

DOI: 10.1360/yc-007-0449

# 波兰小麦和矮兰麦 45S rDNA 和 5S rDNA 基因位点 FISH 分析

廖进秋<sup>1,2</sup>, 杨瑞武<sup>1</sup>, 周永红<sup>2</sup>, 辻本壽<sup>3</sup>

1. 四川农业大学生命科学与理学院, 雅安 625014;
2. 四川农业大学小麦研究所, 都江堰 611830;
3. 鸟取大学农学部植物遗传育种研究室, 日本鸟取 680-8553

**摘要:** 采用双色荧光原位杂交技术, 以 45S rDNA 和 5S rDNA 基因为探针, 对波兰小麦(*Triticum polonicum* L.) 和矮兰麦(*T. turgidum* L. cv. Ailanmai)进行了分析。结果表明, 高秆波兰小麦(*T. polonicum* L. High)和矮兰麦的 45S rDNA 和 5S rDNA 基因位点高度一致, 都显示 4 个 45S rDNA 和 6 个 5S rDNA 基因位点; 矮秆波兰小麦(*T. polonicum* L. Dwarf)的 45S rDNA 基因位点与高秆波兰小麦和矮兰麦也一致表现出 4 个位点, 而其 5S rDNA 基因位点有 8 个。同时讨论了 rDNA 基因位点的数目和分布位置在种间和种内存在差异的原因。

**关键词:** 波兰小麦; 矮兰麦; rDNA 基因; 荧光原位杂交

## FISH analysis of 45S rDNA and 5S rDNA genes in *Triticum polonicum* L. and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai

LIAO Jin-Qiu<sup>1,2</sup>, YANG Rui-Wu<sup>1</sup>, ZHOU Yong-Hong<sup>2</sup>, Tsujimoto Hisashi<sup>3</sup>

1. Biology and Science College, Sichuan Agricultural University, Yaan, 625014 China;
2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Dujiangyan, 611830 China;
3. Laboratory of Plant Genetics and Breeding Science, Faculty of Agriculture, Tottori University, Tottori 680-8553, Japan

**Abstract:** Using the method of double color fluorescence *in situ* hybridization (FISH), we had analyzed *Triticum polonicum* L. and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai with the probes of 45S rDNA and 5S rDNA. The results indicated that there were highly consistent in *T. polonicum* L. High and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai, both having four 45S rDNA loci and six 5S rDNA loci. In *T. polonicum* L. Dwarf, there were also four 45S rDNA loci, the same as that in *T. polonicum* L. High and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai, but there were eight 5S rDNA loci. At the same time, we discussed the reason of interspecific and intraspecific variation of the two types of rDNA in locus number and location between *T. polonicum* L. and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai.

**Keywords:** *Triticum polonicum*; *T. turgidum* cv. Ailanmai; rDNA genes; fluorescence *in situ* hybridization

波兰小麦(*Triticum polonicum* L., 2n=28, AABB) 是小麦属二粒系的一个重要种, 属四倍体裸粒栽培小麦, 主要分布于地中海沿岸和埃塞俄比亚, 多与

硬粒小麦混生。在叙利亚、土耳其、伊朗、阿富汗、外高加索和中国等地也有少量种植<sup>[1,2]</sup>。波兰小麦是我国新疆的地方小麦种质资源之一, 具有穗大、粒

收稿日期: 2006-07-29; 修回日期: 2006-09-28

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 30270099)和教育部长江学者和创新团队发展计划(编号: IRT0453)资助[Supported by the National Science Foundation of China (No. 30270099) and Changjiang Scholars and Innovative Research Team in University(No.IRT0453)].

