浙 江 农 林 大 学 学 报, 2025, **42**(2): 365−372 https://zlxb.zafu.edu.cn
Journal of Zhejiang A&F University DOI: 10.11833/j.issn.2095-0756.20240371

引用格式: 江转转, 陈红, 鲍红艳, 等. 狼尾草属叶绿体基因组特征与分子标记开发[J]. 浙江农林大学学报, 2025, **42**(2): 365−372. JIANG Zhuanzhuan, CHEN Hong, BAO Hongyan, *et al*. Chloroplast genome characteristics and molecular marker development of *Pennisetum*[J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2025, **42**(2): 365−372.

狼尾草属叶绿体基因组特征与分子标记开发

江转转，陈　红，鲍红艳，代雨童

（安庆师范大学 生命科学学院/皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室，安徽 安庆 246133）

摘要：【目的】利用 4 种已发布的狼尾草属 *Pennisetum* 植物叶绿体基因序列，分析其叶绿体基因组特征并开发相应的分子标记，为狼尾草属植物的进化及系统发育关系提供新的观点。**【方法】**基于美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库已发布的 4 种狼尾草属叶绿体完整基因组序列，利用生物信息学手段分析其重复序列、密码子偏好性、多态性、共线性并开发简单重复序列 (SSR) 分子标记。**【结果】**4 种狼尾草属植物的叶绿体基因组长度及 GC 含量都较为接近且密码子偏倚程度不高；边界扩张分析显示各区域间收缩不显著；共线性分析表明 4 种狼尾草植物的种间共线性较强；基于叶绿体基因组序列的系统发育分析表明白草 *P. flaccidum* 和御谷 *P. glaucum*、象草 *P. purpureum* 和狼尾草 *P. alopecuroides* 的亲缘关系最近。5 对 SSR 分子标记在狼尾草属植物中有较高的实用性，引物 SSR2 是御谷和狼尾草的特异性引物，引物 SSR5 是御谷的特异性引物。SSR1、SSR3 和 SSR4 在 4 种狼尾草属植物中显示出较高的保守性，SSR1 的种间保守性最高。**【结论】**4 种狼尾草叶绿体基因组较为保守，且白草与御谷、象草与狼尾草的亲缘关系最为接近，同时引物 SSR2 是御谷和狼尾草的特异性引物，引物 SSR5 是御谷的特异性引物。图 7 表 2 参 28

关键词：狼尾草属；叶绿体基因组；分子标记；简单重复序列 (SSR)

中图分类号：Q753　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**2095-0756(2025)02-0365-08

Chloroplast genome characteristics and molecular marker development of *Pennisetum*

JIANG Zhuanzhuan，CHEN Hong，BAO Hongyan，DAI Yutong

（College of Life Science/The Province Key Laboratory of the Biodiversity Study and Ecology Conservation, Anqing Normal University, Anqing 246133, Anhui, China）

Abstract:［**Objective**］The objective is to analyze the chloroplast genome characteristics of 4 published plants in the genus *Pennisetum*, and to develop corresponding molecular markers. This will provide new insights into the evolutionary and phylogenetic relationships of *Pennisetum*.［**Method**］Bioinformatics methods were used to analyze the complete chloroplast genome sequences of 4 species of *Pennisetum* published in the NCBI database. The analysis included repeat sequences, codon preferences, polymorphisms, collinearity, and development of simple sequence repeat (SSR) molecular markers.［**Result**］The chloroplast genome length and GC content of the 4 species of *Pennisetum* were relatively similar, with a low degree of codon shift. Boundary expansion analysis indicated no significant contraction between different regions. Collinearity analysis showed strong inter-species collinearity among the 4 species of *Pennisetum*. Phylogenetic analysis based on chloroplast genome sequences revealed that *P. flaccidum* had the closest phylogenetic relationship with *P. glaucum*, *P.*

收稿日期：2024-05-30；修回日期：2024-10-22

基金项目：武汉大学杂交水稻全国重点实验室开放课题 (KF202204)；安徽省高等学校科学研究项目 (2022AH051034，2022AH051048)；安徽省中青年教师行动培养计划 (JWFX2023027)；安徽省大学生创新创业训练项目 (S202310372079)

作者简介：江转转 (ORCID: 0000-0001-6618-5819)，从事植物抗逆相关基因功能挖掘及解析基因互作网络的研究。E-mail: zzjiang@whu.edu.cn

purpureum, and *P. alopecuroides*. 5 pairs of SSR molecular markers had high practicality in plant species within the genus *Pennisetum*. Specifically, primer SSR2 was expressed in both *P. flaccidium* and *P. alopecuroides*; while primer SSR5 was specifically expressed in *P. flaccidum*. Additionally, SSR1, SSR3, and SSR4 showed high conservatism among all four species in this genus. [**Conclusion**] This study concludes that the chloroplast genomes of these 4 species are relatively conserved; furthermore, it confirms that genetic relationship between *P. flaccidium* is closest to those found in *P. flaccidum*, *P. purpureum* as well as *P. alopecuroides*. SSR2 molecular markers are specifically expressed in both *P. flaccidium* and *P. alopecuroides*, while SSR5 molecular markers are specifically expressed in *P. flaccidum*. [Ch, 7 fig. 2 tab. 28 ref.]

