

# 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

吕晓平 魏辅文 李明\* 杨光 刘海

(中国科学院动物生态与保护生物学重点实验室, 中国科学院动物研究所, 北京 100080; 中国科学院研究生院, 北京 100049; 南京师范大学生命科学学院遗传资源研究所, 南京 210097. \* 联系人, E-mail: [lim@ioz.ac.cn](mailto:lim@ioz.ac.cn))

**摘要** 在 4 个中国梅花鹿(*Cervus nippon*)种群 45 个样品的 335 bp 线粒体 DNA 控制区序列中, 共发现 25 个变异位点, 并定义了 8 种单元型. AMOVA 分析表明, 中国梅花鹿种群间出现了显著的遗传分化 ( $F_{st} = 0.744$ ,  $P < 0.05$ ), 但种群的遗传距离与地理距离间没有显著的相关性 ( $P > 0.05$ ). 系统进化关系分析也显示了中国梅花鹿单倍型的系统地理格局与地理分布区或亚种划分之间不存在明显的相关性. 基于最大似然法和最大简约法及最小跨度网络图的系统进化分析均表明单倍型聚类对应于中国、日本南部和日本北部的 3 个单系, 其中中国大陆种群和日本南部的梅花鹿之间亲缘关系较近, 与日本北部种群则较远, 而中国台湾种群与中国东北和四川种群间的亲缘关系较近, 与华南种群较远.

**关键词** 梅花鹿 mtDNA 串联重复 遗传多样性 种群结构 系统进化

梅花鹿(*Cervus nippon*)曾广泛分布于亚洲东北部, 从西伯利亚的乌苏里江至越南北部, 包括朝鲜半岛、中国大陆、台湾和日本, 记录有 13 个亚种<sup>[1]</sup>. 化石记录显示, 梅花鹿可能起源于晚上新世或早更新世, 它们的祖先在更新世期间曾广泛分布于我国大部分地区<sup>[2]</sup>, 但自全新世后分布区急剧缩减. 由于大量的猎捕和栖息地缩减, 梅花鹿现仅存在于亚洲大陆和日本的一些片段化生境中<sup>[2,3]</sup>. 目前, 我国已将梅花鹿列为国家一级保护动物, 同时也已被CITES列为附录 I 物种.

历史上曾有 6 个梅花鹿亚种生活在我国, 即四川亚种(*C. n. sichuanicus*, 主要分布于四川省和甘肃省)、华南亚种(*C. n. kopschi*, 分布于安徽、江西、浙江、河北、湖南、福建、广东与广西等省)、山西亚种(*C. n. grassianus*, 分布于山西省)、华北亚种(*C. n. mandarinus*, 分布于河北省)、台湾亚种(*C. n. taiouanus*, 分布于台湾省)以及东北亚种(*C. n. hortulorum*, 分布于东北地区)<sup>[2]</sup>. 目前其中的 3 个亚种(山西亚种、华北亚种和台湾亚种)的野生种群已灭绝<sup>[4]</sup>. 东北亚种虽有很大的饲养种群, 但野生种群的数量十分稀少, 近几年在吉林省与俄罗斯交界处发现了一个数量约 300 只的野生种群<sup>[5]</sup>. 台湾亚种曾经广泛生活在西南部的海岸平原上, 但是由于过度狩猎以及栖息地大量转变与破坏, 种群急速衰退, 在 20 世纪 60 年代后期野生种群灭绝<sup>[6]</sup>. 然而自 20 世纪 80

年代后实施野生梅花鹿圈养繁殖计划以来, 在台湾垦丁国家公园和绿岛的饲养种群数量分别恢复到约 200 和 200~250 只左右<sup>[6]</sup>. 而四川亚种和华南亚种目前也仅仅分布在四川、甘肃、江西、安徽、浙江等省一些小的隔离种群中<sup>[4]</sup>.

近年来, 关于日本梅花鹿的种群遗传结构已进行了一些相关分子水平研究. 分子研究表明, 日本梅花鹿分为两大支系, 分别为日本北部梅花鹿(北海道和本州北部大部分地区)和日本南部梅花鹿(本州南部的一部分, 九州及其周围的岛屿), 两大支系在本州岛中部形成结合区<sup>[7,8]</sup>. 研究还表明, 分布于北海道的梅花鹿种群至少有 6 个母系支系, 显示了经历瓶颈后重新定居过程<sup>[3]</sup>. 另外, Tamate 等人<sup>[9]</sup>分析了日本金华山梅花鹿隔离小种群的遗传变异, 结果显示虽然种群数量小, 但具有相当高的遗传变异. 而 Goodman 等人<sup>[8]</sup>的研究则指出, 由于近期遗传漂变而导致整个日本梅花鹿种群间存在着非常显著的遗传多样性差异, 同时表明有效种群数量与片段化生境大小之间存在显著的相关性, 但遗传多样性与片段化生境大小之间相关性则不显著.

