

线粒体 DNA(mtDNA)多态性在动物保护生物学中的应用

王静波 胡长龙 徐宏发*

(华东师范大学生物系, 上海 200062)

摘要: 本文从两个方面论述了 mtDNA 在动物保护生物学中的应用: 一是对物种进行遗传多样性的检测与管理, 二是进行与种群统计学数据相关的遗传分析。前者与保护的长期效益(如进化)密切相关, 而后者则主要用于指导短期管理措施的制定。同时, 本文重点论述了 mtDNA 在进化显著单位(ESUs)和管理单位(MUs)的认定方面的作用。认定 ESUs 的目的是隔离管理遗传多样性, 它是一系列系统进化史独特的种群, 这种独特性同时表现在 mtDNA 和核 DNA 上; MUs 是种群统计意义上的生殖隔离单位, 具有独特的等位基因频率, 与系统发生结构和遗传分歧水平无关。ESUs 与 MUs 都是保护生物学中保护与管理的重要基本单位。

关键词: 线粒体 DNA, 动物保护生物学, 进化显著单位, 管理单位

中图分类号: X16, Q176, Q953

文献标识码: A

文章编号: 1005-0094(2001)02-0181-07

Applications of mitochondrial DNA variability analysis in zoological conservation biology

WANG Jing-Bo, HU Chang-Long, XU Hong-Fa

Department of Biology, East China Normal University, Shanghai 200062

Abstract: In this review, we discuss two applications of mtDNA analysis in zoological conservation biology. One is to describe and manage genetic diversity, an issue more relevant to long-term planning for conservation. Another is its use as a tool for the short-term demographic management of populations. We emphasize its use in recognizing Evolutionary Significant Units (ESUs) and Management Units (MUs). ESUs are recognized to partition genetic diversity and assess conservation value and can be identified as populations having significant phylogenetic divergence of mtDNA from other populations, with corroborating divergence of allele frequencies at nuclear loci. MUs are defined as demographically independent breeding units and are identified as populations having distinctive allele frequencies, regardless of phylogenetic structure and the level of genetic divergence. ESUs and MUs are both important units in conservation biology. The use of mtDNA should be in concert with analysis of nuclear loci in order to obtain reliable data for conservation.

Key words: mtDNA, zoological conservation biology, ESUs, MUs

在现代保护生物学中, 遗传学分析占据着非常重要的地位, 其中动物线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)多态性分析是保护生物学和进化生物学研究的一个强有力的工具(Wilson et al., 1985; Moritz et al., 1987)。因为动物 mtDNA 碱基替换速率相对较快(Brown et al., 1982), 比核基因有更高

的变异, 其高效的单倍体母系遗传方式可缩减用于检测的有效种群(effective population)的大小(mtDNA 基因组的有效群体大小只有常染色体基因组的 1/4), 提高对遗传漂变的敏感性(Birky et al., 1989)。近来一些重大的理论和技术变革进一步增强了 mtDNA 的应用。值得一提的有: 1) 从馆藏动

物标本中(Thomas et al. ,1990)和痕量的非损伤性材料(如毛发)(Taberlet & Bouvet ,1992)中提取 mtDNA ;2) 系统分析理论和相应的分析软件的发展(Swofford & Olsen ,1990);3) 将等位基因分布与趋异联系起来的种群遗传理论的发展(Avise ,1989 ; Slatkin & Maddison ,1989)等。技术和理论的进步使得 mtDNA 在动物保护生物学中的应用更加广泛与可靠。

mtDNA 多态性分析在野生动物保护与管理方面的应用可分为两个方面 :1) 基因保护 :检测种群遗传多样性 ,并对基因库进行管理保护 ;2) 分子生态学研究 :将遗传分析作为种群统计学研究的有效补充。

1 基因保护 :遗传多样性的检测与管理

遗传多样性与自然选择产生的适应性及物种的进化潜力密切相关。在野生动物管理中 ,可运用种群遗传多样性分析监测并保持种群的遗传多样性以及鉴定进化分歧种群(Avise ,1994) ,其分析结果主要用于指导长期管理策略的制定。

mtDNA 多态性分析在这一方面的应用主要有 :1) 检测数量呈下降趋势的种群的遗传变异 ,弄清形成目前遗传结构的原因 ;2) 鉴定种群的进化趋异 ,包括认定进化显著单位(evolutionary significant units , ESUs) ;3) 从进化或系统发生的前景评估一个种群或栖息地的保护价值。

