- 7 Musgrove E A, Sarcevic B, Sutherland R. Inducible expression of cyclin D1 in T_47D human breast cancer cells is sufficient for cdk2 activation and pRB hyperphosphorylation. *Journal of Cellular Biochemistry*, 1996, 60: 363~ 378

(1998-05-19 收稿, 1998-08-06 收修改稿)

原麝安徽亚种分类地位的再研究

李明^④ 李元广 盛和林 玉手英利^④ 增田隆一
永田纯子 大泰司纪之

(华东师范大学生物学系, 上海 200062; ④中国科学院动物研究所, 北京 100080; ④石卷专修大学, 石卷 986, 日本;
北海道大学, 札幌 060, 日本)

摘要 自分布于安徽大别山的麝标本被定名为原麝安徽亚种以来, 就其分类地位的划分产生了众多分歧, 不同学者从形态学和生态学方面研究得出了多种不同的结论. 为了对安徽亚种的分类地位有一明确认可, 本研究利用形态特征、头骨形态差异的主成分分析和线粒体 DNA (mtDNA) 细胞色素 b 的 367 bp 片段序列差异, 对该亚种的分类地位进行再探讨. 经分析得出安徽麝标本与其他麝在外部形态和头骨形态上均存在着明显的差异, 而且它们之间的 DNA 序列差异在 6.24%~7.90%, 处于鹿类动物的种间差异水平. 据此, 从形态学和分子水平上认为安徽所产的麝应为一个独立种, 即安徽麝 (*Moschus anhuiensis* Wang, Hu et al).

关键词 安徽麝 形态特征 细胞色素 b 分类

安徽麝标本来自安徽大别山区, 自王岐山等人^[1]将安徽大别山的麝定为原麝安徽亚种 (*Moschus moschiferus anhuiensis*) 以来, 就该亚种的分类地位问题一直存在着不同的观点^[2~5]. Groves 等人^[2]认为安徽亚种在外形上与林麝更为接近, 因此厘定为林麝安徽亚种 *M. berezovskii anhuiensis*, 这种观点也得到了一些学者的认同^[4, 5]. 但盛和林^[3]则一直认为安徽所产的麝应为原麝安徽亚种, 并认为林麝也是原麝的一个亚种. 正由于这些宏观研究结果的不一致, 从而对安徽亚种的分类地位一直存在着很大的争论而未取得一致的看法. 为了对该亚种的分类地位有个明确的定位, 本研究从分子水平对其进一步研究, 并结合前人的形态学研究结果分析后认为, 分布于安徽的麝也是一个独立的种, 因而其学名应更改为安徽麝 (*Moschus anhuiensis* Wang, Hu et al), 并且原麝与林麝也应当保留其种级分类地位.

1 材料与方法

(1) 样本采集. 用于分子水平分析的安徽麝的皮张标本来自安徽大别山, 林麝指名亚种 (*M. berezovskii berezovskii*) 的肌肉样品来自华东师范大学麝饲养场, 林麝云贵亚种 (*M. b. yunguiensis*) 来自中国科学院昆明动物研究所, 马麝 (*M. chrysogaster*) 来自甘肃兴隆山. 对结果进行比较分析的东北原麝 (*M. moschiferus parvipes*) 的细胞色素 b 片段序列来自 GenBank (1997). 在形态学分析中, 用于测量头骨的标本都来自华东师范大学动物生态研究室, 其中个体数分别为原麝 9 个、安徽麝 4 个、林麝 25 个和马麝 8 个.

(2) 实验方法. () 形态学比较只选取了雄性个体进行头骨差异的分析. 头骨测量指

<https://engine.scichina.com/doi/10.1360/csb1999-44-2-188>

标有颅全长(SL)、颅基长(CL)、基长(BL)、吻长(RL)、颅宽(CW)、颧宽(ZW)、眶间宽(IW)、鼻骨长(NL)、上齿列长(UL)、泪骨长(LL)和泪骨宽(LW)等 11 项,利用 SPSS 统计软件包中的主成分分析(PCA)对测量数据进行分析. 同时综合麝属诸物种的文献资料,从麝的外部形态进行逐一对比排除分析. () DNA 提取、PCR 扩增、DNA 序列测定及分析方法详见文献[6].

2 结果与分析

2.1 形态比较

综合文献[1~ 3, 7~ 9],从外部形态和头骨形态特征来比较安徽麝与原麝、林麝、马麝、黑麝(*M. fuscus*)和喜马拉雅麝(*M. leucogaster*)间的差异(表 1 和表 2).

