

# 新麦草种质的 SSR 遗传多样性及群体结构分析

张 晨<sup>1</sup>, 云 岚<sup>1,2</sup>, 李 珍<sup>1</sup>, 王 俊<sup>1</sup>, 郭宏宇<sup>1</sup>, 盛 誉<sup>1</sup>, 石子英<sup>1</sup>, 徐学宝<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>内蒙古农业大学草原与资源环境学院, 呼和浩特 010018;

<sup>2</sup>内蒙古农业大学牧草种质创新与育种研究所草地资源教育部重点实验室, 呼和浩特 010018)

**摘要:** 利用 38 对 SSR 引物对来源于不同国家与地区的 171 份野生和栽培新麦草单株种质进行遗传多样性和群体结构分析。研究结果显示, 有效引物在新麦草单株材料间共获得 308 个位点, 多态性位点 275 个, 多态性百分率为 89.29%, 供试新麦草材料的遗传相似性系数介于 0.537~0.899 之间, 平均为 0.742。群体结构分析、主成分分析与 NJ 聚类法均将供试材料分为 3 个类群, 且类群间的材料相互渗透形成混合类群, 分类结果与遗传相似性系数分析表明 171 份新麦草单株种质分布较集中; 3 种分类方法对新麦草材料 3 个不同类群的划分结果基本一致, 但混合类群的划分存在差异, 每个类群的新麦草单株材料来源背景不同, 未表现出明确的地域性规律。

**关键词:** 新麦草; SSR 分子标记; 遗传多样性; 群体结构; 主成分分析; NJ 聚类

## Genetic Diversity and Structure Analysis in *Psathyrostachys Nevski* Population Using SSR Markers

ZHANG Chen<sup>1</sup>, YUN Lan<sup>1,2</sup>, LI Zhen<sup>1</sup>, WANG Jun<sup>1</sup>, GUO Hong-yu<sup>1</sup>,  
SHENG Yu<sup>1</sup>, SHI Zi-ying<sup>1</sup>, XU Xue-bao<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Grassland, Resources and Environment, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018; <sup>2</sup>Forage Germplasm improving and Breeding Laboratory and Key Lab of Grassland Resources Ministry of Education P.R.China, Hohhot 010018)

**Abstract:** Genetic diversity and population structure analysis of 171 wild and cultivated *Psathyrostachys Nevski* individual germplasm from different countries and regions were conducted by 38 pairs of SSR primers. The result by using the primers revealed a total of 308 loci among *Psathyrostachys Nevski* individuals, with 275 polymorphic loci and a polymorphism percentage of 89.29%. The genetic similarity coefficient of the tested materials ranged from 0.537 to 0.899 with an average of 0.742. These accessions were divided into three groups by population structure analysis, principal component analysis and NJ clustering. The genetic similarity coefficient analysis showed that the distribution of *Psathyrostachys Nevski* individuals was more concentrated. The classification using three methods generally revealed three different groups of *Psathyrostachys Nevski* materials, despite that there were slightly different in the divisions of mixed groups. Since these *Psathyrostachys Nevski* individuals in each group showed different on genetic background, no clear correlation between geographic distribution and genetic diversity was observed.

**Key words:** *Psathyrostachys juncea* Nevski; SSR; genetic diversity; population structure; principal component analysis; NJ clustering

收稿日期: 2018-06-12 修回日期: 2018-07-06 网络出版日期: 2018-09-14

URL: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20180912.1123.002.html>

第一作者主要从事牧草遗传育种研究, E-mail: 904436041@qq.com

通信作者: 云岚, 主要从事牧草遗传育种研究, E-mail: nmg\_yunlan@163.com

基金项目: 国家自然科学基金项目(31460627); 内蒙古农业大学科技成果转化专项(YZGC2017012)

**Foundation project:** The Project of National Natural Science Foundation of China(31460627), The Scientific Achievements Transformation Project of Inner Mongolia Agricultural University(YZGC2017012)

新麦草(*Psathyrostachys juncea* (Fisch.) Nevski) 是禾本科(*Poaceae*) 小麦族(*Triticeae*) 新麦草属(*Psathyrostachys* Nevski) 中最具代表性的多年生异花授粉二倍体( $2n=2x=14$ ) 物种<sup>[1-2]</sup>, 也是该属唯一具有饲用价值的物种, 目前在我国已登记了 3 个牧草品种<sup>[3]</sup>。新麦草不仅是一种优良的放牧刈割兼用型禾草, 常被广泛应用于生态建设和绿地恢复<sup>[4]</sup>, 与此同时它所拥有的较强抗性基因也是改良麦类作物的宝贵遗传资源<sup>[5]</sup>。尽管新麦草的优良特性及其育种价值一直是众多学者探究的热点, 但新麦草可供试验的种质资源较少, 代表性不强, 材料来源背景也较为狭窄, 因此新麦草的育种工作与其他近缘物种相比有很大的滞后性, 这也限制了新麦草在我国的推广与利用。种质资源是育种研究的基础与资料<sup>[6]</sup>, 了解不同材料间的遗传背景差异、遗传多样性信息及遗传组成成分对育种研究和种质资源的保护有重大的意义。关于对新麦草遗传多样性的研究, 目前仅有结合 ISSR<sup>[7]</sup> (inter-simple sequence repeat) 和 RAPD<sup>[8]</sup> (random amplified polymorphic DNA) 两种分子标记技术的相关报道。SSR 分子标记 (simple sequence repeat) 具有高信息量的等位性变异<sup>[9]</sup>, 是二代分子标记技术中运用最广泛的技术之一, 同时也是研究植物种质资源遗传多样性的理想方法之一, 因此结合 SSR 分子标记技术发掘新麦草种质资源的特异片段与基因对研究新麦草遗传多样性有极大的帮助。

群体结构是由自然选择压力下的群体地域分化及基因交换形成的, 对研究群体 (或亚群体) 进化有重要的意义<sup>[10]</sup>。群体结构分析可以从形态学标记与分子标记两方面进行研究, 传统上一般采用表型性状的方法, 而仅依据表型性状提供的群体结构信息是不够准确的; 从本质上来说, 种质资源的形态学特征也是由遗传物质所决定并受控于其生境条件的, 所以只有正确的分析群体结构在基因水平上的变异分化程度才能真正掌握群体结构的核心<sup>[11]</sup>。目前还没有针对新麦草种质进行群体结构分析的相关报道和研究, 鉴于此, 本研究充分考虑到新麦草异花授粉的繁殖特性, 收集了来自不同国家与地区的 31 份新麦草野生和栽培品种材料的 171 个单株材料, 基于 SSR 分子标记技术首次对单株种质的 DNA 遗传物质分别进行遗传多样性分析和群体结构分析, 并对新麦草群体的遗传分化程度、亲缘关系、基因流动交换和个体混合程度等问题进行深入探讨, 旨在扩充新麦草种质资

源的遗传背景信息, 不断丰富新麦草种质的遗传信息结构, 为今后新麦草材料的关联分析、重要农艺性状的 QTL 定位和可持续利用提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 供试材料

供试的 31 份新麦草材料来源于不同国家和地区 (表 1), 其中编号以 2008 开头代表内蒙古农业大学保存的种质资源, 种子来源于内蒙古农业大学种子繁殖试验田; 其他材料种子均由美国国家植物种质库 (NPGS) 提供, 保留其原始编号。种子于 2013 年 5 月在内蒙古农业大学温室育苗后, 7 月单株移栽于种质资源圃, 生长 2 年后取其新鲜植物组织液氮冻存, 带回实验室磨样。

