

高原鼫鼠种群历史动态研究

唐利洲^{1,2}, 于龙¹, 陈建刚¹, 朱磊¹, 王俊杰¹, 栾^{1*}, 苏建平^{2*}

(1. 曲靖师范学院云贵高原生物多样性研究所, 云南曲靖 655011; 2. 中国科学院西北高原生物研究所, 高原生物适应与进化重点实验室, 西宁 810001)

摘要: 利用细胞色素 b 基因序列作为分子遗传标记, 分析了高原鼫鼠 *Eospalax baileyi* 整个分布区及 4 个地理种群历史动态变化。结果显示, 0.33~0.16 百万年前 (Ma), 该物种有效种群大小出现最高值与最低值, 种群剧烈波动; 0.16~0.08 Ma 种群大小基本保持不变; 0.08 Ma 至今, 基本呈现缓慢下降趋势。结果充分说明倒数第二次冰期造成了高原鼫鼠有效种群大小的急剧下降或波动, 间冰期有利于该物种种群数量稳定水平的维持, 而末次冰期仅仅限制了有效种群大小的增加, 并未导致种群崩溃或灭绝。

关键词: 高原鼫鼠; 种群历史动态; 有效种群大小; 突变速率; 冰期

中图分类号: Q959.8 & Q14 文献标识码: A 文章编号: 1000-7083(2010)05-0521-06

Population History Dynamics of Plateau Zokor (*Eospalax baileyi*)

TANG Lirzhou^{1,2}, YU Long¹, CHEN Jian-gang¹, ZHU Lei¹, WANG Jun-jie¹, DING Wei¹, SU Jian-ping^{2*}

(1. Yunnan-Guizhou Plateau Institute of Biodiversity, Qujing Normal University, Qujing, Yunnan Province 655011, China; 2. Key Laboratory of Adaptation and Evolution of Plateau Biota, Northwest Institute of Plateau Biology, the Chinese Academy of Sciences, Xining 810001, China)

Abstract The population dynamics of the entire distribution area and four geographical populations of plateau zokor (*Eospalax baileyi*) were studied by sequencing the cytochrome b gene. The results showed that the population fluctuated most tempestuously and the effective population size appeared the highest and the lowest between 0.33 and 0.16 million years ago (Ma). The population size retained unviable stabilization levels between 0.16 and 0.08 Ma. In addition, the effective population size presented a slow shrinking without sudden increases or decreases from 0.08 Ma to now. These findings all suggest that the Penultimate Glaciation induced the sudden decreasing or fluctuation of the effective population size of this species. Furthermore, population size corresponding to stable levels happened during the interglacial stage, whereas the Last Glaciation only restricted the increase of effective population size instead of resulting in population collapse or extinction.

Key words plateau zokor (*Eospalax baileyi*); population history dynamic; effective population size; evolution rate; ice age

有效种群大小 (Effective population size, N_e) 可以反映出—个种群进化过程的随机性强度, 其影响到许多进化相关的因素, 如缺乏中性遗传变异时的突变速率、选择效率及中性突变累计速率 (Kimura 1983; Ohta 1992, 1993)。有效种群大小下降, 选择系数小于或等于 $1/N_e$ 时, 突变数会随之增加, 因而较高的突变就趋近于中性突变 (Wolf & Bromham, 2003)。有些不利突变可能会增加遗传漂变的概率, 并将变异留在种群中, 而不会被选择作用所排除掉, 这种情况下替换速率增加 (Ohta 1992, 1993)。一个种群的家系结构包含种群历史的信息, 而溯祖时间

