

13个铁线莲品种的核型比较分析

任佳伦, 季梦成, 赵爽, 刘志高

(浙江农林大学 风景园林与建筑学院, 浙江 临安 311300)

摘要: 铁线莲属 *Clematis* 为观赏价值极高的藤本植物。铁线莲品种数量繁多, 形态变异丰富, 遗传背景也相对复杂, 品种间存在杂交不亲和性的障碍, 对杂交亲本的染色体核型分析等细胞学特征的研究显得十分重要。采用酶解法-去壁低渗火焰干燥法与 Giemsa-C 分带染色技术, 以 13 个铁线莲品种自然生长的幼嫩根尖为试材, 进行染色体参数和核型分析。结果表明: 13 个品种的染色体均为 $2n=2x=16$, 均为二倍体; 染色体核型分为 2 种类型: $2n=2x=16=10m+4st+2t$, $2n=2x=16=10m+6st$; 随体均在第 6 条, 第 7 条或第 8 条染色体上, 且位置均在短臂上; 13 个品种的核型类型均为“2A”, 具有很大的相似性, 说明杂交不亲和现象由其他因素导致。图 3 表 3 参 18

关键词: 植物细胞遗传学; 铁线莲属; 染色体; 核型

中图分类号: S682.39; Q943 文献标志码: A 文章编号: 2095-0756(2016)06-1033-07

Karyotypes in 13 *Clematis* cultivars

REN Jialun, JI Mengcheng, ZHAO Shuang, LIU Zhigao

(School of Landscape Architecture, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China)

Abstract: *Clematis* has extremely high ornamental value, complicated genetic background and cross-incompatibility phenomena. Studies on chromosome karyotype analysis of hybrid parent is very important. Chromosome types and karyotypes with natural growth of tender root tip materials in 13 *Clematis* cultivars were studied by the method of cell wall degradation and hypotonic treatment for chromosome preparations. Results indicated that all chromosomes for the 13 provenances were diploids and the chromosome number was $2n = 2x = 16$. There were 2 types of chromosome karyotypes classified from the morphological observation: $2n = 2x = 16 = 10m + 4st + 2t$ and $2n = 2x = 16 = 10m + 6st$. Satellites were found in chromosomes of each cultivar for numbers 6, 7, and 8. Both karyotypes were “2A”. Thus, both chromosome karyotypes had a great deal of similarity. So cross incompatibility phenomena may caused by other factors. [Ch, 3 fig. 3 tab. 18 ref.]

Key words: plant cytogenetics; *Clematis*; chromosome; karyotype

毛茛科 Ranunculaceae 铁线莲属 *Clematis* 为观赏价值极高的藤本植物, 全世界大约有 300 种, 中国约 110 种, 分布于华中西南地区。铁线莲属植物花色美丽, 花型特别, 有‘攀援植物皇后’的美称, 是非常优秀的垂直绿化材料, 因具多种抗逆性, 也是杂交育种的优良资源^[1]。早在 1885 年, 就有科学家 GURIGNARD 对铁线莲属植物进行了细胞学研究, 证实 *C. recta* 的单倍染色体 $n=8$, MEURMAN 等在 1939 年研究发现了四倍体、六倍体与杂合染色体。据张镱锂等^[2]的统计, 该属约有 106 种与变种的染色体数目及部分种的核型有过记载, 其他并未见报道。对铁线莲属的细胞学研究多集中在野生种上^[2-6], 而有关栽培品种的研究则鲜有报道^[7]。通过自然选择及人工杂交选育, 铁线莲品种数量繁多, 形态变异丰富, 遗传背景也相对复杂, 为铁线莲种质资源调查、品种分类与鉴定等工作带来了一定的难处。针对杂交育种工作中存在子一代生长周期较长, 且本研究的 13 个品种间存在杂交不亲和性的障碍, 因此,

收稿日期: 2015-12-22; 修回日期: 2016-02-12

基金项目: 浙江省科学技术重大资助项目(2012C12909-16)

作者简介: 任佳伦, 从事野生园林植物资源分类与应用。E-mail: 1416001262@qq.com。通信作者: 刘志高, 副教授, 从事观赏植物栽培与育种技术研究。E-mail: 1692362952@qq.com

对杂交亲本的染色体核型分析等细胞学特征的研究显得十分重要。本研究采用酶解法、去壁低渗火焰干燥法和 Giemsa-C 分带技术对 13 个铁线莲品种进行核型分析, 研究核型差异是否是导致其杂交不亲和原因。