### 1.2 DNA 提取

采集 31 份新麦草材料的 171 个单株幼嫩分蘖放入 5 mL 冻存管中, 标记其在种质资源圃中的位置并进行编号 (表 1), 置于液氮保存带回实验室, 用改良的 CTAB 法提取其 DNA。用 1% 的琼脂糖凝胶和 Nanodrop 2000 检测质量和纯度, 工作浓度稀释至 30 ng/ $\mu$ L 左右,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.3 SSR-PCR 扩增反应

参考前人研究<sup>[12-16]</sup>提供的大麦引物, 选取均匀分布在大麦全基因组的 89 对引物, 由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 反应体系为 15  $\mu$ L, 包括 7.5  $\mu$ L 的 PCR Master Mix、各 0.5  $\mu$ L (10  $\mu$ mol/L) 的上下游引物以及 1  $\mu$ L 的模板 DNA 和 5.5  $\mu$ L 的 ddH<sub>2</sub>O。PCR 扩增体系为 94  $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min, 94  $^{\circ}\text{C}$  变性 30 s, 48-64  $^{\circ}\text{C}$  退火 30 s, 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 30 s, 共 35 个循环, 最后 72  $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min, 4  $^{\circ}\text{C}$  保存。扩增产物用 6% 非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测, 参考郭培国等<sup>[17]</sup>的银染改良方法对凝胶进行银染及显影。

### 1.4 数据统计分析

根据对照 Marker (50 bp) 的分子量, 将 SSR 引物扩增出的 DNA 片段由大到小依次排列, 相同大小的分子量迁移处, 有带记为“1”, 无带记为“0”, 用 Microsoft office 2010 整理统计结果, 建立 0-1 形式的二进制数字矩阵, 并按照不同处理软件的要求对数据进行转换。

由 Popgene32 软件分析得到 171 份新麦草单株材料的 Shannon 信息指数和基因多样性指数, 多态信息含量 (PIC, polymorphism information content)

表 1 供试材料的信息

Table 1 Information and origin of genotypes used in this study

编号 Code	品种(材料)名称 Varieties name	单株编号 Individual number	来源 Countries or regions
502577	K 40175	21、88、119、122、166	俄罗斯
565060	AJC-534	37、62、64、108、118	俄罗斯
598610	VIR U-0134973	8、74、106、113、82	哈萨克斯坦
565289	TETRA.	2、16、17、25、49、65、76、91、117、81、132	加拿大
434242	Sawki	11、77、100、157	加拿大
440626	D-1835	36	前苏联
502576	K 37772	6、7、12、13、18、29、71、98、123、144、153	俄罗斯
499559	D-2697	10、116、58	中国
565052	DJ-4155	4、9、23、69、87、145、152	俄罗斯
619487	96N-300	40、55	蒙古
565044	DJ-3890	34、46、51、53、84、104、109、124、155、167	俄罗斯
598614	VIR U-0134923	162	哈萨克斯坦
619483	96N-331	80、73、101、130、131、142	蒙古
200801	Mengnong No.4	1、44、45、102、141、154、156、164、170	中国
565051	DJ-4154	35、39、66、68、96、103、115、168、33	俄罗斯
272136	—	47、50、63、70、75、93、97、128	哈萨克斯坦
499560	D-2562	43、52、89、105、125、160、169	中国
595135	X93031	19、79、90、111、112	中国
476299	VINALL	3、27、107、165	美国
200802	Shandan	14、15、24、28、54、56、57、85、86、136	中国
531826	D-3139	5、61、78、83、95、114、121、126、133、147、148	中国
619565	96N-238	41、42、67、138	蒙古
406468	BOZOISKI	129、135、143	前苏联
531827	—	26、38、59、92、140	爱沙尼亚
578854	SWIFT	139、146	加拿大
531828	—	20、32、72、99、120、158	美国
502572	AR-142	94、171	前苏联
502573	AR-163	127、137、149、163、151	前苏联
200804	—	31、150、159	中国
200803	T-ND	22、60、134	中国
598611	—	30、48、110、161	哈萨克斯坦

“—”代表野生原始材料

“—” represents wild materials

由公式  $PIC=1-\sum_j^i p_{ij}^2$  计算得出,式中  $p_{ij}$  表示第  $i$  个位点的第  $j$  个等位基因变异频率。采用 Ntsys 2.10e 软件,对供试材料的遗传相似性系数(GS, genetic similarity coefficient)进行计算,构建主成分分析聚类图;以新麦草单株材料间的遗传距离为基础,运用软件 MEGA7.0 绘制邻接法(NJ, Neighbor-joining)聚类图。

群体结构分析使用 Structure2.3.4 软件,基于混合模型对 171 份新麦草单株材料进行群体结构分析,并计算遗传相似性权重值(Q 值)。将最优群体数  $K$  值的取值范围设定在 2~7 之间,设置 MCMC 开始时的不作数迭代(Length of burn-in period)为 50000 次,再将不作数迭代后的 MCMC 设为

100000 次。每个  $K$  值重复运行 5 次,以最大似然值为原则选取最佳的  $K$  值作为群体结构的最优群体数目,并用 Sigma plot2.5 描绘  $K$  值折线图。

## 2 结果与分析

### 2.1 SSR 多态性分析

从 40 对均匀分布在大麦 7 个连锁群上的 SSR 引物中筛选出 38 对有效引物,对 171 个新麦草单株进行分析检测(表 2),结果表明大部分 SSR 标记扩增的条带位于 100~250 bp 之间,扩增反应共检测到条带 308 个和多态性条带 275 个,平均每个标记扩增出 8.10 个条带,平均多态位点百分率达到 89.29%;171 份单株材料的基因多样性变幅水平为 0.0263~0.7810,平均值为 0.2461;Shannon 信息指数

表 2 38 个 SSR 标记的多态性分析

Table 2 Polymorphism analysis of 38 SSR markers

引物 Primer	大麦染色体 Chromosome of barley	多态位点数 Number of polymorphic loci	多态位点百分率(%) The percent of polymorphic loci	基因多样性 Gene diversity	Shannon 信息指数 Shannon index	多态信息含量 <i>PIC</i>
EBmac0783	1H	15	100	0.6591	0.6587	0.4664
Bmac0154	1H	6	100	0.3486	0.5703	0.3887
Bmag0382	1H	6	100	0.2301	0.3753	0.2301
HVM4	1H	2	50	0.0566	0.1138	0.0566
Bmag0347	1H	5	100	0.2803	0.4481	0.2863
Bmac032	1H	5	83	0.2932	0.4352	0.2932
Bmac0213	1H	1	50	0.0648	0.1264	0.0648
Bmac399	1H	6	100	0.2573	0.4126	0.2573
EBmac0415	2H	7	88	0.2890	0.4360	0.2868
EBmac0684	2H	9	90	0.1145	0.2135	0.1145
Bmac0218	2H	8	100	0.1911	0.3166	0.1911
Bmag0381	2H	1	33	0.1341	0.2101	0.1461
EBmac0737	2H	14	100	0.2334	0.3706	0.2334
Bmag006	3H	17	100	0.7810	0.6736	0.4810
HVM44	3H	2	67	0.0549	0.1537	0.0786
HVM9	3H	9	100	0.2818	0.4427	0.2801
EBmac0705	3H	14	100	0.2300	0.3478	0.2112
EBmac0871	3H	6	100	0.2066	0.3415	0.2066
GMS116	3H	9	82	0.2691	0.4156	0.2701
Bmag0136	3H	8	100	0.3999	0.5714	0.3857
EBmac0691	4H	5	83	0.4132	0.4688	0.3142
HVM40	4H	10	91	0.2108	0.3903	0.2578
EBmac0701	4H	7	100	0.2785	0.4697	0.3080
HVM67	4H	14	93	0.3516	0.4971	0.3355
EBmac0658	4H	9	90	0.1497	0.2992	0.1857
HVM3	4H	8	89	0.0712	0.1148	0.0504
HVM63	5H	7	78	0.2978	0.3483	0.2344
GMS27	5H	7	100	0.3071	0.4967	0.3194
Bmag0004	6H	5	83	0.2407	0.3426	0.2244
Bmag0173	6H	8	73	0.1988	0.3468	0.2221
Bmac040	6H	2	33	0.0263	0.0355	0.0145
HVM74	6H	6	86	0.1582	0.2598	0.1576
Bmac0316	6H	8	100	0.2530	0.4101	0.2530
EBmac0806	6H	5	63	0.2093	0.3263	0.2164
HVLEU	7H	7	100	0.1894	0.3200	0.1894
HVM30	7H	3	75	0.2604	0.3734	0.2604
Bmag0206	7H	9	100	0.2600	0.4175	0.2480
Bmag0120	7H	5	71	0.1003	0.2687	0.1616
平均 Mean	—	7.24	89.29	0.2461	0.3637	0.2337

