

基于细胞色素 *b* 基因探讨昆明禄劝地区树的分类意义

贾婷 杨晓密 李宗瀚 朱万龙 肖彩虹 刘春燕 王政昆*
(云南师范大学生命科学学院 生物能源持续开发利用教育部工程研究中心 昆明 650092)

摘要: 通过对云南省昆明市禄劝地区 30 只中缅树 (*Tupaia belangeri*) 细胞色素 *b* (Cytochrome *b*, Cyt *b*) 基因全序列 (1 140 bp) 的遗传分析, 对禄劝地区中缅树 Cyt *b* 基因特征进行初步探讨。结果表明, 禄劝地区中缅树 Cyt *b* 基因包含 32 个核苷酸变异位点, 占全序列的 2.81%, 其转换/颠换为 10.4。基于 Cyt *b* 基因的遗传距离构建的分子系统树显示, 本实验研究的中缅树 是一个独立的分类单位而非普通树 (*T. glis*) 的亚种; 同时显示攀 目 (Scandentia) 与皮翼目 (Dermoptera) 亲缘关系较近。

关键词: 中缅树 ; 细胞色素 *b* 基因; 分子系统树

中图分类号: Q959 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2008)04-26-08

Classified Significance of *Tupaia belangeri* from Luquan District, Kunming Based on Cyt *b* Gene Sequences

JIA Ting YANG Xiao-Mi LI Zong-Han ZHU Wan-Long XIAO Cai-Hong
LIU Chun-Yan WANG Zheng-Kun*

(School of Life Science of Yunnan Normal University, Engineering Research Center of Sustainable Development and Utilization of Biomass Energy Ministry of Education, Kunming 650092, China)

Abstract: To clarify the genetic character of *Tupaia belangeri* from Luquan District, Kunming, we examined DNA sequence variations in the mitochondrial cytochrome *b* gene gotten from 30 individuals. We detected variation at 32 nucleotide sites (2.81% in the full sequences), the rate of transitions and transversions is 10.4. *T. belangeri* was a valid taxonomic species rather than a sub species of *T. glis* based on Cyt *b* gene sequences; the relationship between order Scandentia and Dermoptera was closer.

Key words: *Tupaia belangeri*; Cytochrome *b* gene; Molecular phylogenetic tree

中缅树 (*Tupaia belangeri*) 属攀 目 (Scandentia) 树 科 (Tupauidae), 在我国主要分布于云南、四川西南部、贵州西南部、广西南部及海南岛 (图 1), 为典型的东南亚热带亚热带小型哺乳动物, 是东南亚树 中分布最北的一个种, 其分布地理位置处于大多数动物学家所称的东洋区或东洋界, 所以又称为东洋界典型代表动物^[1]。最近, 树 科 14 种均被 IUCN 红皮书列为濒危动物 (<http://www.iucnredlist.org/info/gallery> 2006 # Ursus -maritimus-Robert -

Carolyn -Buchanan)。关于树的系统演化, 自从 1922 年以来一直是许多学者感兴趣和争论的问题。鉴于树 在系统发育中所处的特殊地

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30260021, 30560026), 科技强省重点项目 (No. 2007C000Z1);

* 通讯作者, E-mail: wk_930@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 贾婷, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生理生态; E-mail: monica_8209@163.com.

收稿日期: 2007-12-26, 修回日期: 2008-04-27

位, 无论形态方面还是分子方面, 一直都是攀目研究的中心问题之一^[2-5]。随着研究的深入, 建立在外形态上的数据并不能完全解释攀目系统发生的关系^[2,3]。有关我国树的归属问题一直都没有统一的认识, 王应祥^[6]指出关于我国树归属问题有三个可能: 列入普通树 (*T. glis*) 作为亚种^[7,8]; 列入中缅树 (*T. belangeri*) 作为亚种^[9,10]; 视之为独立种——中国树 (*T. chinensis*)。鉴于国内中缅树分子系统关系的研究报道并不多见, 所以本文以禄劝地区中缅树为研究对象, 对其线粒体 DNA Cyt *b* 基因序列进行初步研究, 为树保护遗传学、生理生态及生物多样性研究提供一定的实验依据。

线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 作为核外遗传物质, 已成为最广泛使用的分子系统学标记之一^[12,13]。特别是线粒体 DNA 中的细胞色素 *b* 基因 (Cytochrome *b*, Cyt *b*) 常用于研究种内或近缘种间系统发育和遗传问题, 它的部分或全序列被广泛应用于动物类群系统进化和分类研究^[14,15]。

