

中国野猪核 DNA SANDX-2 位点遗传变异分析

霍爱玲¹, 张晨岭¹, 李崇奇², 陈建琴³, 周开亚¹, 常 青¹

(1 南京师范大学遗传资源研究所, 江苏 南京 210097)

(2 海南医学院基础医学部, 海南 海口 571101)

(3 江苏教育学院生物系, 江苏 南京 210016)

[摘要] 研究测定了 89 个中国野猪和 1 个家猪未知功能核基因 SANDX-2 位点的序列. 在序列比对后长 510 bp 左右, 发现有 2 处 4 种类型碱基缺失, 30 个位点发生碱基替换, 共定义了 19 种单元型. 在野猪中共发现 18 种单元型, 其中 7 种只在某一地方种群中发现, 11 种为地方种群间共享单元型. 用邻接法基于核苷酸 Kimura 2-parameter 模型构建系统发生树中, 19 种单元型被明显分为 2 大枝. 尽管各枝得到的 Bootstrap 值均较低, 且各地方种群中出现的单元型散布在不同的进化枝中, 但单元型在野猪亚种内的分布已出现了一定的地理分布格局. 若不考虑碱基的插入/缺失, 用 TCS 构建 19 种单元型网络表明, HAP2 单元型为一古老单元型, 其他为衍生单元型.

[关键词] 中国野猪, SANDX-2 位点, 遗传变异

[中图分类号] Q31 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1001-4616(2007)03-0079-08

Genetic Variation of Anonymous Nuclear DNA SANDX-2 in Chinese Wild Boars (*Sus scrofa*)

Huo Ailing¹, Zhang Chenling¹, Li Congqi², Chen Jianqin³, Zhou Kaiya¹, Chang Qin¹

(1 Genetic Resource Institute, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

(2 Department of Basic Medical Science, Hainan Medical College, Haikou 571101, China)

(3. Department of Biology, Jiangsu Institute of Education, Nanjing 210016, China)

Abstract The anonymous nuclear DNA SANDX-2 locus of 89 individuals of Chinese wild boars and a domestic pig were amplified and sequenced for studying the genetic variability. A total of 510 bp were obtained after aligned, including 4 indels and 30 substitutions. Eighteen haplotypes were defined in Chinese wild boars, among which 7 haplotypes were observed only in one local population, and 11 haplotypes were shared by two or more local populations. The phylogenetic tree constructed by the neighbor joining method based on Kimura 2-parameters model divided the haplotypes into two distinct clades. Although the trees were not supported by high bootstrap value, and the haplotypes in different population were located in different clades, there are geographical distribution patterns in the Chinese wild boars. Ignoring the gaps in the sequences, the nesting cladogram of 19 haplotypes suggested that HAP2 may be ancestral haplotype.

Key words Chinese wild boar, SANDX-2, genetic variation

0 引言

在动物的种群遗传研究中, 线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 和微卫星 DNA (microsatellite DNA) 标记已被广泛应用于动物的演化、种群或物种进化历史研究. 动物的线粒体 DNA 具有母系遗传、进化速度快的特点, 多用于解释地理隔离种群间的亲缘关系及其种群进化过程, 但由于它只是反映动物进化

收稿日期: 2006-03-05 修回日期: 2006-09-11

基金项目: 江苏省生物多样性与生物技术重点实验室基金资助项目.

作者简介: 霍爱玲 (1976-), 女, 硕士研究生, 主要从事动物分子生物学的学习与研究. E-mail: huoailling_hr@163.com

通讯联系人: 常青 (1966-), 副教授, 博士, 主要从事动物分子系统学的教学与研究. E-mail: changq@njnu.edu.cn

过程中母系演化的历史,由此推断的进化关系可能过于简单,并有可能低估了种群的遗传多样性^[1]. 微卫星 DNA 具有高度的多态性,遵循孟德尔遗传等特点,目前多用于推断种群的遗传结构、检测遗传多样性及其种群近期发展历史的研究.但由于微卫星等位基因间的差异可能是重复单元数量的变化所产生,也有可能是重复区域碱基的变异或侧翼非重复区域碱基变异所导致^[2,3],且不同物种甚至种群间的位点突变率可能不同或并不恒定^[4,5],因此微卫星标记在种群遗传结构研究中亦有许多问题值得注意.

