

DOI: 10.5846/stxb201311262821

阴环, 李晓晨. 基于线粒体 DNA 序列的秦岭地区淡足青步甲种群遗传结构分析. 生态学报, 2015, 35(9): 3052-3059.

Yin H, Li X C. Population genetic structure of the ground beetle *Chlaenius pallipes* from the Tsinling Mountains based on mitochondrial DNA analysis. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(9): 3052-3059.

基于线粒体 DNA 序列的秦岭地区淡足青步甲种群遗传结构分析

阴 环¹, 李晓晨^{2,*}

1 山西师范大学生命科学学院, 临汾 041004

2 陕西师范大学生命科学学院, 西安 710062

摘要:淡足青步甲 *Chlaenius pallipes* 是一类重要的天敌昆虫。为了揭示秦岭地区淡足青步甲的种群遗传分化和种群历史动态, 对 13 个地理种群 151 个个体的线粒体 *Cox1-tRNA^{Leu}-Cox2* 片段 DNA 序列进行了分析。序列比对后的全长为 1 602 bp, 共检测到 57 个多态性位点, 定义 65 个单倍型, 其中 48 个为居群内特有单倍型, 17 个为居群间共享单倍型。单倍型多样性指数 H_d 为 0.972, 核苷酸多样性指数 P_i 为 0.0025。该种群遗传分化明显, 但 AMOVA 分析结果表明变异主要来源于种群内, 占变异总量的 92.10%。SAMOVA 和 PERMUT 分析结果均表明秦岭地区的淡足青步甲种群不存在明显的谱系地理结构。结合中性检验、错配分布和 BSP 分析结果表明该物种发生过种群扩张, 且扩张时间大致在 0.100—0.025 Ma 之间。

关键词:淡足青步甲; 线粒体 DNA; 种群结构; 数量扩张; 秦岭

Population genetic structure of the ground beetle *Chlaenius pallipes* from the Tsinling Mountains based on mitochondrial DNA analysis

YIN Huan¹, LI Xiaochen^{2,*}

1 College of Life Sciences, Shanxi Normal University, Linfen 041004, China

2 College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract: The ground beetle, *Chlaenius pallipes*, belonging to the genus *Chlaenius* (Coleoptera: Carabidae), is widely distributed in East Asia and overwinters as adults. It is highly abundant in northern China and plays an important role in agriculture and forest pest control. To understand the population genetic differentiation and demographic history of *C. pallipes* from the Tsinling Mountains, a 1,602 bp fragment of mitochondrial DNA (*Cox1-tRNA^{Leu}-Cox2*) was sequenced for 151 individuals from 13 geographical populations from Gansu, Shaanxi, and Henan provinces. Fifty-seven polymorphic sites were identified, of which 45 are parsimony informative, 11 singleton variable sites, and a 1 bp insertion. These polymorphic sites defined 65 haplotypes, among which 17 were common and 48 were private with relatively lower frequencies. The haplotype diversity ($H_d = 0.972$) was high but the nucleotide diversity was low ($P_i = 0.0025$). The topologies of the phylogenetic trees obtained based on maximum likelihood (ML) and Bayesian inference were similar. Both ML tree and Bayesian inference tree revealed two clades (a and b) from node d on the trees. In the haplotype network, a five median vector was employed and several loops were constructed and “star phylogeny” patterns were present. Analysis of molecular variance (AMOVA) suggested that most of the variation was due to within-population differences (92.10%), while differences among populations only contributed 7.90% of the total. The among-population F_{ST} value was 0.07897 ($P <$

基金项目: 山西省青年科技研究基金项目 (2012021026-1)

收稿日期: 2013-11-26; 网络出版日期: 2014-07-29

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiaochen@snnu.edu.cn

0.01). Consequently, we conclude that there is obvious genetic differentiation in the *C. pallipes* populations we investigated. For the spatial analysis of molecular variance (SAMOVA), increasing K values from 2 to 12 were selected; the F_{CT} values were fairly low and fluctuated. Thus, the SAMOVA tests failed to reveal any meaningful phylogeographic structure. Furthermore, the results of the PERMUT analysis did not suggest any phylogeographic structure of the populations sampled based on the mtDNA haplotype data, as total N_{ST} (0.114) was not significantly higher than G_{ST} (0.101; $P > 0.05$). The results of the neutrality tests on the total indicated that both the Tajima's D and Fu's F_s were negative values, and the tests for the values are highly significant ($P < 0.01$), suggesting demographic expansion. Mismatch distribution analysis revealed a unimodal frequency distribution of pairwise difference in the total population and in each haplogroup. Both the neutrality tests and mismatch distribution analysis suggested that this species has undergone a demographic expansion. Furthermore, we used the Bayesian Skyline Plot (BSP) approach to estimated the demographic history of *C. pallipes* under BEAST 1.4.7. The demographic expansion time was identified as being between 0.100 Ma to 0.025 Ma. We found evidence of constant population size before the end of the Last Glacial Maximum (LGM, between 0.020 and 0.018 Ma) developed in the Tsinling Mountains. Consequently, we suggest that LGM had little effect on the demographic dynamics of *C. pallipes*.

