

## 研究报告

## Research Report

## 闽南乌龙茶茶树种质资源 RAPD 指纹图谱构建及遗传多样性分析

陈志丹<sup>✉</sup>, 李振刚<sup>✉</sup>, 孙威江<sup>✉</sup>

福建农林大学园艺学院, 福州, 350002

<sup>✉</sup> 通讯作者: [gaodong521@yahoo.com.cn](mailto:gaodong521@yahoo.com.cn) <sup>✉</sup> 作者

分子植物育种, 2012 年, 第 10 卷, 第 73 篇 doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0073

收稿日期: 2012 年 06 月 07 日

接受日期: 2012 年 07 月 05 日

发表日期: 2012 年 12 月 21 日

文首次发表在《分子植物育种》(2012 年第 10 卷第 6 期 731-739 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

引用格式(中文):

陈志丹等, 2012, 闽南乌龙茶茶树种质资源 RAPD 指纹图谱构建及遗传多样性分析, 分子植物育种(online) Vol.10 No.73 pp.1535-1541 (doi:10.5376/mpb.cn.2012.10.0073)

引用格式(英文):

Chen et al., 2012, Fingerprinting Construction and Genetic Diversity Analysis of Minnan Oolong Tea Germplasm Resources by RAPD Markers, Fenzi Zhiwu Yuzhong (online) (Molecular Plant Breeding) Vol.10 No.73 pp. 1535-1541 (doi: 10.5376/mpb.cn.2012.10.0073)

**摘要** 利用 RAPD 分子标记技术构建了 30 份闽南乌龙茶茶树种质的 DNA 指纹图谱, 结果表明使用同一扩增引物的特异谱带类型和不同扩增引物的谱带类型组合可以有效鉴别闽南乌龙茶茶树种质资源; 10 条 RAPD 引物共扩增出 103 条谱带, 其中 80 条具有多态性, 占 77.67%。通过 UPGMA 法聚类分析, 30 份茶树种质被聚为 2 个类群, 供试种质间的平均遗传相似系数为 0.603, 遗传关系树状图在分子水平上清楚的显示了闽南乌龙茶茶树种质资源间的亲缘关系, 为评估供试样品的遗传演化地位并从中选择适宜种质作为亲本进行茶树育种研究提供依据。

**关键词** 闽南乌龙茶; 茶树种质; RAPD 指纹图谱; 遗传多样性

## Fingerprinting Construction and Genetic Diversity Analysis of Minnan Oolong Tea Germplasm Resources by RAPD Markers

Chen Zhidan<sup>✉</sup>, Li Zhengang<sup>✉</sup>, Sun Weijiang<sup>✉</sup>

College of Horticulture, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou, 350002, P.R. China

<sup>✉</sup> Corresponding author, [swj8103@126.com.cn](mailto:swj8103@126.com.cn); <sup>✉</sup> Authors

**Abstract** The fingerprinting of 30 Minnan oolong tea germplasms was constructed based on RAPD molecular marker technology, the results showed the tested tea varieties can be identified by using the same amplicon banding patterns and combination of different amplicon banding patterns; total of 103 bands were generated with 10 RAPD primers, which 80 (77.67%) were polymorphic. Using UPGMA method, the cluster analysis revealed that these tea germplasms were clustered into two groups, and the mean genetic similarity coefficient of tested tea germplasms were 0.603. The genetic relationships of tea germplasms were clearly revealed in the dendrogram, and it would provide a basis for evaluating the genetic evaluation status of the tested samples and choosing appropriate germplasm as parents for tea breeding program.

**Keywords** Minnan oolong tea; Tea germplasm; RAPD fingerprinting; Genetic diversity

### 研究背景

福建省茶树栽培历史悠久, 是我国茶树无性系品种的起源地。闽南地区作为福建乌龙茶的主要产地, 拥有较为丰富的茶树种质资源, 广大茶农和育种工作者在长期的生产实践和育种研究中, 采用单株选育和杂交育种等方法筛选、培育除了铁观音、黄金桂、梅占、毛蟹、本山、八仙等一批通过国家审(认)定的茶树良种, 是福建乌龙茶茶树品种资源较为丰富的地区。因此, 对这些茶树遗传多样性的研究和评价有利于提高这些茶树资源在茶树优质、高产和特异性

育种领域的应用。

福建省茶树栽培历史悠久, 是我国茶树无性系品种的起源地。闽南地区作为福建乌龙茶的主要产地, 拥有较为丰富的茶树种质资源, 广大茶农和育种工作者在长期的生产实践和育种研究中, 采用单株选育和杂交育种等方法筛选、培育除了铁观音、黄金桂、梅占、毛蟹、本山、八仙等一批通过国家审(认)定的茶树良种, 是福建乌龙茶茶树品种资源较为丰富的地区。因此, 对这些茶树遗传多样性的研究和评价有利于提高这些茶树资源在茶树优质、高产和特

