

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, 29 (10): 970-975.
WANG R-J, YANG J, KONG X-R, et al. Genetic Variances and DNA Fingerprints of 15 Teas in Fujian [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2014, 29 (10): 970-975.

福建 15 个茶树品种 SSR 遗传差异分析与指纹图谱建立

王让剑, 杨军, 孔祥瑞, 郭吉春*

(福建省农业科学院茶叶研究所, 福建 福安 355015)

摘要: 以本课题组选育的 10 个审(鉴)定品种为材料, 选用福建 5 个具有代表性品种为参照, 利用 SSR 分子标记分析其遗传差异并建立分子指纹图谱, 结果表明, 从 105 对 SSR 引物中筛选出的 6 对核心引物具有较高的多态性; 15 个参试品种遗传相似系数变幅较大 (0.35~0.91), 其中 8 个选育品种及闽北闽南的 4 个参照种, 相互间的遗传相似系数一般都达到均值以上 (≥ 0.65), 高者达 0.80~0.91, 证明其遗传差异小或较小; 进行聚类分析, 在相似系数为 0.77 处, 可将参试材料分为 8 组, 在相似系数为 0.66 处, 可将参试材料分为 6 组; 选用 3 对核心引物组合 W08、D07、L11 建立 15 个参试品种的分子指纹图谱, 特征条带大小 210~630 bp, 可将每个品种逐一鉴别, 效果较好。

关键词: 茶树; 选育品种; SSR; 遗传差异; 指纹图谱

中图分类号: S 571.1

文献标识码: A

Genetic Variances and DNA Fingerprints of 15 Teas in Fujian

WANG Rang-jian, YANG Jun, KONG Xiang-rui, GUO Ji-chun*

(Tea Institute of Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fu'an, Fujian 355015, China)

Abstract: Identification and preservation of tea cultivars plays a crucial role in the production and development of the tea industry in China. This paper presents the genetic variances and molecular fingerprints of 10 tea cultivars selected and cultivated by our research team and 5 control cultivars in Fujian by using SSR molecular markers. It aimed to further clarify the genetic differences of these cultivars providing a basis for identification of newly improved tea cultivars and protection of intellectual property rights. In the course, 6 core primer pairs with high polymorphism were selected from the 105 published pairs. The genetic similarity coefficient of the 15 tested cultivars varied greatly, ranging from 0.35 to 0.91. It generally reached above average (≥ 0.65) with high at 0.80~0.91 for the 8 tea cultivars and 4 control cultivars from South and North Fujian among the tested varieties. Consequently, there was little or no genetic differences among the cultivars. Applying the cluster analysis, all tested materials could be divided into 8 groups at the similarity coefficient of 0.77, and 6 groups in the similarity coefficient of 0.66. The molecular fingerprints of the tested cultivars were established using the primer pairs combination of W08, D07 and L11. The characteristic stripes obtained were between 210~630 bp, which could conceivably suffice successful identifications of individual cultivars.

Key words: tea [*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze]; cultivars; SSR; genetic variance; fingerprint

茶树良种是茶叶生产最重要的生产资料之一, 在我国茶产业发展过程中发挥了关键性作用^[1]。福建茶树品种资源丰富, 我国特有的乌龙茶种质资源集中分布在闽北、闽南, 无性品种繁多, 目前拥有

国家审(认、鉴)良种 26 个, 省级审(认)定良种 18 个, 由此福建创制了丰富的茶类花色, 是乌龙茶、红茶、白茶及茉莉花茶的发祥地。本课题组近 40 年来, 以品质育种为重点, 先后育成 10 个国

收稿日期: 2014-06-25 初稿; 2014-07-15 修改稿

作者简介: 王让剑 (1982-), 男, 硕士, 助理研究员, 研究方向: 茶树种质资源与遗传育种 (E-mail: rangjian_wang@163.com)

* 通讯作者: 郭吉春 (1945-), 男, 研究员, 研究方向: 茶树种质资源与遗传育种 (E-mail: faasjcguo@163.com)

