

云南水稻地方品种月亮谷的群体多样性分析

翟婉婉¹, 李雪萍¹, 徐 返¹, 王 扬¹, 刘 胜¹, 刘永胜², 李成云¹, 王云月¹, 谢 勇¹

(¹ 云南农业大学植保学院, 昆明 650201; ² 合肥工业大学生物与食品工程学院, 合肥 230009)

摘要: 月亮谷是云南元阳梯田种植历史悠久、种植面积最大的优良水稻地方品种之一, 当地少数民族具有引种或换种的稻作习惯。为揭示这种稻作习惯对月亮谷群体遗传多样性的影响, 本研究对该品种群体内和群体间进行了遗传多样性的比较和分析, 目的是为更好地了解月亮谷的群体遗传结构, 为持久利用地方品种提供理论依据。首先采用分层随机取样的策略从元阳梯田不同海拔获得 24 个原位栽培群体, 采用形态指数分类法和抗病性测定对 24 个群体共 720 个单株样品的月亮谷进行形态学分类和稻瘟病抗性鉴定, 并分析了这些单株材料在 48 个 SSR 位点的遗传多样性。研究表明, 形态上月亮谷属于栽培稻的籼稻类型, 其群体对稻瘟病菌中抗水平, 但无论是在群体内还是群体间, 均普遍表现出明显差异, 说明不同来源的月亮谷存在抗病功能表型上的变异; 遗传多样性分析显示, 48 对 SSR 引物共检测出 91 个多态位点, 多态性位点百分率为 77.08%, Nei 多样性指数平均值为 0.064, 变幅为 0~0.4302。24 个群体之间的遗传相似系数在 0.9753~0.9866 之间, 群体内个体之间的遗传相似系数在 0.86~1.00 之间; AMOVA 分析显示, 以地理村寨作为自然居群单位, 居群间的变异为 3.36%, 居群内群体间的变异为 33.15%, 居群内的变异为 63.49%; 聚类分析显示, 村寨群体间的遗传多样性与村寨间的地理空间距离有一定相关性。

关键词: 水稻; 地方品种; 遗传异质性; 微卫星; 表型; 分子方差分析

Population Characterization of Rice Landrace Acuce from Yunnan Province through Phenotyping and Genotyping

ZHAI Wan-wan¹, LI Xue-ping¹, XU Fan¹, WANG Yang¹, LIU Sheng¹,

LIU Yong-sheng², LI Cheng-yun¹, WANG Yun-yue¹, XIE Yong¹

(¹ College of Plant Protection, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201; ² School of Biology and Food Engineering of HeFei University of Technology, Hefei 230009)

Abstract: Acuce, one of the rice landrace has being cultivated at Yuanyang Hani terrace more than one hundred years. For the purpose of intensively elucidating its population genetic characters under local rice production patterns, at present research, 24 populations were collected from local peasant household with stratified random sampling method. The intra-and inter-population of Acuce was analyzed through morphological traits and genetic diversity evaluation. The results showed that Acuce was classified into subspecies *Oryzae indica*, and displayed moderate resistance (MR) to *Magnaporthe oryzae*, the pathogenic fungi caused rice blast worldwide. Whatever intra-or inter-population, it showed blast resistance variation within all of the populations. For the reason of landrace harboring high frequent intra-heterogeneity, 30 single plants of each population were sampled and analyzed on 48 SSR loci which evenly distributed on 12 chromosomes of rice genome. The results showed that, whatever intra-or inter-population, 720 samples obtained 91 polymorphic alleles with polymorphic allele percentage 77.08%, and the mean of Nei diversity index 0.064 with the range 0-0.4302. Through cluster analysis, it indicated that genetic similarity coefficient

收稿日期: 2015-06-09 修回日期: 2015-07-15 网络出版日期: 2016-01-06

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20160106.1649.002.html>

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30460073, 31260415); 国家“973”计划 (2012CB722900); 云南省高校科技创新团队支持计划 [云教教 (2014) 22 号]

第一作者研究方向为遗传多样性与作物病害控制。E-mail: 416885640@qq.com; 李雪萍为共同第一作者

通信作者: 谢勇, 研究方向为农业生物多样性与作物病害控制。E-mail: yongx_km@163.com

cient range from 0. 9753-0. 9866 within 24 populations, and coefficient 0. 86-1. 00 between single plants within individual population. Taking Acuce source village as natural population, AMOVA results showed that it consisted of inter-village variation 3. 36% , inter-population within village 33. 15% and intra-village contributed 63. 49% variation. Further, the cluster analysis result indicated that the inter-village genetic similarity correlated with geographical distance between villages.

Key words: *Oryza sativa*; landrace; genetic heterogeneity; simple sequence repeat; phenotype; analysis of molecular variance

水稻地方品种或农家品种是经过长期自然和人工选择共同作用下形成的特有的栽培稻类型,对当地自然环境有较强的适应能力,而且是重要的稻瘟病(*Magnaporthe oryzae*)抗性基因源^[1-3]。一些利用优良抗性资源育成的水稻品种在进行多年种植后仍保持优良抗性,如非洲持久抗瘟品种 Moroberekan、印度的 Bala 及中国的窄叶青 8 号等,这些品种的抗性机制及其利用一直受到国内外育种学家和植物病理学家所关注^[4-5]。然而自从 20 世纪第二次绿色革命后,随着大量现代改良品种和杂交稻的推广,种植的农家品种数量日益减少。据统计,中国的水稻地方品种在 20 世纪 50 年代曾达 46000 个,但在最近的几十年间迅速下降,2006 年只有 1000 余个^[6]。这种遗传侵蚀(genetic erosion)是现代品种遗传基础狭窄的主要原因,也是阻碍现代农业可持续性发展的关键因子之一^[7]。保护现有的水稻种质资源,已经成为水稻育种学家普遍意识到的重要基础工作。

月亮谷(Acuce)是云南哈尼梯田哈尼少数民族长期种植的一个地方品种,在种植的上百年里几乎没有大面积爆发过稻瘟病,具有重要的实践和理论研究价值^[8-9],月亮谷的群体遗传结构特点是否与其稻瘟病流行规律有关,已成为值得探索的科学问题。为此,本研究采用分层随机取样(stratified random sample)的策略从云南省元阳县哈尼梯田所有种植月亮谷的村寨收集到代表 24 个遗传群体的月亮谷为试验样本,以每个群体 30 个单株的农艺性状、抗病表型及遗传多样性指标进行比较和分析,目的是多个角度进一步揭示月亮谷群体遗传结构、表型变异的基本规律,为初步揭示月亮谷持久种植机制及这一重要种质资源的原位和异位保护提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

1.1.1 水稻材料与取样方法

从云南省元阳县新街镇的牛保普村、大鱼塘村、阿者科村和哈单普村,海拔范围 1500 ~ 2000 m,按每 100 m 海拔范围为一“层”,根据村寨月亮谷种植面积在总的种植面积中的比例,从每村寨的农户收集 3 ~ 5 个月亮谷的自然群体,共计 24 份,分别编号 1 ~ 24 号群体。

