

海南黎族聚居区山栏稻的起源演化研究

袁楠楠^{1,2}, 魏鑫², 薛达元¹, 杨庆文²

(¹中央民族大学, 北京 100081; ²中国农业科学院作物科学研究所, 北京 100081)

摘要:以 14 份海南黎族聚居区的山栏稻为研究材料、以原产于中国的 69 份亚洲栽培稻和 110 份普通野生稻为对照组, 分别对核中 *SSII* 基因、*ITS* 基因和 *Ehd1* 基因、叶绿体中 *ndhC-trnV* 基因以及线粒体中 *cox3* 基因等 5 段序列进行测序, 分析基因序列多样性和单倍型, 并揭示海南黎族聚居区山栏稻的起源地和驯化过程。结果表明, 黎族聚居区山栏稻的基因多样性低于亚洲栽培稻, 而亚洲栽培稻的基因多样性低于普通野生稻; 85% 左右的山栏稻为偏粳型; 山栏稻与广东和湖南的普通野生稻亲缘关系较近, 而与海南的普通野生稻的亲缘关系较远, 推测黎族的山栏稻可能起源于广东和湖南的普通野生稻。

关键词:黎族; 山栏稻; SNP; 基因多样性; 起源; 演化

The Origin and Evolution of Upland Rice in Li Ethnic Communities in Hainan Province

YUAN Nan-nan^{1,2}, WEI Xin², XUE Da-yuan¹, YANG Qing-wen²

(¹Minzu University of China, Beijing 100081;

²Institute of Crop Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081)

Abstract: In this study, 14 accessions of upland rice (*Oryza sativa* L.) named Shanlan rice by Li ethnic people, 69 accessions of Asian cultivated rice (*Oryza sativa* L.), and 110 accessions of common wild rice (*Oryza rufipogon*) were selected for sequencing analysis to study the origin and evolution of upland rice in Li ethnic communities in Hainan province of China. Five high mutation regions of *SSII*, *ITS*, and *Ehd1* gene from nucleus genome, the *ndhC-trnV* inter spacer from chloroplast genome, and *cox3* gene from mitochondrial genome in rice were chosen to be sequenced. The results showed that the gene diversity of Shanlan rice was the lowest while the common wild rice was the highest and that of Asian cultivated rice was in the middle. 85 percent of Shanlan upland rice was *japonica*. In addition, Shanlan rice had a close genetic relationship with common wild rice from Guangdong and Hunan province but not Hainan province, which inferred that Shanlan rice might be originated from common wild rice from Guangdong and Hunan province.

Key words: Li ethnic; Shanlan rice; SNP; gene diversity; origin; evolution

山栏稻是黎族早期以轮休式的“刀耕火种”方式种植的适应性很强的旱稻, 具有特殊的种质特征和突出的农艺优点^[1], 是黎族人民宝贵的遗传资源, 研究海南黎族山栏稻的遗传多样性和起源驯化

对山栏稻资源的合理保护和利用山栏稻有利基因进行遗传改良具有重要意义。陈良兵等^[2]采用简单重复序列标记 (simple sequence repeat, SSR) 技术分析评价来自海南不同生境的 5 份普通野生稻和 7 份

收稿日期: 2012-06-02 修回日期: 2012-07-16 网络出版日期: 2013-01-30

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130130.1616.006.html>

基金项目: 农业野生植物资源保护利用技术与示范 (201003021); 转基因水稻环境安全评价技术 (20082x08011-001); 高等学校学科创新引智计划 (B08044); 中央民族大学“985”工程项目 (MUC98504-14, MUC98507-08)

作者简介: 袁楠楠, 硕士, 研究方向为传统知识与遗传多样性保护。E-mail: anda250@163.com

通信作者: 薛达元, 教授, 研究生物多样性保护、遗传资源及相关传统知识保护与惠益分享等。E-mail: xuedayuan@hotmail.com

杨庆文, 研究员, 研究方向为野生稻保护生物学。E-mail: qwyang@mail.caas.net.cn

山栏稻的遗传多样性,结果表明海南山栏稻的遗传多样性明显低于海南普通野生稻,山栏稻是一种明显不同于普通野生稻的栽培稻农家种。符文英等^[3]采用同样的方法分析了来自海南的普通野生稻和山栏稻遗传关系,并获得了相似的结果,山栏稻的起源与演化过程中与海南普通野生稻几乎不存在亲缘关系。综上所述,尽管众多研究表明山栏稻不起源于海南普通野生稻,但是仍缺少关于确定山栏稻起源地和演化过程的研究。

