网络出版时间:2025-11-26 DOI:10.13207/j.jnwafu.2026.05.005

基于ILP标记的50份云南山茶品种遗传多样性分析

李德琴[1],冯健[2],张顺荣[1,3],常书奎[1],尹世华[1],黄晓霞[1],俎峰[3],程小毛[1]
(1 西南林业大学 园林园艺学院,云南 昆明 650224;2 镇沅彝族哈尼族拉祜族自治县林业科技推广中心,云南 普洱 666599;
3 云南省草本油料遗传改良重点实验室,云南省农业科学院 经济作物研究所,云南 昆明 650205)

[摘 要] 【目的】分析50份云南山茶品种种质的遗传多样性,为山茶种质资源的创新利用和育种进程提供科学依据。【方法】利用筛选出的25对多态性引物,对50份云南山茶品种进行分子标记试验,系统分析了其遗传多样性、亲缘关系、群体结构及主成分。【结果】云南山茶品种共检测到112个等位基因,等位基因数为3~7个,平均为4.48个;有效等位基因数平均为2.44个,观测杂合度(*Ho*)和期望杂合度(*He*)的平均值分别为0.72和0.55。Shannon信息指数(*I*)和Nei基因多样性指数(*H*)的平均值分别为0.99和0.55,表明云南山茶品种具有较高的遗传多样性。引物的多态信息含量(PIC)平均值为0.52,其中14对引物的PIC值大于0.5,表明这些引物能够有效反映遗传多样性。基于NTSYSpc-2.1计算的遗传距离显示,50份云南山茶品种的遗传相似系数为0.61~0.92,其中'香妃'和'凤山茶'遗传相似度最高,而'大玛瑙'和'桃红袍'遗传相似度最低。通过Structure软件分析,50个云南山茶品种在$\Delta K=2$时可分为两组,其中一组包含46个品种。主成分分析进一步表明,50个品种在遗传关系上高度相似,且基本聚在一起。【结论】选用的25对引物能很好地反映云南山茶品种种质的遗传多样性(PIC>0.5);50份云南山茶品种种质群体间高度相似,遗传关系极为紧密。

[关键词] 云南山茶品种;ILP分子标记;群体结构;遗传多样性
[中图分类号] S685.14 [文献标志码] A [文章编号] 1671-9387(2026)05-0042-10

Genetic diversity analysis of 50 *Camellia reticulata* varieties based on ILP markers

LI Deqin[1], FENG Jian[2], ZHANG Shunrong[1,3], CHANG Shukui[1], YIN Shihua[1],
HUANG Xiaoxia[1], ZU Feng[3], CHENG Xiaomao[1]
(1 *College of Gardening and Horticulture, Southwest Forestry University, Kunming, Yunnan* 650224, *China*; 2 *Forestry Science and Technology Extension Centre of Zhenyuan Yihani Lahu Autonomous County, Pu'er, Yunnan* 666599, *China*; 3 *Key Laboratory of Genetic Improvement of Herbaceous Oilseeds of Yunnan Province, Economic Crops Research Institute, Yunnan Academy of Agricultural Sciences, Kunming, Yunnan* 650205, *China*)

Abstract: 【Objective】 By analyzing the genetic diversity of germplasm from 50 *Camellia reticulata* varieties, this study aims to provide a scientific basis for the innovative use of camellia germplasm resources and the advancement of breeding process. 【Method】 Molecular marker tests were conducted on 50 *Camellia reticulata* varieties using 25 pairs of screened polymorphic primers, and their genetic diversity, kinship, population structure

[收稿日期] 2025-03-26 [修回日期] 2025-06-12
[基金项目] 云南省兴滇英才支持计划项目(YNWR-QNBJ-2019-280);云南省农业联合专项面上基金项目(202101BD070001-041);云南省创新人才培养对象项目(202305AD160025);云南省种子种业联合实验室项目(20205AR070001)
[作者简介] 李德琴(1998—),女,贵州毕节人,硕士,主要从事植物遗传育种研究。E-mail:312381297@qq.com
[通信作者] 程小毛(1980—),女,安徽安庆人,教授,博士,主要从事植物遗传育种研究。E-mail:xmcheng@swfu.edu.cn
俎峰(1984—),男,河南许昌人,副研究员,博士,主要从事作物分子育种研究。E-mail:zf@yaas.org.cn

and principal components were systematically analyzed.【Result】A total of 112 alleles were detected in *Camellia reticulata* varieties, with the number of alleles ranging from 3 to 7 and averaging 4.48. The number of effective alleles averaged 2.44, and the mean values of observed heterozygosity (*Ho*) and expected heterozygosity (*He*) were 0.72 and 0.55, respectively. The mean values of Shannon polymorphism index (*I*) and Nei genetic diversity index (*H*) were 0.99 and 0.55, respectively, indicating high genetic diversity in *Camellia reticulata* varieties. The average polymorphic information content (PIC) of the primers was 0.52, with 14 pairs of primers having PIC values greater than 0.5, indicating that these primers can effectively reflect genetic diversity. Genetic distances calculated based on NTSYSpc-2.1 showed genetic similarity coefficients of the 50 varieties ranged from 0.61 to 0.92, with 'Xiangfei' and 'Fengshancha' having the highest genetic similarity, and 'Damanao' and 'Taohongpao' having the lowest genetic similarity. Based on analysis using Structure software, the 50 *Camellia reticulata* varieties could be divided into two groups at $\Delta K=2$, with one group containing 46 varieties. Principal component analysis further revealed that the 50 varieties were highly similar in genetic relationship and basically clustered together.【**Conclusion**】The 25 selected primer pairs can effectively reflect the genetic diversity of *Camellia reticulata* germplasm (PIC>0.5). High genetic similarity was observed among the 50 *Camellia reticulata* germplasm, with exceptionally close genetic relationships.

