

## 垂穗披碱草与达乌里披碱草基因组 细胞遗传学比较

刘 博<sup>1,2</sup>, 路兴旺<sup>1,2</sup>, 陶小燕<sup>1,2</sup>, 窦全文<sup>1,3\*</sup>

(1 中国科学院 西北高原生物研究所, 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810008; 2 中国科学院大学, 北京 100049; 3 中国科学院 西北高原生物研究所, 青海省作物分子育种重点实验室, 西宁 810008)

**摘 要:** 采用顺序 FISH-GISH 技术, 12 个重复序列探针, 包括 9 个三核苷酸简单重复序列、2 个卫星 DNA 重复序列 pSc119.2 和 pAs1 以及 5S rDNA, 通过重复序列的物理定位对达乌里披碱草和垂穗披碱草基因组中部分重复序列的分布特征进行了比较分析, 为进一步研究垂穗披碱草和达乌里披碱草的物种形成及演化提供新的分子细胞遗传学证据。结果表明: (1) 所有的序列在这 2 个物种的染色体上都能产生可检测的杂交信号, 且在 2 个物种中 (AAC)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub> 都表现为共分布, (AAG)<sub>10</sub> 与 (AGG)<sub>10</sub> 表现为近似共分布; 2 个物种的 H 基因组除 5S rDNA 序列外, 其他序列都产生强烈且丰富的杂交位点, St 与 Y 基因组不同重复序列探针的荧光位点数目有所差别, 表现为 5S rDNA、pSc119.2、(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>、(CAC)<sub>10</sub> 探针的信号位点较少或无信号, 其余的探针信号位点稍多。(2) 达乌里披碱草的第 2 对染色体上具有 (AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub> 的杂交位点、第 6 对染色体上具有 (CAC)<sub>10</sub> 的杂交位点, 而在垂穗披碱草的 St 基因组中未观察到上述序列杂交位点; 达乌里披碱草 St 基因组仅有第 4 对染色体的端部具有 pSc119.2 杂交位点, 而在垂穗披碱草 St 基因组中的 pSc119.2 杂交位点位于第 5 对染色体长臂的间隔区; 相对于达乌里披碱草, 垂穗披碱草 St 和 Y 基因组染色体含有更多的重复序列杂交位点。(3) 达乌里披碱草的 H/Y 基因组间易位在不同材料间是稳定存在的, 达乌里披碱草基因组相对稳定, 不同材料间 H 基因组重复序列杂交信号多态性高于 St 和 Y 基因组; 垂穗披碱草基因组的变异较大, 不同材料间 St 和 Y 基因组重复序列杂交信号多态性高于 H 基因组。研究认为, 垂穗披碱草和达乌里披碱草的 H 基因组均起源于布顿大麦, St 基因组可能起源于不同的拟鹅观草属物种; 与达乌里披碱草相比垂穗披碱草 St 与 Y 基因组可能具有更高的染色体结构变异性, 而垂穗披碱草 St 与 Y 基因组变异较大的原因可能是与同区域分布的含 StY 基因组的物种发生了种间渗透杂交。

**关键词:** 重复序列; 顺序 FISH-GISH; 垂穗披碱草; 达乌里披碱草

中图分类号: Q343.2; Q941

文献标志码: A

### Genome Comparison between *Elymus nutans* Griseb. and *E. dahuricus* Turcz. ex Griseb. with Cytogenetics

LIU Bo<sup>1,2</sup>, LU Xingwang<sup>1,2</sup>, TAO Xiaoyan<sup>1,2</sup>, DOU Quanwen<sup>1,3\*</sup>

(1 Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China; 2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3 Key Laboratory of Crop Molecular Breeding of Qinghai Province, Xining 810008, China)

**Abstract:** The genome constitution of *Elymus dahuricus* and *E. nutans* were characterized using 12 repeti-

收稿日期: 2020-01-06; 修改稿收到日期: 2020-03-31

基金项目: 青海省自然科学基金(2020-ZJ-914); 青海省重大科技项目(2018-NK-A2)

作者简介: 刘 博(1995-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事牧草遗传多样性的研究。E-mail: liubo176@mails.ucas.ac.cn

\* 通信作者: 窦全文, 研究员, 博士生导师, 主要从事植物遗传与育种研究。E-mail: douqw@nwipb.cas.cn

tive sequence by a technique of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) probes, which include probes of nine trinucleotide simple sequence repeat (SSR) motifs and two satellite DNA repeats sequences pAs1 and pSc119.2, and ribosomal 5S rDNA. This study provided a new evidence for the speciation and evolution of *E. nutans* and *E. dahuricus* at the level of molecular cytogenetics. The results suggested that: (1) all sequences produce detectable hybridization signals on the chromosomes of both species. In both species, (AAC)<sub>10</sub>, (ACT)<sub>10</sub>, and (CAT)<sub>10</sub> were revealed to be co-localized, whereas AAG and AGG also revealed an approximately co-localized. All repetitive sequences except 5S rDNA, produced high-intensity and multiple hybridization sites on the H chromosomes. The hybridization sites of different repeat sequence on the both St and Y chromosomes are varied. It showed that 5S rDNA, pSc119.2, (AAC)<sub>10</sub>, (CAT)<sub>10</sub>, (ACT)<sub>10</sub>, (CAC)<sub>10</sub> have fewer or no signal distribution, while the remainders have more signal sites. (2) *E. dahuricus* included a hybridization site of (AAC)<sub>10</sub>, (ACT)<sub>10</sub>, (CAT)<sub>10</sub>, (CAC)<sub>10</sub> on St genome. It is distinct from *E. nutans* which includes none of them on its St genome. *E. dahuricus* has one unique pSc119.2 hybridization on the terminal position of a pair of chromosome, in contrast to the *E. nutans* involving it on the intercalary region of a pair chromosome of St genome. *E. nutans* contains more repetitive sequences hybridization sites in St and Y genome than *E. dahuricus*. (3) A unique H/Y inter-genomic translocation was stably detected between different materials in *E. dahuricus*. It implies a relative genome stability of *E. dahuricus*. However, more polymorphic hybridization sites in H genome than in St and Y genome were still observed in *E. dahuricus* between different materials. *E. nutans* present higher number of polymorphic hybridization sites between different materials than *E. dahuricus*. According to the study, both H genomes of *E. nutans* and *E. dahuricus* are derived from *H. bogdanii*, and St genome may be originated from different species of *Pseudoroegneria*. Compared with *E. dahuricus*, St and Y genomes of *E. nutans* may have higher chromosomal structural variability, and the reason for the large variation of St and Y genomes of *E. nutans* may be the introgression hybridizations with the species which contains St and Y genomes distributed in the same region.