尽管在形态学、行为学、生态学、保护生物学等领域对中国梅花鹿进行了广泛的研究, 但有关其种群遗传结构和遗传多样性的研究报道甚少. 虽然中国作为梅花鹿的主要分布区和鹿类的进化中心<sup>[10]</sup>, 但上述有关分子水平的研究并没有涉及日本以外的

梅花鹿种群,尤其是分布于中国的梅花鹿种群.为进一步说明中国梅花鹿的遗传现状,阐明梅花鹿的进化历史,本研究利用线粒体DNA控制区序列,分析和探讨了中国梅花鹿种群的遗传多样性和遗传结构、以及与日本梅花鹿种群的系统发生关系.

### 1 材料与方法

( ) 样品采集和DNA提取. 从中国梅花鹿的 4 个种群中共采集了 45 个样品(图 1), 其中四川种群(SC)有 10 个骨头和 6 个皮张样品, 华南种群(SHC)为 5 个皮张和 1 个血液样品, 东北种群(NEC)为 17 个血液样品, 台湾种群(TW)为 6 个毛发样品. 表 1 中的单倍型CN6 引自文献[7], 样品来自华南种群. 本研究结合了来自日本南部种群(SJ)与北部种群(NJ)的 171 个日本梅花鹿控制区序列(Control region)<sup>[3,7]</sup>, 以期探讨中国梅花鹿与日本梅花鹿之间的关系.



图 1 中国梅花鹿目前分布及样品采集点

用标准的蛋白酶K消化和酚/氯仿抽提的方法<sup>[11]</sup>提取血液和肌肉样品的DNA. 皮张样品的DNA提取则参照饶刚等人<sup>[12]</sup>的方法. 骨骼样品先用 0.5 mol/L 的EDTA (pH 8.0)脱钙, 余下的处理同皮张样品<sup>[12]</sup>. 为避免污染, 所有操作都设阴性对照.

( ) 实验方法. 用于扩增梅花鹿 mtDNA 控制

区 5'端序列的引物为LD5 (5'-AAGCCATAACCCC-ACTATCAA-3') 和 HD8 (5'-TGGACGTAATGCGCT-ATGTA-3')<sup>[3]</sup>. 所有扩增都在PTC-200 型DNA扩增仪 (MJ Research Inc)上进行. 反应总体积为 30  $\mu$ L, 包括模板DNA, 0.2 mmol/L dNTP, 2.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol/L KCl, 两条引物各 10 pmol, 1 U Taq酶(Promega). 反应程序为: 95 预变性 5 min; 95 变性 30 s, 54 复性 30 s, 72 延伸 50 s, 35 次循环; 72 延伸 7 min. 扩增产物用柱式PCR产物纯化试剂盒或胶纯化试剂盒(上海华舜生物工程公司)纯化. 纯化产物用引物LD5 进行测序. 测序用Prism™ BigDye Terminator Ready Reaction试剂盒(Applied Biosystem Inc), 在PTC-200型DNA扩增仪(MJ Research Inc)和 310 型全自动遗传分析仪 (Applied Biosystem Inc)上进行.

( ) 数据分析. 序列结果用 Clustal X 软件进行比对, 并进行人工校对, 确定变异位点及单倍型. 所有单倍型已登录 GenBank, 登录号为 AY465415~AF465419, AY764391 和 AY764392.

用DnaSP软件<sup>[13]</sup>计算各种群的核苷酸多样性 (nucleotide diversity,  $\pi$ )、单倍型多样性(haplotype diversity,  $h$ ). ARLEQUIN 2.0<sup>[14]</sup>用来分析分子变异 (analysis of molecular variance, AMOVA), 计算遗传变异在种群内和种群间的分布及  $\Phi_{st}$ 值, 并用排列测验法(permutation test)检验  $\Phi_{st}$ 的显著性(重复次数为 1000). 应用Mantel方法检验遗传距离与地理距离的相关性<sup>[15]</sup>. 用MEGA 2.0 软件<sup>[16]</sup>中Kimura 双参数法计算各种群间的遗传距离.

