

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第33卷 第1期 Vol.33 No.1 **2013**

中国生态学会
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 33 卷 第 1 期 2013 年 1 月 (半月刊)

目次

前沿理论与学科综述

- 生态整合与文明发展..... 王如松 (1)
- 干旱半干旱区坡面覆被格局的水土流失效应研究进展 高光耀,傅伯杰,吕一河,等 (12)
- 城市林木树冠覆盖研究进展 贾宝全,王 成,邱尔发,等 (23)
- 环境质量评价中的生物指示与生物监测 Bernd Markert,王美娥,Simone Wünschmann,等 (33)
- 水溶性有机物电子转移能力及其生态效应 毕 冉,周顺桂,袁 田,等 (45)

个体与基础生态

- 凋落物和增温联合作用对峨眉冷杉幼苗抗氧化特征的影响 杨 阳,杨 燕,王根绪,等 (53)
- 不同浓度 5-氨基乙酰丙酸(ALA)浸种对 NaCl 胁迫下番茄种子发芽率及芽苗生长的影响
..... 赵艳艳,胡晓辉,邹志荣,等 (62)
- 缺镁胁迫对纽荷尔脐橙叶绿素荧光特性的影响 凌丽俐,彭良志,王男麒,等 (71)
- 松嫩草地 66 种草本植物叶片性状特征..... 宋彦涛,周道玮,王 平,等 (79)
- 花蜜中酚类物质对群落中同花期植物传粉的影响..... 赵广印,李建军,高 洁 (89)
- 桉树枝瘿姬小蜂连续世代种群生命表..... 朱方丽,邱宝利,任顺祥 (97)

种群、群落和生态系统

- 蒙古栎地理分布的主导气候因子及其阈值 殷晓洁,周广胜,隋兴华,等 (103)
- 河静黑叶猴果实性食物组成、选择及其对种子的扩散作用..... 阮海河,白 冰,李 宁,等 (110)
- 2010 秋季东海今生颗石藻的空间分布 靳少非,孙 军,刘志亮 (120)
- OPRK1 基因 SNP 与梅花鹿日间行为性状的相关性 吕慎金,杨 燕,魏万红 (132)
- 鄱阳湖流域非繁殖期鸟类多样性 邵明勤,曾宾宾,徐贤柱,等 (140)
- 人工巢箱条件下两种山雀鸟类的同域共存机制 李 乐,张 雷,殷江霞,等 (150)
- 桉-栎不同混合比例凋落物分解过程中土壤动物群落动态 李艳红,杨万勤,罗承德,等 (159)
- 三峡库区生态系统服务功能重要性评价 李月臣,刘春霞,闵 婕,等 (168)

景观、区域和全球生态

- 黄土高原小流域不同地形下土壤有机碳分布特征 李林海,郜二虎,梦 梦,等 (179)
- 海岸带地理特征对沉水植被丰度的影响..... 吴明丽,李叙勇,陈年来 (188)
- 玛纳斯河流域扇缘带不同植被类型下土壤物理性质 曹国栋,陈接华,夏 军,等 (195)

资源与产业生态

- 农田开垦对三江平原湿地土壤种子库影响及湿地恢复潜力 王国栋,Beth A Middleton,吕宪国,等 (205)
- 漫溢干扰过程中微地形对幼苗定居的影响 安红燕,徐海量,叶 茂,等 (214)
- 黑龙江流域夏玉米产量提升限制因素 徐丽娜,陶洪斌,黄收兵,等 (222)
- 黑龙江省药用植物根际土壤真菌多样性 慕东艳,吕国忠,孙晓东,等 (229)

桑沟湾养殖生态系统健康综合评价 傅明珠,蒲新明,王宗灵,等 (238)

城乡与社会生态

基于“OOAO 原则”的罗源湾生态质量状况综合评价 吴海燕,吴耀建,陈克亮,等 (249)

四十里湾营养状况与浮游植物生态特征 李 斌,白艳艳,邢红艳,等 (260)

生态足迹深度和广度:构建三维模型的新指标 方 恺 (267)

中国东西部中小城市景观格局及其驱动力 齐 杨,邬建国,李建龙,等 (275)

研究简报

南海陆坡沉积物细菌丰度预测 李 涛,王 鹏 (286)

浑善达克沙地榆树疏林幼苗更新空间格局 刘 振,董 智,李红丽,等 (294)

光 and 不同打破种子休眠方法对紫茎泽兰种子萌发及幼苗状态的影响 姜 勇,李艳红,王文杰,等 (302)

学术争鸣

关于植物群丛划分的探讨 邢韶华,于梦凡,杨立娟,等 (310)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 316 * zh * P * ¥90.00 * 1510 * 35 * 2013-01



封面图说:外来入侵物种紫茎泽兰——紫茎泽兰约于 20 世纪 40 年代由缅甸传入中国云南南部后迅速蔓延,现已在云南、贵州、四川、广西、重庆、湖北、西藏等省区广泛分布和危害,并仍以每年大约 30 km 的速度扩散。紫茎泽兰为多年生草本或亚灌木,号称“植物界杀手”。其对环境的适应性极强,疯长蔓延,能极大耗损土壤肥力。它的植株能释放多种化感物质,排挤其他植物生长而形成单优种群,它破坏生物多样性,威胁到农作物、畜牧草甚至林木,且花粉能引起人类过敏性疾病等,目前尚无有效治理对策。

彩图提供:陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites. chenjw@ 163. com

DOI: 10.5846/stxb201109291438

吕慎金, 杨燕, 魏万红. OPRK1 基因 SNP 与梅花鹿昼间行为性状的相关性. 生态学报, 2013, 33(1): 0132-0139.

Lü S J, Yang Y, Wei W H. The association of OPRK1 gene SNP with sika deer (*Cervus nippon*) diurnal behavior traits. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(1): 0132-0139.

