

基于FCM测定的香蕉种质倍性分析

郭计华^{1,2}, 李绍鹏¹, 周丽², 桂腾琴², 谢子四³, 李新国^{1*}

(¹热带作物种质资源保护与开发利用教育部重点实验室·海南大学园艺园林学院, 海口 570228;

²兴义民族师范学院, 贵州兴义 562400; ³中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所, 海南儋州 571737)

摘要:【目的】基于流式细胞术(FCM)分析结果,从细胞学层面上准确揭示不同基因组类型香蕉种质的倍性差异,为香蕉遗传多样性研究及选择育种提供基础支撑。【方法】以二倍体(AA)‘陵水野生蕉’(*Musa AA acuminata* ‘Lingshui Yeshengjiao’)为内参,利用FCM技术,对11份香蕉种质资源进行了倍性鉴定分析。【结果】依据(FCM)结果分析,参与分析样品的倍性可分为4大类:第I类有‘红河矮’蕉(*M. AAA Cavendish* ‘Honghe Ai’)和‘陵水野生蕉’,属于2N;第II类有‘始兴BB’(*M. balbisiana* ‘Shixing BB’)、‘东莞中把大蕉’(*M. ABB Cavendish* ‘Dongguan Zhongba Dajiao’)、‘Pisang Ceylan’和‘FHIA-18’4个种质,属于3N;第III类有‘Cachaco’‘FHIA-17’‘FHIA-03’和‘TMB×5259-1’4个种质,均属于4N;第IV类‘红香蕉’(‘Red banana’),在FCM分析中,此种质出现了2个峰值,第一个峰值为52.79,第二个峰值为103.24,测定时2个峰同时出现,且重复性好,可能是二倍体与四倍体混倍形成。【结论】较之传统方法,FCM准确揭示了DNA含量与倍性的关系,能更好地反映香蕉种质资源之间的遗传特征。

关键词: 香蕉; 倍性; 流式细胞术

中图分类号:S668.1

文献标志码:A

文章编号:1009-9980(2017)01-0012-07

Ploidy investigation of bananas (*Musa* spp.) by flow cytometry

GUO Jihua^{1,2}, LI Shaopeng¹, ZHOU Li², GUI Tengqin², XIE Zisi³, LI Xinguo^{1*}

(¹Key Laboratory of Protection and Developmental Utilization of Tropical Crop Germplasm Resources, Ministry of Education · College of Horticulture and Landscape Architecture, Hainan University, Haikou 570228, Hainan, China; ²Xingyi Normal University for Nationalities, Xingyi 562400, Guizhou, China; ³Tropical Crops Genetic Resource Institute, Chinese Academy of Tropical Agricultural Science, Danzhou 571737, Hainan, China)

Abstract: 【Objective】Banana(*Musa* spp.), originated from the southeast Asia, is the forth food crop in the world, which are important staple food and income-generating crops, especially to the people in the tropical and subtropical regions. Therefore, global banana production plays an important role in dealing with the problems derived from the global warming and the population expansion of the world. However, there are some problems existing in banana genetic improvement due to uncertainty of ploidy of varieties or breeds. The accurate determination of banana ploidy level is important for proper genetic manipulation and is a prerequisite for interspecific hybridization. So far, various methods, including conventional breeding, genetic transformation, morphological classification, cytological study, biochemical means and molecular markers, have been used to genetically manipulate bananas so as to improve its production. Chromosome counting is tedious and laborious to determine the ploidy of bananas. Flow cytometry(FCM) was employed to detect the ploidy of bananas in this study. 11 banana varieties, named *Musa* AAA Cavendish ‘Honghe Ai’, *M. AA acuminata* ‘Lingshui Yeshengjiao’, *M. balbisiana* ‘Shixing BB’, ‘Red banana’, *M. ABB Cavendish* ‘Dongguan Zhongba Dajiao’, ‘Pisang Ceylan’(AAB), ‘FHIA-18’(AAAB), ‘Cachaco’

收稿日期: 2015-08-25 接受日期: 2016-08-05

基金项目: 国家自然科学基金(30860170, 31260462); 贵州省科学技术厅、兴义民族师范学院联合基金项目(黔科合 LH 字[2014]7415 号); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教合 Y[2016]327)