异性育种领域的应用。

对茶树种质的遗传特性进行有效的鉴定和评价, 有利于提高茶树种质资源研究与利用的水平。分子标记技术可用于研究了解茶树基因遗传变异情况、茶树居群分布及其进化关系, 可增加茶树育种的针对性, 提高育种效率。在茶树种质遗传多样性和种质亲缘关系研究方面, DNA 分子标记技术有着广泛的应用, 并以其扩增多态性丰富、准确性高、重复性好、不受器官发育时期的特异性以及环境影响且易于分析等特点, 在种质鉴定和遗传基础分析等研究领域具有较大潜力(王建波, 2002)。RAPD 分子标记基于 PCR 技术基础, 可应用于构建物种的 DNA 指纹图谱并利用其进行种质鉴定、分析评价物种亲缘关系的远近以及物种进化演进等研究(李娟等, 2005)。目前, RAPD 技术已用于甘薯(王红意等, 2009)、小麦(程保山等, 2011)、黄瓜(刘丽娟等, 2009)、黄芪(高霞等, 2011)、百合(童巧珍等, 2010)等植物的基因指纹图谱和种质亲缘关系鉴定等研究, 在茶树系统进化和演变、茶树亲缘关系鉴定评价等方面, RAPD 技术也以其扩增多态性好, 扩增效果稳定, 可直接反映茶树在基因水平上的变化和差异等特点, 广泛应用于茶树遗传多样性及亲缘关系(林政和等, 2006; 黎星辉等, 2007; 李娟等, 2005; 王雪萍等, 2007)、特异性茶树种质筛选鉴定(王会等, 2008; 李开荣等, 2007, 浙江农业科学, (1): 50-55)等研究领域。

本研究基于 RAPD 分子标记技术构建了 30 份福建闽南乌龙茶茶树种质的 DNA 指纹图谱, 研究了供试种质的遗传多样性, 揭示了 30 份茶树种质的遗传

亲缘关系, 为有效鉴定和分析乌龙茶茶树种质资源遗传性状, 筛选适宜的亲本进行育种研究提供科学依据, 也为保护部分优异乌龙茶茶树种质资源的知识产权提供理论参考。

## 1 结果分析

### 1.1 RAPD 引物扩增多态性分析

筛选出的 10 条扩增多态性较好、条带清晰的引物在 30 份茶树种质中共扩增出 103 条谱带, 其中 80 条为多态性谱带, 多态性比率达到 77.67%。从表 1 中可以看出, 不同引物扩增的多态性条带在 6~13 条之间, 平均每条引物扩增出 8 条多态性条带, 这说明供试茶树种质具有较为丰富的遗传多样性。使用不同引物扩增获得的条带数量在 9~15 条之间, 平均每个引物扩增出 11.36 条; 其中引物 S183 扩增出 13 个位点的条带, 扩增条代数最多(图 1)。由此可知, 采用 RAPD 分子标记方法用于乌龙茶茶树种质资源指纹图谱的构建进而区分不同茶树种质是可行的。

### 1.2 闽南龙茶茶树种质指纹图谱

应用分子标记技术鉴别种质, 使用尽可能少的扩增引物数量获得最高效的鉴别效果尤为重要(刘本英等, 2008)。本实验筛选出的 10 条引物中, S118、S294、S183、S467、S481 等引物均产生了丰富的谱带类型(表 2), 在鉴别试验供试样品中表现出高效性, 如利用引物 S118 和 S294 所产生的特异型谱带, 均可独立鉴别出 30 份乌龙茶茶树种质中的 24 份种质, 利用引物 S183 的特异型谱带则可鉴别出 17 份种质

同时, 应用不同引物组合也能有效鉴别出供试

表 1 不同引物对 PCR 扩增产物的多态性

Table 1 Polymorphism of PCR amplification products amplified by different primers

引物编号 Primer No.	引物序列 Primer sequence	扩增位点数 Amplified loci	多态性位点 Loci	多态性比率(%) Loci rate (%)
S113	GACGCCACAC	10	6	60.00
S118	GAATCGGCCA	12	10	83.33
S154	TGCGGCTGAG	7	6	85.71
S167	CAGCGACAAG	9	6	66.67
S180	AAAGTGCGGC	9	7	77.78
S183	CAGAGGTCCC	13	13	100.00
S294	GGTCGATCTG	12	10	83.33
S467	GTCCATGCCA	12	10	83.33
S481	GGGACGATGG	10	6	60.00
S492	AGTAGGGCAC	9	6	66.67
总计 Total		103	80	77.67

