

◆遗传多样性◆

基于 SSR 分子标记的广西极小种群野生植物长叶苏铁遗传多样性分析*

邓丽丽¹, 邹蓉¹, 唐健民^{1**}, 陈泰国², 韦霄¹, 韦发南¹

(1. 广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所, 广西桂林 541006; 2. 桂林医学院药学院, 广西桂林 541199)

摘要:了解广西区内的国家一级重点保护植物长叶苏铁(*Cycas dolichophylla* K. D. Hill)的遗传多样性和变异特征对广西长叶苏铁的保护和管理有着重要意义。本研究利用筛选出的6对稳定性好的SSR引物对分别来自广西百色市田阳县梅茶镇(PL)、德保县那甲镇(NL)和德保县城关镇(QH)的3个长叶苏铁种群的遗传多样性和变异特征进行分析。结果表明:6对引物中,高度多态性引物(GZST055、GZST065、GZST088)和低度多态性引物(GZST002、GZST013、GZST019)各占50%。广西长叶苏铁3个种群的平均观测等位基因为2.833,平均有效等位基因为2.005,平均Shannon信息指数为0.657,平均观测杂合度为0.259,平均期望杂合度为0.359。群体的遗传分化系数为0.049,说明群体间遗传分化小,且群体内遗传变异占有所有遗传变异的97%,3个种群的基因交流频繁且遗传背景相互混杂。总体来看,广西长叶苏铁遗传多样性水平较低,而德保县那甲镇(NL)种群的遗传多样性相对最高,应将该种群作为重点保护单元进行保护。本研究还对广西长叶苏铁资源保护工作提出了建议和对策。

关键词:极小种群;长叶苏铁;SSR;遗传多样性;遗传变异

中图分类号:Q949 文献标识码:A 文章编号:1002-7378(2023)03-0261-07

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20230829.006

被誉为“植物界大熊猫”的苏铁类植物是地球上古老的孑遗植物,也是现存种子植物中最原始的类群,苏铁科(Cycadaceae)仅苏铁属(*Cycas* Linn.)1属,约118种^[1]。中国目前共有苏铁属植物23种,有16种(69.57%)被列为世界自然保护联盟受威胁物

种,其中6种(26.09%)为濒危物种^[2]。苏铁属全属均为国家一级重点保护植物^[3],云南和广西的大多数苏铁属植物都被列入极小种群野生植物名录(Plant Species with Extremely Small Populations, PSESP)^[4,5],占中国极小种群野生植物总数的

收稿日期:2023-07-26

修回日期:2023-08-04

*国家重点研发计划(2022YFF1300703),中国科学院“西部之光”计划(2022),广西林业科技推广示范项目(2023LYKJ03,[2022]GT23),广西植物功能性植物化学物质研究与可持续利用重点实验室自主项目(ZRJ2022-2)和桂林市创新平台和人才计划项目(20210102-3)资助。

【第一作者简介】

邓丽丽(1992-),女,助理研究员,主要从事药用植物栽培及开发利用研究。

【**通信作者】

唐健民(1988-),男,在读博士研究生,副研究员,主要从事保护生物学及濒危植物可持续利用研究,E-mail:690814668@qq.com。

【引用本文】

邓丽丽,邹蓉,唐健民,等.基于SSR分子标记的广西极小种群野生植物长叶苏铁遗传多样性分析[J].广西科学院学报,2023,39(3):261-267.

DENG L L,ZOU R,TANG J M,et al.Genetic Diversity Analysis of the Extremely Small Populations Wild Plant *Cycas dolichophylla* K. D. Hill in Guangxi Based on SSR Markers [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences,2023,39(3):261-267.

9.17%。长叶苏铁(*Cycas dolichophylla* K. D. Hill)是苏铁属的一种极小种群植物,分布在越南、老挝、泰国北部和我国云南、广西等地,因其羽叶长而大、小羽叶数较多而得名,具有重要的研究和观赏价值。长叶苏铁虽然在越南北部分布最广泛、最丰富,但直到20世纪90年代末才被认为是一个独立的种^[6]。目前对长叶苏铁的全面性研究并不多,Zheng等^[2]通过长叶苏铁的谱系地理研究证明了地质构造和气候对云南红河断裂带两侧生物群的影响。目前在广西区内只发现了3个长叶苏铁种群,对其遗传多样性的研究还未出现。因此,分析广西长叶苏铁种群的遗传多样性对其资源保护和开发具有重要意义。