近年来,核基因组单拷贝多态 DNA (single copy nuclear polymorphic DNA, scnp DNA) 已被较多地与 mtDNA 及微卫星 DNA 标记一起用于动物种群遗传研究.在脊椎动物中, Sülmann 等^[6]通过对 3 个未知功能的核 DNA 分子标记 DXTU 1、DXTU 2 和 DXTU 3 的变异分析,探讨了非洲地区丽鱼的系统发生. Mayer 等^[7]进一步利用丽鱼核 DNA DXTU 1 序列变异,并结合线粒体的细胞色素 b 和控制区的 DNA 序列分析,对东非地区丽鱼的系统发生和种群遗传结构进行了研究. FitzSimmons 等^[8]利用 2 种核基因标记(微卫星标记和未知功能的单拷贝核基因)和线粒体 DNA 标记分析了澳大利亚海岸绿海龟的种群遗传结构. Dolman 等^[9]利用 72 对引物筛选出了 7 个 scnDNA 位点,将其中 4 个 scnDNA 标记用于研究澳大利亚的热带雨林地区的小蜥蜴种群发生和种群动态,对已有形态学和线粒体 DNA 方面的研究结果进行了补充.最近, Berrebi 等^[10]利用扩增内元 (EPIC-PCR) 核分子标记分析了中国东南部的鲤科鱼类的种群结构和系统发生.此外,核 DNA 的变异分析在珠母贝 (*Pinctada*)、步行虫 (*Ohanopteris*) 及伪叶甲 (*Lagriinae*) 等一些无脊椎动物种群遗传结构研究上亦有应用^[11-13].

野猪 (*Sus scrofa*) 是家猪的祖先,主要分布于亚洲、欧洲及非洲的大部分地区.对野猪种群遗传研究主要集中在对线粒体 DNA 标记的变异分析. Watanobe 等^[14,15]根据线粒体基因变异,研究了日本野猪的种群遗传结构及系统地理格局,探讨了日本野猪和琉球野猪之间的亲缘关系.李崇奇等^[16]利用线粒体控制区全序列分析了东北亚地区野猪线粒体 DNA 的变异及系统地理格局.在核基因变异研究上,目前只有一些对微卫星研究的报道^[17].猪 SANDX-2 位点是陈建琴等^[18]利用 OPG 17 随机引物从太湖猪嘉兴黑 5 号个体的随机扩增多态 (RAPD) 产物中回收获得的一个大小约 510~520 bp 的片段,该位点碱基组成与家猪的 Triadin 基因有较高的相似性,为一未知功能的单拷贝核基因.

本研究利用 PCR 产物直接测序技术和克隆测序技术对野猪 SANDX-2 位点的序列进行分析,以期从核 DNA 变异角度分析中国野猪的遗传多样性,为今后中国野猪种群遗传结构分析及其系统地理发生分析奠定基础.

1 材料和方法

1.1 实验材料

从中国大陆 16 个省的 20 个地点采集野猪肌肉样 89 个,另获得家猪 (太湖猪) 血液样 1 个 (表 1). 野外采集后,肌肉样品立即置于 95% 乙醇中保存.

1.2 DNA 提取、PCR 和序列测定

用标准的蛋白酶 K 消化和酚/氯仿抽提的方法^[20]从肌肉样本提取基因组 DNA. 根据陈建琴等^[18]对家猪核 DNA 多态标记的克隆与序列分析,使用引物 NJBP2 (5'-AATGGGTGCTGTAGAAA GTT-3') 和 NJBM 2 (5'-GCTGCTGGAAGAAGTGTAT-3') 扩增 SANDX-2 位点基因片段,所有扩增均在 PTC-200 型 DNA 扩增仪 (MJ Research) 上进行.反应总体积 30 μ L,含模板 DNA 100 ng 左右,0.2 mmol/L dNTP, 2.0 mmol/L MgCl₂, 10 mmol/L Tris-HCl (pH 8.3), 50 mmol/L KCl 引物各 10 μ mol, 1U Taq 酶 (Promega). 反应在 95℃ 预变性 5 min 后,进入如下循环: 95℃ 变性 30 s, 50℃ 复性 30 s, 72℃ 延伸 40 s, 循环次数为 30 次.循环结束后在 72℃ 延伸 7 min. 扩增产物经柱式 PCR 产物纯化试剂盒或胶纯化试剂盒 (杭州维特洁) 纯化后,用 ABI Prime 377 型全自动遗传分析仪 (Applied Biosystem) 进行序列测定.