1.1 检测种群遗传变异

动物 mtDNA 是母系遗传和非重组的 ,分子的所有部分均共享同一祖先的相同的历史模式(Wilson et al. ,1985)。mtDNA 这一特殊的基因系统发育形成了探索种群遗传变异的基础 ,对于理解种群遗传结构和种的进化关系非常有价值。mtDNA 的基因系统发育和种群地理信息相结合 ,可以强有力地检测种群的遗传结构 ,Avise 将其称为“ 种内系统发育地理学 ”(introspecific phylogeography)(Avise et al. ,1987)。

利用 mtDNA 多态性分析不仅可以在一定层面上了解种群的遗传多样性 ,还可以探讨形成特定遗传结构的历史原因和地理原因(张亚平 ,施立明 ,1992)。例如 ,mtDNA 的 *cytb* 基因特别适合于研究鲤科软口鱼属的一种(*Chondrostoma lemmingii*)的系统发育(Briolay et al. ,1998 ; Zardoya & Doadrio ,

1999) ,Jose et al. (2000)将 *cytb* 基因分析与等位酶分析相结合 ,分析了伊比利亚半岛鲤科鱼的遗传结构 ,揭示了此半岛鲤科鱼种群的物种形成及分化的历史和地理原因。James et al. (2000)对美国乔治亚州(Georgia)和南卡罗来纳州(South Carolina)的 6 个白尾鹿(*Odocoileus virginianus*)种群的 mtDNA 和等位酶的多态性进行了分析 ,发现 6 个占据不同地理位置的种群存在较高水平的变异和空间异质性 ,说明种群间遗传多样性的差异与地理隔离有一定的相关。

由于目前对 mtDNA 多样性与核基因组 DNA 多样性之间的联系尚无定论 ,因此对种群遗传结构形成原因的讨论便尤为重要 ,并以此指导保护策略的制定。Faulkes et al. (1997)采用 mtDNA 序列分析和多位点指纹法 ,在肯尼亚地区研究了地理上相距较远的裸鼯鼠(*Cryptomys damarensis*)种群间和种群内的遗传结构 ,结果发现 ,种群内的个体在遗传上是单型的 ,共享同样的 mtDNA 控制区单元型 ;南部的 6 个种群共享 1 个控制区单元型 ,表明它们具有共同的最近的母系祖先 ;而北部的 4 个种群中存在 3 种控制区单元型 ,表明肯尼亚地区或许是两个截然不同的裸鼯鼠谱系的相邻分布区。张亚平等 (1997)测定了四川 9 个地区的 40 只大熊猫的 336 ~ 444 bp 的线粒体 tRNA 基因和 D-loop 的序列 ,对于宝兴群体 ,测定了 11 个创立者的序列 ,共检出 4 种 mtDNA 单元型 ,而在所有山系的混杂群体的 21 个创立者中共检出 9 种 mtDNA 单元型 ,说明大熊猫的遗传分化程度很低 ,群体内和群体间的遗传分化处于相近的水平 ,地理群体间无显著的遗传隔离 ;同时说明大熊猫存在广泛的个体间遗传变异 ,与很低的群体间遗传分化形成鲜明的对比。基于此研究结果 ,张亚平等提出了现阶段大熊猫的保护策略 :与修建群体间(大区域间)人工走廊相比 ,修建大区域内的人工走廊 ,沟通割裂的小群体 ,对于增进大熊猫的遗传多样性意义更为显著 ,同时要保护好并在一定程度上恢复扩大大熊猫的栖息地。

应该指出的是 ,mtDNA 多态性水平与种群数量和核基因多态性水平并不一定呈正相关。有些通过 mtDNA 序列分析得到的谱系和遗传分化结果与相应的核基因结果相左(Curole & Thmas ,1999)。一些快速扩张的种群(如经受过瓶颈效应的种群)的 mtDNA 多态性很低 ,如北象海豹(*Mirounga an-*

