

DOI: 10.5846/stxb201807251591

刘小丽,孙佼,韩金巧,王艳妮,谭江东.岛屿生境下黄毛鼠种群的遗传变异.生态学报,2019,39(18): - .

Liu X L, Sun J, Han J Q, Wang Y N, Tan J D. Genetic variation of *Rattus losea* populations in island habitats. Acta Ecologica Sinica, 2019, 39(18): - .

岛屿生境下黄毛鼠种群的遗传变异

刘小丽¹, 孙 佼¹, 韩金巧¹, 王艳妮^{1,2,*}, 谭江东¹

¹ 浙江师范大学生态研究所, 金华 321004

² 浙江省野生动物生物技术与保护利用重点实验室, 金华 321004

摘要: 岛屿具有独特的生态系统, 常被生态学家和进化生物学家视为研究生物进化的天然实验室, 岛屿生物地理学也受到了越来越多科学家的关注。本研究对舟山群岛 8 个面积不等岛屿的黄毛鼠 (*Rattus losea*) 种群进行了调查, 分析了 8 个种群的遗传变异特征, 对探讨岛屿理论中的种群动态和种群分化具有重要意义。采用线粒体分子标记技术, 利用 PCR 扩增得到 D-loop 区基因序列 815 bp, 在 330 个黄毛鼠样本中共识别出 15 个单倍型, 平均核苷酸多样性 (P_i) 为 0.001, 平均单倍型多样性 (H_d) 为 0.364, 表明舟山群岛黄毛鼠种群的遗传多样性较低。Tajima's D 中性检验显示除了小盘峙种群, 均为显著负值 ($P < 0.01$), 表明种群受到了自然选择的作用, 历史上发生过种群扩张。AMOVA 显示, 群体间的遗传分化指数平均值为 0.745, 处于较高的分化水平, 表明遗传变异主要来自种群间, 占 74.5%。基于线粒体 D-loop 区序列构建的系统发育树和中值网络都表明 8 个岛屿的黄毛鼠种群起源于两个母系。此外, Mental 检验显示不同岛屿种群间的遗传距离与岛屿间地理距离之间存在显著正相关关系 ($r = 0.6077, P = 0.004$), 种群遗传多样性与岛屿面积并未发现显著相关性 ($r = 0.6255, P = 0.1840$)。本研究结果可为岛屿黄毛鼠种群的微观演化以及一些岛屿物种的进化理论提供参考。

关键词: 线粒体 D-loop 区; 遗传变异; 黄毛鼠种群; 舟山群岛

Genetic variation of *Rattus losea* populations in island habitats

LIU Xiaoli¹, SUN Jiao¹, HAN Jinqiao¹, WANG Yanni^{1,2,*}, TAN Jiangdong¹

¹ Institute of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321004, China

² Key Lab of Wildlife Biotechnology and Conservation and Utilization of Zhejiang Province, Jinhua 321004, China

Abstract: With the unique ecosystems, islands are often regarded as natural laboratories for studying biological evolution by ecologists and evolutionary biologists. In recent years, the increasing number of scientists have paid attentions to island biogeography. In this study, the genetic variation characteristics were analyzed for *Rattus losea* populations in 8 islands with different area and distance in Zhoushan archipelago, which is of great significance to study the population dynamics and population differentiation of island rule. Mitochondrial molecular marker technique was used to obtain the 815 bp D-loop region sequence by PCR. A total of 15 haplotypes were identified in 330 samples. The average nucleotide diversity (P_i) was 0.001 and the average haplotype diversity (H_d) was 0.364, which revealed that the genetic diversity of *Rattus losea* populations in Zhoushan Archipelago had a low level. The Tajima's D neutral test showed that the parameters of the populations were negative values except for XPZ population ($P < 0.01$), indicating that the populations were naturally selected and experienced the population expansion. AMOVA results showed that the average genetic differentiation index (74.5%) among populations was at a higher level, indicating the genetic variation mainly occurred in the populations. Phylogenetic tree and median network constructed on the basis of mitochondrial D-loop region sequences indicated that the 8 *Rattus losea* populations originated from two matrilinear systems. Beside, the results of mental test results showed that there

基金项目: 国家自然科学基金项目 (31200323)

收稿日期: 2018-07-25; 网络出版日期: 2019-00-00

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangyn@zjnu.cn

was a significantly positive correlation between genetic distance and geographic distance ($r=0.6077$, $P=0.004$), and no significant correlation was found between genetic diversity and island area ($r=0.6255$, $P=0.1840$). The results can be used as a reference for the microevolution of *Rattus losea* populations and the evolution theory of some island species.

Key Words: Mitochondrial DNA D-loop; Genetic variation; *Rattus losea* populations; Zhoushan Archipelago

自然种群的遗传变异受诸多因素的影响,如自然选择、突变、遗传漂变和种群瓶颈等。岛屿和大陆环境存在明显的差异,岛屿数量多,且存在地理隔离,岛屿上的物种相对较少,其活动空间范围较大,迁移率较低等,常被生态学家和进化生物学家视为研究生物进化的“天然实验室”^[1]。岛屿在空间上可以直接确定种群或群落的边界,为物种进化的研究提供了重复性高的便利场所。因此,在研究自然种群微进化过程中,岛屿常被选作热点地区。关于岛屿自然种群的遗传变异也越来越多地受到科学家们的关注^[2]。

了解岛屿距离隔离和岛屿面积如何影响野生种群的遗传变异一直是保护生物学的一个主要焦点^[3]。根据中性瓶颈理论,较大且较年轻的岛屿比较小的老的岛屿保留更多的核遗传变异。刘军等对千岛湖 3 个岛屿社鼠(*Niviventer confucianus*)种群的研究发现,遗传多样性与岛屿面积有显著的正相关关系^[4]。Hurst 等研究了海岛历史对壁蜥(*Podarcis erhardii*)线粒体和核基因多样性的影响,结果得出种群特有的遗传分化指数与岛屿面积呈负相关,表明较小的岛屿具有较大的漂移敏感性^[5]。线粒体单倍型的空间分布反映了历史上的碎裂格局,而不是地理上的接近。小岛屿种群一般更容易受到遗传漂变和近交的影响,会导致这些种群的遗传变异和适应度降低。此外,孤岛种群可能由于漂移或不同的生态位选择而产生种群差异^[6]。

