

大壁虎不同地理居群的遗传变异与分化

秦新民^{1,*}, 曾振华¹, 梁燕妮²

(1. 广西师范大学 生命科学学院, 广西 桂林 541004; 2. 桂林医学院, 广西 桂林 541004)

摘要: 以线粒体细胞色素 *b* (Cyt *b*) 基因作为分子标记, 对中国广西 12 个地区, 以及越南和老挝大壁虎 (*Gekko gecko*) 进行序列测定, 获得 Cyt *b* 基因 424 bp 的序列片段, 共有 7 个单倍型。以白脊壁虎和沙虎为外群, 用邻接法和最大简约法构建了大壁虎不同地理种群的系统发育关系, 其结果显示中国广西 4 个不同单倍型黑大壁虎之间的平均遗传距离为 0.20%—1.20%, 越南红大壁虎与老挝红大壁虎之间的平均遗传距离为 0.50%, 广西南明红大壁虎与越南红大壁虎和老挝红大壁虎之间平均遗传距离分别为 1.70% 和 2.20%。广西黑大壁虎种群与红大壁虎种群之间的平均遗传距离为 8.60%—9.50%, 达到了亚种或种分化的差异。

关键词: 大壁虎; 遗传变异; 遗传分化; 细胞色素 *b* 基因

中图分类号: Q951.3; Q959.62; Q349 **文章标识码:** A **文章编号:** 0254–5853 (2007) 03–0286–05

Genetic Variation and Differentiation of *Gekko gecko* from Different Population

QIN Xin-min^{1,*}, ZENG Zhen-hua¹, LIANG Yan-ni²

(1. College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004, China;

2. Guilin Medical College, Guilin 541001, China)

Abstract: Samples of *Gekko gecko* were collected from 12 areas of Guangxi China, Vietnam and Laos. Four hundred and twenty four base pairs of *G. gecko* mitochondrial Cyt *b* gene were sequenced and seven haplotypes were found. *Gekko vittatus* and *Teratoscincus keyserlingii* acting as outgroups, the phylogenetic trees of the *G. gecko* constructed using NJ and MP methods showed that the average genetic distances were: 0.20%–1.20% between four haplotypes of black *G. gecko* from Guangxi China; 0.50% between Vietnamese and Laotian red *G. gecko*; 1.70% between Ningming and Vietnamese red *G. gecko*; 2.20% between Guangxi and Laotian red *G. gecko*; 8.60%–9.50% between black *G. gecko* from Guangxi and all red *G. gecko*. The genetic difference of black and red *G. gecko* reached the species or subspecies differentiation.

Key words: *Gekko gecko*; Genetic variation; Genetic Differentiation; Cytochrome *b* gene

大壁虎 (*Gekko gecko*) 隶属壁虎科 (Gekkonidae) 壁虎属 (*Gekko*) 动物, 别名蛤蚧, 主要生活在北回归线附近的亚热带石灰岩地区, 包括中国的华南, 以及印度、缅甸、泰国、越南、马来西亚、印度尼西亚等东南亚诸国。在中国以广西分布最多, 现为中国二级保护动物和广西一级保护动物。

大壁虎是 1758 年 Linnaeus 根据印度尼西亚爪哇的标本定名。Cohen (1967) 对大壁虎的染色体核型进行研究, Wu & Zhao (1984) 对广西的大壁

虎进行了分析, 并与 Cohen 报道的核型进行了比较, 发现两者有一定的差异, 前者的第 15 对染色体是端着丝粒染色体; 后者为亚端着丝粒染色体。作者认为: 根据有性生殖的染色体机制, 这种细胞水平上的改变可能是它们分化达到了种一级的重要证据; 但遗憾的是 Cohen 所采用的材料产地未标明。Zhang et al (1997) 对中国广西大壁虎与东南亚的大壁虎在体型、体色、斑点等方面的差异进行了比较, 产于中国华南及越南北部的大壁虎体型

* 收稿日期: 2006–12–18; 接受日期: 2007–03–23

基金项目: 广西教育厅科研项目 (200509019); 广西高校博士点建设基金资助项目 (XKY2006ZD03)