为了探讨来自中国和日本梅花鹿间的系统发生关系, 以梅花鹿的近缘种马鹿(*C. elaphus*)作为外类群, 利用PAUP\* 4.0b4a<sup>[17]</sup>中的最大似然法(maximum likelihood, ML)和最大简约法(maximum parsimony, MP)重建分子系统发生树, 并通过MODELTEST 3.06<sup>[18]</sup>计算最大似然分析的最适合模型为TrN+G. 系

表 1 本研究中的亚种(种群)、样品类型、样品数量、采样地点及单倍型

亚种	样品类型	样品数量	采样地点	单倍型
<i>C. n. hortulorum</i> (东北种群)	血液	17	吉林省	CN1, CN2, CN3, CN4
<i>C. n. sichuanicus</i> (四川种群)	皮和骨	16	四川省	CN4
<i>C. n. kopschi</i> (华南种群)	肌肉和骨	6	安徽和江西省	CN5
		1	安徽省	CN6
<i>C. n. taiouanus</i> (台湾种群)	毛发	6	台湾省	CN7, CN8

统发生分析中,所有的插入或缺失作为缺失位点,ML与MP分析的自引导值分别为100和1000次.用MINSNET软件<sup>[19]</sup>绘制单倍型的最小跨度网络图(minimum spanning network, MSN),因为在亲缘关系比较近的种群中单倍型网络分析能更好的反映出它们之间的系统发生关系<sup>[20]</sup>.

## 2 结果

### 2.1 控制区序列变异和遗传多样性

在中国梅花鹿4个种群的45个样品mtDNA控制区5'端335bp的序列中,共发现25个变异位点,包括20个转换和5个插入/缺失,没有发现颠换,并定义了7种单倍型.加上Nagata等人<sup>[7]</sup>报道的华南种群的1种单倍型(CN6),中国梅花鹿4个种群中共发现8种单倍型(CN1-CN8)(表1).所有单倍型中频率最高的为CN4,分布在四川种群和东北种群.东北种群的17个样品中有4种单倍型(CN1, CN2, CN3和CN4),且CN4也是四川种群中惟一的单倍型. CN5和CN6仅出现在华南种群中,而CN7和CN8也只为台湾种群所特有.

结合171个日本梅花鹿mtDNA控制区序列<sup>[21]</sup>,由于串联重复单位的存在,在216个序列比对后的470bp中有189个变异位点.在470bp的序列中包括7个长度为37~40bp的串联重复单位<sup>[21]</sup>,其中重复单位1~4为中国和日本梅花鹿种群共有,在中国梅花鹿种群中没有发现重复单位5~7,在日本南部梅花鹿种群中则缺失重复单位5~7或6~7,而重复单位7仅在日本北部的一些种群中出现.为了避免重复单位对结果产生偏差,在随后的分析中排除重复单位5~7的序列.结果在216个序列中共定义了25种单倍型,包

括中国大陆种群6种(CN1-CN6)、台湾种群2种(CN7和CN8)、日本北部种群11种(N1-N11)及日本南部种群8种(S1-S8).

所有中国梅花鹿种群的单倍型多样性( $h$ )范围为0(四川种群)~0.684(东北种群)(表2).中国8个单倍型间的序列差异为0.28%~4.85%(去除插入和缺失).中国大陆所有种群的核苷酸多样性( $\pi$ )平均为2.136%,但种群间的变异范围较大,如四川种群为0,而东北种群则达到1.95%.当把中国大陆的不同梅花鹿种群合并作为一个单一种群,与台湾种群、日本南部种群以及北部种群比较,则发现日本南部种群具有最高的单倍型多样性,而台湾种群的单倍型多样性最低(表2).

### 2.2 中国梅花鹿的种群结构以及与日本梅花鹿的系统进化关系

分子变异分析(AMOVA)结果显示,中国梅花鹿种群内遗传变异占总变异的25.6%,而种群间遗传变异占总变异的74.4%,且种群间具有较高的 $\Phi_{st}$ 值[ $\Phi_{st} = 0.744(0.694\sim 1), P < 0.05$ ](表3).因此,上述数据表明中国梅花鹿种群间在线粒体水平上存在显著的遗传分化,但遗传距离与地理距离间没有显著的相关性( $g = -0.4875, P > 0.05$ ).

