

# 鼠兔属两对“近缘种”的分子进化 与环境变迁的关系\*

于 宁<sup>1,2</sup> 郑昌琳<sup>2,\*\*</sup> 施立明<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室, 昆明, 650223)

(<sup>2</sup>中国科学院西北高原生物研究所, 西宁, 810001)

## 摘 要

通过对6种鼠兔限制性内切酶图谱的分析, 发现传统的形态学研究公认的两对近缘物种, 即高原鼠兔与达乌尔鼠兔及甘肃鼠兔与藏鼠兔实际上来自两个不同的母系群。该结果提示这4种鼠兔两两间彼此形态的相似性可能因趋同进化所致。通过遗传距离计算的各物种分化的时间表明, 鼠兔在晚上新世可能有一个快速进化时期。这与在地史上发生的相应的地质事件相吻合。

关键词 线粒体DNA; 鼠兔; 分子进化

系统学(分类学)的最终目的是阐明物种之间的亲缘关系, 从而建立自然系统, 总结其进化历史。重建这种种系发生亦是进化生物学的主要目标。过去生物进化的研究主要依靠对不同种属间形态和解剖方面的比较来决定亲缘关系, 进而得出系统进化树。然而, 形态和解剖特征是多功能需求制约的, 由于趋同进化会使非近缘物种产生类似的特征(结构), 所以特征有可能提供种系发生的错误信息。随着分子生物学的迅猛发展, 人们开始着眼于通过比较遗传物质DNA本身的差异程度来确定它们的亲缘关系, 揭示其进化的本质, 从而揭开了生物进化研究的新篇章。

鼠兔属种间形态的相似性一直困扰着系统学家。以往所做的大量形态学工作并未解决国内外长期有争议的一些疑难物种的分类问题, 而对种间亲缘关系的探讨仅有零星报道。本文用线粒体DNA限制性内切酶图谱对鼠兔属的6个种进行研究, 其结果与以往基于形态特征所得的亲缘关系和种系发生树迥然不同。

## 材料和方法

### 1. 实验动物

所用26只鼠兔标本采于如下产地: 青海循化县: 红耳鼠兔 (*Ochotona erythrotis*, subgenus *Pika*,  $n=3$ ); 黄河鼠兔 (*O. huangensis*,  $n=1$ ); 四川康定县: 藏鼠兔 (*O. thibetana*,

\* 国家自然科学基金(39170116)、中国科学院分类区系学科发展特别支持费(9535)及中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室资助课题

\*\* 联系人

本文于1997年1月27日收到, 1997年11月14日收到修改稿

$n=2$ ); 甘肃鼠兔四川亚种 (*O. cansus stevensi*,  $n=1$ ); 陕西省太白山: 甘肃鼠兔太白山亚种 (*O. c. morosa*,  $n=5$ ); 青海省门源县: 甘肃鼠兔指名亚种 (*O. c. cansus*,  $n=6$ ); 高原鼠兔 (*O. curzoniae*,  $n=6$ ); 青海省青海湖西岸: 达乌尔鼠兔 (*O. daurica*,  $n=2$ ).

## 2 方法

mtDNA 的提取与纯化按改进的碱变性法进行。纯化的 mtDNA 样品用16种限制性内切酶: *Ava* I, *Bam*H I, *Bgl* I, *Bgl* II, *Cla* I, *Eco*R I, *Eco*RV, *Hind*III, *Hpa* I, *Pst* I, *Pvu* II, *Sac* I, *Sal* I, *Sca* I, *Stu* I 和 *Xba* I 进行消化, 酶解反应按厂家推荐的条件下进行。样品酶解后以0.8%的琼脂糖凝胶(含0.05%溴化乙锭)电泳分离, 254 nm 紫外光照射下观察拍照。

以双酶解法构建限制性酶谱, 以位点法计算遗传距离, 据限制性内切酶图谱位点的有无进行“1”, “0”编码制成特征矩阵, 以红耳鼠兔做外群, 用 PAUP 程序 (Swofford, 1993) 进行支序分析, 构建 mtDNA 分子系统树。