OPRK1 基因 SNP 与梅花鹿昼间行为性状的相关性

吕慎金^{1,2}, 杨 燕³, 魏万红^{2,*}

(1. 临沂大学生命科学学院, 临沂 276005; 2. 扬州大学生物科学与技术学院, 扬州 225009;

3. 临沂市农业科学院, 临沂 276012)

摘要: 采用目标动物取样法(Focal Animal Sampling)对江苏省扬州市平山堂养殖场及扬州市动物园 48 只梅花鹿(*Cervus nippon*)的昼间行为进行观察, 以 Kappa 阿片受体(Kappa Opioid Receptor 1, OPRK1)为目的基因, 采用单核苷酸多态性(Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs)方法, 利用引物 P-5 和 P-9 获得 OPRK1 基因的不同基因型, 并将二者进行最小二乘均值的多重比较, 以确定 OPRK1 基因 SNP 与梅花鹿昼间行为的相关性。结果表明, 引物 P-5 各基因型间与修饰行为两两差异显著($P < 0.05$), 其它行为 EE 型和 FF 型差异显著($P < 0.05$), 而另外 5 种行为性状在各个基因型中没有检测到显著差异; 引物 P-9 各基因型间卧息行为 GG 型和 GH 型个体行为之间存在极显著差异($P < 0.01$), 观望行为 GG 型、HH 型和 GH 型 3 种基因型个体两两之间差异显著($P < 0.05$), 修饰行为 HH 型和另外两者差异显著($P < 0.05$)。研究表明, OPRK1 基因多态性和梅花鹿昼间行为性状存在一定相关。

关键词: 梅花鹿; OPRK1; SNP; 行为性状

The association of OPRK1 gene SNP with sika deer (*Cervus nippon*) diurnal behavior traits

LÜ Shenjin^{1,2}, YANG Yan³, WEI Wanhong^{2,*}

1 College of Life Sciences, Linyi University, Linyi, Shandong 276005, China

2 College of Bioscience and Biotechnology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009, China

3 Linyi Academy of Agricultural Sciences, Linyi, Shandong 276012, China

Abstract: Genetics can help us understand why identical circumstances can elicit different behavioral responses among individuals. It is widely accepted that Kappa Opioid Receptor 1 (OPRK1) gene is involved in modulating behavioral performance in response to environmental conditions. The OPRK1 gene has been intensively studied; however, no studies have addressed the effect of OPRK1 gene polymorphisms on behavioral traits in sika deer (*Cervus nippon*). This study investigated the association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) in the OPRK1 gene and behavior traits of sika deer in the Ping-Shan-Tang farm (25 deer) and Zhu-Yu-Wan Park (23 deer), Yangzhou city, Jiangsu province, China. The deer on Ping-Shan-Tang farm were housed in four 20 × 10 m paddocks with shelters of mantle. In Zhu-Yu-Wan Park, the deer were roamed in a fenced paddock of grasses, shrubs and trees (100 m × 50 m). All deer were marked by ear-notches and collar-tags for easy identification and were aged between 3 and 7 years. The study was conducted in two phases: from July to December, 2006, and again from Feb to June, 2007, during all weather conditions. Focal-animal sampling and all-occurrence recording was used to determine the period of time spent on each behavior. Eight hours were spent collecting data for per day, including weekdays and weekends. Four days were used to observe every week. The

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31001027, 31272480)

收稿日期: 2011-09-29; 修订日期: 2012-10-16

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: whwei@yzu.edu.cn

observations were conducted at the same times each day from 8:30 a. m. to 4:30 p. m. and subjects were sampled in a different order each day (using random numbers). After all observations, blood samples (10 mL) were collected from the jugular vein using vacuum tubes with acid citrate dextrose anticoagulant and then stored at -20°C . Genomic DNA was extracted from whole blood using a standard phenol/chloroform protocol, dissolved in sterile water at a concentration of $100\text{ ng}/\mu\text{L}$ and then kept at -20°C until use. PCR amplification and SSCP analysis of the OPRK1 gene were performed using nine pairs of primers. Two pairs of primers (P-5 and P-9) amplified polymorphic fragments. Three genotypes were identified by SSCP for each of the fragments amplified by the primer pairs. The least-square analysis and post-hoc multiple comparison were employed to detect the relationship between the primer of P-5 and P-9 genotypes and the behavior traits using SPSS 14.0 software. The results showed that the EE, EF and FF genotype of the P-5 primer had significantly difference on grooming behavior, and significant difference was found between EE and FF genotype with other behavior ($P<0.05$). But for the other five behaviors, no significant difference was detected. Highly significant differences in relaxing behavior were produced between the GG and GH genotypes of the primer P-9 fragment ($P<0.01$). There was a significant difference among the GG, GH and HH genotypes with respect to observing behavior ($P<0.05$). The significant difference results were also found on the grooming behavior between HH and the other two genotypes ($P<0.05$). We conclude that polymorphisms in the OPRK1 gene may be involved in some aspects of behavioral traits in sika deer.

Key Words: Sika deer; OPRK1; SNP; Behavior traits

随着分子生物学的发展,近年来许多学者将动物的数量性状与基因进行关联性分析,以筛选候选基因^[1]。动物的行为也受到基因的控制,将动物行为与基因型进行相关性分析,不但可以了解行为表达的机制,也可以更为深刻的了解如何操作与控制动物行为,以更好的为人类和改善动物福利服务^[2],而有关该方面的研究正处于探索之中。李剑虹等曾利用 SNP 方法对大白、长白和杜洛克猪的 Kappa 阿片 (OPRK1) 受体进行分析,结果表明 Kappa 阿片受体基因 SNP 对母猪静止站立行为性状存在一定影响^[3]。对嗜酒 (alcohol-preferring) 和厌酒小鼠 (alcohol-avoiding) 的 OPRK1 基因多态性分布研究结果表明,在 BALB/cJ 厌酒小鼠 OPRK1 启动子区发现突变序列,而另外 C57BL/6ByJ 和 CXBI 两种小鼠没有发现多态位点,但其脑中 mRNA 表达水平不同^[4]。

应激行为能引起机体分泌多种内源性阿片肽^[5]。目前发现并克隆了 3 种阿片受体,分别为 Kappa 受体^[6]、Mu 受体^[7]和 Delta 受体^[8]。Kappa 阿片受体又称作 OPRK1 (Kappa Opioid Receptor 1) 基因,属于 G 蛋白偶联受体家族成员。研究表明 OPRK1 阿片受体主要分布在与痛觉、情绪、行为等有关的中枢神经系统区域,对动物的神经反应和行为表现有重要影响^[9-10]。内源性阿片肽与不同的受体结合,参与表达性格、情绪、种属生存行为等一些基本反应,也对伤害性刺激、应激、奖赏等有不同的反应^[7]。梅花鹿 (*Cervus nippon*) 属于哺乳纲 (Mammalia)、偶蹄目 (Artiodactyla)、鹿科 (Cervidae)、花鹿属 (*Cervus*)。我国梅花鹿共 6 个亚种:东北亚种 (*C. n. hortulorum*)、华南亚种 (*C. n. kopschi*)、四川亚种 (*C. n. sichuanicus*)、台湾亚种 (*C. n. taiouanus*)、山西亚种 (*C. n. grassianus*) 和华北亚种 (*C. n. mandarinus*)^[11]。目前,野生梅花鹿仅存 3 个亚种,都被列为国家 I 级保护动物^[12]。人工饲养梅花鹿品系基本是在东北亚种的基础上选育而成^[13]。近年来,国内对圈养梅花鹿报道主要集中在饲养繁殖、疾病防治、鹿茸生产等方面,对梅花鹿的行为学、遗传学研究也有报道^[14-16],而 OPRK1 基因多态性和梅花鹿昼间行为性状是否相关尚无报道。因此,本研究以 PCR-SSCP 技术为手段,分析了 OPRK1 基因在梅花鹿中的单核苷酸多态性,验证基因多态性和动物行为性状是否相关,为进一步研究候选基因在动物行为遗传特性方面提供理论基础,也为与行为性状相关基因的筛选提供途径和方法。