**Key words:** repetitive sequence; sequential FISH-GISH; *Elymus nutans*; *Elymus dahuricus*

垂穗披碱草(*Elymus nutans* Griseb.)和达乌里披碱草(*E. dahuricus* Turcz. ex Griseb)都属于禾本科(Poaceae)小麦族(Triticeae)披碱草属(*Elymus* L.)的植物<sup>[1]</sup>。垂穗披碱草在亚洲分布广泛,常生长于海拔1 000~5 000 m灌木丛中、河岸两旁、山坡草地等地<sup>[2]</sup>,它是一种异源六倍体( $2n = 6x = 42$ )植物,基因组组成为StStYYHH。达乌里披碱草是达乌里披碱草复合群中的一种植物<sup>[3-5]</sup>,分布于从伊朗到日本,从西伯利亚南部到中国中部的广大地区<sup>[6]</sup>,它也是异源六倍体,并且基因组组成与垂穗披碱草相同<sup>[1,6]</sup>。这两种披碱草植物的St基因组均起源于拟鹅观草属(*Pseudoroegneria*),H基因组均起源于大麦属(*Hordeum*),而Y基因组的起源仍是未知的<sup>[7-9]</sup>。垂穗披碱草的染色体具有高度的多态性,主要表现为重复序列的缺失、扩增和基因组间易位<sup>[10-11]</sup>。而达乌里披碱草的染色体组更稳定,并且具有1对物种特异性的H/Y染色体组间易位存在<sup>[5,12]</sup>。虽然垂穗披碱草和达乌里披碱草具有相同的基因组组成,但却具有不同的基因组稳定性特征,表明这2个物种的基因组结构特性也许在维持基因组稳定性方面起着重要的作用,因此通过对2个物

种的基因组进行初步比较将有助于理解垂穗披碱草的基因组变异。

植物的基因组中超过75%是由重复序列构成的<sup>[13]</sup>,植物中高度重复序列主要由转座子序列、逆转座子序列、以及卫星DNA序列等组成。卫星DNA是异染色质的主要组成部分<sup>[14]</sup>,并且可能在染色体的结构维持方面起着重要的作用<sup>[15-16]</sup>。卫星DNA可以通过荧光原位杂交(florescence *in situ* hybridization, FISH)的方法在染色体上产生显著的信号,而在一个指定的物种中这种信号通常是独特而又稳定的<sup>[17]</sup>,因此卫星DNA的基因组组成可以通过细胞遗传学的方法进行粗略的评估<sup>[18]</sup>。多个卫星DNA已经在小麦族的一些物种中进行了表征<sup>[19-21]</sup>,一些微卫星DNA在小麦族物种中也已进行了准确的染色体物理定位<sup>[22-25]</sup>。

在本研究中,将利用染色体FISH技术揭示9个三核苷酸简单重复序列以及串联重复序列5S rDNA、pSc119.2、pAs1序列在垂穗披碱草和达乌里披碱草染色体上的分布特征,并进一步比较分析这2个物种间基因组组成差异。

## 1 材料和方法

### 1.1 植物材料

实验所用达乌里披碱草的 2 个材料、垂穗披碱草的 2 个材料、布顿大麦 (*Hordeum bogdanii* Wilensky) 和糙缘拟鹅观草 (*Pseudoroegneria stipifolia* Czern. ex Nevski) 的材料来源信息详见表 1。

### 1.2 染色体玻片制备

材料种子室温萌发并移入盆内生长,取新生的次生根根尖(1 cm 左右)置于 1.5 mL EP 管中,管内喷入少许水保持湿润,打开 EP 管管口将其放入 N<sub>2</sub>O 气室中在 8 个标准大气压下处理 2 h<sup>[26]</sup>,然后加入适量的卡诺液(无水乙醇:冰醋酸=3:1,体积比)固定 30 min 以上,在干净载玻片上切取根尖分生区后滴加 1 滴 45% 醋酸,盖上盖玻片后用镊子敲片使细胞散开,酒精灯微热后大拇指压片,在相差显微镜(Olympus BX43)下观察,挑选分裂相良好的制片放于-80 °C 冰箱中冰冻。

### 1.3 探针制备

9 个三核苷酸简单重复序列分别为(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>、(AAG)<sub>10</sub>、(AGG)<sub>10</sub>、(ACG)<sub>10</sub>、(CAG)<sub>10</sub>、(CAC)<sub>10</sub>、(AAT)<sub>10</sub>,在 5' 端经羟基荧光素(carboxy fluorescein, FAM)修饰<sup>[25]</sup>,作为 FISH 的探针。重复序列 5S rDNA、pSc119.2 和 pAs1 分别由其特性寡核苷酸片段代表<sup>[27-28]</sup>,在重复序列 5S rDNA、pSc119.2 特性寡核苷酸片段的 5' 端经 FAM 修饰,在重复序列 pAs1 特性寡核苷酸片段的 5' 端经羧基四甲基罗丹明(Carboxyl-tetramethyl rhodamine, TAMRA)修饰,作为 FISH 探针。以上探针由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

提取糙缘拟鹅观草和布顿大麦的全基因组 DNA,基因组 DNA 探针的标记方法参照路兴旺等的报道<sup>[29]</sup>。

### 1.4 荧光原位杂交

FISH 和基因组原位杂交(genome *in situ* hybridization, GISH)的步骤参照 DOU 等的报道<sup>[10]</sup>。在荧光显微镜(Olympus BX63)下对染色体进行观察拍照,图片利用 Adobe Photoshop CC 2015 进行处理。

## 2 结果与分析

### 2.1 垂穗披碱草和达乌里披碱草各基因组及单个染色体的识别

在垂穗披碱草和达乌里披碱草的 4 个材料中都稳定地观察到染色体数目为 42 条(图 1, a1、b1)。经过顺序 FISH-GISH 后,首先根据进行 GISH 后染色体的不同颜色将 St(红色)、Y(蓝紫色)、H(绿色)3 个基因组区分开来(图 1, a2、b2),然后将其对应入同一细胞同一位置的 FISH 模式下的染色体(图 1, a1、b1),由此将具有 FISH 信号的染色体归入各自的基因组中。在达乌里披碱草的 2 个材料中可稳定地检测到 2 对纯合的 H/Y 基因组间易位染色体(图 1, a)。由于重复序列 pAs1 在达乌里披碱草与垂穗披碱草所有染色体的着丝粒附近、亚端粒、或臂的中部区域具有多个位点的分布,参照前人所报道的达乌里披碱草与垂穗披碱草的核型及 2 种披碱草中 pAs1 的分布<sup>[12]</sup>,结合染色体的臂长、臂比和相对长度,可对单个染色体进行识别。pAs1 与不同的重复序列探针组合后对 2 种披碱草进行 FISH 的结果经整理后如图 2 所示,据此对除 pAs1 外的各重复序列探针的杂交位点数目与分布情况进行了统计(表 2)。本研究中不同基因组中 1~7 号染色体的数字编号仅为了方便描述,不等同于普通小麦或大麦中的部分同源群编号。

