

千岛湖陆桥岛屿上黑腹狼蛛(*Lycosa coelestris*)遗传多样性及其受生境片段化的影响

罗媛媛^{①†}, 刘金亮^{②†}, 黄杰灵^①, 白梅竹^①

① 中国计量学院生命科学院, 杭州 310018;

② 浙江大学生命科学院, 杭州 310058

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: yyluo@cjl.edu.cn

2013-08-30 收稿, 2013-12-04 接受, 2014-04-29 网络版发表

浙江省自然科学基金(LY12C03011, Y5080117)资助

摘要 人工湖泊型陆桥岛屿对于理解生境片段化后片段面积和地理隔离等因素对物种遗传多样性和遗传结构的影响提供了独特的机会. 本文利用相关序列扩增多态性(SRAP)分子标记法, 对具有 50 多年片段化历史的千岛湖人工湖泊型陆桥岛屿上的黑腹狼蛛(*Lycosa coelestris*)种群遗传结构和多样性进行研究. 利用 5 对 SRAP 引物对 42 份材料的基因组进行扩增, 共得到大小为 50~900 bp 的 85 个可重复位点, 其中 84 个为多态性位点, 多态性比率达 98.82%. 不同岛屿种群的多态位点比例(*PPB*)为 15.29%~38.82%; 观测等位基因数(*N_a*)为 1.1529~1.3882, 其中有效等位基因数(*N_e*)为 1.0952~1.3392; 种群间 Nei's 基因多样性指数(*H*)为 0.0582~0.1784, 均值为 0.0992; Shannon 信息指数(*I*)为 0.0881~0.2524, 均值为 0.1480; 岛屿的面积、形状指数分别与多态位点比率、Shannon 信息指数以及 Nei's 基因多样性指数存在正相关关系. 种群间遗传分化系数较高(*G_{ST}*=0.7293), 基因流值低(*N_m*=0.1856). AMOVA 分析表明, 57.33%的遗传变异存在于种群间, 42.67%的遗传变异来自种群内(*P*<0.001). Mantel 检验表明, 黑腹狼蛛各种群间地理距离与遗传距离间存在显著相关性(*r*=0.6465, *P*<0.001). 采用 Structure 2.3.3 软件以及 PCA 分析对 14 个岛屿上黑腹狼蛛种群的群体结构进行研究, 结果表明, 所研究岛屿可以分为 6 个类群, 地理距离较近且属同一个岛群的岛屿优先聚在一起. 上述结果表明, 生境片段化初期岛屿面积和形状是影响黑腹狼蛛种群遗传多样性的主要原因, 地理隔离是黑腹狼蛛种群产生遗传分化的主要原因.

关键词

陆桥岛屿
岛屿面积
岛屿形状
地理隔离
遗传结构
基因流
遗传分化
节肢动物
SRAP

近几十年来, 因人类活动的影响, 生境片段化(habitat fragmentation)现象日益严重. 生境片段化后, 片段的面积大小和隔离度等因素对物种遗传多样性的影响成为当前保护生物学研究的一个热点^[1,2]. 针对陆地生境岛屿(terrestrial habitat islands)植物、爬行类和两栖类等物种的遗传多样性和遗传结构的研究发现, 生境片段化对遗传多样性的影响不仅与片段化后片段面积、隔离度等因子相关, 也与研究物种经历片段化的时间、世代周期、对生境变化的敏感度等因素相关^[3-6].

但由于陆地生境岛屿存在边界不清晰、片段化时间不一致或不清楚等问题, 对于面积和隔离度等因素对种群遗传多样性影响的认知仍然存在一定的局限性^[7].

由水库大坝建设形成的人工湖泊型陆桥岛屿(land-bridge islands)与陆地生境岛屿相比, 形成历史清楚、景观格局清晰、岛屿边缘明显、周围基质均为水, 对岛屿物种不亲和, 可排除基质效应, 有效地避免陆地生境岛屿研究中存在的边界不清晰、片段化时间不一致或不清楚等因素对种群遗传多样性认识的

引用格式: 罗媛媛, 刘金亮, 黄杰灵, 等. 千岛湖陆桥岛屿上黑腹狼蛛(*Lycosa coelestris*)遗传多样性及其受生境片段化的影响. 科学通报, 2014, 59: 1851-1860
Luo Y Y, Liu J L, Huang J L, et al. Genetic diversity of *Lycosa coelestris* on islands in the Thousand Island Lake (TIL) and the effects of habitat fragmentation (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2014, 59: 1851-1860, doi: 10.1360/972013-994

局限性,成为片段化研究的理想场所^[8,9].迄今有关陆桥岛屿种群遗传多样性的研究中,主要针对片段化历史对遗传多样性的影响以及大陆与岛屿间遗传多样性的差异^[9-11].研究证明,生境片段化初期,种群由于栖息地面积的减少而经历取样效应和遗传漂变,会对遗传多样性和结构产生影响^[12,13].然而,如果片段化前个体间基因交流频繁以及研究物种经历世代数少,结果可能仅反映的是片段化前遗传多样性水平,并非片段化后种群遗传多样性和结构的实际情况^[3,14].但是,对生境片段化初期世代周期较短的物种遗传多样性研究仍然较少.节肢动物与植物、爬行类以及两栖类等物种相比,具有个体小、数量大、传代快、对环境变化高度敏感等特点,可以作为不同生态系统类型的指示生物,是研究生境片段化初期遗传多样性变化的理想材料^[15].

千岛湖同样为人工湖泊性陆桥岛屿,仅具有 50 多年的片段化历史^[12,16].为此,选取千岛湖库区常见节肢动物蛛形纲狼蛛科黑腹狼蛛(*Lycosa coelestris*)^[17]为研究对象,利用序列相关扩增多态性(sequence-related amplified polymorphism, SRAP)分析采自千岛湖 14 个岛屿上的黑腹狼蛛样本. SRAP 方法简便、高效、稳定^[18],应用于植物^[19,20]、节肢动物^[21]和鱼类^[22]等物种遗传多样性研究.本文主要研究:(i) 生境片段化初期黑腹狼蛛遗传多样性和遗传结构特征;(ii) 岛屿空间特征与黑腹狼蛛遗传多样性的关系;(iii) 地理隔离与种群遗传多样性和遗传结构的形成.

