

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2016-0167

罗宗志,林洁荣,林志魁,陈碧成,梅兰,林占熿.热研 4 号王草和桂闽引象草的核型分析.草业科学,2016,33(9):1711-1717.

Luo Z Z, Lin J R, Lin Z K, Chen B C, Mei L, Lin Z X. Karyotype analysis of *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No. 4 and *P. purpureum* cv. Guiminyin. Pratacultural Science, 2016, 33(9): 1711-1717.

热研 4 号王草和桂闽引象草的核型分析

罗宗志¹, 林洁荣^{1,2}, 林志魁³, 陈碧成¹, 梅兰³, 林占熿²

(1.福建农林大学动物科学学院,福建福州 350000; 2.国家菌草工程技术研究中心,福建福州 350000;

3.福建农林大学生命科学学院,福建福州 350000)

摘要:采用常规压片法,对热研 4 号王草(*Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4)和桂闽引象草(*P. purpureum* cv. Guiminyin)的染色体数目和核型进行分析,以期为狼尾草属种质资源多样性保护利用和遗传育种研究提供理论依据。结果表明,两者染色体基数均为 $x=7$ 。其中,热研 4 号王草为三倍体,有 21 条染色体,核型公式 $2n=3x=21=21m(3SAT)$,染色体相对组成 I.R.L=9S+3M1+3M2+6L,3 条染色体含有随体;桂闽引象草为四倍体,有 28 条染色体,核型公式 $2n=4x=28=18m(2SAT)+10sm(2SAT)$,染色体相对组成 I.R.L=10S+6M1+4M2+8L,4 条染色体含有随体。热研 4 号王草和桂闽引象草核型不对称系数分别为 60.15% 和 62.19%,属于 1B 型和 1C 型,其核型都属于比较原始的类型。

关键词:热研 4 号王草;桂闽引象草;染色体;核型分析

中图分类号:S543+.903;Q943.2

文献标志码:A

文章编号:1001-0629(2016)9-1711-07*

Karyotype analysis of *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4 and *P. purpureum* cv. Guiminyin

Luo Zong-zhi¹, Lin Jie-rong^{1,2}, Lin Zhi-kui³, Chen Bi-cheng¹, Mei Lan³, Lin Zhan-xi²

(1.College of Animal Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China;

2.China National Engineering Reserach Center of JUNCAO Technology, Fuzhou 350000, China;

3.College of Life Science, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350000, China)

Abstract: The present study investigated the chromosome number and karyotype of *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4 and *P. purpureum* cv. Gui minyin using the conventional compression method to provide theory basis of *Pennisetum* germplasm resources diversity protection and genetic breeding research. The results showed that their basic chromosome number was 7. Reyan No.4 was triploid and the chromosome number was 21, the karyotype formula was $2n=3x=21=21m(3SAT)$, the formula of chromosome relative length was I.R.L=9S+3M1+3M2+6L, three of chromosomes have trabant. Gui minyin was tetraploid and the chromosome number was 28, the karyotype formula was $2n=4x=28=18m(2SAT)+10sm(2SAT)$, the formula of chromosome relative length was I.R.L=10S+6M1+4M2+8L, four of chromosomes have trabant. For Reyan No.4 and Gui minyin, index of the karyotypic asymmetry was 60.15% and 62.19%, the karyotype was 1B type and 1C type, respectively. The results indicated that their karyotype belong to primitive types.

Key words: *Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4; *P. purpureum* cv. Guiminyin; chromo-

* 收稿日期:2016-03-31 接受日期:2016-06-29

基金项目:国家林业局公益性行业专项“浑善达克沙地疏林型植被建设技术研究”(201504412);福建省科技重大专项“菌草食用菌产业化关键技术研究与示范”(2014NZ002-1);国家菌草工程技术研究中心项目“菌草生物学特性及优良品种评价体系研究”(JCGG14020)