## 结果与讨论

以 PAUP 程序中的 branch and bound 进行支序分析, 在 length= 84 时, 仅得一个最简约的树 (RI= 0.727, CI= 0.597, 图1)。由图1可见, 分支系统树明显地分为两支, 其一包括达乌尔鼠兔和甘肃鼠兔; 另一支由高原鼠兔、黄河鼠兔及藏鼠兔组成。这两支似乎代表不同的母系群。

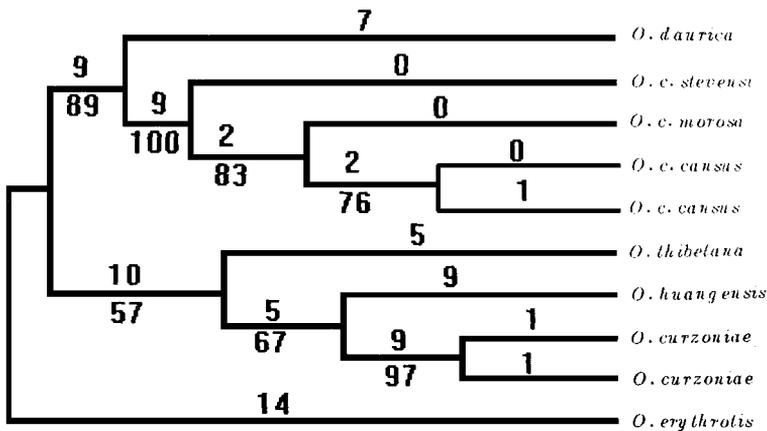


图1 6种鼠兔的mtDNA 分子系统树 (分支线上线下的数值分别代表枝长和置信度)

Fig. 1 Phylogenetic tree of six Chinese species of pikas (Branch lengths and bootstrap confidence values are indicated above and below the branches, respectively)

前人基于表型及栖息环境的异同, 将高原鼠兔和达乌尔鼠兔, 藏鼠兔和甘肃鼠兔作为两对近缘物种。前者栖息环境为开旷草原, 后者为灌丛及林缘, 两两之间彼此在形态上酷似。因而早期研究曾将高原鼠兔作为达乌尔鼠兔的同物异名或亚种; 甘肃鼠兔作为藏鼠兔的同物异名或亚种 (Allen, 1938; Ellemann 等, 1966)。继后又发现它们之间的头骨特征存在量的差异及同域地带无中间类型的事实, 而推论它们之间亲缘关系密切, 为两对近缘物种 (冯祚建等, 1985)。于宁等 (1992) 主要依据形态特征用分支系统学的理论和

方法重建的中国鼠兔亚属的种系发生树也表明甘肃鼠兔与藏鼠兔亲缘关系密切, 而高原鼠兔和达乌尔鼠兔在分支图中均分化较早, 具备一系列的原始性状(于宁等, 1992)。现从图1的m tDNA 分子系统树可见, 形态上的两对近缘种, 即达乌尔鼠兔和高原鼠兔, 藏鼠兔和甘肃鼠兔位于分子系统树的不同分支上, 用核外基因组的同源性分析, 达乌尔鼠兔与甘肃鼠兔的亲缘关系比前者与高原鼠兔的关系更近, 该结论与以往的推论迥然相异。原来公认的两对近缘种实际上来自不同的母系群。这种结果提示这4种鼠兔两两间彼此形态的相似性可能因趋同进化所致。我们的研究表明, 仅通过形态特征有时并不能解决真正的种系发生关系。

按哺乳动物m tDNA 每百万年碱基突变率为2% 来计算(Brown, 1979), 两个母系群的分歧时间约距今 $6.5 \times 10^6$ 年, 藏鼠兔与黄河鼠兔—高原鼠兔的分歧年代约距今 $3.9 \times 10^6$ 年, 达乌尔鼠兔与甘肃鼠兔的分歧时间及黄河鼠兔与高原鼠兔的分歧年代几乎同时发生, 约距今 $3.4 \times 10^6$ 年。这些分歧年代表明鼠兔在晚上新世可能有一个快速进化时期。

