

利用CoI基因序列对雀科鸟类的分子系统发育关系初探

梁刚¹, 李涛^{1,2}, 尹祚华², 雷富民^{2,*}

(1. 陕西师范大学 生命科学学院, 西安 710062; 2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘要: 基于线粒体 DNA (mtDNA) 中 CoI 基因的部分序列 (1300 bp) 对雀形目雀科 (Fringillidae) 36 种鸟类进行系统发育分析。对数据集构建 NJ 树、Bayes 树和 ML 树。对建树结果进行分析, 发现铁爪鹀 (*Calcarius lapponicus*) 与鹀属 (*Emberiza*) 鸟类的亲缘关系比其他雀科的鸟类更近; 支持蓝鹀 (*Latoucheornis siemsseni*) 隶属于鹀属的观点; 证实了黄颈拟蜡嘴雀 (*Mycerobas affinis*) 与黑尾蜡嘴雀 (*Eophona migratorius*) 之间紧密的亲缘关系; 发现长尾雀 (*Uragus sibiricus*) 和朱鹀 (*Urocynchramus pylzowi*) 之间亲缘关系很远, 而与朱雀属 (*Carpodacus*) 有较近的亲缘关系; 结果支持雀类与鹀类的亚科级分类水平。

关键词: 雀科; 雀类; 鹀类; CoI 基因; 系统发育

中图分类号: Q959.739; Q951.3 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853-(2008)05-0465-011

Molecular Phylogenetic Analysis of Some Fringillidae Species Based on Mitochondrial CoI Gene Sequences

LIANG Gang¹, LI Tao^{1,2}, YIN Zuo-hua², LEI Fu-min^{2,*}

(1. College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China;

2. Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: Phylogenetic relationships of 36 Fringillidae species based on mitochondrial CoI gene sequences were reconstructed using the Bayesian (BI) maximum-likelihood (ML) and Neighbor-joining (NJ) methods. The results suggest that the relationship of *Calcarius lapponicus* and *Emberiza* is more closely related than other Fringillidae species. Our results support the view that *Latoucheornis siemsseni* is included in Genus *Emberiza* as *E. siemsseni*, and confirms that there is a close relationship between *Mycerobas affinis* and *Eophona migratorius*. This study also finds that *Urocynchramus pylzowi* is distantly related to *Uragus sibiricus*, but *Uragus sibiricus* and *Carpodacus* are closely related. The result also supports that fringillids and emberizids can be listed into two subfamilies under the family Fringillidae: Fringillinae and Emberizinae.

Key words: Fringillidae; Fringillids; Emberizids; CoI gene; Phylogeny

雀科 (Fringillidae) 隶属于雀形目 (Passeriformes) (Cheng, 2000), 是鸟纲中种类数繁多的一科, 约占现存鸟类物种总数的10% (Yuri & Mindell, 2002)。世界雀科的鸟类共有152属677种, 我国有21属86种123亚种 (Fu et al, 1998)。目前国内外对雀科的分系统仍不统一, 国外多采用 Sibley & Ahlquist (1990)、Sibley & Monroe (1993) 基于 DNA 分子杂交结果建立的分系统。在该分系统中, 雀科分为橄榄色森莺亚科 (Peucedraminae)、雀亚

科 (Fringillinae)、鹀亚科 (Emberizinae)。雀亚科分成燕雀族 (*Fringillini*)、金翅雀族 (*Carduelini*)、管舌鸟族 (*Drepanidini*); 鹀亚科分为鹀族 (*Emberizini*)、森莺族 (*Parulini*)、唐纳雀族 (*Thraupini*)、主红雀族 (*Cardinalini*) 和拟黄鹀族 (*Icterini*)。其他学者的研究 (Lovette & Bermingham, 2000; Yuri & Mindell, 2002) 也大体支持 Sibley & Ahlquist (1990)、Sibley & Monroe (1993) 的分类观点。国内多以郑作新 (1994, 2000,

收稿日期: 2008-04-09; 接受日期: 2008-07-17

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (NSFC30670276); 中国科学院三期创新领域前沿项目 (KSCX2-YW-N-063)

*通讯作者 (Corresponding author), E-mail: leifm@ioz.ac.cn

2002)的分类系统为依据。Cheng (2002)将雀科分为雀亚科、鹁亚科、锡嘴雀亚科(*Coccothraustinae*)。在Sibley & Monroe (1993)分类系统中,蜡嘴雀属(*Eophona*)、锡嘴雀属(*Coccothraustes*)、拟蜡嘴雀属(*Mycerobas*)被置于雀亚科的金翅雀族中。而Cheng (2002)的分类系统中,这三个属从雀亚科中移出,单独列为锡嘴雀亚科。最近,Zheng et al (2002)、Howard & Moore (2003)提出将雀亚科和鹁亚科的分类提升到科级水平。此外,Howell et al (1968)也曾建议设立金翅雀亚科(*Carduelinae*)。

线粒体DNA中的细胞色素c氧化酶亚基I (cytochrome oxidase subunit I, CoI)基因是用于研究DNA条形码编码所选用的主要基因之一,利用CoI简短的标准化DNA片段(648 bp)可以进行物种鉴定(Hajibabaei et al, 2006),因此CoI基因被认为是一个很好的物种鉴定工具(Xiao et al, 2004; Schindel & Miller, 2005)。CoI基因在国际上已经被广泛运用于鸟类的分类与系统发育关系研究(Hebert et al, 2004; Weibel & Moore, 2002; Webb & Moore, 2005);但国内在这方面应用相对较少,仅Liang et al (2007)对15种雀形目鸟类和Lei et al (2007)对鹁亚科部分属、种的分类及系统发育关系研究,以及Zhang et al (2008)对伯劳科部分鸟类的分类地位探讨。

雀科分类系统中存在的争议,主要是由于雀科内的系统发育关系仍未有统一的认识。雀科进化过程中,出现了快速辐射和频繁的平行、趋同进化等现象,使得雀科缺少典型的特征来被区别(Raikow, 1978)。本文以郑作新的分类系统(Cheng, 1994, 2000)作为选样标准,选取了雀科13属36种鸟类作为研究对象,利用线粒体DNA中的CoI基因1 300bp序列,通过距离法、贝叶斯法和最大似然法分别构建NJ树、Bayes树和ML树,旨在为解决雀科系统发育关系中的争议提供一些分子生物学依据。

1 材料与方法

1.1 样品

本实验使用了36个样品,代表了雀科13属36种(表1)。以上样品均采自野外,保藏于中国科学院动物研究所鸟类标本馆。外群序列来自GenBank和本文提供。

1.2 方法

1.2.1 总DNA的提取 样品浸泡于无水乙醇中,存于-20℃冰箱。提取过程严格按照美国QIAGene公司的DNA提取试剂盒(Qiagen Tissue DNA Kit)的说明书进行操作。提取后,用1%的琼脂糖凝胶电泳检测其质量,后放入4℃备用,或-20℃保存。

1.2.2 PCR扩增 目的基因片段CoI的扩增选用的引物对是:H7956(5'-GGGTAGTCCGAGTATCGTCG-3')和L6615(5'-CCTCTATAAAAAGGTCTACAGCC-3')(Sorenson et al, 1999)。其中L代表轻链;H代表重链;序列的顺序均为5'到3'方向。先用20 μL PCR反应体系摸索反应条件。然后用50 μL PCR反应体系进行PCR扩增,反应体系如下:10×buffer 5 μL、25 mmol/L MgCl₂ 25 μL、Taq DNA聚合酶0.5U、2 mmol/L dNTP 5 μL、10 mol/L的引物各2 μL、DNA模板约为100 ng。反应程序为:94℃预变性4 min;94℃变性1 min,42—52℃退火1 min,72℃延伸1 min,35个循环;循环结束后72℃延伸8 min。

1.2.3 PCR扩增产物的纯化和测序 PCR反应结束后,取4—6 μL的产物在1%—2%的琼脂糖凝胶上进行电泳检测,观察目的条带的有无以及明亮程度。然后将剩余的全部产物电泳胶纯化,用HQ&Q凝胶回收试剂盒II(安徽优品生物工程有限公司生产)回收扩增产物。回收后的产物送到上海生工生物技术有限公司,用ABI3730测序仪进行双向测序。

