

基于线粒体细胞色素 *b* 基因序列的 雀形目 18 种鸟系统发育关系

国会艳^{①②} 李玲^① 马玉堃^{①③*} 白素英^①

(^①东北林业大学野生动物资源学院 哈尔滨 150040; ^②牡丹江师范学院 牡丹江 157012;

^③黑龙江大学生命科学学院 哈尔滨 150080)

摘要: 采用线粒体细胞色素 *b* (cytochrome *b*) 基因, 利用 DNA 测序的方法研究了雀形目 18 种鸟类的分子系统发育关系。通过序列分析比对, 运用邻接法和最大似然法构建了雀形目 18 种鸟类的系统发育树, 结果表明, 燕雀类和鹀类的分歧程度达到了科级水平, 建议分别独立成科; 长尾山雀可从山雀科中分离出来, 单列成科; 柳莺归入柳莺亚科 (Phylloscopinae), 树莺归入大苇莺亚科 (Acrocephalinae)。Cyt *b* 基因的各主要分支中存在着相对恒定的分子钟, 根据鸟类 mtDNA 的 cyt *b* 进化速度大约是每百万年 1.6%, 得到 18 种鸟的科间分歧时间在 10.5 百万年左右, 科内分歧在 9.0 百万年左右。

关键词: 系统发育; 细胞色素 *b*; 雀形目

中图分类号: Q959.7, Q951.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2007)02-32-07

Phylogenetic Relationship among 18 Passerines Based on Mitochondrial Cytochrome *b* Gene Sequences

GUO Hui-Yan^{①②} LI Ling^① MA Yu-Kun^{①③*} BAI Su-Ying^①

(^① College of Wildlife Resources, Northeast Forestry University, Harbin 150040;

^② Mudanjiang Normal College, Mudanjiang 157012;

^③ College of Life Sciences, Heilongjiang University, Harbin 150080, China)

Abstract: In the present study, the molecular systematic relationship among 18 passerines was studied based on sequences of mitochondrial cytochrome *b* genes. The phylogenetic trees of 18 passerines were made by neighbor joining (NJ) and maximum likelihood (ML) methods. The sequence difference among fringillids and emberizids made them independent and was categorized into different families, but not subfamilies. The Long-tailed Tits could be independent of Paridae and be categorized into Aegithalidae. Leaf Warbler could be categorized into Phylloscopinae and Bush Warbler was categorized into Acrocephalinae. There was a relatively constant molecular clock in the evolution of cyt *b* gene. Under the assumption of a "standard" molecular clock of 1.6% sequence divergence per million year for mtDNA genes on average, a inter-familiar divergence time was expected to be 10.5 million years and the intra-familiar divergence time was expected to be 9.0 million years.

Key words: Phylogeny; Cytochrome *b*; Passeriformes

雀形目是现生鸟类最大的一个类群, 现有 5 700 多种, 占全世界已知鸟类种数 (约 9 800 种) 的近 60%^[1,2]。雀形目鸟类的起源与系统发育一直是鸟类系统学的研究热点。尤其近 20 年来, 由于新的研究方法和手段的出现, 在

基金项目 黑龙江省博士后基金(2001);

* 通讯作者, E-mail: mayukun66@yahoo.com;

第一作者介绍 国会艳, 女, 硕士; 研究方向: 分子生物学; E-mail: wsgy1307@126.com.

收稿日期: 2006-07-12, 修回日期: 2007-01-20

雀形目的系统发育和起源研究方面学者们提出了许多新的理论和观点,认为雀形目是鸟类中最进化的类群^[3,4]。但由于雀形目种类多、数目庞大、形态多样、行为复杂,它的系统分类一直存在较大分歧。尤其是科级以上高级阶元的分类,仅根据传统的形态、行为和解剖特征进行分类是很困难的。因此,开展雀形目鸟类的分子系统学研究是弥补形态分类方面不足的最有力手段。

