

中日 5 个岛屿山茶种群遗传多样性研究

林立^{1,2}, 倪穗¹, 李纪元^{2*}, 陈越^{1,2}, 应震¹

(1. 宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315211; 2. 中国林科院 亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400)

摘要: 运用 ISSR 分子标记法对中、日两国 5 个岛屿天然山茶种群共 150 个个体进行遗传多样性分析。结果表明: 筛选出的 20 条引物扩增得到 205 条清晰条带, 其中 183 条为多态性条带, 多态位点百分比(PPB)为 89.27%。经 POPGENE 软件分析, 山茶种群平均多态位点百分比(PPB)为 72.00%, Nei's 基因多样性指数(HE)为 0.2743, Shannon 信息多态性指数(H)为 0.4023, 种群水平遗传多样性较高。基因分化系数 $G_{st} = 0.2033$, 表明遗传变异主要存在于种群内个体间。Mantel 检验($r = 0.7989, P < 0.05$)和 UPGMA 聚类表明岛屿地理隔离对山茶种群遗传分化具有重要影响。基于岛屿山茶种群遗传结构的分析, 建议加强我国岛屿自然种群的就地保护力度。

关键词: 山茶; ISSR; 岛屿; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: S685.14 文献标识码: A 文章编号: 1000-3142(2012)03-0298-06

Study on population genetic diversity of *Camellia japonica* in 5 islands between China and Japan

LIN Li^{1,2}, NI Sui¹, LI Ji-Yuan^{2*}, CHEN Yue^{1,2}, YING Zhen¹

(1. School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Research Institute of Subtropical Forestry, CAF, Fuyang 311400, China)

Abstract: *Camellia japonica* is an important horticultural species, widely distributed in East-Asia. 5 populations of *C. japonica* collected from China and Japan were analyzed by ISSR markers to detect the genetic diversity. A total of 205 discernible loci were obtained from all populations using 20 primers. Of these loci, 89.27% were polymorphic (PPB = 89.27%). The average percentage of polymorphic loci (PPB = 72.00%), Nei's gene diversity (HE = 0.2743) and Shannon's Information Index (H = 0.4023), estimated by POPGENE, indicated that *C. japonica* had higher level genetic diversity than many other insular plant species. The coefficient gene differentiation (G_{st}) was 0.2033, which showed more variation were from the individuals of the populations. According to Mantel Test ($r = 0.7989, P < 0.05$) and UPGMA, insular geographical isolation have an important influence on genetic structure. In order to maintain genetic diversity and resource utilization of *C. japonica* that natural population should be protected in situ from human disturbance to facilitate its natural generation.

Key words: *Camellia japonica*; ISSR; island; genetic diversity; genetic structure

遗传多样性是生物多样性的重要组成部分, 影响物种长期生存与进化的潜力, 已成为进化生物学和生物多样性保育研究的热点内容 (Ellstre 等, 1993)。遗传多样性受物种的繁育系统、基因流、遗

* 收稿日期: 2011-10-28 修回日期: 2012-01-04

基金项目: 浙江省科技厅重点项目(2008C14065); 宁波市国际科技合作项目(2010D10013); 宁波市农村科技创新创业资金项目(2010C91026); 国家国际科技合作项目(2011DFA30490)[Supported by Key Project of Science and Technology Department of Zhejiang Porvince(2008C14065); International Science and Technology Cooperation Project of Ningbo City(2010D10013); Rural Science and Technology Innovation Project of Ningbo City(2010C91026); State International Cooperation Project of China(2011DFA30490)]

作者简介: 林立(1985-), 男, 浙江丽水人, 硕士研究生, 研究方向为植物分子生物学, (E-mail)linli851111@163.com。

* 通讯作者: 李纪元, 男, 研究员, 主要研究方向为观赏植物学, (E-mail)jiyuan@126.com。

传漂变和自然选择等诸多因素的影响(Schaal 等, 1998)。岛屿物种因具有地理隔离、基因流阻隔及种群规模较小等特点而成为种群遗传分化研究的模式物种(Carlos 等, 2000)。通常的理论观点认为岛屿种群遗传多样性较低, 具有较高的灭绝风险(Frankham, 1997), 因为其有限的基因流以及历史上可能存在的瓶颈效应使得岛屿种群遗传多样性下降(Francisco-Ortega 等, 2000)。然而, 许多学者研究表明并非所有岛屿生物的遗传多样性都较低(Fineschi 等, 2004; Wendel 等, 1985; Tsumura 等, 1993; 李力等, 1996), 岛屿生物遗传多样性变化复杂, 不仅受到自然因素的影响, 也受到诸如生境破坏、外来种引入等人为因素的影响(Wolf 等, 2001), 是多种因素综合作用的结果。

