

非损伤技术研究天山马鹿性别比与冬季家域

周璨林^{1,2}, 艾斯卡尔·买买提³, 日沙来提·吐尔地¹, 马合木提·哈力克¹

1. 新疆大学生命科学与技术学院, 乌鲁木齐 830046

2. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830054

3. 新疆师范大学生命科学学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 利用5对微卫星对331堆粪便进行个体识别,发现喀拉乌成山小渠子地区73堆粪便来自32头马鹿,白杨沟64堆粪便来自28头马鹿,哈密东天山国家森林公园的白石头地区87堆粪便来自66头马鹿,松树塘地区41堆粪便来自32头马鹿,寒气沟地区66堆粪便来自42头马鹿。利用SRY基因鉴定的天山马鹿雌雄比是1.78:1~2.89:1,粪便形态鉴定的结果是1.62:1~2.40:1,两种方法获得的结果无统计学差异。冬季雌雄马鹿家域范围分别是1.24~1.71 km²和1.02~1.57 km²,雌雄性家域范围差异不大,这是由天山马鹿自身习性决定的。

关键词 粪便; 马鹿; 家域; 性别比; 非损伤性采样

中图分类号 Q959.8, Q958.1

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.04.016

Sex ratio and winter home range of Tianshan red deer (*Cervus elaphus songaricus*) by noninvasive method

ZHOU Canlin^{1,2}, MUHAMMAT Askar³, TURDY Risalat¹, HALIK Mahmut¹

1. College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China

2. College of Basic Medical, Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, China

3. School of Life Sciences, Xinjiang Normal University, Urumqi 830011, China

Abstract Red deer feces was collected from the National Forest Park at east Tianshan mountains and Karawushen mountains to study the sex ratio and home range using noninvasive method. The sex ratio was 1.78:1~2.89:1 obtained by SRY gene identification, and 1.62:1~2.40:1 by morphological identification of the feces, which do not differ significantly by T-test. The home ranges of male and female red deer were 1.02~1.57 km² and 1.57~1.71 km², respectively, without significant difference. The home ranges of some deer were overlapped in the National Forest Park at east Tianshan mountains, which is decided by their habits and characteristics.

Keywords feces; red deer; home range; sex ratio; noninvasive sampling

天山马鹿是国家二级保护动物并且被国际自然保护联盟(International Union for the Conservation of Nature, IUCN)列为无危(LC)级,是天山山脉体型最大的哺乳动物,在生态系统中发挥着重要的作用。天山马鹿是马鹿的一个亚种,广

泛分布于天山山脉,它不仅受到种群数量小、人为捕杀的威胁,近亲交配以及栖息地破碎化也是威胁其生存的重要因素。一些研究者已经对于栖息地破碎化的后果进行研究,比如食性选择、遗传多样性丧失^[1]。一般情况下对家域的研究

收稿日期:2014-11-17;修回日期:2015-01-29

基金项目:国家自然科学基金项目(30660025,31060152,31360266);新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2010211A02)

作者简介:周璨林,副教授,研究方向为遗传学及分子进化,电子邮箱:zhou_canlin@163.com;马合木提·哈力克(通信作者),教授,研究方向为哺乳动物的保护遗传学及分子进化,电子邮箱:mahmuthalic@xju.edu.cn

引用格式:周璨林,艾斯卡尔·买买提,日沙来提·吐尔地,等.非损伤技术研究天山马鹿性别比与冬季家域[J].科技导报,2015,33(4):91-96.

主要是针对自然因素影响下的家域面积,但随着经济的发展,东天山国家森林公园与喀拉乌成山不同程度地受到了旅游、人造建筑、道路等的影响。周璨林等^[2]研究表明,两地的马鹿的遗传特征均受到道路的影响,表现出一定的遗传差异,因此对天山马鹿的家域面积进行进一步研究考察十分必要。

性别比是影响种群稳定的重要因素,以往对野生马鹿性别的研究多是通过成体个体体型进行目测观察得出结果,因此受到较大人为因素的影响,且难以体现出其整体性别构成。利用粪便形态及性别决定基因(*SRY*)扩增情况,不仅可以说明马鹿群体的性别构成,也有助于建立快速的粪便形态性别判断平台,而且此研究并不增加研究者的野外工作量,因此值得在其他的推广中推广。

