

植物 45S rDNA 的染色体位置的 CPD 染色和 FISH 分析

余朝文^{1,2}, 宋运淳²

(1. 怀化学院 生物系, 湖南 怀化 418008; 2. 武汉大学 生命科学学院 植物发育生物学教育部重点实验室, 武汉 430072)

摘要: 采用 PI 和 DAPI 组合(CPD)染色结合 45S rDNA 探针的荧光原位杂交(FISH)对分属 6 个科的 16 种植物的 45S rDNA 的染色体位置进行了分析。在所有供试植物中,共检测到 53 个 45S rDNA 位点。大多数 45S rDNA 位点分布在染色体的短臂;位于染色体臂内和染色体末端的位点的比例大体相当;多数位于染色体臂内的 45S rDNA 位点有次缢痕形成,但 rDNA 重复单位簇所处的位置存在差异。根据 45S rDNA 所处的染色体臂的不同、距着丝粒远近的差异、形成次缢痕与否以及 rDNA 重复单位簇相对于次缢痕的位置等特征,将植物的 45S rDNA 位点划分为 12 种染色体分布类型。基于我们的结果和其他的报道对 45S rDNA 位点、核仁组织区(NOR)、次缢痕和随体相互之间的关系进行了分析。

关键词: 45S rDNA; 核仁组织区; 随体; 次缢痕; CPD 染色; 荧光原位杂交(FISH)

中图分类号: Q943 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3142(2008)04-0515-06

Analysis of the chromosomal location of 45S rDNA in plants by CPD staining together with FISH

SHE Chao-Wen^{1,2}, SONG Yun-Chun²

(1. Department of Biology, Huaihua University, Huaihua 418008, China; 2. Key Laboratory of MOE for Plant Developmental Biology, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: The chromosomal location of 45S rDNA in sixteen plant species belonging to six families was analyzed using combined PI and DAPI(CPD)staining together with fluorescence *in situ* hybridization(FISH) with 45S rDNA probe. Fifty three 45S rDNA sites in total were detected in the tested species. The 45S rDNA sites occurred mainly in the short arms instead of the long arms, and interstitial and terminal 45S rDNA sites appeared at similar frequency. Secondary constrictions appeared in most interstitial 45S rDNA sites, but the orientation of the cluster of rDNA repeats relative to the secondary constriction differed among these interstitial sites. The chromosomal distribution of 45S rDNA sites in the tested plants could be classified into 12 types based on the differences in the chromosomal arm in which 45S rDNA site reside, the distance from centromere to 45S rDNA site, the formation of secondary constriction, and the orientation of the cluster of rDNA repeats. The interrelation among 45S rDNA site, NOR(nucleolar organizing region), secondary constriction, and satellite was analyzed based on our results and other previous reports.

Key words: 45S rDNA; nucleolar organizing region (NOR); satellite; secondary constriction; CPD staining; fluorescence *in situ* hybridization (FISH)

rRNA 基因是生物最重要的管家基因之一,其转录产物与核糖体蛋白质一起组装成核糖体。高等植物细胞核 rRNA 基因包括 17S-5.8S-25S rRNA 基因

(45S rDNA)和 5S rRNA 基因(5S rDNA),两者在染色体上彼此独立分布。植物单倍体基因组的 45S rDNA 重复单位(包括编码区和基因间隔序列)有几百

收稿日期: 2007-04-18 修回日期: 2007-10-29

基金项目: 国家自然科学基金(39870423)[Supported by the National Natural Science Foundation of China(39870423)]

作者简介: 余朝文(1964-),男(侗族),湖南会同县人,博士,教授,研究方向为植物分子细胞遗传学, (E-mail) shechaowen@tom.com.

