

黑麂 (*Muntiacus crinifrons*) 栖息地片断化对 种群基因流的影响

程宏毅, 鲍毅新*, 陈 良, 胡知渊, 葛宝明

(浙江师范大学生态研究所, 浙江金华 321004)

摘要: 栖息地片断化可能影响种群的基因流, 进而导致近交, 降低个体生活力, 是生物多样性丧失和物种绝灭的主要因素。被列为国家 I 级保护动物的黑麂 (*Muntiacus crinifrons*), 由于自身目前的濒危状况和生物学特异性, 使得栖息地片断化对其影响更甚。为了更好的保护该珍稀物种, 研究运用地理信息系统划分了浙江遂昌的九龙山自然保护区和开化的古田山自然保护区黑麂栖息地的片断化斑块, 并通过所得片断化斑块数据进行两个保护区在片断化程度的计算, 同时从片断化斑块获取黑麂的组织、粪便样品, 提取黑麂的线粒体 DNA, 估算其基因流大小。以此初步确定两个保护区的黑麂栖息地片断化程度对种群基因流的影响。各项片断化指数均表明, 九龙山自然保护区的黑麂栖息地片断化程度要小于古田山自然保护区。九龙山自然保护区黑麂片断化种群的平均基因流 N_m 达到了 3.65, 明显高于古田山自然保护区的 1.12。结果表明, 栖息地片断化可能对黑麂种群的基因流产生了一定的影响。应及时采取有效措施保护和恢复黑麂栖息地, 否则将严重阻碍片断化种群间的个体迁移、扩散和基因交流。

关键词: 黑麂 (*Muntiacus crinifrons*); 栖息地片断化; 基因流

文章编号: 1000-0933(2008)03-1109-11 中图分类号: Q953; Q959.843 文献标识码: A

Effects of habitat fragmentation on gene flow of the black muntjac (*Muntiacus crinifrons*)

CHENG Hong-Yi, BAO Yi-Xin*, CHEN Liang, HU Zhi-Yuan, GE Bao-Ming

Institute of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

Acta Ecologica Sinica, 2008, 28(3): 1109 ~ 1119.

Abstract: Conservation biologists pay increasing attention to the interdependence between habitat structure and genetic patterns of species and to the importance of conserving genetic diversity. Habitat loss and fragmentation are among the mostly threats to biodiversity loss and species extinction. Black muntjac (*Muntiacus crinifrons*), one of the rarest deer in the world, is listed in Category I of the State Key Protected Wildlife List of China and Appendix I of the Convention on International Trade in Endangered Species (CITES), and is also considered as a vulnerable species by the World Conservation Union (ICUN). Because specific ecological characteristics and their interactions with environmental conditions, this specie is threatened by habitat fragmentation and many other severe problems. However, most studies have not provided clear insights into effects of habitat fragmentation on gene flow of the black muntjac. In order to understand the mechanisms and provide information for effective conservation strategies of the black muntjac, it is necessary to study how

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30370219)

收稿日期: 2006-10-18; 修订日期: 2007-12-12

作者简介: 程宏毅 (1980 ~), 男, 浙江金华人, 硕士, 主要从事动物生态学研究. E-mail: chy1944@163.com

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: baoyix@21cn.com or sky90@zjnu.cn

Foundation item: The project was financially supported by National Natural Science Foundation of China (No. 30370219)

Received date: 2006-10-18; **Accepted date:** 2007-12-12

Biography: CHENG Hong-Yi, Master, mainly engaged in wildlife ecology. E-mail: chy1944@163.com

the influences of habitat fragmentation on gene flow of the black muntjac. The goal of this paper is to compare the degree of habitat fragmentation and gene flow and provide effective conservation of the black muntjac.

We digitized the vegetation map, topographic map, river map, road map and village map of Jiulong Mountain and Gutian Mountain Natural Reserves by geographical information system (GIS) to compartmentalize patch of habitat fragment and extracted mitochondrial DNA from black muntjac's organize and fecal samples that collected in those patch. The result show that degree of habitat fragmentation in Jiulong Mountain Natural Reserve was lower. The medial gene flow (N_m) was 3.65 in Jiulong Mountain Natural Reserve and it was observably larger than in Gutian Mountain Natural Reserve. We show that habitat fragmentation affects gene flow among populations of the black muntjac. One of the main goals of conservation should be to resume habitat of the black muntjac in order to increase populations size, genetic diversity and gene flow.

Key Words: Black muntjac (*Muntiacus crinifrons*); habitat fragmentation; gene flow

栖息地是生物在自然界中生存繁衍的场所。然而,随着人类活动的不断加剧,原始完整的栖息地已几乎不存在,大量物种生活在斑块状的栖息地中。国内外的许多研究表明,栖息地片断化是导致生物多样性丧失和物种绝灭的主要因素,也是威胁自然界生物生存的重要因素之一^[1~5]。栖息地片断化可能影响基因流,导致近交,降低个体生活力,尤其威胁濒危物种的生存。对一个片断化种群来说,若各种群间没有或存在很小的基因交流,则种群的遗传多样性丧失将越快,种群间的遗传分化也将越大^[6]。

基因流可以使具有不同等位基因的种群间产生新的遗传组合,不同亚种间的基因交流可能形成新种,而且这些新的基因组合也可能具有更强的生存力和适应力,从而在进化上起到很大作用。基因流与种群间的地理距离之间存在着很大的相关关系,空间距离越短,发生基因流的概率就越大。而空间距离远的种群间则可能只有很小基因流或根本没有基因流,因为生物个体的迁移受其移动能力的限制。其它种群基因的流入可以直接改变种群原有的基因频率,影响遗传结构,并使基因交流频繁的种群间在遗传结构上趋于一致。

