

中国百种杰出学术期刊
中国精品科技期刊
中国科协优秀期刊
中国科学院优秀科技期刊
新中国 60 年有影响力的期刊
国家期刊奖

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica

(Shengtai Xuebao)

第 30 卷 第 22 期
Vol.30 No.22
2010



中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 30 卷 第 22 期

2010 年 11 月 (半月刊)

目次

高温对水稻叶片蛋白质表达的影响·····	曹云英,段 骅,王志琴,等 (6009)
茶园间作柑桔杨梅或吊瓜对叶蝉及蜘蛛类群数量和空间格局的影响·····	叶火香,崔 林,何迅民,等 (6019)
鼠尾藻生长与生殖的权衡·····	张树宝,唐永政,王志芳,等 (6027)
不同氮素水平下超高产夏玉米冠层的高光谱特征·····	陈国庆,齐文增,李 振,等 (6035)
近 100 年植被破坏侵蚀环境下土壤质量退化过程的定量评价 ·····	郑粉莉,张 锋,王 彬 (6044)
毛乌素沙地南缘沙漠化临界区域土壤养分的空间异质性·····	邱开阳,谢应忠,许冬梅,等 (6052)
CO ₂ 浓度倍增对干旱胁迫下黄瓜幼苗膜脂过氧化及抗氧化系统的影响 ·····	李清明,刘彬彬,艾希珍 (6063)
小兴安岭阔叶红松林粗木质残体空间分布的点格局分析·····	刘妍妍,金光泽 (6072)
光照对鄂东南 2 种落叶阔叶树种幼苗生长、光合特性和生物量分配的影响 ·····	杨 莹,王传华,刘艳红 (6082)
不同耕作和覆盖方式对紫色丘陵区坡耕地水土及养分流失的影响·····	林超文,罗春燕,庞良玉,等 (6091)
黄土残塬沟壑区流域次生植被物种分布的地形响应·····	王盛萍,张志强,张建军,等 (6102)
农村土地经营权流转对区域景观的影响——以北京市昌平区为例·····	刘 同,李 红,孙丹峰,等 (6113)
基于农户响应的北方农牧交错带生态改善策略·····	徐建英,柳文华,常 静,等 (6126)
滨岸不同植物配置模式的根系空间分布特征·····	仲启铖,杜 钦,张 超,等 (6135)
三江平原小叶章湿地剖面土壤微生物活性特征·····	杨桂生,宋长春,宋艳宇,等 (6146)
不同水分处理对湿地松幼苗生长与根部次生代谢物含量的影响·····	李昌晓,魏 虹,吕 茜,等 (6154)
生活污水慢渗生态处理对土壤及杨树生长的影响·····	白保勋,杨海青,樊 巍,等 (6163)
玉米连作及其施肥对土壤微生物群落功能多样性的影响·····	时 鹏,高 强,王淑平,等 (6173)
茶园 4 种半翅目主要害虫与其捕食性天敌的关系·····	周夏芝,毕守东,柯胜兵,等 (6183)
采煤塌陷地不同施肥处理对土壤微生物群落结构的影响·····	李金岚,洪坚平,谢英荷,等 (6193)
典型区域果园表层土壤 5 种重金属累积特征·····	杨世琦,刘国强,张爱平,等 (6201)
工业园区氮代谢——以江苏宜兴经济开发区为例·····	武娟妮,石 磊 (6208)
公路绿化带对路旁土壤重金属污染格局的影响及防护效应——以山西省主要公路为例·····	王 慧,郭晋平,张芸香,等 (6218)
奥运期间北京 PM _{2.5} 、NO _x 、CO 的动态特征及影响因素 ·····	曾 静,廖晓兰,任玉芬,等 (6227)
新疆绿洲农田土壤-棉花系统 9 种矿质元素生物循环特征 ·····	韩春丽,刘 娟,张旺锋,等 (6234)
甘肃省黄土高原旱作玉米水分适宜性评估·····	姚小英,蒲金涌,姚茹莘,等 (6242)
基于粪便 DNA 的马鹿种群数量和性比 ·····	田新民,张明海 (6249)
专论与综述	
水生态功能分区研究中的基本问题·····	唐 涛,蔡庆华 (6255)
土壤水分遥感监测研究进展·····	杨 涛,官辉力,李小娟,等 (6264)
中国北方气候暖干化对粮食作物的影响及应对措施·····	邓振镛,王 强,张 强,等 (6278)
问题讨论	
城市物质流分析框架及其指标体系构建·····	陈 波,杨建新,石 焱,等 (6289)
研究简报	
湖南会同不同退耕还林模式初期碳密度、碳贮量及其空间分布特征 ·····	田大伦,尹刚强,方 晰,等 (6297)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 300 * zh * P * ¥70.00 * 1510 * 32 * 2010-11