Simple Sequence Repeats (SSR)又叫微卫星DNA,是由简单的重复单位组成的串联重复序列。SSR的产生主要有两种方式:一是DNA复制或修复过程中DNA滑动和错配;二是有丝分裂、减数分裂过程中姐妹染色单体发生了不均等交换。因此,SSR具有较高的物种特异性^[7,8]。随着越来越多的全基因组参考序列被公布,SSR标记被广泛应用于动植物基因定位、种质鉴定、群体遗传多样性分析、指纹图谱及遗传连锁图谱构建、分子标记辅助选择等方向^[9-11]。SSR标记因具有数量大、多态性高、分布广泛均匀、检测方便以及成本低等特点而得到广泛应用^[12,13]。

广西地形地貌复杂,生态环境多样,区内野生苏铁资源丰富,特色鲜明^[14]。经调查发现,长叶苏铁仅在百色市田阳县和德保县有分布,并且面临着种群小、数量少、生长环境退化以及人为采挖盗卖严重等问题,因此对广西长叶苏铁进行研究和种群保护迫在眉睫。本研究采用SSR分子标记方法,对分布于广西的3个野生长叶苏铁种群进行遗传多样性及遗传结构分析,探究广西长叶苏铁的遗传多样性、遗传变异以及群体划分,为长叶苏铁的遗传多样性保护提供数据支持,并基于研究结果为广西长叶苏铁种群的保护工作提供建议。

1 材料与方法

1.1 材料

2022年于广西百色市的田阳县梅茶镇(PL)、德保县那甲镇(NL)和德保县城关镇(QH)3地采集3个不同种群的长叶苏铁样品共计42份,其中PL种群19份,NL种群14份,QH种群9份。采集的长叶苏铁叶片放置于装有变色硅胶的密封袋中干燥保存,

对每份样品的具体信息做好标签,并对采样点进行GPS定位,具体采样点信息如表1。植物样品由广西壮族自治区中国科学院广西植物研究所韦发南研究员鉴定。

表1 3个长叶苏铁种群的采样信息

Table 1 Sampling information of 3 *C. dolichophylla* K. D. Hill populations

种群 Population	采样点 Sampling point	经度 Longitude	纬度 Latitude
PL	Meicha Town, Tianyang County	107°03'06"E	23°27'30"N
NL	Najia Town, Debao County	106°47'54"E	23°28'04"N
QH	Chengguan Town, Debao County	106°39'49"E	23°21'50"N

1.2 方法

1.2.1 DNA提取和检测

本研究使用改良的十六烷基三甲基溴化铵(CTAB)提取方法提取长叶苏铁叶片DNA,使用1%琼脂糖凝胶电泳检测纯度,并用Nanodrop 2000微量分光光度计检测浓度和质量,将合格的DNA样品保存于-20℃冰箱用于后续实验。

1.2.2 引物筛选

由于对Zheng等^[2]筛选出的长叶苏铁SSR引物的验证结果显示其多态性低,所以利用primer 3软件(<https://sourceforge.net/projects/primer3/>)根据叶绿体基因组重新设计引物共计96对,从96对引物中筛选出6对扩增效果较好的SSR引物(表2)。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司北京分公司合成。为了提高文章的可读性,本文将各引物的位点作为其名称。

1.2.3 PCR扩增及测序

PCR扩增反应在Veriti 384 PCR仪上进行,PCR反应体系为10 μL: 2×Taq PCR Master Mix 5.0 μL, DNA(约20 ng) 1.0 μL, 10 μmol/L的上、下游引物各0.5 μL, ddH₂O 3.0 μL。PCR扩增反应程序如下:95℃预变性5 min;95℃变性30 s, 62-52℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 10个循环,每个循环下降1℃;95℃变性30 s, 52℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 25个循环;72℃末端延伸20 min, 4℃保存。PCR产物在经过1%琼脂糖凝胶电泳检测后参照ABI 3730xl上机操作流程进行荧光毛细管电泳测序。

