

鼠兔属 5 个种的分子分类及进化*

于 宁 郑昌琳

(中国科学院西北高原生物研究所, 西宁 810001)

施立明 王 文 兰 宏 张亚平

(中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放实验室, 昆明 650223)

摘要 构建了甘肃鼠兔、黄河鼠兔、藏鼠兔、高原鼠兔和红耳鼠兔的 mtDNA 限制性内切酶图谱, 并以 PAUP 程序建立其分子系统树。结果表明, 鼠兔亚属的 4 个物种与耗兔亚属的红耳鼠兔存在明显的长度变异(1 kb), 从而为两亚属的划分提供了新的遗传标记。同时, 甘肃鼠兔和黄河鼠兔的遗传分化已达明显的物种级别, 因而进一步证实它们均为独立种。在系统树中, 黄河鼠兔与高原鼠兔亲缘关系最近, 然后是藏鼠兔, 最后是甘肃鼠兔与前 3 种构成一对姊妹群。依据遗传距离计算了分歧年代。两亚属的分歧时间约距今 8.8×10^4 ha, 相当于中国哺乳动物时代的保德期中期; 鼠兔亚属内 4 种间的分歧发生于约距今 $(2.5 \sim 4.2) \times 10^4$ ha 的上新世晚期, 相当于榆社期晚期。

关键词 线粒体 DNA 鼠兔属 分子分类及进化

Pallas(1769 年)命名第一个鼠兔学名至今已两个多世纪了, 此后, 虽然系统学家在形态学方面做了大量的工作^[1-3], 但是, 鼠兔属中某些近缘种的分类地位长期未能得到解决。如甘肃鼠兔(*Ochotona cansus*)及藏鼠兔(*O. thibetana*)因在形态上极其相似, 国外学者一直不承认甘肃鼠兔为独立物种^[4,5]。于宁等依据形态特征的显著差异, 将长期归入藏鼠兔同物异名的黄河鼠兔(*O. huangensis*)订正为有效物种^[6], 因而对该种的分类地位产生了不同的观点。甚至对该属是否划分为两亚属都有争议^[1,3-5]。至于物种间进化关系的研究, 所作工作更少^[6], 而利用分子生物学手段研究鼠兔属各类群的亲缘关系尚属空白。正如 Smith 指出的“对于鼠兔属的分类研究, 有待于分子技术的应用及支序系统学的分析”^[7]。本世纪 50 年代以后, 分子生物学的兴起与迅猛发展, 对生物大分子 DNA 在遗传和蛋白质合成方面的了解, 使人们认识到每个生物体在其 DNA 核苷酸双螺旋序列和蛋白质氨基酸序列中都会有历史的信息, 生物的外观形态及体内大分子的合成都是由基因(DNA)控制的。地球上形形色色的生物种类, 都是历史的产物, 在进化历程中, 变异无疑最先发生在 DNA 分子上, 然后这种变化表达在蛋白质分子上, 最

1995-07-26 收稿

*国家自然科学基金资助和中国科学院分类区系专项经费支持课题

后表现于生物的细胞、组织、器官到整体外观水平上。故生物种属的差异,从本质上讲是基因本身的差异,这种差异可以说是一种生物区别于另一种生物的本质特征或标志。当今,对动物线粒体 DNA(mtDNA)的结构、组成、复制、转录、基因表达及调控等方面已积累了大量资料。由于 mtDNA 基因组具有分子结构简单,进化速度快及母系遗传等特点,mtDNA 限制性片段长度多态性(RFLP)成为研究动物种间及种下分类地位、亲缘关系及分歧时间等的有效手段^[9~11]。

为了进一步从分子水平探讨鼠兔属近缘种间的分子特征,澄清其分类问题,推算其分歧时间,并与已建立的种系发生相印证^[6],我们构建了黄河鼠兔、甘肃鼠兔、藏鼠兔、高原鼠兔(*O. curzoniae*)和红耳鼠兔(*O. erythrotis*)mtDNA 的限制性内切酶图谱,对其进行分析,并结合已有的宏观资料,综合探讨 5 种鼠兔的异同及亲缘关系,为鼠兔属的分类与系统进化提供从核外基因组到动物外形,生存环境与地史古生物等方面更符合客观的新证据。

