

鸟类线粒体 DNA 结构特点及在鸟类研究中的应用

刘铸^{1,2} 杨春文¹ 金建丽¹ 金志民¹ 戴鹏³

(¹牡丹江师范学院生物系, 牡丹江 157012; ²东北林业大学野生动物资源学院, 哈尔滨 150040; ³辽宁师范大学生命科学院, 大连 116029)

摘要: 介绍了鸟类 mDNA 的结构和鸟类 mDNA 作为分子标记的特点, 并综述了 mDNA 作为分子标记在鸟类的种间系统发生关系及分类、鸟类分子钟、地理分布区的推断和种群遗传多样性的研究中应用现状。

关键词: 鸟类 线粒体 DNA 分子标记

Study on Mitochondrial DNA of Birds and Application

Li Zhu^{1,2} Yang Chunwen¹ Jin Jianli¹ Jin Zhimin¹ Dai Peng³

(¹Department of Biology, Mudanjiang Normal University, Mudanjiang 157012; ²College of Wild Life Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040; ³College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116029)

Abstract In this paper the structures of the mDNA of birds and characters as molecular marker of mDNA of birds were reviewed and the present study through mDNA of birds as molecular marker in interspecific phylogenetic differentiation, molecular clock in birds, geographical region and genetic diversity of population were also reviewed.

Key words Birds mDNA Molecular marker

线粒体 (mitochondria) 是细胞中进行能量代谢的半自主细胞器, 存在于真核生物除成熟的红细胞以外的所有细胞中, 在细胞内的分布一般是均匀的, 形状通常为杆状或颗粒状。细胞内线粒体一般有 0.1 万 ~ 1 万个拷贝。线粒体内部具有核外遗传信息系统线粒体 DNA (mDNA), 动物的 mDNA 是共价闭合的双链 DNA, 分子大小约为 16.15 kb, 因动物种类不同而不同。对于鸟类 mDNA 的研究, 最先研究的是家禽。1963 年 Nass 等首次在鸡的胚胎中发现了 mDNA。1990 年 Desjardins 和 Morais^[1] 以家鸡为材料, 将 mDNA 全长 16.775 kb 个碱基全部测出, 像其它的脊椎动物 mDNA 一样包含 13 个蛋白质基因、2 个 rRNA 基因和 22 个 tRNA 基因。目前已经获得多种鸟类 mDNA 的全序列, 并利用 mDNA 基因作为分子标记, 在鸟类研究中的得到广泛应用。

1 鸟类 mDNA 的结构特点

鸟类 mDNA 基因组长度为 16.3 ~ 23.5 kb^[2],

序列编排高度简洁, 无内含子和转座因子, 除 1 ~ 2 kb 的非编码区外, 整个基因组都有编码功能^[3]。mDNA 为共价闭合双链环状 DNA 分子, 一条为重链 (H 链), 一条为轻链 (L 链), H 链含有较多的鸟嘌呤 (G), 而 L 链则含有较多的胞嘧啶 (C)。线粒体 DNA 基因组是由 37 个基因和一段长度可变的非编码区 (控制区) 组成。37 个基因分别是: 2 个 rRNA 基因 (12S rRNA 和 16S rRNA), 22 个 tRNA 基因和 13 个蛋白质基因, 主要编码氧化磷酸化反应中与电子传递和氧化磷酸化有关的酶和蛋白, 分别为细胞色素氧化酶亚基 iv、(i) (ii) (Co1, Co2 和 Co3), 细胞色素 b (cytb), ATP 合成酶 6 8 (ATPase6 和 ATPase8), NADH 脱氢酶亚基 1-6 (ND1-6) 和 4L (ND4L)。mDNA 控制区是一个重要的非编码区, 即含有串联重复序列的控制区 (control region), 负责调控重链和轻链的转录。

鸟类 mDNA 与其它脊椎动物相比, 还存在着自身的结构特点。首先, 鸟类 Cytb 基因和 ND5 是连续

收稿日期: 2009-09-10

基金项目: 黑龙江省杰出青年科学基金项目 (JC200709), 黑龙江省科技攻关项目 (PC06S03)

