

利用 Cyt b 基因序列探讨柴达木裸裂尻鱼的分类学地位

祁得林 李太平 晁燕 杨成

(青海大学农牧学院动物科学系 西宁 810016; 青海省渔业环境监测站 西宁 810012)

摘要: 长期以来,柴达木裸裂尻鱼 (*Schizopygopsis kessleri*) 的分类学地位存在争议。为此,测定了柴达木裸裂尻鱼格尔木河及托素湖种群 24 个个体及黄河裸裂尻鱼 (*S. pylzovi*) 黄河及大通北川河种群 12 个个体的 Cyt b 基因全序列。通过遗传距离和系统发育分析,探讨了柴达木裸裂尻鱼的分类学地位。结果显示,柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼在系统进化树上并未形成相应的单系群;柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼种间平均遗传距离为 0.54%,明显低于裂腹鱼亚科其他属鱼类的种间遗传距离及本属其他种间遗传距离,表明来自柴达木盆地格尔木河和托素湖的裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼之间没有达到种级水平的显著分化。综合地质学资料和柴达木水系与黄河水系现今的隔离格局,建议将柴达木裸裂尻鱼作为黄河裸裂尻鱼的一个亚种,即 *S. pylzovi kessleri*。

关键词: 线粒体细胞色素 b 基因;分类地位;分子系统学;柴达木裸裂尻鱼

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)04-01-07

Taxonomic Status of *Schizopygopsis kessleri* Inferred from Cyt b Gene Sequence

QI De-Lin LI Tai-Ping CHAO Yan YANG Cheng

(Animal Science Department of Agriculture and Animal Husbandry College, Qinghai University, Xining 810016; Fishery Environmental Monitoring Station of Qinghai Province, Xining 810012, China)

Abstract: The taxonomic status of *Schizopygopsis kessleri* distributed in Qiadam Basin is remained controversial for a long time. In the present study, the complete sequence of the mitochondrial Cyt b gene from twenty four individuals of *S. kessleri* collected from the Geermu River and Tuosu Lake in Qiadam Basin and twelve individuals of *S. pylzovi* from the Yellow River and Beichuan River in Datong was sequenced. The taxonomic status of *S. kessleri* was investigated based on the genetic distance and phylogenetic analyses. The results showed that individuals of *S. kessleri* and *S. pylzovi* were not formed reciprocal monophyletic clades in the phylogenetic trees, and the average genetic distance (0.54%) between *S. kessleri* and *S. pylzovi* was lower than that between other species from the same genus and between species from other genera of subfamily Schizothoracinae, which suggested that *S. kessleri* from Qiadam Basin has not reached the genetic divergence level of species. The results of previous geological study, coupled with the status of geographical isolation between Qiadam Basin and Yellow River, suggested that *S. kessleri* should be regarded as a subspecies, *S. pylzovi kessleri* of *S. pylzovi*.

Key words: Mitochondrial cytochrome b gene; Taxonomic status; Molecular phylogenetics; *Schizopygopsis kessleri*

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30860048), 青海大学中青年科研基金项目 (2008-QN-05);

第一作者介绍 祁得林,男,副教授,博士;研究方向:动物分子遗传与生态学;E-mail: delinqi@126.com.

