

麝、獐、麂和鹿间线粒体 DNA 的差异及其系统进化研究^{*}

李 明¹ 盛和林

(华东师范大学生物系, 上海, 200062)

玉手英利⁺ 增田隆一 永田纯子 大泰司纪之

(⁺石卷专修大学, 石卷 986, 北海道大学, 札幌 060, 日本)

摘 要

用 PCR 技术和序列测定方法从线粒体 DNA 上得到 367bp 的细胞色素 b 基因片段序列。分析得出, 麝与獐、麂和鹿的遗传差异在 12.53%~14.44% 之间, 处在科间变化范围之内, 在分子水平上进一步表明麝应作为一独立科; 獐、麂和鹿间序列的平均差异为 10.28%, 属于亚科间的差异, 与形态研究结果一致。麝、獐、麂和鹿的系统进化中, 麝约在 600 万年前与鹿科分歧, 而鹿科的两个亚科是在 350~500 万年开始分歧; 麝、獐、麂和鹿共同组成一单系群, 在 600 万年前具有一共同祖先。

关键词 林麝; 獐; 黄麂; 水鹿; 线粒体 DNA; 系统进化

麝 (*Moschus sp.*)、獐 (*Hydropotes inermis*)、麂 (*Muntiacus spp.*) 和鹿 (*Cervus spp.*) 分别属于二科三亚科, 即麝科 (*Moschidae*) 和鹿科 (*Cervidae*) 的獐亚科 (*Hydropotinae*)、麂亚科 (*Muntiacinae*) 和鹿亚科 (*Cervinae*)。鹿类动物的祖先是与原始偶蹄目的古双兽 (*Diacidexis*) 相近的动物, 它出现于始新世, 广泛分布于北美和欧亚大陆, 在进化过程中, 逐渐分化产生了现在的各类动物。麝继承了祖先种的原始特征, 根据这些原始特征而将麝划分成一独立的科——麝科 (Flerov, 1952), 而后又有学者将麝作为鹿科的一个亚科, 甚至为鹿科的属 (Viret 等, 1961; 高耀亭, 1963; Rome, 1966), 目前麝科作为一独立科而存在 (Groves 等, 1987; Cobert 等, 1992; 盛和林, 1992; Wang 等, 1993; Groves 等, 1995)。獐无角, 属于鹿科的一个亚科, 是二次性地丧失了角, 是鹿的祖先型 (Flerov, 1952), 而麂具有很小的角, 在中国是从中新世后期开始出现, 直到上新世在各地分化成多种, 并不断扩散。进入更新世以后, 现生种动物便在现在的分布区域出现了。鹿是上新世发展阶段的一个群, 特别是更新世以后出现了更为复杂鹿角的种类, 如马鹿。以前的形态学和古生物学研究表明, 在鹿科的两个亚科——麂亚科和鹿亚科中, 麂亚科是原始型的, 因为在欧洲的早和中新世地层中都发现有这种早期的有角鹿类, 这两种有角亚科组成了一个单系群 (Monophyletic group), 而无角的獐是这两亚科的姐妹群 (Jains

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39470094), 并得到中国科学院“百人计划”项目部分资助

¹现在中国科学院动物研究所从事博士后研究工作

本文于 1997 年 7 月 22 日收到, 1998 年 4 月 12 日收到修改稿

等, 1987; Groves 等, 1987; Hamilton, 1978; Scott 等, 1987)。Miyamoto 等 (1993) 从分子生物学上研究得出獐和麂、鹿组成了一个单系群, 且麝系统关系的阐明对解决新反当类的系统关系有着重要作用。然而有关麝科、鹿科中的三亚科之间的系统进化关系还有待于进一步阐明。

