

DOI:10.11829/j.issn.1001-0629.2018-0037

许利英,周青平,陈仕勇,陈有军,李亚萍,田莉华.青藏高原中华羊茅种质资源遗传多样性的 EST-SSR 分析.草业科学,2018,35(7):1695-1703.

Xu L Y, Zhou Q P, Chen S Y, Chen Y J, Li Y P, Tian L H. Evaluating the genetic diversity of *Festuca sinensis* germplasm resources in the Qinghai-Tibetan Plateau by EST-SSR markers. Pratacultural Science, 2018, 35(7): 1695-1703.

青藏高原中华羊茅种质资源遗传多样性的 EST-SSR 分析

许利英¹, 周青平², 陈仕勇¹, 陈有军², 李亚萍², 田莉华²

(1.西南民族大学生命与科学技术学院, 四川 成都 610041; 2.西南民族大学青藏高原研究院, 四川 成都 610041)

摘要:采用 EST-SSR 分子标记对来自四川、西藏、青海的 24 份中华羊茅(*Festuca sinensis*)进行了遗传多样性和亲缘关系的研究。研究表明,筛选的 17 条引物共检测到 102 个位点,多态性位点每条引物 5~8 个;平均多态性位点 6 个,平均多态性位点百分率(PPB)93%;遗传距离变幅范围 0.188~0.675,平均值 0.486,多态性信息含量指数 PIC 值在 0.240~0.470 变化,平均值为 0.381,这揭示了供试的中华羊茅种质资源具有较为丰富的遗传多样性。聚类分析和主成分分析结果表明,供试材料间亲缘关系与其地理来源等相关性较低,其中 I-2-23-7 和 I-14-1-1 野生材料表现出了独特的遗传特性,与其他供试材料间均具有较远的亲缘关系。通过地理海拔的分析,发现分布于中度海拔(3 000—3 500 m)的中华羊茅种质具有最高的 Nei's 基因多样性(0.304 3)和香农多样性(0.462 2),遗传变异较高。本研究结果为青藏高原中华羊茅种质资源的保护和利用提供了重要的参考。

关键词:中华羊茅;EST-SSR 分子标记;遗传多样性;亲缘关系

中图分类号:S816;S543+.903;Q943

文献标志码:A

文章编号:1001-0629(2018)07-1695-09*

Evaluating the genetic diversity of *Festuca sinensis* germplasm resources in the Qinghai-Tibetan Plateau by EST-SSR markers

Xu Li-ying¹, Zhou Qing-ping², Chen Shi-yong¹, Chen You-jun², Li Ya-ping², Tian Li-hua²

(1.College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, Sichuan, China;

2.Institute of Qinghai-Tibetan Plateau, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, Sichuan, China)

Abstract: In this study, EST-SSR markers were used to study the genetic diversity and genetic relationship of 24 *Festuca sinensis* germplasms from Sichuan, Tibet and Qinghai. There were 102 loci detected from 17 primers and 5~8 loci per polymorphic locus. The mean number of polymorphic loci was 6 and the mean percentage of polymorphic loci was 93%. The range of genetic similarities was 0.188~0.675, with an average of 0.486, and polymorphism information content was 0.381, ranging from 0.240 to 0.470, which also revealed that the genetic resources of *F. sinensis* were rich in genetic diversity. The results of cluster analysis and principal component analysis showed that the association between the genetic relationships and geographical origin was low. Among them, the I-2-23-7 and I-14-1-1 showed genetic specificity. The test materials were highly dissimilar between the 24 *F. sinensis* germplasms. Analysis of geographical elevations revealed that the *F. sinensis* germplasms with medium altitude (3 000—3 500 m) displayed the highest Nei's gene diversity (0.304 3) and Shannon's diversi-

* 收稿日期:2018-01-17 接受日期:2018-05-08

基金项目:西南民族大学研究生专业实践重点项目(CX2017SZ074);国家重点研发技术(2017YFC0504806);国家牧草产业技术体系青藏高原牧草育种岗位(CARS34);四川省教育厅创新团队(14TD0049)

第一作者:许利英(1991-),女,四川南部人,在读硕士生,主要从事牧草种质资源研究。E-mail:502569052@qq.com

通信作者:周青平(1962-),男,甘肃宁县人,教授,博士,主要从事青藏高原牧草育种与栽培研究。E-mail:qingzh@aliyun.com

ty index of 0.462 2, which indicated high genetic variation. The results provide an important reference for the conservation and utilization of the *F. sinensis* germplasm resources in the Qinghai-Tibet Plateau.