1 地理情况介绍

东天山国家森林公园建成于2010年,位于新疆哈密地区,天山东部巴里坤山北坡,东起寒气沟,西至松树塘,南自天山庙,北接鸣沙山,海拔1000~3000 m,面积1110.29 km²,

属温带大陆性干旱气候区,气温变化剧烈,南北气候差异明显,降水量分布极不均匀,年均气温3.6℃,年均降水89 mm。

喀拉乌成山位于乌鲁木齐市,东西长约85 km,南北宽约45 km,总面积697 km²,海拔1450~4170 m,属中温带大陆干旱气候区,年平均降水量为194 mm,1月平均气温-12.6℃,7月平均气温23.7℃

2 材料与方法

2.1 粪便样品收集与DNA提取

2010年11月至2011年2月、2011年11月至2012年2月两次对喀拉乌成山的小渠子(NX)、白杨沟(NB)及东天山国家森林公园的松树塘(SST)、白石头(BST)和寒气沟(HQG)的马鹿分布区进行调查并采集粪便(图1)。粪便采集处进行GPS定位,并将采集粪便立即放入-20℃预冷的纯乙醇中保存。本实验共采集到331份马鹿粪便样品,来源详见表1。

使用改良的CTAB法^[3]提取粪便DNA,通过1%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA提取是否成功,及提取DNA的纯度,将检测合格的DNA保存在-20℃的TE缓冲液中备用。

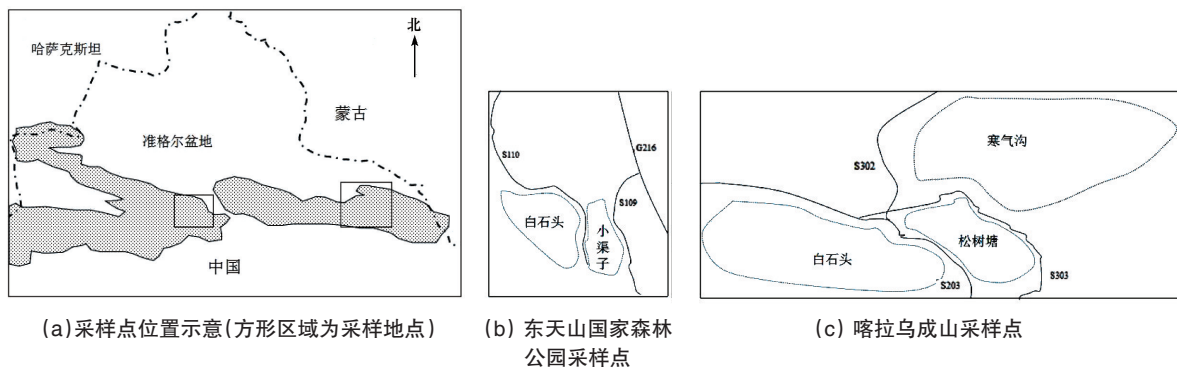


图1 天山马鹿粪便样品采集地点

Fig. 1 The geographic location of Tianshan red deer sampled

表1 粪便样品采集地点

Table 1 Sites of collection of fecal samples

采样点	海拔/m	纬度	经度	样品数	个体数
NX	2065	43°28'44"N	87°05'52"E	73	41
NB	2240	43°25'31"N	87°09'35"E	64	36
BST	2200	43°20'15"N	93°41'02"E	87	66
SST	2400	43°20'18"N	93°34'55"E	41	32
HQG	2200	43°13'44"N	93°52'47"E	66	42

2.2 微卫星扩增与马鹿个体识别

2.2.1 微卫星扩增

根据已有研究,选择马鹿遗传多样性分析中经常使用的、具较高多态性的5个微卫星位点(BM888、BM4208、

BM5004、BM6438、BM6506)^[4],进行马鹿个体识别,所有引物由上海生工生物工程技术服务有限公司(Sangon)按照HAP纯度要求合成。

PCR扩增体系为50 μL:2.5 mmol/L的dNTPs 4 μL,10×PCR buffer 5 μL,Taq酶(北京鼎国)0.25 U,10 mmol/L引物各2 μL,模板DNA 1 μL,加双蒸水至50 μL。PCR反应条件:95℃预变性1 min;95℃变性30 s,退火30 s(退火温度详见表2),72℃延伸30 s,30个循环;最后72℃延伸5 min。