第一作者:罗宗志(1989-),男,福建连城人,在读硕士生,主要从事草业科学研究。E-mail:1183525491@qq.com

通信作者:林洁荣(1958-),男,福建仙游人,副研究员,学士,主要从事草业科学研究。E-mail:fafumcs@163.com

some; karyotype analysis

Corresponding author: Lin Jie-rong E-mail: fafumcs@163.com

热研4号王草(*Pennisetum purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4)隶属禾本科狼尾草属多年生草本植物,由中国热带农业科学院从国际热带农业中心引进并经多年试验选育而成^[1],为多年生、抗倒伏、抗病虫性强、产量高、早期刈割适口性好的优良牧草^[2]。桂闽引象草(*P. purpureum* cv. Guiminyin)隶属禾本科狼尾草属多年生草本植物^[3],由广西畜牧研究所2003年从台湾引进,该品种适应性广、产量高、品质优、适口性好,适合饲喂牛、羊、兔等草食动物,是一种优良的牧草^[4]。近年来,国内外学者对热研4号王草的研究主要集中在植物学特性、栽培技术、原生质体制备及降解糖化技术等方面^[5-7],对桂闽引象草的研究主要集中在栽培技术、生产性能和饲用等领域^[8-10],在细胞核型研究方面未曾报道。

染色体是基因的携带者,遗传物质的载体^[11]。研究染色体数目与核型对植物系统演化、物种之间亲缘关系及遗传工程中染色体鉴别具有重要意义^[12]。目前,狼尾草属牧草核型方面的研究已有报道,如对长序狼尾草(*P. longissimum*)核型的分析研究^[13],对象草(*P. purpureum*)和巨菌草[*P. giganteum* z.x.lin(暂定名)]核型及亲缘关系的研究^[14],对云南德宏地区逸生狼尾草(*Naturalized Pennisetum* sp. in Dehong)分类学的鉴定^[15]。鉴于目前国内外尚无关于热研4号王草和桂闽引象草的核型参数信息,本研究以热研4号王草和桂闽引象草为试验材料,采用常规压片法对其染色体数目及核型进行分析,旨在从细胞学和遗传学角度为热研4号王草和桂闽引象草的研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

热研4号王草来源于海南中国热带农业科学院;桂闽引象草来源于台湾畜产实验所。两种牧草均采集于福建省福州市福建农林大学国家菌草工程技术研究中心种质资源圃(26°10'55.62" N、119°23'21.24" E,海拔10 m)。

1.2 试验方法

1.2.1 材料预处理 选取不同植株且长势良好、生长100 d以上的热研4号王草和桂闽引象草茎秆,按两节切成一段,插入带有细沙的塑料桶中,水以淹没幼芽1 cm为宜,将塑料桶摆放在塑料大棚内,并且每天换一

次水,在常温下培养生根。待根尖长至2~3 cm时,于08:00—09:00截取不同茎秆上生长旺盛、洁白幼嫩的根尖1 cm作为试验材料。

1.2.2 染色体制片 将根尖放入冰水混合物离体处理,然后置于0.05%秋水仙素溶液中室温处理2 h。用蒸馏水冲洗后将根尖放入4℃卡诺氏液($V_{\text{无水乙醇}} : V_{\text{冰乙酸}} = 3 : 1$)中固定24 h。然后将根尖洗净后放入60℃恒温水浴锅中酸解10 min。用蒸馏水冲洗酸液10 min后转入2%纤维素酶水溶液中室温下酶解1 h。将根尖洗净后重新用卡诺氏液固定30 min。用蒸馏水冲洗酸液后转入卡宝品红染液室温下染色1~2 h。最后,取根尖置于载玻片上,用镊子和剪刀切取根尖1 mm,加一滴45%乙酸溶液,用镊子将根尖充分压碎,并使其均匀分散,加盖玻片,用带有橡皮擦的铅笔轻轻敲打,并用食指压紧,用滤纸吸掉多余的乙酸溶液。

1.2.3 染色体观察 将根尖细胞装片置于荧光显微镜载物台上观察。在100倍低倍镜下找到染色体后用1000倍油镜继续观察,选择分散良好、轮廓清晰、数目较全的染色体中期相进行拍照。

1.3 核型分析方法

每个品种选择30个以上分裂中期细胞,以85%以上的细胞具有相同的染色体数作为该品种的染色体数目^[16],并选择5个图像清晰且分散良好的中期分裂相进行核型分析。利用核型分析软件Karyo3.1处理染色体图片并测量其长臂、短臂值,根据所得的数据进行同源染色体配对组合并绘制核型图,采用Excel 2010绘制核型模式图,核型参数以5个细胞的平均值来表示。核型分析按照李懋学和陈瑞阳^[17]的方法,染色体相对长度组成参照Kuo等^[18]的分类标准,染色体排序参照Levan等^[19]提出的命名系统,核型分类参照Stebbins^[20]的分类标准,核型不对称性系数用Ara-no^[21]的计算方法。