基于粪便 DNA 的马鹿种群数量和性比

田新民^{1, 2}, 张明海^{1, 3, *}

(1. 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040; 2. 牡丹江师范学院生物系, 牡丹江 157012;
3. 国家林业局野生动物保护学重点开放性实验室, 哈尔滨 150040)

摘要: 为分析黑龙江省完达山林区马鹿种群生存状态, 制定科学有效地保护措施, 从分子水平研究了种群数量和性比。2006、2007 两年冬季跟踪马鹿足迹链, 于五泡林场共搜集 210 份粪便, 以成功提取 DNA 的 167 份作为分析样本。通过多态性较高的 7 个微卫星位点进行了基因分型分析, 显示 167 份粪便 DNA 分属 66 只个体。基于非损伤性标志重捕法, 统计出林场内马鹿数量 2a 平均 47 (39—60) 只, 密度 0.302 (0.251—0.386) 只/km², 与 2002 年大样方法调查结果相比有减无增。SRY 基因性别鉴定显示, 种群雌雄性比 1.00:2.00 (22 ♀, 44 ♂), 存在较多雄性个体, 分析认为偷猎是导致性比失衡的最主要原因。数量的持续下降和性比失衡提示完达山林区马鹿种群数量的恢复需要更好地保护工作。

关键词: 马鹿; 粪便 DNA; 种群数量; 性比

Population size and sex ratio of wapiti (*Cervus elephus xanthopygus*) as revealed by fecal DNA

TIAN Xinmin^{1, 2}, ZHANG Minghai^{1, 3, *}

1 College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

2 Department of Biology, Mudanjiang Normal College, Mudanjiang 157012, China

3 Key Laboratory of Wildlife Conservation, China State Forestry Administration, Harbin 150040, China

Abstract: The part of Wandashan Mountains, located in Heilongjiang province, was the area that the density of wapiti was very high. In recent years, the amount of wapiti declined extremely because of many reasons, such as human activity and illegal hunting. For taking conservation measures scientifically and efficiently, we probed into population size and sex ratio, and analyzed its living conditions in this region by molecular method. This method is a good way exactly to obtain the population demography and much information of population genetics, and is widely adopted by great many researchers. We collected 210 fecal samples of wapiti in Wupao forestry farm of Wandashan Mountains in two winter seasons, in 2006 and 2007, by tracking fresh foot chains. Finally, we successfully isolated 167 total DNA from them. We used 7 microsatellite loci that published in other's papers, with high polymorphic characters, to identify the genotypes of these fecal DNA by capillary electrophoresis. The identification result showed that these 167 fecal DNA belong to 66 individuals respectively. Using noninvasive capture-mark-recapture method, the population quantity was estimated. The theory of noninvasive capture-mark-recapture method is same as common capture-mark-recapture method that is generally used in ecology. The difference between two methods is that common capture-mark-recapture method needs to capture animal individuals, and the latter don't need to do that. Instead of capturing animal individuals, researchers only need to collect fecal pellets along animal's foot chains. The advantage of common capture-mark-recapture method is that wild animals need not to be killed or injured anymore. Based on noninvasive capture-mark-recapture method and the genotype data from 66 individuals, the average quantity and density of wild wapiti, promenading in the forestry farm, were estimated at 47 individuals (ranged 39

