum* L. cultivars (Scale bar=5 μm)

培品种 'Shawnee' 6 个单株的染色体数目介于 65~75 之间(表 2),说明八倍体栽培品种实际上是由非整倍性个体组成的。6 个单株的 45S rDNA 信号

数目差异异常显著,分布类型各不相同。其中单株 B 和 D 包括前述的 4 种信号类型;单株 A、C、E、F 仅包含 3 种信号类型(表 2)。

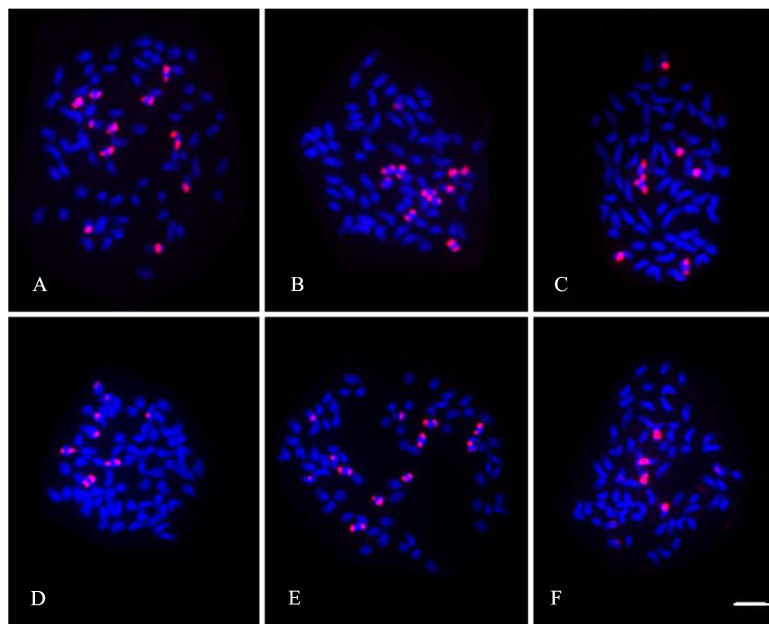


图 5 45S rDNA 信号在八倍体柳枝稷栽培品种 'Shawnee' 不同单株间的变异(标尺=5 μm)

Fig. 5 Variation of 45S rDNA signal distribution among different individuals of octoploid *Panicum virgatum* L. 'Shawnee' (Scale bar=5 μm)

表 2 八倍体柳枝稷栽培品种 ‘Shawnee’ 不同单株的染色体数目和 45S rDNA 信号类型

Table 2 Number of chromosomes and model of 45S rDNA signal distribution of different individuals of octoploid *Panicum virgatum* L. ‘Shawnee’

单株 Individual	染色体数目 Number of chromosomes	信号类型 Model of signal distribution
A	74	7 I+3 II+1 III
B	74	7 I+ II+2 III + IV
C	70	3 I+3 II+ III
D	65	3 I+2 II+2 III + IV
E	75	8 I+2 II+2 IV
F	69	2 II+4 III +4 IV

3 讨论

3.1 四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的染色体核型分析

染色体核型分析是以细胞分裂中期染色体为研究对象,根据染色体的长度、着丝点位置、短臂、随体有无等特征,对染色体进行配对、排序、编号、比较、分组的分析技术,已广泛用于植物分类学、细胞遗传学、基因组学、物种间亲缘关系以及医学诊断研究中^[18-19]。前人利用染色体核型分析技术确定了早熟禾亚科冰草属 (*Agropyron* Gaertn.)、披碱草属 (*Elymus* L.)、鹅观草属 (*Roegneria* K. Koch.)、赖草属 (*Leymus* Hochst.)、大麦属 (*Hordeum* L.)、旱麦草属 (*Eremopyrum* (Ledeb.) Jaub. et Spach) 的 37 种植物染色体基数均为 7,但不同种植物的倍性水平存在明显差异,其中四倍体占多数^[20-21]。据李娜等^[22]报道,高粱属 (*Sorghum* Monench.) 植物染色体基数为 10,不同植物种间染色体倍性水平亦存在差异,多数为二倍体和四倍体。而芒 (*Miscanthus sinensis* Anderss.)、五节芒 (*Miscanthus floridulus* (Lab.) Ward. ex Schum et Laut.)、荻 (*Miscanthus sacchariflorus* (Maxim.) Hackel.) 和南荻 (*Triarrhena lutarioriparia* L. Liu ex Renvoize et S. L. Chen.) 4 种芒属 (*Miscanthus* Andersson.) 植物 36 份种质的核型分析结果表明,芒属植物染色体基数均为 19,且主要以二倍体存在,偶见三倍体和四倍体^[23]。由此可见,禾本科植物的染色体基数差异较大,且同种个体间存在倍性水平差异较大的不同生态型。本研究中,黍亚科黍属植物柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的染色体基数确定为 9,染色体总数 36 条,核型公式为 $2n=4x=36=32m(\text{SAT})+4sm$ 。柳枝稷的染色体