gustirostris X Hoelael et al. ,1993)和异虎(*Heteronotia binoexi* X Moritz ,1991)就是这样的例子;而在一些由于过度捕猎而数量降低的物种如座头鲸(*Megaptera novaeangliae* X Baker et al. ,1993)及有近交倾向的物种如猎豹(*Acinonyx jubatus* X Menotti-Raymond & O'Brien ,1993)中却发现了中等程度高的 mtDNA 多态性。有时 mtDNA 多样性与核标记多样性一致(如北象海豹 X Hoelael et al. ,1993),有时却不一致。休比深口鳐(*Phaeognathus hubrichti*)和座头鲸种群的 mtDNA 多态性比核基因多态性低(Baker et al. ,1993;McKnight et al. ,1991),而在有些研究中 mtDNA 多态性却比核基因的高(Mack et al. ,1986;Zink & Avise ,1990)。以上这些研究进一步表明,mtDNA 多样性检测结果在种系地理结构和历史分化方面的意义远大于对种群遗传多样性程度的表面揭示,用 mtDNA 多样性来描述种群的遗传多样性时必须谨慎,最好与核标记结合起来检测。

1.2 鉴定进化独特种群

科学的保护策略必须尽可能地保护物种的遗传多样性,以保持物种的进化潜力。因此鉴定进化史独立的群体是野生动物保护特别是对基因进行保护的非常重要的工作,这样的群体可以是种、亚种或进化显著单位(ESUs X Ryder ,1986)。由于传统的种和亚种的概念多基于地理分布和形态的考虑,而没有牵涉遗传多样性,因此不宜作为生物保护的基本单元(O'Brien & Mayr ,1991)。根据里约热内卢《生物多样性保护公约》,将遗传趋异种群(genetically divergent populations)作为保护单位较为合适,与其分类地位关系不大。

mtDNA 的系统发生研究可以独到地揭示种群的进化历史(Avise ,1989;Avise et al. ,1987),并且可以为遗传趋异群体的分界提供一定的依据。例如,澳大利亚热带雨林狭窄地区特有的一种动物石龙子(*Gnypetoscincus queenslandiae*)的遗传趋异种群就是首先通过 mtDNA 分析发现的,后来经等位酶分析得到了进一步证实(Moritz et al. ,1993)。这一研究同时说明,要鉴定进化独特种群,mtDNA 分析必须与核标记联合起来应用(Cronin ,1993),因为 mtDNA 趋异与核基因趋异无确定关联。例如在埃氏剑鳐(*Ensatina eschscholtzi*)中,一些 mtDNA 高度趋异的种群的等位酶的趋异速率较为平缓,而 mtDNA 关系较近的两个种群的核基因却具有明显的分歧

(Moritz et al. ,1992)。在对红狼(*Canis rufus*) (Wayne & Jenk ,1991)某管理种群的研究中,曾围绕其历史上是否曾和其他种群有杂交事件发生(也即种群的进化史是否是独立的)引发了许多争论(Dowling et al. ,1992;Wayne ,1992),争论的焦点是研究中缺少诊断性核标记方法。后来,有人应用微卫星 DNA 技术证实了红狼种群历史上有杂交事件发生(Roy et al. ,1994),证实了 mtDNA 的分析结果。将 mtDNA 分析与核标记技术联合应用的价值由此可见一斑。尤其当形态与 mtDNA 变异之间存在冲突时,就必须慎重地检验其他基因位点,以确保获得进化独特性的有力证据。鉴定进化独特种群的一个重要目的是认定 ESUs。

1.3 认定进化显著单位(ESUs)

随着保护遗传学的发展,ESUs(Ryder ,1986)越来越受到生态学家和保护生物学家的重视。ESUs 是基于系统学研究所作的一种对保护单位进行定性的标准,它将由于进化历史事件而造成的不同群体区别开来(Moritz ,1994),是“一系列具有独特的长期进化历史的种群”,代表那些组成一个分类单元的历史隔离群体,它们是保护生物学的保护焦点,是一种侧重于长期管理策略的概念。ESUs 已被国际社会普遍接受为生物保护中的基本单元。Moritz (1994)将其定义为:在 mtDNA 单倍型上互为单系群(monophyletic group),即线粒体基因组是严格单源的,在核基因座位上等位基因频率有显著差异的群体。ESUs 的引入为生物多样性的保护提供了一种量化的标准。值得注意的是这一定义同时界定了“mtDNA”和“核基因频率”。

