

Genetic Diversity Analysis of Ancient Tea Plants in Xishuangbanna Area

Jinling Yang¹, Yanjuan Zhao¹, Guangfu Huang¹, Getachew Melaku¹, Qin Qiao¹, Jing Zhang¹, Shilai Zhang¹, Benying Liu², Liyu Huang^{1*}

¹The School of Agriculture, Yunnan University, Kunming Yunnan

²Tea Research Institute of Yunnan Academy of Agricultural Science, Menghai Yunnan

Email: jlyang00@163.com, ¹lyhuang@ynu.edu.cn

Received: Jun. 20th, 2018; accepted: Jul. 10th, 2018; published: Jul. 17th, 2018

Abstract

Ancient tree tea has important scientific, social, economic and cultural value, but there is less research on its genetic diversity at present. In the study, 8 pairs of SSR primers were used to analyze the genetic diversity of the ancient tree tea and a total of 18 alleles were detected. Within the population, the average observed heterozygosity (H_o) was 0.392 and the expected heterozygosity (H_e) was 0.353. The average Shannon information index (I) was 0.578, and the average percentage of polymorphic loci ($P\%$) was 75%, indicating that the ancient tea resources in these areas are rich in genetic diversity. According to Nei's genetic distance and heritability, the genetic distance between Wengji and Mangjing was the closest (0.019) and has the highest similarity (0.982). The genetic distance between Nannuoshan and Dapingzhang had the largest difference of 0.303 and the lowest similarity with 0.739. AMOVA analysis showed that the genetic differentiation coefficient (F_{st}) between the ancient tea plants was 0.133, which indicated that the ancient tea tree population was moderately differentiated. Further analysis showed that 87% of the genetic variation was within the population and 13% of the genetic variation was among the different populations. The ancient tea tree resources in 10 regions can be divided into 2 categories using the UPGMA method for cluster analysis. One category includes Laobanzhang, Wengji, Mangjing, Huazhuliangzi and Dapingzhang, and another kind of cluster covers Nannuoshan, Xiaomengsong, Luoshuidong, Mahei and Gaoshanzhai. In this paper, the results will provide theoretical basis for research on the construction of genetic map, gene localization, germplasm identification and genetic relationship as well as genetic basis for the identification, protection and utilization of the rare ancient tea tree resources.

Keywords

Xishuangbanna, The Ancient Tea Plants, Genetic Diversity

西双版纳地区古茶树遗传多样性分析

杨金玲¹, 赵艳娟¹, 黄光福¹, Getachew Melaku¹, 乔琴¹, 张静¹, 张石来¹, 刘本英², 黄立钰^{1*}

*通讯作者。

文章引用: 杨金玲, 赵艳娟, 黄光福, Getachew Melaku, 乔琴, 张静, 张石来, 刘本英, 黄立钰. 西双版纳地区古茶树遗传多样性分析[J]. 植物学研究, 2018, 7(4): 442-452. DOI: 10.12677/br.2018.74054

¹云南大学农学院, 云南 昆明

²云南农科院茶叶研究所, 云南 勐海

Email: jlyang00@163.com, lyhuang@ynu.edu.cn

收稿日期: 2018年6月20日; 录用日期: 2018年7月10日; 发布日期: 2018年7月17日

摘要

古树茶具有重要的科学和社会经济文化价值,但目前对其遗传多样性研究较少。本文利用8对SSR引物对古树茶种质资源进行遗传多样性分析,共检测到18个等位基因,居群的平均观察杂合度(Ho)为0.392,期望杂合度(He)为0.353,shannon信息指数(I)平均为0.578,多态位点百分率(P%)平均为75%,说明这些地区的古树茶资源具有丰富的遗传多样性。根据Nei's遗传距离和遗传一致度来看,翁基和芒景遗传距离最小,为0.019,两者的一致度最高,为0.982;南糯山和大平掌的遗传距离相差最大,为0.303,一致度最低,为0.739。AMOVA分析显示,古茶树之间的遗传分化系数(*F_{st}*)为0.133,古茶树群体间属于中度分化,87%的遗传变异来自居群内,13%的遗传变异来自居群间。用UPGMA法,进行聚类分析,可将10个地区的古茶树资源分为2大类:一类是以老班章为代表的翁基、芒景、滑竹梁子和大平掌聚;另一类是以南糯山为代表的小勐宋、落水洞、麻黑和高山寨。本文研究结果将为古树茶遗传图谱构建、基因定位、亲缘关系和种质鉴定等研究提供理论依据,为珍稀古茶树资源的鉴定、保护和利用提供一定的遗传基础。