作者简介: 廖进秋(1981—), 女, 四川人, 硕士, 专业方向: 小麦遗传育种。E-mail: liaojinqiu630@yahoo.com.cn

通讯作者: 杨瑞武(1969—), 男, 重庆人, 副教授, 硕士生导师, 研究方向: 小麦族系统学研究, 小麦资源评价。E-mail: yrwhqr@yahoo.com.cn

大、品质好、分蘖力强等优点<sup>[2]</sup>。新疆吐鲁番矮秆波兰小麦是四川农业大学颜济、杨俊良等发现、采集并保存的国内外唯一的一份具有矮秆特性的四倍体波兰小麦,是四倍体小麦中除矮兰麦之外的珍稀矮秆资源,株高约 70 cm,是小麦育种的一种新型天然四倍体矮源<sup>[3,4]</sup>。矮兰麦(*T. turgidum* L. cv. Ailanmai, 2n=28, AABB)为中国所特有,四川省和河南省的农民称之为蓝麦,是四川省过去的一个裸粒栽培四倍体小麦品种,具有矮秆、多花多实和适应性强等优点,是小麦遗传改良的重要资源之一<sup>[1]</sup>。

在高等真核生物中,核糖体执行着蛋白质合成的重要功能。一个完整的核糖体由大亚基 60S和小亚基 40S组成,构成核糖体亚基的主要成分是核糖体-rRNA(rRNA)与蛋白质的复合物<sup>[5]</sup>。rDNA是编码rRNA的基因,有两种即 45S rDNA和 5S rDNA,它们都是简单多基因家族中的基因,一般以串联方式前后相连。真核生物的rRNA基因在细胞核仁中进行转录时先产生一个 45S的前体rRNA,然后被核酸酶降解,形成成熟的 18S、28S和 5.8S rRNA,而 5S rDNA作为一个独立的转录单位,在染色体上的位置较分散<sup>[6]</sup>。

45S rDNA和 5S rDNA在小麦族植物中的定位已在普通小麦(*T. aestivum* L.)、黑麦(*Secale cereale* L.)、簇毛麦(*Dasyphyrum villosum* (L.) Candargy)、中间偃麦草(*Thinopyrum intermedium* (Host) Barkworth & D. R. Dewey)、大麦(*Hordeum vulgare* L.)等中有少数报道<sup>[7-11]</sup>。利用 45S rDNA和 5S rDNA位点不仅可以鉴定导入小麦遗传背景中的外源遗传物质,也可用于小麦族植物系统演化关系的分析。此外,也有少数的研究者采用原位杂交等技术探测了 45S rDNA和 5S rDNA位点在小麦族植物,大麦、中间偃麦草等物种中数目及位置变化的多态性<sup>[12,13]</sup>。

本文利用双色荧光原位杂交技术,对波兰小麦和矮兰麦的 45S rDNA 和 5S rDNA 基因位点进行分,检测 45S rDNA 和 5S rDNA 基因位点在波兰小麦和矮兰麦中的位点数和分布情况。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

波兰小麦(*T. polonicum* L., 2n=28, AABB)有高产和矮秆材料各 1 份,均采自新疆吐鲁番;矮兰麦(*T. turgidum* cv. Ailanmai, 2n=28, AABB)来自四川简阳。材料均由四川农业大学小麦研究所提供。

## 1.2 方法

### 1.2.1 染色体制片

取种子于室温下发芽,待根长到 1~1.5 cm 时,剪下根尖并置于冰水混合物中,在 4℃ 冰箱中预处理 24 h,卡诺氏固定液(无水乙醇:冰醋酸=3:1)固定 24 h,置室温下 1~2 天,4℃ 冰箱中保存。

固定后的根尖用 45%醋酸软化 20~30 min,45%醋酸压片,相差显微镜下观察,选择染色体分散良好的制片,-84℃ 冰冻揭片,空气中干燥后,常温保存备用。

### 1.2.2 探针的标记

含 5S rDNA的探针pLr5S来源于大赖草(*Leymus racemosus* (Lam.) Tzvel.)<sup>[14]</sup>,含 45S rDNA的探针pTa71 来源于普通小麦<sup>[15]</sup>。pLr5S和pTa71 均由日本鸟取大学植物遗传育种实验室提供。pLr5S用PCR方法以Rhodamine-5-dUTP标记,pTa71 用随机引物法以FITC-12-dUTP标记。pLr5S标记为红色,pTa71 标记为绿色。

