

综述

种的概念及种的界定与鉴定*

李琪¹, 刘君^{1,2}, 孔令锋¹

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003; 2. 中国科学院动物研究所, 北京 100101)

摘要: 种是生物学研究中的基本单位,但是种的概念和种的界定却一直是个难题。有关种的探讨延续了几个世纪,种概念的争论也持续了半个多世纪,但是至今仍无定论。种的界定近年来已成为种问题研究的焦点。尽管已提出了多种方法,但由于没有统一的种的概念,种的界定也一直没有标准的原则和统一的方法。种的鉴定随着 DNA 分类和 DNA 条形码的提出受到了越来越多的关注。快速准确的种鉴定/界定可以为分类、物种多样性以及遗传演化等研究提供有力的支持。本文综述了种的概念、种的界定和种的鉴定,主要评价了 DNA 条形码及整合分类法在种鉴定/界定中的应用。

关键词: 种概念; 种界定; DNA 条形码; 整合分类; 生物多样性

中图法分类号: Q19

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2014)10-057-08

种作为生物学研究的基本单元之一,与基因、细胞、生物个体等低阶组织的基本单元具有同等的重要性^[1],是分类学、生态学、演化生物学、生物多样性、生物保护及环境政策制定等多个学科研究的基础^[2]。虽然两千多年前亚里士多德已经开始了种的研究^[3],但是,种的问题(什么是种和如何界定种)仍然困扰着现代生物学家。随着全球环境问题的日益加剧,生物多样性遭受到前所未有的挑战。与此同时,系统演化和生态学等领域研究对象数量的扩增和种类的扩展,都使得快速、准确的鉴定种和界定种成为一种迫切需求。本文对主要的种的概念及种界定的相关方法进行了综述,同时对 DNA 条形码和整合分类进行了综合评价,最后对种界定和种鉴定的应用前景进行了展望。

1 种的概念

种的界定和鉴定建立在种的定义,即种概念(Species concept)的基础上。“什么是种”这个问题已经延续了几个世纪,而种概念的争论也持续了半个多世纪^[3]。种概念问题起源自分类学^[2],但又不仅限于分类学。由于观察角度和侧重点不同,生物学不同领域的研究者提出了许多不同的种概念^[3-5],这些概念之间有相互重叠的地方也有相互排斥的部分。1997年 Mayden^[4]总结出 22 种不同的种概念,其后又有新的种概念提出^[6-7]。最近一项研究表明种概念现已近 30 种^[8]。下面仅对其中几个主要的种概念及其应用作一简单评述。

形态种概念(Morphological species concept, MSC)是最古老的种概念,利用形态特征对生物个体分类,认为种是由具有相似形态的个体组成的集合,与其他集合的个体形态不同。对大多数可见生物而言,依据形态特征进行分类和鉴定最直观、实用,因此成为分类学家和普通生物学家最常用的一种方法^[4]。这种基于形态特征、以经验加以描述的鉴定方法在林奈时代大盛其行,并一直延续到达尔文时代,迄今仍然沿用。虽然实用性很强,但是依据形态进行种界定存在着很大问题:(1)缺乏评判种之间形态特征差异程度的客观标准;(2)容易受到形态可塑性(Morphological plasticity)或形态演化停滞现象(Morphological stasis)的影响;(3)不能说明物种之间的演化关系。

生物种概念(Biological species concept, BSC)由 Mayr 在 1942 年提出^[9],认为种是能实际或潜在相互交配繁殖的种群集合,与其他这样的集合在生殖上是隔离的^①。之后 Mayr 对其进行过一些小的修正^[3]。BSC 自提出至 1980 年代成为主流的一个种概念。BSC 将种的分类建立在种群遗传学概念框架内,主要关注的焦点是生殖隔离和由此产生的种之间的基因流限制。利用生殖行为及其结果对生物个体进行分类并不是 Mayr 的首创,这种观念早在约翰·雷(John Ray)和布丰(Buffon)时代就已被提及^[3]。虽然 BSC 被很多学者接受,但是也受到了一些质疑^[4,10],例如,该种概念(1)不能应用到无性繁殖的生物类群;(2)很难应用到化石种类;(3)实际操作性差。很多物种在地理分布上

* 基金项目:国家自然科学基金项目(41276138;31372524)资助

收稿日期:2014-06-30; 修订日期:2014-09-04

作者简介:李琪(1966-),男,教授,博导。E-mail: qili66@ouc.edu.cn

① ‘Species are groups of actually or potentially interbreeding natural populations, which are reproductively isolated from other such groups.’ (Mayr 1942).

是隔离的,即使把这样的类群放到一起,也很难判断它们相互之间是否能够交配繁殖。尽管如此,BSC 仍然是至今应用较广泛的种概念之一。

进化种概念(Evolutionary species concept,ESC)最先由 Simpson 提出,后经 Wiley 等人进一步完善^[4]。Wiley^[11]将其定义为:由祖先-后代群体组成的一个单独的世系,这个世系与其他世系截然不同,并具有自己独立的演化趋势和历史命运^①。ESC 是针对 BSC 不能应用于非有性繁殖的生物或已灭绝的种类而提出的,可适用于单性繁殖种类、杂交形成的种以及祖先种。ESC 首次尝试将历史观念引入种的定义中^[5]。该概念由于其历史维度而吸引了系统发生和系统分类学家及古生物学家;因为承认是生物学机制使得种是真实存在的而受到了近代生物学家的关注^[2]。ESC 是种概念中理论上最重要的一种概念,包容迄今所知的所有种的类型,具有巨大的应用前景^[4]。其缺点是实际应用很困难,尤其是在化石记录较匮乏的情况下。

