

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

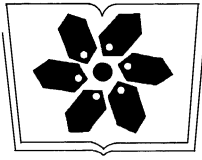
Acta Ecologica Sinica



第31卷 第7期 Vol.31 No.7 **2011**

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 31 卷 第 7 期

2011 年 4 月 (半月刊)

目 次

川南天然常绿阔叶林人工更新后土壤氮库与微生物的季节变化·····	龚 伟,胡庭兴,王景燕,等 (1763)
IBIS 模拟东北东部森林 <i>NPP</i> 主要影响因子的敏感性·····	刘 曦,国庆喜,刘经纬 (1772)
不同坡位沙棘光合日变化及其主要环境因子·····	靳甜甜,傅伯杰,刘国华,等 (1783)
氮、硫互作对克隆植物互花米草繁殖和生物量累积与分配的影响·····	甘 琳,赵 晖,清 华,等 (1794)
海岛棉和陆地棉叶片光合能力的差异及限制因素·····	张亚黎,姚贺盛,罗 毅,等 (1803)
遮荫对连翘光合特性和叶绿素荧光参数的影响·····	王建华,任士福,史宝胜,等 (1811)
3 种木本植物在铅锌和铜矿砂中的生长及对重金属的吸收·····	施 翔,陈益泰,王树凤,等 (1818)
施氮水平对小麦籽粒谷蛋白大聚合体粒径分布的调控效应·····	王广昌,王振林,崔志青,等 (1827)
强光下高温与干旱胁迫对花生光系统的伤害机制·····	秦立琴,张悦丽,郭 峰,等 (1835)
环境因子和干扰强度对高寒草甸植物多样性空间分异的影响·····	温 璐,董世魁,朱 磊,等 (1844)
利用 CASA 模型模拟西南喀斯特植被净第一性生产力·····	董 丹,倪 健 (1855)
北京市绿化树种紫玉兰的蒸腾特征及其影响因素·····	王 华,欧阳志云,任玉芬,等 (1867)
平衡施肥对缺磷红壤性水稻土的生态效应·····	陈建国,张杨珠,曾希柏,等 (1877)
冬小麦种植模式对水分利用效率的影响·····	齐 林,陈雨海,周勋波,等 (1888)
黄土高原冬小麦地 N_2O 排放·····	庞军柱,王效科,牟玉静,等 (1896)
花前渍水预处理对花后渍水逆境下扬麦 9 号籽粒产量和品质的影响·····	李诚永,蔡 剑,姜 东,等 (1904)
低硫氮比酸雨对亚热带典型树种气体交换和质膜的影响·····	冯丽丽,姚芳芳,王希华,等 (1911)
夹竹桃皂甙对福寿螺的毒杀效果及其对水稻幼苗的影响·····	戴灵鹏,罗蔚华,王万贤 (1918)
海河流域景观空间梯度格局及其与环境因子的关系·····	赵志轩,张 彪,金 鑫,等 (1925)
中国灌木林-经济林-竹林的生态系统服务功能评估·····	王 兵,魏江生,胡 文 (1936)
城郊过渡带湖泊湿地生态服务功能价值评估——以武汉市严东湖为例·····	王凤珍,周志翔,郑忠明 (1946)
黄河三角洲植物生态位和生态幅对物种分布-多度关系的解释·····	袁 秀,马克明,王 德 (1955)
基于景观可达性的广州市林地边界动态分析·····	朱耀军,王 成,贾宝全,等 (1962)
红脂大小蠹传入中国危害特性的变化·····	潘 杰,王 涛,温俊宝,等 (1970)
基于线粒体 <i>Cyt b</i> 基因的西藏马鹿种群遗传多样性研究·····	刘艳华,张明海 (1976)
不同干扰下荒漠啮齿动物群落多样性的多尺度分析·····	袁 帅,武晓东,付和平,等 (1982)
秦岭鼯鼠的洞穴选择与危害防控·····	鲁庆彬,张 阳,周材权 (1993)
京杭运河堤坝区域狗獾的栖息地特征·····	殷宝法,刘宇庆,刘国兴,等 (2002)
专论与综述	
微生物胞外呼吸电子传递机制研究进展·····	马 晨,周顺桂,庄 莉,等 (2008)
厌氧氨氧化菌脱氮机理及其在污水处理中的应用·····	王 惠,刘研萍,陶 莹,等 (2019)
问题讨论	
海河流域森林生态系统服务功能评估·····	白 杨,欧阳志云,郑 华,等 (2029)
研究简报	
体重和盐度对中国蛤蚧耗氧率和排氨率的影响·····	赵 文,王雅倩,魏 杰,等 (2040)
虾塘养殖中后期微型浮游动物的摄食压力·····	张立通,孙 耀,赵从明,等 (2046)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 290 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 33 * 2011-04	



封面图说:日斜茅荆坝·河北茅荆坝——地处蒙古高原向华北平原过渡地带的暖温带落叶阔叶林,色彩斑斓,正沐浴着晚秋温暖的阳光。

彩图提供:国家林业局陈建伟教授 E-mail: cites.chenjw@163.com

基于线粒体 *Cty b* 基因的西藏马鹿 种群遗传多样性研究

刘艳华, 张明海*

(东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040)

