



引用格式:张俊杰,郭晨,彭珊珊,等.7个福建茶树品种的遗传多样性分析及其分子指纹图谱构建[J].轻工学报,2020,35(3):19-27.

中图分类号:S571.1;TS272 文献标识码:A

DOI:10.12187/2020.03.003

文章编号:2096-1553(2020)03-0019-09

7个福建茶树品种的遗传多样性分析及其分子指纹图谱构建

Analysis of genetic diversity of 7 tea plant varieties from Fujian and construction of their molecular fingerprints

张俊杰¹,郭晨¹,彭珊珊¹,宋玉婷¹,尚益民¹,李硕¹,饶耿慧²,傅天龙²

ZHANG Junjie¹,GUO Chen¹,PENG Shanshan¹,SONG Yuting¹,SHANG Yimin¹,LI Shuo¹,RAO Genghui²,FU Tianlong²

1. 郑州轻工业大学 食品与生物工程学院,河南 郑州 450001;

2. 福建春伦集团 科研与技术创新中心,福建 福州 350018

1. College of Food and Bioengineering, Zhengzhou University of Light Industry, Zhengzhou 450001, China;

2. Research and Technology Innovation Center, Fujian Chunlun Group, Fuzhou 350018, China

关键词:

茶树;遗传多样性;

分子标记技术;

分子指纹图谱

Key words:

tea plant; genetic

diversity; molecular

marking technology;

molecular fingerprint

摘要:基于 SSR 分子标记技术,对来自福建省的 7 个供试茶树品种的遗传多样性水平进行分析,并构建其分子指纹图谱.结果表明:初步筛选的 14 个 SSR 分子标记均为多态性标记,其多态性信息含量较丰富,可以较好地区分 7 个供试茶树品种;福云六号与福云七号供试茶树品种之间的遗传相似性系数最高,为 0.06,亲缘关系最近;以扩增条带较少、多态性较高的 3 个 SSR 分子标记引物(PS3,PS15,PS19)相组合而构建的分子指纹图谱,可有效鉴别 7 个供试茶树品种,实现以最少的分子标记引物鉴定所有品种的目的.

收稿日期:2020-02-07

基金项目:人社部留学回国人员科技活动项目(豫留学函[2016]1号)

作者简介:张俊杰(1984—),男,河南省汝州市人,郑州轻工业大学副教授,博士,主要研究方向为功能微生物生态与应用.

Abstract: Based on the SSR molecular marking technology, it analyzed the level of genetic diversity of 7 tested tea plant varieties from Fujian province and constructed the molecular fingerprint of them. The results showed that all of the 14 molecular markers primary screening were polymorphic markers with rich polymorphism information, and 7 tested tea plant varieties could be distinguished effectively. Genetic similarity coefficient between Fuyun No. 6 and Fuyun No. 7 was highest (8.06) which had a close phylogenetic relationship. 3 SSR molecular markers (PS3, PS15, PS19) were selected to construct fingerprint because of less amplified bands and higher Polymorphism, and the fingerprint could distinguish 7 tea plant varieties, achieved the purpose of identifying all varieties with the least molecular marker.

0 引言

茶树(*Camellia sinensis*(L.) O. Kuntze)属于山茶目,山茶科,山茶属,茶种.作为目前世界上重要的经济作物之一^[1],茶树在世界范围内被广泛种植,现已成为最受欢迎的非酒精类饮料作物之一^[2].中国是茶树的起源地,茶树资源丰富,数千年来培育出了众多优良的茶树品种^[3].茶树的育种周期较长,但极易进行无性繁殖,因而茶树品种侵权现象普遍存在^[4].

分子标记技术是一种以个体间核苷酸序列在遗传物质内的变异为基础发展起来的遗传标记技术,可直接反映不同个体在DNA水平上的遗传差异性及其多态性^[5].与其他遗传标记技术相比,分子标记技术具有多态性良好、共显性和重复性显著、不干扰目标性状表现等优势^[6].常用的分子标记技术主要有限制性片段长度多态性 RFLP(restriction fragment length polymorphism)分子标记技术、随机扩增多态性 DNA RAPD(random amplified polymorphism DNA)分子标记技术、简单重复区间序列 ISSR(inter simple sequence repeat)分子标记技术、简单重复序列 SSR(simple sequence repeat)分子标记技术、相关序列扩增多态性 SRAP(sequence-related amplified polymorphism)分子标记技术、单核苷酸多态性 SNP(single nucleotide polymorphism)分子标记技术等^[7].其中,SSR分子标记技术是一种以特定引物的PCR扩增为基础发展起来的第二代分子标记技术,现已被广泛

