



研究报告

Research Report

濒危黑颈长尾雉圈养种群的 RAPD 遗传多样性分析

庾太林[✉], 韩增超[✉], 管清新[✉], 张良建[✉], 刘晓辉[✉]

广西师范大学生命科学院, 桂林, 541004

✉通讯作者: yutail@163.com; ✉作者

计算分子生物学, 2012 年, 第 1 卷, 第 4 篇 doi: 10.5376/cmb.cn.2012.01.0004

收稿日期: 2012 年 08 月 28 日

接受日期: 2012 年 09 月 07 日

发表日期: 2012 年 09 月 10 日

本文首次发表在《基因组学与应用生物学》(2012 年第 31 卷第 4 期 369-373 页)上。现依据版权所有人授权的许可协议, 采用 Creative Commons Attribution License 协议对其进行授权, 再次发表与传播。只要对原作有恰当的引用, 版权所有人允许并同意第三方无条件的使用与传播。

建议最佳引用格式:

引用格式(中文):

庾太林等, 2012, 濒危黑颈长尾雉圈养种群的 RAPD 遗传多样性分析, 计算分子生物学(online) Vol.1 No.4 pp.23-28 (doi: 10.5376/cmb.cn.2012.01.0004)

引用格式(英文):

Yu et al., 2012, Genetic Diversity of the Domesticated Population of Endangered *Syrmaticus humiae* Revealed by RAPD Amplification, Jisuan Fenzi Shengwuxue (online) (Computational Molecular Biology) Vol.1 No.4 pp.23-28 (doi: 10.5376/cmb.cn.2012.01.0004)

摘要 运用 RAPD 技术对黑颈长尾雉圈养种群的遗传多样性进行了分析。从 50 条随机引物中筛选出 14 条引物, 对 24 个个体的基因组 DNA 进行了 PCR 扩增, 从检测出的 119 个位点中有 98 个多态位点, 占总位点的 82.35%, 标记的分子量大小范围是 0.2~3 kb。24 个个体间的遗传距离幅度 0.159 7~0.487 4, 平均是 0.281 0; 用软件 NTsys 2.10e 构建了 24 个个体相互关系的分支图, 24 个个体可分为 3 个类群。实验表明: 黑颈长尾雉圈养种群的遗传多样性水平较高, 圈养种群内遗传差异性较大。

关键词 黑颈长尾雉; 圈养种群; RAPD; 遗传多样性

Genetic Diversity of the Domesticated Population of Endangered *Syrmaticus humiae* Revealed by RAPD Amplification

Yu Tailin[✉], Han Zengchao[✉], Guan Qingxin[✉], Zhang Liangjian[✉], Liu Xiaohui[✉]

College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin, 541004

✉ Corresponding author: yutail@163.com; ✉ Authors

Abstract The genetic diversity of cultured stocks of *Syrmaticus humiae* has been studied by RAPD technique. 24 individuals DNA were used for genetics analysis and 14 of 50 random primers have been selected for PCR amplification. Among the amplified 119 loci, 98 loci were polymorphic which occupied 82.35% in total. The molecular weights were from 0.2 kb to 3 kb. The genetic distance among 24 individuals ranged from 0.159 7 to 0.487 4 and the average genetic distance was 0.281 0. After the dendrogram was constructed by NTsys 2.10e software, the 24 individuals of *Syrmaticus humiae* could be separated into 3 major clusters. In conclusion, there are higher genetic diversity and differentiation of *Syrmaticus humiae* in captivity population.

Keywords *Syrmaticus humiae*; Domesticated Population; RAPD; Genetic diversity

黑颈长尾雉(*Syrmaticus humiae*)属国家 I 级保护雉类, 已列入国际鸟类保护委员会世界濒危鸟类红皮书和我国国家重点保护野生动物名录。在我国仅分布于广西、云南的少数几个县境内(郑作新, 1978, 科学出版社, pp.172-177; 李汉华等, 1998)。目前生境严重破坏, 野生数量已极端稀少, 资源接近枯竭。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(Frankham et al., 2002)。黑颈长尾雉的有

