

高原鼯鼠线粒体谱系地理学和遗传多样性

蔡振媛¹ 张同作^{1,2} 慈海鑫^{1,2} 唐利洲^{1,2} 连新明^{1,2} 刘建全^{1*} 苏建平^{1*}

(1 中国科学院西北高原生物研究所, 中国科学院高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001)

(2 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 高原鼯鼠是一类地下独居啮齿动物, 为青藏高原特有种之一。为研究该物种的谱系地理学和遗传多样性, 本文测定了采自青藏高原东部 3 个地理种群 8 个小种群共 37 个个体的线粒体 D-loop 区序列变异。在长度为 627 bp 的序列中, 共发现 50 个变异位点, 定义了 26 种单倍型。该物种的单倍型多样性 (Haplotype diversity, H) 较高和核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, π) 较低。谱系分析得到 3 个稳定的分支, 分别与采集的地理种群相吻合: 同一地理种群内单倍型之间遗传差异小, 而不同地理来源的单倍型之间存在较大区别。距离隔离分析表明高原鼯鼠的遗传分化与地理距离呈正相关。AMOVA 分析同样表明地理种群之间存在显著差异: 地理种群间变异占遗传变异的 80.45%。高原鼯鼠的这种遗传结构特点可能主要是由于第四纪气候变迁、该物种稳定的地下生活环境和有限的迁移能力造成的。

关键词: 高原鼯鼠; 线粒体控制区; 距离隔离; 遗传多样性; 遗传结构

中图分类号: Q346.4 文献标识码: A 文章编号: 1000 - 1050 (2007) 02 - 0130 - 08

Mitochondrial phylogeography and genetic diversity of plateau zokor (*Myospalax baileyi*)

CAI Zhenyuan¹, ZHANG Tongzuo^{1,2}, CI Haixin^{1,2}, TANG Lizhou^{1,2}, LIAN Xinming^{1,2}, LIU Jianquan^{1*}, SU Jianping^{1*}

(1 Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

(2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: The subterranean plateau zokor (*Myospalax baileyi*) is endemic to the Qinghai-Tibetan Plateau. It remains unknown how the subterranean living affects its genetic structure and geographical distribution. In this paper, the mitochondrial D-loop region was sequenced for 37 individuals of eight small populations from three regions of the eastern Qinghai-Tibetan Plateau. Among the aligned sequences of 627 bp, 50 variable nucleotide sites among all individuals recovered 26 haplotypes, most of which were locally distributed. Haplotype diversity (H) was high and nucleotide diversity (π) was low. Phylogenetic analyses suggested that the sampled individuals clustered into three clades: Huangyuan (HY), Datong (DT), Hualong (HL) in eastern Qinghai Province and southern Gansu Province (GS), corresponding well their geographical distributions. Mantel test and regression analyses further confirmed that genetic differentiation is positively correlated with the geographic distance. Analysis of molecular variance (AMOVA) similarly recovered the distinct differentiation between geographical populations: more than 80% of the total variation occurred between them. The unique genetic structure of this species was probably shaped together by the Quaternary climatic oscillation, the limited dispersal as well as the stable habitats of the subterranean living.

Key words: Genetic diversity; Isolation-by-distance; Mitochondria control region; Plateau zokor (*Myospalax baileyi*); Population structure

鼯鼠类动物是啮齿动物中较为特殊的一个类群, 属掘土类动物, 终年营独居地下生活。现存鼯鼠分别隶属于凸颅鼯鼠亚属 (subgen. *Eospalax*) 和平颅鼯鼠亚属 (subgen. *Myospalax*); 其中, 凸

基金项目: 中国科学院知识创新工程领域前沿项目 (CXLY - 2002 - 3)

作者简介: 蔡振媛 (1981 -), 女, 硕士, 主要从事分子进化生物学研究。

收稿日期: 2006 - 10 - 16; 修回日期: 2007 - 02 - 12

* 通讯作者, correspondence author. E - mail: liujq@nwipb.ac.cn, jpsu@nwipb.ac.cn

颅鼯鼠亚属为我国所特有。凸颅鼯鼠亚属内种的划分存在一定争议 (Allen, 1940; Elleman and Morrison-Scott, 1951; 樊乃昌和施银柱, 1982; 李保国和陈服官, 1989; 李华, 1995; 李晓晨和王廷正, 1996; 李瑛, 1997), 主要是高原鼯鼠 (*Myospalax baileyi*)、甘肃鼯鼠 (*Myospalax cansus*) 和秦岭鼯鼠 (*Myospalax nufescens*) 应为独立种、还是作为中华鼯鼠 (*Myospalax fontanieri*) 的亚种。最近, Zhou 等 (2004) 和 Norris 等 (2004) 对鼯鼠属动物线粒体 12S rRNA 和 *Cyt b* 基因的研究支持上述 3 种鼯鼠的独立种一级分类地位。

