分子进化研究中系统发生树的重建

常 青 周开亚

(南京师范大学生物多样性与分子进化研究室, 南京 210097)

摘要 在现代分子进化研究中,根据现有生物基因或物种多样性来重建生物的进化史是一个非常重要的问题。一个可靠的系统发生的推断,将揭示出有关生物进化过程的顺序,有助于我们了解生物进化的历史和进化机制。本文简要介绍了系统发生树推断的几个重要问题:建树方法、数据转换、树的可靠性及目前使用较多的几种分析软件。

关键词 分子进化,系统发生树,DNA标记,DNA序列

Phylogeny reconstruction in the study of molecular evolution/ CHANG Qing, ZHOU Kai Ya

Abstract Reconstruction of the evolutionary history of species based on the genetic and species diversity is one of the most important subjects in the current study of molecular evolution. If reliable phylogenies are produced, they will shed light on the sequence of evolutionary events, and help us to understand the mechanisms of evolution as well as the history of organisms. The goal in this paper is to give a brief introduction to several important issue in phylogeny inferring: the tree-building methods, data transformation, reliability of inferred tree, and several common used computer programs.

Key words molecular evolution, phylogeny reconstruction, DNA makers, DNA sequence **Author 's address** Biodiversity and Molecular Evolution Research Laboratory, Nanjing Normal University, Nanjing 210097

DNA 标记(如 RFLP、RAPD、微卫星 DNA 标记等)及 DNA 序列测定是最近发展起来的从 DNA 水平来研究生物多样性与生物进化的分子生物学技术,它通过揭示 DNA 分子中核苷酸的变异来研究动物的系统发生、种内分化及遗传多样性等,目前已日益引起动物系统学和进化生物学研究者的注重。如何正确地分析这些分子生物学数据,推断出系统发生关系,亦是每个研究者所必须考虑的问题。有关分子分类理论方面的若干问题及系统研究中如何比较分析 DNA 序列方法曾有综述[1,2]。本文拟就分子进化研究中系统发生树重建的若干理论问题及常用重建方法作一介绍。

1 系统发生与系统发生树

系统发生(phylogeny)是指一群有机体发生或进化的历史。系统发生树(phylogenetic tree)就是描述这一群有机体发生或进化顺序的拓扑结构。根据系统发生树的具体表达形式,可分为物种(或种群)树(species or population tree)与基因树(gene tree)。

对生物学家来说,重要的是知道某些物种或种群其分歧的历史及在每一次分歧后趋异时间,当这些历史事件以系统发生树的形式表现时,此时的系统发生树称为物种(或种群)树。对任何一类生物,要想知道确切的物种(或种群)树是非常困难的,但我们可以检测这类生物所包含的一些基因的进化关系来推断物种(或种群)树。如果系统发生树是基于一个基因的核酸或氨基酸序列所建立的,此时的系统发生树就称为一个基因树。基因树有时与物种(或种群)树并不一致,特别是在基因

组中存在2个或更多的同样基因的拷贝时。

无论是物种(或种群)树还是基因树,都是用树一样的拓扑结构表示出来,其中将已标明最近共祖分类单元(the most recent common ancestor of the taxa)所在位置的树称有根树(rooted tree),如图 1a 所示;若树中最近共祖分类单元所在位置未知,则称无根树(unrooted tree),如图 1b 所示。图中A,B,C,D 为所研究的分类单元,有时亦称为运筹分类单位(operational taxonomic units,简称OTU),是一项研究中由工作者选定的序级最低的基本单位,处在整个树分支的末端或称树的终节点(terminal nodes)上。OTU 可以是类元,在种上研究中常选为种,也可以更高,在种下研究中常选为种群(或居群),也可以是更小的个体群组,甚至小到个体。一项研究中 OTU 序级一般应当一致,不宜高低参差不齐。树中的分支点称为内节点(internal nodes),它代表了一个或一系列趋异事件发生的位置;节点间的连线称为支(branches),其中一端与终节点相连的为外支(peripheral branches),不与终节点相连的为内支(interior branches)。在有根树中,连接 2 个外支的内节点称共祖节点(common ancestral nodes)。

