

密级：

论文编号：

中国农业科学院 学位论文

披碱草属穗型下垂类种质的分类鉴定
及其遗传变异分析

**Classification Identification and Genetic Variation Analysis
of Spike-drooping Germplasm of *Elymus***

硕士研究生：卢红双

指导教师：徐柱

申请学位类别：农学硕士

专 业：草业科学

研究方 向：牧草种质资源

培 养 单 位：中国农科院研究生院

草原研究所

提交日期 2007年6月

Secrecy:

No.

Chinese Academy of Agricultural Sciences
Master Dissertation

**Classification Identification and Genetic Variation Analysis
of Spike-drooping Germplasm of *Elymus***

Ms. Candidate: LuHongShuang

Advisor: Xu Zhu

Major: Grassland Science

Specialty: Forage Germplasm Resources

Chinese Academy of Agricultural Sciences

June 2007

独创性声明

本人声明所呈交的论文是我个人在导师指导下进行的研究工作及取得的研究成果。尽我所知，除了文中特别加以标注和致谢的地方外，论文中不包含其他人已经发表或撰写过的研究成果，也不包含为获得中国农业科学院或其它教育机构的学位或证书而使用过的材料。与我一同工作的同志对本研究所做的任何贡献均已在论文中作了明确的说明并表示了谢意。

研究生签名：

时间： 年 月 日

关于论文使用授权的声明

本人完全了解中国农业科学院有关保留、使用学位论文的规定，即：中国农业科学院有权保留送交论文的复印件和磁盘，允许论文被查阅和借阅，可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。同意中国农业科学院可以用不同方式在不同媒体上发表、传播学位论文的全部或部分内容。

(保密的学位论文在解密后应遵守此协议)

论文作者签名：

时间： 年 月 日

导师签名：

时间： 年 月 日

论文评阅人、答辩委员名单

(此页请复印论文答辩会上专家签名的一份!)

摘 要

对采自 8 个不同地区的 49 份穗型下垂类披碱草属种质材料进行了形态学分类鉴定。并利用 25 个形态学特征对这些种质进行了主成分分析和聚类分析、利用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳 (Acid polyacrylamide gel electrophoresis) 对其中的 37 份材料进行了醇溶蛋白遗传多样性分析、9 份材料进行了染色体数目的观察、1 份材料进行了核型分析。

鉴定结果表明,49 份材料共包括老芒麦(*Elymus sibiricus*)、垂穗披碱草(*Elymus nutans*)、短芒披碱草(*Elymus breviaristatus*)三个种。在鉴定过程中发现,这些种质的形态学性状在种间及种内不同居群(population)间都存在较大的变异。根据这些形态变异和聚类结果,可将垂穗披碱草分为典型垂穗披碱草、高大多小穗垂穗披碱草和分枝型垂穗披碱草 3 种变异类型;老芒麦分为典型老芒麦、粗壮多花老芒麦、分枝型老芒麦和密穗老芒麦 4 种变异类群,其中密穗老芒麦与垂穗披碱草的形态学性状存在很多交叉。

37 份供试材料[包括 21 份老芒麦(*Elymus. sibiricus*)、15 份垂穗披碱草(*Elymus. nutans*)、1 份短芒披碱草 (*Elymus. breviaristatus*)]醇溶蛋白多样性分析结果表明,各材料间具有较高水平的醇溶蛋白多态性。37 份材料共分离出 42 条不同的带纹,多态率达 100%。Nei's 基因多样性指数平均为 0.3662,平均 Shannon 指数为 0.5457。值得提出的是,唯一的一份短芒披碱草 QLB1 与 QLN6 (垂穗披碱草)具有完全相同的醇溶蛋白图谱,而这两份材料在外稃芒长上具有明显的不同。

对 9 份材料进行的染色体数观察结果表明,典型老芒麦和典型垂穗披碱草染色体数目与前人观察结果相同,粗壮多花老芒麦和分枝老芒麦具有与典型老芒麦相同的染色体数。但是,密穗老芒麦 XZS3,每个根尖细胞中的染色体数目是 42 条,与前人对老芒麦染色体数目的报导并不相符。对这份材料进行的核型分析结果显示,XZS3 的根尖细胞染色体数目为 42。核型公式为 $2n=6x=42=34s+8sm$,染色体总长度为 $146.80\mu\text{m}$ 。与前人对垂穗披碱草核型分析研究结果相似。认为这份材料归为垂穗披碱草居群更为合理。

关键词 披碱草属 穗型下垂 分类鉴定 醇溶蛋白 染色体数目

Abstract

In this paper, we made morphological identification and classification for the 49 spike-drooping *Elymus* germplasm material collected from 8 different regions of china, and made gliadin diversity analysis for 37 materials of them. We also observed the number of chromosome of 9 materials and made Karyotype analysis for 1 material among the 9.

The result of identification showed that 49 germplasm materials belong to the following three species: *E.sibiricus*, *E.nutans* and *E.breviaristatus*. Obvious variations of morphological characters were discovered among different species and among different populations of the same species. According to the variations of morphological characters and the result of classify we divided *E.sibiricus* into four different groups(ecotypes): typical *E.sibiricus*, strong multi-flower *E.sibiricus*, spike-ramosed *E.sibiricus* and spikelet-densing *E.sibiricus*. *E.nutans* is divided into 3 different groups(ecotype): typical *E.nutans*, high multi-spikelet *E.nutans* and spike-ramosed *E.sibiricus*.

The result of gliadin diversity anlysis indicated that different populations of the material had abundant variation and high genetic diversity. 42 bands were separated from 37 materials. polymorphic loci percentage has reached 100%. The average Nei's gene diversity is 0.3662, and the average Shannon index is 0.5457. It is worthy to be mentioned that the only *E.breviaristatus* QLB1 has the totally same gliadin pattern with QLN6(*E.nutans*), though it is abviously diffrence for two material in awn length of lemma.

We made observation on the number of chromosome of 9 materials, and the result shows that the number of chromosome of typical *E.sibiricus* and the number of chromosome of typical *E.nutans* are the same with the observation result made by previous researcher. strong multi-flower *E.sibiricus* and spike-ramosed *E.sibiricus* have the same number of chromosome with typical *E.sibiricus*. But the number of chromosome observed in every cell of root-point of spikelet-densing *E.sibiricus* XZS3 is 42. According to the result of morphological identification, the chromsome number reported by previous researchers are not the same with it. Considering the speciality of XZS3 material, we made Karyotype analysis to it. The result shows that the chromosome number of cell of root-point of XZS3 is 42. Karyotype expressions is $2n=6x=42=34s+8sm$, the total length of the chromosome is 146.80 μ m. Compared with the karyotype research result of *E.nutans*, we can see that the karyotype character of XZS3 is simlarily with the karyotype character of *E.nutans*, which also indicates that this material should belongs to *E.nutans* population.

Key word *Elymus* spike-drooping identification and classification gliadin number of chromosome

目 录

第一章 文献综述	1
1.1 披碱草属植物的分类历史和地理分布	1
1.2 披碱草属植物的形态特征	3
1.3 披碱草属植物的国内外研究进展	3
1.3.1 形态学水平的研究	4
1.3.2 细胞学水平的研究	4
1.3.3 生化水平的研究	7
1.3.4 DNA 分子水平的研究	8
1.4 披碱草属植物遗传多样性研究存在问题与展望	9
1.5 研究内容	10
1.6 研究的目的意义	10
1.7 技术路线	11
第二章 披碱草属植物的分类鉴定及其形态学变异分析	12
2.1 材料与方法	12
2.1.1 试验材料与小区自然概况	12
2.1.2 试验方法	12
2.1.3 数据计算和统计处理	15
2.2 结果与分析	16
2.2.1 种质鉴定	16
2.2.2 形态学特征的基本统计分析	16
2.2.3 主成分分析	17
2.2.4 系统聚类分析	错误! 未定义书签。
2.3 讨论	20
第三章 披碱草属植物的醇溶蛋白分析	23
3.1 材料与方法	23
3.1.1 材料来源	23
3.1.2 试验方法	23
3.2 结果与分析	24
3.2.1 数据处理	24
3.2.2 结果分析	25
3.3 讨论	29
3.3.1 实验方法与操作须注意问题	29
3.3.2 醇溶蛋白电泳分析披碱草属种植遗传多样性的可行性	29
第四章 部分种质材料的染色体观察	31
4.1 实验材料与方法	31
4.1.1 材料来源	31

4.1.2 试验方法	31
4.2 结果与分析	33
4.2.1 染色体数目的观察.....	33
4.2.2 XZS3 的核型分析.....	35
4.3 讨论	36
第五章 全文结论.....	37
5.1 形态学鉴定及其聚类分析	37
5.2 醇溶蛋白多样性分析	37
5.3 细胞学水平的研究	37
5.4 建议	38
参考文献.....	39
致 谢.....	45
作 者 简 历.....	46
附录 1 部分材料照片	47
附录 2 部分材料的染色体照片	50

英文缩略表

英文缩写	英文全称	中文名称
A-PAGE	Acid polyacrylamide gel electrophoresis	酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳
ISSR	Inter-simple sequence repeat	简单重复序列间扩增
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA	随机扩增多态性 DNA
AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism	扩增片段长度多态性
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism	限制性片段长度多态性
SSR	Simple Sequence Repeat	微卫星分子标记
H	Gene diversity index	基因多样性指数
ED	EUCLID distance coefficient	欧氏距离系数
P	Percentage of polymorphic locus	多态为点比例
GS	Genetic similarity	遗传相似系数
UPGMA	Unweighted pair-group method using arithmetic averages	不加权算数平均对群法
D	Simpson index	Simpson 指数

第一章 文献综述

1.1 披碱草属植物的分类历史和地理分布

披碱草属 (*Elymus* L.) 是禾本科 Poaceae 小麦族 Triticeae 中的一个多年生属, 该属植物仅含多倍体物种, 其倍性范围在四倍体 ($2n=4x=28$) 到八倍体 ($2n=8x=56$) 之间。对于披碱草属的分类处理, 自林奈 (1753) 建立该属以来曾有过多次大的变动, 其分属界限也有很大的差异。按历史上不同分类学家的处理, 披碱草曾经包含了冰草属 *Agropyron* Gaertn、猬草属 *Hystrix* L.、棱轴草属 *Taeniatherum* Nevski、鹅观草属 *Roegneria* C.koch、赖草属 *Leymus* L. 和偃麦草属 *Elytrigia* Desv. (Runemark H, 1868; Hitchcock A S, 1951, Could F W, 1947; Linnaeus C, 1753; Bentharn G, 1981)。该属也曾被处理为只含几个种的小属 (Nenski S A, 1934)。目前分歧较大的分类处理仍然是将披碱草属与鹅观草属合并为一个属 (即: *Elymus*), 还是将其划分为两个独立的属 (Baum B R, Yang J L, 1991; Löve A, 1984; 耿以礼, 陈守良, 1963)。不同分类处理的主要分歧在于形态学上披碱草属的每穗轴节含 2 至多个小穗, 而鹅观草属的每穗轴节上仅着生一个小穗。但试验已证明每穗轴节上着生小穗的数目与其亲缘关系的远近并不相关。因此, 按照目前广为接受的 Löve (1984) 和 Dewey (1984) 基于染色体组系统的分类处理披碱草属包括了在形态上每穗轴节含一至多个小穗, 颖呈披针形或卵状披针形, 每小穗含多枚小花的多年生物种。广义的披碱草属在全世界共有 150 余种, 而我国约有 80 余种 (包括鹅观草属), 是小麦族中最大的一个属。广泛分布于温带地区, 特别是北半球的温带地区。狭义的披碱草属, 含有 40 多种, 分布于北半球温寒地带, 东亚和北美各占一半, 仅少数种类分布至欧洲。

按照中国植物志第九卷第三分册记载 (郭本兆, 1987), 披碱草属植物在我国大约有 12 种、1 个变种, 根据其形态特征分为花序直立和花序下垂两部分。花序直立的包括 6 个种、1 个变种, 其中披碱草、肥披碱草、麦宾草、圆柱披碱草的外部形态特征和地理分布比较相近, 很多研究者一般将其归为 *Elymus dahuricus* complex (Zhou Y H, Zheng Y L et al. 2000, Lu B R. 1993, Agafonoy A. Baum V et al. 2001), 在形态学水平上很难区分, 经常造成标本的错误鉴定。也有部分学者曾建议将麦宾草作为肥披碱草的变种处理, 而圆柱披碱草只是披碱草的一种特殊类型 (吴征镒, 陈书坤, 2003); 青紫披碱草是披碱草的变种, 仅以植株基部叶鞘密被长柔毛, 颖脉上粗糙、疏被短硬毛与披碱草相区别。毛披碱草和青紫披碱草特产于我国内蒙古大青山 (徐柱, 2004), 与其他种具有较为明显的形态学区分特征。花序下垂的包括 6 个种, 其中短芒披碱草, 无芒披碱草和黑紫披碱草因地理分布有限, 又具有较为明

显的形态特征，比较容易区分；加拿大披碱草原产北美，为我国北京地区栽培种。老芒麦和垂穗披碱草在我国分布甚为广泛，这两个种由于各自存在不同的生态型而在形态特征上具有较多的性状交叉，中国植物志和一些地方植物志（杨锡麟，1989；吴征镒，陈书坤，2003；郭本兆，1987）对这两个种形态特征的描述也有出入（表 1.1）；

表 1.1 三种植物志对 *E.sibiricu* 和 *E.nutans* 的描述比较
Table 1.1 flora present 3 different charaterizations for *E.Nutans* and *E.sibiricus*

植物志名称	种名	株高(cm)	叶长(cm)	叶宽 (mm)	穗长(cm)	颖长(mm)	第一外稃长(mm)
Name of flora	species	plant length	leaf length	leaf width	spike length	Length of glume	the first lemma length
中国植物志 China flora	<i>E.sibiricus</i>	60-90	10-20	5-10	15-20	4-5	8-11
内蒙植物志 mengolia flora	<i>E.sibiricus</i>	50-75	9.5-23	2-9	12-18	4-6	10-12
云南植物志 Yunnan flora	<i>E.sibiricus</i>	50-90	10-22	4-9	7-17(20)	4-5	8-10
中国植物志 China flora	<i>E.nutans</i>	50-70	6-8	3-5	5-12	4-5	10
内蒙植物志 mengolia flora	<i>E.nutans</i>	40-70	(3)7-11.5	2-5	5-9(12)	3-4(5)	7-10
云南植物志 Yunnan flora	<i>E.nutans</i>	40-60	3-8	2-4	4-12	约 5	约 10mm
植物志名称	种名	芒长(mm)	叶鞘是否具毛	是否具小穗柄			
Name of flora	species	Awn length	Hairs of vagina	Spikelet petiole			
中国植物志 China flora	<i>E.sibiricus</i>	15-20	光滑无毛 smooth	无 no			
内蒙植物志 mengolia flora	<i>E.sibiricus</i>	8-18	光滑无毛	没记载 no record			
云南植物志 Yunnan flora	<i>E.sibiricus</i>	13-17	平滑无毛，分蘖者常被柔毛 smooth ,the tiller usually has soft hair	常具 1mm 的短柄 1mm short Spikelet petiole			
中国植物志 China flora	<i>E.nutans</i>	12-20	基部和根出的叶鞘具柔毛 soft hair on the base of sheath	近于无柄或具极短的柄 no petiole or only have short ones			
内蒙植物志 mengolia flora	<i>E.nutans</i>	10-20	叶鞘无毛或基部和根出叶鞘具柔毛 no hair or soft hair on the base of sheath	没记载 no record			
云南植物志 Yunnan flora	<i>E.nutans</i>	12-18	叶鞘无毛或基部者有时被疏柔毛 no hair or with hair on the base of sheath	没记载 no record			

因此造成了不少学者对 *E.sibiricus* 和 *E.nutans* 两个种的错误鉴定，而误认为 *E.sibiricus* 有两种细胞型，即 $2n=4x=28$ 和 $2n=6x=42$ (Bowden,1964；卢宝荣等，1990)。此外，*E.nutans* 在土壤瘠薄和干旱的环境下也会出现每穗轴节小穗单生的情况。地方植物志也有披碱草属植物另外新种记录，如青海植物志的青

海披碱草 *E.geminatans*、硕穗披碱草 *E.barystachyus*、西宁披碱草 *E.xiningensis*。我国披碱草属植物仅包含有 StH 和 StYH 染色体组。在各省均有分布，主要以西部和北部地区为披碱草属植物的多样性分布中心。随着披碱草属分类研究的深入，分子生物学、细胞学等方法不断运用到分类学的研究之中，越来越多学者接受广义披碱草的概念（徐柱，1997，1999；Chen Shou-liang, 2006；周永红，1990）。实验表明仅仅以形态特征为依据而建立的 *Elumus* 分类系统，需要接受现代实验分类学，包括细胞学、化学分析和分子遗传学研究结果的验证。

1.2 披碱草属植物的形态特征

披碱草属植物为多年生丛生草本。无根茎或稀具短根茎。秆直立，丛生、偶单生，下部多有崎岖。叶鞘通常无毛；叶舌膜质；叶片扁平或内卷。穗状花序顶生，直立或下垂；穗轴成熟时不碎断，棱边粗糙或具纤毛，小穗常 2—4（6）枚同生于穗轴的每节，或在上、下两端每节可有单生者，含 3—7 小花；颖近于长圆形、披针形或条状披针形，先端尖以至形成长芒，具 3—5（7）脉，脉明显而粗糙；外稃披针形，无毛或密生绒毛，先端延伸成长芒或短芒以至无芒，芒直伸或多少反曲，内稃常与外稃近等长，顶端钝尖或平截，脊上常具纤毛；花药黄色或紫色，短小。颖果长圆形，顶生茸毛。模式种：*E.sibiricus*.产西伯利亚。

1.3 披碱草属植物的国内外研究进展

披碱草属 (*Elymus* L.) 属植物不仅包括老芒麦、披碱草、垂穗披碱草等优良的牧草，是建立人工草地，打草场和天然草地不可替代的组成部分，而且其中的很多野生种均含有抗普通小麦 (*Triticum aestivum*) 和大麦等栽培品种病虫害和抗逆境的优良基因，如抗大麦黄矮病 (BYDv) (Sharma H C, Gill B S, 1984)、抗大麦锈病 (Bothmer R von, Jacobsen N et al., 1991) 和抗盐 (Meguire P E, Dvorak J, 1981) 等，可以通过远缘杂交，染色体工程和基因工程等技术将这些抗性基因转移到具有高产特性的优良牧草种质的遗传背景中，丰富了小麦族野生近缘种遗传多样性的基因资源库，具有较高的经济利用价值。

国内外学者在对披碱草属植物的引种、育种（刘育萍，1994、云锦凤，王照兰，杜建才，1997；Lu B R, Bothmer R von, 1989, 1990）种质资源的收集、鉴定、分类（张正茂，王睿辉，李立会等 2003；陈守良，徐克学，1989）、评价（陈功，贺兰芳, 2004；于卓，SA, IGA, Suguru, 2002；毛培胜，韩建国, 2004；王世金，李健华, 1993；Zhou Y H, Zheng Y L, 2000）、利用 (Mujeeb-Kazi A, Rodriguez R, 1982) 以及系统学意义（郭延平，郭本兆，1991）等方面已

