



基于线粒体 DNA 4 个基因/区域的矮小梅花鹿 群体结构与起源进化分析

王洪亮¹, 郭肖兰¹, 张然然¹, 王磊¹, 李婷², 邢秀梅¹

(1. 中国农业科学院特产研究所, 长春 130112; 2. 吉林农业大学 中药材学院, 长春 130118)

摘要 通过线粒体 DNA 上 *12S*、*ND5*、*Cytb* 和 D-loop 4 个基因或区域对分布于吉林省通化地区的矮小梅花鹿群体进行群体结构和起源进化分析, 结果表明, 各基因在群体中均包括 3 种单倍型, 且每种单倍型个体组成相同。将 4 个基因整合后形成组合单倍型 H1~H3, 结合系统发育树判断, H1 和 H2 单倍型与梅花鹿东北亚种聚为一类, 而 H3 单倍型与梅花鹿四川亚种聚为一类, 种群历史分析表明, 该群体没有经历过扩张。因此认为, 该矮小群体有 3 个母系起源, 其中, H1 和 H2 起源于东北亚种, H3 可能起源于四川亚种, 因为不确定四川亚种群体是否受到东北亚种影响。

关键词 矮小梅花鹿; 母系遗传; 系统发育; 单倍型

中图分类号 S858.25

文献标志码 A

文章编号 1004-1389(2018)12-1723-08

梅花鹿属哺乳纲、偶蹄目、鹿科、鹿属。历史上, 梅花鹿在中国具有广泛的分布, 但受捕猎和社会变迁影响, 种群分布与数量大幅减少。在中国分布的梅花鹿可划分为 6 个亚种: 东北亚种、山西亚种、四川亚种、华北亚种、华南亚种、台湾亚种。其中华北、山西和台湾 3 个亚种已经被宣布在野外灭绝^[1]。目前, 梅花鹿已被国际自然与自然资源保护联盟(IUCN)编写的红皮书列为濒危物种, 也是中国的 I 级重点保护动物^[2]。

线粒体 DNA 是动物机体细胞线粒体内共价闭合的环状双链 DNA, 包括一条重链和一条轻链, 能够进行自我复制、转录和翻译, 具有严格母系遗传、分子结构简单、一级结构进化快的特点, 因此可作为研究动物起源进化、群体遗传结构的重要分子标记。鹿科动物线粒体 DNA 有 13 个蛋白编码基因、22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因和一个特殊的 D-loop 区构成。D-loop 区不编码基因, 不受选择压力影响, 因此突变速率较高, 并且得到积累, 而蛋白编码区受选择压力影响, 突变速率慢于 D-loop 区。在鹿科动物中, 13 个蛋白编码基因包括 2 个 ATP 酶亚单位(*ATP6* 和

ATP8), 1 个细胞色素 b(*Cytb*)、3 个细胞色素 C 氧化酶的亚单位(*CO I*、*CO II* 和 *CO III*) 和 7 个 NADH 还原酶复合体亚单位(*ND1*~*6*、*ND4L*)^[3]。

矮小是自然界常见的一种现象, 除了受营养条件影响外, 更多地由于遗传因素导致生长发育受阻, 导致其体高矮于正常个体, 目前除在人类发现外, 在鸡、马、猪等动物中也被发现。矮小型动物尽管个体矮小, 但往往具备独特的生产性能或特点, 具有一定的产业前景。通过对中国梅花鹿资源的调查、评价和搜集, 目前已发现吉林省通化地区东丰型梅花鹿存在矮小种群, 成年个体比正常个体矮 5~10 cm, 但目前尚不知导致其矮小的遗传机制或功能基因。为了研究矮小梅花鹿群体母系起源和群体遗传结构, 本研究对位于线粒体 DNA 的 *12S*、*ND5*、*Cytb* 基因和 D-loop 区序列扩增并测序, 通过系统发育和群体遗传分析确定梅花鹿矮小型群体的母系起源和群体遗传结构, 期望能够了解其起源、资源现状, 为矮小型梅花鹿资源的开发和利用提供理论依据。