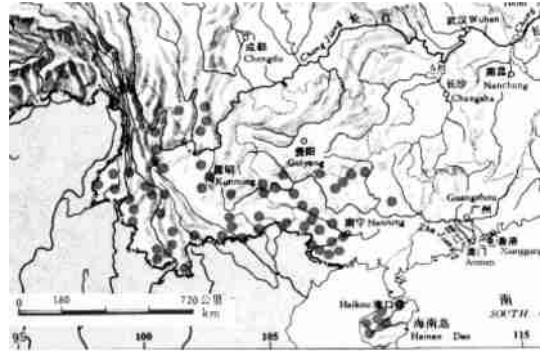


图 1 中缅树 地理分布

Fig. 1 Geographical location of the *Tupaia belangeri*

图 1 截选自文献^[11]; ● 代表树的地理分布。

Fig. 1 was intercepted in the reference^[11];

● Represent for geographical location of the *Tupaia belangeri*.

1 材料与方法

1.1 样品材料 本研究所用的 30 只中缅树均捕自云南省昆明市禄劝县屏山镇 (北纬 $25^{\circ}25' \sim 26^{\circ}22'$, 东经 $102^{\circ}13' \sim 102^{\circ}57'$), 距昆明市 90 km 的灌丛中, 海拔 1 679 m, 属于中缅树的滇西亚种 (*T. b. chinensis*)^[6]。该地区位于滇中

表 1 本研究检测的物种

Table 1 Species examined in the present study

样品 Species	编号 Code	GenBank 登录号 GenBank No.	目 Order
实验所测 中缅树	LQ F 20、LQ23、LQ7D1、LQ7D2、LQ 14D1、LQ 14D2、LQ21D1、 LQ 28D1、LQ28D3、LQF1、LQA 1	EU 376531 EU 531749 EU531776 DQ986459	攀 目 Scandentia
<i>salatana</i> 树 <i>Tupaia salatana</i>	<i>Tupaia salatana</i>	AY321652	攀 目 Scandentia
中缅树 <i>T. belangeri</i>	<i>Tupaia belangeri</i> or <i>T. belangeri</i>	NC002521	攀 目 Scandentia
南裸尾树 <i>Dendrogale melanura</i>	<i>Dendrogale melanura</i>	AY321634	攀 目 Scandentia
长脚树 <i>T. longipes</i>	<i>Tupaia longipes</i>	AY321646	攀 目 Scandentia
普通树 <i>T. glis</i>	<i>Tupaia glis</i>	AY321645	攀 目 Scandentia
中国树 <i>T. chinensis</i>	<i>Tupaia chinensis</i> or <i>T. chinensis</i>	AY321635	攀 目 Scandentia
红腹狐猴 <i>Eulemur rubriventer</i>	<i>Eulemur rubriventer</i>	AF081052	灵长目 Primates
鼯猴 <i>Cynocephalus volars</i>	<i>Cynocephalus volars</i>	AB075974	皮翼目 Dermoptera
<i>Sorex araneus</i>	<i>Sorex araneus</i>	DQ417733	食虫目 Insectivora
塔里木兔 <i>Lepus yarkandensis</i>	<i>Lepus yarkandensis</i>	AY839007	兔形目 Lagomorpha

高原的北部,属于北亚热带高原气候,年平均温度为 15.6℃,最热月(7月)平均气温 19.8℃,最冷月(1月)为 7.8℃,极端低温-9.5℃,冬季短,约 2 个多月,无夏季,春秋季长达 9 个多月^[16]。其余序列从 GenBank 获得(表 1)。

1.2 方法

1.2.1 DNA 的提取 动物处死后,迅速分离肝或肌肉组织适量,进行基因组 DNA 的提取。用动物基因组 DNA 小量快速提取试剂盒(博大泰克生物基因技术有限责任公司)或酚/氯仿(分子克隆第三版)的方法提取基因组 DNA。以灭菌滤纸代替样品作阴性对照,以检测是否有外源 DNA 的污染。

1.2.2 PCR 扩增 *Cyt b* 基因的引物根据已报道中缅树 线粒体基因组序列设计^[4],利用 Primer Premier 5.0 软件来完成,引物序列为 14071-F: 5'-GGA TCT GAC CAA GAC CTG TGA G-3'; 15320-R: 5'-TCC CTC CGT TTC TGG TTT AC-3'。引物覆盖长度为 1 140 bp。

