

奠基者效应对海南坡鹿迁地保护 种群遗传多样性的影响

张琼^{①③} 吉亚杰^② 曾治高^① 宋延龄^{①*} 张德兴^②

(^①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;

^②中国科学院动物研究所农业虫害综合治理研究国家重点实验室 北京 100080;

^③中国科学院研究生院 北京 100049)

摘要:在迁地保护中,奠基者效应通常会导致新建种群与源种群的遗传分化,并使新建种群的遗传多样性低于源种群。海南坡鹿(*Cervus eldi hainanus*)是世界濒危种,野生种群仅分布在中国海南岛。由于栖息地破坏和过度狩猎,至20世纪70年代,这个物种仅剩26只,已经濒临绝灭,被列为国家一级保护动物。自1976年开始对海南坡鹿实施就地保护和迁地保护,该种群的数量从最初的26只增加到1600多只。本文采用10个微卫星位点对一个源种群(大田种群)和5个迁地种群(邦溪、甘什岭、枫木、金牛岭、文昌种群)的遗传多样性进行检测,结果发现6个种群的遗传多样性水平均较低($H_e \approx 0.3$)。5个迁地种群分别有1、3或5个单态位点,大田种群无单态位点,邦溪种群与大田种群遗传分化显著,而甘什岭种群与大田种群的遗传分化不显著。结果表明,奠基者效应导致种群的遗传多样性水平较低,并且对于不同迁地种群,影响也不相同。造成这些差异的因素有建群者数量、引种方式和建群种群的结构。该研究为今后在海南岛建立新的海南坡鹿迁地种群提供建议和参考,同时也为其他濒危物种的迁地保护提供理论指导。

关键词:奠基者效应;海南坡鹿;遗传多样性;微卫星;迁地保护

中图分类号:Q958 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)03-54-07

Influence of the Founder Effect on Genetic Diversity of Translocated Populations: An Example from Hainan Eld's Deer

ZHANG Qiong^{①③} JI Ya-Jie^② ZENG Zhi-Gao^① SONG Yan-Ling^{①*} ZHANG De-Xing^②

(^①Academic Key Laboratory of Animal Ecology and Conservation Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080;

^②State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects & Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080;

^③Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The founder effect leads to the great genetic differentiation between the translocated populations and the source population, and the genetic diversity of translocated population is usually lower than the source population. The Hainan Eld's Deer (*Cervus eldi hainanus*) is a world threatened species and ranked in the first class of national key protected species. Since 1976, population restoration programs, including *in situ* and *ex situ* conservation, have successfully brought this deer back from the brink of extinction. We employed 10 microsatellite DNA loci to index

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30430120),中国科学院知识创新工程项目(No. KSCX2-SW-118),中国科学院“百人计划”资助;

* 通讯作者, E-mail: songyl@ioz.ac.cn;

第一作者介绍 张琼,女,博士研究生,研究方向:动物生态和保护遗传学, E-mail: zhangqiong@ioz.ac.cn

收稿日期:2006-11-03,修回日期:2007-03-26

genetic variation in the one source (Datian) and five introduced populations (Bangxi, Ganshiling, Fengmu, Jinniuling and Wenchang). The genetic variability was low ($H_e \approx 0.3$) for each of the six populations. Five translocated populations harboured 1, 3 or 5 monomorphic loci respectively, while no monomorphic locus in the source population. Significant differentiation existed between Bangxi and Datian populations, and no significant differentiation was detected between Ganshiling and Datian populations. Our results suggest that founder effect have played a role in the genetic consequence, and the influence on different translocated populations is different. We thought the possible reasons that might lead to the different influence were founder size, founding history and population structure of founder. The study provided suggestions for establishing new translocated populations in Hainan in future and provided scientific guide for *ex situ* conservation of other endangered species.