脊椎动物线粒体 DNA(mtDNA)具有严格的母系遗传和突变率高等特点,使其成为研究物种进化的一种有效遗传标记^[5-7],已成功用于解决鸟类系统发生关系的研究^[8-10]。鸟类细胞色素 *b* (cytochrome *b*,简称 *cyt b*) 基因一般为 1 143 bp(个别例外),不发生缺失或插入,碱基置换多数是沉默的,且很大程度上倾向于转换或颠换,并且密码子第三位点进化最快,第二位点最保守。由于鸟类 *cyt b* 基因在不同的科、属、种显示出良好的分子系统关系,因此非常适合于做系统学研究的标记。

本研究涉及的 18 种鸟主要为燕雀类、鹀类、莺类和山雀类,这几类鸟的分类问题一直未

能得到很好的解决。其中形态分类系统将燕雀类和鹀类归入雀科下的雀亚科和鹀亚科,莺类为亚科归在鹟科下;Sibley 和 Ahlquist^[1]的杂交分类系统也认为燕雀类和鹀类没有达到科级分化水平,将莺类独立成科,综合分类系统则认为燕雀类和鹀类已经达到科级分化水平,将其分别提升为科,莺类独立成科。可以看到在不同的分类系统中这几类鸟的分类地位均有所不同,并且彼此间存在不少居间类型,很难确切划分。因此,我们希望通过线粒体细胞色素 *b* 基因的序列分析,研究这 18 种鸟的分类地位和进化关系,为确定其可靠的分类地位提供新的依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集 本文共涉及雀形目鸟类 18 种,均采集于黑龙江省帽儿山地区(表 1),并从 GenBank 上下载刺鹀(*Acanthisitta chloris*)、灰纹霸鹟(*Empidonax wrightii*)、灰头阔嘴鸟(*Smithornis sharpei*)的 *cyt b* 序列(A Y325307, A Y143208, NC_000879),作为外群来构建系统树。

表 1 本研究检测的物种

Table 1 Species examined in the present study

分类地位 Taxon(Sibley & Ahlquist 系统, 1990)	物种 Species	名称代码 Name code
莺科大苇莺亚科(尾莺属) Sylviidae Sylviinae(<i>Urosphena</i>)	鳞头树莺 <i>U. squameiceps</i>	Usq
莺科柳莺亚科(柳莺属) Sylviidae Sylviinae(<i>Phylloscopus</i>)	黄眉柳莺 <i>P. inornatus</i>	Pin
莺科柳莺亚科(柳莺属) Sylviidae Sylviinae(<i>Phylloscopus</i>)	黄腰柳莺 <i>P. proregulus</i>	Ppr
长尾山雀科(长尾山雀属) Aegithalidae(<i>Aegithalos</i>)	银喉长尾山雀 <i>A. caudatus</i>	Aca
山雀科(山雀属) Paridae(<i>Parus</i>)	大山雀 <i>P. major</i>	Pma
山雀科(山雀属) Paridae(<i>Parus</i>)	沼泽山雀 <i>P. palustris</i>	Ppa
山雀科(山雀属) Paridae(<i>Parus</i>)	褐头山雀 <i>P. montanus</i>	Pamo
燕雀科燕雀亚科(长尾雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Uragus</i>)	长尾雀 <i>U. sibiricus</i>	Usi
燕雀科燕雀亚科(金翅雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Carduelis</i>)	金翅雀 <i>C. sinica</i>	Csi
燕雀科燕雀亚科(朱雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Carpodacus</i>)	北朱雀 <i>C. roseus</i>	Cro
燕雀科燕雀亚科(灰雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Pyrrhula</i>)	红腹灰雀 <i>P. pyrrhula</i>	Ppy
燕雀科燕雀亚科(金翅雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Carduelis</i>)	黄雀 <i>C. spinus</i>	Csp
燕雀科燕雀亚科(锡嘴雀属) Fringillidae Fringillinae(<i>Coccothraustes</i>)	锡嘴雀 <i>C. coccothraustes</i>	Cco
鹀科(鹀属) Sittidae(<i>Sitta</i>)	普通鹀 <i>S. europaea</i>	Seu
燕雀科鹀亚科(鹀属) Fringillidae Emberizinae(<i>Emberiza</i>)	田鹀 <i>E. rustica</i>	Erus
燕雀科鹀亚科(鹀属) Fringillidae Emberizinae(<i>Emberiza</i>)	灰头鹀 <i>E. spodocephala</i>	Esp
燕雀科鹀亚科(鹀属) Fringillidae Emberizinae(<i>Emberiza</i>)	苇鹀 <i>E. pallasi</i>	Epa
麻雀科岩鹀亚科(岩鹀属) Prunellidae(<i>Prunella</i>)	棕眉山岩鹀 <i>P. montanella</i>	Pmo

