

暗腹雪鸡细胞色素 b 基因的克隆 及其在雉科中亲缘关系的分析

刘 强¹, 吴 敏^{1*}, 张琳麟², 李 悦¹

(1. 浙江大学 生命科学学院, 浙江 杭州 310027; 2. 新疆乌鲁木齐双雪科技开发公司, 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘 要: 采用聚合酶链式反应克隆暗腹雪鸡 (*Tetraogallus himalayensis*) Cyt b 基因, 首次报道该基因的全长序列 (1143bp A Y678108), 并与雉科中其他 19 个属的 Cyt b 基因进行同源性比较, 分析了碱基组成和变异情况. 用邻接法、最大简约法和最大拟然法构建了系统进化树, 得到了基本相同的拓扑结构. 结果表明雪鸡属与鹌鹑属、石鸡属的亲缘关系最近, 形成单系群. 雪鸡属与鹌鹑属的分歧时间为 1.5~2.0 百万年, 与石鸡属分歧时间为 1.7~2.4 百万年.

关 键 词: 雉科; 克隆; Cyt b; 系统进化树

中图分类号: Q951.3

文献标识码: A

文章编号: 1008-9497(2006)01-089-06

LIU Qiang¹, WU Min¹, ZHANG Lin-lin², LI Yue¹ (1. College of Life Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310027, China; 2. Double Snow Science and Technology Development Co. Xinjiang, Wulumuqi 830000, China)

Cloning of mitochondrial cytochrome b gene of *Tetraogallus himalayensis* and analysis of its relationships in Phasianidae. Journal of Zhejiang University(Science Edition), 2006, 33(1): 89~94

Abstract: Up to now, there were few references about *Tetraogallus*, especially in its phylogenetic relationships with other genera in Phasianidae. The complete mitochondrial cytochrome b gene of *Tetraogallus himalayensis* was amplified by PCR. DNA fragment of 1143bp (A Y678108) was reported for the first time. By comparing with the sequence of other nineteen genera in Phasianidae, the base compositions and divergences among these sequences were analyzed by MEGA software, the phylogenetic trees constructed by multiple methods (NJ, MP, ML) suggested the same topology. The molecular results revealed that *Tetraogallus* has the most closed relationship with *Coturnix* and *Alectoris*. These three genera are monophyletic. The approximate divergence time estimated by base change velocity between *Tetraogallus* and *Coturnix* was 1.5~2.0 million years. The divergence time between *Tetraogallus* and *Alectoris* was 1.7~2.4 million years.

Key words: Phasianidae; clone; Cyt b; phylogenetic trees

雪鸡属 (*Tetraogallus*) 是世界上分布在高海拔地区的鸟类之一, 生活在海拔 3000 m 以上. 全世界共有 5 种雪鸡: 高加索雪鸡 (*caucasicus*)、里海雪鸡 (*caspius*)、阿尔泰雪鸡 (*altaicus*)、暗腹雪鸡 (*himalayensis*, 又名喜马拉雅雪鸡)、藏雪鸡 (*tibetanus*), 主要分布于欧亚大陆腹地, 其中暗腹雪鸡、藏雪鸡、阿尔泰雪鸡 3 个种 9 个亚种主要分布在我国新疆及毗邻地区^[1]. 雪鸡是国家二级保护动物, 国内外有关雪鸡的文献报道甚少, 早年只有苏联学者对暗腹雪

鸡进行过研究, 国内学者沈孝宙等^[2]、郑作新等^[3,4]对雪鸡的分类、地理分布和生态学有过综述性的报道, 其分子系统演化尚未报道. 按照形态学研究, 雪鸡属被归于鸡型目 (Galliformes)、雉科 (Phasianidae).

目前在动物分类进化和系统分类研究中, 由于线粒体 DNA 具有快速进化、缺少重组、严格的母系遗传、基因组小、易于测序和分析等特点, 作为一种有效的分子标记得到了广泛的应用^[5]. 在鸟类中, 常用细胞色素 b (cytochrome b, Cyt b) 来进行分类地

收稿日期: 2004-08-25.