基金项目: 福建省农业科学院科技创新团队建设项目 (CXTD-1-1302); 安徽农业大学农业部茶树生物学与茶叶加工重点实验室开放基金项目 (LTBB20140102)

家级和省级良种, 在闽、浙、苏、皖、鄂、川、渝、黔、桂、粤、湘、赣等 10 多个省(市、区)大面积推广, 发挥了显著的优质增效作用, 为优化我国茶叶结构发挥了积极作用^[2-4]。

茶树是异花授粉的木本作物, 育种周期长达 20 年以上, 因容易无性繁殖, 其品种侵权现象非常普遍^[5]。为促进茶树良种化的健康发展, 切实保护品种的知识产权, 需要建立一套稳定可靠、易于操作的品种鉴别方法。形态特征、生化成分、同工酶等性状, 往往受茶树发育阶段、生长环境和栽培措施的影响较大, 而 DNA 分子标记具有不受季节、环境条件影响, 数量多、显性或共显性, 容易标准化操作等优点^[6], 更适宜用来鉴定茶树品种。SSR 具有等位变异高、共显性、简便、快速、稳定的特点^[7], 目前茶树的分子标记应用, 已由

RAPD、AFLP 和 ISSR 等向 SSR 转变^[8-11], 现为茶树品种鉴定、遗传多样性、亲缘关系、分子系统学等研究的主要标记^[12-14]。以本课题组选育的 10 个审(鉴)定品种为材料, 选用福建 5 个具有代表性品种为参照, 利用 SSR 标记分析其遗传差异并建立分子指纹图谱, 以期为品种鉴定和知识产权保护提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

参试品种 15 个, 其中本课题组选育的品种 10 个, 选用福建具有代表性的品种 5 个, 作为参照种(表 1)。各品种取春季新梢 1 芽 2 叶, 保鲜袋封存后置-70℃冰箱中保存备用。

表 1 参试茶树品种信息
Table 1 Information on tea cultivars tested

序号	品种名称	审(鉴)定编号	亲本(♀×♂ 或 ♀)	选育单位
1	黄观音	国审茶 2002015	铁观音×黄枝	福建省农业科学院茶叶研究所
2	金观音	国审茶 2002017	铁观音×黄枝	福建省农业科学院茶叶研究所
3	黄奇	国审茶 2002018	黄枝×白奇兰	福建省农业科学院茶叶研究所
4	悦茗香	国审茶 2002016	赤叶观音	福建省农业科学院茶叶研究所
5	金牡丹	国品鉴茶 2010024	铁观音×黄枝	福建省农业科学院茶叶研究所
6	黄玫瑰	国品鉴茶 2010025	黄观音×黄枝	福建省农业科学院茶叶研究所
7	紫牡丹	国品鉴茶 2010026	铁观音	福建省农业科学院茶叶研究所
8	紫玫瑰	闽审茶 2005003	铁观音×黄枝	福建省农业科学院茶叶研究所
9	早春毫	闽审茶 2003001	迎春(广东凤凰水仙后代中单株育成)	福建省农业科学院茶叶研究所
10	朝阳	闽审茶 1994003	四川崇庆枇杷茶	福建省农业科学院茶叶研究所
11	铁观音*	GS13007-1985	—	福建省安溪县
12	黄枝*	GS13008-1985	—	福建省安溪县
13	大红袍*	闽审茶 2012002	—	福建省武夷山市
14	肉桂*	闽审茶 1985001	—	福建省武夷山市
15	八仙茶*	GS13012-1994	—	福建省诏安县

注: * 为参照品种。

1.2 试验方法

1.2.1 茶树基因组 DNA 的提取和检测 采用 CTAB 法^[15] 提取茶树基因组 DNA。用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳进行茶树基因组 DNA 分子大小和完整性检测, 用 756-MC 型紫外分光光度计测定茶树基因组 DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值, 以检测和计算茶树基因组 DNA 纯度和浓度。

