



引用格式: 周子琦, 孙楠, 严雅洁, 等. 慈姑基因组大小鉴定及核型分析[J]. 西北植物学报, 2024, 44(7): 1122-1128. [ZHOU Z Q, SUN N, YAN Y J, et al. Genome size identification and karyotype analysis of *Sagittaria trifolia* [J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2024, 44(7): 1122-1128.] DOI:10.7606/j.issn.1000-4025.20230744

慈姑基因组大小鉴定及核型分析

周子琦, 孙楠, 严雅洁, 杨志远, 李良俊, 冯凯*

(扬州大学 园艺园林学院, 江苏扬州 225009)

摘要 【目的】慈姑是中国重要的园艺经济作物, 其基因组大小的鉴定和核型分析对慈姑基因组学研究及分子遗传学研究必不可少, 现阶段慈姑的基因组大小及染色体形态未知, 本研究将为慈姑的育种和物种进化研究提供更多细胞学的参考。【方法】采用流式细胞技术、荧光原位杂交技术, 参考裂解液配方、探针配置, 对慈姑品种‘紫金星’(ZJX)的根尖基因组大小进行鉴定, 并对其染色体形态进行分析观察。【结果】(1)所测慈姑为二倍体植物, ‘紫金星’慈姑基因组为 16 Gb 左右。(2)用 DAPI 荧光染色获得其染色体数目稳定, 且与端粒荧光原位杂交的结果完全吻合, 均为 22 条; 染色体类型有中部着丝粒、近中部着丝粒以及近端部着丝粒, 近端部着丝粒最多, 且未发现随体; 核型公式为: $2n=2x=22=6m+4sm+12st$, 属于 Stebbins 类型中的 3B 型, 核型不对称系数为 99.13。【结论】慈姑基因组大小中等, 核型极不对称, 进化程度较高。

关键词 慈姑; 基因组大小; 荧光原位杂交; 核型分析

中图分类号 S645.9 **文献标志码** A

Genome size identification and karyotype analysis of *Sagittaria trifolia*

ZHOU Ziqi, SUN Nan, YAN Yajie, YANG Zhiyuan, LI Liangjun, FENG Kai*

(College of Horticulture and Landscape Architecture, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China)

Abstract [Objective] *Sagittaria trifolia* is an important horticultural and cash crop in China. Identification of genome size and analysis of karyotype are essential for genome research and molecular genetics of *S. trifolia*. Currently, the genome size and chromosome morphology of *S. trifolia* are unclear. The present study provides cytological references to *S. trifolia* breeding and species evolution analysis. [Methods] Using flow cytometry and fluorescence in situ hybridization, together with reference to the lysate formulation to probe configuration, the genome size of the root tips of *S. trifolia* variety ‘Zijinxing’ (ZJX) was identified and the chromosome morphology was analyzed. [Results] (1) The tested cecropia was a diploid plant, and the genome of ‘Zijinxing’ cecropia was about 16 Gb. (2) Using DAPI fluorescence staining, the number of chromosomes was identified to be stable, consistent with the results of telomeric fluorescence in situ hybridization. The chromosome types were middle mitotic (metacentric chromosome), near-middle mitotic (submetacentric chromosome), and proximal mitotic (acrocentric chromo-

收稿日期: 2023-11-20; 修改稿收到日期: 2023-12-20

基金项目: 国家特色蔬菜产业技术体系项目 (CARS-24); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目 [JBGS(2021)017]

作者简介: 周子琦 (1999—), 男, 硕士生, 主要从事蔬菜作物分子生物学研究。E-mail: dyzzq1999@163.com

* 通信作者: 冯凯, 硕士生导师, 主要从事蔬菜作物育种及分子生物学研究。E-mail: fengkai@yzu.edu.cn

some), with the most centromere was found in the proximal part, and no satellite was found. The karyotype formula was $2n=2x=22=6m+4sm+12st$, belonging to the type 3B of Stebbins, with the asymmetry coefficient of 99.13. [Conclusion] The study concludes that the genome of *S. trifolia* is of medium size, with a highly asymmetric karyotype and a high degree of evolution.

