

文章编号:1001-1498(2014)01-0071-06

金花茶组物种遗传关系的 ISSR 分析

肖政¹, 李纪元^{1*}, 李志辉², 黄连冬², 范正琪¹, 蒋昌杰²

(1. 中国林业科学研究院亚热带林业研究所, 浙江 富阳 311400;

2. 南宁市金花茶公园, 广西 南宁 530012)

摘要:利用 ISSR 分子标记技术对广西南宁金花茶公园 29 份金花茶组物种进行遗传关系分析。筛选出的 14 条引物扩增得到 133 条清晰条带, 其中 126 条为多态性条带, 多态性位点百分比为 94.74%。29 份金花茶种质材料的 Nei's 基因多样性指数为 0.3606, Shannon's 信息指数为 0.5314, 遗传相似系数介于 0.481~0.835, 金花茶组物种的遗传基础较宽。用 NTSYS 软件对样品进行 UPGMA 聚类分析, 29 份金花茶样品聚为 3 大类群, 其中扶绥中东金花茶单独为一类, 顶生金花茶和龙州金花茶聚为一类, 其它金花茶聚为一类。分析结果表明:夏石金花茶和小花金花茶的遗传相似系数最高, 支持将两者归并到柠檬黄金花茶, 弄岗金花茶和毛籽金花茶亲缘关系很近, 支持合并到同一个种; 龙州金花茶和薄叶金花茶分别归为单独的种。

关键词:金花茶组; 亲缘关系; ISSR

中图分类号: S718.46

文献标识码: A

Genetic Relationships among Species from *Camellia* Sect. *Chrysantha* Chang Revealed by ISSR Analysis

XIAO Zheng¹, LI Ji-yuan¹, LI Zhi-hui², HUANG Lian-dong², FAN Zheng-qi¹, JIANG Chang-jie²

(1. Research Institute of Subtropical Forestry, Chinese Academy of Forestry, Fuyang 311400, Zhejiang, China;

2. Nanning Golden Camellia Park, Nanning 530012, Guangxi, China)

Abstract: Inter-simple sequence repeat (ISSR) technique was used to detect the genetic diversity and relationships in 29 samples of yellow camellias from Golden Camellia Park in Nanning, Guangxi Province. 133 discernible loci were obtained from all the samples by using 14 primers and 126 bands were polymorphic. The average percentage of polymorphic bands was 94.74%, Nei's gene diversity and Shannon's information index were 0.3606 and 0.5314, respectively. The genetic similarity coefficients among the tested samples ranged from 0.481 to 0.835, indicating a wide gene pool and much high gene diversity among species from *Camellia* Sect. *Chrysantha* Chang. A dendrogram showing genetic relationships among these samples was constructed by the unweighted pair-group method with arithmetic averages (UPGMA) based on Nei genetic similarity. According to the dendrogram, 29 materials could be divided into 3 groups. *Camellia achrysantha* formed the first group, *C. pingguoensis* var. *terminalis* and *C. lungzhouensis* were classified into the third group, and the others were classified into the second group. The results suggested that the similarity coefficient between *C. xiashiensis* and *C. micrantha* was the highest, and the two taxa should be merged into *C. limonia*; *C. longgangensis* and *C. ptilosperma* were closely related to each other, and they should be merged into the same species; *C. lungzhouensis* and *C. chrysanthoides* might be two distinct species.