作者简介: 刘铸 (1979-), 男, 博士, 主要从事动物保护及动物分子生物学研究; E-mail: liuzhu590@sohu.com

通讯作者: 杨春文 (1958-), 男, 博士

的,他们之间仅被少数几个核苷酸所分开,而在哺乳动物中, *Cytb*和 *ND5*基因是

由 *rRNA^G*和 *ND6*间隔开的。其次,在鸟类 *mDNA*基因组中,缺少其它脊椎动物在 *rRNA^G*和 *rRNA^A*基因之间相当于轻链复制起始的结构^[4]。其次,鸟类的细胞色素 *c*氧化酶的亚单位 *COI*的起始密码子是 *GTG*,而不是 *ATG*^[3]。最后,鸟类 *mDNA*由于发生基因重排,而使得 *mDNA*的基因位置不尽相同,尽管基因重排在其它脊椎动物中也有出现,但鸟类表现的更加突出^[5]。基因重排主要发生在细胞色素 *b*(*cyt-b*)和 *12S rRNA*基因之间。在多数鸟类 *cyt-b*和 *12S rRNA*之间的基因顺序: *cyt-b* → *rRNA-Thr* → *rRNA-Pro* → *NADH6* → *rRNA-Glu* → *control region* → *rRNA-Phe* → *12S rRNA*。目前已发现鸢形目啄木鸟科 (*picidae*),隼形目 (*Falconiformes*), 鹱形目杜鹃科 (*cuculidae*), 雀形目亚鸣禽亚目 (*suboscines*)以及鸣禽亚目柳莺属 (*phylloscopus*)中存在一种新的顺序: *cyt-b* → *rRNA-Thr* → *control region* → *rRNA-Pro* → *NADH6* → *rRNA-Glu* → *non-coding region* → *rRNA-Phe* → *12S rRNA*^[6]。上述鸟类的 *mDNA*除发生重排外,其中还多了一段非编码区 (*non-coding region*, *NC*),而该段非编码区与控制区 (*control region*)有较高的同源性,推测其源于控制区^[6], Singh等^[7]甚至发现芦莺 (*Acrocephalus scirpaceus*)和黑头莺 (*Sylvia atricapilla*)的 *mDNA*中有 2 个完全相同的控制区序列,为 *NC*源于控制区提供一定证据。

2 鸟类 *mDNA* 作为分子标记的特点

2.1 母性遗传

哺乳动物合子的细胞质几乎全部来自雌性配子, *mDNA*通过卵子的细胞质传到下一代,所以,一个母系祖先的后代具有相同的 *mDNA*类型。当然,并不排除极低机率有精子 *mDNA*进入卵子而发生父系渗入,可能引起个体内 *mDNA*异质性和双亲遗传现象,但这种机率很低。Hecht^[8]认为卵母细胞或早期胚胎中可能存在抑制精子 *mDNA*复制的特殊机制。鉴于此,动物 *mDNA*的母系遗传方式似乎是必然的。母系遗传便于遗传分析,一个个体就能代表一个母系群体的遗传结构,可以减少鸟类研究采样数量。母系遗传方式还决定 *mDNA*通常不发生重组,这样便于对遗传问题的分析。最近也有鸟类

*mDNA*发生重组的报道,但研究发现, *mDNA*发生重组不影响对群体遗传多样性的评估^[9]。

2.2 独特的密码特性

*mDNA*的遗传密码、反密码子及密码识别机制与通常核编码规律有所不同。在密码识别上,编码同一种氨基酸的密码组由同一 *tRNA*识别。线粒体自身的 22 个 *tRNA*就足以识别 *mDNA*的所有基因。因此, *mDNA*的复制和转录具有很大的独立性,它可以编码合成一些自身结构和组织的蛋白质,以及细胞内分子进行呼吸的许多蛋白质,同时其调控又受细胞核支配。

2.3 进化速度快,无组织特异性

*mDNA*进化速率比典型的单拷贝核 DNA 序列要快 5~10 倍^[10]。其主要进化方式为碱基代换,包括转换和颠换,少发生基因重排。这是因为动物 *mDNA*复制酶 γ -多聚酶不具备校对能力,碱基误配率高,并且缺乏修复机制; *mDNA*代增时间短,快速增殖为突变提供了更多的机会; *mDNA*无核蛋白保护,易受代谢中产物诱变而发生突变; *mDNA*的选择压力小,因而突变容易固定下来。鸟类中,不同组织细胞的 *mDNA*具有高度的均一性,无组织特异性。因此,对任何组织取样进行 *mDNA*研究,研究结果完全代表此个体的遗传特征。这一特点便于对不同个体间的遗传差异进行研究,并且可以根据研究的对象不同选择不同的部位 *mDNA*作为标记。这些特性使得 *mDNA*成为进行鸟类研究的最适遗传标记之一^[11]。

