

从 12S rRNA 基因序列探讨中国 10 种壁虎的系统关系

韩德民 周开亚* 王义权

(南京师范大学遗传资源研究所, 南京 210097)

摘要 对肌肉样品采用 SDS/蛋白酶 K 裂解、酚-氯仿抽提和乙醇沉淀提取总 DNA, 用线粒体 12S rDNA 通用引物扩增, 用银染测序和 ABI Prism 310 型遗传分析仪测定了 *Gekko japonicus*, *G. swinhonis*, *G. hokouensis*, *G. gecko*, *Cyrtopodion elongatus*, *C. russowi*, *Teratoscincus roborowskii*, *Hemidactylus bowringii*, *H. frenatus* 和 *Gehyra mutilata* 10 种壁虎的线粒体 12S rRNA 基因片段的序列。对位排列后的序列长 421 bp, 含 201 个变异位点。属间核苷酸变异范围为 0.228~0.282, 属内是 0.005~0.263。重建的分子系统树将 10 种壁虎聚为三支: 第 1 支是大壁虎和截趾虎; 第 2 支由壁虎属其余的 3 个种构成一个单系; 第三支由其余 3 个属的 5 个种组成。研究表明: 截趾虎与壁虎属 4 物种亲缘关系较近; 吐鲁番沙虎和弯脚虎属 2 物种、蜥虎属 2 物种之间的亲缘关系较近, 支持 Russell (1976) 关于弯脚虎属与蜥虎属间进化关系的研究结果而不支持 Kluge (1987) 将沙虎属另立亚科的系统发生假说; 铅山壁虎与无蹼壁虎最先聚为姐妹群, 再与多疣壁虎相聚组成一个单系。

关键词 壁虎科 分子系统发生 12S rRNA 基因

全世界壁虎科 (Gekkonidae) 动物约有 700 种, 中国动物志记载 30 种, 分隶于 9 属, 其中有 4 个属均只有 1 种在我国有分布, 其余的属, 以壁虎属含种类最多, 达 11 种。走爬型 3 属 10 种分布于我国西部地区, 其余 6 属 20 种运动方式为吸爬型, 广布于我国东部和南部地区 (赵尔宓等, 1999)。

以前对壁虎科动物亲缘关系的研究基本上是根据形态特征, 尤其是足的形态特征。早期主要是外部形态特征, 后来内部形态特征逐渐得到重视。Russell (1976) 依据足的形态解剖特征, 对壁虎科各阶元的系统关系作了较为详细的研究。Kluge (1987) 依据 27 个共近裔性状研究了壁虎类动物的支序系统学。依据形态特征推论系统发生关系有一定的局限性, 其中一个明显弊端就是很难排除可能受到的趋同适应的干扰 (Russell, 1976)。已有学者从细胞和蛋白质分子水平研究壁虎科动物的系统发生关系, 陈俊才等 (1986)、郭超文等 (1995) 和沈建伟等 (1996) 分别根据核型、染色体核仁组织者和乳酸脱氢酶同工酶的差异, 研究了多疣壁虎、铅山壁虎和无蹼壁虎的亲缘关系。

由于生物进化的复杂性和研究方法本身的局限性, 用不同方法研究相同动物类群的结果有时可能不一致, 甚至相互矛盾。弯脚虎属和蜥虎属在形态、习性、生态和地理分布上都有很大差异, Russell (1976) 根据二者倒数第三趾骨都有不同程度的竖起和缩短以及相关构造有别于所有其它种类的特征, 推测蜥虎型的趾起源于弯脚虎型的趾。Kluge (1983) 根据共近裔性状的研究, 认为弯脚虎属是多系的, 并主张将其部分物种分出另建新属。对于广泛分布于中国东部地区的多疣壁虎、无蹼壁虎和铅山壁虎的系统关系, 陈俊才等 (1986) 的核型研究表明三者中铅山壁虎与多疣壁虎核型差异较小, 郭超文等 (1995) 对染色体核仁组织者的研究认为三者处于同一演化水平, 而沈建伟等 (1996) 对乳酸脱氢酶同工酶的比较研究则提示无蹼壁虎与多疣壁虎亲缘关系较近。