1 材料与方法

1.1 研究材料

本研究梅花鹿来自扬州市动物园和扬州市平山堂养殖场两地 ($119^{\circ}26'E, 32^{\circ}24'N$)。两地均处于亚热

带南部季风气候区,四季分明,年平均气温 15.4 °C,最冷月 1 月的平均气温 1.8 °C,最热月 7 月的平均气温为 27.5 °C。日照 2 113 h,无霜期 238 d,年降水量 1 020 mm。平山堂养殖场位于扬州市瘦西湖景区,该场占地面积约 1 500 m²,共 4 个半敞开式圈舍,每个圈舍面积 20 m×10 m,共观测记录 25 只成年梅花鹿(♂ 15 只,♀ 10 只)。江苏省扬州市动物园位于扬州市郊区湾头镇,该园占地面积约 52.6 hm²,梅花鹿个体散放公园食草区内(100 m×50 m),共观测记录 23 只(♂ 13 只,♀ 10 只)。两地梅花鹿饲喂时间均为每天 8:00 和 15:00 左右各 1 次。食物主要为白三叶(*Trifolium repens*)、紫花苜蓿(*Medicago sativa*)和其它青草,补充精料为配合饲料,饲料主成分为玉米、豆粕、麸皮、食盐及多种维生素、矿物质、微量元素等。

1.2 研究方法

1.2.1 行为性状观察

首先对两地梅花鹿个体进行辨识,利用耳标、角的形状、身体上的斑痕及个体大小等体型外貌特征区分梅花鹿个体。

在正式观察之前进行为期 7 d 的预观察,确定动物的行为格局和记录方法,并对观察者进行培训。正式观察时间为 2006 年 7—12 月及 2007 年 2—6 月,每周观察 4 d。采用目标动物取样法每天 8:30—16:30 在距离动物 5—15 m 处对动物的行为进行观察。观察时 1 人观察口述,1 人记录,每 2 h 轮换 1 次。根据梅花鹿生理特点以及前人研究结果^[17],将梅花鹿行为参数定义如下:

取食 梅花鹿的上下唇协同动作,对青草、饲料等食物进行切割、咀嚼、吞咽的过程,若梅花鹿在移动过程中有上述动作发生,仍将其视为取食行为;

反刍 梅花鹿在非睡眠时,头部高于背中线上,对食物进行逆呕、咀嚼等过程,反刍分站立反刍和卧倒反刍;

卧息 梅花鹿的卧息包括休息、浅睡和睡眠,卧下时,前肢先跪下,后肢下蹲,接着腹部着地,最后臀部触地,卧姿分为左侧卧和右侧卧;

观望 梅花鹿头昂起,耳朵朝有异响或异样方向转动,四肢静止不动,情况危急时则尾巴翘起,用力踏地;

移动 梅花鹿从一地点到另外一地点的动作,移动包括走动和跑动,以走动为主;

修饰 梅花鹿为求得舒适而进行的自洁行为及排除蚊蝇干扰或对身体某些部位进行舔舐、轻咬、蹭墙、搔扒等行为;

其它 梅花鹿的饮水、排尿、排粪、嬉戏、鸣叫等。观测过程中,如果由于天气等原因不能观测,则在 1 周内补充观测。

由于动物园梅花鹿受游客影响较大,因此周末以及国家法定节假日期间单独观测统计^[18]。观测结束后,对行为记录数据进行整理,录入计算机进行分析。

1.2.2 血样采集

梅花鹿麻醉后颈静脉采血 5—10 mL,置于 15 mL 指型管中(内置 1—2.5 mL 裂解液),充分摇动至血细胞完全破裂,溶液呈粘稠状为止。两地共采集样本 48 份,其中,扬州市平山堂养殖场共采集血样 25 份(♂ 15 只,♀ 10 只);动物园采集样本 23 份(♂ 13 只,♀ 10 只),并做好详细的个体信息登记。

1.2.3 引物信息

应用 Primer 5.0 软件,根据 GenBank 中收录有关 OPRK1 基因序列 NC_007312、NW_00149302 设计 9 对引物(表 1)。各引物均由上海生工科技有限公司合成。引物稀释过程分 2 步进行:首先稀释为正常扩增的 10 倍浓度,−20 °C 长期保存;使用时再稀释 10 倍,作为正常使用的引物浓度。

1.2.4 最佳 PCR 扩增体系

PCR 反应体系为 20 μL,其中 0.20 μL (5U/μL) Taq 酶, 2.20 μL 10×buffer(含 Mg²⁺), 1.20 μL 浓度为 1 μmol/L 引物, 1.20 μL 浓度为 2.0 mmol/L dNTPs, 1.40 μL 浓度为 50 ng/L 基因组 DNA,最后用去离子灭菌水补齐至 20 μL 体系。PCR 反应程序如下: 94 °C 预变性 5 min, 然后 94 °C 变性 45 s, 54—56 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 30 s,共 33 个循环。72 °C 延伸 5 min,产物 4 °C 保存。