Key words: *Festuca sinensis*; EST-SSR molecular markers; genetic diversity; kinship

Corresponding author: Zhou Qing-ping E-mail: qpingzh@aliyun.com

中华羊茅(*Festuca sinensis*)是禾本科羊茅属多年生草本植物,是中国西北、华北、东北和青藏高原等地常见的野生牧草,常生于海拔2 600~4 800 m的高山草甸、山坡草地、灌丛、林下等地。中华羊茅作为高寒牧区草地生产建设的优良牧草,具有营养价值高、适口性好、再生性和抗逆性强等特点。茎秆柔软,马、牛、羊都比较喜食,其中在夏、秋、春三季是各类牲畜的主要牧草,易增膘长肉。同时,中华羊茅适应性广,耐寒性和刈割能力强,是高寒牧区草地建设、退牧还草和生态治理工程中最适宜的优良牧草品种之一,也是我国青藏高原地区代表性的优良牧草之一^[1-3]。因此,开展中华羊茅种质资源及其适应性的研究对我国高寒牧区畜牧业的发展以及生态恢复建设具有重要意义

目前对中华羊茅的研究多集中在栽培草地建设、抗逆性及内生真菌等方面^[4-7],但关于其种质资源遗传多样性方面的研究还未见报道。王康英^[4]发现,在3种钠盐(NaCl、NaHCO₃、Na₂CO₃)胁迫下中华羊茅种子的发芽率、发芽势、发芽指数和活力指数均随着盐浓度的升高而降低。汪建军等^[5]对温度和PEG处理对中华羊茅种子萌发的影响进行系统的分析,表明低浓度(-0.2 MPa)的PEG溶液对中华羊茅种子活力具有促进作用,高浓度(-0.8 MPa)的PEG溶液则对其种子活力有抑制作用。

目前分子标记技术已被广泛用于羊茅属物种的遗传育种研究,特别是在高羊茅等代表性物种上的相关研究较多^[8-11]。其中SSR标记应用最为广泛,其具有重复性好,结果可靠性高,操作简单;多态性丰富且标记数量多等特点。在植物遗传育种研究中作为一种主要的分子标记技术已广泛应用于遗传图谱的构建、遗传多样性分析和系统学研究^[12]。本研究采用EST-SSR分子标记技术对来自青藏高原地区的24个中华羊茅种质资源进行遗传多样性的评价分析,旨在为中华羊茅野生种质的鉴定、保护及利用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

24份中华羊茅样品分别采集自四川、西藏和青海等青藏高原地区(表1),其中23份为野生种质资源,1

份为登记品种。供试材料种子于2016年12月播种于花盆中,放置在人工气候培养箱内,待其生长到3~4片叶时取样。

1.2 DNA提取

每份中华羊茅材料选取10~15个单株的叶片混合,采用植物基因组DNA提取试剂盒(DP305,由天根生化科技有限公司提供)提取样品的DNA,采用1%的琼脂糖凝胶电泳和超微量分光光度计(NANO-DROP LITE)检测DNA样品的纯度和浓度。

1.3 引物筛选

选用65对羊茅属高羊茅的基因组SSR分子标记的引物进行扩增分析^[13]。选择形态差异大、海拔高差大的4份中华羊茅材料,提取DNA,利用65对高羊茅SSR引物进行PCR扩增。选用多态性好、条带清晰的引物,对全部24份中华羊茅材料进行分析。

1.4 PCR扩增

SSR反应体系(20 μL):模板DNA 2 μL(20 ng), SSR引物 2 μL, 2×Es Taq MasterMix(Dye) 10 μL, 加ddH₂O 6 μL。扩增反应在JY966 Thermal Cycler型PCR循环仪上进行。反应程序为:94℃预变性5 min;94℃变性30 s,64℃退火30 s,72℃延伸50 s,25个循环;72℃延伸10 min,4℃保存。扩增产物在6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离110 min,电泳结束后进行银染并用数码相机照相保存。

1.5 数据统计与分析

根据PCR扩增产物的电泳结果,在相同迁移位置上,将稳定、清晰的条带记为1,无带或不易分辨的弱带记为0,获得原始数据矩阵。统计其每对引物总扩增条带和多态位点、多态位点百分比(percent of polymorphism bands, PPB)和多态性信息含量(polymorphic information content, PIC)。在NTSYS软件计算供试材料间的Dice遗传相似系数,并基于Dice遗传相似系数进行UPGMA聚类分析和主成分分析(principal component analysis, PCA)^[14]。采用GenAlEx 6.5计算供试材料地理距离、海拔与遗传距离的Mantel相关性分析^[15]。采用POPGENE 1.31计算不同海拔类群的Nei's基因多样性和香农指数(Shannon-Wiener index)^[16]。