介于 0.0355~0.6736 之间,平均为 0.3637, Shannon 信息指数最高的是位于 3H 染色体的标记 Bmag006, 最小值是位于 6H 染色体上的 Bmac040, 多态信息含量 PIC 的变幅在 0.0145~0.4810 之间。

## 2.2 遗传相似性系数

以现有的样本量, 171 份新麦草单株材料的遗传相似性系数 (GS) 变幅水平是 0.537~0.899, 平均为 0.742, 说明单株新麦草材料的 GS 水平较高。其中, 亲缘关系较远的是来自哈萨克斯坦 598610 的单株材料和中国 499559 的单株材料 (GS=0.537), 而

来自俄罗斯 565051 的单株材料与来自中国 595135 的单株材料则亲缘关系最近 (GS=0.899)。

为了揭示各材料单株的差异变化, 对相同材料内单株的遗传相似性系数变幅水平 (表 3) 进行分析, 结果显示俄罗斯新麦草材料 565044 的单株间遗传相似性系数变幅最大; 其次为哈萨克斯坦材料 598610, 且其平均遗传相似性系数最小并低于整体单株遗传相似性系数的平均值。由此说明 565044 的新麦草单株种质遗传变异波动较大, 遗传背景较丰富。

表 3 31 份新麦草材料内单株间的遗传相似性系数变幅

Table 3 Variation of similarity coefficients between individual plants in 31 *P.juncea* materials

编号 Varieties code	遗传相似性系数变幅 Range of similarity coefficients	平均 Mean	编号 Varieties code	遗传相似性系数变幅 Range of similarity coefficients	平均 Mean
502577	0.735~0.890	0.795	499560	0.636~0.822	0.731
565060	0.724~0.824	0.757	595135	0.706~0.781	0.750
598610	0.574~0.803	0.700	476299	0.669~0.781	0.715
565289	0.731~0.894	0.790	200802	0.678~0.894	0.768
434242	0.754~0.795	0.790	531826	0.644~0.839	0.740
440626	—	—	619565	0.660~0.800	0.753
502576	0.681~0.852	0.757	406468	0.755~0.802	0.778
499559	0.678~0.745	0.719	531827	0.690~0.800	0.757
565052	0.704~0.851	0.753	578854	0.848	0.848
619487	0.707	0.707	531828	0.765~0.874	0.798
565044	0.662~0.898	0.762	502572	0.734	0.734
598614	—	—	502573	0.732~0.796	0.761
619483	0.633~0.823	0.725	200804	0.723~0.779	0.749
200801	0.705~0.871	0.757	200803	0.706~0.770	0.738
565051	0.725~0.851	0.774	598611	0.690~0.791	0.747
272136	0.690~0.797	0.749			

“—”代表该材料单株样本量为 1; 无遗传相似性系数变幅的材料单株样本量为 2

“—” represents the sample size of the material is 1, and the sample size of individuals in their materials without variation of similarity coefficients are 2

## 2.3 群体结构分析

由于新麦草异花授粉的繁殖特性, 使得新麦草群体间不仅存在遗传变异, 群体内单株的遗传变异分化也不尽相同。为进一步揭示新麦草单株种质的遗传组分, 利用 Structure2.3.4 软件对 171 份新麦草单株材料的 308 个 SSR 标记位点信息进行分析, 以选取的  $K$  值范围 ( $K=2\sim7$ ) 为横坐标, 自然对数后的似然值  $\ln P(D)$  为纵坐标建立折线图 (图 1A), 当  $K$  值随  $\ln P(D)$  持续增大时, 无法确定最优群体数, 因此参考 Evanno 等<sup>[18]</sup> 的方法引入  $\Delta K$  值来确定  $K$  值的最佳数目 (图 1B), 当  $K$  值随  $\Delta K$  值的变化出现明显的峰值时, 则作为最优群体数 ( $K=3$ ), 因此群体结构分析结果将 171 份新麦草单株材料划分为 3 个类群 (图 2)。

分析新麦草单株材料不同类群的  $Q$  值时, 为了能够充分体现单株间的遗传组成成分, 将  $Q$  值大于

或等于 0.6 的共 159 份新麦草材料 (92.98%), 划归到相应的 3 个类群中, 并认为其遗传结构相对单一; 其余 12 份新麦草单株材料的遗传结构具有复杂的混合来源, 无法明确归属类群, 因此均划归为混合类群中 (表 4)。由表 4 可知, 类群 1 的新麦草单株材料最多有 89 份 (52.05%), 其次类群 2 的新麦草单株材料有 63 份 (36.84%), 类群 3 的材料最少只有 7 份 (4.09%)。在所有的单株新麦草材料中, 同种新麦草的单株材料遗传组分及划分类群也存在差异, 比如蒙古新麦草材料 619483 的 6 个单株, 其中 5 个被划分到 3 个不同的类群中, 1 个则划分到混合类群中; 新麦草材料 200801 和 200802 群体内的多数单株材料也划归到类群 1 和类群 2 中, 200801 的 1 个单株材料还被划归到混合类群中, 表明了同一份新麦草材料单株间遗传结构差异性较大。