高原鼯鼠仅分布于青藏高原地区, 是青藏高原的特有种之一。该物种独特的地下生活方式可能造成一些独特的种群遗传结构。一方面, 地下环境稳定, 受到的选择压力小, 因而可能造成进化速率慢, 但又能最大限度地保存突变。另一方面, 地下生活方式又使自由扩散受到限制。已有的研究表明, 地下鼠的扩散需要耗费高昂的能量代价 (Williams and Cameron, 1984), 扩散率低于地上鼠类, 平均扩散距离也明显小于地上活动动物 (魏万红等, 1997)。因此, 可以预测即使在没有地理屏障 (Geographical barriers) 的情况下, 由于鼯鼠实际的迁移距离小, 不能在分布范围内形成一个单一的随机交配单位 (Single panmictic unit), 而产生距离隔离、降低种群之间的基因交流, 最终导致种群分化并呈现较高水平的地理遗传结构。此外, 青藏高原第四纪气候变迁也可能造成高原鼯鼠种群的缩小和增长, 从而影响它的种群遗传结构。本文采用 DNA 序列分析的方法, 基于线粒体部分序列对高原鼯鼠的遗传多样性特征和遗传结构进行分析, 验证高原鼯鼠种群可能存在的上述遗传地理分布假设。

1 材料与方法

1.1 样品来源

我们根据地理距离采集了 3 个地理区域的研究材料 (图 1)。其中第一个地理种群来自青海东部 (A), 包括 3 个小种群: 大通县西掌村 (DT)、湟源县石涯湾村 (HY1) 和刘家台村 (HY2) 种群; 第二个地理种群 (B) 包括化隆县马厂村 (HL1) 和诗尔沟村 (HL2) 2 个小种群; 第三个地理种群 (C) 来自甘肃南部, 包括卓尼县大族村 (GS1)、甘布塔村 (GS2) 和木耳村 (GS3) 3 个小种群。利用弓箭法分别采集高原鼯鼠 4 只、8 只、5 只、2

只、4 只、6 只、5 只、3 只, 共计 37 只 (图 1, 表 1)。野外采集后立即分别取肝脏组织 2 g 左右, 置于 95% 乙醇中固定保存 (蔡振媛等, 2006)。

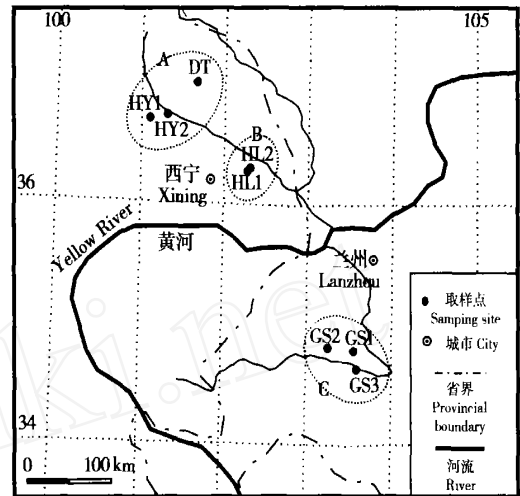


图 1 高原鼯鼠采样地点 (三个地理单元分别为 A, B 和 C)

Fig. 1 The geographical distribution of sampled small populations and geographical populations (A, B and C) of *M. baileyi* in the present study

1.2 总 DNA 的提取、PCR 扩增与序列测定

参照 Sambrook 等用蛋白酶 K - 苯酚 氯仿法 (Joe and David, 2001) 提取基因组总 DNA, 部分步骤加以改进 (蔡振媛等, 2006)。

参照地下鼯鼠超种 (Reyes *et al.*, 2003) 控制区的扩增引物、反应体系及条件进行扩增。引物序列为: FR (TACCA TCCTCCGTGAAACCA), RV (CTAA TAA TAA GGCCA GGACC), 在上海生工合成。扩增片段的长度为 650 bp 左右。所有扩增在 Biometra T-Gradient Themoblock PCR 仪上进行。反应体系为 30 μ l, 包括 40 ~ 60 ng 模板 DNA, 10 mM Tris-HCl (pH 8.3), 2.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0.5 mM dNTPs, 正反引物各 0.5 μ M, 1 U Taq 聚合酶。反应体系在 95 预变性 10 min, 然后进入如下循环: 95 变性 45 s, 52 复性 45 s, 72 延伸 90 s, 循环次数为 30。循环结束后 72 延伸 7 min。扩增产物用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测。

经检测扩增良好的产物用柱式 PCR 产物纯化试剂盒 (上海生工) 进行纯化。纯化后用 1.5% 的琼脂糖凝胶电泳检测, 经检测纯化良好的产物用作进一步测序反应。

测序反应体系为 10 μ l, 包括 40 ng 左右模板, 2 μ l ET, 0.5 μ M 引物。反应条件为: 95 预变性 8 s, 然后进入如下循环, 95 变性 15 s, 50 复

性 15 s, 60 延伸 90 s, 循环次数为 31, 循环结束后 60 续延伸 90 s。测序反应产物利用醋酸铵、乙醇纯化去除未参加反应的单核苷酸。纯化后产物利用 Megabase 1000 Automated sequencer, 进行序列分析。

