

中甸刺玫及其近缘种基于 FISH 的核型分析

方桥^{1,2}, 田敏¹, 张婷¹, 王其刚¹, 晏慧君¹, 邱显钦¹, 周宁宁¹,
张颢¹, 蹇洪英^{1,*}, 唐开学^{1,*}

(¹云南省农业科学院花卉研究所, 国家观赏园艺工程技术研究中心, 昆明 650205; ²云南大学生命科学学院, 昆明 650091)

摘要: 为了解中甸刺玫 (*Rosa praelucens* Byhouwer) 异源十倍体的起源, 以中甸刺玫及与其同域分布的 20 个蔷薇属近缘种为研究材料, 以 45S rDNA 和 5S rDNA 为探针, 采用双色荧光原位杂交 (FISH) 技术研究其核型。(1) 21 种蔷薇中只有中甸刺玫的核型为 2B, 其他种的核型均为 2A。(2) 细胞分裂间期除拟木香的 45S rDNA 杂交位点与倍性不一致外, 其他 20 种蔷薇的 45S rDNA 位点数与倍性相同; 细胞分裂中期所有蔷薇的 45S rDNA 杂交位点数都与倍性相同; 细梗蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、钝叶蔷薇、西北蔷薇、拟木香、全针蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、华西蔷薇、橘黄香水月季、刺梨、中甸刺玫等 14 种蔷薇的 45S rDNA 有脆性位点。(3) 5S rDNA 杂交位点的数量和位置在蔷薇属中不确定, 多腺小叶蔷薇、橘黄香水月季、卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇这 5 个二倍体蔷薇的细胞分裂间期和中期都有 4 个 5S rDNA 杂交位点, 西北蔷薇和拟木香这两个二倍体蔷薇的间期有 4 个 5S rDNA 杂交位点, 中期有 2 个杂交位点, 其他 14 种蔷薇的间期和中期 5S rDNA 杂交位点数与倍性一致。上述结果表明, 45S rDNA 和 5S rDNA 的 FISH 能准确地定位蔷薇属植物的部分染色体, 使核型分析结果更加精确。根据中甸刺玫及其近缘种的核型特征, 推测中甸刺玫的原始亲本可能是细梗蔷薇、华西蔷薇和西南蔷薇。

关键词: 蔷薇属; 中甸刺玫; FISH; 45S rDNA; 5S rDNA; 杂交起源; 核型分析

中图分类号: S 685.12

文献标志码: A

文章编号: 0513-353X (2020) 03-0503-14

Karyotype Analysis of *Rosa praelucens* and Its Closely Related Congeneric Species Based on FISH

FANG Qiao^{1,2}, TIAN Min¹, ZHANG Ting¹, WANG Qigang¹, YAN Huijun¹, QIU Xianqin¹, ZHOU Ningning¹, ZHANG Hao¹, JIAN Hongying^{1,*}, and TANG Kaixue^{1,*}

(¹Flower Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, National Engineering Research Center of Ornamental Horticulture, Kunming 650205, China; ²Life School of Yunnan University, Kunming 650091, China)

Abstract: In order to identify the possible original ancestors of the allodecaploid *Rosa praelucens* Byhouwer, the cytological Fluorescence *in situ* Hybridization (FISH) with 45S rDNA and 5S rDNA as probes was used to study the karyotypes of *R. praelucens* and 20 other closely related and sympatrically distributed congeneric species. The results were as follows: (1) Among the studied 21 rose species, only the karyotype of *R. praelucens* was 2B, and that of the other 20 species all belonged to 2A. (2) The number

收稿日期: 2019-10-12; **修回日期:** 2020-03-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31560301, 31972443)

* 通信作者 Author for correspondence (E-mail: ynwildflower@aliyun.com, kxtang@hotmail.com)

of 45S rDNA hybridization sites in 20 rose species was identical to their ploidy number in interphase cells, except for that of the diploid *R. banksiopsis*, which had three 45S rDNA hybridization sites. The number of 45S rDNA sites equaled to its ploidy number in metaphase cells. Some 45S rDNA loci in 14 species, namely, *R. graciliflora*, *R. omeiensis* var. *omeiensis*, *R. sericea*, *R. mairei*, *R. sertata*, *R. davidii*, *R. banksiopsis*, *R. persetosia*, *R. macrophylla*, *R. acicularis*, *R. moyesii*, *R. odorata* var. *pseudoinдика*, *R. roxburghii* and *R. praelucens* were fragile sites. (3) The number and location of 5S rDNA loci were uncertain. Diploid *R. willmottiae* var. *glandulifera*, *R. odorata* var. *pseudoinдика*, *R. helenae*, *R. brunonii* and *R. soulieana* var. *soulieana* all had four 5S rDNA hybridization sites in both interphase and metaphase cells. In addition, there were four 5S rDNA hybridization sites in the interphase of diploids *R. davidii* and *R. banksiopsis*, but only two 5S rDNA hybridization sites could be observed in metaphase. The number of 5S rDNA hybridization loci of other 14 species in both interphase and metaphase were identical to their ploidy. These results indicated that FISH with 45S rDNA and 5S rDNA as probes could identify some of the chromosomes more accurately and thus could improve the results of karyological study of genus *Rosa*. Based on the mapping of rDNA in the chromosomes of *R. praelucens* and its 20 relative species, it could be postulated that *R. graciliflora*, *R. moyesii* and *R. murielae* were the possible original ancestors of *R. praelucens*.

Keywords: *Rosa*; *Rosa praelucens*; FISH; 45S rDNA; 5S rDNA; hybrid origination; karyotype analysis

染色体荧光原位杂交 (Fluorescence in situ Hybridization, FISH) 是根据碱基的配对原则 (DNA-DNA 和 DNA-RNA), 然后将标记的探针 (用生物素、地高辛等荧光染料进行标记) 直接杂交到染色体或 DNA 纤维上, 再用与荧光素分子偶联的单克隆抗体与探针分子特异结合, 通过荧光杂交信号来检测 DNA 序列在染色体或 DNA 纤维上的定位 (聂谷华 等, 2006)。rDNA 即核糖体 DNA, 具有高度保守性和重复性。常用来作 FISH 探针的有 45S rDNA 和 5S rDNA。45S rDNA 是编码 5.8S、18S 和 26S 这 3 种 rRNA 的前体 (Poczai & Hyrönen, 2010), 主要定位于核仁组织区 (NOR), 参与核仁形成, 一般在染色体的次缢痕部位, 与随体相连 (王燕 等, 2012)。5S rDNA 是核糖体大亚基的组成成分之一, 由编码区和非编码区组成 (Falistocco et al., 2007), 但它与核仁没有明显关系 (兰添颖 等, 2007)。通过 FISH 技术将 rDNA 在染色体上进行物理定位, 阐明染色体的结构变异, 可以研究植物种属间的进化关系, 并用于杂种鉴定 (翁天均, 2011; 陈志, 2015)。利用 FISH 研究蔷薇属植物尚处于初级阶段, 主要集中在以 rDNA 为探针的原位杂交对部分野生种、古老月季、现代月季以及杂交后代的染色体结构和核型进行研究 (Ma et al., 1997; Akasaka et al., 2002, 2003; Lim et al., 2005; 田敏 等, 2012; 张婷 等, 2014, 2018; Ding et al., 2016)。

