

用 nrDNA ITS 序列探讨小麦族含 StH 基因组物种的系统发育

王晓丽^{1,2}, 凡星¹, 张春³, 沙莉娜¹, 张海琴¹, 周永红^{1,4*}

(1. 四川农业大学成都科学研究所小麦研究所, 四川 温江 611130; 2. 四川农业大学生命科学与理学院, 四川 雅安 625014; 3. 泸州医学院药学院, 四川 泸州 646000; 4. 四川农业大学作物基因资源与遗传改良教育部重点实验室, 四川 雅安 625014)

摘要:小麦族中具 StH 基因组的物种被包含在广义披碱草属中。本研究利用 nrDNA ITS 序列, 采用最大简约法、最大似然法和基于 MJ 算法的网状结构分析, 对 16 个不同地理分布和形态特征的具 StH 基因组组成的物种及 8 个含 St 和 H 基因组的拟鹅观草属和大麦属的二倍体物种进行了系统发育分析。结果表明, 1) 过去归属于裂颖草属和狷草属的物种大松鼠尾巴草、瓶刷草和狷草与披碱草属物种关系较近, 应当划入披碱草属中; 2) 北美的 StH 基因组物种聚类在一起, 其亲缘关系较近, 它们与欧亚大陆的 StH 基因组物种存在较大变异和分化; 3) 具 StH 基因组物种较大程度的变异和分化与物种的地理分布有关; 4) St 基因组和 H 基因组的二倍体物种分别存在较大的分化。同时本研究还讨论了造成小麦族 StH 基因组物种变异和分化的可能原因。

关键词:小麦族; 披碱草属; StH 基因组; 系统发育; 分化

中图分类号: S512.103; Q943.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-5759(2009)06-0082-09

* 小麦族(Triticeae)是禾本科(Poaceae)一个十分重要的植物类群。小麦族植物含有 Ns、H、P、St、Y、W、E 等 20 多个基本基因组, 这些基因组的二倍体供体通过不同天然杂交组合形成了大量的含有不同基因组组成如 StP、StY、StH、StYW、StYP 等的多倍体植物, 进而形成了大约 70%~75% 的小麦族多倍体物种^[1]。其中, 具有 StH 基因组多倍体物种由二倍体的拟鹅观草属植物(St 基因组)和二倍体的大麦属植物(H 基因组)经异源多倍化形成。具有 StH 基因组多倍体物种全世界约有 35 种, 分布于全球温带和暖温带地区, 生长在草原、山谷、林下、草地边缘等环境中^[1,2]。这些物种多为草原和草甸的优良牧草, 具有较高的经济和生态效益, 同时还具有抗寒、抗旱、耐盐碱等特性, 以及具有麦类作物缺乏的优良抗病虫害和抗逆基因, 是牧草遗传育种和麦类作物遗传改良重要的基因资源^[3-6]。

在 StH 基因组物种的分类处理上存在很大的分歧, 它们曾被归在披碱草属(*Elymus*)、狷草属(*Hystrix*)、裂颖草属(*Sitanion*)及偃麦草属(*Elytrigia*)等不同的属中, 且许多物种还作为属的模式种处理, 如: 老芒麦(*Elymus sibiricus*)是披碱草属的模式种; 狷草(*Hystrix patula*)是狷草属的模式种; 瓶刷草(*Sitanion hystrix*)是裂颖草属的模式种; 蔓生偃麦草(*Elytrigia repens*)是偃麦草属的模式种^[1,2,7-9]。尽管具有相同的基因组组成, 但含 StH 基因组的小麦族植物却表现出不同的形态特征。一些在分类学上作为重要分类指标的性状, 如颖、外稃、每穗轴节着生小穗数等存在着明显差别和较大的变异。如: 犬草(*E. caninus*)、北方冰草(*E. lanceolatus*)、蔓生偃麦草每穗轴节上着生 1 枚小穗; 老芒麦、狷草和瓶刷草每穗轴节上着生 2 枚小穗; 加拿大披碱草(*E. canadensis*)每穗轴节上着生 3~4 枚小穗。从颖片形态上看, 大多数物种的颖呈披针形, 但狷草的颖强烈退化甚至缺失, 而瓶刷草的颖先端从中部裂开, 并延伸至成为较长的芒^[2,7-10]。地理分布上, 加拿大披碱草、北方冰草、瓶刷草、海绿披碱草(*E. glaucus*)、狷草、大松鼠尾巴草(*E. multisetus*)、瓦哇披碱草(*E. wawawaiensis*)、弗吉尼亚披碱草(*E. virginicus*)、细茎披碱草(*E. trachycaulus*)分布于美国、加拿大、墨西哥等北美洲地区, 而老芒麦、犬草、*E. confuses*、狭颖披碱草(*E. mutabilis*)、蔓生偃麦草、麦宾草(*E. tangutorum*)、*E. transhycanus* 分布于中国、俄罗斯、

* 收稿日期: 2009-03-30; 改回日期: 2009-05-07

基金项目: 国家自然科学基金项目(No. 30670150, 30870154, 30901052)和四川省教育厅、科技厅重点项目资助。

作者简介: 王晓丽(1965-), 女, 四川简阳人, 副教授, 在读博士。E-mail: wangxiaoli288@163.com

* 通讯作者。E-mail: zhouyh@sicau.edu.cn

土耳其、伊朗、朝鲜、日本等地区^[1,2]。因此,小麦族中含 StH 基因组的物种具有不同的形态特征,不同的地理分布和生境,以及不同学者不同的分类处理,使得它们间的关系显得非常复杂,分类处理困难。