单核苷酸多态性(SNP, single nucleotide polymorphism)标记法具有分布广泛、多样性高、数量大、遗传稳定和与表型性状相关性强等优点^[4-5],越来越为分子育种家和系统进化研究者重视^[6-8]。又因为核基因组、叶绿体基因组和线粒体基因组的DNA片段在植物系统发育研究中各有利弊^[9-12],所以本研究采取SNP标记法,选取3段核基因、1段叶绿体和1段线粒体基因中的高突变序列,通过测定获得14份海南黎族山栏稻、69份亚洲栽培稻地方品种微核心种质和110份普通野生稻微核心种质材料的序列数据,通过对比分析山栏稻与栽培稻和普通野生稻对照组遗传多样性的差异,以揭示黎族山栏稻的起源演化规律。

1 材料与方法

1.1 试验材料

在海南白沙黎族自治县搜集山栏稻种质3份,中国水稻所提供乐东黎族自治县、白沙黎族自治县、保亭黎族自治县及琼中黎族苗族自治县4个地区的黎族传统山栏稻11份;从21个省(自治区、直辖市)搜集的亚洲栽培稻地方品种微核心种质69份,其中籼稻44份、粳稻25份;以及来自海南(24份)、广东(33份)、广西(35份)、江西(4份)、福建(8份)、湖南(6份)等省份的普通野生稻微核心种质材料110份。亚洲栽培稻和普通野生稻为对照组。

1.2 DNA提取

将试验材料种植生长至分蘖期后,取其叶片采用CTAB法^[13]提取总DNA。

1.3 分析序列的确定

利用NCBI核酸数据库中获得的序列信息及文献研究,选用*SSII*^[14-15]、*ITS*^[16-17]和*Ehd1*^[18]3段高突变核基因序列,*cox3*线粒体基因序列^[19]以及*ndhC-trnV*叶绿体基因序列^[20]为本研究的分析序列。

1.4 PCR扩增和DNA测序

根据NCBI上已公布的基因组序列为模板设计引物。

PCR反应在Bio-tech Gradient 96型扩增仪上完成。反应体系为25 μ L,使用TransTag HiFi DNA聚合酶,程序为94 $^{\circ}$ C预变性10 min,94 $^{\circ}$ C变性0.5 min,48~55 $^{\circ}$ C退火1.5 min,72 $^{\circ}$ C延伸0.5 min,循环35次,最后72 $^{\circ}$ C延伸10 min。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳30 min后,经Alpha Innotech成像仪检测,选取条带清晰的切胶回收测序。PCR产物回收使用Axygen凝胶回收试剂盒,测序仪为ABI公司的PRISM 3730xl,试剂为BigDye terminatorv 3.1。

1.5 数据分析

根据试验所测得的序列,利用Chromas软件(<http://www.technelysium.com.au>)和Seqman软件(<http://www.dnastar.com>)对测序结果进行筛选和拼装,用Clustal X软件^[21]和BioEdit软件^[22]进行序列比对。基于溯祖理论,通过DNAsp软件^[23]分析统计数据,计算基因多态性指数 π 值^[24]、 θ 值^[25]。采用F. Tajima^[26]的方法进行群体内基因平衡进化检测。使用Network软件(<http://www.fluxus-engineering.com/>)绘制进化网络图,分析黎族山栏稻的起源演化过程。

2 结果与分析

2.1 序列多样性分析

不同类型水稻(黎族山栏稻、亚洲栽培稻和普通野生稻)的基因多样性参数值(分离位点数、单倍型多样性、 π 值、 θ 值和Tajima's D值)见表1。由于在本研究结果中,黎族山栏稻的*ndhC-trnV*基因和*cox3*基因不具有多态性,所以在表中没有列出。通过表1可以看出,黎族山栏稻、亚洲栽培稻和普通野生稻的*SSII*、*Ehd1*和*ITS*3个基因的Tajima's D值都不显著,说明这3个基因都是中性基因,没有受到选择作用。另外,*SSII*、*Ehd1*和*ITS*基因的分离位点数、单倍型多样性、 π 值和 θ 值都是黎族山栏稻最低,普通野生稻最高,亚洲栽培稻居中。

