

海南普通野生稻遗传多样性分析及核心种质构建

翟李楠¹, 唐清杰^{1,2}, 周帮纪¹, 周世圳¹, 王惠艰¹, 云勇^{1,2},
韩义胜¹, 王晴瑜¹, 严小微^{1,2}, 邢福能^{1,2}

(¹海南省农业科学院粮食作物研究所/海南省农作物遗传育种重点实验室, 海口 571100; ²海南省农业科学院三亚研究院, 三亚 572025)

摘要: 为摸清海南省众多普通野生稻材料之间的亲缘关系, 发掘具有代表性的样本, 本研究利用 32 个 SSR 标记, 对来自海南省 11 个不同市县的 2038 份海南普通野生稻资源进行遗传多样性分析及核心种质构建。结果显示, 平均有效等位基因 (N_e , Number of effective alleles) 为 2.479, 丰富度 Shannon 指数 (I , Shannon entropy index) 为 0.975, Nei's 基因多样性 (h , Nei's genetic diversity) 为 0.570, 多态性位点百分比为 96.27%, 表明海南普通野生稻的遗传多样性十分丰富。不同地方来源的海南普通野生稻遗传多样性存在差异, 来自临高的海南普通野生稻丰富度最高, 琼海的普通野生稻遗传丰富度最低, 其变异主要集中在群体内部。群体结构分析显示当 $K=2$ 时, Delta K 值最高, 将 2038 份海南普通野生稻资源分成 2 个类群, 第 I 类群有 1145 份资源, 分别来源于海口、澄迈、儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方, 第 II 类群有 893 份资源, 分别来源于海口、文昌和澄迈。利用居群优先及多次聚类的方法构建海南普通野生稻核心种质 192 份, 占总资源 (2038 份) 的 9.42%, 核心种质的 Shannon 指数 (I) 保留了 102.46%, Nei's 基因多样性 (h) 保留了 104.39%, 有效降低了原始种质的遗传冗余度和遗传差异上的重复。海南普通野生稻核心种质代表了原种质的遗传多样性和特异性, 为海南普通野生稻资源的有效利用提供材料。

关键词: 海南普通野生稻; SSR 标记; 遗传多样性; 核心种质

Genetic Diversity Analysis and Core Germplasm Construction of *Oryza rufipogon* Griff. in Hainan

ZHAI Linan¹, TANG Qingjie^{1,2}, ZHOU Bangji¹, ZHOU Shizhen¹, WANG Huijian¹, YUN Yong^{1,2},
HAN Yisheng¹, WANG Qingyu¹, YAN Xiaowei^{1,2}, XING Funeng^{1,2}

(¹Cereal Crops Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences/ Key Laboratory of Crop Genetics and Breeding of Hainan Province, Haikou 571100; ²Sanya Institute, Hainan Academy of Agricultural Sciences, Sanya 572025)

Abstract: In order to understand the genetic relationships among numerous materials of common wild rice in Hainan province and explore representative samples, this study used 32 pairs of SSR markers to conduct genetic diversity analysis and core germplasm construction on 2038 samples of Hainan common wild rice from 11 different cities and counties in Hainan province. The results showed that the average effective allele (N_e) was 2.479, the richness Shannon index (I) was 0.975, the Nei's gene diversity (h) was 0.570, and the percentage of polymorphic loci was 96.27%, indicating that the genetic diversity of Hainan ordinary wild rice is very rich. There are differences in genetic diversity among Hainan common wild rice from different sources. Common wild

收稿日期: 2024-04-08 网络出版日期: 2024-08-01

URL: <https://doi.org/10.13430/j.cnki.jpgr.20240408001>

第一作者研究方向为野生稻种质资源的鉴定与评价, E-mail: zhailn868@163.com; 唐清杰为共同第一作者

通信作者: 邢福能, 研究方向为野生稻资源研究与水稻遗传育种, E-mail: Xfn6653@163.com

严小微, 研究方向为野生稻资源研究与水稻遗传育种, E-mail: 13078994838@163.com

基金项目: 海南省自然科学基金(321QN355); 海南省重点研发项目(ZDYF2024XDNY165); 国家现代农业产业技术体系建设专项(CARS-01-92); 国家重点研发计划项目(2021YFD1200102-01); 海南省农业科学院本级科研项目(HAAS2022TDYD04, HAAS2023TDYD07)

Foundation projects: Hainan Provincial Natural Science Foundation of China (321QN355); Science and Technology Special Fund of Hainan Province (ZDYF2024XDNY165); The Earmarked Fund for China Agriculture Research System (CARS-01-92); China Key R&D Program Project (2021YFD1200102-01); Basic Scientific Research Business Expenses of HAAS (HAAS2022TDYD04, HAAS2023TDYD07)

rice from Lingao has the highest genetic diversity, while Qionghai common wild rice has the lowest genetic diversity, and its variation is mainly concentrated within the population. The analysis of population structure showed that when $K=2$, the Delta K value was the highest. 2038 ordinary wild rice resources from Hainan were divided into two groups. The subgroup I has 1145 resources, which come from Haikou, Chengmai, Danzhou, Sanya, Wanning, Qionghai, Lingao, Lingshui, Ledong, and Dongfang, respectively. The subgroup II has 893 resources, which come from Haikou, Wenchang and Chengmai, respectively. 192 core germplasm of Hainan common wild rice were constructed using population first and multiple clustering methods, accounting for 9.42% of the total resources (2038). The Shannon index (I) of the core germplasm was retained by 102.46%, and the Nei's gene diversity (h) was retained by 104.39%, effectively reducing the genetic redundancy and duplication of genetic differences in the original germplasm. The core germplasm of Hainan common wild rice represents the genetic diversity and specificity of the original germplasm, and provides materials for the effective utilization of Hainan common wild rice resources.

Key words: Hainan common wild rice; SSR marker; genetic diversity; core germplasm

普通野生稻是亚洲栽培稻的祖先,是用于改良栽培稻的重要基因源^[1]。海南岛位于我国热带地区,雨林茂密,光、热资源丰富,风、旱、涝等气候灾害频繁,是我国具有所有三种野生稻的两个省份之一,拥有普通野生稻(*O. rufipogon*)、药用野生稻(*O. officinalis*)和疣粒野生稻(*O. meyeriana*),其中普通野生稻数量最多,有着丰富的遗传多样性^[2-5]和较强的抗逆性^[6-11],在科研和生产上都是难以估价的重要财富。袁隆平院士和朱英国院士在海南发现的野败型和红莲型不育类型普通野生稻,实现了“三系”杂交稻配套和红莲型杂交稻的应用,对中国水稻育种产生了巨大影响。然而,自此之后,海南野生稻在水稻育种和生产中再未出现类似的突破性进展。其主要原因是对海南野生稻的调查收集不系统不全面,鉴定评价基础薄弱,未能发掘出符合目前水稻育种需求的突破性优异资源,而面对众多资源,如何快速发掘出优异的种质材料,提高资源的利用效率,是优先需要解决的课题^[12]。

核心种质的概念是由Frankel等^[13]在1984年率先提出,即以最小的资源份数最大限度地代表该物种的遗传多样性。目前已有多种作物都构建了其核心种质库或初级核心种质库,如水稻、小麦、大豆、茄子、辣椒、花生^[14-15]等,为有效发掘新基因和作物遗传育种提供了重要的研究基础。目前,国内外不同作物构建核心种质(其遗传代表可达70%)的取样比例普遍为5%~30%,能达到较好的效果^[16-18]。潘英华等^[19]利用覆盖水稻12条染色体的64个分子标记的数据构建了广西境内的283个野生稻自然居

