

褐马鸡圈养种群的 mtDNA 控制区多态性

武玉珍¹, 王孟本², 张 峰^{3,*}

(1. 晋中学院生物科学与技术学院, 山西 晋中 030600; 2. 山西大学黄土高原研究所, 山西 太原 030006;
3. 山西大学生命科学学院, 山西 太原 030006)

摘要:褐马鸡(*Crossoptilon mantchuricum*)是我国特有的濒危鸟类, 国家一级保护动物。为了保护褐马鸡的种质资源, 从分子水平上评价褐马鸡的遗传多样性, 对山西省庞泉沟自然保护区、太原市动物园的褐马鸡种群 20 个个体, 线粒体 DNA D-loop 区全序列进行了克隆和测定, 使用 Clustal X、DnaSP4.0、Mega3.1 等生物信息学软件, 对全部 20 条序列开展了比对分析, 确定了多态位点与单倍型数目, 计算了核苷酸多样性和单倍型多样性; 比较了两个种群的遗传变异, 初步探讨了褐马鸡种群的遗传多样性和遗传结构。结果表明: 20 条褐马鸡线粒体 DNA D-loop 区全序列长度在 1236–1237bp 之间, 其中 A、T、C 和 G 4 种核苷酸的平均含量分别为 31.0%、26.8%、27.5% 和 14.8%, A+T 含量(57.8%)高于 G+C 含量(42.3%)。排除 1 处核苷酸的插入或缺失后, 共检测出 26 个突变位点, 占分析序列总长度的 2.1%, 其中包括 25 处单一多态位点和 1 处简约信息位点。20 个个体检测出 13 个单倍型, 其中 11 个个体具有独特的单倍型, 2 个共享单倍型。褐马鸡两个种群的单倍型多样性(h)为 0.911–0.933, 核苷酸多样性(π)为 0.002–0.003, 单倍型间的遗传距离为 0.003–0.002。根据单倍型构建了褐马鸡两个种群的 NJ 分子系统树。聚类表明, 2 个种群的个体并没有按相应的地理位置进行聚类。揭示褐马鸡具有较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性, 种群的遗传变异较低; 两个种群单倍型间的遗传距离较近, 遗传多样性参数接近, 统计分析无显著差异, 两个种群尚未表现出明显的遗传分化, 且两个种群间有基因流存在。

关键词:褐马鸡; mtDNA 控制区; 遗传多样性; 保护

D-loop sequence variation of mitochondrial DNA in Captive Brown-eared Pheasant (*Crossoptilon mantchuricum*)

WU Yuzhen¹, WANG Mengben², ZHANG Feng^{3,*}

1 School of Biology Science and Technology, Jinzhong University, Jingzhong 030600, China

2 Institute of Loess Plateau, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

3 School of Life Science, Shanxi University, Taiyuan 030006, China

Abstract: Brown-eared Pheasant (*Corosoptilon mantchuricum*) is a critically endangered endemic species, listed in the national first-class protected bird in China. Since its population size is believed to be declining because of ongoing habitat loss, hunting and other human activity disturbance. For geographical barrier (Yellow River) and natural vegetation destruction (Vegetation of Taihang Mountain), Brown-eared Pheasant has formed three isolating populations in its distribution area including western Shanxi, north-western Hebei, western Beijing and central Shaanxi. Moreover, gene flows through these populations was obstructed. In order to protect the genetic resources of Brown-eared Pheasant and evaluate its genetic diversity at the molecular level, the complete mitochondrial DNA D-loop sequences of 20 Brown-eared Pheasants from Pangquangou Natural Reserve and Taiyuan Zoo were cloned and sequenced, respectively. These sequences were aligned to determine the polymorphic loci and the number of haplotypes by Clustal X, DnaSP4.0 and Mega3.1. In addition, the nucleotide diversity (π) and haplotype diversity (h) were calculated by the softwares above. The genetic variation of Brown-eared Pheasant between Pangquangou Natural Reserve and Taiyuan Zoo in Shanxi was analyzed, and the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30570284); 山西省自然科学基金资助项目(2006011077), 山西省高校科技开发资助项目(No: 20091037)