系统发生种概念(Phylogenetic species concept, PSC)将 Hennig 系统发生的思想融入种水平上的分类体系中^[5],即将种概念建立在生物个体集群的系统发生关系之上。目前 PSC 有几个不同版本。一种是判定性种概念(Diagnostic species concept)。Cracraft^[12]将其定义为:由生物个体组成的不可分割的集合体,在判定上区别于其他这样的集合体,其本身存在着祖先-后代的亲缘关系^②。该概念强调的重点是种的预先判定性的特征(*A priori* diagnosability of species),而不考虑单系原则^[4]。这个概念试图摆脱交配繁殖的限制,因此可以解决应用 BSC 时出现的问题;但是容易造成分类膨胀(Species inflation),因为该概念会将很多亚种(Subspecies)提升到种的地位。单系发生种概念(Monophyletic species concept)是另一种系统发生种概念。Rosen^[13]的定义是:具有地域限制的生物个体集合,且具备某个独特的获得性特征,是具有演化重要意义的单元^③。支持者认为如果单系发生且具有独特的获得性特征,那么种就是真实存在的^[4]。该概念的关键在于单系发生(Monophyly),故需要系统演化分析。其最大的缺陷是可能会造成分类系统命名的极大不稳定^[2],因为有性繁殖的类群往往呈现网状演化关系

(Reticulating relationships),因此在系统演化分析中不能形成单系群^[14-15]。

普遍支系种概念(General lineage species concept)是一个较新的种概念^[6],认为种是由独立演化的联合群体组成的支系^④,并认为这是种的唯一必需特性,是种的首要的定义特性(Primary defining property of species category),其他次要种标准(Secondary species criteria)则作为评判支系分化相关的不同证据,即可操作性标准^[1]。该概念试图将其他所有种概念归于这个统一概念下(Unified concept of species),将其他的次要标准作为确定种的证据,从而将种概念与种的界定清楚地分离开^[1]。但是,该概念在应用中存在一个问题,每个种是一个演化支系,但是每个支系并不一定形成一个种,所以何种水平上的支系可以认为是一个种存在一定疑义^[3]。

虽然种概念的争论已经持续了半个多世纪,而且出现了数十个种概念,但是至今没有一个概念可以满足所有研究者的要求。达尔文^[16]曾经说过“没有一种定义可以满足所有博物学者;但当说到一个种的时候,每一个博物学者却大体知道自己的意思”^⑤。这种情况迄今仍然没有多大改观,或许还将持续很久。

2 种的界定

虽然生物学家对种概念仍未达成共识,但是很多研究开始将焦点转向种的界定(Species delimitation)。种界定是确定种界限和发现新种的过程^[17]。在种问题的研究中,重点一直集中在种概念上,很少涉及具体如何划分种边界,种的界定最近才得到关注^[1,18],并最终可能成为现代系统分类学的一个主要的问题^[17]。

过去的研究常常将种概念与种的界定混为一谈,这大概也是种问题一直纠缠不清的一个原因。对相同的研究对象,依据不同的概念/准则可能得到不同的结论^[19]。于是有人提出区别首要和次要种概念^[4,20],de Queiroz^[1,6,21]在此基础上进一步提出用一个统一种概念(普遍支系种概念)作为首要种概念,其他次要种概念均作为判定标准。虽然统一种概念尚未取得所有人的认可[在一定程度上已达成了共识,即认为种是支系(Lineage)^[17],还不能从根本上解决现代种问题,但是

① ‘...a lineage of an ancestor-descendent populations which maintains its identity from other such lineages and which has its own evolutionary tendencies and historical fate.’ (Wiley1981)

② ‘A phylogenetic species is an irreducible (basal) cluster of organisms, diagnosably distinct from other such clusters, and with which there is a parental pattern of ancestry and descent.’ (Cracraft 1989)

③ ‘... a geographically constrained groups of individuals with some unique apomorphous character, is the unit of evolutionary significance.’ (Rosen 1978)

④ ‘...equates species with separately evolving metapopulation lineages...’ (de Queiro 2007)

⑤ ‘No one definition has satisfied all naturalists; yet every naturalist knows vaguely what he means when he speaks of a species.’

—Charles Darwin, On the origin of species

将种概念与操作标准分离的想法对具体如何界定种具有重要的指导意义^[22]。

除传统形态描述外,随着现代分子理论和技术的发展,研究者逐渐开始使用一些新的方法进行种界定。Sites & Marshall 总结了 12 种建立在不同生物学特性或标准之上的种界定方法,分别适用于有性或无性繁殖的生物^[18]。最近又有研究者提出新的种界定方法^[23-25]。

分子数据在种界定中应用很广泛,Sites & Marshall 总结的 12 种方法中有 11 种涉及到分子数据^[18]。其原因可能在于 DNA 序列具备形态等数据不能比拟的优点:(1)DNA 序列由 4 种碱基组成,可以用来比较任何两个物种;(2)DNA 的演化一般遵循一定的模式,因此可通过一定的数学模型计算其变化及进行远缘生物间的比较;(3)基因组序列较长,比形态或生理特征包含更多的演化信息^[26]。鉴于 DNA 的诸多优点,有研究者甚至认为 DNA 应作为分类中通用的参照标准^[27]。

