

不同树龄枸杞古树的遗传多样性研究

胡永超¹, 马 洁¹, 唐建宁², 朱金忠³, 杨 涓¹, 郑 蕊¹, 张 磊⁴, 郑国琦¹

(¹宁夏大学生命科学学院, 银川 750021; ²宁夏林业和草原局宁夏枸杞产业发展中心, 银川 750021;

³宁夏中宁县杞鑫枸杞种业有限公司, 中宁 755100; ⁴北方民族大学生物科学与工程学院, 银川 750021)

摘要: 通过对 43 份枸杞材料进行表型性状指标的测定, 结合 SSR 分子标记技术, 综合分析枸杞古树与现有宁夏枸杞品种(系)之间的群体结构和遗传多样性。表型性状主成分分析结果确定了主成分为 4, 累计贡献率达到 78.09%, 第一主成分叶片大小和第二主成分果实大小起主要贡献作用。样品变异系数范围为 15%~54%, 平均值为 26.78%, 样品遗传变异指数范围为 5.26~5.41。表型性状指标通过聚类分析后分为 4 个类群, 第 I 类群 3 份材料, 第 II 类群 3 份材料, 第 III 类群 8 份材料, 第 IV 类群 29 份材料。采用隶属函数法分析确定综合性状优良的 5 个材料, 分别为 L14、L16、L28、L40、L43。SSR 分子标记遗传信息有效等位基因平均值为 2.018, 期望杂合度平均值为 0.398, Shannon's 指数平均值为 0.839。SSR 分子标记确定最优 K 值为 4, 综合评价较好的 5 份材料中, L16 表现为杂合基因型, L14、L28、L40、L43 表现为单一基因型。本研究运用多种方法综合分析了不同来源、不同树龄枸杞古树的表型性状差异和遗传多样性, 为后续枸杞古树种质资源的利用及枸杞品种选育提供了理论依据和实践指导。

关键词: 枸杞古树; 表型性状; SSR 标记; 遗传多样性

Genetic Diversity Analysis of Ancient Trees with Different Ages of *Lycium barbarum* L.

HU Yong-chao¹, MA Jie¹, TANG Jian-ning², ZHU Jin-zhong³, YANG Juan¹,
ZHENG Rui¹, ZHANG Lei⁴, ZHENG Guo-qi¹

(¹College of Life Sciences, Ningxia University, Yinchuan 750021; ²Ningxia Forestry and Grassland Bureau Ningxia *Lycium barbarum* L. Industry Development Center, Yinchuan 750021; ³Ningxia Zhongning County Qixin *Lycium barbarum* L.

Seed Industry Limited Company, Zhongning 755100; ⁴School of Biology and Engineering,

North University for Nationalities, Yinchuan 750021)

Abstract: Through the determination of phenotypic traits of 43 wolfberry materials, combined with SSR molecular marker technology, the population structure and genetic diversity between ancient wolfberry trees and existing wolfberry varieties in Ningxia were comprehensively analyzed. The principal component analysis results of phenotypic traits determined that the principal component was 4, and the cumulative contribution rate reached 78.09%. The leaf size of the first principal component and the fruit size of the second principal component played a major role. The coefficient of variation ranged from 15% to 54%, with an average of 26.78%, and the genetic variation index ranged from 5.26 to 5.41. The phenotypic traits were divided into 4 groups by cluster analysis, 3 individuals in group I, 3 individuals in group II, 8 individuals in group III and 29 individuals in group IV. Five materials with excellent comprehensive properties were determined by membership function method,

收稿日期: 2021-11-05 修回日期: 2021-12-03 网络出版日期: 2021-12-22

URL: <http://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20211105001>

第一作者研究方向为植物生理生态学, E-mail: 2536171932@qq.com

通信作者: 郑国琦, 研究方向为植物生理学与结构植物学, E-mail: zhengguoqi1977@163.com

张 磊, 研究方向为植物分子生态学, E-mail: zhangsanshi-0319@163.com

基金项目: 宁夏回族自治区自然科学基金(2021AAC02005, 2022AAC05036, 2020AAC03097); 国家自然科学基金(81760682); 宁夏枸杞产业发展中心项目(022004089013)

Foundation projects: Ningxia Hui Autonomous Region Natural Science Foundation(2021AAC02005, 2022AAC05036, 2020AAC03097), National Natural Science Foundation of China(81760682), Ningxia Wolfberry Industry Development Center Program

namely L14, L16, L28, L40 and L43. The average effective alleles of SSR molecular markers were 2.018, the average expected heterozygosity was 0.398, and the average Shannon's index was 0.839. The optimal K value of SSR molecular markers was 4. Among the five materials with better comprehensive evaluation, L16 showed heterozygous genotype, and L14, L28, L40 and L43 showed single genotype. In this study, a variety of methods were used to comprehensively analyze the phenotypic traits and genetic diversity of ancient wolfberry trees from different sources and ages, which provided a theoretical basis and practical guidance for the subsequent utilization of ancient wolfberry germplasm resources and the breeding of wolfberry varieties.

Key words: ancient trees with different ages of *Lycium barbarum* L.; phenotypic character; SSR molecular marker; genetic diversity

宁夏枸杞 (*Lycium barbarum* L.) 为茄科枸杞属多年生灌木, 具有耐干旱、耐盐碱等诸多优势, 其干燥果实为中药“枸杞子”, 富含枸杞多糖、类胡萝卜素、甜菜碱及多种维生素等, 具有很高的营养价值和药用保健价值^[1]。同时, 枸杞具有较高的耐盐性和生物排水的能力^[2]。枸杞属植物是一个世界性分布的物种, 资源较为丰富, 全世界该属物种有 80 余种, 在全球分布广泛, 其中, 欧亚大陆约有 10 余种, 中亚、非洲南部分布约 20 种、北美洲南部约 20 种、南美洲南部分布达 30 余种^[3]。

枸杞古树, 尤其是树龄在 30 年, 甚至上百年以上的枸杞古树, 栽培或是野生, 经历了漫长的环境变迁, 依然枝繁叶茂, 表现出极强的抗逆性^[4]。这些枸杞古树不仅品系多样, 种类繁多, 生长特性与果实性状也存在差异, 是天然的枸杞种质资源宝库, 也是宁夏枸杞人工栽培历史的缩影。同时这些枸杞古树具有丰富的品种研究价值和历史文化遗产价值, 对枸杞药用的研发也必将起到重要的支撑作用^[5]。

随着对于分子生物学不断深入的研究, 越来越多的分子技术方法被用于植物种质资源的研究^[6-7], 其中最为广泛的便是分子标记技术^[8]和 DNA 条形码技术^[9]。简单序列重复标记 (SSR) 具有呈共显性遗传、标记明确等优点, 同时克服了传统表型性状鉴定时的缺点和不足, 已被广泛的应用到遗传多样性分析、群体遗传分析等诸多领域^[10]。任重等^[11]利用 SSR 标记鉴定出栽培红果枸杞种间遗传距离较小, 不同地区的黑果枸杞存在较大差异性, 同时指出 SSR 标记可以用于红果枸杞和黑果枸杞的遗传多样性鉴定。余意等^[12]利用 7 对 SSR 引物分析人为栽培对宁夏枸杞遗传多样性和遗传结构的影响, 认为栽培的宁夏枸杞遗传多样性较低, 没有发生明显的遗传分化, 各品种间种质混杂, 同时认为枸杞遗传距离与地理距离呈现不相关性。

目前对于大多数枸杞种质资源收集工作基本

完成。但是对于枸杞古树, 尤其是野生枸杞古树的关注度仍旧缺乏。宁夏地区枸杞产业所选育的品种来源也较为单一。有关单位已对树龄在 30 年以上的枸杞古树进行抢救性移栽, 通过对这些枸杞的移栽和保护, 对下一步丰富枸杞种质资源的利用具有重要意义。本研究通过对有关单位所收集的枸杞古树进行表型性状测定, 进行聚类分析和主成分分析, 并结合 SSR 分子标记、隶属函数等方法, 综合分析不同树龄枸杞古树的表型差异和遗传多样性, 选取优良古树个体作为后续育种亲本来源, 以为枸杞古树资源的保护和利用提供科学的理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用材料为不同树龄枸杞树 43 株, 由宁夏中宁县杞鑫枸杞种业有限公司从 2016 年陆续从宁夏和其他外省 (区) 移植到中宁县枸杞古树保护示范园, 进行统一管理养护。其中, 样品 L1~L10 是已经审定的宁夏枸杞栽培品种。L11、L12 为公司培育的黄果枸杞品系, L13、L14 为不同树龄宁夏枸杞地方品种大麻叶, 其他为不同树龄枸杞野生古树, 来源于野生型 (表 1)。

