

文章编号: 1004-0374(2013)01-0100-06

渐渗杂交在两栖动物中的研究进展

叶书培, 陈雯, 闵金金, 郑荣泉*

(浙江师范大学生态研究所, 金华 321000)

摘要: 渐渗杂交在进化过程中拥有极其重要的地位。近些年, 两栖类的渐渗杂交例子不断被报道。文章归纳了国内外两栖动物渐渗杂交的研究进展和研究方法, 并且总结了过去几百年间人类活动对两栖动物渐渗杂交的影响, 最后提出了两栖类渐渗杂交的研究展望。

关键词: 两栖动物; 渐渗杂交; 人类活动

中图分类号: Q111; Q959.5 **文献标志码:** A

A review of introgressive hybridization in amphibians

YE Shu-Pei, CHEN Wen, MIN Jin-Jin, ZHENG Rong-Quan*

(Institute of Ecology, Zhejiang Normal University, Jinhua 321000, China)

Abstract: There is no doubt that introgressive hybridization plays a major role in evolution. In recent years, a large number of cases about introgressive hybridization in amphibians have been reported constantly. This article summarized the research status at home and abroad and the methods of introgressive hybridization in amphibians. We also discussed the various ways in which humans are affecting genetic exchange and the impacts on amphibians in the past hundreds of years. Finally, the research prospects of introgressive hybridization in amphibians are also proposed.

Key words: amphibian; introgressive hybridization; human activities

渐渗杂交 (introgressive hybridization) 是 Anderson 和 Hubricht 通过对植物的杂交研究提出来的, 指两物种的杂交后代与亲本之一或双亲反复回交, 把某一亲本性状带至另一亲本^[1]。之后的几十年渐渗杂交就一直为进化和保护生物学家们所关注, 随着人们对渐渗杂交研究的深入, 其概念、范围逐渐扩展为包括亚种、种、族、种群水平的个体杂交^[1-3]。植物 (尤其是有花植物) 的渐渗杂交现象已经被广泛报道, 并在育种保护等方面得到了应用^[4]; 动物渐渗杂交的报道较少。然而, 随着研究的不断深入, 在昆虫^[5-6]、鱼类^[7-9]、两栖类^[10-11]、爬行类^[12-13]、鸟类^[14-15]、兽类^[16-17]等主要动物类群中均发现渐渗杂交现象。自然界中约 10% 的动物存在杂交现象^[18]。

两栖类广泛分布于除南极洲外的各大洲, 由于其取样方便、迁移能力弱、体外受精 (无尾目) 等特点, 使其成为群体遗传学理想的研究材料^[19]。蛙类由于需要特定的繁殖场所 (沟渠、河流、池塘、湖泊等), 在共同的繁殖场所中也更容易产生杂交,

因此, Streit 等^[20]推断水生动物渐渗杂交的现象更为普遍。随着人类活动对自然界影响的加剧, 人类活动对两栖类的渐渗杂交的影响也变得更加突出, 这已成为诸多科学家所关注的问题。本文对两栖类渐渗杂交的研究进展以及人类活动对两栖类渐渗杂交产生的影响进行了综述。

1 两栖类渐渗杂交的研究现状

目前已知的两栖动物已超过 5 700 种^[19]。有关两栖类渐渗杂交的研究国外已经开展了许多工作, 其中研究最多的就是无尾目中的新蛙亚目。随着研究的深入, 无尾目中的始蛙亚目、中蛙亚目和有尾目中均有渐渗杂交的研究报道, 然而蚓螈目 (又称

收稿日期: 2012-06-11; 修回日期: 2012-10-08

基金项目: 国家自然科学基金项目(31172116); 浙江省重大科技专项(2010C12008); 浙江省公益计划项目(2011C22006); 丽水市科技局项目(20080419)

*通信作者: E-mail: zhengrq@zjnu.cn

无足目) 暂时无渐渗杂交现象(表1)。这可能是由于蚓螈目的生活方式是陆生体内受精, 也可能是由于蚓螈目本身物种较少, 系统发生的研究也较少等原因造成的。国内对两栖类渐渗杂交的研究开展的