将等位基因的地理分布与它们的系统发生联系起来可以认定 ESUs(Avise & Ball ,1990;Dizon et al. ,1992),其理论依据是:一段时间内(一般是 2~4 Ne 代)的基因流动一定限制在使等位基因产生种系地理结构差异的范围之内(Avise et al. ,1984;Neigle & Avise ,1986),这暗示了一种质的标准——ESUs 的 mtDNA 等位基因应该是完全单系的。由于 mtDNA 独特的系统发育模式和在鉴定进化独特种群中的独到作用,因此是认定 ESUs 的首选分子。宿兵等(1996)对我国珍稀灵长类黑冠长臂猿(*Hylobates concolor*)11 个个体的 mtDNA 的 D-loop195 bp 的片段进行了序列分析,根据由 mtDNA 得到的分子系统树并结合形态学方面的资料,提出对中国黑冠

长臂猿新的分类观点,同时针对该类珍稀动物的保护,提出将新分类中的3个种和3个亚种作为不同的ESUs进行保护和遗传管理,以保护各类群在进化历史中积累的遗传变异及其进化潜力。

在利用mtDNA认定ESUs时,Awise & Ball (1990)提议应在其他的基因中寻找一致的系统发生结构。但由于核等位基因的中性突变速率较慢,因此核基因要在种群间或种类间显示出系统发生的差异就要经历相当长时间(Hey & Kliman,1993; Slade et al.,1994),并且用于检测的有效分析种群特别大,这给实际应用造成一定困难。然而有一点是肯定的,那就是用mtDNA的显著系统进化结构来认定的ESUs,其核位点的等位基因频率也必须有显著分歧,这也是ESUs定义中所界定的。对于有显著遗传分化、同时在mtDNA和核基因组上也都是单源的群体,应属于独立的ESU;对于与其他群体遗传分歧较高、在mtDNA上也是单源的群体,即使没有核基因的信息,也可视为一个ESU;而对于与其他群体遗传分歧并非很高、在mtDNA上又是单源的群体,如果其核等位基因频率与其他群体有显著差异,也应视为一个ESU。相反,如果其核等位基因频率与其他群体没有显著差异,则不能视为一个独立的ESU(胡志昂,张亚平,1997)。

1.4 认定种群或栖息地的进化保护价值

用mtDNA变异认定ESUs的另一个目的是从进化的前景明确保护的价值。有人认为进化的独特性应该是确立保护物种的优先考虑点(Vane-Wright et al.,1991)。为了阐明这一目的,Faith(1993)在mtDNA系统发生的研究基础上(Wallis & Arntzen,1989)评估了某蝶螈种群的保护优先策略,这一应用假定mtDNA变异反映了全部的遗传分化(这些遗传分化在最终确定保护策略之前应予以检验)。mtDNA在种系地理学方面的另一个应用是认定地理区系,区系内有多个物种具有独特的遗传种群或ESUs,这些种群的进化史与其他地区的同种种群的进化史有所不同(Awise,1992)。认定这样的区系的目的是确定合理的管理尺度。Fuller et al.(1997)通过温度梯度凝胶电泳和mtDNA控制区序列分析,研究了澳大利亚东北部干旱和半干旱生态系统中的野兔(*Oryctolagus cuniculus*)种群的遗传分化模式,结果表明,在干旱地区,各种群的单元型频率相近,存在广泛的基因流,种群管理应在整个干旱地区展

开;而在半干旱地区,基因流很局限,并且种群更隔离,因此进行再分割的局限地方性管理更加合理。这也提示,在种群片段化分布的非平衡系统中,应该同时考虑时间和空间对种群基因流的影响。

Gregory et al.(2000)利用mtDNA多态性分析结合等位酶位点技术研究了加拿大西北地区5个狼獾(*Gulo gulo*)种群的遗传潜质,发现5个种群间有一定的遗传分化,但是差异不显著,整个西北地区的狼獾群体共享一个单倍体型。由于狼獾是家域较广的高度迁徙的动物,同时有的狼獾个体又高度忠实于自己的出生地,因此,Gregory等认为对这一物种的保护应在种群水平上进行,同时应该注意保护整个西北地区群体的遗传多样性。Moritz et al.(1993)对澳大利亚东北部热带雨林特有的鸟类和石龙子种群的mtDNA进行分析时发现,它们与热带雨林西部干燥走廊地区的种群存在遗传中断(genetic break)现象,这一结果在保护生物学上的重大意义是显而易见的:它们的进化历史和目前的遗传结构甚至基因库无疑都独立于同种的其他种群,正是保护生物学的保护目标焦点。具有较多的ESUs的地区应该优先保护,即使它们不具有传统方法鉴定出的一系列独特的物种。

