

新疆东部叶城沙蜥五个居群线粒体 ND4-tRNA^{Leu} 基因序列变异与遗传分化

李俊^{1,2}, 郭宪光¹, 王跃招^{1,*}

(1. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 采用 PCR 方法测定了新疆东部达坂城 (DB)、吐鲁番 (TU)、鄯善 (SS)、柳树泉 (HL) 和哈密东郊 (HD) 的叶城沙蜥 (*Phrynocephalus axillaris*) 的 5 个居群 66 个个体的线粒体 ND4-tRNA^{Leu} 基因序列, 序列比对得到 838 bp 位点, 29 个变异位点定义了 17 种单倍型。除 DB 居群外, 其余居群及 5 个居群总体均呈现单倍型多样性较高 $[(0.600\pm 0.113)\leq h\leq (0.922\pm 0.012)]$, 而核苷酸多样性较低 $[(0.00082\pm 0.00020)\leq \pi\leq (0.00917\pm 0.00037)]$ 。系统发育分析支持 5 个居群形成了 Clade I (DB+TU+SS) 和 Clade II (HL+HD) 两个分支。单倍型网络图也表明, 5 个居群均有谱系地理结构。分子变异分析 (AMOVA) 表明, 81.67% ($P<0.01$) 的遗传分化来自 5 个居群之间, 而距离隔离分析 (isolation by distance) 显示各居群之间的遗传分化 (F_{st}) 与居群间地理距离无显著关系 ($r=0.5324$, $P=0.1196$)。歧点分布 (mismatch distribution) 分析和 Fu's F_s 检验显示, TU 和 HL 居群可能经历近期的种群扩张, 而 SS 和 HD 居群相对稳定。DB 居群特殊的栖息生境及遗传多样性的匮乏揭示该种群可能处于瓶颈期。推测更新世以来, 这些区域的地质、气候变动引起的叶城沙蜥栖息地变化及遗传漂变共同导致了这 5 个居群的遗传分化。

关键词: 叶城沙蜥; ND4-tRNA^{Leu}; 遗传分化; 新疆东部

中图分类号: Q959.62; Q349;.1 Q951.3

文献标志码: A

文章编号: 0254-5853-(2010)04-0361-09

Population Genetic Differentiation of *Phrynocephalus axillaris* in East of Xinjiang Uygur Autonomous Region Based on Sequence Variation of Mitochondrial ND4-tRNA^{Leu} Gene

LI Jun^{1,2}, GUO Xian-Guang¹, WANG Yue-Zhao^{1,*}

(1. Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China;

2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: A 838 bp fragment of mtDNA ND4-tRNA^{Leu} gene was sequenced for 66 individuals from five populations (DB: Dabancheng, TU: Turpan, SS: Shanshan, HL: Liushuquan, HD: East district of Hami) of *Phrynocephalus axillaris* distributed in east of Xinjiang Uygur Autonomous Region. Seventeen haplotypes were identified from 29 nucleotide polymorphic sites in the aligned 838 bp sequence. Excluding DB, there were relatively high haplotype diversity $[(0.600\pm 0.113)\leq h\leq (0.922\pm 0.012)]$ and low nucleotide diversity $[(0.00082\pm 0.00020)\leq \pi\leq (0.00917\pm 0.00037)]$ in the whole and the rest four populations. The result of phylogenetic analysis showed that the haplotypes from five populations formed clade I (DB+TU+SS) and clade II (HL+HD). Network analysis further revealed the phylogeographical structure of these five populations. Analysis of molecular variance (AMOVA) indicated that the significant genetic divergence (81.67%, $P<0.01$) existed among populations, which was not obviously correlated with the geographic distances between populations inferred from isolation-with-distance analysis ($r=0.5324$, $P=0.1196$). The demography analysis implied that TU and HL might have experienced the recent population expansion; SS and HD might be relatively stable. With extremely low genetic diversity, DB might be influenced by the special environment and be experiencing the bottleneck effect. It followed that the significant genetic differentiation among the five populations of *P. axillaris* might be the consequence of habitat changes resulting from the geological events and climate oscillation since Pleistocene and genetic

收稿日期: 2010-01-25; 接受日期: 2010-04-14

基金项目: 国家自然科学基金(30470252, 30700062); 中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目(CIB-2007-LYQY-Q01); 中国科学院知识创新工程方向项目(KSCX2-YW-Z-005); 中国科学院西部之光人才培养计划西部博士项目

*通讯作者(Corresponding author), Tel: 028-85217691, E-mail: arcib@cib.ac.cn

第一作者简介: 李俊, 女, 博士研究生, 主要从事两栖爬行动物系统演化与动物地理学研究; E-mail: lijuncherish@163.com

drift.

Key words: *Phrynocephalus axillaris*; ND4-tRNA^{Leu}; Population genetic differentiation; East of Xinjiang Uygur Autonomous Region

生物对环境与气候变化的响应表现为表型、生理和地理分布区的改变以及适应性进化或者新的物种产生(Ettersson & Shaw, 2001)。物种分布区的变化不可避免地影响居群的遗传结构(Hartl & Clark, 1997)。因此,对居群遗传结构的研究可以追溯生物居群的历史分布过程(Hewitt, 2000; Petit et al, 1997)。