Key words: *Camellia reticulata* varieties; ILP molecular markers; population structure; genetic diversity

云南山茶(*Camellia reticulata*)，隶属于山茶科(Theaceae)山茶属(*Camellia*)，是云南八大名花之一[1]，也是昆明市的市花。其生长区域主要集中在云南省、贵州省西部和四川省西南部，海拔为1 000～3 200 m[2]。云南山茶为异花传粉植物，在自然繁衍过程中产生了许多变异。经过近千年的栽培选育，已形成了丰富的园艺品种。在国外，许多育种工作者以云南山茶为杂交材料，成功培育出多个新品种和种间杂交品种。云南山茶因其花大色艳、品种众多、耐寒性强且花期恰逢元旦和春节，成为重要的年宵花卉，在园林中具有独特的应用价值。培育丰产、优质、花色多样、花期长且开花时间多样的新品种，一直是云南山茶育种专家的共同目标[3]。然而，传统云南山茶的育种方法存在育种周期长、杂交随机性强、远缘杂交困难等缺点，这些限制使得其育种效率低下，难以满足现代育种的需求。

近年来，分子标记技术的发展为克服这些挑战提供了新的途径。作为一种新型的分子标记技术，内含子长度多态性(ILP)标记在植物遗传研究中得到了广泛应用。前人已在棉花[4]、水稻[5]、玉米[6]、胡萝卜[7]、紫花苜蓿[8]、箭筈豌豆[9]、烟草[10]、松树[11]、无芒隐子草[12]等植物上成功开发了ILP标记，并应用于群体遗传多样性分析、遗传连锁图谱构建等领域。在茶树上，舒茶早[13-14]、龙井43[15]和古茶树DASZ[16]等高质量染色体级别基因组的组装成功，为在茶树全基因组水平上开发和应用ILP标记提供了契机。山茶属植物在进化过程中积累了丰富的遗传变异，尤其是在DNA分子水平上表现出显著的多样性。云南山茶因其独特的地理位置和复杂多样的生态环境，被认为是遗传变异最为丰富的分支之一[17-18]。研究表明，ILP标记具有很好的通用性，至少在同一科内具有广泛的应用价值[19-20]。因此，基于云南山茶的遗传特性，开展ILP标记研究不仅具有重要的理论意义，还能为育种实践提供有力支持。本研究利用自主开发的茶树内含子长度多态性标记[20]，对来自昆明的50个云南山茶品种进行遗传多样性、群体结构及亲缘关系分析，旨在为云南山茶新品种培育中的亲本选配提供科学依据，进而推动云南山茶育种工作的进一步发展。

1　材料与方法

1.1　材　料

本研究采集了50份云南山茶品种的新稍一芽二叶部位作为试验材料，并放于装有变色硅胶的自封袋中密封保存。样品均来源于云南省昆明市，详见表1。

1.2　DNA提取及检测

采用CTAB法[21]提取云南山茶茶树叶片基因组DNA，用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测质量，用微量核酸蛋白检测仪测定浓度和纯度后，稀释DNA溶液至50 ng/μL。

1.3　标记来源

本研究所用Tea_ILP标记均为本课题组自主

开发的标记[20],筛选标准:用230对茶树ILP引物对随机抽选的6份云南山茶样本DNA进行扩增,其中25对茶树ILP引物表现出多态性且扩增条带清晰,无拖尾,未出现明显的引物二聚体。随后用这25对多态性ILP标记检测云南山茶品种群体遗传多样性。25对ILP引物信息详见表2。

表1 50个云南山茶品种名称及来源

Table 1 Names and sources of 50 *Camellia reticulata*

编号 Code	品种 Cultivars	花型 Flower type	编号 Code	品种 Cultivars	花型 Flower type
1	雪娇 Xuejiao	半重瓣 Semi-heavy petal	26	厚叶碟翅 Houyediechi	重瓣 Double valve
2	紫袍 Zipao	重瓣 Double valve	27	大玛瑙 Damanao	重瓣 Double valve
3	靖安茶 Jing'ancha	重瓣 Double valve	28	菊瓣 Juban	重瓣 Double valve
4	早桃红 Zaotaohong	重瓣 Double valve	29	麻叶银红 Mayeyinhong	半重瓣 Semi-heavy petal
5	早牡丹 Zaomudan	重瓣 Double valve	30	佛座莲 Fozuolian	重瓣 Double valve
6	凤山茶 Fengshancha	重瓣 Double valve	31	大银红 Dayinhong	半重瓣 Semi-heavy petal
7	狮子头 Shizitou	重瓣 Double valve	32	小银红 Xiaoyinhong	重瓣 Double valve
8	大理茶 Dalicha	重瓣 Double valve	33	大桃红 Dataohong	重瓣 Double valve
9	童子面 Tongzimian	重瓣 Double valve	34	梵碟 Fandie	重瓣 Double valve
10	松子鳞 Songzilin	重瓣 Double valve	35	鹿城春 Luchengchun	半重瓣 Semi-heavy petal
11	锦袍红 Jinpaohong	重瓣 Double valve	36	大头条 Datoutiao	重瓣 Double valve
12	柳叶银红 Liuyeyinhong	重瓣 Double valve	37	丽芳 Lifang	重瓣 Double valve
13	麻叶桃红 Mayetaohong	重瓣 Double valve	38	节节高 Jiejiegao	重瓣 Double valve
14	滇西鹤顶红 Hedinghong	重瓣 Double valve	39	微溪红 Weixihong	重瓣 Double valve
15	香妃 Xiangfei	重瓣 Double valve	40	亮桃红 Liangtaohong	半重瓣 Semi-heavy petal
16	玛瑙 Manao	重瓣 Double valve	41	玉玫瑰 Yumeigui	重瓣 Double valve
17	牡丹魁 Mudankui	重瓣 Double valve	42	银粉牡丹 Yinfenmudan	重瓣 Double valve
18	金粉娇 Jinfenjiao	重瓣 Double valve	43	东林 Donglin	重瓣 Double valve
19	牡丹茶 Mudancha	重瓣 Double valve	44	亮叶松子壳 Liangyesongzike	重瓣 Double valve
20	五色赤丹 Wusechidan	重瓣 Double valve	45	碧玉 Biyu	单瓣 Single valve
21	荷花仙子 Hehuaxianzi	重瓣 Double valve	46	大红六角 Dahongliujiao	重瓣 Double valve
22	白邑早桃红 Baiyizaotaohong	重瓣 Double valve	47	独心碟翅 Duxindiechi	重瓣 Double valve
23	宝珠茶 Baozhucha	重瓣 Double valve	48	满邑 Manyi	重瓣 Double valve
24	小桂叶 Xiaoguiye	重瓣 Double valve	49	如意 Ruyi	重瓣 Double valve
25	大红袍 Dahongpao	重瓣 Double valve	50	桃红袍 Taohongpao	重瓣 Double valve