1 材料与方法

1.1 试验材料

13 个铁线莲品种均取自浙江农林大学铁线莲种质资源圃(表 1), 所取试材均为自然生长状态下幼嫩根尖。

表 1 13 个铁线莲品种的基本信息

Table 1 Information of thirteen *Clematis* cultivars

品种名	品种特征	亲本或来源
‘灵感’ ‘Inspiration’	单叶型	荷兰品种, 由 SNOEIJER 培育, 由单叶型的铁线莲和铁线莲 ‘Warszawska Nike’ 杂交而成, 2000 年推出
‘仙女座’ ‘Andromeda’	早花大花型	英国品种, 1994 年由 PYNE 培育, 亲本未知
‘浪子’ ‘The Vagabond’	早花大花型	英国品种, 1996 年由 PYNE 培育, 亲本未知
‘白王冠’ ‘Hakaookan’	早花大花型	日本品种
‘狂想曲’ ‘Rhapsody’	晚花大花型	英国品种, 1988 年由 WATKINSON 培育, 亲本未知
‘蓝光’ ‘Blue Light’	早花大花型	荷兰品种, 1998 年由 van HAASSTERT 选育, 亲本未知
‘茱莉亚夫人’ ‘Mme Julia Correvon’	意大利型	法国品种, 1900 年由 MOREL 培育, 亲本未知
‘绿玉’ ‘Alba Plena’	佛罗里达型	亲本未知
‘蓝焰’ ‘Bagatelle’	晚花大花型	法国品种
‘劳拉’ ‘Laura’	早花大花型	波兰品种, 由 VINCE & SYLVIA DENNY 培育
‘普鲁吐斯’ ‘Proteus’	早花大花型	英国品种, 1876 年由 NOBLE 培育, 亲本未知
‘乌托邦’ ‘Utopia’	晚花大花型	日本品种, 由佛罗里达型的铁线莲和一个未知的大花铁线莲品种杂交育成, 2001 年推出
‘马来西亚石榴石’ ‘Malaya Garnet’	早花大花型	日本品种

1.2 试验方法

1.2.1 染色体制片 采用酶解法与去壁低渗火焰干燥法制片^[8]。将材料放入 0.002 mol·L⁻¹ 8-羟基喹啉溶液中预处理 4.0~4.5 h, 预处理后以 0.075 mol·L⁻¹ 氯化钾溶液进行前低渗处理, 0.5 h 后在 V(甲酸):V(冰乙酸)=3:1 的根尖固定液下固定数小时。再以体积分数为 2.5% 纤维素酶和 2.5% 果胶酶混合液对根尖进行 4.0~5.0 h 的酶解去壁, 酶解完全后去除上清液和杂质, 再固定 0.5 h 后用滴管将此黏稠溶液滴于预先在乙醇溶液中冷冻-20 ℃的载玻片上, 用乙醇灯火焰微热烘干, 即得到含有根尖细胞的玻片。

1.2.2 染色 采用染色体 Giemsa-C 分带技术^[9]进行染色。将 0.2 mol·L⁻¹ 氯化氢和 2× 柠檬酸钠(SSC)缓冲液分别放入 60 ℃恒温水浴锅中加热, 将制好的载玻片放入 0.2 mol·L⁻¹ 氯化氢中处理 160 s。之后将玻片放入水中洗去残留的氯化氢, 再放入氢氧化钡溶液中处理 420~430 s, 后转入水龙头下将氢氧化钡溶液冲洗掉。最后将玻片放入 2× SSC 水浴锅中加热, 1.0 h 后放入 20.0 mL 磷酸氢二钠+10.0 mL 磷酸二氢钾+50~60 滴 Giemsa 染液的混合溶液中染色数小时。

1.2.3 镜检 染色后用蒸馏水轻轻冲洗玻片, 空气中干燥后即可进行染色体观测和拍照。先在 40 倍物镜下找到分裂较好的染色体, 向载玻片滴 2 滴二甲苯, 盖玻片滴 2 滴镜油, 再转至 100 倍物镜下拍照。

1.2.4 参数计算及制作核型模式图 统计细胞分裂相 30 个·品种⁻¹, 其中 85% 以上的分裂相中染色体一致的数目定为该品种的染色体数^[10]。分析时, 各个品种取 1 个染色体形态好且分散好的分裂相, 染色体相对长度的计算按照 LEVAN 等^[11]的方法。核型类型以染色体长度比和臂比值来衡量, 方法参照 STE-BINNS^[12]的分类标准。着丝点位置的命名按照 LEVAN 等^[11]的方法。核不对称系数(As.K., %)的计算按照 ARANO^[13]的方法。染色体相对长度系数(L.R.L)的分类参照 KUO 等^[14]的方法。以 Adobe Photoshop CS 测量染色体的长短臂与随体的相对长度^[15], 再以 Excel 计算染色体的相对长度^[16], 臂比值, 臂比均值(AAR), 臂比值大于 2 的染色体比例(PCA), 臂指数(N.F 值), 着丝点指数等, 并制作核型模式图。