山茶(*Camellia japonica*) 隶属山茶科(Thesaceae)山茶属(*Camellia*), 为雌雄同株、虫媒传粉的常绿灌木或小乔木(张宏达等, 1998), 具有较高的园林观赏价值。野生山茶分布广泛, 在我国的四川、台湾、江西、山东以及东部沿海多个岛屿都有分布, 朝鲜半岛和日本南部岛屿也有分布(张宏达等, 1998; 高继银等, 2005)。由于人们对野生山茶长期的掠夺式开发利用, 使山茶资源遭到了严重破坏, 自然种群日趋萎缩(梁盛业, 2000)。笔者运用 ISSR(Inter Simple Sequence Repeat)分子标记这种快速、可靠、高效的方法(Zietkiewicz 等, 1994)对 5 个天然山茶种群的遗传结构进行分析, 将有助于了解中日两国 5 个岛屿山茶种群的遗传多样性水平和遗传分化程度以及岛屿地理隔离、人为因素等对其遗传结构的影响, 为野生山茶种质资源的保护和开发利用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

经调查, 选择中、日两国 5 个岛屿或半岛的野生山茶种群为研究对象, 分别是: 舟山市的朱家尖岛种群(ZJJ)、象山县的何婆岭村种群(XS)、青岛市的长门岩岛种群(CMY)以及日本的鹿儿岛种群(Kago)和五岛种群(Goto)(图 1)。采用间隔距离取样法(Joshi 等, 2000), 采集每个种群嫩叶样本 30 个, 用冰袋保鲜运回实验室, 洗净、干燥后立即放入 -80°C 冷库保存。

1.2 DNA 提取与 PCR 扩增

采用改良 CTAB 法(Doyle 等, 1987)提取山茶



图 1 采样地点图

Fig. 1 Map showing the sampling places

基因组 DNA, 用 $1\times\text{TE}$ 溶解后放入 -20°C 冰箱中保存备用。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 浓度和纯度。

1.3 PCR 扩增与引物筛选

经预实验检测 Mg^{2+} 浓度、dNTP 浓度、模板 DNA 含量、引物浓度及 DNA 聚合酶量对 ISSR 反应结果的影响后, 确定最适 ISSR 反应体系为: $20\ \mu\text{L}$ PCR 反应体系中含 $2\ \mu\text{L}$ $10\times\text{Buffer}$ 缓冲液, $1.5\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}\ \text{Mg}^{2+}$, $0.2\ \text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ dNTP, $0.6\ \mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 引物, $1.0\ \text{U}$ Tag 酶, $40\ \text{ng}$ DNA 模板, $14.2\ \mu\text{L}$ 无菌水。PCR 扩增程序为: 94°C 预变性 5 min; 94°C 变性 40 s, 各种温度退火 45 s, 72°C 延伸 1.5 min, 40 个循环; 72°C 延伸 10 min, 4°C 保存。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶(含 $0.5\ \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 溴化乙锭)于 $5\ \text{V}\cdot\text{cm}^{-1}$ 电压下电泳 90 min, 电泳结果用凝胶成像系统(FR-200A)拍照并记录。

每个种群选取 2 个植株的 DNA 模板, 以灭菌双蒸水为对照, 从有关山茶科植物的 ISSR 研究报告中选取 60 个引物, 由上海生工生物工程技术有限公司合成。根据预实验结果从中筛选出了 20 个扩增带型清晰且重复性好的引物序列(表 1)。

1.4 数据处理与分析

采用 POPGEN1.32 软件分析数据, 计算多态位点百分比 PPB (Percentage of polymorphic bands)、Nei's 遗传多样性(Nei's gene diversity, HE)、Shannon's 信息指数(Shannon's Information index, H)、观测等位基因数(Observed number of alleles, N_a)、有效等位基因数(Effective number of alleles, N_e)和遗传分化系数(G_{st}), 基因流值(N_m)计算公式为: $N_m = (1 -$

表 1 山茶 5 个种群扩增的 ISSR 引物

Table 1 The primers used for generating ISSR markers from 5 populations of *C. japonica*

