

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.08.011

引用格式:王鑫,肖卓琳,卫尊征,等.‘宁杂4号’美洲狼尾草×‘紫色’象草三倍体杂交种的创制与高产高花青素优系筛选[J].草地学报,2026,34(8):2866–2876

WANG Xin, XIAO Zhuo-lin, WEI Zun-zheng, et al. Creation of a Triploid Hybrid of *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’ × *P. purpureum* ‘purple’ and Screening for High-yielding, High-anthocyanin Superior Lines[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(8):2866–2876

‘宁杂4号’美洲狼尾草×‘紫色’象草三倍体杂交种的创制与高产高花青素优系筛选

王鑫,肖卓琳,卫尊征,滕珂,穆娜,周仞,岳跃森,范希峰*

(北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所,北京100097)

摘要:为获得高产优质、富含花青素的饲草新种质,本研究以二倍体‘宁杂4号’美洲狼尾草(*Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’)做母本,四倍体‘紫色’象草(*P. purpureum* ‘purple’)做父本开展种间杂交。杂交 F_1 种子萌发和成苗率以及真实性鉴定表明,‘宁杂4号’美洲狼尾草与‘紫色’象草尽管存在一定杂交后障碍,但仍可产生杂交后代;且证实,因亲本DNA含量相似,流式细胞检测技术不适合杂交后代真实性鉴定,而结合染色体计数与分子标记两种方法更为准确有效。进一步结合亲本及杂交子代的农艺性状和营养品质测定结果表明,亲本与杂交子代表现出明显差异,部分子代单株鲜重较父本提升46%,花青素含量提升27%。经筛选获得多个优系单株并进行了扩繁。第二年测定的数据表明,杂交子代优系在鲜草产量、干草产量、花青素含量方面皆优于亲本。本研究筛选出的三倍体杂交优系在产量和花青素含量方面表现优异,为后续饲草新品种选育提供了重要材料。

关键词:美洲狼尾草;‘紫色’象草;杂交育种;饲草新种质

中图分类号:S543.9

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)08-2866-11

Creation of a Triploid Hybrid of *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’ × *P. purpureum* ‘purple’ and Screening for High-yielding, High-anthocyanin Superior Lines

WANG Xin, XIAO Zhuo-lin, WEI Zun-zheng, TENG Ke, MU Na, ZHOU Le,

YUE Yue-sen, FAN Xi-feng*

(Institute of Grassland, Flowers and Ecology, Beijing Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Beijing 100097, China)

Abstract: To obtain high-yielding, high-quality, and anthocyanin-rich new germplasm of forage grass, in this study we utilized a diploid *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’ as the maternal parent and a tetraploid *P. purpureum* ‘purple’ as the paternal parent to conduct interspecific hybridization. The germination and seedling establishment rates of the hybrid F_1 seeds, along with authenticity verification, indicated that despite certain hybridization barriers between *P. glaucum* ‘Ningza No. 4’ and *P. purpureum* ‘purple’, hybrid offspring could still be produced. Furthermore, it was confirmed that due to the similarity in DNA content between the parental lines, flow cytometry was not suitable for authenticity verification of the hybrid offspring; instead, a combination of chromosome counting and molecular marker methods proved to be more accurate and effective. Further integration of agronomic traits and nutritional quality measurements of parents and their hybrid offspring showed that parents and hybrid offspring exhibited significant differences. Some individual hybrid plants had a 46% higher fresh weight than their paternal parent and a 27% higher anthocyanin content. Multiple superior individual plants were selected and propagated. Data collected in the second year indicated that the superior hybrid lines

收稿日期:2026-02-05;修回日期:2026-03-07

作者简介:王鑫(2000-),男,汉族,重庆潼南人,博士研究生,主要从事饲草遗传育种研究,E-mail:3217687484@qq.com;*通信作者
Author for correspondence, E-mail: fanxifeng@baafs.net.cn

outperformed the parental lines in terms of fresh forage yield, dry forage yield, and anthocyanin content. The triploid hybrid superior strain selected in this study showed excellent performance in terms of yield and anthocyanin content, providing important materials for the subsequent breeding of new forage varieties.

Key words: *Pennisetum glaucum*; *Pennisetum purpureum* ‘purple’; Crossbreeding; New forage germplasm

在环境变化和人口迅速增长的双重压力背景下,农业生产正面临着前所未有的挑战^[1]。据预测,到2050年全球人口将达到90亿,这一人口激增将对食物生产,尤其是乳制品生产造成持续压力^[2]。而随着乳制品需求的增加,对提供这些产品的牲畜数量也提出更高要求,而这一趋势不可避免的将导致对畜牧饲料的需求同步显著增长^[3-4]。因此,提高饲料品质和培育新的优质饲草品种,已成为未来农业发展的关键任务和优先方向。

狼尾草属(*Pennisetum*)植物,隶属于禾本科黍亚科,是一种在全球广泛分布的草本植物,主要分布于热带和亚热带地区,部分种类也分布于温带地区^[5]。该属的2个重要种,美洲狼尾草(*P. glaucum*)和象草(*P. purpureum*),因其优良的饲草特性而在全球饲料生产中占有重要地位^[6]。美洲狼尾草为一年生二倍体植物($2n=2x=14$; AA),具备良好的适口性、抗旱性和适应性,广泛应用于牲畜饲料生产。然而,作为一年生植物,其种植周期较短,每年需重新播种,这限制了其在长周期饲料供应中的应用^[7-8]。相比之下,象草为多年生四倍体植物($2n=4x=28$; A'A'BB),虽然其饲草品质稍逊于美洲狼尾草,但在不同土壤和生态条件下的适应性更为广泛,特别是在有限灌溉条件下,象草具有较高的生物量产量和快速再生能力,每公顷每年可产干物质最高达78吨,这使其成为热带地区奶牛放牧系统中的关键饲草之一^[9-10]。

遗传学研究表明,不同倍性的不同种之间的杂交能够产生杂种优势。尽管这种杂交存在一定的遗传瓶颈,但通过该杂交所产生的杂交种往往能结合父母本的有利基因,赋予其有用的形态特征、农艺属性和化学成分^[11-12]。美洲狼尾草与象草在系统发育进化上亲缘关系极为密切,两者的祖先起源相同,并且美洲狼尾草A染色体组与象草A'染色体组是部分同源的^[13]。因此,利用传统的植物杂交育种方法,可以成功地培育出种间三倍体杂交种($2n=3x=21$; AA'B),这些杂交种通常结合了美洲狼尾草的良好适口性和较高的营养价值,以及象草的高产性状^[14]。之前的研究表明以美洲狼尾草作为母本,象草作为父本杂交所产生的子代不仅拥有更高、更粗的茎、更多的分蘖、更宽的叶片和较高或相似的生物量,还可

无性繁殖,进一步增强其在饲草生产中的应用潜力,同时也为不同地区的饲草生产提供更广泛的选择^[14-16]。鉴于此在我国也开展了多项类似研究,多个三倍体杂交品种已得到选育和审定^[5],为畜牧业发展提供了新的饲草资源。这些研究不仅促进了中国农业对饲草资源的多样化利用,也为提高饲草的产量和质量、满足日益增长的牲畜饲料需求做出了贡献。