* 通讯作者 (Corresponding author), 男, 教授, 博士, 主要从事分子系统学研究。E-mail: xmqin@mailbox.gxnu.edu.cn

较细, 体色较深, 色斑较杂, 称为黑蛤蚧, 而东南亚及南亚大部分地区出产的大壁虎则体型粗壮, 体重较大, 体色较浅, 具有醒目的红色斑点, 称为红蛤蚧。Liu et al (2000) 通过测定黑蛤蚧的线粒体 12S rRNA 基因片段序列, 检测到蛤蚧有种内差异, 分为两种单倍型, 其差异为 5.20%。结合染色体组型上的微小差异, 对这样的种内差异是否可能达到亚种级水平提出了疑义。最近, Han & Zhou (2005) 对蛤蚧线粒体基因组全序列及其结构进行了报道, 为开展蛤蚧的分子系统学提供了基础。

本文对产于中国广西 12 个不同地理区域以及越南和老挝的大壁虎进行 Cyt b 基因部分序列进行分析, 目的在于探讨不同地理种群大壁虎的遗传变异以及探讨红蛤蚧与黑蛤蚧的分类学意义。

1 材料与方法

1.1 材料

实验材料分别取自中国广西的 12 个地理地区和越南、老挝 (表 1)。取其尾部肌肉, 置 -70℃ 冰箱保存备用。

1.2 DNA 的提取、PCR 扩增和测序

基因组 DNA 的提取用改进的 SDS/蛋白酶 K 方法 (Wang et al, 2001)。

PCR 扩增的目的片段为 mtDNA 细胞色素 b 编码区中约 424 bp 的一段序列。扩增引物序列为: primer1: 5' - CATGATGAACTTTGGCTCACTAC - 3', primer2: 5' - AGAATCGGTTTAATGTTGGATTGT - 3', 引物由上海生工生物工程有限公司合成。

PCR 反应体积为 25 μ L, 其中含模板 DNA 约

25 ng, 10 \times PCR 缓冲液 2.5 μ L, 2.5 mmol/L MgCl₂ 2.0 μ L, 10 mmol/L dNTP 2 μ L, 10 pmol/L 上、下游引物各 2 μ L, Taq DNA 聚合酶 2 U, 加 dd H₂O 补足 25 μ L, 以 dd H₂O 作对照。样品于 PCR 扩增仪中扩增, 94℃ 预变性 5 min 后进入循环: 94℃ 变性 1 min、50℃ 退火 50 s、72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环, 最后 1 个循环 72℃ 延伸 10 min。PCR 产物经 DNA 纯化试剂盒纯化后, 由上海生工生物技术有限公司进行测序, ABI377 测序仪, 双向测序。

1.3 DNA 序列数据处理

双向测序后得到的结果用 CLUSTAL 软件结合人工调整对所测 DNA 序列进行排序, 获得了 Cyt b 基因 424 bp 的一致序列, 并从 GenBank 中下载沙虎 (*Teratoscincus keyserlingii*, NC007008, 本文中代号为 SH) 和壁虎属的白脊壁虎 (*Gekko vittatus*, NC008772, 本文中代号为 GV) Cyt b 基因的同源序列为外群。用 MEGA3.1 软件分析碱基组成及其含量、变异位点和种群间的遗传距离 (p-distance)。构建 NJ 和 MP 分子系统树, 系统树中各结点的置信度用自引导值 (Bootstrap value) 估计支持率, 1000 次重复检验。

2 结果

2.1 Cyt b 基因部分序列的组成及变异

本实验测定了 29 条中国广西、越南和老挝大壁虎的线粒体 DNA Cyt b 基因部分序列, 所检测样品的 Cyt b 基因片段的长度均为 424 bp。该序列均富含碱基 A 和 T。其中广西黑蛤蚧的 T、C、G、A 含量的平均值分别为 27.0%、28.5%、15.5%、

表 1 本研究中的大壁虎样品采集地点、采集时间、单倍型及 GenBank 检索号
Tab. 1 Sampling sites, Haplotypes and GenBank Accession numbers in the present study