应用于植物学研究^[8].大量的研究表明^[9-12],SSR分子标记技术已经非常成熟,利用该技术可以对不同茶树品种予以标记,进行区分.作为影响SSR分子标记技术的关键因素,SSR引物的开发至关重要^[13].随着茶树分子生物学研究工作的不断深入,在茶树中已开发了一些稳定的SSR分子标记,并已应用于亲缘关系、遗传多样性分析等方面的研究^[14].在利用SSR分子标记技术研究分析样品的遗传多样性时,需要有足够多的位点信息以保证实验结果的准确性和可靠性,因此,SSR分子标记技术需要做大量的重复性实验,故选择高效精准的检测方法非常重要.常用的检测方法主要有3种,即琼脂糖凝胶电泳、聚丙烯酰胺凝胶电泳和毛细管电泳^[15].

分子指纹图谱是一种以分子标记技术(包括RFLP,RAPD,ISSR,SSR,SRAP,SNP等)为基础,在DNA水平上直接呈现个体特异性的电泳图谱^[16].分子指纹图谱应用于植物新品种的保护和测试、植物品种或杂交种纯度的鉴定等方面,具有很大的潜力^[17].SSR分子标记技术是建立茶树品种分子指纹图谱的常用技术.郭燕等^[18]基于表达序列标签(EST)的SSR分子标记技术,分析了40份贵州古茶树资源的遗传多样性,鉴定了其分子指纹图谱,并从SSR标记中筛选出4个核心标记,构建了18位分子指纹图谱号码,且每个品种都有唯一的分子指纹图谱号码.金基强等^[19]研究分析了42份茶树品种资源,并从16对引物中筛选出13对引物

进行遗传多样性分析,证实了利用 EST-SSR 标记进行茶树资源评价是有效的. 乔婷婷等^[20] 研究分析了浙江省 59 个茶树品种的遗传多样性和群体结构,基于 64 对 EST-SSR 分子标记的供试茶树品种的多态性信息量平均值为 0.44,相较于育成品种,地方品种的遗传多样性水平略高. 陈志辉等^[21] 分析了福建的 43 个茶树品种,基于 23 对 SSR 分子标记对其进行遗传多样性分析,并从中筛选出 7 对 SSR 引物组合构建指纹图谱. 王让剑等^[22] 筛选得到 6 对 SSR 分子标记,并用于福建 10 个自育品种和 5 个参照品种的遗传差异分析,利用 3 对引物建立了其指纹图谱.

我国福建省茶树品种很多,而茶树品种的鉴别和保护对于发展茶业既是一项至关重要的技术工作,又是一项长期性的茶种保持和传承工作. 鉴于此,本文拟采用 SSR 分子标记技术研究分析 7 个福建供试茶树品种的遗传多样性,构建其分子指纹图谱,旨在为福建茶树品种的鉴别、分子标记辅助育种等提供参考.

1 材料与方法

1.1 材料

本研究的供试材料为 7 个福建茶树品种,均采自恩顶茶园,由福建春伦集团提供,其相关信息见表 1.

表 1 7 个供试茶树品种的相关信息

Table 1 The related information of 7 tested tea plant varieties

名称	审(认、鉴)定年份/级别	原遗传背景或来源
福安大白	1985/G	安市康厝乡上高山村
白茶	1985/G	闽北政和县、闽东福鼎县
菜茶	—	武夷山区
梅占	1985/G	安溪县芦田镇三洋村
金观音	2002/G	铁观音茶与黄金桂茶自然杂交
福云六号	1987/G	福鼎大白茶与云南大叶茶自然杂交
福云七号	1987/G	福鼎大白茶与云南大叶茶自然杂交

1.2 主要试剂

过硫酸铵、硼酸、丙烯酰胺,上海麦克林生化科技有限公司产;乙二胺四乙酸(EDTA)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、三羟甲基氨基甲烷硼酸(TBE)、溴代十六烷基三甲胺(CTAB),北京索莱宝生物科技有限公司产;N,N-二甲叉双丙烯酰胺,山东开普勒生物试剂公司产;AgNO₃, NaOH,氯仿,异戊醇,异丙醇,甲醇,乙醇,醋酸钠,天津市永大化学试剂公司产. 以上试剂均为分析纯. 琼脂糖,赛默飞世尔科技公司产.