随着分子生物学的发展, 特别是在线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 上的广泛研究和聚合酶链反应 (Polymerase chain reaction, PCR) 技术的进一步发展, 这些先进的理论和技术已为生物进化研究起到了巨大的推动选用。动物线粒体 DNA 是呈母系遗传, 分子量小, 进化速度快, 是核 DNA 的 5~10 倍 (Brown, 1981, 1983) 等特性而成为一种有效的遗传标记物质 (张亚平等, 1992)。线粒体 DNA 上的细胞色素 b (Cytochrome b) 基因的进化速度适中, 一个较小的基因片段就包含着从种内到种间乃至科间的进化遗传信息 (Koucher 等, 1989; Meyer 等, 1990), 并进一步指出细胞色素 b 在系统进化和分类研究上有较强的适用性 (Irwin 等, 1991; Avise, 1994), 已在不少动物类群的系统进化和分类研究中得到了有效应用 (Smith 等, 1991; Wayne 等, 1991; Girman 等, 1993; Perry 等, 1995; 张亚平, 1995)。因此本研究利用 PCR 技术及直接测序法从林麝、獐、黄鹿和水鹿的肌肉样品中扩增并测出线粒体 DNA 中的细胞色素 b 基因的片段序列, 以鼯鹿科的鼯鹿 (*Tragulus napus*) 为外群 (Outgroup) 进行序列比较, 构建它们的分子系统进化树, 探讨它们之间的系统进化关系。

材料和方法

1. 实验材料

实验动物为来自四川的林麝 (*Moschus berezovskii*, MBE)、舟山的獐 (*Hydropotes inermis*, HIN) 和黄鹿 (*Moschus moschiferus*, MRE) 以及海南岛的水鹿 (*Cervus unicolor*, CUN)。分别从这些动物体上取 5 g 左右的肌肉, 剪碎, 浸泡在 70% 的乙醇中保存。

2. 实验方法

1. DNA 提取 将 0.5 g 肌肉样品剪碎放入玻璃匀浆器中, 加入 1 ml SET (0.1 mol NaCl; 10 mmol Tris-HCl, pH7.5; 1 mmol EDTA, pH8.0) 进行匀浆, 按 Masuda 等 (1995) 的方法进行 DNA 提取。同时进行空白对照实验。

2. PCR 扩增 利用通用引物扩增线粒体 DNA 上细胞色素 b 的基因片段, 引物为 L14724 (5'-GATATGAAAAACCATCGTTG-3') 和 H15149 (5'-CTCAGAATGATATTTGT CCTCA-3') (Koucher 等, 1989; Irwin 等, 1991)。反应总体积为 50 μ l, 含有 50 mmol KCl, 10 mmol Tris-HCl (pH8.3), 1.5 mmol $MgCl_2$, 0.001% 明胶, 4 种 dNTP 各为 200 μ mol, 1.25 U Taq 酶 (5 U/ μ l, Perkin), 引物各为 12.5 pmol, 模板为 1 μ l, 加入一滴矿物油, 在扩增仪 (Perkin-Elmer/Cetus, USA) 上进行 35 个循环, 每个循环为 94 $^{\circ}$ C 1 min, 50 $^{\circ}$ C 1 min, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 最后一循环结束后在 72 $^{\circ}$ C 下保温 10 min。再以该扩增产物为模板, 反应体积为 100 μ l, 按 Gyllersten 等 (1988) 的方法进行不对称扩增, 两引物浓度比为 100:1, 进行 30 个循环反应, 其它反应条件同上。

3. DNA 序列测定 取 7 μ l 经 Centrion-30 (Amicon) 浓缩过的上述扩增产物, 利用测序试剂盒 (Sequenase TM Version 2.0, USA), 按 Sanger 等 (1977) 方法进行 DNA 序列测定, 并用 GeneWorks (Intelligenetic) 进行 DNA 序列排列。

4. DNA 序列分析 按照 Kimura (1980) 方法, 对每个核苷酸位点的替换数进行估

计,并计算物种间的 DNA 序列差异。利用 MEGA (Kumar 等, 1993) 软件中的 NJ 法 (Neighbor-Joining, mehod) (Saitou 等, 1987) 和用软件 PHYLIP3. 57 版本中的 DNA-PARS 程序的最大简约法 (Felsenstein, 1995) 来分别构建系统进化树。以麝鹿 (*Tragulus napus*) 作为外群 (Outgroup) 比较。

结 果

1. 细胞色素 b 基因的片段序列及其差异

从林麝、獐、黄鹿和水鹿的肌肉样品中扩增并测定出线粒体 DNA 的细胞色素 b367bp 的片段序列 (图 1), 而空白对照实验并未有扩增产物出现, 说明本研究的测序结果可靠。