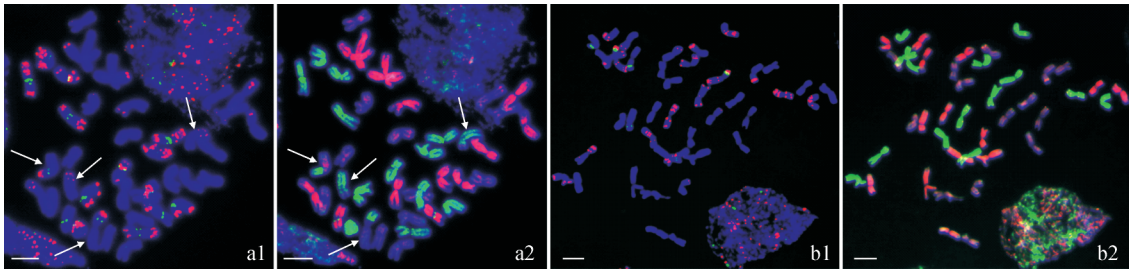
### 2.2 垂穗披碱草和达乌里披碱草 St 基因组中重复序列的分布

5S rDNA 探针在达乌里披碱草 7St 染色体短臂

表 1 实验所用材料

Table 1 Plant materials used in this study

物种 Species	基因组组成 Genomic composition	编号 Code	来源 Source
达乌里披碱草 <i>E. dahuricus</i>	StStYYHH	xjpic	新疆天山地区 Tianshan region, Xinjiang
		57-2	青海湖南岸 South Bank of Qinghai Lake
垂穗披碱草 <i>E. nutans</i>	StStYYHH	A09	青海海晏 Haiyan, Qinghai
		nw32-1	青海同德 Tongde, Qinghai
布顿大麦草 <i>H. bogdanii</i>	HH	--	青海格尔木 Germu, Qinghai
糙缘拟鹅观草 <i>P. stipifolia</i>	StSt	PI 313960	美国犹他州立大学, 牧草与草地研究实验室 FRRL, USA



a1, a2. 达乌里披碱草材料 xjpic; b1, b2. 垂穗披碱草材料 nw32-1. a1 所用探针组合为 pAs1(红色)+(CAG)<sub>10</sub>(绿色), b1 所用探针为 pAs1(红色)+5S rDNA(绿色); a2, b2 所用探针组合为拟鹌鹑草基因组 DNA 探针(红色)+布顿大麦基因组 DNA 探针(绿色)。标尺=10 μm

图 1 达乌里披碱草与垂穗披碱草有丝分裂中期的顺序 FISH-GISH 图示

a1-a2. *E. dahuricus* xjpic; b1-b2. *E. nutans* nw32-1. The probe used for a1 is pAs1 (red) + (CAG)<sub>10</sub>(green), the probe used for b1 is pAs1 (red) + 5S rDNA (green). a2 and b2. Sequential GISH patterns probed with genomic DNAs of *H. bogdani* (green) and *P. stipifolia* (red). Bar = 10 μm

Fig. 1 Sequential FISH and GISH patterns of mitotic metaphase chromosomes about *E. dahuricus* and *E. nutans*

中部产生稳定的信号,在垂穗披碱草中, nw32-1 除了在 5St 染色体的短臂中部检测到与 A09 相同的 5S rDNA 信号外,在其 7St 染色体的短臂中部也检测到杂交信号。pSc119.2 在达乌里披碱草 4St 染色体的近端粒和垂穗披碱草的 5St 长臂中部各检测到 1 对稳定的杂交信号(图 2)。三核苷酸简单重复序列探针 (AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub> 和 (ACT)<sub>10</sub> 在达乌里披碱草 2St 染色体的着丝粒区域各出现 1 对稳定的强信号,并且这 3 个重复序列在染色体上呈现共分布的特征;(CAC)<sub>10</sub> 在达乌里披碱草 6St 染色体的着丝粒区域有 1 对稳定的信号出现;这 4 个三核苷酸简单重复序列探针在垂穗披碱草 2 个居群的材料中均未检测到信号的出现。(AAG)<sub>10</sub> 仅在达乌里披碱草 St 基因组中的 1 或 2 对染色体的着丝粒、臂的中部或近端粒区域产生信号;而在垂穗披碱草 St 基因组中的信号更为丰富且强烈,分布于 4 对染色体的着丝粒、近着丝粒与近端粒区域,且 2 个居群的荧光信号有明显的多态性出现。(AGG)<sub>10</sub> 与 (AAG)<sub>10</sub> 近似呈现共分布的特征,(AGG)<sub>10</sub> 在达乌里披碱草中仅在 2St 和 3St 染色体上出现信号,(AGG)<sub>10</sub> 在垂穗披碱草的 2 个居群中信号位点与多态性较 (AAG)<sub>10</sub> 有所增加。(ACG)<sub>10</sub> 在 2 个物种中的信号不太丰富但多态性较强,在达乌里披碱草中分布于 1 或 2 对染色体的近着丝粒与臂的中部区域,在垂穗披碱草中分布于 2 或 4 对染色体的近着丝粒与近端粒区域。(CAG)<sub>10</sub> 在达乌里披碱草 St 基因组的 3 或 4 对染色体的近着丝粒与臂的中部区域产生信号,且信号要比其他三核苷酸简单重复序列的分布更为丰富,信号也更为强烈;在垂穗披碱草中 (CAG)<sub>10</sub> 的信号较弱,其中材料 A09 St 基因组中的

信号位点多于材料 nw32-1,分布于近着丝粒与近端粒区域。(AAT)<sub>10</sub> 在达乌里披碱草 57-2 与垂穗披碱草 nw32-1 检测到个别的信号,并且在 2 个物种中都表现出与 pAs1 共分布的特征,多分布在染色体的近端粒,近着丝粒与臂的中部也有分布(图 2)。

在达乌里披碱草 St 基因组中除了 (AAG)<sub>10</sub>、(ACG)<sub>10</sub>、(CAG)<sub>10</sub> 和 (AAT)<sub>10</sub> 具有涉及 3 对染色体的 7 个多态性位点外(表 2),其余探针均无多态性的位点出现,在具有多态性的 4 个探针中,(AAG)<sub>10</sub>、(ACG)<sub>10</sub> 和 (CAG)<sub>10</sub> 这 3 个探针在 6St 染色体上产生 4 个多态性位点,并且都表现为在材料 57-2 中有信号的存在而在 xjpic 中没有(图 2)。垂穗披碱草的 St 基因组中除 3St 外的 6 对染色体共有涉及到 6 个探针的 15 多态性位点,主要是信号有无的差异,其中 4St 与 2St 染色体上的多态性位点最多(表 2)。