作者简介: 郭计华,男,实验师,研究方向为果树生理与遗传。Tel:0859-3568043, E-mail: jihuaguo2009@163.com

*通信作者 Author for correspondence. Tel:0898-66262170, E-mail: lixinguo13@163.com

(ABB), 'FHIA-17'(AAAA), 'FHIA-03'(AABB) and 'TMB×5259-1'(ABBB) were chosen as materials. 【Methods】Approximately 0.5 cm² of fresh leaves were chopped with a sharp razor blade in a plastic Petri dish containing 2 mL HRA buffer for each sample. The suspension of nuclei was filtered through a 30 μm nylon mesh to remove large cellular materials. After that, the nuclear DNA of the sample was stained by adding 1 600 μL of 0.02 g·L⁻¹ propidium iodide. The sample was mixed gently and incubated briefly on ice before mixing again. A known diploid wild banana germplasm resource, *M. AA acuminata* 'Lingshui YeshengJiao', was used to test the standardisation of flow cytometry by using a Partec CyFlow[®] Space Flow Cytometer with a 405 nm laser. At least 5 000–10 000 nuclei were analyzed for each sample. Three leaf samples were tested from each of four plants of each accession. 【Results】The FCM was successfully used to analyze the ploidy of 11 banana germplasm resources in present study,. The ploidy of 11 banana clones were divided into four groups. The first group included *M. AAA Cavendish* 'Honghe Ai' and *M. AA acuminata*. 'Lingshui YeshengJiao', identified as 2 N. The second group contained *M. BB balbisiana* 'Shixing BB', *M. ABB Cavendish* 'Dongguan Zhongba Dajiao', 'Pisang Ceylan' and 'FHIA-18', identified as 3 N. The third group consisted of 'Cachaco', 'FHIA-17', 'FHIA-03' and 'TMB×5259-1', identified as 4 N. The fourth group only included 'Red banana', which showed two peak values in the analysis atlas, 52.79 and 103.24, with good repeatability. Our study had some different results from the previous research. *M. AAA Cavendish* 'Honghe Ai' previously was classified as triploid, *M. BB balbisiana*. 'Shixing BB' as diploid, 'FHIA-18' as tetraploid, and 'Cachaco' as triploid, , they were found to be diploid, triploid, triploid and triploid, respectively ,in our study. 【Conclusions】The ploidy of 11 banana varieties were identified by means of the FCM method and were divide into four groups. 'Red banana' might be a mixoploid derived from two diploid and tetraploid, and this needs further investigation to confirm.

Key words: *Musa* spp.; Ploidy; Flow cytometry

香蕉(*Musa* spp.)属于芭蕉科(Musaceae)芭蕉属单子叶植物,起源于亚洲东南部,属于典型的热带作物,也是继水稻(*Oryza sativa*)、小麦(*Triticum aestivum*)和玉米(*Zea mays*)之后、位列第四位的粮食作物^[1-3]。栽培的香蕉类型主要是三倍体(AAA、AAB和ABB),少量种植二倍体(AA)和四倍体(AAAA、AAAB、AABB和ABBB)品种(系)^[4]。

目前,香蕉的分类大多沿用Simmonds的传统分类法^[5],该分类方法基于香蕉的形态学特征,分类所依据的性状,大多是一些宏观或亚宏观特征。因此,该分类方法简单、易于掌握,在实践中应用较广,但该分类方法的弊端也是显而易见的,王正询等^[6]认为该分类系统侧重于形态,而形态学性状与染色体的构成并无必然的对应关系,加之栽培蕉的繁殖方式是无性繁殖,又是多倍体,许多染色体突变积累在这些无性系中,使原来的核型发生改变。另外,蕉类染色体属小型染色体,这给不同倍性种间和品种间的染色体标本的制作和核型比较分析带来了很大的困难^[7],并且核型分析只限于研究者凭肉眼在显微镜下

观察,这难免会在不同研究者之间以及不同材料之间的分析,带来判读和测量上的误差。

流式细胞术(Flow cytometry, FCM)的诞生标志着在单细胞水平上定性、定量分析及分选检测技能的快速发展,并在肿瘤学、血液学、免疫学等学科得到了广泛应用。但在植物学研究领域中,由于植物组织与细胞结构的复杂性,使流式细胞仪在植物科学中的应用滞后于其他学科^[8]。近年来,随着流式细胞仪多功能开发、多参数流式分析与分选技术建立、流式样品制备技术的不断更新,流式细胞术在植物科学领域如植物染色体分析与文库构建、植物遗传育种、植物分类学、逆境植物学、植物病理学等各个学科中显示出广阔的应用前景^[9]。流式细胞术的出现,使检测方法变得方便快捷,且细胞内DNA含量和倍性关联紧密^[10]。流式细胞术在检测原生质体的各项指标中运用广泛,如DNA含量检测^[11]、叶绿素含量检测^[12]、细胞凋亡检测^[13]等。Liu等^[14]利用流式细胞术对酸橙叶肉原生质体和甜橙胚性愈伤组织原生质体电融合后再生的体细胞杂种进行分析中发现,