Key words: *Camellia* Sect. *Chrysantha*; genetic relationships; inter-simple sequence repeat

收稿日期: 2013-03-21

基金项目: “十二五”国家科技支撑计划课题(2012BA01B0703); 国家国际科技合作项目(2011DFA30490)

作者简介: 肖政(1984—), 男, 福建三明人, 在读博士生, 研究方向花卉分子育种。

* 通讯作者: 李纪元(1964—), 男, 湖南湘阴人, 研究员, 博导. E-mail: jiyuan_li@126.com

金花茶组 (*Camellia* Sect. *Chrysantha* Chang) 属山茶科 (Theaceae) 山茶属 (*Camellia* L.)^[1]。山茶属约 20 组, 共 280 种, 分布于东亚北回归线两侧, 我国有 238 种, 以云南、广西、广东及四川最多, 余产中南半岛及日本^[2]。山茶属植物不仅具有重要的经济利用价值, 如茶饮、油料、药用等, 而且大多数种类具有观赏价值, 尤以具有黄花的金花茶组的种类最引人注目。金花茶组下分五室茶系 (Ser. *Flavae*) 和金花茶系 (Ser. *Chrysantha* Chang)。五室茶系 2 种, 其中 1 种我国有分布; 金花茶系 16 种, 国产 15 种。金花茶原产于中国广西南部, 越南北部和南部, 在广西主要分布在邕宁、防城、东兴、扶绥和隆安等县(市)^[3-5]。

分子标记在植物育种上具有重要的应用价值, 并已取得了可喜的进展, 其中应用于植物种内资源多样性研究的 DNA 分子标记主要有 RAPD (random amplified polymorphic DNA)、AFLP (amplified fragment length polymorphism)、SSR (simple sequence re-

peat) 和 ISSR (inter-simple sequence repeat) 标记等。Xiao 等^[6]利用 RAPD 标记对山茶属分组及物种归类进行了分子分析, 林立等^[7-9]利用 ISSR 标记对山茶居群的遗传多样性进行了分析。在金花茶分子标记研究方面, 唐绍清等^[10-12]用 AFLP 对金花茶组植物进行了分类研究, 而利用 ISSR 标记较全面分析金花茶组物种间的遗传多样性和亲缘关系的研究还少见报道。本研究采用 ISSR 分子标记对 28 份金花茶组物种及一个杂交种的遗传多样性和亲缘关系进行分析, 以期更全面揭示金花茶组物种的遗传多样性水平, 为金花茶植物种质科学分类、保护和育种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验样品采自广西南宁金花茶公园金花茶种质保存苗圃(表 1)。采集当年萌发的嫩芽和嫩叶, 液氮处理后, 于 -80℃ 冰箱保存。

表 1 参试金花茶组样品及原产地

编号	种名	学名	原产地
1	扶绥中东金花茶	<i>C. Achrysantha</i> H. T. Chang et S. Y. Liang	广西
2	顶生金花茶	<i>C. pingguoensis</i> var. <i>terminalis</i> T. L. Ming et W. J. Zhang	广西
3	天峨金花茶	<i>C. tianeensis</i> S. Y. Liang et Y. T. Luo	广西
4	淡黄金花茶	<i>C. flava</i> H. T. Chang	广西
5	显脉金花茶	<i>C. euphlebica</i> Merr. et Sealy	广西
6	龙州金花茶	<i>C. lungzhouensis</i> J. Y. Luo	广西
7	陇瑞金花茶	<i>C. longruiensis</i> S. Y. Liang et X. J. Dong	广西
8	自然杂交种	A natural hybrid	广西
9	柠檬黄金花茶	<i>C. limonia</i> C. F. Liang et S. L. Mo	广西
10	平果金花茶	<i>C. pingguoensis</i> D. Fang	广西
11	夏石金花茶	<i>C. xiashiensis</i> S. Y. Liang et C. Z. Deng	广西
12	小花金花茶	<i>C. micrantha</i> S. Y. Liang et Y. C. Zhong	广西
13	坛洛金花茶	<i>C. chrysantha</i> (Hu) Tuyama	广西
14	凹脉金花茶	<i>C. impressinervis</i> H. T. Chang et S. Y. Liang	广西
15	毛瓣金花茶	<i>C. pubipetala</i> Wang et Huang	广西
16	薄叶金花茶	<i>C. chrysanthoides</i> H. T. Chang	广西
17	小果金花茶	<i>C. microcarpa</i> (Mo et Huang) H. T. Chang et C. X. Ye	广西
18	金花茶变种	<i>Camellia</i> sp.	广西
19	多瓣金花茶	<i>C. multipetala</i> S. Y. Liang et C. Z. Deng	广西
20	毛籽金花茶	<i>C. pilosperma</i> S. Y. Liang et Q. D. Chen	广西
21	东兴金花茶	<i>C. tungshinensis</i> Chang	广西
22	薄瓣金花茶	<i>C. leptopetala</i> Chang et S. Y. Liang	广西
23	崇左金花茶	<i>C. chuongtsoensis</i> S. Y. Liang et L. D. Huang	广西
24	弄岗金花茶	<i>C. longgangensis</i> C. F. Liang et S. L. Mo	广西
25	云南金花茶	<i>C. fascicularis</i> H. T. Chang	云南
26	小瓣金花茶	<i>C. parvipetala</i> J. Y. Liang et Z. M. Su	广西
27	武鸣金花茶	<i>C. wumingensis</i> S. Y. Liang et C. R. Fu	广西
28	防城金花茶	<i>C. nitidissima</i> var. <i>phaeopubisperma</i> Liang et Tang	广西
29	黄抱茎金花茶	<i>C. murauchii</i> Ninh et Hakoda	越南

