

甘蔗-滇蔗茅杂交 F_1 花粉母细胞 减数分裂过程 GISH 分析

林秀琴¹, 陆鑫¹, 刘新龙¹, 刘洪博¹, 李旭娟¹, 蔡青^{1,2}

(¹ 云南省甘蔗遗传改良重点实验室/云南省农业科学院甘蔗研究所, 开远 661699;

² 云南省农业科学院生物技术与种质资源保存研究所, 昆明 650223)

摘要: 研究甘蔗属与滇蔗茅属间远缘杂交 F_1 染色体遗传行为具有重要科学意义, 可为发掘利用滇蔗茅野生优异基因资源提供细胞学依据。本研究采用常规压片技术对可育父本及不育杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程进行比较观察, 结果显示可育父本云南 95-19 减数分裂正常, 而不育杂交 F_1 分裂异常; 进一步对 F_1 花粉母细胞减数分裂过程进行基因组荧光原位杂交 (GISH, genome in situ hybridization) 分析, 结果表明: 滇蔗茅与甘蔗属热带种的亲缘关系较远, 双亲染色体在 F_1 细胞中不能进行同源配对, 终变期, 15 条滇蔗茅染色体以单价体形式存在, 花粉母细胞减数分裂细胞中存在滞后染色体、染色体丢失和不均衡分离现象。甘蔗-滇蔗茅属间远缘杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂异常因而杂交 F_1 花粉完全败育。

关键词: 甘蔗热带种; 滇蔗茅; 杂交 F_1 ; 花粉母细胞; 减数分裂; 基因组荧光原位杂交

Analysis of the Meiosis of Pollen Mother Cells in *Saccharum officinarum* × *Erianthus Rockii* F_1 Hybrids by GISH

LIN Xiu-qin¹, LU Xin¹, LIU Xin-long¹, LIU Hong-bo¹, LI Xu-juan¹, CAI Qing^{1,2}

(¹ Sugarcane Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences/Yunnan Provincial

Key Laboratory of Genetic Improvement for Sugarcane, Kaiyuan 661699;

² Biotechnology and Germplasm Resources Institute Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming 650223)

Abstract: It is significant for understanding the chromosome genetic behaviors of *Saccharum officinarum* × *Erianthus rockii* F_1 hybrids, because it can provide cytology evidence for utilization of the wild *Erianthus rockii* resource. In this study, the processes of meiotic division of pollen mother cells were compared between male fertile plant and F_1 hybrids sterile ones by using squash technique, the result showed that the meiosis of the male fertile plant yunnan95-19 was normal, but there were some abnormal in F_1 hybrids sterile plants. The further research was analyzed the meiosis of F_1 hybrids by the GISH technology, and the result indicated that *Erianthus rockii* had a large genetic distance from *Saccharum officinarum* genus, because these two genera chromosomes in F_1 hybrids could not pairing in meiosis, at diakinesis stage, we detected 15 chromosomes derived from *Erianthus rockii* formed 15 univalent respectively, furthermore, the meiosis of pollen mother cells were observed with lagging chromosomes, elimination chromosomes and disequilibrium separated chromosomes, the abnormal division we observed in this study may illustrate why the pollen was abortive completely in *Saccharum officinarum* × *Erianthus rockii* F_1 hybrids.

收稿日期: 2015-06-16 修回日期: 2015-07-07 网络出版日期: 2016-04-06

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160406.1404.022.html>

基金项目: 云南省应用基础研究计划青年项目 (2012FD071); 国家自然科学基金青年项目 (31501361); 国家现代农业产业技术体系试验站 (CARS-20-6-13); 农业部作物种质资源保护项目 (2016NWB017); 国家科技支撑计划课题 (2013BAD01B00); 科技部国家科技基础条件平台 (NICGR2016-044)

第一作者研究方向为甘蔗分子与细胞遗传学。E-mail: linxiuqin0@163.com

通信作者: 蔡青, 研究方向为作物种质资源研究与利用。E-mail: caiqingsri@163.com

Key words: *Saccharum officinarum*; *Erianthus rockii*; F_1 hybrids; pollen mother cells; meiosis; genome *in situ* hybridization