1 材料和方法

1.1 动物来源

从四川、陕西和青海 3 省的模式产地或邻近地模产地捕到 49 只鼠兔。对于每只标本的外部形态,头骨特征及其量度,首先查对是否与原始文献的描述和量度相符;然后与模式标本或地模标本进行对比,最后根据新近的厘定研究,决定其种名^[2,3,7,8]。49 只鼠兔标本经严格细致的对比研究后,确认隶属于鼠兔属 2 个亚属 5 种。

耗兔亚属(subgenus *Pika* Lacepede 1799)

(1)红耳鼠兔:3 只,采自青海省循化县孟达乡的红岩陡峭上,海拔 2 100 m。

鼠兔亚属(subgenus *Ochotona* Link, 1795)

(2)藏鼠兔:3 只,采于四川省康定县折多山灌丛草地,海拔 4 100 m。

(3)黄河鼠兔:1 只,采自青海省循化县孟达乡天池的森林灌丛中,海拔 2 500 m。

(4)甘肃鼠兔:共捕得 20 只,经鉴定采自陕西省太白山放羊寺、明星寺和斗母宫的林间杜鹃灌丛中的 9 只标本为太白亚种(*O. c. morosa*),海拔 2 800 ~ 3 200 m;青海省门源县军马厂金腊梅灌丛草地,海拔 3 200 m 的 10 只为模式亚种(*O. c. cansus*);四川省康定县折多山灌丛中的 1 只为四川亚种(*O. c. stevensi*),海拔 4 100 m。

(5)高原鼠兔:22 只,采于青海省门源军马场的草甸草场中,海拔 3 200 m。

用于本次 mtDNA 实验分析的个体共计 15 只,依上述描述顺序每个种分别为 2,2,1,6,4 只。将这些个体的肝、心、肾、脾等组织冻于液氮中,以用于 mtDNA 提取。

1.2 试剂

用于构建图谱的限制性内切酶; λ DNA/Hind III 分子量标记和 RNaseI 均购自华美公司;SDS 为 Servi 公司进口分装 A. R 级;其余试剂均为国产 A. R 级。

1.3 mtDNA 的提取与限制性内切酶的消化

mtDNA 的提取与纯化按改进的碱变性法进行^[12]。纯化的 mtDNA 样品用 Aval, BamHI, BglI, BglII, ClaI, EcoRI, EcoRV, HindIII, HpaI, PstI, PvuII, SacI, Sall, ScaI, StuI 和 XbaI 16 种限制性内切酶进行消化,酶切反应采用厂家提供的缓冲液和推荐的使用方法。酶解反应体积为 20 μ L, 37 $^{\circ}$ C 保温 4 h 后终止反应。酶解后的样品以 0.8% 的琼脂糖凝胶(含 0.05 μ g/mL

溴化乙锭)电泳分离,电极缓冲液为 Tris-硼酸(pH 8.3)系统,电压为 3V/cm,时间 8 ~ 10 h. 254 nm 紫外光照射下观察拍照.

1.4 数据分析

用双酶解法构建限制性内切酶图谱. 运用位点法^[13],两两配对算出各单倍型间的遗传距离.

$$F = 2N_{xy} / (N_x + N_y),$$

$$P = -\ln(F)/r,$$

其中, N_{xy} 是 x, y 两类型间共有的酶切位点数, N_x 和 N_y 分别为类型 x 和 y 的位点总数. F 为类型间的限制性片段共享度. P 为类型间的遗传距离, r 为酶的识别位点数.

根据限制性内切酶图谱位点的有无进行“1”“0”编码,用带有信息的位点(至少为两个单倍体所共享)制成特征矩阵. 根据此采用 PAUP 3.1.1 (Swofford, 1993) 中的 Branch-and-Bound 功能作支序分析,确保找到最简约的分子系统树. 然后采用 bootstrap 分析确定各分级的置信度.

2 结果

2.1 mtDNA 限制性内切酶图谱

2.1.1 限制性类型及片段大小 5种鼠兔的 mtDNA 样品,被 16种限制性内切酶分别消化后,均出现多态性,各种酶检出的各限制性类型的片段大小及在 5种鼠兔中的分布状况见表 1 和 2.

