

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第8期 Vol.32 No.8 2012

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 (SHENTAI XUEBAO)

第32卷 第8期 2012年4月 (半月刊)

目 次

东北地区5种阔叶树苗木对火烧的生理响应.....	王 荣,胡海清(2303)
梭梭木虱发生规律及其影响因子.....	李粉莲,吴雪海,王佩玲,等(2311)
基于遥感降尺度估算中国森林生物量的空间分布.....	刘双娜,周涛,舒阳,等(2320)
流域景观格局与河流水质的多变量相关分析.....	赵鹏,夏北成,秦建桥,等(2331)
内蒙古达赉湖地区赤狐生境选择及生境景观特征分析.....	张洪海,李成涛,窦华山,等(2342)
雅鲁藏布江流域底栖动物多样性及生态评价.....	徐梦珍,王兆印,潘保柱,等(2351)
用组合模型综合比较的方法分析气候变化对朱鹮潜在生境的影响.....	翟天庆,李欣海(2361)
2010年牧区2代草地螟成虫迁飞的虫源分析.....	张丽,张云慧,曾娟,等(2371)
基于细胞色素b基因的中国岩羊不同地理种群遗传差异分析.....	李楠楠,刘振生,王正寰,等(2381)
喀斯特峰丛洼地不同退耕还林还草模式的土壤微生物特性.....	鹿士杨,彭晚霞,宋同清,等(2390)
永定河沿河沙地杨树人工林生态系统呼吸特征.....	方显瑞,张志强,查同刚,等(2400)
基于湿地植物光谱的水体总氮估测.....	刘克,赵文吉,郭逍宇,等(2410)
背瘤丽蚌F型线粒体基因组全序列分析.....	陈玲,汪桂玲,李家乐(2420)
流域“源-汇”景观格局变化及其对磷污染负荷的影响——以天津于桥水库流域为例.....	李崇巍,胡婕,王飒,等(2430)
线虫群落对抚顺煤矸石山周边土壤可溶性盐污染的响应.....	张伟东,吕莹,肖莹,等(2439)
地上竞争对林下红松生物量分配的影响.....	汪金松,范秀华,范娟,等(2447)
湿地松和马尾松人工林土壤甲烷代谢微生物群落的结构特征.....	王芸,郑华,陈法霖,等(2458)
马尾松和杉木树干韧皮部水溶性糖 $\delta^{13}\text{C}$ 值对气象因子的响应.....	卢钰茜,王振兴,郑怀舟,等(2466)
沙坡头人工植被演替过程的土壤呼吸特征.....	高艳红,刘立超,贾荣亮,等(2474)
豫西刺槐能源林的热值动态.....	谭晓红,刘诗琦,马履一,等(2483)
铁皮石斛种子的室内共生萌发.....	吴慧凤,宋希强,刘红霞(2491)
红光与远红光比值对温室切花菊形态指标、叶面积及干物质分配的影响.....	杨再强,张继波,李永秀,等(2498)
扑草净对远志幼苗根系活力及氧化胁迫的影响.....	温银元,郭平毅,尹美强,等(2506)
地表臭氧浓度增加和UV-B辐射增强及其复合处理对大豆光合特性的影响.....	郑有飞,徐卫民,吴荣军,等(2515)
AMF对喀斯特土壤枯落物分解和对宿主植物的养分传递.....	何跃军,钟章成,董鸣(2525)
传统豆酱发酵过程中细菌多样性动态.....	葛菁萍,柴洋洋,陈丽,等(2532)
定位施肥对紫色菜园土磷素状况的影响.....	孙倩倩,王正银,赵欢,等(2539)
基于生态需水保障的农业生态补偿标准.....	庞爱萍,孙涛(2550)
保障粮食安全造成的生态价值损失评估模型及应用.....	芦蔚叶,姜志德,张应龙,等(2561)
专论与综述	
疏浚泥用于滨海湿地生态工程现状及在我国应用潜力.....	黄华梅,高杨,王银霞,等(2571)
问题讨论	
厌氧氨氧化菌群体感应系统研究.....	丁爽,郑平,张萌,等(2581)
基于形态结构特征的洞庭湖湖泊健康评价.....	帅红,李景保,夏北成,等(2588)
研究简报	
黄土高原不同树种枯落叶混合分解效应.....	刘增文,杜良贞,张晓曦,等(2596)
不同经营类型毛竹林土壤活性有机碳的差异.....	马少杰,李正才,王斌,等(2603)
干旱对辣椒光合作用及相关生理特性的影响.....	欧立军,陈波,邹学校(2612)
硅和干旱胁迫对水稻叶片光合特性和矿质养分吸收的影响.....	陈伟,蔡昆争,陈基宁(2620)

期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 326 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 36 * 2012-04



封面图说: 红树林粗大的气生根——红树林是热带、亚热带海湾及河口泥滩上特有的常绿灌木或乔木群落。由于海水环境条件特殊,红树林植物具有一系列特殊的生态和生理特征。其中之一就是气根,红树从根部长出许多指状的气生根露出海滩地面,以便在退潮时甚至潮水淹没时用以通气,故称呼吸根。在中国,红树林主要分布在海南、广西、广东和福建省沿海,它一般分布于高潮线与低潮线之间的潮间带,往往潮差越大、红树的呼吸根就长得越高越粗大。

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

DOI: 10.5846/stxb201111091700

李楠楠, 刘振生, 王正寰, 黄丽红. 基于细胞色素 b 基因的中国岩羊不同地理种群遗传差异分析. 生态学报, 2012, 32(8): 2381-2389.
Li N N, Liu Z S, Wang Z H, Huang L H. Genetic diversity based on cytochrome b gene analysis of different geographic populations of blue sheep in China. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(8): 2381-2389.