表 2 SSR 引物信息

Table 2 SSR primer information

引物名 The name of primer	重复单元 Repeat unit	上游引物(5'→3') Upstream primer (5'→3')	下游引物(5'→3') Downstream primer (5'→3')	等位基因区间 Allelic interval
GZST002	(GA) ₆	TGTGGAACGTGGAATGGTAA	AGGAATCCCGAAGGAAGAAA	158 - 160
GZST019	(ATAA) ₅	GATGAGGAAGCCTACGCAGT	GAAAGACCTCACCATCCGAG	212 - 221
GZST055	(AT) ₆	TCATGAAGATGGCAACCAAC	TCCCTTCCAAGCAAATGTCT	161 - 184
GZST013	(GAG) ₅	ACCGGTCGACTAGATGGATG	AGGTCCGAAGCTTTCCTCTC	252 - 265
GZST088	(AG) ₇	TGGCTTCGATTTCCACACT	GAACGCTCGCTCTCTCTCTC	136 - 159
GZST065	(CGA) ₅	GCTTGGCTGTACCGTTCTTT	CGCCATTGACAACAACAGAC	157 - 174

1.3 数据分析

从 ABI 3730xl 仪器上导出原始数据,按检测位点分类归档后,分别导入 GeneMarker 分析软件中进行基因型数据的读取,并按位点名称分别导出 Excel 格式的基因型原始数据和 PDF 格式的分型峰图文件。使用 GenAlEx version 6.501 软件计算 SSR 引物和群体的各项遗传多样性指标,包括观测等位基因(Number of observed alleles, N_a)、有效等位基因(Number of effective alleles, N_e)、Shannon 信息指数(Shannon's information index, I)、多态性信息指数(Polymorphism Information Content, PIC)、观测杂合度(Observed heterozygosity, H_o)和期望杂合度(Expected heterozygosity, H_e)。利用 Powermarker 软件计算各群体间的遗传距离。利用 Unweighted Pair-Group Method with Arithmetic means (UPGMA)方法进行聚类分析,并绘制环状聚类图和树状聚类图。使用 GenAlex version 6.501 软件计算各群体间和群体内的变异、分化并进行显著性检验;计算遗传分化系数(Genetic differentiation coefficient, F_{st})和基因流(Gene flow, N_m),基因流按公式 $N_m =$

$0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ 计算。

2 结果与分析

2.1 SSR 引物多态性分析

使用 6 对引物对 42 份长叶苏铁样品进行 SSR 多态性分析,结果见表 3。实验共检测到 N_a 23 个,每对引物的等位基因数为 2 - 8,平均每对引物的等位基因数目为 3.833。 N_e 总数为 13.161,数值为 1.024 (GZST019) - 3.662 (GZST065),平均值为 2.194。 I 最高的是 GZST065 (1.525),平均值为 0.762。 H_o 和 H_e 的平均值分别为 0.279 和 0.396, GZST065 和 GZST088 的 H_o 最高,均为 0.610, H_e 最高的是 GZST065 (0.727)。 PIC 为 0.023 - 0.695,平均值为 0.364,其中引物 GZST065 的多态性信息指数最高 ($PIC = 0.695$)。6 对引物中, GZST013、GZST019 和 GZST088 不存在显著性差异,其余 3 对引物均存在显著性差异。综合来看,引物 GZST065 和 GZST088 的各项遗传多样性指数数值较高。

表 3 6 对 SSR 引物的多态性

Table 3 Polymorphisms of 6 pairs of SSR primers

引物名 The name of primer	N_a	N_e	I	H_o	H_e	PIC	P value	显著性 Significance
GZST002	2	1.049	0.113	0.000	0.047	0.046	0.000	* * *
GZST013	2	1.325	0.410	0.286	0.245	0.215	0.280	ns
GZST019	2	1.024	0.065	0.024	0.024	0.023	0.938	ns
GZST055	3	2.620	1.016	0.143	0.618	0.538	0.000	* * *
GZST065	6	3.662	1.525	0.610	0.727	0.695	0.004	* *
GZST088	8	3.481	1.444	0.610	0.713	0.665	0.421	ns
Mean	3.833	2.194	0.762	0.279	0.396	0.364		
St Dev	2.563	1.219	0.655	0.276	0.329			

Note: ns means not significant, the group conforms to Hardy-Weinberg equilibrium; * * * means significant difference ($P < 0.01$), * * * * means significant difference ($P < 0.001$); Mean indicates average value; St Dev means standard deviation.

