

## 微卫星技术在高原鼠兔繁殖行为研究中的应用

殷宝法<sup>1</sup>, 魏万红<sup>2,3</sup>, 张堰铭<sup>1</sup>, 王金龙<sup>1</sup>, 曹伊凡<sup>1</sup>

(1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海 西宁 810001; 2. 扬州大学 生物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

**摘要:** 2002年4~8月, 在中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站对高原鼠兔的种群进行标志重捕, 用眶下取血法对标志的鼠兔各取血样100 $\mu$ L, 使用8对引物对血样中的DNA微卫星序列进行扩增。结果每对引物所扩增的产物都具有明显的多态性; 结合野外行为观察对这些多态性位点进行分析, 基本上对当年出生幼体的父权进行了准确的确定; 从中发现高原鼠兔的交配体制为多配制, 其家庭中存在等级制度, 处于统治地位的雄性的繁殖成功率明显高于处于从属地位的雄性个体。上述工作表明微卫星技术在动物行为研究中具有很高的优越性, 在高原鼠兔社会动态、亲缘关系和行为进化等研究领域具有广阔的应用前景。

**关键词:** 高原鼠兔; 微卫星; 多态性; 亲缘关系; 交配制度

**中图分类号:** Q959.836 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254 - 5853(2003)06 - 0401 - 06

## Application of Microsatellite Technology in Reproductive Behavior of Plateau Pika, *Ochotona curzoniae*

YIN Bao-fa<sup>1</sup>, WEI Wan-hong<sup>2</sup>, ZHANG Yan-min<sup>1</sup>, WANG Jin-long<sup>1</sup>, CAO Yi-fan<sup>1</sup>

(1. Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China;

2. College of Life Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China)

**Abstract:** From April to August of 2002, we researched the reproductive behaviors of plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) in the Haibei Research Station of Alpine Meadow Ecosystem by mark-recapture method and microsatellite technology. Blood samples (each 100 $\mu$ L) of the marked plateau pikas were collected from suborbital vein. Eight polymorphic microsatellite loci were amplified with these blood samples. Results showed that all loci were polymorphic. We identified the kinship of marked individuals by analyzing the polymorphic microsatellite loci combining with the animal's behavior, and we found that there existed monogamy, polygamy and promiscuity in the mating system and a hierarchism at the family of the plateau pika. The reproductive success of dominance males was higher than that of subordinate ones. Those indicated that microsatellite technology has an obvious superiority in the field research and is a useful method in the research of plateau pika's society dynamic, kinship and behavior evolution.

**Key words:** *Ochotona curzoniae*; Microsatellite; Polymorphic; Kinship; Mating system

在研究动物求偶、交配、繁殖、育幼等行为时, 动物学家常常感到烦恼的是有时不能准确确定动物之间的亲缘关系, 特别是当群体中存在多种交配方式时, 从而不能对某些动物的行为做出合理的解释。最近几十年来, 生物化学和分子生物学技术得到了蓬勃的发展, 开始应用于动物行为学研究领域, 并取得了一定的成绩。最初采用蛋白质电泳技术确定动物之间的相互关系, 但此方法受灵敏度和

样品来源的双重限制, 因此应用并不广泛。随着人们对自身遗传背景的探索和研究的深入, 科学家们发现人类基因组中的一些区域在群体中变化极大, 具有明显的多态性, 并由此产生了DNA指纹图谱(DNA fingerprinting)技术(Jeffreys et al, 1985)。利用DNA指纹图谱技术确定个体之间的亲缘关系, 有非常高的准确性, 但DNA指纹图谱技术操作复杂, 对样品的DNA含量和纯度都有很高的要求,

\* 收稿日期: 2003 - 06 - 02; 接受日期: 2003 - 10 - 19

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39770106, 30270200); 中国科学院知识创新工程资助项目(KSCX2 - 1 - 03, KSCX2 - SW - 103)