沙蜥是一类典型生活在荒漠、半荒漠地区的小型爬行动物,对特殊生境的需求使其局限分布在干旱荒漠地带。目前,基于沙蜥属部分物种的居群遗传结构研究发现,它们的居群遗传结构明显存在环境变迁带来的遗传痕迹(genetic signature)(Jin et al, 2008; Jin & Liu, 2009; Liu et al, 2008; Wang et al, 2009; Zhu, 2008)。叶城沙蜥(*Phrynocephalus axillaris*)作为我国特有的爬行动物,在新疆境内主要分布于天山山脉南部的荒漠、半荒漠地带(Zhao et al, 1999)。更新世以来,天山山脉的新构造运动促进了吐鲁番-哈密盆地(简称吐哈盆地)和柴窝堡盆地之间南山隆起带的发育(Cao & He, 1997)及天山东部支脉(包括吐哈盆地中的了墩突起)的隆升(Jian, 2001; Zhan, 2002),对吐哈盆地和柴窝堡盆地的环境产生了很大影响。在野外考察中,我们发现新疆东部达坂城地区的叶城沙蜥体色、背部斑纹显著不同于其他居群,而且砾石基底的栖息生境也明显有别于其他居群的沙质、沙土质基底生境。这种形态分化是否具有相应的谱系遗传分化是令人感兴趣的问题。

线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)以较快的进化速率、严格母系遗传、几乎不发生重组等特性,能够较为全面地反映居群内和居群间的遗传变异(Avise et al, 1987),因而被广泛用于群体遗传学和分子系统学研究。在本研究中,我们拟选择进化速率较快的线粒体 ND4-tRNA^{Leu} 基因为分子标记,通过其序列变异对新疆东部叶城沙蜥的达坂城(DB)、吐鲁番(TU)、鄯善(SS)、哈密柳树泉(HL)和哈密东郊(简称哈东,HD)等 5 个居群的遗传结构进行分析,探讨 3 个关键问题:(1)5 个居群间是否存在明显的遗传分化,具有不同的单倍型;(2)5 个居群

是否在冰期以及冰期后的气候变迁中存在强烈的种群动态变化;(3)天山山脉的新构造运动对 5 个居群遗传分化的影响。

1 材料和方法

1.1 样品采集

叶城沙蜥样品来自新疆东部达坂城、吐鲁番、鄯善、柳树泉和哈密东郊 5 个居群,共 66 只个体(图 1, 表 1)。取新鲜肝脏或肌肉组织于 95%酒精固定,标本经 10%福尔马林固定后转 70%酒精保存于中国科学院成都生物研究所两栖爬行动物标本馆。

1.2 基因组 DNA 提取

取适量已固定的肌肉或肝脏组织用于基因组 DNA 提取。采用常规蛋白酶 K 裂解组织细胞,酚-氯法(Sambrook et al, 1989)抽提,95%乙醇沉淀获得总 DNA。提取完毕后,用 50 μ L 双蒸水(ddH₂O)溶解总 DNA,0.8%琼脂糖凝胶电泳检测后用于 PCR 扩增。

1.3 目的片段扩增及序列测定

采用 Arévalo et al(1994)中的引物 ND4 和 Leu 进行 ND4-tRNA^{Leu} 基因片段 PCR 扩增和测序,引物由北京三博远志生物技术有限责任公司合成。PCR 反应体系为 25 μ L,包括 10 \times buffer(含 MgCl₂ 15 mmol/L)2.5 μ L, 2.5 mmol/L 的 dNTP 2 μ L, 10 pmol/ μ L 的引物各 1 μ L, 5 U/ μ L 的 Taq 酶 0.2 μ L, 模板 DNA 1 μ L(约含 DNA 10~100 ng),最后加灭菌 ddH₂O 补至 25 μ L。PCR 反应条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min; 94 $^{\circ}$ C 变性 40 s, 55 $^{\circ}$ C 退火 40 s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 共进行 35 个循环;最后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min; 反应在 PT200 PCR 仪上进行。PCR 产物经 0.8%琼脂糖凝胶电泳检测后送上海英骏生物科技有限公司纯化测序。

1.4 数据分析

采用 BioEdit 软件(Hall, 1999)对 DNA 序列进行比对和编辑,同时辅以手工矫正。用 MEGA4.0 (Tamura et al, 2007)统计碱基组成、变异位点数等序列特征。

根据沙蜥属的系统发育关系 (Guo & Wang,

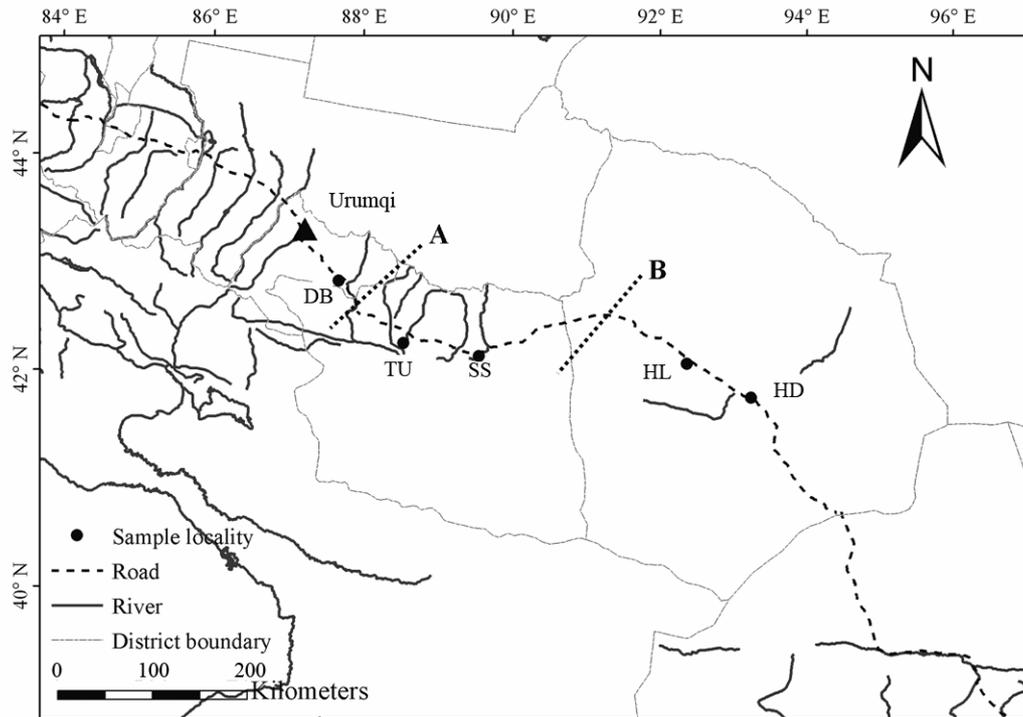


图 1 新疆东部地区叶城沙蜥采样点

Fig. 1 The sampling localities of *Phrynocephalus axillaris* in east of Xinjiang Uygur Autonomous Region

A: 南山隆起带; B: 了墩突起。

A and B represent the approximate site of Nanshan structural belt and Liaodun uplift, respectively.