黑麂 (*Muntiacus crinifrons*) 是目前最珍稀的鹿科动物之一,现存种群的分布区处于 27.5 ~ 31°N, 117 ~ 121.5°E 之间,涉及浙江、安徽、江西和福建等 4 省。由于人为活动影响的加剧,使黑麂的栖息地受到严重破坏,分布区面积不断缩小,栖息地片断化的程度不断加大。长期处于隔离状态的黑麂种群不仅面临着自身进化的强大压力,更面临着生存和发展的巨大威胁。为了搞清楚黑麂的栖息地片断化对黑麂种群的基因流是否存在影响,如果存在影响则其影响力有多大,本研究选择在浙江遂昌的九龙山自然保护区和开化的古田山自然保护区进行栖息地片断化的程度测定,并收集 2 个保护区栖息地片断化斑块内的黑麂组织、粪便样品,基于线粒体 DNA 对 2 个保护区内片断化种群的基因流水平进行估算,确定这 2 个保护区的栖息地片断化对种群的基因流产生的影响,以期提出更加有效的保护建议。

1 研究方法

1.1 研究区自然概况

九龙山自然保护区位于浙江省遂昌县西南部,地处浙、闽、赣三省交界处, 118°49'38" ~ 118°55'03" E, 28°19'10" ~ 28°24'43" N, 属武夷山系仙霞岭的一个分支,平均海拔 1 000m 以上,整个山体呈西南—东北走向,总面积 55.25km²。主峰九龙山位于 118°52' E, 28°19' N, 海拔 1724m。

古田山自然保护区位于浙江省开化县境内西北角,与江西省婺源县、德兴市毗邻, 118°03'49.7" ~ 118°11'12.2" E, 29°10'19.4" ~ 29°17'41.4" N, 面积 81.07km²。古田山属南岭山系怀玉山脉的一部分,是联系华中—华东植物区系的重要过渡地带,主峰青尖海拔 1 258m。

两区均属中亚热带湿润季风区,受夏季风影响较大,一年中气候有明显的季节性变化。植被资源十分丰富,植被发育良好,地带性植被均是常绿阔叶林,以青冈 (*Cyclobalanopsis glauca*) 为优势种组成的群落最具特色。区内动物区系属东洋界,华中区东部丘陵平原亚界。

由于两个自然保护区中尚存在一些居民点,人类的生产劳作活动成为导致保护区内黑麂栖息地片断化的

主要原因。

1.2 栖息地片断化程度测定

1.2.1 栖息地片断化斑块的划分

本研究收集浙江省卫星照片以及九龙山和古田山的遥感、数字化土地利用图、地形图、植被图、等高线图。将卫星图片和遥感数据解译,并结合实地调查,获取保护区的 1:100000 的土地利用图,运用 GIS 软件 mapinfo 6.5,通过图层叠加分析,划分出九龙山和古田山保护区的黑麂栖息地片断化斑块,并获得研究区总面积、总周长和斑块数目及各个片断化斑块的面积、周长等描述栖息地片断化程度的基本要素。

1.2.2 栖息地片断化程度的测定

栖息地片断化程度通过栖息地片断化指数来测定。关于栖息地景观片断化的测定指数,国内外许多学者做了大量的研究,并提出了各种指数的测定方法,其中用于片断化的定量指数主要有斑块聚合度指数^[7,8]、斑块邻近度指数^[9]、斑块密度指数^[10]、廊道密度指数^[11]、景观破碎化指数^[12,13]、分离度指数^[14]、片断化程度指数^[15]以及基于等级理论、经济地理理论提出的一些景观指数^[16]。

本研究采用以下指数测定黑麂栖息地的片断化程度:

(1) 斑块密度指数

$$PD = \sum n_i / A$$

式中, PD 为斑块密度指数; $\sum n_i$ 为研究区内斑块总数; A 为研究区总面积。该指数比值愈大,代表其破碎化程度愈高。

(2) 景观破碎化指数

$$FN_1 = (N_p - 1) / N_c$$

$$FN_2 = (N_f - 1) / MPS$$

式中, FN_1 为整个研究区的景观破碎度指数; N_p 为景观斑块总数; N_c 为研究区的总面积与最小斑块面积的比值; FN_2 为某景观斑块类型的景观破碎度指数; MPS 为整个景观的平均斑块面积; N_f 为某景观斑块类型的斑块数目。 FN_1 与 $FN_2 \in (0, 1)$, 0 表示景观完全未被破坏, 1 表示景观被完全破坏。

(3) 分离度指数

$$N_i = D_i / S_i$$

$$D_i = \frac{1}{2} \sqrt{n/A}$$

$$S_i = A_i / A$$

式中, N_i 为景观类型 i 的分离度指数; D_i 为景观类型 i 的距离指数; n 为景观类型 i 的斑块数目; A 为研究地的总面积(hm^2); S_i 为景观类型 i 的面积指数; A_i 为景观类型 i 的面积(hm^2)。分离度越大,表示斑块越离散,相互之间的距离越大。

(4) 片断化程度指数

$$F = 1 - \sum_{i=1}^n \frac{1}{D_i} \times (A_i / A)^2$$

$$D_i = P_i / (2 \times \sqrt{\pi A_i})$$

式中, D_i 是斑块形状指数; P_i 是斑块周长; A_i 是斑块 i 的面积; A 是研究地总面积; n 是斑块数目。 F 值愈大,表明研究地片断化程度愈高。