线粒体 DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)由于易获得、无重组、演化速率快等优点而成为种界定和系统演化研究中最流行的一种分子标记^[28]。但是 mtDNA 基本为母系遗传,不能完整反映种群的演化历史。此外,有研究在 mtDNA 中发现假基因(Pseudogene)、异质性(Heteroplasmy)、进化速率不一致以及非中性演化等问题的存在^[29-31],因此仅用 mtDNA 一种标记进行演化和种界定等分析遭到了许多质疑^[32-33],越来越多的研究开始使用核基因及其他不同类型标记。对有性繁殖的生物而言,核基因是双亲遗传,因而可以比单亲遗传的 mtDNA 更全面地描绘出群体演化历史的轨迹。但是使用核基因也会遇到的一些问题:(1)核基因演化速率一般远低于线粒体等胞质基因,适用于种水平分析的核基因片段较少;(2)缺少如无脊椎动物 mt-COI(Mitochondrial cytochrome c oxidase I)那样的通用基因片段;(3)现阶段开发低拷贝或单拷贝核基因、微卫星或 SNP(单核苷酸多态性, Single nucleotide polymorphism)标记还比较困难;(4)核基因可能发生重组等复杂的演化过程,而目前针对核基因处理的数学模型还不够完善。

3 种的鉴定

种的鉴定,即将未知样品确定到已知种的过程,与种的界定密切相关。大规模的样品鉴定经常限于属、科,甚至是目水平,至少对一些鉴定困难的类群如此^[34]。样品鉴定最通用的方法是借助形态等特征进行判断,即形态分类中常用的方法,因为该类方法既便捷又低廉。但是,如同种界定一样,依据形态的种类鉴定

在多数情况下较粗糙,甚至会出现错误,尤其是在缺乏经验丰富的分类专家的情况下。然而随着系统分类和演化生物学研究的深入,所需样品无论是种类数量还是个体数量都在剧增,因此如何快速、准确的确定这些样品的分类地位成为下一步研究的首要问题。目前针对大量样品快速便捷的种类鉴定方法主要包括 DNA 分类(DNA taxonomy)和 DNA 条形码(DNA barcoding)。

DNA 分类是 Tautz 等^[27,35]提出的一个基于 DNA 的分类系统。这种观点建立在 DNA 序列变异可以用来识别种这一认识的基础上^[36]。该观点认为 DNA 序列可以作为种鉴定的工具,并且应该提升到中心位置,即 DNA 取代形态作为分类的主要或唯一的证据。鉴于单个基因片段在分类鉴定中的不足,Tautz 等^[35]建议使用多个基因片段来确定分类地位。在 DNA 分类提出的同时,Herbert 等^[37]提出了一个针对所有动物种类鉴定的 DNA 条形码系统。与 DNA 分类提倡多个基因片段略有不同,Herbert 等^[37]提倡使用一个标准基因,即通过一段短 DNA 标准序列(在动物中为 mt-COD)来实现快速准确的物种鉴定和新种识别。分子数据作为种鉴定工具并不新鲜^[38],DNA 条形码概念也不是首创(“DNA barcodes”这个词 1993 年就已提出^[39]),但是 Hebert 等^[37]正式提出 DNA 条形码的概念,并将其应用到所有动物。随着 2004 年生命条形码联盟(Consortium for the Barcode of Life, CBOL)的建立,DNA 条形码研究迅速成为全球生物多样性研究的热点,并由动物界普及至整个生物界。

DNA 分类与 DNA 条形码在工作流程上相似,都是先搭建一个以标准 DNA 片段为参照的数据库系统,该系统由标准 DNA 片段、样品、采集地、采集人、分类地位等相关信息组成。一旦这个具有重要意义的序列数据库建成,那么可以参照这些标准序列来检验未知样品,帮助鉴定种,评估是否需要新种描述^[35,37]。很显然,与 DNA 条形码相比,DNA 分类并没有得到充分的关注^[40-41],原因可能在于:(1)DNA 分类系统(多标记序列数据库的构建,样品采集和命名)比较复杂,而且缺少明确具体的操作方法;(2)提倡以 DNA 作为分类唯一证据的观点受到多数分类学家的严厉批判^[42];(3)DNA 条形码的迅猛兴起。目前 DNA 分类在应用上更偏重于种水平的研究,从这个角度来讲,很多研究者将其与 DNA 条形码等同起来^[41,43-44]。

DNA 条形码采用的标准方法是一种基于种内及种间 DNA 序列变异程度的距离法(Distance-based method)^[37]。该方法的关键在于“遗传阈值”(Genetic thresholds)和“条形码间隙”(Barcoding gap)。Hebert 等^[37]首先提出了 3% 阈值来确定不同的种,后来又设