1.2.4 系统发育分析 将测序结果用SEQMAN进行拼接并辅以人工矫正。将拼接矫正过的DNA序列在NCBI上进行BLAST相似性搜索,以确保获得的序列为目的基因片段。采用ClustalX 1.83(Thompson et al, 1997)软件对CoI基因进行比对,最终选取了1300 bp的序列长度,再用MEGA3.0(Kumer et al, 2004)软件分析序列的碱基组成和各科之间的遗传距离,序列间的碱基变异位点、简约信息位点、转换与颠换平均比率。在Treefinder(Jobb et al, 2008)软件中应用最大似然(Maximum likelihood, ML)构建ML树;应用MrBayesV3.1(Huelsenbeck & Ronquist, 2003)构建贝叶斯(Bayesian)树。构建ML树和贝叶斯树时,先由Modeltest3.06(Posada & Crandall, 1998)估算出数据集的最优化模型,在AIC标准下(Akaike, 1973)选取GTR+I+G模型,ML树采用1000次自举;在MrBayesV3.1(Huelsenbeck & Ronquist, 2003)软件中构建贝叶斯树时,运行4个马尔可夫链,共运行2 000 000

代, 每100代储存一次树, 分支置信度由后验概率来评价。MEGA3.0 (Kumer et al, 2004) 中构建NJ树, NJ树选用双参数Kimura模型, bootstrap为1 000次重复, 其余选项为默认。若转换与颠换 (Ts/Tv) 的比值 (R) 小于2.0时, 认为该基因序列发生的突变已经达到饱和, 进化受噪音的影响较大, 在构建系统发育树时还需要进行特别加权 (Knight & Mindell, 1993)。

2 结 果

2.1 DNA序列特征

CoI基因的核苷酸特征分析见表2。比对的CoI序列共有1 300个位点, 其中保守位点是728个, 可变位点有493个, 简约信息位点有384个。对于38条序列的统计发现T、C、A、G 4种碱基的平均含量分别为24.9%、30.5%、27.3%、17.4%。密码子第1位点T、C、A、G的平均含量分别是28.3%、30.7%、26.1%、14.9%; 密码子第2位点T、C、A、G的平均含量分别是21.3%、34.0%、28.6%、16.2%; 密码

表 1 本研究中的样品表及其来源
Tab. 1 Sample species and source in the present study

| 亚科名/属名 Subfamily/Genus name | 种名 Species name | 样品 Sample type | 样品来源 Source of samples | CoI 基因序列来源 GenBank Access No. |
|--------------------------------|-----------------------------------|-------------------|---------------------------|----------------------------------|
| 鸚亚科 <i>Emberizinae</i> | | | | |
| 鸚属 <i>Emberiza</i> | 黄眉鸚 <i>E. chrysophrys</i> | 肌肉 Muscle | 湖北 武穴市佛寺镇张岭上村 | EU847669 |
| | 白眉鸚 <i>E. tristrami</i> | 肌肉 Muscle | 福建龙栖山自然保护区 | EU847671 |
| | 白头鸚 <i>E. leucocephalos</i> | 肝脏 Liver | 吉林吉林市 | EU847673 |
| | 黄喉鸚 <i>E. elegans</i> | 肝脏 Liver | 湖北鄂州沼山林场 | EU847675 |
| | 黄胸鸚 <i>E. aureola</i> | 肌肉 Muscle | 吉林四平 | EU847679 |
| | 小鸚 <i>E. pusilla</i> | 肌肉 Muscle | 福建龙栖山自然保护区 | EU847680 |
| | 灰眉岩鸚 <i>E. cia</i> | 肌肉 Muscle | 陕西陕北 | EU847682 |
| | 灰头鸚 <i>E. spodocephala</i> | 肌肉 Muscle | 福建龙栖山自然保护区 | EU847684 |
| | 蓝鸚 <i>Latoucheornis siemsseni</i> | 肌肉 Muscle | 陕西佛岳坝 | EU847687 |
| | 苇鸚 <i>E. pallasi</i> | 肌肉 Muscle | 鄂尔多斯 | EU847688 |
| | 栗鸚 <i>E. rutila</i> | 肌肉 Muscle | 广东潮安县古巷镇 | EU847689 |
| | 芦鸚 <i>E. schoeniclus</i> | 肌肉 Muscle | 吉林莫莫格 | EU847691 |
| | 三道眉草鸚 <i>E. cioides</i> | 肌肉 Muscle | 陕西陕北 | EU847692 |
| | 栗斑腹鸚 <i>E. jankowskii</i> | 肌肉 Muscle | 吉林 | EU847694 |
| | 褐头鸚 <i>E. bruniceps</i> | 肌肉 Muscle | 新疆和丰县和什镇 | EU847695 |
| | 栗耳鸚 <i>E. fucata</i> | 肌肉 Muscle | 吉林长春市 | EU847696 |
| | 红颈苇鸚 <i>E. yessoensis</i> | 肝脏 Liver | 吉林转山湖 | EU847698 |
| 铁爪鸚属 <i>Calcarius</i> | 铁爪鸚 <i>Calcarius lapponicus</i> | 肌肉 Muscle | 吉林通榆 | EU847721 |
| 朱鸚属 <i>Urocynchramus</i> | 朱鸚 <i>Urocynchramus spyzowii</i> | 肌肉 Muscle | 青海门源县 | EU847720 |
| 雀亚科 <i>Fringillinae</i> | | | | |
| 朱雀属 <i>Carpodacus</i> | 白眉朱雀 <i>C. thura</i> | 肌肉 Muscle | 甘肃文县 | EU847701 |
| | 红胸朱雀 <i>C. puniceus</i> | 全血 Blood | 青海花石峡 | EU847702 |
| | 酒红朱雀 <i>C. vinaceus</i> | 肌肉 Muscle | 陕西佛坪凉风亚保护区 | EU847703 |
| | 普通朱雀 <i>C. erythrinus</i> | 肌肉 Muscle | 四川盐边县 | EU847704 |
| | 棕朱雀 <i>C. edwardsii</i> | 肌肉 Muscle | 四川美姑大风顶保护站 | EU847705 |
| 长尾雀属 <i>Uragus</i> | 长尾雀 <i>U. sibiricus</i> | 肌肉 Muscle | 吉林敦化 | EU847706 |
| 燕雀属 <i>Fringilla</i> | 燕雀 <i>F. montifringilla</i> | 肌肉 Muscle | 湖南 | EU847708 |
| | 苍头燕雀 <i>F. coelebs</i> | 肌肉 Muscle | 斯洛伐克 | EU847707 |
| 松雀属 <i>Pinicola</i> | 松雀 <i>P. enucleator</i> | 肌肉 Muscle | 福建 | EU847709 |
| 金翅雀属 <i>Carduelis</i> | 黑头金翅 <i>C. ambigua</i> | 肌肉 Muscle | 四川盐边县 | EU847710 |
| | 金翅雀 <i>C. sinica</i> | 肌肉 Muscle | 北京小龙门 | EU847711 |
| | 黄嘴朱顶雀 <i>C. flavirostris</i> | 肌肉 Muscle | 新疆大柳沟 | EU847714 |
| 岭雀属 <i>Leucosticte</i> | 高山岭雀 <i>L. brandi</i> | 肌肉 Muscle | 青海祁连县 | EU847716 |
| 交嘴雀属 <i>Loxia</i> | 红交嘴雀 <i>L. curvirostra</i> | 肌肉 Muscle | 斯洛伐克 | EU847717 |
| 灰雀属 <i>Pyrrhula</i> | 灰头灰雀 <i>P. erythaca</i> | 肌肉 Muscle | 四川美姑大风顶保护站 | EU847719 |
| 锡嘴雀亚科 <i>Coccothraustinae</i> | | | | |
| 拟蜡嘴雀属 <i>Mycerobas</i> | 黄颈拟蜡嘴雀属 <i>M. affinis</i> | 肌肉 Muscle | 福建 | EU847699 |
| 蜡嘴雀属 <i>Eophona</i> | 黑尾蜡嘴雀 <i>E. migratoria</i> | 肌肉 Muscle | 湖北武穴市佛寺镇张岭上村 | EU847700 |
| 伯劳科 <i>Laniidae</i> | 荒漠伯劳 <i>L. isabellinus</i> | 肌肉 Muscle | 新疆 | EF422251 Zhang et al, 2007 |
| 梅花雀科 <i>Estrildidae</i> | 斑胸草雀 <i>Taeniopygia guttata</i> | 肌肉 Muscle | 福建 | EU847726 |