收稿日期: 2009-10-28; 修订日期: 2010-03-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: fzhang@sxu.edu.cn

genetic diversity and genetic structure of the populations of Brown-eared Pheasant were investigated. The results showed that the lengths of mitochondrial DNA complete D-loop sequences of the Brown-eared Pheasant were between 1236 – 1237bp, the average base contents of A, T, G and C were 31.0%, 26.8%, 27.5% and 14.8%, respectively, and the average content of A + T (57.8%) was higher than G + C (42.3%). There were 26 transitions or transversions (1 insertion or deletion site was excluded) including 25 single nucleotide mutation sites and 1 parsimony informative site. According to the variations among the sequences, 13 haplotypes were identified with 1 – 7 variation loci. 11 of them occurred in a single individual and 2 were shared haplotypes. The haplotype diversity (h), nucleotide diversity (π) and genetic distances estimated from mtDNA D-loop region within each population of Brown-eared Pheasant from Taiyuan Zoo and Pangquangou Natural Reserve in Shanxi varied from 0.911 – 0.933, 0.002 – 0.003, and 0.002 – 0.003, respectively. The Neighbor-Joining molecular phylogenetic tree of mtDNA D-loop in the 2 captive Brown-eared Pheasant groups in Shanxi was constructed according to the 13 haplotypes. The NJ tree showed that the phylogenetic relationship of the Brown-eared Pheasant individuals was not correlative to their geographical locations. The differences between the two populations on the two genetic diversity parameters were not statistically significant, which meant that there were no significant genetic differences occurred in the two populations, and there were gene flows between the two populations. These results strongly proved that the population of captive Brown-eared Pheasant is in poor genetic diversity status.

Key Words: *Crossoptilon mantchuricum*; mitochondrial DNA D-loop; genetic diversity; conservation

褐马鸡(*Crossoptilon mantchuricum*)属于鸡形目雉科马鸡属,至今未发现有亚种分化,为我国特有的珍稀濒危鸟类,国家一级保护动物。目前,其分布区被分隔形成了3个地理种群,即山西吕梁山的中部种群、河北与北京地区的东部种群、陕西黄龙山的西部种群^[1-3]。对褐马鸡的研究主要集中在形态学、繁殖生物学、生态学、保护生物学、生理生化指标等^[4]方面,有关其种群遗传结构和遗传多样性的研究报道甚少。虽然近20多年来褐马鸡的分布区域和数量有了显著的增加,但由于对褐马鸡的遗传背景缺乏了解,难以从根本上解决它的濒危问题。为了成功的保护物种,除了要保护栖息地外,更重要的是保护其遗传多样性。因为遗传多样性贫乏的物种,其适应外界环境的能力弱,遗传的进化潜力小。因此,开展褐马鸡保护遗传学的研究,对褐马鸡的人工繁殖和保护管理有重要的科学意义。鸟类线粒体DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)是唯一独立于细胞核基因组而存在于细胞质中的DNA分子,具有其独有的特征,如母系遗传、多拷贝、多态性高等。以mtDNA来研究鸟类的起源分化、种内及种间的系统发生关系、群体的遗传结构及分类等,对鸟类的系统重建起到了重要作用^[5]。由于mtDNA控制区的独特特性,常用于野生动物群体遗传多样性检测、种群遗传结构分析、亚种与种群分化等方面的研究,并且可以提供这些濒危野生动物的遗传背景信息^[6-12]。本研究利用mtDNA为分子标记,对褐马鸡圈养种群的遗传多样性和遗传结构进行分析,旨在了解其遗传背景,为褐马鸡的繁殖、野外放归计划和保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

本实验所使用的样品为:庞泉沟自然保护区肌肉样品3个、血液样品7个,均由庞泉沟自然保护区繁育场提供,都采自当年捡拾野生鸟卵孵化的个体,肌肉样品取自死亡雏鸟,这类样品可代表野生种群。太原市动物园血液样品10个,取自一夫一妻分笼饲养的种鸡。