群的4173份野生稻核心种质,取样比例为8.41%。赵璐^[20]基于SSR分子标记,利用逐步随机取样法对193份水稻种质资源进行核心种质构建,获得了20份核心种质,保留率为10%。薛艳霞等^[21]利用多次聚类,遗传距离相同或极相近的同类材料只选一个代表,最终构建5%的广西普通野生稻核心样本。

海南省农业科学院热带野生稻种质资源保护与创新利用团队经过十多年的考察和采集,收集到来自海南省不同地区的2038份海南普通野生稻资源,但是大量的资源数量增加了管理、特异种质筛选以及挖掘难度,前期只做了部分的资源调查及部分分布点的遗传多样性分析,缺乏全面的分析及资源的更准确更有效利用。为此,本研究基于SSR分子标记,对2038份海南普通野生稻开展遗传多样性分析和群体结构分析,摸清其亲缘关系,构建海南普通野生稻核心种质库,为提高海南普通野生稻的利用率及发掘有利基因提供理论基础,为野生稻的原生境和异位保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试材料为2002-2020年收集于海南省11个市县78个自然居群的2038份普通野生稻资源,其中海口890份,澄迈67份,文昌402份,儋州33份,三亚25份,万宁384份,琼海36份,临高15份,陵水13份,乐东55份,东方118份(表1)。这些资源目前都保存在海南省澄迈县永发镇海南省省级热带野生稻种质资源圃。

表 1 海南普通野生稻来源地与居群信息

Table 1 Source and population information of common wild rice in Hainan

来源地 Origin	总份数 Total number	居群数量 Number of populations	居群编号 Population ID
海口 HK	890	33	1-, 2-, 4-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, 20-, 21-, 22-, 24-, 27-, 28-, 31-, 33-, 46-, 47-, 51-, 52-, 53-, 60-, 61-, 65-, 72-, 76-, 78-, 79-
澄迈 CM	67	3	3-, 45-, 71-
文昌 WC	402	12	15-, 16-, 17-, 18-, 19-, 23-, 25-, 26-, 29-, 30-, 32-, 34-
儋州 DZ	33	1	35-
三亚 SY	25	2	36-, 44-
万宁 WN	384	17	37-, 39-, 40-, 41-, 43-, 48-, 49-, 50-, 54-, 55-, 56-, 57-, 58-, 59-, 62-, 63-, 77-
琼海 QH	36	1	38-
临高 LG	15	1	42-
陵水 LS	13	1	64-
乐东 LD	55	4	66-, 67-, 73-, 80-
东方 DF	118	3	68-, 69-, 70-

HK: Haikou; CM: Chengmai; WC: Wenchang; DZ: Danzhou; SY: Sanya; WN: Wanning; QH: Qionghai; LG: Lingao; LS: Lingshui; LD: Ledong; DF: Dongfang; The same as below

1.2 野生稻 DNA 提取

用高通量组织研磨仪对海南普通野生稻叶片进行研磨,采用高效植物基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)(天根生化科技(北京)有限公司)提取 DNA,并通过分光光度计和琼脂糖凝胶电泳来检验 DNA 的浓度和质量,提取后的 DNA 在 -20 °C 条件下保存备用。

1.3 分子标记引物的筛选及扩增

根据水稻基因组 SSR 图谱公布的分子标记及前人的研究结果^[19-24],对采集地较远且表型差异明显的普通野生稻资源进行扩增,筛选出 32 对在野

生稻资源中表现多态的引物用于遗传多样性分析(表 2),这些引物均匀分布在水稻 12 条染色体上,有代表意义。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。PCR 反应及电泳参考潘英华等^[19]的方法。PCR 反应体系:2 μL DNA 模板,5 μL 的 2×Taq PCR MasterMix II,1 μL 正向引物(10 μmol/L),1 μL 反向引物(10 μmol/L),1 μL ddH₂O。PCR 反应程序:95 °C 预变性 5 min;95 °C 变性 30 s,55 °C 退火 30 s,72 °C 延伸 50 s,35 个循环;72 °C 延伸 5 min。电泳采用 10% 非变性聚丙烯酰胺凝胶。

表 2 32 对 SSR 分子标记的引物信息

Table 2 Primer information for 32 pairs of SSR molecular markers

引物 Primer	染色体 Chromosome	物理位置(bp) Physical location	正向序列(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向序列(5'-3') Reverse primer(5'-3')
RM23	1	10705568~10705606	CATTGGAGTGGAGGCTGG	GTCAGGCTTCTGCCATTCTC
RM499	1	389884~389953	TACCAAACACCAACTGCG	ACCTGCAGTATCCAAGTGACG
RM212	1	33054643~33054712	CCACTTTCAGCTACTACCAG	CACCCATTTGTCTCTCAITATG
RM250	2	32780209~32780278	GGTTCAAACCAAGCTGATCA	GATGAAGGCCTTCCACGCAG
RM154	2	1084032~1084101	ACCCTCTCCGCCTCGCCTCCTC	CTCCTCTCCTGCGACCGCTCC
RM498	2	35397833~35397902	AATCTGGGCCTGCTCTTTTC	TCCTAGGGTGAAGAAAGGGG
RM7288	2	9033665~9033734	TTTCTCAACTGAAACAACAT	AGTTTAAGAGCGTTTCTAGG
RM16	3	23127699~23127769	CGCTAGGGCAGCATCTAAA	AACACAGCAGGTACGCGC
RM442	3	35788668~35788737	CTTAAGCCGATGCATGAAGG	ATCCTATCGACGAATGCACC
RM218	3	8406405~8406474	TGGTCAAACCAAGGTCCTTC	GACATACATTCTACCCCGG
RM349	4	32684550~32684619	TTGCCATTCGCGTGGAGGCG	GTCCATCATCCCTATGGTCG

表 2 (续)

引物 Primer	染色体 Chromosome	物理位置(bp) Physical location	正向序列(5'-3') Forward primer(5'-3')	反向序列(5'-3') Reverse primer(5'-3')
RM280	4	35174803~35174872	ACACGATCCACTTTGCGC	TGTGTCTTGAGCAGCCAGG
RM3042	4	23018232~23018301	CAAAAAGGAATCAATGTGAA	GGCTGTTGAGAGGTAGAGAA
RM267	5	2881434~2881503	TGCAGACATAGAGAAGGAAGTG	AGCAACAGCACAACTTGATG
RM334	5	28547509~28547578	GTTTCAGTGTTTCAGTGCCACC	GACTTTGATCTTTGGTGGACG
RM528	6	26555940~26556009	GGCATCCAATTTTACCCTC	AAATGGAGCATGGAGGTCAC
RM345	6	30865953~30866022	ATTGGTAGCTCAATGCAAGC	GTGCAACAACCCCATATG
RM253	6	5426472~5426541	TCCTTCAAGAGTGCAAAACC	GCATTGTCATGTGCAAGCC
RM125	7	5480452~5480521	ATCAGCAGCCATGGCAGCGACC	AGGGGATCATGTGCCGAAGGCC
RM429	7	26807120~26807189	TCCCTCCAGCAATGTCTTTC	CCTTCATCTTGCTTTCCACC
RM72	8	1468269~1468286	CCGGCGATAAAACAATGAG	GCATCGGTCCTAACCTAAGGG
RM331	8	12295397~12295466	GAACCAGAGGACAAAATGC	CATCATACATTTGCAGCCAG
RM278	9	19320405~19320475	GTAGTGAGCCTAACAATAATC	TCAACTCAGCATCTCTGTCC
RM201	9	20174746~20174815	CTCGTTTATTACCTACAGTACC	CTACCTCCTTTCTAGACCGATA
RM333	10	22443631~22443700	GTACGACTACGAGTGTCACCAA	GTCTTCGCGATCACTCGC
RM590	10	23114778~23114847	CATCTCCGCTCTCCATGC	GGAGTTGGGGTCTTGTTCG
RM216	10	5336203~5336272	GCATGGCCGATGGTAAAG	TGTATAAAACCACACGGCCA
RM287	11	17233635~17233673	TTCCCTGTTAAGAGAGAAATC	GTGTATTTGGTAAAAGCAAC
RM206	11	22480936~22481005	CCCATGCGTTAACTATTCT	CGTCCATCGATCCGATGG
RM247	12	3186600~3186637	TAGTGCCGATCGATGTAACG	CATATGGTTTTGACAAAGCG
RM7003	12	6776248~6776317	GGCAGACATACAGCTTATAGGC	TGCAAATGAACCCCTCTAGC
RM17	12	26988391~26988460	TGCCCTGTTATTTCTCTCTC	GGTGATCCTTTCCCATTTCA