2.2 基因序列单倍型分析

对所有材料的*SSII*、*Ehd1*、*ITS*、*cox3*和*ndhC-trnV*5个基因拼接的序列利用DNAsp软件分析单倍型,结果表明其单倍型多样性值为0.8778,拼接序列的单倍型中材料个数较多的主要有单倍型1(28份)、单倍型4(25份)和单倍型3(16份)。由于序列多样性较丰富,单倍型比较多,为了便于观看,在

表 1 不同类型供试材料的序列多态性分析和中性进化检测

Table 1 Summary of DNA polymorphism and detective selection in different populations

基因 Gene	群体 Population	S	H	π	θ	D
<i>SSII</i>	山栏稻	3	0.26370	0.00090	0.00107	-0.49373 ^{NS}
	栽培稻	6	0.59720	0.00236	0.00143	1.56208 ^{NS}
	普通野生稻	23	0.81860	0.00268	0.00488	-1.30131 ^{NS}
<i>Ehd1</i>	山栏稻	1	0.26370	0.00042	0.00050	-0.34144 ^{NS}
	栽培稻	6	0.55710	0.00132	0.00232	-1.07065 ^{NS}
	普通野生稻	9	0.73470	0.00181	0.00297	-0.97417 ^{NS}
<i>ITS</i>	山栏稻	6	0.38460	0.00296	0.00322	-0.28625 ^{NS}
	栽培稻	10	0.65520	0.00420	0.00355	0.50385 ^{NS}
	普通野生稻	16	0.90780	0.00432	0.00513	-0.56750 ^{NS}

S:分离位点数;H:单倍型多样性值;D:Tajima's D; π :核苷酸多样性; θ :核苷酸多态性;NS:不显著

S: Number of segregating sites, H: Haplotype diversity, D: Tajima's D, π : diversity of nucleic acid, θ : polymorphism of nucleic acid, NS: Not significant

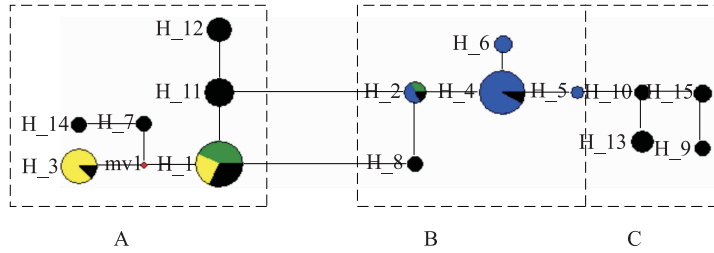
不影响结果的基础上,仅列出单倍型中的材料在 3 个或 3 个以上的主要单倍型,拼接序列主要单倍型

见表 2。将主要的单倍型数据利用 Network 软件进行作图(图 1)。

表 2 拼接序列主要单倍型中的材料编号

Table 2 Material number of major haplotype of piecing sequences of *SS II*, *Ehd1*, *cox3* 和 *ndhC-trnV* gene

