

DOI: 10.11686/cyxb2025012

http://cyxb.magtech.com.cn

富贵, 刘玉萍, 苏旭, 等. 基于SSR标记的寡穗茅群体遗传多样性和群体遗传结构分析. 草业学报, 2025, 34(12): 170—182.

FU Gui, LIU Yu-ping, SU Xu, *et al.* Population genetic diversity and genetic structure analysis of *Littledelea przewalskyi* based on SSR molecular marker. Acta Prataculturae Sinica, 2025, 34(12): 170—182.

基于SSR标记的寡穗茅群体遗传多样性和群体遗传结构分析

富贵^{1,2,4}, 刘玉萍^{3,4,5}, 苏旭^{3,4,5*}, 曲荣举³, 才让扎西³

(1. 青海师范大学地理科学学院, 青海 西宁 810008; 2. 青海民族大学生态环境与资源学院, 青海 西宁 810007; 3. 青海师范大学生命科学学院, 青海 西宁 810016; 4. 青海师范大学, 青海省青藏高原生物多样性形成机制与综合利用重点实验室, 青海 西宁 810008; 5. 青海师范大学, 高原科学与可持续发展研究院, 青海 西宁 810016)

摘要:寡穗茅为分布于青藏高原的一种具有重要生态和经济价值的禾本科草本植物, 为探明寡穗茅群体遗传多样性、遗传结构和物种分布格局, 本研究基于15对简单重复序列(SSR)引物对21个不同地区的寡穗茅居群遗传多样性及遗传结构进行了研究。结果表明: 15对SSR引物共扩增出等位基因数目(N_a)为147个, 平均每对引物扩增出9.8个等位基因, 平均有效等位基因数(N_e)为5.418、Shannon's信息指数(I)平均值为1.808、期望杂合度(H_e)平均值为0.791、观测杂合度(H_o)平均值为0.882、Nei's遗传多样性指数(H)为0.785, 15对引物多态性信息含量为0.530~0.900, 平均值为0.756; 基于物种水平的遗传多样性结果显示, 21个居群共扩增出15个多态性位点, 平均多态性位点为13.57, N_a 、 N_e 、 I 、 H_e 、 H_o 和 H 平均值分别为3.299、2.806、1.028、0.717、0.841和0.598; 居群遗传分化系数(F_{st})和基因流(N_m)分析结果显示, 寡穗茅居群间存在一定程度的遗传分化; 分子方差分析(AMOVA)发现, 居群间遗传变异为33%, 居群内的遗传变异为67%; 综合聚类分析、主成分分析及遗传结构分析发现, 21个不同分布区样本基因型存在明显的差异, 依据样本地理来源, 21个居群样本大致可分为以玛多、玛沁、曲麻莱东南部、玉树和类乌齐为主的东南部种群(第I亚群), 以格尔木、曲麻莱西北部和称多为主的西北部种群(第II亚群); Mantel检验显示, 不同居群遗传距离和地理距离之间显著相关($r=0.412$; $P<0.001$), 不同居群之间遗传分化可能和地理阻碍有关。该研究结果为探明寡穗茅物种系统发育关系、物种界定、种质资源评价、野生资源保护及利用等提供了理论基础。

关键词:寡穗茅; SSR分子标记; 遗传多样性; 遗传结构

Population genetic diversity and genetic structure analysis of *Littledelea przewalskyi* based on SSR molecular marker

FU Gui^{1,2,4}, LIU Yu-ping^{3,4,5}, SU Xu^{3,4,5*}, QU Rong-ju³, Cairangzhaxi³

1. School of Geosciences, Qinghai Normal University, Xining 810008, China; 2. College of Ecological Environmental and Resources, Qinghai Minzu University, Xining 810007, China; 3. School of Life Sciences, Qinghai Normal University, Xining 810016, China; 4. Key Laboratory of Biodiversity Formation Mechanism and Comprehensive Utilization of the Qinghai-Xizang Plateau in Qinghai Province, Qinghai Normal University, Xining 810008, China; 5. Academy of Plateau Science and Sustainability, Qinghai Normal University, Xining 810016, China

收稿日期: 2025-01-16; 改回日期: 2025-03-31

基金项目: 青海省重大科技专项(2023-SF-A5), 2023年中央林业草原生态保护恢复资金野生动植物保护项目(QHSY-2023-016)和青海省省财政林业改革发展资金林草新技术推广项目(QSCZ-2023-001)资助。

作者简介: 富贵(1987—), 男, 甘肃天水人, 副教授, 在读博士。E-mail: qhmdfg@163.com

* 通信作者 Corresponding author. E-mail: xusu8527972@126.com

Abstract: *Littledalea przewalskyi* is a member of the grass family (Poaceae) with significant ecological and economic value and with a geographic distribution including Inner Mongolia and the Qinghai-Tibetan Plateau. This research investigated the genetic diversity, genetic structure, and species distribution patterns of *L. przewalskyi*. The *L. przewalskyi* populations studied originated from 21 different regions and the genomic investigation was based on 15 pairs of simple sequence repeats (SSR) primers. A total of 147 alleles (N_a) were detected by the 15 primer pairs, the average number of alleles was 9.8, the average effective allele per SSR marker (N_e) was 5.418, the average Shannon's information index (I) was 1.808, the average expected heterozygosity (H_e) was 0.791, the average observed heterozygosity (H_o) was 0.882, and Nei's gene diversity index (H) was 0.785. The polymorphism information content (PIC) of the 15 primer pairs ranged from 0.530 to 0.900 with a mean value of 0.756. The results of species level genetic diversity showed that 15 polymorphic loci were detected in the 21 populations. The average polymorphic loci was 13.57, and the average values of N_a , N_e , I , H_e , H_o , and H were 3.299, 2.806, 1.028, 0.717, 0.841, and 0.598, respectively. The results of coefficient of genetic differentiation and gene flow quantification showed a certain degree of genetic differentiation among the *L. przewalskyi* populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) revealed that 33% of total genetic variation occurred among populations, while 67% resided within populations. Integrated analysis of cluster analysis, principal component analysis (PCA), and genetic structure analysis revealed that the genotype of samples derived from different distribution areas had significant differences. Based on the geographical origins of the samples, the 21 population samples can be roughly classified into two subgroups, the southeastern populations (subgroup I) primarily consisting of originating from Maduo, Maqin, southeastern Qumalai, Yushu, and Riwoqê, and the northwestern populations (subgroup II) mainly including those originating from Geermu, northwestern Qumalai, and Chenduo. A Mantel test showed there was a significant correlation between genetic distance and geographical distance ($r=0.412$; $P<0.001$), implying the genetic differentiation among different populations may be related to geographical barriers. The results of this study provide a theoretical and quantitative basis for exploring and categorizing the phylogenetic relationships, species definition, germplasm resource evaluation, and conservation and utilization of wild resources of the genus *Littledalea*.