基数与湖南稷子 (*Echinochloa frumentacea* Link) 一致^[23]。荧光原位杂交结果显示,四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 具有 4 个 45S rDNA 信号位点,其中 2 个位点信号相对较强,另外 2 个位点的信号相对弱一些。这说明柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的 4 个染色体组可能来自于两个不同的物种。另外,柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的核型仅由 m 染色体和 sm 两类染色体组成,与已报道的禾本科植物核型几乎均由 m 和 sm 型染色体组成基本一致^[20-24]。

Stebbins^[25]通过对大量核型资料的分析认为,植物界核型进化的趋势由对称型向不对称型发展。因此,系统演化上处于比较古老或原始的植物往往具有较对称的核型,而不对称核型主要存在于较进化的植物中。禾本科植物核型的种类非常丰富,1A、1B、2A、2B、3A、3B、4A、2C 等核型均已有报道^[21,24],说明不同种属的禾本科植物进化程度差异较大。本研究中,柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的核型属于 1B 类型,核不对称系数为 55.76%,与雀麦属疏花雀麦 (*Bromus remotiflorus* (Steud.) Ohwi) 以及披碱草属青紫披碱草 (*Elymus dahuricus* var. *violaceus* Z. P. Wang et H. L. Yang) 的核型类似^[21,24]。由此推断,四倍体柳枝稷 ‘Summer’ 可能属于进化程度较低的原始种。

随体亦是植物染色体的重要形态特征之一。本研究中观察到四倍体柳枝稷栽培品种 ‘Summer’ 的 5 号染色体中有一染色体短臂上具有明显的随体。尽管禾本科植物中已报道每物种的 1~3 条染色体可能具有随体^[20-21],但随体数量和位置除了与种有关外,还与染色体浓缩程度与制片技术密切相关。故此,随体在核型分析和染色体识别时存在较高的不稳定性。

3.2 多倍化对柳枝稷 45S rDNA 信号分布模式的影响

真核生物 45S rDNA 基因是编码核糖体 RNA 的串联重复序列,由 18S、5.8S 和 28S rDNA 组成,具有遗传不稳定性。近源物种间,甚至是同一物种的同一个体内,该基因都存在一定的差异。例如,黑麦草属植物同一根尖的不同分裂相中,45S rDNA 基因的拷贝数和位点分布不相同^[26]。该基因所在位点甚至类似于转座子,可以在不同染色体间整体转移^[27,28]。目前,玉米、大麦、水稻、高粱以及黑麦草等植物均被证明存在 45S rDNA 基因的遗传不稳定性^[29]。这种遗传不稳定性早期主要体现在拷贝数差异、位点分布不同和转座子现象等方面^[25-27]。近年来,人类 45S rDNA 基因也被证实是 DNA 断裂和重组的热点区域^[30]。

植物多倍化作为一种普遍的生物学现象,是植物进化的原动力^[31]。自然界中,几乎所有植物在其进化过程中都要经历一次以上的多倍化事件。因此,当四倍体柳枝稷进化为八倍体柳枝稷时,随着染色体数目的倍增,45S rDNA 基因数目亦随之倍增。故此,八倍体柳枝稷中应可观察到 8 个 45S rDNA 信号位点,且信号位置应出现在 3 号染色体一臂的末端。然而,本研究中,八倍体柳枝稷栽培品种‘Blackwell’、‘Pathfinder’、‘Shawnee’、‘Cave-in-rock’、‘Forestburg’、‘Sunburst’中均可观察到 3 种或 3 种以上的 45S rDNA 信号类型(图 4),不同栽培品种的 45S rDNA 信号模式存在明显的差异。即使同一八倍体栽培品种‘Shawnee’的不同个体中,45S rDNA 信号模式亦差异十分明显(图 5),4 种类型的 45S rDNA 信号位点均可观察到。探究八倍体柳枝稷栽培品种 45S rDNA 信号分布模式复杂性的成因,第 I 种 45S rDNA 信号类型,即较强的 45S rDNA 信号分布于同一染色体两臂的顶端,可能是携带 45S rDNA 信号非同源染色体相互易位的结果;第 II 种 45S rDNA 信号类型和第 IV 种 45S rDNA 信号类型,即较强的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部和较弱的 45S rDNA 信号位于染色体一臂的内部,可能是八倍体柳枝稷栽培品种有性生殖过程中 45S rDNA 基因的频繁遗传重组所致。有关八倍体柳枝稷栽培品种 45S rDNA 信号分布模式复杂性形成的真正原因仍有待于进一步实验验证。