乃至上千拷贝,它们以串联重复排列的方式成簇分布在染色体的一个或数个部位(Lapitan,1992)。

采用 45S rDNA 探针的植物染色体进行荧光原位杂交(FISH)可以测定植物基因组的 45S rDNA 位点的数目并确定其在染色体上的位置,为植物基因组的进化分析提供重要信息,并可为染色体的识别提供非常有效的标记(余朝文等,2006)。由于 45S rDNA 序列是 GC 丰富的(Macgregor & Kezer,1971;Takaiwa 等,1990),因此采用特异的荧光染料对染色体进行染色也能够识别和定位 45S rDNA 位点。CMA(色霉素 A3)/DAPI(4,6-二氨基-2-苯基吡啶)组合染色是较早用于动植物 45S rDNA 位点检测的方法(Schweizer,1976;Doudrick 等,1995)。最近,我们发展了一种改良的 PI(碘化丙啶)和 DAPI 组合(combined PI and DAPI,CPD)染色技术,证明它能够以与 FISH 相似的灵敏度检测植物的 45S rDNA 位点和其它 GC 丰富的染色体区,而且 CPD 染色所产生的红色带纹不像 FISH 放大信号那样可能覆盖 45S rDNA 位点两侧的非 rDNA 染色体区,也不会像 CMA/DAPI 染色那样产生一些影响边界区分的发散的荧光,因而能够最精确地显示 45S rDNA 在染色体上的位置及其所涵盖的染色体区域(She 等,2004,2005,2006)。

已有对不同植物的 45S rDNA 位点进行染色体 FISH 定位分析的大量研究,但还未见采用荧光染色结合 45S rDNA FISH 定位的方法对高等植物中的 45S rDNA 在染色体上的分布特征以及 45S rDNA 位点、核仁组织区(NOR)、次缢痕和随体相互之间的关系进行系统分析的报道。在本研究中,我们对分属 6 个科的 16 种植物的 45S rDNA 进行了 CPD 染色和相继的 FISH 定位分析,以阐明高等植物 45S rDNA 在染色体上的分布特征,并探讨 45S rDNA 位点、NOR、次缢痕和随体相互之间的关系。

1 材料与方 法

1.1 植物材料和染色体制片

本研究所用的 16 种植物材料见表 1。

拟南芥有丝分裂染色体用未成熟的花蕾按 Schubert 等(2001)的方法制备。其它植物的有丝分裂染色体用根尖按 Song 等(1994)的方法制备。洋葱、大蒜、番茄和药用野生稻的根尖取自盆栽植物,其它植物的根尖取自萌芽的种子。甘蓝、籼稻、

药用野生稻和四棱豆的根尖不进行预处理,直接用甲醇:冰醋酸(3:1)固定。其它植物的根尖用饱和的 α -溴萘预处理 1~3 h 或用冰水预处理 24 h,然后用甲醇:冰醋酸(3:1)固定。固定的根尖水洗后用 1%的纤维素酶(Cellulase RS)、1%的果胶酶(Pectolyase Y23)及 1%的蜗牛酶(Cytohelase)的混合液(用柠檬酸缓冲液配制,pH4.5)酶解(28℃,2~5 h;或 37℃,1~2 h)。用火焙干燥法制片。染色体装片置-20℃贮存备用。

1.2 CPD 染色和相继的荧光原位杂交

CPD 染色按 She 等(2006)的方法进行。45S rDNA 的荧光原位杂交在先前被 CPD 染色的装片上进行。被 CPD 染过的制片用 2×SSC 浸洗 3×5 min,然后用 70%、95%和 100%乙醇系列脱水,风干后直接用于荧光原位杂交。45S rDNA 质粒 pTa71 采用缺口平移法用 Digoxigenin-16-UTP 标记。原位杂交及其检测按照 She 等(2006)的方法进行。用抗地高辛-FITC 和兔抗羊-FITC(Roche Diagnostics,Mannheim,,Germany)检测和放大杂交信号。