相对较晚, 但近年来这一领域已经引起很多学者的关注。张雄飞^[21]基于线粒体标记发现黑斑蛙 *Pelodytes nigromaculatus* 和金线蛙 *P. plancyi* 的种间差异很小, 没达到种的水平, 并据此推测两种蛙之间

表1 两栖类渐渗杂交的主要研究工作

物种	标记选择	主要研究结果	参考文献
有尾目			
小鲵科 (Hynobiidae)	异型酶	日本学者Yoshikawa对本州岛上的日本抓鲵 <i>Onychodactylus japonicus</i> 进行同工酶分析时, 发现岛上存在四支日本抓鲵隐种, 且南部和西南两支的抓鲵在它们的同域分布区存在渐渗杂交。	[45]
蝾螈科 (Salamandridae)	RAPD、形态	Mikuliček等发现欧洲普螈 <i>Triturus vulgaris</i> 和喀尔巴阡欧螈 <i>T. montandoni</i> 存在渐渗杂交, 这种同域杂交与信息素的分泌有关。	[46]
	线粒体基因、核基因	Hauswaldt等发现四趾螈 <i>Salamandrina perspicillata</i> 和眼斑螈 <i>S. terdigitata</i> 存在杂交。	[47]
钝口螈科 (Ambystomatidae)	线粒体基因、核基因	Fitzpatrick等发现钝口螈属的虎皮蝾螈 <i>A. mavortium</i> 已经和加利福尼亚当地的物种网纹钝口螈 <i>A. californiense</i> 发生了渐渗杂交。而且杂交的后代更适合当地的环境, 这很可能导致外来入侵种取代当地种。	[35]
无肺螈科 (Plethodontidae)	线粒体基因	Weisrock发现分布在高海拔地区的谢尔无肺螈 <i>P. shermani</i> 与生活在共同山脉的低海拔分布的红颊无肺螈 <i>P. teyahalee</i> 存在着渐渗杂交。	[29]
无尾目			
盘舌蟾科 (Discoglossidae)	异型酶、核基因、线粒体基因	Yanchukov等发现红腹铃蟾 <i>Bombina bombina</i> 和多彩铃蟾 <i>B. variegata</i> 在它们分布的杂交带存在渐渗杂交, 而且这种基因的渐渗是从多彩铃蟾向红腹铃蟾单向的。	[48]
角蟾科 (Megophryidae)	线粒体基因、核基因	Chen等在西部高原上也发现西藏齿突蟾 <i>S. boulengeri</i> 、胸腺齿突蟾 <i>S. glandulatus</i> 、棘胸齿突蟾 <i>S. mammatus</i> 和圆疣齿突蟾 <i>S. tuberculatus</i> 四个物种之间相互存在着渐渗杂交。	[25]
锄足蟾科 (Pelobatidae)	蛋白标记	Sattler发现在野外采集到的 <i>Scaphiopus bombifrons</i> 和 <i>S. multiplicatus</i> 有3.5%存在渐渗杂交。	[49]
负子蟾科 (Pipidae)	鸣叫、血清蛋白电泳	Fischer等在南美洲发现非洲爪蟾 <i>Xenopus laevis</i> 和马勒爪蟾 <i>X. muelleri</i> 在自然界中存在渐渗杂交。	[50]
蟾蜍科 (Bufonidae)	线粒体基因、核基因	Sequeira等发现甘蔗蟾蜍 <i>Rhinella marina</i> 和洛可可蟾蜍 <i>R. schneideri</i> 发生了线粒体基因的渐渗杂交。	[11]
细趾蟾科 (Leptodactylidae)	形态、染色体组	Pereyra等发现在阿根廷的中部 <i>Odontophrynus cordobae</i> 和 <i>O. occidentalis</i> 存在渐渗杂交。	[51]
	线粒体基因、RAPD	Yamazaki等发现日本蟾蜍瑰丽亚种 <i>Bufo japonicus formosus</i> 和湍蟾蜍 <i>B. torrenticola</i> 在同域分区存在渐渗杂交, 并且杂交后代只和湍蟾蜍回交。	[52]
从蛙科 (Dendrobatidae)	线粒体基因、核基因	Vences等发现马达加斯加岛的金色曼蛙 <i>Mantella aurantiaca</i> 和蒙面彩蛙 <i>M. crocea</i> 具有共享单倍型, 可能存在渐渗杂交。	[53]
	线粒体基因	Simões等发现在巴西亚马逊西南部的两种箭毒蛙 <i>Allobates hodli</i> 和 <i>A. femoralis</i> 存在渐渗杂交。	[54]
雨蛙科 (Hylidae)	鸣叫、形态、行为	Mecham发现在亚利桑那州的池塘中的灰绿雨蛙 <i>H. cinerea</i> 和咆雨蛙 <i>H. gratiosa</i> 存在着渐渗杂交。	[26]
曼蛙科 (mantellidae)	线粒体基因	Crottini等对马达加斯加岛上蛙进行系统发生调查时, 发现贝奇曼蛙 <i>Mantella betsileo</i> 和蓝腿曼蛙 <i>M. expectata</i> 可能存在渐渗杂交。	[55]
龟蟾科 (Myobatrachidae)	异型酶、形态	Driscoll和Roberts发现红地索蟾 <i>Geocrinia rosea</i> 南部种群和北部种群间存在杂交带。	[56]
蛙科 (Ranidae)	线粒体基因、核基因	Holsbeek等发现西欧池塘里的 <i>P. ridibundus</i> 与 <i>P. bedriagae</i> 发生了广泛的渐渗杂交。	[38]
	微卫星	Austin等发现佛罗里达的两种蛙 <i>Lithobates okaloosae</i> 和 <i>L. clamitans</i> 存在杂交。	[57]