经有了很多研究报道。而对披碱草属植物遗传变异的研究主要是从形态学水平、细胞学水平、生化水平和 DNA 水平等不同水平进行的，而同一水平下的不同方法也很多。目前，任何检测遗传变异的方法，在理论上或实际应用中都有各自的优势和局限性，还不能找到一种能完全取代其他方法的技术。

1.3.1 形态学水平的研究

形态学研究是检测植物遗传变异最简便易行的方法，也是植物分类鉴定最古老、最经典的方法。长期以来，种质资源的分类、鉴定及育种材料的选择通常都是依据表型性状来进行的。通常进行披碱草属植物形态学研究所利用的表型形状主要有两类：一是符合孟德尔遗传规律的单基因性状。如叶片颜色、绒毛分级、穗颜色、穗形状等质量性状指标的观测。另一类是根据多基因决定的数量性状。如调查成熟期植株的表型性状：叶片数、穗长、穗宽、穗节数等数量性状指标。

陈守良等（1989）研究了全世界鹅观草属 *Roegneria* C. Koch 中绝大多数种类与其有关属（冰草属 *Agropyron*、披碱草属 *Elymus*、偃麦草属 *Elytrigia* 及赖草属 *Leymus*）的外部形态、解剖、细胞等 30 个性状，应用相关系数或距离系数以及各种聚类方法组合所得出的树系图，均明确显示出鹅观草属应归入披碱草属。郭延平、郭本兆（1991）以花序、小穗、小花三级结构相结合的观点结合叶表皮及成熟胚的解剖结构分析了小麦族花序的形态演化，论述了小麦族下各属的亲缘关系，提出了本族植物的系统演化树系图。袁庆华、张吉宇等（2003）以十三个田间农艺生物学性状为基本数据分析了披碱草和老芒麦各野生居群间的生物多样性，结果表明，披碱草和老芒麦野生居群间表形差异明显，多样性丰富。严学兵、周禾等（2005）以我国 9 种披碱草属植物的 40 个居群为材料，对 28 个形态特征进行了聚类和遗传变异分析，结果表明，披碱草属植物在种间和种内都具有较高的遗传多样性。由于形态标记简单直观，容易观察记载，尤其是当需要在短期内对变异性有所了解或在其它生化方法无法开展之时，形态学手段不失为一种有价值的选择。此外，形态标记结合主成分分析，也是种质遗传多样性评价和优良种质筛选的一种重要手段（胡延吉和赵檀方，1994；吴舒致贺黎裕，1997；王述民等，2002）。但是形态学标记很有限，而且数量性状较多，由于植物受不同环境的影响，产生不同的生态类型，这在很大程度上限制了形态标记的使用，所以要更准确、细致的了解居群的遗传变异情况，就必须进行更深层次的研究，并与表型性状比较和验证。

1.3.2 细胞学水平的研究

细胞学标记主要指染色体核型和带型（C-带、N-带、G-带等）。染色体核

型是指某种生物个体或某一分类群（种、亚种或变种、居群）的染色体的数目、大小、随体、着丝点位置等，是染色体分析中的一个基本方法。染色体带型是一种用染料对染色体进行分化染色，使染色体显现出深浅不同的带纹，是鉴别染色体和染色体结构变异常规而经典的技术。

披碱草属植物有三个倍性水平，即 $2n=28$ 、 42 、 56 ，含有S、H、或Y染色体组，其中S染色体组来自假鹅观草属*Pseudoroegneria*，H染色体组来自芒麦草属*Critesion*（原先属于大麦属），目前Y染色体组的来源尚不清楚（Dewey, 1983）狭义的披碱草属植物全世界约有40种以上，中国有12种1变种（包括引进种加拿大披碱草）。且均有过核型分析报道。（王克平，1981；阎贵兴等，1985，1991；刘玉红，1985；李永干，闫贵兴，1985；蔡联炳，冯海生，1997），具体见表1.2。我国披碱草属染色体数目及核型总的特征为：

1.分布于中国境内的披碱草属植物有两个倍性水平，其中老芒麦为 $2n=28$ 的四倍体，其余11种披碱草(包括1变种)均为 $2n=42$ 的六倍体。

2.披碱草属植物核型由m和sm染色体构成，每种有1-3对随体。种间差异主要表现在m和sm染色体数目、随体数目和位置。

3.具IA核型的披碱草属植物，其核型由对称向不对称方向演化的趋向不明显。

4.不同作者对披碱草植物核型的研究结果多数相同或相似，少数种略有出入。

染色体组分析法是通过衡量染色体的同源程度来研究物种与物种之间，以及属与属之间的亲缘关系和演化规律，从而建立以不同染色体组构成为基础的分类单位—属。具体地说，染色体组分析法是用一个已知染色体组成的物种—称为“分析种”(analysers)，与一个未知染色体组成的物种进行种间杂交，得到种间杂种F1，观察分析杂种F1在减数分裂过程中来自不同亲本的染色体组之间的配对行为。如果在减数分裂中期观察到正常的染色体配对或很高的染色体配对数——染色体同源(homology)，表明两亲本具有相同的染色体组成；如果染色体配对数较低而且染色体之间的联合状况较差——染色体部分同源(homoelogy)，表明两亲本的染色体组成有部分的相似性；如果杂种F1的染色体完全不发生配对——染色体没有同源关系(non-homology)，则表明两亲本的染色体组成完全不同。另外，与染色体配对行为分析相结合，对于杂种F1的育性，如：花粉育性、结实率等的观察统计，杂种与亲本种之间的形态特征的比较等，也用来作为估计亲本种之间亲缘关系的补充指标(卢宝荣，刘继红，1992；周永红，2001)。

在小麦族的染色体组分析研究中，拟鹅观草属植物的二倍体种常被作为“分析种”。Lu et al.(1991)研究了*P.cognata*与*E.semicostatus*和*E.pendulinus*杂种的细胞学，发现St染色体组与Y染色体组具有一定的同源性。Lu(1994)用*R.spicata*作“分析种”，与*R.elytrigioide*进行杂交，对杂种F1及亲本的花粉母细胞减数分裂中期I染色体配对行为进行分析，确定了*R.elytrigioide*的染色体组

表 1.2 我国披碱草属植物染色体和核型特征

Table 1.2 Chromosome and karyotype of *Elymus* in china

种名 species name	核型公式 karyotype formulae	染色体总长度 length of genome(μm)	绝对长度范围 range absolute length(μm)	相对长度范围 range of relative length(%)	染色体长度比 ratio of chromosome length(L/S)	臂长比>2:1 ratio of arm>2:1(%)	类型 type	作者 authors
老芒麦 <i>E. sibiricus</i> L.	2n=4x=28=24m+4sm(2SAT)		3.47~6.78		1.95:1	0	1A	刘玉红, 1985
披碱草 <i>E. dahuricus</i> Turcz.	2n=6x=42=32m(4SAT)+10sm(2SAT) 2n=6x=42=36m(2SAT)+6sm(4SAT) 2n=6x=42=32m(2SAT)+10sm(2SAT)	108.31	3.59~6.68 5.11~10.12	3.31~6.17	1.86:1 1.98:1	0	1A 1A	李永干, 阎贵兴, 1985, 1991; 刘玉红, 1985; 王克平, 1981
垂穗披碱草 <i>E. nutans</i> Griseb	2n=6x=42=22m+20sm(2SAT) 2n=6x=42=34m+8sm(2SAT)	148.92	4.00~10.35 5.61~8.84	2.69~6.95	2.59:1 1.58:1	0	2B 1A	阎贵兴, 云锦凤等, 1991; 刘玉红, 1985
毛披碱草 <i>E. villifer</i> C.P. Wang et H.L. Yang	2n=6x=42=38m(2SAT)+4sm(2SAT) 2n=6x=42=30m+12sm(6SAT)	158.87	5.64~10.30 5.84~11.21	3.55~6.48	1.83:1 1.92:1	0.14	1A 1A	阎贵兴, 云锦凤等, 1991; 刘玉红, 1985
青紫披碱草 <i>E. dahuricus</i> var. <i>violeus</i> C.P. Wang et H.L. Yang	2n=6x=42=32m+10sm(4SAT) 2n=6x=42=36m(4SAT)+6sm	145.79	5.31~11.17 3.70~8.93	2.54~6.12	2.10:1 2.41:1	0	1B 1B	刘玉红, 1985; 阎贵兴, 云锦凤等, 1991
紫芒披碱草 <i>E. purpuraristatus</i> Wang et H.L. Yang	2n=6x=42=28m(2SAT)+14sm(4SAT) 2n=6x=42=22m+12sm(2SAT)+8st(4SAT)	96.33	3.35~5.98 6.90~11.96	3.48~6.20	1.79:1 1.73:1	0	1A 2A	李永干, 阎贵兴, 1991; 刘玉红, 1985;
圆柱披碱草 <i>E. cylindricus</i> (Franch.) handa	2n=6x=42=32m(4SAT)+10sm(2SAT) 2n=6x=42=32m+10sm(2SAT)	96.63	3.43~6.07 5.77~11.50	3.55~6.28	1.77:1 1.99:1	0	1A 1A	李永干, 阎贵兴, 1985; 刘玉红, 1985;
麦宾草 <i>E. tangutorums</i> (Nevski) hand.-Mazz.	2n=6x=42=28m(4SAT)+14sm(2SAT) 2n=6x=42=30m(4SAT)+12sm(2SAT)	104.65	3.68~6.54 6.55~10.56	3.51~6.25	1.78:1 1.61:1	0	1A 1A	李永干, 阎贵兴, 1985; 刘玉红, 1985;
肥披碱草 <i>E. excelsus</i> Turcz	2n=6x=42=32m(4SAT)+10sm(2SAT) 2n=6x=42=34m(2SAT)+6sm(4SAT)+2st	95.07	3.08~5.78 6.19~11.48	3.24~6.08	1.88:1 1.85:1	0	1A 2A	李永干, 阎贵兴, 1985; 刘玉红, 1985;
短芒披碱草 <i>E. breviaristatus</i> (Keng) Keng f.	2n=6x=42=30m+12sm(4SAT)		6.29~10.20		1.62:1	0	1A	刘玉红, 1985;
黑紫披碱草 <i>E. atratus</i> (Nevski) Hand.-Mazz.	2n=6x=42=36m(6SAT)+6sm		4.66~7.90		1.70:1	0	1A	刘玉红, 1985;
无芒披碱草 <i>E. brachyaristatus</i>	2n=6x=42=32m+10sm(4SAT)	101.69			1.95	0.14	2A	蔡联炳, 冯海生, 1997

成为St1St1St2St2, Wang et al. (1987)分别用*P.spicata*和*R.spicata* ssp. *inermis*与*secale montanum*杂交, *P.spicata* ssp. *inermis*与*Agropyron mongolicum*杂交, 利用杂种幼胚组织培养技术, 获得了杂种F1, 对杂种F1的花粉母细胞减数分裂中期I染色体配对行为分析表明, St染色体组与P染色体组的同源性高于St染色体组与R染色体组的同源性。Wang(1986)研究了*P.seudoroegneria libanotica*与*Agropyron crisfat*的属间杂种, 结果同样发现St染色体组与P染色体组之间有较高的同源性。Zhang等(1998)分别用*P.spicata*, *R.xiliaris* var. *japonensis*和*E.canadensis*作“分析种”, 与*Roegneria grandis*杂交, 确定了*Roegneria grandis*的染色体组成为StStYY。Wang et al.(1985)研究了*P.stipifolia*与*A.cristatum*和*A.desertorum*的属间杂种, 发现杂种中St染色体组与P染色体组有较高的配对率, 表明在St基因组与P基因组之间进行基因转移是可能的。

由于披碱草属植物大多为重要的野生或栽培牧草, 与人类的生产和生活密切相关, 各国植物学家对该属植物曾作过广泛而深入地细胞遗传学研究。Dewey(1984)根据禾本科小麦族属间杂交种染色体行为观察, 提出了按基因组(染色体组)划分禾本科小麦族多年生属的分类系统。他确认披碱草属模式种老芒麦是由S和H染色体组构成的异源四倍体; 六倍体种则是由S, H或Y染色体组构成的异源六倍体。其中, S染色体组来自于假鹅观草属*P.seudoroegneria* Löve (1980), H染色体组来自于芒麦草属*Critesion Rafenesque*(1819), Y染色体组的来源尚不清楚。

1.3.3 生化水平的研究

在生化水平上研究遗传多样性主要是应用同工酶标记和非同工酶形式的蛋白质标记, 同工酶标记的基本原理是根据电荷性质差异通过蛋白质电泳或色谱技术和专门的染色反应显示出同工酶的不同形式, 从而鉴别不同基因型。乌仁齐木格等(1999)对几种小麦族禾草及其杂种进行了酯酶同工酶的研究。于卓等(1999)利用聚丙烯酰胺垂直电泳板技术对小麦族内几种远缘禾草及其杂交种进行了过氧化物酶同工酶分析。表明酯酶同工酶和过氧化物同工酶均可以作为杂种鉴定和亲缘关系分析的遗传标记。

醇溶蛋白是麦类植物种子胚乳中的主要储藏蛋白, 其在种子胚乳细胞内的积累、含量的高低及组分的变化是严格受相关基因调控的(Kumamaru et al.1987)。因此, 醇溶蛋白的差异能反映出基因表达上的差异(胡志昂等1991; 鲍晓明等1993)。醇溶蛋白在结构上为单亚基, 经过酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(Acid polyacrylamide gel electrophoresis, 简称APAGE)后, 其电泳图谱根据蛋白质分子量大小和迁移率的不同, 分为 α 、 β 、 γ 和 ω 四个区。醇溶蛋白电泳图谱不仅表现在植物种间的差异, 而且也表现在种内不同类型的差异(门中华等1999)。其电泳图谱可以作为种及种内不同类型的“指纹图”。

由于醇溶蛋白电泳具有方法简单、稳定、花费少、重复性好、所需供试材料少(一粒或半粒即可)等优点。近年来, 国内外已将醇溶蛋白电泳分析广泛应用

于植物种类鉴别 (Draper, 1987; 颜启传等, 1992)、遗传分析 (Cox et al.1985; 兰秀锦等, 1999; 杨瑞武等, 2000, 2001; 唐, 2002)、种子纯度检验 (Pogna et al.1986)、杂种优势预测 (吴卫等, 1999)、代换系和易位系以及体细胞无性系变异鉴定 (鲍晓明等, 1993) 等方面。杨瑞武等(2000)对披碱草属植物进行了醇溶蛋白研究, 其结果是披碱草属模式种 *E.sibiricus* 具有明显的醇溶蛋白遗传多样性, 然而不同收集地的 *E.sibiricus* 材料间也存在明显的醇溶蛋白遗传差异, 新疆的 *E.sibiricus* 具有较丰富的醇溶蛋白带纹, 而甘肃的 *E.sibiricus* 醇溶蛋白带纹较少。杨瑞武等利用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳对小麦族披碱草属 *Elymus*、鹅观草属 *Roegneria*、猥草属 *Hystrix* 和仲彬草属 *Kengyilia* 四个属的模式种进行了醇溶蛋白电泳分析, 结果表明四个模式种具有明显的醇溶蛋白遗传多样性, 其种间醇溶蛋白多样性高达92.3%, 其遗传差异与地理分布有关。

1.3.4 DNA 分子水平的研究

20世纪80年代以来, 分子生物学技术的快速发展为遗传多样性检测提供了更直接、精确的方法, 即直接检测DNA本身的序列变化。由于避免了根据表型性推断基因型时可能产生的各种问题, DNA分析方法称为目前最有效的遗传分析方法。分子标记的应用性评价是开展遗传多样性分析的基础工作之一 (Milbourne D et al, 1997)。分子标记是以DNA多态性为基础的, 继形态标记、细胞学标记和生化标记之后发展起来的新一代遗传标记。作为检测遗传变异的工具, DNA标记比形态标记和生化标记具有明显的优越性。

目前, 在进行小麦族植物遗传多样性研究中主要使用的DNA分子标记有 AFLP (Amplified Fragments Length Polymorphism 扩增片段长度多态性)、RFLP (restriction fragment length polymorphism 限制性片段长度多态性)、RAPD (random amplified polymorphic DNA 随机扩增多态性DNA)、SSR (simple sequence repeats, 简单序列重复)、RAMP (Random amplified microsatellite polymorphic DNA 随机扩增微卫星多态性)、ISSR (Inter-simple sequence repeat)。杨瑞武等(2001a)利用随机扩增多态性DNA (RAPD) 技术对小麦族披碱草属 *Elymus*、鹅观草属 *Roegneria*、猥草属 *Hystrix* 3个属的模式种进行了基因组DNA多态性分析。42个引物产生的290条谱带中, 257条(88.62%)表现出多态性, 说明披碱草属、鹅观草属和猥草属3个属的模式种间具有丰富的遗传多样性。周永红等(1999)主要对10种披碱草属植物的RAPD分析了 StY, StH, St, H, StP, PP, StYP 和 StHY 基因组的的关系, 其结果表明所分析的基因组(或组合)存在着较大差异, StY 和 StHY 的关系最近, H 和 StYP 的关系最远, St 和 P 之间的关系比它们与 H 的关系更近一些, 含 St 基因组的的不同组合 StP, StY, StH (*Hystrix*), StH (*Elymus*) 和 StYP, StHY 与 St 有一定的亲缘关系, 但是 St 与 Stp 的遗传关系最近。Svitashev et al. (1998) 开发了披碱草基因组特异的 RAPD 和 RFLP 分子标记, 并发现过去归属于披碱草属但并不是披碱草属植物, 而是小麦族的其他属。特别是从 *E.caninus* L. and *E.alaskanus* (Scrib.ex Merr.) Löve 大量的高通量微卫星标记得

到开发以来(Sun et al.1998a, 1998b), 在微卫星标记在遗传多样性中的有效利用也得到了证实的基础上(Sun et al.1998c, 1999, 2001, 2002, 2003), 引物的跨种使用(Sun et al.1998a,1998b)和小麦、大麦微卫星引物通用性能的发挥(Sun et al.1997; Guadagnuolo, 2001a, 2001b; MacRitchie and Sun.2004), 更加丰富了披碱草遗传多样性的广泛研究。

在披碱草属植物分子生物学研究方面, 与我国披碱草遗传多样性研究匮乏和方法落后相对应, 分布于欧亚的披碱草属种间得到广泛而深入的研究(Sun et al.1998a, b, c, 1999; Diaz.1999), 特别是集中在斯堪第那维亚的四个本地种 *E.canines*, *E.alaskanus*, *E.fibrosus*和*E.mutabilis*。Diaz et al.对起源于欧洲、亚洲、北美、南美洲披碱草属的26个种的128品种通过等位酶、RAPD和微卫星方法研究*E.fibrosus*.遗传变化时发现, 居群内遗传多样性较低(Sun et al.1998c; Diaz et al.2000), 在*E.alaskan*也发现类似规律(Diaz.1999),但不同的种也存在着差异, *E.caninus*居群内遗传多样性(0.027)要远大于*E.fibrosus*(0.007)和*E.alaskanus*(0.005), 而*E.caninus*的花结构却显示了自交特点, 用等位酶和微卫星测得的低基因流值也说明了其是以自交为主的交配系统(Sun et al. 2001)。可是完全的自交植物, 来自于同一母株所有个体应该是同源的, 但是高的突变率却无法解释。Diaz et al.(2000)比较了单独种植和与*E.mutabilis*一起种植的*E.caninus*, 发现了一起种植具有高的突变, 这说明*E.caninus*是有异交率的自交植物。植物的繁殖策略和交配方式影响植物遗传多样性居群内部和居群之间的遗传关系。异交尤其是风媒物种个体间的基因交流较充分, 遗传变异的分布通常比较均匀, 与空间距离没有显著的相关性。但是很多物种由于受其繁育系统、种子和花粉传播机制的影响, 居群内的遗传变异并不是完全随机分布的。通常自交和无性繁殖的物种个体间的基因交流受到限制, 遗传变异的分布呈斑块状, 同时生境异质性也会导致居群内遗传变异存在一定的空间分布格局。