的分布依赖于有效种群大小。由于溯祖时间在大多数情况下不能直接获得, 仅能根据累积的突变进行推断, 因此一般只能估计出 $N_e\mu$ 的值即 Theta 值 (Kuhner *et al.*, 1998)。要研究种群历史动态, 一般以有效种群大小随历史时间而发生的变化作为衡量标准, 并结合历史事件分析 N_e 值波动产生的历史原因。高原鼫鼠 *Eospalax baileyi* 属于营全地下生活的鼠种, 而地下生活环境具有相对稳定的特点, 这种稳定的地下环境是否能够保护高原鼫鼠种群免受过去地质事件的影响? 又或许历史事件造成了高原鼫鼠有效种群大小的波动, 那么又是哪些主要事件对种

收稿日期: 2009-11-12 接受日期: 2010-01-05

基金项目: 中国科学院知识创新工程领域前沿项目 (CXLY-2002-3); 曲靖师范学院科研基金资助重点项目 (2009ZD004)

作者简介: 唐利洲 (1980-), 男, 博士, 讲师, 主要从事动物生态学研究, E-mail: tanglizhou@163.com

* 通讯作者 Corresponding author E-mail: jps@mwjpac.cn; dingweiq@sina.com

致谢: 感谢曲靖师范学院生物多样性保护科技创新团队的支持!

群扩张或缩小起到关键作用? 这一系列的疑问同样是我们亟待解决的分子系统地理学的内容。因此, 本研究以线粒体细胞色素 b 基因为分子遗传标记, 根据有效种群大小随历史时间发生改变的趋势, 追溯高原鼯鼠种群历史动态, 并分析种群动态变化的主要历史成因。

1 材料与方法

1.1 采样及 DNA 提取

实验用 187 只高原鼯鼠, 分别来自青海、甘肃和四川 4 个地理种群的 17 个地点(表 1)。野外采集样本即切割腿部肌肉组织 2 g 左右, 并置于 95% 乙醇中固定保存(蔡振媛等, 2007)。参照 Sambrook 等用蛋白酶 K 苯酚/氯仿法 (Joe & David, 2001) 抽提基因组总 DNA。

1.2 PCR 扩增与序列测定

用成对引物 L14724 (5'-C GAA GCT TGA TAT GAA AAA CCA TCG TTG-3') 和 H15917 (5'-C GGA ATT CCA TTT TTG GTT TAC AAG-3') (Zhou *et al.*, 2004) 扩增线粒体细胞色素 b (Cyt b) 基因。其反应体积为 30 μ L, 包括 10 mM Tris-HCl (pH 8.0), 1.5 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 4 种 dNTP 各 150 mM, 2 个引物各 0.3 mM, 0.4 μ L 模板 DNA, 以及 1U Taq 酶。反应条件为 95°C 预变性 5 min, 然后 95°C 变性 40 s, 53°C 退火 1 min, 72°C 延伸 1.5 min, 运行 31 个循环,

最后 72°C 续延伸 7 min。扩增产物用柱式 PCR 产物纯化试剂盒 (上海生工提供) 进行纯化。纯化产物用 Megabase 1000 Automated sequencer 完成序列测定。

1.3 数据处理

1.3.1 序列比对 DNA 序列比对主要利用 Chromas Clustal X 1.8 (Thompson *et al.*, 1997) 软件进行同源排序, 并适当手动校对。

1.3.2 Cyt b 进化速率估算 从 GenBank 中分别下载 8 种鼯鼠及中华竹鼠 *Rhizomys sinensis* 的 Cyt b 基因全序列 (表 2), 将所有 8 种鼯鼠作为一个单系群 (Monophyletic group), 采用邱铸鼎和李传夔 (2004) 中鼯鼠亚科 *Myospalacinae* 5 ~ 12 百万年 (Million years Myr) 的化石时间作为该单系群的最近共同祖先时间 (Time of Most Recent Common Ancestor TM-RCA) 进行标定, 并以竹鼠亚科 *Rhizomyinae* 的中华竹鼠为外类群。软件 BEAST v. 1.4.7 中 BEAUTI (Drummond & Rambaut, 2007a) 程序进行运行参数的设置, 主要参数值设置分别为: 以马尔可夫链 (Markov chain Monte Carlo MCMC) 为搜索策略, 以严格分子钟模型 (Strict molecular clock model) 的物种形成 (Speciation) 和自优化搜索 (Auto optimized search) 运行 100 万次, 均能获得合理有效抽样大小 (effective sample size, ESS) 的收敛结果, 即 ESS 一般大于 100 (Cognato *et al.*, 2006; Drummond & Rambaut, 2007a); 使用较适合于蛋白质编码序列的 SRD06 模型。最后, 用 TRACER v. 1.4 (Drummond & Rambaut, 2007b) 程序检查并分析收敛状态分布、burn-in 的阶段、平均进化速率及 95% 的自信区间。

