

云贵高原特有植物矮杨梅的遗传多样性和遗传结构研究

卢玉霞, 冯建, 卢大先, 骆小松, 陈烨, 赵财*

(贵州大学 生命科学学院/农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵阳 550025)

摘要: 遗传多样性和遗传结构是评估物种适应环境变化的重要依据。为了探究云贵高原特有植物矮杨梅 (*Morella nana*) 的遗传多样性和遗传结构, 并制定合理保护策略。该研究基于简单重复序列 (SSR) 标记对矮杨梅 40 个群体 369 个个体进行 DNA 提取和 PCR 扩增, 以探究矮杨梅遗传多样性、遗传结构、系统发育。结果表明: (1) 矮杨梅遗传多样性较高 ($N_a=3.681$, $N_e=2.939$, $I=1.078$, $H_o=0.875$, $H_e=0.582$)。 (2) 聚类分析将矮杨梅划分为两组, Group 1 分布于云南高原, 贵州高原的矮杨梅群体包含 Group 1 和 Group 2 的遗传成分。遗传成分存在混合, 遗传结构表现为东西遗传分化。 (3) 遗传变异主要发生在群体内, 遗传分化系数较低, 群体间基因交流较为频繁, 基因流较为明显。总之, 通过 SSR 研究, 阐明了矮杨梅的遗传多样性和遗传结构, 为矮杨梅优良资源的利用和保护提供了科学的理论依据和保护策略。

关键词: 遗传多样性, 遗传结构, SSR 标记, 矮杨梅

Genetic diversity and genetic structure of *Morella nana*, an endemic species in Yunnan-Guizhou Plateau

LU Yuxia, FENG Jian, LU Daxian, LUO Xiaosong, CHEN Ye, ZHAO Cai*

(Key laboratory of Plant Resource Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), College of Life Sciences / Institute of Agro-Bioengineering, Guizhou University, Guiyang 550025, China)

Abstract: Genetic diversity and genetic structure serve as fundamental indicators for evaluating a species' adaptive potential in response to environmental changes. To assess the genetic status of the endemic plant *Morella nana* on the Yunnan-Guizhou Plateau and to formulate science-based conservation strategies, this study employed simple sequence repeat (SSR) markers to examine 369 individuals from 40 natural populations. DNA extraction and PCR amplification were conducted, followed by analyses of genetic diversity, population structure, and phylogenetic relationships. The results were as follows: (1) *M. nana* maintains relatively high levels of genetic diversity, as evidenced by key indices: the observed number of alleles (N_a) was 3.681, the effective number of alleles (N_e) was 2.939, the Shannon's index (I) was 1.078, the observed heterozygosity (H_o) was 0.875, and the expected heterozygosity (H_e) was 0.582. (2) Cluster analyses divided the sampled populations into two distinct genetic groups. Group 1 was primarily distributed across the Yunnan Plateau, whereas populations from the Guizhou Plateau contain admixed genetic components derived from both Group 1 and Group 2. This pattern indicates significant historical or ongoing genetic admixture, and the genetic structure exhibits an east-west differentiation across the species' range. (3) Analysis of molecular variance revealed that genetic variation primarily occurs within populations, indicating individuals were the main source of variation. Genetic differentiation among populations was low, with frequent inter-population gene flow. In conclusion, this SSR-based molecular study successfully elucidated the patterns of genetic diversity and the spatial genetic structure of *M. nana*. The findings provide a robust scientific foundation for understanding its evolutionary dynamics and demographic history. More importantly, they offer critical insights for developing targeted conservation strategies. These strategies should prioritize the protection of populations representing unique genetic clusters, particularly the admixed populations in Guizhou, while also ensuring the preservation of the

基金项目: 国家自然科学基金(32260252), 贵州科技支撑计划项目(黔科合支撑(2019) 2451-2 号)。

第一作者: 卢玉霞(1999-), 硕士研究生, 主要从事植物系统与进化生物学研究, (E-mail) 1363579268@qq.com。

***通信作者:** 赵财, 博士, 副教授, 主要从事植物系统与进化、植物多样性及保护方向研究, (E-mail) czhao1@gzu.edu.cn; zhaocai_11@163.com。

species' overall high genetic variation to enhance its long-term resilience and adaptive potential in the face of environmental change.

Key words: genetic diversity, genetic structure, SSR marker, *Morella nana*

云贵高原位于中国西南部，主要包括云南省东部和贵州省西部，是中国四大高原之一。该高原形成西高东低的地貌格局（戴传固等，2013），整体可划分为云南高原和贵州高原两个地理单元（廖瑶等，2019）。青藏高原的抬升引发了云贵高原的造山运动。自新生代以来，印度板块一直向北移动。因此，青藏高原的剧烈运动，促使云贵高原持续抬升，促成其独特的地貌构造和复杂地质条件的形成（Wang et al., 2014）。该高原具有以下几个特征：第一，该区域海拔跨度大（400~3 500 m），温度与降水空间异质性显著（樊云龙等，2018）。加之典型的石灰岩喀斯特生境（Xie et al., 2017），使得土壤养分与水分沿地形梯度呈高度异质化，形成多样化的喀斯特微生境（Shen et al., 2019）。第二，地理隔离明显，云贵高原具典型的喀斯特地貌，地形复杂多样，具有喀斯特岛屿特殊隔离生境（吴敏等，2022）。从而导致扩散能力有限的植物群体常形成类似岛屿状的地理隔离格局（Han et al., 2017），使得物种呈片段化分布（Gao et al., 2024），削弱了群体间的基因流，影响物种的遗传多样性水平。该地区因其地形和生态多样性一直被视为物种多样性研究的热点区域（López-Pujol et al., 2011）。如 Ye 等（2024）基于 RAD-seq 系统研究了箬竹（*Chimonobambusa tumidissinoda*）的遗传结构及其保护生物学意义，结果表明地理隔离可能驱动种群遗传分化；Gao 等（2024）利用简化基因组数据解析了滇魔芋（*Amorphophallus yunnanensis*）的适应性分化与群体遗传结构，并提出滇魔芋的遗传分化与西南山区的地理隔离和分化选择有关；Gao 等（2022）对银星竹鼠（*Rhizomys pruinosus*）的遗传多样性和群体间分化研究，揭示了银星竹鼠与地理分布相符合的东部和西部系统发育类群。该区域“类似岛屿”式生境的高度隔离性、复杂的地质历史与古气候变迁（薛治国，2010；成宇，2019；吴敏等，2022），是开展物种遗传多样性和遗传结构研究的理想场所。

矮杨梅（*Morella nana*），亦称滇杨梅，是杨梅科（Myricaceae）杨梅属（*Morella*）多年生常绿灌木，为我国云贵高原地区特有植物。该物种分布范围较窄，地理范围涵盖云南中部至贵州西南部以及四川南部边缘地带（刘路贤，2016；成宇，2019）。作为重要的野生植物资源，矮杨梅果实味酸可食，富含黄酮类化合物和鞣质成分。据《本草纲目》记载，矮杨梅具有止渴生津、调理肠胃、安神除烦等功效。在民间常用矮杨梅鲜果作为药材泡酒用于助消化和抗菌消炎，也有用于治疗胃痛和风湿性关节炎等疾患（周志宏和杨崇仁，2000；吴敏等，2022）。此外，矮杨梅还是重要的生态效益物种，不仅枝叶繁茂，与固氮菌形成共生关系，还具有较强的抗污染能力和改良土壤的功效（刘宁等，2003；胡雪华，2007；成宇，2019；吴敏等，2022）。对环境适应性强，耐旱耐贫瘠，是水土保持和生态恢复的先锋物种（刘宁和李正芬，2004），是集药用、食用与生态价值于一身的珍贵资源（胡雪华，2007）。

随着测序技术的快速发展和成本的降低，分子生物学的方法在生物领域的应用也越来越广泛。简单重复序列（simple sequence repeat, SSR）标记因其多态性高、重复性好、分布广泛且操作简便等优势（Powell et al., 1996；巨鹏举等，2023；齐海玲等，2023），被广泛应用于遗传多样性和群体遗传结构研究（梁红艳，2018；姚建忠，2024）。近年来，随着矮杨梅利用范围逐渐扩展，针对矮杨梅的研究也逐渐增多。但研究主要集中在生物学特性、化学成分、形态学及生药学等方面（刘宁和李正芬，2004；张喜焕和刘宁，2005；谢宁等，2014）。此外，张宇斌等（2018）采用等位酶电泳技术对贵州野生矮杨梅进行遗传多样性研究，表明矮杨梅群体具有较高的遗传变异和群体丰富程度。吴敏等（2022）利用 ITS 与 *psbA-trnH* 和 *trnD-psbM* 联合序列对矮杨梅构建了包括毛杨梅和杨梅在内的系统发育树，结果显示地理距离相对较近的群体聚在系统树同一分支上，这表明地理距离对该地区的矮杨梅的亲缘关系具有重要影响，同时云贵高原复杂的气候变化也是影响各群体的亲缘关系的重要因素。Wu 等（2024）利用叶绿体非编码区[cpDNA（*psbA-trnH* 和 *trnD-psbM*）]和 ITS 序列对矮杨梅群体进行遗传多样性和群体动态历史分析，表明矮杨梅群体具有较高的遗传多样性，同时地理隔离和气候波动对云贵高原植物区系的分布存在影响。但以上研究所使用的矮杨梅样本量较少，对获得的结果可能存在偶然性。

目前，对矮杨梅的遗传多样性和遗传结构的研究较少。因此，本研究通过加大采样量，采集覆盖其地理分布区的材料，采用谱系地理学研究方法，基于简单重复序列标记对云贵高

原地区的 40 个自然群体共 369 个野生矮杨梅进行分析。通过遗传多样性, 遗传结构, 主成分等分析, 旨在探讨以下问题: (1) 矮杨梅的遗传多样性; (2) 矮杨梅的遗传分化和遗传结构。本研究结果可为矮杨梅资源的保护、开发利用及分子辅助育种工作提供关键参考依据。