基于细胞色素 b 基因的中国岩羊 不同地理种群遗传差异分析

李楠楠¹, 刘振生^{1,2,*}, 王正寰³, 黄丽红⁴

(1. 东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040; 2. 国家林业局野生动物保护学重点实验室, 哈尔滨 150040;
3. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062; 4. 宁夏平罗县动物卫生监督所, 平罗 753400)

摘要:为了揭示中国岩羊不同地理种群的遗传差异,探讨岩羊亚种分化的分子机制,采用中国岩羊不同地理种群的细胞色素 b (Cyt b) 基因的全序列,分析了碱基变异情况、遗传距离以及核苷酸序列差异。用最大似然法和贝叶斯法构建分子系统树并对获得的拓扑结构进行分析。结果发现,西藏亚种与四川亚种 Cyt b 基因平均序列差异为 4.2% (± 0.007),处于偶蹄目亚种的序列差异范围内,支持了目前对岩羊西藏亚种的分类地位。四川亚种内部各地理种群之间的遗传距离(0.033 ± 0.011)与它们分别到西藏种群的遗传距离(0.042 ± 0.007)差异不显著($t=1.824, P=0.084$),说明四川亚种内部各地理种群间已经发生较显著的遗传分化。其中,四川、甘肃和青海种群亲缘关系较近,并与四川亚种内部的其它种群已产生了显著的遗传分化。因此认为四川亚种内部各地理种群的种下分化需要深入研究。

关键词:岩羊; 细胞色素 b; 遗传差异; 种下分化

Genetic diversity based on cytochrome b gene analysis of different geographic populations of blue sheep in China

LI Nannan¹, LIU Zhensheng^{1,2,*}, WANG Zhenghuan³, HUANG Lihong⁴

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

2 Key Laboratory of Conservation Biology, State Forestry Administration, Harbin 150040, China

3 School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China

4 Pingluo Animal Health Inspection Institute of Ningxia, Pingluo 753400, China

Abstract: Blue sheep (*Pseudois nayaur*) are endemic to the Tibetan Plateau and surrounding mountain regions. They are classified as Least Concern in the IUCN Red List of Threatened Species and are included in the list of the second grade nationally protected animals of China. Traditionally, blue sheep in China were classified into two subspecies, the nominate or Tibetan subspecies (*P. n. nayaur*) which is distributed on the Tibetan Plateau, and the Sichuan subspecies (*P. n. szechuanensis*) which has a widespread geographical distribution in the western and north-western areas of China. Different geographically distributed populations of the Sichuan subspecies are also found on several isolated mountains in China. Because of the lack of research data, the genetic validity and geographic characteristics of these two subspecies remain unclear. In the present study, we have sequenced the complete mitochondrial DNA cytochrome b (Cyt b) gene from tissue samples of blue sheep originating from seven distinct geographical populations (Qinghai, Sichuan, Gansu, Inner Mongolia, Ningxia, Xinjiang, and Tibet) covering all regions in which the sheep are distributed. Our aim was to measure the genetic

基金项目:国家新世纪优秀人才支持计划资助项目(NCET-08-0753);国家自然科学基金资助项目(30970371);中央高校基本科研业务费专项资金资助项目(DL09CA03);宁夏回族自治区林业局自选项目(2011-017)

收稿日期:2011-11-09; **修订日期:**2012-02-29

*通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhenshengliu@163.net

divergence among these populations, and to analyze the base variation, genetic distance, and nucleotide sequence variability between the different populations. A total of 45 haplotypes from 59 cyt b gene sequences were identified. Only one of these haplotypes was shared by individuals from the Ningxia and Inner Mongolia populations. A maximum likelihood tree and a Bayesian tree were established using the Kimura2-parameter model to evaluate the genetic distance between samples from each pair of different geographical populations. We found that the genetic distances between the Tibetan populations (nominate subspecies) and the other geographical populations (Sichuan subspecies) were on average, 4.2% (± 0.007). This value is higher than the average level of Cyt b sequence divergence among the different populations from the Sichuan subspecies and higher than the reported genetic divergence of five known Artiodactyla animals. Therefore, we propose that, based on the mitochondrial DNA Cyt b gene, the sheep that are distributed on the Tibetan plateau do indeed form a valid subspecies of blue sheep. A molecular clock calculation estimated that the two subspecies might have separated approximately 1.05 million years ago. The average genetic distance within different geographical populations of the Sichuan subspecies (0.033 ± 0.0111) was not significantly different from the average genetic distance (0.042 ± 0.007) between populations of the two subspecies ($t = 1.824$, $P = 0.084$). This result indicates that significant genetic divergence had occurred among populations of the Sichuan subspecies. For example, the Helan Mountain population which includes individuals from Ningxia and Inner Mongolia, and the Xinjiang population both have significant genetic divergence compared with the populations from Sichuan, Gansu, and Qinghai, which have a much closer genetic relationship within themselves. Phylogenetic analyses between the 45 haplotypes based on Bayesian Inference and Maximum Parsimony revealed different maternal inheritances that corresponded to different geographical distribution regions. The Gansu, Qinghai, and Sichuan populations formed a cluster, indicating a close genetic relationship between them. The Ningxia population and the Inner Mongolia population from the Helan Mountain also grouped together; the Tibetan population formed a monophyletic group. The Xinjiang population and a Tibetan population (RT1) tended to cluster together, which was sister group of the other three groups. Further studies are needed to help improve our understanding of the genetic composition and geographical characteristics of the Sichuan subspecies of blue sheep.

Key Words: blue sheep (*Pseudois nayaur*) ; cytochrome b ; genetic diversity ; subspecies differentiation

岩羊(*Pseudois nayaur*)又称石羊、蓝羊和青羊,属偶蹄目牛科羊亚科岩羊属,在中国被列为国家Ⅱ级重点保护野生动物。目前认为岩羊分为2个亚种^[1],即西藏亚种(*P. n. nayaur*)^[2]和四川亚种(*P. n. szechuanensis*)^[3]。西藏亚种在中国仅分布于西藏地区^[4];而四川亚种则广泛分布在中国的新疆、甘肃、内蒙古、宁夏、青海、陕西、四川和云南等8个省和自治区^[1]。岩羊是青藏高原分布最广、数量最多的有蹄类之一^[5],又是雪豹的主要食物之一^[4],为维持生态系统的多样性具有重要意义。但是,关于岩羊亚种分类地位的量化研究一直比较匮乏,另一方面,四川亚种广泛分布在昆仑山、阿尔金山、甘肃的祁连山以及宁夏和内蒙古交界的贺兰山等山系。各山系的地理隔离很可能造成四川亚种各地理种群间也存在显著的遗传差异。事实上,杨金坤^[6]用mtDNA D-loop区500 bp片段对岩羊进行系统发育分析结果显示,宁夏和内蒙古交界的贺兰山种群与四川种群亲缘关系最近,而青海和甘肃种群亲缘关系最近;同时这些地区的岩羊头骨形态学数量化分析也表明各种群间出现了明显差异。Zeng^[7]在分析岩羊四川亚种的系统地理学和矮岩羊的分类地位研究中阐述宁夏和内蒙古交界的贺兰山岩羊与四川、青海、甘肃的岩羊已经产生显著的遗传分化。然而,目前为止西藏亚种与四川亚种各种群间的遗传差异问题尚无相关报道。