存在渐渗杂交。Zhang 等^[22]在对中国的黑斑蛙 *P. nigromaculatus* 进行系统发生分析时发现,中国的黑斑蛙可以分为东部和西南两大支。随着种群的扩张,两大支的黑斑蛙在东北地区发生二次接触,并产生相互的基因渐渗。Liu 等^[23]对黑斑蛙 *P. nigromaculatus* 和金线蛙 *P. plancyi* 进行了大范围采样,并用线粒体基因和核基因标记进行系统发生的研究,发现这两种蛙在历史上曾经在中国东部地区发生过渐渗杂交,并且这种基因的渐渗只发生在线粒体基因上。Du 等^[24]利用微卫星对辽宁的黑斑蛙 *P. nigromaculatus* 和金线蛙 *P. plancyi* 进行分析时,发现两个物种间也存在渐渗杂交。从而证明了这两个物种在线粒体基因和核基因上都存在渐渗杂交现象。Chen 等^[25]在西部高原上发现西藏齿突蟾 *Scutiger boulengeri*、胸腺齿突蟾 *S. glandulatus*、棘胸齿突蟾 *S. mammatus* 和圆疣齿突蟾 *S. tuberculatus* 四个物种之间相互存在着渐渗杂交。更有意思的是,这四个物种的杂交现象从 100 万年前一直持续到现在并未中断,且这四个物种杂交相互平行,并不存在哪个物种更具有遗传优势。

2 两栖类渐渗杂交研究的主要方法

早期由于技术限制,对两栖类渐渗杂交的报道多集中在形态、行为等方面的描述。Mecham^[26]发现在亚利桑那州的池塘中的灰绿雨蛙 *Hyla cinerea* 和咆雨蛙 *H. gratiosa* 存在渐渗杂交,该研究仅限于对形态等方面的描述。但这种描述却缺乏充分的证据,原因是中间型形态的出现是由渐渗杂交产生的,还是环境近因性导致的存在争议^[27]。随着研究方法的发展,包括细胞学、生物化学在内许多方法都被应用于两栖类的渐渗杂交研究。Sattler 用蛋白标记发现在野外采集到的锄足蟾 *Scaphiopus bombifrons* 和 *S. multiplicatus* 有 3.5% 存在渐渗杂交。相对于传统的方法,蛋白标记更加省事准确,但分辨率低。随着 PCR 技术的发展,分子生物学技术在渐渗杂交上的应用,甚至能确定形态上无区别的基因渗透。各种分子标记已经广泛地应用于渐渗杂交的研究,但不同的标记却各有优缺点。