M 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30

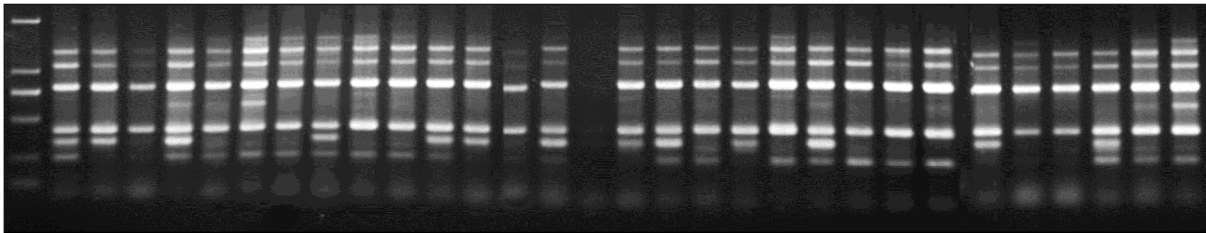


图 1 引物 S113 的扩增结果

注: M: DL 2 000 bp DNA ladder marker; 1~30: 样品

Figure 1 Amplification results of primer S113

Note: M: DL 2 000 bp DNA ladder marker; 1~30: Tested sampl

茶树种质, 如将引物 S118 和 S294 结合可以鉴别出供试样品中的 29 份茶树种质, 再增加 S467、S113、S154、S183 和 S481 中任意一条引物即可鉴别出所有 30 份茶树种质。由此表明, 使用 RAPD 分子标记技术构建茶树 DNA 指纹图谱, 鉴别乌龙茶茶树种质资源是可行的。

### 1.3 闽南乌龙茶茶树种质遗传距离及聚类分析

利用筛选出的 10 条扩增多态性较好、条带清晰的引物的 RAPD 扩增数据计算 30 份闽台乌龙茶茶树种质资源的遗传变异系数, 其 JACCARD 相似系数介于 0.476~0.836 之间, 平均相似系数为 0.603, 其中金观音和白芽观音遗传相似度最高, 相似系数达 0.836, 金面观音和佛手遗传距离最远, 相似系数为 0.461。

采用 UPGMA 法, 分析 RAPD 扩增谱带统计计算的原始矩阵, 构建了 30 份闽南乌龙茶茶树种质的遗传关系聚类图(图 2)。30 份茶树种质可分为两大类群, 类群 1 只有箬绮和大叶乌龙两个品种, 说明他们与其他种质间的亲缘关系较远。类群 2 可分为 3 亚类, 其中水仙、金面观音和赤叶聚为第一亚类, 铁观音、佛手、杏仁茶、雪梨、科山种聚为第二亚类, 其余种质聚为第三亚类, 与第一、第二亚类亲缘关系较远。第三亚类中包含三个亚群, 乞丐仙、红骨乌龙、红芽观音和梅占聚为亚群一, 白芽观音、金观音、毛蟹、本山、祥华 8 号、安溪肉桂聚为亚群二, 亚群三包括 2 个小亚群, 台茶 12 号、祥华 1 号、安溪白茶、桃仁聚为一小亚群, 圆叶黄桧、皱面吉、黄金桂、八仙、凤圆春、白观音聚为另一小亚群。

## 2 讨论

### 2.1 闽南乌龙茶茶树种质资源遗传多样性

依据 Wachira 等(1995)应用 RAPD 技术研究了肯尼亚 38 份无性系茶树种质资源, 得出其扩增多

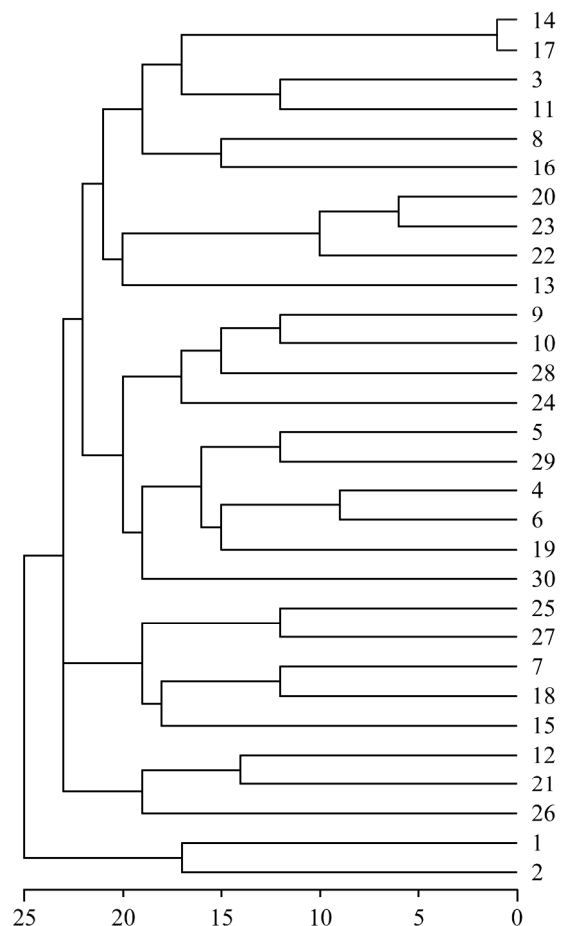


图 2 30 份茶树种质的 Jaccard 遗传相似聚类树状图

Figure 2 Dendrogram of 30 tea germplasms based on jaccard coefficient

态性为 62%, 本实验的供试样本多为闽南地区特别是安溪地区的茶树品种(系), 运用 RAPD 分子标记技术依然表现出较高的遗传多态性(77.67%), 说明运用 RAPD 分子标记技术分析乌龙茶茶树种质资源遗传多态性是可行的, 也表明安溪地方茶树种质遗传多样性水平较高。