2 结果

2.1 热研4号王草染色体数目

选择30个染色体分散良好、轮廓清晰的热研4号王草细胞进行观测,结果显示,染色体数目为20条的有两个细胞,占计数总细胞数的6.67%;21条的有27个细胞,占总细胞数的90.00%;22条的有1个细胞,占总细胞数的3.33%。根据核型分析的标准化建议^[17],确定热研4号王草的染色体数目为 $2n=21$ 条。

2.2 热研 4 号王草核型分析

选取 5 个分散良好、轮廓清晰的热研 4 号王草中期分裂相(图 1、2)进行测量分析,热研 4 号王草染色体数目 $2n=21$ 条,染色体基数 $x=7$,为三倍体。

热研 4 号王草染色体核型公式为 $2n=3x=21=21m(3SAT)$,从核型公式看出,体细胞中期染色体由 21 条中部着丝点染色体(m)组成,其中第 1 组染色体含有随体(表 1)。从染色体相对长度组成 $I.R.L=9S+3M1+3M2+6L$ 来看,热研 4 号王草由短染色体(S)、中短染色体(M1)、中长染色体(M2)和长染色体(L)组成,并且这 7 组染色体相对长度为 $6.99\% \sim 24.06\%$,相对长度指数介于 $0.50 \sim 1.69$,最长染色体与最短染色体长度比为 3.44,臂比范围在 $1.38 \sim 1.67$,臂比值大于 2 的染色体比例为 0(表 2、图 3)。核型不对称系数 $As.K\%=60.15\%$,按照核型分类标准,热研

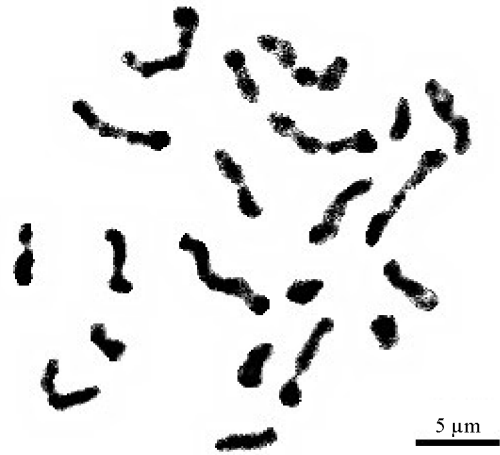


图 1 热研 4 号王草染色体中期相
Fig.1 Metaphase chromosomes of *P. purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4

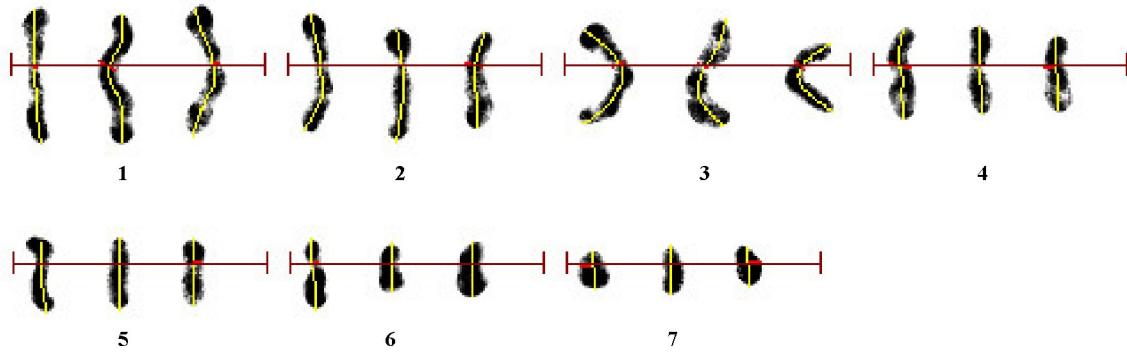


图 2 热研 4 号王草染色体核型图
Fig.2 Karyotype of *P. purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4

注:1-7 表示染色体序号。

Note: 1-7 are chromosome number, respectively.