1.2 DNA 提取和引物设计 提取鸟的肌肉组织少许,将其剪碎后用经典的酚-氯仿法提取基因组 DNA。利用 DNASIS (v2.5) 软件设计引物,并参考文献中的引物序列^[11~13],得到本研究中雀形目鸟类 *cyt b* 通用的引物序列, L14851 :5'-CCTACTTAGGATCATTCGCCCT-3' 和 H16065 :5'-GTCTTCATCTCCGGTTTACAAGAC-3'。

1.3 PCR 扩增和测序 先用 10 μ l PCR 反应体系摸索反应条件,而后用 50 μ l PCR 反应体系进行 PCR 扩增。实验所用 *Taq* 酶、buffer 及 dNTP Mix 均购自日本 TOYOBO 公司。

扩增产物采用北京博大泰克生物技术有限公司的 PCR 产物快速纯化胶回收试剂盒进行回收,然后进行 T-A 克隆,最后送到上海生物工程技术服务有限公司进行测序。

1.4 数据处理与分析 测得基因序列采用 DNASTar 软件包进行人工校对,然后在 NCBI 中进行 Blast 相似性搜索,确定是否为目标片段以及序列的方向是否一致。采用 Clustal x (Version 1.8 软件对 *cyt b* 基因序列进行处理,再用 Mega 3.0 软件进行序列分析。使用 SPSS 软件分别对转换、颠换与遗传距离之间的回归方程进行显著性分析。采用 Phylip 软件构建系统发育树。在树的构建中碱基替代模型采用 Kimura 二参数法,转换与颠换均包含在内,密码子 3 个位点均被使用,自展检验 1 000 次重复。

2 结果

2.1 PCR 扩增和测序结果 由于雀形目鸟类 *cyt b* 基因不存在缺失和插入,片段长度一般为 1 143 bp,再加上引物的长度可以估测出扩增片段在 1 200 bp 以上。共测得 25 条 *cyt b* 部分序列, GenBank 序列号及测得的片段长度见表 2。

2.2 物种之间 *cyt b* 基因序列差异

2.2.1 碱基组成 基于 *cyt b* 基因 455 bp 片段序列分析结果可以看出,序列的平均 A、T 含量 (52.6%) 高于 G、C 含量 (47.4%), 保守位点 (conserved sites) 占 62.6%, 变异位点 (variable sites) 占 37.4%, 简约信息位点 (parsim-info sites) 占 29.4%。本研究中的 *cyt b* 基因部分序列的

碱基构成存在一定程度的偏倚,并且在不同位点碱基偏倚程度也有所不同:在密码子第一位点 T、C、A、G 的平均含量为 23.1%、25.4%、27.0%、24.5%, A、T 含量 (48.5%) 稍低于 G、C 含量 (51.5%); 在密码子第二位点 T、C、A、G 的平均含量为 38.2%、24.4%、21.2%、16.2%, A、T 含量 (59.4%) 远高于 G、C 含量 (40.6%); 在密码子第三位点 T、C、A、G 的平均含量为 11.0%、49.4%、36.6%、3.0%, A、T 含量 (47.6%) 低于 G、C 含量 (52.4%)。在第三位点碱基偏倚尤为严重, C 含量高达 49.4%, 而 G 含量却只有 3.0%。

表 2 序列号及片段长度

Table 2 Accession numbers and segment length of *cyt b*

物种 Species	序列号 Accession numbers	片段长度 Segment length (bp)	物种 Species	序列号 Accession numbers	片段长度 Segment length (bp)
Usq	DQ119538	710	Cro	DQ236208	606
Aca	DQ119539	692	Csi	DQ236209	620
Aca	DQ119540	692	Csp	DQ236210	639
Pamo	DQ119541	701	ePA	dq236211	491
Pma	DQ119542	701	Epa	DQ236212	491
Ppa	DQ119543	664	Erus	DQ236213	683
Pin	DQ119544	521	Esp	DQ236214	541
Pin	DQ119545	521	Ppy	DQ236215	482
Ppr	DQ119546	511	Ppy	Dq236216	650
Ppr	DQ119547	511	Prmo	DQ236217	587
Seu	DQ119548	674	Prmo	DQ236218	587
Cco	DQ236206	565	Usi	DQ236219	722
Cro	DQ236207	500			