(5) 景观内部生境面积破碎化指数

$$FI_1 = 1 - A_i / A$$

$$FI_2 = 1 - A_l / A$$

式中, FI_1 和 FI_2 是景观类型内部生境面积破碎化指数; A_i 是某一景观类型内部总面积; A_l 是该景观类型

最大的斑块; A 是景观总面积。 FI_1 和 FI_2 数值越大,景观内部片断化程度越高。

1.3 片断化种群的基因流测定

1.3.1 样品的采集

在这 2 个保护区中划分好的片断化斑块中采用样带法进行黑麂粪便样品的收集。在收集黑麂组织样品(肌肉、皮毛样品)的同时,询问有关人员,并实地进行 GPS 定位,以确定黑麂组织样品出自哪个片断化斑块。

本研究共采集 37 个黑麂个体的肌肉、皮毛组织和粪便样品共 37 份,其中九龙山保护区 22 份、古田山保护区 15 份(表 1)。

表 1 九龙山和古田山保护区黑麂样品信息总表

Table 1 Summary information on the samples of black muntjac used in this study

采样地点 Sampling site	斑块号 No. of patch	样品数 No. of individuals	样品类型 Tissue sample	观察资料 Observations	采样时间 Sampling year
浙江遂昌九龙山 自然保护区 Jiulong Mountain Natural Reserve	1	1	肌肉 Muscle	野生 Wildness	2002
		1	皮毛 Skin	野生 Wildness	2000
		2	粪便 Faecal	野生	2005
		2	粪便	野生	2005
	2	2	粪便	野生	2005
		2	粪便	野生	2005
		1	皮毛	野生	2000
		1	粪便	野生	2005
	8	2	粪便	野生	2005
		2	粪便	野生	2005
		1	皮毛	野生	2000
		2	粪便	野生	2005
	12	3	粪便	野生	2005
		2	粪便	野生	2005
浙江开化古田山 自然保护区 Gutian Mountain Natural Reserve	1	1	肌肉	野生	2004
		1	皮毛	野生	2003
		1	粪便	野生	2004
		1	粪便	野生	2004
	2	1	皮毛	野生	2003
		1	皮毛	野生	2003
		1	皮毛	野生	2003
		1	粪便	野生	2004
	6	1	皮毛	野生	2003
		1	粪便	野生	2004
		1	肌肉	野生	2004
		1	粪便	野生	2003
	13	1	皮毛	野生	2003
		1	粪便	野生	2003
	16	1	粪便	野生	2004
		1	皮毛	野生	2004

1.3.2 线粒体 DNA 的提取、扩增及测序

黑麂组织、粪便样品的线粒体 DNA 提取及其 PCR 扩增采用程宏毅等^[17]的方法。DNA 克隆及测序采用吴华梅花鹿保护遗传学研究的方法^[18]。

1.3.3 数据分析

序列结果用 Clustal X 软件进行 DNA 序列排列,并辅以人工校对。用 MEGA2.1 软件进行序列比较和变异检测,确定变异位和单倍型。用分子变异分析软件(Analysis of molecular variance, AMOVA)计算遗传变异

在种群内和种群间的分布及 F_{st} 值,并用排列测验法(Permutation test)检验 F_{st} 显著性(重复次数为 1 000)。分子变异分析在软件 ARLEQUIN 2.0 上完成。种群间基因流用 N_m 来估计:

$$N_m = (1/F_{st} - 1)/2$$

2 结果

2.1 片断化斑块划分结果

根据所得地理信息,将九龙山自然保护区黑麂栖息地划分成 13 个片断化斑块(图 1)。将古田山自然保护区黑麂栖息地划分成 21 个片断化斑块(图 2)。从图中可以发现,有些斑块之间的距离非常接近,这些斑块间的空间可能不足以构成限制黑麂基因交流的障碍,故本研究仅选取人为活动干扰大的斑块进行研究。在取样的斑块周围均分布着居民点、农田等干扰因素,人为活动相当频繁,可以认为是阻碍黑麂种群间基因交流的限制因素。

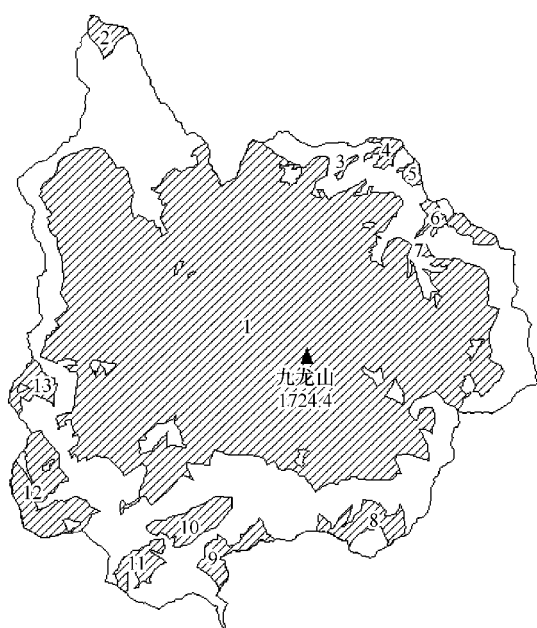


图 1 九龙山自然保护区黑麂栖息地片断化斑块

Fig. 1 Habitat fragmentation patch of black muntjac in Jiulong Mountain Natural Reserve