### 2.3 垂穗披碱草和达乌里披碱草 Y 基因组中重复序列的分布

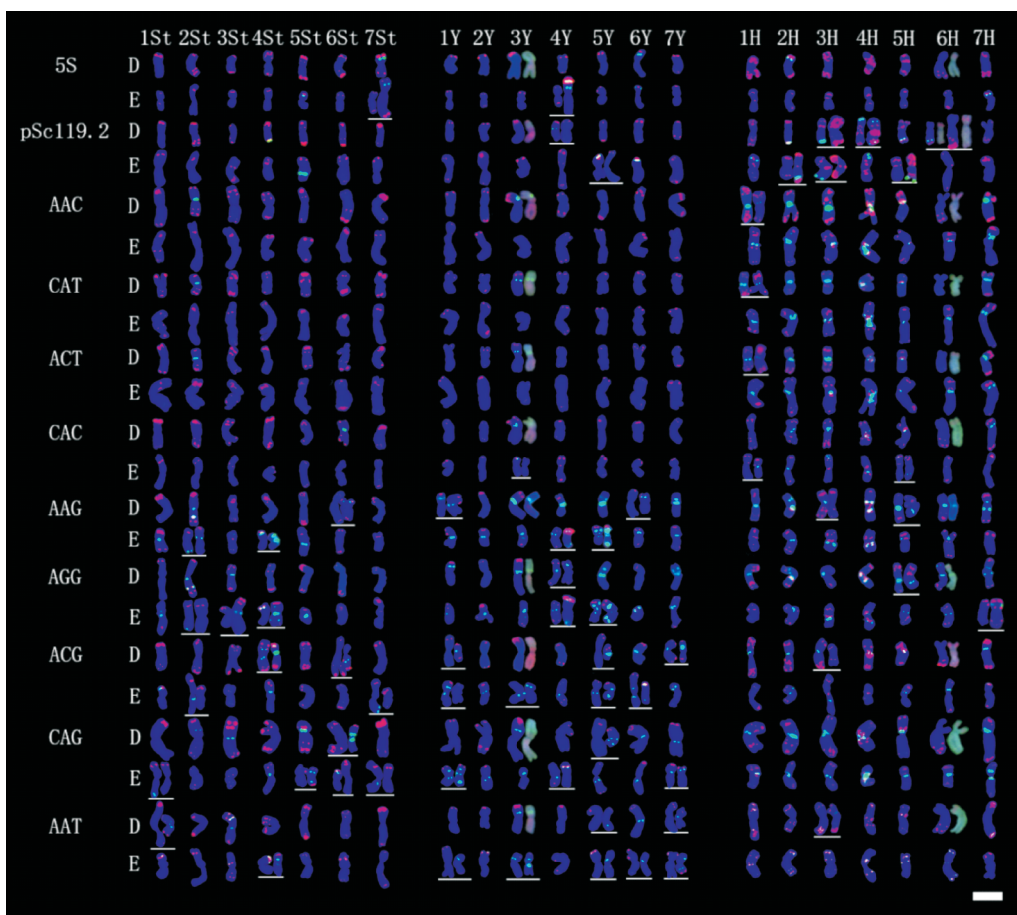
因为达乌里披碱草中具有 1 对物种特异性的 H/Y 染色体组间易位,因此在分析其 H 与 Y 基因组上重复序列的分布时将易位片段交换之后进行信号的统计。5S rDNA 在达乌里披碱草的 6Y 染色体的短臂中部分布稳定;在垂穗披碱草材料 nw32-1 中除了在 6Y 染色体的近端粒区检测到与材料 A09 中相同的信号外,在 4Y 染色体的短臂中部还有 1 对强信号的出现。pSc119.2 仅在达乌里披碱草材料 xjpic 的 4Y 染色体近着丝粒处有 1 对弱信号;在垂穗披碱草中具有 1 或 2 对强信号,分布于 5Y、6Y 染色体的近端粒处。

三核苷酸简单重复序列探针 (AAC)<sub>10</sub>、

(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>在2个物种的Y基因组中均未检测到信号的出现,(CAC)<sub>10</sub>仅在垂穗披碱草材料A09的3Y染色体近端粒处检测到1对信号,在达乌里披碱草中未检测到信号的存在。(AAG)<sub>10</sub>与(AGG)<sub>10</sub>在两物种Y基因组中的荧光位点丰富,在各物种不同的材料间都具有多态性的出现,同时在同一物种中两探针表现出近似共分布的特征,多分布于近着丝粒、着丝粒和臂的中部区域(图2)。(ACG)<sub>10</sub>的信号位点略少于(AAG)<sub>10</sub>与(AGG)<sub>10</sub>,在达乌里披碱草的2或4对Y染色体上有分布,而在垂穗披碱草的7对Y染色体上都有分布,多位于

近着丝粒区,臂的中部与近端粒区域也有分布,信号的多态性较为丰富(图2)。(CAG)<sub>10</sub>与(AAT)<sub>10</sub>在达乌里披碱草Y基因组中的位点不丰富,多分布于1~3对染色体的近着丝粒区,臂的中部近端粒区也有信号的出现;但(CAG)<sub>10</sub>在垂穗披碱草的7对Y染色体上都有分布,多位于近着丝粒区域,臂的中部也有分布,而(AAT)<sub>10</sub>在垂穗披碱草的两个材料间多态性丰富且有些位点与pAs1呈现共分布的特征,多位于染色体臂的中部与近着丝粒区域,近端粒也有分布(图2)。

达乌里披碱草的Y基因组上共有7个探针产生



所用探针 pAs1(红)与其他的重复序列探针(绿)已在图上进行标注。图中仅展示了达乌里披碱草的材料 xjpic 每对染色体的各1条,用字母D加以标识;垂穗披碱草的材料A09每对染色体的各一条,以字母E加以标识。在同一物种不同材料中具有多态性位点的染色体各展列了每对中的1条,下加以白色横线标识,其中左边的为 xjpic(D组中)或A09(E组中),右边的为57-2(D组中)或nw32-1(E组中)。标尺=10 μm

图2 达乌里披碱草和垂穗披碱草的分子核型

Probed by pAs1 (red) combined with the other several repeats (green) have been labeled in the picture. Only one chromosome of each pair of xjpic and A09, *E. dahuricus* and *E. nutans* are shown in the figure which identified by the letter D and E, respectively. Chromosomes with polymorphisms in different materials of the same species are represented by one in each pair, which is marked by white underlines. The left on the underline are belonging to xjpic (group D) or A09 (group E), while the right on the underline are 57-2 (group D) or nw32-1 (group E). Bar = 10 μm

Fig. 2 Molecular karyotypes of *E. nutans* and *E. dahuricus*

表 2 2 个披碱草属植物中重复序列的杂交位点数目与染色体分布

Table 2 Number of hybridization sites and chromosomal distribution of the repetitive sequences for each *Elymus* species