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30870309); 黑龙江省自然科学基金重点项目 (ZJN-0501); 美国老虎和犀牛基金资助项目 (98210-2-G191)

收稿日期: 2009-10-09; **修订日期:** 2010-03-01

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhangminghai2004@126.com

—60) and 0.302 individual per square kilometer (ranged 0.251—0.386). Comparing our result with the consequence that was obtained by large sample-size method in 2002, the population size and density of wapiti in our studying area rise a little bit. Generally, SRY gene located in Y chromosome is used to identify animal sex. So, we used this gene to identify wapiti sex also. Then, combining two results from sex identification and individual identification respectively, we estimate sex ratio of this population at 1.00:2.00 (female 22, male 44). Our result showed that there are too many male individuals in the region. This result is not consistent with the one in 2002. We considered that illegal hunting was the main reason to result in unbalanced sex ratio. Our results show that the wapiti population distributed in the forestry part of Wandashan Mountains declined directly these years. We still think that unbalanced sex ratio could produce a small effective population. In this case, more time would be needed to resume the local wapiti population. And it must be a hard work to get original population level. The wildlife conservation will become more and more important. Simultaneously, it is necessary to establish nature reserve in that region. We realize that wapiti population must be resumed and keep increasing if the conservation measures mentioned above could be taken.

Key Words: wapiti (*Cervus elephus xanthopygus*); fecal DNA; population size; sex ratio

马鹿(*Cervus elephus*)为国家Ⅱ级重点保护的鹿科动物,黑龙江省境内的马鹿为东北亚种(*C. e. xanthopygus*)。过去30a来,黑龙江省曾被认为是马鹿资源比较丰富的地区,广泛分布于大小兴安岭、张广才岭、老爷岭、完达山等林区^[1]。但近两年野外观察发现,除完达山林区外,其它分布区马鹿活动痕迹发现都很困难。受人类活动、偷猎等诸多因素影响,完达山林区马鹿数量近些年也一直在急剧下降^[2]。刘群秀^[3]应用漩涡模型对未来100a种群动态及灭绝概率做出预测,认为完达山林区马鹿种群平均灭绝时间约为55a。

传统数量调查方法对大范围的种群数量估计较适合,容易开展,费用不高,但缺乏准确性。而分子数量调查方法调查结果精确,并能获得很多种群遗传学信息,对此国外已有较多应用实例,如北美小狼(*Canis latrans*)^[4]、灰狼(*Canis lupus*)^[5]、非洲象(*Loxodonta cyclotis*)^[6]、欧洲獾(*Meles meles*)^[7]等物种的研究,国内仅见Zhan等^[8]关于大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)和张于光等^[9]关于雪豹(*Panthera uncia*)的研究。分子数量调查方法主要有两种:渐近线法(Accumulation curve)和非损伤性标志重捕法(CMR, Capture-Mark-Recapture)。渐近线法实际应用中较少,多和CMR法相结合使用^[10]。非损伤性CMR同传统CMR相比,差别在于标志重捕的不是动物个体本身而是动物的非损伤性DNA。

性比是描述种群结构的一个重要参数,性比的变化对种群的增长、密度和动态有明显的影响。随着性别决定的分子生物学机制的深入研究,研究者多应用哺乳动物Y染色体上连锁的特定基因进行PCR扩增,鉴定个体性别。如Amelogenin基因^[11]、ZFY基因^[12]、SRY基因^[13]。因此,本研究拟通过分子水平对完达山林区马鹿种群数量和性比进行分析,揭示种群现状,为合理有效的保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和DNA提取

2006、2007年两次冬季期间,选择完达山东部的迎春林业局五泡林场(46°27′—46°38′N, 127°04′—127°16′E)为取样区,对155.6km²的整个区域进行采集。沿雪地上新鲜足迹链寻找马鹿粪便,发现后取数粒装入封口袋内,GPS定位。再择另一条新鲜足迹链跟踪取样。共收集210份(2006年120份、2007年90份),样品—20℃冷冻保存。