2.2.2 转换与颠换 转换数 (T_s) 和颠换数 (T_v) 的比值 (R) 可以用来估计序列替换的饱和程度。本文 *cyt b* 所有位点的 R 值为 1.2, 其中密码子第一位点的 R 值为 1.8, 第二位点的 R 值为 2.2, 第三位点的 R 值为 1.0。可以看到密码子第二位点最保守, 而第三位点进化速度最快。一般来讲, 如果 R 值小于 2 说明 *cyt b* 基因饱和程度较高, 受进化噪音的影响可能性较大, 重建系统发生树时如不进行特别加权就会得出错误信息^[14]。本研究中的 R 值为 1.2, 说明该基因序列饱和程度较高。为进一步估计碱基替换的饱和程度, 以遗传距离为横坐标, 转换

和颠换为纵坐标做散点图(图 1),并分别得到转换、颠换的回归方程: $y_1 = 1.980x + 9.248$ ($R^2 = 0.552$), $y_2 = 2.578x - 9.072$ ($R^2 = 0.654$) 经检验 P 均小于 0.01,表明转换、颠换与遗传距离显著相关。从图 1 中可以看到转换数高于颠换数,各序列间的遗传距离相对集中在 0.15 ~ 0.25 之间,随着时间的推移、遗传差异的增加,转换和颠换随之积累,但还没有达到饱和状态,所以在后面构建系统发育树时可赋予转换和颠换相同的加权值。

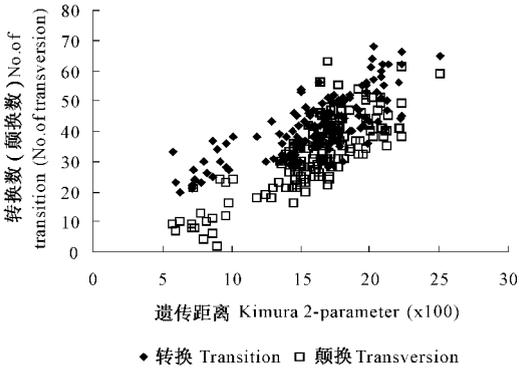


图 1 雀形目 18 种鸟类 *cyt b* 基因序列 转换颠换散点图

Fig. 1 Variation of substitution of *cyt b* sequences fragment in 18 Passerines

2.2.3 遗传距离 采用 Kimura 二参数法计算遗传距离,18 种鸟类之间平均遗传距离为 0.174。燕雀类和鹀类之间的遗传距离为 0.149,长尾山雀与莺类之间遗传距离为 0.167,而与山雀类之间的遗传距离为 0.202,说明长尾山雀与莺类关系更近。燕雀类内部种间平均遗传距离为 0.080,山雀类内部种间平均遗传距离为 0.089。种内个体间的遗传距离差异都很小,最大的为 0.004。

2.3 系统发育树构建与检验 采用 Phylip 软件距离法中的邻接法 (NJ) 和最大似然法 (ML) 分别构建系统树(图 2,3)。从构建的系统图中可以看出,NJ 法和 ML 法树的构成大体相同,整个树都是由 3 个大的进化枝构成,第一支系为燕雀类、鹀类、岩鹀类和鹨类,第二支系为莺类和长尾山雀类,第三支系为山雀类。

NJ 法中,在第一支系中的燕雀类中,金翅雀 (*Csi*) 和黄雀 (*Csp*) 聚为姐妹群,北朱雀 (*Cro*) 和长尾雀 (*Usi*) 聚为姐妹群,这两个姐妹群聚在一起,然后和红腹灰雀 (*Ppy*) 聚为姐妹群,最后和锡嘴雀 (*Cco*) 构成一个单系群;在第一支系中的鹀类中,田鹀 (*Erus*) 先与灰头鹀 (*Esp*) 聚为姐妹群,然后与苇鹀 (*Epa*) 构成一个单系群;燕雀支系和鹀支系构成姐妹群关系,二者和棕眉

