

# 褐马鸡

## 遗传多样性及保护

武玉珍/著

Genetic Diversities and Conservation of  
*Crossoptilon mantchuricum*



中国林业出版社

山西省自然科学基金资助项目(2012011034 -3)研究成果

# 褐马鸡遗传多样性及保护

武玉珍 著

中国林业出版社

# 图书在版编目(CIP)数据

褐马鸡遗传多样性及保护 / 武玉珍著. —北京 : 中国林业出版社, 2014. 12

ISBN 978 - 7 - 5038 - 7765 - 0

I. ①褐… II. ①武… III. ①马鸡属 - 遗传多样性 - 研究  
IV. ①Q959.7

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 285162 号

出版 中国林业出版社(100009 北京西城区刘海胡同7号)

E-mail 36132881@163.com 电话 (010)83143545

网址 <http://lycb.forestry.gov.cn>

印刷 北京北林印刷厂

版次 2014 年 12 月第 1 版

印次 2014 年 12 月第 1 次

开本 720mm × 1000mm 1/16

印张 9

字数 156 千字

定价 45.00 元

## 前 言

褐马鸡是一种中国特有的珍稀鸟类。历史上褐马鸡曾经广泛分布于华北、东北、西北等地区，甚至在我国南方的湖北、福建、安徽、四川、广东等地也有分布，清代中后期迅速在许多地方消失，到 20 世纪 70 年代末，褐马鸡已在全国多数地区绝迹，仅残存于山西的吕梁山脉和河北的小五台山地区。20 世纪 80 年代以来，国家对环境保护和野生动物保护工作开始重视，陆续建立了 6 个以保护褐马鸡为主要目标的国家级自然保护区，即山西庞泉沟、芦芽山、五鹿山、黑茶山自然保护区，河北小五台山、陕西延安黄龙山自然保护区，褐马鸡的分布区域和数量有了明显的增加。目前褐马鸡分布在山西、河北、北京、陕西 4 个省(直辖市)的部分区域，但是由于黄河与太行山的分隔，褐马鸡分布区被分成三块互不相连的岛屿，形成了三个自然地理种群，即山西吕梁山脉的中部种群、河北与北京地区的东部种群以及陕西黄龙山的西部种群。山西是褐马鸡的分布中心和多度中心。为了更好地保护褐马鸡，1984 年，山西省将褐马鸡定为省鸟。

多年来，对于褐马鸡的研究主要集中在普通生物学和生态学等宏观方面，而对褐马鸡微观 DNA 分子水平的研究从 2003 年之后才开始起步。作者从 2005 年开始褐马鸡遗传多样性方面的研究，陆续取得一定的成果，2009 年获山西省高校科技开发项目资助(20091037)，2012 年获山西省自然科学基金资助，开展濒危鸟类褐马鸡山西野生种群的遗传结构与多样性研究(2012011034-3)。褐马鸡遗传多样性研究的意义在于：第一，种群的遗传结构与遗传多样性可以反映物种的进化历史及适应潜力；第二，探讨物种濒危机制，制定科学合理的保护策略；第三，为种质资源的保存及取样策略的设计提供科学依据。褐马鸡遗传多样性的研究不仅具有重要的理论价值，而且对褐马鸡的科学保护具有现实的指导意义。

本书采用分子生物学和光谱学的研究技术,对山西庞泉沟、芦芽山等国家自然保护区和太原动物园的褐马鸡种群进行了研究,初步探讨了褐马鸡不同种群的遗传多样性和遗传结构、褐马鸡不同种群的种质资源与亲缘关系等,对山西分布的褐马鸡种群的遗传背景有了初步的了解,为进一步开展全国褐马鸡不同地理种群的遗传结构与遗传多样性以及系统发生等方面的研究奠定了基础。

感谢山西省自然科学基金委员会对本项目(2012011034-3)研究的大力支持!感谢山西大学张峰教授、王孟本教授、赵春贵副教授的指导与支持!感谢山西省自然保护区管理站张龙胜高级工程师,山西庞泉沟国家自然保护区武建勇高级工程师,太原动物园卫泽珍副园长、孟庆莲兽医师,山西省商检局宋欢高级工程师等同志在取样、检测等方面的大力协助!