摘要: 西藏马鹿 (*Cervus elaphus wallichii*) 为我国特有物种, 仅分布在西藏东南部的桑日县, 目前关于西藏马鹿的研究报道很少。因此, 深入了解西藏马鹿各地理单元内种群的遗传变异, 可以制定保护管理策略提供依据, 进而使其种群得到有效的保护和管理。对 54 个不同西藏马鹿个体 (来自 3 个不同地点) 的线粒体 DNA *Cty b* 基因进行了测定和群体分析, 获得了 731bp 的片段, 并检测到 24 个变异位点, 占分析长度的 3.28%, 且这 24 个变异位点皆为碱基置换, 并未出现碱基插入或缺失的现象, 并定义了 14 种单倍型, 核苷酸多样性平均值为 0.02781, 种群总体遗传多样性较高。从 Tajima's *D* 和 Fu and Li's *D* 值的估算结果来看, 这 3 个马鹿种群相对于中性进化的歧异度并没有明显的偏离 ($P > 0.1$), 没有明显的证据显示这 3 个西藏马鹿种群间存在很强的平衡选择。分子变异分析表明 3 个群体间基因流 ($5.36 > Nm > 1.87$) 均大于 1, 说明这 3 个马鹿种群间存在着丰富的基因流, 并建议将 3 个地区的西藏马鹿作为一个管理单元进行保护和管理。

关键词: 西藏马鹿; 粪便 DNA; *Cty b*; 遗传多样性; 西藏

Population genetic diversity in Tibet red deer (*Cervus elaphus wallichii*) revealed by mitochondrial *Cty b* gene analysis

LIU Yanhua, ZHANG Minghai*

College of Wildlife Resources, Northeast Forest University, Harbin 150040, China

Abstract: The Tibet red deer, *Cervus elaphus wallichii*, is a middling and primitive living member of the Cervidae family. Tibet red deer were once widely distributed in Tibet, Sikkim, Nepal and Bhutan. However, in the last century their range and number was drastically reduced because of overhunting. In 1992, the World Wildlife Fund (WWF) announced that Tibet red deer in the wild had become extinct. Subsequently, there were very few reports of Tibet red deer in the wild. In July 2005, we investigated the distribution of Tibet red deer and discovered a population of red deer in southeast Tibet. From the body size, morphometric traits and hair color, we thought it was likely to be Tibet red deer. We collected 123 fecal samples from the red deer distribution area and analyzed the cytochrome b gene sequences from the mitochondrial DNA (mtDNA) of the samples. We used BLAST (mega blast) at NCBI to identify sequences with the highest similarities ($> 97\%$) and the lowest differences ($< 3\%$) to the published cytB sequence, AY044861, of the Tibet red deer (*Cervus elaphus wallichii*). 105 samples were identified as having high sequence similarity to the red deer (*Cervus elaphus wallichii*) sequence. We carried out genotype analysis using eleven microsatellites to identify individuals in the 105 fecal samples and obtained 54 different genotypes. Forensic medicine criteria and the results of data analyses allow the identification of different individuals according to genotypes. On the basis of forensic medicine criteria, when the genotype is in full accord with a probability of 10^{-14} , then we may assume that the genotype represents either one individual or identical twins.

Tibet red deer is an endemic species in China. Systematic and detailed ecological research on Tibet red deer is almost

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30870309); 国家林业局项目

收稿日期: 2010-02-25; **修订日期:** 2010-05-18

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

nonexistent. To further understand its ecological characteristics and to effectively manage its protection, basic research is urgently required. In this study, we investigated the genetic diversity and gene flow in three Tibet red deer populations by analyzing 731 base pairs of the mtDNA *cytB* gene fragment in 54 individuals sampled from Zengqi, Woka and Baidui. Twenty-four variable sites and fourteen haplotypes were identified. The red deer exhibited high mtDNA diversity with both haplotype diversity ($h=0.897\pm0.014$) and nucleotide diversity ($\pi=2.781\pm0.02465$). The estimates of Tajima's *D* and Fu and Li's *D* did not deviate significantly from the neutral selection hypothesis ($P > 0.1$) for all three populations of deer, showing no evidence of strong selective sweeps or balancing selection. An analysis of molecular variance (AMOVA) showed abundant gene flow ($5.36 > Nm > 1.87$) among the three populations. Therefore, we suggest that the three populations can be regarded as one unit for conservation and management.