1.2 DNA 的提取及测定

采用改良 CTAB 法提取金花茶组物种基因组 DNA。通过 1% 琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop ND-2000 核酸测定仪(美国 NanoDrop 公司产品)检测 DNA 浓度和纯度。DNA 浓度均调至 $50 \sim 100 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 于 -20°C 冰箱内保存备用。

1.3 PCR 扩增与引物筛选

根据预实验,分别对 Mg^{2+} 浓度、dNTP 浓度、Taq 酶用量、退火温度和扩增循环数进行优化,确定较稳定的 ISSR 反应体系为: $20 \mu\text{L}$ PCR 反应体系中含 $10 \times$ buffer 缓冲液 $2 \mu\text{L}$, $1.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1} \text{Mg}^{2+}$, 0.2 mmol

$\cdot \text{L}^{-1}$ dNTP, $0.5 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 引物, 2.5 U Taq 酶, $12.7 \mu\text{L}$ 无菌水。PCR 扩增程序为: 94°C 预变性 5 min , 94°C 变性 40 s , 各引物相应温度退火 45 s , 72°C 延伸 90 s , 40 个循环, 72°C 延伸 7 min , 4°C 保存。PCR 产物用 2% 琼脂糖凝胶于 $5 \text{ V} \cdot \text{cm}^{-1}$ 电压下电泳 90 min , DNA 上样缓冲液里加 Gelred 核酸染料。电泳结果用凝胶成像系统(FR-200A)拍照保存。

ISSR 引物参考山茶科植物的 ISSR 研究报道,选取 50 条引物,由北京鼎国生物技术有限公司合成。通过预实验,筛选出 14 条扩增条带清晰且重复性好的引物(表 2)。

表 2 ISSR 扩增引物

引物	序列(5'-3')	退火温度/ $^\circ\text{C}$	总条带数	多态性条带	多态性位点百分比/%
UBC810	(GA) ₈ T	55	8	8	100.00
UBC811	(GA) ₈ C	55	9	9	100.00
UBC818	(CA) ₈ G	51	8	7	87.50
UBC824	(TC) ₈ G	55	10	10	100.00
UBC827	(AC) ₈ G	55	8	7	87.50
UBC834	(AG) ₈ YT	54	11	9	81.82
UBC835	(AG) ₈ YC	56	12	12	100.00
UBC841	(GA) ₈ YC	56	12	11	91.67
UBC843	(CT) ₈ RA	54	9	9	100.00
UBC848	(CA) ₈ RG	55	8	8	100.00
UBC853	(TC) ₈ RT	52	10	10	100.00
UBC873	(GACA) ₄	52	10	9	90.00
IR43	(GA) ₈ CT	53	9	8	88.89
IR53	(CAA) ₈ G	57	9	9	100.00
总计			133	126	94.74