1.4 数据分析

以 0、1 统计分子标记扩增带型,有带记为 1,无带记为 0,建立 0/1 数据矩阵^[19]。数据通过 Popgene32^[25]、GenAlEx6.2^[26]等软件进行遗传多样性分析[差异等位基因(N_a , Number of different alleles)、有效等位基因(N_e , Number of effective alleles)、群体丰富度 Shannon 指数(J , Shannon entropy index)、Nei's 基因多样性(h , Nei's genetic diversity)等]、群体间的分子方差分析(Analysis of molecular variance)、基因分化以及对资源进行主成分分析。利用 Structure 2.2 软件进行海南普通野生稻的群体结构分析。利用 NTSYS 2.1、Origin64 对海南普通野生稻核心种质进行聚类分析。

1.5 核心种质取样策略与方法

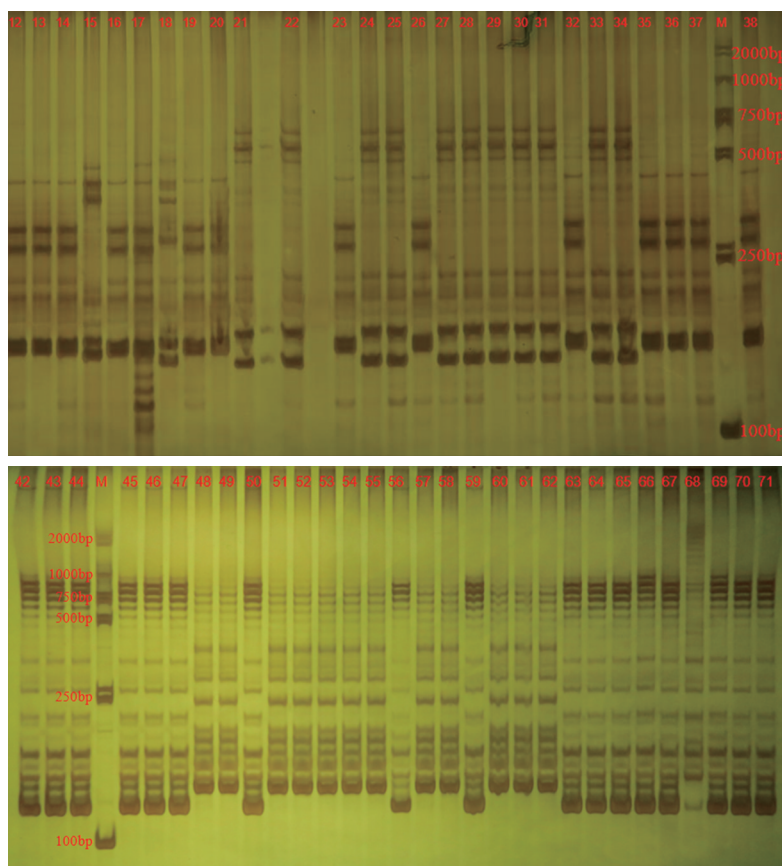
参照 Hu 等^[27]、薛艳霞等^[21]、黎毛毛等^[28]、潘英华等^[19]的方法,(1)优先考虑海南普通野生稻不同来源地,对居群内有特殊特征的种质优先选取;(2)不同野生稻居群至少保留 1 份种质资源;(3)结合 SSR 标记的结果,采用 NTSYS 2.1 软件对普通野

生稻进行遗传相似系数计算,得到不同资源之间的遗传距离远近,对于遗传距离相同或很近的资源只选取一份,按照 30% 的取样比例得到初级核心种质;(4)对初级核心种质样本再次进行遗传相似系数计算,按照 10% 的取样比例,结合步骤(1)和步骤(2)的原则得到最终的核心种质资源。

2 结果与分析

2.1 海南普通野生稻遗传多样性

利用 32 个 SSR 标记对 2038 份海南普通野生稻材料进行检测(图 1),共得到 310 个等位变异,平均等位变异为 9.688,差异等位基因变化范围为 1~7,平均为 3.719;有效等位基因变化范围为 1~3.792,平均为 2.479;丰富度 Shannon 指数变化范围 0.441~1.458,平均为 0.975;Nei's 基因多样性变化范围 0.301~0.736,平均为 0.570;多态性位点百分比变化范围为 80.00%~100%,平均为 96.27%(表 3)。结果表明,海南普通野生稻的遗传多样性非常丰富。



M: Marker, 12~38, 42~71 分别为海南普通野生稻资源编号 1-12~1-38、1-42~1-71
12-38 ,42-71 are the common wild rice resource in Hainan numberd 1-12 to 1-38 and 1-42 to 1-71 ,respectively

图1 部分材料的SSR标记检测

Fig. 1 SSR marker detection of some materials

表3 32对SSR标记在2038份海南普通野生稻中的遗传多样性分析

Table 3 Genetic diversity of 32 SSR makers in 2038 Hainan common wild rice

引物 Primer	等位变异 Allelic variation	差异等位基因 <i>N_a</i>	有效等位基因 <i>N_e</i>	丰富度Shannon 指数 <i>I</i>	Nei's 基因 多样性指数 <i>h</i>	多态性位点百分比(%) Percentage of polymorphic loci
RM23	24	3	2.376	0.944	0.579	100
RM499	13	2	1.967	0.685	0.492	100
RM212	10	3	2.074	0.772	0.518	100
RM250	15	3	2.715	1.044	0.632	100
RM154	17	2	2.000	0.693	0.500	100
RM498	7	3	1.768	0.662	0.435	100
RM7288	16	5	3.438	1.384	0.709	100
RM16	9	3	2.188	0.849	0.543	90.00
RM442	6	2	1.994	0.692	0.499	100
RM218	7	4	1.527	0.658	0.345	100
RM349	8	5	2.115	0.831	0.527	100
RM280	11	6	2.604	1.168	0.301	100
RM3042	5	1	1.000	0.441	0.500	83.33
RM267	9	2	2.000	0.693	0.672	100

表3(续)

引物 Primer	等位变异 Allelic variation	差异等位基因 <i>Na</i>	有效等位基因 <i>Ne</i>	丰富度 Shannon 指数 <i>I</i>	Nei's 基因 多样性指数 <i>h</i>	多态性位点百分比(%) Percentage of polymorphic loci
RM334	9	4	3.050	1.221	0.722	90.00
RM528	9	7	3.598	1.415	0.680	100
RM345	7	4	3.126	1.239	0.667	87.50
RM253	4	4	2.999	1.206	0.535	80.00
RM125	6	4	2.150	0.846	0.586	85.71
RM429	8	3	2.418	0.958	0.589	80.00
RM72	8	4	2.431	1.038	0.500	88.89
RM331	8	2	2.000	0.693	0.600	88.89
RM278	12	3	2.502	0.989	0.623	100
RM201	8	4	2.653	1.069	0.675	100
RM333	9	6	3.078	1.273	0.637	100
RM590	9	5	2.755	1.148	0.365	90.00
RM216	8	3	1.574	0.586	0.736	100
RM287	10	4	3.792	1.359	0.728	100
RM206	13	6	3.680	1.458	0.597	100
RM247	11	3	2.479	0.975	0.588	100
RM7003	8	4	2.425	1.006	0.648	100
RM17	6	5	2.844	1.199	0.500	85.71
平均 Mean	9.688	3.719	2.479	0.975	0.570	96.27

