

中国湛江市和哈尔滨市褐家鼠种群遗传结构及其年度变化特征



陈燕¹ 马晓慧¹ 王大伟¹ 李宁¹ 姚丹丹² 冯志勇²
刘晓辉^{1*} 宋英^{1*}

(1. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193;

2. 广东省农业科学院植物保护研究所, 植物保护新技术重点实验室, 广州 510640)

摘要: 为探索褐家鼠 *Rattus norvegicus* 地理种群的遗传结构及其年度变化特点, 本研究以广东省湛江市的褐家鼠指名亚种和黑龙江省哈尔滨市的褐家鼠东北亚种为主要研究对象, 结合我国及世界其他褐家鼠种群的 D-loop 序列分析这 2 个褐家鼠地理种群间 D-loop 序列的遗传分化情况及系统进化关系, 重点分析 2008—2015 年褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群 D-loop 单倍型的年度频率变化特点。结果表明, 褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群共有 32 种不同的单倍型, 其中有 11 种单倍型是 2 个种群共有的, 有 4 种单倍型仅在湛江种群中出现, 有 17 种单倍型仅在哈尔滨种群中出现。褐家鼠湛江种群 D-loop 区的核苷酸多态性为 0.005, 有 27 个变异位点, 单倍型多态性为 0.695, 褐家鼠哈尔滨种群 D-loop 区的核苷酸多态性比湛江种群略高, 为 0.008, 有 35 个变异位点, 单倍型多态性为 0.793。褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群没有经历过暴发性的扩增。褐家鼠湛江、哈尔滨和湖北 3 个地理种群的 D-loop 序列之间发生了明显的遗传分化, 其中湛江种群和哈尔滨种群之间的分化程度最高, 遗传分化系数 F_{st} 为 0.245。褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群的单倍型数目和主单倍型频率都发生明显波动, 推测主要原因可能是由于灭鼠剂的大量使用或其他灭鼠活动导致种群出现瓶颈或更替的现象。

关键词: 褐家鼠; D-loop 区; 单倍型; 谱系地理; 遗传多样性

Characterization of population structure and its annual variation in Norway rat *Rattus norvegicus* in Zhanjiang and Harbin cities in China

Chen Yan¹ Ma Xiaohui¹ Wang Dawei¹ Li Ning¹ Yao Dandan² Feng Zhiyong²
Liu Xiaohui^{1*} Song Ying^{1*}

(1. State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pest, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China; 2. Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, Guangdong Province, China)

Abstract: In order to understand the population genetic structure of the Norway rat *Rattus norvegicus* and its annual variation in China, the D-loop sequences of the rats from Zhanjiang and Harbin cities were sequenced. Combined with the other D-loop sequences of rats from China and other countries, the genetic diversity and phylogenetic network between Zhanjiang and Harbin populations, particularly the annual variation of D-loop haplotypes and their frequencies from 2008 to 2015 were analyzed. The re-

基金项目: 国家自然科学基金(31871986, 31401761), 北京市自然科学基金(5154033)

* 通信作者 (Authors for correspondence), E-mail: liuxiaohui@caas.cn, songying01@caas.cn

收稿日期: 2020-03-11

sults showed that there were 32 different haplotypes in Zhanjiang and Harbin populations, of which 11 were shared between the two populations, four and 17 were unique in Zhanjiang and Harbin populations, respectively. The D-loop nucleotide diversity in Zhanjiang population was 0.005 with 27 variable sites, and the haplotype diversity was 0.695; the D-loop nucleotide diversity in Harbin population was 0.008 with 35 variable sites, which was slightly higher than that of Zhanjiang population with a haplotype diversity of 0.793. No signal of demographic expansion was detected in Zhanjiang and Harbin populations. The population genetic differentiation (F_{st}) was significant among rat populations in Zhanjiang City, Harbin City and Hubei Province, and the highest F_{st} (0.245) was found between the former two populations. Analysis of the annual populations in both areas suggested significantly fluctuated D-loop haplotype numbers and frequencies among them, indicating population bottleneck or replacement occurring in both populations owing to the extensive use of rodenticides or other rodent control activities.

Key words: Norway rat; D-loop region; haplotype; phylogeography; genetic diversity

褐家鼠 *Rattus norvegicus* 广泛分布于世界各地, 是我国主要的家野两栖鼠类之一, 在我国除西藏自治区外均有分布, 但西藏自治区也曾有褐家鼠的足迹(董维惠等, 2010)。褐家鼠最早被认为起源于中亚及我国北方一带, 最近学者们通过线粒体基因和基因组学研究认为褐家鼠可能起源于东亚北部包括我国的北方地区(Puckett & Munshi-South, 2019)或者东南亚一带(Zeng et al., 2018)。褐家鼠不仅为害农业, 破坏基础设施, 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、钩端螺旋体病等多种疾病(Meerburg et al., 2009; Himsforth et al., 2013), 了解褐家鼠种群的地理分布特征和种群间的基因交流对于鼠害防治以及控制各种鼠传疾病的传播具有重要的指导意义。

