

杨 旭,吴德智,袁 伟,等. 基于 AFLP 的茶花种质资源遗传多样性研究[J]. 江苏农业科学,2018,46(3):99-102,111.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.03.025

# 基于 AFLP 的茶花种质资源遗传多样性研究

杨 旭<sup>1</sup>,吴德智<sup>1</sup>,袁 伟<sup>2</sup>,胡孝枝<sup>2</sup>

(1. 湖北生态工程职业技术学院,湖北武汉 430200; 2. 湖北省麻城市国营五脑山林场,湖北麻城 435000)

**摘要:**采用限制性扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism,AFLP)分子标记方法,对来自国内外 35 份茶花种质资源间的遗传关系进行分析。结果表明,7 对引物组合扩增出 508 条条带,其中多态性条带 456 条,多态性条带比例为 89.67%,揭示了茶花种质丰富的遗传多样性;Nei's 基因多样性指数范围为 0.255 9~0.320 3,香农指数范围为 0.396 5~0.476 7,品种间的遗传相似系数范围为 0.17~0.52;UPGMA 聚类分析可将 35 份茶花种质分为 3 个大类群。说明 AFLP 是研究茶花种质资源遗传多态性及亲缘关系的有效手段之一。

**关键词:**茶花;种质资源;AFLP;遗传多样性

**中图分类号:**S685.140.32 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2018)03-0099-04

茶花是山茶科山茶属中具有观赏价值的常绿灌木或小乔木的统称,其形姿优美、叶片浓绿有光泽、花色各异、花型繁多,是世界名贵花卉之一。目前全世界的茶花品种已达 3 万余种<sup>[1]</sup>,中、日、英、美、意、法、德、澳大利亚、新西兰等国都有栽培和繁育。我国是茶花的起源中心,资源极其丰富,已培育出的近千个茶花品种在园林工程和园艺盆景上应用广泛,因此茶花也被称为“中国十大名花”之一<sup>[2]</sup>。

茶花经过长期的异花授粉和自然选择,产生了许多新品种,种质交流频繁,但由于我国茶花品种分类缺乏系统性研究,同名异物和同物异名现象严重,导致出现品种间遗传差异小、品种创新不足等问题<sup>[3-4]</sup>。而以往对茶花品种的研究多以形态观察、细胞学等为主,这种方法无法摆脱环境饰变的影响,存在很大的局限性和不确定性,对性状相似的品种很难鉴别。在此背景下,新的遗传多态性检测手段——DNA 分子标记技术应运而生,目前已有许多学者利用随机扩增多态性 DNA(random amplification polymorphic DNA,RAPD)、简单序列重复(simple sequence repeat,SSR)、简单序列重复间(inter-simple sequence repeat,ISSR)、限制性片段长度多态性(restriction fragment length polymorphism,RFLP)等对茶花开展了相关研究,而利用限制性扩增片段长度多态性(amplified fragment length polymorphism,AFLP)分子标记技术对茶花种质资源遗传多样性进行研究的报道甚少。与其他分子标记方法相比,AFLP 具有用量少、可重复性好、多态性强、分辨率高、试验结果稳定可靠等特点<sup>[5-8]</sup>。本研究应用此方法分析了 35 份茶花种质资源的遗传多态性和亲缘关系,以期为茶花鉴别、杂交育种及其起源演化提供参考依据。

收稿日期:2016-08-16  
基金项目:中央财政林业科技推广示范资金(编号:2014HBTG07)。  
作者简介:杨 旭(1982—),男,湖南长沙人,硕士,高级工程师,主要从事林业生态学方面的研究。E-mail:yang520xu@163.com。  
通信作者:胡孝枝,高级工程师,主要从事花卉资源培育方面的研究。  
E-mail:964216884@qq.com。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试茶花品种共 35 份(表 1),均采自湖北省麻城市国营五脑山林场内的茶花种质资源圃。

表 1 供试的茶花品种

序号	品种名	地理起源	序号	品种名	地理起源
1	皮斯先生	美国	19	爱丽牡丹王	美国
2	依莎安妮	美国	20	黛安娜皇后	新西兰
3	难忘	美国	21	狄斯	美国
4	可娜	美国	22	乱世佳人	澳大利亚
5	黄达	美国	23	狮子笑	中国
6	牛西奥转马	美国	24	帕克斯先生	美国
7	黑魔法	美国	25	皇家天鹅绒	美国
8	琳布蕾	美国	26	牛西奥美玉	美国
9	毛缘黑玛瑙	美国	27	丝纱罗	日本
10	白宝塔	中国	28	花芙蓉	中国
11	麻姑仙子	中国	29	抓破脸	中国
12	红十八学士	中国	30	六角大红	中国
13	撒威达的梦	美国	31	大卡特	美国
14	花鹤翎	中国	32	金盏荔枝	中国
15	娃丽娜深	美国	33	女皇二号	澳大利亚
16	道温的曙光	美国	34	情人节	中国
17	哈氏微笑	美国	35	大和锦	日本
18	闪烁	美国			