Key words: *Littledalea przewalskyi*; simple sequence repeats (SSR) molecular marker; genetic diversity; genetic structure

遗传多样性是生物的重要特征,它可以反映物种对环境的适应能力,揭示其适应环境变化持续进化的潜力,利用表型性状或分子生物学手段对遗传多样性进行评价,可对种质资源收集、鉴定、合理开发和利用奠定基础^[1]。群体遗传结构被认为是遗传多样性的重要组成部分,主要用于分析物种遗传多样性、遗传分化在空间水平的变化情况,及不同种群遗传关系空间分布格局。引起物种遗传多样性变化的原因主要是物种基因型尤其是等位基因 (allele) 数目或频率的改变,因此对群体遗传结构研究,其本质是在分子水平分析物种等位基因频率的变化情况^[2-3]。群体遗传结构的形成能够揭示一定时期内物种种群组成、系统进化关系、基因交流等情况。青藏高原形成过程中经历了复杂的地表格局和环境异质化,而这些变化显著地改变了物种的遗传多样性。因此,通过对群体遗传结构的研究有助于更深入地了解物种群体分布格局与生态环境及地理因素之间的耦合关系,从而为分析种群遗传多样性、物种分化以及遗传变异形成原因提供理论基础。

根据形态学、细胞学、酶学等方法可以对物种遗传多样性进行评价。但表型变异容易受环境的影响而具有不稳定性,从而导致评价结果不可靠;同样,等位酶作为基因的产物受外部条件影响较大,而且标记相对较少,因此,在群体间表现为准确性不足^[4]。20世纪70年代以来,以个体间核苷酸序列变异为基础的分子标记技术得到了快速发展和应用。分子标记能够反映个体、种群、物种或更高层次遗传变异的核酸或蛋白质,可为了解物种种群生物学特征提供许多重要信息,如遗传多样性、基因流、交配系统、有效种群大小等^[5]。因此,利用分子标记可以从群体的遗传变异入手,在分子水平研究物种的遗传多样性和群体遗传结构^[6],从而为探讨其种内及其近缘种属植

物的起源与进化提供有效的工具。较早使用的分子标记为限制性片段长度多态性标记(restriction fragment length polymorphism, RFLP),伴随PCR技术的出现和发展,随机扩增多态性标记(random amplified polymorphic DNA, RAPD)、简单重复序列(simple sequence repeats, SSR)、扩增限制性内切酶片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism, AFLP)和单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphisms, SNP)等分子标记技术被普遍运用于植物遗传多样性评估^[7-8]。SSR又称微卫星,因其重复单元内核苷酸组成多样性和重复次数的差异,导致其长度显著变化而在个体水平呈现出变异性。SSR呈现出共显性特征,因具有高度多态性、重复性好和稳定性强,且检测速度快等优势,已被广泛应用于物种遗传图谱绘制、种质资源评价、遗传多样性研究、遗传关系及分化的解析,以及群体结构的研究中^[9-11]。

寡穗茅(*Littledalea przewalskyi*)隶属于禾本科(Gramineae)雀麦族(Bromeae)扇穗茅属(*Littledalea*),是一种多年生、丛生草本植物。寡穗茅主要分布于青藏高原海拔3700~4700 m的高山草坡或灌丛、冲积沙砾滩地^[12],具有较强的抗逆性,尤其在耐寒、耐旱、抗病等抗逆性性状中表现优异,能够在极端环境下良好生长^[13]。同时,寡穗茅丛生根系发达,具有较强的抗风沙能力,是高海拔地区防止水土流失和固定沙丘的关键植物。加之其较高的营养价值,成为高海拔地区畜牧业中可被选择的优质牧草。因此,寡穗茅具有重要的生态价值和经济价值,现已成为高海拔地区农牧业禾草良种繁育的一种重要基因资源。目前关于寡穗茅的研究报道甚少,1896年扇穗茅属建立之初,该属只包含一个物种藏扇穗茅(*Littledalea tibetica*)^[14],随后,诸多学者基于形态学特征对该属物种进行了分类研究^[12,15-17],最后认为扇穗茅属包含4个物种,扇穗茅(*Littledalea racemosa*)、藏扇穗茅、寡穗茅和帕米尔扇穗茅(*Littledalea alaica*)^[12]。但周勇辉^[18]基于形态学和分子生物学的研究表明,原4个扇穗茅属物种可合并成为2个种,扇穗茅和寡穗茅。由此可见,扇穗茅属物种的界定和系统亲缘关系依然存在很多争议。虽然有研究者对藏扇穗茅叶绿体基因组序列^[19]、扇穗茅属3个物种(寡穗茅、藏扇穗茅、扇穗茅)生态位模拟^[20]、扇穗茅染色体核型数目、特征和进化趋势^[21]进行了相关研究,但关于寡穗茅上述相关研究目前未见报道。

因此,本研究拟采用15对SSR分子标记对分布于青藏高原的21个野生寡穗茅居群,共计101份材料进行群体遗传多样性和遗传结构研究,以期探明其遗传背景、种内亲缘关系、物种分化及遗传变异分布格局形成原因。该研究可为后期明晰扇穗茅属物种系统发育关系、物种界定、种质资源评价、野生资源保护及遗传资源潜在价值挖掘利用等提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

基于文献资料、实体标本馆及在线标本馆记载,设计合理的采样路线,在2016至2021年,对分布在青藏高原地区的寡穗茅样本进行采集。每个居群选择5个生长良好的单株进行叶片采集,居群间间隔距离大于100 km,居群内单株之间的分布距离大于20 m;同一植株采集3份叶片材料,野外采摘后的叶片立刻装入小信封袋,放置于已装有硅胶的保鲜盒中进行干燥,采样完成后,带回至青海师范大学青藏高原植物标本室,后续用于DNA的提取;记录采样地地理信息及可收集到的气候资料。本试验共选取了101份寡穗茅DNA样本,分布于青海省和西藏自治区21个居群,样本分布地信息详见表1。

1.2 SSR引物群体扩增及毛细管电泳检测

本研究的101个寡穗茅个体DNA提取均选择改良的CTAB(cetyltrimethyl ammonium bromide)法^[22]进行,群体扩增所用SSR引物为课题组前期基于同属物种扇穗茅转录组数据开发出的15对SSR引物^[23](表2)。15对SSR引物进行荧光标记,然后对上述101个扇穗茅个体进行聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)扩增。SSR扩增程序如下:PCR扩增反应体系总体积为25 μL ,包含有50 $\text{ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$ 的DNA模板1 μL 、10 \times PCR buffer 2.5 μL 、2 $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ dNTPs 2 μL 、上游和下游引物各1 μL 、Taq DNA聚合酶0.25 μL 、ddH₂O 17.25 μL 。PCR扩增反应程序为:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;然后进行36个下述程序循环:94 $^{\circ}\text{C}$ 变性30 s,退火30 s(表2),72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30 s;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸5 min;扩增产物4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。利用1%琼脂糖凝胶对PCR扩增产物进行电泳检测,扩增条带完整且和目标片段一致的PCR产物送至金唯智(天津)生物科技有限公司进行毛细管电泳检测。

表 1 寡穗茅居群分布地信息

Table 1 Detailed information of origins for *L. przewalskyi* populations

居群 Population	数量 Number	采样地 Sampling region	纬度 Latitude (N)	经度 Longitude (E)	海拔 Altitude (m)
POP1	5	青海省格尔木市 Geermu City, Qinghai Province	34°48'46.5"	92°55'32.9"	4631
POP2	4	青海省格尔木市 Geermu City, Qinghai Province	34°22'52.8"	92°38'25.3"	4604
POP3	5	青海省格尔木市 Geermu City, Qinghai Province	35°00'6.3"	94°26'15.7"	4518
POP4	5	青海省格尔木市 Geermu City, Qinghai Province	35°22'12.7"	93°27'45.7"	4506
POP5	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°34'58.9"	99°08'3.6"	4422
POP6	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°42'37.6"	99°05'21.2"	4519
POP7	4	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°45'52.2"	99°02'57.1"	4604
POP8	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°49'23.5"	99°02'32.3"	4676
POP9	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°58'7.0"	98°54'6.3"	4326
POP10	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	35°03'30.6"	98°40'41.9"	4508
POP11	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°41'24.1"	98°04'51.3"	4325
POP12	5	青海省玛多县 Maduo County, Qinghai Province	34°35'30.9"	97°59'7.1"	4307
POP13	5	青海省玛沁县 Maqin County, Qinghai Province	34°32'17.6"	99°08'51.7"	4398
POP14	5	青海省曲麻莱县 Qumalai County, Qinghai Province	33°52'17.4"	96°29'23.2"	4027
POP15	5	青海省曲麻莱县 Qumalai County, Qinghai Province	34°09'10.0"	95°56'53.2"	4814
POP16	5	青海省曲麻莱县 Qumalai County, Qinghai Province	34°21'55.2"	95°40'51.5"	4468
POP17	5	青海省曲麻莱县 Qumalai County, Qinghai Province	35°24'41.2"	95°34'14.7"	4472
POP18	5	青海省玉树市 Yushu City, Qinghai Province	33°07'7.9"	96°44'13.8"	4257
POP19	5	青海省玉树市 Yushu City, Qinghai Province	33°05'33.6"	96°47'42.9"	4068
POP20	3	青海省称多县 Chenduo County, Qinghai Province	34°07'31.7"	97°39'21.9"	4826
POP21	5	西藏类乌齐县 Riwoqê County, Xizang	30°49'4.3"	96°41'13.0"	4501