注: Y = (C, T), R = (A, G)。

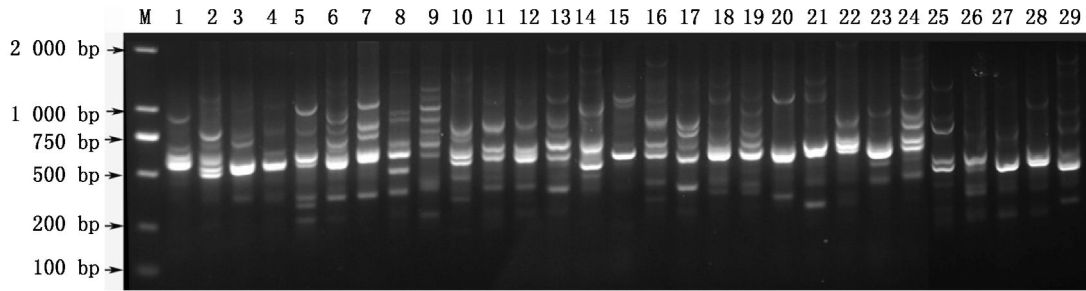
1.4 数据处理与分析

不同金花茶 DNA 样品用 14 条筛选引物分别进行 ISSR 分析,采用人工读带的方法统计不同样品在扩增条带上的差异情况。PCR 扩增反应均重复 3 次,有扩增产物 DNA 带者记为 1,缺乏者记为 0,选取长度在 $100 \sim 2000 \text{ bp}$ 可重复的 DNA 带,包括强带和弱带,记录并分析。采用 POPGEN1.32 软件计算多态性位点百分比(PPL)、Nei's 基因多样性指数(H)、遗传相似系数(H_s)、Shannon's 信息指数(I)、等位基因数(N_a)和有效等位基因数(N_e)。用 NTSYS-pc2.10e 软件进行计算分析,按照 Nei 等的方法^[13],用 UPGMA(Unweighted pair group method using arithmetic averages)法对得到的遗传相似系数矩阵进行聚类分析。

2 结果与分析

2.1 金花茶组物种 DNA 扩增结果

本实验从 50 条引物筛选出 14 条能扩增出清晰条带且重复性好的引物(表 2)。利用 14 条 ISSR 引物对 29 份金花茶组物种材料分别进行 PCR 扩增,得到不同的引物扩增指纹图谱(图 1)。14 条引物在金花茶组样品的基因组 DNA 上扩增共得到 133 条清晰条带,片段长度介于 $100 \sim 2000 \text{ bp}$,每条引物最少获得 8 条扩增带,最多获得 12 条带,平均每条引物获得 9.5 条,其中多态性条带为 126 条,多态性位点百分比为 94.74%(表 2),表明金花茶组物种基因组 DNA 多态性较高。



M:DNA Marker; 1~29: 样品编号

图1 引物 UBC835 扩增的 29 份金花茶组样品的 ISSR 指纹图谱

2.2 金花茶组物种遗传多样性分析

29 份金花茶样品的遗传相似系数介于 0.481 ~ 0.835, 其中夏石金花茶和小花金花茶之间的遗传相似系数最大, 为 0.835, 遗传距离小, 亲缘关系最近; 顶生金花茶与崇左金花茶遗传相似系数最小, 为 0.481, 亲缘关系最远。29 份金花茶样品的平均有效等位基因数 (N_e) 为 1.630 7, Nei's 基因多样性指数 (H) 为 0.360 6, Shannon's 信息指数 (I) 为 0.531 4。

8 号样品为通过风媒或虫媒授粉的自然杂交种, 种子经采收后, 混合播种, 成苗后其表型与同批播种的其它植株有差异, 但父母本不清。ISSR 分析结果表明其与显脉金花茶和柠檬黄金花茶的遗传相似系数最高 (表 3), 分别为 0.699 2 和 0.691 7, 遗传