1.3 序列比对与数据分析

利用软件 Clustal (Thompson *et al.*, 1997) 进行序列比对。通过 AWA 程序 (中国科学院高原生物适应与进化重点实验室), 统计单倍型。序列变异位点用 MAGA 2.1 (Kumar *et al.*, 2001) 统计。根据地理位置将 8 个小种群分成 A、B 和 C 3 个地理种群进行遗传多样性分析。通过 Arlequin Ver 3.01 (Laurent *et al.*, 2006) 统计多态位点数 (Number of polymorphic sites, S), 并以 Pairwise difference 分子距离计算单倍型多样性 (Haplotype diversity, H)、核苷酸成对差异平均数 (Mean number of pairwise differences, \bar{d}) 及核苷酸多样性 (Nucleotide diversity, π); 基于 Kimura 2P 模型, 分别计算种群间成对的 F_{ST} 值, 由于 HL1 与 HL2 相距很近, 作为一个小种群 HL 进行遗传分化分析。通过 SPSS 14.0 分析遗传距离与地理距离间的相关性, 利用 BD1.52 (Bohonak, 2002) 对地理隔离假设进行验证, 种群间的河流 (见图 1) 作为地理屏障 (Indicator, I), 通过孟特尔检测 (Mantel test) 验证 F_{ST} 与地理距离的对数 ($\log D$) 间是否相关, 同时通过 RMA (Reduced Major Axis) 回归分析获得方程的斜率 (slope) 与截距 (intercept)。

用 MAGA 2.1 (Kumar *et al.*, 2001) 软件构建系统进化树, 应用自举检验 (bootstrap test) 估计系统树中节点的置信度。种群分化和种群结构的地理格局通过 Arlequin Ver 3.01 分子变异分析 AMOVA (Excoffier, 1992) 模块来估测。通过 Arlequin Ver 3.01 软件中的 Tajima (D test, Tajima, 1983) 和 Fu 检验 (F_s neutrality test, Fu, 1997) 分析历史种群动态。

2 结果

2.1 序列比对与变异信息

本研究测定了 3 个地理种群 8 个小种群共 37 只高原鼯鼠的线粒体序列, 序列长 624 ~ 626 bp, 包括控制区 3' 端序列 (530 bp)、rRNA_{phe} (67 bp)、部分 12S rRNA 5' 端序列 (29 bp)。其中, T、C、A、G 4 种核苷酸的平均比例分别为 32.7% (32.3% ~ 33.3%)、23.2% (22.9% ~ 23.6%)、28.5% (28.0% ~ 29.0%)、15.6% (15.1% ~ 15.9%), A + T 含量为 61.2%, G + C 含量为 38.8%。

AWA 移序分析结果表明, 在 37 个样本中存在 26 种单倍型 (表 1)。以单倍型 1 (Haplotype 1) 为标准进行多态位点分析, 有 50 个突变位点 (Mutations) (图 2), 突变位点百分率为 7.99%。该 50 个突变位点包括 9 个单突变位点 (Singleton variable sites)、38 个简约信息位点 (Parsimony Informative Sites) 和 4 个插缺位点 (Indel)。

表 1 每个地理种群和小种群中的单倍型分布

Table 1 The distribution of haplotypes in the sampled small and geographical populations

地理种群 Geographical population	采集地点 Location of samples	样本数 Samples size	单倍型数目: 单倍型 (n) Number of haplotypes: haplotypes
A	DT 36°56'44"N, 101°40'41"E	4	4: H1, H2, H3, H4
	HY1 36°38'7"N, 101°8'51"E	8	8: H15, H16, H17, H18, H19, H20, H21, H22
	HY2 36°38'22"N, 101°18'55"E	5	4: H23 (2), H24, H25, H26
B	HL1 36°11'22"N, 102°18'17"E	2	1: H11 (2)
	HL2 36°11'59", 102°18'50"E	4	4: H11, H12, H13, H14
C	GS1 34°44'21"N, 102°18'50"E	6	3: H5, H6 (4), H7
	GS2 34°44'59"N, 103°14'50"E	5	5: H6, H7, H8, H9, H10
	GS3 34°33'51"N, 103°33'11"E	3	2: H5, H7 (2)

注: H 代表 haplotype, n 为该单倍型的样本数。

Note: H indicates haplotype and n is the number specimen.

