

基于 SCoT 分子标记的金花茶组植物种质资源遗传多样性分析

卢家仕, 李先民, 黄展文, 余海娟, 李春牛, 苏群, 卜朝阳*

广西壮族自治区农业科学院 花卉研究所, 广西 南宁 530007

摘要: 目的 利用 SCoT 分子标记技术分析 27 份金花茶组植物种质资源的遗传多样性和亲缘关系, 为金花茶组植物种质资源鉴定保护和开发利用提供理论依据。方法 从 100 条 SCoT 引物中筛选出条带重复性好、多态性高的引物对供试材料进行 PCR 扩增, 用 NTsys 2.10e 计算种质间的遗传相似系数, 用非加权平均距离法 (UPGMA) 进行聚类分析, 构建系统发育进化树。结果 从 100 条 SCoT 引物中筛选出 13 条引物共扩增出 566 条条带, 其中多态性条带 549 条, 多态性比率为 97%, 平均每条 SCoT 引物扩增的总条带数和多态性条带数分别为 43.54、42.23 条, 多态性比率为 89.74%~100.00%, 平均为 96.82%; 27 份金花茶组植物种质间的遗传相似系数为 0.367~0.754。聚类分析结果显示, 遗传相似系数在 0.480 处可将 27 份金花茶种质划分为 I、II、III、IV、V 5 组, 遗传相似系数在 0.511 处第 I 组被划分为 a、b 亚组, 在 0.517 处第 II 组被划分为 c、d 亚组, 在 0.508 处第 IV 组被划分为 e、f 亚组。结论 不同金花茶组植物种质间的遗传多样性丰富, SCoT 分子标记多态性高, 重复性好, 可有效用于金花茶组植物种质资源遗传多样性分析, 为金花茶组植物种质资源的鉴定保护、分子辅助育种和开发利用提供理论依据。

关键词: 金花茶组; 种质资源; 亲缘关系; 遗传多样性; SCoT 分子标记

中图分类号: R282.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)20-6357-08

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.20.026

Genetic diversity analysis of *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources based on SCoT molecular markers

LU Jia-shi, LI Xian-min, HUANG Zhan-wen, YU Hai-juan, LI Chun-niu, SU Qun, BU Zhao-yang

Flower Research Institute, Academy of Agricultural Sciences, Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530007, China

Abstract: Objective The genetic diversity and the genetic relationship was analyzed by using a molecule marker technique of SCoT in order to provide theoretical support and reference for the identification, protection, development and utilization of the 27 *Camellia nitidissima* sect. *chrysantha* chang germplasm resources. **Methods** SCoT primers with good repeatability and high polymorphism were screened out from 100 primers, the materials tested were amplified by PCR. Then the genetic similarity coefficient between different germplasms were calculated by using NTsys 2.10e. The cluster analysis of different germplasm resources was analyzed by using an unweighted pair-group method with arithmetic means (UPGMA) to construct phylogenetic evolution tree. **Results** A total of 566 bands were amplified from 13 primers which screened out from 100 SCoT primers, including 549 polymorphic bands, and the polymorphism was 97%. The average number of the total number of bands and polymorphic bands amplified from all primers were 43.54 and 42.23, respectively. The percentage of polymorphism bands (PPB) was between 89.74% and 100.00%, with an average of 96.82%. The genetic similarity coefficient between different *camellia* sect. *chrysantha* chang germplasm resources was between 0.367 and 0.754. The cluster analysis results show that 27 *camellia* sect. *chrysantha* chang germplasm resources could be divided into five groups at the genetic similarity of 0.480. They were group I, group II, group III, group IV and group V. The group I could be divided into a and b two subunit groups at the genetic similarity of 0.511. The group

收稿日期: 2021-03-03

基金项目: 广西创新驱动发展专项 (桂科 AA17204026); 广西科技基地和人才专项 (桂科 AD17292017, 桂科 AD18281004); 广西农业科学院基本科研业务专项 (桂农科 2015YT90, 桂农科 JZ202013, 桂农科 2020YM34, 桂农科 2021YT132); 广西特色作物试验站建设项目 (桂 TS2016018)

作者简介: 卢家仕 (1976—), 男, 博士, 广西灵山人, 副研究员, 主要从事植物生理与分子生物学研究工作。

Tel: (0771)3243190 E-mail: lujiashi@126.com

*通信作者: 卜朝阳 (1966—), 女, 硕士, 研究员, 主要从事花卉栽培与育种等研究工作。Tel: (0771)3276924 E-mail: yangnv@126.com

II could be divided into c and d two subunit groups at the genetic similarity of 0.517. The group IV could be divided into e and f two subunit groups at the genetic similarity of 0.508. **Conclusion** In a word, the different *Camellia* sect. *chrysantha* germplasm resources present very rich genetic diversity. The SCoT molecular markers present high polymorphism and good repeatability, it can be effectively used for genetic diversity analysis of *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources and provide theoretical support and reference for the identification, protection, molecular assisted breeding, development and utilization of *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources.