基于MP和ML的系统发生分析(图2)与遗传变异分析以及最小跨度网络分析(MSN)(图3)的结果一致.来自中国、日本南部和日本北部的梅花鹿分别组成单系,并具有较高的自引导值,表明在中国种群和日本种群间存在明显的系统地理分布格局.图2和3显示中国种群、日本南部种群和北部种群形成了3个不同的支系.然而,在中国种群这一支系中,所有单倍型的系统地理格局与地理分布区或亚种划分之间

表2 中国、日本南部和北部梅花鹿种群单倍型分布、频率和多态性( $h \pm SD$ )以及核苷酸多态性( $\pi$ )

种群	单倍型								单倍型多态性(%)	核苷酸多态性(%)
	CN1	CN2	CN3	CN4	CN5	CN6	CN7	CN8		
东北	3	3	9	2					0.684±0.096	0.0195
四川				16					0	0
华南					6	1			0.286±0.196	0.00173
台湾							2	4	0.533±0.172	0.0016
总计	3	3	9	18	6	1	2	4		
中国大陆									0.731±0.051	0.02136
台湾									0.533±0.172	0.0016
日本南部									0.916±0.06	0.0146
日本北部									0.623±0.03	0.0035

表 3 中国梅花鹿各种群间的分化程度( $\Phi_{ST}$ )及遗传变异在各种群间/内的分布<sup>a)</sup>

	东北种群	四川种群	华南种群	台湾种群
东北种群				
四川种群	0.694*			
华南种群	0.718*	0.875*		
台湾种群	0.711*	1.000*	0.971*	
种群间		74.4		
种群内		25.6		
总体平均 $\Phi_{ST}$		0.744		

a) \* 示  $P < 0.05$

不存在明显的相关性(图 2)。结果还表明, 中国梅花鹿单倍型的系统地理格局由 3 部分组成, 即由四川、东北和华南种群的 4 种单倍型(CN1, CN4, CN5 和 CN6)组成 Clade1, 来自台湾的单倍型(CN7 和 CN8)形成 Clade2, 而 Clade3 则为东北种群的 2 种单倍型(CN2 和 CN3)。中国大陆和日本南部之间以及中国大陆和日本北部的单倍型之间的最小突变连接数分别为 19 和 25, 均高于各个地理种群内部单倍型之间的

