

DOI: 10.11913/PSJ.2095-0837.2022.10011

侯晨曦, 翟星光, 吴丹丹, 周永红, 张昌兵, 张海琴. 曲穗草属天然杂种的鉴定及形成研究[J]. 植物科学学报, 2022, 40(1): 11~20  
 Hou CX, Zhai XG, Wu DD, Zhou YH, Zhang CB, Zhang HQ. Identification and formation of natural hybrids of *Campeostachys* in Triticeae[J]. Plant Science Journal, 2022, 40(1): 11~20

## 曲穗草属天然杂种的鉴定及形成研究

侯晨曦<sup>2</sup>, 翟星光<sup>2</sup>, 吴丹丹<sup>2,4</sup>, 周永红<sup>2,4</sup>, 张昌兵<sup>3\*</sup>, 张海琴<sup>1,4\*</sup>

(1. 四川农业大学草业科技学院, 成都 611130; 2. 四川农业大学小麦研究所, 成都 611130;

3. 四川省草原科学研究院, 成都 610000; 4. 西南作物基因资源发掘与利用国家重点实验室, 成都 611130)

**摘要:** 本研究通过形态学、细胞学、系统发育分析等方法对小麦族曲穗草属(*Campeostachys*)的两株疑似天然杂种进行鉴定, 探究其可能的亲本及杂种形成机制。结果显示: 两株天然杂种在形态上与短芒曲穗草(*Campeostachys breviaristata* (Keng) Y. H. Zhou, H. Q. Zhang et C. R. Yang.)相近, 长势优于后者, 但其花粉育性(13.30%和21.20%)和结实率(10.70%和18.60%)较低; 细胞学分析表明两株天然杂种均为六倍体( $2n = 42$ ), 染色体组成为StStYYHH; 系统发育分析结果表明两株杂种的可能亲本为短芒曲穗草、无芒披碱草(*Elymus submuticus* Keng)、黑紫披碱草(*Elymus atratus* (Nevski) Hand. -Mazz)。基于杂种具有无芒或短芒的特征, 结合形态学特征, 推测短芒曲穗草和无芒披碱草为两株天然杂种可能的亲本供体, 且短芒曲穗草为母本。

**关键词:** 曲穗草属; 天然杂种; *DMC1*; *rps16*

中图分类号: S543<sup>+</sup>.9

文献标识码: A

文章编号: 2095-0837(2022)01-0011-10

## Identification and formation of natural hybrids of *Campeostachys* in Triticeae

Hou Chen-Xi<sup>2</sup>, Zhai Xing-Guang<sup>2</sup>, Wu Dan-Dan<sup>2,4</sup>, Zhou Yong-Hong<sup>2,4</sup>,  
 Zhang Chang-Bing<sup>3\*</sup>, Zhang Hai-Qin<sup>1,4\*</sup>

(1. Grassland Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Triticeae Research Institute, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 3. Sichuan Academy of Grassland Science, Chengdu 610000, China;  
 4. State Key Laboratory of Crop Gene Exploration and Utilization in Southwest China, Chengdu 611130, China)

**Abstract:** In this study, morphological, cytological, and phylogenetic analyses were used to identify two suspected natural hybrids in the genus *Campeostachys*. Results showed that the two natural hybrids were similar to *C. breviaristata* (Keng) Y. H. Zhou, H. Q. Zhang et C. R. Yang. morphologically, but had low pollen fertility (13.30% and 21.20%) and seed setting (10.70% and 18.60%). Cytological studies showed that the two hybrids were hexaploids ( $2n = 42$ ), with StStYYHH genomes. Phylogenetic analysis based on the nuclear gene *DMC1* and chloroplast gene *rps16* showed that the possible parents of the natural hybrids were *C. breviaristata*, *Elymus submuticus* Keng, and *Elymus atratus* (Nevski) Hand. -Mazz, with *C. breviaristata* being the female parent. Considering the hybrids had no or short awns, we inferred that *C. breviaristata* (female parent) and *E. submuticus* may be the parental species of these two natural hybrids.

收稿日期: 2021-08-09, 修回日期: 2021-12-09。

基金项目: 国家自然科学基金(31870309、31670331); 阿坝州科技局项目(R21YYJSYJ0014); 四川省科技厅项目(2021NZZJ0010)。This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (31870309, 31670331), Aba Prefecture Science and Technology Bureau Project (R21YYJSYJ0014), and Sichuan Province Science and Technology Department Project (2021NZZJ0010)。

作者简介: 侯晨曦(1991-), 女, 硕士研究生, 研究方向为植物系统与进化(E-mail: 690133057@qq.com)。

\* 通讯作者(Authors for correspondence). E-mail: haiqinzhang@163.com; c.b.zhang@126.com)。

**Key words:** *Campeistachys*; Natural hybrids; *DMC1*; *rps16*

自然杂交是指在没有人为干预的自然条件下，两个或多个具有不同遗传物质的群体或个体之间成功杂交的事件<sup>[1]</sup>。由于自然杂交客观存在于生物长期进化过程中，杂交后代与其亲本之间的系统发育关系从本质上形成了网状进化<sup>[2]</sup>。在含有不同染色体组组成的二倍体物种的基础上，小麦族植物不断组合成具有新的染色体组组合的多倍体物种<sup>[3]</sup>，这种网状进化模式在很大程度上丰富了小麦族物种遗传重组的类型，促进了物种间的分化与变异，使得小麦族植物表现出丰富的遗传多样性。在多个小麦族物种分布的重叠区中，常出现大量的种间、属间的自然杂种。早在 1946—1956 年间，就有学者报道了一系列小麦族物种天然杂种：冰草属(*Agropyron*)与披碱草属(*Elymus*)的三倍体杂种；冰草属、披碱草属与大麦属(*Hordeum*)的天然杂种；披碱草属、裂颖草属(*Sitanion*)和冰草属的天然杂种；披碱草属与裂颖草属的天然杂种等<sup>[4-8]</sup>。Jensen 等<sup>[9]</sup>报道了一个披碱草属与赖草属(*Leymus*)之间的属间杂种。路兴旺等<sup>[10]</sup>也对青海高原披碱草属种间天然杂种进行了细胞学鉴定。