收稿日期: 2018-05-10 修回日期: 2018-09-12

基金项目: 吉林省科技发展计划(20140204058NY)。

第一作者: 王洪亮, 男, 助理研究员, 研究方向为动物遗传资源。E-mail: alivecn@live.cn

通信作者: 邢秀梅, 女, 研究员, 博士生导师, 研究方向为动物遗传资源。E-mail: xingxiumei2004@126.com

1 材料与amp;方法

1.1 材料

吉林省通化地区矮小梅花鹿群体,共 31 只,其中雄性 17 只,个体编号为奇数,雌性 14 只,个体编号为偶数,鹿只麻醉后,颈静脉采血 10 mL 冻存,用于提取 DNA。

1.2 方法

采用全血基因组 DNA 提取试剂盒提取总

DNA,并通过微量紫外分光光度计检测质量浓度,小于 50 ng/ μ L 重新提取,并用蒸馏水调整至 50 ng/ μ L。

根据 GenBank 数据库中梅花鹿线粒体 DNA 全序列设计 *12S*、*ND5*、*Cytb* 基因和 D-loop 区引物,将引物设计在上下游基因区域内,确保获得完整基因片段,其中 *ND5* 基因片段较长,因此分为 2 段扩增。引物信息见表 1。

表 1 引物名称及序列组成

Table 1 The sequence of primers used in this research

引物名称 Primer	序 列 Sequence of primer	退火温度/ $^{\circ}$ C Annealing temperature
12S-F	5'-AACAAACAAAGCAAGGCACTGAA-3'	60
12S-R	5'-TCATCATTCCTTACGGTACTT-3'	
ND5-1F	5'-GCAGAAATCCGTTGGTCTTAGG-3'	59.5
ND5-1R	5'-GGCGTGTGTGCAGATATGAAGA-3'	
ND5-2F	5'-ATATGTGCTCTCACCCAGAATG-3'	60.5
ND5-2R	5'-GAATTGCGGCTCTCTACAGTTA-3'	
Cytb-F	5'-CCCATAAATAGGCGAAGGTT-3'	60
Cytb-R	5'-CTATGGCTTCTTCCTTGAGTCT-3'	
D-loop-F	5'-CAACCTCCCTAAGACTCAAGG-3'	61
D-loop-R	5'-TTAAGGGTCAATAGGAAGGCTG-3'	

PCR 反应体系为 50 μ L,基因组 DNA 2 μ L,上下引物游各 1 μ L,dNTPs Mixture 4 μ L,10 \times PCR buffer (Mg²⁺) 5 μ L, *Taq* DNA 聚合酶 (5 U/ μ L)0.25 μ L,用 ddH₂O 补至 50 μ L。

扩增条件:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;94 $^{\circ}$ C 变性 30 s,最适温度退火 30 s(表 1),72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,共 36 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 10 min,10 $^{\circ}$ C 保存。PCR 产物用 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳分析。检测合格后将 PCR 产物送上海生工生物工程公司测序。

1.3 数据分析

1.3.1 序列分析 通过 DNASTAR 软件包和 Clustal X^[4]对序列进行拼接、比对、校对和编辑,利用软件 DnaSP 5.0^[5]计算各基因序列多态位点数、核苷酸多样性(Nucleotide diversity, *Pi*)、单倍型数及单倍型多样性(Haplotype diversity, *Hd*)。

1.3.2 群体结构分析 采用 Modeltest 3.7 软件^[6]对 *12S*、*Cytb*、*ND5* 和 D-loop 基因/区域序列进行最佳替代模型的筛选,同时计算相关参数。利用所得模型、参数结合相近梅花鹿亚种对应基因序列(各亚种名称及线粒体 DNA 基因组登录号:东北梅花鹿 1, *Cervus nippon hortulorum*-1,