2 结果与分析

经观察发现: 13个铁线莲品种均为二倍体, 染色体数为 $2n=2x=16$, 染色体基数为8, 且品种间的核型公式极为相似, 核型类型均为2A。13个铁线莲品种的核型参数见表2。由表2可知: 核型公式‘灵感’为 $2n=2x=16=10m+4st+2t(2SAT)$, ‘仙女座’为 $2n=2x=16=10m+6st(4SAT)$, ‘浪子’为 $2n=2x=16=10m+4st(2SAT)+2t$, ‘白王冠’为 $2n=2x=16=10m+4st+2t(2SAT)$, ‘狂想曲’为 $2n=2x=16=10m+6st(2SAT)$, ‘蓝光’为 $2n=2x=16=10m+4st+2t(2SAT)$, ‘茱莉亚夫人’为 $2n=2x=16=10m+6st(2SAT)$, ‘绿玉’为 $2n=2x=16=10m+4st+2t(2SAT)$, ‘蓝焰’为 $2n=2x=16=10m+6st(2SAT)$, ‘劳拉’为 $2n=2x=16=10m+6st(2SAT)$, ‘普鲁吐斯’为 $2n=2x=16=10m+4st+2t(2SAT)$, ‘乌托邦’为 $2n=2x=16=10m+6st(2SAT)$, ‘马来西亚石榴石’为 $2n=2x=10m+2st+4t(4SAT)$ 。

13个品种的臂指数均为26, 臂比值大于2的染色体比例均为37.50%。由图1~图3可知, ‘灵感’‘白王冠’‘狂想曲’‘绿玉’‘蓝焰’在第8对染色体上具有随体, ‘仙女座’‘马来西亚石榴石’于第6对与第8对染色体上具有随体, ‘浪子’‘茱莉亚夫人’‘普鲁吐斯’‘乌托邦’于第7对染色

表2 13个铁线莲品种的染色体参数

Table 2 Chromosomes parameters of thirteen *Clematis* cultivars

染色 体序 号	‘灵感’						‘仙女座’						‘浪子’					
	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型			
	短臂	长臂	全长			短臂	长臂	全长			短臂	长臂	全长					
1	6.79	8.04	14.83	1.18	m	7.10	7.71	14.81	1.09	m	6.65	8.02	14.67	1.21	m			
2	6.94	7.72	14.66	1.11	m	5.72	8.03	13.75	1.40	m	6.56	7.62	14.18	1.16	m			
3	6.53	7.72	14.25	1.18	m	6.30	7.22	13.52	1.15	m	6.30	7.81	14.11	1.24	m			
4	6.42	7.51	13.93	1.17	m	5.61	7.48	13.09	1.33	m	5.59	7.39	12.98	1.32	m			
5	5.19	7.12	12.31	1.37	m	4.92	6.61	11.53	1.34	m	5.09	7.22	12.31	1.42	m			
6	2.20	8.43	10.63	3.83	st	2.37	8.45	10.82	3.57	st*	2.49	8.54	11.03	3.42	st			
7	1.94	7.92	9.86	4.09	st	1.31	8.81	10.12	6.72	st	1.33	8.65	9.98	6.48	st*			
8*	1.08	7.95	7.35	7.35	t*	1.38	8.24	9.62	5.96	st*	1.19	8.28	9.47	6.96	t			
染色 体序 号	‘白王冠’						‘狂想曲’						‘蓝光’					
	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型			
	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂				
1	7.24	8.68	15.92	1.20	m	6.55	9.07	15.62	1.38	m	7.58	8.82	16.40	1.16	m			
2	7.10	7.74	14.84	1.09	m	6.49	8.05	14.54	1.24	m	7.24	7.85	15.09	1.08	m			
3	6.36	7.26	13.62	1.14	m	6.35	7.79	14.14	1.23	m	6.32	7.85	14.17	1.24	m			
4	5.44	7.20	12.64	1.32	m	5.29	7.21	12.50	1.36	m	5.23	7.23	12.46	1.38	m			
5	5.59	6.84	12.43	1.22	m	5.06	6.58	11.64	1.30	m	5.02	6.26	11.28	1.25	m			
6	2.90	8.44	11.34	2.91	st	2.24	8.19	10.43	3.66	st	1.22	9.00	10.22	7.36	t*			
7	1.31	7.81	9.12	5.94	st	1.28	8.27	9.55	6.46	st	1.72	8.33	10.05	4.86	st			
8*	0.77	7.81	8.58	10.18	t*	1.25	7.98	9.23	6.40	st*	1.62	7.71	9.33	4.76	st			
染色 体序 号	‘茱莉亚夫人’						‘绿玉’						‘蓝焰’					
	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型	相对长度/%			臂比 值	核型 类型			
	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂	全长	短臂	长臂				
1	7.24	8.46	15.70	1.17	m	6.40	8.57	14.97	1.34	m	7.41	8.77	16.18	1.18	m			
2	6.73	8.06	14.79	1.20	m	6.36	8.22	14.58	1.29	m	6.56	7.91	14.47	1.21	m			
3	6.08	7.40	13.48	1.22	m	5.76	7.60	13.37	1.32	m	6.21	7.76	13.97	1.25	m			
4	5.26	7.65	12.91	1.45	m	6.02	6.91	12.93	1.14	m	5.46	7.33	12.79	1.34	m			
5	4.80	6.91	11.71	1.44	m	5.02	6.69	11.71	1.33	m	4.91	6.56	11.47	1.33	m			
6	2.49	8.50	10.99	3.41	st	2.07	9.34	11.41	4.52	st	2.00	8.91	10.91	4.46	st			
7	1.42	8.71	10.13	6.15	st*	1.86	8.71	10.57	4.67	st	1.78	7.73	9.51	4.35	st			
8*	1.19	8.07	9.26	6.79	st	1.11	8.73	9.84	7.85	t*	1.24	7.61	8.85	6.12	st*			