表 1 热研 4 号王草的染色体核型参数

Table 1 Chromosome karyotype parameters of *P. purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4

染色体序号 Chromosome number	相对长度 Relative length/%	相对长度指数 Relative length index	臂比 Arm ratio	着丝点类型 Type of centromer	长度类型 Type of tength
1 *	$14.71+9.35=24.06$	1.69	1.57	m	L
2	$11.48+8.30=19.78$	1.39	1.38	m	L
3	$10.40+6.76=17.16$	1.20	1.54	m	M2
4	$7.28+5.27=12.55$	0.88	1.38	m	M1
5	$6.55+4.08=10.63$	0.74	1.61	m	S
6	$5.36+3.47=8.83$	0.62	1.55	m	S
7	$4.37+2.62=6.99$	0.50	1.67	m	S

注: * 为有随体染色体组,随体在染色体短臂端,计算在染色体长度内;m 为中部着丝点染色体;S 为短染色体;M1 为中短染色体;M2 为中长染色体;L 为长染色体。下同。

Note: * is trabant of chromosomes, along with the chromosome short arm side, the length of trabant was calculated in chromosome length; m is metacentric chromosome, S is Short chromosome, M1 is Medium-short chromosome, M2 is Medium-long chromosome, L is Long chromosome.

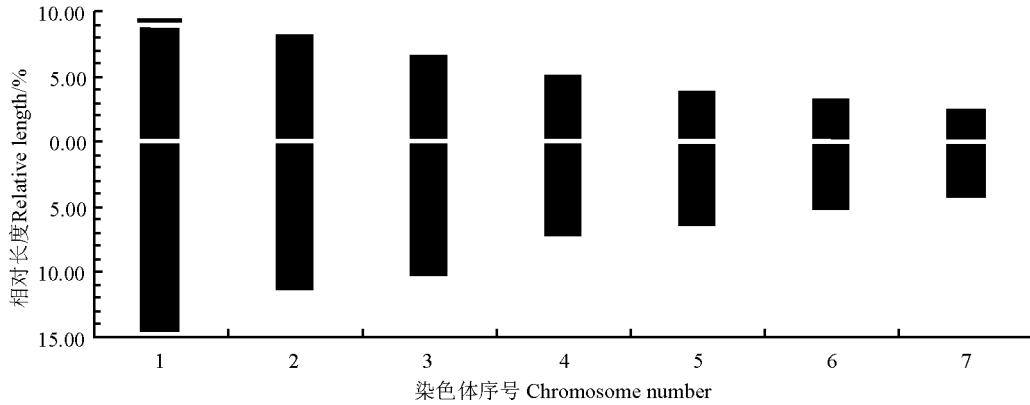


图3 热研4号王草染色体核型模式图

Fig.3 Karyotype diagram of *P. purpureum* × *P. americanum* cv. Reyan No.4

4号王草核型属于1B型。

2.3 桂闽引象草染色体数目

选择30个染色体分散良好、轮廓清晰的桂闽引象草细胞进行观测,结果显示,染色体数目为27条的有1个细胞,占计数总细胞数的3.33%;28条的有28个细胞,占总细胞数的93.33%;29条的有1个细胞,占总细胞数的3.33%。按照核型分析的标准化建议^[17],确定桂闽引象草的染色体数目为2n=28条。

2.4 桂闽引象草核型分析

选取5个分散良好、轮廓清晰的桂闽引象草中期分裂相(图4、5)进行测量分析,桂闽引象草染色体数目2n=28条,染色体基数x=7,为四倍体。由表2和表3可知,桂闽引象草染色体核型公式为2n=4x=28=18m(2SAT)+10sm(2SAT),由此可知,体细胞中期染色体由18条中部着丝点染色体(m)和10条近中部着丝点染色体(sm)组成,其中第2对和第4对染色体含有随体。从染色体相对长度组成I.R.L=10S+6M1+4M2+8L来看,桂闽引象草由短染色体(S)、中短染色体(M1)、中长染色体(M2)和长染色体(L)组成,并且这14对染色体相对长度为2.95%~