Key words: *Camellia* section *chrysantha* Chang; germplasm resource; genetic relationship; genetic diversity; SCoT molecular markers

金花茶 *Camellia nitidissima* Chi. 是山茶科 (Theaceae) 山茶属 *Camellia* L. 金花茶组植物, 是具有金黄色花的山茶属植物代表, 属国家一级珍稀保护植物。金花茶主要分布于我国广西南部 and 越南北部, 地处亚热带南缘和热带北缘的热带季风气候区, 自 1960 年首次在广西发现以来, 已知的金花茶有 42 种 5 变种, 其中广西南部及西南部产 29 种 5 变种, 云南、贵州、四川各产 1 种, 越南北部产 10 种。金花茶是世界珍贵稀有的观赏植物和种质资源, 被誉为“茶族皇后”“植物界中的大熊猫”和“幻想中的黄色山茶”^[1-3]。金花茶花朵金黄色, 具蜡质光泽, 是培育黄色茶花的优良亲本^[4]。金花茶的花朵和叶片中含有类黄酮、茶多酚及茶多糖等多种化学活性成分, 也含有丰富的蛋白质、人体必需的氨基酸及微量元素, 具有调血脂、降血糖、降血压和抗癌等药用功效和重要的保健价值^[5-8]。

目前对金花茶的研究主要集中在地理分布^[9-10]、引种栽培^[11-12]、繁殖方式^[13-16]、化学成分^[17-18]、基因克隆^[19-20]等研究。随着分子生物学的发展, 分子标记技术在植物种植资源分类、品种鉴定、遗传多样性分析中发挥着重要的作用。分子标记技术在金花茶组植物种质资源中的应用主要如下: 施苏华等^[21]筛选 14 个随机扩增多态性 DNA (random amplified polymorphic DNA, RAPD) 引物分析 11 种金花茶植物间的遗传相似性, 并构建了系统发育树状分支图; 张玥等^[22]用简单重复序列区间 (inter-simple sequence repeats, ISSR) 分子标记方法对云南大围山金花茶及广西金花茶种质资源进行亲缘关系分析, 结果表明广西金花茶与云南金花茶分为 2 类, 而且亲缘关系较远, 云南大围山金花茶可进一步细分为 2 个亚类; 李辛雷等^[23]用扩增片段长度多态性 (amplified fragment length polymorphism, AFLP) 分子标记技术, 对 4 个金花茶种群进行遗传多样性和遗传结构分析, 结果表明金花茶种群内遗传变异为 81.52%, 种群间遗传变异为 18.48%, 遗

传变异主要存在于种群内, 种群间遗传变异与其地理距离无明显相关性; 刘凯等^[24]用 SNP 标记技术从基因组水平揭示不同地区金花茶种质遗传关系, 结果可分成 2 个大的类群; 陈莉萍等^[25]用简单序列重复 (simple sequence repeats, SSR) 分子标记技术分析平果金花茶具有中等程度的遗传多样性和高水平的遗传分化, 种群内遗传变异达 74.69%, 种群间的遗传变异为 25.31%。

SCoT (start codon targeted polymorphism) 为目标起始密码子多态性标记, 该标记具有操作简单、重复性好等特点, 可作为 RAPD、ISSR 等传统分子标记的有效补充^[26]。目前已广泛应用在杨桃^[27]、砂糖桔^[28]、丝瓜^[29]等作物的遗传多样性分析中。目前, 未见有利用 SCoT 分子标记技术对金花茶进行遗传多样性分析的报道。利用 SCoT 分子标记技术分析不同金花茶组植物种质资源的遗传多样性和亲缘关系, 为金花茶组植物种质资源鉴定保护和开发利用提供理论参考依据。

1 材料与试剂

1.1 材料

27 份试验的金花茶组植物种质资源种植在广西农业科学院花卉研究所金花茶种质资源圃内。材料由广西农业科学院花卉研究所卜朝阳研究员和卢家仕副研究员共同鉴定, 鉴定结果见表 1。实验材料统一采集新鲜的嫩叶, 先用自来水清洗干净, 再用去离子水清洗一遍, 最后用滤纸吸干水分后提取植物基因组总 DNA。

1.2 主要仪器与试剂

HWS-26 型电热恒温水浴锅 (北京海天友诚科技有限公司); FM130 型雪花制冰机 (北京长流科技有限责任公司); H1650-W 型离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); MINI-4K 微型离心机 (杭州米欧仪器有限公司); MixMate PBC-115353 混匀仪 (Eppendorf 公司); Nano Drop One 核酸蛋白测定仪 (美国 Nano Drop 产品); LifeECO 基因扩