1 材料与方法

1.1 植物材料

本研究通过查阅文献和数字标本馆 (中国数字植物标本馆 CVH: <https://www.cvh.ac.cn>; 全球生物多样性信息设施 GBIF; <https://www.gbif.org>) 查找矮杨梅的所有分布记录, 在矮杨梅的整个分布区域内共采集到 40 个天然野生矮杨梅群体的 369 个个体。每个群体包括 4~10 份样本 (表 1), 为防止单一植株的重复取样, 个体间距离通常保持在 20 m 以上, 群体间通常保持在 20 km 以上。将采集到的健康无虫害的嫩叶, 收集到分子材料袋中并编号, 立即放入含有硅胶的收集袋干燥保存, 记录每个群体的经纬度、海拔等相关信息。

表 1 矮杨梅 40 个群体采样点信息
Table 1 Sampling site information for 40 populations of *Morella nana*

群体编号 Population code	采样地点 Collection site	纬度 latitude	经度 longitude	海拔 Altitude (m)	样本数量 Sample size
GZGM	贵州大方 Dafang, Guizhou	27.26° N	106.06° E	1 361	8
GZBH	贵州七星关区 Qixingguan, Guizhou	27.33° N	105.40° E	1 511	10
YNJN	云南晋宁区 Jinning, Yunnan	24.67° N	102.59° E	1 893	10
GZHY	贵州赫章 Hezhang, Guizhou	27.13° N	104.77° E	1 717	10
GZHT	贵州大方 Dafang, Guizhou	27.29° N	105.66° E	1 601	10
GZXX	贵州大方 Dafang, Guizhou	27.34° N	105.86° E	1 811	10
YNMT	云南宣威市 Xuanwei, Yunnan	26.07° N	103.95° E	2 166	10
GZYS	贵州水城区 Shuichen, Guizhou	26.47° N	104.81° E	1 961	10
GZWX	贵州纳雍 Nayong, Guizhou	26.99° N	105.20° E	1 540	10
GZWL	贵州六枝特区 Liuzhi, Guizhou	26.45° N	105.29° E	1 517	4
YNFY	云南富源 Fuyuan, Yunnan	25.38° N	104.46° E	1 982	10
GZLQ	贵州赫章 Hezhang, Guizhou	27.23° N	104.67° E	1 764	10
GZYC	贵州威宁彝族回族苗族自治县 Weining, Guizhou	26.89° N	104.42° E	2 163	10
GZLS	贵州威宁彝族回族苗族自治县 Weining, Guizhou	26.82° N	104.44° E	1 923	10
GZAG	贵州水城区 Shuichen, Guizhou	26.46° N	104.99° E	1 662	10
GZYG	贵州七星关 Qixingguan, Guizhou	27.29° N	105.35° E	1 540	7
GZGK	贵州纳雍 Nayong, Guizhou	27.01° N	105.08° E	1 431	10
GZJP	贵州盘州市 Panzhou, Guizhou	25.89° N	104.57° E	1 827	10
GZHZ	贵州盘州 Panzhou, Guizhou	26.14° N	104.66° E	2 029	10
GZQG	贵州七星关 Qixingguan, Guizhou	27.18° N	105.31° E	1 583	6
GZYZ	贵州盘州 Panzhou, Guizhou	25.65° N	104.48° E	2 150	10
GZXR	贵州兴仁 Xingren, Guizhou	25.65° N	105.97° E	1 860	10
YNPL	云南盘龙 Panlong, Yunnan	25.12° N	102.75° E	2 010	10
YNLQ	云南禄劝彝族苗族自治县 Luquan, Yunnan	26.05° N	102.97° E	1 753	9
GZQX	贵州黔西 Qianxi, Guizhou	27.25° N	106.05° E	1 410	4
GZSC	贵州水城区 Shuichen, Guizhou	26.50° N	104.98° E	1 720	10
GZZJ	贵州织金 Zhijin, Guizhou	26.62° N	105.73° E	1 490	8
SCYB	四川盐边 Yanbian, Sichuan	27.15° N	102.43° E	1 143	10

SCRH	四川仁和区 Renhe, Sichuang	26.85° N	102.23° E	1 099	10
YNDL	云南大理 Dali, Yunnan	25.97° N	100.38° E	1 992	10
YNNJ	云南南涧彝族自治县 Nanjian, Yunnan	25.12° N	100.75° E	1 401	10
YNQB	云南丘北 Qiubei, Yunnan	24.07° N	104.43° E	2 090	10
YNYL	云南彝良 Yiliang, Yunnan	28.20° N	104.27° E	1 662	10
YNHZ	云南会泽 Huize, Yunnan	26.65° N	103.64° E	2 467	10
GZWN	贵州威宁彝族回族苗族自治县 Weining, Guizhou	26.68° N	104.12° E	2 209	9
YNZY	云南彝良 Yiliang, Yunnan	27.63° N	104.22° E	1 851	10
YNES	云南峨山彝族自治县 Eshan, Yunnan	24.3° N	102.67° E	1 542	10
YNLC	云南禄劝彝族苗族自治县 Luquan, Yunnan	26.23° N	103.33° E	2 015	5
GZSY	贵州水城区 Shuichen, Guizhou	26.38° N	104.80° E	2 250	10
GZLZ	贵州六枝特区 Liuzhi, Guizhou	26.38° N	105.23° E	1 590	9

1.2 DNA 提取、测序和引物筛选

从硅胶干燥的叶片中选取 0.5 g 矮杨梅材料，放入经灭菌的研钵中，加入石英砂和液氮研磨至粉末状，置于 2 mL 离心管中，余下步骤参照植物试剂盒提取的方法（天根生化科技（北京）有限公司）提取总 DNA。利用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 质量，对于条带不清晰的个体，重新提取 DNA 再进行扩增后电泳检测。对结果理想的样品置于 -20 °C 冰箱保存备用。

本研究通过查阅相关文献并进行预试验，筛选出最适宜本研究扩增的引物，一共筛选出 9 对 SSR 引物（Terakawa et al., 2006; Zhang et al., 2009; 陈楠, 2014; 刘路贤, 2016; 巨鹏举等, 2023），用于对矮杨梅 40 个群体 369 份样本进行扩增和测序。由北京擎科生物技术有限公司在引物序列的 5' 端添加 FAM 荧光基团，用于后续的荧光毛细管电泳检测。扩增条件：2×Taq PCR Master Mix 12.5 uL，DNA 模板 1 uL，上下游引物各 1 uL，剩余体积用 ddH₂O 补充至 25 uL。PCR 扩增程序：94 °C 预变性 2 min，94 °C 变性 30 s，温度 52~60 °C 退火 30 s，72 °C 延伸 30 s，72 °C 终延伸 7 min，反应设置为 35 个循环。用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测，条带明亮、清晰的为扩增合格的 PCR 产物，进而用 ABI3730 对 PCR 产物进行分析。

1.3 数据分析

采用 GenALEx 6.5 软件（Peakall & Smouse, 2006）对 40 个矮杨梅群体进行哈温平衡（Hardy-Weinberg, HW）检验。使用 GenALEx 6.5 软件基于 SSR 分子标记测序数据计算遗传参数，包括期望杂合度（expected heterozygosity, H_e ）、观测杂合度（observed heterozygosity, H_o ）、有效等位基因数（effective number of alleles, N_e ）、观测等位基因数（observed number of alleles, N_a ）、Shannon 多样性指数（Shannon's index, I ）及多态位点比例（percentage of polymorphic loci, PPL）。运用 CERVUS 3.0（Kalinowski et al., 2007）计算各 SSR 位点的多态信息含量（polymorphism information content, PIC），根据 PIC 值将位点多态性划分为 3 个等级：高多态性（PIC>0.5）、中等多态性（0.25≤PIC≤0.5）和低多态性（PIC<0.25）。

利用 Structure 2.3.4（Pritchard et al., 2000）对 369 份样本进行贝叶斯聚类分析。设置 K 值范围为 1~10，每个 K 值进行 10 次独立运算，采用混合祖先模型，Structure 参数：设置“Length of burnin period”为 100 000，“Number of MCMC Reps after Burn-in”为 100 000。遵循 Evanno 等（2005）提出的方法，通过计算连续 K 值之间的 Delta K 值来进行判断。将得到的 Structure 结果上传到在线平台（<https://lmme.ac.cn/StructureSelector/>）确定最佳分组数，最终结果使用 ArcMap 10.5 将群体遗传结构可视化呈现。

通过 Arlequin 3.5（Excoffier & Lischer, 2010）进行分子方差分析（analysis of molecular variance, AMOVA），解析群体遗传变异来源。通过 GenALEx 6.5 基于 F_{ST} 的方法估算群体间基因流（ N_m ）。根据 GenALEx 6.5 软件计算出的 Nei 's 遗传距离可进一步分析，即用 MEGA 6.0 软件构建系统发育树，揭示群体间亲缘关系。此外，运用 GenALEx 6.5 进行 Mantel 检验，探讨遗传距离与地理距离、海拔的相关性，并基于 Nei 's 遗传距离进行主成分分析（principal

coordinate analysis, PCoA)。

使用 Bottleneck 软件 (Piry et al., 1999) 检测群体瓶颈效应。鉴于标准差异检验需 20 对以上引物 (陈微, 2018), 本研究基于 9 对 SSR 引物采用双相突变模型 (TPM), 设置突变模型中 30% 为 TPM 变异, 70% 为逐步突变模型 (SMM), 进行 1 000 次重复的符号检验和 Wilcoxon 双边检验。

2 结果与分析

2.1 位点水平遗传多样性

位点的多态性分析结果 (表 2) 显示, 9 对引物在 369 份矮杨梅样本中 N_a 的范围为 0.775 (SSR6) ~ 5.775 (SSR8), 平均为 3.681, N_e 范围为 0.746 (SSR6) ~ 4.48 (SSR8), 平均值为 2.932。位点 SSR6 的 N_a 和 N_e 值最低, 表明其多态性最弱。 I 的变异范围为 0.264~1.531, 平均为 1.078。PIC 值的高低反映了位点的遗传变异程度, 范围为 0.682~0.865, 平均值为 0.766>0.5, 表明 9 个位点具有较高的多态性。观测杂合度 (H_o) 和期望杂合度 (H_e) 为 0.325 (SSR6) ~ 1 (SSR1, SSR9) 和 0.176 (SSR6) ~ 0.734 (SSR8)。 F_{is} 反映了种群的近亲交配水平, 较高的 F_{is} 则表明种群间基因流动十分有限, F_{is} 为负值通常表示种群间存在有效的基因流动或远亲交配。矮杨梅群体近交系数 (F_{is}) 值为 -0.85~-0.328, 9 个位点 F_{is} 值均小于 0, 暗示这些群体间可能存在远交。在对 9 个位点进行哈迪温伯格平衡检测时, 检测到 360 个位点, 其中 254 个位点符合哈迪温伯格平衡, 有 45 个为单态 (附录 1)。表明筛选的九对 SSR 引物能有效揭示矮杨梅种群内丰富的遗传变异。所有数据都被用作后续分析。