表2 25对多态性标记序列信息

Table 2 Sequence information of 25 pairs of polymorphic markers

标记编号 Maker ID	引物序列(5′→3′) Primer sequence(5′→3′)	T_m/℃	片段长度/bp Length
Tea_ILP0337	AATGCATTGCACCAACAAGA	60	280
	CAGGAGAGCCATGTGAGACA	59	
Tea_ILP0546	CACCTTTTCTGACAGCACCA	59	280
	TAGGCCTCTCAAGGGGATTT	60	
Tea_ILP1000	CCACCGGTTTCTGAAGATGT	59	150
	CGCCTCCTTCTCTTTCCTCT	60	
Tea_ILP1037	TCATACTCCTTCCGACCGAC	60	244
	CAGCAACAAATGGAAGCTGA	59	
Tea_ILP1158	CTTCGACTGAACACCCTCGT	60	268
	GGAGGTGCAAACCACCTTTA	59	
Tea_ILP1629	TGCCTTGTGTAAAAGAACCTTG	59	195
	AAGAAGGATGCAGTTGGAGC	59	
Tea_ILP1641	GCAAGCTGTCTCGAATGTTG	59	204
	CCAATGCGTGTTGGTCATTA	60	
Tea_ILP1982	GCAAATGGAAAGCTTGTGCT	60	193
	AATGCCATCCTCTCAAATGC	60	
Tea_ILP1986	TTTCTTCCTCCACAGCAAGC	60	140
	CTTGCGCACTTCTTCCTTGT	60	

表 2（续）　Table 2(continued)

标记编号 Maker ID	引物序列(5′→3′) Primer sequence(5′→3′)	T_m/℃	片段长度/bp Length
Tea_ILP2032	AATTGGCCACTTCATACATGC	59	269
	TGAAGAGATGCTGCACGAGA	60	
Tea_ILP2045	GAAGCAACCTTTCCCATCAA	60	297
	TGCAGAGGAAGAGTTGCAGA	59	
Tea_ILP2103	TCAGCTTCTTGACCGTCCTT	59	238
	GATTCAATCCGAGAACGGAA	60	
Tea_ILP2114	GATTTTGGCGCTCATCATTT	60	242
	GCTTTTATCGTCCATCGGAA	60	
Tea_ILP2142	CAAATTCCAACAACAATGCG	59	239
	TTCCCCACCAAATTCGTTT	59	
Tea_ILP2179	ATATCGCCGACTTCCAGTTG	60	171
	GCAGCTCTAACGACGTTTCC	60	
Tea_ILP2228	GCTCGAACTCCTCCACTGAT	59	235
	CTTTCTTCCTGTTTGCCTCG	59	
Tea_ILP2348	TGATGTTGCTGATGCATTGA	59	264
	TTCAACGTGGAAATGAATGG	59	
Tea_ILP2413	GGTTTCTTGAAGCCGCTGTA	60	293
	GCGGCTTGGGTTCAATAAGT	61	
Tea_ILP2549	CAACACTGAGGAAGAGATGCAC	59	214
	CTTGCAAGAGCCTCCTGTTT	59	
Tea_ILP2581	ATGAAATTGAAGGTGGCGAG	59	286
	CACTGCAAGCATTCTCCAAA	59	
Tea_ILP2703	TCGTTTTTGGCATTCAATCA	60	230
	GCTGGACAGTGGACTGGAA	59	
Tea_ILP2715	TTTCCTCCAATCCAGTCGTC	60	212
	TGTCAACAGCTTCTTCACGC	60	
Tea_ILP2719	TCTGTCAGGGACCTCCTCAG	60	220
	CTTCGCAGATGGAGAGGAGT	59	
Tea_ILP3014	TCATCGATCAAAGCCAAGAG	58	280
	ATGTGGCCAGATCCTTTGAG	60	
Tea_ILP3028	TGCCATCAGACAGGACTCTG	59	321
	CCTCAAAGAAAAGCTCCACG	59	