引物 Primers	序列(5'-3') Sequence(5'-3')	退火温度 Annealing temperature (°C)	总条带数 No. of bands recorded	多态性条带数 No. of polymorphic bands	多态性百分比 PPB(%)
UBC810	(GA) ₈ T	54.8	11	9	81.82
UBC811	(GA) ₈ C	54.8	12	11	91.67
UBC813	(CT) ₈ T	51.2	8	7	87.50
UBC818	(CA) ₈ G	51.2	9	9	100
UBC824	(TC) ₈ G	54.6	11	11	100
UBC825	(AC) ₈ T	52.2	13	11	84.62
UBC827	(AC) ₈ G	54.8	12	11	91.67
UBC834	(AG) ₈ YT	53.9	7	6	85.71
UBC835	(AG) ₈ YC	56.2	9	7	77.78
UBC836	(AG) ₈ YA	51.2	9	9	100
UBC841	(GA) ₈ YC	56.2	13	10	76.92
UBC843	(CT) ₈ RA	54.0	13	12	92.31
UBC848	(CA) ₈ RG	54.8	9	8	90
UBC853	(TC) ₈ RT	51.2	10	10	100
UBC856	(AC) ₈ YA	56.6	10	8	80
UBC866	(CTA) ₆	61.8	11	10	91.67
UBC873	(GACA) ₄	51.6	9	8	88.89
UBC880	(GGAGA) ₃	53.6	11	10	90.91
IR43	(GA) ₈ CT	52.9	10	9	90
IR53	(CAA) ₈ G	56.6	8	7	87.50
平均 Average			10.25	9.15	

Y=(C, T), R=(A, G)。

Gst)/4*Gst*(Slatkin 等, 1989)。利用 NTSYSpc2.10e 软件分析获得的遗传相似性矩阵, 按 UPGMA (Unweighted pair group method using arithmetic averages) 法进行聚类分析, 构建聚类图。

2 结果与分析

2.1 山茶种群及物种水平遗传多样性

20 个引物在 5 个山茶种群的基因组 DNA 上扩增共得 205 条带, 所得片段长度范围在 100~2 000 bp, 其中多态性条带 183 条, 总的多态位点百分比 (PPB) 为 89.27%, 种群水平多态位点百分比 (PPB) 的变化范围为 67.80%~77.07% (表 2), 平均值为 72.00%。每条引物扩增最少得到 7 条带, 最多得到 13 条带, 平均每条引物得到 10.25 条带, 图 2 为引物 UBC841 对 ZJJ 种群和 CMY 种群的扩增图。

有效等位基因数和 Nei's 基因多样性指数是衡量遗传变异的两个重要指标, Shannon's 多态性信息指数本身并没有遗传学意义, 只是用于同类研究之间的比较 (宁静等, 2010)。利用 POPGEN1.32 软件计算得到各山茶种群的平均有效等位基因数 (*Ne*) 是 1.4849, 平均 Nei's 遗传多样性 (*HE*) 是

0.2743, 平均 Shannon's 多态性信息指数 (*H*) 是 0.4023, 三个值均低于物种水平 (对应值分别为 1.6069, 0.3443 和 0.5051)。种群间遗传多样性也有较大差异, Kago 种群遗传多样性最高, 有效等位基因数、Nei's 遗传多样性和 Shannon's 多态性信息指数分别为 1.5367、0.3016 和 0.4407, 而 XS 种群则最低, 三个值分别为 1.4194、0.2408 和 0.3567, 各遗传多样性参数在种群中变化趋势一致。

2.2 山茶种群的遗传分化

5 个种群的总基因多样性 (*HT*) 为 0.3443, 种群内基因多样性 (*HS*) 为 0.2743, 种群间的遗传分化系数 *Gst*=0.2033, 即 20.33% 的变异存在于种群之间, 山茶变异的主要原因还是发生在种群内部个体之间, 占总遗传变异的 79.67%。基因流 (*Nm*) 为 0.9795, 表明种群间基因交流程度较低。

以浙江种群 (ZJJ 种群和 XS 种群) 和日本种群 (Kago 种群和 Goto 种群) 为两个独立的研究单元来探讨岛屿地理隔离对山茶种群遗传结构的影响, 发现浙江种群间的遗传分化系数为 0.1126, 日本种群间的遗传分化系数为 0.0600, 两个值都小于地理距离相隔较远的 XS 种群和 Kago 种群之间的遗传分化系数 (*Gst*=0.1662)。基于 Nei's 遗传一致度