1.2 方法

1.2.1 褐马鸡样品DNA的提取

褐马鸡样品DNA的提取,线粒体DNA D-loop扩增引物为雉类mtDNA调控区通用引物,分别为PHDL: 5'-AGG ACT ACG GCT TGA AAA GC-3', PHDH: 5'-CAT CTT GGC ATC TTC AGT GCC-3', D-loop序列的分子克隆与检测采用文献^[13]的方法进行。经鉴定阳性克隆菌液,委托大连宝生物工程有限公司测序。

1.2.2 数据分析

将上述 D-loop 序列在 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 进行 BLAST 同源性比较。应用 Clustal X 软件进行 DNA 序列比对,并辅以人工校对。用 DnaSP 软件 (Version 4.0) 计算各种群的核苷酸多样性(π)、单倍型多样性(h)、计算种群间基因流值(Nm)。用分子进化遗传分析软件—MEGA3.1 确定多态位点、核苷酸总变异位点、简约信息位点以及点突变位点的统计;计算 Kumra 双参数距离等。应用 Mega3.1 的邻接法构建序列的系统发生树。

2 研究结果

2.1 序列变异

在 20 只褐马鸡的控制区序列(1236—1237bp)中共检测到 26 个变异位点,全部位点为两碱基间突变,多态位点变异类型中转换占绝对优势,变异位点数从 1—7 不等(表 1)。26 个变异位点共定义了 13 种单倍型。排除 1 处核苷酸的插入或缺失后,共检测到 26 处转换和颠换位点,占分析序列总长度的 2.1%,其中包括 25 处单一多态位点和 1 处简约信息位点。13 个单倍型中,庞泉沟保护区种群有 7 个单倍型,太原市动物园种群有 8 个单倍型,这两个种群间有 2 个共同单倍型(表 2)。单倍型之间的序列差异在 0.001 和 0.006 之间(不计插入和缺失),平均为 0.004。

表 1 单倍型与多态性位点
table 1 Haplotype and polymorphic sites

单倍型 Haplotype	变异位点 Variation sites																									
	191	195	272	279	281	337	394	437	455	518	519	529	560	670	784	886	904	992	1030	1059	1096	1111	1115	1129	1144	1164
pqg 14	T	A	C	T	C	C	C	T	G	C	G	T	G	A	T	T	T	A	T	A	T	A	A	C	T	A
pqg 1	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
pqg 3	G	T	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
pqg 16	.	.	T	.	.	T	.	.	T	.	.	C	.	.	.	.	.	G	.	G	.	.	G	.	.	.
dwy 0	.	.	T	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	G	.	.	.	G
pqg 4	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	T	.	.
pqg 5	.	.	T	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
pqg 17	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
pqg 18	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dwy 10	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dwy 2	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dwy 9	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dwy 3	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	C	C	.	.	.	.	.	.	.	.	.
pqg 6	.	.	T	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.	.
dwy 14	.	.	.	.	.	.	.	.	.	A	A	.	A	.	.	.	.	.	.	.	A	.	.	.	C	.

注:pqg14 为对照序列,与对照序列位点相同的碱基标为“.”

表 2 单倍型数量及分布

Table 2 Number and distribution of all the haplotypes in the populations from Pangquangou Natrue Reserve and Taiyuan Zoo, respectively

种群 Population	单倍型 Haplotype	数量 Number	备注 Remarks
庞泉沟 Pangquangou Nature Reserve	pqg14, pqg5, pqg16pqg4, pqg3, pqg1, pqg6.	7	pqg6 与 pqg17、pqg18 共享 1 个单倍型, pqg14 与 pqg15 共享 1 个单倍型
动物园 Taiyuan Zoo	dwy14, dwy1, dwy16, dwy2, dwy9, dwy10, dwy3, dwy0	8	dwy7 与 dwy1、dwy4 共享 1 个单倍型
整体 Total	pqg14 (dwy1), pqg5, pqg16, pqg4, pqg3, pqg1, dwy2 (pqg6), dwy14, dwy16, dwy9, dwy10, dwy3, dwy0	13	pqg14、pqg15 与 dwy7、dwy1、dwy4 共享 1 个单倍型; pqg6、pqg17、pqg18 与 dwy2 共享 1 个单倍型