2.4 便于非损伤性取样

细胞内线粒体有 1 000~10 000 个拷贝, *mDNA*易从组织中分离提纯,试验技术简单、方便。随着分子生物学技术的发展,正在不断拓宽 *mDNA*的来源。非损伤性取样既能满足研究的要求,又可以达到保护的目的,因此目前受到国内外的青睐^[12]。目前,人们可以利用毛发、博物馆皮张标本、乙醇或福尔马林浸泡的标本、石蜡包埋的组织、骨骼、木乃伊、化石、甚至动物粪便和尿液等材料提取 *mDNA*,并扩增出特定的 *mDNA*片段用于序列分析^[13]。这种特性为一些种类的历史分化、系统发生问题进行研究提供了有效途径。英国牛津大学的科学家最近绘制出了两种恐鸟的线粒体基因组图谱,这是人类首

次绘出一种已经灭绝的动物的线粒体全基因组图谱。恐鸟是已知鸟类中体型最大的平胸鸟,与恐鸟血缘相近的平胸鸟还有同样已经灭绝的马达加斯加象鸟。牛津大学的科学家从两种恐鸟的化石骨骼中提取出 mtDNA 进行测序,绘出了线粒体基因组图谱。此外,他们还还对马达加斯加象鸟的部分线粒体进行了测序。

3 mtDNA 作为分子标记的研究现状

mtDNA 的不同序列进化速率不同,各种基因广泛应用于鸟类的不同研究领域,另外,非损伤性取样技术的应用极大拓宽了其研究范围,目前主要有 4 个方面。

3.1 种间系统发生关系及分类上的研究

mtDNA 在系统发生学及分类学上发挥着巨大作用。根据种间的 mtDNA 的多态性分析,可以推算出系统发生学上的亲缘关系,从而为经典的形态学上难以确定的分类关系提供有价值的线索。一般认为,群体内 mtDNA 歧异程度越大,则群体年龄越大,群体中最大的 mtDNA 歧异发生的时间就代表了群体所属种的形成。种间 mtDNA 歧异程度越小说明亲缘关系越近;种间 mtDNA 歧异程度越大,说明亲缘关系越远。利用 mtDNA 对系统发生学及分类学进行研究的体系已经较成熟,可根据研究的对象与目的,选择适当的基因或其他 DNA 区域,测定目标 DNA 片段的序列。对于近缘物种的研究,应选用进化速度比较快的区域;对于远缘物种,则应选用相对保守的区域。目前,可选择用来研究的 mtDNA 片段很多,如 rRNA、12S rRNA、Cytb 和控制区等。

rRNA 基因作为新型分类标记在爬行动物中研究得比较深入,近些年才被应用于鸟类系统发生学及分类学。绝大多数鸟类线粒体基因组均包含 22 个 rRNA 基因,作为古老而具有多功能的分子,rRNA 含有生命早期的痕迹,不但 rRNA 基因的一级序列含有多态性,而且 rRNA 基因的二级结构带有剪切信号,可标记某些多顺反子,为在分子水平上研究种群遗传学和进化遗传学提供了理想的分子标记^[14]。2004年,王翔等^[15]利用 PCR 方法扩增 13 个猛禽类物种线粒体基因组中 3 个主要的 rRNA 基因簇: QM (rRNA Ile-rRNA Gln-rRNA Met)、WANCY (rRNA Trp-rRNA Leu-rRNA Ser-rRNA Cys-rRNA Tyr) 和 HSL [r-

RNA His-rRNA Ser(AGY)-rRNA Leu(CUN)], 测序后并且结合 GenBank 已登录的游隼和普通鵟相应序列,探讨猛禽类共 15 种鸟类的分子系统分化。同年,王翔等^[16]利用相同的方法对雀科 9 种鸟类进行了研究,构建了雀科 9 种鸟类的系统发育树,结果表明,黄雀与其它物种关系较远;亚科中灰头鹀与雀亚科关系最近,而小鹀与三道眉草鹀比较特化,这与根据二级结构特征得出的结论相吻合。

