DOI: 10.20103/j.stxb.202310022127

冯丹丹,张雪,杨采青,李晶,张爱兵.绿带闭目天蛾和构月天蛾在海南岛及周边大陆的遗传分化.生态学报,2024,44(11):4904-4913. Feng D D, Zhang X, Yang C Q, Li J, Zhang A B. Genetic differentiation of *Callambulyx rubricosa* and *Parum colligata* in Hainan Island and the surrounding mainland.Acta Ecologica Sinica, 2024, 44(11):4904-4913.

绿带闭目天蛾和构月天蛾在海南岛及周边大陆的遗传 分化

冯丹丹,张 雪,杨采青,李 晶,张爱兵*

首都师范大学生命科学学院,北京 100048

摘要:海南岛是与周边大陆存在地理隔离的大陆性岛屿,探索该岛屿与邻近大陆上生物的遗传分化有助于理解地理隔离对生物 遗传分化的影响。在海南岛及其周边大陆 15 个地点采集两种鳞翅目天蛾科(Lepidoptera: Sphingidae)昆虫(绿带闭目天蛾 *Callambulyx rubricosa* 88 头和构月天蛾 *Parum colligata* 57 头),选择线粒体基因 COI、*Cytb* 和核基因 *EF*-1α 作为分子标记开展遗 传多样性研究。基于 COI-*Cytb* 分析的结果表明,两物种的核苷酸多样性均较低(分别为 0.00434 和 0.00818),且均在广东广西、越南和海南岛群体之间存在明显的谱系地理结构。两个物种在三个群体间均检测出低水平的基因流(*N_m*分别为0.09—1.22 和 0.18—0.57)和高水平的遗传分化(*F_{sr}*分别为 0.29—0.84 和 0.47—0.73)。两个物种最高的遗传分化都发生在海南岛与大陆群 体之间,且海南岛群体的单倍型数量少于周边大陆群体。Mantel 检验结果表明遗传距离与地理距离之间存在显著正相关关系,中性检验结果表明两个物种均未经历显著的种群扩张。综上,研究认为绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)的海南岛群体与邻近大陆群体间的基因交流较少,遗传分化程度较高,推测地理隔离可能是其产生遗传分化的重要原因之一,这一结果将为海南岛生物多样性的保护提供宝贵的建议。

关键词:海南岛;绿带闭目天蛾;构月天蛾;线粒体基因;遗传多样性;遗传分化

Genetic differentiation of *Callambulyx rubricosa* and *Parum colligata* in Hainan Island and the surrounding mainland

FENG Dandan, ZHANG Xue, YANG Caiqing, LI Jing, ZHANG Aibing * College of Life Sciences, Capital Normal University, Beijing 100048, China

Abstract: As a continental island, Hainan Island is geographically isolated from the surrounding mainland. Exploring the genetic differentiation of insects among this island and the surrounding mainland will help us to further understand the effects of geographical isolation on genetic diversity. In this study, samples of two moth species (Lepidoptera: Sphingidae) were collected from 15 locations in the Hainan Island and the surrounding mainland, including 88 samples of *Callambulyx rubricosa* and 57 of *Parum colligata*. Two mitochondrial genes COI, *Cytb* and one nuclear gene *EF*- 1 α were selected as molecular makers to proceed following genetic diversity and differentiation analyses. The results based on the COI-*Cytb* analyses showed that the nucleotide diversity of the *C. rubricosa* and *P. colligata* was 0.00434 and 0.00818, respectively. There were obvious phylogeographic structures among the populations in Guangdong-Guangxi, Vietnam, and Hainan Island. Both species showed weak gene flow (N_m were 0.09—1.22 and 0.18—0.57, respectively) and distinct genetic differentiation (F_{st} were 0.29—0.84 and 0.47—0.73, respectively) between these three populations. The highest genetic

基金项目:国家自然科学基金项目(32170421,32200343);北京市自然科学基金项目(5232001);"十四五"北京市属高校高水平科研创新团队支 持计划(BPHR20220114)

收稿日期:2023-10-02; 网络出版日期:2024-03-14

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: zhangab2008@ cnu.edu.cn

http://www.ecologica.cn

differentiation was detected between Hainan Island and the mainland populations. Meanwhile, the number of haplotypes in Hainan Island population was less than that of the surrounding mainland populations. Moreover, Mantel tests indicated that there were significantly positive correlations between genetic distance and geographic distance, and neutrality tests suggested that neither species has undergone significantly population expansion. In conclusion, our results implied that there were flaccid gene flows and distinct genetic differentiation of *C. rubricosa* and *P. colligata* between Hainan Island population and the surrounding mainland populations. The geographic isolation could be one of the important reasons for these noticeable differentiation, which might provide valuable advice for the biodiversity conservation in Hainan Island.