MPE	TTCGAAAATC	TCACCCATTA	ATAAAGATTG	TGAACAATGC	ATTCATTGAT	CTCCCAGCTC	60
HIN	. G..... A.	A..... C. A....	. A.. T..... C.	
MRE	.. T... A.	C..... C. A...	. A.... C.. C C.	
CUN	. C..... A.	C..... A.... C.. C C.	
TRA	. C.....	A..... C. A...	. C.....	... T..... C C.	
MBE	CATCAAACAT	CTCATCCTGA	TGAAATTTTG	GCTCCCTACT	GGGCATCTGC	CTAATTATCC	120
HIN T.. A... T.	A.. A.. T.. T T....	T. A.	
MRE	T.... AT... C....	A.. A.. T... T....	C. A.	
CUN T..	T..... C. T....	A.. A.. T.. T	CC. A.	
TRA T.. A. CG C.. C. GT.	A.....	.. C.. CC. T.	
MBE	AAATCCTAAC	AGGCCTATTT	CTAGCAATAC	ATTACACCTC	TGATACAATA	ACAGCATTTT	180
HIN T.. C.. C.... A..	C.. C..... C.	
MRE C.. T.. A..	C.. C.....	
CUN	... A. T.. C C.. T.. A..	C..... C.	
TRA C G.	. C.... A..	A.. C.. TCC C.. C.	
MBE	CCTCCGTTAC	TCACATTTGC	CGAGATGTTA	ATTACGGCTG	AATTATTTCGA	TATATACACG	240
HIN	... T. C..	.. T... C.. C....	. C.. T.... C.. G.. T.	
MRE T... C.. C.. C.	. C.. T....	... C.. C..	
CUN	... T....	.. T... C.. C. C.. C..	
TRA	... A. A.. C.. C.. G. T.. A.. C.. T	
MBE	CAAATGGGGC	ATCAATATTC	TTTATCTGCC	TGTTTCATACA	TGTAGGACGA	GGCCTATACT	300
HIN	.. T. C.. A.. T T	. A.. TC....	C..... T.	
MRE	. GT. C.. A.. T T....	. A.. T.. T..	C.....	
CUN	.. T. C.... T	.. C.... T.	. A.. T....	C..... G....	
TRA	.. T. A.. A..	C.. C..... T....	. A. A.. G.. T.....	
MBE	ACGGATCATA	CACATTTCTA	GAGACATGAA	ACATCGGAGT	CATCCTCTTA	TTCACAGTAA	360
HIN T..	... T.. C..	.. A..... T....	A.. T... C..	
MRE	T.. C.....	.. A.....	. T.. T....	A..... C..	.. T.... T.	
CUN C.....	A..... C..	.. T.... T.	
TRA C..	... C.. C..	.. A.. G.... T....	A..... C..	C. T.... G.	
MBE	TAGCCAC	367					
HIN						
MRE						
CUN						
TRA						

图 1 麝、獐、鹿和鹿的细胞色素 b 的基因片段序列 (367bp), 点表示与 MBE 中相同的核苷酸序列, 麝鹿为外群
Fig. 1 Alignment of cytochrome b nucleotide sequences (367bp) of musk deer, Chinese water deer, muntjak and deer. Dots indicate identities with nucleotides in the MBE. *Tragulus napus* is outgroup

注: TRA (*Tragulus napus*) 的序列来自 Irwin 等 (1991)

麝、獐、麂和鹿间细胞色素 b 的序列差异值和转换/颠换值如表 1，麂鹿作为外群。

表 1 麝、獐、麂和鹿间细胞色素 b 的序列差异百分比（对角线以上）和转换/颠换数（对角线以下）

Table 1 Percentage divergence (above diagonal) and numbers of transitions/transversions (below diagonal) for cytochrome b sequences (367bp) of musk deer, Chinese water deer, muntjak, deer and *Tragulus napus*

	MBE	HIN	MRE	CUN	TRA
MBE		14.44	13.94	12.53	17.17
HIN	37/16		9.84	12.26	16.35
MRE	38/13	26/10		8.74	15.30
CUN	34/12	37/8	27/5		16.89
TRA	38/25	36/24	29/26	36/26	

从表 1 中可得出，麝科与鹿科之间的细胞色素 b 序列的平均差异为 13.64%，鹿科的 3 亚科之间的平均差异为 10.28%，而麝、鹿与外群麂鹿间的差异分别为 17.17% 和 16.18%。