表2 (续)

Table 2 Continued

染色体序号	'劳拉'					'普鲁吐斯'				
	相对长度/%			臂比值	核型类型	相对长度/%			臂比值	核型类型
	短臂	长臂	全长			短臂	长臂	全长		
1	7.11	8.95	16.06	1.26	m	7.04	8.73	15.77	1.24	m
2	6.47	8.27	14.74	1.28	m	7.11	7.65	14.76	1.08	m
3	6.03	7.79	13.82	1.29	m	6.08	7.99	14.07	1.31	m
4	5.83	7.23	13.06	1.24	m	5.54	7.56	13.10	1.37	m
5	4.32	6.61	10.93	1.53	m	4.75	6.94	11.69	1.46	m
6	1.58	9.24	10.82	5.84	st	2.77	8.40	11.17	3.03	st
7	1.35	8.09	9.43	6.01	st	1.13	8.50	9.63	7.49	t*
8*	1.80	7.29	9.09	4.05	st*	1.23	7.52	8.75	6.12	st

染色体序号	'马来西亚石榴石'					'乌托邦'				
	相对长度/%			臂比值	核型类型	相对长度/%			臂比值	核型类型
	短臂	长臂	全长			短臂	长臂	全长		
1	7.39	7.98	15.37	1.08	m	7.18	8.51	15.69	1.18	m
2	6.25	8.09	14.34	1.30	m	6.80	8.15	14.95	1.20	m
3	5.75	8.00	13.75	1.39	m	5.62	9.19	14.81	1.63	m
4	5.52	7.53	13.05	1.36	m	5.37	7.96	13.33	1.48	m
5	4.97	6.93	11.90	1.39	m	4.89	6.16	11.05	1.26	m
6	1.06	9.04	10.10	8.57	t*	2.43	7.54	9.97	3.10	st
7	2.15	7.57	9.72	3.52	st	1.67	8.04	9.71	4.81	st*
8*	1.08	8.05	9.13	7.47	t*	1.30	7.79	9.09	5.99	st

说明: *为带随体的染色体。

体上具有随体, ‘蓝光’ ‘劳拉’ 在第 6 对染色体上具有随体。其他染色体组的核型参数比较见表 3。

3 讨论

核型分析是细胞分类学的一个重要指标, 能够识别染色体的形态特征, 对研究系统的演化、种间亲缘关系及分类有重要的意义^[17]。本研究报道了 13 个铁线莲栽培品种的染色体数目与核型, 均为首次详细报道。13 个品种均为二倍体($2n=2x=16$), 染色体基数为 8, 说明铁线莲品种的染色体在数目上是比较恒定的, 这与彭绿春等^[7]的研究结果一致, 这证明铁线莲属的染色体基数比较恒定的表现为 $x=8$ 。本试验中 13 个铁线莲品种的核型类型均为“2A”, 这与张镱锂等^[2,4]的研究结果有所不同。