表 1 鼠兔 mtDNA 限制性类型片段大小 (kb)^{a)}

酶	限制性类型片段	酶	限制性类型片段
Ava I (A)		Hpa I (T)	
A1	13.4 2.4 2.1	T1	8.7 4.0 3.5 1.7
A2	15.5 2.4	T2	12.7 3.5 1.7
A3	9.6 5.9 2.4	T3	10.4 3.5 2.3 1.7
A4	7.3 5.9 3.7	T4	6.3 4.0 3.5 2.4 1.7
BamH I (I)		T5	8.7 3.5 2.2 1.7 1.5
I1	12.3 4.5 1.1	T6	10.7 3.5 1.5 1.2
I2	10.9 5.6 1.4	Pst I (P)	
I3	8.9 5.9 2.0 1.1	P1	8.9 6.6 2.4
I4	6.7 6.7 4.5	P2	14.1 2.4 1.4
I5	6.4 4.5 3.5 1.4 1.1	P3	6.6 5.8 5.5
Bgl I (D)		P4	16.9
D1	15.3 2.6	Bgl II (Y)	
D2	11.5 2.6 2.2 1.6	Y1	17.9
D3	11.5 3.8 2.6	Y2	无切点
D4	14.3 2.6	Y3	5.3 3.4 2.7 2.0 1.9 1.6
Cla I (C)		PvuII (V)	
C1	11.3 6.6	V1	17.9
C2	9.0 8.9	V2	无切点
C3	9.2 8.7	Sac I (K)	
C4	9.2 6.6 2.1	K1	16.4 1.5
C5	17.9	K2	17.9 或 16.9
C6	9.2 7.7	Sal I (L)	

表 I(续)

酶	限制性类型片段	酶	限制性类型片段
EcoRI (E)		L1	17.9
E1	9.2 3.6 3.5 1.6	L2	无切点
E2	7.1 6.2 3.0 1.6	Sca I (F)	
E3	13.0 3.5 1.4	F1	13.9 2.2 1.8
E4	12.8 5.1	F2	9.6 6.5 1.8
E5	9.2 7.7	F3	16.1 1.8
EcoRV (R)		F4	6.5 6.0 3.6 1.8
R1	17.9	F5	无切点
R2	9.0 8.9	Stu I (S)	
R3	无切点	S1	9.0 3.0 2.7 1.6 0.8 0.8
R4	10.5 3.8 2.6	S2	9.0 2.7 1.7 1.6 1.1 1.0 0.8
HindIII (N) I		S3	8.2 3.0 1.7 1.6 1.6 1.0 0.8
N1	8.6 5.5 3.8	S4	7.0 3.4 1.9 1.8 1.6 1.2
N2	8.6 4.3 3.8 1.2	Xba I (J)	
N3	5.5 4.3 3.8 3.1 1.2	J1	11.8 3.5 1.4 0.7 0.5
N4	5.5 4.5 4.1 3.8	J2	4.9 4.5 3.5 2.6 1.4 0.5 0.5
N5	7.6 3.5 3.1 2.0 0.7	J3	9.4 5.0 3.5
N6	5.5 5.5 3.8 3.1	J4	8.1 4.3 3.6 1.9
		J5	9.6 5.9 1.4

a) 字母 A, C, D, E, F, I, J, K, L, N, P, R, S, T, V 和 Y 分别代表 16 种酶

表 2 各物种的限制性类型分布

酶	高原鼠兔	甘肃鼠兔	藏鼠兔	黄河鼠兔	红耳鼠兔
Ava I (A)	A1	A2	A2	A3	A4
BamH I (I)	I1	I2	I3	I4	I5
Bgl I (D)	D1	D2	D3	D3	D4
Bgl II (Y)	Y1	Y2	Y1	Y1	Y3
Cla I (C)	C1	C2 C3 C5	C4	C5	C6
EcoRI (E)	E1	E2	E3	E4	E5
EcoRV (R)	R1	R1 R3	R2	R3	R4
HindIII (N)	N1 N2	N3	N6	N4	N5
Hpa I (T)	T1 T2	T2 T3	T4	T5	T6
Pst I (P)	P1	P2	P1	P3	P4
PvuII (V)	V1	V1	V1	V1	V2
Sac I (K)	K1	K2	K2	K2	K2
Sal I (L)	L2	L1	L2	L2	L2
Sca I (F)	F1	F2	F3	F4	F5
Stu I (S)	S1	S2	S2	S3	S4
Xba I (J)	J1	J2	J3	J4	J5

两个亚属的 mtDNA 分子, 存在明显的长度变异, 鼠兔亚属 4 个种的 mtDNA 分子为 17.9 kb 左右; 而兔亚属的红耳鼠兔只有 16.9 kb 左右(见表 1)。