2 分子生态学

生态学家还将mtDNA多态性分析作为种群统计学研究的工具,特别用于:1)认定合适的地理监管规模(scale)2)检验与种群数量和种群间联系有关的剧变事件(dramatic changes)。一般地,这些应用都比较简单,并且与保护和管理的短期目标联系较密切。

2.1 认定管理单位(Management Units, MUs)

在对一个物种进行复壮的过程中,必须对相关种群进行合理的监管。然而,我们却很难认定一个合适的地理监管规模。在渔业中人们很早就认识到:一个由多个群体(stock)组成的鱼种,只对渔捕和管理作出反应而不会受其他事件的冲击(Ryman & Utter,1987)。这样的管理单位(MUs)或群体可以用遗传学方法加以简单认定,其逻辑依据是:如果一个种群中很少有迁徙发生,以使它能够保持其独特的遗传潜质,那么它在种群统计学上也一定是独立的。一个等位基因频率与其他种群有明显分歧并且在种群统计学上是独立的种群,就可以被认定为

一个 MU。

mtDNA 在确定不同的 MUs 时特别有用,由于它比核位点更易受遗传漂变的影响(Birky et al., 1989),其变异在种群间的分布比例便更大一些。只要变异存在,用 mtDNA 检测出的种群间的差异比用核基因检测明显。在对样本数有限的濒危物种进行研究时,用 mtDNA 检测的优越性更加突出,因为利用 mtDNA 检测种群遗传变异只需少量样本就可以获得足够的变异数据。对物种内 MUs 认定时,在 mtDNA 水平上应用 PCR 测序技术在种群内或种群间直接检测序列变异大大提高了对地理性变异进行检测的力度。例如,对来自印度洋和西太平洋的海龟(*Chelonia mydas*)应用 RFLP 检测只鉴定了 4 个 MUs,而通过测定 mtDNA 控制区的一段 385 bp 的序列却揭示出近 8 倍的序列分歧,并且将可认定的 MUs 数量提高到 9 个(Norman et al., 1994)。

较之 ESUs, MUs 可以只根据等位基因频率的明显分歧进行认定,而不必管等位基因的系统是否发生问题,因为等位基因频率对种群独立化的反应要比对系统进化地理模式的反应敏捷快速。在开始,等位基因可能具有相似的频率并且不显示系统地理学结构,随着种群的分离,等位基因频率通过遗传漂变和选择而发生分歧,直到有原始的等位基因丢失以后,明显的系统地理结构才会出现,这种结构可能会被每个种群独有的新的等位基因所替代(Neigle & Avise, 1986)。

2.2 检验种群数量变化和种群间的联系

野生动物管理者必须解决的另一个问题是迁徙种群间的联系程度和种群数量的改变程度。通过生态学研究来直接估计这些参数是非常困难的,而用遗传变异模式间接进行研究就容易且省时省力得多(Lande & Barrowclough, 1987),应运而生的应用等位基因的分布和相关的信息在种群内推断迁移率和长期迁徙趋势的研究也因此得到了快速的发展(Avise et al., 1988; Neigle et al., 1991; Slatkin & Hudson, 1991)。

大多数估计种群每代中迁徙个体的平均数目(N_m)的方法都采用种群统计学意义上的迁移率,但准确度较低(Lande, 1991),并且假定种群处于遗传平衡状态,这是对种群数量减小和波动的含糊其辞的假设(Larson et al., 1984; Boileu et al., 1992)。因为一个数量波动较大的种群很难保持遗传平衡状

态,而利用遗传学检测却可以很好地解决这一问题。遗传模式的波动可以反映一定时期内的种群数量变化和迁移情况。

由于遗传模式对种群数量的变化有反应时滞现象(Hey & Kliman, 1993),并且 mtDNA 仅仅是能够对种群瓶颈效应做出反应的个体随机变异之一(Nei et al., 1977; Leberg, 1992; Wayne et al., 1991b),因此,根据 mtDNA 多态性估计种群瓶颈效应和种群数量的时间变化并提出管理措施时应该谨慎,应尽量结合核位点进行综合评估,以获得来自个体遗传变异的综合数据。尽管对种群短期内的数量波动和迁移率进行正确的估计比较困难,但是从原则上讲,应用 mtDNA 或极易变异的核基因依然可以为种群数量和种群间联系的变化提供一种质的揭示。例如,通过比较栖息地片段化地区和完整地区的种群 mtDNA 多态性,可以大致了解它们由分裂到疏散的过程。与此相似,比较近来数量有所下降的种群与有相似的生态变化的相关种群的 mtDNA 多态性,可以弄清这个种群的崩溃是自然的、周期性现象,还是人为事件导致的。如果是前者,种群的 mtDNA 多态性将降低,如果是后者,残余种群的 mtDNA 多态性依然会很高。