线粒体基因是研究啮齿动物种群遗传结构和谱系地理分布的常用分子遗传标记, 被广泛用于分析鼠类的历史迁移扩散途径以及追溯人类的历史活动(Jones et al., 2010; Bonhomme et al., 2011)。如Cucchi et al. (2005)和Bonhomme et al. (2011)对欧洲小家鼠 *Mus musculus domesticus* 线粒体 DNA 控制区即 D-环区(displacement loop region, D-loop)单倍型进行多态性分析, 发现欧洲小家鼠在地中海地区发生的 2 次扩张事件均与人类活动有关; Guo et al. (2019)通过分析黄胸鼠 *Rattus tanezumi* 的 *CO I* 基因和微卫星数据发现, 西藏自治区黄胸鼠种群可能是沿着川藏公路从四川省进入西藏自治区; 马晓慧等(2016)通过分析我国海南岛褐家鼠种群 *Cytb* 基因的多态性发现, 我国海南岛褐家鼠种群与菲律宾、越南等周边国家的褐家鼠种群存在着明显的基因交流; 李菁菁等(1999)采用限制酶片段长度多态性分析(restriction fragment length polymorphism, RFLP)

方法分析我国褐家鼠线粒体 DNA 的遗传多态性, 认为各个地理种群之间不存在分化; Jones et al. (2012)利用线粒体 D-loop 研究了北大西洋地区小家鼠和人类迁移路线的关系, 发现小家鼠的谱系地理关系能很好地反映人类 1 000 年前在北大西洋地区定居的历史活动, 并且发现格陵兰岛小家鼠种群出现了迁入、灭绝和二次迁入的现象, 说明随着时间的变化鼠类种群遗传结构可能也会发生改变。

各种灭鼠活动以及抗凝血类灭鼠剂的大量使用可能会影响鼠类种群的大小和遗传结构(宗浩等, 1999; 张美文等, 2004)。如 Ma et al. (2018)通过分析 2008—2015 年湛江市和哈尔滨市褐家鼠种群的抗药靶基因维生素 K 环氧化物还原酶 *Vkorc1* 基因的多态性发现, 频繁地使用抗凝血类灭鼠剂可能是导致当地褐家鼠种群中 *Vkorc1* 突变频率波动的重要原因。Desvars-Larrive et al. (2019)研究了法国城市和农村鼠类的种群遗传结构与鼠类抗性相关等位基因分布的关系, 建议在防治鼠害时, 首先通过分析种群的遗传结构来确定抗性鼠种群的防治范围, 在存在明显基因交流的区域实行统一灭鼠。根据形态特征我国褐家鼠可分为指名亚种 *Rattus norvegicus norvegicus*、东北亚种 *R. n. caraco*、华北亚种 *R. n. humilatus*、西南亚种 *R. n. socer* 和香港亚种 *R. n. sulfureoventris* 五个亚种(吴德林, 1982; 王应祥, 2003), 明确我国褐家鼠不同地理亚种之间的遗传分化程度及灭鼠活动对鼠类种群遗传结构的影响, 对于其防控至关重要。

本研究以广东省湛江市的褐家鼠指名亚种和黑龙江省哈尔滨市的褐家鼠东北亚种为主要研究对象, 结合我国及世界其他褐家鼠种群的 D-loop 序列分析这 2 个褐家鼠亚种间 D-loop 序列的遗传分化情

况及系统进化关系,重点分析2008—2015年湛江市和哈尔滨市褐家鼠D-loop单倍型的年度变化特点,明确影响这2个褐家鼠亚种种群结构变化的因素,以期探索鼠类种群的变迁和规划褐家鼠统防统治的范围提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试动物:于2008—2015年自广东省湛江市(110.37°N,21.28°E)、黑龙江省哈尔滨市(126.54°N,45.82°E)野外连续8年采集615只褐家鼠鼠尾样品。

试剂和仪器:TIANamp基因组DNA提取试剂盒、2×Taq PCR MasterMix(包含dNTP和Taq DNA聚合酶),天根生化科技(北京)有限公司;1%琼脂糖,法国Biowest公司;其他试剂均为国产分析纯。Mastercycler Nexus GSX1梯度PCR扩增仪、5430R高速离心机,德国Eppendorf公司;Tanon 3500凝胶成像系统,上海天能科技有限公司;JY600c电泳仪,北京君意东方电泳设备有限公司;ABI 3730 XL测序仪,美国Applied Biosystem公司。

1.2 方法

1.2.1 褐家鼠样品采集

2008—2015年利用铗捕法在广东省湛江市麻章镇龙井村、七星岭村和柳东队村5 km范围内的3个采样点捕获褐家鼠289只,每年分别采集46、40、28、30、18、27、60和40只,即褐家鼠湛江种群。2008—2015年利用铗捕法在黑龙江省哈尔滨市南岗区的哈达村、夏家沟村和香坊区正黄二屯村6 km范围内的3个采样点捕获褐家鼠326只,每年分别采集46、48、44、34、36、43、50和25只,即褐家鼠哈尔滨种群。用剪刀剪取1~2 cm左右的鼠尾样品组织,置于70%乙醇溶液中于-20℃冻存。

1.2.2 褐家鼠基因组DNA提取及PCR扩增

参照TIANamp基因组DNA提取试剂盒说明书提取褐家鼠基因组DNA,于-20℃保存。以褐家鼠D-loop序列(GenBank登录号为NC_005100.4)为参考序列,使用Primer Premier 3.0软件(Singh et al., 1998)设计正向引物Dloopf_3297(5'-ACTAC-CTCCCCACCATCAAC-3')和反向引物Dloopr_4288(5'-GCATTTTCAGTGCTTTGCTT-3'),引物均由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。25 μL PCR扩增反应体系:2×Taq PCR MasterMix 12.5 μL、ddH₂O 10.5 μL、10 μmol/L正反向引物各0.5 μL、40~100 ng/μL基因组DNA 1 μL。PCR反应程序:94℃

