

舟山群岛野生山茶种群遗传多样性的 ISSR 分析

林 立, 胡仲义¹, 王国明²

(¹ 宁波城市职业技术学院, 宁波 315502; ² 浙江省舟山市林业科学研究所, 定海 316000)

摘要: 采用 ISSR 分子标记, 利用筛选的 20 条引物对舟山群岛 4 个野生山茶 (*Camellia japonica*) 种群的遗传多样性进行分析。结果表明: 山茶种群的多态性位点百分比 (PPB) 为 64.06%, Nei's 基因多样性指数 (H_e) 为 0.2390, Shannon 信息多态性指数 (H) 为 0.3548, 种群水平遗传多样性较高。基因分化系数 $G_{st} = 0.2241$, 表明种群间具有较高的遗传分化。地理距离与遗传距离具有显著相关性 ($r = 0.9653, P < 0.05$), 表明岛屿隔离对山茶种群的遗传分化具有重要影响。UPGMA 聚类表明同岛种群间的亲缘关系更近。基于舟山群岛山茶种群遗传结构分析, 建议在其自然生长地加强就地保护。

关键词: 山茶; ISSR; 舟山群岛; 遗传多样性

Analysis on Genetic Diversity of *Camellia japonica* in Zhoushan Archipelago by ISSR Markers

LIN Li¹, HU Zhong-yi¹, WANG Guo-ming²

(¹ Ningbo City College of Vocational Technology, Ningbo 315502; ² Zhoushan Forestry Institute of Zhejiang, Dinghai 316000)

Abstract: *Camellia japonica* is an important horticultural species, widely distributed in East-Asia. Four populations of *C. japonica* were analyzed by ISSR markers to detect the genetic diversity. Twenty primers with discernible DNA bands markers were applied. The percentage of polymorphic bands, Nei's gene diversity, and Shannon's information index were 64.06%, 0.2390, and 0.3548, respectively, indicated that the genetic diversity of *C. japonica* populations was relatively high. The value of differentiation ($G_{st} = 0.2241$) affirmed that *C. japonica* had high genetic differentiation among populations. The effect of geographical isolation had great influences and significant correlation was found between genetic distance and geographic distance ($r = 0.9653, P < 0.05$). UPGMA analysis revealed that populations on the same island had a closer relationship. In order to maintain genetic diversity and resource utilization of *C. japonica*, management strategies were proposed that natural population should be protected in situ from human disturbance to facilitate its natural generation.

Key words: *Camellia japonica*; ISSR; Zhoushan archipelago; genetic diversity

舟山群岛位于我国东部海岸线中点, 是南北和东西植物的中转站, 共有野生维管植物 166 科 652 属 1407 种, 植物区系特色明显, 物种多样性丰富, 在我国沿海岛屿生态系统中具有代表性^[1]。岛上分布有全缘冬青 (*Ilex integra*)、舟山新木姜子 (*Neolitsea sericea*) 等一些珍惜的岛屿特有植物, 这些植物因具有地理隔离、基因流阻隔及种群规模较小等特点已成为种群遗传分化研究的热

点^[2-3], 然而却少有研究关注在大陆和海岛皆有分布的同一物种的种群结构, 而这样的研究却能为深入理解物种的形成和群体演化规律提供重要线索^[4]。

山茶 (*Camellia japonica*) 隶属山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia*), 为雌雄同株、虫媒传粉的常绿灌木或小乔木^[5], 具有较高的园林观赏价值。由于人们对野生山茶长期的掠夺式开发利用, 使其

收稿日期: 2012-09-24 修回日期: 2013-01-16 网络出版日期: 2013-06-07

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.4996.S.20130607.1738.003.html>

基金项目: 浙江省科技厅重点项目 (2008C14065)

第一作者研究方向为植物分子生物学。E-mail: linli851111@163.com

通信作者: 王国明

遭受了严重破坏,自然种群萎缩严重^[6]。目前,国内的野生山茶主要分布于一些人居活动较少的沿海岛屿上。笔者运用 ISSR 分子标记对舟山群岛山茶种群的遗传结构进行分析,以期了解舟山群岛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 舟山群岛野生山茶种群概况