总之, mtDNA 多态性分析在动物保护生物学中的价值是不容忽视的,尤其在鉴定进化独特种群和认定 ESUs 方面的作用不可替代。但是,为了获得最为充分的数据, mtDNA 多态性分析最好与核标记技术联合应用并结合形态和生态上的相关参照,以便制定出相对完善的保护和管理对策。

参考文献

- 胡志昂, 张亚平(主编), 1997. 中国动植物的遗传多样性. 杭州: 浙江科学技术出版社, 6
- 宿兵, Kressler P, Monda K, 王文, 蒋学龙, 王应祥, Woodruff D S, 1996. 中国黑冠长臂猿的遗传多样性及其分子系统学研究——非损伤性取样 DNA 序列分析. 中国科学(C 辑), 26(5): 414~419
- 张亚平, 施立明, 1992. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况. 动物学研究, 13(3): 289~298
- 张亚平, Oliver A R, 范志勇, 张和明, 何廷美, 张安居, 费立松, 钟顺隆, 陈红, 张成林, 杨明海, 朱飞兵, 彭真信, 普天春, 陈玉村, 姚敏飞, 郭伟, 1997. 大熊猫 DNA 序列变异及其遗传多样性研究. 中国科学(C 辑), 27(2): 139~144
- Avise J C, 1989. Gene trees and organismal histories: a phylogenetic approach to population biology. *Evolution*, 43: 1192