然而,目前所有的研究主要集中于美洲狼尾草和绿色象草的杂交,还未开展美洲狼尾草与‘紫色’象草(*P. purpureum* ‘purple’)的杂交育种。‘紫色’象草作为绿色象草中选择出的变异品种,除了具备绿色象草抗逆性强和高产的特性外,还因其叶片紫色且富含花青素而展示出独特的价值。其不仅可用于生物乙醇生产,造纸和植物修复,还可作为观赏植物^[17]。花青素作为一种强效的天然抗氧化剂,在植物体内具有抗胁迫功能,而加入饲料后,花青素的抗氧化作用还可以提高牲畜的生产性能^[18-19]。同时,因花青素与木质素合成都起源于苯丙氨酸途径,所以高花青素饲草通常木质素含量较低,更有利于反刍动物消化,具有更高的饲用品质^[20]。鉴于此,本研究拟选用高大、优质的‘宁杂4号’美洲狼尾草(*P. glaucum* ‘Ningza No. 4’)为母本,以高产、富含花青素的‘紫色’象草为父本开展种间杂交,结合杂交子代的鉴定,田间表型的观测与产量和品质的测定,期望选育出高产、优质且富含花青素的三倍体杂交狼尾草新种质,以满足未来畜牧业发展的迫切需求,同时也为今后优质饲草新品种的培育提供重要帮助。

1 材料与方法

1.1 亲本材料与杂交

母本为‘宁杂4号’美洲狼尾草,由江苏省农业科学院草牧业研究开发中心和南京富得草业开发研究所育成,2001年登记为狼尾草属国审品种,具有高大、饲草品质好等优点;父本为‘紫色’象草,原产于巴西,2003年被广西畜牧研究所引进在中国种植,2014年登记为狼尾草属国审品种,具有产量高、富含花青素等优点^[5]。二者皆被北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所引进并在北京种植。杂交地点为中国海南三亚陵水实

验基地,时间为2024年3—4月。由于美洲狼尾草雌雄蕊花期不遇,具有雌蕊先成熟,雄蕊后成熟的特性,因此我们用‘紫色’象草花粉授粉时,小花未去雄。

具体杂交步骤为:首先在下午时分对雌蕊还未露出的‘宁杂4号’美洲狼尾草花序套袋处理,使用透明袋以便观察雌蕊的发育状态,同时防止种内异花花粉的污染;对于‘紫色’象草则在同一时间对其花序套收粉袋以便第二天上午收集花粉。‘紫色’象草花粉的采集方法是在套袋后的第二天上午9—10点,轻弹收粉袋,待花粉跌落至袋中。随后立即取下收粉袋并将其迅速转移到已套袋正在开花的‘宁杂4号’美洲狼尾草花序上。此时移除透明袋,并将收集到的花粉用毛笔刷均匀地涂抹到美洲狼尾草的雌蕊上。授粉完毕后继续套上透明袋进行观察。在5~7天后,当‘宁杂4号’美洲狼尾草雄蕊散花彻底结束,更换上网兜直到种子成熟。大约30天后,将花序剪下以收集杂交种子。

1.2 杂交种子育苗与移栽

对收集到的杂交种子,采用苗床育苗的方法进行育苗。试验于2024年5—6月在北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所的温室中进行。选用规格为1.7 m×20.0 m×0.7 m的潮汐灌溉苗床,在其表面铺上一层育苗布,浇水使育苗布完全湿透,然后将杂交种子均匀地撒播到育苗布上面,每天浇水保持湿润。2~3天后种子开始发芽,待到种子长至2~3叶期时,便可将杂交幼苗移入50孔穴盘之中继续育苗。待幼苗长至30 cm,开始大田移栽,栽种地点为中国山东滕州西岗苗圃实验基地,株行距为80 cm×80 cm,同时栽种2个亲本的小区作为对照。

1.3 杂交种细胞学鉴定

因考虑到母本未去雄,存在潜在花粉污染而导致非真实杂种出现的情况。我们采用流式细胞测定DNA含量以及染色体压片技术方法对部分杂交子代进行杂种真实性验证。其中流式细胞仪测定DNA含量,主要选取二倍体‘宁杂4号’美洲狼尾草母本、四倍体‘紫色’象草父本与部分假定的杂交种的幼嫩叶片,参考党佳旗等^[21]的方法进行分析。

染色体计数同样以两个亲本以及部分杂交种的幼苗单株为对象,取各材料水培后3~5 cm幼嫩根尖,卡诺固定液(乙醇:冰乙酸=3:1)固定24 h后放入75%乙醇中,4℃冰箱保存备用。染色体压片步骤参考党佳旗等^[21]的研究。

1.4 杂交种的分子标记鉴定

DNA提取主要选取生长良好的亲本及杂交子代幼嫩叶片0.1 g,参照南京诺唯赞生物科技股份有限公司(南京,中国)植物基因组提取试剂盒提取DNA,采用紫外分光光度计检测DNA纯度和浓度,最后将DNA原液的一部分用ddH₂O统一稀释至20 ng·μL⁻¹, -20℃条件存放备用。

分子标记鉴定中主要选用Kandel等^[22]所公布的20条重复性好且在美洲狼尾草和象草中有差异的SSR与SNP标记引物序列,引物信息详见表1。引物由擎科生物科技股份有限公司(北京,中国)合成。SSR与SNP标记引物的PCR扩增体系都为10 μL 2×Taq Master Mix(天根,北京,中国)、1 μL正向引物、1 μL反向引物、2 μL DNA和6 μL ddH₂O。PCR反应程序为:94℃预变性3 min,94℃变性30 s,依据引物退火温度减3℃退火30 s,72℃延伸1 min,94℃变性30 s到72℃延伸1 min的过程循环25次,72℃延伸10 min。SSR标记引物的PCR扩增产物使用8.0%非变性聚丙烯酰胺凝胶进行分离,使用100 bp Marker(全式金,北京,中国)进行标记,电泳结束后通过银染色观察条带情况;SNP标记引物的PCR扩增产物使用1.5%的琼脂糖电泳进行分离,使用250 bp Marker(全式金,北京,中国)进行标记,电泳结束后通过溴酚蓝染色观察条带情况。

1.5 杂交亲本与子代的农艺性状与营养品质测定

幼苗移栽大田后待性状稳定时进行表型观测,观测指标参考狼尾草属DUS测试指南。其中株高(m)为测定每丛绝对高度(从根部分蘖处至植株叶片最高处);冠幅(m)为从每丛的东西、南北两个方向上分别测定,取平均值;茎粗(cm)为使用游标卡尺测定每丛倒数第四叶对应的节间处的直径,四次重复,取平均值;叶长(cm)和叶宽(cm)为用卷尺测定每丛从上往下数第四个茎节处倒三叶的叶长、叶宽,四次重复,取平均值;分蘖数为测定每丛的分蘖数。植株鲜重与干重为幼苗移栽大田待母本‘宁杂4号’美洲狼尾草孕穗时,留茬10 cm刈割后立即称鲜重,然后将刈割后的地上部放入烘箱中,105℃恒温杀青30 min,再65℃恒温烘至恒重后称取干重。其中干物质(Dry matter, DM)含量为干重/鲜重×100%。花青素含量测定参考杨星堂等^[23]的方法。