野生山茶在我国大陆地区主要分布于东部沿海地区,其中舟山群岛是大陆地区的分布中心,而朱家尖岛、普陀岛和桃花岛则是主要的分布集中区。

普陀岛野生山茶种群主要分布于佛顶山和善财洞附近,规模都较小,幼树数量也较少,作为当地乔木层和灌木层的伴生植物。植株基部分枝较多,一般为 3~4 个,树高 3~4 m,冠幅 3 m 左右,叶长、叶宽分别为 7.4 cm、4.4 cm 左右,花径较大(平均为 4.5 cm)。

朱家尖岛的大青山是山茶的主要分布地,共有 1000 余株,作为当地植被群落的优势种,其中有许多山茶小苗。岛上气候恶劣,常年海风大,山体自然土层较浅,立地条件极差,灌丛覆盖度在 50%~70%,山茶多为灌木或小乔木状,多生长在岩石缝隙中,生长势较差,基部分枝较多(一般为 2~3 个),高度在 2.5~3.5 m 之间,群体冠幅普遍在 1~3 m 左右,基干直径在 20~30 cm,叶长、叶宽分别为 6.6 cm、3.4 cm 左右,花径为 2.3~4.5 cm(平均为 3.9 cm)。野生山茶的花为单瓣,红色,雌、雄蕊发育完全,雄蕊整齐排列成桶状,也有部分野生山茶的花型、花色、叶片形状等出现了变化,有的变异株甚至开出半重瓣型花朵。

桃花岛桃花寨分布的野生山茶树,主要生长于阔叶林下,数量少,植株平均高度 1~2 m,冠幅 1.5 m 左右,基部分枝为 3~4 个,叶长 7.2 cm 左右,叶宽 3.7 cm 左右。该地山茶种群相对于朱家尖岛种群来说,花型、花色更加俏丽,以紫色、深紫色、粉红色、紫红色为主,花径一般较小,为 2.4~4.1 cm(平均为 3.2 cm)^[7]。

1.2 样品采集

经前期调查,选择舟山群岛中 3 个岛屿的 4 个野生山茶种群为研究对象,分别为:桃花岛的桃花寨种群(THZ),朱家尖岛的大青山种群(ZJJ),普

陀岛的善财洞种群(SCD)和慧济寺种群(HJS)(表 1)。采用间隔距离取样法,个体间隔为 10 m 以上,采集每个种群不同个体的嫩叶样本 30 个,用冰袋保鲜运回实验室,洗净、干燥后立即放入 -80 ℃ 冰箱保存。

表 1 山茶居群采样位置

Table 1 Sampled locality of *C. japonica* populations

| 种群 | 样本数 | 产地 | 地理位置 | 海拔(m) |
|------------|--------|----------|-----------------------|----------|
| Population | Number | Locality | Geographical location | Altitude |
| 桃花寨 THZ | 30 | 桃花岛桃花寨 | 29°48'N, 122°18'E | 12 |
| 朱家尖 ZJJ | 30 | 朱家尖大青山 | 29°25'N, 121°42'E | 372 |
| 善财洞 SCD | 30 | 普陀岛善财洞 | 30°00'N, 122°24'E | 288 |
| 慧济寺 HJS | 30 | 普陀岛佛顶山 | 30°00'N, 122°23'E | 291 |

1.3 DNA 提取与 PCR 扩增

采用改良 CTAB 法^[8]提取山茶基因组 DNA,用 1×TE 溶解后放入 -20 ℃ 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。

1.4 PCR 扩增与引物筛选

预试验确定 ISSR 反应体系为:20 μL PCR 反应体系中含 2 μL 10×Buffer 缓冲液,1.5 mmol/L Mg²⁺,0.2 mmol/L dNTP,0.6 μmol/L 引物,1.0 U Taq 酶,40 ng DNA 模板,14.2 μL 无菌水。PCR 扩增程序为:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 40 s,退火 45 s,72 ℃ 延伸 1.5 min,40 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,4 ℃ 保存。PCR 产物用 1.5% 琼脂糖凝胶(含 0.5 μg/mL 溴化乙锭)于 5 V/cm 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。

从有关山茶科植物的 ISSR 研究报道中选取 60 个引物,由生工生物工程(上海)服务有限公司合成,根据预试验结果筛选出了 20 个扩增带型清晰且重复性好的引物序列(表 2)。