表 2 本研究中CoI基因序列的特殊位点数目(含外群)
Tab. 2 Number of position-specificity of CoI gene sequence (including outgroup)

| 位置 Position | 保守位点 Conserved sites | 可变位点 Variable sites | 简约信息位点 Parsimonious-info sites |
|---------------------------|----------------------|---------------------|--------------------------------|
| 全序列 All sequences | 728 | 493 | 384 |
| 第1位点 1 st site | 266 | 142 | 117 |
| 第2位点 2 nd site | 200 | 211 | 168 |
| 第3位点 3 rd site | 262 | 140 | 99 |

表 3 CoI 基因碱基替换数(含外群)
Tab. 3 Substitution number of CoI gene sequence (including outgroup)

| 位点 | R | TT | TC | TA | TG | CC | CA | CG | AA | AG | GG |
|-----|-----|-----|----|----|----|-----|----|----|-----|----|-----|
| 平均 | 2.0 | 252 | 62 | 13 | 3 | 311 | 26 | 6 | 286 | 28 | 185 |
| 1st | 2.0 | 97 | 21 | 4 | 1 | 106 | 8 | 1 | 92 | 8 | 53 |
| 2nd | 2.1 | 67 | 27 | 5 | 1 | 114 | 11 | 3 | 98 | 13 | 56 |
| 3rd | 1.8 | 88 | 14 | 4 | 1 | 92 | 6 | 2 | 96 | 7 | 77 |

子第3位点T、C、A、G的平均含量为25.1%、26.6%、27.1%、21.1%。

由表 3 可以看出, CoI 基因序列的碱基转换值明显高于颠换。T、C 间的转换平均数是 62, A、G 间的转换平均数是 28, TC 转换大于 AG 间的转换; A、C 和 A、T 间的颠换较多。密码子 3 个位点的 R 值依次是 2.0、2.1、1.8。利用 CoI 序列碱基替换饱和度分析(图 1)可以看出, 转换值明显高于颠换值, 转换和颠换都为一条直线, 转换和颠换仍有明显的上升趋势, 说明 CoI 基因的转换和颠换没有达到饱和。

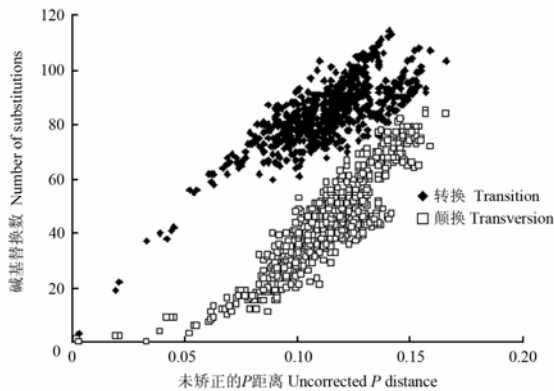


图 1 CoI 基因密码子碱基替换饱和度分析
Fig. 1 Saturation plot for the CoI transition and transversion substitutions

内群与外群之间的遗传距离(未修正的 P 距离)是 0.129—0.166。金翅雀属 (*Carduelis*) 内未修正的 P 距离为 0.039—0.085; 朱雀属 (*Carpodacus*) 内未修正的 P 距离是 0.062—0.106; 鹀属 (*Emberiza*) 内的未修正 P 距离是 0.021—0.112。雀类与鹀类之间的遗传距离是 0.106 (*C. flavirostris*—*E. cioides*)

—0.157 (*F. coelebs*—*E. jankowskii*), 雀类与锡嘴雀亚科 (Cheng, 2002) 的遗传距离是 0.095 (*C. flavirostris*—*E. migratorjus*)—0.147 (*F. montifringilla*—*M. affinis*), 锡嘴雀亚科 (Cheng, 2002) 和鹀类之间的遗传距离是 0.097 (*M. affinis*—*E. tristrami*)—0.123 (*M. affinis*—*E. yessoensis/jankowskii*)。

2.2 分子系统树

利用 CoI 序列的 1300 个位点进行系统发育分析, 所构建的 ML 树、NJ 树、Bayes 树 (图 2-4)。在 PAUP 中, 对 CoI 基因序列进行 PTP 检验, 目的是判断数据组是否具有系统发育信号, 而非随机数据。检验结果为 $P=0.0002$, 该结果表示可以找到与限制树 (constraint tree) 一样短或更短的树的概率只有 0.0002, 通过 PTP 检验说明 CoI 序列具有非常显著的系统发育信息。利用估算出的 GTR+I+G 的模型分别构建 ML、Bayes 树, 计算得到的碱基频率 (base frequencies) 为: $freA=0.3147$, $freC=0.3272$, $freG=0.1527$, $freT=0.2054$; 位点间速率变异参数: $I=0.4255$, $G=0.6679$ 。本文中 CoI 基因序列的 T/V 值大于 2.0, 因此构建系统发育树时不需要特别加权。

利用贝叶斯法、最大似然法和距离法所构建的 3 棵树分别是 Bayes 树、ML 树、NJ 树, 3 棵树的拓扑结构大体分成两大部分, 一大分支包含有鹀类和锡嘴雀亚科 (Cheng, 2002); 另一大分支主要包含有雀类 (图 2-4)。在 Bayes 树中, 铁爪鹀 (*Calcarius lapponicus*) 位于鹀类群分支内部; 在 ML 树、NJ 树