作者简介: 刘 强 (1980—), 男, 硕士, 主要从事动物分子遗传学研究.

* 通讯作者: 吴 敏, 教授, 主要从事动物分子演化研究.

位和系统进化的研究. 用 *Cyt b* 基因的序列, 特别是全长序列来研究鸟类的分类、亲缘关系、系统演化, 已经成为最可靠的依据之一, 解决了不少困扰分类学家多年的问题^[6-9]. 本文克隆了暗腹雪鸡的 *Cyt b* 基因全长序列, 并且把它作为一种遗传标记, 分析了雪鸡属在雉科中分类地位、亲缘关系问题.

1 材料与方法

1.1 材料与来源

5 只暗腹雪鸡 (*Tetraogallus himalayensis*) 肌肉组织样品, 采自我国新疆天山地区. 其他雉科 19 个属物种的 *Cyt b* 基因全长序列从 GenBank 上检索所得. 石鸡 (*Alectoris chukar* 序列号 L08378)、刚果孔雀 (*Afropavo congensis* AF013760)、大眼斑雉 (*Argusianus argus* AF013761)、灰胸竹鸡 (*Bambusica thoracica* AF028790)、日本鹌鹑 (*Coturnix japonica* AP003195)、彩雉 (*Catreus wallichi* AF028792)、红腹锦鸡 (*Chrysolophus pictus obscurus* AF534563)、蓝马鸡 (*Crossoptilon auritum* AF534552)、鹧鸪 (*Francolinus francolinus* AF013762)、原鸡 (*Gallus gallus* AY235570)、血雉 (*Ithaginis cruentus* AF068193)、棕尾虹雉 (*Lophophorus impejanus* AF028796)、蓝鹇 (*Lophura swinhoii* AF314644)、蓝孔雀 (*Pavo cristatus* L08379)、环颈雉 (*Phasianus colchicus* AF028798)、眼斑孔雀雉 (*Polyplectron germaini* AF330063)、勺鸡 (*Pucrasia macrolopha* AF028800)、黑颈长尾雉 (*Syrmaticus humiae* AF534560)、红腹角雉 (*Tragopan temminckii* AF229838).

1.2 DNA 的提取

取肌肉组织 50 mg 标准酚氯法提取^[10], 操作过程中设空白对照.

1.3 PCR 扩增

根据 GenBank 中已知的原鸡的 *Cyt b* 序列, 用 Primer Premier 5.0 进行引物设计, S₁ 5'-TACCTGGGTTCCCTTCGCCCT-3', S₂ 5'-TTCA GTTTT TGGTTTACAAGAC-3'. 扩增反应体积为 50 μ L, 其中含有 0.2 mM dNTPs, 0.5 μ M 引物, 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.5 mM MgCl₂, 1.5 unit Taq PULS 酶, 以及约 100 ng 的 DNA 模板. 反应条件为 95 预变性 5 min; 94 变性 60 s, 50 退火 60 s, 72 延伸 60 s, 共进行 30 个循环; 72 延伸 10 min. PCR 反应在 PTC-200 型热循环仪上进行, 操作过程中设空白对照. 取 5 μ L 反应液在 1.0% 的琼

脂糖凝胶上进行电泳检测.

1.4 PCR 产物的纯化及测序

PCR 产物经琼脂糖电泳分离后, 用上海生工 (Sangon) 生产的 UNIQ10 柱式 PCR 产物回收试剂盒 (UNIQ-10 column PCR Products Purification Kit) 纯化回收. 将 *Cyt b* 基因的 PCR 纯化产物克隆到 PMD18-T 载体中 (购自宝生生物工程有限公司), 鉴定阳性克隆后, 对重组质粒进行测序. 测序在 Pharmacia 公司自动测序仪 Megabase 1000 上进行.