表 1 研究用样品来源及其单元型
Table1 Geographic origin of the samples used in this study and haplotypes

亚种名称* Subspecies	采集地及代号 Locality & Code	个体数 Number of individuals	单元型 Haplotypes
家猪 (S. s. domestica)	江苏无锡 DP	1	HAP3
(S. s. ussuricus)	东北野猪 内蒙古鄂伦春 ELC	10	HAP6
	内蒙古牙克石 YKS	1	HAP17
	黑龙江红星 HX	6	HAP6HAP17
	内蒙古巴林 BL	2	HAP6
	吉林白河 BH	5	HAP6HAP10HAP15 HAP17
	辽宁鞍山 LN	1	HAP19
华北野猪 (S. s. moupinensis)	山西古县 GX	4	HAP2 HAP8 HAP14
	陕西宝鸡 BJ	9	HAP2 HAP8 HAP14
	湖北神农架 SNJ	10	HAP2 HAP8 HAP9 HAP15 HAP18
	湖南张家界 ZJJ	5	HAP2 HAP11 HAP15
	四川峨眉 EM	1	HAP13
华南野猪 (S. s. chirodontus)	安徽金寨 JZ	7	HAP2 HAP15 HAP19
	湖北黄冈 HG	7	HAP2 HAP4 HAP15
	江苏宜兴 YX	2	HAP4 HAP5
	江西瑞昌 RC	4	HAP1 HAP2 HAP15
	福建泰宁 TN	3	HAP2 HAP7 HAP12
	福建龙岩 LY	6	HAP1 HAP4 HAP8 HAP9 HPA16 HAP17
	安徽黄山 HS	4	HAP2 HAP5 HAP15 HAP17
	云南 YN	1	HAP2
新疆野猪 (S. s. nigripes)	新疆伊犁 XJ	1	HAP2

* : 亚种的分类参照王应祥^[19], * : Subspecies definition consulted from Wang Yingxiang^[19].

1. 3 序列分析

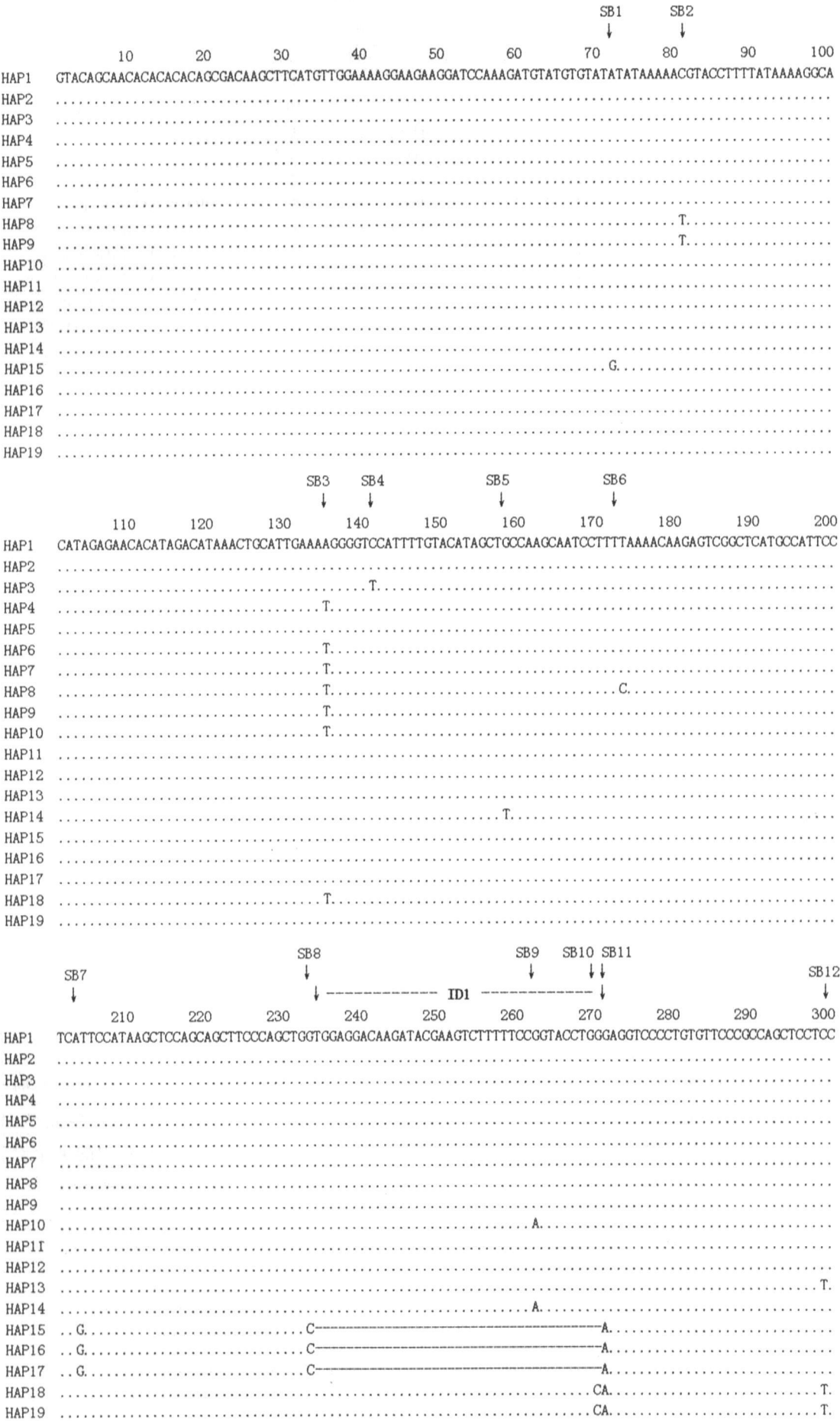
用 Clustal X 1.8软件^[21]进行序列比对,并用 MEGA Version 2.1^[22]确定变异位点及单元型. 用 DnaSP 软件^[23]计算核苷酸多样性 (nucleotide diversity, π)、单元型多样性 (haplotype diversity, h). 同时利用 MEGA 2.1中的邻结法 (Neighbor joining method)基于 Kimura双参数 (Kimura 2- parameter)模型构建单元型系统发生树. 用 TCS v1.21^[24]软件构建单元型网络图,并进行单元型演化分析.