1.3 CPD 带和杂交信号的观察和拍照

用装有 Sensys CCD 1401E 照相系统的 Olympus BX60 荧光显微镜观察制片,照相系统用 V++ 图像软件控制。观察 CPD 染色时,分别用绿色(WG)和紫外光(UV)激发滤色片观察 PI 染色和 DAPI 染色。CPD 图像通过合成 PI 和 DAPI 染色的灰度图来获得。观察荧光原位杂交制片时,用 DAPI(3 μ g/ml)复染 DNA,分别用紫外光(UV)和蓝色(WB)激发滤色片观察染色体和杂交信号。图片用 Photoshop 软件(6.0 版)处理。

2 结 果

CPD 染色和相继的 45S rDNA 探针的 FISH 分析在分属 6 个科的 16 种植物共检出了 53 个 45S rDNA 位点(表 1,图 1)。这些 45S rDNA 位点被 CPD 染成红色带纹,相继的 45S rDNA 探针的 FISH 定位确证了这些位点的存在。在大麦(图 1:A)、四棱豆(图 1:J)、番茄(L)、洋葱(N)、拟南芥和甘蓝(图片未展示)等 6 个物种还检测到了非 rDNA CPD 带,我们已经对这些非 rDNA CPD 带作过分析(She 等,2004,2005,2006)。供试物种的 45S rDNA 位点在染色体上的位置存在着较多的差异(表 1;图 1)。45S rDNA 位点主要分布在染色体的短

臂,在所检测到的 53 个位点中,有 46 个位点(占 86.8%)位于染色体短臂,只有 7 个位点(占 13.2%)位于染色体长臂。45S rDNA 位点在染色体臂上的位置基本上可以归为以下两种情况,但每种情况又有一些变化。

表 1 供试物种及其 45S rDNA 位点的数目和 45S rDNA 重复单位簇的染色体位置

Table 1 Plant materials and the number of their 45S rDNA sites and the chromosomal location of the cluster of 45S rDNA repeats

供试物种 Plant materials	45S rDNA 位点数 Number of 45S rDNA sites	45S rDNA 重复单位 簇的染色体位置 Chromosomal location of the cluster of 45S rDNA repeats
大麦 <i>Hordeum vulgare</i>	4	短臂,次缢痕的近端一侧
黑麦 <i>Secale cereale</i>	2	短臂,次缢痕的近端一侧
高粱 <i>Sorghum vulgare</i>	2	短臂,次缢痕的近端一侧
玉米 <i>Zea mays</i>	2	短臂,次缢痕的近端一侧
蚕豆 <i>Vicia faba</i>	2	短臂,次缢痕的远端一侧
节节麦 <i>Aegilops squarrosa</i>	2	短臂,次缢痕的远端一侧
大蒜 <i>Allium sativum</i>	4	短臂,次缢痕
豌豆 <i>Pisum sativum</i>	4	长臂,次缢痕远端一侧(1对);长臂,次缢痕(1对)
四棱豆 <i>Psophocarpus tetragonolobus</i>	6	短臂,与着丝粒并置,次缢痕近端一侧(1对);短臂,靠近着丝粒(1对);长臂,靠近着丝粒(1对)
拟南芥 <i>Arabidopsis thaliana</i>	4	短臂,末端
甘蓝 <i>Brassica oleracea</i> var. <i>capitata</i>	4	短臂,末端
番茄 <i>Lycopersicon esculentum</i>	2	短臂,末端
籼稻 <i>Oryza sativum</i> ssp. <i>indica</i>	4	短臂,末端
药用野生稻 <i>Oryza officinalis</i>	4	短臂,末端
谷子 <i>Setaria italica</i>	2	短臂,末端
洋葱 <i>Allium cepa</i> cv. <i>Francesca</i>	5	短臂,末端(2对);长臂,末端(1个)

(1)45S rDNA 位点位于染色体臂内。大麦(图 1:A,B)、黑麦(图片未展示)、高粱(图 1:C)、玉米(图 1:D)、蚕豆(图 1:E)、节节麦(图 1:F)、大蒜(图 1:G)、豌豆(图 1:H,I)、四棱豆(图 1:J,K)等 9 个物种的 45S rDNA 位点(共计 28 个位点,占有位点的 52.8%)存在于染色体臂内。四棱豆第 1 染色体长臂内和第 8 染色体的短臂内的 45S rDNA 位点靠近着丝粒,没有次缢痕形成(图 1:J,K),除此之外,其它所有臂内 45S rDNA 位点都有次缢痕形成。有趣的是,在有次缢痕形成的 45S rDNA 位点中,rDNA 重复单位簇相对于次缢痕的染色体位置存在差