1.4 披碱草属植物遗传多样性研究存在问题与展望

尽管前人对披碱草属植物遗传多样性的研究已经作了很多的工作, 但根据全世界21个国际和国家级种质库进行的咨询和对所得到的不完全的资料进行分析统计的结果表明, 对世界各地小麦族各种、属遗传资源的采集贮藏种子样本约在60000份以上(Hodgkin T et al., 1992; Bothmer R von. et al., 1992), 其中披碱草属作为小麦族分布最为广泛的一个属来说, 在种子采集的样本数上占有很大的比重(卢宝荣,1995)。面对如此庞大的种质贮存量, 对披碱草属种质资源遗传变异的研究仅仅处于初步的发展阶段, 我们所做的研究工作还远远不够, 依然任重道远。

其他物种野生居群遗传多样性与地理生态因子之间的相关性研究已有报道(宋俊双等, 2005; 刘惠芬等, 2004; 兰宝祥等, 2005; 赵利峰等, 2001)。而披碱草属植物这方面的研究还很少。我们应该进一步加强披碱草属植物野生资源的

地理分布和遗传多样性的研究, 对所取样本包含的遗传多样性做出评估。对野生居群的遗传多样性与其生境(如海拔高度、经纬度、年降水量、年积温等)之间的相关性研究加大力度, 还需我们对披碱草属植物野生居群间物种的遗传动态、种内生态型与地理分布的关系进行较为深入地研究。

通过种质库所保存大量种质资源遗传多样性的研究来构建核心种质, 建立每一份贮存样本详尽的入库数据, 检查并淘汰不需要的重复样本, 有利于提高贮存种质遗传多样性的效率和数据的准确性, 减少不必要的浪费。

我们应尽可能全面的收集和保存种质群体中可供利用的遗传基因源, 并进行系统合理的分类鉴定, 通过对同一属不同种、同一种不同居群的种子在同一环境条件下进行系统的育苗、移栽、鉴定、重点对形态特征、物候期、经济性状、抗逆性、染色体、等位酶、DNA 水平等观察和研究, 使野外考察、田间试验和实验室测定有机的结合起来, 充分发掘披碱草属野生种质资源中具有优良性状的种质材料, 为育种工作提供优异的原始材料和详尽的数据。

我们应对植物野生居群遗传多样性的研究给以更高的重视, 使我们的研究工作更具系统性, 研究结果更具代表性和说服力, 并将我们已经掌握的遗传多样性的知识用于指导取样策略, 使野生种质资源的潜力得到更加充分的发挥。

1.5 研究内容

(1) 对在锡林郭勒盟太仆寺旗科学试验基地种植的来自 8 个省区的 49 份穗型下垂类披碱草属种质材料, 采集标本, 进行鉴定, 确定其种名, 并进行统计分类。

(2) 对 49 份材料的 25 个形态学性状进行了观测, 计算每个特征在居群间的变异系数, 并进行了主成份分析和聚类分析。

(3) 对其中已收集到种子的 37 份材料利用酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳进行了醇溶蛋白遗传变异分析, 通过计算居群间的平均多样性指数来分析居群间的变异程度。同时进行聚类分析。

(4) 对部分具代表性的种质材料, 利用植物根尖压片法进行了染色体数目的观测和核型分析。

1.6 研究的目的意义

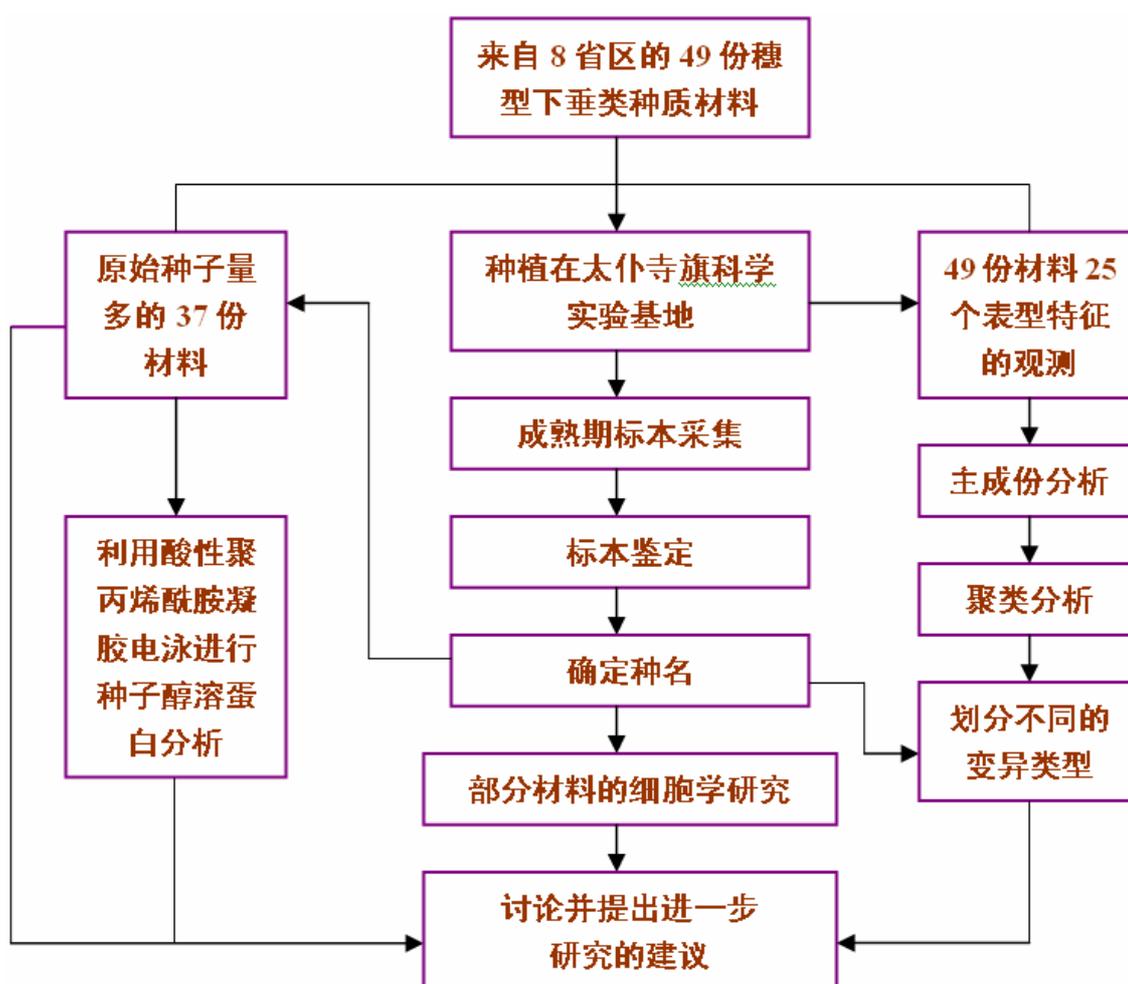
植物分类是进行种质资源研究工作的基础, 而形态学分类法是植物分类学的基础手段。在进行穗型下垂类披碱草属植物尤其是老芒麦和垂穗披碱草的野外采集时, 由于生境条件的不同, 使它们的个体和各居群间存在着很大的形态学变异, 给该属内种一级的分类和鉴定带来了很大困难, 甚至会造成很多学者对形态学性状相似的不同种的错误鉴定。本研究利用传统的形态学分类方法, 对来自 8 个地

区的 49 份材料采集标本，进行了细致鉴定，确定其种名，并划分出不同的生态型，为识别和鉴定这些类型的种质材料提供参考依据，并为进一步创新利用这些种质材料打下基础。

对部分鉴定到种的材料进行了形态学标记、种子醇溶蛋白遗传多样性、染色体数目、核型的分析，为育种工作者选择优异的育种材料提供依据和更为详实可靠的数据。

1.7 技术路线

应用传统的分类学原理、数量遗传学原理、居群生物学原理和分子生物学原理等多领域的知识，采用常规方法和现代生物技术相结合的方法对供试材料进行了分类鉴定，并从形态学水平、蛋白质水平和细胞学水平对这些种质材料进行了遗传变异分析。



第二章 披碱草属植物的分类鉴定及其形态学变异分析

2.1 材料与amp;方法

2.1.1 试验材料与小区自然概况

供试材料共 49 份，由中国农业科学院草原研究所“中国草种资源搜集、整理、评价与入库保存”课题组人员考查收集，以天然居群为取样单位。这些材料分别采自内蒙、新疆、青海、宁夏、西藏、云南、祁连山等 8 个不同地区（详见表 2.1 及续表）。

试验小区位于中国农业科学院草原研究所锡林郭勒盟太仆寺旗科学试验基地，海拔 1400m，属中温带亚干旱大陆性气候，年平均气温 1.6℃，最热月（7 月）平均气温 17.8℃，极端高温 33.3℃，最冷月（1 月）平均气温 -17.6℃，极端低温 -35.7℃；年降水量 407mm，最多降水量 625mm，最少降水量 240mm，≥10℃年积温 1750.9℃，无霜期 122d，初霜在 8 月中旬，终霜在 6 月中旬。该试验地为典型半干旱草原区，土壤为淡栗钙土，pH 值一般为 8~8.5，土层较厚，土壤肥力一般，周边草地植被以针茅、羊草、冷蒿为建群种和优势种，试验区无灌溉条件。

2.1.2 试验方法

2.1.2.1 种质鉴定

将不同地区采集的野生种质材料在试验区进行栽培试验，每份材料小区面积为 2 x 5=10m²，播种时间为 7 月中旬。在播种后第二年植株成熟期采集标本，利用传统的分类方法，根据中国植物志、地方植物志、植物图鉴等工具书的检索表和详细描述进行鉴定，将有争议的居群标本送于禾本科分类专家，由分类专家根据其多方面的知识经验最后确定种名。

2.1.2.2 表型性状的测定

在植株成熟期，对每份材料的株高、穗长、穗宽、穗节数、每穗轴节小穗数、每小穗小花数、穗轴第一节间长、小穗长、小穗宽、旗叶长、旗叶宽、倒二叶长、倒二叶宽、旗叶至穗基部长、旗叶鞘长、叶片数、外稃长、外稃芒长、内稃长、颖长、颖宽、颖芒长、是否具小穗柄、内稃先端形状、茎基部叶鞘是否具柔毛等 25 个形态学指标进行了观测，每份材料随机取样 10 株进行测量。

2.1.2.3 质量性状赋值

小穗数 在测量过程中，每穗轴节小穗数是针对整个花序从下至上来观测，

以质量性状处理，分 4 个等级，每穗轴节小穗数为 1-2 赋值为 1，1-3 赋值为 2，1-4 赋值为 3，1-5 赋值为 4。

内稃先端形状 分两级：1 截平或钝圆、2 两裂或具小缺刻。

叶鞘绒毛分级 分两级：1 植株根出或基部叶鞘具柔毛、2 光滑无毛。

小穗柄 分两级：1 有或无（以整个花序的观测为标准）、2 无。

2.1 试验材料来源

Table 2.1 The sources of different material of *Elymus*

鉴定种名	编号	来源	生境	地理位置	海拔
species	Identity	sources	Habitat	Altitude \Longitude	Altitude
老芒麦		内蒙阿盟贺兰山北寺	山坡	不详	
<i>E.sibiricus</i>	NMS1*	Ameng helan mountain, mengolia	mountain slope	unknown	2120
老芒麦		内蒙阿盟贺兰山哈拉乌沟	不详	不详	
<i>E.sibiricus</i>	NMS2*	Ameng helan mountain, mengolia	unknown	unknown	2171
老芒麦		内蒙阿盟贺兰山南寺	山间坡地		
<i>E.sibiricus</i>	NMS3*	Ameng helan mountain, mengolia	mountain slope	N38° 41' E105° 48'	2074
老芒麦		内蒙古阿盟贺兰哈拉乌沟	山间	不详	
<i>E.sibiricus</i>	NMS4*	Ameng helan mountain, mengolia	among the mountains	unknown	2120
老芒麦		宁夏隆德县六盘山	不详	不详	
<i>E.sibiricus</i>	NXS1*	Longde county liupanshan, Ni ngxia	unknown	unknown	2286
垂穗披碱草		宁夏隆德县六盘山	不详	不详	
<i>E.nutans</i>	NXN1*	Longde county liupanshan, Ni ngxia	unknown	unknown	2286
垂穗披碱草		祁连山	公路边	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QLN1*	Qilian mountain	beside the high way	unknown	unknown
垂穗披碱草		祁连山	公路边	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QLN2*	Qilian mountain	beside the high way	unknown	unknown
垂穗披碱草		祁连山	公路边	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QLN3*	Qilian mountain	beside the high way	unknown	unknown
垂穗披碱草		祁连山	公路边	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QLN4*	Qilian mountain	beside the high way	unknown	unknown
垂穗披碱草		祁连山	公路边	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QLN5*	Qilian mountain	beside the high way	unknown	unknown
垂穗披碱草		祁连山南	不详		
<i>E.nutans</i>	QLN6*	Qilian mountain	unknown	N38° 12' E100° 56'	2715
短芒披碱草		祁连山南	不详		
<i>E. breviaristatus</i>	QLB1*	Qilian mountain	unknown	N38° 12' E100° 56'	2715
垂穗披碱草		祁连山南	不详		
<i>E.nutans</i>	QLN7*	North of Qilian mountain	unknown	N38° 12' E100° 56'	2715
垂穗披碱草		祁连山南（青海界边）	公路边		
<i>E.nutans</i>	QLN8*	Beside the borderline of Qinhai province	beside the high way	N37° 14' E101° 29'	2824
老芒麦		祁连山南（青海界边）	公路边		
<i>E.sibiricus</i>	QLS1*	Beside the borderline of Qinhai province	beside the high way	N37° 14' E101° 29'	2824
垂穗披碱草		青海湖边	湖公路边		
<i>E.nutans</i>	QHN1*	beside the Qinghai Lake	highway side along the lake	N36° 33' E101° 33'	3250

续表 2.1 试验材料来源

Table 2.1 The sources of different material of *Elymus*

鉴定种名	编号	来源	生境	地理位置	海拔
species	Identity	sources	Habitat	Altitude \Longitude	Altitude
垂穗披碱草		青海西宁塔尔寺	山坡	不详	不详
<i>E.nutans</i>	QHN6*	Taersi, Xi ning county Qinghai	mountain slope	unknown	unknown
垂穗披碱草		西藏当雄县喊杠乡苏热村	农田旁路边		
<i>E.nutans</i>	XZN1	Dangxi ong county, Xi zang	roadside along the field	N29°58.45'E90°4.50'	4024
老芒麦		西藏当雄县喊杠乡苏热村	农田旁、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZS1	Dangxi ong county, Xi zang	roadside along the field	N29°58.45' E90°4.50'	4024
老芒麦		西藏拉萨市曼竹工卡县哲西卡乡	农田旁、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZS2	Lasa ci ty, Xi zang	roadside along the field	N29°43.74'E91°59.27'	4065
老芒麦		西藏拉萨市曼竹工卡县哲西卡乡	农田旁、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZS3	Lasa ci ty, Xi zang	roadside along the field	N29°43.74'E91°59.27'	4065
垂穗披碱草		西藏那曲地区索县	山坡、路边		
<i>E.nutans</i>	XZN2	Naqu, Xi zang	mountain slope, roadside	N31°51.83'E93°48.05'	4081
老芒麦		西藏日喀则东 65 公里处	山坡、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZS4	65 miles to the east of Rikeza, Xizang	mountain slope, roadside	N29°20.21'E89°30.13'	3739
老芒麦		西藏日喀则东 65 公里处	山坡、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZN3	65 miles to the east of Rikeza, Xizang	mountain slope, roadside	N29°20.21'E89°30.13'	4316
老芒麦		西藏日喀则东 65 公里处	山坡、路边		
<i>E.sibiricus</i>	XZN4	65 miles to the east of Rikeza, Xizang	mountain slope, roadside	N29°20.21'E89°30.13'	4316
老芒麦		西藏那曲岗多村	高寒草甸		
<i>E.sibiricus</i>	XZN5	Naqugangdu vi ll age Xi zang	Alpine meadow	N32°30'E93°15'	4516
老芒麦		新疆阿勒泰市富蕴县可可托里	河边		
<i>E.sibiricus</i>	XJS1*	Al atai ci ty, Xi ngji ang	riverside	N47° 12' E89° 50'	1195
老芒麦		新疆博乐市精河县	荒漠草原水渠边		
<i>E.sibiricus</i>	XJS2*	Ji nghe county, xi ngji ang	desert meadow、ditchside	N44° 32' E82° 53'	386
老芒麦		新疆博州塞里木湖北边小乌鲁特	山地草原		
<i>E.sibiricus</i>	XJS3*	Bozhou ci ty Xi nj i ang	Mountain grassland	N44° 44' E81° 08'	2184
老芒麦		新疆博州温泉县西阿拉套山口	苜蓿地边		
<i>E.sibiricus</i>	XJS4*	Bozhou ci ty Xi nj i ang	Field side of medicargo	N44° 58' E80° 54'	1427
老芒麦		新疆尼勒克县尼勒克河边	山地草甸草原		
<i>E.sibiricus</i>	XJS5*	Ni leke county Xi nj i ang	Mountain meadow	N43° 42' E83° 39'	1761
老芒麦		新疆尼勒克县农四师 79 团	山地草原的路边		
<i>E.sibiricus</i>	XJS6*	Ni leke county Xi nj i ang	Roadside of mountain grassland	N43° 46' E83° 13'	1778
老芒麦		新疆尼勒克县乔尔玛	河谷		
<i>E.sibiricus</i>	XJS7*	Ni leke county Xi nj i ang	River valley	N43° 39' E84° 21'	2328
老芒麦		新疆尼勒克县乔尔玛	河谷		
<i>E.sibiricus</i>	XJS8*	Ni leke county Xi nj i ang	River valley	N43° 39' E84° 21'	2328
老芒麦		新疆沙湾县西戈壁镇五道村	山地草原、沟谷		
<i>E.sibiricus</i>	XJS9*	Shawan county Xi nj i ang	Mountain grassl and	N43° 56' E85° 52'	1086
老芒麦		新疆沙湾县紫泥泉水沟保护区	山地草原、沟谷		
<i>E.sibiricus</i>	XJS10*	Shawan county Xi nj i ang	Mountain grassl and	N43° 56' E85° 52'	1086
老芒麦		新疆伊犁特克斯县城北种牛场	人工草地（红豆草）		
<i>E.sibiricus</i>	XJS11*	Yi li , Xi ngji ang	Pasture	N42° 57' E81° 38'	1298