1 研究地自然概况

千岛湖(新安江水库)地处浙江省杭州市淳安县境内,位于 29°22'~29°50'N, 118°34'~119°15'E,是 1959 年新安江水电站大坝建成蓄水形成的大型水库.水库面积约 580 km²,在最高水位线 108 m 时,面积为 2500~13200000 m²的岛屿有 1078 个.千岛湖气候类型为亚热带季风气候,年平均气温为 17.0℃,年平均降水量为 1430 mm.湖中岛屿森林覆盖率为 88.5%,以天然马尾松林为主,基本上是由建坝前森林被伐后次生演替形成^[16].

2 研究方法

(i) 样地选取和岛屿参数测定. 根据最新清晰度卫星照片(或航片资料)和地形图,结合实地勘查,选取了千岛湖中心湖区 14 个不同面积和隔离度的岛

屿作为研究样地,编号分别为 I14, I15, I58, I59, I60, I63, I64, I72, I73, I74, I75, B7, B6 和 JSE(图 1),使用 ArcView 3.2 对千岛湖地形参数图(1:10000)进行测量,得到岛屿面积与隔离度等空间特征(表 1).隔离度是指岛屿与大陆(此处将面积最大的界首岛——JSE 作为大陆)之间的距离,岛屿面积为湖水水位 105 m(森林边缘)时的面积;形状指数(shape index, SI)表示岛屿形状的复杂程度,其值随岛屿的形状和复杂程度而增加,计算公式为 $SI = P/[2 \times (\pi \times A)^{0.5}]$,其中 P 为岛屿周长, A 为岛屿面积^[23].

(ii) 取样方法. 实验所用材料分别采自图 1 中 14 个不同的岛屿,采集时间为 2011 年 5 月 24~26 日.黑腹狼蛛体长约 14 mm,寿命 3~5 年,行动迅速,通过追捕获得猎物,对人类无危害,是多种害虫的天敌,由于其行动迅速,一般活动于枯枝落叶层(阴凉处较多,日出前日落后出没),通常采用人工抓取法获得.每个取样地点之间至少间隔 10 m,每个岛屿随机选取 3 个不同地点的取样点,每个取样点抓取 1 个个体,一共获取 42 只黑腹狼蛛个体用于基因组 DNA 分析.

(iii) 基因组 DNA 提取和浓度测定. 将用于基因组 DNA 分析的黑腹狼蛛经双蒸水(ddH₂O)反复清洗干净,用灭菌剪刀剪去腹部,晾干后参照上海生物工程有限公司试剂盒(产品编号 SK8251)提供的 DNA 提取方法进行总 DNA 的提取,并用浓度为 1.2% 琼脂糖凝胶电泳检测总 DNA 浓度与纯度,最后将所有样本的浓度调整为 20 ng/μL, -20℃ 保存.

(iv) SRAP 扩增及引物筛选. SRAP 扩增程序为 94℃ 预变性 5 min; 94℃ 变性 1 min, 35℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 5 个循环; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 34 个循环; 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存. 25 μL 的反应体系包括 10×PCR 缓冲液 2.5 μL, 模板 DNA 1 μL, Mg²⁺ 2.5 μL, dNTPs 2 μL, SRAP 引物各 2 μL, Taq DNA 聚合酶 0.16 μL 和双蒸水. SRAP 引物由上海生物工程有限公司合成,序列参照 Li 和 Quiros^[18]的标准引物,使用由 5 条反向引物和 5 条正向引物分别组合所形成的 25 对引物对基因组进行扩增,最后筛选出扩增条带丰富、清晰、多态性高、重复性好的 5 对引物组合(表 2),对采集到的所有样品进行扩增,将扩增结果进行统计分析和聚类分析.

(v) SRAP 扩增产物检测. SRAP 扩增产物采用 10% 的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,以 100 bp DNA ladder 作为 DNA 长度参比,固定、银染和显影,具体