Key Words: Tibet red deer (*Cervus elaphus wallichii*); fecal DNA; *Cty b*; genetic diversity; Tibet

西藏马鹿(*Cervus elaphus wallichii*), 隶属于偶蹄目(Artiodactyla)、鹿科(Cervidae)、鹿属(*Cervus*), 是马鹿(*Cervus elaphus*)的一个亚种^[1]。1823年, 生物学家Cuvier在中国西藏和尼泊尔等地发现、采集到模式标本并将其命名为西藏红鹿(*Cervus elaphus wallichii*); 1841年, 生物学家Hodgson在西藏南部发现此动物实体并命名为寿鹿(*Cervus affinis*); 1850年, 有些学者将其取名为西藏马鹿(*Cervus tibetanus*); 现在我国学者正式命名为马鹿西藏亚种, 俗名同称“西藏马鹿”。

西藏马鹿在历史上曾广泛分布在我国西藏东南部地区和锡金、尼泊尔、不丹等地^[2]。而在20世纪40年代, 世界自然资源保护协会将西藏马鹿列为“可能灭绝”的对象, 在接下来几十年的调查中, 研究者在锡金、不丹、尼泊尔等地再没有见到西藏马鹿的足迹。因此, 国外许多学者认为它“很可能已绝种”或“差不多是个神秘的动物”。1977年, 国际自然与自然资源保护联盟在华盛顿召开的一次世界鹿类专家讨论会中, 因西藏马鹿已有多年不闻消息, 认为野生的可能已经灭绝。1992年, 世界野生生物基金会(WWF)则正式宣布马鹿野外种群已经绝灭50a。2005年, 西藏错勤县在一个湖边挖出了一具完整的西藏马鹿公鹿的骨架, 这说明在不到100年前, 西藏马鹿仍然分布在冈底斯山脉以南, 雅鲁藏布大峡谷以西的广阔区域。同年, 作者参加了关于西藏马鹿种群现状的专项调查, 调查中发现西藏马鹿的主要群体仍分布在西藏山南地区的桑日县一带, 活动的地区不过1.0万km², 这一鹿群也成为世界上最后已知的极度濒危的西藏马鹿野生种群。遗传多样性是评价一个物种进化潜力高低, 抵制自然界各种生存压力能力强弱的重要遗传学指标, 而一个物种的遗传信息在其保护管理策略制定中起着重要作用。因此, 为了更好的保护该珍稀物种, 对现存的野生西藏马鹿种群的遗传结构进行研究是十分必要的。

动物mtDNA是动物体内唯一发现的核外遗传物质, 脊椎动物的mtDNA大小在16.5kb左右, 以母系遗传方式遗传。其结构简单、稳定、世代间没有基因重组且进化速度快, 已被公认为十分有效的研究动物遗传进化的标记物质^[3], 并且在应用中已得到广泛的支持与证明^[4-6]。本文测定了采自桑日县3个地区野生西藏马鹿线粒体细胞色素b基因序列, 分析该物种的遗传变异, 目的在于为其保护、特别是遗传多样性保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和DNA提取

本研究于2005年8月、2007年8月和2008年8月分别在西藏马鹿分布区桑日县的增期、沃卡和白堆地区, 采用非损伤性取样法采集西藏马鹿粪便样品共123份。采集样品时, 先用望远镜观察鹿群, 待其离开后沿着预先设计好的路线进行粪便收集, 并将采集到的粪便保存在95%酒精内。采自野外的粪便样品来自西藏马鹿, 而非其近源物种, 且不属于同一个个体是十分重要的。因此, 在采集过程中通过粪便外观对西藏马鹿与其他动物进行初步的分辨。而所采得的粪便是否属于同一西藏马鹿个体, 则采用微卫星多态性位点检测进行鉴别, 以排除来源于同一个体的可能。

DNA 提取方法参考上海杰美生物公司生产的《粪便 DNA 提取试剂盒》使用说明并略作改进。具体步骤如下:取一定量的马鹿粪便放入锥形离心管内,加入缓冲液,经涡旋振荡使固态物质充分溶解,再经离心处理使杂质沉淀,然后吸取管内上部清液;将吸出的上清液放入另一锥形管内,加入一定量的酶解液、盐析液和去干扰剂,经涡旋振荡后放入培养箱中 60℃ 孵育,使细胞裂解;裂解后的溶液加入萃取液,经振荡、离心后,取上清液放入另一锥形离心管内,加入一定量的浓缩液和沉淀液后再次离心,去掉上清液,加入清理液后再次离心,再次去掉上清液,将管内物质在空气中自然晾干后加入保存液,放入冰箱中 4℃ 保存待测。

1.2 物种鉴定

选择引物 A1 (L-Pro: 5'-GAAAAACCATCGTTGTCATTCA-3') 和 B2 (H-Phe: 5'-GGAGGTTGGAGCTCTCC TTTT-3')^[7] 进行粪便样品的鉴定。PCR 反应体系为宝生物(大连)有限公司生产的 Hotstar Taq DNA polymerase (5U/μL) 0.3 μL, dNTPs (2.5mmol/L) 5μL, BSA (1g/L) 5μL, 10 × Buffer 5μL, L-Pro、H-Phe (20mmol/L) 各 0.5μL, DNA 100ng, 加灭菌的超纯水至 50μL。反应条件为 95℃ 预变性 10min, 95℃ 变性 30s, 50℃ 退火 40s, 72℃ 延伸 60s, 40 个循环后 72℃ 延伸 10min, 4℃ 保存。扩增产物经过 2% 琼脂糖凝胶电泳检测后,用纯化试剂盒(V-Gene 公司)纯化。所有反应均设空白对照。纯化产物经过连接、转化和筛选,用通用引物(M13+)进行单向测序。将测序后的 DNA 序列在 GenBank 数据中进行 Blast 比较,以确定粪便样品的来源物种。