线粒体基因因其是共价闭合的环状分子,母系遗传、易检测、受进化的影响相对较小、多拷贝易扩增、结构简单等特性,使得其作为一种分子标记被广泛的应用于推测种群及物种的进化历程^[28]。Weisrock 等^[29]利用线粒体基因分析美国同域分布两种无肺螈的系统发生,发现谢尔无肺螈 *Plethodon*

shermani 与红颊无肺螈 *P. teyahalee* 存在着渐渗杂交。线粒体基因分子标记,尽管方便经济,但是线粒体基因可能受到核基因中存在类似线粒体基因的假基因干扰,有效种群只是核基因的 1/4,因此研究种群进化历程时容易产生偏差^[30]。核基因内含子两端保守,易于设计引物,多态性高,信息量丰富,也常被用于渐渗杂交研究。但核基因具有杂合性,PCR 扩增及测序困难,且核基因相对于线粒体基因不易于发生渗入。微卫星序列多态性高,遵从孟德尔遗传规律,也是近年较多用于渐渗杂交的分子标记。但微卫星序列等位基因间进化关系复杂,种间突变率差异大。由于对发生渐渗杂交的类群进行系统发育关系重建时往往会出现线粒体基因树和核基因树不一致^[28],因此目前越来越多的学者采用多分子标记(包括线粒体基因和核基因)相结合的方法进行渐渗杂交的研究。Chen 等^[25]对西藏的四种齿突蟾进行系统关系重建时,就出现了由于渐渗杂交产生核基因树和线粒体基因树不一致的情况。

3 渐渗杂交对两栖动物的影响

两栖动物是从水生过渡到陆生的脊椎动物,具有水生脊椎动物与陆生脊椎动物的双重特性,因此在进化中具有重要的地位。两栖类的渐渗杂交往往导致物种形成、适应性进化、自然群体的濒危和灭绝。

渐渗杂交在动物的进化过程中导致新种产生的例子较少。动物很难像植物那样通过杂交产生多倍体,从而形成新物种,但两栖类和鱼类仍然存在杂交产生多倍体的现象。一个著名的例子就是三倍体的欧洲食用蛙 *Rana esculenta* 是由采桑池蛙 *R. lessonae* 和湖蛙 *R. ridibunda* 杂交而来。但由于食用蛙不能产生可育后代,因此不能将其定义为新种^[31]。

随着外界环境的改变,生物体需要改变自身的特性或生活方式来适应环境。动物基因可以通过渐渗杂交从一个群体融入到另外一个群体里面。假如该基因是有利于环境选择的,那么将在种群中保留并且扩散,产生适应性进化^[1]。例如,非洲爪蟾的杂交后代结合了双亲抗寄生虫的性状,对病原微生物的抵抗能力强于双亲,因此能分布于原来双亲不存在的环境^[32]。

目前普遍认为当一个地区的生态系统稳定后,外来的入侵种会破坏当地的物种多样性^[33]。外来物种入侵引起的当地种与外来种的杂交已经得到了广泛的研究^[34]。外来近缘种的入侵一方面增加了遗传

物质的转移, 另一方面也可能使得一些物种对环境的适应性增强, 造成物种大量繁殖然后排挤掉当地原有物种。在美国的加利福尼亚, 由于人类的活动引入的虎皮蝾螈 *Ambystoma mavortium* 已经和当地的物种网纹钝口螈 *A. californiense* 发生了杂交。而且已有的现象表明, 杂交的后代更适合当地的环境, 这很可能导致外来入侵种取代当地种^[35]。

4 人类活动对两栖动物渐渗杂交的影响

由于人类活动的作用, 自然界的物种多样性正在急剧减少^[36]。人类活动也影响动物基因流和基因渐渗。人类可以通过两种方式改变动物在自然界中的基因交换方式。首先, 自然界中动物的基因交换只能发生在同域分布的物种间。然而人类的活动却可以改变动物原来的分布区域, 改变动物的同域分布的面积, 从而影响个体和种群间的基因交流。其次, 基因的交换需要动物杂交后产生可育的后代。而人类能通过改变物种间的生殖隔离程度和后代成活率, 从而影响基因流和渐渗杂交^[37]。