随着 PCR 和 DNA 测序技术的发展, 利用 DNA 序列分析推论动物的系统发生关系已成为进化研究的主流手段。线粒体 DNA (mtDNA) 是进化研究主要的分子信息之一, 在国内已发表了用线粒体 12S

1999-03-30 收稿, 1999-10-22 修回

* 通讯作者. E-mail: kyzhouj@jlonline.com

第一作者简介 韩德民, 男, 42 岁, 硕士, 副教授。研究方向: 动物分子生物学。现工作单位: 安徽大学生命科学学院, 合肥 230039。

rRNA 等基因序列研究龟、蛇和鹿类等系统发生的报道 (吴平等, 1999; Wang *et al.*, 1999; 李明等, 1999), 但尚未见用于壁虎类系统发生的研究。我们对分布于中国的 10 种壁虎科动物 mtDNA 的 12S rRNA 基因片段进行了序列测定, 据此对上述动物的系统发生进行了分析。这是用分子信息分析壁虎科动物系统发生关系的初步尝试。

1 材料和方法

1.1 样品材料

检测的样品见表 1。标本包括 -20℃ 冻存、75% 乙醇浸制和 10% 福尔马林浸制 3 种保存类型。

1.2 总 DNA 的提取、目的基因片段的扩增和序列测定

每一样品取肌肉约 0.05 g。采用 SDS/蛋白酶 K 消化、酚-氯仿抽提和乙醇沉淀法提取总 DNA。乙醇和福尔马林浸制标本参照肖武汉等 (1997) 的方法先作适当的预处理, 再按前述方法提取。PCR 扩增引物为 L1091/H1478 (Koehler *et al.*, 1989), 目的序列为 mtDNA 12S rRNA 基因约 400 bp 的 DNA 片段。

序列用银染测序技术人工测序或用 ABI Prism 310 型遗传分析仪自动测序。银染测序试剂盒购自

Promega 公司, BigDye 试剂盒购自 Perkin-Elmer 公司。

1.3 序列分析

序列对位排列用 Clustal w 程序 (Thompson *et al.*, 1994)。DNA 序列差异用 MEGA (1.02 版本) 分子进化遗传分析软件分析, 并用 NJ (邻结) 法、UPGMA (非加权组平均) 法和 MP (最大简约) 法重建系统发生关系。在重建系统树时, 预先去除两两对位中的碱基缺失以便估算遗传距离。系统树中结点的置信值以自举检验估计。

2 结果

2.1 12S rRNA 基因片段序列

获得 10 种壁虎的 12S rRNA 基因片段的序列, 经对位排列后共有 421 bp, 含 201 个变异位点。序列两两间碱基替换情况和核苷酸变异百分数 (P 值) 列于表 2。序列的 GenBank 登录号为: AF236819, AF323510 ~ 323518。

依表 2 统计得属间核苷酸变异范围为 0.228 ~ 0.282 (多疣壁虎对吐鲁番沙虎和铅山壁虎对疣尾蜥虎), 属内是 0.005 ~ 0.263 (原尾蜥虎对疣尾蜥虎和大壁虎对铅山壁虎)。

表 1 检测的中国 10 种壁虎样品

Table 1 Samples of 10 gekkonid lizards species distributed in China examined in the study