效保护和人工繁殖对于扩大其种群, 保护珍稀动物, 维持生态平衡有着重要的意义。

目前对黑颈长尾雉的研究主要有黑颈长尾雉的分布(李汉华等, 1998; 韩联宪, 1997; 范喜顺等, 2004), 繁殖(陈伟才等, 2006; 刘小华等, 1991), 种群扩散(贝永建等, 2005), 人工饲养和繁殖(庾太林等, 1996), 笼养状态下求偶炫耀行为(李汉华等, 1999), 尚未发现对黑颈长尾雉的遗传多样性研究的报道。



运用 RAPD (random amplified polymorphic DNA)技术(Welsh and Mcllelland, 1990; Williams et al., 1990), 从分子水平上对圈养群体黑颈长尾雉的遗传多样性进行研究, 以期了解其遗传多样性背景、群体内和群体间遗传分化水平, 为其生物资源的种质保存、遗传改良及进一步的开发利用提供科学依据。

1 结果与分析

1.1 RAPD 扩增带谱分析

在 50 条随机引物中, 筛选获得了 14 条引物能够产生重复的、清晰的扩增图谱, 并以此进行分析(表 1)。使用筛选得的 14 条随机引物对 24 只黑颈长尾雉进行 PCR 扩增, 每条引物可产生 6~12 条特定的扩增谱带(图 1), 从图看出, RAPD 扩增产物清晰并且丰富, 说明对黑颈长尾雉 RAPD 反应各参数的筛选是适合的、正确的。黑颈长尾雉的 RAPD 扩增谱带变异较大, 14 条引物的 RAPD 产物共检测到 119 个位点, 其中 98 个为多态性位点, 占 82.35%, 标记的分子量在 0.2~3 kb 之间。不同的引物所得到的扩增片段的数量各不相同。同时, 不同的引物所揭示的多态性也不尽相同。

表1 14条引物序列及RAPD扩增分析

Table 1 14 primers sequences and the results of RAPD

引物 Primers	引物碱基序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	扩增条带数 Total number of bands	多态性条带数 Number of polymorphic bands	多态率(%) Percentage of polymorphic bands (%)
S92	CAGCTCACGA	9	7	77.78
S93	CTCTCCGCCA	6	4	66.67
S103	AGACGTCCAC	8	6	75.00
S104	GGAAGTCGCC	7	6	85.71
S105	AGTCGTCCCC	6	5	83.33
S1181	GGCAGGTGGA	8	7	87.50
S1186	ACGGATCCCC	10	8	80.00
S1345	TCGCTGCGTT	8	5	62.50
S1348	AGGCTTCCCT	11	10	90.91
S1402	GGAAACCCCT	10	10	100.00
S1404	GGCACGCGTT	12	11	91.67
S1406	GTGGCTTGGA	8	6	75.00
S1407	GTAAACCGCC	9	8	88.89
S1409	GGGCGACTAC	7	5	71.43
总计 Total		119	98	82.35

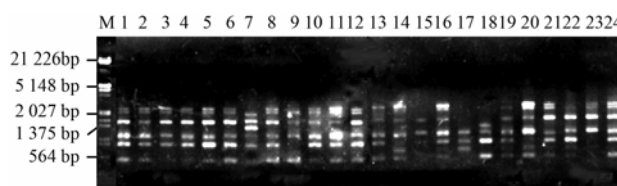


图 1 引物 S1407 扩增的 24 只黑颈长尾雉个体的 RAPD 产物电泳图

Figure 1 Electrophoretogram of typical RAPD band patterns produced by S1407 primers with 24 individuals of *Syrmaticus humiae*

1.2 黑颈长尾雉的遗传多样性

用软件 NTsys 2.10e 进行分析, 得到黑颈长尾雉 24 个个体的遗传距离 P 值矩阵(表 2)。任意两个个体的 P 值在 0.159 7~0.487 4 范围之内。并依据 24 只黑颈长尾雉个体之间相互关系构建分支聚类图(图 2)。黑颈长尾雉种群的平均遗传距离为 0.281 0, 即是说种群内个体的相似程度为 0.719 0。

2 讨论

由于 RAPD 技术具有良好的分辨率(Welsh and Mcllelland, 1990; Williams et al., 1990), 遗传距离及聚类分析揭示了黑颈长尾雉的遗传变异水平。黑颈长尾雉种群的平均遗传距离为 0.281 0, 即是说种群