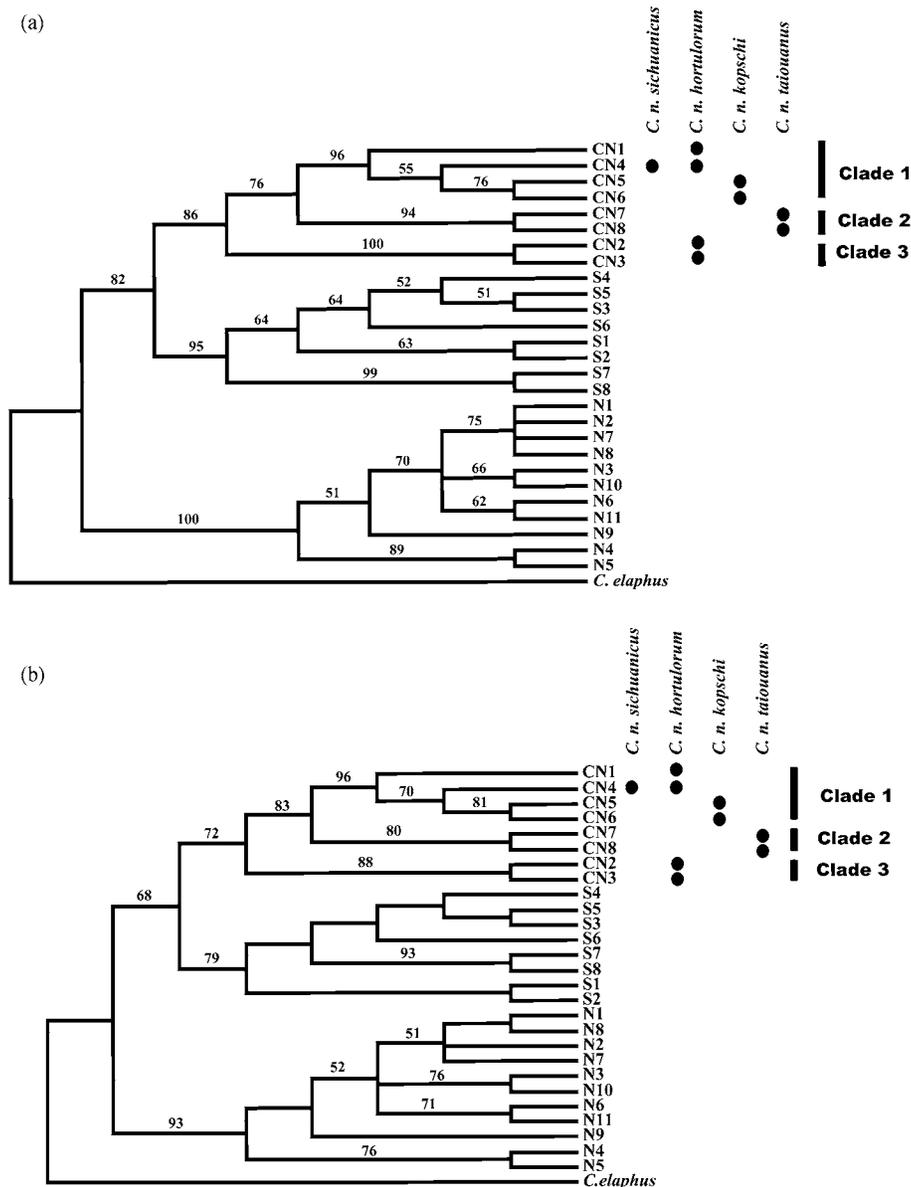


图 2 以马鹿(*C. elaphus*)为外群的梅花鹿系统进化树

(a) 基于 TrN+G 模式构建的 ML 树( $-\ln L = 1215.33966$ ), 树枝处的数字为自引导值, 重复次数为 100; (b) MP 树 (tree length = 98, CI = 0.6735), 树枝处的数字为自引导值, 重复次数为 1000

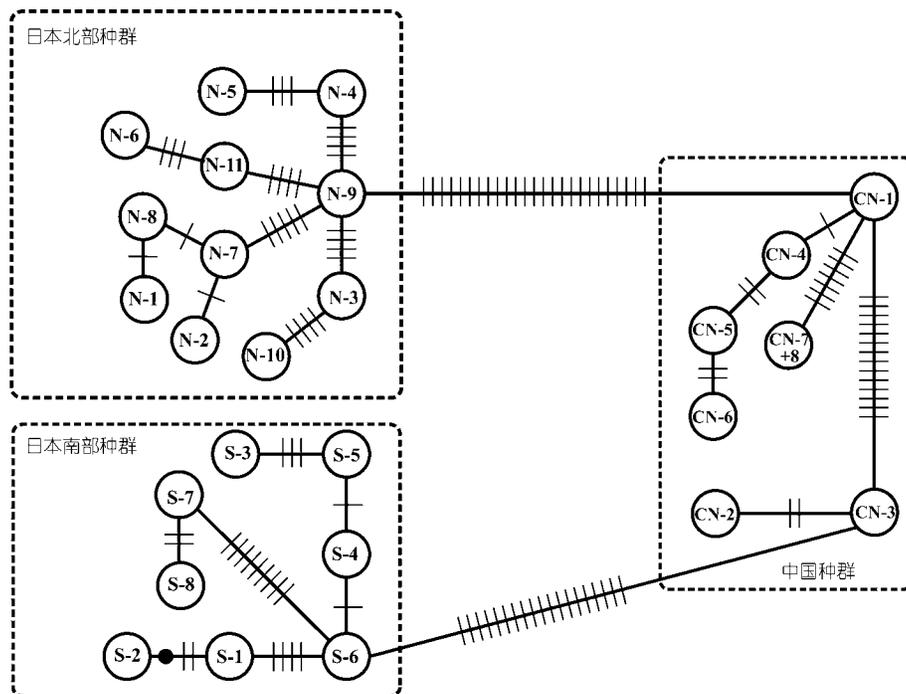


图 3 单倍型的最小跨度网络图  
单倍型编号与表 1 中相对应. 小划线和小点分别代表单倍型间的碱基转换和颠换

突变连接数. 在中国种群内部 Clade3 与其他两个 Clade (Clade1 和 Clade2) 之间的最小突变连接数为 14, 均高于 Clade1 与 Clade2 之间以及各 Clade 内部之间的突变连接数 (Clade1 内部突变连接数为 2, Clade2 为 0, Clade3 为 2) (图 3). 上述结果进一步显示中国大陆种群和日本南部的梅花鹿种群之间的亲缘关系较近, 而台湾种群与中国东北和四川种群间的亲缘关系较近 (图 2).