Key Words: *Chlaenius pallipes*; mitochondrial DNA; Population genetic structure; demography expansion; Tsinling Mountains

秦岭位于我国中部,在动物地理区划上地处东洋界和古北界的分界^[1],动物区系组成特殊,同时兼具两大区系的物种组成^[1-2],具有较高的动、植物多样性^[3-4]。秦岭地区经历过第四纪冰期-间冰期的反复^[5-6],这一气候事件往往在物种遗传变异的分布上留下痕迹^[7-11]。目前利用谱系地理学方法来研究物种遗传多样性的空间分布模式,探讨景观特征对物种的空间分布的影响变得更为广泛^[7]。通常,在一个地形多样的小区域内广泛采样,并选用进化速率适当的基因作为分子标记,研究结果可以揭示整个景观内地形对遗传多样性和遗传连续性的影响^[12]。在秦岭地区开展动、植物遗传多样性状况研究,对于揭示历史环境变化对动、植物分布格局的影响,对未来开展物种资源保护具有指导意义。

淡足青步甲(*Chlaenius pallipes* Gebler, 1823)隶属步甲科 Carabidae,青步甲属 *Chlaenius*,以成虫越冬,在我国北方常大量发生。成虫可迁飞,广泛分布于东亚地区^[13],是一类值得保护利用的天敌昆虫。目前对于该种的相关研究主要集中于区系^[14]和生物学特性方面^[15-16],尚无有关遗传学方面的报道。本研究为揭示淡足青步甲种群遗传分化和种群数量动态历史,选用进化速率适中,且被广泛应用于步甲种内遗传分化和系统发育研究中的线粒体 *Cox1-tRNA^{Leu}-Cox2* 基因片段^[17-20]作为分子标记,对采自于秦岭地区 13 个地理种群的 151 个体进行了测序分析。

1 材料与方法

1.1 样品来源

本研究所用样品取自 2009—2011 年采集于秦岭地区 13 个地理种群的 151 头淡足青步甲成虫标本,标本相关采集地信息、所采数量详见图 1 和表 1。所有标本浸泡于无水乙醇中于 -20 °C 保存备用。

1.2 DNA 提取、PCR 扩增和测序

取步甲的翅下肌肉少许置入 1.5 mL 的 EP 管中,在管中加入适量 SDS 裂解液之后,进行充分研磨匀浆,然后加入蛋白酶 K (与 SDS 体积比为 49:1),50 °C 水浴过夜,采用标准的苯酚-氯仿抽提法进行抽提之后,用 4 °C 异丙醇沉淀 DNA,70%乙醇洗涤,然后倒置于无菌超净工作台干燥,最后溶解于 20—30 μ L 无菌 ddH₂O 中, -20 °C 保存备用。DNA 检测采用 1%琼脂糖凝胶电泳检测法。

参考 Emerson 等^[18]上游引物序列为:C1-J-2092 5'AGTTTATGACAGGAGCAATTACTAT3';下游引物为:TK-N-3782 5'GAGACCATTACTTGCTTTCAGTCATCT3'(上海生工生物公司合成)。每一样品的扩增体系为 25 μ L,

反应体系为 10×PCR buffer 2.5 μL, dNTP2.0 μL, 10 mol/μL 引物各 1.0 μL, 约 50 ng/μL 模板 DNA 1.0 μL, TaqDNA 聚合酶 1.25 U, 去离子水补充至 25 μL。扩增条件为: 94 ℃ 预变性 2 min 后, 按以下参数进行 40 个循环: 94 ℃ 变性 1 min, 50 ℃ 退火 1 min, 72 ℃ 延伸 2 min, 最后一个循环之后在 72 ℃ 再延伸 10 min。PCR 扩增产物用 1% 的琼脂糖凝胶进行电泳检测, 然后送往上海生工生物公司进行纯化、回收和正反链双向测序。测序试剂为 BigDye Terminator v3.1, 测序仪器为 ABI-PRISM3730 全自动 DNA 测序仪。