表1 实验材料

Table 1 Test materials

编号	种质资源	拉丁名	原产地
1	普通金花茶	<i>Camellia nitidissima</i> Chi	广西
2	毛瓣金花茶	<i>C. pubipetala</i> Y. Wan et S. Z. Huang	广西
3	小花金花茶	<i>C. micrantha</i> S. Y. Liang et Y. C. Zhong	广西
4	东兴金花茶	<i>C. tungghinensis</i> Chang	广西
5	中东金花茶	<i>C. achrysantha</i> Chang et S. Y. Liang	广西
6	薄叶金花茶	<i>C. chrysanthoides</i> Chang	广西
7	凹脉金花茶	<i>C. impressinervis</i> Chang et S. Y. Liang	广西
8	显脉金花茶	<i>C. euphlebica</i> Merr.et Sealy	广西
9	崇左金花茶	<i>C. perpetua</i> S. Y. Liang et L. D. Huang	广西
10	夏石金花茶	<i>C. xiashiensis</i> S. Y. Liang	广西
11	龙州金花茶	<i>C. longzhouensis</i> J. Y. Luo	广西
12	顶生金花茶	<i>C. pingguoensis</i> D. Fang var. <i>terminalis</i> (Liang et Su) S. Y. Liang	广西
13	毛籽金花茶	<i>C. ptilosperma</i> S. Y. Liang et Q. D. Chen	广西
14	弄岗金花茶	<i>C. longgangensis</i> C. F. Liang et S. L. Mo	广西
15	平果金花茶	<i>C. pingguoensis</i> D. Fang	广西
16	陇瑞金花茶	<i>C. longruiensis</i> S. Y. Liang et X. J. Deng	广西
17	天峨金花茶	<i>C. tianeesis</i> S.Y.Liang et Y.T.Luo	广西
18	柠檬黄金花茶	<i>C. limonia</i> C. F. Liang & S. L. Mo	广西
19	库克芳金花茶	<i>C. cucphuongensis</i> Ninh et Rosmann	越南
20	罗斯曼金花茶	<i>C. rosmannii</i> Ninh	越南
21	红顶金花茶	<i>C. insularis</i> Orel et Curry	越南
22	黄抱茎金花茶	<i>C. tienii</i> Ninh	越南
23	多毛金花茶	<i>C. hirsuta</i> Hakoda et Ninh	越南
24	隆安金花茶	无	广西
25	扶绥金花茶	<i>C. fusuiensis</i> S. Y. Liang et X. J. Deng	广西
26	大叶显脉金花茶	无	越南
27	小叶显脉金花茶	无	广西

增仪(杭州博日科技有限公司); DDY-60型电泳仪(北京市六一仪器厂); DYCP-31DN型电泳槽(北京市六一仪器厂); BIO-RAD凝胶成像系统(美国产品)。Biospin全能型植物基因组DNA试剂盒、2×Es Taq Master Mix(杭州博日科技有限公司); RNase A(天根生化有限公司); Gold View I型核酸染色剂(北京索莱宝科技有限公司); DL5000 Maker(Takara公司); Biowest琼脂糖(西班牙原装); 超纯水、50×TAE concentrate Solution缓冲液(南宁国拓生物科技有限公司); SCoT引物由北京擎科生物科技有限公司(广州分公司)合成。

2 方法

2.1 DNA提取与检测

金花茶组植物DNA参照Biospin全能型植物基因组DNA试剂盒说明方法提取。DNA用1.0%琼脂糖凝胶电泳和Nano Drop One核酸蛋白测定仪检测其纯度和浓度,每个DNA浓度统一用超纯水稀释

为10 ng/μL后放-20℃冰箱保存备用。

2.2 引物筛选与SCoT-PCR扩增

用平果金花茶(广西)和黄抱茎金花茶(越南)2份DNA样品代表进行引物初筛选,从中筛选扩增产物多态性好、重复性高、条带清晰的引物。SCoT-PCR 20 μL反应体系如下: DNA 1 μL、超纯水 8 μL、2×Ex Taq Mix 10 μL、SCoT引物 1 μL。PCR扩增程序: 94℃预变性 4 min; 94℃变性 30 s, 50~55℃退火 1 min, 72℃延伸 90 s, 扩增进行 35个循环;最后 72℃延伸 5 min,产物于 4℃保存。取 7 μL PCR扩增产物用 1.2%琼脂糖凝胶电泳,电泳结果用 BIO-RAD凝胶成像系统检测和拍照保存。

2.3 数据统计分析

SCoT-PCR扩增产物按同一迁移水平下条带的有无分别赋值,有条带记为“1”,无条带记为“0”,采用人工读取和统计条带。将[0, 1]数据矩阵导入NTsys 2.10e软件中,用DICE法计算遗传相似系数,

用 UPGMA 法构建聚类树状图。

3 结果与分析

3.1 SCoT 引物筛选与扩增结果

从 100 条 SCoT 引物中筛选出 13 条多态性高、条带清晰的引物共扩增出 566 条条带,其中多态性条带 549 条,多态性比率为 97%,平均每条 SCoT