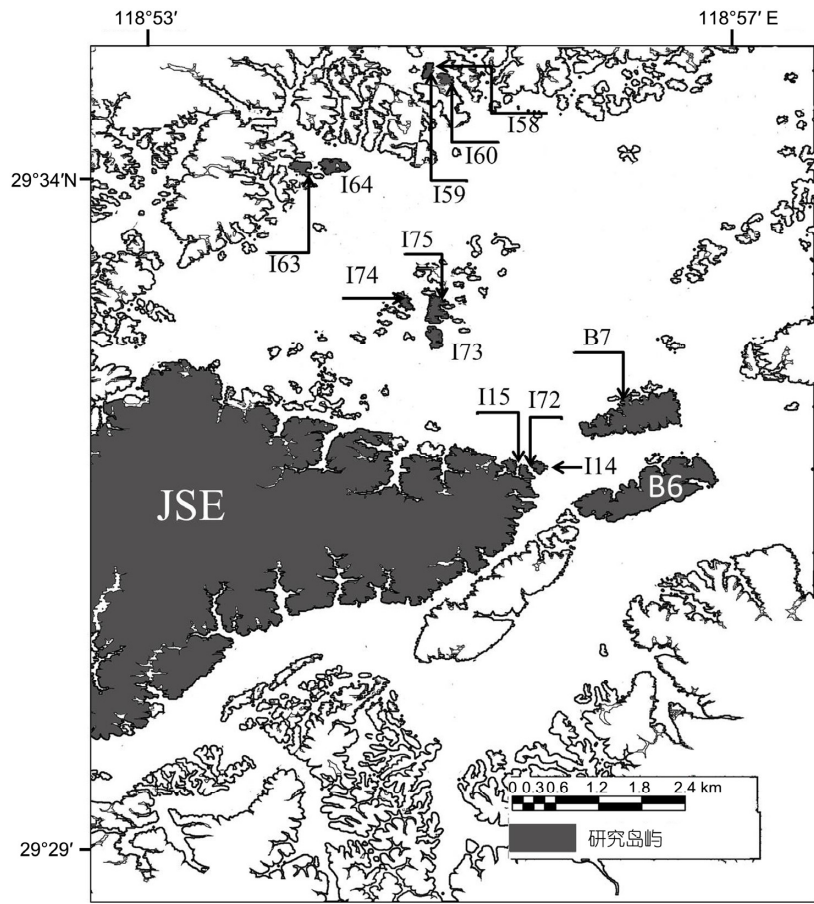


图 1 取样岛屿分布情况

表 1 取样岛屿概况

岛屿名称	面积(m ²)	隔离度(m)	形状指数	所属岛群
I60	1396.07	387.10	1.26	梅峰(MF)
I59	1890.02	398.18	1.44	梅峰(MF)
I58	8388.43	690.03	1.39	梅峰(MF)
I64	13070.97	770.51	1.39	桐子坞(TZW)
I63	13263.93	710.43	1.48	桐子坞(TZW)
I73	2538.00	1442.86	1.16	中心湖区(ZXQ)
I74	3949.11	1756.01	1.56	中心湖区(ZXQ)
I75	8624.73	1664.07	2.18	中心湖区(ZXQ)
I14	4637.51	189.55	1.42	拦网(LW)
I15	6181.01	34.13	1.27	拦网(LW)
I72	6875.92	34.01	1.44	拦网(LW)
B6	479759.10	487.63	3.06	桥下(QX)
B7	274942.40	949.70	3.02	桥下(QX)
JSE	11538756.45	0	8.46	界首(JSE)

过程如下: (i) 固定. 利用体积分数 10%的乙醇和 1%的冰乙酸固定 30 min 后, 用蒸馏水漂洗 2 次; (ii) 银染. 利用 0.2%的 AgNO₃, 1%的冰醋酸, 10%的乙醇染色 20 min, 然后用蒸馏水漂洗 2 次; (iii) 显影. 预

表 2 SRAP 引物

上游引物(5'→3')	下游引物(5'→3')
me1 TGAGTCCAAACCGGATA	em1 GACTGCGTACGAATTAAT
me2 TGAGTCCAAACCGGAGC	em2 GACTGCGTACGAATTTGC
me3 TGAGTCCAAACCGGAAT	em3 GACTGCGTACGAATTGAC
me4 TGAGTCCAAACCGGACC	em4 GACTGCGTACGAATTTGA
me5 TGAGTCCAAACCGGAAG	em5 GACTGCGTACGAATTAAC
me1 TGAGTCCAAACCGGATA ^{a)}	em2 GACTGCGTACGAATTTGC ^{a)}
me1 TGAGTCCAAACCGGATA ^{a)}	em3 GACTGCGTACGAATTGAC ^{a)}
me1 TGAGTCCAAACCGGATA ^{a)}	em5 GACTGCGTACGAATTAAC ^{a)}
me2 TGAGTCCAAACCGGAGC ^{a)}	em5 GACTGCGTACGAATTAAC ^{a)}
me3 TGAGTCCAAACCGGAAT ^{a)}	em5 GACTGCGTACGAATTAAC ^{a)}

a) 筛选出的 5 对用于 SRAP-PCR 实验的引物

备显影液 2 份(3%的 NaOH 溶液, 每 200 mL 溶液中加入 1 mL 甲醛), 显影时第一份显影液倒入后出现黑色沉淀立即倒掉, 然后倒入第二份显影液, 直到条带清晰, 用自来水冲洗停止显影, 然后用数码相机对其照相保存图片.

(vi) 数据统计与分析. 按有或无对 SRAP 电泳图谱上每个样品的扩增条带进行记录, 片段大小为 50~900 bp 的清晰且可重复的条带记为“1”, 同一位置无带时记为“0”, 形成原始数据矩阵. 采用 GenALEx 6.41 软件^[24]做种群间遗传差异的分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)和基于遗传距离矩阵的主成分分析(principle component analysis, PCA)分析. 采用 Structure 2.3.3 软件^[25]对种群遗传结构进行聚类分析, 群体数目(K)设定为 2~11, 将 MCMC(Markov chain Monte Carlo)开始时的不作数迭代(length of burn-in period)设置为 100000 次, 将不作数迭代后的 MCMC 迭代设置为 20000 次, 利用软件给出的 $\ln P(D)$ 值和系数 ΔK 对最佳 K 值进行估算^[26], 从而推断合理组群数. 采用 PopGen Version 1.32 软件^[27]计算种群遗传多样性指数、遗传分化系数、基因流和遗传距离等参数. 利用 R 软件^[28]的 vegan 包通过 Mantel 检验分析岛屿地理距离与遗传距离之间的相关性(基于 999 次置换检验). 用 SPSS 19.0 软件进行遗传多样性指数与岛屿空间特征的 Pearson 相关性分析.

3 实验结果

3.1 遗传多样性

用筛选出的 5 对 SRAP 引物组合在 14 个岛屿上的 42 个黑腹狼蛛个体中共扩增出 85 个清晰稳定的位

点, 片段大小为 50~900 bp, 其中多态性位点 84 个, 总多态位点比率(PPB)为 98.82%, 平均每对引物产生 16.8 个多态位点. 14 个岛屿各种群多态位点比率为 15.29%~38.82%, 平均值为 24.87%; 种群间的 Nei's 基因多样性指数(H)为 0.0582~0.1784, 均值为 0.0992; Shannon 信息指数(I)为 0.0881~0.2524, 均值为 0.1480 (表 3). 观测等位基因数(N_a)为 1.1529~1.3882, 其中有效等位基因数(N_e)为 1.0952~1.3392. 岛屿面积最大的 JSE 岛拥有最高的多态位点比率(38.82%), Shannon 信息指数(0.2524)以及 Nei's 基因多样性指数(0.1784)等遗传多样性指数.

对岛屿空间特征与遗传多样性指数之间进行 Pearson 相关性分析, 结果表明, 岛屿的面积、形状指数分别与多态位点比率、Shannon 信息指数以及 Nei's 基因多样性指数存在显著的正相关关系, 岛屿与大陆间的隔离度与遗传多样性指数无相关性, 但显示出负相关关系(表 4).