表 1 梅花鹿 OPRK1 基因引物信息

Table 1 Information of primers for sika deer with OPRK1 gene

位点 Locus	引物 Primer sequences(5' to 3')	大小 Size(bp)	退火温度 Annealing temperature/℃	来源 Resource
P-1	TCTGACCCTGCTTGTGC;TTCGTCGTCTGCTGGAC	237	53.7	小鼠 <i>Mus musculus</i>
P-2	ACCACCAGCACGAGCCT;CCTACAGTCCCAGATGACG	204	54.8	牛 <i>Bos taurus</i>
P-3	TTTGTATTCTCCCGCTAT;TTCCTGCCTCCTTGTG	350	49.8	小鼠 <i>Mus musculus</i>
P-4	TTTGATGGCTTCGTTC;TCATGTTCGGCTCTTT	261	50.0	牛 <i>Bos taurus</i>
P-5	CAGCCACCCTTACCTT;TCACCAGCATCTTCACC	196	51.2	牛 <i>Bos taurus</i>
P-6	CAGCCACATCTTCTTATC;CAGCGTCAGTGTCTTTT	210	47.7	小鼠 <i>Mus musculus</i>
P-7	TGCCCACCAAACCCACG;AGGTGCGCCTGTCTCTCGTC	270	61.1	牛 <i>Bos taurus</i>
P-8	GGATGACCGGGGAGATGTG;GCTCGGACGCTGCCAAAG	271	61.3	牛 <i>Bos taurus</i>
P-9	ACGGCGATGTAACGG;ATCTTCAACCTGGCTTT	188	50.5	牛 <i>Bos taurus</i>

1.3 分析方法

建立模型:

$$y_{ij} = u + I_i + e_{ij}$$

式中, y_{ij} 为行为性状观测值; u 为群体均值; I_i 为第 i 基因型效应值; e_{ij} 为随机误差。应用 SPSS 软件一般线性模型,对不同基因型与行为性状的关系进行比较分析。所有动物行为性状以 8 h 统计记录,以行为持续时间 ($M \pm S. E.$) 为观测变量,以不同基因型作为另一变量,输入 SPSS 软件分析系统,即可进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 基因组 DNA 提取及 PCR 扩增产物检测

从梅花鹿血样中提取的基因组 DNA 溶于 300 μ L TE 中,室温溶解 24 h 后用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测。结果表明提取的基因组没有降解,条带较均匀一致,所含 DNA 符合生物学试验要求(图 1)。在设计的 9 对引物中,只有位于第二内含子引物 P-5 和第三外显子的 P-9 引物获得扩增产物(图 2)。对引物 P-5 进行 SSCP 分析,结果表现 3 种基因型,分别命名为 EE、EF、FF(图 3)。对引物 P-9 进行 SSCP 分析,结果表现 3 种基因型,分别命名为 GG、GH、HH(图 4)。

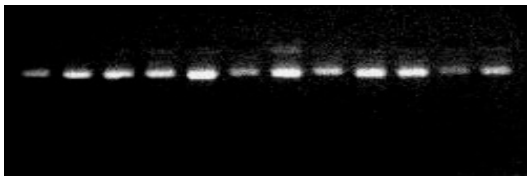


图 1 梅花鹿基因组 DNA

Fig.1 The genome DNA of sika deer

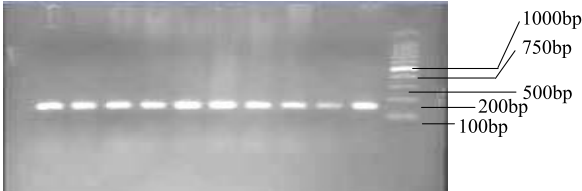


图 2 引物 P-9 PCR 产物检测结果

Fig.2 Result of agrose gel electrophoresis for PCR product of primer P-9

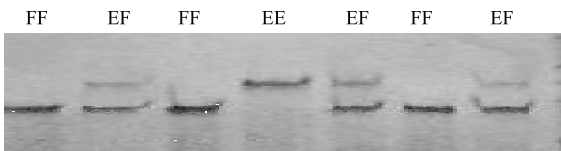


图 3 引物 P-5 多态性检测结果

Fig.3 Result of polymorphism amplified by primer P-5

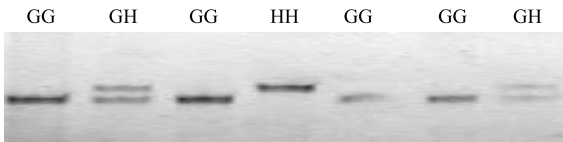


图 4 引物 P-9 多态性检测结果

Fig.4 Result of polymorphism amplified by primer P-9

2.2 OPRK1 基因测序结果及同源性分析

将引物 P-5 所得 EE、FF 2 个基因型,引物 P-9 所得 GG、HH 两个基因型的克隆产物直接进行正反测序。

测序结果表明,P-5 引物获得序列与牛源性达到 97%,P-9 引物与牛的同源性达到 99%,因此可确定所获基因序列为梅花鹿序列。通过测序图比对发现引物 P-5 扩增片段在 DNA 序列 72bp 处发生 G→A 突变(图 5),引物 P-9 扩增产物在 132bp 处发生 T→A 的突变(图 6)。但氨基酸比较表明这两处突变均为沉默突变。