引物扩增的总条带数和多态性条带数分别为 43.54 和 42.23 条,多态性比率为 89.74%~100.00%,平均为 96.82% (表 2); 扩增片段大小为 250~5 000 bp,以 500~3000 bp 居多,图 1、2 分别是引物 SCoT 34 和 SCoT 40 对不同金花茶组植物种质资源的 DNA 扩增结果。

表 2 13 个 SCoT 引物的扩增结果

Table 2 Amplification results of thirteen SCoT primers

序号	引物名称	引物序列 (5'-3')	总扩增条带/条	多态性条带/条	多态性比率/%
1	SCoT 11	AAGCAATGGCTACCACCA	47	46	97.87
2	SCoT 12	ACGACATGGCGACCAACG	43	42	97.67
3	SCoT 14	ACGACATGGCGACCACGC	41	40	97.56
4	SCoT 32	CCATGGCTACCACCGCAC	50	50	100.00
5	SCoT 33	CCATGGCTACCACCGCAG	32	30	93.75
6	SCoT 34	ACCATGGCTACCACCGCA	53	50	94.34
7	SCoT 40	ACGACATGGCGACCACGT	37	35	94.59
8	SCoT 47	ACAATGGCTACCACTGCC	51	51	100.00
9	SCoT 67	ACCATGGCTACCAGCGGC	41	40	97.56
10	SCoT 69	ACCATGGCTACCAGCGCA	36	36	100.00
11	SCoT 70	ACCATGGCTACCAGCGCG	59	58	98.31
12	SCoT 83	ACGACATGGCGACCAGCG	39	35	89.74
13	SCoT 84	ACGACATGGCGACCACGT	37	36	97.30
共计		-	566	549	-
平均值		-	43.54	42.23	96.82

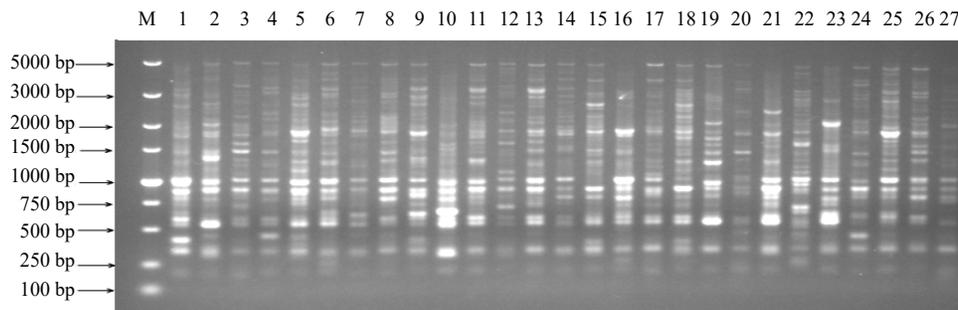


图 1 引物 SCoT 34 对 27 份金花茶组植物种植资源的 SCoT 分子标记扩增结果

Fig. 1 Amplification result of 27 *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources with primer SCoT 34 by SCoT molecular marker

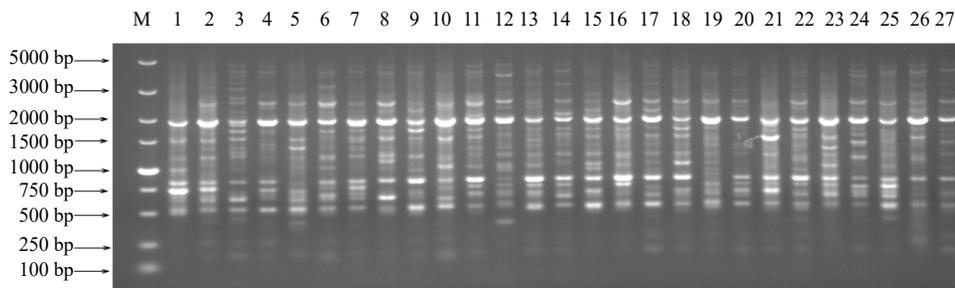


图 2 引物 SCoT 40 对 27 份金花茶组植物种植资源的 SCoT 分子标记扩增结果

Fig. 2 Amplification result of 27 *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources with primer SCoT 40 by SCoT molecular marker

3.2 遗传相似性分析

利用 NTSYS 2.10e 软件 DICE 法计算 13 条 SCoT 引物扩增结果, 导出了在 0.367~0.754, 获得了遗传相似性矩阵 (表 3)。2 个不同种质间的遗传相似系数越大说明材料间的亲缘关系越近, 相反,

2 个不同种质间的遗传相似系数越小说明材料间的亲缘关系越远。龙州金花茶和毛籽金花茶之间的相似系数最大, 为 0.754, 其亲缘关系最近, 普通金花茶和罗斯曼金花茶之间的相似系数最小, 为 0.367, 其亲缘关系最远。

表 3 27 份金花茶组植物种质资源的遗传相似系数

Table 3 Genetic similarity coefficients of 27 *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasm resources