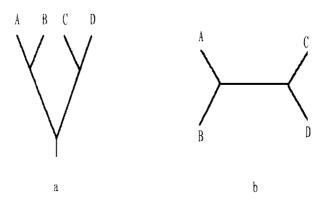


图 1 二种类型的系统发生树

Fig. 1 Rooted and unrooted trees with four OUTs 注: a. 有根树,b. 无根树;a. rooted tree, b. unrooted tree

2 常用系统发生树重建方法

国内有些学者将利用现有生物的形态或分子生物学数据推断系统发生的过程称为系统发生树的构建,作者认为应称为重建(reconstruction)比较确切。目前,利用分子生物学数据重建系统发生树的方法很多^[3]。在重建时,对不同类型的数据应采用不同的重建方法。

2.1 数据类型

利用现代分子生物学技术所获得的生物多样性的信息,可大致分为以下两大类:

- (1) 离散特征数据 (discrete character data) ,即所获得的是 2 个或更多的离散的值 ,是赋给某一具体的运筹分类单位的。它可进一步分为二态特征 (binary characters) 与多态特征 (multistate characters) 。前者的离散特征只有 2 种可能的状况 ,即具有与不具有某特征项 ,通常用" 0 "或" 1 "表示 ,如限制性酶切位点、RAPD 数据等。对后者 ,其离散特征具有 3 个或更多的可能状态 ,如核酸的序列信息 .就某一位点来说组成核苷酸的碱基具有 A、T、G或 C G0 G1 种可能 ;
- (2)相似性和距离数据(similarity and distance data),它并不是某一具体分类单元所具有,而是用彼此间的相似性或距离所表示出来的各分类单位间的相互关系,如免疫学方法与 DNA 杂交所得到的只有分类单元间相似性信息。

2.2 重建方法

根据所利用的数据类型不同,系统发生树的重建方法亦可分为两大类:

- (1) 距离法(distance based method),利用所有种或运筹分类单位间的进化距离,依据一定的原则及算法重建系统发生树。如邻结法(neighbor-joining method,简称 NJ)、非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, 简称 UPGMA)、Fitch 和 Margoliash 法等;
- (2) 离散特征法(discrete-character based method),利用的是具有离散特征状态的数据,如 DNA 序列中的核苷酸的排列等。建树时考虑到每个特征或核苷酸位点在运筹分类单位或 DNA 序列间的进化关系等。如最大简约法(maximum parsimony methods,简称 MP)、最大似然法(maximum likelihood methods,简称 ML)、进化简约法(evolutionary parsimony methods,简称 EP)等。对相似性和距离数据,在重建系统发生树时只能利用距离法。离散特征数据通过适当的方法可转换成距离数据,因此在重建系统发生树时既可用距离法,亦可以采用离散特征法。下面就几种常用的方法作一简介。

2.2.1 非加权组平均法(UPGMA)

非加权组平均法是一种较常用的聚类分析方法,最早是用来解决分类问题的。当用来重建系统发生树时,其假定的前提条件是:在进化过程中,每一世系发生趋异的次数相同,即核苷酸或氨基酸的替换速率是均等且恒定的。通过 UPGMA 法所产生的系统发生树可以说是物种树的简单体现,在每一次趋异发生后,从共祖节点到 2 个 OTU 间的支的长度一样。因此,这种方法较多地用于物种树的重建。

UPGMA 法在算法上较简单。聚类时,首先将距离最小的 $2 \land OTU$ 聚在一起,并形成一个新的 OTU,其分支点位于 $2 \land OTU$ 间距离的 $1/2 \lor X$;然后计算新的 OTU 与其它 OTU 间的平均距离,再找出其中的最小 $2 \land OTU$ 进行聚类;如此反复,直到所有的 OTU 都聚到一起,最终得到一个完整的系统发生树。

2.2.2 邻结法(NJ)