1.3 个体识别

经鉴定后确定的马鹿粪便样品,应用 11 对微卫星引物进行马鹿样品的基因分型分析^[8-12],PCR 反应中所用的引物合成时上游引物都进行荧光素标记,下游引物不做标记;其他反应条件同 1.2 所述。PCR 产物在 ABI3130 测序仪上分型分析,通过 GeneMapper 3.0 确定等位基因大小(Version 4.0)。只得到 1 条 PCR 产物带的判定为纯合子,有 2 条带的判定为杂合子。

1.4 序列分析

将 1.2 中所测的序列结果用 Clustal X 软件^[13]进行 DNA 序列排列,并辅以人工校对。用 DnaSP 4.0 软件^[14]计算核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π)和单倍型多样性(Haplotype diversity, h)。用 MEGA 2.1 软件^[15]进行序列比较和变异检测,确定变异位点和单倍型。使用 PAUP 4.0b10^[16]和 MrBayes 3.0^[17]软件,应用最大似然法(Maximum likelihood, ML)、最大简约法(Maximum parsimony, MP)和贝叶斯法(Bayesian, BI)分别构建了系统发育树。并通过 MODELTEST 3.06^[18]检验寻找最合适的 DNA 替代模型及相关参数,通过自引导获得系统树分支的置信值(重复次数为 1 000)。在构建系统树时采用狍(*Capreolus capreolus*)序列(AY580069)做外群,以获取系统树的根。同时应用 Arlequin 3.1^[19]中的 AMOVA (Analysis of Molecular Variance)分析方法估算地理指数(Φ -statistics, Φ_{st})及种群间基因流程度(Nm),以揭示种群分化程度。

2 结果

所有采集的粪便样品中,共有 105 个样品得到了扩增产物并成功测序,可以用于物种鉴定。将所测得的 DNA 序列通过 BLAST 软件在 Genbank 数据库中进行比对,发现这些 DNA 序列与数据库中的西藏马鹿 *Cty b* 基因(AY044861)具有很好的相似性,其相似性大于 97%。因此,这 105 个粪便样品与已知西藏马鹿基因序列的差异均小于 3%,根据 *Cty b* 基因的高变异特点和已有的研究^[20],确定这些序列均来自西藏马鹿,其中增期为 32 个、沃卡为 35 个、白堆为 38 个(表 1)。利用所选的 11 对微卫星引物,对确定的西藏马鹿粪便样品进行基因型分型分析,通过个体识别,确定这些样品中不同西藏马鹿个体的真正数量。在所检测的样品中,共得到 54 个不同的基因型,其分布为:增期为 21 个、沃卡为 15 个、白堆为 18 个(表 1)。由于两个不同个体的基因型完全一致的概率为 10^{-14} ,在法医上把非同卵双生的两个样品的基因型完全一致认定为同一个体或同卵双生。CERVU S2.0 软件的分析显示,微卫星座位的联合区分率很高,即使出现同卵双生的情况,判断错误的概率 $Psib$ 也只有 0.12%。所以,依据法医标准并结合实验结果的数据分析,把基因型不同的样品判定为不同个体。

表 1 西藏马鹿各种群粪便样品信息表

Table 1 Summary information on the samples of the Red deer used in this study

样品采集地点 Population location	采样时间 Sampling year	样品数量 Number of individuals	鉴定的粪便数 Identification scat	微卫星分型 成功样品数 Complete microsatellite genotypes	单倍型数量 Number of haplotypes	多态位点数 Number of polymorphic sites
增期 Zengqi	2005	40	32	18	6	19
沃卡 Woka	2007	40	35	15	5	14
白堆 Baidui	2008	43	38	21	7	5
总计 Total	—	123	105	54	14	24

对 54 个西藏马鹿不同个体的 mtDNA *Cyt b* 基因进行测定, 获得其长度为 731bp, 并检测到 24 个变异位点 (均为碱基置换, 未见插入或缺失现象)。共获得 14 个单倍型, 其中单倍型 2 和单倍型 6 为增期和沃卡共享、单倍型 1 为增期和白堆共享、单倍型 8 为沃卡和白堆共享 (表 2)。序列分析结果表明, 西藏马鹿白堆种群具有较低的单倍型多样性 ($h=0.592\pm0.129$) 和核苷酸多样性 ($\pi=0.546\pm0.00273$); 增期种群具有较高的单倍型多样性 ($h=0.807\pm0.024$) 和核苷酸多样性 ($\pi=2.490\pm0.02014$); 研究地区西藏马鹿整体的单倍型多样性 (h) 为 0.897 ± 0.014 , 核苷酸多样性 (π) 为 2.781 ± 0.02465 (表 2), Tajima's D 和 Fu and Li's D 值检测结果表明这 3 个西藏马鹿种群相对于中性进化的歧异度并没有明显的偏离 ($P>0.1$)。

表 2 西藏马鹿 3 个取样点 54 个粪便样本 mtDNA *Cytb* 遗传多样性分析Table 2 Analysis of the genetic diversity of mitochondrial DNA *Cytb* for 54 individuals in three populations of Red deer