	重复序列 Repetitive sequence	达乌里披碱草 <i>E. dahuricus</i>	垂穗披碱草 <i>E. nutans</i>
St 基因组 St genome	5S	1(7 <sup>n</sup> )	2(5 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)
	pSc119.2	1(4 <sup>n</sup> )	1(5 <sup>n</sup> )
	AAC	1(2 <sup>n</sup> )	—
	CAT	1(2 <sup>n</sup> )	—
	ACT	1(2 <sup>n</sup> )	—
	CAC	1(6 <sup>n</sup> )	—
	AAG	3(2 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> *)	6(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> )
	AGG	3(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> )	8(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> )
	ACG	3(4 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *)	4(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)
	CAG	5(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> *)	6(1 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> *)
	AAT	4(1 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> )	6(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> )
		总杂交位点 Total hybridization sites	24(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> )
	总多态性位点 Total polymorphic sites	7(1 <sup>n</sup> , 2; 4 <sup>n</sup> , 1; 6 <sup>n</sup> , 4)	15(1 <sup>n</sup> , 1; 2 <sup>n</sup> , 3; 4 <sup>n</sup> , 5; 5 <sup>n</sup> , 2; 6 <sup>n</sup> , 1; 7 <sup>n</sup> , 3)
Y 基因组 Y genome	5S	1(6 <sup>n</sup> )	2(4 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> )
	pSc119.2	1(4 <sup>n</sup> *)	2(5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> )
	AAC	—	—
	CAT	—	—
	ACT	—	—
	CAC	—	1(3 <sup>n</sup> *)
	AAG	7(1 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> )	10(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	AGG	6(1 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	10(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	ACG	4(1 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)	10(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> )
	CAG	4(5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	9(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)
	AAT	3(5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)	9(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> *)
		总杂交位点 Total hybridization sites	26(1 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> *)
	总多态性位点 Total polymorphic sites	11(1 <sup>n</sup> , 2; 4 <sup>n</sup> , 2; 5 <sup>n</sup> , 4; 6 <sup>n</sup> , 1; 7 <sup>n</sup> , 2)	23(1 <sup>n</sup> , 4; 3 <sup>n</sup> , 3; 4 <sup>n</sup> , 5; 5 <sup>n</sup> , 5; 6 <sup>n</sup> , 2; 7 <sup>n</sup> , 4)
H 基因组 H genomes	5S	1(2 <sup>n</sup> )	1(7 <sup>n</sup> )
	pSc119.2	6(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> *)	5(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *)
	AAC	8(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	9(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	CAT	8(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	9(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	ACT	8(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	9(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	CAC	7(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	5(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *)
	AAG	11(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	6(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> )
	AGG	11(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	7(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)
	ACG	6(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	4(2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> )
	CAG	9(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	8(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> , 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )
	AAT	13(1 <sup>n</sup> , 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> , 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> )	15(1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> *, 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> , 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> , 7 <sup>n</sup> *)
		总杂交位点 Total hybridization sites	88 <sup>n</sup> (1 <sup>n</sup> *, 2 <sup>n</sup> , 3 <sup>n</sup> *, 4 <sup>n</sup> *, 5 <sup>n</sup> *, 6 <sup>n</sup> *, 7 <sup>n</sup> )
	总多态性位点 Total polymorphic sites	12(1 <sup>n</sup> , 3; 3 <sup>n</sup> , 5; 4 <sup>n</sup> , 1; 5 <sup>n</sup> , 2; 6 <sup>n</sup> , 1)	6(1 <sup>n</sup> , 1; 2 <sup>n</sup> , 1; 3 <sup>n</sup> , 1; 5 <sup>n</sup> , 2; 7 <sup>n</sup> , 1)

注:括号前的数字为杂交信号的位点数目,括号中的数字为相应具体染色体(图 2),数字后面的<sup>n</sup>代表 1 对同源染色体,\*表示在同一物种的两个居群间染色体具有多态性。总多态性位点中染色体后面的数字代表此染色体所具有的多态性位点的总数

Note: The number before the parenthesis is the number of sites of the hybridization signal. The number in the parenthesis is the corresponding chromosome in Fig. 2. The<sup>n</sup> represents a pair of homologous chromosomes, and \* indicates polymorphic chromosome in another materials. The number behind the chromosome in the total hybridization sites represents the total number of polymorphic sites on this chromosome

了可检测的信号位点,其探针 5S rDNA 的信号很稳定,其余的 6 个探针具有涉及 5 对染色体的 11 个多态性位点,与在 St 基因组中类似,来自青海地区的达乌里披碱草材料 57-2 拥有更多的信号位点,其中 3 个探针在 5Y 染色体中具有 4 个多态性位点,使得其 5Y 染色体的串联重复序列在 2 种达乌里披碱草中多态性最为丰富(表 2)。垂穗披碱草的 Y 基因组中可产生信号的 8 个探针在除了 2Y 染色体以外的 6 对 Y 染色体上共产生了 23 个多态性位点,其中 4Y 与 5Y 染色体上串联重复序列的多态性最为丰富(表 2)。

#### 2.4 垂穗披碱草和达乌里披碱草 H 基因组中重复序列的分布

5S rDNA 在达乌里披碱草的 2H 染色体与垂穗披碱草的 7H 染色体短臂中部各有 1 对稳定信号存在。pSc119.2 在 2 个物种 H 染色体组中的位点较丰富,在 3~5 对染色体的近端粒处产生强烈或较强烈的信号(图 2)。

9 个三核苷酸简单重复序列探针在两物种的 H 基因组中都有着丰富的信号位点,且大多分布于着丝粒与近着丝粒区域。其中(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>在两物种 7 对染色体上的信号都分布于着丝粒或近着丝粒区,其中 4 对染色体上为强信号,3 对染色体上为弱信号,仅达乌里披碱草 1H 染色体着丝粒处的信号有信号强弱的差异,3 个序列在同一物种中仍表现为共分布的特征(图 2)。(CAC)<sub>10</sub>的信号稍弱,在达乌里披碱草的 2~7H 染色体的近着丝粒与着丝粒处有着稳定的信号;在垂穗披碱草中分布于 1~5H 染色体的近着丝粒与着丝粒、近端粒和臂的中部区域。(AAG)<sub>10</sub>与(AGG)<sub>10</sub>仍表现为近似共分布的特征,在达乌里披碱草的 7 对 H 染色体的近着丝粒、着丝粒与臂的中部区域都有较强的信号,在垂穗披碱草的 2~5H 染色体的近着丝粒和着丝粒区域有着强度不等的信号,在材料 nw32-1 的 7H 染色体短臂中部也有 1 对弱信号的存在(图 2)。(ACG)<sub>10</sub>在两物种 H 染色体组中的信号不及其余三核苷酸简单重复序列探针丰富,且信号都较弱,分布于 5 或 6 对 H 染色体的近着丝粒区。(CAG)<sub>10</sub>在两物种 H 染色体组中的分布与(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>和(ACT)<sub>10</sub>类似,在 7 对 H 染色体的着丝粒与近着丝粒区都有着较强的信号。(AAT)<sub>10</sub>在达乌里披碱草与垂穗披碱草 H 染色体组中与 pAs1 的信号呈现高度的重叠,表现出较强的共分布特征,信号多分布于染色体臂的中部、近着