1.1.2 稻瘟菌菌株 抗病表型测定的稻瘟菌(*M. oryzae*)菌株分属于 8 个生理小种(表 1)。菌株保存于本课题组实验室。

表 1 用于月亮谷群体抗性测定的稻瘟病菌菌株
Table 1 The information of *Magnaporthe oryzae* strains used for artificial inoculation

菌株名称 Strain name	生理小种 Race	来源 Source	水稻品种 Variety
D4-1(HH10)	ZC15	红河开远市卧龙谷村	红优 4 号
I2-2(KM7)	ZA1	昆明市石林县石林镇天生关村	粘粳 7 号
H2-1(DL2)	ZG1	大理祥云县云南驿左所	凤稻 28
H3-4(DL9)	ZB31	大理祥云县于官村	云粳 31
F9-5(LC48)	ZB23	临沧坝忙畔	科沙 1 号
I1-5(KM5)	ZB1	昆明市石林县路美邑镇	合系 22-2
G12-2(BS27)	ZA1	保山腾冲	丽粳 11
B6-4(CX27)	ZG1	楚雄苍岭镇	楚粳 28 号

1.2 表型性状测定

分别从 24 个群体中随机取样 50 粒种子,根据程侃声^[10]分类法对种子的稃毛、酚反应、壳色、谷粒长宽比进行统计、分类,然后将种子播种并于温室中培育至成熟期,统计植株的 1 ~ 2 穗节长、叶毛。

1.3 稻瘟病抗性鉴定

温室培育水稻苗,待长到 3 叶 1 心时,分别用 8 个菌株制备孢子悬浮液进行接种^[11-12]。每个菌株接种 15 株,3 个重复,接种后 7 ~ 10 d 参照

国际水稻研究所水稻抗性评定方法调查发病情况^[13]。

1.4 DNA 提取与 PCR 扩增

从 24 个群体材料中,每个群体随机取 30 个单株,用 CTAB 法提取单株基因组 DNA^[14]。从发布的水稻 SSR 引物中筛选出平均分布水稻 12 条染色体的 48 对 SSR 引物用于 PCR 反应 (<http://www.gramene.org>)。PCR 反应体系为 20 μ L, 包含 10 \times buffer (含有 Mg^{2+}) 2 μ L, 2.5 mmol dNTPs 1.6 μ L, 10 μ mol 引物各 1 μ L, 5 U Taqase 0.2 μ L, ddH₂O 13.2 μ L, DNA 1 μ L。PCR 反应程序:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s; 55 $^{\circ}$ C 退火 30 s; 72 $^{\circ}$ C 延伸 40 s; 共 36 个循环,最后在 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,产物 4 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物变性后用 6% 聚丙烯酰胺凝胶电泳检测、拍照^[15]。

1.5 数据获取与分析

以分子量标记 DL2000 为参照,根据条带迁移率有带记为“1”,无带记为“0”,构建 0、1 矩阵,计算 Nei 氏遗传距离,再用 NTSYSpc 软件的非加权配对算术平均法 (UPGMA) 进行聚类分析和树状图输出^[16]。

按基因型统计条带,纯合记为“AA”、“BB”、“CC”……,杂合记为“AB”、“AC”、“BC”……。结果用 PopGene 软件计算等位基因数、有效等位基因数、Nei 遗传多样性指数 (I)、群体间的遗传距离^[17]。

由 Arlequin 软件完成分子方差分析 (AMOVA, analysis of molecular variance)^[18]。

$$\text{有效等位基因数 } Ne = \frac{1}{j} = \frac{1}{\sum_{i=1}^m P_i^2}$$

其中 j 为位点纯合度; m 为某位点的等位基因数; P_i 为某位点第 i 个等位基因的频率。

$$\text{期望杂合度 } He = \sum_{i=1}^n \frac{H_i}{N} \quad Hi = 1 - \sum_{i=1}^m P_{ij}^2$$

其中 P_{ij} 表示第 i 位点上第 j 个等位基因的频率, N 为检测位点的总数。

$$\text{香农指数 } I = \sum_{i=1}^s \frac{n_i}{N} \ln \frac{n_i}{N}$$

其中 n_i 为第 i 个种的个体数, N 为种群中总的个体数而, n 则为样地内总的个体数。

$$\text{Nei 氏遗传距离 } Ds = -\ln(I') \quad I' = \frac{J_{xy}}{(J_x J_y)^{\frac{1}{2}}}$$

$$J_x = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{X_{ij}^2}{n}$$

$$J_y = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{Y_{ij}^2}{n}$$

$$J_{xy} = \sum_{i=1}^r \sum_{j=1}^k \frac{X_{ij} Y_{ij}}{n}$$

I' 为两群体间相似系数; X_{ij} 、 Y_{ij} 为群体中 X 、 Y 中第 r 个位点上第 k 个等位基因的频率。

数据显著性分析和方差分析由统计软件 DPS (7.05) 完成。

2 结果与分析

2.1 月亮谷表型差异分析

根据程侃声^[10]形态分类法中的种子长宽比、稃毛、酚反应、1~2 节穗长等指标,对每个群体随机抽取的 30 个单株进行测定、评分。结果显示,所有群体得分都在 8 以下,表明月亮谷属于籼稻类型 (表 2);值得一提的是,酚反应结果显示每个群体的种子着色程度均表现一定差异,有的变化极大,而作为对照的现代品种合系 22-2、93-11 和德优 8 号着色比较一致 (图 1)。由于酚反应是酚反应基因 *Phr1* 表达的遗传性状,着色程度与酚反应基因 *Phr1* 的变异有关,与种子成熟度无关^[19]。由此推测,月亮谷各自然群体中酚反应基因 *Phr1* 变异比较普遍。

2.2 月亮谷群体对稻瘟病菌的质量抗性分析

以代表 8 个不同生理小种的稻瘟病菌株人工接种月亮谷群体,对各个群体进行质量抗性评价。结果表明 (表 3),24 个群体均表现中抗 (MR) 以上,其中第 8 号群体表现为抗 (R),平均病级 1.97,抗性最低的是第 7 号群体,平均病级 2.76。说明农家品种月亮谷对稻瘟病具有一定水平的质量抗性,但不同月亮谷群体对稻瘟菌的抗性存在差异;在接种的 8 个菌株中,代表小种 ZB23 的菌株 F9-5 对月亮谷的致病力最强,平均病级达 3.50,致病力最低的是 H2-1 (小种 ZG1) 为 1.05,其他介于 1.38~2.89 之间。说明供试稻瘟病菌致病力分化较为明显,可客观评价月亮谷对稻瘟病菌的总体抗性水平。同时,月亮谷各群体的单株之间对特定菌株的抗病表型差异较为明显,变异系数较大,排除随机误差影响,可初步说明月亮谷特定群体中的个体间存在抗性表型上的明显差异。