### 1.2 方法

1.2.1 DNA 提取 采集茶花新梢叶片,装入含有硅胶的自封袋中,干燥后放入 -20℃ 冰箱中,采用 CTAB 法<sup>[9]</sup>提取样品基因组 DNA。

1.2.2 AFLP 分析 酶切体系(20 μL):4 μL 10× Buffer tango,0.4 μL *EcoR* I (10 U/μL),0.4 μL *Mse* I (10 U/μL),37℃ 3 h 接着 65℃ 3 h 条件下完成。加入 2 μL 10× *T*<sub>4</sub> Buffer,1 μL *EcoR* I 酶切头(adaptor)(50 μmol/L),1 μL *Mse* I adaptor(50 μmol/L),10 μL *T*<sub>4</sub> DNA 连接酶,0.4 μL (5 U/μL)酶切产物,16℃ 连接,过夜。利用 Primer-*EcoR*I-A 和 Primer-*Mse*I-C 进行预扩增。选择性扩增反应体系

(20  $\mu$ L) 为 2  $\mu$ L 10  $\times$  Buffer, 0.4  $\mu$ L 10 mmol/L 脱氧核糖核苷三磷酸 (deoxy - ribonucleoside triphosphate, dNTPs), 0.2  $\mu$ L 5 U/ $\mu$ L *Taq* 酶, 5  $\mu$ L 预扩稀释液。PCR 扩增程序为 95  $^{\circ}$ C 预变性 5 min; 95  $^{\circ}$ C 变性 35 s, 65  $^{\circ}$ C 复性 35 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 12 个循环; 94  $^{\circ}$ C 变性 30 s, 56  $^{\circ}$ C 复性 30 s, 72  $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 23 个循环。6% 变性聚丙烯酰胺胶电泳分离, 银染显色。试验所用 AFLP 接头及选择性扩增引物序列见表 2。

1.2.3 数据分析 利用 GeneMarker 2.2 软件将 35 份样品、7 对引物组合扩增得到的原始数据进行分析, 将各泳道内分子量内标的位置与各样品峰值的位置作比较分析, 得到片段的大小, 再根据无带和有带情况转化为 0, 1 数据矩阵。依据 Nei 等的方法<sup>[10-11]</sup>, 利用 POPGENE 和 NTsys - pc 2.1 软件<sup>[12-13]</sup>对样品进行遗传多样性分析。

2 结果与分析

2.1 7 对引物组合的扩增效率

选用 7 对引物组合对 35 份茶花品种进行扩增, 结果 (表 3) 显示, 共分离出 508 条清晰有效的条带, 其中 456 条具有多态性, 占 89.76%; 平均每对引物组合扩增出 72.6 条, 其中 65.1 条具有多态性。可以看出, 利用 AFLP 进行基因多态性检

表 2 引物和接头序列		
内切酶	接头序列 (5'→3')	选择性扩增引物序列 (5'→3')
<i>Eco</i> R I	CTCGTAGACTGCGTACC	E32; GACTGCGTACCAATTCAAC
	AATTGGTACGCAGTCTAC	E33; GACTGCGTACCAATTCAAG
		E36; GACTGCGTACCAATTCAAC
		E37; GACTGCGTACCAATTCAAC
		E38; GACTGCGTACCAATTCACT
		E40; GACTGCGTACCAATTCAAG
<i>Mse</i> I	GACGATGAGTCCTGAG	M47; GATGACTCCTGAGTAACAA
	TACTCAGGACTCAT	M58; GATGACTCCTGAGTAACGT
		M61; GATGACTCCTGAGTAAGTG
		M63; GATGACTCCTGAGTAAGAA
		M64; GATGACTCCTGAGTAAGAC
		M72; GATGACTCCTGAGTAAGGC

测, 效率高且扩增片段多、多态性高, 有利于品种间遗传差异的分析。7 对引物扩增出的观察等位基因数范围为 1.878 8 ~ 1.915 9 个, 有效等位基因数范围为 1.419 7 ~ 1.548 1 个, Nei's 基因多样性指数 (*H*) 范围为 0.255 9 ~ 0.320 3, 香农指数 (*I*) 范围为 0.396 5 ~ 0.476 7, 具有较丰富的遗传多样性。