2.2 种群遗传多样性

高原鼯鼠地理种群遗传多样性信息见表 2, 多

态位点数、单倍型多样性与核苷酸多样性都是 A 种群最高, 分别为 24、0.992 和 0.011 18, B 与 C

种群差别不大，分别在 7、0.800 0与 0.003 500左右。A 种群可能经历了种群扩张，因为 Tajima和 Fu 's值均为负值，且检验显著 (表 3)；B和 C种群的两个值趋向于负值，但显著性检验并不显著。

表 2 高原鼯鼠遗传多样性

Table 2 Genetic diversity of *M. baileyi*

	地理种群 Geographical population			Total
	A (DT, HY1, HY2)	B (HL1, HL2)	C (GS1, GS2, GS3)	
样本数 Sample size, <i>n</i>	17	6	14	37
多态位点数 Number of polymorphic sites, <i>S</i>	24	6	8	50
单倍型多样性 Haplotype diversity, <i>H</i>	0.9926 ±0.0230	0.8000 ±0.1721	0.8132 ±0.0737	0.9658 ±0.0160
核苷酸成对差异平均数 Mean number of pairwise differences,	7.0000 ±3.4615	2.2000 ±1.4071	2.1429 ±1.2656	17.3393 ±7.8843
核苷酸多样性 Nucleotide diversity, <i>d_n</i>	0.01118 ±0.00619	0.00352 ±0.00260	0.00342 ±0.00227	0.02765 ±0.01398

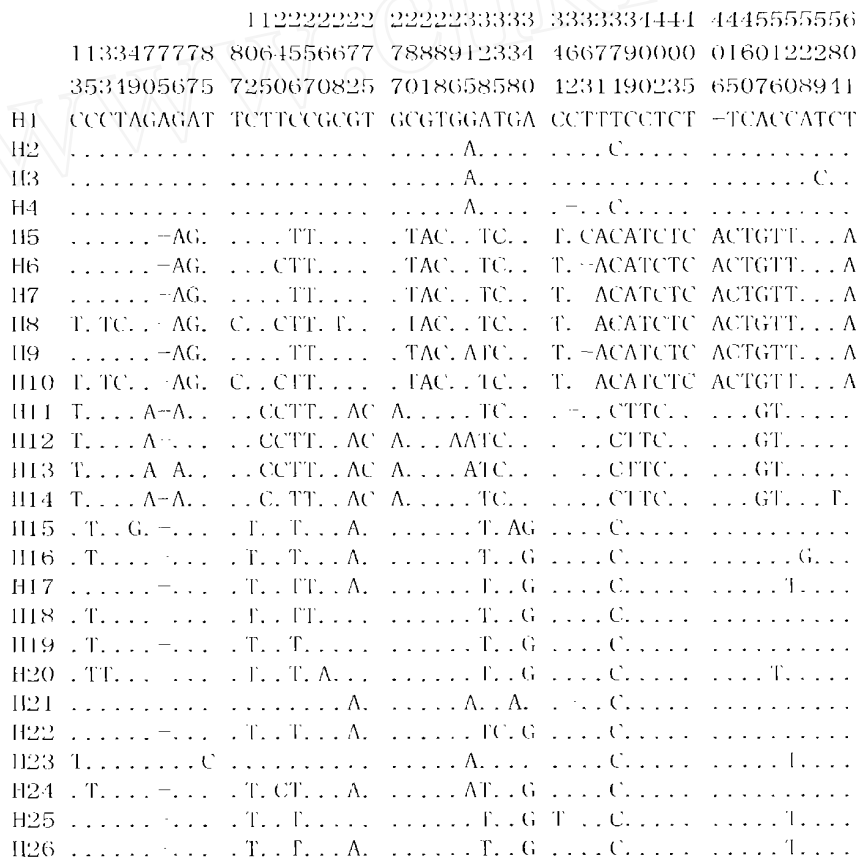


图 2 高原鼯鼠样本测定序列变异位点及其定义的单倍型。图中上方数字表示相应碱基在比对后序列中的位置，圆点 (.) 表示与第一种单倍型相同的碱基组成，横线 (-) 表示缺失。

Fig. 2 Variable sites of 26 haplotypes in 37 *M. baileyi* individuals. Haplotype names are shown on the left. Site numbers correspond to position in the aligned sequences. A dot indicates identity and a dash indicates a deletion relative to the sequence (haplotype 1)

2.3 种群遗传分化

种群间的遗传距离 (F_{ST}) 见表 4。小种群间 F_{ST} 最大值为 0.961 64，最小为 0.136 94，多数大于 0.800 00。可见，小种群间遗传距离大，分化明显。3 个地理种群间的 F_{ST} 值分别为 0.732 51、

0.832 70、0.912 06，地理种群间分化也很明显。

2.4 地理隔离假设的检验

对 7 个小种群的遗传距离 F_{ST} 与地理距离做回归分析 (见图 3)，结果显示随种群间地理距离的增加，遗传距离增大。通过 SPSS14.0 对回归曲线

作显著性分析, 分析结果均为极显著 ($P < 0.0001$)。BD1.52分析结果如下: 孟特尔检测结果 (见表5) 显示遗传距离与地理距离正相关系数为0.8920 ($P = 0.0020$), 其中地理距离与遗传距离的偏相关系数为0.8694 ($P = 0.0080$), 地理屏障与遗传距离的偏相关系数为 -0.0391 ($P = 0.5800$), RMA回归分析结果斜率为0.6757 ($R^2 = 0.796$), 截距为 -0.7192 。