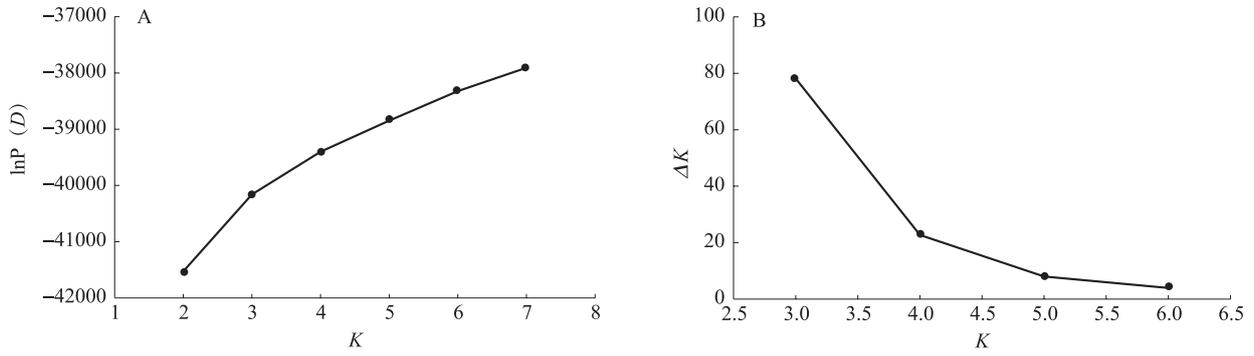
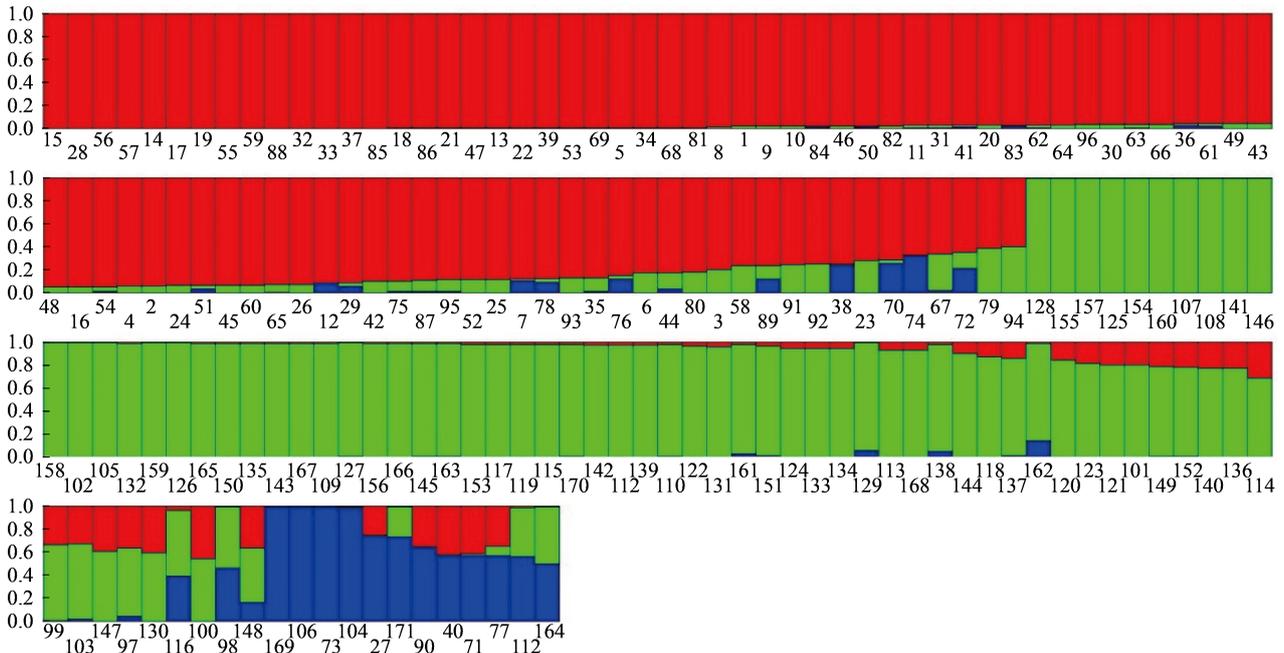


图 1 K 值与  $\ln P(D)$  和  $\Delta K$  趋势变化图  
 Fig.1 The distribution of  $K$ -values with  $\ln P(D)$  and  $K$ -values with  $\Delta K$



图中 1~171 材料编号与表 1 单株编号相对应,下同  
 The material number of 1 to 171 same as the number of the individual in Table 1, the same as below

图 2 171 个新麦草单株材料的群体结构  
 Fig.2 Population structure on 171 individuals of *P.juncea* (Fisch.) Nevski germplasm

表 4 171 份新麦草单株分成 3 个不同类群的 Q 值  
 Table 4 Q value of 171 *P.juncea* individuals in three groups

单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group	单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group
1	0.978	0.020	0.002	1	12	0.910	0.004	0.086	1
2	0.937	0.061	0.002	1	13	0.989	0.008	0.003	1
3	0.793	0.202	0.004	1	14	0.994	0.004	0.002	1
4	0.942	0.054	0.003	1	15	0.996	0.003	0.001	1
5	0.987	0.011	0.002	1	16	0.943	0.056	0.001	1
6	0.827	0.167	0.006	1	17	0.994	0.004	0.001	1
7	0.877	0.010	0.113	1	18	0.992	0.005	0.002	1
7	0.980	0.018	0.003	1	19	0.994	0.004	0.002	1
9	0.978	0.020	0.001	1	20	0.966	0.033	0.001	1
10	0.975	0.023	0.002	1	21	0.990	0.008	0.002	1
11	0.971	0.016	0.012	1	22	0.989	0.009	0.002	1

表4(续)

单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group	单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group
23	0.721	0.277	0.002	1	74	0.667	0.007	0.326	1
24	0.935	0.063	0.002	1	75	0.893	0.087	0.019	1
25	0.881	0.117	0.002	1	76	0.847	0.028	0.126	1
26	0.922	0.076	0.003	1	77	0.348	0.08	0.572	—
27	0.249	0.002	0.750	3	78	0.872	0.031	0.097	1
28	0.996	0.002	0.001	1	79	0.608	0.387	0.005	1
29	0.910	0.026	0.064	1	80	0.819	0.178	0.002	1
30	0.960	0.035	0.004	1	81	0.986	0.010	0.005	1
31	0.967	0.024	0.009	1	82	0.972	0.025	0.003	1
32	0.993	0.005	0.003	1	83	0.966	0.009	0.025	1
33	0.993	0.006	0.001	1	84	0.974	0.008	0.018	1
34	0.987	0.012	0.002	1	85	0.993	0.006	0.001	1
35	0.868	0.116	0.016	1	86	0.991	0.007	0.002	1
36	0.955	0.015	0.030	1	87	0.887	0.096	0.017	1
37	0.993	0.005	0.002	1	88	0.994	0.004	0.002	1
38	0.746	0.005	0.249	1	89	0.761	0.111	0.128	1
39	0.989	0.009	0.002	1	90	0.346	0.005	0.649	3
40	0.421	0.002	0.577	—	91	0.751	0.248	0.001	1
41	0.967	0.018	0.014	1	92	0.749	0.249	0.002	1
42	0.895	0.103	0.002	1	93	0.871	0.126	0.003	1
43	0.951	0.047	0.002	1	94	0.596	0.402	0.002	—
44	0.823	0.139	0.038	1	95	0.885	0.095	0.020	1
45	0.933	0.065	0.002	1	96	0.962	0.036	0.002	1
46	0.973	0.023	0.004	1	97	0.360	0.591	0.049	—
47	0.990	0.005	0.005	1	98	0.007	0.526	0.467	—
48	0.946	0.051	0.002	1	99	0.329	0.657	0.014	2
49	0.954	0.045	0.001	1	100	0.457	0.540	0.003	—
50	0.973	0.006	0.021	1	101	0.196	0.802	0.002	2
51	0.935	0.026	0.039	1	102	0.006	0.991	0.002	2
52	0.884	0.114	0.002	1	103	0.323	0.652	0.025	2
53	0.988	0.004	0.008	1	104	0.002	0.007	0.991	3
54	0.943	0.042	0.015	1	105	0.007	0.991	0.002	2
55	0.994	0.003	0.003	1	106	0.002	0.002	0.996	3
56	0.996	0.003	0.001	1	107	0.004	0.992	0.004	2
57	0.995	0.003	0.002	1	108	0.006	0.992	0.002	2
58	0.763	0.233	0.004	1	109	0.010	0.985	0.004	2
59	0.994	0.005	0.002	1	110	0.020	0.968	0.012	2
60	0.932	0.063	0.005	1	111	0.028	0.971	0.002	2
61	0.955	0.017	0.027	1	112	0.014	0.415	0.572	—
62	0.965	0.025	0.010	1	113	0.065	0.933	0.002	2
63	0.960	0.026	0.014	1	114	0.312	0.685	0.003	2
64	0.965	0.034	0.002	1	115	0.017	0.977	0.006	2
65	0.926	0.066	0.008	1	116	0.031	0.570	0.399	—
66	0.958	0.041	0.002	1	117	0.018	0.978	0.004	2
67	0.659	0.315	0.026	1	118	0.128	0.870	0.002	2
68	0.986	0.013	0.001	1	119	0.019	0.978	0.003	2
69	0.988	0.011	0.002	1	120	0.155	0.841	0.004	2
70	0.711	0.025	0.264	1	121	0.193	0.806	0.001	2
71	0.414	0.008	0.577	—	122	0.030	0.968	0.002	2
72	0.645	0.138	0.217	1	123	0.180	0.816	0.005	2
73	0.005	0.002	0.993	3	124	0.055	0.944	0.001	2

