

# 蔷薇属 3 个野生种中 45S rDNA 和 5S rDNA 的物理定位

张 婷, 蹇洪英, 田 敏, 王其刚, 张 颢, 晏慧君, 邱显钦, 唐开学\*

(云南省农业科学院花卉研究所, 云南省花卉育种重点实验室, 国家观赏园艺工程技术研究中心, 昆明 650205)

**摘 要:** 采用双色荧光原位杂交 (FISH) 技术对 3 个二倍体蔷薇野生种: 多苞蔷薇 (*Rosa multibracteata* Helm. et Wils.)、川滇蔷薇 (*R. soulieana* Crép.) 和金樱子 (*R. laevigata* Michx.) 的体细胞中期染色体进行了 45S rDNA 和 5S rDNA 物理定位。结果表明: 45S rDNA 在这 3 种蔷薇的染色体上的数量和分布模式较一致, 都有 1 对位点, 均位于一对亚中部着丝点异形同源染色体的短臂上。5S rDNA 在多苞蔷薇上有 1 对位点, 在川滇蔷薇和金樱子上各有 2 对位点, 都分布于染色体长臂的近着丝点处。这 3 种蔷薇各自的 rDNA 位点数量、所在染色体和信号强弱有明显差异。研究结果为识别 3 种蔷薇各自的染色体提供了明确有效的分子细胞遗传学标记。

**关键词:** 蔷薇属; rDNA; 荧光原位杂交 (FISH); 核型

**中图分类号:** S 685.12

**文献标志码:** A

**文章编号:** 0513-353X (2014) 05-0994-07

## Physical Location of 45S rDNA and 5S rDNA in the Genomes of Three Wild Rose Species

ZHANG Ting, JIAN Hong-ying, TIAN Min, WANG Qi-gang, ZHANG Hao, YAN Hui-jun, QIU Xian-qin, and TANG Kai-xue\*

(Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Yunnan Key Laboratory for Flower Breeding, National Engineering Research Center for Ornamental Horticulture, Kunming 650205, China)

**Abstract:** 45S rDNA and 5S rDNA were mapped on the metaphase chromosomes of 3 diploid wild rose species: *Rosa multibracteata* Helm. et Wils., *R. soulieana* Crép. and *R. laevigata* Michx., respectively, by double color fluorescence *in situ* hybridization. The 45S rDNA chromosomal distribution patterns were highly conserved among the three species. Each species had a pair of 45S rDNA loci on the short arms of one pair of heteromorphic submetacentric homologous chromosomes. The 5S rDNA sites were different in number and location among the three species. A pair of 5S rDNA signals was detected on the chromosomes of *R. multibracteata*, and two pairs of 5S rDNA sites were detected on those of both *R. soulieana* and *R. laevigata*. 5S rDNA were localized near the centromere region on the long arms of chromosomes. The number, location and fluorescent intensity of the rDNA signals varied somewhat in these three species. These results indicated that the double color FISH with 45S rDNA and 5S rDNA as probes supplied some characteristic cytomolecular markers for identifying their own chromosomes for

**收稿日期:** 2013-11-27; **修回日期:** 2014-03-31

**基金项目:** 国家自然科学基金地区基金项目 (31060267); 云南省科技攻关项目 (2011BB013)

\* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: kxtang@hotmail.com; Tel: 0871-65120870)

these species.

**Key words:** *Rosa* L.; rDNA; fluorescence in situ hybridization (FISH); karyotype

全世界约有蔷薇属 (*Rosa* L.) 植物 200 多个种和变种, 广泛分布于亚、欧、北非、北美等寒温带至亚热带地区。中国分布有 95 种蔷薇, 分为 2 个亚属 10 个组 (Ku & Robertson, 2003), 是重要的月季种质资源。进行准确的核型分析是将其有效应用于月季遗传改良的前提。由于蔷薇属植物染色体较小, 缺乏明显可见具有随体的染色体 (李懋学和张赞平, 1996; Crane & Byrne, 2003; 蹇洪英等, 2009), 传统的核型分析难以做到准确的同源配对。以核糖体 RNA 基因 (rDNA) 为探针的染色体荧光原位杂交是对染色体较小且形态相近的物种进行染色体分析的有效手段 (Liu & Wendel, 2003; 徐延浩等, 2007)。rDNA-FISH 应用于蔷薇属植物的研究已有一些报道 (Ma et al., 1997; Fernández-Romero et al., 2001; Akasaka et al., 2002, 2003; Lim et al., 2005; 田敏等, 2012, 2013a, 2013b; Jian et al., 2013b)。田敏等 (2012, 2013a, 2013b) 和 Jian 等 (2013b), 采用荧光原位杂交技术检测了 45S rDNA 在部分野生种、古老月季品种及现代月季品种中数量和信号强弱的差异, 但中国应用荧光原位杂交技术对蔷薇属植物进行研究尚属起步阶段。