预变性5 min;94℃变性30 s,68℃复性30 s,72℃延伸1 min,循环34次;72℃再延伸5 min。利用1%琼脂糖凝胶电泳检测PCR扩增结果,用ABI 3730 XL测序仪对PCR产物进行双向测序。

1.2.3 其他地区褐家鼠D-loop序列的收集

为了比较湛江市和哈尔滨市褐家鼠D-loop序列与其他地区褐家鼠D-loop序列之间的系统进化关系,从NCBI数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中收集了112条不同褐家鼠地理种群的D-loop序列,包括中国湖北98条(Liu et al., 2017)、日本1条(Schlick et al., 2006)、韩国1条、美国1条(Schlick et al., 2006)、德国9条(Song et al., 2014)、丹麦1条(Nilsson et al., 2003)和瑞士1条(Abhyankar et al., 2009)。

1.2.4 2个褐家鼠种群遗传多样性及中性检验分析

利用Chromas 2.6.6软件(<http://technelysium.com.au/wp/chromas/>)对D-loop序列进行碱基确认和校正,采用Clustal X 1.83软件(<http://www.clustal.org/>)(Thompson et al., 1997)进行序列比对分析。利用DnaSP 5.1软件(<http://www.ub.edu/dnasp/>)(Librado & Rozas, 2009)分析褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群不同D-loop单倍型数目、单倍型频率、核苷酸多态性和单倍型多态性。单倍型频率为携带各种单倍型的个体数量在群体中的比例。

利用DnaSP 5.1软件中Tajima's D (Tajima, 1989)、Fu's F_s (Fu, 1997)检验以及碱基错配分布(Harpending, 1994)检测褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群历史上是否出现过暴发性的增长,如果种群经历过爆发性增长,其Tajima's D 和Fu's F_s 显著小于0,碱基错配分布表现为单峰状。

1.2.5 2个褐家鼠种群D-loop序列单倍型网络分析

获得褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群的D-loop序列单倍型后,使用PopART 1.7软件(<http://popart.otago.ac.nz>)中Median-joining模型(Bandelt et al., 1999)构建单倍型网络图,分析2个地理种群D-loop单倍型之间的网络关系,以及单倍型在种群间的共享情况。

1.2.6 褐家鼠地理种群的系统进化分析

利用DnaSP 5.1软件分析褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群D-loop序列以及从NCBI数据库中下载112条褐家鼠D-loop序列之间的关系。用Split-Tree 4.14.2软件(<http://www.splitstree.org/>)(Huson, 1998)中邻接网络法构建世界范围内褐家鼠不同D-loop序列单倍型之间的系统发育网络,尤其是我国湛江、哈尔滨以及湖北3个地理种群间D-loop序

列单倍型的进化关系。

1.2.7 3个褐家鼠地理种群的遗传分化程度分析

挑选湛江、哈尔滨和湖北3个褐家鼠种群,其分别代表褐家鼠指名亚种、东北亚种、甘肃亚种,使用Arlequin 3.5.2.2软件(Excoffier & Lischer, 2010)中的分子变异分析方法(analysis of molecular variance, AMOVA)(Meirmans, 2006)分析这3个褐家鼠地理种群之间的遗传分化系数 F_{st} 。

1.2.8 D-loop序列单倍型在种群中的年度变化

利用DnaSP 5.1软件统计2008—2015年每年湛江和哈尔滨种群的D-loop单倍型的组成和频率,分析比较2个种群中D-loop单倍型的年度变化特点。使用Arlequin 3.5.2.2软件中AMOVA分析2008—2015年湛江和哈尔滨种群年度之间的遗传分化系数 F_{st} 。

1.3 数据分析

应用SPSS 10.0软件进行数据统计分析,采用卡方检验对湛江种群和哈尔滨种群的D-loop单倍型频率变化进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 2个褐家鼠地理种群遗传多样性

湛江市和哈尔滨市2地褐家鼠样品共获得615条D-loop序列,其序列长度均为619 bp, A、T、C、G四个碱基平均含量分别为30.0%、32.3%、23.3%和

14.4%。褐家鼠湛江种群D-loop区的核苷酸多态性为0.005,有27个变异位点,单倍型多态性为0.695,有15种D-loop单倍型,分别为Hap_1~Hap_12、Hap_14、Hap_18和Hap_27,其中,Hap_2、Hap_4和Hap_12为主要D-loop单倍型,其频率分别为22.1%、13.1%和48.8%,其余12种的D-loop单倍型频率均低于5%;褐家鼠哈尔滨种群D-loop区的核苷酸多态性比湛江种群略高,为0.008,有35个变异位点,单倍型多态性为0.793,有28种D-loop单倍型,分别为Hap_1、Hap_2、Hap_4、Hap_7、Hap_9~Hap_32;其中,Hap_7、Hap_10和Hap_27为主要D-loop单倍型,其频率分别为24.5%、32.5%、19.9%,其余25种单倍型的频率均低于5%。褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群共有32种不同的D-loop单倍型(GenBank登录号分别为MT165486~MT165517),其中有11种单倍型是2个种群共有的,有4种单倍型仅在湛江种群中出现,有17种单倍型仅在哈尔滨种群中出现。