参考文献

- [1] 徐延浩,李立家. 花生 45S rDNA 和 5S rDNA 的染色体定位研究. 武汉植物学研究, 2010, 28(6): 649-653
Xu Y H, Li L J. Physical mapping of the 45S rDNA and 5S rDNA in the peanut (*Arachis hypogaea* L.). Journal of Wuhan Botanical Research, 2010, 28(6): 649-653
- [2] 吴海燕,范希峰,武菊英. 柳枝稷“京稷 31”八倍体诱导及其表型与生理分析. 林业世界, 2019, 8(1): 10-16
Wu H Y, Fan X F, Wu J Y. Induction of octoploid and its phenotypic and physiological analysis in switchgrass “Jingji31”. World Journal of Forestry, 2019, 8(1): 10-16
- [3] Samuel B M L, Lynn A K. Development of switchgrass (*Panicum virgatum*) as a bioenergy feedstock in the United States. Biomass and Bioenergy, 2004, 28(6): 515-535
- [4] 刘吉利,朱万斌,谢光辉,林长松,程序. 能源作物柳枝稷研究进展. 草业学报, 2009, 18(3): 232-240
Liu J L, Zhu W B, Xie G H, Lin C S, Cheng X. The development of *Panicum virgatum* as an energy crop. Acta Prataculturae Sinica, 2009, 18(3): 232-240
- [5] Guo Z P, Gao Y N, Cao X L, Jiang W B, Liu X V, Liu Q, Chen Z, Zhou W N, Cui J, Wang Q Z. Phytoremediation of Cd and Pb interactive polluted soils by switchgrass (*Panicum virgatum* L.). International Journal of Phytoremediation, 2019, 21(14): 1486-1496
- [6] 高娅妮,刘倩,柳旭,王佳珍. 柳枝稷对镉、铅及其交互污染的耐性与累积效应. 家畜生态学报, 2019, 40(2): 56-64
Gao Y N, Liu Q, Liu X, Wang Q Z. Tolerance to cadmium and lead and their cross-contamination and accumulation effect in *Panicum virgatum*. Journal of Domestic Animal Ecology, 2019, 40(2): 56-64
- [7] Wang J F, Zhang L, Wang X Y, Liu L, Lin X P, Wang W J, Qi C D, Cao Y Y, Li S T, Ren S X, Zhang Y W, Zhang W J, Guo Y D. PvNAC1 increases biomass and enhances salt tolerance by decreasing Na⁺ accumulation and promoting ROS scavenging in switchgrass (*Panicum virgatum* L.). Plant Science: an International Journal of Experimental Plant Biology, 2019, 280: 66-76
- [8] 黄艳华. 褪黑素和液泡膜 Na⁺(K⁺)/H⁺ 逆向转运蛋白调控柳枝稷耐盐机制研究. 北京: 中国农业大学, 2018
Huang Y H. Study on melatonin and vacuolar Na⁺(K⁺)/H⁺ antiporter in the regulatory mechanisms of salt tolerance in switchgrass. Beijing: China Agricultural University, 2018
- [9] 彭霄鹏,聂双喜,刘璟,崔颖. 基于微波液化的木质纤维素组分分离和转化——纤维素组分的理化和酶解性质. 林业科学, 2019, 55(5): 134-141
Peng X P, Nie S X, Liu J, Cui Y. Physicochemical characterization and enzymatic hydrolysis of cellulosic component fractionated from microwave liquefied lignocellulosic biomass. Scientia Silvae Sinicae, 2019, 55(5): 134-141
- [10] 李敏,王雨,杨富裕. 栽培措施对柳枝稷产量与品质的影响研究进展. 草学, 2017(2): 5-8, 15
Li M, Wang Y, Yang F Y. The influence of cultivation measures on yield and quality of switchgrass. Journal of Grassland and Forage Science, 2017(2): 5-8, 15
- [11] Ameen A, Tang C C, Han L P, Xie G H. Short-term response of switchgrass to nitrogen, phosphorus, and potassium on semiarid sandy wasteland managed for biofuel feedstock. Bioenergy Research, 2018, 11: 228-238
- [12] Zheng A Q, Sun F L, Cheng T T, Wang Y F, Xie K L, Zhang C, Xi Y J. Genome-wide identification of members of the TCP gene family in switchgrass (*Panicum virgatum* L.) and analysis of their expression. Gene, 2019, 702: 89-98
- [13] Mazarei M, Baxter H L, Li M, Biswal A K, Kim K, Meng X Z, Pu Y Q, Wuddineh W A, Zhang J Y, Turner G B, Sykes R W, Davis M F, Udvardi M K, Wang Z Y, Mohnen D, Ragauskas A J, Labbé N, Stewart C N. Functional analysis of cellulose synthase Cesa4 and Cesa6 genes in switchgrass (*Panicum virgatum*) by overexpression and RNAi-mediated gene silencing. Frontiers in Plant Science, 2018, 9: 1114
- [14] Yang X M, Zhao H N, Zhang T, Zeng Z X, Zhang P D, Zhu B, Han Y H, Braz G T, Casler M D, Schmutz J, Jiang J M. Amplification and adaptation of centromeric repeats in polyploid switchgrass species. New Phytologist, 2018, 218(4): 1645-1657
- [15] 房磊,姜珊,席梦利,施季森,傅伟,杨斌. 麝香百合及东方百合品种核型分析. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2013, 37(1): 67-70
Fang L, Jiang S, Xi M L, Shi J S, Fu W, Yang B. The karyotype analysis of longiflorum lily and oriental lily. Journal of Nanjing Forestry University: Natural Sciences Edition,

