

## 作孚连蕊茶的形态特征观测和 SNP 位点分析

沈琳<sup>1</sup>, 周利<sup>2</sup>, 张亚利<sup>3,①</sup>

(1. 上海上园苗木有限公司, 上海 200083; 2. 南山植物园, 重庆 400060; 3. 上海市农业科学院林木果树研究所, 上海 201403)

**摘要:** 对作孚连蕊茶 (*Camellia tsofui* S. S. Chien) 3 个单株 (分别采自重庆缙云山和浙江国际山茶物种园) 的主要形态特征进行观测和比较, 并采用 Super-GBS 技术进行 SNP 位点相似度分析。与原始文献描述相比, 作孚连蕊茶在原生境和迁地栽培环境存在以下变异: 生活型为灌木或小乔木, 花顶生和腋生, 花蕾白色或紫红色, 花梗及萼片总长 6~12 mm, 游离花丝疏被毛或近无毛, 柱头 3 裂, 裂片长不足 1 mm, 或 1~3 mm。此外, 幼叶绿色或紫红色; 蒴果近球形, 横径 5~13 mm, 1 室, 种子 1 粒; 种子近球形, 深褐色。作孚连蕊茶 3 个单株两两之间的 SNP 位点相似度均在 93% 以上, 为作孚连蕊茶的种内变异。

**关键词:** 作孚连蕊茶; 形态特征; Super-GBS 技术; SNP 位点

**中图分类号:** Q944; Q946-33; S684 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7895(2022)06-0090-03

**DOI:** 10.3969/j.issn.1674-7895.2022.06.11

**Morphological character observation and SNP site analysis of *Camellia tsofui*** SHEN Lin<sup>1</sup>, ZHOU Li<sup>2</sup>, ZHANG Yali<sup>3,①</sup> (1. Shanghai Shangyuan Nursery Co., Ltd., Shanghai 200083, China; 2. Nanshan Botanical Garden, Chongqing 400060, China; 3. Forest and Fruit Tree Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Sciences, Shanghai 201403, China), *J. Plant Resour. & Environ.*, 2022, 31(6): 90-92

**Abstract:** The major morphological characters of three individuals of *Camellia tsofui* S. S. Chien (collected from Jinyun Mountain of Chongqing and International Camellia Species Park of Zhejiang) were observed and compared, and similarity analysis on SNP sites was performed by using Super-GBS technology. Compared with the original literature description, *C. tsofui* in original habitat and *ex situ* cultivation environment has following variations: its life form is shrub or small tree, flowers are terminal and axillary, flower buds are white or purplish red, the total length of pedicel and calyx are 6-12 mm, free filaments are sparsely hairy or nearly glabrous, style trifid, and the length of lobes are less than 1 mm or 1-3 mm. In addition, its young leaves are green or purplish red; capsule subglobose, 5-13 mm in transverse diameter, one room, and one seed; seed subglobose, and dark brown. The similarities of SNP sites between each two of three individuals of *C. tsofui* are all more than 93%, which are intraspecific variations of *C. tsofui*.

**Key words:** *Camellia tsofui* S. S. Chien; morphological character; Super-GBS technology; SNP site

近年来,山茶属 (*Camellia* Linn.) 连蕊茶组 (Sect. *Theopsis* Cohen-Stuart) 植物因其花小而密等观赏特征受到研究者及应用者的关注与喜爱<sup>[1,2]</sup>。作者在野外调查中观测到重庆缙云山作孚连蕊茶 (*Camellia tsofui* S. S. Chien) 的花梗及萼片总长以及花蕾和花瓣颜色等形态特征与原始文献<sup>[3]</sup> 描述存在差异, 这些差异在作孚连蕊茶作为景观应用和育种材料开发中具有重要价值。

Super-GBS 技术是基于 GBS 进一步发展出的简化基因组测序技术, 因其能够获得更多、更准确的 SNP/Indel 等优势, 目前已逐步运用到分子标记开发和进化分析等研究中<sup>[4]</sup>。近年来, 作者先后开展山茶属连蕊茶组和毛蕊茶组 (Sect. *Eriandria* Cohen-Stuart) 不同物种、同一物种不同居群以及同一物种同一居群不同单株样本的 Super-GBS 测序与分析, 其中, 两两样本