表 2 用于本研究的 15 对 SSR 引物信息

Table 2 Information of 15 pairs of SSR primers used in this study

引物 Primer	重复基元 Repetition type	正向引物 Forward primer (5'–3')	反向引物 Reverse primer (5'–3')	退火温度 Annealing temperature (°C)
SR57	(GTTGG) ₅	TGATGATTGGAGCGAGCGAAGT	GAGAAGCGAAAAAAGGGAGGC	57.5
SR78	(GTAG) ₅	GGGTCTTTTACCTGACTCCTC	CACCCAATCGCAAACAGC	56.5
SR87	(CAAT) ₅	TCCCACAAGGAAAAAGAG	CAGCACAAACGAAAAATAAAAAATA	51.0
SR91	(GAGCCT) ₅	ATCGCCCGTGTCTCCTGTTTC	CGCAAGAAAACATCTCCACACAAGT	57.5
SR106	(GGTT) ₇	CAAAGTCGTGGGTCAGGTGTC	CCACAAGAACCAGCCAATACAAA	57.5
SR108	(TGTA) ₁₀	AGGCACAATAATAGCAAGCA	CAATCGCTAACGCTGACG	55.0
SR112	(GCCT) ₆	GCAGCCGCCACTACTACT	AAACCACCGGAAGACAACA	59.5
SR119	(ATTT) ₅	GGACCTGACCATCCATCTAAACT	TCGTTCTCGGTCGCTTTGT	57.5
SR120	(CTAT) ₁₀	CGGCTGCTCTTGTTGATG	CGGTTAGGTGGGCTGGTTC	60.5
SR121	(TGAC) ₆	GACAACGGAAATGTGCCTGAG	TGGGTGGAGTTCCCTTTAGTTT	57.5
SR125	(ACGC) ₉	GCCGTCGCCAGTTCATTC	CTGCCTGACTCCAAGAGGAAATA	59.5
SR127	(GTAT) ₅	GGGAATGGACAGATTGGTTGA	GCTGACTGGTAACACGAAAGAAAA	60.5
SR129	(ACGC) ₉	GCCGTCGCCAGTTCATTC	CTGCCTGACTCCAAGAGGAAATA	59.5
SR130	(AGAT) ₅	CAGGTCCAGATGCCAAGC	GACAACAGAATACTACATTACACGG	57.5
SR131	(AGAT) ₅	GAACCCGCTCACTCTCTGAATGG	TCACCCAGACTTGGGAAGCAAACATA	59.5

1.3 数据分析

利用软件GeneMapper v5.0读取毛细管电泳下机数据,基于分子质量内标进行DNA扩增片段长度统计。通过对DNA扩增产物长度进行解析后得到数据峰图,依据峰图中峰值大小判断扩增片段长度大小,若峰值信号太低、长度不符合要求或条带没有多态性,则不计入峰图统计,通过毛细管电泳峰图统计得到SSR扩增片段长度原始数据矩阵;需要对SSR每个数据位点进行人工校正,最终获得寡穗茅每个样本的等位基因数和基因型。利用EXCEL统计毛细管电泳SSR位点大小,并整理数据,加载宏GenAlEx 6.5软件^[24],对原始峰图数据进行格式化。采用POPgene v1.32软件^[25]进行群体遗传多样性分析,主要参数如下:观测等位基因数(observed number of alleles, N_a)、有效等位基因数(effective number of alleles, N_e)、观测杂合度(observed heterozygosity, H_o)、期望杂合度(expected heterozygosity, H_e)、Shannon's 信息指数(Shannon's information index, I)、Nei's 遗传多样性指数(Nei's gene diversity index, H)。利用GenAlEx 6.5软件进行群体分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA),并计算遗传分化系数(genetic differentiation coefficient, F_{st})和基因流(gene flow, N_m)、居群内近交系数(within population inbreeding coefficient, F_{is})和总居群近交系数(total inbreeding coefficient, F_{it})。通过Cervus 3.0.7软件^[26]计算15对引物在寡穗茅群体中多态性信息含量(polymorphic information content, PIC)。利用Populations v1.2软件,计算不同居群Nei's 标准遗传距离(Nei's standard genetic distance, D_s)^[27]并基于UPGMA(unweighted pair group method with arithmetic average)算法绘制聚类图,生成的聚类树导出到Figtree v1.4.2软件显示和编辑。使用STRUCTURE v2.3.4软件^[28]分析寡穗茅居群的遗传结构,参数设置如下:群体数目(K)设为2~8,每个 K 值模拟运算15次,不作数迭代(length of burn-in period)开始时的马尔科夫链蒙特卡洛(Markov Chain Monte Carlo, MCMC)为100000次,不作数迭代后的MCMC为1000000次,程序运行结束后,将结果文件压缩后上传至在线网站STRUCTURE HARVESTER(<http://taylor0.bi-ology.ucla.edu/structureharvest/>),使用Delta- K 法进行群体最优 K 值预测^[29]。基于Nei's 标准遗传距离,使用GenAlEx 6.5软件进行主坐标分析,利用EXCEL在二维空间内绘制不同材料散点图。同时,计算不同居群地理距离,基于遗传距离数据矩阵进行Mantel检验,用于分析居群间遗传距离与地理距离之间的相关性。

2 结果与分析

2.1 SSR标记和寡穗茅不同居群遗传多样性分析

本研究基于筛选出的15对扇穗茅SSR引物,对寡穗茅21个居群101个个体进行SSR扩增,15对SSR引物在寡穗茅群体中均成功扩增,扩增片段长度为143~516 bp(表3)。15对引物共扩增出等位基因数目147个,平均每对引物扩增出9.8个等位基因(N_a),其中S131引物扩增出等位基因数目最多,为19个;平均有效等位基因数(N_e)为5.418(2.372~10.752);Shannon's 信息指数(I)平均值为1.808(1.124~2.590);期望杂合度(H_e)平均值为0.791(0.582~0.914);观测杂合度(H_o)平均值为0.882(0.550~1.000);Nei's 遗传多样性指数(H)平均值为0.785(0.578~0.907)。对15对SSR

表3 15对SSR引物的寡穗茅群体遗传多样性分析

Table 3 Genetic diversity of 15 SSR locus in *L. przewalskyi*

位点 Locus	N_a	N_e	I	H_e	H_o	H	PIC
S57	6	4.643	1.637	0.790	0.963	0.785	0.752
S78	14	7.194	2.214	0.866	1.000	0.861	0.847
S87	8	4.231	1.628	0.775	0.857	0.764	0.728
S91	7	3.399	1.446	0.710	0.945	0.706	0.662
S106	9	3.941	1.570	0.750	0.937	0.746	0.705
S108	12	6.132	2.050	0.843	0.932	0.837	0.819
S112	7	2.372	1.124	0.582	0.759	0.578	0.530
S119	6	2.673	1.186	0.634	0.550	0.626	0.557
S120	12	6.863	2.139	0.860	0.938	0.854	0.839
S121	11	7.392	2.115	0.873	0.981	0.865	0.850
S125	9	6.472	1.990	0.850	0.816	0.846	0.827
S127	11	5.372	1.944	0.820	0.945	0.814	0.793
S129	9	5.098	1.772	0.808	0.780	0.804	0.776
S130	7	4.726	1.712	0.796	0.944	0.788	0.759
S131	19	10.752	2.590	0.914	0.887	0.907	0.900
平均 Mean	9.800	5.418	1.808	0.791	0.882	0.785	0.756

N_a : 观测等位基因数 Observed number of allele; N_e : 有效等位基因数 Effective number of allele; I : Shannon's 信息指数 Shannon's information index; H_e : 期望杂合度 Expected heterozygosity; H_o : 观测杂合度 Observed heterozygosity; H : Nei's 遗传多样性指数 Nei's gene diversity index; PIC : 多态性信息含量 Polymorphic information content. 下同 The same below.