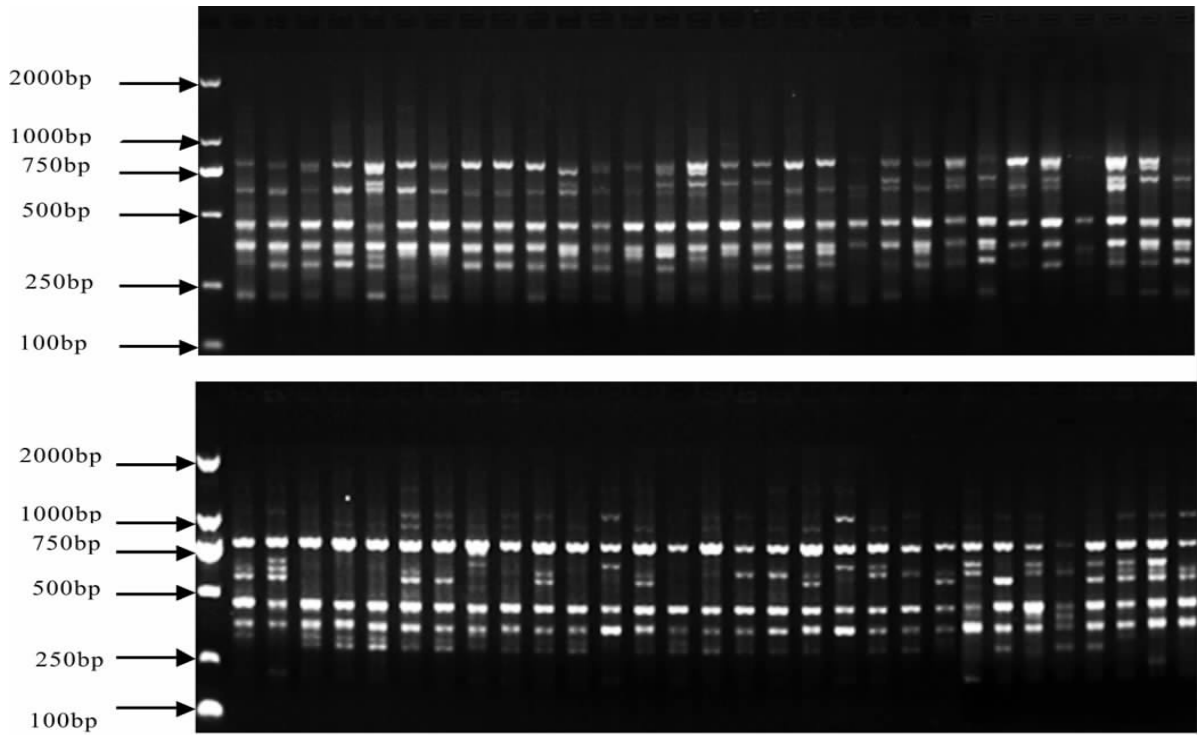


图 2 引物 UBC841 对 ZJJ 种群 CMY 种群的 ISSR 扩增图
Fig. 2 ISSR profiles of ZJJ and CMY populations with primer UBC841

表 2 山茶 5 个种群的遗传多样性参数
Table 2 Genetic diversity for five populations of *C. japonica*

代号 Code	样本数 No.	N_a	N_e	HE	H	$PPB(\%)$
ZJJ	30	1.7073(0.4561)	1.4546(0.3893)	0.2593(0.2025)	0.3828(0.2842)	70.73
XS	30	1.6780(0.4684)	1.4194(0.3850)	0.2408(0.2046)	0.3567(0.2882)	67.80
CMY	30	1.7122(0.4538)	1.4941(0.3900)	0.2786(0.2035)	0.4068(0.2867)	71.22
Kago	30	1.7707(0.4214)	1.5367(0.3823)	0.3016(0.1954)	0.4407(0.2718)	77.07
Goto	30	1.7317(0.4442)	1.5195(0.3882)	0.2913(0.2014)	0.4246(0.2823)	73.17
种群水平 Population level	30	1.7200	1.4849	0.2743	0.4023	72.00
物种水平 Species level	150	1.8927(0.3103)	1.6069(0.3350)	0.3443(0.1637)	0.5051(0.2210)	89.27

注:括号内数值为标准差。
Note: The value of standard deviation in parentheses.

表 3 5 个种群的 Nei's 遗传距离(左下角)和地理距离(右上角,公里)

Table 3 Nei's genetic distance(below diagonal)and geographical distance(above diagonal, km)

种群 Population	ZJJ	XS	CMY	Kago	Goto
ZJJ	***	75	688	794	701
XS	0.0826	***	734	864	779
CMY	0.1293	0.1216	***	1040	839
Kago	0.1475	0.1534	0.1207	***	202
Goto	0.1410	0.1502	0.1274	0.0481	***

和遗传距离可进一步分析种群间的遗传分化程度(Nei,1978)。5 个种群中以 ZJJ 种群和 XS 种群之

间地理距离最近(75 km),遗传距离也最近($D=0.0826$);XS 种群和 Kago 种群之间地理距离较远(864 km),遗传距离最大($D=0.1534$)(表 3),表明岛屿地理隔离可能对山茶种群的遗传分化具有重要影响。经 Mantel 检验,发现地理距离与遗传距离存在显著相关性,相关系数 $r=0.7989, P<0.05$,进一步证明了该种可能性。