表 2 9 对 SSR 位点遗传多样性分析
Table 2 Genetic diversity of 9 pairs of SSR loci

位点 Loci	观测等位 基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	Shannon 多 样性指数 I	观测杂 合度 H_o	期望杂 合度 H_e	固定系数 F	近交系数 F_{is}	遗传分 化系数 F_{ST}	多态信息含量 PIC
SSR1	3.225	2.557	0.996	1.000	0.599	-0.689	-0.670	0.176	0.682
SSR2	3.450	2.937	1.090	0.975	0.622	-0.610	-0.568	0.242	0.787
SSR3	4.450	3.256	1.255	0.950	0.655	-0.473	-0.451	0.238	0.821
SSR4	2.475	2.120	0.804	0.775	0.477	-0.656	-0.624	0.446	0.728
SSR5	4.925	3.918	1.379	0.925	0.681	-0.388	-0.358	0.226	0.839
SSR6	0.775	0.746	0.264	0.325	0.176	-0.884	-0.850	0.820	0.752
SSR7	4.200	3.369	1.210	0.950	0.642	-0.531	-0.481	0.199	0.699
SSR8	5.775	4.480	1.531	0.975	0.734	-0.354	-0.328	0.170	0.865
SSR9	3.850	3.074	1.175	1.000	0.652	-0.564	-0.533	0.143	0.718
平均值 Mean	3.681	2.939	1.078	0.875	0.582	-0.546	-0.540	0.295	0.766

2.2 群体遗传多样性

矮杨梅群体的遗传多样性分析结果见表 3。40 个群体中 GZWX 群体的遗传多样性最高 ($N_a=5.333$, $N_e=4.375$, $I=1.494$, $H_o=1$, $H_e=0.742$); 其次是 GZYS ($N_a=5.444$, $N_e=4.166$, $I=1.450$, $H_o=0.889$, $H_e=0.690$) 和 GZYC ($N_a=5.000$, $N_e=3.682$, $I=1.396$, $H_o=1.000$, $H_e=0.711$); 而 YNLC 群体的遗传多样性最低 ($N_a=0.667$, $N_e=0.667$, $I=0.231$, $H_o=0.333$, $H_e=0.167$)。野生矮杨梅平均遗传多样性指数为 ($N_a=3.681$, $N_e=2.939$, $I=1.078$, $H_o=0.875$, $H_e=0.582$), 显示出较高的遗传多样性水平。此外, 尽管 GZQX 样本量最少 (只有 4 个个体), 但遗传多样性处于中等水平。40 个群体的 N_a 范围为 0.667~5.333, N_e 为 0.667~4.375, I 为 0.231~1.494, 这些数据揭示了不同群体间的遗传多样性差异。尤其是 GZWX 群体的 N_a 、 N_e 和 I 值均表现突出, 可能该群体遗传变异程度丰富。观测杂合度显示, 12 个群体在 9 个位点上的 H_o 均为 1, 表明这几个群体的个体均为杂合子, 这可能揭示了矮杨梅群体普遍具有极高的遗传杂合性与多样性。当固定系数 F 值呈现显著的负值时, 则通常表明种群中存在杂合子过剩

现象,可能存在远交优势。矮杨梅所有群体的 F 值皆为负数(范围: -1~-0.292, 均值: -0.546), 说明群体间存在一定程度的远交。部分群体的多态位点百分率(PPL)都达到了 100%, 平均值为 87.5%, 说明引物的多态性良好, 适合用于矮杨梅的群体遗传研究。从总体来看, 矮杨梅群体整体遗传多样性较高, 物种整体遗传资源丰富, 有利于物种的长期适应和生存。瓶颈效应检测表明(附录 2), GZHZ、YNLQ、YNQB、YNYL、GZWN 和 YNZY 6 个群体在两种模式下均体现了瓶颈效应($P<0.05$), GZGM, YNJJ, YNMT, GZYS, GZWX, GZWL, GZLS, GZQG, YNDL 和 GZSY 群体在 Wilcoxon test 表现出瓶颈效应, 其余 GZBH 等 23 个群体未经历瓶颈效应。超过一半的群体未检测出瓶颈效应, 说明矮杨梅群体可能具有较高水平的遗传多样性。

表 3 基于 9 对 SSR 引物矮杨梅群体遗传多样性分析
Table 3 Genetic diversity analysis of *Morella nana* populations based on 9 pairs of SSR primers

群体 Population	观测等位 基因数 N_a	有效等位 基因数 N_e	Shannon 多 样性指数 I	观测杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	固定系数 F	多态位点比例 PPL(%)
GZGM	4.333	3.636	1.309	1.000	0.696	-0.468	100.00
GZBH	4.667	3.385	1.265	0.889	0.635	-0.413	88.89
YNJJ	4.667	3.683	1.317	0.889	0.658	-0.363	88.89
GZHY	4.667	3.781	1.332	1.000	0.692	-0.482	100.00
GZHT	4.333	3.480	1.296	1.000	0.685	-0.494	100.00
GZXX	4.000	3.008	1.179	1.000	0.652	-0.558	100.00
YNMT	4.111	3.139	1.201	0.889	0.626	-0.432	88.89
GZYS	5.444	4.166	1.450	0.889	0.690	-0.292	88.89
GZWX	5.333	4.375	1.494	1.000	0.742	-0.379	100.00
GZWL	3.444	2.969	1.101	0.889	0.605	-0.487	88.89
YNFY	4.556	3.503	1.252	0.889	0.630	-0.447	88.89
GZLQ	4.444	3.575	1.249	0.889	0.633	-0.444	88.89
GZYC	5.000	3.682	1.396	1.000	0.711	-0.421	100.00
GZLS	4.333	3.459	1.199	0.889	0.614	-0.492	88.89
GZAG	4.667	3.432	1.283	0.889	0.642	-0.401	88.89
GZYG	4.111	3.268	1.160	0.889	0.603	-0.515	88.89
GZGK	4.556	3.200	1.264	1.000	0.667	-0.530	100.00
GZJP	4.111	3.107	1.173	0.889	0.614	-0.468	88.89
GZHZ	4.778	3.920	1.371	1.000	0.702	-0.472	100.00
GZQG	3.667	2.978	1.093	0.889	0.592	-0.553	88.89
GZYZ	4.556	3.250	1.227	0.889	0.621	-0.455	88.89
GZXR	4.333	3.545	1.290	1.000	0.686	-0.482	100.00
YNPL	3.778	2.993	1.054	0.778	0.542	-0.479	77.78
YNLQ	2.556	2.103	0.802	0.778	0.475	-0.664	77.78
GZQX	3.444	3.056	1.114	1.000	0.637	-0.621	100.00
GZSC	3.889	3.078	1.145	0.889	0.609	-0.490	88.89
GZZJ	3.667	2.896	1.111	1.000	0.629	-0.628	100.00
SCYB	3.000	2.515	0.958	0.889	0.558	-0.625	88.89
SCRH	2.667	2.218	0.832	0.778	0.483	-0.648	77.78
YNDL	4.000	3.283	1.243	1.000	0.682	-0.482	100.00

YNNJ	2.111	1.769	0.664	0.778	0.429	-0.833	77.78
YNQB	2.556	2.103	0.797	0.778	0.471	-0.686	77.78%
YNYL	2.667	2.225	0.840	0.889	0.514	-0.771	88.89
YNHZ	1.556	1.398	0.508	0.667	0.347	-0.927	66.67
GZWN	1.333	1.333	0.462	0.667	0.333	-1.000	66.67
YNZY	2.333	1.972	0.720	0.778	0.445	-0.792	77.78
YNES	1.778	1.643	0.592	0.667	0.378	-0.811	66.67
YNLC	0.667	0.667	0.231	0.333	0.167	-1.000	33.33
GZSY	3.556	2.926	1.068	0.889	0.587	-0.561	88.89
GZLZ	3.556	2.861	1.084	0.889	0.596	-0.515	88.89

2.3 群体遗传结构与遗传分化

Arlequin 3.5 分子方差分析 (AMOVA) 表明 40 个群体遗传变异主要发生在群体内 (90.93%), 只有 9.07% 的遗传变异发生在群体间。遗传分化系数为 0.09 (表 4), 暗示这些群体间的遗传差异较小, 可能它们之间存在较高的基因流动或遗传相似性。基因流结果 (图 1) 显示各群体间具有较强的基因流, 大部分群体两两组合显示基因流超过了 1 这一临界点, 说明矮杨梅群体间的基因交流较为频繁。基于 SSR 数据获得的 STRUCTURE 结果表明, $K=2$ 时, ΔK 值达到了峰值 (图 2: a); 当 $K=2$ 时, 来自云南的 YNJN、YNMT 和 YNFY 与贵州的 GZYC 和 GZAG 等 7 个群体划分为一组, 其余的 33 个群体划分为一组 (图 2: c)。在此聚类数据下, 可以明显观察到各群体间的遗传交流, 各组的混合现象揭示了矮杨梅群体潜在的杂交事件、遗传多样性和较强的基因交流, 表明群体间遗传差异存在重叠。