感谢中国林业出版社编辑刘香瑞为本书出版付出的辛勤劳动!

由于作者水平有限,不足之处在所难免,欢迎各位读者提出宝贵的意见、建议和批评,本人将不胜感激!

武玉珍  
2014年8月

# 目 录

## 前 言

|                                        |    |
|----------------------------------------|----|
| 第1章 综 述 .....                          | 1  |
| 1.1 褐马鸡研究概述 .....                      | 1  |
| 1.1.1 形态特征 .....                       | 1  |
| 1.1.2 食物与食性 .....                      | 2  |
| 1.1.3 繁殖特性 .....                       | 2  |
| 1.1.4 栖息地特征 .....                      | 3  |
| 1.1.5 分布与数量 .....                      | 4  |
| 1.1.6 研究概况 .....                       | 6  |
| 1.2 遗传多样性研究概述 .....                    | 6  |
| 1.2.1 概念、研究内容及研究意义 .....               | 6  |
| 1.2.2 检测方法 .....                       | 7  |
| 1.3 保护遗传学研究 .....                      | 12 |
| 1.4 本书研究的主要内容 .....                    | 14 |
| 第2章 褐马鸡非损伤性取样、微量取样 DNA 的提取及检测 .....    | 15 |
| 2.1 引 言 .....                          | 15 |
| 2.2 材料和方法 .....                        | 16 |
| 2.2.1 材 料 .....                        | 16 |
| 2.2.2 方 法 .....                        | 18 |
| 2.3 研究结果 .....                         | 23 |
| 2.3.1 肌肉与血液样品基因组 DNA 浓度和总量测定结果 .....   | 23 |
| 2.3.2 不同样本提取的基因组 DNA 琼脂糖凝胶电泳检测结果 ..... | 23 |
| 2.4 分析与讨论 .....                        | 25 |
| 2.4.1 微量血液 DNA 提取方法分析 .....            | 25 |
| 2.4.2 陈旧剥制标本及新鲜皮张 DNA 的提取 .....        | 26 |
| 2.4.3 提取羽毛样品中 DNA 的三种方法比较 .....        | 27 |
| 2.4.4 粪便 DNA 的提取分析 .....               | 27 |

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| 2.4.5 在保护遗传学中的应用 .....           | 28 |
| 2.5 小 结 .....                    | 29 |
| 第3章 褐马鸡种群的线粒体 DNA 控制区多态性分析 ..... | 30 |
| 3.1 引 言 .....                    | 30 |
| 3.2 材料与方法 .....                  | 32 |
| 3.2.1 材 料 .....                  | 32 |
| 3.2.2 方 法 .....                  | 32 |
| 3.3 研究结果 .....                   | 35 |
| 3.3.1 DNA 提取的电泳检测结果 .....        | 35 |
| 3.3.2 PCR 扩增电泳监测结果 .....         | 36 |
| 3.3.3 重组质粒检测(酶切、PCR 鉴定) .....    | 36 |
| 3.3.4 褐马鸡线粒体 DNA 控制区遗传多态性 .....  | 38 |
| 3.3.5 种群遗传距离(Da) .....           | 43 |
| 3.3.6 系统发育树的构建 .....             | 44 |
| 3.4 分析与讨论 .....                  | 48 |
| 3.4.1 线粒体控制区的特性 .....            | 48 |
| 3.4.2 线粒体 DNA 的母性遗传分析 .....      | 49 |
| 3.4.3 遗传多样性现状分析 .....            | 50 |
| 3.4.4 两个种群的遗传差异分析 .....          | 51 |
| 3.5 小 结 .....                    | 52 |
| 第4章 褐马鸡 ISSR 标记的遗传多样性 .....      | 53 |
| 4.1 引 言 .....                    | 53 |
| 4.2 材料与方法 .....                  | 54 |
| 4.2.1 材 料 .....                  | 54 |
| 4.2.2 方 法 .....                  | 54 |
| 4.3 研究结果 .....                   | 56 |
| 4.3.1 PCR-ISSR 分析 .....          | 56 |
| 4.3.2 多态带百分率 .....               | 60 |
| 4.3.3 物种水平上的遗传多样性 .....          | 60 |
| 4.3.4 各种群的遗传多样性特点 .....          | 61 |
| 4.3.5 各种群个体之间的遗传距离和聚类分析 .....    | 61 |
| 4.4 分析与讨论 .....                  | 72 |
| 4.4.1 ISSR 实验的稳定性 .....          | 72 |
| 4.4.2 ISSR 遗传多样性分析 .....         | 72 |