1.3.3 种群历史动态分析 采用 Modeltest 3.06 (Posada & Crandall, 1998) 程序选择的最适合模型 (best fit model) 为 HKY + G, 总样本 4 个碱基的频率分别为: A = 0.2988, C = 0.2892, G = 0.1072, T = 0.3048, Gamma 值为 0.4530, 而转换/颠换比值 (Ti/Tv) = 10.9988, 以 MIGRATE 2.4.4 (Beerli, 2002) 的贝叶斯法 (Bayesian inference) 分析高原鼯鼠种群历史动态, 具体参数设置为: 以 Fst 估算 Theta 值, 所有位点使用不变的突变速率, 1 个长链, Recorded steps 和 Increment 各使用 1000, 使用 3 次重复和 300 000 的 burn-in, MIGRATE 2.4.4 分析获得的种群动态图是以相对时间 (Time) 对 Theta 值的分布图: 横坐标相对时间是以突变率每代 (Mutation rate/generation) 表示的, 我们以 Cyt b 的 2.434×10^{-8} 每年碱基平均进

表 1 高原鼯鼠采样点信息表

Table 1 The geographic origin, altitude and samples of plateau zokor (*Eospalax baileyi*)

种群 Population	地点(乡) Site/Village	经度 (E) Longitude	纬度 (N) Latitude	海拔 (m) Altitude	样本数 Sample
1	珍秦 Zhenqin	97.24°	33.35°	4390	11
	歇武 Xiwu	97.47°	33.20°	4450	11
	清水河 Qingshuhe	96.94°	33.77°	4550	14
2	巴燕 Bayan	102.30°	36.19°	3230	16
	阿什努 Ashenu	102.20°	36.04°	2603	8
	东沟 Donggou	102.12°	36.90°	3040	11
	西掌 Xizhang	101.68°	36.95°	3020	11
	波航 Bohang	101.11°	36.64°	3110	10
3	泉吉 Quanji	99.71°	37.17°	3230	14
	关角 Guanjiao	98.87°	37.18°	3840	14
	八宝 Babao	100.22°	38.07°	3450	9
	红星 Hongxing	102.72°	34.10°	3230	8
4	阿西 Axi	102.89°	33.91°	3450	11
	唐克 Tangke	102.53°	33.41°	3490	12
	啊子滩 Azitan	103.25°	34.75°	3160	10
	完冒 Wamao	103.05°	34.37°	3270	11
	申藏 Shenzang	103.55°	34.74°	3020	6

化速率及高原鼫鼠一年一代的繁殖周期(郑生武, 1980)进行绝对时间(Age)换算; 纵坐标显示的是Theta值, 依据公式 $\Theta(\theta) = x \times \text{有效种群大小}(N_e) \times \mu$ (突变速率) 求算纵坐标的真实有效种群大小。 x 是指单倍体或多倍体倍数, 该值取决于数据的类型, 如核基因数据 $x=4$ 单倍体数据的 $x=2$ 脊椎动物线粒体 DNA的 $x=1$, N_e 为有效种群大小, 而 μ 表示所测序列每代每碱基的突变速率。

