分子系统学在生物保护中的意义^{*}

王 文

(中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化开放研究实验室, 昆明 650223)

摘 要 本文综述了近年来分子系统学的原理和方法及其在生物多样性保护中的应用和发展。分子系统学方法可以很好地确定物种保护的基本单元——进化显著性单元,并可用于推测群体的发展状态,从而为物种的保护提供了一项新的具很强操作性的科学手段。

关键词 分子系统学,生物多样性保护,进化显著性单元,群体过程

Molecular phylogenetics and biodiversity conservation/ WANG Wen

Abstract In recent years, it has been emphasized that the principles and methods of molecular phylogenetics should have potential and practical value in biodiversity conservation, especially in species conservation. It is a critical issue and the first step as well to identify those units which have evolutionary significance from different populations of a species concerned in species conservation. Phylogenetic relationships among those populations could shed valuable light on this issue. In addition, the data from molecular phylogenetic study are also helpful for us to understand the status and process of populations.

Key words molecular phylogenetics, biodiversity conservation, evolutionary significant units, population process

Author's address Lab of Cellular and Molecular Evolution, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650226

由于人类活动的破坏,目前物种正以1000倍于自然绝灭的速度而消失,这意味着人类赖以生存的生物资源在迅速丧失。生物多样性的保护已成为当今国际社会的一个热门话题和实践领域。保护生物多样性需要物种群体状况和过程的数据,这样我们才知道在有限的财力下需要优先保护哪些种群,又以怎样的方式才能有效地保护?关于群体状况和过程(process)的研究多年来一直是群体遗传学的领域。但基于经典的群体遗传学很难明白地确定物种保护的单元,在理解群体的分衍和发展型式方面也有欠缺之处。

种内群体的分衍和发展其实在本质上与物种的系统发生有着相似的过程,如果我们能揭示群体间的系统发育史,我们将能评价各个群体所处的进化地位,从而确定需要保护的重点单元。基于系统发育史还可进一步刻画群体的动态过程,从而使我们能更有效地进行保护管理并预测保护的可能结果。

然而,遗憾的是,长期以来系统学和群体遗传学处于相互隔离的状态。当分子进化学家进行种下水平研究时,常常使用群体遗传学的术语,而非系统学的概念,从而忽视了群体间的系统发育和进化关系。相反,当系统学家进行这类研究时,又往往不顾遗传过程的差异而只以形态和行为特征,甚至只以地理距离本身作为亚种划分的标准。所幸的是近年来人们已注意到这些问题,Avice于1987年首次提出将二者结合起来的种内系统地理学(Intraspecific phylogeography),其方法论基础是动物线粒体DNA(mtDNA)单倍体(haplotype)的系统发育关系及

* 收稿日期:1997-03-11;接受日期:1997-10-05

其群体动力学^[1]。Avisé 在随后的几年中,又反复提倡和发展了这一思想^[2~5]。Slatkin 及其同事则又发展出了评估群体动态过程(如基因流等)的系统学途径^[6~8]。最近,Moritz 则在强调将分子系统学引入生物保护方面作出了卓越的努力^[9~11]。目前,分子系统学已在确定保护单元和更好地理解群体的历史过程方面促进了保护生物学的发展。以下将侧重介绍这两方面的理论背景。

1 进化显著性单元的确定

物种内基本保护单元的确定是优化和实施保护策略的基础。Moritz 提出了两种保护单元的概念。一是管理单元(management units, MUs),代表群体统计学上独立的群体,二是进化显著性单元(evolutionarily significant units, ESUs, 该名词其实在 1987 年由 Ryder 提出),代表那些组成一个分类单元的历史隔离群体。图 1 直观地介绍了这两类单元的差别。两类单元在保护上都有意义,前者侧重于短期管理,后者则是一种策略性的长期管理。MUs 是监测群体对人为影响和管理的反应的逻辑单位,它们的价值在于是更大进化整体(如物种)的功能组分。ESUs 则是保护行动需要保护的更大单元,它甚至可等价于系统发育学中的物种概念。

