

基于线粒体细胞色素 *b* 基因分析海南岛 褐家鼠种群遗传多样性

马晓慧 李 宁 王大伟 刘晓辉 宋 英*

中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害国家重点实验室 北京 100193

摘要: 褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 是海南岛的主要害鼠之一, 海南岛是我国南方海上的重要交通口岸, 但关于海南岛褐家鼠的种群遗传多样性以及和邻近地区褐家鼠种群间的基因交流情况还缺乏了解。本研究测序分析了来自海南岛、广东、越南等地 91 只褐家鼠的细胞色素 *b* 基因, 分析了不同种群中的 Cyt *b* 单倍型, 种群间的遗传分化程度 (F_{st}), 构建了全世界 60 个褐家鼠的 Cyt *b* 单倍型之间的系统进化关系。结果发现, 海南岛琼中/澄迈和崖城的褐家鼠种群没有共享的 Cyt *b* 单倍型, 种群间出现了明显的遗传分化 ($F_{st} = 0.453$), 但这两个群体分别与广东和菲律宾/越南的褐家鼠分享共同的单倍型, 表明海南岛褐家鼠与广东和菲律宾/越南褐家鼠近代存在着基因交流。系统进化分析结果表明, 多数海南岛和广东褐家鼠的 Cyt *b* 单倍型来自共同的单倍型组 CIII 和 CVII, 说明海南岛和广东省的褐家鼠可能由一个或多个共同的祖先种群扩散而来。由于褐家鼠喜欢与人伴生, 褐家鼠很可能随着黎族人在新石器时代中期 (大约 3 000 年前) 或更早以前, 从广西、广东沿海地区迁移至海南。

关键词: 褐家鼠; 谱系地理分析; 单倍型; 细胞色素 *b* 基因, Cyt *b*; 遗传多样性

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2016) 05-806-11

Genetic Diversity of the Norway Rat (*Rattus norvegicus*) in Hainan Island Based on Mitochondrial Cytochrome *b* Gene

MA Xiao-Hui LI Ning WANG Da-Wei LIU Xiao-Hui SONG Ying*

State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China

Abstract: The Norway Rat (*Rattus norvegicus*) is one of the main pest rodents in Hainan Island, where there is an important port in South China. However, its genetic diversity and gene flows between rat populations in Hainan Island and neighbor regions are not clear. In this study, we sequenced the cytochrome *b* (Cyt *b*) gene for 91 Norway Rats from Hainan Island, Guangdong Province, Vietnam, Phillipine etc., then analyzed the Cyt *b* haplotypes and the level of population differentiation (F_{st}), and constructed the phylogenetic

基金项目 北京市自然科学基金项目 (No. 5154033), 中国-新西兰国际科技合作专项 (No. 2014DFG31760);

* 通讯作者, E-mail: ysong@ippcaas.cn;

第一作者介绍 马晓慧, 女, 硕士研究生; 研究方向: 鼠类谱系地理学; E-mail: maxiaohui_ipp@sina.com。

收稿日期: 2015-12-28, 修回日期: 2016-04-05 DOI: 10.13859/j.cjz.201605010

relationship among 60 Cyt *b* haplotypes from the Norway Rats all over the world. Results show that the rat populations from Yacheng and Qiongzong/Chengmai in Hainan Island share no haplotype (Table 1), furthermore, the two populations are significantly differentiated ($F_{st} = 0.453$, Table 2). However, the two Hainan populations shared haplotypes with the rat populations in Guangdong Province and Philippines/Vietnam, respectively (Table 1), indicating possible gene flows between populations in Yacheng and Philippines/Vietnam, and between populations in Qiongzong/Chengmai and Guangdong Province. Phylogenetic analysis reveals that most Cyt *b* haplotypes in Hainan Island and Guangdong Province cluster into two haplotype groups CIII and CVII (Fig. 2, 3), indicating that the rat populations in Hainan Island and Guangdong Province may spread from one or more common ancestral populations, which likely spread from coastal region of Guangdong and Guangxi provinces and arrived in Hainan Island with Li people in the middle Neolithic (about 3 000 years ago) or before that time.

Key words: Norway Rat (*Rattus norvegicus*); Phylogeography; Haplotype; Cytochrome *b*, Cyt *b*; Genetic diversity

褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 分布于世界各地, 不仅是居民生活和农林牧业的主要害鼠之一, 也是多种疫源性疾病的贮存宿主, 可传播流行性出血热、鼠疫、恙虫病、钩端螺旋体病等疾病 (Himsworth et al. 2013)。吴德林 (1982) 根据形态将我国的褐家鼠分为 4 个亚种, 东北亚种、华北亚种、甘肃亚种和指名亚种。海南的褐家鼠属于指名亚种 (*R. n. norvegicus*), 该亚种主要分布于海南和厦门等东南沿海地区及其附近岛屿。褐家鼠曾经一直被认为起源于中亚、蒙古及我国北方一带 (Hedrich 2000), 然而最近发现于广西崇左巨猿大洞的鼠类化石是迄今关于褐家鼠起源的最古老的化石证据, 表明褐家鼠有可能在 1.2 ~ 1.6 百万年前起源于我国南方 (金昌柱等 2008, 武仙竹等 2012)。Song 等 (2014) 利用线粒体细胞色素 *b* 基因 (Cyt *b*) 和 D-loop 序列研究了全世界褐家鼠的谱系地理分布特点, 支持褐家鼠是从我国南方向北方以及世界其他国家扩散, 然而对于我国褐家鼠的种群遗传结构未做深入探讨。

海南岛是历史上鼠疫流行的自然疫源地之一, 褐家鼠是海南岛的常见鼠类之一, 被列为海南岛入侵危险性动物 (王伟等 2007)。海南岛位于中国南端, 四面环海, 北以琼州海峡与广东省划界, 西与越南相对, 东与台湾对望,