种名 Species	代码 Code	标本采集地 Locality	保存 Preservation
壁虎属 <i>Gekko</i>			
多疣壁虎 <i>G. japonicus</i>	Gj	安徽合肥 (Hefei, Anhui)	冻存 (Frozen)
无蹼壁虎 <i>G. swinhonis</i>	Gs	江苏徐州 (Xuzhou, Jiangsu)	冻存 (Frozen)
铅山壁虎 <i>G. hokouensis</i>	Gh	福建绍武 (Shaowu, Fujian)	福尔马林浸制 (Formalin preserved)
大壁虎 <i>G. gecko</i>	Gg	广西南宁 (Nanning, Guangxi)	冻存 (Frozen)
弯脚虎属 <i>Cyrtopodion</i>			
长弯脚虎 <i>C. elongatus</i>	Ce	新疆托克逊 (Tuokexun, Xinjiang)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)
灰弯脚虎 <i>C. russowi</i>	Cr	新疆库尔勒 (Kuerle, Xinjiang)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)
沙虎属 <i>Teratoscincus</i>			
吐鲁番沙虎 <i>T. roborowskii</i>	Tt	新疆吐鲁番 (Tulufan, Xinjiang)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)
蜥虎属 <i>Hemidactylus</i>			
原尾蜥虎 <i>H. bowringii</i>	Hb	海南琼海 (Qionghai, Hainan)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)
疣尾蜥虎 <i>H. frenatus</i>	Hf	广东雷州 (Leizhou, Guangdong)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)
截趾虎属 <i>Gehyra</i>			
截趾虎 <i>G. mutilatus</i>	Gem	海南琼海 (Qionghai, Hainan)	乙醇浸制 (Ethanol preserved)

表 2 10 种壁虎 12S rRNA 基因片段序列的转换/颠换数 (上三角)和核苷酸变异百分数 (P 值, = 序列差异/序列大小, 下三角), 成对比较时去除缺失

Table 2 Numbers of transitions/transversions(upper triangle) and percentages of sequence differentiation (P value, = sequence differences/sequence size, lower triangle) of the partial sequences of 12S rRNA gene of 10 gekkonid lizards species with gaps deleted in each pairwise comparison

OTUs		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Gj	/	29/31	29/32	49/49	44/52	43/53	43/41	40/54	41/54	46/48
2	Gs	0.159	/	0/5	49/48	46/57	45/58	40/51	49/58	50/58	49/53
3	Gh	0.160	0.013	/	51/49	47/52	46/54	41/45	46/60	47/60	48/51
4	Gg	0.259	0.259	0.263	/	52/54	51/55	45/53	59/46	60/46	53/49
5	Ce	0.254	0.267	0.258	0.275	/	0/3	47/41	51/40	53/40	51/59
6	Cr	0.254	0.267	0.261	0.275	0.007	/	47/42	52/39	54/39	50/60
7	Tt	0.228	0.244	0.232	0.259	0.226	0.229	/	47/40	48/40	44/59
8	Hf	0.251	0.279	0.279	0.278	0.231	0.231	0.229	/	2/0	56/51
9	Hb	0.253	0.281	0.282	0.280	0.236	0.236	0.232	0.005	/	57/51
10	Gem	0.255	0.271	0.265	0.270	0.281	0.281	0.269	0.278	0.281	/

2.2 重建分子系统树

基于 Juke-Cantor 距离重建了 NJ、UPGMA 和 MP 分子系统树 (图 1)。在 NJ 树中 (图 1:A), 10 种壁虎分为 3 个支系: 第 1 支系包括大壁虎和截趾虎两个姊妹群, BCL(自举置信水平)值为 57%; 第 2 支系由壁虎属其余的 3 个种构成一个单系 (BCL = 99%); 第三支系由其余 3 个属的 5 个种构成一个单系 (BCL = 78%), 其中 2 种弯脚虎对 2 种蜥虎聚为姊妹群。UPGMA 树 (图 1:B) 与 NJ 树基本一致, 所不同的是在托克逊沙虎、2 种弯脚虎和 2 种蜥虎构成的单系中, 吐鲁番沙虎对 2 种弯脚虎是姊妹群 (BCL = 34%)。

MP 树 (图 1:C) 亦与 NJ 树基本一致, 所不同的是大壁虎与壁虎属的其余 3 个种相聚 (BCL = 66%), 组成一个单系, 与传统的形态分类一致。

3 讨论

截趾虎属全世界约有 20 个种, 主要分布在南半球的澳大利亚和巴布亚新几内亚, 在亚洲仅分布有截趾虎 1 种。重建的三个系统树都表明截趾虎与壁虎属亲缘关系较近, 特别是其中的大壁虎, 两者总是最先聚在一起, 这一结果与传统分类的看法一致。