Key words: *Pennisetum*; chloroplast genome; molecular marker; simple sequence repeat (SSR)

狼尾草属 *Pennisetum* 是禾本科 Poaceae 中一类重要的牧草，其植物形态多样，包括 1 年生或多年生种类，集中分布于热带及亚热带地区，全球约 140 种，多数原产于非洲[1−2]。狼尾草属植物在畜牧业中具有重要地位，其种子可作为谷粒食用，具有潜在的农业价值。中国目前广泛利用的栽培种主要包括多年生象草 *P. purpureum* [3] 和 1 年生美洲狼尾草 *P. americanum* 以及它们的种间杂交种[4−9]。为了更好地开发这些植物资源，国内众多学者对其进行了一系列研究，但尚未形成明确的分类结论。

高等植物的叶绿体基因组是大小为 72~217 kb 的双链环 DNA，含有约 130 个基因。叶绿体基因组是典型的四分体结构，在大部分植物中包含 1 个大单拷贝区 (large single copy，LSC)、1 个小单拷贝区 (small single copy，SSC) 以及 1 对反向重复序列 (inverted repeat region，IR)[10−12]。相较于核基因组，叶绿体基因组为母系遗传，其体积较小、结构简单以及序列保守[13−14]。因此叶绿体基因组序列的研究对于揭示植物的遗传多样性、种间关系以及进化适应性具有重要意义。分子生物学的迅速发展已将分子标记成为研究生物分类和系统进化的关键工具。序列特异性扩增区 (sequence characterized amplified regions，SCAR)[15]、随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA，RAPD)[16]、简单重复间序列标记 (inter simple sequence repeat，ISSR)[17] 等标记在植物中被广泛运用。其中，叶绿体简单重复序列 (simple sequence repeat，SSR) 标记是常用的遗传标记方法，通过标记叶绿体序列，进行物种识别、种间关系分析等研究，已经在许多植物物种中得到应用[18]。

本研究拟选取 4 种狼尾草属植物为研究对象，采用比较基因组学方法，对狼尾草属叶绿体基因组的结构和组分特征进行系统性研究，并通过系统发育分析确定其亲缘关系，基于分析结果开发分子标记，为狼尾草属植物种间关系的鉴定及系统发育分析奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

材料来自于皖西南生物多样性研究与生态保护安徽省重点实验室大棚栽培的 4 种狼尾草属植物，分别为白草 *P. flaccidum*、御谷 *P. glaucum*、象草、狼尾草 *P. alopecuroides*。

1.2 方法

1.2.1 叶绿体基因组注释及可视化 通过查找美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 数据库 (www.ncbi.nlm.nih.gov/genome) 中狼尾草属植物叶绿体基因组的信息，发现 4 种狼尾草属植物已发布完整的叶绿体基因组序列，即白草 (NC_057588.1)、御谷 (NC_057571.1)、象草 (NC_036384.1)、狼尾草 (MN180104.1)。使用 CPGAVAS2 (http://47.96.249.172:16019/analyzer/home) 对本研究选取的 4 种植物叶绿体基因组进行注释，通过 OGDRAW (https://chlorobox.mpimp golm.mpg.de/OGDraw.html) 可视化。

1.2.2 叶绿体基因组简单与长重复序列分析 运用 Misa (https://webblast.ipk-gatersleben.de/misa/index.php) 检测 SSR，包括单核苷酸 SSR (mono-nucleotide SSR)、双核苷酸 SSR(di-nucleotide SSR)、三核苷酸 SSR (tri-nucleotide SSR)。运用 Reputer (https://bibiserv.cebitec.uni-bielefeld.de/reputer)[19] 分析长重复序列 (long sequence repeat，LSR)，主要包括反向重复 (reverse repeats)、正向重复 (forward repeats)、回文重复 (palindromic repeats)，设置运行参数最大重复为 1 000，最小重复为 30，Hamming 距离为 3。

1.2.3　叶绿体基因组密码子偏倚分析　运用 CodonW 和 EMBOSS Explorer[20] (http://emboss.toulouse.inra.fr/cgi-bin/emboss/cusp) 进行密码子偏倚性分析，计算出同义密码子使用频率 (relative synonymous codon usage，RSCU)，密码子适应性指数 (codon adaption index，CAI)，密码子偏好性指数 (codon bias index，CBI)，有效密码子数 (effective number of codon，Enc)，最优密码子使用频率 (frequency of optical codons，FOP) 和第三位同义密码子 GC 含量 (GC3s)。

1.2.4　狼尾草属植物序列差异分析　运用软件 Launch Dnasp 6.0[21]，通过滑动窗法分析 4 种狼尾草属植物叶绿体全基因组，分析叶绿体基因组之间的核苷酸变异度 (nucleotide diversity，Pi)，设置步长为 200 bp，窗口长度为 600 bp。再利用 VISTA (https://genome.lbl.gov/vista/index.shtml) 进行序列比对，筛选出变异度较高位点的基因。

1.2.5　叶绿体基因组 LSC、SSC 和 IR 边界扩张分析　利用 Rstudio 将在线程序 IRscope[22] 本地化后使用，使 4 种狼尾草属植物叶绿体基因组的 LSC、SSC 和 IR 区域边界可视化，显示不同植物间各区域的收缩与扩张。