使用ABI PRISM 310遗传分析仪(美国应用生物系统公司)软件收集数据,并利用Genescan 2.1软件分析片段大小。

2.2.2 马鹿个体识别

PCR扩增产物利用聚丙烯酰胺凝胶电泳检测,EB显色后利用肉眼观察并判断是否为同一个体。使用POPgene 3.2软件计算了5个马鹿群体的5个微卫星座位的哈代-温伯格平衡值

表2 5个微卫星引物的序列及扩增条件
Table 2 Five microsatellite primer sequences and amplification conditions

微卫星名称	引物序列(5'→3')	退火温度/℃	定位染色体
BM888	AGGCCATATAGGAGGCAAGCTT	49	10
	CTCGGTCAGCTCAAAACGAG		
BM4208	TCAGTACACTGGCCACCATG	56℃	9
	CACTGCATGCTTTTCCAAAC		
BM5004	TCTGGAGTGAATGTTTCTGAGG	49℃	20
	TTGTGATGAGCACCTGAAGG		
BM6438	TTGAGCACAGACACAGACTGG	58℃	1
	ACTGAATGCCTCCTTTGTGC		
BM6506	GCACGTGGTAAAGAGATGGC	63℃	1
	AGCAACTTGAGCATGGCAC		

(HW),通过Excel microsatellite tool kit和Cervus 3.0软件,寻找数据中相匹配的基因型。判断不同样品来自于同一个体的原则是:1)所有座位上的基因型都相同;2)只有1个座位上的1个等位基因存在差异,同时使用性别鉴定作为个体识别的辅助手段。由于从粪便扩增微卫星容易出现位点丢失,所以本研究使用Paekau^[5]及Wasser等^[6]推荐使用的质量控制方法。首先,排除在2次重复试验中存在基因型不一致的样本(551个粪便样本中约15%无法重复);其次,对于杂合子基因型样本每个位点至少重复2次扩增,对于纯合子基因型样本每个位点至少重复3次扩增。

2.3 性别鉴定

2.3.1 通过粪便形态

鹿科动物的粪便形态会因性别而产生差异。本研究利用在人工鹿场调查已知性别的马鹿粪便与野外采集粪便相比较发现,雄性粪便为子弹头状,且后部会出现一个长宽比接近1的小凹陷,而雌性的粪便两头尖,长宽比为1.6。因此可以通过粪便形态很方便地判断排便马鹿的性别。这种方法利用分辨形态进行动物性别判断,不但应用在塔里木马鹿的研究中^[7],而且也被证明对天山马鹿的性别判断正确率较高^[8],正确率均在80%以上。

2.3.2 通过SRY基因

本实验使用2对引物对粪便DNA进行复合扩增:引物SRY12(上下游引物序列分别为5'-CTTCATTGTGTGGTCTCGTG-3'和5'-CGGGTATTTGTCTCGGTGTA-3')^[9]扩增Y染色体SRY区域片段;引物BMC1009^[10]作为反应阳性内对照扩增常染色体微卫星位点,以防止由于试验失败而错误判别。引物由上海生工生物工程技术有限公司合成,并用灭菌双蒸水配制成浓度为100 μmol/L的储存液备用。

反应体系:10×PCR buffer 3 μL,dNTP 3 μL,两对引物上

下游各1 μL,模板DNA 2 μL,Taq DNA酶1 U,最后加入双蒸灭菌水12 μL使总体积为25 μL。反应条件:95℃预变性10 min;95℃变性30 s,61℃退火45 s,72℃延伸1 min,40个循环;最后72℃延伸10 min,4℃保存。

2.4 个体家域计算

根据个体识别的结果,选择重捕数大于4次的个体(同一个体的不同样本被认为是该个体的重捕),根据同一个体不同排便位置的GPS位点进行家域分析,利用Arcview GIS 3.2的扩增模块home range analysis中的100%最小凸多边形法(mimum convex polygons,MCP)计算它们的家域面积。

3 结果

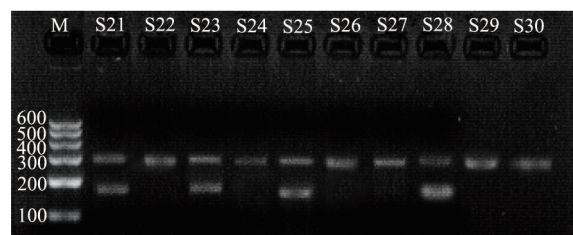
3.1 个体识别

在采集粪便中提取DNA并进行有效PCR扩增的样品331份,实验结果表明,331个成功扩增的DNA来自217头个体,详见表1。利用POPgene 3.2软件计算了2个马鹿群体的5个微卫星座位的哈代-温伯格平衡值(HW),结果表明,除BM5004、BM888外,其余3个微卫星座位都符合哈代-温伯格平衡,5个位点的累积个体识别能力分别为0.9999、0.9999、0.9999、0.9995、0.9999。