1.2 表型性状数据测定及数据处理

1.2.1 表型性状数据测定 2020 年 9 月 2 日和 2020 年 10 月 17 日分别前往宁夏中宁县采样, 参照《枸杞种质资源描述规范和数据标准》^[13-14]方法, 选择与枸杞生长和产量关系密切的农艺性状指标: 叶片长度、叶片宽度、叶柄长度、叶面积、节间长度、果实横径、果实纵径、果柄长度、果实百粒重进行测量。

每株样品随机选取树体东、西、南、北、中 5 个方位健康枝条和成熟果实, 其中枝条带叶片用剪刀剪取 5 条, 果实带果柄每株采集 200 g 左右, 均放置采样箱中带回实验室备用。

表 1 不同树龄枸杞古树的具体信息

Table 1 Specific information of ancient trees with different ages of *Lycium barbarum* L.

序号 Number	品种名称 Variety name	类型 Type	树龄 Age	来源 Source	备注 Note
L1	宁杞 1 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	大麻叶优系实生苗
L2	宁杞 2 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	大麻叶优系实生苗
L3	宁杞 3 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	优良单株选育, 亲本不详
L4	宁杞 4 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	大麻叶优系实生苗
L5	宁杞 5 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	优良单株选育, 亲本不详
L6	宁杞 6 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	优良单株选育, 亲本不详
L7	宁杞 7 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	优良单株选育, 亲本不详
L8	宁杞 8 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	优良单株选育, 亲本不详
L9	宁杞 9 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	宁杞 1 号与北方枸杞杂交选育
L10	宁杞 10 号	栽培品种	4	宁夏回族自治区中宁县	宁杞 4 号和宁杞 5 号杂交选育
L11	/	栽培品系	4	宁夏回族自治区中宁县	宁夏枸杞变种选育, 黄果枸杞品系
L12	/	栽培品系	4	宁夏回族自治区中宁县舟塔乡	宁夏枸杞变种选育, 黄果枸杞品系
L13	大麻叶	地方品种	4	宁夏回族自治区中宁县	
L14	大麻叶	地方品种	32	宁夏回族自治区中宁县	
L15	/	野生品系	28	内蒙古自治区巴彦卓尔市杭锦后旗沙海镇	
L16	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L17	/	野生品系	157	宁夏回族自治区中卫市海原县兴隆乡黄谷村	
L18	/	野生品系	74	宁夏回族自治区中卫市海原县	
L19	/	野生品系	92	内蒙古自治区杭锦后旗沙海镇前进村	
L20	/	野生品系	76	宁夏回族自治区中宁县舟塔乡田滩村	
L21	/	野生品系	52	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L22	/	野生品系	48	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L23	/	野生品系	49	宁夏回族自治区中宁县舟塔乡铁渠村	
L24	/	野生品系	56	宁夏回族自治区中宁县轿子山林场	
L25	/	野生品系	48	宁夏回族自治区中宁县舟塔乡	
L26	/	野生品系	47	陕西省榆林市定边县	
L27	/	野生品系	48	宁夏回族自治区中宁县长山头农场	
L28	/	野生品系	47	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L29	/	野生品系	103	内蒙古自治区呼和浩特市托克托县五申镇	
L30	/	野生品系	86	内蒙古巴彦卓尔市杭锦后旗二道桥镇	
L31	/	野生品系	56	新疆维吾尔自治区塔城托里县	
L32	/	野生品系	50	内蒙古自治区巴彦卓尔市杭锦后旗沙海镇五星村	
L33	/	野生品系	44	内蒙古自治区杭锦后旗沙海镇前进村	
L34	/	野生品系	47	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L35	/	野生品系	44	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L36	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L37	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L38	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L39	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L40	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L41	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L42	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	
L43	/	野生品系	72	内蒙古自治区乌拉特前旗先锋镇	

选取每个枝条中部健康叶片 3 枚测量叶片长度、宽度、叶柄长度,共测量 15 枚叶片;节间长度测量 5 个枝条;随机选取 30 粒果实用游标卡尺测量果实横径、纵径、果柄长度,精确至 0.1 mm;随机选取 100 粒果实,用电子天平测量果实百粒重,精确至 0.01 g;叶片面积采用坐标纸法测量,即将叶片轮廓描在最小格子为 1 mm×1 mm 的坐标纸上,统计所占小方格数,半格及以上算一格,不足半格舍去,所占格子总数乘以单位格子面积即为叶片面积,每个材料测量 10 片。

1.2.2 表型性状数据处理 利用 Microsoft Excel 2019 将所得 9 个表型性状指标数据汇总,使用 Microsoft Excel 2019 进行隶属函数进行综合得分计算^[15-16]和最大值、最小值、均值、极值、标准差、变异系数和遗传多样性 Shannon-Weiner 指数^[17]的计算,计算公式为: $H' = -\sum P_i \times \ln P_i$, P_i 为第 i 个数据类型出现的频率,所有相应数据的均值 H' 为该组数

据的 H' ^[17-18]。

利用 IBM SPSS 26.0 进行主成分分析和聚类分析。

1.3 SSR 分子标记试验方法及数据处理

1.3.1 枸杞基因组 DNA 提取 提取新鲜幼嫩的枸杞古树叶片基因组 DNA 进行 PCR 扩增。根据甘晓燕等^[19]提供 SSR 引物信息,委托上海生工生物科技有限公司进行引物设计并进行预实验,结果显示,所提供的 17 对引物中有 13 对引物条带扩增明显,背景清晰,具有较高的多态性(图 1)。最终根据引物扩增情况选择了 13 对引物用于后续实验,包括 SM0027、SM0039、SM0042、SM0072、SM0097、SM0112、SM0138、SF11、SF21、SF26、SF30、SF68、SF80,引物具体信息见表 2。采用 FAM(蓝色)和 HEX(绿色)2 种引物集团修饰上游引物。