多苞蔷薇种内具有丰富的表型变异 (中国农业科学院中国植物志编辑委员会, 1985), 川滇蔷薇耐旱和耐贫瘠 (周志琼等, 2009), 金樱子具有较好的抗虫性 (魏开炬等, 2013), 目前尚未见 rDNA 在多苞蔷薇和川滇蔷薇染色体上定位的研究; Ma 等 (1997) 仅报道了金樱子的染色体组有 1 对 45S rDNA 位点, 并未进行核型分析。本研究中利用双色荧光原位杂交技术对 45S 和 5S rDNA 在多苞蔷薇、川滇蔷薇和金樱子的体细胞染色体上进行定位, 为这 3 种蔷薇属植物的染色体识别提供明确有效的标记, 为进一步利用这 3 种蔷薇对现代月季进行遗传改良提供分子细胞遗传学背景资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

材料分别为桂味组 (Section *Cinnamomeae*) 的多苞蔷薇 (*Rosa multibracteata* Helm. et Wils.)、合柱组 (Section *Synstylae*) 的川滇蔷薇 (*R. soulieana* Crép.) 及金樱子组 (Section *Laevigatae*) 的金樱子 (*R. laevigata* Michx.), 均保存于云南省农业科学院花卉研究所的月季种质资源圃中。本试验于 2012 年 8 月采集嫩芽预处理后进行染色体制片, 原位杂交试验于 2013 年 1 月完成。

### 1.2 探针标记

45S rDNA 克隆自番茄, 质粒由武汉大学生命科学学院李立家教授提供, 用 EasyPure Plasmid MiniPrep Kit 提取 (北京全式金生物技术有限公司), 以生物素 (Biotin-16-dUTP) 用缺口平移法标记 (Roche, Biotin-Nick Translation Mix, No.11745824910); 5S rDNA 以 PCR 方法获得, 参照 Akasaka 等 (2002) 的方法制备, 并以 PCR 产物纯化试剂盒纯化 (上海杰瑞生物工程有限公司), 以地高辛 (Dig-11-dUTP) 用缺口平移法标记 (Roche, Dig-Nick Translation Mix, No. 11745816910), 按说明书的方法操作。

### 1.3 染色体制片、原位杂交、图像检测及分析

染色体制片参照 Ma 等 (1997) 的方法。原位杂交流程参照 Akasaka 等 (2003) 的方法进行。杂交图像在 Zeiss 荧光显微镜 (Axiophot 2) 下观察并获取, 用 Zeiss 系统软件及 Photoshop 软件对图像进行处理分析。核型分析采用李懋学和陈瑞阳 (1985) 的标准, 核型类型根据 Stebbin (1971) 的

分类标准划分, 染色体排序参考 Jian 等 (2013a) 的常规核型分析的结果排列。

## 2 结果与分析

### 2.1 多苞蔷薇 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

以 45S rDNA 和 5S rDNA 为探针的 3 种蔷薇属植物的荧光原位杂交结果及核型见图 1 和表 1。

45S rDNA 和 5S rDNA 在多苞蔷薇上 (图 1, A、A') 各检出 1 对位点。本试验中发现多苞蔷薇有两种核型, 一种 (图 1, A) 核型公式为  $2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$ , 核型为 1A 型, 除 4 号染色体为亚中部着丝点染色体 (sm) 外其它都是中部着丝点染色体 (m), 此类型中 45S rDNA 定位在 4 号染色体的短臂上 (S), 1 个杂交信号比另 1 个稍弱; 5S rDNA 位于 5 号染色体长臂 (L) 的近着丝点端, 1 个杂交信号比另 1 个稍弱。另一种类型 (图 1, A') 核型公式为  $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ , 核型为 2A 型, 除 3 号和 6 号为亚中部着丝点染色体 (sm) 外, 其余均为中部着丝点染色体 (m), 而且 3 号和 6 号都是异形同源染色体, 此类型中 45S rDNA 定位在 3 号染色体的短臂上 (S), 杂交信号较长染色体的稍弱; 5S rDNA 位于 6 号 (sm) 染色体的长臂 (L) 的近着丝点处, 杂交信号较长染色体的稍弱一些。