甘蔗(*Saccharum* spp.)是重要的糖料作物,同时也是能源和动物饲料开发的潜力资源^[1]。甘蔗属于禾本科(Gramineae)甘蔗属(*Saccharum*),甘蔗和一些近缘植物资源如芒属、蔗茅属、河八王属及白茅属等一起统称为“甘蔗属复合体”(Saccharum Complex),“甘蔗属复合体”中具有许多野生资源的优良性状,在提高甘蔗产量、糖分、适应性等方面具有潜在利用价值。因此,世界各主产蔗糖国均非常重视对甘蔗种质资源的收集保存和鉴定评价等工作^[2-4],而且,近年来甘蔗育种家进行了大量的种间和属间远缘杂交利用和后代鉴定评价等研究工作^[5-7],以期获得新的突破性甘蔗品种。

滇蔗茅(*Erianthus rockii*)属蔗茅属,是重要的甘蔗近缘属植物资源^[8],因其具有丰富的遗传多样性^[9-10]和强抗蔗茅柄锈菌的特性^[11-12],在甘蔗种质创新和抗病新品种的创制中具有利用价值。课题组人员利用人工光周期调控技术诱导甘蔗属热带种(*Saccharum officinarum*)开花,与滇蔗茅进行远缘杂交利用,获得了这2个种的属间杂交 F_1 ^[13],甘蔗属热带种与滇蔗茅杂交 F_1 表现较容易开花,但花粉完全败育,利用 F_1 作母本与甘蔗品种进行杂交可结实获得 BC_1 后代。课题组成员采用SSR分子标记技术对杂交 F_1 群体进行了真实性鉴定^[14],并对重要农艺性状进行了遗传分析^[15]。然而,对甘蔗与滇蔗茅染色体在其杂交后代中的遗传行为及减数分裂行为还不清楚。基因组荧光原位杂交技术可以对作物远缘杂交后代染色体进行跟踪鉴定和遗传分析^[16-17],本研究通过细胞学研究手段分析了父本云南95-19及其 F_1 花粉母细胞减数分裂过程染色体行为和细胞分裂行为,进一步利用GISH技术对 F_1 中双亲染色体遗传行为进行分析,研究结果可为甘蔗属与滇蔗茅属属间远缘杂交 F_1 花粉败育机制的研究和滇蔗茅杂交利用方式的制定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

以甘蔗属热带种和蔗茅属滇蔗茅远缘杂交亲本及杂交 F_1 为试验材料,由国家甘蔗种质资源圃提供,材料系谱图如下。

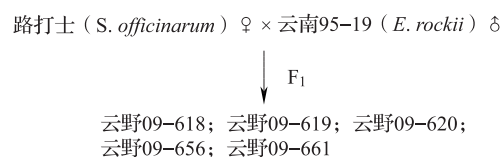


图1 远缘杂交组合亲本及杂交 F_1 材料

Fig. 1 The materials of the parents and F_1 hybrids in the distant crossing combination

1.2 花粉母细胞减数分裂各时期染色体玻片标本制备

收集父本及 F_1 孕穗期的幼穗,用卡诺氏固定液(无水乙醇:乙酸=3:1)固定(4℃冰箱,24 h),70%乙醇浸泡保存。制片时挑取正处于减数分裂时期的颖花中的花药,ddH₂O水洗2次,每次10 min,0.25 M HCl解离2 min,ddH₂O水洗2次,每次10 min,将花药放在-20℃预冷的防脱载玻片上,滴适量新配制的卡诺氏固定液,迅速用镊子将花药壁捣碎,轻轻挤出花药中的花粉母细胞,在玻片上不同部位进行涂片展片,涂片时注意动作轻柔,防止破坏细胞的完整性。

1.3 基因组DNA探针的制备

采用CTAB法提取亲本(母本路打士和父本云南95-19)叶片基因组总DNA,用百泰克多功能DNA回收纯化试剂盒对DNA样品进行纯化、回收;用微量核酸分析仪检测DNA样品的浓度和纯度,采用高压灭菌法(121℃,5 min)将基因组DNA打断成较小的片段(300~500 bp左右);母本路打士的DNA模板用德国Roche公司产品Biotin-High Prime进行标记,父本云南95-19的DNA模板用德国Roche公司产品DIG-High Prime标记,具体步骤参照试剂盒使用说明书。