表 3 7 对扩增引物产生的条带多态性及遗传多样性水平

引物组合	扩增谱带数 (条)	多态性带 (条)	多态性 (%)	观察等位基因数 (个)	有效等位基因数 (个)	Nei's 基因多样性 ( <i>H</i> )	香农指数 ( <i>I</i> )
E32/M58	107.0	98.0	91.59	1.915 9 $\pm$ 0.278 9	1.526 3 $\pm$ 0.329 4	0.311 4 $\pm$ 0.159 0	0.469 3 $\pm$ 0.209 4
E33/M72	73.0	65.0	89.04	1.890 4 $\pm$ 0.314 5	1.461 5 $\pm$ 0.347 5	0.275 9 $\pm$ 0.172 8	0.420 9 $\pm$ 0.231 4
E36/M63	78.0	71.0	91.03	1.910 3 $\pm$ 0.287 7	1.509 9 $\pm$ 0.327 0	0.303 7 $\pm$ 0.162 0	0.458 4 $\pm$ 0.216 9
E37/M61	69.0	62.0	89.86	1.898 6 $\pm$ 0.304 1	1.419 7 $\pm$ 0.339 1	0.255 9 $\pm$ 0.171 2	0.396 5 $\pm$ 0.228 4
E38/M66	66.0	58.0	87.88	1.878 8 $\pm$ 0.328 9	1.548 1 $\pm$ 0.332 4	0.320 3 $\pm$ 0.163 2	0.476 7 $\pm$ 0.222 5
E40/M64	63.0	56.0	88.89	1.888 9 $\pm$ 0.316 8	1.523 9 $\pm$ 0.353 7	0.304 7 $\pm$ 0.174 0	0.456 1 $\pm$ 0.232 6
E59/M47	52.0	46.0	88.46	1.884 6 $\pm$ 0.322 6	1.508 1 $\pm$ 0.339 9	0.300 7 $\pm$ 0.166 9	0.453 2 $\pm$ 0.223 9
平均	72.6	65.1	89.76	1.897 6 $\pm$ 0.303 4	1.506 0 $\pm$ 0.341 8	0.298 7 $\pm$ 0.167 5	0.450 8 $\pm$ 0.222 8

2.2 茶花品种的分子系统树

利用非加权组平均 (unweighted pair - group method with arithmetic means, UPGMA) 聚类法对 35 份供试茶花品种进行遗传距离矩阵分析, 形成分子系统树 (图 1)。当以平均遗传距离 (0.69) 来划分时, 可分成三大类群: 大类群 I 为皮斯先生、难忘、毛缘黑玛瑙、白宝塔、皇家天鹅绒、依莎安妮、黄达、抓破脸、牛西奥转马、撒威达的梦、道温的曙光、狄斯、哈氏微笑、红十八学士、女皇二号、大和锦、花芙蓉、可娜、琳布蕾、麻姑仙子、花鹤翎、乱世佳人、爱丽牡丹王和黛安娜皇后等 24 个品种, 其又可分为 2 个亚类群, 亚类群 I 包括 17 个品种, 亚类群 II 包括 7 个品种; 大类群 II 为狮子笑、六角大红、金盘荔枝、闪烁、牛西奥美玉、丝纱罗、大卡特等 7 个品种; 大类群 III 包括娃丽娜深、帕克斯先生和情人节等 3 个品种; 而黑魔法则未被划入三大类群之中。

2.3 品种间的亲缘关系

从表 4 可知, 品种间的遗传相似系数范围为 0.17 ~ 0.52, 平均系数为 0.37; 遗传距离范围为 0.50 ~ 0.84, 平均距离为 0.69。娃丽娜深和女皇二号之间的相似性系数最大 (0.52), 说明它们亲缘关系较近, 且具有较小的遗传距离

(0.66); 花鹤翎和乱世佳人的相似性系数最小 (0.17), 说明它们的亲缘关系最远, 遗传距离也最大 (0.84)。

3 结论与讨论

据报道, 倪穗等利用 ISSR 技术对国内外 20 个茶花品种进行了遗传多样性分析, 21 对引物扩增出 153 条条带, 多态性为 95.4%<sup>[14]</sup>; 张景荣等利用 RAPD 技术对国内外 23 个茶花品种进行种质资源遗传多态性的研究, 10 对引物扩增出 126 条条带, 多态性为 88.2%<sup>[15]</sup>; 申屠文月等结合 RAPD 分子标记技术对山茶花 3 个栽培变异新品种的遗传差异进行分析, 多态性为 51.7%<sup>[16]</sup>。而本试验利用 AFLP 技术对 35 个茶花品种的遗传多样性进行研究, 7 对引物扩增出 508 条条带, 多态性为 89.76%, 平均遗传距离为 0.69, 可见茶花品种间遗传多样性高, 能准确且高效地反映基因组组成上的差异, 可以较好地地区分表型特征非常相似的基因型, 如花鹤翎和乱世佳人、牛西奥美玉和抓破脸等, 这说明 AFLP 适用于茶花品种间的遗传多样性分析和种质资源鉴别, 是研究茶花种质的有效方法之一。此外, 研究结果还显示, 随着资源和引物数量的增加, 多态性程度也会提高<sup>[17]</sup>。