Key words The founder effect; Hainan Eld's Deer (*Cervus eldi hainanus*); Genetic diversity; Microsatellite DNA; *Ex situ* conservation

奠基者效应 (founder effect) 是遗传漂变的一个特例, 指仅由少数个体建立并发展种群时, 这些少数个体携带的遗传信息不能完全反映其源种群的遗传信息, 而导致由此发展起来的新种群遗传多样性较低的现象。在海岛上生活的许多物种的种群, 尽管它们现在可能由几十万或几百万个个体所组成, 但是它们却是很久以前偶然到来的一个或几个“殖民者”的后裔。由于遗传漂变, 不同基因座上的基因频率在几个“殖民者”之间的差别有可能大于其原来群体内的差别。这种差别对隔离群体的进化会产生持久的影响^[1]。关于奠基者效应一个经典的例子是生活于冰岛的牛 (*Bison bonasus*), 它们是约 1 000 年前带到该岛的一小群牛的后裔, 已有的研究表明, 目前这些牛的遗传组成与它们的表兄弟——位于挪威境内的种群有很大差异^[2]。另外, Neveu 等 (1998) 通过对一个倭狐猴 (*Microcebus murinus*) 野生种群和 4 个迁地圈养种群的研究表明, 新建种群 (迁地种群) 的遗传多样性水平低于源种群 (野生种群)^[3]。类似研究还有许多, 例如 Williams 等对马鹿 (*Cervus elaphus*) 的研究^[4], Broders 等对加拿大驼鹿 (*Alces alces*) 的研究^[5], Williams 等对渔貂 (*Martes pennanti*) 的研究^[6]等。由此可见, 奠基者效应可导致新建种群与源种群的遗传分化, 使新建种群的遗传多样性较低。瓶颈效应发生在种群经历了短暂的数量剧减后, 种群的遗传信息完全来自于少数存活下来的个体, 因此, 瓶

颈效应与奠基者效应非常类似, 这种效应的一个严重后果就是使种群的遗传多样性非常低, 例如位于美洲西北海岸的北象海豹 (*Mirounga angustirostris*)^[7]。

除海南坡鹿 (*Cervus eldi hainanus*) 外, 坡鹿的其他亚种都分布在印度及中南半岛的缅甸、泰国、越南、老挝和柬埔寨等大陆地区。至于海南坡鹿种群何时、源于何种原因进入我国的海南岛, 至今还没有明确的结论。根据地方志的记载, 海南坡鹿曾广泛分布在海南岛海拔 200 m 以下的地区^[8]。但是, 自明清以来, 海南岛移民潮导致坡鹿的分布区逐渐向西退缩, 人口增加导致狩猎压力增高, 这些因素导致种群数量急剧减少^[9]。1972 年国际自然和自然资源保护联盟 (IUCN) 将坡鹿分布于海南岛的亚种列为濒危种^[10]。1989 年 1 月 14 日由中国农业部、林业部发布的《国家重点保护野生动物名录》将海南坡鹿列为国家一级保护动物。

1976 年, 为了保护当时仅存的 26 只坡鹿, 建立大田国家级坡鹿自然保护区实施就地保护。1988 年 5 月, 大田地区的坡鹿总数已达到 250 余只, 是建立保护区时的 10 倍; 1976 ~ 1983 年间, 坡鹿年平均增长率为 16.6%; 1983 ~ 1988 年间年平均增长率为 27.2%^[11]。1990 年开始实施迁地保护, 先后向 7 个点迁移了总共 83 只坡鹿 (表 1)。目前海南坡鹿种群已超过 1 000 只^[12], 成为我国物种保护工作中最成功的范例之一。

表 1 迁地情况及目前种群数量

Table 1 Locations and size of off-site populations of Hainan Eld's Deer

种群 Locations	引进年份 Year of introduction	引进数量 Size of introduction	2006 年种群数量 Population size in 2006
邦溪自然保护区 Bangxi Nature Reserve	1990 ~ 1992	18	230
甘什岭自然保护区 Ganshiling Nature Reserve	1997	20	(已迁出)
枫木鹿场 Fengmu Deer Farm	1994	10	38
金牛岭公园 Jinniuling Park	1997	4	2
上海野生动物园 Shanghai Wild Animal Park	1995	10	18
东山湖热带野生动物园 Dongshanhu Tropical Wild Animal Park	1996	15	24
文昌保护站 Wenchang Reserve Station	1999	22(16 + 6)*	62

* 文昌保护站的 22 只中, 16 只来自东山湖热带野生动物园, 6 只来自于大田自然保护区。

* Among 22 individuals in Wenchang Reserve Station, 16 individuals were translocated from Dongshanhu Tropical Wild Animal Park and 6 from Datian Nature Reserve.