营养品质是将烘干后的样品送至谱尼测试集团股份有限公司(北京,中国)测粗蛋白(Crude protein,

表 1 引物信息
Table 1 Primer information

引物名称 Primer name	引物类型 Primer type	扩增产物 Amplified product/bp	正向与反向引物序列 Forward and reverse primer sequences	退火温度 Annealing temperature/℃
ICMP3028	SSR	160~165	F:ACGATTCTTCGTCGTTCCAG R:GATACGCGCGAGCTACATTT	60.4
ICMP3045	SSR	310~320	F:ACAAGGACGACAAGGACCAC R:CCTCTCCAAGCACATGTTTC	61.4
ICMP3056	SSR	160~170	F:ACGGAGCTACGGTTGGAATA R:CACAAGGGACCCCACGATA	61.4
ICMP3066	SSR	140~200	F:GGCCCCAAGTAACTTCCCTA R:TGTCAGACACAGATGCCACA	61.4
ICMP3068	SSR	200	F:CTGGCAAAGTTGTAGCGTGA R:ATGTCGCTCTCTGCCAAGAT	60.4
ICMP3069	SSR	190	F:TAGGAGGGGACTGCTCCTTT R:AGGAAGAGGATGGTGGTGTG	62.4
ICMP3081	SSR	180~210	F:ACGCCGTTTTTCGTGTAGTCT R:TCCACAAGGTGACCTCACTG	61.4
ICMP3096	SSR	210~220	F:CTGCATTGCAACATCCTCAC R:AACCTGCAGTGGAAGCAATC	60.4
ICMP4010	SSR	290~300	F:ATCCCCTACAGCATCAGCAC R:CGGCGGAGAGATCTTATTCA	61.4
PSMP737	SSR	160	F:ATGCTTTTCCCCCGCTATCA R:TCCTAGCAAGCTCGCATAAGA	48.8
PSMP2024	SSR	413	F:ACACCTTAGCAAAGGCTGCTAC R:ATGCTTAGTTTGCTATAACTTGGG	61.1
PSMS21	SNP	200~500	F:CATCAGGTAGTCACCCTTGAC R:CTGTATTGGTGCCTGGCATC	62.5
PSMS27	SNP	200~500	F:TCACGCACGTCATCTTCGAC R:CCCATCATCTTGGCCTTGAG	62.4
PSMS34	SNP	200~500	F:CACTCTCAAGAACTGTTGCAG R:TTGAGATCAAGAGTAGAAGGC	59.7
PSMS35	SNP	200~500	F:TGACACTCATGTTCACTACTC R:CCTGTTAAATCCAAGCTCTC	59.5
PSMS39	SNP	200~500	F:CCTGAACGATGTCTCAATACC R:ATCAATGAGCCAGAGCTTGC	60.5
PSMS54	SNP	200~500	F:TCTGAACCATCTCATCTCTGC R:GTCGCACACGCTGACTTCAC	62.6
PSMS55	SNP	200~500	F:CTACACCTGGAGCTACACTC R:CACAGTACTCCCTTTCAGCA	61.4
PSMS56	SNP	200~500	F:GCGGCAGTATCTGTACCGTC R:TCTAGAGCCAGTATCTTCCC	62.5
PSMS92	SNP	200~500	F:TGGTGATGCTGCTGCTTTAG R:CGACCGAGTACATCTTCTGG	61.4

CP)、粗脂肪(Crude fat,EE)、粗纤维(Crude fiber, CF)、粗灰分(Crude ash,Ash)、酸性洗涤纤维(Acid detergent fiber,ADF)、中性洗涤纤维(Neutral detergent fiber,NDF)含量。

1.6 杂交子代优异单株扩繁与产量测定

第一年农艺性状观测完毕后,用筛选出的杂交子代优异单株根部进行分株扩繁,每1个分蘖为一株,扩繁地点为北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所北京昌平小汤山试验基地温室。2025年5月,在北京市农林科学院草业花卉与景观生态研究所北京昌平小汤山试验基地进行第二年大田种植,每个株系种植16株,设置4×4的小区,未包含重复小区,株行距为80 cm×80 cm,同时种植2个亲本的小区作为对照。

扩繁幼苗移栽大田待性状稳定时取中间4株进行产量测定,鲜草重、干草重测定参考上述测鲜重、干重方法,产量换算以每株占地0.64 m²进行换算。

1.7 数据分析

收集到的数据在Excel 2019中进行归纳整理,用SPSS 20.0对数据进行方差分析,各指标测定数值用均值±标准误差来表示。使用Origin 2021和Adobe Illustrator 2025软件作图。

2 结果与分析

2.1 杂交种子育苗

在本次杂交种的育苗工作中,总共播种了2141颗种子。杂交种子在第5天的发芽率为57.14%,第10天的发芽率为61.17%,最终所获待鉴定幼苗1309株。

2.2 杂交子代鉴定

我们运用了流式细胞术、染色体压片与分子标记三种方法对所获杂交幼苗进行了鉴定。二倍体美洲狼尾草与四倍体紫色象草 G1 和 G2 峰直方图如图 1 所示。‘宁杂 4 号’美洲狼尾草(图 1A)和‘紫

色’象草(图 1B)的 G1 峰非常明显,并且均在 X 轴 50 光子强度左右的时候出峰,这表明美洲狼尾草和紫色象草的 DNA 含量相似,由于 G1 峰的邻近,不可能将它们分开。因此,使用流式细胞术无法鉴定假定的杂交子代是否为真正的杂交子代。

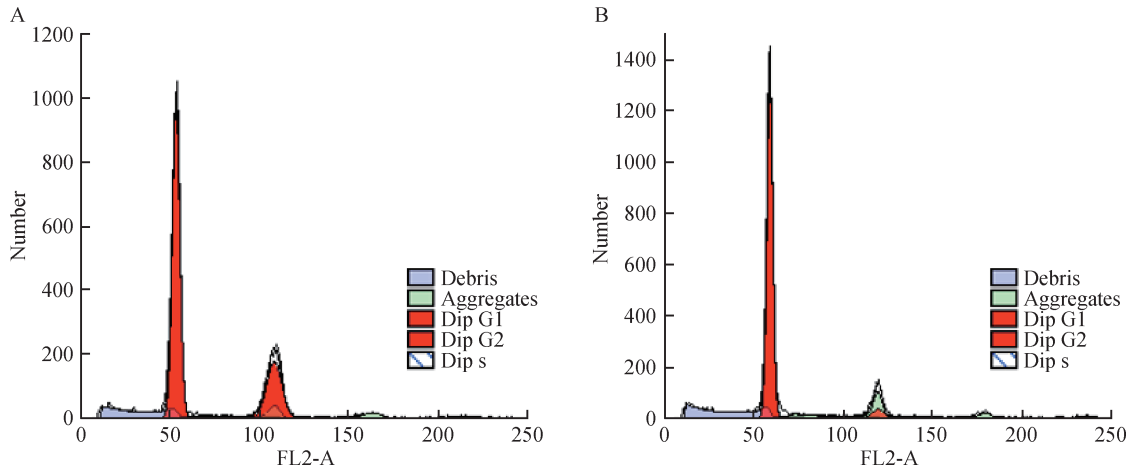


图 1 亲本流式细胞术直方图

Fig. 1 Flow Cytometry Histograms of parents

注: A 为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草流式细胞术直方图; B 为‘紫色’象草流式细胞术直方图

Note: A, Flow Cytometry Histograms of the *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; B, Flow Cytometry Histograms of the *P. purpureum* ‘purple’

之后我们进一步通过对亲本与子代的染色体压片,二倍体‘宁杂 4 号’美洲狼尾草与四倍体‘紫色’象草以及三倍体杂交子代染色体如图 2 所示,二倍体‘宁杂 4 号’美洲狼尾草(图 2A)染色体条数为 14,四倍体‘紫色’象草(图 2B)染色体条数为 28,三倍体杂交子代(图 2C)染色体条数为 21。染色体压片能够很好地区分亲本以及杂交子代,是一种鉴定美洲狼尾草与象草种间杂交子代的有效方法。但该方法操作技术要求高,步骤繁琐,因此我们主要利用分子标记进行后续验证。

在使用分子标记鉴定杂交子代的过程中,我们从 20 对 SSR 和 SNP 引物中,总共找出 7 对亲本存在

差异条带的引物,并用了 10 个经染色体压片鉴定为真的杂交子代与 5 个自交子代进行了验证(图 3)。在 7 对引物中,我们挑选了四对可重复性好、扩增条带清晰的引物进行了杂交子代幼苗的鉴定,结果如图 4 所示,四对引物鉴定结果一致,真杂交子代条带表现为同时具有双亲的条带或具有父本的条带,后期田间表型为偏象草表型。所有子代幼苗经染色体压片与分子标记鉴定后,共鉴定出 169 株真杂交子代幼苗,真实杂种率为 12.9%。

