

doi:10.11733/j.issn.1007-0435.2026.03.004

引用格式:龚俊强,侯齐琪,欧克杰,等.高原鼯鼠不同地理种群MHC-DRB基因外显子2遗传多样性分析[J].草地学报,2026,34(3):779-787

GONG Jun-qiang, HOU Qi-qi, OU Ke-jie, et al. Analysis of Genetic Diversity of Different Geographic Populations of *Eospalax baileyi* Based on MHC-DRB Exon 2 Gene[J]. Acta Agrestia Sinica, 2026, 34(3):779-787

高原鼯鼠不同地理种群MHC-DRB基因外显子2遗传多样性分析

龚俊强^{1,2}, 侯齐琪^{1,2}, 欧克杰^{1,2}, 郝彪彪^{1,2}, 王文碧^{1,2}, 苏军虎^{1,2,3*}

(1. 甘肃农业大学草业学院/草业生态系统教育部重点实验室/甘肃省草业工程实验室/中美草地畜牧业可持续发展研究中心, 甘肃兰州 730070; 2. 甘肃农业大学—新西兰梅西大学草地生物多样性研究中心, 甘肃兰州 730070; 3. 甘肃祁连山草原生态系统观测研究站, 甘肃武威 733200)

摘要: 为了解高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)不同地理种群的遗传多样性和适应性进化机制,本文对高原鼯鼠8个不同地理种群121个个体的MHC-DRB基因外显子2进行PCR扩增及克隆。结果发现,高原鼯鼠MHC-DRB基因外显子2具有较高的多态性,种群间遗传分化明显,地理隔离是各种群分化的关键因素,碱基使用方面存在密码子偏好性,中性检测表明高原鼯鼠种群近期未发生过种群扩张现象,且维持遗传多态性的驱动力主要为选择作用。本研究结果将为进一步研究高原鼯鼠的MHC基因的遗传适应性和种群有效管理提供理论依据。

关键词: 高原鼯鼠;MHC-DRB外显子2;多态性;遗传多样性;选择作用

中图分类号:S812.6

文献标识码:A

文章编号:1007-0435(2026)03-0779-09

Analysis of Genetic Diversity of Different Geographic Populations of *Eospalax baileyi* Based on MHC-DRB Exon 2 Gene

GONG Jun-qiang^{1,2}, HOU Qi-qi^{1,2}, OU Ke-jie^{1,2}, HAO Biao-biao^{1,2}, WANG Wen-bi^{1,2}, SU Jun-hu^{1,2,3*}

(1. School of Grassland, Gansu Agricultural University/Key Laboratory of Grassland Ecosystem, Ministry of Education of Gansu Province/Gansu Provincial Grassland Engineering Laboratory/Center for Sustainable Development of Grassland Animal Husbandry of China and the United States, Lanzhou, Gansu Province 730070, China; 2. Center for Grassland Biodiversity Research, Gansu Agricultural University-Mercy University, Lanzhou, Gansu Province 730070, China; 3. Gansu Qilianshan Grassland Ecosystem Observation and Research Station, Wuwei, Gansu Province 733200, China)

Abstract: To elucidate the genetic diversity and adaptive evolutionary mechanisms of different geographical populations of the plateau zokor (*Eospalax baileyi*), in this study PCR was conducted to amplify and clone the MHC-DRB gene exon 2 in 121 individuals from eight distinct geographical populations. The results showed that the MHC-DRB exon 2 of the plateau zokor exhibits high polymorphism, with significant genetic differentiation among populations. Geographical isolation was identified as the primary factor driving population divergence. Codon usage bias was observed in nucleotide composition. Neutral tests indicated that the plateau zokor population had not undergone recent expansion, and the maintenance of genetic polymorphism was primarily driven by natural selection. The findings of this study will provide a theoretical basis for further investigating the genetic adaptation of MHC genes in *Eospalax baileyi* and their effective population management.

Key words: *Eospalax baileyi*; MHC-DRB exon 2; Polymorphism; Genetic diversity; Selective effect

收稿日期:2025-03-31;修回日期:2025-05-26

基金项目:甘肃省重点研发生态文明建设专项(24YFFA058);甘肃省草原健康和退化评估科技支撑项目(GSAU-JSFW-2024-139-1);国家自然科学基金项目(32272566)资助

作者简介:龚俊强(1999-),男,汉族,甘肃宕昌人,硕士研究生,主要从事啮齿动物生态学与草地保护方面研究,E-mail: 1741658013@qq.com;

*通信作者 Author for correspondence, E-mail: sujh@gsau.edu.cn

遗传多样性亦称基因多样性,是生物适应环境变化的基础^[1]。对于一个物种而言,必须具备较高水平的遗传多样性,才能应对不断变化的环境因子所带来的生存选择压力。丰富的遗传多样性不仅增强了物种应对复杂生态挑战的能力,也提高了种群的稳定性与进化潜力。较高的遗传多样性意味着更广泛的基因型组合,从而增加了物种适应不同环境条件的可能性^[2]。青藏高原拥有独特的地质历史和复杂多样的地理环境特征,包括高海拔、低氧、强烈的紫外线辐射以及极端气候条件等。这些因素共同塑造了该地区独特的生态系统^[3-4]。这些特殊的环境因素不仅影响着青藏高原上的植被分布和气候模式,还对生活在该区域的物种的遗传结构产生了深远的影响^[5]。地下啮齿动物作为青藏高原上广泛分布的关键物种,成为研究这一区域物种遗传结构和适应性机制的理想模型^[6]。运用分子标记技术^[7][例如微卫星、线粒体DNA及单核苷酸多态性(Single nucleotide polymorphism, SNP)等],能够更清晰地揭示种群间的系统关系、种群动态变化及其进化历史,进而为物种保护与种群管理提供更为精准的科学支撑。