扩增体系为 50 μl,其中含有 10 × Buffer 5 μl、10 mmol/L dNTPs 1 μl、20 μmol/L 引物各 1 μl、25 mmol/L MgCl₂ 2 μl、2 U *Taq* 酶和 50 ng 左右的 DNA 模板。扩增条件:94℃预变性 5 min; 94℃变性 1 min, 55℃退火 1 min, 72℃延伸 1 min, 35 个循环; 72℃延伸 10 min; 4℃终止反应。

1.2.3 PCR 产物纯化和测序 使用 2% 琼脂糖电泳检测扩增产物,用 Glassmilk DNA 纯化回收试剂盒(博大泰克生物基因技术有限责任公司)进行割胶回收、纯化,回收产物直接作为测序的模板送大连宝生物工程有限公司测序。

1.3 数据分析 所用序列均以 Clustal X 软件^[17]进行排序。采用 MEGA 4^[18]计算碱基变异位点、简约信息位点、转换/颠换比率以及 A、T、G、C 的平均含量。基于 Kimura 两参数^[19],采用邻接法(neighbor joining method, NJ)^[20],对表 1 中所有序列构建邻接树,在 MEGA 4 软件中完成。系统树各分支的自举检验值(Bootstrap)由 1 000 次重复检验所得。所有的序列变化均被

视为无序特征, DNA 序列变异中的转换和颠换赋予相同的加权值。

2 结果

2.1 线粒体 DNA *Cyt b* 基因的扩增 本实验扩增得到的线粒体 DNA *Cyt b* 基因,片段为 1 140 bp,与已知的中缅树 线粒体 DNA *Cyt b* 的片段一致,同源性达到 91% 以上。其中本实验所测序列已提交 NCBI,登录号见表 1。在基因组 DNA 提取的过程中所作阴性对照,其 PCR 扩增产物经 1% 的凝胶电泳检测,没有出现亮带,表明实验过程中未受到外源 DNA 分子的污染。

2.2 序列变异 采用 MEGA 4 软件,基于 Kimura^[19]两参数对本实验所测中缅树 和 GenBank 上获得的哺乳动物的 *Cyt b* 基因序列进行分析,统计两两序列间的遗传距离。可以看出,本研究的 30 个个体的遗传距离为 0.000 ~ 0.017,与中国树 的遗传距离为 0.005 ~ 0.017,与中缅树 的遗传距离为 0.086 ~ 0.097,与普通树 的遗传距离为 0.178,以下依次为长脚树 (*T. longipes*) (0.175)、*salatana* 树 (*T. salatana*) (0.199)、南裸尾树 (*D. melanura*) (0.187)、红腹狐猴 (*E. Rubriventer*) (0.302)、鼯猴 (*C. volars*) (0.314)、(*S. araneus*) (0.273)、塔里木兔 (*L. yarkandensis*) (0.291)。

本实验所测的 30 只中缅树 的 *Cyt b* 基因全序列 1 140 bp 中共有保守位点 1 108 个,变异位点 32 个(2.81%),包括 11 个简约信息位点和 21 个单变异位点。核苷酸的替换以转换为主,转换/颠换为 10.4; A、T、G、C 碱基的平均含量为 29.1%、27.1%、15.0%、28.8%,且 A+T 的含量明显高于 G+C 的含量。由此可见, *Cyt b* 基因表现出很强的碱基组成偏向性,即在 A、T、G、C 四种碱基中, G 的含量明显低于其他三种碱基的含量,与其他脊椎动物线粒体 DNA 的特点一致^[21]。