颜济和杨俊良<sup>[11]</sup>将含 StYH 基因组的六倍体物种从披碱草属独立出来，组建成一个新属——曲穗草属(*Campeistachys*)，目前该属包括 11 种 14 变种。披碱草属和曲穗草属为同形属，形态上无法区分，但它们的遗传组成及系统起源完全不同。披碱草属为含 StH 基因组的四倍体物种，曲穗草属为含 StYH 基因组的六倍体物种，二者均为小麦族多年生植物，既能进行有性繁殖，又能通过分蘖进行营养繁殖。从繁育特性上看，它们都属于兼性自交类型，即自交为主，异交可育<sup>[12]</sup>。披碱草属和曲穗草属的这些特性(多年生、花期一致、兼性自交)为它们之间的自然杂交提供了基础。

前期研究中，在位于川西高原的四川省草原科学研究院试验基地(四川红原，海拔 3500 m)，单株种植短芒曲穗草(*Campeistachys breviaristata* (Keng) Y. H. Zhou, H. Q. Zhang et C. R. Yang.)5 年后，混合收集其种子，再将这些种子单株种植时，发现两个植株高大、叶量丰富、分蘖多、结实率低的植株，推测它们可能是短芒曲穗草与周围伴生物种发生天然杂交产生的天然杂种。因

此，本研究利用细胞学、分子系统学结合形态学特征，对其进行天然杂种倍性和基因组组成的鉴定，并探讨其可能的亲本供体及杂种形成过程，同时对从杂种上收获的种子(200 份  $F_2$  群体)进行农艺性状及结实率考察，旨在为小麦族种间杂交、基因渗透、物种进化等研究提供参考资料，并为下一步将天然杂种作为牧草或生态草进行育种利用提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究材料

两株天然杂种、200 份  $F_2$  群体及 7 份天然杂种的伴生物种均来自四川省草原科学研究院(32.7949°N, 102.5449°E)。基因组原位杂交实验探针为黎巴嫩拟鹅观草(*Pseudoroegneria libanotica* (Hackel) D. R. Dewey,  $2n = 14$ , St 基因组)及布顿大麦(*Hordeum bogdanii* Wilensky,  $2n = 14$ , H 基因组)。用于系统发育分析的 39 份材料包括：两株天然杂种、8 份曲穗草属(StYH)物种、9 份披碱草属(StH)物种、8 份拟鹅观草属(*Pseudoroegneria*, St)物种、5 份鹅观草属(*Roegneria*, StY)物种、5 份小麦族二倍体物种及 2 份外类群 *Bromus inermis* L. 和 *B. sterilis* L. (表 1)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 形态学观察和育性检测

对杂种及疑似亲本进行株高、分蘖、穗部特征(每节着生小穗数、每小穗小花数、外稃芒、内外稃是否等长、穗色)、各部位被毛情况(基生叶鞘、叶片、茎节)、小花结实率进行考察。每个性状随机选取 10 个分蘖枝进行统计，取平均值。

育性检测包括花粉育性检测和小花结实率统计。用饱和 I2-KI 溶液对植株成熟花粉进行染色，用显微镜观察统计可染花粉粒的百分率，可育花粉染为深色，不育花粉则不染色，为透明无色。每个植株统计 2000 个以上花粉粒，计算花粉育性。穗状花序成熟期统计亲本及杂种的小花结实率。