控制区序列中,碱基组成 T、C、A、G 的平均含量分别为 26.8%、14.8%、31.0%、27.5%,其中 A + T 含量

(57.8%) 高于 G + C 含量(42.3%),表现出显著的碱基组成偏向性。控制区序列中碱基的变异位点主要在 Domain I 和在 Domain III,其中有与重链复制终止相关的重复序列(TAS)。D-loop 序列的中间区段(Domain II)是非常保守的,与其它鸟类 D-loop 序列一样,在褐马鸡的 mtDNA 调控区 Domain II 中含有鸟类 mtDNA 保守区域 D box、CSBI 和 Bird similarity box 序列。

2.2 遗传多样性

种群遗传多样性参数统计表明(表 3):褐马鸡单倍型多样性(h)平均值为 0.916(变化范围为 0.911—0.933);核苷酸多样性平均值(π)为 0.002(变化范围为 0.002—0.003);其中,庞泉沟保护区的单倍型多样性为 0.911,核苷酸多样性为 0.002,平均遗传距离为 0.002;太原动物园褐马鸡种群的单倍型多样性为 0.933,核苷酸多样性为 0.003,平均遗传距离为 0.003。群体间核苷酸分歧度(D_{xy})为 0.2%。这两个种群在单倍型多样性和核苷酸多样性两个参数上的差异未达到统计学显著水平($P>0.05$)。

表 3 两个种群单倍型数、单倍型多态性及核苷酸多态性

Table 3 Haplotype diversity, number of haplotypes, nucleotide diversity and genetic distance in the *Crossoptilon mantchuricum* populations from Pangquangou Natrue Reserve and Taiyuan Zoo, respectively

种群 Population	个体数 No. of individuals	序列多态位点数 Loci of polymorphsim of sequences	单倍型数 No. of haplotype	单倍型多样性 Haplotype diversity/h	核苷酸差异均数 Average value of Nucleotide of variation	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (π)	遗传距离 Genetic distance
庞泉沟 Pangquangou Nature Reserve	10	8	7	0.911	1.956	0.002	0.002
动物园 Taiyuan Zoo	10	19	8	0.933	4.067	0.003	0.003
整体 Total	20	26	13	0.916	3.005	0.002	0.002

2.3 遗传距离

不同单倍型间的 Kimura 双参数遗传距离见表 4。结果表明:13 个单倍型间遗传距离的范围为 0.001—0.009。太原市动物园种群内个体间的遗传距离平均为 0.003,而庞泉沟保护区种群内个体之间的遗传距离为 0.002,群体间 20 个褐马鸡个体的平均遗传距离为 0.002。群体间和群体内的遗传距离处于同一水平。

表 4 13 个单倍型之间的 Kimura 双参数遗传距离

Table 4 Kimura 2-parameter genetic distances between the 13 haplotypes

pqg15	pqg16	pqg1	dwy9	dwy10	pqg4	dwy3	dwy14	dwy16	dwy0	pqg3	pqg5	pqg18
pqg16	0.001											
pqg1	0.001	0.002										
dwy9	0.001	0.002	0.002									
dwy10	0.001	0.002	0.002	0.002								
pqg4	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002							
dwy3	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003						
dwy14	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006					
dwy16	0.005	0.006	0.006	0.006	0.006	0.007	0.007	0.009				
dwy0	0.004	0.005	0.005	0.005	0.005	0.006	0.006	0.008	0.007			
pqg3	0.002	0.003	0.003	0.003	0.003	0.004	0.004	0.007	0.006	0.005		
pqg5	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.003	0.003	0.006	0.005	0.004	0.002	
pqg18	0.001	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.002	0.005	0.004	0.003	0.002	0.001