Key Words: Hainan Island; Callambulyx rubricosa; Parum colligata; mitochondrial genes; genetic diversity; genetic differentiation

海南岛地处我国大陆最南端,总面积 3.4 万 km²,岛内地形复杂多样,以海拔接近 1800 m 的五指山和鹦 哥岭为核心,自中部偏南地区隆起,以山地、丘陵、台地、平原逐级向外围下降,形成中间高耸,四周低平的环形 圈层地貌^[1]。海南岛具有典型的热带海洋性气候,年降水量分布不均(1000—2400 mm 之间)。由于其独特 的地理位置、优良的气候条件和多样化的生境,海南岛上保留了丰富的生物多样性资源,是全球生物多样性热 点地区之一^[2-3]。此外,海南岛边界清晰,相比于邻近大陆,其物种迁移率相对较低,物种数目相对稳定,是研 究种群间和种群内遗传多样性以及由距离和地形造成的隔离效应等问题的良好模型^[4],同时也是研究物种 扩散、生物多样性、群体遗传学以及谱系地理学的理想对象^[5-7]。

大陆性岛屿通常接近沿海陆地,因此一些生物类群在岛屿和大陆之间常常会出现较为频繁的基因流,从 而阻碍物种产生遗传分化^[8-10]。然而,也有一些研究发现,由于岛屿周围存在天然的水屏障,在岛屿和大陆 种群之间或岛屿种群之间并不能观察到基因流动或仅有有限的基因流存在,这促使岛屿种群和大陆种群之间 产生明显的遗传分化^[11-12]。如 Wang 等^[13]对中国舟山及周边大陆的 810 只黑斑侧褶蛙(Pelophylax nigromaculatus)的微卫星数据进行分析,发现由于地理阻隔的存在,在岛屿之间,以及岛屿与大陆之间未检测 到基因流,种群之间已出现显著的遗传分化。类似的结果在其他岛屿动物中同样被发现,例如宽额鳢 (Channa gachua)^[14]、黑腹狼蛛(Lycosa coelestris)^[15]和橘小实蝇(Bactrocera dorsalis)^[16]等。但对于飞行扩散 能力较强的昆虫,如鳞翅目天蛾科(Lepidoptera: Sphingidae)昆虫,在岛屿之间、以及岛屿与邻近大陆之间是否 也存在由于地理隔离而导致的种群遗传分化,目前尚未有研究报道。

绿带闭目天蛾(*Callambulyx rubricosa*)和构月天蛾(*Parum colligata*)为鳞翅目天蛾科(Lepidoptera: Sphingidae)昆虫,它们寄主植物分布广泛,且多为高大乔木,在中国、印度、越南、泰国等地均有分布^[17]。不同于其他鳞翅目蛾类,天蛾科昆虫具有粗壮纺锤形的身体和狭长的前翅,因此具有快速且持久飞行的能力^[18]。它们对环境变化反应迅速,常被作为环境变化的指示物种^[19],同时也是评估生物多样性的热点类群^[20]。此外,天蛾科昆虫相比于其他鳞翅目类群体型较大,分类系统相对明确,长期以来都是群体遗传学及谱系地理学研究的模式类群^[21-22],然而目前对该类群的研究主要集中在系统发育关系构建^[23]、形态学特征描述^[24]、适生区的鉴定^[25]以及生物多样性^[26]等方面,对于种群遗传分化的研究相对较少。

本研究在海南岛及周边大陆地区采集绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)成虫样本,选择2个线粒体基因(COI和 Cytb)和1个核基因(EF-1a)作为分子标记,对不同地理种群开展遗传多样性、遗传分化、基因流和中性检验等分析,探讨在天然地理隔离的情况下,鳞翅目天蛾科昆虫遗传多样性受岛屿地理分布的影响,从而为海南岛生物多样性的保护提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)样本采集于 2015—2018 年间,在每年的 4—7 月份

选择植被丰富的样地搭建诱捕架,并于每晚19:00 至凌晨 3:00 灯诱成虫。将收集到的样本带回实验室后置 于-20℃冰箱中保存备用。具体 15 个采样点信息如下表 1。

区域	采样点	经度(E)	纬度(N)
Region	Sampling sites	Longitude	Latitude
海南省	乐东市黎族自治县尖峰岭国家森林公园	108.80°	18.70°
海南省	昌江黎族自治县霸王岭国家级自然保护区	109.09°	19.07°
海南省	五指山市五指山国家级自然保护区	109.67°	18.90°
海南省	陵水黎族自治县吊罗山国家级自然保护区	109.90°	18.67°
海南省	三沙市白沙县鹦哥岭罗帅村	109.55°	19.10°
广东省	韶关市车八岭自然保护区	114.26°	24.72°
广东省	云浮市郁南县同乐大山省级自然保护区	111.39°	23.20°
广西壮族自治区	防城港市上思县十万大山自然保护区	107.91°	21.91°
广西壮族自治区	南宁市良凤江国家森林公园	108.28°	22.72°
广西壮族自治区	崇左市弄岗国家级自然保护区	106.96°	22.47°
广西壮族自治区	河池市环江毛南族自治县九万山国家级自然保护区	108.63°	25.31°
贵州省	茂兰国家级自然保护区	107.76°	25.32°
Thanh Hoa 省	越南 Xuan Lien 国家公园	105.30°	19.88°
Nghe An 省	越南 Pu Mat 国家公园	104.86°	19.06°
Ninh Binh 省	越南 Cuc Phuong 国家公园	105.61°	20.32°