Key words *Sagittaria trifolia*; genome size; FISH; karyotype analysis

慈姑(*Sagittaria trifolia* L.)属于泽泻科慈姑属、多年生直立水生草本植物^[1],该科植物分布广泛,在中国主要分布在长江流域以南地区,其进化历史复杂,兼具观赏、食用价值。球茎是慈姑的主要食用部位,其物质主要是淀粉,并富含多种维生素与膳食纤维,慈姑多糖有护肝、抗氧化、降血糖^[2]等药用价值,在富营养化水体的治理中也有较多的应用^[3],是中国一种重要的特色水生蔬菜作物,对实行乡村振兴战略、出口创汇等领域有不可替代的作用^[4],受到生态学家及植物学家长期以来的关注^[5]。

虽然,当前对于慈姑的研究已有一些进展,但是多偏重于栽培技术、营养成分以及产品开发等方面^[6],对其基因组大小、染色体形态的认知尚不明确。基因组大小鉴定以及核型分析研究对培育抗病虫害、适应气候变化的农作物和开发新育种技术具有重要意义^[7]。基因组大小也是一项重要的遗传学指标,在基因组序列分析、种群基因组多样性和进化演变等领域发挥重要作用^[8]。目前常用于基因组大小测定的方式有 2 种,即流式细胞术与 Feulgen 分光光度法^[9],20 世纪 70 年代,流式细胞技术出现,由于其具有快速分析、多参数、高精度、高灵敏的特点,被广泛用于对细胞进行高速分析与分选,已成为植物基因组大小预测的重要方法,是研究植物学、细胞生物学等领域的重要参考数据^[10]。

植物的染色体数目和形态是遗传物质在细胞水平上最稳定的表征之一。进一步的核型分析在物种倍性鉴定、进化程度评估和亲缘关系研究等领域提供了细胞学依据,因此对于杂交育种、染色体定位等应用具有重要意义^[11]。而荧光原位杂交技术是进行分子细胞遗传学分析的一种有力工具,该技术具有高灵敏度和高分辨率的特点,因此在现代细胞遗传学研究中得到了广泛应用^[12]。

目前关于水生蔬菜的基因组研究已逐渐深入,莲藕^[9]、芡实^[13]、水芹^[14]等水生蔬菜基因组大小已有报道,但慈姑基因组大小尚不清楚,而现阶段对慈姑的核型研究只局限于慈姑属及泽泻属等进行常规压片、银染方法的核型比较分析,鲜见有对慈姑分子

细胞学的研究,使得在其育种领域存有一定挑战。本次试验笔者通过流式细胞技术对慈姑基因组大小进行测定,并区别于传统压片方法,采用荧光原位杂交技术进行慈姑染色体核型分析,以期对慈姑种质资源遗传多样性和优良品种选育提供依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

供试慈姑品种‘紫金星’(ZJX)是由扬州大学选育的慈姑新品种,慈姑球茎外表皮呈紫红色,保存于扬州大学水生蔬菜试验地,并进行常规田间管理(图 1)。



图 1 紫金星地上部分与地下部分
Fig. 1 Above and below ground parts of ‘ZJX’

1.2 流式细胞术检测

根据前人报道,试验采用的解离液配方为:45 mmol/L $MgCl_2 \cdot 6H_2O$, 20 mmol/L MOPS, 30 mmol/L 柠檬酸钠,1% (W/V) PVP 40,0.2% (V/V) Tritonx-100,10 mmol/L Na_2EDTA ,20 $\mu L/mL$ β -巯基乙醇,pH=7.5^[15]。将待测样品置于预冷的 0.8 mL MG^b 解离液中,并迅速使用锋利的刀片将组织垂直切碎,使其保存在解离液中并处于冰上静置 10 min,然后使用 40 μm 孔径滤网过滤,最后得到细胞核的悬浮液^[16]。在细胞核悬浮液中,加入适量的荧光染料 PI 碘化丙啶,同时加入 RNAase 溶液且置于冰上避光染色 1 h,2 种溶液浓度均为 45 $\mu g/mL$ ^[16]。