#### 1.2.2 染色体配对分析

取减数分裂盛期的幼穗，用卡诺氏 II (95%乙醇：氯仿：冰醋酸 = 6 : 3 : 1) 固定，24 h 后转入

表1 供试材料  
Table 1 Materials used in this study

编号 No.	种名 Species	2n	基因组 Genome	材料编号 Accession	来源 Origin
1	杂种 1 Hybrid 1	-	-	ZY17005	中国
2	杂种 2 Hybrid 2	-	-	ZY17006	中国
3	短芒曲穗草 <i>Campeiochys breviaristata</i> (Keng) C. R. Yang, H. Q. Zhang & Y. H. Zhou	42	StYH	ZY17007	中国
4	短芒曲穗草 <i>Campeiochys breviaristata</i> (Keng) C. R. Yang, H. Q. Zhang & Y. H. Zhou	42	StYH	ZY17009	中国
5	无芒披碱草 <i>Elymus submuticus</i> (Keng) Keng ex Keng f.	42	StYH	ZY17003	中国
6	无芒披碱草 <i>Elymus submuticus</i> (Keng) Keng ex Keng f.	42	StYH	ZY17004	中国
7	黑紫披碱草 <i>Elymus atratus</i> (Nevski) Hand. -Mazz.	42	StYH	PI 619587	中国
8	达呼里曲穗草 <i>Campeiochys dahurica</i> var. <i>dahurica</i> (Turcz. ex Griseb.) B. R. Baum, J. L. Yang & C. Yen	42	StYH	ZY11033	中国
9	麦宾草 <i>Campeiochys dahurica</i> var. <i>tangutorum</i> (Nevski) B. R. Baum, J. L. Yang & C. Yen	42	StYH	Y2092	中国
10	圆柱曲穗草 <i>Campeiochys dahurica</i> var. <i>cylindrica</i> (Franch.) B. R. Baum, J. L. Yang & C. Yen	42	StYH	Y0750	中国
11	肥曲穗草 <i>Campeiochys dahurica</i> var. <i>excelsis</i> (Turcz. ex Greseb.) B. R. Baum, J. L. Yang & C. Yen	42	StYH	ZY11034	中国
12	垂穗曲穗草 <i>Campeiochys nutans</i> Keng	42	StYH	Y2086	中国
13	髦发曲穗草 <i>Campeiochys kamoji</i> Keng	42	StYH	ZY1007	中国
14	短柄鹅观草 <i>Roegneria brevipes</i> Keng	28	StY	Y2206	中国
15	高加索鹅观草 <i>Roegneria caucasica</i> K. Koch	28	StY	H 3207	亚美尼亚
16	纤毛鹅观草 <i>Roegneria ciliaris</i> (Trin.) Nevski	28	StY	87-88 335	中国
17	大鹅观草 <i>Roegneria grandis</i> Keng	28	StY	ZY3189	中国
18	本田鹅观草 <i>Roegneria hondai</i> Kitagawa	28	StY	Y0362	中国
19	犬草 <i>Elymus caninus</i> L.	28	StH	PI 314621	苏联
20	紊草 <i>Elymus confuses</i> (Roshev.) Tzevelev	28	StH	W6 21505	蒙古国
21	猬草 <i>Elymus hystrix</i> Moench	28	StH	PI 531616	中国
22	老芒麦 <i>Elymus sibiricus</i> L.	28	StH	PI 619579	中国
23	弗吉尼亚披碱草 <i>Elymus virginicus</i> L.	28	StH	PI 490361	美国
24	蛇河披碱草 <i>Elymus wawawaiensis</i> J. Carlson et Barkworth	28	StH	PI 610984	美国
25	黎巴嫩拟鹅观草 <i>Pseudoroegneria libanotica</i> (Hackel) D. R. Dewey	14	St	PI 228389	伊朗
26	穗状拟鹅观草 <i>Pseudoroegneria spicata</i> (Pursh) A. Löve	14	St	PI 547161	美国
27	糙伏毛拟鹅观草 <i>Pseudoroegneria strigosa</i> (M. Bieb.) A. Löve	14	St	PI 595164	中国
28	托瑞拟鹅观草 <i>Pseudoroegneria tauri</i> (Boiss.) A. Löve	14	St	PI 401329	伊朗
29	糙缘拟鹅观草 <i>Pseudoroegneria stipifolia</i> (Czern. ex Nevski) A. Löve	14	St	PI 325181	俄罗斯
30	冰草 <i>Agropyron cristatum</i> (L.) Gaertn	14	P	H 4349	中国
31	澳冰草 <i>Australopyrum retrofractum</i> (Vickery) A. Löve	14	W	H 6723	-
32	智利大麦 <i>Hordeum chilense</i> Roem. & Schult.	14	H	PI 531781	智利
33	布顿大麦 <i>Hordeum bogdanii</i> Wilensky	14	H	PI 531761	中国
34	<i>Hordeum pubiflorum</i> Hook. f.	14	H	BCC 2080	-
35	大麦 <i>Hordeum vulgare</i> L.	14	I	HV-Mba	-
36	新麦草 <i>Psathyrostachys juncea</i> (Fisch.) Nevski	14	Ns	PI 314521	苏联
37	华山新麦草 <i>Psathyrostachys huashanica</i> Keng ex P. C Kuo	14	Ns	PI 531823	中国
38	无芒雀麦 <i>Bromus inermis</i> L.			W6 21403	-
39	贫育雀麦 <i>Bromus sterilis</i> L.			OSA 420	-

注: 编号 5、6、7、9、11、12、16 和 22 为伴生物种。

Note: No. 5, 6, 7, 9, 11, 12, 16, and 22 were companion species.

75% 酒精, 贮藏于 4℃ 冰箱中备用。压片及染色体配对统计参考 Zhang 等<sup>[13]</sup> 的方法。其中 C 值是平均染色体臂配对频率 (Mean pairing frequency), 计算公式为:  $C = \text{实际交叉值} / \text{理论交叉值}$ 。

### 1.2.3 基因组原位杂交 (GISH)

染色体制片 (酶解法)、探针制备 (切口平移法) 及原位杂交方法参考王龙<sup>[14]</sup> 的方法。

### 1.2.4 系统发育分析

细胞核基因 DMC1 引物设计及 PCR 扩增程序

参考 Petersen 和 Seberg 的方法<sup>[15]</sup>。叶绿体 *rps16* 引物设计及 PCR 扩增程序参考 Peterson 等<sup>[16]</sup>的程序。扩增产物的回收及纯化、目的片段的克隆及检测、阳性克隆的筛选、数据分析等参考 Lei 等<sup>[17]</sup>的方法。*DMC1* 筛选 15 个阳性菌斑、*rps16* 选 5 个阳性菌斑，送生工生物工程(上海)股份有限公司进行测序。