Na: Number of different alleles; *Ne*: Number of effective alleles; *I*: Shannon entropy index; *h*: Nei's diversity index; The same as below

2.2 不同地方来源的海南普通野生稻遗传多样性分析

2038 份海南普通野生稻材料共来自海南 11 个市县, 根据不同来源将其分成 11 个小组, 通过分析发现, 在多态性位点百分比方面: 临高 > 海口 > 陵水 > 澄迈 = 东方 > 文昌 > 三亚 = 儋州 > 万宁 > 乐东 > 琼海; 在丰富度 Shannon 指数方面: 临高 > 儋州 > 文昌 > 东方 > 海口 = 澄迈 > 陵水 > 三亚 > 万宁 > 乐东 > 琼海; 在 Nei's 基因多样性方面: 临高 > 文昌 > 东方 = 澄迈 > 儋州 > 陵水 > 海口 > 三亚 > 万宁 > 乐东 > 琼海(表4)。从结果可以看出不同市县的海南普通野生稻遗传多样性丰富, 表现最丰富的是来自临高的海南普通野生稻, 丰富度 Shannon 指数达 0.971, 而普通野生稻数量最多的海口在丰富度 Shannon 指数上居于中间位置, 与来自澄迈的普通野生稻相等, 而来自琼海的普通野生稻遗传丰富度明显低于其他市县。

2.3 海南普通野生稻遗传分化和分子方差分析

为了解海南普通野生稻不同地理的群体遗传差异, 利用 GenAlEx6.2^[26] 软件计算群体的遗传分化

系数和遗传距离, 从表5中可以看出, 不同地方群体之间的遗传分化系数范围为 0.036~1.248, 其中海口和文昌群体间的遗传分化系数最低, 海口和文昌地理位置紧邻, 人员来往活动频繁, 无山脉或河流阻挡, 这可能是造成他们之间遗传分化较低的原因。琼海和陵水群体间的遗传分化系数最高, 从地理位置上看, 来自琼海的普通野生稻居群和陵水的普通野生稻居群之间隔着万泉河和吊罗山, 这样的物理阻隔可能是造成他们之间遗传分化较大的原因。在遗传距离上, 各个市县之间的普通野生稻遗传距离均不是很大, 在 0.019~0.216 之间, 其中, 文昌和海口之间的遗传距离最近, 说明来自文昌的普通野生稻与来自海口的普通野生稻亲缘关系最近, 三亚和琼海之间的遗传距离最远, 说明来自三亚的普通野生稻和来自琼海的普通野生稻亲缘关系最远。从地理位置上看, 海口和文昌距离三亚的距离较远, 但亲缘关系不远, 表明不同地方来源的海南普通野生稻群体遗传分化系数和遗传距离与地理位置的远近并没有直接关系, 而是可能与一些较大的物理阻碍有关。

表4 不同地方来源的海南普通野生稻的遗传多样性

Table 4 Genetic diversity of Hainan common wild rice from different sources

来源地 Origin	多态性位点百分比(%) Percentage of polymorphic loci	差异等位基因 <i>Na</i>	有效等位基因 <i>Ne</i>	丰富度 Shannon 指数 <i>I</i>	Nei's 基因多 样性 <i>h</i>	无偏 Nei 基因 多样性 <i>uh</i>
海口 HK	99.68	3.313	2.363	0.906	0.537	0.568
澄迈 CM	95.84	3.146	2.428	0.906	0.542	0.557
文昌 WC	95.81	3.398	2.399	0.922	0.544	0.555
儋州 DZ	93.75	3.656	2.486	0.953	0.540	0.549
三亚 SY	93.75	2.703	2.703	0.808	0.511	0.597
万宁 WN	91.92	2.756	2.756	0.780	0.491	0.555
琼海 QH	84.38	2.719	1.985	0.700	0.450	0.456
临高 LG	100	3.438	2.483	0.971	0.570	0.590
陵水 LS	96.88	3.063	2.307	0.884	0.538	0.560
乐东 LD	91.41	2.695	2.695	0.777	0.486	0.535
东方 DF	95.84	3.448	2.346	0.918	0.542	0.550

uh: Unbiased diversity

表5 不同地方普通野生稻群体的遗传距离和遗传分化系数

Table 5 Genetic distance and genetic differentiation coefficient of common wild rice populations in different regions

来源地 Origin	海口 HK	澄迈 CM	文昌 WC	儋州 DZ	三亚 SY	万宁 WN	琼海 QH	临高 LG	陵水 LS	乐东 LD	东方 DF
海口 HK	-	0.077	0.036	0.149	0.216	0.063	0.313	0.186	0.215	0.111	0.126
澄迈 CM	0.042	-	0.115	0.266	0.308	0.112	0.516	0.279	0.300	0.168	0.176
文昌 WC	0.019	0.061	-	0.164	0.233	0.073	0.318	0.197	0.231	0.146	0.157
儋州 DZ	0.074	0.103	0.080	-	0.412	0.166	0.844	0.397	0.512	0.223	0.306
三亚 SY	0.113	0.129	0.122	0.129	-	0.220	1.060	0.554	0.551	0.388	0.404
万宁 WN	0.030	0.049	0.034	0.068	0.095	-	0.336	0.183	0.200	0.122	0.139
琼海 QH	0.136	0.153	0.134	0.165	0.216	0.118	-	1.033	1.248	0.581	0.539
临高 LG	0.101	0.120	0.107	0.121	0.184	0.083	0.176	-	0.619	0.301	0.324
陵水 LS	0.115	0.127	0.123	0.149	0.176	0.089	0.199	0.180	-	0.329	0.321
乐东 LD	0.055	0.068	0.072	0.074	0.137	0.051	0.141	0.107	0.115	-	0.176
东方 DF	0.060	0.069	0.074	0.105	0.147	0.056	0.152	0.119	0.117	0.064	-

对角线下方的值为群体间遗传距离, 对角线上方的值为群体间遗传分化系数

The value below the diagonal is Nei genetic distance, the value above the diagonal is genetic differentiation coefficient between populations

利用 GenAlEx6.2^[26] 软件进行分子方差分析(表6), 群体内部变异占91%, 而群体间的变异只占9%, 说明以地理来源为居群的海南普通野生稻变异主要集中在群体内部。Rousset^[29] 认为基因分化程度介于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表示分化极大, 海南普通野生稻居群间的整体基因分化程度为0.095, 表明不同地方来源的海南普通野生稻群体之间的遗传分化处于中等水平。

2.4 海南普通野生稻群体结构分析

利用 GenAlEx6.2 软件对2038份不同地方来源的海南普通野生稻进行主成分分析(图2), 可以看出来自海口、文昌的普通野生稻在4个区间均有分布, 主要集中在II和III区域, 少部分在I和IV区; 来自澄迈、儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方的普通野生稻主要集中在I和IV区, 少部分来自澄迈的普通野生稻在II和III区也有零星分布。由此可知, 来自澄迈、海口、文昌的普通野生

稻居群在居群内部存在一定程度的分化。且部分来自儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方的普通野生稻重叠较多,表明他们之间的亲缘关系

可能较近,这与海南普通野生稻在遗传距离上各个市县之间的遗传距离均不是很大相互印证。

表6 不同地方普通野生稻群体的分子方差分析和基因分化

Table 6 Analysis of molecular variance and coefficients of gene differentiation of common wild rice populations in different places