中甸刺玫 (*Rosa praelucens* Byhouwer) 是蔷薇属植物中仅有的大型直立树状灌木, 花色艳丽且变异丰富, 观赏价值极高, 是重要的高山观赏花卉 (Li & Zhou, 2005; 白锦荣和张启翔, 2008; 唐开学, 2009)、耐低温的月季种质资源 (邓菊庆 等, 2013) 以及食果植物资源 (何永华 等, 1997)。中甸刺玫也是云南香格里拉的特有“极危”植物 (覃海宁 等, 2017)。Jian 等 (2010) 在对云南蔷薇野生资源进行核型研究时发现中甸刺玫是异源十倍体, 是唯一有报道的十倍体蔷薇属野生种, 也是该属中目前发现的最高倍性植物。虽然目前对中甸刺玫的了解越来越深入, 包括表型变异 (李树发 等, 2013)、种群现状 (周玉泉, 2016)、繁育系统 (伍翔宇 等, 2014) 以及种内的遗传分化和

遗传多样性 (Jian et al., 2018) 等, 但其在分类学上的地位仍有争议, 其十倍体起源也是未解之谜。王开锦等 (2018) 根据 5S rDNA 和叶绿体 DNA 片段得出中甸刺玫与桂味组的物种聚在一起, 但与小叶组的刺梨关系较远, 并推测细梗蔷薇、华西蔷薇、尾萼蔷薇、西南蔷薇、西北蔷薇可能是其亲本。

本研究中以 45S rDNA 和 5S rDNA 为探针的 FISH 技术对中甸刺玫及与之分布区相同或接近的其他 20 个蔷薇属野生种的体细胞分裂间期和中期染色体进行核型分析, 一方面明确这些蔷薇属植物基于 45S rDNA 与 5S rDNA 的染色体结构和核型特征, 另一方面探讨中甸刺玫基于分子细胞遗传学的可能亲本。

1 材料与方法

1.1 试验材料及其染色体制备

材料为中甸刺玫以及与其分布区相同或接近的蔷薇属芹叶组、桂味组、月季组、合柱组、小叶组的植物共 21 种 (表 1)。部分用于制备染色体的材料茎尖直接采自野外, 其余材料的茎尖则采自云南省农业科学院花卉研究所月季种质资源圃。

表 1 研究材料的分类及地理来源

Table 1 Detailed taxonomic and geological information of the studied *Rosa* species

组	编号	种或品种	采集地点	
Section	No.	Species/variety	Sampling site	
芹叶组 Sect. <i>Pimpinellifoliae</i>	1	细梗蔷薇 <i>R. graciliflora</i>	香格里拉小中甸 Xiaozhongdian, Shangri-La	
	2	峨眉蔷薇 <i>R. omeiensis</i> var. <i>omeiensis</i>	香格里拉白水台 Baishuitai, Shangri-La	
	3	绢毛蔷薇 <i>R. sericea</i>	资源圃 (来自丽江木家桥) Resource Nursery (from Mujiqiao, Lijiang)	
	4	毛叶蔷薇 <i>R. mairei</i>	资源圃 (来自维西托枝) Resource Nursery (from Tuozhi, Weixi)	
	5	川西蔷薇 <i>R. sikangensis</i>	香格里拉大雪山 Daxueshan, Shangri-La	
	6	中甸蔷薇 <i>R. zhongdianensis</i>	资源圃 (来自香格里拉尼西) Resource Nursery (from Nixi, Shangri-La)	
桂味组 Sect. <i>Cinnamomeae</i>	7	多腺小叶蔷薇 <i>R. willmottiae</i> var. <i>glandulifera</i>	资源圃 (来自维西同乐村) Resource Nursery (from Tongle, Weixi)	
	8	钝叶蔷薇 <i>R. sertata</i>	资源圃 (来自香格里拉白水台) Resource Nursery (from Baishuitai, Shangri-La)	
	9	西北蔷薇 <i>R. davidii</i>	德钦明永冰川 Mingyong Glacier, Deqin	
	10	拟木香 <i>R. banksiopsis</i>	德钦明永冰川 Mingyong Glacier, Deqin	
	11	全针蔷薇 <i>R. persetosa</i>	维西同乐村 Tongle, Weixi	
	12	西南蔷薇 <i>R. muriei</i>	香格里拉格咱 Gezan, Shangri-La	
	13	大叶蔷薇 <i>R. macrophylla</i>	维西同乐村 Tongle, Weixi	
	14	刺蔷薇 <i>R. acicularis</i>	维西同乐村 Tongle, Weixi	
	15	华西蔷薇 <i>R. moyesii</i>	维西同乐村 Tongle, Weixi	
	16	橘黄香水月季 <i>R. odorata</i> var. <i>pseudoindica</i>	资源圃 (来自丽江新主) Resource Nursery (from Xinzhu, Lijiang)	
	17	卵果蔷薇 <i>R. helenae</i>	资源圃 (来自丽江玉龙雪山) Resource Nursery (from Yulongxueshan, Lijiang)	
	18	复伞房蔷薇 <i>R. brunonii</i>	资源圃 (来自维西叶枝澜沧江) Resource Nursery (from Lancangjiang river side, Yezhi, Weixi)	
	19	川滇蔷薇 <i>R. soulieana</i> var. <i>soulieana</i>	资源圃 (来自香格里拉尼西) Resource Nursery (from Nixi, Shangri-La)	
	小叶组 Sect. <i>Microphyllae</i>	20	刺梨 <i>R. roxburghii</i>	资源圃 (宁蒍永宁) Resource Nursery (from Yongning, Ninglang)
		21	中甸刺玫 <i>R. praelucens</i>	香格里拉小中甸 Xiaozhongdian, Shangri-La

2017、2018 年每年 5—7 月于野外或资源圃采集生长旺盛的茎尖, 参照 Ma 等 (1997) 和田敏

等 (2012) 的方法进行预处理、固定和保存以及染色体制备。用 Leica DM4000 显微镜筛选出染色体分散好的片子, 在 37 °C 的烘箱下烘烤过夜后, -20 °C 保存备用。

1.2 制备探针与标记和染色体荧光原位杂交

45S rDNA 探针克隆自番茄基因组, 由武汉大学生命科学院李立家教授提供, 用 Biotin-Nick Translation Mix (No.11745824910, Roche Diagnostics, Germany) 进行标记。5S rDNA 探针从野蔷薇的基因组中通过 PCR 扩增获得, 纯化后用 Dig-Nick Translation Mix (No. 11745816910, Roche Diagnostics, Germany) 进行标记。

采用 Ma 等 (1997) 和 Mishima 等 (2002) 的方法进行染色体荧光原位杂交试验。杂交后的图片使用 CytoVision 软件在 Leica DM4000 荧光显微下捕获图像。用 Image-ProPlus 6.0 软件测量染色体的长、短臂及染色体全长, 用 Photoshop 6.0 软件对染色体进行排序, 用 Excel 对数据进行计算。