表 4(续)

单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group	单株编号 Individual number	Q1	Q2	Q3	类群 Group
125	0.006	0.993	0.001	2	149	0.212	0.780	0.008	2
126	0.007	0.990	0.003	2	150	0.009	0.989	0.002	2
127	0.007	0.985	0.007	2	151	0.033	0.952	0.015	2
128	0.003	0.996	0.001	2	152	0.218	0.774	0.008	2
129	0.006	0.936	0.057	2	153	0.016	0.981	0.003	2
130	0.407	0.591	0.002	—	154	0.005	0.993	0.002	2
131	0.036	0.958	0.006	2	155	0.004	0.995	0.001	2
132	0.008	0.991	0.001	2	156	0.012	0.985	0.003	2
133	0.053	0.944	0.003	2	157	0.005	0.994	0.001	2
134	0.054	0.943	0.003	2	158	0.007	0.992	0.001	2
135	0.011	0.986	0.003	2	159	0.004	0.991	0.005	2
136	0.228	0.768	0.005	2	160	0.005	0.993	0.002	2
137	0.140	0.844	0.017	2	161	0.016	0.953	0.031	2
138	0.020	0.924	0.056	2	162	0.011	0.844	0.145	2
139	0.025	0.969	0.005	2	163	0.009	0.983	0.007	2
140	0.227	0.771	0.002	2	164	0.006	0.487	0.506	—
141	0.006	0.992	0.002	2	165	0.008	0.990	0.003	2
142	0.023	0.974	0.002	2	166	0.013	0.985	0.002	2
143	0.012	0.986	0.001	2	167	0.012	0.986	0.001	2
144	0.095	0.901	0.004	2	168	0.066	0.932	0.003	2
145	0.008	0.983	0.010	2	169	0.001	0.002	0.997	3
146	0.006	0.992	0.002	2	170	0.017	0.975	0.008	2
147	0.392	0.602	0.005	2	171	0.003	0.255	0.741	3
148	0.359	0.476	0.164	—					

“—”代表混合类群

“—” represents the mix group

## 2.4 主成分分析及聚类分析

依据第一与第二主成分对新麦草单株材料构建主成分分析图(图3),如图所示材料在二维平面上的位置远近代表了其亲缘关系的远近程度,因此可以明显地将参试的新麦草单株材料分为3大类(图中所示A、B、C代表相应类群名称),与群体结构分析划分的类群结果相吻合,即类群A对应类群2,类群B对应类群1,类群C对应类群3,类群ABC重叠的部分也对应群体结构的混合类群。从3个类群的分布情况可知,类群A与B的单株材料分布较为集中,类群C的单株材料分布相对分散。由Structure2.3.4软件得到类群单株材料的近交系数( $F_{st}$ , inbreeding coefficient)大小顺序:类群3(0.3495)>类群2(0.1460)>类群1(0.1308),由此说明类群C的单株材料遗传分化程度和遗传多样性最高。3个类群之间的基因流( $N_m$ , gene flow)为 $N_m=3.1486>1$ ,说明类群间存在着较高频率的基因交流情况。

基于新麦草单株材料的遗传距离构建了171

份材料的NJ聚类图(图4),由图可知,新麦草单株材料的划分情况并不十分明显;鉴于此,结合群体结构分析结果(红色部分代表类群1材料、绿色部分代表类群2材料、蓝色部分代表类群3材料、紫色部分代表混合类群材料)显示,171份新麦草单株种质的分布情况基本符合群体结构分析;其中,类群1与类群2的单株材料在聚类图中的分布位置相对较近,类群3的单株材料分布位置相对较远。

对比群体结构分析、聚类分析和主成分分析对171份新麦草单株材料的划分结果发现,遗传结构相对单一的材料在3种不同的数学模型中划分结果基本吻合,而遗传结构相对复杂、归属于混合类群的单株材料的划分则存在一定的差异。值得注意的是,3种分析结果并没有依据地理来源的分布对171份新麦草单株材料进行划分,每个类群内的新麦草单株材料都分布于不同的地理生境,说明参试的新麦草单株材料的遗传结构不具有明显的地域分布规律。

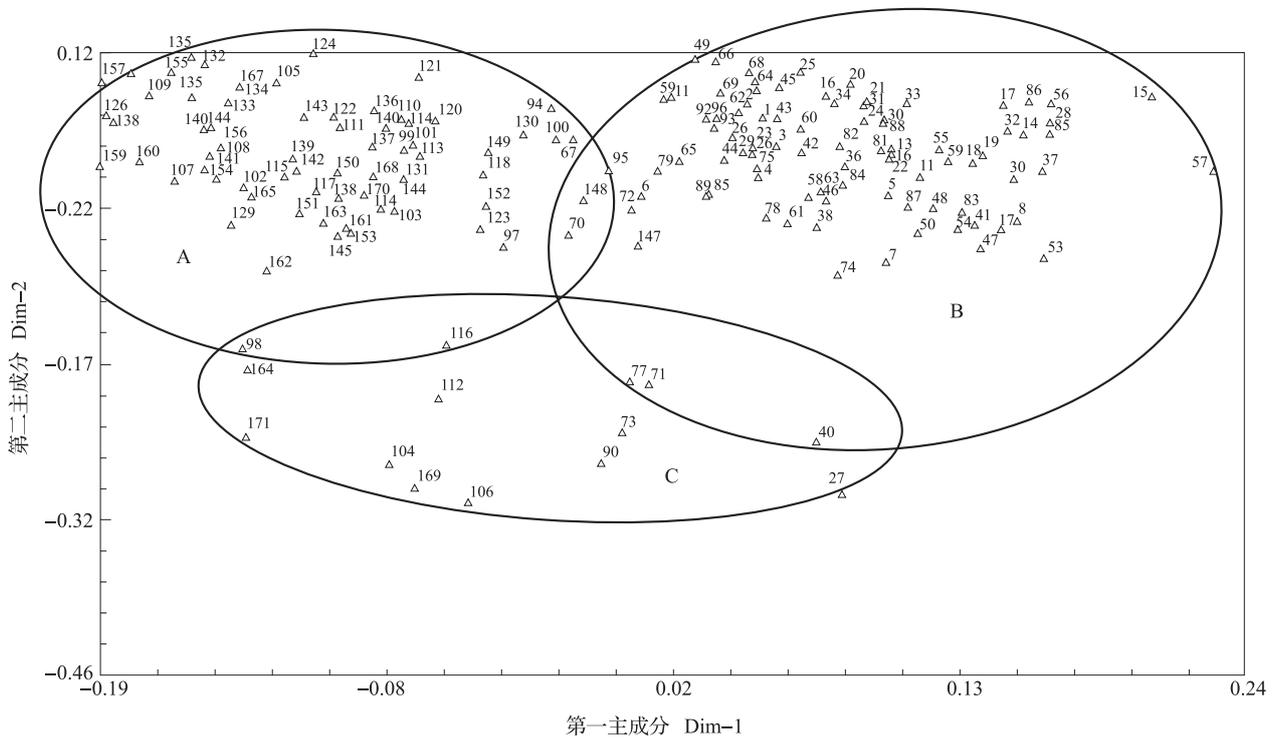


图3 171个新麦草单株的主成分分析图

Fig.3 The principal component analysis of 171 individuals of *P.juncea* germplasm