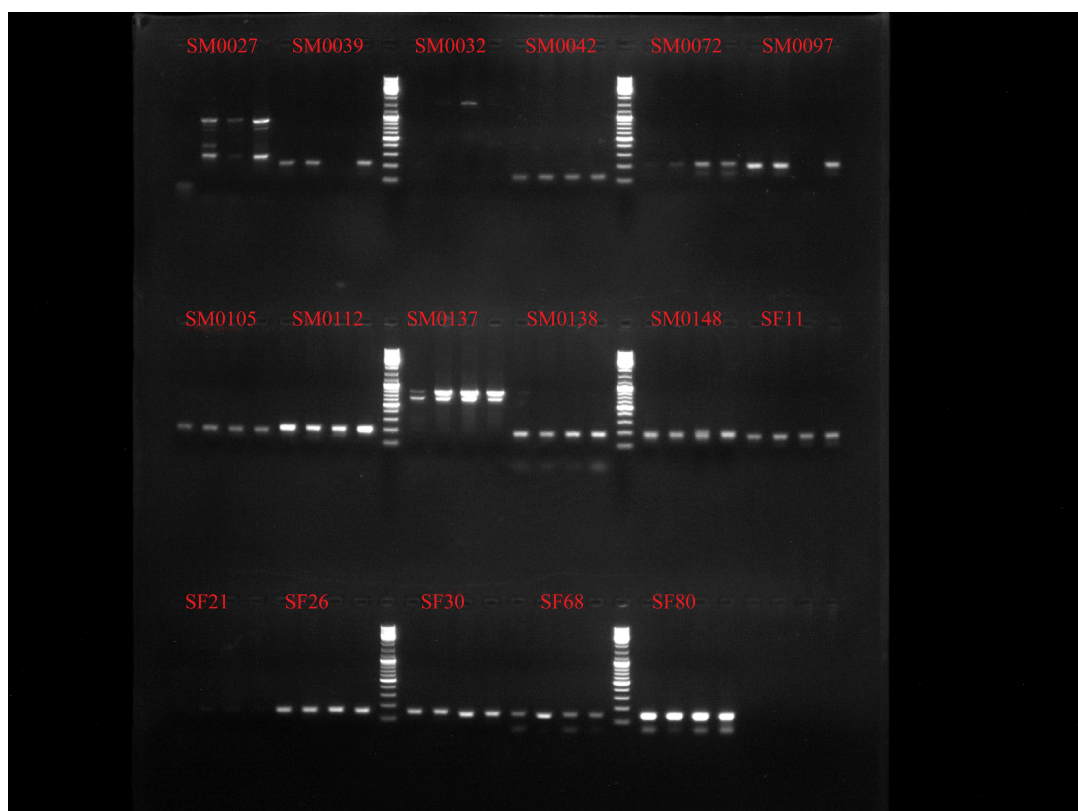


图 1 17 对 SSR 引物电泳条带图

Fig.1 Electrophoresis stripe of 17 pairs of SSR primers

1.3.2 PCR 扩增及产物检测 PCR 扩增在 Bio-Rad PCR 仪上进行,反应程序如下:95℃,预变性 5 min;94℃,变性 30 s;60℃,退火 30 s;72℃,延伸 30 s;

10 次循环;94℃,变性 30 s;55℃,退火 30 s;72℃,延伸 30 s;循环 35 次;72℃,修复延伸 5~8 min。并利用 ABI 3730XL DNA 分析仪中进行毛细管电泳。

表 2 引物信息表
Table 2 Primer information

编号 Number	引物序列 (5'-3') Primer sequence (5'-3')	5' 端修饰 5'end modification
SM0027	F: AGCTTCACTACAGGAGGGGA R: GAAGCAATGAAGCAGACCAA	5'HEX
SM0039	F: CAGCTCTGGCATTACAAAGT R: GTTCAATAGCCTCAACGCCT	5'HEX
SM0042	F: CACGTAATCCCACAATCCA R: CTCTCCATCTCCGCTCTTTC	5'6-FAM
SM0072	F: CGTGAACCATCGAGTCTTTG R: ACGTGGACTCGCATTTAGG	5'HEX
SM0097	F: AGGAGAAGTTCACACGGGAC R: TGCCTGTGTATCCACCTATG	5'HEX
SM0112	F: TCTTCTCTTCTCTCTCTCCA R: CGTCCACATACACAGCAACA	5'HEX
SM0138	F: TGGAGGAAAGCAAAGTGAGA R: CCCAAAATTAAAGGGGCA	5'6-FAM
SF11	F: CGGTCGAGGATTAGCTAGAAG R: GGAGAAAAAGAACATAAACGACAA	5'6-FAM
SF21	F: GGGATGAGTACAAAGAATTGTA R: GCAGAGTGGGTAAATAACACG	5'6-FAM
SF26	F: TGCCACCAATATAGAGTGTTT R: GCCCAATCTTACACCTCACAG	5'6-FAM
SF30	F: TATTTACGTTGCTCCAGAAAG R: ATCGCCCCCTGAATTAAAG	5'6-FAM
SF68	F: TTCCACCATTTTGCTACTCAA R: AAGAGATTTTATAGCCGATTGA	5'6-FAM
SF80	F: GGTGTGTAATCATTTCATTAAGG R: AACAGTCGCCCTATCTTTCA	5'6-FAM

表 3 43 份材料相关表型性状数据表
Table 3 Tables of phenotypic traits related to 43 materials

编号 Number	叶片长度 (cm) Blade length	叶片宽度 (cm) Blade width	叶柄长度 (cm) Petiole length	叶面积 (cm ²) Blade area	节间长度 (cm) Panel length	果实纵径 (cm) Fruit length	果实横径 (cm) Fruit width	果柄长度 (cm) Carpophore length	百粒重 (g) 100-seed weight
L1	3.20	1.00	0.30	6.25	1.53	1.68	0.63	2.04	48.27
L2	4.41	1.23	0.23	3.79	1.23	1.45	0.73	1.52	63.18
L3	4.08	1.00	0.27	3.70	1.46	1.54	0.82	1.85	103.17
L4	2.82	0.70	0.22	2.28	1.06	1.69	0.59	1.61	54.19
L5	3.75	0.82	0.30	3.34	1.59	1.66	0.62	1.28	80.73
L6	4.27	1.26	0.25	4.43	1.00	1.82	0.65	1.81	90.33
L7	4.53	1.41	0.27	4.71	1.05	1.72	0.63	1.60	76.44
L8	5.28	1.28	0.30	3.60	1.20	1.97	0.64	1.61	76.44
L9	3.16	0.83	0.27	1.90	1.38	2.21	0.72	1.95	116.61
L10	4.01	1.25	0.26	4.05	1.27	2.04	0.72	2.12	78.62
L11	5.45	1.73	0.43	10.19	1.50	1.72	0.71	1.93	76.41
L12	4.77	1.33	0.29	3.82	1.53	1.94	0.54	1.68	64.57
L13	3.25	1.05	0.33	2.27	1.70	1.81	0.81	1.53	64.23
L14	5.49	1.57	0.57	5.32	1.62	2.25	0.81	1.92	60.36
L15	4.69	1.34	0.44	3.22	1.88	1.25	0.81	2.03	81.96
L16	5.85	1.73	0.41	5.24	1.24	1.90	0.96	2.32	65.47

1.3.3 数据分析 SSR 结果使用 Genemapper 软件进行初步分析。得到初步处理 SSR 数据后,利用 GenAIEx v6.5 进行遗传系数分析。利用 Microsoft Excel 2019 软件进行数据汇总。利用 STRUCTURE V2.3.4 软件对处理后的 SSR 标记所获得的基因型数据进行分析,推断其群体结构。在计算过程中,K 的取值范围设为 1~10,进行模拟算法,并进行 5 次重复运行。其中,Burin 重复数量设为 1000000,MCMC 重复数量设为 500000。将 STRUCTURE 软件对枸杞古树基因数据分析所得结果上传到 Structure Harvester 后,通过计算 DeltaK 值^[20],从而确定最佳 K 值以及最佳分类结果。

2 结果与分析

2.1 表型多样性分析

由表 3 可知,43 份枸杞的 9 个表型性状差异明显,变异系数范围为 15%~54%,平均值为 26.78%,叶面积变异系数最大,为 54%,其次为百粒重,为 32%,说明两者离散程度较大。而果实横径离散程度最小,变异系数仅为 15%。遗传多样性指数范围为 5.26~5.41,其中果实横径的最大,叶面积的最小。综合来看 43 份枸杞存在一定程度的表型遗传差异性。

表 3(续)