1.3 核型分析

核型分析采用李懋学和陈瑞阳 (1985) 的标准, 据 Arano (1962) 和 Kuo (1972) 的方法计算核型不对称系数、臂比、染色体相对长度, 据 Levan 等 (2009) 的分类系统确定染色体类型, 核型类型根据 Stebbins (1971) 的分类标准划分, 参考常规核型分析方法 (Jian et al., 2013) 进行染色体排列。

2 结果与分析

2.1 基于 FISH 的中甸刺玫及其近缘种的染色体数量与核型

从表 2 可知, 所研究的 21 个蔷薇野生种中除中甸刺玫是十倍体 ($2n = 10x = 70$), 大叶蔷薇、刺蔷薇和华西蔷薇为六倍体 ($2n = 6x = 42$) 外, 其他 17 个种是二倍体 ($2n = 2x = 14$)。除中甸刺玫的核型为 2B 外, 其他种的核型均为 2A。

表 2 蔷薇属 21 种植物基于 45S rDNA 和 5S rDNA 的核型基本参数

Table 2 Karyological parameters of 21 rose species based on FISH with 45S rDNA and 5S rDNA as probes

物种名称 Species	核型公式 Karyotype formula	核型类型 Karyo- type	最长染 色体/最短 染色体 Lt/St	核型不对 称系数/% Asymme- try index	臂比 > 2 染色体 占比 Ratio of chromosome of arm ratio >2	长度组成 Constitution of relative length
细梗蔷薇 <i>Rosa graciliflora</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$	2A	1.68	59.54	0.21	8M2 + 6M1
峨眉蔷薇 <i>R. omeiensis</i> var. <i>omeiensis</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6sm$	2A	1.59	62.17	0.29	2L + 8M2 + 4M1
绢毛蔷薇 <i>R. sericea</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6sm$	2A	1.51	61.30	0.21	8M2 + 6M1
毛叶蔷薇 <i>R. mairei</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6sm$	2A	1.60	62.30	0.07	8M2 + 6M1
川西蔷薇 <i>R. sikangensis</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4 sm$	2A	1.64	59.79	0.29	2L + 4M2 + 8M1
中甸蔷薇 <i>R. zhongdianensis</i>	$2n = 2x = 14 = 6m + 8 sm$	2A	1.65	63.33	0.29	2L + 4M2 + 8M1
多腺小叶蔷薇 <i>R. willmottiae</i> var. <i>glandulifera</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4 sm$	2A	1.55	60.09	0.21	2L + 4M2 + 8M1
钝叶蔷薇 <i>R. sertata</i>	$2n = 2x = 14 = 6sm + 8 m$	2A	1.77	64.30	0.29	2L + 4M2 + 8M1
西北蔷薇 <i>R. davidii</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4 sm$	2A	1.82	60.38	0.14	8M2 + 6M1
拟木香 <i>R. banksiopsis</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6 sm$	2A	1.53	61.49	0.14	4M2 + 10M1
全针蔷薇 <i>R. persetosia</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6 sm$	2A	1.57	61.96	0.21	2L + 4M2 + 8M1
西南蔷薇 <i>R. murielae</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4 sm$	2A	1.65	64.70	0.21	6M2 + 8M1
大叶蔷薇 <i>R. macrophylla</i>	$2n = 6x = 42 = 16m + 26 sm$	2A	1.97	63.45	0.38	8L + 10M2 + 22M1 + 2S
刺蔷薇 <i>R. acicularis</i>	$2n = 6x = 42 = 24m + 18 sm$	2A	1.96	61.50	0.21	4L + 12M2 + 24M1 + 2S
华西蔷薇 <i>R. moyesii</i>	$2n = 6x = 42 = 28m + 14 sm$	2A	1.82	60.79	0.17	4L + 12M2 + 24M1 + 2S
橘黄香水月季 <i>R. odorata</i> var. <i>pseudoindica</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4 sm$	2A	1.78	61.68	0.21	2L + 6M2 + 6M1

续表 2

物种名称 Species	核型公式 Karyotype formula	核型类型 Karyo- type	最长染 色体/ 最短 染色体 Lt/St	核型不对 称系数/% Asymme- try index	臂比 > 2 染色体 占比 Ratio of chromosome of arm ratio >2	长度组成 Constitution of relative length
卵果蔷薇 <i>R. helenae</i>	$2n = 2x = 14 = 6m + 8 sm$	2A	1.62	63.87	0.21	2L + 4M2 + 8M1
复伞房蔷薇 <i>R. brunonii</i>	$2n = 2x = 14 = 8m + 6 sm$	2A	1.96	62.26	0.36	2L + 4M2 + 6M1 + 2S
川滇蔷薇 <i>R. soulieana</i> var. <i>soulieana</i>	$2n = 2x = 14 = 6m + 8 sm$	2A	1.79	63.30	0.50	2L + 6M2 + 4M1 + 2S
刺梨 <i>R. roxburghii</i>	$2n = 2x = 14 = 10m + 4sm$	2A	1.70	60.10	0.07	2L + 6M2 + 4M1 + 2S
中甸刺玫 <i>R. praelucens</i>	$2n = 10x = 70 = 38m + 32 sm$	2B	2.05	62.19	0.30	10L + 18M2 + 38M1 + 4S