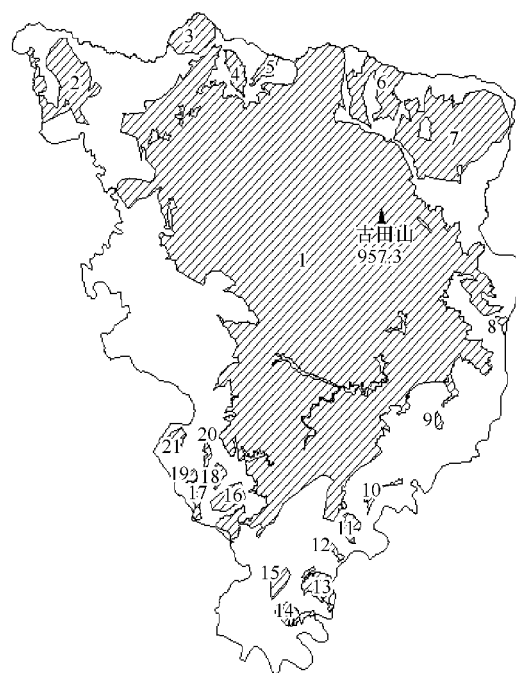


图 2 古田山自然保护区黑麂栖息地片断化斑块

Fig. 2 Habitat fragmentation patch of black muntjac in Gutian Mountain Natural Reserve

2.2 栖息地片断化程度的测定结果

经过统计计算,九龙山自然保护区和古田山自然保护区黑麂栖息地片断化指数如表 2 所示。可以发现,古田山自然保护区黑麂栖息地片断化程度要比九龙山自然保护区大。从图 1、2 也可以看出古田山自然保护区黑麂栖息地片断化斑块比九龙山自然保护区更多、更散,且小面积斑块较多。

2.3 片断化种群的基因流测定结果

2.3.1 变异位点及单倍型确定

经分析发现,37 个黑麂个体样品的线粒体 DNA 控制区基因片断中包含 19 个变异位点,并由此定义了 12 个单倍型(表 3)。其中,遂昌九龙山黑麂种群有 7 个单倍型(SJ1 ~ SJ7)、开化古田山黑麂种群有 5 个单倍型(KG1 ~ KG5)。

2 个保护区片断化斑块对应的黑麂单倍型见表 4。

表 2 九龙山自然保护区和古田山自然保护区黑麂栖息地片断化指数

Table 2 Habitat fragmentation values of Jiulong Mountain Natural Reserve and Gutian Mountain Natural Reserve

保护区 Natural Reserve	斑块密度指数 (PD 个/km ²) Index of patch density	景观破碎化指数 Index of landscape fragmentation		分离度指数 N_i Index of separateness	片断化程度 指数 F Index of fragmentation degree	内部生境面积破碎化指数 Index of inside habitat area fragmentation	
		FN_1	FN_2			FI_1	FI_2
九龙山 Jiulong Mountain	0.2253	0.0065	0.0425	0.0366	0.88214	0.336	0.419
古田山 Gutian Mountain	0.2411	0.009	0.0839	0.0428	0.94037	0.425	0.516

表 3 37 个黑麂个体线粒体 DNA 控制区基因片断序列的变异位点及其定义的单倍型

Table 3 Mitochondrial DNA control region haplotype defined for black muntjac

个体及其所属单倍型 Individual and haplotype	变异位点 Variation position	个体及其所属单倍型 Individual and haplotype	变异位点 Variation position
	[111 222 222 233 333 344 4]		[111 222 222 233 333 344 4]
	[089 155 567 802 248 802 3]		[089 155 567 802 248 802 3]
	[820 634 792 313 675 789 3]		[820 634 792 313 675 789 3]
SJ1-1	ATT ATC CTG TCT CTA ACC T	SJ7-2	ATC GCC CCA CGT ATA GCT T
SJ1-2		SJ7-3	..C GC. .CA C.. A.. G. T.
SJ1-3		SJ7-4	..C GC. .CA C.. A.. G. T.
SJ1-4		KG1-1	G. C. .CA. .CA CTC. .CG. TT G
SJ2-1	C.	KG1-2	G. C. .CA. .CA CTC. .CG. TT G
SJ2-2	C.	KG1-3	G. C. .CA. .CA CTC. .CG. TT G
SJ3	C. G	KG1-4	G. C. .CA. .CA CTC. .CG. TT G
SJ4	C. C.. ..T.	KG2-1	..C ..A TCA ..C. .CG. T. G
SJ5-1	G ..T G	KG2-2	..C ..A TCA ..C. .CG. T. G
SJ5-2	G ..T G	KG3	.CC ..A. .CA ..C AC. .TT G
SJ5-3	G ..T G	KG4-1	..C ..A. .CA ..C ACG. T. .
SJ5-4	G ..T G	KG4-2	..C ..A. .CA ..C ACG. T. .
SJ5-5	G ..T G	KG4-3	..C ..A. .CA ..C ACG. T. .
SJ5-6	G ..T G	KG5-1	..C ..A. .CA ..C ACG. T. G
SJ5-7	G ..T G	KG5-2	..C ..A. .CA ..C ACG. T. G
SJ5-8	G ..T G	KG5-3	..C ..A. .CA ..C ACG. T. G
SJ5-9	G ..T G	KG5-4	..C ..A. .CA ..C ACG. T. G
SJ6	G	KG5-5	..C ..A. .CA ..C ACG. T. G
SJ7-1	..C GC. .CA C.. A.. G. T.		