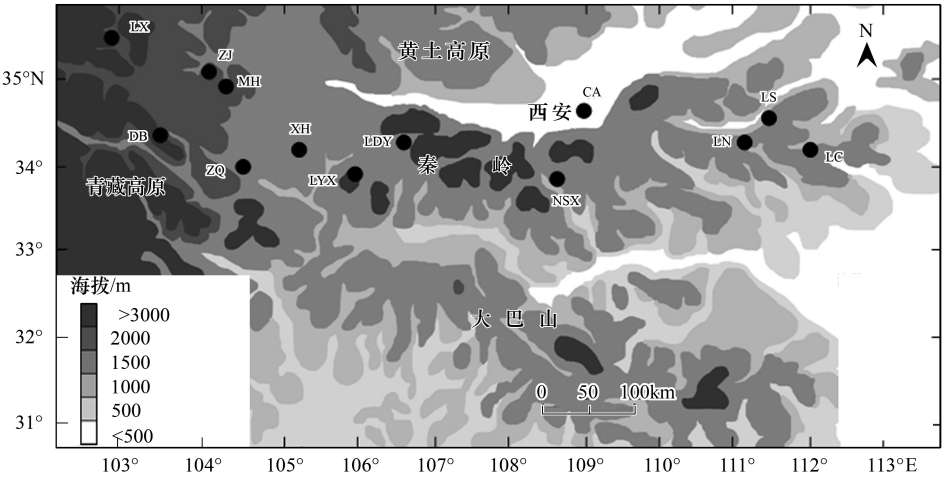


图 1 采样点分布图

Fig.1 Locations of sampled populations

图中采样点代号对应的种群地理信息见表 1

表 1 淡足青步甲采集地信息、样本量和单倍型分布

采样点 Sampling location	代号 Code	样本量 Sample number	纬度/(°) Latitude(N)	经度/(°) Longitude(E)	单倍型(个体数) Haplotypes (number of individuals)	P_i	H_d
甘肃临夏县	LX	6	35.49	102.99	T4 (1)、T13 (2)、T23 (1)、T38 (1)、T55 (1)	0.0022	0.942
甘肃漳县	ZJ	25	34.81	104.15	T1 (2)、T7 (1)、T14 (1)、T20 (2)、T22 (1)、T24 (4)、T25 (1)、T39 (1)、T40 (1)、T41 (1)、T43 (1)、T45 (1)、T48 (3)、T55 (1)、T62 (2)、T63 (1)、T64 (1)	0.0028	0.960
甘肃西和县	XH	1	33.87	105.16	T46 (1)	N.A.	N.A.
甘肃岷县	NH	3	34.46	104.23	T45 (1)、T54 (2)	0.0004	0.667
甘肃迭部县	DB	20	34.06	103.32	T5 (1)、T8 (2)、T11 (1)、T25 (1)、T26 (1)、T28 (8)、T29 (2)、T30 (1)、T58 (2)、T59 (1)	0.0022	0.837
甘肃舟曲县	ZQ	3	33.69	104.49	T21 (2)、T27 (1)	0.0004	0.667
甘肃两当县	LDY	5	33.93	106.42	T5 (1)、T8 (1)、T25 (1)、T47 (1)、T64 (1)	0.0030	1.0
陕西略阳县	LYX	5	33.52	105.91	T6 (2)、T8 (1)、T56 (1)、T57 (1)	0.0033	0.900
陕西宁陕县	NSX	4	33.55	108.55	T9 (1)、T11 (1)、T21 (1)、T53 (1)	0.0021	1.0
陕西西安	CA	16	34.15	108.90	T1 (1)、T10 (1)、T12 (1)、T37 (1)、T47 (2)、T49 (3)、T52 (4)、T55 (1)、T60 (2)	0.0022	0.908

续表

采样点 Sampling location	代号 Code	样本量 Sample number	纬度/(°) Latitude (N)	经度/(°) Longitude (E)	单倍型(个体数) Haplotypes (number of individuals)	P_i	H_d
陕西洛南	LN	19	34.08	110.48	T1 (4)、T3 (1)、T19 (1)、T31 (2)、T32 (1)、T34 (1)、T42 (2)、T45 (2)、T49 (2)、T50 (1)、T51 (1)、T60 (1)	0.0022	0.942
河南卢氏县	LS	31	34.25	111.01	T1 (8)、T2 (2)、T3 (1)、T17 (1)、T31 (1)、T33 (3)、T34 (3)、T36 (1)、T42 (1)、T44 (1)、T45 (4)、T60 (1)、T61 (1)、T64 (2)、T65 (1)	0.0020	0.910
河南栾川县	LC	13	33.82	111.46	T1 (3)、T15 (1)、T16 (1)、T18 (1)、T21 (2)、T35 (2)、T49 (3)	0.0026	0.897
总计		151			65haplotypes in total	0.0025	0.972

表中出现的采样点代号与图 1 对应; P_i ,核苷酸多样性; H_d ,单倍型多样性;加粗体为居群独有单倍型

1.3 DNA 序列分析

利用 ClustalX1.83^[21]进行序列比对,并用 BioEdit5.0.6 (<http://iubio.bio.indiana.edu/molbio/seqapp/>) 软件进行手工矫正和剪切。利用 DnaSP4.10^[22]软件统计单倍型多样性和核苷酸多样性的分布特征。单倍型系统发育分析采用 PAUP×4.0^[23]构建最大似然法(ML)树,并利用 MrBayes3.0^[24]软件构建贝叶斯(Bayesian)树。选用采自于秦岭地区的脊青步甲(*C. costiger*)的两个个体(登录号:JN644139-JN644140)作为外群。运行 ModelTest^[25]软件选择最优替换模型,最终选择了 GTR+I+G 模型。ML 树各节点的支持率根据各单倍型 bootstrap 1 000 次重复抽样后获得;对 MCMC 变量运行 4 条马尔科夫链,以随机树为起始树,共运行 125 万代,每 100 代进行 1 次抽样,似然值用 Tracer v.1.5^[26]观察,去掉似然值不稳定的树作为 burn-in 值,最终去掉 3125 棵树。根据剩余的样本构建一致树,将所得结果进行统计,获得系统树的支系结构以及各支系的后验概率。同时,利用 Network4.5.0.2^[27]软件通过 Median-Joining 模型^[28]构建了所有单倍型的网状支系图。其中,空位处理为第五形状,对于多个碱基的插入、缺失或突变都被认为是通过一步突变形成。