表 2 黑颈长尾雉的 24 个个体的 RAPD-DNA 片段的遗传相似系数与遗传距离
 Table 2 The genetic identity and genetic distances of 24 individuals of *Syrnaticus humiae* based on RAPD data

ID	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
1	****	0.7731	0.7479	0.7983	0.7479	0.7227	0.6218	0.7479	0.7227	0.7227	0.7143	0.7059	0.7311	0.7563	0.7395	0.7815	0.7059	0.6975	0.7143	0.6975	0.7563	0.7563	0.7899	0.7815
2	0.2269	****	0.7395	0.7899	0.7395	0.7479	0.6303	0.7059	0.7647	0.7815	0.7227	0.7479	0.6891	0.7647	0.7311	0.7563	0.7143	0.6218	0.7059	0.7731	0.7479	0.7647	0.7311	0.7059
3	0.2521	0.2605	****	0.8151	0.6975	0.7731	0.6050	0.7815	0.7395	0.7899	0.7479	0.7227	0.6303	0.7059	0.7395	0.7815	0.7059	0.6471	0.7311	0.7143	0.7899	0.6891	0.7563	0.7311
4	0.2017	0.2101	0.1849	****	0.7479	0.7395	0.6218	0.6807	0.7731	0.7731	0.7647	0.7227	0.7143	0.7059	0.7563	0.7311	0.6723	0.6134	0.6975	0.7815	0.7731	0.7563	0.7395	0.7311
5	0.2521	0.2605	0.3025	0.2521	****	0.6723	0.5714	0.6471	0.7059	0.7227	0.7983	0.6891	0.7311	0.7059	0.7899	0.7311	0.6555	0.5798	0.7143	0.6975	0.7059	0.7227	0.7059	0.7479
6	0.2773	0.2521	0.2269	0.2605	0.3277	****	0.6471	0.8067	0.7983	0.7647	0.7227	0.6807	0.7227	0.7815	0.6471	0.7563	0.7815	0.7059	0.7227	0.7059	0.7647	0.6639	0.6975	0.7059
7	0.3782	0.3697	0.3950	0.3782	0.4286	0.3529	****	0.6218	0.6639	0.5966	0.5546	0.5630	0.5882	0.6303	0.5462	0.6050	0.6639	0.6555	0.5882	0.5882	0.5126	0.5798	0.6134	0.6050
8	0.2521	0.2941	0.2185	0.3193	0.3529	0.1933	0.3782	****	0.7731	0.7899	0.7479	0.7227	0.6807	0.7227	0.6555	0.7647	0.7395	0.7311	0.6975	0.6975	0.7563	0.7059	0.7059	0.7143
9	0.2773	0.2353	0.2605	0.2269	0.2941	0.2017	0.3361	0.2269	****	0.7983	0.7731	0.7311	0.7395	0.7647	0.6807	0.8067	0.7479	0.7227	0.6891	0.7731	0.7311	0.7311	0.6975	0.7899
10	0.2773	0.2185	0.2101	0.2269	0.2773	0.2353	0.4034	0.2101	0.2017	****	0.8403	0.7647	0.7227	0.7479	0.7143	0.7899	0.6975	0.6891	0.7059	0.7731	0.7647	0.7311	0.7479	0.7395
11	0.2857	0.2773	0.2521	0.2353	0.2017	0.2773	0.4454	0.2521	0.2269	0.1597	****	0.7731	0.7647	0.7059	0.7395	0.7815	0.6555	0.6471	0.6471	0.7647	0.7563	0.7059	0.7395	0.7983