2 结果

2.1 Cyt b基因进化速率

BEAST v. 1.4.7分析结果表明, 高原鼫鼠线粒体 Cyt b 平均进化速率为 2.434% 每百万年位点, 95% 置信区间为 1.352% ~ 3.493%, 自相关次数(Auto-correlation time)为 1149.511, 有效抽样大小(ESS)达到 7830.285, 概率密度分布服从正态分布, 说明收敛完整有效, 结果可靠。

表 2 GenBank 下载的细胞色素 b 全序列的种名及其登录号
Table 2 The species name and accession number of Cytochrome b from GenBank

中文名 Chinese name	拉丁名 Latin name	登录号 Accession number
高原鼫鼠	<i>Eospalax baileyi</i>	AF326256
甘肃鼫鼠	<i>Eospalax ansus</i>	AF326261
中华鼫鼠	<i>Eospalax fontanieri</i>	AF326266
斯氏鼫鼠	<i>Eospalax smithi</i>	EF530740
罗氏鼫鼠	<i>Eospalax rothschildi</i>	AF326268
草原鼫鼠	<i>Myospalax aspalax</i>	AF326272
东北鼫鼠	<i>Myospalax psihurus</i>	AF326271
秦岭鼫鼠	<i>Eospalax rufescens</i>	AF326269
中华竹鼠	<i>Rhizomys sinensis</i>	AF326274

2.2 种群历史动态

以 MIGRATE 2.4.4(Beerli 2002)的贝叶斯法(Bayesian inference)推算高原鼫鼠种群历史动态结果显示:

(1)以整个研究区进行分析, 可以追溯高原鼫鼠 0.3 百万年前(Million years ago, Ma)以来的种群动态(图 1): 0.33~0.25 Ma 种群出现了历史最高的 N_e 值, 有效种群大小超过 $2M_yr$ 同时也存在两次 N_e 最低值, 有效种群大小最高值与最低值都处于该时期, 种群剧烈波动; 0.25~0.16 Ma 种群依然波动较大, 基本趋势是 0.25 Ma 左右种群大小显著增加, 于 0.20 Ma 左右达到该期最高值, 尔后大约在 0.18~0.16 Ma 出现“U”型分布状态; 0.16~0.08 Ma 阶段, 种群数量基本保持不变水平, 0.12 Ma 左右有一段上升下降过程, 呈现出类似抛物线的分布状态, 但这种波动趋于一种缓和的上下震荡; 0.08 Ma 至今, 有效种群大小基本呈现缓慢下降趋势, 说明 0.08 Ma 以来的历史事件不会影响种群生存, 而只是一定程度上的限制作用。

(2)不同地域经历的历史事件强度和时间的可能不尽相同, 而且对各地理种群产生的影响也存在差异, 因此我们将所有种群分成 4 个独立种群进行单独分析, 即按照地理分布和区域划分(表 1)。细分的 4 大种群的历史动态图(图 2)存在一些差异: 第一, 在 0.33~0.25 Ma 间, 种群 1 的种群大小早中期基本趋近于 Q 直到晚期的 0.27~0.25 Ma 左右才骤然上升, 至 0.25 Ma 达到该期的最高峰值; 种群 2 和种群 4 的种群大小波动基本相同, 呈现骤升至骤降, 再到骤升的过程, 出现两个高峰值, 两者只是在发生时间上有差异; 种群 3 的种群大小波动类似抛物线。第二, 在 0.25~0.16 Ma 间, 种群 1 经历了由骤降至骤升的变化, 类似于“U”型; 种群 2 和种群 3 的种群波动在该阶段比较接近, 都遵循了骤升-骤降-缓升-缓降过程。第三, 在 0.16~0.08 Ma 种群 1 和种群 4 的种群波动时间几乎一致, 而仅仅是波动强度大小有差异, 即种群 1 的强度大于种群 4 种群 2 和种群 3 的种群大小波动时间一致, 仅是波动强度大小