~ 1208

- Avice J C, 1992. Molecular population structure and the biogeographic history of a regional fauna: a case history with lessons for conservation biology. *Oikos*, **63**: 62 ~ 76
- Avice J C, 1994. Molecular Markers, Natural History and Evolution. New York: Chapman and Hall
- Avice J C, Arnold J and Ball R M, 1987. Intraspecific phylogeography: the mitochondrial DNA bridge between population genetics and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 489 ~ 522
- Avice J C, Ball R M and Arnold J, 1988. Current versus historical population sizes in vertebrate species with high gene flow: a comparison based on mitochondrial DNA lineages and inbreeding theory for neutral mutations. *Molecular Biology and Evolution*, **5**: 331 ~ 344
- Avice J C and Ball R M, 1990. Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy. *Oxford Surveys of Evolutionary Biology*, **7**: 45 ~ 68
- Avice J C, Neigel J E and Arnold J, 1984. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*, **20**: 99 ~ 105
- Baker C S, Parry A and Bannister J L, 1993. Abundant mitochondrial DNA variation and worldwide population structure in humpback whales. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **90**: 8239 ~ 8243
- Birky C W, Fuerst P and Maruyama T, 1989. Organelle gene diversity under migration, mutation and drift: equilibrium expectations, approach to equilibrium, effects of heteroplasmic cells, and comparison to nuclear genes. *Genetics*, **121**: 613 ~ 627
- Boileu M G, Herbert P N D and Schwartz S S, 1992. Non-equilibrium gene frequency divergence: persistent founder events in natural populations. *Journal of Evolutionary Biology*, **5**: 25 ~ 39
- Briolay J, Galtier N, Brito R M and Bouvet Y, 1998. Molecular phylogeny of cyprinid inferred from cytochrome *b* DNA sequences. *Molecular Phylogeny and Evolution*, **9**: 100 ~ 108
- Brown W M, Prager E M, Wang A and Wilson A C, 1982. Mitochondrial DNA sequences of primates: tempo and mode of evolution. *Journal of Molecular Evolution*, **18**: 225 ~ 239
- Curole J P and Thmas D K, 1999. Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes. *Tree*, **14**: 394 ~ 398
- Cronin M A, 1993. Mitochondrial DNA in wildlife taxonomy and conservation biology: cautionary notes. *Wildlife Society Bulletin*, **21**: 339 ~ 348
- Dizon A E, Lockyer C, Perrin W F, Demaster D P and Sisson J, 1992. Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology*, **6**: 24 ~ 36
- Dowling T E, DeMaras B D, Minckley W L and Douglas M E, 1992. Use of genetic characters in conservation biology. *Conservation Biology*, **6**: 7 ~ 8
- Faith D P, 1993. Biodiversity and systematics: the use and misuse of divergence information in assessing taxonomic diversity. *Pacific Conservation Biology*, **1**: 53 ~ 57
- Faulkes C G, Abbott D H, O'Brien H P, Lan L, Roy M R, Wayne R K and Bruford M W, 1997. Micro- and macrogeographical genetic structure of colonies of naked mole-rates *Heterocephalus glaber*. *Molecular Ecology*, **6**: 615 ~ 628
- Fuller S J, Wilson J C and Mather P B, 1997. Patterns of differentiation among wild rabbit populations *Oryctolagus cuniculus* in arid and semiarid ecosystems of north-eastern Australia. *Molecular Ecology*, **6**: 145 ~ 153
- Gregory M W, Ronald A, Van D B, Phyllis K K, Anne G and Kim P, 2000. Genetic variability of wolverines (*Gulo gulo*) from the Northwest Territories, Canada: conservation implications. *Journal of Mammalogy*, **81**(1): 186 ~ 196
- Hey J and Kliman R M, 1993. Population genetics and phylogenetics of DNA sequence variation of multiple loci within the *Drosophila melanogaster* complex. *Molecular Biology and Evolution*, **10**: 804 ~ 822
- Hoelael A R, Halley J and O'Brien S J, 1993. Elephant seal genetic variation and the use of simulation models to investigate historical population bottlenecks. *Journal of Heredity*, **84**(6): 443 ~ 449
- James R P, Michael H S and John C P, 2000. Female philopatry and extreme spatial genetic heterogeneity in white-tailed deer. *Journal of Mammalogy*, **81**(1): 179 ~ 185
- Jose A, Carmona J D and Ignacio D, 2000. Congruence between allozyme and cytochrome *b* gene sequence data in assessing genetic differentiation within the Iberian endemic *Chondrostoma lemmingii* (Pisces: Cyprinidae). *Heredity*, **84**: 721 ~ 732
- Lande R, 1991. Applications of genetics to management. In: Hoelzel A R (eds.), *Genetic Ecology of Whales and Dolphins*. Cambridge: International Whaling Commission Special Issue 13, 301 ~ 311
- Lande R and Barrowclough G F, 1987. Effective population size, genetic variation and their use in population management. In: Soule M (ed.), *Viable Populations for Conservation*. New York: Cambridge University Press, Cambridge, 87 ~ 124
- Larson A, Wake D B and Yanev K P, 1984. Measuring gene flow among populations having high levels of genetic fragmentation. *Genetics*, **106**: 293 ~ 308
- Leberg P L, 1992. Effects of population bottleneck on genetic diversity as measured by allozyme electrophoresis. *Evolution*, **46**: 477 ~ 494
- Mack A L, Giu F B, Colburn R and Spolsky C, 1986. Mitochondrial DNA: a source of genetic markers for studies of similar passerine bird species. *Auk*, **103**: 676 ~ 681
- McKnight M L, Dodd C K J and Spolsky C M, 1991. Protein and mitochondrial DNA variation in the salamander *Phaeognathus hubrichti*. *Herpetologica*, **47**: 440 ~ 447
- Menotti-Raymond M and O'Brien S J, 1993. Dating the genetic bottleneck of the African cheetah. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA*, **90**: 3172 ~ 3176
- Moritz C, 1991. The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoxi* (Gekkonidae): evidence for recent and

