ツクバネソウとクルマバツクバネソウの染色体の蛍光染色

宮本旬子¹⁾·栗田子郎²⁾

Fluorescent Staining in Chromosomes of *Paris tetraphylla* and *P. verticillata*, Liliaceae.

Junko MIYAMOTO and Siro KURITA

Abstract

The somatic chromosomes of *P. tetraphylla* A. Gray and *P. verticillata* M. v Bieberstein were stained by the fluorescent banding method using 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI). The somatic chromosome numbers of two species were 2n=10, which consisted of three pairs of metacentric chromosomes, a pair of submetacentric chromosomes and a pair of acrocentric chromosomes which were usually carrying satellites. The DAPI-positive bands appeared at the centromeric region of the metacentric chromosomes, the terminal region and the interstitial region of the short arms of the submetacentric chromosomes, and the short arm of the acrocentric chromosomes of both species. DAPI-negative bands appeared at the interstitial region of the submetacentric chromosomes and the satellites and the short arms of the acrocentric chromosomes of both species. DAPI-negative bands appeared at the interstitial region of the long arms of the acrocentric chromosomes of *P. tetraphylla*. The position of the DAPI-positive bands and the DAPI-negative bands were at the position of the C-banding positive bands which reported by Miyamoto *et al.* (1991).

Key words: fluorescent staining, DAPI, chromosome, Paris, Liliaceae

緒 言

ツクバネソウ属 $Paris\ L$. は、ヨーロッパから東アジアにかけて分布する多年生草本である。 通常ユリ科 Liliaceae に含められるが、 $Trillium \cdot Medeola \cdot Scoliopus \cdot Kinugasa$ 4 属、ある

¹⁾ 鹿児島大学理学部生物学教室 〒890鹿児島市郡元1丁目21-35 Department of Biology, Faculty of Science, Kagoshima University, 1-21-35, Korimoto, Kagoshima 890, Japan.

²⁾ 千葉大学理学部生物学教室 〒263千葉市稲毛区弥生町 1 丁目33 Department of Biology, Faculty of Science, Chiba University, 1-33, Yayoi-cho, Inage-ku, Chiba, 263, Japan.

いは Trillium・Medeola・Scoliopus・Kinugasa・Daiswa 5 属とともにエンレイソウ科 Trilliaceae としてユリ科とは区別される場合(Hutchinson 1973, Dahlgren et al. 1985)がある。また Kinugasa 属や Daiswa 属を広義の Paris 属に含めることがある(Hara 1969, Li 1984)。日本にはツクバネソウ P. tetraphylla A. Gray, クルマバツクバネソウ P. verticillata M. v Bieberstein が分布する。ツクバネソウ P. tetraphylla は北海道南西部・本州・四国・九州の主に山地帯落葉広葉樹林と奥尻島・モネロン島・屋久島に生育する。クルマバツクバネソウ P. verticillata は北海道・本州・四国の主に亜高山帯針葉樹林内とシベリア東部・中国北東部・朝鮮半島・千島列島(クリル諸島)・サハリンに生育する。また前述のようにこの 2 種の他に本州東北部に産する日本固有種キヌガサソウ Kinugasa japonica Tatewaki et Suto をツクバネソウ属 P. japonica (Franchet et Savatier) Franchet として扱うことがある。

日本産のツクバネソウ P. tetraphylla とクルマバツクバネソウ P. verticillata の核型に関しては、Gotoh (1933)、Haga (1934)、 Hara (1969)、 Kayano (1961)、 Kurabayashi (1952)、Stow (1935)、および Suzuki and Yoshimura (1986)が報告した。それらによると 2 種の染色体数は通常 2 n=10、基本数 x=5 で 2 倍体(2 x)である。体細胞染色体は大型の中部動原体型染色体、中型の中部動原体型染色体、小型の中部動原体型染色体、次中部動原体型染色体および端部動原体型染色体それぞれ 1 対から構成されている。また低温処理または前処理を伴う染色方法によってツクバネソウ P. tetraphylla の染色体に濃淡が現れることが報告された(Kurabayashi 1952、Noda 1963)。またツクバネソウ P. tetraphylla について C バンド法による分染が行われ、個体によって分染パターンに変異があることが明らかになった(Miyamoto and Kurita 1990)。さらに日本産の 2 種を含む18分類群について C バンド法による分染が行われ、染色体画像解析システムを用いて詳細なイデオグラムが描かれた(Miyamoto et al. 1992)。各分類群の染色体には C バンド法で濃染される部分と淡染される部分が存在し、分類群によって一定の位置に現れる濃染部と分類群内で変異を示す濃染部があることが明らかになった(Miyamoto et al. 1992)。

