

转基因鱼的研究及其发展前景*

Progress in Transgenic Fish Breeding Research

杨学明¹, 张立¹, 蒋和生²

YANG Xue-ming¹, ZHANG Li¹, JIANG He-sheng²

(1. 广西水产研究所,广西南宁 530021;2. 广西大学动物科技学院,广西南宁 530005)

(1. Guangxi Fisheries Institute, Nanning, Guangxi, 530021, China; 2. Faculty of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning, Guangxi, 530005, China)

摘要: 20年来国内外主要进行了快速生长转基因鱼、抗寒(耐寒)转基因鱼、抗病转基因鱼和其他抗性转基因鱼的研究,常用的鱼类基因转移技术有显微注射法、精子载体法、电穿孔法、基因枪法、胚胎干细胞载体、脂质体法和缺陷性病毒感染法等基因转移方法。转基因鱼的安全性和遗传稳定性有望通过进一步的科研攻关得到解决,转基因鱼的生产应用前景广阔。

关键词: 转基因鱼 显微注射 基因打靶

中图法分类号:Q953.3 文献标识码:A 文章编号:1005-9164(2006)01-0076-05

Abstract: Researches in transgenic fish in the past two decades home and abroad are mainly concentrated on several aspects including fast-growth transgenic fish, antifreeze/freeze-resistant transgenic fish and antidiisease transgenic fish. Often used technologies for gene transfer in fish are sperm mediated gene transfer, electroporation, particle gun, embryonic stem cell insertion, liposomes, retrovirus infection, and so on. The safety and heredity stability of transgenic fish could be lifted and finally solved through further research. Transgenic fish have broad and bright prospects in its future application.

Key words: transgenic fish, microinjection, gene targeting

鱼类是脊椎动物门中种类最多的一个类群,是人类的重要蛋白质来源,人们一直在寻求培育生长快、抗病力强的鱼类品种,基因工程技术的应用为达到这一目的提供了可能。1982年,Palmiter 等^[1]把生长激素基因注入小鼠受精卵原核,获得了“超级鼠”,显示了基因工程技术育种的巨大潜力。1984年,我国科学家获得了转基因金鱼(*Carassius auratus*)^[2], 经过20年的发展,现在我国的转基因研究和应用已处于世界领先水平。当前国际鱼类转基因技术的应用趋势主要是围绕三个方面进行:一是培育高产品种,提高生长速度和饵料转化率,增加产量;二是培育抗逆(病害、寒冷)品种,改善抗病和抵御恶劣环境条件的能力;三是作为科学的研究的模式动物进行基础研究,探讨发育、生长、繁殖等机理,目前研究应用最多、最重要的转基因模式鱼是斑马鱼(*Danio rerio*)和剑尾鱼

(*Xiphophorus helleri*), 近年中国科学院水生生物研究所又发现了稀有𬶋𬶋(*Gobiocypris rarus*)这一我国特有的、新的模式动物^[3]。本文综述20年来国内外转基因鱼的研究进展和常用的鱼类基因转移技术,并探讨转基因鱼的安全性、遗传稳定性及其发展前景。

1 国内外转基因鱼研究概况

自1984年以来,中国科学院水生生物研究所先后进行了泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)等的转基因研究,建立了鱼类的转基因模型^[4]。此后,世界上先后获得转基因青鳉(*Oryzias latipes*)、虹鱥(*Oncorhynchus mykiss*)、沟鰕(*Ictalurus punctatus*)、鲑鱼(*Salmo salar*)、斑马鱼、罗非鱼(*Tilapia*)、白斑狗鱼(*Esox lucius*)、非洲鰕(*Clarias gariepinus*)、大鱥大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)、大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)、银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)等^[5,6]。这些转基因鱼所使用的转移基因主要有三类:生长激素(GH)基因、抗冻蛋白(AFP)基因和