续表 2.1 试验材料来源

Table 2.1 The sources of different material of <i>Elymus</i>					
鉴定种名	编号	来源	生境	地理位置	海拔
species	Identity	sources	Habitat	Altitude \Longitude	Altitude
老芒麦		新疆伊犁昭苏县-查布察尔县	山地草原		不详
<i>E.sibiricus</i>	XJS12*	Yili, Xinjiang	Mountain grassland	N43° 14' E81° 05'	unknown
老芒麦		新疆伊犁昭苏县城北	山地草甸草原		
<i>E.sibiricus</i>	XJS13*	Yili, Xinjiang	Mountain meadow	N43° 13' E81° 06'	2233
老芒麦		新疆伊犁昭苏县城北约 10 公里	路边		
<i>E.sibiricus</i>	XJN1*	the north of Zhaosu county of Xinjiang	Roadside	N43° 11' E81° 07'	1984
老芒麦		新疆伊犁昭苏县城西南约 20 公里	农田路边		
<i>E.sibiricus</i>	XJS14*	Southwest of Zhaosu county, Xinjiang	Roadside of field	N43° 06' E81° 03'	1768
垂穗披碱草		青海湖边	湖公路边		
<i>E.nutans</i>	QHN2*	beside the Qinghai Lake	highwayside along the lake	N36° 23' E101° 33'	3212
垂穗披碱草		青海湖边	湖公路边		
<i>E.nutans</i>	QHN3*	beside the Qinghai Lake	highwayside along the lake	N36° 33' E100° 38'	3212
垂穗披碱草		青海西宁-湟中县	公路边		
<i>E.nutans</i>	QHN4*	xinjiang-huangzhong county, qinghai	beside the high way	N36° 23' E101° 33'	2900
垂穗披碱草		青海西宁-湟中县	公路边		
<i>E.nutans</i>	QHN5*	xinjiang-huangzhong county, qinghai	beside the high way	N36° 23' E101° 33'	2900
老芒麦		云南省中甸桥头镇	公路边、山坡	不详	
<i>E.sibiricus</i>	YNS1	Zhongdian Qiaotou Town, Yunnan	Beside the highway	unknown	2056
垂穗披碱草		中国农科院畜牧所	不详	不详	不详
<i>E.nutans</i>	ZXN1	Institute of Animal science, CAAS	Unknow	unknown	unknown
垂穗披碱草		中国农科院畜牧所	不详	不详	不详
<i>E.nutans</i>	ZXN2	Institute of Animal science, CAAS	Unknow	unknown	unknown

2.1.3 数据计算和统计处理

以上述各形态学指标测量数据作为原始数据，应用统计学的方法，对 22 个数量指标的平均数、标准差、最大值、最小值、极差、变异系数等基本统计量进行了计算；对所观测的 25 个形态学指标进行了主成分分析，并利用主成分分析中得出的贡献率较大的 15 个指标对 49 个居群进行了聚类分析。以上各类分析在 Excel(Office2000)和 SPSS11.5 软件中完成。

2.2 结果与分析

2.2.1 种质鉴定

根据植物志的描述和实际鉴定结果, 49 份材料中有 25 份属于老芒麦, 23 份属于垂穗披碱草, 1 份短芒披碱草。在我们鉴定标本时, 发现老芒麦的穗状花序有时紧密排列, 颖先端的短芒也会变为芒尖, 这与 1994 年卢宝荣的观察是一致的(卢宝荣, 1994)。另外, 在株高、叶长、穗长等数量性状上也有差异; 有的垂穗披碱草植株高大、花序较长, 有时颖片也会变为披针形, 小穗并不偏于穗轴一侧生长。在实际测量过程中发现, 老芒麦的许多数量性状远远超出了植物志记载的数据范围。同一居群内不同个体之间在形态学特征上的变异也十分明显, 例如居群 YNS1 (附录 1 照片 1-2), 居群内部个体的花序形状由原来的穗状花序变为圆锥状, 在穗基部出现分枝, 这种现象前人曾有过报道(张正茂等, 2003), 我们在野外进行种质采集时发现, 肥披碱草也存在这种变异现象(附录 1, 照片 12)。这种花序形态上的变异与郭本兆关于小麦族的穗状花序是由雀麦族的圆锥花序演化而来、在变异条件下也可发生返祖现象的研究相一致(郭本兆, 1985), 本文研究结果又为这一推论增加了新的证据。另外值得提出的是, 老芒麦和垂穗披碱草在形态描述上都是通常每穗轴节具两个小穗, 有时基部和上部各节仅具一枚小穗, 但在我们的观察中, 这两个种许多居群中的个体在穗基部节上出现 3-4 甚至 5 个小穗的现象。如果按照传统的分类系统, 许多居群都能够定名出新的变种, 因为其形态变异远远超出了对这些种的描述, 但是, 建立新的分类单元可能是没有意义的, 因为事实上这仅仅是共享一个基因库的居群内不同个体间的基因型差异而已, 那么划分新变种就值得商榷, 因此, 以居群为单位进行种质资源的收集、评价、保存以及种下分类群或生态型研究具有重要科学意义和实用价值。

2.2.2 形态学特征的基本统计分析

表 2.2 列出了对 21 个形态学数量指标平均数、标准差、最大值、最小值、极差、变异系数的计算结果。结果显示, 49 份材料的 21 个数量性状特征都存在不同程度的变异。其变异程度最大的为颖芒的长度, 其变异范围是 0.15mm~6.19mm, 变异系数为 59.34。其次是穗宽、旗叶长, 变异系数分别为 30.58 和 26.41。变异程度最小的是旗叶叶鞘的长度, 其变异系数为 12.72, 其次是外稃长和小穗长, 变异系数分别是 12.93 和 13.92。

表 2.2 49 份材料间表型特征基本统计分析

Table 2.2 The basic statistic data of 49 materials

形态特征 Index	极差 Range	最小值 Minimum	最大值 Maximum	平均数 Mean	标准差 Std. Deviation	变异系数 CV
株高	48.23	72.10	120.33	92.10	13.35	14.50
穗长 (cm)	16.00	9.98	25.98	17.15	3.90	22.71
穗宽(mm)	26.94	6.64	33.58	10.42	4.63	44.41
穗节数	14.60	17.10	31.70	22.78	3.68	16.15
小花数	3.50	4.00	7.50	5.29	0.85	16.07
穗轴第一节间长	19.17	8.25	27.41	17.10	3.73	21.82
小穗长	11.48	11.83	23.31	17.00	2.20	12.93
小穗宽	2.98	1.96	4.95	3.31	0.69	20.75
旗叶长	13.59	2.75	16.34	9.69	2.96	30.58
旗叶宽	5.92	2.07	7.99	4.88	1.29	26.41
倒二叶长	11.11	9.74	20.85	14.89	2.80	18.78
倒二叶宽	4.44	3.87	8.30	5.79	1.19	20.52
旗叶至穗基部长长度	22.97	14.46	37.43	25.35	5.84	23.05
旗叶鞘长	12.62	14.41	27.03	19.42	2.47	12.72
叶片数	2.97	3.33	6.30	4.59	0.72	15.67
外稃长	4.90	7.61	12.51	9.68	1.35	13.92
外稃芒长	21.21	2.45	23.67	15.95	3.86	24.23
内稃长	12.94	3.32	16.26	9.66	1.85	19.13
颖长	5.65	0.66	6.31	4.29	0.96	22.42
颖宽	0.93	0.14	1.07	0.80	0.15	18.63
颖芒长	6.04	0.15	6.19	2.63	1.56	59.34

2.2.3 主成分分析

图 2.1 给出了主成分分析结果的碎石图(Scree Plot), 显示了主成分分析中特征根的变化情况, 前五个主成分能够概括原始数据的绝大部分信息。表 2.3 反映了在所测定的 25 个形态指标中各主成分 (component) 的得分方差 (Total%), 即相关系数矩阵的各个特征值 (Eigenvalue)、方差贡献率 (of Variance%) 和累积方差贡献率 (Cumulative)。据此选取前 5 个主成分就可反应总信息量的 78.93%, 特征值总和为 19.73。表 2.4 列出了 5 个主成分中每个指标的载荷系数, 即特征向量。通过各形态指标在主成分中系数的大小, 确定它们在形态分化中的作用大小和方向。同时, 由于各主成分之间彼此独立, 5 个主成分反应了 5 种不同组合的形态类型, 它们分别来自 15 个不同的指标 (表 2.4 中以*标出), 由此可以看出, 颖芒长、穗长、穗宽、小穗数、穗轴第一节间长、小穗宽、旗叶长、旗叶宽、倒二叶宽、外稃芒长、旗叶至穗基部长长度、颖芒长、小穗柄、内稃先端形状、颖宽、叶鞘是否具有毛等 15 个特征是这些种质材料形态分化的主要指标。

2.2.4 系统聚类分析

根据欧式距离 (Euclidean Distance) 计算居群间的遗传距离, 采用离差平方和聚类方法 (Ward's method), 得到 49 个居群的系统聚类树状图 (图 2.2)。由图

可以看出，以欧式距离等于 6 为尺度可以把 49 个居群分为 3 大类群，其中具有叶鞘光滑无毛和内稃先端两裂特征的 21 个老芒麦居群聚为一类；具有内稃先端截平或钝圆、根出或基部叶鞘具毛，小穗排列紧密的 15 个垂穗披碱草居群、1 个短芒披碱草居群聚为一类；另一类在图中位于中间位置，是在性状上有交叉的老芒麦和垂穗披碱草居群。聚类结果与形态鉴定结果基本一致，并且与地理环境具有很大的相关性。一般说来，采自同一地区的同种居群聚在一起，但也有中间类型。短芒披碱草居群与垂穗披碱草聚为一类，主要是因为外稃芒的长短没有作为区别这些居群的主要特征，但根据各居群外稃芒长的平均值，很明显的可以区分这两个种（附录 1 照片 7）。垂穗披碱草各居群外稃芒长最短的也在 12mm 以上，而短芒披碱草的外稃芒长平均只有 2.45mm。这一聚类结果与中国植物志描述有些出入，短芒披碱草与老芒麦除芒的长短可以区分外，其它特征较为相似，但聚类结果显示唯一的短芒披碱草居群与垂穗披碱草比较，比与老芒麦具有更近的亲缘关

表 2.3 形态性状主成分分析的特征向量和贡献率

Table 2.3 Eigenvalue and Pontributive Percentage of Principal Components of Morphological Characteristics

主成分序号 Component	初始特征根 Initial Eigenvalues			主成分提取结果 Extraction Sums of Squared Loadings		
	得分方差 Total	方差贡献率 of Variance%	累计方差贡献率 Cumulative %	得分方差 Total	方差贡献率 of Variance%	累计方差贡献率 Cumulative %
1	11.9794	47.9174	47.9174	11.9794	47.9174	47.9174
2	3.1504	12.6015	60.5189	3.1504	12.6015	60.5189
3	1.9647	7.8587	68.3775	1.9647	7.8587	68.3775
4	1.4372	5.7489	74.1265	1.4372	5.7489	74.1265
5	1.2006	4.8024	78.9289	1.2006	4.8024	78.9289
6	0.9602	3.8408	82.7697			
7	0.7750	3.1000	85.8697			
8	0.5318	2.1272	87.9969			
9	0.5032	2.0129	90.0098			
10	0.4217	1.6868	91.6966			
11	0.3935	1.5741	93.2706			
12	0.3679	1.4716	94.7423			
13	0.2438	0.9750	95.7173			
14	0.2236	0.8945	96.6118			
15	0.1804	0.7214	97.3332			
16	0.1562	0.6247	97.9578			
17	0.1072	0.4287	98.3866			
18	0.0911	0.3644	98.7510			
19	0.0758	0.3034	99.0544			
20	0.0644	0.2574	99.3118			
21	0.0612	0.2449	99.5567			
22	0.0561	0.2243	99.7811			
23	0.0280	0.1120	99.8931			
24	0.0150	0.0602	99.9533			
25	0.0117	0.0467	100.0000			

表 2.4 各形态特征的主成分分析矩阵

Table 2.4 Principal Component Analysis Matrix of Morphological Characteristics

指标 Index	主成分 Component				
	1	2	3	4	5
株高 Height of plant	0.1750	0.6000	0.4689	0.3931	-0.2056
*穗长 Length of spike	0.8851	0.0561	0.2209	-0.0546	0.1834
*穗宽 Width of spike	0.2564	0.2445	-0.7352	0.2030	0.2918
穗节数 Pitch number of spike	0.6859	0.3781	-0.3535	0.0661	-0.1660
*小穗数 No.of spikelet	-0.4608	0.6962	-0.2466	-0.0205	-0.2661
小花数 No. of florets	0.7081	0.3702	-0.2057	-0.0969	-0.0487
*穗轴第一节间长 Length of the frist node of axle of the ear	0.0555	0.3956	0.4410	-0.1188	0.6186
小穗长 Length of spikelet	0.5471	0.5076	0.2850	-0.3817	0.1113
*小穗宽 Width of spikelet	0.4508	0.0351	0.2889	0.6586	-0.1941
*旗叶长 Length of flag leaf	0.8002	0.0244	-0.2981	0.3343	0.1477
*旗叶宽 Width of flag leaf	0.8480	0.1506	-0.2030	0.1779	0.1503
倒二叶长 Length of the secend leaf from bottom	0.7035	0.2108	-0.1444	0.2696	0.1466
*倒二叶宽 Width of the secend leaf from bottom	0.8514	0.2273	-0.0968	0.0717	0.1999
*旗叶至穗基部长长度 Distance between flag leaf and ear	0.2440	0.7678	0.1332	-0.1658	-0.1328
旗叶鞘长 Vagina of flag leaf length	-0.5672	0.5558	0.2746	0.1645	-0.202
叶片数 No.of leaf per plant	0.6874	-0.3737	0.4464	0.1155	0.0721
*外稃芒长 Awn length of lemma	0.9064	-0.0328	-0.0183	-0.2235	-0.0181
外稃长 length of lemma	0.6843	0.2089	-0.0237	-0.3790	0.0443
内稃长 Length of Palea	0.7144	0.0029	0.0352	-0.0866	-0.3040
颖长 Length of glume	0.7935	0.0204	0.2288	-0.1310	-0.0124
*颖宽 Width of glume	0.8379	-0.2474	0.1920	0.1499	0.0785
*颖芒长 length of glume awn	0.8888	-0.1860	0.0474	0.0082	-0.1212
*小穗柄 Spikelet petiole	0.8298	-0.4331	0.0359	-0.0327	-0.1033
*内稃先端形状 Shape of the top of palea	0.8549	-0.2368	-0.0072	-0.0334	-0.2965
*叶鞘是否具毛 Hairs of vagina	-0.7188	0.0720	0.1432	0.3142	0.3497

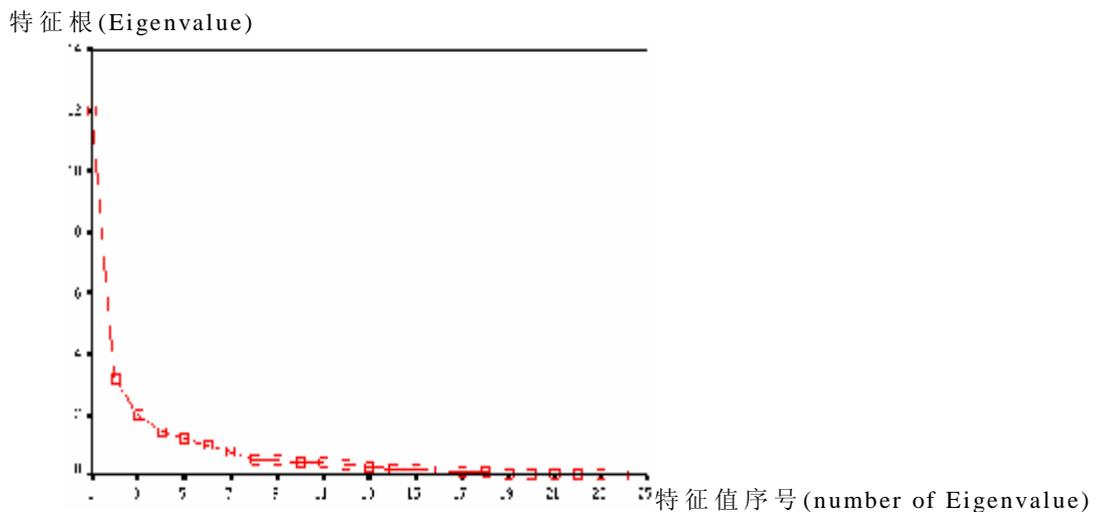


图 2.1 主成分分析碎石图

Fig.2.1 Scree plot of principal component

系，这与垂穗披碱草和短芒披碱草都是六倍体（ $2n=42$ ），且染色体组型（都为 SSHYY 染色体组）相同的结果更接近。没有明显区分开的 11 个居群中，来自西藏的有 8 个居群，它们具有很多相似的形态特征，而且全部生长在海拔 4000 米以上的环境中，与植物志中所描述的 *Nutans* 和 *Sibiricus* 比较，形态变异较大。尤其是 XZS2、XZN1、XZN2、QLN2 几个居群的不同个体均有花序分枝现象发生。按照欧式距离等于 10 为尺度将所有材料分为两大类时，聚类图显示鉴定为老芒麦的 4 份材料与垂穗披碱草具有更近的亲缘关系，但在进行标本鉴定时，其中 XZS3（附录 1 照片 3）、XZS1、XZS2 因花序粗壮，内稃先端两裂或具有小缺刻而被鉴定为老芒麦；其余材料因具有花序小穗排列紧密，内稃先端钝圆或截平等特征被鉴定为垂穗披碱草居群，他们的共同特征是多小穗、根出或茎基部叶鞘具毛。

以欧式距离等于 2.5 为尺度可以进一步将 49 个居群划分为 7 个类群。根据形态鉴定结果和 7 个不同的组合（中间有交叉类型），可以将老芒麦划分为 4 种不同的变异类型，第 I 类(S I)为小穗在穗轴上排列较为疏松，每穗轴节具 2 个小穗，茎基部叶鞘无毛，内稃先端两裂，株高、穗长等数量性状与植物志描述基本一致的典型老芒麦；第 II 类(S II)为植株高大，花序粗壮，小穗在穗轴排列紧密，每小穗具有较多的小花数、每穗轴节具 2 个小穗，茎基部叶鞘无毛，内稃先端两裂的粗壮多花型老芒麦，与典型老芒麦比较主要是形态指标数量性状上的不同；第 III 类(S III)是花序具有分枝性状的居群，其特点是除花序在穗基部各节出现分枝外，其余形态特征与典型老芒麦一致；第 IV 类(S IV)是生长在海拔较高的西藏地区的类型，这类居群一般在性状上与垂穗披碱草有部分交叉，尤其是小穗紧密排列，每穗轴节具有较多的小穗数，植株短粗，且茎基部叶鞘或根出叶鞘常具柔毛，有时也会出现分枝现象，但只有穗轴基部有较短的分枝，外部形态上仍然为穗状花序，这类老芒麦因穗型较宽而与分枝的老芒麦聚在一起。垂穗披碱草可分为三种变异类型，第 I 类(N I)为典型的垂穗披碱草，植株细弱、每穗轴节着生两个小穗，小穗排列紧密，且稍偏于一侧生长，茎基部叶鞘或根出叶鞘常具柔毛；第 II 类(N II)型常具有植株高大，内稃先端钝圆或截平，小穗紧密排列于穗轴两侧，在穗基部一般会着生 3 个至 3 个以上的小穗，茎基部常具柔毛，尤其是穗基部着生小穗较多，花序较长而与第 I 类型有差异；第 III 类(N III)为分枝的垂穗披碱草，其它特征与典型的垂穗披碱草比较一致。