2.2 荧光原位杂交信号

2.2.1 脆性位点

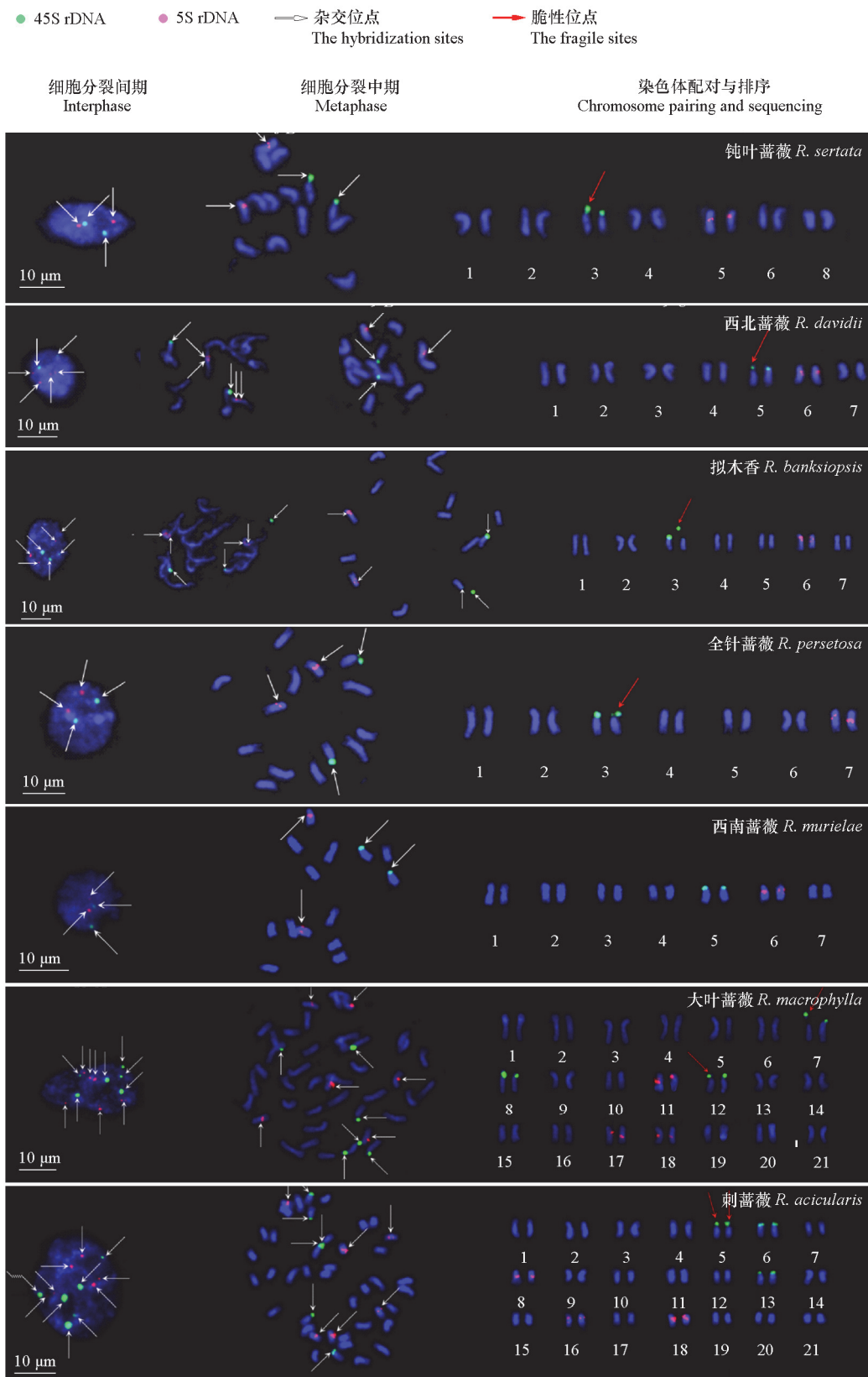
从图 1 和表 3 可知, 中甸刺玫的染色体组中有 2 个 45S rDNA 脆性位点, 13 个近缘种 (细梗蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、钝叶蔷薇、西北蔷薇、拟木香、全针蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、华西蔷薇、橘黄香水月季和刺梨) 出现了 1 ~ 2 个脆性位点。其中, 中甸刺玫和细梗蔷薇、绢毛蔷薇、拟木香、全针蔷薇、大叶蔷薇、橘黄香水月季中的 45S rDNA 杂交位点直接与染色体分开, 属于断裂的脆性位点; 而峨眉蔷薇、毛叶蔷薇、钝叶蔷薇、西北蔷薇、刺蔷薇、刺梨、华西蔷薇的 45S rDNA 杂交位点虽然断裂但还与染色体连在一起, 是裂隙的脆性位点。其他 7 个近缘种未发现脆性位点。

2.2.2 45S rDNA 杂交位点

从图 1 和表 3 可知, 二倍体的拟木香细胞分裂间期有 3 个 45S rDNA 的杂交位点, 其中 2 个位点的信号较强, 另外 1 个信号很弱; 中期加上脆性位点也有 3 个, 信号强度也是其中 2 个较强, 另外 1 个很弱。其他 20 种蔷薇细胞分裂间期的 45S rDNA 位点数与其倍性相同, 中期的 45S rDNA 杂交位点除了有断裂而导致杂交信号增加外, 都与其倍性相同。45S rDNA 杂交位点除完全断裂与染色体分开的外, 均位于 sm 染色体短臂的末端。

2.2.3 5S rDNA 杂交位点

从图 1 和表 3 可知, 多腺小叶蔷薇、橘黄香水月季、卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇这 5 个二倍体的间期和中期染色体上都有 4 个 5S rDNA 杂交位点, 且其中 2 个位点与 45S rDNA 在一对染色体上, 另外 2 个位点在单独的另一对同源染色体上。二倍体的刺梨细胞分裂间期和中期染色体都只有 2 个杂交位点, 且与 45S rDNA 在一对同源染色体上。二倍体的西北蔷薇和拟木香间期有 4 个 5S rDNA 杂交位点, 但中期却只观察到 2 个, 后来发现浓缩不完全的两条染色体上各有 2 个 5S rDNA 杂交位点, 它们与 45S rDNA 分别在两对同源染色体上。其他 13 种蔷薇的 5S rDNA 杂交位点都与染色体倍数一致, 且与 45S rDNA 分别位于不同的同源染色体上。关于 5S rDNA 杂交位点在染色体上的位置, 拟木香第 6 对染色体、全针蔷薇第 7 对的第 1 条染色体以及刺蔷薇第 16 对的第 1 条染色体上的位点在长短臂上都有; 大叶蔷薇第 11 对染色体上的位点在短臂末端, 刺蔷薇第 18 对的第 2 条染色体上的杂交位点在短臂末端; 中甸刺玫有 3 对 5S rDNA 杂交位点在染色体长臂近着丝点处, 1 对在染色体长臂的中部, 1 对在染色体长臂的末端; 其他 17 种蔷薇的 5S rDNA 杂交位点都在染色体长臂近着丝点处。细梗蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、多腺小叶蔷薇、钝叶蔷薇、拟木香、卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇这 9 个种有 5S rDNA 杂交位点的染色体是异形同源染色体。