鸟类 12S rRNA 是一个高度保守的基因片段,通常被用于分子进化和系统发生的研究。12S rRNA 是鸟类线粒体两种 rRNA 中较小的一种,约 1 kb 为非蛋白质编码基因。1997年, Houde^[17]通过对鹤形目 17 种鸟类 12S rRNA 的研究,阐述了鹤形目 17 种鸟类的系统发生及进化情况,从而解决了鹤形目鸟类中一些一直有争议的问题。2000年,姜海英等^[18]首次对鹟科 (Muscicapidae) 画眉亚科 3 种鸟: 画眉 (*Garrulus canorus*)、红嘴相思鸟 (*Leiothrix lutea*)、棕头雅雀 (*Paradoxornis webbiana*) 和鹟亚科的乌鹟 (*Turdina merula*) mtDNA 的 12S rRNA 基因片段的 DNA 序列进行了测定,与北美画眉亚科弯嘴鹟属 (*Pamatorstomus*) 的灰冠弯嘴鹟 (*P. temporalis*) 同源序列进行分析比较并构建分子进化树,试验结果与传统形态学论述存在一定的差异,与同工酶研究结果相同。

鸟类 mtDNA 细胞色素 b 基因在系统进化和分类研究上有较强的适用性,一段较小的基因片段可能就包含着从种内到种间乃至科间的进化遗传信息,且进化速度适中,已在不少鸟类类群的系统进化和分类研究中得到了有效应用。2003年,李明等^[19]利用 NJ 法和最大简约法分析了鹟形目鸟类 977 bp 的 mtDNA 细胞色素 b 基因的部分序列,以期从 DNA 水平上阐明朱鹀的系统地位。结果两种方法得到了不同的结果,NJ 法分析得出的结果与 DNA 杂交分析结果一致,即 (鹟科,鹟科),鹟科;而最大简约法分析的结果则与形态学结果一致,即 (鹟科,鹟科),鹟科)。She Hon 等^[20]通过对燕科 17 种鸟类的 Cytb 序列分析,并与 DNA 分子杂交的结果相比较,得到了一致的燕科鸟类的系统发育关系。2004年,张保卫等^[21]通过分析 mtDNA 细胞色素 b 基因的序列,并重建鵟亚科的系统发生,鉴于黑鵟的分类归属

一直未能有定论,因此,在研究结果基础上探讨黑鵝的分类归属。Helm-Bychowski等^[22]对鸣禽类3科鸟类Cytb序列的比较结果显示,风鸟科与园丁鸟科相比更接近鸦科。2001年,李庆伟等^[23]研究了隼形目鹰科4种鸟类线粒体DNA细胞色素b基因的序列差异,构建了这4种鸟类的分子系统树,结果与化石资料和形态学研究结果相吻合。Salzburger等^[24]应用cytb序列研究了青山雀(*Parus caeruleus*)的系统关系,认为现存的青山雀应分为两个独立的种,即亚欧青山雀(*Parus caeruleus*)和非洲青山雀(*Parus teneriffae*)。以上这些都说明鸟类线粒体DNA细胞色素b基因在解决近缘分类单元的系统关系方面是最可信的分子标记之一。

mDNA控制区在系统发生学及分类学上尽管没有细胞色素b基因应用广泛,但是也发挥着重要的作用。2002年,Pitra等^[25]通过对鸚科物种的控制区、Cytb和核基因CHD的研究,研究了鸚科的起源及进化的问题,并对鸚科11个属的27个种的系统发育问题进行了分析。尚玥^[26]采用测序的方法分析了4种雉科(phasianidae)鸟类的mDNA的控制区415bp基因序列,研究了4种鸟类的遗传距离,估算了产生分歧的时间,建立了系统树。研究结果显示,在雉科系统发生中,雉属与山鹑属是近缘属;或者环颈雉与斑翅山鹑的分化较晚,关系密切,这个结论与前人得出的斑翅山鹑称为小雉的结论吻合。