选择慈姑叶片部位作为待测材料进行流式细胞术分析,基于本试验室保存的参考基因组,选用大麦作为本次流式细胞术参考基因组,基因组大小为

4.79 Gb,为本试验室保存的最大参考基因组。制作悬浮液,按适当比例,将其与待测样品进行混合。随后使用流式细胞仪对该悬浮液样品进行分析,使用 488 nm 的蓝光激活检测荧光强度,且将变异系数控制在 5% 以内。

1.3 荧光原位杂交

待样品的根尖长度达到 2~3 cm 后,切取根尖放入湿润离心管中,并置于装有 1 MPa 左右笑气的充气罐静置 2 h,加入 95% 预冷处理的冰醋酸,固定完成后,用双蒸水清洗 2 次^[17]。将根尖白色部分切下放入 25 μ L 酶液(纤维素酶与果胶酶按 3:1 比例配制)进行酶解。结束后,根尖用 70% 的酒精洗 3 次,充分振荡,用解剖针使其破碎。向离心管中加入 30 μ L 冰醋酸,随后进行离心,接着吸取 8 μ L 的细胞悬浮液直接滴在载玻片上,立即将盒子盖上,晾干载玻片后取出^[18]。

将 0.5 mL 离心管置于冰上,依次加入 5 μ L 的 10 $\times$ NT(反应缓冲液)、5 μ L 的二硫苏糖醇(DTT)、1 μ g 的模板 DNA、5 μ L 的 dNTP、2 μ L 的 Fluorescein-12-dUTP(荧光绿)或 Texas Red-5-dUTP(荧光红)、2 μ L (4 U/ μ L) 的 DNA 聚合酶 I、1.8 μ L DNase I(1.2:1000)、28.2 μ L 的双蒸水,总体积为 50 μ L,充分混匀溶液。随后进行离心、水浴操作,保持水温 15 $^{\circ}$ C 并持续 3 h,使试剂充分反应。将装有充分反应试剂的离心管,在冰上静置 5 min,随后置于 65 $^{\circ}$ C 的水浴锅中处理 7 min。用 QIAgen 试剂盒对上述已充分反应标记的探针进行纯化处理,将纯化的探针在-20 $^{\circ}$ C 环境下保存备用。

端粒利用合成的末端(TTTAGGG)_n 探针,5S rDNA 和 18S rDNA 探针分别为标记好的 pTa794

和 pTa71 质粒 DNA,每张制片加入 8 μ L 的 1 $\times$ TE 2 $\times$ SSC(pH=7.0)溶液,再加入 0.25 μ L 的探针溶液,然后加入标记探针。将标记的探针溶液加入每张玻片中,盖上盖玻片,在 80 $^{\circ}$ C 下进行 5 min 的变性处理后放入杂交盒中。用 SSC 缓冲液清洗玻片 2~3 次。吹干玻片,准备 8 μ L 的荧光染色材料 DA-PI,滴在载玻片上,立即盖上盖玻片。

用已完成原位杂交的玻片在高分辨率的荧光显微镜 CCD 下照相,进行染色体核型的精准分析。

1.4 数据处理

基因组大小计算公式:待测样品 DNA 含量=内参 DNA 含量 $\times$ 待测样品的荧光强度/内参样品的荧光强度^[19]。用 Modifit3、Excel、Adobe Photoshop、ImageJ 等软件进行作图和数据分析。本次试验采用李懋学和陈瑞阳^[20]的核型分析标准,另外,参照 Levan 着丝点命名系统,并根据染色体的核型对称程度加以区分,用 Stebbins 核型分类法。

2 结果与分析

2.1 慈姑基因组大小鉴定

用流式细胞术对慈姑染色体的 DNA 总量进行测定,收集的完整细胞核数目超过 10 000 个,变异系数(CV)<5%,细胞核完整性较好。以大麦(4.79 Gb)为参考基因组进行分析,结果表明内参基因组的测定峰与慈姑基因组测定峰两者之间清晰无重叠,2 个样品的离子集中且明晰,并能检测到混合样品的颗粒簇(图 2),证明大麦作为内参,具有较高的可靠性^[21]。根据测定数据,分析得到慈姑样本基因组大小,‘紫金星’大小为(16.57 $\pm$ 0.10) Gb,基因组大小中等(表 1)。