NC_013834;东北梅花鹿 2, *Cervus nippon hortulorum*-2, HQ191428;北海道亚种, *Cervus nippon yesoensis*, AB210267;四川亚种, *Cervus nippon sichuanicus*, JN389443),以驯鹿对应基因序列为外群 (*Rangifer tarandus*, NC_007703),利用 Paup 4.0 软件构建单倍型系统发育树,探讨各单倍型系统发育关系。利用 Mega 7 软件^[7]基于 Kimura 双参数模型计算矮小群体以及各亚群之间的遗传距离。

1.3.3 群体历史动态分析 利用 Arlequin 3.52 软件^[8],以中性检验和核苷酸不配对分布两种方法来检测矮小梅花鹿群体历史动态。先以 Tajima's D^[9]和 Fu's Fs^[10]进行中性检验,再进行核苷酸不配对分布检测。用最小方差法检验核苷酸不配对观测值与群体扩张模型预期分布之间是否一致。结合 DnaSP 5.0 构建错配分布图,通过可视化曲线图分析种群历史动态。

2 结果与分析

2.1 序列变异分析

通过在 *12S*、*ND5*、*Cytb* 和 D-loop 4 个基

因/区域相邻区域设计引物、扩增, 获得完整的基因序列。矮小型梅花鹿 4 个基因/区域序列中 A+T 含量均明显高于 C+G, 符合线粒体 DNA 序列 A+T 偏向性, 同时, 碱基突变类型也存在偏倚, 其转换数远大于颠换数, 在该群体中, 4 个基

因共发生 80 处转换突变, 而颠换突变只发生 2 处。*12S*、*ND5*、*Cytb* 3 个基因没有检测到碱基插入或缺失突变(表 2), 而 D-loop 区存在单碱基和双碱基插入或缺失, 导致其序列长度产生变异, 出现 988 和 993 bp 2 种(表 3)。

表 2 基于 4 个基因/区域的序列变异分析

Table 2 Variation analysis of sequences of four genes/regions

碱基组成 Base composition	<i>12S</i>	<i>ND5</i>	<i>Cytb</i>	D-loop
T	36.6	33.6	31.0	29.9
C	17.8	10.4	13.0	15.7
A	22.5	28.9	28.3	32.6
G	23.1	27.1	27.6	21.8
A+T	59.1	62.5	59.3	62.5
C+G	40.9	37.5	40.6	37.5
转换数 No. of transition	4	20	26	30
颠换数 No. of transversion	0	1	0	1

在 *12S*、*ND5*、*Cytb* 和 D-loop 4 个基因/区域中, 以 D-loop 区检测到的突变最丰富, 且集中于序列前部, 除包含 31 处转换/颠换突变外, 还发现 6 处插入/缺失突变, 符合线粒体 DNA D-loop 区低选择压力与突变积累特点, 其中有 5 处为单碱基插入/缺失, 1 处为双碱基插入/缺失。而

12S 基因仅发现 4 处突变, 核苷酸多样性在 4 个基因/区域中最低。在 *ND5* 基因 21 处突变中, 3 处发生在密码子第 1 位, 1 处发生在密码子第 2 位, 17 处发生在密码子第 3 位。在 *Cytb* 基因 26 处突变中, 6 处发生在密码子第 1 位, 1 处发生在密码子第 2 位, 19 处发生在密码子第 3 位。

表 3 基于 4 个基因/区域的遗传多样性指数分析

Table 3 Analysis of genetic diversity index of four genes/regions

项目 Item	<i>12S</i>	<i>ND5</i>	<i>Cytb</i>	D-loop
序列长度 Sequence length	956	1 821	1 140	988/993
多态位点数 Number of polymorphic sites	4	21	26	31
核苷酸多样性 Nucleotide diversity	120±0.000 27	295±0.000 94	554±0.001 98	919±0.002 06
单倍型数 Number of haplotypes	3	3	3	3
单倍性多样性 Haplotype diversity	0.598±0.058	0.598±0.058	0.598±0.058	0.598±0.058
平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences	1.148	5.376	6.318	9.075
插入缺失数 Total number of inDel events	—	—	—	6
插入缺失多样性 InDel diversity	—	—	—	1.832
平均插入缺失长度 Average inDel length	—	—	—	1.085