核苷酸的变异也存在很大的差异,不同位

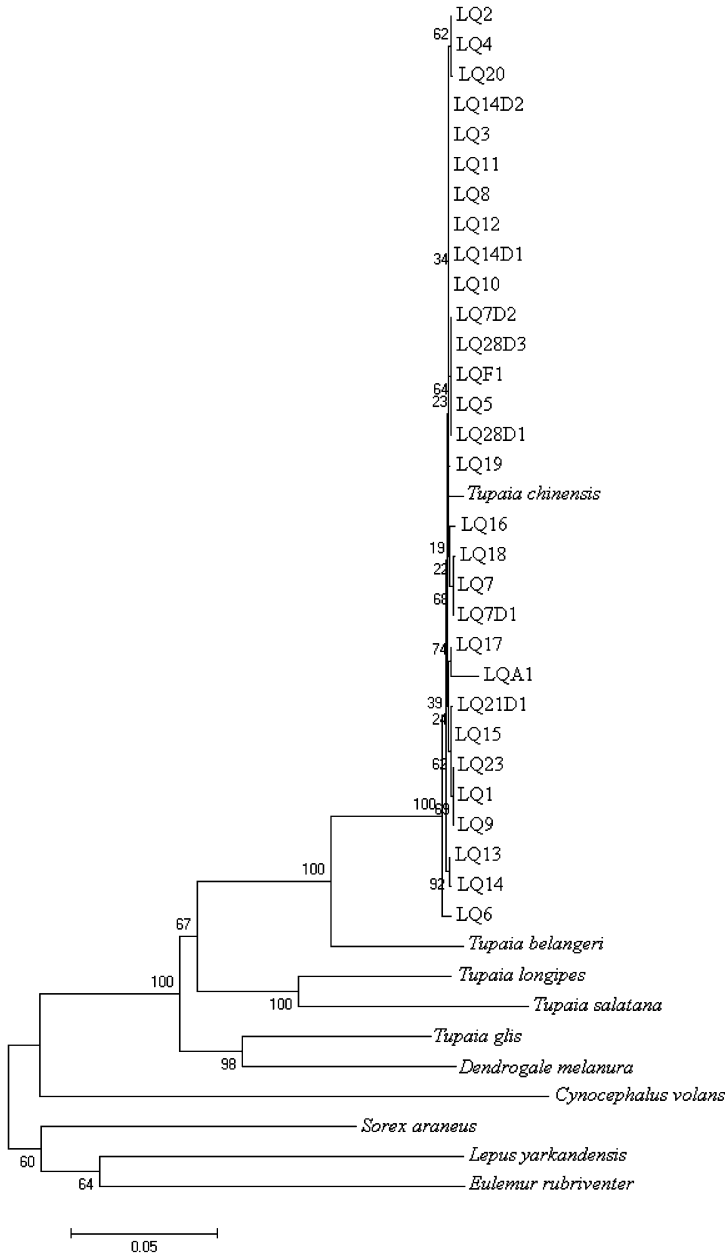


图 2 基于线粒体 Cyt *b* 基因全序列构建的 NJ 树

Fig. 2 NJ tree based on complete of Cyt *b* gene sequences

各分支上的数字为 Bootstrap 1 000 个循环的自举检验值; 图中标尺表示分支长度。

Data with the confident values of Bootstrap 1 000 indicate above each branch; Branch lengths (substitutions/site) are shown below branches.

点上碱基的平均含量不同。在第一个位点上 A、T、G、C 的含量分别为: 26.3%、25.5%、25.5%、22.7%; 在第二个位点上为: 21.0%、40.5% 14.0%、24.5%; 在第三个位点上为:

39.9%、15.4%、5.6%、39.1%。由此可见, 序列的变异主要发生在密码子的第三个碱基上, 少数发生在第二位, 这与蛋白质编码基因密码子第三位点进化最快, 第二位点较保守的一般规

律是一致的^[21]。

2.3 分子系统树的构建 一般转换/颠换的变化范围为 1.4~2.1, 在重建系统树时, 转换/颠换如果小于 2.0, 则此基因序列的突变已达到饱和状态, 受进化噪音的影响可能性较大, 重建系统发生时如不进行特别加权就会出现错误信息^[23]。本文中, 转换/颠换为 10.4, 远大于 2.0, 因而不需要进行特别加权。

基于表 1 中所有序列构建分子系统进化树。使用 MEGA 4 软件中邻接法(NJ)构建的邻接树(图 2), PAUP 4.0 软件及 Phylip 3.67 软件中的邻接法(NJ)同样构建邻接树, 其结果与 MEGA 4 一致。另外利用贝叶斯法构建树形图, 所得结果也与图 2 一致。结果显示, 本实验的中缅树与中国树和报道的中缅树聚为一支, 且分支置信度较高, 即自举检验值(Bootstrap)为 1 000 次自举检测得到的对该支的支持百分数较高, 说明其亲缘关系较近; 还可以看出攀鼠与皮翼目的亲缘关系较近。

3 讨论

3.1 Cyt b 基因序列变异分析 哺乳动物 mtDNA 碱基替换中存在转换偏倚性(bias), 随着进化时间增加, 颠换的积累, 转换偏倚性会下降^[24, 25]。本文中转换/颠换平均为 10.4, 数值比临界值 2.0 大得多, 说明捕自云南省昆明市禄劝县屏山镇的中缅树, 其线粒体 Cyt b 基因序列的突变可能没有达到饱和状态, 随着遗传差异的增加, 转换将趋于饱和。禄劝地区的 30 只中缅树的变异范围为 0~1.7%, 其与中国树之间的差异为 0.5%~1.7%, 而与已报道的中缅树之间的差异为 8.6%~9.7%。对其他一些动物的 Cyt b 基因序列分析表明, 种内个体间的序列差异一般在 0~4.06%, 差异超过 6% 的个体间已有明显的亚种或种的分化^[26]。根据本研究结果, 禄劝地区的中缅树与已报道中缅树的 Cyt b 基因序列差异程度达到 8.6%~9.7%, 可能说明禄劝地区的中缅树与 GenBank 上获得的中缅树之间的分化达到了亚种水平。但由于 GenBank 上获得的中