STRUCTURE 地理分布图展示了矮杨梅群体间的混合情况, 矮杨梅在地理分布上表现出东西遗传分化趋势, 西部群体主要祖先成分为红色, 东部群体包含红色和绿色两个祖先成分。Group 1 群体主要分布于西面 (云南高原), Group 2 群体主要分布于东面 (贵州高原) 的矮杨梅群体。GZYC, GZLQ, GZWX 和 GZWL 4 个群体中存在较多的 Group 1 的遗传成分; 地理距离与 Group 2 相近的 GZJP 和 GZYZ 群体中几乎不存在 Group 2 的遗传成分, 而邻近的 GZSY 和 GZSY 主要以 Group 1 的成分为主; 地理距离相对较远的云南群体 YNDL 群体中存在少量 Group 2 的遗传成分。此外, Group 2 七个群体都包含少量 Group 1 的遗传成分, Group 1 部分群体遗传成分只有红色。虽然矮杨梅不同群体间的基因交流频繁, 但遗传结构在地理上表现出东西分裂的趋势 (图 2: d)。

基于 $Nei's$ 遗传距离构建的 NJ 树揭示了矮杨梅各群体的遗传聚类情况 (图 2: b), NJ 树显示矮杨梅群体的亲缘关系较近, 没有明确的分组, Group 2 的 7 个群体嵌入到 Group 1 的群体中, 分组不明显。总体而言, 贵州和云南的群体分别聚集在一起, 只有部分群体存在混合现象。

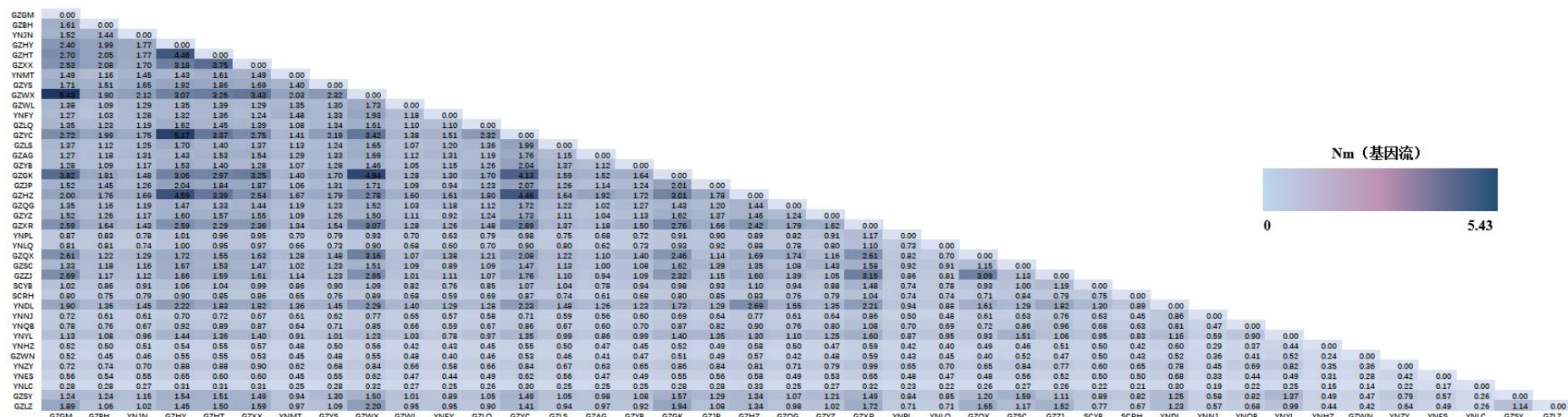


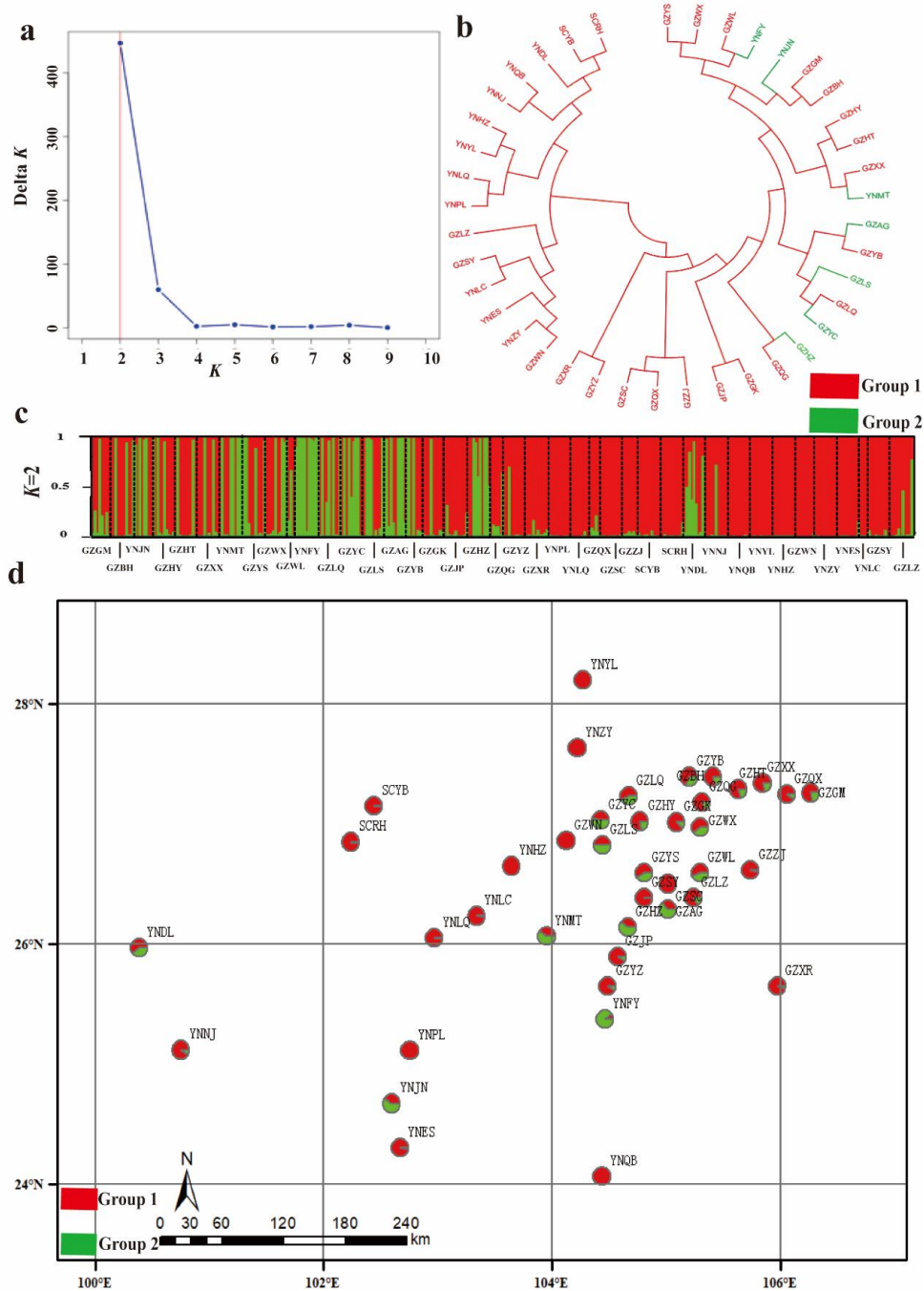
图 1 矮杨梅 40 个群体间的基因流分析
Fig.1 Gene flow analysis among 40 populations of *Morella nana*

基于遗传距离主成分分析 (PCoA) 结果 (图 3) 显示, 前三项主成分所能解释的遗传变异比例依次为 16.53%、6.99% 和 5.45%。选择贡献率最高的前两个主成分, 以第一主成分作为横轴 (16.53%), 第二主成分作为纵轴 (6.99%), 构建二维散点图, 直观呈现矮杨梅群体遗传空间中的分布。可视化结果反映出, 369 个个体聚为两组, 西部的 Group 1 聚为一组, 东部的 Group 1 和 Group 2 存在遗传成分混合的现象。AMOVA、基因流、STRUCTURE、NJ 树和 PCoA 分析表明, 在矮杨梅 40 个群体中, 遗传分化不明显, 群体间存在频繁的基因交流, 群体间存在不同程度的混合。Mantel 检验的矮杨梅遗传距离与地理距离线性回归方程为 $y = 0.0007x + 10.64$ ($R^2=0.001$, $P=0.18>0.05$) (图 4: a), 矮杨梅遗传距离与海拔的 Mantel 为 $y = 0.0001x + 10.732$ ($R^2=0.0001$, $P=0.31>0.05$) (图 4: b)。虽然二者线性回归方程均为正相关, 但在统计上不存在显著的相关性 ($P>0.05$)。

表 4 矮杨梅 40 个群体分子方差分析 (AMOVA)

Table 4 Analysis of molecular variance (AMOVA) for 40 populations of *Morella nana*

变异来源 Source of variation	方差和 Sum of squares	方差分量 Variance component	变异百分率 Percentage of variation (%)	分化系数 Fixation index (F_{ST})
群体间 Among populations	63.821	0.067	9.07	0.09
群体内 Within populations	331.168	0.675	90.93	
总 Total	394.989	0.742		



a. 矮杨梅群体最佳分组确定; b. 基于 *Nei's* 遗传距离的矮杨梅 40 个群体间的 NJ 树聚类结构; c. 369 个矮杨梅个体的 STRUCTURE 图, 不同颜色代表不同的组, 红色为 Group 1, 绿色为 Group 2; d. $K=2$ 时, 矮杨梅群体遗传结构地理分布图, 颜色同 STRUCTURE 遗传结构图 c。

a. Delta K of the optimal grouping of the *Morella nana* populations; b. NJ tree clustering structure of 40 *Morella nana* populations based on *Nei's* genetic distance; c. STRUCTURE plot of 369 *Morella nana* individuals, with different colors representing different groups, red for Group 3 and green for Group 2; d. Geographical distribution of the genetic structure of *Morella nana* populations when $K=2$, with colors corresponding to the genetic structure in the STRUCTURE plot (c).