在 16 种酶中, 以 BamHI, ClaI, EcoRI, Hind III, HpaI, ScaI 和 XbaI 检出的限制性类型最为丰富。在这些酶中, 除 BamHI 外, 其余 6 种酶的识别序列均以 A-T 碱基为主。而 BglII,

PvuII, SacI 和 SalI 检出的类型却很贫乏, 这些酶的识别序列均以 G-C 碱基为主。

2.1.2 限制性内切酶图谱 16 种酶共获得 93 个不同的位点, 在各样品中分别产生 42 ~ 48 个位点, 分别对应于 252 ~ 288 个碱基对, 检出位点核苷酸总长度占整个 mtDNA 基因组的 1.41% ~ 1.61%。用双酶解法对每个位点都作了酶谱定位, 综合 16 种酶的酶切类型, 我们在 5 种鼠兔的 15 只个体中共检到 9 种 mtDNA 单倍型 (haplotype)。这 9 种单倍型的分布中, 种内变化极小, 而种间变化甚大, 因此, 我们按物种归为 5 个限制性图谱 (图 1)。

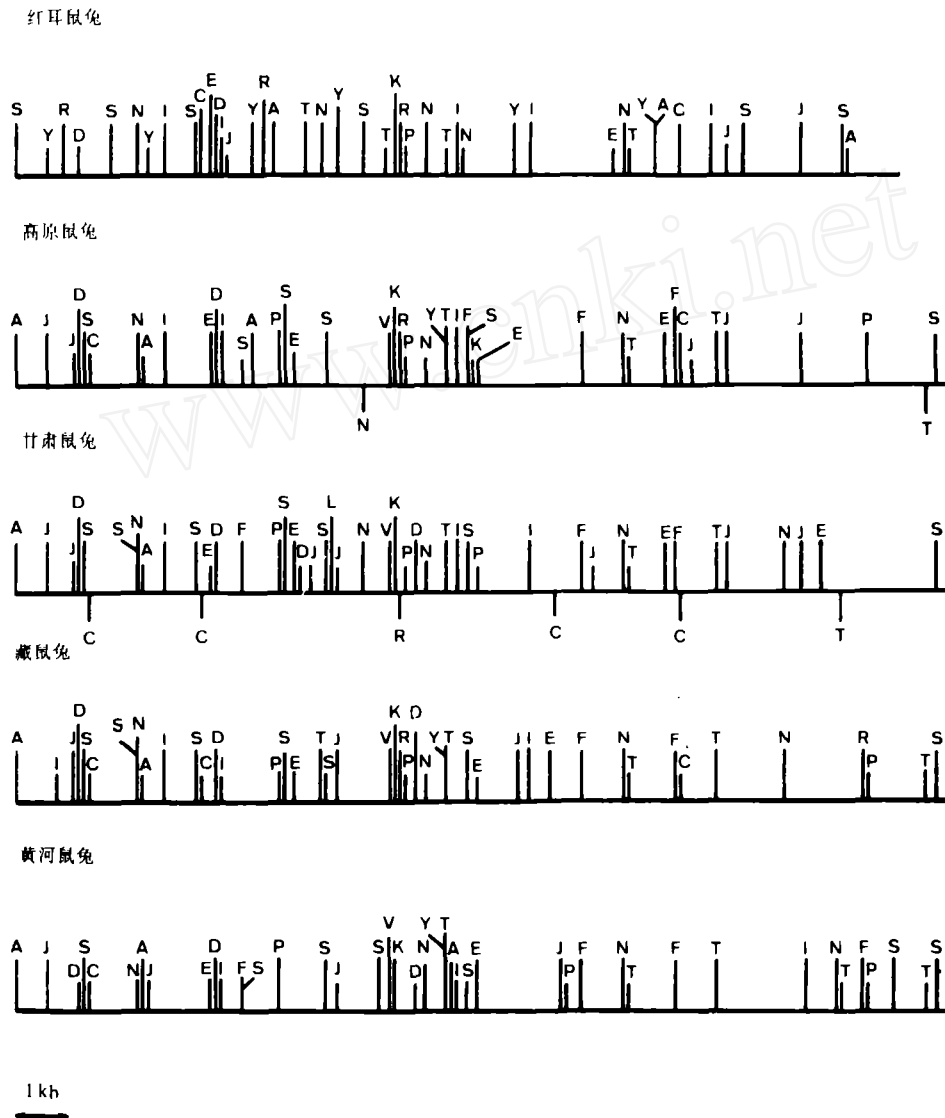


图 1 5 种鼠兔 mtDNA 限制性内切酶图谱
 横线以上的位点表示物种内没有变异的位点, 横线以下的位点示种下具有变异的位点。
 各种字母所代表的酶参见表 1