### 2.2 川滇蔷薇 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

45S rDNA 和 5S rDNA 在川滇蔷薇上 (图 1, B) 分别检出 1 对和 2 对位点。基于 rDNA-FISH 的川滇蔷薇核型公式为  $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ , 核型为 2A 型, 4 号和 7 号染色体为亚中部着丝点染色体 (sm), 其余为中部着丝点染色体 (m), 其中 7 号为异形同源染色体。45S rDNA 位于 7 号染色体的短臂上 (S), 较短染色体的信号稍弱一些。5S rDNA, 1 对位于 4 号染色体长臂 (L) 的近着丝点端, 1 个杂交信号较另 1 个强很多; 另 1 对位于 7 号染色体长臂 (L) 的近着丝点端, 较短染色体的信号稍弱一些, 其信号强度介于 4 号染色体两个信号的强度之间。

### 2.3 金樱子 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

45S rDNA 在金樱子上 (图 1, C) 检出 1 对位点。5S rDNA 检出 2 对位点。基于 rDNA-FISH 的金樱子核型公式为  $2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$ , 核型为 2A 型, 4 号和 5 号为亚中部着丝点染色体 (sm), 其余为中部着丝点染色体 (m), 其中 4 号为异形同源染色体。45S rDNA 位于 4 号染色体的短臂上 (S), 杂交信号强弱一致; 5S rDNA 1 对位于 4 号染色体的长臂 (L) 的近着丝点处, 另 1 对位于 6 号染色体长臂 (L) 的近着丝点处, 位于 4 号染色体的 1 对杂交信号比 6 号染色体的弱。

表 1 蔷薇属 3 个野生种基于 45S rDNA 和 5S rDNA 的核型基本参数  
Table 1 Karyotype parameters of chromosome of three species based on FISH  
with 45S rDNA and 5S rDNA as probe

物种名称 Species	核型公式 Karyotype formular	核型类型 Karyotype type	45S rDNA 位置 45S rDNA position	5S rDNA 位置 5S rDNA position
多苞蔷薇 <i>R. multibracteata</i>	$2n = 2x = 14 = 12m + 2sm$	1A	4S	5L
	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$	2A	3S	6L
川滇蔷薇 <i>R. soulieana</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$	2A	7S	4L, 7L
金樱子 <i>R. laevigata</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$	2A	4S	4L, 6L