2.3 亲本与杂交子代农艺性状统计

将 169 株真杂交子代幼苗移至大田 90 天之后,部分杂交子代死亡,共有 114 株子代最终存活,子代移栽大田后死亡率为 32.54%。其中紫色子代 61 株,绿色子代 53 株。对亲本与包含所有子代表型的 61 株紫色子代与 53 株绿色子代的田间表型统计表明,杂交后代单株的表型性状产生了较大的分离。其中,杂交后代的株高、茎粗与叶宽显著低于亲本 ($P < 0.05$),少数单株株高能够接近父本‘紫色’象草(图 5A),而茎粗与叶宽,少数子代单株则属于亲本表型中的中间型(图 5D,F)。杂交后代的冠幅、分蘖数与叶长显著低于父本紫色象草 ($P < 0.05$),与母本‘宁杂 4 号’美洲狼尾草无显著差异,多数单株属

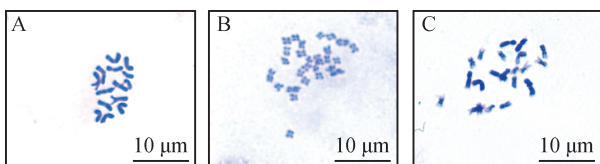


图 2 亲本与真杂交子代分裂相

Fig. 2 Division phase of the parents and true hybrid

注: A 为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草分裂相, $2n=2x=14$; B 为‘紫色’象草分裂相, $2n=4x=28$; C 为真杂交子代分裂相, $2n=3x=21$

Note: A, Division phase of the *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’, $2n=2x=14$; B, Division phase of the *P. purpureum* ‘purple’, $2n=4x=28$; C, Division phase of the true hybrid, $2n=3x=21$

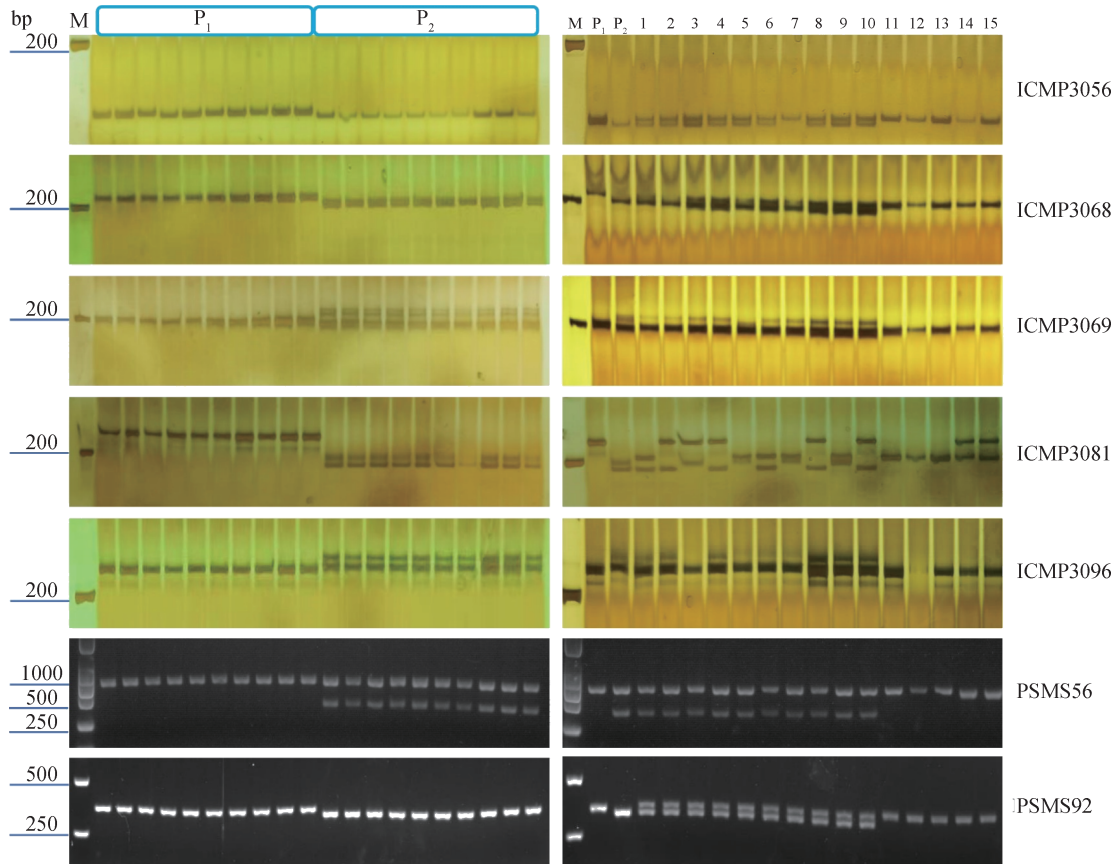


图 3 7 对亲本条带差异引物

Fig. 3 Seven pairs of primer of parental band difference

注:M 为 marker;P₁ 为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草;P₂ 为‘紫色’象草;1~10 为经染色体计数验证真杂交子代;11~15 为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草自交子代

Note: M, marker; P₁, *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; P₂, *P. purpureum* ‘purple’; 1–10, true hybrid verified by chromosome count; 11–15, *P. glaucum* ‘Ningza No. 4’ self-cross progeny

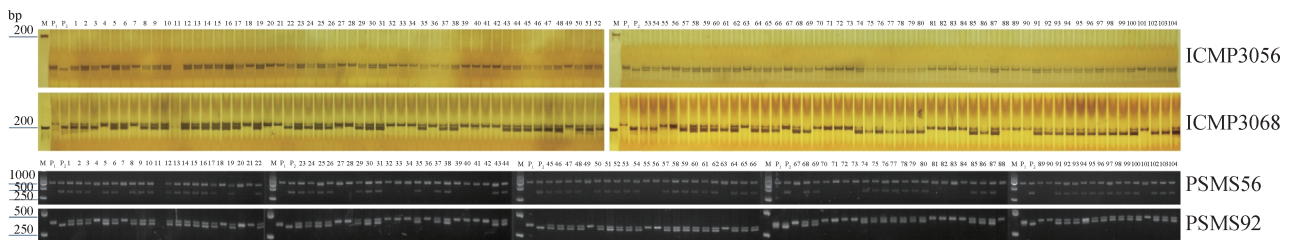


图 4 部分子代幼苗 4 对引物鉴定

Fig. 4 Four pairs of primers for identification of partial hybrid seedlings

注:M 为 marker;P₁ 为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草;P₂ 为‘紫色’象草;黑色数字为真杂交子代;红色数字为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草自交子代

Note: M, marker; P₁, *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; P₂, *P. purpureum* ‘purple’; black numbers, true hybrid; red numbers, *P. glaucum* ‘Ningza No. 4’ self-cross progeny

于亲本表型中的中间型(图 5B-E),但在分蘖数方面出现了少数单株具有超亲优势的情况(图 5C)。

对亲本与杂交子代留茬 10 cm 刈割后称量鲜重,结果表明紫色子代群体鲜重显著低于‘紫色’象草($P<0.05$),‘宁杂 4 号’美洲狼尾草、‘紫色’象草、绿色子代群体间无显著差异(图 5G)。测量亲本与杂交子代花青素含量,结果如图 5H 所示,‘紫色’象