### 1.2.3 杂交

杂交液(Formamide 5 μL, 50% Dextranulfate 2 μL, 20×SSC 1 μL, Probe DNA 2 μL)于 100℃ 条件下变性 10 min,迅速转入冰上保持 5~10 min,备用。将染色体制片在 0.2 mol/L NaOH 溶液(溶于 70%酒精中)中变性 5 min,然后在 70%,90%和 100%酒精中各脱水 5 min,空气中干燥。按每片 10 μL 将杂交液加到经预处理过的染色体制片上,加盖片封片,37℃ 杂交过夜。

### 1.2.4 杂交后的漂洗与信号检测

杂交完毕后,揭去盖玻片。在室温下 2×SSC 中洗 5 min,在 42℃ 的 2×SSC 中洗 10 min,然后在室温下 2×SSC 中洗 5 min,迅速吹干,加 10 μL 10 μg/mL 的 DAPI(4',6-diamidino-2-phenylindole),盖上盖玻片,在 OLYMPUS BX61 荧光显微镜下,用不同滤光片多重叠加曝光照相,图像经 Meta imaging series 5.0 软件处理。

每个材料选取 10~15 个细胞的观察结果进行分析。

## 2 实验结果

### 2.1 矮兰麦 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

45S rDNA 在矮兰麦染色体上检出 4 个位点(绿色),且都位于带有随体的染色体短臂核仁组织区

(nuclear organizer region, 简称为 NOR), 杂交信号强弱较一致。5S rDNA 在 6 个位置上有检出(红色), 其中有 2 个位点位于随体上与 45S rDNA 在相同的染色体短臂上, 两者之间的距离说明二者是独立分布的。此外, 有 1 对染色体仅短臂上有 45S rDNA, 有 2 对染色体短臂上只有 5S rDNA, 其中的 1 对 5S rDNA 较其他位点的荧光信号弱(图 1:b)。

## 2.2 高秆波兰小麦 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

在高秆波兰小麦中, 45S rDNA(绿色)和 5S rDNA(红色)的位点数和分布情况与矮兰麦高度一致, 但是其 5S rDNA 的杂交信号中有一对比矮兰麦的杂交信号强(图 1:d)。

## 2.3 矮秆波兰小麦 45S rDNA 和 5S rDNA 的双色荧光原位杂交

矮秆波兰小麦的 45S rDNA(绿色)基因位点和分布情况与高秆波兰小麦和矮兰麦的表现也一致, 而其 5S rDNA(红色)基因位点有 8 个, 比高秆波兰小麦和矮兰麦多出 2 个位点, 且独立位于一对染色体的短臂上(图 1:f)。

# 3 讨论

## 3.1 45S rDNA 和 5S rDNA 的定位

Hutchinson和Miller<sup>[16]</sup>准确的将圆锥麦(*T. turgidum* L.)的 45S rDNA 定位在随体染色体 1BS 和 6BS 上。Fominaya 等<sup>[17]</sup>利用原位杂交技术将圆锥麦(*T. turgidum* L. cv. Calvin)的 8 个 5S rDNA 分别定位在 1AS、1BS、5AS、5BS 上。其中 1BS 上同时有 45S rDNA 和 5S rDNA 存在, 45S rDNA 位于次缢痕而 5S rDNA 位于随体上, 剩下的 6 个杂交信号中, 较强的位于 5BS, 较弱的位于 5AS 上, 而位于 1AS 上的杂交信号几乎看不见。Dvořák 等<sup>[18]</sup>将普通小麦中的 5S rDNA 定位在 1BS、1DS、5AS、5BS 和 5DS 上, 而未能检测到 1AS 上的信号。Mukai 等<sup>[7]</sup>利用原位杂交技术不仅证实了 Dvořák 等的结论, 还检测到了位于普通小麦 1AS 上的 5S rDNA 位点。