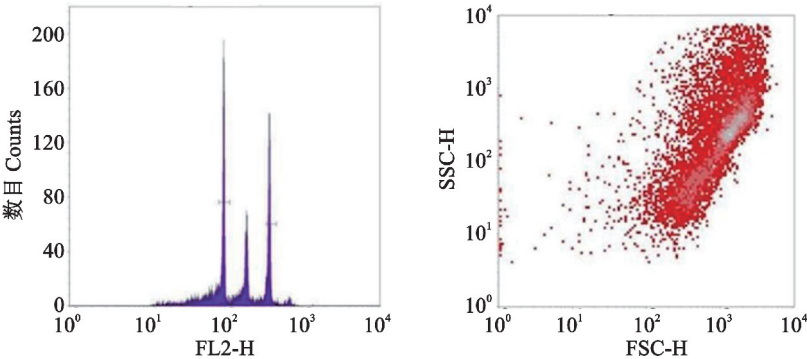


图 2 流式细胞仪检测慈姑结果

Fig. 2 Flow cytometry assay for *S. trifolia*

表 1 ‘紫金星’基因组大小
Table 1 Genome size for ‘ZJX’

试验材料 Material	内参 Internal reference	内参荧光强 Fluorescence intensity	待测样品荧光强度 Fluorescence intensity of the sample	比值 Ratio	基因组大小 Genome size/Gb
ZJX-1	大麦 Barley	105.79	367.93	3.48	16.66
ZJX-2	大麦 Barley	106.67	366.54	3.44	16.46
ZJX-3	大麦 Barley	108.88	376.96	3.46	16.58

2.2 染色体数目分析

用 DAPI(蓝色)对慈姑样本‘紫金星’进行荧光染色(图 3),测得慈姑的染色体数为 22 条,主要为近中部或近端部着丝粒染色体,基因组中等大小。进一步对所得慈姑染色体端粒进行荧光原位杂交试验(图 4),所得结果再次证实了慈姑的染色体数目为 22 条,二倍体植物,具有较高的可信度。

2.3 rDNA 荧光原位杂交结果

将所得染色体标本,用 5S rDNA 和 18S rDNA 探针进行荧光原位杂交,如图 5 所示,显示出 2 条较强的 5S rDNA(红色)信号,2 条显示较弱 5S rDNA(红色)信号;4 条染色体显示较强的 18S rDNA(绿

色)信号,2 条显示较弱 18S rDNA(绿色)信号。以上结果表明慈姑样本为 $2n=2x=22$ 的二倍体植物。

2.4 慈姑核型分析

由图 4 可知,对所得到的慈姑染色体核型图进一步编号及处理(图 6),用测量软件 ImageJ 进行数据处理,得到慈姑染色体数目为 22 条,基数为 11;对染色体进行长度测量并制表(表 2),22 条染色体中,除了 2 号、6 号及 11 号为中部着丝点染色体(metacentric chromosome,m),1 号与 9 号为近中部着丝粒染色体(submetacentric chromosome,sm),其余皆为近端部着丝粒染色体(acrocentric chromosome,st)。