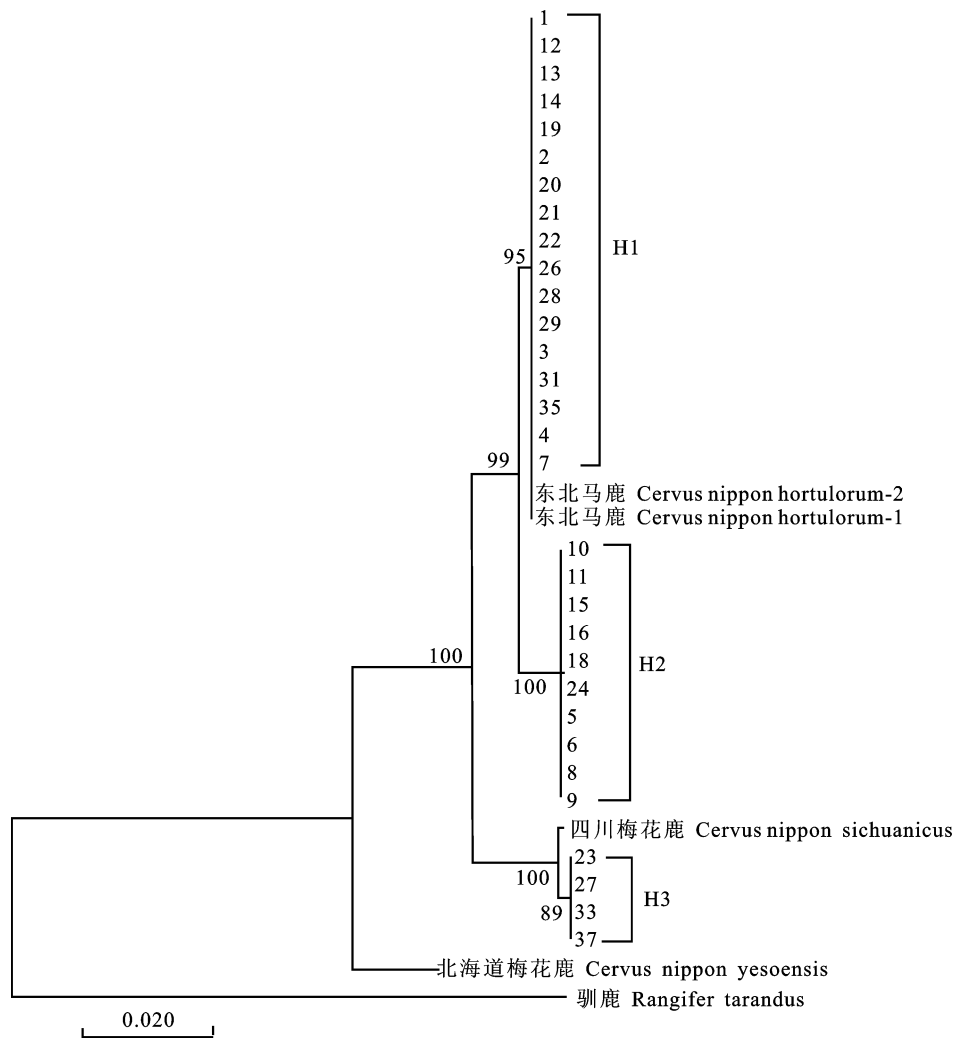
2.2 群体结构分析

在矮小梅花鹿群体中, *12S*、*ND5*、*Cytb* 和 D-loop 经 DnasP 5.0 分析, 均包含 3 个单倍型(表 3), 各基因单倍型多样性相同, 不同基因之间单倍型在群体中没有交叉, 通过 4 个基因/区域的单倍型都可以将该群体分为 3 个个体组成相同的亚群。