舟山群岛位于浙江省东北部的东海海域,为天台山脉向东海延伸的余脉,与宁波的北仑相邻,是中国第一大群岛^[7]。舟山群岛原本与大陆相连,自晚更新世纪以来,经历了不同程度的海侵(3 次)和海退(2 次),最终彻底暴露,成为如今的群岛。共由 1390 个不同的岛屿组成,陆地总面积为 1440 km²。岛屿大小不等,最小 0.63 km²(洛迦山岛),最大 502 km²(舟山本岛)^[8]。舟山群岛属北亚热带季风海洋性气候,年均气温为 15.6—16.6℃,年均降水量为 850.6—1367.1 mm,海拔最高为 544.5 m^[9]。岛上分布的啮齿动物主要有黄毛鼠(*Rattus losea*)、黑线姬鼠(*Apodemus agrarius*)、中华姬鼠(*A. draco*)、小家鼠(*Mus musculus*)、社鼠(*Niviventer confucianus*)等。其中,黄毛鼠是舟山群岛的优势属种,隶属于啮齿目(Rodentia),鼠科(Muridae),大鼠属(*Rattus*)^[10]。目前,关于黄毛鼠的研究主要集中于鼠害防治^[11,12]、种群生态^[13]、年龄结构^[14]和交配行为^[15]等,关于该物种在岛屿生境中种群遗传变异及微进化方面的研究尚未见报道。

随着分子标记技术的成熟,越来越多的学者利用该技术来进行物种鉴定和遗传变异的深入研究。线粒体 DNA 具有结构简单、母系遗传、几乎不发生重组和进化速度较快等特点,是研究动物种群遗传学的理想分子标记^[16,17]。因此,本文探讨岛屿特征对黄毛鼠种群动态和遗传分化的影响,利用线粒体 DNA D-loop 序列,研究舟山群岛黄毛鼠种群的遗传多样性和遗传结构,并分析了遗传距离与岛屿间地理距离、遗传多样性与岛屿面积的相关性,为黄毛鼠种群的微观演化和岛屿物种的进化理论等提供参考。

1 材料与方法

1.1 样地及实验材料

在舟山群岛选取地理位置相对集中的 8 个岛屿,分别为大摘箬山(DZRS)、小摘箬山(XZRS)、刺山岛(CS)、小猫岛(XM)、小盘峙岛(XPZ)、大猫岛(DM)、六横岛(LH)及桃花岛(TH),这些岛屿面积大小不一(0.14—93.66 km²)^[18],岛屿间的距离范围是 0.5—20.9 km(根据 GPS 定位的经纬度计算获得岛屿间地理距离)。采样岛屿的具体位置和实验样本量见图 1 和表 1。岛上的植被较为丰富,主要植被类型为常绿阔叶林,珍稀优良树种有红楠、青冈、黄檀、合欢等^[9,19]。

分别于 2013 年 6 月和 9 月、2016 年 6 月用夹捕法在 8 个岛屿上共采集黄毛鼠样本 361 只,由于个别样本

PCR 扩增失败,实际用于数据分析的样本有 330 只。取适量的黄毛鼠肌肉组织,放入 95%的酒精中固定保存,带回实验室,于-70℃保存备用。

1.2 DNA 的提取及 PCR 的扩增

肌肉组织基因组 DNA 的提取参照鲍毅新等改进的方法^[20]。

用于扩增 mtDNA D-loop 序列的引物参考文献报道^[21],上游引物 DF: 5'-GTCAACTCCCAAAGCTGAAA TTC- 3',下游引物 DR: 5'-TCTCGAGATTTTCAGTGTC TTGCTTT-3',由生工生物工程(上海)有限公司合成。PCR 扩增体系如下:10×Burffer 2.5 μL,25 mmol/L Mg²⁺ 1.5 μL,2.5 mmol/L dNTPs 1.5 μL,5 U/mL Taq 酶 0.2 μL,DNA 模板 40 ng,上下游引物各 0.5 μL,加双蒸水至 25 μL。反应程序为:95℃预变性 5 min,95℃变性 30 s,50.9℃退火,72℃延伸 35 s。以上步骤设 40 个循环,72℃延伸 10 min,4℃保存。PCR 产物在 ABI 3730 测序仪中进行双向测序,此部分工作在生工生物工程(上海)有限公司完成。

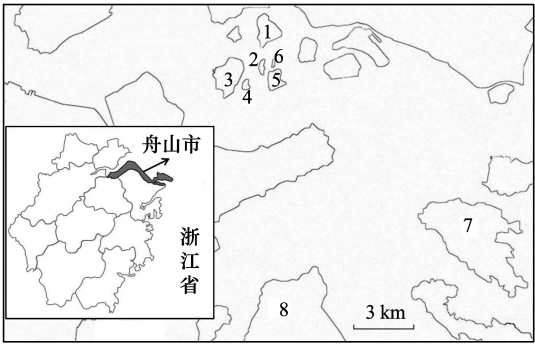


图 1 采样岛屿分布图

Fig.1 Map of the sampled islands

1.小盘峙岛(XPZ);2.刺山岛(CS);3.大猫岛(DM);4.小猫岛(XM);5.大摘箸山(DZRS);6.小摘箸山(XZRS);7.桃花岛(TH);8.六横岛(LH)