间的相似度比较在进行分类鉴定及进化分析方面具有一定的参考意义。

本研究对作孚连蕊茶在原生境及迁地栽培环境中的形态特征进行观测和比较, 探索 Super-GBS 技术在开展形态特征存在差异材料相似度比较中的应用, 以为作孚连蕊茶的景观应用和种质创新等提供支撑, 同时也为其今后的分类地位探讨提供借鉴。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

供试作孚连蕊茶野生居群主要分布于重庆缙云山 (东经 106°23'、北纬 29°49') 海拔约 800 m 的常绿阔叶林、针阔混交

收稿日期: 2022-07-01

基金项目: 上海市花卉产业技术体系建设[沪农科产字(2022)第 8 号]

作者简介: 沈琳(1985—), 女, 江苏靖江人, 硕士, 高级工程师, 主要从事生态园林规划设计与植物应用方面的研究。

①通信作者 E-mail: zhangyl@saas.sh.cn

引用格式: 沈琳, 周利, 张亚利. 作孚连蕊茶的形态特征观测和 SNP 位点分析[J]. 植物资源与环境学报, 2022, 31(6): 90-92.

林和毛竹〔*Phyllostachys edulis* (Carriere) J. Houzeau〕林内;迁地栽培材料种植于浙江金华的国际山茶物种园内的连蕊茶组和毛蕊茶组资源种质区。通过采集标本、形态特征记录和拍照,比对作孚连蕊茶原始文献<sup>[3]</sup>描述及林祁等<sup>[5]</sup>指定的后选模式标本的形态特征,鉴定为作孚连蕊茶。凭证标本保存于上海辰山植物标本馆(CSH)。

Super-GBS 测序与分析选取 3 个花部形态特征存在差异的作孚连蕊茶单株。其中, O-1 单株(凭证标本号 CSH0187825)采自缙云山,其花梗及萼片总长 8~10 mm,花近白色,花柱极浅 3 裂,裂片长约 1 mm; O-2 单株(凭证标本号 CSH0187824)采自缙云山,其花梗及萼片总长 6~8 mm,花瓣白色或外轮花瓣被紫红色,花柱浅 3 裂,裂片长约 3 mm; E-1 单株(凭证标本号 CSH0187846)采自国际山茶物种园,其花梗及萼片总长 10~12 mm,花瓣被紫红色,花柱极浅 3 裂,裂片长约 1 mm。

## 1.2 方法

1.2.1 植物形态特征观测 结合原始文献的形态特征描述,对生活型、枝干被毛情况、叶片长、叶片宽、花蕾着生方式、花蕾颜色、花梗及萼片总长、花瓣颜色、雄蕊被毛情况、花柱裂片长度、果实性状、果实大小、种子大小等数量和质量性状进行观测,数量性状随机选取 15 个样本进行数据收集。

1.2.2 Super-GBS 测序与分析 于春季采集幼嫩叶片,用锡箔纸包好后迅速放入液氮中,带回实验室后置于-80℃超低温冰箱保存,文库构建及测序由青岛欧易生物科技有限公司完成。采用植物基因组 DNA 试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司]提取 DNA,样品 DNA 抽提质检合格后,运用 Super-GBS 技术构建测序文库<sup>[4]</sup>。测序结果采用 Super-GBS 的信息分析流程进行数据质控、数据比对和基因分型<sup>[6-10]</sup>。本研究中的 3 份单株样本与 72 份连蕊茶组和毛蕊茶组的样本一起开展测序与分析。在整体分析 SNP 位点的基础上,对 O-1、O-2 和 E-1 3 个样本进行相似度[相似度=(两两分型一致且不缺失/两两有分型且不缺失)×100%]比较。