线粒体DNA(mtDNA)是解决种群差异与生物地理关系的有效工具^[8-9]。细胞色素b(Cyt b)基因是mtDNA中重要的功能蛋白编码基因,一个较小的基因片段可包含从种间乃至科间的进化遗传信息^[10],被认为是研究物种地理变异问题最可信的mtDNA标记之一,已广泛应用于哺乳动物^[11-12]。因此,基于目前的岩羊分类地位,作者推断四川亚种各地理种群和西藏亚种的Cyt b基因遗传差异应该显著大于四川亚种各地理

种群之间的差异。为此,本文对中国西藏、四川、宁夏、甘肃、青海、新疆、内蒙古 7 个地理分布区岩羊的 Cyt b 基因全序列进行测序,分析了中国岩羊不同地理种群间的遗传差异,以期为中国岩羊种下分化以及岩羊的保护遗传学研究提供理论数据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料分别采自西藏、四川、宁夏、甘肃、青海、新疆、内蒙古 7 个省(自治区),岩羊样本的分布区域见图 1。采用随机典型抽样的方法,样本的详细资料参考表 1。所有皮张样品未经任何化学处理,均自然风干后于-20℃保存,血液加抗凝血剂低温运回实验室-80℃保存,肝脏加入无水乙醇保存于-80℃冰箱^[13-14]。

表 1 岩羊样品基本信息

Table 1 Basic Information of all the blue sheep samples

地理种群 Geographic group	样本采集地点 Sample collecting site	样本数目 Sample number	采集地的地形地貌 Collection to the topography	单倍型编号 Number of haplotypes	GenBank 登录号 GenBank Accession No.
内蒙古	阿拉善左旗(ALS)	5	贺兰山	E	EU571713
宁夏	银川市西夏区(XX)	8	贺兰山	A/B/E/BS2/BS4	EU571712/JQ406569/EU571713/ JQ406571/JQ406572
	平罗县(PL)	2	贺兰山	ZM1/ZM2	JQ406567/JQ406568
	银川市惠农区(HN)	2	贺兰山	E/PB2	EU571713/JQ406573
	贺兰县(HLX)	2	贺兰山	E	EU571713
	永宁县(YN)	2	贺兰山	E	EU571713
	银川市大武口区(DWK)	13	贺兰山	B/C/E/WZ12	JQ406569/JQ406570/EU571713/JQ406574
	贺兰山(HLS) ^[15]	3	贺兰山	NX1/NX2/NX3	AF493575/AF493576/AF493579
四川	阿坝地区(AB)	1	横断山脉	JZ4	JQ406566
	木里县(ML) ^[14]	1	横断山脉	ML	AF398368
	石渠县(SQ) ^[14]	1	横断山脉	SQ	AF398367
	石棉县(SM) ^[14]	1	横断山脉	SM	AF398366
	金川县(JC) ^[14]	1	西北高原	JC	AF398365
	色达县(SD) ^[14]	1	青藏高原东南缘	SD	AF398362
	若尔盖(REG) ^[14]	1	青藏高原东部边缘地带	REG	AF398361
	平武县(PW) ^[14]	1	四川盆地	PW	AF398360
	米亚罗(MYL) ^[7]	1	四川盆地	MYL	EU571711
	雅江县(YJ) ^[7]	1	川西北丘状高原山区	YJ	EU571710
	汶川县(WC) ^[14]	1	龙门山脉和邛崃山脉	WC	AF398363
	松潘县(SP) ^[14]	1	岷山	SP	AF398358
	巴塘县(BT) ^[7]	2	横断山脉	BT1/BT2	EF420234/EF420235
	康定县(KD) ^[13,15]	2	横断山脉	KD1/KD2	AF500197/AF473607
甘肃	肃北县(SB)	2	祁连山	SB1/SB2	JQ406551/JQ406552
	阿克塞县(AKS)	3	祁连山	QL1/QL2/QL3	JQ406553/JQ406554/JQ4065535
新疆	西昆仑山(XKL)	6	西昆仑山	D/XJ3	JQ406559/JQ406560
青海	玛多县(MD)	3	巴颜喀拉山	QH1/QH2/QH3	JQ406556/JQ406557/JQ406558
	玉树县(YS) ^a	1	巴颜喀拉山	QH4	AF473608
西藏	纳木错地区(NMC)	3	念青唐古拉山	NM3	JQ406562
	林芝地区(LZ)	2	喜玛拉雅山	LZ1/LZ2	JQ406564/JQ406565
	日土县(RT)	2	西昆仑山	RT1	JQ406563
	日喀则地区(RKZ)	3	喜玛拉雅山	RK1	JQ406561