Table 1 The detailed information of 15 sampling sites

1.2 扩增测序

基于形态学特征对收集到的成虫样本进行物种鉴定后,选取绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾 (*P. colligata*)的腿部组织,低温条件下充分研磨,并使用天根(Tiangen)组织 DNA 提取试剂盒对样本进行全 基因组 DNA 的提取。使用微量分光光度计检测 DNA 的浓度与质量,并用 1%的琼脂糖凝胶电泳来检测 DNA 的完整性。提取成功之后对两个线粒体基因 COI、*Cytb*,和一个核基因 *EF*-1 α 进行 PCR 扩增。扩增引物序列 分别参考 Folmer 等^[27]、自行设计(Aa-F: 5'-GATCMYTAATTGATTTACC-3'; Aa-R: 5'-GGTGTTACTAATGG ATTAGCTGG-3')以及 Rubinoff 等^[28];扩增体系选择 25 µL PCR 反应体系:双端引物各 1 µL,2×Taq mix 12.5 µL,DNA 1 µL,ddH₂O 9.5 µL。扩增程序为预变性 94℃ 5 min,变性 94℃ 30 s,三个分子标记的退火温度 分别为 52℃、55℃和 60℃,并设置 30 s,延伸 72℃ 30 s,共 36 个循环,最后再延伸 72℃,10 min。反应结束后, 取 5 µL PCR 产物通过 1%的琼脂糖凝胶电泳检测,以 D2000 Marker 作为 DNA 分子量标准。观察胶图中是 否为单一条带,确认之后将 PCR 产物送至美吉生物公司进行测序。

1.3 序列处理

为保证数据准确性,对测序数据进行手工校正,对于质量不好的样本序列,重新进行测序或对该样本重新进行 PCR 扩增后再次测序。利用 DNASTAR (http://www.dnastar.com/)软件包中的 SeqMan 程序,将序列前后约 30 个碱基剪切掉,并将同一样本的正反向序列进行拼接,拼接准确率达 100%后得到完整序列。使用 MAFFT^[29]软件进行多重序列比对,导入 MAGE 6^[30]中进一步人工校对。将 COI 基因比对到 BOLD v4 (Barcode of Life Data System, v4)数据库,进一步开展分子水平物种鉴定。待确认后,再把 COI 和 *Cytb* 两个基因的序列串联合并,用于后续联合分析。

1.4 遗传多样性分析

使用 DnaSP 5.0^[31]检测线粒体基因 COI-*Cytb* 和核基因 *EF*-1α 的遗传多样性,计算绿带闭目天蛾和构月 天蛾在不同基因上的多态性位点数(No. of polymorphic sites)、核苷酸多样性(Nucleotide Diversity)、单倍型数 (No. of haplotypes) 以及单倍型多样性(Haplotype Diversity)等指标。利用 PopArt v1.7 软件(http://popart.

otago.ac.nz)构建单倍型网络图,并在 MAGE $6^{[30]}$ 中基于单倍型数据构建邻接法(Neighbor-Joining)的系统发育树。

1.5 遗传分化和基因流

为了进行遗传分化研究,对不同谱系分组之后,在 Arlequin 3.5.1.2^[32]软件中,利用各单倍型间的 K2P 遗 传距离量化地理区域间的遗传分化,通过分子方差分析(AMOVA)来判断遗传差异的主要来源,并通过计算种群 间遗传分化系数(*F_{sT}*)和基因流(*N_m*)来判断分化的程度。为进一步推断是否距离隔离促使各群体之间产生了 分化,利用 R 中的 vegan 包^[33]执行 Mantel 检验以分析遗传距离(*F_{sT}*/1-*F_{sT}*)和地理距离(km)之间的关系。 **1.6** 中性检验

为了推断两物种的历史种群动态,采用 Arlequin 3.5.1.2^[32]软件对两种天蛾进行了中性检验,计算 Tajima' s *D* 和 Fu's *Fs* 两个参数,自展值设置为 1000。

2 结果与分析

2.1 遗传多样性

本研究在 15 个采样点共采集天蛾样本 145 头,通过形态学和 DNA 条形码进行物种鉴定,包括在 9 个样 点采集的绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)88 头,在 14 个样点采集的构月天蛾(*P. colligata*)57 头。对这些样本的 COI、*Cytb* 和 *EF*-1α 基因进行了 PCR 扩增和测序,并将 COI 和 *Cytb* 基因串联合并后进行联合分析。若在某个 体中仅扩增出单个线粒体基因,则该基因仅用来进行物种鉴定,不做遗传多样性分析。最终,在绿带闭目天蛾 中扩增出 88 条 COI-*Cytb* 基因和 81 条 *EF*-1α 基因。在构月天蛾中扩增出 52 条 COI-*Cytb* 基因和 42 条 *EF*-1α 基因(表 2)。