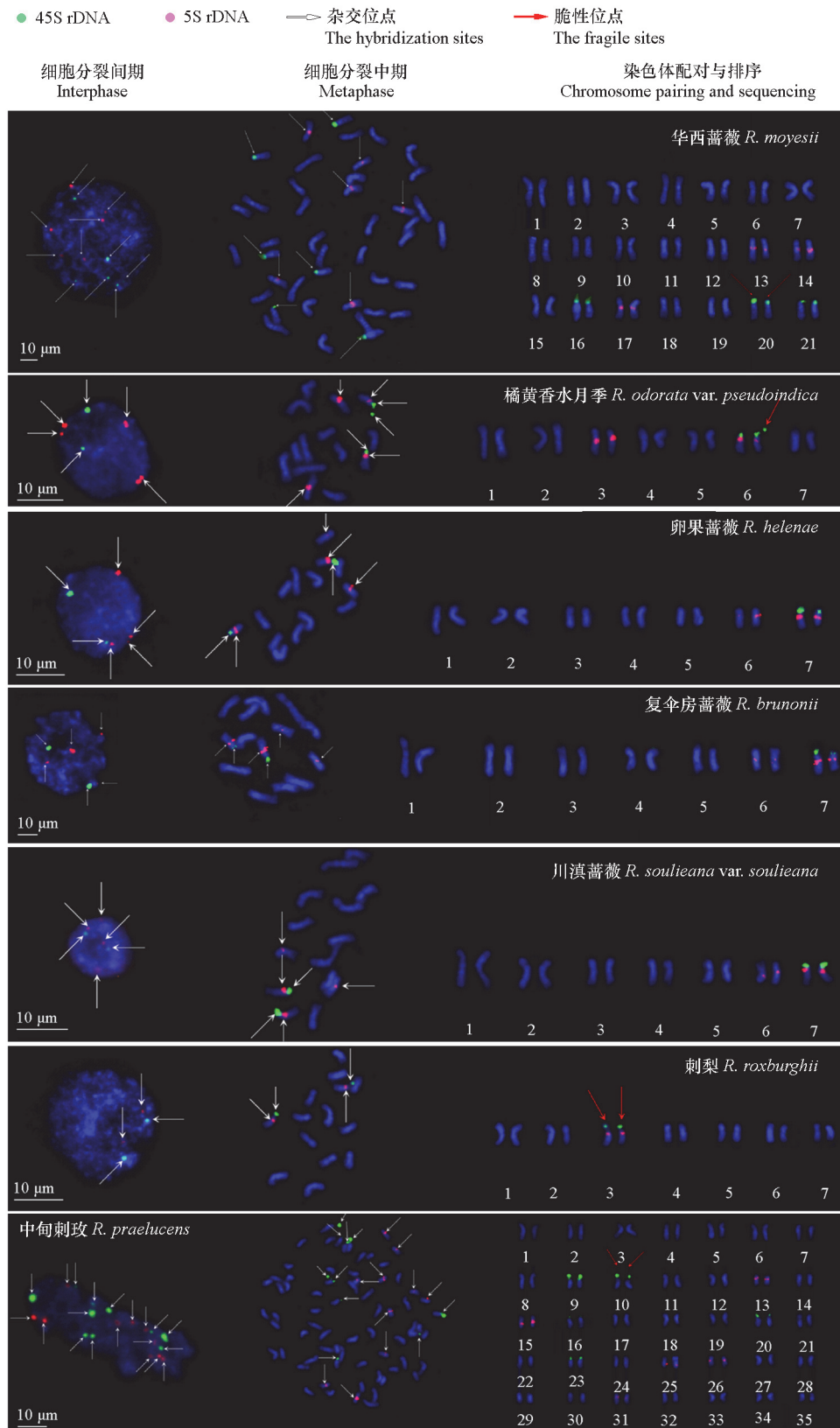


图 1 中甸刺玫等 21 种蔷薇的细胞核型

Fig. 1 Karyotypes of 21 rose species including *Rosa praelucens*

表 3 蔷薇属 21 种植物中期染色体的 rDNA 杂交位点数量、位置及脆性位点
 Table 3 Number, location and fragile site of rDNA in the metaphase chromosomes of 21 rose species

物种 Species	45S rDNA		5S rDNA		脆性位点数 (个) 及位置 Number and location of fragile site
	数量 Number	位置 Location	数量 Number	位置 Location	
细梗蔷薇 <i>Rosa graciliflora</i>	2	7S (sm)	2	6L (sm)	1 (7S)
峨眉蔷薇 <i>R. omeiensis</i> var. <i>omeiensis</i>	2	3S (sm)	2	6L (sm)	1 (3S)
绢毛蔷薇 <i>R. sericea</i>	2	4S (sm)	2	5L (2+1, sm)	1 (4S)
毛叶蔷薇 <i>R. mairei</i>	2	5S (sm)	2	6L (sm)	1 (5S)
川西蔷薇 <i>R. sikangensis</i>	2	5S (sm)	2	7L (sm)	0
中甸蔷薇 <i>R. zhongdianensis</i>	2	2S (sm)	2	5L (sm)	0
多腺小叶蔷薇 <i>R. willmottiae</i> var. <i>glandulifera</i>	2	7S (sm)	4	4L (sm), 7L (sm)	0
钝叶蔷薇 <i>R. sertata</i>	2	3S (sm)	2	5L (m)	1 (3S)
西北蔷薇 <i>R. davidii</i>	2	5S (sm)	2	6L (sm)	1 (5S)
拟木香 <i>R. banksiopsis</i>	3	3S (sm)	2	6S, L (sm)	1 (3S)
全针蔷薇 <i>R. persetosia</i>	2	3S (sm)	2	7S, 7L (2, sm)	1 (3S)
西南蔷薇 <i>R. murielae</i>	2	5S (sm)	2	6L (sm)	0
大叶蔷薇 <i>R. macrophylla</i>	6	7S (sm), 8S (sm), 12S (sm)	6	11L, S (sm), 17L, 18L (sm)	2 (7S, 12S)
刺蔷薇 <i>R. acicularis</i>	6	5S (sm), 6S (sm), 13S (sm)	6	8L, 16L (2), 16S, 18L, 18S (sm)	2 (5S)
华西蔷薇 <i>R. moyesii</i>	6	16S (sm), 20S (sm), 21S (sm)	6	13L, 14L, 17L (sm)	2 (20S)
桔黄香水月季 <i>R. odorata</i> var. <i>pseudoinдика</i>	2	6S (sm)	4	3L (sm), 6L (sm)	1 (6S)
卵果蔷薇 <i>R. helenae</i>	2	7S (sm)	4	6L (sm), 7L (sm)	0
复伞房蔷薇 <i>R. brunonii</i>	2	7S (sm)	4	6L (sm), 7L (sm)	0
川滇蔷薇 <i>R. soulieana</i> var. <i>soulieana</i>	2	7S (sm)	4	6L (sm), 7L (sm)	0
刺梨 <i>R. roxburghii</i>	2	3S (sm)	2	3L (sm)	2 (3S)
中甸刺玫 <i>R. praelucens</i>	10	9S (sm), 10S (sm), 16S (sm), 20S (sm), 23S (sm)	10	14L (m), 16L (sm), 26L (m), 27L (m), 32L (sm)	2 (10S)

注: m: 中部着丝粒染色体, sm: 近中部着丝粒染色体, S: 短臂。

Note: m: Metacentric chromosome, sm: Submetacentric chromosome, S: Short arm.

2.3 基于 rDNA FISH 定位的中甸刺玫的可能亲本

首先, 根据 45S rDNA 和 5S rDNA 的相对位置, 桂味组的多腺小叶蔷薇, 月季组的橘黄香水月季, 合柱组的卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇, 小叶组的刺梨这 6 种蔷薇的 45S 和 5S rDNA 的杂交位点都位于同一对染色体的短臂和长臂上, 而中甸刺玫的两种 rDNA 均位于不同的染色体上, 故这 6 种蔷薇不是中甸刺玫的供体亲本。

其次, 二倍体拟木香和西北蔷薇细胞分裂间期 5S rDNA 的杂交位点有 4 个但分裂中期的杂交位点数只有 2 个, 而十倍体中甸刺玫细胞分裂间期和中期的 5S rDNA 杂交位点都是 10 个, 故可排除这两种蔷薇是中甸刺玫的供体亲本的可能。在中甸刺玫的非脆性位点的 45S rDNA 杂交位点中, 有一对信号极弱, 其他 20 个野生种中只有川西蔷薇和细梗蔷薇的一个 45S rDNA 位点的信号强度与之相似, 故二者的其中之一可能参与了中甸刺玫的形成。

最后, 因中甸刺玫有 2 个脆性位点, 故具有脆性位点的细梗蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、全针蔷薇、毛叶蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、华西蔷薇都有可能是中甸刺玫的亲本, 而中甸蔷薇、西南蔷薇、钝叶蔷薇不排除是中甸刺玫亲本的可能性。