1.4　PCR反应及电泳检测

参照唐探[21]的反应体系及反应程序，扩增产物用质量分数6%尿素变性聚丙烯酰胺凝胶电泳检测，并参照程小毛等[22]的方法进行银染显色，最后在灯箱上拍照记录。

1.5　数据统计与分析

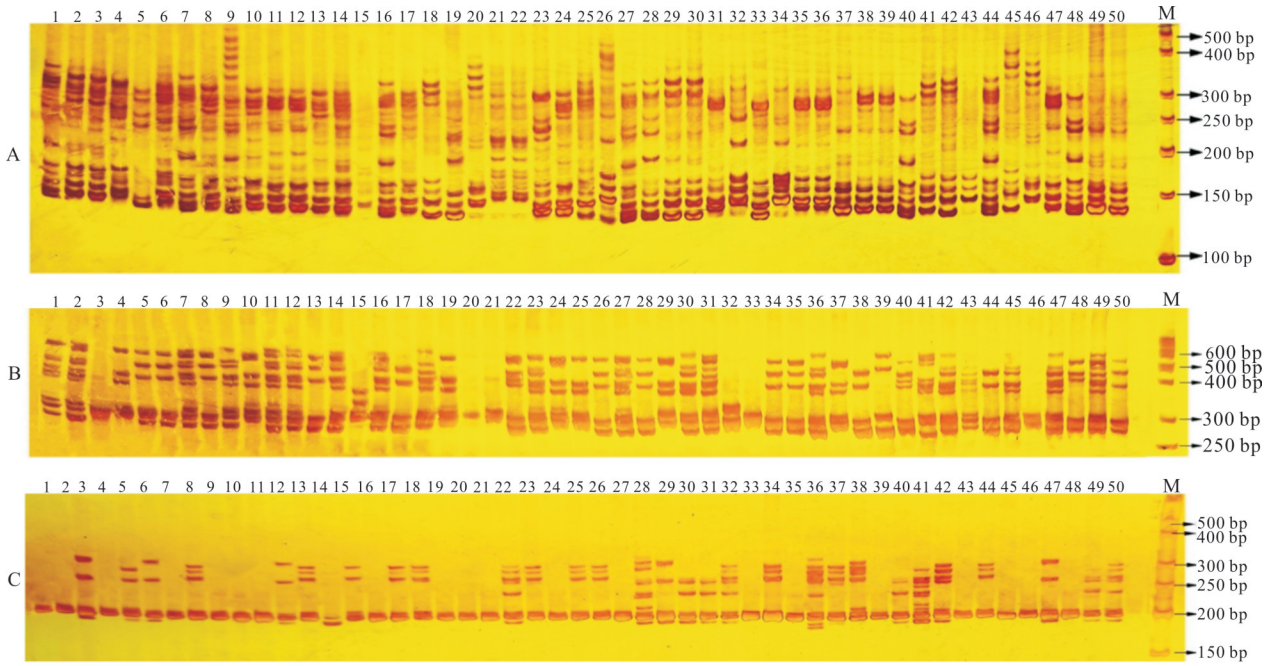
将ILP扩增产物每一条带视为一个位点，对凝胶电泳成像清晰、分辨率高的条带进行统计，按照0，1法进行计数，有条带的记为“1”，无条带的或难以分辨的弱带记为“0”，并构建0，1型矩阵。然后将矩阵数据输入Data Trans 1.0软件中进行数据转换，将原始的0，1型数据转换为基因型数据，数据转换完成后，将基因型数据以txt格式导入Popgene v3.2软件进行遗传多样性分析，统计多态性条带数，分别计算等位基因数（*Na*）、有效等位基因数（*Ne*）、Shannon信息指数（*I*）、观测杂合度（*Ho*）、期望杂合度（*He*）、Nei基因多样性指数（*H*），并将Popgene v3.2输出的基因型数据导入PIC_CALC（version 0.6）中计算出多态信息含量（PIC）。使用群体结构分析软件Structure v2.3.4，对原始的0，1型数据进行分析，设定*K*值为1～10，MCMC（markov chain monte carlo）为10 000次，生成直方图展示结果，并利用在线网站Structure Harvester确定最佳*K*值。用NTSYSpc-2.1软件计算各个品种间的遗传相似系数和Nei’s遗传距离，然后在MEGA 7.0中采用N-J法绘制聚类图，最后利用R语言“vegan”软件包对云南山茶群体进行主成分分析，并使用“ggplot2”软件包绘制主成分分析二维图。

2　结果与分析

2.1　云南山茶品种群体遗传多样性分析

使用筛选到的25对多态性引物对50个云南山茶品种进行遗传多样性分析，部分电泳扩增结果如图1所示。云南山茶Tea_ILP标记的多样性参数

见表 3。



A. 引物 Tea_ILP1982;B. 引物 Tea_ILP1986;C. 引物 Tea_ILP2581。M. Marker.

A. Primer Tea_ILP1982;B. Primer Tea_ILP1986;C. Primer Tea_ILP2581. M. Marker.

图 1 部分引物在 50 个云南山茶种质资源中的扩增结果

Fig. 1 Amplification results of some primers in 50 *Camellia reticulata* germplasm

表 3 云南山茶 Tea_ILP 标记的多样性参数

Table 3 Genetic diversity parameters of *Camellia reticulata* based on Tea_ILP

引物 Locus	等位基因数 *Na*	有效等位基因数 *Ne*	条带数 Bands	观测杂合度 *Ho*	期望杂合度 *He*	Shannon 信息指数 *I*	Nei 基因多样性指数 *H*	多态信息含量 PIC
Tea_ILP0337	4	2.55	4	0.82	0.61	1.07	0.61	0.44
Tea_ILP0546	4	2.59	6	0.98	0.62	1.07	0.61	0.37
Tea_ILP1000	3	1.92	4	0.76	0.48	0.71	0.48	0.33
Tea_ILP1037	4	1.25	6	0.22	0.20	0.43	0.20	0.33
Tea_ILP1158	3	1.98	4	0.66	0.50	0.86	0.49	0.58
Tea_ILP1629	3	1.06	4	0.06	0.06	0.15	0.06	0.11
Tea_ILP1641	4	1.83	5	0.56	0.46	0.82	0.45	0.53
Tea_ILP1982	4	2.52	10	0.94	0.61	1.04	0.6	0.46
Tea_ILP1986	5	3.45	7	0.94	0.72	1.35	0.71	0.71
Tea_ILP2032	3	2.18	3	0.68	0.55	0.89	0.54	0.60
Tea_ILP2045	4	1.70	5	0.54	0.42	0.72	0.41	0.48
Tea_ILP2103	4	2.14	6	0.70	0.54	0.97	0.53	0.63
Tea_ILP2114	6	2.65	9	0.82	0.63	1.16	0.62	0.51
Tea_ILP2142	6	3.60	7	0.94	0.73	1.40	0.72	0.76
Tea_ILP2179	5	1.31	8	0.14	0.24	0.53	0.24	0.31
Tea_ILP2228	4	2.40	6	0.82	0.59	1.02	0.58	0.57
Tea_ILP2348	5	3.23	7	0.74	0.70	1.28	0.69	0.65
Tea_ILP2413	4	2.29	5	0.94	0.57	0.93	0.56	0.34
Tea_ILP2549	5	2.75	5	0.80	0.64	1.21	0.64	0.60
Tea_ILP2581	5	2.79	9	0.92	0.65	1.14	0.64	0.49
Tea_ILP2703	5	3.08	7	0.86	0.68	1.20	0.68	0.71
Tea_ILP2715	7	3.37	6	0.52	0.71	1.43	0.70	0.81
Tea_ILP2719	5	2.54	6	0.99	0.61	1.09	0.61	0.36
Tea_ILP3014	5	3.19	7	0.82	0.69	1.27	0.69	0.74
Tea_ILP3028	5	2.56	6	0.86	0.62	1.15	0.61	0.64
平均 Mean	4.48	2.44	6.08	0.72	0.55	0.99	0.55	0.52