定了一个 $10\times$ 遗传差异阈值作为鉴定标准^[45],即种间平均遗传距离为种内平均遗传距离的 10 倍。生命数据系统条形码(Barcode of Life Data Systems, BOLD)则推荐 1% 阈值作为种鉴定标准^[46]。但这种方法遭到了很多质疑^[47-48],于是有研究者建议用最小种间距离取代平均种间距离^[49],另外一些研究者则通过方法改进试图解决这个问题^[50],但并不十分成功。另一种常用的方法是基于树形的方法(Tree-based method),常与距离法结合起来使用。Hebert 等^[37]建议使用基于 Kimura-2-parameter(K2P)模型的邻接树(Neighbour-joining tree, NJ tree),后逐渐被最大简约(Maximum parsimony)、最大似然(Maximum likelihood)或贝叶斯(Bayesian)树等取代^[50]。最近又提出一种新的 DNA 条形码方法,即基于特征的 DNA 条形码(Character-based DNA barcoding)^[51-53]。该方法建立在 CAOS(The characteristic attribute organization system)系统上,使用具判定性的特征(组合)来界定种,即利用 DNA 序列中离散的核苷酸替代的有或无(特征状态, Character states)来确定种,可以是单碱基(简单特征),也可以是碱基组合(复合特征)。该方法一方面可以实现种下(群体)水平保护单元的辨别,另一方面可以将碱基与基因、氨基酸、甚至是形态、生态或行为等判定性特征综合起来进行种边界判断^[53],从而可以提高种判定的正确性。该方法在种的鉴定和界定上被证明很有效^[53-57]。然而由于一些因素(如推广度)的限制,该方法最近才陆续得到关注,但应用比例远低于基于树形的距离法^[50]。

DNA 分类与 DNA 条形码提出后得到了很多关注,多种赞同、批判的观点随之而来。提倡者^[35,37,58-61]认为,(1)利用 DNA 来鉴别生物个体可以加快解决“分类障碍”(Taxonomic impediment)的问题,促进分类学的发展;可以将生物学家从常规鉴定中解放出来,使生物标本采集工作重放光彩,使全球生物多样性研究与保护取得新进展;(2)不但可以解决种界定问题,而且可以利用 DNA 序列直接来重构各阶元(至少在种水平)的系统发生关系。

反对者则从多角度对基于 DNA 的分类鉴定系统进行批判^[59]。概括起来主要包括下面几方面:(1)占用过多公共资源而不能促进传统分类的发展。Cameron 等^[62]认为,DNA 条形码花费太多,对公众而言并没有直接应用价值;建立起覆盖所有生物的条形码数据库以及接下来的应用所需要的花费将远远超过条形码提倡者的预想。(2)DNA 条形码的单基因鉴定系统,尤其是基于线粒体单基因的系统最受质疑^[63-65]。如前所述,mtDNA 自身的限制(例如假基因和异质性等)使得这个单基因系统用于种界定和鉴定容易出问题。此

外,研究表明由基因渐渗杂交(Introgressive hybridization)和祖先多态性不完全分支(Incomplete lineage sorting of ancestral polymorphism)等原因引起的多系(Polyphyly)和旁系(Paraphyly)现象在动植物中较常见^[66],仅依靠 mtDNA 进行种鉴定和界定可能会出现错误。(3)对距离法和树形法的质疑。DNA 条形码假设种内遗传距离小于种间遗传距离^[37],但是随采样范围的扩大和样品数量的增加,种内遗传距离很可能也增大^[67],这种情况在地理分布广泛的种类中很常见^[68-69]。实际上,种内遗传距离和种间遗传距离重叠的现象时有发生^[44,47-48]。基于树形的方法建立在单系发生原则的基础上,该原则在 DNA 尤其是 mtDNA 系统发生分析中应用极广泛。但是种水平的进化除单系发生外,还广泛存在着并系或多系发生关系^[66],因此往往造成基因树与物种树的冲突。(4)DNA 条形码只能进行样品鉴定,而不能单独用来界定种和发现新种^[42,70]。(5)多数研究者强烈反对以 DNA 分类系统取代传统分类,因为简单地使用 DNA 序列来代表种类实际上忽略了其生物学本质,这样的单一分类是没有意义的,甚至称这是“一种退步,会削弱分类学”,可能从根本上造成分类学的终止^[59,63,70-72]。

此外,DNA 条形码本身还存在着技术性的问题。首先是条形码基因的选择。迄今还没找到一种可适用于整个生物界的基因。动物界普遍使用的是 mtCOI^[37],但植物、真菌和原生动物的通用条形码基因尚未取得一致的意见^[50]。其次是对杂交个体、新分化物种和隐存种的鉴定。由于 mtDNA 自身及分析手段的限制,基于 mtCOI 片段的条形码基本不能鉴定杂交个体,也很难鉴定新分化物种。虽然 DNA 条形码在一定程度上可以检测到隐存的、分化显著的线粒体演化支系,但并不代表是独立进化的演化支系^[73]。如果不同时借助其他证据,很可能得到只是单倍型组,而不是具有生物学意义的实体单位。这些问题在采样不充分、分类研究匮乏的生物类群中表现得尤为突出^[47,64]。

虽然争议不断,DNA 条形码在应用上仍受到高度关注,已在很多生物类群中得到了验证。早期的研究聚焦在一些比较大的、分类研究详实的动物门类中,如鸟类^[45]、鱼类^[36]、蝴蝶^[74-75]和蜘蛛^[76]等,主要是验证该技术的适用性和检查其鉴定效率。随后扩展到一些小的门类或研究甚少的动物类群中(如蚜虫^[77]和缓步动物^[78])。随着更多研究人员的加入,研究范围扩大到整个生物界(如植物^[79-80]和放线菌^[81])。然而 2003—2010 年的最新调查发现,DNA 条形码工作的覆盖范围虽然涉及整个生物界,但在研究类别上偏差很明显,有一半为无脊椎动物,而其中又以节肢动物为最多,具经济价值的种类也占据了较大比例^[50]。