1.3 仪器与设备

AE224 型分析天平,上海舜宇恒平科学仪器有限公司产;TGL-16G 型离心机,上海安亭科学仪器厂产;SC-15 型恒温水浴锅,宁波新芝生物科技有限公司产;HS-QGTFG-1200 型通风橱,安徽徽试实验设备有限公司产;JY-CX2B 型测序电泳槽,郑州博邦科贸有限公司产;C1000 TouchTM 型 PCR 仪,美国 Bio-Rad 公司产;B-500 型超微量紫外可见分光光度计,上海元析仪器有限公司产.

1.4 实验用溶液配方

质量分数为 40% 的聚丙烯酰胺溶液:丙烯酰胺 38 g,N,N-二甲叉双丙烯酰胺 2 g,去离子水 100 mL.

质量分数为 10% 的过硫酸铵溶液:过硫酸铵 10 g,去离子水 100 mL.

10 × TBE 溶液: Tris 5.4 g, 硼酸 2.75 g, EDTA 0.372 g,去离子水 100 mL.

0.5 × TBE 溶液: Tris 2.7 g, 硼酸 1.375 g, EDTA 0.186 g,去离子水 1000 mL.

2 × CTAB 缓冲液:CTAB 2 g,10 mmol Tris (pH 值为 8.0),2 mmol EDTA (pH 值为 8.0),0.14 mol NaCl,去离子水 100 mL.

高盐缓冲液(质量分数为 10% 的 AgNO₃ 溶液):AgNO₃10 g,去离子水 100 mL.

染色液:高盐缓冲液 1 mL,去离子水

100 mL.

显影液:NaOH 1.5 g, 甲醛 0.5 mL, 去离子水 100 mL.

1.5 茶树叶片 DNA 的提取和检测

用改进的 CTAB 法^[2, 23]分别提取供试茶树叶片的 DNA, 具体步骤如下:

1) 准确称取 0.1 g 新鲜供试茶树叶片置于 1.5 mL 的离心管中, 将其粉碎成匀浆状;

2) 向离心管中加入 600 μ L (已于 65 $^{\circ}$ C 水浴锅中预热) $2 \times$ CTAB 缓冲液后, 将其置于 65 $^{\circ}$ C 恒温水浴锅中水浴 1 h;

3) 冷却至室温后, 加入等体积的氯仿/异戊醇 ($V(\text{氯仿}):V(\text{异戊醇})=24:1$) 混合液, 颠倒混匀, 于 10 000 r/min 条件下离心 10 min;

4) 收集上清液, 加入等体积的氯仿/异戊醇 ($V(\text{氯仿}):V(\text{异戊醇})=24:1$) 混合液, 颠倒混匀, 于 10 000 r/min 条件下离心 5 min;

5) 收集上清液, 加入等体积的异戊醇, 轻轻混匀;

6) 于 -20 $^{\circ}$ C 条件下静置 10 h, 于 7000 r/min 条件下离心 5 min, 弃上清液, 用 10 μ L 枪头吸出剩余液体;

7) 在剩余液体中加入 800 μ L 高盐缓冲液, 于 65 $^{\circ}$ C 恒温水浴锅中水浴 30 min, 于 10 000 r/min 条件下离心 5 min, 收集上清液;

8) 向上清液中加入上清液体积 1/10 的醋酸钠溶液 (3 mol/L, pH 值为 5.2)、上清液体积 2/3 的异丙醇, 轻轻混匀;

9) 于 -20 $^{\circ}$ C 条件下静置 1 h, 于 7000 r/min 条件下离心 5 min, 弃上清液;

10) 重复步骤 6) — 9);

11) 加入质量分数为 70% 的乙醇, 于 7000 r/min 条件下离心 5 min, 弃上清液, 重复 3 次, 将离心管于通风橱中静置 4 ~ 5 min, 根据沉淀量的不同加入 20 ~ 40 μ L dd H₂O;

12) 将提取出来的 DNA 进行琼脂糖凝胶电

泳检测 (琼脂糖质量分数为 1%), 采用超微量紫外分光光度计及其软件 NanoDrop 2000 对 DNA 纯度和质量进行检测.