表 3 显示，25 对 Tea_ILP 标记共检测到 112 个等位基因，等位基因数为 3～7 个，平均为 4.48 个。有效等位基因数为 1.06～3.60，平均值为 2.44。25 对引物共扩增出 152 个条带，每对引物扩增出的多态性条带数为 3～10 个，平均值为 6.08。所有引物的多态性条带扩增率均为 100%，其中扩增条带数最多的是引物 Tea_ILP1982（10 个条带），最少的是 Tea_ILP2032（3 个条带）。观测杂合度（*Ho*）为 0.06～0.99，平均值为 0.72；期望杂合度（*He*）为 0.06～0.73，平均值为 0.55；Shannon 信息指数（*I*）的最高值为 1.43，最低值为 0.15，平均值为 0.99；Nei 基因多样性指数（*H*）为 0.06～0.72，平均值为 0.55；引物的多态信息含量（PIC）平均值为 0.52，最大值为 0.81，其中 1 个标记为低度多态性（PIC 值 0～0.25），10 个标记为中度多态性（PIC 值＞0.25～0.50），14 个标记为高度多态性（PIC 值＞0.50～1.00）。结果表明，25 个 Tea_ILP 标记具有较高的多态性，能够有效反映云南山茶的遗传多样性。较高的等位基因数、有效等位基因数以及 Shannon 信息指数和 Nei 基因多样性指数，均表明云南山茶品种具有丰富的遗传变异。此外，PIC 值的分布进一步证实了这些标记在遗传多样性分析中的有效性。

2.2　云南山茶品种群体亲缘关系

50 个云南山茶品种遗传聚类结果见图 2。

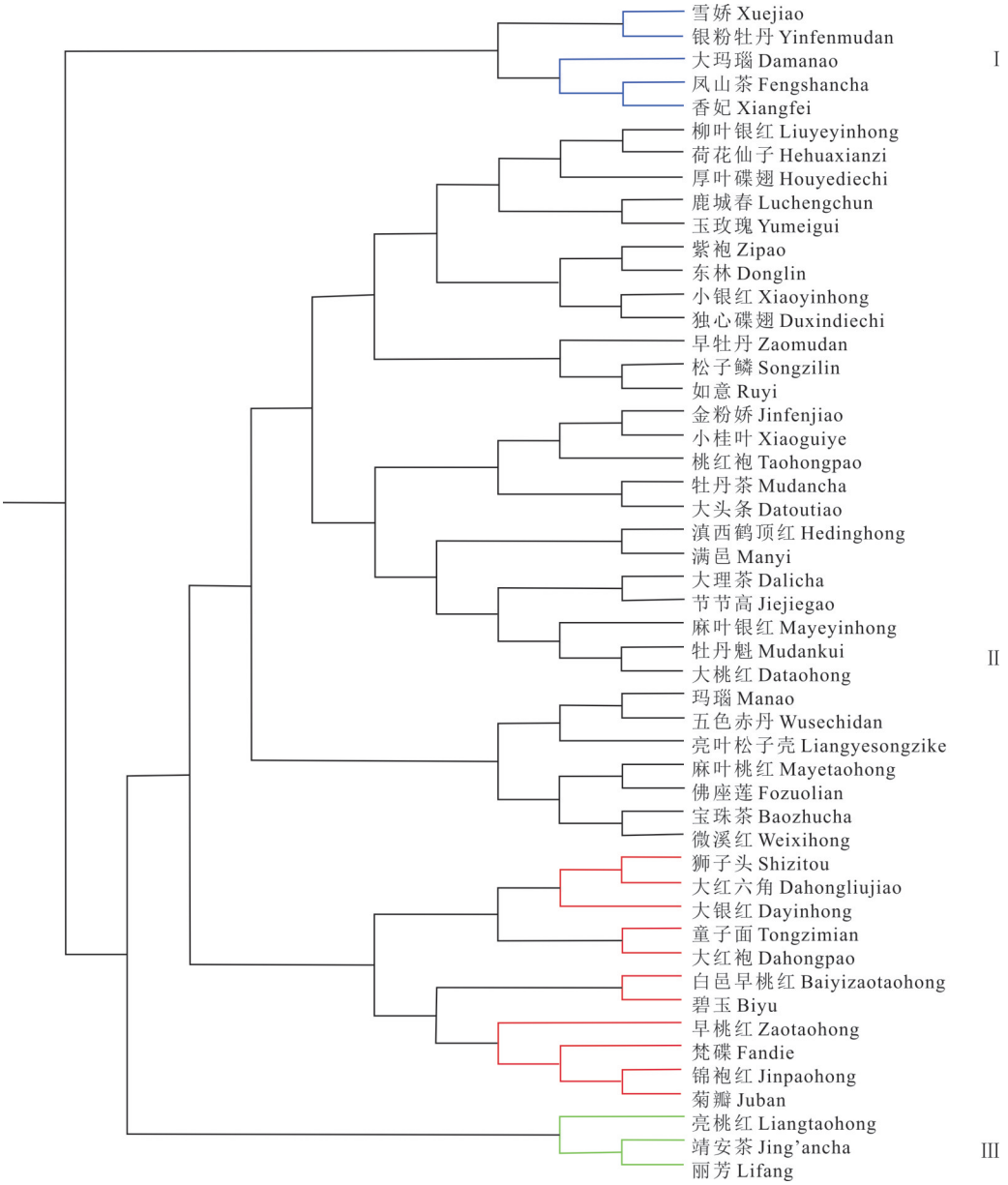


图 2　50 个云南山茶品种遗传聚类结果

Fig. 2　Genetic clustering results of 50 *Camellia reticulata* varieties

基于NTSYSpc-2.1计算的遗传相似系数显示,50个云南山茶品种间的遗传相似系数为0.61～0.92。其中'香妃'和'凤山茶'的遗传相似系数最大(0.92),表明它们的亲缘关系最近;'大玛瑙'和'桃红袍'的遗传相似系数最小(0.61),表明它们的亲缘关系最远。利用Neighbour-Joining法(N-J法)构建的遗传聚类图(图2)显示,50个云南山茶品种可聚为三大类。第Ⅰ大类包括'雪娇'、'凤山茶'、'香妃'、'大玛瑙'和'大红六角'5个品种;第Ⅱ大类包括'紫袍'、'早牡丹'和'玛瑙'等42个品种,其中第Ⅱ-1类包括'麻叶桃红'和'柳叶银红'等31个品种,第Ⅱ-2类包括'早桃红'和'狮子头'等11个品种;第Ⅲ大类仅包含'靖安茶'、'丽芳'和'亮桃红'3个品种。