通过计算多态性位点数、核苷酸多样性、单倍型数和单倍型多样性等多个指标来分析两种天蛾的遗传多 样性。结果表明,核基因数据集中多态性位点数和单倍型数均小于基于线粒体基因数据集分析的结果,如在 构月天蛾(P. colligata)中,基于线粒体基因数据集的结果显示共包含 54 个多态性位点和 37 个单倍型,而核 基因的结果中仅有 6 个多态性位点和 8 个单倍型。在使用线粒体基因数据集分析的结果中,构月天蛾 (P. colligata)的核苷酸多样性和单倍型多样性(分别为 0.00818±0.00034 和 0.985±0.007)高于绿带闭目天蛾 (C. rubricosa)。但核基因(EF-1α)的结果与线粒体基因的结果不同,绿带闭目天蛾(C. rubricosa)的核苷酸多 样性(0.00147±0.00021)和单倍型多样性(0.680±0.042)高于构月天蛾(P. colligata)。整体来看,两种天蛾都 具有较低的核苷酸多样性和较高的单倍型多样性(表 2)。

Table 2 Genetic diversity of C. Tableosa and T. comgana									
数据集 Datasets	样本数量 Sampling size	序列长度 Sequence length/bp	多态性位点数 No. of polymorphic sites	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	单倍型数 No. of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity			
			绿带闭目天蛾(C.r	ubricosa)					
COI-Cytb	88	1381	34	0.00434 ± 0.00014	39	0.944±0.015			
<i>EF</i> -1α	81	757	757 14		16	0.680 ± 0.042			
			构月天蛾(P. coll	ligata)					
COI-Cytb	52	1381	54	0.00818 ± 0.00034	37	0.985 ± 0.007			
$EF-1\alpha$	42	757	6	0.00093 ± 0.00017	8	0.551±0.078			

12 4	※市内日人取(し.	Tuoncosa)和构力入戰(F.	conigana)的应该多件注
	Table 2 Geneti	c diversity of C rubricosa	and P colligata

基于线粒体基因构建的单倍型网络图和系统发育树的结果表明,绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾 (P. colligata)含有类似的谱系地理结构,可以分为越南群体(红色)、两广群体(广东广西,黄绿色)和海南岛 群体(紫色)。然而,在核基因数据分析结果中未检测到明显的谱系地理结构(图1,图2)。基于线粒体基因 数据集构建的绿带闭目天蛾(C. rubricosa)单倍型网络图中,越南、两广和海南岛群体的单倍型数量分别为 15 个、16 个和 9 个,其中仅 1 个单倍型(H_9)为越南和两广群体的共享单倍型,其余均为各群体独享单倍型; 构月天蛾(P. colligata)的三个群体分别含有 13 个、12 个和 12 个单倍型,且均为独享单倍型。基于核基因数 据集的分析结果表明,绿带闭目天蛾(C. rubricosa)越南、两广和海南岛三个群体分别含有 9 个、6 个和 5 个单 倍型,海南岛群体具有最少的单倍型数量;构月天蛾(P. colligata)的三个群体分别含有 5 个、3 个和 4 个单倍 型,来自三个群体的 27 个个体共享单倍型 H_1,9 个个体共享单倍型 H_9(图 1)。



图 1 基于不同数据集构建绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)的单倍型网络图 Fig.1 Construction of haplotype networks for C. rubricosa and P. colligata based on different datasets

两广代表广东广西,每一个圆代表一个单倍型,圆的颜色代表不同的群体,H_1一H_39代表单倍型的类型,每条竖线代表突变的数量

2.2 遗传分化和基因流

分子方差分析(AMOVA)结果表明绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)的遗传变异来源 基本一致。根据线粒体基因集(COI-*Cytb*)的分析结果,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*) 的遗传变异均主要来自种群间,分别占总变异的71.73%和61.33%。种群间表现出强烈的遗传分化,*F_{st}*分别 为0.717和0.613。然而核基因集(*EF*-1α)的结果与线粒体基因集的结果并不一致,核基因集的结果表明两 物种的遗传变异主要来自于种群内,且种群内的变异分别占总变异的95.98%和91.13%,各种群间的遗传分 化程度较低,*F_{st}*分别为0.040和0.087(表3)。

本研究进一步分析了绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)的遗传分化程度和基因流水 平,结果表明这两个物种的遗传分化具有一致性。线粒体数据集 COI-*Cytb* 的结果显示绿带闭目天蛾 (*C. rubricosa*)各群体之间存在很高的遗传分化(F_{sr} = 0.29—0.84),且基因交流水平较低(N_m =0.09—1.22)。

构月天蛾 P. colligata





红色、黄绿色和紫色分别代表越南、两广和海南岛群体中的单倍型,黑色代表共享单倍型

构月天蛾(*P. colligata*)的不同群体之间,也检测到较高的遗传分化(F_{sr} = 0.47—0.73)以及缺乏基因交流 (N_m =0.18—0.57)的情况。此外,本研究还发现绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)在两广群体和海南岛群体之间的 遗传分化程度最高(0.84),而构月天蛾(*P. colligata*)在越南群体和海南岛群体之间的遗传分化程度最高 (0.73),且群体间遗传分化都达到极显著性差异(P<0.001)。但是核基因数据集检测的结果与线粒体基因数 据集结果不同,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)各自的三个不同种群间 F_{sr} 值均小于 0.15,说明种群间没有明显分化,且绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)的两广、越南、海南岛三个种群间的 N_m 均大于 4,说明基因交流非常频繁(表4)。