利用 DnaSP4.0 软件计算褐马鸡种间基因流,得出褐马鸡两个种群间的基因流数值 $Nm = 4.67$,说明太原市动物园种群和庞泉沟自然保护区种群内个体间的遗传距离较近,两个种群存在一定程度的基因交流。

2.4 系统发育树的构建

太原市动物园褐马鸡种群与庞泉沟保护区褐马鸡种群 13 个单倍型各序列的邻接数显示(图 1),种群的个体之间相互混杂,并没有分别聚为两个支系,而是互相交叉存在于对方聚类簇内,但 dwy10 基于邻接数的底部,且与 dwy14、pqg4、dwy3、pqg1、dwy9、pqg16、pqg15 的个体关系较近,组成一个单系,而 dwy16、pqg3、pqg18、dwy0、pqg5 的个体关系较近,组成另一个单系。显示出不同种群间没有明显的遗传分化,说明种群间有基因交流。

3 分析与讨论

3.1 线粒体 DNA 的母性遗传分析

线粒体 DNA 是一种细胞质遗传物质,结构简单、稳定、母系遗传方式,仅通过卵子的细胞质传到下一代,在世代传递过程中没有重组,不受外来雄性个体杂交改良的影响,这种遗传方式便于进行群体遗传分析。一般认为在研究亲缘关系较近类群的进化关系时,线粒体 DNA 得到的进化谱系比常染色体分析得到的进化谱系更接近于真实物种^[14]。因此,线粒体 DNA 作为一个可靠的母性遗传标记,它的有效种群数量是核基因标记有效种群数量的四分之一,取样时需要相对较少的样本数量来代表一个种群^[15],只需少量个体样本就可以反映一个群体的遗传结构。本试验两个种群各取了 10 个样本,以线粒体 DNA 为分子标记研究种群的遗传多样性,这个样品数量基本可以反映出每一个群体的遗传背景。

3.2 遗传多样性现状分析

近年来,科研工作者利用 mtDNA 分子标记技术对濒危鸟类进行了大量的遗传多样性研究。Vallianatos M 等^[16]用线粒体 DNA 控制区标记对美洲中部和东北部的赤尾伯劳(*Lanius cristatus*)的保护遗传学进行了研究,27 个种群的 206 个个体中,定义了 23 个单倍型,267 bp 长的线粒体 DNA 控制区序列中有 17 个变异位点,总的单倍型多样性(h)为:0.8483 ± 0.0107,核苷酸多样性(π)为:0.008980 ± 0.005424。Jiang PP 等^[17]用线粒体 DNA 控制区标记对濒危鸟类白颈长尾雉(*Syrnaticus reevesii*)的遗传多样性进行了研究,检测得出圈养白颈长尾雉线粒体控制区核苷酸多样性(π)平均值为 0.00150,单倍型多样性为 0.584,36 个个体只有 3 个单倍型,圈养种群的遗传多样性很低。Randi 等^[18]在研究灰腹角雉(*Tragopan blythii*)的系统进化中得出线粒体控制区的核苷酸多样性平均值为:0.04%—0.28%。而 Zhang B 等^[19],在研究朱鹮(*Nipponia nippon*)的线粒体控制区时,从 36 只个体仅发现 2 个单倍型。张永德等^[20]利用通用引物对朱鹮线粒体 DNA 控制区序列进行扩增,发现 42 个个体共有 5 种单倍型,共检测到朱鹮线粒体 DNA 控制区序列多态位点 3 个。Huang Z H 等^[21]运用线粒体 DNA 分子标记,研究了 84 个中国鹧鸪(*Francolinus pintadeanus*)的遗传多样性,结果表明:491bp 的线粒体 DNA 控制区序列中,有 24 个变异位点,定义了 25 个单倍型,总的单倍型多样性为 0.79,核苷酸多样性为 0.0042。本研究的结果与前人的研究结果非常相似,表明:这些濒危鸟类的遗传多样性较为贫乏。