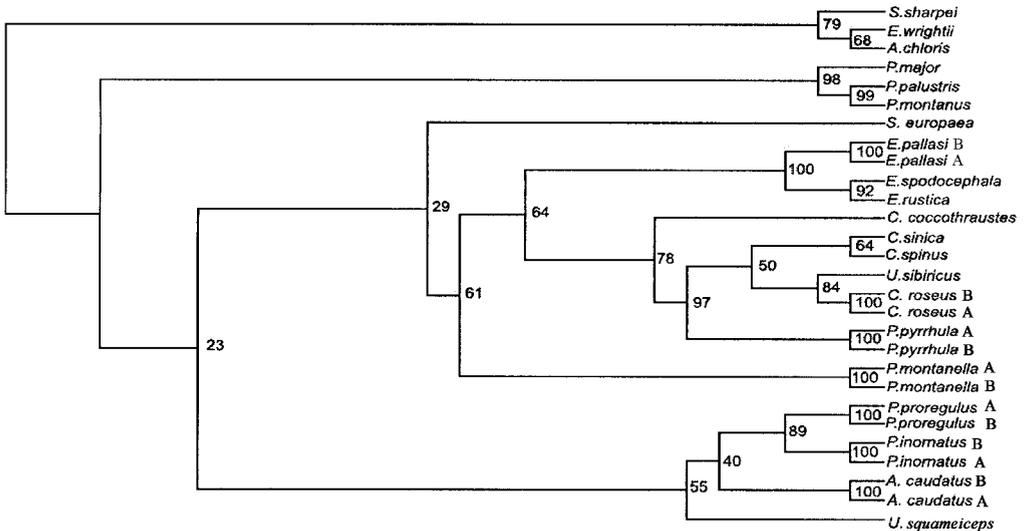


图 2 雀形目 18 种鸟 *cyt b* 基因树(NJ 法)

Fig. 2 Genetic tree constructed with NJ method

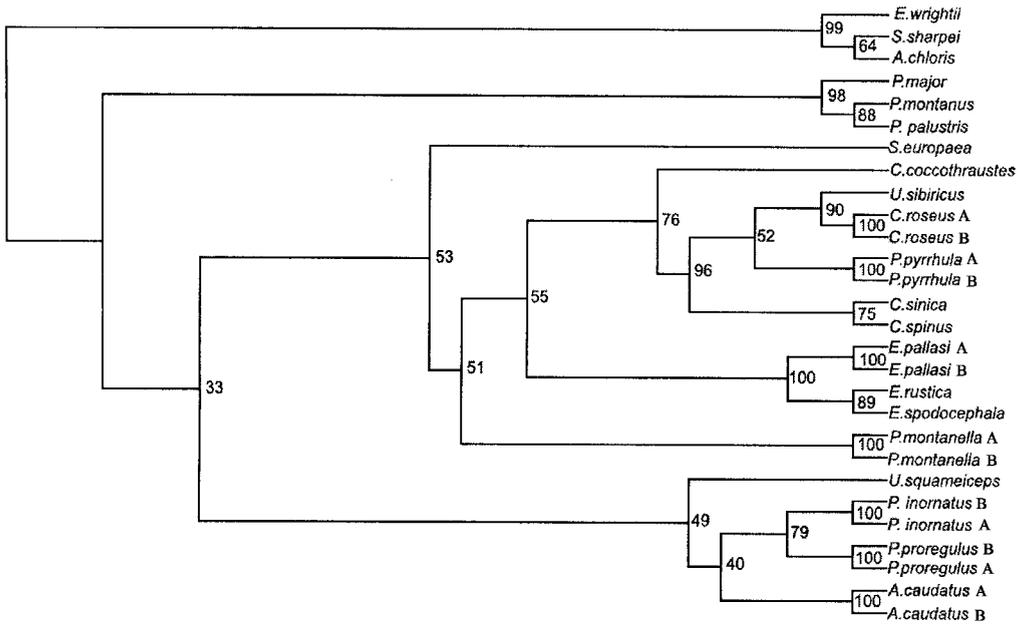


图 3 雀形目 18 种鸟 *cyt b* 基因树(ML 法)

Fig. 3 Genetic tree constructed with ML method

图 2 和图 3 中物种名后面的字母 A、B 指同一物种的不同个体。

Letters A and B behind species names represent two individuals of one species.