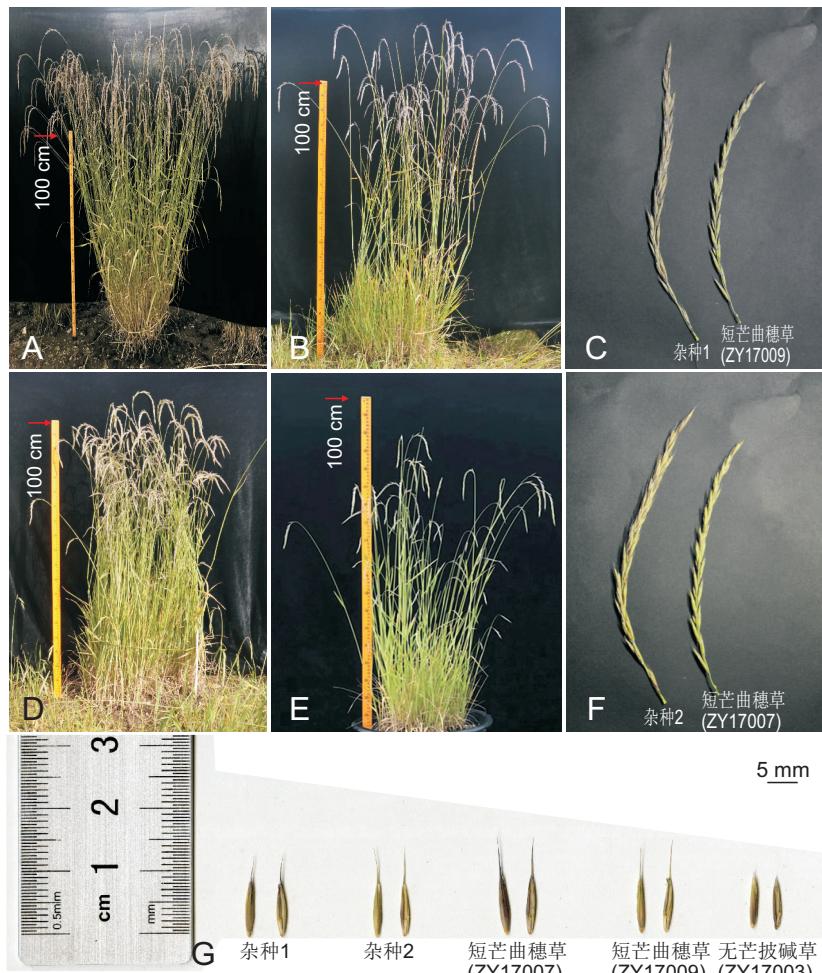
## 2 结果与分析

### 2.1 杂种形态学与育性分析

从形态上看，两株杂种表现出植株高大(株高

分别为 142 和 117 cm)、分蘖多(分别为 396 和 374 个)以及穗子更长等特征，比周边植物长得更为高大(图 1)。

在盛花期统计杂种及疑似亲本的花粉育性。结果显示，两株杂种的花粉育性分别为 13.30% 和 21.20%，而疑似亲本短芒曲穗草 (ZY17007、ZY17009) 的花粉育性较高，分别为 88.70% 和 86.80%(图 2，附表 1<sup>1)</sup>)。在开放授粉的情况下，统计杂种及疑似亲本的小花结实率。结果发现，两株杂种的结实率分别为 10.70% 和 18.60%，明显低于疑似亲本短芒曲穗草的结实率(82.50% 和



A: 杂种 1 植株; B: 短芒曲穗草 (ZY17009) 植株; C: 杂种 1 与短芒曲穗草 (ZY17009) 穗部形态; D: 杂种 2 植株; E: 短芒曲穗草 (ZY17007) 植株; F: 杂种 2 与短芒曲穗草 (ZY17007) 穗部形态; G: 杂种与短芒曲穗草、无芒披碱草的芒长比较。

A: Hybrid 1; B: *C. breviaristata* (ZY17009); C: Spikes of Hybrid 1 and *C. breviaristata* (ZY17009); D: Hybrid 2; E: *C. breviaristata* (ZY17007); F: Spikes of Hybrid 2 and *C. breviaristata* (ZY17007); G: Awns of Hybrid 1, Hybrid 2, and *C. breviaristata*.

图 1 杂种与疑似亲本的形态学特征

Fig. 1 Morphological characters of natural hybrids and their suspected parents

1) 如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站 (<http://www.plantscience.cn>) 查看本期文章。

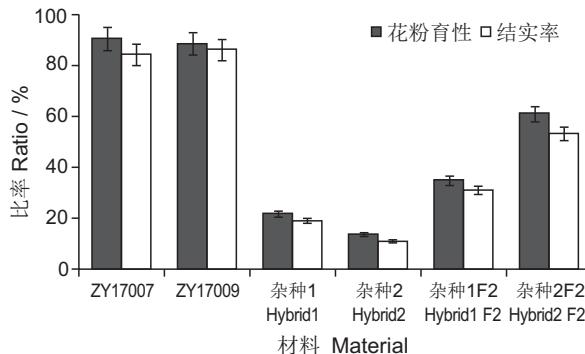


图2 杂种及疑似亲本的花粉育性及小花结实率

Fig. 2 Pollen fertility and seed setting rate of natural hybrids and their suspected parents

84.30%) (图2, 附表1)。

对两株杂种植株上收获的种子(称为 $F_2$ 代)进行繁殖,发现 $F_2$ 群体花粉育性(34.0%和59.7%)和结实率(30.4%和52.1%)均明显高于杂种,个别 $F_2$ 植株结实率可达50%以上(图2, 附表1)。统计200株杂种2的 $F_2$ 群体发现,在有芒或无芒这一形态特征上,出现了152(有芒):48(无芒)(约3:1)的分离比。

## 2.2 杂种倍性及染色体配对

核型分析结果表明,两株杂种均含42条染色体,为六倍体, $2n=6x=42$ (图3)。疑似亲本短芒曲穗草的减数分裂配对正常,平均每细胞形成21个二价体,且多为环状,C值分别为0.98和0.99(图4:A)。对两株杂种及疑似亲本短芒曲穗草花粉母细胞进行染色体配对观察,结果发现,两株杂种的染色体配对不完整,平均每细胞分别出现

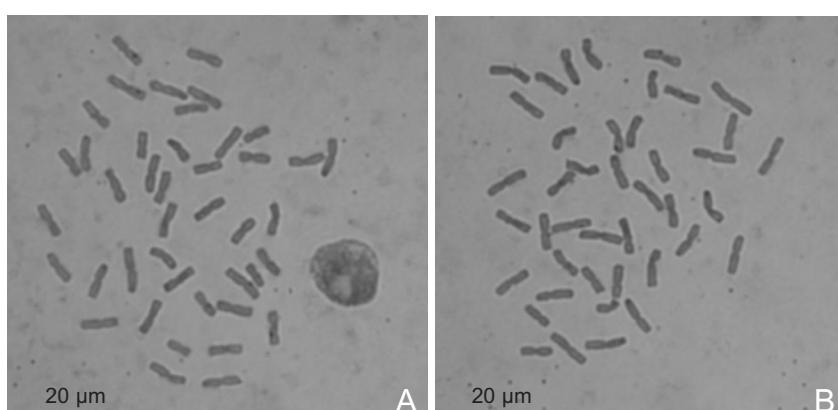
1.12和0.14的单价体,20.44和20.93个二价体,C值分别为0.92和0.94(表2, 图4: B~E)。杂种1减数分裂后期I出现了落后染色体(图4: F)。

## 2.3 基因组原位杂交分析(GISH)

进一步利用双色GISH对两株杂种的基因组组成进行鉴定。以黎巴嫩拟鹅观草(St, 绿色)和布顿大麦(H, 红色)为探针,两株杂种出现绿色、红色和蓝色信号的染色体数目均为14条,表明它们均含有14条St染色体、14条H染色体及14条Y染色体,即两株杂种的基因组组成均为StStYYHH(图5)。