MUs 通常可由等位基因频率定义^[12],因而是一个纯粹的群体遗传学概念。而 ESUs 则整合了等位基因的系统发育信息,特别是 mtDNA 的系统发育信息。Moritz 将 ESUs 定义为:在 mtDNA 单倍型上互为单系群,在核基因座位上等位基因频率有显著差别的群体即称为 ESUs^[10]。强调 mtDNA 的互为单系群不仅因为它在进化上的重要性,而且因为理论上和模拟实验说明隔离群体在一定时间后能达到这种状态。这一原理很严谨,在群体遗传学的理论中也有很好的基础。但是,核基因是否应显示与线粒体 DNA 一致的系统发育结构仍是一个有待讨论的问题。Moritz 认为这一要求过于苛刻,因为核基因比 mtDNA 能更长久地保持祖先的多态状况,会干扰了解群体的真实分衍历史^[11]。

生物 ESUs 已被证明是一个在保护中很有用的概念标准。例如,在我们最近的一项研究中,发现广西的白头叶猴(*Trachypithecus francoisi leucocephalus*)和黑叶猴(*T. f. francoisi*) 在 mtDNA 序列上严格地互为单系群^[13];明确地说明白头叶猴是 ESU,而且由于其群体大小仅 1000 只左右^[14],因而在保护上应予以特别的重视。又如,针对中国黑冠长臂猿的 mtDNA 序列分析表明,仅中国黑冠长臂猿就有 5 个 ESUs,在保护中应对这 5 个 ESUs 给予重视^[15]。

图 1 由等位基因系统发育关系和频率确定的两类不同的保护单元。1 + 2 对 3、对 4 分别为三个管理单元(MUs);1 + 2 + 3 对 4 为两个进化显著性单元(ESUs)
Fig. 1 Two different conservation units derived from phylogeny and frequency of allele. 1 + 2, 3 and 4 are three management units respectively; 1 + 2 + 3, and 4 are two evolutionary significant units respectively

有的时候,我们无充足的财力和物力对所有 ESUs 进行保护,因而实践上常常去确定进化显著性区域(evolutionarily

significant area), 即许多物种均显示系统地理学(phylogeography)结构的区域^[3,5,11,16]。这样我们可将有限的力量投入到一个区域上,而非单个的物种上,从而做到经济有效又切实可行。

上述讨论只注意到系统发育的型式(pattern),忽略了DNA序列歧异度在保护中的价值。一些作者认为有必要考虑分歧程度^[17]或系统树上连接该分类元的支长^[18],以确定分类元的保护优先性。例如,海南黑长臂猿(*Hylobates hainanus*)过去一直被认为是黑长臂猿(*H. concolor*)的1个亚种,但我们的研究发现其DNA序列歧程度已很大,足以达到种的水平^[15]。而令人忧虑的是:海南黑长臂猿目前仅存15只^[19]。因此,它应列入最为优先保护的行列。但遗憾的是,直到最近对它们的保护仍未得到重视^[19]。借此应该提请有关部门和组织对这一动物给予充分的重视。

2 推测群体过程(population process)

物种管理需要群体大小和群体间关联性(connectivity)的信息。传统的生态学无法对关联性作出评估。虽然传统的群体遗传学能估测迁移(基因流)和群体大小的变化等^[20],但最近以来人们在运用分子系统评估基因流和群体大小的趋势方面兴趣日益浓厚^[7,8,21,22]。

2.1 估测基因流

Slatkin 和 Maddison 1989 年提出了一种根据等位基因地理分布及其它们系统发育的相关性测量群体间基因流的方法。该方法的基本想法是估计与系统地理学一致的迁移事件的最小数目,并据此估计在岛屿模型下平衡时每代的平均迁移数目 Nm 。该方法随后又被延伸发展到不同的群体结构中,如远距离隔离和混交群体中^[23]。但总的说来,这一方法不能区别历史或现实的基因流。Moritz 建议最好将之看成是对长期过程的了解,而不要对短期过程作出妄断^[11]。

Neigel 等则发展了另一类方法^[24]。该法从特定DNA序谱(lineage)地理分布的分衍估计一代之内的扩散距离。这一方法不需假定基因流和漂变间处于平衡,但要求碱基取代速率恒定^[25]。

2.2 推测群体的发展状态

群体如处于扩张状态,会影响关于群体内DNA序列变化的许多参数,如漂变等。由于能保存更多基因系谱,扩张群体极可能包含着星状系统发育结构的DNA序列(即星状的系统树),其等位基因间的成对距离也将呈泊松(Poisson)分布;而在稳定的群体中,我们能得到有良好结构的等位基因系统树,成对距离为非泊松分布,如几何或多形态分布^[18,26,27](图2)。但一般仍认为它们只是对预测长期过程有效^[11]。