|       |                                      |     |
|-------|--------------------------------------|-----|
| 4.4.3 | 两个种群的遗传差异分析 .....                    | 73  |
| 4.4.4 | 聚类分析 .....                           | 74  |
| 4.4.5 | ISSR 分子标记与线粒体基因标记的比较 .....           | 74  |
| 4.5   | 小 结 .....                            | 75  |
| 第 5 章 | 褐马鸡性别鉴定的分子生物学方法 .....                | 77  |
| 5.1   | 引 言 .....                            | 77  |
| 5.2   | 材料和方法 .....                          | 79  |
| 5.2.1 | 材 料 .....                            | 79  |
| 5.2.2 | 方 法 .....                            | 79  |
| 5.3   | 研究结果 .....                           | 80  |
| 5.3.1 | 性别相关基因的扩增以及两对引物的有效性分析 .....          | 80  |
| 5.3.2 | 性别相关基因的排序及序列比对 .....                 | 82  |
| 5.3.3 | 在已知性别和未知性别个体中的扩增结果 .....             | 83  |
| 5.4   | 分析与讨论 .....                          | 84  |
| 5.4.1 | 引物 P2/P8 与 2550F/2718R 扩增结果的分析 ..... | 84  |
| 5.4.2 | 已知与未知性别鉴定结果分析 .....                  | 85  |
| 5.4.3 | 鸟类性比研究 .....                         | 86  |
| 5.5   | 小 结 .....                            | 87  |
| 第 6 章 | 褐马鸡羽毛、卵壳及组织器官中 10 种矿物元素含量的测定 .....   | 88  |
| 6.1   | 引 言 .....                            | 88  |
| 6.2   | 实验部分 .....                           | 89  |
| 6.2.1 | 主要仪器、材料和试剂 .....                     | 89  |
| 6.2.2 | 样品处理 .....                           | 90  |
| 6.2.3 | 实验方法 .....                           | 90  |
| 6.3   | 研究结果 .....                           | 90  |
| 6.3.1 | 羽毛和卵壳中元素含量 .....                     | 90  |
| 6.3.2 | 各组织器官中 10 种矿物元素的测定结果 .....           | 92  |
| 6.3.4 | 各元素的含量差异显著性检验 .....                  | 100 |
| 6.3.5 | 各元素的相关关系 .....                       | 100 |
| 6.3.6 | 羽毛、卵壳与各组织器官间矿物元素含量的显著性检验<br>.....    | 101 |
| 6.4   | 回收率实验 .....                          | 104 |
| 6.5   | 分析与讨论 .....                          | 104 |
| 6.5.1 | 矿物元素在动物机体内的生物学作用 .....               | 104 |



|       |                                                |     |
|-------|------------------------------------------------|-----|
| 6.5.2 | 与文献及其他鸟类中羽毛及卵壳含量的比较分析 .....                    | 105 |
| 6.5.3 | 同一组织器官中不同元素的分布及相关关系分析 .....                    | 106 |
| 6.5.4 | 通过测定分析羽毛、卵壳中矿物元素的含量可反映出机体<br>内元素的含量及环境状况 ..... | 107 |
| 6.6   | 小 结 .....                                      | 108 |
| 第7章   | 褐马鸡濒危机制及保护对策 .....                             | 110 |
| 7.1   | 褐马鸡的致危因素分析 .....                               | 110 |
| 7.1.1 | 褐马鸡濒危的内因 .....                                 | 110 |
| 7.1.2 | 褐马鸡濒危的外因 .....                                 | 113 |
| 7.2   | 褐马鸡的生态学和遗传多样性保护建议 .....                        | 116 |
| 7.2.1 | 加强自然保护区的建设,提高自然保护区的统筹管理水平<br>.....             | 116 |
| 7.2.2 | 加强褐马鸡人工饲养和繁育,努力扩大褐马鸡的人工种群<br>.....             | 116 |
| 7.2.3 | 加强褐马鸡的野外驯化和放归实验,不断扩大褐马鸡的分<br>布区域 .....         | 117 |
| 7.2.4 | 加强褐马鸡遗传多样性基础研究,为褐马鸡的保护提供科<br>学依据 .....         | 118 |
| 第8章   | 结 论 .....                                      | 120 |
|       | 主要参考文献 .....                                   | 123 |