收稿日期:2005-08-15

作者简介:杨学明(1969-),男,四川射洪人,助理研究员,主要从事动物遗传育种与生物技术研究。

* 广西科学基金项目(桂科自0542035)资助。

某些作为标记用的报告基因,如水母荧光蛋白(GFP)基因。部分目前已报道的转基因鱼及其外源基因构成见表1^[7]。

表1 各种转基因鱼及使用的转基因构件

Table 1 Variety of transgenic fish and their transgene elements used

鱼名 Fish	结构基因/ 标记基因 Structural gene/ Marker gene	增强子 —启动子 Enhancer-promoter	表达证据 Expression
虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i>	hGHcDNA	SV40	—
泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	hGHcDNA	mMT-1	+
鲤 <i>Carassius auratus</i>	hGHcDNA	mMT-1	+
大西洋鲑 <i>Salmo salar</i>	hGHcDNA	mMT-1	+
	csGHCNA	opAFP	+
斑鱧 <i>Ictalurus punctatus</i>	wfAFP hGHcDNA	wfAFP mMT-1	—
罗非鱼 <i>Tilapia</i>	hGHcDNA	mMT-1	—
青鱂 <i>Oryzias latipes</i>	c δ -crystalin	c δ -crystalin	+
大眼梭鲈 <i>Stizostedion vitreum</i>	hGHcDNA	RSV-LTR	+
csGHCNA	c β -actin	+	
白斑狗鱼 <i>Esox lucius</i>	hGHcDNA	RSV-LTR	+
鲤 <i>Cyprinus carpio</i>	rtGHcDNA	RSV-LTR	+
白斑狗鱼 <i>Esox lucius</i>	csGHCNA	c β -actin	+
大麻哈鱼 <i>Oncorhynchus keta</i>	csGHCNA	c β -actin	+
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	β -gal(大肠杆菌) β -gal(Colibacillus)	CMV	+
	CAT	c β -actin	+
	荧光素酶 Luciferase	RSV-LTR	+

h(b,rt,cs)GH;人(牛,虹鳟,大鳞大麻哈鱼)生长激素;SV40:猿猴病毒40增强子;mMT:小鼠金属硫蛋白增强子;c δ -crystalin:鸡 δ -晶体蛋白启动子;RSV-LTR:劳斯肉瘤病毒长末端重复序列;c β -actin:鲤 β -肌动蛋白增强子+启动子;wf(op)AFP:美洲黄盖鲽(美洲大绵鳚)抗冻蛋白; β -gal: β -半乳糖苷酶;CAT:氯霉素乙酰转移酶;CMV:巨细胞病毒增强子/启动子。

h(b,rt,cs)GH:Growth hormone of Human(Bull,Rainbow trout, Chinook salmon);SV40:Simian vacuolating virus 40 enhancer;mMT: Mice metallothionein enhancer;c δ -crystalin:Chicken δ -crystalin promoter;RSV-LTR:Long terminal repeats of Rous sarcoma virus;c β -actin:Common carp β -actin enhancer and promoter;wf (op) AFP:Antifreeze protein of Winter flounder (Ocean pout); β -gal: β -galactosidase;CAT:Acetyltransferase;CMV:Cytomegalovirus enhancer/promoter.

1.1 快速生长转基因鱼研究

快速生长转基因鱼品种主要是通过转移外源生

长激素(GH)基因获得。转GH基因鱼生长速度快,饵料转化率高,是21世纪解决世界粮食短缺问题的又一重要途径,目前国内外相关研究报道很多。朱作言等^[8]首先进行鱼类生长激素转基因研究,采用显微注射方法,把小鼠重金属结合蛋白基因启动子与人生长激素基因序列的重组DAN片段,注入泥鳅的受精卵,该研究证明了外源基因可以通过生殖细胞传递给后代,并显示出不同程度的快速生长效应。该研究小组还首次建立了一个高效、简洁而且完整的转基因鱼模型,它为鱼类基因工程定向育种新技术奠定了实验基础^[4]。1992年我国又培育出转基因鲤鱼,其最大个体体重是对照个体的2倍^[9],转GH基因大麻哈鱼个体甚至达到对照的10~30倍^[10]。吴婷婷等^[11]采用显微注射方法,将带有小鼠MT-1启动子与人生长激素基因序列重组的线状DNA片段,注入团头鲂(*Megalobrama amblycephala* Yih)和鲤的受精卵,获得了成活的实验鱼,经斑点杂交、Southern杂交、Northern杂交、放射免疫和酶联等方法检测,表明外源基因在受体鱼中得到整合、转录和表达,并表现出一定的促生长效应;而且,转基因雌鱼和雄鱼有性繁殖所获得的子代带有外源基因,表明外源基因能通过性细胞传给子代,并仍具促生长效应。代谢补偿试验证实转基因鲤鱼表达的hGH能代偿内源GH,刺激去垂体鱼继续生长,而去垂体的普通对照鱼则停止生长^[12]。