由图谱可见, 5 种鼠兔共有 8 个位点是保守的, 而鼠兔亚属的 4 种鼠兔有 19 个位点是保守的. 另外, 由酶的识别序列造成的明显的位点变异存在于两亚属间. BglII 在鼠兔亚属中没有切点或仅有一个切点, 而在耗兔亚属中则有 6 个位点; ScaI 在鼠兔亚属的 4 个种中至少有 2 个位点以上, 而在红耳鼠兔却没有位点; PstI 在鼠兔亚属 4 种中均有 3 个切点, 而红耳鼠兔仅有 1 个切点.

表 3 鼠兔 9 种单倍型的遗传距离矩阵^{a)}

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 红耳鼠兔		0.390 8	0.400 0	0.359 6	0.355 6	0.382 0	0.417 6	0.367 8	0.258 8
2 高原鼠兔	0.156 6		0.976 7	0.711 1	0.703 3	0.711 1	0.711 4	0.727 3	0.674 4
3 高原鼠兔	0.152 7	0.003 9		0.704 5	0.696 6	0.704 5	0.711 1	0.720 9	0.666 7
4 甘肃鼠兔指名亚种	0.170 5	0.056 8	0.058 4		0.989 2	0.978 3	0.957 4	0.688 9	0.590 9
5 甘肃鼠兔指名亚种	0.172 3	0.058 7	0.060 3	0.002 0		0.967 7	0.947 4	0.681 3	0.606 7
6 甘肃鼠兔太白亚种	0.160 4	0.056 8	0.058 4	0.003 7	0.005 5		0.978 7	0.688 9	0.568 2
7 甘肃鼠兔四川亚种	0.145 5	0.056 8	0.056 8	0.007 3	0.009 0	0.003 6		0.717 4	0.511 1
8 藏鼠兔	0.166 7	0.053 1	0.054 5	0.062 1	0.064 0	0.062 1	0.055 4		0.627 9
9 黄河鼠兔	0.225 3	0.065 7	0.067 6	0.087 7	0.083 3	0.094 2	0.111 9	0.077 6	

a) 每核苷酸位点的平均碱基取代值, 对角线以上是各单倍型的限制型片段共享度 (F)

表 4 鼠兔 9 种单倍型的特征矩阵

	A	I	D	Y	C	E	R	N	T	P	V	K	L	F	S	J
红耳鼠兔	000	1111	1100	0	01101	10000	1	10110	11000	0100	0	10	0	0000	01000000	00011000
高原鼠兔	111	1110	1100	1	10100	11110	1	11110	11101	1110	1	11	0	0111	10111110	10011110
高原鼠兔	111	1110	1100	1	10100	11110	1	10110	11100	1110	1	11	0	0111	10111110	10011110
甘肃鼠兔指名亚种	110	1011	1111	0	10010	11011	0	11111	11110	1101	1	10	1	1110	11011111	11111101
甘肃鼠兔指名亚种	110	1011	1111	0	10010	11011	0	11111	11100	1101	1	10	1	1110	11011111	11111101
甘肃鼠兔太白亚种	110	1011	1111	0	00010	11011	1	11111	11100	1101	1	10	1	1110	11011111	11111101
甘肃鼠兔四川亚种	110	1011	1111	0	00111	11011	1	11111	11100	1101	1	10	1	1110	11011111	11111101
藏鼠兔	110	1101	1110	1	11101	01100	1	10111	11101	1110	1	10	0	0110	11011111	00100100
黄河鼠兔	110	0110	1110	1	10000	10100	0	10110	11111	1010	1	10	0	1110	10101110	10100000