1.4 基因组荧光原位杂交过程

杂交混合液的配制(含10 μg/mL路打士DNA探针、10 μg/mL云南95-19 DNA探针、50%去离子甲酰胺、0.5% SDS、10% DS及40 μg/mL玉米基因组封阻DNA),DNA探针经变性后与 F_1 花粉母细胞减数分裂各时期细胞进行原位杂交;原位杂交过程具体操作步骤参照林秀琴等^[18]的方法进行。染色体玻片标本经杂交、荧光分子检测、洗脱和封片后,在德国Zeiss公司Axioskop 2 plus荧光显微镜下观察荧光信号,用CCD(charge coupled device)偶联的相机拍照系统连接计算机,并用Metasystem ISIS软

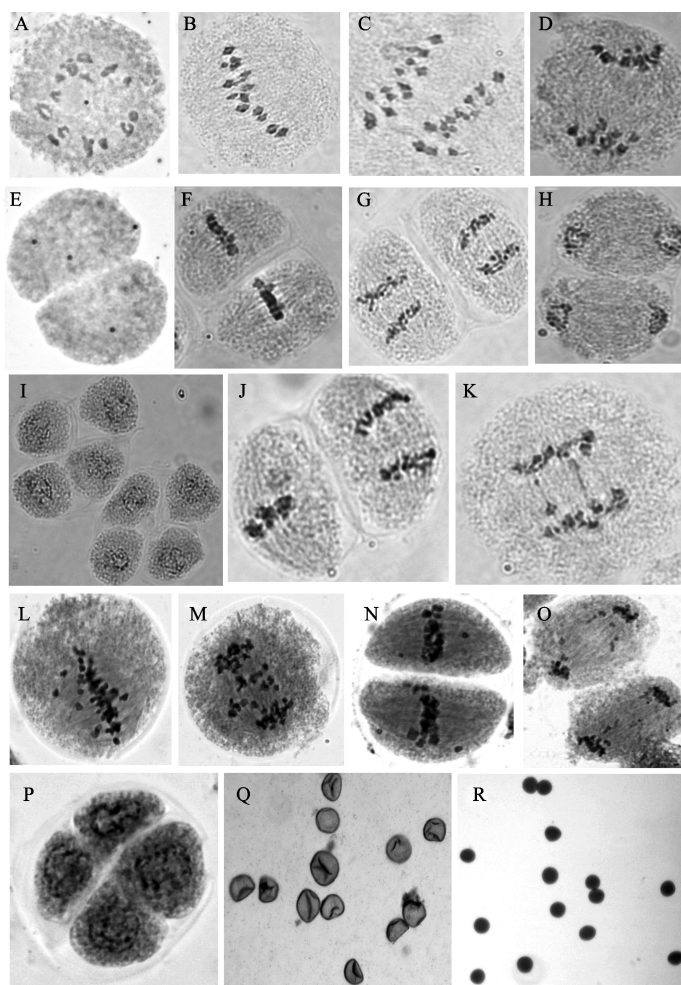
件进行图像采集和处理。

2 结果与分析

2.1 父本云南 95-19 及杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂观察

如图 2 所示,对照可育父本云南 95-19 花粉母细胞减数分裂过程较正常,在终变期形成了 15 个二价体(图 2-A),中期 I,15 个二价体整齐地排列在赤道板上(图 2-B),后期 I,同源染色体分开,在纺锤丝的拉动下移向细胞的两极(图 2-C、D),二分体至四分体的各时期分裂均正常(图 2-E 至 2-I),偶尔观察到后期 I 染色体桥(图 2-K)和减数第二次分裂

不同步的现象(图 2-J),频率极低,没有具体统计。与父本对照相比,不育杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程存在较多的异常分裂行为,主要表现在中期 I(图 2-L)、中期 II(图 2-N)、后期 I(图 2-M)、后期 II(图 2-O)出现滞后染色体和不均等四分体(图 2-P),异常细胞频率较高,分别为 35%、53%、56%、73.5% 和 46.7%,花粉母细胞减数分裂观察结果表明,甘蔗属热带种路打士与蔗茅属滇蔗茅云南 95-19 远缘杂交 F_1 遗传极不稳定。用 1% I_2 -KI 对成熟花粉粒进行染色,检测 F_1 花粉的活性,结果显示 F_1 花粉粒完全败育(图 2-Q),对照父本云南 95-19 花粉可育率约为 91%(图 2-R)。