4.1 两栖动物分布区的改变

4.1.1 商业活动对两栖动物杂交的影响

全球范围的商业交易已经使得原来在地理上完全隔离的物种轻松跨越了地理阻隔。外来物种与当地原有物种发生杂交可能产生新的基因型, 从而产生新的种群。新产生的种群若更适应当地的环境, 则可能导致长期的渐渗杂交, 最终导致当地原有物种灭绝; 若杂交后的第一代是适应环境的, 但因生殖隔离不能产生可育后代, 则杂交不会对当地物种产生威胁。在西欧, 人们在改进其池塘环境的过程中会从其他地方购买引进蛙类。Holsbeek 等^[38]对西欧侧褶蛙属 (*Pelophylax*) 蛙类进行调查时发现, 超过一半的池塘侧褶蛙非当地原有种, 并发现调查池塘里的 *P. ridibundus* 与 *P. bedriagae* 发生了广泛的渐渗杂交。他们推测这种大规模的渐渗杂交将威胁中欧和西欧当地包括 *P. ridibundus* 在内的其他侧褶蛙属动物。

4.1.2 栖息地的改变对两栖动物渐渗杂交的影响

人类对栖息地样貌的改变也会影响动物间的基因流^[39]。人类将森林改造为农田的同时, 在农田和森林的边缘就可能产生农田和森林动物种群的杂交带。处在生态系统和地理位置边缘的种群发生渐渗杂交的可能性更大, 这可能是由于处在边缘地带的种群可供选择的繁殖个体较少有关^[40]。Gollmann 等^[41]发现红腹铃蟾 *Bombina bombina* 和多彩铃蟾 *B.*

variegata 存在杂交, 而栖息地的破碎化是两个物种产生杂交的重要原因。我国学者在研究云南双团棘胸蛙 (*Nanorana yunnanensis*) 时发现, 古水道改变使原来生活在不同区域的双团棘胸蛙种群间发生了杂交^[42]。

4.1.3 气候变化间接影响着两栖动物的渐渗杂交

人类还通过改变气候间接影响物种分布, 这可能使原来异域分布的物种得到接触的机会, 为物种间渐渗杂交提供了可能性^[43]。全球范围内的气候变暖使得许多物种不得不迁徙转移到其他的领地。例如由于气候的变化, 生活在低海拔地区的红颊无肺螈 *P. teyhalee* 由于最近几十年的气候变暖不断地向高海拔地区迁徙, 并与生活在高海拔地区的谢尔无肺螈 *P. shermani* 发生渐渗杂交^[29]。由迁徙导致近缘种之间杂交的现象还不能确定是否有利于生物多样性, 但毋庸置疑的是人类的活动导致气候发生急剧的变化, 这将对物种的渐渗杂交产生重大的影响^[37]。

4.2 生殖隔离的打破

同域分布的动物之间之所以保持着其生物多样性, 是因为它们之间存在着不同程度的生殖隔离。然而人类却可以通过改变动物发送、接收繁殖信号的环境以及生殖环境来改变物种间的生殖隔离程度。两栖类很多物种靠听觉为繁殖信号, 例如雄蛙依靠鸣叫来吸引雌蛙, 但是由于人类活动产生的噪音, 它们在繁殖季节会受到噪音污染的干扰, 从而增加了与同域分布其他蛙错配的概率。两栖动物也有可能通过改变繁殖信号 (例如改变鸣声频率) 从而降低环境的干扰, 但这也可能产生其他更多物种的杂交, 又或者在干扰中进化出新的繁殖信号从而与原来的物种产生生殖隔离而进化出新种或隐种^[44]。

5 展望

尽管近几十年对两栖类渐渗杂交已经展开了较为充分的研究, 但是一些问题也还有待于进一步的探讨。例如, 相对于其他动物, 为什么两栖类发生渐渗杂交现象较多; 两栖类中分布极广的姬蛙科鲜有渐渗杂交现象报道, 它的原因是什么; 人类活动导致的渐渗杂交的双亲种群和杂合体种群的环境适合度如何; 气候变化引起的两栖动物的迁徙并产生渐渗杂交, 其主导因素是温度、湿度、氧气浓度或是光照等其他环境因素, 也仍未确定。我国地形独特、两栖动物资源丰富, 对处在不同海拔和纬度的两栖动物开展系统地理和渐渗杂交的研究将有助于解决上述问题。