关键词

西双版纳, 古茶树, 遗传多样性

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

云南省是中国乃至世界上保存古茶园面积最大、古茶树最多,资源最集中的地区。古树茶包括古老野生型、过渡型、栽培型古茶树群落和茶树王,据不完全统计,云南省目前在47个境县内发现大约130处古茶树群落[1],古树茶具有重要的科学和社会经济文化价值,是世界重要的农业文化遗产。研究表明,山茶科植物起源已有6000~7000万年的历史[2],在漫长的古地质和气候变化历史中,茶树形成了独特的形态特征、生理生化特性、生长发育和遗传规律。西双版纳、普洱、临沧、保山等地区是云南野生型、过渡型大茶树和栽培型古茶园的集中分布区,是古茶树、古茶园的典型代表,受到国内外专家学者的高度评价。陈进等[3]对云南不同地区的地方栽培品种与野生亲缘关系的遗传多样性的研究表明,古茶园茶树遗传多样高于台地茶,说明云南的地方品种在长期的栽培驯化中并未造成遗传多样性的丧失。古茶树资源具有丰富的遗传多样性,几乎包括了原始和进化的各种类型,是研究茶树起源和进化必不可少的材料[4]。云南古茶树存活了数百年甚至上千年,除了得天独厚的自然环境和本身丰富的遗传多样性为古茶树的生存提供保障以外,通过调查发现[5],古茶园通常不施肥翻耕,由于山区交通不便,茶叶向外运输困难,古茶树仅在春季采摘,从而保证了有充足的时间积累养分。此外,云南海拔高,生态环境良好,环境污染少,植被覆盖率高,阳光充足且多云雾,古茶树根深干粗,吸取日月精华,接受大地滋养,无

需施化肥农药,与此同时,古茶树的树大、冠大、根深,能最大限度地吸收和储存土壤中的丰富养分。这一定程度上符合了现代人对于食品安全与生态的追求。消费者对茶叶消费的质量和生态意识的追求,扩大了古茶树的知名度与影响力。消费者对传统的古树茶需求量的增加,使得云南古茶园、古茶林的社会经济价值得以体现。

近年来 SSR 术成为研究茶树遗传多样性、目的基因定位、种质资源鉴定和遗传育种等研究的重要手段。刘振等人[6]用 SSR 引物揭示出 60 份茶树拥有丰富的遗传多样性;段云裳[7]分别用 40、39 和 58 对引物对乌龙茶品种(系),红绿茶品种(系)以及无性品种分析,均表现出较高的遗传多样性;此外,尚卫琼等人[8]用 28 对 SSR 引物对 94 份大叶茶种质材料进行遗传多样性分析,结果表现出丰富的遗传多样性。本文通过 SSR 分子标记进一步对西双版纳部分茶区的古树茶资源进行了遗传多样性分析,明确不同地区古树茶个体之间的亲缘关系,结果将为古树茶遗传图谱构建、基因定位、亲缘关系和种质鉴定等研究提供理论依据。

2. 材料和方法

2.1. 实验材料

本实验的材料均为云南大叶种栽培型古茶树,共计 164 个样品,来源于西双版纳地区不同的 10 个地点,材料名称来源及编号见表 1,10 个不同地点取样的地理位置见图 1,将采集好的样品储存于-80°C 冰箱里备用。

2.2. DNA 的提取和 SSR-PCR 的扩增及电泳

DNA 提取方法及 PCR 扩增检测参照王磊[9]、黄建安[10]等人的方法进行,选择引物参考王磊硕士论文[9],对众多引物进行扩增预实验,从中选择了 8 对多态性较好的引物进行下一步扩增。SSR 引物由昆明硕擎生物技术公司合成,引物序列序列见表 2。

PCR 总反应体系为 15 μ l (dd H₂O 9.1 μ l, 10 \times buffer 1.5 μ l, dNTPs 1.2 μ l, Primer F 0.5 μ l, Primer R 0.5 μ l, DNA 2 μ l, Taq 酶 0.2 μ l),按顺序依次加入以上试剂,混匀后,按照以下程序进行 PCR 扩增:94°C 预变性 5 min,94°C 变性 1min,57°C~59°C 退火 1 min,72°C 延伸 1 min,32 个循环,72°C 延伸 5 min,4°C 保存。扩增结束后,取 2.5 μ l 的 PCR 产物进行聚丙烯酰胺凝胶电泳。

Table 1. Information of samples from 10 ancient tea populations for genetic diversity analysis

表 1. 用于遗传多样性分析的 10 个古树茶居群信息

编号	采样时间	居群(Population)	经度(°E)	纬度(°N)	样本数
MS	2017.10.13	景洪市,勐宋村	100.49	21.49	20
MMS	2017.10.15	勐海县,滑竹梁子	100.53	22.12	18
NNS	2017.10.17	勐海县,南糯山	100.6	21.95	15
LBZ	2017.10.18	勐海县,老班章	100.41	21.28	17
GSZ	2017.10.19	勐腊县,高山寨	101.49	22.01	12
MH	2017.10.20	勐腊县,麻黑寨	101.49	20.01	14
LSD	2017.10.20	勐腊县,落水洞	101.49	20.01	4
WJ	2017.10.22	澜沧县,翁基	100.01	22.19	20
MJ	2017.10.22	澜沧县,芒景	100.01	22.19	20
DPZ	2017.10.23	澜沧县,大平掌	100.01	22.19	24