A~I 表示父本云南 95-19 花粉母细胞减数分裂过程,A:终变期、B:中期 I、C:后期 I、D:末期 I、E:二分体、F:中期 II、G:后期 II、H:末期 II、I:四分体;J、K 表示云南 95-19 后期 II 不同步分裂和后期 I 滞后染色体;L-P 表示杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂异常细胞;Q、R 分别表示杂交 F_1 败育花粉和云南 95-19 可育花粉。标尺为 5 μ m

A-I indicate the meiosis of the male parent yunnan95-19, A: Diakinesis, B: Metaphase I, C: Anaphase I, D: Telophase I, E: Dyad, F: Metaphase II, G: Anaphase II, H: Telophase II, I: Tetrad; J and K indicate asynchronism division in anaphase II and lagging chromosomes in anaphase I; L-P indicate abnormal meiosis behaviors in F_1 pollen mother cells; Q and R indicate abortive and fertile pollen of F_1 hybrids and the male parent yunnan95-19, respectively. Scale is 5 μ m

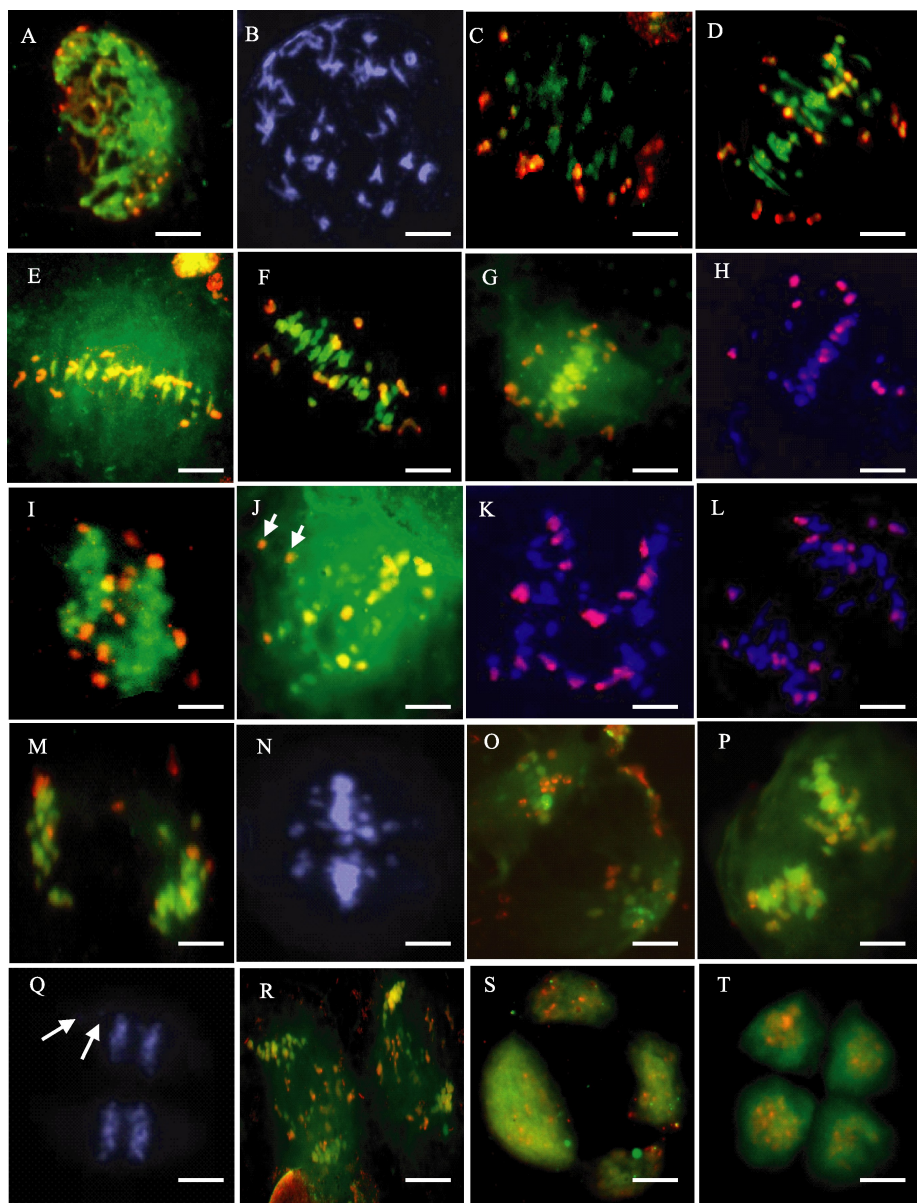
图 2 云南 95-19 及 F_1 花粉母细胞减数分裂细胞

Fig. 2 The meiosis in pollen mother cells of the male parent yunnan 95-19 and F_1 hybrids