种群 Population	单倍型多样性 Haplotype Diversity (h)	核苷酸多样性% Nucleotide diversity (π)	核苷酸差异多样性 Average number of nucleotide differences	Tajima 检验 Tajima's D	Fu and Li 检验 Fu and Li's D	单倍型分布 Location of Haplotype
增期 Zengqi	0.807 ± 0.024	2.490 ± 0.02014	8.81905	0.19626 *	1.43761 *	HT1、HT2、HT3、 HT4、HT5、HT6
沃卡 Woka	0.742 ± 0.034	2.067 ± 0.02391	4.33333	-1.19130 *	-1.46075 *	HT2、HT6、HT7、 HT8、HT9
白堆 Baidui	0.592 ± 0.129	0.546 ± 0.00273	3.02614	-1.06058 *	-1.04443 *	HT1、HT8、HT10、HT11、 HT12、HT13、HT14
整体 (TOTAL)	0.897 ± 0.014	2.781 ± 0.02465	11.59143	-0.59276 *	0.14348 *	HT1—HT14

* $P>0.1$ 无显著差异

基于构建的 ML、MP 和 BI 树, 发现 3 种树的结构相似并且来自不同地区的样品均未表现出按地理分布形成明显的簇 (图 1)。同时对 3 个群体间的遗传参数进行了测定, 结果表明: 分布于增期地区的西藏马鹿种群与分布于白堆地区的西藏马鹿种群群体间 F_{st} 值为 0.21939, 两个群体间的基因流 ($Nm = (1/F_{st} - 1)/2$) 为 2.41 ($\Phi_{st}=0.274, P>0.05$); 分布于增期地区的西藏马鹿种群与分布于沃卡地区的西藏马鹿种群群体间 F_{st} 值为 0.13645, 两个群体间的基因流 (Nm) 为 1.87 ($\Phi_{st}=0.385, P>0.05$); 分布于沃卡地区的西藏马鹿种群与分布于白堆地区的西藏马鹿种群群体间 F_{st} 值为 0.29570, 两个群体间的基因流 (Nm) 为 5.36 ($\Phi_{st}=0.404, P>0.05$) (表 3)。

表 3 西藏马鹿的遗传结构参数

Table 3 Populations parameters for Red deer

种群 Population	增期 Zengqi	沃卡 Woka	白堆 Baidui
增期 Zengqi	—	1.87	2.41
沃卡 Woka	0.13645 *	—	5.36
白堆 Baidui	0.21939 *	0.29570 *	—

对角线上方为个体迁移率 (Nm), 对角线下方为 F_{st} , * $P>0.1$ 无显著差异

3 讨论

在所有获得遗传信息的方法中,粪便 DNA 分析技术对保护和管理一些隐蔽性较强或濒危的物种具有较高的潜在应用价值。粪便的量很大,收集时不会对动物造成任何损伤,由于粪便中含有大量肠道脱落的粘膜细胞,并且这些细胞大部分是活的,这样可以得到足够的遗传物质进行生态学研究。本研究应用 *Cty b* 基因引物从 123 份样品中鉴定出 105 份西藏马鹿粪便样品,没有完全鉴别出来的原因可能是:粪便中含有的遗传物质已有部分降解、有些存在外源 DNA 的污染或粪便中有些物质会抑制酶的活性,从而影响了 PCR 扩增效果。那么,在后续的研究中,将进一步优化实验方案,从有限的实验样品中提取更多的生物学信息。

物种遗传多样性的高低是评判物种能否长期生存的依据,而衡量一个种群 mtDNA 的遗传多样性有两个重要指标:单倍型之间的平均遗传距离和核苷酸多态性。由于核苷酸多态性的值考虑了各种 mtDNA 单倍型在群体中所占的比例,因此在反映一个群体的 mtDNA 的多态程度时核苷酸多态性比单纯的遗传距离平均值要精确,核苷酸多态性的值越高则说明群体的遗传多样性越高^[21]。本研究对西藏马鹿 3 个地区的 54 个个体样品进行研究,共发现 14 个线粒体 DNA 单倍型,24 个变异位点,占分析序列长度的 3.28% (24/731),没有发现碱基插入和缺失现象,说明序列的突变都是发生在近期^[22]。遗传多样性是评价一个物种进化潜力高低,抵制自然界各种生存压力能力强弱的重要遗传学指标^[23],是针对珍稀濒危物种制定有效保护策略和保护计划的最为重要的科学依据之一。遗传多样性的丧失对物种生存带来直接的不利影响^[24],可以使物种更加容易灭绝^[25]。种群内遗传相似性增加而遗传变异变小,造成种群内遗传多样性下降,在许多珍稀濒危物种中已很常见^[26]。本研究经遗传多样性检测,发现西藏马鹿平均核苷酸多态性为 2.78%,这与其它有蹄类动物相比是较高的,如非洲花毛羚 (*Hippotragus equinus*),其线粒体核苷酸多态性为 1.9%^[27],英国马鹿 (*Cervus elaphus*) 的线粒体核苷酸多态性为 0.56%^[28],中国大陆梅花鹿 (*Cervus nippon*) 种群的线粒体核苷酸多态性为 2.11%^[29],从而说明西藏马鹿群体线粒体 *Cty b* 存在着丰富的多态性。结合地貌分析,研究地区所在的冈底斯山脉是印度板块与亚洲板块中晚始新世相撞、挤压、断裂与褶皱上升所形成的,两地块的缝合线在冈底斯山脉南麓、印度河—雅鲁藏布江河谷地一带,在海拔 4000m 以下的雅鲁藏布江河谷地区为灌丛草原,较高地区为亚高山草原。多样化的地理环境、丰富而复杂的植被结构在山系间的融汇连接,使这一地区成为西藏马鹿喜栖生境。仍然存在适合于西藏马鹿生存的环境,不同种群间存在个体迁移的现象。