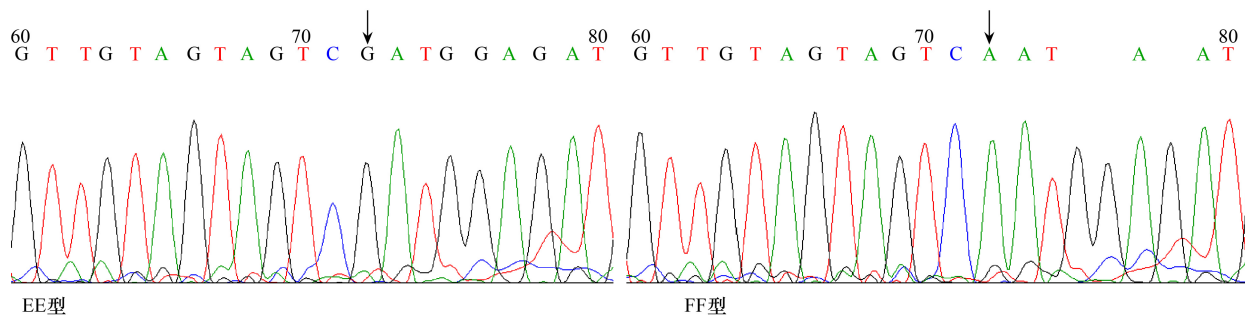


图 5 OPRK1 基因引物 P-5 扩增片段 2 个基因型序列比对

Fig. 5 The sequence alignment of two gene types amplified by primer P-5

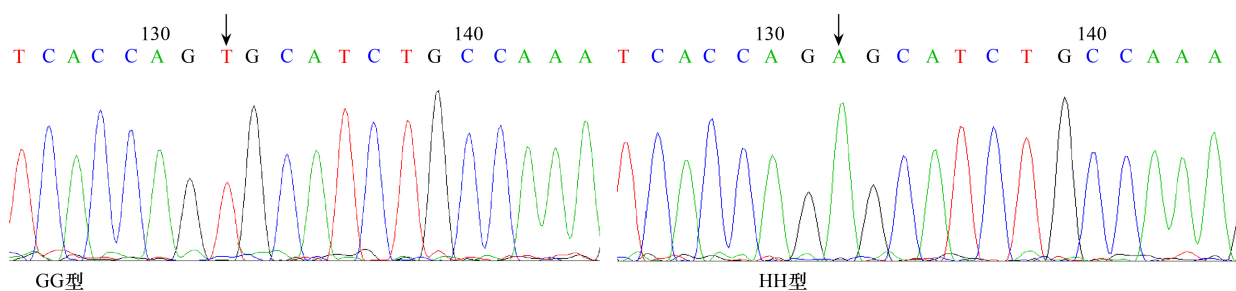


图 6 OPRK1 基因引物 P-9 扩增片段的基因型序列比对

Fig. 6 The sequence alignment of gene types amplified by primer P-9

2.3 OPRK1 基因的遗传学分析

在梅花鹿两个群体中,对 OPRK1 引物 P-5 和 P-9 的基因频率和基因型频率进行检测分析(表 2),在 OPRK1 基因引物 P-5 扩增结果中检测 3 种基因型,其中 EE 型基因型频率最高,而 EF 和 FF 型基因型频率相等,适合性 χ^2 检验结果表明梅花鹿在该位点处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态($P < 0.01$)。在 OPRK1 基因引物 P-9 扩增结果中也检测到 3 种基因型,其中纯合子 HH 的基因型频率最高,GG 基因型频率最低,适合性 χ^2 检验结果表明,梅花鹿在该位点也处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态($P < 0.01$)。

表 2 OPRK1 基因各引物等位基因频率和基因型频率及 Hardy-Weinberg 平衡检验

Table 2 Alleles and genotype frequency and equilibrium test of Hardy-Weinberg for OPRK1 gene

引物 Primer	检测 Detect	基因 Allele	基因型 Type of gene			χ^2 值 χ^2 value
P-5	个体数	E	F	EE	FF	EF
	数值	0.719	0.281	0.625	0.188	0.188
P-9	个体数	G	H	GG	HH	GH
	数值	0.198	0.802	0.104	0.708	0.188

$$df=2, \chi^2_{0.05(2)} = 5.99, \chi^2_{0.01(2)} = 9.21$$

2.4 OPRK1 基因多态性与行为性状的关系

对 OPRK1 基因 SNP 位点基因型与梅花鹿各行为性状进行最小二乘分析,P-5 引物基因型对梅花鹿修饰

行为有极显著影响($P<0.01$),对其余各行为无显著影响。引物 P-9 各基因型对观望行为有极显著影响($P<0.01$),对卧息和修饰行为有显著影响($P<0.05$),对其余行为性状均无显著影响。

进一步对不同基因型各行为性状的最小二乘均值进行多重比较(表 3)。引物 P-5 各基因型间修饰行为 EE 型、FF 型和 EF 型之间两两差异显著($P<0.05$),其中 FF 型行为持续时间最长为 15 min 左右,EE 型行为持续时间最短为 3 min 左右。在所观测的 7 种行为性状中,其它行为 EE 型和 FF 型差异显著($P<0.05$);而另外 5 种行为性状在各个基因型中没有检测到显著差异。引物 P-9 各基因型间卧息行为 GG 型比 GH 型个体行为持续时间平均高近 90 min,且两者之间差异显著;观望行为 GG 型、HH 型和 GH 型 3 种基因型个体的行为持续时间依次升高,且 GH 型比 GG 型高 4 倍,3 种基因型之间两两差异显著($P<0.05$),但 GH 和 GG 两种基因型之间存在极显著差异($P<0.01$);修饰行为 HH 型比 GG 型和 GH 型个体行为持续时间都高 4 min 多,且 HH 型和另外两者存在显著差异($P<0.05$)。

表 3 OPRK1 基因不同基因型在梅花鹿中各行为性状比较(分钟)

Table 3 Comparison for behavior traits of each genotype of OPRK1 in sika deer (min)

行为性状 Behavior traits	P-5 引物基因型 (Genotype of primer P-5)			P-9 引物基因型 (Genotype of primer P-9)		
	EE	FF	EF	GG	HH	GH
取食 Eating	243.930±11.208	231.454±14.568	236.898±14.928	233.520±33.209	243.295±9.452	231.903±15.985
反刍 Ruminating	35.736±3.867	41.294±11.279	42.603±1.974	36.198±6.630	39.746±4.229	31.757±4.411
卧息 Relaxing	118.085±12.75	113.984±18.118	140.023±18.520	172.984±35.924a	124.000±10.832	83.073±11.495b
观望 Observing	52.536±5.927	53.181±10.977	31.423±3.327	14.577±2.735a	40.317±2.639b	99.388±7.469c
移动 Moving	15.356±1.697	20.152±4.788	17.288±4.649	10.970±3.211	16.845±1.958	17.896±4.057
修饰 Grooming	3.687±0.559a	15.046±2.292b*	7.870±1.106b	3.718±0.442b	7.915±1.077a	3.239±1.402b
其它 Others	10.637±1.610a	4.888±1.366b	3.899±1.300	8.036±2.593	7.852±1.224	12.743±3.350

同一行标有不同上标 a 与 b, b 与 b*, b 与 c 之间表示差异显著($P<0.05$), a 与 c 表示差异极显著($P<0.01$)

3 讨论

3.1 群体平衡的遗传学分析

本研究在 OPRK1 基因引物 P-5 及 P-9 扩增结果中都检测到 3 种基因型,且梅花鹿在这两个位点均处于 Hardy-Weinberg 不平衡状态。群体不平衡可能是由于基因的遗传漂变或选择、选配等因素所致^[19]。遗传漂变即在有限群体中由于取样误差造成了基因频率的随机波动,其产生因素有始祖效应、小群体效应及瓶颈效应。而群体育种规模较小,导致群内个体间不能随机交配是目前养殖业普遍存在的现象,引种、杂交、分群、近交等都会引起基因遗传漂变现象的发生。群体越小,等位基因频率改变的几率越大,低频率基因向下漂变的可能性就越大^[20]。本研究中样本量较小,这是造成检测群体处于不平衡状态的重要原因。结论也可能说明两地梅花鹿群体在饲养管理过程中该位点一直受到选择的影响;同时分析可知,长期的群体内闭锁繁育也可导致群体处于不平衡状态。所以要保持现有梅花鹿群体基因频率不变,保存现有基因资源,对梅花鹿群体选育时首先要考虑防止遗传漂变现象的发生;同时要考虑选择、选配对群体基因频率的影响,结合当前行业发展趋势及实际生产要求,在群体有足够大规模时,进行杂交、近交及人工选配。