表 1 麝属动物几种外部形态特征的比较

物种	安徽麝 (<i>M. anhuiensis</i>)	原麝 (<i>M. moschiferus</i>)	林麝 (<i>M. berezovskii</i>)	马麝 (<i>M. chrysogaster</i>)	黑麝 (<i>M. fuscus</i>)	喜马拉雅麝 (<i>M. leucogaster</i>)
体形	小	小	小	大	小	大
体毛	灰褐色	暗褐色	灰褐色	淡黄褐色	纯黑色	黑褐色
颈纹	有	有	有	有	无	无
斑点	成体有	成体有	成体无或不明显	成体无	成体无	成体无

表 2 安徽麝、原麝、林麝和马麝的头骨衡量度 (单位: mm)

物种	颅全长	颅基长	基长	吻长	颅宽	颧宽	眶间宽	鼻骨长	上齿列长	泪骨长	泪骨宽
安徽麝	143.8	134.3	124.5	72.7	43.0	57.3	36.5	52.5	43.7	17.4	19.3
原麝	146.1	138.2	128.0	71.4	45.3	62.1	38.1	51.6	38.9	14.4	19.0
林麝	141.0	130.8	120.8	71.8	46.2	58.2	37.6	48.5	38.1	14.7	19.2
马麝	155.1	145.4	132.8	85.5	46.9	60.6	38.9	58.1	43.7	24.4	18.6

11 项头骨测量指标经主成分分析得到如图 1 的散点分布图,主成分 1 和 2 分别反映出头骨在大小和形状上的差异. 从图 1 中可知,安徽麝与原麝和林麝的头骨在形状上存在着较大的差异,且与马麝在头骨大小上也有显著

2.2 分子分析

通过序列测定得到线粒体 DNA 细胞色素 b 基因的一个 367 bp 的片段序列(图 2).

通过成对比较(pairwise comparison),得到各种之间的 DNA 序列差异及转换/颠换值(表 3). 从表 3 中可看出,安徽麝与原麝、林麝、马麝之间的序列差异在 6.24%~ 7.90% (23/367~ 29/367)之间,两林麝亚种间的序列差异为 2.18% (8/367).

图 1 11 项头骨测量指标的主成分分析散点图
▲示原麝,●示林麝,◆示安徽麝,■示马麝

```

MAH tccgaaaatc tcacccatta ataaaaattg tgaataatgc attcatcgac ctcccagccc
MMH ..... C..... .a..C.....
MBB .t..... .g.... .C..... .t..t.....t.
MBY .t..... .g.... .C..... .t..t.....t.
MCG .t..... .g.... .C..... .t..t.....t.

catcaaacat ctcatcctga tgaaattttg gctccctact aggcattctgc ctaatcctcc
.....C..... .t.
..... g.....ta...
.....ta...
.....C.....ta...

aaatcctaac gggcctattt ctagcaatac actatacctc tgatacaata acagcattct
.....a.....C.....t..C.....C.....t.
.....a.....t..C.....t.
.....a.....t..C.....t.
.....a.....t..C.....t.

cctccgtcac tcatatttgc cgagacgtta attatggctg aattatccga tatatacacg
...t..t..C.....C.....t..C.....t.
.....t..C.....t...C.....t...
t...t..C.....t...C.....t...
.....C.....C.....t...

caaatggagc atcaatatcc tttattttgcc tgttttatata tgtaggacga ggcctatact
.....C.....t.....
.....g.....C.....C.....a
.....g.....C.....C.....
.....C.....

acggatcata tatattttcta gagacatgaa acattggagt tatectccta ttcacagtaa
.....C.C...C...a.....C.....C.....
tt.....C.C.....C.....t..
t.....C.....C.....
.....C.C...C...a.....C.....C.....t.....

tagccac
.....
.....
.....
..C....