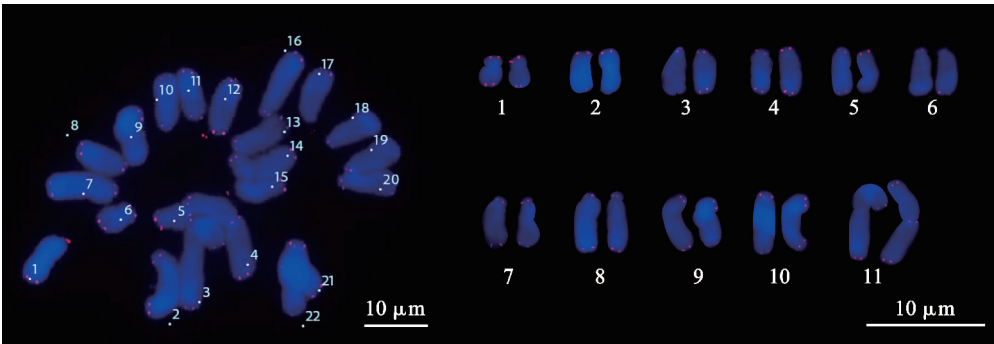
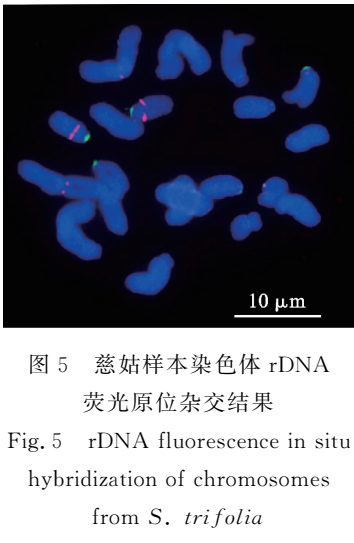
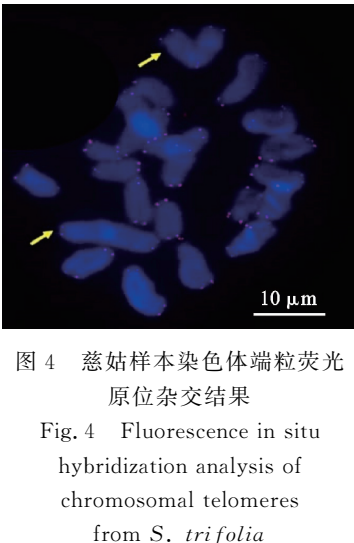
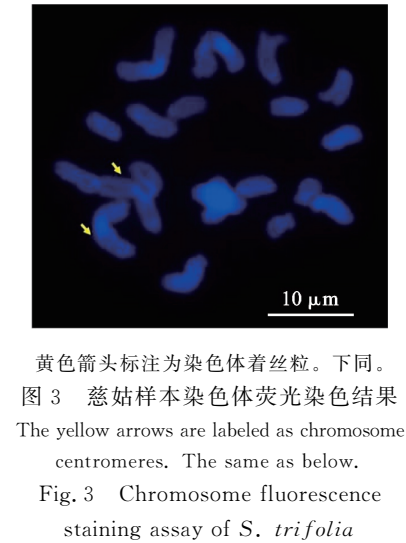


表 2 慈姑的染色体长度、臂比和类型
Table 2 The length, arm ratios, and types of chromosomes in *S. trifolia*

染色体序号 Chromosome Number	相对长度 Relative length/%			臂比 (长臂/短臂) Arm ratio (Long/short)	染色体类型 Chromosome type	着丝点指数 Index of filamentation/%
	短臂 Short arm	长臂 Long arm	全长 Full length			
1	2.00	4.21	6.21	2.10	sm	32.23
2	3.90	5.23	9.13	1.34	m	42.69
3	1.64	6.77	8.41	4.12	st	19.52
4	1.80	7.49	9.28	4.17	st	19.35
5	1.64	7.95	9.59	4.84	st	17.14
6	4.10	5.80	9.90	1.41	m	41.45
7	1.44	8.56	10.00	5.96	st	14.37
8	1.69	9.59	11.28	5.67	st	15.00
9	3.28	8.62	11.90	2.63	sm	27.58
10	2.67	9.44	12.10	3.54	st	22.04
11	8.80	9.00	17.80	1.02	m	49.44

以 Levan 着丝点命名系统为参考标准得到其核型公式为:2n=2x=22=6m+4sm+12st;基因组中臂比大于 2.0 的染色体占 72%,最长与最短染色体的绝对长度比值为 2.86,以 Stebbins 核型分类法为参考标准得到其核型类型为“3B”,按 Arano 的方法计算染色体组中核型不对称系数为 99.13,其核型极不对称,对此进一步分析,绘制出核型模式图(图 7)。