弯脚虎属在中国分布于西部地区, 与沙虎属一样其趾末端无攀瓣, 为适应荒漠环境的走爬型物种。蜥虎属则是典型的东洋界物种, 趾末端扩展并具有攀瓣, 运动方式为吸爬型。弯脚虎属和蜥虎属在形态、分布和习性上均有很大差异, 但在以 NJ

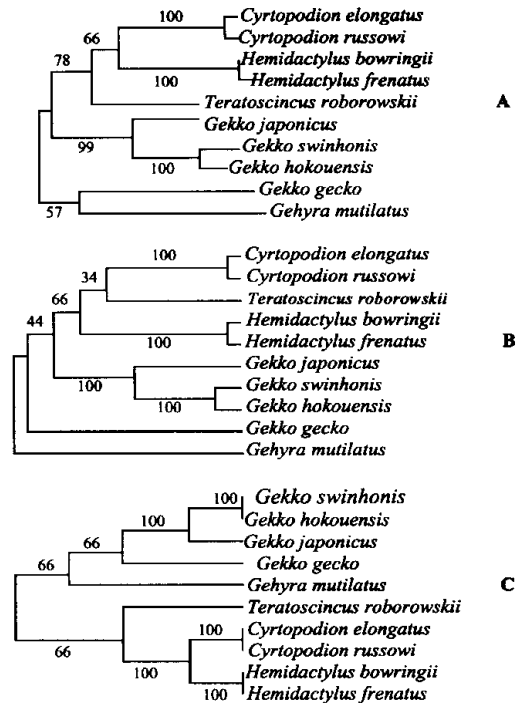


图 1 根据 12S rRNA 基因片段基于 Juke-Cantor 距离重建的 10 种壁虎的分子系统树。结点的置信水平以自举置信检验 (1 000 个复制序列) Fig.1 Reconstructed molecular phylogenetic trees of 10 gekkonid lizards species, using Juke-Cantor distance, based upon the partial sequences of 12S rRNA gene with Bootstrap Test (1 000 replications) 图中数字为自举置信水平 (BCL) 值 [The values of bootstrap confidence level (BCL) of the nodes were indicated] A: NJ 树 (NJ Tree) B: UPGMA 树 (UPGMA Tree) C: MP 树 (MP Tree)

法和 MP 法所构建的分子系统树中, 都是 2 种弯脚虎对 2 种蜥虎首先聚在一起形成姐妹群 (BCL 值均为 100%)。虽然在以 UPGMA 法构建的系统树中 2 种弯脚虎先与托克逊沙虎相聚, 然后再与 2 种蜥虎相聚, 但与吐鲁番沙虎相聚的 BCL 值 (34%) 不高。因此 2 种弯脚虎和 2 种蜥虎间的亲缘关系应较近。Russell (1976) 根据足和趾的肌肉、骨骼、肌腱与攀瓣及刚毛的系统比较解剖, 指出弯脚虎属和蜥虎属的趾有相似之处, 特别是倒数第三趾骨都有不同程度的竖起和缩短, 认为蜥虎型的趾是由弯脚虎型的趾进化而来的。我们的结果支持这 2 个属间的进化关系。

Kluge (1987) 对壁虎类的支序系统学研究, 认为沙虎属与壁虎科其它所有类群差异很大, 建议将壁虎科分为壁虎亚科 (Gekkoninae) 和沙虎亚科 (Teratoscincinae)。根据我们所得结果分析, 托克逊沙虎与其它壁虎间的遗传距离和其他壁虎相互间的遗传距离并无显著差异, 因而不支持 Kluge 的结论。在我们所重建的系统发生树中, 吐鲁番沙虎和 2 种弯脚虎或直接相聚 (图 1: B, BCL = 34%), 或同属一个单系 (图 1: A, BCL = 78%; C, BCL = 66%), 二者有较近的亲缘关系, 应是没有疑义的。这 3 个种在我国都分布于西部地区, 运动方式均为走爬型, 在形态、生态和生活习性等方面也有许多共同之处。