虽然种水平的 DNA 分类和 DNA 条形码在应用中存在局限性,但是其快速高效的鉴别大量样品的巨大优势掩盖了存在的瑕疵(如不能有效鉴别杂交个体)。毋庸置疑,基于 DNA 的鉴定技术为人们了解区域性乃至全球性生物多样性提供了一个便捷有效的工具。

4 整合分类学

DNA 分类和 DNA 条形码的提出为分类学及相关学科描绘出了光明的前景,但是二者都将 DNA 序列作为种鉴定/界定的主要/唯一证据^[35,37],因此遭到了许多批评,尤其是线粒体单基因鉴定系统。许多研究者认为单个基因不能实现所有动物种水平的鉴定,更不用说整个生物界^[82]。于是有研究者提出整合分类学(Integrative taxonomy)的观点^[59,83],即利用不同学科优势互补,将来自不同学科领域的新理论和方法融合一体的一种分类方法,将系统地理学、比较形态学、比较解剖学、群体遗传学、生态学和行为生物学等整合到分类工作中。该观点认为整合分类方法是系统分类学和生物多样性研究的真正未来^[59];不仅不会取代传统分类,反而可以帮助解决传统分类中的争议问题^[84]。

目前,整合分类学在种界定/鉴定应用中的一个重要的方面是揭示隐存种(Cryptic species)。分子和形态数据的结合是最常见的^[85],通过这种整合分析确定隐存种边界^[86-89]。另一方面,整合分类学可以将传统分类与 DNA 条形码很好地结合起来^[85],进行分类系统的重新梳理和样品鉴定^[56,90-93],具有更高的鉴别能力。

虽然整合分类的提出为分类问题提供了解决方法,在实际应用中很多研究已采用多种不同的证据进行隐存种和种界定等的研究,但并未引起广泛的注意。究其原因可能包括:(1)理论体系尚不完善,没有比较明确的研究方法;(2)目前主要关注种水平^[84],容易与种的界定混在一起。虽然尚无统一的种概念,但大体趋势认为种是独立演化的支系(Distinct evolutionary lineage),当同时满足越多的界定准则,则种假设成立的可能性越大。这种研究模式与整合分类虽然在理论上属于不同的范畴,但实际上两者在种水平的应用上有异曲同工之妙,都是利用多种种界定标准、不同的数据类型(例如分子、形态、生态及行为数据等)和不同的分析方法进行种界定的研究。很多情况下,虽然具体操作符合这 2 种观念提出的方法,但实际研究中既没提及所用的种概念也没提到整合分类这个名词(有时称整合方法,An integrative approach)^[56,86]。此外,在几乎所有的整合分析研究中,通常先将不同数据各自进行分析,然后再对结果采取定性分析,即根据各自的结果讨论演化支系存在的合理性,而很少是将不同数

据的分析结果放在一个统计分析框架中进行比较分析^[94],这可能是相关复杂算法及模型的缺失所致。

5 应用前景

种的概念是一个古老的生物学问题,但是新兴理论和技术却使其迸发出新的活力。由于种的界定和鉴定往往依赖于种概念,而种概念又混淆不清,所以目前种界定和鉴定尚无统一的准则与方法。目前越来越多的研究倾向于整合分类的方法。基于 DNA 的鉴定技术则为大量样品的快速鉴定提供了有效工具;同时 DNA 条形码基因能够显示出良好的遗传分化,可以作为隐存种存在的“指示器”。当基于 DNA 的鉴定技术与综合分析手段结合起来,则可以有效的解决系统分类中的很多难题。

热带雨林作为全球生物多样性最丰富的区域,其生物多样性研究远远不足;海洋生物类群中也蕴含着丰富的生物多样性,其研究也相对不足;微小生物类群种类数量极其庞大,然而分类研究却极度欠缺。传统分类手段很难满足上述研究领域的分类,因而间接阻碍了其多样性的研究和保护工作。基于 DNA 的分析工具则可以为认识这些区域和类群的生物多样性提供有力的技术支持。通过基于 DNA 的鉴定系统检验大量样品,鉴定已知种,发现“疑似种”。通过对疑似种的整合数据分析,确定种边界。这两项工作的综合展开可以为传统分类提供更加有说服力的证据,从而加速种的分类鉴定和命名。同时可以帮助人们重新审视传统的分类体系,确定悬疑不定的种的分类地位。此外,这些研究也将为演化生物学、保护生物学和系统地理学等领域提供更合适的研究素材和研究证据。

参考文献:

- [1] de Queiroz K. Species concepts and species delimitation [J]. *Systematic Biology*, 2007, 56: 879-886.
- [2] Mallet J. Species, concepts of. In: *Encyclopedia of Biodiversity* (Levin S eds) [M]. Salt Lake: Academic Press, 2001.
- [3] Wilkins J S. *Species: a history of idea* [M]. Berkeley: University of California Press, 2009.
- [4] Mayden R L. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem. In *Species: the Units of Biodiversity* (Claridge MF et al. eds) [M]. New York: Chapman and Hall, 1997.
- [5] Mallet J. Species concepts. In: *Evolutionary genetics: concepts and case studies* (Fox C W, Wolf J B eds) [M]. Oxford: Oxford University Press, 2006.
- [6] de Queiroz K. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: A conceptual unification and terminological recommendation[M]//. In *Endless Forms: Species and speciation*. New York: Oxford University Press, 1998.
- [7] Hausdorf B. Progress toward a general species concept [J]. *Evolu-*