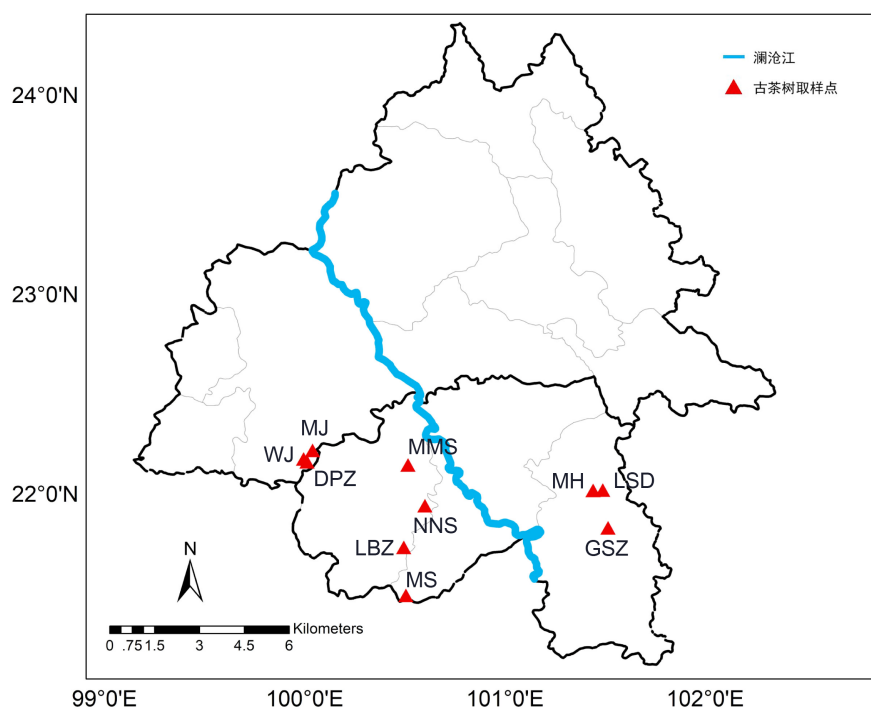


Figure 1. The location of 10 tea areas of ancient tea
图 1. 10 个不同古树茶茶区地理位置

Table 2. Information list of primers used in this study

表 2. 引物信息列表

重复单元	引物名称	序列(5'~3')	长度(bp)	退火温度(°C)
(TTAT)5	G2-F	AAAGATTGGGTTTCGTGGTG	20	57.5
	G2-R	CCGTATCAGGGTATTTCAACTT	22	
(AG)9	G3-F	CCTTGCTTGACTTGCTCT	19	57.5
	G3-R	CTTACCCTCAACCCAACATTA	21	
(AT)10	G4-F	TCACCACCTTCTGGCTCATCA	21	57
	G4-R	ACTCGGTTTCATCCCTTGATTTTG	23	
(AAAT)5	G5-F	AGAGGCATCTAAGCCACAACAG	22	58.5
	G5-R	GTTTGGATTACAGGTGGACAT	21	
(TTTTAT)5	G6-F	AGCGACGGCGAGAAACTA	18	58
	G6-R	CTTTTGCCCACTTATGTCCC	20	
(TC)11	G7-F	GGGAAGGTAGCGGGAATG	18	59
	G7-R	GGCA ATACGGAGATGGTGTC	20	
(AG)14	G8-F	GATTCAAGCCTCCGAACCTG	20	59
	G8-R	CGATGGCAAACAACTCAAAG	21	
(TC)17	G10-F	GGTCCACTATTCAACACCAACA	22	57.5
	G10-R	CTTGAAGCCCAACTGACCC	19	

2.3. 数据处理和分析

采用人工计读条带的方法, 在电泳胶上不同位置的清晰条带上从上到下依次记为“1, 2, 3, 4”, 例如 MS1 样品在 G2 引物下的基因型为“23”, MS2 样品在 G2 引物下的基因型为“123”, 依次类推, 制作成基因型 Excel 表, 把基因型导入 CONWERT 软件中, 把原始数据矩阵转换成基因型数据类型, 再采用 GeneA1Ex 6.502 软件分析计算出观察等位基因的数目(Na), 有效等位基因数目(Ne), shannon 多样性指数(I), 观察杂合度(Ho), 遗传分化系数(*Fst*), 基因流(Nm)等遗传多样性参数, 使用 Popgene2 软件进行聚类分析图绘制。

3. 结果

3.1. 古茶树叶片 DNA 的提取结果

经改良过的 CTAB 法提取茶树基因组总 DNA 条带基本清晰明亮, 没有降解, 没有断裂, 说明完整性比较好, 基本符合 SSR-PCR 的要求。

3.2. SSR 标记及其位点多样性分析

本研究利用 8 对 SSR 引物在所有群体中共检测到 18 个等位基因, 表 3 中显示, 所观察等位基因的平均数(Na)为 2.263, 平均有效等位基因数 $Ne = 1.815$, 变化范围为 1.023 (G5)~2.545 (G8); 观察杂合度(Ho)的变化范围 0.000 (G4)~0.840 (G8), 平均为 0.392; 期望杂合度(He)的平均值为 0.353, 变化范围为 0.020 (G5)~0.596 (G8); Shannon 信息指数(I)在 0.069 (G4)~1.005 (G7)之间变动, 平均 0.578; 从表 3 中的固定指数(Fis)可知, G3, G4 和 G5 这 3 对引物的固定指数(Fis)为正值外, 其余地方均为负值, 8 个位点的平均固定指数(Fis)值为-0.083, 说明这些标记能较好的反应参试古茶树群体平均杂合度, 且杂合度较高。以上结果说明, 8 对 SSR 核心引物能较好的显示参试材料的遗传多样性。