目前,用于转移人、牛、羊等哺乳类动物的GH基因已逐渐被抛弃,而“全鱼”基因的概念逐渐为学术界所广泛接受,并迅速成为一个新的研究热点。所谓“全鱼”基因,是指构成转基因的所有元件,包括启动子、增强子和外源目的基因等全部来自鱼类自身^[7]。因为小鼠金属硫蛋白基因MT启动子需要在水体或饵料中添加重金属,SV40病毒启动子也会使消费者产生心理上的恐慌和顾虑,另外,已有研究表明小鼠MT启动子在鱼细胞中的启动效率仅及鲤鱼MT启动子的50%^[13],综合几方面因素考虑,使用“全鱼”基因有助于提高转基因鱼外源基因表达的效率和安全性。目前已构建了鲤鱼、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)和鲑鱼GH的“全鱼”基因^[14],常用启动子是鲤鱼 β -肌动蛋白基因启动子和大西洋条纹(*Macrozoarces americanus*)的抗冻蛋白基因启动子^[15]。

1.2 抗寒(耐寒)转基因鱼研究

抗寒(耐寒)转基因主要是通过转移冷水性鱼类的抗冻蛋白(AFP)基因到其它鱼类如热带鱼体内来实现。抗冻蛋白具有降低胞内溶液凝固点的作用,能够有效提高鱼类在寒冷地区或高寒山区的生存适应

能力,延长它们的生长期,从而能够相应提高了鱼类产量。世界范围内热带和温水性鱼占鱼类种类的70%以上^[16],提高鱼类的抗寒能力的重要性是不言而喻的。此外,某些冷水性经济鱼类如鲑、虹鳟等体内也缺乏抗冻蛋白,把美洲黄盖鲽(*Pseudopleuronectes americanus*)的抗冻蛋白注入到虹鳟体内,其抗冻能力显著增强^[5]。把美洲大绵鳚(*Macrozoarces americanus*)AFP基因转入鲫鱼,转基因鲫鱼获得了耐寒性,0℃时转基因鲫鱼33%存活,而对照鱼全部死亡^[6],说明抗冻蛋白基因能在抗寒方面发挥重要作用。

1.3 抗病转基因鱼研究

可选择的新目的抗病基因相当多,如转某些反义RNA、核酸、抗体、干扰素、溶菌酶等基因,以提高鱼类的抗病能力,通过提高鱼类的抗病力来提高鱼类的养殖成活率,从而使产量得到提高。对于转基因鱼类和虾类抗病新品种,目前国内外报道还不多,国内纪伟等^[17]通过精子载体法获得了转全鱼溶菌酶基因大菱鲆(*Scophthalmus maximus*),Rex等^[18]将惜古比天蚕(*Cecropia moth*)的抗菌肽Cecropin B基因导入到斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*),获得的子代鱼

表2 目前常用的几种转基因方法

Table 2 Main methods of gene transfer used at present

转基因方法 Methods of transgenic	原理及操作 Principles&Manipulating	优点 Advantages	缺点 Disadvantages	效果评价 Effect evaluation
精子载体法 Sperm mediated gene transfer	精子吸附外源基因的特性 Sperm adsorption for exogenous gene	简单,高效 Simple and effective	重复性差,低水平表达,胚胎易死亡 Low repetition and expression, high embryo mortality	目前最简单,最有效的方法 The most simple and effective method
反转录病毒感染法 Retrovirus infection	RNA→DNA RNA transcription into DNA by virus	无需仪器,感染率、成活率高 High survival and infection	非同源整合,片段长度<8KB,嵌合性高 Non-homologous integration, high embryo chimerism	最有效的方法之一 One of effective method
显微注射法 Microinjection	受精卵雄原核 Oosperm malepronucleus	无需载体,直接转移,片段长度不受限制 No vector, no length limit to DNA fragments	整合率不高,操作复杂,成本高。 插入突变,胚胎早期死亡率高 Low integration, high expenditure, insertional mutation, embryo mortality	目前最常用的转基因方法 The most often used method
体细胞核移植法 Somatic nuclear transfer	克隆 Cloning	不受有性繁殖限制,效率高,胚胎成本低 High efficiency and low expenditure	技术环节有待完善 No mature technique	最先进的方法 The most advanced method
ES 细胞介导法 Embryonic stem cell insertion	基因打靶 Gene targeting	定点整合,操作较容易 Located integration, simple manipulation	建立 ES 细胞系难度极大 No facilenes for ES cell line	常用的方法 Often used method
脂质体转染法 Liposomes	囊泡,细胞内吞作用 Endocytosis of cell vesicle	细胞毒性低,脂质体容易制备 Low toxicity, facilenes for liposomes	靶向性不强,易被吞噬细胞吞噬,转化率低 Low targeting and DNA transfer	较少使用 Rarely used method
电脉冲介导法 Electroporation	细胞膜表面通透性的改变 Osmosis change of cell membrane	操作简单,效率高 Simple manipulation and high efficiency	整合率差 Low integration	常用的方法 Often used method
基因枪法 Particle gun	金属粒子吸附外源DNA Metal particle adsorption for exogenous DNA	操作简单,效率高 Simple manipulation and high efficiency	整合率差,对细胞伤害较大 Low integration and cell injur	常用于植物转基因 Often used in transgenic plant