表 2 月亮谷 24 个群体的形态指标测定结果

Table 2 The scoring result of 24 Acuce population based on morphological index

群体编号 Population code	得分 Score						总得分 Total	类型 Type
	长宽比 Length/width ratio	稃毛 Hull pubescence	酚反应 Phenol reaction	1~2 穗节长 No. 1-2 panicle node	抽穗时壳色 Hull color at heading stage	叶毛 Leaf pubescence		
1	2.24 ± 0.07bcd	1.03 ± 0.12def	0.63 ± 0.09h	0.20 ± 0.09cd	0.80 ± 0.10cd	0.10 ± 0.06f	4.93 ± 0.23j	籼
2	2.10 ± 0.07cde	0.13 ± 0.08g	0.93 ± 0.05efg	0.87 ± 0.08a	0.93 ± 0.11bcd	0.77 ± 0.08e	5.80 ± 0.19fghi	籼
3	2.46 ± 0.08a	1.07 ± 0.11def	0.20 ± 0.07h	0.30 ± 0.10bcd	0.90 ± 0.10bcd	0.93 ± 0.07cde	5.90 ± 0.22fghi	籼
4	2.24 ± 0.07bcd	0.17 ± 0.08g	0.97 ± 0.03def	0.27 ± 0.08cd	0.13 ± 0.06e	1.87 ± 0.09ab	5.67 ± 0.22ghi	籼
5	2.12 ± 0.05bede	1.90 ± 0.13abc	1.70 ± 0.10b	0.23 ± 0.09cd	1.03 ± 0.10abc	0.93 ± 0.08cde	7.93 ± 0.23a	籼
6	2.26 ± 0.07bcd	0.23 ± 0.09g	1.73 ± 0.08b	0.93 ± 0.12a	0.13 ± 0.08e	1.83 ± 0.08ab	7.00 ± 0.23bc	籼
7	2.22 ± 0.06bcd	1.13 ± 0.10de	1.33 ± 0.13c	0.37 ± 0.10bc	0.07 ± 0.05e	1.77 ± 0.09ab	6.93 ± 0.22bcd	籼
8	1.86 ± 0.07f	1.27 ± 0.14d	2.83 ± 0.07a	0.30 ± 0.09bcd	0.10 ± 0.07e	0.03 ± 0.03f	6.37 ± 0.24def	籼
9	2.28 ± 0.09abc	1.20 ± 0.15d	1.77 ± 0.08b	0.33 ± 0.10bcd	0.97 ± 0.10abcd	0.90 ± 0.07cde	7.43 ± 0.24ab	籼
10	2.24 ± 0.06bcd	2.23 ± 0.17a	1.00 ± 0.00def	0.30 ± 0.10bcd	0.87 ± 0.11bcd	0.87 ± 0.06cde	7.47 ± 0.27ab	籼
11	2.02 ± 0.08ef	0.93 ± 0.16def	1.00 ± 0.00def	0.13 ± 0.06cd	0.07 ± 0.05e	0.03 ± 0.03f	4.20 ± 0.19k	籼
12	2.30 ± 0.07ab	1.17 ± 0.17de	1.63 ± 0.11b	0.17 ± 0.08cd	0.73 ± 0.10d	1.03 ± 0.06cd	7.10 ± 0.19bc	籼
13	2.10 ± 0.07cde	1.67 ± 0.18c	0.83 ± 0.10fgh	0.53 ± 0.10	0.93 ± 0.13bcd	1.83 ± 0.13ab	7.90 ± 0.23a	籼
14	2.18 ± 0.07bede	2.20 ± 0.15ab	1.17 ± 0.08cd	0.20 ± 0.07cd	0.13 ± 0.06e	1.93 ± 0.07a	7.83 ± 0.22a	籼
15	2.16 ± 0.07bede	1.20 ± 0.14d	1.17 ± 0.07cd	0.80 ± 0.11a	0.17 ± 0.07e	0.10 ± 0.06f	5.47 ± 0.20ij	籼
16	2.18 ± 0.07bede	1.17 ± 0.15de	1.10 ± 0.05de	0.17 ± 0.07cd	0.03 ± 0.03e	0.83 ± 0.08de	5.47 ± 0.18ij	籼
17	2.12 ± 0.05bede	1.00 ± 0.14def	1.63 ± 0.09b	0.20 ± 0.07cd	1.07 ± 0.08ab	1.90 ± 0.09a	7.90 ± 0.19a	籼
18	2.20 ± 0.08bede	1.87 ± 0.10bc	0.73 ± 0.11gh	0.13 ± 0.06cd	1.20 ± 0.11a	1.67 ± 0.10b	7.77 ± 0.24a	籼
19	2.18 ± 0.07bede	0.37 ± 0.11g	1.07 ± 0.05de	0.80 ± 0.10a	0.23 ± 0.08e	0.93 ± 0.05cde	5.53 ± 0.21hi	籼
20	2.08 ± 0.06de	0.77 ± 0.10f	1.17 ± 0.07cd	0.13 ± 0.06cd	0.90 ± 0.07bcd	1.07 ± 0.08c	6.10 ± 0.18efgh	籼
21	2.20 ± 0.08bede	0.83 ± 0.13ef	0.90 ± 0.06efg	0.13 ± 0.06cd	0.07 ± 0.05e	0.03 ± 0.03f	4.20 ± 0.17k	籼
22	2.24 ± 0.07bcd	0.10 ± 0.06g	1.07 ± 0.07de	0.17 ± 0.08cd	0.87 ± 0.09bcd	1.73 ± 0.10ab	6.20 ± 0.20efg	籼
23	2.18 ± 0.06bede	2.07 ± 0.12ab	1.07 ± 0.07de	0.13 ± 0.06cd	0.13 ± 0.08e	0.97 ± 0.06cde	6.60 ± 0.18cde	籼
24	2.22 ± 0.06bcd	0.13 ± 0.08g	1.30 ± 0.09c	0.10 ± 0.06d	0.77 ± 0.09d	1.87 ± 0.08ab	6.27 ± 0.19ef	籼
平均 Mean	2.18	1.08	1.20	0.33	0.55	1.08	6.42	

不同小写字母代表 0.05 水平上显著,下同 Lowercase letters indicate sinificant at 0.05 level,the same as below