表 1 样本采集岛屿信息及黄毛鼠样本数

Table 1 Information of sampled islands and the sample size of *Rattus losea*

岛屿名称 Name of the islands	种群名称 Population name	地理坐标 Geographic coordinates		样本数 Sample size	岛屿面积 Island area/km ²
小盘峙岛	XPZ	N:29°58'52.04"	E:122°05'14.44"	38	3.78
刺山岛	CS	N:29°57'30.95"	E:122°04'15.47"	70	0.64
大猫岛	DM	N:29°57'13.05"	E:122°01'58.61"	36	6.92
小猫岛	XM	N:29°56'55.87"	E:122°53'28.47"	42	1.00
大摘箸山	DZRS	N:29°57'20.64"	E:122°04'46.54"	36	2.25
小摘箸山	XZRS	N:29°57'38.82"	E:122°04'52.74"	30	0.14
桃花岛	TH	N:29°46'	E:122°13'	38	40.37
六横岛	LH	N:29°40'40.04"	E:122°08'18.11"	40	93.66

1.3 数据分析

使用软件 Arlequin 3.11 计算种群间的遗传分化指数(F_{st}),并进行分子方差分析(AMOVA)^[22];运用 Mega 5.05 进行 DNA 序列的比对,计算单倍型的核苷酸中各碱基比例、发生突变的碱基位点,并绘制基于 Nei's 遗传距离的系统发育树^[23]。用 NETWORK 5.0.0.0 对 mtDNA D-loop 单倍型进行网络关系分析。使用 DNA SP 5.0 计算各种群的多态性位点数、单倍型的数目及其多样性、核苷酸多样性、平均核苷酸差异数,并进行 Tajima's D 中性检验(重复次数 1000)^[24]。利用 Mental 检验分析遗传距离与地理距离之间的关系^[25];使用 SPSS 20.0 对遗传多样性与岛屿面积的相关性进行分析,用 Origin Pro 8.0 制图。岛屿面积及岛屿间距离均进行了对数转换。

2 结果

2.1 遗传多样性

舟山群岛 8 个不同岛屿的黄毛鼠种群线粒体 D-loop 区单倍型和核苷酸多样性分析如表 2 所示。不同岛屿种群内 D-loop 区序列的单倍型多样性指数(H_d)范围为 0—0.6411,平均值为 0.3635(计算时考虑插入/缺失

位点),其中大摘箬山种群(DZRS)的单倍型多样性最高。种群内核苷酸多样性指数(P_i)范围为0—0.0024,平均值为0.0013。平均核苷酸差异数(K)在各岛屿种群内的范围为0—2.5563,平均值为0.9400。多态位点数为0—11个,单倍型数量为1—6个。 P_i 、 K 值最高的是小盘峙种群(XPZ),最低的是小猫种群(XM)和小摘箬山种群(XZRS)。根据以上结果来看,舟山群岛的黄毛鼠种群具有较低的遗传多样性。

表2 不同岛屿黄毛鼠种群的遗传多样性参数

Table 2 Genetic diversity parameters of *Rattus losea* populations in different islands

种群 Population	多态性位点数 Number of polymorphic sites (S)	单倍型数 Number of haplotypes (H)	单倍型多样性 Haplotype diversity (H_d)	核苷酸多样性 Nucleotide diversity (P_i)	平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences (K)	中性检验 Tajima's D
XPZ	8	3	0.3542	0.0024	2.5563	1.0037
CS	1	2	0.4347	0	0.4347	0
DM	2	3	0.4432	0	0.5796	0
XM	0	1	0	0	0	0
DZRS	8	4	0.6411	0.0011	1.6452	-0.7880
XZRS	0	1	0	0	0	0
LH	2	4	0.4500	0.0001	0.4976	0.4976
TH	11	6	0.5846	0.0016	1.8065	1.8065

2.2 线粒体 D-loop 区序列分析

对舟山群岛8个地理种群黄毛鼠的总DNA进行PCR扩增,产物进行测序,BLAST比对,获得330条特异性的线粒体D-loop基因片段。经Mega同源比对,去除部分端部序列,最终选取长度为815 bp的线粒体D-loop区序列进行遗传变异分析。在330条815 bp的D-loop基因片段共发现14个变异位点(表3),其中转换位点7个,颠换位点3个(A-C, A-T/C, T-A),未发现同时具有转换和颠换的位点,而插入/缺失位点4个,分别为:84,164,632,633位点,插入/缺失多样性为1.508,插入/缺失单倍型6个,插入/缺失单倍型多样性为0.718。330条mtDNA D-loop基因序列核苷酸碱基组成显示A, T, C, G含量分别为32.9%, 29.0%, 25.1%, 13.0%,其中G的含量显著低于其他碱基的含量,是mtDNA的一个显著特征^[26], A+T含量(61.9%)大于G+C(38.1%)的含量,符合哺乳动物A, T含量高, G, C含量低的特点^[27]。

表3 黄毛鼠种群D-loop序列基因的单倍型及变异位点

Table 3 D-loop gene haplotypes and variable loci of *Rattus losea* populations

单倍型 Haplotype	多态性位点 Polymorphic sites														基因库 Genbank
	9	4	8	8	9	0	6	6	7	0	6	3	3	9	
Hap_1	T	G	-	T	T	G	C	-	A	A	A	-	-	T	KY054815
Hap_2	.	.	-	.	.	.	.	-	.	.	.	C	-	.	KY054816
Hap_3	.	.	-	.	.	.	.	A	.	.	.	C	-	.	KY054817
Hap_4	C	A	-	.	C	A	T	G	.	T	.	C	-	.	KY054818
Hap_5	C	A	-	.	.	A	T	G	.	T	.	C	-	.	KY054819
Hap_6	C	A	-	.	.	A	T	G	.	T	.	-	-	.	KY054820
Hap_7	C	A	-	.	.	A	T	G	.	T	.	C	-	A	KY054821
Hap_8	C	A	-	.	.	A	T	G	.	T	.	-	-	A	KY054822
Hap_9	C	.	A	C	.	.	T	A	.	T	.	C	-	.	KY054823
Hap_10	.	.	-	.	.	.	.	A	.	.	G	C	-	.	KY054824
Hap_11	.	.	-	.	.	.	.	A	.	.	.	-	-	.	KY054825
Hap_12	.	.	-	.	.	.	.	-	.	.	.	C	C	.	KY054826
Hap_13	.	A	-	.	.	.	.	-	.	.	.	-	-	.	KY054827
Hap_14	C	A	-	.	.	A	T	G	.	C	.	-	-	.	KY054828
Hap_15	C	A	-	.	.	A	T	G	C	T	.	-	-	.	KY054829