缅树未提供采集地, 所以还不能确定其与本实验样品之间的具体关系。

3.2 细胞色素 b 基因构建系统发生树

3.2.1 昆明禄劝地区中缅树的分类地位 有关我国树的归属问题一直都没有统一的意见, 王应祥^[6]指出关于我国树归属问题有三个可能: 列入普通树作为亚种^[7, 8]; 列入中缅树作为亚种^[9, 10]; 也有视之为独立种——中国树。把中缅树与马来半岛南部地区的普通树并为一个种这一观点得到许多学者的认可^[8, 27, 28]。彭燕章等^[29]将中国树和中缅树作为独立的两个种。上述观点中, 将我国树作为中缅树的亚种, 而非普通树的亚种的依据如下: Lyon^[30]以树雌性乳式的差异作为树属内划分群组(Group)或种的主要指标之一, 他记录马来半岛与印度尼西亚一带的树类群(*glis-ferruginea*)的乳式为 2-2, 而中南半岛北部的树类群(*belangeri-chinensis*)的乳式为 3-3, 此后的一些学者据此将两个类群定为两个种, 即中缅树(*T. belangeri*)和普通树(*T. glis*)。来自形态和细胞分类学的证据表明, 我国南部树核型二倍体均等于 62, 双臂染色体数目为 12, 单臂染色体数为 48^[29, 31], 但马来半岛以南的普通树类群的核型二倍体为 60, 双臂染色体数为 14, 单臂染色体数为 44^[31, 32], 无论染色体数目或染色体形态都有明显差异。来自毛色和头骨的特征说明中缅树与马来半岛的普通树不同, 很可能是独立的种^[3, 6]。Dene 等对树的免疫学研究表明, 中缅树与普通树明显有别^[9, 10]。Elliot 发现中缅树与普通树血清中的胆固醇含量也不同^[33]。来自血相方面的研究表明, 中缅树红细胞数量及血红蛋白的含量都比低海拔热带地区的马来普通树和地树(*T. tana*)的高^[11]。王政昆等在研究树的基础代谢率时认为中缅树和马来树在代谢水平上出现差异, 而且中缅树的产热能力要比马来树强^[34], 这些报道说明分布于我国云南的中缅树与普通树在生理上存在一定的差异。

基于细胞色素 b 基因构建的分子系统树

(图 2) 可以看出, 本研究所测得 30 个样本与中国树 聚在一起, 其亲缘关系较近, 两者再与已报道的中缅树 聚在一起, 其分支的置信度为 100%。因此, 它们很可能具有共同的祖先。即本实验所测定 30 个样本与中国树 和已报道中缅树 是一个单系群, 说明分布于我国云南的中缅树 是一个独立的类群, 而非普通树的亚种, 这与王应祥^[6]提出的滇西亚种的观点一致。因此, 本实验依据 Cyt *b* 基因序列分析, 初步判断禄劝地区的中缅树 不是普通树的亚种, 很可能是一个独立的物种。

3.2.2 攀 目的分类地位 随着分子生物学的发展, 生物进化的研究手段也从宏观趋向微观, 从定性走向定量, 近年分子系统学在解决攀 目的一些类群的系统发育关系、某些疑难种的分类地位确定和易混种的鉴定方面获得了一定的成功^[4, 5, 35, 36]。早在 1910 年 Gregory 把树 、灵长类、皮翼目、翼手目和象 归为统兽总目(Archonta)^[37], 但各目间的亲缘关系还不清楚。荷兰的 Rheedee 等^[38]研究了哺乳动物朊病毒蛋白的分子进化, 研究结果显示, 树 与啮齿类的进化关系比灵长类近。Arnason 等^[39]研究了 60 种哺乳动物的完整线粒体基因组, 用氨基酸序列和核苷酸序列分别构建了似然树, 其中氨基酸构建的似然树显示攀 目与兔形目的亲缘关系较近, 而核苷酸构建的似然树显示攀 目与啮齿类的亲缘关系较近。Schmitz 等通过对中缅树 的整个线粒体基因组的研究得出中缅树 与兔形目的系统进化关系比灵长类近^[4]。Fuchs 等研究了中缅树 的 MHC I 基因, 也指出树 与兔形目的亲缘关系较近^[40]。Adkins 等根据线粒体细胞色素氧化酶 II 亚单位基因分析, 认为灵长类、树 和狐猴应来源同一祖先^[36]。英国的 Springer 等在对真兽亚纲动物的类维生素 A 结合蛋白基因的研究中发现, 树 与皮翼目鼯猴属的进化关系较近^[35]。Beck 等^[41]在研究包含现存有胎盘类哺乳动物所有科的超级树时, 结果也显示了树 科与鼯猴科的亲缘关系较近。Ravosa 等^[42]的 Primate Origins 一书中也提出了攀 目与皮翼目的亲缘