2.2 2个褐家鼠地理种群中性检验结果

褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群Tajima's D 分别为-0.622($P>0.100$)和-0.118($P>0.100$),Fu's F_s 分别为0.377($P>0.100$)和-1.925($P>0.100$),均没有达到显著水平,碱基错配分布也表现为多峰状(图1),说明褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群没有经历过暴发性的扩增。

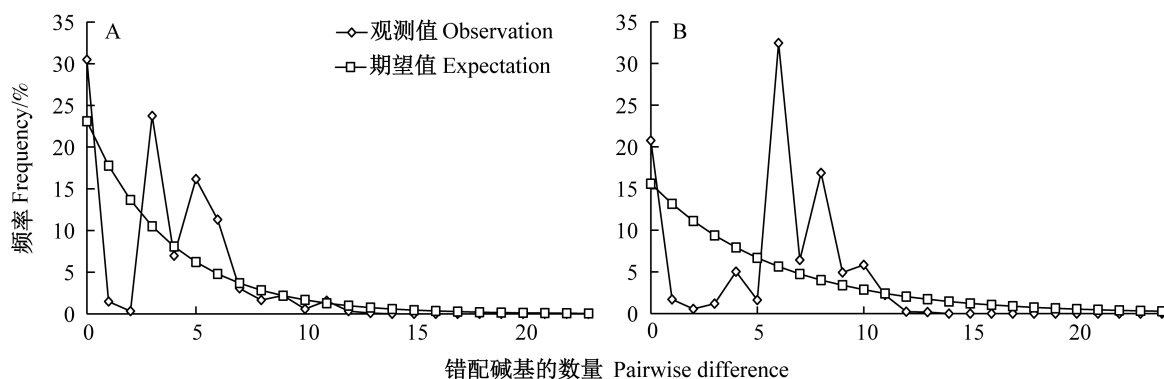


图1 褐家鼠湛江种群(A)和哈尔滨种群(B)线粒体D-loop序列的碱基错配分布图

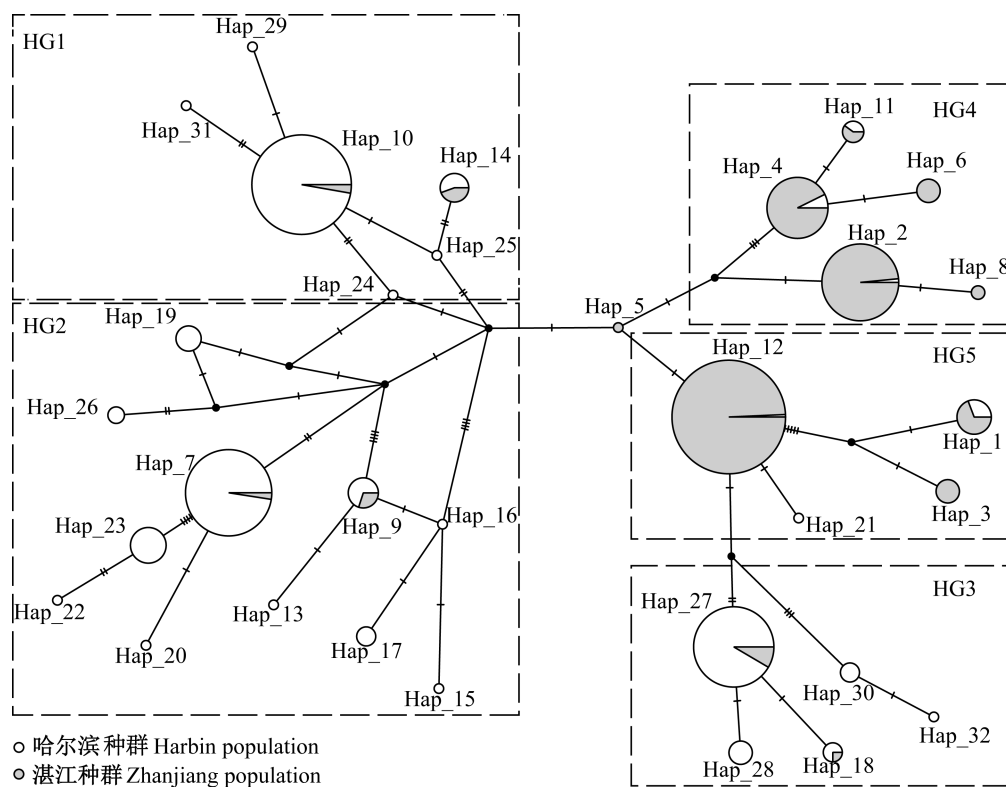
Fig. 1 Mismatch distribution pattern of mitochondrial D-loop sequences in Norway rat in Zhanjiang (A) and Harbin (B) populations

2.3 2个褐家鼠种群D-loop单倍型网络分析结果

哈尔滨种群和湛江种群的32种单倍型可以分成5个明显的单倍型组(图2),其中HG1(Hap_10、Hap_14、Hap_24、Hap_25、Hap_29、Hap_31)、HG2(Hap_7、Hap_9、Hap_13、Hap_15~Hap_17、Hap_19、Hap_20、Hap_22、Hap_23、Hap_26)和HG3(Hap_18、Hap_27、Hap_28、Hap_30、Hap_32)3个单倍型组主

要来自哈尔滨种群,HG4(Hap_2、Hap_4、Hap_6、Hap_8、Hap_11)和HG5(Hap_1、Hap_3、Hap_12、Hap_21)2个单倍型组主要来自湛江种群;单倍型组HG3并没与哈尔滨种群的单倍型组HG1和HG2聚在一起,而是与湛江种群的单倍型HG5进化关系更近;另外,每个单倍型组中均有湛江种群和哈尔滨种群共享的单倍型(图2),说明2个褐家鼠地理种群虽

然产生了明显的遗传分化,但可能仍存在一定程度的基因交流。



Hap_1~Hap_32为不同的D-loop单倍型, HG1~HG5为5个不同的单倍型组。饼图的大小与携带该单倍型的个体数量成正比。Hap_1~Hap_32 represent different haplotypes, and HG1~HG5 represent five different haplotype groups. The size of the pie is proportional to the number of individuals.