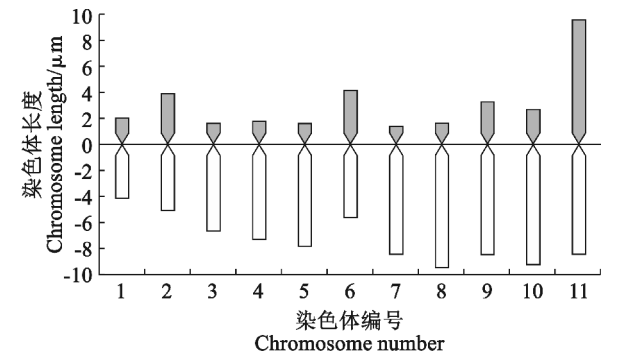


图 7 慈姑染色体核型图

Fig. 7 Chromosomal karyotype of *S. trifolia*

3 讨论

3.1 慈姑基因组大小鉴定比较

流式细胞技术凭借其高效、准确的优势,在生物学等领域有重要的利用价值,其在植物学领域对细胞基因组大小、植物倍性以及细胞的分选提供可信的测量方式^[18]。但是,目前为止鲜有对慈姑基因组大小进行详细报道。用流式细胞术进行 C 值测定

时,因样品、仪器的某些差异等因素造成的误差,可用内参法消除^[15]。本研究选用大麦样品作为内参,结果显示内标峰值已近于样本峰值的一半,且两峰之间区分明显,符合理想状态的峰值,表明用已知基因组大小的大麦样品作为测定内标其结果具有较高的可信度^[19]。

本试验对慈姑基因组大小进行报道,慈姑虽品种较多,但其基因组大小差异较小,未发现明显的 C 值变异,均在 16 Gb 左右,与其他水生蔬菜如水芹、莲藕、芡实相比,慈姑基因组显著较大。生物的进化程度以及复杂性与其 C 值大小无关,生物基因组大小处于稳定状态^[22],例如无恒变形虫的基因组大小达到 670 Gb^[23],是人类基因组大小的 84 倍(3.2 Gb)。随着相关研究不断深入,有研究证明生物进化随遗传信息量增加与其 C 值存在一定的内在必然关系,真核生物的基因组大小主要是由于非编码 DNA 序列的增加,一定程度上掩饰了其基因组大小与生物进化之间的关系,据研究表明,物种间的基因突变也改变了基因组大小^[23]。

3.2 慈姑核型分析比较

用 rDNA 与端粒荧光原位杂交对慈姑染色体核型进行探究,选用 5S rDNA 和 18S rDNA 探针(该探针稳定、高效),结果发现,慈姑为二倍体且并未发现随体。为区别于之前报道的银染方法,进一步用更高效的 FISH 技术进行测定分析,所得结果与之前对慈姑核型报道的某些参数上存在一定差异。

根据余朝文等^[24]对慈姑核型进行的研究报道,

核型公式为 $2n=2m+2sm+10st+8t$ 和 $2n=2m+2sm+18st$ (SAT),核型属于“3B”型,本研究结果与之基本相同。但是,与余朝文等^[24]和黄国振等^[25]所测得的慈姑单倍基因组长度的数据略有不同。造成差异的原因可能是由于试验材料、试验仪器、检测技术等因素的不同所致。根据报道对慈姑根尖进行有丝分裂的阻断时,不同的操作步骤和时间的选择会造成染色体不同程度蜷缩,其测量结果有较大差异^[19]。随着植物不断进化,其核型的演变呈现从对称逐渐至不对称的基本趋势,较为对称的核型一般出现在古老或者原始的物种,而一般认为进化程度与其核型的不对称系数呈现一定的正相关性^[26]。核型分析所提供的参数为探索慈姑物种进化关系提供参考,如需对慈姑的遗传进化深入研究,还需要结合分子试验等更多的数据,具体结论需要进一步研

究和讨论。总之,本次研究对慈姑基因组大小进行了报道,并对其染色体核型进行较为系统的试验,这将为研究慈姑的品系和物种进化提供新的细胞学参考数据^[27]。

4 结 论

研究通过鉴定慈姑基因组大小和分析其核型为探究慈姑全基因组提供基础。使用流式细胞术与荧光原位杂交相互印证,认为其不具有多倍性,测得基因组大小为 (16.57 ± 0.10) Gb,基因组大小中等,通过荧光原位杂交技术得到其有 6 条染色体为中部着丝点染色体,4 条为近中部着丝粒染色体,12 条为近端着丝粒染色体,其核型公式为: $2n=2x=22=6m+4sm+12st$,参考标准得到其核型类型为“3B”,核型不对称系数为 99.13,核型极不对称。

参考文献:

[1] 陈乐,朱静. 泽泻科泽泻属和慈姑属的研究[J]. 哈尔滨师范大学自然科学学报, 2010, 26(5): 92-93.
CHEN L, ZHU J. Studies on *Alisma* and *Sagittaria* in Alismataceae[J]. *Natural Science Journal of Harbin Normal University*, 2010, 26(5): 92-93.