NJ 法是 Saitou 和 Nei 于 1987 年首次提出^[4],可以讲是最小进化法 (minimum evolution method)的简化版。在重建系统发生树时,它取消了 UPGMA 法所作的假定,认为在进化分支上,发生趋异的次数可以不同。最近的计算机模拟已表明它是最有效的基于距离数据重建系统发生树的方法之一。

与 UPGMA 法相比,NJ 法在算法上相对较复杂,它跟踪的是树上的节点(nodes)而不是 OTUs。在聚类过程中,根据原始距离矩阵,基于其它所有节点间的平均趋异程度而对每对节点间的距离作了调整,即将每个 OTU 的趋异程度标准化,从而形成一个新的距离矩阵。重建时即将距离最小的 2 个终节点连接起来,在树中增加一个共祖节点,同时去除原初的 2 个终节点及其分支,即对整个树进行了修剪。随后,新增加的共祖节点被视成终节点,重复上一次循环。在每一次循环过程中,都有 2 个终节点被一个新的共祖节点所取代。整个循环直到只有 2 个终节点时为止。从所得到的系统发生树来看,2 个聚在一起的 OUT 其所在的终节点到共祖节点的距离并不一定相同。

2.2.3 最大简约法(MP)

最大简约法最早是基于形态特征分类的需要而发展起来的,因使用的算法不同而有着许多版本,其中有些已被广泛地用于分子进化研究中对离散特征数据的系统发生树的重建,如对 DNA 序列数据分析。

MP 方法利用的只是对简约分析能提供信息的特征。如在 DNA 序列数据中,利用的只是存在核苷酸序列差异(至少有 2 种不同类型的核苷酸序列)的位点,这些位点称为简约信息位点(parsimony-informative sites)。利用 MP 方法重建系统发生树,实际上是一个对给定 OTUs 其所有可能

的树进行比较的过程。对某一个可能的树,首先对每个位点祖先序列的核苷酸组成作出推断,然后统计每个位点用来阐明差异的核苷酸最小替换数目。在整个树中,所有信息简约位点最小核苷酸替换数的总和称为树的长度。通过比较所有可能树,选择其中长度最小的树作为最终的系统发生树,即最大简约树(maximum parsimony tree)。

2.2.4 最大似然法(ML)

在生物学研究的许多领域,最大似然法常被用来检验一些假设,目前较多地用在遗传作图与临床检验上。因该法是建立在许多假定的基础上,并且获得最大似然估计的解较复杂,因此限制了它的推广应用。在 DNA 分子标记研究中,该技术已被用来重建由 DNA 序列数据及限制性位点数据产生的系统发生树。

利用最大似然法来推断一组序列的系统发生树,需首先确定序列进化的模型,目前使用较多的是一些相对较简单的模型,如Jukes Cantor模型、Kimura 二参数模型及一般二参数模型。这些模型都是建立在一定假设基础上;然后基于一定的模型考虑 2 个 OTU 序列间的关系,找到支的长度。这个过程需要寻找在某一进化距离上由第一种序列真正转换成第二种序列的可能性,并确定在最大可能下的进化距离;接着将多个 OTU 所构成的所有可能树作为最佳树,对重建每个树的统计量进行似然估计;最后通过对树长度的优化,从而获得最佳树各参数的最大似然估计。

在上述方法中,Farris 和 Penny 认为距离法所得到的结果要比离散特征法的差^[5,6],Felsenstein 和 Nei 则认为 Farris 和 Penny 的论据是对距离法的错误理解^[7]。事实上,在有些情况下距离法能得到比离散特征法更正确的系统发生树。在距离法中,UPGMA 比较简单且实用,当使用的距离数据是来源于对含核苷酸数量较多的多个基因的分析结果时,利用 UPGMA 法能得到可靠的系统发生树。在离散特征法中,在不同世系间进化速率相差较大,且进化速率恒定而树的内支(interior branch)很短的情况下,MP法并不能对一个真正的系统发生树作出始终一致的判断^[8]。即使有时MP法能得到一个始终一致的判断,但它获得一个正确树的效率(efficiency)通常要比 NJ 法和 ML 法低。但在(1)序列趋异程度较小(d < 0.1);(2)核苷酸替换的速率或多或少的恒定;(3)没有很高的转换与颠换比及很强的 G + C 含量偏差;(4)所分析的核苷酸数量较多(大于几千)的情况下,MP法仍是一种较好的系统发生树重建法^[9]。另一方面,与距离法和 ML 法不同,MP法能利用序列中碱基的插入与缺失信息。