近年来,分子标记技术特别是基因序列分析被广泛应用于小麦族植物系统关系的研究,为小麦族植物尤其是多倍体物种的系统与演化提供了新的证据和手段^[11~14]。核糖体 DNA 内转录间隔区 ITS 序列(nuclear rDNA internal transcribed spacer region, ITS)常用于探讨植物低分类单元的系统关系、基因组供体来源、多倍化物种形成^[15],在小麦族植物系统与演化研究中也得到了成功的应用^[12~15]。本研究对 16 个具 StH 基因组组成的物种及其二倍体供体种的 nrDNA ITS 区进行序列和系统发育分析,目的在于探讨:1)具 StH 基因组物种间的系统亲缘关系;2)具 StH 基因组物种的变异和分化。

1 材料与方法

1.1 试验材料

本研究选用了 16 种不同形态和不同地理分布的具 StH 基因组组成的物种,5 种含 St 基因组的拟鹅观草属(*Pseudoroegneria*)二倍体物种和 3 种具 H 基因组的大麦属(*Hordeum*)二倍体物种作为供试材料。以扁穗雀麦(*Bromus catharticus*)作为外类群。所用材料的种名、缩写、编号、倍性、基因组组成、来源和 ITS 序列 GenBank 登录号列于表 1 中。PI 编号材料的种子由美国国家植物种质库(American National Plant Germplasm System, Pullman, Washington, USA)提供,其余材料由四川农业大学小麦研究所提供。凭证标本藏于四川农业大学小麦研究所标本室(SAUTI)。

1.2 试验方法

1.2.1 DNA 的提取、纯化、克隆及测序 DNA 提取采用常规的 CTAB 法^[16]。采用 Hsiao 等^[13]设计的引物,PCR 扩增获得 ITS 序列,引物序列为:ITS-4(5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')和 ITS-L(5'-TCGTAA-CAAGGTTTCCGTAGGTG-3'),由中国大连 TaKaRa 公司合成。PCR 扩增反应在 ABI 9700 型 PCR 仪上进行。反应体积为 50 μ L,包括 3 μ L DNA 模板(约 0.5 μ g,由 Gel Doc 图像分析仪测得),10 \times ExTaq 缓冲液(5 μ L),2.5 mmol/L MgCl₂(4.0 μ L)、2.5 mmol/L 4 种 dNTP 混合液(pH 8.0)(4.0 μ L)、15 μ mol/L 正、反向引物(各 1.5 μ L),5 U/ μ L ExTaq 酶(0.6 μ L)和 dd H₂O(30.4 μ L)。PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 1 min,52 $^{\circ}$ C 复性 1 min,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 8 min。PCR 产物用 1.2% 的琼脂糖进行电泳,用 OMEGA 试剂盒(OMEGA Bio-Tek)进行割胶回收。然后,以 pMD18-T 载体(Takara)为连接载体,以 DH10B 作为宿主菌,对目的片段进行克隆。每份材料选取 3~5 个阳性克隆用于 DNA 序列测序。序列测定由北京三博远志生物技术有限公司完成。所有序列均进行双向测序。测序结果登录到 GeneBank 中(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)。

1.2.2 数据处理及分析 根据 GeneBank 已登录的小麦族多年生 ITS 序列对测定的 ITS 序列边界进行划分^[13]。将获得的 ITS 序列用 CLUSTAL W^[17]软件进行多重排定。序列排好后辅以手工校正。使用 DNAMAN 软件包(version 5. 2. 10; Lynnon Biosoft)进行序列长度变异、插入/缺失(Indel)分析。ITS 序列碱基组成及替代用 MEGA4(Kumar S, Tamura K, Jakobsen I, Nei M, <http://www.megasoftware.net>)进行统计。序列变异位点采用 PAUP* 4. 0B10^[18](Swofford D L, Sinauer Associates, <http://www.sinauer.com>)进行统计。

ITS 序列使用 PAUP* 4. 0B10^[18]软件,采用最大简约法(maximum parsimony, MP)和最大似然法(maximum likelihood, ML)构建系统发育树。最大简约法分析采用启发式搜索(heuristic searches),空位作为缺失处理,100 次随机添加重复,树二重组连接(tree-bisection reconnection, TBR)进行系统发育树构建。最大似然分析前,首先利用 ModelTest 3. 0^[19]先进行模型和参数估计,基于 hLRT 标准选择最适碱基替代模型为 GTR+G。ML 系统树采用启发式搜索(heuristic searches)和树二重组连接获取。MP 和 ML 系统树拓扑结构均用自展分析(bootstrap, BS),1 000 次重复抽样以检验各分支的置信度。

