

黄果龙葵和龙葵染色体制片优化及核型分析

徐洪国, 祁宏英, 顾灵杰

(齐齐哈尔大学 生命科学与农林学院 黑龙江齐齐哈尔 161006)

摘要: 该实验以黄果龙葵和龙葵的根尖为实验材料, 进行不同的预处理、固定和解离, 确定出各种材料适合于核型分析的制片方法。结果表明: 龙葵于 15 °C 条件下经 0.05% 秋水仙素预处理 2.5 h, 固定后用 1 mol/L HCl 酸解后, 染色观察, 得到的染色体分散, 易于染色体计数和形态观察。用此方法对黄果龙葵和龙葵进行核型分析, 结果发现: 黄果龙葵和龙葵都属于小型染色体, 黄果龙葵为四倍体, 核型公式为 $K(4n)=48=4sm+44m$, 核型不对称系数为 56.22%, 属于 2B 核型。龙葵为六倍体, 核型公式为 $K(6n)=72=72m$, 核型不对称系数为 55.89%, 属于 1B 核型。

关键词: 龙葵; 染色体; 制片优化; 核型

中图分类号: Q-336; Q343.2⁺2

文献标志码: A

Optimization of Chromosome Sectioning Technique and Karyotype Analysis of *Solanum nigrum* var. *suaveolens* and *Solanum nigrum*

XU Hongguo, QI Hongying, GU Lingjie

(College of Life Science and Agroforestry, Qiqihaer University, Qiqihaer, Heilongjiang 161006, China)

Abstract: In this test, the experimental materials are root tips of *Solanum nigrum* var. *suaveolens* and *Solanum nigrum*. In order to determine pretreatment methods of the most suitable for karyotype analysis, we optimized processing the root tips by different pretreatment, fixed and different dissociation. Root tips of *Solanum nigrum* L. are pretreated with 0.05% colchicine for 2.5 h at 15 °C. Then root tips were hydrolyzed or 6 min in 1 mol/L HCl at 60 °C. The results showed the chromosome clearer. *S. nigrum* var. *suaveolens* and *S. nigrum* are both belong to small chromosomes, *S. nigrum* var. *suaveolens* is tetraploid, the karyotype formula is $K(4n)=48=4sm+44m$, karyotype asymmetry belongs to 2B. The karyotype asymmetry coefficient was 56.22%. *S. nigrum* L. is hexaploid, the karyotype formula is $K(6n)=72=72m$, karyotype asymmetry belongs to 1B and the karyotype asymmetry index was 55.89%.

Key words: *Solanum nigrum* L.; chromosome sectioning; chromosome preparation; karyotype

龙葵是中国地区特有的植物, 全国各地均有分布, 多野生于田间、住宅和马路旁。龙葵具有重要的药用价值, 在古代典籍《药性论》、《唐本草》中早有记载。近几年的研究发现, 龙葵中含有的龙葵素可用于治疗一些顽固的癌症^[1]。所以, 龙葵是一种值得