异。大麦(图 1:A,B)、黑麦、高粱(图 1:C)和玉米(图 1:D)的 rDNA 重复单位簇在次缢痕近端一侧的染色体臂上;而蚕豆(图 1:E)、节节麦(图 1:F)、豌豆(图 1:H)的 rDNA 重复单位簇在次缢痕远端一侧的染色体臂上。四棱豆第 9 染色体上的 45S rDNA 位点比较特别,它很可能与着丝粒并置,其 rDNA 重复单位簇在次缢痕近端一侧(图 1:J,K)(She 等,2004)。高粱(图 1:C)和大蒜(图 1:G)的 45S rDNA 位点位于染色体短臂比较靠近着丝粒的位置,次缢痕远端一侧的染色体区段较近端一侧的染色体区段长得多。大蒜的 rDNA 重复单位簇小,在次缢痕的远端和近端的数量差不多(图 1:G),豌豆较长的一条随体染色体的 45S rDNA 位点的情况也是这样(图 1:H)。

(2)45S rDNA 位点位于染色体臂的末端。番茄(图 1:L,M)、洋葱(图 1:N,O)、谷子(图 1:P)、拟南芥、甘蓝、籼稻、药用野生稻(图片没有展示)等 7 个物种的 45S rDNA 位点(共 25 个位点,占有位点的 47.2%)存在于染色体臂的末端,其中绝大多数在短臂的末端,只有洋葱第 8 染色体的一个成员的长臂末端有一个位点(图 1:N,O)。通常,末端 45S rDNA 位点的染色体区段在染色质形态上与其它染色体区段有明显的差别,形成细胞学上常常称为随体(satellite)的染色体结构(图 1:L,P)。当 45S rDNA 位点很小和/或染色体高度凝缩时,看不到末端 45S rDNA 位点形成随体结构。谷子的末端 45S rDNA 位点的远端部分呈小球状,小球结构与染色体短臂之间的 rDNA 处于解凝缩状态,类似次缢痕(图 1:P)。我们的 CPD 染色和 FISH 都证明小球结构也含有 rDNA 重复单位,与以前报道的结果一致(Benabdelmouna 等,2001),因此它可能是异染色质化的 45S rDNA 部分。

基于以上结果和分析,我们根据 45S rDNA 位点所处的染色体臂的不同、距着丝粒远近的差异、形成次缢痕与否以及 rDNA 重复单位簇相对于次缢痕的位置的不同,将供试植物的 45S rDNA 位点划分为 12 种染色体分布类型(图 1:Q,图 2)。