主要组织相容性复合体(Major histocompatibility complex, MHC)作为有颌脊椎动物特有的基因组区域,具有区别于其他中性分子标记的显著特征:该区域基因分布密集,富含大量免疫相关基因,并由多个紧密连锁、高度多态的基因座构成,广泛存在于各类脊椎动物的染色体中^[8]。在脊椎动物中,MHC基因与动物的免疫功能、物种的系统发育演化、遗传进化等联系紧密,是目前研究物种遗传多样性和适应性进化机制的最佳候选标记^[9]。MHC基因在免疫应答启动和调节中发挥着重要的作用,其编码的蛋白质分子能将抗原呈递给对应的免疫细胞,介导免疫应答机制^[10],通过识别并中和异源病原体、清除异常自身抗原的级联反应,确保内环境动态平衡。由于基因处于平衡选择作用下,通常能够在物种形成过程中保留下来,进而呈现出多态性,而多态性是MHC基因最主要的特征之一^[11],它能够显著影响个体的存活率和抵御疾病的能力,多态性水平的降低可能导致种群内个体对病原体的抵抗力减弱,种群抗病能力单一及生存力和生产力下降等^[12]。对MHC基因多态性位点进行分析,能够更精确地解析近缘物种间的系统发育关系、有效地评估物种的群体遗传多态性水平和确定种群的遗传结构及进化进

程等重要遗传进化指标^[13-14]。

高原鼯鼠(*Eospalax baileyi*)是广泛分布于青藏高原地区的一类典型的地下啮齿动物^[15]。由于分布范围广泛且扩散能力有限,高原鼯鼠的生境具有显著多样性,同时其所面临的各类环境因子(如氧气浓度、温度、食物资源等)也存在差异。这些因素共同促使高原鼯鼠种群形成了丰富的遗传多样性^[16],并塑造出特定的地理分布格局,使其成为研究该区域物种遗传结构及适应性进化机制的代表性物种^[17]。目前,将分子生物学技术应用于地下啮齿类动物遗传多样性研究,在国内外已较为成熟^[18-19]。

基于MHC基因在动物遗传结构解析和适应性进化机制研究中的显著优势^[20],研究高原鼯鼠(青藏高原生态系统的关键物种)的种群动态与环境适应性之间的关系不仅对理解区域生态平衡具有重要理论价值,也为鼠害防控实践提供了科学依据^[21]。

本研究首次选用MHC分子标记技术,通过对高原鼯鼠不同地理种群的MHC-DRB基因外显子2序列的研究,分析其遗传多样性和适应性进化,旨在摸清不同种群的遗传多样性并分析其进化潜力,也为该地区高原鼯鼠种群的鼠害爆发预测和有效实施种群管理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样本采集信息

研究材料为用弓形夹在8个地理区域(表1)总共捕获成年健康的121只高原鼯鼠肌肉组织,严格遵循动物伦理规范实施安乐死处理后,使用外科级不锈钢剪刀仔细切取颈部肌肉组织大于2 g,立即转移至预先准备好的无菌离心管中,并加入足量的95%乙醇暂存,随后转移至-80℃冰箱中长期保存。

1.2 研究方法

1.2.1 DNA提取 使用蛋白酶K-苯酚/氯仿抽提法^[22]从高原鼯鼠的肌肉中提取DNA。提取后的DNA在-20℃冰箱中保存,以便后续使用。

1.2.2 PCR扩增和克隆测序 通过Primer Premier 5软件根据国家基因组科学技术中心公布的高原鼯鼠全序列,设计高原鼯鼠MHC-DRB基因序列引物。F为CACAGCACGTTTCTTGATCA, R为AATGAACCCAATCGAGCCCC,退火温度为53.5℃。引物由北京擎科生物科技股份有限公司

(西安)合成,PCR 反应体积为 25 μ L,其中包含 12 μ L Green Taq Mix, 10 μ L ddH₂O, 1 μ L DNA 模板和上下游引物各 1 μ L。PCR 反应条件为:95℃预变性 4 min, 94℃变性 40 s, 53.5℃退火 30 s, 72℃延伸 1 min, 循环 34 次, 然后 72℃延伸 10 min, 最后 4℃

保存。PCR 扩增产物经纯化试剂盒纯化后连接到 PMd19-T 载体,再转化至 DH5 α 感受态细胞,涂板,挑取单克隆菌落后摇菌培养,培养后经筛选的阳性菌液送至北京擎科生物科技股份有限公司(西安)进行双向测序。