3.2 鸟类分子钟上的应用

mDNA在鸟类分子钟上的应用是目前其他分子标记不可替代的。所谓进化的分子钟是指将分子系统学研究与古生物学资料相结合而建立起来的,用于推论生命史上进化事件发生的时间表。分子进化速率是相对恒定的,分子进化改变量(替换数或替换百分率)与分子进化时间成正比。因此可以通过mDNA的分子改变量估测进化的时间。通常用分子钟来推知两个物种在进化历史中发生分歧的时间。1965年Zuckerkandl和Pauling^[27]首次提出了氨基酸序列和基因序列内积累着类似于钟表的变异模式,可以通过这个模式来推算历史生物事件发生的时间。1979年,Brown等^[28]研究发现动物具有普遍一致的分子钟,并且推算出线粒体分子钟的进化

速度是100万年产生2%的序列变异。此后,很多科学家利用线粒体分子钟对鸟类历史生物事件进行了研究,如评估鸟类某一进化分枝产生变异的频率和进化的时间^[29,30];计算生物群体历史上被自然选择的时间^[31];研究冰河时期对物种形成的影响等^[32]。

随着mDNA在鸟类分子钟上的深入研究,近些年,很多科学家对线粒体分子钟的准确率产生了怀疑。因为通过研究发现很多种鸟类的线粒体分子钟偏离了100万年产生2%的序列变异^[33~36];不同基因片段的演化速率有快有慢,有的用细胞色素b作为分子标记,有的用控制区等,这就影响了分子钟的准确度^[37]。有的研究还显示鸟类近100万年的进化速度快于近100万年前的进化速度^[38];还有人认为,由于回复突变等影响,分子钟对于研究古老历史不如用近代的分析方法更为有效等^[39],这都给分子钟的应用带来问题。一些科学家用化石记载年代明确的物种来校正基因片段分子钟,然后用于计算进化时间来提高分子钟的准确性^[40],但不是所有鸟类物种都能找到化石记载对线粒体分子钟进行校正。尽管目前存在很多问题,但是,仅粗略估算鸟类历史进化时间,mDNA也是目前其它分子标记不可替代的。

3.3 地理分布区的推断研究

由于历史原因、地理变化和人为作用,很可能对现有种群产生很大影响。从目前的种群现状只能看出这些影响的结果,并不能分析具体历史事件以及其发生的时间。要对历史进化过程中的进化事件进行研究,就必须通过两个阶段取样,比较结果。通常一方面对现在的研究对象进行取样,另一方面对历史的样本进行取样,通常的方式为取博物馆或化石样本。对种群现状产生影响的因素很多,如选择、突变、近亲交配、瓶颈作用等等,但是影响最大的是瓶颈作用。分子生物学已经证实瓶颈作用对群体影响大,不但严重影响哈德伯格平衡,而且将会降低整个群体的遗传多样性。因此目前对种群历史瓶颈研究得较多。1999年,Glenn等^[41]对美洲鹤的历史瓶颈作用进行了研究。这是一个曾经经历过严重的瓶颈作用的群体,1938年这个群体只有14个成体存活下来。对历史瓶颈作用前、中和现存群体mDNA的

控制区 415 bp 基因序列进行分析显示, 153 个历史瓶颈作用前的样本仅 10 个样本有扩增产物, 产生了 10 个单元型, 而现存群体只表现出 1 个单元型, 并且认为这个单元型是历史瓶颈作用前的低频率单元型, 结合其他数据估计, 现存群体保留的单元型低于历史瓶颈作用前的三分之一。2004 年, Tiesmann 等^[42]对欧绒鸭 (*Samateriamollissima*) 历史上受到冰河作用的选择进行了研究。通过对欧洲 11 个繁殖种群的 175 只欧绒鸭 mtDNA 的控制区及 5 个微卫星的研究, 发现波罗的海种群最接近祖先种群; 冰河作用后, 欧绒鸭由经北海和法罗群岛向冰岛逐步发展, 近期长距离扩散受到了限制。

3.4 种群遗传多样性的研究

通常所说的遗传多样性是种内不同种群之间或一个种群内不同的个体的遗传变异。动物的遗传多样性是保护生物学保护的实质, 因此, 对濒危鸟类的遗传多样性的研究一直受到关注。通过 mtDNA 对鸟类进行遗传多样性研究主要有两种方式: 一种是对 mtDNA 用限制性内切酶进行酶切 (RFLP), 对酶切结果的多样性进行研究; 另一种是对 mtDNA 的某一基因或某一片段进行测序分析。利用 RFLP 对鸟类 mtDNA 的遗传多样性研究在测序技术没有出现以及没有成熟阶段发挥着巨大作用^[43, 44]。目前随着测序技术的不断成熟和成本的降低, 对 mtDNA 进行测序分析正在逐步代替 RFLP 分析。种群遗传多样性的研究主要包括两大类: 种内不同种群之间的遗传多样性比较; 一个种群内不同的个体的多样性研究。