C バンド濃染部は構成的異質染色質(constitutive heterochromatin)と呼ばれ,DNA 反復配列と特異的な非ヒストン蛋白質が存在すると考えられてきた。異質染色質部分の DNA 反復配列には $A(rr) T(f \in V)$ 塩基対が多く含まれるものと $G(f \in V) T(f \in V)$ 塩基対が多く含まれるものがあることが明らかになってきた。さらに近年反復配列部分の塩基配列が決定され,その構造的機能的多様性が示唆された($Vogt\ 1990$)。ただしこれらの研究は主にヒトなど哺乳類の染色体を材料としていて,植物を材料とした研究例は少ない。

ツクバネソウ属 Paris の染色体は比較的大きいため染色状態の詳細な観察に適している。本研究では日本産のツクバネソウ P. tetraphylla とクルマバツクバネソウ P. verticillata の染色体を DNA の A T 塩基対に結合する蛍光色素 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) で染色して観察し、C バンド濃染部と淡染部間あるいは濃染部と濃染部間で蛍光強度に差があるか否かを調べた。

材料と方法

ックバネソウ P. tetraphylla 30個体とクルマバックバネソウウ P. verticillata 30個体をそれぞれ新潟県中頸城郡と長野県上水内郡の自然集団から採集した。採集地域は Miyamoto and Kurita (1990) において C バンド濃染部が多数現れた個体を高頻度で採集した地域と隣接して

いた。植物は千葉大学理学部内および鹿児島大学理学部内で栽培し、根端の分裂組織を観察に用いた。

まず根端を0.1% colchicine 溶液中で摂氏20度において6時間処理し、acetic acid-ethanol (1:3) を用いて摂氏4度において12時間以上固定した。その後4% cellulase と1% pectolyase を混合した液を用いて摂氏38度において1時間30分解離した。acetic acid-methanol (1:3) を滴下しながら分裂組織をスライドガラス上に展開し、充分乾燥させた。蛍光染色は Scheweizer (1976) の方法を改変して次のように行った。まずスライドガラスを MacIlvaine 緩衝液(citric acid-Na $_2$ HPO $_4$)に10分間浸潤した。0.1mg/ml actinomycin D をスライドガラス上の分裂組織に滴下して20分間処理した後、 MacIlvaine 緩衝液で洗浄した。 1μ g/ml 4'-6-diamidino-2-phenylindole (DAPI) を滴下して20分間染色し、MacIlvaine 緩衝液で洗浄した。

スライドガラスにカバーガラスをかけ、UV フィルターカセットを装着した Nikon 落射蛍光 顕微鏡を用いて1000倍で観察した。染色体像を白黒ネガフィルムで撮影してプリントした後、相 同染色体ごとに並べ変えてネガフィルムで撮影した。各個体から中期 1 核板を選び写真上で濃染 部と淡染部の長さを計測し、それぞれの種について30個体分を平均した。この平均値に基づいて イデオグラムを描いた。

結 果

本研究に用いたツクバネソウ P. tetraphylla とクルマバツクバネソウ P. verticillata の体細胞 染色体数はすべて 2 n=10であった。10本の染色体の長腕の長さの平均値と短腕の長さの平均値を示した(表 1)。体細胞中期核は大型の中部動原体型染色体,中型の中部動原体型染色体,次中部動原体型染色体,付随体(サテライト)を持つ端部動原体型染色体および小型の中部動原体型染色体各 1 対ずつの計 5 対10本の染色体から構成されていた。相同染色体 5 対からなるので,基本数x=5 の 2 倍体である。以上は過去の研究例と一致していた。なお観察した60 個体中には過剰染色体(B 染色体)を有する個体はなかった。