12.86%,相对长度指数为0.41~1.80,最长染色体与最短染色体长度比为4.36,臂比范围为1.45~1.99,臂比值大于2的染色体比例为0(图6)。核型不对称系数As.K%=62.19%,按照核型分类标准,桂闽引象草核型属于1C型。

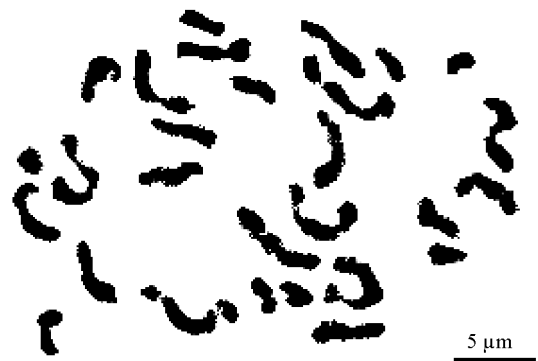


图4 桂闽引象草染色体中期相

Fig.4 Metaphase chromosomes of *P. purpureum* cv. Guiminyin

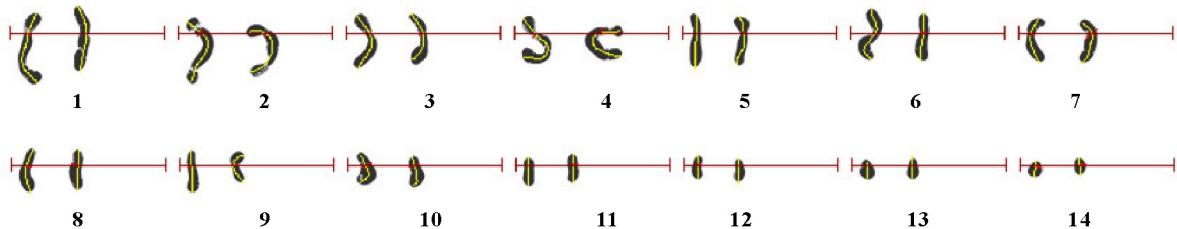


图5 桂闽引象草染色体核型图

Fig.5 Karyotype of *P. purpureum* cv. Guiminyin

注:1-14为染色体序号。

Note: 1-14 are chromosome number, respectively.