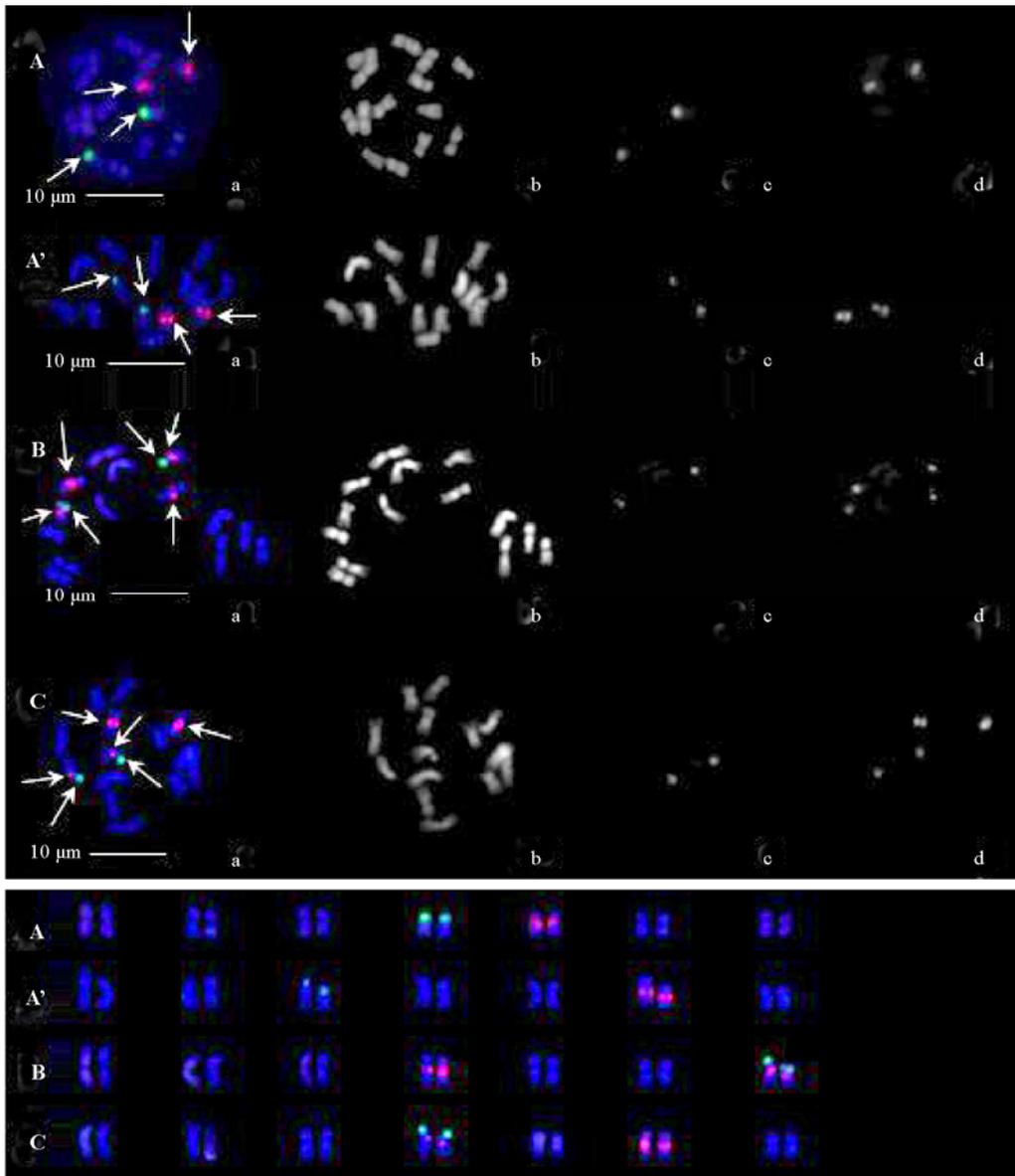


图 1 以 45S 和 5S rDNA 为探针对 3 个蔷薇属野生种有丝分裂中期染色体的杂交情况及核型

A, A': 多苞蔷薇; B: 川滇蔷薇; C: 金樱子。

a: 45S rDNA (绿色) 和 5S rDNA (红色) 与 DAPI 复染的染色体 (蓝色) 的合成图;

b: 各蔷薇属植物有丝分裂中期染色体; c: 45S rDNA 杂交信号; d: 5S rDNA 杂交信号。

Fig. 1 FISH localization of 45S rDNA and 5S rDNA on metaphase chromosomes of the three *Rosa* species and homologous pairing of chromosomes based on 5S rDNA and 45S rDNA FISH

A, A': *R. multibracteata*; B: *R. soulieana*; C: *R. laevigata*.

a: A merged image of the metaphase chromosomes and the FISH signals. 45S rDNA (green), 5S rDNA (red), DAPI (blue);

b: Metaphase chromosomes; c: FISH signals of 45S rDNA; d: FISH signals of 5S rDNA.

### 3 讨论

本研究中基于 rDNA-FISH 的核型分析发现多苞蔷薇有两种核型类型, 一种与 Jian 等 (2013a) 基于常规核型分析的结果相同, 属较为原始的 1A 型, 另一种为更进化的 2A 型 (Stebbins, 1971)。前者没有异形同源染色体, 且 5S rDNA 位点染色体不是 sm 染色体; 后者的两对 rDNA 染色体都是