在实际使用 MP 和 ML 法重建系统发生树时,当给定的 OTU 数量 m 较少时(比如 m < 10),可通过计算机对所有可能的树作彻底搜索(exhaustive search),确定最理想的树(optimal tree)。这样做虽然非常耗时,但还是有可能的。当 m 大于 10 时,就不可能对所有的树进行比较。解决这个问题的办法有两种:

- (1) 分支和界限法(branch-and-bound method),它将忽略长度明显大于已比较树长度的树,通过分支和界限法,从一组具有潜在可能的树中确定最理想树。该法能保证获得最理想树,但当 *m* 大于或等于 20 时仍然很耗时:
- (2) 启发式搜索法(heuristic search method),该法在分析中只对少部分的可能树进行比较,故m 可取较大值,但此法不能保证发现最理想树。这两种方法具体的算法可参见 Swofford^[10]。

2.3 数据转换

对 DNA 标记技术(如 RFLP、RAPD 及微卫星 DNA 技术)及 DNA 序列测定技术所得到的离散特征数据,用来重建系统发生树时亦可基于一定的模型计算出遗传距离,然后利用距离法来重建系统发生树,同样可以得到较好结果。目前有关转换方法很多,这里主要介绍在 2 个 OTU 间将 DNA 序列、RFLP 数据及 RAPD 数据转换成距离时常用的方法。若考虑种群或群体间的遗传距离,需对

有关算式进行修正[11、12]。

2.3.1 DNA 序列数据

利用 DNA 序列数据计算遗传距离最简单的方法是计算 p 距离 (p-distance),计算式为 $: p = n_d / n$,其中 n 为所测定序列的核苷酸数, n_d 为核苷酸差异数。p 距离没有考虑同一个位点多个核苷酸间的替换状况,即将 2 个序列间核苷酸差异率作为彼此间的遗传距离。

若考虑核苷酸替换,必须利用核苷酸替换的数学模型对上述 p 距离进行校正,其中较简单的是 Jukes Cantor 模型 [11],它认为 4 种核苷酸 A,T,C和 G间的彼此替换速率相等。其遗传距离表达为:

$$d' = -(3/4) \ln(1 - 4p/3)$$
,

p 即为 2 个 OTU 序列间核苷酸的差异率。在实际应用中 "Jukes Cantor 模型并不理想 ,但当 d < = 0.05 时亦可对遗传距离作出很好的估计。

在 DNA 序列中,通常核苷酸转换的比率 (A \leftarrow G 和 T \leftarrow C) 要高于颠换的比率,特别是对动物 mtDNA 而言。在这种情况下, Kimura 的二参数法可以用来很好地估计遗传距离 $(d)^{[11]}$,

$$d' = -(1/2) \ln (1 - 2P - Q) - (1/4) \ln (1 - 2Q)$$

其中 P 和 Q 分别为序列中核苷酸转换和颠换的比率。用这种方法来估计遗传距离时,其假定前提为核苷酸序列中 A、T、C 和 G 的比例相等,各占 1/4。若比例不等,则需选择其它方法来估计遗传距离,其计算公式亦不同。因此,利用 DNA 序列信息计算遗传距离时需视实际情况选用一定的方法。