图2 利用褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群32种D-loop单倍型构建的单倍型网络图

Fig. 2 Haplotype network constructed based on 32 different mitochondrial D-loop haplotypes in the Norway rat from Zhanjiang and Harbin cities

2.4 系统发育网络分析结果

系统发育网络图显示,所有的D-loop单倍型被分成I、II、III、IV、V和VI六个支系,其中哈尔滨种群的D-loop单倍型组HG1、HG2和HG3分别属于支系I、支系II和支系III,湛江种群的D-loop单倍型组HG4和HG5分别属于支系IV和支系V,来自湖北省褐家鼠的14种D-loop单倍型主要分布于支系III(Hap_35~Hap_37、Hap_39、Hap_44、Hap_48)和支系VI(Hap_33~Hap_34、Hap_41、Hap_45~Hap_47)以及支系II(Hap_43)和支系V(Hap_42),来自丹麦(Hap_38)、德国(Hap_49~Hap_53)和美国(Hap_40)的褐家鼠种群D-loop单倍型主要分布于支系II,来自韩国的褐家鼠种群D-loop单倍型(Hap_54)不属于支系I~VI,但与支系I和支系II关系较近,来自日本、瑞士的褐家鼠种群D-loop单倍型分别为Hap_24和Hap_30(图3)。

2.5 3个褐家鼠地理种群的遗传分化程度分析结果

褐家鼠湛江、哈尔滨和湖北3个地理种群的

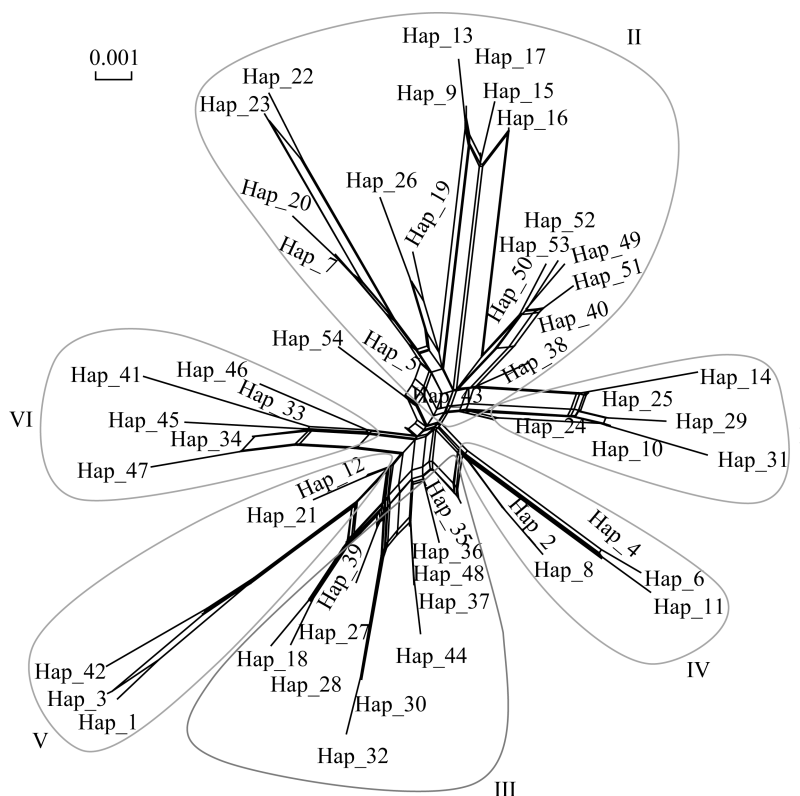
D-loop序列之间发生了明显的遗传分化,其中湛江种群和哈尔滨种群之间的分化程度最高,遗传分化系数 $F_{st}=0.245$ ($P<0.001$),其次哈尔滨种群和湖北种群之间的分化系数 $F_{st}=0.231$ ($P<0.001$),最后是湛江种群和湖北种群之间的分化系数 $F_{st}=0.176$ ($P<0.001$)。

2.6 2个褐家鼠地理种群D-loop单倍型的年度变化

2.6.1 D-loop单倍型数量的年度变化

2008年,湛江种群有9种D-loop单倍型,随后单倍型数量逐年下降,2013年同样有9种D-loop单倍型,但与2008年相比只有6种D-loop单倍型是相同的,其余3种D-loop单倍型可能是从其他地区迁入的,随后在2014—2015年又降为3种D-loop单倍型(图4)。

2008年,哈尔滨种群D-loop单倍型数量最多,为13种,2013年D-loop单倍型数量最少,仅有5种,与2008年仅有3种D-loop单倍型相同(图4)。



I-VI代表6个不同的系统发育支系。I-VI represent six different phylogenetic clades.