表 1 中华羊茅材料信息
Table 1 Data concerning *Festuca sinensis*

序号 No.	编号 Material No.	来源地 Origin	海拔 Elevation/m	经度 Longitude(E)	纬度 Latitude(N)
1	09-099	青海平安县古城 Gucheng Township, Ping'an County, Qinghai	3 060	101°58'846"	36°17'059"
2	青海 Qinghai	青海格尔木市(国审品种) Golmud City, Qinghai	3 500	94°33'02"	36°15'036"
3	09-141	青海平安县石灰窑乡 Shihuiyao Township, Ping'an County, Qinghai	2 922	101°51'080"	36°19'935"
4	09-124	青海平安县三合镇 Sanhe Town, Ping'an County, Qinghai	2 741	101°57'437"	36°20'047"
5	10-22	青海德令哈市柯鱼柯镇 Keyukezhen Town, Delingha City, Qinghai	2 912	97°99'044"	37°17'138"
6	I-2-23-3	西藏那曲县罗玛镇 Luoma Town, Naqu City, Tibet	4 542	91°53'580"	31°20'039"
7	09-032	青海平安县三合镇 Sanhe Town, Ping'an County, Qinghai	2 589	101°57'234"	36°21'641"
8	14-99	四川红原县江蓉乡 Jiangrong Township, Hongyuan County, Sichuan	3 570	102°21'069"	32°30'474"
9	09-261	西藏墨竹工卡县扎西岗 Zhaxigang, Maizhokunggar County, Tibet	4 003	91°54'782"	29°44'692"
10	10-116	青海德令哈市柯鱼柯镇 Keyukezhen Town, Delingha City, Qinghai	2 912	97°99'044"	37°17'138"
11	I-2-23-8	青海格尔木市唐古拉山口 Tanggula Mountains, Golmud City, Qinghai	5 197	91°55'336"	32°54'246"
12	09-41	青海平安县巴藏沟 Bazanggou Township, Ping'an County, Qinghai	3 129	102°06'214"	36°20'021"
13	14-04	四川红原江蓉乡 Jiangrong Township, Hongyuan County, Sichuan	3 570	102°21'069"	32°30'474"
14	09-109	青海平安县三合镇 Sanhe Town, Ping'an County, Qinghai	2 865	101°57'796"	36°19'580"
15	09-057	青海平安县巴藏沟乡 Bazanggou Township, Ping'an County, Qinghai	2 994	102°06'348"	36°20'508"
16	I-14-1-1	四川红原江蓉乡 Jiangrong Township, Hongyuan County, Sichuan	3 570	102°21'069"	32°30'474"
17	10-41	青海曲玛莱县曲玛河乡 Qumahe Township, Qumaleb County, Qinghai	4 617	93°57'485"	35°32'876"
18	10-85	西藏林芝市工布江达县 Gongbo'gyamda County, Nyingchi City, Tibet	3 534	93°07'325"	29°58'065"
19	09-284	西藏墨竹工卡县扎西岗 Zhaxigang, Maizhokunggar County, Tibet	4 897	91°50'961"	29°46'564"

续表 1

序号 No.	编号 Material No.	来源地 Origin	海拔 Elevation/m	经度 Longitude(E)	纬度 Latitude(N)
20	I-2-23-7	青海格尔木市唐古拉山口 Tanggula Mountains, Golmud City, Qinghai	5 197	91°55'336"	32°54'246"
21	10-66	青海曲玛莱县曲玛河乡 Qumahe Township, Qumaleb County, Qinghai	4 617	93°57'485"	35°32'876"
22	10-52	青海曲玛莱县曲玛河乡 Qumahe Township, Qumaleb County, Qinghai	4 617	93°57'485"	35°32'876"
23	10-121	青海德令哈县柯鲁柯镇 Kelukezhen Town, Delingha City, Qinghai	2 912	97°99'044"	37°17'138"
24	I-2-23-2	西藏那曲地区安多县 Amdo County, Nagqu Prefecture, Tibet	5 067	91°50'995"	31°37'138"

2 结果与分析

2.1 SSR 多样性分析

从 65 对高羊茅 SSR 引物中共筛选出 17 对条带型清晰、多态性好的引物。利用这些引物,对 24 份中华羊茅的 DNA 进行扩增(表 2)。本研究中供试材料的电泳条带均在 100~500 bp(图 1)。同时不同引物扩增的位点数不同,同一引物对 24 份资源扩增的条带类型和位点数也不一样。17 对引物在供试的 24 份资源中共检测到 102 个位点,其中多态性位点 95 个,多态性比率为 93.14%,平均每对引物的多态性位点 5.59 个。每条引物扩增的位点数 4~8 个,平均每条引物检测到 6 个位点,多态性信息含量指数 PIC 值变化为 0.240~0.470,平均值为 0.381。这也表明筛选的高羊茅 SSR 标记在中华羊茅中具有较好的通用性和高多态性。

2.2 遗传关系分析

本研究中 24 份中华羊茅种质资源间的遗传相似系数在 0.188~0.675,平均值为 0.486。其中 I-14-1-1 与 I-2-23-7 之间的亲缘关系最远,遗传相似系数为 0.188;09-124(青海平安)与 09-141(青海平安)的亲缘关系最近,遗传相似系数为 0.675,这都表明了供试的中华羊茅种质间具有丰富的遗传变异。

2.3 聚类分析及主成分分析

根据各个资源间的 Dice 遗传系数对 24 份中华羊茅种质资源进行 UPGMA 聚类,结果表明在遗传距离 0.52 处可将其分为八大类(图 2)。第 I 类由来自青海的 1 号(09-099)和来自西藏的 9 号(09-261)资源 2 份材料组成。第 II 类包括了 5 个材料,均来自青海,其中