对 4 个基因/区域串联进行组合单倍型分析, 表明整个群体可清晰划分为 3 个单倍型 H1、H2

和 H3(表 4), 说明整个矮小群体有 3 个母系起源。

因为该研究群体可以分为明显的 3 个亚群, 因此以亚群为单元研究群体内结构, 并将 4 个基因/区域串联, 结果表明该群体总体平均距离为 0.078, 而 H3 与 H1、H2 遗传距离远大于 H1 和 H2 之间的距离(表 5), 与系统发育树结果一致, 因为亚群内个体间无序列变异, 遗传距离均为 0。



分枝末端 1~37 数字为个体编号, 奇数代表雄性, 偶数代表雌性 The No. from 1 to 37 at branch end stands for individual in sika deer population, odd number for male and even number for female

图 1 基于最大似然法构建的系统发育树

Fig. 1 Phylogenetic tree based on maximum likelihood method

SSD (Sum of square deviations) 和 r (Harpending's raggedness index) 来计算, 当这两个参数的统计检验不显著 ($P > 0.05$) 时, 表明不能拒绝群体扩张的假说, 即符合原来群体扩张的假说。当通过可视化曲线图对种群的历史动态进行分析时, 错配分布曲线为单峰表明群体经历过扩张, 为多峰说明近期未经历过扩张。

经过中性检验, 除 *Cytb* 的 Tajima's $D < 0$, 其他基因或区域 Tajima's D 值和 Fu's FS 值均 > 0 ($P > 0.05$), 且 Tajima's D 值接近于 0, 说明种群比较稳定, 并且未经历过扩张。而错配分析显示, 除 *ND5*、*Cytb* 和 D-loop 区的 r 值统计显著外, 其他 SSD 和 r 值统计均显著 (表 6), 各基因错配分布曲线均为多峰 (图 2), 综合判断拒绝群体扩张假设, 认为群体近期未经历过扩张。

表 6 基于 *12S*、*Cytb*、*ND5* 和 D-loop 基因/区域的中性检验与错配分析

Table 6 Neutrality test and mismatch analysis based on four genes/regions

参数及其 P 值 Index and P value	<i>12S</i>	<i>ND5</i>	<i>Cytb</i>	D-loop
Tajima's D	0.374 02	0.079 29	-0.103 59	0.610 51
P -value	0.569 00	0.509 00	0.452 00	0.684 00
Fu's FS	2.033 02	10.268 58	11.757 48	15.660 90
P -value	0.919 00	1.000 00	1.000 00	1.000 00
SSD	0.040 64	0.545 02	0.052 63	0.246 34
P -value	0.000 00	0.000 00	0.020 00	0.020 00
r	0.167 40	0.536 93	0.167 40	0.486 61
P -value	0.000 00	0.930 00	0.130 00	0.040 00