表 1 叶城沙蜥采样点及样品信息

Tab. 1 Information of samples and their localities of *Phrynocephalus axillaris*

种群 Population	采集地 Locality	海拔 Altitude(m)	经纬度 Coordinate	样本量 Sample size	标本号 Sample No.
DB	达坂城 Dabancheng	1108	N43.34205° E88.22084°	8	WGXC08527-534
TU	吐鲁番 Turpan	-89	N42.85885° E89.19079°	16	WGXC08209-213, WGXC08222-231, WGXC257
SS	鄯善 Shanshan	418	N42.84384° E90.19471°	11	WGXC08246-256
HL	柳树泉 Liushuquan	1085	N43.03739° E92.90997°	15	WXJ09221-223, WXJ225-233, WXJ09236-238
HD	哈密东郊 East of Hami	828	N42.79132° E93.79622°	16	WGXC08162-169, WGXC08178-182, WGXC08186-188

2007)选取大耳沙蜥(*Phrynocephalus mystaceus*) (Genbank 登录号 AY054055)、旱地沙蜥(*Phrynocephalus helioscopus*) (GenBank 登录号 AY054050)和变色沙蜥(*Phrynocephalus versicolor*) (GenBank 登录号 AY054095)为外类群, 采用最大简约法(maximum parsimony, MP)和贝叶斯推论(Bayesian inference, BI)构建单倍型的系统发育树。在 PAUP*4.0b10 (Swofford, 2003)中进行最大简约分析, 采用启发式搜索(heuristic search)、TBR(tree-bisection-reconnection, 树二等分再连接)分支交换搜索最大简约树,

分支节点置信度(BP)用自展检验(Bootstrap)经 1000 次重复抽样得到。用 jModelTest 0.1.1(Guindon & Gascuel, 2003; Posada, 2008)选取用于贝叶斯分析的核苷酸进化的最佳模型, 在 MrBayes3.1(Ronquist & Huelsenbeck, 2003)中构建贝叶斯树, 以后验概率 (posterior probability, PP)表示各分支的节点置信度。起始树为随机树, 以 3 条热链、1 条冷链的马尔科夫蒙特卡罗(Markov chain Monte Carlo)方法运行 5×10^6 代, 每 200 代抽取一棵树, 最初 1 万棵树作为老化样本(burn-in)被舍弃, 余下的 1.5 万棵树用

于计算一致树(consensus tree)及相关参数。基于简约法原理用 TCS 1.21 软件(Clement et al, 2000)构建单倍型网络图。

用 DnaSP 5.0 软件(Librado & Rozas, 2009)计算各居群的单倍型多样性(h)、核苷酸多样性(π), 评价居群的遗传多样性水平。Arlequin 3.1 软件(Excoffier et al, 2005)中计算居群两两间遗传分化指数(F_{st})以进一步揭示各居群间分化程度。用 IBD 1.52 软件(Bohonak, 2002)计算遗传分化是否遵循距离隔离模式(Isoation by distance, IBD), 与地理距离呈正相关。采用 Arlequin3.1(Excoffier et al, 2005)进行分子变异分析(analysis of molecular variance, AMOVA), 探讨叶城沙蜥的遗传结构及遗传变异的分布情况进而作歧点分布(mismatch distribution)(Rogers & Harpending, 1992)分析及 Fu's F_s (Fu, 1997)中性检验以推测种群是否经历扩张。

2 结果

2.1 序列变异和单倍型分布

实验获得 66 条序列(GenBank 登录号: GU952864-GU952921, GU952982-GU952989), 比

对后得到 838 bp 的片段, 其中 1~694 为 mtDNA ND4 基因的 3'端, 695~757 为 tRNA-His, 758~815 为 tRNA-Ser, 816~838 为 tRNA-Leu 的 5'端。ND4 基因的终止密码子为 TAA, 在序列内部未发现终止密码子。A、T、C、G 平均含量分别为 35.2%、24.6%、27.6%、12.6%, 表现出明显的反 G 偏倚, 且 A+T 含量(59.8%)明显高于 C+G 含量(40.2%)。所有序列内没有发现插入、缺失; 共含变异位点 29 个, 包括 19 个简约信息位点和 10 个单突变位点, 分别出现在密码子第一位(占 31%)、第三位(占 55.2%)和 tRNA 部分(占 13.8%); 密码子第二位未检测到变异。

66 条序列共定义了 17 个单倍型, 各单倍型在不同居群中的分布见表 2。所有单倍型中, 只有单倍型 H4 为 SS 和 TU 两个居群共享, 其余单倍型分别为各居群特有单倍型。DB 居群仅含 1 个单倍型 H1; TU 居群除共享单倍型 H4 外, 另有 4 个特有单倍型, 且单倍型 H2 涵盖了该居群的 10 个个体; SS 居群除共享单倍型 H4 外, 也有 3 个特有单倍型, 其中单倍型 H8 出现频率最高; HL 和 HL 两居群各有 4 个特有单倍型, 所含个体数最多的单倍型分别为 H11 和 H16。

表 2 叶城沙蜥 mtDNA ND4-tRNA^{Leu} 基因单倍型在各居群中的分布
Tab. 2 The distribution of mtDNA ND4-tRNA^{Leu} gene haplotypes in different populations of *Phrynocephalus axillaris*

居群 Population(n1/n2/n3)	单倍型代码 Haplotype code																
	H1	H2	H3	H4	H5	H6	H7	H8	H9	H10	H11	H12	H13	H14	H15	H16	H17
DB(8/1/1)	7																
TU(16/5/4)		10	3	1	1	1											
SS(11/4/3)				2			3	5	1								
HL(15/4/4)										4	9	1	1				
HD(16/4/4)														4	4	7	1
Total(66/17/15)	7	10	3	3	1	1	3	5	1	4	9	1	1	4	4	7	1

居群后括号中数字依次代表采样数、单倍型数、特有单倍型数。

The value in parentheses following population name represents number of sampling, haplotypes and private haplotypes, respectively.