图3 基于褐家鼠线粒体D-loop单倍型利用邻接网络法构建的系统发育网络图

Fig. 3 Construction of phylogenetic network diagram by using neighbor-net network based on different mitochondrial D-loop haplotypes of the Norway rat



图4 2008—2015年褐家鼠湛江种群和哈尔滨种群D-loop单倍型数量的年度变化

Fig. 4 Annual fluctuations of D-loop haplotype numbers of Norway rat in Zhanjiang and Harbin populations from 2008 to 2015

2.6.2 D-loop单倍型频率的年度变化

湛江种群的3种主要单倍型在不同年份也出现了较明显的波动(图5-A), Hap_2单倍型在2011年和2014年的频率极低,分别为0和1.7%; Hap_4从2012年起频率明显降低,在2012年和2014年中几乎丢失;2008—2014年, Hap_12的频率相对较高,在2015年突然降为12.5%;经多组卡方检验,不同年份的 Hap_2 ($\chi^2=113.533$, $P<0.001$)、Hap_4 ($\chi^2=45.119$,

$P<0.001$)和 Hap_12 ($\chi^2=96.150$, $P<0.001$)频率之间差异显著。另外,一些低频率的单倍型在不同年份之间也出现了不同程度的波动,如 Hap_5~Hap_9和 Hap_18 D-loop单倍型都仅在某年才有。

哈尔滨种群的3种主要单倍型在不同年份也出现了较明显的波动(图5-B),自2012年开始 Hap_7单倍型频率有升高的趋势;在2010年和2013年 Hap_10单倍型的频率较高,分别为56.8%和67.4%,在其他年,其介于12.5%~33.3%;从2012年起 Hap_27单倍型频率突然降低;经多组卡方检验,不同年份的 Hap_7 ($\chi^2=49.395$, $P<0.001$)、Hap_10 ($\chi^2=52.994$, $P<0.001$)和 Hap_27 ($\chi^2=74.039$, $P<0.001$)频率之间差异显著。除主单倍型外,有15种低频单倍型仅在某年有。

2.6.3 种群间遗传分化系数的年度变化

2008—2015年不同年度褐家鼠湛江种群的 F_{st} 介于0.000~0.354之间,其中2009年和2014年种群分化程度最大,AMOVA分析结果表明28.36%遗传变异发生在褐家鼠种群之间,71.64%遗传变异发生在褐家鼠种群内。2008—2015年不同年度褐家鼠

哈尔滨种群的 F_{st} 介于0.006~0.835之间,其中2014年与2015年种群间分化程度最大,AMOVA分析结果

表明13.72%遗传变异发生在褐家鼠种群之间,86.28%遗传变异发生在褐家鼠种群内。

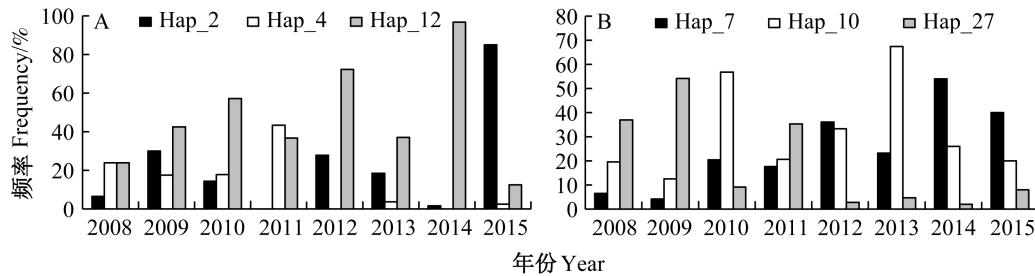


图5 2008—2015年褐家鼠湛江种群(A)和哈尔滨种群(B)D-loop主单倍型频率的年度变化

Fig. 5 Annual fluctuations of main D-loop haplotype frequencies of Norway rat populations in the Zhanjiang (A) and Harbin (B) cities from 2008 to 2015

3 讨论

根据形态特征,我国褐家鼠被分为5个亚种(吴德林,1982;王应祥,2003),但是对于这5个亚种之间的系统进化关系目前尚不清楚。已开展的少数研究主要通过分析全球褐家鼠种群的遗传结构来追溯褐家鼠的起源(Song et al., 2014; Zeng et al., 2018; Puckett & Munshi-South, 2019)。本研究结果表明,目前收集的3个地理种群各自并没有形成独立的单系群,尤其是代表甘肃亚种的湖北种群,一部分与支系III中代表东北亚种的哈尔滨种群聚在一起,一部分与支系V中代表指名亚种的湛江种群聚在一起,由于甘肃亚种分布于东亚亚种和指名亚种之间的地理区域,不可避免与2个亚种分别存在一定程度的基因交流。本研究的遗传分化程度分析结果显示,甘肃亚种与另外2个亚种的地理种群之间产生一定程度的遗传分化,说明甘肃亚种对东北亚种和指名亚种之间的直接基因交流形成一定的屏障,导致湛江种群和哈尔滨种群之间的分化程度比较明显,吴德林(1982)和Wang et al. (2011)研究结果也表明湛江市和哈尔滨市的褐家鼠在体型大小、体重、繁殖行为等方面也都有明显差异。

