

Giemsa-C 带揭示的绵枣儿多倍体复合体染色体变异

丁开宇¹, 王伟², 孙静贤³, 王跃华¹

(1. 云南大学生命科学学院, 昆明 650091; 2. 中国科学院植物研究所, 北京 100093; 3. 云南民族大学, 昆明 650031)

摘要: 绵枣儿是分布在东亚的多倍体复合体。以 Giemsa-C 带法对分布在中国的绵枣儿 24 个居群进行了染色体变异分析。AA 和 BB 细胞型大部分居群未发现变异, 分别具 a_2 和 b_1 染色体的近着丝点着丝粒带。AABB 虽无居群内变异, 但居群间有所不同。其中柳林、商南和徐州居群带型相同, 带纹丰富。元宝山居群只有 b_1 的近着丝粒带, 而灵岩山居群具 a_2 和 b_1 的近着丝粒带。根据已有的研究资料推测, 绵枣儿 b_1 和 a_2 上的近着丝粒带显示的应当是高度重复的 rRNA 基因; 大庆和文县居群一个体该位点的杂合可能是由于部分 rRNA 拷贝的同源染色体间转移; AABB 起源后随时间推移会发生 rRNA 重复位点的丢失; 柳林等居群丰富的带纹可能是其刚刚起源时重复基因关闭的表征, 随时间推移同样可能会丢失。另外大量的实验证据表明, BB 比 AA 细胞型可能更易于发生染色体结构变异。

关键词: 绵枣儿; 多倍体; 细胞型; Giemsa-C 带; rRNA 基因; 易位

中图分类号: Q942

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2007)05-0421-06

The Chromosome Variation of *Barnardia japonica* Polyploid Complex Uncovered by Giemsa-C Banding

DING Kai-Yu¹, WANG Wei², SUN Jing-Xian³, WANG Yue-Hua¹

(1. School of Life Science, Yunnan University, Kunming 650091, China; 2. Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences, Beijing 10093, China; 3. College of Chemistry and Biotechnology, Yunnan Nationalities University, Kunming 650031, China)

Abstract: *Barnardia japonica* Thunb. is a polyploid complex occupying East Asia, and the chromosome variation was analyzed by the Giemsa-C banding method for 24 populations of this complex. No variation was found in Giemsa-C banding between and within the most populations of AA and BB cytotypes and subcentromeric bands present on a_2 chromosomes in AA cytotype and b_1 in BB. There is no variation within each of the tested populations in AABB cytotype, but there is between the populations. AABB populations in Central China have the same and abundant Giemsa-C bands, but only b_1 chromosomes have subcentromeric bands in Population Yuanbaoshan, and only a_2 and b_1 have subcentromeric bands in Population Lingyanshan. It is concluded that subcentromeric bands on the a_2 and b_1 are possibly rRNA genes and heterozygosity at this chromosomal region of individuals in Populations Daqing and Wenxian may be due to shift of its some copies between homologous chromosomes; Abundance in Giemsa-C bands in populations in Central China is probably reflections of the depression of some duplicated genes at the beginning of its origin, and this complicated DNA probably was deleted during the evolution of this new tetrapolyploid; Chromosomal structure changes more easier in BB than in AA cytotype.

Key words: *Barnardia japonica*; Polyploidy; Cytotype; Giemsa-C banding; rRNA; Translocation

绵枣儿 (*Barnardia japonica* Thunb.)^[1], 也就是以前学者常常称为 *Scilla scilloides* Druce 的植物, 在较新的分类系统中置于风信子科 (Hyacinthaceae), 为该科分布在东亚的唯一类群。在我国除新疆、西藏、青海、宁夏、贵州和海南外, 其他各省都有分布, 此外也分布于俄罗斯远东地区, 朝鲜半岛和日本列岛。该物种以其染色体数目变异, 特别是倍性变异丰富而著称。经过多位研究者长时间的研究, 现已