2.2 长叶苏铁群体遗传多样性分析

2.2.1 群体间的遗传多样性分析

广西长叶苏铁 3 个野生种群的遗传多样性检测结果见表 4。3 个种群的 N_a 平均为 2.833, PL 种群最高(3.167)。NL 种群的 N_e 最高, 为 2.234, 3 个种群平均值为 2.005。NL 种群的 I 最高, 表明该种群内遗传多样性最丰富。3 个种群的 H_o 最高的是 PL 种群(0.338), 最低的是 QH 种群(0.167)。 H_e 为 0.263 (QH) - 0.423 (NL)。3 个种群 H_o 均小于对应的 H_e , 说明 3 个种群内杂合子个体较少。QH 种群的遗传多样性参数[除固定指数 F (Fixed index) 外]在 3 个种群间均表现最低, 遗传多样性水平在 3 个种群中较低。

表 4 长叶苏铁群体间的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity among *C. dolichophylla* K. D. Hill populations

种群 Population	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F
NL	3.000	2.234	0.763	0.274	0.423	0.409
PL	3.167	2.190	0.734	0.338	0.392	0.076
QH	2.333	1.590	0.474	0.167	0.263	0.380
Mean	2.833	2.005	0.657	0.259	0.359	0.274

2.2.2 群体的遗传分化

广西长叶苏铁种群的分子方差分析结果显示长叶苏铁种群间的遗传变异占 3%, 个体间的遗传变异占 30%, 大多数的遗传变异来源于个体内(67%)。长叶苏铁种群间的基因流和遗传分化系数分析结果见表 5, NL 与 PL 间的基因流最大(11.034)且遗传分化系数最小(0.022), NL 与 QH 间的基因流最小(2.981)且遗传分化系数最大(0.077)。

表 5 长叶苏铁种群间的基因流(上三角)和遗传分化系数(下三角)

Table 5 Gene flow (upper triangle) and coefficient of genetic differentiation (lower triangle) between populations of *C. dolichophylla* K. D. Hill

种群 Population	NL	PL	QH
NL	-	11.034	2.981
PL	0.022	-	4.996
QH	0.077	0.048	-

2.2.3 长叶苏铁的聚类分析和主坐标分析

采用遗传距离对 3 个长叶苏铁种群进行 UPGMA 聚类分析(图 1), 结果显示 3 个种群可分为两类, 其中 PL 和 NL 遗传关系更近(遗传距离为 0.059), 可归为一类, QH 独自一类。

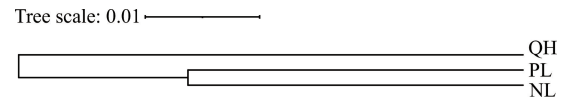


图 1 长叶苏铁 3 个种群的 UPGMA 聚类结果

Fig. 1 UPGMA clustering results of 3 populations of *C. dolichophylla* K. D. Hill

42 份长叶苏铁样品的 UPGMA 聚类分析结果见图 2, 42 份样品可分为 9 类, 3 个种群的 42 份样本在各类中相互穿插, 并不存在明显的群体分组, 多数 PL 和 NL 聚类在同一类中, 说明 PL 和 NL 遗传距离更近。

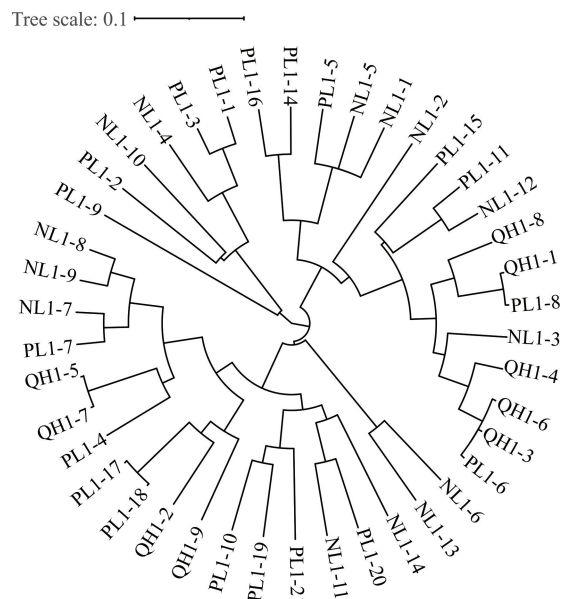


图 2 长叶苏铁 42 个样品的 UPGMA 聚类结果

Fig. 2 UPGMA clustering results of 42 samples of *C. dolichophylla* K. D. Hill

对广西长叶苏铁的 42 个样本进行主坐标分析(图 3), 结果显示第一主坐标贡献率为 26.38%, 第二主坐标贡献率为 15.20%, 累积贡献率为 41.58%, 可代表原始数据的主要信息。图中 3 个种群的 42 个样本个体相互交叉和重叠, 表明 3 个种群间存在着频繁基因渗透和基因交流。