采集地点 Sampling site	单倍型 Haplotype	数量 Number	采集时间 Collection date	GenBank 检索号 Accession number	类型 Type
中国广西百色平果县 Pingguo county, Baise, Guangxi, China	BS	2	2005-09	EF174457	黑蛤蚧
中国广西河池都安县 Duan county, Hechi, Guangxi, China	BS	2	2004-08	EF174457	黑蛤蚧
中国广西桂林平乐县 Pingle county, Guilin, Guangxi, China	PL	2	2004-08	EF174459	黑蛤蚧
中国广西贺州昭平县 Zhaoping county, Hezhou, Guangxi, China	LZ	2	2004-06	EF174458	黑蛤蚧
中国广西崇左扶绥县 Fusui county, Chongzuo, Guangxi, China	LZ	2	2004-08	EF174458	黑蛤蚧
中国广西贵港桂平县 Guiping county, Guigang, Guangxi, China	LZ	2	2005-09	EF174458	黑蛤蚧
中国广西百色德保县 Debao county, Baise, Guangxi, China	LZ	2	2004-06	EF174458	黑蛤蚧
中国广西柳州忻城县 Xincheng county, Liuzhou, Guangxi, China	LZ	3	2004-09	EF174458	黑蛤蚧
中国广西来宾合山县 Heshan county, Laibin, Guangxi, China	LZ	2	2006-06	EF174458	黑蛤蚧
中国广西贵港覃塘区 Qintang county, Guigang, Guangxi, China	LZ	2	2005-08	EF174458	黑蛤蚧
中国广西钦州上思县 Shangsi county, Qinzhou, Guangxi, China	QZ	2	2005-05	EF174456	黑蛤蚧
中国广西南宁宁明县 Ningming county, Nanning, Guangxi, China	NN	2	2006-07	EF174455	红蛤蚧
越南凉山 Liangshan, Vietnam	YN	2	2006-06	EF174460	红蛤蚧
老挝孟威 Mengwei, Laos	LW	2	2006-07	EF174454	红蛤蚧

29.1%；越南红蛤蚧为 30.0%、26.2%、14.6%、29.2%；老挝红蛤蚧为 30.0%、26.2%、14.6%、29.2%；广西南明红蛤蚧为 30.0%、25.9%、14.9%、29.2%。蛤蚧不同种群 *Cyt b* 基因片段中 A+T 含量明显高于 G+C 含量。对 29 个个体的 *Cyt b* 基因片段序列分析，共发现了 7 种单倍型，广西昭平、扶绥、德保、忻城、合山、桂平、贵港种群共享一种单倍型 (LZ)，平乐和都安种群为同一单倍型 (BS)，平乐和上思县种群各具一种单倍型，广西南明、越南和老挝的红蛤蚧也各具一种单倍型 (表 1)。

另外，在 7 个单倍型序列中共检测到变异位点 43 个，其中黑蛤蚧 4 个单倍型占 6 个，红蛤蚧 3 个单倍型占 39 个。序列间的碱基替换和序列差异百分比统计 (表 2) 表明，广西 4 个黑蛤蚧单倍型之间没有出现碱基的颠换，碱基转换数很低，在 1—5 个之间。3 个红蛤蚧单倍型之间的碱基转换和颠换也比较低，分别为 2—8 个和 0—1 个。但黑蛤蚧与红蛤蚧之间的碱基转换和颠换较高，分别达到

29—32 个和 5—6 个。

2.2 系统树的构建

将蛤蚧 7 个单倍型序列与 GenBank 中查到的沙虎 (*T. keyserlingii*) 和白脊壁虎 (*G. vittatus*) 的 *Cyt b* 同源序列构建 NJ 和 MP 分子系统树 (图 1)。在 NJ 树中广西 4 个单倍型聚成为一支，其中柳州与平乐种群首先相聚，然后与百色和钦州种群相聚。红蛤蚧 3 种单倍型中，首先是越南红蛤蚧与老挝红蛤蚧相聚，然后再与南明红蛤蚧聚一支。MP 树与 NJ 树结果基本一致，差别仅是越南红蛤蚧先与广西南明红蛤蚧相聚，再与老挝红蛤蚧相聚。