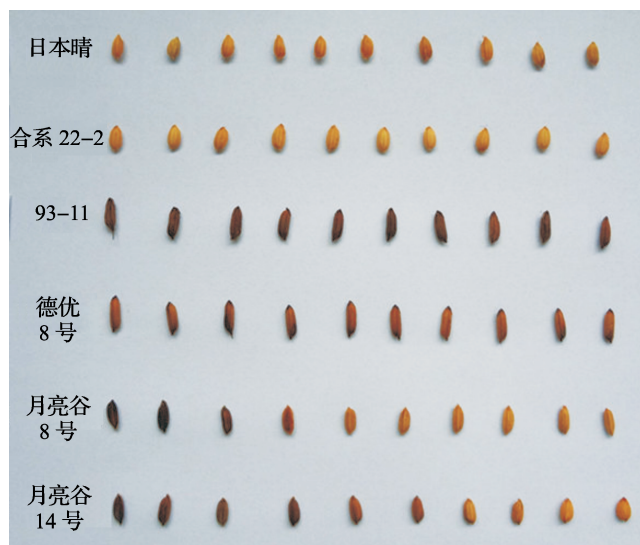


图 1 月亮谷酚反应结果

Fig. 1 Phenol reaction phenotype assay of Acuce

2.3 月亮谷的群体遗传多样性分析

2.3.1 月亮谷群体 SSR 位点多样性比较 48 对 SSR 引物在 24 个群体共 720 份单株样品中检测出多态性位点百分率为 77.08%, 每个位点检测到的等位基因数有较大差异, 共检测到 91 个等位基因, 平均每对引物检测出 1.896 个, 变幅为 1~4 个, 其中 RM180 最多, 为 4 个, 最少为 RM103、RM118、RM119、RM133、RM146、RM158、RM173、RM323、RM332、RM344 和 RM345 只检测到 1 个, 为单态性。有效等位基因数为 52.061 个, 平均每个位点 1.085 个, 变幅为 1~1.7550。Nei 基因多样性指数平均值为 0.064, 变幅为 0~0.4302。香农指数平均每个位点为 0.123 个, 变幅为 0~0.6216。每条染色体检测出来的等位基因数也不一样, 变幅在 6~9 之间(表 4)。以上结果表明, 月亮谷的群体遗传多样性指数高, 品种内遗传异质性比较普遍, 实际杂合度远低于期望杂合度, 表明品种内自然杂交率较低。

表 3 月亮谷群体对稻瘟病菌的抗性评价

Table 3 Resistance evaluation of Acece population to *M. oryzae*

群体编号 Population code	菌株/病级 Isolate/disease severity							平均值 Mean	抗性水平 Resistance level
	F9-5	H3-4	B6-4	I2-2	H2-1	I1-5	D4-1	G12-2	
1	3.33 ± 0.67bcdef	3.33 ± 0.33ab	2.67 ± 0.33bcde	2.95 ± 1.74a	0.92 ± 0.24def	1.33 ± 0.16cdefgh	2.45 ± 0.14ef	2.50 ± 0.22ef	MR
2	3.00 ± 0.0cdef	2.67 ± 0.33abcd	2.33 ± 0.33cde	1.58 ± 0.17bc	1.00 ± 0.22bcdef	1.44 ± 0.16abcdeh	2.68 ± 0.15cdef	2.90 ± 0.21abcdef	MR
3	4.33 ± 0.88abc	2.33 ± 0.33bcde	2.67 ± 0.67bcde	0.89 ± 0.17c	1.02 ± 0.17bcdef	1.23 ± 0.16defgh	2.41 ± 0.17ef	2.86 ± 0.22abcdef	MR
4	4.00 ± 0.0abcd	2.33 ± 0.33bcde	2.33 ± 0.33cde	1.57 ± 0.18bc	0.85 ± 0.17def	1.80 ± 0.14ab	2.60 ± 0.16def	2.98 ± 0.21abcdef	MR
5	4.33 ± 0.33abc	1.00 ± 0.58e	1.67 ± 0.33e	2.03 ± 0.22abc	0.61 ± 0.15f	1.76 ± 0.15abc	2.80 ± 0.15cdef	2.50 ± 0.19ef	MR
6	4.00 ± 0.0abcd	2.33 ± 0.33bcde	3.33 ± 0.33abcd	2.00 ± 0.22abc	0.80 ± 0.17def	1.40 ± 0.17abcdeh	2.45 ± 0.22ef	2.84 ± 0.18abcdef	MR
7	4.67 ± 0.67ab	3.00 ± 0.58abc	4.67 ± 0.67a	2.05 ± 0.16abc	0.95 ± 0.21cdef	1.51 ± 0.18abcdef	2.39 ± 0.17ef	2.83 ± 0.20bcdef	MR
8	3.33 ± 0.33bcdef	2.00 ± 0.58bcde	2.67 ± 0.67bcde	1.39 ± 0.18bc	0.65 ± 0.21ef	1.23 ± 0.15defgh	2.09 ± 0.20f	2.38 ± 0.18f	R
9	5.00 ± 0.58a	1.67 ± 0.33cde	2.33 ± 0.67cde	2.06 ± 0.22abc	1.18 ± 0.21abcde	1.43 ± 0.17abcdeh	3.02 ± 0.17bcde	2.55 ± 0.18ef	MR
10	3.67 ± 0.33abcde	2.67 ± 0.67abcd	2.00 ± 0.0de	2.22 ± 0.21ab	1.51 ± 0.24ab	1.00 ± 0.16gh	3.11 ± 0.24abcd	2.95 ± 0.24abcdef	MR
11	2.67 ± 0.33def	1.33 ± 0.88de	1.67 ± 0.33e	2.51 ± 0.25ab	1.46 ± 0.22abc	1.31 ± 0.16cdefgh	3.24 ± 0.18abc	2.90 ± 0.18abcdef	MR
12	5.00 ± 1.00a	2.00 ± 0.0bcde	2.67 ± 0.67bcde	2.05 ± 0.27abc	1.16 ± 0.22abcdef	0.94 ± 0.15h	3.21 ± 0.20abc	3.20 ± 0.22abc	MR
13	2.00 ± 0f	1.67 ± 0.33cde	3.67 ± 0.88abc	2.21 ± 0.20ab	0.79 ± 0.18def	1.07 ± 0.16efgh	3.43 ± 0.25ab	3.05 ± 0.21abcde	MR
14	4.33 ± 0.88abc	3.00 ± 0abc	2.00 ± 0.58de	1.89 ± 0.23abc	1.00 ± 0.15bcdef	1.30 ± 0.17defgh	3.64 ± 0.30a	2.65 ± 0.18cdef	MR
15	3.00 ± 0.58cdef	2.00 ± 0.0bcde	2.00 ± 0.58de	1.87 ± 0.20abc	1.03 ± 0.19bcdef	1.40 ± 0.18abcdeh	3.41 ± 0.28ab	2.93 ± 0.26abcdef	MR
16	2.33 ± 0.33ef	3.00 ± 0.58abc	3.33 ± 0.33abcd	1.85 ± 0.19abc	1.17 ± 0.18abcde	1.30 ± 0.15defgh	2.88 ± 0.38bcde	2.40 ± 0.17f	MR
17	3.67 ± 0.33abcde	2.33 ± 0.33bcde	2.67 ± 0.67bcde	2.40 ± 0.26ab	0.97 ± 0.18bcdef	1.32 ± 0.17abcdeh	3.16 ± 0.21abcd	2.70 ± 0.22cdef	MR
18	3.33 ± 0.33bcdef	4.00 ± 0a	2.00 ± 0.58de	2.19 ± 0.19ab	1.07 ± 0.17bcdef	1.48 ± 0.17abcdeh	3.16 ± 0.28abcd	3.17 ± 0.23abcd	MR
19	3.67 ± 0.33abcde	4.00 ± 0a	2.67 ± 0.67bcde	1.51 ± 0.19bc	1.07 ± 0.18bcdef	1.60 ± 0.17abcd	2.60 ± 0.22def	3.24 ± 0.25abc	MR
20	3.67 ± 0.33abcde	4.00 ± 0a	3.33 ± 0.33abcd	1.66 ± 0.19bc	1.17 ± 0.21abcde	1.06 ± 0.19fgh	2.88 ± 0.26bcde	3.41 ± 0.27ab	MR
21	3.00 ± 0.58cdef	3.33 ± 0.67ab	4.00 ± 0.58ab	1.58 ± 0.19bc	1.24 ± 0.20abcd	1.51 ± 0.19abcdeh	3.00 ± 0.15bcde	3.05 ± 0.24abcde	MR
22	3.00 ± 0.0cdef	4.00 ± 0a	3.33 ± 0.33abcd	1.93 ± 0.20abc	1.20 ± 0.18abcd	1.53 ± 0.15abcde	3.09 ± 0.24abcd	3.08 ± 0.25abcde	MR
23	2.00 ± 0.58f	3.33 ± 1.67ab	1.33 ± 0.88e	2.20 ± 0.28ab	0.79 ± 0.15def	1.36 ± 0.21bcdeh	2.95 ± 0.22bcde	2.61 ± 0.19def	MR
24	2.67 ± 0.33def	3.00 ± 0.58abc	4.00 ± 0.0ab	2.48 ± 0.29ab	1.65 ± 0.24a	1.82 ± 0.19a	2.67 ± 0.18cdef	3.44 ± 0.26a	MR
平均 Mean	3.50	2.68	2.72	1.96	1.05	1.38	2.89	2.88	2.38