2.5 种群系统分析

以甘肃鼯鼠为外群, 构建最小进化树 (ME树) 和邻接树 (NJ树) (图4) 显示, 26单倍型的分布呈现出一定的地理分布格局, 分成代表3个不同地理种群: 由HY1、HY2和DT构成的A地理种群; HL1和HL2聚成B地理种群; GS1、GS2和GS3组成C地理种群。

2.6 种群遗传结构 AMOVA分析

根据地理分布及系统分析结果, 将3个地理种群和7个小种群进行遗传变异的分子变异等级分析 (AMOVA), 结果见表6。从表中可以看出地理种群之间遗传变异组分为9.35144, 小群体间的变异组分为0.71662, 小群体内的变异组分为1.55578, 分别占遗传变异比率的80.45%、6.17%和13.38%, 检验均为

极显著 ($P < 0.0001$)。显而易见, 地理种群间的遗传变异要远远大于地理种群内小种群之间的遗传变异, 高原鼯鼠具有很高的遗传结构。

表3 高原鼯鼠3个地理种群的 F_S 值及其 P 值

Table 3 The values of F_S and P values in three geographical populations of *M. baileyi*

种群 Populations	D test		Fu's neutrality test	
	D	P	F_S	P
A	-0.20286	0.43881	-8.92988	0.00200
B	-0.82582	0.25854	-0.32582	0.30500
C	-0.53986	0.32039	-0.78685	0.31500

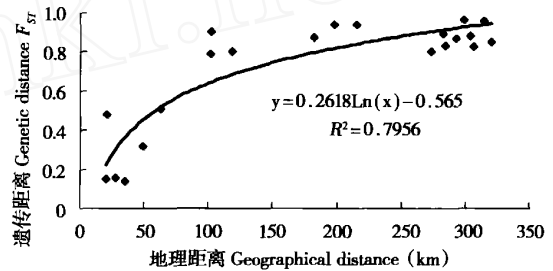


图3 7个小种群地理距离 D 与遗传距离 F_{ST} 的关系

Fig. 3 Correlations between genetic distance and geographic distance among seven small populations

表4 地理种群和小种群间的地理距离与遗传距离 (F_{ST})

Table 4 The measure of genetic distances (F_{ST}) and geographical distances between populations

	DT	HL	HY1	HY2	GS1	GS2	GS3	A	B
DT		102	63	49	299	283	315		
HL	0.90459*		118	102	198	182	215		
HY1	0.50701*	0.80058*		304	284	320			
HY2	0.31704	0.78901*	0.14907		293	273	307		
GS1	0.96164*	0.94250*	0.87729*	0.86963*		28	21		
GS2	0.89156*	0.87460*	0.83147*	0.80100*	0.15299		35		
GS3	0.95937*	0.93860*	0.84803*	0.82663*	0.47839	0.13694			
B								0.73251*	
C								0.83270*	0.91206*

下三角为 F_{ST} , 上三角为地理距离; * $P < 0.05$ 。

Below diagonal, populations pairwise F_{ST} ; Above diagonal, geographical distances in km. * F_{ST} reached significant level ($P < 0.05$). The F_{ST} values and geographical distances were used in isolation-by-distance tests (see Fig. 3).

表5 遗传距离与地理距离的对数间相关性分析

Table 5 Correlations between genetic distance (F_{ST}) and \log (geographical distance) ($\log D$) among small populations

	相关性分析 Mantel test			RMA 回归分析 RMA regression analysis				
	P	Z	R	Estimate	截距 Intercept	斜率 Slope	R^2	n
Correlation of F_{ST} and $\log D$	33.5569	0.8920	0.0020	Estimate	-0.7192	0.6757	0.796	21
Correlation of F_{ST} and I	12.9663	0.4053	0.0700	St. error	0.1508	0.0701		
Partial corr. of F_{ST} and $\log D$		0.8694	0.0080	95% CI	-1.0348, -0.4035	0.5291, 0.8224		
Partial corr. of F_{ST} and I		-0.0391	0.5800	99% CI	-1.1506, -0.2877	0.4752, 0.8762		