表 1: ツクバネソウ P. tetraphylla とクルマバツクバネソウ P. verticillata の 5 対の体細胞染色体 ABCDE の短腕 p と長腕 q の長さ。中期染色体において計測し各種30個体について平均した。数値の単位は μ m。

Chromosomes	A	В		С		D		Е		
Arms	p	q	p	q	p	q	p	q	p	q
P. tetraphylla	15.1	14.9		11.2	5.6	15.0	2.1	14.6	7.5	9.2
P. verticillata	15.8	16.7	9.1	10.8	6.6	16.3	2.0	15.4	8.1	10.7

DAPI 染色をしたツクバネソウ P. tetraphylla のほぼ中期に近い染色体の写真を示した(図1)。 観察した30個体の中の1個体の1核板の染色体を相同染色体ごとに並べた。DAPI で染色した染 色体は UV 蛍光下で青色を発し、その蛍光強度には染色体の部分によって強弱があった。 白黒 フィルムで撮影すると明るい青色を呈する強蛍光部は白く写り、暗い青色を呈する弱蛍光部は灰 色に写った。図1に示した個体の染色体では左から5本目と6本目の次中部動原体型染色体の短 腕の全体および長腕の介在部と7本目と8本目の端部動原体型染色体の付随体、短腕全体および 長腕介在部に蛍光強度の強弱による縞が現れた。これらの縞が現れる位置、大きさ、および蛍光

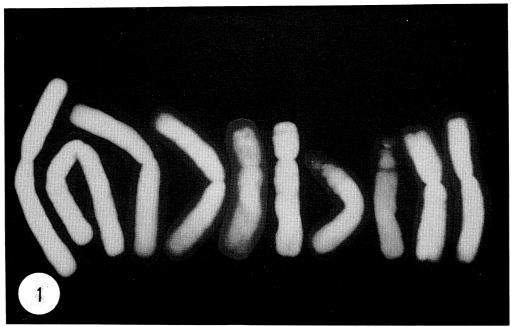


図1: ツクバネソウ P. tetraphylla の体細胞染色体の DAPI 染色像。2 n=10 (x=5)。相同染色体ごとに並べてある。蛍光強度が強く明るい青色を呈した部分は白く,蛍光強度が弱く暗い青色を呈した部分は濃い灰色に写っている。



図2: クルマバツクバネソウ P. verticillata の体細胞染色体の DAPI 染色像。2n=10 (x=5)。

強度の相対的強弱は個体によって一定であった。

DAPI 染色をしたクルマバツクバネソウ P. verticillata の中期直前の染色体の写真を示した(図2)。DAPI で染色した染色体は UV 蛍光下で前種と同様に青色を発し、その蛍光強度には染色体の部分によって強弱があった。図2に示した個体の染色体では一番左の大型の中部動原体型染色体の動原体部とその両側に蛍光の強弱による縞が現れた。左から5本目と6本目の次中部動原体型染色体の短腕の全体と7本目と8本目の端部動原体型染色体の短腕に蛍光強度の強弱に

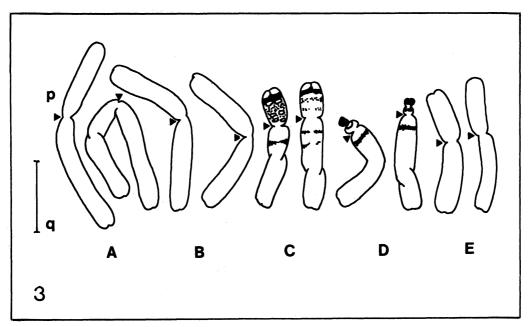


図3:図1の写真に基づいて描いたツクバネソウ P. tetraphylla の体細胞染色体のカリオグラム,大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体を C, 端部動原体型染色体を D, そして小型の中部動原体型染色体を D, を D0 とした。動原体の位置を黒三角形で指し示し,左側の縦の黒い線はD10 D2 mを表している。D3 の短腕と長腕介在部,および D3 の付随体と短腕と長腕介在部に蛍光強度の強弱による縞がある。