变异来源 Source	自由度 DF	平方和 SS	均方差 MSE	估计方差 Est. Var.	占总变异比例(%) Proportion of total variation	基因分化程度 PhiPT
群体间 Among population	10	7955.640	795.564	5.032	9	
群体内 In population	2027	97358.283	48.031	48.031	91	
总体 Total	2037	105313.923		53.063	100	0.095($P < 0.01$)

DF: Degree of freedom; SS: Square sum; MSE: Mean square error; Est. Var.: Estimate variance; PhiPT: Gene differentiation degree

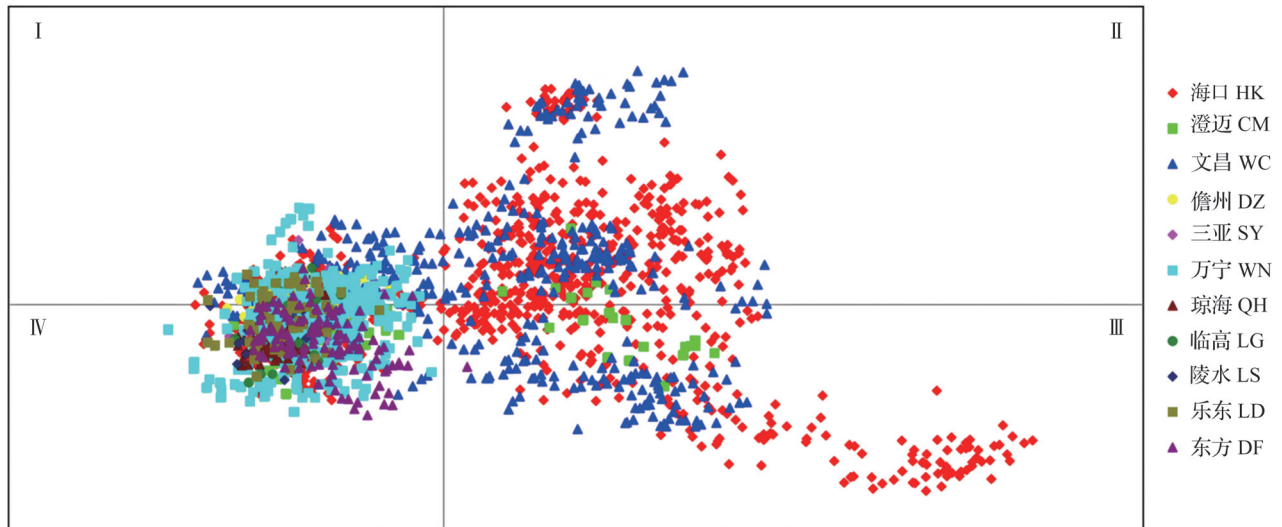


图2 2038份海南普通野生稻主成分分析

Fig.2 Principal component analysis of 2038 Hainan common wild rice

2.5 海南普通野生稻群体结构

根据标记的结果对2038份海南普通野生稻进行群体结构分析,发现在K=2时出现拐点,Delta K值最高(图3),将2038份野生稻材料分成2个类群(图4),第I类群有1145份资源,分别来源于海口、澄迈、儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方,第II类群有893份资源,分别来源于海口、文昌和澄迈。少部分来自澄迈的普通野生稻居群(澄迈白莲)属于第II类群,其他(来自澄迈永发)均属于第I类群,表明同一起来源地的海南普通野生稻存在一定程度的分化,澄迈白莲和澄迈永发在地理位置上隔着一个较大的水库和国道,可能是未聚在同一类群的原因,这与图2的结果一致。从图4中K=3~6时

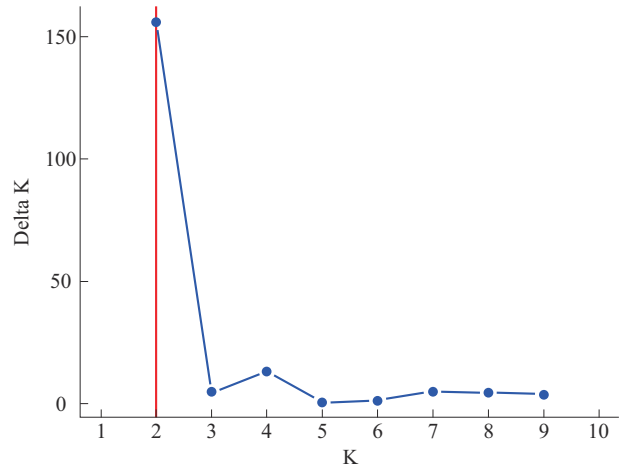
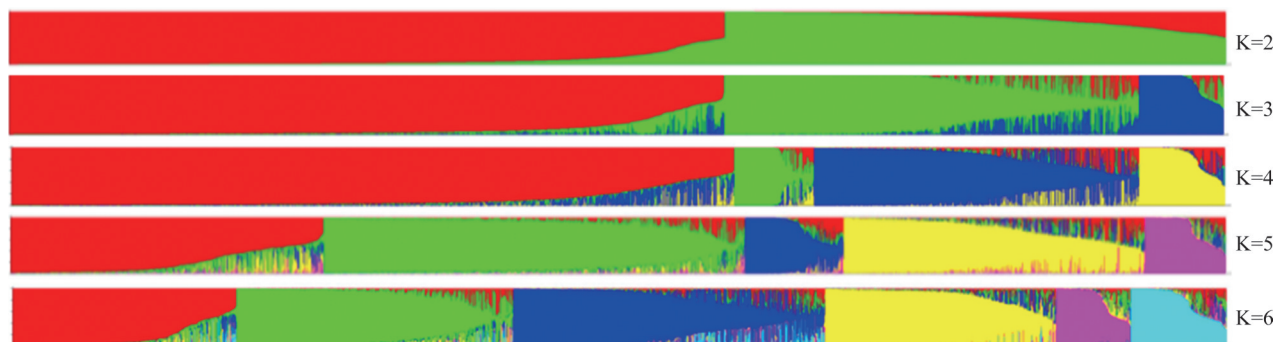


图3 K值与Delta K值折线图

Fig.3 Line chart of K and Delta K

可以看出,第I和第II类群中部分来源于海口和文昌的普通野生稻基因来源稳定,不存在与其他种质资源相互渗透,表明它们之间的亲缘关系较近;同时在地理位置上距离较近,没有较大的山脉和河流阻挡,也再次解释了这一结果。2038份海南普通野生稻虽然在K=2时明显分为2个类群,但在K=3~6时仍然有明显的类群划分,如K=3时,第II类群和第III类群中没有基因相互渗透的种质来源于海口和文昌;K=4时,第II类群中没有基因渗透的种质来自文昌,第III类群和第IV类群中没有基因渗透的种质来

自海口和文昌;K=6时,第I类群中没有基因渗透的种质来自海口、文昌、儋州、万宁、乐东和东方,第II类群种质大多来自海口、万宁,少部分来自三亚,第III类群中没有基因渗透的种质来自海口和文昌,第IV类群中没有基因渗透的种质来自东方、万宁和琼海,第V类群中没有基因渗透的种质全部来自文昌,第VI类群中没有基因渗透的种质全部来自海口。来自澄迈、陵水、临高的普通野生稻存在一定的基因渗透,可能是这些地方的野生稻附近常年种植栽培稻,与栽培稻形成一定程度的基因交流,造成基因渗透。



红色:第I类群;绿色:第II类群;蓝色:第III类群;黄色:第IV类群;紫色:第V类群;天蓝色:第VI类群,每条竖线代表1份种质

Red: Subgroup I; Green: Subgroup II; Blue: Subgroup III; Yellow: Subgroup IV; Purple: Subgroup V; Sky blue: Subgroup VI, each vertical line represents one germplasm