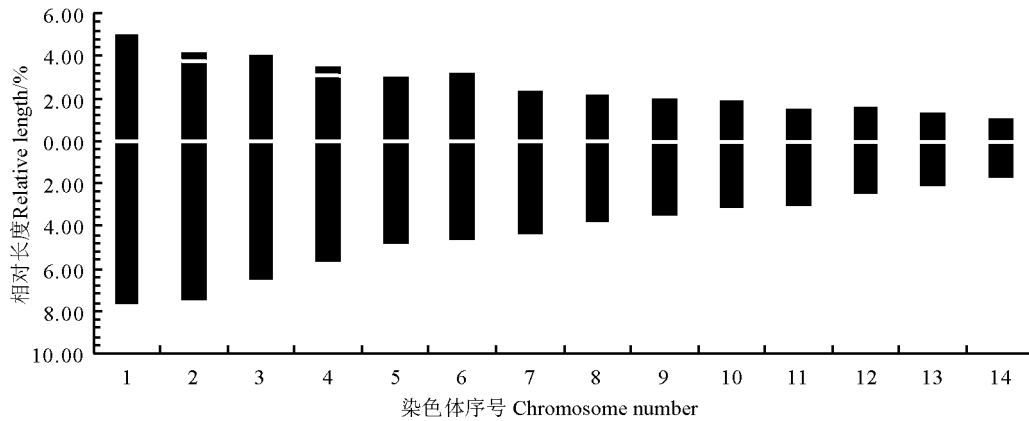


图 6 桂闽引象草染色体核型模式图

Fig.6 Karyotype diagram of *P. purpureum* cv. Guiminyin

表 2 两种狼尾草属植物的染色体核型特征比较

Table 2 Chromosome karyotype parameters of *P. purpureum* cv. Guiminyin

染色体序号 Chromosome number	相对长度 Relative length/%	相对长度指数 Relative length index	臂比 Arm ratio	着丝点类型 Type of centromer	长度类型 Type of length
1	7.76+5.10=12.86	1.80	1.52	m	L
2 *	7.51+4.20=11.71	1.64	1.79	sm	L
3	6.63+4.11=10.74	1.50	1.61	m	L
4 *	5.75+3.54=9.29	1.30	1.62	m	L
5	4.94+3.04=7.98	1.12	1.63	m	M2
6	4.71+3.25=7.96	1.11	1.45	m	M2
7	4.47+2.46=6.93	0.97	1.82	sm	M1
8	3.91+2.28=6.19	0.87	1.72	sm	M1
9	3.57+2.08=5.65	0.79	1.72	sm	M1
10	3.21+1.98=5.19	0.73	1.63	m	S
11	3.14+1.58=4.72	0.66	1.99	sm	S
12	2.55+1.67=4.22	0.59	1.53	m	S
13	2.19+1.42=3.61	0.50	1.54	m	S
14	1.85+1.10=2.95	0.41	1.69	m	S

注:sm 为近中部着丝点染色体。

Note: sm is submedian chromosomes.

表 3 桂闽引象草的染色体核型参数

Table 3 Chromosome karyotype characteristics comparison of two plants of *Pennisetum*

核型特征 Karyotype characteristics	热研 4 号王草 <i>P. purpureum</i> × <i>P. americanum</i> cv. Reyan No.4	桂闽引象草 <i>P. purpureum</i> cv. Gui minyin
核型公式 Karyotype formula	2n = 3x = 21 = 21m(3SAT)	2n = 4x = 28 = 18m(2SAT) + 10sm(2SAT)
相对长度组成 I.R.L	I.R.L = 9S + 3M1 + 3M2 + 6L	I.R.L = 10S + 6M1 + 4M2 + 8L
最长染色体/最短染色体 Lc/Sc	3.44	4.36
臂比 > 2 的比率 P.C.A > 2 / %	0	0
相对长度范围 Relative length range / %	6.99 ~ 24.06	2.95 ~ 12.86
核型不对称系数 As.K %	60.15	62.19
核型类型 Karyotype type	1B 型	1C 型

3 讨论与结论

染色体的形态和数目是稳定的细胞学特征,核型可以揭示生物在系统演化中的位置,也是判断生物与其相近物种间亲缘关系的重要依据^[22]。本研究中,热研4号王草染色体数为21条的比例超过85%,可以确定热研4号王草的染色体数为 $2n=21$ 条;桂闽引象草染色体数为28条的比例也超过85%,可以确定桂闽引象草染色体数为 $2n=28$ 条。在研究中发现根尖细胞中偶尔存在附加1~2条额外染色体的非整倍体细胞,也有部分缺失的染色体。据陈志彤等^[23]报道,狼尾草属牧草染色体基数分为两大类:一类基数为 $x=7$,如美洲狼尾草 $2n=2x=14$,杂交狼尾草 $2n=3x=21$,象草 $2n=4x=28$;另一类基数为 $x=9$,如中亚狼尾草 $2n=2x=18$,东非狼尾草 $2n=4x=36$ 。可以推断,热研4号王草和桂闽引象草染色体基数均归为第一类,即染色体基数为 $x=7$,其中,热研4号王草为三倍体,染色体数 $2n=21$ 条,与杂交狼尾草一致,由此推断热研4号王草与杂交狼尾草亲缘关系较近;桂闽引象草为四倍体,染色体数 $2n=28$ 条,与象草一致,由此推断桂闽引象草与象草亲缘关系较近。热研4号王草与桂闽引象

草染色体数目和倍性均不同说明其亲缘关系较远,同时也印证了他们的来源不同,热研4号王草由四倍体象草和二倍体美洲狼尾草杂交而成^[1],桂闽引象草由台畜草二号狼尾草选育而成。

热研4号王草的核型不对称系数为60.15%,由21条中部着丝点染色体(m)组成,核型类型属于1B型;桂闽引象草的核型不对称系数为62.19%,由18条中部着丝点染色体(m)和10条近中部着丝点染色体(sm)组成,核型类型属于1C型(表3)。根据核型的分类标准,核型对称性与物种进化相辅相成,核型对称性越低的生物,染色体变异越大,物种进化程度越高;核型对称性越高的生物,染色体变异越小,进化程度越低^[24]。因此,从核型类型方面,热研4号王草和桂闽引象草都属于比较原始的类型,这与张怀山^[25]的研究结果一致。本研究中,热研4号王草第1组染色体及桂闽引象草第2组和第4组染色体的短臂上均发现了随体,此结果在国内外鲜有报道。