## 2.4 系统发育分析

利用细胞核单拷贝序列 $DMC1$ 及叶绿体 $rps16$ 基因,对两株杂种及疑似亲本、伴生物种、曲穗草属(StYH)、鹅观草属(StY)、披碱草属(StH)及小麦族含不同基因组的二倍体物种等43份材料进行系统发育分析(数据来源见附表2<sup>1)</sup>),探讨杂种可能的亲本来源。结果显示,基于细胞核 $DMC1$ 基因构建的ML树中,两株杂种聚在3个分支中。第1个分支为St分支,杂种1与短芒曲穗草(ZY17007)、无芒披碱草(*Elymus submuticus* S. L. Chen)聚成1个小分支;杂种2与短芒曲穗草(ZY17009)聚为另1个小分支。第2个分支为Y分支,杂种2与无芒披碱草聚成1个小分支,而杂种1和杂种2与短芒曲穗草、黑紫披碱草(*Elymus atratus* (Nevski) Hand. -Mazz)聚在一起。在H分支中,杂种2与短芒曲穗草、无芒披碱草和黑紫披碱草聚成1个小分支,而杂种1与上述小分支聚成1支(图6)。以

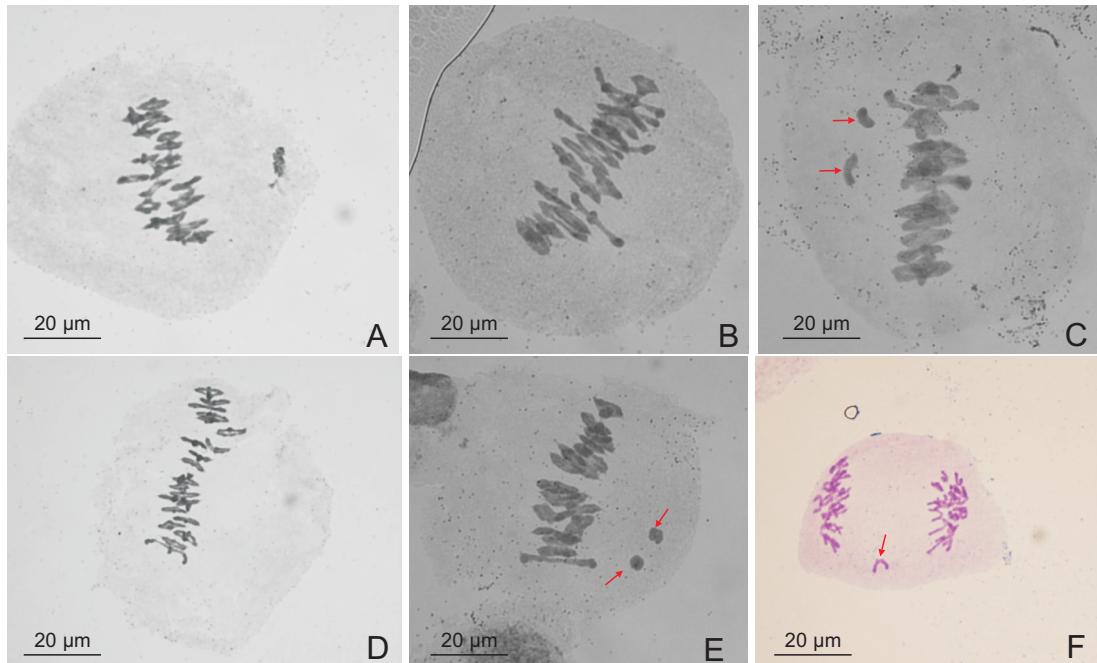
A: 杂种1,  $2n = 6x = 42$ ; B: 杂种2,  $2n = 6x = 42$ 。

A: Hybrid 1,  $2n = 6x = 42$ ; B: Hybrid 2,  $2n = 6x = 42$ .

图3 天然杂种的核型分析

Fig. 3 Karyotype analysis of natural hybrids

1)如需查阅附表内容请登录《植物科学学报》网站(<http://www.plantscience.cn>)查看本期文章。



A: 短芒曲穗草, 21 II(环状); B: 杂种 1, 5 II(棒状)+16 II(环状); C: 杂种 1, 2 I(箭头所示)+2 II(棒状)+18 II(环状); D: 杂种 2, 1 II(棒状)+20 II(环状); E: 杂种 2, 2 I(箭头所示)+1 II(棒状)+19 II(环状); F: 杂种 1, 后期 I, 落后染色体(箭头所示)。

A: *C. brevistachys*, 21 II (ring); B: Hybrid 1, 5 II (rod) + 16 II (ring); C: Hybrid 1, 2 I (arrow) + 2 II (rod) + 18 II (ring); D: Hybrid 2, 1 II (rod) + 20 II (ring); E: Hybrid 2, 2 I (arrow) + 1 II (rod) + 19 II (ring); F: Hybrid 1, anaphase I with lagging chromosomes (arrow).

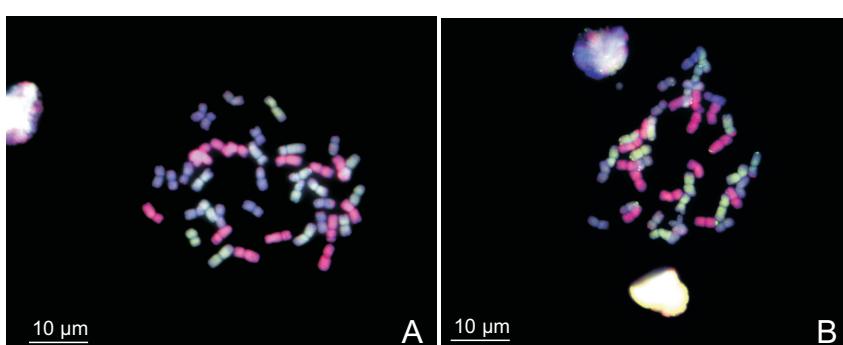
图 4 杂种及疑似亲本的染色体配对

Fig. 4 Meiotic pairing of natural hybrids and their suspected parents

表 2 天然杂种及疑似亲本的减数分裂中期 I 染色体配对情况表

Table 2 Chromosome pairing at meiotic metaphase of natural hybrids and their suspected parents