垂直数字表示多态性位点的核苷酸位置,“-”表示缺失

8 个黄毛鼠种群 330 条 mtDNA D-loop 序列共检测出 15 个不同的单倍型,单倍型序列号为:KY054815—KY054829。其中 Hap 1 分布最为广泛,在 5 个种群中出现,六横岛种群(LH)有 6 个单倍型,其中 Hap 9、Hap 10、Hap 14、Hap 15 只在该种群样本中检测到。大猫岛种群(DM)与小猫岛种群(XM)共享 Hap 3;大摘箸山种群(DZRS)、桃花岛种群(TH)和六横岛种群(LH)共享 Hap 5,小摘箸山种群(XZRS)和刺山岛种群(CS)共享 Hap 2;Hap 4,Hap 7,Hap 8,Hap 9,Hap 10,Hap 11,Hap 12,Hap 13,Hap 14,Hap 15 为特有单倍型。单倍型 Hap 1,Hap 2,Hap 3,Hap 5,Hap 6 共享的个体数在 30 以上,为优势单倍型(表 4)。

表 4 D-loop 序列基因单倍型在黄毛鼠种群中的分布
Table 4 Distribution of D-loop haplotypes in *Rattus losea* populations

单倍型 D-loop haplotypes	种群 Population								总计 Total
	XZRS	DZRS	CS	XPZ	DM	XM	LH	TH	
Hap_1	27	3	53	33	3	—	—	—	119
Hap_2	—	17	24	—	—	—	—	—	41
Hap_3	—	—	—	—	24	40	—	—	64
Hap_4	—	—	—	8	—	—	—	—	8
Hap_5	—	3	—	—	—	—	10	23	36
Hap_6	—	—	—	—	—	—	30	8	38
Hap_7	—	—	—	—	—	—	1	—	1
Hap_8	—	—	—	—	—	—	1	—	1
Hap_9	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Hap_10	—	—	—	—	—	—	—	3	3
Hap_11	—	—	—	—	6	—	—	—	6
Hap_12	—	9	—	—	—	—	—	—	9
Hap_13	—	—	—	1	—	—	—	—	1
Hap_14	—	—	—	—	—	—	—	1	1
Hap_15	—	—	—	—	—	—	—	1	1

2.3 遗传分化分析

遗传分化指数(F_{st})是反映种群进化历史的重要参数,可以在一定程度上揭示种群间基因流和遗传漂变的程度,而基因流则可以反映出群体间可能存在基因渗透现象^[28]。由表 5 得知,黄毛鼠群体间的遗传分化指数范围是 0.100—0.9629,平均值为 0.7450;基因流的范围是 0.0096—2.2500,平均值为 0.4076。XM-LH 种群间的基因流最小,分化程度最高;XM-XZRS 种群间基因流最大,分化程度最低。

表 5 黄毛鼠种群间遗传分化系数 F_{st} (下三角)与基因流 Nm (上三角)

种群 Population	DZRS	XZRS	CS	XM	XPZ	DM	LH	TH
DZRS	—	0.2425	0.4200	0.1775	0.8595	0.3168	0.0463	0.1050
XZRS	0.5077	—	0.9094	2.2500	1.5501	0.0595	0.0124	0.0480
CS	0.3734	0.2156	—	0.0489	1.1478	0.1208	0.0190	0.0427
XM	0.5849	0.1000	0.8364	—	0.1931	0.8658	0.0096	0.0440
XPZ	0.2253	0.1389	0.1789	0.5643	—	0.3644	0.0987	0.1626
DM	0.4411	0.8079	0.6743	0.22401	0.4069	—	0.0218	0.0641
LH	0.8437	0.9526	0.9293	0.9629	0.7170	0.9197	—	1.2118
TH	0.7043	0.8385	0.8542	0.8502	0.6059	0.7958	0.1710	—

分子方差分析(AMOVA)结果显示,黄毛鼠不同种群间遗传变异的比列最大,为 74.50%,而种群内的遗传变异为 25.50%,说明黄毛鼠种群 D-loop 区序列的变异主要来源于种群间(表 6)。

表 6 黄毛鼠种群 D-loop 序列遗传变异的分子方差分析

Table 6 Analysis of molecular variance of mitochondrial D-loop gene among *Rattus losea* populations

变异来源 Source of variation	自由度 d.f.	总平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	方差比例 Percentage of variation
种群间 Among populations	7	381.743	1.3341	74.50
种群内 Within populations	322	147.069	0.4567	25.50
总变异 Total variation	329	528.812	1.7908	—

2.4 系统发生树

根据 330 只黄毛鼠样本的 mtDNA D-loop 序列计算遗传距离并构建 N-J 系统发生树(图 2)。结果显示 8 个黄毛鼠种群聚为 2 类, 刺山岛种群(CS)、大猫岛种群(DM)、小猫岛种群(XM)、小摘箬山种群(XZRS)、大摘箬山种群(DZRS)和小盘峙岛种群(XPZ)等 6 个岛屿的黄毛鼠种群聚为一支, 而六横岛种群(LH)和桃花岛种群(TH)2 个岛屿的黄毛鼠另聚为一支。

根据黄毛鼠 mtDNA D-loop 序列的 15 个单倍型, 构建 N-J 系统发生树(图 3)。结果显示 15 个单倍型明显分为 2 支, 上支含 8 个单倍型, 分布于 87 只黄毛鼠个体, 占总数的 26.36%, 下支含 7 个单倍型, 分布于 243 只黄毛鼠, 占总数的 73.64%。