```

图2 麝科动物的细胞色素b基因的片段序列(367 bp)

点表示与 MAH 中相同的核苷酸. MMH, MAH, MBB, MBY 和 MCG 分别表示原麝、安徽麝、林麝指名亚种、林麝云贵亚种和马麝

表3 细胞色素b(367 bp)的序列差异百分比(对角线以上)和转换/颠换数(对角线以下)^{a)}

	MMH	MAH	MBB	MBY	MCG
MMH		7.08	7.90	7.36	6.27
MAH	26/0		7.90	6.24	6.81
MBB	26/3	26/3		2.18	4.41
MBY	26/1	22/1	6/2		4.13
MCG	21/2	22/3	12/4	12/3	

a) MMH, MAH, MBB, MBY, MCG 同图2注

3 讨论

目前一般认为麝属动物包括5个有效种,即原麝、林麝、马麝、黑麝和喜马拉雅麝^[5],其中就安徽所产麝的分类地位却一直不太明确.从表1有关安徽麝与其他麝的外部形态比较中可

看出,安徽麝与黑麝和喜马拉雅麝在形态上有着较明显的差异,如安徽麝具颈纹和斑点,而黑麝和喜马拉雅麝则无;另外根据以前研究中的头骨形态特征比较得出,安徽麝与黑麝和喜马拉雅麝间也存在着显著差异.如安徽麝的泪骨长小于宽,而黑麝和喜马拉雅麝则是泪骨长大于宽;安徽麝与黑麝在鼻骨长方面有着显著差异($t > t_{0.01}$),与喜马拉雅麝在颅全长上差异明显($t > t_{0.01}$)^[1, 3, 7, 9].因而根据形态上的差异,首先可将安徽麝与黑麝和喜马拉雅麝区分开.安徽麝在体形大小上明显小于马麝,并且马麝的泪骨长大于宽^[1~3],从表2的头骨量度中也可看出安徽麝在颅全长(143.8 mm, $n = 8$)和吻长(72.7 mm, $n = 6$)上明显小于马麝(155.1 mm, 85.5 mm, $n = 8$),因而又可将安徽麝与马麝分开.同时 Groves 和 Feng^[2]通过外部形态特征和头骨差异的比较分析就已认为安徽麝与马麝、黑麝和喜马拉雅麝之间的差异非常明显^[2].在表1中,安徽麝与原麝和林麝在外部形态上差异不太明显,而且它们在头骨形态上也比较相似^[3],因此为阐明该麝的分类地位,本研究又对该麝与原麝、林麝和马麝的11项头骨特征进行主成分分析,同时还从分子水平上对它们进行分析推断.

在以前有关安徽麝的分类研究中, Grover 和 Feng^[2]根据安徽麝与原麝的毛皮质地上的差异就已认为它们应属不同的种,同时根据其他特征的比较认为该麝为林麝安徽亚种(*M. berezovskii anhuiensis*). Wang 等人^[4]和 Groves 等人^[5]也提出了相同的观点.但盛和林^[3]则认为林麝和原麝是一个种且林麝应是原麝的一个亚种.从表2和图1的主成分分析中可以看出,安徽麝与原麝、林麝和马麝相互之间有显著的差别.该麝与马麝的头骨在第1主成分轴上有着明显的差异,这主要与颅全长、鼻骨长和上齿列长相关,是在头骨大小上的反映,据此进一步地将该麝和马麝区分开;而第2主成分轴主要与颧宽和吻长相关,该麝与原麝和林麝在这一方面也存在着较大的差异,这主要反映了头骨形状上的差异.

同时本研究从分子水平上又进一步地证实了安徽麝与原麝、林麝和马麝之间存在着种间差异.从表3中可知,该麝与原麝、林麝、马麝间的细胞色素 b 的序列差异在 6.24% ~ 7.90% 之间.在鹿类动物中,种间线粒体 DNA 的序列差异一般约在 4% ~ 12% 之间,而亚种间在 3% 以下^[10].从本研究的线粒体 DNA 的细胞色素 b 序列差异的分析来看,我们认为该麝与原麝、林麝和马麝间的 DNA 差异值是处在种间差异范围内的,因而在分子水平上证实了该麝与原麝、林麝和马麝之间具有种间的差异,同时根据表3也可从分子水平上将原麝和林麝分为2个不同的种,这与形态学研究结果一致^[2, 4, 5].虽然在哺乳动物中,由于存在着种间杂交而产生的基因流可能导致一些种群间呈相互隔离状态的种内 mtDNA 差异大于种间的差异^[11],但由于安徽麝与原麝、林麝、马麝的分布区之间相互隔离,因而也就不可能存在着相互杂交而产生基因流.从表3中可知,形态学上确定的两林麝亚种^[5]间的 DNA 序列的差异为 2.18%,符合鹿类动物中亚种间的 DNA 序列差异一般小于 3% 的观点^[10],而安徽麝与原麝东北亚种、林麝间的 DNA 序列差异都在 6% 以上,已远远超过亚种间的差异水间,达到了种级分化水平.所以本研究从分子水平上也进一步认为安徽麝是一独立的种.