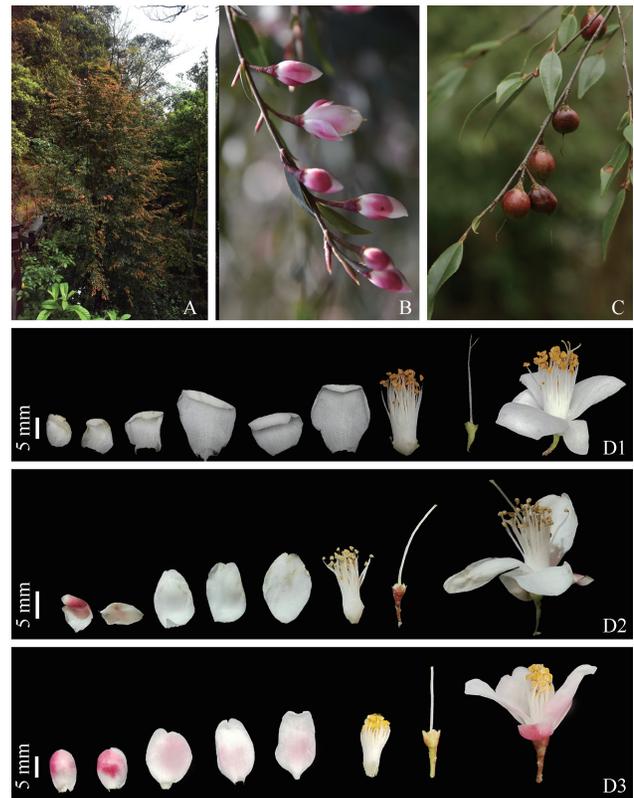
## 2 结果和分析

### 2.1 野外观测与原始文献描述的比较

整体而言,在原生境和迁地栽培环境,作孚连蕊茶的叶披针形或长圆形及游离花丝被毛等主要识别特征与原始文献描述基本一致,但其生活型和花部特征等性状存在差异。原始文献描述中生活型为灌木,而在原生境中存在灌木和小乔木(图 1-A)2 种生活型;原始文献描述中花 1~2 朵顶生,白色或初花时外部花瓣略被紫红色,而在原生境和迁地栽培环境中均为顶生和腋生,花蕾白色或紫红色(图 1-B);原始文献描述中花梗长 5~6 mm,萼片长 2 mm,而在原生境和迁地栽培环境中花梗及萼片总长 6~12 mm,且在迁地栽培环境中花瓣存在全部被紫红色的特征(图 1-D1, D2, D3);原始文献描述中游

离花丝疏被毛,柱头 3 裂,裂片长 1 mm,而在原生境和迁地栽培环境中游离花丝疏被毛或近无毛,柱头 3 裂,裂片长不足 1 mm,或 1~3 mm(图 1-D1)。

原始文献描述对作孚连蕊茶幼叶颜色、果实及种子等性状未做说明。原生境和迁地栽培环境中作孚连蕊茶幼叶绿色或紫红色;蒴果近球形(图 1-C),横径 5~13 mm,1 室,种子 1 粒;种子近球形,深褐色;盛花期为 3 月至 4 月,为连蕊茶组中花期较晚的资源。



A. 小乔木 Small tree. B. 花蕾 Flower bud. C. 果实 Fruit. D1, D2, D3. 花 Flower; D1. 花瓣白色 White petals; D2. 外轮花瓣被紫红色 Outer petals with purplish red; D3. 花瓣被紫红色 Petals with purplish red.

图 1 作孚连蕊茶部分形态特征

Fig. 1 Some morphological characters of *Camellia tsofui* S. S. Chien

### 2.2 SNP 位点相似度的比较

基于 Super-GBS 技术的 SNP 位点相似度的比较结果表明:供试 3 个样本共筛选出两两有分型且不缺失的 SNP 位点 163 371 个,3 个样本共有 SNP 位点 147 436 个,其中, O-1 和 O-2 两两分型一致且不缺失的位点 4 942 个,共有位点 152 378 个,相似度为 93.27%; E-1 和 O-1 两两分型一致且不缺失的位点 4 747 个,共有位点 152 183 个,相似度为 93.15%; E-1 和 O-2 两两分型一致且不缺失的位点 4 828 个,共有位点 152 264 个,相似度为 93.20%; E-1、O-1 和 O-2 特异的位点分别为 6 360、6 246 和 6 165 个。