粪便DNA提取使用QIAamp DNA Stool Mini Kit(Qiagen, Germany)试剂盒,按照操作手册进行。通过1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA提取是否成功及基因组DNA的纯度,—20℃保存。

1.2 个体识别

选择马鹿遗传多样性分析中使用的,具较高多态性的7个微卫星位点(T507、CSSM19、T530、T501、C143、T123、T156)^[14],进行马鹿个体识别和种群数量分析。所有微卫星位点单侧引物5′端进行荧光标记(FAM、

HEX、TAMARA)。PCR 扩增和基因型检测过程参见文献^[14]。

基因分型采用 Bellemain 等^[15]依据的标准:粪便 DNA 重复扩增 3 次后,仅出现 1 个等位基因的,认为是纯合位点;总是出现 2 个不同的等位基因时判定为杂合位点。重复扩增 3 次后,若只能判定出 1 个等位基因确实存在时(即每次扩增都能得到这个等位基因,但是另一个等位基因不是每次都出现时),则再增加 1 次扩增之后根据待确定的那个等位基因出现的频次来判定,若待确定的等位基因出现 2 次以上则判定为杂合子;若待确定的等位基因只出现 1 次则判定为纯合子^[16]。

利用软件 Excel Microsatellite Tool kit,寻找数据中相匹配的基因型。判断不同样品来自于同一个个体的原则是:(1)所有位点上的基因型都相同;(2)只有一个位点上的一个等位基因存在差异^[15]。软件 Cervus 3.0 计算 7 个位点的联合 P(ID)值,它是指无亲缘关系或同胞个体之间具有相同基因型的概率。

1.3 种群数量分析

基于非损伤性标志重捕法统计种群数量,根据个体识别的数据,即不同地点的同一个体数据,其中任何一次可记为标志,其它记录可看作该个体的重捕。数量分析使用软件 Capwire 完成。五泡林场四周边界均无明显的物理障碍,不能限制马鹿的迁移,故无法满足标志重捕法的封闭种群的假设。因此,根据软件的要求把两年的取样看作两次抽样期,每次取样的时间较短,可以满足条件的基本假设。在野外采样时,有时特意在同一足迹链上相差不远的地点(5—20m)取两份粪便,来验证实验中个体识别的准确性,因此在数据分析时要去掉这些“假重捕”。

软件有两种模型:ECM(even capture probability model)和 TIRM(two innate rates model)。ECM 模型的基本假设是种群中每个个体的排便率基本一致,对每个个体的抽样强度也基本一致,因此每个个体被捕获的概率是一致的,即种群数量 N 的倒数 $1/N$ 。TIRM 模型的基本假设是种群中个体间被捕获的概率相差很大,在模型拟合时按照捕捉的概率将个体分成捕捉困难(B)和容易捕捉(A)两大类。最后用 10000 的 bootstrap 检验来产生两种模型下 95% 水平上的种群数量 N 的置信区间^[17]。

1.4 性别鉴定和性比

使用 SRY12(F:5'-cttcattgtgtgtctcgtg-3'/R:5'-cgggtattgtctcgggtga-3')、BMC1009(F:5'-gcaccagcagagagacatt-3'/R:5'-accggctattgtccatcttg-3')^[18] 2 对引物进行复合扩增鉴定样品性别, SRY12 扩增 Y 染色体 SRY 区域片段, BMC1009 作为阳性对照扩增常染色体微卫星位点,防止实验失败而错误判别。PCR 扩增体系:Ex Taq HS 0.5U(Takara), dNTP、Buffer 与 BSA(0.02g/mL)各 2 μ L,引物(10mmol/L)各 0.5 μ L, DNA 3 μ L,最后加水至 20 μ L。扩增条件:95℃预变性 10min;95℃变性 30s,61℃退火 45s,72℃延伸 1min,40 个循环;最后 72℃延伸 10min,4℃保存。取 4 μ L 扩增产物进行琼脂糖凝胶电泳检测。