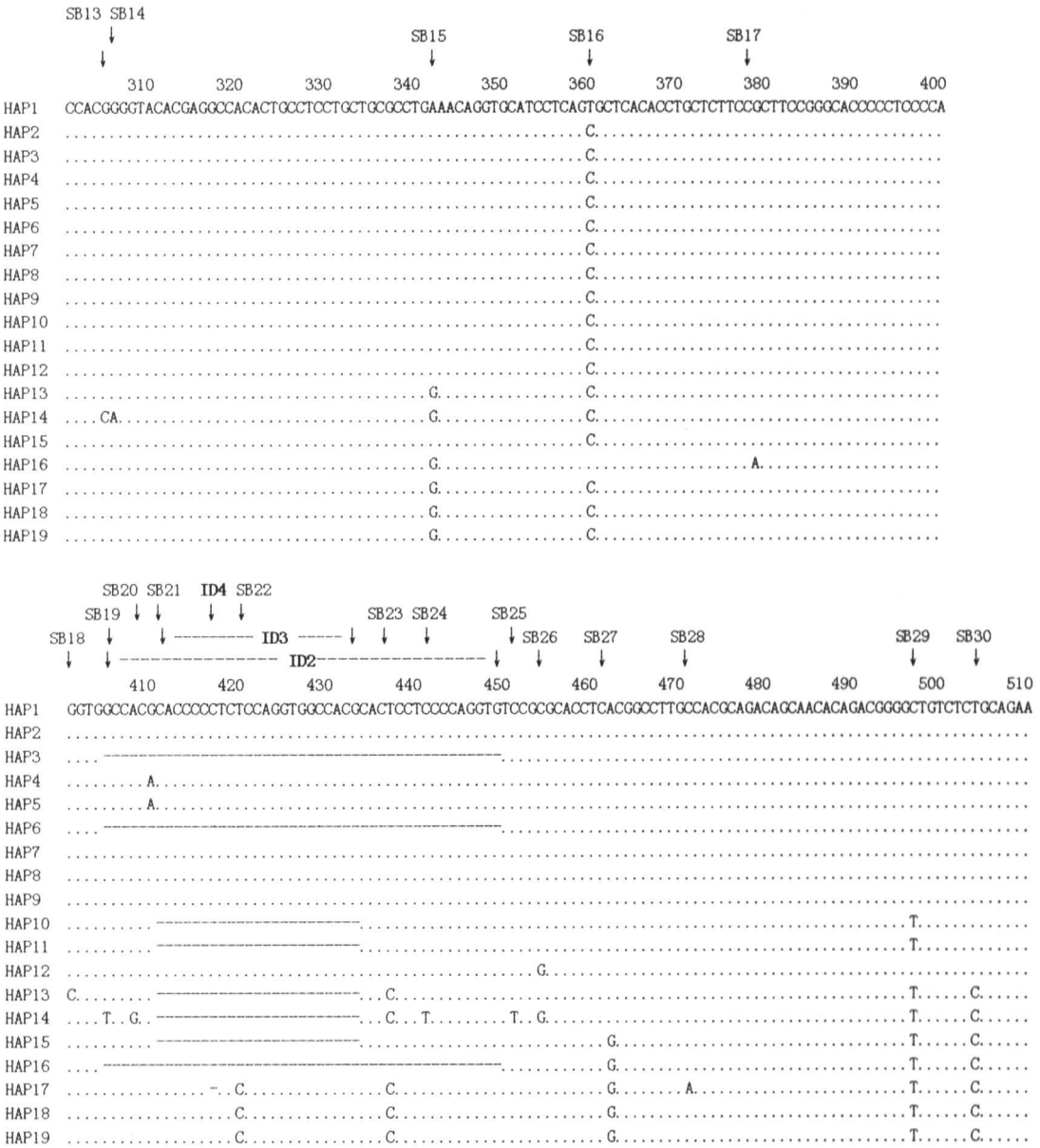
2 结果

2. 1 SANDX- 2位点序列变异

测定的 89个中国野猪和 1个家猪的 SANDX- 2的序列,比对后共有 510 bp 发现有 2处碱基缺失,分别位于第 234~ 269碱基间及第 405~ 449碱基间 (含 4种类型, ID1- ID4),有 30个位点发生碱基替换,共定义了 19个单元型 (见图 1). 去除所有插入或缺失后的 428个位点中,变异位点 22个,其中单个变异位点 (singleton variable sites) 10个,简约信息位点 (parsimony informative sites) 12个,转换与颠换比为 2.835. 所有序列间平均核苷酸差异 $K = 4.849$, 总体核苷酸多样性 $\pi = 0.01141 \pm 0.01021$,单元型的多样性指数为 0.8662.