数字表示单倍型的变异位点,圆点表示与第一个单倍型(KG1)有相同的碱基组成,SJ 和 KG 分别是九龙山自然保护区黑麂和开化古田山自然保护区黑麂的缩写 Numbers (vertical) showing the variation positions among black muntjac haplotype; The haplotypes designations SJ and KG are abbreviations for the population introduced from the Jiulong Mountain Natural Reserve of Suichang and Gutian Mountain Natural Reserve of Kaihua

2.3.2 分子变异分析和基因流

九龙山自然保护区和古田山自然保护区黑麂片断化种群的 F_{st} 值(表 5、表 6),发现一部分片断化种群间的 F_{st} 值为负,这说明这些片断化种群间的基因流相当丰富,为了便于对 2 个保护区中片断化种群的基因流进行比较,采用了 Γ_{st} 值代替 F_{st} 值(表 5、表 6)进行基因流的估算,估算公式为:

$$N_m = (1/\Gamma_{st} - 1)/2^{\text{①}}$$

由该公式,估算了 2 个保护区内黑麂片断化种群的基因流(表 7、表 8)。

① 地中海地区不同觅食地蠓龟保守序列的遗传多样性. 联合国环境规划署第七次全球特别保护区热点问题会议论文集,2005,21:1~36.

Incidental catch of loggerhead sea turtles (*Caretta caretta*) in the Mediterranean; conservation consequences of genetic heterogeneity between foraging grounds. United Nations Environment Programme, Seventh Meeting of National Focal Points for SPAs. 2005, UNEP(DEC)/MED WG. 268/inf. 21:1~36

从表 7 和表 8 可以清楚地看出九龙山自然保护区黑麂片段化种群的基因流要大于古田山自然保护区黑麂片段化种群。平均基因流九龙山(3.64748)要明显大于古田山(1.12041)。虽然古田山保护区片段化种群的基因流比九龙山保护区小,但平均基因流 N_m 还是大于 1,说明各个片段化种群间仍存在着一定的基因流,目前的片段化程度还未对种群间的基因流造成重大的影响。

表 4 九龙山和古田山自然保护区片段化斑块对应的个体及单倍型

Table 4 The haplotypes of fragmentate patch in Jiulong Mountain Natural Reserve and Gutian Mountain Natural Reserve

九龙山自然保护区 Jiulong Mountain Natural Reserve				古田山自然保护区 Gutian Mountain Natural Reserve			
斑块号 No. of patch	样品数 No. of individuals	样品类型 Tissue sample	单倍型 haplotype	斑块号 No. of patch	样品数 No. of individuals	样品类型 Tissue sample	单倍型 Haplotype
1	1	肌肉 Muscle	SJ5	1	1	肌肉	KG5
	1	皮毛 Skin	SJ5		1	皮毛	KG5
	1	粪便 Faecal	SJ5		1	粪便	KG5
	1	粪便	SJ1	2	1	粪便	KG1
2	1	粪便	SJ6		1	皮毛	KG1
	1	粪便	SJ1	3	1	皮毛	KG1
4	1	粪便	SJ4		1	粪便	KG2
	1	粪便	SJ5	6	1	皮毛	KG5
6	1	皮毛	SJ2		1	粪便	KG1
	1	粪便	SJ5	7	1	肌肉	KG4
8	1	粪便	SJ2		1	粪便	KG2
	1	粪便	SJ3	13	1	皮毛	KG3
9	1	粪便	SJ7		1	粪便	KG4
	1	粪便	SJ7	16	1	粪便	KG5
10	1	皮毛	SJ7		1	皮毛	KG4
	1	粪便	SJ7				
12	1	粪便	SJ5				
	1	粪便	SJ1				
13	1	粪便	SJ5				
	1	粪便	SJ1				

表 5 九龙山自然保护区黑麂片段化种群的 F_{st} 及 Γ_{st} 值Table 5 F_{st} and Γ_{st} values of black muntjac in the Jiulong Mountain Natural Reserve of Suichang

斑块 Patch	1	2	4	6	8	9	10	12	13
1	—	0.36538	0.17742	0.12069	0.51471	0.84483	0.43258	0.00833	0.06250
2	0.37500	—	0.41176	0.23077	0.50000	0.94872	0.44010	0.30556	0.20000
4	-0.22222	0.16667	—	0.11111	0.41176	0.77778	0.27778	0.16667	0.17647
6	-0.37500	-0.25000	-0.60000	—	0.23077	0.80000	0.32292	0.09091	0.06667
8	0.58333	0.33333	0.16667	-0.25000	—	0.94286	0.42204	0.47917	0.42857
9	0.92308	0.94737	0.75000	0.77778	0.94118	—	0.16667	0.84375	0.85366
10	0.39506	0.46512	0.11111	0.20000	0.43902	0.00000	—	0.40230	0.36198
12	-0.40000	0.18182	-0.28571	-0.50000	0.47059	0.89655	0.36066	—	0.02778
13	-0.50000	-0.33333	-0.40000	-0.75000	0.20000	0.84211	0.29268	-0.66667	—

对角线上方为 Γ_{st} , 对角线下方为 F_{st} 值 Above the diagonal: Γ_{st} , Below the diagonal: F_{st} values based on haplotypic frequencies

表 6 古田山自然保护区黑麂片断化种群的 F_{st} 及 Γ_{st} 值Table 6 F_{st} and Γ_{st} values of black muntjac in the Gutian Mountain Natural Reserve of Kaihua

斑块 Patch	1	2	3	6	7	13	16
1	—	1.00000	0.50000	0.37500	0.37500	0.37500	0.37500
2	1.00000	—	0.33333	0.33333	0.79310	0.75000	0.92593
3	0.24895	0.00000	—	0.07692	0.28000	0.37500	0.44000
6	0.00000	0.00000	-0.71566	—	0.28000	0.28571	0.33333
7	-0.00186	0.77037	-0.12362	-0.12401	—	0.26316	0.20000
13	-0.00210	0.71549	0.09193	-0.10985	-0.16569	—	0.23077
16	0.00000	0.92367	0.22240	0.00120	-0.33364	-0.25026	—