为提高性别鉴定准确性,每个样品均扩增 3 次,至少 2 次出现双带(180bp 的 SRY12 和 300bp 的 BMC1009),判定该样品为雄性;至少出现 2 次 1 条带(300bp 的 BMC1009),判定该样品为雌性;其它情况再次 PCR 判定。

复合扩增存在引物间的竞争和干扰,经常导致扩增产物量低或无结果。为提高性别鉴定准确性,使用 SRY 引物(F:5'-tgaacgcttcattgtgtggtc-3'/R:5'-gccagtagtctctgtgectct-3')^[13] 对所有样品单独扩增。扩增条件:95℃预变性 10min;95℃变性 30s,54.5℃退火 1min,72℃延伸 1min,35 个循环;最后 72℃延伸 10min,4℃保存。每个样品同样扩增 3 次,至少 2 次出现 SRY 带(160bp),则判定该样品为雄性;3 次都没有条带的样品定为雌性。最后比较两套 PCR 体系的结果来判断样品性别。

联合性别鉴定和微卫星个体识别结果计算种群性比。通过软件 SPSS(11.0)中 χ^2 检验统计性比与理论值 1:1 的差异性,用 Mann-Whitney test 检验不同年度间性比的差异性。 $P < 0.05$ 被认为差异显著。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 提取

DNA 提取中发现,很多粪便 DNA 发黄,无法获得扩增产物。为提高样品利用率,对发黄样品再次 DNA

提取。最后,利用 167 份(2006 年的 90 份和 2007 年的 77 份)粪便 DNA 进行了分析。

2.2 个体识别

167 份样品中,7 个位点扩增成功率分别为:T507、CSSM19 和 T530 98.8%;C143 和 T156 98.2%;T123 97.6%;T501 97.0%,扩增成功率很高。其中仅 10 个样品未得到全部基因型,结合已扩增出的基因型、采集地点、性别和粪粒尺度也进行了个体识别。软件 Cervus 分析显示,7 个位点的联合区分率很高,即使出现双胞胎的情况,判断错误的概率 P_{sub} 也只有 0.19%^[14]。个体识别结果:2006 年 90 份样品为 39 个独特基因型(个体),2007 年 77 份样品为 36 个独特基因型,两年 167 份样品分属 66 只个体。

2.3 种群数量

排除“假重捕”样品后,66 只个体实质上来自 148 个样品。其中 45 只个体采集到 1 次,其他个体被采集的次数从 2 次到 7 次不等,平均每只个体被捕捉到 2.24 次。其中 2006 年平均捕捉到 2.13 次,2007 年 1.81 次。运行 Capwire 软件中 ECM 模块,统计出马鹿种群数量 2006 年为 46 (95% 置信范围:39—54) 只,2007 年为 48 (39—60) 只;TIRM 模块结果:2006 年 67 (47—87) 只,2007 年 73 (43—90) 只。这里认为个体被捕捉的概率相同,以 ECM 模块的结果为依据,因此取样区内 (155.6 km²) 种群数量 2a 平均 47 (39—60) 只,密度 0.302 (0.251—0.386) 只/km²。

2.4 种群性比

联合性别鉴定和个体识别结果,发现 2006 年 39 只个体中,雌雄性比 1.00:2.55 (11 ♀, 28 ♂) ($\chi^2 = 7.410$, $P = 0.006$),偏离理论值 1:1;2007 年 36 只个体中,雌雄性比 1.00:1.40 (15 ♀, 21 ♂) ($\chi^2 = 1.000$, $P = 0.317$),没有偏离理论值 1:1。两年结果差异不显著 (Mann-Whitney test, $P = 0.159$)。在两年 66 只个体中,平均雌雄性比为 1.00:2.00 (22 ♀:44 ♂) ($\chi^2 = 7.333$, $P = 0.007$),偏离理论值 1:1。种群中雄性个体较多,与前人研究结果存在明显差异^[19-20]。