表 1 高原鼯鼠采样信息表

Table 1 Sampling information of Plateau zokor

采样地点 Sampling location	经度 Longitude	纬度 Latitude	海拔 Elevation/m	样本数 Sample size
青海省玉树州称多县(CD)	97°17'25.49"E	33°7'18.98"N	4380	21
甘肃省甘南州碌曲县(LQ)	102°21'30.88"E	34°17'25.56"N	3650	19
青海省海北州海晏县(HY)	101°6'52.21"E	37°5'11.95"N	3400	22
甘肃省武威市天祝县(TZ)	102°45'15.53"E	37°11'21.11"N	3100	17
青海省互助县巴扎乡(BZ)	102°15'20.09"E	37°2'6.84"N	3060	9
青海省互助县东和乡(DH)	102°5'53.10"E	36°54'47.46"N	2960	9
青海省互助县松多乡(SD)	102°11'31.29"E	36°42'5.08"N	2820	12
青海省大通县黄家寨镇(DT)	101°37'45.13"E	36°52'6.25"N	2840	12

1.2.3 序列分析 使用 MEGA11.0 软件对各种群的有效序列进行拼接比对,最后得到高原鼯鼠的 *MHC-DRB* 基因外显子 2 的全部编码序列(Coding sequence, CDS),选择 Kimura 2-parameter(K2P)模型计算各种群间的平均遗传距离、分化指数、净遗传距离和基因流;利用各采样点的经纬度计算各种群间的地理距离,并对地理距离与分化指数和地理距离与遗传距离进行 Mantel test 分析和回归分析;使用 DnaSP6.0 软件分析 *MHC-DRB* 基因外显子 2 的序列碱基组成、变异位点数(Variable sites, V)、单倍型多样性(Haplotype diversity, Hd)、核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π)、平均核苷酸变异数(Average number of differences, K)、简约信息位点数(Parsimony-informative site),自展重复值设为 100。最后计算非同义替换率(Non synonymous substitutions, d_N)与同义替换率(Synonymous substitutions, d_S)以及二者的比值 $\omega(d_N/d_S)$ 来了解种群选择压力,中性检测预测种群历史动态情况。

2 结果与分析

实验样本来源于 8 个高原鼯鼠不同的地理种群,共 121 只健康成年个体。经克隆、测序并获得 *MHC-DRB* exon 2 序列后,通过比对与裁剪,最终得到 232 条长度为 263 bp 的有效序列。后续的遗传多样性分析均基于这 232 条序列进行。

2.1 遗传多样性分析

检测 *MHC-DRB* 外显子 2 基因的遗传多样性(表 2),发现 8 个种群的变异位点数在 9~31 之间,差异较大,其中多态位点数最多的是海晏(HY)种群,最少的为大通(DT)种群。所检测 8 个种群的单倍型多样性在 0.845~0.928 之间,最大为海晏(HY)种群,最小为天祝(TZ)种群;核苷酸多样性(π)和平均核苷酸变异数(K)分别在 0.008 07~0.024 32 和 2.0571~6.2012 之间,称多(CD)种群最大,巴扎(BZ)种群最小。

2.2 各种群间的遗传距离分析

遗传距离是种群分化的一个重要指标。基于 Tajima-Nei 模型计算的各种群间的遗传距离,结合采样点的经纬度计算各种群之间的地理距离,结果显示(表 3):称多(CD)种群和松多(SD)种群之间的遗传距离最大,为 0.0426,天祝(TZ)种群和东和(DH)种群之间的遗传距离最小,为 0.0094。种群间的基因流和遗传分化结果显示(表 4),分化指数最大的群体为称多(CD)种群与东和(DH)种群,分化指数为 0.2676,分化指数最小的群体为碌曲(LQ)种群与海晏(HY)种群,分化指数为-0.0069。

2.3 Mantel test 分析

回归分析结果表明,各种群随着地理距离的增加,种群分化指数和遗传距离也增加,种群间地理距离与分化指数和遗传距离均呈显著正相关(图 1)。

表 2 高原鼢鼠 *MHC-DRB* 外显子 2 基因的遗传多样性Table 2 Genetic diversity of *MHC-DRB* exon 2 in Plateau zokor

种群 Population	样本数 Number	变异位点数 Variable site	简约位点数 Singleton variable sites	单倍型个数 Number of haplotypes(H)	单倍型多样性 Haplotype diversity (Hd)	核苷酸多样性 Nucleotide d iversity (π)	平均核苷酸变异数 Average number of differences(K)
称多(CD)	37	29	14	21	0.890	0.024 32	6.2012
碌曲(LQ)	42	20	8	21	0.926	0.015 37	3.9198
海晏(HY)	39	31	14	20	0.928	0.018 57	4.7341
天祝(TZ)	40	20	14	16	0.845	0.009 17	2.3371
巴扎(BZ)	21	10	5	10	0.867	0.008 07	2.0818
东和(DH)	19	9	4	10	0.901	0.008 16	1.7362
松多(SD)	17	18	9	15	0.985	0.017 21	4.3897
大通(DT)	18	12	5	9	0.856	0.010 15	2.5882
总体(ZT)	232	88	43	82	0.954	0.016 98	4.3300

表 3 高原鼢鼠 *MHC-DRB* 外显子 2 基因各种群间的遗传距离和地理距离Table 3 Mean genetic distance based on *MHC-DRB* exon 2 gene in Plateau zokor