丝粒和近端粒区域,信号较稳定(图 2)。

在达乌里披碱草的 H 基因组中,除了探针 5S rDNA、(CAC)<sub>10</sub>、(CAG)<sub>10</sub>外,其余的 8 个探针在两居群间均有多态性位点的产生,主要是信号的有无与强弱的差异,共有涉及 5 对染色体的 12 个多态性位点,其中 3H 染色体上信号的多态性最为丰富(表 1)。在垂穗披碱草的 H 基因组中只有 pSc119.2、(CAC)<sub>10</sub>和(AGG)<sub>10</sub>等 3 个探针在 5 对染色体上具有 6 个多态性位点,其中 5H 是重复序列多态性最高的染色体,具有 2 个多态性位点存在(表 1)。

### 3 讨论

#### 3.1 垂穗披碱草和达乌里披碱草基因组特征差异性分析

在垂穗披碱草与达乌里披碱草的 3 个基因组中,11 个重复序列探针大多数都产生了可检测的荧光信号。其中 H 基因组上杂交信号的位点多且强烈;St 与 Y 基因组上杂交信号的位点较少,并且位点的分布有着相似性。由此推测在达乌里披碱草和垂穗披碱草中,H 基因组与 St、Y 基因组的亲缘关系较远,St 与 Y 基因组的亲缘关系相对较近,这与前人的研究也相符合<sup>[30-31]</sup>。

两种披碱草的 H 基因组上重复序列的分布有着极高的相似性。其中(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>和(ACT)<sub>10</sub>在两种披碱草中的分布极为相似;5S rDNA 在两种披碱草的 H 基因组中都有着 1 对分布于短臂中部的位点;其余 7 种重复序列在两种垂穗披碱草 H 基因组中的分布也有着很高的相似性,同种重复序列的荧光信号分布区域基本相同,但数量有所差别,其中差别最大的为(AAG)<sub>10</sub>,在达乌里披碱草的 7 对染色体中有 11 个位点分布,在垂穗披碱草的 5 对染色体中有 6 个位点分布。并且同一物种不同居群的 H 基因组间重复序列现多态性的位点都较少。因此判断在不同披碱草属物种间 H 基因组的差异不大,H 基因组很稳定。

St 与 Y 基因组中重复序列的分布有着相似性,都表现为 5S rDNA、pSc119.2、(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub>和(CAC)<sub>10</sub>的分布较少或无分布,而其余 5 种重复序列的分布较多,但具体重复序列的分布在两基因组中又有着不同。在两种披碱草的 Y 基因组中,(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub>和(ACT)<sub>10</sub>全都无分布;5S rDNA、(AAG)<sub>10</sub>、(AGG)<sub>10</sub>、(ACG)<sub>10</sub>、(CAG)<sub>10</sub>和(AAT)<sub>10</sub>在两种披碱草的 Y 基因组中有着相似分布位置,但在垂穗披碱草中都表现为位点更加

丰富;在两种披碱草的 Y 基因组中 pSc119.2 与 (CAC)<sub>10</sub> 的分布不同,其中 pSc119.2 在垂穗披碱草 Y 基因组中有 1~2 对染色体近端粒的强信号,但在达乌里披碱草中仅材料 xjpic 的 Y 基因组中有 1 对位于近着丝粒的弱信号;(CAC)<sub>10</sub> 在垂穗披碱草的材料 A09 中有一对位于近端粒的弱信号,在达乌里披碱草中无分布。垂穗披碱草两居群的 Y 基因组间重复序列出现多态性的位点(23)远多于达乌里披碱草(11)。因此认为两个物种间的 Y 基因组具有一定的差异,其中垂穗披碱草的 Y 基因组具有更高的变异特性。在两种披碱草的 St 基因组中,(AAC)<sub>10</sub>、(CAT)<sub>10</sub> 和 (ACT)<sub>10</sub> 的分布有着明显的差异,在达乌里披碱草的 St 基因组中都有 1 对位于近着丝粒区域的位点并且表现为共分布的特征,而在垂穗披碱草的 St 基因组中无分布;(CAC)<sub>10</sub> 的分布与 (AAC)<sub>10</sub> 类似,在达乌里披碱草中有但在垂穗披碱草中无分布;pSc119.2 在两种披碱草的 St 基因组间表现出明显的位置差别;其余重复序列的分布有着相似性,但在垂穗披碱草的 St 基因组中分布位点更丰富。垂穗披碱草两个居群的 St 基因组间重复序列出现多态性的位点也较多。因此认为两种披碱草的 St 基因组具有较大的差异,其中垂穗披碱草的 St 基因组呈现更高的变异特性。

### 3.2 垂穗披碱草和达乌里披碱草基因组起源比较分析

垂穗披碱草与达乌里披碱草的 St 基因组均起源于拟鹅观草属<sup>[7-8]</sup>。有研究发现 St 基因组在拟鹅观草属中发生了分化<sup>[32-34]</sup>。在披碱草属含有 St 基因组六倍体中,也发现在 St 基因组间存在分化<sup>[35]</sup>。从本实验的结果来看,达乌里披碱草与垂穗披碱草的 St 基因组中重复序列的分布既有相似之处又有明显的差异存在,这种差异的原因可能是因为它们起源于不同的拟鹅观草属祖先种。

Y 基因组是小麦族中重要的基因组之一,但是 Y 基因组的起源还不确定,有研究者认为 Y 基因组与 St 基因组有着各自的供体<sup>[9,31-32,36]</sup>,也有研究者认为 St 和 Y 基因组可能具有共同的祖先<sup>[37-38]</sup>。本实验中,根据 GISH 的结果可以清楚的将 St 与 Y 基因组分开,表明 St 与 Y 基因组有着较大的差别,但重复序列的 FISH 位点在 St 与 Y 染色体组中又有着相似的分布,表明在两个基因组间又具有一定的相似性。