从构建的系统树中,可以看出西藏马鹿种群并没有按照地理分布分别聚为 3 个支系,而是相互交错相聚,说明群体间没有出现显著的分化,表明 3 个地理群体间的遗传基础比较一致,存在基因流。这一结果与我们用单倍型及其频率、*Fst* 值和基因流所提示的结果一致(表 3)。其中分布于增期地区的西藏马鹿种群与分布于沃卡地区的西藏马鹿种群群体间存在较小的基因流 ($Nm = 1.87$),原因是,近几十年来人类活动的增加,特别是这两个地区之间道路的修建,影响了这两个地区西藏马鹿的迁移和交流,但从遗传角度来说,其种群隔离的时间并不长,还没造成明显的遗传差异 ($\Phi_{st} = 0.385, P > 0.05$)。建议将增期、沃卡和白堆地区的西藏马鹿种群作为同一个管理单元加以保护。

致谢: 本实验样品收集得到了秦瑜、沈广霜、李汀一的大力帮助,特此致谢。

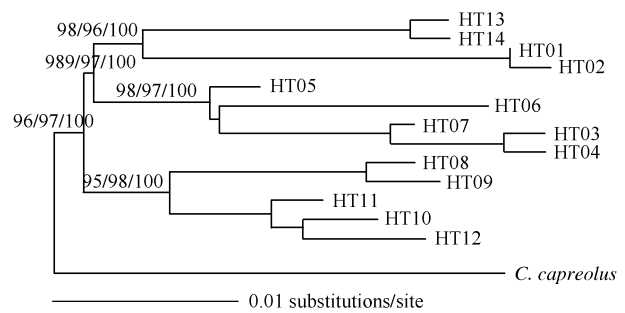


图 1 基于 ML、MP 和 BI 法构建的西藏马鹿 mtDNA *Cty b* 序列的系统发生树以欧洲狍 (*Capreolus capreolus*) 的同源序列为外群, 树枝处的数字为自引导值 (Bootstrap), 节点上 >50% 的自引导值标出, 重复次数为 1000;

Fig. 1 Phylogenetic relationships between red deer mtDNA *Cty b* haplotypes constructed by the maximum likelihood maximum parsimony and Bayesian methods with *Capreolus capreolus* as reference group. The numbers in the notes indicate the statistical results obtained from 1000 bootstrap replicates; only reliability percentages greater than 50% are indicated

References:

- [1] Sheng H L. Chinese Deer. Shanghai: East China Normal University Press, 1992: 234-243.
- [2] Chen S B. Management and conservation for Tibet red deer. Central South Forest Inventory and Planning, 1999, (3): 40-42.
- [3] Zhang Y P, Shi L M. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: a review. Zoological Research, 1992, 13(3): 289-298.
- [4] Cao L R, Wang X M, Rao G, Wan Q H, Fang S G. The phylogenetic relationship among goat, sheep and bharal based on mitochondrial cytochrome b gene sequences. Acta Theriologica Sinica, 2004, 24 (2): 109-114.
- [5] Chen Y J, Zhang Y P, Zou X M, Dong F Y, Wang J J. Molecular Phylogeny of canidae using mitochondrial cytochrome b DNA sequences. Journal of Genetics and Genomics, 2000, 27(1): 7-11.
- [6] Wei M, Hou P, Huang Z H, Liu N F. Effects of environmental factors on the population genetic structure in *alecoris magna*. Acta Ecologica Sinica, 2002, 22(4): 528-534.
- [7] Ludt C J, Schroeder W, Rottmann O, Kuehn R. Mitochondrial DNA phylogeography of red deer (*Cervus elaphus*). Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 31(3): 1064-1083.
- [8] Kuehn R, Schroeder W, Pirehner F, Rottmann O. Genetic diversity, gene flow and drift in Bavarian red deer populations (*Cervus elaphus*). Conservation Genetics, 2003, 4(2): 157-166.
- [9] Pierson C A, Ede A J, Crawford A M. Ovine microsatellites at the OarHH30, OarHH51, OarVH54, OarCP88, OarCP93, OarCP134 loci. Animal Genetics, 1994, 25(4): 294-295.
- [10] Røed K H, Midtjell L. Microsatellites in reindeer, *Rangifer tarandus*, and their use in other cervids. Molecular Ecology, 1998, 7(12): 1771-1776.
- [11] Talbot J, Haigh J, Plante Y. A parentage evaluation test in North American Elk (*Wapiti*) using microsatellites of ovine and bovine origin. Animal Genetics, 1996, 27(2): 117-119.
- [12] Wilson G A, Strobeck C, Wu L, Coffin J W. Characterization of microsatellite loci in caribou *Rangifer tarandus*, and their use in other artiodactyls. Molecular Ecology, 1997, 6(7): 697-699.
- [13] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [14] Rozas J, Rozas R. DnaSP version3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. Bioinformatics, 1999, 15(2): 174-175.
- [15] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, Nei M. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software. Bioinformatics, 2001, 17(12): 1244-1245.
- [16] Swofford D L. PAUP: phylogenetic analysis using parsimony, version 4. Sunderland: Sinauer Associates, 2002.
- [17] Ronquist F, Huelsenbeck J P. MRBAYES 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [18] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14(9): 817-818.
- [19] Excoffier L, Smouse P E, Quattro J M. Analysis of molecular variance inferred from metric distance among DNA haplotypes: application to human mitochondrial DNA restriction data. Genetics, 1992, 131(2): 479-491.
- [20] Janečka J E, Jackson R, Zhang Y Q, Li D Q, Munkhtsog B, Buckley-Beaso V, Murphy W J. Population monitoring of snow leopards using noninvasive collection of scat samples: a pilot study. Animal Conservation, 2008, 11(5): 401-411.
- [21] Neigel J E, Avise J C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. Genetics, 1993, 135(4): 1209-1220.
- [22] Quinn T W, Wilson A C. Sequence evolution in and around the mitochondrial control region in birds. Journal of Molecular Evolution, 1993, 37(4): 417-425.
- [23] Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press, 2002: 78-104.
- [24] David P. Heterozygosity-fitness correlations: new perspectives on old problems. Heredity, 1998, 80(5): 531-537.
- [25] Hedrick P W, Lacy R C, Allendorf F W, Soulé M E. Direction in conservation biology: comment on Caughley. Conservation Biology, 1995, 10(5): 1312-1320.
- [26] Frankham R. Conservation genetics. Annual Review of Genetics, 1995, 29: 305-327.
- [27] Alpers D L, van Vuuren B J, Arcander P, Robinson T J. Population genetics of the roan antelope (*Hippotragus equinus*) with suggestions for conservation. Molecular Ecology, 2004, 13(7): 1771-1784.
- [28] Hmwe S S, Zachos F E, Sale J B, Rose H R, Hartl G B. Genetic variability and differentiation in red deer (*Cervus elaphus*) from Scotland and England. Journal of Zoology, 2006, 270(3): 479-487.
- [29] Liu H, Yang G, Wei F W, Li M, Hu J C. Sequence variability of the mitochondrial DNA control region and population genetic structure of sika deer (*Cervus nippon*) in China. Acta Zool Sinica, 2003, 49(1): 53-60.

参考文献:

- [1] 盛和林. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 1992: 234-243.
- [2] 陈少波. 西藏马鹿的保护与管理. 中南林业调查规划, 1999, (3): 40-42.
- [3] 张亚平, 施立明. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况. 动物学研究, 1992, 13(3): 289-298.
- [4] 曹丽荣, 王小明, 饶刚, 万秋红, 方盛国. 从细胞色素 b 基因全序列分析岩羊和山羊、绵羊的系统发生关系. 兽类学报, 2004, 24(2): 109-114.
- [5] 陈永久, 张亚平, 邹希明, 董凤友, 王进军. 犬科的线粒体细胞色素 bDNA 序列及其分子系统学研究. 遗传学报, 2000, 27(1): 7-11.
- [6] 卫明, 侯鹏, 黄族豪, 刘迺发. 环境因子对大石鸡种群遗传结构的影响. 生态学报, 2002, 22(4): 528-534.
- [29] 刘海, 杨光, 魏辅文, 李明, 胡锦鑫. 中国大陆梅花鹿 mtDNA 控制区序列变异及种群遗传结构分析. 动物学报, 2003, 49(1): 53-60.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 31, No. 7 April, 2011 (Semimonthly)