3 讨论

在植物的核型分析中,核仁组织区(NOR)、次缢痕和随体的识别和判断是极为重要的。45S rDNA 位点一般参与核仁的形成,故常常将 45S rDNA

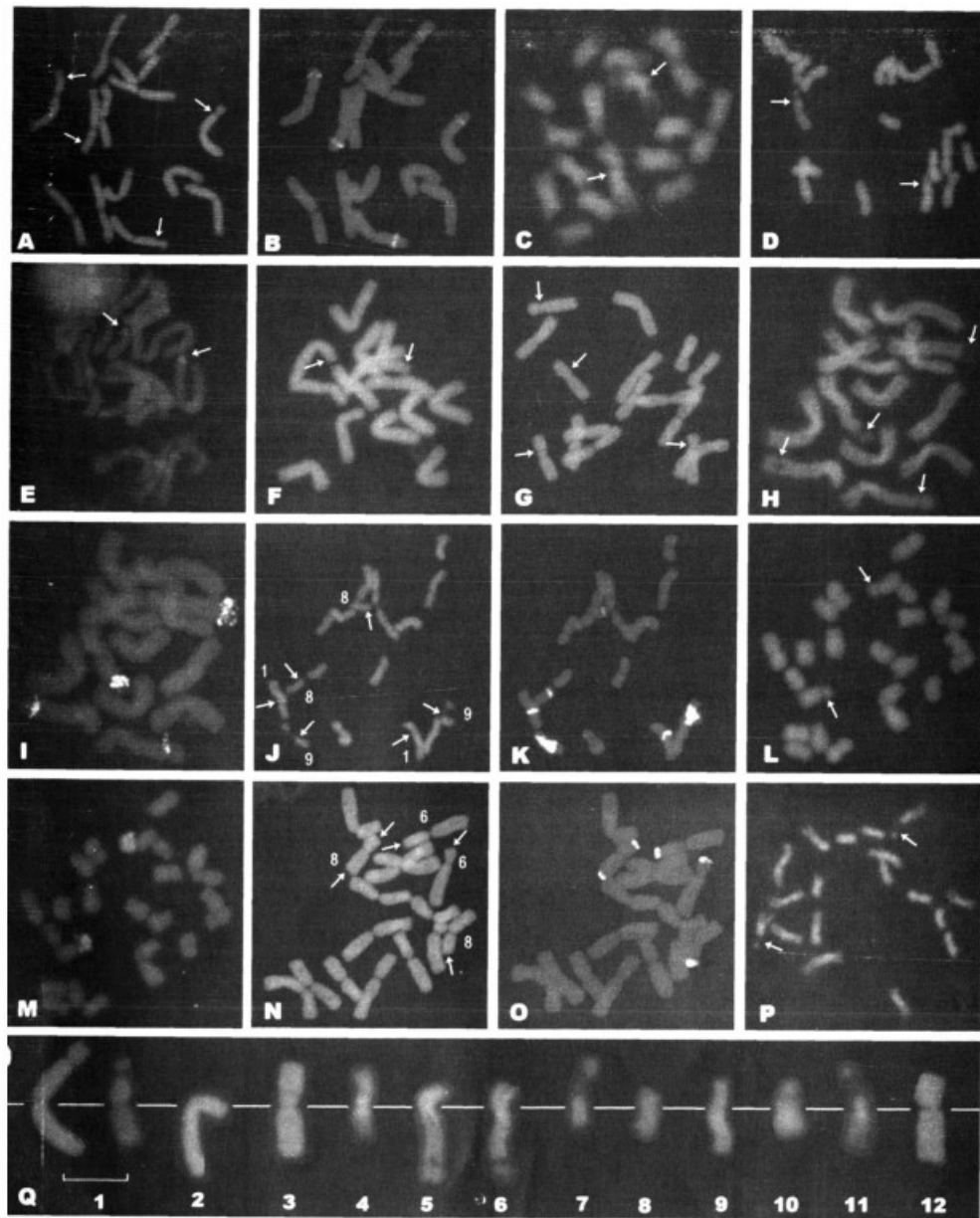


图 1 几种供试材料的有丝分裂染色体的 CPD 染色和 45S rDNA 的荧光原位杂交

Fig. 1 CPD staining and FISH with 45S rDNA probe on mitotic chromosomes in several tested plants

A, C, D, E, F, G, H, J, L, N, P 分别是大麦、高粱、玉米、蚕豆、节节麦、大蒜、豌豆、四棱豆、番茄、洋葱和谷子的 CPD 染色的染色体, 箭头标示 45S rDNA CPD 带, J 和 N 中的数字标明具有 45S rDNA 位点的染色体的序号。B, I, K, M, O 分别是显示 45S rDNA 绿色杂交信号的大麦、豌豆、四棱豆、番茄和洋葱的染色体。Q 是代表 12 种 45S rDNA 染色体分布类型的 CPD 染色的染色体, 其中, 1 来自大麦(A)和玉米(D), 2 来自节节麦(F), 3 来自大蒜(G), 4 来自高粱(C), 5, 6 来自豌豆(H), 7, 8, 9 来自四棱豆(J), 10 来自番茄(L), 11 来自谷子(P), 12 来自洋葱(N)。