收稿日期: 2008-12-18, **修回日期:** 2009-04-27

裸裂尻鱼属 (*Schizopygopsis*) 是 1866 年由 Steindachner 定名^[1], 主要分布于青藏高原各河流上游干、支流及其湖泊之中, 在青藏高原淡水生态系统的食物链中具有重要地位。自曹文宣^[2]通过外形特征的比较研究, 首次将该属界定为 6 个种, 即嘉陵裸裂尻鱼 (*S. kialingensis*)、黄河裸裂尻鱼 (*S. pylzovi*)、柴达木裸裂尻鱼 (*S. kessleri*)、软刺裸裂尻鱼 (*S. malacanthus*)、西藏裸裂尻鱼 (*S. stoliczkai*) 和热裸裂尻鱼 (*S. thermalis*)。此后, 国内鱼类学家就针对裸裂尻鱼属鱼类的外形特征、解剖特征及其分子数据的广泛研究, 进行了数次分类学修订: 如武云飞等^[1,3]利用 12 个主要形态和解剖特征构建了裸裂尻鱼属鱼类的种间系统发育关系, 将柴达木裸裂尻鱼合并到黄河裸裂尻鱼中, 将软刺裸裂尻鱼的亚种大渡软刺裸裂尻鱼 (*S. malacanthus chengi*) 提升为独立种 (*S. chengi*), 又补充了前腹裸裂尻鱼 (*S. anteroventris*) 和拉萨裸裂尻鱼 (*S. younghusbandi*), 最后将该属界定为 9 个种; 陈毅峰等^[4]通过裸裂尻鱼属鱼类的主要外形特征和解剖特征的比较研究, 又将该属修订为 7 个有效种, 此次修订中又将柴达木裸裂尻鱼作为裸裂尻鱼属的一个独立种; Yu 等^[5]以及祁得林等^[6]通过对线粒体 DNA 数据的分析研究, 再次对裸裂尻鱼属鱼的部分物种进行了修订。虽然, 在过去几年中生物学家针对裸裂尻鱼属鱼类的外形特征、解剖特征及其生物学特性进行了广泛的研究, 并弥补了分子系统发育研究方面的空白^[1~6], 为该属鱼类的物种界定积累了大量的资料。但是, 在几次修订中对柴达木裸裂尻鱼的物种有效性一直存在争议, 其究竟隶属于黄河裸裂尻鱼抑或作为独立种的问题始终未能得到妥善解决。

鉴此, 寻找一种实际可行的方法, 重新评价柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼的系统发育关系, 探讨柴达木裸裂尻鱼的分类学地位具有现实意义。现代分子生物学的飞速发展、基因测序的方便快捷为我们提供了这种可能, 这种方法的应用将有效地降低趋同进化性状和形态模糊性状在物种分类、系统发育研究中的影响^[5~8]。线粒体 DNA (mtDNA) 由于结构简单、严格的母系遗传、几乎不发生重组、进化速度快等分子特点, 使其在物种分类、系统发生和遗传多样性方面的应用越来越广泛^[5~11]。因此, 本研究选取柴达木裸裂尻鱼 2 个种群、黄河裸裂尻鱼 2 个种群及其同属 5 个近缘种, 利用线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因 (Cyt *b*) 全序列的测序和相关分析, 以期对柴达木裸裂尻鱼分类地位的探讨提供新的分子证据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

柴达木裸裂尻鱼采集于柴达木盆地格尔木河和托素湖, 黄河裸裂尻鱼采集于玛多黄河段和青海大通北川河 (图 1, 表 1)。同属其他 5 个物种, 即嘉陵裸裂尻鱼 (DQ533800)、软刺裸裂尻鱼 (DQ646900)、前腹裸裂尻鱼 (DQ646901)、拉萨裸裂尻鱼 (DQ646895) 和大渡裸裂尻鱼 (DQ646890) 的 Cyt *b* 序列下载自 GenBank, 同时, 下载同亚科的澜沧裂腹鱼 (*Schizothorax lantsangensis*; DQ646882) 和厚唇裸重鱼 (*Gymnodiptychus pachycheilus*; DQ309348) 作为外群进行系统发育分析。野外采样时, 取肌肉或鳍组织暂时保存于 -20 车载冰箱或液氮中, 带回实验室后保存在 -70 备用。

表 1 鱼样的采集地点、水系、样本量及 mtDNA 单倍型数目

Table 1 Sampling locality, drainages, sample size and mtDNA haplotypes

物种 Species	采集地点 Collection location	水系 Drainage	样本量 Sample size	单倍型 Haplotype
柴达木裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis kessleri</i>	柴达木盆地 Qiadam Basin	格尔木河 Geermu River	16	<i>S. kessleri</i> GM1 ~ GM10
	柴达木盆地 Qiadam Basin	托素湖 Tuosu Lake	8	<i>S. kessleri</i> TS1 ~ TS5
黄河裸裂尻鱼 <i>S. pylzovi</i>	青海玛多 Madoi, Qinghai	黄河 Yellow River	5	<i>S. pylzovi</i> M1 ~ M3
	青海大通 Datong, Qinghai	北川河(黄河) Beichuan River (Yellow River)	7	<i>S. pylzovi</i> D1 ~ D5