1.5 数据处理与分析

统计条带时认为电泳迁移率相同的条带是扩增基因组上相同的 DNA 片段,将电泳图谱中较清晰的条带(包括弱带)计为 1,无带计为 0,转化成 0/1 二元矩阵。采用 POPGEN 1.32 软件分析数据,计算多态性位点百分比(PPB, percentage of polymorphic bands)、Nei's 遗传多样性(H_e , Nei's gene diversity)、Shannon's 信息指数(H , Shannon's information index)、观察等位基因数(N_a , observed number of alleles)、有效等位基因数(N_e , effective number of alleles)、

表 2 ISSR 扩增引物

Table 2 Primers used for ISSR amplification

| 引物 Primers | 序列(5'-3') Sequence | 退火温度(℃) Annealing temperature | 总条带数 Number of bands recorded | 多态性条带 Number of polymorphic bands | 多态性位点百分比(%) PPB |
|---------------|-----------------------|----------------------------------|-------------------------------------|---|--------------------|
| UBC810 | (GA) ₈ T | 54.8 | 11 | 9 | 81.82 |
| UBC811 | (GA) ₈ C | 54.8 | 12 | 10 | 83.33 |
| UBC813 | (CT) ₈ T | 51.2 | 10 | 8 | 80.00 |
| UBC818 | (CA) ₈ G | 51.2 | 9 | 8 | 88.89 |
| UBC824 | (TC) ₈ G | 54.6 | 11 | 9 | 81.82 |
| UBC825 | (AC) ₈ T | 52.2 | 13 | 11 | 84.62 |
| UBC827 | (AC) ₈ G | 54.8 | 11 | 8 | 72.73 |
| UBC834 | (AG) ₈ YT | 53.9 | 7 | 5 | 71.43 |
| UBC835 | (AG) ₈ YC | 56.2 | 9 | 7 | 77.78 |
| UBC836 | (AG) ₈ YA | 51.2 | 10 | 8 | 80.00 |
| UBC841 | (GA) ₈ YC | 56.2 | 13 | 10 | 76.92 |
| UBC843 | (CT) ₈ RA | 54.0 | 10 | 9 | 90.00 |
| UBC848 | (CA) ₈ RG | 54.8 | 10 | 8 | 80.00 |
| UBC853 | (TC) ₈ RT | 51.2 | 11 | 10 | 90.91 |
| UBC856 | (AC) ₈ YA | 56.6 | 12 | 10 | 83.33 |
| UBC866 | (CTA) ₆ | 61.8 | 12 | 9 | 75.00 |
| UBC873 | (GACA) ₄ | 51.6 | 8 | 6 | 75.00 |
| UBC880 | (GGAGA) ₃ | 53.6 | 11 | 9 | 81.82 |
| IR43 | (GA) ₈ CT | 52.9 | 9 | 7 | 77.78 |
| IR53 | (CAA) ₈ G | 56.6 | 9 | 7 | 77.78 |
| Total | | | 208 | 168 | 80.77 |

Y = (C,T), R = (A,G)

遗传分化系数(G_{st})、Nei's 遗传距离(D)和遗传一致度(I),基因流值(N_m)计算公式为: $N_m = (1 - G_{st})/4G_{st}^{[9]}$ 。利用 NTSYSpc 2.10e 软件分析获得的遗传距离矩阵,按 UPGMA (unweighted pair group method using arithmetic averages)法进行聚类分析,构建聚类图。

利用 GenAlEx 6.41 软件^[10]对种群的遗传分化进行 AMOVA (analysis of molecular variance) 方差分析。同时以种群为单位,采用 Mantel 检验来分析种群间遗传距离和地理距离的相关性。