3.2 遗传分化和基因流

通过对 14 个黑腹狼蛛种群的遗传结构分析发现, 不同种群间的遗传分化系数 G_{st} 为 0.7293, 即总变异的 72.93%来自不同种群间的差异, 27.07%的变异来自种群内个体间的遗传差异, 不同黑腹狼蛛种群间的基因流 N_m 为 0.1856. AMOVA 分析结果显示, 黑腹狼蛛 57.33%的遗传变异来自种群间, 42.67%的遗传变异来自种群内($P<0.001$)(表 5).

3.3 遗传距离

黑腹狼蛛种群在 JSE 岛与其他岛屿间存在较大的遗传距离, 且遗传一致性较低(表 6). 不同岛屿种群间遗传距离与地理距离关系如图 2 所示, 且利用

表 3 基于 SRAP 标记的黑腹狼蛛遗传多样性

岛屿号	多态位点数 <i>N</i>	多态位点比率(%) <i>PPB</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	Nei's 基因多样性指数 <i>H</i>	观测等位基因数 <i>N_a</i>	有效等位基因数 <i>N_e</i>
I60	21	24.71	0.1298±0.2320	0.0851±0.1548	1.2471±0.4339	1.1366±0.2647
I59	33	38.82	0.2332±0.3010	0.1607±0.2109	1.3882±0.4902	1.2897±0.3997
I58	16	18.82	0.1042±0.2218	0.0697±0.1510	1.1882±0.3932	1.1176±0.2696
I64	13	15.29	0.0897±0.2162	0.0613±0.1498	1.1529±0.3621	1.1087±0.2772
I63	14	16.47	0.0881±0.2032	0.0582±0.1364	1.1647±0.3731	1.0952±0.2364
I73	27	31.76	0.1707±0.2571	0.1129±0.1735	1.3176±0.4683	1.1854±0.3053
I74	18	21.18	0.1250±0.2471	0.0856±0.1717	1.2118±0.4110	1.1524±0.3195
I75	20	23.53	0.1290±0.2387	0.0860±0.1620	1.2353±0.4267	1.1439±0.2883
I14	16	18.82	0.1210±0.2551	0.0852±0.1809	1.1882±0.3932	1.1609±0.3478
I15	21	24.71	0.1828±0.2624	0.1006±0.1466	1.2471±0.4339	1.1799±0.3416
I72	15	17.65	0.1034±0.2287	0.0706±0.1585	1.1765±0.3835	1.1250±0.2933
B6	25	29.41	0.1763±0.2801	0.1214±0.1957	1.2941±0.4583	1.2186±0.3684
B7	24	28.24	0.1659±0.2715	0.1134±0.1887	1.2824±0.4528	1.2012±0.3516
JSE	33	38.82	0.2524±0.3220	0.1784±0.2292	1.3882±0.4902	1.3392±0.4443
平均值	21	24.87	0.1480	0.0992	1.2487	1.1753

表 4 岛屿空间特征与遗传多样性指数的 Pearson 相关系数^{a)}

岛屿特征参数	多态位点比率(%) <i>PPB</i>	Shannon 信息指数 <i>I</i>	Nei's 基因多样性指数 <i>H</i>
隔离度	-0.115(0.695)	-0.267(0.357)	-0.239(0.412)
面积	0.532(0.050)	0.600*(0.023)	0.652*(0.012)
形状指数	0.564*(0.036)	0.619*(0.018)	0.682**(0.007)

a) * 在 $P<0.05$ 水平上差异显著; ** 在 $P<0.01$ 水平上差异显著; 括号内为 P 值

表 5 黑腹狼蛛 14 个种群间遗传差异的分子方差分析(AMOVA)

变异来源	自由度	平方和	均方和	变异组分	变异贡献率	P 值
种群间	13	460.43	35.42	9.46	57.33	<0.001
种群内	28	197.33	7.05	7.05	42.67	<0.001
总计	41	657.76	42.47	16.50	1	

表 6 Nei's 遗传一致性(对角线上)和遗传距离(对角线下)

	I60	I59	I58	I64	I63	I73	I74	I75	I14	I15	I72	B6	B7	JSE
I60	—	0.9308	0.8942	0.7627	0.7699	0.6815	0.6685	0.6647	0.6965	0.7232	0.7031	0.6266	0.7051	0.5314
I59	0.0717	—	0.8480	0.7987	0.8066	0.7727	0.7143	0.7246	0.6923	0.6717	0.6489	0.6612	0.6836	0.5123
I58	0.1118	0.1649	—	0.7958	0.7796	0.6868	0.6599	0.6788	0.6900	0.6789	0.6354	0.6181	0.6789	0.4960
I64	0.2709	0.2248	0.2285	—	0.8768	0.7662	0.7247	0.6888	0.6234	0.6529	0.5717	0.6395	0.5586	0.5167
I63	0.2615	0.2149	0.2489	0.1315	—	0.8308	0.7514	0.7467	0.5989	0.6946	0.6045	0.5907	0.5708	0.5485
I73	0.3835	0.2578	0.3758	0.2663	0.1854	—	0.8668	0.8749	0.5682	0.6357	0.5680	0.6278	0.5448	0.5456
I74	0.4028	0.3364	0.4156	0.3220	0.2859	0.1430	—	0.8076	0.5744	0.6427	0.5758	0.6528	0.5318	0.5283
I75	0.4085	0.3222	0.3874	0.3728	0.2921	0.1337	0.2137	—	0.5368	0.5625	0.5760	0.6903	0.5792	0.5320
I14	0.3617	0.3678	0.3711	0.4725	0.5127	0.5653	0.5545	0.6221	—	0.8048	0.7821	0.7446	0.8327	0.6038
I15	0.3241	0.398	0.3873	0.4263	0.3645	0.4530	0.4421	0.5754	0.2171	—	0.8661	0.6978	0.7789	0.6527
I72	0.3523	0.4325	0.4535	0.5592	0.5034	0.5657	0.5520	0.5516	0.2458	0.1438	—	0.7302	0.7765	0.6768
B6	0.4674	0.4137	0.4812	0.4471	0.5265	0.4655	0.4265	0.3707	0.2949	0.3599	0.3144	—	0.8497	0.6009
B7	0.3494	0.3804	0.3873	0.5824	0.5607	0.6073	0.6315	0.5461	0.1831	0.2499	0.2529	0.1628	—	0.6086
JSE	0.6322	0.6689	0.7011	0.6603	0.6006	0.6058	0.6380	0.6311	0.5045	0.4266	0.3904	0.5093	0.4966	—