1.5 序列分析及系统重建

用 DNASTAR 软件包中的 MegAlign 程序排列 DNA 同源序列 (1143bp), 并经人工仔细核查. 在此基础上, 序列输入 MEGA2.1^[11] 软件包. 计算不同序列间的碱基组成百分比、变异位点数、简约信息位点数、转换颠换比值、颠换百分比, 并用双参数法 (Kimura 2-parameter) 计算分枝间的遗传距离, 用邻接法 (Neighbor-joining) 进行系统重建, 邻接树采用 Kimura 2-parameter 法. 用 PHYLIP3.6 软件包^[12] 进行最大似然法 (Maximum Likelihood) 和最大简约法 (Maximum Parsimony) 的系统重建, 系统重建均以灌丛塚雉 (*Alectura lathami* AF082058)^[13] 为外群, 系统树各分枝的置信度由重抽样法 (Bootstrap) 1000 次重复检测, DNA 序列变异中的转换和颠换赋予相同的加权值.

2 结果

从肌肉组织中提取的 DNA 经 PCR 扩增后, 获得了清晰且无非特异性条带的结果 (见图 1). 产物克隆到 PMD18-T 载体后测序, 得到雪鸡细胞色素 *b* 全长序列 (1143bp), 序列为首次报道, 已提交 GenBank 数据库, 序列号为 AY678108, 与 GenBank 雉科其他 19 个属物种的序列比对中共有变异位点

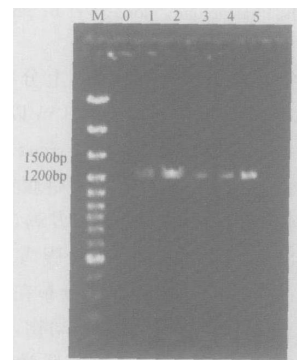


图 1 暗腹雪鸡线粒体细胞色素 *b* 的 PCR 扩增结果
Fig. 1 The results of PCR amplification of *Tetraogallus himalayensis* *Cyt b* sequences
M: 分子量标记; 0: 对照; 1~5: 暗腹雪鸡

481 个,其中 353 个为简约信息位点,在密码子的第三位存在 152 个变异,占总变异位点的 31.6%。T、C、A、G 的平均含量为 25.1%、34.8%、27.9%、12.3%,碱基组成的百分比中显示出 G 的相对缺

乏。21 个物种转换与颠换的平均比值为 2.1(见表 1) 颠换的平均百分比为 4.29%,经 MEGA 软件包进行遗传距离的运算后得到表 1 矩阵。

表 1 各物种间平均颠换百分比(对角线以下)和遗传距离(对角线以上)

Table 1 Numbers of transition/transversion (below diagonal) and Genetic distances(up diagonal) between different species