### 3 讨论

#### 3.1 中国梅花鹿的串联重复序列和遗传多样性

以前的研究表明在日本梅花鹿<sup>[3,7,21]</sup>、马鹿<sup>[22]</sup>等偶蹄类动物以及其他哺乳类动物<sup>[23]</sup>的线粒体控制区中均存在串联重复区. Nagata 等人<sup>[3,7]</sup>研究发现, 在日本梅花鹿控制区存在多达 7 个长度为 37~40 bp 的重复单位. Cook 等人<sup>[21]</sup>则认为日本梅花鹿中仅存在 3 个重复单位, 但 Randi 等人<sup>[24]</sup>认为日本梅花鹿中最多有 6 个重复单位. 本研究结果表明, 在日本梅花鹿和中国梅花鹿的控制区最大重复单位数分别达到 7 和 4 个, 重复单位 1~4 为中国和日本梅花鹿种群共有, 而在中国梅花鹿种群中缺失重复单位 5~7. 由于重复单位 1

为中国和日本梅花鹿共有, 且在马鹿中也仅存在该重复单位, 因此推测重复单位 1 可能是一种祖先形式, 其他重复单位都可能是通过滑链错配从它演化而来. 本研究与上述报道不一致的原因可能是由于在上述研究中, 中国梅花鹿样品很少, 只是部分序列的比对、或部分序列是来自一些编号错误的样品或杂交种<sup>[25]</sup>.

虽然与许多有蹄类如非洲水羚 (*Kobus kob*) (4.6%) 相比<sup>[26]</sup>, 中国梅花鹿的遗传多样性较低 (表 2), 但与一些鹿类的遗传多样性水平相近, 如北美马鹿 (*C. elaphus*) (1.07%)<sup>[27]</sup>、日本梅花鹿南部种群 (1.46%) 和北部种群 (0.35%)<sup>[3,7]</sup> 以及坡鹿 (*C. eldi*)<sup>[28]</sup>. 如把中国大陆的 3 个梅花鹿种群作为一个大种群, 并与台湾种群和日本南北两大种群进行比较分析, 则发现中国大陆种群和日本南部种群具有最高的遗传多样性和单倍型多样性, 而日本北部种群的变异水平最低. 这种有限的遗传变异可能是由于种群历史上经历了严重的瓶颈<sup>[3,8,29]</sup>或是较小的有效种群所致<sup>[30]</sup>. 尽管中国作为鹿类动物的起源进化中心, 并在许多地方发现了梅花鹿的化石<sup>[10]</sup>, 然而自 19 世纪以来梅花鹿的分布区和数量已急剧减少, 由此造成的种群瓶颈效应、

小种群(有效种群数小)或遗传漂变导致了遗传多样性丢失。鉴于目前中国梅花鹿的种群现状,何为造成遗传多样性水平低的主要原因呢?本研究中四川种群的 17 个个体中仅发现 1 种单倍型( $h = 0$  和  $\pi = 0$ )。郭延蜀<sup>[31]</sup>报道四川亚种曾经分布于四川省大部分地区,但目前仅分布于 3 个种群数量较小的隔离的区域中。因此,我们认为四川种群低的遗传多样性可能是生境片段化后较小的有效种群导致的结果<sup>[30]</sup>。至于华南种群,目前也分布在一些小的片段区域中<sup>[32]</sup>,然而由于本研究中华南种群仅有 6 个样品,因而不足以探讨该种群的遗传多样性状况,需今后增加样品来进一步验证。关于台湾种群的研究结果与 Cook 等人<sup>[21]</sup>一致。大约 10000~15000 年前,由于海面上升而淹没大陆与台湾之间的陆桥,从而阻断了台湾梅花鹿与大陆其他种群间的交流,其野生种群也于 20 世纪 60 年代后期灭绝<sup>[6]</sup>。目前台湾的野生种群主要是来自当年野生梅花鹿圈养繁殖的后代<sup>[34]</sup>。因此,种群奠基者数量小、瓶颈效应以及地理隔离很可能导致了低的遗传多样性水平<sup>[21]</sup>。在东北种群中,由于饲养的梅花鹿种群大多来自许多不同的野生种群(马逸清,个人交流),因此很明显具有比其他种群较高的核苷酸多样性水平和单倍型多样性水平。