1.6 SSR 分子标记方法

本研究所用的 68 个 SSR 分子标记来自不同的参考文献^[24-25], 其引物序列由上海生工生物工程股份有限公司合成.

1.6.1 PCR 扩增 根据退火温度设定 PCR 反应程序, 以目标条带清晰、杂带少为原则. PCR 反应体系的总体积为 20 μ L, 其中, DNA 模板 2 μ L, $2 \times$ Taq Master Mix 10 μ L, 10 μ mol/L 的上、下游引物各 1 μ L, dd H₂O 6 μ L. PCR 扩增程序的循环条件是: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 循环 1 次; 然后 94 $^{\circ}$ C 变性 30 s, 循环 35 次, 最适退火温度复性 30 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 45 s; 最后于 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min, 循环 1 次.

1.6.2 PCR 扩增产物检测 将 PCR 扩增产物置于电泳槽里, 采用质量分数为 8% 的聚丙烯酰胺凝胶进行凝胶电泳, 再结合银染方法进行检测. 本研究采用的银染方法在常规方法的基础上进行了改进: 凝胶电泳结束后取下夹子, 将玻璃胶板从电泳槽上取下来, 从玻璃板中剥离出凝胶, 用蒸馏水漂洗 1 次; 将凝胶转入染色液中, 轻摇 2 min 后, 用蒸馏水漂洗 1 次, 最后转入显影液中进行显色, 边摇边观察显色结果, 直至条带清晰后, 将电泳结果拍照记录.

1.6.3 数据处理 采用人工读带的方法记录电泳结果 (只针对目标条带附近的扩增位点), 统计 SSR 扩增条带, 在相同扩增位点上, 有条带记为“1”, 无条带记为“0”, 利用 NTSYS-pc 2.10 软件中的 NTedit 数据编辑器, 直接录入读带结果数据. 通过 PopGene 分析软件统计每对引物在 7 个供试茶树品种的有效等位基因 N_e (反映群体遗传变异大小的指标)、观测杂合度 H_o (随机抽取样本的 2 个等位基因不相同的概率)、期望杂合度 H_e (根据理论公式计算所得,

其范围从 0 到 1;当 $He = 0$ 时,说明该引物无多态性;当 $He = 1$ 时,说明该引物的无限多个等位基因具有相同的频率)和 Shannon 指数(I). 采用 PowerMarker 软件计算主要等位基因频率、基因多样性指数,并根据 Neil's 方法计算每对引物扩增位点的多态性信息量(PIC). 根据这些指标的差异,可从不同角度分析 SSR 分子标记引物在遗传多样性方面存在的差异. 利用 NTSYS-pc 2. 10 软件中的 Clustering 模块,通过非加权平均法(UPMGA)对 7 个供试茶树品种的遗传相似系数方阵进行聚类分析. 筛选出扩增条带清晰、各茶树品种间电泳结果有差异的 SSR 分子标记引物,用于供试茶树分子指纹图谱的构建.

2 结果与讨论

2.1 供试茶树品种的 SSR 多态性

本研究从 68 个 SSR 分子标记中初步筛选出 14 个扩增条带稳定清晰并表现出多态性的 SSR 分子标记,其引物信息见表 2.

14 个 SSR 分子标记引物在 7 个供试茶树品种中的扩增结果见表 3. 由表 3 可知: Ne 的群

体遗传变异范围为 3. 379 3 ~ 6. 533 3,平均值为 5. 226 9; Ho 变化范围为 0. 571 4 ~ 0. 857 1,平均值为 0. 734 7; He 变化范围为 0. 758 2 ~ 0. 912 1,平均值为 0. 861 9; I 变化范围不大,为 1. 567 0 ~ 1. 908 5,平均值为 1. 781 1;主要等位基因频率变化范围为 0. 214 3 ~ 0. 500 0,平均值为 0. 311 2;基因多样性指数变化范围为 0. 704 1 ~ 0. 846 9,平均值为 0. 800 3; PIC 变化范围为 0. 679 6 ~ 0. 827 7,平均值为 0. 777 1,均大于 0. 500 0. 该扩增结果表明,初步筛选的 14 个 SSR 分子标记均为多态性标记,其多态性信息含量较丰富.