距离最小, 表明 8 号样品可能是显脉金花茶和柠檬黄金花的杂交后代。

2.3 聚类分析

根据 ISSR 标记数据计算种质材料间的遗传相似系数矩阵, 采用 UPGMA 法构建 29 份金花茶样品的遗传关系树状图 (图 2)。取遗传相似系数 0.61 为阈值划分时, 29 个金花茶样品被聚为 3 个类群。其中 I 类群只有扶绥中东金花茶, II 类群有 26 个物种, III 类群只有顶生金花茶和龙州金花茶两个物种, 表明 III 类群与 I 类和 II 类群之间有较远的亲缘关系。II 类群中 26 份样品可再细分为 A、B、C 3 个亚类群。A 类包含 17 个物种, B 类有 4 个物种, C 类有 5 个物种。

表 3 金花茶组样品间的遗传相似系数矩阵

编号	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	28	29
1	1.000																												
2	0.579	1.000																											
3	0.662	0.602	1.000																										
4	0.654	0.594	0.767	1.000																									
5	0.617	0.586	0.684	0.722	1.000																								
6	0.541	0.602	0.654	0.662	0.624	1.000																							
7	0.586	0.602	0.654	0.617	0.639	0.669	1.000																						
8	0.586	0.647	0.639	0.632	0.699	0.594	0.684	1.000																					
9	0.669	0.534	0.722	0.729	0.722	0.602	0.692	0.692	1.000																				
10	0.556	0.647	0.669	0.752	0.699	0.594	0.624	0.669	0.632	1.000																			
11	0.647	0.571	0.684	0.692	0.609	0.594	0.594	0.624	0.692	0.699	1.000																		
12	0.586	0.632	0.639	0.692	0.654	0.609	0.609	0.624	0.737	0.684	0.835	1.000																	
13	0.579	0.579	0.677	0.669	0.677	0.586	0.662	0.677	0.729	0.677	0.677	0.692	1.000																
14	0.609	0.594	0.571	0.564	0.632	0.632	0.602	0.662	0.624	0.647	0.571	0.617	0.654	1.000															
15	0.594	0.564	0.617	0.654	0.632	0.571	0.677	0.647	0.684	0.617	0.617	0.677	0.654	0.609	1.000														
16	0.594	0.564	0.632	0.684	0.647	0.602	0.647	0.602	0.729	0.677	0.752	0.722	0.654	0.594	0.639	1.000													
17	0.617	0.556	0.699	0.647	0.624	0.609	0.654	0.624	0.677	0.639	0.609	0.654	0.647	0.617	0.602	0.677	1.000												
18	0.632	0.617	0.699	0.692	0.624	0.579	0.639	0.624	0.707	0.714	0.729	0.729	0.707	0.571	0.692	0.677	0.654	1.000											
19	0.549	0.504	0.632	0.699	0.586	0.571	0.602	0.602	0.639	0.692	0.722	0.707	0.669	0.624	0.639	0.669	0.677	0.707	1.000										
20	0.534	0.564	0.602	0.564	0.526	0.586	0.586	0.556	0.564	0.586	0.632	0.662	0.609	0.639	0.669	0.564	0.647	0.662	0.654	1.000									
21	0.586	0.526	0.624	0.617	0.609	0.549	0.639	0.639	0.692	0.579	0.624	0.669	0.692	0.602	0.737	0.662	0.684	0.699	0.617	0.647	1.000								
22	0.571	0.511	0.669	0.647	0.609	0.594	0.594	0.624	0.707	0.624	0.639	0.669	0.707	0.632	0.662	0.632	0.714	0.654	0.662	0.632	0.805	1.000							
23	0.586	0.481	0.624	0.602	0.534	0.549	0.594	0.624	0.692	0.549	0.654	0.624	0.602	0.632	0.602	0.632	0.654	0.594	0.677	0.632	0.624	0.654	1.000						
24	0.519	0.549	0.602	0.564	0.586	0.556	0.662	0.556	0.669	0.541	0.586	0.662	0.684	0.654	0.654	0.594	0.647	0.617	0.609	0.684	0.632	0.632	0.647	1.000					
25	0.609	0.549	0.541	0.609	0.571	0.602	0.602	0.541	0.609	0.602	0.571	0.632	0.549	0.609	0.594	0.609	0.632	0.586	0.639	0.549	0.647	0.602	0.602	0.549	1.000				
26	0.617	0.632	0.609	0.692	0.579	0.609	0.639	0.639	0.632	0.669	0.669	0.714	0.662	0.556	0.586	0.677	0.594	0.654	0.632	0.602	0.594	0.609	0.594	0.556	0.662	1.000			
27	0.602	0.617	0.639	0.647	0.609	0.564	0.579	0.624	0.647	0.624	0.609	0.684	0.602	0.586	0.662	0.617	0.639	0.639	0.571	0.556	0.594	0.549	0.609	0.586	0.662	0.729	1.000		
28	0.556	0.541	0.609	0.571	0.579	0.594	0.594	0.579	0.571	0.639	0.579	0.579	0.632	0.602	0.617	0.617	0.654	0.609	0.586	0.602	0.639	0.594	0.594	0.541	0.662	0.699	0.714	1.000	
29	0.594	0.624	0.586	0.564	0.571	0.602	0.617	0.617	0.579	0.647	0.602	0.617	0.594	0.609	0.594	0.609	0.586	0.586	0.594	0.609	0.571	0.586	0.586	0.534	0.669	0.662	0.602	0.662	1.000