2.3.2 RFLP数据

将 RFL P 数据转换成遗传距离的方法较多 $^{[10]}$ 。常用的是先计算序列 i 和序列 j 限制性位点或片段的相似指数 ,然后再转换成遗传距离。对相似指数 (S_{ii}) ,有

$$S_{ii} = 2 m_{ii} / (m_i + m_i)$$
,

其中 m_i 和 m_j 分别为序列 i 和序列 j 总限制性位点或片段数, m_{ij} 为序列 i 和序列 j 间共有位点或片段数。若使用的限制性内切酶其识别序列的核苷酸数(r)相同,则 i 和 j 间的遗传距离(d_{ij})为:

$$d_{ij} = [-\ln S_{ij}]/r_o$$

若使用的内切酶其识别序列中核苷酸数不同,且根据其核苷酸数的多少可分为 k 组,则遗传距离可用下式估计:

$$d_{ij} = \overline{m_k} r_k \overline{d_{ij}}(k) / \overline{m_k} r_k$$

其中下标 k 为第 k 组内切酶,且 $\overline{m_k} = (m_{i(k)} + m_{i(k)})/2^{[12]}$ 。

2.3.3 RAPD 数据

在 RAPD 研究中,获得的是某一扩增带在 OTUs 中有(通常记录为"1")或无(通常记录为"0")的一组信息。在利用这些信息计算遗传距离时,通常也是先计算彼此间的相似性指数(s),然后进行转换。目前用来计算相似性指数的算法很多,RAPDistance 软件包中提供了 18 种算法(前 11 种与 NTS YS-pc 分析软件包所提供算法相同)^[13]。作者曾利用这些算法来计算太湖猪品系内及品系间个体的相似性指数,其中有 2 种算法需要考虑引物的长度,许多算法得到的相似性指数位于 0 和 1 之间,值亦较接近,而有一些算法得到的值却位于 - 1 和 1 之间。

将相似指数转换为距离(d)的方法较多,常用的有:(1) d=1 - s; (2) d=1/s - 1; (3) d=1 - 1, (3) -

相等,但随着2个OTU间的趋异程度增加,各种转换所得到的距离就有差异,所得到的系统发生树就有可能不同。因此,应根据适当的进化模型选择合适的转换方法。

3 系统发生树的可靠性

在系统发生推断中,统计分析的系统误差和随机误差均影响所建树的可靠性。对随机误差的影响,常采用一定的统计检验来分析获得的系统发生树的可靠性。一种是利用某一参量来对所获得树及其相近树进行结构差异检验。在 ML 法中常利用似然值,而在最小进化法中则利用所有支的总长度进行。这种方法是一种保守检验,而且检验的程序非常复杂,需要很大的计算机内存。另一种类型是分析每个内支可靠性,其中常用的方法有:

- (1) 标准误估计,即计算内支长度及其标准误,检验内支长度与 0 间的偏差,得到一个置信概率 (confidence probability,简称 CP),CP 值越高,支的长度也就越可靠。通常,当 CP 0. 95 或 0. 99 时,可认为该支的长度在统计上有效;
- (2) 自举检验(bootstrap test),这是一种重抽样技术,可用来估计在取样分布不知道或难以分析得到的情况下内支与统计有关的变异性。通过自举检验,可得到一个自举置信水平(bootstrap confidence level,简称 BCL)。计算机模拟已表明当 BCL > 0.9 时, CP 值与 BCL 值二者是非常相近的。与自举检验相近的另一种重抽样方法是弃半复制检验(jackknife replication test) [10]。有研究表明,在研究的核苷酸数量较少的情况下,即使 CP 或 BCL 值达到 95%,所获得的结果仍然不十分可信。因此,在研究中应从不同的基因中尽可能分析较多数量的核苷酸,特别在研究不同生物间进化关系时,因为不同基因遭受的进化压力不同。此外,衰退/支持指数(decay/support indices)和 T-PTP (topology-dependent permutation tail probability)检验等方法 [14] 亦可用来分析所得系统发生树的可靠性。

对系统误差,通常用来降低其对系统发生分析影响,增加所建树可靠性的方法是:(1)重新考虑分析时的假定,变换分析方法;(2)除去树中的长支,因一个树中若具有许多长支,将会使分析中的误差复杂化;(3)去除不可靠的数据;(4)对某些特征或某一特征状态进行加权等。由于在各种建树方法中引起系统误差的原因不一,限与篇幅,上述几种方法在此不再赘述,具体可参见 Swofford 等[14]。