虽然海南坡鹿的种群数量有所恢复, 但由于种群经历了瓶颈效应和奠基者效应, 目前的遗传多样性水平对种群持续健康发展的影响是种群保护者和管理者越来越关心的问题。对大田自然保护区 55 只海南坡鹿的 mtDNA 控制区序列的研究表明, 这些个体全部来自一个母系家族^[13]。本文通过使用 10 个多态性高的微卫星标记进一步探讨大田海南坡鹿种群遗传多样性, 及甘什岭、邦溪、枫木、金牛岭和文昌的 5 个迁地种群的遗传多样性, 从而分析并讨论奠基者效应对海南坡鹿种群遗传多样性的影响。

1 材料与方法

1.1 样本的采集 根据坡鹿在海南省的迁地情况, 选取了 6 个采样点 (1 个源种群——大田种群和 5 个迁地种群), 共 213 个个体的血液样本 (表 2)。

1.2 微卫星 DNA 多态性检测 DNA 的提取采用经典的酚-氯仿法^[14]。本研究中所使用的 10 个微卫星位点是从已报道的 32 篇文献所提供的牛科及其他鹿科动物的共 104 个微卫星位点中筛选得到^[15]。

表 2 采样点及样本量

Table 2 Sampling locations and sample sizes

采集地 Sampling location	采集年份 Sampling time	样本量 (n) Sample size
大田自然保护区 Datian Nature Reserve	1998	159
邦溪自然保护区 Bangxi Nature Reserve	2003	19
甘什岭自然保护区 Ganshiling Nature Reserve	1998	20
枫木鹿场 Fengmu Deer Farm	2003	6
金牛岭公园 Jinniuling Park	2003	2
文昌保护站 Wenchang Reserve Station	2003	7

PCR 反应在 PE9700 PCR 仪上进行, 反应体系为 10 μ l, 反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 变性 20 s, 43 ~ 55 $^{\circ}$ C (根据不同的引物) 30 s, 72 $^{\circ}$ C 20 s, 循环 40 次, 72 $^{\circ}$ C 延伸 2 min。引物用荧光染料 6-FAM 或者 HEX 标记并在美国 ABI 公司的 3100 型遗传分析仪上进行多态性检测, 再通过与之配套的 GeneScan 软件来完成微卫星 DNA 数据的读取。

1.3 数据分析 利用 Fstat 2.9.3^①、Arlequin 2.0^②、MStools^③软件中的 STAT 程序,分别统计估算了微卫星各位点等位基因频率、期望杂合度(H_e)及表观杂合度(H_o)及其标准偏差(SD)、各位点的平均等位基因数(A)及基因丰富度(A_R)、单态位点数量(n)等指标。 F -统计量(近交系数 F_{IS} 及固定指数 F_{ST})用 Fstat 2.9.3^①和 Arlequin 2.0^②软件来进行估算。