[参 考 文 献]

- [1] Anderson E. Introgressive hybridization. *Biol Rev*, 1953, 28 (3): 280-307
- [2] Arnold ML. Natural hybridization as an evolutionary process. *Annu Rev Ecol Syst*, 1992, 23: 237-61
- [3] Rieseberg LH, Carney SE. Plant hybridization. *New Phytol*, 1998, 140 (4): 599-624
- [4] Zlatska A. Grain protein content in wheat: Genetics of the character and some predictions for its improvement in common wheat. *Russ J Genet*, 2005, 41 (8): 823-34
- [5] Cianchi R, Ungaro A, Marini M, et al. Differential patterns of hybridization and introgression between the swallowtails *Papilio machaon* and *P. hospiton* from Sardinia and Corsica islands (Lepidoptera, Papilionidae). *Mol Ecol*, 2003, 12 (6): 1461-71
- [6] Marshall DC, Hill KBR, Cooley JR, et al. Hybridization, mitochondrial DNA phylogeography, and prediction of the early stages of reproductive isolation: lessons from new zealand cicadas (Genus *Kikihia*). *Syst Biol*, 2011, 60 (4): 482-502
- [7] Mank JE, Carlson JE, Brittingham MC. A century of hybridization: decreasing genetic distance between American black ducks and mallards. *Conserv Genet*, 2004, 5 (3): 395-403
- [8] Rubidge EM, Taylor EB. Hybrid zone structure and the potential role of selection in hybridizing populations of native westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) and introduced rainbow trout (*O. mykiss*). *Mol Ecol*, 2004, 13 (12): 3735-49
- [9] Vonlanthen P, Bittner D, Hudson A, et al. Eutrophication causes speciation reversal in whitefish adaptive radiations. *Nature*, 2012, 482 (7385): 357-62
- [10] Babik W, Branicki W, Crnobrnja-Isailovic J, et al. Phylogeography of two European newt species—discordance between mtDNA and morphology. *Mol Ecol*, 2005, 14 (8): 2475-91
- [11] Sequeira F, Sodr  D, Ferrand N, et al. Hybridization and massive mtDNA unidirectional introgression between the closely related Neotropical toads *Rhinella marina* and *R. schneideri* inferred from mtDNA and nuclear markers. *BMC Evol Biol*, 2011, 11: 264
- [12] Avise JC, Helfman GS, Saunders NC, et al. Mitochondrial DNA differentiation in North Atlantic eels: population genetic consequences of an unusual life history pattern. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986, 83 (12): 4350-4
- [13] Mebert K. Good species despite massive hybridization: genetic research on the contact zone between the watersnakes *Nerodia sipedon* and *N. fasciata* in the Carolinas, USA. *Mol Ecol*, 2008, 17 (8): 1918-29
- [14] Barrowclough G, Groth J, Mertz L, et al. Genetic structure, introgression, and a narrow hybrid zone between northern and California spotted owls (*Strix occidentalis*). *Mol Ecol*, 2005, 14 (4): 1109-20