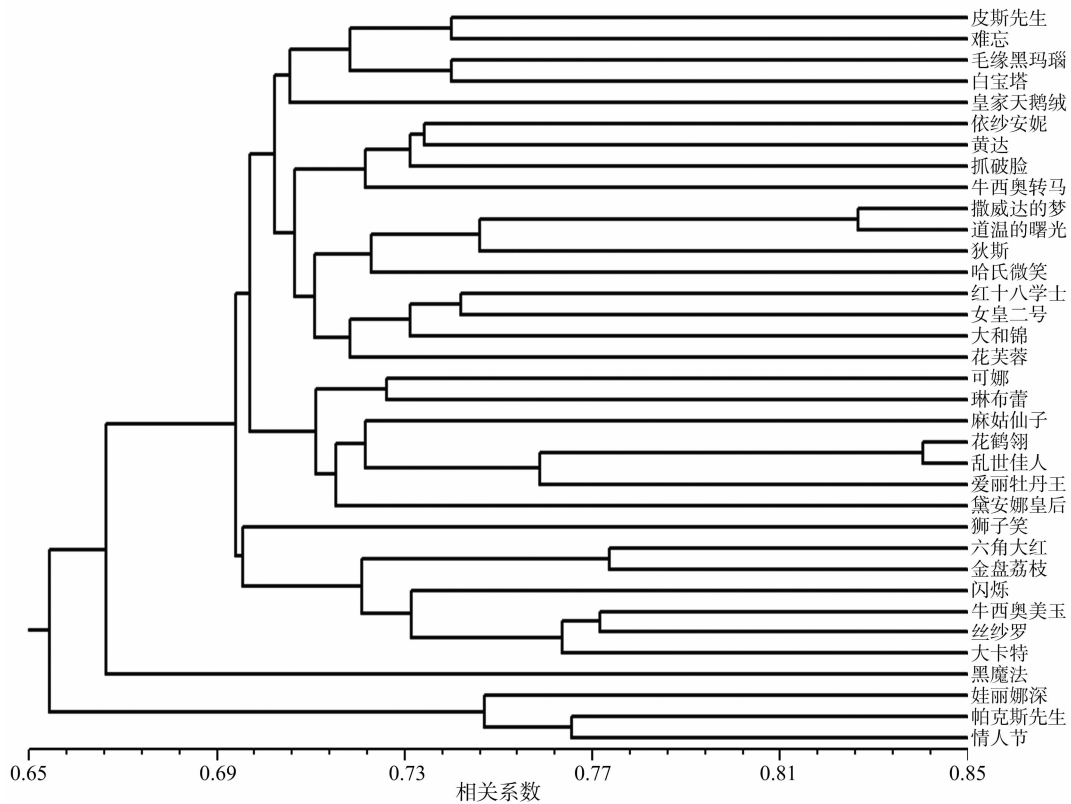


图1 基于 AFLP 数据以 UPGMA 法构建的茶花品种分子系统树

表 4 样品间的 Nei 和 Li 相似系数(对角线下方)和遗传距离矩阵(对角线上方)