编号 Number	叶片长度 (cm) Blade length	叶片宽度 (cm) Blade width	叶柄长度 (cm) Petiole length	叶面积 (cm ²) Blade area	节间长度 (cm) Panel length	果实纵径 (cm) Fruit length	果实横径 (cm) Fruit width	果柄长度 (cm) Carpophore length	百粒重 (g) 100-seed weight
L17	4.83	1.53	0.66	1.54	1.15	1.07	0.70	1.23	58.12
L18	5.01	1.79	0.27	5.93	1.22	1.22	0.89	2.05	52.98
L19	4.33	0.82	0.53	2.69	1.71	1.62	0.80	2.01	46.38
L20	4.73	1.06	0.35	2.21	2.65	1.65	0.96	1.67	117.00
L21	5.01	1.15	0.69	4.02	1.50	1.50	0.84	2.57	46.78
L22	4.36	1.04	0.34	2.73	1.56	1.72	0.94	2.56	58.42
L23	5.43	2.06	0.25	7.19	1.19	1.59	0.75	2.46	50.07
L24	4.95	1.53	0.29	4.57	1.35	1.85	0.95	2.43	63.26
L25	4.89	1.45	0.32	3.88	1.63	1.41	0.82	2.20	44.81
L26	4.12	1.39	0.37	5.24	2.21	1.36	0.97	2.25	43.10
L27	6.58	1.81	0.43	5.71	1.49	1.24	0.78	2.09	27.19
L28	6.89	1.99	0.61	11.73	1.67	1.25	0.97	1.79	60.25
L29	4.27	1.10	0.30	4.09	0.72	1.40	0.87	1.61	49.21
L30	4.28	1.42	0.40	3.27	1.42	1.64	0.96	2.58	62.78
L31	5.31	1.34	0.29	4.30	2.05	2.12	0.88	1.98	58.98
L32	3.69	0.91	0.31	3.29	1.32	1.03	0.82	1.25	29.88
L33	4.02	1.09	0.23	3.08	1.84	1.58	0.74	2.10	25.41
L34	4.08	1.01	0.32	4.97	1.84	1.61	0.86	2.08	42.28
L35	4.89	1.45	0.32	3.88	1.63	1.41	0.82	2.20	44.81
L36	5.55	1.87	0.39	4.97	1.57	1.55	0.92	2.09	46.22
L37	4.70	1.43	0.29	5.28	2.63	1.75	0.97	1.73	60.37
L38	4.32	1.74	0.34	5.34	1.68	1.73	0.94	2.43	61.13
L39	4.53	1.73	0.42	5.20	1.64	1.34	0.85	2.11	59.55
L40	6.85	2.61	0.44	15.55	2.00	1.68	0.83	2.15	70.57
L41	4.35	1.55	0.41	6.35	1.70	1.46	0.76	1.97	55.50
L42	5.48	1.91	0.34	8.36	1.18	1.75	0.94	2.19	54.79
L43	6.55	2.25	0.44	7.15	1.59	1.73	0.95	2.23	66.27
最大值 Max.	6.89	2.61	0.69	15.55	2.65	2.25	0.97	2.58	117.00
最小值 Min.	2.82	0.70	0.22	1.54	0.72	1.03	0.54	1.23	25.41
极差 Range	4.07	1.91	0.47	14.01	1.93	1.22	0.43	1.35	91.59
平均值 Average	4.72	1.41	0.36	4.90	1.54	1.63	0.81	1.97	61.79
标准差 SD	0.94	0.41	0.11	2.64	0.39	0.28	0.12	0.35	19.94
变异系数 (%) CV	20	29	31	54	25	17	15	18	32
遗传多样性指数 H'	5.40	5.37	5.36	5.26	5.38	5.40	5.41	5.40	5.36

2.2 主成分分析

主成分分析是将多个变量转化为少数更为主要的变量,从而更加直观的明确主要影响因素,已经被广泛用于指标筛查和综合评价等多领域中^[20-21]。数据经旋转后可以更为直观的反映主成分中的各因子比率^[22]。将所测的表型性状数据经过 IBM SPSS 26.0 分析,通过表 4 可以看出,第一

主成分的贡献率为 35.922%,其中贡献率较大的包括叶片长度、叶片宽度、叶面积和叶柄长度,主要反映枸杞叶片大小。第二主成分的累计贡献率达到 52.188%,主要包括果实纵径、百粒重、节间长度、果柄长度,主要反映枸杞果实大小。4 个主成分的累计贡献率达到了 78.090%,实现了降维的目标。

表 4 枸杞材料表型性状成分矩阵分析结果
Table 4 The results of phenotypic traits component matrix analysis of *Lycium barbarum* L. materials

表型性状 Phenotypic character	主成分 Principal component			
	1	2	3	4
叶片长度 Blade length	0.871	0.076	-0.277	0.122
叶片宽度 Blade width	0.882	0.101	-0.322	-0.068
叶柄长度 Petiole length	0.538	-0.273	0.049	0.452
叶面积 Blade area	0.760	0.150	-0.394	0.021
节间长度 Panel length	0.254	0.269	0.648	0.460
果实纵径 Fruit length	-0.203	0.842	-0.090	-0.183
果实横径 Fruit width	0.612	0.078	0.618	-0.040
果柄长度 Carpophore length	0.523	0.243	0.371	-0.609
百粒重 100-seed weight	-0.274	0.711	-0.157	0.421
特征值 Numerical value	3.233	1.464	1.312	1.019
贡献率(%) Contribution rate	35.922	16.266	14.574	11.327
累计贡献率(%) Accumulative contribution rate	35.922	52.188	66.763	78.090

2.3 聚类分析

聚类分析是根据所提供的性状数据按照相似性进行分类,差异性小的归为一类,差异较大的分为不同类别^[21],将表型性状数据处理后进行聚类分析。根据聚类结果(图 2)可以看出,在欧氏距离为 5 时将 43 份材料分为 4 个类群,第 I 类群共 3 份材料,包括 L3、L20、L9,表明材料 L20 与栽培品种宁杞 3 号、宁杞 9 号亲缘关系较近;第 II 类群共 3 份材料,包括 L27、L33、L32;第 III 类群共 8 份材料,包括 L40、L6、L11、L10、L8、L7、L15、L5,表明该组材料中 L11、L15、L40 与栽培品种宁杞 5 号、宁杞 6 号、宁杞 7 号、宁杞 8 号、宁杞 10 号亲缘关系较近;第 IV 类群共 29 份材料,包括 L28、L13、L12、L24、L30、L2、L43、L16、L22、L17、L31、L38、L39、L37、L14、L4、L18、L42、L41、L23、L29、L1、L34、L26、L19、L36、L21、L35、L25,表明该组材料中与栽培品种宁杞 1 号、宁杞 2 号、宁杞 4 号亲缘关系较近。从聚类分析的结果可以看出,此次材料绝大多数与宁杞 1 号、宁杞 2 号、宁杞 4 号聚为一类,暗示本试验所选择材料与目前栽培品种宁杞 1 号、宁杞 2 号、宁杞 4 号亲缘关系较近,来自同一地区的枸杞树种并未聚在一起,需进一步对其遗传多样性进行分析。

2.4 隶属函数法分析

隶属函数法是指用于表达模糊集合的特征函数,运用模糊理论将普通的清晰量转化为模糊量,以便进行模糊逻辑推理和运算^[15-16, 22]。本研究通过对

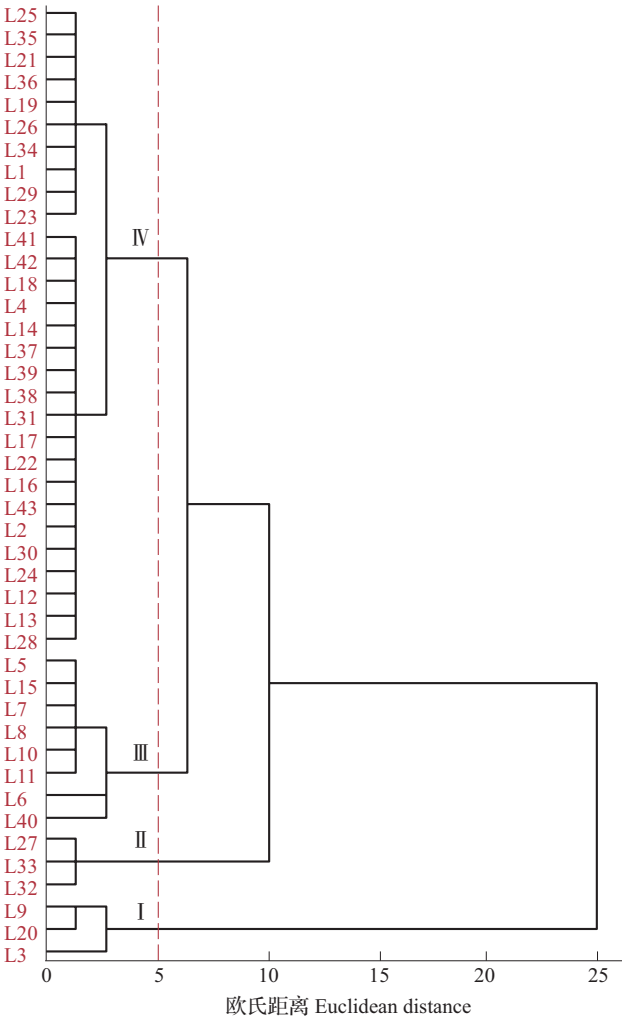


图 2 43 份材料聚类分析
Fig.2 43 materials clustering analysis

所测 9 个表型性状指标计算平均值,利用 IBS SPSS 26 计算材料标准误差平均值等数据后,利用隶属函数法进行材料表型数据综合评价。利用 Microsoft Excel 2019 计算所测的 9 个表型性状指标隶属函数值,并统计综合得分^[15-16]。综合得分越大,表明枸杞古树生长和产量特性越优良。