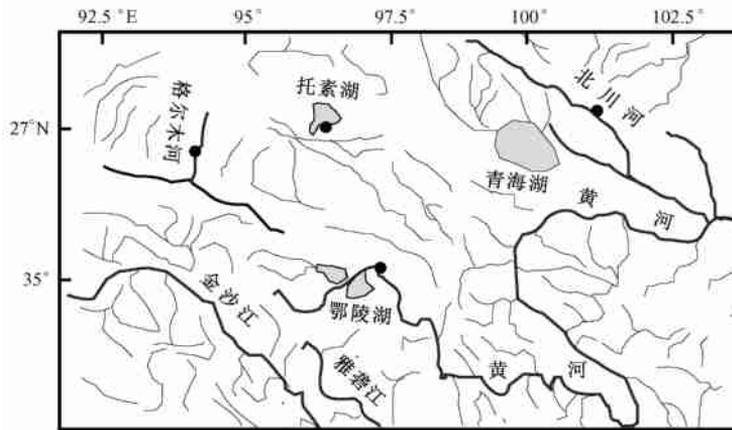


图 1 柴达木裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼采样点()示意图

Fig. 1 Sampling localities for *Schizopygopsis pylzovi* and *S. kessleri*

1.2 DNA 提取、扩增及测序

1.2.1 基因组 DNA 提取 取保存备用的肌肉或鳍组织 20 mg 左右,肌肉置于干净、灭菌的玻璃板上切碎,鳍组织置于有液氮的研钵中研磨,然后转入 1.5 ml 离心管中,用常规 SDS/蛋白酶 K 消化、酚-氯仿抽提、乙醇沉淀总 DNA,获得的 DNA 经空气干燥后加入适量无菌 ddH₂O 溶解,经 1% 琼脂糖凝胶电泳检测,估计 DNA 浓度后 4℃ 保存备用。

1.2.2 Cyt *b* 的 PCR 扩增及测序 线粒体 DNA 细胞色素 *b* 基因全序列 PCR 扩增采用一对通用引物, L14724 (5'-GAC TTGAAA ACC ACC GTT G-3' 和 H15915 (5'-CTC CGA TCT CCG GAT TAC AAG AC-3'^[9],由上海生工生物工程技术公司合成。PCR 扩增反应体系 30 μl,其中包括 1.0 U EX *Taq* (TaKaRa), 1 μl dNTPs (2.5 mmol/L), 3.0 μl 10 × *Taq* buffer (TaKaRa, 含 Mg²⁺), 两条引物 (10 mmol/L) 各 0.5 μl, 0.2 μg 模板 DNA。

PCR 扩增程序: 94℃ 预变性 4 min; 94℃ 变性 1 min, 50℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 72℃ 续延伸 5 min。PCR 扩增结束后,取 2 μl 扩增产物在 1.0% 的琼脂糖凝胶中点样进行电泳, EB 染色, 紫外凝胶成像仪观察并照相记录。扩增结束后,依据厂商提供的操作指南,扩增产物采用 PCR Purification a CASpure PCR Purification Kit (Casarray, 上海) 进行纯化。纯化

产物经 DYEnamic Dye Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham Biosciences Corporation) 在 Personal Thermocycler (Biometra) 上进行测序反应。反应体系 10 μl, 含 DYEnamic Dye Terminator (Amersham Inc.) 2 μl, 引物 5 pmol, 模板 25 ~ 50 ng, 灭菌超纯水补齐至 10 μl。测序反应参数设置如下: 95℃ 预变性 8 s; 95℃ 15 s, 50℃ 15 s, 60℃ 90 s, 31 个循环; 60℃ 90 s, 4~5 min。测序反应产物采用无水乙醇/醋酸铵法纯化后,在 Megabase 500 自动测序仪 (Amersham Pharmacia Biotech Inc.) 上进行测序。为确保测序的准确性,本研究以扩增引物 L14724、H15915 和一对内部引物 L15138 (5'-ATG ATG ACC GCC TTC GTG GGC TA-3'), H15560 (5'-GCG TAG GCA AAT AGGAAG TAT C-3') (上海生工生物工程技术公司合成) 作为测序引物,对所有个体 Cyt *b* 基因进行分段、正反链双向测序。