应用 Arlequin3.11^[29]软件进行分子变异分析(AMOVA)、中性检验和错配分布分析。错配分布分析模型假设为快速扩张模型,模型的有效性采用离差平方和(SSD)和 Harpending's raggedness index(*R*)进行评估,以上所有参数通过 1000 次重复抽样获得。采用 SAMOVA1.0^[30]进行单倍型空间遗传结构分析。并根据不同的组数(*K*值)计算相应的 F_{CT} 值。在本次研究中 *K*值分别为 2 到 12 的整数,且运算进行 1 000 次置换检验,同时,采用 PERMUT^[31-32]软件估测步甲种群是否具有谱系地理结构并统计种群总的遗传多样性指数(H_T)和居群内平均遗传多样性指数(H_S)。

利用 BEAST 1.4.7^[33]进行了 Bayesian Skyline Plot (BSP)分析^[34],选用了 GTR+I+G 模型,Number of Gamma Categories 设置为 4,采用逻辑松散分子钟(Uncorrelated Lognormal),组数为 15(group=15),马尔科夫链(MCMC)的长度为 250 000 000,抽样频率为 1 000。突变率采用 Andújar 等^[35]在 GTR+I+G 模型下得到的步甲线粒体 DNA 碱基对平均替换率 2.68%/Ma。

2 结果与分析

2.1 mtDNA 遗传多样性和系统发育

共获得了 13 个居群 151 个成虫个体标记序列,该序列长 1 602 bp,其中包括 882 bp 的 *mtCol* 基因、658 bp 的 *mtColII* 基因和 62 bp 的 *tRNA^{Leu}* 间隔区。检测到 57 个多态性位点,包括 45 个简约信息位点、11 个单变异位点和发生在 *tRNA^{Leu}* 序列上的一个碱基插入位点。共定义 65 个单倍型,分别编号为 T1、T2、…、T65。所涉及单倍型已上交 GenBank 数据库保存,序列号为 JN644074-JN644138。所有单倍型中有 48 个(73.85%)是

出现频率较低的居群内特有单倍型, 17 个 (26.15%) 是居群间共享单倍型 (表 1)。种群单倍型多样性指数 (H_d) 较高为 0.972, 而核苷酸多样性指数 (P_i) 为 0.0025。PERMUTE 统计得到种群总的遗传多样性指数 ($H_T = 0.985$) 和居群内平均遗传多样性指数 ($H_s = 0.885$) 都很高。

构建的 ML 树与 Bayesian 树具有极为相似的分支 (图 2 和图 3), 结果显示单倍型在节点 d 处明显分化出两支 (a 支和 b 支), 其它单倍型位于进化树的根部, 被认为是分化较早的单倍型。通过自动引用 5 个中间载体 (mv1-5), Network 软件构建了单倍型网状支系图 (图 4)。网状支系图基本呈星状分布。