东南与菲律宾、文莱和马来西亚为邻。海南岛信冲洞巨猿化石的发现证明大约 40 万年前 (中更新世) 海南岛与中国大陆是相连的 (李钊等 2008), 到了末次盛冰期 (last glacial maximum, LGM, 19 000 ~ 26 500 年前) 由于海平面比现在低 80 ~ 100 m, 海南岛与大陆仍然保持连接 (Li et al. 2008), 直到 7 000 ~ 10 000 年前琼州海峡的出现才将海南岛从中国大陆分离 (赵焕庭等 2007)。海南岛上很多生物都是入侵生物, 包括鼠类, 了解这些生物的种群遗传结构和种群之间的基因流, 是探索这些入侵生物来源的前提。海南岛近年来褐家鼠种群数量也呈上升的趋势 (全国农业技术推广服务中心 2014), 但是对于海南岛褐家鼠种群的来源、遗传结构以及与周围省或国家之间的基因交流情况还缺乏了解。

线粒体 DNA 由于其母体遗传和进化速度快的特点, 被广泛用于研究鼠类的谱系地理分布, 进而探讨鼠类的起源、鼠类的扩散与人类历史活动之间的关系 (Matisoo-Smith et al. 1998, Rajabi-Maham et al. 2008, Searle et al. 2009, Aplin et al. 2011, Jones et al. 2012)。本研究的目的是利用线粒体 Cyt *b* 基因了解海南褐家鼠的种群遗传结构, 以及海南与邻近省如广东、广西或邻近国家如越南、菲律宾的褐家

鼠种群之间的基因交流情况, 研究结果一方面有助于探讨褐家鼠迁入海南的可能途径, 另一方面为了解海南各种鼠类疫源疾病的起源和传播提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 褐家鼠样品和 Cyt *b* 序列的收集

2008 ~ 2013 年间收集了中国南方 55 只褐家鼠的鼠尾组织, 其中 23 只来自海南岛崖城, 27 只来自广东省湛江市, 5 只来自广西省桂平市 (图 1)。通过南澳大利亚博物馆 (South Australian Museum) 获得 16 只褐家鼠的基因组 DNA, 其中 3 只来自越南, 13 只来自菲律宾。从 NCBI 数据库中下载了 20 个褐家鼠 Cyt *b* 序列, 包括越南 8 个, 泰国 3 个, 云南 2 个, 海南岛 7 个。这 7 个海南岛 Cyt *b* 序列来自海南岛琼中县和澄迈县, 但每个县的具体序列数目不详 (Lu et al. 2012), 因此在后面的分析中将这 7 个序列当作一个种群, 代表海南岛中部和北部的褐家鼠。此外, 也包括了 Song 等 (2014)

发表的 39 个不同的线粒体 Cyt *b* 单倍型序列, 这 39 个 Cyt *b* 单倍型代表来自中国、德国、法国等 12 个国家共 156 只褐家鼠的 Cyt *b* 序列。

1.2 基因组 DNA 的提取与 PCR 扩增

利用 Qiagen 基因组提取试剂盒, 按使用说明从鼠尾组织中提取 DNA, 提取的 DNA 于 TE 缓冲液中 (pH = 8.0) 置于 -20°C 冰箱中保存。利用 Primer 3.0 (Rozen et al. 2000) 设计 2 对引物 (Cyt *b*1f: 5'-CCT AGA CAA CCA GTC AAA AAC AG-3', Cyt *b*1r: 5'-GAT AAT GAA TGG GAG GAT GAA GT-3'; Cyt *b*2f: 5'-CAT GTG GGA CGA GGA CTA TAC TA-3', Cyt *b*2r: 5'-TAT CAG CTT TGG GTG TTG ATG GTG-3') 用于扩增 Cyt *b*, 2 个 Cyt *b* 扩增片段有 240 bp 的重合, 两个扩增片段覆盖 Cyt *b* 基因的总长度为 1 272 bp。扩增反应在 25 μ l 体系下进行, 包括 2.5 μ l 10 \times 缓冲液, 2 μ l 25 mmol/L dNTP, 引物 (20 μ mol/L) 各 0.5 μ l。所有 PCR 扩增条件如下: 95°C 变性 5 min; 然后 95°C 变性 30 s, 56°C 退火 30 s, 72°C 延伸 1 min, 循环 33 次;

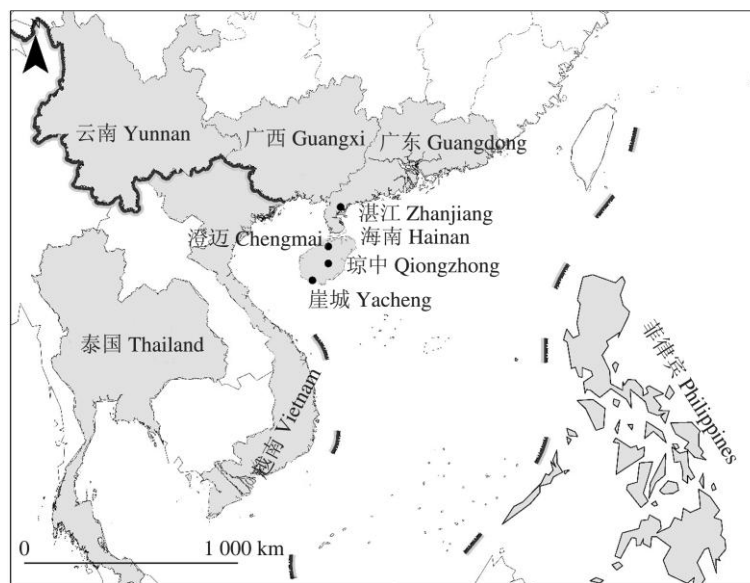


图 1 褐家鼠样品或线粒体 Cyt *b* 序列收集的省市或国家

Fig. 1 Geographic origin of the Norway Rat samples or the Cyt *b* sequences in this study

黑点表示海南和广东褐家鼠的具体采集地点。

The exact sampling sites in Guangdong Province and Hainan Island were marked with black dots.