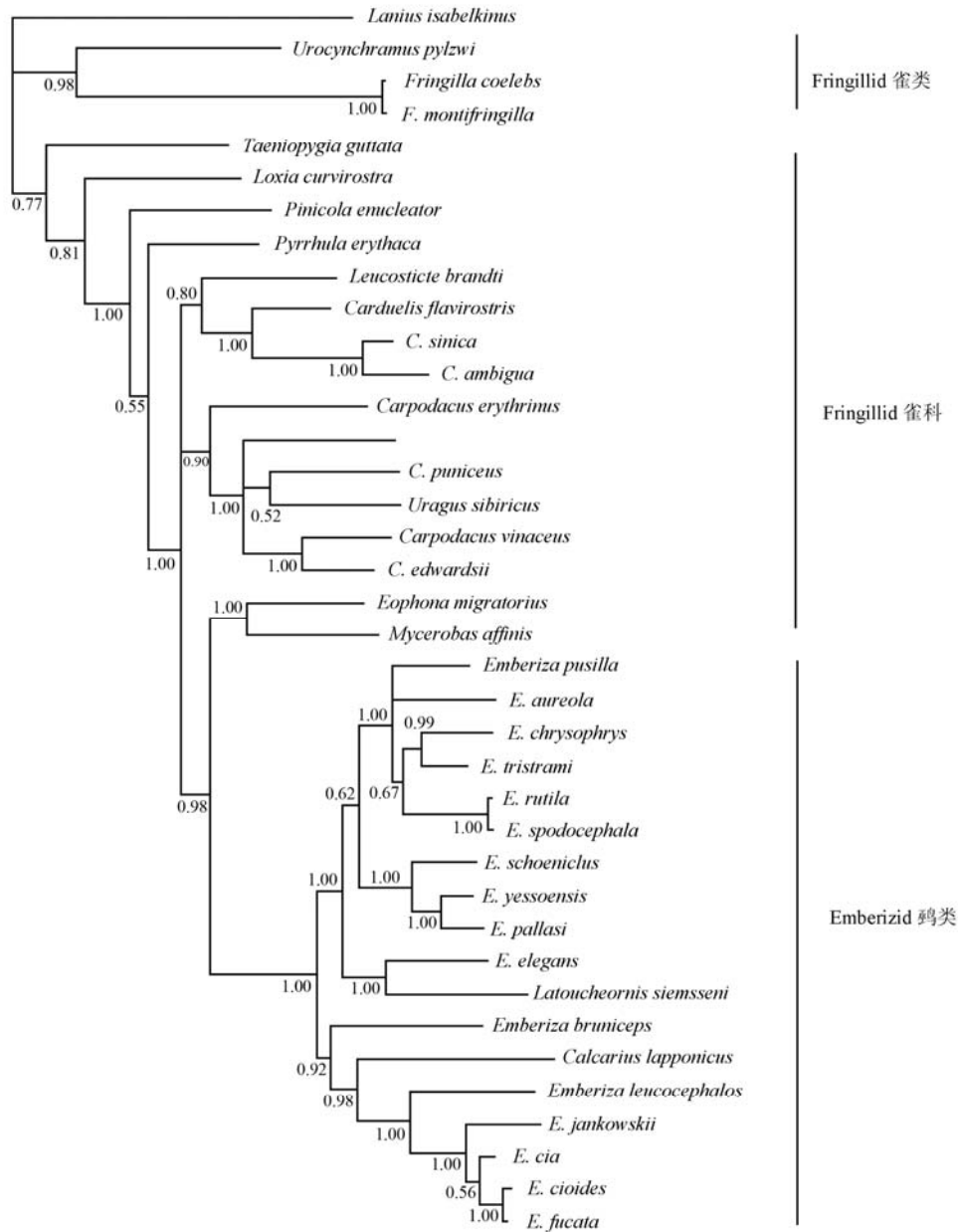


图 2 基于 CoI 基因序列所构建的燕雀科 36 种鸟类的 Bayes 树 (节点上数值为后验概率)
Fig. 2 Bayes tree of 36 species from Fringillidae (Posterior probabilities were shown on the nodes)

中, 铁爪鹀从鹀类群中分离出来, 且位于鹀类群分支基部。3 棵系统发育树中, 均将蓝鹀 (*Latoucheornis siemsseni*) 置于鹀属类群内, 与黄喉鹀 (*E. elegans*) 形成姐妹关系; 朱鹀 (*Urocynchramus pylzowi*) 从鹀类群中移出, 与燕雀属的燕雀 (*F. montifringilla*) 和苍头燕雀 (*F. coelebs*) 形成姐妹关系。在 Bayes 树、ML 树和 NJ 树中, 苇鹀 (*E. pallasi*) 与红颈苇鹀 (*E. yessoensis*) 之间形成姐妹关系, 芦鹀 (*E. schoeniclus*) 又与这两个物种形成姐妹关系, 且 3 棵

树中的置信度均较高。在 Bayes 树和 NJ 树中, 三道眉草鹀 (*E. cioides*) 和栗耳鹀 (*E. fucata*) 先形成姐妹关系, 灰眉岩鹀 (*E. cia*) 与该支形成姐妹关系, 栗斑腹鹀 (*E. jankowskii*) 又位于该分支的基部, 与之形成姐妹关系; 其中对于三道眉草鹀与栗耳鹀的姐妹关系, Bayes 树和 NJ 树都具有较高的置信度。ML 树中, 三道眉草鹀与栗耳鹀形成姐妹关系, 灰眉岩鹀和栗斑腹鹀形成姐妹关系, 两个平行分支彼此形成姐妹群, 但 ML 树中对于三道眉草鹀和栗耳

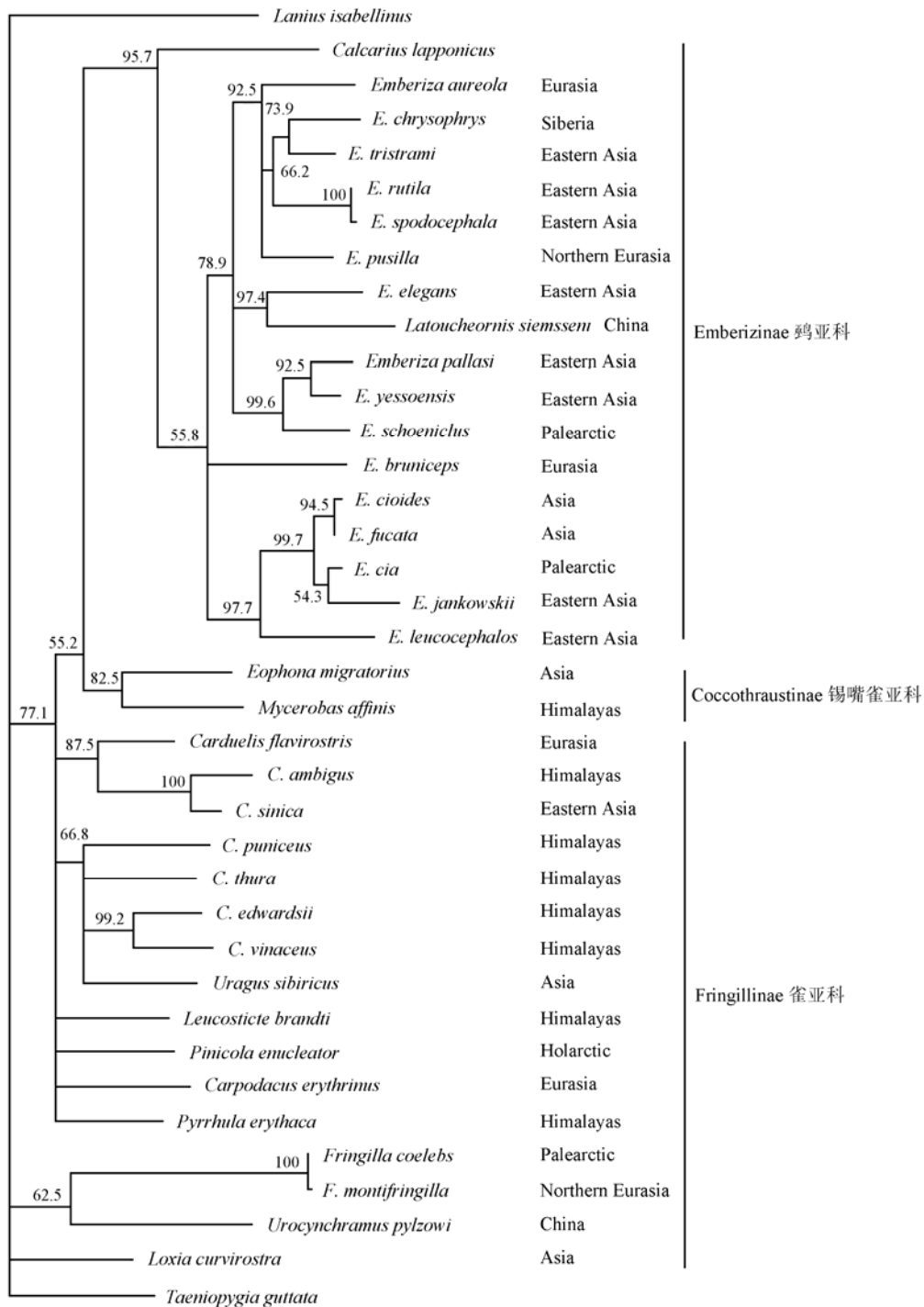


图 3 基于 CoI 基因序列所构建的燕雀科 36 种鸟类的 ML 树

Fig. 3 ML tree of 36 species from Fringillidae

树节点上数值为 bootstrap 值, 仅显示 $\geq 50\%$ 的 bootstrap 值 (Bootstrap values are shown above the nodes, only $\geq 50\%$ shown).