用 NETWORK5.0.0.0 对舟山群岛 8 个黄毛鼠种群的 15 个 mtDNA D-loop 单倍型进行网络关系分析(图 4), 结果从缺失单倍型明显分隔成两支, 与 15 个 mtDNA D-loop 单倍型的系统发生树结果一致, 这说明舟山群岛 8 个黄毛鼠种群可能起源于两个母系。

2.5 相关性分析

通过 Mental 检验分析发现, 遗传分化指数与不同岛屿种群间的地理距离(取对数)之间存在显著正相关关系($r = 0.6077$, $P = 0.004$)(图 5)。单倍型多样性与岛屿面积(取对数)之间无显著相关性($r = 0.6255$, $P = 0.1840$)(图 6)。

3 讨论

3.1 遗传多样性

基于线粒体 DNA 的分析, 8 个岛屿的黄毛鼠种群单倍型和核苷酸多样性指数分别为 0.3635 和 0.0013, 显著低于同属其他啮齿动物。如丁雪梅等对云贵高原银星竹鼠(*Rhizomys pruinosus*)的遗传多样性研究结果显示, 种群的单倍型多样性和核苷酸多样性分别为 0.7120 和 0.0026^[29], 是黄毛鼠种群的两倍。青藏高原上的啮齿动物类群遗传分化更加明显, 单倍型多样性和核苷酸多样性均较高, 如中华姬鼠($H_d = 0.9890$, $P_i = 0.0368$)^[30]、青藏高原高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)($H_d = 0.9640$, $P_i = 0.0530$)^[31]。黄毛鼠种群较低的遗传多样性可能与它的生活习性、扩散迁移能力、生境的变化以及地理上的隔离密切相关^[30-33]。但岛屿种群主要是受

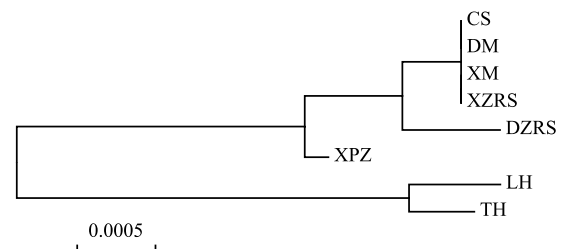


图 2 基于遗传距离构建的 N-J 系统发育树

Fig.2 N-J phylogenetic tree constructed by genetic distance

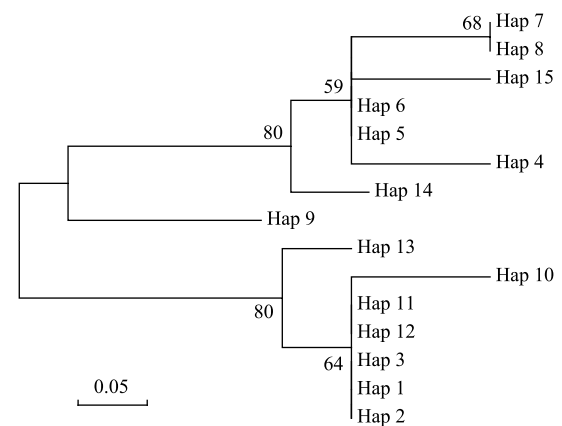


图 3 基于 15 个单倍型构建的 N-J 系统发生树

Fig.3 Phylogenetic tree of 15 haplotypes using the neighbor-joining (NJ)

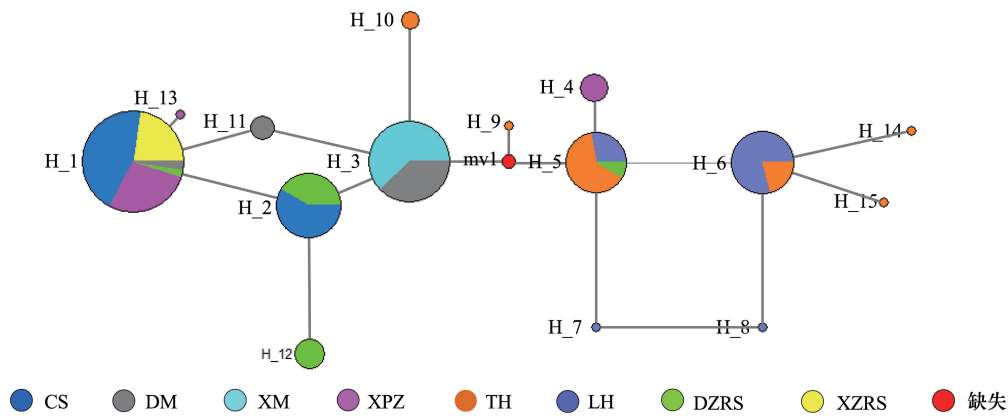


图4 mtDNA D-loop 区单倍型网络结构图

Fig.4 The haplotypes network of D-loop partial sequence

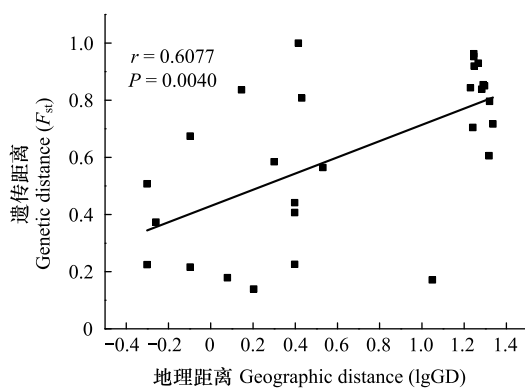


图5 黄毛鼠种群间遗传距离与岛屿间地理距离相关性

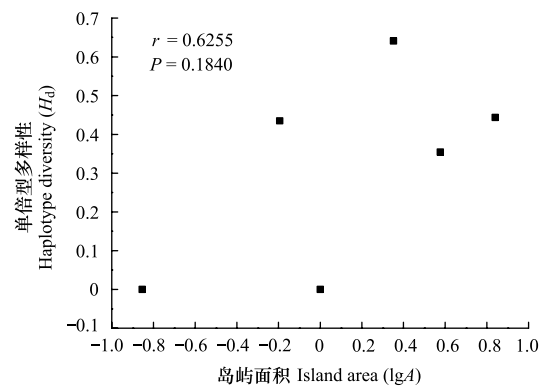
Fig.5 Relationships between genetic distances of *Rattus losea* populations and geographic distances