3 讨论

3.1 核型

在高等植物的进化过程中,核型的变化是经常发生的,常作为系统发育推断的基础 (Stebbins, 1971)。本研究中 21 种蔷薇的染色体相对总长度、相对长度系数、相对长度类型、臂长、染色体类型等参数与 Jian 等 (2013) 报道的略有不同,导致最后的核型公式和核型也有了差异。Jian 等 (2013) 报道的核型中有 1A、2A、1B、2B 等 4 种类型,而本研究中 21 个材料的核型只有 2A 和 2B 两种类型。根据 FISH 探针的定位发现细梗蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、多腺小叶蔷薇、钝叶蔷薇、拟木香、橘黄香水月季、卵果蔷薇、复伞房蔷薇这 9 个种中均存在异形同源染色体。由于异形同源染色体的 2 条染色体在相对长度上存在明显差异,导致在进行常规核型分析时很容易被错配。此外,同种植物不同地理来源的植株在核型上也可能不同 (张婷 等, 2014)。这两方面都可能是与 Jian 等 (2013) 结果不一致的原因。

3.2 脆性位点的发现

脆性位点表现为中期染色体的裂隙或断裂 (Cimprich, 2003)。Huang 等 (2008) 在黑麦草根尖分生组织细胞中分离出的中期染色体上存在自表达的染色体脆性位点 45S rDNA, 从而首次在植物中发现了脆性位点的存在。Huang 等 (2009) 通过 AFM (原子力显微镜) 观察到黑麦草染色质纤维的复杂折叠失败发生在 45S rDNA 位点, 导致形成间隙或断裂。前人在对黑麦草和甜橙羊茅的研究中证实了 45S rDNA 脆性位点的出现与表观遗传改变有关, 黑麦草 45S rDNA 脆性位点的出现还与 DNA 损伤有关 (Huang et al., 2012; 兰红, 2016; Ferreira et al., 2018)。Rocha 等 (2016) 通过 X 射线照射和 FISH 技术对黑麦草的研究发现 45S rDNA 的脆性位点不是由于 X 射线诱导产生的。Bustamante 等 (2014) 对黑麦草研究表明 45S rDNA 位点中间隙和断裂的发生可能会影响基因组的结构, 并导致新的染色体重排, 这些重组与其他因素一起, 可能是导致分化和物种形成过程中微进化变化的原因。本研究中, 14 种蔷薇的染色体组中存在自发的脆性位点, 且存在种间差异: 有的与染色体之间只发生了间隙, 有的已直接与染色体断裂; 有的有 1 个脆性位点, 有的有 2 个脆性位点。然而, 蔷薇属中出现脆性位点是由 DNA 损伤、表观调控、染色体纤维的复杂折叠失败、染色体重组或其他原因所导致, 目前尚没有报道。脆性位点是否在中甸刺玫的十倍体形成中起了作用, 还需要进一步研究。

3.3 蔷薇属 45S rDNA 杂交位点的特征

45S rDNA 被认为在进化过程中相当保守, 在细胞分裂间期大量转录表达形成特殊的区域, 参与核仁形成。目前已有的报道 (Akasaka et al., 2002, 2003; 田敏 等, 2012; 张婷 等, 2014, 2018; Ding et al., 2016) 均发现大多数蔷薇属野生种的 45S rDNA 杂交位点数与其倍性相同。本试验中拟木香细胞分裂间期有 3 个杂交位点, 中期加上脆性位点也只有 3 个 45S rDNA 的杂交位点, 推测其细胞分裂间期就出现了脆性位点, 导致杂交位点的增加。除脆性位点外, 其他 20 种蔷薇细胞分裂间期和中期的 45S rDNA 的杂交位点数与其倍性数相同, 这与前人的研究结果一致。

3.4 蔷薇属 5S rDNA 杂交位点的特征

在高等植物中, 5S rDNA 为串联重复序列, 它由非编码区和编码区组成。在蔷薇属野生种中,

二倍体植株细胞分裂中期染色体的杂交位点数存在 2 个、3 个或 4 个, 五倍体狗蔷薇的 5S rDNA 杂交位点为 8 个, 且 5S rDNA 杂交位点一般与 45S rDNA 杂交位点单独存在于各自的同源染色体上或者位于一条染色体的长臂近着丝点处, 很少出现在短臂上 (Akasaka et al., 2002, 2003; Lim et al., 2005; 张婷 等, 2014)。本研究中二倍体蔷薇野生种分别有 2 个或者 4 个 5S rDNA 杂交位点, 它们在染色体上没有明显固定的形式, 其中, 合柱组和月季组以及小叶组的刺梨常有 1 对 5S rDNA 位点与 45S rDNA 共线性, 也就是位于同一对同源染色体上, 而其他组蔷薇的 5S rDNA 位点与 45S rDNA 则分别位于不同的染色体上。

3.5 中甸刺玫可能的起源

根据 rDNA 在染色体上的数量和位置可推测不同物种间的亲缘关系 (Linares et al., 1996; Raina et al., 2001)。根据 45S rDNA 与 5S rDNA 在染色体组上的相对位置可知, 多腺小叶蔷薇、橘黄香水月季、卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇、刺梨这 6 种材料没有参与中甸刺玫的物种形成; 根据 5S rDNA 在细胞分裂间期的杂交位点推测拟木香、西北蔷薇这 2 种材料没有参与中甸刺玫的形成; 根据 45S rDNA 脆性位点的情况推测细梗蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、全针蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、华西蔷薇可能参与了中甸刺玫的形成; 根据 45S rDNA 杂交信号的强弱情况判断川西蔷薇和细梗蔷薇二者中只有一个参与了中甸刺玫的形成。王开锦等 (2018) 根据 5S rDNA 和叶绿体 DNA 序列比对的结果排除了钝叶蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、全针蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、中甸蔷薇是中甸刺玫原始母本的可能性, 推测细梗蔷薇、华西蔷薇、尾萼蔷薇、西南蔷薇、西北蔷薇是其可能亲本。结合王开锦等 (2018) 的报道和本试验的结果, 可以排除多腺小叶蔷薇、橘黄香水月季、卵果蔷薇、复伞房蔷薇、川滇蔷薇、刺梨、拟木香、钝叶蔷薇、大叶蔷薇、刺蔷薇、全针蔷薇、中甸蔷薇、毛叶蔷薇、峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、西北蔷薇是中甸刺玫原始亲本的可能性。虽然目前没有分子证据可以排除川西蔷薇是中甸刺玫的可能亲本, 但与之同属于芹叶组四数花系的峨眉蔷薇、绢毛蔷薇、毛叶蔷薇、中甸蔷薇等几种蔷薇都已被分子证据排除是中甸刺玫的原始亲本, 川西蔷薇是其原始亲本的可能性也很低。因此, 根据中甸刺玫及其同域或邻域分布的近缘种的细胞核型特征, 结合分子证据, 推测中甸刺玫的原始亲本可能是细梗蔷薇、华西蔷薇、西南蔷薇。

References

- Aanor H. 1962. Cytological studies in subfamily carduoideae (compositae) of Japan VIII. *Shokubutsugaku Zasshi*, 75 (892): 401 - 410.
- 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.
- Akasaka M, Ueda Y, Koba T. 2003. Karyotype analysis of wild rose species belonging to Septets B, C, and D by Molecular cytogenetics method. *Breeding Science*, 53: 177 - 182.
- Bai Jin-rong, Zhang Qi-xiang. 2008. Investigation on germplasm resources of *Rosa* L. in Northwest Yunnan. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 36 (25): 10847 - 10850. (in Chinese)
- 白锦荣, 张启翔. 2008. 滇西北地区蔷薇属 (*Rosa* L.) 种质资源调查. *安徽农业科学*, 36 (25): 10847 - 10850.
- Bustamante F O, Rocha L C, Torres G A, Davide L C, Mittelman A, Techio V H. 2014. Distribution of rDNA in diploid and polyploidy *Lolium multiflorum* Lam. and fragile sites in 45S rDNA regions. *Crop Science*, 54: 617 - 625.
- Chen Zhi. 2015. FISH analysis of 5S rDNA in citrus and close related genera [M. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
- 陈 志. 2015. 柑橘及其近缘属植物 5SrDNA 的 FISH 位点研究 [硕士学位论文]. 重庆: 西南大学.
- Cimprich K A. 2003. Fragile sites: breaking up over a slowdown. *Current Biology*, 13 (6): R231 - R233.