2.3 云南山茶品种群体结构分析

使用Structrue软件对50个云南山茶品种进行居群结构分析,结果(图3)显示,当ΔK值为2时,云南山茶群体有最佳的分组。

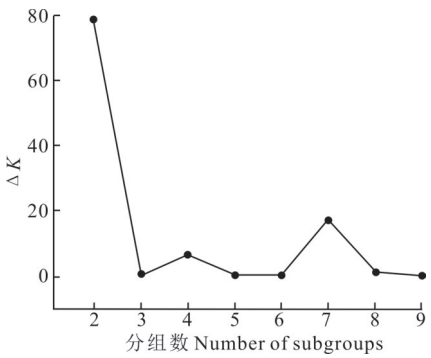


图3 50个云南山茶品种ΔK值-分组折线图

Fig. 3 Line graph of ΔK values for 50 *Camellia reticulata* varieties

由图4可以看出,50个云南山茶品种大致聚为2类,其中'香妃'、'大玛瑙'、'大理茶'和'银粉牡丹'为一组,另一组包含了'狮子头'、'早桃红'和'玛瑙'等46个云南山茶品种,但'亮桃红'、'靖安茶'和'丽芳'等部分山茶品种与此聚类的其他云南山茶存在一定差异。该结论与聚类分析的结果相似。

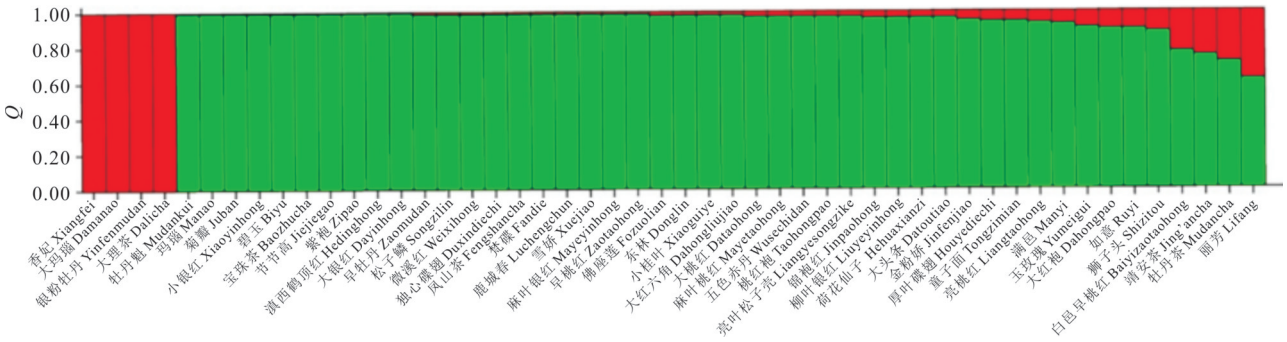


图4 50个云南山茶品种Structrue软件分析结果

Fig. 4 Structrue software analysis of 50 *Camellia reticulata* varieties

2.4 云南山茶品种群体主成分分析

为进一步揭示50个云南山茶品种的遗传关系,在NJ法聚类结果基础上,对50个云南山茶品种进行了主成分分析,结果(图5)显示,50个云南山茶品种基本聚在一起,且PCA第1主成分占41.98%,说明其主成分分析可靠,50个云南山茶品种的遗传关系相近。这一结论在一定程度上说明了50个云南山茶品种是高度相似的,遗传关系极为紧密。

3 讨论与结论

遗传多样性是指所有生物遗传信息的综合,与生物进化息息相关,受环境的制约和影响。分子标记技术为研究遗传多样性提供了有力的工具,能够揭示物种的遗传变异和进化历史。本研究使用25个Tea_ILP标记对50个云南山茶品种进行遗传多样性检测,结果表明在50个云南山茶品种中扩增出152个条带,多态性条带扩增率为100%,与刘娇等[23]和黄利超等[24]利用EST-SSR标记的研究结果一致,进一步表明云南山茶品种具有极高的多态扩增率。Nei基因多样性指数(H)和Shannon信息指数(I)是衡量群体遗传多样性的重要指标,H和I值越大,表明群体的遗传多样性程度越高[25]。本研究中,50个云南山茶品种的H平均值为0.55,I平均值为0.99,显著高于林开勤等[26]利用SSR分子标记技术对云南茶树的研究结果(H=0.22,I=0.33),也高于周萌等[27]利用EST-SSR标记对云南大树茶的

研究结果（H=0.53，I=0.81），表明云南山茶品种的遗传多样性程度较高，这可能是由于普通茶树在基因交流上比山茶更为频繁，导致山茶品种的遗传变异更为丰富。多态信息含量（PIC）是衡量分子标记多态性的另一个重要指标。一般认为，当 PIC 值大于 0.5 时，该标记具有较高的信息量，能够较好地反映样本的遗传多样性[28]。本研究中，25 个茶树 ILP 标记中有 14 个标记的 PIC 值大于 0.5，云南山茶的 PIC 平均值为 0.52，接近于姜晓辉等[29]在云南茶树中研究的 PIC 均值（0.66），略高于周萌等[27]在云南大茶树研究的 PIC 均值（0.47），表明本研究开发的山茶 ILP 标记能够较好地反映云南山茶的遗传多样性。

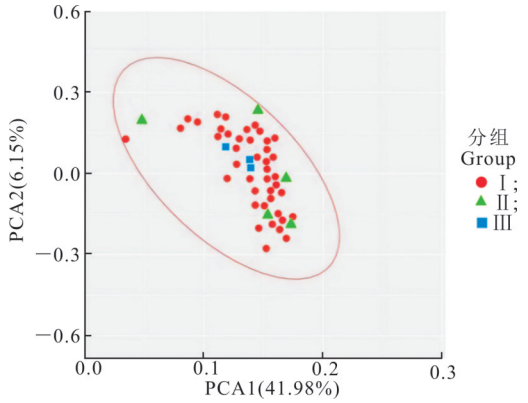


图 5　基于 ILP 标记的云南山茶品种主成分分析

Fig. 5　Principal component analysis of *Camellia reticulata* varieties based on ILP markers