从图 1中可以看出,单元型 HAP15、HAP16和 HAP17在 234~ 269碱基间为同一种缺失类型 (ID1),但在第 405~ 449碱基间,单元型 HAP3、HAP6和 HAP16在该区域为全部缺失 (ID 2),单元型 HAP1Q、HAP11、HAP13、HAP14和 HAP15只是其中的部分碱基缺失 (ID 3),而 HAP17只是其中的 1个碱基发生缺失 (ID 4).





圆点(.)表示碱基与第一条序列相同;虚线(-)表示缺失;插入缺失(ID)和碱基替换(SB)用箭头表示所在位置

图 1 SANDX 2 基因单元型核苷酸序列比对结果

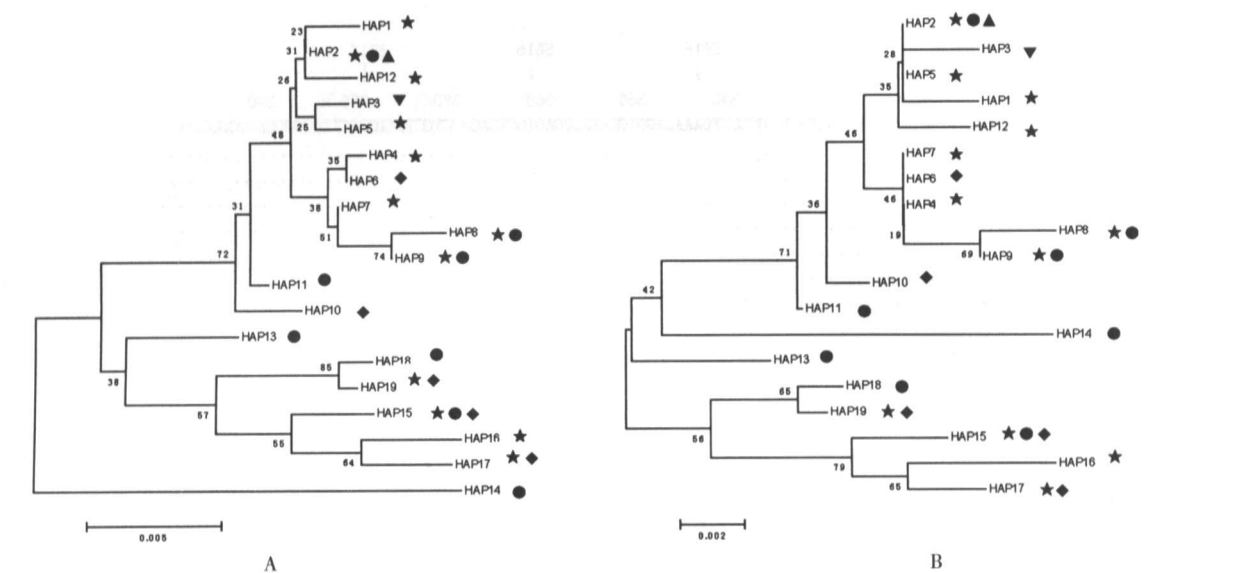
Fig.1 Alignment of representative SANDX 2 nucleotide sequences