开发的重要野生植物资源, 果实可食用或加工饮品、果酒等, 具有极好的开发利用前景^[2]。

核型分析主要通过研究其染色体数及染色体形态特征来反映不同物种或品种之间存在的染色体细胞学差异, 不但能研究种间遗传变异、系统演化以及

亲缘关系,而且还可以为杂交育种选育及杂种后代鉴定等提供理论依据^[3]。龙葵染色体数目存在着倍性差异,其包括二倍体、四倍体和六倍体等 3 种倍性^[2,4,5]。在中国龙葵有 2 种和 1 变种,即龙葵(*Solanum nigrum*)为六倍体、黄果龙葵(*S. nigrum* L. var. *suaveolens*)为四倍体和少花龙葵(*S. photeinocarpum*)为二倍体^[2]。研究表明,龙葵多倍体的形成可能是地理环境和自然条件情况下进行的自然加倍。黑龙江省齐齐哈尔地区分布有 1 种和 1 变种,即龙葵和黄果龙葵,二者都属于多倍体,染色体较小,染色体数目较多,种间差异大,染色体制片难度大,因此要想获得分散良好且清晰的中期分裂相,必须有高质量的制片技术。本实验龙葵和黄果龙葵的根尖分生组织为材料,比较不同预处理、不同处理时间、不同固定时间、不同解离液和不同解离时间,对染色体制片的影响,期望得到一套稳定的染色体制片方法,以期获得分散良好且清晰的有丝分裂中期细胞。进一步对 2 种龙葵进行核型分析,为进一步的细胞学研究打下基础,为龙葵的分类、品种亲缘关系鉴定、种质创新及利用、新品种培育等提供细胞学参考依据,为龙葵的系统进化、基因定位等提供必要的细胞遗传学依据。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验材料为龙葵和黄果龙葵,依据《黑龙江植物检索表》^[6]进行物种鉴定,于齐齐哈尔市龙沙公园采集成熟浆果后,将果实捣碎,取出种子,用水清洗干净后晾干,装入种子袋中,室温条件下保存。

1.2 方 法

1.2.1 取材及预处理方法 将 2 种种子用 0.1% HgCl₂ 溶液浸泡 10 min,冲洗干净后,浸泡在盛有

蒸馏水的培养皿中 12~24 h,置于 25 ℃ 恒温箱中。裁剪与培养皿大小相似的脱脂棉和滤纸片,平铺在培养皿中,滤纸在脱脂棉上部,用蒸馏水充分湿润后。将已浸泡好的种子均匀平铺滤纸上,种子之间留出 0.5 cm 左右空隙,将培养皿放入遮光纸盒中 25 ℃ 条件下培养,大约 3 d 左右,种子开始萌发出根尖,待根尖长至 1 cm 左右时,在上午 10:00 左右剪取根尖进行预处理(表 1)。

1.2.2 固定 将经过预处理的根尖用蒸馏水冲洗干净后,放入卡诺固定液中室温固定 4~12 h 或 4 ℃ 固定 20~24 h。固定后冲洗干净,转入 70% 乙醇,低温 4 ℃ 冷藏保存备用。

1.2.3 解离 酸解:用 1 mol/L HCl 60 ℃ 恒温条件下解离 5~10 min。

酶解:前低渗,即根尖固定后,将固定液冲洗干净,放入 0.075 mol/L KCl 中浸泡 30 min;将低渗后的材料放入 2.5% 纤维素酶和 2% 果胶酶的混合酶解液中,室温条件下解离 1~2 h,可以观察到根尖逐渐透明,分生区和成熟区有分离的趋势;酶解后,将材料用蒸馏水冲洗数次后,放入 0.075 mol/L KCl 中浸泡 5~10 min 左右进行后低渗处理。

先酸解后酶解:先用 1 mol/L HCl 60 ℃ 恒温条件下解离 5~10 min,冲洗干净后,再放入纤维素酶和果胶酶的混合酶液中室温解离 1~2 h,冲洗数次后放入 0.075 mol/L KCl 中进行后低渗。

1.2.4 染色及压片 取根尖前端 1 mm 分生区,放在干净的载玻片上,使用卡宝品红染液进行染色,染色时间为 10~15 min。轻轻盖上盖玻片,用大拇指轻轻按压后,可用橡皮头轻轻敲打细胞区域,使细胞充分分散,用滤纸吸除多余的染液^[7]。

1.2.5 显微观察及图像采集 Nikon Eclipse 50 显微镜观察制片,在 10× 物镜下找到分散良好且清晰

表 1 根尖预处理方法
Table 1 Tests of different pretreatments on the root tips

处理编号 Treatment code	预处理试剂 Pretreatment reagent	预处理温度 Pretreatment temperature/℃	预处理时间 Pretreatment time/h
1	0.05%秋水仙素 Colchicine	15	2.5
2	0.05%秋水仙素 Colchicine	15	3
3	0.1%秋水仙素 Colchicine	15	2
4	0.1%秋水仙素 Colchicine 和 0.002 mol/L 8-羟基喹啉 8-hydroxyquinoline	15	2
5	冰水混合物 Ice water mixture	—	24
6	空白对照 Control	—	—