[2] 罗永会,张翠香,徐春萍. 慈姑多糖降血糖的生物活性研究[J]. 大理学院学报(综合版), 2012(12): 4-5.
LUO Y H, ZHANG C X, XU C P. Research on hypoglycemic effect of the *Sagittaria trifolia* polysaccharide[J]. *Journal of Dali University*, 2012(12): 4-5.

[3] 高帅强,陈志远,李锋民,等. 沉水植物矮慈姑对重污染底泥的耐受及其中主要污染物的去除[J]. 环境科学学报, 2019, 39(7): 2182-2189.
GAO S Q, CHEN Z Y, LI F M, *et al.* Tolerance of *Sagittaria pygmaea* Miq to heavily polluted sediments and its removal of major pollutants[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2019, 39(7): 2182-2189.

[4] 冯凯,赵书平,吴鹏,等. 水生蔬菜种业发展现状及建议[J]. 江苏农业科学, 2022, 50(18): 245-249.
FENG K, ZHAO S P, WU P, *et al.* Present situation and suggestion of aquatic vegetable seed industry development[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2022, 50(18): 245-249.

[5] LI Z Z, LEHTONEN S, MARTINS K, *et al.* Complete genus-level plastid phylogenomics of Alismataceae with revisited historical biogeography [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2022, 166: 107334.

[6] 张永吉,苏芑,张瑛,等. 慈姑种质资源 ISSR 遗传多样性分析[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2022, 43(4): 110-116.

[7] ZHANG Y J, SU P, ZHANG Y, *et al.* Genetic diversity of arrowhead (*Sagittaria trifolia*) resources based on ISSR[J]. *Journal of Yangzhou University (Agricultural and Life Science Edition)*, 2022, 43(4): 110-116.

[8] PELLICER J, LEITCH I J. The application of flow cytometry for estimating genome size and ploidy level in plants [J]. *Methods in Molecular Biology*, 2014, 1115: 279-307.

[9] 李皎,周鹏,张强,等. 基于流式细胞术的北美冬青基因组大小测定[J]. 中国野生植物资源, 2023, 42(1): 29-34.

[10] LI J, ZHOU P, ZHANG Q, *et al.* Genome size determination of *Ilex verticillata* based on flow cytometry[J]. *Chinese Wild Plant Resources*, 2023, 42(1): 29-34.

[11] LIU Z W, ZHU H L, ZHOU J H, *et al.* Resequencing of 296 cultivated and wild lotus accessions unravels its evolution and breeding history[J]. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 2020, 104(6): 1673-1684.

[12] LOUREIRO J, TRAVNICEK P, RAUCHOVA J, *et al.* The use of flow cytometry in the biosystematics, ecology and population biology of homoploid plants[J]. *Preslia*, 2010, 82(1): 3-21.

[13] 余朝文,罗嫣. 云实的 45S rDNA 检测和核型分析[J]. 西北植物学报, 2019, 39(5): 911-916.

[14] SHE C W, LUO Y. Detection of 45S rDNA and karyotype analysis of *Caesalpinia decapetala* (Roth) Alston[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2019, 39(5): 911-916.

[15] YANG Y Z, SUN P C, LV L K, *et al.* Prickly waterlily and rigid hornwort genomes shed light on early angiosperm evolution[J]. *Nature Plants*, 2020, 6(3): 215-222.

[16] WU P, ZHANG L K, ZHANG K, *et al.* The adaptive evo-

lution of *Euryale ferox* to the aquatic environment through paleo-hexaploidization[J]. *The Plant Journal: For Cell and Molecular Biology*, 2022, 110(3): 627-645.

[14] LIU J X, LIU H, TAO J P, *et al.* High-quality genome sequence reveals a young polyploidization and provides insights into cellulose and lignin biosynthesis in water dropwort (*Oenanthe sinensis*)[J]. *Industrial Crops and Products*, 2023, 193: 116203.