使用 Network 4. 1. 1. 2 软件^[20]的 Median-joining(MJ)算法进行 ITS 序列网状结构分析。

表 1 供试材料

Table 1 The materials used in this study

物种名称 Species	种名缩写 Abbreviate	染色体数 Chromosome number (2n)	基因组组成 Genome	编号 Accession No.	来源 Origin	登录号 GenBank No.
老芒麦 <i>E. sibiricus</i>	ESIBI	28	StH	Y 2906	甘肃合作 Hezuo, Gansu, China	EF396962
犬草 <i>E. caninus</i>	ECAN1 ECAN2	28	StH	PI 564910	俄罗斯 Russian Federation	AY740897* AY740898*
加拿大披碱草 <i>E. canadensis</i>	ECANA	28	StH	PI 531567	加拿大 Alberea, Canada	EF396978
<i>E. confuses</i>	ECONF	28	StH	W ₆ 21505	蒙古 Mongolia	FJ040160
瓶刷草 <i>E. elymoides</i>	EELYM	28	StH	PI 628684	美国 United States	EF396977
海绿披碱草 <i>E. glaucus</i>	EGLAU	28	StH	PI 232259	美国 United States	FJ040161
猬草 <i>E. hystrix</i>	EHYST	28	StH	PI 372546	加拿大安大略湖 Ontario, Canada	EF396971
北方冰草 <i>E. lanceolatus</i>	ELANC	28	StH	PI 232116	美国 United States	EF396961
大松鼠尾巴草 <i>E. multisetus</i>	EMUL1 EMUL2	28	StH	PI 619465	美国爱达荷州 Idaho, United States	FJ040164 FJ040165
狭颖披碱草 <i>E. mutabilis</i>	EMUTA	28	StH	PI 564953	俄罗斯 Russian Federation	FJ040166
弗吉尼亚披碱草 <i>E. virginicus</i>	EVIR1 EVIR2	28	StH	PI 490361	美国乔治亚州 Georgia, United States	FJ040170 FJ040171
瓦哇披碱草 <i>E. wawawaiensis</i>	EWAWA	28	StH	PI 610984	美国 United States	EF396963
细茎披碱草 <i>E. trachycaulus</i>	ETRAC	28	StH	PI 236722	加拿大 Canada	FJ040168
<i>E. transhyrcanus</i>	ETRAN	28	StH	PI 383579	土耳其 Turkey	FJ040169
蔓生偃麦草 <i>E. repens</i>	ETREP	42	StStH	—	捷克斯洛伐克 Czech Republic	DQ859051*
麦宾草 <i>E. tangutorum</i>	ETANG	42	StHH	ZY 2008	西藏昌都 Changdu, Tibet, China	FJ040167
布顿大麦 <i>H. bogdani</i>	HBOGD	14	H	PI 531761	中国新疆 Xinjiang, China	AY740876*
芒颖大麦 <i>H. jubatum</i>	HJUBA	14	H	H 2018	墨西哥 Mexico	AJ607935*
智利大麦 <i>H. chilense</i>	HCHIL	14	H	GRA1000	智利 Chile	AJ607870*
糙缘拟鹅观草 <i>P. stipifolia</i>	PSTIP	14	St	PI 325181	俄罗斯 Russian Federation	EF014240
黎巴嫩拟鹅观草 <i>P. libanotica</i>	PLIBA	14	St	PI 228389	伊朗 Iran	AY740794*
乌克兰拟鹅观草 <i>P. strigosa</i> ssp. aegilopoides	PSTAE	14	St	PI 595164	新疆乌鲁木齐 Urumqi, Xinjiang, China	EF014243
托瑞拟鹅观草 <i>P. tauri</i>	PTAUR	14	St	PI 401323	伊朗 Iran	EF014244
穗状拟鹅观草 <i>P. spicata</i>	PSPIC	14	St	PI 547161	美国俄勒冈州 Oregon, United States	AY740793*
扁穗雀麦 <i>B. catharticus</i>	BCATH	—	—	S 20004	云南昆明 Kunming, Yunnan, China	AF521898*

带有“*”的 GenBank 登录号为已出版的序列,引自 NCBI 网站([http:// www. ncbi. nlm. nih. gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov))。

GenBank accessions with an asterisk (*) represent previously published sequences from the GenBank ([http:// www. ncbi. nlm. nih. gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)).

2 结果与分析

2.1 ITS 序列分析

ITS 序列全长范围为 596~602 bp。长度变异较大的区段为 ITS1 区,其变化范围为 216~222 bp,平均 GC 百分含量为 62.6%。ITS2 区长度变化范围为 215~217 bp,平均 GC 含量为 63.5%。所有类群 ITS 序列的 5.8S 区长度均为 164 bp,平均 GC 含量为 59.7%。大部分的序列变异发生在间隔区,5.8S 区域发生很少变异。当空位作缺失处理时,ITS 区全序列比对具有总位点数为 605 bp,其中有 131 个变异位点,59 个为简约信息位点,分别占全序列的 21.6%和 9.7%。

2.2 系统发育分析

本研究采用 MP 和 ML 2 种方法进行系统发育树构建,MP 树和 ML 树的拓扑结构完全一致,仅存在分支长度差异。分支上的数字代表拓扑结构不同评估值。图 1 显示的是 ML 系统发育树,似然值的负对数为 1 831.606,伽马分布参数值(value of gamma shape parameter)为 0.448。