原生质体存在完全融合的现象。目前FCM在高等植物的倍性鉴定上应用广泛而普遍^[15],其中包括芦笋^[16]、苜蓿^[17]和人参属植物^[18]等。

笔者以‘陵水野生蕉’(AA)为内参,利用FCM技术对11份香蕉种质资源进行了倍性鉴定分析,旨在从细胞学层面上揭示不同基因组类型香蕉种质的真实倍性,以期为香蕉种质的基因组学、物种分类以及种群进化等相关研究提供支撑。

1 材料和方法

1.1 材料

选择并收集11份香蕉种质,全部来自中国热带农业科学院热带作物品种资源研究所香蕉种质资源圃。11份香蕉种质共标识为9种基因组类型。试验所使用的材料全部为吸芽株。11份材料以及他们的基因组类型为:‘红河矮’蕉(*Musa* AAA *Cavendish* ‘Honghe Ai’)、‘陵水野生蕉’(*M.* AA *acuminata* ‘Lingshui YeshengJiao’)、‘始兴BB’(*M. balbisiana* ‘Shixing BB’)、‘红香蕉’(‘Red banana’, AAA)、‘东莞中把大蕉’(*M.* ABB *Cavendish* ‘Dongguan Zhongba Dajiao’)、‘Pisang Ceylan’(AAB)、‘FHIA-18’(AAAB)、‘Cachaco’(ABB)、‘FHIA-17’(AAAA)、‘FHIA-03’(AABB)和‘TMB×5259-1’(ABBB)。

1.2 方法

1.2.1 内参的选择 一般认为,作为FCM分析的DNA内参应具备以下特点^[19]:①应与待测种质的基因组大小接近;②基因组含量相对稳定;③基因组大小已知。在香蕉种质中,‘陵水野生蕉’(*Musa* AA *acuminata* ‘Lingshui YeshengJiao’)的倍性已知,为二倍体,符合上述条件,故在本研究中用做内参^[20]。

1.2.2 方法 试验的具体操作参照Kamate等^[21]和Roux等^[22]的方法。以已知倍性的二倍体香蕉种质‘陵水野生蕉’(AA)为对照材料,采用Partec CyS-tain CyFlow Space进行检测。具体实验流程为:将实验材料香蕉的幼嫩叶片切成约0.5 cm²大小,放入干净的培养皿,加入400 μL的细胞裂解提取液(HRA),然后用锋利的刀片迅速将香蕉叶片尽可能斩碎。之后加入1 600 μL的碘化丙啶(PI)染液染色,时间1~2 min,然后30 μm过滤器滤入试管,迅速上机测试。最后用CyFlow ML仪器,配备405 nm固态紫外激光,测试荧光接收范围为435~475 nm。以同样的增益值测试标样及其他样本,并记录各样本

荧光峰值强度。所测品种的倍性鉴定峰图由流式细胞仪自动生成并存储计算机中。为防止仪器热量散发或其他原因造成的数据不准确,每测完8个样品后,再进行对照样本的测试,以保证所测数据的准确性。

1.2.3 统计方法 当在流式细胞仪中进行样品分析时,自动记录得到的样品荧光峰值并储存为荧光图谱,计算荧光平均强度,比较强度的倍数关系,得到倍性结果。同时,流式细胞仪自动生成变异系数(coefficients of variation, CV),该指数既是流式细胞仪对样本特性(如样品是否新鲜等)的判断,也是对数据质量的判断:当CV<5%时,所测数据是理想的;当CV<10%时,所测数据是比较理想的;当CV>10%时,所测数据是不理想的。