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	—	0.72	0.74	0.67	0.70	0.71	0.68	0.67	0.71	0.69	0.69	0.67	0.67	0.67	0.61	0.70	0.68	0.67
2	0.32	—	0.73	0.70	0.73	0.73	0.69	0.68	0.71	0.71	0.69	0.70	0.69	0.70	0.63	0.70	0.69	0.69
3	0.30	0.31	—	0.74	0.70	0.72	0.69	0.68	0.74	0.73	0.73	0.73	0.72	0.72	0.63	0.70	0.70	0.69
4	0.40	0.36	0.31	—	0.69	0.70	0.64	0.73	0.70	0.71	0.69	0.66	0.69	0.71	0.64	0.69	0.66	0.69
5	0.35	0.31	0.36	0.38	—	0.73	0.71	0.72	0.73	0.68	0.69	0.71	0.71	0.72	0.60	0.74	0.71	0.68
6	0.34	0.32	0.32	0.35	0.31	—	0.70	0.69	0.72	0.71	0.69	0.68	0.70	0.68	0.63	0.72	0.70	0.68
7	0.38	0.38	0.37	0.45	0.34	0.35	—	0.64	0.72	0.65	0.67	0.67	0.69	0.65	0.60	0.68	0.66	0.62
8	0.40	0.39	0.39	0.32	0.33	0.37	0.45	—	0.69	0.73	0.72	0.68	0.73	0.73	0.66	0.71	0.69	0.69
9	0.34	0.35	0.30	0.35	0.31	0.33	0.33	0.37	—	0.74	0.70	0.71	0.71	0.71	0.63	0.71	0.70	0.67
10	0.37	0.35	0.31	0.34	0.39	0.35	0.43	0.32	0.30	—	0.69	0.71	0.68	0.70	0.63	0.68	0.69	0.69
11	0.38	0.38	0.31	0.37	0.37	0.37	0.40	0.33	0.36	0.37	—	0.69	0.71	0.72	0.64	0.68	0.66	0.65
12	0.40	0.35	0.31	0.42	0.34	0.38	0.40	0.38	0.35	0.34	0.36	—	0.72	0.71	0.63	0.72	0.71	0.67
13	0.40	0.37	0.32	0.37	0.34	0.36	0.38	0.32	0.34	0.39	0.34	0.32	—	0.76	0.67	0.83	0.72	0.67
14	0.40	0.36	0.33	0.34	0.33	0.39	0.43	0.31	0.34	0.35	0.32	0.35	0.28	—	0.64	0.72	0.70	0.70
15	0.49	0.47	0.46	0.45	0.51	0.47	0.50	0.41	0.46	0.47	0.44	0.47	0.40	0.44	—	0.68	0.64	0.67
16	0.35	0.35	0.36	0.37	0.30	0.33	0.39	0.34	0.34	0.39	0.39	0.33	0.19	0.33	0.39	—	0.72	0.72
17	0.39	0.37	0.36	0.41	0.34	0.36	0.42	0.38	0.35	0.38	0.42	0.34	0.33	0.35	0.44	0.32	—	0.72
18	0.40	0.38	0.37	0.38	0.39	0.38	0.47	0.36	0.40	0.37	0.43	0.40	0.40	0.36	0.40	0.33	0.33	—
19	0.37	0.34	0.36	0.33	0.34	0.37	0.43	0.35	0.36	0.33	0.33	0.35	0.30	0.27	0.44	0.36	0.37	0.37
20	0.41	0.40	0.37	0.37	0.38	0.41	0.45	0.34	0.40	0.40	0.36	0.36	0.33	0.30	0.46	0.37	0.38	0.39
21	0.36	0.33	0.30	0.37	0.33	0.31	0.39	0.32	0.30	0.36	0.42	0.35	0.33	0.33	0.44	0.25	0.32	0.33
22	0.37	0.34	0.38	0.36	0.34	0.41	0.40	0.30	0.39	0.36	0.33	0.37	0.34	0.17	0.43	0.34	0.35	0.37
23	0.42	0.32	0.33	0.42	0.37	0.43	0.39	0.39	0.36	0.42	0.38	0.33	0.37	0.39	0.44	0.34	0.38	0.36
24	0.46	0.50	0.37	0.38	0.44	0.41	0.47	0.37	0.42	0.43	0.43	0.40	0.37	0.38	0.30	0.38	0.39	0.42
25	0.36	0.39	0.32	0.35	0.34	0.34	0.39	0.40	0.33	0.38	0.40	0.38	0.33	0.34	0.43	0.39	0.36	0.39
26	0.37	0.34	0.30	0.40	0.31	0.34	0.39	0.35	0.33	0.38	0.37	0.33	0.34	0.32	0.42	0.30	0.32	0.30
27	0.38	0.38	0.37	0.42	0.35	0.37	0.45	0.35	0.35	0.40	0.42	0.37	0.41	0.32	0.45	0.37	0.31	0.32
28	0.35	0.34	0.34	0.36	0.37	0.36	0.42	0.34	0.34	0.32	0.38	0.30	0.34	0.37	0.43	0.33	0.36	0.38