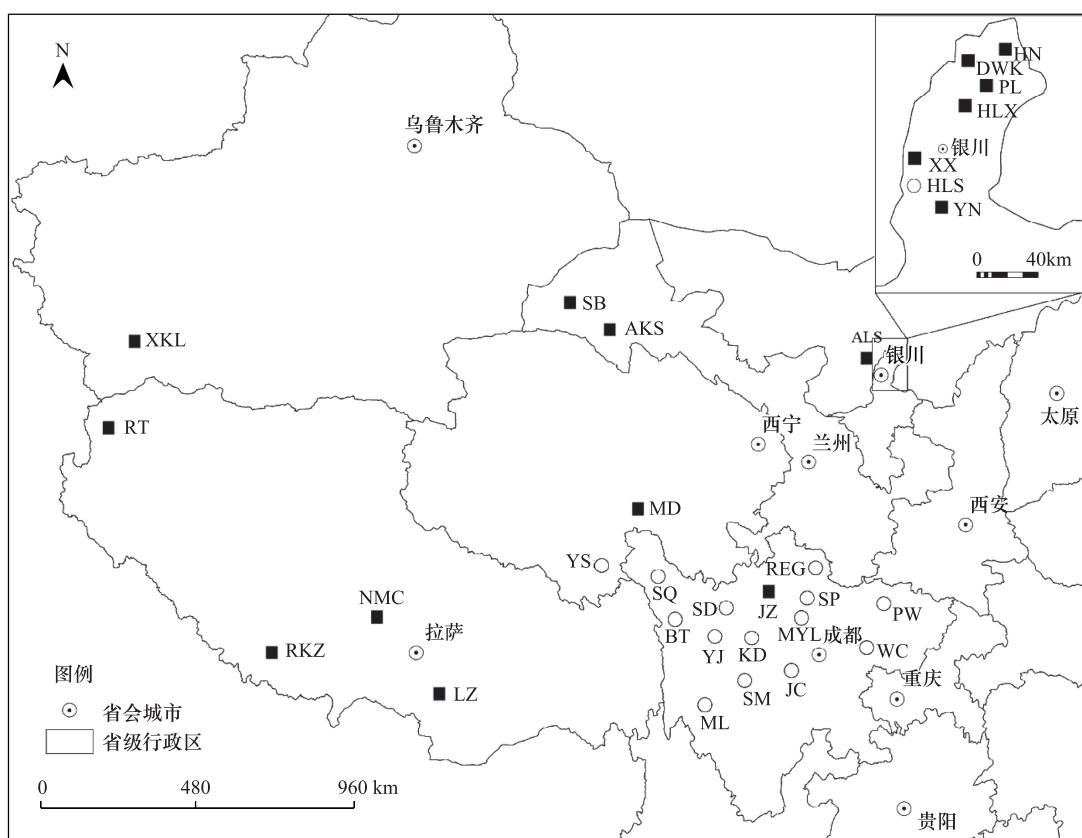


图1 本研究所使用的岩羊采样地点

Fig.1 Sampling locations of blue sheep used in this study

■本研究实测序列;○GenBank 下载序列

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 的提取与检测

本实验所采集样品分皮张、血液和肝脏3种,均采用QIAamp Mini Kit 提取动物基因组DNA。

DNA 提取结束后取2 μL 所得基因组DNA 用1%的琼脂糖进行检测,把剩余基因组DNA 分2份放入-20℃保存备用。

1.2.2 PCR 扩增

PCR 扩增的目标片段为线粒体DNA 细胞色素b(Cyt b)的全序列,引物采用曹丽荣等^[13]对哺乳动物Cyt b通用引物改进后的序列:

L14724 5'-GATATGAAAAACCATCGTTG-3'

H15915 5'-CCTTCTCTGGTTACAAGAC-3'

PCR 反应总体积为20 μL,其中包括模板DNA(100ng/μL)2 μL,TaKaRa Premix Ex Taq(1.25 U/25 μL)10 μL,Bovine Serum Albumin(20 mg/mL)0.5 μL,引物各0.8 μL,其余加ddH₂O 补足终体积20 μL。反应程序:95℃预变性5 min;94℃变性1 min,46℃复性1 min,72℃延伸1.5 min,并进行35个循环;72℃延伸10 min。利用未加模板DNA的反应液作为空白对照,以检查是否有污染存在。PCR 产物用1%琼脂糖凝胶电泳检测,于-20℃保存。

1.2.3 PCR 产物的回收与测序

扩增得到的PCR 所需带切下后用OMEGA E. Z. N. A Gel Extraction Kit 回收纯化,将回收产物送博尚生物技术有限公司测序。将测序后的DNA 序列在GenBank 数据中进行Blast 比较,确定所测序列来自于岩羊Cyt

b 基因。

1.2.4 DNA 序列的数据处理

从 GenBank 中下载岩羊 Cyt b 序列,序列号已登录表 1。用 Clustal X^[16]软件对测序结果和来自 GenBank 的同源序列进行对位排列,并辅以人工校对。用 Mega 4. 0^[17],基于 Kimura 双参数距离模型 (Kimura-2-Parameter, K2P) 计算不同序列间的变异位点数、简约信息位点数、转换/颠换比值、遗传距离和单倍型数。用 DNASTar 5. 02 (DNASTAR Inc.) 计算序列差异百分比。依据分歧时间的计算公式 $D=2at$,式中 D 为遗传距离; a 为进化速率;t 为分歧时间^[18],选择牛科动物已校正的 Cyt b 基因全序列每百万年 2% 的分子钟^[19]推算岩羊西藏亚种和四川亚种的分歧时间。用 PHYLIP 3. 57c^[20] 软件包中的极大似然 (Maximum Likelihood, ML) 法,以山羊 (*Capra hircus*, GenBank 登录号:EU130780) 为外群构建岩羊不同地理种群系统发生树,其中各结点的支持率根据各序列 bootstrap^[21] 1 000 次重抽样后数据计算。用 MrBayes 3. 1. 2^[22] 根据单倍型构建贝叶斯树。其中,根据 Modeltest 3. 7^[23] 检测碱基变异模型,设置核苷酸替换类型数 = 6 (nst = 6); 设置位点变异模型呈逆伽玛分布 (rates = invgamma); 对 MCMC 变量运行 4 条马尔科夫链,以随机树为起始树,共运行 200 万代,每 100 代进行 1 次抽样。舍弃老化样本 2 000 次,根据剩余的样本构建一致树,将所得结果进行统计,获得系统树的支系结构以及各支系的后验概率。

将四川亚种各地理种群和西藏亚种间的遗传距离数据与四川亚种各地理种群间的遗传距离数据进行 2 个独立样本的 t 检验,以分析四川亚种和西藏亚种的遗传距离与四川亚种内部各种群间遗传距离的差异。由于两个样本的样本含量不同,因此在 t 检验前先使用 bootstrap 方法进行 1 000 次重抽样。统计分析使用 R2. 13. 2 软件 (www.r-project.org) 完成。

2 结果

2.1 细胞色素 b (Cyt b) 基因序列及其变异

实验获得了 59 个岩羊 Cyt b 基因全序列 1 140 bp,无插入和缺失,表明这些序列来自于线粒体 DNA,不是核基因组中的线粒体假基因^[24]。将这些序列与 GenBank 中下载的 21 条序列进行同源比对,共确定了 45 个单倍型(已上传至 GenBank,登录号详见表 1)。其中四川种群有 16 个单倍型 (JZ4、JC、ML、PW、REG、MYL、YJ、WC、SP、BT1、BT2、KD1、KD2、SQ、SM、SD),其次宁夏种群有 13 个单倍型 (A、B、C、E、BS2、BS4、NX1、NX2、NX3、ZM1、ZM2、PB2、WZ12),甘肃种群有 5 个单倍型 (QL1、QL2、QL3、SB1、SB2),西藏种群有 5 个单倍型 (LZ1、LZ2、RK1、NM3、RT1),青海种群有 4 个单倍型 (QH1、QH2、QH3、QH4),新疆种群有 2 个单倍型 (XJ3、D),内蒙古种群有 1 个单倍型 (E)。其中宁夏和内蒙古有一个共享单倍型,其它地理种群间均无共享单倍型。在这 45 个岩羊 Cyt b 基因全序列单倍型中,变异位点有 196 个,其中简约信息位点 132 个,序列变异为 17.2%。各地理种群都是转换大于颠换,符合在动物线粒体基因进化中碱基替换的模式^[25],且转换颠换之比的值均大于 2.0,说明所测序列突变未达到饱和状态^[26]。在 Kimura 双参数距离中,西藏亚种与四川、青海、甘肃、新疆、宁夏、内蒙古种群间数值在 0.035—0.050,平均为 0.042 ± 0.007 ; 四川亚种内部各种群间数值在 0.002—0.047,平均为 0.033 ± 0.011 。从各地理种群内部的平均遗传距离看,宁夏、内蒙古、青海和新疆 4 个地区种群的平均遗传距离值较低(表 2)。依据分歧时间的计算公式推测岩羊西藏亚种与四川亚种的分歧时间大约为 1.05 百万年前。