2.3 讨论

生态型是指同一物种内因适应不同生境而表现出具有一定结构或功能差异的不同类群。这一概念是瑞典植物学家杜尔松于 1921 年提出的 (C.J Jeffrey., 1982)。他把不同生境中的同种植物移栽到一起，结果发现他们在植株高矮、株型曲直、叶子厚薄和形状以及开花迟早等方面所具有的差异稳定不变。他认为，这些差异显示出各自的原生境特点，可作为种内不同的生态类群，代表不同的基因型。种

内分化生态型的原因，或物种扩散到新生境，或原生境局部条件改变。一般来说，物种分布越广，特别是分布区内生境差异越大，分化出的生态型就越多；物种系统发育的历史越久，分化的机会就越多。生态型是新种的先驱。

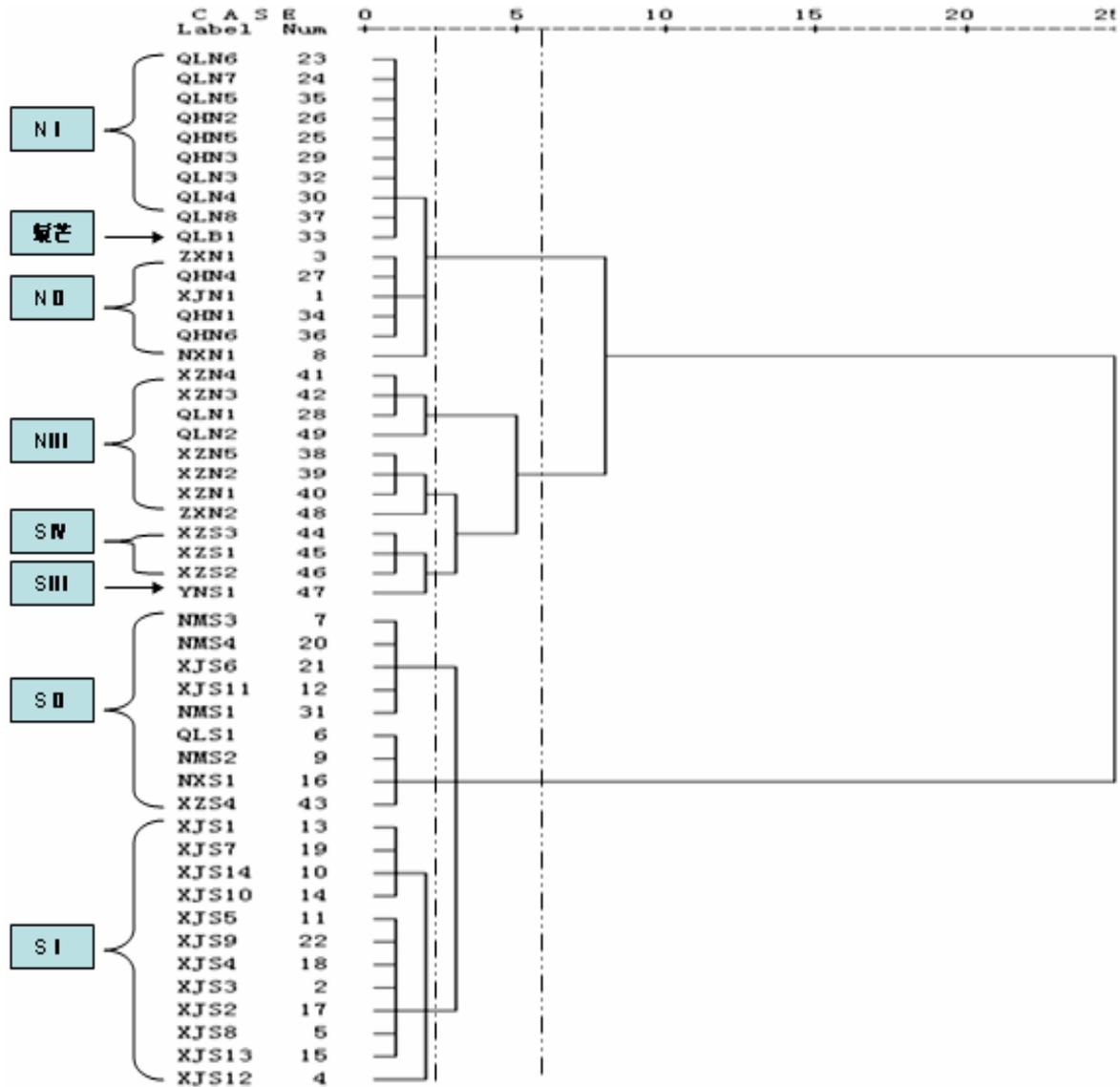


图 2.2 聚类分析树状图

Fig. 2.2 Dendrogram of Cluster Analysis

垂穗披碱草、老芒麦分布广泛，生境多样，在长期适应和进化的过程中，各居群在形态、生理、生态以及遗传特征方面均产生了趋异，由于这些变异而产生的形态学性状交叉，使得分类学鉴定很困难，划分不同的变异类型对这些种质资源的鉴定和有效利用具有重要的借鉴意义和参考价值。但不同的变异类型是否就可以将其认为是不同的生态型，还需进行遗传变异与生境间相关性和多水平的研究再作结论。形态学研究是检测植物遗传变异最简便易行的方法，也是植物分类鉴定最古老、最经典的方法。长期以来，种质资源的分类、鉴定及育种材料的选

育通常都是依据表型性状来进行的。但由于表型和基因型之间存在着基因表达、调控、个体发育等复杂的中间环节，表型上的差异又很容易受环境影响，因此仅仅根据形态学鉴定种质仍然存在许多局限性。在实际工作中人为因素的影响较大，分类界限仍然有交叉和分歧。因此，建议对形态学性状比较相似的种，尤其是对不同来源的野生种质进行分类学鉴定时，应有在分子水平上和细胞学水平上的证据。许多研究记载，老芒麦属于四倍体，染色体数为 28 条，仅含有 **SSYY** 两套染色体组，而垂穗披碱草是异源六倍体植物，染色体数为 42 条，具有 **SSHYY** 的染色体组型，这在分类学上具有非常重要的意义，应成为这两个种分种界限的重要依据之一。

第三章 披碱草属植物的醇溶蛋白分析

3.1 材料与方法

3.1.1 材料来源

见第二章表 2.1 中编号标记*的 37 份材料(因其余材料没有多余的原始采集种子, 未能进行醇溶蛋白水平上的研究)

3.1.2 试验方法

使用 ISTA(1986)颁布的酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(acid polyacrylamide gel electrophoresis, 简称 APAGE) (pH3.1)标准程序(稍加改进)电泳分析醇溶蛋白。以“中国春”(Triticum aestivum cv.chinese Spring)和“马奎斯”两个普通小麦品种为对照。

3.1.2.1 试验主要仪器设备

- (1) TGL-16 高速台式离心机 (上海)
- (2) PL303 电子天平 (METTLER TOLEDO 公司)
- (3) SHA-CT 振荡器 (杰瑞尔公司)
- (4) BCD-182B 冰箱 (海尔)
- (5) 85-1 恒温磁力搅拌器
- (6) WH-1 梯度混合器
- (7) 各种型号的移液器 (Eppendorf 公司)
- (8) 各种规格的玻璃器皿
- (9) 垂直板的电泳槽 (北京六一厂)
- (10) 电泳仪 (北京六一厂)

3.1.2.2 溶液的配制

本试验中所用的试剂包括: 2-氯乙醇(分析纯); 甲基氯(分析纯); 冰醋酸(分析纯); 甘氨酸(进口分装); 丙烯酰胺(进口分装); N-N 甲叉双丙烯酰胺(进口分装); 尿素(进口分装); 抗坏血酸(分析纯); 硫酸亚铁(分析纯); 过硫酸胺(分析纯); 考马斯亮兰(进口分装), 三氯乙酸(分析纯) TEMED(进口分装)。

溶液的配制:

- (1) 样品提取液 100ml: 25ml 2-氯乙醇加入 0.05g 甲基氯, 用蒸馏水定容至 100ml;

(2) 凝胶缓冲液 (1L): 冰醋酸 20ml + 甘氨酸 1g, 用蒸馏水定容到 1000ml;

(3) 凝胶溶液 (250ml): 丙烯酰胺 25g, N-N 甲叉双丙稀酰胺 1g, 尿素 15g, 抗坏血酸 0.25g, 硫酸亚铁 0.01g, 用凝胶缓冲液定容到 250ml;

(4) 10×电极缓冲液 (1L): 冰醋酸 40ml, 甘氨酸 4g, 用蒸馏水定容到 1L, 使用前稀释 10 倍

(5) 10% 过硫酸铵 AP: 10g 过硫酸铵, 用蒸馏水定容到 100ml

(6) 1% 考马斯亮兰: 1g 考马斯亮兰, 用蒸馏水定容到 100ml

(7) 10% 三氯乙酸: 10ml 三氯乙酸, 用蒸馏水定容到 100ml

(8) 7% 的醋酸: 7ml 醋酸, 用蒸馏水定容到 100ml

以上溶液配制好后, 均放入冰箱冷藏备用。

3.1.2.3 试验操作步骤

样品提取 每份材料取 10 粒种子去皮, 用研钵研磨成粉状后称重, 放入 1.5ml 离心管中, 按 1mg 加 5ul 的比例加入样品提取液, 振荡器上振荡混匀, 室温浸提过夜。使用前 10000r/min 离心 10min。取上清液点样。

凝胶制备 取适量(每板大约 40ml)凝胶溶液, 按凝胶溶液 1ml 加入 10% 过硫酸铵 1ul、TEMED1ul 的比例加入过硫酸铵和 TEMED (即 40ml 凝胶溶液 + 10% 过硫酸铵 40ul + TEMED40ul), 迅速摇匀。灌胶, 插好样品梳, 让其在 5-10min 内完全聚合。

加样 小心拔出样品梳, 用电极缓冲液冲洗加样孔, 每个样品上样量为 10ul。

电泳 先将电压调至 300V, 电泳 20 分钟, 然后将电压调至 500V, 待甲基绿前沿指示剂迁移至板底 2cm 处, 再将电压调为 300V, 至板底, 拔掉电源, 结束电泳。(整个电泳过程在 4℃ 冰箱中进行)。

固定和染色 每块凝胶吸取 1% 考马斯亮蓝 R250 5 ml, 再加 10% 三氯乙酸 200ml 染色过夜。

保存 7% 醋酸中保存, 拍照。

3.2 结果与分析

3.2.1 数据处理

醇溶蛋白凝胶电泳采用一般分子标记的处理方式, 按条带有无赋值, 有带记为 1, 无带记为 0, 具有相同迁移率的谱带视为同一条带, 每一条带视为一个位点, 统计位点总数和多态性位点数。

采用 Shannon—Weaver 指数 H 和 Simpson 指数 D (即 Nei 氏基因多样性指数) 来估计各份种质的遗传多样性。以上统计分析采用 POPGENE 软件 (<http://www.ual—berta.ca~fyeh/fyeh>) 和 Microsoft Excel2003 联合进行。对各种质材料间的聚类分析是利用 NTSYS—pc 软件按基于 Nei-Li 遗传相似系数 (GS, 即 Dice 系数) 的

不加权成对群算术平均法(UPGMA)进行。

3.2.2 结果分析

1、供试材料的醇溶蛋白多态性

根据第一章中的鉴定结果,37份供试材料包括21份老芒麦(*Elymus. sibiricus*)、15份垂穗披碱草(*Elymus. nutans*)、1份短芒披碱草(*Elymus.breviaristatus*)。从醇溶蛋白图谱(图3.1、3.2)可以看出,各材料间具有较高水平的醇溶蛋白多态性。37份材料共分离出42条不同的带纹。21份老芒麦共分离出37条带纹,每份材料可分离出9~15条带纹,15份垂穗披碱草和1份短芒披碱草(一份短芒披碱草的带纹与QLN6的带纹完全相同),共分离出32条带纹,每份材料可分离出11~17条带纹。在所有供试材料产生的42条带纹中,没有一条带纹为共有带,多态率达100%,Nei's基因多样性指数平均为0.3662,平均Shannon指数为0.5457。按照迁移率大小可分为 α 、 β 、 γ 、 ω 4个区,带纹集中分布于 ω 区, β 区也较多。 α 、 γ 区较少(表3.1)。

表 3.1 供试材料醇溶蛋白检测结果

Table3.1 Results of gliadin in the test material

材料编号 Identity	总带数 total bands	分区 Zones				材料编号 Identity	总带数 total bands	分区 Zones			
		ω	γ	β	α			ω	γ	β	α
NXN1	14	6	3	3	2	XJS11	12	5	1	4	2
QHN1	14	5	4	5	0	XJS12	11	5	2	3	1
QHN2	17	7	4	5	1	XJS13	14	8	1	4	1
QHN3	17	7	4	5	1	XJS14	13	5	1	5	2
QHN4	11	4	3	3	1	XJS2	12	6	1	4	1
QHN5	11	4	3	3	1	XJS3	11	6	2	3	0
QHN6	12	5	3	3	1	XJS4	13	6	2	3	2
QLB1	12	4	3	4	1	XJS5	11	6	1	3	1
QLN1	15	5	4	5	1	XJS6	14	4	4	5	1
QLN2	15	8	3	3	1	XJS7	14	8	0	5	1
QLN3	13	5	3	4	1	XJS8	9	5	0	3	1
QLN4	13	5	3	4	1	XJS9	12	6	1	4	1
QLN5	16	6	4	5	1	YNS1	11	3	4	4	0
QLN6	12	4	3	4	1	NMS1	9	6	3	0	0
QLN7	13	5	3	4	1	NMS2	14	5	1	6	2
QLN8	14	6	3	5	0	NMS3	15	7	2	6	0
QLS1	13	7	2	3	1	NMS4	12	5	2	4	1
XJS1	9	4	1	3	1	NXS1	11	6	2	2	1
XJS10	15	4	4	7	0						

如果按照不同种为单位将所有材料划分为两类,21份老芒麦所产生的37条带纹中,有1条为21份材料的共同带,分布在 α 区,其多态率为92.5%,Nei's基因

多样性指数平均为 0.3810，平均 Shannon 指数为 0.5592。15 分垂穗披碱草、1 份短芒披碱草所产生的 32 条带纹中，有四条共有带在 16 份材料中稳定表达，其中 α 区有 2 条， β 、 γ 区各 1 条，多态率为 87.5%。Nei's 基因多样性指数平均为 0.2986，平均 Shannon 指数为 0.4925（表 3.2）。

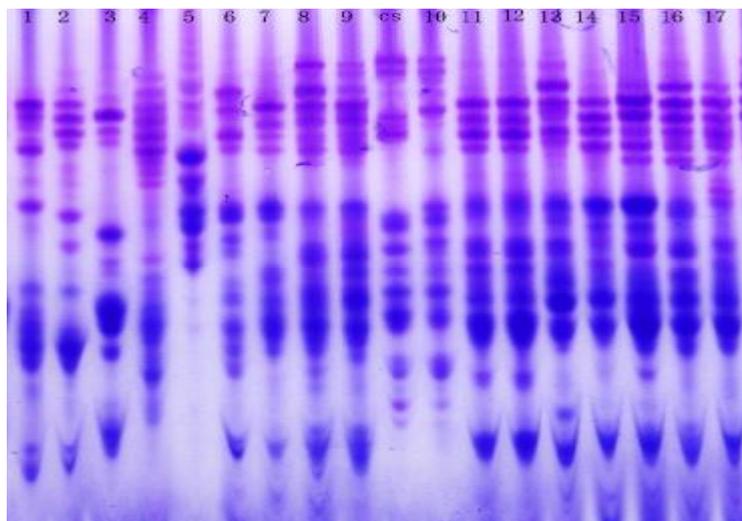


图 3.1 部分材料的醇溶蛋白电泳图谱

Fig.1 Gliadin patterns of a part of material after A-PAGE

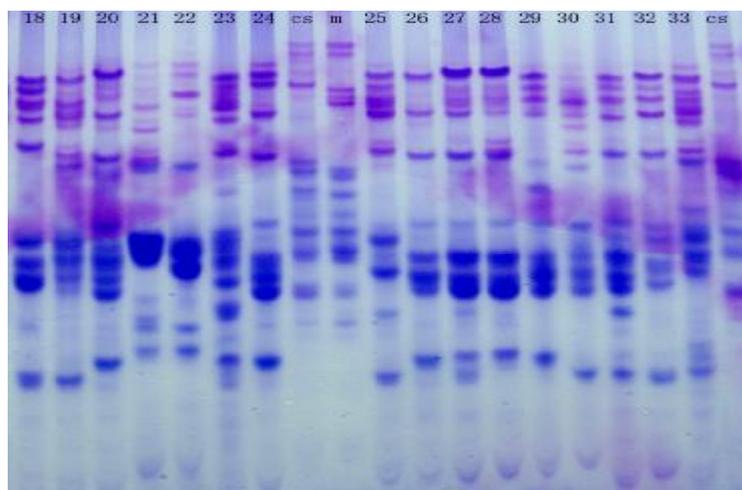


图 3.2 部分材料的醇溶蛋白电泳图谱

Fig.1 Gliadin patterns of a part of material after A-PAGE

表 3.2 供试材料的醇溶蛋白多态性

Table 2.1 The gliadin genetic polymorphism among all material			
种名 species	垂穗+短芒披碱草 15Nutans+ 1Breviaristatus	老芒麦 Sibiricus	老芒麦+垂穗+短芒披碱草 15Nutans+21Sibiricus +1Breviaristatus
居群数 number of population	16	21	37
总位点数 The total numbers of loci	32	37	42
多态位点数 The number of polymorphic loci	28	36	42
多态位点比例 (%) polymorphic loci percentage	87.5	97.3	100
Nei's 基因多样性(simpson 指数 D) Nei's gene diversity	0.2986	0.381	0.3662
Shannon 指数 H Shannon's Information index H	0.4525	0.5592	0.5457

2、供试材料的醇溶蛋白相似系数分析

37 份供试材料醇溶蛋白遗传相似系数(Nei—Li/Dice 系数, GS)除 QLB1 和 QLN6、QLN2 和 QLN3 具有相同的谱带, 遗传相似系数为 1.0000 外, 其他材料间遗传相似系数范围是 0.1538~0.8800, 全部材料的遗传相似系数平均值为 0.4368, 变幅为 0.7262。21 份老芒麦间的平均遗传相似系数为 0.6145、15 份垂穗披碱草和 1 份短芒披碱草醇溶蛋白平均 GS 为 0.487。以上结果进一步说明供试材料间具有较为丰富的醇溶蛋白遗传多样性。