- [15] Vallender R, Robertson R, Friesen V, et al. Complex hybridization dynamics between golden-winged and blue-winged warblers (*Vermivora chrysoptera* and *Vermivora pinus*) revealed by AFLP, microsatellite, intron and mtDNA markers. *Mol Ecol*, 2007, 16 (10): 2017-29
- [16] Good JM, Demboski JR, Nagorsen DW, et al. Phylogeography and introgressive hybridization: chipmunks (genus *Tamias*) in the northern Rocky Mountains. *Evolution*, 2003, 57 (8): 1900-16
- [17] Trigo T, Freitas T, Kunzler G, et al. Inter-species hybridization among Neotropical cats of the genus *Leopardus*, and evidence for an introgressive hybrid zone between *L. geoffroyi* and *L. tigrinus* in southern Brazil. *Mol Ecol*, 2008, 17 (19): 4317-33
- [18] Mallet J. Hybridization as an invasion of the genome. *Trends Ecol Evol*, 2005, 20 (5): 229-37
- [19] Beebee TJC. Ecology and conservation of amphibians[M]. Chapman & Hall, 1996: 1-10
- [20] Streit B, Stadler T, Schwenk K, et al. Natural hybridization in freshwater animals ecological implications and molecular approaches. *Naturwissenschaften*, 1994, 81 (2): 65-73
- [21] 张雄飞. 中国大陆黑斑侧褶蛙种群遗传结构及与金线侧褶蛙的种间遗传变异 [D]. 南京师范大学, 2004: 36-45
- [22] Zhang H, Yan J, Zhang G, et al. Phylogeography and demographic history of Chinese black-spotted frog populations (*Pelophylax nigromaculata*): evidence for independent refugia expansion and secondary contact. *BMC Evol Biol*, 2008, 8 (1): 21
- [23] Liu K, Wang F, Chen W, et al. Rampant historical mitochondrial genome introgression between two species of green pond frogs, *Pelophylax nigromaculatus* and *P. plancyi*. *BMC Evol Biol*, 2010, 10 (1): 201
- [24] Du J, Yan J, Zhou K. Isolation of microsatellite markers for *Pelophylax nigromaculata* and a tentative application in detecting interspecific introgression. *Gene*, 2012, 508 (1): 130-4
- [25] Chen W, Bi K, Fu J. Frequent mitochondrial gene introgression among high elevation Tibetan megophryid frogs revealed by conflicting gene genealogies. *Mol Ecol*, 2009, 18 (13): 2856-76
- [26] Mecham JS. Introgressive hybridization between two southeastern treefrogs. *Evolution*, 1960, 14 (4): 445-57
- [27] Rieseberg L, Ellstrand N, Arnold DM. What can molecular and morphological markers tell us about plant hybridization? *Crit Rev Plant Sci*, 1993, 12 (3): 213-41
- [28] Funk DJ, Omland KE. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Syst*, 2003, 34: 397
- [29] Weisrock DW, Kozak KH, Larson A. Phylogeographic analysis of mitochondrial gene flow and introgression in the salamander, *Plethodon shermani*. *Mol Ecol*, 2005, 14 (5): 1457-72
- [30] 毛秀光. 皮氏菊头蝠与云南菊头蝠系统地理学研究[D]. 华东师范大学, 2010: 13-5
- [31] Tunner HG, Nopp H. Heterosis in the common European water frog. *Naturwissenschaften*, 1979, 66 (5): 268-9
- [32] Jackson J, Tinsley R. Parasite infectivity to hybridising host species: a link between hybrid resistance and allopolyploid speciation? *Int J Parasitol*, 2003, 33 (2): 137-44