3 讨论

线粒体 DNA 比核 DNA 进化快 (Brown et al, 1979)，*Cyt b* 基因在线粒体基因组中进化速度适中，较短的 1 个片段就能包含从种下水平到属水平乃至纲水平的系统发育信息 (Meyer & Wilson, 1990)。近年来，应用线粒体 *Cyt b* 基因序列已成功地探讨了不同动物系统发生关系 (Zhang, 1997；

表 2 大壁虎 *Cyt b* 基因序列遗传距离 (下三角) 以及序列间的转换、颠换数 (上三角)

Tab. 2 Genetic distances between pairwise sequence of *Gekko gekko* *Cyt b* gene (below diagonal) and numbers of transition/transversion (above diagonal)

OUT	LZ	PL	BS	QZ	NN	YN	LW	SH	GV
LZ		1/0	3/0	2/0	30/6	29/5	29/5	52/64	61/43
PL	0.002		4/0	3/0	31/6	30/5	30/5	53/64	62/43
BS	0.007	0.010		5/0	31/6	32/5	32/5	55/64	60/43
QZ	0.005	0.007	0.012		30/6	29/5	29/5	52/64	59/43
NN	0.092	0.095	0.095	0.092		6/1	8/1	55/64	58/47
YN	0.086	0.089	0.095	0.086	0.017		2/0	56/63	60/46
LW	0.086	0.089	0.095	0.086	0.022	0.005		56/63	60/46
SH	0.342	0.346	0.354	0.342	0.354	0.354	0.354		52/55
GV	0.303	0.307	0.299	0.295	0.305	0.310	0.310	0.310	

以单倍型进行统计 (LZ: 柳州, PL: 平乐; BS: 百色; QZ: 钦州; NN: 南宁; YN: 越南; LW: 老挝; SH: 沙虎; GV: 白脊壁虎)。

Statistic with haplotypes (LZ: Liuzhou; PL: Pingle; BS: Baise; QZ: Qinzhou; NN: Nanning; YN: Vietnam; LW: Laos; SH: *E. egregius*; GV: *G. vittatus*)

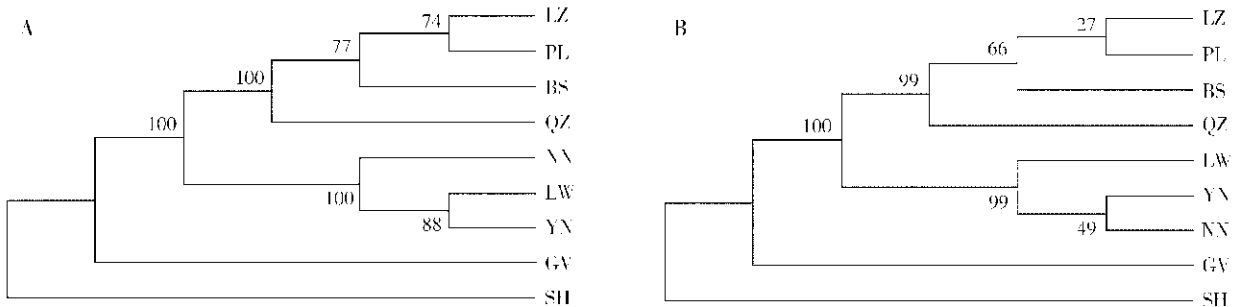


图 1 基于大壁虎 *Cyt b* 基因片段构建的 7 种单倍型的分子系统发生树

Fig. 1 Phylogenetic trees of seven haplotypes based on *Gekko gekko* *Cyt b* sequence data

A: NJ 树 (NJ tree); B: MP 树 (MP tree)。

图中字母含义同表 2 (The letters in the Fig. 1 are as in Tab. 2)。

Tanaka et al, 1996; Yang et al, 2004; Tao et al, 2006)。一些用传统的分类方法很难界定的物种, 通过分子系统学的方法得到解决 (Zhou et al, 2003; Wang et al, 2004)。