庞泉沟自然保护区每年都要用野生的褐马鸡卵进行人工孵化,所以本次所取样品可以反映出庞泉沟自然保护区野生群体的遗传多样性状况。由于褐马鸡固有的生物学特性(属于留鸟),飞翔能力差,个体的繁殖局限在有限的地理区域内;加之,多年来栖息地受到较大破坏,森林岛屿化现象明显,使褐马鸡种群间的基因交流受阻,造成了种群内近亲交配的概率增加,从而引起种群的遗传衰退,导致了褐马鸡遗传多样性的流失和种

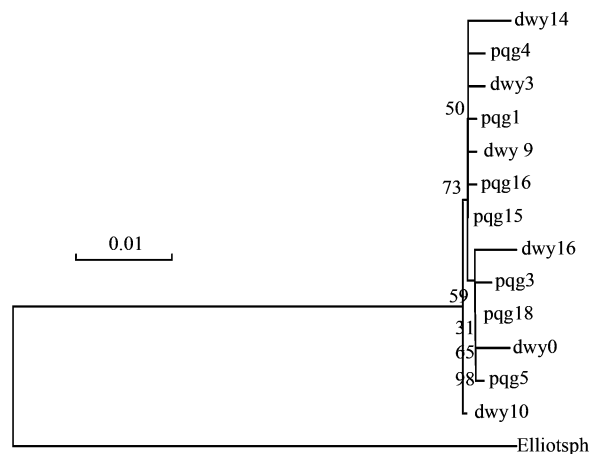


图 1 褐马鸡 13 个单倍型 MtDNA D-Loop 区序列的邻接树

Fig. 1 Phylogenetic relationship among 13 Haplotype MtDNA D-loop sequences. Elliotts Ph represents outgroup

Elliots Ph 为外群白颈长尾雉的 MtDNA D-Loop 序列

群抵抗力的减弱,是褐马鸡处于濒危的主要原因之一。另外,庞泉沟自然保护区褐马鸡繁育场是混养,个体之间可能存在近亲繁殖,谱系关系也不清,也造成了褐马鸡遗传多样性水平较低,个体之间的亲缘关系较近的状况。

3.3 两个种群的遗传差异分析

本研究所测褐马鸡 20 个个体的 13 个单倍型之间的平均遗传距离为 0.002,与尚玥^[22],对雉科 4 种鸟类线粒体 DNAR 的分子进化研究结果:石鸡(*Alectoris chukar*)个体之间遗传距离为 0.00,无变异;大石鸡(*Alectoris magna*)为 0.0017,斑翅山鹑(*Perdix dauuricae*)为 0.0025 的结果一致,褐马鸡个体之间的遗传距离较近。两个种群之间有两个共享单倍型,遗传多样性大小略有差异,但两个种群之间单倍型多样性(93.3% vs 91.6%)、核苷酸多样性(0.003 和 0.002)和遗传距离(0.003 和 0.002)的差异未达到统计学显著水平($P > 0.05$),该结果显示圈养种群和野生种群之间尚未有明显的遗传分化产生。

一个物种的遗传多样性水平和种群遗传结构是其进化历史、分布格局、迁移方式和繁育方式等各种不同因素综合作用的结果,与其适应性和进化潜力密切相关,直接关系到物种保护和复壮^[23,11]。根据已获得的褐马鸡种群的遗传多样性信息,应该加强其遗传资源和遗传多态性的研究,包括对野生和人工繁殖的褐马鸡的进一步研究,扩大取样的范围,建立褐马鸡种质资源基因库。为了防止褐马鸡的近亲交配,降低后代形成纯合子的概率,提高杂合子的概率,按遗传贡献率对褐马鸡个体进行分类,选择那些遗传贡献大的褐马鸡参与繁殖。加强褐马鸡种群的野外驯化和放归实验,不断扩大褐马鸡的分布区域,实现对褐马鸡的遗传多样性的有效保护。

致谢:承蒙山西省自然保护区管理站张龙胜教授、庞泉沟国家级自然保护区管理站武建勇教授及太原市动物园孟庆珍兽医师等在样品采集过程中提供帮助,谨此致谢。

References:

- [1] Zhang L S. Current distribution of Brown-eared Pheasant in China. *Wildlife*,1999,20(2):18.
- [2] Zhang Z W,Zhang G G,Song J. The population current and protection suggestion of Brown-eared Pheasant in China//China Ornithological Society, Wild Bird Society of Taipei, China Wildlife Conservation Association. *Studies on Chinese Ornithology — Proceedings of the 4th Ornithological Symposium of Mainland & Taiwan,China*. Beijing: Forest Press,2000;50-53.
- [3] Chen L G. Population quantity and distribution of Brown-eared Pheasant (*Crossoptilon mantchuricum*). *Nature*,2000,(1):36.
- [4] Wu Y Z. Study on the genetic diversity and conservation of endangered species, *Crossoptilon mantchuricum*. Dissertation for Doctor Degree. Taiyuan: Shanxi University,2008.
- [5] Chen X F,Li S,Wang L,Yuan X D, Tang M Q, Li Q W. A review on mitochondrial DNA of avian. *Hereditas*(Beijing),2002,24(3):371-375.
- [6] Li M,Rao G,Wei F W,Fang S G,Tang C X,Hidetoshi B TAMATE. Population genetic structure and geographic subdivision of the red panda (*Ailurus fulgens*). *Acta Zoologica Sinica*,2002,48(4):480-486.
- [7] Zhang Y P, Oliver A R,Fan Z Y, Zhang H M, He T M, He G X, Zhang A J, Fei L S, Zhong S L, Chen H, Zhang C L, Yang M H, Zhu F, Peng Z X, Pu T C, Chen Y C, Yao M D, Guo W. Study on DNA sequence variation and genetic diversity in Giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Science in China (Series C)*,1997,27(2):139-144.
- [8] Wang Y Q,Zhu W Q,Wang C L. D-loop sequence variation of mitochondrial DNA in captive Chinese Alligator. *Acta Genetica Sinica*,2003,30(5):425-430.
- [9] Zhou H,Li D Q, Zhang Y G,Yi X R, Liu Y. Study on mitochondrial DNA genetic diversity of Tibetan Antelope. *Hereditas*(Beijing),2006,28(3):299-305.
- [10] Huang Z H,Liu N F,Long J. Population genetic structure, haplotype distribution and gene tic diversity of the rusty-necklaced partridge *Alectoris magna lanzhouensis* based on mtDNA control region sequences. *Acta Zoologica Sinica*,2006,52(4):738-745.
- [11] Wu H,Hu J,Fang S G,Kong L L,Jia F. Genetic diversity and genetic structure of domestic sika deer in China. *Chinese Journal of Zoology*,2006,41(4):41-47.
- [12] Ma Z J,Zhong J C,Han J L,Xu J T, Dou Q T, Chang H P. Genetic diversity in the mt DNA D-Loop region of wild yak (*Bos grunniens mutus*). *Acta Ecologica Sinica*,2009,29(9):4798-4802.
- [13] Wu Y Z,Zhao C G,Wang M B,Zhang F. Cloning and sequencing of mtDNA control region in rare an endangered Brown-eared Pheasant

- (*Crossoptilon mantchuricum*) from Shanxi. Journal of Shanxi University(Natural Science Edition),2008,31(1):104-107.
- [14] Moore W S. Inferring phylogenies from mtDNA variation: mitochondrial-gene trees versus nuclear-gene tree. Evolution,1995,49(4):718-726.
- [15] Tian F G, Ma Z J, Chen Z H. The molecular ecology and bio-diversity. Journal of Southwest University for Nationalities Natural Science Edition, 2005,31(1):115-120.
- [16] Vallianatos M, Loughheed S C, Boag P T. Conservation genetics of the loggerhead. Genetics,2002,3:1-13.
- [17] Jiang P P, Fang S G, Ding P. An application of control region sequence as a matrilineage marker for Elliot's of a zoo population. Animal Biotechnology,2005,16(1):11-15.
- [18] Randi E. Mitochondrial DNA phylogeny and speciation in the Tragopans. The Auk,2000,117(4):1003-1015.
- [19] Zhang B, Fang S G, Xi Y M. Low genetic diversity in the endangered Crested Ibis Nipponia nippon and implication for conservation. Bird Conservation International,2004,14:183-190.
- [20] Zhang Y D. Studies on the Mitochondrial DNA Diversity in Crested Ibis (Nipponia nippon). Master Dissertation. Yangling: Northwest University of Farming and Forestry Technology,2004.
- [21] Huang Z H, Liu N F, Zhou T L. A comparative study of genetic diversity of peripheral and central populations of Chukar Partridge from Northwestern China. Biochemical Genetics,2005,43:613-621.
- [22] Shang Y. Molecular evolution among 4 species(Phasianidae) of birds based on mtDNA sequence. Journal of Liaoning University(Natural Science Edition),2003,30(3):275-280.
- [23] Groom M J, Meffe G K, Carroll C R. Principles of Conservation Biology. 3rd edition. Massachusetts, Sunderland: Sinauer Associates, INC Publishers,2005.