图 2 矮杨梅群体遗传结构和地理分布

Fig.2 Population genetic structure and geographical distribution of *Morella nana*

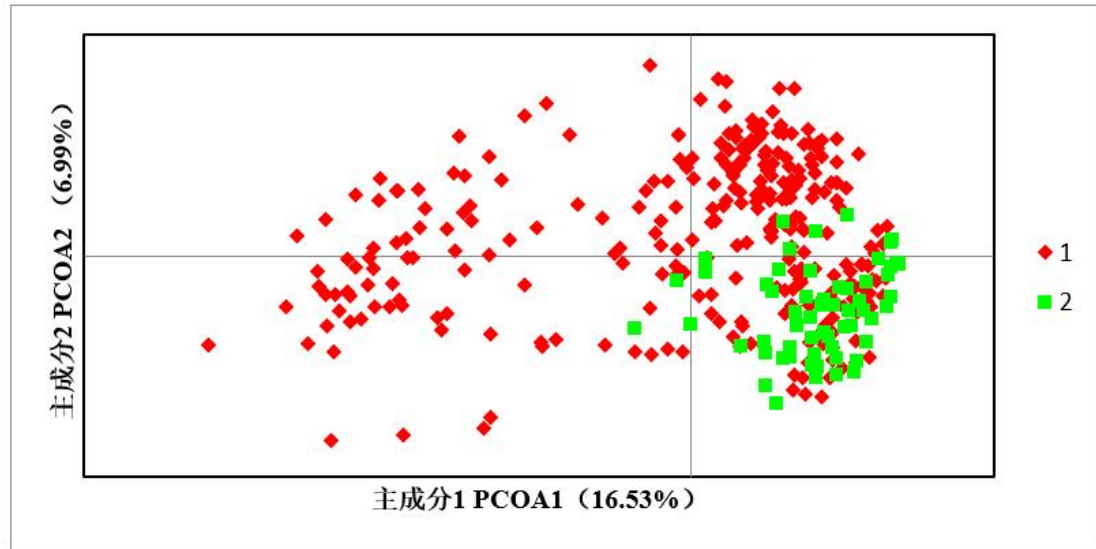


图 3 矮杨梅 369 个个体基于 *Nei's* 遗传距离的主成分分析，1 和 2 分别代表 Group 1 和 Group 2
 Fig. 3 Principal coordinates analysis of 369 individuals of *Morella nana* based on *Nei's* genetic distance, 1 and 2 represent Group 1 and Group 2 respectively

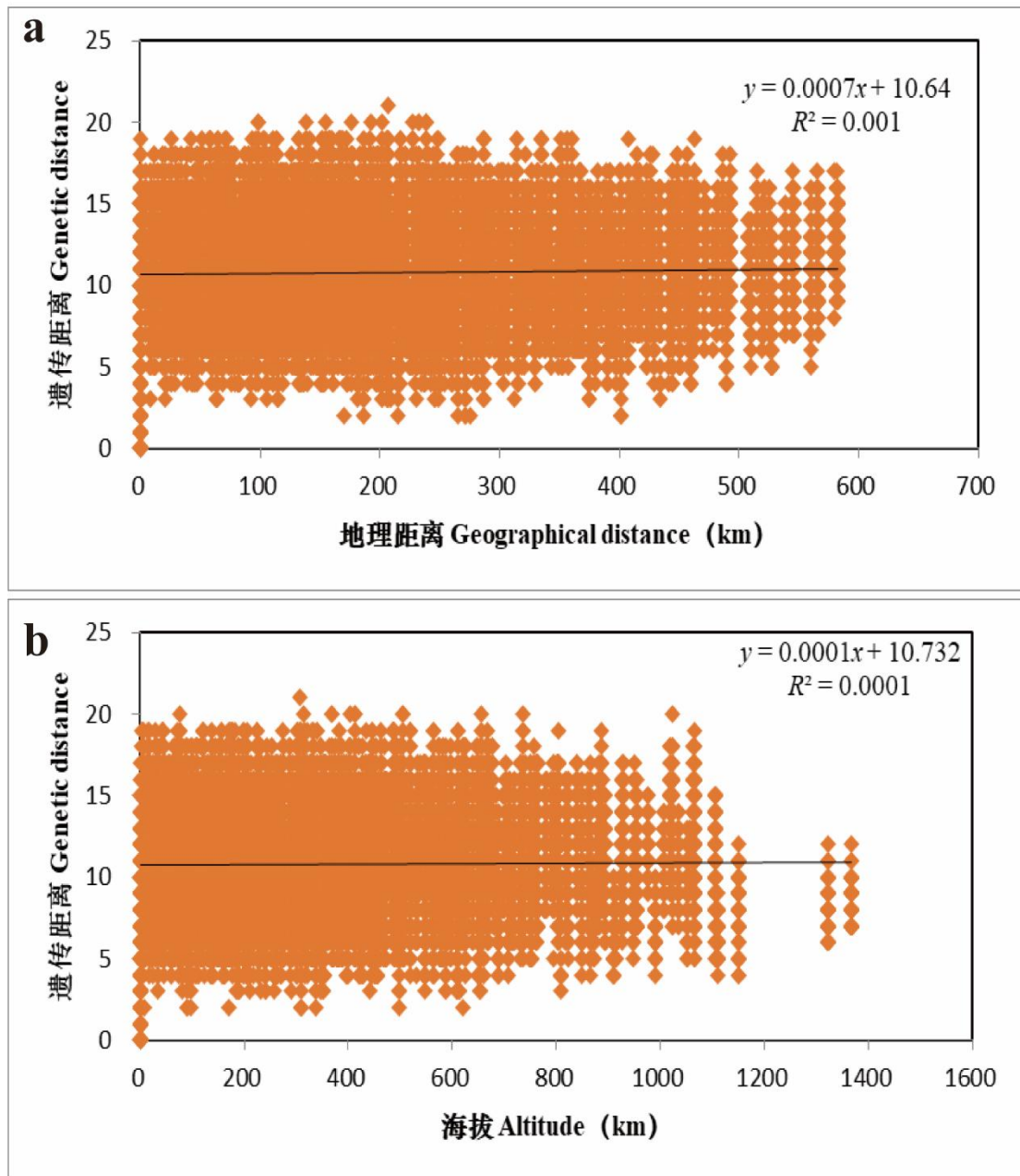


图 4 矮杨梅群体基于遗传距离的地理隔离检测

Fig. 4 Geographical isolation detection of *Morella nana* based on genetic distance

3 讨论

3.1 矮杨梅的遗传多样性

遗传多样性是物种应对环境变化的重要指标。有研究表明，遗传多样性高的物种在应对生态环境变化时能展现出更强的适应性，因此它们更有可能扩展其地理分布范围 (Liu et al., 2020)。相反，遗传多样性低的植物则在应对环境变化时，更容易受到来自物种自身和外部环境遗传因素的制约和影响，从而在环境变迁时显得更为脆弱 (Liu et al., 2020)。群体的遗传多样性与其生存环境密切相关。诸多环境因素直接或间接地影响着群体或物种的遗传多样性水平 (吴敏等, 2024)。本研究矮杨梅群体的平均遗传多样性指数 ($N_a=3.681$, $N_e=2.939$, $I=1.078$, $H_o=0.875$, $H_e=0.582$) 高于陈楠 (2014) 基于野生杨梅群体的遗传多样性指数 ($N_a=3.825$, $N_e=2.478$, $I=0.935$, $H_o=0.619$, $H_e=0.511$)，也高于齐海玲等 (2023) 对胡桃群体的研究结果 ($N_a=2.620$, $H_o=0.368$, $H_e=0.368$)，以及草本植物薹白的遗传多样性

($H_e=0.498$, $H_o=0.808$, $N_e=2.357$, $N_a=3.008$, $I=0.871$) (Jiang et al., 2024)。从 SSR 标记来看, 矮杨梅群体的遗传多样性相对丰富。

GZWX、GZYS 以及 GZYC 遗传多样性丰富, 可能有更强的能力应对环境变化。HW 平衡的单态性可能源于物种在进化过程中经历了遗传瓶颈或较低的基因流动 (Jiang et al., 2023), 会造成群体的遗传多样性偏低, 从而导致 YNLC 的遗传多样性指数偏低。多种因素共同作用于物种的遗传多样性, 包括但不限于地理分布, 基因流动以及群体间的遗传交流 (Nyblom, 2004)。从总体来看, 矮杨梅较高的遗传多样性可能与其地理分布有关, 中国西南是其避难所和起源中心 (Liu et al., 2015), 该地域分布的矮杨梅群体具有适宜的生境和较高遗传多样性的微基因库保证了该物种的遗传多样性 (Wu et al., 2024)。不仅如此, 矮杨梅为较古老的雌雄异株植物, 依赖昆虫、鸟类和风等传粉媒介来完成授粉过程, 有助于群体异花授粉。在长期自然选择过程中, 充分发挥其变异的历史和机会, 从而增加基因的流动性和群体的遗传多样性 (刘宁等, 2005)。

3.2 群体遗传结构与遗传分化

阐明物种地理分布的空间异质性及其形成机制, 是构建生物地理学研究的重要出发点 (王俊伟等, 2023)。在群体水平上, AMOVA 分析揭示矮杨梅遗传变异主要发生在群体内 (90.93%), 这种遗传变异模式与其他物种具有相似性, 如苹果 (Liang et al., 2015), 薤白 (Jiang et al., 2024)。这种模式表明生物群体内的基因流频繁, 这与计算出基因流较大的结果相符合。若遗传变异主要源自群体内, 则说明生物在长期的演化进程中贮存了丰富的遗传多样性 (Li et al., 2022)。遗传分化系数很低 ($F_{ST}=0.09$), 表明群体间遗传分化不明显。Mantel 检验的矮杨梅群体遗传距离与地理距离和海拔均未检测到显著的隔离—距离效应。可能是由于矮杨梅为雌雄异株植物, 风媒和虫媒的传粉方式, 为物种提供了远距离扩散的可能 (潘鸿, 2008; Bai et al., 2007)。这种传粉策略提高了异交几率, 增强了花粉在群体内及群体间的传播效率, 增加遗传交流。此外, 矮杨梅为云贵高原地区生境连续性分布的物种, 基因流可能随距离衰减的模式不明显。人类活动或动物介导的种子传播 (Pollegioni et al., 2020), 可能实现跨区域的扩散, 从而导致遗传距离与当前地理距离不匹配。