### 3.2 中国梅花鹿的种群结构

AMOVA 分析表明,中国梅花鹿种群间存在显著的种群分化( $\Phi_{st} = 0.744$ ,  $P < 0.01$ ),且 74.4% 的遗传变异发生在种群间(表 3)。然而,系统发生分析显示单倍型系统地理格局与地理分布区或亚种划分之间不存在明显的相关性(图 2)。尽管 4 个种群之间的地理距离都超过 1000 km,但遗传距离与地理距离间也没有显著的相关性( $P > 0.05$ )。因此中国梅花鹿现今这种遗传结构可能不是由距离隔离而造成的结果。在 8 种单倍型中, CN4 为东北种群和四川种群共有,东北种群所有的单元型都分布在 Clade1 和 Clade3(图 2),由此推测在东北种群和四川种群之间可能发生过杂交与二次再接触,或者由于两种群近期分化而导致了不完全的谱系分选(lineage sorting)。化石记录表明,现代梅花鹿的祖先主要分布在东北地区,在青藏高原急剧隆升后逐渐向西、向南以及向北扩张<sup>[2]</sup>。系统进化树(图 2)中东北种群单倍型位于中国梅花鹿支系的基部就很好地支持这一推断。

### 3.3 中国与日本梅花鹿的关系

一般认为梅花鹿起源于东北亚,于晚上新世或早更新世从与马鹿的最近共同祖先中分化出来而形成,日本梅花鹿种群则至少通过两个大陆桥在晚更新世从亚洲大陆迁移至日本而形成<sup>[21]</sup>。本研究结果表明,在中国和日本的梅花鹿存在 3 个明显支系,即中国种群、日本南部种群和日本北部种群(图 2 和 3),这也进一步支持了日本种群至少来源于两个谱系的观点<sup>[7,21]</sup>。如图 2 和 3 所示,其中中国种群和日本南部种群之间亲缘关系较近,而与北部种群较远。结合重复单位进化过程与重复单位数差异的分析也进一步支持了上述观点<sup>[7,21]</sup>。虽然中国作为是鹿类动物的起源进化中心和最早的梅花鹿化石记录<sup>[10,21]</sup>,且有研究也表明日本梅花鹿很可能来自亚洲大陆<sup>[7,21]</sup>,但是否来自中国大陆还有待进一步研究。今后需进一步增加西伯利亚、朝鲜半岛和越南等分布区的样品进行更深入的研究。

致谢 感谢黑龙江资源自然研究所马逸清教授、台湾屏东科技大学裴家琪教授、东北林业大学许艳春博士和江西生物所戴年华研究员提供梅花鹿分析样品。本工作为国家自然科学基金(批准号:30270215,30230080和30125006)和中国科学院知识创新工程(批准号:KSCX2-1-03)资助项目。

### 参 考 文 献

- Whitehead G K. The Encyclopedia of Deer. Shrewsbury: Swann-Hill, UK, 1993
- 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: 168~179
- Nagata J, Masuda R, Kaji K, et al. Genetic variation and population structure of the Japanese sika deer (*Cervus nippon*) in Hokkaido island, based on mitochondrial D-loop sequences. Mol Ecol, 1998, 7: 871~877[DOI]
- 盛和林. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 1992
- 马逸清. 黑龙江兽类志. 哈尔滨: 黑龙江科学技术出版社, 1986
- McCullough D R, Severinghaus L L. Recovery program for the endangered Taiwan sika deer. Proc 4th International Deer Biol Cong, 1998. 177~184
- Nagata J, Masuda R, Tamate H, B, et al. Two genetically distinct lineages of the Sika Deer *Cervus nippon* in Japanese islands: Comparison of mitochondrial D-loop region sequences. Mol Phylogeny Evolu, 1999, 13: 511~519[DOI]
- Goodman S J, Tamate H B, Wilson R, et al. Bottlenecks drift and differentiation: The population structure and demographic history of sika deer (*Cervus nippon*) in the Japanese archipelago. Mol Ecol, 2001, 10: 1357~1370[DOI]
- Tamate H B, Okada A, Minami M, et al. Genetic variations revealed by microsatellite markers in a small population of the sika