鹀的姐妹关系的置信度不高。在 Bayes 树中, 高山岭雀 (*Leucosticte brandti*) 与金翅雀属的黄嘴朱顶雀 (*Carduelis flavirostris*)、金翅雀 (*C. sinica*)、黑头金翅雀 (*C. ambiguus*) 形成姐妹群, 对于该分支的后验概率为 0.8; 长尾雀 (*Uragus sibiricus*) 与白

眉朱雀 (*Carpodacus thura*) 聚在一起, 置信度为 0.52, 且该分支为多歧的。ML 树中, 高山岭雀从金翅雀属分支中移出, 而长尾雀位于朱雀属分支中。在 NJ 树中, 白眉朱雀与红胸朱雀 (*C. puniceus*) 聚为一支, 形成姐妹关系, 长尾雀又与该分支形成

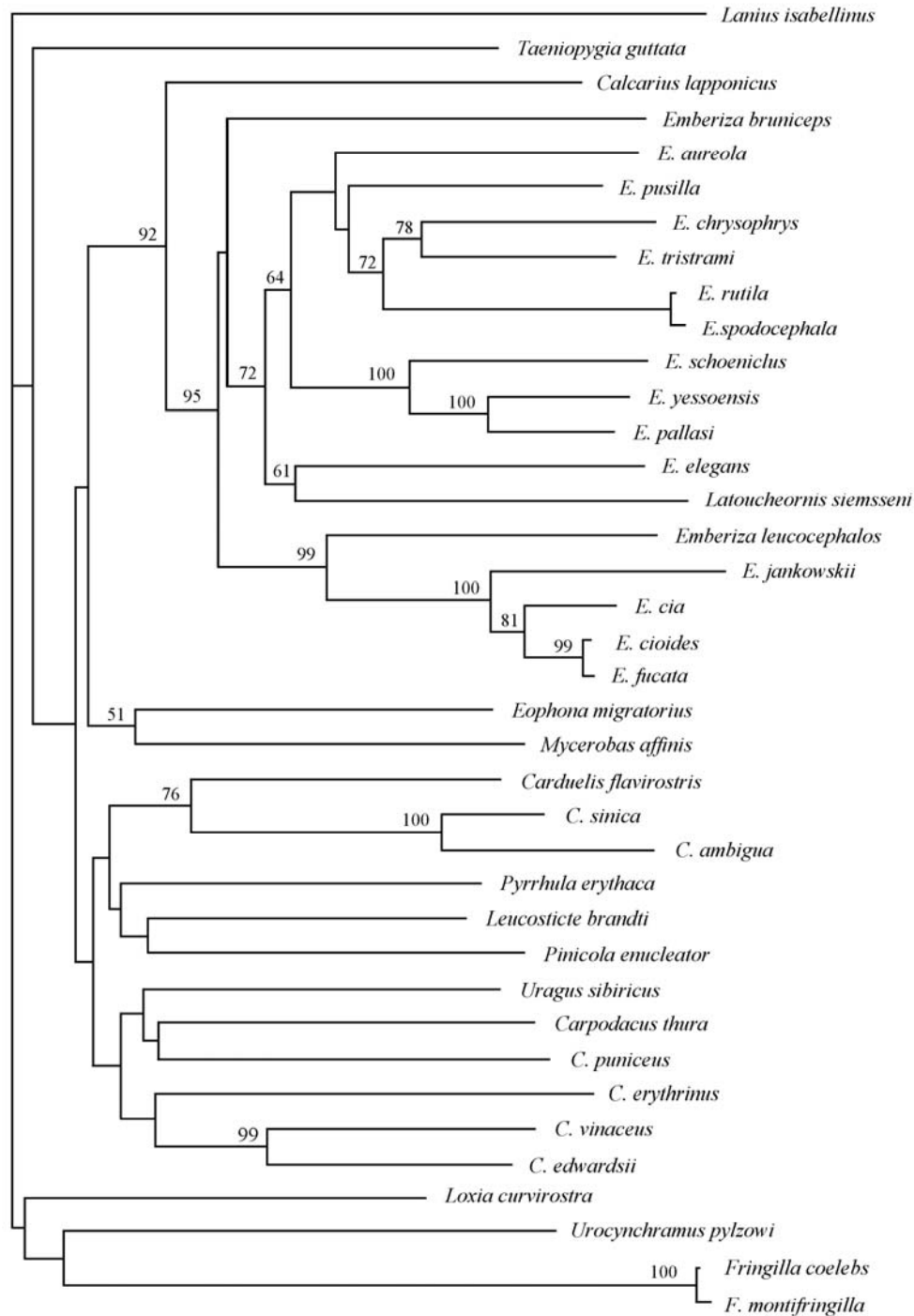


图 4 基于 *CoI* 基因序列所构建的燕雀科 36 种鸟类的 NJ 树

Fig. 4 NJ tree of 36 species from Fringillidae

树节点上数值为 bootstrap 值, 仅显示 $\geq 50\%$ 的 bootstrap 值 (Bootstrap values are shown above the nodes, only $\geq 50\%$ shown).

姐妹关系; 棕朱雀 (*C. edwardsii*) 和酒红朱雀 (*C. vinaceus*) 形成姐妹关系, 普通朱雀 (*C. erythrinus*) 又与该分支形成姐妹关系, 由 NJ 树的拓扑结构可以看出, 朱雀属内存在两个亚群 (subgroup), 一个亚群包含白眉朱雀、红胸朱雀; 另一分支包含普通朱

雀、酒红朱雀、棕朱雀; 在 Bayes 树和 ML 树中, 棕朱雀 (*C. edwardsii*) 与酒红朱雀 (*C. vinaceus*) 形成姐妹关系, 该分支具有较高的置信度 (Bayes 树, 1.00; ML 树, 99.2%)。在 Bayes 树、ML 树和 NJ 树中, 黑尾蜡嘴雀 (*Eophona migratorius*) 和黄颈拟蜡嘴

雀 (*Mycerobas affinis*) 形成姐妹关系。

3 讨论

3.1 雀科鸟类 CoI 基因序列特征

38条CoI序列的4种碱基出现频率并不是平均的, 嘧啶平均含量(55.4%)明显高于嘌呤含量(44.7%)。4种碱基中, C的含量最高, 其次是A、T, G的含量最低。A+T含量(52.2%)高于G+C含量(47.9%), 说明序列中碱基存在一定的偏向性。在密码子的不同位点, 碱基频率也有不同偏倚。密码子第1位点T、C、A、G的平均含量分别是28.3%、30.7%、26.1%、14.9%; 密码子第2位点T、C、A、G的平均含量分别是21.3%、34.0%、28.6%、16.2%; 密码子第3位点T、C、A、G的平均含量为25.1%、26.6%、27.1%、21.1%, 据此可以看出, 密码子各位点的平均嘧啶含量也是高于嘌呤。Arnaiz (2001) 认为, 密码子第1位点碱基出现的频率相似, G的频率明显低于其他3种碱基。但是在本研究中可以明显的看到第1位点4种碱基的频率并不相似, 第1位点的碱基频率有明显的偏好性; 还有一些研究表明 (Edwards, 1991; Helm, 1986; Arnaiz-Villena et al, 2001) 第3位点的碱基偏好G、T, 但在本研究中未观察到第3位点有明显的G、T偏好性。

利用转换 (Ts) 和颠换 (Tv) 的比值 R, 可以估计序列的饱和度, 当物种的分歧时间增加, R 值就会降低, R 值越小物种的分歧时间越长, 进化速度也就越快 (Knight & Mindell, 1993)。通过比较表 2 中密码子 3 个位点的 R 值可知, 第 3 位点进化速度最快、第 1 位点次之、第 2 位点最为保守, 这与遗传密码的特性保持一致: 在蛋白质编码基因序列中, 密码子第 3 位点的替换多是同义替换, 不会导致氨基酸的改变。

3.2 系统发育分析与分类地位探讨

3.2.1 鹑类群的系统发育关系及分类地位 Bangs (1931) 基于蓝鹑的圆形翅膀, 宽且钝的尾羽和小型喙, 将蓝鹑独立成为蓝鹑属 (*Latoucheornis*)。但有学者认为应将蓝鹑移入到鹑属内 (Hartert, 1922; Voous, 1977)。在本文构建的Bayes树、ML树和NJ树中, 蓝鹑与黄喉鹑聚在一起, 两者互为姐妹关系, 表明二者具有较近的亲缘关系; 其中Bayes树、ML树对该节点有较高的置信度 (Bayes树, 1.00; ML树, 97.4%)。蓝鹑与黄喉鹑的遗传距离为0.087 (*Latoucheornis siemsseni*—*Emberiza elegans*), 而