1.2.6　叶绿体基因组共线性分析与系统发育树的构建　运用 Circoletto[23] (http://tools.batinfspire.org/cirroletto) 分析 4 种狼尾草属植物叶绿体基因组的共线性关系，以白草的叶绿体基因组作为参考序列。使用在线工具 Mulan (https://mulan.dcode.org) 对 4 种狼尾草属序列，以及从 NCBI 数据库获得的 12 种禾本科植物叶绿体基因组 [大麦 *Hordeum vulgare* (MW017635.1)、高粱 *Sorghum bicolor* (NC_008602.1)、黑麦 *Secale cereale* (NC_021761.1)、粱 *Setaria italica* (KJ001642.1)、柳枝稷 *Panicum virgatum* (NC_015990.1)、芒草 *Miscanthus transmorrisonensis* (NC_035752.1)、粟草 *Milium effusum* (NC_058911.1)、五节芒 *Miscanthus floridulus* (NC_035750.1)、小麦 *Triticum aestivum* (KC912694.1)、燕麦 *Avena sativa* (MG687313.1)、玉米 *Zea mays* (NC_001666.2)、玉山竹 *Yushania brevipaniculata* (NC_043894.1)] 进行多序列比对，校正对齐得到可信序列后，运用软件 MEGA11 构建系统进化树。

1.2.7　分子标记的开发　基于上述简单重复序列分析获得的结果，针对 4 种狼尾草属叶绿体基因组的 SSR 位点利用 Primer 3.0 (https://primer3.ut.ee/) 设计引物。将 SSR 位点处序列上传，设置参数，获得引物后，以 Tm 值不超过 60 ℃，引物长度为 20~25 bp 作为筛选条件，选用 5 种 SSR 引物 (表 1)。

表 1　本研究使用引物

Table 1　Primer used in this study

引物名称	正向引物(5′→3′)	反向引物(5′→3′)
SSR1	GAATGCAAGTCCTCCCCTTAAA	AATCATTTTGGCTGGCTGTTTT
SSR2	TGCTTCAATCGAGATCCTTCAA	CTACTAGAAGTGGCGAGTAAAA
SSR3	ACACCGCTGCTTAATCCCTTAG	AAGGAAAGACACTTCACGAGAA
SSR4	AAGTCGAATCGTGAGCCTATTA	GGAGCCTTGGAATGGTCTTAAC
SSR5	AGACTACTTCTTCTGGATCCAA	CCCGGGCCTATTCGAGAAC

1.2.8　DNA 提取与引物的扩增检测　利用 CTAB 法提取 4 种狼尾草属植物 DNA，再利用 50 μL 的扩增体系进行 PCR 反应，DNA 模板 2 μL，*Taq* DNA 聚合酶预混液 25 μL，超纯水 18 μL，上下游引物各 2.5 μL。在 100 V 恒电压下，将 3 μL PCR 产物用质量浓度为 0.8% 的琼脂糖凝胶电泳 40 min，然后用核酸凝胶成像仪进行成像，最后送至奥科 (武汉) 生物科技有限公司测序。

2　结果与分析

2.1　叶绿体基因组的组成与特征

4 种狼尾草属植物的叶绿体基因组均为典型的四分体结构，长度为 138 119~138 336 bp，GC 含量均为 38.6%。其中，SSC 区较短，为 12 384~12 421 bp，IR 区为 44 576~44 676 bp，LSC 区为 81 034~81 329 bp，4 种植物叶绿体之间各区域长度相差不大，但御谷的编码区是 4 种植物中最大，为 129 176 bp，其非编码区长度与其他 3 种植物有较大差异，为最小值 (9 160 bp，表 2)。

2.2　叶绿体基因组的重复序列分析

SSR 序列分析结果表明 (图 1A 和 1B)：4 种植物均只存在单核苷酸重复。御谷、白草、狼尾草和象

表 2　4 种狼尾草属植物叶绿体基因组特征

Table 2　Chloroplast genome characteristics of 4 species of *Pennisetum*

植物	基因组长度/bp	GC含量/%	LSC长度/bp	SSC长度/bp	IR长度/bp	蛋白质编码数/个	RNA数/个	编码序列长度/bp	非编码序列长度/bp
白草	138 294	38.6	81 299	12 419	44 576	86	52	126 240	12 054
御谷	138 336	38.6	81 329	12 421	44 586	85	45	129 176	9 160
象草	138 199	38.6	81 149	12 384	44 666	88	49	125 881	12 318
狼尾草	138 119	38.6	81 034	12 409	44 676	84	47	126 031	12 088

草的 SSR 位点分别为 36、34、34 和 32 个，御谷的 SSR 位点最多。LSC 序列分析结果 (图 1C 和 1D) 显示：白草中有 42 个正向重复和 32 个回文重复；御谷中有 44 个正向重复和 40 个回文重复；象草中有 48 个正向重复和 42 个回文重复；而在狼尾草中则检测到 50 个正向重复和 34 个回文重复。4 个物种中只有白草和狼尾草存在反向重复且数量均为 6 个，均未检测到互补重复。