续表 4

编号	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
29	0.40	0.31	0.35	0.36	0.31	0.35	0.43	0.38	0.40	0.39	0.36	0.34	0.38	0.34	0.42	0.36	0.36	0.37
30	0.45	0.41	0.41	0.40	0.35	0.35	0.44	0.37	0.40	0.40	0.40	0.36	0.33	0.32	0.43	0.33	0.40	0.35
31	0.38	0.31	0.36	0.39	0.37	0.39	0.46	0.39	0.38	0.41	0.44	0.37	0.34	0.33	0.39	0.30	0.39	0.32
32	0.47	0.43	0.44	0.38	0.39	0.40	0.47	0.37	0.39	0.41	0.38	0.38	0.38	0.35	0.40	0.31	0.40	0.31
33	0.36	0.33	0.33	0.36	0.31	0.35	0.38	0.33	0.34	0.36	0.41	0.30	0.36	0.30	0.52	0.36	0.34	0.31
34	0.49	0.43	0.44	0.46	0.44	0.43	0.50	0.39	0.43	0.45	0.45	0.42	0.44	0.44	0.28	0.41	0.34	0.35
35	0.38	0.33	0.34	0.38	0.36	0.36	0.35	0.38	0.37	0.35	0.41	0.32	0.38	0.39	0.47	0.32	0.33	0.33
编号	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
1	0.69	0.66	0.70	0.69	0.66	0.63	0.70	0.69	0.68	0.71	0.67	0.64	0.69	0.62	0.70	0.61	0.69	
2	0.71	0.67	0.72	0.71	0.73	0.61	0.68	0.71	0.69	0.71	0.73	0.66	0.73	0.65	0.72	0.65	0.72	
3	0.70	0.69	0.74	0.69	0.72	0.69	0.73	0.74	0.69	0.71	0.71	0.66	0.69	0.65	0.72	0.65	0.71	
4	0.72	0.69	0.69	0.70	0.66	0.68	0.71	0.67	0.66	0.69	0.69	0.67	0.68	0.68	0.70	0.63	0.68	
5	0.71	0.68	0.72	0.71	0.69	0.65	0.71	0.73	0.71	0.69	0.73	0.70	0.69	0.68	0.74	0.64	0.70	
6	0.69	0.67	0.73	0.67	0.65	0.66	0.71	0.71	0.69	0.70	0.71	0.70	0.68	0.67	0.71	0.65	0.70	
7	0.65	0.64	0.68	0.67	0.68	0.62	0.68	0.68	0.64	0.66	0.65	0.65	0.63	0.63	0.69	0.61	0.70	
8	0.70	0.71	0.73	0.74	0.68	0.69	0.67	0.70	0.70	0.71	0.68	0.69	0.68	0.69	0.72	0.68	0.69	
9	0.70	0.67	0.74	0.68	0.70	0.66	0.72	0.72	0.70	0.71	0.67	0.67	0.68	0.68	0.71	0.65	0.69	
10	0.72	0.67	0.70	0.70	0.66	0.65	0.68	0.68	0.67	0.72	0.68	0.67	0.66	0.66	0.70	0.64	0.70	
11	0.72	0.70	0.66	0.72	0.69	0.65	0.67	0.69	0.66	0.68	0.70	0.67	0.65	0.68	0.67	0.64	0.66	
12	0.70	0.70	0.70	0.69	0.72	0.67	0.68	0.72	0.69	0.74	0.71	0.69	0.69	0.69	0.74	0.66	0.73	
13	0.74	0.72	0.72	0.71	0.69	0.69	0.72	0.71	0.67	0.71	0.69	0.72	0.71	0.68	0.69	0.64	0.68	
14	0.76	0.74	0.72	0.84	0.68	0.69	0.71	0.73	0.73	0.69	0.71	0.72	0.72	0.70	0.74	0.64	0.68	
15	0.64	0.63	0.65	0.65	0.65	0.74	0.65	0.66	0.64	0.65	0.66	0.65	0.68	0.67	0.60	0.76	0.62	
16	0.70	0.69	0.78	0.71	0.71	0.68	0.68	0.74	0.69	0.72	0.70	0.72	0.74	0.74	0.70	0.67	0.73	
17	0.69	0.69	0.73	0.70	0.69	0.68	0.70	0.73	0.74	0.70	0.69	0.67	0.68	0.67	0.71	0.71	0.72	
18	0.69	0.68	0.72	0.69	0.70	0.66	0.68	0.74	0.72	0.68	0.69	0.71	0.73	0.74	0.73	0.70	0.72	
19	—	0.73	0.69	0.76	0.69	0.68	0.74	0.71	0.69	0.73	0.72	0.71	0.71	0.68	0.70	0.66	0.70	
20	0.32	—	0.69	0.70	0.69	0.67	0.67	0.68	0.70	0.71	0.71	0.73	0.68	0.70	0.72	0.66	0.68	
21	0.37	0.37	—	0.70	0.71	0.69	0.71	0.75	0.70	0.70	0.70	0.69	0.73	0.70	0.72	0.67	0.72	
22	0.28	0.36	0.35	—	0.68	0.68	0.67	0.70	0.70	0.72	0.71	0.70	0.75	0.68	0.73	0.65	0.68	
23	0.37	0.37	0.34	0.38	—	0.62	0.67	0.72	0.68	0.70	0.70	0.68	0.70	0.69	0.70	0.65	0.69	
24	0.39	0.40	0.37	0.39	0.47	—	0.69	0.65	0.66	0.70	0.64	0.68	0.66	0.69	0.65	0.77	0.63	
25	0.30	0.40	0.34	0.40	0.40	0.37	—	0.72	0.71	0.69	0.69	0.67	0.69	0.68	0.70	0.68	0.69	
26	0.34	0.39	0.29	0.35	0.33	0.43	0.33	—	0.77	0.69	0.74	0.71	0.77	0.71	0.73	0.69	0.71	
27	0.37	0.36	0.35	0.36	0.39	0.42	0.35	0.26	—	0.69	0.72	0.71	0.76	0.71	0.71	0.72	0.67	
28	0.31	0.34	0.35	0.33	0.36	0.36	0.37	0.36	0.37	—	0.72	0.70	0.70	0.69	0.70	0.66	0.71	
29	0.33	0.34	0.35	0.34	0.35	0.45	0.38	0.30	0.33	0.33	—	0.73	0.73	0.70	0.70	0.66	0.69	
30	0.35	0.31	0.37	0.36	0.38	0.39	0.40	0.34	0.34	0.35	0.31	—	0.74	0.77	0.70	0.64	0.68	
31	0.34	0.39	0.31	0.28	0.35	0.41	0.38	0.27	0.27	0.35	0.31	0.30	—	0.74	0.75	0.67	0.71	
32	0.38	0.35	0.36	0.39	0.37	0.37	0.39	0.34	0.34	0.38	0.35	0.26	0.30	—	0.69	0.68	0.66	
33	0.35	0.33	0.33	0.32	0.36	0.44	0.35	0.31	0.34	0.35	0.36	0.36	0.29	0.37	—	0.65	0.74	
34	0.41	0.41	0.40	0.43	0.44	0.27	0.39	0.37	0.32	0.42	0.42	0.45	0.40	0.38	0.43	—	0.67	
35	0.35	0.39	0.33	0.39	0.37	0.47	0.38	0.35	0.40	0.34	0.38	0.39	0.34	0.41	0.31	0.40	—	