引物在寡穗茅群体中的多态性信息含量(PIC)进行计算发现,15对引物多态性信息含量为0.530~0.900,平均值为0.756。综合上述结果,不难发现15对SSR引物在寡穗茅群体中表现出高度多态性。

为进一步对寡穗茅群体遗传多样性进行评价,本研究统计了来自不同栖息地的21个寡穗茅居群遗传多样性(表4)。15对SSR引物共扩增出15个多态性位点,其中平均多态性位点数目为13.57(10~15),多态性位点占比平均值为90.52%(66.67%~100.00%);不同居群 N_a 平均值为3.299(2.083~4.643); N_e 平均值为2.806(2.028~3.677); I 平均值为1.028(0.660~1.358); H_e 平均值为0.717(0.498~0.827); H_o 平均值为0.841(0.696~1.000); H 平均值为0.598(0.447~0.785)。21个居群观测杂合度均大于期望杂合度,说明寡穗茅群体内部存在较高的遗传多样性。

2.2 寡穗茅群体遗传分化分析

基于15对SSR分子标记对21个寡穗茅居群的遗传分化进行了分析(表5),不同SSR位点居群内近交系数(within population inbreeding coefficient, F_{is})大小为-0.745~-0.228,平均为-0.488;总居群近交系数(total inbreeding coefficient, F_{it})大小为-0.324(S91)~0.490(S119),平均值为-0.026,上述结果表明,寡穗茅居群存在近交不足的现象。居群间遗传分化系数(genetic differentiation coefficient, F_{st})为0.172(S78)~0.679(S119),平均值为0.306,表明寡穗茅分化有69.4%来自居群内,30.6%来自居群间,寡穗茅群体存在较高程度的遗传分化。基因流(N_m)为0.118(S119)~1.199(S78),平均值为0.716($N_m < 1$),表明寡穗茅居群间存在一定程度的基因流。群体分子方差分析的结果表明,遗传变异主要发生于居群内(67%),而居群间的遗传差异仅为33%(表6)。

2.3 寡穗茅群体聚类分析

利用Populations v1.2软件,计算了寡穗茅21个不同居群Nei's标准遗传距离(D_s),21个居群中遗传距离最小的两个居群为POP2和POP3(0.1319),遗传距离最大的为POP16和POP21(1.6371),平均遗传距离为0.7359,21个居群之间的遗传距离变化范围较大。基于Nei's标准遗传距离(D_s)构建了21个寡穗茅居群UPGMA聚类图(图1),21个寡穗茅居群形成两个大的分支,其中POP5~POP15、POP18、POP19、POP21共14个居群形成第I分支(黄色),该分支包含两个亚支,其中POP21形成一个单系分支,剩余13个居群形成另一亚支,而这一亚支内部居群也表现出明显的系统亲缘关系,POP14单独形成与POP6、POP9两个亲缘关系较近的另一分支,及其他10个居群形成的分支呈3个平行进化分支;POP1~POP4、POP16、POP17、POP20形成第II分支(红色),这一分支包含两个亚支:POP20形成一个单系亚支,其余6个居群形成另一亚支,该亚支内包含两个类群,一个类群由POP1、POP2、POP3组成,另一类群由POP4、POP16、POP17组成。

表4 寡穗茅群体21个居群遗传多样性分析

Table 4 Genetic diversity of 21 populations in *L. przewalskyi*

居群 Population	AP	P (%)	N_a	N_e	I	H	H_e	H_o
POP1	15.00	100.00	3.267	2.916	1.065	0.785	0.791	0.844
POP2	12.00	80.00	2.571	2.078	0.751	0.462	0.593	0.696
POP3	13.00	86.67	3.214	2.738	0.990	0.564	0.721	0.829
POP4	15.00	100.00	3.467	2.920	1.092	0.621	0.735	0.858
POP5	14.00	93.33	3.357	2.863	1.049	0.595	0.728	0.857
POP6	13.00	86.67	3.714	2.998	1.118	0.609	0.736	0.832
POP7	15.00	100.00	4.133	3.525	1.272	0.681	0.816	0.900
POP8	12.00	80.00	2.846	2.444	0.908	0.550	0.682	0.873
POP9	13.00	86.67	3.133	2.556	0.920	0.519	0.602	0.764
POP10	13.00	87.67	3.071	2.840	1.003	0.589	0.787	0.905
POP11	12.00	80.00	2.917	2.628	0.990	0.605	0.697	1.000
POP12	10.00	66.67	2.083	2.028	0.660	0.447	0.498	0.833
POP13	13.00	86.67	3.462	2.875	1.092	0.624	0.715	0.969
POP14	14.00	93.33	3.467	2.946	1.090	0.612	0.714	0.860
POP15	14.00	93.33	3.267	2.647	0.980	0.560	0.683	0.818
POP16	15.00	100.00	4.133	3.389	1.250	0.672	0.784	0.964
POP17	15.00	100.00	3.400	2.937	1.094	0.634	0.827	0.953
POP18	15.00	100.00	2.933	2.701	0.963	0.589	0.711	0.983
POP19	14.00	93.33	4.643	3.677	1.358	0.701	0.783	0.904
POP20	15.00	100.00	3.267	2.910	1.056	0.617	0.759	0.933
POP21	13.00	86.67	2.929	2.321	0.880	0.521	0.657	0.750
平均Mean	13.57	90.52	3.299	2.806	1.028	0.598	0.717	0.841

AP: 多态性位点数 Number of polymorphic loci; P: 多态性位点比例 Percentage of polymorphic loci.

2.4 寡穗茅群体遗传结构分析

使用STRUCTURE V2.3.4软件对寡穗茅21个居群的遗传结构进行分析,设定分组数 K 值为2~8,对每个 K 值进行15次重复模拟运算,依据 K 值与 ΔK 的变化趋势绘制了关系图, K 值为3时, ΔK 最大(图2),当 K 值为2时,21个居群可被明显地划分为两个亚群,其中第I亚群包含居群5~15、18~21共15个居群(黄色),占有居群的71.43%;居群1~4、16、17共计6个居群构成第II亚群(红色)(图3)。 K 值为3时,寡穗茅居群可分为3个亚群,原先的第I亚群遗传成分发生分化,原先第I亚群可划分为两组,其中一组包含居群为5~13、15(黄色),另一组包含居群为14、18~20(蓝色),其余6个居群表现出相似的遗传组成,和 $K=2$ 时所包含的居群相同(红色)(图3)。

2.5 寡穗茅居群主坐标分析

为进一步对寡穗茅居群遗传结构进行分析,使用GenAlEx 6.5软件,基于Nei's遗传距离对21个居群101份寡穗茅材料进行了主坐标分析(图4),结果表明,排序前3的3个主坐标特征值共为24.29%,其中第一主坐标占总变异率的11.08%,第二主坐标占总变异率的7.60%,第3主坐标解释

表6 寡穗茅群体间与群体内分子方差分析

Table 6 Molecular variance analysis among and within *L. przewalskyi* populations

变异来源 Source of variance	自由度 Degree of freedom	离差平方和 Sum of squares of deviations	方差分量 Mean square	估计方差 Estimate variance	总变异百分比 Percentage of total variance (%)
居群间 Among populations	20	472.990	23.650	3.457	33
居群内 Within populations	80	562.633	7.033	7.033	67
总计 Total	100	1035.624	—	10.490	100

了总变异率的5.61%。101份寡穗茅材料整体上被分为2个大的亚群,5至15、18至21共15个居群形成第I亚群(黄色椭圆标记),居群1至4、16、17共计6个居群形成第II亚群(红色椭圆标记),主成分结果显示,大多数居群内的个体都聚在一起,表现出较近的遗传距离。101份寡穗茅材料主坐标分析结果和 $K=2$ 时STRUCTURE遗传结构分析结果高度一致。