查明其染色体组成包含两个分化明显的基因组 A ($x=8$) 和 B ($x=9$)^[2,3]。已经发现的细胞型或由两个基因组单独组成或由两者组合而成, 包括 AA、BB、AB、AAA、ABB、BBB、AAAA、AABB、ABBB、AABBB、ABBBB、AAABBB、AAAABBBB^[4-11]。此外还有大量的非整倍体主要存在于日本的多细胞型混合居群中。因此该多倍体复合体是研究植物染色体变异与进化的典型材料之一, 值得我们深入研究。到目前

收稿日期: 2007-03-27, 修回日期: 2007-06-14。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30270095)。

作者简介: 丁开宇 (1963-), 男, 博士, 毕业于中国科学院植物研究所, 主要研究领域是植物系统与进化。

为止,关于绵枣儿染色体变异的工作主要建立在染色体常规分析方法的基础上,但是许多染色体结构变异是常规方法无法揭示的,因此有必要采用染色体分带方法进一步探索绵枣儿的染色体变异。Choi 等曾对分布韩国的绵枣儿进行了 Giemsa-C 研究^[12],但是绵枣儿的主要分布区在中国,其结果并不能全面反映绵枣儿 Giemsa-C 带的变异。

1 材料与方法

从20世纪90年代至今,我们采集了分布于我国各地绵枣儿居群的鳞茎,并将其栽培和保存于实验园地中。具体采集地点见表 1。采挖生长良好植株的鳞茎,取其根尖置入 5 mL 小瓶中,加对二氯代苯饱和溶液,室温预处理 5 h;去处理液,加适量卡诺固

表 1 所用绵枣儿材料的来源及相关信息

Table 1 The locations where plants of <i>Barnardia japonica</i> were collected and used in this article and other relative information				
居群编号 Population numbers	采集日期 Collection date	地点 Locations	生境 Habitat	染色体数目 2n
1	1997. 7. 21	内蒙古自治区扎兰屯市成吉思汗 Chengjishan, Zhalantun, Inner Mongolia	山坡榛灌丛 Corylus shrub on south hill slope	16
2	2001. 7. 27	黑龙江省大庆市泰康县敖林西伯 Aolinxibo, Taikang co. Daqing, Heilongjiang	路旁沙质草地 Sandy grassland aside route	16
3	1997. 6. 25	黑龙江省林口县城郊 Suburb of Linkou town, Linkou co. Heilongjiang	山顶矮榛灌丛 Thin and short shrubby hill top	16
4	2001. 7. 21	辽宁省铁岭市龙首山 Longshoushan, Tieling, Liaoning	北坡针叶落叶混交林 Deciduous and pine woods on north hill slope	16
5	1993. 8. 21	辽宁省丹东市元宝山 Yuanbaoshan, Dandong, Liaoning	落叶阔叶林 Deciduous broad-leaved woods	34
6	1993. 6. 11	辽宁省大连市西山水库 Xishan reservoir, Dalian, Liaoning	西坡多石草地 Shrub on west stony hill slope	16
7	2001. 8. 6	北京市密云县石城镇桃源仙谷 Taoyuanxiangu, Shicheng town, Miyun co, Beijing	阔叶落叶林 Deciduous broad-leaved woods	16
8	2002. 4. 8	河南省信阳市柳林镇 Liulin town, Xinyang, Henan	铁路旁西山坡灌丛 West shrubby mountain slope aside railway line	34
9	2000. 4. 11	湖北省神农架林区阳日镇蔡家坪 Caijiaping, Yangri town, Shennongjia, Hubei	农田和竹园旁 Margins of crop field and bamboo plantation	34
10	1997. 5. 16	湖北省武汉市珞珈山 Luojiashan, Huhan, Hubei	山顶阔叶林 Broad-leaved forest on hill top	18
11	2001. 8. 8	山东省济南市千佛山 Qianfoshan, Jinan, Shandong	落叶林 Deciduous forest	16
12	2001. 7. 6	陕西省华阴县华山 Huashan, Huayin co. Shaanxi	北坡灌丛 Shrubs on a north slope	16
13	2002. 4. 12	陕西省商南县城关镇 Shangnan town, Shangnan co. Shaanxi	北坡灌丛 Shrub on a north slope	34
14	2002. 4. 18	甘肃省文县城关镇 Wenxian town, Wen co. Gansu	北坡灌丛 Shrubs on a north slope	16
15	1992. 5. 16	安徽省滁州市琅琊山 Langyashan, Chuzhou, Anhui	墓地落叶林和灌丛 Deciduous forest and shrubs on a burial ground	16, 18
16	1992. 7. 22	江苏省徐州市泉山森林公园 Quanshan Forest Park, Xuzhou, Jiangsu	北坡人工侧柏林 Cultivated cypresses on north slope	34
17	2002. 4. 5	江苏省苏州市灵岩山 Lingyanshan, Suzhou, Jiangsu	山脚人工林 Cultivated wood on the foot of a hill	18, 34
18	1992. 3. 11	江苏省南京市紫金山 Zijinshan, Nanjing, Jiangsu	落叶常绿混交林 Deciduous and evergreen forest	16, 18
19	1997. 5. 3	浙江省杭州市西山龙井村 Longjingchun, Xishan, Hangzhou, Zhejiang	常绿林下小径旁 The side of a path under evergreen forest	18
20	1997. 11. 25	江西省新干县三湖镇 Sanhu town, Xingan co. Jiangxi	赣江河岸废弃农田 Wastelands on the bank of Gan river	18
21	1997. 11. 28	江西省广昌市赤水乡马鞍庄 Maanzhuang, Chishui, Guangchang, Jiangxi	石山的东、南和西坡岩隙 The crevices on east, south, and west slopes of a stony hill	16, 18
22	1997. 11. 25	福建省连城县罐子山 Guanzishan, Liancheng co, Fujian	北坡草地和农田边 Grassland on north hill slope and field margins	16
23	2002. 3. 29	福建省永泰县城郊 Yongtai co, Fujian	路边草地 Grassland alongside a path	18
24	2001. 11. 25	广东省深圳市 Shenzhen, Guangdong	季节性小瀑布旁南向岩壁 South cliff aside waterfall	16