种群 Population	称多(CD)	碌曲(LQ)	海宴(HY)	天祝(TZ)	巴扎(BZ)	东和(DH)	松多(SD)	大通(DT)
称多(CD)		585.26	685.47	821.06	765.85	741.48	729.29	700.23
碌曲(LQ)	0.0368		405.98	398.33	374.66	358.73	328.76	360.61
海宴(HY)	0.0366	0.0137		183.10	127.22	112.11	131.30	64.81
天祝(TZ)	0.0382	0.0126	0.0140		59.50	82.50	92.17	132.93
巴扎(BZ)	0.0402	0.0130	0.0152	0.0131		24.38	46.79	73.47
东和(DH)	0.0361	0.0105	0.0123	0.0094	0.0110		31.13	52.56
松多(SD)	0.0426	0.0169	0.0190	0.0202	0.0180	0.0171		66.78
大通(DT)	0.0373	0.0126	0.0146	0.0110	0.0136	0.0105	0.0195	

注:上三角为地理距离(km),下三角为遗传距离

Note: The upper triangle is the geographical distance (km), and the lower triangle is the genetic distance

表 4 高原鼢鼠各种群间的基因流(*Nm*)和分化指数(*Fst*值)Table 4 Gene flow and *Fst* among populations in Plateau zokor

种群 Population	称多 CD	碌曲 LQ	海宴 HY	天祝 TZ	巴扎 BZ	东和 DH	松多 SD	大通 DT
称多(CD)		0.1379	0.1127	0.2615	0.2079	0.2696	0.2156	0.2051
碌曲(LQ)	0.1380		-0.0070	0.2058	0.1348	0.2095	0.1581	0.1229
海宴(HY)	0.1123	-0.0069		0.1403	0.0861	0.1389	0.1069	0.0789
天祝(TZ)	0.2595	0.2058	0.1403		0.0852	0.0183	0.0039	0.1601
巴扎(BZ)	0.2066	0.1350	0.0863	0.0855		0.0218	0.0094	0.0658
东和(DH)	0.2677	0.2096	0.1390	0.0183	0.0223		-0.0225	0.1129
松多(SD)	0.2122	0.1578	0.1060	0.0038	0.0089	-0.0221		0.0958
大通(DT)	0.2024	0.1223	0.0782	0.1591	0.0651	0.1121	0.0942	

注:表中上三角为各种群间的基因流(*Nm*);下三角为各种群间的分化指数(*Fst*值)

Note: The upper triangle in the table is the gene flow between populations (*Nm*); the lower triangle is the differentiation index (*Fst*)

2.4 碱基组成

碱基组成结果显示(表 5),8 个种群各碱基组成比例基本一致,总体上胸腺嘧啶(T)、胞嘧啶(C)、腺嘌呤(A)和鸟嘌呤(G)的比例分别为 21.1%,23.8%,24.6% 和 30.5%,其中胸腺嘧啶(T)所占比例最小,鸟嘌呤(G)所占比例最大。C+G(54.3%)的比例高于 A+T(45.7%),第二位密码子中 G+C 含量更是达到了 74.3%,远高于 A+T 含量,表现出明显的密码子偏好性。

2.5 选择压力和中性检测分析

对各种群 *MHC-DRB* 基因外显子 2 进行选择压力计算和中性检测的结果显示:Tajima's D 和 Fu and Li's D 值均大于 0.1,表明 *P* 值均不显著,错配分布图均呈不规则曲线,表明近期各种群未发生过种群扩张(图 2)。选择压力计算结果显示,除称多、碌曲、东和种群 d_N/d_S 值小于 1 外,其余种群和总体 d_N/d_S 均值大于 1,表明高原鼢鼠 *MHC-DRB* 基因外显子 2 受正选择作用(表 6)。

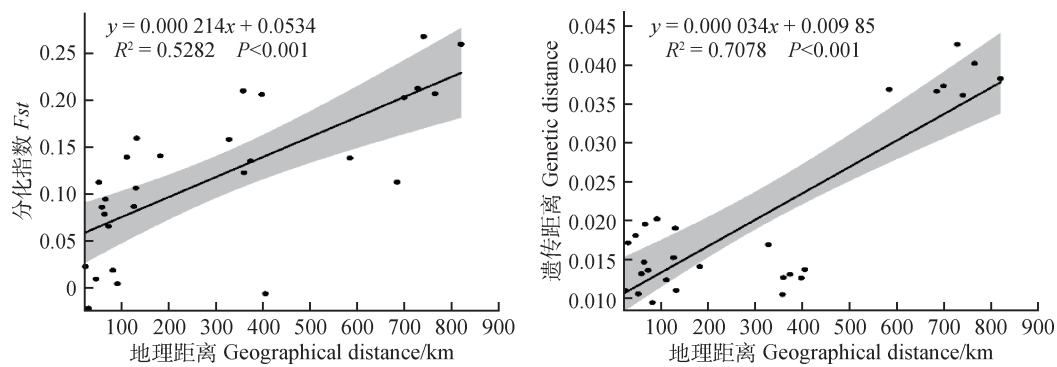


图 1 种群间地理距离与分化指数和地理距离与遗传距离的回归分析

Fig. 1 Regression analysis of geographic distance between populations with differentiation index and geographic distance between genetic distance

表 5 高原鼯鼠不同种群*MHC-DRB* 基因外显子 2 的碱基比例

Table 5 Nucleotide compositions of *MHC-DRB* exon 2 gene sequence in different populations of Plateau zokor