1.2.3 DNA 序列数据的处理 序列的比对采用 CLUSTAL X 和 DNA STAR 软件包的 Editseq 5.0 及 MegAlign 5.0 软件。用 MEGA 3.1 软件分析核苷酸的组成、变异位点,并计算基于 Kimura 双参数模型的遗传距离。排序后的序列利用 PAUP* 4.0b10 软件分别构建最大似然 (maximum likelihood, ML) 和最大简约 (maximum parsimony, MP) 系统发育树。

在 ML 分析中,采用 Modeltest 3.06 所确定

的最佳模型,选择启发式搜索算法(heuristic search)和简单叠加序列(simple addition sequence)及TBR(tree-bisection-reconnection)分支交换选项构建系统发育树。在MP分析中,使用启发式搜索算法和逐步随机叠加序列(random addition sequence)及TBR分支交换选项构建系统发育树。同时应用自举检验(bootstrap test)估计系统树中节点的支持率,ML、MP重复次数分别为100和1 000次。

2 结果

2.1 序列变异特征 本研究中,柴达木裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼共36个个体均获得线粒体DNA细胞色素**b**基因的全序列(1 140 bp),检测出23个单倍型,其中采集于格尔木河的16个个体检测出10个单倍型,采集于托素湖的8个个体检测出5个单倍型,采集于玛多黄河段的5个个体检测出3个单倍型,采集于大通北川河的7个个体检测出5个单倍型。将柴达木裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼的单倍型以及同属6个近缘种作为整体分析时,在1 140个位点中,存在159个变异位点(13.95%),其中包括53个简约性位点(parsimony sites)和106个单突变位点(singleton sites)。变异位点在第一、二、三位密码子中的分布表现出明显的偏倚,即第三位分布有125个(78.62%),而第一和二位分别只有21个(13.21%)和13个(8.17%)。仅仅将柴达木裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼的单倍型进行分析时,发现在1 140个位点中只有37个(32.46%)变异位点,同样大多数变异位点发生在密码子的第三位。本研究中裸裂尻鱼属鱼类碱基组成分析显示,A、T、C和G碱基平均含量分别为25.6%、30.8%、26.7%和16.9%,其中A+T含量(56.4%)明显高于G+C含量(43.6%),表现出明显的反G偏倚,显示细胞色素**b**基因的共同特征^[12]。

2.2 遗传距离 基于Kimura双参数模型的遗传距离分析显示,采集于玛多黄河段和青海大通北川河的黄河裸裂尻鱼各单倍型之间的遗传距离在0.26%~1.06%之间,其最大值出现在

单倍型*S. pylzovi* D2与*S. pylzovi* M1之间,最小值出现在单倍型*S. pylzovi* M1与*S. pylzovi* M2之间,种内平均遗传距离为0.62%;采集于柴达木盆地格尔木河和托素湖的柴达木裸裂尻鱼各单倍型之间的遗传距离在0.09%~0.89%之间,其最大值出现在单倍型*S. kessleri* GM2与*S. kessleri* TS5之间,最小值出现在单倍型*S. kessleri* TS1与*S. kessleri* TS2之间,种内平均遗传距离为0.39%;而黄河裸裂尻鱼与柴达木裸裂尻鱼种间的平均遗传距离为0.54%(表2)。近缘种的序列分析显示,另外5个物种之间的遗传距离在1.78%~7.41%之间,种间平均遗传距离为5.32%,该值远远大于黄河裸裂尻鱼与柴达木裸裂尻鱼种间的平均遗传距离(0.54%,表2)。

表2 各物种间基于mtDNA细胞色素**b**基因的Kimura双参数遗传距离(%)

Table 2 Mean genetic distance of Kimura's two-parameter between species based on the complete sequence of cytochrome *b* gene

物种 Species	1	2	3	4	5	6
1 大渡软刺裸裂尻鱼 <i>S. chengi</i>						
2 拉萨裸裂尻鱼 <i>S. younghusbandi</i>	7.31					
3 前腹裸裂尻鱼 <i>S. anteroventris</i>	7.41	4.58				
4 嘉陵裸裂尻鱼 <i>S. kialingensis</i>	7.29	4.56	5.04			
5 软刺裸裂尻鱼 <i>S. malacanthus</i>	6.59	4.28	4.38	1.78		
6 黄河裸裂尻鱼 <i>S. pylzovi</i>	7.00	4.58	4.87	2.73	2.25	
7 柴达木裸裂尻鱼 <i>S. kessleri</i>	6.86	4.46	4.75	2.58	2.10	0.54