定液(95%乙醇与冰醋酸配比为3:1)固定并冷藏保存于冰箱中。取出固定的根尖,在自来水中用毛笔刷去泥土,切取顶端分生组织,浸于1.5 mL离心管内蒸馏水中清洗5 min,吸去蒸馏水,加入适量纤维素酶-果胶酶混合液(蒸馏水配制,浓度分别为2%) 37℃解离12~16 min;吸去酶液,蒸馏水洗后加入45%冰醋酸待用。取分生组织,压片法制备染色体标本;选择染色体分散良好的玻片液氮冷冻揭盖片,35℃空气干燥24 h以上。

分带处理采用的处理流程为:干燥后的染色体玻片用45%冰醋酸60℃处理5~10 min,蒸馏水洗2次,每次2 min,45℃饱和Ba(OH)₂处理10 min,同温蒸馏水冲洗,而后自来水流水冲洗30 min,60℃2×SSC温育1.5 h,蒸馏水冲洗,Giemsa染色液(3%,以pH 7的Na₂HPO₄-KH₂PO₄缓冲液稀释)染色10 min;徕卡显微镜镜检照相。

染色体组成的鉴定根据丁开宇等^[10]的方法。A基因组以一最长的中部着丝粒染色体(a₁)为标志;而B基因组的一号染色体(b₁)为近端着丝粒且具有NOR(核仁组织区)。每居群随机观察10个个体的染色体带型以检测是否存在带型的居群内变异。