的中期分裂相,在 40×物镜下观察,对单位视野面积内处于分裂中期的细胞进行计数^[8]。之后在 100×油镜下用 Motic Images Advanced 3.2 图像处理系统进行图像采集,获得分散良好且清晰的染色体图像。

2 结果与分析

2.1 龙葵根尖不同预处理结果

从黄果龙葵和龙葵的根尖处理结果(图 1,表 2)可以看出,不同预处理方法对中期细胞数目及染色体分散效果及清晰度都有一定影响,不同种类龙葵对预处理试剂的反应程度相同。低浓度秋水仙素处理效果较好(图 1,A1~A3、B1~B3),且 0.05%秋

水仙素 4℃条件下处理 2.5 h 效果最好(图 1,A1、B1;表 2,) ,染色体较分散且形态清晰,缢痕清晰,适合用于核型分析。用 0.1%秋水仙素和 0.002 mol/L 8-羟基喹啉 1:1 混合液处理效果对龙葵来说并不理想(图 1,A4、B4;表 2),处于分裂中期的细胞数远少于只用秋水仙素处理的根尖。用冰水混合物处理的细胞染色体过度浓缩,无法清晰分辨染色体形态(图 1,A5、B5;表 2)。

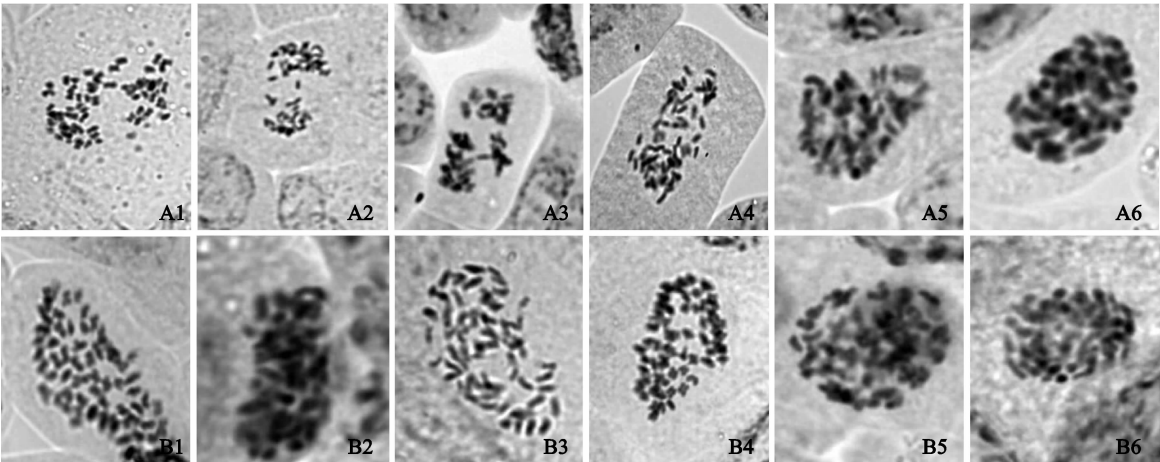
2.2 龙葵根尖不同解离液的解离结果

不同解离液对龙葵的解离结果(表 3,图 2)表明,不同解离液对中期细胞数目影响较小,但对染色体的清晰度有一定影响。1 mol/L HCl 在 60℃恒温条件下解离 10 min 结果(图 2,A;表 3,处理 A)显

表 2 不同预处理方法对染色体的影响
Table 2 Effect of chromosome in different pretreatments methods

处理 Treatment	中期细胞平均数目 Average number of metaphase cells	染色体分散效果及清晰度 Dispersion and distinguish degree of chromosome
1	4.0	分散性良好,形态清晰 Dispersion better,clearer
2	3.5	较分散,形态较清晰 Dispersion good,clear
3	3.8	较分散,形态较清晰 Dispersion good,clear
4	1.3	较分散,形态较清晰 Dispersion good,clear
5	3.7	染色体浓缩,模糊 Dough, blurred
6	3.8	染色体浓缩,模糊 Dough, blurred

注:中期细胞平均数目为 40×视野中分裂中期细胞平均数目(个),下同
Note: Number of metaphase cells is average of cells in the field(40×),the same as below