从形态上说, 传统分类认为蛤蚧可分为黑蛤蚧和红蛤蚧, 且这两种蛤蚧地理分布的区域性很明显 (Zhang et al, 1997)。黑蛤蚧主要分布在中国的广西和云南的南部及越南与中国接壤的北部地区。红蛤蚧则分布东南亚地区。一些研究者对黑蛤蚧与东南亚红蛤蚧在染色体、体型、体色、斑点等方面的差异是否已达到亚种分化水平的问题一直存在疑义 (Wu & Zhao, 1984; Wang et al, 1989; Zhang et al, 1997)。Liu et al (2000) 对广西和云南蛤蚧 12S rRNA 基因片段分析, 检测到 2 种单倍型, 其差异达到 5.20%。最近, Zhang et al (2006) 对广西大新县的黑蛤蚧与越南红蛤蚧 12S rRNA 基因片段比较, 发现红蛤蚧之间变异范围为 1.18%—1.91%, 黑蛤蚧之间为 2.36%—3.64%, 黑蛤蚧与红蛤蚧之间为 4.81%—6.73%。利用 Cyt *b* 序列在种群的遗传变异和进化研究以及种和种下阶元的分类鉴定方面比 12S rRNA 基因更加有效。Pirounakis et al (1998) 对膜翅目蜜蜂 *Bombus pascuorum* 进行遗传变异研究时, 通过 Cyt *b* 基因序列差异区分了阿尔卑斯地区 *Bombus pascuorum* 的地理亚种。Birungi & Arctander (2000) 以 Cyt *b* 基因为分子标记, 研究白纹伊蚊 (*Aedes albopictus*) 种群的遗传结构, Fernando et al (1999) 利用 Cyt *b* 基因序列推导 *Triatoma infestans* 9 个地理种群的遗传结构以及它们与 *T. melanosome* 和 *T. brasiliensis* 的系统发育关系, 同时确立了 *T. melanosome* 的物种

地位。Li et al (1998) 利用 Cyt *b* 基因片段序列探讨了马鹿 (*Cervuselaphus*) 4 个亚种的起源和遗传分化问题, 结果表明马鹿各亚种的 DNA 差异都达到了亚种分化水平。Butorna et al (2000) 通过 Cyt *b* 序列差异分析证实猫头鹰 *Strix aluco* 和 *Strix butleri* 是 2 个截然不同的种。最近 Wang et al (2006) 用 Cyt *b* 序列对中国斑鳅 6 个群体进行了遗传变异研究, 结果表明我国斑鳅不同地理群体间已产生明显的遗传分化。

本文对广西境内产蛤蚧的 8 个地区进行了取材, 通过对蛤蚧 7 种单倍型比较, 广西黑蛤蚧 4 个单倍型之间的变异范围为 0.20%—1.20%, 红蛤蚧 3 个单倍型之间的变异范围为 0.50%—2.20%, 而黑蛤蚧与红蛤蚧之间的差异达 8.60%—9.50%。结果表明黑蛤蚧和红蛤蚧之间产生了明显的遗传变异和分化。蛤蚧与同属的白脊壁虎之间的差异为 29.5%—31.0% (而蛤蚧与沙虎之间的差异达到 34.2%—35.4%)。从 NJ 和 MP 系统发育树来看, 4 种单倍型的黑蛤蚧聚为 1 支, 3 个不同地理区域的红蛤蚧聚为 1 支, 汇合后与同属的白脊壁虎相聚, 然后再与沙虎属的沙虎相聚。对其他一些动物的 Cyt *b* 基因序列的分析表明, 种内个体间的序列差异一般在 0%—4.06%, 差异超过 6% 的个体间已有明显的亚种或种的分化 (Cao et al, 2002; Yang et al, 2001)。根据本研究结果, 黑蛤蚧与红蛤蚧 Cyt *b* 基因的差异程度达到 8.60%—9.50%, NJ 和 MP 系统发育树也显示黑蛤蚧与红蛤蚧明显分为二支, 以及两者形态方面存在明显的差异, 支持黑蛤蚧与红蛤蚧之间的分化可能已经达到亚种水平的观点。

参考文献:

- Birungi J, Arctander P. 2000. Large sequence of mitochondrial DNA genotypes of the control region within population of the *Aedes albopictus* [J]. *Mol Ecol*, 9 (12): 1997-2008.
- Brown M, George MJ, Wilson AC. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 76 (4): 1967-1971.
- Butorina OT, Seibold I, Helbig A, Solovenchuk LL. 2000. Evolution of mitochondrial DNA cytochrome *b* gene in Tetraonidae birds [J]. *Genetika*, 36 (7): 925-931.
- Cao XR, Shu FY, Zhang XR, Bi CM, Li ZJ, Hu J, Feng JY. 2002. Phylogenetic relationships of *Elaphodus cephalophus* and three *Muntiacus* species revealed by mitochondrial cytochrome *b* nucleotide sequence [J]. *Acta Zool Sin*, 48 (1): 44-49. [曹祥荣, 束峰珏, 张锡然, 毕春明, 李朝军, 胡均, 方笈阳. 2002. 毛冠鹿与 3 种属属动物的线粒体细胞色素 *b* 的系统进化分析. 动物学报, 48 (1): 44-49.]
- Cohen MM. 1967. The somatic chromosomes of lizard species: *Gekko gekko*, *Iguana iguana* and *Crotaphytus collars* [J]. *Experientia*, 23 (8): 769-771.
- Fernando AM, Ruben P, Francisco P. 1999. Mitochondrial DNA variation of *Triatoma infestans* populations and its implication on the specific status of *T. melanosome* [J]. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 94 (Suppl): 229-238.
- Han DM, Zhou KY. 2005. Complete sequence and gene organization of the mitochondrial genome of Tokay (*Gekko gekko*) [J]. *Zool Res*, 26 (2): 123-128. [韩德民, 周开亚. 2005. 大壁虎线粒体基因组全序列及其结构. 动物学研究, 26 (2): 123-128.]
- Li M, Wang XM, Sheng HL, Tamate H, Masuda R, Nagata J, Ohtaiishi