序号	相似系数																											
	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	
1	1.000																											
2	0.641	1.000																										
3	0.485	0.494	1.000																									
4	0.495	0.536	0.673	1.000																								
5	0.508	0.572	0.532	0.556	1.000																							
6	0.503	0.519	0.613	0.617	0.580	1.000																						
7	0.463	0.505	0.660	0.625	0.568	0.685	1.000																					
8	0.475	0.570	0.552	0.596	0.586	0.596	0.571	1.000																				
9	0.466	0.531	0.465	0.492	0.575	0.512	0.505	0.556	1.000																			
10	0.438	0.484	0.411	0.431	0.493	0.435	0.431	0.506	0.461	1.000																		
11	0.472	0.503	0.454	0.486	0.505	0.553	0.505	0.572	0.561	0.587	1.000																	
12	0.424	0.478	0.442	0.491	0.530	0.507	0.498	0.465	0.479	0.450	0.503	1.000																
13	0.494	0.519	0.455	0.487	0.500	0.541	0.493	0.544	0.529	0.552	0.754	0.526	1.000															
14	0.473	0.458	0.485	0.448	0.420	0.532	0.510	0.488	0.502	0.481	0.585	0.502	0.667	1.000														
15	0.428	0.494	0.420	0.464	0.497	0.442	0.446	0.532	0.566	0.487	0.560	0.512	0.613	0.554	1.000													
16	0.438	0.506	0.370	0.419	0.436	0.478	0.400	0.493	0.472	0.553	0.644	0.475	0.654	0.562	0.583	1.000												
17	0.429	0.467	0.452	0.429	0.427	0.406	0.409	0.439	0.487	0.448	0.470	0.473	0.521	0.465	0.542	0.519	1.000											
18	0.460	0.514	0.448	0.468	0.484	0.452	0.407	0.501	0.530	0.496	0.545	0.509	0.603	0.526	0.698	0.567	0.567	1.000										
19	0.386	0.437	0.431	0.426	0.464	0.429	0.445	0.470	0.506	0.433	0.495	0.494	0.511	0.498	0.548	0.514	0.484	0.583	1.000									
20	0.367	0.413	0.476	0.472	0.427	0.453	0.509	0.433	0.410	0.374	0.424	0.442	0.469	0.454	0.444	0.376	0.454	0.462	0.417	1.000								
21	0.497	0.500	0.414	0.462	0.497	0.471	0.448	0.486	0.453	0.524	0.517	0.414	0.523	0.472	0.491	0.515	0.420	0.553	0.515	0.445	1.000							
22	0.416	0.481	0.437	0.426	0.484	0.488	0.486	0.490	0.481	0.439	0.481	0.450	0.476	0.466	0.473	0.461	0.419	0.503	0.495	0.418	0.477	1.000						
23	0.474	0.459	0.410	0.417	0.452	0.414	0.411	0.423	0.437	0.488	0.484	0.423	0.473	0.447	0.433	0.468	0.422	0.496	0.480	0.407	0.626	0.484	1.000					
24	0.455	0.476	0.503	0.495	0.463	0.503	0.547	0.469	0.460	0.425	0.449	0.462	0.466	0.505	0.450	0.419	0.508	0.454	0.456	0.490	0.453	0.528	0.474	1.000				
25	0.492	0.511	0.457	0.441	0.487	0.462	0.453	0.510	0.468	0.441	0.495	0.440	0.500	0.492	0.470	0.447	0.467	0.548	0.470	0.446	0.515	0.553	0.528	0.526	1.000			
26	0.454	0.424	0.418	0.461	0.435	0.457	0.455	0.473	0.453	0.409	0.427	0.454	0.475	0.464	0.477	0.438	0.373	0.501	0.449	0.385	0.475	0.196	0.477	0.504	0.573	1.000		
27	0.453	0.426	0.470	0.513	0.455	0.476	0.493	0.491	0.446	0.410	0.441	0.427	0.482	0.458	0.460	0.417	0.420	0.516	0.460	0.418	0.495	0.499	0.478	0.520	0.536	0.749	1.000	

3.3 聚类分析

通过非加权平均距离法 (UPGMA) 聚类分析, 构建 27 份金花茶组植物种质资源的聚类树状图 (图 3)。由图可见, 13 条 SCoT 引物的扩增结果在遗传相似系数 0.480 处聚为 5 组, 分别是 I、II、III、IV、V 组。第 I 组有 8 个金花茶种质, 在遗传相似系数 0.511 处第 I 组被分为 a、b 2 个亚组, 其中 a 亚组包括普通金花茶和毛瓣金花茶 2 个种质, b 亚组包括小花金花茶、东兴金花茶、薄叶金花茶、凹脉金花茶、中东金花茶和显脉金花茶 6 个种质。第 II 组有 5 个金花茶种质, 在遗传相似系数 0.517 处第 II 组被分为 c、d 2 个亚组, 其中 c 亚组包括黄抱茎金花