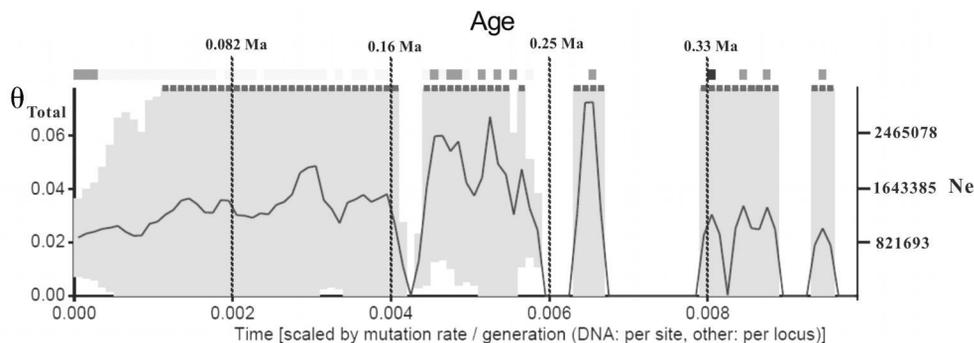


图 1 整个分布区高原鼫鼠种群历史动态
Fig. 1 Population history dynamic through recent time in all distribution area of plateau zokor (*Eospalax baileyi*)