3. 通讯作者, E-mail: whwei@zu.edu.cn

这给野外的取样和样品的保存带来了很大的困难,同时由于在判断条带所属位点上出现的困难以及某些等位基因的不稳定性,限制了这一技术在某些群体分析中的应用。PCR (polymerase chain reaction) 的发明使得另一类多态 DNA - 微卫星变得容易获得,并由此产生了微卫星技术 (microsatellite)。近年来,微卫星技术在生态和进化研究领域得到了广泛的应用。不过,国内的研究多集中于家禽和实验动物 (Zhang et al, 1998; Li et al, 2001), 而野生动物的研究只见 Zhang et al (1995) 对大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 的工作。

高原鼠兔 (*Ochotona curzoniae*) 是一种植食性的小哺乳动物,是青藏高原高寒草甸地区危害最为严重的物种之一。它们是社会性的动物,具有家庭结构且社会成员相对稳定。Liang (1981) 和 Simth et al (1986) 认为其婚配制度为一夫一妻制 (monogamy), 但 Wang & Smith (1989) 认为是一夫一妻制和一夫多妻制 (polygyny) 并存; Wei et al (2000) 对繁殖期高原鼠兔的攻击行为做了比较,认为其家庭社会组织中存在等级结构,在野外种群中存在多种婚配制度。本工作旨在利用微卫星技术对高原鼠兔的亲缘关系进行研究,从而为探讨高原鼠兔的行为机制、基因流动以及婚配制度等提供一种新的研究途径。

## 1 研究地区及方法

### 1.1 研究地区

本项研究于 2002 年 4~8 月在中国科学院海北高寒草甸生态系统定位站地区进行。该地区自然状况及生物群落类型已有报道 (Yang, 1982)。

### 1.2 实验样地选取和高原鼠兔的标记及取样

实验样地设置于定位站南侧约 4 km 的矮蒿草 (*Kobresia humilis*) 草甸,样地面积为 100 m × 100 m,将样地划分为 100 个 10 m × 10 m 的方格。高原鼠兔的种群密度在 50 只/hm<sup>2</sup> 左右,为较高密度种群。采用绳套捕捉法活捕鼠兔,记录性别、年龄、体重、繁殖状态及所处的位置,用耳环标记法和剪趾法进行双重标记,然后用一次性无菌针管抽取左眼球下毛细血管网的血样 100 μL,放到装有 100 μL DNA 保存液的试管中,详细记载耳标号后放入液氮保存;该样品带回实验室置 - 20 条件下冻存。标记后的鼠兔在原捕捉地点释放。每次捕捉时,将样地内的高原鼠兔全部捕尽,研究期间共捕获和标

记成体鼠兔 54 只 (雌鼠 32 只,雄鼠 22 只),当年出生幼体 118 只 (雌性 70 只,雄性 48 只)。

### 1.3 高原鼠兔家庭组织及成员的确定

对标记动物连续观察 15 d,根据每一个体每天出现的地点、活动范围以及与其他个体的社会关系,判定其家庭组织及成员。确定高原鼠兔形成配偶所采用的主要标准为:地面观察发现有交配活动;个体之间长时间、距离 < 0.5 m 一起活动而未表现出攻击行为;当雌性进洞或在地面活动时,雄性在其周围警戒。在几个雄性动物中,活动区域的中心与雌性最近者,即被认为是该雌性潜在的配偶。观察结果表明,实验样地内高原鼠兔种群由 7 个家庭组成,其中 3 雄 4 雌、3 雄 3 雌、2 雄 2 雌家庭各 2 个,2 雄 4 雌家庭 1 个。其余捕获并标记的个体为样地周围的鼠兔家庭成员。高原鼠兔的后代关系主要按照幼体刚进行地面活动所在的位置以及同成体发生的社会行为来确定。