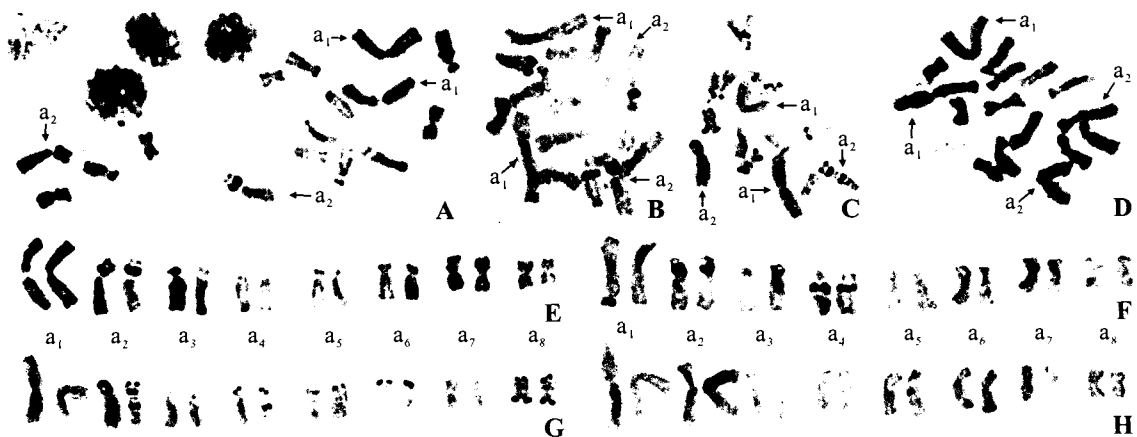
2 结果

AA细胞型大部分居群都表现为单一的带型,即一对a₂染色体的着丝粒带(图1:A,E)。所不同的是居群2(大庆)、居群7(密云)、居群14(文县)和居群24(深圳)(见表1),其中居群2和14分别有一个体同样表现a₂染色体(a₁和a₂分别是A基

因组的1号和2号染色体)的近着丝粒带,但两同源染色体带纹宽窄不同(图1:D,H)。密云居群个别个体除了a₂染色体的着丝粒带而外,在一对a₄同源染色体长臂上具中间带(图1:B,F)。比较特殊的是居群24,虽然不存在居群内变异,但带纹较多(图1:C,G),具体表现是一条a₂染色体具短臂端带,而另一条同源染色体具着丝粒带、短臂端带和长臂中间带,两者表现为杂合。a₄和a₅同样表现为杂合,其中a₄一条染色体在短臂上出现端带,而另一条同源染色体除了同样的端带外,在长臂上出现了中间带;a₅的一条染色体不具带纹,而另一条同源染色体具短臂端带。此外,在一对a₇染色体上具短臂端带,在一对a₉染色体的两臂上都有端带。

相对于AA细胞型居群,BB细胞型居群Giemsa-C带更为简单(图2:A,C),只是b₁染色体出现着丝粒带。另外居群20(三湖,表1)检测到一个植株为染色体变异类型,分别缺少一条b₁和b₆染色体,而多出两条新型染色体。其带纹表现在一条b₁和新形成的中部着丝粒染色体的着丝粒部位(图2:B,D)。此外,还发现其B染色体上也显示带纹。

最为复杂的是AABB细胞型居群,虽然没有发现居群内的变异,但所检查的每一个居群Giemsa-C带型都是独特的。其中最简单的是居群5(元宝山,表1),只有一对着丝粒带出现在b₁染色体上(图3:A,D)。在居群17(灵岩山)着丝粒带不仅出现在一对b₁染色体上,而且出现在一对a₂染色体上(图3:C,E)。居群8(柳林)、9(神农架)、13(商南)和16(徐州)表现一致,出现的带纹最多(图3:B,F)。其