2.2 系统发育关系

依据贝叶斯信息标准(Bayesian information criterion, BIC)选取 HKY+G 为适用于贝叶斯系统发育推论的核苷酸进化最佳模型。贝叶斯树(A)和最大简约树(B)拓扑结构大体一致(图 2)。叶城沙蜥 5 个居群形成两个分支: clade I (PP=0.96, BP=65)和 clade II (PP=—, BP=59)。clade I 包括 TU、DB 和 SS 居群, 其中 DB 居群与 H4 之外的 TU 居群形成一支且互为姐妹群关系, 共享单倍型 H4 和 SS 居群聚

在一起。clade II 包括 HL 居群和 HD 居群, 但两个居群没有形成交互单系, 只有 HD 居群的 H14、H16 和 H17 形成一个亚支(PP=1.0, BP=95)。

从单倍型网络图(图 3)可知, 哈密地区两居群(HD、HL)的单倍型与 TU、SS 以及 DB 居群之间存在较多未检测到的单倍型, 两者之间有 7~12 步突变, 与图 2 中的 clade II 和 clade I 相对应; TU 居群的 H2 与相邻的 H3、H5、H6 仅有 1 步突变, 且与 DB 居群的 H1 也仅有 1 步突变; 共享单倍型 H4 与

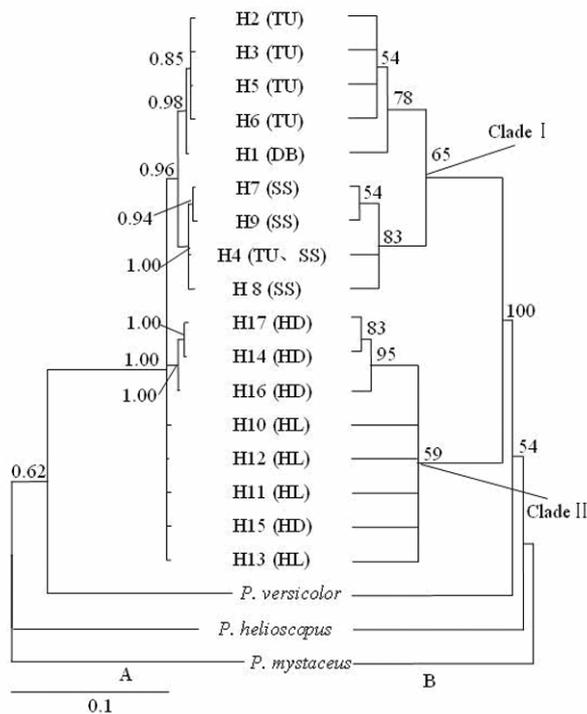


图 2 基于叶城沙蜥 mtDNA ND4-tRNA^{Leu} 单倍型构建的贝叶斯树(A)和最大简约树(B)

Fig. 2 Bayesian tree (A) and maximum parsimony tree (B) based on mtDNA ND4-tRNA^{Leu} haplotypes of *Phrynocephalus axillaris*

单倍型代码同表 2。A 中节点数值为贝叶斯后验概率, B 中为 1000 次重复抽样得到的自举值(仅显示 $\geq 50\%$)。

Haplotype codes are the same indicated in Tab.2. Numbers at internodes are Bayesian posterior probabilities for A and MP bootstrap values for B (only $\geq 50\%$ shown).

SS 居群的 H7、H8 和 H9 分别有 1、2 和 2 步突变。此外, HD 居群中 H15 并未与该居群其他单倍型连在一起, 而与 HL 居群中 H11 通过 1 步突变相连, 类似于 HL 居群中的 H10、H12 和 H13。

2.3 遗传多样性和居群遗传结构

城沙蜥 5 个居群中除 DB 外, 其余四个居群和整个研究区均呈现单倍型多样性 (h) 较高 $[(0.600 \pm 0.113) \sim (0.922 \pm 0.012)]$ 而核苷酸多样性 (π) 较低的状态 $[(0.00082 \pm 0.00020) \sim (0.00917 \pm 0.00037)]$ (表 3)。DB 居群因只含有 1 个单倍型, 因此, 两种指数值在该居群中均趋于零。

AMOVA 分析显示(表 4), 将叶城沙蜥 5 个居群当作一个整体时, 遗传变异主要发生在各不同居群间 (81.67% , $P < 0.01$), 而发生在各居群内的变异仅占 18.33% ($P < 0.01$); 其他分组分析中尽管得到所占比率较高的组间变异, 但差异显著性检验均表明其组间差异未达到显著水平 ($P > 0.05$)。居群间遗传分化(表 5)分析也显示: 两两居群间的遗传分化均达到显著性水平 ($P < 0.01$), 而相对较小的遗传分化分别