茶和隆安金花茶 2 个种质, d 亚组包括扶绥金花茶、大叶显脉金花茶和小叶显脉金花茶 3 个种质。第 III 组有夏石金花茶、红顶金花茶和多毛金花茶 3 个种质。第 IV 组有 10 个金花茶种质, 在遗传相似系数 0.508 处第 IV 组被分 e、f 2 个亚组, 其中 e 亚组只有顶生金花茶 1 个种质, f 亚组包括崇左金花茶、龙州金花茶、毛籽金花茶、陇瑞金花茶、弄岗金花茶、平果金花茶、柠檬黄金花茶、库克芳金花茶和天鹅金花茶 9 个种质。第 V 组只有罗斯曼金花茶 1 个种质, 与其他种质资源之间遗传相似系数在 0.367~0.509, 其遗传相似系数与普通金花茶的最小, 为 0.367, 与凹脉金花茶的最大, 为 0.509。

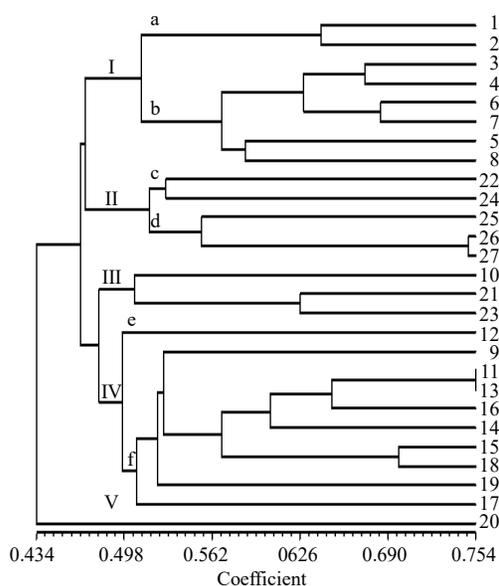


图3 27份金花茶组植物材料的UPGMA聚类树状图
Fig. 3 UPGMA dendrogram of 27 plants of *Camellia* sect. *chrysantha* Chang germplasms resources

4 讨论

SCoT分子标记是一种根据起始密码子ATG侧翼序列的保守性和一致性设计单向引物,扩增产生偏向候选功能基因区的显性多态性标记^[30],其操作简单、多态性高、重复性好、引物通用性强,能有效产生与性状连锁的位点,可检测出不同基因型供试材料间的微小差异,准确反映种质间亲缘关系^[31]。本研究用13条引物对27份金花茶种质进行PCR扩增,共扩增出566条条带,其中多态性条带549条,多态性比率为97%。宾晓芸^[32]用ISSR、RAPD和AFLP 3种分子标记方法揭示了金花茶物种的遗传多样性水平,ISSR、RAPD和AFLP多态位点百分数分别为75.2%、79.7%、80.73%。陈莉萍等^[25]用8对SSR引物对7个野生代表种群,共216个个体扩增获得多态性条带比率为94.64%。SCoT分子标记多态性比ISSR、RAPD和AFLP的高,与SSR分子标记接近。传统分子标记较稳定、可靠、操作简便,不受外部环境条件干扰,但也存在一些缺点,如AFLP分子标记需要高质量的DNA模板及制胶技术,RAPD分子标记重复性较差,SSR和cqSSR分子标记的引物开发较困难^[33]。SCoT分子标记可作为ISSR、RAPD和AFLP的有效补充^[26]。本研究结果发现金花茶组植物基因组有较高的多态性,可用于该类植物种质鉴定、遗传多样性分析及指纹图谱构建,这些多态性位点信息很可能是一些功能基因

或与目标性状相关联,可为基因定位和基因克隆提供理论参考依据。

第I组8个金花茶种质中,a亚组普通金花茶和毛瓣金花茶相近,b亚组小花金花茶与东兴金花茶相近,薄叶金花茶与凹脉金花茶相近,中东金花茶与显脉金花茶相近,第I组的聚类结果与叶创兴等^[34]研究结果相似,如普通金花茶、凹脉金花茶与显脉金花茶相近,毛瓣金花茶、薄叶金花茶与小花金花茶相近;小花金花茶与中东金花茶聚为一组与张宏达^[35]、施苏华等^[36]的研究结果相似,不同的是本组不包括扶绥金花茶;毛瓣金花茶与东兴金花茶聚为一组与肖政等^[37]的研究结果相似,不同的是其还包括薄瓣金花茶与东兴金花茶相近,但这两者的差异大。