2.2 供试茶树品种的遗传相似性

遗传相似系数越高,表明供试茶树品种间遗传距离越近、亲缘关系越近. 7 个供试茶树品种的遗传相似系数方阵见表 4. 由表 4 可知,7 个供试茶树品种的遗传相似系数变化幅度较大,为 4. 84 ~ 8. 06. 其中,同父母本的福云六号与福云七号间的遗传相似系数最高,为 8. 06,表明这 2 个供试茶树品种之间具有较近的亲缘关系;金观音与福云六号间的遗传相似系数次之,为 7. 90;福云六号与菜茶间的遗传相似系

表 2 14 个 SSR 分子标记引物信息

Table 2 The information of 14 SSR molecular markers primers

引物编码	正向引物序列	反向引物序列	退火温度/℃
PS2	AATAAGGCTACTCTTGG	CGGCATTGTCTTTTCAGT	54.0
PS3	AAGGAAAATCTATGGTGAA	ATGGTCAATGCCTTGAG	54.0
PS4	TTGGGAAACAAGAGTGA	TCTGGGACGAGGATAAT	54.0
PS5	GTTTCAAACCAATACAC	GCGGACACCTTGAATA	55.0
PS13	CATTAGATGTTCCAGTCC	TCACTCACATTTAGCTTTT	57.5
PS15	TCAATCACCCTCCATTGAAA	CGTATACCATGGTCGAAGG	61.0
PS19	ACCCAAAATATGAAACAACATG	TGACTACTGCACTGACACTGCTA	60.0
PS25	TGTAAGGGTCCTAAGAGGTACAC	TTCCAATCTTTTCTATAACATCTGC	60.8
PS26	CCATCATTTGGCCATTACTACAA	CCATATGTGTGTGAATGATAAAACC	57.0
PS41	GGAGCATTGAAGCGAGAAAT	CTCTTGACCTTGGGAGCATATAGT	60.8
PS42	TCCTTTTCAATCATCATTCTCTGT	AAAATCTTGCCTTTGATCTTGAAC	60.8
PS56	GGATCCACAGTAGTACACTCTAATC	GGATGCCTCATGTAAGGGAGTTTG	60.0
PS61	TTAAGCAAAGAAGTCGCG	CTAAATCTCCACTCAGCT	48.0
PS65	GATCCCGGACGTAATCCTG	ATCGTACCGAGGGTTCAAT	59.0

数最低,为 4.84.

2.3 供试茶树品种的聚类分析结果

7 个供试茶树品种的聚类分析树状图如图 1 所示. 由图 1 可以看出,在相似系数约为 0.69 时,可将 7 个供试茶树品种分为 4 类,第 1 类为福安大白、白茶和金观音,第 2 类为福云六号和福云七号,第 3 类为菜茶,第 4 类为梅占;在相似系数约为 0.74 时,可将 7 个供试茶树品种分为 5 类,第 1 类为福安大白,第 2 类为白茶和金观音,第 3 类为福云六号和福云七号,第 4 类为菜茶,第 5 类为梅占. 以上遗传相似系数分析和聚类分析表明,这 14 个 SSR 分子标记可以较好地区分 7 个供试茶树品种.

2.4 供试茶树品种分子指纹图谱的构建结果

对扩增条带清晰、多态性良好的 14 个 SSR 分子标记引物进行图形化处理:黑色方块表示有条带,白色方块表示无条带,按照此规则构建了一个较为全面的 7 个供试茶树品种的分子指纹图谱,如图 2 所示. 该图谱中,从左到右依次为福安大白、白茶、菜茶、梅占、金观音、福云六号和福云七号. 由图 2 可以看出,7 个供试茶树品种扩增条带大小在 135 bp 与 300 bp 之间,表明该指纹图谱可以将 7 个供试茶树品种逐一鉴别并区分开,且效果较好. 然而根据表 3 的扩增结果可知,任何一个 SSR 分子标记引物都不能单独将这 7 个供试茶树品种区分开来,只有采

表 3 14 个 SSR 标记引物在 7 个供试茶树品种中的扩增结果
Table 3 The amplification results of 14 SSR primers in 7 tested tea plant varieties