13 个品种的臂指数值均为 26, 核型结构为: 第 1~5 对均为具中部着丝点(m)染色体, 第 6 对为均为具近端(st)着丝点染色体, 第 7 至 8 对为具近端(st)着丝点染色体或端部(t)着丝点染色体, 这说明铁线莲品种的核型基本模式极为一致, 这与张镱锂等^[4]研究一致。但这 13 个品种所包含的 m, st, t 这 4 类染色体的数量却不尽相同, 从核型模式图中可明显看出这种差异。核型分析结果表明, 13 个铁线莲品种都能观察到随体染色体, 除 ‘仙女座’ 和 ‘马来西亚石榴石’ 具有 2 对随体外, 其他品种均具有 1 对随体, 且位置都在短臂上, 这与前人的研究结果也一致^[2~4]。在被子植物中, 核型进化的基本趋势是由对称向不对称方向发展的, 系统演化上处于比较古老或原始的植物往往具有较对称的核型, 不对称的核型通常出现在较进化或特化的植物中^[12]。本研究中 13 个铁线莲品种的核不对称系数均相对较低(61.78%~64.78%), 变异很小, 其按进化程度由高到低的顺序为 ‘绿玉’ ‘茉莉亚夫人’ ‘浪子’ ‘劳拉’ ‘乌托邦’ ‘普鲁吐斯’ ‘马来西亚石榴石’ ‘狂想曲’ ‘蓝光’ ‘蓝焰’ ‘仙女座’ ‘灵感’ ‘白王冠’。此结果与杨光穗等人的研究结果基本一致^[18]。

本研究 13 个铁线莲品种的核型特征极为相似, 说明杂交不亲和可能是温度、湿度或人为等其他因素造成, 有待于进一步探究。13 个品种间的核型参数间存在的差异, 可为铁线莲杂交育种提供细胞学资料。本研究中各染色体显带都不明显, 因此, 未将染色体 Giemsa-C 分带技术应用到铁线莲品种的核