鹑属内种间的遗传距离为0.042—0.112。基于上述分析, 本文认为应将蓝鹑划归到鹑属, 不支持蓝鹑的单型属分类地位。Alström et al (2007) 在研究旧大陆鹑类的系统发育关系时, 提出*Latoucheornis*与*Emberiza*是同物异名的关系, 因此也可以将蓝鹑命名为*Emberiza siemsseni*。

利用形态学和行为学方面的数据 (Harrison, 1967; Paynter & Storer, 1970; Byers et al, 1995) 已经证实, 铁爪鹑与鹑属之间有较近的亲缘关系。分子系统发育研究中, Avise et al (1980) 通过分析铁爪鹑和北美麻雀 (*American sparrows*) 等位基因酶 (allozyme) 的差异性, 推断铁爪鹑与鹑属成员的关系紧密; 此外, Klicka et al (2000) 和Yuri & Mindell (2002) 的研究也得到相同结果。在NJ树和ML树中, 铁爪鹑属的铁爪鹑与其他鹑属物种形成姐妹关系, 且两棵系统发育树对于该分支的置信度均较高 (ML树, 95.7%; NJ树, 92%); 在Bayes树中, 铁爪鹑位于鹑属内。从这3棵系统发育树的拓扑结构可以看出, 铁爪鹑与鹑属具有较近的亲缘关系。依据两者具有较近的亲缘关系, Paynter (1970) 进一步分析后提出, 将铁爪鹑属与鹑属合并; 但有学者持不同观点 (Avise et al, 1980; Lovette & Bermingham, 2002; Yuri & Mindell, 2002; Ericson & Johansson, 2003; Alström et al, 2007), 认为铁爪鹑属应从鹑属中分离出来。在本文中, 铁爪鹑与鹑属其他成员的遗传距离为0.094—0.115; 而鹑属内各种之间的遗传距离为0.021—0.112。根据ML树和NJ树的拓扑结构及遗传距离, 本文不支持将铁爪鹑属与鹑属合并, 继续维持各自独立的属级分类阶元。

在NJ树和ML树中, 铁爪鹑位于鹑属类群的基部, 相对于鹑属较早分化出来。Tordoff (1954) 基于骨骼学的研究认为, 铁爪鹑属 (*Calcarius*) 和雪鹑属 (*Plectrophenax*) 是鹑类中最原始的类群, 它们主要分布在北美北部和Panboreal地区。鹑类群可能起源于类似铁爪鹑的祖先, 它们最初分布于极地附近, 后从北到南逐渐分布于新大陆地区 (Yuri & Mindell, 2002)。对多种动物的mtDNA进行研究 (Upholt & Dawid, 1977; Brown et al, 1979; Ferris et al, 1983; George & Ryder, 1986; Higuch et al, 1987; Helm-Bychowshi & Wilson, 1986; Shields & Wilson, 1987; Li QW et al, 2000) 发现, mtDNA序列以每百万年2%的速率进化。以此推测铁爪鹑与鹑属内其了各种鸟类的分歧时间约在4.7—5万年的

上新世。在NJ树、Bayes树和ML树中, 苇鹀(*Emberiza pallasi*)与红颈苇鹀(*E. yessoensis*)首先聚到一起, 形成姐妹群关系, 该分支又与芦鹀(*E. schoeniclus*)形成姐妹关系, 3棵系统发育树的拓扑结构对于该种拓扑结构均给予了较高的置信度。然而, Alström et al (2007) 研究发现, 苇鹀与芦鹀先形成姐妹关系, 该分支再与红颈苇鹀聚合。Byers et al (1995) 在形态学和生态学上对这3种鸟类进行过研究, 表明苇鹀、芦鹀及红颈苇鹀是十分相似的。在本文中, 苇鹀与芦鹀之间未矫正的遗传距离是0.055, 芦鹀和红颈苇鹀之间的遗传距离是0.054; 而苇鹀与红颈苇鹀之间的未矫正遗传距离是0.033。因此本文认为苇鹀与红颈苇鹀的亲缘关系比苇鹀和芦鹀的更近一些。

三道眉草鹀与栗耳鹀之间的遗传距离为0.023, 基于3棵系统发育树的拓扑结构均出现三道眉草鹀和栗耳鹀形成姐妹关系, 这两个物种的亲缘关系在之前的研究中未被报道, 本文认为它们之间具有较近的亲缘关系。

3.2.2 蜡嘴雀属与拟蜡嘴雀属的系统发育关系 黑尾蜡嘴雀与黄颈拟蜡嘴雀在3棵系统发育树中都聚在一起, 形成姐妹关系。Bayes树和ML树对于这一分支具有较高的置信度 (Bayes树, 1.00; ML树, 82.5%); 两者的遗传距离为0.089。拟蜡嘴雀属与蜡嘴雀属之间基于表型而被提出的亲缘关系在以前的研究中已经被证实 (Clement et al, 1993), Arnaiz (2001) 利用 *Cyt b* 基因序列, 在分子水平上证实了拟蜡嘴雀属 (*Mycerobas*) 与蜡嘴雀属 (*Eophona*) 之间有较近的亲缘关系。Yang et al (2006) 利用 *Cyt b* 基因也提出黄颈拟蜡嘴雀与黑尾蜡嘴雀之间具有较近的亲缘关系。Arnaiz (2001) 推测这两种鸟类可能拥有共同的祖先, 且黑尾蜡嘴雀是更早分化出的类群。在Sibley & Monroe (1993) 分类系统中, 蜡嘴雀属、拟蜡嘴雀属和锡嘴雀属 (*Coccothraustes*) 被置于金翅雀族中。由Bayes树、ML树和NJ树的拓扑结构可以看出, 黄颈拟蜡嘴雀和黑尾蜡嘴雀与金翅雀族中其他物种的亲缘关系较远, 且遗传距离也较大。由于缺少锡嘴雀 (*C. Coccothraustes*), 因此该类群的系统发育关系及分类地位仍需进一步研究。

3.2.3 雀类的系统发育关系 在Bayes树中, 高山岭雀与金翅雀属3种鸟类 (*Carduelis flavirostris*、*C. sinica*、*C. ambigua*) 形成姐妹关系, 对于该分支,

3棵系统发育树均给予了较高的置信度 (后验概率, 0.80); 高山岭雀与黄嘴朱顶雀 (*C. flavirostris*)、金翅雀 (*C. sinica*) 和黑头金翅雀 (*C. ambigua*) 之间的遗传距离分别是0.085、0.097和0.107; 而金翅雀属内的遗传距离为0.039 (*C. sinica*—*C. ambigua*)、0.084 (*C. sinica*—*C. flavirostris*)、0.085 (*C. flavirostris*—*C. ambigua*); 在ML树和NJ树中, 高山岭雀具有不同的位置, 但对于这些分支的置信度很低。因此本文认为, 岭雀属 (*Leucosticte*) 与金翅雀属 (*Carduelis*) 之间具有较近的亲缘关系。

Arnaiz (2001) 在研究长尾雀属 (*Uragus*) 和朱雀属的关系时发现, 长尾雀与拟大朱雀 (*C. rubicilloides*) 在体型上较为相似, 在分子水平上, 利用 *Cytb* 序列确定了长尾雀与拟大朱雀之间的姐妹关系。在本研究中, Bayes树、ML树和NJ树都显示长尾雀与朱雀属聚在一起, 尽管3棵树对于该节点的置信度不高; 长尾雀与朱雀属 (*C. thura*、*C. vinaceus*、*C. edwardsii*、*C. puniceus*、*C. erythrurus*) 之间的遗传距离为0.084—0.107; 朱雀属内种间的遗传距离为0.062—0.101。本文认为长尾雀与朱雀属之间存在较近的亲缘关系。这种关系在Yang et al (2006) 的研究中也被证实。在3棵系统发育树中, 都可以看到棕朱雀与酒红朱雀具有较近的亲缘关系, 二者形成姐妹关系, 且这两个物种的遗传距离为0.062, 是朱雀属种间遗传距离最小的; 棕朱雀和酒红朱雀在地理分布上, 都处于喜马拉雅地区 (Himalays)。此外, 从3棵系统发育树的拓扑结构证实朱雀属是多系性类群。