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
1	0.116	0.130	0.124	0.143	0.130	0.150	0.145	0.143	0.152	0.169	0.152	0.167	0.144	0.138	0.166	0.137	0.146	0.143	0.146	0.187
2	86/35		0.136	0.142	0.171	0.146	0.157	0.158	0.137	0.162	0.158	0.167	0.149	0.158	0.158	0.138	0.161	0.137	0.143	0.202
3	91/44	88/53		0.133	0.150	0.147	0.169	0.162	0.152	0.141	0.164	0.168	0.178	0.134	0.157	0.154	0.139	0.144	0.143	0.162
4	85/44	90/57	88/50		0.113	0.106	0.136	0.124	0.136	0.129	0.145	0.136	0.140	0.128	0.136	0.151	0.124	0.148	0.123	0.143
5	94/53	107/66	95/59	91/27		0.114	0.137	0.140	0.130	0.152	0.151	0.147	0.167	0.141	0.146	0.162	0.143	0.149	0.141	0.158
6	89/46	91/59	93/58	85/26	90/29		0.150	0.139	0.140	0.148	0.151	0.135	0.145	0.131	0.132	0.144	0.120	0.138	0.130	0.141
7	103/51	99/61	109/62	98/42	93/49	109/44		0.082	0.086	0.091	0.102	0.107	0.174	0.137	0.147	0.155	0.137	0.148	0.137	0.146
8	97/52	102/59	105/60	95/34	97/47	101/42	77/10		0.082	0.100	0.111	0.109	0.164	0.141	0.133	0.142	0.136	0.150	0.136	0.141
9	98/49	101/60	99/57	101/39	85/50	99/45	84/7	78/9		0.094	0.104	0.117	0.154	0.132	0.138	0.143	0.130	0.146	0.127	0.144
10	105/50	85/57	88/58	94/40	104/51	105/46	84/12	93/12	90/9		0.114	0.108	0.158	0.128	0.144	0.138	0.125	0.162	0.131	0.124
11	102/46	94/59	89/50	93/40	98/47	94/42	97/44	97/48	94/43	91/42		0.102	0.173	0.151	0.158	0.166	0.139	0.165	0.144	0.159
12	99/57	101/60	103/67	95/45	95/56	91/49	93/19	96/17	103/18	94/19	108/51		0.171	0.156	0.143	0.155	0.129	0.157	0.139	0.153
13	117/51	109/60	121/57	95/49	113/56	98/51	121/53	111/55	107/50	109/51	95/13	112/60		0.104	0.148	0.178	0.149	0.139	0.150	0.160
14	115/55	105/60	102/65	102/47	99/56	105/49	94/13	100/15	95/14	101/17	103/51	85/22	114/60		0.137	0.149	0.128	0.138	0.147	0.150
15	91/52	104/57	104/56	98/42	97/53	91/46	110/40	99/38	105/37	111/36	97/44	109/37	101/51	117/43		0.166	0.137	0.143	0.133	0.129
16	109/59	92/70	104/53	109/45	108/56	93/55	114/43	103/43	106/40	99/43	100/53	104/54	120/58	119/48	116/51		0.132	0.141	0.154	0.158
17	95/46	92/51	88/56	93/36	96/51	78/48	108/32	107/32	105/29	99/30	95/38	95/39	109/43	109/33	99/42	94/43		0.130	0.117	0.115
18	107/42	105/59	100/48	116/34	109/43	102/40	109/42	111/42	108/41	121/42	104/38	110/49	102/41	119/47	103/44	102/43	96/38		0.137	0.156
19	94/53	80/62	89/59	93/35	93/52	84/51	104/37	105/35	99/32	100/35	105/45	101/42	101/52	109/38	89/49	105/52	89/33	104/37		0.122
20	97/53	90/58	109/55	107/39	107/54	96/49	112/37	109/35	111/36	94/35	106/47	115/40	108/54	120/40	95/39	114/46	95/25	115/43	93/34	
21	95/93	109/92	102/111	103/87	120/96	108/93	117/89	111/91	112/90	114/89	101/97	121/88	112/96	119/94	101/93	120/100	109/83	95/93	105/90	107/88

表 1 中:1. 暗腹雪鸡 (*Tetraogallus himalayensis*); 2. 日本鹌鹑 (*Coturnix japonica*); 3. 石鸡 (*Alectoris chukar*); 4. 黑鹇 (*Francolinus francolinus*); 5. 灰胸竹鸡 (*Bambusicola thoracica*); 6. 红原鸡 (*Gallus gallus*); 7. 彩雉 (*Catreus wallichi*); 8. 红腹锦鸡 (*Chrysolophus pictus obscurus*); 9. 蓝马鸡 (*Crossoptilon auritum*); 10. 蓝鹇 (*Lophura swinhoii*); 11. 环颈雉 (*Phasianus colchicus*); 12. 黑颈长尾雉 (*Syrnaticus humiae*); 13. 刚果孔雀 (*Afropavo congensis*); 14. 蓝孔雀 (*Pavo cristatus*); 15. 大眼斑雉 (*Argusianus argus*); 16. 血雉 (*Ithaginis cruentus*); 17. 棕尾虹雉 (*Lophophorus impejanus*); 18. 眼斑孔雀雉 (*Polyplectron germani*); 19. 勺鸡 (*Pucrasia maculophaga*); 20. 红腹角雉 (*Tragopan temminckii*); 21. 灌丛塚雉 (*Alectura lathami*)