3.2 OPRK1 基因多态性与行为性状的关联分析

对 OPRK1 基因引物 P-5 和 P-9 不同基因型各行为性状的最小二乘均值进行多重比较可知,引物 P-5 各基因型间修饰行为差异显著,在所观测的 7 种行为性状中,其它行为 EE 型和 FF 型差异显著。P-9 引物获得基因型在两地梅花鹿行为性状分析中,卧息行为之间差异极显著;观望行为的 3 种基因型个体的行为持续时间依次升高,且 3 种基因型之间两两差异显著($P<0.05$);修饰行为也存在显著差异($P<0.05$)。李剑虹等曾利用 SNP 方法对大白、长白和杜洛克猪的 Kappa 阿片 (OPRK1) 受体进行分析,结果表明 Kappa 阿片受体基因 SNP 对母猪静止站立行为性状存在一定影响^[3]。有研究报道 Kappa 阿片受体基因敲除的小鼠对激动剂的镇痛作用消失,运动减少和烦躁不安的作用也显著降低^[21]。Kappa 阿片受体也参与脑内系统神经回路的活动,

系统神经回路上的神经递质(包括多巴胺和阿片肽)通过调节特定的靶神经元群的活动,从而作为一系列行为如学习、记忆、睡眠、摄食、饮水、性行为、攻击等行为和情绪变化的物质基础^[22]。同样在小鼠上已经发现了 Kappa 阿片受体基因的多态性^[4]。本研究表明,OPRK1 基因引物 P-5 也检测到基因多态性,且不同基因型之间对梅花鹿的修饰行为产生一定作用,P-9 位点扩增产物分析表明,其不同基因型对卧息、观望行为也产生显著影响。同样以 BDNF 为目的基因对梅花鹿日常行为性状进行研究的结果表明,不同基因型之间对梅花鹿的卧息及运动行为有显著差异^[23],因此,初步认为本研究结果和文中所述有相似之处。

动物行为是一个复杂的生物现象,其行为性状是长期的自然选择和人工选择的产物,本研究选择 OPRK1 作为影响梅花鹿行为性状的候选基因,采用 SNP 方法分析该基因部分外显子序列单核苷酸位点突变和行为性状的关系,结论表明 OPRK1 基因可能和梅花鹿的卧息与观望行为存在统计学意义,初步认为 GG 型可能和动物卧息行为相关,GH 可能和动物的观望行为有关。李剑虹等把猪长时间静止站立确定为是一种动物“规癖行为”^[3]。圈养条件下,动物长时间卧息或者站立观望可以认为是动物的一种“规癖”或者“呆板”行为。有学者认为,规癖行为的出现是由于对生产性状的过度选育而造成的^[24-25],也有学者研究发现规癖是由于动物在圈养条件下,其生存环境单调狭小造成的^[26]。Grandin 在 20 世纪 70 年代没有发现牛卷舌和其它异常行为,而在 1996 年发现 Holstein 品种表现为卷舌规癖,这可能是长期定向选择的结果,对高产母猪(产仔数高)的研究也发现其表现较多的行为规癖^[27]。对动物园动物研究表明,动物园中驯养的灵长类动物因饲养环境单调狭小带来的紧张对其健康不利^[28],导致动物出现无目的踱步、咬栅栏、摇摆身体、空嚼等呆板行为。有报道指出对小鼠进行应激刺激后可导致 OPRK1 基因的 mRNA 差异表达^[29]。梅花鹿圈养与外界干扰也是一种应激刺激,从而导致 OPRK1 基因外显子表现多态性,并且这种多态性与观望行为存在一定相关。另有研究表明,小鼠恐惧及焦虑行为同样可影响 Kappa 阿片受体在脑杏仁核的表达状况^[30]。梅花鹿恐惧与焦虑的表现之一就是增加观望时间,这种观望行为的增加,也是其自身进化和环境适应相互作用的结果,表现在分子水平上,就有可能导致某些行为相关基因的突变,从而在 OPRK1 基因检测获得多态位点。

因此,在梅花鹿驯化饲养过程中,由于选择选配或者饲养环境单调狭小或外界干扰刺激过多,可能增加其长时间站立观望行为。在适应环境或干扰后又导致其卧息行为显著升高,根据本研究对 OPRK1 基因不同基因型与行为性状的相关分析结果,推测 OPRK1 基因可能在育种或者饲养过程中受到一定的选择压力,影响其行为规癖发育的倾向性,从而某种程度上可能形成“规癖”或者“呆板”行为。

致谢:扬州茱萸湾动物园及平山堂养殖场提供实验动物。刘宇庆、杨林、鲍灵铭、刘强国、李丹晶、叶屹萍在动物行为观测中提供帮助,特此致谢。

References:

- [1] Robinson G E, Fernald R D, Clayton D F. Genes and social behavior. *Science*, 2008, 322(5903): 896-900.
- [2] Donaldson Z R, Young L J. Oxytocin, vasopressin, and the neurogenetics of sociality. *Science*, 2008, 322(2903): 900-904.
- [3] Li J H, Cui W G, Wang Y, Bao J. Single nucleotide polymorphism in exon partial sequence of sow kappa opioid receptor gene. *Acta Genetica Sinica*, 2004, 31(12): 1369-1374.
- [4] Saito M, Ehringer M A, Toth R, Oros M, Szakall I, Sikela J M, Vadasz C. Variants of K-opioid receptor gene and mRNA in alcohol-preferring and alcohol-avoiding mice. *Alcohol*, 2003, 29(1): 39-49.
- [5] Gilbert P E, Martin W R. The effects of morphine and nalorphine-like drugs in the nondependent, morphine-dependent and cyclazocine-dependent chronic spinal dog. *The Journal of Pharmacology Experimental Therapeutics*, 1976, 198(1): 66-82.
- [6] Evans C J, Keith D E Jr, Morrison H, Magendzo K, Edwards R H. Cloning of a delta opioid receptor by functional expression. *Science*, 1992, 258(5090): 1952-1955.
- [7] Meng A M, Liu J S. The progress on the opioid receptor function. *Chinese Journal of Neuroimmunology and Neurology*, 2002, 9(3): 180-182.
- [8] Chen Y, Mestek A, Liu J, Hurley J A, Yu L. Molecular cloning and functional expression of a mu-opioid receptor from rat brain. *Molecular Pharmacology*, 1993, 44(1): 8-12.
- [9] Mansour A, Fox C A, Burke S, Meng F, Thompson R C, Akil H, Watson S J. Mu, delta, and kappa opioid receptor mRNA expression in the rat