本研究通过 STRUCTURE 将矮杨梅群体划分为两组, 两组的遗传成分相似, 存在较强的基因流。矮杨梅的分布区云贵高原地形复杂多变, 其遗传结构相对复杂。虽然基因流频繁, 遗传结构模糊, 但在地理分布上, 矮杨梅群体存在东西分化的趋势。整体来看, 云南高原的群体聚为一类, 贵州高原的群体存在遗传混合现象, Group 1 和 Group 2 两组的遗传成分在贵州高原均有表现。NJ 树结果与 STRUCTURE 结果大体一致, 仅部分群体存在差异。这可能受云贵高原特殊的地理条件和矮杨梅地理分布的影响, 与前人研究相吻合 (Gao et al., 2022; Gao et al., 2024)。矮杨梅东西向遗传结构对应乌蒙两侧的地理特征, 东西向遗传结构和系统地理格局进一步揭示了乌蒙山在云贵高原上形成的自然地理分割线。西南山区复杂的地貌特征已被证明会导致许多植物物种的遗传分化 (Ju et al., 2018)。主成分分析整体可将矮杨梅群体划分为两个组, 但群体间的组成是混合的, 即遗传结构不明显, 部分个体之间存在遗传混合, 进一步印证了基因流的存在。总之, 矮杨梅群体的基因交流较为频繁, 遗传成分存在混合, 在地理分布上具有东西遗传分化的趋势。

云贵高原复杂的地形地貌导致生境片段化, 地理隔离促进物种的异域分化 (叶俊伟和田斌, 2021), 部分矮杨梅群体间存在基因交流较弱的情况, 但大部分群体间的基因流较强, 进而促进矮杨梅现有的地理分布模式。本研究结果与 Wu 等 (2024) 基于 cpDNA 研究存在一致性, 具有东西分化趋势, 但本研究群体间的集群基因流频繁, 存在不同程度的混合。出现这种情况可能是因为 cpDNA 主要为母系遗传, 基因流更低, 遗传物质在细胞分裂中能够得到保持和传递, 增加基因的稳定遗传, 使物种遗传分化更明确 (Comes & Kadereit, 1998)。其次, cpDNA 通过种子传播的效率低, 而当种子传播特别有限时, cpDNA 的变异模式更多是受地理的影响, 从而导致明显的东西分化模式 (Petit & Excoffier, 2009)。最后, SSR 标记自身可能存在缺陷, 例如无效等位基因可能会影响群体遗传参数估计 (Dakin & Avise, 2004; Chapuis & Estoup, 2007; Flanagan & Jones, 2019); 突变率过高, 可能影响群体分化程度 (Chapuis et al., 2008), 从而影响遗传结构, 导致物种呈现现有的分布模式。此外, 双亲本遗传基因流远大于 cpDNA (Mogensen, 1996), 花粉流在群体间流动导致矮杨梅群体间基因交流更频繁, 从而使得部分矮杨梅群体遗传分化不明显, 出现混合现象。

3.3 矮杨梅资源的管理和保护策略

生物多样性是维持生态平衡的重要部分,了解物种遗传多样性对于理解生物多样性的演变具有一定的意义(Ren et al.,2024)。本研究采用 SSR 分子标记分析矮杨梅 40 个群体的遗传多样性,结果显示部分群体遗传多样性偏低,且我们野外调查发现部分群体人为破坏严重,导致物种适生区逐渐缩小,野生资源流失严重。因此迫切需要对矮杨梅这一重要的野生资源进行有效的管理和保护。

首先是就地保护,即根据其特殊的分布区域,将矮杨梅划分为不同的地理单元进行管理和保护。贵州的 GZWX 和 GZYS 矮杨梅遗传多样性较高,对于这一部分地区应采用就地保护的方式,保护其遗传多样性丰富的群体,以维持其适应性和进化潜力。我们的遗传结构分析显示矮杨梅群体存在东西遗传分化趋势,这说明它们代表不同的进化显著单元或管理单元,应对这两个地区分别建立种子资源储备,分别保护以保存物种的全部进化潜力,因此需要建立独立的基因库。在就地保护的基础上进行种子存储,避免因环境等因素导致多样性的丧失,使其最后濒临灭绝。其次是尝试迁地保护。为维护或恢复物种的自然生态系统和遗传多样性,将物种从其自然栖息地迁移到更适合矮杨梅生长的自然区域繁殖中心等地方进行即时保护,从而减少遗传多样性的损失。如遗传多样性低的 YNLC ($N_a=0.667$, $N_e=0.667$, $I=0.231$, $H_o=0.333$, $H_e=0.167$),该地区可能已经不宜该物种的生长,很有必要将其迁徙到适合其生长的区域进行保护。遗传多样性高的群体能更好地应对环境变化,相反,低遗传多样性的群体难以适应变化。因此,为保证物种丰富的遗传变异,应优先保护遗传多样性高的群体。此外,群体变异主要发生在群体内,个体在群体内占据极其重要的作用,因此,在进行迁地保护的同时,应尽可能多地保存收集到的矮杨梅个体。最后,增强居民的资源保护意识也是保护这一重要物种的关键。

4 结论

本研究利用 9 对 SSR 引物研究了云贵高原特有植物矮杨梅的 40 个群体的遗传多样性和遗传结构。研究结果表明矮杨梅遗传多样性较高,遗传分化系数低。群体间基因交流频繁,存在聚类混合现象。遗传结构将 40 个群体划分为两组,群体间遗传结构不明显,在地理分布上表现为东西遗传分化趋势。我们推测矮杨梅的遗传结构可能受云贵高原特殊的喀斯特生境和矮杨梅自身的遗传特点的影响。生境片段化造成的基因流障碍影响部分群体的遗传多样性。总之,本研究明确了矮杨梅遗传结构可归因于云贵高原独特的地形地貌和基因流,并概述了矮杨梅的保护策略。

参考文献

- Bai W N, Zeng Y F, Zhang D Y, 2007. Mating patterns and pollen dispersal in a heterodichogamous tree, *Juglans mandshurica* (Juglandaceae) [J]. New Phytologist, 176(3): 699-707.
- Chapuis M P, Estoup A, 2007. Microsatellite null alleles and estimation of population differentiation [J]. Molecular biology and evolution, 24(3): 621-631.
- Chapuis M P, Lecoq M, MICHALAKIS Y, et al., 2008. Do outbreaks affect genetic population structure? A worldwide survey in *Locusta migratoria*, a pest plagued by microsatellite null alleles [J]. Molecular ecology, 17(16): 3640-3653.
- Chen N, 2014. Studies on population genetics and domestication of *Myrica rubra* (Myricaceae) [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [陈楠, 2014. 中国特产水果杨梅遗传多样性及栽培起源研究 [D]. 杭州: 浙江大学.]
- Chen W, 2018. Study on phylogeography and landscape genetics of *Cornus kousa* subsp. *Chinensis* [D]. Nanchang: Nanchang University. [陈微, 2018. 四照花亲缘地理学与景观遗传学的初步研究 [D]. 南昌: 南昌大学.]
- Cheng Y, 2019. Phylogeography of *Myrica nana*, endemic plant species distributed in Yunnan-Guizhou Plateau [D]. Guiyang: Guizhou University. [成宇, 2019. 云贵高原特有植物矮杨梅的谱系地理学研究 [D]. 贵阳: 贵州大学.]
- Comes H P, Kadereit J W, 1998. The effect of Quaternary climatic changes on plant distribution and evolution [J]. Trends in plant science, 3(11): 432-438.

- Dai C G, Wang M, Chen J S, et al., 2013. Tectonic movement characteristic and its geological significance of Guizhou [J]. *Guizhou Geology*, 30(2): 119-124. [戴传固, 王敏, 陈建书, 等, 2013. 贵州构造运动特征及其地质意义 [J]. *贵州地质*, 30(2): 119-124.]
- Dakin E E, Avise J C, 2004. Microsatellite null alleles in parentage analysis [J]. *Heredity*, 93(5): 504-509.
- Evanno G, Regnaut S, Goudetoudet J, 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study [J]. *Molecular ecology*, 14(8): 2611-2620.
- Excoffier L, Lischer H E L, 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Molecular ecology resources*, 10(3): 564-567.
- Fan Y L, Pan B T, Hu Z B, et al., 2018. An analysis of tectonic and geomorphologic characteristics of Beipanjiang basin in the Yunnan-Guizhou Plateau [J]. *Diqu KexueJinzhan (Advances inEarth Science)*, 33(7): 751-761. [樊云龙, 潘保田, 胡振波, 等, 2018. 云贵高原北盘江流域构造地貌特征分析 [J]. *地球科学进展*, 33(7): 751-761.]
- Flanagan S P, Jones A G, 2019. The future of parentage analysis: From microsatellites to SNPs and beyond [J]. *Molecular ecology*, 28(3): 544-567.
- Gao Y, Dai D Q, Wang H B, et al., 2024. Genomic insights into differentiation and adaptation of *Amorphophallus yunnanensis* in the mountainous region of Southwest China [J]. *Ecology and Evolution*, 14(1): e10861.
- Gao Y, Yan Y H, Yin S, et al., 2022. Fragmented habitats and Pleistocene climate shaped diversification of the hoary bamboo rat (*Rhizomys pruinosus*) in the mountainous plateau of SW China [J]. *Journal of Systematics and Evolution*, 60(6): 1358-1370.
- Han F, Lamichhaney S, Grant B R, et al., 2017. Gene flow, ancient polymorphism, and ecological adaptation shape the genomic landscape of divergence among Darwin's finches [J]. *Genome research*, 27(6): 1004-1015.
- Hu X H, 2007. Study on Evaluation of Germplasm and Propagation Techniques in *Myrica nana* [D]. Guiyang: Guizhou Normal University. [胡雪华, 2007. 矮杨梅种质资源评价及繁殖技术研究 [D]. 贵阳: 贵州师范大学.]
- Jiang C, Shi T, Mo Z, et al., 2024. Across a phylogeographic break in the Qinling Mountains-Huaihe River Line: Quaternary evolutionary history of a medicinal and edible homologous plant (*Allium macrostemon*) in China [J]. *BMC Ecology and Evolution*, 24(1): 107.
- Jiang W, Chen Y, Liu S, et al., 2023. Genetic diversity and the population structure of *Monochoria korsakowii* in Japan revealed by nuclear simple sequence repeat (SSR) markers [J]. *Aquatic Botany*, 187(6): 103656.
- Ju M M, Fu Y, Zhao G F, et al., 2018. Effects of the Tanaka Line on the genetic structure of *Bombax ceiba* (Malvaceae) in dry-hot valley areas of southwest China [J]. *Ecology and evolution*, 8(7): 3599-3608.
- Ju P J, Zhu Y F, Zhao L, et al., 2023. Construction of specific fluorescent-labeled SSR marker database of Chinese Bayberry (*Morella rubra*) varieties [J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 31(10): 2209-20. [巨鹏举, 朱奕凡, 赵岚, 等, 2023. 杨梅品种特异性荧光 SSR 分子标记数据库构建 [J]. *农业生物技术学报*, 31(10): 2209-2220.]
- Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C, 2007. Revising how the computer program CERVUS accommodates genotyping error increases success in paternity assignment [J]. *Molecular ecology*, 16(5): 1099-1106.
- Li B, Liu C, Tag J R, et al., 2022. Genetic diversity analysis of *Camellia fascicularis* H. T. Chang based on SSR markers [J]. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 31(1): 100404.
- Liang H Y, 2018. Phylogeography of *Tamarix austromongolica* and *T.chinensis*, endemic tree species distributed along the Yellow River [D]. Zhengzhou: Henan Agricultural University. [梁红艳, 2018. 黄河流域特有种甘蒙怪柳和怪柳的谱系地理学研究 [D]. 郑州: 河南农业大学.]
- Liang W, Dondini L, De Franceschi P, et al., 2015. Genetic diversity, population structure and construction of a core collection of apple cultivars from Italian germplasm [J]. *Plant Molecular Biology Reporter*, 33(3): 458-473.