Table 3 AMOVA analysis of C. rubricosa and P. colligata							
物种 Species	数据集 Datasets	变异来源 Source of variation	df	平方和 Sum of squares	变异组成 Variance components	变异百分比 Percentage of variation/%	遗传分化指数 Genetic differentiation index F _{ST}
绿带闭目天蛾	COI-Cytb	种群间	2	165.068	2.847	71.73	0.717 **
(C. rubricosa)		种群内	85	95.410	1.122	28.27	
		总体	87	260.477	3.970		
	$EF-1\alpha$	种群间	2	2.265	0.023	4.02	0.040 *
		种群内	78	42.142	0.540	95.98	
		总体	80	44.407	0.563		
构月天蛾(P. colligata)	COI-Cytb	种群间	2	152.948	4.376	61.33	0.613 **
		种群内	49	135.187	2.759	38.67	
		总体	51	288.135	7.135		
	$EF-1\alpha$	种群间	2	1.544	0.032	8.87	0.087
		种群内	39	12.837	0.329	91.13	
		总体	41	14.381	0.361		

表 3 绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)的分子方差分析

* * * 、* * 和 * 分别代表 P 值在 0.001、0.01 和 0.05 的水平下显著

表4 绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)的遗传分化系数(对角线以下)与基因流(对角线以上)

Table 4 Genetic differentiations (below diagonal) and gene flows (above diagonal) of C. rubricosa and P. colligata

绿带闭目天蛾(C. rubricosa)				构月天蛾(P. colligata)			
COI-Cytb	两广	越南	海南岛	COI-Cytb	两广	越南	海南岛
两广		1.22	0.09	两广		0.57	0.45
越南	0.29 ***		0.17	越南	0.47 ***		0.18
海南岛	0.84 ***	0.74 ***		海南岛	0.53 ***	0.73 ***	
$EF-1\alpha$	两广	越南	海南岛	<i>EF</i> -1α	两广	越南	海南岛
两广		8.03	14.45	两广		æ	3.32
越南	0.06		17.36	越南	-0.03		3.32
海南岛	0.03	0.03		海南岛	-0.03	-0.03	

两广:广东和广西

基于线粒体基因数据集的结果表明,两个物种在各群体之间均存在强烈且显著的遗传分化,因此,本研究 以采样点为单位,通过 Mantel 检验进一步分析了遗传分化和地理距离之间的关系。结果显示,两个物种在遗 传分化和地理距离之间均存在显著正相关关系:其中绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)中遗传距离和地理距离之间 的相关系数 *r*=0.663,*P*<0.05,构月天蛾(*P. colligata*)中遗传距离和地理距离之间的相关系数 *r*=0.366,*P*< 0.05。该结果说明地理距离是造成各群体之间产生遗传分化的原因之一(图 3)。

2.3 中性检验

分别用线粒体基因 COI-*Cytb* 和核基因 *EF*-1α 两种分子标记对绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)进行中性检验分析,结果如表 5 所示,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)的 Tajima's *D*和 Fu's Fs 均为负值,说明发生过一定程度的种群扩张,但是只有绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)在用 核基因分析的结果中达到显著水平(P<0.05)(表 5)。





3 讨论

3.1 线粒体基因数据集与核基因数据集中种群遗传分析结果的不一致性

昆虫线粒体基因具有进化速度较快和母系遗传等特点,是进行物种鉴定和种群遗传学研究常用的分子标记^[34];而核基因尽管进化速度较慢,但由于其位点数目多,双亲遗传,可以更加真实准确的反映昆虫的进化情况^[35],因此线粒体基因和核基因都是种群遗传学和生物地理学研究中常用的分子标记^[36]。本研究分别采用线粒体基因(COI-Cytb)和核基因(EF-1α)两种数据集来分析两个天蛾物种在海南岛和周边大陆的遗传分化,结果发现两种数据集的计算结果并不一致,如线粒体基因的核苷酸多样性高于核基因,这可能是由于线粒体基因变异水平较高,检测到更多的多态性位点,进而导致了结果的差异。Zhang等^[37]对两个近缘的*Coptolabrus* 属昆虫研究也发现,相比于核基因 *PepCK*和 *Wg*,线粒体基因 COI 可以检测到更多的变异位点以及更多的单倍型。但是也存在特殊情况,比如西花蓟马(*Frankliniella occidentalis*)中使用 COI 基因鉴定到的单倍型数量就少于核基因 ITS2^[38]。