- deer (*Cervus nippon*) on Kinkazan island northern Japan. Zool Sci, 2000, 17: 47~53[DOI]
- 10 Ohtaishi N. 中国鹿的起源与进化. 见: 盛和林, 编. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 1992. 8~18
- 11 Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Lab Press, 1989
- 12 饶刚, 李明, 牛屹东, 等. 陈旧皮张中 DNA 提取的新方法. 动物学杂志, 2001, 36: 53~57
- 13 Rozas J, Rozas R. DnaSP version 3: An integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. Bioinformatics, 1999, 15: 174~175[DOI]
- 14 Schneider S, Roessli D, Excoffier L. ARLEQUIN 2.000: A software for genetic data analysis. Genetics and Biometry Laboratory. University of Geneva Switzerland, 2000
- 15 Mantel N. The detection of disease clustering and generalized regression approach. Cancer Res, 1967, 27: 209~220
- 16 Kumar S K, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA 2: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Program. University Park: Pennsylvania State Univ, 2001
- 17 Swofford D L. PAUP: Phylogenetic Analysis Using Parsimony. Version 3.1.1. Illinois Natural History Survey Champaign Illinois, 2000
- 18 Posada D, Crandall K A. MODELTEST: Testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14: 817~818[DOI]
- 19 Excoffier L, Smouse P E. Using allele frequencies and geographic subdivision to reconstruct gene trees within a species: molecular variance parsimony. Genetics, 1994, 136: 343~359
- 20 Crandall K A, Templeton A R. Applications of intraspecific phylogenetics. In: Harvey P H, Leigh Brown A J, Maynard Smith J, et al. eds. New Uses for New Phylogenies. Oxford: Oxford University Press, 1996
- 21 Cook C E, Wang Y, Sensabaugh G. A mitochondrial control region and cytochrome b phylogeny of sika deer (*Cervus nippon*) and report of tandem repeats in the control region. Mol Phylogen Evol, 1999, 12: 47~56[DOI]
- 22 Mahmut H, Mausda R, Onuma M, et al. Molecular phylogeography of the red deer (*Cervus elaphus*) populations in Xinjiang of China: Comparison with other Asian European and North American population. Zool Sci, 2002, 19: 485~495[DOI]
- 23 Hoelzel A R, Lopez J V, Dover G A, et al. Rapid evolution of a heteroplasmic repetitive sequence in the mitochondrial DNA control region of carnivores. J Mol Evol, 1994, 39: 191~199
- 24 Randi E, Mucci N, Claro-Hergueta F, et al. A mitochondrial DNA control region phylogeny of the Cervinae: Speciation in *Cervus* and implications for conservation. Animal Conservation, 2001, 4: 1~11[DOI]
- 25 Randi E, Pierraoli M, Danilkin A. Mitochondrial DNA polymorphism in populations of Siberian and European roe deer (*Capreolus pygargus* and *C. capreolus*). Heredity, 1998, 80: 429~437[DOI]
- 26 Birungi J, Arctander P. Large sequence divergence of mitochondrial DNA genotypes of the control region within populations of the African antelope kob (*Kobus kob*). Mol Ecol, 2000, 9: 1997~2008[DOI]
- 27 Polziehn R O, Strobeck C. Phylogeny of wapiti red deer sika deer, and other north American cervids as determined from mitochondrial DNA. Mol Phylogen Evol, 1998, 10: 249~258[DOI]
- 28 Balakrishnan C, Monfort S L, Gaur A, et al. Phylogeography and conservation genetics of Eld's deer (*Cervus eldi*). Mol Ecol, 2003, 12: 1~10
- 29 Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability. Evolution, 1975, 29: 1~10[DOI]
- 30 Avise J C. Molecular Markers Natural History and Evolution. New York: Chapman and Hall, 1994
- 31 郭延蜀. 四川梅花鹿的分布、数量及栖息环境的调查. 兽类学报, 2000, 20: 81~87
- 32 徐宏发, 陆厚基, 盛和林, 等. 华南梅花鹿的分布和现状. 生物多样性, 1998, 6: 87~91
- 33 Patel A D, Lin Y S, Wu H Y. History of wildlife conservation in Taiwan. Taipei: Ecology Labational Taiwan University, China. 1989
- 34 Severinghaus L, McCullough D. A comprehensive review of the sika deer restoration program in Taiwan. Report to Yangmingshan National Park, Taipei, 1997

(2005-08-12 收稿 2005-12-15 接受)