45S rDNA 在小麦族植物小麦、簇毛麦、大麦等的定位中, 毫无例外的都位于次缢痕上, 即核仁组织区(NOR)<sup>[7,10,12]</sup>, 即使在非小麦族植物如番茄(*Lycopersicon esculentum*)中也不例外<sup>[19]</sup>。45S rDNA 与随体染色体总是一起出现<sup>[20]</sup>, 两者之间可能存在着一定的联系。

本研究表明, 在矮兰麦和波兰小麦中, 45S rDNA 均位于 1BS、6BS 的核仁组织区(NOR)。矮兰麦和高秆波兰小麦的 5S rDNA 高度一致, 分别位于 1BS、5AS、5BS 上。而矮秆波兰小麦的 8 个 5S rDNA 杂交信号分别位于 1AS、1BS、5AS、5BS 上, 比矮兰麦和高秆波兰小麦多了 1 对位于 1AS 上的 5S rDNA 位点。另外, 3 者第 5 同源群上的 5S rDNA 杂交信号较第 1 同源群上的都强, 这与前人的结论相同。因为第 1 同源群上的 5S rRNA 基因的间隔序列较第 5 同源群上的短<sup>[18,21,22]</sup>。

## 3.2 45S rDNA 和 5S rDNA 在种间、种内存在的变异

在小麦族植物中, 45S rDNA 和 5S rDNA 在种间、种内都存在着很大的变异。闫玲等<sup>[11]</sup>采用荧光原位杂交技术, 对不同种的大麦进行研究, 结果表明 5S rDNA 在染色体上的位点呈现动态变化。赵丽娟等<sup>[12]</sup>同样采用荧光原位杂交技术对不同大麦品种之间进行了研究, 发现 45S rDNA 和 5S rDNA 在染色体上的位点都表现出变化, 并认为 rDNA 位点的差异可能是供试大麦品种间特异性所决定的。Li 等<sup>[13]</sup>对 45S rDNA 在中间偃麦草中的分布进行了研究, 探测到 45S rDNA 在不同倍性的中间偃麦草之间同样存在着明显的变异。

在矮兰麦和波兰小麦中, 主要的 45S rDNA 的位点数和位置表现高度一致, 都位于 1BS、6BS 的核仁组织区(NOR)。Jiang 和 Gill<sup>[23]</sup>将圆锥小麦的次要 45S rDNA 定位于 1AS、1BL 和 5AL 上。Dubcovsky 和 Dvořák<sup>[24]</sup>的研究表明, 在小麦属植物中次要的 45S rDNA 位点在染色体上的位置存在着较明显的变化, 并且核仁组织区(NOR)也的确发生了位置的变换, 但是没有发生染色体结构的重组。Schubert 和 Wobus<sup>[25]</sup>证明了次要的 45S rDNA 位点利用原位杂交是不能检测到的, 利用原位杂交技术只能检测到在植物种间、种内主要的 45S rDNA 位点在核仁组织区(NOR)增减的多态性, 而不能检测到核仁组织区的位置移动情况。因此, 利用 45S rDNA 基因作为探针的荧光原位杂交技术来探讨小麦属物种间的多态性较困难。

Fominaya 等<sup>[17]</sup>发现圆锥小麦的 5S rDNA 杂交信号为 8 个, 比本实验中的矮兰麦在 1AS 上多出 2 个杂交信号, 说明 5S rDNA 在不同的品种间存在着差异, 这与赵丽娟等<sup>[12]</sup>在大麦中的研究结果相一致。在波兰小麦中, 矮秆波兰小麦也比高秆波兰小