Table 5 Neutraliey tests results of C. rubricosa and P. colligata							
lk/m Ich	粉把住	松子松目	中性检验 Neutrality test				
初型 Species	致据集 Datasets	件平剱重 Sample size	Tajim	a's D	Fu's Fs		
		Sample size	D	Р	Fs	Р	
绿带闭目天蛾(C. rubricosa)	COI-Cytb	88	-0.346	0.430	-19.812	0.000 ***	
	$EF-1\alpha$	81	-1.707	0.018 **	-12.068	0.000 ***	
构月天蛾(P. colligata)	COI-Cytb	52	-0.188	0.486	-15.442	0.000 ***	
	$EF-1\alpha$	42	-1.312	0.103	-4.906	0.002 ***	

表 5 绿带闭目天蛾(C. rubricosa)和构月天蛾(P. colligata)的中性检验结果

本研究中,基于线粒体基因计算得到的单倍型网络、分子方差分析和遗传分化等结果都表明,绿带闭目天 蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)在三个群体之间存在谱系地理结构,并且各群体之间存在遗传分 化。然而核基因的结果却未检测到明显的遗传分化,推测这与线粒体基因较快的进化速度有关。除此之外, 这可能也是使用少数几个分子标记进行分析的缺陷性。近年来,随着测序技术的快速发展以及测序价格的大 幅度降低,使得在全基因组水平上进行种群遗传学研究成为可能,这种不一致的现象也有望通过增加基因集 的方法得到大幅度改善。

3.2 两种天蛾的遗传多样性和分化水平

在群体遗传学中,遗传多样性是表征物种适应能力以及进化潜力的重要参数,而核苷酸多样性和单倍型 多样性是衡量遗传多样性的重要标准^[39-40]。通常来说,单倍型多样性高的群体常常也表现为核苷酸多样性

高等特点,但本文中却表现出不一致的情况,即绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)均表现 出低水平的核苷酸多样性和高水平的单倍型多样性。这种不一致性在茶棍蓟马(*Dendrothrips minowai*)^[41]的 研究中也有过报道。Avise 等^[42]认为,这种"低核苷酸多样性高单倍型多样性"的模式可能是因为种群在近期 发生过扩张,这种扩张促使突变的产生,但是核苷酸突变积累的时间相对较短导致的。在中性检验中也观察 到,两个物种均发生了一定程度的扩张,只是暂未达到显著的水平。

遗传分化是自然界生物群体适应环境的重要遗传基础。本研究中,基于线粒体基因分析的结果表明,两 种天蛾的遗传变异主要来自于种群间,且两广群体、海南岛群体和越南群体之间的遗传分化程度都很高。其 中,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)的最大遗传分化值发生在两广群体和海南岛群体之间;构月天蛾 (*P. colligata*)的最大遗传分化值发生在越南群体和海南岛群体之间,即两种天蛾在各群体间最强烈的遗传分 化都与海南岛群体有关。此外,单倍型分析的结果显示,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)在海南岛群体中含有的 单倍型数量最少,构月天蛾(*P. colligata*)在海南岛群体与两广群体中具有相同数量的单倍型,但均少于越南 群体,综合以上结果,说明海南岛群体具有最低的单倍型多样性,并且海南岛群体与周边大陆群体之间已经产 生了强烈的遗传分化。Mantel 检验结果表明地理隔离可能是天蛾各群体产生明显遗传分化的重要原因之一。 虽然天蛾科昆虫飞行能力较强^[18],但受限于岛屿与大陆之间明显的地理阻隔影响,周边大陆群体与海南岛群 体之间具有较强的基因阻隔。此外,相比于周边大陆地区,海南岛群体较低的单倍型多样性以及微弱的基因 流会导致天蛾类群在面临环境变化时其适应能力的下降,因此未来在海南岛的生物多样性保护工作中,必须 要采取合理的措施以提高海南岛天蛾的遗传多样性。

4 结论

为探讨鳞翅目天蛾科类群在海南岛和周边大陆的遗传分化情况,本研究在 15 个采样点采集绿带闭目天 蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)总共 145 头样本,基于线粒体基因和核基因分子标记,分析了种群 间遗传分化、基因流和种群历史动态等内容。尽管核基因的分析结果略有不同,但是线粒体基因 COI-*Cytb* 的 结果显示,绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*)和构月天蛾(*P. colligata*)含有低水平的核苷酸多样性和高水平的单倍 型多样性(绿带闭目天蛾(*C. rubricosa*):0.00434±0.00014 和 0.944±0.015;构月天蛾(*P. colligata*):0.00818± 0.00034和 0.985±0.007)。单倍型网络图的结果显示出明显的谱系地理结构,即分为两广、海南岛和越南群 体,各群体之间存在较强的遗传分化(*F_{sr}为* 0.29—0.84 和 0.47—0.73),尤其与海南岛群体之间,基因交流水 平相对较低。地理距离与遗传距离之间存在正相关关系(相关系数 r 分别为 0.663 和 0.366),说明地理隔离 可能是促使海南岛群体与周边大陆群体之间产生遗传分化的原因之一。

致谢:感谢郝梦迪、郝慧佳、李伊南、郑禹轩、贾鑫瑞、常宽、江翀、周晓雪、石志勇、魏慧娟、孙怡然、张颖、张天芯 等在样本采集过程中给予的帮助。

参考文献(References):