对角线上方为 Γ_{st} 值, 对角线下方为 F_{st} 值 Above the diagonal: Γ_{st} , Below the diagonal: F_{st} values based on haplotypic frequencies

表 7 九龙山自然保护区黑麂片断化种群的基因流 (N_m)Table 7 N_m values of black muntjac in the Jiulong Mountain Natural Reserve of Suichang

斑块 Patch	1	2	4	6	8	9	10	12	13
1									
2	0.86844								
4	2.31817	0.71430							
6	3.64285	1.66666	4.00005						
8	0.47142	0.50000	0.71430	1.66666					
9	0.09184	0.02703	0.14286	0.12500	0.03030				
10	0.65586	0.63611	1.29999	1.04837	0.68472	2.49994			
12	59.5240	1.13634	2.49994	4.99995	0.54347	0.09259	0.74285		
13	7.50000	2.00000	2.33334	6.99963	0.66667	0.08571	0.88129	17.4986	
平均 Average					3.64748				

对角线下方为 N_m 值 Below the diagonal: migration rates (N_m)

表 8 古田山自然保护区黑麂片断化种群的基因流 (N_m)Table 8 N_m values of black muntjac in the Gutian Mountain Natural Reserve of Kaihua

斑块 Patch	1	2	3	6	7	13	16
1							
2	0.00000						
3	0.50000	1.00002					
6	0.83333	1.00002	6.00026				
7	0.83333	0.13044	1.28571	1.28571			
13	0.83333	0.16667	0.83333	1.25003	1.39999		
16	0.83333	0.04000	0.63636	1.00002	2.00000	1.66666	
平均 Average				1.12041			

对角线下方为 N_m 值 Below the diagonal: migration rates (N_m)

2.3.3 基因流和片断化斑块间地理隔离距离

种群内空间相距很近的个体较空间相距很远的个体遗传上更加相似, 这就是距离隔离模型。按距离隔离模型的理论, 两者空间距离越大, 其种群的遗传分化也就越大, 而基因流则越小。九龙山自然保护区和古田山自然保护区的黑麂栖息地片断化斑块之间的地理距离和斑块间基因流水平相关性分析见图 3、4。结果显示, 2 个保护区的片断化斑块之间的距离和基因流水平并不成线性关系, 其 P 值分别为 0.117 和 0.804, 均大于 0.05, 可见本研究中片断化斑块间黑麂种群基因流的差异并不符合距离隔离模型, 该差异应该是由栖息地片断化引起的。表 7、8 结果显示同处不同斑块间基因流大小存在离散性较大的现象, 出现该结果的原因可能为小斑块从大斑块中分离出去的时间早晚所引起。

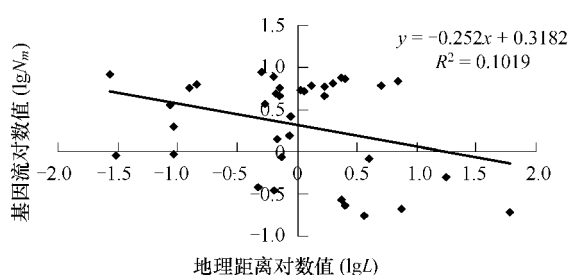


图3 九龙山自然保护区片断化斑块地理隔离距离与基因流的相关性分析

Fig. 3 Correlations between gene flow level and the geographic distance in the Jiulong Mountain Natural Reserve

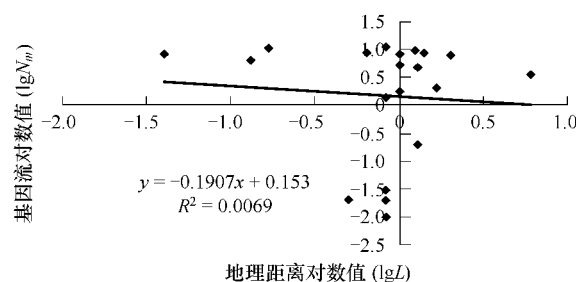


图4 古田山自然保护区片断化斑块地理隔离距离与基因流的相关性分析

Fig. 4 Correlations between gene flow level and the geographic distance in the Gutian Mountain Natural Reserve

3 讨论

目前许多 DNA 标记技术已广泛应用于分子生态学研究多个领域中,在种群的空间遗传结构、基因流研究领域正逐步与现代空间技术(3S)结合起来,开拓了分子生态学与空间生态学相结合的新的研究领域-空间分子生态学^[19]。个体的迁移、配子的运动等遗传物质的空间运动是基因流的重要源泉和载体^[20]。基因流通常被看作是进化的限制力量,但基因流也是进化的创造性力量^[21]。基因流通过引入适应于其它环境的外来基因,去削弱自然选择使种群适应于本地环境的倾向,对于地球上的大多数物种,环境因子空间异质性的存在,以及生物的行为习性,会导致基因流的非随机性,使局域种群间出现不同程度的遗传差异。

推测基因流的方法目前来说主要分为2种:直接方法和间接方法。在实际研究中,由于通常不知道自然种群的系统进化关系,目前推测种群间基因流采用比较多的方法是用遗传结构来估计基因流,即 F_{st} 法。对于种群间遗传变异系数较大时, F_{st} 值通常为正值,可以通过公式得到种群间的基因流 (N_m),进行比较,以确定种群间基因流水平的强弱,但是当各个种群处于同一相近区域时,通过 F_{st} 值无法得到可进行分析的 N_m ,本研究采用了 $Gamma_{st}$ 值代替 F_{st} 值进行 N_m 的估算,得到了较好的结果。