3.3. 遗传多样性

对 10 个不同茶区 164 个古茶树样品中采用 8 个 SSR 标记进行群体内遗传多样性研究表明(表 4), 观察杂合度(Ho)的变化范围在 0.256~0.510, 平均值为 0.392, 最高的是老班章古茶树群体, 期望杂合度(He)在 0.270~0.430 之间变动, 平均值为 0.353, 期望杂合度(He)与观察杂合度(Ho)的平均值比较接近, 两者之间的值越接近说明群体遗传多样性越高[11]。Shannon 信息指数(I)的平均值为 0.578, 大小在 0.459~0.687

Table 3. Amplification information of 8 SSR primer pairs in 164 ancient tea resources

表 3. 8 对 SSR 引物在 164 份古茶树资源的多态性扩增信息

引物编号	观测等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	Shanon 信息指数 I	观察杂合度 Ho	期望杂合度 He	固定指数 Fis
G2	2	1.638	0.545	0.413	0.368	-0.107
G3	2.6	1.975	0.754	0.413	0.462	0.374
G4	1.1	1.100	0.069	0.000	0.050	1.000
G5	1.2	1.023	0.041	0.006	0.020	0.484
G6	2.6	1.840	0.626	0.428	0.370	-0.152
G7	3.2	2.552	1.005	0.813	0.594	-0.368
G8	3.1	2.545	0.986	0.840	0.596	-0.429
G10	2.3	1.845	0.602	0.372	0.360	-0.021
Mean	2.263	1.815	0.578	0.392	0.353	-0.083

Table 4. The genetic diversity of ancient tea from different geographic area
表 4. 不同地理来源的古茶树遗传多样性分析

居群 population	观测等位基因数 Na	有效等位基因数 Ne	观察杂合度 Ho	期望杂合度 He	Shanon 信息指数 I	多态位点百分率 P (%)
LBZ	2.25	1.841	0.51	0.385	0.612	87.5
NNS	2.25	1.563	0.259	0.27	0.459	75.0
MS	2.375	1.776	0.256	0.348	0.577	87.5
WJ	2.25	1.879	0.414	0.331	0.56	62.5
MJ	2.25	1.803	0.41	0.341	0.562	62.5
DPZ	2.375	2.060	0.417	0.43	0.687	75.0
LSD	2	1.593	0.344	0.316	0.499	75.0
MH	2.25	1.941	0.452	0.397	0.644	75.0
GSZ	2.25	1.760	0.423	0.345	0.57	75.0
MMS	2.375	1.930	0.434	0.362	0.616	75.0
Mean	2.263	1.841	0.392	0.353	0.578	75.0

之间, 十个居群的多态位点百分率为 75%, 数值大小均在 62.5%~87.5%之间, 绝大多数为 75%, 表明这 10 个不同地区的古茶树具有高度的多态性, 这说明了这 10 个古茶树居群遗传多样性丰富, 可以为品种选育提供丰富优质的材料。表 4 中不同茶区古茶树居群的遗传多样性参数, 说明了供试材料具有较为丰富的遗传多样性。

3.4. 遗传分化

F_{st} 参数用来描述群体的分化程度[12]。在表 5 中, 群体遗传分化系数(F_{st})为 0.133, 处于 0.05~0.15 之间, 表明古茶树群体间属于中度分化[13], 87%的遗传变异来自居群内, 13%的遗传变异来自居群间。古茶树的遗传多样性主要源于居群内, 但水平较低, 不同地区的居群存在一定的遗传分化, 居群内的遗传多样性高于居群间的遗传多样性。此外, 西双版纳地区不同地理区域的古茶树基因流(N_m)较高, 为 1.624 (>1), 说明古茶树群体存在一定的基因交流。

3.5. 遗传距离

本研究所用的样品涉及到了滇南 6 个乡镇, 10 个不同的茶山, 将每一个取样的茶山看作是一个群体进行分析, 对地理居群之间的遗传一致度和遗传距离分析, 如表 6。

遗传距离(D)和遗传一致度(I)分别是相同和相反方面看遗传关系的指标, 地理遗传距离反应了各居群之间的亲缘关系远近[14], 从表 6 中可以看出, 164 份古茶树的遗传距离在 0.019~0.303 之间, 说明这些古茶树具有一定的遗传差异, 遗传多样性较高。翁基和芒景遗传距离最小, 只有 0.019, 其次是麻黑和高山寨, 两者之间的遗传距离为 0.021; 这有可能跟两者之间的地域的远近有关。南糯山和大平掌两个地区的遗传距离相差较大, 高达 0.303。从一致度来看, 翁基和芒景的一致度是最高的, 为 0.982, 南糯山和大平掌的一致度最低, 为 0.739, 这说明了遗传距离越远, 遗传的一致度越低, 遗传距离越近, 遗传的一致度越高, 而且遗传的一致度和遗传距离与古茶树所在的地理位置具有很强的关系。翁基、芒景、大平掌都位于惠民乡景迈山, 遗传距离均小于 0.1, 所以遗传距离很近, 遗传一致度也高; 麻黑、落水洞、高山寨都属于勐腊县易武乡, 遗传距离相对很近, 遗传一致度高。