2. 系统进化树

根据 Kimura (1980) 的双参数法 (two-parameter method) 来估计每个核苷酸位点的碱基替换数，利用 MEGA 软件 (Kumar 等, 1993) 和软件 PHYLIP3.57 版本中的 DNA-PARS 程序 (Felsenstein, 1995) 来分别构建麝、獐、麂和鹿间的 NJ 树和最大简约树 (图 2, 图 3)，以麂鹿为外群进行比较。

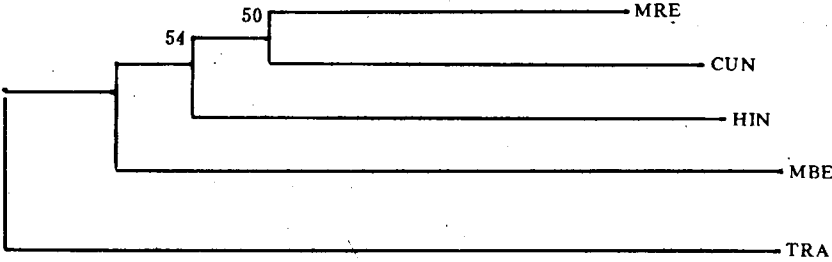


图 2 NJ 法构建的麝、獐、麂和鹿间的细胞色素 b 的系统进化树，每个位点上的核苷酸替换用 Kimura 双参数法估计
Fig. 2 Phylogenetic tree of the cytochrome b sequence of musk deer, Chinese water deer, muntjak and deer constructed by the NJ method. The numbers of nucleotide substitutions per site, were estimated using Kimura's two-parameter method

讨 论

1. 麝、獐、麂和鹿的 DNA 序列的变化

从本研究的图 1 和表 1 中可看到，细胞色素 b 的碱基变化绝大多数是以转换的方式发生的，转换数远大于颠换数。在线粒体 DNA 12 SrRNA 中，碱基颠换是随着时间而逐渐积累的 (Miyamoto 等, 1989)。同样在细胞色素 b 上代表着同义替换的密码子第三位点上的颠换的变化速度也是随着时间而逐渐增加的，并进一步指出整个细胞色素 b 基因的颠换与时间也是成线性关系的 (Irwin 等, 1991)。由于麝和鹿属于不同的科，亲缘关系相对较远，因此随着分歧时间的增加，颠换变化数随之增加。这也符合在亲缘关系近的分类水平上转换对解决进化关系是重要的，而在亲缘关系较远的分类水平上颠换则又起

着重要作用 (Miyamoto 等, 1993), 因为转换较快的变化速度而迅速达到饱和 (Moritz 等, 1987)。

2. 麝、獐、麂和鹿的系统进化关系

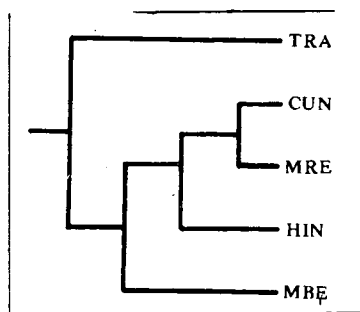


图 3 用 PHYLIP 软件构建的麝、獐、麂和鹿间的细胞色素 b 基因的分子系统进化树。最大简约树的枝长为 138

Fig. 3 Phylogenetic tree of the cytochrome b sequence of musk deer, Chinese water deer, muntjak and deer constructed by PHYLIP package. The total length of the tree was 138

麝曾被作为鹿科的一个亚科存在 (高耀亭, 1963; Rome, 1966), 但大多数学者认为麝应为一独立的科 (Groves 等, 1987; Cobert 等, 1992; 盛和林, 1992; Wang 等, 1993; Groves 等, 1995)。从表 1 中可知, 麝与獐、麂和鹿间的 DNA 序列差异分别达到 14.44%、13.94% 和 12.53%, 平均为 13.64%, 由于在鹿类动物中 mtDNA 的亚科间序列差异在 9%~12% 和科间序列差异在 14%~20% 之间 (Cronin, 1991)。麝与獐、麂和鹿间的差异都超过亚科间的范围, 而獐、麂和鹿间的平均序列差异为 10.28%, 是处在亚科间变化范围之内的, 并与宏观研究结果一致 (盛和林, 1992)。因此从分子水平上也证实了麝是作为一独立科而存在 (Flerov, 1952; Groves 等, 1987; Cobert 等, 1992; 盛和林, 1992; Wang 等, 1993; Groves 等, 1995)。在麝、獐、麂和鹿的进化研究中, 兰宏等 (1993) 利用 RFLP 法对麝和麂的 mtDNA 进行了分析得出麝和麂是在 600 万年左右开始分歧的;

