

濒危平胸龟两个自然居群的ISSR 分析

马丽莎^{①②} 郑光明^{①*} 朱新平^① 刘毅辉^① 陈永乐^① 罗建仁^①

(① 中国水产科学研究院珠江水产研究所 广州 510380; ② 广东海洋大学 湛江 524025)

摘要: 利用22个ISSR引物研究了28个来自广东从化居群和21个来自福建寿宁居群的野生平胸龟(*Hatysternon megacephalum*)的遗传多样性。结果表明,分布于这两个地区的平胸龟总居群和居群内均具有较高的遗传多样性,而广东从化居群遗传多样性高于福建寿宁居群。居群间的遗传变异度 $F_{ST} = 0.3715$ ($P < 0.001$),遗传分化系数 G_{st} 为0.2059。NJ树聚类分析显示,广东从化居群和福建寿宁居群各自聚成两个类群,有较明显的居群分化,具有一定的地理区域性,但基因流 N_m 为1.9279,这表明平胸龟两自然居群间存在一定基因流。此外,结合BSA技术,从11条引物中筛选出11个可作为鉴别广东从化居群或福建寿宁居群的分子标记。

关键词: 平胸龟;自然居群;遗传差异;ISSR;BSA

中图分类号:Q953 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)06-13-08

Genetic Diversity in Two Natural Populations of *Hatysternon megacephalum* as Revealed by ISSR Technique

MA Li-Sha^{①②} ZHENG Guang-Ming^{①*} ZHU Xin-Ping^①

LIU Yi-Hui^① CHEN Yong-Le^① LUO Jian-Ren^①

(① Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy Fishery of Sciences, Guangzhou 510380;

② Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: Genetic diversity of endangered Big-headed Turtle, 28 individuals from Conghua, Guangdong and 21 individuals from Shouning, Fujian, was determined by using ISSR technique. There was high genetic diversity between the two populations and within the same population. The genetic diversity of Conghua population was higher than that of Shouning population. Genetic differentiation mainly occurred between populations ($F_{ST} = 0.3715$, $G_{st} = 0.2059$), but there was also gene flow between natural populations ($N_m = 1.9279$). UPGMA cluster analysis showed that the 49 individuals were divided into two clusters corresponding to the two populations. In addition, 11 specific ISSR markers which can distinguish Conghua population from Shouning population were selected from 11 primers in two populations, using ISSR and Bulk Segregant Analysis (BSA).

Key words: *Hatysternon megacephalum*; Nature population; Genetic diversity; ISSR analysis; BSA

平胸龟(*Hatysternon megacephalum*),隶属爬行纲(Reptilia)龟鳖目(Testudinata)平胸龟科(Hatysternidae)平胸龟属(*Hatysternon*),主要分布在中国长江以南地区及越南、泰国等东南亚国家。由于栖息环境破坏及人类活动影响,其数量急剧减少,现已列于《濒危野生动植物种国

际贸易公约》附录II,属濒危保护动物^[1]。近

基金项目 广东省自然科学基金(No.04001499)资助;

* 通讯作者, E-mail: zgmzyl@tom.com;

第一作者介绍 马丽莎,女,硕士研究生;研究方向:种质资源与水产生物技术; E-mail: malisha16@163.com。

收稿日期:2007-04-23,修回日期:2007-07-04

年,国内对平胸龟的报道仅限于对其形态分类的研究^[2],作者也曾报道过平胸龟福建寿宁一个居群的遗传变异水平^[3],但尚未开展不同自然居群的遗传多样性研究。ISSR(inter-simple sequence repeats)简单重复序列区间扩增多态性,由 Zetkiewicz 等于1994年建立^[4],可产生种群特异性遗传图谱,具有稳定性好、多态性丰富、操作简便等优点。混合分离群体法(bulked segregant analysis,BSA)^[5],是以目标性状为依据,将样本分为两个组,等量混合DNA形成DNA池,进行ISSR分析,被比较的两池间除了目标基因所在的染色体区域外,染色体其他任何部位的基因组成几乎是一样的。本文利用ISSR分子标记技术,对广东从化居群和福建寿宁居群的野生平胸龟遗传多样性及遗传结构进行分析,旨在揭示广东从化和福建寿宁两自然居群平胸龟的遗传多样性水平,居群间和居群内的遗传变异规律。结合BSA法探寻不同居群的特异分子标记,从遗传学角度探讨其濒危原因,为我国平胸龟种质资源的保护及管理提供相关的遗传背景资料和理论依据,并有助于建立平胸龟分子遗传标记和种质鉴定技术,为野生资源量的恢复、再利用及可持续发展奠定理论基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 实验样本由中国水产科学研究院珠江水产研究所龟类繁育场提供,于2005年1~4月在福建省寿宁县南阳镇南山采集21只野生平胸龟,2005年12月至2006年4月在广东省从化市良口镇鸡枕山采集28只野生平胸龟。取刚死亡的平胸龟少许肝组织,用无水乙醇浸泡,置于-20℃备用。