种群 Population	碱基含量 Nucleotide content/%							
	T	C	A	G	GC	GC ₁	GC ₂	GC ₃
称多(CD)	21.0	24.0	24.4	30.6	54.6	33.4	74.2	56.1
碌曲(LQ)	21.2	23.7	24.6	30.5	54.2	32.4	74.5	55.8
海晏(HY)	21.2	23.8	24.5	30.5	54.3	32.4	74.5	55.8
天祝(TZ)	21.1	23.9	24.8	30.3	54.1	32.2	74.0	56.2
巴扎(BZ)	21.2	23.7	24.8	30.3	54.0	32.2	73.8	55.9
东和(DH)	21.1	23.8	24.8	30.4	54.2	32.7	74.0	55.9
松多(SD)	21.0	24.0	24.5	30.5	54.5	32.4	75.2	55.8
大通(DT)	21.2	23.6	24.7	30.5	54.1	32.5	74.0	55.8
总体(ZT)	21.1	23.8	24.6	30.5	54.3	32.5	74.3	55.9

注:上表中的碱基分别为 T 为胸腺嘧啶;C 为胞嘧啶;A 为腺嘌呤;G 为鸟嘌呤;GC 为碱基 G 和碱基 C 的总含量;GC₁ 为第一位密码子 GC 含量;GC₂ 为第二位密码子 GC 含量;GC₃ 为第三位密码子 GC 含量

Note: The bases in the table above are: T for thymine; C for cytosine; A for adenine; G for guanine. GC for the total content of base G and base C; GC₁ for the GC content of the first codon; GC₂ for the GC content of the second codon; GC₃ for the GC content of the third codon

表 6 高原鼯鼠不同种群*MHC-DRB* 基因外显子 2 的 d_N/d_S 比值和中性检测分析

Table 6 d_N/d_S and Neutral detection analysis of *MHC-DRB* exon 2 gene in different populations of Plateau zokor

种群 Population	Tajima's D		Fu and Li's D		同义突变 d_N	非同义突变 d_S	比值 $\omega(d_N/d_S)$
称多(CD)	-0.9533	$P>0.10$	-2.0667		0.297	0.38	0.782
碌曲(LQ)	-0.6481	$P>0.10$	-1.1345		0.014	0.021	0.684
海晏(HY)	-1.1740	$P>0.10$	-2.2555		0.166	0.265	1.596
天祝(TZ)	-1.4966	$P>0.10$	-3.2941		0.264	0.228	1.156
巴扎(BZ)	-0.6707	$P>0.10$	-1.0051		0.465	0.351	1.326
东和(DH)	-0.7794	$P>0.10$	-0.6511		0.343	0.447	0.767
松多(SD)	-0.8626	$P>0.10$	-1.0512		0.454	0.331	1.371
大通(DT)	-0.9533	$P>0.10$	-1.3066		0.473	0.381	1.241
总体(ZT)	-2.1578	$P>0.10$	-6.3289		0.087	0.08	1.079

注: d_N 为非同义突变; d_S 为同义突变; d_N/d_S 为两者之间的比值; $P>0.01$ 表示差异不显著

Note: d_N stands for non-synonymous mutations; d_S stands for synonymous mutations; d_N/d_S represents the ratio between the d_N/d_S ; $P>0.01$ indicates not significant differences