四川亚种各地理种群间的遗传距离与四川亚种和西藏亚种间的遗传距离差异不显著 ($t = 1.824, P = 0.084$),说明四川亚种内部产生了较大的遗传分化。

2.2 分子系统树的构建

本研究基于 45 个岩羊的 Cyt b 基因全序列的单倍型,以山羊属的山羊作为外群,采用 ML 和 Bayes 两种方法构建的系统进化树拓扑结构大致相似(图 2,图 3)。从图 2 和图 3 可以看出,我国不同地理分布区的岩羊并非 1 个母系起源,进化树明显分为 4 支。甘肃、青海、四川种群聚为一支(四川甘肃青海分支),说明他们亲缘关系较近;宁夏种群与内蒙古种群聚为一支(贺兰山分支);大部分西藏种群的单倍型单独聚为一支;而西藏

单倍型 RT1 和新疆种群聚为一支并与其它 3 个分支互为姐妹群。

表 2 岩羊不同地理种群间的遗传距离

Table 2 Genetic distances of blue sheep among different geographic populations

	青海	四川	甘肃	内蒙古	宁夏	新疆	西藏
青海	0.005						
四川	0.022	0.024					
甘肃	0.025	0.026	0.014				
内蒙古	0.036	0.035	0.034	0.000			
宁夏	0.037	0.037	0.036	0.002	0.004		
新疆	0.047	0.045	0.043	0.036	0.038	0.003	
西藏	0.050	0.047	0.047	0.036	0.038	0.035	0.024

对角线上的值是每个地理种群内的平均遗传距离

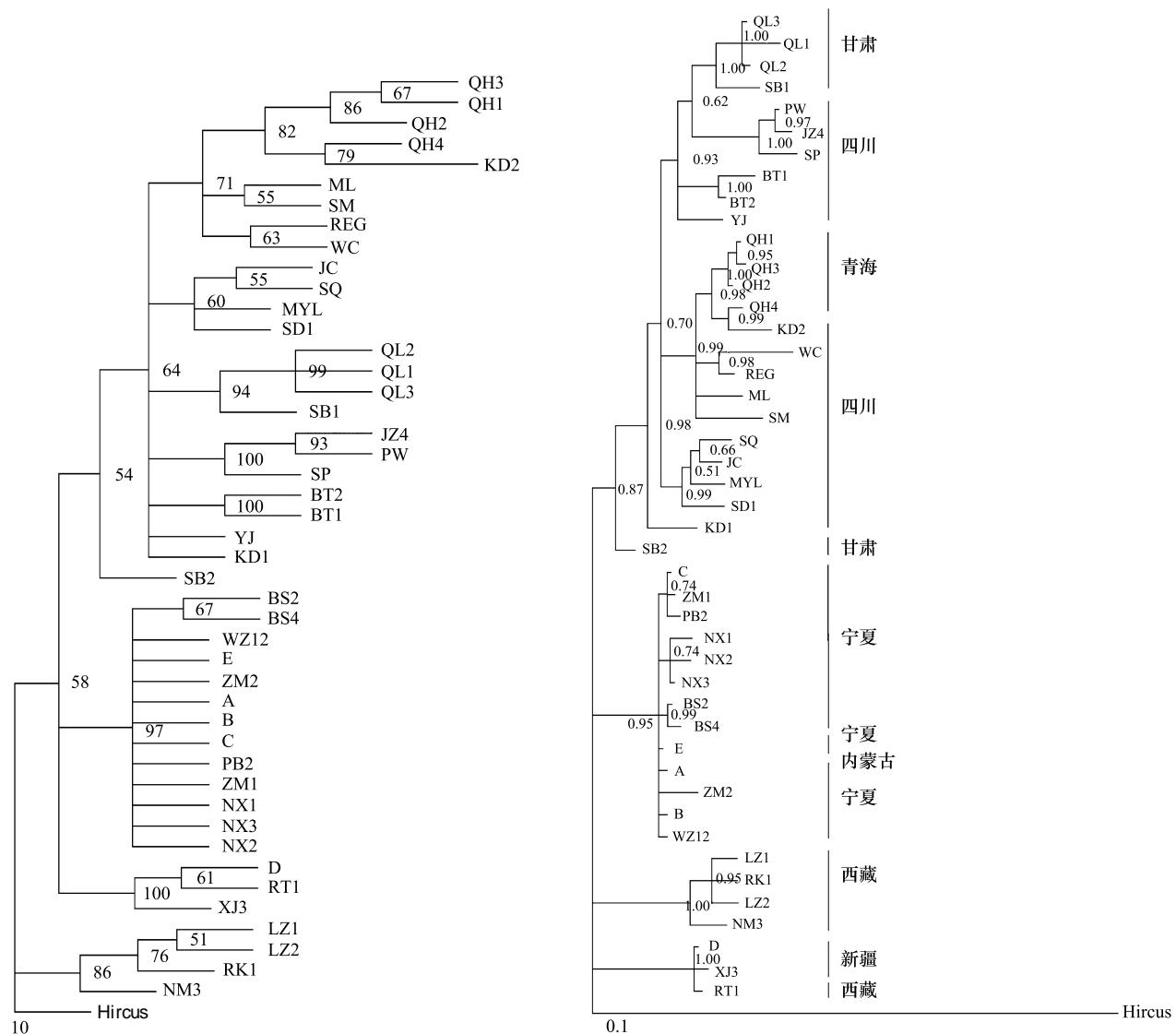


图 2 基于岩羊 mtDNA Cyt b 45 个单倍型的序列构建的 ML 树

Fig. 2 Maximum likelihood tree of 45 mtDNA haplotypes based on mtDNA cyt b of blue sheep

图 3 基于岩羊 mtDNA Cyt b 45 个单倍型的序列构建的贝叶斯树

Fig. 3 Bayesian inference tree of 45 mtDNA haplotypes based on mtDNA cyt b of blue sheep