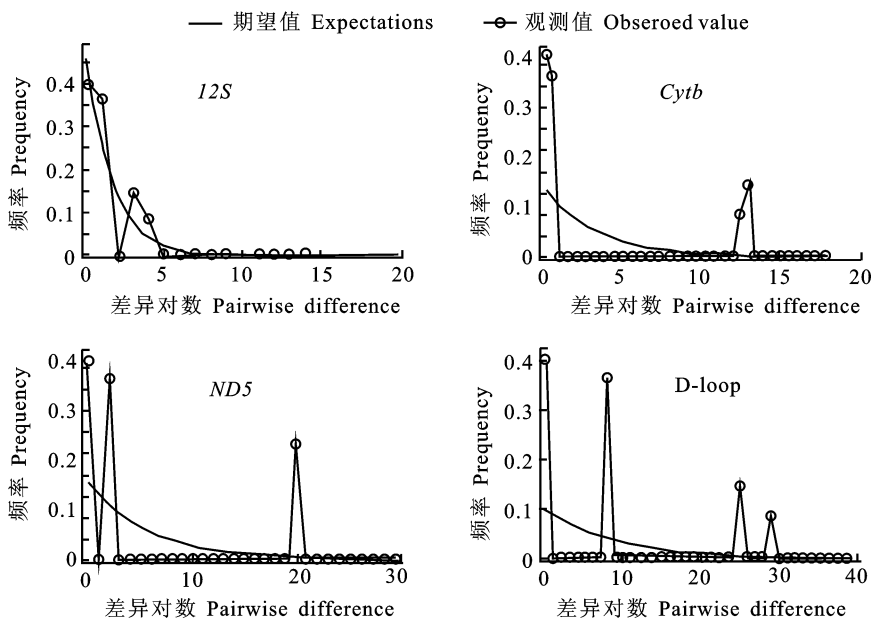


图 2 基于 12S、Cytb、ND5 和 D-loop 基因/区域对矮小梅花鹿群体的错配分布分析

Fig. 2 Mismatch distribution analysis of dwarf Sika deer population based on four gene/region

3 讨论

3.1 序列特征与群体遗传多样性

通过线粒体 DNA 12S、Cytb、ND5 和 D-loop 4 个基因或区域的序列变异分析表明,各基因或区域均存在变异位点,且变异中转换与颠换发生比例差异较大,与前人研究结果存在差异,孙平芳^[11]对马鹿与白唇鹿共 5 个群体线粒体 DNA D-loop 区研究发现 49 个转换和 31 个颠换变异;邓铸疆^[12]对西北马鹿线粒体 DNA D-loop 区研究发现其变异碱基转换/颠换比例 $R=2.349$,而本研究中,梅花鹿群体线粒体基因变异存在较大偏向性,转换突变数远远高于颠换,但是目前其机制和生物学意义无法确定。

本研究对不同基因核苷酸多样性比较发现,其在基因间差异较大,以 12S 基因最低,D-loop 区最高。D-loop 区不编码基因和氨基酸,因此受到的选择压力最小,各种突变,包括插入、缺失都被记录并保存下来,而 Cytb 基因编码氨基酸,受到的选择压大于 D-loop 区,插入、缺失突变会导致移码突变,导致蛋白质翻译中断,影响功能,这类突变危害较大,会被淘汰并清除,因此很难发现 Cytb 存在上述突变;在进化速率方面,Cytb 进化速率慢于 D-loop 区,但快于 12S、COI 等基因,进化速率适中。在本研究中,D-loop 区存在较多插入、缺失,988/993 bp 中共发现 31 个转换、颠换突变,平均核苷酸差异数为 9.075,而 Cytb 在

1 140 bp 中共发现 26 个转换、颠换突变,平均核苷酸差异数为 6.318,同 ND5 接近。说明 D-loop 区和 Cytb 在多态性水平差异较大。

本研究共发现 2 种序列长度的 D-loop 区,分别为 988 和 993 bp,孙平芳^[11]在研究中发现,白唇鹿、天山马鹿、甘肃马鹿、塔河马鹿、青海马鹿的 D-loop 区序列长度为 916~1 071 bp;涂剑锋等^[13]对 25 种鹿科动物 D-loop 区序列分析,发现长度为 914~1 072 bp,其中梅花鹿台湾亚种(EF058308)986 bp,越南梅亚种(AF291881)995 bp,参考目前 NCBI 数据库中梅花鹿线粒体 DNA 序列,北海道亚种(AB210267)1 107 bp,屋久岛亚种(AB218689)996 bp,四川亚种(JN389443)989 bp,由此可见,较高的插入/缺失多样性导致各梅花鹿亚种之间 D-loop 区序列长度差异。