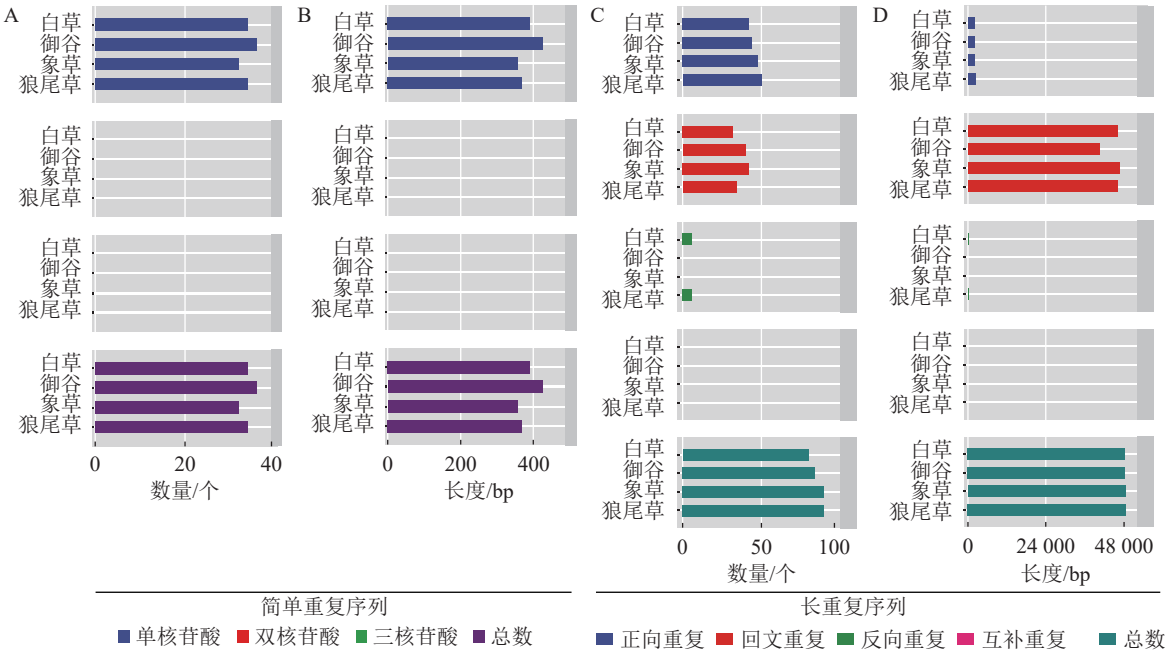


图 1　4 种狼尾草属植物叶绿体基因组简单重复序列与长重复序列数目和长度

Figure 1　Number and length of simple sequence repeats and long repeats of the chloroplast genome sequence in 4 species of *Pennisetum*

2.3　密码子偏好性分析

由图 2A 所示：密码子适应性指数为 0.157~0.160，密码子偏好性指数为 0.363~0.368，表明适应性不高，有效密码子数为 55.77~56.18 个，密码子偏好性不高，每种植物的同义密码子使用频率大于 1 的数量较少，如 AGA、UCU、GGA、CAA (图 2B)。可见 4 种植物密码子使用偏好性不高，基因组较为保守。

2.4　多态性分析

核苷酸多态性分析结果 (图 3) 表明：存在 6 个明显序列变异的高变区域 (Pi＞0.016)，分别为 *rps*16、*trn*T-GUU、*rps*4、*ndh*J、*pet*A/*pbs*J 以及 *ndh*F。

2.5　叶绿体基因组边界扩张

由图 4 发现：IR 区的收缩数值相差较小。4 个物种的 LSC-IRa 连接点都位于 *psb*A 和 *rps*19 基因之间，基因 *rps*19 距离 LSC-IRa 连接点的距离为 36~42 bp，而 *psb*A 位于 LSC-IRa 交界上。对于所有所研究的物种，*rps*15 位于 IRa-SSC 的交界处，而 IRa-SSC 交界处位于 *ndh*H 的边界。

2.6　共线性分析与系统发育树的构建

共线性分析 (图 5A) 得出狼尾草与白草的基因组相似比最高，达 99.94%，象草次之，为 99.02%，御谷最低，为 98.91%。根据进化树的结果 (图 5B) 可以发现：白草和御谷的亲缘关系最近，而狼尾草和象草关系较近，表明基于叶绿体基因组分析的亲缘关系与基于植物形态学的分类较为一致。