1.2.2 引物合成 参考文献 [12, 16-19] 引物

序列, 由上海 Sangon 公司合成, 共 105 对。

1.2.3 PCR 扩增和产物鉴定 PCR 反应体系: ddH₂O 18.8 μL, 10 × Buffer 2.5 μL (Mg²⁺), dNTP (10 mmol · L⁻¹) 0.5 μL, 上、下游引物 (10 μmolL⁻¹) 各 0.5 μL, Taq 酶 0.2 μL (0.5 U), 模板 DNA 1 μL。PCR 热循环程序: 94℃ 预变性 4 min, 使模板 DNA 充分变性, 然后进入下列温度循环: 94℃ 变性 45 s, 不同温度条件退火

60 s, 72℃延伸 75 s, 重复 35 个热循环; 72℃延伸 10 min, 最后 4℃保存。PCR 扩增产物检测: 扩增产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶预电泳检测, 后再用 8.0% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 150 V 电压电泳 240 min, 参考文献 [20] 银染显色、拍照。按文献 [21] 方法计算 PCR 产物大小。

1.2.4 数据处理及分析 采用 Sangon 公司的 MarkerDL2000 作为分子量标记进行人工读带, 对每一个扩增出的条带记为“1”, 而无条带或不清晰的记录为“0”, 每条带相当 1 个等位基因建立二元数字矩阵。利用软件 PIC-CALC 软件计算各引物的多态性信息含量 (polymorphism information content, PIC), 其中, $PIC=1-\sum P_i^2$, P_i 为第 i 个位点的基因型频率^[22]。利用 PopGen 3.2 软件计算不同茶树品种的 Nei's 基因多样性指数 (Nei's gene diversity index, H) 和 Shannon's 信息指数 (Shannon's information index, I), 其中, $H=1-\sum x_i^2$, 其中 x_i 为任一引物组合第 i 个基因位点在所有参试材料中出现的频率^[23], $I=-\sum p_i \times \ln p_i$, 其中 p_i 为任一引物组合第 i 条多态性带在所有参试品种中出现的频率^[24]。利用 NTSYSpc2.1 中的未

加权平均数法 (unweighted pair group method analysis, UPGMA) 进行聚类分析, 并绘制树状聚类图, 利用 Qualitative data 程序计算参试品种间的遗传相似系数 (Jaccard 系数)^[25]。

2 结果和分析

2.1 引物多态性分析

从公开发表的 105 对茶树应用的 SSR 引物中^[12,16~19], 筛选出 6 对扩增稳定、参试品种之间可以显示差异且易于读带的核心引物 (表 2)。这些引物共扩增出 26 个等位位点, 平均每对引物检测到 4.3 个, 最多的 8 个, 最少的 2 个。引物多态信息含量 (PIC) 范围在 0.35 ~ 0.76, 平均 0.548, 变异系数 (CV) 较大, 达到 29.4%, 这说明不同引物多态性程度差异较大。当 $PIC>0.5$ 时, 该基因座为高度多态基因座, PIC 介于 0.25 ~ 0.5 时为中度多态基因座, $PIC<0.25$ 时为低度多态基因座^[26], 筛选出的核心引物中, 处于高度多态位点的引物有 4 对, 处于中度多态位点的引物有 2 对, 说明这 6 对核心引物总体上具有较高的多态性 (图 1)。

表 2 SSR 标记位点多态性
Table 2 Locus polymorphism of SSR molecular marker technology

引物	引物序列(5'-3')	重复基元	等位位点	多态信息含量
W08 ^[18]	F: TGCAACTCGGCCTTCTGT R: GGAGCTGACTTAGCCCTCA	(CCTAAG)4(CAACGCC)3	8	0.76
L11 ^[16]	F: ACCTCGAAGCTGCATTCTGT R: ACAATCATTGCCACCACATC	(TG)12(AG)14	2	0.35
Y08 ^[12]	F: TCCCTTTACTGATTGTGAT R: CGTGCAAATAATGTGCTGAA	(GGAGT)3	2	0.38
D07 ^[19]	F: GGGGTTAGGGTTTGGTCAC R: ATGCCTTAACAAGAACACTACAAG	(CTA)5	5	0.65
D09 ^[19]	F: TGGTTTATCCTCGGGTCT R: GAACGGGTTGCATCTTA	(AC)6(TC)14	5	0.53
Y04 ^[12]	F: CAACACCACCAACAAGA R: GATATGAGATCCGTCCC	(AAAGG)4	4	0.63
平均数	—	—	4.3	0.55
CV/%	—	—	—	29.4