- Liao Y, Yang F Y, Luo Y X, et al., 2019. Regional climatology of aerosol distribution over the Yunnan Guizhou Plateau [J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 28(2): 316-323. [廖瑶, 杨富燕, 罗宇翔, 等, 2019. 云贵高原气溶胶分布的区域与气候特征 [J]. *生态环境学报*, 28(2): 316-323.]
- Liu L X, 2016. Studies of phylogeography and domestication origin of Chinese Bayberry (*Morella rubra*) [D]. Hangzhou: Zhejiang University. [刘路贤, 2016. 栽培杨梅谱系地理、驯化起源及品种 (系) 间关系的研究 [D]. 杭州: 浙江大学.]
- Liu L X, Jin X J, CHEN N, et al., 2015. Phylogeny of *Morella rubra* and its relatives (Myricaceae) and genetic resources of Chinese bayberry using RAD sequencing [J]. *PLoS ONE*, 10(10): e0139840.
- Liu M, Hu X, Wang X, et al., 2020. Constructing a Core Collection of the Medicinal Plant *Angelica biserrata* Using Genetic and Metabolic Data [J]. *Frontiers in Plant Science*, 11: 600249.
- Liu N, Li Z F, 2004. Pharmacognostic identification of the stem of medicinal plant *Myrica nana* Cheval in China [J]. *Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences Edition)*, 22(2): 10-12. [刘宁, 李正芬, 2004. 矮杨梅茎的生药学研究 [J]. *贵州师范大学学报 (自然科学版)*, 22(2): 10-12.]
- Liu N, Li Z F, Yi Y, 2003. Study on forest-fostering management of wild *Myrica nana* in Guizhou Province [J]. *Guizhou Science*, 21(Z1): 188-190. [刘宁, 李正芬, 乙引, 2003. 贵州野生矮杨梅林地扶育管理研究 [J]. *贵州科学*, 21(增刊 1): 188-190.]
- Liu N, Yang L, Li Z F, 2005. The Habitat and Community Characteristics of *Myrica nana* Cheval [J]. *Guizhou forestry Science and Technology*, 33(4): 37-40. [刘宁, 杨龙, 李正芬, 2005. 矮杨梅生境及群落学特征 [J]. *贵州林业科技*, 33(4): 37-40.]
- Lopez-Pujol J, Zhang F M, Sun H Q, et al., 2011. Centres of plant endemism in China: places for survival or for speciation? [J]. *Journal of Biogeography*, 38(7): 1267-1280.
- Mogensen H L, 1996. The hows and whys of cytoplasmic inheritance in seed plants [J]. *American Journal of Botany*, 83(3): 383-404.
- Nybom H, 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants [J]. *Molecular Ecology*, 13(5): 1143-1155.
- Pan H, 2008. Resources survey and its genetic diversity of wild *Myrica* in Guangxi [D]. Nanning: Guangxi University. [潘鸿, 2008. 广西野生杨梅资源调查及遗传多样性研究 [D]. 南宁: 广西大学.]
- Peakall R O D, Smouse P E, 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research [J]. *Molecular ecology notes*, 6(1): 288-295.
- Petit R J, Excoffier L, 2009. Gene flow and species delimitation [J]. *Trends in Ecology & evolution*, 24(7): 386-393.
- Piry S, Luikart G, Cornuet J M, 1999. Computer note. BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective size using allele frequency data [J]. *Journal of Heredity*, 90(4): 502-503.
- Pollegioni P, Lungo S D, Muller R, et al., 2020. Biocultural diversity of common walnut (*Juglans regia* L.) and sweet chestnut (*Castanea sativa* Mill.) across Eurasia [J]. *Ecology and evolution*, 10(20): 11192-11216.
- Powell W, Machray G C, Provan J, 1996. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. *Trends in Plant Science*, 1(7): 215-222.
- Pritchard J K, Stephens M, Donnelly P, 2000. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. *Genetics*, 155(2): 945-959.
- Qi H L, Fan P Z, Wang Y H, et al., 2023. Genetic diversity and population structure of *Juglans regia* from six provinces in northern China [J]. *Biodiversity Science*, 31(8): 106-118. [齐海玲, 樊鹏振, 王跃华, 等, 2023. 中国北方六省区胡桃的遗传多样性和群体结构 [J]. *生物多样性*, 31(8): 106-118.]
- Ren Y M, Zhang L S, Yang X C, et al., 2024. Cryptic divergences and repeated hybridizations within the endangered “living fossil” dove tree (*Davidia involucrata*) revealed by whole genome [J]. *Plant Diversity*, 46(2): 169-180.
- Shen Y, Wang D, Chen Q, et al., 2019. Large heterogeneity of water and nutrient supply derived from runoff of nearby rock outcrops in karst ecosystems in SW China [J]. *Catena*, 172:

- 125-131.
- Terakawa M, Kikuchi S, Kanetani S, et al., 2006. Characterization of 13 polymorphic microsatellite loci for an evergreen tree, *Myrica rubra* [J]. Molecular Ecology Notes, 6(3): 709-711.
- Wang C B, Wang T, SU Y J, 2014. Phylogeography of *Cephalotaxus oliveri* (Cephalotaxaceae) in relation to habitat heterogeneity, physical barriers and the uplift of the Yungui Plateau [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 80(1): 205-216.
- Wang J W, Chen Y H, LA Q, 2023. Diversity, distribution patterns, and floristic characteristics of seed plants endemic to Tibet, China [J]. Plant Science Journal, 41(5): 594-603. [王俊伟, 陈永豪, 拉琼, 2023. 西藏特有种子植物多样性、分布格局及区系特征 [J]. 植物科学学报, 41(5): 594-603.]
- Wu M, Cheng Y, Jiang C, et al., 2024. Phylogeography of *Morella nana*: The Wumeng Mountains as a natural geographical isolation boundary on the Yunnan-Guizhou Plateau [J]. Ecology and Evolution, 14(7): e11566.
- Wu M, Cheng Y, Mo Z M, et al., 2022. Genetic relationship and geographical distribution pattern of *Myrica nana* Sativus endemic to Yunnan-Guizhou Plateau [J]. Molecular Plant Breeding, 20(6): 1965-1971. [吴敏, 成宇, 莫忠梅, 等, 2022. 云贵高原特有植物矮杨梅的亲缘关系及地理分布格局 [J]. 分子植物育种, 20(6): 1965-1971.]
- Wu M, Wu S Q, PAN F, et al., 2024 Genetic diversity and genetic structure of wild *Pinellia ternata* (Araceae) in China [J]. Guihaia, 44(4): 766-776. [吴敏, 吴诗琪, 潘凤, 等, 2024. 中国野生半夏的遗传多样性和遗传结构研究 [J]. 广西植物, 44(4): 766-776.]
- Xie D F, Li M J, Tan J B, et al., 2017. Phylogeography and genetic effects of habitat fragmentation on endemic *Urophysa* (Ranunculaceae) in Yungui Plateau and adjacent regions [J]. PLoS One, 12(10): e0186378.
- Xie N, Zhang T T, Wang D Y, et al., 2014. Chemical constituents of stem of *Myrica nana* [J]. Chinese Journal of Experimental Traditional Medical Formulae, 20(19): 109-111. [谢宁, 张亭亭, 王定勇, 等, 2014. 矮杨梅茎的化学成分 [J]. 中国实验方剂学杂志, 20(19): 109-111.]
- Xue Z G, Chen H, Li X N, et al., 2010. Analysis of paleoclimatic evolution and rocky desertification in Yunnan-Guizhou Plateau [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 38(23): 12303-12305. [薛治国, 陈浒, 李晓娜, 等, 2010. 云贵高原石漠化与古气候演变分析 [J]. 安徽农业科学, 38(23): 12303-12305.]
- Yao J Z, 2024. Genetic Diversity of *Tacamahaca* in Northern China [J]. Journal of Northwest Forestry University, 39(2): 79-84, 114. [姚建忠, 2024. 中国北方青杨派杨树遗传多样性研究 [J]. 西北林学院学报, 39(2): 79-84, 114.]
- Ye J W, Tian B, 2021. Genetic structure and its causes of an important woody oil plant in Southwest China, *Prinsepia utilis* (Rosaceae) [J]. Biodiversity Science, 29(12): 1629-1637. [叶俊伟, 田斌, 2021. 中国西南地区重要木本油料植物扁核木的遗传结构及成因 [J]. 生物多样性, 29(12): 1629-1637.]
- Ye X Y, Wang W H, Wei G R, et al., 2024. Genetic structure of a narrowly distributed species *Chimonobambusa tumidissinoda* in the Yunnan-Guizhou plateau, and its implications for conservation [J]. Global Ecology and Conservation, 53(1): e03028.
- Zhang Y B, Gong J Y, Li Y K, 2018. Genetic diversity of wild *Myrica nana* Cheval in Guizhou [J]. Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences Edition), 36(3): 56-60. [张宇斌, 龚记熠, 李欲轲, 2018. 贵州野生矮杨梅遗传多样性研究 [J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 36(3): 56-60.]
- Zhang S, Gao Z, XU C, et al., 2009. Genetic diversity of Chinese bayberry (*Myrica rubra* Sieb. et Zucc.) accessions revealed by amplified fragment length polymorphism [J]. Hortscience, 44(2): 487-491.
- Zhang X H, Liu N, 2005. SEM observation on the pollen morphology of four types of *Myrica nana* Cheval [J]. Journal of Guizhou Normal University (Natural Sciences Edition), 23(2): 6-9. [张喜焕, 刘宁, 2005. 4 种类型矮杨梅花粉形态扫描电镜观察 [J]. 贵州师范大学学报(自然科学版), 23(2): 6-9.]