12	0.2941	0.2521	0.2773	0.2773	0.3109	0.3193	0.4370	0.2773	0.2689	0.2353	0.2269	****	0.7395	0.7311	0.6975	0.7731	0.6807	0.6387	0.7227	0.7899	0.7983	0.7479	0.6975	0.7563
13	0.2689	0.3109	0.3697	0.2857	0.2689	0.2773	0.4118	0.3193	0.2605	0.2773	0.2353	0.2605	****	0.7899	0.6891	0.7647	0.7059	0.7143	0.7311	0.7311	0.7059	0.6891	0.6555	0.7311
14	0.2437	0.2353	0.2941	0.2941	0.2941	0.2185	0.3697	0.2773	0.2353	0.2521	0.2941	0.2689	0.2101	****	0.6639	0.7563	0.7983	0.7395	0.7563	0.7563	0.7143	0.7311	0.6471	0.6891
15	0.2605	0.2689	0.2605	0.2437	0.2101	0.3529	0.4538	0.3445	0.3193	0.2857	0.2605	0.3025	0.3109	0.3361	****	0.7395	0.6639	0.5714	0.6891	0.7059	0.7815	0.7143	0.7815	0.7395
16	0.2185	0.2437	0.2185	0.2689	0.2689	0.2437	0.3950	0.2353	0.1933	0.2101	0.2185	0.2269	0.2353	0.2437	0.2605	****	0.7563	0.7143	0.7647	0.7311	0.8067	0.7227	0.7563	0.8151
17	0.2941	0.2857	0.2941	0.3277	0.3445	0.2185	0.3361	0.2605	0.2521	0.3025	0.3445	0.3193	0.2941	0.2017	0.3361	0.2437	****	0.7563	0.7731	0.6723	0.6975	0.7815	0.6807	0.6891
18	0.3025	0.3782	0.3529	0.3866	0.4202	0.2941	0.3445	0.2689	0.2773	0.3109	0.3529	0.3613	0.2857	0.2605	0.4286	0.2857	0.2437	****	0.7311	0.6303	0.6555	0.6723	0.6387	0.6807
19	0.2857	0.2941	0.2689	0.3025	0.2857	0.2773	0.4118	0.3025	0.3109	0.2941	0.3529	0.2773	0.2689	0.2437	0.3109	0.2353	0.2269	0.2689	****	0.6807	0.7395	0.6723	0.6723	0.6807
20	0.3025	0.2269	0.2857	0.2185	0.3025	0.2941	0.4118	0.3025	0.2269	0.2269	0.2353	0.2101	0.2689	0.2437	0.2941	0.2689	0.3277	0.3697	0.3193	****	0.7731	0.7227	0.7059	0.7311
21	0.2437	0.2521	0.2101	0.2269	0.2941	0.2353	0.4874	0.2437	0.2689	0.2353	0.2437	0.2017	0.2941	0.2857	0.2185	0.1933	0.3025	0.3445	0.2605	0.2269	****	0.7479	0.7479	0.7731
22	0.2437	0.2353	0.3109	0.2437	0.2773	0.3361	0.4202	0.2941	0.2689	0.2689	0.2941	0.2521	0.3109	0.2689	0.2857	0.2773	0.2185	0.3277	0.3277	0.2773	0.2521	****	0.7647	0.7395
23	0.2101	0.2689	0.2437	0.2605	0.2941	0.3025	0.3866	0.2941	0.3025	0.2521	0.2605	0.3025	0.3445	0.3529	0.2185	0.2437	0.3193	0.3613	0.3277	0.2941	0.2521	0.2353	****	0.8067
24	0.2185	0.2941	0.2689	0.2689	0.2521	0.2941	0.3950	0.2857	0.2101	0.2605	0.2017	0.2437	0.2689	0.3109	0.2605	0.1849	0.3109	0.3193	0.3193	0.2689	0.2269	0.2605	0.1933	****