3.2 性别鉴定

3.2.1 通过PCR结果判定马鹿性别

本研究扩增马鹿Y染色体上的SRY基因片段(180 bp)作为雄性性别鉴定基因,BMC1009为阳性内对照(180 bp)(图2)。对于2个片段(300 bp和180 bp)都扩增出来的个体,判断其含有Y染色体,视为雄性马鹿;对于仅有1个片段(300 bp)被扩增的个体,判断其不含有Y染色体,视为雌性马鹿;若重复2次没有扩增出阳性内对照,无论是否扩增出SRY基因片段(180 bp)均放弃此样品。



M为Marker;S21,S23,S25,S28样品来自雄性马鹿;S22,S24,S26,S27,S29,S30样品来自雌性马鹿。

图2 PCR扩增产物的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 2 Agarose gel electrophoresis of PCR products

3.2.2 利用粪便形态判定马鹿性别

本研究收集了217头马鹿的粪便,其中喀拉乌成山的小渠子地区41头,白杨沟地区36头,通过形态判断,小渠子地区27头属于雌性,12头属于雄性,2头无法从形态判断性别,性别比2.25:1;白杨沟地区26份属于雌性,9份属于雄性,1头无法从形态判断性别,性别比2.89:1;东天山国家森林公园白

石头地区 66 头, 松树塘地区 32 头, 寒气沟地区 42 头, 通过形态判断白石头地区 42 头属于雌性, 20 头属于雄性, 另外 4 头无法从形态判断性别, 雌雄比为 2.10:1; 松树塘地区 22 头属于雌性, 9 头属于雄性, 1 头无法从形态判断性别, 性别比 2.44:1; 寒气沟地区 25 头属于雌性, 14 头属于雄性, 3 头无法从形态判断性别, 性别比 1.79:1。

对 *SRY* 基因扩增产物的电泳结果进行分析得出, 喀拉乌成山的小渠子地区雌性 29 头, 雄性 12 头, 白杨沟地区雌性 26 头, 雄性 10 头, 性别比分别为 2.42:1(小渠子)和 2.60:1(白杨沟); 东天山国家森林公园的白石头地区雌性 45 头, 雄性 21 头, 松树塘地区雌性 22 头, 雄性 10 头, 寒气沟地区雌性 26 头, 雄性 16 头, 性别比分别为 2.14:1(白石头), 2.20:1(松树塘)和 1.62:1(寒气沟)。

5 个地区的研究中没有发现个体在不同的地区迁徙, 即各地之间的自然及人工建筑已经对各地马鹿造成了阻隔, 5 地马鹿均属各自封闭群体。

3.3 家域面积

选出重捕数大于等于 4 次的雌性个体 5 头(小渠子地区 2 头, 白杨沟地区 2 头, 白石头地区 1 头), 雄性个体 4 头(小渠子地区 2 头, 白杨沟地区 1 头, 白石头地区 1 头)进行家域面积计算。本研究中松树塘、寒气沟两地无重捕次数大于 4 的个体, 故无法获得两地马鹿的家域数据。这 9 只马鹿个体的重捕数为 4~7 次, 平均为 4.88 次。使用最小凸多边形法计算出的雌性马鹿家域在 1.24~1.71 km², 平均为 1.42 km²; 雄性马鹿家域在 1.02~1.57 km², 平均为 1.31 km²(表 3)。

表 3 马鹿家域面积
Table 3 Home range of red deer

采样点	性别	家域面积/km ² (重捕数)
NX	雌性	1.24(4); 1.36(7)
	雄性	1.23(4); 1.45(5)
NB	雌性	1.46(5); 1.71(6)
	雄性	1.57(5)
BST	雌性	1.32(4)
	雄性	1.02(4)