2 结果与分析

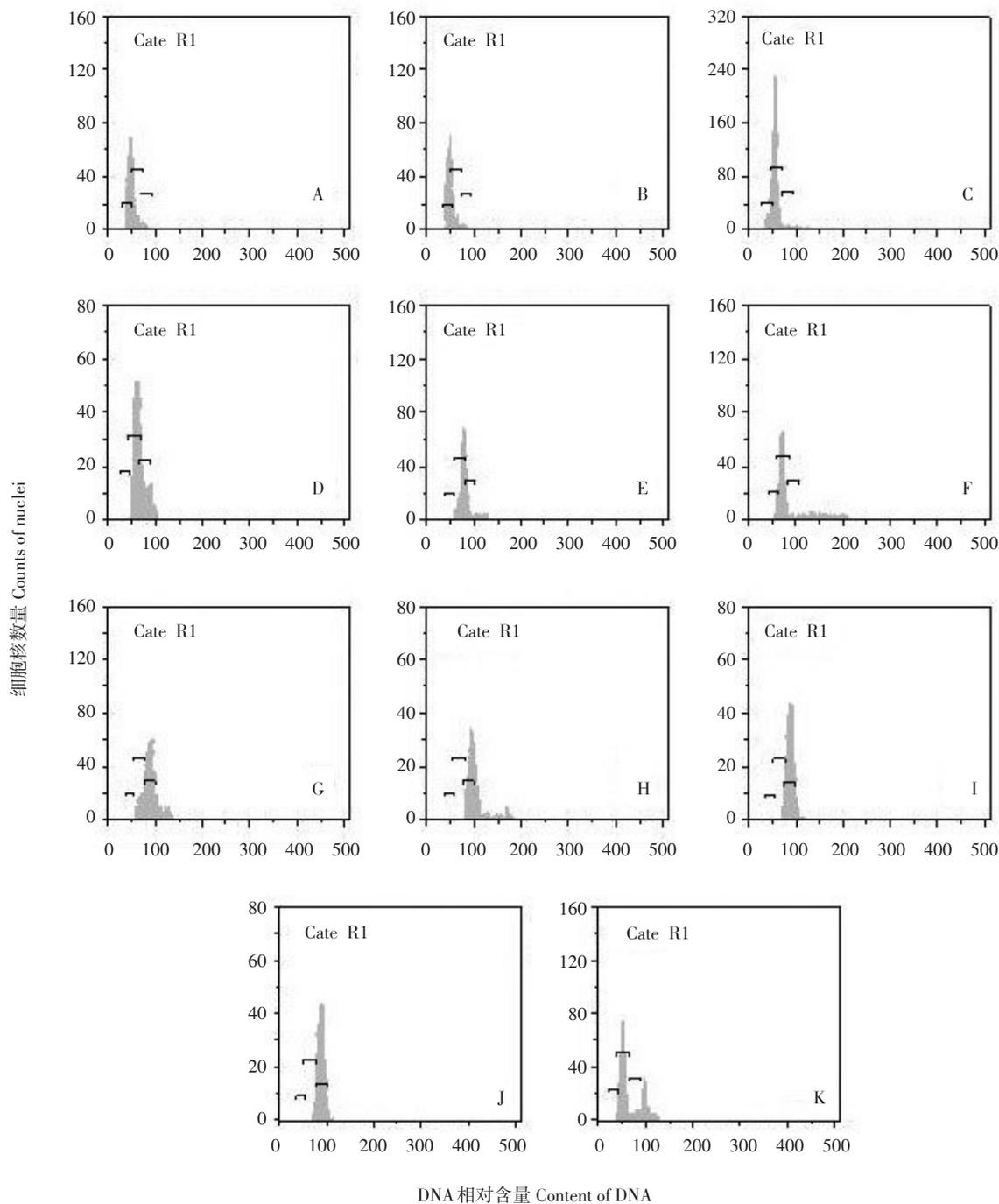
研究以‘陵水野生蕉’(AA)为内参,利用FCM技术对11份香蕉种质资源进行了倍性鉴定分析,FCM分析结果见图1。图1中直方图每个通道的核数量,直观的反应了相对的荧光强度值。图中横坐标代表了DNA的相对含量,荧光强度与A、T碱基的含量成正比,与染色体含量的多少也成正比;C、D、E 3个区域分别表示二倍体、三倍体、四倍体的倍性水平;纵坐标代表细胞数量。FCM对11份香蕉种质资源倍性鉴定分析的其他结果见表1。

在FCM测量结果的基础上,对11份香蕉种质资源进行了倍性鉴定分析(表1)。依据这些结果,将11份香蕉种质分为IV大类:第I类有‘红河矮’蕉和‘陵水野生蕉’,其倍性属于2N;第II类有‘始兴BB’‘东莞中把大蕉’‘Pisang Ceylan’和‘FHIA-18’4个种质,其倍性属于3N;第III类有‘Cachaco’‘FHIA-17’‘FHIA-03’和‘TMB×5259-1’4个种质,倍性均属于4N;第IV类只有‘红香蕉’,此蕉的FCM图谱中出现了2个峰值,第一个峰值为52.79,第二个峰值为103.24,测定时2个峰同时出现,且重复性好,与其他供试材料有明显的差异。造成‘红香蕉’与其他香蕉种质之间这种差异的原因,除了来自材料的内标和选择、染色时间、系统稳定性等影响及外界环境干扰外,可能意味着‘红香蕉’属于不同的2个倍性的混倍体,但引起其基因组大小差异的主要作用因子,仍有待于进一步研究。