2.2 单元型的地理分布及演化

单元型在家猪和野猪各地理种群中的分布见表 1 从表 1 可以看出,单元型 HAP3 只是出现在家猪中。在野猪的 18 种单元型中,有 7 个单元型只在某一地方种群中出现,有 11 个为地方种群间的共享单元型。单元型 HAP2、HAP6 HAP15 和 HAP17 在野猪中出现的频次较高,其中最高的单元型为 HAP2 共有 22 个个体,占 24.72%;其次是单元型 HAP15 有 18 个个体,占总数的 20.22%;单元型 HAP6 有 14 个个体,占总数的 15.73%;单元型 HAP17 有 10 个个体,占总数的 11.24%。

根据家猪和野猪的 19 种单元型的序列变异,基于核苷酸 Kimura 2- parameter 模型构建的系统发生树见图 2 可以看出,对缺失数据(或因碱基插入或缺失导致的间隙, gaps)不同的处理方法所得到的拓扑结构并不完全一致。从单元型的系统发生来看,单元型 HAP15 HAP16 HAP17 HAP18 及 HAP19 间的关系较近,单元型 HAP1 HAP2 HAP3 HAP5 及 HAP12 间的关系较近,而 HAP4 HAP6 HAP7 HAP8 及 HAP9 间的关系则较近。

若不考虑插入 缺失,用 TCS 构建的 19 种单元型网络如图 3 所示。从图中可以看到,单元型 HAP14 由



分析中对缺失数据进行完全删除(A)及成对删除(B),Bootstrap 进行 5 000 个重复. 符号“★”代表华南野猪;“●”代表华北野猪;“◇”代表东北野猪;“▲”代表新疆野猪;“▼”代表家猪

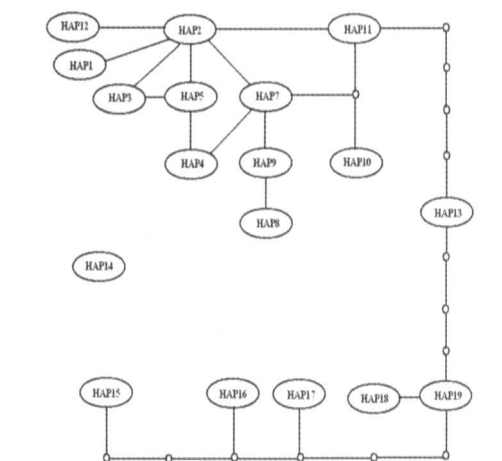
图 2 用邻结法基于 Kimura 2-parameter 模型构建的 SANDX2 系统发生树
Fig.2 Neighbor-joining tree based on the SANDX2 locus sequences. Genetic distances were calculated by Kimura's two-parameter method

于与其他单元型间的差异较大,而独立在整个网络之外. 不考虑插入 缺失后,单元型 HAP2与单元型 HAP1、HAP3、HAP5、HAP7、HAP11及 HAP12间只有 1个碱基的差异,与单元型 HAP4、HAP9间只有 2个碱基的差异;单元型 HAP13、HAP15、HAP16、HAP17及 HAP19彼此间均有 2个以上碱基的差异,与单元型 HAP2的差异均较大,其中的一些单元型在本研究中并没有检测到.

3 讨论

随着模式生物基因组计划研究的深入,核基因组中的单拷贝多态 DNA 已被应用到种群的遗传变异及物种的系统发生研究中^[6-13]. 在本研究中,从 SANDX-2位点的遗传变异来看,野猪的不同亚种及亚种内不同地理种群间均呈现一定的多态性,单元型的多样性指数亦较高. 从单元型分布来看,18种单元型中 HAP2、HAP8、HAP9、HAP15、HAP17和 HAP19为两个或两个以上的亚种间的共享单元型, HAP1、HAP4、HAP5、HAP7、HAP12和 HAP16只在野猪华南亚种中出现, HAP11、HAP13、HAP14和 HAP18只在野猪华北亚种中出现,而 HAP6和 HAP10只在野猪东北亚种中出现. 尽管单元型 HAP2、HAP15同为 3个亚种间的共享单元型,但在野猪华南亚种中,单元型 HAP15所占比例最高,为 33.33%;其次是单元型 HAP2,占 21.21%;而在野猪华北亚种中则是单元型 HAP2所占比例最高,为 46.67%,其次是单元型 HAP15,占 20%. 在野猪东北亚种中,单元型所占比例最高的是 HAP6,达 56%,其次是共享单元型 HAP17,占 32%. 可见, SANDX-2位点单元型的分布在野猪亚种间已有一定差异,单元型在野猪亚种内的分布已出现了一定的地理分布格局.