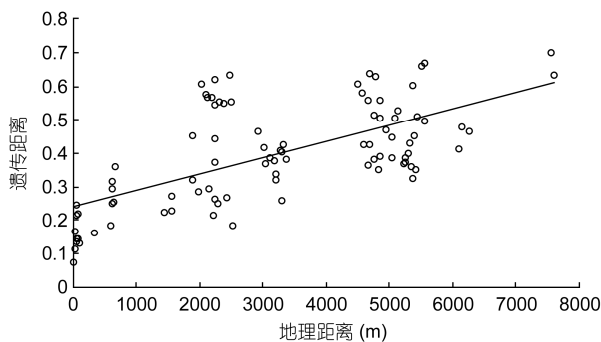


图2 黑腹狼蛛 14 个岛屿空间距离和遗传距离的关系
直线为趋势线

Mantel 检验得到岛屿间的地理距离与遗传距离间存在显著的正相关性($r=0.6465$, $P<0.001$).

3.4 聚类分析和主成分分析

利用 *Structrue* 软件对千岛湖黑腹狼蛛种群的遗传结构进行分析, 结果发现, 当组群数(K 值)在 2~11 变化时, 将测试过程中软件给出的“ $LnP(D)$ ”值的平均数, 绘制成散点曲线图(图 3), 曲线先陡后缓, 当 $K=6$ 时散点曲线出现拐点, 且 ΔK 值在 $K=6$ 时达到最大值(图 4), 表明千岛湖黑腹狼蛛种群可以划分为 6 个类群. $K=6$ 时, 属于同一个岛群的岛屿明显聚在一起(图 5), 如 I59, I60 和 I58 同属于 MF; I63 和 I64 同属于 TZW; I73, I74 和 I75 同属于 ZXQ; I14, I15 和 I72 同属于 LW; B6 和 B7 同属于 QX. 表明黑腹狼蛛种群间呈现出地理距离相隔较近则遗传聚类优先聚在一起.

基于 Nei's 遗传距离矩阵的 PCA 分析表明(图 6), 第一、二主成分的贡献率分别是 40.46% 和 22.11%. 岛屿地理距离较近的种群仍然相距较近, 所得到

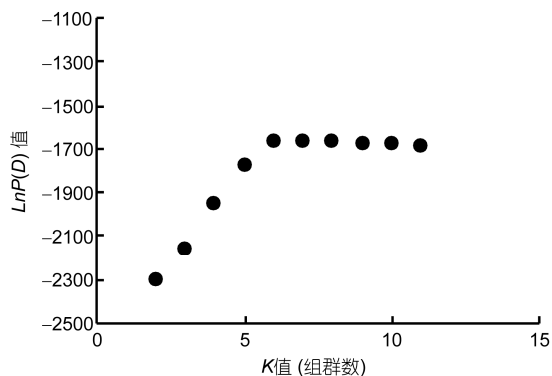


图3 $LnP(D)$ 变化图

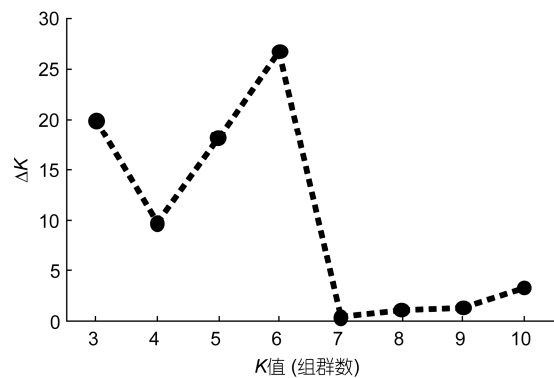


图4 ΔK 值变化图

的结果支持群体结构剖析结果, JSE 岛与其他岛屿差距较大.

4 讨论

一般而言, 生境片段化后会导致物种可利用面积减少, 种群变小甚至灭绝, 致使遗传多样性降低^[10,13]. 扩散能力较强的鸟类, 出生在面积较小、空间隔离度较大的繁殖地的种群比出生在面积较大、连通性较好的繁殖地的种群拥有较低的遗传多样性^[29]. 通过对仅有 50 多年片段化历史的千岛湖陆桥岛屿进行研究, 黑腹狼蛛总多态位点比例达 98.82%, 说明该物种在总体上具有较高的遗传多样性水平, 但各岛屿多态位点比例为 15.29%~38.82%, 且面积最大、形状最复杂的界首岛具有最高的 N_a , N_e , I 和 H 等遗传多样性指数, 表明片段化后每个岛屿种群拥有的遗传多样性水平降低. 岛屿面积、岛屿形状指数与黑腹狼蛛种群的遗传多样性指数(PPB , I , H)存在正相关关系, 在千岛湖其他动植物研究中也发现, 岛屿面积与苦槠(*Castanopsis sclerophylla*)种群的遗传多样性存在正相关关系, 认为生境丧失可能是早期片段化条件下种群遗传多样性下降的主要原因^[13]; 社鼠(*Niviventer confucianus*)种群的遗传多样性指数与岛屿面积虽无显著相关性, 但表现出面积较大的岛屿种群遗传多样性高于面积较小的岛屿种群^[30]. 其他研究也证实生境面积或种群大小与种群遗传多样性存在正相关关系^[31]. 然而, 岛屿形状是如何影响动植物遗传多样性的研究并不多见, 目前大多数研究主要结合岛屿面积探究岛屿形状对物种多样性的影响. 例如千岛湖植物、节肢动物的物种组成和多样性与岛屿面积和形状均呈显著正相关关系, 岛屿边缘鸟