草与紫色杂交子代群体间花青素含量无显著差异,子代群体各单株间花青素含量有较大差异,有单株花青素含量高于‘紫色’象草。

2.4 亲本与杂交子代营养品质统计分析

在紫色杂交子代与绿色杂交子代中有单株鲜重优于亲本(图 5G),选择鲜重超过亲本的子代作

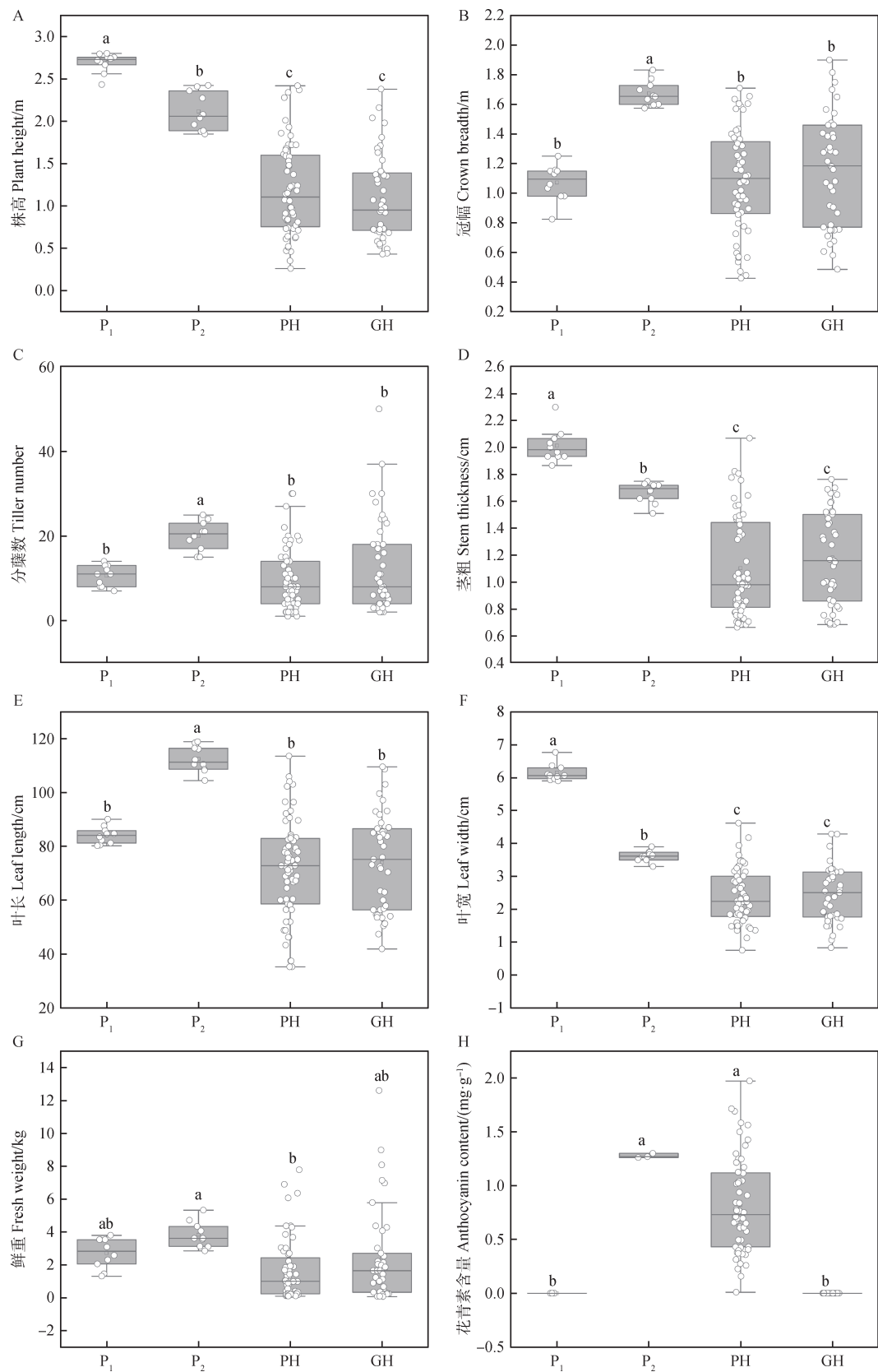


图 5 杂交亲本与子代农艺性状比较

Fig. 5 Comparison of agronomic traits between parents and hybrids

注: P_1 为‘宁杂4号’美洲狼尾草; P_2 为‘紫色’象草; PH为紫色杂交子代; GH为绿色杂交子代。一个散点代表一颗单株, 不同小写字母间表示差异显著, $P < 0.05$

Note: P_1 , *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; P_2 , *P. purpureum* ‘purple’; PH, purple hybrid; GH, green hybrid. A scatter represents a single plant, and significant differences between different lowercase letters are indicated at $P < 0.05$

为测量对象进行烘干称重与营养成分测定。亲本与杂交子代营养成分测定结果如表 2 所示,杂交子代 DM 含量为 19.54% 与 19.16%,显著高于‘紫色’象草的 16.48% 但显著低于‘宁杂 4 号’美洲狼尾草的 22.43% ($P<0.05$);绿色杂交子代 EE 含量为 $15.30\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,显著低于亲本与紫色杂交子代 ($P<0.05$),紫色杂交子代与亲本间无显著差异;‘紫

色’象草 ADF 含量为 43.65%,显著高于‘宁杂 4 号’美洲狼尾草的 36.25% ($P<0.05$),杂交子代 ADF 含量分别为 41.33% 与 40.48%,位于亲本之间与亲本无显著差异;‘紫色’象草与杂交子代 NDF 含量均显著高于‘宁杂 4 号’美洲狼尾草 ($P<0.05$);亲本与杂交子代的 CP,CF,Ash 含量之间无显著差异。

表 2 杂交亲本与子代营养成分含量

Table 2 Nutrient content of parents and hybrids

种类 Species	干物质 Dry matter/ %	粗蛋白 Crude protein/ %	粗脂肪 Crude fat/ ($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)	粗纤维 Crude fiber/%	粗灰分 Crude ash/%	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber/ %	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber/ %
P ₁	22.43±0.67 ^a	11.50±0.04 ^a	16.50±0.50 ^{ab}	28.75±0.15 ^a	8.75±0.05 ^a	36.25±0.35 ^b	57.35±0.55 ^b
P ₂	16.48±0.64 ^c	11.93±0.11 ^a	17.50±0.50 ^a	32.40±0.20 ^a	10.50±0.10 ^a	43.65±0.55 ^a	63.90±0.60 ^a
PH	19.54±0.53 ^b	11.91±0.16 ^a	17.70±0.30 ^a	32.09±0.53 ^a	10.02±0.37 ^a	41.33±0.81 ^{ab}	62.94±0.64 ^a
GH	19.16±0.35 ^b	11.85±0.62 ^a	15.30±0.30 ^b	31.20±0.80 ^a	10.04±0.38 ^a	40.48±0.88 ^{ab}	63.84±0.82 ^a

注:P₁为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草;P₂为‘紫色’象草;PH 为紫色杂交子代;GH 为绿色杂交子代。同列不同小写字母间表示差异显著, $P<0.05$

Note: P₁, *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; P₂, *P. purpureum* ‘purple’; PH, purple hybrid; GH, green hybrid. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences, $P<0.05$

2.5 杂交子代优系选定

结合农艺性状、营养成分含量最终选定了单株鲜重高,干物质含量高的紫色杂交子代 1 号(PH₁)、2 号(PH₂)、3 号(PH₃)、4 号(PH₄)、5 号(PH₅),绿色杂交子代 1 号(GH₁)、2 号(GH₂)、3 号(GH₃)、4 号(GH₄)、5 号(GH₅)作为优系单株并进行了无性扩繁。第二年测定的亲本与杂交子代优系的产量与花青素含量数据表明,PH₂鲜草产量达 $161.30\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,干草