在 ML 系统发育树中,犬草 2 与 3 个大麦属二倍体物种(布顿大麦、智利大麦、芒颖大麦)以 100% 的自展支持率聚成一小支,弗吉尼亚披碱草 1 与加拿大披碱草以 95% 的自展支持率聚成一支,2 支构成姊妹支,猓草处于姊妹支的基部。瓦哇披碱草、大松鼠尾巴草 2、海绿披碱草和细茎披碱草聚在一支中,自展支持率为 55%。瓶刷草和大松鼠尾巴草 1 聚在一起,自展支持率小于 50%。E. confuses 和老芒麦聚在一起,自展支持率为 50%。犬草 1 和北方冰草聚为一支,自展支持率为 91%。麦宾草和狭颖披碱草聚类在一起,其自展支持率为 98%。蔓生偃麦草与穗状拟鹅观草和乌克兰拟鹅观草聚为一支。弗吉尼亚披碱草 2 和 E. transhyrcanus 没有与任何物种聚在一起。

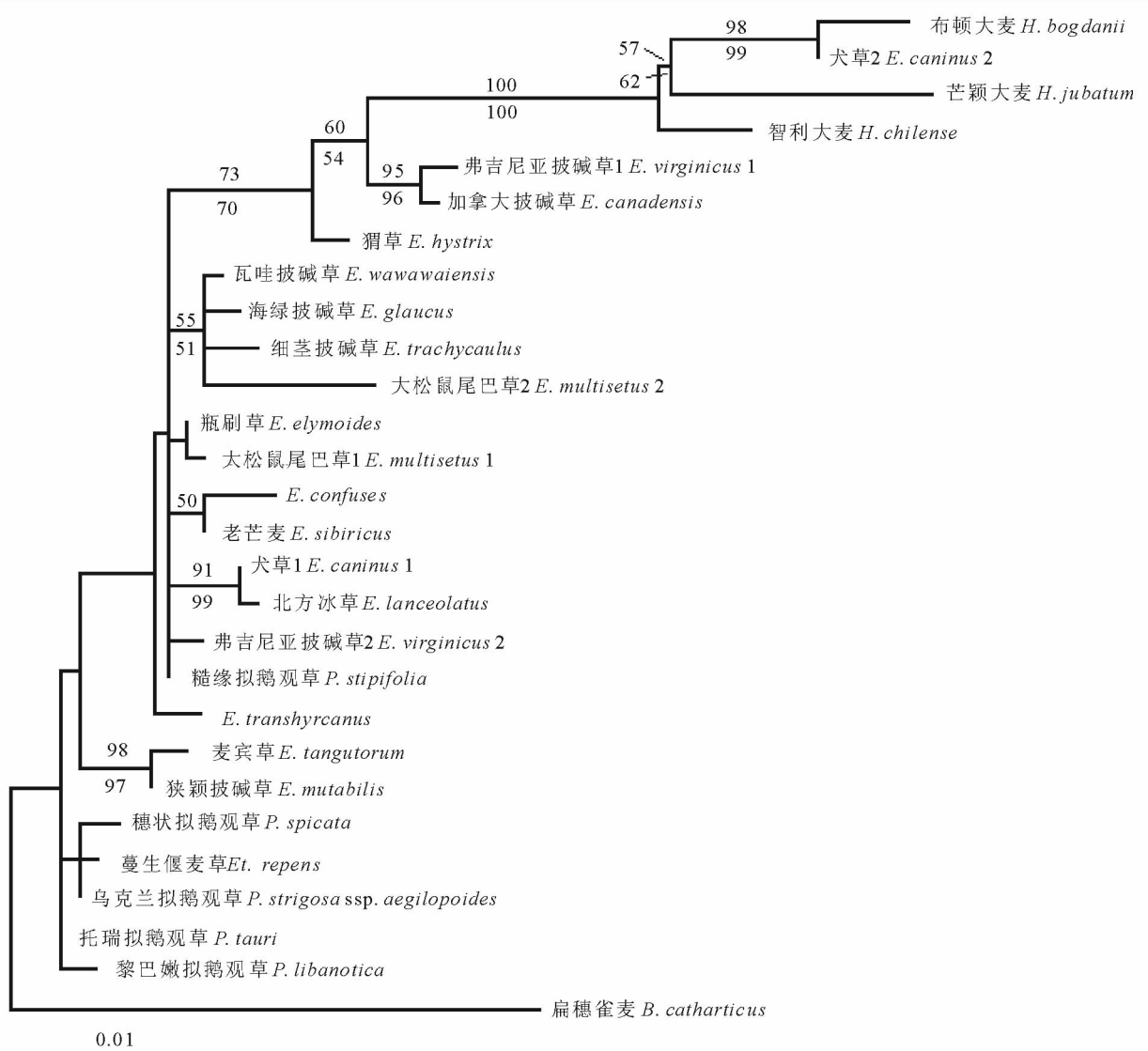


图 1 基于具 StH 基因组物种及其相关二倍体物种的 nrDNA ITS 序列构建的 ML 系统发育树

Fig. 1 ML tree inferred from nrDNA ITS sequences of the species with StH genome and the related diploid species

枝上和枝下的数字分别表示用 ML 分析和 MP 分析所得的自展值(>50%)。物种名后数字表示不同的 ITS 序列类型 Numbers above and below the branches indicate bootstrap values >50% by ML and MP analysis, respectively. Numbers after species names indicate different isolate from individuals