供试的11份香蕉种质中,不同倍性之间、同一

倍性之间的种质DNA的含量都有一定的差异存在(图1,表1)。其中,荧光值的最大峰出现在‘红香蕉’的两个峰之一,为103.24,而最小的荧光峰值出

现在‘陵水野生蕉’,为47.75。在传统的形态学分类中,‘红河矮’蕉的基因型被定性为三倍体(AAA)、『始兴BB’被定性为二倍体(BB)、『FHIA-18’被定性



A. 红河矮蕉(AAA);B. 陵水野生蕉(AA);C. 始兴 BB (BB);D. 东莞中把大蕉 (ABB);E. Pisang Ceylan (AAB);F. FHIA-18 (AAAB);G. Cachaco (ABB);H. FHIA-17 (AAAA);I. FHIA-03 (AABB);J. TMB×5295-1 (ABBB);K. 红香蕉 (AAA)。

A. *Musa* AAA *cavendish* Honghe Ai; B. *M. acuminata* ‘Lingshui YeshengJiao’; C. *M. balbisiana* Shixing BB; D. *M. ABB cavendish* Dongguan Zhong-ba Dajiao; E. Pisang Ceylan (AAB); F. FHIA-18 (AAAB); G. Cachaco (ABB); H. FHIA-17 (AAAA); I. FHIA-03 (AABB); J. TMB×5295-1 (ABBB); K. Red banana (AAA)。

图 1 11 份香蕉种质的 FCM 测定分析

Fig. 1 Flow cytometric fluorescent detection images of 11 banana germplasms

表 1 11 份香蕉种质的 FCM 分析
Table 1 FCM analysis of 11 banana germplasms

序号 No.	品种 Variety	基因型 Genotype	峰值 Peak	变异系数 CV/%	计数 Count	倍性 Ploidy
1	红香蕉 Red banana	AAA	52.79/103.24	5.99	2 006	2n/4n
2	红河矮蕉 Honghe Ai	AAA	48.92	5.50	1 966	2n
3	陵水野生蕉 Lingshui YeshengJiao	AA	47.75	5.47	2 133	2n
4	始兴 BB Shixing BB	BB	72.94	5.32	2 583	3n
5	东莞中把大蕉 Dongguan Zhongba Dajiao	ABB	65.78	5.85	1 569	3n
6	Cachaco	ABB	90.40	5.54	1 790	4n
7	Pisang Ceylan	AAB	75.25	5.14	2 084	3n
8	FHIA-17	AAAA	97.72	5.07	1 049	4n
9	FHIA-18	AAAB	70.85	5.19	2 162	3n
10	FHIA-03	AABB	98.48	5.98	1 618	4n
11	TMB × 5259-1	ABBB	96.46	5.01	1 348	4n

为四倍体(AAAB)、“Cachaco”被定性为三倍体(ABB),而在本研究中,通过FCM分析,这些种质的倍性分别被定性为二倍体和三倍体(表1)。因此,笔者认为对种质进行分类时,可依Simmonds形态学分类方法为参照^[5],但是该分类系统远不能反映各品种之间的亲缘关系及其真实倍性,至少在有些种类中如此。

3 讨 论

香蕉的倍性分析方法一直沿用的是通过观察形态学特征来确定的,通过与相似的祖先(*M. acuminata* 和 *M. balbisiana*)的外部形态特点相比评分获得,这种方法准确度较高,但有一定的难度;而且形态学特征受外界环境影响很大,有时得到不一致的结果。用香蕉染色体核型分析技术来判断,准确性虽高,但操作方法复杂繁琐,且需要对大量样品进行测定,无法快速检测出植株倍性。另外,还可以通过观察花粉粒大小、气孔大小和密度等细胞特征鉴定倍性,这些方法都存在准确性不高的缺点。因此人们在对香蕉种质进行分类时,主要以Simmonds形态学分类方法为参照,结合细胞学、分子生物学等层面,更加科学地反映各品种之间的亲缘关系及其真实倍性。利用FCM对染色体进行测定,能够为香蕉种质的基因组学、物种分类以及种群进化研究提供理论参考数据。

Lysak等^[23]利用FCM技术对香蕉的A和B基因组进行研究,发现了A、B基因组大小的差异。Nsabimana等^[24]对89份国家香蕉种质资源库的种质进行了倍性鉴定。龚庆^[20]在香蕉不对称体细胞融合再生植株的鉴定研究中,对“龙牙蕉”(M. AAB group