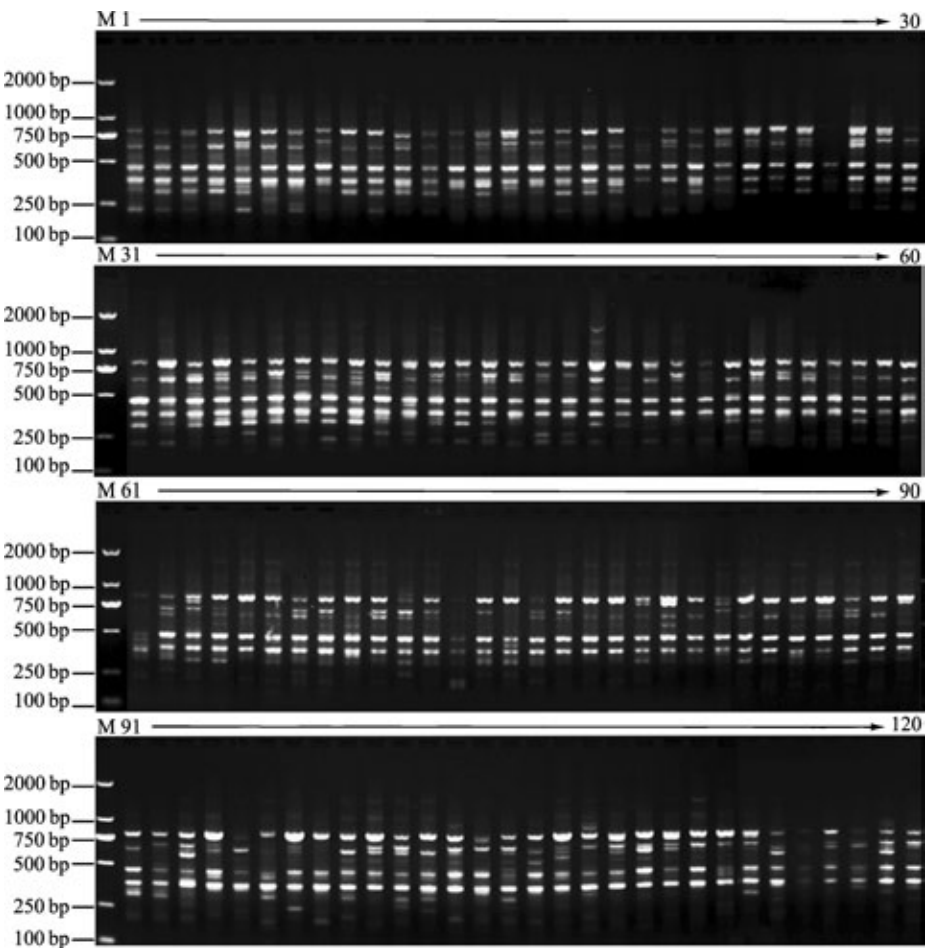
2 结果与分析

2.1 山茶种群及物种水平遗传多样性

20 个引物在 4 个种群的基因组 DNA 上扩增共得到 208 条带,其中多态性条带 168 条,多态性位点百分比(PPB)为 80.77% (表 2),表明山茶基因组

DNA 多态性较高。扩增片段长度范围主要集中于 100 ~ 1000 bp,每条引物最少得到 7 条扩增带,最多 13 条扩增带,平均 10.4 条扩增带。种群水平多态性位点百分比(PPB)的变化范围为 62.02% ~ 66.83%,平均为 64.06% (表 3)。引物 UBC824 的 ISSR 扩增结果见图 1。

在假设种群处于 Hardy-Weinberg 平衡条件下,4 个种群的平均有效等位基因数(N_e)为 1.4216,平均 Nei's 基因多样性指数(H_e)为 0.2390,平均 Shannon 信息指数(H)为 0.3548,各参数值均低于物种水平。种群间的遗传多样性参数有所差异,有效等位基因数(N_e)最大值为 1.4352,最小值为 1.4122;Nei's 基因多样性指数(H_e)最大值为 0.2478,最小值为 0.2324;Shannon 信息指数(H)最大值为 0.3654,最小值为 0.3487,表明山茶种群之间存在着一定的遗传差异。



M: Marker; 1 ~ 30: THZ 种群个体; 31 ~ 60: ZJJ 种群个体; 61 ~ 90: SCD 种群个体; 91 ~ 120: HJS 种群个体
1-30: The individuals of THZ population, 31-60: The individuals of ZJJ population,
61-90: The individuals of SCD population, 91-120: The individuals of HJS population

图 1 引物 UBC824 的 ISSR 扩增图
Fig. 1 ISSR profile of four populations with primer UBC824