尽管长尾雀和朱鹀 (*Urocynchramus pylzowi*) 的表型特征十分相似、地理分布相近, 但在分子水平上研究朱鹀的系统发育关系时, 指出它与长尾雀之间的亲缘关系较远 (Groth, 2000)。而在本研究中, 由3棵系统发育树的拓扑结构可以看出, 朱鹀与燕雀属 (*Fringillia*) 成为姐妹关系, 朱鹀的位置并没有与长尾雀属相临近。本文不认为朱鹀与长尾雀之间存在较近的亲缘关系。同时, 长尾雀属与灰雀属 (*Pyrrhula*) 之间亲缘关系较远 (Arnaiz-Villena et al, 2001) 的结论, 在本文也得到了很好的证实。

3.2.4 雀类与鹀类的分类地位 雀类与鹀类之间是处于亚科级分类水平还是处于科级分类阶元, 是一个主要的争论。在Sibley & Ahlquist (1990) 的分类系统中, 雀类和鹀类分别属于雀亚科和鹀亚科, 该观点也得到了Yuri & Mindell (2002) 的支持。

Cheng (2002) 也支持燕雀亚科和鹀亚科的分类标准。而在Zheng et al (2002) 和Howard & Moore (2003) 的分类系统中, 将雀类和鹀类分别提升为燕雀科和鹀科; Krajewski & Fetzner (1994) 和Xiangyu et al (2000) 也均认为两者的分歧达到科级水平。本文利用CoI基因计算得到的雀类和鹀类的遗传距离是0.102—0.157, 而鹀类群内遗传距离为0.052—0.136, 雀类群内种间的遗传距离是0.036—0.147; 雀类与外群(伯劳科)的遗传距离分别为0.129—0.159, 0.143—0.166。根据遗传距离和系统发育树的结构, 本研究不支持将雀类和鹀类提升到科级水平, 建议使用郑作新和Sibley等分类系统中雀亚科和鹀亚科的分类水平(Cheng, 2002; Sibley & Ahlquist, 1990; Sibley & Monroe, 1993)。因此, 本文将雀类和鹀类分别归入雀亚科、鹀亚科。

3.2.5 关于CoI基因对鸟类种间系统发育关系的研究 Seutin & Bermingham (1997) 指出CoI基因对于鸟类种间的系统发育关系研究最为有效, 但Zardoya & Meyer (1996) 认为CoI基因对于鸟类目级阶元的系统发育研究更为有效。此外, Zhang et al (2007) 提出, CoI基因更适用于鸟类科级阶元间的系统发育关系。Herbert (2003) 认为, CoI基因能够在保证足够变异的同时, 又很容易被通用引物扩增, 而且目前研究表明, 其DNA序列本身很少存在插入和缺失(即使有少数也主要分布于该基因

参考文献:

- Akaike H. 1973. Information theory as an extension of the maximum likelihood principle. In: Petrov BN, Csaki F. Second International Symposium on Information Theory [M]. Budapest: Akademiai Kiado Press.
- Alstöm P, Olsson U, Lei FM, Wang HT, Gao W, Sundberg P. 2007. Phylogeny and classification of the Old World Emberizini (Aves, Passeriformes) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **47**: 960-973.
- Arnaiz-Villena A, Guillén J, Ruiz-del-Valle V, Lowy E, Zamora J, Varela P, Stefani D, Allende LM. 2001. Phylogeography of crossbills, bullfinches, grosbeaks, and rose finches [J]. *Cell Mol Life Sci*, **58** (8): 1159-1166.
- Avise JC, Patton JC, Aquadro CF. 1980. Evolutionary genetics of birds II. Conservative protein evolution in North-American sparrows and relatives [J]. *Syst Zool*, **29**: 323-334.
- Brown WM, George M, Wilson AC. 1979. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA [J]. *Proc Natl Acad Sci*, **76**: 1967-1971.
- Byers C, Olsson U, Curson J. 1995. Buntings and Sparrows: A Guide to the Buntings and North American Sparrows [M]. Sussex: Pica Press.
- Cheng T. 1994. A Complete Checklist of Species and Subspecies of the Chinese Birds [M]. Beijing: Science Press. [郑作新. 1994. 中国鸟类种和亚种分类名录大全. 北京: 科学出版社.]
- Cheng T. 2000. A Complete Checklist of Species and Subspecies of the Chinese Birds. (Revised edition) [M]. Beijing: Science Press. [郑作新. 2000. 中国鸟类种和亚种分类名录大全(修订本). 北京: 科学出版

的3'端, 对结果的分析不会造成很大影响)。虽然CoI基因对于鸟类的系统发育研究的有效性已经得到了充分的证实, 但是应用于哪个阶元的效果更好, 还未有统一的认识。本文利用1300bp的CoI基因对雀科鸟类的系统发育关系进行研究。对其序列分析, 其简约信息位点(384)占变异位点(493)的77.9%, 且序列中没有发现缺失和插入, 说明CoI基因能够为重建鸟类的系统发育关系提供足够的信息位点(Liang et al, 2007)。对于部分鸟类的种间亲缘关系, 3棵系统发育树都能给出稳定的拓扑结构。尽管还有一些鸟类, 在3棵系统发育树中的位置不稳定, 这可能与使用不同的建树软件有关。对于CoI基因是否能更好的应用于鸟类种间的系统发育关系研究, 还有待于进一步积累证据。

致谢: 感谢Peter KANUCH (Institute of Forest Ecology, Slovak Academy of Sciences, Slovakia), Peter BENDA (National Museum, Institute of Vertebrate Biology, Academy of Sciences of the Czech Republic), 和白水江国家级自然保护区王洪建、陕西省动物研究所王开峰、高学斌, 佛平国家级自然保护区巩会生, 东北师范大学王海涛等提供部分实验样品; 陕西师范大学生命科学学院黄原教授和中国科学院动物研究所屈廷华副研究员帮助室内数据分析, 在此谨致谢忱!

社.]

- Cheng T. 2002. The Keys to the Birds of China [M]. Beijing: Science Press [郑作新. 2002. 中国鸟类系统检索. 北京: 科学出版社.]
- Clement P, Harris A, Davies J. 1993. Finches and Sparrows: An Identification Guide [M]. London: Christopher Helm Press.
- Edwards SV, Arctander P, Wilson AC. 1991. Mitochondrial resolution of a deep branch in the genealogical tree for perching birds [J]. *Biological Sciences*, **243**(1307): 99-107.
- Ericson PGP, Johansson US. 2003. Phylogeny of Passerida (Aves: Passeriformes) b-based on nuclear and mitochondrial sequence data [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **29**: 126-138.
- Ferris SD, Sage RD, Huang CM, Nielsen JT, Ritte, Wilson AC. 1983a. Flow of mitochondrial DNA across a species boundary [J]. *Proc Natl Acad Sci*, **80**: 2290-2294.
- Ferris SD, Sage RD, Prager EM, Ritte, Wilson AC. 1983b. Mitochondrial DNA evolution in mice [J]. *Genetics*, **105**: 681-721.
- Fu TS, Song YJ, Gao W. 1998. Fauna Sinica Bird Vol.14 Dermoptera [M]. Beijing: Science Press. [傅桐生, 宋榆钧, 高 玮. 1998. 中国动物志·鸟纲(第14卷). 北京: 科学出版社.]
- George M, Ryder OA. 1986. Mitochondrial DNA evolution in the genus *Equus* [J]. *Mol Biol Evol*, **3**: 535-546.
- Groth JG. 2000. Molecular evidence for the systematic position of *Urocynchramus pylzowi* [J]. *The Auk*, **117**: 787-791.
- Hajibabaei H, Janzen DH, Burns JM, Hallwachs W, Hebert PDN. 2006.