因此,结合形态学及 DNA 的研究结果,可以将安徽所产麝定为麝科动物中的一个独立种,即安徽麝(*Moschus anhuiensis* Wang, Hu et al. 1982).

致谢 衷心感谢中国科学院动物研究所冯祚建教授对本文提出了宝贵的意见.本工作为国家自然科学基金(批准号:39470094)和中国科学院“百人计划”资助项目.

参 考 文 献

- 1 王岐山, 胡小龙, 颜于宏. 我国原麝新亚种——安徽亚种. 兽类学报, 1982, (2): 133~ 138
- 2 Grover C P, Feng Z J. The status of musk deer from Anhui Province, China. Acta Theriol Sinica, 1986, (2): 101~ 106
- 3 盛和林. 中国鹿类动物. 上海: 华东师范大学出版社, 1992
- 4 Wang Y X, Ma S L, Li C Y. The taxonomy, distribution and status of forest musk deer in china. In: Ohtaishi N, Shen H L eds. Deer of China. Holland: Elsevier Science Publishers B V, 1993, 126~ 134
- 5 Groves P C, Wang Y X, Grubb P. Taxonomy of musk deer, genus *Moschus* (*Moschidae*, *Mammalia*). Acta Theriol Sinica, 1995(3): 181~ 197
- 6 李明, 王小明, 盛和林, 等. 马鹿四亚种间的遗传分化研究. 动物学研究. 1998, 19(3): 177~ 183
- 7 蔡桂全, 冯祚建. 喜马拉雅麝在我国的发现及麝属的分类探讨. 动物分类学报, 1981, 6(1): 106~ 110
- 8 高耀亭. 中国麝的分类. 动物学报, 1963, 15(3): 479~ 487
- 9 李致详. 中国麝一新种的记述. 动物学研究, 1981, 2(2): 157~ 161
- 10 Cronin A O M. Mitochondrial DNA phylogeny of deer (cervidae). J Mamm, 1991, 72(3): 553~ 566
- 11 Cronin A M. Mitochondrial DNA in wildlife taxonomy and conservation biology: cautionary notes. Wildl Soc Bull, 1993, 21: 339~ 343

(1998-06-08 收稿, 1998-08-17 收修改稿)

在患病鳊鱼组织中观察到 3 种病毒

张奇亚 李正秋

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要 在患暴发性流行病的鳊鱼组织中观察到 3 种不同形态的病毒, 它们分别是直径约为 280nm 的球形病毒、大小约为 250 nm × 120 nm 的弹状病毒和大小约为 200 nm × 100 nm 的杆状病毒. 这种现象表明, 单一病毒疫苗难以达到预防鳊鱼暴发性流行病的原因可能是由于鳊鱼受到多种病毒病原的侵染. 提示鳊鱼病毒病的防治不要忽视病毒病原的复杂性.

关键词 鳊鱼 病毒 病毒病 病原

鳊鱼是我国淡水养殖的名贵鱼类, 但因暴发流行病, 致使有的鱼池中鳊鱼的死亡率高达 90% 以上, 仅在广东地区造成的年损失就超过亿元人民币^[1]. 我们曾于 1996 年鉴定出一种球形的鳊鱼病毒(*Siniperca chuatsi* spherical virus, SCSV)病原^[2], 随后又研制出细胞培养的鳊鱼球形病毒疫苗, 在实验室用于对该病毒引起的鳊鱼病毒病进行免疫防治有明显效果, 但用于鱼池中却难以达到预期目标. 为究其原因, 我们进一步做了电子显微镜观察, 从患病鱼中发现了 3 种不同形态的病毒. 本文特报道这一观察结果.

1 材料与方法

() 患病鳊鱼的来源与症状. 从广东收集患病活鳊鱼空运抵武汉, 鳊鱼体重为 30~ 100 g. 症状主要表现为口腔周围、头部、鳍的基部和尾部充血, 体表侧线以上的黑色斑纹呈深红色, 有的病鱼眼球突出, 还有的病鱼腮颜色变浅. 出现这些症状的患病鳊鱼会在 3~ 7 d 内大量死亡.