A, C, D, E, F, G, H, J, L, N, P are chromosomes stained with CPD from *H. vulgare*, *S. vulgare*, *Z. mays*, *V. faba*, *A. squarrosa*, *A. sativum*, *P. sativum*, *P. tetragonolobus*, *L. esculentum*, *A. cepa*, and *S. italica*, respectively. Arrows indicate CPD bands of 45S rDNA sites. Numbers in J and N designate the chromosomes bearing 45S rDNA sites. B, I, K, M, O are chromosomes showing green 45S rDNA signals from *H. vulgare*, *P. sativum*, *P. tetragonolobus*, *L. esculentum*, and *A. cepa*, respectively. Q shows CPD banded chromosomes representing 12 types of chromosomal distribution of 45S rDNA sites, among them 1 from *H. vulgare*(A) and *Z. mays*(D), 2 from *A. squarrosa*(F), 3 from *A. sativum*(G), 4 from *S. vulgare*(C), 5 and 6 from *P. sativum*(H), 7, 8 and 9 from *P. tetragonolobus*(J), 10 from *L. esculentum*(L), 11 from *S. italica*(P), and 12 from *A. cepa*(N).

位点称为 NOR。次缢痕是着丝粒(即主缢痕)之外的染色体缢缩部位,很早就在玉米中证明它是参与核仁形成的染色体部分(McClintock, 1934),这部分染色质在分裂期的染色体仍然不凝缩,故而形成了缢痕。后来的研究显示,次缢痕对应于 rRNA 基因成簇分布的位点,就是 NOR。因此,细胞遗传学上往往将次缢痕和 NOR 作为同义词使用,通常在描述染色体的结构时用次缢痕,而在讨论其功能时用 NOR。但事实上并不完全是这样。45S rDNA 位点的重复单位是大量冗余的,每个位点只有少数的 rDNA 重复单位具有活性(Pontes 等, 2003; González-Melendi 等, 2001),而只有活性的 rRNA 基因才参与核仁的形成,并往往在分裂期的染色体上形成次缢痕。我们用 CPD 染色和 FISH 方法在玉米的第 6 染色体显示的 45S rDNA 区占了短臂的长度的一半多(图 1: D),但银染等方法证明只有位于远端的少部分 rDNA 具有活性,正是这部分形成了次缢痕(余朝文, 2005)。另外,四棱豆的第 1 和第 8 染色体上的 45S rDNA 位点并不形成次缢痕,但它们的 rRNA 基因至少在部分细胞中是有活性的(She 等, 2004)。还有,一些植物如芸薹属的二倍体和异源四倍体物种,只有对应于次缢痕的 45S rDNA 位点的基因具有活性,而位于近着丝粒区和染色体末端的 45S rDNA 位点没有活性(Hasterok 等, 2000)。从这些事实可以看出,45S rDNA 位点在范围上并不与 NOR 等同, NOR 往往只是 45S rDNA 位点的一部分(即表达的部分);次缢痕就是 NOR,但 NOR 并不一定都在次缢痕区。

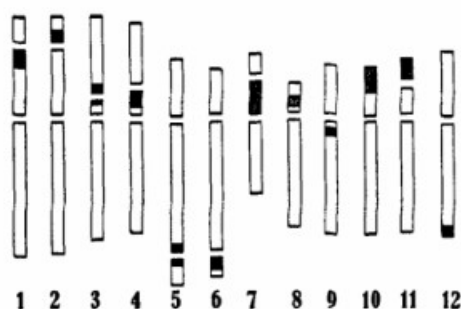


图 2 植物 45S rDNA 的 12 种染色体分布类型的模式图

Fig. 2 Idiogram of twelve types of chromosomal distribution of 45S rDNA sites in plants

类型编号与图 1: Q 的编号对应。灰色表示 45S rDNA 重复单位簇。

The serial number of types corresponds to those in Fig 1: Q.