Zhou Z H, Yang C R, 2000. Phenolic constituents of the fresh leaves of *Myrica nana* [J]. Acta Botanica Yunnanica, 22(2): 219-224. [周志宏, 杨崇仁, 2000. 矮杨梅鲜叶的酚性化学成分 [J]. 云南植物研究, 22(2): 219-224.]

附录 1 矮杨梅 40 个群体 9 个位点的哈温平衡检验结果

Appendix 1 Results of Hardy-Weinberg equilibrium tests of 9 Loci in 40 populations of *Morella nana*

群体	SSR1		SSR2		SSR3		SSR4		SSR5		SSR6		SSR7		SSR8		SSR9	
populations	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif	Prob	Signif
GZGM	0.110	ns	0.428	ns	0.065	ns	0.224	ns	0.710	ns	0.046	*	0.400	ns	0.321	ns	0.295	ns
GZBH	0.532	ns	0.532	ns	0.556	ns	0.238	ns	0.682	ns	Mon		0.212	ns	0.065	ns	0.154	ns
YNJN	0.245	ns	0.544	ns	0.767	ns	0.150	ns	0.711	ns	Mon		0.284	ns	0.711	ns	0.590	ns
GZHY	0.321	ns	0.609	ns	0.224	ns	0.544	ns	0.823	ns	0.317	ns	0.350	ns	0.516	ns	0.261	ns
GZHT	0.029	*	0.629	ns	0.029	*	0.677	ns	0.440	ns	0.317	ns	0.137	ns	0.820	ns	0.947	ns
GZXX	0.071	ns	0.624	ns	0.298	ns	0.046	*	0.698	ns	0.317	ns	0.065	ns	0.321	ns	0.572	ns
YNMT	0.609	ns	0.112	ns	0.577	ns	0.095	ns	0.815	ns	Mon		0.008	**	0.491	ns	0.806	ns
GZYS	0.683	ns	0.679	ns	0.820	ns	0.277	ns	0.891	ns	Mon		0.019	*	0.458	ns	0.629	ns
GZWX	0.245	ns	0.233	ns	0.607	ns	0.596	ns	0.728	ns	0.317	ns	0.285	ns	0.247	ns	0.679	ns
GZWL	0.528	ns	0.392	ns	0.526	ns	0.572	ns	0.285	ns	Mon		0.572	ns	0.285	ns	0.392	ns
YNFY	0.029	*	0.020	*	0.172	ns	0.014	*	0.680	ns	Mon		0.890	ns	0.680	ns	0.922	ns
GZLQ	0.172	ns	0.157	ns	0.422	ns	0.659	ns	0.799	ns	Mon		0.328	ns	0.423	ns	0.107	ns
GZYC	0.555	ns	0.392	ns	0.440	ns	0.572	ns	0.609	ns	0.532	ns	0.170	ns	0.222	ns	0.263	ns
GZLS	0.286	ns	0.317	ns	0.117	ns	0.261	ns	0.201	ns	Mon		0.459	ns	0.572	ns	0.572	ns
GZAG	0.158	ns	0.261	ns	0.987	ns	0.766	ns	0.691	ns	Mon		0.303	ns	0.756	ns	0.285	ns
GZYB	0.172	ns	0.572	ns	0.321	ns	0.157	ns	0.758	ns	Mon		0.285	ns	0.749	ns	0.392	ns
GZGK	0.756	ns	0.154	ns	0.046	*	0.112	ns	0.518	ns	0.157	ns	0.029	*	0.695	ns	0.958	ns
GZJP	0.261	ns	0.572	ns	0.011	*	0.172	ns	0.263	ns	Mon		0.021	*	0.915	ns	0.020	*
GZHZ	0.072	ns	0.243	ns	0.012	*	0.062	ns	0.422	ns	0.157	ns	0.065	ns	0.527	ns	0.072	ns
GZQG	0.112	ns	0.285	ns	0.649	ns	0.317	ns	0.353	ns	Mon		0.083	ns	0.694	ns	0.285	ns
GZYZ	0.029	*	0.756	ns	0.132	ns	0.544	ns	0.741	ns	Mon		0.112	ns	0.600	ns	0.466	ns
GZXR	0.103	ns	0.572	ns	0.544	ns	0.677	ns	0.705	ns	0.572	ns	0.046	*	0.459	ns	0.766	ns

YNPL	0.019	*	0.172	ns	0.079	ns	Mon		0.428	ns	Mon		0.025	*	0.278	ns	0.609	ns
YNLQ	0.071	ns	0.046	*	0.112	ns	Mon		0.404	ns	Mon		0.112	ns	0.340	ns	0.261	ns
GZQX	0.046	*	0.423	ns	0.809	ns	0.317	ns	0.809	ns	0.317	ns	0.392	ns	0.679	ns	0.174	ns
GZSC	0.019	*	0.756	ns	0.225	ns	0.083	ns	0.105	ns	Mon		0.373	ns	0.590	ns	0.188	ns
GZZJ	0.005	**	0.112	ns	0.112	ns	0.572	ns	0.763	ns	0.083	ns	0.353	ns	0.679	ns	0.891	ns
SCYB	0.000	***	0.025	*	0.062	ns	0.317	ns	0.392	ns	Mon		0.154	ns	0.580	ns	0.174	ns
SCRH	0.019	*	0.005	**	0.072	ns	Mon		0.504	ns	Mon		0.157	ns	0.372	ns	0.677	ns
YNDL	0.001	***	0.020	*	0.392	ns	0.027	*	0.556	ns	0.572	ns	0.174	ns	0.291	ns	0.112	ns
YNNJ	0.019	*	0.317	ns	0.229	ns	0.317	ns	0.029	*	Mon		Mon		0.046	*	0.317	ns
YNQB	0.060	ns	0.008	**	0.253	ns	Mon		0.423	ns	Mon		0.083	ns	0.321	ns	0.112	ns
YNYL	0.019	*	0.293	ns	0.014	*	0.083	ns	0.756	ns	Mon		0.005	**	0.174	ns	0.005	**
YNHZ	0.002	**	0.002	**	Mon		Mon		0.317	ns	Mon		0.005	**	0.019	*	0.019	*
GZWN	0.005	**	0.005	**	0.003	**	Mon		0.003	**	Mon		Mon		0.003	**	0.003	**
YNZY	0.002	**	0.261	ns	0.067	ns	Mon		0.317	ns	Mon		0.008	**	0.557	ns	0.005	**
YNES	0.002	**	0.317	ns	0.000	***	Mon		Mon		Mon		0.020	*	0.014	*	0.014	*
YNLC	0.046	*	Mon		Mon		Mon		Mon		Mon		0.317	ns	Mon		0.025	*
GZSY	0.002	**	0.098	ns	0.137	ns	0.083	ns	0.572	ns	Mon		0.373	ns	0.287	ns	0.756	ns
GZLZ	0.141	ns	0.544	ns	0.710	ns	0.373	ns	Mon		0.046	*	0.120	ns	0.660	ns	0.238	ns

附录 2 基于 TPM 模型的矮杨梅 40 个群体瓶颈效应分析

Appendix 2 Bottleneck effect analysis of 40 populations of *Morella nana* based on TPM model

种群 population	双相突变模型 TPM	
	sign test	Wilcoxon test
GZGM	0.061304	0.005859*
GZBH	0.453317	0.570313
YNJN	0.090602	0.037109*
GZHY	0.480161	0.496094
GZHT	0.537244	1.000000
GZXX	0.560101	0.910156
YNMT	0.188069	0.013672*
GZYS	0.434562	0.048828*
GZWX	0.233672	0.013672*
GZWL	0.171708	0.037109*
YNFY	0.557740	0.652344
GZLQ	0.252207	0.128906
GZYC	0.097238	0.250000
GZLS	0.075664	0.009766*
GZAG	0.083732	0.019531*
GZYG	0.573606	0.652344
GZGK	0.285677	0.496094
GZJP	0.613255	1.000000
GZHZ	0.008770*	0.001953*
GZQG	0.588010	0.843750
GZYZ	0.027077*	0.250000

GZXR	0.209714	0.496094
YNPL	0.376621	0.109375
YNLQ	0.022129*	0.007813*
GZQX	0.589901	0.734375
GZSC	0.291768	0.312500
GZZJ	0.421410	0.425781
SCYB	0.381072	1.000000
SCRH	0.446652	0.843750
YNDL	0.069006	0.009766*
YNNJ	0.371896	0.164063
YNQB	0.021236*	0.007813*
YNYL	0.006141*	0.003906*
YNHZ	0.206269	0.078125
GZWN	0.049644*	0.015625*
YNZY	0.017495*	0.007813*
YNES	0.423259	0.109375
YNLC	0.538548	0.250000
GZSY	0.084651	0.011719*
GZLZ	0.191060	0.250000