2.3 系统发育关系 利用Modeltest 3.06软件测试获得的最佳模型为TrN+G。其参数设置如下:Base=(0.2594, 0.2825, 0.1674),Nst=6,Rmat=(1.0000, 17.5411, 1.0000, 1.0000, 6.8940),Rates=gamma,Shape=0.3268,Pinvar=0。根据其模型在PAUP*4.0b10软件中启发

式搜索获得了一棵 ML 系统发育树 ($-\ln L = 3\,282.95$) (图 2)。在该拓扑结构中,来自柴达木盆地格尔木河和托素湖的柴达木裸裂尻鱼与来自玛多黄河段及青海大通北川河的黄河裸裂尻鱼单倍型混杂在一起,并未形成相应的单系

群。基于 Cyt b 全序列的 MP 系统发育树(树长 487;一致性系数 0.8090;衰减系数 0.6606)与 ML 发育树具有完全一致的拓扑结构,区别在于一些节点的支持率有所不同(图 2)。

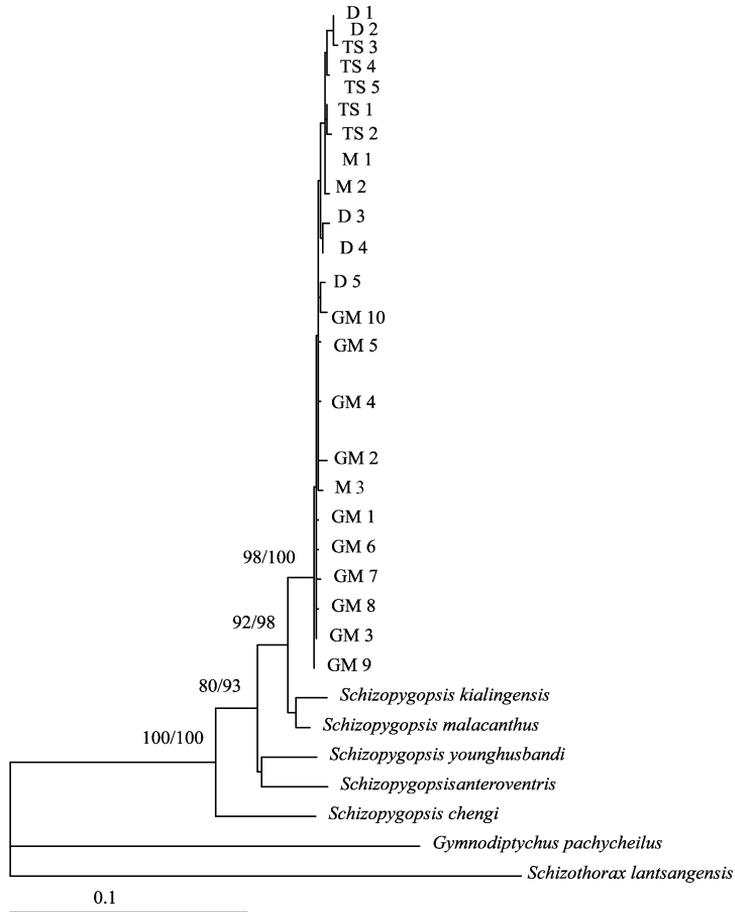


图 2 柴达木裸裂尻鱼及其近缘种基于 Cyt b 构建的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic trees for *Schizopygopsis kessleri* and its closed species based on mitochondrial cytochrome b sequences

由于 ML 和 MP 系统发育树的拓扑结构相同,此处仅显示 ML 系统发育树,节点上数据从左到右为 ML、MP 的 BP 值(%,仅显示 50%的值)。

Here only showed the ML tree owing to the same topologies of maximum likelihood and most parsimonious phylogenetic trees. Numbers at nodes indicate bootstrap values (only those 50% are shown) from maximum likelihood (left) and maximum parsimony (right) analyses.