不同种群之间的遗传多样性研究得较多, 因为这样的研究能在很大程度上了解物种的现状, 有利于建立科学的保护措施。2000 年, Pitra 等^[45]运用了多个 mtDNA 片段, 对欧洲大鸨的 6 个繁殖地的系统分化及多样性进行了研究。2004 年, Idaghdour 等^[46]研究了分布于北非大西洋海岸的波斑鸨 (*Chlamydotis undulata*) 的遗传多样性。通过对波斑鸨 3 个亚种 (*C. u. fuertaventurae*, *C. u. undulata* 和 *C. u. macqueenii*) 73 个个体 mtDNA 的控制区 854 bp 的序列分析显示, *C. u. undulata* 的遗传多样性最高, *C. u. fuertaventurae* 遗传多样性最低; *C. u. macqueenii* 介于两者之间。估计 *C. u. fuertaventurae* 和 *C. u. undulata*

是亚种 *C. u. macqueenii* 分化而来的, 并估算了分化的时间。笔者于 2007 年对大鸨两个亚种及大鸨两个亚种下多个种群的遗传多样性进行比较, 研究发现东方亚种的遗传多样性都明显低于指名亚种, 甚至低于 Madrid 种群^[47]。1993 年, Quinn 和 Wilson^[48]对雪雁控制区 178 bp 片段进行研究, 发现了雪雁的两个分支在历史上的基因流关系, 与基因组 RFLP 的分析结果是一致的。

一个种群内不同个体的遗传变异标志着这个种群的进化潜力。单独对一个种群内的个体进行研究一般是为了研究种群内细微的遗传现象, 或者是研究被隔离的种群。例如, 2001 年 Martin 等^[49]研究了西班牙中部大鸨 11 个求偶场的微地理尺度上的种群遗传结构与迁移方式。Broderick 等^[50]通过 mtDNA 片段对摩洛哥大鸨种群遗传多样性进行了研究, 发现这个种群与其他种群基因流较低。

4 结语

mtDNA 分子标记因其众多优点而在鸟类研究中得到越来越多的应用, 使人们对鸟类进化和保护的认知更具客观性。因所含基因有各自特点, 在应用时根据研究对象选取不同基因, 如鸟类种以上研究多选取 rRNA、12S rRNA 等基因, 种群研究多选取控制区。随着 mtDNA 标记研究的不断深入, 方法不断拓展, 技术日趋完善和统计分析的飞速发展, 必将在鸟类各领域的研究中得到更广泛的应用。

参考文献

- Desjardins P, Morais R. *J Mol Evol* 1990; 212: 599~ 634
- 李庆伟, 李爽, 田春宇, 等. *动物学报*, 2002, 48(5): 625~ 632
- Quinn MTW, Molecular Evolution of the Mitochondrial Genome. In Mindell DP, *Avian Molecular Evolution and Systematics* [M]. San Diego: Academic Press 1997, 5: 3~ 28
- Desjardins P, Morais R. *J Mol Evol* 1991; 32: 153~ 161
- Macey JR, Larson A, Ananjeva NB, et al. *Mol Biol Evol* 1997, 14 (1): 91~ 104
- Bensch S, Hrid A. *Mol Biol Evol* 2000, 17(1): 107~ 113
- Singh TR, Shneor O, Huchon D. *Mol Biol Evol* 2008, 25(3): 475~ 477
- Hecht W, Studies on Mitochondrial DNA in Fam Animals. In *Genome Analysis in Domestic Animals* [M]. New York: Weinheim, 1990: 259~ 268
- Berlin S, Smith NGC. *J Mol Evol* 2004, 58: 163~ 167