通过表 5 可以看出:L40、L43、L28、L16、L14 综合排名较高。结合表型性状数据,排名较高的样品,叶片和果实形状指标相对较大,与主成分分析确定的结果基本一致,即表型性状的聚类分析结果、主成分分析结果和隶属函数分析结果呈现一致性。

表 5 基于隶属函数法的 43 份材料的综合分析排名

Table 5 Comprehensive analysis ranking of 43 materials based on membership function method

编号 Number	叶片长度 Blade length	叶片宽度 Blade width	叶柄长度 Petiole length	叶面积 Blade area	节间长度 Panel length	果实纵径 Fruit length	果实横径 Fruit width	果柄长度 Carpophore length	百粒重 100-seed weight	排名 Rank
L40	0.99	1.00	0.47	1.00	0.66	0.53	0.67	0.68	0.49	1
L43	0.92	0.81	0.47	0.40	0.45	0.57	0.95	0.74	0.45	2
L28	1.00	0.68	0.83	0.73	0.49	0.18	1.00	0.41	0.38	3
L16	0.74	0.54	0.40	0.26	0.27	0.71	0.98	0.81	0.44	4
L14	0.66	0.46	0.74	0.27	0.47	1.00	0.63	0.51	0.38	5
L42	0.65	0.63	0.26	0.49	0.24	0.59	0.93	0.71	0.32	6
L20	0.47	0.19	0.28	0.05	1.00	0.51	0.98	0.33	1.00	7
L38	0.37	0.54	0.26	0.27	0.50	0.57	0.93	0.89	0.39	8
L11	0.65	0.54	0.45	0.62	0.40	0.57	0.40	0.52	0.56	9
L21	0.54	0.24	1.00	0.18	0.40	0.39	0.70	0.99	0.23	10
L37	0.46	0.38	0.15	0.27	0.99	0.59	1.00	0.37	0.38	11
L31	0.61	0.34	0.15	0.20	0.69	0.89	0.79	0.56	0.37	12
L24	0.52	0.43	0.15	0.22	0.33	0.67	0.95	0.89	0.41	13
L36	0.67	0.61	0.36	0.24	0.44	0.43	0.88	0.64	0.23	14
L30	0.36	0.38	0.38	0.12	0.36	0.50	0.98	1.00	0.41	15
L26	0.32	0.36	0.32	0.26	0.77	0.27	1.00	0.76	0.19	16
L23	0.64	0.71	0.06	0.40	0.24	0.46	0.49	0.91	0.27	17
L22	0.38	0.18	0.26	0.08	0.44	0.57	0.93	0.99	0.36	18
L39	0.42	0.54	0.43	0.26	0.48	0.25	0.72	0.65	0.37	19
L27	0.92	0.58	0.45	0.30	0.40	0.17	0.56	0.64	0.02	20
L15	0.46	0.34	0.47	0.12	0.60	0.18	0.63	0.59	0.62	21
L41	0.38	0.45	0.40	0.34	0.51	0.35	0.51	0.55	0.33	22
L18	0.54	0.57	0.11	0.31	0.26	0.16	0.81	0.61	0.30	23
L25	0.51	0.39	0.21	0.17	0.47	0.31	0.65	0.72	0.21	24
L35	0.51	0.39	0.21	0.17	0.47	0.31	0.65	0.72	0.21	25
L10	0.29	0.29	0.09	0.18	0.28	0.83	0.42	0.66	0.58	26
L19	0.37	0.06	0.66	0.08	0.51	0.48	0.60	0.58	0.23	27
L34	0.31	0.16	0.21	0.24	0.58	0.48	0.74	0.63	0.18	28
L9	0.08	0.07	0.11	0.03	0.34	0.97	0.42	0.53	1.00	29
L3	0.31	0.16	0.11	0.15	0.38	0.42	0.65	0.46	0.85	30

表 5(续)

编号 Number	叶片长度 Blade length	叶片宽度 Blade width	叶柄长度 Petiole length	叶面积 Blade area	节间长度 Panel length	果实纵径 Fruit length	果实横径 Fruit width	果柄长度 Carpophore length	百粒重 100-seed weight	排名 Rank
L8	0.60	0.30	0.17	0.15	0.25	0.77	0.23	0.28	0.56	31
L6	0.36	0.29	0.06	0.21	0.15	0.65	0.26	0.43	0.71	32
L12	0.48	0.33	0.15	0.16	0.42	0.75	0.00	0.33	0.43	33
L13	0.11	0.18	0.23	0.05	0.51	0.64	0.63	0.22	0.42	34
L7	0.42	0.37	0.11	0.23	0.17	0.57	0.21	0.27	0.56	35
L17	0.49	0.43	0.94	0.00	0.22	0.03	0.37	0.00	0.36	36
L33	0.29	0.20	0.02	0.11	0.58	0.45	0.47	0.64	0.00	37
L1	0.09	0.16	0.17	0.34	0.42	0.53	0.21	0.60	0.25	38
L29	0.36	0.21	0.17	0.18	0.00	0.30	0.77	0.28	0.26	39
L2	0.39	0.28	0.02	0.16	0.26	0.34	0.44	0.21	0.41	40
L5	0.23	0.06	0.17	0.13	0.45	0.52	0.19	0.04	0.60	41
L32	0.21	0.11	0.19	0.12	0.31	0.00	0.65	0.01	0.05	42
L4	0.00	0.00	0.00	0.05	0.18	0.54	0.12	0.28	0.31	43

2.5 群体 SSR 分子标记遗传多样性分析

2.5.1 遗传信息分析 由表 6 可以看出,利用 SSR 分子标记共检测出等位基因数为 572 个,平均值为 44;有效等位基因数共 78 个,Shannon’s 指数范围

表 6 枸杞材料遗传多样性信息

Table 6 *Lycium barbarum* L. materials genetic diversity information

位点 Locus	等位 基因数 <i>N</i>	有效等位 基因数 <i>Ne</i>	Shannon's 指数 <i>H'</i>	期望 杂合度 <i>He</i>
SM0042	45	1.000	0	0
SF26	45	1.421	0.671	0.296
SF68	44	1.713	0.607	0.416
SF30	45	2.525	1.239	0.604
SF21	45	1.172	0.348	0.147
SF11	45	1.334	0.452	0.250
SF80	45	1.893	1.030	0.472
SM0138	45	3.740	1.879	0.733
SM0097	37	1.638	0.866	0.389
SM0072	45	2.145	0.881	0.534
SM0027	44	1.414	0.564	0.293
SM0112	44	1.321	0.497	0.243
SM0039	43	4.918	1.878	0.797
平均值 Average	44	2.018	0.839	0.398

为 0~1.879,期望杂合度范围为 0~0.797,结果表明此次变异位点较多,所选择引物多态性较好。有效等位基因平均值仅为 2.018,期望杂合度平均值仅为 0.398,Shannon’s 指数平均值仅为 0.839,说明本研究枸杞材料基因较为单一,遗传多样性较低。

2.5.2 群体结构分析 通过图 3 可以看出在 K 值为 4 时,ΔK 值达到顶点,结果表明 43 份枸杞古树的最佳类群数是 4。将群体类群数设置为 4,横坐标为个体编号,纵坐标 Q 值等于 0.8 为界限^[23],得到群体结构图(图 4),由图可知:第Ⅰ类群共 16 份材料,包括 L11、L12、L15、L19、L27、L30、L31、L32、L33、L34 与 L1(宁杞 1 号)、L2(宁杞 2 号)、L3(宁杞 3 号)、L4(宁杞 4 号)、L5(宁杞 5 号)、L10(宁杞 10 号);第Ⅱ类群共 9 份材料,包括 L14、L17、L18、L20、L22、L28、L29 与 L8(宁杞 8 号)、L9(宁杞 9 号);第Ⅲ类群共 8 份材料,包括 L21、L23、L24、L25、L26、L35 与 L6(宁杞 6 号)、L7(宁杞 7 号);第Ⅳ类群共 10 份材料,包括 L36、L37、L38、L39、L40、L41、L42、L43、L16、L13。群体结构分析结果表明,各类群中基因混乱,各类群间出现了一定的基因交流现象,43 份材料尚未因所处不同环境而形成独立种。基于隶属函数所选择出来的综合排名前 5 的材料除 L16 基因型混乱外,L40、L28、L43、L14 基因型单一,基因混乱程度较低。