2.2 参试材料遗传相似性分析

15 个参试品种的遗传相似系数变幅较大 (0.35~0.91), 平均 0.65。表 3 显示, 选育品种黄观音、金牡丹、金观音、紫牡丹、黄玫瑰、黄

奇、紫玫瑰、悦茗香及参照种黄棪、铁观音, 相互间的遗传相似系数一般都达到均值以上或 ≥ 0.60 。其中黄观音与父本黄棪, 黄玫瑰与父母本黄棪、黄观音, 同父母本的金观音与金牡丹, 它们之间的遗

传相似系数均达到 0.80 以上, 紫牡丹、悦茗香与母本铁观音之间的遗传相似系数高达 0.90~0.91。紫牡丹是铁观音的自然杂交后代, 悅茗香是从引进安溪赤叶观音的有性后代中单株育成的, 而赤叶观音则是从铁观音有性后代中单株育成的。这些具有亲子关系或同胞关系的品种, 由于亲缘关系密切或较密切, 遗传相似系数就显示较大, 但它们之间仍

存在一定程度的遗传差异。

遗传相似系数较大的还有参照种铁观音与大红袍 (0.82), 黄棪与肉桂 (0.67), 说明其遗传差异较小, 存在较密切的亲缘关系。而选育品种朝阳、早春毫及参照种八仙茶, 与其他 12 个参试品种之间的遗传相似系数相对较小, 其中朝阳与大红袍的遗传相似系数最小 (0.35), 说明其遗传差异最大。

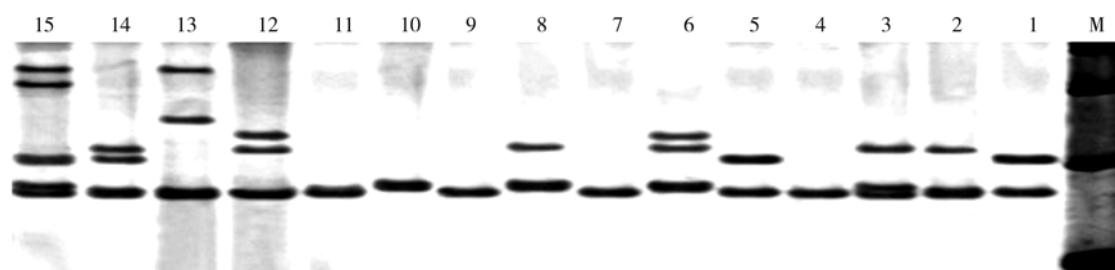


图 1 引物 W08 对参试材料扩增多态性

Fig. 1 Polymorphisms shown in tea cultivars for analysis by primers W08

注: 1 为黄观音, 2 为金观音, 3 为黄奇, 4 为悦茗香, 5 为金牡丹, 6 为黄玫瑰, 7 为紫牡丹, 8 为紫玫瑰, 9 为早春毫, 10 为朝阳, 11 为铁观音, 12 为黄棪, 13 为大红袍, 14 为肉桂, 15 为八仙。下同。

表 3 参试品种遗传相似系数

Table 3 Similarity coefficient of tested cultivars based on SSR molecular markers