3 讨论

柴达木裸裂尻鱼广泛分布于柴达木盆地内流水系湖河中,根据 Herzenstein^[1]对柴达木盆地诺木洪河裸裂尻鱼标本的描述,柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼的主要区别在于前者具有弱

背鳍刺,而后者背鳍刺较强。据此,将柴达木裸裂尻鱼界定为裸裂尻鱼属中的一个独立种(*S. kessleri*),该结果得到了部分学者的肯定^[2,4]。但是,武云飞等^[1,3]充分比较了分布于柴达木盆地的柴达木裸裂尻鱼和分布于黄河干支流的黄河裸裂尻鱼的背鳍、下咽齿等 12 个形态及骨骼

特征,并利用这些形态和骨骼特征研究了它们之间的系统发育关系,结果发现两种鱼的不同种群虽然在形态和骨骼特征方面存在较大的变异,但是这种变异并非某个种所特有。换言之,柴达木裸裂尻鱼和黄河裸裂尻鱼的有些种群存在相同的变异。比如,在背鳍刺特征方面,无论是柴达木裸裂尻鱼还是黄河裸裂尻鱼种群普遍存在大个体背鳍刺相对较弱,而小个体背鳍刺相对较强的细微差别,仅从外形及骨骼特征方面很难区分这两个种。依据此理由,武云飞等^[13]提出分布于柴达木盆地的柴达木裸裂尻鱼和分布于黄河干支流的黄河裸裂尻鱼实际上就是同一个种,应将柴达木裸裂尻鱼归并入黄河裸裂尻鱼。

以往动物 Cyt b 基因研究表明,遗传距离超过 6% 的个体间已有明显的亚种或种的分化^[13~15]。祁得林等^[6]在裂腹鱼亚科鱼类中的研究结果也显示,裂腹鱼属 (*Schizothorax*) 种间 Cyt b 遗传距离在 2.51% ~ 9.80% 之间,平均为 6.94%; 叶须鱼属 (*Ptychobarbus*) 种间 Cyt b 遗传距离 5.23% ~ 7.60%, 平均为 6.41%。本研究中,裸裂尻鱼属其他 5 个物种间 Cyt b 遗传距离在 1.78% ~ 7.41% 之间,平均为 5.32%。如果将本研究中的柴达木裸裂尻鱼作为独立种时,则柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼种间平均遗传距离(0.54%),不但低于裂腹鱼亚科鱼类其他属的种间遗传距离,而且远远低于本属其他种的种间遗传距离,表明来自柴达木盆地格尔木河和托素湖的裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼没有达到种级水平的显著分化。赵凯等^[16]在对采集于柴达木盆地另一湖泊——托素湖裸裂尻鱼 Cyt b 的研究中,也获得了相似的结论。本研究中,基于 Cyt b 基因全序列的分子系统发育分析还表明,来自柴达木盆地格尔木河和托素湖的裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼在系统进化树上并未形成相应的单系群,这种结果再次肯定了武云飞等^[1,3]将分布于柴达木水系的柴达木裸裂尻鱼归并入黄河裸裂尻鱼的观点。

柴达木裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼之间较小的遗传距离和系统发育分析结果暗示,在柴达

木水系与黄河水系之间可能有过河道联系。地质学研究表明,青藏高原隆升的昆仑-黄河运动(1.1~0.6 百万年前)期间,青藏高原频繁的地质变迁事件在柴达木盆地曾经导致了一条由西向东走向的外流河道,该河道可能与外流水系黄河有过联系^[17,18],从而造成了鱼类的扩散事件,该结果与 Qi 等^[19]的研究相一致。但是,在后续的共和运动(0.15 百万年前)中所形成的地理隔离^[18,20],使得柴达木内流水系河湖与外流水系彼此独立,造成黄河裸裂尻鱼分布于柴达木内流水系和黄河外流水系的现代分布格局,致使栖息于柴达木水系的裸裂尻鱼与黄河裸裂尻鱼之间的基因交流受阻。

鉴于柴达木水系与黄河水系完全隔离的现代格局,随着时间的推移,分布于柴达木水系与黄河水系的裸裂尻鱼种群将不断积累具有种群特异性的遗传变异,进而可能会在形态特征和分子数据方面表现出更大的差异。因此,建议将柴达木裸裂尻鱼作为黄河裸裂尻鱼的一个亚种,即 *S. pylzovi kessleri*。

致谢 评审专家在数据分析和论文撰写方面提出了宝贵意见,特此致谢!