注:编号同表 1。

通过UPGMA聚类分析可以发现,供试的35份材料被分成3个大类群,结果与理论上期望的有所偏差:一是来自同一种群的品种聚类情况存在差异。帕克斯先生、情人节、娃丽娜深和大卡特都是云南山茶与红山茶杂交选育出来的品种,前三者同聚于大类群Ⅲ,而大卡特却与闪烁、牛西奥美玉、丝纱罗等红山茶同聚于大类群Ⅱ,这可能是由于茶花在长期的引种培育与传播过程中交换了遗传物质<sup>[18]</sup>,也有可能是在流通过程中混淆了表型相似的品种,导致供试材料的真实性有误。二是相同地理起源的品种聚类情况存在差异,如皇家天鹅绒、黄达、道温的曙光、闪烁、牛西奥美玉等都是美国加州牛西奥苗圃选育出来的红山茶,前三者在大类群Ⅰ,后两者在大类群

Ⅱ,这可能与引物偏少而使分子标记的数量受限有关<sup>[19]</sup>,也可能是不同品种为了适应新的环境发生了相似性的变异。

参考文献:

[1] 季春峰,徐林初,钱 萍,等. 世界名贵山茶品种研究[J]. 江西林业科技,2011(4):9-11.  
[2] 张宏达,任善湘. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社,1998:53-91.  
[3] 胡仲义,林 立,刘 夔,等. 26个川茶花品种亲缘关系的ISSR分析[J]. 植物研究,2013,33(5):629-634.

- [18] Zhou Y, Huang L H, Wei X L, et al. Physiological, morphological, and anatomical changes in *Rhododendron agastum* in response to shading[J]. *Plant Growth Regulation*, 2017, 81(1): 23–30.
- [19] 中国科学院中国植物志编辑委员会. 中国植物志: 五十四卷[M]. 北京: 中国科学出版社, 1978: 82–85.
- [20] Liu Z L, Liu Y Y, Liu C S, et al. The chemotaxonomic classification of *Rhodiola* plants and its correlation with morphological characteristics and genetic taxonomy [J]. *Chemistry Central Journal*, 2013(7): 2–8.
- [21] 德吉, 周生灵, 郭小芳, 等. 红景天(*Rhodiola* L.) 的研究进展[J]. *西藏科技*, 2012(8): 70–71, 77.
- [22] 王爱玲, 曲玮, 梁敬钰. 红景天属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. *海峡药学*, 2014, 26(1): 1–8.
- [23] 张雨舟. 红景天药理作用研究进展及应用前景分析[J]. *安徽农业科学*, 2015, 43(25): 77–79, 82.
- [24] Chiang H M, Chen H C, Wu C S, et al. *Rhodiola* plants: chemistry and biological activity [J]. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2015, 23(3): 359–369.
- [25] 李涛, 何璇, 汪元娇. 红景天属药用植物的形态分类比较研究[J]. *华西药学杂志*, 2015, 30(4): 450–451.
- [26] 贾国夫, 何正军, 毛中丽, 等. 不同氮磷钾配比施肥对大花红景天生长及产量影响的研究[J]. *草业与畜牧*, 2008(7): 5–7.
- [27] 史树德, 孙亚卿, 魏磊. 植物生理学实验指导[M]. 北京: 中国林业出版社, 2011.
- [28] Pan L, Zhang X Q, Wang J P, et al. Transcriptional profiles of drought-related genes in modulating metabolic processes and antioxidant defenses in *Lolium multiflorum* [J]. *Frontiers in Plant Science*, 2016(7): 1–15.
- [29] 范苏鲁, 苑兆和, 冯立娟, 等. 干旱胁迫对大丽花生理生化指标的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(3): 651–657.
- [30] 安慧, 上官周平. 光照强度和氮水平对白三叶幼苗生长与光合生理特性的影响[J]. *生态学报*, 2009, 29(11): 6017–6024.
- [31] 唐钢梁, 李向义, 林丽莎, 等. 骆驼刺在不同遮阴下的水分状况变化及其生理响应[J]. *植物生态学报*, 2013, 37(4): 354–364.
- [32] Grechi I, Vivin P, Hilbert G, et al. Effect of light and nitrogen supply on internal C : N balance and control of root – to – shoot biomass allocation in grapevine [J]. *Environmental and Experimental Botany*, 2007, 59(2): 139–149.
- [33] Aumonde T Z, Pedro T, Borella J, et al. Seed vigor, antioxidant metabolism and initial growth characteristics of red rice seedlings under different light intensities[J]. *Acta Botanica Brasilica*, 2013, 27(2): 311–317.
- [34] 韩忠明, 赵淑杰, 刘翠晶, 等. 遮阴对 3 年生东北铁线莲生长特性及品质的影响[J]. *生态学报*, 2011, 31(20): 6005–6012.
- [35] 闫兴富, 王建礼, 周立彪. 光照对辽东栎种子萌发和幼苗生长的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(7): 1682–1688.
- [36] 邹长明, 王允青, 刘英, 等. 四种豆科作物的光合生理和生长发育对弱光的响应[J]. *植物生态学报*, 2015, 39(9): 909–916.
- [37] 吕晋慧, 李艳锋, 王玄, 等. 遮阴处理对金莲花生长发育和生理响应的影响[J]. *中国农业科学*, 2013, 46(9): 1772–1780.
- [38] 薛伟, 李向义, 朱军涛, 等. 遮阴对疏叶骆驼刺叶形态和光合参数的影响[J]. *植物生态学报*, 2011, 35(1): 82–90.
- [39] Dong C J, Wang X L, Shang Q M. Salicylic acid regulates sugar metabolism that confers tolerance to salinity stress in cucumber seedlings[J]. *Scientia Horticulturae*, 2011, 129(4): 629–636.
- [40] 谢元贵, 廖小锋, 张东凯, 等. 遮阴处理对小蓬竹生长及生理特性的影响[J]. *广东农业科学*, 2013, 40(12): 49–53.
- [41] 杜加加, 梁机, 陈月芳, 等. 不同遮阴处理对擎天树幼苗生长的影响[J]. *福建林业科技*, 2016, 43(1): 61–64.
- [42] 姚平, 石新生, 陶建军. 遮阴对台湾桫欏木(*Alnus formosana*) 幼苗生长和生理特性的影响[J]. *四川林业科技*, 2013, 34(3): 69–74.