# 第1章 综 述

褐马鸡(*Crossoptilon mantchuricum*), 古称“鶡”, 又称“角鸡”、“耳鸡”, 是我国特有的珍稀鸟类, 国家一级重点保护动物, 1994 年被世界自然联盟(IUCN)列为“濒危级”鸟类(IUCN, 2000), 1995 年被列入濒危动植物种国际贸易公约(CTES), 1998 年被列入中国濒危动物红皮书(鸟类)(郑光美和王岐山, 1998)。在国际上, 褐马鸡被誉为“东方宝石”, 与国宝——大熊猫齐名。世界雉类协会的会徽上以它的形象为标志, 中国鸟类协会把褐马鸡作为会标, 山西省将褐马鸡定为省鸟。

## 1.1 褐马鸡研究概述

### 1.1.1 形态特征

褐马鸡(*Crossoptilon mantchuricum*), 属鸟纲(Aves), 鸡形目(Galliformes), 雉科(Phasianidae), 马鸡属(*Crossoptilon*)。马鸡属共有褐马鸡、蓝马鸡(*Crossoptilon auritum*)、白马鸡(*Crossoptilon crossoptilon*)和藏马鸡(*Crossoptilon harmani*)四种, 其中褐马鸡是我国的特有种。

成年褐马鸡体长 80~120cm, 体高约 60cm, 体重 2~3kg。褐马鸡通体羽毛大部分为深褐色, 并闪烁金属色的亮光。头、颈和尾端为灰褐色, 枕后有一不很明显的白色狭带, 额基白色而具黑端, 鼻孔后缘, 有两簇白色耳羽, 呈短角状, 好像一对竖起的耳朵, 又像一对白犄角, 因而又得名“角鸡”。脸部裸皮红色, 布满细小的疣状突。上背、两肩棕褐色, 并具光彩, 羽端分散成发状, 腰至尾基白色。尾羽共计 22 片, 长羽呈双排列, 中央两对特别长而且很大, 被称为“马鸡翎”, 外边羽毛披散如发并下垂。平时它高翘于其他尾羽之上, 披散时又像马尾, 身褐尾白, 昂头翘尾颇似骏马。褐马鸡虹膜橙黄至红褐色, 嘴短粉红色, 无鼻钩, 脚及趾均为珊瑚红色, 雄鸟具距。雌雄羽色、体型极为相似, 唯雌体略小, 脚上无距, 这在雉科鸟类中是独一无二的, 也是雄雌之间不易察觉的唯一外观区别。褐马鸡叫声清晰洪亮, 两条腿强壮

有力，善于在山林间走窜，不善飞翔，只能从山上向下滑翔式地飞行。

### 1.1.2 食物与食性

褐马鸡的食性很杂，主要以植物性食物为主。据统计，褐马鸡的食物有130余种，其中包括植物、动物、真菌类等。植物性食物由低等到高等，含苔藓、蕨类，草本、灌木、乔木。摄食部位包括根、茎、叶、花、果、种子和树皮。植物性食物占96.62%，动物性食物占2.94%，真菌类仅占0.44%，是鸟类中少见的广谱杂食性鸟类(郑作新等，1978；刘焕金等，1992)。

不同季节其取食地及取食种类有所不同，成体和幼体的取食也有差异。褐马鸡在食物缺乏的严冬季节，主要靠吃草根、草籽及散落在地上的植物果实来维持生命。进入春季，植物性食物种类增多，但在4月份，由于褐马鸡发情、交配等繁殖活动的影响，其摄入的食物种类减少。在食物充足的夏秋季节，主要以多种植物的嫩叶、花和果实，苔藓、蕨类，蝗虫、蝶类、蜂类、蚁卵等一些小型动物，以及马勃、蘑菇等菌类为食。