よる縞が現れた。本種においてもこれらの縞が現れる位置、大きさ、および蛍光強度の相対的強弱は同一個体内では一定であった。

図1に基づいてツクバネソウP. tetraphylla の染色体のカリオグラムを描いた(図3)。本稿 では大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体 を C, 端部動原体型染色体を D, そして小型の中部動原体型染色体を E と呼ぶ。動原体の位置 を黒三角形で指し示し、短腕を p. 長腕を q. とした。左側の縦の黒い線は10μmを表している。 この個体の染色体 A と B には明確な蛍光の強弱は認められなかった。ただし観察に用いた30個 体のうち18個体では染色体Aの動原体の近傍にごく小さな強蛍光部が現れ、11個体では染色体 B の動原体の近傍にごく小さな強蛍光部が現れた。染色体 C では短腕の最末端が強蛍光を示し、 その隣接部が弱蛍光、さらにその隣接部が強蛍光を示した。そこから動原体に向かって2個ずつ 2対の計4個の点状の強蛍光が観察されることがあった。図ではこの部分を C 対の左側の染色 体上に白抜きの小型の楕円として描いた。右側の染色体では強弱の境界が不明確であった。短腕 上の以上の強蛍光部と弱蛍光部以外の部分は強弱蛍光部の中間的な色をしていた。 染色体 C の 長腕の介在部にはやや蛍光が弱い部分があった。染色体 D では付随体が弱蛍光を示した。付随 体の大きさは個体によって異なる場合があり、その形は凝縮の程度によって同一個体内でも変化 した。短腕のやや付随体寄りには弱蛍光部があった。また長腕の介在部にも弱蛍光部が現れた。 この個体の染色体 E には明確な蛍光の強弱は認められなかったが、30個体中 7 個体では動原体 近傍に不明瞭なごく小型の強蛍光部が現れた。

図 2 に基づいてクルマバツクバネソウ P. verticillata の染色体のカリオグラムを描いた(図 4)。この種でも大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体を C, 端部動原体型染色体を D, そして小型の中部動原体型染色体を E と呼ぶ。動原体

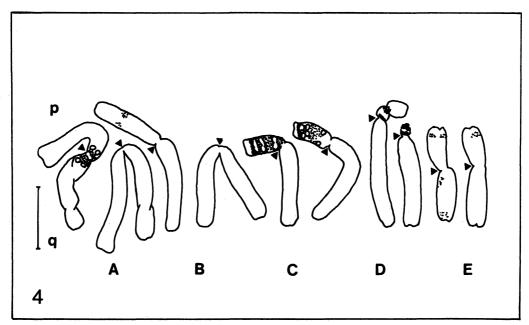


図4:図2の写真に基づいて描いたクルマバツクバネソウ P. verticillata の体細胞染色体のカリオグラム。大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体を C, 端部動原体型染色体を D, そして小型の中部動原体型染色体を E とし,短腕を P, 長腕を P0 とした。動原体の位置を黒三角形で指し示し,左側の縦の黒い線はE10 E10 E10 E10 の短腕に蛍光強度の強弱による縞がある。