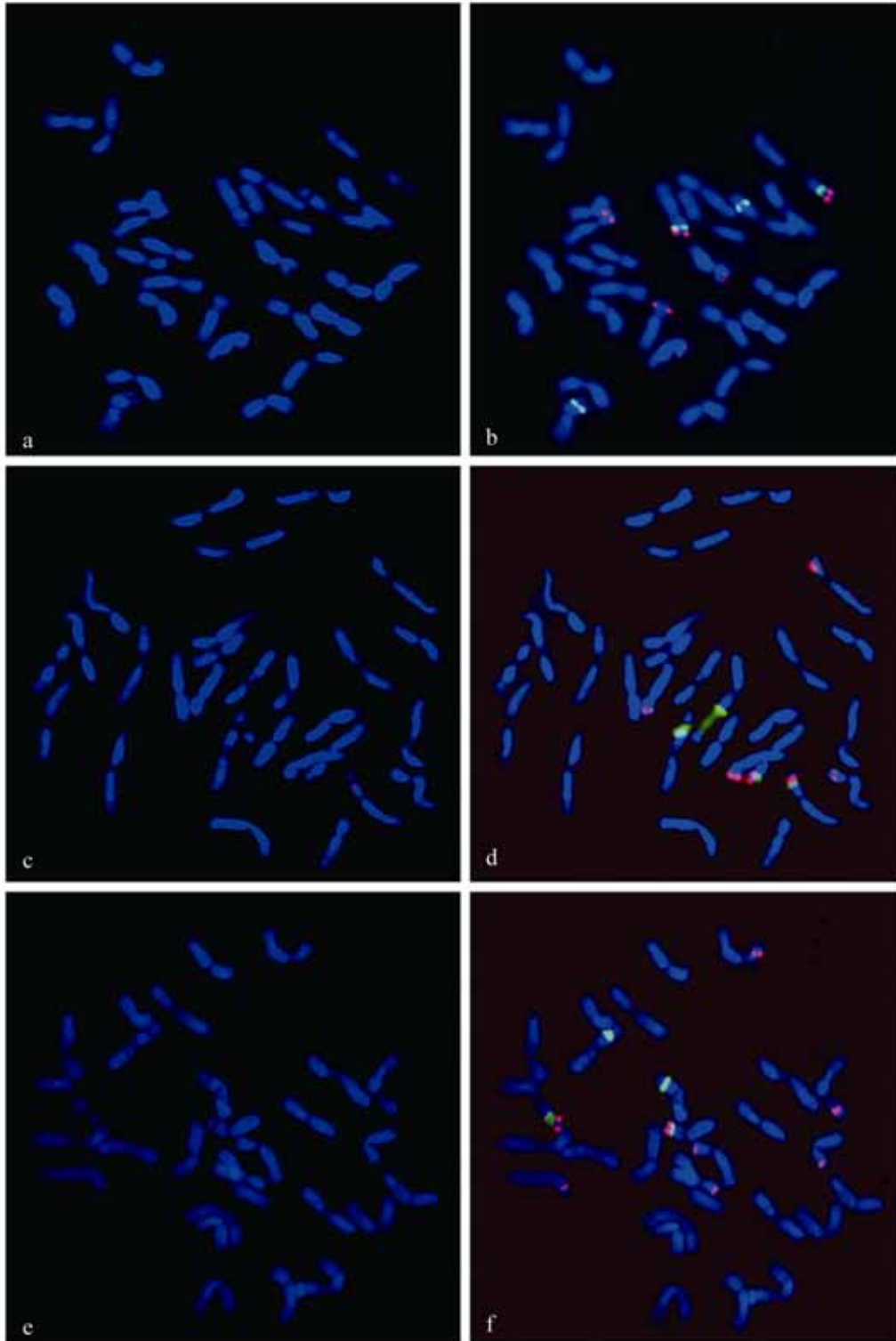


图 1 波兰小麦和矮兰麦的 45S rDNA(绿)和 5S rDNA (红)的双色荧光原位杂交图

a, b: 矮兰麦; c, d: 高秆波兰小麦; e, f: 矮秆波兰小麦。a,c,e: DAPI; b,d,f: FISH。

Fig. 1 Double color fluorescence in situ hybridization of *Triticum polonicum* L. and *T. turgidum* L. cv. Ailanmai with the probes of 45S rDNA (green) and 5S rDNA (red).

a, b: *Triticum turgidum* L. cv. Ailanmai; c, d: *T. polonicum* L. High; e, f: *T. polonicum* L. Dwarf. a, c, e: DAPI; b, d, f: FISH.