2.2 杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程 GISH 分析

利用双色 GISH 技术对杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程进行分析,结果如下:(1)前期 I、终变期。前期 I,甘蔗属热带种染色质(绿色信号)与蔗茅属滇蔗茅染色

质(橙红色信号)在细胞核中分布于不同空间,不相互混合(图 3-A)。终变期,可以观察到染色体构型, F_1 染色体存在单价体、环状二价体、棒状二价体和弧形二价体等多种构型(图 3-B,DAPI 复染,蓝色信号)。



A:前期 I;B:终变期;C、D:前中期 I;E~H:中期 I;I~L:后期 I;M:末期 I;N~P:中期 II;Q、R:后期 II;S、T:四分体。

H、K 和 L 是滇蔗茅探针和 DAPI 复染的效果图,滇蔗茅染色体呈粉红色荧光信号;B、N 和 Q 是 DAPI 染色效果图,

染色体呈蓝色荧光信号;其余为热带种和滇蔗茅双探针原位杂交效果图,发橙红色荧光信号为滇蔗茅染色体,

黄绿色荧光信号为热带种染色体。标尺为 5 μm

A:Prophase I, B:Diakinesis, C and D:Premetaphase I, E-H:Metaphase I, I-L:Anaphase I, M:Telophase I, N-P:Metaphase II, Q and R:Anaphase II, S and T:Tetrad, H, K and L were used *Erianthus rockii* DNA for probe, and counterstained with DAPI solution, the chromosomes from *Erianthus rockii* were detected with pink fluorescent signal, B, N and Q were stained with DAPI solution, chromosomes were detected with blue fluorescent signal, the others were used both *Erianthus rockii* and *Saccharum officinarum* DNA for probes, the chromosomes from *Erianthus rockii* were detected with orange fluorescent signal and the chromosomes from *Saccharum officinarum* were detected with green fluorescent signal. Scale is 5 μm

图 3 杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂细胞 GISH 结果

Fig. 3 The result of meiosis of pollen mother cells in F_1 hybrids by GISH

(2)中期 I。前中期 I,观察到滇蔗茅染色体(橙红色信号)分布在细胞的外围,并且单独聚集在一边,不与甘蔗染色体(绿色信号)混合(图 3-C),15 条滇蔗茅染色体以单价体形式存在,而热带种染色体有些形成单价体,有些形成二价体排列在赤道面上(图 3-D)。中期 I,甘蔗属热带种染色体和滇蔗茅染色体排列在赤道板上(图 3-E、F),该时期,观察到甘蔗属热带种染色体优先排列在赤道板上,而滇蔗茅染色体远离赤道板或在赤道板的外面,形成了中期 I 滞后染色体(图 3-G、H)。

(3)后期 I、末期 I。后期 I,同源染色体向两极移动,在中期 I 滞后的滇蔗茅染色体由于没来得及排列在赤道板上而形成了提前分离的染色体(图 3-I、J,白色箭头所示提前分离的滇蔗茅染色体)。后期 I,观察到染色体不均衡分离的现象,其中一个子细胞含 8 条滇蔗茅染色体,另外一个子细胞含 7 条滇蔗茅染色体(图 3-K、L)。末期 I,观察到 2 条滞后滇蔗茅染色体,在子细胞核膜形成之后,滞后染色体由于没有在细胞核之内,可能形成微核或被降解成为丢失的染色体(图 3-M)。

(4)中期 II。在中期 II 细胞中观察到滞后染色体(图 3-N,2 个子细胞分别有 5 条和 7 条滞后染色体),另外应用双色 GISH 技术观察到中期 II 2 个子细胞中分别含 8 条和 5 条滇蔗茅染色体(图 3-O,橙色信号),其余 2 条滇蔗茅染色体可能在之前的末期 I 丢失了。中期 II,观察到赤道板排列异常,即 2 个子细胞赤道板排列成“八字形”(图 3-P)。