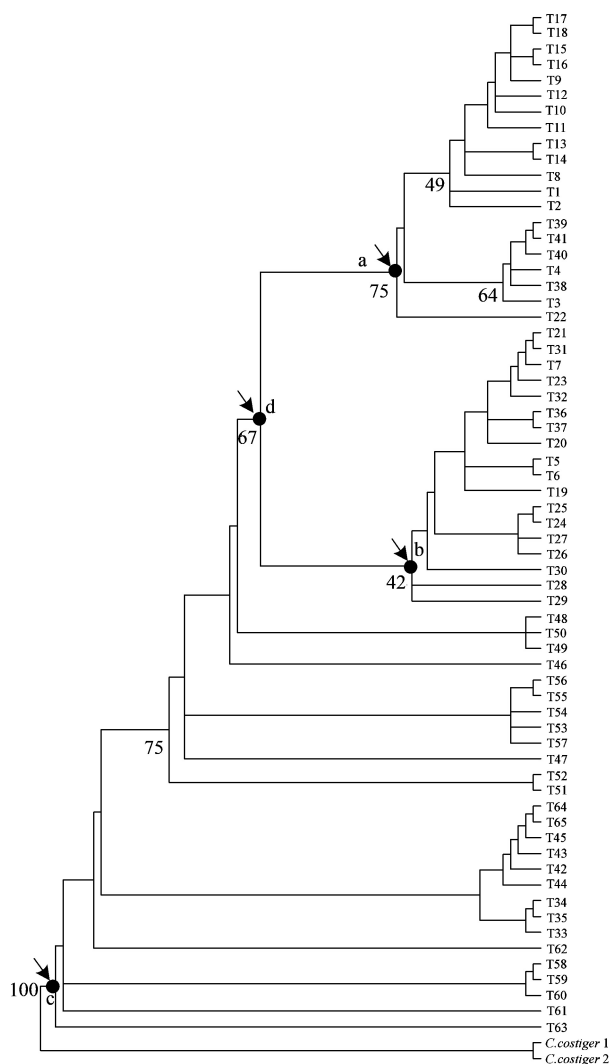


图 2 基于淡足青步甲 mtDNA 65 个单倍型构建的 ML 树

Fig.2 Maximum likelihood tree of 65 mtDNA haplotypes of *C. pallipes*

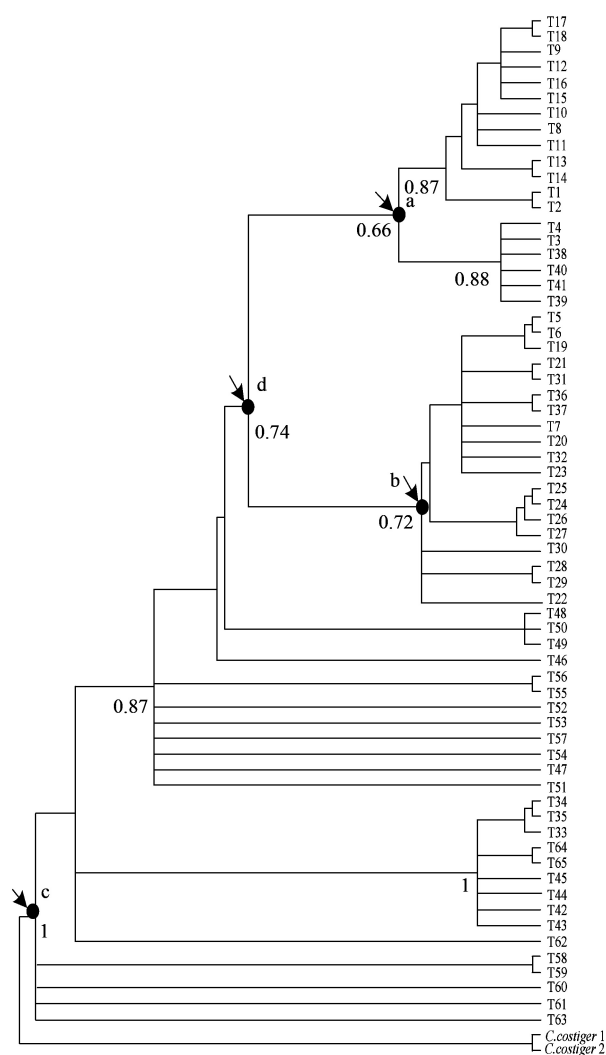


图 3 基于淡足青步甲 mtDNA 65 个单倍型构建的 Bayesian 树

Fig.3 Bayesian inference tree of 65 mtDNA haplotypes of *C. pallipes*

2.2 遗传结构和谱系地理学分析

AMOVA 结果显示种群变异主要来源于种群内, 占到总变异量的 92.10%, 种群间的变异量仅为 7.90% (表 2)。统计得到的遗传分化指数 F_{ST} 在种群间为 0.07897, 经置换检验达到极显著水平 ($P < 0.01$), 认为淡足青步甲种群遗传分化明显。SAMOVA 检验结果显示估算的 F_{CT} 值在 $K=2$ 到 $K=12$ 的设定中呈平稳波动状态, 没有明显的增大。因此通过 SAMOVA 检验没有对淡足青步甲种群找到合适的分组方法, 表明该种群不存在明显的谱系地理结构。同时, PERMUT 分析得到的种群遗传分化指数 N_{ST} 和 G_{ST} 的值分别为 0.114 和 0.101, N_{ST} 值没有显著地大于 G_{ST} 值 ($P > 0.05$), 参考 Pons 和 Petit^[32] 认为 PERMUT 分析结果与 SAMOVA 检验结果

一致。

表 2 淡足青步甲的 AMOVA 结果
Table 2 Results of analysis of molecular variance of *C. pallipes*

变异来源 Source of variation	df	方差平方和 Sum of squares	变异组成 Variance components	变异百分比 Percentage of variation/%	F_{ST}
种群间 Among population	12	43.38	0.16Va	7.90	0.07897 **
种群内 Within population	138	256.90	1.86Vb	92.10	
总 Total	150	300.28	2.02		

** $P < 0.01$

2.3 种群数量动态历史

中性检验结果表明,步甲总种群 F_u 's F_s 指数值和 Tajima's D 指数值分别为 -25.7459 和 -1.8572,均达到极显著性负值 ($P < 0.01$)。经检验,离差平方和 (SSD) 和 Harpending's raggedness index (R) 指数均没有达到显著性水平 ($P > 0.05$),表明该物种经历过种群快速扩张。错配分布分析结果在总种群显示出单峰分布 (图 5),同样表明该物种经历过种群扩张。BSP 分析结果表明秦岭地区淡足青步甲种群扩张时间大致发生在 0.1—0.025 Ma,之后种群数量基本保持平稳,但在 0.002 Ma 开始出现种群数量明显下降的趋势。