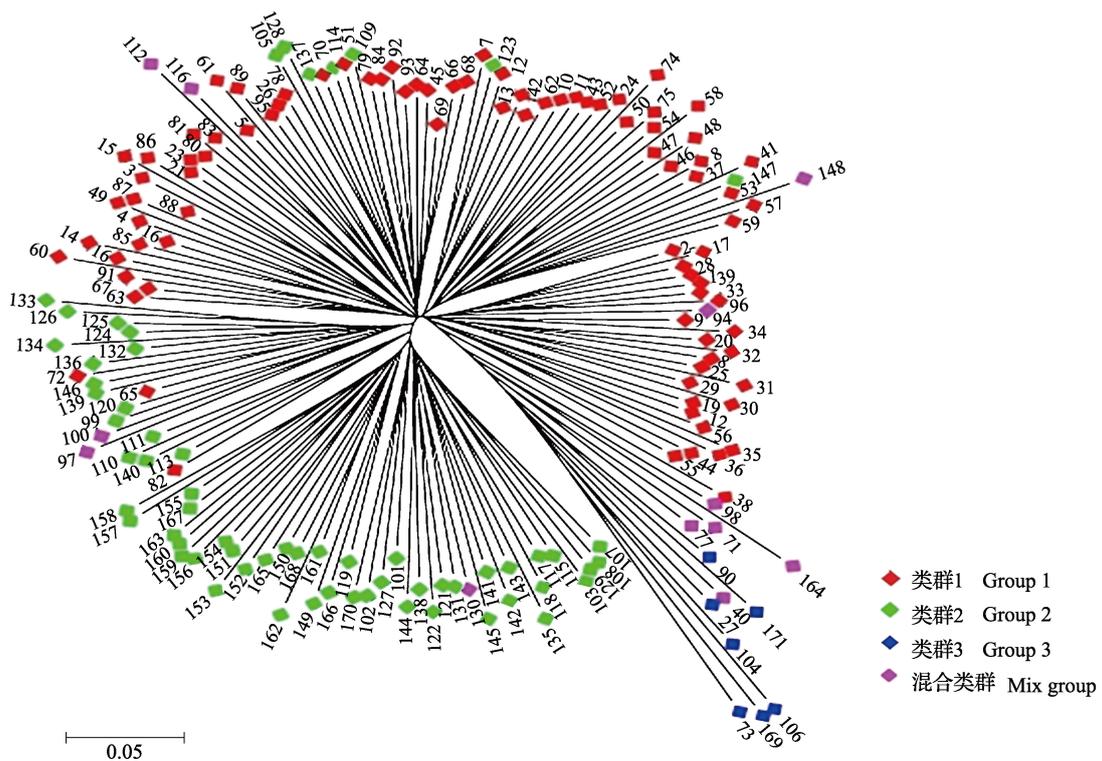


图4 171个新麦草单株的NJ法聚类图

Fig.4 The map of Neighbor-joining on 171 individuals of *P.juncea* (Fisch.) Nevski germplasm

### 3 讨论

#### 3.1 大麦 SSR 引物的通用性及多态性

由于结合 SSR 分子标记技术对新麦草种质资源的研究正处于初步发展阶段,缺乏相关可供参考的资料;引物的通用性对分析亲缘种属的遗传多样性及其基因组进化演变关系具有一定的参考价值<sup>[19]</sup>,目前已有诸多报道表明了小麦族中特别是小麦 SSR 标记和 EST-SSR 标记的跨物种应用潜力<sup>[19-22]</sup>,采用大麦引物的通用性研究还未见报道;然而与小麦相比,新麦草与大麦拥有相同数目的 7 个连锁群,因此本研究首次尝试从大麦序列中开发可以利用的有效 SSR 引物对 171 份新麦草单株种质进行遗传多样性研究,研究结果表明,从参试的 40 对大麦 SSR 引物中筛选出了 38 对有效引物,且在新麦草材料中的平均多态性百分率高达 89.29%,表明 SSR 引物在大麦和新麦草之间具有很好的通用性。同时各 SSR 标记的基因多样性指数、Shannon 信息指数和信息多样性指数也揭示了新麦草种质资源之间丰富的多态性,与前人研究<sup>[7-8]</sup>结果相比,本研究中的新麦草材料具有更高的遗传多样性,这可能是由于研究所选用的新麦草材料同时包含野生原始材料和栽培品种,且其地理来源更加广泛。此外,前人研究显示,标记的多态性水平和数量指标与其所反映的种质资源遗传多样性水平基本趋于一致,而选用多态性好的标记则对参试材料遗传参数评估的准确性有显著性的影响;苏龙等<sup>[23]</sup>在对广西药用野生稻的遗传多样性进行评估时发现,标记数量增加与分析结果准确度之间没有呈现绝对正比关系,相反选用多态性好的标记所呈现的结果准确度较高;章秋平等<sup>[24]</sup>通过对杏遗传多样性所需 SSR 等位变异数目的计算得出了可以客观估算杏遗传多样性研究的最少 SSR 等位变异数目,并特别指出所选的 SSR 标记应尽量均匀分布于所在染色体上。本研究选用的 38 对 SSR 有效引物较均匀的分布于近缘物种大麦的 7 条染色体上,通过 SSR 标记的检测得到新麦草群体 PIC 值介于 0.0145~0.4810 之间,基因多样性介于 0.0263~0.7810 之间,研究结果既对大麦 SSR 引物在新麦草材料中的通用性进行了分析,同时也表明筛选的引物较客观地反映了参试新麦草种质资源的遗传多样性。

#### 3.2 新麦草单株种质遗传变异背景

本研究中新麦草单株材料的遗传相似性系数

介于 0.537~0.899 之间,平均值为 0.742,说明新麦草材料整体的 GS 水平偏高,与前人研究<sup>[7-8]</sup>结果相似,与前期对新麦草群体材料的遗传相似性系数(0.594~0.820,均值为 0.722)研究相比<sup>[25]</sup>,单株新麦草材料的遗传差异波动性较大,但整体平均水平较为接近,说明新麦草单株材料的遗传变异性更大;笔者认为这与新麦草材料异花授粉的繁殖特性有密切的关系,新麦草单株材料通过有性繁殖与克隆繁殖(营养繁殖)两种方式,使得携带不同频率的杂合体被保留下来,由此在新麦草群体内形成了一定的异质性,这也是新麦草群体内的单株之间具有较高遗传多样性的主要原因之一,与杭焱等<sup>[26]</sup>对华山新麦草(*Psathyrostachys huashanica* Keng ex P.C.Kuo)居群的 ISSR 遗传多样性分析结果一致。尽管新麦草单株与群体材料的遗传相似性水平均较高,分布也比较集中,但由于新麦草具有较丰富的遗传多态性,也表明新麦草的杂交育种优势仍有很大的发展空间,与张云等<sup>[27]</sup>对中国水稻两用核不育系现有骨干亲本材料遗传多样性研究结果较一致。在今后的研究中应加强对更多变异类型的引进,丰富新麦草材料的遗传背景,才能更加客观地反映新麦草种质资源的遗传变异程度。