Miyamoto 等 (1990, 1993) 利用 12 SrRNA 的序列对獐、麂、鹿及美洲鹿间的关系研究表明, 麂和鹿的关系最近并组成姐妹群, 这也为 Kraus 等 (1991) 所证实。在本研究中也表现出了这种关系, 由 NJ 法和最大简约法分别构建的进化树, 结果基本一致, 都表现出麂与鹿的关系最近, 而与麝的关系最远, 且麝是最先分化出来的, 麂和鹿是最后分化的。根据哺乳动物细胞色素 b 进化速度每百万年为 2.5% (Meyer 等, 1990) 可得出, 麝科与鹿科的分歧时间是在 500~600 万年左右, 这与兰宏等 (1993) 的推断一致, 而鹿科的 3 个亚科间的分歧时间是在 350~500 万年间, 并且鹿与麂是最后分化的, 这也说明了麂与鹿的亲缘关系最近, 与 12 SrRNA 的研究结果相一致 (Miyamoto 等, 1991, 1993)。这也得到了一些古生物学研究结果的支持, 在古鹿类化石研究中得出, 现生鹿类动物中麝继承了古鹿类的原始特征, 是最原始的, 獐是麂的祖先型, 而鹿是最后发展起来的一个类群 (Flerov, 1952; 大泰司纪之, 1992)。从角的进化来看, 在现生鹿类动物中角是从无到有且逐渐扩大的 (费罗辽夫, 1957), 虽然现生獐无角, 但在其大型化过程中有角, 只是在小型化时期失去了角 (Romer, 1966)。因此从角的有无来看, 獐比麝进步, 而麂和鹿则是进化程度较高的。因此从图 2 和图 3 中得到, 即麝最先从鹿类动物的祖先种分化出来, 其次是獐, 麂与鹿组成姐妹群, 它们共同组成了一个单系群, 在 600 万年前它们有一共同祖先, 是有一定说服力的。这是单从线粒体 DNA 的细胞色素 b 的一个基因片段序列来讨论麝、獐、麂和鹿的系统进化关系的, 为了更精确地阐明它们间的系统进化关系, 还必须从线粒体 DNA 上的其它基因片段甚至全序列、核 DNA、古生物学和动物地理学等方面来全面地综合分析。这有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 兰宏, 施立明. 1993. 鹿属动物线粒体 DNA 多态性及遗传分化. 中国科学 (B 辑), 5: 489~497.
- 大寨司纪之. 1992. 中国鹿类动物的起源和进化. “中国鹿类动物” (盛和林等编). 8~16.
- 张亚平, 施立明. 1992. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概述. 动物学研究, 13: 289~298.
- 张亚平. 1995. 长臂猿的分子系统学研究. 灵长类保护与研究论文集. 50~53.
- 高耀亭. 1963. 中国麝的分类. 动物学报, (3): 479~487.
- 费罗辽夫. 1957. 鹿总科在其进化过程中的形态学和生态学. 古生物译报, No. 1~2, 2~16.
- 盛和林. 1992. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 305.
- Avice J C. 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. New York and London: Chapman & Hall, 511.
- Brown W M. 1981. Mechanism of evolution in animal mitochondrial DNA. *Ann N Y Acad Sci*, 361: 119~134.
- Brown W M. 1983. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei M, Kocher editors. Evolution of genes and proteins. Sunderland: Sinauer Associates Inc., 62~85.
- Cobert G B, Hill J E. 1992. The mammals of the Indomalaysian region: A systematic review. Natural History museum Publications. Oxford University Press. 252~253.
- Cronin A M. 1991. Mitochondrial DNA phylogeny of deer (Cervidae). *J Mamm*, 72: 553~566.
- Felsenstein J. 1995. Phylip (Phylogeny Inference Package) Version 3.57c. University of Washington.
- Flerov K K. 1952. Fauna of USSR mammals. Vol. No. 2. Musk deer and deer. Academy of Science of the USSR, Moscow.
- Girman D J, Kat P W, Mills M G L. 1993. Molecular genetic and morphological analyses of the African wild dog (*Lycaon petus*). *J Heredity*, 84: 450~459.
- Groves C P, Grubb P. 1987. Relationships of living deer. In: Wemmer C M, editor. Biology and Management of the Cervidae Washington, Smithsonian Inst Press, 21~59.
- Groves P C, Wang Y X, Grubb P. 1995. Taxonomy of musk deer, genus *Moschus* (Moschidae, Mammalia). *Acta Theriologica Sinica*, 15 (3): 181~197.
- Gyllenstein U B, Eric H A. 1988. Generation of single-stranded DNA by the polymerase chain reaction and its application to direct sequencing of the HLA-DQA locus. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 85: 7652~7656.
- Hamilton W R. 1978. In: Evolution of African mammals. Maglio V J, Covke H B S, editors. Cambridge: Harvard Univ. 496~508.
- Irwin D M, Kocher T D, Wilson A C. 1991. Evolution of the cytochrome b gene of mammals. *J Mol Evol*, 32: 128~144.
- Janis C M, Scott K M. 1987. The interrelationships of higher ruminant family with special emphasis on the members of the Cervidae. *Am Mus Nov*, 2893: 1~85.
- Kimura M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *J Mol Evol*, 16: 111~120.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 1993. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 1.01. Pennsylvania State University Press.
- Kouch T D, Thomas W K, Meyer A, Edwards S V, Villablanca F X, Wilson A C. 1989. Dynamics of mitochondrial DNA evolution in animals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Acad Sci, USA*, 86: 6190~6200.
- Kraus F, Miyamoto M M. 1991. Rapid cladogenesis among the pecoran ruminants: Evidence from mitochondrial DNA sequences. *Syst Zool*, 40: 117~130.
- Masuda R, Yoshida M C. 1995. Two Japanese wildcats, the Tsushima cat and the Iriomote cat, show the same mitochondrial DNA lineage as the leopard cat *Felis bengalensis*. *Zoological Science*, 12: 655~659.
- Meyer A C, Wilson A C. 1990. Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish. *J Mol Evol*, 31: 359~364.