MR: 中抗; R: 抗

MR: middle resistance R: resistance

表 4 48 个 SSR 位点的月亮谷群体遗传多样性指数

Table 4 Genetic diversity index derived from forty-eight SSR loci

位点 Loci	染色体 No. of chromosome	等位基因数 N_a	有效等位基因数 N_e	香农指数 I	观察杂合度 H_o	期望杂合度 H_e	基因多样性指数 Nei
RM6	2	2	1.0310	0.0790	0	0.0301	0.0301
RM14	1	2	1.5283	0.5297	0.0250	0.3459	0.3457
RM17	12	2	1.7550	0.6216	0.0097	0.4305	0.4302
RM29	2	2	1.0282	0.0732	0.0028	0.0274	0.0274
RM42	8	2	1.0056	0.0191	0	0.0055	0.0055
RM47	7	2	1.0913	0.1797	0.0014	0.0837	0.0837
RM60	3	2	1.0868	0.1732	0	0.0799	0.0799
RM101	12	2	1.0211	0.0579	0.0014	0.0206	0.0206
RM103	6	1	1.0000	0	0	0	0
RM106	2	2	1.0028	0.0105	0	0.0028	0.0028
RM107	9	2	1.0989	0.1903	0	0.0900	0.0900
RM114	3	2	1.1050	0.1985	0.0083	0.0951	0.0950
RM115	6	3	1.0196	0.0572	0.0014	0.0193	0.0193
RM118	7	1	1.0000	0	0	0	0
RM119	4	1	1.0000	0	0	0	0
RM124	4	2	1.0056	0.0191	0	0.0055	0.0055
RM128	1	2	1.1050	0.1985	0	0.0951	0.0950
RM131	4	2	1.1437	0.2468	0.0014	0.1257	0.1256
RM133	6	1	1.0000	0	0	0	0
RM135	3	2	1.0182	0.0515	0.0014	0.0179	0.0179
RM146	5	1	1.0000	0	0	0	0
RM149	8	3	1.0878	0.2009	0.0014	0.0807	0.0807
RM158	1	1	1.0000	0	0	0	0
RM164	5	2	1.0225	0.0610	0	0.0220	0.0220
RM171	10	2	1.0225	0.0610	0	0.0220	0.0220
RM172	7	2	1.0396	0.0959	0	0.0382	0.0381
RM173	5	1	1.0000	0	0	0	0
RM175	3	2	1.0282	0.0732	0	0.0274	0.0274
RM180	7	4	1.4597	0.6322	0.0111	0.3152	0.3149
RM181	11	2	1.1836	0.2902	0	0.1552	0.1551
RM184	10	2	1.0084	0.0270	0	0.0083	0.0083
RM201	9	2	1.0084	0.0270	0	0.0083	0.0083
RM211	2	2	1.0042	0.0149	0.0014	0.0042	0.0042
RM224	11	2	1.0070	0.0231	0.0014	0.0069	0.0069
RM244	10	2	1.0056	0.0191	0	0.0055	0.0055
RM261	4	2	1.0056	0.0191	0	0.0055	0.0055
RM270	12	2	1.0282	0.0732	0.0028	0.0274	0.0274
RM278	9	2	1.0028	0.0105	0	0.0028	0.0028
RM286	11	2	1.0168	0.0482	0	0.0165	0.0165
RM296	9	2	1.1281	0.2281	0.0014	0.1136	0.1135
RM309	12	3	1.1473	0.2620	0.0097	0.1285	0.1284
RM311	10	2	1.0748	0.1554	0	0.0697	0.0696
RM323	1	1	1.0000	0	0	0	0
RM331	8	2	1.2129	0.3189	0.0111	0.1757	0.1755
RM332	11	1	1.0000	0	0	0	0
RM334	5	3	1.5213	0.5614	0.0181	0.3429	0.3427
RM344	8	1	1.0000	0	0	0	0
RM345	6	1	1.0000	0	0	0	0
总数 Total		91	52.061	5.908	0.111	3.052	3.050
平均 Mean		1.896	1.085	0.123	0.002	0.064	0.064

24 个群体中检测到的多态性位点数也有差异(表 5),其中第 9 号群体的多态性位点数最多,达到 26 个,最少的是 24 号,只有 2 个,平均 11.1 个。对来自不同海拔月亮谷群体的遗传多样性进行比较,发现群体之间没有明显的差异,即各群体遗传多样性与其种植地海拔高度没有明显的对应关系,说明月亮谷的群体遗传特性主要受人为因素(人工选择、换种习惯等)的影响。