最后 72°C 延伸 5 min。所有的 PCR 产物经纯化后, 利用 3730 测序仪进行双向测序。

1.3 数据分析

所有的测序结果利用 Lasergene 7.0 软件 (Burland 2000) 与 NCBI 中的 Cyt *b* 参考序列 (NCBI 登录号 NC_001665.2) 进行校正、比对。利用 DnaSP5.0 (Librado et al. 2009) 软件分析序列的多态性位点 (polymorphic site)、核苷酸多态性 (nucleotide diversity, π)、单倍型 (haplotype, *h*)。为了检测不同种群间的基因交流情况, 利用 Arlequin 软件 (Excoffier et al. 2010) 分析不同种群间的遗传分化程度 (F-statistics, F_{st}), F_{st} 值在 0 ~ 0.05 之间的表明种群间没有遗传分化, 0.05 ~ 0.15 为中度遗传分化, > 0.15 表明两个种群遗传分化明显 (Hartl et al. 2007)。为了检测海南及其他种群的历史种群动态, 利用 DnaSP 软件 (Librado et al. 2009) 分别分析了海南岛、广东、广西、越南和菲律宾褐家鼠种群 Cyt *b* 序列的 Tajima's D 值 (Tajima 1989), Fu's F_s 值 (Fu 1997), 以及碱基的错配分布 (mismatch distribution)。如果种群经历了快速增长, 种群中就会出现过量的低频率变异, 导致 Tajima's D 和 Fu's F_s 值为负值 (Tajima 1989, Fu 1997), 碱基错配分布也会成单峰形分布 (Harpending 1994)。利用 Network 4.6 软件 (Bandelt et al. 1999) 中的 Median-Joining 模型构建单倍型之间的网络关系。

将本实验获得的不同的 Cyt *b* 单倍型序列与 Song 等 (2014) 发现的 39 个 549 bp Cyt *b* 单倍型进行排列比对, 构建系统进化树。利用 Modeltest 3.7 软件 (Posada et al. 1998) 分析 Cyt *b* 序列最佳的碱基替换模型, 得到基于 Akaike Information Criterion (AIC) 标准的最佳替换模型 HKY + I + G。利用 MrBayes 3.1 软件中的马尔科夫蒙特卡洛方法 (Markov Chain Monte Carlo, MCMC) (Ronquist et al. 2003), 根据最佳碱基替代模型 HKY + I + G 重建褐家鼠 Cyt *b* 单倍型的系统进化树, 共运行 1 000 000 代, 舍

弃最初的 2 000 个树, 构建一致树 (50% majority)。褐家鼠的姊妹种大足鼠 (*R. nitidus*, NCBI 登录号 JN675509) 和屋顶鼠 (*R. rattus*, NCBI 登录号 JN675623) 的 Cyt *b* 序列作为外类群。建成的系统进化树利用 FIGTree 软件进行查看和编辑 (Morariu et al. 2009)。

2 结果

2.1 序列多态性分析

本实验中共测序和收集了来自海南岛、广东、广西、云南和邻近国家越南、菲律宾、泰国 7 个种群 91 只褐家鼠的 Cyt *b* 序列, 所有新测序列的不同单倍型已经提交到 NCBI 数据库中 (NCBI 登录号: KT808624 ~ KT808635, 表 1)。91 个 Cyt *b* 序列经过比对和编辑后, 每条序列的长度为 1 135 bp, 变异位点共有 41 个, 其中单态位点 (singleton variable site) 有 11 个, 简约信息位点 (parsimony informative sites) 有 30 个。对来自海南岛崖城和琼中/澄迈、广东、广西、越南、菲律宾的 5 个褐家鼠种群 (每个种群至少包括 5 只褐家鼠) 进行多态性分析, 来自海南岛的褐家鼠种群核苷酸多态性最高 ($\pi = 0.00712$), 其次是广东的褐家鼠, 越南种群的核苷酸多态性最低。另外, 海南岛崖城的 23 只褐家鼠的核苷酸多态性要大于琼中/澄迈 7 只褐家鼠的核苷酸多态性, 以及其他周围种群的核苷酸多态性 (表 1)。

2.2 种群遗传差异分析

由于海南岛的 30 只褐家鼠来自 2 个种群, 对来自崖城的 23 只褐家鼠和琼中/澄迈的 7 只褐家鼠之间的遗传分化程度 (F_{st}) 进行分析, 崖城和琼中/澄迈的褐家鼠种群之间出现了显著的遗传分化 ($F_{st} = 0.453$, $P = 0.001$)。单倍型分析显示, 崖城和琼中/澄迈的褐家鼠没有共享的 Cyt *b* 单倍型, 琼中/澄迈的褐家鼠主要携带单倍型 Hap1 和 Hap20, 而崖城的褐家鼠主要携带单倍型 Hap8 和 Hap9 (表 1)。进一步分析海南岛两个种群与周围省份或国家褐家鼠种群间的遗传分化程度, 海南岛崖城和广东种

表 1 7 个褐家鼠种群 *Cyt b* 基因的遗传多样性及中性检测分析

Table 1 Genetic diversity and neutral test of *Cyt b* genes in seven Norway Rat populations