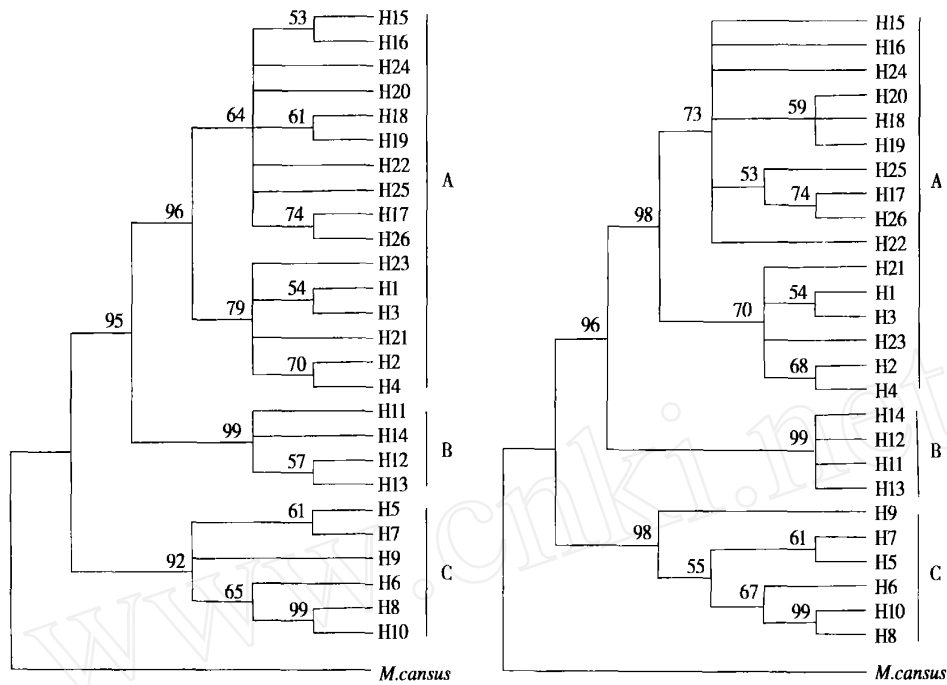


图 4 高原鼯鼠线粒体控制区系统发生树 (左边为最小进化树, 右边为邻接树)

Fig. 4 Phylogenetic trees of the mitochondrial control region in *M. bailey* (left: the minimum evolution tree; right: the neighbor-joining tree)

表 6 高原鼯鼠 7 个小种群遗传变异的分子变异等级分析 (AMOVA)

Table 6 AMOVA analysis of genetic variation in *M. bailey* populations

遗传差异来源 Source of variation	自由度 Degree of freedom	遗传变异组分 Variance components	遗传变异比率 Percentage of variation	固定指数 Fixation index	显著性检验 Significance test <i>P</i>
地理种群之间 Among geographical populations	2	9.35144	80.45	$F_{ST} = 0.86616$	$P < 0.0001$
群体间 Among small populations	4	0.71662	6.17	$F_{SC} = 0.31536$	$P < 0.0001$
群体内 Within small populations	30	1.55578	13.38	$F_{CT} = 0.80451$	$P = 0.0127$
合计 Total	36	11.62383			

3 讨论

3.1 高原鼯鼠遗传多样性特征分析

遗传多样性常用单倍型多样性 (H)、核苷酸多样性 (π) 来度量 (Tajima, 1983)。 H 、 π 值越大, 群体的遗传多样性越高, 一般情况二者具有一致性, 即单倍型多样性高的种群, 核苷酸多样性也较高, 反之亦然。本研究中 A 地理种群的单倍型多样性较 B、C 高, 核苷酸多样性也比 B、C 高, 符合上述规律。

同其他已有啮齿动物的核苷酸多样性相比较 (Bromham *et al.*, 1996; Li *et al.*, 1996), 高原鼯鼠相对较低, 如: Hiota 等 (2004) 发现大林姬鼠 (*Apodemus speciosus*) 隔离种群的 π 为 0.013 ~ 0.029; 为高原鼯鼠的 3 倍 (0.0034 ~ 0.0112);

但二者之间的 H 差别不大: 大林姬鼠 H 介于 0.70 与 0.86 之间, 高原鼯鼠的 H 在 0.80 和 0.99 之间。高原鼯鼠这种高 H 、低 π 的特点可能主要是由于如下两个原因造成的。首先, 由于单个碱基的变异可以生成新的单倍型, 但对核苷酸多样性影响却较小, 与单倍型多样性相比, 核苷酸多样性的提高需要更长时间的积累。因此, 环境反复变化造成的种群缩小和快速增长被认为是造成这种遗传多样性特征的主要原因之一 (缙敬轩, 2004; 曹华猛, 2005)。高原鼯鼠 3 个种群 Tajima 和 Fu's 的检验表明在 A 地理种群中确实发生过快速增长; 而 B 和 C 种群中的两个检验值也趋于负值, 同样说明这种可能性的存在; 检验不显著则可能是由于研究的个体数太少造成的。第四纪冰期中气候的反复变化被认为对种群的遗传结构及现代地理分布格局产

生了重大影响,其结果之一就是造成种群在冰期中的快速缩小和间冰期或者冰后期的快速增长 (Hewitt, 1996)。第四纪以来青藏高原曾经发生几次由于冰期全球变化引起的环境变迁 (施雅风等, 1998)。青藏高原环境变迁可能导致了高原鼯鼠冰期的种群缩小和间冰期或者冰后期的快速增长,这种瓶颈效应 (Bottleneck effects) 能消除过去时间积累的核苷酸多样化变异,但又能快速导致少数碱基位点的快速进化。其次,由于地下生活环境相对稳定以及有限的基因流,任何短时间尺度内的变异都能积累起来,从而使单倍型的多态性高,但提高核苷酸多样性却需要长时间的积累。