抗病原菌能力明显增强。

1.4 其他转基因鱼类研究

此外,转催乳素基因改善鱼类渗透压调节功能,转珠蛋白基因增强鱼类耐低氧能力,以及转生长激素释放因子基因增强抗逆性,也是转基因的方向之一,不过,目前对这些基因的了解还比较少,相关报道也很少。

2 鱼类基因转移技术

显微注射(Microinjection)是迄今为止最有效的鱼类基因转移方法,目前的绝大多数转基因鱼都是通过基因显微注射而获得的^[2,4,5,8,9,14]。此外,还有精子载体法、电脉冲介导法、基因枪法、脂质体转染法和反转录病毒感染法等基因转移方法,详见表2。

精子载体法是较为简便的转基因方法,用该法可对一些不适于显微注射的鱼类进行基因转移。Lavitrano等^[19]首先用精子作为载体进行了小鼠基因转移。从鱼到哺乳动物,精子载体法获得的转基因动物仍是嵌合体型。Khoo等^[20]用精子和DNA温育后授精的方法得到转基因斑马鱼。在我国,用精子做载

体获得了转抗冻蛋白基因的金鱼^[21]及转生长激素基因泥鳅和鲤鱼^[22]。

电脉冲介导法(电穿孔法)利用短时电脉冲引起细胞膜瞬时产生微孔,使DNA大分子进入细胞内^[3,23,24]。用电穿孔法把DNA导入精子后受精,先后已获得了转基因的鲤鱼、泥鳅、非洲鲶鱼、罗非鱼和大鱗大麻哈鱼^[20,23]。谢岳峰等^[24,25]应用电穿孔法成功地将质粒pMhGH导入泥鳅受精卵,最适条件下,泥鳅、红卿等的电转移效率可达62.5%,个别个体整合的基因数达100多拷贝。利用电穿孔受精卵的方法也获得转基因青鳉、斑马鱼、鲤鱼、鲶鱼^[5]。

基因打靶即ES细胞介导法,是20世纪90年代出现的新的外源基因导入技术,即基因剔除和基因楔入技术^[26]。基因剔除的原理是DNA同源重组,它能够使外源DNA定点整合到受体细胞基因组中,是一种先进的基因转染技术,它克服了其它转基因技术无法消除的盲目性和偶然性,整合位点确定、精确、转移基因频率较高。但是基因剔除技术不能产生核苷酸水平上的精确突变,于是条件性基因剔除技术应运而生,这是基因剔除技术的一个飞跃,它是在某一特定的细胞类型或细胞发育的特定阶段剔除某一特定基因的技术,常采用打了就走、标记-交换和特定重组系统等新的转基因策略,这些新策略可对细胞中任一基因进行核苷酸水平上的精确突变。

基因楔入又称基因置转技术,使目标动物DNA双链的断裂点发生在外源基因的同源序列边缘或同源序列之外,转基因的结果是外源DNA取代内源靶序列^[26]。虽然基因楔入技术刚刚起步,但已经展示了它在应用研究方面的广阔前景。

基因打靶方法虽然大大提高了外源基因的整合率和准确性,但是它的转基因后代也是嵌合体,要想获得纯合的转基因子代必须用正负选择系统进行复杂的多代筛选,而且该技术的应用必须依赖于ES细胞,而ES细胞系的培养难度极大。目前ES细胞只能在小鼠上获得,鱼类的ES细胞培养尚未取得真正的突破,因而大大限制了该技术在转基因鱼研究方面的应用。

3 转基因鱼的安全性、遗传稳定性及发展前景

转基因鱼安全性主要指食用安全和生态安全两个方面。对于普通消费者关心的转基因鱼的食用安全性问题,已有以转生长激素基因鲤鱼作为食物,用猫做实验动物的试验报道^[27],结果表明,猫的生理学和血液学指标与对照组动物没有显著差别,说明基本是