注: 遗传相似系数(上); 遗传距离(下)

Note: Genetic identity (above diagonal) and genetic distance (below diagonal)

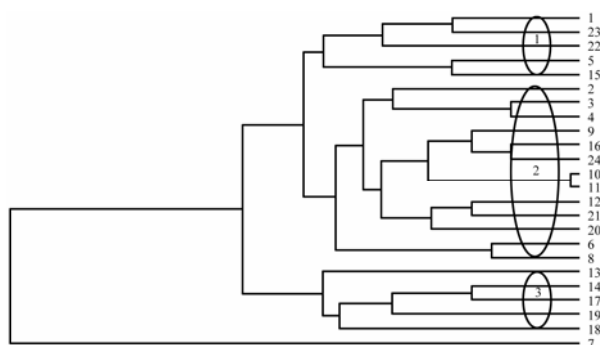


图 2 黑颈长尾雉 24 个个体之间相互关系的分支聚类图
Figure 2 The dendrogram of the 24 individuals of *Syrmaticus humiae*

内个体的相似程度为 0.719 0。而多态位点的百分数为 82.35%。相对其他物种来说, 它的遗传变异水平是较高的, 如南美白对虾(*P. vannamei*)的 4 个群体和家系,测得的多态位点百分数是 58.75% (Garcia et al., 1994)。罗非鱼种群内个体间的相似率分别是尼罗罗非鱼为 0.730, 莫桑比克罗非鱼为 0.78 和奥利亚罗非鱼为 0.87 (Dinesh et al., 1996)。6 个鸡品种多态率 84.30%, 各品种内遗传相似度范围分别为 0.798 1~0.868 5 (刘娣, 1999), 而滇金丝猴的个体间的遗传距离只有 0.052, 表明笼养滇金丝猴群体的遗传多样性很低(兰宏等, 1996)。因此, 黑颈长尾雉的圈养种群具有较高水平的遗传多样性。

供试的 24 只黑颈长尾雉个体主要聚成三个群体, 第二个群体里又分为几个小类群, 并有分散的 7 号个体, 总体比较分散。说明濒危雉类繁育基地内的黑颈长尾雉可能来自不同的地理种群, 这与种源来源的实际相符合, 该种群的亲代来自广西的隆林、西林和金钟山保护区。黑颈长尾雉的遗传变异水平较高, 有助于黑颈长尾雉的生存与延续。通过对圈养黑颈长尾雉遗传多样性的分析, 可以评价黑颈长尾雉种质资源的遗传学变化, 为深入研究以及制定和采取相应的管理和保护措施提供基础数据。

3 材料和方法

3.1 材料

在广西壮族自治区林业厅与广西师范大学生科院濒危雉类繁育基地随机从 F₄~F₉ 子代的人工繁殖个体中抽取 24 只黑颈长尾雉(*Syrmaticus humiae*)用于实验分析。

3.2 基因组 DNA 的提取

基因组 DNA 的提取参照高盐法(汪永庆等, 2001), 取黑颈长尾雉的新生羽毛 2~3 根(马逸清和

李晓民, 2002; 丁长青, 2004)。放入 1.5 mL 离心管中, 加入 400 μ L DNA 提取缓冲液(10 mmol/L Tris-HCl, pH 8.0; 2 mmol/L EDTA, pH 8.0; 400 mmol/L NaCl; 1% SDS)。将样品剪碎混匀后, 加入 10 μ L 的蛋白酶 K (20 g/L)混匀, 55 $^{\circ}$ C 消化 3~4 h (每 20 min 颠倒混匀)。加入 10 μ L RNase (10 g/L), 37 $^{\circ}$ C 水浴 40~60 min。加入 300 μ L 6 mol/L NaCl, 充分振荡混匀, 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液加入等体积的异丙醇, 轻轻混匀, -20 $^{\circ}$ C 沉淀 1 h, 12 000 r/min 离心 15 min, 弃上清, 加入 600 μ L 70%乙醇洗涤, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清。加入 600 μ L 无水乙醇, 12 000 r/min 离心 10 min, 弃上清, 自然干燥后加入无菌超纯水 30 μ L 溶解。1%琼脂糖凝胶电泳检测, 紫外分光光度计测定浓度, 稀释至一定浓度, -20 $^{\circ}$ C 保存备用。

3.3 RAPD-PCR 扩增反应

用总体积为 25 μ L 的 PCR 反应体系, 其中灭菌双蒸馏纯净水 12 μ L; 含 2.5 μ L 10 \times Buffer 2.5 μ L; 250 μ mol/L dNTP 2.5 μ L; 1 mmol/L MgCl₂ 2.5 μ L; 2.5U Taq 酶 2 μ L; 0.1 μ mol/L 引物 1.5 μ L; 25 ng DNA 2 μ L。

PCR 反应条件是: 预变性(94 $^{\circ}$ C 5 min); 变性(94 $^{\circ}$ C 1 min); 退火(40 $^{\circ}$ C 1 min), 延伸(72 $^{\circ}$ C 1.5 min), 共循环 45 次; 最后进一步延伸(72 $^{\circ}$ C 10 min)。