品种	11	1	12	14	13	5	15	2	7	8	6	3	4	10	9
11	1.00														
1	0.64	1.00													
12	0.56	0.88	1.00												
14	0.64	0.65	0.67	1.00											
13	0.82	0.56	0.50	0.56	1.00										
5	0.64	0.65	0.67	0.65	0.56	1.00									
15	0.45	0.55	0.50	0.55	0.48	0.62	1.00								
2	0.69	0.69	0.71	0.69	0.60	0.80	0.50	1.00							
7	0.91	0.71	0.63	0.60	0.75	0.71	0.50	0.64	1.00						
8	0.57	0.59	0.61	0.59	0.50	0.69	0.50	0.63	0.53	1.00					
6	0.50	0.81	0.82	0.53	0.44	0.53	0.52	0.56	0.56	0.65	1.00				
3	0.64	0.75	0.67	0.56	0.56	0.75	0.62	0.59	0.71	0.79	0.71	1.00			
4	0.90	0.60	0.63	0.71	0.75	0.71	0.43	0.77	0.82	0.64	0.47	0.60	1.00		
10	0.40	0.37	0.40	0.53	0.35	0.37	0.45	0.39	0.38	0.47	0.42	0.37	0.47	0.47	1.00
9	0.57	0.59	0.61	0.59	0.50	0.69	0.57	0.63	0.53	0.63	0.47	0.59	0.64	0.47	1.00

2.3 聚类分析

将遗传相似系数矩阵按 UPGMA 法进行聚类分析, 形成 15 个参试材料的亲缘关系树状图 (图 2)。在相似系数约为 0.77 处, 可将供试材料分为 8 组, 其中第 1 组为铁观音、紫牡丹、悦茗香、大红袍, 第 2 组为金牡丹、金观音, 第 3 组为黄观音、黄棪、黄玫瑰, 第 4 组为紫玫瑰、黄奇, 其余

4 组每组各只含 1 个品种, 分别为肉桂、早春毫、八仙茶、朝阳。在相似系数约为 0.66 处, 可将参试材料分为 6 组, 其中第 1 组为铁观音、紫牡丹、悦茗香、大红袍、金牡丹、金观音, 第 2 组为黄观音、黄棪、黄玫瑰、紫玫瑰、黄奇, 其余 4 组每组各只含 1 个品种, 分别为肉桂、早春毫、八仙、朝阳。

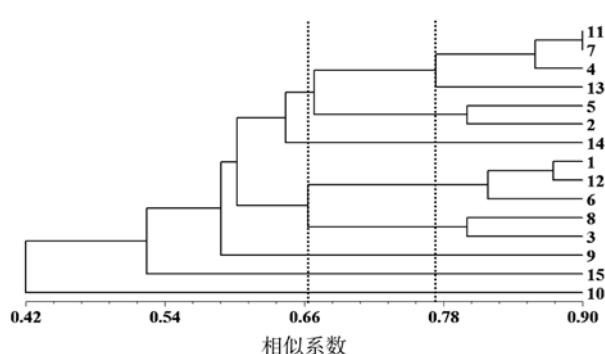


图 2 参试材料 UPGMA 聚类分析树状图

Fig. 2 Dendrogram of tested materials using UPGMA cluster analysis

2.4 分子指纹图谱建立

由表 4 可知, 铁观音品种只能采用 W08、D07、L11 引物组合进行鉴别, 而这 3 对引物(其中 1 对或 2 对)均可以用来鉴别其他 14 个参试品种。选用 W08、D07、L11 引物组合建立了 15 个

参试品种的分子指纹图谱, 扩增特征条带大小在 210~630 bp 之间, 该分子指纹图谱可以将 15 个参试品种逐一鉴别, 效果较好(图 3)。

引物名称	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
L11-226bp	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
W08-210bp	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
W08-222bp	-	-	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+
W08-242bp	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
W08-254bp	-	+	+	-	-	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-
W08-266bp	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	-	-	-	-
W08-278bp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
W08-504bp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+
W08-630bp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+
D07-230bp	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
D07-245bp	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
D07-260bp	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+
D07-285bp	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

图 3 参试茶树品种的 SSR 分子指纹图谱

Fig. 3 Molecular fingerprints of tested materials based on SSR molecular markers

注: “+”表示有泳带; “-”表示无泳带。

表 4 参试品种特征引物或引物组合
Table 4 Characteristic primers or primer combinations of test cultivars