- Miyamoto M M, Boyle S M. 1989. The potential importance of mtDNA sequence data to eutherian mammal phylogeny. In: Ferrholm B, Bremer K, Jorncall H, editors. *The hierarchy of life, Molecular and Morphology in Phylogenetic Analysis*. Amsterdam, Elsevier Science Publ. B. V. 433~450.
- Miyamoto M M, Kraus F, Reder O A. 1990. Phylogeny and evolution of antlered deer mitochondrial DNA sequences. *Proc Natl Acad Sci. USA*, 87: 6127~6131.
- Miyamoto M M, Craoraft J. 1991. Phylogenetic inference systematics. In: Miyamoto M M, Craoraft J, editors. *Phylogenetic analysis of DNA sequence*. New York: Oxford Univ. Press, 3~17.
- Miyamoto M M, Kraus F, Laipis P J, Tanhauser S M, Webb S D. 1993. Mitochondrial DNA phylogenies with in Artiodactyla. In: Szalay F S, Novacek M J, McKenna C, editors. *Mammal Phylogeny. Placentals*. Springer-Verlag, 2: 268~281.
- Moritz G, Duwling T E, Brown W M. 1987. Evolution of animals mitochondrial DNA: Relevance for population biology and systematics. *Ann Rev Ecol Syst*, 18: 267~292.
- Perry A E, Carr S M, Bartlett S E, Davidsson W S. 1995. A phylogenetic perspective on the evolution of reproductive behavior in pagophile seals of the northwest atlantic as indicated by mitochondrial DNA sequences. *J Mamm*, 76 (1): 22~31.
- Rome A S. 1966. *Vertebrate Paleontology*. Chicago: University of Chicago Press.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol Biol Evol*, 4: 406~425.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. 1977. DNA sequencing with chain terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 74: 5463~5467.
- Scott K M, Janis C M. 1987. Phylogenetic relationships of the Cervidae and the case for a superfamily "Cervidae". In: Wemmer C M, editor. *Biology and Management of the Cervidae*. Washington: Smithsonian Inst. Press, 3~20.
- Smith M F, Patton J L. 1991. Variation in mitochondrial cytochrome b sequence in natural populations of south American akodontine rodents. *Mol Biol Evol*, 8 (1): 85~103.
- Viret J, Crusafont P. 1961. Artiodactyla. In: Maglio V I, Cooke H B S, editors. *Evolution of African Mammals*. Cambridge: Harvard University Press, 540~547.
- Wang Y X, Ma S L, Li C Y. 1993. The taxonomy, Distribution and Status of forest musk deer in China. In: Ohtaishi N, Sheng H L, editors. *Deer of China*. Elsevier Science Publishers B V, 126~134.
- Wayne R K, Meyer A, Lehman N, Valkenburgh B Van, Kat P W, Fuller T K, Girman D, O'Brien S J. 1991. Large sequence divergence among mtDNA genotypes within populations of eastern African Black-backed jackals. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 87: 1772~1776.