CONTENTS

Seasonal variation of soil nitrogen pools and microbes under natural evergreen broadleaved forest and its artificial regeneration forests in Southern Sichuan Province, China	GONG Wei, HU Tingxing, WANG Jingyan, et al (1763)
Sensitivity analysis for main factors influencing <i>NPP</i> of forests simulated by IBIS in the eastern area of Northeast China	LIU Xi, GUO Qingxi, LIU Jingwei (1772)
Diurnal changes of photosynthetic characteristics of <i>Hippophae rhamnoides</i> and the relevant environment factors at different slope locations	JIN Tiantian, FU Bojie, LIU Guohua, et al (1783)
Interactive effects of nitrogen and sulfur on the reproduction, biomass accumulation and allocation of the clonal plant <i>Spartina alterniflora</i>	GAN Lin, ZHAO Hui, QING Hua, et al (1794)
Difference in leaf photosynthetic capacity between pima cotton (<i>Gossypium barbadense</i>) and upland cotton (<i>G. hirsutum</i>) and analysis of potential constraints	ZHANG Yali, YAO Hesheng, LUO Yi, et al (1803)
Effects of shades on the photosynthetic characteristics and chlorophyll fluorescence parameters of <i>Forsythia suspensa</i>	WANG Jianhua, REN Shifu, SHI Baosheng, et al (1811)
Growth and metal uptake of three woody species in lead/zinc and copper mine tailing	SHI Xiang, CHEN Yitai, WANG Shufeng, et al (1818)
GMP particles size distribution in grains of wheat in relation to application of nitrogen fertilizer	WANG Guangchang, WANG Zhenlin, CUI Zhiqing, et al (1827)
Damaging mechanisms of peanut (<i>Arachis hypogaea</i> L.) photosystems caused by high-temperature and drought under high irradiance	QIN Liqin, ZHANG Yueli, GUO Feng, et al (1835)
The effect of natural factors and disturbance intensity on spacial heterogeneity of plant diversity in alpine meadow	WEN Lu, DONG Shikui, ZHU Lei, et al (1844)
Modeling changes of net primary productivity of karst vegetation in southwestern China using the CASA model	DONG Dan, NI Jian (1855)
The characteristics of <i>Magnolia liliflora</i> transpiration and its impacting factors in Beijing City	WANG Hua, OUYANG Zhiyun, REN Yufen, et al (1867)
Ecological effects of balanced fertilization on red earth paddy soil with P-deficiency	CHEN Jianguo, ZHANG Yangzhu, ZENG Xibai, et al (1877)
Effects of planting patterns on water use efficiency in winter wheat	QI Lin, CHEN Yuhai, ZHOU Xunbo, et al (1888)
Nitrous oxide emissions from winter wheat field in the Loess Plateau	PANG Junzhu, WANG Xiaoke, MU Yujing, et al (1896)
Effects of hardening by pre-anthesis waterlogging on grain yield and quality of post-anthesis waterlogged wheat (<i>Triticum aestivum</i> L. cv Yangmai 9)	LI Chengyong, CAI Jian, JIANG Dong, et al (1904)
Effects of simulated acid rain with lower S/N ratio on gas exchange and membrane of three dominant species in subtropical forests	FENG Lili, YAO Fangfang, WANG Xihua, et al (1911)
Molluscicidal efficacy of <i>Nerium indicum</i> cardiac glycosides on <i>Pomacea canaliculata</i> and its effects on rice seedling	DAI Lingpeng, LUO Weihua, WANG Wanxian (1918)
Spatial gradients pattern of landscapes and their relations with environmental factors in Haihe River basin	ZHAO Zhixuan, ZHANG Biao, JIN Xin, et al (1925)
The assessment of forest ecosystem services evaluation for shrubbery-economic forest-bamboo forest in China	WANG Bing, WEI Jiangsheng, HU Wen (1936)
Evaluation on service value of ecosystem of Peri-urban transition zone lake: a case study of Yandong Lake in Wuhan City	WANG Fengzhen, ZHOU Zhixiang, ZHENG Zhongming (1946)
Explaining the abundance-distribution relationship of plant species with niche breadth and position in the Yellow River Delta	YUAN Xiu, MA Keming, WANG De (1955)
Forestland boundary dynamics based on an landscape accessibility analysis in Guangzhou, China	ZHU Yaojun, WANG Cheng, JIA Baoquan, et al (1962)
Changes in invasion characteristics of <i>Dendroctonus valens</i> after introduction into China	PAN Jie, WANG Tao, WEN Junbao, et al (1970)
Population genetic diversity in Tibet red deer (<i>Cervus elaphus wallichi</i>) revealed by mitochondrial <i>Cyt b</i> gene analysis	LIU Yanhua, ZHANG Minghai (1976)
Multi-scales analysis on diversity of desert rodent communities under different disturbances	YUAN Shuai, WU Xiaodong, FU Heping, et al (1982)
Cave-site selection of Qinling zokors with their prevention and control	LU Qingbin, ZHANG Yang, ZHOU Caiquan (1993)
The habitat characteristics of Eurasian badger in Beijing-Hangzhou Grand Canal embankment	YIN Baofa, LIU Yuqing, LIU Guoxing, et al (2002)
Review and Monograph	
Electron transfer mechanism of extracellular respiration: a review	MA Chen, ZHOU Shungui, ZHUANG Li, et al (2008)
The biochemical mechanism and application of anammox in the wastewater treatment process	WANG Hui, LIU Yanping, TAO Ying, et al (2019)
Discussion	
Evaluation of the forest ecosystem services in Haihe River Basin, China	BAI Yang, OUYANG Zhiyun, ZHENG Hua, et al (2029)
Scientific Note	
Effects of body size and salinity on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate of <i>Macra chinensis</i> Philippi	ZHAO Wen, WANG Yaqian, WEI Jie, et al (2040)
Study on microzooplankton grazing in shrimp pond among middle and late shrimp culture period	ZHANG Litong, SUN Yao, ZHAO Congming, et al (2046)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 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	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1~9 届连续 9 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 31 卷 第 7 期 (2011 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 7 2011

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