表 5 月亮谷群体间的遗传多样性指数比较

Table 5 Comparison of genetic diversity information within Acuce populations

群体 Population code	等位基因数 <i>Na</i>	有效等位 基因数 <i>Ne</i>	香农指数 <i>I</i>	观察杂合度 <i>Ho</i>	期望杂合度 <i>He</i>	基因多样 性指数 <i>Nei</i>	多态位 点数 No.	多态位点 百分数(%) Percentage of poly loci
1	1.1250	1.0480	0.0456	0.0000	0.0291	0.0286	5	10.42
2	1.0833	1.0401	0.0370	0.0014	0.0244	0.0240	4	8.33
3	1.1875	1.0624	0.0614	0.0007	0.0382	0.0376	8	16.67
4	1.2083	1.0796	0.0809	0.0000	0.0503	0.0495	9	18.75
5	1.2917	1.1141	0.1136	0.0021	0.0712	0.0701	13	27.08
6	1.5417	1.1440	0.1786	0.0069	0.1036	0.1019	24	50.00
7	1.2708	1.1112	0.1107	0.0021	0.0708	0.0696	12	25.00
8	1.1667	1.0579	0.0601	0.0000	0.0363	0.0356	7	14.58
9	1.6458	1.2064	0.2407	0.0132	0.1435	0.1411	26	54.17
10	1.2500	1.0853	0.0969	0.0042	0.0595	0.0585	11	22.92
11	1.2708	1.0813	0.0942	0.0014	0.0570	0.0560	13	27.08
12	1.2083	1.0770	0.0808	0.0056	0.0497	0.0489	8	16.67
13	1.1875	1.0374	0.0508	0.0014	0.0281	0.0276	7	14.58
14	1.2083	1.0596	0.0714	0.0000	0.0427	0.0420	9	18.75
15	1.3750	1.0513	0.0786	0.0021	0.0416	0.0409	18	37.50
16	1.2083	1.0618	0.0724	0.0014	0.0437	0.0429	10	20.83
17	1.1667	1.0384	0.0494	0.0049	0.0280	0.0275	6	12.50
18	1.1458	1.0466	0.0530	0.0000	0.0312	0.0307	6	12.50
19	1.3958	1.0499	0.0769	0.0000	0.0393	0.0387	17	35.42
20	1.2083	1.0439	0.0542	0.0042	0.0300	0.0295	8	16.67
21	1.3958	1.0490	0.0819	0.0000	0.0414	0.0407	17	35.42
22	1.3750	1.0608	0.0831	0.0000	0.0444	0.0436	15	31.25
23	1.2500	1.0446	0.0598	0.0028	0.0331	0.0325	12	25.00
24	1.0417	1.0029	0.0061	0.0014	0.0027	0.0027	2	4.17
总数 Total	30.2081	25.6535	1.9381	0.0558	1.1398	1.1207		
平均 Mean	1.2587	1.0689	0.0808	0.0023	0.0475	0.0467		

2.3.2 取样数量对群体遗传多样性的影响 为明确取样数量对遗传多样性评价的影响,随机抽取月亮谷各群体的 5、10、15、20、25、30 个单株,进行不同取样数量的多态性位点分析。结果发现,在 5~20 个单株范围内,随取样数量的增加,多态性位点数增加,但 25 个单株以后,其多态位点基本没有增加(图 2),在观察等位基因(*Na*)、多态位点百分数(*P*)2 个指标上也得到类似的结果。而期望杂合度

(*He*)、基因多样性指数(*Nei*)、有效等位基因(*Ne*)和香农指数(*I*)则先升高后降低,反映了随取样数量增加,重复取样次数增多。以上结果说明,进行水稻农家品种的遗传多样性分析时,如取样量低于 25 个个体就难以涵盖绝大多数的等位基因,考虑到要保护或研究一些稀有等位基因和实际工作量,30 个单株的取样量是比较适中的。这一结果基本符合已有的报道^[20-21]。

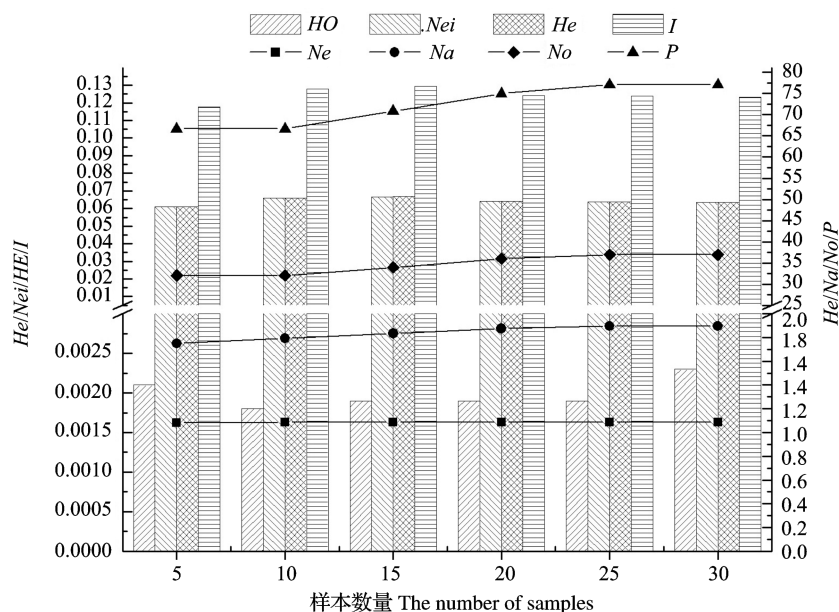


图2 取样数与遗传多样性指数之间的关系

Fig. 2 Relationship between sampling number and its genetic diversity index

2.3.3 聚类分析 根据 24 个月亮谷群体的 SSR 扩增条带有无构建“0”、“1”二进制矩阵,计算 Nei 氏遗传距离和 Jaccard 相似系数,利用 UPGMA 法进行聚类分析并构建树状图(图 3)。由图可知,供试的 24 个月亮谷群体相似系数较高,介于 0.9753 ~ 0.9866 之间,在相似系数 0.9753 处可分为 2 个类群,第 I 类群包括 1 ~ 19 号群体,第 II 类群包括 20 ~ 24 号群体。其中,第 I 类群中的 1 ~ 5 号群体的相似性较高,而且第 1、2 号群体相似性最高(0.9866),其原因可能是这 5 个群体来源于同一村寨的不同农户(牛保普村),他

们之间进行换种或引种的可能性也较高;第 II 类群包括的 5 个群体全部来源于同一村寨(阿者科村),相似性系数都在 0.9753 以上;而第 18、19 号群体都来自同一村寨(哈单普村),但它们的相似性反而低于不同村寨间群体的相似性。以上结果表明,由于当地农户有换种的传统习惯,这样可使月亮谷在不同村寨或不同农户间保持较高的纯度和较高的相似性;另一方面,由于种植时间长,农户缺乏提纯复壮的意识,而且可能存在有意或无意的种子混杂,使群体间保持一定水平的遗传多样性。