3 讨论

非损伤性标志重捕法继承了传统标志重捕法的理论,同时整合了非损伤性取样的优势。不足是扩增中经常出现等位基因丢失和假等位基因现象,导致种群数量高估,通常采用重复扩增的方法避免出现错误基因型^[21]。分析指出 7 个位点的假等位基因出现率平均 0.023,与 Valière 等^[22] 马鹿研究中 8 次重复扩增得到的结果 0.02 接近;分析中等位基因丢失率平均 0.034,低于 Valière 等^[22] 研究中的 0.19,可能与本实验对纯合体重复次数不够有关。

分析中出现较低的基因型错误率,可能与野外雪地上样品较新鲜、扩增中特异高效的热启动 DNA 聚合酶和 BSA 的使用有关。Hedmark 等^[23] 对 21 份粪便 DNA 分析中,重复扩增 3 次得到所有正确基因型,并与组织样品的等位基因丢失率相同,他认为这样好的结果与上述 3 种因素有关。本实验中有 6 个位点的重复单元为 4 个碱基,避免了两个等位基因十分接近时,严重的滑动导致等位基因判读错误的出现。

完达山林区最近两次(1989、2002 年)使用传统方法调查结果显示,1989—2002 年的 13a 内马鹿数量年平均递减率 13.48%^[24]。本次分子数量调查结果显示,五泡林场内马鹿密度 0.302 (0.251—0.386) 只/km²,与 2002 年大样方法调查的结果 0.262 只/km² 接近^[24]。考虑:(1)微卫星基因分型不能完全正确;(2)采集的部分样品可能来自取样区以外的个体,这两种情况都会使数量统计值大于种群实际数量。因此,认为 2002—2006 年间取样区内的马鹿数量有减无增。

取样区内两年平均雌雄性比 1.00:2.00 (22 ♀:44 ♂),种群中雄性个体较多,与张明海和靳玉文^[19] 研究的种群中雌性较多的结果不符。马鹿为一雄多雌制物种,一般种群中应有较多雌性个体^[19-20]。Okarma^[20] 表示,被狼捕杀的马鹿个体中多数为幼鹿(44%)和雌鹿(44%),天敌的捕杀可使种群中雄性比例增多。但完达山林区马鹿天敌如东北虎、狼等物种数量很少,很难威胁到马鹿的种群平衡,当地居民也表示天敌捕杀马鹿的情况很少发现。种群数量分析指出,取样中没有获得整个取样区内所有个体的粪便,因此抽样误差可能是种群性比失衡的一个原因。刘群秀等^[25] 表示,在完达山林区马鹿死亡的最大原因是偷猎。偷猎以下药

(33.1%)、下套(34.0%)和枪打(22.9%)3种方式为主。下套捕杀中,雄性个体具长而强壮的角,被捕几率不大,被捕的个体经常是没有角的雌性个体。据当地猎人介绍,枪捕中捕到雌性马鹿几率更大,这可能与马鹿的机警性有关。因此,认为偷猎是导致马鹿种群性比失衡的最主要原因。

大量的野外观察和研究显示,完达山林区马鹿种群数量持续下降,同时性比失衡表明有效种群大小可能很低,提示种群的恢复需要更加艰巨的保护工作。因此,应加大完达山林区马鹿的保护力度,并建立自然保护区,使种群数量得以恢复和增长。

References:

- [1] Chen H P, Wu J P, Zhang M H. Red Deer of Heilongjiang Province. Harbin: Northeast Forestry University Press, 1997: 1-12.
- [2] Zhang M H, Liu Q X. Estimation of winter carrying capacity of wapiti in the Eastern Wandashan Mountains, Heilongjiang Province, China. *Acta Theriologica Sinica*, 2008, 28(1): 56-64.
- [3] Liu Q X. Population Viability Analysis of Red Deer in Wandashan Forestry Area. Harbin: Northeast Forestry University, 2006.
- [4] Kohn M H, York E C, Kamradt D A, Haught G, Sauvajot R M, Wayne R K. Estimating population size by genotyping faeces. *Proceedings Biological Sciences*, 1999, 266: 657-663.
- [5] Creel S, Spong G, Sands J L, Rotella J, Joe L, Murphy K M, Smith D. Population size estimation in Yellowstone wolves with error-prone noninvasive microsatellite genotypes. *Molecular Ecology*, 2003, 12(7): 2003-2009.
- [6] Eggert L S, Eggert J A, Woodruff D S. Estimating population sizes for elusive animals: the forest elephants of Kakum National Park, Ghana. *Molecular Ecology*, 2003, 12: 1389-1402.
- [7] Wilson G J, Frantz A C, Pope L C, Roper T J, Burke T A, Cheeseman C L, Delahay R J. Estimation of badger abundance using faecal DNA typing. *Journal of Applied Ecology*, 2003, 40: 658-666.
- [8] Zhan X J, Li M, Zhang Z J, Goossens B, Chen Y P, Wang H J, Bruford M W, Wei F W. Molecular censusing doubles giant panda population estimate in a key nature reserve. *Current Biology*, 2006, 16(12): 1-2.
- [9] Zhang Y G, Janecka J E, Li D Q, Duo H R, Jackson R, Murphy W J. Population survey and genetic diversity of snow leopards *Panthera uncia* as revealed by fecal DNA. *Acta Zoologica Sinica*, 2008, 54(5): 762-766.
- [10] Zhan X J. Using Noninvasive Genetic Sampling to Estimate the Population Size and Study Dispersal of Giant Pandas. Beijing: Graduate University of Chinese Academy of Sciences (Institute of Zoology), 2006.
- [11] Pfiffer I, Branig B. X and Y chromosome specific variants of the amelogenin gene allow sex determination in sheep(*Ovis aries*) and European red deer(*Cervus elaphus*). *Biomedicine Central Genetics*, 2005, 6(16): 1-4.
- [12] Gong R C. Technique in molecular biology of sex identification and selective way for ZFY. *Journal of Southwest Nationalities College (Natural Science Edition)*, 1997, 23(1): 85-89.
- [13] Zhang X H, Wu D J. Study on sex-identification of ruminant using SRY gene and microsatellite markers. *Hereditas*, 2006, 28(2): 133-139.
- [14] Tian X M, Zhang M H, Zhang H, Yang C W, Jin Z M. Genetic diversity of wapiti population based on microsatellite in eastern Wandashan Mountains, Heilongjiang Province, China. *Chinese Journal of Ecology*, 2010, 29(3): 543-548.
- [15] Bellemain E, Swenson J E, Tallmon D. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears. *Conservation Biology*, 2005, 19: 150-161.
- [16] Yan L, Huang Y, Zhang B W, Zhang S N, Zhang H M, Wei F W, Wang P Y, Li M. Status and prognosis of genetic diversity in captive giant pandas(*Ailuropoda melanoleuca*) in Wolong. *Acta Theriologica Sinica*, 2006, 26(4): 317-324.
- [17] Miller C R, Joyce P, Waits L P. A new method for estimating the size of small populations from genetic mark-recapture data. *Molecular Ecology*, 2005, 14(7): 1991-2005.
- [18] Huber S, Bruns U, Arnold W. Sex determination of red deer using polymerase chain reaction of DNA from feces. *Wildlife Society Bulletin*, 2002, 30(1): 208-212.
- [19] Zhang M H, Jin Y W. Structure and dynamics of red deer population//Zhang J ed. *Studies on Mammal Biology in China*. Beijing: China Forestry Publishing House, 1995.
- [20] Okarma H. Marrow fat content, sex and age of red deer killed by wolves in winter in the Carpathian mountains. *Holarctic Ecology*, 1991, 14(3): 169-172.
- [21] Taberlet P, Griffon S, Goossens B, Questiau S, Manceau V, Escaravage N, Waits L P, Bouvet J. Reliable genotyping of samples with very low DNA quantities using PCR. *Nucleic Acids Research*, 1996, 24: 189-194.