の位置を黒三角形で差し示し、短腕を p, 長腕を q とした。この個体の染色体 A には動原体部 の両側に楕円状の強蛍光部が現れた。観察した30個体中8個体ではこのような強蛍光部は見られ なかった。またこの個体の染色体 B では現れていないが、30個体中 9 個体で動原体近傍に点状 の強蛍光部が現れた。図4では染色体 B の短腕の介在部にやや弱い蛍光を示す部分が見られる が再現性がなく弱蛍光部とは認めにくかった。染色体 C では短腕の最末端が強蛍光を示し、そ の隣接部が弱蛍光, さらにその隣接部が強蛍光を示した。そこから動原体に向かって2個ずつ2 対の計4個の点状の強蛍光が観察されることがあった。染色体の凝縮の程度や向きによっては対 になっている強蛍光部が融合して細い線状に光ることもあった。図では C の 1 対の染色体上に 白抜きの小型の楕円として描いた。短腕上の以上の強蛍光部と弱蛍光部以外の部分は強弱蛍光部 の中間的な色をしていた。長腕の介在部には明確な強弱が現れなかった。染色体 D の付随体に 関しては同一個体内の相同染色体間でも大きさが異なる場合があり、その形は凝縮の程度によっ ては同一個体内でも変化した。図の個体では D の染色体対のうち左側に示した染色体の方が右 側の染色体より大きい付随体を持っていた。短腕のやや付随体寄りと動原体近傍には弱蛍光部が あった。また長腕の介在部にはツクバネソウ P. tetraphylla と異なり明確な強弱がなかった。こ の個体の染色体Eの短腕端部にはやや蛍光強度の弱い部分が認められるが蛍光の強い部分と弱い 部分の境界が不明確であった。なお観察個体中4個体では動原体近傍に点状の強蛍光部が現れた。 このように2種とも DAPI 染色によって強蛍光を発する部分と弱蛍光を発する部分とその中 間的な強度の蛍光を発する部分を持っていた。ただし前中期の染色体を高倍率で観察するといず れの部分もさらに微小な直径0.1 μm未満の多数の強蛍光部と弱蛍光部からなっているように見 えた。これらの微小な強蛍光部と弱蛍光部のどちらがより多いかで染色体上に蛍光の強弱の縞模 様が現れた。

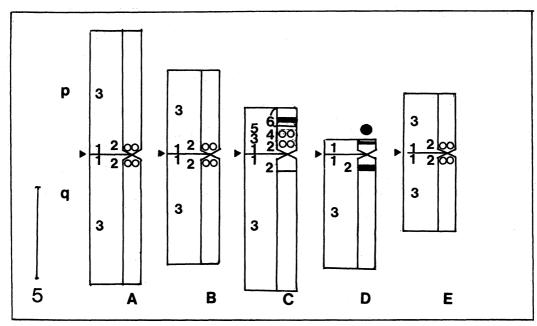


図5:表1の腕長に基づいて描いたツクバネソウ P. tetraphylla の体細胞染色体の輪郭 Miyamoto et al. (1991)の C バンドパターンに基づく各分節の番号をふり、DAPI 染色によって検出された強蛍光部と弱蛍光部の位置を模式的に表現したイデオグラム。大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体を C, 端部動原体型染色体を D, そして小型の中部動原体型染色体を E とし、短腕を p, 長腕を q とした。動原体の位置を黒三角形で指し示し、左側の縦の黒い線は10μmを表している。C バンドによる濃淡と DAPI 染色による蛍光強弱の対応については本文参照。

考 察

Miyamoto et al. (1991) は染色体画像解析システムを用いてツクバネソウ P. tetraphylla とクルマバツクバネソウ P. verticillata の C バンドパターンの詳細なイデオグラムを作成し、 さらに C バンドパターンに基づいてそれぞれの染色体の分節に 1 から最高 6 までの分節番号を付けた。表 1 の 2 種の短腕と長腕の長さの平均値は Miyamoto et al. (1991) において C バンド分染をおこなった時の 2 種の短腕と長腕の長さの平均値と等しかった。C バンド分染時の濃染部や淡染部が DAPI 染色時に強蛍光部であったのか弱蛍光部であったのかを順次検討した。

図 5 にはツクバネソウ P. tetraphylla の染色体 ABCDE の DAPI バンドに関するイデオグラムを示した。これには図 3 の個体のみではなく観察した全個体で一度でも現れたバンドがすべて描かれている。Miyamoto et al. (1991) において C バンド分染パターンに基づいて付けた分節番号を各染色体の左側に書き入れた。偶数番号は C バンド濃染部,奇数番号は淡染部を示す。短腕を p, 長腕を q とする。左の黒い線の長さは $10\,\mu$ mを示す。染色体の分節は染色体の記号と腕記号と番号で表わす。 例えば「染色体Aの短腕の最も動原体寄りの部分」は「Ap1」と呼ぶ。 2 個の白丸で示した Ap2, Aq2, Bp2, Bq2, Cp2, Cp4, Ep2, Eq2 は Eq2 に Eq2