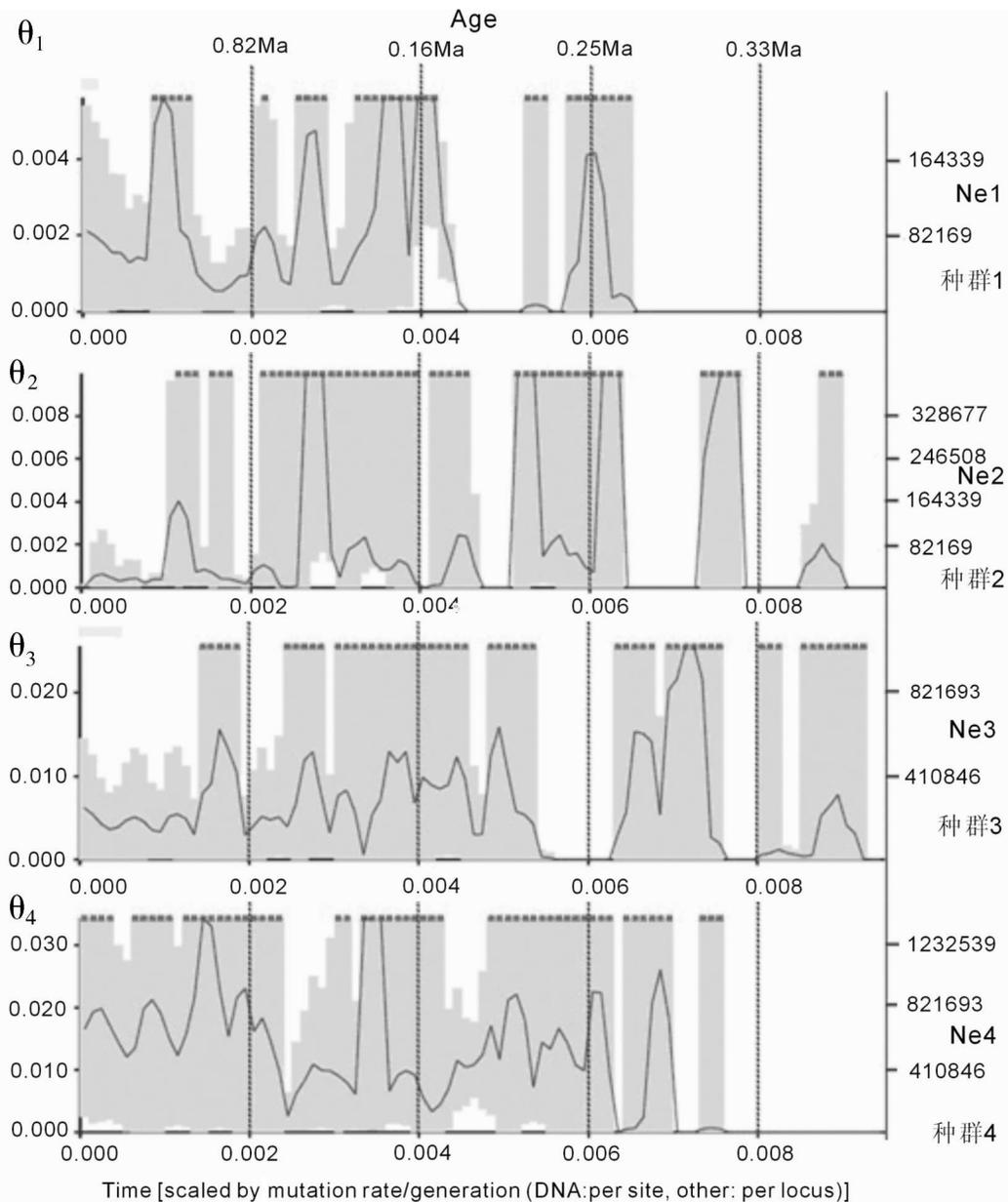


图 2 4 个地域性种群历史动态

Fig. 2 Population history dynamic through recent time in four diverged populations

有差异,表现为前者大于后者。第四,在 0.08 Ma 至今这段时间,种群 1 和种群 2 种群大小变化仅存在波动强度的差异,即种群 1 大于种群 2 另外,种群 3 和种群 4 种群大小波动的的时间和强度都趋于一致,说明两者经历历史事件相同。

3 讨论

种群历史动态的研究结果表明,高原鼯鼠种群在 0.30 Ma 以来发生剧烈波动,有效种群大小随进化时间发生循环震荡,主要以 0.30~0.16 Ma 左右震荡的强度最大(图 1),而相应地理种群同样具有

强烈的大小波动(图 2),这充分说明过去冰期事件对高原鼯鼠种群产生了重要影响。首先,整个高原鼯鼠种群有效种群大小波动主要发生在 0.30~0.16 Ma 期间,种群经历两次增长及三次下降(图 1);相比较而言,0.16 Ma 之后种群波动趋于缓和状态。根据焦克勤和沈永平(2003)的研究结果发现,自更新世以来,青藏高原广大地区发生过三次更新世冰川作用,即最大冰期(Maximum Glaciation)、倒数第二次冰期(Penultimate Glaciation)和末次冰期(Last Glaciation)。倒数第二次冰期的分布范围,恢复当时的冰川规模仅次于最大冰期的冰川规模(焦克勤,沈

永平, 2003)。倒数第二次冰期的发生年代大致为 0.15~0.32 Ma (郑本兴等, 1990; 王苏明等, 1996; 崔之久等, 1998)。因此, 我们发现高原鼯鼠整个区域种群大小剧烈波动的时间, 与倒数第二次冰期发生时间几乎完全吻合, 这充分说明倒数第二次冰期对高原鼯鼠有效种群大小产生了重要影响。