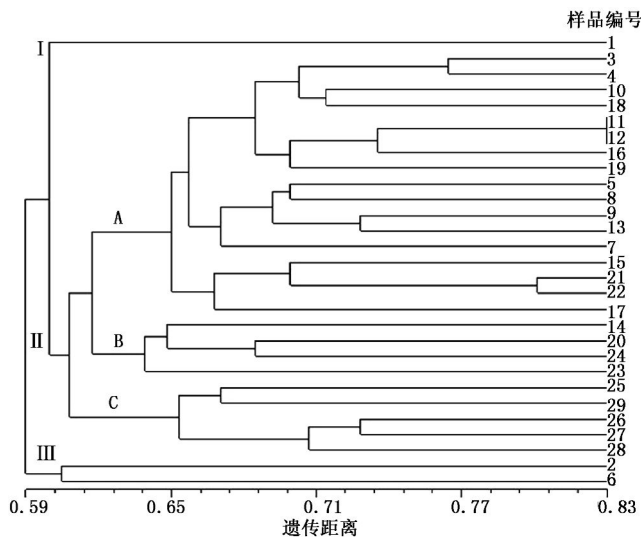


图 2 基于 Nei's 遗传距离的 UPGMA 聚类树状图

3 讨论

在本实验中,夏石金花茶和小花金花茶的遗传相似系数最大,这与两者在诸如花型、花朵大小、花色及叶型、叶片大小等形态特征高度相似性相吻合。这一结果也与唐绍清的 AFLP 标记研究结果相一致^[12],但与梁盛业^[3]、张宏达等^[2]、闵天禄^[4]和叶创兴等^[14]的分类有所不同。梁盛业将两者分开处理;张宏达等将夏石金花茶归并到小瓣金花茶;闵天禄把夏石金花茶归并到薄叶金花茶,而小瓣金花茶归并到柠檬黄金花茶;叶创兴等将夏石金花茶和小瓣金花茶都归并到柠檬黄金花茶,认为小花金花茶与柠檬黄金花茶是同一分类单位。小花金花茶子房仅有微毛,与柠檬黄金花茶之间的界限相当模糊^[14],本研究 ISSR 分析结果支持将小花金花茶和夏石金花茶归并到柠檬黄金花茶。