单倍型 Haplotype	材料类型 Material type	份数 Number of material	材料编号 No.
H_1	山栏稻	12	HN_LD-SLD-1, HN_LD-SLD-2, HN_LD-SLD-3, HN_LD-SLD-4, HN_LD-SLD-5, HN_BT-SLD-1, HN_BT-SLD-3, HN_BT-SLD-4, HN_QZ-SLD, HN_BS-SLD-2, HN_BS-SLD-3, HN_BS-SLD-4
	粳稻	7	HeB_FN-J, HLJ_SH-J, SH_SJ-J, JS_WJ-J, ZJ_WX-J, SAX_LT-J, SC_GX-J
	野生稻	9	GD_SX-1-W, GD_HX-2-W, GD_HeY-2-W, GD_ZJ-1-W, GD_QY-W, GD_FG-2-W, HuN_JY-3-W, HuN_JY-2-W, GD_GM-W
H_2	山栏稻	2	HN_BS-SLD-1, HN_BT-SLD-2
	籼稻	3	YN_JP-1-X, YN_MH-X, YN_DY-X
	野生稻	1	GD_HZ-W
H_3	粳稻	14	HeB_GY-J, TJ-1-J, HeN_HB-J, YN_LC-J, YN_YY-, JL_HD-J, HLJ_HL-J, SH_FX-J, JS_JY-J, GZ_ZF-J, SAX_SY-J, TJ_BD-J, GZ_CJ-J, NX_ZW-J
	野生稻	2	GD_HD-2-W, GX_YL-1-W
H_4	籼稻	23	AH_HN-X, AH_TH-X, JX_DX-1-X, JX_GX-X, JX-1-X, JX-3-X, GD-1-X, GD-2-X, HN_BT-X, GX_HX-1-X, HuB_PQ-X, HuB_XS-X, HuB_ZX-X, HuN-1-X, HuN-2-X, SC_YB-X, YN_XP-2-X, GZ_ZY-X, GZ_HS-X, GZ_ZN-X, JX-4-X, GD_YD-X, GX_FeS-X
	野生稻	2	HN_DF-2-W, HN_CJ-W
H_5	籼稻	3	SC_GL-X, YN_ML-3-X, FJ_XY-X
H_6	籼稻	3	XZ_MT-X, TW-3-X, HN_SY-3-X
H_7	野生稻	3	HN_WC-W, GD_ZJ-3-W, GD_FG-1-W
H_8	野生稻	3	GD_DQ-W, GD_HF-1-W, GD_QJ-1-W
H_9	野生稻	3	HN_SY-1-W, HN_LG-5-W, JX_DX-5-W
H_10	野生稻	3	GD_EP-3-W, GX_YN-2-W, JX_DX-4-W
H_11	野生稻	11	GD_KP-2-W, GX_FC-W, GX_GX-2-W, GX_LA-2-W, GX_LA-5-W, GX_GG-2-W, HuN_CL-1-W, HuN_CL-2-W, GX_LA-4-W, GX_RX-1-W, HuN_CL-4-W
H_12	野生稻	7	GX_GX-1-W, GX_WM-W, GX_LB-1-W, GX_WX-1-W, GX_WX-2-W, GX_PN-2-W, FJ_ZP-6-W
H_13	野生稻	6	GX_FS-1-W, YN_YJ-1-W, YN_YJ-2-W, YN_YJ-3-W, YN_YJ-4-W, FJ_ZP-2-W
H_14	野生稻	3	YN_JH-4-W, YN_JH-3-W, YN_JH-6-W
H_15	野生稻	4	JX_DX-2-W, JX_DX-3-W, FJ_ZP-1-W, FJ_ZP-8-W



绿色表示山栏稻,黄色表示粳稻品种,蓝色表示籼稻品种,黑色表示野生稻品种。

H:单倍型;A、B、C表示所有单倍型被分成3个类群

Green means Shanlan upland rice, Yellow means Japonic, Blue means Indica, and black means common wild rice.

H:haplotype, A, B, and C mean all the haplotypes were divided into three groups

图 1 拼接序列的单倍型籼粳 Network 图

Fig. 1 Haplotype clustering scheme of *SSII*, *Ehd1*, *cox3*, and *ndhC-trnV* genes about *Indica* and *Japonic* drawn by Network

由图 1 可见,所有单倍型可以分成 A、B、C 3 个类群。类群 A 由单倍型 1、单倍型 3、单倍型 7、单倍型 11、单倍型 12 和单倍型 14 组成,包含的材料有 12 份山栏稻、亚洲栽培稻中的全部粳稻品种和部分普通野生稻。类群 B 由单倍型 2、单倍型 4、单倍型 5、单倍型 6 和单倍型 8 组成,包含的材料有 2 份山栏稻、亚洲栽培稻中的全部籼稻材料和部分普通野生稻,显然,籼稻在亚洲栽培稻中占有很大比例。类群 C 由单倍型 9、单倍型 10、单倍型 13 和单倍型 15 组成,包含的材料类型全部为普通野生稻。