褐马鸡摄食强度具有累加性，通常上午少食或半饱，下午饱食，但幼体优先于成体。随着雏鸟的长大，取食量也明显增加。在正常觅食状态下，每日同期觅食强度在夏秋季较高，冬春季较低。繁殖季节，褐马鸡的觅食区域相对缩小，这时雌鸡由于需要增加体内的营养积累，食量很大。在孵卵期间，雌鸡离巢觅食的机会较少，觅食的范围也很小，一般离开巢穴不会超过20m远。这一时期，雌鸡基本上处于半饥饿状态，而雄鸡则可以相对自由地在巢穴周围游荡觅食。

褐马鸡的食物种类多、觅食范围广、季节性变化强、食量因年龄不同而异。全年以植物性食物为主。全年因各种食物的分布和生长发育阶段不同，摄取的种类、部位和量有季节性变化。

### 1.1.3 繁殖特性

褐马鸡的繁殖具有明显的季节性和特殊的繁殖周期。褐马鸡的婚配为“一夫一妻”制的，不过仅限在当年。褐马鸡的繁殖行为随着季节的交替、外界环境的变化而表现出一定的规律性。

褐马鸡的繁殖可以分为分群、发情、营巢、产卵、孵卵、育雏以及生长等七个时期。褐马鸡繁殖开始的最初标志是由冬季的集群活动转为成对活动，即分群。但分群是一个渐变过程，由大群到小群，最后成对。分群最早始于2月下旬，3月中旬成对活动，4月底基本上全部成对活动，很少发现小群活

动。发情期最早始于3月,一直延续到5月,交配行为一般在下午5:00~7:00发生频次最高,时间从数秒至十几秒不等。随着褐马鸡交尾结束,雌雄鸡开始共同选择巢区、确定巢位,3月上旬至4月上旬是褐马鸡成对选择巢区活动的高峰,褐马鸡的巢比较简单,但营巢位置较隐蔽。褐马鸡产卵期为4月中旬至5月中旬,长达30天,产卵的间隔时间为34~48h,产卵多在上午9:00之前,褐马鸡每年产卵一次,每窝产卵4~17枚,平均8枚。全窝卵产齐后开始孵卵,由雌鸡承担,雄鸟距巢50m左右活动,褐马鸡的孵卵巢温为36.5~36.7℃,孵化期为26~27天。在孵卵过程中有晾卵的行为,一般多在中午或午后天气暖和时进行,晾卵时间一般每次为30~60min。褐马鸡为早成鸟类型,雏鸟6月上旬陆续出壳,雌、雄鸡共同育雏(邱富才等,1998)。当雏鸟体重达75g以上时,夜宿由地面转为树上。

#### 1.1.4 栖息地特征

褐马鸡是一种地栖鸟类,因而栖息地的结构特征直接影响其在分布区内的空间分布、种群密度及其繁殖成功率(刘焕金,1986)。褐马鸡的栖息环境几乎包括了所有的森林植被和林缘灌丛植被,分布区域分为高层支系(海拔1800~2500m以上)、中层支系(海拔1650~2000m)和低层支系(海拔800~1650m)。水源是构成鸟类栖息地的重要成分,在褐马鸡的巢址选择中,巢址距水源的平均距离为234m,最近21m,最远1700m(杨风英等,2001)。

褐马鸡的生境选择存在季节性变化,在不同的生活阶段具有不同的栖息地生境。根据调查与分析,在一年中,褐马鸡对植被类型生境选择的排序依次为阔叶林、落叶阔叶林、灌丛、针阔混交林、针叶林及农田边。

根据褐马鸡的活动规律和栖息地特征,我们可以把褐马鸡的栖息地分为:繁殖区、游荡区和越冬区。随着气温的升高,3月上旬至4月下旬由越冬区到繁殖区;7月上旬开始由炎热的低海拔区集中于凉爽的高山丛林;10月上旬至11月上旬由高海拔活动区迁移到较温暖的越冬区。春夏季殖区,主要选择在较高海拔的阴坡环境,距山脊较近、坡度较大、乔木种类和灌木较多的坡面、林缘空间,植被盖度50%~70%,食物丰盛度(尤其是动物性食物)相对较高,人为干扰因素较小。秋季游荡区,秋季植物果实、种子成熟,食物的种类和数量较多且分布广,褐马鸡的分布范围明显扩大。褐马鸡的栖息地主要由杨、桦、辽东栎、云杉、油松、落叶松等组成的阔叶林、针阔混交林的半阴坡和阳坡活动,同时到灌丛和农田中活动比例明显上升。这个季节,褐马鸡没有固定的归宿点和觅食区,常因觅食果实,游荡性较大,具有较大