表 3 4 个山茶种群的遗传多样性参数
Table 3 Genetic diversity for four populations of *C. japonica*

| 种群代号 Code | 样本数 Number | N_a | N_e | H_e | H | PPB(%) |
|--------------------|---------------|------------------|------------------|------------------|------------------|--------|
| THZ | 30 | 1. 6490(0. 4784) | 1. 4122(0. 3926) | 0. 2355(0. 2059) | 0. 3487(0. 2900) | 64. 90 |
| ZJJ | 30 | 1. 6683(0. 4720) | 1. 4352(0. 3935) | 0. 2478(0. 2057) | 0. 3654(0. 2899) | 66. 83 |
| SCD | 30 | 1. 6250(0. 4853) | 1. 4202(0. 3899) | 0. 2401(0. 2067) | 0. 3531(0. 2943) | 62. 50 |
| HJS | 30 | 1. 6202(0. 4865) | 1. 4186(0. 3934) | 0. 2324(0. 2107) | 0. 3518(0. 2995) | 62. 02 |
| 平均值 Mean | 30 | 1. 6406(0. 0223) | 1. 4216(0. 0097) | 0. 2390(0. 0067) | 0. 3548(0. 0073) | 64. 06 |
| 物种水平 Species level | 120 | 1. 8077(0. 3951) | 1. 5457(0. 3460) | 0. 3144(0. 1767) | 0. 4629(0. 2473) | 80. 77 |

括号内为标准差 The values of standard deviation are in parentheses

2. 2 山茶种群的遗传结构

利用 POPGEN 1. 32 软件计算得 4 个种群的总基因多样度(H_T)为 0. 3144, 种群内基因多样度(H_S)为 0. 2440, 种群间遗传分化系数 G_{st} 为 0. 2241, 即 22. 41% 的变异存在于种群之间, 山茶变异主要还是

发生在种群内个体之间, 占总遗传变异的 77. 59%, 基因流(N_m) 为 0. 8655, 表明山茶种群间基因交流受到一定的限制^[11]。普陀岛内种群(SCD 和 HJS 种群)间的遗传分化指数 G_{st} 为 0. 1369, 表明岛内仅有约 13. 69% 的遗传多样性由种群间的差异产生, 岛

屿内种群间存在较高的基因流($N_m = 1.5758$)。利用 GenAlEx 6.41 软件进行 AMOVA 方差分析,表明 4 个种群之间存在着显著差异($P < 0.001$),23.18% 的变异存在于种群之间,76.82% 则发生在种群内个体之间,与 POPGEN 1.32 软件计算结果相近,表明岛屿隔离对山茶种群的遗传分化具有重要影响。

基于 Nei's 遗传距离(D)可进一步分析种群间的遗传分化程度。SCD 种群和 HJS 种群之间的地理距离最近(1.4 km),遗传距离最小($D = 0.1039$);THZ 种群和 HJS 种群之间的地理距离最大(22.3 km),遗传距离也最大($D = 0.1477$)(表 4)。经 Mantel 检验,发现地理距离与遗传距离之间存在显著相关性,相关系数 $r = 0.9653$, $P < 0.05$,进一步证明岛屿地理隔离对山茶种群遗传分化具有重要作用。

表 4 4 个种群的 Nei's 遗传距离和地理距离

Table 4 Nei's genetic distance and geographical distance

| 种群 Population | THZ | ZJJ | SCD | HJS |
|------------------|--------|--------|--------|------|
| THZ | — | 6.7 | 21.1 | 22.3 |
| ZJJ | 0.1151 | — | 16.2 | 17.4 |
| SCD | 0.1390 | 0.1235 | — | 1.4 |
| HJS | 0.1477 | 0.1345 | 0.1039 | — |

右上角为地理距离(km),左下角为遗传距离 Geographical distance (km) (above diagonal) and Nei's genetic distance(below diagonal)

2.3 聚类分析

根据 Nei's 遗传距离构建 UPGMA 聚类图(图 2),表明同岛种群间的亲缘关系明显较近,普陀岛的 SCD 种群和 HJS 种群聚为一小支,这是由于同岛种群不受海水阻隔,基因交流频繁,遗传分化程度较小。桃花岛种群(THZ)与朱家尖岛种群(ZJJ)另聚为一支,表明两种群间的亲缘关系也较近,之后与普陀岛种群聚为一大支。

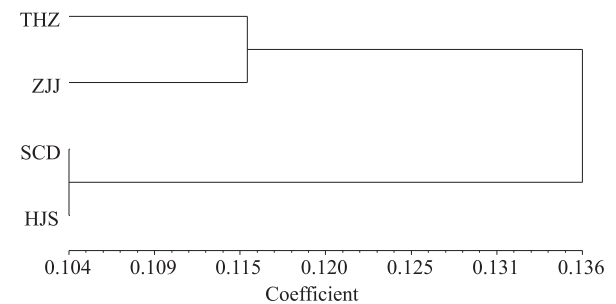


图 2 山茶种群 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类图
Fig. 2 UPGMA dendrogram for four populations of *C. japonica* based on Nei's genetic distance