垂穗披碱草与达乌里披碱草的 H 基因组都起源于大麦属。基于我们之前利用重复序列对布顿大

麦进行的核型分析工作<sup>[25]</sup>,发现一些重复序列的分布在两种披碱草与布顿大麦间具有极高的相似性。如(AAC)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub> 和 (CAT)<sub>10</sub> 在布顿大麦中也表现为共分布,与两种披碱草的 H 基因组相比信号的分布与强度无明显变化;(AAG)<sub>10</sub> 与 (AGG)<sub>10</sub> 在布顿大麦中表现为共分布,在两种披碱草中表现为近似共分布,信号的位点与在布顿大麦中类似,稍有多态性的变化。pSc119.2、(CAC)<sub>10</sub> 在布顿大麦与两种披碱草中的分布也具有相似性。其余重复序列的分布发生了变化,其中最明显的是 5S rDNA。布顿大麦中,5S rDNA 几乎在所有的染色体上都检测到了荧光信号,在两种披碱草的 H 基因组中都只检测到 1 对 5S rDNA 信号的存在。由此认为达乌里披碱草与垂穗披碱草的 H 基因组起源于布顿大麦,在多倍化的过程中一些重复序列可能发生了增加或缺失,(AAC)<sub>10</sub>、(ACT)<sub>10</sub> 和 (CAT)<sub>10</sub> 的共分布与 (AAG)<sub>10</sub>、(AGG)<sub>10</sub> 的共分布的结构得以保留,这些 SSRs 长链可能具有重要的功能和相同的进化机制,Cuadrado 等在小麦和大麦中曾发现类似的 (AAG)<sub>10</sub>、(AAC)<sub>10</sub> 和 (CAT)<sub>10</sub> 序列的分布模式,这些不同的 SSRs 长链可能代表了小麦族中一个可能的古老基因组组成部分<sup>[39]</sup>。

### 3.3 垂穗披碱草染色体结构变异性分析

LU 对来自不同居群的垂穗披碱草进行人工杂交发现不同居群间的垂穗披碱草之间存在遗传分化,一些染色体间具有较大的结构变异以致于在减数第一次分裂中期染色体配对异常,并且种内杂种中可能有染色体倒位与易位的存在<sup>[2]</sup>。青海高原地区垂穗披碱草的染色体具有高度的多态性。在我们之前的研究中,利用 pAs1+AAG 作为 FISH 探针,结合 GISH 对青海高原地区 8 个野外居群的 27 个垂穗披碱草个体进行核型分析,共观察到 100 个染色体变异位点,染色体变异的类型主要表现为重复序列的缺失、扩增以及基因组间的易位,其中 Y 染色体组变异数最多(44),而 H 染色体组最少(21)<sup>[11]</sup>。相对于垂穗披碱草基因组高度变异特性,达乌里披碱草基因组呈现较高的稳定性,物种特异性 H/Y 易位染色体在其他研究中<sup>[5,12]</sup>以及在本研究不同材料中都能稳定检测到。本研究对多个重复序列在两个物种基因组中的分布揭示,垂穗披碱草的 St 和 Y 基因组较达乌里披碱草具有更加丰富的杂交信号位点,表明垂穗披碱草的 St 和 Y 基因组较达乌里披碱草含有更多的串联重复序列分布区,由于串联重复序列常分布于染色体异染色质区,异



染色质区无功能基因分布,由此推测垂穗披碱草的 St 和 Y 基因组与达乌里披碱草相比可能具有更高的染色体结构变异性。另外本研究揭示垂穗披碱草不同材料间 St 和 Y 基因组重复序列的分布呈现高度多态性,披碱草属物种进化过程呈现网状进化<sup>[40]</sup>,在青海高原地区垂穗披碱草与披碱草属近缘物种间天然杂交高频率发生<sup>[29]</sup>,并且在该区域披碱

草属基因组组成为 StY 的物种分布众多<sup>[41]</sup>,由此推测垂穗披碱草与同区域分布的含 StY 基因组的物种发生种间渗透杂交有可能是造成垂穗披碱草 St 和 Y 基因组变异的重要驱动因素;达乌里披碱草基因组表现相对稳定,推测达乌里披碱草本身具有的特殊生殖隔离机制,阻止了近缘物种间的种间杂交渗透。

### 参考文献:

- [1] LÖVE Á. Conspectus of the Triticeae [J]. *Feddes Repertorium*, 1984, **95**(7/8): 425-521.
- [2] LU B R. Meiotic studies of *Elymus nutans* and *E. jacquemontii* (Poaceae, Triticeae) and their hybrids with *Pseudoroegneria spicata* and seventeen *Elymus* species [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1993, **186**(3/4): 193-212.
- [3] AGAFONOV A V, BAUM B R, BAILEY L G, *et al.* Differentiation in the *Elymus dahuricus* complex (Poaceae): Evidence from grain proteins, DNA, and crossability [J]. *Hereditas*, 2001, **135**(2/3): 277-289.
- [4] YANG C R, BAUM B R, CHEN W H, *et al.* Genomic constitution and taxonomy of the Chinese hexaploids *Elymus cylindricus* and *E. breviaristatus* (Poaceae: Triticeae) [J]. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 2016, **182** (3): 650-657.
- [5] YANG C R, ZHANG H, CHEN W, *et al.* Genomic constitution and intergenomic translocations in the *Elymus dahuricus* complex revealed by multicolor GISH [J]. *Genome*, 2017, **60** (6): 510-517.
- [6] BAUM B R, BAILEY L G, JOHNSON D A, *et al.* Molecular diversity of the 5S rDNA units in the *Elymus dahuricus* complex (Poaceae: Triticeae) supports the genomic constitution of St, Y, and H haplotypes [J]. *Canadian Journal of Botany*, 2003, **81**(11): 1 091-1 103.
- [7] DEWEY D R. Cytogenetics of *Agropyron ugamicum* and six of its interspecific hybrids [J]. *Botanical Gazette*, 1980, **141** (3): 469-478.
- [8] YEN C, YANG J L, YEN Y. Hitoshi Kihara, Áskell Löve and the modern genetic concept of the genera in the tribe Triticeae (Poaceae) [J]. *Acta Phytotaxonomica Sinica*, 2005, **43** (1): 82-93.
- [9] FAN X, SHA L N, DONG Z Z, *et al.* Phylogenetic relationships and Y genome origin in *Elymus* L. sensu lato (Triticeae; Poaceae) based on single-copy nuclear *Acc1* and *Pgk1* gene sequences [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, **69**(3): 919-928.
- [10] DOU Q W, CHEN Z G, LIU Y A, *et al.* High frequency of karyotype variation revealed by sequential FISH and GISH in plateau perennial grass forage *Elymus nutans* [J]. *Breeding Science*, 2009, **59**(5): 651-656.
- [11] DOU Q W, YU F, LI Y, *et al.* High molecular karyotype variation revealed in indigenous *Elymus nutans* in the Qinghai Plateau [J]. *Plant Diversity*, 2017, **39**(3): 117-122.
- [12] DOU Q W, ZHANG T L, TSUJIMOTO H. Physical mapping of repetitive sequences and genome analysis in six *Elymus* species by *in situ* hybridization [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2011, **49**(4): 347-352.
- [13] FLAVELL R B, RIMPAU J, SMITH D B. Repeated sequence DNA relationships in four cereal genomes [J]. *Chromosoma*, 1977, **63**(3): 205-222.
- [14] ELDER J F, TURNER B J. Concerted evolution of repetitive DNA sequences in eukaryotes [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 1995, **70**(3): 297-320.
- [15] SYBILLE K, SCHMIDT T, HESLOP-HARRISON J S. Repetitive DNA elements as a major component of plant genomes [J]. *Annals of Botany*, 1998, **82**: 45-55.
- [16] HEMLEBEN V, KOVARIK A, VOLKOV R A, *et al.* Plant highly repeated satellite DNA: Molecular evolution, distribution and use for identification of hybrids [J]. *Systematics and Biodiversity*, 2007, **5**(3): 277-289.
- [17] BADAIEVA E D, AMOSOVA A V, MURAVENKO O V, *et al.* Genome differentiation in *Aegilops*. 3. Evolution of the D-genome cluster [J]. *Plant Systematics and Evolution*, 2002, **231**(1/4): 163-190.
- [18] JIANG J, GILL B S. Current status and the future of fluorescence *in situ* hybridization (FISH) in plant genome research [J]. *Genome*, 2006, **49**(9): 1 057-1 068.
- [19] BEDBROOK J R, JONES J, O'DELL M, *et al.* A molecular description of telomeric heterochromatin in *Secale* species [J]. *Cell*, 1980, **19**(2): 545-560.
- [20] VERSHININ A V, SCHWARZACHER T, HESLOP-HARRISON J S. The Large-scale genomic organization of repetitive DNA families at the telomeres of rye chromosomes [J].