来自青海格尔木的 3 号(09-141)和来自青海平安的 4 号(09-124)材料具有非常近的亲缘关系。第 III 类由 6 份材料组成,包括来自青海的 5 号、7 号、11 号、12 号和来自西藏的 6 号,以及来自四川的 8 号材料组成。第 IV 类包括了 6 份材料,其中 3 份来自青海,2 份来自西藏,四川 1 份。第 V 类包括 2 份资源,分别来自青海的 23 号(10-121)和西藏的 24 号(I-2-23-2)资源。第 VI 类由 1 份材料组成,是来自青海的 10 号(10-116)。第 VII 类由来自四川的 16 号(I-14-1-1)材料构成。第 VIII 类由一份材料 20 号(I-2-23-7)来自青海的构成。这两份材料与其他材料间表现出了较远的亲缘关系,在遗传上表现了一定的特异性。

基于供试材料间遗传相似系数进行 PCA 分析,结果表明第 1 主成分的变异解释比率为 62.01%,第 2 主成分变异解释比率为 3.40%,第 3 主成分变异解释比率为 3.24%,3 个主成分累计解释的变异比率为 68.65%,大体上能够反映中华羊茅各个资源间亲缘关系的远近,与聚类的结果基本保持一致。

2.4 地理分化分析

供试 24 份材料的遗传距离与地理距离的 mantel 检验结果表明二者之间相关性较低且不显著($r = 0.062, P = 0.139$),这与聚类分析的结果相一致。海拔与种质间的遗传距离之间的相关性也较低($r = 0.05, P = 0.492$)。根据本研究中供试材料的海拔分布,将供试材料分为 3 个不同的海拔类群,即低海拔组(2 500—3 000 m)、中海拔组(3 000—3 600 m)和高海拔组(4 000—5 000 m)。不同海拔类群的遗传变异分析显示(表 3),分布于中度海拔(3 000—3 500 m)的中华羊茅种质具有最高的 Nei's 基因多样性(0.304 3)和

表 2 17 对引物序列和扩增结果
Table 2 Primer sequences and amplification results

引物编号 Primer	引物序列 Sequence	重复序列 Repetitive sequence	扩增总位点 Number of total band	多态性位点 Number of polymorphic band	多态性位点比率 Percent of polymorphism band/%	多态性信息含量 Polymorphic information content
NFA091	ACCGCCTTCTTGTCGTAGGT GTGTGGTCTTCTTCTCCGTCTC	(gct)7	6	6	100	0.409
NFA109	CTTAGCAGCCCAAGATAATGCT GATTTCCAGCAAGACCTGAAGT	(ct)10	6	6	100	0.416
NFA061	TGGATTTGCAATTAGCCTCA GCTCGTGTATGGCCTTCAAT	(ta)20	5	4	80	0.324
NFA057	CGTCCAAGCCCAAGTAACAT CTCCCCTCCCCTCCTACC	(tcc)6	8	8	100	0.436
NFA078	GTTCTTGGCGTGCTTCTTCTT CGGGAGCTACAACAATAGCAG	(caa)6	5	4	80	0.304
NFA022	ATGATGTCCGAGGAGGAGAA CATCATGATCCAGTGCCTTG	(agg)6	5	4	80	0.325
NFA063	GGTTCCAAGGGCAAAGAAAC CCAGAGCAGACGCACACTT	(cttc)5	5	4	80	0.470
NFA072	ACGAGGCTGAGACCATCCAT AGCTGTGCTGAAGAAGCTC	(gcc)6	5	5	100	0.395
NFA017	GATGGACGAAGGCTTCTTTG AGCCGAACCTGAACTCAGAC	(cag)7	8	8	100	0.374
NFA007	AAGAGCGACCCCGAGAAG TCCATGCTCACCTTCACAAA	(ctg)7	5	4	80	0.415
NFA150	TGCAGTCGGTTAAGATCAAGAA GCAGAGCAATGGAGAGGTC	(ctg)7	5	4	80	0.240
NFA103	GCAAGACATCACATAGCTGTGCG CTCGTACCGCCCCACAAG	(cgca)5	7	7	100	0.368
NFA025	TATCTCTTCGCCGCTGTCTT GGTCCCGTAGTCATTCGTCT	(gtg)6	8	8	100	0.429
NFA099	GGAAGAGGAACAGAGCAATGAC ACTGAAACTGAGCGTTGAGAGC	(cctct)4	7	7	100	0.440
NFA024	TGCCACGAGGTCTATCTTC AGCTTCCCCTTCATCCACT	(cgc)6	6	6	100	0.380
NFA019	TGGATTTGCAATTAGCCTCA GCTCGTGTATGGCCTTCAAT	(ta)20	4	3	75	0.370
NFA076	ACGAGGGGATCTCCTACACC TGGTCACAGAGCTTGTGACGG	(cgc)10	7	7	100	0.383