### 1.4 实验药品及仪器

1.4.1 主要实验仪器 扩增仪 (HB-PX-MAN, 英国 HYBAID), 数码凝胶成像仪 (GIS-1000, 上海天能科技有限公司), 电子天平 (FA1604, 上海精密天平), 高速台式离心机 (LG16-W, 北京医用离心机厂), PH 电极 (HA405-K2, 梅特勒托利多上海公司), 恒温水浴锅, 通风橱, 真空抽干机, DNA 电泳仪, 垂直电泳系统等。

1.4.2 生化试剂 DNA 保存液 (Tris 12.12 g, EDTA 37.24 g, SDS 10 g, 溶解体积 1 000 mL); TBE 缓冲液 (Tris 10.8 g, 硼酸 5.5 g, EDTA 7.44 g, pH 8.0, 溶解体积 1 000 mL); 氯仿 异戊醇 (24 1), 无水乙醇, 3 mol/L 醋酸钠, 10% 的 SDS, 溴化乙锭; 酚 - 氯仿 (phenol-chloroform)、琼脂糖及蛋白酶 K 购自上海生工; 标准分子量 PBR322DNA/MSPI 购自华美生物工程公司; Taq 酶及 dNTP 购自 TaKaRa 宝生物公司 (大连); 其他试剂均为国产分析纯。

1.4.3 引物 从已经发表的欧洲野兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 多态性微卫星位点的引物 (Mougel et al, 1997; Surridge et al, 1997) 中筛选出 8 对 (表 1), 由上海博亚生物技术有限公司合成, 用于本研究。

### 1.5 血样中 DNA 的提取及质量检测

高原鼠兔血液样品中 DNA 的提取及质量检测步骤如下: 将 150~200 μL 血液样品, 100~200

表 1 欧洲野兔的微卫星 DNA 位点的重复序列和引物序列

座位 Locus	重复序列 Repeat array	引物序列 Primer sequence
Sol33	(TG) <sub>3</sub> CG (TG) <sub>18</sub>	5 GAA GGCTCTGAGATCTAGAT3 5 GGGCCAATA GGTACTGATCCATGT3
Sol44	(GT) <sub>17</sub>	5 GGCCCTAGICTGACTCTGATTG3 5 GGTGGGGCGCGGGICTGAAAC3
Sat2	(TC) <sub>15</sub> (TG) <sub>10</sub>	5 GCTCTCCTTTGGCATACTCC 3 5 GCTTTGGATA GGCCCA GATC 3
Sat4	(TC) <sub>13</sub> (N) <sub>5</sub> (TC) <sub>2</sub> TG (TC) <sub>7</sub>	5 GGCCAGTGCCTTACATTTGG3 5 TGTTGCA CGGAATTGGGG3
Sat5	(TC) <sub>23</sub> TTT (CT) <sub>5</sub>	5 GCTTCTGGCTTCAACCTGAC3 5 CTTAGGGTGCA GAATTATAA GA G3
Sat7	(TG) <sub>14</sub>	5 GTAACCACCCATGCACACTC3 5 GCACAATACCTGGGATGTA G3
Sat12	(CTAT) <sub>10</sub>	5 CTTGAGTTTAAATTCGGGC3 5 GTTTGATGCTATCTCA GTC3
Sat13	(GT) <sub>15</sub>	5 CAGTTTGAAGGACACTGC3 5 GCCTTACCTTTGTGGGG3