山岩鸲(*Pmo*)构成单系群 ,最后和普通鹇(*Seu*)聚在一起。在第二支系中 ,首先是黄腰柳莺(*Ppr*)和黄眉柳莺(*Pin*)聚为姐妹群 ,然后和银喉长尾山雀(*Aca*)聚在一起 ,最后鳞头树莺(*Usq*)和它们构成单系群。在第三支系中 ,沼泽山雀(*Ppa*)和褐头山雀(*Pamo*)聚为姐妹群 ,然后和大山雀(*Pma*)构成单系群(图 2)。

在 ML 法中 ,树的拓扑结构大体与 NJ 法相同。只是在第一支系中的燕雀类中 ,北朱雀和长尾雀构成的姐妹群先与红腹灰雀聚在一起 ,然后才和金翅雀和黄雀构成的姐妹群构成单系(图 3)。

3 讨论

3.1 系统发育关系 从两种方法构建的系统树中可以看到 ,燕雀类都是先与鹇类聚为一枝 ,然后与岩鸲类聚在一起 ,也就是说燕雀类与鹇类关系更近一些。关于燕雀类和鹇类的关系 ,二者的分类地位较近 ,这是比较公认的 ,本研究也正支持了这一点。但是存在一个主要的争

议 ,即二者到底是处于科级水平还是亚科级水平。在郑作新^[15]及 Sibley 和 Ahlquist(S & A)^[1] 的分类系统中 ,燕雀类和鹇类被归到燕雀科下的燕雀亚科和鹇亚科之中。而在郑光美^[2]及 Howard 等^[16]的分类系统中 ,燕雀类和鹇类分别属于燕雀科和鹇科。从本文结果看 ,其遗传距离差异以及系统聚类关系 ,二者的分歧程度已经达到了科级水平。

鹇科的位置也颇具争议 ,在 S & A 的系统中鹇科位于莺总科内 ,而 Sheldon 和 Gilf^[17]则认为鹇科与鹇总科中的棕鸟科(*Stumidae*)和鹇科(*Turdidae*)亲缘关系更近。在本研究中普通鹇似乎与燕雀类、鹇类的关系更近一些(但自展值较低) ,这可能与本研究的鹇科种类样本数量太少有一定关系 ,已有越来越多的学者强调密集采样和增加样本数量的重要性^[18,19]。另一种可能是在本研究中由 *cyt b* 基因构建的系统树中所有的物种并未得到 *cyt b* 基因全序列 ,而目前已有很多学者强调全序列在分子系统学研究中的重要性。李庆伟等曾利用 *cyt b* 基因序列研

究隼形目鹰科鸟类系统发育,发现转换和颠换在序列中发生的部位是不均衡的,提出在利用基因序列比较构建系统树时,应该采用基因全序列或更多的序列资料,以防止由部分序列变异的不均衡性造成假象而提供错误信息^[20]。陈晓芳等利用 *cyt b* 基因序列研究鸫形目鸟类系统发育时也发现转换和颠换在 *cyt b* 基因两端发生相对少一些,中间相对较多^[21]。所以要想确定鹎科的位置还有待于进一步从全序列上进行相应的研究。

长尾山雀的位置也一直存在着争议,在郑作新分类系统中,长尾山雀类属于山雀科下的长尾山雀属,而其他分类系统将其单列成科,归入莺总科下^[12,16]。Spicer 等^[22]采用线粒体 16S rRNA 基因对长尾山雀、山雀、鹟类和鸫类等雀形目鸟进行了研究,其结果支持将长尾山雀单列成科的观点。武丽娜^①采用线粒体 12S rRNA 基因分析雀形目鸟的系统发育关系,结果认为应将长尾山雀作为一个属归入莺科更为合适,也就是说支持长尾山雀与莺类关系近的观点。从本实验 *cyt b* 构建的基因树和遗传距离来看,支持将其单列成科并归入莺总科下的观点,并且长尾山雀和莺类关系较与山雀类近,但在两种方法构建的树中,长尾山雀与莺类聚类的自展值较低,所以其位置还有待于下一步的深入研究。

