

中国茶组植物种质资源遗传多样性的 RAPD 分析

黎星辉^{1,2}, 章传政¹, 刘春林², 施兆鹏², 罗军武², 陈 暄¹

(¹南京农业大学园艺学院, 南京 210095; ²茶学教育部重点实验室, 长沙 410128)

摘 要: 采用 RAPD 技术分析了我国茶组植物 23 个种质资源的遗传多样性。筛选的 11 个随机引物扩增出 135 条 RAPD 谱带, 其中有多态带 123 条, 平均多态性为 91.11%。聚类分析表明, 广南茶与大包茶之间的遗传距离最小 (0.1378), 汝城白毛茶与厚轴茶之间的遗传距离最大 (0.8995), 应用 UPGMA 聚类分析法构建了 DNA 分子系统树图, 并据此讨论了茶组植物的分类。

关键词: 茶; RAPD; 遗传多样性

中图分类号: S 571.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 0513-353X (2007) 02-0507-02

RAPD Analysis of the Genetic Diversity in Chinese Tea Germplasm

LI Xing-hui^{1,2}, ZHANG Chuan-zheng¹, LU Chun-lin², SHI Zhao-peng², LUO Jun-wu², and CHEN Xuan¹

(¹ College of Horticulture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; ² Key Laboratory of Ministry of Education for Tea Science, Changsha 410128, China)

Abstract: The genetic diversity of the tea germplasm (*Camellia* Section *Thea*) in China was studied with RAPD method. 135 RAPD bands including 123 polymorphic bands were scored in the 23 tea germplasm tested with 11 primers selected. The average of polymorphism was 91.11%. The results of cluster analysis indicated that the minimum genetic distance (0.1378) was between *C. kwangnanica* and *C. grandibracteata*, and the maximum genetic distance (0.8995) between *C. pubescens* and *C. crassicaule*. A dendrogram by unweighted pair group method with arithmetic mean algorithm (UPGMA) analysis was obtained. Taxonomy for *Camellia* Section *Thea* was discussed by using the dendrogram.

Key words: Tea; *Camellia* Section *Thea*; RAPD; Genetic diversity

为了探讨茶组植物的遗传差异和亲缘关系, 利用 RAPD 技术对中国茶组植物种质资源遗传多样性进行分析。所用的材料为茶组植物中具代表性的 23 个种, 除汝城白毛茶采自于湖南省汝城县白毛茶示范场外, 其他材料均来源于国家茶树种质资源圃勐海分圃, 每个资源随机取 15 株, 以幼嫩芽叶混合制样提取基因组 DNA (黎星辉等, 2001)。

纯化的 DNA 配制成浓度为 20 ng/μL 的模板 DNA。PCR 反应液总体积 30 μL, 反应体系为: 10 × Taq Buffer (含 Mg²⁺), 各 0.2 mmol/L 的 dNTPs, 0.2 μmol/L 引物, 1.0 U Taq DNA 聚合酶, 40 ng 模板 DNA, 加 22 μL 矿物油。扩增在 PTC-100™ 型热循环仪上进行, 程序为: 94 预变性 180 s; 92 变性 50 s; 35 退火 50 s; 72 延伸 100 s, 40 个循环; 72 后延伸 5 min; 4 冷却 20 min。在 1 × TAE 缓冲液中, 用 1.9% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 琼脂糖凝胶中溴化乙锭终浓度为 0.6 μg/mL, 120 V 进样, 80 V 分离, 然后在 Gel Doc 1000 凝胶分析系统中采集和处理信息。

用 PGEM-7ZF (+) /Hae markers 和 Lambda DNA /EcoR + Hind markers 作分子量标记, 以比照反应产物在凝胶上的对应位置, 显带者记为 “1”, 不显带者记为 “0”。将 0、1 矩阵图输入计算机, 计算遗传距离。根据遗传距离, 应用 UPGMA 聚类分析方法构建分子系统树。

收稿日期: 2006 - 08 - 17; 修回日期: 2007 - 02 - 16

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金项目 (20060307024); 江苏省农业高技术研究项目 (BG2003301)

1 中国茶组植物种质资源基因组 DNA 的 RAPD 多态性分析

通过预备试验,从 100 个引物中筛选了 11 个引物进行 RAPD - PCR 扩增 (表 1),共扩增出 135 条谱带,其中多态带 123 条,共同带 12 条,平均每个引物出现多态带 11.18 条;各引物扩增平均表现的多态性为 91.11%。Balasaravanan 等 (2003) 对 49 个茶树资源的遗传多样性分析结果表明, DNA 多态性小于 37.76%,与之相比,中国茶组植物种质资源基因组 DNA 呈现的遗传多样性更丰富。