- CNS: an in situ hybridization study. The Journal of Comparative Neurology, 1994, 350(3): 412-438.
- [10] Wittert G, Hope P, Pyle D. Tissue distribution of opioid receptor gene expression in the rat. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1996, 218(3): 877-881.
- [11] Guo Y S, Zheng H Z. On the geological distribution, taxonomic status of species and evolutionary history of Sika Deer in China. Acta Theriologica Sinica, 2000, 20(3): 168-179.
- [12] Xu H F, Lu H J, Sheng H L, Gu C M. Status and current distribution of South China Sika Deer. Chinese Biodiversity, 1998, 6(2): 87-91.
- [13] Sheng H L, Cao K Q, Li W J. Cervus Nippon, the Deer in China. Shanghai: East China Normal University Press, 1992: 8-18.
- [14] Liu H, Shi H Y, Hu J C. Daily activity rhythm and time budget of Sichuan Sika Deer (*Cervus nippon sichuanicus*) in spring. Acta Theriologica Sinica, 2004, 24(14): 282-285.
- [15] Guo Y S, Zheng H Z. Life table and the rate of natural increase in Sichuan Sika Deer. Acta Theriologica Sinica, 2005, 25(2): 150-155.
- [16] Lu X P, Wei F W, Li M, Yang G, Liu H. The relationship between Chinese Sika Deer (*Cervus Nippon*) genetic diversity and Japan deer. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(3): 292-298.
- [17] Whittington C J, Chamove A S. Effects of visual cover on farmed red deer behaviour. Applied Animal Behaviour Science, 1995, 45(3/4): 309-314.
- [18] Lu S J, Todd P A, Yang Y, Liu Y Q, Fan H M, Wei W H. The effects of visitor density on Sika Deer (*Cervus nippon*) behaviour in Zhu-Yu-Wan Park, China. Animal Welfare, 2010, 19(1): 61-65.
- [19] Thévenon S, Thuy L T, Ly L V, Maudet F, Bonnet A, Jarne P, Maillard J C. Microsatellite analysis of genetic diversity of the vietnamese Sika deer (*Cervus nippon pseudaxis*). Journal of Heredity, 2004, 95(1): 11-18.
- [20] Tamate H B, Okada A, Minami M, Ohnishi N, Higuchi H, Takatsuki S. Genetic variations revealed by microsatellite markers in a small population of the Sika Deer (*Cervus nippon*) on Kinkazan Island, Northern Japan. Zoological Science, 2000, 17(1): 47-53.
- [21] Wang J N, Zhang D C. Research on the opioid receptor gene knock out mice. Chinese Clinical Neuroscience, 2003, 11(2): 185-187.
- [22] Zhang R M, Feng Z T, Zhang L Q. Clinical and Treatment of Opiates Such As Heroin Dependence. Taiyuan: Shanxi Science and Technology Press, 1999: 28-46.
- [23] Lu S J, Yang Y, Wei W H. The association of BDNF gene polymorphisms with normal behavior traits in house-hold Sika Deer (*Cervus nippon*). Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(17): 4881-4888.
- [24] Wright S. The relationship of livestock breeding to theories of evolution. Journal of Animal Science, 1978, 46(5): 1192-1200.
- [25] Belyaev D K. Destabilizing selection as a factor in domestication. Journal of Heredity, 1998, 70(5): 301-308.
- [26] Grandin T. Genetics and the Behavior of Domestic Animals. San Diego: Academy Press, 1997: 319-343.
- [27] Von Borell E, Hurmik J F. The effect of haloperidol on the performance of stereotyped behavior in sows. Life Sciences, 1991, 49(4): 309-314.
- [28] Carlstead K, Shepherdson D. Effects of environmental enrichment on reproduction. Zoo Biology, 1994, 13(5): 447-458.
- [29] Lucas L R, Dragisic T, Duwaerts C C, Swiatkowski M, Suzuki H. Effects of recovery from immobilization stress on striatal preprodynorphin- and kappa opioid receptor-mRNA levels of the male rat. Physiology and Behavior, 2011, 104(5): 972-980.
- [30] Knoll A T, Muschamp J W, Sullivan S E, Ferguson D, Dietz D M, Meloni E G, Carroll F I, Nestler E J, Konradi C, Carlezon W A Jr. Kappa opioid receptor signaling in the basolateral amygdala regulates conditioned fear and anxiety in rats. Biological Psychiatry, 2011, 70(5): 425-433.

参考文献:

- [3] 李剑虹, 崔卫国, 王宇, 包军. 猪 Kappa 阿片受体基因外显子部分序列单核苷酸多态性分析. 遗传学报, 2004, 31(12): 1369-1374.
- [7] 孟爱民, 刘景生. 阿片受体功能研究进展 (综述). 中国神经免疫学和神经病学杂志, 2002, 9(3): 180-182.
- [11] 郭延蜀, 郑惠珍. 中国梅花鹿地史分布、种和亚种的划分及演化历史. 兽类学报, 2000, 20(3): 168-179.
- [12] 徐宏发, 陆厚基, 盛和林, 顾长明. 华南梅花鹿的分布和现状. 生物多样性, 1998, 6(2): 87-91.
- [13] 盛和林, 曹克清, 李文军. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 1992: 8-18.
- [14] 刘昊, 石红艳, 胡锦鑫. 四川梅花鹿春季昼夜活动节律与时间分配. 兽类学报, 2004, 24(14): 282-285.
- [15] 郭延蜀, 郑惠珍. 四川梅花鹿生命表和种群增长率的研究. 兽类学报, 2005, 25(2): 150-155.
- [16] 吕晓平, 魏辅文, 李明, 杨光, 刘海. 中国梅花鹿 (*Cervus nippon*) 遗传多样性及与日本梅花鹿间的系统关系. 科学通报, 2006, 51(3): 292-298.
- [21] 王佳楠, 张德昌. 阿片受体基因敲除小鼠的研究. 中国临床神经科学, 2003, 11(2): 185-187.
- [23] 吕慎金, 杨燕, 魏万红. 圈养梅花鹿 BDNF 基因多态性与日常行为性状的关联分析. 生态学报, 2011, 31(17): 4881-4888.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.33, No.1 January, 2013 (Semimonthly)