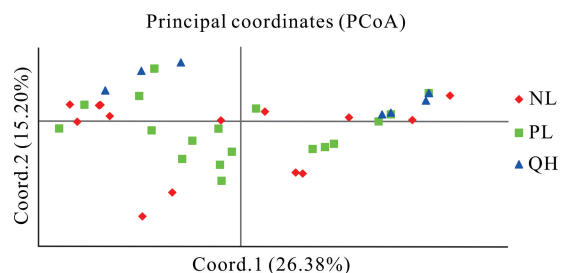


图 3 42 个长叶苏铁样本的主坐标分析

Fig. 3 Principal coordinate analysis of 42 samples of *C. dolichophylla* K. D. Hill

3 讨论

3.1 长叶苏铁遗传多样性

SSR 标记在植物遗传多样性分析和分子标记辅助育种等方面具有较为广泛的应用^[15,16]。本研究使用筛选出的 6 对重复性好的 SSR 引物对长叶苏铁遗传多样性进行检测。结果表明, 6 对引物中, GZST065 和 GZST088 的各项遗传多样性指数数值较高, 说明这两个位点的多态性较高, 拥有的遗传变异较多。参照张红瑞等^[17]对 PIC 的划分方法, 本研究中有 3 对引物(GZST055、GZST065、GZST088)是高度多态性引物($PIC > 0.5$), 3 对引物(GZST002、GZST013、GZST019)是低度多态性引物($PIC \leq 0.25$)。遗传多样性能体现物种进化潜力及其适应环境变化的能力, 物种的遗传多样性水平越高, 其适应环境变化的能力越强, 反之越弱^[18]。本研究中 3 个种群的期望杂合度(0.359)低于红河断裂带分布的长叶苏铁($He = 0.446$)^[2], 也低于其他濒危物种的平均值($He = 0.42$)^[19]。与其他苏铁属植物相比, 长叶苏铁期望杂合度低于台湾苏铁(*Cycas taiwaniana*, 0.703)、叉叶苏铁(*C. bifida*, 0.543)、多歧苏铁(*C. multipinnata*, 0.497)和德保苏铁(*C. debaoensis*, 0.484)等, 高于攀枝花苏铁(*C. panzhihuaensis*, 0.328)和四川苏铁(*C. szechuanensis*, 0.288)^[20,21]。3 个种群中德保县那甲镇(NL)种群的遗传多样性最高。但总体来看, 广西长叶苏铁遗传多样性水平均较低。Zheng 等^[2]基于 SSR 对云南长叶苏铁的遗传多样性研究结果显示, 云南长叶苏铁的期望杂合度为 0.466 0, 遗传分化系数为 0.260 0。本研究中长叶苏铁的期望杂合度为 0.359, 遗传分化系数为 0.049, 表明广西的长叶苏铁相对于云南的遗传多样性更低, 种群分化程度更低。这可能与广西长叶苏铁的种群植株数量少且成年植株稀少有关, 因此急需对广西长叶苏铁进行繁育及回归引种的相关研究, 扩大其种群植株数量。

3.2 长叶苏铁遗传分化

对于本研究中的长叶苏铁, 其群体间的遗传变异占 3%, 群体内的遗传变异占 97%, 变异主要集中在群体内, 种群间的遗传交流较少。这种现象发生的原因可能有两点: 一是广西长叶苏铁种群所积累的遗传变异少, 这是种群植株数量少导致的; 二是长叶苏铁的花粉可能无法远距离传播。苏铁类植物传粉方式大多为虫媒或者风媒。根据杨泉光等^[22]发现的越南

篦齿苏铁(*C. enlongata*)在 3.0 m 范围外花粉的分布密度随距离的增加而急剧下降的研究结果, 笔者推测长叶苏铁多为种群内杂交, 种群内的基因交流频繁。关于长叶苏铁传粉机制的研究目前还未见报道, 后续应加强这方面的研究。