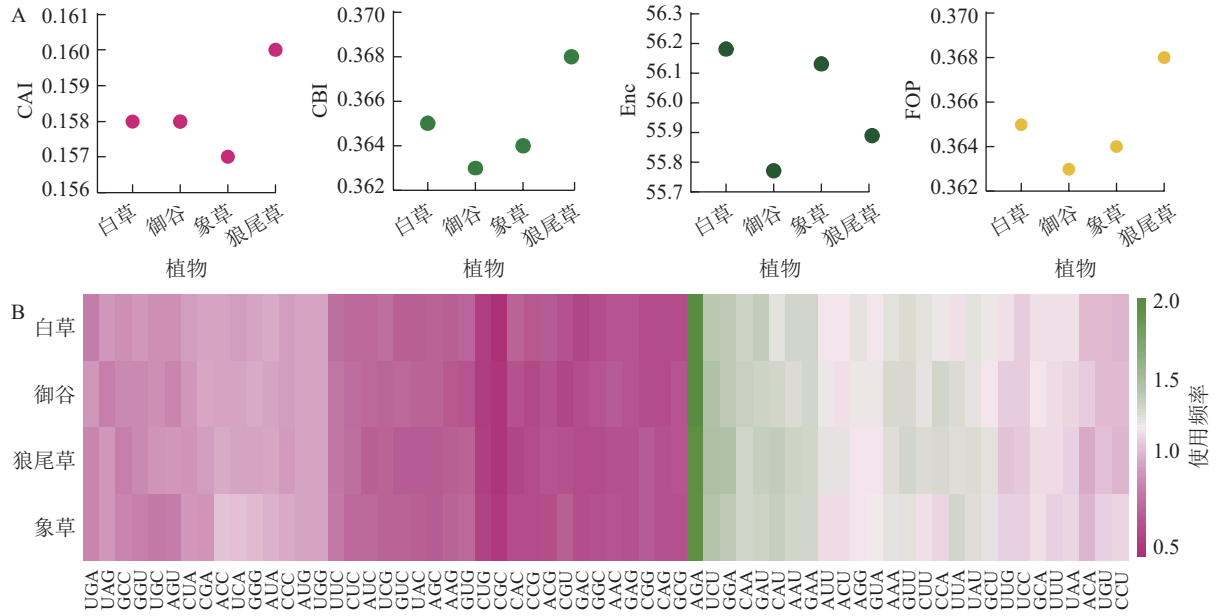


图 2　4 种狼尾草属植物叶绿体基因组密码子偏好性 (A) 和同义密码子使用频率 (B) 分析

Figure 2　Statistics of codon usage bias (A) and relative synonymous codon usage (B) in chloroplast genomes sequence of 4 species of *Pennisetum*

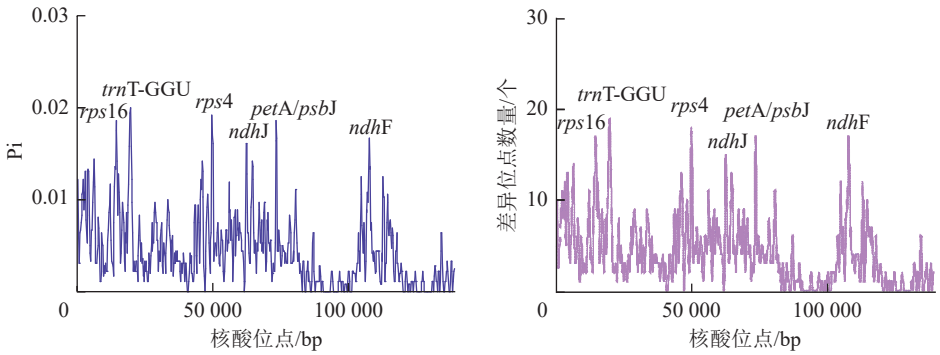


图 3　4 种狼尾草属植物叶绿体基因组核苷酸变异度 (Pi) 和差异位点个数

Figure 3　Nucleotide variability values (Pi) and the number of site discrepancy of the 4 species of *Pennisetum*

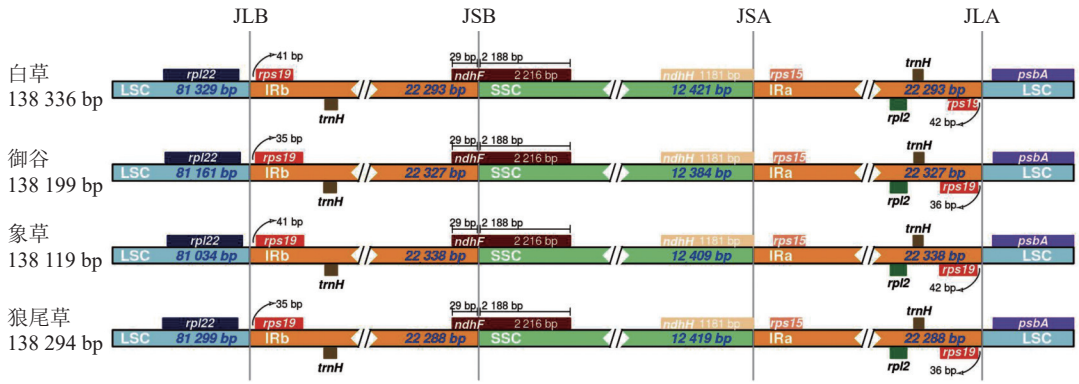


图 4　4 种狼尾草属植物叶绿体基因组边界扩张分析

Figure 4　Boundary analysis of chloroplast genome in 4 species of *Pennisetum*

2.7　SSR 分子标记开发

5 对引物的扩增效果 (图 6) 表明：SSR1、SSR3 和 SSR4 可在 4 种狼尾草属植物中都扩增出比较明显的条带，而 SSR2 仅在御谷和狼尾草中扩增出清晰条带，SSR5 则仅在御谷中扩增出清晰条带。

通过单端测序并对测序结果进行序列比对 (图 7)，发现 3 对引物：SSR1、SSR3 和 SSR4 在 4 种狼尾草属植物中显示出较高的保守性，特别是 SSR1 在 4 种植物中的保守程度最高，并且只有象草存在 2 个