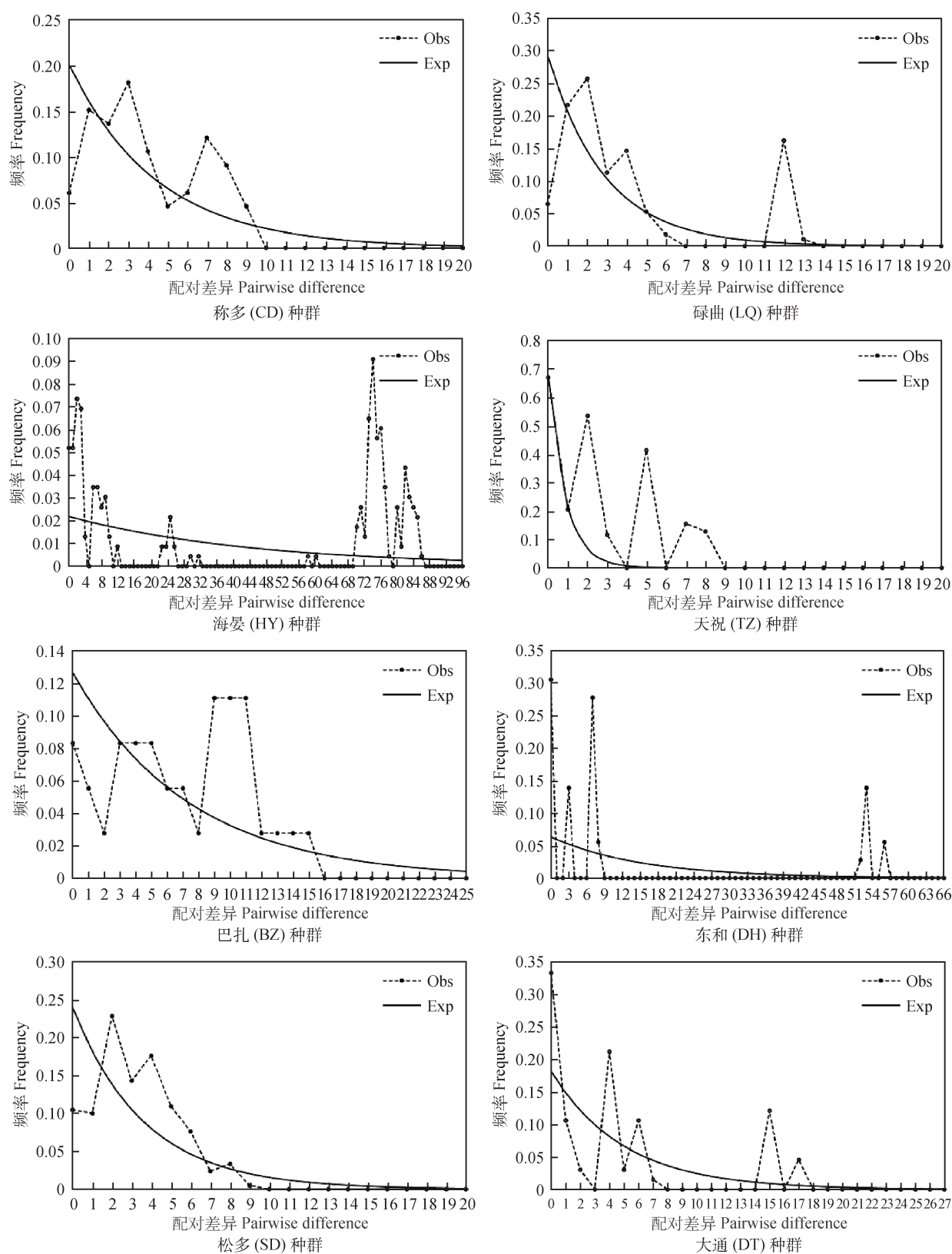


图 2 种群错配分布图

Fig. 2 Mismatch distributions of geographical population

注: Obs 表示观测值; Exp 表示期望值

Note: Obs represents the observed frequency; Exp represents the expected frequency

3 讨论

3.1 DRB基因外显子2的遗传多样性分析

对各种群遗传多样性的分析显示,不同种群的核苷酸多样性(π)和平均核苷酸差异数(K)均处于较高水平,表明高原鼯鼠MHC-DRB基因具有较高的遗传多样性。作为脊椎动物基因组中多态性最丰富的基因之一,MHC基因本身参与免疫相关功能。其中,编码MHC II类分子的基因包含多个座位,而DRB基因作为其主要功能区之一,表现出尤为丰富的多态性。多态性不仅与其自身的基因重组和复合有关,还与物种自身所处环境密切相关。环境选择压力是驱动MHC基因多态性维持的关键进化机制^[23]。青藏高原环境独特,类型复杂多样,高原鼯鼠的栖息地广泛,因而面对的环境因子也不相同,因此,机体在适应多变的环境条件下,与免疫系统密切相关的MHC基因表现出较高的遗传多样性和丰富的遗传多态性。

3.2 遗传距离与地理距离分析

种群空间分布格局解析对于揭示物种分布规律及演化机制具有重要理论价值,地理隔离是物种分化的关键因素之一^[24]。本研究中,高原鼯鼠8个种群间遗传结构分析揭示该物种存在显著的谱系地理学结构,表明长期地理隔离已导致遗传谱系的定向分化。Mantel test检测证实高原鼯鼠种群间地理距离与分化指数和地理距离与遗传距离均呈显著正相关($P < 0.001$),这与蔡振媛等^[25]利用线粒体DNA部分序列对高原鼯鼠种群进行距离隔离研究,发现高原鼯鼠的遗传分化与地理距离呈极显著正相关的结果相一致。这也表明MHC-DRB基因外显子2数据分析的种群遗传结构的特征符合距离隔离模型(Isolate by distance, IBD)^[26]。一方面高原鼯鼠的扩散和迁移能力有限,而地理屏障通过限制基因流促进了遗传漂变;另一方面异质选择压力驱动适应性进化,二者协同作用加速了种群的遗传分化进程^[27]。这种空间遗传格局的解析不仅为物种种群管理策略制定提供谱系地理学证据,更为入侵生物风险管理中的种群溯源与扩散路径追踪建立方法体系。研究揭示的遗传多样性的空间异质性,为阐明广布种的生态位分化机制及稀有种的维持策略提供了重要依据。

3.3 碱基组成分析

在蛋白质编码过程中,不同基因普遍表现出对特定密码子的使用偏好,这一现象称为密码子偏好性^[28]。本研究结果显示,高原鼯鼠不同地理种群MHC-DRB基因外显子2所含的G,C,T,A四种碱基组成基本一致,未发现明显差异。总体上GC(54.3%)的含量略高于AT(45.7%)的含量,除第一位密码子GC(32.5%)的含量低于AT(67.5%)的含量外,其余位置GC含量均高于AT含量,尤其第二位密码子GC含量高达74.3%,显著高于AT含量,表现出明显的GC偏好性。一般认为,碱基使用偏好有助于提高翻译的准确性和高效性,从而影响生物体蛋白的表达效率^[29]。研究表明,GC含量与同义替换之间存在关联,能够反映突变偏好,尤其体现在密码子第三位碱基的组成对同义密码子使用模式的导向作用^[30]。具有较高GC含量的序列通常表现出更强的变异性和更低的保守性,这也可能是导致MHC II类基因高度多态性的潜在机制之一。但关于MHC II类基因的碱基含量变化规律,尤其是在物种遗传进化中的作用,还未有系统研究报道,有待今后进一步研究解析。