3 讨 论

3.1 暗腹雪鸡线粒体 Cyt b 基因序列分析

暗腹雪鸡的 Cyt b 序列的 A、T、G、C 含量在密码子第一位没有较大偏差,而第二位富含 T,第三位 G 的含量很少.这和哺乳动物细胞色素 *b* 基因序列的特点非常相似^[14]. 第三位 C 的含量特别高,接近

50%. 核苷酸碱基的变异也存在着很大的差异,其中 T→C 的转换大于 A→G, A→C 和 A→T 的颠换明显高于 T→G 和 C→G. 本文研究的雉科中不同物种间,转换颠换比的平均值为 2.1,接近转换颠换比的临界值 2.0^[15]. 说明雉科中这些物种的线粒体 Cyt b 基因序列的突变已经接近饱和状态。

本文研究的所有序列中,颠换几乎都发生在密码子的第三位上(89.8%),而转换分布在第一位(19.8%)、第三位密码子上(75.2%),第二位上很少(5.0%). 说明密码子第二位在雉科的进化中十分保守,很少发生突变。

3.2 雪鸡属在雉科中亲缘关系的讨论

目前,雪鸡属被归于雉科只是基于其形态特征、地理分布、生活习性的研究,本文把雪鸡的 Cyt b 全长序列与雉科中的其他 19 个属的物种和塚雉科的灌丛塚雉 (*Alectura lathami*) 做了比较,计算了各物种间的遗传距离,如表 1 所示. 雪鸡与雉科各物种的距离为 11.6%~16.9%,雉科中属和属之间的遗传距离一般大于 9%^[16,17],遗传距离说明雪鸡属与雉科中其他物种的差异已经达到属的水平,符合目前的分类系统,是雉科中的一个有效属,支持了形态学分类结果。

在系统进化树的研究中,很难用一种系统进化树正确得出系统关系^[18],为此,本文构建了 3 种进

化树: NJ、MP、ML 树. 在任何分析中, 自举置信水平 (BCL) 值小于 50 % 的进化枝可信度不高, 而当 BCL 值大于等于 70 % 时, 形成的进化枝正确的可信度高达 95 %^[19]. 从构建的系统树图 2 中 (图中数字为自举置信水平 Bootstrap 值, 1000 次重复检测. 若 Bootstrap 值小于 50, 结点不显示) 可以明显地看到暗腹雪鸡首先和日本鹌鹑类聚在一起, 两者互为单系, 然后再和石鸡聚在一起形成单系群, 这个结果在

3 种树中都非常一致, 而且暗腹雪鸡和日本鹌鹑形成的进化枝自举置信水平 (BCL) 值较高, 在 NJ、MP、ML 树中分别为 80 %、66 %、75 %, 表 1 中显示的数据中, 暗腹雪鸡和日本鹌鹑的遗传距离最小为 11.6 %. 这两者与石鸡形成的进化枝虽然自举置信水平 (BCL) 值不是很高, 在 NJ、MP、ML 树中分别为 77 %、50 %、55 %, 但均大于 50 %. 陈爱葵等