## 2.2 闽南乌龙茶茶树种质资源遗传亲缘关系

依据姚明哲等(2007)的研究,我国无性系茶树栽培品种的相似系数在 0.58~0.84 之间, Mirshra 和 Sen-Mandi (2004)研究了 29 份印度大吉岭地区的无性系茶树种质,得出其相似系数为 0.68~0.92,表明这些茶树种质遗传基础都比较狭窄。本实验 30 份乌龙茶茶树种质多为无性系,从其 Jaccard 遗传相似性分析结果看,遗传相似系数多在 0.6 以上,也表明它们的亲缘关系较近,较高的遗传相似系数也可能与供试茶树样本多原产于安溪地区有关,所以在后续的茶树育种研究中,可适当扩大育种亲本的选择范围,适当选择具有遗传特异性的优良茶树种质及野生茶树种质资源。

## 2.3 乌龙茶茶树种质资源遗传特性鉴定

茶树为高度杂合体,且为异花授粉植物,在长期的压条、扦插和杂交育种等繁殖进程,产生并积累了大量的不连续变异,在无严格生殖隔离的情形下,其遗传背景趋于复杂,同时,异地种植的茶树其遗传特性长期受当地生长环境和立地条件的影响也可

能发生变化(刘本英等, 2008; 陈文雄等, 2008)。本实验所取的 30 份样本特别是其中一些皆发源于统一地区的茶树种质,在遗传聚类分析时也被划分为明显不同的类群,这也可能是由于杂交所引起不连续变异以及长期压条、扦插等无形繁殖方式带来的变异累积导致的。

闽南乌龙茶茶树种质资源分子指纹图谱和遗传多样性的研究有利于乌龙茶茶树种质资源的分子基因水平研究的深入开展,对乌龙茶茶树遗传育种和种质改良、优质特异茶树种质保护、乌龙茶核心种质的构建也在种质遗传水平提供了更为充分的科学依据。

## 3 材料与方法

### 3.1 实验材料

供试材料为 30 份闽台茶树种质(表 3),采自福建安溪茶叶科学研究所种质资源圃。实验剪取无病虫害、健康完整的一芽一叶或一芽二叶,用液氮速冻固样 30 s 后,将样品至于-80℃的超低温冰箱中储藏备用。

表 3 供试品种(系)

Table 3 Cultivars used in this experiment

编号 Series No.	品种(系) Cultivars (lines)	类型 Types
1	笋绮 Shaoqi	无性系, 灌木, 中叶种, 中生种 Clone variety, shrub form, middle leaf, medium sprouting variety
2	大叶乌龙 Daye oolong	灌木, 中叶种, 中生种 Shrub form, middle leaf, medium sprouting variety
3	毛蟹 Maoxie	无性系, 灌木, 中叶种, 中生种, 混倍体 Clone variety, shrub form, middle leaf, medium sprouting variety, mixoploid
4	黄金桂 Huang jingui	小乔木, 中叶种, 早生种 Semi-treerescient form, middle leaf, early sprouting variety
5	圆叶黄桧 Yuanye huangda	安溪县地方品种 Landrace of Anxi county
6	八仙 Baxian	小乔木, 大叶, 特早生种 Semi-treerescient form, large leaf, particular early sprouting variety
7	铁观音 Tie guanyin	无性系, 灌木, 中叶种, 晚生种 Clone variety, shrub form, middle leaf, late sprouting variety
8	祥华 8 号 Xianghua8	安溪县地方品种 Landrace of Anxi county
9	台茶 12 号 Taiwan tea12	无性系, 灌木, 中叶种, 中生种(偏早) Clone variety, shrub form, middle leaf, middle sprouting variety (earlier)
10	祥华 1 号 Xianghua1	安溪县地方品种 Landrace of Anxi county
11	本山	灌木, 中叶种, 中生种