图4 2038份海南普通野生稻群体结构

Fig. 4 Population structure of 2038 common wild rice in Hainan

2.6 海南普通野生稻核心种质构建

结合海南普通野生稻的不同地理来源及SSR分子标记的基因信息进行综合考虑,每个自然居群至少保留一个核心样本,并通过逐步聚类得到192份海南普通野生稻核心种质,占原总资源数量的9.42%,这些核心种质分别来自海口、澄迈、文昌、儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方共11个市县的78个自然居群,具体见表7。

2.7 海南普通野生稻核心种质遗传多样性及聚类分析

经过分析发现,海南普通野生稻核心种质的差异等位基因保留率为98.82%,有效等位基因保留了100%,丰富度Shannon指数保留了102.46%,Nei's基因多样性保留了104.39%,多态性位点百分比保留了100%(表8),这表明核心种质极大地保留了原资源的遗传多样性,且核心种质有效降低了原始种质的遗传冗余度和遗传差异上的重复,提高了遗传多样性指数。

表7 海南普通野生稻核心种质来源信息

Table 7 The origin of core collection of common wild rice in Hainan

来源地 Origin	总份数 Total number	居群数量 Number of populations	核心种质数量 Number of core germplasm	占比(%) Proportion
海口HK	890	33	83	9.33
澄迈CM	67	3	6	8.96
文昌WC	402	12	34	8.46
儋州DZ	33	1	3	9.09
三亚SY	25	2	4	0.16
万宁WN	384	17	36	9.38
琼海QH	36	1	3	8.33
临高LG	15	1	3	20
陵水LS	13	1	2	15.38
乐东LD	55	4	5	9.09
东方DF	118	3	13	11.02
合计 Total	2038	78	192	9.42

占比:核心种质数量/总份数

Proportion: Number of core germplasm/Total number

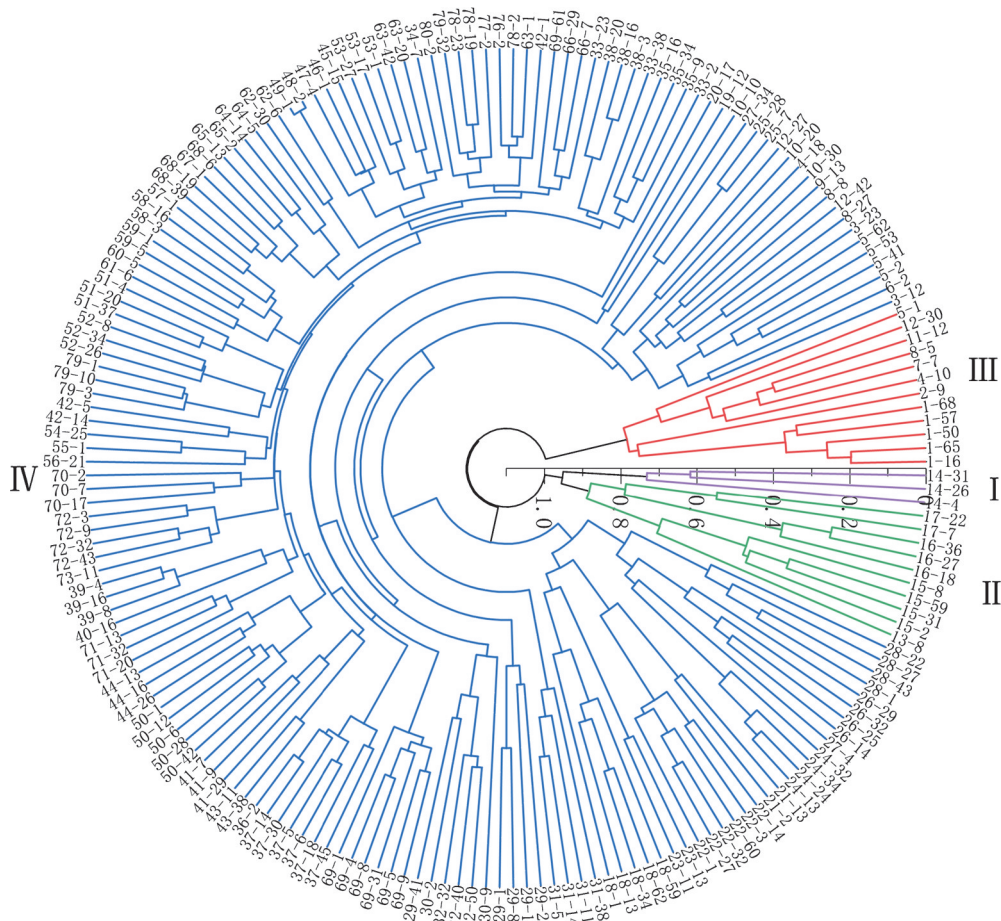
表8 核心种质与总居群的遗传多样性参数比较

Table 8 Genetic diversity parameters of core collection and initial collection

类型 Type	样本数量 Number	差异等位基因 N_a	有效等位 基因 N_e	丰富度Shannon 指数 I	Nei's 基因 多样性 h	多态性位点百分比(%) Percentage of polymorphic Loci
核心种质 Core collection	192	3.675	2.479	0.999	0.595	96.27
资源总数 Total number of resources	2038	3.719	2.479	0.975	0.570	96.27
占比(%)Proportion	9.42	98.82	100	102.46	104.39	100

利用NTSYS2.1、Origin64软件对海南普通野生稻核心种质进行聚类分析,发现核心种质的遗传相似性范围在0.62~0.97之间,在遗传相似性为0.629时可分为4个类群(图5)。第I类群有3份资源,全部来自海口;第II类群有10份资源,来自文昌和海口;第III类群有12份资源,全部来自海口;第IV类群有167份资源,分别来自海南省的海口、澄迈、文昌、儋州、三亚、万宁、琼海、临高、陵水、乐东、东方等11

个不同市县。从聚类结果可以看出,来自海口和文昌的部分普通野生稻分别单独聚成一个类群,说明海口和文昌海南普通野生稻遗传类型较为丰富,同时,也可以看出,同一居群的海南普通野生稻基本上聚在一起,如第I类群的普通野生稻,只有居群14-,说明同一居群的海南普通野生稻遗传背景相似,并且这个居群可能含有独特的可遗传特征。从地理来源上看,同一地方来源的种质并未全部聚为



编号为78个居群的核心种质资源编号,同表1

The core germplasm resource numbers for 78 populations are listed in table 1

图5 海南普通野生稻核心种质聚类图

Fig. 5 Cluster diagram of core germplasm of Hainan common wild rice

一类,如来自海口的普通野生稻,分成了4个类群,而不同地理来源的资源却聚在一起,这与图2类似,进一步说明了核心种质极高地保留了原资源的遗传多样性。

3 讨论

种质资源是作物育种和生物技术研究的重要物质基础,野生稻资源在长期自然选择中孕育了丰富的优良基因,是保障国家粮食安全的战略性资源。由于人类活动的干预、生态环境恶化、气候变化等影响,野生稻的面积在不断减少,因此需要加快对野生稻资源遗传多样性的深入研究和核心种质构建,为野生稻的原生境和异位保护提供不同的保护策略,为提高野生稻的高效利用提供依据。

本研究利用32个分布于水稻12条染色体并且在野生稻资源中表现多态的SSR标记,对来自11个市县的2038份海南普通野生稻进行遗传多样性分析,结果显示丰富度Shannon指数(I)在0.441~1.458之间;Nei's基因多样性(h)在0.301~0.736之间,说明海南普通野生稻遗传多样性丰富,变异分布广泛。这与王一平等^[22]、王效宁等^[23]、齐兰等^[24]研究结果一致,且明显高于粤东普通野生稻^[15]及云南普通野生稻^[30],但低于广西普通野生稻^[21]。不同来源地的海南普通野生稻遗传多样性也存在差异,在丰富度Shannon指数上,来自临高的海南普通野生稻丰富度最高,来自海口的普通野生稻丰富度居于中等,来自琼海的普通野生稻遗传丰富度最低,这与Gao^[31]、陈良兵等^[32]、王一平等^[22]研究结果一致,都显示琼海的普通野生稻遗传多样性较低。以黎母山和五指山为界,临高、海口、文昌、澄迈、儋州属于海南西北部,三亚、万宁、陵水、琼海、乐东为东南部,整体上看,海南普通野生稻西北部地区的遗传多样性高于东南部,这与韩东飞^[33]、杨庆文等^[34]的研究结果一致,表明海南普通野生稻与广东、广西等地存在不同的地域差异。