1.2 方 法

1.2.1 试剂和仪器 1 kb DNA Ladder DNA marker (250~10 000 bp)购自上海生工生物工程技术服务有限公司。Taq DNA聚合酶及配套试剂dNTPs购自华美生物有限公司。PCR扩增仪为M-Cycle,电泳仪为EPS1001垂直电泳仪。

1.2.2 引物的合成 根据ISSR原理、参照相关文献^{①~⑥}所用ISSR引物序列自行设计,并由上海生物工程技术服务有限公司合成。

1.2.3 基因组DNA的提取 DNA的提取参照《分子克隆实验指南》^[7],DNA质量和浓度参照郑光明等^[8]的方法,选取质量好的DNA样品保存在4℃冰箱内备用。

1.2.4 PCR扩增 PCR反应体系为25 μl,其中20 ng/μl模板DNA 1.0 μl,5 μmol/L引物1.5 μl,3 U/μl Taq DNA酶0.5 μl,0.3 μmol/L dNTP,10×PCR buffer 2.5 μl,25 mmol/L MgCl₂ 1.5 μl,1.5%的甲酰胺1.5 μl,加ddH₂O补足。反应程序为94℃预变性5 min,94℃变性40 s,44~64℃退火1 min,72℃延伸1 min 40 s,共45个扩增循环;72℃延伸7 min。3 μl扩增产物于4.5%聚丙烯酰胺凝胶电泳至二甲苯青FF染料迁移至胶底部边缘,凝胶银染参照郑光明等^[8]方法,用扫描仪扫描银染凝胶。扩增片段大小通过与1 kb DNA Ladder DNA marker比较而记录。

1.2.5 特异性标记的筛选 参照Mehel more等^[5]的BSA方法,取广东从化居群28个个体和福建寿宁居群21个个体的基因组DNA分别等量混合,构成广东从化居群和福建寿宁居群的DNA样品近等基因池,进行ISSR扩增分析,同时进行单样本验证,筛选稳定的特异于不同自然居群的ISSR分子标记。

1.2.6 数据处理 PCR扩增产物按条带的有无分别赋值,有带记为1,无带记为0,构建0,1遗传距离矩阵。用PopGene 3.2软件计算分析

①李绍臣.东北主栽杨树品种的ISSR分析.东北林业大学硕士学位论文.2004.

②葛永奇.子遗植物银杏遗传多样性研究.浙江大学硕士学位论文.2003.

③尚海英.应用ISSR和RAMP标记研究黑麦属遗传多样性.四川农业大学硕士学位论文.2003.

④李海燕.中国孤雌生殖卤虫十个地理品系的DNA指纹分析与进化.辽宁师范大学硕士学位论文.2003.

⑤曲若竹.两性生殖卤虫的遗传多样性与进化.辽宁师范大学硕士学位论文.2003.

⑥朱震霞.不同类型水仙亲缘关系的分子标记研究.南京农业大学硕士学位论文.2003.