我国鼠兔属的演化历史与地质事件及气候变化历史密切相关。地学研究资料表明, 从晚上新世末到更新世初, 发生了两个大的地质事件( $3.4 \sim 2.48 \times 10^6$ 年)。一方面, 青藏高原首次大规模强烈抬升; 另一方面, 气温急剧下降, 导致影响整个北半球的大冰期。在这期间, 高原上主要山脉出现了冰川(董光荣等, 1995; 方小敏等, 1995)。

在第四纪冰期中, 青藏高原没有发生过太冰盖(Li等, 1995), 因此大规模的生物灭绝是不可能发生的。在第四纪期间, 由于青藏高原本身的继续抬升, 加之冰期间冰期的交替及气候变化的影响, 植被演替频繁, 鼠兔栖息地隔离亦频繁发生; 而由于喜马拉雅山脉的雨影效应, 使青藏高原及毗邻地区变得越来越干, 所有这些事件均为鼠兔属的物种形成提供了良好的机会。这样鼠兔逐渐进入了一个包括灌丛、林缘及高山裸岩地带的各种生境, 并且使青藏高原及毗邻地区成为现代鼠兔的分布中心。

## 参 考 文 献

- 于宁, 郑昌琳, 冯祚建 1992 中国鼠兔亚属(subgenus *Ochotona*) 种系发生的探讨. 兽类学报, 12(4): 256~266
- 方小敏, 李吉均, 朱俊杰等 1995 临夏盆地环境变迁与青藏高原隆起的世界影响 青藏高原与全球变化研讨会论文集, 北京: 气象出版社, 41~51
- 冯祚建, 郑昌琳 1985 中国鼠兔属(*Ochotona*) 的研究——分类与分布 兽类学报, 5(4): 271~290
- 董光荣, 王贵勇, 陈惠忠等 1995 中国沙漠形成、演化与青藏高原隆起的关系 青藏高原与全球变化研讨会论文集, 北京: 气象出版社, 13~29
- Allen G.M. 1938 The Mammals of China and Mongolia Pt. 1 New York: Amer Mus Nat Hist, 534~548, 550~557.
- Brown W.M., George M., Wilson A.C. 1979 Rapid evolution of mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci, USA*, 76: 1967~1971.
- Elleman J.R., Morrison-Scott T.C.S. 1966 Checklist of Palaearctic and Indian mammals 1758 to 1946 (2nd ed). London: Brit Mus (Nat Hist), 450, 452
- Li J.J. et al 1995 Uplift of the Qinghai-Xizang (Tibet) plateau and global change. Lanzhou: Lanzhou University Press, 207.
- Swofford D. 1993 In: PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony, version 3.1, Illinois, Natural History survey, Champaign

# THE CORRELATION BETWEEN THE ENVIRONMENTAL CHANGES AND THE EVOLUTION OF THE TWO SIBLING SPECIES OF PIKA (GENUS OCHOTONA)

YU Ning<sup>1,2</sup> ZHEN G Changlin<sup>2</sup> SHIL Ming<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Laboratory of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, Kunming, 650223)

(<sup>2</sup>Northwest Plateau Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining, 810001)

## Abstract

Six species of pika were investigated using mitochondrial DNA (mtDNA) restriction site analysis. The phylogenetic tree was constructed using PAUP with *O. erythrotis* designated as an outgroup. Perhaps, the most intriguing results of this study is that the molecular tree gives us a different picture of the phylogeny compared with the former morphological studies. Previously, *O. cansus* and *O. thibetana*, shrubland burrowing species; *O. curzoniae* and *O. daurica*, meadow-steppe burrowing species have been treated as two pairs of sibling species. Within each pair, the forms have similar morphologies and equivalent ecology. However, with the present study, each pair member is found on a different branch of the tree, which indicates that those forms came from different maternal lineages. Perhaps, the morphological similarities is caused by the convergent evolution. Divergence time, estimated from genetic distances, suggests a period of rapid radiation of genus *Ochotona*, perhaps during the late Pliocene. These calculations seem to correspond roughly to the tectonic events and environment changes through time, and appear to be substantiated by the fossil record.

**Key words** Mitochondrial DNA; Pika (*Ochotona*); Molecular evolution