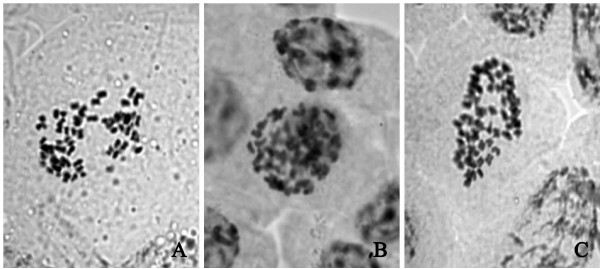
A. 黄果龙葵;B. 龙葵;1. 0.05%秋水仙素 15℃处理 2.5 h;2. 0.05%秋水仙素 15℃处理 3 h;3. 0.1%秋水仙素 15℃处理 2 h;
4. 0.1%秋水仙素和 0.002 mol/L 8-羟基喹啉 1:1 混合液 15℃处理 2 h;5. 冰水混合物 24 h;6. 空白对照
图 1 不同预处理染色体图像
A. *S. nigrum* L. var. *suaveolens*; B. *S. nigrum* L.; 1. 0.05% colchicine 15℃ 2.5 h; 2. 0.05% colchicine 15℃ 3 h;
3. 0.1% colchicine 15℃ 2 h; 4. 0.1% colchicine and 0.002 mol/L 8-hydroxyquinoline mixed liquor(1:1)15℃ 2 h;
5. Ice-water mixture 24 h; 6. Control
Fig. 1 Chromosomes by different pretreatments

示,组织解离适中,分散性良好,染色体着色良好,背景清晰,便于观察染色体的形态。B为混合酶液酶解

表 3 不同解离方法对染色体的影响

Table 3 Effect of chromosomes by different digested methods

处理 Treatment	中期细胞平均数目 Average number of metaphase cells	染色体分散效果及清晰度 Dispersion and distinguish degree of chromosome
A	3.8	分散性良好,清晰 Dispersion better, clear
B	3.5	较分散,但模糊 Dispersion good, blurred
C	3.7	较分散,但模糊 Dispersion good, blurred



A. 单用酸解; B. 单用酶解; C. 先酸解后酶解

图 2 不同解离方法的解离效果图

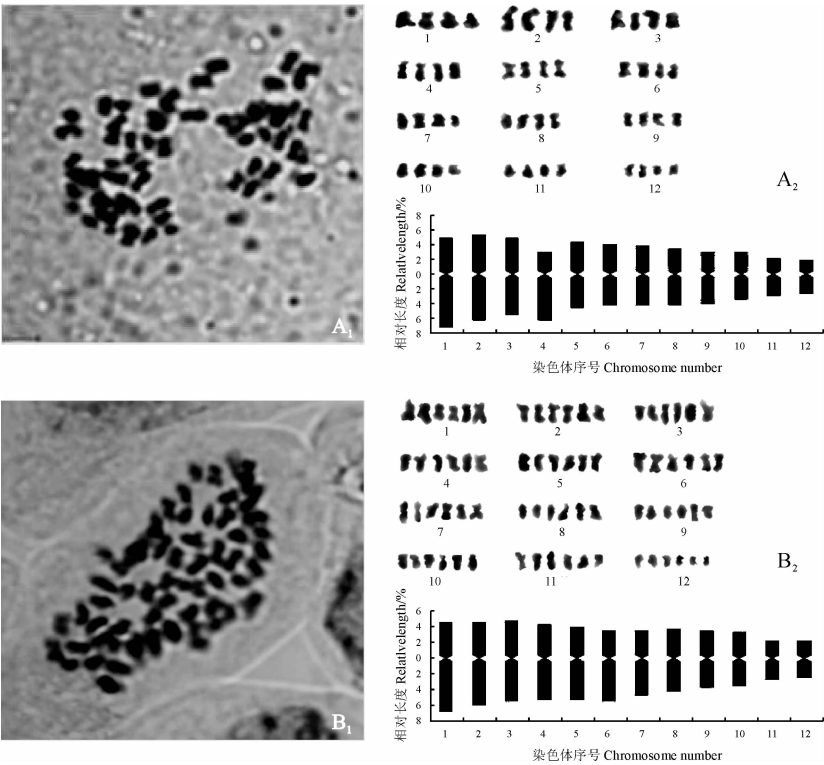
A. Single acidolysis; B. Single enzymolysis; C. Acidolysis after enzymolysis first