麦在 1AS 上多出 2 个杂交信号, 表明 5S rDNA 在波兰小麦的种内也存在着变异。圆锥小麦和波兰小麦种间 5S rDNA 也存在着较明显的变化。因此, 5S rDNA 在种间、种内都存在着较大的变异, 与 45S rDNA 相比较, 5S rDNA 的遗传变异较大。

### 3.3 5S rDNA 的变异原因

在二倍体和四倍体小麦的 1AS、5AS 上都有 5S rDNA 位点, 只是位于 1AS 上的杂交信号较弱, 这可能是由于该位点是低重复的序列(360 bp)<sup>[18]</sup>。矮兰麦 5AS 上的 5S rDNA 杂交信号比波兰小麦的弱, 可能也是由于拷贝数较少而导致杂交信号变弱。

多倍体小麦的 A 染色体组供体为乌拉尔图小麦 (*T. urartu* (L.) Dorof. et A. Filat.) 和一粒小麦 (*T. monococcum* (L.) Dum.)。Dvořák 等<sup>[18]</sup>已经报道了 5S rDNA 位于两者的 1AS、5AS 上。在小麦属植物中 5S rDNA 位于第 1、第 5 同源群上, 在本实验中, 只有矮秆波兰小麦在 1AS 和 5AS 上具有 5S rDNA 位点, 而矮兰麦和高秆波兰小麦只在 5AS 上具有该位点。Scoles 等<sup>[11,22]</sup>通过对小麦属中几个种的研究, 认为 5S rDNA 结构的变化可以由转录间隔区的重复和缺失来解释。并且在圆锥小麦、普通小麦中 A 染色体组的 1AS、5AS 上都有 5S rDNA 位点<sup>[7,17]</sup>, 因此, 我们可以认为矮秆波兰小麦具有正常的 A 染色体组。而在矮兰麦和高秆波兰小麦的 1AS 上未能检测到 5S rDNA 位点, 可能有以下原因: (1) 两者在 1AS 上的 5S rDNA 位点发生缺失; (2) 物种之间发生相互易位的时候发生了染色体的缺失, 从而导致了 1AS 上的 5S rDNA 位点丢失; (3) 核苷酸序列的扩增使得 5S rRNA 基因低拷贝化使其不能被检测到等。

Badaeva<sup>[26]</sup>认为可移动的遗传元素可能促使了 rDNA 位点的跳跃而产生新的 rDNA 位点。Hanson 等<sup>[11,27]</sup>认为产生的 rDNA 新位点是由于 rDNA 位点从有 rDNA 位点的染色体上易位到了没有 rDNA 位点的染色体上的结果。但是, rDNA 要重复自己或自己的相关序列的可能性必须是在有转移的可能性的基础上<sup>[13]</sup>。在小麦族植物的进化过程中, 5S rDNA 基因位点的变化可以反映进化过程中基因发生改变的一些痕迹。矮秆波兰小麦与高秆波兰小麦的 5S rDNA 基因差异有待进一步深入研究。