采集地 Collection sites	样本数 Sample size	单倍型 Haplotypes	NCBI 登录号 NCBI accession number	核苷酸多样性 Nucleotide diversity, π	Tajima's D		Fu's	
					<i>D</i>	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	<i>F_s</i>	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
海南岛 Hainan Island	琼中/澄迈 Qiongzong/ Chengmai	Hap1 (6)	KT808624*	0.000 50	2.68	0.97	11.38	0.55
		Hap20 (1)	HM031682#					
广东 Guangdong	崖城 Yacheng	Hap8 (13)	KT808631*	0.006 39	3.40	1.00	7.63	0.52
		Hap9 (10)	KT808632*					
		Hap1 (13)	KT808624*					
		Hap2 (1)	KT808625*					
		Hap3 (11)	KT808626*					
广西 Guangxi	27	Hap4 (1)	KT808627*	0.003 17	1.72	0.98	3.97	0.38
		Hap5 (1)	KT808628*					
云南 Yunnan	5	Hap6 (3)	KT808629*	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
		Hap7 (2)	KT808630*					
菲律宾 Philippines	2	Hap18 (1)	GU592996#	0.003 73	1.81	0.97	5.15	0.50
		Hap19 (1)	GU592997#					
		Hap9 (5)	KT808632*					
越南 Vietnam	13	Hap10 (3)	KT808633*	0.002 50	- 0.72	0.97	- 1.83	0.49
		Hap11 (5)	KT808634*					
		Hap9 (1)	KT808632*					
		Hap12 (2)	KT808635*					
		Hap13 (4)	FR775888#					
			FR775889#					
		Hap14 (1)	AB355902#					
		Hap15 (1)	AB355903#					
Hap16 (1)	FJ842277#							
Hap17 (1)	FJ842278#							
泰国 Thailand	11	Hap13 (2)	HM217370#	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.	n.a.
		Hap21 (1)	HM217429#					
		Hap13 (1)	HM217481#					

单倍型后括号中数字为每一种群中携带该单倍型的个体数目；* 表示本实验获得的新的 *Cyt b* 单倍型在 NCBI 的登录号；# 表示 NCBI 中下载的单倍型序列，其中部分序列共享一个单倍型；n.a. 表示该项数据无法计算或不可用。

Numbers in the parentheses following the haplotype are the numbers of individuals carrying each haplotype; The asterisks (*) represent the NCBI accession numbers of the *Cyt b* haplotype obtained in this study; # represent *Cyt b* sequences we downloaded from NCBI; n.a. represents the data are not applicable.

群 ($F_{st} = 0.087$, $P = 0.054$) 之间的种群分化程度较低，而其余所有群体间的遗传分化程度都比较高 (表 2)。

2.3 单倍型网络与系统进化分析

本实验所收集的 91 个 *Cyt b* 序列包含 21

种不同的 *Cyt b* 单倍型 (表 1)。其中来自海南的 30 只褐家鼠分享了 4 个不同的单倍型，广东的 27 只鼠分享了 5 个单倍型，广西的 5 只鼠分享了 2 个单倍型，越南的 11 只鼠分享了 7 个单倍型，菲律宾的 13 只鼠分享了 3 种单倍型 (表

表 2 褐家鼠种群间的遗传差异 F_{st} (下三角) 及差异显著程度 (上三角) 分析Table 2 Analysis of the population differentiation (F_{st} , lower diagonal) and its significance level (upper diagonal) for each Norway Rat population

	海南崖城 Yacheng	海南琼中/澄迈 Qiongzong/Chengmai	广东 Guangdong	广西 Guangxi	菲律宾 Philippines	越南 Vietnam
海南崖城 Yacheng		0.001	0.054	0.011	0.001	0.000
海南琼中/澄迈 Qiongzong/Chengmai	0.453		0.015	0.001	0.001	0.000
广东 Guangdong	0.087	0.309		0.006	0.001	0.000
广西 Guangxi	0.400	0.697	0.343		0.010	0.001
菲律宾 Philippines	0.387	0.517	0.315	0.280		0.000
越南 Vietnam	0.489	0.710	0.443	0.445	0.445	

1), 总共发现的 21 个单倍型中只有 3 个单倍型 (Hap1、Hap9 和 Hap13) 出现在 2 个或 2 个以上的种群中 (表 1), 携带单倍型 Hap1 的褐家鼠主要来自广东和海南的琼中/澄迈, 携带 Hap9 的褐家鼠来自海南的崖城、菲律宾和越南。

Song 等 (2014) 在 12 个国家 156 只褐家鼠中发现了 39 个不同的 Cyt *b* 单倍型, 分析这 39 个单倍型的系统进化关系及单倍型网络关系, 确定了 6 个支持率较高的单倍型类群 (C I ~ CVI)。本研究利用 MrBayes 软件 (Ronquist et al. 2003) 将表 1 中的 21 个单倍型和 Song 等 (2014) 获得的 39 个不同的单倍型一起构建系统进化树。海南褐家鼠所携带的 4 个不同的单倍型中有 3 个 (Hap1、Hap9、Hap20) 与单倍型类群 CIII 聚在一起; 广东的 5 个单倍型中有 3 个 (Hap1、Hap2、Hap5) 与类群 CIII 聚在一起; 越南的 7 个单倍型中有 2 个 (Hap14、Hap15) 与类群 CVI, 4 个 (Hap12、Hap13、Hap16、Hap17) 与类群 CV, 1 个与类群 CIII 分别聚在一起; 菲律宾的 3 个单倍型中一个与类群 CIII, 一个与类群 CIV, 分别聚在一起 (图 2), 另外一个单倍型与来自欧洲和云南的褐家鼠聚在一起。此外, 本实验测定的来自海南 (Hap8) 和广东 (Hap3) 的褐家鼠单倍型单独聚为一支, 定义为单倍型类群 CVII (图 2)。

对本实验的 21 个 Cyt *b* 单倍型进行单倍型

网络分析, 其主要分布于 5 个单倍型组 (CIII, CIV, CV, CVI 和 CVII) 中 (图 2, 3), 这与系统进化分析的结果是一致的。进一步分析这些单倍型组的地理分布, 广东和海南岛的褐家鼠单倍型分组类似, 都只包括单倍型组 CIII 和 CVII 的单倍型, 说明这两个地方的褐家鼠有着共同的祖先类群。单倍型组 CIII 的分布范围最广, 在越南、广东、海南岛、菲律宾都有分布 (图 3), 单倍型组 CV 和 CVI 主要分布于越南和泰国, CIV 组的单倍型只在菲律宾的褐家鼠中有分布。