型分析中。

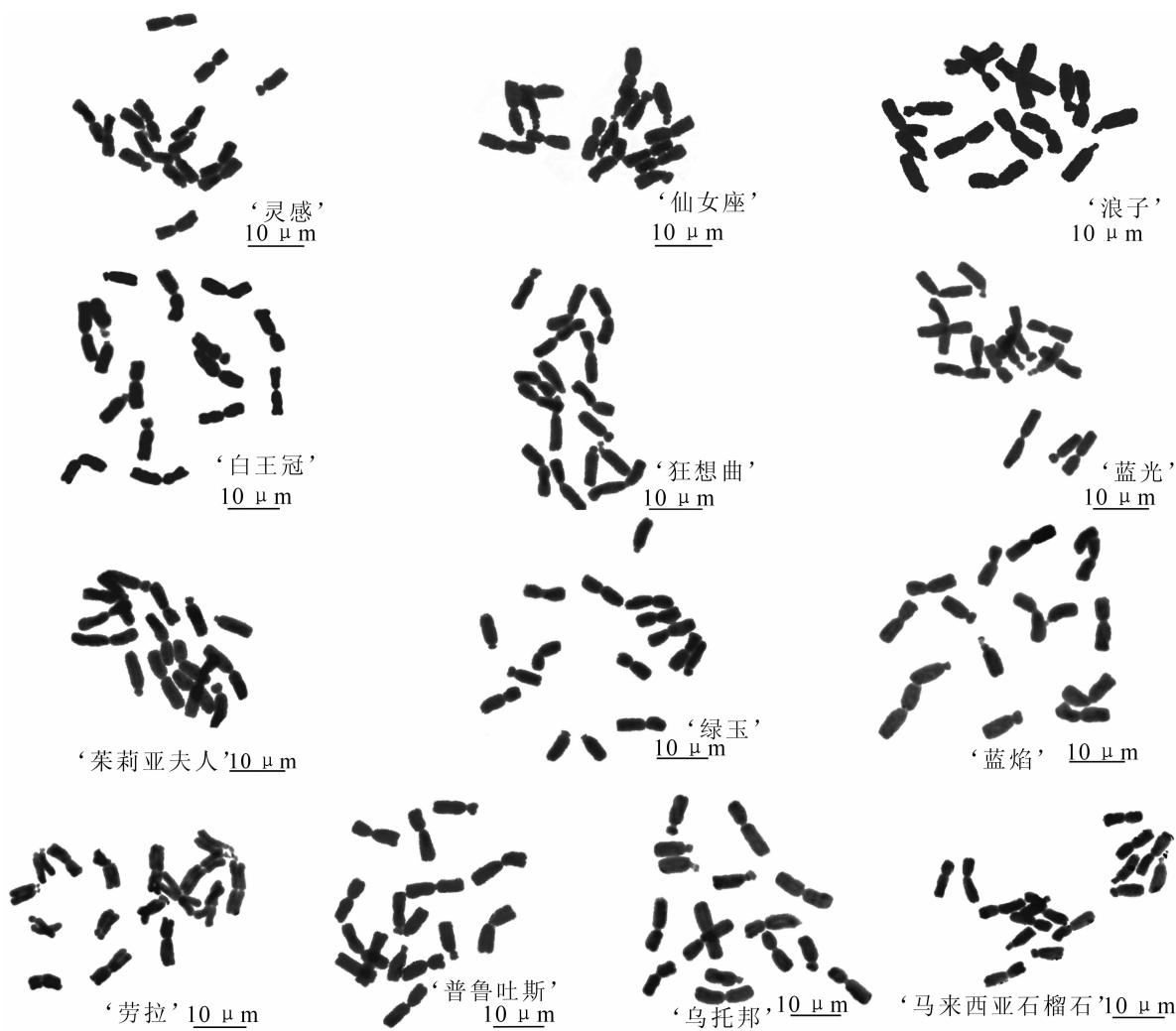


图1 13个铁线莲品种的染色体中期分裂相($\times 1000$)

Figure 1 Metaphase cleavage phase of chromosomes of thirteen *Clematis* cultivars ($\times 1000$)

表3 13个铁线莲品种染色体参数比较

Table 3 Chromosomes parameters of thirteen *Clematis* cultivars

品种	最长/最短	核不对称系数	臂比均值	着丝粒指数/%	着丝点指数 均值/%	染色体平均长 度/%	相对长度组成
‘灵感’	1.64	62.40	2.66	0.12~0.47	34.95	12.92	$2n=8M_2+6M_1+2S$
‘仙女座’	1.54	62.56	2.82	0.13~0.48	33.86	12.52	$2n=8M_2+8M_1$
‘浪子’	1.55	63.52	2.90	0.13~0.46	33.65	12.34	$2n=8M_2+8M_1$
‘白王冠’	1.86	61.78	3.13	0.09~0.48	34.62	12.31	$2n=2L+8M_2+4M_1+2S$
‘狂想曲’	1.69	63.14	2.88	0.13~0.45	33.20	12.21	$2n=2L+6M_2+8M_1$
‘蓝光’	1.76	63.06	2.89	0.12~0.48	33.96	12.38	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘茱莉亚夫人’	1.69	63.76	2.85	0.13~0.46	33.50	12.37	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘绿玉’	1.52	64.78	2.93	0.11~0.47	33.24	12.42	$2n=8M_2+8M_1$
‘蓝焰’	1.83	62.57	2.65	0.14~0.46	34.03	12.27	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘劳拉’	1.77	63.46	2.81	0.14~0.45	33.08	12.24	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘普鲁吐斯’	1.80	63.29	2.89	0.12~0.48	33.71	12.37	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘乌托邦’	1.73	63.33	2.58	0.14~0.48	33.71	12.33	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$
‘马来西亚石榴石’	1.68	63.20	3.26	0.12~0.48	32.74	12.17	$2n=2L+6M_2+6M_1+2S$