山雀类单列成科没有异议,S & A 的杂交分类系统把山雀类归入莺总科内,即与莺类关系较近。Alstrom 等^[23]采用线粒体 *cyt b* 和肌球蛋白基因内含子 2 (myoglobin intron II) 两个基因研究莺总科鸟之间的分类地位与系统发育关系,结果把山雀从莺总科中排除出去。由于所用山雀样本的种类和数量较少,所以其结论还有待于验证。从本文构建的树来看,山雀类都位于所有内群之外,即支持 Alstrom 等^[23]的观点,但由于本研究中山雀类也存在样本的种类和数量较少的问题,因此山雀类的位置也有待于验证。

在 S & A 的分类系统中,燕雀科的这几类鸟被归入金翅雀族 (Carduelini),本研究基本支

持这一归类,但对锡嘴雀的归属有不同看法。从基因树来看,锡嘴雀与其他 5 个金翅雀族鸟类关系较远,似应从中分化出来。实际上,已有学者主张将锡嘴雀独立出来,如在郑作新的分类系统中,锡嘴雀被提升为亚科 (Coccothraustinae),与鹟亚科 (Emberizinae) 和雀亚科 (Fringillinae) 平级,都被放在雀科 (Fringillidae) 下^[15]。但由于本研究中锡嘴雀类样本较少,并且关于亚科的提出还有大量的工作要做,所以锡嘴雀的归属问题有待于下一步的深入分析。

S & A^[1]的杂交观点将柳莺归入柳莺亚科 (Phylloscopinae),树莺归入大苇莺亚科 (Acrocephalinae)。本研究亦支持这一归类,但在莺科内部,两种柳莺关系较近,与树莺的关系明显较远,似乎与长尾山雀关系更近一些。Alstrom 等^[23]研究结果认为,柳莺与长尾山雀的关系比柳莺与树莺的关系近,也就是说与本研究的结论保持一致。

3.2 类群分歧时间 牛黎明^②应用相对速率检验^[24]证明雀形目鸟 *cyt b* 基因的各主要分支中存在着相对恒定的分子钟。一般认为鸟类 mtDNA 的 *cyt b* 进化速度大约是每百万年 1.6% 的速率^[25,26],但即使是同一基因对于不同的生物类群来说,这个数据也有可能是变化的^[27],因此,只是据此大致估算一下各类群之间的分歧时间:燕雀科与鹟科的分歧时间在 10.5 百万年左右,山雀科与莺科的分歧时间在 13.0 百万年左右,在燕雀科内部,锡嘴雀与其他几种鸟之间的分歧时间在 9.0 百万年左右,在莺科内部,柳莺与树莺的分歧时间也在 9.0 百万年左右。

参 考 文 献

- [1] Sibley C G, Ahlquist J E. *Phylogeny and Classification of Birds*. New Haven, Connecticut: Yale Univ Press, 1990.

① 武丽娜. 基于 12S rRNA 基因的雀形目 23 种鸟类的系统发育和分子进化研究. 河北师范大学硕士学位论文. 2005. 31 ~ 32.

② 牛黎明. 21 种雀形目鸟类细胞色素 *b* 基因序列分析及其系统发育研究. 东北林业大学硕士学位论文. 2005. 37 ~ 38.

