

# A Review of Methods in Plant Hybrids Identification

Zhie Liu

College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan Hubei  
Email: 15071231349@163.com

Received: May 4<sup>th</sup>, 2018; accepted: May 22<sup>nd</sup>, 2018; published: May 29<sup>th</sup>, 2018

---

## Abstract

Hybridization is extremely prone to occur in nature, especially in the plant kingdom, which plays an important role in shaping the diversity of plants. Therefore, it is extremely significant to select suitable methods for identifying hybrids, and to have a certain understanding of the formation of hybrids and the conservation of species, which has an essential guiding significance. This article summarizes two methods of morphological identification and molecular marker aiming to provide reference for follow-up research.

## Keywords

Hybridization, Identification, Methods, Review

---

# 植物杂交种鉴定的方法综述

刘志娥

武汉大学生命科学院, 湖北 武汉  
Email: 15071231349@163.com

收稿日期: 2018年5月4日; 录用日期: 2018年5月22日; 发布日期: 2018年5月29日

---

## 摘 要

杂交在自然界极易发生, 尤其在植物界, 其在塑造植物的多样性中具有重要作用, 因而选择合适的方法鉴定植物杂交种显得极其重要, 对了解杂交的形成及在物种保育上具有一定的指导意义。本文简要综述了形态鉴定和分子标记两种鉴定方法, 以期后续研究提供借鉴。

## 关键词

杂交, 鉴定, 方法, 综述

Copyright © 2018 by author and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

杂交在动物、植物及真菌的进化中具有重要作用。尤其, 在植物界, 杂交现象极为普遍, 约 25% 的植物会发生杂交[1]。杂交一方面通过促进种间基因的交流, 增加遗传多样性, 形成新物种[2]; 另一方面可能会引发濒危物种的灭绝[3]。故对杂交种的鉴定, 对于我们了解进化进程, 物种多样性, 濒危物种保护具有重要作用。本文从形态学、分子生物学以及未来展望三个角度对植物杂交种鉴定方法进行了综述。

## 2. 植物杂交种鉴定方法

### 2.1. 形态鉴定

形态学是最直观的方法, 通常杂交种会呈现亲本种的中间表型, 即居间型, 也有的会出现超亲性状, 或与双亲之一具有相似性 (1993) [4]。如掌叶秋海棠(*Begonia hemsleyana*)和大裂秋海棠(*Begonia macrotoma*)的杂交种在叶的大小、叶柄颜色、叶型及花芽的颜色均呈现双亲的中间性状[5]。日本野生樱花(*Prunus yedoensis*)的叶的腺体大而显著, 着生在叶柄上, 与亲本之一大山樱 (*Prunus sargentii*)相似[6]。Song 等(2015)利用叶的形态的中间性证实了发生在 *Quercus austrocochinchinensis* 和 *Q. kerrii* 的天然杂交, 尤其在叶的解剖特征如毛状体类型、表皮细胞特征、气孔特征变异大, 极易区分亲本种和疑似杂交种[7]。因此我们可以通过调查植物的形态性状, 包括叶、花、果等宏观形态以及花粉、叶的微形态等微观形态研究疑似杂交种与疑似亲本种之间的关系。需要注意的是, 形态特征易受环境的影响, 因而要选择相对稳定的特征作为我们研究的指标[8]。

### 2.2. 分子标记

#### 2.2.1. 类型

分子标记包括蛋白质标记和核酸标记, 蛋白质标记中最常用的是等位酶标记, 等位酶的产生是基因表达的结果, 故其差异可反映基因的差异[9]。由于其相对精确度比较低, 逐渐被核酸标记取代。常用的核酸标记包括 RAPD、AFLP、SSR、ISSR 等。目前, DNA 直接测序被认为是鉴定杂交种最有效的方法 [10]。且该方法已成功用于证实天然杂交物种的形成[11]。尤其叶绿体基因与核基因的组合使用在植物杂交种鉴定中十分普遍。在多数被子植物中, 叶绿体基因具单倍型、细胞质遗传的特点, 因而可用于研究杂交种的母本起源[12]。核基因为双亲遗传, 在属内和属间具有较高的相似性, 可用于属内种间关系的研究及属间关系的研究[13]。如 Li 等(2015)采用 SSR 标记和核基因 ITS 以及叶绿体基因 *ndhF-rpl32* 通过比较多态性位点, 证实了发生在掌叶秋海棠(*Begonia hemsleyana*)和大裂秋海棠(*Begonia macrotoma*)之间的天然杂交, 其后代为子一代, 命为 *Begonia × dashuigouensis* [14]。另外, 各种单拷贝基因和低拷贝基因因其高变异性、高分辨率及可以提供较多的信息也被用于杂交种的鉴定[15]。如 Li 等(2013)通过单拷贝核基因 *Adh1* 和 *GBSSI* 以及叶绿体基因 *matK* 和 *trnL-F* 探讨栽培香蕉的起源, 结果表明其起源于多次