2 结果与讨论

2.1 海南坡鹿源种群和迁地种群遗传多样性的比较 源种群和 5 个迁地种群遗传多样性水平均较低(表 3),且大田种群与邦溪、甘什岭种群的遗传多样性没有显著差异($P > 0.05$)^④,可能与建群时间较短且种群近期经历了瓶颈效应有关^[6],由于枫木、金牛岭和文昌种群的样本量太少,结果只能作为参考,没有进行统计分析。种群的期望杂合度(H_e)平均约为 0.3(表 3),与具有相同经历的考拉(*Phascolarctos cinereus*, $H_e = 0.33$)^[17]、猎豹(*Acinonyx jubilatus*, $H_e = 0.39$)^[18]等种群相当;与北美马鹿(*Cervus elaphus*, $H_e = 0.34$)^[19]、北美驯鹿(*Rangifer tarandus*, $H_e = 0.46$)^[20]和日本梅花鹿(*C. nippon*, $H_e = 0.35$)^[21]的遗传多样性水平也类同。大田、邦溪、甘什岭和枫木种群具有负的近交系数 F_{IS} 值,暗示这些种群的有效种群较小(表 3)。此外,与源种群相比,迁地种群的等位基因数目均较少,其中邦溪种群和甘什岭种群在所有 10 个位点上分别丢失了 16 个和 14 个等位基因,并且等位基因频率在源种群和迁地种群中的分布也有差异,源种群中的稀有等位基因在迁地种群中的频率相对较高(如位点 URB58 的等位基因 152)^④。金牛岭种群有 5 个单态位点,枫木种群有 3 个单态位点,邦溪、甘什岭和文昌种群分别有一个单态位点,而源种群没有单态位点(表 3)。该结果与 Williams 对渔貂的 4 个源种群和 4 个迁地种群的遗传多样性的研究结果类似^[6],表明奠基者效应和遗传漂变对迁地种群遗传多样性的潜在影响。同时

还发现甘什岭种群与源种群(大田)的遗传分化($F_{ST} = 0.0202$)不显著,而邦溪种群与源种群遗传分化显著($F_{ST} = 0.0394$,表 4)。这与奠基者效应对种群遗传多样性影响的因素有关。

2.2 奠基者效应对种群遗传多样性影响因素

2.2.1 建群者的数量 建群者的数量对迁地保护种群的遗传多样性有影响。甘什岭种群由 20 只建群者组成,期望杂合度为 0.3612;枫木种群的建群者大小为 10,期望杂合度为 0.3227;金牛岭种群的建群者是 2 对坡鹿,期望杂合度为 0.2833(表 3)。经 SPSS 13.0 软件(非参数检验方法)检测,数据均服从正态分布($P = 1.00$),经线性相关分析检验($r = 0.997$, $P = 0.045$),建群者数量与期望杂合度呈显著正相关。即种群的建群者数量越大,种群的遗传多样性丧失越少,有效种群大小(N_e)就越大。Williams 等利用 10 个微卫星位点对马鹿的一个源种群和两个迁地种群的研究也表明,建群者较小的迁地种群期望杂合度相对于其源种群下降了 61.5%^[4]。我们在研究中还观察到,邦溪种群的建群大小为 18,但期望杂合度却与金牛岭种群相当($H_e = 0.2898$);文昌种群的建群大小为 22,期望杂合度仅略高于金牛岭种群($H_e = 0.2989$),建群者大小与期望杂合度不相关($r = 0.909$, $P = 0.273$)的结果说明除建群者数量外,还有其他因素影响这两个种群的遗传多样性。

2.2.2 引种的方式 邦溪种群是由 18 只个体发展起来的,与甘什岭种群(引种 20 只)的建群者数量相当。但是前者是分 3 年引种[1990 年

① Goudet J FSTAT: a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (version 2.9.3). Updated from Goudet (1995). Available from <http://www.unil.ch/izea/software/fstat.html> 2001.

② Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin ver. 2.000: A software for population Genetics Data Analysis, Genetics and Biometry Laboratory, University of Geneva, Switzerland 2000.

③ Park S D E. Trypanotolerance in West African Cattle and the population genetic effects of selection. Ph. D. thesis (in prep.), University of Dublin 2001.

④ Zhang Q, Zeng Z G, Ji Y J, et al. Microsatellite variation in China's Hainan Eld's deer (*Cervus eldi hainanus*) and implications for their conservation. (已投稿)