3.2 距离隔离对高原鼯鼠种群遗传结构的影响

距离隔离模型 (Isolation-by-distance model) 由 Wright (1943) 首次提出。一个迁移距离远小于分布范围的广布种,即使没有地理屏障,也不能在分布范围内形成单一的随即交配单位而产生距离隔离。高原鼯鼠广泛分布在青藏高原东部,营地下挖掘生活方式,迁移距离小 (魏万红等, 1997), 种群的自由扩散受到限制。夏秋季节,幼鼠离巢分居时可见鼯鼠地面活动,但多数个体的迁移距离也十分有限,多在 200 m 以内,一般雌性迁移距离相对要短 (周文扬和窦丰满, 1990)。我们的研究结果表明与这些野外观察和模型预测是相吻合的: 小种群间遗传距离 F_{ST} 多数大于 0.800 00, 种群间遗传距离越大,分化越明显。 F_{ST} 与地理距离的 SPSS 回归分析与 BD1.52 检验结果都表明遗传分化与地理距离具有极显著正相关性。

此外,从图 3 中可以看出,当地理距离超过 100 km, 遗传距离 F_{ST} 趋于稳定,这说明在不排除地理屏障的情况下,高原鼯鼠种群间地理隔离距离为 100 km 左右。BD1.52 验证中,河流被假定为地理屏障,然而由于对河流的形成历史及高原鼯鼠在研究地区的分布历史现在并不十分清楚,通过孟德尔检测得知研究地区地理屏障与高原鼯鼠种群间遗传距离没有显著相关性。因此,可以认为 100 km 为高原鼯鼠种群的隔离距离。

种群聚类分析结果显示 26 种单倍型的分布呈现出一定的地理分布格局,分成代表不同地理种群的聚合群,支持上述结论。DT、HY1 和 HY2 三者相距较近分别为 63 km、49 km 和 20 km,三者聚成一个分布群 (A 地理种群), HL1 和 HL2 与其它 6 个种群相距较远 (大于 100 km), 独自聚成一枝,形成 B 地理种群; GS1、GS2 和 GS3 相距不足

40 km, 三者聚成了 C 地理种群。根据聚类分析结果分组进行 AMOVA 分析的结果显示,地理种群间的变异占 80.45%, 远远超过了种群间和种群内小群体内的变异。总之,这些分析共同表明高原鼯鼠由于挖掘生活方式,有效迁移距离小,产生了距离隔离,而这种隔离作用促进了种群间的遗传分化,从而随地理距离的增加遗传分化增大,使得高原鼯鼠的遗传结构有着极显著的地理分布格局。

致谢: 感谢中科院西北高原生物研究所郭松长博士在数据处理过程中提供的热诚帮助; 感谢青海省林业局在样品采集过程中的合作与支持。

参考文献:

- Allen GM. 1940. The mammals of China and Mongolia. New York: Amer Mus Hist, 913 - 937.
- Bohonak A J. 2002. BD (Isolation By Distance): A program for analyses of isolation by distance. *Journal of Heredity*, **93**: 153 - 154.
- Bromham L, Rambaut A, Harvey P H. 1996. Determinants of rate variation in mammalian DNA sequence evolution. *Journal of Molecular Evolution*, **43**: 610 - 621.
- Cao H M. 2005. The study on mitochondrial DNA genetic diversity of the white-headed leaf monkey (*Trachypithecus leucocephalus*) (master dissertation). Guilin: Guangxi normal university. (in Chinese)
- Cai Z Y, Zhang T Z, Lian X M, Ci H X, Su J P. 2006. A suitable storage method of animal sample for extracting genomic DNA in field. *Sichuan Journal of Zoology*, **25** (3): 473 - 477. (in Chinese)
- Elleman J R, Morrison-Scott T C S. 1951. Checklist of Palaearctic and Indian Mammals. London: Brit Mus (Nat Hist), 649 - 652.
- Excoffier L, Smouse P, Quattro J. 1992. Analysis of molecular variance inferred from metric distances among DNA haplotypes: Application to human mitochondrial DNA restriction data. *Genetics*, **131**: 479 - 491.
- Fan N C, Jing Z C, Zhou W Y. 1990. On the invading behavior of plateau zokor and a new approach to its control. *Acta Theriologica Sinica*, **12** (2): 183 - 196. (in Chinese)
- Fu Y X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, **147**: 915 - 925.
- Gou J X. 2004. Primer genetic structure and molecular phylogeography of Sichuan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellanae*) (master dissertation). Xi'an: Northwest university. (in Chinese)
- Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice ages and their role in divergence and speciation. *Botanical journal of the Linnean Society*, **58**: 247 - 276.
- Hirota T, Hirohata T, Mashima H, Satoh T, Obara Y. 2004. Population structure of the large Japanese field mouse, *Apodemus speciosus* (Rodentia: Muridae), in suburban landscape, based on mitochondrial D-loop sequences. *Molecular Ecology*, **13**: 3275 - 3282.
- Joe S, David W Russell. 2001. Molecular cloning: A Laboratory Manu-