2.3 聚类分析

根据 Nei's 遗传一致度按 UPGMA 法进行聚类,日本的鹿儿岛种群和五岛种群亲缘关系最近,聚为一支,其后与长门岩岛种群聚为一大支;浙江朱家

尖岛种群则与象山种群关系较近,另聚为一大支。

2.4 主坐标分析

利用 GenAlEx 6.41 软件进行主坐标分析可以将种群间遗传关系在两维或三维空间给以形象展示。主坐标分析结果表明前三个坐标分别占山茶总遗传变异的 41.07%,21.53%和 13.15%(累积代表总遗传变异的 75.74%)。主坐标分析结果与聚类分析结果基本一致,浙江种群、青岛种群和日本种群相互之间较为独立,而同地区种群间则出现个体混杂情况,表明同地区种群之间基因交流较为频繁。

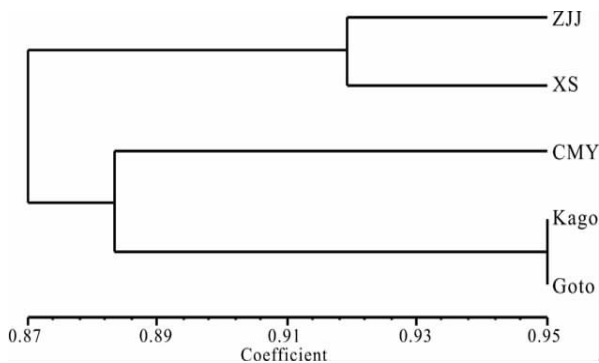


图 3 山茶种群 Nei's 遗传一致度的 UPGMA 聚类图
Fig. 3 UPGMA dendrogram for five populations of *C. japonica* based on Nei's genetic identity

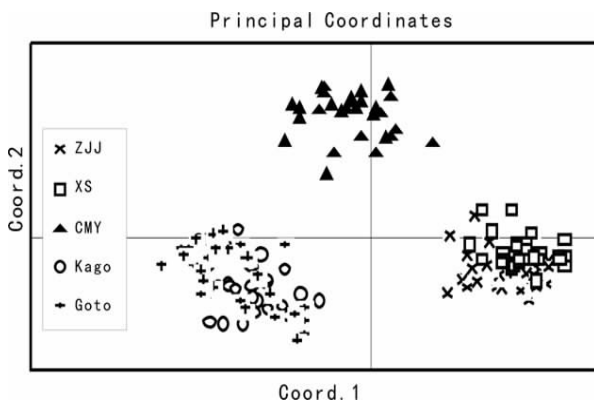


图 4 5 个山茶种群的主坐标分析结果
Fig. 4 PCA analysis on five populations of *C. japonica*

3 讨论

3.1 山茶遗传多样性分析

Frankham(1997)研究发现非岛屿特有植物在岛屿和陆地分布所具有的杂合度比值($HIS/HM=0.71$)高于岛屿特有植物与陆地近缘种的杂合度比值($HIS/HM=0.54$),表明非岛屿特有植物较岛屿特有植物遗传多样性高。ISSR 分子标记揭示了山

茶种群水平的多态位点百分比($PPB=72.00\%$),种群内基因多样性($HE=0.2743$)和 Shannon 多态性信息指数($H=0.4023$),均高于舟山群岛特有种全缘冬青(*Ilex integra*)($PPB=41.20\%$, $HE=0.1530$, $H=0.2270$),与 Frankham(1997)结论相符。但也有例外,Crete 岛特有植物 *Zelkova abelice* 种群内基因多样性 $HE=0.3597$ (Fineschi 等, 2004),远高于山茶。Nybom(2004)统计了基于 ISSR 位点分析物种的种群内基因多样性(HE)平均值为 0.2200,低于山茶种群($HE=0.2819$),表明山茶种群的遗传多样性较高,该结果与李力等(1996)利用同工酶对青岛长门岩、大管岛和浙江普陀山 3 个山茶种群的研究结果相符。Wendel 等(1985)和 Chung 等(1996)对分布于日本和韩国的山茶种群进行了遗传多样性研究,结果都表明山茶的遗传多样性较高,这可能与山茶为木本、生命周期长、虫媒异交(Hamrick 等,1989)的特征有关。