本研究的D-loop单倍型网络图显示褐家鼠哈尔滨种群被分成3个明显的支系,其中支系I和支系II聚在一起,而支系III与湖北种群和湛江种群的单倍型关系更近,表明褐家鼠哈尔滨种群至少经历了2次迁入事件。Puckett & Munshi-South(2019)利用基因组单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)研究全球褐家鼠的扩散途径,认为褐家鼠在从东南亚向欧洲扩散之前,在我国有个自北向南的扩散过程,支系III可能代表一个古老北方种群经内陆地向南方扩散的支系,但也不排除南方种群

向北方入侵的可能。由于本试验采集样品有限,支系III中是否包含南方地区的D-loop单倍型还需通过扩大采样范围进行进一步验证。

本研究结果显示,2008—2015年湛江种群和哈尔滨种群间的D-loop单倍型频率波动都比较大,如2011年之后湛江种群中的单倍型Hap_4基本消失,哈尔滨种群的主单倍型Hap_27和Hap_7也分别出现了降低和增高的趋势。Ma et al. (2018)曾分析本研究所用褐家鼠的*Vkorc1*基因多态性的年度变化情况,发现湛江种群中Ala140Thr氨基酸突变,2011年后从种群中彻底消失,Leu105Leu和His68His氨基酸在哈尔滨种群分别出现逐渐降低和增高的趋势。核基因*Vkorc1*和线粒体D-loop不连锁,因此很难将特定的*Vkorc1*基因突变和某一个特定的D-loop单倍型联系起来,但是*Vkorc1*基因多态性和D-loop单倍型在年度种群间波动明显,推测主要原因可能是灭鼠剂的大量使用或其他灭鼠活动导致种群出现瓶颈或更替的现象。湛江市是我国主要的鼠疫源地之一,灭鼠活动比较频繁,在1982—1990年该市进行过大规模的灭鼠活动,优势鼠种褐家鼠种群数量由39.83%~34.21%骤减至1983年的6.92%,到1990年种群组成百分比降至4.51%(吴珊,1992)。Ma et al. (2018)研究了湛江市和哈尔滨市褐家鼠种群的抗药水平,发现近10年来两地褐家鼠的抗性水平都很低,频繁使用抗凝血类灭鼠剂很容易导致当地褐家鼠种群的遗传结构发生改变。2008—2015年湛江种群和哈尔滨种群间的D-loop单倍型的频率波动都比较大的另一个原因可能是采样地点发生了变化,由于鼠类种群有一定的迁移性,每年采样地点也会在近距离范围内调整,尽管每年采样地点基本限制在5~6 km的范围内,也不可避免会影响种群

D-loop单倍型的频率变化。

本试验由于采样地点有限,只分析了3个褐家鼠亚种之间的进化关系,后续增大采样范围以便更有效地评估种群之间的分化情况以及临近种群之间的基因交流,为鼠类的统防统治提供参考依据。此外,通过对褐家鼠种群D-loop单倍型的年度变化规律分析发现,不同年份样品D-loop的单倍型组成会出现明显的变化,这对于后续开展褐家鼠谱系地理学研究有一定的借鉴意义。

参 考 文 献 (References)