- Deng Ju-qing, Jian Hong-ying, Li Shu-bin, Wang Qi-gang, Guo Yu-long, Zhang Hao. 2013. Cold tolerance of several wild rosa resources endemic of Yunnan. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 26 (2): 723 - 727. (in Chinese)
- 邓菊庆, 蹇洪英, 李淑斌, 王其刚, 郭余龙, 张 颢. 2013. 几种云南特有蔷薇资源的抗寒性研究. 西南农业学报, 26 (2): 723 - 727.
- Ding X L, Xu T L, Wang J, Luo L, Yu C, Dong G M, Pan H T, Zhang Q X. 2016. Distribution of 45S rDNA in modern rose cultivars (*Rosa hybrida*), *Rosa rugosa*, and their interspecific hybrids revealed by fluorescence in situ hybridization. Cytogenetic Genome Research, 149 (3): 226 - 235.
- Falisticco E, Passeri V, Marconi G. 2007. Investigations of 5S rDNA of *Vitis vinifera* L.: sequence analysis and physical mapping. Genome, 50 (10): 927 - 938.
- Ferreira M T M, Rocha L C, Vitoriano M B Z, Mittelmann A, Techio V H. 2018. Relationship between epigenetic marks and the behavior of 45S rDNA sites in chromosomes and interphase nuclei of *Lolium-Festuca* complex. Molecular Biology Reports, 45 (6): 1663 - 1679.
- Jian H Y, Li S F, Guo J L, Li S B, Wang Q G, Yan H J, Qiu X Q, Zhang Y H, Cai Z Q, Tang K X. 2018. High genetic diversity and differentiation of an extremely narrowly distributed and critically endangered decaploid rose (*Rosa praelucens*): implications for its conservation. Conservation Genetics, 19 (4): 761 - 776.
- Jian H Y, Zhang H, Tang K X, Li S F, Wang Q G, Zhang T, Qiu X Q, Yan H J. 2010. Decaploidy in *Rosa praelucens* Byhouwer (Rosaceae) endemic to Zhongdian Plateau, Yunnan, China. Caryologia, 63 (2): 162 - 167.
- Jian H Y, Zhang T, Wang Q G, Li S B, Zhang H, Tang K X. 2013. Karyological diversity of wild *Rosa* in Yunnan, Southwestern China. Genetic Resources and Crop Evolution, 60: 115 - 127.
- He Yong-hua, Cao Ya-ling, Li Chao-luan. 1997. Analysis of the nutrition composition in the fruits of *Rosa moyesii* and *R. praelucens*. Acta Horticulturae Sinica, 24 (2): 203 - 204. (in Chinese)
- 何永华, 曹亚玲, 李朝奎. 1997. 华西蔷薇和中甸刺玫营养成分分析. 园艺学报, 24 (2): 203 - 204.
- Huang J, Ma L, Yang F, Fei S Z, Li L. 2008. 45S rDNA regions are chromosome fragile sites expressed as gaps *in vitro* on metaphase chromosomes of root-tip meristematic cells in *Lolium* spp. Public Library of Science One, 3 (5): e2167.
- Huang J, Ma L, Sundararajan S, Fei S Z, Li L. 2009. Visualization by atomic force microscopy and FISH of the 45S rDNA gaps in mitotic chromosomes of *Lolium perenne*. Protoplasma, 236 (1 - 4): 59 - 65.
- Huang M, Li H, Zhang L, Gao F, Wang P, Hu Y, Yan S, Zhao L, Zhang Q, Tan J, Liu X, He S, Li L. 2012. Plant 45S rDNA clusters are fragile sites and their instability is associated with epigenetic alterations. Public Library of Science One, 7 (4): e35139.
- Kuo S R, Wang T T, Huang T C. 1972. Karyotype analysis of some Formosan gymnosperms. Taiwania, 17 (1): 66 - 80.
- Lan Hong. 2016. Cytological map construction and fragile site analysis of sweet orange [Ph. D. Dissertation]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. (in Chinese)
- 兰 红. 2016. 甜橙细胞遗传学图谱构建和脆性位点分析 [博士论文]. 武汉: 华中农业大学.
- Lan Tian-ying, Liu Bo, Dong Feng-ping, Chen Rui-yang, Li Xiu-lan, Chen Cheng-bin. 2007. Multicolor FISH analysis of rDNA and telomere on spinach. Hereditas, 29 (11): 1405 - 1408. (in Chinese)
- 兰添颖, 刘 博, 董凤平, 陈瑞阳, 李秀兰, 陈成彬. 2007. 菠菜 rDNA 及端粒多色荧光原位杂交分析. 遗传, 29 (11): 1405 - 1408.
- Levan A, Fredga K, Sandberg A A. 2009. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52 (2): 201 - 220.
- 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.
- Li Shu-fa, Li Chun-jia, Jian Hong-ying, Li Shu-bin, Xiong Jin, Li Jin-kun, Tang Kai-xue. 2013. Studies on phenotypic diversity of vulnerable *Rosa praelucens* Endemic to Shangrila, Yunnan. Acta Horticulturae Sinica, 40 (5): 924 - 932. (in Chinese)
- 李树发, 李纯佳, 蹇洪英, 李淑斌, 熊 劲, 李进昆, 唐开学. 2013. 云南香格里拉特有易危植物中甸刺玫的表型多样性. 园艺学报,