4 分析与讨论

4.1 天山马鹿东天山森林种群的性别比

性别比是指被研究动物的雌雄比。一般情况下, 野生动物的雌雄比多为种群调查同时肉眼对雌雄异型成体或亚成体的观察值, 如张显理等^[1]对贺兰山马鹿种群数量调查时, 利用鹿角的有无对成体马鹿个体的雌雄比进行统计, 发现成体中雌雄比为 1.83:1; 布左拉·吐尔逊等^[2]利用样线法对乌鲁木齐南山马鹿种群调查时, 不仅利用鹿角的有无对成体马鹿个体的雌雄比进行判断, 同时结合体型和鹿角的多少进一步细分为亚成体、成体、老体, 发现亚成体雌雄比为 2.56:1, 成体雌

雄比为 2.09:1, 老体雌雄比为 3.2:1, 总的雌雄比为 2.51:1, 该研究虽然获得了较为详细的性别比, 但由于依据体型对雌性的年龄判断容易出错, 而且肉眼观察法并不适合对雌雄形态差异较小的动物进行性别比研究, 而且无法判断幼体性别, 因此这种方法在其他野生动物研究中并不常见。

近年来发现通过粪便形态能够判断出部分鹿科动物的形态, 并且具有较高的准确性。以往研究表明, 利用粪便的形态能够比较准确地得到目标动物的性别。艾孜孜等^[8]利用喀拉乌成山马鹿粪便形态进行性别判断, 并将结果与 *SRY* 基因进行对比, 发现利用粪便形态对性别的判断准确率是 88.34%。李玉春等^[13]利用粪便形态对圈养海南坡鹿的性别进行判别发现, 粪便形态对成体雄性的判断正确率是 76.17%, 成体雌性的判断正确率是 42.22%。田新民等^[14]利用粪便形态对野生马鹿进行性别调查, 发现利用粪便提取 DNA 能够进行 *SRY* 的扩增并判断性别, 但由于没有进行粪便的个体识别, 因此没有获得性别比。以上结果表明, 通过粪便形态对性别进行判断是可行的, 但是不同的鹿科动物的判断准确性有所差异。本研究首次利用个体识别后的粪便形态和 *SRY* 基因对野生马鹿的性别比进行研究, 结果表明天山马鹿的粪便形态与性别相关性较大, 能够反映实际性别组成。

在实际研究中, 种群数量研究往往只是野生动物调查的一部分, 遗传结构、性别比、家域种系发生、进化关系等相关问题也是研究议题, 这些研究都需要获得动物 DNA。传统获得 DNA 的方式是对野生动物进行捕捉后采样, 该方法不太适用于较难捕捉的动物(如稀有动物和比较警觉的动物), 本研究采用的非损伤性采样法, 通过采集粪便、皮张等材料提取 DNA, 不但可避免打扰野生动物的生活而且不受伦理制约, 因此近些年来基于非损伤性采样技术的研究得到了很大的发展, 但该方法必须解决同一个体重复采样的问题, 因此粪便收集后的个体识别成为必须的步骤。在通过个体识别后, 排除重复个体, 然后通过粪便形态和 *SRY* 基因扩增后的电泳结果进行判断, 都会出现形态不典型或者基因扩增失败等无法判断性别的情况, 因此本研究结合两种方法进行性别判断, 可以互为补充相互印证, 从而获得更加接近真实情况的雌雄比。

性别比例对野生动物来说, 是一个非常重要的参数。它对于种群的增长、密度和动态都有着很重要的影响, 因此, 掌握一个物种野生种群的性别比例, 对于研究这个物种种群的发展趋势和变化有着很重要的意义。天山马鹿是一雄多雌制动物, 种群数量中雌性个体会多于雄性^[7], 本研究的粪便形态雌雄比为 1.78:1~2.89:1, 通过 *SRY* 基因确定的性别比为 1.62:1~2.40:1, 对两种方法获得的性别比进行成对比较发现, 两种方法获得的结果不存在统计学差异, 说明粪便形态和 *SRY* 基因扩增同样可靠。

本研究中除寒气沟外, 其他地区都具有较高的雌雄比, 雌性为雄性的两倍以上, 符合马鹿一雄多雌的基本特性。寒气沟地区位于天山山脉东部的巴里坤山最东段, 也是整个天

山山脉的最东段,被省道303隔绝,难以与周边的松树塘地区进行迁徙。以往关于该地的研究也表明寒气沟地区的遗传多样性较低,因此结合本研究较低的雌雄比结果,可以推测寒气沟地区的马鹿种群面临较大风险。