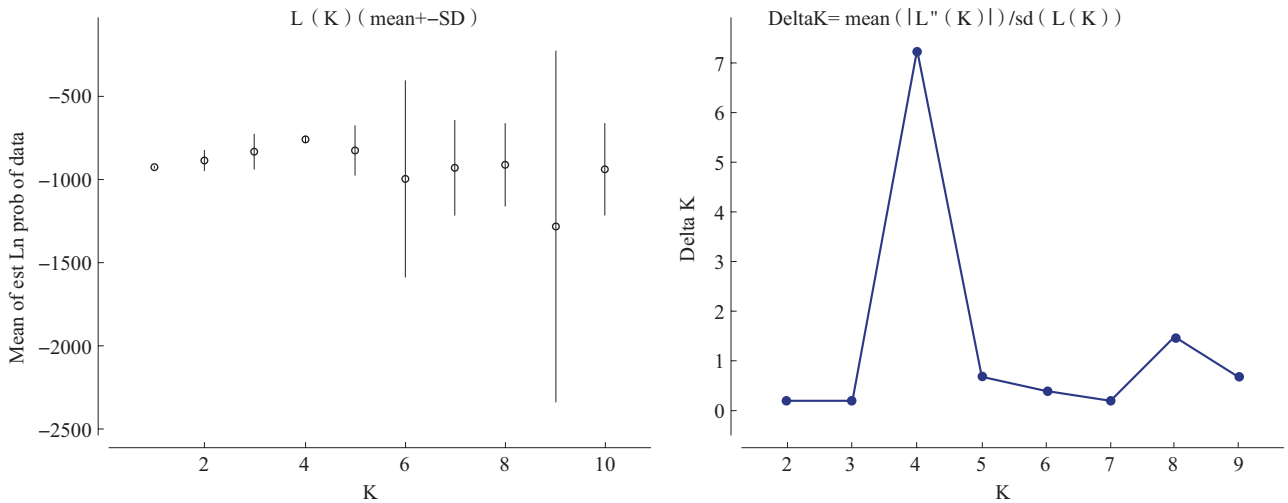


图3 基于STRUCTURE 分析的类群数(K)与Delta K(ΔK)关系图
Fig.3 Relationships between the number of group number (K) and ΔK based on STRUCTURE analysis

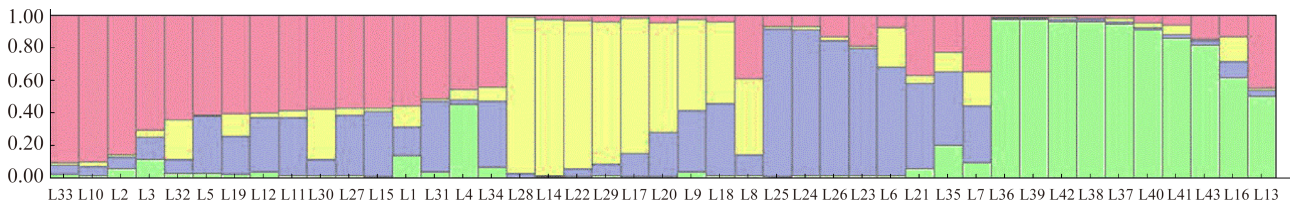


图4 基于SSR 标记的43 份枸杞古树群体的STRUCTURE 结构图
Fig.4 Structure diagram of 43 ancient tree populations based on SSR markers

3 讨论

3.1 不同树龄枸杞古树资源存在表观多样性

不同环境中,受地区地理因子和气候因子的影响,植物会表现出适应所处环境的表型变化^[24]。叶片作为植物光合作用的主要场所,表型的改变和叶片长宽比一直是研究特定环境下植物遗传变异情况的重要指标^[25],也是植物种质资源研究和引种驯化的主要参考依据。生物大数据时代的到来,对于种质资源研究的广度和深度不断深入,现代种质创新得到了诸多成果^[26]。宁夏枸杞作为宁夏地区道地中药材^[1],栽培历史悠久。中宁县作为宁夏枸杞的主产区之一,所生产的枸杞具有色泽鲜艳、口感甘甜、皮厚籽少等诸多优点,已经成为了当地的支柱产业之一。本研究选取43份不同树龄宁夏枸杞种质资源,结合表型性状主成分分析、聚类分析、隶属函数计算进行枸杞表型性状资源的综合评价。

经主成分分析结果共提取了4个主成分:第一主成分的贡献率为35.922%,其中贡献率较大的包括叶片长度、叶片宽度、叶面积和叶柄长度,主要反映枸杞叶片大小。第二主成分的累计贡献率达到

52.188%,主要包括果实纵径、百粒重、节间长度、果柄长度,主要反映枸杞果实大小。4个主成分的累计贡献率达到78.09%。主成分分析结果表明叶片、果实大小可以作为基于表型性状研究中的分类依据,此结论与袁海静等^[5]研究结果一致。变异系数范围为15%~54%,平均值为26.78%,其中叶面积变异系数最大,果实横径变异系数最小。遗传多样性指数范围为5.26~5.41,其中果实横径的最大,叶面积的最小,综合来看枸杞材料存在一定程度的表型遗传差异性。聚类分析将43份材料共分为4个类群,来自不同地区的枸杞古树在表型性状上具有丰富的多样性,未因区域分布而聚为一支,可能与其自身遗传特性有关,表明植物的遗传变异受自身基因型和环境因素的双重影响^[27]。此次聚类结果可以为后期定向新品种的培育提供参考依据。

隶属函数分析材料综合排名也反映了受4个主成分影响较大,叶面积大、果实百粒较重的个体综合排名靠前,并筛选出了表型性状综合排名较好的5份材料(L40、L43、L28、L16、L14)。环境因子是引起植物表型变化的重要因素^[28-29],不同环境中,植物通过改变叶片形状和果实大小等表型性状

来适应环境变化,通过对植物表型性状变异的研究,可以为优质种质的筛选、开发利用提供科学的参考依据^[5,30]。

3.2 不同树龄枸杞古树遗传多样性分析

遗传多样性是物种多样性的基础,通常所说的遗传多样性则是指种内遗传多样性,是个体或群体遗传信息的总和,DNA 作为遗传信息载体,无疑成为了最直接也最理想的研究材料^[31-32]。基于 SSR 数据分析的遗传信息指数可以看出此次变异位点较多,所选引物多态性较好。有效等位基因平均值仅为 2.018,期望杂合度平均值仅为 0.398,Shannon's 指数平均值仅为 0.839,说明此次枸杞材料基因较为单一,遗传多样性较低。群体结构分析将 43 份材料分为 4 类,当 Q 值等于 0.8 为界限可以看出 43 份材料中多为杂合基因型,纯合基因型较少,个体间基因型混杂,未发生明显的遗传分化。SSR 结果也说明材料基因型数据与地理分布呈现出一定的相关性,第 IV 类群中枸杞材料除 L13 外均来自内蒙古自治区先锋镇,推测 L13 的祖先可能与内蒙古地区枸杞树种发生过基因交流现象而使 L13 表现为混合基因型。

聚类分析和 SSR 标记都将此次材料分为 4 类,但是分类结果存在区别,聚类结果没有表现出与地理因子的相关性,不同地域的枸杞材料因表型性状的相似性而聚为一支,而没有出现如 SSR 中因来源相同单独聚为一支的分类现象。将不同地区的枸杞材料进行移植后进行统一管理,可排除多个地理因素的干扰,更好的反映出枸杞树种因环境变化而表现出的适应性变化。诸多研究都曾讨论过植物响应环境变化而发生的遗传变异现象,认为表型变化可以更快速的响应环境变化^[17-18,33],而利用分子标记研究的结果则更多的呈现出与地理区域的相关性^[27,34]。