安全的。但是鱼类易逃逸和扩散,因此转基因鱼的生态安全性问题显得更为重要和难以评估。国内外专家的共识是,必需研究转基因鱼对生态系统的压力及外源基因的扩散问题。只有解决了生态安全性问题,才能真正使转基因鱼广泛应用于渔业生产。至于转基因鱼遗传不稳定等问题,有望通过基因打靶技术,在培养细胞上进行基因转移、筛选,克隆稳定整合的细胞,以此细胞再作核移植,获得遗传稳定的转基因鱼。有关转基因鱼研究的国家海洋863计划已经启动,其主要目的就是应用基因打靶技术获取稳定的定点整合转基因鱼。另外鱼的核移植技术已较为成熟,通过这条途径有望获得稳定遗传的转基因鱼克隆。

转生长激素基因鱼的促生长效应明显,并且具有少食快长、适应性强等特点,可为渔业带来巨大的经济效益,选择表达良好、遗传稳定的亲鱼,经几代选择,就可望建立转基因鱼品系,使其成为新的优良养殖品种,因此转基因鱼最有希望进入生产应用。

综上所述,转基因鱼的安全性和遗传稳定性有望通过进一步的科研攻关得到解决,转基因鱼的发展前景广阔。

参考文献:

- [1] PALMITER R D, BRINSTER R L, HAMMER R E, et al. Dramatic growth of mice that develop from eggs microinjected with metallothionein-growth hormone effusion genes[J]. Nature, 1982, 300: 611-615.
- [2] ZHU Z, LI G, HE L, et al. Novel gene transfer into the fertilized eggs of gold fish (Carassius auratus)[J]. Zangew Ichthyol, 1985, 1: 31-34.
- [3] 钟家玉,茅卫锋,朱作言.电脉冲作用将外源基因导入稀鮈鲫精子的研究[J].遗传学报,2002,29(2):128-132.
- [4] 朱作言,许克圣,谢岳峰,等.转基因鱼模型的建立[J].中国科学,1989,B(2):147-155.
- [5] GONG Z, HEW C L. Transgenic fish in aquaculture and developmental biology. Current topics in developmental biology[J]. Academic Press, 1995, 30: 177-214.
- [6] DEVLIN R H, YESAKI T Y, DONALDSON E M, et al. Production of germline transgenic pacific salmonids with dramatically increased growth performance [J]. Can J Fish Aquaculture, 1995, 52: 1376-1384.
- [7] HOCHACHKA P W, MOMMSEN T P. 鱼类的生物化学与分子生物学:第2卷[M].昌永华,余来宁译.北京:中国农业出版社,2003:175-178.
- [8] 朱作言,许克圣,李国华,等.人生长激素基因在泥鳅受精卵显微注射后的生物学效应[J].科学通报,1986,31(5):387-389.
- [9] ZHU Z. Generation of fast growing transgenic fish: method and mechanisms[M]//HEW C L, FLETCHER G L, eds. Transgenic Fish. Singapore: World Scientific