“Longyajiao”)与“大蕉”(M. ABB group “Dajiao”)的融合植株及亲本龙牙蕉进行鉴定,发现所有融合再生植株与亲本一致,均为三倍体,未发现多倍体。本研究采用FCM技术对香蕉的倍性进行测定,以“陵水野生蕉”(AA)为内参,结果发现供试的9种基因型的11份香蕉种质,不同倍性之间、同一倍性之间的种质DNA含量都有一定的差别。其中,“红河矮蕉”按照Simmonds分类方法归为AAA型,但倍性峰值为48.92,应属于2N;“始兴BB”(BB)、“FHIA-18”(AAAB)的倍性峰值分别为72.94和70.85,应属于3N;还有“Cachaco”(ABB)的倍性峰值为90.40,应属于4N。出现这种结果,究竟是香蕉材料的内部因素产生的,还是因为外部因素引起的,目前尚难确定。笔者认为,香蕉的Simmonds形态学分类方法,对于染色体基因型的来源是假设的,不正常的减数分裂会导致香蕉倍性表现多样性,类似的A和B基因型染色体的结合产生复杂的合子,形成多种多样的染色体组合,从而得到不同的倍性和基因型,而传统的植物倍性分析方法,是借助显微镜对染色体的核型进行分析,因而费时费力,即使拍摄到分裂相较好的细胞,对其进行统计分析也绝非易事^[25]。FCM技术可揭示染色体倍性、细胞内DNA含量与倍性紧密的关联关系^[10,15],2者相较,FCM技术的结果可能更为精确。香蕉的倍性是极其复杂的,物种染色体倍性化在其进化、品种改良上意义重大,在优良农艺性状利用和遗传育种上发挥了重要的作用,而准确鉴定植物倍性水平是发挥其作用的重要环节^[26]。更多更为准确的香蕉种质倍性定性,有待以后在更多的种质中进行更为全面的研究。

采用ISSR、SRAP等分子标记技术均表明“始兴

BB'(BB)与'东莞中把大蕉'(ABB)类型的种质亲缘关系很近,'FHIA-18'(AAAB)与'Pisang Ceylan'(AAB)2者之间的亲缘关系最近,相似系数接近为1,可能为亲本相似,或者其同物异名^[27]。重复测定多次,结果相似,这说明不同倍性之间、同一倍性之间的种质DNA含量存在着一定的差异,具体原因有待于研究。另外,'红香蕉'属(AAA)类型^[28]。本研究中此蕉出现了2个峰值,第一个峰值为52.79,第二个峰值为103.24,测定时2个峰同时出现,且具较好的重复性。明显的区别于其他供试材料,其原因可能是检测时处于间期,细胞数量较少,次生代谢物含量高,从而引起杂峰高或堵塞管道的现象,其遗传物质的特殊属性还有待于进一步研究。

FCM分析结果反映了演化和杂交过程中种质倍性的复杂性,也表明了香蕉种质核型分析的必要性。FCM技术操作简单、可靠性强、重复性高,能揭示DNA含量与倍性的关系,是进行营养繁殖的栽培植物倍性分析的准确手段。

参考文献 References :