3.4 选择压力分析与中性检测

MHC基因是脊椎动物多态性最高最复杂的基因,MHC基因受平衡选择作用,有较强的正选择和较弱的进化选择,更有利于种群分化和进化史的研究^[31]。首先,中性检测Tajima's D和Fu and Li's D结果并不显著,推测高原鼯鼠种群维持遗传多态性的驱动力主要为选择作用。其次,非同义-同义替换速率比值显示,不同种群所受选择压力不同,主要受到正选择作用的影响。种群扩张是种群动态中的一个关键信号^[32],错配分布图显示,各种群之间近期并没有发生种群扩张现象,种群扩张和瓶颈效应均可在较短时间内引起物种基因库结构的显著变化^[33],MHC复合体直接面对选择压力,其不同基因对各种疾病的免疫力存在差异,因而对选择作用的表现十分明显^[34]。高原鼯鼠作为地下啮齿类动物,广泛分布于青藏高原地区,在未来的研究中,可以增加MHC II基因的位点研究和地理种群的检测数量,对这种功能基因的分子标记的研究将完善对地下生态系统免疫适应机制的理解,从而为鼠害综合防治提供准确实用的种群数量动态预测方法奠定基础。

4 结论

高原鼯鼠不同地理种群 *MHC-DRB* 基因外显子 2 具有较高的遗传多态性,遗传距离和遗传分化指数与地理距离之间存在显著正相关,在碱基使用方面存在密码子偏好性,中性检测表明高原鼯鼠种群近期未发生过种群扩张现象,且维持该基因遗传多态性的驱动力主要为选择作用。

参考文献

- [1] FRANKHAM R. Relationship of genetic variation to population size in wildlife[J]. *Conservation Biology*, 1996, 10(6): 1500-1508
- [2] 俞文灏,吴保锋,刘勇波. 生境破碎化对动植物遗传多样性的影响研究进展[J]. *应用与环境生物学报*, 2019, 25(3): 743-749
YU W H, WU B F, LIU Y B. Effects of habitat fragmentation on genetic diversity of plants and animals[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2019, 25(3): 743-749
- [3] 孙鸿烈. 青藏高原研究的新进展[J]. *地球科学进展*, 1996, 11(6): 536-542
SUN H L. New progress in the study of Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Advances in Earth Science*, 1996, 11(6): 536-542
- [4] 陈发虎,汪亚峰,甄晓林,等. 全球变化下的青藏高原环境影响及应对策略研究[J]. *中国藏学*, 2021, 149(4): 21-28
CHEN F H, WANG Y F, ZHEN X L, et al. Research on environmental impact and response strategies of the Qinghai-Tibet Plateau under global change[J]. *China Tibetology*, 2021, 149(4): 21-28
- [5] 王欠鑫,曹巍,黄麟. 青藏高原生态系统功能稳定性演化特征及分区[J]. *地理学报*, 2023, 78(5): 1104-1118
WANG Q X, CAO W, HUANG L. Evolutionary characteristics and zoning of ecosystem functional stability on the Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Acta Geographica Sinica*, 2023, 78(5): 1104-1118
- [6] 张堰铭,刘季科. 地下鼠生物学特征及其在生态系统中的作用[J]. *兽类学报*, 2002, 22(2): 144-154
ZHANG Y M, LIU J K. The biological characteristics of subterranean rodents and their roles in ecosystem[J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2002, 22(2): 144-154
- [7] 周宇燊. 分子标记发展简史[J]. *现代农业科技*, 2009(11): 264-270
ZHOU Y J. A brief history of molecular marker development[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2009(11): 264-270
- [8] PIERTNEY S B, OLIVER M K. The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex[J]. *Heredity*, 2006, 96(1): 7-21
- [9] SOMMER S. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation[J]. *Frontiers in Zoology*, 2005, 2: 16
- [10] TAKESHIMA S N, SARAI A, SAITOU N, et al. MHC class II DR classification based on antigen-binding groove natural selection[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2009, 385(2): 137-142
- [11] MCDEVITT H O. Discovering the role of the major histocompatibility complex in the immune response[J]. *Annual Review of Immunology*, 2000, 18: 1-17
- [12] KAPPEL D, STROMINGER J L. Human class II major histocompatibility complex genes and proteins[J]. *Annual Review of Biochemistry*, 1988, 57: 991-1028
- [13] SCHAD J, GANZHORN J U, SOMMER S. Parasite burden and constitution of major histocompatibility complex in the Malagasy mouse *Lemur*, *Microcebus murinus* [J]. *Evolution; International Journal of Organic Evolution*, 2005, 59(2): 439-450
- [14] LANGEFORS Å, VON SCHANTZ T, WIDEGREN B. Allelic variation of Mhc class II in Atlantic salmon; a population genetic analysis[J]. *Heredity*, 1998, 80(5): 568-575
- [15] 王缠,潘永泰,王静,等. 高原鼯鼠 DNA 条形码筛选[J]. *草业科学*, 2020, 37(12): 2574-2583
WANG C, PAN Y T, WANG J, et al. Selection of plateau zokor (*Eospalax baileyi*) DNA barcodes[J]. *Pratacultural Science*, 2020, 37(12): 2574-2583
- [16] 苏军虎, Weihong Ji, 南志标, 等. 鼯鼠亚科 Mysopalaenae 动物系统学研究现状与展望[J]. *动物学杂志*, 2015, 50(4): 649-658
SU J H, WEIHONGJI, NAN Z B, et al. Review on the systematics of the subfamily mysopalaenae [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2015, 50(4): 649-658
- [17] KANG Y K, LIU Q Q, YAO B H, et al. Pleistocene climate-driven diversification of plateau zokor (*Eospalax baileyi*) in the eastern Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Ecological Indicators*, 2022, 139: 108923
- [18] DOBSON F S. Measures of gene flow in the Columbian ground squirrel[J]. *Oecologia*, 1994, 100(1): 190-195
- [19] HORN P L, RAFALSKI J A, WHITEHEAD P J. Molecular genetic (RAPD) analysis of breeding magpie geese[J]. *The Auk*, 1996, 113(3): 552-557
- [20] 陈芳芳,潘玲,耿照玉,等. MHC 分子多态性的起源、演变与抗病机理[J]. *畜牧兽医学报*, 2010, 41(9): 1061-1067
CHEN F F, PAN L, GEN Z Y, et al. Origin, evolution and resistance mechanism of polymorphism of MHC molecules[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2010, 41(9): 1061-1067
- [21] 苏军虎,刘荣堂,纪维红,等. 我国草地鼠害防治与研究的发展阶段及特征[J]. *草业科学*, 2013, 30(7): 1116-1123
SU J H, LIU R T, JI W H, et al. Stages and characteristics of grassland rodent pests control and research in China[J]. *Pratacultural Science*, 2013, 30(7): 1116-1123
- [22] HIRSCH F, SACHS D H, GUSTAFSSON K, et al. Class II genes of miniature swine. III. Characterization of an expressed pig class II gene homologous to HLA-DQA[J]. *Immunogenetics*, 1990, 31(1): 52-56