期望杂合度 *He* 是衡量遗传多样性水平的核心指标，同时反映物种内的多样性水平[30]。*He* 值越高，该标记提供的信息量越大[31]，表明所分析样本具有更丰富的遗传多样性。此外，*Ho* 值（观测杂合度）越接近 *He* 值，群体的遗传多样性水平越高[32]。本研究结果显示，云南山茶的观测杂合度（*Ho*=0.72）略高于期望杂合度（*He*=0.55），说明供试的云南山茶样品具有较高的遗传多样性。造成这种现象的原因可能为以下几方面：（1）人工选择与杂交育种的历史影响。云南山茶作为重要的观赏植物，长期受到人工定向选育，其育种目标通常倾向于保留杂合个体的表型优势（如花色多样性、花型复杂性和抗逆性），导致杂合子被优先保留和扩繁。（2）异交繁殖与自交不亲和性。山茶属植物普遍具有自交不亲和性（self-incompatibility，SI），依赖异花授粉完成繁殖，在长期杂交演化过程中产生大量不连续变异[33]。而栽培环境中人为介导的云南山茶品种间杂交（如不同地理来源或表型互补品种的配组）可能促进增加杂合子比例。（3）自然选择对杂合子的偏好。野生或半野生状态下，杂合子可能因适应性优势（如抗病性、生态位广适性）而受到正向选择。而在高强度人工选育的云南山茶栽培群体中，杂合个体的生存优势（如对病虫害的抵抗力）仍可能通过自然选择被保留，从而放大了 *Ho* 与 *He* 的差异。

遗传相似系数是用来比较不同品种或群体间遗传多样性的重要指标。在遗传相似系数为 0.61 时，50 个云南山茶品种被划分为三大类，其中第Ⅱ大类包含的品种最多，占总数的 84%；‘香妃’和‘凤山茶’的遗传关系最近，遗传相似系数为 0.92。通过 Structure 软件对群体结构进行分析发现，当 ΔK=2 时，50 个云南山茶品种可分为两组，其中一组包含 46 个品种。主成分分析进一步表明，50 个山茶品种在遗传关系上高度相似，且基本聚在一起。亲缘关系聚类分析、品种群体结构分析和主成分分析等多重分析结果表明，以重瓣型为主的云南山茶在聚类时表现出高度相似性，亲缘关系更为接近，这与辛桐[34]利用 AFLP 标记对不同瓣形的云南山茶品种进行聚类研究的结果一致。同时在一定程度上表明所选用 50 个云南山茶可能来自于共同的亲本。系统发生树、群体结构及主成分分析所揭示的云南山茶品种群体的亲缘关系，将为下一步的云南山茶新品种选育中亲本选配提供科学参考依据。

[参考文献]

[1] 薛英利，赵庆师，黄由安，等. 滇山茶的花色类型与细胞内环境关系初探[J]. 云南农业大学学报（自然科学），2015，30(3)：455-463.
XUE Y L，ZHAO Q S，HUANG Y A，et al. Research on relationship between floral colors and intracellular environment of *Camellia reticulata* Lindl. [J]. Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)，2015，30(3)：455-463.

[2] 李拓键，屈燕，王兵益，等. 不同倍性云南山茶染色体核型分析[J]. 中南林业科技大学学报，2023，43(3)：167-174.
LI T J，QU Y，WANG B Y，et al. Chromosome karyotype analysis of *Camellia reticulata* with different ploidy[J]. Journal of Central South University of Forestry Science and Technology，2023，43(3)：167-174.

[3] 姚秋阳. 利用 RNA-seq 技术在云南山茶中解析重要分子通路与开发多态性 EST-SSR[D]. 昆明：云南大学，2015.
YAO Q Y. Resolving important molecular pathways and developing polymorphic EST-SSR in *Camellia reticulata* using RNA-seq[D]. Kunming：Yunnan University，2015.

[4] 吴双. 棉花全基因组内含子长度多态性功能标记开发和耐盐

相关基因鉴定[D]. 南京:南京农业大学,2017.
WU S. Development of functional markers for genome-wide intron length polymorphism and identification of salt tolerance-related genes in cotton[D]. Nanjing:Nanjing Agricultural University,2017.

[5] WANG X,ZHAO X,ZHU J,et al. Genome-wide investigation of intron length polymorphisms and their potential as molecular markers in rice (*Oryza sativa* L.)[J]. DNA Research,2005,12(6):417-427.

[6] LIU H,LIN Y,CHEN G,et al. Genome-scale identification of resistance gene analogs and the development of their intron length polymorphism markers in maize[J]. Molecular Breeding,2012,29:437-447.

[7] STELMACH K,MACKO-PODGÓRNI A,MACHAJ G,et al. Miniature inverted repeat transposable element insertions provide a source of intron length polymorphism markers in the carrot (*Daucus carota* L.)[J]. Frontiers in Plant Science,2017,8:725.

[8] 张正社. 全基因组水平苜蓿FAD基因鉴定、功能研究及ILP分子标记的开发与应用[D]. 兰州:兰州大学,2019.
ZHANG Z S. Genome-wide level alfalfa FAD gene identification,functional study and development and application of ILP molecular markers[D]. Lanzhou:Lanzhou University,2019.

[9] 韦兴燚. 转录组水平箭筈豌豆ILP标记及AQP基因家族的鉴定和功能分析[D]. 兰州:兰州大学,2019.
WEI X Y. Identification and functional analysis of ILP markers and AQP gene family in arrow end pea at transcriptome level[D]. Lanzhou: Lanzhou University,2019.

[10] 黄莉莎. 烟草中PIP和SSR标记的开发及其应用的研究[D]. 山东泰安:山东农业大学,2013.
HUANG L S. Research on the development of PIP and SSR markers in tobacco and their applications[D]. Tai'an,Shandong:Shandong Agricultural University,2013.

[11] 陈曦. 棉花和松树内含子长度多态性的检测和应用[D]. 杭州:浙江大学,2010.
CHEN X. Detection and application of intron length polymorphism in cotton and pine[D]. Hangzhou:Zhejiang University,2010.

[12] 张宇飞. 无芒隐子草全基因组水平内含子长度多态性(ILP)分子标记的开发和应用[D]. 兰州:兰州大学,2019.
ZHANG Y F. Development and application of genome-wide level intron length polymorphism (ILP) molecular markers in awnless cryptomeria[D]. Lanzhou:Lanzhou University,2019.

[13] CHEN J D,ZHENG C,MA J Q,et al. The chromosome-scale genome reveals the evolution and diversification after the recent tetraploidization event in tea plant[J]. Horticulture Research,2020,7:63.

[14] XIA E,TONG W,HOU Y,et al. The reference genome of tea plant and resequencing of 81 diverse accessions provide insights into its genome evolution and adaptation[J]. Molecular plant,2020,13(7):1013-1026.

[15] WANG X,FENG H,CHANG Y,et al. Population sequencing enhances understanding of tea plant evolution[J]. Nature Communications,2020,11(1):4447.