4.2 家域面积

家域是动物进行取食、交配、育幼等日常活动的区域,对于动物的生存和繁衍具有重要意义。家域对于深入研究有蹄类社会组织、改善和提高其生境质量、预测栖息地最适容纳量、以及珍稀濒危物种的保育和再引种等工作均具有重要意义。传统的家域研究是通过项圈等电子设备对目标动物进行研究,这种方法一般价格较高,而且在佩戴项圈的过程中容易对目标动物或者研究者造成危险。对于大型偶蹄动物,传统的家域调查方法主要是无线电遥测、全球定位系统(GPS)项圈跟踪、直接观察法、红外线照相法。其中无线电遥测法是广泛使用的家域研究法,该方法具有装备轻便和随时获取位点数据的特点,但是由于误差大,研究者必须距目标动物近,并且易受地形天气影响,因此对于天山马鹿这种生活在复杂山区的动物并不适合。GPS项圈跟踪法由于造价较高,现在仅在塔里木马鹿放生时使用过,但由于必须对马鹿进行麻醉佩戴,因此至今在中国没有见到利用此方法在其他马鹿特别是野生马鹿中使用的报道。直接观察法也是常见的野生动物家域的研究方法,但是由于其易受人为因素影响,且不适用于在茂密林地活动的动物,因此该法已经很少被使用。红外线照相法适合于对同一区域多种野生哺乳动物的研究,其优点是几乎无需人员维护即可长期使用,且不打扰野生动物的生活,但其缺点是无法获得实时数据,对家域面积的估计值也会受到预设点的影响。

非损伤取样法是指不打扰野生动物的生活,利用唾液、尿液、粪便、脱落的皮毛等痕迹进行研究的一类方法,不但能够克服传统捕获法研究对动物的伤害而且也避免了猛兽或大型动物对研究人员的威胁,因此越来越受到野生动物研究人员的欢迎。粪便是其中最常见的一种非损伤取样法,该法不但能够获得大量的粪便,而且可以通过后期的遗传分析获得该动物的多种信息^[15],因此更加适合对野生动物的调查。利用非损伤取样法对家域面积进行估计,是指在采集野生马鹿粪便的同时,记录GPS位点等信息,使用微卫星(STR)或者单核苷酸多态性(SNP)进行个体识别,通过计算重复采样的位置估计家域的面积。家域面积的计算方法主要有最小凸多边形法和核心密度估计法(kernel density estimates, KDE)。其中最小凸多边形法是最早使用的家域估计方法,同时也是最常见的方法,通过将数据点的GPS信息输入GIS软件自动计算多边形面积,如果数量不多也可以使用公式手工计算。核心密度估计法则是利用位点数据进行空间分布的非参数估计,该方法使用核心密度概率函数,获得该动物在某一概率情况下(一般定义为95%)的活动区域,避免了最小凸多边形法中异常位点的影响,因此成为未来家域研究的方向。但是由于最小凸多边形法仍然是唯一可以对不同研

究进行比较的估算方法,因此仍是现今家域研究的主要选择。本研究使用的位点信息均来自马鹿的粪便,因此不存在异常位点生物学意义不明的情况。更为重要的是使用最小凸多边形法对重复粪便数据进行计算并不增加考察负担。

东天山国家森林公园的松树塘、寒气沟地区未发现重捕数大于4的个体,其中一个重要原因可能是松树塘地区的旅游业发展。冬季东天山国家森林公园唯一的滑雪场就在松树塘地区,同时“哈密松树塘冰雪文化游乐场”2011年建成,冬季游客众多,较为喧哗,这势必会对马鹿的栖息造成一定的影响。寒气沟地区被东部新疆最繁忙的公路S303隔绝,马鹿难以向周边地区迁徙,这可能是造成该地区马鹿重捕数较少的原因,另一个原因是寒气沟的居民依然以放牧为生,必然造成食物供给密度降低,而食物密度低是马鹿家域变大、难以重复采样的原因。