μL TE, 40~60 μL SDS, 10 μL 蛋白酶 K 加入到 1.5 mL 进口离心管中, 使总体积为 400 μL, 用摇床或混匀器缓慢摇匀 (根据所提取的对象和保存状况调整试剂加入量); 混匀后 50 ℃ 水浴 3 h 或 50 ℃ 放置 3 h, DNA 完全释放, 消化蛋白质和核酸酶, 同时防止 DNA 降解。3 h 后取出离心管, 加入等体积的饱和酚, 缓慢摇匀进行抽提, 室温搁置过夜。次日用离心机 5 000 g 离心 15 min, 取上清液, 加入等体积酚-氯仿, 缓慢摇匀 20 min, 室温搁置过夜。次日用离心机 5 000 g 离心 15 min, 取上清液, 加入等体积氯仿, 缓慢摇匀 20 min, 5 000 g 离心 15 min, 沉淀除去溶液中的苯酚, 以避免影响 DNA 浓度测定的准确性。离心后去上清液, 加入 1/10 体积 3 mol/L 醋酸钠, 2 倍体积冰乙醇, 缓慢混匀 10 min, 5 000 g 离心 5 min, 使溶液中的 DNA 充分沉淀。离心后取沉淀加入 800 μL 的 70% 乙醇洗涤 2 次, 5 000 g 离心去上清, 将离心管中的 DNA 真空或冰冻干燥, 除去残留的乙醇, 加入适量的 TE 缓冲液溶解。通过紫外分光光度计检测 260 和 280 nm 光吸收, 计算  $A_{260}/A_{280}$  值均在 1.75~1.80, 计算 DNA 的浓度, 用琼脂糖凝胶电泳检测后, -20 ℃ 冻存所提取的 DNA。

### 1.6 PCR 扩增

反应总体积为 50 μL (其中含 10 mmol/L Tris-HCl, 50 mmol/L KCl, 1.5 mmol/L MgCl<sub>2</sub>, 四种 dNTP 各 100 μmol/L, 两条引物各 10 μmol/L, 2.5 U Taq 酶)。反应条件 95 ℃ 预变性 10 min, 80 ℃ 2

min (在此期间加入 Taq 酶), 随后进行变性、退火、延伸共 30 个循环。每对引物反应条件参考 Mougel et al (1997) 的方法, 并略加改动, 将每个循环中 72 ℃ 的延伸时间改为 10 s。最后一个循环结束后在 72 ℃ 延伸 15 min。PCR 产物在 4 ℃ 下保存。PCR 产物用 5% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳, 根据行为观察的结果, 点样时尽量使亲缘关系相近的个体点在同一胶上。电泳电压为 110 V, PBR322DNA/MSP1 为分子量标准, 经溴化乙锭染色后, 在数码凝胶成像仪中成像。通过凝胶分析软件 Labwork (3.0.2 版本) 计算各个微卫星等位基因的大小。

## 2 结果

### 2.1 高原鼠兔的等级制度

电泳图显示, 8 对引物的 PCR 产物都具有显著的多态性 (图 1)。采用法医学上的直接排除法对 7 个家庭中幼体的父权进行了确定 (表 2)。如图 1, 88 号雄性成体缺失 170 bp 左右的条带, 从而可以排除 88 号雄性成体对 L112R115 号幼体的父权。结果显示, 在这 7 个多雄多雌的家庭中, 总有一个雄性成体是整个家庭中大多数后代的父亲。

### 2.2 高原鼠兔的交配制度

虽然在高原鼠兔的家庭中存在着等级制度, 但在同一个家庭的所有后代中, 其父权分属于不同的雄性成体, 如: 在 1 个 3 雄 3 雌家庭中 (表 3), 一胎幼体 L214R209、L218R215 和 L263R262 的母亲为 1 号雌性成体, 父亲为 106 号雄性成体; 一胎幼

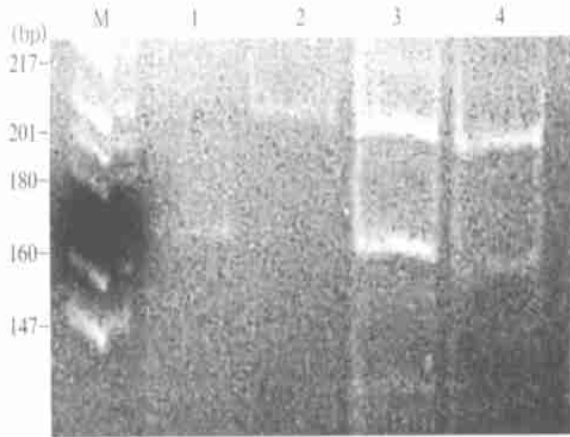


图1 高原鼠兔微卫星 DNASol133 位点扩增产物的电泳图

Fig. 1 Electrophoretogram of amplifying production of microsatellite DNA Sol133 loci in *Ochotona curzoniae*