3 讨论

与同域分布的耶屁步甲 *Pheropsophus jessoensis* [36] 和赤胸梳爪步甲 *Dolichus halensis* (Schaller) [37] 比较,淡足青步甲种群具有比较高的 H_T 、 H_s 和 H_d 值,但核苷酸多样性指数 (P_i) 值相对较低 ($P. jessoensis$: $H_T = 0.960$, $H_s = 0.880$, $H_d = 0.963$, $P_i = 0.0037$; $D. halensis$: $H_T = 0.705$, $H_s = 0.612$, $H_d = 0.769$, $P_i = 0.0033$; 淡足青步甲: $H_T = 0.985$, $H_s = 0.885$, $H_d = 0.972$, $P_i = 0.0025$)。特有单倍型比例高达 73.85%,造成淡足青步甲具有高的 H_d 值,但这些单倍型往往出现频率低,且分布范围狭窄。高的 H_d 值伴随着低的 P_i 值,说明该种群可能经历过“瓶颈效应”,之后伴随着快速种群增长的历史事件,但扩张历史较短,核苷酸变异积累不充分 [7]。Avisse [7] 和 Hewitt [10] 则认为遗传分化较高的类群,种内往往有多个特有单倍型存在,这一结果可能是由于气候导致的居群反复收缩与扩张所致。ML 和 Bayesian 系统发育树形成的 a 枝和 b 枝所包含的单倍型极为相似,但两支均没有与地理分布建立关联性。一个“星状系统发育 (star phylogeny)”往往代表着一个经历“种群瓶颈”之后扩张的种群 [38]。构建的网状支系图基本呈星状分布说明该种群经历过种群扩张。

Avisse 认为共域分布的近缘物种往往具有共同的谱系地理模式 [7]。AMOVA 分析结果表明淡足青步甲遗传分化明显,但绝大多数的遗传变异来自于居群内,占总变异量比例高达 92.10%,而居群间遗传变异所占的比例小。此外,SAMOVA 分析和 PERMUTE 分析结果一致表明秦岭地区的淡足青步甲种群不存在明显的谱系地理结构,在该地区分布的 *P. jessoensis* 种群和 *D. halensis* 种群同样具有这一遗传结构特征 [36-37]。*P. jessoensis*

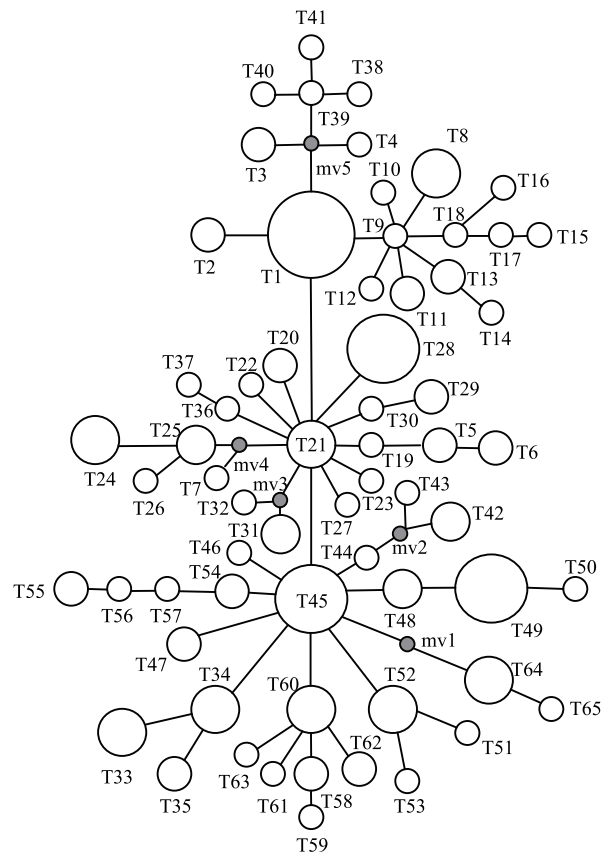


图 4 淡足青步甲 mtDNA 65 个单倍型的网状支系图
Fig.4 Network of 65 mtDNA haplotypes of *C. pallipes*
图中每一个圆代表一个单倍型,圆大小与单倍型频率呈正比

成虫不善飞翔,而 *D. halensis* 和淡足青步甲个体小,不善于进行远距离迁飞,理论上讲,这三种步甲不但受限于自身的扩散能力,而且受到山脉形成的天然屏障的阻隔,种群间的基因交流不频繁,从而会导致种群间产生遗传分化。但研究发现这三种步甲种群的遗传分化主要体现于种群内,种群间并没有形成明显的谱系地理结构。自然因素(比如风力)和人为因素都可能促进种群间的基因交流,降低遗传分化程度。同时,秦岭地区在第四纪经历了不止一次冰期^[5],冰期后,继“奠基者效应”之后的往往是种群扩张。冰期—间冰期反复出现,往往会导致物种不止一次的扩张,增加了基因交流的可能性。秦岭地区山体宽大,沟壑相通,山脉并没有为步甲的扩散提供有效屏障。