种内和种间杂交事件[16]。

### 2.2.2. 分析方法

#### 1) 统树构建

通过多重序列比对, 分析统计序列之间的差异或每个位点上的碱基变异模式, 构建的系统发育树, 已成为种间关系研究的方式之一[17]。通过杂交种在系统树中的位置可以判断其起源。但其位置与其遗传亲本特征的相对多少而有所变化[4]。Yu (2014)等对舟叶囊吾(*Ligularia cymbulifera*)和东俄洛囊吾(*Ligularia tongolensis*)采用核基因 ITS 和 3 个叶绿体基因的序列构建了简约树, 证明了发生在两者之间的天然杂交, 且杂交种的形态学父母是基因渗透的产物[18]。

构建系统树的方法有距离法(NJ)、最大似然法(ML)、最大简约法(MP)、贝叶斯法(BI), 邻接法适用于信息位点少而短, 进化距离不大的序列, 似然法一旦确定合适模型, 建树结果是与进化最为吻合的, 简约法适用于序列信息位点多, 序列较长的情况, 贝叶斯使用与比较多的序列数据集[16]。每种方法的选取依据是具体序列的特点。

#### 2) 单倍型分析

单倍型(haplotypes)分析也被广泛用于杂交种的鉴定上。如 Chu 等(2011)采用 2 个叶绿体基因的序列, 分析 30 个芦苇个体在这两个位点上的单倍型, 证实了韩国芦苇属(Korean *Phragmites*)的天然杂交[19]。Fan 等(2014)对枇杷属(*Eriobotrya*)的 3 个种的 4 个核基因和 2 个叶绿体基因测序, 分析它们的单倍型, 杂交后代 *E. prinoides* var. *daduheensis* 在核基因位点上出现了核苷酸的叠加, 与双亲枇杷(*E. japonica*)和栎叶枇杷(*E. prinoides*) 在叶绿体基因上共享单倍型, 只是共享个体数不同, 分别有 28 和 7 个杂交个体与枇杷、栎叶枇杷共享单倍型, 这种差异反映了杂交的不对称性, 表明枇杷作为母本的可能性最大[20]。

## 3. 两种方法比较

形态特征直观, 简单, 便于我们野外采样, 同时像花粉、叶的微形态这些特征是植物中相对保守的结构, 在属内具有一定的遗传相似性, 能够反映种间的关系, 可以作为鉴定杂交种的直接基础。但也相对容易受到环境、器官、组织发育时期的影响, 以及转录后修饰的影响。比如说植物因为生长在相同或相似的环境, 逐步形成一些相似的特征, 这就容易给分类及取样带来困难[8]。相比之下, 分子标记不易受环境、生物体发育时期的影响, 可有力的证实形态方面、化学方面的相关证据。此外, 对样本量需求较少, 如提 DNA 只需毫克级别的叶片即可。但有时分子标记使用不当, 也会造成错误的判断[4]。因而需要多种方法相结合, 选择最适方法。

## 4. 未来展望

分子标记在植物杂交种的鉴定上取得很大的成功。值得深思的是, 低拷贝基因, 单拷贝基因目前还没能广泛应用于某些科的整个属, 但随着研究不断深入, 技术愈加成熟, 未来将会开发出更多普适性的分子标记, 可广泛应用于整个生物界。另外, 单独采用分子标记是否可以完美解释一个物种的形成过程呢? 形态学与分子标记法, 二者并非是对立的, 各自反映了不同的进化趋势和环境选择, 相辅相成, 方能解决问题。但形态标记研究相对比较少, 如何能将表型以更好的方式呈现。同时结合谱系地理学, 繁殖生态学等进一步阐明相关的杂交进程, 揭示杂交与表型、适应等的关系。

## 参考文献

- [1] Paun, O., Forest, F., Fay, M.F., et al. (2009) Hybrid Speciation in Angiosperms: Parental Divergence Drives Ploidy. *New Phytologist*, **182**, 507-518. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2009.02767.x>