- [22] Vali re N, Bonenfant C, Toïgo C, Luikart G, Gaillard J M, Klein F. Importance of a pilot study for noninvasive genetic sampling: genotyping errors and population size estimation in red deer. *Conservation Genetics*, 2007, 8: 69-78.
- [23] Hedmark E, Flagstad , Segerstr m P, Persson J, Landa A, Ellegren H. DNA-based individual and sex identification from wolverine (*Gulo gulo*) faeces and urine. *Conservation Genetics*, 2004, 5: 405-410.
- [24] Zhang C Z. Studies on Current Status of Amur Tiger's Prey Population Resources and Habitat Use of Amur Tiger in Wanda Mountains of Heilongjing Province. Harbin: Northeast Forestry University, 2006.
- [25] Liu Q X, Ma J Z, Xie X C, Zhang M H. Impacts of poaching on wapiti population in Eastern Wanda Mountain, Heilongjiang. *Chinese Journal of Wildlife*, 2007, 28(2): 7-10.

参考文献:

- [1] 陈化鹏, 吴建平, 张明海. 黑龙江省马鹿. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 1997: 1-12.
- [2] 张明海, 刘群秀. 黑龙江省完达山东部林区马鹿冬季环境容纳量估算. *兽类学报*, 2008, 28(1): 56-64.
- [3] 刘群秀. 黑龙江省完达山林区马鹿种群生存力分析(硕士学位论文). 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.
- [9] 张于光, Janecka J E, 李迪强, 朵海瑞, Jackson R, Murphy W J. 基于粪便 DNA 的雪豹种群调查和遗传多样性. *动物学报*, 2008, 54(5): 762-766.
- [10] 詹祥江. 利用非损伤性遗传取样研究大熊猫的种群数量和扩散模式(博士学位论文). 北京: 中国科学院研究生院(中国科学院动物研究所), 2006.
- [12] 龚荣慈. 性别鉴定的分子生物学技术与 ZFY 途径. *西南民族学院学报(自然科学版)*, 1997, 23(1): 85-89.
- [13] 张秀华, 吴登俊. 利用 SRY 基因和微卫星标记鉴定反刍动物性别. *遗传*, 2006, 28(2): 133-139.
- [14] 田新民, 张明海, 张辉, 杨春文, 金志民. 黑龙江省完达山东部林区马鹿种群遗传多样性的微卫星分析. *生态学杂志*, 2010, 29(3): 543-548.
- [16] 艳丽, 黄炎, 张保卫, 张陕宁, 张和民, 魏辅文, 王鹏彦, 李明. 卧龙圈养大熊猫遗传多样性现状及预测. *兽类学报*, 2006, 26(4): 317-324.
- [19] 张明海, 靳玉文. 马鹿种群结构及其动态趋势的研究//张洁主编, 中国兽类生物学研究. 北京: 中国林业出版社, 1995.
- [24] 张常智. 黑龙江省完达山地区东北虎猎物种群现状及东北虎生境利用研究(硕士学位论文). 哈尔滨: 东北林业大学, 2006.
- [25] 刘群秀, 马建章, 谢绪昌, 张明海. 黑龙江完达山东部林区偷猎对野生马鹿种群的影响. *野生动物*, 2007, 28(2): 7-10.

2008 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2009 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	8956	1	生态学报	1.669
2	应用生态学报	7979	2	植物生态学报	1.656
3	植物生态学报	3742	3	应用生态学报	1.632
4	西北植物学报	3584	4	生物多样性	1.474
5	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3460	5	生态学杂志	1.276
6	植物生理学通讯	3187	6	植物学通报	1.058
7	生态学杂志	3148	7	西北植物学报	1.046
8	遗传学报	2142	8	植物生理与分子生物学 学报	1.034
9	植物生理与分子生物学学报	1855	9	遗传学报	0.887
10	昆虫学报	1580	10	遗传	0.835

★《生态学报》2008 年在核心版的 1868 种科技期刊排序中总被引频次 8956 次,全国排名第 2;影响因子 1.669,全国排名第 14;第 1~8 届连续 8 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任: 孔红梅

执行编辑: 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 30 卷 第 22 期 (2010 年 11 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 30 No. 22 2010

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元