- publishing, 1992; 92-119.
- [10] HEW C L, FLETCHER G L, DAVIES P L. Transgenic salmon: tailoring the genome for food production [J]. J Fish Biol, 1995, 47(Suppl. A): 1-19.
- [11] 吴婷婷, 杨弘, 董在杰, 等. 人生长激素基因在团头鲂和鲤中的整合和表达 [J]. 水产学报, 1994, 18(4): 284-289.
- [12] 崔宗斌, 谢岳峰, 许克圣, 等. 人生长激素和转移的人生长激素基因对去垂体鱼的生长代偿效应 [J]. 水生生物学报, 1993, 17(2): 166-172.
- [13] 李辉, 刘冬梅, 剧冬红, 等. 鲤鱼金属硫蛋白基因启动区功能的研究 [J]. 动物学报, 1997, 43(2): 197-202.
- [14] ZHU Z. Growth hormone gene and the transgenic fish [M]. Beijing: China Science and Technology Press, 1992: 106-116.
- [15] LIU Z. Isolation and characterization of β -actin gene of carp [J]. DNA Sequence, 1990, 1: 125-136.
- [16] 《中国名贵珍稀水生动物》编写组. 中国名贵珍稀水生动物 [M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1987: 83.
- [17] 纪伟, 张培军. 转全鱼溶菌酶基因大菱鲆的研究 [J]. 海洋科学, 2004, 28(5): 8-14.
- [18] REX A D, DREGORY W W. Enhanced bacterial disease resistance of transgenic Channel catfish *Ictalurus punctatus* processing cecropin genes [J]. Marine biotech, 2002(4): 338-344.
- [19] LAVITRANO M. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into eggs: genetic transformation of mice [J]. Cell, 1989, 57: 717-723.
- [20] KHOON H W, ANG L H. Sperm cells as vectors for introducing foreign DNA into zebrafish [J]. Aquaculture, 1992, 107: 1-19.
- [21] 于建康, 阎维, 张玉廉, 等. 精子介导鱼类基因转移和聚合酶链反应检测技术 [J]. 动物学报, 1994, 40(1): 96-99.
- [22] 李国华, 崔宗斌, 朱作言, 等. 鱼类精子携带的外源基因导入 [J]. 水生生物学报, 1996, 20: 242-247.
- [23] TSAI H J, LIAO I C. Electroporation of sperm to introduce foreign DNA into the genome of louich [J]. Can J Fish Aquaculture Science, 1995, 52: 776-787.
- [24] XIE Y, LIU D. Gene transfer via electroporation in fish [J]. Aquaculture, 1993, 111: 207-213.
- [25] 谢岳峰, 刘东, 邹钧, 等. 泥鳅受精卵的电脉冲基因转移 [J]. 水生生物学报, 1989, 13(4): 387-389.
- [26] 杨晓, 邓初夏, 叶鑫生. 基因打靶和功能基因组学 [M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2001: 60-83.
- [27] 孙效文, 梁利群, 吕学春, 等. 转基因鲤鱼作为食物的研究 [J]. 高技术通讯, 1998, (3): 50-55.

(责任编辑:韦廷宗 邓大玉)

(上接第75页 Continue from page 75)

采集到该鸟, 绿背山雀在广西应为留鸟。

2 黑头金翅雀 *Cardulis ambigua*, 新记录

1♀, 2004年5月6日采于隆林县大哄豹, 体重18g, 全长132mm, 翅长78mm, 嘴峰11mm, 尾长53mm, 跗蹠10mm。额、头顶、枕部及两颊黑色; 背、腰及翅上覆羽橄榄绿黄色, 颈羽较淡; 飞羽黑色, 翅上具宽阔的亮黄色翅斑; 次级飞羽具白色羽端; 翅上覆羽橄榄黄色, 尾羽黑色, 除中央尾羽外, 其余尾羽基部金黄; 尾上覆羽橄榄黄色, 显较腰部为淡; 颊、喉和胸部橄榄黄色, 腹部锈色, 尾下覆羽亮黄色。虹膜黑褐色; 嘴、跗蹠肉红色。

黑头金翅雀在全世界仅有两个亚种分化, 都见于我国^[5]。指名亚种 (*Cardulis ambigua ambigua*) 分布于四川西部和西南部, 贵州西南部, 云南西部和东南部, 青海东北部及西藏的察隅。西藏亚种 (*Cardulis ambigua taylori*) 分布在西藏南部偏东地区, 昌都地区西南部, 西藏中部足木宗。两个亚种区别在于西藏亚种体色较淡, 而指名亚种体色较浓^[6]。我们采到的

标本为指名亚种。

黑头金翅雀在其已知分布区均为留鸟, 尚未有季节性迁徙的记录^[7], 故其在广西亦应为留鸟。

参考文献:

- [1] 广西动物学会. 广西陆栖脊椎动物分布名录 [M]. 桂林: 广西师范大学出版社, 1978.
- [2] 李桂垣, 郑宝贵, 刘光佐. 中国动物志——鸟类: 第13卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1982: 16-18.
- [3] 郑作新. 中国鸟类系统检索 [M]. 第3版. 北京: 科学出版社, 2002: 269-270.
- [4] 杨岚, 杨晓君. 云南鸟类志(下卷): 雀形目 [M]. 昆明: 云南科学技术出版社, 2004: 691-692.
- [5] HOWARD R, A MOORE. A complete checklist of the birds of the world [M]. London: Oxford University Press, 1984.
- [6] 傅桐生, 宋榆钧, 高玮, 等. 中国动物志——鸟纲: 第14卷 [M]. 北京: 科学出版社, 1998: 171-173.
- [7] RODOLPHE MEYER. The bird of China [M]. London: Oxford University Press, 1984.

(责任编辑:韦廷宗)