在大块连续的栖息地中,生物种群内的个体通过扩散和迁移活动,开拓新的栖息地,寻找生存所必需的资源,降低亲缘个体间的资源竞争,避免近亲繁殖,降低遗传漂变,增加不同种群间的基因交流,从而扩大物种的分布范围,增加个体和种群存活的机会。栖息地片断化后,适宜生物生活的栖息地斑块周围分布着不适宜的栖息地,种群中的个体受到隔离效应的影响,正常迁移和建群都受到隔离或限制。同时因适宜的栖息地斑块面积不断减少,种群的规模变小,各种随机因素对种群的影响随之增大,近亲繁殖和遗传漂变潜在的可能性增加,基因杂合性相应降低,种群的遗传多样性下降,影响到物种的存活和进化潜力。

栖息地片断化导致适宜栖息地的丧失,在相当程度上降低了栖息地保护物种的生态功能。据估计,在现已确定绝灭原因的64种哺乳动物和53种鸟中,由于栖息地丧失和破碎引起19种和20种绝灭,分别占30%和38%。因栖息地丧失和片断化而受到绝灭威胁的物种比例则更高,在哺乳动物和鸟类中约占48%和49%,在两栖动物中则高达64%^[22]。特别是那些种群数量少、生存环境要求相当严格的濒危和脆弱物种,受栖息地片断化的影响会更加明显。片断化的栖息地对物种的正常散布和移居活动产生直接障碍,从而使物种扩散以及群落的建立受到限制,最终导致物种遗传多样性的丧失。在另一项研究中发现,分属皖浙分布中心和遂昌分布中心的黑麂栖息地已经完全片断化,2个中心之间的黑麂几乎无法进行相互的迁移、扩散和交配,遗传多样性、遗传结构和系统发生的检测也显示,2个分布中心的黑麂种群之间已经发生显著分化,基因流也几乎不存在了。

片断化斑块的划分,本研究采用了GIS技术,数字化了地形图,植被图等,较为准确的划分了2个保护区的黑麂栖息地片断化斑块。片断化程度的计算上综合了多种片断化指数,比较全面真实的反映了2个保护区

的黑麂栖息地片断化程度。从各项片断化指数计算结果来看,九龙山保护区黑麂栖息地片断化程度要明显小于古田山自然保护区,其片断化斑块间的平均 $N_m > 3$,说明片断化种群的基因流十分丰富。而古田山保护区片断化种群的基因流也比九龙山保护区低的多,平均 N_m 仅为 1.12,虽然 N_m 仍大于 1,可以认为其片断化种群还存在着一定的基因流,但是其基因流程度已经比较低,若再不采取有效措施改善黑麂栖息地的片断化程度,将严重阻碍片断化种群间的个体迁移、扩散和基因交流。

本研究的结果显示栖息地片断化确实会对片断化种群间的基因流产生一定的影响。这与国内外很多学者的研究结果相吻合^[23~25]。但是也有学者的研究证实有些时候栖息地片断化并不一定导致种群间的基因多样性和基因流的变小,Peter Galbusera^[26] 等对肯尼亚东南部 Taita Hills 地区的栖息地片断化进行调查,研究了其对一种非洲热带鸟类的遗传平衡的影响,发现片断化种群的基因多样性很高,栖息地片断化对种群间的基因流没有明显的影响;Samuel A. C^[27] 认为短时间的片断化可以增加两栖类的扩散能力,只有长时间的片断化才可能影响其种群连通性和基因流。之所以会产生这种结果,可能与栖息地片断化程度和形成片断化的时间以及片断化种群的大小有关,同时还要考虑物种的迁移、扩散能力、遗传漂变和自然选择的作用。

为了更好的保护黑麂残留种群,增加古田山保护区黑麂片断化种群的基因流,建议在片断化斑块间种植人工林,使小的片断化的斑块连成一个大斑块,减轻保护区内黑麂栖息地的片断化程度;在片断化程度较低或者基因流强度较低的斑块间人为建立廊道,供种群间个体迁移所用;有计划地恢复一些对基因流有重大影响的栖息地;对基因流强度较高的斑块应重点加以保护,逐渐增加黑麂种群的数量,将能有效的保护黑麂种群的遗传多样性。对于无法恢复或者建立廊道的片断化栖息地,可以根据等位基因的差异程度,采用人工引种,人为的增加种群间的基因交流,增大物种的遗传多样性。也可以在残留种群间保留一些作为基因流踏脚石的个体或小种群,在景观水平上形成斑块种群,将能更有效地保护该保护区的黑麂种群。虽然九龙山保护区的片断化程度相对较低,片断化种群的基因流还十分丰富,但是还是应采取一切可能办法对保护区的黑麂栖息地进行恢复。

References:

- [1] Berger J. Persistence of differed-sized populations; an empirical assessment of rapid extinctions in bighorn sheep. *Conservation Biology*, 1990, 4: 91—98.
- [2] Hanski I. *Metapopulation Ecology*. Oxford: Oxford University Press, 1999. 134—159.
- [3] Newmark W D. Extinction of mammal populations in western North American national parks. *Conservation Biology*, 1995, 9: 512—526.
- [4] Rodriguez A, Delibes M. Population fragmentation and extinction in Iberian lynx. *Biological Conservation*, 2003, 109: 321—331.
- [5] Woodroffe R, Ginsberg J R. Edge effects and the extinction of populations inside protected areas. *Science*, 1998, 280: 2126—2128.
- [6] Hu Z A, Wang H X. Advances in moleluar ecology. *Acta Ecology Sinica*, 1998, 18(6): 565—574.
- [7] Schumaker N H. Using landscape indices to predict habitat connectivity. *Ecology*, 1996, 77: 1210—1225.
- [8] He H S, De Z B, Mladenoff D J. An aggregation index(A1) to quantify spatial patterns of landscapes. *Landscape Ecol*, 2000, 15: 591—601.
- [9] Gustafson E J, Parker G R. Using an index of habitat patch proximity for landscape design. *Landscape and Urban Planning*, 1994, 22: 117—130.
- [10] Rodriguez A, Andren H. A comparison of Eurasian red squirrel distribution in different fragmented landscapes. *Journal of Applied Ecology*, 1999, 36: 649—662.
- [11] Bu R C, Wang X J, Xiao D N. Analysis on landscape elements and fragmentation of Yellow River delta. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 1999, 10(3): 321—324.
- [12] Chen K J, Wang X L. Space pattern of wetland landscape of four-lake area in Jiangnan plain based on the impact of human activities. *Resources and Enuironment in the Yangtza Basin*, 2002, 11(3): 219—223.
- [13] Tian G J, Zhang Z X, Zhang G P, et al. Landscape dynamic change pattern of Haikou city by TM imagery and GIS. *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(7): 1028—1034.
- [14] Guo M, Ma M G, Xiao D N, et al. Study on landscape fragmentation of arid region oasis based on remote sensing and GIS — A case study of Jinta oasis. *Journal of Desert Research*, 2004, 24(2): 201—206.
- [15] Ding P, Jiang S R, Zhu G Y. The study on fragmentation of habitat used by elliot's pheasant in western Zhejiang. *Zoological Research*, 2000, 21(1): 65—69.

- [16] O'Neill R V, Riitters K H, Wickham J D, *et al.* Landscape pattern metrics and regional assessment. *Ecosyst Health*, 1999,5(4):225—233.
- [17] Cheng H Y, Bao Y X, Zheng R Q, *et al.* Black muntjac faecal DNA extraction techniques in PCR reaction. *Ecologic Science*, 2006,25(2):158—161.
- [18] Wu H. Conservation genetics of Chinese sika deer(*Cervus nippon*). Ph D. Thesis, Zhejiang university, 2004. 34—35.
- [19] Zhang A B, Tan S J, Chen J, *et al.* Spatial molecular ecology: a new cross-discipline between molecular ecology and spatial ecology. *Acta Ecologica Sinica*, 2002,22(5):752—769.
- [20] Slatkin M. Gene flow and genetic drift in a species subject to frequent local extinction. *Theoretical Population Biology*, 1977,12:253—262.
- [21] Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of nature populations. *Science*, 1987,236:787—792.
- [22] Reid W V, Kenton R M. Keeping options alive: the scientific basis for conserving biodiversity. Washington, DC: World Resources Institute, 1989, 66—92.
- [23] Yang Y H, Zhang D X, Li Y M, *et al.* Mitochondrial DNA diversity and preliminary biogeographic inference of the evolutionary history of the black-spotted pond frog *Rana nigromaculata* populations in China. *Acta Zoologica Sinica*, 2004,50(2):193—201.
- [24] Danny A P, Hooftman R C, Billeter B S, *et al.* Genetic effects of habitat fragmentation on common species of Swiss Fen Meadows. *Conservation Biology*, 2004,18(4):1043—1051.
- [25] Joanna S, Tim J, David P, *et al.* Limited effect of anthropogenic habitat fragmentation on molecular diversity in a rain forest skink, *Gnypetoscincus queenslandiae*. *Molecular Ecology*, 2004,13:259—269.
- [26] Peter G B, Mwangi G T. Genetic equilibrium despite habitat fragmentation in an Afrotropical bird. *Molecular Ecology*, 2004,13:1409—1421.
- [27] Samuel A C. Effects of habitat loss and fragmentation on amphibians: A review and prospectus. *Biological Conservation*, 2006,128:231—240.

参考文献:

- [6] 胡志昂,王洪新. 分子生态学研究进展. *生态学报*, 1998, 18(6):565~574.
- [11] 布仁仓,王宪礼,肖笃宁. 黄河三角洲景观组分判定与景观破碎化分析. *应用生态学报*, 1999,10(3):321~324.
- [12] 陈康娟,王学雷. 人类活动影响下的四湖地区湿地景观格局分析. *长江流域资源与环境*, 2002,11(3):219~223.
- [13] 田光进,张增祥,张国平,等. 基于遥感和 GIS 的海口市景观格局动态演化. *生态学报*, 2002,22(7):1028~1034.
- [14] 郭明,马明国,肖笃宁,等. 基于遥感和 GIS 的干旱区绿洲景观破碎化分析——以金塔绿洲为例. *中国沙漠*, 2004,24(2):201~206.
- [15] 丁平,姜仕仁,诸葛阳. 浙江西部白颈长尾雉栖息地片断化研究. *动物学研究*, 2000,21(1):65~69.
- [16] 程宏毅,鲍毅新,郑荣泉,等. 黑麂粪便 DNA 提取及其 PCR 检测. *生态科学*, 2006. 25(2):158~161.
- [18] 吴华. 梅花鹿保护遗传学研究. 杭州:浙江大学博士论文, 2004. 34~35.
- [19] 张爱兵,谭声江,陈建,等. 空间分子生态学——分子生态学与空间生态学相结合的新领域. *生态学报*, 2002,22(5):752~769.
- [23] 杨玉慧,张德兴,李义明,等. 中国黑斑蛙种群的线粒体 DNA 多样性和生物地理演化过程的初探. *动物学报*, 2004,50(2):193~201.