3.3 广西长叶苏铁的保护策略

苏铁属植物是古生代孑遗植物, 零星分布, 竞争能力较弱, 且雌雄异株异熟, 多为虫媒或风媒传粉, 结实率不高, 更新能力较弱^[14,22]。因其观赏和经济价值都很高, 野生苏铁遭受过度的开发利用。社会经济的快速发展以及全球气候变化也使得苏铁属植物生境遭受破坏甚至毁灭^[20]。上述的内因与外因使得苏铁属植物濒临灭绝, 需要尽快对其进行研究和保护。自 2004 年第一次关于长叶苏铁的论文发表以来^[6], 业界对其进行的研究甚少。本研究中广西长叶苏铁种群的遗传多样性水平较低, 群体间遗传分化程度低, 绝大部分的遗传变异来自于群体内, 且 3 个种群 42 个个体的遗传背景相互混杂, 存在频繁的基因交流。鉴于长叶苏铁自身的生物学性状及外界的影响, 对广西长叶苏铁种质资源保护提出以下建议: (1) 3 个种群均位于保护区外, 因此都需要建立保护小区, 全面保护长叶苏铁野外个体和种群。德保县那甲镇(NL)种群的遗传多样性较高, 保护时应将该种群作为重点保护单元进行保护。(2) 筛选遗传多样性高的优良个体进行迁地保护, 并系统地对其生物学性状、繁育方法及回归引种等相关基础知识进行研究。(3) 加大对群众的宣传教育力度, 提高群众保护环境的意识。(4) 加强种群动态监测, 采用人工授粉等方式人为辅助长叶苏铁种群更新。

参考文献

- [1] 王祎晴, 肖斯悦, 席辉辉, 等. 云南西南地区 3 种苏铁属植物的分布现状和生境特征[J]. 植物资源与环境学报, 2021, 30(1): 36-43.
- [2] ZHENG Y, LIU J, GONG X. Tectonic and climatic impacts on the biota within the Red River Fault, evidence from phylogeography of *Cycas dolichoophylla* (Cycadaceae) [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 33540.
- [3] REN H, ZHANG Q M, LU H F, et al. Wild plant species with extremely small populations require conservation and reintroduction in China [J]. AMBIO, 2012, 41(8): 913-917.
- [4] MA Y P, CHEN G, GRUMBINE R E, et al. Conserving plant species with extremely small populations (PSESP)