本研究表明,东天山森林公园的白石头地区出现了2头马鹿家域存在重叠的现象,提示在冬季马鹿家域有重叠。这可能是由于冬季食物缺乏,马鹿进食的主要食物是雪岭云杉的嫩枝^[16],东天山国家森林公园中仅白石头地区在自然林边缘有人工林的种植,这些人工林树高在1~3 m,马鹿多会在此啃食嫩枝,这可能是该地区存在冬季家域重叠现象的原因。对不同性别的马鹿进行家域大小的比较,发现雌雄天山马鹿家域之间变化范围不大,这与张辉^[17]对东北马鹿的家域研究结果不一致。张辉^[17]的研究结果表明,雄性马鹿的家域是雌性的大约两倍,而本研究表明天山马鹿雌雄性别之间的家域范围差异较小,甚至出现雌性天山马鹿家域大于雄性的现象。这可能是由于不同亚种生活习性不同,天山马鹿的发情期在秋季,雄鹿为争夺雌鹿群的交配权而展开争斗,冬季是其孕期,雄鹿会保护鹿群至来年春天,雌鹿生产。因此冬季雌雄天山马鹿同群,这与本研究的结果相符。张辉^[17]及Jerina等^[18]的研究结果都表明,雄性马鹿的家域是雌性马鹿的2倍,但是他们都没有说明详细的研究季节,春季、夏季雌雄天山马鹿异群,雌性及幼体同群主要生活在低海拔林带,而雄性一般单独活动且常会出现在高海拔林带。因此不表明季节而谈家域是不科学的,本研究不仅在国内首次利用个体识别技术研究马鹿家域,而且也首次明确雌雄天山马鹿的冬季家域相近。

利用微卫星进行非损伤性分析,是现在对野生动物研究的重要手段,通过皮毛、粪便等痕迹,可以用来研究动物的种群大小^[8],遗传结构。该法还可以用于家域的研究,后期费用较低。但是该方法在国内期刊未见报道,国外也仅有几篇相关应用。本研究对于其他大型野生动物的调查具有借鉴意义。

5 结论

通过非损伤技术收集天山马鹿粪便,并利用粪便DNA甄别不同个体,通过同一个体的不同粪便样本的GPS信息首次获得天山马鹿的家域信息。通过SRY基因进行性别鉴定,结

合粪便形态再一次确定天山马鹿属于一雄多雌,并且粪便形态可以作为确定性别的快速手段应用于天山马鹿的研究中。

参考文献(References)