的漂移性,它是褐马鸡由高海拔向低海拔、阴坡向阳坡迁移的过渡性栖息地。冬季越冬区,在冬春季,阴坡常被积雪覆盖,食物种类单一,数量少,分布狭窄,所以选择食物较为丰富、人为干扰较少的低海拔沟谷、川道和农田以及由杨、桦、辽东栎、油松等组成的阳坡、低海拔的阔叶次生疏林和林缘灌丛地带(张凤臣,2007)。

褐马鸡栖息地有明显的季节特征。针叶林是褐马鸡繁殖期及其前后主要的栖息地,季节为春—夏。针阔混交林是褐马鸡由家系活动转向混群越冬的过渡性栖息地,季节为秋。阔叶林及林缘灌丛是褐马鸡混群越冬栖息地,季节为冬。栖息地及与栖息地有关的觅食活动区,由针叶林的分散均匀逐渐转向阔叶林及林缘灌丛的分割集中。其中有两个栖息地的稳定时期,繁殖期和越冬期。

褐马鸡无论栖息地怎样变动,均具有一个共同特征,即主要栖息于隐蔽度较高的阔叶林、针阔混交林、针叶林以及林缘灌丛中,而隐蔽度小的亚高山草甸很少见到它的踪迹。从生态学角度上讲,良好的隐蔽性可以减少褐马鸡被天敌捕食的机率,有利于其生存。从而也说明褐马鸡属于典型的森林鸟类,森林是其赖以生存的必要条件(李吉利等,2002)。

### 1.1.5 分布与数量

褐马鸡是我国的特产珍禽,全世界只分布在中国。褐马鸡至今未发现有亚种分化。历史上,褐马鸡不仅在山西、河北的分布很广泛,而且东北、陕西、甘肃甚至南方的湖北、安徽、四川、福建、广东等地历史上也曾有褐马鸡的分布(何业恒,1990年)。随着历史的变迁,特别是清代中后期以来仅一二百年时间里褐马鸡在许多地区绝迹,分布范围愈来愈窄,数量愈加稀少。到20世纪70年代末,褐马鸡已在全国许多地区绝迹,仅残存于山西的吕梁山脉和河北的小五台地区。20世纪80年代以来,随着全国对环境保护工作和对野生动物保护的重视,开展大规模的植树造林、退耕还林和封山育林活动,使褐马鸡等一大批生活于森林中的动物生存条件得到了改善。经过近20多年的努力,现在褐马鸡的分布区域和数量有了显著的增加。目前,我国褐马鸡分布于4个省(直辖市)(北京、河北、山西和陕西省)的35个区县(如图1-1),分布范围为13600km<sup>2</sup>,现存数量在17900只左右(李卫忠等,2006),但由于地理屏障(黄河)和自然植被(太行山植被)的破坏,其分布区已被严重分隔成了3个地理种群,即山西吕梁山脉的中部种群、河北与北京地区的东部种群和陕西黄龙山的西部种群(张龙胜,1999)。

山西省吕梁山脉是现有野生褐马鸡的分布中心和多度中心,其他分布区的种群数量和分布范围都比较小。褐马鸡在山西省分布于吕梁山脉。北起神池县的三丛林林场,沿吕梁山主脉南下,直到稷山县北部的马家沟林场,即内长城以南,黄河以东,汾河以西的吕梁山脉。褐马鸡分布集中,数量较多的区域在芦芽山、关帝山和五鹿山。1980年以来先后建立了3个国家级自然保护区,即芦芽山、庞泉沟(关帝山)、五鹿山自然保护区。由于吕梁山森林种类、密度分布的不同,部分地区森林中断或狭窄,使褐马鸡的分布在部分地区中断(静乐—岚县)或狭窄(交口—石楼),在地理分布上呈典型的岛屿状。因此褐马鸡在山西也可以分为3个地理种群(张龙胜,1999),即吕梁山北段种群(芦芽山种群),吕梁山中段种群(庞泉沟种群),吕梁山南段种群(五鹿山种群)。山西黑茶山自然保护区在2012年晋升为国家级保护区,它地处吕梁山北中段森林植被最狭窄的地区,是吕梁山南北野生动物(包括褐马鸡)扩散、基因交流的重要通道。据报道(王振军,2011年),黑茶山自然保护区褐马鸡的数量理论推断应有1313只。