- [1] 孙渝雯,马赞文,陶贞,张乾柱,唐文魁,吴迪,钟庆祥,王振刚,丁健.海南岛西南部土壤生物硅分布的时空差异及其驱动机制.生态 学报,2022,42(17):7092-7104.
- [2] 高述超, 陈毅青, 陈宗铸, 雷金睿, 吴庭天. 海南岛森林生态系统碳储量及其空间分布特征. 生态学报, 2023, 43(9): 3558-3570.
- [3] Huang T, Su L J, Zeng N K, Lee S M L, Lee S S, Thi B K, Zhang W H, Ma J, Huang H Y, Jiang S, Tang L P. Notes on Amanita section Validae in Hainan Island, China. Frontiers in Microbiology, 2023, 13: 1087756.
- [4] Lei J, Chen Y, Li L, Chen Z, Chen X, Wu T, Li Y. Spatiotemporal change of habitat quality in Hainan Island of China based on changes in land use. Ecological Indicators, 2022, 145(11): 109707.
- [5] 郝希阳, 贺姹, 楚克林, 申志新, 赵强, 高伟, 潘达, 孙红英. 海南岛淡水蟹类分布格局与多样性保护. 生物多样性, 2021, 29(5): 605-616.
- [6] Chen I S, Jang-Liaw N H. Phylogeography of Aphyocypris normalis Nichols and Pope, 1927 at Hainan Island and adjacent areas based on mitochondrial DNA data. PLoS One, 2023, 18(2): e0282460.
- [7] Whittaker R J, Fernandez-Palacios J M, Matthews T J, Borregaard M K, Triantis K A. Island biogeography: Taking the long view of nature's laboratories. Science, 2017, 357(6354): eaam8326.