M: 分子量标准 (Marker); 1: L112R115 号幼体 (Young L112R115); 2: 88 号雄性成体 (Male adult No. 88); 3: 11 号雄性成体 (Male adult No. 11); 4: 168 号雄性成体 (Male adult No. 168)。

体 L211R219、L144R145 和 L122R134 的母亲为 104 号雌性成体, 父亲为 52 号雄性成体。在同一母体所生产的一窝后代中, 也发现有多个父权的现象,

62 号雌性成体所生产的 4 个后代 (L121R126, L206R217, L241R245, L258R251) 中, 106 号和 52 号雄性成体都具有父权, 其中 L121R126, L206R217 和 L241R245 为 106 号的后代, L258R251 为 52 号的后代。

### 3 讨论

由于高原鼠兔的交配行为迅速, 而且大多在洞穴中进行, 因此在野外不可能记录到所有的交配行为。这就给高原鼠兔后代父权的确定带来了很大的困难, 使得在研究该种有关繁殖行为的问题时无法获得一些有效的证据。我们的结果表明, 利用微卫星技术能够较好地解决这个问题。

我们结合行为观察, 采用微卫星技术对高原鼠兔标志种群个体间亲缘关系的鉴定显示, 在由多雄多雌组成的高原鼠兔的家庭中存在等级制度, 处于统治地位的雄性控制着家庭中大多数的交配权, 为该家庭中大多数后代的父亲; 同时, 微卫星技术的研究也表明高原鼠兔的交配体制为多配偶制 (polygamy), 那些处于从属地位的雄性个体也能获得交配权, 与 Wei et al (2000) 的研究结果一致。从属的个体拥有一定的交配权, 可能与他们在繁殖

表 2 高原鼠兔 7 个家庭中每个雄性成体的后代数量

Table 2 Number of offsprings of each male adult in seven families of *Ochotona curzoniae*

家庭成年个体组成 Composition of family adults	雄性成体 Male adult	不同胎次的后代数量 No. of young in different litter (Ind.)			
		一胎	二胎	三胎	四胎
		1st litter	2nd litter	3rd litter	4th litter
	L16	8	3	2	0
3	L61	4	3	0	0
4	L54	0	0	2	2
	L27	9	3	3	0
3	L25	4	3	1	0
4	L116	0	0	0	0
	L168	8	0	2	0
3	L11	3	3	0	0
3	L88	0	0	0	0
	L106	6	3	3	0
3	L52	4	2	0	0
3	L8	0	0	0	1
2	L23	4	3	0	0
2	L59	2	2	0	0
2	L19	4	4	2	0
2	L82	3	0	0	0
2	L4	8	3	0	0
4	L51	4	3	0	0

表 3 1 个高原鼠兔家庭成体及其一胎幼体的 8 个微卫星 DNA 位点的等位基因分布  
 Table 3 Alleles distribution of the eight microsatellite DNA loci in the adults and first litters  
 at a family of *Ochotona curzoniae*