材料 Material	染色体数 $2n$	观察细胞数 Cell number	染色体构型 Chromosome association					交叉值 Chiasmata/ cell	$C$ 值 $C$ - value		
			I			II					
			环状 Ring	棒状 Rod	总 Total						
短芒曲穗草 <i>Campeostachys brevistachys</i>	42	20	0	20.65(20~21)	0.35(0~1)	21.00(20~21)		41.65	0.99		
杂种 1 Hybrid 1	42	32	1.12(0~4)	18.38(16~21)	2.06(0~5)	20.44(19~21)		38.81	0.92		
杂种 2 Hybrid 2	42	70	0.14(0~2)	18.43(14~21)	2.47(0~7)	20.93(20~21)		39.33	0.94		

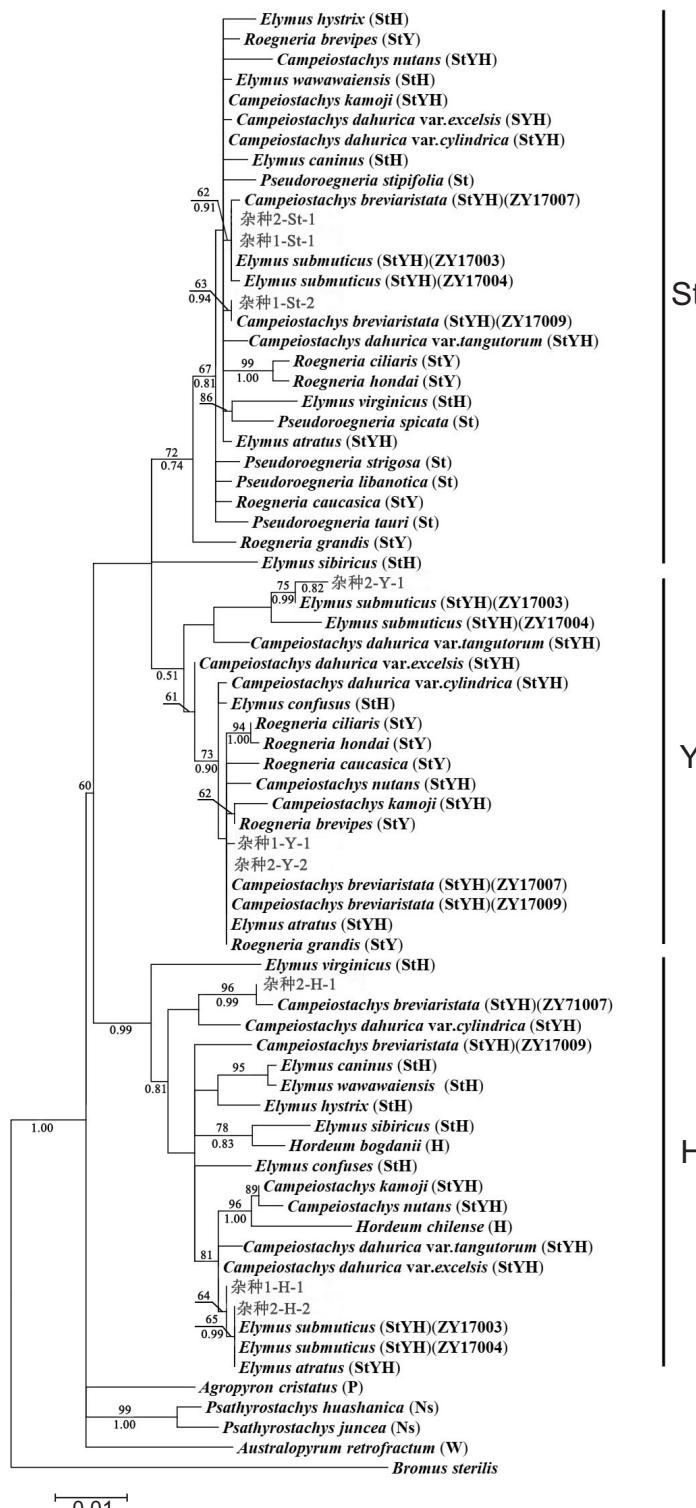


双色 GISH 分别以黎巴嫩鹅观草( $2n = 2x = 14$ , St 基因组, 绿色)和布顿大麦( $2n = 2x = 14$ , H 基因组, 红色)为探针。A: 杂种 1; B: 杂种 2。

Bicolor GISH probed with genomic DNA of *Pseudoroegneria libanotica* ( $2n = 2x = 14$ , St genome, green) and *Hordeum bogdanii* ( $2n = 2x = 14$ , H genome, red). A: Hybrid 1; B: Hybrid 2.

图 5 天然杂种双色 GISH

Fig. 5 Genomic *in situ* hybridization (GISH) analysis of two natural hybrids



分支上方为自展值(BS)，分支下方为后验概率(PP)。下同。

Numbers above branches are BS values; numbers below branches are posterior probabilities. Same below.

图 6 基于 DMC1 序列构建的天然杂种 ML 系统发育树

Fig. 6 Phylogenetic tree based on DMC1 sequences of natural hybrids using maximum-likelihood

上结果表明，两株杂种与短芒曲穗草、无芒披碱草及黑紫披碱草具有较近的亲缘关系，这3个物种可能参与了杂种的形成。

基于叶绿体 *rps16* 基因序列构建的 ML 树显示, 所有含 St 基因组的物种聚成了 1 个大支, 其中两株杂种与两株短芒曲穗草 (ZY17007, ZY17009) 聚成 1 个小分支。其余小麦族二倍体物种各成 1 支(图 7)。由于叶绿体基因为母系遗传, 因此可以推测, 两株杂种的母本来源于短芒曲穗草。

### 3 讨论

### 3.1 天然杂种的鉴定及亲本来源

常用的植物天然杂种鉴定方法有形态学鉴定、细胞学鉴定、遗传学鉴定以及分子系统学鉴定等。如陈丽丽等<sup>[18]</sup>对 54 份小麦族天然杂种材料进行了形态学鉴定，发现 51 份与老芒麦 (*Elymus sibiricus*)