异形同源染色体。本课题组保存的多苞蔷薇来自 3 个居群, 本研究中发现其具有两种核型, 可能是由于两种核型的多苞蔷薇来自不同居群, 它们之间存在核型差异, 需要对不同居群的多苞蔷薇分别取样研究。这也从细胞水平上反映了为何多苞蔷薇种内形态变异丰富(中国科学院中国植物志编辑委员会, 1985)。唐开学(2009)认为川滇蔷薇种内存在着丰富的居群间和居群内表型变异。本研究中川滇蔷薇核型及核型公式与 Jian 等(2013a)基于常规核型分析的结果相同, 但两对 sm 染色体的序号相差较大, 这可能是由于研究材料来源不同所致。金樱子在核型和核型公式上与 Crane 和 Byrne(2003)及 Jian 等(2012)基于常规核型分析的结果相同, 但在染色体排序上稍有差别。因此, 蔷薇属植物不仅在种间存在丰富的核型多样性(唐开学, 2009; Jian et al., 2013a), 种内也存在丰富的变异, 应采用荧光原位杂交等较精确的方法对一些分布较广、种内存在丰富形态变异的蔷薇进行进一步的核型研究。本研究中还发现这 3 种蔷薇属野生种均存在异形同源染色体, 它们分别是多苞蔷薇(图 1, A') 3 号和 6 号染色体、川滇蔷薇 7 号染色体和金樱子 4 号染色体, 异形同源染色体在相对长度上存在明显差异, 由于较大的长度差异使研究人员在通过常规染色体核型分析时很容易将其错配。可见基于 rDNA-FISH 的蔷薇属植物染色体核型分析更加准确可靠。

核糖体 RNA 基因(ribosomal DNA, rDNA)是具有重要功能的保守重复序列, 成簇分布于 1 对或多对染色体上(Pedersen & Linde-Laursen, 1994)。45S rDNA 被认为在进化过程中相当保守, 与核仁形成有关, 一般在染色体的次缢痕部位, 也可存在于非次缢痕位点(徐川梅等, 2007; 轩淑欣等, 2007; 徐晶, 2009), 李懋学和张赞平(1996)也指出, 次缢痕既 NOR, 但 NOR 不一定在次缢痕区。蔷薇属植物的染色体很小, 在常规染色体分析中看不到次缢痕, 无法识别核仁组织区, 也很难识别其同源染色体。Akasaka 等(2002, 2003)研究 rDNA 在蔷薇属 9 个二倍体野生种的分布中发现 45S rDNA 均定位在 1 对异形同源 sm 染色体短臂的近端部。本研究中多苞蔷薇、川滇蔷薇和金樱子都只有 1 对 45S rDNA 位点, 大都位于 1 对异形同源 sm 染色体的短臂上。一般认为, 随体是高度惰性的异染色质, 着丝点附近区域亦是异染色质集中分布的区域。对其他物种的研究表明, 45S rDNA 位点可能位于长臂或短臂上, 但基本分布于近着丝点处(轩淑欣等, 2007)。Fransz 等(2002)认为, 在间期核中常染色质与异染色质都是具有特定空间结构的, 从而顺利实现基因的表达调控。那么蔷薇属植物中 45S rDNA 位点分布于 1 对异形同源 sm 染色体的短臂上应当与其特定功能有关。目前已有的报道(Ma et al., 1997; Fernández-Romero et al., 2001; Akasaka et al., 2002, 2003; Lim et al., 2005; 田敏等, 2012, 2013a, 2013b; Jian et al., 2013b)表明有 20 个蔷薇属二倍体野生种的 45S rDNA 位点数与其染色体倍性相同, 即 1 个染色体组有 1 个 45S rDNA 位点, 但卡罗莱纳组(Sect. *Carolinae*)的 *R. foliolosa* ( $2n = 2x = 14$ ) 有 6 个 45S rDNA 位点, 分别位于 3 对 sm 染色体短臂的端部, 可见在蔷薇属二倍体野生种中的 45S rDNA 数存在明显差异。需要积累更多野生蔷薇 rDNA 的研究资料以便探讨它们的系统关系。