Fig. 2 Effect picture by different digested methods

的解离结果,细胞也较分散,但是细胞质也易着色,背景不够清晰,使染色体不易观察。C 为先酸解后酶解的综合解离效果,从图片来看解离效果,略好于图 2,B,但仍较模糊,而且解离程序繁琐,成本较高。

2.3 龙葵核型分析

黄果龙葵和龙葵的染色体数(表 4)及染色体核型(图 3)分析结果表明,黄果龙葵的染色体总长为 37.02 μm ,绝对长度范围 1.72~4.51 μm ,属于小型染色体,臂比范围为 1.06~2.09。其中 4 号为近中部着丝粒染色体,其余为中部着丝粒染色体。核型公式为 $K(4n)=48=4\text{sm}+44\text{m}$ 。染色体相对长度的变异范围 4.59%~12.16%,染色体长度比为 2.65,臂比值大于 2:1 的染色体比率为 8.33%,核型不对称性属于 2B 核型。核型不对称系数为 56.22%。龙葵的染色体总长为 39.91 μm ,绝对长度范围 1.91~4.51 μm ,也属于小型染色体,臂比的范围为 1.07~1.57。全部染色体均为中部着丝粒染色体。核型公式为 $K(6n)=72=72\text{m}$ 。染色体相对长度的变异范围 4.76%~11.28%,染色体长度比为 2.37,未出现臂比值大于 2:1 的染色体,核型不对称性属于 1B 核型。核型不对称系数为 55.89%。



A. 黄果龙葵; B. 龙葵; 1. 染色体; 2. 核型及核型模式图

图 3 黄果龙葵和龙葵染色体核型及模式图

A. *S. nigrum* var. *suaveolens*; B. *S. nigrum* L.; 1. The chromosome; 2. Karyotype image and idiograms

Fig. 3 Chromosome karyotypes and karyotype models of *S. nigrum* var. *suaveolens* and *S. nigrum*

表 4 龙葵和黄果龙葵染色体参数

Table 4 Parameters of chromosome karyotype of *S. nigrum* and *S. nigrum* var. *suaveolens*

物种及染色体序号 Species and serial number		染色体相对长度 Relative length/%			臂比值(长/短) Arm ratio (L/S)	染色体类型 Type
		长臂 Long arm	短臂 Short arm	总长 Total length		
黄果龙葵 <i>S. nigrum</i> var. <i>suaveolens</i>	1	7.3	4.86	12.16	1.5	m
	2	6.21	5.4	11.61	1.15	m
	3	5.68	4.86	10.54	1.17	m
	4	6.22	2.97	9.19	2.09	sm
	5	4.59	4.32	8.91	1.06	m
	6	4.32	4.05	8.37	1.07	m
	7	4.33	3.78	8.11	1.14	m
	8	4.31	3.51	7.82	1.23	m
	9	4.05	2.97	7.02	1.36	m
	10	3.51	2.97	6.48	1.18	m
	11	2.97	2.16	5.13	1.38	m
	12	2.7	1.89	4.59	1.43	m
龙葵 <i>S. nigrum</i>	1	6.77	4.51	11.28	1.5	m
	2	6.01	4.52	10.53	1.33	m
	3	5.51	4.76	10.27	1.16	m
	4	5.26	4.26	9.52	1.23	m
	5	5.27	4.01	9.28	1.31	m
	6	5.51	3.51	9.02	1.57	m
	7	4.76	3.5	8.26	1.36	m
	8	4.26	3.75	8.01	1.14	m
	9	3.76	3.5	7.26	1.07	m
	10	3.5	3.26	6.76	1.07	m
	11	2.76	2.26	5.02	1.22	m
	12	2.51	2.25	4.76	1.12	m