图 1-1 褐马鸡现状分布图

Figure 1-1 Distribution of *Crossoptilon mantchuricum* of recent

注: 1. 北京东灵山, 2. 河北小五台山, 3. 山西芦芽山, 4. 山西黑茶山, 5. 山西庞泉沟山, 6. 山西五鹿山, 7. 陕西黄龙山。

### 1.1.6 研究概况

多年来科研人员对褐马鸡进行了多方面的研究,其中绝大多数为宏观生态和普通生物学方面的研究,包括在生态习性、种群数量及分布、种群生态、天敌研究、繁殖生物学学习性、人工繁殖、疾病防治、保护生物学、褐马鸡的再引入等方面进行的一系列研究。另外还有笼养褐马鸡的静止代谢率、笼养褐马鸡繁殖特点、冬季的社群等级及夏季的梳羽、取食、食物因素对褐马鸡冬季打斗行为的影响等方面的研究,为褐马鸡的保护和科学研究提供了宝贵的资源和有价值的数据。

随着生物学技术的快速发展和学科的相互渗透,对褐马鸡的研究也从宏观生物学和生态学逐步进入到微观分子生物学和遗传学的研究。如褐马鸡的生理生化指标研究(殷国荣,1993;唐朝忠等,1997,1998),褐马鸡和蓝马鸡之间的亲缘关系研究(刘如筭等,1999),褐马鸡羽毛的超微结构研究(常崇艳等,2001),3种马鸡的核型和染色体G带带型研究(石兴娣等,2001),马鸡属的系统发育研究(仓决卓玛等,2003;吴爱平等,2005)。对褐马鸡的遗传多样性的研究相关报道不多(常江,2007,付玉明2008),自2008年以来作者(武玉珍,2008,2010,2013)陆续发表相关研究报道多篇。

## 1.2 遗传多样性研究概述

生物多样性指的是地球上生物圈中所有的生物,即动物、植物、微生物,以及它们所拥有的基因和生存环境。生物多样性是一个内涵十分丰富的重要概念,包括四个层次:遗传多样性、物种多样性、生态系统多样性和景观多样性(马克平,1993)。其中,遗传多样性(genetic diversity)是生物多样性的基础和核心(Ingrouille,1992),而一个物种适应环境变化的能力和进化潜力都依赖其遗传多样性,保护生物多样性最终是要保护其遗传多样性。

### 1.2.1 概念、研究内容及研究意义

广义的遗传多样性是指地球上生物所携带的各种遗传信息的总和。这些遗传信息储存在生物个体的基因之中,一个物种所包含的基因越丰富,它对环境的适应能力就越强。狭义的遗传多样性主要是指种内个体之间或一个群体内不同个体的遗传变异总和(钱迎倩等,1994)。世界自然保护联盟(IUCN)将遗传多样性保护与生态系统多样性保护、物种多样性保护列为全球生物多



样性保护的三个优先内容(艳丽等, 2006)。在遗传多样性的研究中, 种内或种以下即亚种或亚种内、种群间或群体内的遗传变异是研究的重点。种内的遗传变异程度决定其进化的潜能(Solbrig, 1991), 任何物种都有其独特的基因库和遗传组织形式, 物种的多样性也就显示了基因的多样性。

遗传多样性体现在不同水平上: 种群水平、个体水平、组织和细胞水平以及分子水平。遗传多样性最直接的表现形式就是遗传变异水平的高低。在自然界中任何个体的生命都是很有限的, 由个体所组成的种群或种群系统才能连续不断, 是进化的基本单位(Dobzhansky, 1993), 这些种群在自然界中有特定的分布格局, 所以遗传多样性不仅包括遗传变异的高低, 同时也包括种群的遗传结构。种群遗传结构上的差异是遗传多样性的一种重要表现形式, 一个物种的进化潜力和抵御不良环境的能力取决于种内遗传变异的大小, 同时也有赖于遗传变异的种群结构(Grant, 1991)。