多态位点百分比(*PPL*)、Shannon 多样性指数(*I*)、居群内基因多样性(H_s)、总的基因多样性(H_t)、居群间的遗传分化系数(G_{st})和居群间基因流(N_m)。用RAPDISTANCE(1.04 版)软件进行UPGMA 聚类分析,构建两个居群相互关系的聚类图,并用ARLEQUIN 2.000 软件对自然居群进行遗传结构的分子方差(AMOVA)分析,计算遗传变异在居群间和居群内的分布、居群间的遗传分化。

2 结 果

2.1 引物的筛选 从49 个个体中选取5 个个体的基因组DNA 为模板,对80 条引物进行体系

优化及重复性实验(各引物样本至少重复扩增一次)(图1),由图可见,引物S1348、S1283 各条带具有很好的重复性、稳定性。带的亮、暗与染色的时间有关,染色时间长一点可使弱带变得更亮、更清晰、更明显^[8]。从中选取扩增条带清晰、重复性较好的22 条引物用于PCR 扩增(表1)。

2.2 ISSR 扩增结果 22 条引物对广东从化居群和福建寿宁居群平胸龟进行PCR 扩增,共产生246 条DNA 谱带,平均每个引物扩增出11 条带,扩增谱带的分子量大小在1 000 ~ 10 000 bp 之间,其中多态性谱带有213 条,多态位点百分比 $PPL = 86.35\%$,多态性最高达100%,最低为54.55%。

表1 平胸龟ISSR 扩增结果

Table 1 Results of ISSR on Hg-headed Turtle

引物号 No. of primer	引物序列 Sequence of primer	退火温度 Annealing temperature ($^{\circ}\text{C}$)	扩增片段数 No. of bands amplified		多态位点 百分比 <i>PPL</i> (%)	居群特异 片段大小 Size of specific bands (bp)	出现特异片段的 居群 Population of specific bands
			总数 Total	多态片段 Polymorphic bands			
S1277	(ct) ₇ tag	44	14	14	100	-	-
S1279	(ct) ₈ tag	48	13	13	100	-	-
S1283	(ct) ₈ g	50	13	11	84.6	2 200	C
S1289	aggct(cag) ₄	60	12	12	100	1 900	S
S1294	(ag) ₈ c	52	11	6	54.55	2 400	S
S1295	(ag) ₈ t	45	14	10	71.43	3 000	S
S1305	(ag) ₈ tg	50	8	7	87.5	3 900	C
S1307	gcaggtc(tcc) ₅	64	10	9	90	-	-
S1308	(tcc) ₅ agct	58	8	7	87.5	3 500	C
S1313	(ag) ₈ tg	48	11	10	90.91	-	-
S1315	(ga) ₉ t	46	11	11	100	-	-
S1316	(ga) ₉ a	52	13	9	69.23	1 400	C
S1321	(ct) ₁₀ g	55	7	6	85.71	-	-
S1324	(ag) ₈ g	52	15	14	93.33	1 400	C
S1325	(ag) ₈ ctc	50	8	6	75	-	-
S1328	(ga) ₈ ctg	58	11	11	100	-	-
S1329	(ca) ₈ agc	54	12	9	75	3 500	C
S1344	(ag) ₈ yc	54	8	7	87.5	3 100	S
S1345	(ag) ₈ ya	50	13	11	84.62	-	-
S1347	(ct) ₈ rc	50	10	8	80	-	-
S1348	(ca) ₈ rg	56	14	13	92.86	3 800	C

引物序列中r 表示碱基a 或g y 表示碱基c 或t ;出现特异片段的居群:C. 广东从化居群 S. 福建寿宁居群;“-”:无特异片段。

Sequence of primer r = a g and y = c t ;Population with specific bands :C. Conghua ,Guangdong S. Shouning Fujian. “-”:No specific bands .