3 讨 论

3.1 染色体制片技术的探讨

龙葵和黄果龙葵二者都属于多倍体,染色体较小,染色体数目较多,种间差异大,染色体制片难度大,因此要想获得分散良好且清晰的中期分裂相,必须有高质量的制片技术,优化染色体制片过程。在染色体制片过程中对材料进行预处理主要是阻断纺锤体的形成,使细胞分裂终止在中期阶段,可提高中期分裂相的出现频率^[9],预处理主要通过处理试剂和处理时间等不同方面影响制片效果^[10]。由于植物不同物种之间的差异性,不同植物所适合的预处理试剂一般不同,各种预处理试剂各有特点,选择适宜的预处理试剂并进行适当的预处理是植物体细胞染色体标本制备的一个重要环节,本实验选择秋水

仙素、8-羟基喹啉与秋水仙素及冰水混合物作为预处理试剂,比较了不同试剂的预处理效果,来找出最适合核型分析的预处理试剂和方法。秋水仙素是一种非常好的预处理液,其主要作用是抑制微管蛋白组装成纺锤丝,但不抑制前期的细胞分裂,因此凡进入中期的染色体均被阻而不能进入分裂后期,这样便可以积累大量处于分裂中期的染色体^[11],很多学者使用秋水仙素作为预处理试剂制片,取得很好的效果^[12-14]。8-羟基喹啉也是广泛应用的预处理试剂,会引起细胞粘滞度的改变,进而导致纺锤体活动受阻。可使中期染色体在赤道面上保持其相应的排列位置。现在越来越多的学者使用 8-羟基喹啉与秋水仙素混合液,其效果比单一药物更为优良^[8,15-17]。但本实验对 8-羟基喹啉与秋水仙素混合液进行尝试,效果并不明显。冰水混合物预处理,靠

的是低温抑制纺锤体的组装,预处理时间较长,一般12—40 h^[18]。任文娟等以冰水混合液预处理菜用大黄根尖24 h,染色体中期细胞数所占比例最高,累积中期分裂相较多,效果较好^[9]。本实验中冰水混合物的预处理方式对龙葵染色体的分散性较差,使本就为小型染色体的形态不易分辨,无法用于核型分析。综合比较本实验的所有预处理方式的处理效果,其中以0.05%秋水仙素预处理龙葵根尖,经过15℃条件下预处理2.5 h,染色体中期细胞数所占比例最高,累积中期分裂相较多,可以用于核型分析。

本实验中选用的卡诺氏固定液是无水乙醇和冰乙酸以3:1的比例的混合液,目的是为了破坏细胞的结构,稳定了染色体的结构,防止其分解,便于显微观察。本实验中,室温下固定时间一般较短,固定时间为4~12 h。低温4℃条件下,固定时间较长,一般为15~24 h。结果发现,固定时间长短对实验的影响并不大,但以低温4℃处理20 h后立即进行压片观察,效果最好。

植物细胞具有细胞壁,不利于后期的染色和制片。解离的作用机制是软化细胞壁去除果胶^[19]。对于不同的植物材料,解离液的选择和解离时间均不相同^[8, 20, 21]。酸解得到的细胞会出现染色体不在同一水平面的现象,因此不适用染色体数目较多的龙葵,酶解法较为温和,且解离更为彻底,染色体充分分散,更适用于龙葵的核型分析。

参考文献:

[1] 米 拉, 杨秋林, 李金梅, 等. 野生龙葵果中营养成分的研究[J]. 内蒙古农业大学学报: 自然科学版, 2002, **23** (1): 98-100.

MI L, YANG Q L, NASHUN M H, *et al.* Nutrition ingredient in *Solanum nigrum* fruit[J]. *Journal of Inner Mongolia Agricultural University (Natural Science Edition)*, 2002, **23** (1): 98-100.

[2] 徐秀芳, 张海洋, 袁秋红, 等. 中国龙葵复合种三类型的染色体数目研究[J]. 广西植物, 2004, **24** (6): 544-545.

XU X F, ZHANG H Y, YUAN Q H, *et al.* Studies on chromosome of three types of *Solanum nigrum* in China[J]. *Guihaia*, 2004, **24** (6): 544-545.