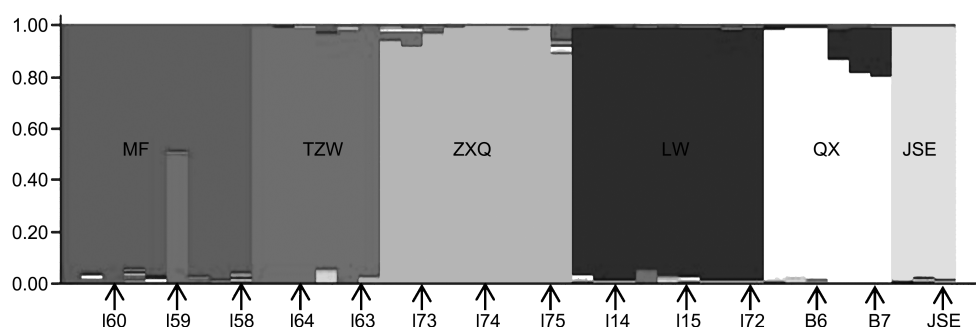


图5 14个岛屿上黑腹狼蛛种群的群体结构($K=6$)



图6 黑腹狼蛛14个岛屿间遗传变异PCA分析

类物种多样性与岛屿形状也表现为正相关关系,原因是岛屿面积越大,形状越复杂,生境异质性增加,从而降低物种灭绝速率,并允许更多的物种共存^[16,32,33]。已有研究发现,群落物种多样性与种群遗传多样性之间也可以相互影响,尤其在岛屿上,由岛屿面积增大引起遗传漂变程度降低、生境异质性增加引起的资源竞争强度下降、岛屿形状引起的连通性等局域特征变化更能促使物种多样性与种群遗传多样性之间存在正相关关系,即岛屿面积、形状等对物种多样性和遗传多样性具有平行正相关影响^[34,35]。同样,本研究中所选取的14个岛屿的面积与形状指数存在显著的正相关性($r=0.96$),说明岛屿面积越大,岛屿形状和生境也越复杂,适于个体生存的生境越多,使得岛屿物种多样性增加的同时,为黑腹狼蛛种群提供更多的食物来源和栖息环境,种群内竞争减弱,种群大小增加,促使遗传多样性增加。此外,各岛屿黑腹狼蛛种群的遗传多样性指数与大陆间(JSE 岛)的隔离度之间尚无显著相关性,仅具有负相关关系。可见,片段化初期由生境面积急剧减少而引起的取样效应和遗传漂变是影响黑腹狼蛛种群遗传多样性的主要因素。

生境片段化后,地理隔离会成为物种间基因交

流最主要的限制因子之一,尤其是长时期的地理隔离是物种出现较高遗传分化水平的主要因素^[36]。种群间遗传分化系数 G_{st} 是反映种群遗传分化的重要指标^[37],千岛湖14个岛屿黑腹狼蛛种群间的 G_{st} 为0.7293,即总变异的72.93%来自于不同种群间的差异,20.07%来自于种群内个体间的遗传差异,可见不同岛屿间黑腹狼蛛种群在较短的时间内已出现较高的遗传分化水平,种群间基因交流非常微弱,存在由基因流而引起的遗传漂变现象。同时,对千岛湖节肢动物黄足厚结猛蚁(*Pachycondyla luteipes*)种群的遗传结构也进行了研究,发现该种群遗传分化系数为0.0777~0.9328,平均值为0.4419,也表现出较高的遗传分化程度^[38]。此外,千岛湖社鼠种群50.48%的种群间已出现中等程度分化^[30]。与上述结果相反,千岛湖金毛耳草(*Hedyotis chrysotricha*)种群基因分化系数为0.008~0.246^[12]、苦槠植物种群^[13]核基因微卫星遗传分化系数分别为0.066,大灰藓(*Hypnum plumaeforme*)种群和东亚小金发藓(*Pogonatum inflexum*)种群分化系数分别为0.3358和0.2515^[39],这些植物种群均表现出较低的遗传分化水平。以上结果说明,陆桥岛屿在片段化初期地理隔离可能对动物种群的遗传

结构比对植物具有更大的影响,原因可能与动植物不同的基因交流方式以及世代周期相关,植物可以借助昆虫或风力等进行传粉,以及短时期内种子库可以抵消遗传漂变和取样效应^[40],能够减缓由基因交流限制而引起的遗传分化增大的现象.另一方面,大部分植物世代周期长,在片段化短时期内经历世代数少,使得片段化初期高的 N_m 值可能仅反映的是生境片段化前高的基因流水平,并非当前基因流的实际情况^[3],需要长时期的地理隔离才能使其表现出较高遗传分化水平.而对于世代周期较短的节肢动物黑腹狼蛛种群而言,由于岛屿周围基质均为水,且调查岛屿除 JSE 岛外,均为无人岛,岛屿间船只往来极少,以及湖面上黑腹狼蛛可以借助扩散的漂浮物较少,且岛屿间距离使其能够借漂浮物扩散的机会也极少,使得黑腹狼蛛很难借助船只、漂浮物等媒介在距离较远的岛屿间迁移和扩散,因而不同岛屿间黑腹狼蛛个体间基因交流困难,使得种群遗传分化程度在短期内得到加剧.

Nei's 遗传距离和遗传一致性可以反映不同种群间遗传差异程度,千岛湖黑腹狼蛛 14 个种群间 Nei's 遗传距离变化为 0.0717~0.6689,千岛湖面积最大的 JSE 岛与其他岛屿相比,具有较大的遗传距离和较低的遗传一致性,说明 JSE 岛与其他岛屿间的遗传结构已经出现了较大差异. AMOVA 分子方差分析表明, 57.33% 的遗传变异来自种群间, 42.67% 的遗传变异来自种群内,表明岛屿间地理隔离对黑腹狼蛛种群间的遗传变异发挥着主要作用;进一步利用 Structure 聚类后发现,属于同一个岛群岛屿上的黑腹狼蛛种群优先聚在一起,同时遗传距离和地理距离的 Mantel 检验表明具有显著的正相关性,说明在地理上距离较近的种群,更具遗传相似性,基于遗传距离矩阵的

PCA 分析也证明上述结论的正确性.属同一个岛群的岛屿在大坝还未建成时属同一片相连的区域,此时黑腹狼蛛种群间交流无障碍;生境片段化后,同一岛群的岛屿间虽被水隔离,但由于黑腹狼蛛在隔离前具有较高的基因交流以及隔离后距离较近的岛屿间基因交流存在的可能性比距离较远的岛屿高,使得同一岛群内的种群在短期内并不能使遗传结构出现较大的差异,在遗传聚类上更易聚在一起.