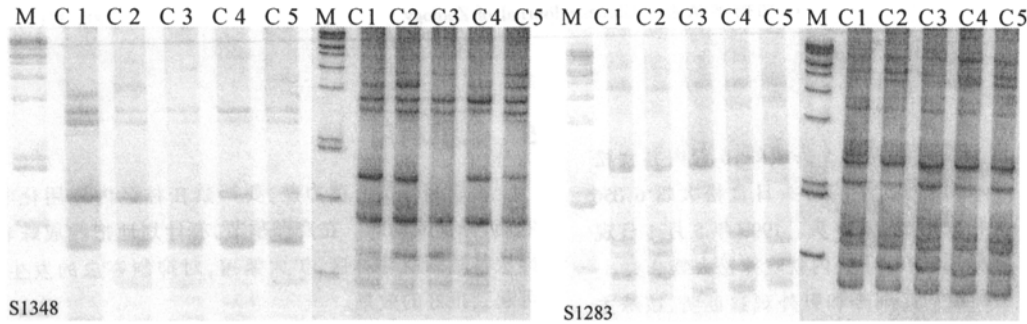


图1 引物S1348,S1283 重复扩增图谱

Fig.1 Electrophoretogram of repeatability using the primer S1348 and S1283

2.3 平胸龟自然居群的遗传多样性分析 广东从化和福建寿宁两个自然居群49 个样本的遗传多样性,物种水平上:居群总基因多样性(H_t) 为0.320 3、多态位点百分比(PPL) 为86.35%,Nei's 基因多样性(H) 为0.322 2 ± 0.171 9,Shannon 多样性指数(I) 为0.477 0 ± 0.230 9;居群水平上:居群内基因多样性(H_s) 为0.254 3,居群内平均多态性百分比为

73.58%,Nei's 基因多样性(H) 为0.254 3,Shannon 多样性指数(I) 为0.380 1。可见分布于广东从化和福建寿宁地区的平胸龟自然居群拥有较高水平的遗传多样性,物种水平的遗传多样性高于居群水平。而从平胸龟两个自然居群来看,广东从化居群的遗传多样性略高于福建寿宁居群的遗传多样性(表2)。

表2 ISSR 分析的平胸龟的遗传多样性

Table 2 Genetic variability of Hg-headed Turtle detected by ISSR

居群 Population	样本数 n	Nei's 基因多样性(H) Nei's gene diversity	Shannon 多样性指数(I) Shannon's information index	多态位点百分比(%) Percentage of polymorphic loci
广东从化 Conghua, Guangdong	28	0.277 0 ± 0.187 0	0.413 7 ± 0.259 4	79.67
福建寿宁 Shouning, Fujian	21	0.231 6 ± 0.200 0	0.346 4 ± 0.281 7	67.48

2.4 自然居群的遗传分化与基因流 ARLEQUIN 2.000 软件分析得出,平胸龟两自然居群间的遗传变异度 $F_{ST} = 0.371 5$ ($P < 0.001$),PopGene 3.2 软件分析的Nei's 遗传分化系数 G_s 为0.205 9。两结果都表明,平胸龟自然居群间存在一定程度的遗传分化。AMOVA 分析表明,在物种水平上,居群内有62.85% 遗传变异,居群间有37.15% 的遗传变异(表3),这说明平胸龟的遗传多样性主要分布在自然居群内。平胸龟广东和福建两个自然居群间的基因流 N_m 为1.927 9,可见两自然居群间存在一定的基因交流。根据两个自然居群49 个个体扩增结果,构建其遗传分支聚类图

(图2),明显把49 个个体聚成两个类群,一类是广东从化居群的28 个个体,一类是福建寿宁居群的21 个个体。

2.5 居群特异性分子标记的筛选 用BSA 方法构建广东从化居群和福建寿宁居群两个DNA 池,利用筛选的22 条引物对其进行ISSR 分析。22 个引物均扩增出多态性片段,其中11 条引物在广东从化或福建寿宁居群扩增出11 个特异的DNA 片段。将这11 个引物进行单样本ISSR 验证,发现基因池中各单样本电泳带型和各自基因池的带型比较一致。特异带在各居群的个体中均有出现,其中广东从化居群和福建寿宁居群分别有7 个4 个特异性DNA 片段,

如引物S1348 扩增出了广东从化居群特异的 DNA 片段,大小为3 800 bp ,引物S1289 扩增出福建寿宁居群的特异DNA 片段,大小为1 900 bp (图3),这些稳定的特异DNA 分子标记可区分平胸龟两个居群。

表3 平胸龟在居群间及居群内的遗传变异

Table 3 AMOVA within/among populations on Hg-headed Turtle

变异来源	自由度	方差总和	变异组分	所占比例(%)	遗传变异度
Source of variation	<i>df</i>	Sum of squares	Variance components	Percentage of variation	Fixation Index <i>F_{ST}</i>
群体间	1	423.303	16.476	37.15	
群体内	47	1 310.167	27.876	62.85	0.371 49 (<i>P</i> < 0.001)
总计Total	48	1 733.469	44.352		