[15] 李春牛, 李先民, 黄展文, 等. 利用流式细胞术鉴定茉莉花基因组大小和染色体倍性[J]. 热带作物学报, 2021, 42(5): 1231-1236.

LI C N, LI X M, HUANG Z W, *et al.* Genome size estimation and ploidy identification of *Jasminum sambac* by flow cytometry[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2021, 42(5): 1231-1236.

[16] 张洪军. 多年生簇毛麦 1V~b 染色体导入小麦及分子细胞遗传学鉴定[D]. 成都: 电子科技大学, 2017.

[17] 李春鑫, 王会伟, 王艳, 等. 3 种粒型油莎豆种质特性分析[J]. 西北植物学报, 2022, 42(5): 776-782.

LI C X, WANG H W, WANG Y, *et al.* Germplasm character analysis of three typical tubers of *Cyperus esculentus* accessions[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2022, 42(5): 776-782.

[18] 蒲婷婷, 张琦, 王艺儒, 等. 柿多倍体育种研究进展[J]. 果树学报, 2023, 40(8): 1741-1749.

PU T T, ZHANG Q, WANG Y R, *et al.* Research advances and prospects in polyploid breeding of persimmon[J]. *Journal of Fruit Science*, 2023, 40(8): 1741-1749.

[19] 董雷. 蜡梅科植物基因组大小预测与核型分析[D]. 武汉: 华中农业大学, 2017.

[20] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297-302.

LI M X, CHEN R Y. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. *Plant Science Journal*, 1985, 3(4): 297-302.

[21] 康阳, 赵凯, 刘钰颖, 等. 基于流式细胞术对朱砂根种质资源基因组大小的测定[J]. 福建农业学报, 2023, 38(2): 137-143.

KANG Y, ZHAO K, LIU Y Y, *et al.* Flow cytometric determination on genome size of *Ardisia crenata* germplasms[J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2023, 38(2): 137-143.

[22] 王晶, 杨冰洁, 潘隆应, 等. 基于荧光原位杂交技术的紫薇属植物核型分析[J]. 西北植物学报, 2016, 36(1): 30-36.

WANG J, YANG B J, PAN L Y, *et al.* Karyotype analysis of *Lagerstroemia* species with 45S rDNA-FISH[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2016, 36(1): 30-36.

[23] 石米娟, 程莹寅, 张婉婷, 等. 浅析基因组大小的进化机制[J]. 科学通报, 2016, 61(30): 3188-3195.

SHI M J, CHENG Y Y, ZHANG W T, *et al.* The evolutionary mechanism of genome size[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2016, 61(30): 3188-3195.

[24] 余朝文, 蒋向辉. 慈姑 45S rDNA 和端粒序列检测及核型分析[J]. 植物科学学报, 2015, 33(4): 507-512.

SHE C W, JIANG X H. Detection of 45S rDNA and telomere sequences and karyotype analysis of *Sagittaria trifolia* L.[J]. *Plant Science Journal*, 2015, 33(4): 507-512.

[25] 黄国振, 杜冰群, 吴玉兰, 等. 慈姑染色体的组型分析及其分段现象[J]. 遗传学报, 1980, 7(4): 354-360.

HUANG G Z, DU B Q, WU Y L, *et al.* Karyotype analysis of arrowhead's chromosome and its phenomenon of separating segment of chromosome[J]. *Acta Genetica Sinica*, 1980, 7(4): 354-360.

[26] 段英姿, 客绍英, 王晓英, 等. 15 个油用紫斑牡丹品种核型及亲缘关系分析[J]. 种子, 2023, 42(7): 96-104.

DUAN Y Z, KE S Y, WANG X Y, *et al.* Karyotype and genetic relationship analysis of 15 varieties of *Paeonia rockii*[J]. *Seed*, 2023, 42(7): 96-104.

[27] 段一凡, 李岚, 杨欣欣, 等. 桂花及其近缘种倍性和基因组大小分析[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2021, 45(5): 47-52.

DUAN Y F, LI L, YANG X X, *et al.* Study on ploidy and genome sizes of *Osmanthus fragrans* and its related species[J]. *Journal of Nanjing Forestry University* (Natural Sciences Edition), 2021, 45(5): 47-52.