铅山壁虎和多疣壁虎由于形态上的相似性, 曾长期被认为是同一个物种。但它们的 DNA 序列却有很大差异, 本研究的结果表明: 二者遗传距离 P 值高达 0.160, 与无蹼壁虎和多疣壁虎间的 P 值 (0.159) 相当 (表 2)。此外, 铅山壁虎与无蹼壁虎

的 P 值 (0.013) 分别较两种弯脚虎之间和两种蜥虎之间 (P 值分别为 0.007 和 0.005) 大, 表明了该种的有效性。

对壁虎属多疣壁虎、无蹼壁虎和铅山壁虎 3 个种之间的亲缘关系, 目前还没有明确的认识。用上述壁虎几种组织的一种同工酶比较研究推测多疣壁虎与无蹼壁虎间差异较小 (沈建伟等, 1996)。12S rRNA 基因片段的序列分析表明, 在去除缺失和插入后, 铅山壁虎与无蹼壁虎间有 5 个变异位点, 均由转换造成, 两者的序列差异, 在壁虎属中为最小 (P = 0.013); 在所构建的三个分子系统树中, 铅山壁虎与无蹼壁虎均最先聚为姊妹群, 再与多疣壁虎相聚组成一个单系。因此, 在壁虎属的 4 个种中, 铅山壁虎与无蹼壁虎亲缘关系最近。值得提出的是铅山壁虎与无蹼壁虎在地理上呈隔离分布, 但均分别与多疣壁虎有同域分布。

大壁虎的情况比较复杂。虽然其体型较大, 全长可达 300 mm 以上, 明显大于属内其它种类, 但它具有壁虎属基本的形态特征, 其核型为 $2n = 38$, 亦与属内其它种一致。在 MP 树中, 大壁虎最后与该属其余 3 个种相聚 (BCL = 66%), 构成一个单系。从上述情况看, 将其归入壁虎属还是有一定道理的。但从序列差异的比较来看, 该种与属内其余 3 个种的序列差异 (P = 0.259 ~ 0.263) 已超过大多数壁虎的属间差异 (P < 0.26 的属间差异有 17 个, P > 0.26 的属间差异有 13 个)。另外, 用 NJ 法和 UPGMA 法构建的系统发生树均把大壁虎与截趾虎聚为一支。因此, 大壁虎究竟是作为壁虎属中古老种类而置于该属分支基部, 还是另建新属, 尚有待进一步的研究。

参 考 文 献 (References)

- Chen, J. C., X. B. Peng and D. W. Yu 1986 Studies on the karyotypes of three species of the genus *Gekko*. *Acta Herpetologica Sinica* 5(1):24~29.
[陈俊才, 彭先步, 余多慰 1986 壁虎属三种壁虎的核型研究. 两栖爬行动物学报 5(1)24~29.]
- Guo, C. W. and J. L. Li 1995 Observation on the Ag-NORs in 3 species of *Gekko* and the karyotype of *G. swinhonis*. *Hereditas* 17(1):16~18.[郭超文, 李洁莉 1995 三种壁虎染色体核仁组织者的银染色观察与无蹼壁虎的核型. 遗传 17(1):16~18.]
- Kluge, A. G. 1983 Cladistic relationships among gekkonid lizards. *Copeia* 1983(2):465~475.
- Kluge, A. G. 1987 Cladistic relationships in the Gekkonidae (Squamata, Sauria). *Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan* 173:1~54.
- Kocher, T. D., W. K. Thomas, A. Meyer, S. V. Edwards, S. Paabo, F. X. Villablanca and A. C. Wilson 1989 Dynamics of mitochondrial DNA evolution in mammals: Amplification and sequencing with conserved primers. *Proc Natl Acad Sci USA* 86:6169~6200.
- Li, M., X. M. Wang, H. L. Sheng, H. Tamate, R. Masuda, J. Nagata and N. Otaishi 1999 Mitochondrial DNA divergence and phylogeny of four species of deer of the genus *Cervus*. *Acta Zool. Sin.* 45(1):99~105. [李明, 王小明, 盛和林, 玉手英利, 增田隆一, 永田纯子, 大泰司纪之 1999 四种鹿属动物的线粒体 DNA 差异和系统进化关系研究. 动物学报 45(1)99~105.]
- Russell, A. P. 1976 Some comments concerning interrelationships amongst gekkonine geckos. In: Bellairs, A. d'A. and C. B. Cox eds. *Morphology and Biology of Reptiles. Linn. Soc. Symp.* 3:217~244.
- Shen, J. W., P. H. Lu and Y. F. Chen 1996 The comparative study on LDH isozymes of six tissues of three species of *Gekko*. *J. of Nanjing Normal Univ*