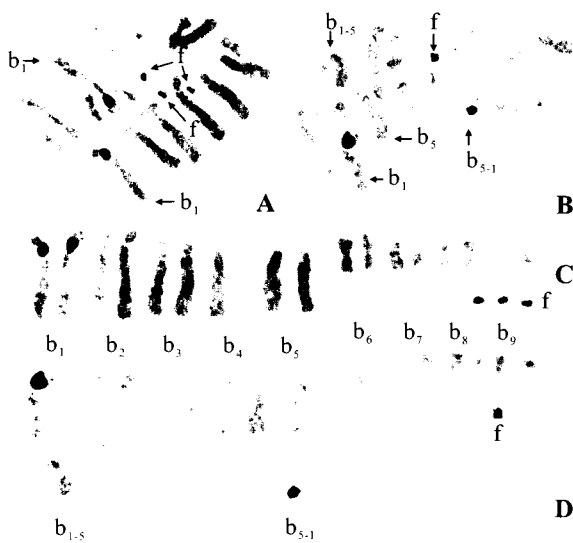


A,E. 连城; B,F. 密云; C,G. 深圳; D,H. 大庆; a₁和a₂分别是A基因组的1号和2号染色体

A, E. Population Liancheng; B, F. Population Miyun; C, G. Population Shenzhen; D, H. Population Daqing; a₁ and a₂ indicate the first and second chromosomes of AA genome

图1 绵枣儿(*Barnardia japonica* Thunb.) AA细胞型有丝分裂中期染色体照片(示Giemsa-C带)

Fig. 1 Microphotographs of AA cytotype of *Barnardia japonica* Thunb. (Showing Giemsa C-bands on mitotic chromosomes in metaphase)



A, C. 杭州; B, D. 新干; b_1 至 b_9 为 B 基因组的染色体序号; b_{1-5} , b_{5-1} 为相互易位形成的新型染色体; f 为近端着丝粒 B 染色体
A, C. Population Hangzhou; B, D. Population Xingan. b_1 to b_9 is the chromosome numbers of B genome; b_{1-5} , b_{5-1} are the new chromosomes formed by translocation; f indicates an acrocentric B chromosome

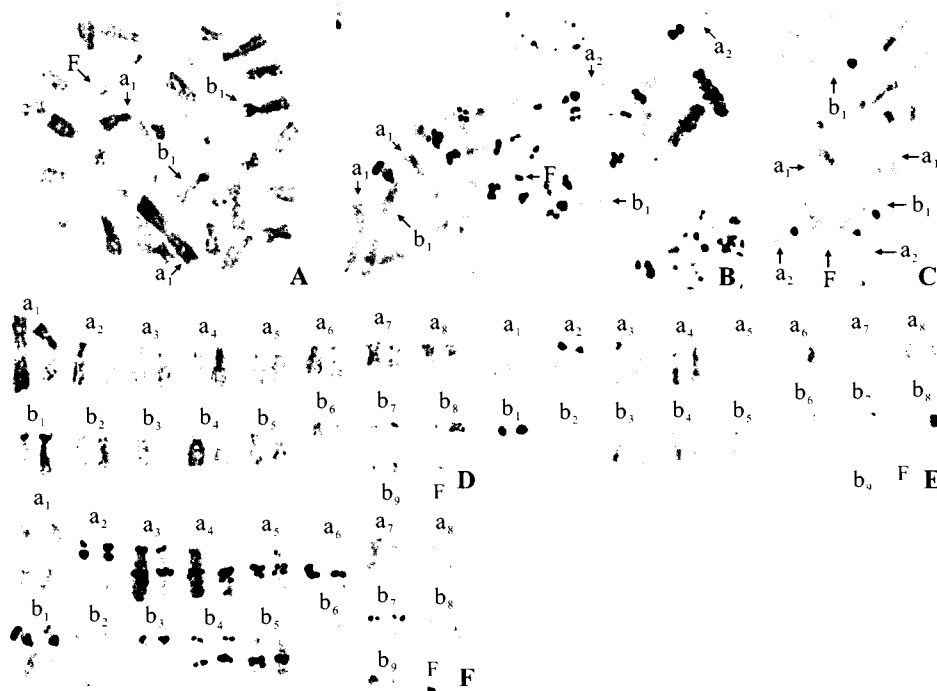
图 2 绵枣儿 (*B. japonica* Thunb.) BB 细胞型有丝分裂中期染色体照片 (示 Giemsa-C 带)

Fig. 2 Microphotographs of BB cytotype of *B. japonica* Thunb. (Showing Giemsa C-bands on mitotic chromosomes in metaphase)