2.4 历史种群动态分析

Tajima's *D* 和 Fu's *F_s* 分析结果表明, 所有检测种群都没有偏离中性假说, 错配分布也没有在种群中呈单峰型分布, 因此在海南及周围邻近地区包括广东、广西、越南、菲律宾的褐家鼠种群中没有检测到快速扩张的信号 (表 1, 图 4)。另外, 分析了更大范围内的褐家鼠种群, 即包括来自海南岛、广东、广西、越南、菲律宾、云南和泰国的 91 只褐家鼠的错配分布, 也没有检测到种群快速增长的信号 (图 4)。

3 讨论

褐家鼠与小家鼠 (*Mus musculus*)、黑鼠 (*R. rattus*) 等家栖鼠类一样, 由于喜欢与人类共栖, 其迁移和扩散的范围与人类活动密切相关, 因此通过研究鼠类的种群扩散和迁移可以了解人

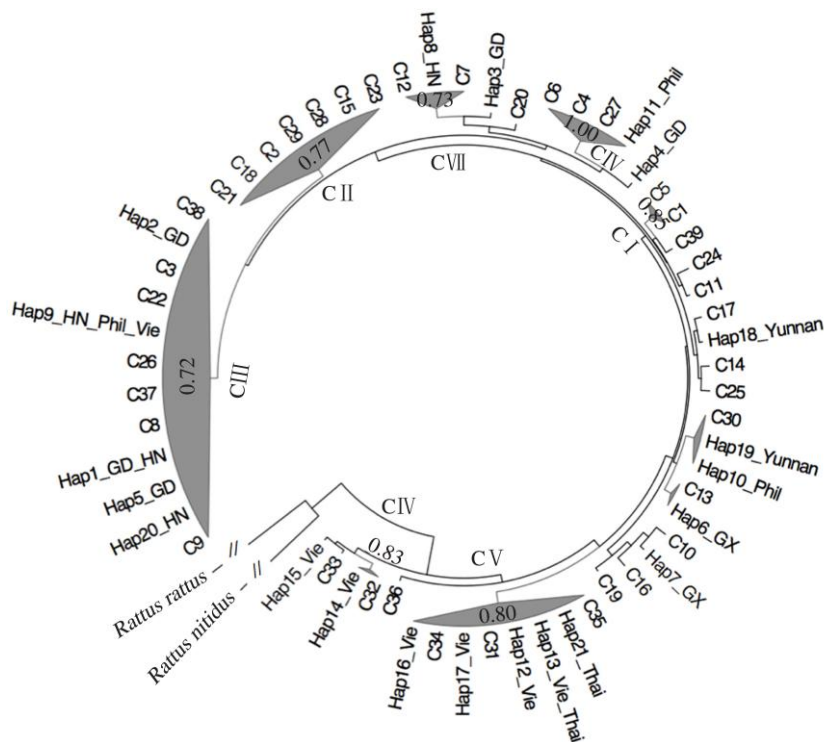


图 2 利用 MrBayes 软件构建 50 个褐家鼠 Cyt b 单倍型之间的系统进化关系

Fig. 2 Phylogenetic relationship among 50 Cyt b haplotypes of the Norway Rat using MrBayes software

C1 ~ C39 为 Song 等 (2014) 定义的单倍型; 灰色扇形表示后验概率大于 0.70 的枝, 扇形上方或下方的数字表示该支的后验概率; C I ~ C VI 为 Song 等 (2014) 定义的单倍型组; Hap1 ~ Hap21 单倍型后面紧接着的字母符号分别代表该单倍型的地理来源: GD. 广东, GX. 广西, HN. 海南, Yunnan. 云南, Phil. 菲律宾, Vie. 越南, Thai. 泰国。

C1 - C39 are the haplotypes defined by Song et al. (2014); The clade with posterior possibility > 0.70 is collapsed and colored in grey, and some posterior possibilities are shown in the grey fans; C I - C VI represent the haplotype groups defined previously by Song et al (2014). The GD, GX, HN, Yunnan, Phil, Vie, Thai following Hap1 - Hap21 represent the geographic origin of the haplotypes Guangdong, Guangxi, Hainan, Yunnan, Philippines, Vietnam and Thailand, respectively.

类的活动历史 (Matisoo-Smith et al. 1998, Rajabi-Maham et al. 2008, Searle et al. 2009, Aplin et al. 2011, Jones et al. 2012)。同时, 褐家鼠也是多种自然疫源性疾病的携带者 (Himsworth et al. 2013), Lin 等 (2011) 分析了引发流行性肾综合征出血热的汉坦病毒属 (*Hantavirus*) 病毒的系统进化关系, 并结合其宿主褐家鼠的谱系地理分布, 认为汉坦病毒起源于我国, 并通过褐家鼠向欧美国家扩散。因此, 褐家鼠的谱系地理分布对于了解历史上人类的迁移以及鼠传疾病的传播具有重要的参考

价值。

3.1 海南岛褐家鼠种群的遗传结构及基因交流

海南岛是历史上鼠疫流行的自然疫源地之一, 也是我国南方海上交通的重要口岸。本研究利用 Cyt b 基因序列研究海南岛褐家鼠的种群遗传结构, 发现琼中/澄迈和崖城两个褐家鼠种群没有共享的 Cyt b 单倍型, 遗传分化程度 F_{st} 分析结果也支持两个种群出现了明显的遗传分化 ($F_{st} = 0.453$), 说明两个种群近代的基因交流比较少。然而, 位于海南琼中/澄迈的褐