编号 Series No.	品种(系) Cultivars (lines)	类型 Types
12	Benshan 水仙	Shrub form, middle leaf, middle sprouting variety 小乔木, 大叶种, 晚生种, 三倍体
13	Shuixian 梅占	Semi-treerescent form, large leaf, particular, late sprouting variety, triploid 小乔木, 中叶种, 中生种
14	Meizhan 白芽观音	Semi-treerescent form, middle leaf, middle sprouting variety 灌木, 小叶种, 晚生种
15	Baiya guanyin 佛手	Shrub form, small leaf, late sprouting variety 灌木, 大叶种, 中生种
16	Foshou 安溪肉桂	Shrub form, small leaf, middle sprouting variety 安溪县地方品种
17	Anxi rougui 金观音	Landrace of Anxi county 小乔木, 中叶种, 早生
18	Jinguanjin 杏仁茶	Semi-treerescent form, middle leaf, early sprouting variety 灌木, 中叶种, 晚生种
19	Xinrencha 凤圆春	Shrub form, middle leaf, late sprouting variety 灌木, 中叶种, 晚生种, 单株选育
20	Fengyuanchun 乞丐仙	Shrub form, middle leaf, late sprouting variety, single-tree breeding 安溪县地方品种, 单株选育
21	Qigaixian 金面观音	Landrace of Anxi county, single-tree breeding 安溪县地方品种, 单株选育
22	Jinmian guanyin 红芽观音	Landrace of Anxi county, single-tree breeding 安溪县地方品种
23	Hongya guanyin 红骨乌龙	Landrace of Anxi county 灌木, 小叶种, 中生种
24	Honggu oolong 桃仁	Shrub form, small leaf, middle sprouting variety 灌木, 中叶种, 中生种
25	Taoren 科山种	Shrub form, middle leaf, middle sprouting variety 小乔木, 中叶种, 早生种, 安溪县地方品种
26	Keshang species 赤叶	Semi-treerescent form, middle leaf, early sprouting variety, local variety 小叶种, 中生种
27	Chiye 雪梨	Small leaf, middle sprouting variety 安溪县地方品种, 单株选育
28	Xueli 安溪白茶	Landrace of Anxi county local variety, single-tree breeding 无性系, 灌木, 中叶种, 早生种
29	Anxi white tea 皱面吉	Clone variety, shrub form, middle leaf, early sprouting variety 无性系, 灌木, 中叶种, 中生种
30	Zhoumianji 白观音	Clone variety, shrub form, middle leaf, middle sprouting variety 安溪县地方品种, 单株选育
	Baiguanyin	Landrace of Anxi county, single-tree breeding

### 3.2 茶树 DNA 提取技术

使用改良 CTAB-mini 法提取茶树 DNA。采用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 完整性, 使用紫外分光光度计检测 260 nm 和 280 nm 的 OD 值并计算 DNA 纯度和浓度。

### 3.3 RAPD 引物筛选

从 37 对 RAPD 引物中筛选出 11 条扩增多态性

好、条带清晰的引物, 用于本实验供试材料 DNA 的 RAPD-PCR 扩增。所有引物均由上海 Sangon 生物工程技术服务有限公司生产合成。

### 3.4 RAPD 扩增体系

使用 BIOMETRA Tprofessional Standard 96 PCR 仪进行 RAPD 的扩增反应, PCR 的扩增反应体系采用 20  $\mu$ L 体系, 即: 2.0  $\mu$ L (20 ng/ $\mu$ L) 的 DNA 模板,

2.0  $\mu\text{L}$   $10\times$  PCR Buffer, 1.6  $\mu\text{L}$  dNTP (2.5 mmol/L), 0.3  $\mu\text{L}$  的 Taq DNA 聚合酶(5 U/ $\mu\text{L}$ ), 0.7  $\mu\text{L}$  的随机引物(10 mmol/L), 13.4  $\mu\text{L}$  的 ddH<sub>2</sub>O 补足反应体系。

PCR 的扩增反应程序如下: 首先 94 $^{\circ}\text{C}$  预变性 4 min, 后 94 $^{\circ}\text{C}$  变性 45 s, 38 $^{\circ}\text{C}$  退火 1 min, 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 1.5 min, 进行 40 个反应循环, 最后 72 $^{\circ}\text{C}$  延伸 10 min, 在 4 $^{\circ}\text{C}$  保存。

扩增产物用 1.5% 琼脂糖凝胶在  $1\times$  TAE 电泳缓冲液中进行电泳, 电场为 5 V/cm, 电泳后用 EB 染色, 用 UVP GelDoc-It 凝胶成像系统拍照记录。

### 3.5 数据处理与分析

对凝胶电泳成像图进行人工读带, 将成像图上可重复的、清晰的扩增条带计为“1”, 同一扩增位点处无条带或肉眼不易分辨的弱带计为“0”, 建立原始矩阵。使用 SPSS18.0 软件分析其 Jaccard 遗传系数, 采用 UPGMA 法进行测试样本的聚类分析, 建立聚类树状图。

### 作者贡献

陈志丹、李振刚和孙威江是本研究的实验设计和实验研究的执行人; 陈志丹、李振刚完成数据分析, 论文初稿的写作; 孙威江是项目的构思者及负责人, 指导实验设计, 数据分析, 论文写作与修改。全体作者都阅读并同意最终的文本。