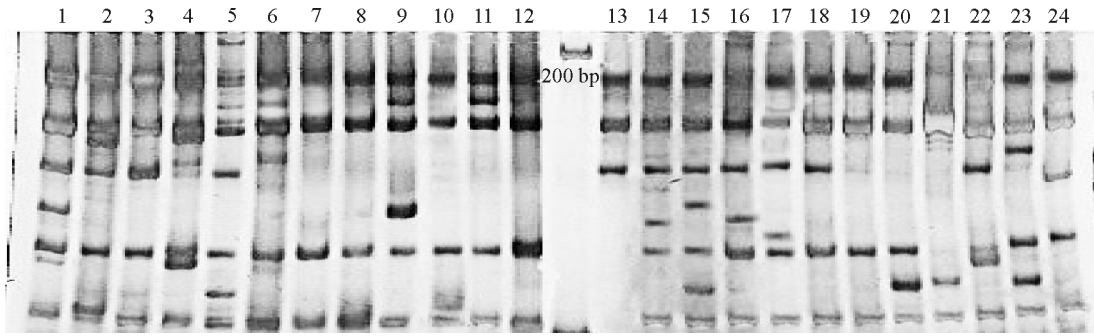


图1 NFA017引物电泳扩增图

Fig. 1 Electrophoresis amplification by primer NFA017

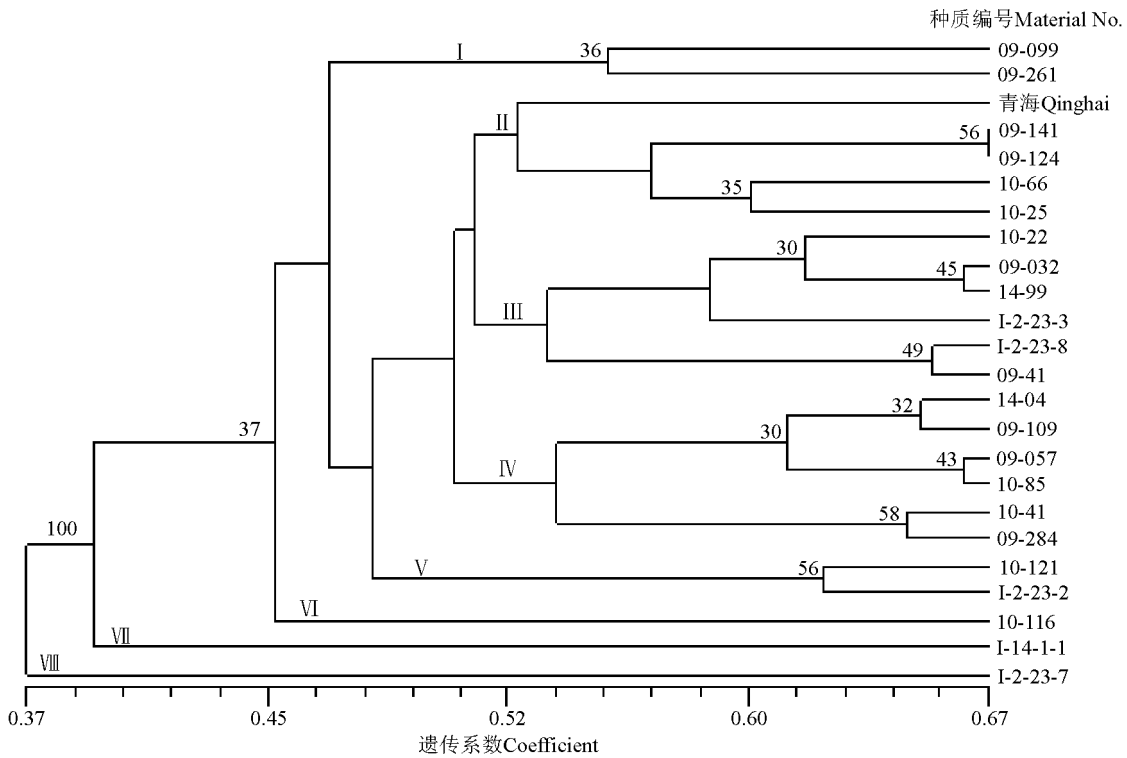


图2 24份中华羊茅种质资源基于遗传相似系数的UPGMA聚类图

Fig. 2 UPGMA dendrogram of 24 *Festuca sinensis* germplasm resources based on genetic similarity coefficients

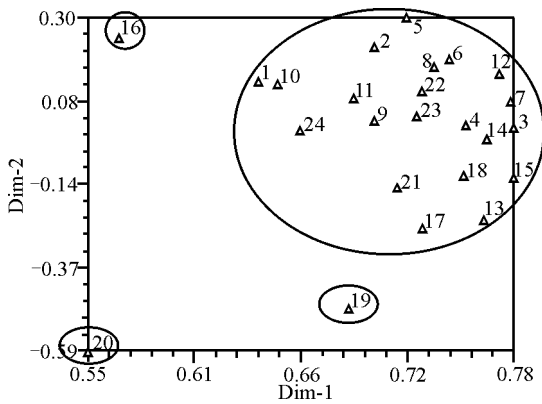


图3 24份中华羊茅种质资源SSR标记的二维主成分坐标图

Fig. 3 Two-dimensional principal component plot of SSR markers for 24 wild *Festuca sinensis* germplasm resources