2.4 主坐标分析

主坐标分析结果表明前 3 个坐标分别代表山茶

种群总遗传变异的 34.06%、22.62% 和 19.43% (累计代表总遗传变异的 76.12%) (图 3)。主坐标分析结果和聚类分析结果基本一致:舟山群岛 2 个种群不同个体间的混杂度较高,而其他 2 个种群间的个体则相互区分明显。

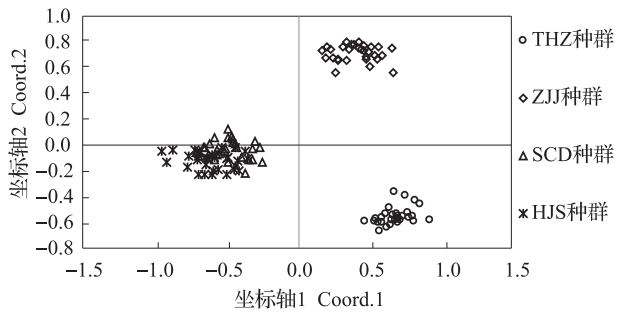


图 3 4 个山茶种群的主坐标分析(PCA)结果
Fig. 3 PCA analysis on four populations of *C. japonica*

3 讨论

3.1 山茶遗传多样性分析

遗传多样性和物种的分布范围及种群的规模都具有重要的相关性^[12-13]。ISSR 分子标记揭示了舟山群岛山茶种群平均的多态性百分比(PPB)、种群内基因多样性(H_e)和 Shannon 多态性信息指数(H)分别为 80.77%、0.3144、0.4629,遗传多样性水平高于舟山群岛特有种全缘冬青(*Ilex integrata*)($PPB = 41.2\%$, $H_e = 0.153$, $H = 0.227$)^[2]。全缘冬青为濒危植物,零星分布于舟山群岛较偏远的海岸^[14]。山茶种群的分布范围及规模都相对较大,其中朱家尖岛的大青山是山茶的主要分布地,相对较大的种群规模也使该种群保持了相对较高的遗传多样性^[15]。Nybom 统计了基于 ISSR 位点分析物种的种群内基因多样性(H_e)平均值为 0.2200^[16],低于山茶种群($H_e = 0.2569$),表明山茶种群的遗传多样性水平较高,该结果与张立^[7]、李力等^[17]以及 J. F. Wendel 等^[18]的研究结果一致,可能是由于山茶种群间具有较高的花粉流动而引起的^[19]。

山茶为完全两性花,但其主要还是依靠虫媒进行异花授粉,且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,如遍及旧大陆的热带和亚热带地区的暗绿绣眼鸟(*Zosterops japonica*)^[20],因而山茶种群之间具有较高的花粉流。山茶的种子主要是靠重力传播,但有研究发现许多啮齿动物也是山茶种子传播的载体^[21],这种繁育方式使得山茶保持了较高

的遗传多样性。

3.2 岛屿地理隔离对山茶遗传分化的影响

研究发现同岛种群间的遗传分化程度 ($G_{st} = 0.1369$) 较不同岛屿种群间的遗传分化程度 ($G_{st} = 0.2241$) 小,UPGMA 也将同岛种群聚为亲缘关系最近的一支,这可能与岛屿范围较小、生境单一、短距离种群间基因交流频繁有关^[22]。冷欣等^[23]对舟山群岛红楠(*Machilus thunbergii*)种群的研究结果也说明了这个问题。海岛分布的山茶受宽阔海面的隔离,昆虫、鸟类等传粉媒介难以逾越传粉,在一定程度上阻碍了岛屿间种群的基因交流,使得岛屿种群间的地理距离与遗传距离具有相关性,Mantel 检验 ($r = 0.9653, P < 0.05$) 证实了这种相关性。