(上接第 102 页)

- [4] 欣文. 茶花育种及命名问题值得关注[J]. *中国花卉园艺*, 2008(7): 19–20.
- [5] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. *Nucleic Acids Research*, 1995, 23(21): 4407–4414.
- [6] 王小萍. 利用 SSR 标记对 38 份茶树种质资源亲缘关系与品种分子鉴定的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2007: 1–12.
- [7] 杨春生, 卢永彬, 林燕芳, 等. 广西毛竹种质资源 AFLP 分析[J]. *广西植物*, 2014, 34(6): 742–746.
- [8] 黄福平, 梁月荣, 陆建良, 等. 乌龙茶种质资源种群遗传多样性 AFLP 评价[J]. *茶业科学*, 2004, 24(3): 183–189.
- [9] Ahmad F, Megia R, Poerba Y S. Genetic diversity of *Musa balbisiana* colla in Indonesia based on AFLP marker [J]. *Haiaty Journal of Biosciences*, 2014, 21(1): 39–47.
- [10] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1979, 76(10): 5269–5273.
- [11] Shannon C E, Weaver W. The mathematical theory of communication [M]. Urbana: University of Illinois Press, 1949: 170–180.
- [12] 郝晨阳, 王兰芬, 董玉琛, 等. 我国西部春麦区小麦育成品种遗传多样性的 AFLP 分析[J]. *植物遗传资源学报*, 2003, 4(4): 285–291.
- [13] 田松杰, 石云素, 宋燕春, 等. 利用 AFLP 技术研究玉米及其野生近缘种的遗传关系[J]. *作物学报*, 2004, 30(4): 354–359.
- [14] 倪穗, 李纪元, 王强. 20 个茶花品种遗传关系的 ISSR 分析[J]. *林业科学研究*, 2009, 22(5): 623–629.
- [15] 张景荣, 刘军. 名贵茶花种质资源的 RAPD 分析[J]. *西北植物学报*, 2006, 26(4): 683–687.
- [16] 申屠文月, 陈析丰, 马伯军. 3 个山茶花变异品种的形态鉴定和 RAPD 分析[J]. *浙江师范大学学报(自然科学版)*, 2006, 29(3): 317–321.
- [17] 汪小全, 刘正宇. 银杉遗传多样性的 RAPD 分析[J]. *中国科学: C 辑*, 1996, 26(5): 436–441.
- [18] 谢云. 浙江红山茶遗传多样性分析及观赏价值评价[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2011: 93–115.
- [19] 陈亮, 杨亚军, 虞富莲. 应用 RAPD 标记进行茶树优异种质遗传多态性、亲缘关系分析与分子鉴别[J]. *分子植物育种*, 2004, 2(3): 385–390.