岛屿种群间的遗传多样性程度也存在着较大差异,日本种群(Kago 种群和 Goto 种群)遗传多样性较国内种群(ZJJ 种群、XS 种群和 CMY 种群)高,遗传多样性参数 PPB 、 HE 和 H 的平均值分别为 75.12%、0.2965 和 0.4327,而国内种群为 69.92%、0.2596 和 0.3821。日本的鹿儿岛和五岛分布的主要是天然山茶大树林,种群规模较大,长势良好,而国内山茶种群的规模相对较小,人为破坏也更严重。朱家尖岛海拔在 200~500 m,生境较为单一、种群遗传背景较为相似(冷欣等,2006),山茶种群呈片段状分布。长门岩岛地处黄海深处,面积仅 0.16 km²,山茶数量较小,人为破坏严重(周汝伦等,1994)。何婆岭村位于象山县中西部,属半岛地形,当地居民中有以卖野生山茶为业的,山上原有的大面积山茶原生林已遭严重的人为破坏,目前只有几座较高的山上有少量野生山茶分布。国内山茶种群分布地域较狭窄,规模较小,且受到严重人为破坏,这些因素使得国内种群近交频度增加,遗传漂变导致等位基因流失,降低了种群的遗传多样性水平。

3.2 山茶种群遗传结构分析

Mantel 等(2003)认为岛屿地理隔离阻碍基因交流,地理距离相对较近的浙江种群间以及日本种群间的遗传分化程度都较小(Gst 分别为 0.1126 和 0.0600),而象山种群和鹿儿岛种群相距较远,两者的遗传分化程度也较高($Gst=0.1662$),UPGMA 也将距离较近种群聚为亲缘关系更近的一支,表明岛

屿地理隔离可能对山茶种群的遗传分化具有重要影响, Mantel 检验 ($r=0.7989, P<0.05$) 进一步证实了此种可能。

山茶虽为完全两性花,但其自花授粉结实率低,主要还是靠虫媒进行异花授粉(Wendel 等,1985),种群间花粉传播较广泛(Chung 等,1996;Oh 等,1996;Ueno 等,2000)。开红花的山茶也具备典型鸟媒植物的一些特征,而容易取得的花蜜也吸引了很多非专性嗜蜜的鸟类(Chung 等,1996),如暗绿绣眼鸟(*Zosterops japonica*)(Kunitake,2004 等;Yoko 等,2004)。对于岛屿山茶种群来说,虫媒或鸟媒在种群间传播花粉的能力必定受到岛屿间距离的约束,近距离岛屿种群间花粉传播程度会更高,亲缘关系也就更近(冷欣等,2006)。除了虫媒和鸟媒,选择压力也是一个影响遗传结构的重要因素(文亚峰等,2010),近距离岛屿种群所面对的降雨、温度等诸多方面的选择压力更相似,可能也会在一定程度上减少近距离岛屿种群间的遗传分化程度,使得距离较近种群间的遗传结构更为相似。

3.3 山茶种质资源的遗传多样性保护

日本岛屿山茶种群的遗传多样性较高,这与该国对山茶资源的保护是分不开的。目前,日本南部多个岛屿还保有大面积的天然山茶大树林作为优势种存在,生长状况良好。我国舟山群岛、长门岩岛等一些岛屿所分布的天然山茶生长状况却大不一样,采挖、砍伐以及人为活动所引起的生境破坏已经严重威胁到我国岛屿野生山茶资源的生存(梁盛业,2000)。

基于岛屿山茶种群遗传结构的分析,建议加强我国岛屿自然种群的就地保护力度,避免加剧对现有岛屿生境的破坏与侵占;增强岛屿居民的生态保护意识,禁止挖掘山茶幼苗及采摘种子,以维护种群的自更新。其次,在这些岛屿建立山茶种质资源库,最大限度地保护各岛屿种群的遗传资源。最后,加大山茶研究力度,为山茶资源的保护和合理利用提供基础。

致谢 感谢青岛东都实业有限公司辛兆才董事长、日本玉川大学山口聪教授、浙江舟山市林科所王国明所长在取样时给予的大力协助。

参考文献:

张宏达,任善湘. 1998. 中国植物志[M]. 北京:科学出版社:84
高继银,杜跃强. 2005. 山茶属植物主要原种彩色图集[M]. 杭州:浙江科学技术出版社