在 1%琼脂糖凝胶上对 PCR 扩增产物进行电泳并染色, 用紫外凝胶成像系统进行观察并照相。

3.4 分子数据记录与分析

根据 PCR 扩增产物的电泳结果, 对在相同的迁移率上出现与未出现进行标记, 出现的记为“1”, 未出现的记为“0”, 由此生成“0”和“1”的原始矩阵 (Wang et al., 1997)。并对每个引物扩增的总带数和多态性带数进行统计。数据的聚类分析采用非加权算术平均对数法(UPMGA 法), 建立个体间的亲缘关系树状图。用下列公式计算和分析黑颈长尾雉种群的遗传多样性数值。

个体间遗传相似性指数 F: $F = 2N_{xy} / (N_x + N_y)$, 式中, N_x 和 N_y 分别是个体 x 和 y 的扩增带数, N_{xy} 是个体 N_x 和 N_y 的共有带数, 遗传距离 $d = 1 - F$ (Lynch, 1990)。

多态位点比例 $P = \text{多态位点数} / \text{位点总数}$ 。

作者贡献

庾太林完成实验设计、论文统稿修改并参与实验; 韩增超参与实验全过程及论文初稿撰写; 管清新、张良建及刘晓辉协助实验及材料的采集。



致谢

本研究是在国家自然科学基金项目(No.31160426)的经费支持下,并在广西师范大学珍稀濒危动植物生态与环境保护省部共建教育部重点实验室完成实验工作。特此致谢。