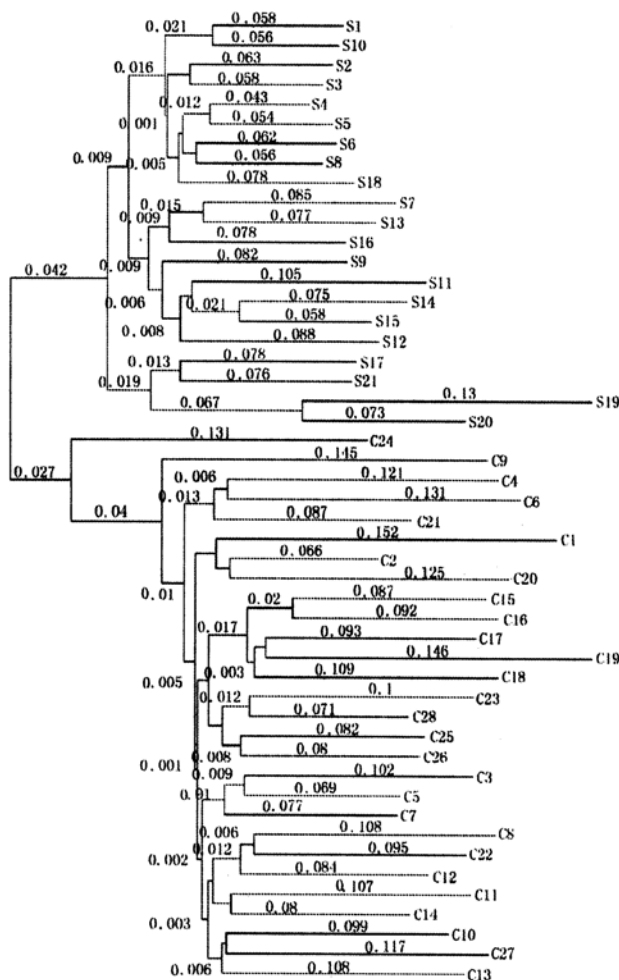


图2 平胸龟49 个个体的遗传分支聚类图

Fig.2 The phdogenetic NJTREE of 49 individuals of Hg-headed Turtle obtained by RAPDistance 1.04 soft ware

C. 广东从化居群; S. 福建寿宁居群; 图中的数字表示两个个体间的遗传分化程度。

C. Population from Conghua ,Guangdong ; S. Population from Shouning , Fujian ; The numbers show genetic diversity between two samples .