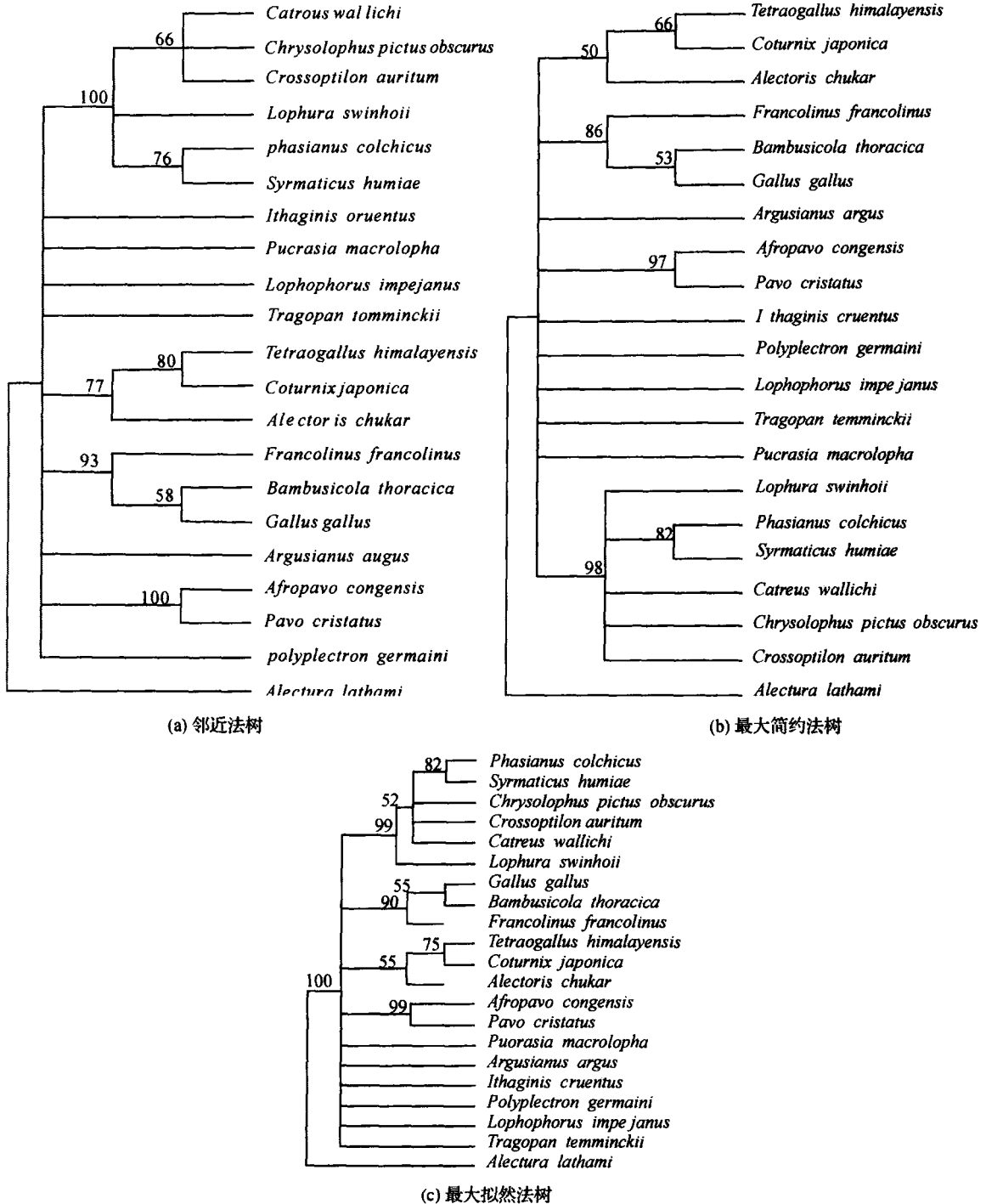


图 2 Cyt b 序列构建雉科不同物种的系统进化树

Fig. 2 Molecular phylogenetic trees of different species in Phasianidae based on Cyt b sequences

人^[20]对鹌鹑和石鸡的核型及 C 带进行过研究,表明这两种鸟类亲缘关系相近. Kimball 等人^[21]通过 Cyt *b* 和 D-Loop 的研究也证明了鹌鹑属与石鸡属这一进化枝的存在. 本文在增加了雪鸡这一物种后研究的结果也基本相同. 所以本文得出的结论是在雉科中,雪鸡属与鹌鹑属的亲缘关系最近,其次是和石鸡属,这 3 者形成一个单系群,再和雉科中的其他属相类聚.

3.3 雉科中其他属亲缘关系的讨论

作者发现在 NJ、MP、ML 树中都形成了由黑鹇、灰胸竹鸡和原鸡构成的进化枝(见图 2),置信水平很高,分别为 93%、86%、90%. Johnsgard (1986) 认为原鸡进化枝只包括 *Gallus* 一个物种^[22]. 而 Kimball (1999) 等人认为鹌鹑属-竹鸡属-原鸡属属于同一进化枝^[23]. 本文的研究表明鹌鹑属-竹鸡属-原鸡属进化枝的存在,同 Kimball 的结果一致.