### 致谢

本研究由国家科技部科技项目(2010DFB330304, S2011C400031, 2011BAD01B01)和福建省农业科技重大项目(2011N5006)共同资助。

### 参考文献

- Chen B.S., Xu H.F., Gu Z.Z., Sun S.Y., Zhou Y.M., and Yang J.Y., 2011, Establishment of SSR fingerprint map and analysis of genetic diversity among main wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) in Huai'an region, Zhejiang Nongye Xuebao (Acta Agriculturae Zhejiangensis), 23(1): 20-24 (程保山, 徐海凤, 顾正中, 孙苏阳, 周羊梅, 杨加银, 2011, 淮安地区主栽小麦品种指纹图谱的构建及遗传多样性分析, 浙江农业学报, 23(1): 20-24)
- Chen W.X., Ji P.Z., Huang X.Q., Zhang J., and Tang Y.C., 2008, Parentage identification of suspicious filial generations from “BenShan tea” and “MengKu tea” using RAPD marker, Beifang Yuanyi (Northern Horticulture), (10): 153-155 (陈文雄, 季鹏章, 黄兴奇, 张俊, 唐一春, 2008, 本山茶与勐库茶疑似杂交后代的RAPD鉴定, 北方园艺, (10): 153-155)
- Gao X., Zhao J.F., He W.P., Ma J.X., and Yi F.Y., 2011, Analysis on RAPD fingerprints and genetic relationship of

- Astragalus hybrid, Zhongzi (Seed), 30(1): 27-30 (高霞, 赵景峰, 何为平, 马金星, 伊凤艳, 2011, 黄芪杂交种 RAPD指纹图谱及其亲缘关系分析, 种子, 30(1): 27-30)
- Li J., Jiang C.J., and Wang C.X., 2005, RAPD analysis on genetic diversity of the preconcentrated core germplasms of *Camellia sinensis* in China, Yichuan (Hereditas), 27(5): 765-771 (李娟, 江昌俊, 王朝霞, 2005, 中国茶树初选核心种质遗传多样性的RAPD分析, 遗传, 27(5): 765-771)
- Li X.H., Zhang C.Z., Liu C.L., Shi Z.P., Luo J.W., and Chen X., 2007, RAPD analysis of the genetic diversity in Chinese tea germplasm, Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica), 34(2): 507-508 (黎星辉, 章传政, 刘春林, 施兆鹏, 罗军武, 陈暄, 2007, 中国茶组植物种质资源遗传多样性的RAPD分析, 园艺学报, 34(2): 507-508)
- Lin Z.H., Chen C.S., and Chen R.B., 2006, RAPD analysis of the thirty-nine tea cultivars in China, Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding), 4(5): 695-701 (林政和, 陈常颂, 陈荣冰, 2006, 我国39个茶树品种的RAPD分析, 分子植物育种, 4(5): 695-701)
- Liu B.Y., Wang L.Y., Zhou J., Tang Y.C., Chen H., Wang P.S., and Jiang Y.W., 2008, Fingerprinting construction and genetic diversity analysis of Yunnan dayezhong tea germplasm resources by ISSR markers, Zhiwu Yichuan Ziyuan Xuebao (Journal of Plant Genetic Resources), 9(4): 458-464 (刘本英, 王丽鸳, 周健, 唐一春, 成浩, 王平盛, 江用文, 2008, 云南大叶种茶树种质资源ISSR指纹图谱构建及遗传多样性分析, 植物遗传资源学报, 9(4): 458-464)
- Liu L.J., Qian C.T., Chen J.F., and Yu J.Z., 2009, Construction of RAPD fingerprinting and genetic similarity analysis among cucumber varieties, Jiangsu Nongye Xuebao (Jiangsu Journal of Agricultural Sciences), 25(4): 824-828 (刘丽娟, 钱春桃, 陈劲枫, 余纪柱, 2009, 黄瓜品种 RAPD指纹图谱的构建及遗传相似性分析, 江苏农业学报, 25(4): 824-828)
- Mirshra R.K., and Sen-Mandi S., 2004, Genetic diversity estimates for Darjeeling tea clones based on amplified fragment length polymorphism markers, Journal of Tea Science, 24(2): 86-92
- Tong Q.Z., Zhou R.B., Liu X.D., Sheng X.B., and Wang C.H., 2010, Study on genetic relationship between different resources of lily and RAPD fingerprint of lily, Hunan Zhongyiyao Daxue Xuebao (Journal of Traditional Chinese Medicine University of Hunan), 30(3): 32-36 (童巧珍, 周日宝, 刘湘丹, 盛孝邦, 王朝晖, 2010, 百合种质资源间亲缘关系及RAPD指纹图谱分析, 湖南中医药大学学报, 30(3): 32-36)
- 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 <http://dx.doi.org/10.1139/g95-025> PMID:7774794
- Wang H., Liang Y.R., and Lu J.L., 2008, Analysis of low caffeine tea lines by RAPD and cloning of special molecular markers, *Chaye (Journal of Tea)*, 34(1): 29-33 (王会, 梁月荣, 陆建良, 2008, 低咖啡因茶树品系的RAPD分析及特异性片段的克隆, *茶叶*, 34(1): 29-33)
- Wang H.Y., Zhai H., Wang Y.P., He S.Z., and Liu Q.C., 2009, RAPD fingerprints and genetic variations of the 30 main sweetpotato varieties in China, *Fenzi Zhiwu Yuzhong (Molecular Plant Breeding)*, 7(5): 879-884 (王红意, 翟红, 王玉萍, 何邵贞, 刘庆昌, 2009, 30个中国甘薯主栽品种的RAPD指纹图谱构建及遗传变异分析, *分子植物育种*, 7(5): 879-884)
- Wang J.B., 2002, ISSR markers and their applications in plant genetics, *Yichuan (Hereditas)*, 24(5): 613-616 (王建波, 2002, ISSR分子标记及其在植物遗传学研究中的应用, *遗传*, 24(5): 613-616)
- Wang X.P., Ma B.T., Qi G.N., Tian H., Fang C.Y., Zhang Z.C., and Yin X.M., 2007, RAPD analysis on the genetic relationships of tea cultivars grown in Sichuan, *Yuanyi Xuebao (Acta Horticulturae Sinica)*, 34(1): 242-244 (王雪萍, 马炳田, 齐桂年, 田鸿, 方倡友, 张泽岑, 尹旭敏, 2007, 四川主栽茶品种亲缘关系的RAPD分析, *园艺学报*, 34(1): 242-244)
- Yao M.Z., Chen L., Wang X.C., Zhao L.P., and Yang Y.J., 2007, Genetic diversity and relationship of clonal tea cultivars in China revealed by ISSR markers, *Zuowu Xuebao (Acta Agronomica Sinica)*, 33(4): 598-604 (姚明哲, 陈亮, 王新超, 赵丽萍, 杨亚军, 2007, 我国茶树无性系品种遗传多样性和亲缘关系的ISSR分析, *作物学报*, 33(4): 598-604)