(5)后期 II。观察到 2 条提前分离的染色体(图 3-Q,白色箭头指向的染色体),此时期,不仅观察到滞后分离的滇蔗茅染色体,而且还观察到部分滞后分离的甘蔗属热带种染色体停留在赤道板周围不能正常向两极移动(图 3-R)。

(6)四分体时期。观察到 4 个小孢子大小不一的现象(图 3-S)。对于大小相对一致的小孢子,双色 GISH 实验结果显示这 4 个小孢子含外源滇蔗茅染色质的量也明显不一样,如图 3-T 所示,左边 2 个小孢子含滇蔗茅染色质(橙色)的量较多,而右边 2 个较少。

对 F_1 花粉母细胞减数分裂过程 GISH 研究结果表明:甘蔗属热带种与蔗茅属滇蔗茅双亲两套染色体组的亲缘关系较远,在杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程中不能进行同源配对,外源滇蔗茅染色体的渗入导致了减数分裂过程异常的染色体分离行为和异常的细胞分裂行为,所以这可能是导致甘蔗与滇

蔗茅属间远缘杂交 F_1 花粉表现出完全败育的主要原因。

3 讨论

甘蔗属和蔗茅属均为“甘蔗属复合体”(Saccharum Complex)成员,前人的研究表明甘蔗属与蔗茅属能够进行属间远缘杂交利用并获得杂交后代种质材料,如甘蔗与斑茅^[19-22]、甘蔗与蔗茅^[23-24]以及甘蔗与滇蔗茅^[25-26]等,这说明了杂交后代种质材料中甘蔗属染色体具有能够忍受外源基因渗入的能力。甘蔗属与蔗茅属滇蔗茅属间远缘杂交 F_1 花粉高度不育,这可能是由于这 2 个属之间染色体组结构存在较大差异。甘蔗属热带种为八倍体,染色体基数 $x = 10$,体细胞染色体数目 $2n = 80$ ^[27],滇蔗茅体细胞染色体数目 $2n = 30$ ^[28],本研究对滇蔗茅云南 95-15 花粉母细胞减数分裂过程进行观察,发现滇蔗茅 30 条染色体在中期 I 形成了 15 个二价体,表明滇蔗茅种质可能为二倍体,染色体基数 $x = 15$ 。蔗茅属中的蔗茅和芒与滇蔗茅的染色体组结构较相似,均为二倍体,蔗茅体细胞染色体数目 $2n = 20$ ^[29],芒属体细胞染色体数目 $2n = 38$ ^[30]。Q. Cai 等^[31]利用 SSR 和 AFLP 标记技术对滇蔗茅与“甘蔗属复合体”的亲缘关系进行了研究,结果表明滇蔗茅与芒属和芦花蔗茅的亲缘关系较近。甘蔗和斑茅均为多倍体^[32],甘蔗与斑茅杂交后代染色体遗传规律较复杂,在 F_1 双亲染色体以 $n + n$ 方式进行遗传,斑茅染色体存在丢失现象,而且以非整倍体的 n 进行遗传^[33],J. Y. Wu 等^[34]认为斑茅形成的这种不均等配子是导致杂交 F_1 败育的原因。本研究利用双色 GISH 技术分析了杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂过程双亲染色体分裂行为,发现在减数分裂细胞中检测到 15 条滇蔗茅染色体,表明甘蔗属热带种与滇蔗茅远缘杂交过程中,滇蔗茅形成了整倍的 n 配子体传递给 F_1 ;在减数分裂中期 I 滇蔗茅染色体形成了 15 个单价体,表明滇蔗茅染色体与甘蔗属热带种染色体同源性较低,在杂交 F_1 花粉母细胞减数分裂细胞中不能进行同源配对,外源滇蔗茅染色体的渗入导致 F_1 减数分裂过程染色体分离和细胞分裂异常,所以杂交 F_1 花粉完全败育。

前人对甘蔗属与蔗茅属远缘杂交后代细胞学研究结果表明, F_1 和 BC_1 的染色体遗传方式分别为 $n + n$ 和 $2n + n$ 方式^[35-36],在杂交方式上,主要利用杂交 F_1 作母本与甘蔗品种或热带种杂交获得 BC_1 (因为 F_1 花粉高度不育不能作父本),虽然这与回交育种