以上对两种群体动态过程的预测都强调了长期过程。但遗憾的是,要求积极保护管理的物种往往都是刚刚或已经经历了群体的急剧缩小,此时分子系统学方法将会误导我们对群体真实过程的了解。例如,Lavery 和 Moritz 等^[11]发现椰子蟹(*Birgus latro*)有许多 mtDNA 单倍型,但单倍型间的序列歧异度都较低;其 mtDNA 单

图2 基于DNA序列估测群体的发展趋势

Fig. 2 Development tendency estimated by DNA sequences

椰子蟹(*Birgus latro*)有许多 mtDNA 单倍型,但单倍型间的序列歧异度都较低;其 mtDNA 单

倍型的系统树为星形结构,成对距离符合泊松分布,序谱 $\times$ 时间作图提示了对数生长状态。但实际上,该物种最近正在衰减,在原先大部分分布区已经灭绝。他们认为,椰子蟹 mtDNA 当前的系统发育型式反映的是更新世海平面降低时期椰子蟹的群体膨胀,而不是目前的群体下降。

鉴于对群体过程推测的不稳定性,一种可能的选择是仅用分子系统学确定保护的单元。当我们的目的仅是鉴别包含重要进化意义的生物多样性的区域并将之列入保护区时,这种选择非常有效和合理。但是,对这些保护区和邻近地区的有效管理,需要群体大小和关联性的信息,以评价特定管理措施的当前运作状态和未来可能的产出。此时,分子系统学可提供关于长期群体走向和基因流形式的有关信息。例如,目前全世界大量的两栖类物种的群体都在急剧下降^[28,29],大多数生态学家都将此现象视作生态危机的警钟,但有一些人则将之视为是群体收缩和扩张自然周期的一个部分,而不是人为的灭绝^[10]。如没有长期群体大小的数据,我们将很难评价这些假说的正确性。但这样的数据事实上又不存在;此时,来自分子系统学的推测将会很有用处。

长期和现时过程的信息还有助于人为控制基因流和杂交的遗传管理。一方面,在大群体中有控制的较低水平的迁移可阻止近交和遗传变异的漂变丧失^[30];另一方面,外来基因的引入又可能导致地域性适应的丧失并引起所谓的“远交衰退”(outbreeding depression)^[31]。在野生生物的管理中,从保持完整性与纯洁性看,通常要求不要将遗传分歧较大的品种进行杂交。但是,从物种内的长期过程来看,这种观点有时又有遗传模式主义(genetic typology)之嫌。例如,从长期过程看,虽然应该避免蓄意在 ESUs 间进行个体转运^[11],但在 ESUs 内的个体转运将是无害的,甚至是极有益的。

总之,由于分子系统学有严格的方法论体系,并且容易界定一些模糊的概念和过程,所以在生物保护中有很强的可操作性。虽然它在生物保护中应用的理论框架和实践途径等均有待完善和发展,但毫无疑问,分子系统学已为而且将为生物保护提供一些不可替代的有用信息。

致谢 北京大学的吴鹤龄教授、我所的李靖炎研究员和杨大同研究员仔细阅读了本文,并提出了许多有价值的建议,谨表谢意。

参 考 文 献

1. Avise J C. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Ann. Rev. Evol. Syst.*, 1987, **18**: 489 ~ 522
2. Avise J C. Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, 1989, **43**: 1192 ~ 1208
3. Avise J C. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, 1992, **63**: 62 ~ 76
4. Avise J C. Molecular markers, natural history and evolution. New York: Chapman and Hall, 1994
5. Avise J C. Towards a regional conservation genetics perspective. In: Avise J C, Hamrick J (eds.). *Conservation genetics: case histories from nature*, New York: Chapman and Hall, 1996
6. Slatkin M. Gene flow and the geographic structure of animal populations. *Science*, 1987, **136**: 787 ~ 792
7. Slatkin M, Maddison W P. A clastic measure of gene flow inferred from phylogenies of alleles. *Genetics*, 1989, **123**: 603 ~ 613
8. Slatkin M, Hudson R R. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, 1991, **129**: 555 ~ 562
9. Moritz C. Applications of mitochondrial DNA analysis in conservation: a critical review. *Mol. Ecol.*, 1994, **3**: 401 ~ 411