3.2 矮小型梅花鹿群体结构

本研究在矮小型梅花鹿群体中,12S、Cytb、ND5 和 D-loop 4 个基因或区域都发现存在 3 种单倍型,且其包含个体均相同,通过构建 4 个基因或区域组合单倍型并结合系统发育分析结果,表明该群体具有 3 个母系起源。其中 H1、H2 与梅花鹿东北亚种具有非常近的亲缘关系,说明 H1 和 H2 单倍型个体起源于东北亚种,相比之下,H3 与东北亚种亲缘关系较远,而与梅花鹿四川亚种亲缘关系很近,说明 H3 单倍型个体母系来源于四川亚种。此外,因为线粒体 DNA 为母系遗传,即母体细胞的线粒体 DNA 只能通过女

儿代代相传,当其所产个体为雄性时,将会因为无法传给后代而丢失,在本研究群体中,H3 单倍型包括 4 个个体,但均为雄性,说明该 H3 单倍型将不会遗传给后代,如果这一 H3 单倍型仅存在于该群体,则 H3 单倍型从此消失,因此,在保存种质资源时,需要群体达到一定的数量规模与合理的配种方案,这样才能最大化地保存物种的遗传多样性,否则会导致关键遗传信息丢失,使某些性状改变,甚至危及物种生存。

另一方面,为什么吉林地区梅花鹿群体会出现四川亚种母系起源,其原因可能分为自然迁徙或人为迁徙,如果是自然迁徙导致,则该事件可能发生于人类文明出现之前相当长的时期;如果是人为迁徙所致,即人类活动导致梅花鹿种群的被动迁移,则该事件发生与人类文明出现之后,尤其是梅花鹿人工驯养出现以后的引种行为。

在哺乳动物中存在一个有趣的现象,贝格曼规律(Bergmann's rule)^[14],即同一物种在高纬度寒冷地区分布的个体体型会大于低纬度炎热地区个体,在梅花鹿中也存在此种现象,有学者对日本 6 个梅花鹿亚种体型研究发现,随着纬度由高到低,雄性梅花鹿体型变小,南部岛屿雄性梅花鹿体质量 40 kg 左右,而北部群体其雄性体质量达 100 kg^[15-17],通常,梅花鹿东北亚种的特点是体型高大,而四川亚种则体型矮小,因此有理由怀疑该矮小梅花鹿群体矮小的原因是该群体内含有梅花鹿四川亚种血缘,该假设需要大量研究来验证。

4 结论

基于线粒体 DNA *12S*、*Cytb*、*ND5* 和 D-loop 4 个基因或区域,对矮小型梅花鹿群体进行群体结构、系统发育及种群历史等方面分析,得出以下结论,序列变异存在较大转换/颠换偏向性;各基因在群体中均包括 3 种单倍型,且每种单倍型个体组成相同,因此认为群体有 3 个母系起源,结合系统发育树判断,H1 和 H2 单倍型个体母系起源为梅花鹿东北亚种,而 H3 单倍型个体母系起源可能为梅花鹿四川亚种,但该群体中仅存 4 个个体,且均为雄性,因此 H3 单倍型无法遗传给后代,最终将会在该群体中消失;种群历史分析表明,该群体没有经历过扩张。

参考文献 Reference:

[1] 盛和林. 中国鹿类动物[M]. 上海:华东师范大学出版社,

1992.

SHENG H L. The Deer in China [M]. Shanghai: East China Normal University Press, 1992.