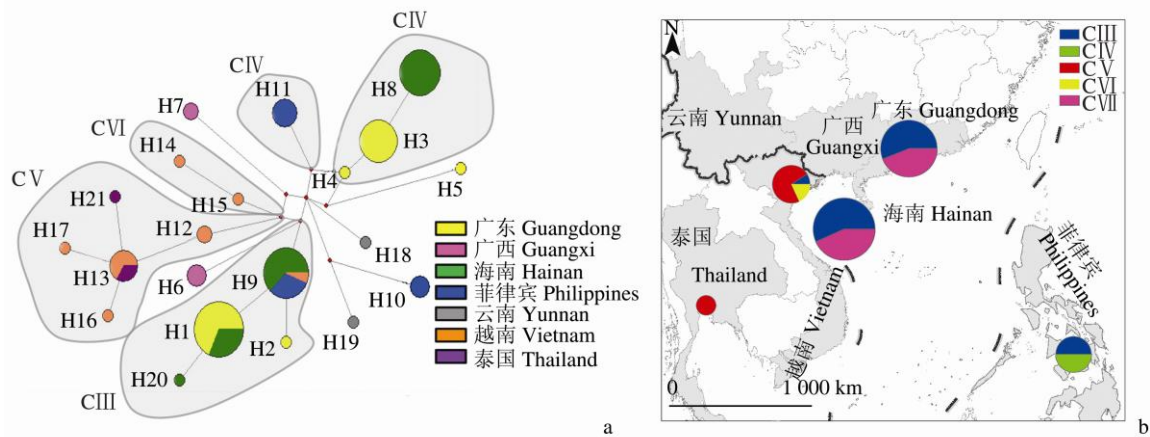


图3 褐家鼠 *Cyt b* 单倍型组分析

Fig. 3 Analysis of *Cyt b* haplotype groups in the Norway Rats

a. 利用 *Cyt b* 基因 (1 135 bp) 构建 21 个褐家鼠单倍型的网络关系图: H1 ~ H21 代表表 1 中的单倍型 Hap1 ~ Hap21; 饼图的大小与种群的大小成正比, 饼图的颜色代表不同的地理来源; CIII ~ CVI 为图 2 中的单倍型组; b. 单倍型组 CIII、CIV、CV、CVI 和 CVII 在褐家鼠种群中的分布。

a. Haplotype network built using 21 *Cyt b* haplotypes (1 135 bp). H1 - H12 represent the haplotypes Hap1 - Hap21 in Table 1; The size of the pie chart is proportional to the population size and the color of the chart represent the geographic origin of the rats; CIII - CVI is the haplotype groups shown in Fig. 2; b. Distribution of the haplotype groups in Norway Rat populations.

家鼠与广东湛江的褐家鼠共享一个单倍型 (Hap1), 海南南部崖城的褐家鼠与菲律宾、越南的褐家鼠共享一个单倍型 (Hap9), 说明琼中/澄迈和崖城的褐家鼠种群分别与广东和菲律宾/越南的褐家鼠种群近代可能存在着基因交流。崖城的褐家鼠与广东湛江的褐家鼠种群分化程度较低 ($F_{st} = 0.087$), 但崖城与菲律宾/越南以及琼中/澄迈与湛江褐家鼠种群间的遗传分化程度明显 ($F_{st} \geq 0.309$)。 F_{st} 的计算是基于种群的杂合度, 对种群的等位基因频率比较敏感 (Hartl et al. 2007), 由于在琼中/澄迈的褐家鼠仅有 7 个样品, 因此琼中/澄迈与湛江褐家鼠种群间的 F_{st} 以及单倍型的共享需要将来更大的样本量进行验证。海南岛琼中/澄迈与广东褐家鼠种群共享一个单倍型, 并且崖城与广东褐家鼠种群间的遗传分化程度 (F_{st}) 不明显, 一方面说明了 F_{st} 对种群的 *Cyt b* 单倍型频率变化比较敏感, 同时也表明广东和海南岛褐家鼠种群间的遗传分化程度不是很明显。在本研究中, 我们发现 86.7% 的海南琼中/澄迈褐家

鼠与 48.1% 的广东褐家鼠共享一个单倍型, 43.4% 海南崖城褐家鼠与 38.5% 的菲律宾褐家鼠共享一个单倍型, 这些共享的单倍型表明海南岛褐家鼠与广东及邻近国家菲律宾/越南的褐家鼠种群存在着基因交流。海南岛是我国历史以及现在海上的重要交通口岸, 因此海上交通运输和贸易往来很可能是海南褐家鼠与周围地区或国家褐家鼠种群间基因交流的主要途径。

3.2 海南岛褐家鼠的历史来源

褐家鼠、小家鼠等家栖鼠类由于喜欢与人类伴生, 其迁移路线与人类的历史活动密切相关。例如, Jones 等 (2012) 发现北大西洋地区小家鼠的线粒体 DNA 系统进化关系可以反应 1 000 多年前人类定居的历史; Bonhomme 等 (2011) 研究了地中海地区西部欧洲小家鼠线粒体 DNA, Gabriel 等 (2011) 研究了澳大利亚的小家鼠线粒体 DNA, 都发现小家鼠的谱系地理分布与人类的迁移或活动历史密切相关。广西崇左巨猿大洞的鼠类化石是迄今关于褐家