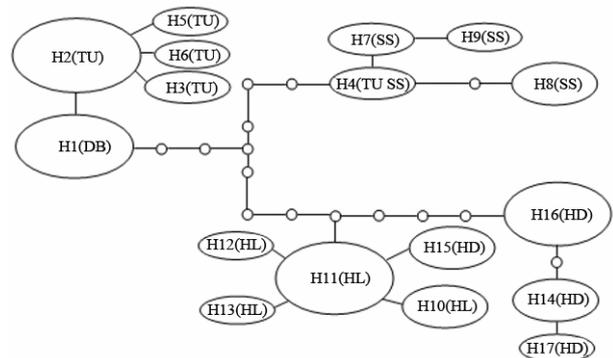


图 3 基于统计简约法构建的叶城沙蜥单倍型网络图
Fig. 3 The haplotype network *Phrynocephalus axillaris* based on the statistical parsimony

以椭圆表示单倍型, 其代码同表 2。各单倍型之间的连线表示一步变异, 椭圆大小约表示该单倍型出现的次数, 小空心圆代表未检测到的单倍型。

Each haplotype is represented by an oval and its code is the same indicated in Tab.2. Each mutation is shown as a line between each two haplotypes. The size of oval is proportional to corresponding haplotype frequencies. Small unfilled circles represent unsampled haplotypes.

表 3 叶城沙蜥各居群遗传多样性及 Fu's F_s 检验

Tab. 3 The genetic diversity and Fu's F_s test in different populations of *Phrynocephalus axillaris*

居群	单倍型多样性	核苷酸多样性	Fu's F_s 检验	显著性
Population	Haplotype diversity (h)	Nucleotide diversity (π)	Fu's F_s test	P -value
DB	—	—	—	—
TU	0.600 ± 0.127	0.00188 ± 0.00100	-0.29084	0.426
SS	0.745 ± 0.098	0.00213 ± 0.00029	0.50460	0.599
HL	0.600 ± 0.113	0.00082 ± 0.00020	-1.16127	0.088
HD	0.725 ± 0.069	0.00411 ± 0.00078	3.15162	0.927
Total	0.922 ± 0.012	0.00917 ± 0.00037	0.63457	0.629

表 4 叶城沙蜥 mtDNA ND4-tRNA^{Leu} 分子变异等级分析
 Tab. 4 Hierarchical analysis of molecular variance (AMOVA) of mtDNA ND4-tRNA^{Leu} of *Phrynocephalus axillaris*

组 Group	变异来源 Source of Variation	变异分数%variation	Φ 值 Φ value	显著性检验 P
	组间 Among groups	45.58	Φ _{ct} =0.45579	0.10564
[DB, TU, SS][HL, HD]	组内居群间 Among populations within groups	39.17	Φ _{sc} =0.84746	<0.01
	居群内 Within populations	15.25	Φ _{st} =0.7197	<0.01
	组间 Among groups	64.23	Φ _{ct} =0.64228	0.06733
[DB,TU][SS][HL, HD]	组内居群间 Among populations within groups	19.97	Φ _{sc} =0.84194	<0.01
	居群内 Within populations	15.81	Φ _{st} =0.55815	<0.01
	组间 Among groups	74.55	Φ _{ct} =0.7455	0.10119
[DB,TU][SS][HL] [HD]	组内居群间 Among populations within groups	8.14	Φ _{sc} =0.8269	<0.01
	居群内 Within populations	17.31	Φ _{st} =0.31983	<0.01
	组内居群间 Among populations within groups	81.67	Φ _{sc} =0.81671	<0.01
[DB, TU, SS, HL, HD]	居群内 Within populations	18.33	—	—

表 5 叶城沙蜥各居群间遗传分化(*F_{st}*)及差异显著性
 Tab. 5 The pairwise genetic divergence *F_{st}* (blow diagonal) and its significance (above diagonal) between populations of *Phrynocephalus axillaris*

	DB	TU	SS	HL	HD
DB		<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01
TU	0.43983		<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01
SS	0.87722	0.81655		<i>P</i> <0.01	<i>P</i> <0.01
HL	0.94658	0.88286	0.89398		<i>P</i> <0.01
HD	0.79490	0.79555	0.79400	0.58881	

出现在 DB 与 TU 居群(*F_{st}*=0.43983)和 HD 与 HL 居群(*F_{st}*=0.58881)之间, 其余各居群之间的遗传分化指数相对较高; 而最大的遗传分化出现在 HL 和 DB 居群之间。此外, IBD 分析表明(图 4), 各居群之间出现的遗传分化(*F_{st}*)与居群间地理距离没有显著的关系(*r*=0.5324, *P*=0.1196)。

2.4 种群历史动态

叶城沙蜥 TU、SS、HD 和 HL 居群的歧点分布

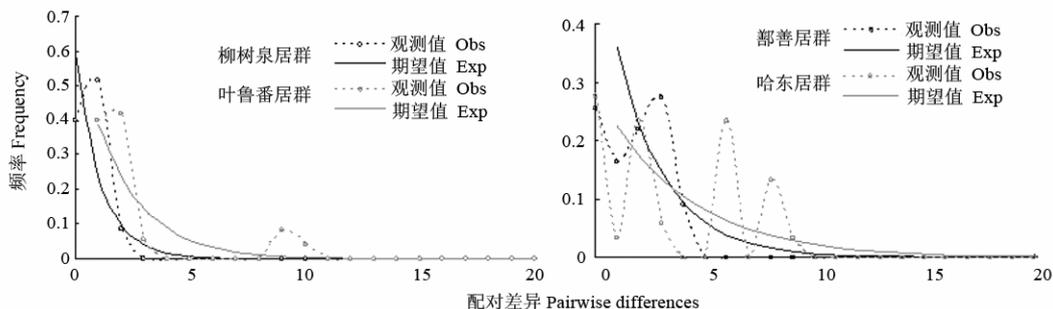


图 5 叶城沙蜥部分居群单倍型歧点分布分析
 Fig. 5 The mismatch distributions of the haplotypes of *Phrynocephalus axillaris* in SS, TU, HD and HL

分析和 Fu's *F_s* 中性检验结果见图 5 和表 3。明显左移的单峰型歧点分布和负的 Fu's *F_s* 值显示 HL 和 TU 两居群可能经历了近期的种群扩张; 而 SS 居群和 HD 居群多峰的歧点分布和正的 Fu's *F_s* 值则说明种群处于相对稳定的状态。