Brower^[39]提出的昆虫线粒体 DNA 的平均碱基对替换率为 2.3%/Ma 曾被广泛采用(包括步甲在内)^[19-20]。随后从采用地质事件作为分子钟估算物种支系分歧时间的相关报道中发现,分子标记的替换饱和和常因采用不同的替换模型拟合结果存在差异^[35,40]。Andújar 等^[35]在联合多个线粒体基因片段(包括 *Cox1* 在内)作为 DNA 分子标记,选用 GTR+I+G 模型,得出步甲平均碱基对替换率为 2.68%/Ma。本文运行 ModelTest 软件选择的最优替换模型是 GTR+I+G 模型,因此参考 Andújar 等人的研究结果,以平均碱基对替换率为 2.68%/Ma 作为 BSP 分析的分子钟校正时间标准,结果显示秦岭地区分布的淡足青步甲在 0.100—0.025 Ma 之间发生过种群扩张,之后种群数量基本保持平稳,但在 0.002 Ma 开始出现种群数量明显下降的趋势。秦岭在第四纪经历了四次冰期,晚更新世的玉皇冰期是第四纪古气候变化最剧烈的一次。冰川规模有大变小,分布位置越来越高,尤其是发生于 0.07—0.01 Ma 之间的末次冰期仅作用于太白山顶部^[5,41]。BSP 研究结果表明在末次冰期,包括发生于 0.021—0.018 Ma 的末次盛冰期(LGM)期间,淡足青步甲种群大小没有呈现出下降的趋势。因此,认为 LGM 对秦岭地区的淡足青步甲种群影响不大,从 0.002 Ma 开始出现的种群数量下降现象很可能是人为因素所致。

4 结论

通过 mtDNA *Cox1-tRNA^{Leu}-Cox2* 基因片段的测定与分析,研究表明:淡足青步甲种群遗传多样性高,遗传分化明显,但没有形成明显的谱系地理结构。该种群经历过扩张,时间发生在 0.100—0.025 Ma 之间,认为第四纪冰期的反复、秦岭特殊复杂的地貌和人为因素是造成该物种目前分布格局的主要因素。

参考文献(References):

- [1] 张荣祖, 赵肯堂. 关于《中国动物地理区划》的修改. 动物学报, 1978, 24(2): 196-202.
- [2] 刘康, 马乃喜, 胥艳玲, 孙根年. 秦岭山地生态环境保护与建设. 生态学杂志, 2004, 23(3): 157-160.
- [3] 郭新荣, 李孟楼, 庄世宏. 秦岭火地塘林区半翅目昆虫多样性研究. 西北林学院学报, 2000, 15(3): 71-75.
- [4] 张金良, 李焕芳. 秦岭自然保护区群的生物多样性. 生物多样性, 1997, 5(2): 155-156.
- [5] 刘有民, 王桂增. 秦岭地区第四纪冰川地质研究. 中国地质科学院天津地质矿产研究所文集, 1985, (14): 1-104.