Mayer等^[7]通过对丽鱼未知功能核基因 DXTU1的序列变异研究,发现该基因序列中的多处插入 缺失以及碱基替换可以作为进化枝的信息标记 (cladistically informative markers), 这些信息标记支持由邻结法所构建的系统发生树. 在本研究中, SANDX-2位点序列共有 30个碱基替代和 2处 4种类型的插入 缺



网络中的每条线段代表一个碱基的突变;小的圆圈表示没有检测到的内部单元型;椭圆形为检测到的单元型,圈中为单元型代号.两个单元型间联系的概率大于 98%
图 3 不考虑插入/缺失后 SANDX2 基因单元型网络图
Fig.3 The nesting cladogram of 19 haplotypes of *Sus scrofa*, the gaps were missing

失.从所得到的单元型系统发生树来看,野猪的 18种单元型明显分为 2大枝,但没有发现可以作为单元型进化枝的信息标志.另外,在亚种水平上,各地理种群的单元型散布在不同的进化枝中,呈现出一种混杂的分布格局.

从单元型网络结构可以看出,不考虑插入/缺失后单元型 HAP2与单元型 HAP1、HAP3、HAP5、HAP5、HAP7、HAP11及 HAP12间只有 1个碱基的差异;结合其分布后发现,单元型 HAP2在地方种群中广泛分布,出现的频次也较高.在 TCS网络图中,单元型 HAP2处于 HAP1、HAP3、HAP5、HAP5、HAP7、HAP11及 HAP12的中间,因此,HAP2应该为一个比较古老的祖先单元型而其他的则为衍生单元型.尽管单元型 HAP15在野猪的华南亚种、华北亚种及东北亚种中均有分布,但在单元型网络结构中处于末端枝位置,可能该单元型在野猪中进化较快.单元型 HAP14与其他单元型之间因碱基差异较大而断开,这可能由于部分地方种群取样较少或样点分布的不连续所造成的.

利用 *scn* DNA 标记(含已知基因和未知基因)研究种群遗传变异时,往往会遇到标记的有效性,单倍型的实验检测,及因基因的重组、遗传分化水平低、出现的插入/缺失多态等而带来的数据分析困难等问题^[1].在多数研究中,分析核苷酸替代及遗传变异时通常将缺失信息忽略,序列比对后包含有缺口(gaps)的位点在分析之前从所有的序列中去除,从而将序列的长度进行了一个恰当的校正^[25].Girbet等^[26]认为在系统发生分析中应重视来自缺口的信息,如果忽略将会得到错误的拓扑结构.在本研究中,SANDX-2位点的序列在野猪及家猪中共有 30个位点发生碱基变异,有 4种类型(D1-4)的碱基缺失,仅从对缺失信息不同处理办法所得到的不同单元型系统发生树来看,如何对生物进化中序列的大片段缺失信息的处理,是今后该基因片段能否正确应用于野猪种群遗传及系统地理发生分析的关键所在.鉴于核基因与 *mtDNA* 解决的是不同时间以及空间尺度上的遗传学问题,研究中仅使用一方面的标记可能会产生偏差^[27-28],因此,要阐述中国野猪各地方种群的遗传结构及系统地理分布格局,有必要结合 *mtDNA* 和核基因变异两方面的研究.

[参考文献]