2.6 寡穗茅居群遗传距离与地理居群相关性分析

为分析寡穗茅群体遗传分化的影响因素,本研究基于21个寡穗茅居群遗传距离和地理距离进行了Mantel检验(图5),分析结果表明,寡穗茅不同居群遗传距离和地理距离之间存在显著的相关性($r=0.412$; $P=0.000$),说明不同居群之间的遗传分化可能和地理阻碍有关。

3 讨论

种间扩增法被认为能有效开发近源物种新SSR位点^[30],而利用近缘物种间引物交叉扩增的例子在植物遗传

表5 寡穗茅群体不同居群遗传分化指数

Table 5 The genetic differentiation index of different populations in *L. przewalskyi*

位点 Locus	F_{is}	F_{it}	F_{st}	Nm
S57	-0.548	-0.203	0.223	0.873
S78	-0.401	-0.159	0.172	1.199
S87	-0.592	0.314	0.569	0.189
S91	-0.609	-0.324	0.177	1.161
S106	-0.504	-0.240	0.176	1.174
S108	-0.435	-0.101	0.233	0.822
S112	-0.564	-0.294	0.173	1.199
S119	-0.588	0.490	0.679	0.118
S120	-0.431	-0.008	0.295	0.596
S121	-0.501	0.005	0.337	0.492
S125	-0.354	0.089	0.327	0.513
S127	-0.422	-0.094	0.231	0.833
S129	-0.228	0.093	0.261	0.707
S130	-0.745	-0.026	0.412	0.356
S131	-0.396	0.063	0.329	0.510
均值±标准差 Mean±SD	-0.488± 0.033	-0.026± 0.057	0.306± 0.038	0.716± 0.094

F_{is} : 居群内近交系数 Within population inbreeding coefficient; F_{it} : 居群总近交系数 Total inbreeding coefficient; F_{st} : 遗传分化系数 Genetic differentiation coefficient; Nm: 基因流 Gene flow.

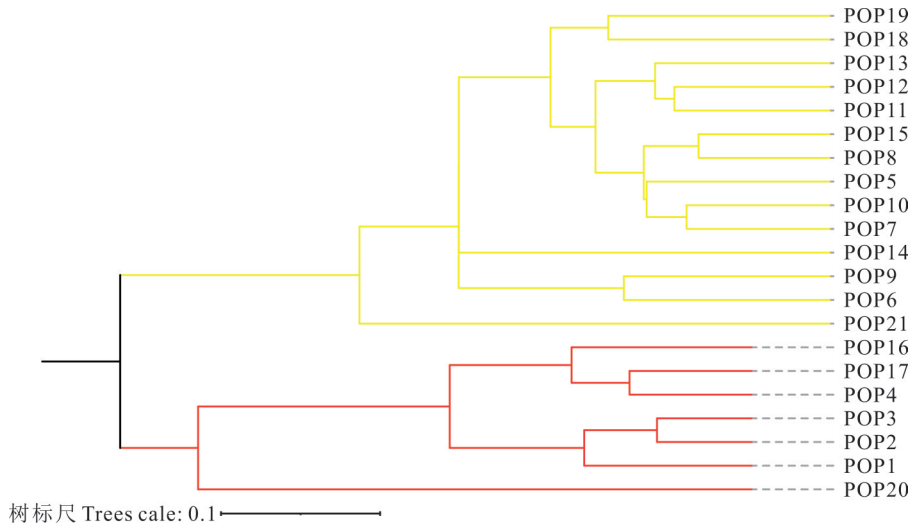


图 1 21 个寡穗茅居群 UPGMA 聚类

Fig. 1 Unweighted pair group method with arithmetic average (UPGMA) dendrogram for 21 populations of *L. przewalskyi*

多样性研究中已多有报道^[31-32],本研究用于寡穗茅遗传多样性和遗传结构分析的 SSR 分子标记是基于同属物种扇穗茅转录组数据开发而来。引物的多态性是评估野生植物资源遗传多样性的重要标准,从寡穗茅群体扩增结果可知,15 对 SSR 引物在寡穗茅群体中均扩增成功,而且表现出较高的遗传多态性,说明 15 对 SSR 引物能较好地反映材料的遗传多样性。15 个 SSR 位点扩增出等位基因数为 147 个,平均每对引物扩增出 9.8 个等位基因(N_a),平均有效等位基因数(N_e)为 5.418; Shannon's 信息指数(I)平均值为 1.808; Nei's 遗传多样性指数(H)平均值为 0.785。15 对 SSR 引物多态性信息含量(PIC)为 0.530~0.900,平均值为 0.756,大于 0.5,说明 15 对 SSR 引物

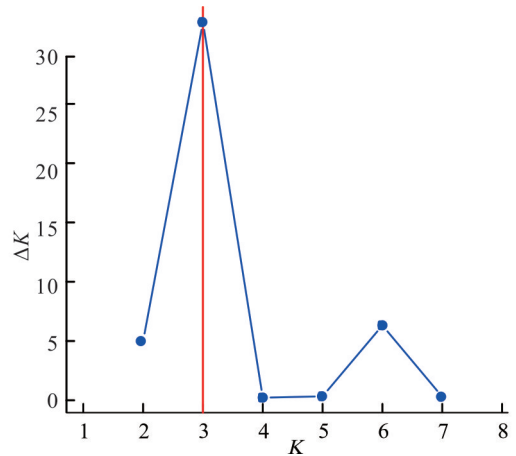


图 2 基于 STRUCTURE 不同分组数所得 ΔK

Fig. 2 ΔK based on different numbers of STRUCTURE clusters
K: 基因群的分组数 The number of subgroups in the gene pool. 下同
The same below.

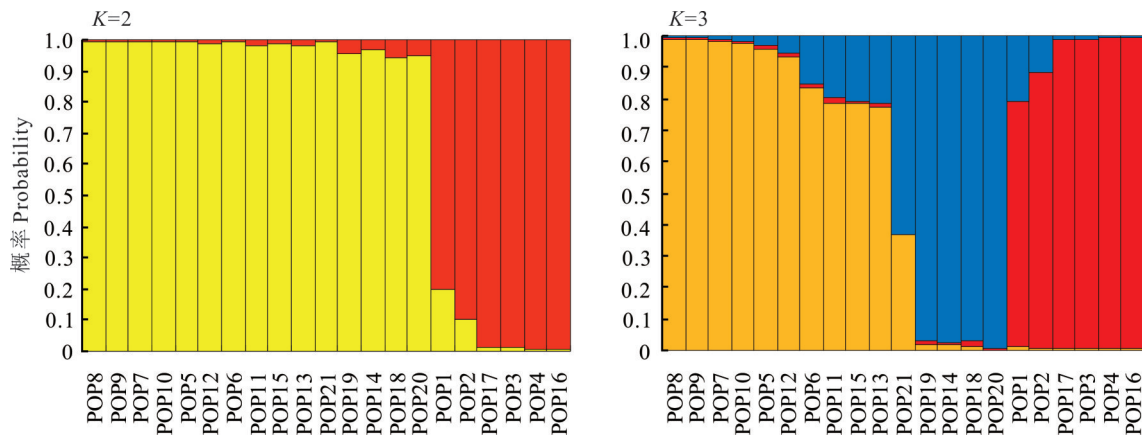


图 3 21 个寡穗茅居群遗传结构分析

Fig. 3 Analysis of genetic structure for 21 populations of *L. przewalskyi*

纵坐标值代表居群分属于不同遗传群体的概率 The values on the ordinate represent the probabilities that populations belong to different genetic groups.