3 讨论

3.1 居群遗传结构和遗传多样性

系统发育分析支持新疆东部叶城沙蜥 5 个居

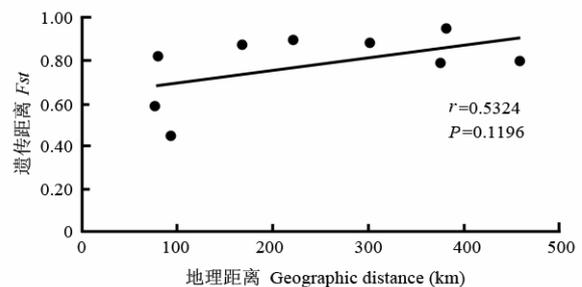


图 4 叶城沙蜥距离隔离模式分析
 Fig. 4 Isolation-by-distance analysis of *Phrynocephalus axillaris*

群形成 clade I (DB+TU+SS) 和 clade II (HL+HD) 两个分支(图 2)。同样, 单倍型网络图也支持了这种遗传结构: DB 居群与 TU 居群中除 H4 外的其余单倍型关系较近, 而后者与 SS 居群共享的 H4 暗示 TU 和 SS 居群个体之间存在一定程度的扩散; HL 居群和 HD 居群(H15 除外)之间相对较少的缺失单倍型(仅 4 个)表明它们相对较近的关系。AMOVA 分析发现高比例的遗传变异出现在不同居群间(81.67%), 表明各居群之间具有显著的遗传分化。居群两两间的 *F_{st}* 值也再次说明了各居群间具体的分化程度。尽管 DB 与 TU 和 HL 与 HD 居群具有相对较小的 *F_{st}* 值, 但这种差异仍然显著($P < 0.01$)。DB 居群的个体体色、背部斑纹及栖息生境特征不同于其他四居群, 而与四居群间显著的 *F_{st}* 值也说明该居群在遗传上明显有别于其他居群。基于居群间遗传分化程度和采样居群近似线状的分布所做的距离隔离分析(IBM)显示各居群之间的遗传分化(*F_{st}*)与居群间地理距离没有显著的关系。

建群种越小越容易受到遗传漂变的影响, 其主要结果是引起遗传多样性的丧失(Stone, 2002); 而栖息地片段化所导致的基因流匮乏同样会导致遗传多样性的降低(Xu et al, 2005), 增加居群间的遗传分化(Frankham, 1995)。5 个居群之间出现明显的遗传分化, 但系统树较浅的分支结构、网络图的连续以及各居群(除 DB 外)较高的单倍型多样性(*h*)和较低的核苷酸多样性(π)说明: 不同居群很有可能在演化过程中受到奠基者效应和遗传漂变的影响, 形成了遗传多样性低的现状, 而在适应各自栖息生境过程中逐渐形成了居群的特有单倍型。

3.2 瓶颈效应和近期扩张

DB 居群 8 个个体均为同一单倍型 H1, 该点位于天山南山隆起带西侧较低处, 海拔相对于其他居群最高(为 1108 m), 基底表层满布砾石, 且距盐湖不足 1 km, 这些生境特征明显有别于隆起带以东其他居群的沙质和沙土质生境。因此, 推测 DB 居群单倍型多样性的匮乏是由于受到特殊生境瓶颈效应的影响。单倍型网络图中 TU 居群形成以 H2 为中心的辐射状结构, 并伴有和 SS 居群共享单倍型 H4; HL 居群类似的网络结构以及中央单倍型 H11 与 HD 居群的 H15 仅以一步突变相连, 表明两居群可能发生过扩张事件。歧点分布分析中显著的单峰(图 5)和负的 *F_u*'s *F_s* 值(表 3)也支持

TU 和 HL 两个居群在其演化历史上可能经历过种群扩张。结合前人的研究(Grant & Bowen, 1998; Li et al, 2003; Liu et al, 2008; Xu et al, 2005), 我们推测居群内出现单倍型多样性(*h*)较高, 而低核苷酸多样性(π)相对较低可能是由于居群在较近时间范围内经历的瓶颈后的快速扩张, 有利于促进单倍型多样性的增加, 但还没有足够的时间积累其核苷酸多样性。

3.3 5 个居群显著遗传分化的成因

本研究中, 5 个居群分别位于吐鲁番-哈密盆地(简称吐哈盆地)及其西端的柴窝堡盆地达坂城地区。吐哈盆地作为天山山脉内部最大的山间前陆盆地, 自西向东分别为吐鲁番凹陷、了墩突起和哈密凹陷(Zhao et al, 1992); 且以南山隆起带与柴窝堡盆地相隔(Allen et al, 1993)。HD 和 HL 居群位于哈密凹陷, TU 和 SS 居群位于吐鲁番凹陷, DB 居群位于柴窝堡盆地东端的达坂城凹陷(图 1), 各居群栖息生境存在较大差别。更新世以来, 天山山脉新构造运动促进了南山隆起带的发育(Cao & He, 1997)和天山东部支脉中了墩突起的隆升(Jian, 2001; Zhan, 2002)。南山隆起带的发育可能构成 DB 居群同 TU 居群交流的障碍; 而对 DB 居群而言, 由于自身缺乏有效种群的调节, 从而容易受到奠基者效应和遗传漂变的影响, 致使现生居群遗传多样性极低。了墩突起可能阻隔 HL 居群和 SS 居群间的扩散, 使其形成各自特有单倍型。