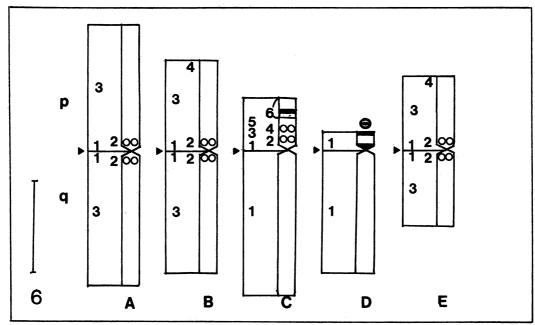


図6:表1の腕長に基づいて描いたクルマバツクバネソウ P. verticillata の体細胞染色体の輪郭に Miyamoto et al. (1991) の C バンドパターンに基づく各分節の番号をふり, DAPI 染色によって検 出された強蛍光部と弱蛍光部の位置を模式的に表現したイデオグラム。大型の中部動原体型染色体を A, 中型の中部動原体型染色体を B, 次中部動原体型染色体を C, 端部動原体型染色体を D, そして 小型の中部動原体型染色体を E とし,短腕を p, 長腕を q とした。動原体の位置を黒三角形で指し 示し,左側の縦の黒い線は10μmを表している。C バンドによる濃淡と DAPI 染色による蛍光強弱の 対応については本文参照。

面積しか占めていなかった。Dの付随体は C バンド濃染部で DAPI 弱蛍光部であった。 なお C バンド濃染部以外で DAPI 染色で強弱を示す部分は見いだせなかった。

図6にはクルマバツクバネソウ P. verticillata の染色体 ABCDE の DAPI バンドに関するイデオグラムを示した。これには図4の個体のみではなく観察した全個体で一度でも現れたバンドがすべて描かれている。前種と同様に Ap2, Aq2, Bp2, Bq2, Cp2, Cp4, Ep2, と Eq2 は Cバンド濃染部で DAPI 強蛍光部であった。Cp6 は大型の Cバンド濃染部であったが DAPI 染色による強蛍光部,弱蛍光部,そして強蛍光部の 3 部分からなっていることがわかった。Dp1 は同じく大型の Cバンド濃染部であったが DAPI 染色による強蛍光部,弱蛍光部,そして強弱蛍光部の 3 部分からなっていることが明らかになった。D の付随体は Cバンド濃染部で DAPI 弱蛍光部と強蛍光部があるように見えたが境界線が不明瞭であった。Bp4 と Ep4 は C バンド濃染部であったが DAPI では強弱どちらも示さなかった。この種でも Cバンド濃染部以外で DAPI 染色で強弱を示す部分は見いだせなかった。

以上から C バンド濃染部として検出できる異質染色質には DAPI 染色の強蛍光部,弱蛍光部,およびそれらの中間的強度の蛍光を示す部分の計 3 種類があることが明らかとなった。このことから C バンド濃染部として検出された異質染色質にはその部分に存在する反復配列を構成する DNA 塩基対の種類に片寄りがあることが示唆された。Cp6 や Dp1 は DAPI 染色の蛍光の強弱からさらに 3 分節に分割でき,ツクバネソウ P. tetraphylla の Cq2 や Dq2 はそれぞれさらに 2 分節に分割できると考えられた。

Cp6 や Dp1 の 2 箇所の C バンド濃染部は 2 種に共通して現れ個体変異を示さなかった。そ

本研究で用いたツクバネソウ属 Paris 2種では前中期の染色体を1000倍で観察したとき強蛍光部がさらに微小な強蛍光部の集合体のように見えることがあった。低倍率で強蛍光部や弱蛍光部といったいわゆる蛍光バンドとして認識される部分は微小な強蛍光部が多い部分と少ない部分であると考えられる。染色の状態や凝縮の程度によっては強蛍光部と弱蛍光部の境界が不明瞭な場合があった。蛍光強度を数量的に計測するには画像解析装置や測光装置を用いる必要がある。