- 40 (5): 924 - 932.
- Li X X, Zhou Z K. 2005. Endemic wild ornamental plants from North-Western Yunnan. *HortScience*, 40 (6): 1612 - 1619.
- Lim K Y, Werlemark G, Matyasek R, Bringloe J B, Sieber V, Mokadem H E, 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.
- Linares C, González J, Ferrer E, Fominaya A. 1996. The use of double fluorescence in situ hybridization to physically map the positions of 5S rDNA genes in relation to the chromosomal location of 18S-5.8S-26S rDNA and a C genome specific DNA sequence in the genus *Avena*. *Genome*, 39 (3): 535 - 542.
- 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.
- Mishima M, Ohmido N, Fukui K, Yahara T. 2002. Trends in site-number in change of rDNA loci during polyploid evolution in *Sanguisorba* (Rosaceae). *Chromosoma*, 110: 550 - 558.
- Nie Gu-hua, Liao Liang, Xiang Qi-bai, Wu Shi-lin. 2006. Fluorescence *in situ* hybridization and its application in plant research. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 26 (12): 2596 - 2601. (in Chinese)
- 聂谷华, 廖 亮, 向其柏, 伍仕林. 2006. 荧光原位杂交技术及其在植物研究中的应用. *西北植物学报*, 26 (12): 2596 - 2601.
- Poczai P, Hyvönen J. 2010. Nuclear ribosomal spacer regions in plant phylogenetics: problems and prospects. *Molecular Biology Reports*, 37 (4): 1897 - 1912.
- Qin Hai-ning, Yang Yong, Dong Shi-yong, He Qiang, Jia Yu, Zhao Li-na, Yu Sheng-xiang, Liu Hui-yuan, Liu Bo, Yan Yue-hong, Xiang Jian-ying, Xia Nian-he, Peng hua, Li Zhen-yu, Zhang Zhi-xiang, He Xing-jin, Yin Lin-ke, Lin Yu-Lin, Liu Quan-ru, Hou Yuan -Tong, Liu Yan, Liu Qi-xin, Cao Wei, Li Jian-qiang, Chen Shi-long, Jin Xiao-hua, Gao Tian-gang, Chen Wen-li, Ma Hai-ying, Geng Yu-ying, Jin Xiao-feng, Chang Chao-yang, Jiang hong, Cai lei, Zang Chun-xin, Wu Jian-yong, Ye Jian-fei, Lai yang-Jun, Liu Bing, Lin Qin-wen, Xue Na-xin. 2017. List of threatened species of higher plants in China. *Biodiversity Science*, 25 (7): 696 - 744. (in Chinese)
- 覃海宁, 杨 永, 董仕勇, 何 强, 贾 渝, 赵莉娜, 于胜祥, 刘慧圆, 刘 博, 严岳鸿, 向建英, 夏念和, 彭 华, 李振宇, 张志翔, 何兴金, 尹林克, 林余霖, 刘全儒, 侯元同, 刘 演, 刘启新, 曹 伟, 李建强, 陈世龙, 金效华, 高天刚, 陈文俐, 马海英, 耿玉英, 金孝锋, 常朝阳, 蒋 宏, 蔡 蕾, 臧春鑫, 武建勇, 叶建飞, 赖阳均, 刘 冰, 林秦文, 薛纳新. 2017. 中国高等植物受威胁物种名录. *生物多样性*, 25 (7): 696 - 744.
- Raina S N, Rani V, Kojima T, Ogihara Y, Singh K P, Devarumath R M. 2001. RAPD and ISSR fingerprints as useful genetic markers for analysis of genetic diversity, varietal identification, and phylogenetic relationships in peanut (*Arachis hypogaea*) cultivars and wild species. *Genome*, 44 (5): 763 - 772.
- Rocha L C, Mittelmann A, Houben A, Techio V H. 2016. Fragile sites of 45S rDNA of *Lolium multiflorum* are not hotspots for chromosomal breakages induced by X-ray. *Molecular Biology Reports*, 43 (7): 659 - 665.
- 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, 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 45SrDNA 的荧光原位杂交分析. *西南农业学报*, 25 (6): 2263 - 2266.
- Wang Kai-jin, Zhang Ting, Wang Qi-gang, Yan Hui-jun, Qiu Xian-qin, Li Shu-bin, Zhang Hao, Tang Kai-xue, Jian Hong-ying. 2018. The phylogenetic position and hybrid origination of *Rosa praelucens* Byhouwer. *Journal of Plant Genetic Resources*, 19 (5): 1006 - 1015. (in

Chinese)

- 王开锦, 张 婷, 王其刚, 晏慧君, 邱显钦, 李淑斌, 张 颢, 唐开学, 蹇洪英. 2018. 中甸刺玫的系统位置及杂交起源研究. 植物遗传资源学报, 19 (5): 1006 - 1015.
- Wang Yan, Nan Hong, Wang Xiao-rong, Zhang Li, Liu Yuan, Chen Qing, Tang Hao-ru. 2012. Research progress on physical mapping to chromosome and phylogenetic inference of 45S and 5S rDNA in fruit trees. Journal of Fruit Science, 29 (2): 253 - 261. (in Chinese)
- 王 燕, 南 红, 王小蓉, 张 丽, 刘 源, 陈 清, 汤浩茹. 2012. 45S 和 5S rDNA 在果树染色体上的比较定位及在系统进化研究中的应用. 果树学报, 29 (2): 253 - 261.
- Weng Tian-jun. 2011. Study on relationship and systematic taxonomy of wild species in *Fragaria* by 45S rDNA-FISH and GISH analysis [Ph. D. Dissertation]. Chongqing: Southwest University. (in Chinese)
- 翁天均. 2011. 基于 45S rDNA-FISH 与 GISH 分析的草莓属 (*Fragaria*) 野生种亲缘关系与系统分类研究 [博士论文]. 重庆: 西南大学.
- Wu Xiang-yu, Cheng Min, Wang Qi-gang, Zhou Ning-ning, Zhang Ting, Yan Hui-jun, Qiu Xian-qin, Li Shu-bin, Zhang Hao, Jian Hong-ying, Tang Kai-xue. 2014. Comparative study on the breeding systems of *Rosa praelucens* and *Rosa soulieana*. Acta Horticulturae Sinica, 41 (10): 2075 - 2084. (in Chinese)
- 伍翔宇, 陈 敏, 王其刚, 周宁宁, 张 婷, 晏慧君, 邱显钦, 李淑斌, 张 颢, 蹇洪英, 唐开学. 2014. 中甸刺玫和川滇蔷薇的繁育系统比较研究. 园艺学报, 41 (10): 2075 - 2084.
- Zhang Ting, Jian Hong-ying, Mo Xijun, Qiu Xian-qin, Yang Jing, Tang Kai-xue, Wang Qi-gang. 2018. Karyotype of *Rosa longicuspis* Bertol. based on rDNA FISH. Southwest China Journal of Agricultural Sciences, 31 (10): 2036 - 2040. (in Chinese)
- 张 婷, 蹇洪英, 莫锡君, 邱显钦, 杨 静, 唐开学, 王其刚. 2018. 长尖叶蔷薇基于 rDNA FISH 的核型分析. 西南农业学报, 31 (10): 2036 - 2040.
- Zhang Ting, Jian Hong-ying, Tian Min, Wang Qi-gang, Zhang Hao, Yan Hui-jun, Qiu Xian-qin, Tang Kai-xue. 2014. Physical location of 45S rDNA and 5S rDNA in the genomes of three wild rose species. Acta Horticulturae Sinica, 41 (5): 994 - 1000. (in Chinese)
- 张 婷, 蹇洪英, 田 敏, 王其刚, 张 颢, 晏慧君, 邱显钦, 唐开学. 2014. 蔷薇属 3 个野生种中 45S rDNA 和 5SrDNA 的物理定位. 园艺学报, 41 (5): 994 - 1000.
- Zhou Yu-quan. 2016. Molecular phylogeny of genus *Rosa* L. and the possible origin of several cultivars [M. D. Dissertation]. Kunming: Yunnan Normal University. (in Chinese)
- 周玉泉. 2016. 蔷薇属植物的分子系统学研究—兼论几个栽培品种的起源 [硕士论文]. 昆明: 云南师范大学.