- [2] 郑光美. 世界鸟类分类与分布名录. 北京: 科学出版社, 2002.
- [3] Mayr E, Greenway J C. Sequence of Passerine families (Aves). *Breviora*, 1956 **58**: 1-211.
- [4] Delacour J, Vaurie C. A classification of the oscines (Aves). *Contribution in Science*, 1957 **16**: 126.
- [5] 张亚平, 施立明. 两种锦鸡和环颈雉 mtDNA 的比较研究. *动物学研究*, 1992 **13**(4): 387~392.
- [6] 吴孝兵, 王义权, 周开亚等. 从 12S rRNA 基因序列探讨 8 种鳟类的系统学关系. *动物学报*, 2001 **47**(5): 522~528.
- [7] Zhang S M, Wu Q J, Zhang Y P. On the taxonomic status of Asian and American green sturgeon (*Acipenser medirostris*) inferred from mitochondrial control region sequences. *Acta Zoologica Sinica*, 2001 **47**(6): 632~639.
- [8] Wenink P W, Baker A J, Tilanus M G J. Mitochondrial control region sequences in two shore bird species: the turnstone and the dunline and their utility in population genetic studies. *Mol Biol Evol*, 1994 **11**: 22~31.
- [9] Hughes J M, Baker A J. Phylogenetic relationships of the Enigmatic Hoatzin (*Opisthocomus hoazin*) resolved using mitochondrial and nuclear Gene sequences. *Mol Biol Evol*, 1999 **16**(9): 1300~1307.
- [10] Kirchman J J, Whittingham L A, Sheldon F H. Relationships among cave swallow populations (*Petrochelidon fulva*) determined by comparisons of microsatellite and cytochrome *b* data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2000 **14**(1): 107~121.
- [11] Sheldon F H, Whittingham L A, Winkler D W. A comparison of cytochrome *b* and DNA hybridization data bearing on the phylogeny of swallows (Aves: Hirundinidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999 **11**(2): 320~331.
- [12] Cicero C, Johnson N K. Higher-level phylogeny of new world vireos (Aves: Vireonidae) based on sequences of multiple mitochondrial DNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001 **21**(1): 27~40.
- [13] Sorenson M D, Ast J C, Dimcheff D E, et al. Primers for a PCR-based approach to mitochondrial genome sequencing in birds and other vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999 **12**(2): 105~114.
- [14] Knight A, Mindell D P. Substitutions bias, weighting of DNA sequence evolution, and the phylogenetic positions of *feather* viper. *Syst Biol*, 1993 **42**(1): 18~31.
- [15] 郑作新. 中国鸟类系统检索(第三版). 北京: 科学出版社 2002.
- [16] Howard R, Moore A. Complete Checklist of the Birds of the World(3rd Edition). London: Christopher Helm, 2003.
- [17] Sheldon F H, Gill F B. A reconsideration of songbird phylogeny with emphasis on the evolution of titmice and their sylvioid relatives. *Syst Biol*, 1996 **45**(4): 473~495.
- [18] Omland K E, Lanyon S M, Fritz S J. A molecular phylogeny of the New World orioles (Icterus): the importance of dense taxon sampling. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1999 **12**(2): 224~239.
- [19] Rannala B, Huelsenbeck J P, Yang Z H, et al. Taxon sampling and the accuracy of large phylogenies. *Syst Biol*, 1998 **47**(4): 702~710.
- [20] 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. *遗传*, 2001 **23**(6): 529~534.
- [21] 陈晓芳, 王翔, 袁晓东等. 鸫形目 15 种鸟类线粒体 ND6 基因序列差异及其系统进化关系. *动物学报*, 2003 **49**(1): 61~67.
- [22] Spicer G S, Dunipace L. Molecular phylogeny of songbirds (Passeriformes) inferred from mitochondrial 16S ribosomal RNA gene sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004 **30**(2): 325~335.
- [23] Alstrom P, Ericson P G P, Olsson U, et al. Phylogeny and classification of the avian superfamily Sylvioidea. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2006 **38**: 381~397.
- [24] Li P, Bousquet J. Relative-rate test for nucleotide substitutions between two lineages. *Mol Biol Evol*, 1992 **9**(6): 1185~1189.
- [25] Fleischer R C, McIntosh C E, Tarr C L. Evolution on a volcanic conveyor belt: Using phylogeographic reconstructions and K-Ar-based ages of the Hawaiian Islands to estimate molecular evolutionary rates. *Mol Ecol*, 1998 **7**: 533~545.
- [26] 文陇英, 张立勋, 刘迺发. 以 mtDNA 细胞色素 *b* 基因探讨斑翅山鹑的分类地位. *动物学研究*, 2005 **26**(1): 69~75.
- [27] Zhang Y P, Ryder O A. Different rates of mitochondrial DNA sequence evolution in Kirk's Dik-dik (*Madoqua kirkii*) populations. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 1995 **4**(3): 291~297.