- (*N. S.*) **19**(4):45~47.[沈建伟, 陆佩洪, 陈宜峰 1996 壁虎属三种壁虎几种组织中 LDH 同工酶的比较. 南京师大学报(自然科学版) **19**(4)45~47.]
- Thompson, J. D., D. Higgins and D. J. Gibson 1994 CLUSTAL w: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, positions-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* **22**:4 673~4 680.
- Wang, Y. Q., K. Y. Zhou, L. S. Xu, G. Yang and G. J. Xu 1999 The evolutionary relationships of several colubrid snakes suggested by sequences analysis of Cyt B gene fragment. *Acta Zool. Sin.* **45**(3):332~338.
- Wu, P. and K. Y. Zhou 1999 Phylogeny of Asian freshwater and terrestrial turtles based on sequence analysis of 12S rRNA gene fragment. *Acta. Zool. Sin.* **45**(3):260~267. [吴平, 周开亚 1999 亚洲淡水和陆生龟鳖类 12S rRNA 基因片段的序列分析和系统发生研究. 动物学报 **45**(3)260~267.]
- Xiao, W. H., C. H. Wu, B. Su, Y. P. Zhang and G. H. Cui 1997 DNA extracted from formalin-fixed *Xenocypris yunnanensis* and sequence analysis of its cytochrome B gene. *Zoological Research* **18**(3):242, 252, 258, 284.[肖武汉, 吴春花, 宿兵, 张亚平, 崔桂华 1997 福尔马林固定云南鲴的 DNA 提取及其细胞色素 b 基因序列分析. 动物学研究 **18**(3)242 252 258 284.]
- Zhao, E. M., K. T. Zhao and K. Y. Zhou 1999 Lacertilia. In: Fauna Sinica-Reptilia Vol.2. Squamata, Beijing: Science Press, 1~394. [赵尔宓, 赵肯堂, 周开亚 1999 见:中国动物志·爬行纲(第二卷). 有鳞目·蜥蜴亚目. 北京: 科学出版社, 1~394.]

外 文 摘 要(Abstract)

PHYLOGENY OF TEN SPECIES OF CHINESE GEKKONID LIZARDS (GEKKONIDAE : LACERTILIA) INFERRED FROM 12 S rDNA DNA SEQUENCES

HAN De-Min ZHOU Kai-Ya WANG Yi-Quan

(Institute of Genetic Resources , Nanjing Normal University , Nanjing 210097 , China)

The studies on phylogenetic relationships of gekkonid lizards have been largely based on morphological characters before, including the structure of digits and internal anatomy. In China, the phylogeny among some gekkonid lizards based on karyotype, nucleolar organizer and LDH(lactic dehydrogenase) isozyme was reported. However, nucleotide sequence data have not yet been employed to study the phylogeny of gekkonid lizards. In the present study, phylogenetic relationship among 10 Chinese gekkonid lizard species was inferred based on sequences of 12S rRNA gene fragment.