可以有效用于寡穗茅遗传多样性研究。从分子水平分析, PIC 值可以解释物种间遗传差异大小, PIC 值越大, 遗传多样性越丰富^[33]。本研究中不同寡穗茅居群间多态性信息含量值较高, 表明不同分布地材料间具有丰富的遗传多样性, 这一结论在居群水平遗传多样性分析中也得到了验证。多态性位点和多态性位点比率是反映遗传多态性的重要指标, 本研究 21 个寡穗茅居群共扩增出 15 个多态性位点, 其中多态性位点数目 (AP) 平均为 13.57, 多态性位点比率 (P) 为 90.52%; N_e 平均值为 2.806; I 平均值为 1.028。上述研究结果均表明 21 个寡穗茅居群具有丰富的遗传多样性。此外, 前人对禾本科野生资源研究发现, 寡穗茅群体也呈较为丰富的遗传多样性。譬如, 彭语洛等^[34] 基于 16 对 SSR 引物在 30 个青藏高原垂穗披碱草 (*Elymus nutans*) 种质资源中检测到 116 个等位基因位点, 92 个多态性位点, P 值为 79.750%, 多态性信息含量平均值为 0.188; 梁瑞芳^[35] 对沙鞭 (*Psammochloa villosa*) 野生资源进行遗传多样性分析发现, 居群水平多态性百分率为 77.100%; 等位基因数共 104 个, 平均为 8 个; N_e 均值为 1.776; I 为 0.567; PIC 均值为 0.511。相比于上述禾本科物种, 寡穗茅群体各遗传参数值相对较高, 表现出更为丰富的遗传多样性。

21 个寡穗茅居群在 15 个 SSR 位点观测杂合度均大于期望杂合度, 说明寡穗茅群体内部存在较多的杂合子而表现出近交不足, 这一结果从寡穗茅群体不同居群遗传分化指数也得到了验证, 15 个 SSR 位点近交系数 (F_{is}) 均小于 0, 说明寡穗茅群体内近缘交配较少, 主要进行远亲生殖, 这进一步说明该群体遗传多样性高。遗传分化系数 (F_{st}) 可以揭示种群间遗传分化程度^[36]。根据 F_{st} 的解释, F_{st} 的值为 0~0.05, 说明种群间分化很小, 0.05~0.15 表示中等分化, 0.15~0.25 表示分化较大, 寡穗茅群体 15 个 SSR 位点 F_{st} 平均值为 0.306, 大于 0.25, 也大于一般单子叶植物的遗传分化系数 (0.231)^[37-38], 说明群体内部存在较大分化。基因流 (N_m) 是影响群体间遗传分化的重要因素, 当基因流 $N_m > 1$ 时, 说明居群间的基因流较大, 居群间遗传分化程度较低; 当 $N_m < 1$ 时, 说明居群间的基因流较小, 居群间遗传分化程度较高^[39]。15 个 SSR 位点在寡穗茅群体中平均基因流值小于 1 (0.716), 说明寡穗茅群体内基因交流不频繁。基因流太小, 不足以抵抗遗传漂变作用而减少居群间遗传分化, 这可能也是导致寡穗茅群体内遗传分化程度较高的主要原因。分子方差分析结果显示寡穗茅居群内遗传变异占总遗传变异的 67%, 遗传变异主要存在于居群内。前人对禾本科遗传结构研究发现, 遗传变异的组成在不同物种上呈现出较大的差异, 如短花针茅 (*Stipa breviflora*)^[40]、多年生黑麦草 (*Lolium perenne*)^[41] 变异主要存在于居群内, 其比例分别为: 71.79%、94.00%; 而沙鞭^[34]、冰草 (*Agropyron cristatum*)^[42]、雀麦 (*Bromus japonicus*)^[43] 变异主要存在于居群间, 其比例分别为: 58.00%、63.00% 和 63.72%。遗传变异的组成和物种寿命、繁殖方式及进化阶段有一定的关系。生长周期长、异交、演替阶段晚期的物种, 种群内遗传变异水平较高, 反之种群间一般具有高水平的遗传变异^[44]。寡穗茅群体遗传变异主要存在于居群内可能和该物种本身的生物学特性及分布区环境有关。

基于不同居群或个体间遗传相似系数或遗传距离进行聚类分析, 可揭示材料间系统亲缘关系。本研究基于寡穗茅 21 个居群间 Nei's 遗传距离进行了寡穗茅群体聚类分析, 结果显示, 21 个寡穗茅居群被划分为两个亚群,

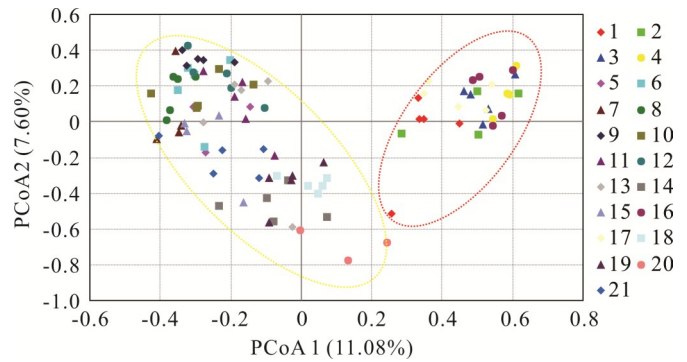


图 4 21 个寡穗茅居群主坐标分析

Fig. 4 Principal coordinate analysis for 21 populations of *L. przewalskyi*

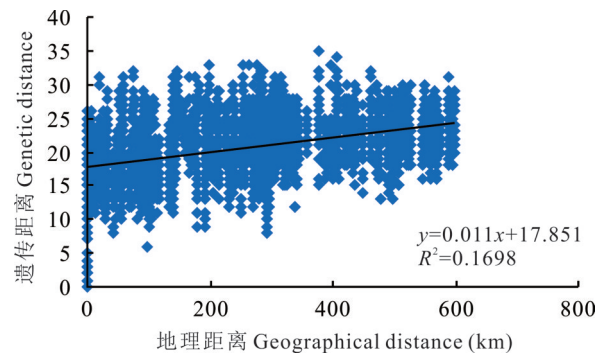


图 5 21 个寡穗茅居群地理居群和遗传距离 Mantel 相关性分析

Fig. 5 Mantel-test between geographical distance and genetic distance for 21 populations of *L. przewalskyi*

第Ⅰ亚群由玛多(5~12)、玛沁(13)、曲麻莱(14、15)、玉树(18、19)和类乌齐(21)14个居群构成;第Ⅱ亚群主要由格尔木(1~4)、曲麻莱(16、17)和称多(20)7个居群构成。根据等位基因位点的频率可以分析物种群体遗传结构,其结果可揭示遗传成分来源、组成信息及不同基因型间遗传信息交流情况^[45]。利用STRUCTURE软件对寡穗茅群体材料进行遗传结构分析,结果表明,当 K 值为2时,寡穗茅群体可以划分为2个亚群,亚群组成和聚类结果高度一致,不同于聚类结果的是,从遗传组成上来看,POP20更倾向于划分至第Ⅰ亚群,这一结果也得到了PCoA结果的验证。而当 $K=3$ 时,原本 K 值为2时第Ⅰ亚群遗传组成出现分化,居群5~13,15表现出较为相似的遗传组成,而居群14、18~21则表现出较为相似的遗传组成,由居群1~4、16、17构成的第Ⅱ亚群遗传成分较为稳定。通过遗传结构、主成分分析与聚类分析结果,不难发现,21个寡穗茅居群更倾向于被划分为两个大的亚群。值得注意的是,STRUCTURE分析结果中当 $K=3$ 时居群14、18~20遗传成分显示出特有性,聚类分析中被分配到第Ⅰ亚群中,可能是居群14、18~20与第Ⅰ亚群存在较多的基因渗透而表现出较近的亲缘关系。根据居群主要分布地来源,2个亚群分别为以玛多、玛沁、曲麻莱东南部、玉树和类乌齐为主的东南部种群(第Ⅰ亚群)和以格尔木、曲麻莱西北部和称多为主的西北部种群(第Ⅱ亚群)。物种群体间遗传分化和基因渗透通常与地理位置或地理环境密切相关^[46-47],本研究中寡穗茅群体内两个亚群分化和居群地理分布格局密切相关,加之Mantel检验显示,寡穗茅不同居群遗传距离和地理距离之间存在显著的相关性($r=0.412$; $P<0.001$),说明地理阻碍可能是导致寡穗茅种群内遗传分化的主要因素。青藏高原气候在东南和西北呈现出明显的地域差异^[48-50],导致适应不同微环境的群体出现分布上的差异,而地理屏障导致东南和西北两个亚群之间基因流减少,使得适应性基因变异进一步积累,势必引起不同分布区域的居群趋异进化,从而导致寡穗茅群体内出现了分化。