2.3 网状结构分析

基于 ITS 序列构建的网状结构图(图 2),显示了高水平的 ITS 序列单倍型(haplotype)多态性。本研究用于分析的 24 个物种形成了 27 个单倍型序列。ITS 单倍型序列将这 24 个物种分为两大支:H 支和 St 支。H 支中包含了大麦属二倍体物种(布顿大麦、智利大麦、芒颖大麦)和犬草 2、弗吉尼亚披碱草 1、加拿大披碱草和猬草。St 支中,6 个来自北美洲的披碱草属物种(瓦哇披碱草、海绿披碱草、大松鼠尾巴草、细茎披碱草、弗吉尼亚披碱草和瓶刷草)聚在一起,处在糙缘拟鹅观草的节点上,形成一亚支;而分布于亚洲的老芒麦、犬草、*E. confuses*、狭颖披碱草、蔓生偃麦草和麦宾草分散在拟鹅观草属二倍体物种之间的相邻节点上。

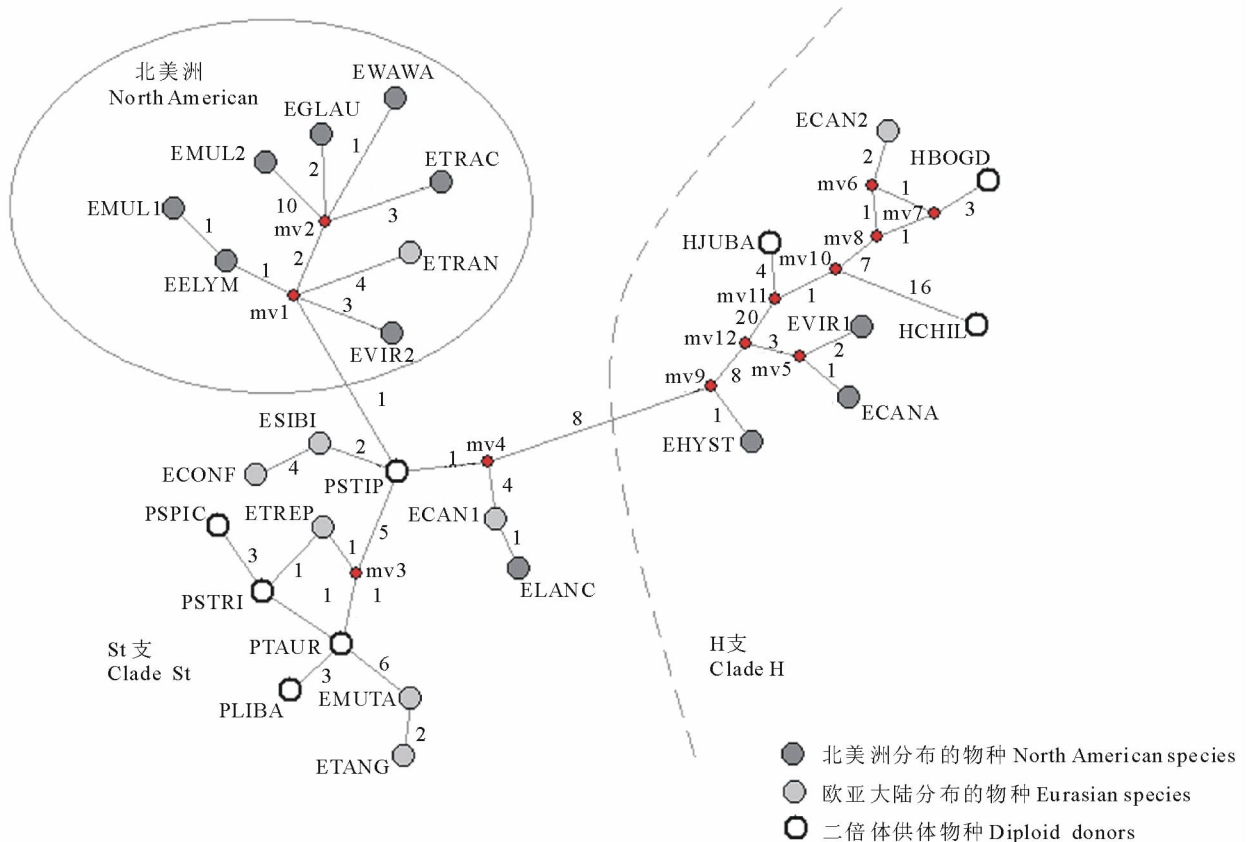


图 2 基于具 StH 基因组物种及其相关二倍体物种的 nrDNA ITS 序列构建的 MJ 网状结构

Fig. 2 MJ network of the species with StH genome and the related diploid species

供试材料的简写列于表 1。各节点间的数字表示突变位点数。mv 后的数字表示分析中假定缺失的单倍型 Abbreviations of species names are listed in Table 1. The numbers between points indicate the number of mutation steps. The numbers after mv depict missing intermediate haplotypes that were not found in the analyzed individuals

3 讨论

3.1 具 StH 基因组物种间的系统亲缘关系

具 StH 基因组物种因具有各自典型的形态学特征,曾被处理到不同的属中。Löve^[1]和 Dewey^[2]根据染色体组进行分类,将具 StH 基因组组成的物种均放入披碱草属当中^[1,2]。Wilson^[9]根据颖片的特征,将具有芒状颖(颖较长延伸至芒)的物种组合到裂颖草属中。本研究中,属于裂颖草属的大松鼠尾巴草(*S. jubatum*)和瓶刷草(*S. hystrix*)聚在一起,表明它们具有较近的亲缘关系,支持 Löve^[1]将它们放入到披碱草属中作为裂颖草组来处理。Moench^[8]根据颖退化或退化成针状的特征,建立了猬草属。细胞学和分子系统学研究表明,猬草属模式种猬草(*E. hystrix*)含 StH 基因组,而其他猬草属物种如 *Hy. duthiei*、*Hy. coreana*、*Hy. californica* 却具有赖