在对新麦草单株材料的群体结构进行分析时发现划分的 3 个类群的基因流  $Nm=3.1486>1$ , Ellstrand 等<sup>[28]</sup>认为基因流 ( $Nm$ ) $<1$  代表植物群体间存在较大的遗传分化水平,相反基因流 ( $Nm$ ) $>1$  则代表植物群体间的遗传分化较小。因此,说明了不同的新麦草类群间存在较频繁的基因交流,而群体间的遗传物质交换会减弱群体的遗传漂变,从而降低群体间的遗传分化程度,这可能是类群间分化差异不显著的原因之一。基因流可以使具有不同等位基因的群体产生新的遗传组合,进而使群体内的个体具有更强的适应力。

#### 3.3 新麦草单株种质的遗传结构及聚类分析

通过 Structure2.3.4 得到 171 份新麦草单株材料的遗传结构,并将其划分为 3 个不同类群与 1 个混合类群,揭示了不同来源的参试新麦草单株种质的群体遗传组成成分的变化;与此同时,还基于遗传距离对新麦草单株材料分别构建 PCA 主成分分析图与 NJ 聚类图,3 种分析方法基于不同的数学模型对新麦草单株进行聚类分析,结果显示遗传结构较为单一的材料在 3 种方法中的划分基本一致,而具有复杂遗传结构的单株材料划分结果则各有差异。由于 PCA 主成分分析与 NJ 聚类法均为基于

材料的遗传距离对其亲缘关系的远近程度进行表达的分析方法,在类群划分时常由于人为主观因素<sup>[29]</sup>将平面区域位置较近者划归为一类,因此对不同类群间相互渗透材料的划分不易掌握,而群体结构分析基于哈温平衡和贝叶斯算法,避免了因人为因素对群体划分出现的偏差,分析结果更加客观科学,因此这一方法正日益广泛应用于种质资源类群划分和遗传结构分析<sup>[30]</sup>。

本研究发现通过3种分析方法对171份新麦草单株种质的划分,未能将其按照不同的地理来源进行区分,每个划分类群的新麦草材料来源都十分丰富,相同材料的单株划分也不尽相同,体现了新麦草单株材料丰富的遗传差异,笔者认为可能在引种培育过程中,由于人为因素和对引种地区的适应性导致不同的新麦草单株种质间同质性增强,模糊了材料间原始地理来源的分化,再加上新麦草材料间存在着一定频率的基因交流,使得供试新麦草单株的遗传分化趋向一致,与苏一钧等<sup>[31]</sup>对甘薯的群体结构分析结果一致。

本研究主要以SSR分子标记为基础对新麦草单株种质的遗传群体结构进行了分析,后续还将进一步结合新麦草单株材料的表型性状对群体结构进行深入的分析,探讨新麦草单株材料的遗传群体结构划分与表型性状之间的联系。

#### 参考文献

- [1] 王比德. 新麦草生物学和经济学特性的研究. 中国草地, 1990(5): 35-38  
Wang B D. Research on biological and economical character of Russian wildrye. Grassland of China, 1990(5): 35-38
- [2] 白可喻, 王培, 韩建国. 放牧强度对新麦草人工草地氮素在牧草与土壤中的分配和动态的影响. 草地学报, 1999, 7(1): 46-53  
Bai K Y, Wang P, Han J G. Nitrogen distribution at grass-soil system and growing dynamic on Russian Wildryegrass pasture as influenced by grazing. Acta Agrestia Sinica, 1999, 7(1): 46-53
- [3] 王勇, 徐春波, 石凤翎, 云锦凤. 蒙农4号新麦草种子产量影响因素研究. 种子, 2014, 33(9): 87-89  
Wang Y, Xu C B, Shi F L, Yun J F. Studies on seed yields influence factors of *Psathyrostachys Juncea* cv. Mengnong No.4. Seed, 2014, 33(9): 87-89
- [4] 谷安琳, Larry Holzworth, 云锦凤. 新麦草在内蒙古干旱草原的建植试验. 中国草地, 1994(5): 12-14  
Gu A L, Larry Holzworth, Yun J F. Establishment of two entries of *Psathyrostachys juncea* the arid and semi-arid Areas in Inner Mongolia. Grassland of China, 1994(5): 12-14
- [5] 于晓丹, 张蕴薇. 新麦草研究进展. 草业与畜牧, 2010(1): 5-8, 13  
Yu X D, Zhang Y W. Research progress of *Psathyrostachys juncea*. Prataculture & Animal Husbandry, 2010(1): 5-8, 13
- [6] 赖勇, 王晋民, 任龙, 朱慧琴, 马辉, 王金贵, 巨霞, 李宗仁. 大麦 SSR 标记遗传多样性及连锁不平衡分析. 核农学报, 2016, 30(10): 1889-1897  
Lai Y, Wang J M, Ren L, Zhu H Q, Ma H, Wang J G, Ju X, Li Z R. Genetic diversity and linkage disequilibrium analysis of barley using SSR markers. Journal of Nuclear Agricultural Sciences, 2016, 30(10): 1889-1897
- [7] 刘永财, 孟林, 张国芳, 毛培春, 张德罡. 新麦草种质遗传多样性的 ISSR 分析. 华北农学报, 2009, 24(5): 107-112  
Liu Y C, Meng L, Zhang G F, Mao P C, Zhang D G. Genetic diversity analysis of 15 *Psathyrostachys juncea* germplasm resources by ISSR molecular marker. Acta Agriculturae Boreali-Sinica, 2009, 24(5): 107-112
- [8] Wei J Z, Campbell W F, Wang R R C. Genetic variability in Russian wildrye (*Psathyrostachys juncea*) assessed by RAPD. Genetic Resources and Crop Evolution, 1997, 44(2): 117-125
- [9] 罗兵, 孙海燕, 徐港明, 扬志刚, 沈宗根, 顾雯雯, 高阳, 郑佳亮. SSR 分子标记研究进展. 安徽农业科学, 2013, 41(12): 5210-5212, 5246  
Luo B, Sun H Y, Xu G M, Yang Z G, Shen Z G, Gu W W, Gao Y, Zheng J L. Research progress of SSR molecular marker. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2013, 41(12): 5210-5212, 5246
- [10] 王娟, 杜建材, 王照兰, 刘佳月, 李青丰. 36 份苜蓿种质材料遗传多样性的 SSR 分子标记. 中国草地学报, 2016, 38(2): 20-25  
Wang J, Du J C, Wang Z L, Liu J Y, Li Q F. Genetic diversity analysis of 36 Alfalfa accessions based on SSR markers. Chinese Journal of Grassland, 2016, 38(2): 20-25
- [11] 史晓红, 郭平仲. 分子标记与小麦群体遗传结构分析. 首都师范大学学报: 自然科学版, 2000, 21(1): 59-65  
Shi X H, Guo P Z. Molecular marker and analysis of population genetic structure in wheat. Journal of Capital Normal University: Natural Science Edition, 2000, 21(1): 59-65
- [12] Liu Z W, Biyashev R M, Saghai Maroof M A. Development of simple sequence repeat DNA markers and their integration into a barley linkage map. Theoretical and Applied Genetics, 1996, 93: 869-876
- [13] Struss á, Plieske D J. The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. Theoretical and Applied Genetics, 1998, 97: 30
- [14] Lakew B R, Henry J, Eglinton J, Baum M, Ceccarelli S, Grando S. SSR analysis of introgression of drought tolerance from the genome of *Hordeum spontaneum* into cultivated barley (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*). Euphytica, 2013, 191: 231-243
- [15] Ramsay L, Macaulay M. A simple sequence repeat-based linkage map of barley. Genetics, 2000, 156: 1997-2005
- [16] Varshney R K, Marcel T C, Ramsay L, Russell J, Roder M S, Stein N, Waugh R, Langridge P, Niks R E, Graner A. A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. Theoretical and Applied Genetics, 2007, 114: 1091-1103
- [17] 郭培国, 刘文杰, 李海洋, 王直亮, 夏岩石, 李荣华. 一种快速有效检测 SSR 标记的非变性聚丙烯酰胺凝胶的银染方法. 广州大学学报: 自然科学版, 2016, 15(4): 8-12, 49  
Guo P G, Liu W J, Li H Y, Wang Z L, Xia Y S, Li R H. A rapid and effective method of silver staining for detecting SSR markers