1. Material and method

Total DNA was extracted from about 50 mg of the muscle tissue from 10 gekkonid lizards (*Gekko japonicus*, *G. swinhonis*, *G. hokouensis*, *G. gecko*, *Cyrtopodion elongatus*, *C. russowi*, *Teratoscincus roborowskii*, *Hemidactylus bowringii*, *H. frenatus* and *Gehyra mutilata*) collected in China. The samples were either frozen(-20°C), or ethanol or formalin preserved(Table 1). Two primers L1091 and H1478(Kocher *et al.*, 1989) were used for amplification and sequencing. Sequencing were performed manually using silver-staining technique, or automatically in an ABI Prism 310 Genetic Analyzer.

All sequences were aligned with the program of Clustal w(Thompson *et al.*, 1994). The DNA sequences were analyzed with the MEGA program(1.02 edition). For distance estimation, we deleted sites with gaps in each pairwise comparison(Table 2). The phylogenetic trees of NJ, UPGMA and MP were reconstructed with the same program based upon Juke-Cantor distance, with bootstrap test(1 000 replications)(Fig. 1).

2. Result and discussion

The sequences have been deposited in GenBank (accession numbers : AF236819 and AF323510 ~ 323518). Aligned sequences of 421 available base pairs(including 201 variant sites) were obtained. The percentage of sequence divergence(sequence difference / (sequence size) among the five genera was 0.228 ~ 0.282, within the genera 0.005 ~

0.263. Tricotomous clusters were obtained by those methods in all three phylogenetic trees : The first cluster contained the sister group of *G. mutilata* and *G. gecko* ; The second cluster contained the monophyletic lineage of other three species of *Gekko* ; The third cluster contained the remaining five species.

All three phylogenetic trees reconstructed indicate that *G. mutilata* is closely related to the genus *Gekko* , especially *G. gecko* . This result is in agreement with the traditional systematic classification.

The feet of the *Cyrtopodion* (= *Cyrtodactylus*) geckos are of creep moving type , which adapts to the desert habitat . Which have With dilated toes and hyperextended digits , the feet are adapted to arboreal life . Though the two genera differ not only in morphology but also in habitat use , they cluster in all three phylogenetic trees . This outcome supports the result of Russell (1976) , who considered the muscle , bone and tendon systems of the feet and digits developed along with the scansors as well as setae and pointed out that the antepenultimate phalanxes of both *Cyrtodactylus* and *Hemidactylus* were very small and erect and the extremely reduced nature of this particular phalanx was unique to the cyrtodactyl-hemidactyl lineage .

The results of cladistic study of the Gekkonoidea (Kluge , 1987) indicated that *Teratoscincus* was the sister-lineage to the remaining taxa of Gekkonidae , and a new subfamily , Teratoscincinae , should be established . Our result did not support Kluge 's hypothesis . The genetic distances between *T. roborowskii* and other gekkonid lizards based upon the percentage divergence of the DNA sequences was similar to those among the other geckos . *T. roborowskii* was a sister group to the clade constituted by the two species of *Cyrtopodion* in UPGMA tree , or clustered with *Cyrtopodion* and *Hemidactylus* in a monophyletic group in MP tree .

There were studies on karyotype , nucleolar organizer and LDH isozyme of *G. japonicus* , *G. swinhonis* and *G. hokouensis* (Chen *et al.* , 1986 ; Guo *et al.* , 1995 ; Shen *et al.* , 1996) . However , the phylogenetic relationships of these *Gekko* speices have not yet been resolved . Our molecular data indicated that *G. hokouensis* and *G. swinhonis* clustered as the sister group of *G. japonicus* . The molecular data also supported the validity of *G. hokouensis* .

Although *G. gecko* was included in the clade constituted by the other three species of *Gekko* in MP tree , the sequence divergences of 12S rRNA gene fragment between *G. gecko* and the other *Gekko* species ($P = 0.259 \sim 0.263$) were higher than those among different genera of gekkonid lizards . Additionally , it clustered with *G. mutilata* in the NJ and UPGMA trees . Therefore , the phylogenetic position of *G. gecko* remains unresolved .

Key words Gekkonidae , 12S rRNA gene , Molecular phylogeny