- Abhyankar A, Park H, Tonolo G, Luthman H. 2009. Comparative sequence analysis of the non-protein-coding mitochondrial DNA of inbred rat strains. *PLoS ONE*, 4(12): e8148
- Bandelt H, Forster P, Röhl A. 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 16(1): 37–48
- Bonhomme F, Orth A, Cucchi T, Rajabi-Maham H, Catalan J, Boursot P, Auffray J, Britton-Davidian J. 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
- Cucchi T, Vigne J, Auffray J. 2005. First occurrence of the house mouse (*Mus musculus domesticus* Schwarz & Schwarz, 1943) in the western Mediterranean: a zooarchaeological revision of sub-fossil occurrences. *Biological Journal of the Linnean Society*, 84(3): 429–445
- Desvars-Larrive A, Hammed A, Hodroge A, Berny P, Benot E, Lattard V, Cosson JF. 2019. Population genetics and genotyping as tools for planning rat management programmes. *Journal of Pest Science*, 92: 691–705
- Dong WH, Hou XX, Yang YP. 2010. Distribution of *Rattus norvegicus* within the Tibet Autonomous Region. *Chinese Journal of Vector Biology and Control*, 21(4): 314–316 (in Chinese) [董维惠, 侯希贤, 杨玉平. 2010. 西藏自治区境内曾经捕获褐家鼠. 中国媒介生物学及控制杂志, 21(4): 314–316]
- Excoffier L, Lischer HEL. 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 YX. 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics*, 147(2): 915–925
- Guo S, Li GC, Liu JL, Wang J, Lu L, Liu QY. 2019. Dispersal route of the Asian house rat (*Rattus tanezumi*) on mainland China: insights from microsatellite and mitochondrial DNA. *BMC Genetics*, 20: 11
- Harpending HC. 1994. Signature of ancient population growth in a low-resolution mitochondrial DNA mismatch distribution. *Human Biology*, 66(4): 591–600
- Himsworth CG, Parsons KL, Jardine C, Patrick DM. 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
- Huson DH. 1998. SplitsTree: analyzing and visualizing evolutionary data. *Bioinformatics*, 14(1): 68–73
- Jones EP, Skirnisson K, McGovern TH, Gilbert MTP, Willerslev E, Searle JB. 2012. Fellow travellers: a concordance of colonization patterns between mice and men in the North Atlantic region. *BMC Evolutionary Biology*, 12(1): 35
- Jones EP, van der Kooij J, Solheim R, Searle JB. 2010. Norwegian house mice (*Mus musculus musculus/domesticus*): distributions, routes of colonization and patterns of hybridization. *Molecular Ecology*, 19(23): 5252–5264
- Li JJ, Peng TX, Wen SY, Xie YQ. 1999. Mitochondrial DNA polymorphism of *Rattus norvegicus* in China. *Zoological Research*, 20(4): 247–251 (in Chinese) [李菁菁, 彭统序, 温硕洋, 谢以权. 1999. 褐家鼠线粒体DNA遗传多态性的研究. 动物学研究, 20(4): 247–251]
- Librado P, Rozas J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 25(11): 1451–1452
- Liu DY, Liu J, Liu BY, Liu YY, Xiong HR, Hou W, Yang ZQ. 2017. Phylogenetic analysis based on mitochondrial DNA sequences of wild rats, and the relationship with Seoul virus infection in Hubei, China. *Virologica Sinica*, 32(3): 235–244
- Ma XH, Li N, Wang DW, Liu XX, Song Y. 2016. Genetic diversity of the Norway rat (*Rattus norvegicus*) in Hainan Island based on mitochondrial cytochrome *b* gene. *Chinese Journal of Zoology*, 51(5): 806–816 (in Chinese) [马晓慧, 李宁, 王大伟, 刘晓辉, 宋英. 2016. 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. 动物学杂志, 51(5): 806–816]
- Ma XX, Wang DW, Li N, Liu L, Tian L, Luo C, Cong L, Feng ZY, Liu XX, Song Y. 2018. Low warfarin resistance frequency in Norway rats in two cities in China after 30 years of usage of anticoagulant rodenticides. *Pest Management Science*, 74(11): 2555–2560
- Meerburg BG, Singleton GR, Kijlstra A. 2009. Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Critical Reviews in Microbiology*, 35(3): 221–270
- Meirmans PG. 2006. Using the AMOVA framework to estimate a standardized genetic differentiation measure. *Evolution*, 60(11): 2399–2402
- Nilsson MA, Gullberg A, Spotorno AE, Arnason U, Janke A. 2003. Radiation of extant marsupials after the K/T boundary: evidence from complete mitochondrial genomes. *Journal of Molecular Evolution*, 57(1): S3–S12
- Puckett EE, Munshi-South J. 2019. Brown rat demography reveals pre-commensal structure in eastern Asia before expansion into Southeast Asia. *Genome Research*, 29(5): 762–770
- Schlick NE, Jensen-Seaman MI, Orlebeke K, Kwitek AE, Jacob HJ, Lazar J. 2006. Sequence analysis of the complete mitochondrial

- DNA in 10 commonly used inbred rat strains. *American Journal of Physiology: Cell Physiology*, 291: C1183–C1192
- Singh VK, Mangalam AK, Dwivedi S, Naik S. 1998. Primer premier: program for design of degenerate primers from a protein sequence. *BioTechniques*, 24(2): 318–319
- Song Y, Lan ZJ, Kohn MH. 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
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The CLUSTAL_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25(24): 4876–4882
- Wang DW, Cong L, Yue LF, Huang BH, Zhang JX, Wang Y, Li N, Liu XH. 2011. Seasonal variation in population characteristics and management implications for brown rats (*Rattus norvegicus*) within their native range in Harbin, China. *Journal of Pest Science*, 84: 409–418
- Wang YX. 2003. A complete checklist of mammal species and subspecies in China: a taxonomic and geographic reference. Beijing: China Forestry Publishing House, pp. 200–201 (in Chinese) [王应祥. 2003. 中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全. 北京: 中国林业出版社, pp. 200–201]
- Wu DL. 1982. On subspecific differentiation of brown rat (*Rattus norvegicus* Berkenhout) in China. *Acta Theriologica Sinica*, 2(1): 107–112 (in Chinese) [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]
- Wu S. 1992. Population composition variation, community succession and its causes of rodent population changes in Zhanjiang Harbor from 1982 to 1990. *Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine*, 15(1): 31–34 (in Chinese) [吴珊. 1992. 1982—1990年湛江港鼠类数量变动种群组成变异与群落演替及其原因分析. 中国国境卫生检疫杂志, 15(1): 31–34]
- Zeng L, Ming C, Li Y, Su LY, Su YH, Otecko NO, Dalecky A, Donnellan S, Aplin K, Liu XH, et al. 2018. Out of southern East Asia of the brown rat revealed by large-scale genome sequencing. *Molecular Biology and Evolution*, 35(1): 149–158
- Zhang MW, Wang Y, Li B, Guo C, Chen AG. 2004. The population recovery of rodent pests after application of anticoagulant in agroecosystem in the middle and lower reaches of the Yangtze Valley. *Journal of Plant Protection*, 31(3): 311–319 (in Chinese) [张美文, 王勇, 李波, 郭聪, 陈安国. 2004. 长江中下游稻区毒饵灭鼠后害鼠种群数量的变化. 植物保护学报, 31(3): 311–319]
- Zong H, Jiang GZ, Ni JY. 1999. The population dynamics and recovery of rodent pests in the agricultural ecological system in Sichuan. *Journal of Plant Protection*, 26(4): 371–375 (in Chinese) [宗浩, 蒋光藻, 倪建英. 1999. 农田害鼠种群动态与灭鼠后种群恢复数学模型. 植物保护学报, 26(4): 371–375]

(责任编辑: 张俊芳)