表 3 海南坡鹿种群遗传多样性一览

Table 3 Summary of genetic statistics of Hainan Eld 's Deer

种群 Population	<i>N</i>	<i>A</i> (<i>SD</i>)	<i>A_R</i>	<i>H_e</i> (<i>SD</i>)	<i>H_o</i> (<i>SD</i>)	<i>n</i>	<i>F_{IS}</i>
大田 Datian	159	4.00 (1.41)	1.646	0.328 0 (0.007 7)	0.334 6 (0.011 8)	0	-0.020
邦溪 Bangxi	19	2.40 (0.70)	1.558 6	0.289 8 (0.019 3)	0.342 1 (0.034 4)	1	-0.187
甘什岭 Ganshiling	20	2.60 (0.84)	1.703 6	0.361 2 (0.020 8)	0.365 0 (0.034 0)	1	-0.011
枫木 Fengmu	6	1.80 (0.63)	1.590 1	0.322 7 (0.024 4)	0.416 7 (0.0636)	3	-0.330
金牛岭 Jinniuling	2	1.50 (0.53)	1.5	0.283 3 (0.045 4)	0.250 0 (0.096 8)	5	0.167
文昌 Wenchang	7	2.20 (0.63)	1.58 25	0.298 9 (0.013 7)	0.285 7 (0.054 0)	1	0.048

N : 样本量 ; *A* : 每个位点平均等位基因数 ; *SD* : 标准差 ; *A_R* : 平均等位基因丰富度 ; *H_e* : 期望杂合度 ; *H_o* : 表观杂合度 ; *n* : 单态位点数 ; *F_{IS}* : 近交系数。

N : Number of samples ; *A* : average number of alleles/locus ; *SD* : standard error ; *A_R* : mean allelic richness per population ; *H_e* : expected heterozygosity ; *H_o* : observed heterozygosity ; *n* : number of monomorphic loci ; *F_{IS}* : inbreeding coefficient.

表 4 海南坡鹿种群间固定指数 $F_{ST}(F_{stat})$ 及其显著程度

Table 4 Fixed index $F_{ST}(F_{stat})$ between Hainan Eld 's Deer populations and significant level

种群	大田	甘什岭	邦溪
Populatin	Datian	Ganshiling	Bangxi
大田 Datian	-	NS	*
甘什岭 Ganshiling	0.020 2	-	*
邦溪 Bangxi	0.039 4	0.065 8	-

对角线以下是 F_{ST} 值 , 对角线以上是经 Bonferroni 校正后^[22] 的显著性水平。Data below the diagonal are F_{ST} and data upon the diagonal are significant level after Bonferroni correction for multiple tests^[22]. NS : 不显著 Not significant ; * : 显著 Significant.

5 只(4 雄 1 雌), 1991 年 8 只(5 雄 3 雌), 1992 年 5 只(1 雄 4 雌)], 而甘什岭种群是 1997 年一次性引入 20 只个体。因引种方式不同, 邦溪种群的建群者数目、有效种群大小均较甘什岭种群小, 因此邦溪种群的遗传多样性较甘什岭种群低(虽然差异并不显著), 并且邦溪种群与源种群的遗传分化显著(表 4)。由此可见, 引种的方式直接关系到建群者数量大小、种群结构和有效种群大小, 从而影响迁地种群的遗传多样性, 一次性引入多只个体作为建群者比多只

个体分批引入的引种方式更加有利于维持种群的遗传多样性。

文昌种群的 22 只建群者也是一次性引入, 但其遗传多样性较低。可能与该种群的建群者组成有关, 其中 6 只来自于大田种群, 而其余的 16 只来源于东山湖热带野生动物园。从种群迁移历史发现, 1996 年东山湖热带野生动物园的坡鹿种群建群时经历了一次奠基者效应, 1999 年文昌的坡鹿种群建群时, 从东山湖热带野生动物园引入的个体又经历了一次奠基者效应, 即文昌保护站的 73% 的建群者在 3 年内连续经历了两次奠基者事件。Broders(1999)对加拿大驼鹿的研究表明, 种群经历一次奠基者事件, 遗传多样性丧失 14% ~ 30%, 连续经历两次奠基者事件, 遗传多样性丧失 46%, 种群经历的奠基者事件次数越多, 丧失的遗传多样性就越多^[5]。

2.2.3 建群种群的结构 种群结构包括种群年龄结构和性比。海南坡鹿的交配制度为主雄优势型^[23], 但次雄并非完全没有交配机会, 我们的野外研究及亲子鉴定^①结果表明, 在交配季节, 主雄不可能同时占有所有处于发情状态

① Zhang Q, Zeng Z G, Ji Y J, et al. Parentage analysis of Hainan Eld 's deer, Datian population(修改中)。