2 聚类分析

在供试的资源中,广南茶与大巴茶之间的遗传距离最小,为 0.1378;汝城白毛茶与厚轴茶遗传距离最大,为 0.8995。从图 1 可知,当结合距离为 0.24 时,可分为五柱茶系和三柱茶系两类;结合距离为 0.23 时,生产上广泛栽培的三柱茶系聚为一类,五柱茶系则分为两类;结合距离为 0.12 时,可分为 8 类,即大厂茶类、大理茶类、厚轴茶类、秃房茶类、白毛茶类、茶类、普洱茶类和苦茶类。茶组植物是从五柱茶系向三柱茶系演化。在本试验中五柱茶系和三柱茶系分别聚类,反映出其亲缘关系,这与它们在形态学上的连续性表现相吻合。在充分考虑其连续性和特异性的情况下,作者认为茶组植物可分为大厂茶 (*C. tachangensis*)、大理茶 (*C. taliensis*)、厚轴茶 (*C. crassicolumna*)、秃房茶 (*C. gymnogyna*) 和茶 (*C. sinensis*) 5 个种,在茶种下分成普洱茶、白毛茶 (*C. sinensis* var. *pubilimba*)、茶 (*C. sinensis* var. *sinensis*) 和苦茶 (*C. sinensis* var. *kucha*) 4 个变种,这与陈亮等 (2000) 根据茶组植物形态学、细胞学和化学分类的有关证据提出的分类结果相吻合。

表 1 中国茶组植物种质资源的 RAPD 扩增产物的多态性

引物 Primer	扩增谱带总数 Number of scorable bands	特异谱带数 Number of polymorphic bands
5 -CA TCCCCCTG	11	9
5 -CTGCTGGGAC	13	12
5 -CCACA GCA GT	13	12
5 -TGCCGA GCTG	13	12
5 -GAAACGGGTG	12	10
5 -GTGACGTAGG	11	11
5 -TCTGGTGAAG	11	11
5 -CA TCCGTGCT	12	11
5 -TGA GTGGGTG	15	15
5 -GTGCCTAACC	11	9
5 -GTCA GGGCAA	13	11

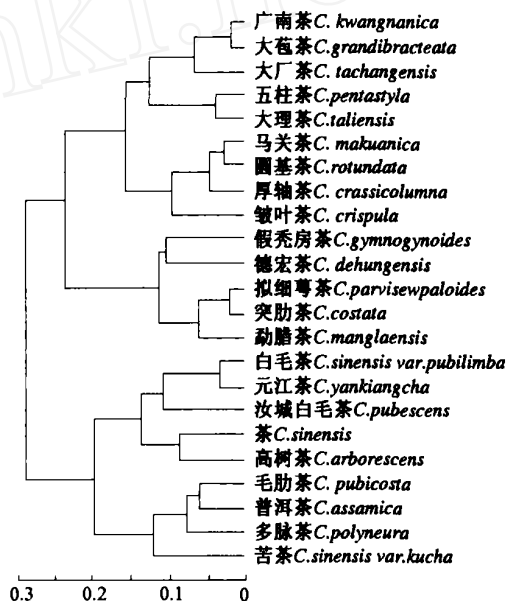


图 1 中国茶组植物种质资源的 DNA 分子系统树图

Fig. 1 DNA molecular dendrogram of the tea gemplasm

C. Section Thea tested in China

References

- Balasaravanan T, Pius P K, Kumar R R, Muraleedharan N, Shasany A K. 2003. Genetic diversity among south Indian tea gemplasm (*Camellia sinensis*, *C. assamica* and *C. assamica* spp. *lasiocalyx*) using AFLP markers. *Plant Science*, 165: 365 - 372.
- Chen Liang, Yu Fu-lian, Tong Qi-qing. 2000. Discussions on phylogenetic classification and evolution of Sect. *Thea*. *Journal of Tea Science*, 20 (2): 89 - 94. (in Chinese)
- 陈 亮, 虞富莲, 童启庆. 2000. 关于茶组植物分类与演化的讨论. *茶叶科学*, 20 (2): 89 - 94.
- Li Xing-hui, Shi Zhao-peng, Liu Chun-lin, Luo Jun-wu, Shen Cheng-wen, Gong Zhi-hua. 2001. Parentage identification of filial generation tea plants from "Yunnan Daye" and "Rucheng Baimao" with RAPD method. *Journal of Tea Science*, 21 (2): 99 - 102. (in Chinese)
- 黎星辉, 施兆鹏, 刘春林, 罗军武, 沈程文, 龚志华. 2001. 云南大叶茶与汝城白毛茶杂交后代的 RAPD 亲子鉴定. *茶叶科学*, 21 (2): 99 - 102.