图6 黄毛鼠种群单倍型多样性与岛屿面积的相关性

Fig.6 Relationship between haplotype diversity of *Rattus losea* populations and island areas

地理隔离的影响,限制了各种群间的基因交流,从而出现显著的群体地理分化格局。同时本研究发现岛屿面积相近的三个种群中,刺山岛种群(CS)的遗传多样性高于小猫岛种群(XM)和小摘箬山种群(XZRS),推测这可能与种群的大小有关,低的遗传变异常常出现在小种群中^[34,35]。对其他物种的研究中也证实了这一点,如在红番砵碟贝(*Tridacna crocea*)的研究中表明,大的种群将比小的种群积累更多变异^[36]。用分子标记对野外小鼠研究时,发现遗传变异受到少量局部样本的限制^[37,38]。同样,使用不充分的样本进行种群研究,会对啮齿动物的种内遗传结构和系统发育关系的评估造成影响^[39,40]。因此,我们认为刺山岛种群(CS)的遗传多样性高于其他两个面积相近种群,可能受到种群大小的影响,刺山岛种群数量较大,故具有较高的遗传多样性。综上所述,地理隔离和种群大小对种群的遗传多样性有较大影响。

3.2 遗传结构

遗传分化指数是检测群体分化程度的重要指标^[41]。Wright 研究认为,若 $F_{st} < 0.05$,则表示种群间存在很小的遗传分化;若 $0.05 < F_{st} < 0.15$,表示种群间有中等程度的分化;若 $0.15 < F_{st} < 0.25$,表示种群间高度分化;若 $F_{st} > 0.25$,则表示种群间具有非常高的分化程度^[42]。本研究结果显示黄毛鼠种群间的遗传分化指数平均值为 0.7450,处于非常高的分化水平。基因流是种群遗传结构均质化的主要因素之一,具有较高水平基因流的种群间往往比具有有限基因流的种群间的遗传分化程度小^[43]。通常认为, $N_m < 1$ 时,表明群体间基因流的水平低,种群可能因为遗传漂变而发生了分化; $N_m > 4$ 时,则说明种群间存在着较强的基因流,起到匀质化作用,在相当程度上阻碍了种群间的遗传分化^[28]。Manel 等也指出岛屿地理隔离阻碍基因的交流^[44]。

本研究中,不同岛屿黄毛鼠种群间 N_m 大部分小于 1,4 个种群间的 N_m 大于 1,表明黄毛鼠地理种群间基因交流很弱,产生明显遗传分化。AMOVA 分析,结果显示黄毛鼠的遗传变异主要来自于种群间,也进一步表明种群间的基因交流并不频繁,遗传分化程度较高。这种遗传结构不仅与黄毛鼠有限的迁移扩散能力有关,也与岛屿生境有关。舟山群岛的岛屿生境属于片段化生境类型,阻碍了种群之间的交流。舟山群岛上的其他物种,如獐,也由于岛屿间的隔离产生较高的遗传分化^[41]。因此,隔离度对岛屿种群的遗传结构发挥着重要作用,岛屿间隔离度越大,种群间分化程度越高。

330 个黄毛鼠样本中 15 个 mtDNA D-loop 的单倍型序列构建系统发生树和网络关系结果表明,舟山群岛 8 个岛屿的黄毛鼠种群可能具有两个母系起源,地理距离较近的刺山岛、大猫岛、小猫岛、小摘箬山、大摘箬山和小盘峙岛 6 个岛屿的黄毛鼠种群为同一起源,而六横岛和桃花岛相距较近,其上的黄毛鼠种群起源于另一支母系,显示出种群间遗传分化和地理分布有明显的相关性。本研究对所有单倍型进行中性检验,当 Tajima's $D > 0$ 时,可以推断瓶颈效应和平衡选择;当 Tajima's $D < 0$ 时,可以推断群体规模放大和定向选择^[45]。本文结果中 Tajima's D 值除小盘峙岛种群外,均为负值,且差异极显著。说明遗传结构偏离中性假说,支持黄毛鼠种群受到自然选择作用,历史上发生过群体扩张事件。

3.3 岛屿间地理距离、面积大小与遗传变异的相关性分析

近年来,很多研究采用分子标记方法研究物种间遗传分化程度与地理距离之间的关系。有的认为二者间有显著相关性,即地理距离越大,遗传分化程度越高,也有结论得出它们之间的相关性并不十分明显。两者之间是否存在相关性与物种的活动能力和活动范围有关。如活动能力强的鸟类的遗传分化程度比活动能力弱的哺乳类和两栖类的低,因为它们所受到的隔离效应相对较小;而对小哺乳动物而言,即使种群间地理距离非常小,也可能会产生明显的遗传分化。Spiridonova 等对小家鼠种群进行研究分析,结果发现虽然地理距离较小,但种群间存在明显遗传分化^[46]。黄毛鼠的扩散能力相对较弱,因此更易受到地理隔离的影响,岛屿间的地理距离和种群间的遗传距离存在显著正相关关系,符合距离产生分化的理论模型,故种群间的交流受到了岛屿隔离限制。Manel 等也对岛屿环境下的种群基因流进行了分析,研究发现岛屿间地理的隔离是导致种群遗传高度分化的主要因素^[44]。而且栖息地的片段化或地理隔离规模越大,种群的遗传分化会越显著^[47]。