### 参考文献(References):

- [1] DONG Yu-Chen, ZHENG Dian-Sheng. Genetic Recourses of Wheat in China. Beijing: China Agriculture Press, 2000, 43-46.
- [2] 董玉琛, 郑殿升. 中国小麦遗传资源. 北京: 中国农业出版社, 2000, 43-46.
- [2] YANG Rui-Wu, ZHOU Yong-Hong, ZHENG You-Liang, HU Chao. Genetic differences and the relationship of gliadin between *T. polonicum* and *T. petropavlovskiyi*. *Journal of Triticeae Crops*, 2000, 20(4): 1-5.
- [2] 杨瑞武, 周永红, 郑有良, 胡超. 波兰小麦醇溶蛋白遗传差异及其与新疆稻麦的关系. *麦类作物学报*, 2000, 20(4): 1-5.
- [3] YANG Rui-Wu, ZHOU Yong-Hong, ZHENG You-Liang. Analysis on chromosome C-banding of dwarf polish wheat (*Triticum polonicum*). *J Sichuan Agricultural University*, 2001, 19(2): 112-114.
- [3] 杨瑞武, 周永红, 郑有良. 矮秆波兰小麦的 C-带分析. *四川农业大学学报*, 2001, 19(2): 112-114.
- [4] LIU Guang-Xin, ZHOU Yong-Hong, ZHENG You-Liang, YANG Rui-Wu, DING Chun-Bang. Morphological and cytological studies of dwarfing polish wheat (*Triticum turgidum* conv. *polonicum*) from Xinjiang, China. *J Sichuan Agricultural University*, 2002, 20(3): 189-193, 197.
- [4] 刘光欣, 周永红, 郑有良, 杨瑞武, 丁春邦. 吐鲁番矮秆波兰小麦形态与细胞学研究. *四川农业大学学报*, 2002, 20(3): 189-193, 197.
- [5] GONG Zhi-Yun, WU Hsin-Kan, CHENG Zhu-Kuan, GU Ming-Hong. Physical mapping of the 45S rDNA and 5S rDNA to rice prometaphase chromosome. *Acta Genetica Sinica*, 2002, 29(3): 241-244.
- [5] 龚志云, 吴信淦, 程祝宽, 顾铭洪. 水稻 45S rDNA 和 5S rDNA 的染色体定位研究. *遗传学报*, 2002, 29(3): 241-244.
- [6] ZHU Yu-Xian, LI Yi. *Modern Molecular Biology*. Beijing: Higher Education Press, 2004, 115-116.
- [6] 朱玉贤, 李毅. *现代分子生物学*. 北京: 高等教育出版社, 2004, 115-116.
- [7] Mukai Y, Endo TR, Gill BS. Physical mapping of the 5S rDNA multigene family in common wheat. *J Heredity*, 1990, 81: 290-295.
- [8] Appels R, Gerlach WL, Dennis ES, Swift H, Peacock WJ. Molecular and chromosomal organization of DNA sequences coding for the ribosomal RNAs in cereals. *Chromosoma*, 1980, 78(3): 293-311.
- [9] Reddy P, Appels R. A second locus for the 5S multigene family in *Secale L.*: sequence divergence in two lineages of the family. *Genome*, 1989, 32(3): 456-467.
- [10] PEI Zi-You, YUAN Wen-Ye, SUN Shan-Cheng, SUN Yu, Tomita M, Yasumuro Y. Double color FISH of rRNA genes