Table 5. The genetic differentiation of ancient tea trees in different regions
表 5. 不同地区古茶树居群间的遗传分化

指标 Variable	AMOVA			
	遗传分化系数	基因流	居群间	居群内
	Fst	Nm	Among Populations	Within Populations
物种水平 Species level	0.133	1.624	13% (P < 0.001)	87% (P < 0.001)

Table 6. The genetic identity and distances among different geographical populations
表 6. 地理居群间的遗传一致度和遗传距离

	LBZ	NNS	MS	WJ	MJ	DPZ	LSD	MH	GSZ	MMS
LBZ	****	0.895	0.911	0.916	0.910	0.879	0.868	0.925	0.876	0.943
NNS	0.111	****	0.951	0.740	0.760	0.739	0.863	0.865	0.869	0.797
MS	0.093	0.050	****	0.830	0.839	0.835	0.871	0.903	0.887	0.877
WJ	0.088	0.300	0.187	****	0.982	0.921	0.817	0.847	0.785	0.967
MJ	0.095	0.274	0.175	0.019	****	0.921	0.863	0.886	0.841	0.961
DPZ	0.129	0.303	0.180	0.083	0.082	****	0.780	0.844	0.783	0.929
LSD	0.141	0.147	0.139	0.202	0.147	0.249	****	0.857	0.847	0.795
MH	0.078	0.145	0.102	0.166	0.121	0.170	0.154	****	0.979	0.893
GSZ	0.132	0.141	0.119	0.242	0.174	0.244	0.166	0.021	****	0.836
MMS	0.058	0.228	0.131	0.033	0.040	0.074	0.230	0.113	0.179	****

注：*上为遗传一致度，*下为遗传距离。

3.6. 聚类分析

根据 UPGMA 聚类图显示(图 2)，以老班章为代表的翁基、芒景、滑竹梁子、大平掌聚为一类，以南糯山为代表的小勐宋、落水洞、麻黑、高山寨聚为一类。从遗传距离来分析，麻黑和高山寨遗传距离最小，相似度最高，两者与老班章的遗传距离最大，说明各个茶山古茶树的遗传距离与地理距离有很大的关系，该结果与遗传距离的分析结果基本一致，出现这一聚类结果可能是因为长期以来的人工养护，良好的自然生态环境和一定地域范围内少数民族的宗教信仰相关。

4. 讨论

4.1. 古茶树的遗传多样性

从物种水平上看，多态性百分数是衡量一个种群遗传变异水平高低的一个重要指标，一个种群多态性百分数高说明这个物种适应不良环境能力较强，种群多态性百分数低说明物种难以适应不良环境从而在自然选择过程中就会有被淘汰的可能[15]。Shannon 信息指数(I)能反应供试材料的遗传多样性水平，西双版纳地区不同居群古茶树的多态性百分数(P = 75%)、Shannon 信息指数(I = 0.578)，期望杂合度(He = 0.353)与观察杂合度(Ho = 0.392)的平均值比较接近，说明西双版纳地区古茶树群落遗传多样性高[11]。推测古树茶遗传多样性丰富的原因可能是：第一，人为保护自然，特别是保护古茶树的意识强；第二，茶树是多年生异花授粉植物，具有自交不亲和性[16]，野生茶树长期进行着天然杂交，基因交流频繁，具有高度