中一对 b_1 和 a_2 染色体不仅具有着丝粒带,而且表现出短臂端带;此外在一对 a_3 染色体出现短臂端带和长臂中间带, a_4 至 a_6 分别出现长臂中间带, b_3 染色体出现短臂端带和长臂中间带, b_4 染色体出现短臂端带和长臂中间带, b_5 染色体出现长臂中间带, b_7 染色体出现短臂端带。

3 讨论

虽然 Giemsa-C 带技术的机理并不十分清楚,但人们相信染色体上 Giemsa 染料深染的区域就是异染色质的所在^[13]。可能的原因是,此区域 DNA 片段以及其上结合的蛋白质高度浓缩而导致酸碱处理过程中一些成分不能象染色体其他部分一样被抽提而为 Giemsa 染料深染。所谓异染色质包括两种类型,一是组成性异染色质,一是兼性异染色质。分子生物学研究证明前者为高度重复 DNA 序列,功能大部分未知;后者如雌性哺乳动物一对性染色体中的一条所包含的异染色质,它起着基因剂量补偿的作用。Giemsa-C 带所代表的是组成型异染色质。下面讨论绵枣儿多倍体各细胞型染色体 Giemsa-C 带变异可能的进化意义。



A, D. 元宝山; B, F. 柳林; C, E. 灵岩山; a_1 和 a_2 分别是 A 基因组的 1 号和 2 号染色体,而 b_1 是 B 基因组的 1 号染色体;
A, B, C 中的 F 示中部着丝粒 B 染色体
A, D. Population Yuanbaoshan; B, F. Population Liulin; C, E. Population Lingyanshan; a_1 and a_2 indicate the first and second chromosomes of AA genome and b_1 , the first chromosome of B genome; F in Fig. A, B, C indicates a metacentric B chromosome

图 3 绵枣儿 (*B. japonica* Thunb.) AABB 细胞型有丝分裂中期染色体照片 (示 Giemsa-C 带)

Fig. 3 Microphotographs of AABB cytotype of *B. japonica* Thunb. (Showing Giemsa C-bands on mitotic chromosomes in metaphase)

3.1 rRNA 基因的变异

在进化过程中绵枣儿 rRNA 基因存在一定的变异。Hizume 等^[14,15]通过原位杂交证明绵枣儿 a_2 和 b_1 染色体的次缢痕处就是 rRNA 基因的所在,对照此结果可以看出, a_2 和 b_1 着丝粒附近的带纹(图 1~3)无疑就是高度重复的 rRNA 基因。Choi 等^[12]也持有同样的观点。从上述结果可以看出 rRNA 基因存在两方面的变异。首先,虽然 AA 细胞型大部分材料的 a_2 和 b_1 的两个同源染色体的带纹宽窄基本一致,但是在居群 2 和 7 少数个体 a_2 同源染色体带纹宽窄明显不同(图 1:D, H),其中一条染色体的带纹宽于其他正常个体的同源染色体,而另一条明显窄于其他个体的同源染色体。这一现象的最好解释应该是两条同源染色体上的 rDNA 拷贝数不同。毫无疑问,在传代过程中发生了染色体 DNA 片段的重复/缺失、易位或不等交换。第二,异源四倍体 AABB 细胞型采自不同地点的材料表现不同。如居群 5 只在 b_1 染色体上出现带纹,而居群 8、9、13、16 和 17 的 a_2 和 b_1 都出现带纹,说明 rRNA 基因在前者的 a_2 染色体上已经发生缺失。Hizume 等^[14]在研究日本绵枣儿的多倍体细胞型时也看到了这一现象。他们也认为存在某些居群中 a_2 染色体上 rRNA 基因的缺失。根据分布和形态特点等,丁开宇等分析认为华中地区的异源四倍体(包括居群 8、9、13、16 和 17)的起源可能早于东北的四倍体(居群 5)^[16]。果真如此,则推测多倍体重复 rRNA 基因位点的丢失可能与时间长短有关。总之,无论绵枣儿的二倍体还是四倍体都会发生 rRNA 基因的变异,虽然其机制可能不同。