[3] 杨汉波, 饶龙兵, 郭洪英, 等. 5种桉木属植物的核型分析[J]. 植物遗传资源学报, 2013, **14** (6): 1 203-1 207.

YANG H B, RAO L B, GUO H Y, *et al.* Karyotyping of five

3.2 染色体核型分析

核型分析技术可为生物的系统发育、判断和分析物种间的亲缘关系提供依据,并可揭示遗传进化过程和机制^[3]。黄果龙葵和龙葵的染色体数目和倍性结果与文献中报道的结果一致^[5, 22],此次报道的黄果龙葵核型 $K(4n) = 48 = 4sm + 44m$,核型不对称系数为56.22%,核型属于2B类型,为较对称型,龙葵核型 $K(6n) = 72 = 72m$,核型不对称系数为55.89%,核型属于1B类型,也为较对称型,核型的对称程度越高,说明进化程度越原始。六倍体龙葵12组染色体与四倍体黄果龙葵一致,是较对称的核型。二者均是以近中部着丝粒染色体和中部着丝粒染色体为主,着丝粒位于染色体的中部,两臂长度相等或大致相等,这与其进化过程是一致的。Stebbins^[23]认为在植物界核型进化的基本趋势是由对称向不对称发展,系统演化上处于比较古老或原始的植物大多数具有较对称的核型,而不对称的核型则常见于衍生或进化较高级的植物中。由此可知黄果龙葵和龙葵系统演化上来讲都较为原始。核型是物种特有的再现性很高的细胞遗传学信息^[5],对黄果龙葵和龙葵的进行核型分析有助于对其细胞遗传规律如染色体结构变异、数目变异等有一个全面的了解与认识,这对龙葵资源的应用具有非常重要的价值。本试验只研究了黄果龙葵和龙葵的最适染色体压片方法及其核型,对于黄果龙葵和龙葵染色体的显带等更深的领域还有待于进一步研究。

species of *Alnus* in east Aisa region[J]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2013, **14** (6): 1 203-1 207.

[4] 杨德奎, 周俊英, 等. 龙葵的染色体研究[J]. 山东科学, 1996, **9** (1): 70-71.

YANG D K, ZHOU J Y, *et al.* A study on ghromosome of *Solanum nigrum*[J]. *Shandong Science*, 1996, **9** (1): 70-71.

[5] 蓝伟侦, 张海洋, 徐秀芳. 少花龙葵与黄果龙葵染色体核型分析[J]. 广西植物, 2009, **29** (5): 599-602.

LAN W Z, ZHANG H Y, XU X F. Karyotype analyses of *Solanum photeinocar* Pum and *Solanum nigrum* var. *suaveolens*[J]. *Guihaia*, 2009, **29** (5): 599-602.

[6] 郭贵林, 邢启妍. 黑龙江省植物检索表[M]. 哈尔滨: 黑龙江人民出版社, 1990: 413.

[7] 刘永安, 冯海生, 陈志国, 等. 植物染色体核型分析常用方法概述[J]. 贵州农业科学, 2006, **34** (1): 98-102.

LIU Y A, FENG H S, CHEN Z G, *et al.* Common methods

of karyotype analysis in plant[J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2006,**34**(1): 98-102.

[8] 王 芳,周兰英. 高山榕染色体制片优化及核型分析[J]. 西北植物学报, 2011,**31**(8): 1 573-1 576.

WANG F, ZHOU L Y. Optimization of chromosome sectioning and karyotype analysis of *Ficus altissima* [J]. *Acta Bot. Boreal. -Occident. Sin.*, 2011,**31**(8):1 573-1 576.

[9] 任文娟,郭小菲,姜立娜,等. 菜用大黄染色体制片优化及核型分析[J]. 华北农学报, 2013,**28**(5): 128-132.

REN W J, GUO X F, JIANG L N, *et al.* Optimization of chromosome mounting technique and karyotype analysis of *Culinary rhubarb* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2013, **28**(5): 128-132.

[10] 胡凤荣,王 斐,鲍仁蕾,等. 风信子根尖预处理及核型分析[J]. 西北植物学报, 2012,**32**(10): 2 030-2 034.