5S rRNA 是核糖体大亚基的组成成分之一, 每个 5S rDNA 单元包括 120 bp 左右的转录区和 100~700 bp 的非转录区(Appels & Baum, 1992)。Mantovani 等(2005)发现在大部分已进行了 5S rDNA 定位的物种中, 其数量以 1 对或 2 对为主, 但在染色体上没有固定的分布模式。Akasaka 等(2002; 2003)在研究中发现, 蔷薇属 9 个二倍体野生种中 5S rDNA 位点数有 2 个(1 对)、3 个和 4 个(2 对), 其中只有 1 对的种的 5S rDNA 位点位于非 45S rDNA 染色体长臂的近着丝点处; 有 3 个或 2 对的种其 5S rDNA 有 1 对与 45S rDNA 位于同一染色体的长臂或短臂上, 其余位点位于另外染色体的长臂的近着丝点处。Lim 等(2005)的研究表明 5S rDNA 在五倍体狗蔷薇中有 8 个位点均位于染色体长臂的近着丝点处, 其中有 3 个位点与 45S rDNA 位于同一染色体, 另外 5 个位点位于另外的染色体上。本研究中多苞蔷薇有 1 对 5S rDNA 位于非 45S rDNA 染色体的长臂的近着丝点处, 川滇蔷薇和金樱子有 2 对 5S rDNA 位点, 其中 1 对位于 45S rDNA 染色体的长臂的近着丝点处, 另 1 对

位于其它染色体长臂的近着丝点处。可见, 蔷薇属植物中 5S rDNA 位点按是否与 45S rDNA 有共线性分为两种: 只有 1 对 5S rDNA 位点的与 45S rDNA 没有共线性, 且位于 1 对染色体长臂的近着丝点处; 有 3 个或 2 对 5S rDNA 位点的, 与 45S rDNA 有共线性的 5S rDNA 位点可位于染色体短臂或长臂的近着丝点处, 另外的位点位于其它染色体长臂的近着丝点处。

本研究中通过双色荧光原位杂交技术对多苞蔷薇、川滇蔷薇和金樱子 3 种蔷薇野生种的 45S 与 5S rDNA 在体细胞中期染色体上进行物理定位, 不但能准确地识别各自染色体组中的同源染色体, 而且还能通过杂交位点数量、位置和强弱体现各自染色体的结构特征, 为这 3 种植物的染色体识别提供了明确有效的标记。rDNA 在蔷薇属植物上的应用已从分子细胞遗传学层面对部分野生种、古老月季及现代月季间的关系作了一些阐述 (Ma et al., 1997; Fernández-Romero et al., 2001; Akasaka et al., 2002, 2003; Lim et al., 2005; 田敏 等, 2012, 2013a, 2013b; Jian et al., 2013b), 为了更好地将蔷薇野生资源应用于现代月季遗传改良工作中, 需要积累更多种蔷薇的 rDNA-FISH 资料。已有的研究也表明以 rDNA 为探针还不能完全区分蔷薇属植物的每对同源染色体, 应从蔷薇属植物的基因组中分离出其它特异重复序列作为探针以区分各对同源染色体, 这不仅可用于探讨蔷薇属植物的演化, 还可在现代月季遗传育种工作中明确染色体的去向, 从而提高育种效率。