的基本原理不一致,但是这为甘蔗外源染色体的渗入研究提供了一种有效方法。最近,甘蔗育种家探索了一种新的杂交利用方式,即以甘蔗属野生种割手密作桥梁亲本,先与斑茅杂交获得 F_1 , 杂交 F_1 既聚合了双亲的优点又具有较好的花粉育性,在后续の利用中可以用作父本与甘蔗品种进行杂交,这或许是克服甘蔗和斑茅杂交 F_1 高度不育、有望创制出突破性优良种质的途径之一^[37-38]。由于滇蔗茅与芒属的亲缘关系较近^[31],笔者认为在今后的杂交利用中可以尝试首先利用芒和滇蔗茅进行杂交获得花粉可育的杂交 F_1 材料,再与甘蔗进行杂交利用,即获得优良可育的“甘蔗三属杂交后代”的种质材料,并用于后续甘蔗杂交育种。

参考文献

- [1] 王先宏,郭超,姜红波,等. 不同基因型割手密无性系的核型分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(4):912-917
- [2] 徐超华,陆鑫,刘新龙,等. 甘蔗近缘种蔗茅 *Erianthus fulvus* 考察收集与表型性状初步研究[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(5):962-966
- [3] 黄忠兴,周峰,王勤南,等. 国内外割手密资源农艺性状表型遗传多样性分析[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(5):825-829
- [4] 周会,雷敬超,桂意云,等. 甘蔗种质资源自然条件下耐寒性评价[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(6):968-973
- [5] 吴才文, Jackson P, 范源洪,等. 甘蔗割手密远缘杂交后代产量性状的遗传及分离[J]. 植物遗传资源学报,2009,10(2):262-266
- [6] 吴才文, Jackson P, 刘家勇,等. 甘蔗野生种割手密远缘杂交后代品质性状的遗传研究[J]. 植物遗传资源学报,2011,12(1):59-63
- [7] 桃联安,董立华,经艳芬,等. 甘蔗属原种间杂交 F_1 灰色接近度综合评价[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(6):1248-1254
- [8] 蔡青,范源洪, Aitken K,等. 利用 AFLP 进行“甘蔗属复合体”系统演化和亲缘关系研究[J]. 作物学报,2005,31(5):551-559
- [9] 刘新龙,蔡青,毕艳,等. 中国滇蔗茅种质资源遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 作物学报,2009,35(2):262-269
- [10] 徐超华,陆鑫,刘洪博,等. 甘蔗近缘种滇蔗茅(*Erianthus rockii*)表型性状遗传多样性研究[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(6):1369-1373
- [11] 李文凤,蔡青,黄应昆. 甘蔗野生资源对蔗茅柄锈菌的抗性鉴定[J]. 植物保护,2005,31(2):51-53
- [12] 李文凤,蔡青,黄应昆,等. 甘蔗优良亲本及创新种质对蔗茅柄锈菌的抗性鉴定[J]. 中国糖料,2007(4):10-12
- [13] 王丽萍,蔡青,陆鑫,等. 甘蔗近缘属野生种滇蔗茅(*Erianthus rockii*)的种质创新利用[J]. 中国糖料,2008(2):8-11
- [14] 陆鑫,毛钧,刘洪博,等. 甘蔗野生种滇蔗茅种质创新利用研究 I. 甘蔗与滇蔗茅远缘杂交 F_1 群体构建与 SSR 分子标记鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(2):321-324
- [15] 陆鑫,苏火生,林秀琴,等. 甘蔗野生种滇蔗茅种质创新利用研究 II. 滇蔗茅 F_1 群体重要农艺性状的遗传分析[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2012,38(2):121-124
- [16] 贾东亮,舒理慧,宋运淳,等. 栽培稻与疣粒野生稻杂种 F_1 代的基因组原位杂交鉴定[J]. 武汉植物学研究,2001,19(3):177-180
- [17] 蓝伟侦,李刚,何光存,等. 一个药用野生稻异源单体附加系在减数分裂时期的 GISH 分析鉴定[J]. 中南民族大学学报:自然科学版,2006,25(1):28-31
- [18] 林秀琴,陆鑫,刘新龙,等. 应用 GISH 技术鉴定甘蔗野生种外源染色体[J]. 分子植物育种,2013,(11):1025-1031
- [19] Deng Z H, Zhang M Q, Lin W L, et al. Analysis of disequilibrium hybridization in hybrid and backcross progenies of *Saccharum officinarum* $\times$ *Erianthus arundinaceus* [J]. Agric Sci China, 2010, 9(9):1271-1277
- [20] Piperidis N, Chen J W, Deng H H, et al. GISH characterization of *Erianthus arundinaceus* chromosomes in three generations of sugarcane intergeneric hybrids [J]. Genome, 2010, 53:331-336