家庭成员 Family member	座位 (locus)							
	Sol33	Sat2	Sat4	Sat7	Sat12	Sat13	Sol44	Sat5
<b>雄性成体 Male adult</b>								
L106	200	249	241	195	134	120	250	307
	170	241	238	195	126	114	235	307
L52	200	249	241	195	134	120	250	307
	200	241	238	195	130	120	235	307
L8	200	241	241	191	134	120	250	317
	200	241	238	191	130	120	250	307
<b>雌性成体 Female adult</b>								
R1	170	249	238	191	130	128	250	307
	170	241	238	191	122	120	250	307
R62	200	249	241	195	134	120	235	317
	170	249	238	191	130	114	235	317
R104	200	249	238	195	130	120	250	317
	170	239	238	195	122	120	250	317
<b>一胎幼体 First litter</b>								
L214R209	200	249	238	195	134	120	250	307
	170	249	238	191	122	114	250	307
L218R215	200	249	238	195	126	128	250	307
	170	241	238	191	122	120	250	307
L263R262	170	249	241	195	134	128	250	307
	170	241	238	191	130	114	235	307
L121R126	200	249	241	195	134	114	235	317
	200	249	241	191	130	114	235	307
L206R217	170	249	241	195	134	120	235	317
	170	249	238	195	134	120	235	307
L241R245	200	249	238	195	130	120	250	317
	170	241	238	191	126	114	235	307
L258R251	200	249	241	195	130	120	250	317
	200	249	238	195	130	120	235	307
L211R219	200	249	241	195	130	120	250	317
	170	239	238	195	130	120	250	307
L144R145	200	241	238	195	130	120	250	317
	170	239	238	195	130	120	250	307
L122R134	200	249	238	195	130	120	250	317
	200	249	238	195	122	122	235	307

活动中能够提供育幼帮助有关。处于统治地位的雄性个体为了让处于从属地位的雄性个体长期留在种群内帮助自己, 以提高繁殖成功率, 不得不放弃一些利益给后者。当然, 我们的结果也说明相对于前者在一次繁殖活动中获得的适合度, 后者得到的适合度是很小的。微卫星技术的研究还表明, 除了同一个家庭的后代父权分属不同的雄性成体外, 在同一母体所生产的一窝后代中, 也发现有多个父权的现象, 这与矮猫鼬 (*Helogale parvula*) 的研究结果相似 (Keane et al, 1994)。这说明高原鼠兔家庭中

处于从属地位的雌性个体也可获得交配权。这与我们在野外观察到的行为是一致的: 在野外可以看到有雌性成体先后与不同的雄性进行交配的现象。

与 DNA 指纹图谱技术相比, 微卫星技术在野外的行为研究中有三个明显的优点: 第一, 能用 PCR 扩增, 操作简单方便; 第二, 高度多态性, 含有丰富的信息, 不同胶上的个体之间进行比较也比较容易; 第三, 取材简单易行, 对 DNA 的数量和质量要求不高, 即使是部分降解的 DNA 也可能包含足够用来扩增的微卫星位点序列。第三个优点使

那些保存差的样品也可能成为有价值的研究材料,同时也使野外收集材料及运输过程中的工作量大大降低。由于微卫星技术在实际应用中的这些优势(Zhang & Zhang, 1999),使其一开始就受到野外研究人员的青睐。不过微卫星位点的获得较为困难,这又在很大程度上限制了该项技术的应用。我们使用了与高原鼠兔亲缘关系较近的物种——欧洲野兔的微卫星位点的引物,成功地扩增出多态性位点,这为微卫星位点的获取提供了一个有效的途径。

同其他大多数的分子技术一样,微卫星技术也有自身的局限性,如等位基因大小同形可能会导致推出错误的父本,尤其对交配系统多样的类群进行父本(或母本)排除时,就显得非常严重,但如果

能检测足够的微卫星位点,就可以消除这种影响。

尽管有一定的局限性,但微卫星技术在通过个体水平证明有关的社会动态、亲缘关系和行为进化等研究领域方面仍不失为最有效的研究手段。目前,人们从不同来源,如粪便、毛发等材料(Hoss et al, 1992)中获取DNA的能力极大提高;这样,利用微卫星技术的非损伤性取样法就可获得大量的多态性标记,给濒危物种的研究带来了极大的方便。显然,微卫星技术有望在生态学和群居生物学的研究中展现更大的用途,尤其在个体间具复杂关系群体的生殖行为和社会结构等研究领域有着广泛的应用前景。