的雌性个体,此时次雄就有可能获得交配机会,将自己的基因遗传下去。但次雄能否获得交配机会以及获得机会的多少是由种群性比和年龄结构决定^[23]。一般情况下,海南坡鹿 2 岁达到性成熟,4 岁以后才有可能与主雄竞争,获得更多的交配机会^[24]。邦溪种群是 1990~1992 年连续三年共引入 18 只个体,每年引种数量少,均为幼仔,并且性比不均。因此到 1992 年,1990 年引入的个体才达到性成熟,开始参加繁殖。因其中仅有一只雌性,有效种群大小为 2;1998 年第一次采样时,可能邦溪种群中真正参加繁殖的雄性个体仅有 1~2 只(与宋延龄先生私人交流)。甘什岭种群的建群者虽然迁入时也为幼仔,但由于性比相等,年龄相仿,在两年后几乎同时达到性成熟,因此,与邦溪种群中的次雄相比,甘什岭种群中的次雄可以获得更多的交配机会,增加了有效种群的大小,有利于维持种群的遗传多样性,减少近交机会。由此可见,种群结构也是造成邦溪种群与源种群遗传分化显著,而甘什岭种群与源种群遗传分化不显著的原因。

通过比较奠基者效应对不同迁地种群的遗传多样性的影响,我们发现建群者的数量、引种方式及建群种群的结构三个因素都与有效种群大小有关,有效种群越大,种群维持的遗传多样性就越丰富,种群适应多变环境的能力就越强。因此建议在今后的迁地保护过程中应尽可能增加建群者数量。据报道,在圈养动物中,每个世代种群允许损失的杂合子频率为 0.1%~1%^[25],据此推断出保种时最小可生存种群为 50 个个体。当存在自然选择时,最小可生存种群数量则从 500~1 000 000 只不等,与选择的强度有关^[26]。当然,Soule(1987)指出,针对不同物种,最小可生存种群不同^[27]。海南坡鹿的迁地种群应大于瓶颈种群大小 26 只,或者应为一个年龄相近、性比为 1:1、种群数量超过 20 只的群。其次,在引种时应一次性引入多个处于同一年龄组的个体,最好是已达到性成熟年龄、具有较强交配和繁殖能力的个体作为建群者。最后,应尽量避免种群连续经历多次奠基者效

应。这些从海南坡鹿迁地保护中得到的经验,不仅应该在建立新的海南坡鹿迁地种群时得到应用,在其他濒危物种的迁地保护工作中也应有所借鉴。

致谢 感谢大田国家级自然保护区、邦溪自然保护区、甘什岭自然保护区、枫木鹿场、金牛岭公园和文昌自然保护站提供实验样本。

参 考 文 献

- [1] Myra E. Systematics and the Origin of Species. New York : Columbia University Press ,1942 :130.
- [2] Kidd K K ,Cavalli-Sforza L L. The role of genetic drift in the differentiation of Icelandic and Norwegian Cattle. *Evolution* , 1974 **28** (3) :381.
- [3] Neveu H ,Hafen T ,Zimmermann E ,*et al.* Comparison of the genetic diversity of wild and captive groups of *Microcebus murinus* using the random amplified polymorphic DNA method. *Folia Primatologica* ,1998 **69** (suppl. 1) :127~135.
- [4] Williams C L ,Serfass T L ,Cogan R ,*et al.* Microsatellite variation in the reintroduced Pennsylvania elk herd. *Molecular Ecology* 2002 **11** (8) :1 299~1 310.
- [5] Broders H G ,Mahoney S P ,Montevicchi W A ,*et al.* Population genetic structure and the effect of founder events on the genetic variability of moose, *Alces alces*, in Canada. *Molecular Ecology* ,1999 **8** (8) :1 309~1 315.
- [6] Williams R N ,Rhodes O E ,Serfass T L. Assessment of genetic variance among source and reintroduced fisher populations. *Journal of Mammalogy* 2000 **81** (3) :895~907.
- [7] Bonnel M L ,Selander R K. Elephant seals : genetic variation and near extinction. *Science* ,1974 **184** :908~909.
- [8] 余斯绵,刘振和,袁喜才.海南坡鹿资源及保护利用. *野生动物* ,1984 **5** (5) :9~12.
- [9] Zeng Z G ,Song Y L ,Li J S ,*et al.* Distribution ,status and conservation of Hainan Eld 's deer (*Cervus eldi hainanus*) in China. *Folia Zoologica* ,2005 **54** (3) :249~257.
- [10] Goodwin H A ,Holloway C. Red Data Book. Vol. 2 : Mammalia. Switzerland :IUCN ,1972.
- [11] 袁喜才,卢柏威,陈万成等.海南坡鹿保护对策的研究. *野生动物* ,1990 **11** (1) :11~14.
- [12] 袁喜才,薛成,云大兴等.海南坡鹿就地保护和迁地保护现状. *野生动物* ,2001 **21** (1) :6~8.
- [13] Pang J F ,Hoelzel A R ,Song Y L ,*et al.* Lack of mtDNA control region variation in Hainan Eld 's deer : Consequence of a recent population bottleneck ? *Conservation Genetics* ,2003 **4** :109~112.