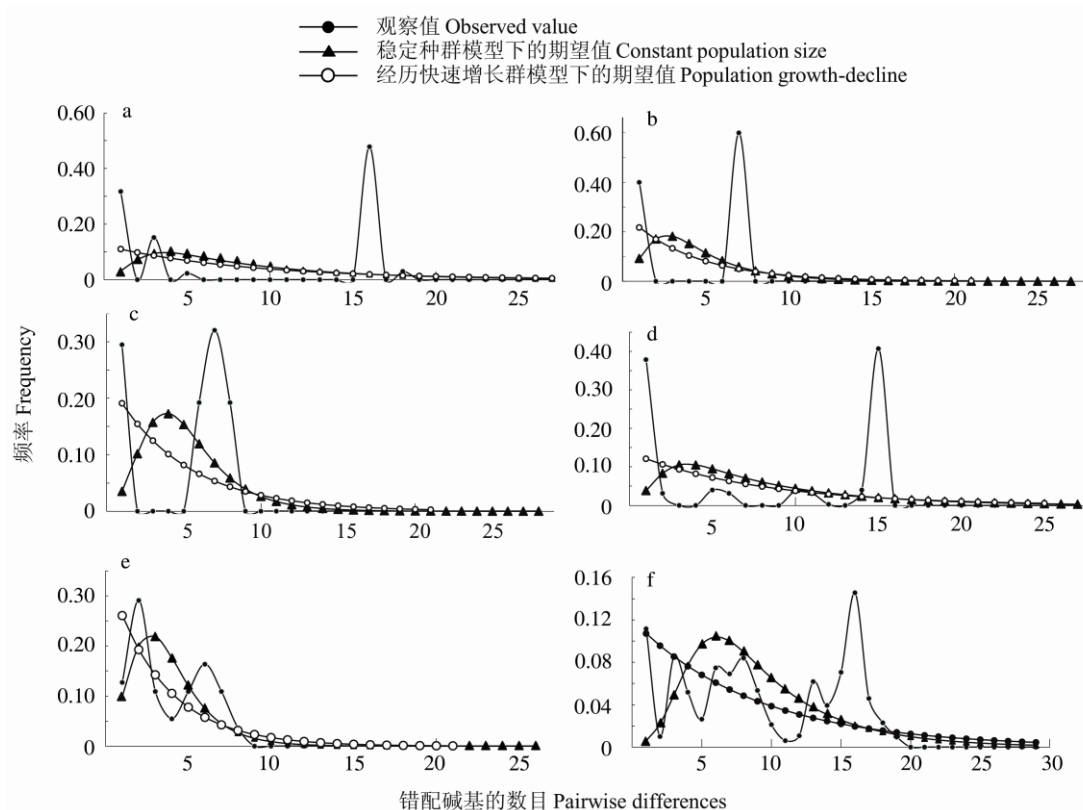


图 4 褐家鼠种群 *Cyt b* 基因碱基错配分布图

Fig. 4 Mismatch distribution of *Cyt b* polymorphisms in Norway Rat populations

a. 海南; b. 广西; c. 菲律宾; d. 广东; e. 越南; f. 合并种群。

a. Hainan; b. Guangxi; c. Philippines; d. Guangdong; e. Vietnam; f. Combined populations.

鼠起源的最古老的化石证据，距今 1.2 ~ 1.6 百万年（金昌柱等 2008，武仙竹等 2012）。Song 等（2014）结合化石和线粒体 DNA 数据认为，褐家鼠很可能起源于我国南方，然后伴随着人类的历史活动向我国北方以及世界其他地方扩散。

将本实验的 *Cyt b* 单倍型与 Song 等(2014)发现的 39 个单倍型一起构建系统进化树，发现海南的褐家鼠所携带的 4 个单倍型中有 3 个分布于单倍型组 CIII 中，该单倍型组同时也包含了广东的 3 个不同的单倍型。单倍型组 CIII 和 CVII 中包括了所有的海南岛褐家鼠 *Cyt b* 单倍型以及多数的广东褐家鼠 *Cyt b* 单倍型，说明海南岛和广东的褐家鼠可能由共同的祖先种群扩散和进化而来。根据之前的研究，携带 CIII

组单倍型的褐家鼠广泛分布于亚洲、非洲、欧洲、北美洲等国家，是已发现的 6 个单倍型组中分布范围最广的单倍型组，该单倍型组的最早分化时间可以追溯到 18 万年前(95% highest probability density: 6 ~ 32 万年前) (Song et al. 2014)，但这并不意味着褐家鼠在 18 万年前就侵入海南。首先，缺乏化石证据来证明这一推论，至今在我国发现褐家鼠化石的 15 个出土地点中不包括海南（武仙竹等 2012），而且在海南发现的 3 个海南哺乳动物化石地点和 6 个旧石器遗址中，只有距今 1 万年左右的落笔洞遗址中出现鼠类化石，但不确定是否为褐家鼠(李钊等 2008)；其次携带 CIII 组单倍型的褐家鼠广泛分布于世界各地，这种大范围分布更像是随人类历史活动迁移的结果。Song 等（2014）

根据 *Cyt b* 基因检测到中国褐家鼠种群历史上经历了快速种群扩张, 但本研究在海南岛及周围地区的褐家鼠种群中都没有检测到种群快速扩张的信号, 说明海南岛周围的种群在历史上都比较稳定, 当然由于碱基错配分布对种群的大小也比较敏感, 这一结果将来需要在更大的种群中进行验证。

根据历史记载, 最早移民海南的人是黎族人, 黎族人的祖先大约在新石器时代中期 (大约在 3 000 年前) 或更早以前从广西、广东沿海地区, 尤其是从广东的雷州半岛陆续迁入海南 (纪宗安 1990)。Peng 等 (2011) 研究了海南岛人的线粒体 DNA, 发现最早出现在海南的现代人可以追溯到 0.7 ~ 2.7 万年前, 但仍然远远晚于 CIII 单倍型组的分化时间。多数海南与广东的褐家鼠携带 CIII 和 CVII 组的单倍型, 并且共享单倍型 Hap1, 表明褐家鼠更有可能是随着黎族人的定居, 从中国两广地区迁入海南, 并且随着近代海上交通运输工具的发展, 在海南、广东及菲律宾之间进行种群的迁移和交流。海南无论在历史还是现代都是我国海上的重要交通口岸, 海南褐家鼠与周围国家或地区褐家鼠种群的基因交流增加了鼠传疾病在海南及周围国家扩散和传播的可能性, 尤其是随着“一带一路”战略构想的推进, 我们更要加强对海南及其他重要交通口岸鼠类种群遗传结构及其与周围地区的基因交流的关注。