另外,在 3 种进化树中还形成了一个置信度较高的分支,即彩雉、红腹锦鸡、蓝马鸡、蓝鹇、雉鸡、黑颈长尾雉六者形成的置信度分别为 100%、98% 和 99% 的分支. 这个进化枝明显与雉科雉族其他物种分离,结果提示这些雉族可能存在特定关系,有待进一步研究分析.

刚果孔雀和蓝孔雀类聚的置信度在 3 种进化树中分别为 100%、97% 和 99%,证实了雉科中孔雀族确实在进化关系上一致.

3.4 分歧年代的估计

鸟类的 mtDNA 进化速度很慢. Cyt *b* 的核苷酸大约每百万年变化 5%~7%^[18]. 在 1143bp 中,雪鸡与日本鹌鹑的差异位点为 121 个,雪鸡与石鸡有 135 个,日本鹌鹑与石鸡有 141 个. 根据核苷酸变化速率可以计算出雪鸡属与鹌鹑属的分歧时间大致在 $1.5 \sim 2.0 \times 10^6$ 年,与石鸡属的分歧时间为 $1.7 \sim 2.4 \times 10^6$ 年.

雉科共有 38 个属,159 种^[24],有些种的 Cyt *b* 序列还未曾报道. 本文选取了 20 个报道了 Cyt *b* 序列的属,所以得出的结论未必很全,重点讨论了雪鸡属在雉科中的分类地位、亲缘关系等问题,得出雪鸡属与鹌鹑属、石鸡属的亲缘关系较为相近,希望能为以后雪鸡属在雉科中的系统进化方面的研究提供一点依据,此问题还有待进一步研究.

参考文献 (References):

[1] 马鸣,周永恒,马力. 新疆雪鸡的分布及生态观察[J]. 野生动物,1991,(4):15-16.

- MA Ming, ZHOU Yong-heng, MA Li. Distribution and ecology observation of *Tetraogallus himalayensis* in Xinjiang[J]. **Chinese Wildlife**, 1991,(4):15-16.
- [2] 沈孝宙,王家骏. 中国雪鸡的分类、地理分布和生态[J]. **动物学杂志**,1963,5(2):67-68.
- SHEN Xiao-zhou, WANG Jia-jun. Classification geography distribution and ecology of Chinese *Tetraogallus* [J]. **Chinese Journal of Zoology**,1963,5(2):67-68.
- [3] 郑作新. 中国鸟类志[M]. 第 4 卷. 鸡形目. 北京:科学出版社,1979.
- [4] 郑作新. 中国鸟类区系纲要[M]. 北京:科学出版社,1987.
- [5] BROWN W M. **Evolution of Animal Mitochondrial DNA**. In: Nei; M. Koehler; RK eds. **Evolution of Genes and Proteins**[M]. Sunderland: Sinauer Associates Inc, 1983: 62-86.
- [6] 张培英. 分子分类的若干问题[J]. **动物学研究**,1994,15(1):1-10.
- ZHANG Pei-yin. Some issues in molecular systematics [J]. **Zoological Research**, 1994,15(1):1-10.
- [7] 张亚平. 从 DNA 序列到物种树[J]. **动物学研究**,1996,17(3):247-252.
- ZHANG Ya-ping. From DNA sequences to species tree[J]. **Zoological Research**, 1996,17(3):247-252.
- [8] 李庆伟,田春宇,李爽. 鹰科四种鸟类线粒体 DNA 的差异和分子进化关系的研究[J]. **遗传**,2001,23(6):529-534.
- LI Qing-wei, TIAN Chun-yu, LI Shuang. Phylogenetic relationship among raptor (Falconiformes: *Accipitridae*) based on cytochrome *b* DNA sequence[J]. **Hereditas**,2001,23(6):529-534.
- [9] 詹祥江,张正旺,吴爱平,等. 基于线粒体细胞色素 *b* 基因序列的虹雉属鸟类的系统发育关系[J]. **动物学研究**,2003,24(5):337-342.
- ZHAN Xiang-jiang, ZHANG Zheng-wang, WU Ai-ping, et al. Phylogenetic relationships of monal pheasants *Lophophorus* inferred from sequence of mitochondrial cytochrome *b* gene [J]. **Zoological Research**, 2003,24(5):337-342.
- [10] SAMBROOK J, FITCH E, MANIATIS T. **Molecular Cloning, a Laboratory Manual** [M]. New York: Cold Spring Harbour Laboratory Press,1989.
- [11] KUMAR S, TAMURA K, NEI M. **MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 1.01**[M]. University Park: The Pennsylvania State University,1993.
- [12] FELSENSTEIN J. **PHYLIP (Phylogeny Inference Package) Version 3.6 c**[M]. Washington: University of Washington, 2001.
- [13] MINDELL D P, SORENSON M D, DIMICHEFF D