- 2013, 37(1): 67-70
- [16] Xi M, Tuyl J M V, Arens P. GISH analyzed progenies generated from allotriploid lilies as female parent. *Scientia Horticulturae*, 2015, 183: 130-135
- [17] Jiang J, Hulbert S H, Gill B S, Ward D C. Interphase fluorescence in situ hybridization mapping: a physical mapping strategy for plant species with large complex genomes. *Molecular & General Genetics Mgg*, 1996, 252(5): 497-502
- [18] 张力鹏, 刘博, 陈成彬. 植物染色体分子核型技术研究进展. *北方园艺*, 2014(8): 179-183
- Zhang L P, Liu B, Chen C B. Research advances in plant chromosomal molecular karyotyping. *Northern Horticulture*, 2014(8): 179-183
- [19] Mariana B, Gustavo S, Marcelo G. Genome size and cytomelecular diversification in two species of the South African endemic genus *Tulbaghia* L. *Allioideae*, *Amaryllidaceae*. *South African Journal of Botany*, 2020, 130: 407-413
- [20] 张同林, 熊国勇, 章逸. 禾本科小麦族五个类群的核型分析. *湖北农业科学*, 2015, 54(15): 3600-3603
- Zhang T L, Xiong G Y, Zhang Y. Analysis on karyotypes of five taxa in *triticeae* of *Poaceae*. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(15): 3600-3603
- [21] 阎贵兴, 张素贞, 云锦凤, 富象乾, 王六英. 33 种禾本科饲用植物的染色体核型研究. *中国草地*, 1991(5): 1-13
- Yan G X, Zhang S Z, Yun J F, Fu X Q, Wang L Y. 33 karyotypes of forage grass species. *Chinese Journal of Grassland*, 1991(5): 1-13
- [22] 李娜, 印丽萍, 郭水良. 高粱属 4 种植物的核型及其与入侵性关系探讨. *植物检疫*, 2009, 23(6): 6-9
- Li N, Yin L P, Guo S L. Karyo types of four species of sorghum and their relationships with in vasiveness. *Plant Quarantine*, 2009, 23(6): 6-9
- [23] 唐艳梅, 易自力, 邓果特, 杜凤, 项伟, 郑铖, 刘清波, 刘福来, 肖亮. 4 种芒属植物的核型分析及亲缘关系探讨. *湖南农业大学学报: 自然科学版*, 2018, 44(5): 487-494
- Tang Y M, Yi Z L, Deng G T, Du F, Xiang W, Zheng C, Liu Q B, Liu F L, Xiao L. Chromosome karyotypic analysis on four *Miscanthus* species and their genetic relationship. *Journal of Hunan Agricultural University: Natural Sciences*, 2018, 44(5): 487-494
- [24] 张新全, 杜逸, 郑德成, 余成瑶. 湖南稷子和长叶雀稗染色体核型分析. *四川草原*, 1996(2): 16-18, 44
- Zhang X Q, Du Y, Zheng D C, Yu C Y. Karyotype analysis of millet and *paspalum* chromosome in hunan. *Journal of Sichuan Grassland*, 1996(2): 16-18, 44
- [25] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold Ltd, 1971
- [26] Thomas H M, Harper J A, Meredith M R, Morgan W G, Thomas I D, Timms E, King I P. Comparison of ribosomal DNA sites in *Lolium* species by fluorescence in situ hybridization. *Chromosome Research*, 1996, 4(7): 486-490
- [27] Schubert I, Wobus U. In situ hybridization confirms jumping nucleolus organizing regions in *Allium*. *Chromosoma*, 1985, 92(2): 143-148
- [28] Cazaux B, Catalan J, Veyrunes F, Douzery E J, Britton D J. Are ribosomal DNA clusters rearrangement hotspots? A case study in the genus *Mus*. (*Rodentia*, *Muridae*). *BMC Evolutionary Biology*, 2011, 11(1): 1-14
- [29] Huang M, Li H, Zhang L, Gao F, Wang P, Hu Y, Yan S H, Zhao L, Zhang Q, Tan J J, Liu X C, He S B, Li L J. Plant 45S rDNA clusters are fragile sites and their instability is associated with epigenetic alterations. *PLoS ONE*, 2012, 7(4): e35139
- [30] Stults D M, Killen M W, Williamson E P, Hourigan J S, Vargas H D, Arnold S M, Moscow J A, Pierce A J. Human rRNA gene clusters are recombinational hotspots in cancer. *Cancer Research*, 2009, 69(23): 9096-9104
- [31] Otto S P. The evolutionary consequences of polyploidy. *Cell*, 2007, 131(3): 452-462