序号	品种名称	鉴别引物	序号	品种名称	鉴别引物
1	黄观音	L11+W08, L11+D07, L11+D09, W08+D07, W08+Y04, D07+Y04, D09+Y04	9	早春毫	D07
2	金观音	W08	10	朝阳	W08, Y08, D07, D09
3	黄奇	W08	11	铁观音	W08+D07+L11
4	悦茗香	L11+W08, L11+D09, W08+D07+L11, W08+Y08+L11, D09+Y08+L11, L11+Y08+W08	12	黄桢	W08
5	金牡丹	W08+D07, L11+D07	13	大红袍	W08
6	黄玫瑰	W08	14	肉桂	W08
7	紫牡丹	W08+D07, L11+D07	15	八仙茶	W08
8	紫玫瑰	W08			

注: 引物对数为 3 对及 3 对以下。

3 讨论与结论

3.1 参试材料的遗传多样性与遗传相似性

20世纪70年代中期以来, 本课题组以品质育种为重点, 选配品质优异的铁观音、黄桢作为杂交亲本, 先后选育出品质优异、杂种优势强、综合性状超过亲本的 8 个品种, 其中数个选育品种可以替代已有一二百年栽培史的福建部分无性系品种。客观上品质优异可选作杂交亲本的无性系品种较少, 品质育种就可能产生优质与遗传多样性的矛盾, 可能导致遗传多样性水平降低。今后要加强优异与特异茶树种质资源的发掘和保护, 丰富育种材料的遗传多样性。

从试验结果可知, 具有亲子关系或同胞关系, 或亲本来源于同一产地, 因其亲缘关系密切, 遗传背景相似, 遗传相似系数就较大。但由于茶树是异花授粉的遗传杂合体, 杂种一代及其亲本相互间仍存在一定程度的遗传差异。武夷山与安溪不同纬度的乌龙茶产区选育的品种大红袍与铁观音, 肉桂与黄桢的遗传相似系数较大(分别为 0.82 与 0.67), 这说明闽北与闽南两地的茶树品种存在较密切的亲缘关系, 遗传背景相似。黄福平等^[27]也认为, 乌龙茶种质资源的演化路径是由武夷山向安溪再向台湾传播的。试验表明, 品种间的遗传相似系数在一定程度上可以鉴别茶树的亲缘关系, 可以证明其品

种来源及遗传背景。

3.2 引物筛选及指纹图谱建立的效果

SSR 分子标记是建立茶树品种分子指纹图谱的常用技术, 杨阳等^[12]、刘本英等^[30]采用 SSR 标记分别建立了湖南、云南主要茶树品种的分子指纹图谱。多态信息含量(PIC)是确定核心引物的参考标准, 而建立指纹图谱还应考虑单对引物或引物组合对参试材料的实际鉴别情况^[21]。本试验采用 SSR 标记, 从公开发表的在茶树上应用的 105 对引物中, 采用核心引物组合法^[28-29], 筛选出具有较高多态性的 6 对核心引物, 扩增谱带稳定性好、分辨率较高。

福建 15 个参试品种中的 10 个品种, 可以用 1 对引物 W08 进行鉴别, 另 5 个品种需要 2 对或 3 对引物组合进行鉴别。为降低成本和提高检测效率, 选用 3 对引物 W08、D07、L11 作为最佳核心引物组合, 建立了福建 15 个品种的分子指纹图谱, 可将每个品种逐一鉴别。随着茶树品种鉴定数量的增大, 需要增加新的有效核心引物来建立分子指纹图谱, 以确保指纹图谱数据的准确性、及时性和实用性^[21]。为建立更多福建茶树品种的分子指纹图谱, 应继续筛选、增加核心引物, 以扩大其应用范围。

参考文献:

- [1] 中国茶叶学会. 茶学学科发展报告 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 2010: 40-45.
- [2] 叶乃兴, 郭吉春. 福建茶树品种资源的研究现状与展望 [J]. 福建茶叶, 1997, (1): 42-45.
- [3] 郭吉春, 杨如兴, 叶乃兴, 等. 10 个茶树高优新品种的育成与应用 [J]. 福建茶叶, 2003, (3): 19-21.
- [4] 郭吉春, 杨如兴, 张文锦, 等. 茶树杂交种金观音与黄观音的选育及应用 [J]. 贵州科学, 2008, 26 (2): 22-24.
- [5] 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定 [J]. 中国农业科学, 2008, 41 (8): 2400-2406.
- [6] 贾继增. 分子标记种质资源鉴定和分子标记育种 [J]. 中国农业科学, 1996, 29 (4): 1-10.
- [7] POWELL W, MACHRAY G C, PROVAN J. Polymorphism revealed by simple sequence repeats [J]. Trends Plant Science, 1996, (1): 215-222.
- [8] 罗军武, 施兆鹏, 沈程文, 等. 茶树种质资源遗传多样性的 RAPD 分析 [J]. 作物学报, 2004, 30 (3): 266-269.
- [9] 赵超艺, 周李华, 罗军武, 等. 广东茶树种质资源 AFLP 分析 [J]. 茶叶科学, 2006, 26 (4): 249-252.
- [10] 姚明哲, 陈亮, 王新超, 等. 我国茶树无性系品种遗传多样性和亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 作物学报, 2007, 33(4): 598-604.
- [11] 刘本英, 李友勇, 唐一春, 等. 云南茶树资源遗传多样性与亲缘关系的 ISSR 分析 [J]. 作物学报, 2010, 36(3): 391-400.
- [12] 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): 367-373.
- [13] 王丽鸳, 姜燕华, 段云裳, 等. 利用 SSR 分子标记分析茶树地方品种的遗传多样性 [J]. 作物学报, 2010, 36(12): 2191-2195.
- [14] 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): 744-753.
- [15] DOYLE J. DNA protocols for plants-CTAB total DNA isolation [C] // Hewitt GM, Johnston A, eds. Molecular techniques in taxonomy. Berlin: Springer, 1991: 283-293.
- [16] 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): 103-108.
- [17] 刘振, 王新超, 赵丽萍, 等. 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.
- [18] 王丽鸳, 姜燕华, 段云裳, 等. 茶树 EST-SSRs 分布特征及引物开发 [J]. 植物遗传资源学报, 2009, 10(4): 511-516.
- [19] 段云裳, 姜燕华, 王丽鸳, 等. 中国红、绿茶适制品种 (系) 遗传多样性与亲缘关系的 SSR 分析 [J]. 中国农业科学, 2011, 44 (1): 99-109.
- [20] CHARTERS Y M, WILKINSON M J. The use of self-pollinated progenies as "in-groups" for the genetic characterization of cocoa germplasm [J]. Theor Appl Genet, 2000, 100: 160-166.
- [21] 刘新龙, 马丽, 陈学宽, 等. 云南甘蔗自育品种 DNA 指纹身份证构建 [J]. 作物学报, 2010, 36 (2): 202-210.
- [22] NEI M. Analysis of gene diversity in subdivided populations [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA, 1973, 70: 3321-3323.
- [23] NEI M, LI W H. Mathematical model for studying genetical variation in terms of restriction endonucleases [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA, 1979, 76 (10): 5269-5273.
- [24] 董玉琛, 曹永生, 张学勇, 等. 中国普通小麦初选核心种质的产生 [J]. 植物遗传资源学报, 2003, 4 (1): 1-8.
- [25] ROHLF F J. NTSYS-pe2.1. Numerical taxonomy and multivariate analysis system [D]. New York: State University of New York, 1992.
- [26] BOTSTEIN D, WHITE R L, SKOLNICK M, et al. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. American Journal of Human Genetics, 1980, 32: 314-331.
- [27] 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]. 茶叶科学, 2004, 24 (3): 183-189.
- [28] 王风格, 赵久然, 郭景伦, 等. 比较三种 DNA 指纹分析方法在玉米品种纯度及真伪鉴定中的应用 [J]. 分子植物育种, 2003, 1 (5/6): 655-661.
- [29] 文雁成, 王汉中, 沈金雄, 等. SRAP 和 SSR 标记构建的甘蓝型油菜品种指纹图谱比较 [J]. 中国油料作物学报, 2006, 28 (3): 233-239.
- [30] 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, 32 (3): 261-268.

(责任编辑: 林海清)