草属(*Leymus*)的 NsXm 基因组组成^[21,22]。本研究中, 狷草与同样分布于北美洲的加拿大披碱草和弗吉尼亚披碱草聚在一起, 表明这三者的亲缘关系较近, 狷草具有与披碱草一致的 StH 基因组组成, 支持将 *Hy. patula* 作为 *E. hystrix* 处理。海绿披碱草、瓦哇披碱草和细茎披碱草在形态上具有每穗轴节着生一枚小穗的特征, 同属于披碱草属中的披碱草组^[2], 且都来自北美洲。本研究中, 这 3 个物种聚在一起, 表现出较近的亲缘关系。犬草与北方冰草在形态上均为每穗轴节着生一枚小穗, 根据 ITS 序列建立的 ML 树, 它们聚类在一起, 具有很高的支持率(自展支持率=91%), 表明二者亲缘关系较近。每穗轴着生 2 个小穗的麦宾草与着生 1 个小穗的狭颖披碱草形成一支, 支持率很高(自展支持率=98%), 表明二者亲缘关系较近。

蔓生偃麦草(*E. repens*)是偃麦草属的模式种, 为六倍体($2n=6x=42$)。细胞学染色体配对分析结果表明, 蔓生偃麦草具有 2 组来自拟鹅观草属的 St 基因组和一组来自大麦属的 H 基因组, 即 StStH^[23]。然而, Ørgaard 等^[24]根据基因组原位杂交技术(GISH)分析结果, 认为蔓生偃麦草中的 St 和 H 基因组与披碱草属中 StH 基因组存在一定程度的差异。Mason-Gamer^[25]通过多个不同基因序列分析表明: 蔓生偃麦草为典型的网状进化模式, 基因组来源复杂, 供体属除了拟鹅观草属和大麦属外, 还包括其他的多个属。因此, 目前关于蔓生偃麦草的基因组组成存在较大的争议。本研究中, 蔓生偃麦草与其他含 StH 基因组的物种聚类关系较远, 单独与穗状拟鹅观草和乌克兰拟鹅观草聚在一亚支, 表明拟鹅观草属(St 基因组)可能是蔓生偃麦草的一个供体属, 且蔓生偃麦草的基因组组成与其他 StH 基因组物种存在较大的差异。由于蔓生偃麦草为六倍体, 含有 3 个基因组, 与四倍体的 StH 基因组物种相比, 可能存在多倍体水平的基因组分化。

3.2 具 StH 基因组物种的变异和分化

利用传统的系统建树的分析方法研究可能会出现较多的零支长分支及节点支持率较低的问题^[26]。网状支系分析将近缘物种的候选基因序列彼此连接, 形成高阶支系, 从而演示物种间的系统亲缘关系及演化。MJ 网状支系分析已成功揭示了小麦/山羊草属(*Triticum/Aegilops*)多倍体物种间系统亲缘关系及多倍化物种形成的供体来源^[27]。网状进化能反映单倍型(haplotype)的谱系关系(genealogical relationships), 即能够区分序列间的单个碱基突变^[28], 因而能揭示物种的来源、分化及多倍体物种的供体^[27]。

小麦族中具 StH 基因组组成的物种分布广, 物种丰富, 其形态、地理分布和生境都具有较大的差异。形态上, 具有每穗轴节上着生单个小穗至多个小穗的、从无颖至披针形或线形颖的特点。地理分布上, 含 StH 基因组物种具有两大地理分布区, 欧亚大陆和北美洲。从生境来看, 它们生长在山坡草地、沙地、林下阴湿地等不同环境中。这些差异是否由于其基因组的变异和分化所致? StH 基因组物种间基因组的分化是在物种形成前 St 和 H 基因组已有分化, 还是在物种形成后在进化过程中形成的分化? 目前研究较少。Jaaska^[29]根据同工酶的结果, 认为欧洲四倍体披碱草属物种与北美披碱草属物种间差异较大, 其 StH 基因组存在一定程度的分化。Sun 等^[30]通过 RAPD 分子标记分析认为, 欧洲具 StH 基因组组成的披碱草属物种与美洲的物种之间存在差异, 它们是独立起源的。从本研究的网状结构图中看出, 在 H 支中, 同分布于北美的物种(加拿大披碱草、狷草和弗吉尼亚披碱草)间突变位点数较少, 表明它们之间的关系较近; 而分布于欧洲的物种(犬草)与分布于北美的物种之间发生了较多的突变位点, 表明它们之间的关系较远。在 St 支中, 北美洲的 StH 基因组物种间突变位点少, 它们之间的关系较近; 而欧亚大陆分布的物种和北美分布的物种间关系较远。因此, 本研究结果表明具 StH 基因组组成的物种存在一定程度的变异和分化, 且与物种的地理分布有关。