*cus L.*) 亲缘关系更近, 3份与垂穗披碱草 (*Elymus nutans* Griseb.) 亲缘关系更近。路兴旺等<sup>[10]</sup>利用重复序列探针染色体荧光原位杂交(FISH)和GISH技术, 对采自青海高原的披碱草属种间天然杂种进行了细胞学鉴定, 并结合物种分布及形态学特征, 揭示了6种天然杂种的不同类型。相吉山<sup>[19]</sup>利用遗传学方法鉴定了小麦族12个天然杂种的基因组组成, 并分析了其染色体易位情况。本研究结合形态学、细胞学与分子系统学等不同方法对在四川红原发现的两株天然杂种进行鉴定, 结果发现, 两株杂种为六倍体, 含StStYYHH基因组。杂种染色体配对比较完整, 平均每细胞形成20.44和20.93个二价体, 可以判定为含相同StYH基因组物种的种间杂种。系统发育分析, 含StYH基因组的短芒曲穗草、无芒披碱草及黑紫披碱草可能为两株天然杂种的亲本供体, 且短芒曲穗草为母本供体。形态特征方面, 杂种的外稃具短芒, 平均芒长为

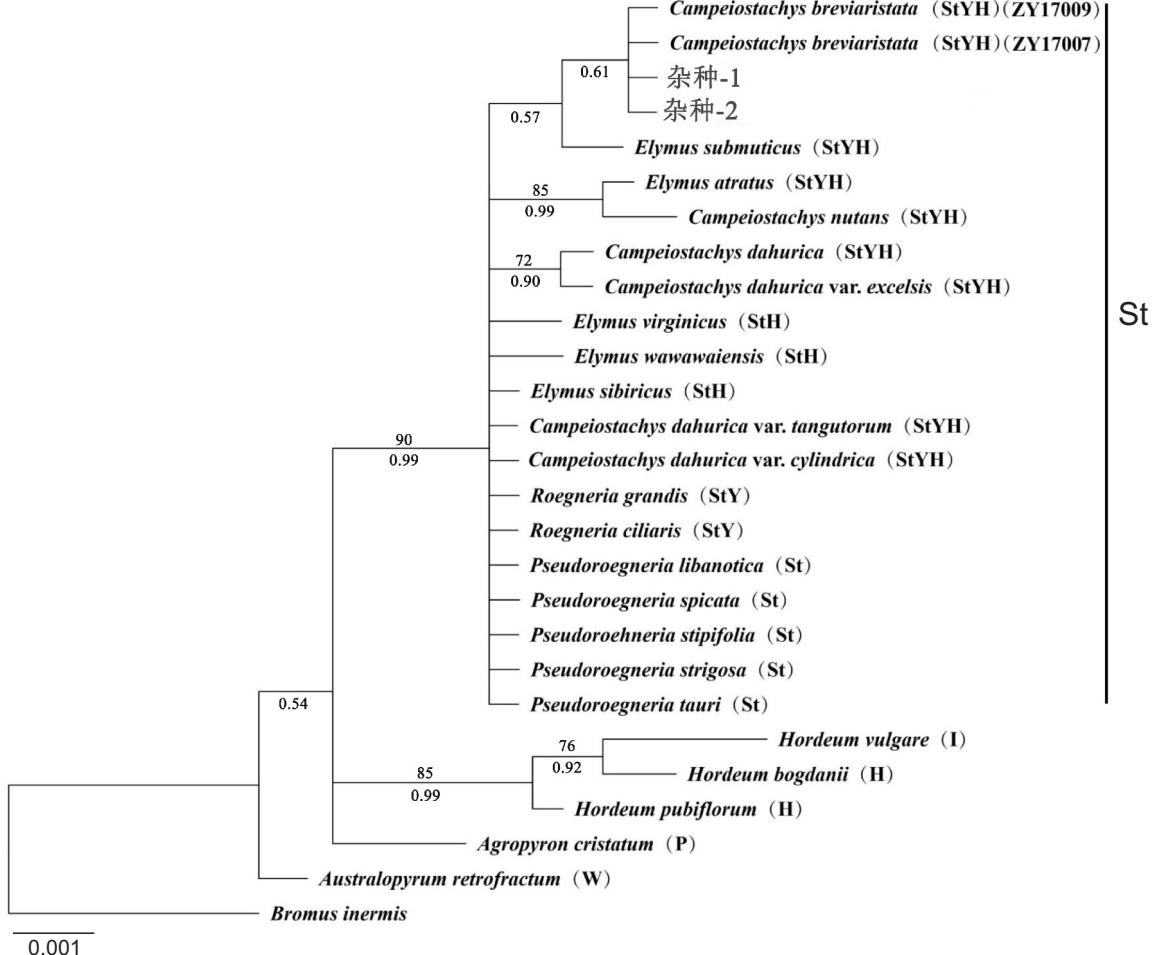


图 7 基于 *rps16* 基因序列构建的天然杂种 ML 系统发育树

Fig. 7 Phylogenetic tree based on *rps16* sequences of natural hybrids using maximum-likelihood method.

4.8~5.4 mm; 而3个可能亲本中, 短芒曲穗草外稃芒长2~5 mm, 无芒披碱草外稃芒长2 mm(图1: E), 黑紫披碱草外稃芒长10~22 mm。由于两株杂种的芒长较短, 而黑紫披碱草外稃芒长较长, 因而排除黑紫披碱草作为亲本供体, 认为两株天然杂种的可能亲本供体为短芒曲穗草和无芒披碱草。