[16] ZHANG W,ZHANG Y,QIU H,et al. Genome assembly of wild tea tree DASZ reveals pedigree and selection history of tea varieties[J]. Nature Communications,2020,11(1):3719.

[17] 王爽. 基于茶树转录组SSR标记开发及部分山茶属植物遗传多样性分析[D]. 南京:南京农业大学,2019.
WANG S. Development of SSR markers based on tea tree transcriptome and genetic diversity analysis of some *Camellia sinensis* plants[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University,2019.

[18] 彭磊,赵懿琛,陆莹霞,等. 41份古茶树种质资源遗传多样性SSR标记分析[J/OL]. 分子植物育种,1-15[2025-06-03]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240315.1058.006.html.
PENG L,ZHAO Y C,LU Y X,et al. Genetic diversity analysis of SSR markers in 41 ancient tea tree germplasm resources[J/OL]. Molecular Plant Breeding,1-15[2025-06-03]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/46.1068.S.20240315.1058.006.html.

[19] 张耿. 芸薹属内含子长度多态性和EST单核苷酸多态性研究[D]. 杭州:浙江大学,2009.
ZHANG G. Intron length polymorphism and EST single nucleotide polymorphism in *Brassica juncea*[D]. Hangzhou:Zhejiang University,2009.

[20] SHEN Y,HE X,ZU F,et al. Development of genome-wide intron length polymorphism (ILP) markers in tea plant (*Camellia sinensis*) and related applications for genetics research[J]. International Journal of Molecular Sciences,2024,25(6):3241.

[21] 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]. 昆明:西南林业大学,2016.
TANG T. Genetic diversity of wild-type and cultivated tea trees in Zhenyuan County, Yunnan based on EST-SSR markers[D]. Kunming:Southwest Forestry University,2016.

[22] 程小毛,陈自兰,王华. 茶树EST-SSRs在山茶科植物中的通用性研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(13):7596-7598.
CHENG X M,CHEN Z L,WANG H. Study on the transferability of *Camellia sinensis* EST-SSRs in theaceae plant[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences,2011,39(13):7596-7598.

[23] 刘娇,杨雄伟,何胜聪,等. 云南南涧县古茶树资源遗传多样性的EST-SSR分析[J/OL]. 热带亚热带植物学报,1-9[2025-03-02]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1374.q.20240517.1459.002.html.
LIU J,YANG X W,HE S C,et al. EST-SSR analysis of genetic diversity of ancient tea tree resources in Nanjian County,Yunnan[J/OL]. Journal of Tropical Subtropical Botany,1-9[2025-03-02]. http://kns.cnki.net/kcms/detail/44.1374.q.20240517.1459.002.html.

[24] 黄利超,陈洪宇,罗义菊,等. 基于SSR标记的澜沧江流域大理茶群体遗传多样性研究[J]. 农业生物技术学报,2025,33(1):68-78.

HUANG L C，CHEN H Y，LUO Y J，et al. Genetic diversity of Dali tea populations in Lancang River basin based on SSR markers[J]. Journal of Agricultural Biotechnology，2025，33(1)：68-78.

[25] 胡尧. 川渝茶树品种及70份新品系的遗传多样性研究[D]. 四川雅安：四川农业大学，2018.
HU Y. Genetic diversity of tea tree varieties and 70 new lines in Sichuan and Chongqing[D]. Ya'an，Sichuan：Sichuan Agricultural University，2018.

[26] 林开勤，李悦欣，魏杰，等. 基于SSR分子标记分析石阡茶树资源遗传多样性[J]. 西南农业学报，2024，37(7)：1435-1441.
LIN K Q，LI Y X，WEI J，et al. Analysis of genetic diversity of tea tree resources in Shiqian basedon SSR molecular markers[J]. Southwest Journal of Agriculture，2024，37(7)：1435-1441.

[27] 周萌，李友勇，孙雪梅，等. 基于EST-SSR标记的云南大茶树遗传多样性分析[J]. 华北农学报，2013，28(S1)：91-96.
ZHOU M，LI Y Y，SUN X M，et al. Genetic diversity analysis of Yunnan large tea tree based on EST-SSR markers[J]. North China Journal of Agriculture，2013，28(S1)：91-96.

[28] LIU W X，JIA X T，LIU Z M，et al. Development and characterization of transcription factor genederived microsatellite (tfgm) markers in medicago truncatula and their transferability in leguminous and non-leguminous species[J]. Molecules，2015，20(5)：8759-8771.

[29] 姜晓辉，李红建，李崇兴，等. 云南白莺山茶树种质资源遗传多样性及群体结构分析[J]. 中国农学通报，2019，35(14)：68-76.
JIANG X H，LI H J，LI C X，et al. Analysis of genetic diversity and population structure of tea tree germplasm resources in Baiying Mountain，Yunnan[J]. Chinese Agronomy Bulletin，2019，35(14)：68-76.

[30] GOMES S，MARTINS-LOPES P，LOPES J，et al. Assessing genetic diversity in *Olea europaea* L. using ISSR and SSR markers[J]. Plant Molecular Biology Reporter，2009，27：365-373.

[31] DIAZ A，DE LA ROSA R，MARTÍN A，et al. Development，characterization and inheritance of new microsatellites in olive (*Olea europaea* L.) and evaluation of their usefulness in cultivar identification and genetic relationship studies[J]. Tree Genetics & Genomes，2006，2：165-175.

[32] HANSSON B，WESTERBERG L. On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations[J]. Molecular Ecology，2002，11(12)：2467-2474.

[33] 孙雪梅，赵才美，李友勇，等. 云南茶树地方品种与野生茶遗传多样性的ISSR分析[J]. 西南农业学报，2018，31(5)：901-906.
SUN X M，ZHAO C M，LI Y Y，et al. ISSR analysis of genetic diversity between local varieties of Yunnan tea trees and wild tea[J]. Southwest Journal of Agriculture，2018，31(5)：901-906.

[34] 辛桐. 云南山茶花(*Camellia reticulata*)多样性的人文因素及遗传背景[D]. 北京：中央民族大学，2015.
XIN T. Human factors and genetic background of camellia (*Camellia reticulata*) diversity in Yunnan[D]. Beijing：Central University for Nationalities，2015.

（责任编辑：屈李纯）