山栏稻被分配在单倍型 1 和 2 中,其中,来自白沙县的 HN_BS-SLD-1 和来自保亭的 HN_BT-SLD-2 这 2 种山栏稻与 3 份亚洲栽培稻的籼稻及 1 份来自广东的普通野生稻 GD_HZ-W 聚类在单倍型 2 中;其他的 12 种黎族山栏稻与 7 份粳稻及 9 份普通野生稻分布在单倍型 1 中,且这 9 份普通野生稻是由 7 份广东野生稻和 2 份湖南野生稻组成的。与山栏稻聚为一类的普通野生稻与山栏稻之间的亲缘关系十分接近,可能山栏稻是由这部分的普通野生稻进化而来。

另外,由图 1 可见,亚洲栽培稻的籼、粳分化在本研究所选择的基因中很好地体现了出来。而山栏稻则被分成了 2 部分,一部分与籼稻聚为一类,另一部分与粳稻聚为一类,所以推测与籼稻聚为一类的 HN_BS-SLD-1 和 HN_BT-SLD-2 这 2 种山栏稻可能在稻种种质类缘上是属于偏籼的;而与粳稻聚为一类的 12 份山栏稻在稻种种质类缘上可能是属于偏粳的,即偏籼类型约占 14.29%,偏粳稻类型约占 85.71%,与郑成木等^[1]的研究结果一致。

3 讨论

3.1 黎族山栏稻的起源

探讨黎族山栏稻的起源问题应该结合其他学科对黎族的族源问题的研究结论。从考古学方面看,考古界在海南岛发现了大量的新石器时代中、晚期的文化遗址,发掘出各种器物表明海南岛原始文化遗址与广东大陆同属一个文化系统,属岭南百越文化特征之一^[27]。从语言学方面看,黎语与古越语在语法结构上有许多共同的特点,黎语明显保留古越语在语法方面的倒装痕迹^[28]。从地名学方面看,黎族的“那某、可某、落某、番某”等地名与广东一带的地名非常相似,海南岛的不少地名与广东等地的地名在语音与语义方面非常接近甚至相同^[28]。另外,海南黎族的断发文身、住干栏、用舟楫和鸡卜等文化特征被认为是对古越族文化的沿袭^[28]。体质人类学研究结果显示黎族是从大陆迁徙而来,与壮族、布依族、彝族和高山族较接近,同属一个类型。同时,与其他各地区的汉族相比较,与广西、广东、湖南和福建的汉族最接近^[29]。广东和湖南是古越族的主要分布区域^[30-31]。农业考古的成果已经证明:我国稻作的产生及其发展是由于古代百越族群的不断迁徙而“连稻声和稻种一起传播”的^[32]。这些研究均表明黎族先民与古代生活在广东和湖南地区的古越人有密切的关系。

本研究通过对 14 份黎族山栏稻、69 份亚洲栽培稻和 110 份普通野生稻的 *SSII*、*Ehd1* 和 *ITS* 3 个核基因、*ndhC-trnV* 叶绿体基因和 *cox3* 线粒体基因的序列多样性和单倍型多样性分析比较,发现黎族

山栏稻的基因序列多样性和单倍型多样性在抽样群体间最低,85%的山栏稻为粳稻,且由 Network 聚类图分析发现黎族山栏稻与广东和湖南的普通野生稻聚集于同一类,亲缘关系较近,而与海南普通野生稻的亲缘关系较远,推测黎族山栏稻可能起源于广东和湖南。该结论与亚洲栽培稻华南起源学说相一致^[33-34]。