倒数第二次冰期早期 (0.30~0.28 Ma 左右) 时, 冰被覆盖的面积及强度应是此次冰期最强的。大面积冰被覆盖了高原鼯鼠高海拔和低海拔分布区, 冰被的发展严重影响天然植被的生长, 造成适宜植被大面积退化或演替; 高原鼯鼠主要以非禾本科植物根或茎为食 (王权业等, 2000), 其生境中植被的大范围退化几乎断绝了高原鼯鼠主要食物来源; 适宜生境几乎大片消失, 对高原鼯鼠种群数量及种群大小造成影响。早期冰期最大的覆盖度, 寒冷气候衍生出季节性或多冻土的发育, 影响高原鼯鼠挖掘取食活动及分布扩散能力。因此, 早期冰期的影响造成高原鼯鼠种群急剧下降 (图 1)。倒数第二次冰期中期 (0.28~0.22 Ma), 冰被覆盖面积及强度可能为整个冰期中最小的, 但这一时期具有反复循环的特点: 0.28 Ma 左右的冰被逐渐在消退, 出现了一段较短时间的间冰期; 由于自然环境逐渐好转, 气候环境处于较理想状态, 适宜植被逐渐恢复, 冻土较大范围消退, 因此高原鼯鼠有效种群大小骤升, 达到了 0.33 Ma 以来的最高水平 (施雅风, 1998)。0.25~0.22 Ma 前后, 冰期出现了以 3 万年为周期的大小循环, 继而造成高原鼯鼠种群大小出现了由骤降向骤升变化的过程, 并且有效种群大小在 2 Myr 水平保持了几乎 2 万年时间 (图 1)。倒数第二次冰期晚期 (0.22~0.16 Ma), 同样受到冰期反复的影响, 高原鼯鼠种群的波动出现了由下降到上升的过程, 但是这一阶段上升幅度明显不如前一阶段强度大, 这说明在倒数第二次冰期影响结束阶段, 高原鼯鼠有效种群大小难以再骤升至较高水平, 而只能逐渐上升后维持稳定状态 (图 1)。

另外, 0.13~0.08 Ma 正好处于末次间冰期, 该时期冰被消退, 气温开始回升, 适宜植被生长, 高原鼯鼠有效种群大小基本趋于稳定分布 (焦克勤, 沈永平, 2003)。末次间冰期后, 0.08~0.02 Ma 的末次冰期是全新世的最后一次冰期事件, 该事件的影响应该不会对高原鼯鼠产生太大影响, 原因主要是: 末

次冰期时, 高原鼯鼠已分化成各地理种群, 各个种群选择了适合其生存的有利生境, 并各自积累变异向独立方向进化 (施雅风, 1998)。距离隔离抑制相邻或较远种群间基因交流, 片段化格局分化形成; 各地域种群内的环境趋于稳定, 少数个体的扩散也仅限于种群内的交流, 不会发生大的种群爆发或扩张事件。有可能出现片段化造成的种群瓶颈效应 (Bottle-neck Effect), 一定程度上对有效种群大小产生了抑制作用, 从而表现出 0.08 Ma 以来的缓慢下降趋势 (图 1)。

最后, 我们的研究结果也综合说明, 相同历史事件 (如倒数第二次冰期和末次冰期) 对不同地域性种群也产生了显著影响, 但影响的程度存在一定差异 (图 2): 第一, 倒数第二次冰期影响青藏高原边缘种群的时间要早于高原内部种群。高原边缘血统包括种群 2 和 3 这 3 个地理种群均分布于青藏高原东北边缘区域, 其平均海拔显著低于高原内部种群 (种群 1); 倒数第二次冰期可能先影响到低海拔区域的种群, 而较高海拔区域作用的时间相对要推迟。第二, 倒数第二次冰期对种群 1、2 和 3 的影响几乎造成种群的灭绝, 其强度要明显大于对种群 4 的影响。这种差异的出现合理的解释是, 前 3 个地域种群的分布区域更容易受到冰期冰被的覆盖, 寒冷的外界环境、适宜植被的退化及冻土的形成可能造成这 3 个种群的瓶颈效应, 因而有效种群大小要显著低于种群 4 (图 2)。末次冰期对这些不同地域种群的影响几乎没有太大差异, 这种相同结果一致说明, 末次冰期时这 4 个地域种群已经各自分化, 成为独立进化单元积累变异, 可能成为高原鼯鼠躲避寒冷严酷环境的有利避难所生境。