### 3.2 天然杂种的形成过程及利用

在四川省草原科学研究院试验基地, 单株种植短芒曲穗草(多年生物种)5年后, 混合收取种子, 再将这些种子单株种植时, 发现两个植株高大、分蘖多、持绿期长、结实率低的植株, 与周围植株存在明显差别。经鉴定, 认为它们是含相同StYH基因组的短芒曲穗草和无芒披碱草同倍型种间杂交的后代。其杂种的形成过程可能是在短芒曲穗草生长期间, 周围其他物种通过自然传粉, 与短芒曲穗草进行自然杂交, 从而形成自然杂种。由于为种间杂种, 种子萌发率较高, 容易成苗。自然杂种播种后的1~2年, 植株不易辨认; 但至3~5年后, 杂种逐渐表现出返青早、成株期植株高大、分蘖多、持绿期长等特性, 与周围植株存在明显差异。杂种早期不易辨认, 其原因可能与当地气候有关, 在海拔3500 m的高原, 小麦族植物播种当年一般不能结实, 只能进行营养生长, 难以通过生殖器官进行辨认; 随着种植时间的推移, 杂种的杂种优势表现的愈发明显, 如返青早、分蘖多、植株高大等, 这些表型特征在田间很容易辨认。

本研究发现的两株天然杂种具有外稃被短芒的特征, 在形态上很容易识别。结合形态学、细胞学及分子系统学分析, 我们认为两株杂种为短芒曲穗草和无芒披碱草种间杂交的后代, 且短芒曲穗草为母本, 无芒披碱草为父本。

本研究发现杂种F<sub>2</sub>群体的花粉育性和结实率得到了不同程度的提高, 某些植株结实率能达到50%以上。因此, 这些种间天然杂种通过不断自交或杂交, 有望获得育性高、牧草性状好的优良新材料, 有利于今后牧草新品种的选育。

**致谢:**感谢美国国家植物种质资源库(American National Plant Germplasm System, Pullman, Washington, USA)提供部分研究材料。

### 参考文献:

- [1] Arnold ML. *Iris nelsonii* (Iridaceae): Origin and genetic composition of a homoploid hybrid species[J]. *Am J Bot*, 1993, 5: 577.
- [2] Mason-Gamer, Roberta J. Reticulate evolution, introgression, and intertribal gene capture in an allohexaploid grass[J]. *Syst Biol*, 2004, 53(1): 25~37.
- [3] 卢宝荣. 小麦族遗传资源的多样性及其保护[J]. 生物多样性, 1995, 3(2): 63~68.
- Lu BR. Diversity and conservation of the Triticeae genetic resources[J]. *Chinese Biodiversity*, 1995, 3(2): 63~68.
- [4] Stebbins GL, Vaarama A. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae I. *Elymus*, *Sitanion*, and *Agropyron*[J]. *Am J Bot*, 1946, 33: 338~351.
- [5] Stebbins GL, Valencia JI, Valencia RM. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. II. *Agropyron*, *Elymus* and *Hordeum*[J]. *Am J Bot*, 1946, 33: 579~586.
- [6] Stebbins GL, Walters MS. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. III. Hybrids involving *Elymus condensatus* and *E. triticoides*[J]. *Am J Bot*, 1949, 36: 291~301.
- [7] Stebbins GL, Pun FT. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. VI. Chromosome pairing in *Secale cereale* × *Agropyron intermedium* and the problem of genome homologies in the Triticeae [J]. *Genetics*, 1953, 38: 600~608.
- [8] Stebbins GL, Snyder LA. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. IX. Hybrids between western and eastern North American species[J]. *Am J Bot*, 1956, 43: 305~312.
- [9] Jensen KB, Redinbaugh MG, Blood M, Horton WH, Asay KH. Natural hybrids of *Elymus elymoides* × *Leymus salinus* subsp. *salmonis* (Poaceae: Triticeae)[J]. *Crop Sci*, 1999, 39(4): 976~982.
- [10] 路兴旺, 刘博, 刘瑞娟, 窦全文. 青海高原披碱草属种间天然杂种的细胞学鉴定[J]. 植物研究, 2019, 39(6): 846~852.
- Lu XW, Liu B, Liu RJ, Dou QW. Cytogenetic identification on interspecific hybrids in genus *Elymus* L. of Qinghai Plateau[J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2019, 39(6): 846~852.
- [11] 颜济, 杨俊良. 小麦族生物系统学: 第5卷[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011.
- [12] 德英, 乌吉玛, 穆怀彬, 解继红, 赵来喜. 3种披碱草属(*Elymus*)牧草交配系统研究[J]. 植物遗传资源学报, 2015, 16(4): 903~906.
- De Y, Wu JM, Mu HB, Xie JH, Zhao LX. Study on the

- mating system of three species of *Elymus* forages [ J ]. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2015, 16(4): 903–906.
- [ 13 ] Zhang HQ, Yang RW, Dou QW, Tsujimoto H, Zhou YH. Genomic constitutions of *Hystrix patula*, *H. duthiei* ssp. *duthiei* and *H. duthiei* ssp. *longearistata* (Poaceae: Triticeae) revealed by meiotic pairing behavior and genomic in-situ hybridization[ J ]. *Chromosome Res*, 2006, 14(6): 595–604.
- [ 14 ] 王龙. 偃麦草属高倍性物种染色体组组成及系统发育研究 [ D ]. 成都: 四川农业大学, 2017.
- [ 15 ] Petersen G, Seberg O. Molecular evolution and phylogenetic application of *DMC1* [ J ]. *Mol Phylogenet Evol*, 2002, 22(1): 43–50.
- [ 16 ] Peterson PM, Romaschenko K, Johnson G. A classification of the Chloridoideae (Poaceae) based on multi-gene phylogenetic trees [ J ]. *Mol Phylogenet Evol*, 2010, 55(2): 580–598.
- [ 17 ] Lei YX, Liu J, Fan X, Sha LN, Wang Y. Phylogeny and molecular evolution of the *DMC1* gene in the polyploid genus *Roegneria* and its affinitive genera (Poaceae: Triticeae) [ J ]. *Bot J Linn Soc*, 2017, 186: 129–142.
- [ 18 ] 陈丽丽, 吴婧, 张昌兵, 李达旭, 白史且. 披碱草属天然杂种形态学鉴定[ J ]. 草学, 2019(5): 24–30.
- [ 19 ] 相吉山. 青藏高原地区小麦族野生近缘植物天然杂种的遗传鉴定[ D ]. 西宁: 青海大学, 2008.

(责任编辑: 李惠英)