- 10 Brown WM, Evolution of Animal Mitochondrial DNA. In Evolution of Gene and Protein [M]. New York: Sinauer Association Inc Press, 1983, 62~88
- 11 Avise JC. *Phylogenetic Analysis of Natural Selection*. London: 1986, 312-328~334.
- 12 Taberlet P, Waits LP, Luikart G. Trends in Ecology and Evolution, 1999, 14: 323~327.
- 13 李明, 魏辅文, 饶刚, 等. 动物学报, 2001, 47(3): 338~342
- 14 Boore J. *Nucleic Acids Research*, 1999, 27: 1767~1780
- 15 王翔, 孙毅, 袁晓东, 汤敏谦, 等. 遗传学报, 2004, 31(4): 411~419.
- 16 王翔, 孙毅, 王黎, 等. 辽宁师范大学学报, 2004, 27(1): 80~86
- 17 Houde P. Phylogeny and Evolution of 12S rDNA. In Molecular Evolution and Systematics [M]. San Diego: Academic Press, 1997, 121~158
- 18 姜海英, 陆佩洪, 李悦民. 遗传, 2000, 22(1): 21~24
- 19 李明, 丁长青, 魏辅文, Hidetoshi TB. 动物分类学报, 2003, 28(1): 1~4.
- 20 Sheldon HA. *Molecular Phylogeny and Evolution*, 1999, 11(2): 320~331
- 21 张保卫, 常青, 朱立峰, 等. 动物学杂志, 2004, 39(5): 105~108
- 22 Hehn-Bychowski K, Cracraft J. *Molecular Biology and Evolution*, 1993, 6: 1196~1214.
- 23 李庆伟, 田春宇, 李爽. 遗传, 2001, 23(6): 529~534
- 24 Salzburger W, Martens J, Stumbauer C. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2002, 24(1): 19~25.
- 25 Pitra C, Lieckfeldt D, Frahnert S, et al. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2002, 23(1): 63~74
- 26 尚玥. 辽宁大学学报(自然科学版), 2003, 30(3): 275~280.
- 27 Zuckerkandl E, Pauling L. Evolutionary Divergence and Convergence in Proteins [M]. Bryson V, Vogel HJ. *Evolution of Genes and Proteins*. New York: Academic Press, 1965, 97~166
- 28 Brown W, George M, Wilson AC. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979, 76: 1967~1971
- 29 Sato A, Tidy H, O'hegan C, et al. *Mol Biol Evol*, 2001, 18: 299~311.
- 30 Bakwin BG, Sanderson MJ. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, 95: 9402~9406
- 31 Cooper A, Penny D. *Science*, 1997, 275: 1109~1113.
- 32 Klicka J, Zink RM. *Science*, 1997, 277: 1666~1669.
- 33 Lambert DM, Ritchie PA, Miller CD, et al. *Science*, 2002, 295: 2270~2273.
- 34 Warren BH, Bermingham E, Bowler RCK, et al. *Mol Phylogeny Evol*, 2003, 29: 67~85.
- 35 Tarr CL, Fleischer RC. *Auk*, 1993, 110: 825~831.
- 36 Nunn GB, Stanley SE. *Mol Biol Evol*, 1998, 15: 1360~1371.
- 37 Ruokonen M, Kvist L. *Mol Phylogeny Evol*, 2002, 23: 422~432
- 38 García-Moreno J. *J Avian Biol*, 2004, 35: 465~468
- 39 Gibbons A. *Science*, 1998, 280(1): 675~676
- 40 Strauss E. *Science*, 1999, 283(5): 1435~1438
- 41 Glenn TC, Stephan W, Braun MJ. *Conservation Biology*, 1999, 13: 1097~1099.
- 42 Tiedemann R, Paulus KB, Scheer M, et al. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 1481~1494
- 43 Dittmann DL, Zink RM. *The Auk*, 1991, 108: 771~779
- 44 Ball M. *Biology and Evolution*, 1992, 4: 514~525
- 45 Pitra C, Lieckfeldt D, Alonso C. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 1165~1170.
- 46 Idaghdour Y, Broderick D, Korrida A, Chbel F. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 43~54
- 47 刘铸, 田秀华, 白素英. 生态学报, 2007, 27(6): 2435~2442
- 48 Quinn TW, Wilson AC. *J Mol Evol*, 1993, 39: 417~425.
- 49 Martin CA, Alonso JC, Alonso J. *Proc Biol Sci*, 2002, 269(1487): 119~125.
- 50 Broderick D, Idaghdour Y, Korrida A, Helmich J. *Conservation Genetics*, 2003, 4(6): 793~800