第四纪的冰期、间冰期回旋对北半球很多物种的分布格局的形成都有着显著的影响(Hewitt, 1996, 1999); 冰期的干冷, 促进了荒漠及沙化环境的扩展(Wang, 1997; Wu & Guo, 2000; Wu et al, 2002), 而间冰期相对暖湿的气候有利于促进绿洲发育, 绿洲的形成可能造成适宜沙蜥生存的荒漠环境的片段化, 进而对 5 个居群的遗传分化产生影响。Liu et al(2008)在对若尔盖湿地青海沙蜥红原亚种(*Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis*)的研究中也提及间冰期暖湿的气候使得邻近高山上的雪水融化进入低地而形成的沼泽、草甸阻隔了不同沙丘间青海沙蜥的基因交流, 最终使得不同地理单元间出现显著的遗传分化。因此, 我们推测更新世以来, 南山隆起带、了墩突起以及各居群栖息地之间绿洲的演化使得适合叶城沙蜥生存的荒漠环境片段化, 进而导致 5 个居群呈现出显著的遗传分化。

参考文献:

- Allen MB, Windley BF, Zhang C, Guo JH. 1993. Evolution of the Turpan basin, Chinese central Asian [J]. *Tectonics*, **12**(4): 889-896.
- Arévalo E, Davis SK, Sites JW. 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico [J]. *Syst Biol*, **43**: 387-418.
- Avise JC, Arnold J, Ball RM, Bermingham E, Lamb T, Niegel JE, Reeb CA, Saunders NC. 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics [J]. *Annu Rev Ecol Syst*, **18**: 489-522.
- Bohonak AJ. 2002. IBD (Isolation By Distance): a program for analyses of isolation by distance [J]. *J Hered*, **93**: 153-154.
- Cao SL, He DF. 1997. Evolution of the Caiwopu basin, Xinjiang [J]. *Geotecton Metall*, **21**(3): 262-269. [曹守连, 何登发. 1997. 柴窝堡盆地的构造演化. 大地构造与成矿学, **21**(3): 262-269.]
- Clement M, Posada D, Crandall KA. 2000. TCS: a computer program to estimate gene Genealogies [J]. *Mol Ecol*, **9**(10): 1657-1660.
- Etterson JR, Shaw PE. 2001. Constraint to adaptive evolution in response to global warming [J]. *Science*, **294**: 151-154.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evol Bioinform Online*, **1**: 47-50.
- Frankham R. 1995. Conservation genetics [J]. *Annu Rev Genet*, **29**: 305-327.
- Fu YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection [J]. *Genetics*, **147**: 915-925.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximum-likelihood [J]. *Syst Biol*, **52**: 696-704.
- Guo XG, Wang YZ. 2007. Partitioned Bayesian analyses, dispersal-vicariance analysis, and the biogeography of Chinese toad-headed lizards (Agamidae: *Phrynocephalus*): A re-evaluation [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **45**: 643-662.
- Grant WS, Bowen BW. 1998. Shallow population histories in deep evolutionary lineages of marine fishes: insights from sardines and anchovies and lessons for conservation [J]. *J Hered*, **89**: 415-426.
- Hall TA. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. *Nucleic Acids Symp Ser*, **41**: 95-98.
- Hartl DL, Clark AG. 1997. Principles of Population Genetics [M]. Massachusetts: Sinauer.
- Hewitt GM. 1996. Some genetic consequences of ice age, and their role in divergence and speciation [J]. *Biol J Linn Soc*, **58**: 247-276.
- Hewitt GM. 1999. Postal-glacial re-colonization of European biota [J]. *Biol J Linn Soc*, **68**: 87-112.
- Hewitt GM. 2000. The genetic legacy of the Quaternary ice ages [J]. *Nature*, **405**: 907-913.
- Jian J. 2001. Basin analysis on Turpan-Hami basin [D]. Master thesis. Northwest University. [荐 军. 2001. 吐鲁番—哈密盆地盆地分析. 西北大学硕士学位论文.]
- Jin YT, Brown RP, Liu NF. 2008. Cladogenesis and phylogeography of the lizard *Phrynocephalus vlangalii* (Agamidae) on the Tibetan Plateau [J]. *Mol Ecol*, **17**(8): 1971-1982.
- Jin YT, Liu NF. 2010. Phylogeography of *Phrynocephalus erythrurus* from the Qiangtang Plateau of the Tibetan Plateau [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **54**(3): 933-940.
- Li M, Meng SJ, Wei FW, Wang J, Yong YG. 2003. Genetic diversity and population genetic structure of Takin (*Budorcas taxicolor*) [J]. *Acta Theriol*, **23**(1): 10-16. [李 明, 蒙世杰, 魏辅文, 王 静, 雍严格. 2003. 羚牛的遗传多样性及其种群遗传结构分析. 兽类学报, **23**(1): 10-16.]
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP 5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, **25**: 1451-1452.
- Liu L, Guo XG, Wang YZ. 2008. Genetic Variation and Diversity of *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis* in Zoige Wetland Inferred from ND4-tRNA^{Leu} Gene [J]. *Zool Res*, **29**(2): 121-126. [刘 莉, 郭宪光, 王跃招. 2008. 若尔盖湿地青海沙蜥红原亚种线粒体 ND4-tRNA^{Leu} 基因的序列变异和遗传多样性. 动物学研究, **29**(2): 121-126.]
- Posada D. 2008. jModelTest: Phylogenetic model averaging [J]. *Mol Biol Evol*, **25**(7): 1253-1256.
- Petit RJ, Pineau E, Demesure B, Bacilieri R, Ducouso A, Kremer A. 1997. Chloroplast DNA footprints of postglacial recolonization by oaks [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **94**(18): 9996-10001.
- Rogers AR, Harpending H. 1992. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences [J]. *Mol Biol Evol*, **9**: 552-569.
- Ronquist F, Huelsenbeck JP. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models [J]. *Bioinformatics*, **19**: 1572-1574.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. 1989. Molecular Cloning: A Laboratory Manual [M]. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Stone GN, Atkinson RJ, Brown G, Rokas A. 2002. The population genetic consequences of range expansion: A review of pattern and process, and the value of oak gallwasps as a model system [J]. *Biodiv Sci*, **10**(1): 80-97.
- Swofford DL. 2003. PAUP*. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (*and Other Methods) [M]. Version 4. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Tamura K, Dudley J, Nei M. 2007. MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) software version4.0 [J]. *Mol Biol Evol*, **24**: 1596-1599.
- Wang JW. 1997. Paleogeographical progresses in the formation of China arid land [J]. *J Arid Land Resour Environ*, **11**(1): 1-8. [汪久文. 1997. 中国干旱区形成的古地理. 干旱区资源与环境, **11**(1): 1-8.]
- Wang YZ, Zhan AB, Fu JZ. 2009. Testing historical phylogeographic inferences with contemporary gene flow data: Population genetic structure of the Qinghai toad-headed lizard [J]. *J Zool*, **278**(2): 149-156.
- Wu HB, Guo ZT. 2000. Evolution and drought events in arid region of Northern China since the Last Glacial Maximum [J]. *Quatern Sci*, **20**(6): 548-558. [吴海斌, 郭正堂. 2000. 末次盛冰期以来中国北方干旱区演化及短尺度干旱事件. 第四纪研究, **20**(6): 548-558.]
- Wu GJ, Pan BT, Guan QY, Gao HS. 2002. The maximum glaciation and desert expansion in China during MIS16 [J]. *J Glac Geocr*, **24**(5): 544-549. [邬光剑, 潘保田, 管清玉, 高红山. 2002. 中更新世全球最大冰期与中国沙漠扩张. 冰川冻土, **24**(5): 544-549.]
- Xu GJ, Cai KZ, Shao GZ, Wang JP, Lin HD. 2005. Phylogeography and population genetic structure of *Sinibrama macrops* based on mtDNA [J]. *BioFormosa*, **40**(2): 58-67. [许桂普, 蔡昆展, 邵广昭, 王建平, 林弘都. 2005. 大眼华鳊亲缘地理与族群遗传结构之研究. 生物学报: 中国台湾, **40**(2): 58-67.]
- Zhan SG. 2002. Formation and evolution of Turpan-Hami basin [J]. *Fossils*, **4**: 27-29. [詹士高. 2002. 吐鲁番—哈密盆地的由来与演变. 化石, **4**: 27-29.]
- Zhao WZ, Yuan F, Zeng XM. 1992. The structural characteristics of