4913

- [8] Yu W, Wu B, Wang X, Yao Z, Li Y, Liu Y. Scale-dependent effects of habitat fragmentation on the genetic diversity of Actinidia chinensis populations in China. Horticulture Research, 2020, 7(172):1-10.
- [9] Chamberland L, Salgado-Roa F C, Basco A, Crastz-Flores A, Binford G J, Agnarsson I. Phylogeography of the widespread Caribbean spiny orb weaver Gasteracantha cancriformis. PeerJ, 2020, 8(2): e8976.
- [10] Arenas S, Búrquez A, Bustamante E, Scheinvar E, Eguiarte L E. Are 150 km of open sea enough? Gene flow and population differentiation in a bat-pollinated columnar cactus. PLoS One, 2023, 18(6): e0282932.
- [11] Ditter R E, Campos M, Crepeau M W, Pinto J, Toilibou A, Amina Y, Tantely L M, Girod R, Lee Y, Cornel A J, Lanzaro G C. Anopheles gambiae on remote islands in the Indian Ocean; origins and prospects for malaria elimination by genetic modification of extant populations. Scientific Reports, 2023, 13(1): 20830.
- [12] Wang J, Zhang W, Wu J, Li C, Ju Y M, Lin H D, Zhao J. Multilocus phylogeography and population genetic analyses of Opsariichthys hainanensis reveal Pleistocene isolation followed by high gene flow around the Gulf of Tonkin. Genes, 2022, 13(10): 1908.
- [13] Wang S, Zhu W, Gao X, Li X P, Yan S F, Liu X, Yang J, Gao Z X, Li Y M. Population size and time since island isolation determine genetic diversity loss in insular frog populations. Molecular Ecology, 2014, 23(3): 637-648.
- [14] 陈佳琪,李潮,张雯君,李炜,高天扬,赵俊.海南岛宽额鳢(Channa gachua)群体遗传变异与生物地理过程.生态学报,2019,39(7): 2591-2602.
- [15] 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.
- [16] Yi C Y, Zheng C Y, Zeng L, Xu Y J. High genetic diversity in the offshore island populations of the tephritid fruit fly Bactrocera dorsalis. BMC Ecology, 2016, 16(1): 46.
- [17] 朱弘复, 王林瑶. 中国动物志: 昆虫纲, 第十一卷. 鳞翅目. 天蛾科. 北京: 科学出版社, 1997: 97-156.
- [18] Aiello B R, Tan M, Bin Sikandar U, Alvey A J, Bhinderwala B, Kimball K C, Barber J R, Hamilton C A, Kawahara A Y, Sponberg S. Adaptive shifts underlie the divergence in wing morphology in bombycoid moths. Proceedings Biological Sciences, 2021, 288(1956): 20210677.
- [19] Mohagan A B, Guiang M M M, Nuñeza O M, Coritico F P, Anches H C T, Jebulan H G H, Patano Jr R R, Maglangit E P T, Amoroso V B. Species Composition and Assessment of Sphingidae in Mt. Agad-Agad, Iligan City, Philippines. Journal of Tropical Life Science, 2022, 12(1): 131-140.
- [20] Kioko E N, Musyoki A M, Luanga A E, Kioko M D, Mwangi E W, Monda L. Geographical and temporal distribution of hawkmoth (Lepidoptera: Sphingidae) species in Africa. Biodiversity Data Journal, 2021, 9(3): e70912.
- [21] Hundsdoerfer A K, Päckert M, Kehlmaier C, Strutzenberger P, Kitching I J. Museum archives revisited: Central Asiatic hawkmoths reveal exceptionally high late Pliocene species diversification (Lepidoptera, Sphingidae). Zoologica Scripta, 2017, 46(5): 552-570.
- [22] Mende M B, Hundsdoerfer A K. Mitochondrial lineage sorting in action-historical biogeography of the Hyles euphorbiae complex (Sphingidae, Lepidoptera) in Italy. BMC Evolutionary Biology, 2013, 13(1): 83.
- [23] Huang Y X, Zhu X S, Zhang H, Qi L Q, Jin H Z, Bian C L, Chen W L, Wang X. Complete mitochondrial genome of *Kentrochrysalis streckeri* (Lepidoptera: Sphingidae) and phylogenetic analysis. Mitochondrial DNA Part B Resources, 2022, 7(6): 908-910.
- [24] 吴正伟,郭良珍,黎文明,黄浩彦,吴章丽. 椴六点天蛾形态特征及生物学特性. 中国植保导刊, 2020, 40(9): 12-16.
- [25] 刘博, 王晔楠, 唐超, 刘丽, 马光昌, 彭正强, 阎伟. 云斑斜线天蛾在我国的适生性及限制性环境因子分析. 热带作物学报, 2021, 42 (12): 3581-3587.
- [26] Norbu L, Thinley P, Jamtsho N, Dorji L, Tenzin P, Wangchuk T, Lhendup U, Dorji P, Dorji Z, Jamtsho K, Dorji T, Jamtsho T, Lodey S, Dechen U. Diversity of hawkmoths in Tashigang Forest Division, with new faunistic records for Bhutan. Journal of Animal Diversity, 2022, 4(3): 10-22.
- [27] Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Molecular Marine Biology and Biotechnology, 1994, 3(5): 294-299.
- [28] Rubinoff D, Jose M S, Kawahara A Y. Phylogenetics and Species Status of Hawai'i's Endangered Blackburn's Sphinx Moth, Manduca blackburni (Lepidoptera: Sphingidae). Pacific Science, 2012, 66(1): 31-41.
- [29] Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Research, 2002, 30(14): 3059-3066.
- [30] Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725-2729.
- [31] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [32] Excoffier L, Lischer H E. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. Molecular Ecology Resources, 2010, 10(3): 564-567.
- [33] Dixon P. VEGAN, a package of R functions for community ecology. Journal of Vegetation Science, 2003, 14(6): 927-930.
- [34] Tay W T, Rane R V, Padovan A, Walsh T K, Elfekih S, Downes S, Nam K, D'Alençon E, Zhang J, Wu Y, Nègre N, Kunz D, Kriticos D J, Czepak C, Otim M H, Gordon K H J. Global population genomic signature of *Spodoptera frugiperda* (fall armyworm) supports complex introduction events across the Old World. Communications Biology, 2022, 5(1): 297.
- [35] Hare M P. Prospects for nuclear gene phylogeography. Trends in Ecology & Evolution, 2001, 16(12): 700-706.
- [36] 陈蓉,牛力康,端木浩楠,王宗庆,车艳丽.线粒体基因和核基因揭示自然屏障和第四纪更新世气候振荡影响双斑乙蠊谱系地理格局. 昆虫学报, 2022, 65(2): 235-245.
- [37] Zhang A B, Kubota K, Takami Y, Kim J L, Kim J K, Sota T. Species status and phylogeography of two closely related *Coptolabrus* species (Coleoptera: Carabidae) in South Korea inferred from mitochondrial and nuclear gene sequences. Molecular Ecology, 2005, 14(12): 3823-3841.
 [38] 田虎,张蓉,张金良,王玉生,万方浩,张桂芬,入侵种西花蓟马与本地近缘种花蓟马的双基因鉴定,中国生物防治学报,2017,33(5).
- [38] 田虎,张蓉,张金良,王玉生,万方浩,张桂芬. 入侵种西花蓟马与本地近缘种花蓟马的双基因鉴定. 中国生物防治学报,2017,33(5): 612-622.
- [39] 杨喜书,章群,薛丹,吕金磊,黄镇宇,卢丽锋.中国近海细鳞蝲线粒体控制区的遗传多样性.生态学报,2018,38(5):1852-1859.
- [40] 王玉涛,潘建飞,黄翠翠,胡平,韩建林.东帕米尔高原喜马拉雅雪鸡遗传多样性及系统发育地位.生态学报,2018,38(1);316-324. [41] 罗林丽,孟泽洪,李帅,赵兴丽,周罗娜,贺圣凌,魏茹蕙,张欣,周玉锋.中国南方茶棍蓟马地理种群遗传分化分析.昆虫学报,2022,
- 65(4): 500-511. [42] Avise J C, Neigel J E, Arnold J. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. Journal of Molecular
- [42] Avise J C, Neigel J E, Arnold J. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. Journal of Molecular Evolution, 1984, 20(2): 99-105.