- in nondenaturing polyacrylamide gels. *Journal of Guangzhou University: Natural Science Edition*, 2016, 15(4): 8-12, 49
- [ 18 ] 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
- [ 19 ] 程雪妮, 王颖, 庞玉辉, 陈新宏, 武军, 赵继新. 小麦 SSR 和 EST-SSR 引物对无芒雀麦的通用性分析. *植物科学学报*, 2014, 32(1): 27-33  
Cheng X N, Wang Y, Pang Y H, Chen X H, Wu J, Zhao J X. Primer transferability analysis on SSR and EST-SSR markers from *Triticum aestivum* to *Bromus inermis*. *Plant Science Journal*, 2014, 32(1): 27-33
- [ 20 ] 宿俊吉, 柴守诚, 刘伟华, 杨欣明, 李立会. 普通小麦 SSR 和 EST-SSR 引物对冰草通用性的比较分析. *西北植物学报*, 2007, 27(7): 1311-1316  
Su J J, Chai S C, Liu W H, Yang X M, Li L H. Comparison of transferability of common wheat SSRs and EST-SSRs to *Agropyron cristatum* L. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 2007, 27(7): 1311-1316
- [ 21 ] 邹玉婷. 小麦 EST-SSR 标记对小麦及其近缘种属的遗传多样性研究. 成都: 四川农业大学, 2010  
Zou Y T. Genetic diversity among triticeae species as revealed by wheat EST-SSR marker. Chengdu: Sichuan Agriculture University, 2010
- [ 22 ] 张成林, 郭志慧, 张新全, 白史且, 张昌兵, 李平, 马啸. 利用 SSR 标记对垂穗披碱草和老芒麦进行物种鉴定和遗传变异分析. *植物遗传资源学报*, 2016, 17(3): 416-422  
Zhang C L, Guo Z H, Zhang X Q, Bai S Q, Zhang C B, Li P, Ma X. An analysis of species identification and genetic divergence of drooping wildrye (*Elymus nutans*) and siberian wildrye (*E. sibiricus*) by SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2016, 17(3): 416-422
- [ 23 ] 苏龙, 徐志健, 乔卫华, 郑晓明, 梁云涛, 丁膺宾, 刘莎, 齐兰, 公婷婷, 梁新霞, 王君瑞, 张丽芳, 程云连, 兰进好, 杨庆文. 广西药用野生稻遗传多样性分析及 SSR 引物数量对遗传多样性结果的影响研究. *植物遗传资源学报*, 2017, 18(4): 603-610  
Su L, Xu Z J, Qiao W H, Zheng X M, Liang Y T, Ding Y B, Liu S, Qi L, Gong T T, Liang X X, Wang J R, Zhang L F, Cheng Y L, Lan J H, Yang Q W. Study on genetic diversity of *Oryza officinalis* in Guangxi province and the effect of the number of SSR primers on genetic diversity analysis. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2017, 18(4): 603-610
- [ 24 ] 章秋平, 刘威生, 刘硕, 魏潇, 刘宁. 杏遗传多样性评价所需 SSR 等位变异数目估计. *果树学报*, 2015, 32(2): 186-191  
Zhang Q P, Liu W S, Liu S, Wei X, Liu N. An estimation of SSR alleles numbers for analyzing genetic diversity of apricot. *Journal of Fruit Science*, 2015, 32(2): 186-191
- [ 25 ] 张晨, 云岚, 白亚利, 程鹏飞, 赵彦. 新麦草种质资源的 SSR 遗传多样性分析. *中国草地学报*, 2017, 39(5): 24-30  
Zhang C, Yun L, Bai Y L, Cheng P F, Zhao Y. Genetic diversity analysis of 28 *Psathyrostachys juncea* germplasm resources based on SSR molecular markers. *Chinese Journal of Grassland*, 2017, 39(5): 24-30
- [ 26 ] 杭焱, 金燕, 卢宝荣. 濒危植物华山新麦草 (*Psathyrostachys huashanica*) 的遗传多样性及其保护. *复旦学报: 自然科学版*, 2004, 43(2): 260-266  
Hang Y, Jin Y, Lu B R. Genetic diversity of the endangered species *Psathyrostachys huashanicain* China and its strategic conservation. *Journal of Fudan University: Natural Science Edition*, 2004, 43(2): 260-266
- [ 27 ] 张云, 龙云星, 奎丽梅, 徐高峰, 涂建, 辜琼瑶, 李华慧, 黄平, 卢义宣. 我国水稻两用核不育系 SSR 遗传多样性分析. *分子植物育种*, 2017, 15(7): 2836-2846  
Zhang Y, Long Y X, Kui L M, Xu G F, Tu J, Gu Q Y, Li H H, Huang P, Lu Y X. SSR analysis on genetic diversity of rice dual-use nuclear male sterile lines in China. *Molecular Plant Breeding*, 2017, 15(7): 2836-2846
- [ 28 ] Ellstrand N C, Elam R D. Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1993, 24: 217-242
- [ 29 ] Gupta P K, Rustgi S, Kulwal P L. Linkage disequilibrium and association studies in higher plants: present status and future prospects. *Plant Molecular Biology*, 2005, 57(4): 461-485
- [ 30 ] 魏世平, 刘晓芬, 杨胜先, 吕海燕, 牛远, 章元明. 中国栽培大豆群体结构不同分类方法的比较. *南京农业大学学报*, 2011, 34(2): 13-17  
Wei S P, Liu X F, Yang S X, Lü H Y, Niu Y, Zhang Y M. Comparison of various clustering methods for population structure in Chinese cultivated soybean (*Glycine max* (L.) Merr.). *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2011, 34(2): 13-17
- [ 31 ] 苏一钧, 王娇, 戴习彬, 唐君, 赵冬兰, 张安, 周志林, 曹清河. 303 份甘薯地方种 SSR 遗传多样性与群体结构分析. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(2): 243-251  
Su Y J, Wang J, Dai X B, Tang J, Zhao D L, Zhang A, Zhou Z L, Cao Q H. Genetic diversity and population structure analysis of 303 sweetpotato landraces using SSR markers. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(2): 243-251