说明: 随体长度未计算在内。

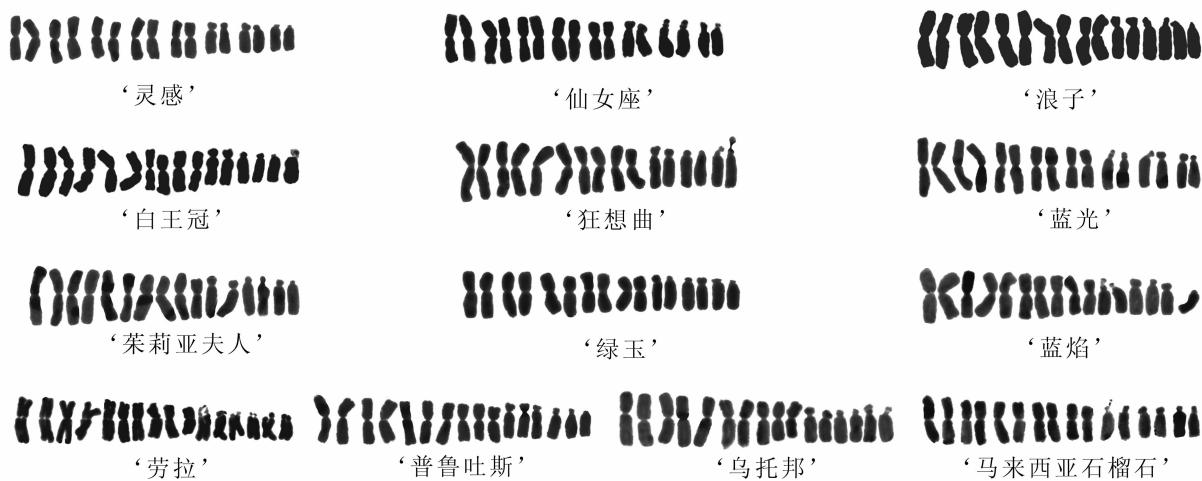


图2 13个铁线莲品种的染色体核型图

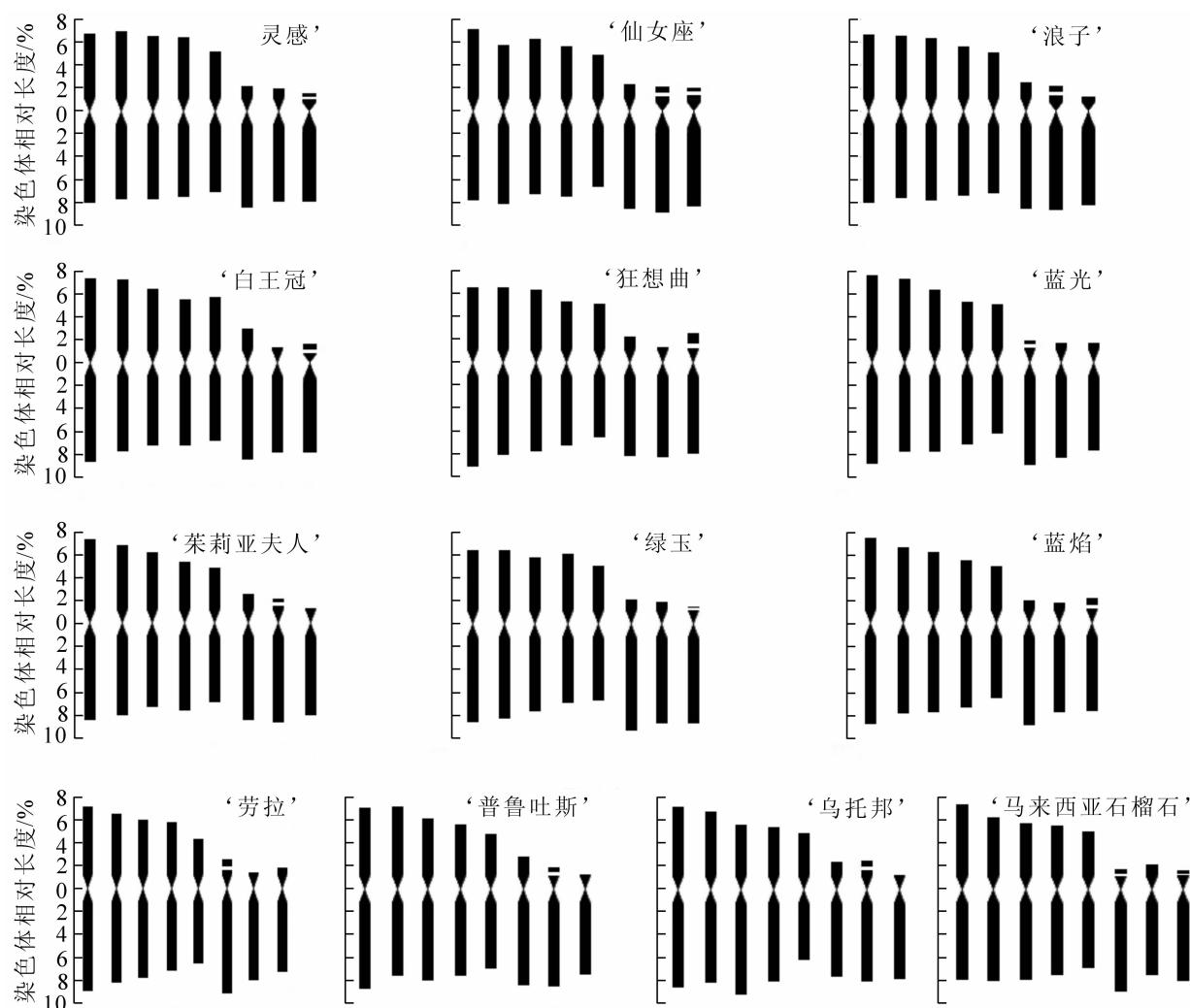
Figure 2 Karyotype of thirteen *Clematis* cultivars

图3 13个铁线莲品种的核型模式图

Figure 3 Chromosomes karyotype mode of thirteen *Clematis* cultivars

4 参考文献

- [1] 蔡艳飞, 李世峰, 李涵, 等. 中国铁线莲属植物研究进展[J]. 中国农学通报, 2009, 25(4): 195–198.
CAI Yanfei, LI Shifeng, LI Han, et al. Advance in the research of *Clematis* L. [J]. Chin Agric Sci Bull, 2009, 25(4):