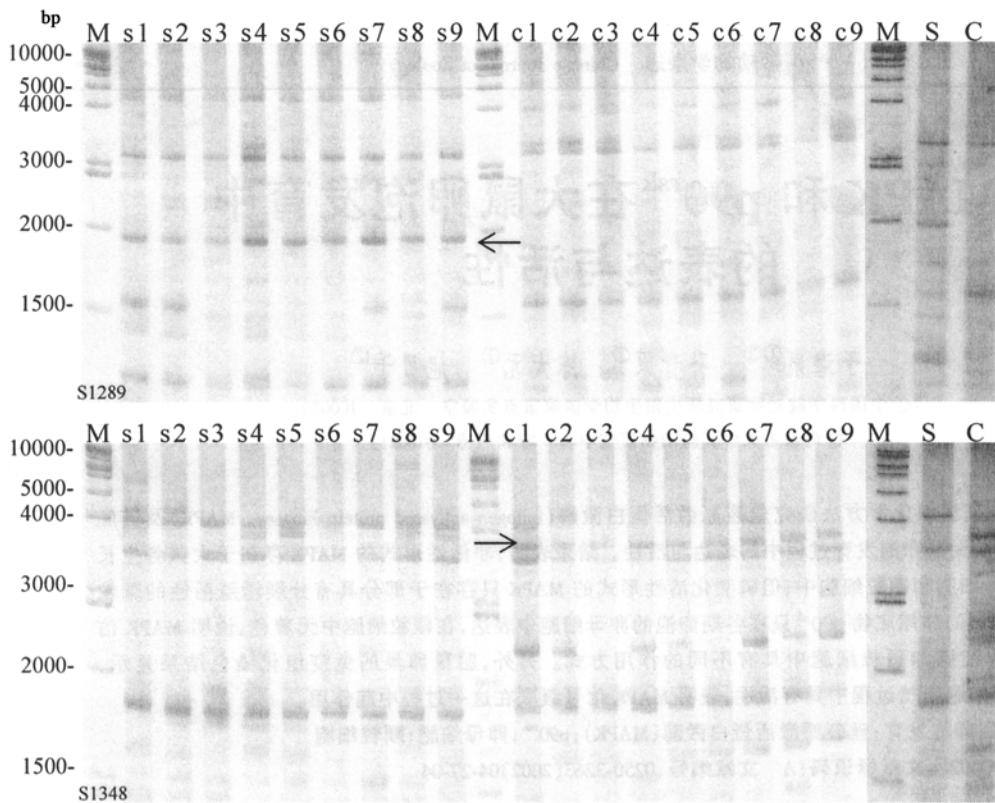


图3 引物S1289、S1348扩增产的ISSR图谱

Fig.3 Electrophoretogram of ISSR band patterns produced by the primer S1289 and S1348

c. 广东从化居群 (Conghua, Guangdong); s. 福建寿宁居群 (Shouning, Fujian); C. 广东从化居群 DNA 池 (Conghua, Guangdong DNA pool); S. 福建寿宁居群 DNA 池 (Shouning, Fujian DNA pool); M. 1 kb DNA Ladder marker.

3 讨论

3.1 平胸龟居群的遗传多样性分析 一些研究表明濒危物种具有较低的遗传多样性水平^[9,10],但也有研究指出濒危物种也可保持较高的遗传变异水平^[11,12]。本研究分析的平胸龟遗传多样性水平显示,分布于广东从化和福建寿宁地区的平胸龟无论在物种水平($H_t = 0.3203$; $PPL = 86.35\%$; $H = 0.3222$, $I = 0.4770$),还是居群水平($H_s = 0.2543$; $PPL = 73.58\%$; $H = 0.2543$, $I = 0.3801$)上遗传多样性水平均较高,且物种水平的遗传多样性高于居群水平。作者曾利用RAPD分子标记分析福建寿宁居群平胸龟的遗传多样性,同样得出该居群平胸龟具有较高的遗传分化水平^[3]。

3.2 平胸龟居群间的遗传分化与基因流 遗传分化系数表示种群间的遗传变异程度,Wright^[13]认为遗传分化系数 G_{st} 介于0.15 ~ 0.25 之间表明种群间分化大。本研究得出广东和福建两自然居群间的遗传变异度 $F_{ST} = 0.3715$ ($P < 0.001$),遗传分化系数 G_{st} 为0.2059, N_m 为1.9279,说明广东和福建两个自然居群的平胸龟已存在较大分化,为两个不同的自然居群。遗传分支聚类图也明显把平胸龟自然居群聚为两个不同的类群。这与龟类爬行动物种群间^[14]及种群内^[15]均存在较大的遗传分化水平的观点相符。两个自然居群间的 N_m 为1.9279,表明这两自然居群间存在一定的基因交流,而由遗传分化系数估算出的基因流包含着历史基因流的积累,而非当前基因流^[16]。

生物地理学相关研究表明,高山、河道等物理隔离对居群间的遗传分化有一定的影响^[17],而居群间存在的基因流的强弱对群体遗传分化具有重要影响,当 $N_m > 1$ 时,基因流可防止由遗传漂变引起的居群间的遗传分化^[18]。Valenzuela^[19] 报道,除一些海龟外,大多龟类的迁移能力均有限,广东从化和福建寿宁两地区相距较远,并有大的山脉相隔,故作者认为地理隔离所引起的平胸龟自然居群基因流的不足可能是导致居群间遗传分化的重要原因之一。

3.3 平胸龟濒危原因初探及其保护 Parham 认为仅依据物种的外部形态特征而确定物种的分类地位是不够完善的^[20],物种的形态及表型是遗传性与环境相互作用的综合结果^[21],仅依据表型的差异来确定物种的分类极有可能忽略一些种群的分化,这对那些处于濒危状态的物种的保护极为不利^[22]。平胸龟居群间已存在较大的遗传分化,通过ISSR 分子标记并参照BSA 方法,筛选出了11 个广东或福建居群的特异DNA 片段,进行单样本验证,获得了稳定的特异性DNA 标记,可用于鉴别广东或福建居群,但据形态观察,两个自然居群的平胸龟外型相似,故其任何一个居群的丧失都将导致平胸龟整个物种的遗传变异的流失。因此应分别保护具较大遗传分化的两个平胸龟居群,可以避免其遗传多样性的丧失。