第II组5个金花茶种质中,黄抱茎金花茶和隆安金花茶相近,区别在于前者嫩叶紫红色,叶基部呈耳状抱茎,嫩枝光滑无毛^[38],隆安金花茶花期较早,每年11月底始开;大叶显脉金花茶和小叶显脉金花茶遗传相似系数较高,为0.749,扶绥金花茶与这两者相近,而扶绥金花茶嫩叶淡红色,嫩枝淡紫红色。第III组3个金花茶种质中,红顶金花茶和多毛金花茶遗传相似系数较高,为0.626,两者都是越南种,区别在于红顶金花茶花色金黄,花大,产量高,具有较好的耐晒性^[39],多毛金花茶花色淡黄,花瓣无蜡质,嫩枝有浓密绒毛^[38],夏石金花茶与这两者相近,而不与小花金花茶相聚,这个研究结果与肖政等^[37]的研究结果不一致,与梁盛业^[1]的两者分开分类相似,夏石金花茶与小花金花茶花形态近似,但夏石金花茶叶片比较宽长,子房无银灰色短柔毛,其可能原因是SCoT分子标记扩增产生偏向于候选功能基因区的显性标记,红顶金花茶、多毛金花茶和夏石金花茶之间可能有共同的性状连锁位点,聚类分析表现为亲缘关系较近。

第IV组10个金花茶种质中,龙州金花茶和毛籽金花茶遗传相似系数最高,为0.754,陇瑞金花茶和弄岗金花茶与龙州金花茶、毛籽金花茶聚为小组,结果与闵天禄等^[40]将毛籽金花茶、弄岗金花茶、大样弄岗金花茶、大茶金花茶、陇瑞金花茶归并到淡黄金花茶的观点相似,与施苏华等^[36]的4个聚为一组研究结果一致。平果金花茶与柠檬黄金花茶聚在一起,遗传相似系数较高,为0.698,结果与叶创兴等^[34]研究结果相似。顶生金花茶花大,多单生于小枝顶端,其习性和叶形特征与平果金花茶十

分相似^[23]。陇瑞金花茶与柠檬黄金花茶、天鹅金花茶同为 f 亚组, 结果与肖政等^[37]的研究结果聚为 A 类相似。库克芳金花茶为越南引进种, 与柠檬黄金花茶相近, 遗传相似系数较高, 为 0.583, 区别在于库克芳金花茶长势旺, 一年可多次抽稍。第 V 组只有罗斯曼金花茶 1 个越南种质, 与其他种质资源差异较大, 可以作与为其他种质远缘杂交的资源。

不同金花茶组植物种质间的遗传多样性丰富, SCoT 分子标记多态性高, 重复性好, 可有效用于金花茶组植物种质资源遗传多样性分析和亲缘关系鉴定, 为金花茶组植物种质资源的鉴定保护、分子辅助育种和开发利用提供理论参考依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 梁盛业. 金花茶 [M]. 北京: 中国林业出版社, 1993: 2-6.
- [2] 苏宗明, 莫新礼. 我国金花茶组植物的地理分布 [J]. 广西植物, 1988, 8(1): 75-81.
- [3] 梁盛业. 世界金花茶植物名录 [J]. 广西林业科学, 2007, 36(4): 221-223.
- [4] 莫昭展. 崇左金花茶的氨基酸成分研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(6): 1385-1386.
- [5] 宁恩创, 秦小明, 杨宏. 金花茶叶水提物的降脂功能试验研究 [J]. 广西大学学报: 自然科学版, 2004, 29(4): 350-352.
- [6] 夏星, 黄嘉骏, 王志萍, 等. 金花茶叶的降血糖作用及急性毒性研究 [J]. 时珍国医国药, 2013, 24(5): 1281-1282.
- [7] Dai L, Li J L, Liang X Q, et al. Flowers of *Camellia nitidissima* cause growth inhibition, cell-cycle dysregulation and apoptosis in a human esophageal squamous cell carcinoma cell line [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(2): 1117-1122.
- [8] He D Y, Li X Y, Sai X, et al. *Camellia nitidissima* C. W. Chi: A review of botany, chemistry, and pharmacology [J]. *Phytochem Rev*, 2018, 17(2): 327-349.
- [9] 韦霄, 蒋运生, 韦记青, 等. 珍稀濒危植物金花茶地理分布与生境调查研究 [J]. 生态环境, 2007, 16(3): 895-899.
- [10] 刘杰恩, 宁世江, 唐润琴, 等. 早花金花茶地理分布及生态生物学特性研究 [J]. 广西科学, 2012, 19(4): 369-373.
- [11] 陈俏蓉, 刘付月清, 林思诚, 等. 金花茶的引种及栽培技术要点 [J]. 南方农业, 2018, 12(20): 48-49.
- [12] 赵鸿杰, 罗昭润, 陈杰. 金花茶林下栽培技术 [J]. 防护林科技, 2017(4): 113-114.
- [13] 杨泉光, 郭辰, 廖远明, 等. 金花茶高空压条繁殖技术初步研究 [J]. 绿色科技, 2015(1): 61-62.
- [14] 柴胜丰, 邓耘, 吴儒华, 等. 濒危植物显脉金花茶的扦插繁殖试验 [J]. 广西科学院学报, 2016, 32(1): 15-20.
- [15] 黄昌艳, 周主贵, 王晓国, 等. 金花茶种子萌发与快速繁殖技术研究 [J]. 南方农业学报, 2016, 47(5): 611-616.
- [16] 龙敏, 沈遐, 刘芳, 等. 影响金花茶组织培养芽增殖生长的几种因素 [J]. 绿色科技, 2018(21): 96-98.
- [17] 邹登峰, 谢爱泽, 赵理云, 等. 金花茶化学成分研究 [J]. 湖北农业科学, 2017, 56(21): 4124-4126.
- [18] 许凡萍. 金花茶化学成分的抗氧化活性研究 [J]. 农产品加工, 2019, 23: 67-68.
- [19] 高宇琼, 林玉玲, 赖钟雄. 金花茶多酚氧化酶基因的克隆及其体胚发生过程中的表达分析 [J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2014, 43(6): 602-608.
- [20] 周兴文, 康梅生, 冯晓娟, 等. 金花茶 CnLCYE 基因 cDNA 克隆及表达载体构建 [J]. 分子植物育种, 2017, 15(7): 2556-2562.
- [21] 施苏华, 唐绍清, 陈月琴, 等. 11 种金花茶植物的 RAPD 分析及其系统学意义 [J]. 植物分类学报, 1998, 36(4): 317-322.
- [22] 张玥, 蓝增, 全吴田. 云南大围山金花茶种质资源的 ISSR 分析 [J]. 分子植物育种, 2018, 16(2): 649-655.
- [23] 李辛雷, 王洁, 殷恒福, 等. 金花茶遗传多样性和遗传结构 AFLP 分析 [J]. 生态与农村环境学报, 2019, 35(1): 63-68.
- [24] 刘凯, 李开祥, 韦晓娟, 等. 基于 SLAF-seq 技术的花茶 SNP 标记开发及遗传分析 [J]. 经济林研究, 2019, 37(3): 79-83.
- [25] 陈莉萍, 解兵斌, 唐绍清. 基于 SSR 标记的平果金花茶的遗传多样性和遗传结构分析 [J]. 分子植物育种, 2020, 18(10): 3288-3293.
- [26] 熊发前, 唐荣华, 陈忠良, 等. 目标起始密码子多态性(SCoT): 一种基于翻译起始位点的目的基因标记新技术 [J]. 分子植物育种, 2009, 7(3): 635-638.
- [27] 欧景莉, 朱杨帆, 陈豪军, 等. 基于 SCoT 分子标记的 48 份杨桃种质遗传多样性分析 [J]. 南方农业学报, 2019, 50(8): 1680-1687.
- [28] Wu X L, Zheng F Q, Xu C X, et al. Genetic diversity analysis of Shatangju mandarin (*Citrus reticulata*) by SCoT-PCR [J]. *Agricultural Science & Technology*, 2016, 17(1): 34-37.
- [29] 蒋雅琴, 黎炎, 李文嘉, 等. SCoT 分子标记技术在丝瓜上的应用 [J]. 南方农业学报, 2014, 45(12): 2117-2122.
- [30] Collard B C Y, MacKill D J. Start Codon targeted (SCoT) polymorphism: A simple, novel DNA marker technique for