生境片段化后会产生“面积效应”,即适合物种生存的面积减小,导致种群的遗传多样性降低^[48,49]。特别是对于岛屿物种,岛屿面积越大,生境异质性越高,导致遗传漂变程度和资源竞争强度降低,因此岛屿面积与种群遗传多样性存在正相关关系^[50]。有大量研究证实了这一点,对千岛湖岛屿生境中的黑腹狼蛛 (*Lycosa coelestris*) 和社鼠种群的研究结果表明,岛屿面积与种群的遗传多样性之间都有显著相关性^[51,52]。而在本研究中,去除面积相差太大的六横岛种群 (LH) 和桃花岛种群 (TH) 外,其余 6 个岛屿的黄毛鼠种群遗传多样性与岛屿面积之间无显著相关性,但表现出面积大的岛屿遗传多样性较高的趋势,大猫岛面积最大,遗传多样性较高,小猫岛和小摘箬山岛面积较小遗传多样性最低。小面积岛屿上黄毛鼠种群面临外界的干扰相对强烈,适合个体生存的生境减小,种内竞争增强,种群处于不稳定状态,这可能是舟山岛屿环境下总体黄毛鼠种群遗传多样性较低的原因。

综上,本研究以岛屿生境作为研究平台,发现舟山群岛黄毛鼠种群具有较低的遗传多样性与较高的分化水平,且主要是受到了地理隔离的影响,地理隔离对种群变异发挥着重要作用。8 个岛屿种群主要分为两支,距离相近的优先聚为一支。遗传距离与地理距离之间存在显著正相关关系,也进一步证明了地理隔离对岛屿种群的遗传结构具有重要影响。今后还需对黄毛鼠岛屿种群与大陆种群进行比较,判断其是否符合岛屿法则,并从形态变异方面研究黄毛鼠种群的微进化。

参考文献 (References):

- [1] Mayr E. The challenge of island faunas. *Australian Natural History*, 1967, 15(12): 369-74.
- [2] Frankham R. Relationship of genetic variation to population size in wildlife. *Conservation Biology*, 1996, 10(6): 1500-1509.
- [3] Gibbs J P. Demography versus habitat fragmentation as determinants of genetic variation in wild populations. *Biological Conservation*, 2001, 100

- (1): 15-20.
- [4] 刘军, 鲍毅新, 张旭, 林杰君, 叶彬. 千岛湖社鼠种群遗传现状及与生境面积的关系. 生态学报, 2012, 32(3): 758-766.
- [5] Hurston H, Voith L, Bonanno J, et al. Effects of fragmentation on genetic diversity in island populations of the Aegean wall lizard *Podarcis erhardii* (Lacertidae, Reptilia). *Molecular Phylogenetics & Evolution*, 2009, 52(2): 395-405.
- [6] Forsdick N J, Cubrinovska I, Massaro M, Hale, M L. Genetic diversity and population differentiation within and between island populations of two sympatric *Petroica robins*, the Chatham Island black robin and tomtit. *Conservation Genetics*, 2017, 18(2): 275-285.
- [7] 王鸿楨, 刘本培. 地史学教程. 北京: 地质出版社, 1980: 120-211.
- [8] 王靖泰, 汪品先. 中国东部晚更新世以来海面升降与气候变化的关系. 地理学报, 1980, 35(4): 299-313.
- [9] 孙玉冰. 舟山群岛的植被覆盖度与景观格局的变化研究. 华东师范大学, 2010.
- [10] 董聿茂. 浙江动物志. 科学技术出版社, 1989.
- [11] 冯志勇, 姚丹丹, 黄立胜, 陈玉托, 邱俊荣. 黄毛鼠对第一代抗凝血灭鼠剂的抗药性监测. 植物保护学报, 2007, 34(4): 420-424.
- [12] 姚丹丹, 梁练, 胡杰, 戴广祥, 李玉莲, 李积成, 隋晶晶. 湛江地区黄毛鼠对溴敌隆的敏感性研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008(1): 1-3.
- [13] 鲍毅新, 丁平, 诸葛阳, 胡一中. 舟山岛黄毛鼠种群生态研究. 浙江师大学报(自然科学版), 1997(2): 60-65.
- [14] 郭志南, 苏成豪, 陈国伟, 郑智民. 黄毛鼠种群年龄划分的研究. 中华卫生杀虫药械, 2014, 20(4): 332-335.
- [15] 陈琴, 刘全生, 秦姣, 郭明昉, 王登, 施大钊. 黄毛鼠婚配制度初探: 熟悉性对两性间行为的影响. 四川动物, 2011, 30(6): 845-849.
- [16] Avise J C, Arnold J, Ball R M, Bermingham E, Lamb T, Neigel J E, Reeb C A, Saunders N C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematic. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1987, 18(1): 489-522.
- [17] Sbisà E, Tanzariello F, Reyes A, Pesole G, Saccone C. Mammalian mitochondrial D-loop region structure analysis: identification of new conserved sequences and their functional and evolutionary implications. *Gene*, 1997, 205(1-2): 125-140.
- [18] 周航, 国守华, 冯志高. 浙江海岛志. 高等教育出版社, 1998.
- [19] 高浩杰, 王国明, 郁庆君. 舟山市种子植物物种多样性及其分布特征. 植物科学学报, 2015, 33(1): 61-71.
- [20] 鲍毅新, 孙波, 张龙龙, 赵庆祥. 对动物组织 DNA 提取方法的改进及 PCR 检测. 浙江师范大学学报: 自然科学版, 2009, 32(3): 317-321.
- [21] Liu J, Liu D Y, Chen W, Li J L, Luo F, Li Q, Ling J X, Liu Y Y, Xiong H R, Ding X H, Hou W, Zhang Y, Li S Y, Wang J, Yang Z Q. Genetic analysis of hantaviruses and their rodent hosts in central-south China. *Virus Research*, 2012, 163(2): 439-447.
- [22] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): an integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2005, 1(4A): 47-50.
- [23] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [24] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [25] Jensen J L, Bohonak A J, Kelley S T. Isolation by distance, web service. *BMC Genetics*, 2005, 6(13): 1471-2156.
- [26] 樊乃昌, 施银柱. 中国鼯鼠(*Eospalax*)亚属分类研究. 兽类学报, 1982, 2(2): 183-196.
- [27] 杨路存, 陈桂琛, 刘荣堂, 聂学敏. 3种鼯鼠线粒体 DNA 控制区结构及其系统发育分析. 草业科学, 2009, 26(02): 100-106.
- [28] 苏军虎, 南志标, 张红艳, Ji Weihong. 基于线粒体 COI 序列变异的高原鼯鼠种群遗传分化研究. 生态学报, 2017(17): 1-9.
- [29] 丁雪梅, 颜岳辉, 刘潮, 王海波, 唐利洲. 云贵高原银星竹鼠的遗传多样性与遗传结构研究. 四川动物, 2017, 36(06): 657-662.
- [30] Fan Z, Liu S, Liu Y, Liao L, Zhang X, Yue B. Phylogeography of the south China field mouse (*Apodemus draco*) on the southeastern Tibetan Plateau reveals high genetic diversity and glacial refugia. *The Public Library of Science One*, 2012, 7(5): e38184.
- [31] Tang L Z, Wang L Y, Cai Z Y, Zhang T Z, Ci H X, Lin G H, Su J P, Liu J Q. Allopatric divergence and phylogeographic structure of the plateau zokor (*Eospalax baileyi*), a fossorial rodent endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau. *Biogeography*, 2010, 37(4): 657-668.
- [32] Liu Q, Chen P, He K, Kilpatrick C W, Liu S Y, Yu F H, Jiang X L. Phylogeographic study of *Apodemus ilex* (Rodentia: Muridae) in southwest China. *The Public Library of Science One*, 2012, 7(2): e31453.
- [33] 蔡振媛, 张毓, 都玉蓉, 苏建平, 张同作. 基于线粒体控制区的序列变异分析青海东部甘肃鼯鼠遗传多样性. 动物学杂志, 2015, 50(03): 337-351.
- [34] Launey S, Hedgecock D. High genetic load in the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Genetics*, 2001, 159(1): 255-265.
- [35] Hedgecock D, Li G, Hubert S, Hubert S, Bucklin K, Ribes V. Widespread null alleles and poor cross-species amplification of microsatellite DNA loci cloned from the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Journal of Shellfish Research*, 2004, 23(2): 379-386.
- [36] Hui M, Nuryanto A, Kochzius M. Concordance of microsatellite and mitochondrial DNA markers in detecting genetic population structure in the boring giant clam *Tridacna crocea* across the Indo-Malay Archipelago. *Marine Ecology*, 2017, 38(1): e12389.