4 分子进化研究中常用分析软件包

分子进化研究常用的一些统计分析方法,如系统发生树推断及可靠性检验等,目前已有相关的软件包可供使用,其中有些是免费的,研究者可从交互网络上方便地下载。

4.1 PHYL IP

PHYLIP(PHYLogeny Inference Package)是由 Felsenstein 所编写的系统发生推断软件包,它是免费提供的,也许是迄今在分子进化研究中用得最多的。在版本 3.5 中,共提供了 31 个独立的程序,包括了最大似然法、简约法、距离法及其它一些非常有用的程序^[15]。软件以源程序形式提供,在多数微机上都能使用。

4.2 PAUP

PAUP(Phylogenetic Analysis Using Parsimony)是由 Swofford 所编写的利用简约分析进行系统发生分析的软件包,目前亦有多个版本。该软件包中提供了简约分析用的多种模型,其中包括了Wagner、Fitch、Doll、Camin Sokal 等,对系统发生分析结果亦可进行一些统计分析及自举检验[16]。PAUP 具有 IBM-PC 和 Macintosh 两种文本供选择。

4.3 MEGA

MEGA (Molecular Evolutionary Genetics Analysis) 是由 Kumar 等所编写的进行分子进化遗传分析的软件包。在版本 1.02 中,它能对 DNA、mRNA、氨基酸序列及遗传距离进行系统发生分析[17]。在建树方法上,提供了目前最常用的 UPGMA、NJ 及 MP法,对所获得树亦可进行自举检验及标准误估计可靠性检验。

4.4 RAPDistance

RAPDistance 是由 Armstrong 等所编写的用来帮助记录和分析 RAPD 数据的软件包^[13]。该软件提供了 18 种算法用来计算 OTU 间的遗传距离,其距离可保存成多种数据格式,以供其它分析软件如 PAUP、NTSYS、WINAMOVA等使用。在系统发生树推断上,RAPDistance 提供了目前普遍反映较好的 NJ 法,对所产生的系统发生树可进行 PTP(Permutation Tail Probability)分析。最新版本 1.04 可分析 20 个引物,RAPD 片段最多可达 250 个。

4.5 AMOVA (WINAMOVA)

AMOVA (Analysis of Molecular Variance) 是由 Excoffier 博士于 1992 年编写用来进行分子遗传变异分析的统计软件包,可在 DOS 或 WINDOWS 环境下运行^[18]。该软件的最大优点是能利用一组数据分析不同等级水平如不同地区、同一地区的不同种群及同一种群内不同个体间的遗传变异情况。目前该软件可对 DNA 序列、RAPD、微卫星及等位酶等类型的数据进行分析。

除了以上几种软件包外,常用的还有 NTSYS (Numerical Taxonomy for SYStematists,可进行系统发生及多变量分析)、NJ TREE(用来重建系统树)、DIPLOMO(DIstance PLOt MOnitor,用来比较距离矩阵)、Hennig86(一种快速、有效的简约分析软件)等。以上软件中,有些在国内研究者中已经使用[19].对部分程序的应用问题亦曾作过有益的讨论[20]。