参考文献:

- [1] 张龙胜. 褐马鸡的分布现状. 野生动物,1999,20(2):18.
- [2] 张正旺, 张国钢, 宋杰. 褐马鸡的种群现状与保护对策//中国鸟类学会、台北市野鸟学会、中国野生动物保护协会. 中国, 鸟类学研究——第四届海峡两岸鸟类学术研讨会文集. 北京: 中国林业出版社,2000:50-53.
- [3] 陈立根. 褐马鸡种群数量及分布. 大自然,2000,(1):36.
- [4] 武玉珍. 濒危鸟类褐马鸡遗传多样性及保护研究. 博士学位论文. 太原: 山西大学,2008.
- [5] 陈晓芳, 李爽, 王黎, 袁晓东, 汤敏谦, 李庆伟. 鸟类线粒体 DNA 研究概述. 遗传,2002,24(3):371-375.
- [6] 李明, 饶刚, 魏辅文, 方盛国, 汤纯香, 玉手英利. 小熊猫种群遗传结构和地理分化. 动物学报,2002,48(4):480-486.
- [7] 张亚平, Oliver A R, 范志勇, 张和明, 何廷美, 何光昕, 张安居, 费立松, 钟顺隆, 陈红, 张成林, 杨明海, 朱飞兵, 彭真信, 普天春, 陈玉村, 姚敏达, 郭伟. 大熊猫 DNA 序列变异及其遗传多样性研究. 中国科学(C 辑),1997,27(2):139-144.
- [8] 王义权, 朱伟铨, 王朝林. 扬子鳄饲养种群线粒体 DNA 控制区的序列多态性. 遗传学报,2003,30(5):425-430.
- [9] 周慧, 李迪强, 张于光, 易湘蓉, 刘毅. 藏羚羊 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究. 遗传,2006,28(3):299-305.
- [10] 黄族豪, 刘适发, 龙进. 大石鸡兰州亚种的 mt DNA 种群遗传结构、单倍型分布和遗传多样性. 动物学报,2006,52(4):738-745.
- [11] 吴华, 胡杰, 方盛国, 孔令禄, 贾放. 中国圈养梅花鹿的遗传多样性和遗传结构. 动物学杂志,2006,41(4):41-47.
- [12] 马志杰, 钟金城, 韩建林, 徐惊涛, 窦全林, 常怀普. 野牦牛 (*Bos grunniens mutus*) mt DNA D-Loop 区的遗传多样性. 生态学报,2009,29(9):4798-4802.
- [13] 武玉珍, 赵春贵, 王孟本, 张峰. 珍稀濒危鸟类褐马鸡 mtDNA 的分子克隆及序列分析. 山西大学学报(自然科学版),2008,31(1):104-107.
- [15] 田风贵, 马志杰, 陈智华. 分子生态学与生物多样性研究. 西南民族大学. (自然科学版) 2005,31(1):115-120.
- [19] 张永德. 朱鹮线粒体 DNA 多态性研究. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学,2004.
- [21] 尚玥. 稚科四种鸟类线粒体 DNAR 的分子进化. 辽宁大学学报(自然科学版),2003,30(3):275-280.