目前,从国外引进的狼尾草属牧草较多,命名比较混乱,常出现同物异名、同名异物的现象,给育种工作带来较大困难,严重阻碍了狼尾草属牧草的应用推广和可持续发展。核型分析为研究生物系统发育关系和物种分化提供了重要依据^[26]。

参考文献 References:

- [1] 刘国道,白昌军,王东劲,易克贤,韦家少,何华玄,周家锁.热研4号王草选育.草地学报,2002,10(2):92-96.
Liu G D, Bai C J, Wang D J, Yi K X, Wei J S, He H S, Zhou J S. The selection and utilization of Reyan No.4 King Grass. Acta Agrestia Sinica, 2002, 10(2): 92-96. (in Chinese)
- [2] 涂旭川,刘国道,白昌军,张绪元,朱新祥.热研4号王草栽培技术初探.中国农学通报,2008,24(10):533-535.
Tu X C, Liu G D, Bai C J, Zhang X Y, Zhu X X. Primary studied on planting technology of *Pennisetum purpureum* x *typhoides* cv. Reyan No.4. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(10): 533-535. (in Chinese)
- [3] 王舒宁,王均辉.桂闽引象草及其推广应用.福建畜牧兽医,2014,36(1):19-20.
- [4] 易显凤,滕少花,赖志强,韦锦益,蔡小艳,姚娜.桂闽引象草的特征特性与高产栽培技术.黑龙江畜牧兽医(科技版),2014,3(上):99-101.
- [5] 侯冠彧,王东劲,周汗林.热研4号王草利用概述.热带农业科学,2009,29(3):71-74.
Hou G Y, Wang D J, Zhou H L. Utilization of *Pennisetum* × *P. americanum* cv. Reyan 4 in feeding livestock and poultry. Chinese Journal of Tropical Agriculture, 2009, 29(3): 71-74. (in Chinese)
- [6] 张继友,景晓辉,吴伦英,刘国道,吴琳.热研4号王草原生质体的制备.分子植物育种,2015,13(4):915-918.
Zhang J Y, Jing X H, Wu L Y, Liu G D, Wu L. A effective protocol for King Grass Reyan No.4 protoplasts preparation of King Grass Reyan No.4. Molecular Plant Breeding, 2015, 13(4): 915-918. (in Chinese)
- [7] 马德勇.王草三种降解糖化技术的研究.海南:海南大学硕士学位论文,2014.
Ma D Y. Study on King Grass for sugar by three degradation techniques. Master Thesis. Haikou: Hainan University, 2014. (in Chinese)
- [8] 邓素媛,易显凤,赖志强,姚娜.不同种植密度对桂闽引象草生长性能的影响.上海畜牧兽医通讯,2014(4):34-35.
- [9] 姚娜,滕少花,赖志强,邱金花,赖大伟,易显凤.氮磷钾不同施肥配比效应对桂闽引象草生产性能及品质的影响.广东农业科学,2014(14):57-59.