与前人研究相比,本研究所使用的海南普通野生稻材料众多,来源广泛,能够体现海南普通野生稻的整体性,揭示了海南普通野生稻遗传多样性的丰富性与规律。

在核心种质构建方面,陈雨等^[35]按居群分类和系统聚类选择的方法,构建出20%为最佳取样比例的高州野生稻核心种质。李杜娟^[15]以表型调查数据和分子标记数据为基础,以系统聚类方法取样,构建了基于表型水平的核心种质(占原种质20%的

34份材料)和分子水平的核心种质(占原种质10%的17份材料)。潘英华等^[19]构建了取样比例为8.41%的广西野生稻核心种质。薛艳霞等^[21]构建了5%的广西普通野生稻核心样本。前人对野生稻核心种质的构建基本都是建立在表型或分子标记的数据基础上的,本研究利用居群优先、SSR标记结果进行多次聚类的方法构建海南普通野生稻核心种质192份,占总资源(2038份)的9.42%,丰富度Shannon指数(I)保留了102.46%,Nei's基因多样性(h)保留了104.39%,核心种质极大地保留了原种质的遗传多样性,且有效降低了原始种质的遗传冗余度和遗传差异上的重复,能够代表海南普通野生稻的多样性和特异性。但未来为了核心种质的更加准确全面,将进一步结合表型、抗病等方面筛选出育种家需要的核心种质。

我国正在全面开展野生稻的原位和异位保护工作,而保护策略中最主要的环节是保护居群的选择^[34]。本研究通过SSR标记对2038份海南普通野生稻开展遗传多样性和群体结构分析,并构建了核心种质,从不同市县的遗传多样性结果看,海南岛西北地区普通野生稻的多样性高于东南部,因此建议重点保护西北地区的普通野生稻居群。从收集的数量上看,来源于海口、文昌的普通野生稻数量最多,但随着城市的建设,海口和文昌原生境的普通野生稻很多已经消失,建议重点异位保护,如居群1-、14-、15-、16-等。来自临高和儋州的普通野生稻居群数量较少,原位保护起来相对容易,建议重点原位保护。其次是来自澄迈的普通野生稻居群,根据群体结构及主成分分析,来自澄迈白莲与澄迈永发的野生稻分别为2个不同亚群,存在分化,同样建议重点保护。王效宁等^[23]提出对来自澄迈永发的普通野生稻进行异位保存,对海口和琼海的普通野生稻居群重点保护。本研究在对这些地方来源的普通野生稻提出保护外,增加了对西北地区海南普通野生稻保护的建 议,并构建了海南普通野生稻核心种质,为海南普通野生稻更深入的鉴定评价利用提供资源。

参考文献

- [1] Zheng X M, Ge S. Ecological divergence in the presence of gene flow in two closely related *Oryza* species (*Oryza rufipogon* and *O. nivara*). *Molecular Ecology*, 2010, 19(12): 2439-2454
- [2] 柯学,陈越,殷富有,钟巧芳,Ghidan Walid,阚东扬,黄兴奇,程在全.普通野生稻在稻属中的分类进化及资源研究.分子

- 植物育种, 2018, 16(4):1363-1376
Ke X, Chen Y, Yin F Y, Zhong Q F, Ghidan W, Kan D Y, Huang X Q, Cheng Z Q. Taxonomic evolution and resource research of *Oryza rufipogon* Griff. in phylogeny of *Oryza* and its advances. *Molecular Plant Breeding*, 2018, 16 (4) :1363-1376
- [3] 孙佩甫. 海南普通野生稻花器性状、结实特性及遗传多样性研究. 海口:海南大学, 2015
Sun P F. Study on floral traits, seed setting characteristics and genetic diversity of Hainan common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). Haikou: Hainan University, 2015
- [4] 黄娟, 高利军, 高菊, 卿冬进, 朱昌兰, 周维永. 亚洲6国普通野生稻群体遗传多样性分析. *西南农业学报*, 2019, 32(2): 232-240
Huang J, Gao L J, Gao J, Qing D J, Zhu C L, Zhou W Y. Analysis of genetic diversity on populations of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) from 6 countries in Asia. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32 (2):232-240
- [5] 梁新霞. 普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)和尼瓦拉野生稻(*O. nivara* Sharma et Shastry)的群体遗传结构及其交配系统研究. 北京:中国农业科学院, 2017
Liang X X. Study on genetic structure of *Oryza rufipogon* and *O. nivara* sharma et shastry and their mating systems. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017
- [6] 翟李楠, 唐清杰, 周世圳, 周帮纪, 云勇, 王惠艰, 韩义胜, 邢福能, 严小微. 海南普通野生稻稻瘟病抗性鉴定与评价. *植物遗传资源学报*, 2024, 25(1):39-51
Zhai L N, Tang Q J, Zhou S Z, Zhou B J, Yun Y, Wang H J, Han Y S, Xing F N, Yan X W. Identification and evaluation of resistance to rice blast in *Oryza rufipogon* Griff. in Hainan province. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2024, 25 (1) : 39-51
- [7] 李栋. 海南普通野生稻对白叶枯病抗性评价与分子鉴定. 海口:海南大学, 2017
Li D. Resistance evaluation and molecular identification of Hainan common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) to bacterial blight. Haikou: Hainan University, 2017
- [8] 唐清杰, 王效宁, 邢福能, 徐靖, 严小微. 海南普通野生稻耐旱和耐盐资源的鉴定与评价. *江苏农业科学*, 2016, 44(11): 96-98
Tang Q J, Wang X N, Xing F N, Xu J, Yan X W. Identification and evaluation of drought tolerance and salt tolerance resources of common wild rice in Hainan. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(11):96-98
- [9] 唐清杰, 严小微, 徐靖, 熊怀阳, 邢福能. 海南普通野生稻资源不同生长期耐旱性鉴定与筛选. *福建农业学报*, 2017, 32(2): 130-133
Tang Q J, Yan X W, Xu J, Xiong H Y, Xing F N. Identification and selection of Hainan-indigenous drought-resistant germplasms of *Oryza rufipogon* Griff.. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2017, 32(2):130-133
- [10] 徐靖, 王效宁, 韩义胜, 熊怀阳, 严小微. 海南普通野生稻 *OrERF1* 的克隆和表达分析. *生命科学研究*, 2014, 18(4): 299-303
Xu J, Wang X N, Han Y S, Xiong H Y, Yan X W. Cloning and expression analysis of *OrERF1* from Hainan common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Life Science Research*, 2014, 18(4):299-303
- [11] 徐靖, 严小微, 熊怀阳, 朱红林, 韩义胜. 海南普通野生稻 *OrNAC5* 的克隆和表达分析. *热带作物学报*, 2014, 35(9): 1752-1756
Xu J, Yan X W, Xiong H Y, Zhu H L, Han Y S. Cloning and expression analysis of *OrNAC5* from Hainan common wild rice (*Oryza rufipogon*). *Chinese Journal of Tropical Crops*, 2014, 35(9):1752-1756
- [12] Tanksley S D, Mccouch S R. Seed banks and molecular maps: Unlocking genetic potential from the wild. *Science*, 1997, 277: 1063-1066
- [13] Frankel O H, Brown A H D. Plant genetic resources today: A critical appraisal//Holden J H W, Williams J T. *Crop genetic resources: Conservation and evaluation*. London: George Allen & Unwin (Publishers) Ltd, 1984:249-257
- [14] 顾晓振. 我国辣椒种质资源遗传多样性分析及核心种质构建的研究. 北京:中国农业科学院, 2016
Gu X Z. The research of genetic diversity of pepper (*Capsicum* spp.) germplasms of China and core collection construction. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2016
- [15] 李杜娟. 粤东普通野生稻遗传多样性研究及初级核心种质构建. 乌鲁木齐:新疆农业大学, 2012
Li D J. Study on the genetic diversity and establishment of precore collection of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in eastern area of Guangdong province in China. Urumqi: Xinjiang University, 2012
- [16] Brown A H D, Grace J P, Speer S S. Designation of a "core" collection of perennial Glycine. *Soybean Genetics Newsletter*, 1987, 14:59-70
- [17] Van Hintum T J L. Comparison of marker systems and construction of a core collection in a pedigree of European spring barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 1994, 89: 991-997
- [18] 李自超, 张洪亮, 曾亚文, 杨忠义, 申时全, 孙传清, 王象坤. 云南地方稻种资源核心种质取样方案研究. *中国农业科学*, 2000, 33(5):1-7
Li Z C, Zhang H L, Zeng Y W, Yang Z Y, Shen S Q, Sun C Q, Wang X K. Study on sampling schemes of core collection of local varieties of rice in Yunnan, China. *Scientia Agricultura Sinica*, 2000, 33(5):1-7
- [19] 潘英华, 徐志健, 梁云涛. 广西普通野生稻群体结构解析与核心种质构建. *植物遗传资源学报*, 2018, 19(3):498-509
Pan Y H, Xu Z J, Liang Y T. Genetic structure and core collection of common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Guangxi. *Journal of Plant Genetic Resources*, 2018, 19(3): 498-509