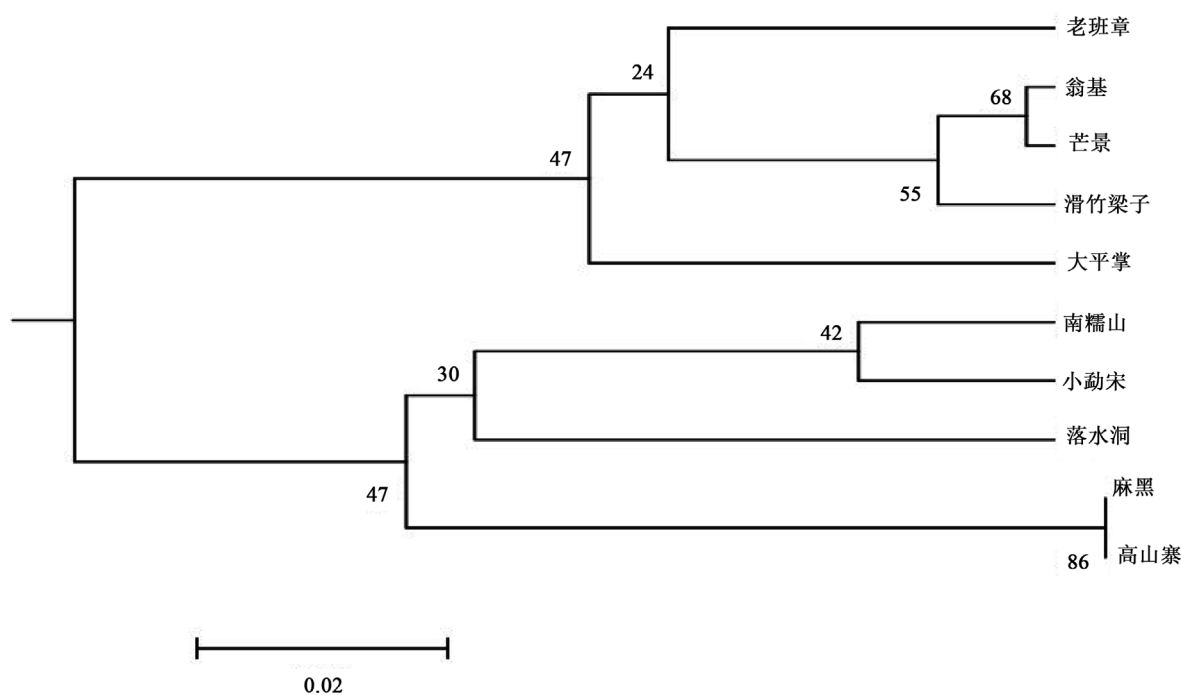


Figure 2. The ancient tea UPGMA tree clustering in different regions based on genetic distance

图 2. 基于遗传距离的不同地区古茶树 UPGMA 聚类图

杂合性和异质性，导致遗传背景复杂，呈现较高的遗传分化；第三，云南的西南部是茶树的原产地，茶树的起源可能影响不同地区的茶树遗传多样性水平[17]；第四，遗传多样性的高低与温度和复杂的生态环境有密切的关系[18]；第五，SSR 分子标记技术具有可靠性高，多态性好，操作程序简单等优点，在植物遗传育种中广泛应用，SSR 标记也在茶树分子领域中广泛利用，是茶树遗传领域的热点，在茶树的品种鉴定、遗传图谱构建及遗传多样性中广泛应用，而当前研究所采用的引物较少，所采样本也存在着一一定的局限性，在物种水平上容易导致遗传多样性指标偏高，今后应进一步开发增加 SSR 标记的数量，为茶树种质资源的应用提供更多的标记材料。

4.2. 古茶树的遗传分化

居群遗传结构是指遗传多样性在居群内和居群间的分布，即遗传分化。遗传分化主要用来衡量种群大小、组成、差异、繁育系统、隔离程度和迁移格局的时空动态[19]。有研究表明[20]，不同的物种其分布地区、环境因素、生态习性，自然选择，突变、演化阶段等的变化都会影响着种群的遗传结构。种群在遗传结构上的差异能够体现出一个种群的遗传多样性水平，一个物种对恶劣环境的适应能力与种群内的遗传变异和种群结构有关[21]。Wright 等[13]指出群体分化系数(F_{st})处于 0~0.05 之间群体分化较小，可忽略不计， F_{st} 处于 0.15~0.25 之间，属于中度分化，当 F_{st} 处于 0.25 时，出现了很大程度的分化。本研究中，古茶树群体间存在中等分化($F_{st} = 0.133$)，而 AMOVA 分子变异分析也显示了古茶树居群间产生了一定的遗传分化(13%)，古茶树的遗传多样性主要源于居群内(87%)。据有关研究表明[22]，其部分原因是异质生境导致的地理隔离和因生态破坏导致的基因流等因素。唐探[19]对镇沅县野生型茶树的 AMOVA 分子方差分析也表明，在野生茶树居群间，有 16.32% 的个体发生了变异，其余大部分的变异均发生在居群内，野生茶的居群间出现了一定程度的遗传分化。季鹏章等[23]通过 ISSR 对云南古茶树遗传多样性 AMOVA 分子方差分析，发现在变种水平上，大部分的遗传变异存在于居群内，少部分的遗传变异存在

于居群间, 居群之间表现出中度的遗传分化。遗传变异大决定了物种的进化能力强, 抵御外界不良环境的能力强[24]。此外, 基于 RAPD、AFLP、ISSR 等分子标记对于茶树资源的研究均发现[25] [26] [27] [28] [29], 绝大部分的遗传变异存在于居群内, 居群间的遗传差异对整体遗传多样性的贡献较小。这可能是因为一方面在地理区域的划分上存在着人为因素或者突变等因素影响; 另一方面可能是由于茶树是异花授粉的植物, 不同地域间的茶树不断异交, 导致不同种质类型的茶树和不同的群体间基因交流频繁, 不同群体间基因分化系数低, 遗传差异大, 导致遗传背景复杂。因此, 在采样过程中要根据茶树遗传结构特点, 在地理间隔大的基础上, 在同一个群体内多取样, 而少取群体。

基因流(Nm)是影响植物遗传变异的重要因素, 也是影响植物种群遗传结构的主要因素, 对于保护濒危植物具有重要的意义[30]。Wright [31]表明若 $Nm < 1$, 则是群体间的遗传分化是由于遗传漂变导致的, 本研究中, 基因流 $Nm=1.624 > 1$, 说明群体间的遗传分化不是由于遗传漂变产生的, 有可能是与群居所处的人文环境和人为因素的干扰有关, 气候、温度、土壤等生态因子的差异性也可能是导致品种间遗传分化的主要内因。