4 结论

本研究利用SSR分子标记技术对青藏高原21个寡穗茅野生居群共101份材料遗传多样性、群体遗传分化、系统进化关系、群体遗传结构等方面进行了研究。15对SSR引物共扩增出等位基因147个,平均有效等位基因数(N_e)为5.418;21个居群共扩增出15个多态性位点,平均多态性位点为13.57,遗传多样性参数 N_a 、 N_e 、 I 、 H_e 、 H_o 和 H 平均值分别为3.299、2.806、1.028、0.717、0.841和0.598;寡穗茅不同居群间存在一定的遗传分化,其中居群间遗传变异为33%,居群内的遗传变异为67%;综合聚类分析、主成分分析及遗传结构分析结果,依据样本地理来源,21个寡穗茅居群样本可被划分为2个亚群,分别为玛多、玛沁、曲麻莱东南部、玉树和类乌齐为主的东南部种群(第Ⅰ亚群);以格尔木、曲麻莱西北部和称多为主的西北部种群(第Ⅱ亚群)。不同居群之间遗传分化可能和地理阻碍及分布地环境差异有关。本研究结果为青藏高原野生禾本科植物遗传多样性、遗传结构和系统进化等研究提供了思路和范例,也为后期扇穗茅属物种种质资源的保护和开发利用奠定了研究基础。

参考文献 References:

- [1] Ren X F. Genetic diversity and population genetic structure analysis of bermudagrass [*Cynodon dactylon* (L.) Pers.] based on SSR markers. Luoyang: Henan University of Science and Technology, 2022.
任学锋. 基于SSR标记的狗牙根遗传多样性及群体遗传结构分析. 洛阳: 河南科技大学, 2022.
- [2] Wang H X, Hu Z A. Plant breeding system, genetic structure and conservation of genetic diversity. *Biodiversity Science*, 1996, 4(2): 92-96.
王洪新, 胡志昂. 植物的繁育系统、遗传结构和遗传多样性保护. 生物多样性, 1996, 4(2): 92-96.
- [3] Chen X D. Population genetics structure and phylogeography of *Quercus fabri*. Xi'an: Northwest University, 2018.
陈晓丹. 白栎的群体遗传结构和谱系地理学研究. 西安: 西北大学, 2018.
- [4] Guo Q, Xue X, Wang D D, et al. Genetic diversity and population genetic structure of *Paeonia suffruticosa* by chloroplast DNA simple sequence repeats (cpSSRs). *Horticultural Plant Journal*, 2025, 11(1): 367-376.
- [5] Li Y Y, Liu C N, Wang R, et al. Applications of molecular markers in conserving endangered species. *Biodiversity Science*, 2020, 28(3): 367-375.
李媛媛, 刘超男, 王嵘, 等. 分子标记在濒危物种保护中的应用. 生物多样性, 2020, 28(3): 367-375.
- [6] Liu Y, Wu B, Liu D C, et al. On genetic diversity of Jiangxi native citrus and its wild varieties based on SSR markers. *Acta*

- Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2005, 27(4): 486—490.
- 刘勇, 吴波, 刘德春, 等. 江西柑橘地方品种资源及野生近缘种 SSR 分子标记. 江西农业大学学报, 2005, 27(4): 486—490.
- [7] Grover A, Sharma P C. Development and use of molecular markers: past and present. *Critical Reviews in Biotechnology*, 2016, 36(2): 290—302.
- [8] Jena R C, Chand P K. Multiple DNA marker assisted diversity analysis of Indian mango (*Mangifera indica* L.) populations. *Scientific Reports*, 2021, 11: 10345.
- [9] Yan R J, Schnabel K E, Rowden A A, *et al.* Population structure and genetic connectivity of squat lobsters (*Munida* Leach, 1820) associated with vulnerable marine ecosystems in the southwest Pacific Ocean. *Frontiers in Marine Science*, 2020, 6: 791.
- [10] Dang M, Zhou H J, Woeste K E, *et al.* Comparative phylogeography of *Juglans regia* and *J. mandshurica* combining organellar and nuclear DNA markers to assess genetic diversity and introgression in regions of sympatry. *Trees*, 2021, 35: 1993—2007.
- [11] Gao C C, Yan L P, Wu D J, *et al.* Analysis of the genetic diversity and population structure of *Fraxinus* spp. populations based on SSR markers. *Journal of Central South University of Forestry & Technology*, 2023, 43(6): 69—78.
- 高铨铨, 燕丽萍, 吴德军, 等. 基于 SSR 标记的白蜡群体遗传多样性和群体结构分析. 中南林业科技大学学报, 2023, 43(6): 69—78.
- [12] Liu L, Guo B Z. *Flora of China* (volume 9 book 2). Beijing: Science Press, 2002: 377—380.
- 刘亮, 郭本兆. 中国植物志(第九卷 第二册). 北京: 科学出版社, 2002: 377—380.
- [13] Lyu T, Liu Y P, Zhou Y H, *et al.* Germplasm collection and taxonomic review of *Littledealea* (Poaceae) in the Qinghai—Tibet Plateau. *Hubei Agricultural Sciences*, 2018, 57(22): 11—13.
- 吕婷, 刘玉萍, 周勇辉, 等. 青藏高原扇穗茅属的分类现状及种质资源收集. 湖北农业科学, 2018, 57(22): 11—13.
- [14] Hooker J D. *Flora of British India*. London: L. Reeve & Co, 1897: 2472—2473.
- [15] Tzvelev N N. *Planta Asiae Centralium*. Aedibus: Nauka, 1968: 173—174.
- [16] Wu Z Y. *Flora of Xizang* (volume 5). Beijing: Science Press, 1987: 138—139.
- 吴征镒. 西藏植物志(第五卷). 北京: 科学出版社, 1987: 138—139.
- [17] Lu S L. *Littledealea*, flora of Qinghai (volume 4). Xining: Qinghai People's Publishing House, 1999: 72—74.
- 卢生莲. 扇穗茅属, 青海植物志(第四卷). 西宁: 青海人民出版社, 1999: 72—74.
- [18] Zhou Y H. Species delimitation of *Littledealea* (Poaceae), an endemic genus from the Qinghai—Tibet Plateau. Xining: Qinghai Normal University, 2017.
- 周勇辉. 青藏高原特有属—扇穗茅属的物种界定研究. 西宁: 青海师范大学, 2017.
- [19] Liu Y P, Lyu T, Zhu D, *et al.* Sequencing and alignment analysis of the complete chloroplast genome of *Littledealea tibetica*, an endemic species from the Qinghai—Tibet Plateau. *Bulletin of Botanical Research*, 2018, 38(4): 518—525.
- 刘玉萍, 吕婷, 朱迪, 等. 青藏高原特有种——藏扇穗茅叶绿体基因组测序及序列分析. 植物研究, 2018, 38(4): 518—525.
- [20] Liu T, Liu Y P, Lyu T, *et al.* Potential distribution of *Littledealea*, an endemic genus from the Qinghai—Tibet Plateau, predicted by Biomod 2 models. *Acta Agrestia Sinica*, 2020, 28(6): 1650—1656.
- 刘涛, 刘玉萍, 吕婷, 等. 基于 Biomod 2 组合模型预测青藏高原特有属扇穗茅属物种的潜在分布. 草地学报, 2020, 28(6): 1650—1656.
- [21] Yang P, Su X, Liu Y P, *et al.* Chromosome number and karyotype analysis from different populations of *Littledealea racemosa*. *Acta Agrestia Sinica*, 2022, 30(7): 1712—1720.
- 杨萍, 苏旭, 刘玉萍, 等. 扇穗茅不同居群染色体数目及核型分析. 草地学报, 2022, 30(7): 1712—1720.
- [22] Peakall R, Smouse P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research—an update. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537—2539.
- [23] Fu G, Liu Y P, Su X, *et al.* Analysis of SSR characterization in full-length transcriptome and development of SSR molecular markers for *Littledealea racemosa*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2025, 34(7): 107—119.
- 富贵, 刘玉萍, 苏旭, 等. 扇穗茅全长转录组 SSR 特征分析及分子标记开发. 草业学报, 2025, 34(7): 107—119.
- [24] Porebski S, Bailey L G, Baum B R. Modification of a CTAB DNA extraction protocol for plants containing high polysaccharide and polyphenol components. *Plant Molecular Biology Reporter*, 1997, 15(1): 8—15.
- [25] Yeh F C, Yang R C, Boyle T, *et al.* POPGENE Version 1.32 Microsoft windows-based freeware for populations genetic analysis Version 1.31. Edmonton: Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, 1999.
- [26] Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error

- increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, 2007, 16(5): 1099–1106.
- [27] Nei M F, Tajima F, Tateno Y. Accuracy of estimated phylogenetic trees from molecular data. II. Gene frequency data. *Journal of Molecular Evolution*, 1982, 19(2): 153–170.
- [28] Hubisz M J, Falush D, Stephens M, *et al.* Inferring weak population structure with the assistance of sample group information. *Molecular Ecology Resources*, 2009, 9(5): 1322–1332.
- [29] Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: a simulation study. *Molecular Ecology*, 2005, 14(8): 2611–2620.
- [30] Jiang L Y, Wu W L, Zhang K K, *et al.* Transcriptome sequencing and development of SSR molecular markers of *Taxus chinensis* var. *mairei*. *Chinese Traditional and Herbal Drugs*, 2024, 55(3): 928–935.
蒋路园, 吴文丽, 张恺恺, 等. 南方红豆杉转录组 SSR 位点分析及其分子标记开发. *中草药*, 2024, 55(3): 928–935.
- [31] Gao T X, Cai Y L, Feng Y, *et al.* Genetic diversity and genetic structure of *Prunus pseudocerasus* populations from China as revealed by SSR markers. *Acta Horticulturae Sinica*, 2016, 43(6): 1148–1156.
高天翔, 蔡宇良, 冯瑛, 等. 中国樱桃 14 个自然居群遗传多样性和遗传结构的 SSR 评价. *园艺学报*, 2016, 43(6): 1148–1156.
- [32] Liu Z L, Wan S L, Yan C P, *et al.* Genetic diversity of Jinsha pomelo and its closely related germplasm assessed by SSR molecular markers. *South China Fruits*, 2017, 46(3): 1–4.
刘召亮, 万水林, 闫承璞, 等. 金沙柚及其近缘种质基于 SSR 分子标记的遗传多样性分析. *中国南方果树*, 2017, 46(3): 1–4.
- [33] Sun L J, He J J, Wang J C, *et al.* Development of SSR markers based on full-length transcriptome sequencing and genetic diversity analysis of *Haloptylon glomeratus*. *Acta Prataculturae Sinica*, 2022, 31(8): 199–210.
孙禄娟, 何建军, 汪军成, 等. 基于全长转录组测序的盐生草 SSR 标记开发及其遗传多样性分析. *草业学报*, 2022, 31(8): 199–210.
- [34] Peng Y L, Zhou Q P, Chen S Y, *et al.* Genetic diversity of *Elymus nutans* germplasm resources from the Qinghai–Tibet Plateau in China detected by SSR markers. *Pratacultural Science*, 2018, 35(5): 1080–1089.
彭语洛, 周青平, 陈仕勇, 等. 青藏高原垂穗披碱草种质资源遗传多样性的 SSR 分析. *草业科学*, 2018, 35(5): 1080–1089.
- [35] Liang R F. Genetic structure and physiology of drought resistance in the population of *Psammochloa villosa*. Xining: Qinghai Normal University, 2021.
梁瑞芳. 沙鞭群体遗传结构及抗旱生理研究. 西宁: 青海师范大学, 2021.
- [36] Weir B S, Cockerham C C. Estimating F-statistics for the analysis of population structure. *Evolution*, 1984, 38(6): 1358–1370.
- [37] Wang Y L. Genetics diversity and molecular phylogeography of *Clintonia udensis*. Xi'an: Northwest University, 2006.
王祎玲. 七筋菇植物遗传多样性与分子系统地理学研究. 西安: 西北大学, 2006.
- [38] Sun X. Studies on genetic diversity of *Aselliscus stoliczkanus*. Xinxiang: Henan Normal University, 2013.
孙晓. 三叶蹄蝠遗传多样性研究. 新乡: 河南师范大学, 2013.
- [39] Liu S T, Yi X R, Zhou M W, *et al.* Analysis of genetic diversity and population structure of pear germplasm resources in Guangxi. *Journal of Fruit Science*, 2024, 41(3): 379–391.
刘珊廷, 易显荣, 周民武, 等. 广西梨种质资源遗传多样性和群体结构分析. *果树学报*, 2024, 41(3): 379–391.
- [40] Zhao L. Assessment of genetic diversity and population genetic structure in Chinese *Stipa breviflora* using SSR markers. Hohhot: Inner Mongolia University, 2015.
赵磊. 基于 SSR 标记的短花针茅种群遗传多样性与遗传结构分析. 呼和浩特: 内蒙古大学, 2015.
- [41] Zeng L S, Zhang C C, Zhang J, *et al.* Genetic diversity analysis of perennial ryegrass germplasm by SSR molecular markers. *Pratacultural Science*, 2022, 39(1): 75–84.
曾令霜, 张晨晨, 张敬, 等. 多年生黑麦草种质 SSR 分子标记遗传多样性分析. *草业科学*, 2022, 39(1): 75–84.
- [42] Yang J. Study on the genetic diversity of 28 *Agropyron cristatum* germplasm resources in Inner Mongolia. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2023.
杨靖. 内蒙古 28 份冰草种质资源材料遗传多样性的研究. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2023.
- [43] Li Q. Study on the bioecological characters and genetics diversity of Japanese brome in wheat field. Tai'an: Shandong Agricultural University, 2017.

李琦. 麦田雀麦生物生态学特性与遗传多样性研究. 泰安: 山东农业大学, 2017.

- [44] Nybom H, Bartish I V. Effectiveness of life history traits and sampling strategies on genetic diversity estimates obtained with RAPD markers in plants. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*, 2000, 3(2): 93–114.
- [45] Liu Y C, Liu C, Yang Y M, *et al.* Genetic structure analysis of the cultivated blueberry (*Vaccinium* spp.) species and wild species in China based on EST–SSR markers. *Journal of Fruit Science*, 2017, 34(8): 956–967.
刘有春, 刘成, 杨艳敏, 等. 基于EST–SSR标记的越橘栽培种和几个中国野生种的遗传结构分析. *果树学报*, 2017, 34(8): 956–967.
- [46] Degirmenci F O, Acar P, Kaya Z. Consequences of habitat fragmentation on genetic diversity and structure of *Salix alba* L. populations in two major river systems of Turkey. *Tree Genetics and Genomes*, 2019, 15(4): 1–13.
- [47] Jones A G, Ardren W R. Methods of parentage analysis in natural populations. *Molecular Ecology*, 2003, 12(10): 2511–2523.
- [48] Hickerson M J, Carstens B C, Cavender–Bares J, *et al.* Phylogeography's past, present, and future: 10 years after *Avice*, 2010. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2010, 54(1): 291–301.
- [49] Qiu Y X, Fu C X, Comes H P. Plant molecular phylogeography in China and adjacent regions: Tracing the genetic imprints of Quaternary climate and environmental change in the world's most diverse temperate flora. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2011, 59(1): 225–244.
- [50] Liu J Q, Sun Y S, Ge X J, *et al.* Phylogeographic studies of plants in China: Advances in the past and directions in the future. *Journal of Systematics and Evolution*, 2012, 50(4): 267–275.