3 讨论

岩羊西藏亚种与其它各地理种群间的遗传距离(0.035—0.050,平均为 0.042 ± 0.007)明显高于各地理种群内的遗传距离(表2对角线数值),同时也高于四川亚种内部各地理种群间的平均数值(0.033 ± 0.0111)。西藏亚种与其它种群间平均序列差异为4.2%,低于牛科不同种间的序列差异(6.3%—12.6%)^[27],说明中国境内岩羊不同地理种群之间遗传分化还处于种内水平。但是这个数值介于偶蹄目灰小羚羊(*Sylvicapra Grimmia*)(*Cyt b*的序列亚种差异2.8%)^[28]、林麝(*Moschus berezovskii*)(2.18%)^[29]、马鹿(*Cervus elaphus*)(1.18%)^[30]和蓝小羚羊(*Cephalophus monticola*)(6.2%)^[28]、北山羊(*Capra ibex*)(4.258%—7.814%)^[31]等多个偶蹄目物种基于*Cyt b*基因的亚种间分子差异水平范围内。因此我们基于*Cyt b*基因的研究结果支持目前岩羊西藏亚种的分类地位。

从构建的分子系统发育树中看到,四川亚种和西藏亚种共分成4个不同的谱系,其中2个属于四川亚种,另2个属于西藏亚种(图2,图3)。*t*检验也已经显示四川亚种内部各地理种群的遗传距离与它们和西藏亚种的遗传距离并没有显著差异。这些结果都说明,就*Cyt b*基因的数据而言,四川亚种内部已经产生了明显的遗传分化。产生这种分化的原因从以下几个方面考虑,首先从四川亚种分布的地理特征看,宁夏种群和内蒙古种群均属于贺兰山系,而贺兰山周围被沙漠、城市和河流(黄河)包围阻断^[32]。因此宁夏与内蒙古交界处的贺兰山岩羊种群实际上为一个隔离的种群,与其它地区的岩羊种群缺乏基因交流^[5],已经与四川亚种的其它种群产生显著的遗传分化。事实上,宁夏与内蒙古交界处的贺兰山分支与四川亚种的四川甘肃青海分支、以及西藏亚种间的遗传距离分别为0.037、0.038,显著高于四川亚种的四川甘肃青海分支内种群间的平均遗传距离0.024。而岩羊四川、青海和甘肃种群分布区的山脉则是连续分布的,没有显著的地理屏障阻隔其群体间的基因交流,因而各地理种群间保持着较小的遗传距离,这些结果与Zeng^[7]研究结果是一致的。采自新疆西昆仑山的岩羊和西藏日土县的单倍型RT1聚为一支,从地理位置看西昆仑山和日土县相聚较近,均属于西昆仑山系,种群之间可能存在一定的基因交流。作者计算了新疆种群与四川亚种、西藏亚种间的遗传距离分别为0.042、0.035,发现新疆种群与西藏亚种间比与四川亚种间有着更近的亲缘关系。梁云媚^[33]对岩羊角及头骨形态比较中也曾认为2个亚种划分的地理区域有误,对于新疆种群是否仍属于四川亚种,还需要大量的新疆样本和形态学数据加以证实。

另一方面,通过分子钟计算,推测岩羊西藏亚种与四川亚种的分歧时间大约为1.05百万年前,即地质年代中的新生代中更新世。中更新世青藏高原构造运动和气候变化十分剧烈,青藏高原达到平均3000m以上的高度,山地则可高达4000m以上^[34]。气候由热带、亚热带向寒冷干燥演变,该地区的植被也由森林草原向荒漠草原过渡^[35],导致了生物物种分布和多样性的变化。生活在该地区的岩羊,必然受到高原隆起的相应影响。因此推测,这样极端的环境阻碍了居留在青藏高原的岩羊种群和青藏高原以外岩羊种群之间的基因交流,并最终形成了今日西藏亚种独特的分类学地位。四川亚种内部各地理种群由于进一步扩散和迁移,广泛分布到各大山系。基于*Cyt b*基因的数据显示四川亚种内部四川、青海和甘肃种群与其它地理种群之间产生了较大的遗传距离,这揭示了四川亚种内部各地理种群之间的基因交流也受到了一定的限制。而进一步分析四川亚种各地理种群的扩散途径以及造成地理隔离效应的原因,对于岩羊保护生物学研究有重要意义。

4 结论

通过*Cyt b*基因全序列的测定和分析,研究结果从分子水平支持岩羊西藏亚种的分类地位,并推测岩羊西藏亚种与四川亚种的分歧时间大约为1.05百万年前。但是,四川亚种内部各地理种群也已经发生了明显的遗传分化,其中宁夏种群、内蒙古种群和新疆种群与其它各种群间的遗传分化尤其明显。岩羊四川亚种内部的种下分化问题仍需进一步研究。