4 参考文献

- 蔡振媛, 张同作, 慈海鑫, 等. 2007. 高原鼯鼠线粒体谱系地理学和遗传多样性 [J]. 兽类学报, 27(2): 130~137
- 崔之久, 伍永秋, 刘耕年. 1998. 青藏公路昆仑山垭口天然剖面记录 [A]. 施雅风, 李吉均, 李炳元. 青藏高原晚新生代隆升与环境变化 [M]. 广州: 广东科技出版社: 81~111
- 邱铸鼎, 李传夔. 2004. 中国哺乳动物区系的演变与青藏高原的抬升 [J]. 中国科学 D 辑, 地球科学, 34(9): 845~854
- 焦克勤, 沈永平. 2003. 唐古拉山地区第四纪冰川作用与冰川特征 [J]. 冰川冻土, 25(1): 34~42
- 施雅风. 1998. 第四纪中期青藏高原冰冻圈的演化及其与全球变化

- 的联系 [J]. 冰川冻土, 20(3): 197~208.
- 王权业, 张堰铭, 魏万红, 等. 2000. 高原鼯鼠食性的研究 [J]. 兽类学报, 20(3): 193~199.
- 王苏明, 夏威岚, 钱君龙. 1996. 若尔盖盆地 RM 孔的沉积特征与构造-气候演化 [A]. 青藏高原形成演化、环境变迁与生态系统研究, 学术论文年刊 (1995) [C]. 北京: 科学出版社: 112~117.
- 郑本兴, 焦克勤, 李世杰. 1990. 青藏高原第四纪冰期年代研究的新进展 [J]. 科学通报, (7): 533~537.
- 郑生武. 1980. 中华鼯鼠的繁殖研究 [J]. 动物学研究, 1(4): 465~477.
- Beerli P. 2002. MIGRATE documentation and program, Part of LAMARC Version 1.5 [J/OL]. Available at <http://evolution.genetics.washington.edu/lamarc/index.html>
- Cognato AH, Bickham JW, Loughlin TR, et al. 2006. Glacial refugia and the phylogeography of Steller's sea lion (*Eumatopias jubatus*) in the North Pacific [J]. Journal of Evolutionary Biology, 19: 955~969.
- Drummond AJ, Rambaut A. 2007a. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees [J]. BMC Evolutionary Biology, 7: 214.
- Drummond AJ, Rambaut A. 2007b. TRACER. VER. 1.4 [J/OL]. <http://beast.bio.ed.ac.uk/>
- Joe S, David W, Russell. 2001. Molecular cloning: A Laboratory Manual Third edition [M]. Cold Spring Harbor Laboratory Press: 463~470.
- Kinura M. 1983. The neutral theory of molecular evolution [M]. Cambridge: Cambridge University Press.
- Kuhner MK, Yamato J, Felsenstein J. 1998. Maximum likelihood estimation of population growth rates based on the coalescent [J]. Genetics, 149: 429~434.
- Ohta T. 1992. The nearly neutral theory of molecular evolution [J]. Annual Review of Ecology and Systematics, 23: 263~286.
- Ohta T. 1993. Amino acid substitution at the *Adh* locus of *Drosophila* is facilitated by small population size [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 90: 4548~4551.
- Posada D, Crandall KA. 1998. Modeltest: testing the model of DNA substitution [J]. Bioinformatics, 14: 817~818.
- Thompson JD, Gibson TJ, Plewniak F, et al. 1997. The CLUSTAL X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. Nucleic Acids Research, 25(24): 4876~4882.
- Woolf M, Brnham L. 2003. Increased rates of sequence evolution in endosymbiotic bacteria and fungi with small effective population sizes [J]. Molecular Biology and Evolution, 20: 1545~1555.
- Zhou CQ, Zhou KY, Zhang SL. 2004. Molecular Authentication of the Animal Crude Drug Sailonggu (Bone of *Myopanax baileyi*) [J]. Botanical and pharmaceutical bulletin, 27(11): 1850~1858.