(上接第 1286 页)

- new crop in agriculture. *Euphytica*, 1989, 40(1-2): 1-14
- [33] Bannerot H, Bouldard L, Cauderon Y, Tempe J. Transfer of cytoplasmic male sterility from *Raphanus sativus* to *Brassica oleracea*. *Eucarpia Meeting Cruciferae*, Dundee, Scotland, 1974: 52-54
- [34] Brown G G, Formanová N, Jin H, Wargachuk R, Dendy C, Patil P, Laforest M, Zhang J, Cheung W, Landry B S. The radish *Rfo* restorer gene of Ogura cytoplasmic male sterility encodes a protein with multiple pentatricopeptide repeats. *The Plant Journal*, 2003, 35(2): 262-272
- [35] Verkerk R. Evaluation of glucosinolate levels throughout the production chain of *Brassica* vegetables towards a novel predictive modelling approach. Wageningen: Wageningen Universiteit, 2002
- [36] 何湘漪, 何洪巨, 范志红, 赵学志. 烹调方法对 3 种十字花科蔬菜中硫代葡萄糖苷物质保存的影响. *中国食品学报*, 2013, 13(8): 124-131
- He X Y, He H J, Fan Z H, Zhao X Z. Effect of cooking on glucosinolates in three cruciferous vegetables. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2013, 13(8): 124-131
- [37] Schonhof I, Krumbein A, Brückner B. Genotypic effects on glucosinolates and sensory properties of broccoli and cauliflower. *Nahrung*, 2004, 48(1): 25-33
- [38] Lou P, Zhao J, He H, Hanhart C, Pino Del Carpio D, Verkerk R, Custers J, Koornneef M, Bonnema G. Quantitative trait loci for glucosinolate accumulation in *Brassica rapa* leaves. *New Phytologist*, 2008, 179(4): 1017-1032
- [39] Zhang J, Liu Z, Liang J, Wu J, Cheng F, Wang X. Three genes encoding AOP2, a protein involved in aliphatic glucosinolate biosynthesis, are differentially expressed in *Brassica rapa*. *Journal of Experimental Botany*, 2015, 66(20): 6205-6218
- [40] Li J, Hansen B G, Ober J A, Kliebenstein D J, Halkier B A. Subclade of flavin-monooxygenases involved in aliphatic glucosinolate biosynthesis. *Plant Physiology*, 2008, 148(3): 1721-1733