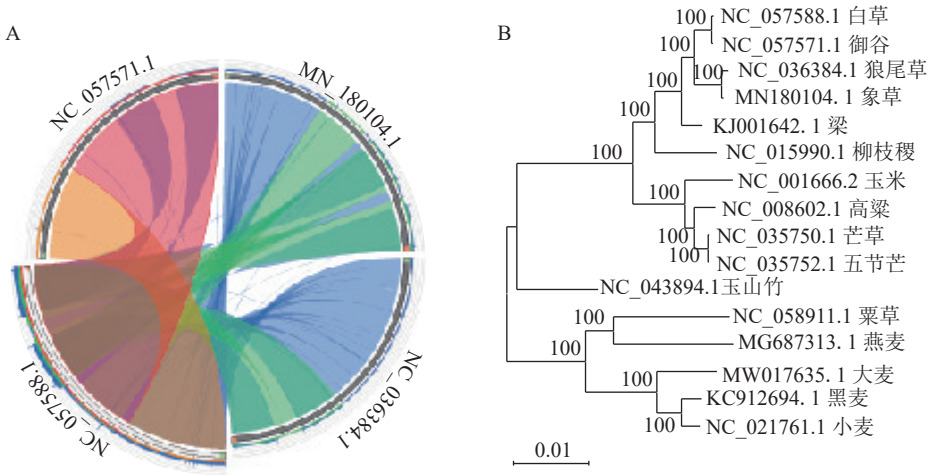
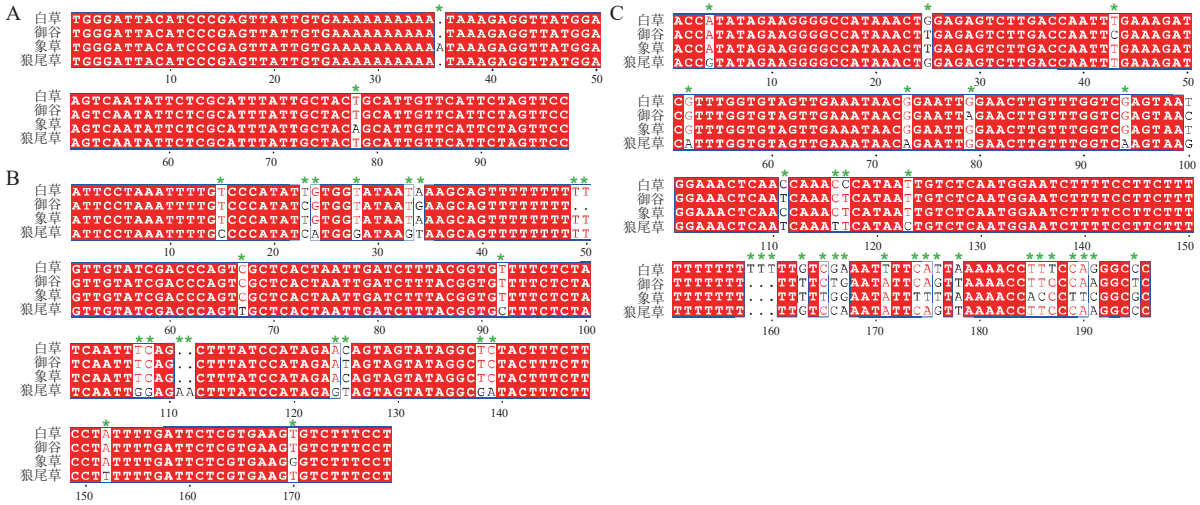


图 5 4 种狼尾草属植物的共线性分析 (A) 和基于叶绿体基因组构建的 16 种植物的系统进化树 (B)

Figure 5 Collinearity analysis of 4 species of *Pennisetum*(A) and the phylogenetic tree of 16 plant species (B)

图 6 5 对引物在 4 种狼尾草属植物的扩增结果

Figure 6 Amplification results of primers in 4 species of *Pennisetum*



*指示差异性核酸位点。

图 7 SSR 序列对比结果

Figure 7 Comparative results of SSR sequence in 4 species of *Pennisetum*

SNP 位点，而 SSR3 和 SSR4 在 4 个物种中均存在多个单核苷酸多态性位点 (single nucleotide polymorphism，SNP)。

3 讨论

本研究结果表明：所选用的 4 种狼尾草属植物的叶绿体基因组均是典型的四分体结构，其中 SSC 区为基因变异较多的编码区，而狼尾草属叶绿体基因组的 SSC 区较短，叶绿体基因组基因变异的概率较低，表现出较高的保守性，同已有研究表明的叶绿体基因组结构特征保持一致[24−25]。较长的 IR 区可提供更多的重复序列增加叶绿体基因组的稳定性，可以有效减少叶绿体基因组中结构重组的危险[26]。尽管 IR 区的基因突变率较低，但在大多数被子植物中，IR 区的收缩和扩张会造成基因及内含子的丢失，使其突变率变高。这可能是导致狼尾草属植物 IR 区以及 LSC 区和 SSC 区边界位置多样性的原因之一。