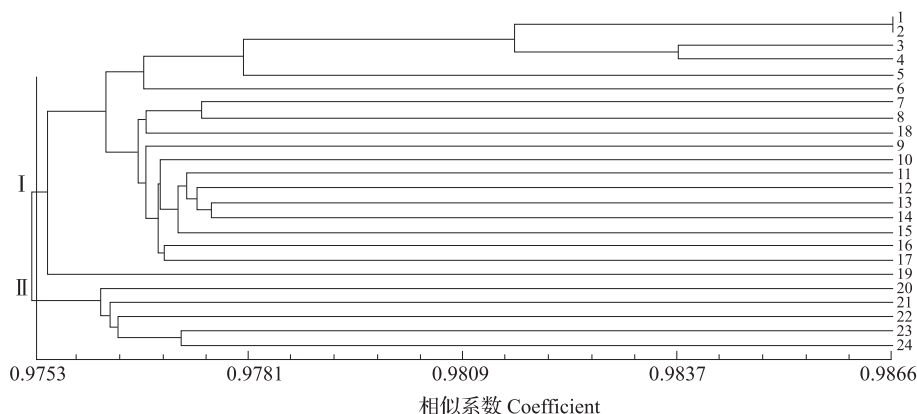


图3 基于 48 个 SSR 位点构建的 24 个月亮谷群体的树状图

Fig. 3 Dendrogram of twenty-four Acuce populations based on 48 SSR loci analysis

2.3.4 AMOVA 分子方差分析 在整个群体的遗传分化水平上,全部位点的遗传分化系数(F_{st})为 0.2650(Popgene 分析结果),说明在 24 个月亮谷群体

的遗传变异中,群体间遗传变异为 26.50%,群体内的遗传变异为 73.50%,且品种间遗传信息的交流比较少。采用 Alequin 软件(2.000)对月亮谷进行群体

内、村寨内群体间和村寨间进行 AMOVA 分析。结果显示,24 个群体在不同村寨间的变异为 3.36%,村寨内群体间的变异为 33.15% ($P < 0.001$),群体内的变异为 63.49% ($P < 0.001$) (表 6)。Buso 认为分化系数介于 0~0.05 之间说明分化很弱,0.05~0.15 之间

是中等分化,0.15~0.25 之间是分化大,大于 0.25 表明分化极大^[22]。24 个群体的分化系数在群体内和村寨内群体间都超过 0.25,表明遗传分化极大,在村寨间分化很弱。以上结果表明,元阳梯田水稻品种月亮谷的遗传变异主要来源于群体内。

表 6 基于 48 个 SSR 位点的月亮谷群体 AMOVA 分析

Table 6 Acuce population genetic diversity through AMOVA analysis based on 48 SSR loci

变异来源	自由度	方差总和	变异成分	变异百分率 (%)	概率
Variation source	df	Sum of variance	Variance components	Percentage of variation	Probability
村寨间	3	185.7066	0.1212	3.36	0.054
Inter-village					
村寨内群体间	20	856.1767	1.1974	33.15	<0.001
Inter-population within village					
群体内	696	2529.1832	2.2956	63.49	<0.001
Intra-population					

3 讨论

3.1 月亮谷的表型多样性

采用程侃声^[10]分类法对农家品种月亮谷群体进行表型分析,总得分介于 4.20~7.90,平均得分 6.42,确定月亮谷属于籼稻类型。这一结果与已有的描述一致^[23-24]。但是,一般认为海拔 1800 m 是籼稻亚种栽培的上限^[1],但该品种在元阳梯田种植的海拔从 1500~2000 m 均有分布,说明月亮谷经过哈尼少数民族上百年的为人选择和驯化栽培,已经对当地的生态条件和栽培方式具有很好的适应性,是一个特殊的地方品种资源,有着很高的研究及利用价值。值得一提的是,酚反应被认为是鉴别栽培稻籼亚种和粳亚种的可靠指标之一,即籼稻和野生稻可着色而粳稻不能着色,该反应由一个质量性状基因(*Phr1*)控制^[19,25],但本研究过程中发现月亮谷的酚反应结果与作为对照的现代品种在反应的一致性上差异较大,即着色程度差异较大(图 1)。由此推测在月亮谷群体中酚反应基因(*Phr1*)的变异频率高,由此影响了种子的着色程度,但其变异规律与酚反应表型性状的关系值得深入研究。

3.2 月亮谷对稻瘟病菌的质量抗性评价

不同稻瘟病菌生理小种的温室人工接种试验结果显示,月亮谷群体对稻瘟病菌的质量抗性总体上属于中抗(MR)水平,但在群体间和群体内对特定菌株的病级差异较大,说明群体间对稻瘟病的抗性存在差异,其中第 8 号群体为抗病水平(R)。已有的一些研究结果显示,具有不同抗性水平的植物寄

主群体有利于延缓病原群体优势小种的产生,抑制病害流行,这也许是云南元阳哈尼梯田上百年来没有大面积稻瘟病爆发的原因之一^[1,24]。

3.3 月亮谷的群体遗传多样性与其地理来源之间的关系

24 个月亮谷群体共 720 个单株在 48 个 SSR 位点共检测出 91 个等位基因,Nei 基因多样性指数为 0.064,其遗传相似系数在 0.9753~0.9866 之间,基本可认定为同一种质,但基因多样性指数变幅较大,说明月亮谷群体内的遗传多样性比较丰富;在特定位点等位基因数变幅为 1~4 个,与董超等^[24]、姜波等^[26]的研究结果基本一致,但本研究的取样范围较广、取样数量较多,因此多态位点数与 Nei 基因多样性指数相对较高。聚类分析显示,供试的 24 个月亮谷群体相似系数较高,在 DNA 水平上可认为是同一种质。24 个群体的树状图在相似系数 0.9753 处可分为 2 个遗传宗群,第 I 类群包括 1~19 号群体,第 II 类群包括 20~24 号群体。聚类分析结果与月亮谷群体的地理来源有一定关联,即地理空间距离越近的村寨,其月亮谷群体的遗传相似性越高。由于元阳梯田山高谷深,村寨间交通不便,当地少数民族农户在进行换种或引种过程中,交通便利与否是影响种子来源最重要的因素。因此,聚类分析可反映当地稻作生产模式的特点,即换种是元阳哈尼梯田重要的生产习俗,这种生产习俗为保持月亮谷的遗传多样性具有直接作用。

3.4 取样数量对遗传多样性评价的影响

一般而言,对于特定生物材料遗传多样性的研究,取样的数量和方法是影响多样性评价的重要因

素。通常认为一个居群内最佳的取样数量要求包括 95% 以上基因频率大于 0.05 的等位基因^[27]。对水稻地方品种遗传多样性的研究结果显示,地方品种具有与现代改良品种不同的群体遗传结构。主要表现为因地方品种来源、种植习惯复杂多样,普遍表现出品种内异质性(intra-heterogeneity)^[28-32]。因此,为客观反映地方品种群体内的异质性,本研究的月亮谷材料来源基本包括了元阳哈尼梯田所有的分布区,而且将每个群体的取样数量增加到 30 个单株,目的是尽可能地检测到该品种的稀有基因型。为此,本研究比较了不同取样数量(5 株、10 株、15 株、20 株、25 株、30 株)的多态位点数,结果显示在 5~25 株之间,随样本数量增加,其多态位点数也逐步增加,取样 30 株可以基本代表整个群体的多样性,而且,样本数量的增加可检测到更多的稀有基因型。其他研究者也得到了类似的研究结果,因此,合理的取样策略和适当的取样数量对评价水稻地方品种遗传多样性至关重要^[33-34]。