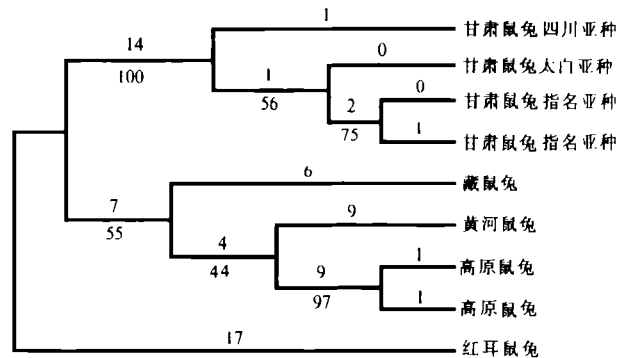


图 2 5 种鼠兔 mtDNA 分子系统树

基于 61 个具有信息的位点, 以 PAUP 3.1 中 (Swofford, 1993) 中 Branch-and-Bound 功能构建分子系统树, 仅发现 1 个最简约的树, 其 Length=73, Consistency index=0.73 (CI), Retention index (RI)=0.75. 分支线以上的数据表示每个分支的长度, 分支线以下的数据显示 bootstrap 置信度

2.2 遗传距离和分子系统树

遗传距离计算结果见表 3. 利用 61 个具有信息的位点(表 4)构建 5 种鼠兔的 mtDNA 分子系统树(图 2).

3 讨论

3.1 严格的母系遗传

mtDNA 限制性片段长度多态技术的优点之一,是 mtDNA 基因组在遗传过程中遵循严格的母系遗传方式,子代的 mtDNA 来自父系的可能性小于 0.004%^[14]. 同一母系祖先后代的 mtDNA 都是一样的,1 个个体的 mtDNA 基因组就代表 1 个母系连锁群. 因而,黄河鼠兔 1 个个体的 mtDNA 基因组就能代表 1 个母系集团,据此可推测它在母系起源上与其他鼠兔的亲缘关系.

3.2 耗兔亚属与鼠兔亚属的分子证据

鼠兔科现仅存 1 单型属,分布于欧亚大陆及北美的东北沿海地区. 有人根据上颌门齿孔与腭孔合并与否这一形态特征将该属划分为耗兔亚属和鼠兔亚属^[1,3,9],而 Corbet 持不同观点^[4]. 我们从核外基因组的角度,进一步证实两亚属的存在. 经研究发现,兔形类的 mtDNA 分子偏大,比某些哺乳动物 mtDNA 略长,但仍在高等动物 mtDNA 分子大小的范围之内^[9]. mtDNA 限制性片段长度变异,存在于兔科的穴兔属 *Oryctolagus* (mtDNA 分子为 16.9 ~ 17.9 kb), 绵尾兔属 *Sylvilagus* (17.2 ~ 17.9 kb) 和兔属 *Lepus* (17.4 ~ 18.2 kb) 中^[15]. 耗兔亚属中红耳鼠兔 2 个个体的 mtDNA 分子为 16.9 kb 左右,而鼠兔亚属 4 个物种的 13 只个体则均为 17.9 kb 左右,差别颇为明显. 这种明显差异似可作为两亚属的鉴别特征. 由此进一步证实这种长度变异普遍存在于兔类动物中. *Bgl*III, *Scal* 和 *Pst*I 3 种酶在两亚属间的识别位点差异,亦可作为亚属阶元的鉴别特征.

5 种鼠兔有 8 个酶切位点是保守的,可能是与其祖先共享的位点,另外 11 个酶切位点为鼠兔亚属所共有. 红耳鼠兔与鼠兔亚属各种间的平均遗传距离为 0.176 4 (0.145 5 ~ 0.225 3),按哺乳动物 mtDNA 每百万年的碱基突变率为 2% 来计算^[15~17],两亚属的分歧年代大约距今 8.8×10^4 年左右的中中新世晚期,相当于我国哺乳动物时代的保德期中期或欧洲哺乳动物时代的瓦里西安期末期^[18].

3.3 近缘种分子性状的比较

3.3.1 甘肃鼠兔与藏鼠兔分子性状的差异 由于甘肃鼠兔与藏鼠兔在形态上极为相似,因而甘肃鼠兔是否为独立的物种,一直争论不休. 有人认为甘肃鼠兔是藏鼠兔的同物异名^[4,9];冯祚建等根据其头骨特征与藏鼠兔的差异及两种鼠兔在同域地带无中间类型的事实,将之作为独立物种^[2]. 本次 mtDNA 的结果表明,两种鼠兔的 mtDNA 分子,经 16 种酶分别消化后,共检出 32 种酶切类型(表 1, 2). 经 *Bam*HI, *Bgl*I, *Bgl*II, *Eco*RI, *Hind*III, *Pst*I, *Sal*I, *Scal* 和 *Xba*I 9 种酶消化后,分别检出两种不同的类型,故这 18 个酶切类型可作为区别两种鼠兔的种级分子性状或分子分类特征. 而经 *Ava*I, *Pvu*II, *Sac*I 和 *Stu*I 分别消化,仅检出 1 种类型,表明这 4 种酶在两种鼠兔 mtDNA 中的识别位点完全一致,即是它们相同的分子性状. *Cla*I, *Eco*RV 和 *Hpa*I 在甘肃鼠兔样本中检出种内多态性,可作为种下分类的分子性状或作种内遗传多样性分析(另文报告).