### 参考文献:

- Hoss M, Köhn M, Paabo S, Knauer F, Schroder W. 1992. Excrement analysis by PCR [J]. *Nature*, **359**: 199.
- Jeffreys AJ, Wilson V, Thein SL. 1985. Hypervariable "minisatellite" regions in human DNA [J]. *Nature*, **314**: 67 - 73.
- Keane B, Waser PM, Creel SR, Elliott LF, Minchella DJ. 1994. Subordinate reproduction in dwarf mongoose [J]. *Anim. Behav.*, **47**: 65 - 75.
- Li JL, Wei H, Zhang YG, Zhang SH. 2001. Genetic monitoring of six strains of inbred mice by microsatellite DNAPCR with 40 pairs of primers [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, **20** (3): 119 - 122. [李军林, 魏泓, 张耀光, 张树辉. 2001. 利用40对微卫星引物对6种近交系小鼠遗传背景进行监测的研究. *四川动物*, **20** (3): 119 - 122.]
- Liang JR. 1981. Family structure of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) [J]. *Acta Theriologica Sinica*, **1** (2): 159 - 165. [梁杰荣. 1981. 高原鼠兔的家庭结构. *兽类学报*, **1** (2): 159 - 165.]
- Mougel F, Mounolou JC, Monnerot M. 1997. Nine polymorphic microsatellite loci in the rabbit, *Oryctolagus cuniculus* [J]. *Animal Genetics*, **28**: 58 - 59.
- Smith AT, Smith HJ, Wang X, Yin X, Liang J. 1986. Social behavior of the steppe-dwelling black-lipped pika [J]. *National Geographic Research*, **2**: 57 - 74.
- SurrIDGE AK, Bell DJ, Rico C, Hewitt GM. 1997. Polymorphic microsatellite loci in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) are also amplified in other lagomorph species [J]. *Animal Genetics*, **28**: 302 - 305.
- Wang XG, Smith AT. 1989. Studies on the mating system in plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) [J]. *Acta Theriologica Sinica*, **9** (3): 210 - 215. [王学高, Smith AT. 1989. 高原鼠兔交配关系的研究. *兽类学报*, **9** (3): 210 - 215.]
- Wei WH, Fan NC, Zhou WY, Yang SM, Cao YF. 2000. Aggressive behaviour of plateau pika in reproductive period [J]. *Acta Zool. Sin.*, **46** (3): 278 - 286. [魏万红, 樊乃昌, 周文扬, 杨生妹, 曹伊凡. 2000. 繁殖期高原鼠兔的攻击行为. *动物学报*, **46** (3): 278 - 286.]
- Yang FT. 1982. A general view of the natural geography in the region of the research station of alpine meadow ecosystem [J]. *Alpine Meadow Ecosystem*, **1**: 1 - 8. [杨福囤. 1982. 高寒草甸生态系统定位站的自然地理概况. *高寒草甸生态系统*, **1**: 1 - 8.]
- Zhang Y, Zhang SY. 1999. The brief introduction of microsatellite technique [J]. *Chinese Journal of Zoology*, **34** (2): 42 - 44. [张艳, 张树义. 1999. 微卫星方法简介. *动物学杂志*, **34** (2): 42 - 44.]
- Zhang YP, Wang W, Su B, Ryder OA, Fang ZY, Zhang HM, He TM. 1995. Microsatellite DNAs and kinship identification of giant panda [J]. *Zool. Res.*, **16** (4): 301 - 306. [张亚平, 王文, 宿兵, Ryder OA, 范志勇, 张和民, 何廷美. 1995. 大熊猫微卫星DNA的筛选及其应用. *动物学研究*, **16** (4): 301 - 306.]
- Zhang XQ, Lu XM, Yang YH, Liu JX, Yang GF, Wu XH. 1998. Population genetic variability of microsatellite polymorphisms and RAPDs in Chinese chicken breeds in Guangdong [J]. *Acta Genetica Sinica*, **25** (2): 112 - 119. [张细权, 吕雪梅, 杨玉华, 刘敬须, 杨关福, 吴显华. 1998. 用微卫星多态性和RAPD分析广东地方鸡种的群体遗传变异. *遗传学报*, **25** (2): 112 - 119.]