产量达 $30.78\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,花青素含量为 $1.71\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$,GH₂鲜草产量达 $160.14\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,干草产量达 $32.22\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,均显著优于亲本‘宁杂 4 号’美洲狼尾草的鲜草产量 $50.3\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,干草产量 $11.28\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$ 和‘紫色’象草的鲜草产量 $93.64\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,干草产量 $15.43\text{ t}\cdot\text{hm}^{-2}$,花青素含量 $1.28\text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ ($P<0.05$) (表 3)。对于选定出的杂交子代优系,我们将作为后续选育工作的重点。

表 3 亲本与杂交子代优系的产量与花青素含量

Table 3 The yield and anthocyanin content of the superior lines of the parents and hybrid offspring

种类 Species	鲜重 Fresh weight/($\text{kg}\cdot\text{株}^{-1}$)	鲜草产量 Fresh grass yield/($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)	干草产量 Hay yield/($\text{t}\cdot\text{hm}^{-2}$)	花青素含量 Anthocyanin content/($\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$)
P ₁	3.22±0.26 ^c	50.30±4.07 ^c	11.28±0.91 ^d	/
P ₂	5.99±0.13 ^{bc}	93.64±2.04 ^{bc}	15.43±0.34 ^{cd}	1.28±0.01 ^f
PH ₁	7.61±1.01 ^{ab}	118.86±15.71 ^{ab}	20.11±2.66 ^{bcd}	1.97±0.03 ^a
PH ₂	10.32±1.39 ^a	161.30±21.67 ^a	30.78±4.14 ^a	1.71±0.01 ^b
PH ₃	8.17±0.35 ^{ab}	127.60±5.55 ^{ab}	25.91±1.13 ^{ab}	1.37±0.01 ^e
PH ₄	8.76±0.76 ^{ab}	136.82±11.81 ^{ab}	24.97±2.15 ^{ab}	1.56±0.01 ^c
PH ₅	7.74±0.63 ^{ab}	120.89±9.91 ^{ab}	24.80±2.03 ^{ab}	1.50±0.03 ^d
GH ₁	8.16±1.74 ^{ab}	127.55±27.22 ^{ab}	23.89±5.10 ^{abc}	/
GH ₂	10.25±1.29 ^a	160.14±20.17 ^a	32.22±4.06 ^a	/
GH ₃	9.13±1.49 ^{ab}	142.70±23.32 ^{ab}	21.56±3.52 ^{bc}	/
GH ₄	8.55±0.74 ^{ab}	133.53±11.54 ^{ab}	25.70±2.22 ^{ab}	/
GH ₅	8.76±0.65 ^{ab}	136.89±10.17 ^{ab}	25.40±1.87 ^{ab}	/

注:P₁为‘宁杂 4 号’美洲狼尾草;P₂为‘紫色’象草;PH 为紫色杂交子代,数字为优系子代编号;GH 为绿色杂交子代,数字为优系子代编号。表中所有数据为该指标下所测数值的平均数±标准误差。同列不同小写字母间表示差异显著, $P<0.05$

Note: P₁, *Pennisetum glaucum* ‘Ningza No. 4’; P₂, *P. purpureum* ‘purple’; PH, purple hybrid, the number indicates the number of single superior line in hybrids; GH, green hybrid, the number indicates the number of single superior line in hybrids. All the data in the table are the average±standard error of the values measured under the index. Different lowercase letters in the same column indicate significant differences, $P<0.05$

3 讨论

3.1 美洲狼尾草和象草种间杂交

美洲狼尾草与象草是狼尾草属的两个重要种,二者亲缘关系密切,利用传统的植物杂交育种方法,可以成功地培育出种间三倍体杂交种,但是二者之间也存在着一定的杂交障碍^[14,24]。杂种 F_1 在萌发后的致死率在许多植物属中都有报道,杂种活力弱和矮化是其共同特征^[25-26]。美洲狼尾草与象草的染色体配对和亲缘关系程度对所产生的种间杂交种有显著影响。Obok^[24]用尼日利亚产的5个栽培美洲狼尾草做母本,2个象草做父本进行种间杂交研究发现真实杂交幼苗的发生率在4%到22%之间,部分种间杂交幼苗在移栽苗圃4周之后会出现死亡的情况。本研究中,‘宁杂4号’美洲狼尾草与‘紫色’象草的种间杂交的真实杂交幼苗发生率并不高,为12.9%,表明自交比例较高,幼苗移栽大田之后同样出现了幼苗死亡的情况,死亡率为32.54%。由于美洲狼尾草具有雌蕊先成熟而雄蕊后成熟的特点,期间相隔2—3天,因此未来可考虑采用先授粉后去除雌蕊柱头的方法开展种间杂交^[27]降低自身花粉污染,并在后期开展育苗工作时应多播种杂交种子以提高真实杂交幼苗的获得率。

3.2 美洲狼尾草×象草杂交种的真实性鉴定

在狼尾草属种间杂交中,常用流式细胞术、染色体压片、分子标记及表型判断等方法来鉴定杂交子代的真实性^[2,28]。通常情况下,美洲狼尾草×象草杂交后代基因组AA'B与象草基因组A'A'BB的相似性较大,因为象草基因组的遗传贡献较大(66.7%染色体),杂交后代的表型是偏向象草的^[24]。当用美洲狼尾草做母本与象草杂交时,杂交子代的真实性可以通过表型来鉴定,但是该方法需要将幼苗移至大田,鉴定周期较长。有时为了加快育种进程,需要在幼苗时期就对杂交子代进行鉴定,所以单依靠表型鉴定这一种方法是无法满足鉴定需求的^[29]。随着基因组测序技术的不断发展,先后完成了对美洲狼尾草与象草全基因组的测序与组装,测序结果表明,美洲狼尾草基因组大小约为1.79 Gb^[30],象草基因组大小约为1.97 Gb^[17]。因二者的基因组含量接近,如图1A-B所示无法将其在直方图上分开,因此想用流式细胞术来鉴定美洲狼尾草×象草子代的真实性是无法实现的,这与先前Dowling^[2]的研究结果一致。二

倍体美洲狼尾草与四倍体象草杂交产生三倍体的杂交子代,三者的染色体基数都为7,但倍性不同,通过染色体压片能够准确地鉴定杂交子代的真实性(图2)。之前的研究也表明在美洲狼尾草、象草及杂交子代的细胞遗传学分析中,染色体压片是一个重要的工具^[31]。但是染色体压片的流程比较繁琐,并不适用于大量子代的鉴定工作。

分子标记在狼尾草属植物育种的进程中起到了十分重要的作用,它们常被用来划分种质资源、进行遗传多样性评估、构建遗传图谱、筛选特殊性状、鉴定杂交子代等,按照用处与类别可划分为RAPD, SNP, SSR, ISSR, RFLP, AFLP, SCAR标记^[32-34]。Kandel等^[22]通过对先前美洲狼尾草分子标记的整理并将其用于象草遗传多样性评估,筛选出了多对可跨种进行扩增的分子标记。我们从中选取了20对在美洲狼尾草与象草之间存在差异性与多态性的SSR与SNP标记引物,与遗传多样性评价不同,为了使杂交子代的鉴定尽可能清晰简单,我们降低了PCR扩增程序的循环次数,将其降为了25个循环,筛选到了7对条带清晰,亲本存在差异的引物(图3)。真正的杂交子代由于同时具有双亲的基因组,所以理论上应同时具有母本与父本的条带^[2],但在实际的鉴定过程中,ICMP3068引物所鉴定的子代中部分并未扩增出母本条带,这可能与该对引物优先结合了父本的基因组有关(图4)。不同于染色体压片,使用分子标记对大量子代进行鉴定是简单高效的。由于母本美洲狼尾草能够自花授粉,子代中混有美洲狼尾草基因型^[29],分子标记可以将其区分,因此在美洲狼尾草×象草的杂交中,使用分子标记能够快速准确地区分真假杂交子代。