一个物种的濒危是许多内外因素综合作用的结果,遗传基础薄弱的物种适应生境变化的潜力相对较小,更易遭受生境改变的影响而绝灭^[23]。平胸龟目前仍具有较高的遗传多样性水平,说明平胸龟遗传基础并不薄弱,其对环境仍具有较强的适应能力及进化潜力。但目前平胸龟已处于濒危状态,可见导致其濒危的主要原因是栖息环境的破坏和人为的滥捕,使近年来平胸龟资源量急剧下降。Lande^[24] 认为人为导致物种生境的丧失及破坏和过度开发利用对物种生存的威胁最为严重。栖息地的减少和人为的捕杀将造成个体数量的减小,而个体数量变小所导致的遗传漂变和近亲繁殖将造成物种遗传多样性水平的降低^[25],较低的遗传多样性

水平可能是许多濒危物种的致濒原因^[9,10]。制定物种保护策略必须充分了解其种群遗传结构及多样性,因此,深入分析平胸龟的遗传结构及遗传变异的种群分布格局,对探讨其濒危机制、生态适应及进化潜能尤为重要。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国濒危物种进出口管理办公室. 濒危野生动植物种国际贸易公约. 北京: 中华人民共和国濒危物种科学委员会编印, 2005, 2: 27.
- [2] 唐伯平, 周开亚, 宋大祥. 大头平胸龟体色、体形随年龄变化的初步观察. 动物学杂志, 2000, 35(1): 16~18.
- [3] 马丽莎, 郑光明, 朱新平等. 平胸龟遗传多样性的RAPD分析. 淡水渔业, 2007, 37(2): 81~84.
- [4] Zetkiewicz E, Rafalski A, Labuda D. Genome fingerprinting by simple sequence repeat (SSR) anchored polymerase chain reaction amplification. *Genome*, 1994, 20: 176~183.
- [5] McElmire R W, Paran I, Kesseli R V. Identification of markers linked to disease resistance gene by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proc Natl Acad Sci*, 1991, 88: 9 828~9 832.
- [6] 周延清, 景建洲, 李振勇等. 怀区地黄遗传多样性的ISSR 鉴定. 中草药, 2005, 36(2): 257~261.
- [7] 萨姆布鲁克J, 拉塞尔D W(黄培堂等译). 分子克隆实验指南. 北京: 科学出版社, 2002, 463~470.
- [8] 郑光明, 朱新平, 刘毅辉等. 鲮鱼DAF 和RAPD 的比较研究. 水生生物学报, 2005, 29(3): 344~348.
- [9] Andrea P, Maldonado S M, Lubonir A, et al. Genetic variation within the endangered species *Adiantum vesiculosum* (Droseraceae) as revealed by RAPD analysis. *Aquatic Botany*, 2003, 75(2): 159~172.
- [10] Waldick R C, Kraus S, Brown M, et al. Evaluating the effects of historic bottleneck events: an assessment of microsatellite variability in the endangered North Atlantic right whale. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 2 241~2 249.
- [11] Mattner J, Zanko G, Rossetto M, et al. Conservation genetics and implications for restoration of *Hemiergis exilis* (Lamiaceae), a serpentine endemic from western Australia. *Biological Conservation*, 2002, 107: 37~45.
- [12] 罗晓莹, 唐光大, 许涵等. 山茶科3 种中国特有濒危植物的遗传多样性研究. 生物多样性, 2005, 13(2): 112~121.
- [13] Wright S. Evolution and the Genetics of Populations. Chicago: University of Chicago Press, 1978, 1.
- [14] Uno E A. Reptilia. In John B ed. Animal Cytogenetics, vol 4. Chordata 3A. Berlin, Stuttgart: Gebrueder Borntraeger, 1986, 1