关系较近。

本研究利用灵长类亚目的红腹狐猴、皮翼目的鼯猴、兔形目的塔里木兔和食虫目的 作外群, 构建了邻接树, 得出攀 目与皮翼目聚在一起, 说明在 Cyt *b* 基因水平上攀 目和皮翼目亲缘关系较近, 这与 Springer 等的报道一致^[35], 支持了最近关于皮翼目和攀 目亲缘关系较近的分子方面的研究观点^[5, 43, 44]。

综上所述, 基于细胞色素 *b* 基因的遗传距离及构建的分子系统树显示, 本实验研究的中缅树 是一个独立的分类单位而非普通树的亚种; 细胞色素 *b* 基因序列构建的分子系统树显示攀 目与皮翼目亲缘关系较近。

参 考 文 献

- [1] 彭燕章, 叶智彰, 邹如金等. 树 生物学. 昆明: 云南科技出版社, 1991, 46~ 47.
- [2] Butler P M. The tupaiid dentition. In: Luckett W P ed. Comparative Biology and Evolutionary Relationships of Tree Shrews. New York: Plenum Press, 1980, 171~ 204.
- [3] Endo H, Hayashi Y, Rerkamnuaychoke W, et al. Sympatric distribution of the two morphological types of the common tree shrew in Hat Yai districts (South Thailand). *J Vet Med Sci*, 2000, **62**: 759~ 761.
- [4] Schmitz J, Ohme M, Zschler H. The complete mitochondrial genome of *Tupaia belangeri* and the phylogenetic affiliation of Scandentia to other Eutherian orders. *Mol Biol Evol*, 2000, **17** (9): 1 334~ 1 343.
- [5] Olson L E, Sargis E J, Martin R D. Intraordinal phylogenetics of tree shrews (Mammalia: Scandentia) based on evidence from the mitochondrial 12S rRNA gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2005, **35**: 656~ 673.
- [6] 王应祥. 中国树 的分类研究. *动物学研究*, 1987, **8**(3): 214~ 226
- [7] Corbet G B, Hill J E. A World List of Mammalian Species. London: British Museum (Natural History), 1980
- [8] Napier J R. A Handbook of Living Primates. London: Academic Press, 1967.
- [9] Dene H, Goodman M, Prychodko W. An immunological examination of the systematics of Tupaiodea. *J Mammal*, 1978, **59**: 697~ 706.
- [10] Dene H, Goodman M, Prychodko W, et al. Molecular evidence for the affinities of Tupaiidae. In: Luckett W P ed. Comparative Biology and Evolutionary Relationships of Tree Shrews. New York: Plenum Press, 1980, 269~ 291.