AT 塩基対を多く含む異質染色質部分と GC 塩基対を多く含む異質染色質部分が存在することはマツ科 Pinaceae とユリ科 Liliaceae (Hizume et al. 1993a, 1993), タデ科 (Kuroki 1993), およびウマノスズクサ科 Aristolochiaceae (Na and Kondo 1994) など比較的大型の染色体を持つ植物で確認されつつある。今後、ヒトを中心とした動物の染色体だけでなく植物染色体においても反復配列部分の塩基配列の違いあるいは結合蛋白質の違いなどを含めたより詳細な構造の分析と機能の解明が期待される。

謝辞

本研究を行うに当たり、帝京大学の田中教之博士および愛媛大学の日語雅博博士に染色方法に関して御助言を賜った。また千葉大学理学部生物学教室旧系統学講座と鹿児島大学理学部生物学教室系統分類学講座の方々には材料の栽培に当たり御協力いただいた。心から感謝申し上げる。

文 献

- Dahlgren, R. M. T., H. T. Clifford and P. F. Yao. 1985. The families of the Monocotyledons. Springer-Verlag, USA.
- Gotoh, K. 1933. Karyologische Studien an *Paris* und *Trillium*. The Japanese Journal of Genetics, 8, 197-203.
- Haga, T. 1934. The comparative morphology of the chromosome complement in the tribe Parideae. Journal of Faculty of Science, Hokkaido Imperial University, V, 3, 1-32.
- Hara, H, 1969. Variation in *Paris polyphylla* Smith with reference to other Asiatic species. Journal of Faculty of Science, University of Tokyo, III, 10, 141-180.

- Hizume, M., S. Fujii, K. Kondo, Z. Gu, and Z. Yue. 1993. Fluorescent chromosome banding in *Keteleeria evelyniana* and *K. davidiana* var. *formosana*, Pinaceae. La Chromosomo, II, 71-72, 2443-2450.
- ---, K. Kondo, Q. Yang, D. Hong, and R. Tanaka. Karyotype, fluorescent banding and localization of rRNA gene in *Scilla scilloides* var. *albo-viridis* collected in Gansu, China. La Chromosomo, II-71-72-2437-2442.
- Hutchinson, J. 1973. The families of flowering plants. Oxford University Press, UK.
- Kayano, H. 1961. Miotic lagging of B-chromosomes in *Paris tetraphylla*. Chromosome Information Service, 2, 7.
- Kurabayashi, M. 1952, Differential reactivity of the specific chromosome segments in *Paris*. Journal of Faculty of Science, Hokkaido University, V, 6, 199-209.
- Kuroki, Y. Differential staining of sex chromosomes at male meiotic metaphase I of *Rumex acetosa* (Polygonaceae). La Chromosomo, II, 71-72, 2433-2436.
- Li, H. 1984. The phylogeny of the genus *Paris* L. Acta Botanica Yunnanica, 6, 4, 351-362.
- Miyamoto, J. and S. Kurita 1990. C-band polymorphism in the karyotype of *Paris tetraphylla* A. Gray (Liliaceae). Cytologia, 55, 301-313.
- ----, ---- and K. Fukui. 1991. Image analysis of C-banding patterns in two herbs: *Paris tetraphylla* A. Gray and *P. verticillata* M. v Bieb. (Liliaceae). The Japanese Journal of Genetics, 66, 3, 335-345.
- ---, ---, Z. Gu and H. Li. 1992. C-banding patterns in eighteen taxa of the genus *Paris*, Liliaceae. Cytologia, 57, 181-194.
- Na, H. and K. Kondo. 1994. A comparison of chromosome variability in *Asarum asperum* and *A. hexalobum* (Aristolochiaceae). Cytologia, 59, 2, 165-173.
- Noda, S. 1963. Karyotype and differential reaction in *Paris tetraphylla*. Chromosome Information Service, 4, 6.
- Schweizer, D. 1976. Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. Chromosoma (Berl.) 58, 307-324.
- Vogt, P. Potential genetic functions of tandem repeated DNA sequences blocks in the human genome are based on a highly conserved "chromatin folding code". Human genetics, 84, 301-336. 1990.