- The Plant Cell*, 1995, **7**(11): 1 823-1 833.
- [21] CONTENTO A, HESLOP-HARRISON J S, SCHWARZACHER T. Diversity of a major repetitive DNA sequence in diploid and polyploid *Triticeae* [J]. *Cytogenetic and Genome Research*, 2005, **109**(1/3): 34-42.
- [22] CUADRADO A, JOUVE N. The nonrandom distribution of long clusters of all possible classes of trinucleotide repeats in barley chromosomes [J]. *Chromosome Research*, 2007, **15**(6): 711-720.
- [23] CUADRADO A, CARDOSO M, JOUVE N. Physical organisation of simple sequence repeats (SSRs) in Triticeae: structural, functional and evolutionary implications [J]. *Cytogenetic and Genome Research*, 2008, **120**(3/4): 210-219.
- [24] ZHAO Y, XIE J H, DOU Q W, *et al.* Diversification of the P genome among *Agropyron* Gaertn. (Poaceae) species detected by FISH [J]. *Comparative Cytogenetics*, 2017, **11**(3): 495-509.
- [25] DOU Q W, LIU R J, YU F. Chromosomal organization of repetitive DNAs in *Hordeum bogdanii* and *H. brevisubulatum* (Poaceae) [J]. *Comparative Cytogenetics*, 2016, **10**(4): 465-481.
- [26] KATO A. Air drying method using nitrous oxide for chromosome counting in maize [J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 1999, **74**(3): 160-166.
- [27] DANILOVA T V, FRIEBE B, GILL B S. Single-copy gene fluorescence *in situ* hybridization and genome analysis: *Acc-2* loci mark evolutionary chromosomal rearrangements in wheat [J]. *Chromosoma*, 2012, **121**(6): 597-611.
- [28] TANG Z, YANG Z, FU S. Oligonucleotides replacing the roles of repetitive sequences pAs1, pSc119. 2, pTa-535, pTa71, CCS1, and pAWRC. 1 for FISH analysis [J]. *Journal of Applied Genetics*, 2014, **55**(3): 313-318.
- [29] 路兴旺, 刘 博, 刘瑞娟, 等. 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 X W, LIU B, LIU R J, *et al.* Cytogenetic identification on interspecific hybrids in genes *Elymus* L. of Qinghai Plateau [J]. *Bulletin of Botanical Research*, 2019, **39**(6): 846-852.
- [30] OKITO P, MOTT I W, WU Y, *et al.* A Y genome specific STS marker in *Pseudoroegneria* and *Elymus* species (Triticeae: Gramineae) [J]. *Genome*, 2009, **52**(4): 391-400.
- [31] DEWEY D R. The genomic system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae [C]// GUSTAFSON J P. Gene manipulation in plant improvement. Stadler Genetics Symposia Series, New York: Springer US, 1984: 209-279.
- [32] SUN G, NI Y, DALEY T. Molecular phylogeny of *RPB2* gene reveals multiple origin, geographic differentiation of H genome, and the relationship of the Y genome to other genomes in *Elymus* species [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2008, **46**(3): 897-907.
- [33] YU H, FAN X, ZHANG C, *et al.* Phylogenetic relationships of species in *Pseudoroegneria* (Poaceae: Triticeae) and related genera inferred from nuclear rDNA ITS (internal transcribed spacer) sequences [J]. *Biologia*, 2008, **63**(4): 498-505.
- [34] LIAO J Q, FAN X, ZHANG H Q, *et al.* Molecular phylogeny of RNA polymerase II gene reveals the relationships of tetraploid species with St genome (Triticeae: Poaceae) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2011, **39**(4/6): 609-618.
- [35] DONG Z Z, FAN X, SHA L N, *et al.* Phylogeny and molecular evolution of the *rbcL* gene of St genome in *Elymus* sensu lato (Poaceae: Triticeae) [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2013, **50**: 322-330.
- [36] ROBERTA J, MASON G, BURNS M M, *et al.* Phylogenetic relationships and reticulation among Asian *Elymus* (Poaceae) allotetraploids: Analyses of three nuclear gene trees [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, **54**(1): 10-22.
- [37] LIU Q L, GE S, TANG H B, *et al.* Phylogenetic relationships in *Elymus* (Poaceae: Triticeae) based on the nuclear ribosomal internal transcribed spacer and chloroplast *trnL-F* sequences [J]. *New Phytologist*, 2006, **170**(2): 411-420.
- [38] ZHANG C, FAN X, YU H Q, *et al.* Phylogenetic analysis of questionable tetraploid species in *Roegneria* and *Pseudoroegneria* (Poaceae: Triticeae) inferred from a gene encoding plastid acetyl-CoA carboxylase [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2009, **37**(4): 412-420.
- [39] CUADRADO A, SCHWARZACHER T, JOUVE N. Identification of different chromatin classes in wheat using *in situ* hybridization with simple sequence repeat oligonucleotides [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2000, **101**(5/6): 711-717.
- [40] SUN G. Molecular phylogeny revealed complex evolutionary process in *Elymus* species [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 2014, **52**(6): 706-711.
- [41] LIU R J, WANG R R-C, YU F, *et al.* Characterization of genome in tetraploid STY species of *Elymus* (Triticeae: Poaceae) using sequential FISH and GISH [J]. *Genome*, 2017, **60**(8): 679-685.

(编辑:宋亚珍)