表3 不同海拔类群材料的遗传变异

Table 3 Genetic variation of different elevation group materials

海拔范围 Altitude range/m	样本数 N	Nei's 基因多样性 Nei's gene diversity	香农指数 Shannon-Wiener index
2 500—3 000	8	0.284 9	0.432 7
3 000—3 600	7	0.304 3	0.462 2
4 000—5 000	9	0.249 7	0.395 6

香农多样性指数为 0.462 2, 遗传变异较高; 高海拔地区(4 000—5 000 m)的种质遗传变异较低, 其 Nei's 基因多样性 0.249 7, 香农多样性指数为 0.395 6; 而低

海拔类群种质(2 500—3 000 m)具有适中的遗传变异,其 Nei's 基因多样性为 0.284 9,香农多样性指数为 0.432 7。

3 讨论

由于不受环境影响,不受限于植物的发育阶段,分子标记已成为遗传多样性评价的强有力的主流研究手段^[17-18],广泛应用于植物遗传育种的各个方面^[19]。在羊茅属资源中,SSR 也已经用于遗传评价、图谱构建、关联分析等工作^[18]。Romina 等^[10]用 15 条引物检测 161 份来自不同国家的高羊茅(*Festuca arundinacea*),共检测到 214 个多态性基因,平均每条引物检测到 5~24 个,遗传距离变幅范围为 0.627~0.840,体现了较高的遗传多样性。Saha 等^[13]在高羊茅中开发了 152 对 SSR 引物,其中 92%的引物能够扩增出条带。同时,这些标记在不同的物种中表现出了不同的多态性比率。在羊茅属(*Festuca*)、黑麦草属(*Lolium*)等异花授粉植物中检测到 66%的多态性标记,而在水稻(*Oryza sativa*)和小麦(*Triticum aestivum*)中仅有 43%和 38%的多态性标记。本研究选用了其中的 65 对引物在中华羊茅中进行扩增,最后筛选出了 17 对效果较好的标记。这也表明高羊茅引物在中华羊茅中具有较好的通用性和多态性,是其资源遗传评价等有效的 SSR 标记来源。

基于遗传相似系数的聚类分析等结果表明,供试材料的聚类并没有与其地理来源表现出较高的相关性,其中西藏、四川的材料与青海的材料间聚类存在交叉。这可能与中华羊茅异花授粉的繁育方式相关,不同地区种质间存在广泛的基因流,如来自青海平安的 7 份材料除了 3 号(09-141)资源与 4 号(09-124)资源聚在一类,其他 5 份资源分别与不同地

理来源的资源聚在一类,这与鸭茅(*Dactylis glomerata*)和多花黑麦草(*L. multiflorum*)等异花授粉牧草的种质资源评价特点表现出了一定的相似性^[20-23]。此外,其中 16 号材料 I-14-1-1 和 20 号材料 I-2-23-7 在形态学和生理抗性上也表现出了特异性,与其遗传特异性相吻合,如 16 号叶片较为纤细,对干旱、复水等处理非常敏感,而 20 号材料则叶片较宽,茎较粗壮有一定的耐旱性。

通过遗传距离与地理距离的分析发现两者没有明显的相关性,但发现在海拔梯度呈现一定的遗传分化。严学兵等^[23]发现海拔高度对披碱草(*Elymus dahuricus*)的遗传进化和选择起着巨大的作用;Chen 等^[24]对于青藏高原垂穗披碱草(*E. nutans*)遗传分化的研究也揭示了中度海拔的材料具有较高的遗传变异,与本研究结果相似。本研究中高海拔种质具有相对较低的遗传变异,这与其较高海拔具有相对较恶劣的生态环境有关,也是其资源保护的重点;而低海拔的遗传变异较低与人为的过度干扰等因素有关,中等海拔具有相对较高的遗传多样性,这些结果为中华羊茅种质资源的保护和利用提供了重要的参考。

4 结论

本研究中采用 SSR 标记对来自青藏高原地区的 24 份中华羊茅种质资源的遗传变异及亲缘关系进行了分析,选用的高羊茅 SSR 标记在中华羊茅中表现出了较好的通用性,结果揭示了供试材料间具有丰富的遗传变异,明确了不同地理来源的材料间的遗传亲缘关系。其中 I-14-1-1 与其他野生种质表现出了较远的亲缘关系;中等海拔 3 000—3 600 m 类群的材料具有较高的遗传变异,研究结果为中华羊茅的资源保护及利用提供了重要参考。

参考文献 References:

- [1] 师尚礼,李锦华.羊茅属两种牧草生态适应性及其栽培技术.草地学报,2006,14(1):39-42.
Shi S L, Li J H. Ecological adaptability and cultivating techniques of two *Festuca* varieties. Acta Agrestia Sinica, 2006, 14(1): 39-42. (in Chinese)
- [2] 孙明德.高寒地区优良牧草——青海中华羊茅.青海草业,2009,17(4):8-11.
Sun M D. The good pasture of the grassland improvement in alpine region *Festuca sinensis* keng cv. qinghai. Qinghai Prataculture, 2009, 17(4): 8-11. (in Chinese)
- [3] 贺有龙,汪海波,祁彪.“黑土滩”中华羊茅栽培草地生产力动态.草业科学,2014,31(1):200-204.
He Y L, Wang H B, Qi B. Productivity dynamic of *Festuca sinensis* pasture built on “bare soil land” degraded meadow during 5 years on tibetan plateau. Pratacultural Science, 2014, 31(1): 200-204. (in Chinese)
- [4] 王康英.3 种钠盐胁迫对中华羊茅种子萌发的影响.贵州农业科学,2013,41(3):108-111.
Wang K Y. Effects of three sodium salt stress on seed germination of *Festuca sinensis*. Guizhou Agricultural Sciences, 2013.

- 41(3):108-111.(in Chinese)
- [5] 汪建军,麻安卫,汪治刚,蔡宇,旷宇,田沛.不同温度和 PEG 处理对中华羊茅种子萌发的影响.草业学报,2016,25(4):73-80.
Wang J J, Ma A W, Wang Z G, Cai Y, Kuang Y, Tian P. Effects of different temperature and moisture conditions on seed germination of *Festuca sinensis*. Acta Prataculturae Sinica, 2016, 25(4):73-80. (in Chinese)
- [6] 李积兰,李希来,魏卫东,田丰.干旱胁迫对青海冷地早熟禾和青海中华羊茅丸粒种子幼苗生长的影响.西北农业学报,2015,24(10):143-149.
Li J L, Li X L, Wei W D, Tian F. Effect of drought resistance on seedling growth of *Poa crymophila* keng cv. qinghai and *Festuca sinensis* keng cv. 'qinghai' pelleted seeds. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2015, 24(10):143-149. (in Chinese)
- [7] 田沛,旷宇,南志标.中华羊茅的优良特性以及利用内生真菌进行育种潜力浅析.草业科学,2015,32(7):1079-1087.
Tian P, Kuang Y, Nan Z B. The characteristics of *Festuca sinensis* and its breeding potential. Pratacultural Science, 2015, 32(7):1079-1087. (in Chinese)
- [8] 李惠英,娄燕宏,胡涛,傅金民.中国高羊茅种质资源遗传多样性的 RAPD 分析.草业学报,2010,19(6):208-214.
Li H Y, Lou Y H, Hu T, Fu J M. Genetic diversity analysis of Chinese natural tall fescue (*Festuca arundinacea*) germplasm by RAPD. Acta Prataculturae Sinica, 2010, 19(6):208-214. (in Chinese)
- [9] 屈兴红,吴佳海,赵丽丽,马林,杨春燕,曾洪学.高羊茅杂交后代 ISSR 遗传变异研究.种子,2017,10(1):19-21,28.
Qu X H, Wu J H, Zhao L L, Ma L, Yang C Y, Zeng H X. Genetic variation among hybrids of tall fescue based on ISSR molecular markers. Seed, 2017, 10(1):19-21, 28. (in Chinese)
- [10] Romina C, Beatriz R, Elba P, Gabriela S, Romina F, Nicolás D A. Genetic diversity in a world germplasm collection of tall fescue. Genetics & Molecular Biology, 2013, 36(2):237-242.
- [11] Mian M, Hopkins A A, Zwonitzer J C. Determination of genetic diversity in tall fescue with AFLP markers. Crop Science, 2002, 42(3):944-950.
- [12] 李志勇,孙启忠,李鸿雁,王小丽,师文,贵戴军.分子标记技术在牧草种质资源研究中的应用.草原与草坪,2010,30(5):91-96.
Li Z Y, Sun Q Z, Li H Y, Wang X L, Shi W, Gui D J. Application of DNA molecular marker technology in research on forage germplasm resources. Grassland and Turf, 2010, 30(5):91-96. (in Chinese)
- [13] Saha M C, Mian M A, Eujayl I, Zwonitzer J C, Wang L J, May G D. Tall fescue EST-SSR markers with transferability across several grass species. Theoretical Applied Genetics, 2004, 109(4):783-791.
- [14] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical Taxonomy and Multivariate Analysis System, Version 2.1 Exeter Software. New York: Applied Biostatistics Inc, 2000:31-39.
- [15] 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.
- [16] Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J. Popgene version 1.31, Microsoft Window-based free ware for population genetic analysis release 1.31. // University of Alberta and Centre for International Forestry Research, Edmonton: University of Alberta, 1999.
- [17] 蒲艳,宫永超,李娜娜,田茜,丁汉凤.中国小麦作物遗传多样性研究进展.中国农学通报,2016,32(30):7-13.
Pu Y, Gong Y C, Li N N, Tian Q, Ding H F. A review of genetic diversity of wheat crops in China. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2016, 32(30):7-13. (in Chinese)
- [18] 顾晓燕,郭志慧,张新全,周永红,白史且,张昌兵,蒋忠荣,刘新,周朝杰,马啸.老芒麦种质资源遗传多样性的 SRAP 分析.草业学报,2014,23(1):205-216.
Gu X Y, Guo Z H, Zhang X Q, Zhou Y H, Bai S Q, Zhang C B, Jiang Z R, Liu X, Zhou C J, Ma X. Genetic diversity of *Elymus sibiricus* germplasm resources revealed by SRAP markers. Acta Prataculturae Sinica, 2014, 23(1):205-216. (in Chinese)
- [19] 刘列钊,林呐.油菜简单重复序列 SSR (simple sequence repeat) 研究进展.生命科学,2004,16(3):173-176.
Liu L Z, Lin N. Research advance of SSR (simple sequence repeat) in canola. Chinese Bulletin of Life Sciences, 2004, 16(3):173-176. (in Chinese)
- [20] 娄燕宏.高羊茅农艺和品质性状的遗传多样性及其 SSR 标记的关联分析.长沙:湖南农业大学博士论文,2015.
Lou Y H. Genetic diversity and associated SSR markers for agronomic and quality traits of tall fescue. PhD Thesis. Changsha: Hunan Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [21] 罗永聪,马啸,张新全.利用 SSR 标记分析一年生黑麦草遗传多样性的取样策略.草业科学,2013,30(3):376-382.
Luo Y C, Ma X, Zhang X Q. Bulking strategies for genetic diversity analysis of annual ryegrass based on SSR markers. Pratacultural Science, 2013, 30(3):376-382. (in Chinese)