3、供试材料基于 Nei-Li(Dice)遗传相似系数的聚类分析

对供试的 37 份材料之间的遗传相似系数 (Nei-Li/Dice) 按 UPGMA 法进行聚类分析 (图 3.2)。当取 $GS=0.422$ 水平时, 所有供试材料可分为六类, 第一类包含了所有的 Nutans 和一份短芒披碱草, 第二至第六类全部为老芒麦; 从图可以看出, 第一次聚类并不能将三个种明显区分开, 值得提出的是, 唯一的一份短芒披碱草 QLB1 与 QLN6 (垂穗披碱草)、垂穗披碱草 QLN2 与 QLN3 具有完全相同的醇溶蛋白图谱。如果说 QLN2 和 QLN3 都属于垂穗披碱草, 并且采集地区相同, 为两份材料具有完全相同的谱带类型提供了合理的解释, 那么短芒披碱草与 QLN6 两份材料分属于两个种, 在形态上由于外稃芒的长短具有明显的不同, 却产生了完全相同的谱带数和谱带类型, 就很难分析出其原因。正如目前国内存在争议的披碱草属与鹅观草属合并为一属还是划分成两个属一样, 很多学者都认为, 只根据每穗轴节小穗的多少并不能说明种间亲缘关系的远近, 从 QLB1 和 QLN6 两份材料具有完全相同的谱带类型, 可以推断出, 外稃芒的长短也并不能成为推断种间亲缘关系远近的证据。

将聚类图 2.3 与第二章的形态学聚类图 (图 2.2) 相对照, 为便于区分, 将与根据形态学划分的变异类型一致的材料分别标记了不同的符号, N I 表示为 ■; N II

表示为●；NIII表示为▲；SI表示为□；SII表示为▼；SIII表示为○；唯一的短芒披碱草表示为⊠。根据醇溶蛋白电泳图谱聚类结果与形态学聚类结果基本一致，属于同种，同地区采集的材料基本可以聚在一起，各份种质与其地理分布间存在一定的相关性，但并不总是如此。例如，以GS=0.422时划分的第二类，包含了三份老芒麦，分别属于不同的变异类型。第三类也包含了来自内蒙、宁夏、新疆、祁连山等四个地区的两种变异类型的种质材料。形态学聚类结果也同样显示了短芒披碱草与垂穗披碱草QLN6具有较近的亲缘关系，其形态学特征除外稃芒的长度有明显区别外，其他特征均与垂穗披碱草相似，醇溶蛋白图谱的一致性进一步说明了这一结果，是否将两份材料划分为同一种下的不同变异类群还是划分为两个种，应在细胞学和DNA水平上作进一步的研究。

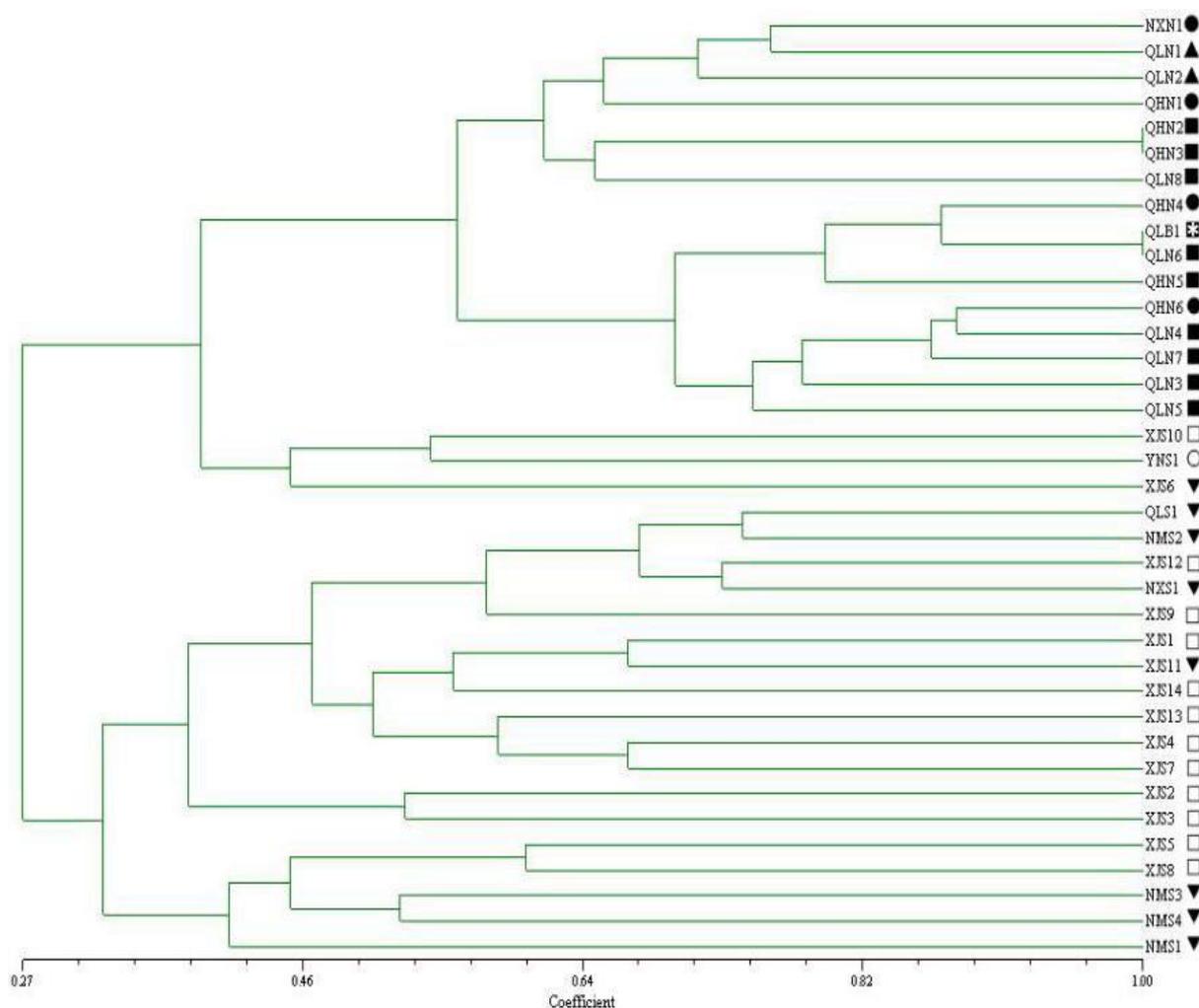


图 3.3 37 份披碱草属种质材料基于醇溶蛋白数据的聚类图

Fig 3.3 dendrogram of 37 *Elymus* Griseb. Based on gliadin data using Nei-Li's genetic similarity coefficients

3.3 讨论

3.3.1 实验方法与操作须注意问题

1986年国际种子协会颁布的适用于小麦和大麦品种的酸性聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)标准程序,其优点是所需贮备液少,凝胶聚合快,电泳时间短,一直被许多学者采用,但其分辨率低,利用ISTA颁布的方法对披碱草属植物进行适合性检验,并不完全适合,因此根据自己实验室装备情况,实验方法在凝胶配方、电极缓冲液、电泳条件等方面进行了诸多改进,效果较好(具体见试验步骤)。在实验过程中,每一步的具体操作都有很多要注意的问题,上一步的正确操作都为下一步的工作打下基础。值得强调的有以下几个方面:

- 1、在醇溶蛋白电泳进行的过程中,一定要注意每次电泳条件的一致性,如电泳时间、上样量、电压等,在电泳完毕后,测量上样孔到指示剂前沿的位置,为计算迁移率做好准备工作。

- 2、为使谱带统计更加准确、方便,尽量多使用几份对照品种,或采用拼板的方法,使上一板与下一板的材料之间有几份重复材料。

- 3、蛋白的提取液最好现配现用,或保存于冰箱中。各种溶液的配制要尽量精确,凝胶溶液室温保存,否则凝胶速度太慢,或胶联度太低。

- 4、加入过硫酸氨和TEMED要均匀,快速摇匀。灌胶和插梳子应速度快,无气泡,拔梳子要掌握稳准。

- 5、电压采用200V-500V-200V的调节方式,并且电泳在4℃冰箱中进行,能够减少谱带拖尾现象。

3.3.2 醇溶蛋白电泳分析披碱草属种质遗传多样性的可行性

小麦及其近缘植物种子的醇溶蛋白带谱严格受遗传控制,不同来源的材料或品种间带谱差异显著,变异丰富,可以作为品种指纹来鉴定品种及其纯度(1999,张学勇等)。已有众多学者基于研究系统进化、种质保护和种质遗传变异的目的是对小麦族(Triticeae)植物的醇溶蛋白遗传多样性进行了分析,而且均是仿照RAPD、AFLP等分子标记的处理方法(记录为“0/1”数据)对醇溶蛋白进行分析。本研究对37份穗型下垂类披碱草属植物进行了醇溶蛋白电泳图谱分析,并发现供试材料间具有较高的醇溶蛋白多态性, α 、 β 、 γ 、 ω 4个电泳区的平均Shannon多样性指数为0.5457,聚类结果显示种质材料的谱带特征与地域生态特征具有较高的相关性。故醇溶蛋白分析可作为研究披碱草属植物遗传多样性简单、有效的手段。

但是,与第二章中的分类结果相对比,根据形态学特征分出的不同变异类型比较,发现同一变异类型的材料并不能完全聚在一起,并且唯一的一份短芒披碱草种质材料与垂穗披碱草中的QLN6具有完全相同的谱带特征,说明不管是醇溶

蛋白分析还是形态学特征分析，都存在着一定的局限性，不能检测到全基因组所有位点的变异，故应该进一步进行 DNA 水平上的分子标记（如 RAPD、ISSR、AFLP 等）和细胞学水平上的的分析研究，并与醇溶蛋白图谱分析结果和形态学性状进行比较，使得研究更具系统性和完整性。

第四章 部分种质材料的染色体观察

4.1 实验材料与方法

4.1.1 材料来源

对 XJS4、XJS9、QHN5、XJS1、QHN3、XZS4、XJS6、YNS1、XZS3 等 9 份材料（其中包括分枝老芒麦、典型老芒麦、密穗老芒麦、粗壮多花老芒麦、典型垂穗披碱草、高大多小穗垂穗披碱草）进行了染色体数的观察、并对 XZS3 进行了核型分析。（详见表 2.1 及续表）

4.1.2 试验方法

主要采用李懋学等（1996）推荐的植物根尖压片法，染色方法为铁帆——苏木精染色法和石炭酸——品红染色法。

3.1.2.1 试验主要仪器设备

- (2) PL303 电子天平（METTLER TOLEDO 公司）
- (3) SHA-CT 振荡器（杰瑞尔公司）
- (4) BCD-182B 型展示柜冰箱（海尔）
- (5) 85-1 恒温磁力搅拌器
- (7) 载玻片和盖玻片、镊子、手术刀、剪刀、
- (8) 各种规格的玻璃器皿（培养皿、量筒、烧杯、容量瓶等）
- (9) Motic 显微镜

3.1.2.2 溶液的配制

本试验中所用的试剂包括：8-羟基喹啉（分析纯）；无水乙醇（分析纯）；冰醋酸（分析纯）；盐酸（分析纯）；硫酸铁铵（分析纯）；苏木精（上海生工 high pure）；苯酚（石炭酸）（分析纯）；碱性品红（进口分装分装）；山梨醇（进口分装）；二甲苯（分析纯）；蒸馏水等。

溶液的配制：

1、0.002M8-羟基喹啉（分子量 145.16）

配制 500ml 溶液：8-羟基喹啉 0.145g 加入蒸馏水定容至 500ml。

2、卡诺氏固定液（无水乙醇 3 份，冰醋酸 1 份，二者比例为 3：1）

配制 400ml：无水乙醇 300ml，加入冰醋酸 100ml。

3、1N 浓盐酸的配制

配制 300ml：浓盐酸 25.9ml 加入蒸馏水定容至 300ml。

4、4%的硫酸铁铵（铁矾）水溶液

配制 200ml：铁矾 8g，现溶于少量蒸馏水中，溶解后再定容至 200ml。

5、0.5%苏木精染液（原料：苏木精、无水乙醇）

配制 200ml：苏木精 1g 加入 10ml 无水乙醇溶解后，再用蒸馏水定容至 200ml。

6、45%冰醋酸

配制 500ml：冰醋酸 225ml 加入蒸馏水定容至 500ml。

7、石炭酸—品红染液

配方 I：

原液 A：称取 3g 碱性品红溶于 100ml 70%的酒精中，（此液可以无限期的保存）。

原液 B：取 100ml 原液 A 加入 90ml 5%的石炭酸水溶液中（2 周内使用）。

染色液：50ml 原液 B 加入 6ml 冰醋酸和 6ml 37%的甲醛。

配方 II：

取配方 I 中的染色液 2-10ml 加入 90-98ml 45%冰乙酸和 1.8g 的山梨醇。此液两周后或两个月后使用染色效果更好。此液室温下可保存两年。

以上溶液配制好后，均放入冰箱冷藏备用。

3.1.2.3 试验操作步骤

铁矾—苏木精染色法（ $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2\text{—C}_{16}\text{H}_{14}\text{O}_6$ ）

(1)取材：将植物种子放入培养皿中，加适量水置于 25℃ 恒温箱内发芽。

(2)预处理：待幼根长至 1.0—1.5cm 时，取下幼根放入 0.002M8-羟基喹啉水溶液中，一般预处理时间 1-4h。

(3)固定：将幼根放入卡诺液（Carnoy）（无水乙醇：冰乙酸=3：1）中固定 2-24h。

(4)解离：将幼根放入 1N 盐酸中，在室温（18-20℃）下解离 50-70min（60℃ 恒温下解离 8min）。

(5)媒染：幼根在 4%硫酸铁铵水溶液中媒染 4h。

(6)染色：幼根在 0.5%苏木精水溶液中染色 2h 以上。

(7)分色和软化：幼根在 45%乙酸中软化半小时至 1 小时。

(8)压片和封片：在洁净的载玻片上切取根尖 1mm 左右，加一滴 45%乙酸，加盖玻片，用解剖刀柄轻击盖玻片，使根尖细胞散开，用拇指积压盖玻片。若镜检中发现染色体分散好，图像清晰的片子，冰冻分离载片和盖片，室温干燥或电吹风干燥，二甲苯透明 5min，晾干后用加拿大树胶封片，制成永久片待用或保存。

注意(闫贵兴，2001)：在前一步处理转入下一步处理之前，幼根一定要用蒸馏水反复冲洗，洗净多余药品，否则影响制片效果。

铁矾-苏木精染色法中，媒染剂和染色剂的配制和使用是否得当，对制片效果至关重要。

媒染剂通常用 4%的铁矾水溶液。所用铁矾应选用淡紫色而透明的结晶，如变为白色或黄色粉状物则已变质，不能再用。铁矾水溶液保存性差，在高温条件下容易产生黄色氧化铁，染色效力减弱。为减缓溶液氧化变质，配好的溶液可放在冰箱中短期保存 2 个月左右。为保证染色效果良好，最好用新鲜配制的溶液。

染色剂一般用 0.5% 的苏木精水溶液，配制时先将苏木精结晶溶于少量无水乙醇中，待完全溶解后加入蒸馏水，不加瓶塞，用纱布包扎瓶口，使瓶内外空气流通，慢慢氧化。一般室温条件下，半个月至一个月即可成熟，过滤后使用。若想提早使用，可用煮沸的蒸馏水配制。即先将苏木精结晶溶于少量无水乙醇中，然后再加入煮沸的蒸馏水，冷却后即可使用。一般室温条件下，苏木精染色液可保存 2-3 个月。如果染色液颜色由原来的深红色变为黄褐色，表示已变质，不能再用。配好的溶液应放在冰箱中保存。

石炭酸-品红染色法 (C₆H₅OH-C₂₂H₂₄CIN₃)

(1)取材：预处理、固定、和解离各步骤与铁矾-苏木精染色法相同

(2)软化：解离后的植物材料用蒸馏水冲洗，转入 45% 乙酸中软化半小时至 1 小时。

(3)染色：软化后的材料用蒸馏水冲洗，在石炭酸-品红染色液中染色，室温 (18-20℃) 一般染色半小时至 4 小时。

(4)压片：镜检和封片：在洁净的载玻片上切取根尖，加一滴染色液，按常法压片。镜检后冰冻分离该片，室温晾干，二甲苯透明 5min 左右，取出晾干，加拿大树胶封片，制成永久片待用。

注意 (闫贵兴, 2001)：石炭酸-品红染色法制片成功的关键在于植物幼根在盐酸中解离的时间长短是否合适。解离时间太短，染色不清晰，细胞质也着色；解离时间过长，染色体不染色或染色极淡。

每种材料均观察 30 个左右细胞进行染色体计数，选用 5 个分散良好的中期分裂相进行分析，利用 Motic Images Plus 2.0 软件进行测量，得到核型数据。按李懋学和陈端阳 (1985) 的标准进行核型分析。其中染色体相对长度=染色体长度/染色体组总长度*100；染色体长度比=最长染色体长度/最短染色体长度；臂比值=长臂/短臂。

4.2 结果与分析

4.2.1 染色体数目的观察

根据前人的报道，老芒麦和垂穗披碱草两个种在形态学特征上有很多交叉之处，但在细胞学水平上，染色体数目完全不同，可以将其作为区分他们的参考依据。垂穗披碱草 (*E. sibiricus*) 的染色体数目为 $2n=6x=42$ ，属于六倍体，染色体组为 StStHHYY，而老芒麦的染色体数目为 $2n=4x=28$ ，属于四倍体，染色体组为 StStHH。染色体数目观察结果见表 4.1 及附录 2 照片 1-16。从表 4.1 中可以看出，典型的老芒麦和典型的垂穗披碱草染色体数目与前人观察结果相同，而仅仅在数量性状上表现的比较突出的粗壮多花老芒麦和分支老芒麦具有与典型老芒麦相同的染色体数。高大多小穗垂穗披碱草与典型垂穗披碱草也具有相同的染色体数目。

但是，值得注意的是，密穗老芒麦 XZS3，所观察到的每个根尖细胞中染色体数目是 42 条，根据形态学鉴定结果和前人对老芒麦染色体数目的报导并不相符。在形态学鉴定中，XZS3 属于第三种类型的老芒麦，其形态学特征显示出与垂穗披碱草较多的性状交叉，将其定名为老芒麦主要是其内稃先端两裂和其数量性状特点更靠近老芒麦的描述，这在聚类图 2.2 中也可以明显看出，它与垂穗披碱草居群具有更为接近的亲缘关系。这说明仅仅依靠形态学特征进行比较鉴定植物材料，确定他们的亲缘关系比较困难，还需要借助其他水平上的研究结果作为验证和补充。