## References

- Akasaka M, Ueda Y, Koba T. 2003. Karyotype analysis of wild rose species belonging to septet B, C and D by molecular cytogenetics method. *Breeding Science*, 53: 177 - 182.
- Akasaka M, Ueda Y, Koba T. 2002. Karyotype analysis of five wild rose species belonging to septet A by fluorescence *in situ* hybridization. *Chromosome Science*, 6: 17 - 26.
- Appels R, Baum B. 1992. Evolution of the NOR and 5S DNA loci in the *Triticeae*. *Molecular Systematics of Plants*, 92: 116.
- China Flora Editorial Board of CAS. 1985. *China Flora*. Vol. 37. Beijing: Science Press: 414 - 416. (in Chinese)
- 中国科学院中国植物志编辑委员会. 1985. 中国植物志. 37 卷. 北京: 科学出版社: 414 - 416.
- Crane Y M, Byrne D H. 2003. Karyology // Roberts A V, Debener T, Gudin S. *Encyclopedia of rose sciences*. Oxford: Elsevier Science: 267 - 285.
- Fernández-Romero M D, Torres A M, Millán T, Cubero J I, Cabrera A. 2001. Physical mapping of ribosomal DNA on several species of the subgenus *Rosa*. *Theoretical and Applied Genetics*, 103: 835 - 838.
- Fransz P, de Jong J H, Lysak M, Castiglione M R, Schubert I. 2002. Interphase chromosomes in *Arabidopsis* are organized as well defined chromocenters from which euchromatin loops emanate. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99 (22): 14584 - 14589.
- Ku C Z, Robertson K R. 2003. *Flora of China*. Vol. 9. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanical Garden Press: 339 - 381.
- Jian Hong-ying, Zhang Ting, Wang Qi-gang, Li Shu-bin, Zhang Hao, Tang Kai-xue. 2013a. Karyological diversity of wild *Rosa* in Yunnan, Southwestern China. *Genetic resources and crop evolution*, 60: 115 - 127.
- Jian Hong-ying, Tian Min, Zhang Ting, Li Shu-bin, Zhang Hao, Tang Kai-xue. 2013b. Chromosome variation from Sect. *Chinenses* (*Rosa* L.) through Chinese old garden roses to modern rose cultivars. *Acta Horticulturae*, 977: 157 - 165.
- Jian Hong-ying, Zhang Hao, Li Shu-fa, Wang Qi-gang, Qiu Xian-qin, Tang Kai-xue. 2009. A review on the karyological study of genus *Rosa* L. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 22 (1): 207 - 211. (in Chinese)
- 蹇洪英, 张 颢, 李树发, 王其刚, 邱显钦, 唐开学. 2009. 蔷薇属植物的胞核学研究及其展望. *西南农业学报*, 22 (1): 207 - 211.
- Li Mao-xue, Zhang Zan-ping. 1996. *Chromosome and research techniques of crops*. Beijing: China Agriculture Press: 13 - 20. (in Chinese)
- 李懋学, 张赞平. 1996. 作物染色体及其研究技术. 北京: 中国农业出版社: 13 - 20.
- Li Mao-xue, Chen Rui-yang. 1985. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 3 (4): 297 - 302. (in Chinese)
- 李懋学, 陈瑞阳. 1985. 关于植物核型分析的标准化问题. *武汉植物学研究*, 3 (4): 297 - 302.
- Lim K Y, Werlemark G, Matyasek R, Bringloe J B, Sieber V, El Mokadem H, Meynet J, Hemming J, Leitch A R, Roberts A V. 2005. Evolutionary