CONTENTS

Frontiers and Comprehensive Review

- Integrating ecological civilization into social-economic development WANG Rusong (1)
- The effect of land cover pattern on hillslope soil and water loss in the arid and semi-arid region: a review
..... GAO Guangyao, FU Bojie, LÜ Yihe, et al (12)
- The status and trend on the urban tree canopy research JIA Baoquan, WANG Cheng, QIU Erfa, et al (23)
- Bioindicators and Biomonitoring in Environmental Quality Assessment
..... Bernd Markert, WANG Mei'e, Simone Wünschmann, et al (33)
- Electron transfer capacities of dissolved organic matter and its ecological effects ... BI Ran, ZHOU Shungui, YUAN Tian, et al (45)

Autecology & Fundamentals

- Antioxidative responses of *Abies fabri* seedlings to litter addition and temperature elevation
..... YANG Yang, YANG Yan, WANG Genxu, et al (53)
- Effects of seed soaking with different concentrations of 5-aminolevulinic acid on the germination of tomato (*Solanum lycopersicum*)
seeds under NaCl stress ZHAO Yanyan, HU Xiaohui, ZOU Zhirong, et al (62)
- Influence of magnesium deficiency on chlorophyll fluorescence characteristic in leaves of Newhall navel orange
..... LING Lili, PENG Liangzhi, WANG Nanqi, et al (71)
- Leaf traits of 66 herbaceous species in Songnen grassland in Northeast China
..... SONG Yantao, ZHOU Daowei, WANG Ping, et al (79)
- Effects of nectar secondary compounds on pollination of co-flowering species in a natural community
..... ZHAO Guangyin, LI Jianjun, GAO Jie (89)
- The continuous life-table of *Leptocybe invasa* ZHU Fangli, QIU Baoli, REN Shunxiang (97)

Population, Community and Ecosystem

- Dominant climatic factors of *Quercus mongolica* geographical distribution and their thresholds
..... YIN Xiaojie, ZHOU Guangsheng, SUI Xinghua, et al (103)
- Fruit diet, Selectivity and Seed dispersal of Hatinh langur (*Trachypithecus francoisi hatinhensis*)
..... Nguyen Haiha, BAI Bing, LI Ning, et al (110)
- The distribution of living coccolithophore in East China Sea in autumn, 2010 JIN Shaofei, SUN Jun, LIU Zhiliang (120)
- The association of OPRK1 gene SNP with sika deer (*Cervus nippon*) diurnal behavior traits
..... LÜ Shenjin, YANG Yan, WEI Wanhong (132)
- Preliminary study on bird composition and diversity in Poyang Lake watershed during non-breeding period
..... SHAO Mingqin, ZENG Binbin, XU Xianzhu, et al (140)
- Coexistence mechanism of two species passerines in man-made nest boxes LI Le, ZHANG Lei, YIN Jiangxia, et al (150)
- Dynamics on soil faunal community during the decomposition of mixed eucalypt and alder litters
..... LI Yanhong, YANG Wanqin, LUO Chengde, et al (159)
- RS/GIS-based integrated evaluation of the ecosystem services of the Three Gorges Reservoir area (Chongqing section)
..... LI Yuechen, LIU Chunxia, MIN Jie, et al (168)

Landscape, Regional and Global Ecology

- The distribution of soil organic carbon as affected by landforms in a small watershed of gully region of the Loess Plateau
..... LI Linhai, GAO Erhu, MENG Meng, et al (179)
- Effects of coastal geographical characteristics on the abundance of submerged aquatic vegetation
..... WU Mingli, LI Xuyong, CHEN Nianlai (188)
- Analysis of soil physical properties under different vegetation types in the alluvial fan area of Manas River watershed
..... CAO Guodong, CHEN Jiehua, XIA Jun, et al (195)

Resource and Industrial Ecology

- Effects of farming on wetland soil seed banks in the Sanjing Plain and wetland restoration potential
..... WANG Guodong, Beth A Middleton, LÜ Xianguo, et al (205)

Effects of the microhabitats on the seedling emergence during the flooding disturbance	AN Hongyan, XU Hailiang, YE Mao, et al (214)
Analysis on the limiting factors to further improve yield of summer maize in Heilonggang River Valley	XU Lina, TAO Hongbin, HUANG Shoubing, et al (222)
Fungal diversity in rhizosphere soil of medicinal plants in Heilongjiang Province	MU Dongyan, LÜ Guozhong, SUN Xiaodong, et al (229)
Integrated assessment of mariculture ecosystem health in Sanggou Bay	FU Mingzhu, PU Xinming, WANG Zongling, et al (238)
Urban, Rural and Social Ecology	
The integrative assessment on ecological quality status of Luoyuan Bay based on ‘OOAO principle’	WU Haiyan, WU Yaojian, CHEN Keliang, et al (249)
Trophic state of seawater and ecological characteristics of phytoplankton in Sishili Bay	LI Bin, BAI Yanyan, XING Hongyan, et al (260)
Ecological footprint depth and size: new indicators for a 3D model	FANG Kai (267)
Landscape dynamics of medium- and small-sized cities in eastern and western China: a comparative study of pattern and driving forces	QI Yang, WU Jianguo, LI Jianlong, et al (275)
Research Notes	
Prediction of bacterial species richness in the South China Sea slope sediments	LI Tao, WANG Peng (286)
Spatial pattern of seedling regeneration of <i>Ulmus pumila</i> woodland in the Otindag Sandland	LIU Zhen, DONG Zhi, LI Hongli, et al (294)
Impacts on seed germination features of <i>Eupatorium adenophorum</i> from variable light stimulation and traditional dormancy-broken methods	JIANG Yong, LI Yanhong, WANG Wenjie, et al (302)
Opinions	
Discus for classification of plant association	XING Shaohua, YU Mengfan, YANG Lijuan, et al (310)

《生态学报》2013 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的生态学专业性高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,300 页,国内定价 90 元/册,全年定价 2160 元。

国内邮发代号:82-7,国外邮发代号:M670

标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

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 33 卷 第 1 期 (2013 年 1 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 33 No. 1 (January, 2013)

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	王如松	Editor-in-chief	WANG Rusong
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 90.00 元