- [1] Zhang D X, Hewitt G M. Nuclear DNA analyses in genetic studies of populations: practice, problems and prospects [J]. *Molecular Ecology*, 2003, 12(3): 563-584.
- [2] James P, Lagoda P J L. Microsatellites: from molecules to populations and back [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 1996, 11(10): 424-429.
- [3] Culver M, Menotti-Raymond M A, O'Brien S J. Patterns of size homoplasy at 10 microsatellite loci in *Puma concolor* [J]. *Mol Biol Evol*, 2001, 18(6): 1151-1156.
- [4] Gardner M G, Bull C M, Cooper S J B, et al. Microsatellite mutations in litters of the Australian lizard, *Egernia stokesii* [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2000, 13(3): 551-560.
- [5] Xu X, Peng M, Fang Z, et al. The direction of microsatellite mutations is dependent upon allele length [J]. *Nature Genetics*, 2000, 24(4): 396-399.
- [6] Sülmann H, Mayer W E, Figueroa F, et al. Phylogenetic analysis of cichlid fishes using nuclear DNA markers [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1995, 12(6): 1033-1047.
- [7] Mayer W E, Tichy H, Klein J. Phylogeny of African cichlid fishes as revealed by molecular markers [J]. *Heredity*, 1998, 80(6): 702-714.
- [8] FitzSimmons N N, Moritz C, Limpus C J, et al. Geographic structure of mitochondrial and nuclear gene polymorphisms in Australian green turtle population and male biased gene flow [J]. *Genetics*, 1997, 147(4): 1843-1854.
- [9] Dohman G, Phillips B. Single copy nuclear DNA markers characterized for comparative phylogeography in Australian wet tropics rainforest skinks [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2004, 4(2): 185-187.
- [10] Berebi P, Xavier X, Fang F, et al. Population structure and systematics of *Opsariichthys bidens* in south east China using a new nuclear marker: the introns (EPIC-PCR) [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2006, 87(1): 155-166.
- [11] Amaud-Haond S, Boudry S P, Saulnier D, et al. New anonymous nuclear DNA markers for the pearl oyster *Pinctada margaritifera* and other *Pinctada* species [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2002, 2(3): 220-222.
- [12] Sota T, Vogler A P. Reconstructing species phylogeny of the carabid beetles *Ohomopterus* using multiple nuclear DNA sequences: heterogeneous information content and the performance of simultaneous analyses [J]. *Molecular Phylogenetic Evolution*

- tion. 2003, 26(1): 139-154
- [13] Schmucki C, Blacket M J, Sunnucks P. Anonymous single-copy nuclear DNA (scnDNA) markers for two endemic bog-dwelling beetles *Apasie puncticeps* and *Adelium calosmoides* (Tenebrionidae: Lagrinea: Adelini) [J]. Molecular Ecology Notes. 2006, 6(2): 362-364
- [14] Watanabe T, Okumura N, Ishiguro N, et al. Genetic relationship and distribution of the Japanese wild boar (*Sus scrofa leucomystax*) and Ryukyu wild boar (*Sus scrofa riukiuanus*) analyzed by mitochondrial DNA [J]. Molecular Ecology. 1999, 8(9): 1509-1512
- [15] Watanabe T, Ishiguro N, Nakano M. Phylogeography and population structure of the Japanese wild Boar *Sus Scrofa leucomystax*: Mitochondrial DNA Variation [J]. Zoological Science. 2003, 20(12): 1477-1489
- [16] 李崇奇, 常青, 陈建琴, 等. 东北亚地区野猪种群 mtDNA 遗传结构及系统地理发生 [J]. 动物学报, 2005, 51(4): 640-649.
- [17] Fan B, Yang S L, Liu B, et al. Characterization of the genetic diversity on natural populations of Chinese miniature pig breeds [J]. Animal Genetics. 2003, 34(4): 465-476
- [18] 陈建琴, 常青, 周开亚, 等. 家猪核 DNA 多态标记的克隆与序列分析 [J]. 南京师大学报: 自然科学版, 2002, 25(4): 95-99.
- [19] 王应祥. 中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全 [M]. 北京: 中国林业出版社, 2003: 115-116
- [20] Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. Molecular Cloning [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY, 2002
- [21] Jeanmougin F, Thompson J D, Gouy M, et al. Multiple sequence alignment with ClustalX [J]. Trends Biochem Sci. 1998, 23(10): 403-405.
- [22] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I, et al. MEGA: molecular evolutionary genetic analysis ver 2.0 [J]. Bioinformatics. 2001, 17(12): 1244-1245.
- [23] Rozas J, Rozas R. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis [J]. Bioinformatics. 1999, 15(2): 174-175.
- [24] Clement M, Posada D, Crandall K A. TCS: a computer program to estimate gene genealogies [J]. Molecular Ecology. 2000, 9(10): 1657-1659
- [25] Yang Z, Rannala B. Bayesian phylogenetic inference using DNA sequences: a Markov chain Monte Carlo method [J]. Mol Biol Evol. 1997, 14(7): 717-724.
- [26] Girdet G, Wheeler W C. On Gaps [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution. 1999, 13(1): 132-143.
- [27] Ballard JW, Whitlock M C. The incomplete natural history of mitochondria [J]. Molecular Ecology. 2004, 13(4): 729-744.
- [28] Benschi Staffan, Irwin D E, Irwin J H, et al. Conflicting patterns of mitochondrial and nuclear DNA diversity in *Phylloscopus* warblers [J]. Molecular Ecology. 2006, 15(1): 161-171.

[责任编辑: 孙德泉]