- 10 Moritz C. Defining evolutionarily significant units for conservation. *Trends Ecol. Evol.*, 1994, **9**: 373 ~ 375
- 11 Moritz C. Use of molecular phylogenies for conservation. *Phil. Trans. R. Soc. Lond., B*, 1995, **349**: 113 ~ 118
- 12 Hudson R R, Boos D D, Kaplan N L. A statistical test for detecting geographic subdivision. *Mol. Biol. Evol.*, 1992, **9**: 138 ~ 151
- 13 Wang W, Forstaner M R J, Zhang Y-P et al. A phylogeny of Chinese leaf monkeys using mitochondrial ND3—ND4 gene sequences. *Int. J. Primatol.* **18**: 305 ~ 320
- 14 刘万福, 韦振逸. 广西灵长类资源与保护. 见: 夏武平, 张荣祖编, 灵长类研究与保护. 北京: 中国林业出版社, 1995, 123 ~ 132
- 15 宿兵, Kressler P, Monda K 等. 中国黑冠长臂猿的遗传多样性及其分子系统学研究——非损伤性 DNA 序列分析. *中国科学*, 1996, **26**: 414 ~ 419
- 16 Brooks D R, McLellan D A. Phylogeny, ecology and behaviour. Chicago, London: University of Chicago Press, 1991
- 17 Van Wright R I, Humphries C J, Williams P H. What to protect—systematics and the agony of choice. *Biol. Conserv.*, 1991, **55**: 235 ~ 254
- 18 Crozier R H, Kusmierski R M. Genetic distances and the setting of conservation priorities. In: Loeschcke, V Tomiuk, J S, Jain K (eds.), *Conservation Genetics*, Switzerland: Birkhauser Verlag, 1994, 227 ~ 237
- 19 王昌和. 海南黑长臂猿保护的最新情况. 见: 夏武平, 张荣祖编, 灵长类研究与保护. 1995, 176 ~ 177
- 20 Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, 1975, **29**: 1 ~ 10
- 21 Ball R M J, Neigel J E, Avise J C. Gene genealogies within the organismal pedigree of random-mating populations. *Evolution*, 1990, **44**: 360 ~ 370
- 22 Nee S, Holmes E C, May R M et al. Extinction rates can be estimated from molecular phylogenies. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B*, 1995, **344**: 77 ~ 82
- 23 Maddison W P, Slatkin M. Null model for the number of evolutionary steps in a character on a phylogenetic tree. *Evolution*, 1990, **45**: 1184 ~ 1197
- 24 Neigel J E, Ball R M, Avise J C. Estimation of single generation migration distances from geographic variation in animal mitochondrial DNA. *Evolution*, 1991, **45**: 423 ~ 432
- 25 Neigel J E, Avise J C. Application of a random walk model to geographic distributions of animal mitochondrial DNA variation. *Genetics*, 1993, **135**: 1209 ~ 1220
- 26 Rogers A R, Harpending H. Population growth makes waves in the distribution of pairwise genetic differences. *Mol. Biol. Evol.*, 1992, **9**: 552 ~ 569
- 27 Felsenstein J. Estimating effective population size from samples of sequences: inefficiency of pairwise and segregating sites as compared to phylogenetic estimates. *Genet. Res.*, 1992, **59**: 139 ~ 147
- 28 Blaustein A R, Wake D B. Declining amphibian populations: a global phenomenon? *Trends Ecol. Evol.*, 1990, **5**: 203 ~ 204
- 29 Richards S R, McDonald K R, Alford R A. Declines in populations of Australia's endemic tropical rainforest frogs. *Pacific Conserv. Biol.*, 1993, **1**: 66 ~ 77
- 30 Lacy R C. Loss of genetic variation from managed populations: interacting effect of drift, mutation, immigration, selection and population subdivision. *Conserv. Biol.*, 1987, **1**: 143 ~ 158
- 31 Templeton A R. Coadaptation and outbreeding depression. In: Soule M E (ed.), *Conservation Biology: the science of scarcity and diversity*, Sunderland: Massachusetts Sinauer Associates, 1986, 105 ~ 106