4.3. 古茶树遗传距离

本研究的结果中, 基于遗传距离和遗传一致度的分析结果表明, 翁基和芒景遗传距离最小, 麻黑和高山寨之间的遗传距离也相对较小, 遗传距离最大的是南糯山和大平掌两个地区, 从地理区域来看, 南糯山位于勐海县格朗和乡, 大平掌位于澜沧县惠民乡, 翁基和芒景距离较近, 同属澜沧县惠民乡景迈山, 麻黑和高山寨则隶属于勐腊县易武乡, 地理距离和遗传距离具有显著的相关性。遗传距离越远, 遗传的一致度越低, 遗传距离越近, 遗传的一致度越高。在黄晓霞等[32]对千家寨不同海拔野生茶的遗传多样性研究中, 在不同海拔上野生茶树居群的遗传距离越小(0.09), 一致性越高(0.91), 遗传距离越大(0.56), 一致性越低(0.57), 这和本研究中遗传距离和遗传一致度的关系基本一致。李赛君等[33]对 16 个茶树品种进行遗传距离分析, 高芽齐和湘红茶 2 号一致度最小(0.37), 相反遗传距离远。季鹏章等[34]用 AFLP 标记分析古茶园与台地茶园遗传多样性, 西双版纳 6 个阿萨姆茶的是南糯山和云抗 10 号的遗传距离为 0.1674, 居群间的 Nei's 遗传距离最大, 最小的是小勐宋和易武为 0.0122; 遗传一致度最大的是小勐宋和易武为 0.9879, 最小的为南糯山和云抗 10 号为 0.8459。在本研究中, 南糯山和大平掌的遗传距离最大, 一致度最小, 小勐宋和易武三个地区(落水洞、麻黑、高山寨)的遗传距离分别为 0.139、0.102 和 0.119, 两个研究结果基本趋于一致, 差值较小, 仅为 0.1 左右, 说明小勐宋和易武古茶树之间存在一定的亲缘关系, 在聚类图中聚成一个小类的古茶树又可能存在着独特的遗传关系。

姚明哲[35]对中国茶树资源的遗传结构分析也得出了同样的结论。说明了西双版纳地区古茶树资源的遗传多样性广泛存在, 因此要进一步对古茶树种质资源开发与利用, 合理选择遗传多样性高, 遗传结构有差异的古茶树种质资源, 在育种方面高度重视不同地理区域的种质资源, 拓宽同一地理区域不同种质资源的遗传多样性基础性作用。对于遗传多样性水平高的古树茶资源要加以重视和保护, 近几年由于古树茶价格不断攀升, 部分地区保护不当导致采摘严重、开发不当, 造成了一些古茶树资源破坏。

古茶树种质资源是云南的特色资源, 如果一旦遭到破坏, 将严重威胁着整个居群的丧失繁衍, 从而影响到云南古茶树种质资源的遗传多样性和种群居群规模。所以, 古茶树的遗传多样性研究可以为珍稀古茶树资源的鉴定、保护和利用提供一定的遗传基础。