The cluster of 45S rDNA repeats are depicted as gray areas.

关于染色体随体,最早是指少数染色体臂的末

端可见的多呈圆球状的附属结构,宛如染色体的小卫星,故名卫星(satellite),中文译为随体。细胞遗传学上通常将次缢痕至染色体末端的部分称为随体,具有随体的染色体简称为 SAT-染色体,同时也将位于染色体末端参与核仁形成并和其它染色体区段在染色质形态上有差别的部分称为随体。如我们用 CPD 染色和 FISH 分析在 7 个物种中所检测到的那样,位于染色体臂的末端也被称为随体的结构就是 45S rDNA 位点,它们与染色体臂的相连部位没有次缢痕存在。而在另外 9 个物种中,次缢痕至染色体的末端部分不含 rDNA 或仅在紧靠次缢痕的较小的区段含有 rDNA。可见这两种都称为随体的结构在本质上是不同的,将它们都命名为随体是不妥当的。我们认为应对随体的命名进行修正,将次缢痕至染色体末端的部分称为随体,而将位于染色体末端实则为 45S rDNA 位点的染色体部分简称为端部核仁组织区(端部 NOR)。

我们还分析了大量有关植物 rDNA 的 FISH 物理定位的文献(数据未展示),发现基于对 16 种植物的分析而得出的 45S rDNA 位点的 12 种染色体分布类型基本上代表了高等植物中的情况。结果显示,45S rDNA 位点主要分布在短臂上,与早期通过对动植物染色体次缢痕的分布进行统计所得出的结果符合(Lima-De-Faria, 1976)。我们在四棱豆检测到了靠近着丝粒且不形成次缢痕的 45S rDNA 位点,这样的位点在其它一些植物中也有发现(Hajdera 等, 2003; Koo 等, 2004; Snowden 等, 2002)。有趣的是,在有次缢痕形成的 45S rDNA 位点, rDNA 重复单位簇的分布又有几种情况。因为次缢痕部位与活性的 rRNA 基因相联系,因此这种位置差异说明不同的 45S rDNA 位点的活性 rRNA 基因所处的位置不同。至于为什么会有这种差异,我们推测有两种可能。一种是染色体上哪部分 rRNA 基因活化应有利于核仁形成时染色体在间期核中的伸展或分布。对于随体相对较大的染色体,其 45S rDNA 位点的远端基因簇的活化可能有利于伸展,而对于随体相对很小的染色体则正好相反。另一种可能是与 rDNA 的异染色质化有关。例如,玉米的随体虽然较小,但其 45S rDNA 重复单位的大部分(位于近端)形成了异染色质,其中的 rRNA 基因没有活性,很少或不参与核仁的形成,而少量的重复单位(位于远端)没有异染色质化,能够活化而发生转录(Givens & Phillips, 1976; 余朝文, 2005)。

参考文献:

- 余朝文. 2005. 几种植物与模式植物基因组的分子细胞遗传学比较分析[D]. 武汉大学博士学位论文:92-103
- Benabdelmouna A, Abirached-Darmency M, Darmency H. 2001. Phylogenetic and genomic relationships in *Setaria italica* and its close relatives based on the molecular diversity and chromosomal organization of 5S and 18S-5.8S-25S rDNA genes[J]. *Theor Appl Genet*, **103**(5):668-677
- Doudrick RL, Heslop-Harrison JS, Nelson CD, et al. 1995. Karyotype of slash pine (*Pinus elliottii* var. *elliottii*) using patterns of fluorescence in situ hybridisation and fluorochrome banding[J]. *J Hered*, **86**(4):286-296
- Givens JF, Phillips RL. 1976. The nucleolus organizer regions of maize (*Zea mays*), Ribosomal RNA gene distribution and nucleolar interactions[J]. *Chromosoma*, **57**(2):103-117
- González-Melendi P, Wells B, Beven AF, et al. 2001. Single ribosomal transcription units are linear, compacted Christmas trees in plant nucleoli[J]. *Plant J*, **27**(3):223-233
- Hajdera I, Siwinska D, Hasterok R, et al. 2003. Molecular cytogenetic analysis of genome structure in *Lupinus angustifolius* and *Lupinus cosentinii*[J]. *Theor Appl Genet*, **107**(6):988-996
- Hanson RE, Islam-Faridi MN, Percival EA, et al. 1996. Distribution of 5S and 18S-28S rDNA loci in a tetraploid cotton (*Gossypium hirsutum*) and its putative diploid ancestors[J]. *Chromosoma*, **105**(1):55-61
- Hasterok R, Maluszynska J. 2000. Nucleolar dominance does not occur in root tip cells of allotetraploid *Brassica* species[J]. *Genome*, **43**(3):574-579
- Koo DH, Plaha P, Lim YP, et al. 2004. A high-resolution karyotype of *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* revealed by pachytene analysis and multicolor fluorescence in situ hybridization[J]. *Theor Appl Genet*, **109**(7):1346-1352
- Lapitan NLV. 1992. Organization and evolution of higher plant nuclear genomes[J]. *Genome*, **35**(2):171-181
- Lima-De-Faria A. 1976. The chromosome field. I. Predication of the location of ribosomal cistrons[J]. *Hereditas*, **83**(1):1-22
- Macgregor HC, Kezer J. 1971. The chromosomal localization of a heavy satellite DNA in the testis of *Plethodon c. cinereus*[J]. *Chromosoma*, **33**(2):167-182
- McClintock B. 1934. The relationship of a particular chromosomal element to the development of the nucleoli in *Zea mays*[J]. *Zeit Zellforsch Mik Anat*, **21**(3):294-328
- Pontes O, Lawrence RJ, Neves N. 2003. Natural variation in nucleolar dominance reveals the relationship between nucleolus organizer chromatin topology and rRNA gene transcription in *Arabidopsis* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **100**(20):11418-11423
- Schubert I, Fransz PF, Fuchs J, et al. 2001. Chromosome painting in plants[J]. *Methods Cell Sci*, **23**(1-3):57-69
- Schweizer D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI[J]. *Chromosoma*, **58**(4):307-324
- She CW, Liu JY, Song YC. 2005. CPD banding patterns and identification of 45S rDNA sites in tomato[J]. *Acta Genet Sin*, **32**(10):1101-1107
- She CW, Liu JY, Song YC. 2006. CPD staining, an effective technique for detection of NORs and other GC-rich chromosomal regions in plants[J]. *Biotech Histochem*, **81**(1):13-21
- She CW, Liu JY, Xiong ZY, et al. 2004. Karyotype analysis of *Psophocarpus tetragonolobus* by chromosome banding and fluorescence in situ hybridization[J]. *Caryologia*, **57**(4):387-394
- Snowdon RJ, Friedrich T, Friedt W, et al. 2002. Identifying the chromosomes of the A- and C-genome diploid *Brassica* species *B. rapa* (syn. *campestris*) and *B. oleracea* in their amphidiploid *B. napus*[J]. *Theor Appl Genet*, **104**(4):533-538
- Song YC, Liu LH, Ding Y, et al. 1994. Comparisons of G-banding patterns in six species of the Poaceae[J]. *Hereditas*, **121**(1):31-38
- She CW(余朝文), Song YC(宋运淳). 2006. Progress of plant FISH technique and its applications in the analysis of plant genome(植物荧光原位杂交技术的发展及其在植物基因组分析中的应用)[J]. *J Wuhan Bot Res*(武汉植物学研究), **24**(4):365-376
- Takaiwa F, Kikuchi S, Oono K. 1990. The complete nucleotide sequence of the intergenic spacer between 25S and 17S rDNAs in rice[J]. *Plant Mol Biol*, **15**(6):933-935