表 2 30 份乌龙茶茶树种质 RAPD 指纹图谱

Table 2 RAPD fingerprinting of 30 oolong tea germplasm

编号 No.	茶树种质 Tea Germplasm	引物名称及指纹图谱 Prime name and fingerprinting									
		S467	S113	S154	S492	S180	S118	S183	S294	S481	S167
1	筲绮 Shaoqi	<b>101100111100</b>	0111001101	1110101	000011110	010111001	<b>010101111000</b>	<b>0000010101000</b>	<b>001010100001</b>	0111001101	<b>111000011</b>
2	大叶乌龙 Daye oolong	001100001000	0111001100	1110101	000011110	010111001	<b>000000111000</b>	<b>0001111110001</b>	<b>011111111001</b>	0111001100	011000011
3	毛蟹 Maoxie	101000111100	0111001000	0001101	000011111	010111001	<b>011100111000</b>	<b>0000111110000</b>	<b>011101100001</b>	0111001000	<b>010000011</b>
4	黄金桂 Huang jingui	<b>001100011110</b>	<b>1111111101</b>	0001101	<b>010111111</b>	010111011	<b>111001111101</b>	0000111100000	<b>011111101111</b>	0111111101	011110111
5	圆叶黄桧 Yuanye huangdan	001110111100	1111011011	1111111	000011111	<b>010011010</b>	<b>110001111011</b>	<b>0001011101001</b>	<b>001111100111</b>	1111001011	011110111
6	八仙 Baxian	<b>011100111100</b>	<b>1111111011</b>	<b>0001111</b>	<b>011111011</b>	<b>110111010</b>	<b>110101111101</b>	<b>0001101101001</b>	011111111111	<b>1111111011</b>	011010111
7	铁观音 Tie guanyin	001100111100	<b>1111001001</b>	0001001	000011111	110111011	<b>000000111011</b>	0001110100001	<b>110111111101</b>	<b>1111001011</b>	<b>011110111</b>
8	祥华 8 号 Xianghua8	101000111100	<b>1111001101</b>	0000001	000011111	010011011	<b>100100111000</b>	<b>0000101100000</b>	<b>001111101111</b>	<b>1111001101</b>	010000111
9	台茶 12 号 Taiwan tea12	001100001000	<b>1111101011</b>	0001101	000011111	110111011	010101111011	0000111101100	000101100001	1111101011	011010111
10	祥华 1 号 Xianghua1	<b>001000111101</b>	<b>1111001011</b>	<b>0010101</b>	<b>011111111</b>	<b>111111010</b>	<b>010101111001</b>	0000101101000	<b>000111101001</b>	1111001011	010010111
11	本山 Benshan	101000111100	0111001101	0001101	000011111	010111001	<b>010100111010</b>	<b>0010110111000</b>	010111111101	0111001101	<b>110110111</b>
12	水仙 Shuixian	<b>101100001110</b>	0111001100	0000001	000011111	010011011	<b>010100111011</b>	0001101000000	011111111111	0111001100	111110011
13	梅占 Meizhan	001000001000	0111001000	1111101	000011111	010111011	<b>110100111101</b>	<b>0100001111011</b>	<b>011111110011</b>	0111001000	110010111
14	白芽观音 Baiya guanyin	001000101101	0111001101	0001101	010111011	<b>110111001</b>	110101111001	1000110100000	<b>011011100011</b>	0111001101	<b>010011011</b>
15	佛手 Foshou	<b>101111111100</b>	0111001000	0000001	010111111	110111111	<b>100000111011</b>	0000111100000	<b>000000100011</b>	0111001000	011110111
16	安溪肉桂 Anxi rougui	<b>111001111100</b>	<b>0111101100</b>	0001001	010111011	010111011	<b>100101111101</b>	<b>0000101100010</b>	<b>001111100011</b>	<b>0111101110</b>	010010111
17	金观音 Jinguanyin	001000101100	0111001101	0111101	010111011	<b>010111101</b>	110101111001	1000110100000	<b>010111100101</b>	0111001101	010010011
18	杏仁茶 Xinrencha	001100111100	0111001011	0001101	000011111	<b>010011111</b>	<b>000000011010</b>	<b>0000111100100</b>	<b>000110100101</b>	0111001011	011010111
19	凤圆春	<b>111111111100</b>	<b>0111001110</b>	<b>0111111</b>	010111111	110111111	011101111011	<b>0000011101000</b>	011111111111	<b>0111001110</b>	011110111