酶切图谱中两种鼠兔共检出 60 个位点, 其中 30 个位点为两种所共享, 占总位点的 50%. 在变异的位点中, 甘肃鼠兔拥有 16 个位点, 占 26.7%; 藏鼠兔则拥有 10 个位点, 占 16.7%. 虽然在表型上难以辨别, 但两种间的遗传距离已达明显的物种级别, 其遗传距离为 0.060 9 (0.055 4 ~ 0.064 0, 表 3). 分歧时间约距今 3.0×10^4 ha.

从两种鼠兔 mtDNA 分子性状的差异、遗传距离及分歧时间的推算, 以及与其它 3 种鼠兔在分子和形态两个层次上的明显差异, 足以证明甘肃鼠兔确为独立物种, 而不是藏鼠兔的同物异名.

3.3.2 黄河鼠兔的分子证据 于宁等依据外部形态差异曾将长期归入藏鼠兔同物异名的 *O. huangensis* 订正为有效物种^[9]. 现从表 1 ~ 3 和图 1 中可得到黄河鼠兔 mtDNA 的分析结果, 显然与藏鼠兔及其它 3 种鼠兔在分子水平上迥然相异. 黄河鼠兔与藏鼠兔共享 27 个酶切位点, 前者独有 15 个位点, 后者独有 17 个位点, 分别占位点总数的 25.4% 和 28.8%, 表明两种鼠兔的核外基因组明显趋异, 它们间的遗传距离为 0.077 6. 而且与其余 3 种的遗传距离也均在 0.065 7 以上. 黄河鼠兔与藏鼠兔的分歧时间约距今 3.88×10^4 ha. 这些差异从分子水平上进一步证实黄河鼠兔的修订是可靠的.

3.4 分子系统树

图 2 为 PAUP (phylogenetic analysis using parsimony) 构建的 5 种鼠兔 mtDNA 分子系统树, 因形态上红耳鼠兔属兔亚属, 故用之作为另外 4 种鼠兔的外群, 来确定此树的根. 由分子系统树可见, 鼠兔亚属中黄河鼠兔与高原鼠兔亲缘关系最近, 首先组成一对姊妹群, 然后是藏鼠兔与它们相近, 最后是甘肃鼠兔与前 3 种构成一对姊妹群. 高原鼠兔为普遍接受的独立物种, 如果我们承认黄河鼠兔为藏鼠兔的同物异名, 必须首先承认高原鼠兔与黄河鼠兔为同一物种. 即我们的结果从分子系统学的角度支持黄河鼠兔为独立物种. 我们的结果也支持甘肃鼠兔为独立物种. 于宁等报道的 14 种鼠兔的支序图中, 甘肃鼠兔与藏鼠兔的亲缘关系最近, 然后是黄河鼠兔与这两种的亲缘关系近, 而高原鼠兔与黄河鼠兔、藏鼠兔和甘肃鼠兔的亲缘关系甚远^[9]. 这种差异可能是由于表型的进化与基因组的进化并不等速, 表型进化受环境的选择压力更大, 易于趋同; 而分子进化的规律更接近于中性进化. 说明利用形态特征和分子性状所建立的种系发生模式是相同的种系发生关系的一部分, 它们即相互重叠又相互补充. 因本文仅涉及 5 个物种, 故对于鼠兔属的分子进化有待于更多物种的研究.

3.5 分歧时间与化石的地史记录基本吻合

鼠兔科化石最早出现于亚洲早渐新世, 并在中新世繁盛发展 *Alloptox* 和 *Ochotona* 属. 中新世以后多数属绝灭, 仅鼠兔属延续至今. 在中国晚中新世的保德期 (约距今 $5.2 \sim 12 \times 10^4$ ha), 该属化石种有拉氏鼠兔 (*O. lagrelii*)、小鼠兔 (*O. minor*) 和吉隆鼠兔 (*O. quizhongensis*), 分布于我国北方, 如内蒙古、山西、甘肃和西藏等地均有发现.