东兴金花茶和薄瓣金花茶聚合一起,遗传相似系数为 0.805,但两者在形态特征方面差异很大,如东兴金花茶的叶片短小、花梗长、花朵淡黄色,而薄瓣金花茶叶片较大、叶长椭圆形、花梗较短、花朵金黄色。天峨金花茶和淡黄金花茶,小瓣金花茶和武鸣金花茶,这两组物种也非常相似,但其形态特征差异却很大:天峨金花茶与淡黄金花茶花色虽然相近,但天峨金花茶花朵较大,淡黄金花茶花朵较小;小瓣金花茶花朵小,而武鸣金花茶花朵大。

闵天禄^[4]将毛籽金花茶、弄岗金花茶、大样弄岗金花茶、大金花茶和陇瑞金花茶归并到淡黄金花茶;叶创兴等^[14]将陇瑞金花茶之外的其它 4 种与武鸣金花茶归并成淡黄金花茶;张宏达等^[2]只将弄岗金

花茶归并淡黄金花茶。由图 2 可见弄岗金花茶和毛籽金花茶聚合在一起,武鸣金花茶和小瓣金花茶聚合一起,ISSR 分析结果支持将前两者合并到相同的分类单位,不支持将武鸣金花茶归并到淡黄金花茶。

叶创兴等^[14]将顶生金花茶归为一个种,张宏达等^[2]和闵天禄^[4]将其归为平果金花茶的变种,表 3 遗传相似系数显示,顶生金花茶与其它种亲缘关系相差较远,与平果金花茶的遗传相似系数最高,为 0.647,支持将其归为平果金花茶的变种。龙州金花茶近似薄叶金花茶,但顶芽柔毛,叶有黑腺点,子房有毛^[2]。叶创兴等认为龙州金花茶和薄叶金花茶是相同的种。ISSR 分析结果表明龙州金花茶和薄叶金花茶亲缘关系相差较远,支持张宏达等将龙州金花茶和薄叶金花茶分别归为单独的种。

平果金花茶和一份未知的金花茶变种具有相近的亲缘关系,这与两者在花色、花径大小等形态特征上高度相似性相吻合,但防城金花茶与坛洛金花茶相隔较远。本研究结果支持梁盛业把两者分开的处理^[3],而不支持张宏达等和闵天禄的合并处理^[2,4]。Xiao 等认为防城金花茶和凹脉金花茶相近,本研究结果也不支持这样的结论^[6]。

ISSR 是通过多个不同的引物给出覆盖整个基因组的多样性信息,直接从 DNA 分子中检测碱基序列的变化,从而可为植物分类提供有用的信息。本研究扩增得到的金花茶 ISSR 条带表现出很高多态性,多态性位点百分比为 94.74%,Nei's 基因多样性指数为 0.3606,Shannon's 信息指数为 0.5314。这与唐绍清利用 AFLP 法分析金花茶样本 PPL 为 93.2% 基本一致。应用同功酶分子标记对同属植物山茶 (*C. Japonica* L.) 的遗传分化水平进行研究,日本分布的山茶种群的 Nei's 基因多样性指数为 0.263^[15],韩国分布的山茶自然种群的 Nei's 基因多样性指数为 0.254^[16],而本研究中金花茶 Nei's 基因多样性指数为 0.3606,表明分布于我国广西的金花茶具有较高的遗传多样性。

Hamrick 等^[17]认为遗传多样性与物种的分布范围具有重要的关联,分布范围越大,遗传多样性也就越高。杜鹃红山茶 (*C. changii* Ye) 只分布于广东鹤黄嶂自然保护区^[18],分布范围小于 100 km²,金花茶分布范围也极为狭窄,主要分布于广西南部 and 越南北部地区,生长于沟谷两旁及附近山坡常绿阔叶林中。由于金花茶自身生物学特性和自然、人为因素的影响,其一般呈星散分布,单位面积个体数目少,