续表 2

Continuing table 2

编号 No.	茶树种质 Tea Germplasm	引物名称及指纹图谱 Primer name and fingerprinting									
		S467	S113	S154	S492	S180	S118	S183	S294	S481	S167
20	Fengyuanchun 乞丐仙	<i>001001111100</i>	<i>1111101001</i>	1110101	000011111	110111111	<i>101101111011</i>	0000101100000	<i>010101111101</i>	<i>1111101001</i>	110010111
21	Qigaixian 金面观音	001000001000	0111001001	0001101	000011111	000011000	<i>010101111111</i>	<i>0001101100001</i>	<i>011111101011</i>	0111111101	111110011
22	Jinmian guanyin 红芽观音	<i>101001101100</i>	0111001001	0111101	000011111	<i>0101111100</i>	<i>011111111101</i>	<i>0000101100100</i>	010111111101	0111001011	<i>110000011</i>
23	Hongya guanyin 红骨乌龙	<i>101001111110</i>	0111001001	1111111	<i>0010111111</i>	<i>0101111111</i>	<i>100101111100</i>	0000101101000	010111111101	<i>0111101011</i>	110010111
24	Honggu oolong 桃仁	001000001000	<i>0111011001</i>	0000101	<i>0000111111</i>	<i>0101111010</i>	100101111001	<i>0000101101000</i>	<i>010111101001</i>	0111011001	010010011
25	Taoren 科山种	<i>001000111100</i>	0111001100	0000101	000011111	011111111	<i>000001111000</i>	0011111000001	<i>000000100101</i>	0111001100	111110011
26	Keshang species 赤叶	<i>101000111110</i>	<i>1111001000</i>	<i>00101111</i>	000011111	<i>000011000</i>	<i>011001111011</i>	<i>0001111101000</i>	<i>110111111111</i>	<i>1111001000</i>	<i>111011011</i>
27	Chiye 雪梨	101000111100	0111001000	0001001	000011111	011111111	011101111011	0011111000001	<i>000111101101</i>	<i>0111001010</i>	110010111
28	Xueli 安溪白茶	<i>001100011000</i>	<i>0111001111</i>	0000001	<i>1110111111</i>	011111111	<i>110101111011</i>	0001101000000	<i>000111101011</i>	<i>0111001111</i>	011010111
29	Anxi white tea 皱面吉	101000111100	1111011011	1111111	<i>1010111111</i>	<i>0111111110</i>	011100111001	<i>0001111001000</i>	<i>001111111011</i>	<i>1111011011</i>	011000011
30	Zhoumianji 白观音	001110111100	1111011011	0001001	000011111	<i>1111111111</i>	011100111001	<i>0000011000001</i>	<i>000101111001</i>	<i>1111011001</i>	<i>111111011</i>
	Bai guanyin										
	独立指纹图谱样品个数 ample numbers of indepe- ndent fingerprinting	140	12	6	6	11	24	17	24	13	8

注: 表格中斜体加粗数字为引物对茶树种质的特异识别编码

Note: The italic and overstriking digitals are the specific identification code indicating the primer can specific identify the tea germplasms