引物编码	Ne	Ho	He	I	主要等位基因频率	基因多样性指数	PIC
PS2	6.533 3	0.571 4	0.912 1	1.908 5	0.214 3	0.846 9	0.827 7
PS3	4.900 0	0.857 1	0.857 1	1.767 2	0.357 1	0.795 9	0.771 9
PS4	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS5	3.379 3	0.857 1	0.758 2	1.567 1	0.500 0	0.704 1	0.679 6
PS13	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS15	5.444 4	0.857 1	0.879 1	1.809 5	0.285 7	0.816 3	0.792 3
PS19	5.764 7	0.714 3	0.890 1	1.833 8	0.214 3	0.826 5	0.803 3
PS25	6.533 3	0.714 3	0.912 1	1.908 5	0.214 3	0.846 9	0.827 7
PS26	4.083 3	0.571 4	0.813 2	1.673 1	0.428 6	0.755 1	0.729 8
PS41	5.157 9	0.714 3	0.868 1	1.772 1	0.285 7	0.806 1	0.779 5
PS42	4.900 0	0.571 4	0.857 1	1.767 2	0.357 1	0.795 9	0.771 9
PS56	6.125 0	0.714 3	0.901 1	1.871 2	0.214 3	0.836 7	0.815 6
PS61	6.125 0	0.571 4	0.901 1	1.871 2	0.214 3	0.836 7	0.815 6
PS65	3.379 3	0.857 1	0.758 2	1.567 1	0.500 0	0.704 1	0.679 6
平均值	5.226 9	0.734 7	0.861 9	1.781 1	0.311 2	0.800 3	0.777 1

表 4 供试茶树品种的遗传相似系数方阵
Table 4 The genetic similarity coefficient matrix of 7 tested tea plant varieties

名称	福安大白	白茶	菜茶	梅占	金观音	福云六号	福云七号
福安大白	1.00	—	—	—	—	—	—
白茶	6.94	1.00	—	—	—	—	—
菜茶	6.13	6.29	1.00	—	—	—	—
梅占	5.81	7.26	6.45	1.00	—	—	—
金观音	6.94	7.42	5.32	6.29	1.00	—	—
福云六号	5.81	6.94	4.84	5.81	7.90	1.00	—
福云七号	5.48	5.97	5.81	6.13	6.29	8.06	1.00