- in wheat relatives of *H. villosa* and *Th. Intermedium*. *Acta Agriculturae Boreali Sinica*, 2002, 17(1): 6–10.
- 裴自友, 袁文业, 孙善澄, 孙玉, 富田因则, 安室喜正. 簇毛麦和中间偃麦草 rRNA 基因位点双色荧光原位杂交分析. *华北农学报*, 2002, 17(1): 6–10.
- [11] YAN Ling, DINH Yi, CHEN Xin-Ping, SONG Yun-Chun, FANG Cheng-Xiang. Chromosomal localization of 5S rRNA genes in wild relatives of barley from Qing-Zang plateau by *in situ* hybridization. *J Wuhan Botanical Research*, 2000, 18(6): 443–448.
- 闫玲, 丁毅, 陈新平, 宋运淳, 方呈祥. 青藏高原近缘野生大麦 5S rDNA 基因染色体原位杂交定位. *武汉植物学研究*, 2000, 18(6): 443–448.
- [12] ZHAO Li-Juan, LI Li-Jia, QIN Rui, XIONG Huai-Yang, SONG Yun-Chun. Location of 45S and 5S rDNA on barley chromosomes and FISH analysis for 5S rDNA on extended DNA fibers. *J Wuhan Botanical Research*, 2005, 23(1): 15–19.
- 赵丽娟, 李立家, 覃瑞, 熊怀阳, 宋运淳. 大麦 45S 和 5S rDNA 定位及 5S rDNA 伸展纤维的 FISH 分析. *武汉植物学研究*, 2005, 23(1): 15–19.
- [13] LI DY, RU YY, ZHANG XY. Chromosomal distribution of the 18S-5.8S-26S rDNA loci and heterogeneity of nuclear ITS regions in *Thinopyrum intermedium* (Poaceae: Triticeae). *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46(10): 1234–1241.
- [14] Kishii M, Tsujimoto H. Genus-specific localization of the *TaiI* family of tandem-repetitive sequences in either the centromeric or subtelomeric regions in Triticeae species (Poaceae) and its evolution in wheat. *Genome*, 2002, 45: 946–955.
- [15] Gerlach WL, Bedbrook JR. Cloning and characterization of ribosomal RNA genes from wheat and barley. *Nucleic Acids Research*, 1979, 7: 1869–1885.
- [16] Hutchinson J, Miller TE. The nucleolus organizers of tetraploid and hexaploid wheats revealed by *in situ* hybridization. *Theor Appl Genet*, 1982, 61: 285–288.
- [17] Fominaya A, Molnar S, Kim NS, Chen Q, Fedak G, Armstrong KC. Characterization of *Thinopyrum distichum* chromosomes using double fluorescence *in situ* hybridization, RFLP analysis of 5S and 26S rRNA and C-banding of parents and addition lines. *Genome*, 1997, 40: 689–696.
- [18] Dvořák J, Zhang HB, Kota RS, Lassner M. Organization and evolution of the 5S ribosomal RNA gene family in wheat and related species. *Genome*, 1989, 32: 1003–1016.
- [19] SHE Chao-Wen, LIU Jing-Yu, SONG Yun-Cun. CPD banding patterns and identification of 45S rDNA sites in tomato. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(10): 1101–1107.
- 余朝文, 刘静宇, 宋运淳. 番茄的 CPD 带型和 45S rDNA 位点的鉴别. *遗传学报*, 2005, 32(10): 1101–1107.
- [20] Lapitan NLV. Organization and evolution of higher plant nuclear genomes. *Genome*, 1992, 35: 171–181.
- [21] Gerlach WL, Dyer TA. Sequence organization of the repeating units in the nucleus of wheat which contain 5S rRNA genes. *Nucl Acids Res*, 1980, 8: 4851–4865.
- [22] Scoles GJ, Gill BS, Xin ZY, Clarke BC, McIntyre CL, Chapman C, Appels R. Frequent duplication and deletion events in the 5S rRNA genes and the associated spacer regions in the Triticeae. *Pl Syst Evol*, 1988, 160: 105–122.
- [23] Jiang JM, Gill BS. New 18S.26S ribosomal RNA gene loci: chromosomal landmarks for the evolution of polyploid wheat. *Chromosoma*, 1994, 103: 179–185.
- [24] Dubcovsky J, Dvořák J. Ribosomal RNA multigene loci: nomads of the Triticeae genomes. *Genetics*, 1995, 140: 1367–1377.
- [25] Schubert I, Wobus U. *In situ* hybridization confirms jumping nucleolus organizing regions in *Allium*. *Chromosoma*, 1985, 92(2): 143–148.
- [26] Badaeva ED, Friebe B, Gill BS. Genome differentiation in *Aegilops*. 2. Physical mapping of 5S and 18S-26S ribosomal RNA gene families in diploid species. *Genome*, 1996, 39: 1150–1158.
- [27] Hanson RE, Islam-Faridi MN, Percival EA, Crane CF, Ji YF, Mcknight TD, Stelly TD, Stelly DM, Price HJ. Distribution of 5S and 18S-28S rDNA loci in a tetraploid cotton (*Gossypium hisutum* L.) and its putative diploid ancestors. *Chromosoma*, 1996, 105: 55–61.