- generating gene-targeted markers in plants [J]. *Plant Mol Biol Report*, 2008, 27(1): 86-93.
- [31] 蔡元保, 杨祥燕, 陈豪军, 等. SRAP 结合 SCoT 标记分析番木瓜种质的遗传多样性 [J]. *植物遗传资源学报*, 2014, 15(2): 292-298.
- [32] 宾晓芸. 金花茶遗传多样性和居群遗传结构的 ISSR, RAPD 和 AFLP 分析 [D]. 桂林: 广西师范大学, 2005.
- [33] 卢家仕, 韦绍龙, 黄素梅, 等. 基于 ISSR 分子标记的广西香蕉种质资源遗传多样性分析 [J]. *南方农业学报*, 2020, 51(4): 775-780.
- [34] 叶创兴, 许兆然. 关于金花茶组的研究 [J]. *中山大学学报: 自然科学版*, 1992, 31(4): 68-77.
- [35] 张宏达. 华南植物区系的金花茶组[J]. *中山大学学报*, 1979, 18(3):69-74.
- [36] 施苏华, 唐绍清, 陈月琴, 等. 11 种金花茶植物的 RAPD 分析及其系统学意义 [J]. *植物分类学报*, 1998, 36(4): 23.
- [37] 肖政, 李纪元, 李志辉, 等. 金花茶组物种遗传关系的 ISSR 分析 [J]. *林业科学研究*, 2014, 27(1): 71-76.
- [38] 李桂娥, 李志辉, 蒋昌杰, 等. 越南黄抱茎金花茶和多毛金花茶在南宁的引种表现 [J]. *湖南农业科学*, 2018, (5): 8-11.
- [39] 李志辉, 蒋昌杰, 漆娅, 等. 红顶金花茶在广西南宁的扩繁技术研究 [J]. *农业研究与应用*, 2019, 32(2): 1-4.
- [40] 闵天禄, 张文驹. 山茶属古茶组和金花茶组的分类学问题 [J]. *云南植物研究*, 1993, 15(1): 1-15.

[责任编辑 时圣明]