梁盛业. 2000. 中国名优茶花[M]. 北京:金盾出版社
Carlos J,Emerson BC,Oromi P, et al. 2000. Colonization and diversification: towards a phylogeographic synthesis for the Canary Islands[J]. *Tree*,**15**(3):104-109
Chung MG,Kang SS. 1996. Genetic variation within and among populations of *Camellia japonica*(Theaceae) in Korea[J]. *Can J For Res*,**26**:537-542
Doyle JJ,Doyle JL. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. *Phytoch Bull*,**19**:11-15
Ellstre NC,Elam DR. 1993. Population genetic consequences of small population size: implication for plant conservation[J]. *Ann Rev Ecol J*,**8**:238-244
Fineschi S,Cozzolino M,Vendramin GG. 2004. Genetic variation of relic tree species; the case of Mediterranean *Zelkova abelicea* and *Z. sicula* Di Pasquale, Garfi and Quézel(Ulmaceae)[J]. *Fore Ecol Manag*,**197**:273-278
Francisco-Ortega J, Kim SC, Crawford DJ, et al. 2000. Plant genetic diversity in the Canary Islands: a conservation perspective [J]. *Am J Bot*,**87**(7):909-919
Frankham R. 1997. Do island populations have less genetic variation than mainland populations[J]. *Heredity*,**78**:311-327
Hamrick JL,Gold MJW. 1989. Allozyme diversity in plant species [C]//Brown AHD,Clegg MT,Weir BS(eds). Plant population genetics, Breeding and Genetic resources. Sunderland, Massachusetts USA: Sinauer:43-63
Joshi SP,Gupta VS,Aggarwal PK, et al. 2000. Genetic diversity and phylogenetic relationship as revealed by inter-simple sequence repeat (ISSR) polymorphism in the genus *Oryza* [J]. *Theor Appl Genet*,**100**:1 311-1 320
Kunitake TK,Hasegawa M,Miyashita T, et al. 2004. Roles of a seasonal specialist bird *Zosterops japonica* on pollen transfer and reproductive success of *Camellia japonica* in a temperate area [J]. *Plant Spec Biol*,**19**:197-201
Leng X(冷欣),Wang ZS(王中生),An SQ(安树青). 2006. Influence of insular geographical isolation on population genetic structure of *Machilus thunbergii*(岛屿地理隔离对红楠种群遗传结构的影响)[J]. *J Nanjing Fore Univ: Nat Sci Edit*(南京林业大学学报·自然科学版),**30**(2):20-24
Li L(李力),Wang RQ(王仁卿),Wang ZR(王中仁), et al. 1996. The studies of Naidong *Camellia* biodiversity in Qingdao-genetic diversity analysis of populations(青岛耐冬山茶的多样性II. 居群的遗传多样性分析)[J]. *Chin Biodiv*(生物多样性),**4**(1):1-6
Manel S. 2003. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics[J]. *Trends Ecol Evol*,**18**(4):189-197
Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals[J]. *Genetics*,**89**: 583-590
Ning J(宁静),Li JQ(李健权),Dong LJ(董丽娟), et al. 2010. Genetic diversity and relationship of tea germplasm resources 'Huangjincha' (*Camellia sinensis*) revealed by ISSR markers ('黄金茶'特异种质资源遗传多样性和亲缘关系的 ISSR 分析)[J]. *J Tea Sci*(茶叶科学),**30**(2):149-156
Nyblom H. 2004. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. *Mol Ecol*,**13**:1 143-1 155
Oh GS,Kang SS,Chung MG. 1996. Temporal genetic struc- (下转第 292 页 Continue on page 292)

枝叶无毛,叶片长渐尖、尾尖的类群之中,故这些植株也归属于西南山茶较为适宜。

致谢 西昌学院农学系 2002~2008 级杨志、胡世雄、王正旭、姜欣华、田云峰等 10 余位同学协助野外调查和实验,中科院昆明植物研究所韦仲新研究员带病耐心为笔者讲解花粉粒表面纹饰知识并赠送资料,谨致真诚的谢意!

参考文献:

- 中国科学院植物研究所形态室孢粉组. 1960. 中国植物花粉形态[M]. 北京:科学出版社:245
- 王开发,王宪曾. 1983. 孢粉学概论[M]. 北京:北京大学出版社:28-30
- 韦仲新. 2003. 种子植物花粉电镜图志[M]. 云南:云南科技出版社:2-5
- 闵天禄. 2000. 世界山茶属植物的研究[M]. 云南:云南科技出版社:253-289
- 张宏达,任善湘. 1998. 中国植物志卷[M]. 北京:科学出版社, 49(3):48-97
- Deng BL(邓白罗), Tan XF(谭晓风), Qi LL(漆龙霖), et al. 2006. RAPD analysis and taxonomy of sect. *Camellia species* in *Camellia*(山茶属红山茶组的 RAPD 分析及分类研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), 42(5):36-41
- Erdtman G. 1978. 孢粉学手册[M]. 北京:科学出版社:6-39
- Fang CB(方从兵), Sheng BC(盛炳成), Zhang Z(章镇). 2002. Comparison of pollen wall ultrastructure of Mei cultivars by TEM 梅品种花粉壁超微结构比较研究[J]. *J Nanjing Agric Univ*(南京农业大学学报), 25(1):114-116
- Guo XF(郭先锋), Wang LY(王莲英), Yuan T(袁涛). 2005. Study on pollen morphology of 4 wild herbaceous peony(4 种野