- implications of permanent odd polyploidy in the stable sexual pentaploid of *Rosa canina* L. *Heredity*, 94 (5): 501 - 506.
- Liu B, Wendel J F. 2003. Epigenetic phenomena and the evolution of plant allopolyploids. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 29: 365 - 379.
- Ma Y, Islam-faridi M N, Crane C F, Ji Y, Stelly D M, Price H J, Byrne D H. 1997. *In situ* hybridization of ribosomal DNA to rose chromosomes. *Journal of Heredity*, 88 (2): 158 - 161.
- Mantovani M, Abel L D, Moreira-Filho O. 2005. Conserved 5S and variable 45S rDNA chromosomal localisation revealed by FISH in *Astyanax scabripinni* (Pisces, Characidae). *Genetica*, 123 (3): 211 - 216.
- Pedersen C, Linde-Laursen I. 1994. Chromosomal locations of four minor rDNA loci and a marker microsatellite sequence in barley. *Chromosome Research*, 2: 65 - 71.
- Stebbins G L. 1971. Chromosomal evolution in higher plants. London: Edward Arnold: 87 - 90.
- Tang Kai-xue. 2009. Study on germplasm resources of *Rosa* L. in Yunnan [Ph. D. Dissertation]. Kunming: Yunnan University. (in Chinese)  
唐开学. 2009. 云南蔷薇属种质资源研究 [博士论文]. 昆明: 云南大学.
- Tian Min, Zhang Ting, Tang Kai-xue, Zhang Hao, Wang Qi-gang, Li Shu-bin, Yan Hui-jun, Qiu Xian-qin, Jian Hong-ying. 2013a. FISH analysis of 45S rDNA on the chromosomes of Chinese old garden roses. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 28 (3): 380 - 385. (in Chinese)  
田 敏, 张 婷, 唐开学, 张 颢, 王其刚, 李淑斌, 晏慧君, 邱显钦, 蹇洪英. 2013a. 45S rDNA 在中国古老月季品种染色体上的荧光原位杂交分析. *云南农业大学学报*, 28 (3): 380 - 385.
- Tian Min, Jian Hong-ying, Zhang Ting, Mo Xi-jun, Gui Min, Zhang Hao, Tang Kai-xue. 2013b. FISH analysis of different varieties on *Rosa chinensis* and *Rosa odorata* (*Rosa* L., Rosaceae). *Jiangsu Agricultural Sciences*, 41 (12): 183 - 185. (in Chinese)  
田 敏, 蹇洪英, 张 婷, 莫锡君, 桂 敏, 张 颢, 唐开学. 2013b. 月季花 (*Rosa chinensis*) 和香水月季 (*Rosa odorata*) 不同变种的染色体荧光原位杂交研究. *江苏农业科学*, 41 (12): 183 - 185.
- Tian Min, Jian Hong-ying, Jia Yan-xia, Zhang Ting, Wang Qi-gang, Zhang Hao, Tang Kai-xue. 2012. FISH analysis of 45S rDNA on modern roses. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 25 (6): 2263 - 2266. (in Chinese)  
田 敏, 蹇洪英, 贾艳霞, 张 婷, 王其刚, 张 颢, 唐开学. 2012. 现代月季 45S rDNA 的荧光原位杂交分析. *西南农业学报*, 25 (6): 2263 - 2266.
- Wei Kai-ju, Zhan Fei, Zhang Long-hua, Chen Yang. 2013. Investigation on resources of insecticidal plants in Youxi county. *Forest By-Product and Speciality in China*, 123 (2): 62 - 69. (in Chinese)  
魏开炬, 詹 斐, 张龙华, 陈 养. 2013. 尤溪县杀虫植物资源调查研究. *中国林副特产*, 123 (2): 62 - 69.
- Xuan Shu-xin, Shen Shu-xing, Zhao Jian-jun, Zhang Cheng-he, Chen Xue-ping, Qie Li-juan. 2007. Location of 25S rDNA and 5S rDNA in Chinese cabbage-pe-tsay metaphase chromosome. *Scientia Agricultura Sinica*, 40 (4): 782 - 787. (in Chinese)  
轩淑欣, 申书兴, 赵建军, 张成合, 陈雪平, 鄯丽娟. 2007. 25S rDNA 和 5S rDNA 在大白菜中期染色体上的 FISH 定位. *中国农业科学*, 40 (4): 782 - 787.
- Xu Chuan-mei, Bie Tong-de, Wang Chun-mei, Zhou Bo, Chen Pei-du. 2007. Distribution of 45S rDNA sequence on chromosomes of *Triticum aestivum* and its relative species. *Hereditas*, 29 (9): 1126 - 1130. (in Chinese)  
徐川梅, 别同德, 王春梅, 周 波, 陈佩度. 2007. 45S rDNA 在小麦及其近缘物种染色体上的分布. *遗传*, 29 (9): 1126 - 1130.
- Xu Jing. 2009. The polymorphism and evolution pattern of the 18S-26S rRNA gene family within the genome of *Camellia sinensis* [M. D. Dissertation]. Shanghai: Fudan University. (in Chinese)  
徐 晶. 2009. 茶 18S-26S rDNA 的多态性与进化 [硕士论文]. 上海: 复旦大学.
- Xu Yan-hao, Yang Fei, Cheng You-lin, Ma Lu, Wang Jian-bo, Li Li-jia. 2007. Comparative analysis of rDNA distribution in metaphase chromosomes of Cucurbitaceae species. *Hereditas*, 29 (5): 614 - 620. (in Chinese)  
徐延浩, 杨 飞, 程有林, 马 璐, 王建波, 李立家. 2007. 45S rDNA 和 5S rDNA 在南瓜、丝瓜和冬瓜染色体上的比较定位. *遗传*, 29 (5): 614 - 620.
- Zhou Zhi-qiong, Bao Wei-kai, Wu Fu-zhong. 2009. Capability and limitation of regeneration of *Rosa hugonis* and *Rosa soulieana* in the dry valley of the upper Minjiang River. *Acta Ecologica Sinica*, 29 (4): 1931 - 1939. (in Chinese)  
周志琼, 包维楷, 吴福忠. 2009. 岷江干旱河谷黄蔷薇和川滇蔷薇更新能力及其限制因素. *生态学报*, 29 (4): 1931 - 1939.