- E. Multiple independent origins of mitochondrial gene order in birds[J]. **Proc Natl Acad Sci U. S. A.**, 1998, 95 (18) : 10693-10697.
- [14] IRWIN D M, KOCHER D T, WILSON A C. Evolution of cytochrome *b* gene of mammals [J]. **J Mol Evol**, 1991, 32:128-144
- [15] KNIGHT A, MINDELL D P. Substitution bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of feathered vipers[J]. **Syst Biol**, 1993, 42 (1) :18-31.
- [16] 向余劲攻,杨岚,张亚平. 白腹锦鸡和红腹锦鸡的遗传分化[J]. **遗传**, 2000, 22 (4) :225-228.
XIANG Yur-jing-gong, YANG Lan, ZHANG Yaping. The genetic differentiation of *Chrysolophus amherstiae* and *Chrysolophus pictus* [J]. **Hereditas**, 2000, 22(4) :225-228.
- [17] KRRJEWSKI C, FETZNER J J W. Phylogeny of cranes (Gruiformes: Gruidae) based on cytochrome *b* DNA sequence[J]. **Auk**, 1994, 111 (2) :351-365.
- [18] FELSENTEIN J. Molecular sequences: inference and reliability[J]. **Annu Rev Gene**, 1988, 22 :521-565.
- [19] HILLS D M, BULL J J. An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis[J]. **Syst Bio**, 1993, 42:182-192.
- [20] 陈爱葵,冯肇松,李爱群. 鹤鹑和石鸡的核型和 C 带研究[J]. **华南师范大学学报(自然科学版)**, 1999, (2) : 95-99.
CHEN Ai-kui, FENG Zhao-song, LI Ai-qun. Studies on karyotypes and C-band of Quail and Chukko Partridge[J]. **Journal of South China Normal University (Natural Science Edition)**, 1999, (2) :95-99.
- [21] KIMBALL R T. A molecular phylogeny of the pheasants and partridges suggests that these lineages are not monophyletic[J]. **Mol Phylogenet Evol**, 1999, 11 (1) :38-54.
- [22] JOHNSGARD P A. **The Pheasants of the World**[M]. Oxford: Oxford University Press, 1986.
- [23] KIMBALL R T, BRAUN EL, LIGON J D. Resolution of the phylogenetic position of the Congo peafowl, *Afropavo congensis*: a biogeographic and evolutionary enigma[J]. **Proc R Soc Lond B**, 1997, 264: 1517-1523.
- [24] 郑光美. **世界鸟类分类与分布名录**[M]. 北京:科学出版社, 2002.

(责任编辑 涂红)

(上接第 88 页)

- [5] MUNUSWAMY N, SUBRAMONIAM T. Studies in the oviductal secretion and ovulation in *Streptocephalus dichotomus* Baird[J]. **Crustacean**, 1985, 49(2) :113-118.
- [6] THOMAS F, BOLTON T F. Shear stress experienced by echinoderm eggs in the oviduct during spawning: potential role in the evolution of egg properties[J]. **J of Experimental Biology**, 1999, 202(2) :3111-3119.
- [7] 张晓晖. 日本虾输卵管结构及胚胎和幼体复眼发育的研究[D]. 杭州:浙江大学生命科学院, 2002.

(责任编辑 涂红)