- ~ 100.
- [15] Lockwood L E, Holland B S, Beckham J W, *et al*. Interspecific genome size variation in a turtle (*Trachemys picta*) exhibiting temperature-dependent sex determination. *Can J Zool*, 1991, **69**: 306 ~ 310.
- [16] 吴会芳, 李作洲, 黄宏文. 湖北野生天麻的遗传分化及栽培天麻种质评价. *生物多样性* 2006, **14**(4): 315 ~ 326.
- [17] Cozzolino S, Cafasso D, Pellegrino G, *et al*. Fine-scale phylogeographical analysis of Mediterranean *Anacamptis podustis* (Orchidaceae) populations based on chloroplast minisatellite and microsatellite variation. *Molecular Ecology*, 2003, **12**: 783 ~ 792.
- [18] Hartl D L, Clark A G. Principles of Population Genetics (2nd edn.). Sunderland, MA: Sinauer Associates, 1989.
- [19] Valenzuela N. Genetic differentiation among nesting beaches in the highly migratory giant river turtle (*Podocnemis expansa*) from Colombia. *Herpetologica* 2001, **57**: 48 ~ 57.
- [20] Parham J F, Feldman C R, Boore J L. The complete mitochondrial genome of the enigmatic lig-headed turtle (*Hatysternon*): description of unusual genomic features and the reconciliation of phylogenetic hypotheses based on mitochondrial and nuclear DNA. *Evolutionary Biology*, 2006, **6**: 1 ~ 11.
- [21] 白庆利, 滕春波, 徐伟等. 高寒鲤 RAPD 遗传标记的研究. *水生生物学报* 2003, **27**(4): 437 ~ 439.
- [22] Bryan L, Stuart, Parham J F. Molecular phylogeny of the critically endangered Indochinese box turtle (*Cuora galbarrifrons*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, **31**: 164 ~ 177.
- [23] Hamrick J L, Godt M J W. Conservation genetics of endemic plant species. In: Avise J C, Hamrick J L eds. Conservation Genetics: Case Histories from Nature. New York: Chapman and Hall, 1996: 281 ~ 304.
- [24] Lande R. Genetics and demography in biological conservation. *Science*, 1988, **241**: 1455 ~ 1460.
- [25] Rubin C S, Warner R E, Bouzat J L, *et al*. Population genetic structure of Banding's turtles (*Emydoidea blandingii*) in an urban landscape. *Biological Conservation*, 2001, **99**: 323 ~ 330.

斑背大尾莺的白色型

2007年5月20日于辽宁省东港市孤山镇苇田——鸭绿江口湿地国家级自然保护区核心区,在冬季未收割的残留枯草斑块中发现一只白色的雀鸟(封4图片),不鸣叫,飞行姿态及尾部展示与大尾莺(*Megadurus*)颇为相似。经多次观察发现有雄性大尾莺追随之。23日设网将其捕获,并拍照、称重、度量。最后确定该鸟为雌性斑背大尾莺(*Megadurus pryori sinensis*)的白色型(white morph)。

该鸟羽色以白色为主,两肋及肛羽沾黄,头顶略现灰,右翼前侧第二枚飞羽前缘距羽端0.2 cm有一长0.5 cm的黑褐斑。上喙黑褐、下喙肉黄、跗跖肉色等特征与正常大尾莺无异。

测量数据如下:体长11.1 cm;体重8 g;翼长5.1 cm;尾长5.1 cm;跗跖长17 cm;嘴峰长8.5 cm;扇形尾羽12枚。

该生境为斑背大尾莺典型的营巢地——芦苇拂子茅群落。营巢地芦苇(*Phragmites communis*)平均密度4根/m²(*n* = 31),平均高度150 cm(*n* = 32)。因芦苇产量低,拂子茅(*Cladagrostis epigejos*)生长茂密,此类地块在冬季芦苇收割季节常被弃割,进而成为鸟类及狍(*Capreolus capreolus*)冬季的栖息地,而在夏季也成为许多鸟类如斑嘴鸭(*Anas poeilorhyncha*)、斑背大尾莺、黑眉苇莺(*Acrocephalus bistrigiceps*)、棕扇尾莺(*Gisticda juncidis*)——东北鸟类新纪录种、红颈苇(*Emberiza yessoensis*)、白尾鹞(*Circus cyaneus*)等鸟类及巢鼠(*Meromys minutus*)的营巢地。

动物白化现象常见于哺乳类、鸟类等类群。斑背大尾莺为世界濒危鸟类,鸭绿江口湿地是其重要的繁殖地之一,此次发现的首例斑背大尾莺白色型能为鸟类基因变异研究提供实例及基础资料。

高明^{①②} 殷秀琴^①

(① 东北师范大学城市与环境科学学院地理系 长春 130024; ② 辽东学院城市与环境系 丹东 118003)