HU F R, WANG F, BAO R L, *et al.* Pretreatment reagents for *Hyacinthus* root tip and karyotype analysis[J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2012, **32**(10): 2 030-2 034.

[11] 任 艳,王 辉,石延茂,等. 不同预处理对花生根尖细胞有丝分裂制片的影响[J]. 花生学报, 2008,**37**(2): 28-31.

REN Y, WANG H, SHI Y M, *et al.* Effects of pretreatment on mitosis of root tip cells in peanut [J]. *Journal of Peanut Science*, 2008,**37**(2): 28-31.

[12] 刘思汝,林 彦,罗建中. 不同预处理方法对柠檬桉染色体制片技术的影响[J]. 桉树科技, 2015,**32**(4): 27-31.

LIU S R, LIN Y, LUO J Z. Effect of different pretreatment methods of *Corymbia citriodora* chromosome technology[J]. *Eucalypt Science & Technology*, 2015,**32**(4): 27-31.

[13] 潘 颀,王 芳,郝爱花,等. 新疆紫草不同材料染色体制片技术研究[J]. 新疆农业科学, 2013,**50**(9): 1 642-1 650.

PAN Q, WANG F, HAO A H, *et al.* Research into chromosome squash technique of different materials in *Arnebia euchroma* (Royle) Johnst[J]. *Xinjiang Agricultural Sciences*, 2013,**50**(9): 1 642-1 650.

[14] 唐历波,陈 平,张鉴诚,等. 白木香染色体制片方法的研究[J]. 海南大学学报自然科学版, 2009,**27**(2): 144-146.

TANG L B, CHEN P, ZHANG J C, *et al.* The section procedure of chromosome of *Aquilariae sinensis* [J]. *Natural Science Journal of Hainan University*, 2009, **27**(2): 144-146.

[15] 高和琼,王 英,金 鸽,等. 橡胶树叶片染色体制片方法的优化[J]. 热带作物学报, 2009,**30**(5): 565-569.

GAO H Q, WANG Y, JIN G, *et al.* Optimization of chromosome preparations of *Hevea* leaves[J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2009, **30**(5): 565-569.

[16] 杨 宁,谈永霞,李巧峡,等. 百里香染色体制片优化及核型分析[J]. 草业学报, 2012,**21**(1): 184-189.

YANG N, TAN Y X, LI Q X, *et al.* Optimization of a chromosome mounting technique and karyotype analysis of *Thymus mongolicus* [J]. *Acta Prataculturae Sinica*, 2012, **21**(1): 184-189.

[17] 张 健,郭军辉,陈雄庭,等. 木薯叶片染色体制片技术研究[J]. 热带作物学报, 2012,**33**(1): 20-23.

ZHANG J, GUO J H, CHEN X T, *et al.* Technique for microscopical slides of cassava leaf for chromosome observation [J]. *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2012, **33**(1): 20-23.

[18] 李懋学. 植物染色体研究技术[M]. 哈尔滨:东北林业大学出版社, 1991: 142-144.

[19] 张贵友. 普通遗传学实验指导[M]. 北京:清华大学出版社, 2003: 1-11.

[20] 陈晶鑫. 梅花染色体制片技术优化及基于荧光原位杂交的核型分析[D]. 北京:北京林业大学, 2013.

[21] 汪 祥,李晓玲,杨 进,等. 中华蚊母树染色体制片及核型分析[J]. 西北植物学报, 2011,**31**(9): 1 742-1 748.

WANG X, LI X L, YANG J, *et al.* Chromosome preparation and karyotype analysis of *Distylium chinense* (Fr.) Diels [J]. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2011, **31**(9):1 742-1 748.

[22] SULTANA S S, ALAM S S. Differential fluorescent chromosome banding of *Solanum nigrum* L. and *Solanum villosum* L. from Bangladesh [J]. *Cytologia*, 2007, **72**(2): 213-219.

[23] STEBBINS G L. Chromosomal evolution in higher plants [M]. Edward Arnold, 1971: 87-89.

(编辑:宋亚珍)