## 3 讨论和结论

与原始文献描述相比,作孚连蕊茶在原生境及迁地栽培环境的形态特征差异主要体现在生活型、花蕾着生方式和花瓣颜色等性状,作孚连蕊茶的主要观赏特征及典型识别特征可以概括为:灌木或小乔木;叶披针形或长圆形,叶长3.0~5.5 cm,宽1.2~1.7 cm;花顶生和腋生,花蕾白色或紫红色;花梗及萼片总长6~12 mm,苞片散生于花梗;花瓣白色,或外轮花瓣被紫红色,或全部花瓣紫被红色;游离花丝多疏被毛;子房及花柱无毛;盛花期3月至4月,为连蕊茶组中花期较晚的种类。作孚连蕊茶在生活型、叶及花等性状上的特点,可使其成为园林景观、种质创新的优秀资源,在后续的开发应用中,可关注花蕾和花紫红色等形态特征。SNP位点相似度分析结果显示:供试3个样本两两之间的相似度均在93%以上,结合作者对Super-GBS测序与分析中同一物种不同单株样本相似度比较的结果,初步判断3个单株为作孚连蕊茶的种内变异。

本研究沿用Sealy<sup>[11]</sup>和张宏达<sup>[12]</sup>将作孚连蕊茶作为独立物种的观点,但闵天禄<sup>[13]</sup>将作孚连蕊茶作为毛蕊柃叶连蕊茶〔*Camellia euryoides* var. *nokoensis* (Hayata) Ming〕的异名,吕林玲<sup>[14]</sup>将其处理为*Camellia synaptica* var. *parviovata* (Chang) Ming的异名,可见该物种的分类地位仍需进一步研究。

**致谢:**感谢上海辰山植物园杜诚高级工程师和葛斌杰高级工程师在腊叶标本及原始文献方面给予的帮助和支持!

**参考文献:**

- [1] 倪穗,李纪元.我国连蕊茶组植物资源及其园林应用前景[J].浙江林业科技,2005,25(5):70-73.
- [2] 张亚利,杜诚,胡永红.山茶属连蕊茶组和毛蕊茶组资源及其种质创新研究进展[J].亚热带植物科学,2021,50(4):323-332.
- [3] CHIEN S S. Four new ligneous plants from Szechuan[C]//Science Society of China. Contributions from the Biological Laboratory of the Science Society of China. Botanical Series; Vol. XII, No. 2. Nanjing: [s.n.], 1939: 89-100.
- [4] QI P, GIMODE D, SAHA D, et al. UGbs-Flex, a novel bioinformatics pipeline for imputation-free SNP discovery in polyploids without a reference genome: finger millet as a case study [J]. BMC Plant Biology, 2018, 18: 117.
- [5] 林祁,秘树青,李红丽,等.中国山茶科33个植物名称的后选模式指定[J].西北植物学报,2008,28(8):1695-1703.
- [6] CATCHEN J, HOHENLOHE P A, BASSHAM S, et al. Stacks: an analysis tool set for population genomics [J]. Molecular Ecology, 2013, 22(11): 3124-3140.
- [7] CHEN S, ZHOU Y, CHEN Y, et al. fastp: an ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor [J]. Bioinformatics, 2018, 34(17): i884-i890.
- [8] DANECEK P, AUTON A, ABECASIS G, et al. The variant call format and VCFtools [J]. Bioinformatics, 2011, 27(15): 2156-2158.
- [9] MCKENNA A, HANNA M, BANKS E, et al. The Genome Analysis Toolkit: a MapReduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data [J]. Genome Research, 2010, 20(9): 1297-1303.
- [10] CINGOLANI P, PLATTS A, WANG L L, et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of *Drosophila melanogaster* strain *w*<sup>1118</sup>; *iso-2*; *iso-3* [J]. Fly, 2012, 6(2): 80-92.
- [11] SEALY J R. A Revision of the Genus *Camellia* [M]. London: The Royal Horticultural Society, 1958: 90.
- [12] 张宏达.山茶属植物的系统研究[M].广州:中山大学学报编辑部,1981:168.
- [13] 闵天禄.世界山茶属的研究[M].昆明:云南科技出版社,2000:181-182.
- [14] 吕林玲.后生山茶亚属(山茶科)植物分类学研究[D].厦门:厦门大学生命科学学院,2015:42-51.

(责任编辑:张明霞)