- [20] 赵璐. 宁夏和新疆水稻种质资源遗传多样性分析及核心种质构建. 银川: 宁夏大学, 2018
Zhao L. Analysis of genetic diversity and establishment of core collection of rice germplasm in Ningxia and Xinjiang. Yinchuan: Ningxia University, 2018
- [21] 薛艳霞, 梁燕理, 冯璇, 黄金艳, 刘芳, 覃宝祥, 邱永福, 李容柏. 广西普通野生稻遗传多样性中心的确定与核心种质构建. 华南农业大学学报, 2016, 37(5): 24-30
Xue Y X, Liang Y L, Feng X, Huang J Y, Liu F, Qin B X, Qiu Y F, Li R B. Center of genetic diversity and core collection of common wild rice, *Oryza rufipogon* Griff. in Guangxi. Journal of South China Agricultural University, 2016, 37(5): 24-30
- [22] 王一平, 魏兴华, 袁筱萍, 余汉勇, 徐群, 汤圣祥. 海南普通野生稻自然居群间遗传多样性的微卫星分析. 中国水稻科学, 2007(6): 573-578
Wang Y P, Wei X H, Yuan X P, Yu H Y, Xu Q, Tang S X. Analysis on genetic diversity of natural populations of *Oryza rufipogon* distributed in Hainan province by SSR markers. Chinese Journal Rice Science, 2007(6): 573-578
- [23] 王效宁, 韩东飞, 云勇, 孟卫东, 严小微, 杨庆文. 利用SSR标记分析海南普通野生稻的遗传多样性. 植物遗传资源学报, 2007, 8(2): 184-188
Wang X N, Han D F, Yun Y, Meng W D, Yan X W, Yang Q W. Genetic diversity of *Oryza rufipogon* Griff. in Hainan province with SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2007, 8(2): 184-188
- [24] 齐兰, 王效宁, 张吉贞, 唐清杰, 孟卫东, 严小微. 利用SRAP标记研究海南野生稻的遗传多样性与遗传分化. 植物遗传资源学报, 2013, 14(3): 402-406
Qi L, Wang X N, Zhang J Z, Tang Q J, Meng W D, Yan X W. Study on genetic diversity and differentiation of three wild rice species in Hainan using SRAP markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2013, 14(3): 402-406
- [25] Yeh F C, Boyle T J B. Population genetic analysis of codominant and dominant markers and quantitative traits. Belgian Journal of Botany, 1997, 130: 129-157
- [26] Peakall R O D, Smouse P E. GENALEX 6: Genetic analysis in excel. Population genetic software for teaching and research. Molecular Ecology Notes, 2006, 6: 288-295
- [27] Hu J, Zhu J, Xu H M. Methods of constructing core collections by stepwise clustering with three sampling strategies based on the genotypic values of crops. Theoretical and Applied Genetics, 2000, 101(1/2): 264-268
- [28] 黎毛毛, 黄永兰, 余丽琴, 王记林, 芦明, 熊玉珍, 束爱萍, 范志洁, 万建林. 利用SSR标记构建江西稻种资源核心种质库的研究. 植物遗传资源学报, 2012, 13(6): 952-957
Li M M, Huang Y L, Yu L Q, Wang J L, Lu M, Xiong Y Z, Shu A P, Fan Z J, Wan J L. Development of a core collection for Jiangxi traditional rice germplasm by SSR markers. Journal of Plant Genetic Resources, 2012, 13(6): 952-957
- [29] Rousset F. Genetic differentiation and estimation of gene flow from *F*-statistics under isolation by distance. Genetics, 1997, 145(4): 1219-1228
- [30] 陈玲, 殷富有, 李维蛟, 李定琴, 张敦宇, 钟巧芳, 陈越, 柯学, 黄兴奇, 程在全. 云南三种野生稻遗传多样性和系统进化研究. 中国稻米, 2014, 20(3): 30-35
Chen L, Yin F Y, Li W J, Li D Q, Zhang D Y, Zhong Q F, Chen Y, Ke X, Huang X Q, Cheng Z Q. Study on genetic diversity and phylogeny evolution of three wild rice species in Yunnan. Chinese rice, 2014, 20(3): 30-35
- [31] Gao L Z. Population structure and conservation genetics of wild rice *Oryza rufipogon* (Poaceae): A region-wild perspective from microsatellite variation. Molecular Ecology, 2004, 13: 1009-1024
- [32] 陈良兵, 李迪, 朱汝财, 蒋向辉, 吴海滨, 李义珍, 曹兵. 海南普通野生稻琼海居群与三亚居群的遗传分化. 分子植物育种, 2006, 4(2): 189-193
Chen L B, Li D, Zhu R C, Jiang X H, Wu H B, Li Y Z, Cao B. The genetic differentiation of common wild rice populations between Qionghai and Sanya in Hainan island. Molecular Plant Breeding, 2006, 4(2): 189-193
- [33] 韩东飞. 中国普通野生稻(*Oryza rufipogon* Griff.)的遗传多样性研究及栽培稻起源探讨. 北京: 中国农业科学院, 2006
Han D F. Study on the genetic diversity of wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in China and the origin of cultivated rice. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2006
- [34] 杨庆文, 黄娟. 中国普通野生稻遗传多样性研究进展. 作物学报, 2013, 39(4): 580-588
Yang Q W, Huang J. Research progress on genetic diversity of *Oryza rufipogon* in China. Acta Agronomica Sinica, 2013, 39(4): 580-588
- [35] 陈雨, 潘大建, 杨庆文, 刘斌, 范芝兰, 陈建西, 李晨. 广东高州野生稻应用核心种质取样策略. 作物学报, 2009, 35(3): 459-466
Chen Y, Pan D J, Yang Q W, Liu B, Fan Z L, Chen J Y, Li C. Sampling strategy for an applied core collection of Gaozhou wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) in Guangdong, China. Acta Agronomica Sinica, 2009, 35(3): 459-466