密码子偏好性结果显示：4 种狼尾草属植物的叶绿体基因组 Enc 值均高于 55.7，且大部分 RSCU 值低于 1，这说明 4 种植物密码子使用偏好性不强[27]。此外，4 种植物多态性较低，暗示着它们可能在遗传上相对保守，或者受到一定程度的遗传漂变的限制。通过共线性分析与系统发育树的构建，得出 4 种植物基因组相似度较高，这与前期多态性分析结果保持一致。

SSR 标记所获得的多态性条带数量较多，在物种间的遗传多样性研究方面更具优越性，这一点与已有研究结果[28]较为吻合。由于基因组中全为单核苷酸重复位点，所以本研究的 SSR 标记都是基于单核苷酸重复位点开发。其中引物 SSR5 表现出了极高的区分能力，仅在御谷中特异性表达，引物 SSR2 在御谷和狼尾草中特异性表达，为物种鉴别提供了可靠的分子工具。但是受扩增检测技术的限制，目前还不能精确地判定不同类群间的差别。

4　结论

本研究对 4 种狼尾草属植物叶绿体基因型中的 SSR 序列进行分析，仅存在单核苷酸重复；LSR 序列分析检测到正向重复、回文重复和反向重复，均未检测到互补重复。狼尾草属植物不同位置 GC 含量相差不大，叶绿体基因组密码子使用偏好性不强。多态性分析结果表明狼尾草属植物遗传多态性较低，基因组可能具有较高的保守性。后续研究叶绿体基因组边界扩张、共线性分析与系统发育树的构建以及 SSR 分子标记的开发，均佐证了这一结论，且狼尾草属之间的亲缘关系较为密切。

5　参考文献

[1] XU Jin, LIU Chen, SONG Yun, *et al*. Comparative analysis of the chloroplast genome for four Pennisetum species: molecular structure and phylogenetic relationships [J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, **12**(7): 12−13.

[2] 周洁仪, 赵文武, 杨杨, 等. 2 种狼尾草属牧草萌发期和苗期抗旱性综合评价[J]. 中国草地学报, 2023, **45**(8): 50−59.
ZHOU Jieyi, ZHAO Wenwu, YANG Yang, *et al*. Comprehensive evaluation of drought resistance of two different *Pennisetum* species during seed grmination and seedling growth stages [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2023, **45**(8): 50−59.

[3] 赖大伟, 赖志强, 易显凤, 等. 优质高产牧草紫色象草的选育[J]. 草学, 2022(2): 9−19.
LAI Dawei, LAI Zhiqiang, YI Xianfeng, *et al*. Breeding on fine and high yield of new cultivar: *Pennisetum purpureum* ‘Zise’ [J]. *Journal of Grassland and Forage Science*, 2022(2): 9−19.

[4] 范欲航, 许悦, 祝诗词, 等. 美洲狼尾草组织培养再生体系的建立[J]. 草地学报, 2023, **31**(1): 89−95.
FAN Yuhang, XU Yue, ZHU Shici, *et al*. Construction of tissue culture regeneration system of *Pennisetum glaucum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, **31**(1): 89−95.

[5] 韩卡文, 石秀兰, 韦立台, 等. 杂交狼尾草新品系 1 号的再生特性及品质研究[J]. 仲恺农业工程学院学报, 2020, **33**(4): 1−5.
HAN Kawen, SHI Xiulan, WEI Litai, *et al*. Studies on regeneration characteristics and quality of the *Pennisetum americamum* ‘23A’ × *P. purpureum* ‘51’ ‘Huanan No. 1’ [J]. *Journal of Zhongkai University of Agriculture and Engineering*, 2020, **33**(4): 1−5.

[6] 王净洁, 阿布都沙拉木, 祝诗词, 等. 美洲狼尾草 CCD 基因家族全基因组鉴定及分析[J]. 中国草地学报, 2024, **46**(3): 11−21.
WANG Jingjie, Abudushalamu, ZHU Shici, *et al*. Genome-wide identification and analysis of the carotenoid cleavage dioxygenase (CCD) gene family in *Pennisetum glaucum* [J]. *Chinese Journal of Grassland*, 2024, **46**(3): 11−21.

[7] 陈晓, 陈美秀. 象草青贮技术及其在动物应用中的研究进展[J]. 现代畜牧科技, 2024, **108**(5): 71−74.
CHEN Xiao, CHEN Meixiu. Research progress on elephant grass silage processing and its application in animal production [J]. *Morden animal Husbandry Science and Technology*, 2024, **108**(5): 71−74.

[8] 陈钟佃, 黄章明, 吴飞龙, 等. 闽牧 6 号杂交狼尾草产量特征及其资源化利用研究[J]. 草原与草坪, 2023, **43**(3): 126−131.
CHEN Zhongdian, HUANG Zhangming, WU Feilong, *et al*. Characteristics of hybrid *Pennisetum minmu* NO. 6 and its resource utilization [J]. *Grassland and Turf*, 2023, **43**(3): 126−131.

[9] 高龙, 张娟, 戈辰妍, 等. 添加植物乳杆菌、布氏乳杆菌对杂交狼尾草青贮发酵品质及有氧稳定性的影响[J]. 草地学报, 2023, **31**(12): 3867−3875.
GAO Long, ZHANG Juan, GE Chenyan, *et al*. Effects of adding *Lactiplantibacillus plantarum* and *Lactobacillus buchneri* on silage fermentation quality and aerobic stability of *Pennisetum glaucum* × *purpureum* [J]. *Acta Agrestia Sinica*, 2023, **31**(12): 3867−3875.