致谢:华东师范大学上海野生动物疫源疫病监控技术平台何娅、蒋伟斌、张高天、刘楠等同学的帮助、华东政法大学曹丽荣老师对文章写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Shackleton D M. Wild sheep and goats and their relatives. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK, 1997.
- [2] Hodgson B H. On the characters of the Jharal (*Capra jharal*, Hodgs.) and of the Nahoor (*Ovis nahoor*, Hodgs.), with observations on the distinction between the genera *Capra* and *Ovis*. London: Proceedings of the Zoological Society of London, 1834-1835: 107-109.
- [3] Rothschild L. On a new race of bharal. Journal of Natural History Series 9, 1922, 56 (10): 231.
- [4] Schaller G B. Wildlife of the Tibetan steppe. Chicago: The University of Chicago Press, 1998.
- [5] Wang X M, Schaller G B. Status of large mammals in Inner Mongolia, China. Journal of East China Normal University, 1996, 6: 94-104.
- [6] Yang J K. Phylogenetic relationships and biogeography of *Pseudois nayaur szechuanensis* (Artiodactyla: Bovidae) based on mtDNA sequences and cranial morphometrics [D]. Taibei: National Sun Yat-Sen University, 2001.
- [7] Zeng B, Xu L, Yue B S, Li Z J, Zou F D. Molecular phylogeography and genetic differentiation of blue sheep *Pseudois nayaur szechuanensis* and *Pseudois schaeferi* in China. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2008, 48 (2): 387-395.
- [8] Avise J C, Arnold J, Ball R M, Bermingham E, Lamb T, Neigel J E, Reeb C A, Saunders N C. Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. Annual Review of Ecology and Systematics, 1987, 18 (1): 489-522.
- [9] Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA, Introduction to conservation genetics. Cambridge: Cambridge University Press, 2002: 326.
- [10] Kocher T D, Thomas W K, Meyer A, Edwards S V, Pääbo S, Villablanca F X, Wilson A C. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: amplification and sequencing with conserved primers. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1989, 86 (16): 6196-6200.
- [11] Ardoya R, Meyer A. Phylogenetic performance of mitochondrial protein coding genes in resolving relationship among vertebrates. Molecular Biology and Evolution, 1996, 13 (7): 933-942.
- [12] Helm-Bychowski K, Cracraft J. Recovering phylogenetic signal from DNA sequences: relationships within the corvine assemblage (class aves) as inferred from complete sequences of the mitochondrial DNA cytochrome-*b* gene. Molecular Biology and Evolution, 1993, 10 (6): 1196-1214.
- [13] Cao L R, Wang X M, Fang S G. A molecular phylogeny of bharal and dwarf blue sheep based on mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49 (2): 198-204.
- [14] Zhou C Q, Zhou K Y, Hu J C. The validity of the dwarf bharal (*Pseudois schaeferi*) species status inferred from mitochondrial Cyt b gene. Acta Zoologica Sinica. 2003, 49 (5): 578-584.
- [15] Cao L R, Wang X M, Rao G, Zhang K J, Wan Q H, Fang S G. Population genetic structure of blue sheep based on molecular evidence from mtDNA. Acta Zootaxonomica Sinica, 2004, 29 (4): 633-638.
- [16] Jeanmougin F, Thompson J D, Gouy M, Higgins D G, Gibson T J. Multiple sequence alignment with Clustal X. Trends in Biochemical Sciences, 1998, 23 (10): 403-405.
- [17] Tamura K, Dudley J, Nei M, Kumar S. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24 (8): 1596-1599.
- [18] Li W H, Gokobori T, Nei M. Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution. Nature, 1981, 292: 237-239.
- [19] Birungi J, Arctander P. Molecular systematics and phylogeny of the reduncini (Artiodactyla: Bovidae) inferred from the analysis of mitochondrial cytochrome *b* gene sequences. Journal of Mammalian Evolution, 2001, 8 (2): 125-147.
- [20] Felsenstein J. Phylogeny Inference Package (PHYLIP). Version 3.5. Seattle: University of Washington, 1993.
- [21] Felsenstein J. Confidence limits on phylogenies: An approach using the bootstrap. Evolution, 1985, 39 (4): 783-791.
- [22] Hulsenbeck J P, Fredrik R. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. Bioinformatics Applications Note, 17 (8): 754-755.
- [23] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14 (9): 817-818.
- [24] Stadelmann B, Jacobs D S, Schoeman C, Ruedi M. Phylogeny of African Myotis bats (Chiroptera, Vespertilionidae) inferred from cytochrome *b* sequences. Acta Chiropterologica, 2004, 6 (2): 177-192.
- [25] Irwin D M, Koehler T D, Wilson A C. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. Journal of Molecular Evolution, 1991, 32 (2): 128-144.
- [26] Knight A, Mindell D P. Substitution bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of Fea's viper. Systems Biology, 1993, 42 (1): 18-31.
- [27] Schreiber A, Seibold I, Notzold G, Wink M. Cytochrome *b* gene haplotypes characterize chromosomal lineages of Anoa, the Sulawesi dwarf buffalo (Bovidae: *Bubalus* sp.). The Journal of Heredity, 1999, 90 (1): 165-176.
- [28] Van Vuuren B J, Robinson T J. Retrieval of four adaptive lineages in Duiker antelope: evidence from mitochondrial DNA sequences and fluorescence in situ hybridization. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2001, 20 (3): 409-425.

- [29] Li M, Li Y G, Sheng H L, Tamate H, Masuda R, Nagata J, Ohtaishi N. A restudy of subspecies classification of Anhui musk deer. Chinese Science Bulletin, 1999, 44 (2) : 188-191.
- [30] Liu X H, Wang Y Q, Liu Z Q, Zhou K Y. Phylogenetic relationships of Cervinae based on sequence of mitochondrial cytochrome *b* gene. Zoological Research, 2003, 24 (1) : 27-33.
- [31] Zhang H P. Useing the mtDNA to study the genetic diversity and originating differentiation of the China's domestic goats [D]. Yaan: Sichuan agricultural university, 2003: 88.
- [32] Liu Z X, Sheng H L, Li Y G, Wang Z D, Zhao D H, Du H P. The current status and conservation of the isolated population of alpine musk deer (*Moschus chrysogaster*) at Helan Mountain. Acta Ecologica Sinica, 2000, 20 (3) : 463-467.
- [33] Liang Y M. Wang X M. Studies on horn and morphology of the skull of blue sheep (*Pseudois nayaur*). Journal of East China Normal University: Natural Science, 1996, 11 (1) : 54-58.
- [34] Li J J, Wen S X, Zhang Q S, Wang F B, Zheng B X, Li B Y. The qinghai-tibet plateau uplift the age range and forms of discussion. Chinese Science, 1979, (6) : 608-616.
- [35] Yang H R. Quaternary Geology. BeiJing: Higher Education Press, 1987: 244-300.

参考文献:

- [6] 杨金坤. 由线粒体核酸序列与头骨形态分析岩羊四川亚种之亲缘关系及生物地理 [D]. 台北: 国立中山大学, 2001.
- [13] 曹丽荣, 王小明, 方盛国. 从细胞色素 *b* 基因全序列差异分析岩羊和矮岩羊的系统进化关系. 动物学报, 2003, 49 (2) : 198-204.
- [14] 周材权, 周开亚, 胡锦矗. 从线粒体细胞色素 *b* 基因探讨矮岩羊物种地位的有效性. 动物学报, 2003, 49 (5) : 578-584.
- [15] 曹丽荣, 王小明, 饶刚, 章克家, 万秋红, 方盛国. 岩羊不同种群细胞色素 *b* 基因全序列差异的初步分析. 动物分类学报, 2004, 29 (4) : 633-638.
- [29] 李明, 李元广, 盛和林, 玉手英利, 增田隆一, 永田纯子, 大泰斯纪之. 原麝安徽亚种分类地位的再研究. 科学通报, 1999, 44 (2) : 188-191.
- [30] 刘向华, 王义权, 刘忠权, 周开亚. 从 Cyt *b* 基因序列探讨鹿亚科动物的系统发生关系. 动物学研究, 2003, 24 (1) : 27-33.
- [31] 张红平. 采用 mtDNA 序列研究中国家养山羊的遗传多样性与起源分化 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2003: 88.
- [32] 刘志霄, 盛和林, 李元广, 王绍绽, 赵登海, 杜和平. 贺兰山林区马麝隔离种群的生存现状及保护. 生态学报, 2000, 20 (3) : 463-467.
- [33] 梁云媚, 王小明. 岩羊角及头骨形态的比较研究. 华东师范大学学报: 自然科学版, 1996, 11 (1) : 54-58.
- [34] 李吉均, 文世宣, 张青松, 王富葆, 郑本兴, 李炳元. 青藏高原隆起的时代、幅度和形式的探讨. 中国科学, 1979, (6) : 608-616.
- [35] 杨怀仁. 第四纪地质. 北京: 高等教育出版社, 1987: 244-300.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol.32 ,No.8 April ,2012(Semimonthly)
CONTENTS