- Yao N, Teng S H, Lai Z Q, Qiu J H, Lai D W, Yi X F. Effect on productive performance and quality of *Pennisetum purpureum* cv. Guiminyin under different proportion applications of nitrogen, phosphate and potassium. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2014(14):57-59. (in Chinese)
- [10] 姚娜, 腾少花, 赖志强, 赖大伟, 易显凤, 邱金花, 邓素媛. 桂闽引象草对泌乳期娟姗奶牛产奶量及乳品质的影响. *中国草地学报*, 2015, 37(2):117-119.
- Yao N, Teng S H, Lai Z Q, Lai D W, Xie Y F, Qiu J H, Deng S Y. Effect of *Pennisetum purpureum* Schum cv. Guiminyin on milk yield and quality of Jersey Cattle during lactation stage. *Chinese Journal of Grassland*, 2015, 37(2):117-119. (in Chinese)
- [11] 刘冬云, 张晓曼, 李艳, 史宝胜. 不同居群山丹的核型分析. *植物遗传资源学报*, 2015, 16(1):199-204.
- Liu D Y, Zhang X M, Li Y, Shi B S. Karyotype analysis of different populations of *Lilium pumilum* DC. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(1):199-204. (in Chinese)
- [12] 时丽冉, 高汝勇, 李会芬, 李慧凝. 紫茉莉染色体数目及核型分析. *草业科学*, 2010, 27(1):52-55.
- Shi L R, Gao R Y, Li H F, Li H N. The chromosome number and karyotype analysis of *Mirabilis jalapa*. *Pratacultural Science*, 2010, 27(1):52-55. (in Chinese)
- [13] 张伦, 康念. 长序狼尾草的核型分析. *贵州科学*, 1992, 10(2):44-47.
- Zhang L, Kang N. Karyotypic analysis of chromosomes in *Pennisetum iongissimum*. *Guizhou Science*, 1992, 10(2):44-47. (in Chinese)
- [14] 朱丹丹, 王培丹, 林兴生, 林辉, 苏德伟, 林占焯. 象草和巨菌草的核型分析. *贵州农业科学*, 2015, 43(5):14-18.
- Zhu D D, Wang P D, Lin X S, Lin H, Su D W, Lin Z X. Karyotypic analysis of *Pennisetum purpureum* and *Pennisetum giganteum*. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2015, 43(5):14-18. (in Chinese)
- [15] 周自玮, 袁福锦, 匡崇义, 毕玉芬. 云南德宏地区逸生狼尾草的综合鉴定. *中国草地学报*, 2008, 30(3):110-114.
- Zhou Z W, Yuan F J, Kuang C Y, Bi Y F. Integrated identification of naturalized *Pennisetum* sp. in Dehong. *Chinese Journal of Grassland*, 2008, 30(3):110-114. (in Chinese)
- [16] 张凡, 张芹, 龙双红. 波斯菊核型分析. *草业科学*, 2012, 29(11):1715-1717.
- Zhang F, Zhang Q, Long S H. Karyotype analysis of *Cosmos bipinnatus*. *Pratacultural Science*, 2012, 29(11):1715-1717. (in Chinese)
- [17] 李懋学, 陈瑞阳. 关于核型分析的标准化问题. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4):297-302.
- Li M X, Chen R Y. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4):297-302. (in Chinese)
- [18] Kuo S R, Wang T T, Hang T C. Karyotype analysis of some formosan gymnosperms. *Taiwania*, 1972, 17(1):66-80.
- [19] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centrometic position on chromosomes. *Hereditas*, 1964(52):197-201.
- [20] Stebbins G L. *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. London: Edward Arnold Ltd., 1971:85-104.
- [21] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan, IX. The karyo type analysis and phylogentic considerations on *Pertya* and *Ainsliaca* (2). *Botanical Magazine Tokyo*, 1963, 76(5):32-39.
- [22] 张蕾, 王家保, 陈业渊, 李松刚, 罗石荣. 人心果和蛋黄果染色体核型分析. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(3):486-488.
- Zhang L, Wang J B, Chen Y Y, Li S G, Luo S R. Karyotype analysis of sapodilla and egg-fruit-tree. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2011, 12(3):486-488. (in Chinese)
- [23] 陈志彤, 何水林, 黄毅斌. 狼尾草属牧草研究进展. *草地学报*, 2010, 18(5):740-748.
- Chen Z T, He S L, Huang Y B. Research progress of *Pennisetum* Rich. *Acta Agrestia Sinica*, 2010, 18(5):740-748. (in Chinese)
- [24] 刘鹏, 王彦荣, 刘志鹏. 野豌豆属 43 份牧草种质的染色体形态观察与分析. *草业科学*, 2015, 32(6):908-926.
- Liu P, Wang Y R, Liu Z P. Karyotypes analysis of 43 *Vicia* accessions. *Pratacultural Science*, 2015, 32(6):908-926.
- [25] 张怀山. 中型狼尾草种质特性及遗传多样性研究. 兰州: 甘肃农业大学博士学位论文, 2014.
- Zhang H S. Study on germplasm characteristics and genetic diversity of *Pennisetum longissimum* var. *intermedium*. PhD Thesis. Lanzhou: Gansu Agricultural University, 2014. (in Chinese)
- [26] Wu G L. The application of karyotype analysis on cytotaxonomy. *Journal of Biology*, 2006, 23(1):39-42.

(责任编辑 王芳)