[10] LUBNA, ASAF S, KHAN A L, *et al*. The dynamic history of gymnosperm plastomes: insights from structural characterization, comparative analysis, phylogenomics, and time divergence [J]. *The Plant Genome*, 2021, **14**(3): 2−17.

[11] DOBROGOJSKI J, ADAMIEC M, LUCINSKI R. The chloroplast genome: a review [J]. *Acta Physiologiate Plantarum*, 2020, **42**(6): 2−13.

[12] CUI Yingxian, CHEN Xianlin, SUN Wei, *et al*. Comparison and phylogenetic analysis of chloroplast genomes of three medicinal and edible amomum species [J/OL]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2019, **20**(16): 4040[2024-05-10]. DOI: 10.3390/ijms20164040.

[13] KWAK S Y, LEW T T S, SWEENEY C J, *et al*. Chloroplast selective gene delivery and expression in planta using chitosan-complexed single-walled carbon nanotube carriers [J]. *Nature Nanotechology*, 2019, **14**(5): 447−455.

[14] STEPHANIE R, JOACHIM F, CLAUDIA H, *et al*. High efficiency generation of fertile transplastomic *Arabidopsis* plants [J]. *Nature Plants*, 2019, **5**(3): 282−289.

[15] PROMKAEW N, UMPUNJUN P, CHUEN N, *et al*. Development of a molecular maker for sex identification in Thai commercial date palm (*Phoenix dactylifera* L.) [J]. *Plant Biotechnology*, 2024, **41**(1): 45−51.

[16] KUMAR R R, CHAUHAN J, CHANDOLA V, *et al*. Genetic diversity assessment in medicinal herb *Swertia speciosa* (Wall. Ex. D. Don) of higher Himalayan Region [J]. *Vegetos*, 2024, **9**(3): 1−11.

[17] 柴晓娟, 郭玮龙, 陈慧, 等. 蔺草种质资源遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 浙江农林大学学报, 2017, **34**(3): 552−558.
CHAI Xiaojuan, GUO Weilong, CHEN Hui, *et al*. Genetic diversity of *Juncus effusus* germplasm by ISSR markers [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2017, **34**(3): 552−558.

[18] NASHIMA K, HOSAKA F, TERAKAMI S, *et al*. SSR markers developed using next-generation sequencing technology in pineapple, *Ananas comosus* (L). Merr. [J]. *Breeding Science*, 2020, **70**(3): 415−421.

[19] SONY A. Prediction of rice disease using convolutional neural network (in Rstudio) [J]. *International Journal of Innovative Research*, 2019, **4**(12): 595−602.

[20] TANG Danfeng, WEI Fan, CAI Zhongquan, *et al*. Analysis of codon usage bias and evolution in the chloroplast genome of *Mesona chinensis* Benth [J]. *Development Genes and Evolution*, 2021, **231**: 1−9.

[21] WANG Yongjie, LU Junhao, LIU Zhe, *et al*. Genetic diversity of *Gymnocypris chilianensis* (Cypriniformes, Cyprinidae) unveiled by the mitochondrial DNA D-loop region [J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2021, **6**(4): 1292−1297.

[22] ALI A, HYVONEN J, POCZAI P. IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes [J]. *Bioinformatics*, 2018, **34**(17): 3030−3031.

[23] ERRUM A, REHMAN N, KHAN M R, *et al*. Genome-wide characterization and expression analysis of pseudo-response regulator dene family in wheat [J]. *Molecular Biology Reports*, 2021, **48**(3): 2411−2427.

[24] AN Wenlin, LI Jing, YANG Zerui, *et al*. Characteristics analysis of the complete *Wurfbainia villosa* chloroplast genome [J]. *Physiology and Molacular Biology of Plants*, 2020, **26**(4): 747−758.

[25] LIU Fenxiang, MOVAHEDI A, YANG Wenguo, *et al*. The complete chloroplast genome and characteristics analysis of *Callistemon rigidus* R. Br [J]. *Molecular Biology Reports*, 2020, **47**(7): 5012−5024.

[26] WANG Yiheng, WANG Sheng, LIU Yanlei, *et al*. Chloroplast genome variation and phylogenetic relationships of *Atractylodes* species [J/OL]. *BMC Genomics*, 2021, **22**: 103[2024-05-10]. DOI: 10.1186/s12864-021-07394-8.

[27] 魏亚楠, 龚明贵, 白娜, 等. 梁山慈竹叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 浙江农林大学学报, 2024, **41**(4): 696−705.
WEI Ya’nan, GONG Minggui, BAI Na, *et al*. Codon bias in the chloroplast genome of *Dendrocalamus farinosus* [J]. *Journal of Zhejiang A&F University*, 2024, **41**(4): 696−705.

[28] VERMA K, TRIPATHI M K, TIWARI S, *et al*. Analysis of genetuc diversity among *Brassica juncea* genotypes using morpho-physiological and SSR markers [J]. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2021, **10**(1): 1108−1117.