- [11] 张荣祖, 郑度, 杨勤业. 横断山区自然地理. 北京: 科学出版社, 1997.
- [12] Birky C W, Fuerst P, Maruyama T. Organelle gene diversity under migration mutation and drift: equilibrium expectations approach to equilibrium effects of heteroplasmic cells and comparison to nuclear genes. *Genetics*, 1989, **121**: 613~ 627.
- [13] Bucklin A, Guarnierii, Gillicuddy M, *et al.* Spring evolution of *Pseudocalanus* spp. abundance on Georges Bank based on molecular discrimination of *P. moultoni* and *P. newmani*. *Deep Sea Res Part II: Top Stud Oceanogr*, 2000, **48**: 589~ 608.
- [14] Hehr Bychowski K, Cracraft J. Recovering phylogenetic signal from DNA sequences: relationships within the corvine assemblage (class aves) as inferred from complete sequences of the mitochondrial DNA cytochrome *b* gene. *Mol Biol Evol*, 1993, **10**: 1 196~ 1 214.
- [15] Sevilla R G, Diez A, Noren M, *et al.* Primers and polymerase chain reaction conditions for DNA barcoding teleost fish based on the mitochondrial cytochrome *b* and nuclear rhodopsin genes. *Molecular Ecology*, 2007, **7**(5): 730~ 734.
- [16] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳等. 中缅树 静止代谢率的研究. 北京师范大学学报, 1994, **30**(3): 408~ 414
- [17] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, *et al.* The clustal x windows interface: exible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res*, 1997, **24**: 4876~ 4882
- [18] Tamura K, Dudley J, Nei M, *et al.* MEGA4: Molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4 0. *Molecular Biology and Evolution*, 2007, **24**: 1 596~ 1 599.
- [19] Kimura M. A simple method of estimating evolutionary rate of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequences. *Mol Evol*, 1980, **16**: 111~ 120.
- [20] Saitou N, Nei M. The neighbor joining method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution*, 1987, **4**: 406~ 425.
- [21] Hochachka, Mommsen. Biochemistry and Molecular Biology of Fishes. London: Elsevier Science Publishers, 1993, 1~ 38.
- [22] Irwin D M, Keher T D, Wilson A C. Evolution of the cytochrome *b* gene of mammals. *J Mol Evol*, 1991, **32**: 128~ 144.
- [23] Knight A, Mindell D P. Substitution bias, weighting of DNA sequences evolution, and the phylogenetic positions of *Fea's* viper. *Sys Bio*, 1993, **42**(1): 18~ 31.
- [24] Hedges S B, Bezy R L, Maxson L R. Phylogenetic relationships and biogeography of Xantuslid lizards, inferred from mitochondrial DNA sequences. *Mol Bio Evol*, 1991, **8**: 767~ 780.
- [25] Zhang Y P, Ryder O A. Mitochondrial DNA sequence evolution in the Arctoidea. *PNAS*, 1993, **90**: 9 557~ 9 561.
- [26] 曹祥荣, 束峰珏, 张锡然等. 毛冠鹿与 3 种麝属动物的线粒体细胞色素 *b* 的系统进化分析. 动物学报, 2002, **48** (1): 44~ 49.
- [27] Agrawal V C. Taxonomic Study of the Indo Burmese subregion of the common tree shrew, *Tupaia glis* Diard. In: Tiwari K K, Sravaslava C B eds. Dr. B. S. Chanhan Commemoration. Orissa: Zoological Society of India, 1975, 384~ 394.
- [28] 广东省昆虫研究所动物室, 中山大学生物系著. 海南岛的鸟兽. 北京: 科学出版社, 1983.
- [29] 彭燕章, 叶智章, 邹如金等. 树 生物学. 昆明: 云南科技出版社, 1991, 1~ 422
- [30] Lyon M W. Tree shrews: An account of the mammalian family Tupaiidae. *Proc US Nat Mus*, 1913, **45**: 1~ 188
- [31] Arrighi F E. Chromosomes of the tree shrews (Tupaiidae). *Cytogenetic*, 1969, **8**: 199~ 208.
- [32] Hsu T C, Johnson M L. Karyotypes of two mammals from Malaya. *The American Naturalist*, 1963, **97**: 127~ 129.
- [33] Elliot O. The Biology of Tree Shrews: with an Emphasis on *Tupaia glis* (Diard, 1820) of Malaya. New York: Harvard University Press, 1969
- [34] 王政昆, 李庆芬, 孙儒泳. 中缅树 的非颤抖性产热及细胞呼吸特征. 动物学研究, 1995, **16**(3): 239~ 246.
- [35] Springer M S, Burk A, Kavanagh J R, *et al.* The interphotoreceptor retinoid binding protein gene in therian mammals Implications for higher level relationships and evidence for loss of function in the marsupial mole. *PNAS*, 1997, **94**: 13 754~ 13 759
- [36] Adkins R M, Honeycutt R L. Molecular phylogeny of the superorder Archonta, *PNAS*, 1991, **88**: 10 317~ 10 321
- [37] Butler P M. The skull of Ictops and the classification of the Insectivora. *Proc Zool Soc*, 1956, **126**: 453~ 481.
- [38] Rheede V T, Smolenaas M M, Madsen O, *et al.* Molecular evolution of the mammalian prion protein. *Mol Biol Evol*, 2003, **20**(1): 111~ 121.
- [39] Amason U, Adegoke J A, Bodin K, *et al.* Mammalian mitogenomic relationships and the root of the eutherian tree. *PNAS*, 2002, **99**(12): 8 151~ 8 156.
- [40] Fuchs E, Flugge P, Günther E, *et al.* MHC class I genes of the tree shrew *Tupaia belangari*. *Immunogenetics*, 2002, **53**: 984~ 988.
- [41] Beck R M D, Binindr Emonds O R P, Cardillo M, *et al.* A higher level MRP supertree of placental mammals. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, **6**: 93.
- [42] Ravosa M J, Dagosto M. Primate Origins: Adaptations and Evolution. New York: University of Chicago, 2007, 143~ 178.