研究物种的遗传多样性具有重要的理论价值和实际意义。首先, 有助于进一步探讨生物进化的历史和适应潜力。物种的遗传多样性水平高低和其群体遗传结构是长期进化的结果。遗传变异越丰富, 遗传多样性越高, 对环境变化的适应能力就越强, 反之遗传多样性贫乏的物种通常在进化上的适应性就弱。遗传多样性对种群至关重要, 它为进化提供遗传基础。遗传多样性的丧失会引起个体繁殖适合度的下降(Ballou et al, 1982), 在濒危物种特别是高度特化的单型种的研究和保护中, 需充分重视物种的遗传多样性和群体遗传结构, 以避免近亲繁殖。研究还表明, 大多数濒危物种比非濒危广布物种的遗传多样性更低, 因此, 制定濒危动物野生和圈养种群的保护管理策略的一个主要目标, 就是要维持该物种的遗传多样性(陈灵芝, 1993)。其次, 遗传多样性的研究有助于生物资源的保存和利用, 为动植物育种和遗传改良奠定基础。另外, 遗传多样性还是估计种群长期生存可能性的重要指标, 也是生物学上制定保护计划所必需的内容之一(Frankel et al, 1981)。

### 1.2.2 检测方法

遗传多样性的检测是目前遗传多样性研究的一个核心问题, 而遗传标记就是表示遗传多样性的有效手段。遗传标记具有两个基本特征: 可遗传性和可识别性, 它随着遗传学研究水平的提高和实验手段的不断改进逐步发展起来, 从形态学水平、染色体水平、蛋白质水平到 DNA 分子水平, 前三种遗传标记都是以基因表达的结果(表现型)为基础, 是对基因的间接反映; 而 DNA 分子标记是 DNA 水平遗传变异的直接反映。



### 1.2.2.1 形态学检测方法

从形态学或表型性状上来检测遗传变异。利用生物肉眼可见的外部特征,包括植物的株高、叶形、果实颜色等,以及色素、生理特性、生殖特性、抗病虫害等有关特性,是最简单直观、经济方便的方法。但是,由于形态学或表型性状数量较少,易受环境条件、人为因素、测量工具及基因显隐性等因素的影响,遗传表达不稳定,因此在有些情况下并不能完全真实全面地反映遗传多样性。

### 1.2.2.2 染色体水平上的检测方法

细胞学标记是指染色体的变异。主要是指染色体核型(染色体数目、大小、着丝点位置等)及带型(C带、G带、N带等)的变异。与形态学方法相比,它能够进行一些重要的染色体或染色体区域定位。但由于所需材料太费时和费力,而且技术性较强,易受实验条件的影响,导致该方法对某些不具有特异性带型的染色体或片段进行鉴定时结果的可靠性略差,因此,很少应用。

### 1.2.2.3 蛋白质水平上的检测方法

蛋白质标记包括同工酶和储藏蛋白(分为水溶蛋白、谷蛋白、清蛋白和球蛋白等)标记,用得最多的是同工酶标记。同工酶标记,是鉴定外源DNA和研究物种起源进化的有效工具,它们比形态标记更能提供较大的差异信息。通常利用非变性淀粉凝胶或聚丙烯酰胺凝胶电泳及特异性染色检测,根据电泳谱带的不同来显示酶蛋白在遗传上的多态性。蛋白质检测技术实验程序简单、易操作、成本较低、比较稳定,比形态学标记更能提供较大的差异信息等优点。但同样有其局限性,实验结果会随着动植物不同发育时期、器官及环境的变化而变化;并且,可以利用的遗传位点数量比较小,对电泳分析的样品要求较高,因而限制了它的发展和广泛应用。

### 1.2.2.4 DNA水平上的检测方法

分子标记本质上是指能反映生物个体或种群间基因组中某种差异的特异性DNA片段。DNA分子标记是指由于DNA分子发生缺失、插入、易位、倒位、重排或由于存在长短与排列不一的重复序列等机制而产生的多态性标记,它能够直接反映基因组DNA间的差异(贺林,2000;杨金水,2002)。目前