参 考 文 献

- [1] 武云飞,吴翠珍. 青藏高原鱼类. 成都:四川科学技术出版社,1991.
- [2] 曹文宣. 裂腹鱼亚科鱼类的分类. 见:伍献文主编. 中国鲤科鱼类志. 上海:上海科学技术出版社,1964,137~197.
- [3] 武云飞. 中国裂腹鱼亚科鱼类分类与系统关系研究. 高原生物学集刊,1984,3:119~139.
- [4] 陈毅峰,曹文宣. 裂腹鱼亚科. 见:乐佩琦,单乡红,林人端等主编. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲤形目(下卷). 北京:科学出版社,2000,273~390.
- [5] Yu C J, Song Z B, Yue B S. Taxonomic implications from phylogenetic relationships of subspecies of *Schizopygopsis malacanthus* (Pisces: Cyprinidae) based on sequence analysis of cytochrome b and mitochondrial DNA control region. *Journal of Natural History*, 2006, 40(44-46): 2569~2576.
- [6] 祁得林,郭松长,赵新全. 青藏高原裸裂尻属鱼类两个疑难种的分类学研究. 动物学报, 2006, 52(6): 1058~1066.

- [7] Nei M, Kumar S. Molecular Evolution and Phylogenetics. New York: Oxford University Press, 2000.
- [8] Cárdenas L, Hernández C E, Boulina E, *et al.* Origin, diversification, and historical biogeography of the genus *Trachurus* (Perciformes: Carangidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, **35**: 496 ~ 507.
- [9] Xiao W, Zhang Y, Liu H. Molecular systematics of *Xenocyprinae* (Teleostei: Cyprinidae): taxonomy, biogeography, and coevolution of a special group restricted in East Asia. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2001, **18**: 163 ~ 173.
- [10] Reed D L, Carpenter K E, deGravelle M J. Molecular systematics of the Jacks (Perciformes: Carangidae) based on mitochondrial cytochrome *b* sequences using parsimony, likelihood, and Bayesian approaches. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2002, **23**: 523 ~ 524.
- [11] Carranza S, Amat F. Taxonomy, biogeography and evolution of *Euproctus* (Amphibia: Salamandridae), with the resurrection of the genus *Calotriton* and the description of a new endemic species from the Iberian Peninsula. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2005, **145**: 555 ~ 582.
- [12] Cantatore P, Roberti M, Pesole G, *et al.* Evolutionary analysis of cytochrome *b* sequences in some Perciformes: evidence for a slower rate of evolution than in mammals. *Journal of Molecular Evolution*, 1994, **39**: 589 ~ 597.
- [13] 杨学干, 王义权, 周开亚等. 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*, 2001, **22**(5): 345 ~ 350.
- [14] Yang X G, Wang Y Q, Zhou K Y, *et al.* The authentication of *Oviductus Ranae* and their original animals by using molecular marker. *Bio Pharm Bull*, 2002, **25**(8): 1 035 ~ 1 039.
- [15] 王义权, 许群山, 彭宣宪等. 通过 Cyt *b* 基因同源序列比较评估厦门文昌鱼的分类学地位. *动物学报*, 2004, **50**(2): 202 ~ 208.
- [16] 赵凯, 杨公社, 李俊兵等. 黄河裸裂尻鱼群体遗传结构和 Cyt *b* 序列变异. *水生生物学报*, 2006, **30**(2): 129 ~ 133.
- [17] 李长安, 殷鸿福, 于庆文等. 昆山东段的构造隆升、水系响应与环境变化. *地球科学: 中国地质大学学报*, 1998, **23**(5): 456 ~ 459.
- [18] 李长安, 殷鸿福, 于庆文. 东昆仑山构造隆升与水系演化及其发展趋势. *科学通报*, 1999, **44**(2): 211 ~ 214.
- [19] Qi D L, Guo S C, Zhao X Q, *et al.* Genetic diversity and historical population structure of *Schizopygopsis pylzovi* (Teleostei: Cyprinidae) in the Qinghai-Tibetan Plateau. *Freshwater Biology*, 2007, **52**: 1 090 ~ 1 104.
- [20] 朱筱敏, 康安, 韩德馨等. 柴达木盆地第四纪环境演变、构造变形与青藏高原隆升的关系. *地质科学*, 2003, **38**(3): 413 ~ 424.