参考文献

- Bei Y.J., Li H.H., Huang C.M., Yu T.L., and Wu L.D., 2005, Study of population dispersion of *Syrnaticus humiae* after restocking in Cenwangaoshan Nature Reserve, Guangxi Shifan Daxue Xuebao (Zirankexue Ban) (Journal of Guangxi Normal University (Nature Science Edition)), 23(4): 85-88 (贝永建, 李汉华, 黄乘明, 庾太林, 吴龙敦, 2005, 岑王老山再引进黑颈长尾雉(*Syrnaticus humiae*)种群扩散的研究, 广西师范大学学报(自然科学版), 23(4): 85-88)
- Chen W.C., Li H.H., and Yu T.L., 2006, Laying eggs and incubation behavior of *Syrnaticus humiae*, Guangxi Shifan Daxue Xuebao (Zirankexue Ban) (Journal of Guangxi Normal University (Nature Science Edition)), 24(2): 93-96 (陈伟才, 李汉华, 庾太林, 2006, 再引入黑颈长尾雉的产卵、孵卵行为, 广西师范大学学报(自然科学版), 24(2): 93-96)
- Dinesh K.R., Lim T.M., Chan W.K., and Phang V.P.E., 1996, Genetic variation inferred from RAPD fingerprinting in three species of *Tilapia*, Aquaculture International, 4(1): 19-30 <http://dx.doi.org/10.1007/BF00175218>
- Ding C.Q., ed., 2004, Research on The Crested Ibis, Shanghai Scientific and Technological Education Publishing House, Shanghai, China, pp.177-180 (丁长青, 主编, 2004, 朱鹮研究, 上海科技教育出版社, 中国, 上海, pp.177-180)
- Fan X.S., Hu D.F., Xiao Z.G., and Xu R., 2004, Studies on distribution and habitat of *Syrnaticus Humiae* in Dinosaur River, Shihezi Daxue Xuebao (Zirankexue Ban) (Journal of Shihezi University (Natural Science)), 22(2): 157-160 (范喜顺, 胡德夫, 肖自光, 徐荣, 2004, 恐龙河保护区黑颈长尾雉的分布和栖息地, 石河子大学学报(自然科学版), 22(2): 157-160)
- Frankham R., Ballou D., and Briscoe D.A., eds., 2002, Introduction to conservation genetics, Cambridge University Press, Cambridge, UK, pp.1-60 <http://dx.doi.org/10.1017/CBO9780511808999.002>
- Garcia D.K., Faggart M.A., Rhoades L., Alcivar-Warren A.A., Wyban J.A., Carr W.H., Sweeney J.N., and Ebert K.M., 1994, Genetic diversity of cultured *Penaeus vannamei* shrimp using three molecular genetic techniques, Molecular Marine Biology and Biotechnology, 3(5): 270-280 PMID: 7881514
- Han L.X., 1997, The distribution and habitat selection of the Hume's pheasant in Yunnan, Shengwu Duoyangxing (Chinese Biodiversity), 5(3): 185-189 (韩联宪, 1997, 云南黑颈长尾雉(*Syrnaticus humiae*)分布及栖息地类型调查, 生物多样性, 5(3): 185-189)
- Li H.H., Yu T.L., and Shen L.T., 1998, The birds of *Tragopan cuvier* and *Syrnaticus wagler* and their geological distribution in Guangxi, China, Guangxi Shifan Daxue Xuebao (Zirankexue Ban) (Journal of Guangxi Normal University (Nature Science)), 16(3): 78-82 (李汉华, 庾太林, 申兰田, 1998, 广西的角雉属、长尾雉属鸟类的地理分布, 广西师范大学学报(自然科学版), 16(3): 78-82)
- Li H.H., Yu T.L., and Shen L.T., 1999, The behavior of the courtship flaunt on a caged pheasant (*Syrnaticus humiae*) hume, Beijing, China, pp.517-520 (李汉华, 庾太林, 申兰田, 1999, 笼养黑颈长尾雉的求偶炫耀行为, 见: 中国动物学会, 编, 中国动物科学研究——中国动物学会第十四届会员代表大会及中国动物学会 65 周年年会论文集, 中国, 北京, pp.517-520)
- Liu D., 1999, Study of RAPD on fowls breeds, Dongbei Nongye Daxue Xuebao (Journal of Northeast Agricultural University), 30(4): 349-354 (刘娣, 1999, 鸡品种随机引物扩增多态 DNA 的研究, 东北农业大学学报, 30(4): 349-354)
- Liu X.H., Zhou F., Pan G.P., Lai Y.M., and Liu Z.M., 1991, Breeding habits of *Syrnaticus humiae burmannicus*, Dongwu Xuebao (Acta Zoologica Sinica), 37(3): 332-333 (刘小华, 周放, 潘国平, 赖月梅, 刘自民, 1991, 黑颈长尾雉繁殖习性的初步研究, 动物学报, 37(3): 332-333)
- Lynch M., 1990, The similarity index and DNA fingerprinting, Mol. Biol. Evol., 7(5): 478-484 PMID: 2263197
- Ma Y.Q., and Li X.M., eds., 2002, Study on red-crowned crane, Shanghai Scientific and Technological Education Publishing House, Shanghai, China, pp.156-168 (马逸清, 李晓民, 主编, 2002, 丹顶鹤研究, 上海科技教育出版社, 中国, 上海, pp.156-168)
- Wang X.Q., Zou Y.P., Zhang D.M., Hong D.Y., and Liu Z.Y., 1997, Genetic diversity analysis by RAPD in *Cathaya argyrophylla* Chun et Kuang, Science in China Series C: Life Sciences, 40(2): 145-151 <http://dx.doi.org/10.1007/BF02882042> PMID: 18726310
- Wang Y.Q., Wang X.G., Xu L.X., and Zhang Z.B., 2001, A new rapid method for extraction of high quality of genomic DNA from animal tissues, Dongwuxue Zazhi (Chinese Journal of Zoology), 36(1): 27-29 (汪永庆, 王新国, 徐来祥, 张知彬, 2001, 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进, 动物学杂志, 36(1): 27-29)



- Welsh J., and Mclelland M., 1990, Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers, *Nucl. Acid Res.*, 18(24): 7213-7218 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/18.24.7213> PMID: 2259619 PMCID: 332855
- Williams J.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A., and Tingey S.V., 1990, DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers, *Nucl. Acid Res.*, 18(22): 6531-6535 <http://dx.doi.org/10.1093/nar/18.22.6531> PMID: 1979162 PMCID: 332606
- Yu T.L., Li H.H., and Shen L.T., 1998, The artificial feeding and reproduction of *Syrnaticus humiae burmannicus*, *Guangxi Shifan Daxue Xuebao (Ziranhexue Ban)* (Journal of Guangxi Normal University (Nature Science)), 16(1): 99-103 (庾太林, 李汉华, 申兰田, 1998, 黑颈长尾雉的人工饲养与繁殖, *广西师范大学学报(自然科学版)*, 16(1): 99-103)