现生的高原鼠兔、达乌尔鼠兔 (*O. daurica*) 和柯氏鼠兔 (*O. koslowi*) 的化石在西藏、河北和甘肃等地的更新世至全新世地层中有记录^[6]. 似藏鼠兔 (*O. cf. tibetana*) 化石曾在青海共和、甘肃合水等地的上上新统和下更新统发现 (含化石层距今至少在 1.8×10^4 ha 前). 4 种鼠兔 (红耳鼠兔除外) 推算的分歧年代约距今 $(2.5 \sim 4.2) \times 10^4$ ha, 相当于中国陆相哺乳动物时代的榆社期晚期^[10]. 这似乎说明, 推算出的分化时期与化石记录指示的地质年代基本吻合.

致谢 邱铸鼎先生提供化石及地史资料,并审阅文稿;美国加州大学何汝谐教授提供宝贵意见,特此致谢。同时也感谢刘爱华副研究员的大力支持。

参 考 文 献

- 1 Allen G M. The Mammals of China and Mongolia. Pt. 1 New York: Amer Mus Nat Hist, 1938. 537 ~ 542, 556 ~ 557
- 2 冯祚建,高耀亭. 藏鼠兔及其近缘种的分类研究——包括一新亚种. 动物学报, 1974, 20(1): 76 ~ 85
- 3 冯祚建,郑昌琳. 中国鼠兔属 (*Ochotona*) 的研究——分类与分布. 兽类学报, 1985, 5(4): 271 ~ 290
- 4 Corbet G B. The Mammals of the Palaearctic region: a taxonomic review. London: Brit Mus (Nat Hist), 1978, 67 ~ 69
- 5 Ellerman J R, Morrison-Scott T C S. Checklist of Palaearctic and Indian mammals 1758 ~ 1946. 2nd ed. London: Brit Mus (Nat Hist), 1966. 445 ~ 456
- 6 于宁,郑昌琳,冯祚建. 中国鼠兔亚属 (subgenus *Ochotona*) 种系发生的探讨. 兽类学报, 1992, 12(4): 255 ~ 266
- 7 Smith A T, Formozov N A, Hoffmann R S *et al.* The Pikas. In: Chapman J A, J E C Flux eds. Rabbits, hares and pikas: status survey and conservation action plan. IUCN Gland Swizerland, 1990. 14 ~ 60
- 8 于宁,郑昌琳. 黄河鼠兔 (*Ochotona huangensis* Mastchie, 1907) 的分类研究. 兽类学报, 1992, 12(3): 175 ~ 182
- 9 Brown W M. Evolution of animal mitochondrial DNA. In: Nei M, Koehn R K eds. Evolution of genes and proteins. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, 1983. 62 ~ 88
- 10 Avise J C. Mitochondrial DNA and the evolutionary genetics of higher animals. Phil Trans R Soc Lond series Biol, 1986, 312: 325 ~ 342
- 11 Horison R G. Animal mitochondrial DNA as a genetic marker in population and evolution biology. Trend Ecol Evol, 1989, 4: 6 ~ 11
- 12 王文,施立明. 一种改进的动物线粒体 DNA 提取方法. 动物学研究, 1993, 14(2): 197 ~ 198
- 13 Nei M, Li W H. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 5 269 ~ 5 273
- 14 Lansman R A, Avise J C, Huettel M D. Critical experimental test of the possibility of paternal leakage of mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci USA, 1983, 80: 1 969 ~ 1 971
- 15 Biju-Duval C, Ennafa H, Dennebouy N *et al.* Mitochondrial DNA evolution in Lagomorphs: origin of systematic heteroplasmy and organization of diversity in European rabbits. Jour Mol Evol, 1991, 33: 92 ~ 102
- 16 Brown W M, George M, Wilson A C. Rapid evolution of Mitochondrial DNA. Proc Natl Acad Sci USA, 1979, 76: 1 967 ~ 1 971
- 17 Wilson A C, Cann R L, Carr S *et al.* Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. Biol Jour Linn Soc, 1985, 26: 375 ~ 400
- 18 邱占祥,邱铸鼎. 中国晚第三纪地方哺乳动物群的排序及其分期. 地层学杂志, 1990, 14(4): 241 ~ 260