细胞学研究表明 StH 基因组物种的 St 基因组来源于拟鹅观草属物种, 而 H 基因组来源于大麦属^[2]。St 基因组在不同的二倍体物种间存在变异(如: St₁St₁、St₂St₂ 等)^[11,12,31], H 基因组在二倍体物种间也存在分化^[32~34]。Sun 等^[11]根据 RPB2 基因重建的系统发育树上看出, 分布于欧亚大陆和南北美洲的大麦属物种分别聚为两大不同的支, 表明 H 基因组的分化与其地理分布有关。本研究的 ITS 序列构建的网状结构图可以看出, 5 个二倍体拟鹅观草属物种没有形成一个单系组, 表明 St 基因组具有一定程度的分化。在 H 支中, 3 个二倍体大麦属物种间发生突变的位点数目较大, 特别是分布于欧亚大陆的布顿大麦和分布于南美洲的芒颖大麦、智利大麦之间发生了近 17 个突变位点。本结果也表明大麦属中 H 基因组分化与其地理分布有关。从本研究的网状结构图中可以看出乌克兰拟鹅观草和托瑞拟鹅观草(*P. tauri*)处于节点的中部, 与之邻近的是少数欧亚分布的具 StH 基因组

组成的物种,如蔓生偃麦草、狭颖披碱草和麦宾草,表明这些物种与乌克兰拟鹅观草和托瑞拟鹅观草的关系较近。分布于欧洲的犬草与该地区分布的二倍体大麦布顿大麦之间突变位点数较少,表明它们关系较近;而分布于北美洲的加拿大披碱草、猬草和弗吉尼亚披碱草与分布于墨西哥的芒颖大麦之间突变位点较少,表明它们之间的关系较近。

通过本研究的 ITS 序列分析并结合前人研究结果,我们可以推断具不同形态和不同地理分布的 StH 基因组物种其变异和分化的原因可能有以下几点:1)不同地理分布的 StH 基因组物种其 H 基因组来源于不同地理分布的大麦属二倍体物种,欧洲的物种与美洲的物种是独立起源的^[10,29,30],因而造成欧洲的物种与美洲的物种的差异;2)不同地理分布的 StH 基因组物种中 St 基因组的来源不同^[2],北美分布的物种来源于北美的拟鹅观草属二倍体物种,而亚洲的拟鹅观草属二倍体物种,如黎巴嫩拟鹅观草(*P. libanotica*),托瑞拟鹅观草等则可能是亚洲物种的 St 基因组供体;3)St 基因组在拟鹅观草属的二倍体物种间存在变异和分化^[12];4)H 基因组在大麦属的二倍体物种间也存在变异和分化;5)具 StH 基因组的物种在异源多倍体形成过程中,由于生态环境的改变,地理分布的长期隔离,其形态性状和基因组产生了不同程度的变异和分化。

参考文献:

- [1] Löve Á. *Conspectus of the Triticeae*[J]. *Feddes Repertorium*, 1984, 95: 425-521.
- [2] Dewey D R. The genome system of classification as a guide to intergeneric hybridization with the perennial Triticeae[A]. In: Gustafson J P. *Gene Manipulation in Plant Improvement*[M]. New York: Plenum Press, 1984. 209-279.
- [3] Jiang J M, Friebe B, Gill B S. Recent advances in alien gene transfer in wheat[J]. *Euphytica*, 1994, 73: 199-212.
- [4] 万里强, 石永红, 李向林, 等. 高温干旱胁迫下三个多年生黑麦草品种叶绿体和线粒体超微结构的变化[J]. *草业学报*, 2009, 18(1): 25-31.
- [5] 董全民, 赵新全, 马有泉, 等. 垂穗披碱草/星星草混播草地优化牦牛放牧强度的研究[J]. *草业学报*, 2008, 17(5): 16-22.
- [6] 张耿, 王赞, 高洪文, 等. 21 份偃麦草属牧草苗期耐盐性评价[J]. *草业科学*, 2008, (1): 51-54.
- [7] Tzvelev N N. The system of grass (Poaceae) and their evolution[J]. *The Botanical Review*, 1989, 55: 141-204.
- [8] Moench C. *Methodus Plantas Horti Botanici et Agri Marburgensis a Staminum Situ Describendi*[M]. Margburgi Cattorum, 1794.
- [9] Wilson F D. Revision of Sitanion (Triticeae, Grameneae)[J]. *Brittonia*, 1963, 15: 303-323.
- [10] 耿以礼. 中国主要植物图说——禾本科[M]. 北京: 科学出版社, 1959. 342-409.
- [11] Sun G L, 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: 897-907.
- [12] Yu H Q, 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: 498-505.
- [13] Hsiao C, Chatterton N J, Asay K H, *et al.* Phylogenetic relationships of the monogenomic species of the wheats tribe, Triticeae (Poaceae), inferred from nuclear rDNA (internal transcribed spacer) sequences[J]. *Genome*, 1995, 38: 221-223.
- [14] 严学兵, 王堃, 周禾, 等. 不同来源 SSR 标记在我国披碱草属植物的通用性和效率评价[J]. *草业学报*, 2008, 17(6): 112-120.
- [15] 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: 411-420.
- [16] Doyle J J, Doyle J L. Isolation of plant DNA from fresh tissue[J]. *Focus*, 1990, 12: 13-15.
- [17] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. CLUSTAL W: Improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice[J]. *Nucleic Acids Research*, 1994, 22: 4673-4680.
- [18] Swofford D L. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (* and other method)(Version 4.0)[M/OL]. Sinauer Associates, Sunderland-Massachusetts, <http://www.sinauer.com>, 2003.