- localized origins of widespread clones. *Genetics*, **129**: 211 ~ 219
- Moritz C, 1994. Defining evolutionarily significant units for conservation. *Trends in Ecology and Evolution*, **9**: 373 ~ 375
- Moritz C, Dowling T E and Brown W M, 1987. Evolution of animal mitochondrial DNA: relevance for population biology and systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **18**: 269 ~ 292
- Moritz C, Joseph L and Adams M, 1993. Cryptic diversity in an epidemic rainforest skink (*Gnypetosincus queenslandiae*). *Biodiversity and Conservation*, **2**: 412 ~ 425
- Moritz C, Schneider C J and Wake D B, 1992. Evolutionary relationships within the *Ensatina eschscholtzii* complex confirm the ring species interpretation. *Systematics Biology*, **41**: 273 ~ 291
- Nei N, Chakravarti A and Tateno Y, 1977. Mean and variance of FST in a finite number of incompletely isolated populations. *Theoretical Population Biology*, **11**: 291 ~ 306
- Neigle J E and Avise J C, 1986. Phylogenetic relationships of mitochondrial DNA under various demographic models of speciation. In: Nevo E and Karlin S (eds.), *Evolutionary Processes and Theory*. New York: Academic Press, 515 ~ 534
- Neigle J E, Ball R M and Avise J C, 1991. Estimation of single generation migration distances from geographic variation in animal mitochondrial DNA. *Evolution*, **45**: 423 ~ 432
- Norman J, Moritz C and Limpus C J, 1994. Mitochondrial DNA control region polymorphisms: genetic markers for ecological studies of marine turtles. *Molecular Ecology*, **3**: 363 ~ 373
- O'Brien S J and Mayr E, 1991. Bureaucratic mischief: recognizing endangered species and subspecies. *Science*, **251**: 1187 ~ 1188
- Roy M S, Geffen E, Smith D, Ostrander E and Wayne R K, 1994. Patterns of differentiation and hybridization in North American wolf-like canids revealed by analysis of microsatellite loci. *Molecular Biology and Evolution*, **10**: 406 ~ 419
- Ryder O A, 1986. Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution*, **1**: 9 ~ 10
- Ryman N and Utter F, 1987. *Population Genetics and Fishery Management*. Seattle: University of Washington Press
- Slade R W, Moritz C and Heideman A, 1994. Multiple nuclear gene phylogenies: applications to pinnipeds and a comparison with an mtDNA gene phylogeny. *Molecular Biology and Evolution*, **11**: 341 ~ 356
- Slatkin M and Hudson R R, 1991. Pairwise comparisons of mitochondrial DNA sequences in stable and exponentially growing populations. *Genetics*, **129**: 555 ~ 562
- Slatkin M and Maddison W P, 1989. A cladistic measure of gene flow inferred from phylogenies of alleles. *Genetics*, **123**: 603 ~ 613
- Swofford D L and Olsen G J, 1990. Phylogeny reconstruction. In: Hillis D M, Moritz C (eds.), *Molecular Systematics*. Sinauer, Sunderland, MA, 411 ~ 501
- Taberlet P and Bouvet J, 1992. Bear conservation genetics. *Nature*, **358**: 197
- Thomas W K, Paabo S, Villablanca F X and Wilson A C, 1990. Spatial and temporal continuity of kangaroo rat populations shown by sequencing mitochondrial DNA from museum specimens. *Journal of Molecular Evolution*, **31**: 101 ~ 112
- Vane-Wright R I, Humphries C J and Williams P H, 1991. What to protect—systematics and the agony of choice. *Biological Conservation*, **55**: 235 ~ 254
- Wallis G P and Arntzen J W, 1989. Mitochondrial DNA variation in the Crested newt superspecies: limited cytoplasmic gene flow among species. *Evolution*, **43**: 88 ~ 104
- Wayne R K, 1992. On the use of morphological and molecular genetic characters to investigate species status. *Conservation Biology*, **6**: 590 ~ 592
- Wayne R K, Gilbert D A and Lehman N, 1991b. Conservation genetics of the endangered Isle Royal gray wolf. *Conservation Biology*, **5**: 41 ~ 51
- Wayne R K and Jenk S M, 1991. Mitochondrial DNA analysis implying extensive hybridization of the endangered red wolf *Canis rufus*. *Nature*, **351**: 565 ~ 568
- Wilson A C, Cann R L and Carr S M, 1985. Mitochondrial DNA and two perspectives on evolutionary genetics. *Biological Journal of the Linnaen Society*, **26**: 375 ~ 400
- Zardoya R and Doadrio I, 1999. Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of European cyprinids. *Journal of Molecular and Evolution*, **49**: 227 ~ 237
- Zink R M and Avise J C, 1990. Patterns of mitochondrial DNA and allozyme evolution in the avian genus *Ammodramus*. *Systematic Zoology*, **39**: 148 ~ 161

(责任编辑:时意专)