致谢 感谢南澳大利亚博物馆的 Stephen C. Donnellan 教授提供菲律宾和越南褐家鼠的 DNA 样品, 以及中国农业科学院植物保护研究所洗晓青博士在中国地图绘制过程中提供的帮助。

参 考 文 献

- Aplin K P, Suzuki H, Chinen A A, et al. 2011. Multiple geographic origins of commensalism and complex dispersal history of Black Rats. *PLoS One*, 6(11): e26357.
- Bandelt H J, Forster P, Rohl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37–48.
- Bonhomme F, Orth A, Cucchi T, et al. 2011. Genetic differentiation of the house mouse around the Mediterranean basin: matrilineal footprints of early and late colonization. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 278(1708): 1034–1043.
- Burland T G. 2000. DNASTAR's Lasergene sequence analysis software. *Methods in Molecular Biology*, 132: 71–91.
- Excoffier L, Lischer H E. 2010. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 10(3): 564–567.
- Fu Y X. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2): 915–925.
- Gabriel S I, Stevens M I, Mathias M L, et al. 2011. Of mice and 'convicts': origin of the Australian house mouse, *Mus musculus*. *PLoS One*, 6(12): e28622.
- Harpending H C. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66(4): 591–600.
- Hartl D L, Clark A G. 2007. *Principles of Population Genetics*. 4th ed. Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates, Inc. Publishers, 1–545.
- Hedrich H J. 2000. History, strains and models // Krinke G J, Buton T. *The Laboratory Rat: Handbook of Experimental Animals*. London: Academic Press, 1871–1895.
- Himsworth C G, Parsons K L, Jardine C, et al. 2013. Rats, Cities, people, and pathogens: a systematic review and narrative synthesis of literature regarding the ecology of rat — Associated zoonoses in Urban Centers. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(6): 349–359.
- Jones E P, Skirnisson K, McGovern T H, et al. 2012. Fellow travellers: a concordance of colonization patterns between mice and men in the North Atlantic region. *BMC Evolutionary Biology*, 12: 35.
- Li D, Li H, Ou C, et al. 2008. Paternal genetic structure of Hainan aborigines isolated at the entrance to East Asia. *PLoS One*, 3(5): e2168.
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1453–1454.

- 1451–1452.
- Lin X D, Guo W P, Wang W, et al. 2011. Migration of Norway rats resulted in the worldwide distribution of seoul hantavirus today. *Journal of Virology*, 86(2): 972–981.
- Lu L, Chesters D, Zhang W, et al. 2012. Small Mammal Investigation in Spotted Fever Focus with DNA-Barcoding and Taxonomic Implications on Rodents Species from Hainan of China. *PLoS One*, 7(8): e43479.
- Matisoo-Smith E, Roberts R M, Irwin G J, et al. 1998. Patterns of prehistoric human mobility in polynesia indicated by mtDNA from the Pacific rat. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(25): 15145–15150.
- Morariu V I, Srinivasan B V, Raykar V C, et al. 2009. Automatic online tuning for fast Gaussian summation // Koller D, Schuurmans D, Bengio Y, et al. *Advances in Neural Information Processing Systems 21 (NIPS 2008)*. Vancouver, Canada: MIT Press, 1113–1120.
- Peng M S, He J D, Liu H X, et al. 2011. Tracing the legacy of the early Hainan Islanders: a perspective from mitochondrial DNA. *BMC Evolutionary Biology*, 11: 46.
- Posada D, Crandall K A. 1998. MODELTEST: testing the model of DNA substitution. *Bioinformatics*, 14(9): 817–818.
- Rajabi-Maham H, Orth A, Bonhomme F. 2008. Phylogeography and postglacial expansion of *Mus musculus domesticus* inferred from mitochondrial DNA coalescent, from Iran to Europe. *Molecular Ecology*, 17(2): 627–641.
- Ronquist F, Huelsenbeck J P. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics*, 19(12): 1572–1574.
- Rozen S, Skaletsky H. 2000. Primer3 on the WWW for general users and for biologist programmers. *Methods in Molecular Biology*, 132: 365–386.
- Searle J B, Jones C S, Gündüz İ, et al. 2009. Of mice and (Viking?) men: phylogeography of British and Irish house mice. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 276(1655): 201–207.
- Song Y, Lan Z, Kohn M H. 2014. Mitochondrial DNA Phylogeography of the Norway Rat. *PLoS One*, 9(2): e88425.
- Tajima F. 1989. Statistical method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics*, 123(3): 585–595.
- 纪宗安. 1990. 古代移民和海南的早期开发. *暨南学报: 哲学社会科学*, (4): 109–120.
- 金昌柱, 秦大公, 潘文石, 等. 2008. 广西崇左三合巨猿大洞早更新世小哺乳动物群. *第四纪研究*, 6(28): 1129–1137.
- 李钊, 李超荣, 王大新. 2008. 海南的旧石器考古 // 董为. 第十一届中国古脊椎动物学学术年会论文集. 北京: 海洋出版社, 167–172.
- 全国农业技术推广服务中心. 2014. 2014 年全国农区鼠害发生趋势预报. *中国植保导刊*, 34(2): 53–55.
- 王伟, 张先敏, 沙林华, 等. 2007. 海南外来入侵危险性动植物名录 (二). *热带农业科学*, 27(4): 65–70.
- 吴德林. 1982. 我国大家鼠 (*Rattus norvegicus* Berkenhout) 的亚种分化. *兽类学报*, 2(1): 107–112.
- 武仙竹, 王运辅. 2012. 小家鼠 (*Mus musculus*) 和褐家鼠 (*Rattus norvegicus*) 的化石材料和早期迁徙. *边疆考古研究*, (1): 1–9.
- 赵焕庭, 王丽荣, 袁家义. 2007. 琼州海峡成因与时代. *海洋地质与第四纪地质*, (2): 33–40.