Physiological responses of five deciduous broad-leaved tree seedlings in the Northeast Area of China to burning	WANG Rong, HU Haiqing (2303)
The occurrence regularity of psyllid in <i>Haloxylon</i> spp and its influencing factors	LI Fenlian, WU Xuehai, WANG Peiling, et al (2311)
The estimating of the spatial distribution of forest biomass in China based on remote sensing and downscaling techniques	LIU Shuangna, ZHOU Tao, SHU Yang, et al (2320)
Multivariate correlation analysis between landscape pattern and water quality	ZHAO Peng, XIA Beicheng, QIN Jianqiao, et al (2331)
Red fox habitat selection and landscape feature analysis in the Dalai Lake Natural Reserve in Inner Mongolia	ZHANG Honghai, LI Chengtao, DOU Huashan, et al (2342)
Research on assemblage characteristics of macroinvertebrates in the Yalu Tsangpo River Basin	XU Mengzhen, WANG Zhaoxin, PAN Baozhu, et al (2351)
Climate change induced potential range shift of the crested ibis based on ensemble models	ZHAI Tianqing, LI Xinhai (2361)
Analysis of the sources of second generation meadow moth populations that immigrated into Chinese pastoral areas in 2010	ZHANG Li, ZHANG Yunhui, ZENG Juan, et al (2371)
Genetic diversity based on cytochrome <i>b</i> gene analysis of different geographic populations of blue sheep in China	LI Nannan, LIU Zhensheng, WANG Zhenghuan, et al (2381)
Soil microbial properties under different grain-for-green patterns in depressions between karst hills	LU Shiyang, PENG Wanxia, SONG Tongqing, et al (2390)
Ecosystem and soil respiration of a poplar plantation on a sandy floodplain in Northern China	FANG Xianrui, ZHANG Zhiqiang, ZHA Tonggang, et al (2400)
Estimating total nitrogen content in water body based on reflectance from wetland vegetation	LIU Ke, ZHAO Wenji, GUO Xiaoyu, et al (2410)
Analysis on complete F type of mitochondrial genome in <i>Lamprotula leai</i>	CHEN Ling, WANG Guiling, LI Jiale (2420)
The source-sink landscape pattern change and its effect on phosphorus pollution in Yuqiao watershed	LI Chongwei, HU Jie, WANG Sa, et al (2430)
Responses of soil nematode communities to soluble salt contamination around Gangue hill in Fushun	ZHANG Weidong, LV Ying, XIAO Ying, et al (2439)
Effect of aboveground competition on biomass partitioning of understory Korean pine (<i>Pinus koraiensis</i>)	WANG Jinsong, FAN Xiuhua, FAN Juan, et al (2447)
Research of methane metabolic microbial community in soils of slash pine plantation and Masson pine plantation	WANG Yun, ZHENG Hua, CHEN Falin, et al (2458)
$\delta^{13}\text{C}$ values of stem phloem water soluble sugars of <i>Pinus massoniana</i> and <i>Cunninghamia lanceolata</i> response to meteorological factors	LU Yuxi, WANG Zhenxing, ZHENG Huaizhou, et al (2466)
Soil respiration patterns during restoration of vegetation in the Shapotou area, Northern China	GAO Yanhong, LIU Lichao, JIA Rongliang, et al (2474)
Dynamics of calorific value of <i>Robinia pseudoacacia</i> L. energy forest in the west of Henan Province	TAN Xiaohong, LIU Shiqi, MA Luyi, et al (2483)
<i>Ex-situ</i> symbiotic seed germination of <i>Dendrobium catenatum</i>	WU Huifeng, SONG Xiqiang, LIU Hongxia (2491)
Effects of red/far red ratio on morphological index, leaf area and dry matter partitioning of cut chrysanthemum flower	YANG Zaiqiang, ZHANG Jibo, LI Yongxiu, et al (2498)
Effect of prometryne on root activity and oxidative stress of <i>Polygala tenuifolia</i> Willd. seedling roots	WEN Yinyuan, GUO Pingyi, YIN Meiqiang, et al (2506)
Combined effects of elevated O_3 concentration and UV-B radiation on photosynthetic characteristics of soybean	ZHENG Youfei, XU Weimin, WU Rongjun, et al (2515)
Nutrients transfer for host plant and litter decompositon by AMF in Karst soil	HE Yuejun, ZHONG Zhangcheng, DONG Ming (2525)
The dynamics of bacteria community diversity during the fermentation process of traditional soybean paste	GE Jingping, CHAI Yangyang, CHEN Li, et al (2532)
Effect of site-specific fertilization on soil phosphorus in purple garden soil	SUN Qianqian, WANG Zhengyin, ZHAO Huan, et al (2539)
A method of determining standards for ecological compensation in agricultural areas, giving priority to environmental flows in water allocation	PANG Aiping, SUN Tao (2550)
The loss of ecosystem services value caused by food security assessment model and it's application	LU Weiye, JIANG Zhide, ZHANG Yinglong, et al (2561)
Review and Monograph	
Review of the current situation of coastal ecological engineering using dredged marine sediments and prospects for potential application in China	HUANG Huamei, GAO Yang, WANG Yinxia, et al (2571)
Discussion	
Quorum sensing in anaerobic ammonium oxidation bacteria	DING Shuang, ZHENG Ping, ZHANG Meng, et al (2581)
Health evaluation of Dongting Lake based on morphological characters	SHUAI Hong, LI Jingbao, XIA Beicheng, et al (2588)
Scientific Note	
Effects of mix-leaf litter decomposition of different trees in the Loess Plateau	LIU Zengwen, DU Liangzhen, ZHANG Xiaoxi, et al (2596)
Changes in soil active organic carbon under different management types of bamboo stands	MA Shaojie, LI Zhengcui, WANG Bin, et al (2603)
Effects of drought stress on photosynthesis and associated physiological characters of pepper	OU Lijun, CHEN Bo, ZOU Xuexiao (2612)
Effects of silicon application and drought stress on photosynthetic traits and mineral nutrient absorption of rice leaves	CHEN Wei, CAI Kunzheng, CHEN Jining (2620)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,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,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 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

(SHENTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

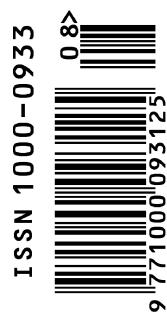
第 32 卷 第 8 期 (2012 年 4 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 8 2012

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:1000717	Published by Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 1000717, 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	京海工商广字第 8013 号	
许 可 证		



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