- [14] Sambrook J , Fritsch E F , Maniatis T . *Molecular Cloning : a Laboratory Manual* (2nd ed.) . New York : Cold Spring Harbor Press , 1989 : 26 ~ 118 .
- [15] Zhang Q , Ji Y J , Zeng Z G , *et al.* Polymorphic microsatellite DNA markers for the vulnerable Hainan Eld 's deer (*Cervus eldi hainanus*) in China . *Acta Zoologica Sinica* 2005 **51** (3) : 530 ~ 534 .
- [16] Cornuet J M , Luikart G . Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data . *Genetics* , 1996 , **144** : 2 001 ~ 2 014 .
- [17] Houlden B A , England P R , Taylor A C , *et al.* Low genetic variability of koala *Phascolarctos cinereus* in southeastern Australia following a severe population bottleneck . *Molecular Ecology* 1996 **5** : 269 ~ 281 .
- [18] Menotti-Raymond M , O ' Brien S J . Hypervariable genomic variation to reconstruct the natural history of populations : lessons from the big cats . *Electrophoresis* , 1995 , **16** : 1 771 ~ 1 774 .
- [19] Polziehn R O , Hamr J , Mallory F F , *et al.* Microsatellite analysis of North American wapiti (*Cervus elaphus*) populations . *Molecular Ecology* 2000 **9** : 1 561 ~ 1 576 .
- [20] Wilson G A , Stronbeck C , Wu L , *et al.* Characterization of microsatellites loci in caribou *Rangifer tarandus* and their use in other artiodactyls . *Molecular Ecology* , 1997 **6** : 697 ~ 699 .
- [21] Goodman S J , Tamate H D , Wilson R , *et al.* Bottlenecks , drift , and differentiation : the population structure and demographic history of sika deer (*Cervus nippon*) in the Japanese archipelago . *Molecular Ecology* 2001 **10** : 1 357 ~ 1 370 .
- [22] Rice W R . Analysing tables of statistical tests . *Evolution* , 1989 **43** : 223 ~ 225 .
- [23] 曾治高 宋延龄 李善元等 . 海南坡鹿雄鹿发情期的吼叫行为及其在繁殖中的意义 . *动物学报* , 2001 , **47** (5) : 481 ~ 487 .
- [24] 袁喜才 卢柏威 李善元 . 海南坡鹿繁殖习性的研究 . *兽类学报* , 1988 **8** (2) : 89 ~ 94 .
- [25] Franklin I R . Evolutionary change in small populations . In : Soule M E , Wilcox B A ed . *Conservation Biology : an Evolutionary-ecological Perspective* . Sunderland , Massachusetts : Sinauer Associates , 1980 : 135 ~ 149 .
- [26] Lande R . Extinction thresholds in demographic models of territorial populations . *American Naturalist* , 1987 **130** : 624 ~ 635 .
- [27] Soule M E . Introduction . In : Soule M E . ed . *Viable Population for Conservation* . Cambridge : Cambridge University Press , 1987 : 1 ~ 9 .