- [1] Ochoa A, Gasca J, Ceballos G J, et al. Spatiotemporal population genetics of the endangered Perote ground squirrel (*Xerospermophilus perotensis*) in a fragmented landscape[J]. *Journal of Mammalogy*, 2012, 93(4): 1061-1074.
- [2] 周璨林, 艾萨江·图合提, 阿米拉·阿布来提, 等. 公路对天山马鹿 (*Cervus elaphus songaricus*) 种内遗传分化的影响[J]. *中国草食动物科学*, 2014, 34(6): 5-9.
Zhou Canlin, Aysajan Tohti, Mahmut Halik, et al. Effect of road on genetic differentiation of Tianshan red deer (*Cervus elaphus songaricus*) [J]. *Herbivore Science*, 2014, 34(6): 5-9.
- [3] 日沙来提·吐尔地, 艾斯卡尔·买买提, 日孜汗·阿布地艾尼, 等. 一种从马鹿粪便中提取DNA的改进方法[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(10): 5739-5740, 5754.
Risalat Turdy, Askar Muhammad, Rizihan Abduheni, et al. An improved method for DNA extraction from the faeces of cervus elaphus [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2012, 40(10): 5739-5740, 5754.
- [4] Mahmut H, Ganzorig S, Onuma M. A preliminary study of the genetic diversity of Xinjiang Tarim red deer (*Cervus elaphus yarkandensis*) using the microsatellite DNA method[J]. *Japanese Journal of Veterinary Research*, 2001, 49: 231-237.
- [5] Paekau D. An empirical exploration of data quality in DNA-based population inventories[J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12: 1375-1387.
- [6] Wasser S K, Davenport B, Ramage E R, et al. Scat detection dogs in wildlife research and management: Application to grizzly and black bears in the Yellowhead Ecosystem, Alberta, Canada[J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2004, 82: 475-492.
- [7] 艾尼瓦尔·吐米尔, 马合木提·哈力克. 用粪便形态特征初步研究新疆塔里木马鹿种群年龄和性别[J]. *生命科学研究*, 2006, 10: 61-66.
Anwar Tumor, Mahmut Halik. Using pellet morphometry study population age structure and sex of the red deer (*Cervus elaphus Yarkandensis*)[J]. *Life Science Research*, 2006, 10: 61-66.
- [8] 艾孜孜江·乃比, 夏米西丁·阿布杜热依木, 布左拉·吐尔逊, 等. 使用粪便形态指标快速判断天山马鹿的性别[J]. *中国畜牧兽医*, 2014, 41(9): 46-50.
Azezijiang Naibi, Xiamixidi Abuduryimu, Buzohre Tursun, et al. Using waste form index to quickly determine the sex of the Tianshan red deer [J]. *China Animal Husbandry and Veterinary*, 2014, 41(9): 46-50.
- [9] Wilson P J, White B N. Sex identification of elk (*Cervus elaphus Canadensis*), moose (*Alces alces*) and white-tailed deer (*Odocoileus virginianus*) using the polymerase chain reaction[J]. *Journal of Forensic Sciences*, 1998, 43: 477-482.
- [10] Taibot J, Haigh J, Planie Y A. Parentage evaluation test in North American elk (wapiti) using microsatellites of ovine and bovine origin [J]. *Animal Genetics*, 1996, 27: 117-119.
- [11] 张显理, 李志刚, 李正, 等. 宁夏贺兰山马鹿春季种群数量与种群动态研究[J]. *宁夏大学学报: 自然科学版*, 2006, 27(3): 263-265.
Zhang Xianli, Li Zhigang, Li Zheng, et al. Spring of helan mountain in ningxia red deer population and population dynamics research[J]. *Journal of Ningxia University: Natural Science Edition*, 2006, 27(3): 263-265.
- [12] 布左拉·吐尔逊, 日沙来提·吐尔地, 孜拉吉古丽·西克然木, 等. 新疆乌鲁木齐南山山区天山马鹿(*Cervus elaphus songaricus*) 种群数量调查[J]. *野生动物学报*, 2014, 35(1): 26-30.
Buzohre Tursun, Risalat Turdy, Zilajigvl Ekram, et al. Investigation of Tianshan red deer (*Cervus elaphus songaricus*) population size in the Nanshan Mountains of Xinjiang, China[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2014, 35(1): 26-30.
- [13] 李玉春, 蒙以航, 高海波, 等. 用粪粒外部形态指标鉴定海南坡鹿的性别与年龄[J]. *动物学研究*, 2008, 29(2): 189-194.
Li Yuchun, Meng Yihang, Gao Haibo, et al. A study on determining age and sex of Hainan eld's deer by use of pellet morphometry[J]. *Zoological Research*, 2008, 29(2): 189-194.
- [14] 田新民, 张明海, 罗理扬. 通过粪便确定野生马鹿性别的试验[J]. *东北林业大学学报*, 2008, 36(3): 68-69.
Tian Xinmin, Zhang Minghai, Luo Liyang. Sex determination of wild deer by feces[J]. *Journal of Northeast Forestry University*, 2008, 36(3): 68-69.
- [15] 周璨林, 日沙来提·吐尔地, 艾斯卡尔·买买提, 等. 三种方法对天山马鹿喀拉乌成山种群数量的比较[J]. *四川动物*, 2013, 32: 487-491.
Zhou Canlin, Risalat Turdy, Askar Muhammad, et al. Comparison of population of Tianshan red deer (*Cervus elaphus songaricus*) on Karawushen Mountains in Xinjiang based on three different methods [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2013, 32: 487-491.
- [16] 日孜汗·阿布地艾尼, 艾萨江·图合提, 阿米拉·阿布来提, 等. 乌鲁木齐南山山区天山马鹿冬季食性分析[J]. *兽类学报*, 2013, 33(4): 326-332.
Rizihan Abduheni, Aysajan Tohti, Amila Ablat, et al. Winter food habits of Tianshan red deer (*Cervus elaphus songaricus*) Nanshan Mountains of Urumqi, China[J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2013, 33(4): 326-332.
- [17] 张辉. 基于粪便分子生物学的马鹿个体识别、亲缘关系分析及家域确定[D]. 哈尔滨: 东北林业大学. 2010: 27-30.
Zhang Hui. The individual identity, parentage analysis and home range determination of wapiti based on faeces molecular biology[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2010: 27-30.
- [18] Jerina K. Roads and supplemental feeding affect home-range size of Slovenian red deer more than natural factors[J]. *Journal of Mammalogy*, 2012, 93(4): 1139-1148.

(责任编辑 王媛媛)

《科技导报》“综述文章”栏目征稿

“综述文章”栏目发表对当前自然科学有关学科领域的研究热点、前沿分支发展现状及动向的评述性文章。要求在所属学科领域从事比较深入研究的一线科研人员在研读相当数量文献资料的基础上,全面、深入、系统地论述该领域的问题,并对所综述的内容进行归纳、分析、评价,以反映作者的观点和见解。在线投稿:www.kjdb.org。