鲜有大的居群分布。本研究所采集的 29 份金花茶组样本的遗传相似系数介于 0.48 ~ 0.83 之间,遗传基础比较宽。

UPGMA 聚类分析与山茶属分类学者的分类结果相比较,既有支持的,也有不支持的,还有完全不同于目前的三大形态分类体系的补充结果。与前人的分子标记研究结果相比较,也有类似的情况,但相似的结果更多。ISSR 作为一种分子技术,具有多态性好^[19],技术简单、快速、成本低,引物有通用性等优点,在金花茶种质资源的保护中,可为其遗传多样性^[20]、品种鉴别及遗传图谱构建^[21]、基因定位等提供强有力的理论依据,为杂交亲本的选择、优良性状的早期鉴定提供技术支持。

参考文献:

- [1] 张宏达. 华夏植物区系的金花茶组[J]. 中山大学学报:自然科学版,1979,18(3):69-74
- [2] 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
- [3] 梁盛业. 金茶花[M]. 北京:中国林业出版社,1993
- [4] 闵天禄. 世界山茶属的研究[M]. 昆明:云南科技出版社,2000
- [5] 高继银, Parks C R, 杜跃强. 山茶属主要植物彩色图志[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,2005
- [6] Xiao T J, Parks C R. Molecular analysis of the genus *Camellia*[J]. American *Camellia* Yearbook, 2002: 52-58
- [7] 林立,李纪元,倪穗,等. 岛屿地理隔离对山茶种群遗传结构的影响[J]. 林业科学研究,2012,25(3):378-384
- [8] 林立,倪穗,李纪元,等. 中日 5 个岛屿山茶种群遗传多样性研究[J]. 广西植物,2012,32(3):298-303
- [9] 林立,胡仲义,李纪元,等. 10 个山茶岛屿天然居群的遗传多样性分析[J]. 园艺学报,2012,39(8):1531-1538
- [10] 唐绍清,施苏华,钟杨,等. 基于 ITS 序列探讨山茶属金花茶组的系统发育关系[J]. 广西植物,2004,24(6):488-492
- [11] 唐绍清,施苏华,陈月琴,等. 金花茶与近缘种的 RAPD 分析及分类学意义[J]. 中山大学学报:自然科学版,1998,37(4):28-32
- [12] 唐绍清,杜林方,王燕. 山茶属金花茶组金花茶系的 AFLP 分析[J]. 武汉植物学研究,2004,22(1):44-48
- [13] Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases[J]. Proceedings of the National Academy of Science, 1979(76):5269-5273
- [14] 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
- [15] Wendel J F, Parks C R. Genetic diversity and population structure in *Camellia japonica* L. (Theaceae)[J]. Am J Bot, 1985(72):52-65
- [16] Yeeh Y, Kang S S, Chung M G. Evaluations of the natural monument populations of *Camellia japonica* (Theaceae) in Korea based on allozyme studies[J]. Bot Bull Acad Sin, 1996(37):141-146
- [17] Hamrick J L, Godt M J W. Conservation genetics of endemic plant species[M]. //Avice J C, Hamrick J C. Conservation Genetics: Case Histories from Nature. New York: Chapman and Hall, 1996: 281-304
- [18] 罗晓莹,庄雪影,杨跃生. 杜鹃红山茶遗传多样性的 ISSR 分析[J]. 热带亚热带植物学报,2007,15(2):93-100
- [19] Culley T M, Sbita S J, Wick A. Population genetic effects of urban habitat fragmentation in the perennial herb *Viola pubescens* (Violaceae) using ISSR markers [J]. Annals of Botany, 2007, 100(1):91-100
- [20] Mondal T K. Assessment of genetic diversity of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) by inter simple sequence repeat polymerase chain reaction[J]. Euphytica, 2002, 128(3):307-315
- [21] Zhao W G, Mao X X, Zhang B, et al. Construction of finger printing and genetic diversity of mulberry cultivars in China by ISSR markers[J]. Acta Genetica Sinica, 2006, 33(9):851-860