- Turpan-Hami basin [J]. *Acta Petrol Sin*, **13**(3): 9-18. [赵文智, 袁 非, 曾小明. 1992. 吐鲁番-哈密盆地的构造特征. 石油学报, **13**(3): 9-18.]
- Zhao EM, Zhao KT, Zhou KY. 1999. Fauna Sinica. Reptilia: Vol. 2. Squamata. Lacertilia [M]. Beijing: Science Press, 151. [赵尔宓, 赵肯堂, 周开亚. 1999. 中国动物志 爬行纲: 第二卷 有鳞目 蜥蜴亚目 [M]. 北京: 科学出版社, 151.]
- Zhu L. 2008. Preliminary study on molecular phylogeography of *Phrynocephalus forsythii* in Tarim Basin [D]. Master thesis, China West Normal University. [朱 磊. 2008. 塔里木盆地南疆沙蜥分子系统地理学研究初探. 西华师范大学硕士学位论文.]

欢迎订阅 2011 年《基因组学与应用生物学》

《基因组学与应用生物学》是由广西大学主管和主办, 公开发行的双月刊科学期刊。广西大学聘请中国农业大学李宁院士任主编, 北京大学教授朱玉贤博士和海南省热带农业资源研究所所长方宣钧博士任执行主编, 国内众多的著名学者出任编委。

《基因组学与应用生物学》主要刊登现代生物技术的前沿学科和基础学科如基因组学、分子细胞遗传学、生化与分子生物学、应用生物学等相关的原始研究成果。刊登植物、动物及微生物领域的生物在组织、器官、细胞、染色体、蛋白质、基因、酶、发酵工程等不同水平上的现代生物技术等基础与应用基础研究的成果。本刊按国际标准编排, 题目摘要、图表、引用文献等均实行中英文对照, 实现网上领先发表模式。

《基因组学与应用生物学》, 前身是原《广西农业大学学报》, 创刊于 1982 年。广西农业大学合并入广西大学以后更名为《广西农业生物科学》。《广西农业生物科学》已入编《中文核心期刊要目总览》2008 年版(即第五版)之综合性农业科学类的核心期刊, 是中国科学引文数据库(CSCD)来源期刊, 也是中国科技核心期刊即中国科技论文统计源期刊。2001 年入选国家新闻出版总署“中国期刊方阵”, 先后被国际知名检索系统——英国国际农业与生物科学研究中心(CABI)、美国《化学文摘》(CA)、美国《剑桥科学文摘: 自然科学》(CSA: NS)、英国《动物学记录》(ZR)、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)等收录。

承载着《广西农业生物科学》的历史与荣誉, 《基因组学与应用生物学》将在新的高度开拓奋进, 为现代生命科学和应用生物学的研究与发展提供学术交流的平台, 使之成为中国科学家走向世界的桥梁。

《基因组学与应用生物学》《Genomics and Applied Biology》, ISSN1674-568X, CN45-1369/Q, 双月刊, 双月 28 日出版, 国内定价: 人民币 ¥40.00/期, 人民币 ¥240.00/年; 国际定价: 美元 \$40.00/期, 美元 \$240.00/年。

邮局汇款

地址: 广西南宁市大学东路 100 号广西大学西校园榕江路《基因组学与应用生物学》编辑部

收款单位: 《基因组学与应用生物学》编辑部

邮编: 530004

联系电话: 0771-3239102, 0771-3232621

传真: 0771-3232621

E-mail: gab@hibio.org; gab@genoapplbiol.org

网址: www.genoapplbiol.org