- N, 1998. Origin and genetic diversity of four subspecies of red deer (*Cervus elaphus*) [J]. *Zool Res*, **19** (3): 177-183. [李明, 王小明, 盛和林, 玉手英利, 增田隆一, 永田纯子, 大泰司纪之. 1998. 马鹿四个亚种的起源和遗传分化研究. *动物学学报*, **19** (3): 177-183.]
- Liu ZQ, Wang YQ, Zhou KY, Han DM. 2000. Two haplotypes of *Gekko gekko* on the mitochondrial 12S rRNA gene sequences [J]. *J Anhui Normal Univ* (Natural Science), **23** (4): 339-350. [刘忠权, 王义权, 周开亚, 韩德民. 2000. 大壁虎线粒体 12S rRNA 基因片段的两种单倍型. *安徽师范大学学报 (自然科学版)*, **23** (4): 339-350.]
- Meyer A, Wilson AC, 1990. Origin of tetrapods inferred from their mitochondrial DNA affiliation to lungfish [J]. *J Mol Evol*, **31**: 359-364.
- Pirounakis K, Stellak K, Paul SH. 1998. Genetic variation among European populations of *Bombus pascuorum* (Hymenoptera, Apidae) from mitochondrial DNA sequence data [J]. *Eur J Entomol*, **95** (1): 27-33.
- Tanaka T, Matsui M, Tananaka O. 1996. Phylogenetic relationships of Japanese brown frogs (*Rana*: Ranidae) assessed by mitochondrial cytochrome *b* gene sequences [J]. *Bioch Syst Ecol*, **24** (4): 299-307.
- Tao FY, Wang XM, Zheng HX. 2006. Analysis of complete Cytochrome *b* sequences and genetic relationship among Chinese giant salamanders (*Andrias davidianus*) from different areas [J]. *Acta Hydrobiol Sin*, **30** (5): 625-628. [陶峰勇, 王小明, 郑合勋. 2006. 中国大鲵五地理种群 Cyt *b* 基因全序列及其遗传关系分析. *水生生物学报*, **30** (5): 625-628.]
- Wang RF, Ma K, Shi LM, He WS. 1989. Studies on the mitotic karyotype and synoptoneal complex of *Gekko gekko* [J]. *Zool Res*, **10** (4): 271-275. [王蕊芳, 马昆, 施立明, 贺维顺. 1989. 大壁虎的染色体及减数分裂联会复合体的研究. *动物学研究*, **10** (4): 271-275.]
- Wang WW, Zhao JL, Li SF, 2006. Genetic variation of the mitochondrial DNA Cyt *b* among six populations of *Siniperca scherzeri* in China [J]. *Zool Res*, **27** (6): 589-593. [王伟伟, 赵金良, 李思发. 2006. 我国斑鳅六个群体 mtDNA Cyt *b* 序列的遗传变异. *动物学研究*, **27** (6): 589-593.]
- Wang YQ, Xu QS, Peng XX, Zhou HT. 2004. Taxonomic status of amphioxus *Branchiostoma belcheri* in Xiamen Beach estimated by homologous sequence of Cyt *b* gene [J]. *Acta Zool Sin*, **50** (2): 202-208. [王义权, 许群山, 彭宣宪, 周函韬. 2004. 通过 Cyt *b* 基因同源序列比较评价厦门文昌鱼的分类地位. *动物学报*, **50** (2): 202-208.]
- Wang YQ, Wang XG, Xu LX, Zhang ZB. 2001. A new rapid method for extraction of high quality of genomic DNA from animal tissues [J]. *Chn J Zool*, **36** (1): 27-29. [汪永庆, 王新国, 徐来祥, 张知彬. 2001. 一种动物基因组 DNA 提取方法的改进. *动物学杂志*, **36** (1): 27-29.]
- Wu GF, Zhao EM. 1984. The chromosome karyotype analysis of *Gekko gekko* and *G. swinhonis* [J]. *Journal of Amphib Rept Fauna*, **3** (2): 61-64. [吴贯夫, 赵尔宓. 1984. 大壁虎和蹼趾壁虎的染色体组型分析. *两栖爬行动物学报*, **3** (2): 61-64.]
- Yang YH, Zhang DX, Li YM, Ji YJ. 2004. Mitochondrial DNA diversity and preliminary biogeographic inference of the evolutionary history of the black spotted pond frog *Rana nigromaculata* population in China [J]. *Acta Zool Sin*, **50** (2): 193-201. [杨玉慧, 张德兴, 李义明, 吉亚杰. 2004. 中国黑斑蛙种群的线粒体 DNA 多样性和生物地理演化过程的初探. *动物学报*, **50** (2): 193-201.]
- Yang XG, Wang YQ, Zhou KY, Liu ZQ. 2001. Phylogenetic relationships of Chinese Brown Frogs (*Rana*) based on sequence of mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. *Zool Res*, **22** (5): 345-350. [杨学干, 王义权, 周开亚, 刘中权, 2001. 从细胞色素 *b* 基因序列探讨我国林蛙属动物的系统发生关系. *动物学研究*, **22** (5): 345-350.]
- Zhang QQ, Tang YZ, Huang YC, Zeng FH. 1997. The basic study on geographic variation of gecko [J]. *Chn J Anim*, **32** (5): 44-46. [张青青, 唐业忠, 黄永成, 曾繁海. 1997. 蛤蚧地理变异的初步研究. *动物学杂志*, **32** (5): 44-46.]
- Zhang YP. 1997. Mitochondrial DNA sequence evolution and phylogenetic relationships of gibbons [J]. *Acta Genet Sin*, **24** (3): 231-237. [张亚平. 1997. 长臂猿的 DNA 序列进化及其系统发育研究. *遗传学报*, **24** (3): 231-237.]
- Zhang YY, Mo XC, Zeng WM, Hu DN. 2006. A molecular phylogeny of red Tokay and black Tokay (*Gekko gekko*) based on mitochondrial 12S rRNA gene sequences [J]. *Guangxi Med J*, **28** (6): 793-796. [张月云, 莫新春, 曾维铭, 胡东南. 2006. 从 12S rRNA 基因序列分析黑蛤蚧和红蛤蚧的进化关系. *广西医学*, **28** (6): 793-796.]
- Zhou CQ, Zhou KY, Hu JC. 2003. The validity of the bharal (*Pseudois schaeferi*) species status inferred from mitochondrial Cyt *b* gene [J]. *Acta Zool Sin*, **49** (5): 578-584. [周材权, 周开亚, 胡锦涛. 从线粒体细胞色素 *b* 基因探讨矮岩羊物种地位的有效性. *动物学报*, **49** (5): 578-584.]