- al, Third edition New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 463 - 470.
- Kumar S, Tamura K, Jakobsen I, Nei M. 2001. MEGA: Molecular evolution genetic analysis, ver 2.0. *Bioinformatics*, **17**: 1244 - 1245.
- Laurent E, Guillaume L, Stefan S. 2006. Arlequin ver 3.01: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*.
- Li B G, Chen F G. 1989. A taxonomic study and new subspecies of the subgenus *Eospalax*, genus *Myospalax*. *Acta zoologica sinica*, **35** (1): 89 - 95. (in Chinese)
- Li H. 1995. A classification study of the Chinese zokors of subfamily Myospalacinae. *Journal of capital normal university* (natural science edition), **16**: 75 - 80. (in Chinese)
- Li W H, Ellsworth D L, Krushkal J, Chang B H, Hewett-Emmett D. 1996. Rates of nucleotide substitution in primates and rodents and the generation-time effect hypothesis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **5**: 182 - 187.
- Li X C, Wang T Z. 1996. Taxonomy and phylogeny of subgenus *Eospalax*. *Journal of shaanxi normal university* (natural science edition), **24**: 75 - 78. (in Chinese)
- Li Y. 1997. Vicissitudes of geographical distribution of *Myospalax* (*Eospalax*). *Journal of shaanxi normal university* (natural science edition), **25** (supplement): 42 - 47. (in Chinese)
- Norris R W, Zhou K Y, Zhou C Q, Yang G, Kilpatrick C W, Rodney L Honeycutt. 2004. The phylogenetic position of the zokors (*Myospalacinae*) and comments on the families of murids (*Rodentia*). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **31**: 972 - 978.
- Reyes A, Nevo E, Saccone C. 2003. DNA sequence variation in the mitochondrial control region of subterranean mole rats, *Spalax ehrenbergi* superspecies, in Israel. *Molecular Biology and Evolution*, **20** (4): 622 - 632.
- Tajima F. 1983. Evolutionary relationship of DNA sequences infinite populations. *Genetics*, **105**: 437 - 460.
- Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, **25** (24): 4876 - 4882.
- Williams L R, Cameron G N. 1984. Demography of dispersal in the pocket gopher (*Geomys attwateri*). *Journal of mammalian*, **65** (1): 67 - 75.
- Wright S. 1943. Isolation by distance. *Genetics*, **28**: 114 - 138.
- Wei W H, Wang Q Y, Zhou W Y, Fan N C. 1997. The population dynamics and dispersal of plateau zokor after removing. *Acta Theriologica Sinica*, **17** (1): 53 - 61. (in Chinese)
- Zhou C Q, Zhou K Y, Zhang S L. 2004. Molecular authentication of the animal crude drug Sailonggu (Bone of *Myospalax baileyi*). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, **27** (11): 1850 - 1858.
- Zhou W Y, Dou F M. 1990. Studies on activity and home range of plateau zokor. *Acta Theriologica Sinica*, **10** (1): 31 - 39. (in Chinese)
- 李华. 1995. 中国鼯鼠亚科的分类研究. 首都师范大学学报 (自然科学版), **16** (1): 75 - 80.
- 李保国, 陈服官. 1989. 鼯鼠属凸颅鼯鼠亚属 (*Eospalax*) 的分类研究及一新亚种. 动物学报, **35** (1): 89 - 95.
- 李晓晨, 王廷正. 1996. 论鼯鼠属 *Eospalax* 亚属的分类及系统演化. 陕西师范大学学报 (自然科学版), **24**: 75 - 78.
- 李瑛. 1997. *Eospalax* 亚属的地理分布变迁. 陕西师范大学学报 (自然科学版), **25** (增刊): 42 - 47.
- 周文扬, 窦丰满. 1990. 高原鼯鼠活动与巢区的初步研究. 兽类学报, **10** (1): 31 - 39.
- 施雅凤, 李吉均, 李炳元. 1998. 青藏高原晚新生代隆升与环境变化. 广州: 广东科技出版社, 357 - 359.
- 曹华猛. 2005. 白头叶猴 (*Trachypithecus leucocephalus*) 线粒体 DNA 遗传多样性的研究 (硕士学位论文). 桂林: 广西师范大学.
- 缙敬轩. 2004. 川金丝猴 (*Rhinopithecus roxellanae*) 种群遗传结构和分子系统地理学初步研究 (硕士学位论文). 西安: 西北大学.
- 蔡振媛, 张同作, 连新明, 慈海鑫, 苏建平. 2006. 一种提取动物基因组总 DNA 的野外样品保存方法. 四川动物, **25** (3): 473 - 477.
- 樊乃昌, 施银柱. 1982. 中国凸颅鼯鼠 (*Eospalax*) 亚属分类研究. 兽类学报, **12** (2): 183 - 196.
- 魏万红, 王权业, 周文扬, 樊乃昌. 1997. 灭鼠干扰后高原鼯鼠的种群动态与扩散. 兽类学报, **17** (1): 53 - 61.