MTDNA DIFFERENCE AND MOLECULAR PHYLOGENY AMONG MUSK DEER, CHINESE WATER DEER, MUNTJAK AND DEER

LI Ming SHENG Helin

(Department of Biology, East China Normal University, Shanghai, 200062)

Tamate H.

Masuda R. Nagata J. Ohtaishi N.

(Senshu University of Ishinomaki, Ishinomaki, Japan)

(Hokkaido University, Sapporo 060 Japan)

Abstract

The study was on molecular phylogeny of musk deer, Chinese water deer, muntjak and deer comparing partial sequences of the mitochondrial cytochrome b gene among

them. 367 bp of the mitochondrial cytochrome b gene of forest musk deer (*Moschus berezovskii*), Chinese water deer (*Hydropotes inermis*), muntjak (*Muntiacus reevesi*) and deer (*Cervus unicolor*) were sequenced by PCR and phylogenetic trees were constructed using neighbor-joining method and maximum parsimony method. Sequence divergence of cytochrome b was within level of interfamilial, 12.53%~14.17% between musk deer and deer (family Cervidae), so it further clarified that musk deer was independent family, but sequence divergence was level of inter-subfamily (average 10.55%) among Chinese water deer, muntjak and deer. Musk deer diverged from family Cervidae before about 6 Myr; divergence time were about 3.5~5.0 Myr among three subfamily of family Cervidae. They constructed a monophyletic group and share a common ancestor before 6 Myr.

Key words Forest musk deer (*Moschus berezovskii*); Chinese water deer (*Hydropotes inermis*); Muntjak (*Muntiacus reevesi*); Sambar (*Cervus unicolor*); Mitochondrial DNA (mtDNA); Phylogeny

(上接第231页)

经死亡。完整的剥制标本和骨骼标本 (M08-09-1) 收藏在浙江自然博物馆。

外形 雌性幼体, 体长4.8 m, 体重约1 200 kg。腹部褶沟细共有54条, 长不达脐部。头部生有刚毛约39根。体色背部黑色, 腹部白色, 体侧淡灰色, 鳍肢的基部与末端均为黑色, 中间为一白色横带。每侧须板255片。(表1)

骨骼 椎式为 $C_7, T_{11}, L_{12}, Ca_{16}=46$, 人字骨9枚。颈椎7枚完全分离。

2. 小鰲鲸进入浙江沿海的记录

小鰲鲸在东海经常发现。1965年在舟山近海有记录(上海自然博物馆保存头骨标本), 1979年11月5日在浙江鄞县沿海曾拾到一头长3.6 m 的雄性幼体, 体重约400 kg。在同期, 江苏省浏河幸福公社渔民, 在嵎泗列岛的花乌山北水域也拾到一头幼鲸, 体长3 m 多, 体重约500 kg。但过去尸体都被销毁, 未做成标本。小鰲鲸为什么游进钱塘江呢? 据我们了解1996年11月18日在沙滩上发现这头鲸时口中已出血, 估计是幼鲸生病体力不支, 才被潮水冲进钱塘江的。

关键词 小鰲鲸; 搁浅; 钱塘江三堡

Key words Mink whale (*Balaenoptera acutorostrata*); Stranding; Sanbao of qiantang river

王 宇 (浙江自然博物馆, 杭州, 310012)

WANG Yu (Zhejiang Museum of Natural History, Hangzhou)