- [21] 黄永吉,符成,林伟乐,等. 3 个甘蔗与斑茅远缘杂交后代 BC_1 的染色体遗传分析[J]. 热带作物学报,2015,36(1):53-58
- [22] 刘文荣,邓祖湖,张木清,等. 甘蔗斑茅的杂交利用及其杂种后代鉴定系列研究 III. 甘蔗斑茅远缘杂交后代细胞遗传分析[J]. 作物学报,2004,30(11):1093-1096
- [23] 王先宏,杨清辉,李富生,等. 基于 GISH 的甘蔗与蔗茅属间杂交 F_1 后代染色体组成及核型分析[J]. 中国农业科学,2011,44(6):1085-1091
- [24] 李富生,林位夫,何顺长. 甘蔗杂种的染色体和 RAPD 鉴定研究[J]. 植物遗传资源学报,2005,6(1):48-52
- [25] 林秀琴,陆鑫,毛钧,等. 甘蔗属热带种与滇蔗茅远缘杂交 F_1 代 GISH 分析[J]. 西南农业学报,2013,26(4):1327-1331
- [26] Aitken K, Li J, Wang L, et al. Characterization of intergeneric hybrids of *Erianthus rockii* and *Saccharum* using molecular markers [J]. Genet Resour Crop Evol, 2007, 54:1395-1405
- [27] D'Hont A, Ison D, Alix K, et al. Determination of basic chromosome numbers in the genus *Saccharum* by physical mapping of ribosomal RNA genes [J]. Genome, 1998, 41:221-225
- [28] 林秀琴,毛钧,陆鑫,等. 甘蔗近缘野生种云滇 95-20 的染色体及核型分析[J]. 中国糖料,2013(1):30-31
- [29] Wang X H, Yang Q H, Li F S, et al. Characterization of the chromosomal transmission of intergeneric hybrids of *Saccharum* spp. and *Erianthus fulvus* by Genomic *in situ* Hybridization [J]. Crop Sci, 2010, 50:1642-1648
- [30] 陈少凤,何俊,周朴华,等. 芒和五节芒的核型分析[J]. 江西农业大学学报,2008,30(1):123-126
- [31] Cai Q, Aitken K, Fan Y H, et al. A preliminary assessment of the genetic relationship between *Erianthus rockii* and “*Saccharum* complex” using microsatellite (SSR) and AFLP markers [J]. Plant Sci, 2005, 169:976-984
- [32] 蔡青,文建成,范源洪,等. 甘蔗属及其近缘属植物的染色体分析[J]. 西南农业学报,2002,15(2):16-19
- [33] Piperidis G, Christopher M J, Carroll B J, et al. Molecular contribution to selection of intergeneric hybrids between sugarcane and the wild species *Erianthus arundinaceus* [J]. Genome, 2000, 43(6):1033-1037
- [34] Wu J Y, Huang Y J, Lin Y Q, et al. Unexpected inheritance pattern of *Erianthus arundinaceus* chromosomes in the intergeneric progeny between *Saccharum* spp. and *Erianthus arundinaceus* [J]. PLoS One, 2014, 9(10):1-9
- [35] 王先宏,李富生,何丽莲,等. 甘蔗与蔗茅杂交 $F_2 BC_1$ 代的染色体遗传分析[J]. 中国农学通报,2014,30(15):81-85
- [36] 黄永吉,吴嘉云,刘少谋,等. 基于 GISH 的甘蔗与斑茅 F_1 染色体遗传与核型分析[J]. 植物遗传资源学报,2014,15(2):177-181
- [37] 高轶静,方锋学,刘昔辉,等. 甘蔗与斑茅割手密复合体杂交后代的分子标记鉴定[J]. 植物遗传资源学报,2012,13(5):912-916
- [38] Govindaraj, Balamurugan A, Natarajan U S. Identification of intergeneric hybrids between *Erianthus arundinaceus* and *Saccharum spontaneum* through STMS markers [J]. Int Sugar J, 2012, 114(1361):350-356