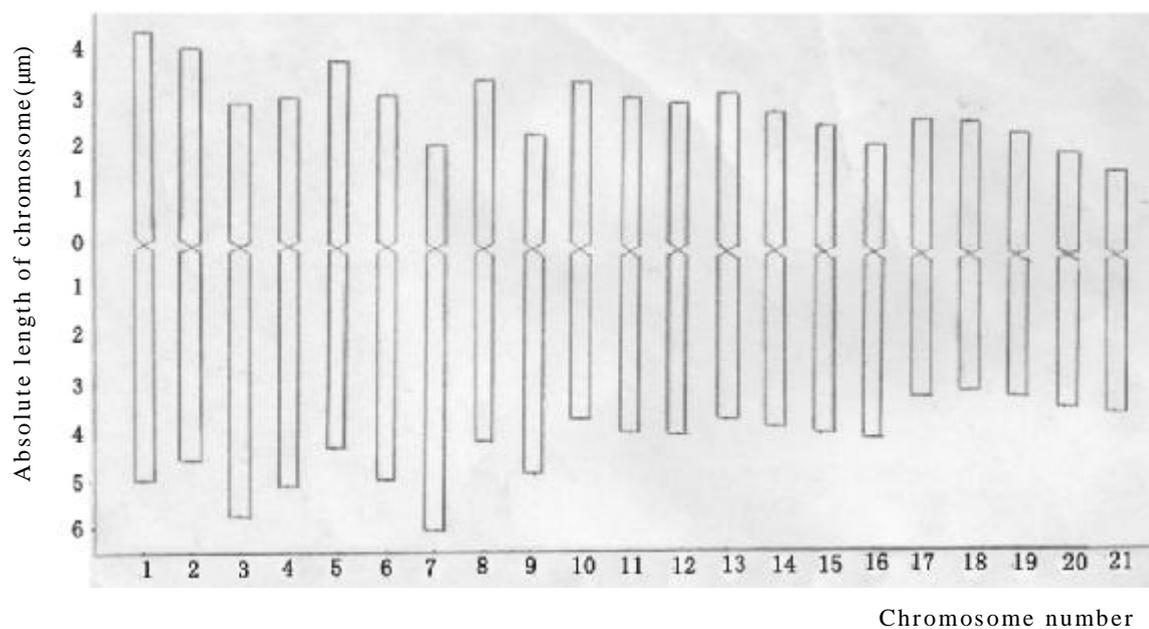


图 4.1 XZS3 的染色体核型模式图

Fig 4.1 The ideograms of XZS3

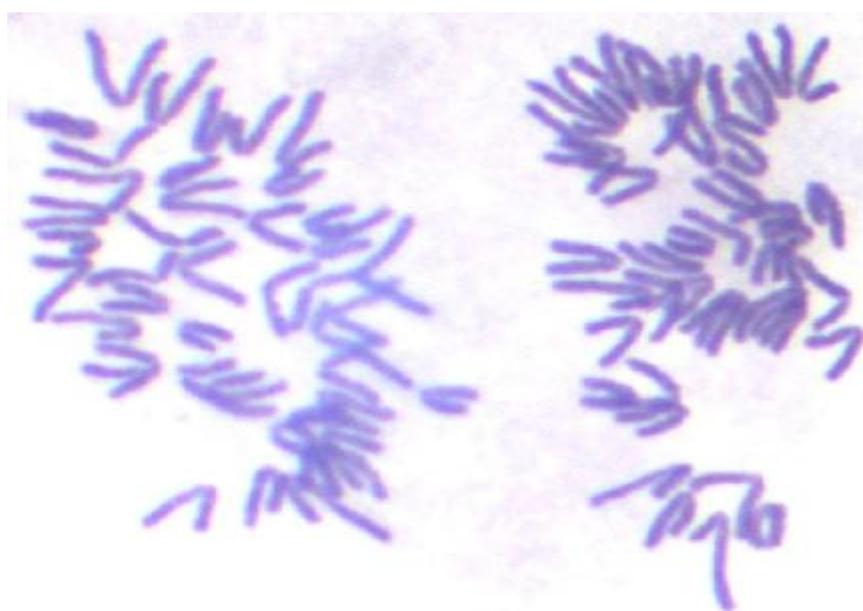


图 4.2 XZS3 染色体 ($2n=6x=42$)

表 4.1 9 份材料的染色体数目观察结果
The number of chromosome of 9 populations

材料编号 Identity	鉴定种名 species	染色体数 Number of chromosome	变异类型 Variation type
XJS4	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	典型老芒麦 Typical sibiricus
XJS9	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	典型老芒麦 Typical sibiricus
XJS1	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	典型老芒麦 Typical sibiricus
XJS6	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	粗壮多花老芒麦 strong multi-flower sibiricus
QHN5	垂穗披碱草 <i>E. nutans</i>	$2n=6x=42$	典型垂穗披碱草 typical nutans
QHN3	垂穗披碱草 <i>E. nutans</i>	$2n=6x=42$	高大多小穗垂穗披碱草 typical nutans
YNS1	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	分支老芒麦 spike-ramosed sibiricus
XZS3	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=6x=42$	密穗老芒麦 spikelet-densing sibiricus
XZS4	老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	$2n=4x=28$	粗壮多花老芒麦 strong multi-flower sibiricus

另外，在观察供试材料染色体时，除了具有典型的整倍体细胞外，还有一些非整倍体细胞出现。例如，典型老芒麦中有的根尖细胞染色体数为 21、25、27 条，而垂穗披碱草材料的染色体数目有的为 30、40、35 条不等（附录 2，图 14-16）。自然界野生的多年生植物，常具有有性生殖和无性生殖，非整倍体对植物有性繁殖和结实方面存在影响，但不影响无性繁殖，因为多倍体植物能够忍受染色体的不平衡，非整倍体在多倍体植物中并不罕见，而是普遍存在。这些细胞学染色体数目上的变异，是植物形态学特征分化的基础。染色体数目变化，往往会引起某些表型性状的异常，遗传变异随之出现。植物育种家就可以根据育种目标，来选择有益于人类生产和生活的目标性状，开展植物育种研究。

4.2.2 XZS3 的核型分析

鉴于 XZS3 材料的特殊性，我们对这份材料进行了核型分析。其观测数据结果如表 4.2。染色体图片和模式图见图 4.1 和图 4.2。XZS3 的根尖细胞染色体数目为 42。核型公式为 $2n=6x=42=34m+8sm$ ，染色体总长度为 $146.80\mu\text{m}$ 。绝对长度范围为 $4.97\mu\text{m}\sim 9.31\mu\text{m}$ 。相对长度变化范围为 $3.38\%\sim 6.34\%$ ，染色体长度比为 1.87。与前人(闫贵兴，云锦凤等，1991)对垂穗披碱草核型分析研究结果对照，可以看出 XZS3 的核型特征与垂穗披碱草核型特征基本相符。基于以上事实，认为这份材料与垂穗披碱草居群具有更加相近的亲缘关系，将其划分为垂穗披碱草的种间变异类型更为合理。

4.3 讨论

以比较形态学为基础建立的系统分类学，在解释植物的进化规律，建立演化模式上起了十分重要的作用。但由于植物的演化本身是一个及其复杂的过程，在长期演化及生境发生变化的过程中，由于存在不同的选择力以及在这种选择力作用下的不同基因库，不仅使物种的演化样式存在着巨大的差别，种内的不同生态群在形态上也存在不同程度的变异。上述结果也反映了这一特点。因此，单纯以形态比较往往很难完全反映植物的真实亲缘关系。仍需要借助其他方面的研究作为验证和补充。

表 4.2 XZS3 核型分析结果

染色体编号 No of chromosome	染色体长度 μm absolute length	相对长度% Relative length	臂比(L/S) Arm ratio	类型 Type
1	4.93+4.38=9.31	6.34	1.13	m
2	4.50+4.06=8.56	5.83	1.11	m
3	5.63+2.92=8.55	5.82	1.94	sm
4	5.01+3.02=8.03	5.47	1.66	m
5	4.22+3.80=8.02	5.47	1.11	m
6	4.85+3.17=8.02	5.46	1.55	m
7	5.91+2.11=8.02	5.46	2.81	sm
8	4.03+3.48=7.52	5.12	1.17	m
9	4.72+2.31=7.03	4.79	2.05	m
10	3.57+3.44=7.01	4.77	1.04	m
11	3.84+3.13=6.97	4.75	1.23	m
12	3.87+3.03=6.90	4.70	1.28	m
13	3.51+3.24=6.75	4.60	1.08	m
14	3.67+2.89=6.56	4.47	1.27	m
15	3.79+2.61=6.40	4.36	1.45	m
16	3.87+2.24=6.10	4.16	1.73	sm
17	3.00+2.76=5.76	3.92	1.09	m
18	2.85+2.72=5.57	3.79	1.05	m
19	2.96+2.48=5.44	3.70	1.20	m
20	3.20+2.13=5.33	3.63	1.50	m
21	3.25+1.72=4.97	3.39	1.89	sm

不同种类的植物染色体数目是相对恒定的，这对维持种的稳定性具有较为重要的意义。染色体受外界环境的影响远小于外部形态性状，较之于外部形态性状所提供的信息，它能够更为深刻地反映物种遗传上的差异和亲缘关系的本质。很多研究曾报道，老芒麦和垂穗披碱草在形态学特征上存在着性状交叉，有必要将难以鉴别的种质材料进行染色体数和核型的分析，作为形态学鉴定的补充和证据，并通过核型分析为育种家利用一些特异性种质材料提供更为详实可靠的数据。

第五章 全文结论

5.1 形态学鉴定及其聚类分析

对来自 8 个不同地区 49 份披碱草属穗型下垂类种质经分类鉴定, 其中 25 份属于老芒麦, 23 份属于垂穗披碱草, 1 份是短芒披碱草。在鉴定过程中发现, 这些种质材料的形态学性状在种间及种内不同居群间都存在较大的变异。很多性状与植物志中的描述不相吻合。老芒麦和垂穗披碱草的很多形态学性状发生交叉。根据鉴定和利用 25 个形态学特征的聚类结果, 将老芒麦分为典型老芒麦、粗壮多花老芒麦、分枝型老芒麦和密穗老芒麦 4 种变异类型; 垂穗披碱草分为典型垂穗披碱草、高大多小穗垂穗披碱草和分枝型垂穗披碱草 3 种变异类型。

5.2 醇溶蛋白多样性分析

37 份供试材料 (包括 21 份老芒麦 *Elymus. sibiricus*、15 份垂穗披碱草 *Elymus. nutans*、1 份短芒披碱草 *Elymus.breviaristatus*) 的醇溶蛋白多样性分析结果表明, 各材料间具有较高水平的醇溶蛋白多态性。值得提出的是, 唯一的一份短芒披碱草 QLB1 与垂穗披碱草 QLN6 具有完全相同的醇溶蛋白图谱, 而这两份材料外稃芒的长短明显不同。

醇溶蛋白聚类结果与形态学聚类结果基本一致, 属于同种, 同地区采集的材料基本可以聚在一起, 各份种质与其地理分布间存在一定的相关性, 但是并不总是如此。在形态学聚类图中同样显示出短芒披碱草与垂穗披碱草具有很近的亲缘关系, 说明外稃芒的长短并不能成为进行种间分类鉴定的主要依据。

5.3 细胞学水平的研究

对 9 份材料进行的染色体数的观察结果表明, 典型的老芒麦和典型的垂穗披碱草染色体数目与前人观察结果相同, 粗壮多花老芒麦、分支老芒麦与典型老芒麦, 高大多小穗垂穗披碱草与典型垂穗披碱草染色体数目相同, 分别为 $2n=4x=28$ 和 $2n=6x=42$ 。但是, 材料 XZS3, 每个根尖细胞中的染色体数目是 42 条, 与前人对老芒麦染色体数目鉴定结果不符。这份材料在形态上与垂穗披碱草具有很多性状交叉。

对 XZS3 进行的核型分析结果显示, 其根尖细胞染色体数目为 42。核型公式

为 $2n=6x=42=34s+8sm$ ，染色体总长度为 $146.80\mu\text{m}$ 。与闫贵兴等（1991）对垂穗披碱草核型分析结果相似，把这份材料归为垂穗披碱草居群的一种变异类型更为合理。

5.4 建议

1、全文在形态学水平、蛋白质水平和细胞学水平上的研究结果显示，无论是在哪个水平上进行的研究，都具有一定的局限性，只有从多个水平进行比较，层层深入，才能得出更准确的结论。

2、同一居群内发生形态学变异的不同个体（例如花序分支的老芒麦与没有分支的老芒麦个体）在多水平上的比较研究，并对一些特殊的形态学变异性状进行选择、基因定位等专门的研究，为育种工作打好基础。

3、外稃芒长存在明显不同的短芒披碱草与垂穗披碱草在醇溶蛋白图谱上没有表现出明显的遗传差异，形态学性状上也有很多交叉，划分不同的种还是不同的变异类型，应该有多个水平研究的数据支持。

4、材料 XZS3、XZS1、XZS2，在形态学上表现了比较大的变异，应进行更加全面深入的研究，给出每份材料准确的染色体数目和核型特征，并进行 DNA 水平上的分析，为进一步创新利用这些种质材料打下良好的基础。

参考文献

1. Agafonoy A, Baum V, Bailey B R, Agafonova L G. Differentiation in the *Elymus Dahuricus* complex (Poaceae): evidence from grain proteins, DNA, and crossability[J]. *Hereditas*, 2001, 135:277-289.
2. Baum B R, Yang J L, 1991. *Roegneria*: its generic limits and justification for its recognition. *Can J Bot*, 69:282-294
3. Bentharn G, 1981. Notes on Gramineae. *Bot J Linn Soc*, 18:14-134
4. Bothmer R von, Seberg, N Jacobsen. Genetic resources in the Triticeae. *Hereditas*. 1992, 116:141-150
5. Bothmer R von, Jacobsen N et al., 1991. An Ecogeographical Study of The Genus *Hordeum*. *Systematic and Ecogeographical Studies on Crop Genepools* 1991, 7: 127
6. Bowden W M. 1964. Cytotaxonomy of the species and interspecific hybrid of the genus *Elymus* in Canada and neighboring areas. *Canad J Bot*. 42:547-601
7. C. J. Jeffrey. *An Introduction to Plant Taxonomy*, (2nd Edition)[M]. London: Cambridge University Press, 1982
8. Chen Shou-liang. *Flora of China*. 2006, 22:400-429.
9. Coult F W, 1947. Nomenclatureal changes on *Elymus* with a key to the Californian species. *Madrono*, 9:120-128
10. Cox T.S. et al. Genetic relationships among hard red winter wheat6 cultivars as evaluated by pedigree analysis and gliadin polyacrylamide gel electrophoretic patterns. *Crop Sci*, 1985, 25: 1058~1063
11. Dewey D R. Historical and current taxonomic perspectives of *Agropyron*, *Elymus* and related genera. *Crop Science*, 1983, 23:637-64
12. Dewey D R. The genome system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial triticeae [A]. in: Gustafson J P ed. *Gene manipulation in plant improvement*[C]. New York: Plenum. 1984. 209-280
13. Diaz O, Sun Gen Lou, Salomon B, Bothmer R von. Levels and distribution of allozyme and RAPD variation in populations of *Elymus fibrosus*(Schrenk) Tzvel. (Poaceae). *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2000, 47(1):11~24.
14. Diaz O, Salomon B, Bothmer R von. Genetic diversity and structure in populations of *Elymus caninus* (L.) L. (Poaceae). *Hereditas*, 1999, 131(1):63~74
15. Draper S R. 1987 ISTA and 1987 variety committee: Report of the working group for biochemical tests for cultivar identification 1983~1986(J). *Seed Science and Technology*, 1987, 15: 431~431
16. Guadagnuolo R, Bianchi D, Felber F. Specific genetic markers for wheat, spelt, and four wild relatives: comparison of isozymes, RAPDs, and wheat microsatellites. *Genome*,

- 2001, 44:610-621
17. Guadagnuolo R, Savova-Bianchi D, Felber F. Gene flow from wheat (*Triticum aestivum* L.) to jointed goatgrass (*Aegilops cylindrica* Host.) as revealed by RAPD and microsatellite markers. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 1~8
 18. Hitchcock A S, 1951. *Hordeae*. In: *Manual of the Grasses of the United States*. Washington D C: US Govt Printing Office, 230-280
 19. Hodgkin T, Y J Adaham, K S Powell, A preliminary survey of wild *Triticum* and *Aegilops* species in the world, s genebanks. *Hereditas*. 1992, 116: 155-162
 20. Kumamaru T, Satoh H, Iwata N, Omura T, Ogawa M. Mutant for rice storage proteins. III. Genetic analysis of mutants for storage proteins of protein bodies in the starchy endosperm. *Japanese Journal of Genetics*, 1987, 62: 333 - 339.
 21. Linnaeus C, 1753. *Species Plantarum*. Facsimile Edition
 22. Löve A, 1984. *Conspectus of the Triticeae*. *Feddes Report*, 95: 425-521
 23. Lu B R, Salomon B, Bothmer R V. Meiotic studies of the hybrids among *Pseudoroegneria cognata*, *Elymus semicostatus* and *E. pendulinus* (Poaceae). *Hereditas*, 1991, 114(1): 117-12
 24. Lu B R, Bothmer R von, 1993. Meiotic analysis of *Elymus caucasicus*, and their interspecific hybrids with twenty-three *Elymus* species (poaceae: Triticeae). *P1 Syst Evol*, 185: 35-53
 25. Lu B R, Bothmer R von, 1993. Meiotic analysis of *Elymus caucasicus*, and their interspecific hybrids with twenty-three *Elymus* species (poaceae: Triticeae). *P1 Syst Evol*, 185: 35-53
 26. Lu B R. Biosystematic investigation of Asiatic wheatgrass-*Elymus* L. (Triticeae Poaceae) [J]. *Alnarp, Sweden*, 1993, 1-57.
 27. Lu B R. Meiotic analysis of the intergeneric hybrids between *Pseudoroegneria* and tetraploid *Elymus*. *Cathaya*, 1994, 6(1): 1-14
 28. Macritchie D, Sun G L. Evaluating the potential of barley and wheat microsatellite markers or genetic analysis of *Elymus trachycaulus* complex species. *Theoretical and Applied Genetics*, 2004, 108: 720-724
 29. Meguire P E, Dvorak J, 1981. High salt tolerance potential in wheat grasses. *Crop Sci*, 21: 102-105
 30. Milbourne D, Rhonda M, Bradshaw J E, Baird N, Provan J, Poell W, Waugh R. Comparison of PCR-based marker systems for the analysis of genetic relationships in cultivated potato. *Molecular Breeding*, 1997, 3: 127-136
 31. Mujeeb-Kazi A, Rodriguez R, 1982. Cytogenetics of *Elymus Canadensis* and *Hordeum vulgare*. *J Hered*, 73: 77-79
 32. Nenski S A, 1934. *Hordeae Benth*. In: Komarov V L, Roshevits R Y, Shishkin B K eds. *Flora USSR II*. Leningrad: Editio Academiae Scientiarum USSR, 590-728