- [2] Wissemann, V. (2007) Plant Evolution by Means of Hybridization. *Systematics and Biodiversity*, **5**, 243-253. <https://doi.org/10.1017/S1477200007002381>
- [3] Levin, D.A., Francisco-Ortega, J. and Jansen, R.K. (1996) Hybridization and the Extinction of Rare Plant Species. *Conservation Biology*, **10**, 10-16. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1739.1996.10010010.x>
- [4] Rieseberg, L.H., Ellstrand, N.C. and Arnold, M. (1993) What Can Molecular and Morphological Markers Tell us about Plant Hybridization? *Critical Reviews in Plant Sciences*, **12**, 213-241.
- [5] Li, L.F., Wang, H.Y., Zhang, C., *et al.* (2013) Origins and Domestication of Cultivated Banana Inferred from Chloroplast and Nuclear Genes. *PLoS One*, **8**, e80502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080502>
- [6] Cho, M.S., Kim, C.S., Kim, S.H., *et al.* (2014) Molecular and Morphological Data Reveal Hybrid Origin of Wild *Prunus yedoensis* (Rosaceae) from Jeju Island, Korea: Implications for the Origin of the Flowering Cherry. *American Journal of Botany*, **101**, 1976. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400318>
- [7] Song, Y., Deng, M., Hipp, A.L., *et al.* (2015) Leaf Morphological Evidence of Natural Hybridization between Two Oak Species (*Quercus austro-cochinchinensis* and *Q. kerrii*) and Its Implications for Conservation Management. *European Journal of Forest Research*, **134**, 139-151. <https://doi.org/10.1007/s10342-014-0839-x>
- [8] Kumar, L.S. (1999) DNA Markers in Plant Improvement: An Overview. *Biotechnology Advances*, **17**, 143-182. [https://doi.org/10.1016/S0734-9750\(98\)00018-4](https://doi.org/10.1016/S0734-9750(98)00018-4)
- [9] Aparicio, A., Albaladejo, R.G., Porras, M., *et al.* (2000) Isozyme Evidence for Natural Hybridization in *Phlomis* (Lamiaceae): Hybrid Origin of the Rare *P. × margaritae*. *Annals of Botany*, **85**, 7-12. <https://doi.org/10.1006/anbo.1999.0987>
- [10] Smith, J.F., Burke, C.C. and Wagner, W.L. (1996) Interspecific Hybridization in Natural Populations of *Cyrtandra* (Gesneriaceae) on the Hawaiian Islands: Evidence from RAPD Markers. *Plant Systematics and Evolution*, **200**, 61-77. <https://doi.org/10.1007/BF00984748>
- [11] Kaplan, Z. and Fehrer, J. (2007) Molecular Evidence for a Natural Primary Triple Hybrid in Plants Revealed from Direct Sequencing. *Annals of Botany*, **99**, 1213-1222. <https://doi.org/10.1093/aob/mcm072>
- [12] Mogensen, H.L. (1996) The Hows and Whys of Cytoplasmic Inheritance in Seed Plants. *American Journal of Botany*, **383**-404. <https://doi.org/10.1002/j.1537-2197.1996.tb12718.x>
- [13] Alvarez, I. and Wendel, J.F. (2003) Ribosomal ITS Sequences and Plant Phylogenetic Inference. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **29**, 417-434. [https://doi.org/10.1016/S1055-7903\(03\)00208-2](https://doi.org/10.1016/S1055-7903(03)00208-2)
- [14] Li, C., Tian, D., Li, X., *et al.* (2015) Morphological and Molecular Identification of Natural Hybridization between *Begonia hemsleyana*, and *B. macrotoma*. *Scientia Horticulturae*, **192**, 357-360. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2015.06.031>
- [15] Brysting, A.K., Oxelman, B., Huber, K.T., *et al.* (2007) Untangling Complex Histories of Genome Mergings in High Polyploids. *Systematic Biology*, **56**, 467-476. <https://doi.org/10.1080/10635150701424553>
- [16] Li, L.F., Wang, H.Y., Zhang, C., *et al.* (2013) Origins and Domestication of Cultivated Banana Inferred from Chloroplast and Nuclear Genes. *PLoS One*, **8**, e80502. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0080502>
- [17] Yang, Z. and Rannala, B. (2012) Molecular Phylogenetics: Principles and Practice. *Nature Reviews Genetics*, **13**, 303-314. <https://doi.org/10.1038/nrg3186>
- [18] Yu, J., Kuroda, C. and Gong, X. (2014) Natural Hybridization and Introgression between *Ligularia cymbulifera* and *L. tongolensis* (Asteraceae, Senecioneae) in Four Different Locations. *Plos One*, **9**, e115167. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115167>
- [19] Chu, H., Cho, W.K., Jo, Y., *et al.* (2011) Identification of Natural Hybrids in Korean *Phragmites*, Using Haplotype and Genotype Analyses. *Plant Systematics & Evolution*, **293**, 247-253. <https://doi.org/10.1007/s00606-011-0423-5>
- [20] Fan, Q., Chen, S., Li, M., *et al.* (2014) Molecular Evidence for Natural Hybridization between Wild Loquat (*Eriobotrya japonica*) and Its Relative *E. prinoides*. *BMC Plant Biology*, **14**, 275. <https://doi.org/10.1186/s12870-014-0275-6>

**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2330-1724，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[ojs@hanspub.org](mailto:ojs@hanspub.org)