- in China [J]. *Biodiversity and Conservation*, 2013, 22(3):803-809.
- [5] 管中天. 中国苏铁植物[M]. 成都:四川科学技术出版社,1996.
- [6] HILL K D, HIEP T N, LOC P K. The genus *Cycas* (Cycadaceae) in Vietnam [J]. *The Botanical Review*, 2004, 70(2):134-193.
- [7] 黄稚清,吴林源,高筱钰,等.基于 SSR 标记的紫花风铃木群体遗传多样性分析[J/OL]. *热带亚热带植物学报*, 2023,1-9[2023-05-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1374.Q.20230331.1604.004.html>.
- [8] 林立,林乐静,祝志勇,等.93份槭树种质资源的 SSR 指纹图谱构建与遗传多样性分析[J]. *分子植物育种*, 2022,20(4):1250-1263.
- [9] GARCIA A A F, KIDO A E, MEZA N A, et al. Development of an integrated genetic map of a sugarcane (*Saccharum* spp.) commercial cross, based on a maximum-likelihood approach for estimation of linkage and linkage phases [J]. *Theoretical and Applied Genetics*, 2006, 112(2):298-314.
- [10] 李子航,何立飞,王秀军,等.基于 SSR 分子标记的地被菊遗传多样性分析和指纹图谱构建[J]. *生物工程学报*, 2023,39(7):2839-2860.
- [11] DONG H, SHANG X D, ZHAO X Y, et al. Construction of a genetic linkage map of *Lentinula edodes* based on SSR, SRAP and TRAP markers [J]. *Breeding Science*, 2019, 69(4):585-591.
- [12] 万映伶,金亦佳,刘爱青,等.不同栽培地芍药品种资源遗传多样性的 SSR 分析比较[J]. *园艺学报*, 2023, 50(4):875-884.
- [13] 邹建文,饶红欣,陈灵,等.黑老虎新品系的 SSR 指纹图谱构建[J]. *热带作物学报*, 2023, 44(4):716-723.
- [14] 张国革,黎德丘,罗保,等.广西百色市野生苏铁植物资源及其保育[J]. *广西农业生物科学*, 2008, 27(3):230-234.
- [15] 陈彪,陈铭,李洋洋,等.烟草糖酯 SSR 分子标记筛选及辅助育种应用[J]. *中国烟草科学*, 2019, 40(3):8-15.
- [16] 叶冬梅,吴晓萌,段国珍,等.基于 SSR 分子标记分析白秆的群体遗传多样性[J/OL]. *分子植物育种*, 2023, 1-15[2023-05-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20230329.1043.008.html>.
- [17] 张红瑞,李鑫,陈振夏,等.基于 SSR 分子标记的裸花紫珠种质资源遗传多样性分析及 DNA 指纹图谱构建[J]. *中草药*, 2023, 54(12):3971-3982.
- [18] 田星,李中霖,刘小莉,等.基于 SSR 分子标记的灯盏花遗传多样性分析[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(18):136-143.
- [19] 杨磊,曹秋梅,冯纓,等.珍稀濒危植物阜康阿魏的遗传多样性及遗传结构[J]. *植物研究*, 2023, 43(1):51-58.
- [20] 席辉辉,王祎晴,潘跃芝,等.中国苏铁属植物资源和保护[J]. *生物多样性*, 2022, 30(7):1-13.
- [21] ZHENG Y, LIU J, FENG X Y, et al. The distribution, diversity, and conservation status of *Cycas* in China [J]. *Ecology and Evolution*, 2017, 7:3212-3224.
- [22] 杨泉光,宋洪涛,杨海娟,等.苏铁类植物传粉生物学研究进展(综述)[J]. *亚热带植物科学*, 2012, 41(3):83-88.

Genetic Diversity Analysis of the Extremely Small Populations Wild Plant *Cycas dolichophylla* K. D. Hill in Guangxi Based on SSR Markers

DENG Lili¹, ZOU Rong¹, TANG Jianmin^{1**}, CHEN Taiguo², WEI Xiao¹, WEI Fa'nan¹

(1. Guangxi Institute of Botany, Guangxi Zhuang Autonomous Region and Chinese Academy of Sciences, Guilin, Guangxi, 541006, China; 2. College of Pharmacy, Guilin Medical University, Guilin, Guangxi, 541199, China)

Abstract: Understanding the genetic diversity and variation characteristics of *Cycas dolichophylla* K. D. Hill, a national first-class key protected plant in Guangxi, is of great significance for the protection and management of *C. dolichophylla* K. D. Hill in Guangxi. In this study, six pairs of SSR primers with good stability

were selected to analyze the genetic diversity and variation characteristics of three *C. dolichophylla* K. D. Hill populations from Meicha Town, Tianyang County (PL), Najia Town, Debao County (NL) and Chengguan Town, Debao County (QH) of Baise City in Guangxi. The results showed that among the six pairs of primers, highly polymorphic loci (GZST055, GZST065, GZST088) and low polymorphic loci (GZST002, GZST013, GZST019) accounted for 50% each. The average number of observed alleles was 2.833, the average number of effective allele was 2.005, the average Shannon's information index was 0.657, the average observed heterozygosity was 0.259, and the average expected heterozygosity was 0.359. The genetic differentiation coefficient of the population is 0.049, which indicates that genetic differentiation among populations was small. The genetic variations within the population accounted for 97% of all genetic variation. The gene exchange of the three populations was frequent and the genetic background was mixed with each other. The genetic diversity level of *C. dolichophylla* K. D. Hill in Guangxi was low. The genetic diversity of the population in Najia Town, Debao County (NL) was the highest, so the population should be protected as a key protection unit. This article also puts forward some suggestions and countermeasures for the resource protection of *C. dolichophylla* K. D. Hill in Guangxi.

Key words: extremely small populations; *Cycas dolichophylla* K. D. Hill; SSR; genetic diversity; genetic variation

责任编辑:米慧芝,陈少凡



微信公众号投稿更便捷

联系电话:0771-2503923

邮箱:gxkxyxb@gxas.cn

投稿系统网址: <http://gxkx.ijournal.cn/gxkxyxb/ch>