3.3 美洲狼尾草×象草杂交后代优系的筛选

美洲狼尾草和象草的杂交子代尽管在某些特征上表现为中间型,但它们通常与象草表型更为相似。它们的高产潜力、强度和可接受性依赖于更多的叶片、更发达的茎和更高的干物质产量^[16]。Kannan等^[35]的研究结果表明,美洲狼尾草与象草的种间杂交所获杂交种在株高、分蘖数和茎粗方面表现出很大的差异,一些种间杂交种茎粗、分蘖数多、叶宽、生物量比象草亲本相近或更高,故而可以选择优质杂交种用于新品系的开发。本研究中,‘宁杂4号’美洲狼尾草×‘紫色’象草的杂交 F_1 代中所发生的变异与Kannan等^[35]的研究结果一致,一些杂

交F₁代茎粗、分蘖数多、叶宽、生物量比‘紫色’象草更高(图5)。因为有着这些性状上的变异,我们得以从中选择优质杂交种以开发新品系。

在饲草品质评价中,CF、ADF和NDF对于反刍动物来说是重要的能源物质^[36]。适量的CF能促进肠胃蠕动,而ADF、NDF含量则是衡量饲草适口性、采食量和消化率的重要指标,二者含量越低饲草适口性越好,消化率越高^[37]。本研究中,‘宁杂4号’美洲狼尾草的ADF、NDF含量显著低于‘紫色’象草($P < 0.05$)(表2),这也就解释了为什么美洲狼尾草的适口性要比象草更好的原因。通过‘宁杂4号’美洲狼尾草与‘紫色’象草的种间杂交,所获杂交子代ADF含量较‘紫色’象草有所降低(表2),这意味着杂交子代具有比‘紫色’象草更好的适口性潜能。DM含量是衡量饲草产量的标准之一,同时也是影响饲草青贮效果的重要因素^[38-39]。当饲草与麸皮、稻草、农作物秸秆等DM含量较高的原料混合青贮时,可以提高青贮原料含糖量,降低水分含量^[40]。本研究中,所测DM含量以‘宁杂4号’美洲狼尾草最佳,‘紫色’象草最低,杂交F₁代位于亲本之间(表2)。高DM含量的成熟牧草干物质产量高,具有良好的青贮品质^[41-42]。杂交F₁代DM含量优于‘紫色’象草,表明其在同等条件下可具备比‘紫色’象草更高的干物质产量,更好的青贮品质。通过对‘宁杂4号’美洲狼尾草、‘紫色’象草与杂交F₁代农艺性状与营养成分的测定与分析,选定出了部分优系单株,并进行了扩繁,这些杂交子代优系较‘紫色’象草具有更高的产量,且紫色杂交子代优系花青素含量高于‘紫色’象草。因此,我们认为美洲狼尾草与‘紫色’象草的杂交可以培育出高产优质的饲草新品种,但这是一项持续的探索,后续还需开展多年多地点区域试验、青贮发酵品质评估和分子机制解析等才可实现。

4 结论

本研究中,我们首次进行了‘宁杂4号’美洲狼尾草与‘紫色’象草的杂交。杂交结果表明‘宁杂4号’美洲狼尾草与‘紫色’象草尽管存在一定杂交后障碍,但仍可产生杂交后代。建立了结合染色体计数与分子标记的杂种鉴定体系。亲本与杂交子代的农艺性状和营养品质存在差异,在试验条件下筛选出了部分鲜草产量、干草产量、花青素含量高的杂交子代优系作为后续多年多点区域试验选育的

重点。总之,二者之间的杂交可以获得产量高、品质优且富含花青素的饲草新种质。

参考文献

- [1] DADUWAL H S, BHARDWAJ R, SRIVASTAVA R K. Pearl millet a promising fodder crop for changing climate: A review[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2024, 137: 169
- [2] DOWLING C D. Marker-assisted verification of hybrids in pearl millet-napiergrass (*Pennisetum glaucum* (L.) BrR. × *Pennisetum purpureum* Schumach.) [D]. College Station, Texas: Texas A & M University, 2012: 1-3
- [3] MALEKO D, NG W T, MSALYA G, et al. Seasonal variations in the availability of fodder resources and practices of dairy cattle feeding among the smallholder farmers in Western Usambara Highlands, Tanzania[J]. Tropical Animal Health and Production, 2018, 50: 1653-1664
- [4] MTENGETI E J, PHIRI E C J H, URIO N A, et al. Forage availability and its quality in the dry season on smallholder dairy farms in Tanzania[J]. Acta Agriculturae Scandinavica Section A, 2008, 58(4): 196-204
- [5] 侯新村, 滕珂, 郭强, 等. 狼尾草属牧草研究进展[J]. 植物学报, 2022, 57(6): 814-825
- [6] HOU X C, TENG K, GUO Q, et al. Research advances in forage *Pennisetum* resource [J]. Chinese Bulletin of Botany, 2022, 57(6): 814-825
- [7] KELLOGG E A. The grasses: a case study in macroevolution[J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 2000, 31(1): 217-238
- [8] OBOK E E, AKEN'OVA M E, IWO G A. Forage potentials of interspecific hybrids between elephant grass selections and cultivated pearl millet genotypes of Nigerian origin[J]. Journal of Plant Breeding and Crop Science, 2012, 4(9): 136-143
- [9] SERBA D D, PERUMAL R, TESSO T T, et al. Status of global pearl millet breeding programs and the way forward[J]. Crop Science, 2017, 57(6): 2891-2905
- [10] MUKTAR M S, HABTE E, TESHOME A, et al. Insights into the genetic architecture of complex traits in napier grass (*Cenchrus purpureus*) and QTL regions governing forage biomass yield, water use efficiency and feed quality traits [J]. Frontiers in Plant Science, 2022, 12: 678862
- [11] NEGAWO A T, TESHOME A, KUMAR A, et al. Opportunities for napier grass (*Pennisetum purpureum*) improvement using molecular genetics [J]. Agronomy, 2017, 7(2): 28
- [12] 刘冠豪, 杨松顺, 刘孟军, 等. 寒二、四倍体间杂交子代基因组大小及叶片性状变异分析[J]. 中国果树, 2025(1): 49-54
- [13] LIU G H, YANG S Q, LIU M J, et al. Analysis of genome size and leaf heterosis of hybrids between diploid and tetraploid in Chinese jujube [J]. China Fruits, 2025(1): 49-54
- [14] 王振江, 唐翠明, 戴凡炜, 等. 不同倍性杂交后代桑叶品质性状的遗传特性[J]. 中国农学通报, 2018, 34(15): 85-88
- [15] WANG Z J, TANG C M, DAI F W, et al. Inheritance characteristics of leaf quality traits of different ploidy mulberry varieties' grossed progenies [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2018, 34(15): 85-88
- [16] REIS G B, MESQUITA A T, ANDRADE-VIEIRA L F, et al. Somatic cell alterations in interspecific hybrids of *Cenchrus purpureum* (Schumach.) and *Cenchrus americanus* (L.) Morrone by genomic *in Situ* hybridization [J]. Cytology and Genetics, 2021, 55(2): 194-198
- [17] TECHIO V H, DAVIDE L C, PEREIRA A V, et al. Cytotaxonomy of some species and of interspecific hybrids of *Pennisetum* (Poaceae, Poales) [J]. Genetics and Molecular Biology,