- [19] Posada D, Crandall K A. Modeltest: Testing the model of DNA substitution[J]. *Bioinformatics*, 1998, 14: 817-818.
- [20] Bandelt H J, Forster P, Rohl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16: 37-48.
- [21] Zhang H Q, Yang R W, Dou Q W, *et al.* Genome constitutions of *Hystrix patula*, *H. duthiei* ssp. *duthiei* and *H. duthiei* ssp. *longearistata* (Poaceae: Triticeae) revealed by meiotic pairing behavior and genomic in-situ hybridization[J]. *Chromosome Research*, 2006, 14: 595-604.
- [22] Jensen K B, Wang R R-C. Cytological and molecular evidence for transferring *Elymus coreanus* and *Elymus californicus* from the genus *Elymus* to *Leymus* (Poaceae: Triticeae)[J]. *International Journal of Plant Science*, 1997, 158: 872-877.
- [23] Dewey D R. A cytogenetic study of *Agropyron stipifolium* and its hybrids with *Agropyron repens*[J]. *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, 1970, 97: 315-320.
- [24] Ørgaard M, Ananthawat-Jónsson K. Genome discrimination by in situ hybridization in Icelandic species of *Elymus* and *Elytrigia* (Poaceae: Triticeae)[J]. *Genome*, 2001, 44: 275-283.
- [25] Mason-Gamer R J. Reticulate evolution, introgression, and intertribal gene capture in an allohexaploid grass[J]. *Systematic Biology*, 2004, 53: 25-37.
- [26] Jakob S S, Blattner F R. A chloroplast genealogy of *Hordeum* (Poaceae): Long-term persisting haplotypes, incomplete lineage sorting, regional extinction, and the consequences for phylogenetic inference[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2006, 23: 1602-1612.
- [27] Kilian B, Özkan H, Deusch O, *et al.* Independent wheat B and G genome origins in outcrossing *Aegilops* progenitor haplotypes[J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, 24: 217-227.
- [28] Cassens I, Mardulyn P, Milinkovitch M C. Evaluating intraspecific “Network” construction methods using simulated sequence data: Do existing algorithms outperform the global maximum parsimony approach? [J]. *Systematic Biology*, 2005, 54(3): 363-372.
- [29] Jaaska V. Isoenzyme variation in the grass genus *Elymus* (Poaceae)[J]. *Hereditas*, 1992, 117: 11-22.
- [30] Sun G L, Salomon B, Bothmer R von. Analysis of tetraploid *Elymus* species using wheat microsatellite markers and RAPD markers[J]. *Genome*, 1997, 40: 806-814.
- [31] Stebbins J L, Pun F T. Artificial and natural hybrids in the Gramineae, tribe Hordeae. V. Diploid hybrids of *Agropyron*[J]. *American Journal of Botany*, 1953, 40: 444-449.
- [32] Bothmer R von, Baden C, Jorgensen R, *et al.* An ecogeographical study of the genus *Hordeum*[R]. International Board for Plant Genetic Resources (Food and Agriculture Organization), Rome, Italy, 1991.
- [33] Linde-Laursen I, Seberg O, Salomon B. Comparison of the Giemsa C-banded and N-banded karyotypes of two *Elymus* species, *E. dentatus* and *E. glaucescens* (Poaceae: Triticeae)[J]. *Plant Systematics and Evolution*, 1994, 192: 165-176.
- [34] Dubcovsky J, Schlatter A R, Echaide M. Genome analysis of South American *Elymus* (Triticeae) and *Leymus* (Triticeae) species based on variation in repeated nucleotide sequences[J]. *Genome*, 1997, 40: 505-520.

**Phylogeny of species with the StH genome in Triticeae (Poaceae) inferred
from nuclear rDNA ITS sequences**

WANG Xiao-li^{1,2}, FAN Xing¹, ZHANG Chun³, SHA Li-na¹,
ZHANG Hai-qin¹, ZHOU Yong-hong^{1,4}

(1. Triticeae Research Institute, Chengdu Academy of Sciences, Sichuan Agricultural University,
Wenjiang 611130, China; 2. College of Biology and Science, Sichuan Agricultural
University, Ya'an 625014, China; 3. Pharmic Department, Luzhou Medical
College, Luzhou 646000, China; 4. Key Laboratory of Crop Genetic
Resources and Improvement, Ministry of Education, Sichuan
Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: Species with the StH genome in Triticeae are included in the genus *Elymus* sensu lato. In order to investigate the phylogeny of the StH genome in Triticeae, nuclear ribosomal internal transcribed spacer (ITS) sequences of 16 species with the StH genome were analyzed together with those of five *Pseudoroegneria* (St) and three *Hordeum* (H) accessions. The maximum parsimony (MP), maximum likelihood (ML) and median joining algorithm (MJ) methods were used to reconstruct the phylogenetic tree. The results indicated that: 1) *Sitanion jubatum*, *Sitanion hystrix* and *Hystrix patula* are closely related to *Elymus* species, and should be transferred to *Elymus*; 2) the StH genome species distributed in North American have close relationships. There is diversity and differentiation between the North American and Eurasian StH genome species; 3) a certain degree of diversity and differentiation of StH genome species is in good agreement with their geographical distributions; 4) a certain degree of differentiation was found in diploid species with St and H genomes. Meanwhile, the possible reasons for the differentiation of StH genome species are also discussed.

Key words: Triticeae; *Elymus*; StH genome; phylogeny; differentiation