- [2] 宋延龄,刘志涛. 珍稀动物——梅花鹿及其研究[J]. 生物学通报, 2005(7): 4-6.
SONG Y L, LIU ZH T. Rare animals—sika deer and their studies [J]. *Bulletin of Biology*, 2005(7): 4-6.
- [3] MATOSIUK M, SHEREMETYEVA I N, SHEREMETYEVA I S, *et al.* Evolutionary neutrality of mtDNA introgression: evidence from complete mitogenome analysis in roe deer [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2014, 27(11): 2483-2494.
- [4] THOMPSON J D, GIBSON T J, PLEWNIAC F, *et al.* The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25(24): 4876-4882.
- [5] LIBRADO P, ROZAS J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [6] XIAO W H, ZHANG Y P, LIU H Z. Molecular systematics of Xenocyprinae (Teleostei: Cyprinidae): Taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, 18(2): 163-173.
- [7] KUMAR S, STECHER G, TAMURA K. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7. 0 for vigger datasets [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- [8] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3. 5: a new series of programs to perform population genetics analyses under linux and windows [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 564-567.
- [9] TAJIMA F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism [J]. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [10] FU Y X. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, 1997, 147(2): 915-925.
- [11] 孙平芳. 中国 5 个鹿群线粒体 D-loop 序列分析与系统进化研究[J]. 甘肃畜牧兽医, 2015(7): 32-34.
SUN F P. Mitochondrial D-loop sequence analysis and phylogenetic study of 5 deer populations in China [J]. *Gansu Animal and Veterinary Sciences*, 2015(7): 32-34.
- [12] 邓铸疆. 西北马鹿群体遗传多样性及系统地位[D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2010.
DENG ZH J. Genetic diversity and classification status of wapiti (red deer) in northwest of China [D]. Yangling Shaanxi: Northwest A&F University, 2010.
- [13] 涂剑锋, 邢秀梅, 刘琳玲, 等. 基于线粒体控制区全序列的鹿亚科系统发育分析[J]. 西北农业学报, 2012, 21(3): 22-26.
TU J F, XING X M, LIU L L, *et al.* A molecular phyloge-

- ny of cervinae based on mitochondrial complete control region sequence[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2012, 21(3): 22-26.
- [14] BERGMANN C. ber die verhltnisse der wrmekonomie der thiere zu ihrer grsse [J]. *Gttinger Studien*, 1847(1): 595-708.
- [15] WHITEHEAD G K. Deer of the World [M]. Edinburgh: Constable & Co., 1972.
- [16] KUBO M O, TAKATSUKI S. Geographical body size clines in sika deer: path analysis to discern amongst environmental influences [J]. *Evolutionary Biology*, 2015, 42(1): 115-127.
- [17] OHTAISHI N. Preliminary memorandum of classification, distribution and geographic variation on Sika deer [J]. *Honyurui Kagaku (Mammalian Science)*, 1986(53): 13-17.

Population Structure and Origin Evolution Analysis of Dwarf Sika Deer Population Based on Four Genes/Regions of Mitochondrial DNA

WANG Hongliang¹, GUO Xiaolan¹, ZHANG Ranran¹,
WANG Lei¹, LI Ting² and XING Xiumei¹

(1. Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China;

2. Chinese Medicine Material College, Jilin Agricultural University, Changchun 130118, China)

Abstract Based on sequences of four genes or regions of *12S*, *ND5*, *Cytb* and D-loop on mitochondrial DNA, we analyzed the population structure and origin evolution of dwarf sika deer population distributed in Tonghua area of Jilin province. The results indicated that the haplotypes of four genes/region distributed identically in Sika deer population and haplotypes H1 to H3 were generated by combining four genes/region. Phylogenetic reconstruction analysis indicated H1, H2 and *Cervus nippon hortulorum* subspecies were clustered, while H3 and *Cervus nippon sichuanicus* subspecies were clustered. Analysis of population history showed this population didn't undergo expansion in history. It was concluded that the dwarf Sika deer population had three maternal origins, H1 and H2 originated from northeast subspecies, while H3 may originated from Sichuan subspecies because we can't determine if the populations of Sichuan subspecies were affected by northeast subspecies.

Key words Dwarf sika deer; Maternal inheritance; Phylogeny; Haplotype

Received 2018-05-10

Returned 2018-09-12

Foundation item Jilin Province Science and Technology Development Plan(No. 20140204058NY).

First author WANG Hongliang, male, assistant research fellow. Research area: genetic resource of animal. E-mail: alivecn@live.cn

Corresponding author XING Xiumei, female, research fellow, doctoral supervisor. Research area: genetic resource of animal. E-mail: xingxiumei2004@126.com

(责任编辑: 顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)