- [23] HUGHES A L, NEI M. Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class I loci reveals overdominant selection[J]. *Nature*, 1988, 335(6186):167-170
- [24] 石林波, 汪雁, 邹节新, 等. 基于16S rRNA初步探讨福建华溪蟹与修水华溪蟹间的遗传分化[J]. *中国人兽共患病学报*, 2012, 28(3):213-216, 222
- SHI L B, WANG Y, ZOU J X, et al. Genetic differentiation of *S. fukienense* and *S. xiusuiense* based on 16S rRNA[J]. *Chinese Journal of Zoonoses*, 2012, 28(3):213-216, 222
- [25] 蔡振媛, 张同作, 慈海鑫, 等. 高原鼯鼠线粒体谱系地理学和遗传多样性[J]. *兽类学报*, 2007, 27(2):130-137
- CAI Z Y, ZHANG T Z, CI H X, et al. Mitochondrial phylogeography and genetic diversity of plateau zokor (*Myospalax baileyi*) [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2007, 27(2):130-137
- [26] WRIGHT S. Isolation by distance[J]. *Genetics*, 1943, 28(2):114-138
- [27] TANG L Z, ZHANG T Z, LIN G H, et al. Phylogenetic discontinuity of plateau zokor (*Myospalax Baileyi* Thomas) populations in Qinghai-Tibetan Plateau[J]. *Polish Journal of Ecology*, 2010, 58(1):167-176
- [28] QUAX T E F, CLAASSENS N J, SÖLL D, et al. *Codon* bias as a means to fine-tune gene expression[J]. *Molecular Cell*, 2015, 59(2):149-161
- [29] PAN X, FU J. Molecular evolution of *MHC DQA* genes. I. The maintenance of interallelic divergence and the influence of GC content on gene structure[J]. *Acta Genetica Sinica*, 1997, 24(3):195-205
- [30] 马建青, 杨清芳, 宋占锋, 等. 绵羊骨代谢相关基因VDR密码子偏好性分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(8):2888-2898
- MA J Q, YANG Q F, SONG Z F, et al. Analysis of *Codon* usage bias of *VDR* gene related to bone metabolism in *Ovis aries* [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 49(8):2888-2898
- [31] CAMMEN K, HOFFMAN J I, KNAPP L A, et al. Geographic variation of the major histocompatibility complex in Eastern Atlantic grey seals (*Halichoerus grypus*) [J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20(4):740-752
- [32] BLANTON R E, PAGE L M, HILBER S A. Timing of clade divergence and discordant estimates of genetic and morphological diversity in the Slender Madtom, *Noturus exilis* (Ictaluridae) [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2013, 66(3):679-693
- [33] 梁君, 周立志, 赵天飙, 等. 长爪沙鼠线粒体细胞色素b基因的遗传变异及地理分化[J]. *兽类学报*, 2007, 27(2):138-145
- LIANG J, ZHOU L Z, ZHAO T B, et al. Genetic variation and geographical differentiation of *Cytochrome b* gene of Clawed jird (*Meriones unguiculatus*) [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2007, 27(2):138-145
- [34] 赵德容, 孙岚玲. 哺乳类MHC多态性的形成[J]. *国外医学遗传学分册*, 1995, 18(6):330-332
- ZHAO D R, SUN L L. Formation of MHC polymorphism in mammals [J]. *International Journal of Genetics*, 1995, 18(6):330-332

(责任编辑 闵芝智)