3.2 柳林等居群丰富带纹的生物学意义

华中分布异源四倍体 AABB 居群大量的 Giemsa-C 带可能是该居群刚刚起源而新基因组基因调控的方式。因为异源四倍体起源于杂交,首先可能想到其带型直接源自祖先二倍体。然而目前大部分二倍体居群,无论 AA 还是 BB 细胞型带型都极为简单,只有显示 rRNA 的近着丝粒带(图 1:A, E, D, H),少数居群所显示带纹稍多,但大部分也与柳林居群所显示带纹位置不同(图 1:B, F, C, G),因此这种推测依据不足。可能的合理解释是异源四倍体丰富的带纹是在其起源后新形成的。这又带来两个问题,一是同样为异源四倍体类型,为什么居群 5 和 17 也无丰富带纹?二是该居群丰富带纹背后隐藏的生物学意义是什么? Adams 等^[17]比较了自然发生和人工合成的棉属及其祖先二倍体 A 和 D 基因

组中 40 个基因的表达,发现其中有部分基因在异源四倍体(AADD)中表达量不等,还有一个来自 D 基因组的基因表现完全沉默。据此认为,植物在多倍化后通过某种方式迅速关闭了某些基因以免带来新基因组的遗传不平衡。图 3:B 和 F 所示的柳林居群大量的染色体带纹(除了 a_2 和 b_1 染色体表现近着丝粒的带纹之外),可能就是染色体上的部分 DNA(可能包括某些因染色体加倍而形成的重复基因)通过如雌性哺乳动物 X 染色体异染色质化的方式,在某些染色体部位暂时关闭部分基因活动的外在表现。对于第一个问题的解释是异源四倍体起源之后的长期进化过程中基因组进行了整合而丢弃了一些 DNA(包括这些多余而被关闭的基因)。丁开宇等^[16]分析了绵枣儿多倍体复合体各细胞型的地理分布,发现华中分布居群极为接近其祖先 AA 和 BB 细胞型的现代地理分布交界,而居群 5(辽宁丹东)远离交界地区,认为前者相对于后者起源较早;居群 17(苏州灵岩山)虽然位于 BB 细胞型现代分布区内,但个体极少,同时在该地区伴随有各种非整倍体,认为也是起源较早而现在已是残遗的类型。也就是说,异源四倍体丰富带纹可能是刚刚起源的表现,而后随着时间的推移逐渐从基因组中被排除。

3.3 BB 细胞型的染色体结构变异

显然,图 2:B 和 D 所示的个体应为易位杂合体,其非同源染色体 b_1 和 b_5 间发生罗伯逊易位^[18]。新形成的 b_{1-5} 的长臂仍然是原来 b_1 的长臂,而短臂是原 b_5 的长臂。新形成的 b_{5-1} 染色体上的着丝粒带应该就是原 b_1 染色体的 rRNA 基因的所在,其两臂分别是原 b_1 和 b_5 的短臂。虞智慧等^[17]曾经在江苏滁州居群中发现过同样涉及 b_1 染色体的易位杂合体,由此使我们联想起在绵枣儿的研究历史上多位作者发现 BB 细胞型居群不仅表现出大量的染色体数目变异,还存在相当多的结构变异^[19-22]。可是相对于 BB 细胞型,AA 细胞型居群中却几乎没有发现光镜下可见的染色体结构变异,虽然该细胞型分布广且经过广泛的细胞学检验^[10,11]。如此的姊妹类群在染色体变异上表现明显不同,如何解释有待进一步采用更新的技术去研究。

参考文献:

- [1] Chen X Q, Tamura M N. Flora of China[M]. Beijing: Science Press, St. Louis: Missouri Botanic Garden Press, 2002, 24: 133 - 134.
- [2] Sato D. Karyotype analysis and law of homologous series[J]. Sci