为防止目前枸杞栽培过程中所出现的均质化、品种单一等遗传瓶颈问题,在下一步育种时可以选择不同类别内的个体作为亲本来源,增加宁夏枸杞基因的丰富度,以提高育种效率^[35-37]。基于表型性状的聚类分析和 SSR 分子标记所显示的结果既有相似之处,又存在差异,在后续种质资源的遗传多样性研究中可综合分析,增加可信度。由于在进行数据分析时所选择的原理不同,导致结果呈现出了一定的差异,可能的原因包括 SSR 所标记的遗传位点出现差别,并没有在表型性状上表现出来或者所表现出来的表型变异较小,被人为忽略。韩洪强^[38]利

用表型性状和 SSR 标记研究茄子遗传多样性也出现此类问题。

枸杞作为一种传统中医药,有着重要的研究价值和意义。对于枸杞遗传多样性的研究往往依靠于传统的表型性状分析。物种表型性状往往和所处环境、人为活动有着极大关系,仅依靠传统研究方法存在明显局限性。随着新兴生物技术的不断发展,将传统表型性状研究与分子标记、DNA 条形码等技术相结合,可以更全面的对枸杞的遗传多样性进行研究,克服了单一研究手段所存在的缺点和不足。同时,也可以从分子层面更加准确的进行群体结构分析和遗传演化的推断。为下一步的枸杞遗传育种、基因挖掘、种质资源的保存和开发提供了理论参考依据。

参考文献

- [1] 徐常青,刘赛,徐荣,陈君,乔海莉,金红宇,林晨,郭昆,程惠珍.我国枸杞主产区生产现状调研及建议.中国中药杂志,2014,39(11):1979-1984
Xu C Q, Liu S, Xu R, Chen J, Qiao H L, Jin H Y, Lin C, Guo K, Cheng H Z. Investigation and suggestions on the production status of main *Lycium barbarum* L. producing areas in China. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2014, 39(11): 1979-1984
- [2] Zhao C Y, Wang Y C, Song Y D, Li B G. Biological drainage characteristics of alkalized desert soils in north-western China. Academic Press, 2004, 56(1): 1-9
- [3] 王益民,张宝琳.我国枸杞属物种资源及发展对策.世界林业研究,2021,34(3):107-111
Wang Y M, Zhang B L. Chinese *Lycium barbarum* L. species resources and development countermeasures. World Forestry Research, 2021, 34(3): 107-111
- [4] 黄晓君,王东秀,袁金满,赖银璇.乡村振兴战略背景下古树名木资源文化挖掘与旅游开发——以广东省肇庆市鼎湖区蕉园村为例.林业与环境科学,2020,36(1):99-108
Huang X J, Wang D X, Yuan J M, Lai Y X. Cultural excavation and tourism development of ancient and famous tree resources under the background of rural revitalization strategy - Taking Jiaoyuan Village, Dinghu District, Zhaoqing City, Guangdong Province as an example. Forestry and Environmental Science, 2020, 36(1): 99-108
- [5] 袁海静,安巍,李立会,曹有龙,刘伟华,董立国,李丁仁,王孝.中国枸杞种质资源主要形态学性状调查与聚类分析.植物遗传资源学报,2013,14(4):627-633
Yuan H J, An W, Li L H, Cao Y L, Liu W H, Dong L G, Li D R, Wang X. Investigation and cluster analysis on the main morphological traits of *Lycium barbarum* L. germplasm resources in China. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(4): 627-633
- [6] Liu Z W, Zhu H L, Zhou J H, Jiang S J, Wang Y, Kuang J, Ji Q, Peng J, Wang J, Gao L, Bai M Z, Jian J B, Ke W D. Resequencing of 296 cultivated and wild lotus accessions

- unravels its evolution and breeding history. The Plant Journal: for Cell and Molecular Biology, 2020, 4(6): 1673-1684
- [7] Kang M H, Wu H L, Yang Q, Huang L, Hu Q J, Ma T, Li Z Y, Liu J Q. A chromosome-scale genome assembly of *Isatis indigotica*, an important medicinal plant used in traditional Chinese medicine: An *Isatis* genome. Horticulture Research, 2020, 7(1): 18
- [8] 贾继增. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种. 中国农业科学, 1996, 29(4): 1-10
Jia J Z. Molecular marker germplasm resource identification and molecular marker breeding. Scientia Agricultura Sinica, 1996, 29(4): 1-10
- [9] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, Jeremy R. Biological identifications through DNA barcodes. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2003, 270(1512): 313-321
- [10] 曾莉娟, 郑成木. SSR 技术及其在应用. 热带农业科学, 2001(3): 56-59
Ceng L J, Zheng C M. SSR technology and its application. Tropical Agriculture Science, 2001(3): 56-59
- [11] 任重, 汪贵斌, 杨晓明, 郭起荣, 范雪娇, 任钢. 基于 SSR 分子标记的枸杞遗传多样性研究. 经济林研究, 2020, 38(3): 95-103
Ren Z, Wang G B, Yang X M, Guo Q R, Fan X J, Ren G. Genetic diversity of *Lycium barbarum* L. based on SSR molecular markers. Economic Forest Research, 2020, 38(3): 95-103
- [12] 余意, 王凌, 孙嘉惠, 钟文浩, 张藤, 郭兰萍, 袁庆军. 基于微卫星群体遗传学的栽培枸杞遗传多样性和遗传结构评价. 中国中药杂志, 2020, 45(4): 838-845
Yu Y, Wang L, Sun J H, Zhong W H, Zhang T, Guo L P, Yuan Q J. Evaluation of genetic diversity and genetic structure of cultivated *Lycium barbarum* L. based on microsatellite population genetics. Chinese Journal of Traditional Chinese Medicine, 2020, 45(4): 838-845
- [13] 石志刚, 杜慧莹, 门惠芹. 枸杞种质资源描述规范和数据标准. 北京: 中国林业出版社, 2012
Shi Z G, Du H Y, Men H Q. Descriptors and data standard for wolfberry (*Lycium barbarum* L.). Beijing: China Forestry Press, 2012
- [14] 赵建华, 安巍, 石志刚, 焦恩宁, 李浩霞, 王亚军. 枸杞种质资源若干植物学数量性状描述指标的探讨. 园艺学报, 2008, 35(2): 301-306
Zhao J H, An W, Shi Z G, Jiao E N, Li H X, Wang Y J. Study on descriptive indices of some botanical quantitative traits of *Lycium barbarum* L. germplasm resources. Journal of Horticulture, 2008, 35(2): 301-306
- [15] 王志泰, 马瑞, 马彦军, 李毅. 利用隶属函数法分析胡枝子抗旱性. 干旱区资源与环境, 2013, 27(9): 119-123
Wang Z T, Ma R, Ma Y J, Li Y. Drought resistance of *Lespedeza* was analyzed by membership function method. Resources and Environment in Arid Areas, 2013, 27(9): 119-123
- [16] 龙海涛, 李丽梅, 谢泽虹, 刘帅, 李晓云, 邓斌, 刘海燕, 李玲. 综合隶属函数法评价花生品种抗旱性与 *AhNCED1* 基因表达的关系. 植物学报, 2015, 50(6): 706-712
Long H T, Li L M, Xie Z H, Liu S, Li X Y, Deng B, Liu H Y, Li L. Relationship between drought resistance evaluation by comprehensive subordinate function values and *AhNCED1* expression in peanut varieties. Bulletin of Botany, 2015, 50(6): 706-712
- [17] 吴欣明, 郭璞, 池惠武, 方志红, 石永红, 王运琦, 刘建宁, 王赞, 王学敏. 国外紫花苜蓿种质资源表型性状与品质多样性分析. 植物遗传资源学报, 2018, 19(1): 103-111
Wu X M, Guo P, Chi H W, Fang Z H, Shi Y H, Wang Y Q, Liu J N, Wang Z, Wang X M. Diversity analysis of phenotypic traits and quality characteristics of alfalfa (*Medicago sativa*) introduced from abroad germplasm resources. Journal of Plant Genetic Resources, 2018, 19(1): 103-111
- [18] 张学超, 任海龙, 唐式敏, 朱玲, 张胜军, 冉昇. 伊犁天山 160 份野苹果种质资源表型性状的遗传多样性分析. 植物遗传资源学报, 2021, 22(6): 1521-1530
Zhang X C, Ren H L, Tang S M, Zhu L, Zhang S J, Ran B. Genetic diversity analysis of phenotypic traits in 160 germplasm resources of *Malus sieversii* (Ledeb.) M. Roem. from Tianshan in Ili. Journal of Plant Genetic Resources, 2021, 22(6): 1521-1530
- [19] 甘晓燕, 郭玉琴, 巩榴, 陈虞超, 聂峰杰, 张丽, 宋玉霞. 24 份枸杞种质资源 SSR 遗传多样性分析. 分子植物育种, 2020, 18(5): 1697-1701
Gan X Y, Guo Y Q, Gong L, Chen Y C, Nie F J, Zhang L, Song Y X. Study on genetic diversity of 24 germplasm resources of *Lycium barbarum* L.. Molecular Plant Breeding, 2020, 18(5): 1697-1701
- [20] Xu D, Abe J, Gai J, Shimamoto Y. Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: Evidence for multiple origins of cultivated soybean. Theoretical and Applied Genetics, 2002, 105(5): 645-653
- [21] 李刚, 梁家卷, 潘建新, 彭小令, 田国梁. 多元统计分析及其应用. 中国科学: 数学, 2020, 50(5): 571-584
Li G, Liang J J, Pan J X, Peng X L, Tian G L. Multivariate statistical analysis and its application. Chinese Science: Mathematics, 2020, 50(5): 571-584
- [22] 杨雨薇, 王琳, 卢俊峰, 任翔, 徐鑫, 刘大林. 应用隶属函数法评价 10 个紫花苜蓿品种的耐热性. 草原与草坪, 2021, 41(4): 81-88
Yang Y W, Wang L, Lu J F, Ren X, Xu X, Liu D L. Evaluation of heat tolerance of 10 *Alfalfa* varieties by subordinate function method. Grassland and Lawn, 2021, 41(4): 81-88
- [23] 辛静, 高丽云, 徐剑, 赵文植, 王正德, 李卫英, 王飞, 辛培尧. 基于 SSR 标记的紫溪山华山松种子园无性系遗传多样性分析. 云南农业大学学报: 自然科学, 2021, 36(5): 898-904
Xin J, Gao L Y, Xu J, Zhao W Z, Wang Z D, Li W Y, Wang F, Xin P Y. Genetic diversity analysis of clones in *Pinus armandii* seed orchard of Zixi Mountain based on SSR markers. Journal of Yunnan Agricultural University: Natural Science, 2021, 36(5): 898-904
- [24] 马香艳, 刘乐乐, 尹美淇, 宋慧佳, 朱鹏程, 于晓娜, 杜宁, 王仁卿, 郭卫华. 基于野外调查和同质种植园实验的芦苇植物功能性状变异研究. 生态学报, 2021, 41(10): 3755-3764
Ma X Y, Liu L L, Yin M Q, Song H J, Zhu P C, Yu X N, Du N, Wang R Q, Guo W H. Variation in plant functional traits of *Phragmites australis* based on field investigation and common garden experiment. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(10): 3755-3764