3.2 黎族山栏稻的遗传多样性分析

基因的长期进化和遗传多样性是同一个进化过程中的 2 个不同层面^[35],研究某个基因的遗传多样性可以了解该基因的进化动态。DNA 序列多样性研究中,黎族山栏稻的 *SSII*、*Ehd1* 和 *ITS* 3 个基因的分离位点数、单倍型多样性值、 π 值和 θ 值都是最低的,亚洲栽培稻的这 4 个值则高于黎族山栏稻,而普通野生稻的最高。因此黎族山栏稻的遗传多样性最低,亚洲栽培稻的遗传多样性居中,普通野生稻的遗传多样性最高。该结论与前人研究结果基本一致^[2-3]。导致山栏稻基因多样性低的原因可能有以下几方面:首先,本研究结果表明山栏稻可能起源于大陆地区而非直接驯化自海南的野生稻,所以黎族先民带到海南岛的部分栽培稻不适应海南岛特殊的生态环境,没有表现出之前的优良性状而无法成活。其次,黎族传统的农业生产方式为“砍山栏”,这是一种在山上的旱地进行的特殊的生产方式,整个生长过程不施肥、只除 2 次草,可能一些不适应这种种植方式的栽培稻被黎族先民抛弃。最后,山栏稻米质好且营养丰富,说明黎族对于山栏稻的品质有很高的要求,而米质不好的山栏稻可能逐渐被淘汰。总之,由于种种原因导致黎族先民带到海南岛的栽培稻部分品种丢失,留下的栽培稻,即山栏稻的祖先种相对较单一,多样性较低。即使后来黎族人民以这些栽培稻为基础进一步扩大成为海南黎族地区主要的地方品种,但受到祖先种基因多样性狭窄所影响,整个山栏稻的基因多样性都大大的减小。

3.3 山栏稻的粳、梗性

本研究发现 HN_BS-SLD-1 和 HN_BT-SLD-2 这 2 份山栏稻在分子水平上表现为偏粳,其余的 12 份山栏稻则表现为偏梗,即偏粳类型约占 14.29%、偏梗类型约占 85.71%,与郑成木等^[1]的研究结果一致。这一结果与海南地区种植的水稻应该主要为粳稻相矛盾。因为在我国粳稻主要分布在淮河、秦岭以南地区和云贵高原的低海拔地区;而梗稻主要分布在北方。这种矛盾可能与黎族对稻米的品质要

求有关。通常粳稻的直链淀粉含量较高,梗稻的直链淀粉含量较低^[36]。而直链淀粉含量是稻米食味品质的主要决定因素,直链淀粉含量高,米饭硬、粘性小、光泽差;相反,则米饭软粘、光泽好。推测黎族祖先种植山栏稻较早,将传入海南的水稻中的梗稻品种保留了下来,并且与汉族种植的水稻较少交流,因此保留了大部分的梗稻。

参考文献

- [1] 郑成木,黄东益,陈辉,等.海南山栏稻种质类缘与杂交育种利用的研究[J].热带作物学报,1998,19(2):74-81
- [2] 陈良兵,朱汝财,吴海滨,等.海南普通野生稻和山栏稻的 SSR 多样性比较[C]//北京:植物分子育种国际学术研讨会论文集,2005:69-73
- [3] 符文英,肖冠愚,邢治旺,等.海南普通野生稻和山栏稻遗传多样性及起源演化的研究[C]//北京:中国科协 2004 年学术年会海南论文集,2004:169-175
- [4] Ganai M W, Altmann T, Roder M S. SNP identification in crop plants[J]. Curr Opin Plant Biol,2009,12:211-217
- [5] McNally K L, Childs K L, Bohnert R, et al. Genomewide SNP variation reveals relationships among landraces and modern varieties of rice[J]. P Nat Acad Sci U S A,2009,106:12273-12278
- [6] Rafalski A. Applications of single nucleotide polymorphisms in crop genetics[J]. Curr Opin Plant Biol,2002,5(2):94-100
- [7] Goff S A, Ricke D, Lan T H, et al. A draft sequence of the rice genome (*Oryza sativa* L. ssp. japonica) [J]. Science,2002,296:92-100
- [8] Matsumoto T, Wu J Z, Kanamori H, et al. The map-based sequence of the rice genome [J]. Nature,2005,436:793-800
- [9] Soltis D E, Soltis P S. Choosing an approach and an appropriate gene for phylogenetic analysis[M]// Soltis D E, Soltis P S, Doyle J J. Molecular Systematics of Plants. II. DNA sequencing. Boston; Kluwer Academy Publications,1998
- [10] Alvarez I, Wendel J F. Ribosomal *ITS* sequences and plant phylogenetic inference[J]. Mol Phylogenet Evol,2003,29:417-434
- [11] Wolfe K H, Li W H, Sarp P M. Rates of nucleotide substitution vary greatly among plant mitochondrial, chloroplast, and nuclear DNAs [J]. P Nat Acad Sci U S A,1987,84:9054-9058
- [12] Adams K L, Palmer J D. Evolution of mitochondrial gene content: gene loss and transfer to the nucleus [J]. Mol Phylogenet Evol,2003,29:380-395
- [13] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochem Bull,1987,19:11-15
- [14] Luo L J, Li Z K, Mei H W, et al. Overdominant epistatic loci are the primary genetic basis of inbreeding depression and heterosis in rice. II. grain yield components [J]. Genetics,2001,158:1755-1771
- [15] Zhuang J Y, Fan Y Y, Rao Z M, et al. Analysis on additive effects and additive-by-additive epistatic effects of QTLs for yield traits in a recombinant inbred line population of rice[J]. Theor Appl Genet,2002,105:1137-1145
- [16] Starr J R, Harris S A, Simpson D A. Potential of the 5' and 3' ends of the intergenic spacer (IGS) of rDNA in the cyperaceae: new sequences for lower-level phylogenies in sedges with an example from *uncinia pers*[J]. Int J Plant Sci,2003,164(2):213-227
- [17] Markos S, Baldwin B G. Higher-level relationships and major lineages of *lessingia* (compositae, astereae) based on nuclear rDNA internal and external transcribed spacer (*ITS* and *ETS*) sequences [J]. Syst Bot,2001,26:168-183
- [18] Doi K, Izawa T, Fuse T, et al. *Ehd1*, a b-type response regulator in