- 195 – 198.
- [2] 张镱锂, 贺士元. 国产6种铁线莲的染色体研究[J]. 武汉植物学研究, 1990, 8(2): 115 – 121.
ZHANG Yili, HE Shiyuan. Chromosome studies on 6 species of *Clematis* in China [J]. *J Wuhan Bot Res*, 1990, 8(2): 115 – 121.
- [3] 龚维忠, 龙雅宜, 李懋学. 北京地区铁线莲属植物的研究[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 371 – 379.
GONG Weizhong, LONG Yayi, LI Maoxue. Karyotype studies on *Clematis* from Beijing, China [J]. *J Wuhan Bot Res*, 1985, 3(4): 371 – 379.
- [4] 张镱锂. 7种铁线莲的染色体研究[J]. 武汉植物学研究, 1991, 9(2): 107 – 111.
ZHANG Yili. Chromosome studies on 7 species of *Clematis* in China [J]. *J Wuhan Bot Res*, 1991, 9(2): 107 – 111.
- [5] 杨亲二, 罗毅波, 洪德元. 湖南7种毛茛科植物的核型研究[J]. 广西植物, 1994, 14(1): 27 – 36.
YANG Qinger, LUO Yibo, HONG Deyuan. A karyotype study of six species in the Ranunculaceae from Hunan, China [J]. *Guizhou J Bot*, 1994, 14(1): 27 – 36.
- [6] 杨亲二. 国产毛茛科银莲花族17种植物的细胞学研究[J]. 植物分类学报, 2002, 40(5): 396 – 405.
YANG Qinger. Cytology of ten species in *Anemone*, one in *Anemoclema* and six in *Clematis* (Trib. Anemoneae, Ranunculaceae) from China [J]. *Acta Phytotaxon Sin*, 2002, 40(5): 396 – 405.
- [7] 彭绿春, 于恒隽, 余娜, 等. 10种铁线莲的核型特征及核型似近系数聚类分析[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2012, 38(6): 617 – 622.
PENG Liuchun, YU Hengjuan, YU Na, et al. Karyotype features of 10 species of *Clematis* and cluster analysis of karyotypes resemblance-near coefficient [J]. *J Hunan Agric Univ Nat Sci*, 2012, 38(6): 617 – 622.
- [8] 宁华. 植物细胞核不同制备方法的比较研究[J]. 华中师范大学学报: 自然科学版, 2009, 43(2): 308 – 311.
NING Hua. Compared study on methods of plant nucleus preparation with different ways [J]. *J Huazhong Norm Univ Nat Sci*, 2009, 43(2): 308 – 311.
- [9] 高猛, 安玉麟, 孙瑞芬. 向日葵染色体Giemsma C-分带研究[J]. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6): 1078 – 1081.
GAO Meng, AN Yulin, SUN Ruifen. Giemsma C-banding patterns analysis of sunflower chromosomes [J]. *J Plant Genet Resour*, 2012, 13(6): 1078 – 1081.
- [10] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. 武汉植物学研究, 1985, 3(4): 297 – 302.
LI Maoxue, CHEN Ruiyang. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants [J]. *J Wuhan Bot Res*, 1985, 3(4): 297 – 302.
- [11] LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201 – 220.
- [12] STEBBINS G L. *Chromosome Evolution in Higher Plants* [M]. London: Edward Arnold, 1971.
- [13] ARANO H. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan (IX) the karyotype analysis and phylogenetic consideration on *Pertya* and *Ainsliaea* [J]. *Bot Mag Tokyo*, 1963, 76(895): 32 – 39.
- [14] KUO S R, WANG T T, HUANG T C. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms [J]. *Taiwania*, 1972, 17(1): 66 – 80.
- [15] 卢玉飞, 蒋建雄, 易自力. 利用Photoshop软件处理芒属植物染色体图像的方法探讨[J]. 草业科学, 2013, 30(6): 922 – 926.
LU Yufei, JIANG Jianxiong, YI Zili. The protocol for processing of the chromosomal images of *Misanthus* for karyotype analysis using Adobe Photoshop software [J]. *Pratacultural Sci*, 2013, 30(6): 922 – 926.
- [16] 刘泉, 傅祖芸. 一种植物染色体图像核型分析系统[J]. 计算机工程与应用, 2000, 36(3): 71 – 74.
LIU Quan, FU Zuyun. A system of analyzing plant chromosome image's karyotype [J]. *Comput Eng Appl*, 2000, 36(3): 71 – 74.
- [17] 杨汉民. 细胞生物学实验[M]. 北京: 高等教育出版社, 1997.
- [18] 杨光穗, 尹俊梅, 冷青云, 等. 鹤蕉属植物8个品种间的核型比较分析[J]. 热带作物学报, 2010, 31(12): 2118 – 2123.
YANG Guangshui, YIN Junmei, LENG Qingyun, et al. Karyotypes comparison of eight varieties of *Heliconia* spp. [J]. *Chin J Trop Crops*, 2010, 31(12): 2118 – 2123.