- [22] 万刚,张新全,刘伟,谢文刚,周禾,彭燕.鸭茅栽培品种与野生材料遗传多样性比较的 SSR 分析.草业学报,2010,19(6):187-196.
Wan G,Zhang X Q,Liu W,Xie W G,Zhou H,Peng Y.Comparison of genetic diversity in cultivated and wild orchardgrass (*Dactylis glomerata*) detected by SSR markers.Acta Prataculturae Sinica,2010,19(6):187-196.(in Chinese)
- [23] 严学兵,郭玉霞,周禾,王堃.青藏高原垂穗披碱草遗传变异的地理因素分析.西北植物学报,2007,27:328-333.
Yan X B,Guo Y X,Zhou H,Wang K.Analysis of geographical conditions affected on genetic variation and relationship among populations of *Elymus*.Journal of Plant Resources and Environment,2007,27:328-333.(in Chinese)
- [24] Chen S Y, Ma X, Zhang X Q, Chen Z H. Genetic variation and geographical divergence in *Elymus nutans* (Poaceae: Triticeae) from west China. *Biochemical Systematics & Ecology*, 2009, 37(6): 716-722.
- [25] Nei M. Genetic distance between populations. *American Naturalist*, 1972, 106: 283-292.
- [26] Yue J, Zhu Z C. Optimization of SSR reaction system for identifying the authenticity of maize hybrids. *Agricultural Science & Technology*, 2011, 12(1): 85-87.
- [27] 阳翠,刘萍,刘姣蓉,郭蒙.苦豆子 ISSR 标记的遗传多样性分析.中草药,2013,44(10):1323-1327.
Yang C,Liu P,Liu J R,Guo M.Genetic diversity analysis on *Sophora alopecuroides* based on issr markers.Chinese Traditional and Herbal Drugs,2013,44(10):1323-1327.(in Chinese)
- [28] 罗宾,孙海燕,徐港明,杨志刚,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.
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.(in Chinese)
- [29] 中国科学院中国植物志编辑委员会.中国植物志.北京:科学出版社,2004:060-061.
Editorial Committee of Chinese Journal of plant of Chinese Academy of Sciences.Flora of China.Beijing:Science Press,2004:060-061.(in Chinese)

(责任编辑 王芳)

2018 年第 7 期《草业科学》审稿专家

杜岩功	段廷玉	郭 锐	郭 强	郭旭生	郭正刚	郝树广	侯扶江
胡小文	黄晓东	金 樑	李春杰	李 飞	李建龙	李胜利	李志华
林慧龙	刘华梁	刘文献	柳小妮	娄燕宏	马西青	马 啸	马友记
尚素琴	沈禹颖	舒 红	孙飞达	孙洪仁	孙小琴	唐德富	王虎成
王召锋	谢文刚	辛国荣	杨成德	杨培志	姚 拓	于应文	张 程
张红香	张建全	张卫国	张小虎	张兴旭			

承蒙以上专家对《草业科学》期刊稿件的审阅,特此表示衷心的感谢!