- [1] 王卓,徐碧玉,贾彩红,李健平,刘菊华,张建斌,苗红霞,金志强. 香蕉MYB基因克隆和表达分析[J]. 果树学报,2015,32(6):1085-1092.
WANG Zhuo, XU Biyu, JIA Caihong, LI Jianping, LIU Juhua, ZAHNG Jianbin, MIAO Hongxia, JIN Zhiqiang. Molecular cloning and expression of MYB gene from banana (*Musa acuminata* L. AAA group, 'Cavendish') under the various stresses[J]. Journal of Fruit Science, 2015, 32(6): 1085-1092.
- [2] 董涛,陈新建,凡超,金燕,易干军. 我国香蕉产业面临的主要问题与对策[J]. 广东农业科学,2013,40(11):220-223.
DONG Tao, CHEN Xinjian, FAN Chao, JIN Yan, YI Ganjun. Analysis on the development of the banana industry in China[J]. Guangdong Agricultural Sciences, 2013, 40(11): 220-223.
- [3] 孙勇,王丹,仝征,杨倩,常丽丽,王力敏,何丽平,王旭初. 香蕉幼苗叶片响应低温胁迫的比较蛋白质组学研究[J]. 中国农学通报,2015,31(34):216-228.
SUN Yong, WANG Dan, TONG Zheng, YANG Qian, CHANG Lili, WANG Limin, HE Liping, WANG Xuchu. Proteomic analysis of banana seedling leaf response to low temperature[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2015, 31(34): 216-228.
- [4] 陈源. 福建栽培和野生香蕉种质资源离体保存及RAPD分析[D]. 福州:福建农林大学,2007.
CHEN Yuan. *In vitro* conservation and RAPD analysis of banana (*Musa* spp.) germplasm in Fujian[D]. Fuzhou: Fujian Agriculture & Forestry University, 2007.
- [5] SIMMONDS N W. The evolution of the bananas[M]. London: Longman, 1962: 1-12.
- [6] 王正询,林兆平,潘坤清. 蕉类的细胞遗传学研究[J]. 遗传学报,1994,21(6):453-462.
WANG Zhengxun, LIN Zhaoping, PAN Kunqing. Cytogenetical studies in *Musa* (Eumusa) [J]. Acta Genetica Sinica, 1994, 21(6): 453-462.
- [7] 郭计华,李绍鹏,张蕾,谢子四,李新国. 不同基因组类型的香蕉核型分析[J]. 果树学报,2013,30(4):567-572.
GUO Jihua, LI Shaopeng, ZHANG Lei, XIE Zisi, LI Xinguo. Karyotype analysis of bananas with different genotypes[J]. Journal of Fruit Science, 2013, 30(4): 567-572.
- [8] 汪艳,肖媛,刘伟,李婷婷,胡锐,乔志仙. 流式细胞仪检测高等植物细胞核DNA含量的方法[J]. 植物科学学报,2015,33(1):126-131.
WANG Yan, XIAO Yuan, LIU Wei, LI Tingting, HU Rui, QIAO Zhixian. Operation skills of flow cytometer for detecting nuclear DNA contents in higher plant cells[J]. Plant Science Journal, 2015, 33(1): 126-131.
- [9] 姚丽萍,高银祥,祖元刚. 流式细胞术在植物学研究中的应用[J]. 安徽农学通报,2009,15(9):55-56.
YAO Liping, GAO Yinxiang, ZU Yuangang. Applications of flow cytometry in Plant research[J]. Anhui Agricultural Science Bulletin, 2009, 15(9): 55-56.
- [10] SERGIO J, OCHATT S J. Flow cytometry in plant breeding[J]. Cytometry Part A, 2008, 73: 581-598.
- [11] GALBRAITH D W, SHIELDS B S. The effects of inhibitors of cell wall synthesis on tobacco protoplast development[J]. Physiologia Plantarum, 1982, 55(1): 25-30.
- [12] LI G, QUIROS C F. Sequencerelated amplified polymer-phism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: its application to mapping and gene tagging in *Brassica*[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2001, 103(2-3): 455-461.
- [13] LEI Xiaoyong, LIAO Xudong, ZHANG Guiyou, DAI Yaoren. Flow cytometric evidence for hydroxyl radical induced apoptosis in tobacco protoplasts[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2002, 45(8): 944-948.
- [14] LIU Jihong, XU Xiaoyong, DENG Xiuxin. Characterization of nuclear and cytoplasmic compositions of somatic hybrid plants between sweet orange and sour orange[J]. Acta Botanica Sinica, 2004, 46(10): 1206-1211.
- [15] SUDA J, KRAHULCOVA A, TRAVNIBEK P, KRAHULEC F. Ploidy level versus DNA ploidy level: an appeal for consistent terminology[J]. International Association for Plant Taxonomy, 2006, 55(2): 447-450.
- [16] OZAKI Y, NARIKIYO K, FUJITA C, OKUBO H. Ploidy variation of progenies from intra- and inter-ploidy crosses with regard to trisomic production in *asparagus* (*Asparagus officinalis* L.) [J]. Sexual Plant Reproduction, 2004, 17(4): 157-164.
- [17] OCHATT S J. Flow cytometry: ploidy determination, cell cycle