芍药的花粉形态研究)[J]. *Sci Silv Sin*(林业科学), 41(5):183-186

- Liu JL(刘建林), Luo Q(罗强), Yuan Y(袁颖), et al. 2006. *Camellia pitardii* var. *longistaminata* J. L. Liu & Q. Luo, a new variety of the Theaceae from China(中国山茶属(山茶科)一新变种—长蕊西南山茶)[J]. *Acta Phytotaxon Sin*(植物分类学报), 44(6):704-706
- Liu JL(刘建林), Meng XX(孟秀祥), Luo Q(罗强), et al. 2007. *Camellia pitardii* var. *panxiensis* (Theaceae), rare and endangered plant, a new variety from Sichuan, China(珍稀濒危植物, 中国山茶属(山茶科)一新变种——攀西黄花茶)[J]. *Bull Bot Res*(植物研究), 30(5):513-514
- Min TL, Bruce B. 2007. Flora of China [M]. Beijing: Science Press, 12:367-412
- Ni S(倪穗), Li JY(李纪元), Tian M(田敏), et al. 2007. Pollen exine sculpture of sect. *Camellia* in genus *Camellia* and its taxonomic significance(红山茶组植物花粉粒外壁纹饰特征及演化关系)[J]. *J Nanjing Fore Univ: Nat Sci Edit*(南京林业大学·自然科学版), 4:16-20
- Tian M(田敏), Li JY(李纪元), Ni S(倪穗), et al. 2008. Phylogenetic study on sect. *Camellia* based on ITS sequences data (基于 ITS 序列的红山茶组植物系统发育关系的研究)[J]. *Acta Hort Sin*(园艺学报), 35(11):1 685-1 688
- Wang RX(王任翔), Hu CH(胡长华), Liang QH(梁清华), et al. 1997. The pollen of sect. *Chrysanthemum* plants studied by scanning electron microscope(I)(金花茶组植物花粉粒扫描电镜研究(一))[J]. *Guihaia*(广西植物), 17(3):242-245
- Xiao TJ(肖调江), Xia LF(夏丽芳), Wang ZL(王仲朗). 1996. studies on the Giemsa C-bands of *Camellia species*, section *Camellia reom* middle reach of Jinshanjiang Valley(金沙江中游地区红山茶组植物的 Giemsa C-带研究)[J]. *Acta Bot Yunnan*(云南植物研究), 18(1):81-86

(上接第 303 页 Continue from page 303)

- ture in *Camellia japonica* (Theaceae)[J]. *Genes Genet Syst*, 71:9-13
- Schaal BA, Hayworth DA, Olsen KM, et al. 1998. Phylogeographic studies in plants: problems and prospects[J]. *Mol Ecol*, 7:465-474
- Slatkin M, Barton NH. 1989. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow[J]. *Evolution*, 43:1 349-1 368
- Tsumura Y, Ohba K. 1993. Genetic structure of geographical marginal populations of *Cryptomeria japonica*[J]. *Can J Forest Res*, 23:859-863
- Ueno S, Yoshimaru H, Tomaru N, et al. 1999. Development and characterization of microsatellite markers in *Camellia japonica* [J]. *Mol Ecol*, 8:335-336
- Wen YF(文亚峰), Han WJ(韩文军), Wu S(吴顺). 2010. Plant genetic diversity and its influencing factors(植物遗传多样性及其影响因素)[J]. *J Cent South Univ Fore Tech*(中南林业科技大学学报), 30(12):80-87

- Wendel JF, Parks CR. 1985. Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* (Theaceae)[J]. *Am J Bot*, 72:52-65
- Wolf A, Harrison SP. 2001. Effects of habitat size and patch isolation on reproductive success of the serpentine morning glory[J]. *Conserv Biol*, 15:111-121
- Yoko KK, Masami H, Tadashi M, et al. 2004. Role of a seasonally specialist bird *Zosterops japonica* on pollen retransfer and reproductive success of *Camellia japonica* in a temperate area[J]. *Plant Spec Biol*, 19:197-201
- Zhou RL(周汝伦), Yang Z(杨震), Wei JG(魏建功), et al. 1994. Present conditions and restoring measures of *Camellia japonica* in plant community of Changmenyan Island(长门岩岛植物群落中的山茶现状和恢复措施)[J]. *J Ocean Univ Qingdao*(青岛海洋大学学报), 24(1):72-78
- Zietkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. 1994. Genome fingerprinting by simple sequence repeat(SSR)-anchored polymerase chain reaction amplification[J]. *Genomics*, 20(2):176-183