- tion, 2011, 65: 923-931.
- [8] Wilkins J S. Philosophically speaking, how many species concepts are there? [J]. *Zootaxa*, 2011, 2765: 58-60.
- [9] Mayr E. Systematics and the origin of species from the viewpoint of a zoologist [M]. New York: Columbia University Press, 1942.
- [10] Boggs C L. Species and Speciation. International Encyclopedia of the Social and Behavioral Sciences [M]. Oxford: Elsevier, 2001.
- [11] Wiley E O. Phylogenetics: The Theory and Practice of Phylogenetic Systematics [M]. New York: John Wiley and Sons, 1981.
- [12] Cracraft J. Speciation and its ontology: the empirical consequences of alternative species concepts for understanding patterns and processes of differentiation. In *Speciation and its consequences* (Otte D, Endler JA eds) [M]. Sunderland: Sinauer Associates, 1989.
- [13] Rosen D E. Vicariant patterns and historical explanation in biogeography [J]. *Systematic Zoology*, 1978, 27: 159-88.
- [14] Lee M S Y. Species concepts and species reality: salvaging a Linnaean rank [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2003, 16: 179-188.
- [15] De Queiroz K. Species concepts and species delimitation [J]. *Systematic Biology*, 2007, 56: 879-886.
- [16] Darwin C. On the origin of species by means of natural selection, or the preservation of favoured races in the struggle for life [M]. London: John Murray, 1859.
- [17] Wiens J J. Species delimitation: new approaches for discovering diversity [J]. *Systematic Biology*, 2007, 56: 875-878.
- [18] Sites J W, Marshall C. Operational criteria for delimiting species [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, 2004, 35: 199-227.
- [19] Agapow P M, Binida-Emonds O R P, Crandall K A, et al. The effect of species concept on biodiversity [J]. *The Quarterly Review of Biology*, 2004, 79: 161-179.
- [20] Frost D R, Kluge A G. A consideration of epistemology in Systematic Biology, with special reference to species [J]. *Cladistics*, 1994, 10: 259-94.
- [21] de Queiroz K. The general lineage concept of species and the defining properties of the species category. In *Species* (Wilson R A eds.) [M]. Cambridge: MIT Press, 1999.
- [22] Reeves P A, Richards C M. Species delimitation under the general lineage concept: an empirical example using wild American hops (Cannabaceae; *Humulus lupulus*) [J]. *Systematic Biology*, 2011, 60: 45-59.
- [23] Petit R J, Excoffier L. Gene flow and species delimitation [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2009, 24: 386-393.
- [24] O'Meara B C. New heuristic methods for joint species delimitation and species tree inference [J]. *Systematic Biology*, 2010, 59: 59-73.
- [25] Zapata F, Jiménez I. Species delimitation: inferring gaps in morphology across geography [J]. *Systematic Biology*, 2012, 61: 179-194.
- [26] Nei M, Kumar S. Molecular evolution and phylogenetics [M]. New York: Oxford University Press, 2000.
- [27] Tautz D, Arctander P, Minelli A, et al. DNA points the way ahead in taxonomy [J]. *Nature*, 2002, 418: 379.
- [28] White D J, Wolff J N, Pierson M, et al. Revealing the hidden complexities of mtDNA inheritance [J]. *Molecular Ecology*, 2008, 17: 4925-4942.
- [29] Zhang D X, Hewitt G M. Nuclear integrations: challenges for mitochondrial DNA markers [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 1996, 11: 247-251.
- [30] Bensasson D, Zhang D X, Hartl D L, et al. Mitochondrial pseudogenes: evolution's misplaced witnesses [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2001, 16: 314-321.
- [31] Kmiec B, Woloszyńska M, Janska H. Heteroplasmy as a common state of mitochondrial genetic information in the plants and animals [J]. *Current Genetics*, 2006, 50: 149-159.
- [32] Ballard J W O, Whitlock M C. The incomplete natural history of mitochondria [J]. *Molecular Ecology*, 2004, 13: 729-744.
- [33] Galtier N, Nabholz B, Glémin S, et al. Mitochondrial DNA as a marker of molecular diversity: a reappraisal [J]. *Molecular Ecology*, 2009, 18: 4541-4550.
- [34] Pfenninger M, Nowak C, Kley C, et al. Utility of DNA taxonomy and barcoding for the inference of larval community structure in morphologically cryptic *Chironomus* (Diptera) species [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16: 1957-1968.
- [35] Tautz D, Arctander P, Minelli A, et al. A plea for DNA taxonomy [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2003, 18: 70-74.
- [36] Ward R D, Zemlak T S, Innes B H, et al. DNA barcoding Australia's fish species [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2005, 360: 1847-1857.
- [37] Hebert P D N, Cywinska A, Ball S L, et al. Biological identifications through DNA barcodes [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2003, 270: 323-321.
- [38] Kangethe E K, Jones S J, Patterson R L S. Identification of the species origin of fresh meat using an enzyme-linked immunosorbent assay procedure [J]. *Meat Science*, 1982, 7: 229-240.
- [39] Arnot D E, Poper C, Bayoumi R A. Digital codes from hypervariable tandemly repeated DNA sequences in the *Plasmodium falciparum* circumsporozoite gene can genetically barcode isolates [J]. *Molecular and Biochemical Parasitology*, 1993, 61: 15-24.
- [40] Blaxter M, Elsworth B, Daub J. DNA taxonomy of a neglected animal phylum: an unexpected diversity of tardigrades [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2004, 271(Sup): 189-192.
- [41] Hansen H, Bakke T A, Bachmann L. DNA taxonomy and barcoding of monogenean parasites: lessons from *Gyrodactylus* [J]. *Trends in Parasitology*, 2007, 23: 363-367.
- [42] DeSalle R. Phenetic and DNA taxonomy; a comment on Waugh [J]. *BioEssays*, 2007, 29: 1289-1290.
- [43] Blaxter M L. The promise of a DNA taxonomy [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2004, 359: 669-679.
- [44] Meier R, Shiyang K, Vaidya G, et al. DNA barcoding and taxonomy in Diptera: a tale of high intraspecific variability and low identification [J]. *Systematic Biology*, 2006, 55: 715-728.
- [45] Hebert P D N, Stoeckle M Y, Zemlak T S, et al. Identification of birds through DNA barcodes [J]. *PLoS Biology*, 2004, 2: 312.
- [46] Ratnasingham S, Hebert P D N. BOLD: the Barcode of life data system (www.barcodinglife.org) [J]. *Molecular Ecology Notes*, 2007, 7: 355-364.
- [47] Meyer C P, Paulay G. DNA barcoding: Error rates based on comprehensive sampling [J]. *Plos Biology*, 2005, 3: 422.