参 考 文 献

- 1 张亚平. 从 DNA 序列到物种树. 动物学研究,1996,17(3):247~252
- 2 张英培. 分子分类的若干问题. 动物学研究,1994,**15**(1):1~10
- 3 Felsenstein J. Phylogenies from molecular sequences: Inference and reliability. Annu. Rev. Genet, 1988, 22:521 ~ 565
- 4 Saitou N, Nei M. The neighbor-joining method: A new method for reconstruction phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.*, 1987, **4**:406 ~ 425
- 5 Farris J S. Distance data in phylogenetic analysis. In: Funk V A ,Brooks D R (eds.). A dvances in Cladistics, Proceedings of the First Meeting of the Willi Hennig Society, 1981, 3 ~ 23
- 6 Penny D. Towards a basis for classification: the incompleteness of distance measures, incompatibility analysis and phenetic classification. J. Theor. Biol., 1982, 96:129 ~ 142
- 7 Felsenstein J. Distance Methods: a reply to farris. Cladistics, 1986, 2:130 ~ 143
- 8 Felsenstein J. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading. Syst. Zool., 1987, $27:401 \sim 410$
- 9 Sourdis J , Krimbas C. Accuracy of phylogenetic trees estimated from DNA sequence data. *Mol. Biol. Evol.* ,1987 , 4:159 ~ 166
- Swofford D L ,Olsen GJ. Phylogeny reconstruction. In: Hillis D M , C Moritz (eds.) , Molecular Systematics, Sunderland: Sinauer Associates Inc. , 1990 , $411 \sim 501$
- 11 Nei M, Takezaki N. Estimation of genetic distances and phylogenetic trees from DNA analysis. *Proceedings of the* 5th World congress on Genetic Applied to Livestock Production, 1994, 21:405 ~ 412
- 12 Nei M, Miller J C. A simple method for estimating average number of nucleotide substitution within and between populations from restriction data. *Genetics*, 1990, 125:873 ~ 879
- 13 Armstrong J , Gibbs A , Peakall R et al. RAPD istance Programs; Version 1.04 for the analysis of patterns of RAPD fragments. Canerra: Australian National University. 1996
- Swofford D L ,Olsen GJ ,Waddell P J et al. Phylogeny inference. In: Hillis D M , C Moritz , B K Mabel (eds.). Molecular Systematics (Second edition). Sunderland: Sinauer Associates Inc. , 1996 , 407 ~ 510
- 15 Felsenstein J. Phylogeny Inference Package (PHYLIP), Version 3.5. University of Washington, Seattle. 1993

- 16 Swofford D L. Phylogenetic Analysis Using Parsimony (PAUP), Version 3.1.1. University of Illinois, Champaign. 1993
- 17 Kumar S, Tamura K, Nei M. MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis, Version 1.01. The Pennsylvania State University, University Park, PA 16802. 1993
- 18 Excoffier L. AMOVA: Analysis of Molecular Variance, Version 1.55. Genetics and Biometry Lab, University of Geneva. 1993
- 19 葛晓松,刘友僬.运用 PHYL IP 程序包研究中国蚊蛾的系统发育及地理分布. 系统进化动物学论文集,1991,1:
- 20 黄大卫. 关于推断系统发育的计算机程序的讨论. 系统进化动物学论文集,1991,1:235~239

欢迎订阅一九九八年《生物多样性》期刊

《生物多样性》期刊由中国科学院生物多样性委员会主办,中国科学院植物研究所、动物研究所和微生物研究所共同承办,是中国第一个全国性、学术性和专门性的生物多样性公开出版物。于 1993 年 10 月创办。国内外公开发行。

刊登主要内容分为三类:一类,开展生物多样性基础和应用研究的学术论文、简报、技术方法和综述;二类,国家和地方的重要或重大生态工程对生物多样性保护、可持续利用的理论分析及评估;三类,介绍中国在保护和持续利用生物多样性方面所制定、在地区或世界范围内有较大影响的政策、法规等。

本刊是从事生物多样性研究和教学的科技人员、大专院校师生和管理人员及科技情报信息中心和图书馆必备文献资料;关注生物多样性保护及持续利用的国家政府有关部门的决策者及实施者、经济界人士,阅读本刊也将受益匪浅。

《生物多样性》现为季刊,每季度中月下旬出版。16 开本、80 页,每期定价 9.50 元,全年 4 期共 38 元,加包寄费全年共 43.00 元。

编辑部备有少量精装合订本:1993(中、英文版本)与 1994年(中英文版本)合订为一册(Vol. $1 \sim 2$),每册 92.50元;1995年(中、英文版本)合订本(Vol. 3),每册 59.00元。需邮购者请加寄刊价 18%的包邮挂号费。汇款收到即寄刊物和报销凭证。

订阅者请直接与编辑部联系。地址:100093 北京香山南辛村 20 号中国科学院植物所院内《生物多样性》编辑部。

电话:010 - 62591431 - 6137。

银行汇款:100037 北京三里河路 36 号,中国工商银行北京分行西城区百万庄分理处;户头:《生物多样性》编辑部;帐号:014 - 144587 - 41

《生物多样性》编辑部