总之,生境片段化后岛屿面积和形状决定物种遗传多样性水平,面积越大、形状越复杂,物种遗传多样性越高.如果生境片段化后斑块之间仍然存在一定的廊道作用可供物种间进行基因交流,在一定程度上可以有效地防止遗传漂变带来的遗传多样性丧失,但对于仅有 50 多年片段化历史的千岛湖陆桥岛屿而言,由于周围基质均为水,可以有效地限制黑腹狼蛛种群间的基因交流,使得黑腹狼蛛种群间在短期内已经出现较高的遗传分化水平,说明地理隔离可以在短期内加剧陆桥岛屿上对水不亲和、迁移能力差、世代周期短的动物种群的遗传分化程度.通过各岛屿黑腹狼蛛种群遗传多样性指数与大陆(界首岛)间隔离度并没有显著的相关性也可以看出,对于迁移能力较差、对水不亲和的动物种群而言,岛屿物种的减少并不能由大陆个体的迁入所平衡,因而从物种保护的角度来看,分布在陆桥岛屿上迁移能力较差的物种更应该受到重视^[32].通过本研究可以看出,水库建设所形成的人工湖泊型陆桥岛屿是很好的生境片段化效应研究平台,但仍需对具有不同世代周期以及迁移能力的物种进行对比研究,以更加全面地了解生境片段化后对物种遗传多样性的影响及其与物种自身特性之间的相互关系,为生境片段化后敏感物种的保护提供更好的理论支持.

致谢 华东师范大学陈小勇教授和台州学院李钧敏教授对本文提出了宝贵的意见和建议,浙江大学千岛湖科学研究基地提供了野外工作条件,中国计量学院生命科学学院的本科生许澄、苗玲娜、崔宁和彭飞康协助完成野外取样和部分室内工作,特此致谢!

参考文献

- 1 Gibbs J P. Demography versus habitat fragmentation as determinants of genetic variation in wild populations. *Biol Conserv*, 2001, 100: 15–20
- 2 Sui X Q, Wang K, Zheng S H, et al. Effects of landscape fragmentation on genetic diversity of *Stipa krylovii roshev* (Stipa L.) in agro-pastoral ecotone in Northern China. *Afr J Biotechnol*, 2009, 8: 3431–3439
- 3 陈小勇. 生境片段化对植物种群遗传结构的影响及植物遗传多样性保护. *生态学报*, 2000, 20: 884–892

- 4 Pfeifer M, Jetschke G. Influence of geographical isolation on genetic diversity of *Himantoglossum hircinum* (Orchidaceae). *Folia Geobot*, 2006, 41: 3–20
- 5 Dixo M, Metzger J P, Morgante J S, et al. Habitat fragmentation reduces genetic diversity and connectivity among toad populations in the Brazilian Atlantic Coastal Forest. *Biol Conserv*, 2009, 142: 1560–1569
- 6 Floyd C H, Vuren D H V, Crooks K R, et al. Genetic differentiation of island spotted skunks, *Spilogale gracilis amphiala*. *J Mammal*, 2011, 92: 148–158
- 7 Laurance W F. Theory meets reality: How habitat fragmentation research has transcended island biogeographic theory. *Biol Conserv*, 2008, 141: 1732–1744
- 8 Moore P. Green and pleasant trials. *Nature*, 2006, 440: 613–614
- 9 Fattorini S. Influence of recent geography and paleogeography on the structure of reptile communities in a land-bridge archipelago. *J Herpetol*, 2010, 44: 242–252
- 10 Hurston H, Voith L, Bonanno J, et al. Effects of fragmentation on genetic diversity in island populations of the Aegean wall lizard *Podarcis erhardii* (Lacertidae, Reptilia). *Mol Phylogenet Evol*, 2009, 52: 395–405
- 11 Bell R C, Brasileiro C A, Haddad C F B, et al. Evolutionary history of *Scinax* treefrogs on land-bridge islands in south-eastern Brazil. *J Biogeogr*, 2012, 39: 1733–1742
- 12 Yuan N, Comes H P, Mao Y R, et al. Genetic effects of recent habitat fragmentation in the Thoiusand-Island Lake region of southeast China on the distylous herb *Hedyotis chrysotricha* (Rubiaceae). *Am J Bot*, 2012, 99: 1715–1725
- 13 Zhang X, Shi M M, Shen D W, et al. Habitat loss other than fragmentation *per se* decreased nuclear and chloroplast genetic diversity in a monoecious tree. *PLoS One*, 2012, 7: e39146
- 14 Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of natural populations. *Science*, 1987, 236: 787–792
- 15 Majer J D, Orabi G, Bisevac L. Ants (Hymenoptera: Formicidae) pass the bioindicator scorecard. *Myrmecol News*, 2007, 10: 69–76
- 16 Yu M J, Hu G, Feeley J K, et al. Richness and composition of plants and birds on land-bridge islands: Effects of island attributes and differential responses of species groups. *J Biogeogr*, 2012, 39: 1124–1133
- 17 赵敬钊, 马安宁. 黑腹狼蛛和拟环纹豹蛛各龄期的比较. *动物学杂志*, 1991, 26: 7–10
- 18 Li G, Quiros C F. Sequence-related amplified polymorphism (SRAP), a new marker system based on a simple PCR reaction: Its application to mapping and gene tagging in *Brassica*. *Theor Appl Genet*, 2001, 103: 455–461
- 19 Guo D L, Luo Z R. Genetic relationships of some PCNA persimmons (*Diospyros kaki Thunb.*) from China and Japan revealed by SRAP analysis. *Genet Resour Crop Evol*, 2006, 53: 1597–1603
- 20 Ferriol M, Pico B, Nuez F. Genetic diversity of a germplasm collection of *Cucurbita pepo* using SRAP and AFLP markers. *Theor Appl Genet*, 2003, 107: 271–282
- 21 傅洪拓, 乔慧, 姚建华, 等. 基于 SRAP 分子标记的海南沼虾种群遗传多样性. *生物多样性*, 2010, 18: 145–149
- 22 张志伟, 韩曜平, 仲霞铭, 等. 草鱼野生群体和人工繁殖群体遗传结构的比较研究. *中国水产科学*, 2007, 14: 720–725
- 23 Laurance W F, Yensen E. Predicting the impacts of edge effects in fragmented habitats. *Biol Conserv*, 1991, 55: 77–92
- 24 Peakall R, Smouse P E. GENALEX 6: Genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Mol Ecol Notes*, 2006, 6: 288–295
- 25 Pritchard J, Stephens M, Donnelly P. Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics*, 2000, 155: 945–959
- 26 Evanno G, Regnaut S, Goudet J. Detecting the number of clusters of individuals using the software structure: A simulation study. *Mol Ecol*, 2005, 14: 2611–2620
- 27 Yeh F C, Boylet J B. Population genetic analysis of co-dominant and dominant markers and quantitative traits. *Belg J Bot*, 1997, 129: 157
- 28 R Development Core Team. R: A language and environment for statistical computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2013
- 29 Ortego J, Aparicio J M, Cordero P J, et al. Individual genetic diversity correlates with the size and spatial isolation of natal colonies in a bird metapopulation. *Proc Biol Sci*, 2008, 275: 2039–2047
- 30 孙波. 千岛湖陆桥岛屿社鼠种群遗传多样性和遗传结构研究. 硕士学位论文. 金华: 浙江师范大学, 2009. 1–103
- 31 Broadhurst L M, Young A G, Forrester R. Genetic and demographic responses of fragmented *Acacia dealbata* (Mimosaceae) populations in southeastern Australia. *Biol Conserv*, 2008, 141: 2843–2856
- 32 Fattorini S. How island geography and shape may influence species rarity and biodiversity loss in a relict fauna: A case study of mediterranean beetles. *Open Conserv Biol J*, 2008, 2: 11–20
- 33 黄杰灵. 千岛湖片段化景观中土壤节肢动物多样性研究. 硕士学位论文. 杭州: 中国计量学院, 2012. 1–108
- 34 Vellend M. Island biogeography of genes and species. *Am Nat*, 2003, 162: 358–365
- 35 Vellend M, Geber M A. Connections between species diversity and genetic diversity. *Ecol Lett*, 2005, 8: 767–781