- [48] Wiemers M, Fiedler K. Does the DNA barcoding gap exist?—a case study in blue butterflies (Lepidoptera: Lycaenidae) [J]. *Frontiers in Zoology*, 2007, 4: 8.
- [49] Meier R, Zhang G Y, Ali F. The use of mean instead of smallest interspecific distances exaggerates the size of the “barcoding gap” and leads to misidentification [J]. *Systematic Biology*, 2008, 57: 809-813.
- [50] Taylor H R, Harris W E. An emergent science on the brink of irrelevance: a review of the past 8 years of DNA barcoding [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2012, 12: 377-388.
- [51] Puillandre N, Lambert A, Brouillet S, et al. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation [J]. *Molecular Ecology*, 2011, 21: 1864-1877.
- [52] DeSalle R, Egan M G, Siddall M. The unholy trinity: taxonomy, species delimitation and DNA barcoding [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2005, 360: 1905-1916.
- [53] Rach J, DeSalle R, Sarkar I N, et al. Character-based DNA barcoding allows discrimination of genera, species and populations in Odonata [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2008, 275: 237-247.
- [54] Bergmann T, Hadrys H, Breves G, et al. Character-based DNA barcoding: a superior tool for species classification [J]. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 2009, 122: 446-450.
- [55] Lowenstein J H, Amato G, Kolokotronis S O. The real maccoyii: identifying tuna sushi with DNA barcodes—contrasting characteristic attributes and genetic distances [J]. *PloS One*, 2009, 4: 7866.
- [56] Damm S, Schierwater B, Hadrys H. An integrative approach to species discovery in odonates: from character-based DNA barcoding to ecology [J]. *Molecular Ecology*, 2010, 19: 3881-3893.
- [57] Zou S M, Li Q, Kong L F, et al. Comparing the usefulness of distance, monophyly and character-based DNA barcoding methods in species identification: a case study of Neogastropoda [J]. *PloS One*, 2011, 6: 26619.
- [58] Schindel D E, Miller S E. DNA barcoding a useful tool for taxonomists [J]. *Nature*, 2005, 435: 17.
- [59] Will K W, Mishler B D, Wheeler Q D. The perils of DNA barcoding and the need for integrative taxonomy [J]. *Systematic Biology*, 2005, 54: 844-851.
- [60] Vogler A P, Monaghan M T. Recent advances in DNA taxonomy [J]. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2007, 45: 1-10.
- [61] Smith V S. DNA barcoding: perspectives from a “Partnerships for Enhancing Expertise in Taxonomy” (PEET) debate [J]. *Systematic Biology*, 2005, 54: 841-844.
- [62] Cameron S, Rubinoff D, Will K. Who will actually use DNA barcoding and what will it cost? [J]. *Systematic Biology*, 2006, 55: 844-847.
- [63] Lipscomb D, Platnick N, Wheeler Q. The intellectual content of taxonomy: a comment on DNA taxonomy [J]. *Trends in Ecology and Evolution*, 2003, 18: 65-66.
- [64] Rubinoff D. Utility of mitochondrial DNA barcodes in species conservation [J]. *Conservation Biology*, 2005, 20: 1026-1033.
- [65] Wheeler Q D. Losing the plot: DNA “barcodes” and taxonomy [J]. *Cladistics*, 2005, 21: 405-407.
- [66] Funk D J, Omland K E. Species-level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2003, 34: 397-423.
- [67] Dasmahapatra K K, Mallet J. DNA barcodes: recent successes and future prospects [J]. *Heredity*, 2006, 97: 254-255.
- [68] Elias M, Hill R I, Willmott K R, et al. Limited performance of DNA barcoding in a diverse community of tropical butterflies [J]. *Proceedings of the Royal Society B*, 2007, 274: 2881-2889.
- [69] Linares M, Soto-Calderon I, Lees D, et al. High mitochondrial diversity in geographically widespread butterflies of Madagascar: A test of the DNA barcoding approach [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2009, 50: 485-495.
- [70] Ebach M C, Holdrege C. DNA barcoding is no substitute for taxonomy [J]. *Nature*, 2005, 434: 697.
- [71] Seberg O, Petersen G, Humphries C J, et al. Shortcuts in systematics a commentary on DNA-based taxonomy [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2003, 18: 63-65.
- [72] Will K W, Rubinoff D. Myth of the molecule: DNA barcodes for species cannot replace morphology for identification and classification [J]. *Cladistics*, 2004, 20: 47-55.
- [73] Ross K G, Gotzek D, Ascunce M S, et al. Species delimitation: a case study in a problematic ant taxon [J]. *Systematic Biology*, 2010, 59: 162-184.
- [74] Hebert P D N, Penton E H, Burns J M, et al. Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly *Astraptes fulgerator* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101: 14812-14817.
- [75] Hajibabaei M, Janzen D H, Burns J M, et al. DNA barcodes distinguish species of tropical *Lepidoptera* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2006, 103: 968-971.
- [76] Barrett R D H, Hebert P D N. Identifying spiders through DNA barcodes [J]. *Canadian Journal of Zoology*, 2005, 3: 481-491.
- [77] Footitt R G F, Maw H E L, Von Dohlen C D, et al. Species identification of aphids (Insecta: Hemiptera: Aphididae) through DNA barcodes [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 8: 1189-1201.
- [78] Cesari M, Bertolani R, Rebecchi L, et al. DNA barcoding in Tardigrada: the first case study on *Macrobiotus macrocalix* Bertolani & Rebecchi 1993 (Eutardigrada, Macrobiotidae) [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2008, 9: 699-706.
- [79] Kress W J, Wurdack K J, Zimmer E A, et al. Use of DNA barcodes to identify flowering plants [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102: 8369-8374.
- [80] Lahaye R, van der Bank M, Bogarin D, et al. DNA barcoding the floras of biodiversity hotspots [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105: 2023-2928.
- [81] Seifert K A, Samson R A, deWaard J R, et al. Prospects for fungus identification using co1 DNA barcodes, with *Penicillium* as a test case [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104: 3901-3906.