致 谢

本研究依托云南省多年生稻工程技术研究中心, 由国家重点基础研究发展计划(973 计划)(2013CB835201)资助完成。

参考文献

- [1] 陈杖洲, 陈培钧. 丰富的古茶树资源是世界茶树原产地的最好证明[J]. 农业考古, 2007(5): 257-267.
- [2] 骆耀平. 茶树栽培学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011: 31-33.
- [3] 陈进, 裴盛基. 茶树栽培起源的探讨[J]. 云南植物研究, 2003(增刊) (14): 33-40.
- [4] 王平盛, 虞富莲. 中国野生大茶树的地理分布、多样性及其利用价值[J]. 茶叶科学, 2002, 22(2): 105-108.
- [5] 刘本英, 孙雪梅, 宋维希, 蒋会兵, 矣兵, 段志芬, 马玲, 汪云刚, 孙承冕. 云南西双版纳古茶树的地理分布、多样性及其利用[J]. 中国农通报, 2010, 26(22): 344-349.
- [6] 刘振, 王新超, 赵丽萍. 基于 EST-SSR 的西南茶区茶树资源遗传多样性和亲缘关系分析[J]. 分子植物育种, 2008, 6(1): 100-110.
- [7] 段云裳. 利用 SSR 标记研究我国茶树无性品种的遗传多样性和亲缘关系[D]: [硕士学位论文]. 南京: 南京农业大学, 2009.
- [8] 尚卫琼, 段志芬, 杨毅坚, 李友勇, 成浩, 刘杰, 杨兴荣, 杨盛美, 矣兵, 刘本英, 毕晓清. 基于 EST-SSR 标记的云南大叶茶资源遗传多样性分析[J]. 山东农业科学, 2018, 50(1): 16-22.
- [9] 王磊. 基于茶树基因组信息的 SSR 分子标记的筛选及其初步应用[D]: [硕士学位论文]. 合肥: 安徽农业大学茶与食品科技学院, 2012.
- [10] 黄建安, 黄意欢, 罗军武, 王坤波, 周李华. 茶树基因组 DNA 的高效提取方法[J]. 湖南农业大学学报, 2003, 29(50): 402-407.
- [11] Nei, M. (1978) Estimation of Average Heterozygosity and Genetic Distance from a Small Number of Individuals. *Genetics*, **89**, 583-590.
- [12] Wright, S. (1965) The Interpretation of Population Structure by F-Statistics with Special Regard to Systems of Mating. *Evolution*, **19**, 395-420. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.1965.tb01731.x>
- [13] Wright, S. (1977) *Evolution and the Genetics of Populations: Experimental Results and Evolutionary Deductions*. The University of Chicago Press, Chicago, IL.
- [14] 黄丹娟. 我国茶树优良品种遗传多样性分析及指纹图谱构建[D]: [硕士学位论文]. 北京: 中国农科院茶叶研究所, 2016.
- [15] 顾万春, 王棋, 游应天, 孙翠玲. 森林遗传资源学概论[M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1997: 1-29.
- [16] 曾贞. 混合花粉授粉茶树杂交 F1 代 AFLP 分析及优株选择[D]: [硕士学位论文]. 长沙: 湖南农业大学茶学系, 2007.
- [17] 刘振, 姚明哲, 王新超, 陈亮. 基于 EST-SSR 的福建地区茶树资源遗传多样性和亲缘关系分析[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5): 1720-1727.
- [18] 汪小全, 邹喻莘, 张大明, 洪德元, 刘正宇. 银杉遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 中国科学: C 辑, 1996, 26(5): 718-724.
- [19] 唐探. 基于 EST-SSR 标记的云南镇沅县野生型茶树和栽培型茶树的遗传多样性研究[D]: [硕士学位论文]. 昆明: 西南林业大学园艺系, 2016.
- [20] 雷一东. 大花红景天的 ISSR 遗传多样性与精油化学成分多样性研究[D]: [博士学位论文]. 上海: 复旦大学生命科学院, 2004.
- [21] 钟章成. 植物种群生态适应机理研究[M]. 北京: 科学出版社, 2000.
- [22] 黄玮, 孙平, 张文生, 孟繁蕴, 王永炎, 冯成强. 北京东灵山地区不同海拔柴胡居群的遗传多样性[J]. 植物遗传资源学报, 2008, 9(4): 453-457.
- [23] 季鹏章, 张俊, 王平盛, 黄兴奇, 许玫, 唐一春, 梁名志. 云南古茶树(园)遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 茶叶科学, 2007, 27(4): 271-279.
- [24] Grant, V. (1991) *The Evolutionary Process: A Critical Study of Evolutionary Theory*. 2nd Edition, Columbia University Press, New York.
- [25] 沈程文, 黄意欢, 黄建安, 罗军武, 刘春林, 刘德华. 湖南典型茶树地理种群遗传多样性[J]. 农业生物技术学报, 2007, 15(5): 855-860.
- [26] Zhao, L.P., Liu, Z., Chen, L., Yao, M.Z. and Wang, X.C. (2008) Generation and Characterization of 24 Novel EST Derived Microsatellites from Tea Plant (*Camellia sinensis*) and Cross-Species Amplification in Its Closely Related

- Species and Varieties. *Conservation Genetics*, **9**, 1327-1331. <https://doi.org/10.1007/s10592-007-9476-y>
- [27] Wachira, F., Tanaka, J. and Takeda, Y. (2001) Genetic Variation and Differentiation in Tea (*Camellia sinensis*) Germplasm Revealed by RAPD and AFLP Variation. *Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, **76**, 557-563.
- [28] Wachira, F.N., Waugh, R., Hackett, C.A. and Powell, W. (1995) Detection of Genetic Diversity in Tea (*Camellia sinensis*) Using RAPD Markers. *Genome*, **38**, 201-210. <https://doi.org/10.1139/g95-025>
- [29] Paul, S., Wachira, F.N., Powell, W. and Waugh, R. (1997) Diversity and Genetic Differentiation among Populations of Indian and Kenyan Tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) Revealed by AFLP Markers. *Theoretical and Applied Genetics*, **94**, 255-263. <https://doi.org/10.1007/s001220050408>
- [30] 陈小勇. 植物的基因流及其在濒危植物保护中的作用[J]. 生物多样性, 1996, 4(2): 97.
- [31] Wright, S. (1951) The Genetical Structure of Populations. *Annals of Eugenics*, **15**, 323-354. <https://doi.org/10.1111/j.1469-1809.1949.tb02451.x>
- [32] 黄晓霞, 唐探, 姜永雷, 等. 千家寨不同海拔野生茶树的 EST-SSR 遗传多样性研究[J]. 茶叶科学, 2015, 35(4): 347-353.
- [33] 李赛君, 王旭, 段继华, 董丽娟, 张曙光. 16 个茶树品种(系)遗传多样性及遗传结构的 SSR 标记分析[J]. 湖南农业科学, 2011(23): 6-9.
- [34] 季鹏章, 蒋会兵, 黄兴奇, 张俊, 梁名志, 王平盛. 古茶园、台地茶园遗传多样性的 AFLP 分析[J]. 遗传, 2009, 31(1): 101-108.
- [35] 姚明哲. 利用 ISSR 和 EST-SSR 标记研究中国茶树资源的遗传多样性和遗传结构[D]: [博士学位论文]. 杭州: 浙江大学农学与生物技术学院, 2009.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2168-5665, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱: br@hanspub.org