- 36 Ward R D, Jorstad K E, Maguire G B. Microsatellite diversity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) introduced to Western Australia. *Aquaculture*, 2003, 219: 169–179
- 37 Buso G S C, Rangel P H, Ferreira M E. Analysis of genetic variability in South American wild rice populations (*Oryza glumaepatula*) with isozymes and RAPD markers. *Mol Ecol*, 1998, 7: 107–117
- 38 罗媛媛, 刘金亮, 黄杰灵, 等. 生境片段化对千岛湖岛屿上黄足厚结猛蚁遗传多样性的影响. *生态学报*, 2013, 33: 6041–6048
- 39 王莹莹. 浙江千岛湖生境片段化对苔藓植物物种及遗传多样性的影响. 硕士学位论文. 上海: 华东师范大学, 2011. 1–123
- 40 McCue K A, Holtsford T P. Seed bank influences on genetic diversity in the rare annual *Clarkia springvillensis* (Onagraceae). *Am J Bot*, 1998, 85: 30–36

Genetic diversity of *Lycosa coelestris* on islands in the Thousand Island Lake (TIL) and the effects of habitat fragmentation

LUO YuanYuan¹, LIU JinLiang², HUANG JieLing¹ & BAI MeiZhu¹

¹ College of Life Sciences, China Jiliang University, Hangzhou 310018, China;

² College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China

Habitat fragmentation caused by human activities poses a serious threat to the genetic diversity of populations. Artificial islands of known age are ideal model systems that offer a unique opportunity to elucidate the consequences of habitat fragmentation and the effects of island area and isolation on genetic diversity and structure of populations. The Thousand Island Lake (TIL) in Zhejiang Province, East China, is a large reservoir that was formed in 1959 by the damming of the Xin'an River to construct a hydroelectric power station. We used sequence-related amplified polymorphism (SRAP) molecular markers to study the genetic diversity of a species, *Lycosa coelestris*, with low dispersal ability in the TIL. Five SRAP primer combinations were used to genotype 42 individuals of *L. coelestris* from 14 islands to estimate its population genetic diversity and structure. The result showed that 5 SRAP primer combinations amplified 85 bands with 84 (98.82%) polymorphism. The percentage of polymorphic bands (*PPB*) at the population level ranged from 15.29% to 38.82%, the observed number of alleles (N_a) from 1.1529 to 1.3882, the effective number of alleles (N_e) from 1.0952 to 1.3392, Nei's gene diversity index (H) from 0.0582 to 0.1784 (average 0.0992), and Shannon's information index (I) from 0.0881 to 0.2524 (average 0.1480). The islands area or shape index had significant correlations with *PPB*, H , and I . The genetic differentiation coefficient (G_{st}) among populations was 0.7293 and gene flow (N_m) among populations was 0.1856, which means high genetic differentiation had appeared in the TIL. The analysis of molecular variance showed that the main variance between populations was 57.33% and that within populations was 42.67%. The Mantel test suggested that there was significant association between genetic distance and geographic distance ($r=0.7757$, $P<0.01$). The structure and principle components analysis showed that the *L. coelestris* populations in the TIL can be divided into 6 groups, and populations were geographically closer to one another in each group. These results indicated that island area and shape mainly affect the genetic diversity of *L. coelestris* populations, and geographic isolation mainly affects genetic differentiation at TIL.

land-bridge island, island area, island shape, geographic isolation, genetic structure, gene flow, genetic differentiation, arthropod, SRAP

doi: 10.1360/972013-994