- [82] Pennisi E. Modernizing the tree of life [J]. *Science*, 2003, 300: 1692-1697.
- [83] Dayrat B. Towards integrative taxonomy [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2005, 85: 407-415.
- [84] Schlick-Steiner B C, Steiner F M, Seifert B, et al. A multisource approach to exploring biodiversity [J]. *Annual Review of Entomology*, 2010, 55: 421-438.
- [85] Pires A C, Marinon L. DNA barcoding and traditional taxonomy unified through Integrative Taxonomy: a view that challenges the debate questioning both methodologies [J]. *Biota Neotropica*, 2010, 10: 339-346.
- [86] Roe A D, Sperling F A H. Population structure and species boundary delimitation of cryptic *Dioryctria* moths: an integrative approach [J]. *Molecular Ecology*, 2007, 16: 3617-3633.
- [87] Milankov V, Stahls G, Stamenkovic J, et al. Genetic diversity of *Merodon aureus* and *M. cinereus* species complexes (Diptera, Syrphidae): integrative taxonomy and implications for conservation priorities on the Balkan Peninsula [J]. *Conservation Genetics*, 2008, 9: 1125-1137.
- [88] Padial J M, De La Riva I. Integrative taxonomy reveals cryptic Amazonian species of *Pristimantis* (Anura: Strabomantidae) [J]. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2009, 155: 97-122.
- [89] Liu J, Li Q, Kong L F, et al. Cryptic diversity in the pen shell *Atrina pectinata* (Bivalvia: Pinnidae): high divergence and hybridization revealed by molecular and morphological data [J]. *Molecular Ecology*, 2011, 20: 4332-4345.
- [90] Fisher B L, Smith M A. A revision of Malagasy Species of *Anochetus* Mayr and *Odontomachus Latreille* (Hymenoptera: Formicidae) [J]. *Plos One*, 2008, 3: 1787.
- [91] Mengual X, Thompson F C. A taxonomic review of the *Palpada ruficeps* species group, with the description of a new flower fly from Colombia (Diptera, Syrphidae) [J]. *Zootaxa*, 2008, 1741: 31-36.
- [92] Ferri E, Barbuto M, Bain O, et al. Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda) [J]. *Frontiers in Zoology*, 2009, 6: 1.
- [93] Kong L F, Matsukuma A, Hayashi I, et al. Taxonomy of *macridiscus* species (Bivalvia: Veneridae) from the western Pacific: insight based on morphological and molecular evidence [J]. *Journal of Molluscan Studies*, 2012, 78: 1-11.
- [94] Yeates D K, Seago A, Nelson L, et al. Integrative taxonomy, or iterative taxonomy? [J]. *Systematic Entomology*, 2011, 36: 209-217.

Species Concept, Species Delimitation and Species Identification

LI Qi¹, LIU Jun^{1,2}, KONG Ling-Feng¹

(1. The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China)

Abstract: What is species and how to delimit species are among the most vexing issues for biologists, although species is one of the fundamental units of analysis in biology. Species problem has been debated for hundreds of years and the species concept debates have been lasting for more than sixties years, but there is still no general agreement. Recently, empirically delimiting species has increasingly attracted much attention and many empirical methods have been proposed. However, no standard criteria and approaches have been established as a result of absence of a consensus species concept. New emphasis on species identifying has arisen along with the proposal of DNA taxonomy and DNA barcoding. Accurate and rapid delimitation and identification for species are crucial for taxonomy, species biodiversity and evolution. In the present study, some of the major species concepts and methods for species delimitation and identification, especially DNA barcoding and integrative taxonomy, are reviewed.

Key words: species concept; species delimitation; DNA barcoding; integrative taxonomy; biodiversity

责任编辑 朱宝象