- Papers Coll Gener Educ Univ Tokyo*, 1953, 3: 41–53.
- [3] Haga T, Noda S. Chromosome constitutions of *Scilla scilloides* Druce, a species complex [J]. *La Kromosomo*, 1956, 27–28: 948–955 (in Japanese with English abstract).
- [4] Morinaga T. A preliminary note on the karyotypical types of *Scilla japonica* Baker [J]. *Jpn J Genet*, 1932, 7: 202–205.
- [5] Sato D. Karyotype alternation and polyploidy in Liliaceae and allied families [J]. *Jpn J Bot*, 1942, 12: 57–161.
- [6] Araki H. The distribution of diploids and polyploids of the *Scilla scilloides* complex in Korea [J]. *Genetica*, 1985, 66: 3–10.
- [7] Yu Z H, Araki H. The distribution of diploids and polyploids of the *Scilla scilloides* complex in the Northeastern China [J]. *Bot Mag Tokyo*, 1991, 104: 183–190.
- [8] Bang J W, Choi H W. Cytogenetic studies of *Scilla scilloides* complex from Korea. II. Distribution of genomes in Chjudo populations [J]. *Korean J Bot*, 1991, 34(2): 145–150.
- [9] Bang J W, Choi H W. Cytogenetic studies of *Scilla scilloides* complex from Korea. III. Karyotype of cytotype BB and B-chromosome composition [J]. *Korean J Bot*, 1993, 36(3): 281–284.
- [10] Ding K Y, Ge S, Hong D Y, Yu Z H. Cytotype variation and cytogeography of *Scilla sinensis* (Louriro) Merrill (Hyacinthaceae) in China [J]. *Hereditas*, 1998, 129: 151–160.
- [11] Ding K Y, Wang W, Long Q, Li B, Wang B Y. Supplemental cytogeographical studies on the *Scilla sinensis* (Louriro) Merrill complex in China [J]. *J Int Pl Bio*, 2005, 47(5): 513–523.
- [12] Choi H W, J W Bang, Kim Y J. Giemsa C-banded karyotype of *Scilla scilloides* complex [J]. *Korean J Genetics*, 1997, 19(3): 251–256 (in Korean with English abstract).
- [13] 袁建刚, 彭小忠, 强伯勤等. 基因组 2 [M]. 北京: 科学出版社, 2006. 57.
- [14] Hizume M, Araki H. Chromosomal localization of rRNA genes in six cytopypes of *Scilla scilloides* Druce [J]. *Cytologia*, 1994, 59: 35–42.
- [15] Hizume M, Kondo K, Yang Q, Hong D Y, Tanaka R. Karyotype, flurescent banding and localization of rRNA genes in *Scilla scilloides* var. *albo-viridis* collected in Gansu, China [J]. *La Kromosomo*, 1993, II (71–72): 2437–2442.
- [16] 丁开宇, 孙静贤, 王伟, 王兵益, 王跃华. 江西发现绵枣儿多倍体复合体多细胞型混合居群 [J]. 云南植物研究, 2005, 27(5): 501–508.
- [17] Adams K L, Cronn R, Percifield R, Wendel J F. Genes duplicated by polyploidy show unequal contributions to the transcriptome and organ-specific reciprocal silencing [J]. *Pro Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4649–4654.
- [18] 洪德元. 细胞分类学 [M]. 北京: 科学出版社, 1990. 150.
- [19] Yu Z H, Ding K Y, Hong D Y. A cytogeographic study on *Scilla scilloides* (Liliaceae) in four provinces of China [J]. *Cathaya*, 1992, 5: 189–194.
- [20] Araki H. Cytogenetics of *Scilla scilloides* complex. V. The relationship between two adjacent natural populations [J]. *Nucleus*, 1975, 18: 1–6.
- [21] Noda S. Samplings in the natural populations of *Scilla scilloides* [J]. *Bull Osaka Gakunin Univ*, 1967, 6: 125–132.
- [22] Noda S. Cytogenetics of *Scilla scilloides* complex II. Evidences for homoeologous relationship between the genomes [J]. *Cytologia*, 1974, 39: 777–782.