- [25] 马昕彤, 范佳文, 徐豪, 胡雨佳, 曾斌. 异质生境不同居群的新疆地区野扁桃在同质园条件下叶片形态多样性的分析研究. 特种经济动植物, 2021, 24(9): 5-8
Ma X T, Fan J W, Xu H, Hu Y J, Zeng B. Analysis of leaf morphological diversity of wild almond in heterogeneous habitats and different populations in Xinjiang under homogeneous garden conditions. Special Economic Animals and Plants, 2021, 24(9): 5-8
- [26] 黎裕, 李英慧, 杨庆文, 张锦鹏, 张金梅, 邱丽娟, 王天宇. 基于基因组学的作物种质资源研究: 现状与展望. 中国农业科学, 2015, 48(17): 3333-3353
Li Y, Li Y H, Yang Q W, Zhang J P, Zhang J M, Qiu L J, Wang T Y. Research on crop germplasm resources based on genomics: Current situation and prospect. Scientia Agricultura Sinica, 2015, 48(17): 3333-3353
- [27] 李爱民, 吕敏丽, 周春鸣. 同质园栽培下的湖南鱼腥草居群叶表型性状多样性分析. 植物科学学报, 2018, 36(1): 73-85
Li A M, Lv M L, Zhou C M. Phenotypic diversity analysis of leaf traits in cultivated *Houttuynia cordata* Thunb populations from Hunan province. Plant Science Journal, 2018, 36(1): 73-85
- [28] 何涛, 樊小莉, 鲁璐, 黄田钊. 不同种源石斛表型性状多样性及其与地理因子的相关性. 植物资源与环境学报, 2021, 30(2): 1-11
He T, Fan X L, Lu L, Huang T F. Phenotypic traits diversity of *Dendrobium nobile* from different provenances and their correlation with geographical factors. Journal of Plant Resources and Environment, 2021, 30(2): 1-11
- [29] 程浩, 徐玉凤, 王文晓, 朱俊, 贾瑞冬, 杨树华, 赵鑫, 葛红. 中国硬叶兜兰主要分布区居群表型多样性分析. 园艺学报, 2020, 47(6): 1098-1110
Cheng H, Xu Y F, Wang W X, Zhu J, Jia R D, Yang S H, Zhao X, Ge H. Phenotypic diversity of *Paphiopedilum micranthum* populations from main distribution areas in China. Acta Horticulturae Sinica, 2020, 47(6): 1098-1110
- [30] 唐燕, 火艳, 宋敏, 祝遵凌, 任钢, 曹福亮, 亢文杰. 基于表型的枸杞属种质遗传多样性分析. 分子植物育种, 2020, 19(22): 7618-7628
Tang Y, Huo Y, Song M, Zhu Z L, Ren G, Cao F L, Kang W J. Genetic diversity analysis of *Lycium* germplasm based on phenotype. Molecular Plant Breeding, 2020, 19(22): 7618-7628
- [31] 解新明, 云锦凤. 植物遗传多样性及其检测方法. 中国草地, 2000(6): 51-59
Xie X M, Yun J F. Plant genetic diversity and its detection methods. Grassland of China, 2000(6): 51-59
- [32] 沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述. 生物学杂志, 2009, 18(3): 5-7
Shen H, Liu D Y. Overview of genetic diversity. Journal of Biology, 2009, 18(3): 5-7
- [33] 刘晓, 岳明, 任毅. 独叶草叶片性状表型多样性研究. 西北植物学报, 2011, 31(5): 950-957
Liu X, Yue M, Ren Y. Morphologic variation of *Kingdonia uniflora* leaves. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2011, 31(5): 950-957
- [34] 钟军, 王坤, 仇萍, 曾维军, 熊兴耀. 鱼腥草不同地理群体遗传结构与变异的研究. 草业学报, 2011, 20(2): 227-233
Zhong J, Wang K, Qiu P, Zeng W J, Xiong X Y. Genetic structure and variation in different geographical populations of *Houttuynia cordata*. Acta Prataculturae Sinica, 2011, 20(2): 227-233
- [35] 邵千顺, 高磊, 南雄雄, 徐美隆, 李永华, 王锦秀. 利用 SSR 技术对十七份枸杞材料进行遗传多样性分析及标准指纹图谱构建. 北方园艺, 2015, 39(12): 91-95
Shao Q S, Gao L, Nan X X, Xu M L, Li Y H, Wang J X. Genetic diversity analysis and standard fingerprint construction of seventeen *Lycium barbarum* L. materials were carried out using SSR technology. Northern Horticulture, 2015, 39(12): 91-95
- [36] Shi W, Yang C F, Chen J M, Guo Y H. Genetic variation among wild and cultivated populations of the Chinese medicinal plant *Coptis chinensis* (Ranunculaceae). Plant Biology, 2008, 10(4): 485-491
- [37] He J, Chen L, Si Y, Huang B, Ban X Q. Population structure and genetic diversity distribution in wild and cultivated populations of the traditional Chinese medicinal plant *Magnolia officinalis* subsp. *biloba* (Magnoliaceae). Genetica, 2009, 135(2): 233-243
- [38] 韩洪强. 利用形态学标记和 SSR 分子标记分析茄子种质资源遗传多样性. 上海: 上海交通大学, 2009
Han H Q. Analysis of genetic diversity of eggplant (*Solanum melongena* L.) by morphological markers and SSR markers. Shanghai: Shanghai Jiao Tong University, 2009