33. Pogna NE, Borghi B, Mellini F. Electrophoresis of gliadin for estimating the genetic purity in bread wheat seed production. *Gene Agr*, 1986, 40(2): 201~212
34. Runemark H, Heneen W K, 1868. *Elymus* and *Agropyron*, a problem of generic delimitation. *Bot Notiser*, 121: 51-79
35. Sharma H C, Gill B S, Uyemoto J K. High level of resistance in *Agropyron* species to barely yellow dwarf and wheat streak mosaic viruses [J]. *Theor. Appl. Genet*, 1984, 67: 235-243
36. Sun G L, Diaz O, Salomon B, Bothmer R V. Genetic diversity in *Elymus caninus* as revealed by isozyme, RAPD, and microsatellite markers. *Genome*, 1999, 42: 420-431
37. Sun G L, Diaz O, Salomon B, Bothmer R V. Microsatellite variation and its comparison with allozyme and RAPD variation in *Elymus fibrosus* (Schrenk) Tzvel. (Poaceae). *Hereditas*, 1998c, 129: 275—282
38. Sun G L, Diaz O, Salomon B, von Bothmer R. Genetic diversity and structure in a natural *Elymus caninus* population from Denmark based on microsatellite and isozyme analyses. *Plant Systematics and Evolution*, 2001, 227: 235-244
39. Sun G L, Salomon B, von Bothmer R. Microsatellite polymorphism and genetic differentiation in three Norwegian population of *Elymus alaskanus* (Poaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 2002, 234: 101-110
40. Sun G L, Bjorn Salomon. Microsatellite variability and heterozygote deficiency in the arctic-alpine Alaskan wheatgrass (*Elymus alaskanus*) complex [J]. *Genome*, 2003, 46 (5): 729-737.
41. Sun G L, Salomon B, Bothmer R V. Characterization and analysis of microsatellite loci in *Elymus caninus* (Triticeae: Poaceae) [J]. *Theor Appl Genet*, 1998, 96: 676-682
42. Sun G L, Salomon B, Bothmer R-von, et al. Analysis of tetraploid *Elymus* species using wheat microsatellite markers and RAPD markers [J]. *Genome*, 1997, 40: 806~814.
43. Sun G L, Salomon B, Bothmer von R. Characterization of microsatellite loci from *Elymus alaskanus* and length polymorphism in several *Elymus* species (Triticeae: Poaceae) [J]. *Genome*, 1998, 41: 455-463
44. Svitashv S K, T Bryngelsson X Li, Wang R R-C. Genome-specific repetitive DNA and RAPD markers for genome identification in *Elymus* and *Hordelymus*. *Genome*, 1998, 41: 120~128
45. Wang R R C, Dewey D R, Hsiao C. Intergeneric hybrids of *Agropyron* and *Pseudoroegneria*. *Bot Gaz*, 1985, 146(2): 268—27
46. Wang R R C. Diploid perennial intergeneric hybrids in the tribe Triticeae III: Hybrids among *Secale montanum*, *Pseudoroegneria spicata* and *Agropyron mongolicum*, *Genome*, 1987, 29(1): 80-84
47. Wang R R C. Diploid perennial intergeneric hybrids in the tribe Triticeae I: *Agropyron cristatum* x *Pseudoroegneria libanotica* and *Critesion violaceum* x *Psathyrostachys* is

- juncea. *Crop Sci*, 1986, 26(1): 75—79
48. Zhang X Q, Yang J L, Yen C. The genome constitution of *Roegneria grandis* (Poaceae, Triticeae). *PI Syst Evol*, 1998, 209(1): 67—73
 49. Zhou Y H, Zheng Y L, Yanf J L, Yen C. Relationships among species of *Hystrix* Moench and *Elymus* L. assessed by RAPDs. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 2000, 47: 191-196.
 50. 鲍晓明, 黄百渠. 小麦-冰草异附加系种子醇溶蛋白基因表达的分析[J]. 作物学报, 1993, 19(3): 233-238.
 51. 蔡联炳, 冯海生. 披碱草属 3 个种的核型研究. *西北植物学报*, 1997, 17(2): 238-241
 52. 陈功, 贺兰芳. 高寒地区两种老芒麦生态适应性和生产性能评价. *草业科学*. 2004, 21(9): 39-41
 53. 陈守良, 徐克学. 应用数量分类探讨鹅观草属的归属问题. *植物分类学报* 1989, 27(3): 190-196
 54. 耿以礼, 陈守良, 1963. 国产鹅观草属 *Rogeneria* C.Koch 之订正. *南京大学学报*, 1: 1-92
 55. 郭本兆, 王世金, 李健华. 我国小麦族的形态演化与分类、分布的研究[J]. *植物分类学报*. 1985, 23(3): 161-169.
 56. 郭本兆. *中国植物志*[M]. 北京: 科学出版社, 1987, 9(3)
 57. 郭延平, 郭本兆. 小麦族植物的属间亲缘和系统发育的探讨. *西北植物学报*. 1991, 11(2): 159-169
 58. 韩建国, 毛培胜等. 老芒麦种子发育过程中的生理生化变化. *草地学报*. 2000, 8(4)
 59. 胡延吉, 赵檀方. 小麦农艺性状主成分分析与种质资源评价的研究. *作物研究*, 1994, 8(2): 31-34
 60. 胡志昂, 王洪新 1991 蛋白质多样性和品种鉴定. *植物学报* 33 7 :556-564
 61. 兰宝祥, 李立会, 王辉. 蒙古冰草居群遗传多样性研究. *中国农业科学*. 2005, 38(3): 468-473
 62. 兰秀锦, 魏育明, 王志容, 等. 中国节节麦与中东节节麦的醇溶蛋白遗传多样性比较研究[J]. *四川农业大学学报*, 1999, 17(3): 245-248.
 63. 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4)
 64. 李懋学, 张赞平. *作物染色体及其研究技术*. 北京: 中国农业出版社, 1996.
 65. 李懋学, *植物根尖染色体压片法*. 遗传与育种, 1978. (3)
 66. 李永干, 彭启乾, 马鹤林等. 五种国产披碱草属牧草的核型分析. *中国草原*, 1985; 3: 56-60
 67. 李永干, 闫贵兴. 五种国产披碱草属牧草的核型分析. *中国草原*, 1985, (3): 56-60
 68. 刘惠芬, 高玉葆等. 内蒙古中东部不同草原地带羊草种群遗传分化. *生态学报*. 2004, 24(10)
 69. 刘玉红. 我国 11 种披碱草的核型研究. *武汉植物学研究*, 1985; 3(4): 323-330
 70. 刘育萍. 晚熟老芒麦与披碱草种间天然远缘杂种的细胞遗传学研究. *内蒙古草业*.

- 1994, 1 (2)
71. 卢宝荣, 刘继红.染色体组分析及小麦族的系统学.植物学通报, 1992, 9(1):26-31
 72. 卢宝荣, 颜济, 杨俊良.1990, 新疆、青海和四川等地区小麦族植物的细胞学观察.云南植物研究.12 (1): 57—66
 73. 卢宝荣.E.Nutans 和 E.sibiricus,E.burchanbuddae 的形态学鉴定及其染色体组亲缘关系的研究[J].植物分类学报.1994,32(6):504-513
 74. 卢宝荣.小麦族遗传资源的多样性及其保护.生物多样性. 1995, 3 (2): 63-68
 75. 毛培胜, 韩建国, 刘刚.老芒麦幼穗分化过程.中国草地.2004, 26 (5)
 76. 宋俊双, 高洪文, 王赞等. 三种锦鸡儿属植物表形多样性分析.草业学报 2005, 14 (3): 123-130
 77. 唐慧慧,丁毅,胡耀军.中国近缘野生大麦醇溶蛋白的遗传多态性研究[J].武汉植物学研究, 2002,20(4):251-257
 78. 王克平.披碱草的核型分析.遗传.1982, 4 (6):19—20
 79. 王世金, 李健华. 小麦族植物作为牧草种质资源的初步评价. 草业科学 1993, 2(1) 60-69
 80. 王述民, 曹永生, R J Redden 等.我国小豆种质资源形态多样性的鉴定和分类研究.作物学报, 2002a, 28 (6):727—733
 81. 王树彦, 云锦凤, 徐军等. 加拿大披碱草与老芒麦及其杂种的生长规律和形态特性.草地学报.2004 12 (4) .
 82. 乌仁其木格, 于卓, 云锦凤.几种小麦族禾草及其杂种酯酶同工酶研究. 1999, 20 (4)
 83. 吴舒致, 黎裕.谷子种质资源的主成分分析和图论主成分分类.西北农业学报, 1997, 6(2):46—50
 84. 吴卫,郑有良,魏良明,周永红,刘登才,兰秀绵.利用醇溶蛋白分析小麦强优势组合亲本遗传差异.四川农业大学学报,1999,(2).
 85. 吴征镒, 陈书坤.云南植物志 (9) [M].北京: 科学出版社.2003.404-409
 86. 徐柱.中国禾草属志[M]. 内蒙古人民出版社, 1997,195-197
 87. 徐柱.中国牧草手册.化学工业出版社, 2004, 112-115.
 88. 徐柱. 世界禾草属志. 中国农业科技出版社, 1999, 272—273
 89. 闫贵兴.中国草地饲用植物染色体研究, 呼和浩特: 内蒙古人民出版社, 2001.
 90. 阎贵兴,张素贞,云锦凤等.33种禾本科饲用植物的染色体核型研究.中国草地,1991, (5):1-13
 91. 阎贵兴, 张素贞, 朱光华等.四种鹅观草核型分析及与披碱草属核型比较[J].中国草地, 1991, (4): 45-48
 92. 颜启传.种子检验的原理和技术.北京:农业出版社,1992
 93. 杨瑞武, 周永红, 郑有良.披碱草属的醇溶蛋白研究. 四川农业大学学报, 2000, 18(1),11~14
 94. 杨瑞武, 周永红, 郑有良等. 利用 RAPD 分析披碱草属、鹅观草属和狷草属模式种

- 的亲缘关系.西北植物学报,2001a, 21 (5):865—871
95. 杨瑞武,周永红,郑有良等. 小麦族四个属模式种的醇溶蛋白分析.广西植物. 2001b,21(3):239-242
96. 杨锡林.内蒙古植物志 [M]. 内蒙: 内蒙古人民出版社., 5: 42-149
97. 于卓, SA, IGA, Suguru.小麦族 10 种禾草叶片可消化性及矿物质含量的差异. 草地学报.2002, 10 (1)
98. 于卓, 云锦凤. 小麦族内几种远缘禾草及其杂交种过氧化物酶同工酶分析. 中国草地. 1999, 2: 4-7
99. 云锦凤, 王照兰, 杜建才. 加拿大披碱草与老芒麦种间杂交及 F1 代细胞学分析. 中国草地 1997, 1: 32-35, 48
100. 张正茂, 王睿辉, 李立会等.陕西、宁夏部分地区小麦族植物资源调查、收集与分类鉴定. 植物遗传资源学报 2003, 4 (4): 302-305
101. 赵利峰,李珊,潘莹,等.华山新麦草自然居群沿海拔梯度的遗传分化.西北植物学报,2001,21(3):391~400.
102. 中国科学院西北高原生物研究所编著.青海植物志,第 4 卷:97-103 西宁:青海人民出版社, 1999
103. 周永红, 郑有良 10 种披碱草属植物的 RAPD 分析及其系统学意义.植物分类学报 1999,37 (5) :425-432
104. 周永红.染色体组分析在小麦族系统分类学研究中的应用.植物科学进展, 2001, 4(1):93—100

致 谢

论文是在导师徐柱研究员的悉心指导下完成的。从论文的立题、实验、分析到论文的撰写和定稿无不凝结着导师的心血和汗水。导师渊博的学识、严谨的治学态度、活跃的学术思想、孜孜不倦的工作作风、宽厚待人的品德令我等终身难忘，受益匪浅，将是我永远学习的楷模。导师为学生创造了宽松良好的学习和研究环境，在草原研究所两年来，导师一直给予我无私的关怀、理解和帮助，时值论文完成之际，特向导师致以衷心的感谢。

在论文的开展过程中，还得到草原研究所原牧草育种室主任阎贵兴研究员的指导和帮助，他的具有科学性、严谨性、开拓性的科研思想和宝贵的建议给我启迪，使我终生受用，尤其是在细胞学研究部分给以的精心指导和鼓励，使我在困难面前坚定了信心，少走了弯路，提高了工作效率，在此向阎老师表示由衷地感谢。

在标本的采集和论文实验材料的选择过程中，还得到了课题组马玉宝老师、李临杭老师、田青松老师的指导以及多方面的支持和帮助，在此向他们表示诚挚的感谢。

非常感谢草原研究所科研处的各位领导和老师在论文开展的整个过程中以及生活上给以的关心和帮助。

向师姐肖海峻以及同一实验室的在读博士、硕士生闫伟红、祁娟、单贵莲、宁发等人在论文开展中给以的方方面面的理解、支持和帮助，表示真诚的谢意。

多年来父母、爱人对我无私的奉献、理解、支持和鼓励，使我获得了巨大的精神动力，提高了我面对困难的勇气和信心。在此向他们表示特别的感激之情！

最后，向所有曾帮助过我的人表示最衷心的感谢！

作者简历

卢红双，女，1975年11月出生于河北吴桥，1999年毕业于河北农业大学植物保护专业，曾先后在北京市农科院植保所和北京市房山区韩村河高科技示范园区任实验员和技术员。2004年-2007年在中国农科院攻读硕士学位，期间发表论文：

1. 卢红双，徐柱，马玉宝，李临杭. 披碱草属穗型下垂类种质的分类鉴定及其聚类分析. 云南农业大学学报. (已接收)
2. 肖海俊，卢红双，闫伟红. 小麦族鹅观草属植物研究进展. 草业科学. (已发表)

附录 1 部分材料照片



照片 1 分枝型老芒麦花序



照片 2 分枝型老芒麦



照片 3 XZS3 花序



照片 4 粗壮多花老芒麦花序



照片 5 粗壮多花老芒麦



照片 6 粗壮多花老芒麦小穗及内外稃、内外颖



照片 7 短芒披碱草、花序及小穗



照片 8 分枝型垂穗披碱草花序



照片 9 垂穗披碱草小穗及内外稃



照片 10 高大多小穗垂穗披碱草



照片 11 典型垂穗披碱草花序

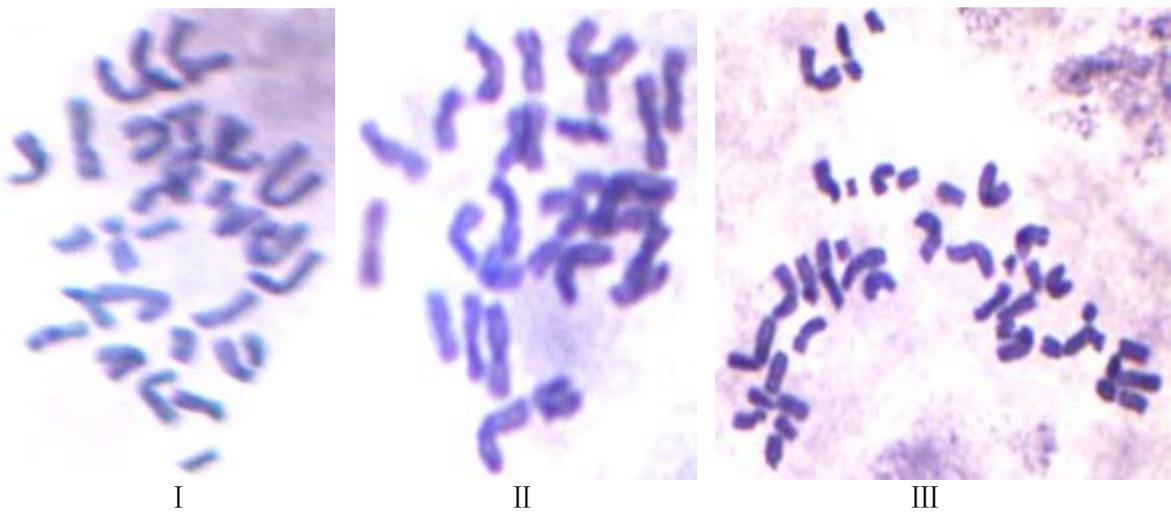


照片 12 分枝型肥披碱草



照片 12 分枝垂穗披碱草

附录 2 部分材料的染色体照片



照片 I -III 依次为材料 XJS4 、 XJS9、 XJS1 典型老芒麦染色体 $2n=4x=28$



照片 4 XJS1
典型老芒麦 $2n=4x=28$



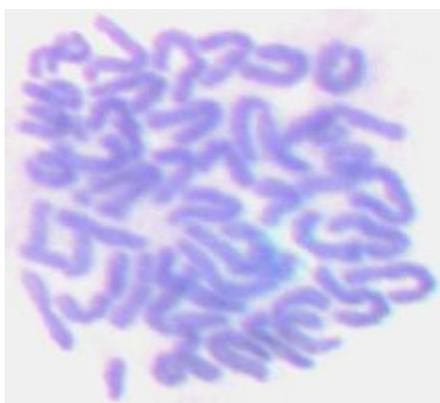
照片 5 XZS4
粗壮多花老芒麦 $2n=4x=28$



照片 6 YNS1
分支老芒麦 $2n=4x=28$



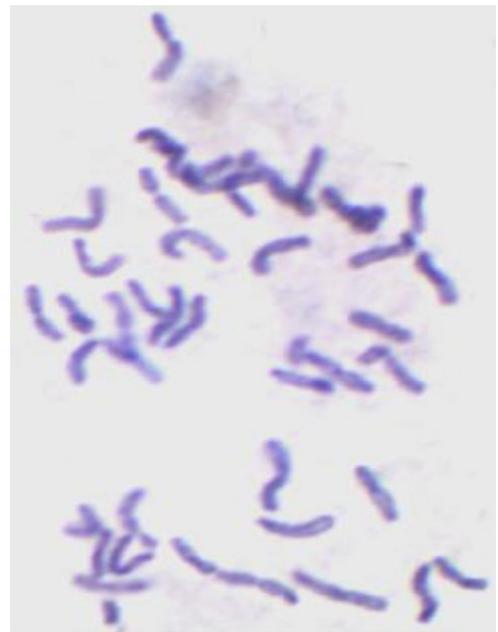
照片 7 XJS6
粗壮多花型老芒麦 $2n=4x=28$



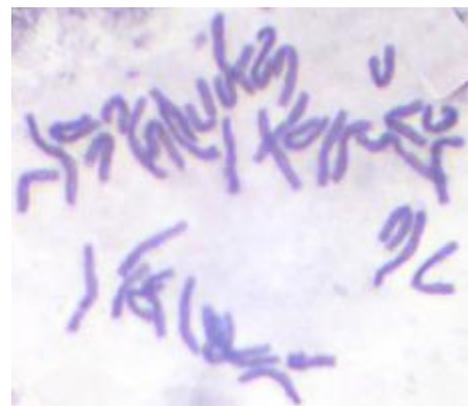
照片 8 QHN3
高大多小穗垂穗披碱草 $2n=6x=42$



照片 9 QHN5
典型垂穗披碱草 $2n=6X=42$



照片 10-11 $2n=6x=42$ 三个细胞 XZS3



照片 12-13 $2n=6x=42$ 2个细胞 XZS3



35 条



30 条



30 条

照片 14-16 非整倍体细胞染色体