- DNA barcodes distinguish species of tropical Lepidoptera[J]. *Proc Natl Acad Sci*, **103**(4): 968-971.
- Harrison CJO. 1967. The double-scratch as a taxonomic character in the Holarctic Emberizinae [J]. *Wilson Bull*, **79**: 22-27.
- Hartert E. 1922. Die Vögel der paläarktischen Fauna [M]. Bd. III, Heft 4/5, 2018.
- Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, deWaard JR. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proc R Soc Lond B*, **270** (1512): 313-321.
- Hebert PDN, Ratnasingham S, deWaard JR. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome oxidase subunit I divergences among closely related species[J]. *Proc R Soc Lond B*, (suppl.) **270**: S96-S99.
- Hebert PDN, Stoeckle MY, Zemlak TS, Francis CM. 2004. Identification of birds through DNA barcodes[J]. *PLoS Biol*, **2**(10): 1657-1663.
- Helm-Bychowski KM, Wilson AC. 1986. Rates of nuclear DNA evolution in pheasant-like birds: Evidence from restriction maps [J]. *Proc Natl Acad Sci*, **83**: 688-692.
- Higuchi RC, Wrischnik LA, E Oakes, M Georhe, B Tong, Wilson AC. 1987. Mitochondrial DNA of the extant quagga: Relatedness and extent of postmortem change [J]. *Mol Evol*, **25**: 283-287.
- Howard R, Moore A. 2003. Complete Checklist of the Birds of the World (3rd Edition) [M]. London: Christopher.
- Howell TR, Paynter RA, Rand AL. 1968. Subfamily Cardueliae[A]. In: Check-list of Birds of the World [M]. Cambridge: Museum of Comparative Zoology.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F. 2003. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic trees [J]. *Bioinformatics*, **17**: 754-755.
- Jobb G. 2008. Treefinder version of January 2008[M]. Munich, Germany. Distributed by the author at www.treefinder.de.
- Klicka J, Johnson KP, Lanyon SM. 2000. New world nine-primaried oscine relationships: Constructing a mitochondrial DNA framework [J]. *Auk*, **117**: 321-336.
- Knight A, Mindell DP. 1993. Substitutions, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogeny position of feaps viper [J]. *Syst Biol*, **42**(1): 18-31.
- Krajewski C, Fetzner JR, James W. 1994. Phylogeny of cranes (Gruiformes: Gruidae) based on cytochrome *b* DNA sequences [J]. *Auk*, **111**(2): 351-365.
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment [J]. *Brief Bioinform*, **5**: 150-163.
- Lei X, Lian ZM, Lei FM, Yin ZH, Zhao HF. 2007. Phylogeny of Some Muscicapinae Genera and Species Inferred from Mitochondrial Gene *COI* Sequences [J]. *Zool Res*, **28**(3): 291-296. [雷 忻, 廉振民, 雷富民, 尹祚华, 赵洪峰. 2007. 基于线粒体基因COI探讨鹟亚科部分属、种的分类地位. *动物学研究*, **28**(3): 291-296.]
- Li QW, Lin J, Li S, Wang YJ, Li WZ, Zhang YZ. 2000. Studies on the evolution of mitochondrial DNA in 11 species of Accipitridae [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **46**(2): 209-220.
- Liang G, Zhang W, Lei FM, Yin ZH, Hang Y, Li TX. 2007. Phylogenetic preliminary research on 17 species in Passeriformes based on comparison of *Cyt b* and *CoI* gene sequences [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, **32**(3): 613-620. [梁 刚, 张 卫, 雷富民, 尹祚华, 黄 原, 李天宪. 2007. 雀形目15种鸟类COI与Cyt b基因序列的比较. *动物分类学报*, **32**(3): 613-620.]
- Lovette I, Bermingham J. 2000. C-mos variation in songbirds: molecular evolution, Phylogenetic inference [J]. *Syst Biol*, **54**: 241-253.
- Paynter RA, Storer RW. 1970. Subfamily Emberizinae, buntings and American sparrows[A]. In: Paynter Jr, RA, Check-list of Birds of the World, Vol. 13 Mus Comp Zool[M]. Cambridge: MA, 3-214.
- Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: Testing the model of DNA substitution [J]. *Bioinformatics*, **14**: 817-818.
- Raikow RJ. 1978. Appendicular myology and relationships of the New World nine-primaried oscines (Aves: Passeriformes) [J]. *Bull Carnegie Mus Nat Hist*, **7**: 1-44.
- Schindel DE, Miller SE. 2005. DNA barcoding a useful tool for taxonomists [J]. *Nature*, **435**: 17
- Seutin G, Bermingham E. 1997. Rhodinocichla rose is an Emberizid (Aves: Passeriformes) based on mitochondrial DNA analyses [J]. *Mol Phylogeny Evol*, **8**: 260-274.
- Shields GF, Wilson AC. 1987. Calibration of mitochondrial DNA evolution in Geese [J]. *Mol Evol*, **24**: 212-217.
- Sibley CG, Monroe BL. 1993. A World Checklist of Birds [M]. New Haven and London: Yale University.
- Sibley CG, Ahlquist JE. 1990. Phylogeny and Classification of Bird: A study in molecular evolution [M]. New Haven and London: Yale University Press.
- Sorenson MD, Ast JC, Dimcheff DE, Yuri T, Mindell DP. 1999. Primers for a PCR based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **12**(2): 105-114.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins DG. 1997. The Clustal X windows interface: Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Res*, **24**: 4876-4882.
- Tordoff HB. 1954. Relationships in the New World nine-primaried oscines [J]. *Auk*, **71**: 273-284.
- Upholt WB, Dawid IB. 1977. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats: Rapid evolution in the Dloop region [J]. *Cell*, **11**: 571-583.
- Voous KH. 1977. List of Recent Holarctic Bird Species [M]. London: British Ornithologists Union.
- Webb DM, Moore WS. 2005. A phylogenetic analysis of woodpeckers and their allies using 12S, *Cyt b* and *COI* nucleotide sequences (class Aves; order Piciformes) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **36**: 233-248.
- Weibel AC, Moore WS. 2002. Molecular phylogeny of a cosmopolitan group of woodpeckers (Genus *Picoides*) based on *COI* and *Cyt b* mitochondrial gene sequences [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **22**: 65-75.
- Xiangyu JG, Yang L, Zhang YP. 2000. Sequence divergence between *Chrysolophus amherstiae* and *Chrysolophus pictus* [J]. *Hereditas*, **22** (4): 225-228. [向余劲攻, 杨 岚, 张亚平. 2000. 白腹锦鸡和红腹锦鸡的遗传分化. *遗传*, **22**(4): 225-228.]
- Xiao JH, Xiao H, Huang DW. 2004. DNA barcoding: New approach of biological taxonomy [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **50**(5): 852-855. [肖金花, 肖 晖, 黄大卫. 2004. 生物分类学的新动向——DNA条形码编码. *动物学报*, **50**(5): 852-855.]
- Yang SJ, Lei FM, Yin ZH. 2006. Molecular phylogeny of Rose finches and Rose bunting (Passeriformes, Fringillidae, Urocynchramidae) [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, **31**(3): 453-458.
- Yuri T, Mindell DP. 2002. Molecular phylogenetic analysis of Fringillidae, "New World nine-primaried oscines" (Aves: Passeriformes) [J]. *Mol Phylogenet Evol*, **23**: 229-243.
- Zardoya R, Meyer A. 1996. Phylogenetic performance of mitochondrial protein-coding genes in resolving relationships among vertebrates [J]. *Mol Biol Evol*, **13**: 933-942.
- Zheng GM, Zhang ZW, Ding P. 2002. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds of the World [M]. Beijing: Science Press. [郑光美主编. 2002. 世界鸟类分类与分布名录. 北京: 科学出版社.]
- Zhang W, Lei FM, Liang G, Yin ZH, Zhao HF, Wang HJ, Kristin A. 2007. Taxonomical status of eight Asian shrike species (*Lanius*): phylogenetic analysis based on *Cytb* and *CoI* gene sequences [J]. *Acta Ornithologica*, **42**(2): 173-180.