3.3 山茶种群多样性的保护

舟山群岛山茶集中分布在海拔 10 ~ 300 m 之间,伴生有红楠、铁冬青 (*Ilex rotunda*)、蚊母树 (*Distylium racemosum*)、香樟 (*Cinnamomum camphora*)、枫香 (*Liquidambar formosana*)、黄连木 (*Pistacia chinensis*)、栓皮栎 (*Quercus variabilis*)、青冈 (*Cyclobalanopsis glauca*) 和苦槠 (*Castanopsis sclerophylla*) 等树种,作为各类阔叶林的伴生种或更新种。普陀岛上山茶只有在佛顶山和善财洞有分布,规模较小,许多百年以上山茶古树都遭到了砍伐,至今岛上剩有约 43 棵分散分布的百年以上山茶古树,其中 400 年以上 2 棵,300 年以上 7 颗,幼树数量较少。大青山山茶种群生长势较差,多数以灌木形态生存,遭人为砍伐严重。桃花岛上山茶分布较分散,数量较少。

由于人们对野生山茶资源的过度开发利用以及对岛屿生境的破坏,使得许多岛屿上天然山茶资源遭到了严重的人为破坏。因此,建议加强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;同时也要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,以维护种群的自然更新。

参考文献

[1] 胡绍庆,丁炳扬,陈征海. 浙江省珍稀濒危植物物种多样性保护的关键区域[J]. 物种多样性,2002,10(1):15-23

[2] 冷欣,王中生,安树青,等. 岛屿特有种全缘冬青的 ISSR 分析[J]. 生物多样性,2005,13(6):546-554

[3] 王中生,安树青,冷欣,等. 岛屿植物舟山新木姜子居群遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 生态学报,2004,24(3):414-422

[4] Nevo E. Genetic variation in natural populations: Patterns and theory[J]. Theor Pop Biol,1978,13:121-177

[5] 张宏达,任善湘. 中国植物志:第四十九卷第三分册[M]. 北京:科学出版社,1998:84

[6] 梁盛业. 中国名优茶花[M]. 北京:金盾出版社,2000

[7] 张立. 浙江省山茶天然居群的遗传多样性研究[D]. 北京:北京林业大学,2008

[8] Doyle J J, Doyle J L. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue[J]. Phytoch Bull,1987,19:11-15

[9] Slatkin M, Barton N H. A comparison of three indirect methods for estimating average levels of gene flow[J]. Evolution,1989,43:1349-1368

[10] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Applications to human mitochondrial DNA restriction data[J]. Genetics,1992,131:479-491

[11] Wright S. Evolution in Mendelian population[J]. Genetics,1931,16:97-159

[12] Frankham R. Do island populations have less genetic variation than mainland populations[J]. Heredity,1997,78:311-327

[13] Hamrick L K, Godt M J W, Murowski D A, et al. Conservation genetics of endemic plant species[C]// Avise J C, Holsinger K E. Conservation genetics: Case studies from nature. New York: Chapman and Hall,1996:281-304

[14] 王国明,徐树华,叶志军,等. 舟山群岛珍稀濒危植物的分布与保护[J]. 浙江林学院学报,1998,15:181-186

[15] Korron J D. A comparison of levels of genetic polymorphism and self-compatibility in geographically restricted and widespread plant congeners[J]. Ecology,1987,1:47-58

[16] Nybom H. Comparison of different nuclear DNA markers for estimating intraspecific genetic diversity in plants[J]. Mol Ecol,2004,13(5):1143-1155

[17] 李力,王仁卿,王中仁,等. 青岛耐冬山茶的多样性(II)——居群的遗传多样性分析[J]. 生物多样性,1996,4(1):1-6

[18] Wendel J F, Parks C R. Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* L. (Theaceae)[J]. Am J Bot,1985,72:52-65

[19] Chung M G, Kang S S. Genetic variation within and among populations of *Camellia japonica* (Theaceae) in Korea[J]. Can J For Res,1996,26:537-542

[20] Kunitake T K, Hasegawa M, Miyashita T, et al. 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,2004,19:197-201

[21] Harue A, Rikyū M, Saneyoshi U, et al. Dispersal of *Camellia japonica* seeds by *Apodemus speciosus* revealed by maternity analysis of plants and behavioral observation of animal vectors[J]. Ecol Res,2006,21(5):732-740

[22] Mantel S. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics[J]. Trends Ecol Evol,2003,18(4):189-197

[23] 冷欣,王中生,安树青. 岛屿地理隔离对红楠居群遗传结构的影响[J]. 南京林业大学学报:自然科学版,2006,30(2):20-24