- rice, confers short-day promotion of flowering and controls FT-like gene expression independently of *Hd1* [J]. *Gene Dev*, 2004, 18: 926-936
- [19] Kaleikau E K, André C P, Walbot V. Sequence of the rice mitochondrial gene for cytochrome oxidase subunit 3 [J]. *Nucleic Acids Res*, 1990, 18(2): 371
- [20] Zheng X M, Ge S. Ecological divergence in the presence of gene flow in two closely related *Oryza* species (*Oryza rufipogon* and *O. nivara*) [J]. *Mol Ecol*, 2010, 19: 2439-2454
- [21] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*, 1997, 25(24): 4876-4882
- [22] Hall T A. *BioEdit*: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT [J]. *Nucleic Acids Symp Ser*, 1999, 41: 95-98
- [23] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25: 1451-1452
- [24] Tajima F. Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations [J]. *Genetics*, 1983, 105: 437-460
- [25] Watterson G A. On the number of segregating sites in genetical models without recombination [J]. *Theor Population Biol*, 1975, 7: 256-276
- [26] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, 123: 585-595
- [27] 广东省博物馆. 广东海南岛原始文化遗址 [J]. *考古学报*, 1960(2): 123-124
- [28] 高泽强. 黎族族源族称探讨综述 [J]. *琼州学院学报*, 2008, 15(1): 18-22
- [29] 张振标, 张建军. 海南岛黎族体质特征之研究 [J]. *人类学学报*, 1982, 1(1): 53-72
- [30] 林惠祥. 中国民族史 [M]. 北京: 商务印书馆, 1984: 111
- [31] 吕思勉. 中国民族史 [M]. 北京: 中国大百科全书出版社, 1987: 184-193
- [32] 陈光良. 略论海南历史上的粮食生产 [J]. *广东技术师范学院学报*, 2003(1): 14-19
- [33] 丁颖. 中国栽培稻种的起源及其演变 [J]. *农业学报*, 1957, 8(3): 243-260
- [34] 王荣升, 魏鑫, 曹立荣, 等. 基于叶绿体基因多样性的中国水稻起源进化研究 [J]. *植物遗传资源学报*, 2011, 12(5): 686-693
- [35] Ohta T, Kimura M. Behavior of neutral mutants influenced by associated overdominant loci in finite populations [J]. *Genetics*, 1971, 69(2): 247-260
- [36] 汤圣祥. 我国杂交水稻蒸煮与食用品质的研究 [J]. *中国农业科学*, 1987, 20(5): 17-22