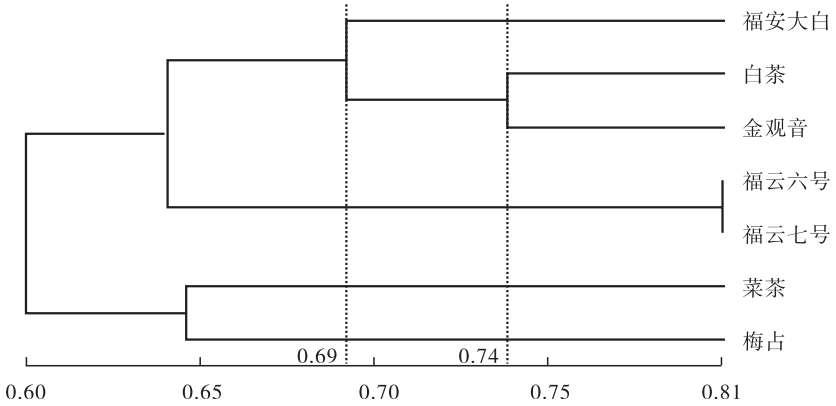


图 1 7个供试茶树品种的聚类分析树状图

Fig.1 The cluster analysis tree of 7 tested tea plant varieties

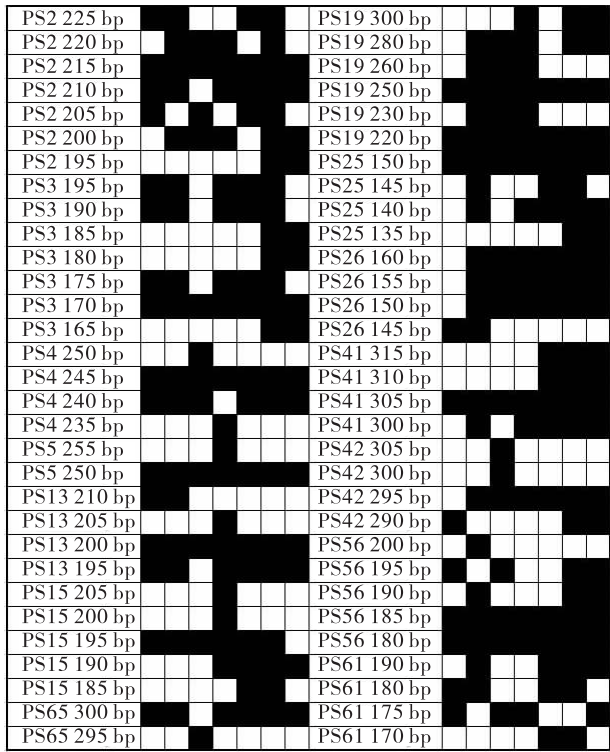


图 2 7个供试茶树品种分子指纹图谱

Fig.2 The molecular fingerprint of 7 tested tea plant varieties

用引物组合的方式才有可能将这 7 个供试茶树品种完全区分开^[26].

遵循以最少的 SSR 分子标记引物鉴定所有品种的原则,最终选取扩增条带较少、多态性较高的 3 个 SSR 分子标记引物 (PS3, PS15, PS19)相组合,用于构建区分 7 个供试茶树品种分子指纹图谱,结果如图 3 所示,从左到右

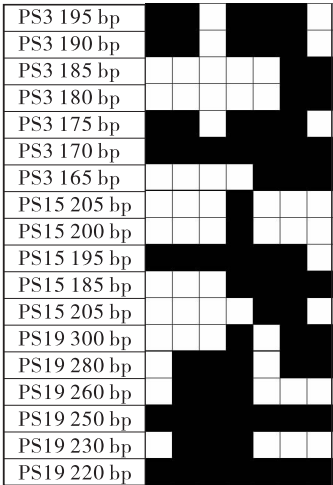


图 3 由 3 个 SSR 分子标记引物组合构建的分子指纹图谱

Fig.3 The molecular fingerprint constructed by combining 3 SSR molecular markers

依次为福安大白、白茶、菜茶、梅占、金观音、福云六号、福云七号. 由图 3 可以看出,通过 3 个 SSR 分子标记引物的扩增,7 个供试茶树品种均呈现出独特的综合图谱类型,可将其有效地区分开来.

SSR 分子标记引物的多态性越高,越容易区分不同供试茶树品种,同时,遗传相似系数越低的品种越容易被区分开. 因此,SSR 分子标记引物的多态性越高,茶树品种间的扩增条带的差异就越明显;不同供试茶树品种之间遗传相似系数越低,使用同一对 SSR 分子标记引物进

行扩增时,其扩增条带差异越明显. SSR 多态性分析体现了 SSR 分子标记引物之间的差异,而遗传相似系数和分子指纹图谱则共同体现了供试茶树品种间的差异.

3 结论

本研究基于 SSR 分子标记技术,对采自福建省的 7 个供试茶树品种的遗传多样性水平进行了分析,并构建了其分子指纹图谱. 结果表明:初步筛选出的 14 个 SSR 分子标记均为多态性标记,且其多态性信息含量均较丰富,可以较好地区分 7 个供试茶树品种;福云六号与福云七号供试茶树品种之间的遗传相似性系数最高,为 8.06,亲缘关系最近;选取由扩增条带较少、多态性较高的 3 个 SSR 分子标记(PS3, PS15, PS19)组合构建的分子指纹图谱,可有效鉴别 7 个供试茶树品种,实现了以最少的分子标记引物鉴定尽可能多品种的目的.

今后将在本研究的基础上,不断丰富和扩充 DNA 指纹库的数据量,继续开发新的 SSR 分子标记,以适应茶树待测品系数量不断增加的现状,更好地鉴别和保护茶树品种,减少茶树品种的侵权现象.

参考文献:

- [1] KAMUNYA S M, WACHIRA F N, PATHAK R S, et al. Genomic mapping and testing for quantitative trait loci in tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) [J]. *Tree Genetics and Genomes*, 2010, 6(6): 915.
- [2] 黄丹娟. 我国优良茶树品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[D]. 北京: 中国农业科学院, 2016.
- [3] CHEN L, ZHOU Z X, YANG Y J. Genetic improvement and breeding of tea plant (*Camellia sinensis*) in China: From individual selection to hybridization and molecular breeding [J]. *Euphytica*, 2007, 154(1/2): 239.
- [4] 陈亮, 虞富莲, 姚明哲, 等. 国际植物新品种保护联盟茶树新品种特异性、一致性、稳定性测试指南的制订[J]. *中国农业科学*, 2008, 41(8): 2400.
- [5] 魏倩倩. 分子标记技术在家禽育种中的应用[J]. *农民致富之友*, 2017(17): 71.
- [6] 李冰敏. 分子标记在园林植物育种中的应用[J]. *现代园艺*, 2019(15): 148.
- [7] 冯英娜. 茄子遗传多样性与主要农艺性状标记关联分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [8] 鲁亚静, 陈庭, 李建友, 等. 叶子花 SSR-PCR 体系的优化[J]. *安徽农业科学*, 2015(17): 57.
- [9] DETTORI M T, MICALI S, GIOVINAZZI J, et al. Mining microsatellites in the peach genome: Development of new long-core SSR marker for genetic analyses in five *Prunus* species [J]. *Springerplus*, 2015, 4(1): 337.
- [10] 刘本英, 孙雪梅, 李友勇, 等. 基于 EST-SSR 标记的云南无性系茶树良种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. *茶叶科学*, 2012(3): 77.
- [11] 余继忠, 黄海涛, 姚明哲, 等. 基于 EST-SSR 的福云(半)同胞系茶树品种(系)遗传多样性和亲缘关系分析[J]. *茶叶科学*, 2010(3): 32.
- [12] 章志芳, 马建强. 基于 SSR 标记的茶树新品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. *湖南农业科学*, 2012(19): 9.
- [13] 孟清照, 李仕金, 董转年, 等. SSR 引物开发方法概述[J]. *大众科技*, 2007(6): 116.
- [14] 杨阳, 刘振, 赵洋, 等. 湖南省主要茶树品种分子指纹图谱的构建[J]. *茶叶科学*, 2010, 30(5): 367.
- [15] 朱岩芳. 作物品种分子标记鉴定及指纹图谱构建研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2013.
- [16] 徐丽芳, 陈吉炎, 罗光明. 分子标记技术及其在植物育种中的应用[J]. *食品与药品*, 2007,

9(10):43.

[17] 刘洪伟. 茶树 gSSR 分子指纹开发及其在商品茶品种鉴别中的应用[D]. 合肥:安徽农业大学,2016.

[18] 郭燕,刘声传,曹雨,等. 基于 SSR 标记贵州古茶树资源的遗传多样性分析及指纹图谱构建[J]. 西南农业学报, 2016,29(3):491.

[19] 金基强,崔海瑞,龚晓春,等. 用 EST-SSR 标记对茶树种质资源的研究[J]. 遗传,2007,29(1):103.

[20] 乔婷婷,马春雷,周炎花,等. 浙江省茶树地方品种与选育品种遗传多样性和群体结构的 EST-SSR 分析[J]. 作物学报,2010,36(5):744.

[21] 陈志辉,单睿阳,游小妹,等. 43 个福建省茶树品种指纹图谱构建及遗传多样性分析[J]. 热带植物学报,2017(6):579.

[22] 王让剑,杨军,孔祥瑞,等. 福建 15 个茶树品种 SSR 遗传差异分析与指纹图谱建立[J]. 福建农业学报,2014(10):970.

[23] DOYLE J J. DNA protocols for plants [J]. Molecular Techniques in Taxonomy, 1991(57):283.

[24] UJIHARA T, OHTA R, HAYASHI N, et al. identification of Japanese and Chinese green tea cultivars by using simple sequence repeat markers to encourage proper labeling[J]. Bioscience Biotechnology and Biochemistry,2009,73(1):15.

[25] 吴晓梅,姚明哲,马春雷,等. 利用 EST-SSR 标记研究适制绿茶与乌龙茶品种的遗传多样性与遗传结构[J]. 茶叶科学,2010, 30(3):195.

[26] LIU Q W, SONG Y, LIU L, et al. Genetic diversity and population structure of pear (*Pyrus* spp.) collections revealed by a set of core genome-wide SSR markers [J]. Tree Genetics and Genomes,2015,11(6):128.

本刊数字网络传播声明

本刊已许可中国知网,万方数据资源系统,维普网,国家科技学术期刊开放平台,博视网,超星,中国科技论文在线,中教数据库,EBSCOhost,CA, Ulrichs, FSTA 等在其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文. 其相关著作权使用费与本刊稿酬一并支付. 作者向本刊提交文章发表的行为即视为同意我刊上述声明.