- analysis, DNA content per nucleus[J]. *Medicago Truncatula*, 2006 (5):1-13.
- [18] 潘跃芝,张亦驰,龚洵,李富生. 4 种人参属植物基因组大小的测定[J]. *植物分类与资源学报*, 2014,36(2): 233-236.
PAN Yuezhi, ZHANG Yichi, GONG Xun, LI Fusheng. Estimation of genome size of four *Panax* species by Flow Cytometry[J]. *Plant Diversity and Resources*, 2014,36(2): 233-236.
- [19] DOLEZEL J, DOLEZELOVA M, NOVAK F J. Flow cytometric estimation of nuclear DNA amount in diploid bananas (*Musa acuminata* and *M. balbisiana*) [J]. *Biologia Plantarum*, 1994, 36 (3): 351-357.
- [20] 龚庆. 香蕉(*Musa* spp.)不对称体细胞融合再生植株的鉴定[D]. 广州:中山大学,2009.
GONG Qing. Identification of putative asymmetric somatic hybrids from banana (*Musa* spp.) [D]. Guangzhou: Zhongshan University, 2009.
- [21] KAMATE K, BROWN S C, DURAND P, BUREAU J M. Nuclear DNA content and base composition in 28 taxa of *Musa*[J]. *Genome*, 2001, 44: 622-627.
- [22] ROUX N, TOLOZA A, RADECKI Z, ZAPATA-ARIAS F J, DOLEZEL J. Rapid detection of aneuploidy in *Musa* using flow cytometry[J]. *Plant Cell Reports*, 2003, 21(5): 483-490.
- [23] LYSAK M A, DOLEZELOVA M, HORRY J P, DOLEZEL J. Flow cytometric analysis of nuclear DNA content in *Musa* [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 1999, 98(8): 1344-1350.
- [24] NSABIMANA A, VAN STADEN J. Ploidy investigation of bananas (*Musa* spp.) from the National banana germplasm collection at Rubona-Rwanda by flow cytometry[J]. *South African Journal of Botany*, 2006, 72 (2): 302-305.
- [25] 邓彪. 香蕉杂交育种技术初探[D]. 长沙:湖南农业大学,2014.
DENG Biao. A preliminary study of cross breeding of banana (*Musa*) [D]. Changsha: Hunan Agricultural University, 2014.
- [26] 陶抵辉,李小红,王利群,周杰良,陈涌,霍稳根. 植物染色体倍性鉴定方法研究进展[J]. *生命科学研究*, 2009, 13(5): 453-457.
TAO Dihui, LI Xiaohong, WANG Liqun, ZHOU Jieliang, CHEN Yong, HUO Wengen. Progresses on determination of cell chromosome ploidy level of plants[J]. *Life Science Research*, 2009, 13 (5): 453-457.
- [27] 郭计华,李新国,李丽,李绍鹏,罗轩,魏守兴,谢子四. 基于 ISSR 分析 28 份香蕉种质的基因组 DNA 多样性[J]. *基因组学与应用生物学*, 2012, 31(5): 492-497.
GUO Jihua, LI Xinguo, LI Li, LI Shaopeng, LUO Xuan, WEI shouxing, XIE Zisi. Based on the ISSR analysis of genomic DNA of 28 banana germplasm diversity [J]. *Genomics and Applied Biology*, 2012, 31(5): 492-497.
- [28] 龚玉莲,曾碧健,陈坚毅,赖海娟. 红皮香蕉的核型分析初报[J]. *广东教育学院学报*, 2002, 22(2): 73-75.
GONG Yulian, ZENG Bijian, CHEN Jianyi, LAI Haijuan. Karyotype analysis of *Musa* AAA Red green[J]. *Journal of Guangdong Education Institute*, 2002, 22(2): 73-75.

.....•征订启事•.....

欢迎订阅2017年《中国瓜菜》

《中国瓜菜》是由农业部主管、中国农业科学院郑州果树研究所主办的全国性瓜菜科技期刊,进入2014年版《中文核心期刊要目总览》园艺类核心期刊,进入《中国农业核心期刊概览2014》。2017年《中国瓜菜》将继续及时报道瓜菜领域的重大科研成果、科研新进展、实用技术和信息,努力把《中国瓜菜》打造成我国瓜菜科研和产业交流的优秀平台,促进我国瓜菜业的全面发展和社会、经济、生态效益的综合提升。

本刊划分为科研、生产、论坛和信息等四大板块,设有专题综述、试验研究、品种选育、研究简报、标准化技术、栽培与

植保、产业发展等栏目。适合瓜菜科技人员、农业院校师生、瓜菜种植者、种子及产品经销商、行业组织及实体管理人员、瓜菜区领导等瓜菜从业者参阅。月刊,每月5日出版,每期64页码、定价5元,全年12期共60元。邮发代号:36-143;国外代号:BM2654。也可汇款至本刊发行部订阅。

地址:河南省郑州市未来路南端·中国农业科学院郑州果树研究所;邮编:450009;E-mail:zhongguoguacai@caas.cn;在线投稿系统:<http://zgxc.cbpt.cnki.net>;电话:0371-65330927(编辑部),65330926(广告部),65330982(发行部)。