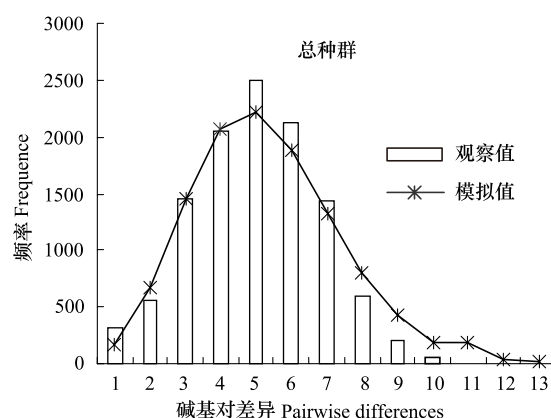


图5 淡足青步甲种群的错配分布图

Fig.5 Mismatch distribution analysis for *C. pallipes* population

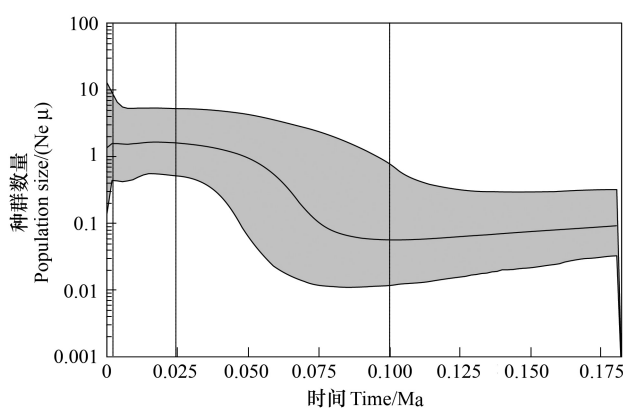


图6 淡足青步甲种群的 BSP 分布图

Fig.6 Bayesian skyline plot of *C. pallipes* population

- [6] 田泽生, 黄春长. 秦岭太白山古冰川发育与黄土高原气候变迁. 地理研究, 1990, 9(3): 15-23.
- [7] Avise J C. Phylogeography. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press, 2000.
- [8] 沈浪, 陈小勇, 李媛媛. 生物冰期避难所与冰期后的重新扩散. 生态学报, 2002, 22(11): 1983-1990.
- [9] Hewitt G. Some genetic consequences of ice ages, and their role in divergence and speciation. Biological Journal of the Linnean Society, 1996, 58(3): 247-276.
- [10] Hewitt G M. Genetic consequences of climatic oscillations in the Quaternary. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B Biological Sciences, 2004, 359(1442): 183-195.
- [11] Hewitt G. The genetic legacy of the Quaternary ice ages. Nature, 2000, 405(6789): 907-913.
- [12] Giordano A R, Ridenhour B J, Storfer A. The influence of altitude and topography on genetic structure in the long-toed salamander (*Ambystoma macrodactylum*). Molecular Ecology, 2007, 16(8): 1625-1637.
- [13] Park J K, Trac D H, Will K. Carabidae from Vietnam (Coleoptera). Journal of Asia-Pacific Entomology, 2006, 9(2): 85-105.
- [14] 姜双林, 陈杰, 王孜孜, 周天林. 子午岭不同生境类型青步甲属 (*Chlaenius*) 物种的分布格局研究. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2012, 40(9): 59-64.
- [15] 邓德谔. 十三种农田常见步(虫甲)的食性. 昆虫学报, 1983, 26(3): 356-357.
- [16] 邓德谔, 王贵强, 李镜. 农田步甲的生物学研究. 昆虫学报, 1985, 28(3): 283-287.
- [17] Maya O, Contreras-Diaz H G, Oromi P, Juan C. Phylogeography of a ground beetle species in La Gomera (Canary Islands): the effects of landscape toplogy and population history. Heredity, 2007, 99(3): 322-330.
- [18] Emerson B C, Oromi P, Hewitt G M. MtDNA phylogeography and recent intra-island diversification among Canary Island calathus beetles. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1999, 13(1): 149-158.
- [19] Ruiz C, Jordal B, Serrano J. Molecular phylogeny of the tribe Sphodrini (Coleoptera: Carabidae) based on mitochondrial and nuclear markers. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2009, 50(1): 44-58.
- [20] Faille A, Ribera I, Deharveng L, Bourdeau C, Garnery L, Quéinnec E, Deuve T. A molecular phylogeny shows the single origin of the Pyrenean subterranean Trechini ground beetles (Coleoptera: Carabidae). Molecular Phylogenetics and Evolution, 2010, 54(1): 97-106.
- [21] Chenna R, Sugawara H, Koike T, Lopez R, Gibson T J, Higgins D G, Thompson J D. Multiple sequence alignment with the Clustal series of programs. Nucleic Acids Research, 2003, 31(13): 497-500.
- [22] Rozas J, Sánchez-DelBarrio J C, Messeguer X, Rozas R. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods. Bioinformatics, 2003, 19(18): 2496-2497.
- [23] Swofford D L. PAUP*: Phylogenetic Analyses Using Parsimony (* and Other Methods), Version 4. Sunderland: Sinauer & Associates, 2002.
- [24] Ronquist F, Huelsenbeck J P. MrBayes3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. Bioinformatics, 2003, 19(12): 1572-1574.
- [25] Posada D, Crandall K A. Modeltest: testing the model of DNA substitution. Bioinformatics, 1998, 14(9): 817-818.
- [26] Rambaut A, Drummond A J. Tracer: MCMC Trace File Analyser, version 1.4. Oxford: University of Oxford; Available from <http://evolve.zo.ox.ac.uk>.
- [27] Polzin T, Daneschmand S V. On Steiner trees and minimum spanning trees in hypergraphs. Operations Research Letters, 2003, 31(1): 12-20.
- [28] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. Molecular Biology and Evolution, 1999, 16(1): 37-48.
- [29] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis. Evolutionary Bioinformatics Online, 2005, 1: 47-50.
- [30] Dupanloup I, Schneider S, Excoffier L. A simulated annealing approach to define the genetic structure of populations. Molecular Ecology, 2002, 11(12): 2571-2581.
- [31] Pons O, Petit R J. Estimation, variance and optimal sampling of gene diversity I. Haploid locus. Theoretical and Applied Genetics, 1995, 90(3/4): 462-470.
- [32] Pons O, Petit R J. Measuring and testing genetic differentiation with ordered versus unordered alleles. Genetics, 1996, 144(3): 1237-1245.
- [33] Drummond A J, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7: 214-214.
- [34] Drummond A J, Rambaut A, Shapiro B, Pybus O G. Bayesian coalescent inference of past population dynamics from molecular sequences. Molecular Biology Evolution, 2005, 22(5): 1185-1192.
- [35] Andújar C, Serrano J, Gómez-Zurita J. Winding up the molecular clock in the genus *Carabus* (Coleoptera: Carabidae): assessment of methodological decisions on rate and node age estimation. BMC Evolutionary Biology, 2012, 12: 40-40.
- [36] Li X C, Yin H, Li K, Gao X Y. Population genetic structure and historical demography of the ground beetle *Pheropsophus jessoensis* from the Tsinling-Dabashan Mountains, central China based on mitochondrial DNA analysis. Zoological Science, 2012, 29(4): 238-246.
- [37] 阴环, 李晓晨. 秦岭地区赤胸梳爪步甲种群的遗传多样性和扩张历史分析. 昆虫学报, 2013, 56(7): 807-815.
- [38] Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. Genetics, 1991, 129(2): 555-562.
- [39] Brower A V Z. Rapid morphological radiation and convergence among races of the butterfly *Heliconius erato* inferred from patterns of mitochondrial DNA evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91(14): 6491-6495.
- [40] Papadopoulou A, Anastasiou I, Vogler A P. Revisiting the insect mitochondrial molecular clock: the mid-Aegean trench calibration. Molecular Biology and Evolution, 2010, 27(7): 1659-1672.
- [41] 施雅风, 崔之久, 苏珍. 中国第四纪冰川与环境变化. 石家庄: 河北科技出版社, 2006