- [37] Suzuki H, Filipucci M G, Chelomina G N, Sato J J, Serizawa K, Nevo E. A biogeographic view of *Apodemus* in Asia and Europe inferred from nuclear and mitochondrial gene sequences, *Biochemical Genetics*, 2008, 46(5-6): 329-346.
- [38] Sakka H, Quere J P, Kartavtseva I, Pavlenko M, Chelomina G, Atopkin D, Bogdanov A, Michaux J. Comparative phylogeography of four *Apodemus* species (Mammalia; Rodentia) in the Asian Far East: evidence of Quaternary climatic changes in their genetic structure. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2010, 100(4): 797-821.
- [39] Abramson N I. Phylogeography: results, problems, and prospects. *Vestnik Vavilov Obshch Genet Selektiv*, 2007, 11(2): 307-331.
- [40] Abramson N I. Analysis of phylogeographic hypotheses: a case study of lemmings and voles, in *Sistematika, filogeniyai, paleontologiya, melkikh mlekopitayushchikh* (Systematics, Phylogeny, and Paleontology of Small Mammals), St. Petersburg, 2003: 1-13.
- [41] 林杰君, 鲍毅新, 刘军, 王艳妮, 张旭. 舟山群岛四个养殖獐种群遗传多样性和遗传结构. *生态学报*, 2013, 33(11): 3460-3469.
- [42] Wright S. Variability within and among natural populations. University of Chicago Press, 1978: 439-459.
- [43] Millar C I, Libby W J. Strategies for conserving clinal, ecotypic and disjunct Population diversity in wide spread species. *Genetics and Conservation of Rare Plants*. Oxford University Press, New York, 1991: 149-170.
- [44] Manel S, Schwartz M K, Luikart G, Taberlet P. Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution*, 2003, 18(4): 189-197.
- [45] Tajima F. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 1989, 123(3): 585-595.
- [46] Spiridonova L N, chelomina G N, Moriwaki K, Yonekawa H, Bogdanov A S. Genetic and taxonomic diversity of the house mouse *Mus musculus* from the Asian part of the former soviet Union. *Russian Journal of Genetics*, 2004, 40(10): 1134-1143.
- [47] O'Donnell C F, Richter S, Dool S, Monks J M, Kerth G. Genetic diversity is maintained in the endangered New Zealand long-tailed bat (*Chalinolobus tuberculatus*) despite a closed social structure and regular population crashes. *Conservation Genetics*, 2016, 17(1): 91-102.
- [48] Hurston H, Voith L, Bonanno J, Foufopoulos J, Pafilis P, Valakos E, Anthony N. Effects of fragmentation on genetic diversity in island populations of the Aegean wall lizard *Podarcis erhardii* (Lacertidae, Reptilia). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, 52(2): 395-405.
- [49] Zhang X, Shi M M, Shen D W, Chen X Y. Habitat loss other than fragmentation per se decreased nuclear and chloroplast genetic diversity in a monoecious tree. *The Public Library of Science One*, 2012, 7(6): e39146.
- [50] Vellend M. Island biogeography of genes and species. *The American Naturalist*, 2003, 162(3): 358-365.
- [51] 罗媛媛, 刘金亮, 黄杰灵, 白梅竹. 千岛湖陆桥岛屿上黑腹狼蛛 (*Lycosa coelestris*) 遗传多样性及其受生境片段化的影响. *科学通报*, 2014, 59(19): 1851-1860.
- [52] 孙波. 千岛湖陆桥岛屿社鼠种群遗传多样性和遗传结构研究. 浙江师范大学, 2009.