参考文献

- [1] 曾亚文,李自超,申时全,等. 云南地方稻种的多样性及优异种质研究[J]. 中国水稻科学,2011,15(3):169-174
- [2] Dai LY, Lin X H, Ye C R, et al. Identification of quantitative trait loci controlling cold tolerance at the reproductive stage in Yunnan landrace of rice Kunming xiao bai gu[J]. Breeding Sci, 2004, 54: 253-258
- [3] 杨志奇,杨春刚,汤翠凤,等. 中国粳稻地方品种孕穗期耐冷性评价及聚类分析[J]. 植物遗传资源学报,2008,9(4):485-491
- [4] Bonman J M, Mackill D J. Durable resistance to rice blast disease[J]. Oryza, 1988, 25: 103-110
- [5] 沈瑛, Adreit H, 朱旭东, 等. 中国部分杂交稻和常规早籼、晚粳品种(系)的抗瘟性[J]. 中国农业科学, 2004, 37(3): 362-369
- [6] Xu H, Tang X, Liu J, et al. China's progress toward the significant reduction of the rate of biodiversity loss[J]. BioScience, 2009, 59: 843-852
- [7] Shin Takeda, Makoto Matsuoka. Genetic approaches to crop improvement: responding to environmental and population changes[J]. Nature Reviews Genetics, 2008, 9: 444-457
- [8] He X H, Sun Y, Gao D, et al. Comparison of agronomic traits between landraces and modern varieties at different altitudes in the paddy field of Yuanyang Terrace[J]. J Resour Ecol, 2011, 2(1): 46-50
- [9] 徐福荣. 云南元阳哈尼梯田水稻地方品种遗传多样性研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2010: 66-68
- [10] 程侃声. 亚洲稻籼粳亚种的鉴别[M]. 昆明: 云南科学出版社, 1992
- [11] Vergne E, Grand X, Ballini R, et al. Preformed expression of defense is a hallmark of partial resistance to rice blast fungal pathogen *Magnaporthe oryzae*[J]. BMC Plant Biol, 2010, 10: e206
- [12] 李进斌, 李成云, 张庆, 等. 两套鉴别品种对云南稻瘟病菌株鉴别能力的比较[J]. 中国农业科学, 2009, 42(2): 486-491
- [13] Zeigler R S, Leong S A, Teng P S. Rice blast disease[M]. Wallingford: CAB International, 1994
- [14] Edwards K, Johnstone C, Thompson C. A simple and rapid method for the preparation of plant genomic DNA for PCR analysis[J]. Nucleic Acids Res, 1991, 19(6): 43-49
- [15] Panaud O, Chen X, McCouch S R. Development of microsatellite markers and characterization of simple sequence length polymorphism (SSLP) in rice (*O. sativa* L.) [J]. Mol Genet, 1996, 252(5): 597-607
- [16] Nei M. Genetic distance between populations[J]. Am Nat, 1972, 106(3): 283-292
- [17] Rohlf F J. NTSYSpc: Numerical taxonomy and multivariate analysis system[CP]. New York: Exeter Software, Applied Biostatistics Inc, 2000
- [18] Schneider S D, Roessli D L, Excoffier L. Arlequin Ver. 2.00: A software for population genetic data analysis[J]. Evol Bioinform Online, 2000, 1: 103-109
- [19] Yu Y C, Tang T, Qian Q, et al. Independent Losses of Function in a Polyphenol Oxidase in Rice: Differentiation in Grain Discoloration between Subspecies and the Role of Positive Selection under Domestication[J]. Plant Cell, 2008, 20(11): 2946-2959
- [20] Sjögren P, Wyñni P I. Conservation genetics and detection of rare alleles infinite populations[J]. Conser Biol, 1994, 8(1): 267-270
- [21] 金燕, 卢宝荣. 遗传多样性的取样策略[J]. 生物多样性, 2003, 11(2): 155-161
- [22] Buso G S C, Rangel P H, Ferril M E. Analysis of genetic variability of south American wile rice (*Oryza glumeapatula*) population with isozymes and RAPD marker[J]. Molec Ecol, 1989, 7(1): 107-111
- [23] 韩龙植, 魏兴华, 曹桂兰, 等. 水稻种质资源描述规范和数据标准[M]. 北京: 中国农业出版社, 2009
- [24] 董超, 徐福荣, 杨文毅, 等. 云南元阳哈尼梯田水稻地方品种月亮谷的遗传变异分析[J]. 中国水稻科学, 2013, 27(2): 137-144
- [25] 钱前, 何平等, 郑先武, 等. 籼粳分类的形态指数及相关鉴定性状的遗传分析[J]. 中国水稻科学: C 辑, 2000, 30(3): 305-310
- [26] 姜波, 王云月. 元阳传统水稻品种月亮谷种内遗传多样性研究[J]. 华北农学报, 2013, 28: 85-90
- [27] Marshall D R, Brown A H D. Optimum sampling strategies in genetic conservation[M]//Frankel O H, Hawkes J G. Crop Genetic Resource for Today and Tomorrow. London: Cambridge University Press, 1975
- [28] Olufowote J O, Xu Y, Chen X, et al. Comparative evaluation of within-cultivar variation of rice (*Oryza sativa* L.) using microsatellite and RFLP markers[J]. Genome, 1997, 40: 370-378
- [29] 谢勇. 水稻品种遗传差异与间作田间表现关系研究及 DAiT 芯片技术体系构建[D]. 北京: 中国农业大学, 2005
- [30] Xie Y, McNally K L, Li C Y, et al. A high-throughput genomic tool: diversity array technology complementary for rice genotyping[J]. J Integr Plant Biol, 2006, 48(9): 1069-1076
- [31] Tu M, Lu B R, Zhu Y Y, et al. Abundant within-variety genetic diversity in rice germplasm from Yunnan province of China revealed by SSR fingerprints[J]. Biochem Genet, 2007, 45(11): 789-801
- [32] Sreejayan, Kumar U S, Varghese G, et al. Stratification and population structure of the genetic resources of ancient medicinal rice (*Oryza sativa* L.) landrace Njavara[J]. Genet Resour Crop Evol, 2011, 58(5): 697-711
- [33] Jin Y, Zhang W J, Fu D X, et al. Sampling strategy within a wild soybean population based on its genetic variation detected by IS-SR markers[J]. Acta Bot Sinica, 2003, 45: 995-1002
- [34] 孙建昌, 曹桂兰, 李亚非, 等. 水稻地方品种群体内的遗传多样性分析[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011, 12(39): 1-9