- 2002,25:203-209
- [15] DIZ D A. Breeding procedures and seed production management in pearl millet×elephantgrass hexaploid hybrids [D]. Gainesville,Florida:University of Florida,1994:1-4
- [16] ANDRADE-VIEIRA L F, REIS G B, TORRES G A, et al. Biparental chromosome elimination in artificial interspecific hybrids of *Pennisetum purpureum* and *Pennisetum glaucum* [J]. Crop Science, 2013, 53(5):1917-1924
- [17] YAN Q, WU F, XU P, et al. The elephant grass (*Cenchrus purpureus*) genome provides insights into anthocyanidin accumulation and fast growth [J]. Molecular Ecology Resources, 2021, 21(2):526-542
- [18] KRUGER M J, DAVIES N, MYBURGH K H, et al. Proanthocyanidins, anthocyanins and cardiovascular diseases [J]. Food Research International, 2014, 59:41-52
- [19] 易显凤, 周恒, 史静, 等. 紫色象草饲喂山羊效果分析[J]. 饲料研究, 2017(6):48-52
- YIX F, ZHOU H, SHI J, et al. Analysis of the effect of feeding goats with purple elephant grass [J]. Feed Research, 2017(6):48-52
- [20] ZHANG M Y, LI X H, WANG X, et al. Modulation of lignin and anthocyanin homeostasis by *GTP cyclohydrolase1* in maize [J]. Plant Biotechnology Journal, 2025, 23(7):2449-2463
- [21] 党佳旗, 王鑫, 苏妮妮, 等. 四倍体‘紫光’狼尾草的诱导及鉴定分析[J]. 草地学报, 2025, 33(10):3430-3437
- DANG J Q, WANG X, SU N N, et al. Induction and identification analysis of tetraploid *Pennisetum alopecuroides* ‘Ziguang’ [J]. Acta Agrestia Sinica, 2025, 33(10):3430-3437
- [22] KANDEL R, SINGH H P, SINGH B P, et al. Assessment of genetic diversity in napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) using microsatellite, single-nucleotide polymorphism and insertion-deletion markers from pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br.) [J]. Plant Molecular Biology Reporter, 2016, 34:265-272
- [23] 杨星莹, 胡昌雄, 李莎, 等. 39份桑葚品种花青素含量分析[J]. 中国农学通报, 2025, 41(13):158-164
- YANG X Y, HU C X, LI S, et al. Investigation and analysis of anthocyanin content of 39 mulberry varieties [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2025, 41(13):158-164
- [24] OBOK E E. Post-zygotic reproductive barrier in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.)×elephant grass (*Pennisetum purpureum* Schum.) interspecific F₁ hybrids [J]. Canadian Journal of Plant Breeding, 2013, 1(1):1-5
- [25] LEVIN D A. The origin of isolating mechanisms in flowering plants [J]. Evolutionary Biology, 1978, 11:185-315
- [26] BOMBLIES K, WEIGEL D. Hybrid necrosis: autoimmunity as a potential gene flow barrier in plant species [J]. Nature Reviews Genetics, 2007, 8:382-393
- [27] KAUSHAL P, KHARE A, SIDDIQUI S A, et al. Morphological, cytological and reproductive characterization of tri-species hybrids (GOS) between *Pennisetum glaucum*, *P. orientale* and *P. squamulatum* [J]. Euphytica, 2010, 174:261-281
- [28] 范希峰, 岳跃森, 滕珂, 等. 一种适用于狼尾草种间远缘杂交的方法: 中国, CN120226605A [P], 2025-07-01
- FANG X F, YUE Y S, TENG K, et al. A method for interspecific distant hybridization of panicum: China, CN120226605A [P], 2025-07-01
- [29] JADE S S, TAKAWALE P S, BAHULIKAR R A. The utility of ISSRs for the identification of interspecific hybrids between pearl millet (*Pennisetum glaucum* [L.] R. Br.)×napier grass (*Pennisetum purpureum* Schumach) [J]. Plant Genetic Resources, 2021, 19(2):104-111
- [30] VARSHNEY R K, SHI C, THUDI M, et al. Pearl millet genome sequence provides a resource to improve agronomic traits in arid environments [J]. Nature Biotechnology, 2017, 35(10):969-976
- [31] BARBOSA S, DAVIDE L C, PEREIRA A V. Cytogenetics of *Pennisetum purpureum* Schumack×*Pennisetum glaucum* L. hybrids and their parents [J]. Ciência e Agrotecnologia, 2003, 27(1):26-35
- [32] BABU C, SUNDARAMOORTHY J, VIJAYAKUMAR G, et al. Analysis of genetic diversity in napier grass (*Pennisetum purpureum* Schum) as detected by RAPD and ISSR markers [J]. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology, 2009, 18:181-187
- [33] JOGAIAH S, SHARATHCHANDRA R G, RAJ N, et al. Development of SCAR marker associated with downy mildew disease resistance in pearl millet (*Pennisetum glaucum* L.) [J]. Molecular Biology Reports, 2014, 41:7815-7824
- [34] PAUDEL D, KANNAN B, YANG X P, et al. Surveying the genome and constructing a high-density genetic map of napier-grass (*Cenchrus purpureus* Schumach) [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1):14419
- [35] KANNAN B, VALENCIA E, ALTPETER F. Interspecific hybridization between elephantgrass and pearl millet and selection of hybrids with high-biomass production and enhanced biosafety [C]. In: American Society of America (ASA), Crop Science Society of America (CSSA) and Soil Science Society of America (SSSA) International Annual Meetings: Water, Food, Energy & Innovation for a Sustainable World Tampa, Florida, 2013:165
- [36] 倪苗, 马崇勇, 董海娟, 等. 小花棘豆苦马豆素和营养成分分析 [J]. 现代畜牧科技, 2024(9):75-78
- NI M, MA C Y, DONG H J, et al. Analysis of nutritional evaluation and swainsonine of *Oxytropis glabra* DC [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2024(9):75-78
- [37] MUSTAFA A F, SÉGUIN P, BELAIR G, et al. Chemical composition and ruminal degradability of grain pearl millet grown in southwestern Quebec [J]. Canadian Journal of Animal Science, 2008, 88(1):71-77
- [38] 梁嘉琪, 刘瑞香, 郭占斌. 藜麦的饲用价值及对育成牛生长性能与经济效益的影响 [J]. 中国饲料, 2024(5):143-148
- LIANG J Q, LIU R X, GUO Z B. Feeding value of quinoa and its effect on growth performance and economic benefits of growing cattle [J]. China Feed, 2024(5):143-148
- [39] 王晓春, 韩鹏, 汪伟, 等. 紫花苜蓿与饲用燕麦混合青贮研究 [J]. 现代畜牧科技, 2024(4):74-76
- WANG X C, HAN P, WANG W, et al. Study on mixed silage of alfalfa and forage oats [J]. Modern Animal Husbandry Science & Technology, 2024(4):74-76
- [40] 张磊, 陈思凡, 黄国锋, 等. 混合青贮研究进展及前景 [J]. 饲料研究, 2021, 44(6):151-153
- ZHANG L, CHEN S F, HUANG G F, et al. Research development and prospect of mixed silage [J]. Feed Research, 2021, 44(6):151-153
- [41] 张新平, 万里强, 李向林, 等. 添加乳酸菌和纤维素酶对苜蓿青贮品质的影响 (简报) [J]. 草业学报, 2007, 16(3):139-143
- ZHANG X P, WAN L Q, LI X L, et al. The effect of adding lactic acid bacteria and cellulase on *Medicago sativa* silage quality [J]. Acta Prata Agriculturae Sinica, 2007, 16(3):139-143
- [42] 李孟伟, 杨承剑, 彭开屏, 等. 添加不同物料对象草青贮品质影响的研究 [J]. 家畜生态学报, 2019, 40(6):33-37
- LI M W, YANG C J, PENG K P, et al. Study on the quality of *Pennisetum purpureum* Schum silage with different additives [J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici, 2019, 40(6):33-37