[43] Liu F G R, Miyamoto M M, Freire N P, *et al.* Molecular and morphological supertrees for eutherian (placental) mammals. *Science*, 2001, 291: 1 786~ 1 789.

[44] Murphy W J, Eiziri E, Johnson W E, *et al.* Molecular phylogenetics and the origins of placental mammals. *Nature*, 2001, 409: 614~ 618

《动物学杂志》投稿注意事项

1 稿件的投寄

稿件通过本刊的电子信箱(E-mail: journal@ioz.ac.cn)投寄(Word 文件作附件),同时邮寄打印稿。打印稿一式两份,小四号字单面隔行打印。

2 论文的格式要求

题目 应言简意赅。中文题目字数一般不超过 20 个字;英文题目不超过 10 个实词,实词首字母大写。

作者 署名入应是对论文的全部或部分内容做出主要贡献,并能对文章内容负责的人。

单位 应写作者单位的标准全称及所在地和邮编。

摘要 中文摘要放在文首。内容必须包括:研究目的、方法、结果(主要数据)和结论。用第三人称叙述。英文摘要放在中文摘要下面,其内容应与中文摘要相对应或略详于中文摘要。

关键词 一般为 3~ 5 个,中英文对应,分别列在中英文摘要下面。

前言 结合文献阐述国内外相关研究领域的发展状况及本研究的目的和意义。

正文 材料与方法对材料的来源及方法的出处应详细陈述;结果的数据要完整。微观形态的稿件应有实验照片作为依据,文字叙述要简洁明了,与图表内容相互呼应;讨论应依据前言的内容、结果的数据、现象展开讨论,以达到解决问题或得出结论的目的。

全文书写规格 文中请使用国家颁布的法定计量单位和符号及规范化的名词、术语。文中首次出现的英文缩写词,应先写出中文名称后,再在括号内写出英文全称和缩写词。物种名称在文中第一次出现时应附拉丁学名(种属名用斜体,属名首字母大写)。名词术语的用法文中应前后一致。

①**小标题**: 应简短准确、层次清楚。各级标题一律采用阿拉伯数字连续编码,左顶格编排,如“1”(一级标)、“1.1”(二级标)、“1.1.1”(三级标)。

②**图表**: 力求精选,反应同一数据的图与表不能重复。其序号一律采用阿拉伯数字编码,在文中引用处注明。线条图应用计算机绘制,激光打印机打印;照片图要求反差适中、层次清晰。显微及电镜照片,应注明长度标尺和放大倍数。

参考文献 应列出与本文直接有关的中外文主要文献,未公开发表的文献可作脚注处理。本刊文献的著录格式采用顺序编码制,即以文献在文中出现的先后顺序连续编码,加方括号标注在文中引用处,文后文献表的文献要与文中一致,并按文中的顺序排列,多名作者须在列出前三名作者后加“等”。具体格式要求为:

①**期刊**: 作者. 题名. 刊名(外文刊用斜体), 出版年, 卷(期)号: 起止页码. 示例:

[1] 郑光美. 黄腹角雉. *动物学杂志*, 1987, 22(5): 40~ 43.

[2] Wu P, Zhou K Y. General condition of systematics study on Tesudines. *Chinese Journal of Zoology*, 1998, 33(6): 38~ 45.

②**专著**: 作者. 书名. 版本(第一版不标注). 出版地: 出版者, 出版年. 起止页码. 示例:

[3] 孙儒泳编著. *动物生态学原理*(第二版). 北京: 北京师范大学出版社, 1992, 329~ 330.

[4] Jiang Zh G ed. *Conservation Biology*. Hangzhou: Zhejiang Science and Technology Press, 1997, 160~ 164.

③**论文集**: 作者. 题名. 见(英文用 In): 编者. 论文集名. 出版地: 出版者, 出版年. 起止页码. 示例:

[5] 陈大元. 动物显微受精与克隆研究. 见: 中国动物学会主编. *中国动物科学研究*. 北京: 中国林业出版社, 1999, 59~ 64.

[6] Yang T. On the leeches from Wuling Mountains area in south China. In: Song D X ed. *Invertebrates of Wuling Mountains Area, Southwestern China*. Beijing: Science Press, 1997, 395~ 399.