- [33] Mayr E. Animal species and evolution. Animal species and their evolution[M]. Boston: Harvard University Press, 1963: 1-10
- [34] Rhymer JM, Simberloff D. Extinction by hybridization and introgression. *Annu Rev Ecol Syst*, 1996, 27: 83-109
- [35] Fitzpatrick BM, Shaffer HB. Hybrid vigor between native and introduced salamanders raises new challenges for conservation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104 (40): 15793-8
- [36] Thomas CD, Cameron A, Green RE, et al. Extinction risk from climate change. *Nature*, 2004, 427 (6970): 145-8
- [37] Crispo E, Moore JS, Lee-Yaw JA, et al. Broken barriers: Human-induced changes to gene flow and introgression in animals. *Bioessays*, 2011, 33(10): 508-18
- [38] Holsbeek G, Mergeay J, Hotz H, et al. A cryptic invasion within an invasion and widespread introgression in the European water frog complex: consequences of uncontrolled commercial trade and weak international legislation. *Mol Ecol*, 2008, 17 (23): 5023-35
- [39] Wright S. Isolation by distance. *Genetics*, 1943, 28 (2): 114-38
- [40] Rieseberg LH. Hybrid origins of plant species. *Annu Rev Ecol Syst*, 1997, 28: 359-89
- [41] Gollmann G, Roth P, Hödl W. Hybridization between the fire-bellied toads *Bombina bombina* and *Bombina variegata* in the karst regions of Slovakia and Hungary: morphological and allozyme evidence. *J Evolution Biol* 2002, 1 (1): 3-14
- [42] Zhang DRU, Chen MY, Murphy RW, et al. Genealogy and palaeodrainage basins in Yunnan Province: phylogeography of the Yunnan spiny frog, *Nanorana yunnanensis* (Dicroglossidae). *Mol Ecol*, 2010, 19 (16): 3406-20
- [43] Ricciardi A, Simberloff D. Assisted colonization is not a viable conservation strategy. *Trends Ecol Evol*, 2009, 24 (5): 248-53
- [44] Feng AS, Narins PM, Xu CH, et al. Ultrasonic communication in frogs. *Nature*, 2006, 440 (7082): 333-6
- [45] Yoshikawa N, Matsui M, Nishikawa K. Genetic structure and cryptic diversity of *Onychodactylus japonicus* (Amphibia, Caudata, *Hynobiidae*) in Northeastern Honshu, Japan, as revealed by allozymic analysis. *Zool Sci*, 2012, 29 (4): 229-37
- [46] Mikulíček P, Zavadil V. Molecular and morphological evidence of hybridization between newts *Triturus vulgaris* and *T. montandoni* (Caudata: Salamandridae) in Slovakia. *Biologia*, 2008, 63 (1): 127-31
- [47] Hauswaldt J, Angelini C, Pollok A, et al. Hybridization of two ancient salamander lineages: molecular evidence for endemic spectacled salamanders on the Apennine peninsula. *J Zool*, 2011, 284 (4): 248-56
- [48] Yanchukov A, Hofman S, Szymura JM, et al. Hybridization of *Bombina bombina* and *B. variegata* (Anura, Discoglossidae) at a sharp ecotone in western Ukraine: comparisons across transects and over time. *Evolution*, 2006, 60 (3): 583-600
- [49] Sattler PW. Introgressive hybridization between the spadefoot toads *Scaphiopus bombifrons* and *S. multiplicatus* (Salientia: Pelobatidae). *Copeia*, 1985: 324-32
- [50] Fischer W, Koch W, Elepfandt A. Sympatry and hybridization between the clawed frogs *Xenopus laevis* and *X. muelleri* (Pipidae). *J Zool*, 2000, 252 (1): 99-107
- [51] Pereyra MO, Marti DA, Lescano JN, et al. Natural interspecific hybridization in *Odontophrynus* (Anura: Cycloramphidae). *Amphibia-Reptilia*, 2009, 30 (4): 571-5
- [52] Yamazaki Y, Kouketsu S, Fukuda T, et al. Natural hybridization and directional introgression of two species of Japanese toads *Bufo japonicus formosus* and *Bufo torrenticola* (Anura: Bufonidae) resulting from changes in their spawning habitat. *J Herpetol*, 2008, 42 (3): 427-36
- [53] Vences M, Chiari Y, Raharivololoniaina L, et al. High mitochondrial diversity within and among populations of Malagasy poison frogs. *Mol Phylogenet Evol*, 2004, 30 (2): 295-307
- [54] Simões PI, Lima AP, Farias IP. Restricted natural hybridization between two species of litter frogs on a threatened landscape in southwestern Brazilian Amazonia. *Conserv Genet*, 2012, 13 (4): 1-15
- [55] Crottini A, Chiari Y, Mercurio V, et al. Into the canyons: the phylogeography of the Malagasy frogs *Mantella expectata* and *Scaphiophryne gottlebei* in the arid Isalo Massif, and its significance for conservation (Amphibia: Mantellidae and Microhylidae). *Org Divers Evol*, 2008, 8 (5): 368-77
- [56] Driscoll DA, Roberts JD. A hybrid zone defined by allozymes and ventral colour in *Geocrinia rosea* (Anura: Myobatrachidae). *Aust J Zool*, 2008, 55 (6): 371-6
- [57] Austin J, Gorman T, Bishop D, et al. Genetic evidence of contemporary hybridization in one of North America's rarest anurans, the Florida bog frog. *Anim Conserv*, 2011, 14 (5): 553-61