

# 大山雀的婚外父权调查

尹黎献, 张雷, 常鹏, 李静, 万冬梅\*

辽宁大学 生命科学院 辽宁省动物资源与疫病防治重点实验室, 沈阳 110036

**摘要:** 婚配制度作为一种进化稳定对策是动物对某一环境包括种群内部环境适应的结果, 在动物生殖过程中具有重要意义。大山雀 (*Parus major*) 是一种广域分布物种, 研究显示广域分布物种的形态、生理、行为、生态特征及婚配制度在不同地区或种群间存在显著差异, 因此, 该文选择了分布于中国辽宁仙人洞国家级自然保护区的大山雀 (*P. m. minor*) 种群开展其婚配制度研究。野外共采集了 22 巢大山雀亲代和子代血液样本。结果如下: (1) 从 11 个微卫星位点中筛选出了 8 个多态性较好的微卫星位点用于大山雀父权鉴定, 在母本已知的情况下确定父权的准确率可达 99.98%; (2) 巢内父权鉴定结果显示, 31.8% (7/22) 的巢包含婚外父权, 8.12% (16/197) 的子代为婚外子代。与其他森林雀形目鸟类相比, 大山雀婚外子代的比例明显偏低 (<10%), 每个存在婚外父权巢的婚外子代比例各异 (55.6%~9.1%), 且无明显规律。

**关键词:** 大山雀; 微卫星 DNA; 父权鉴定; 婚配制度

中图分类号: Q959.7+39; Q958.12+2.2

文献标志码: A

文章编号: 0254-5853-(2013)01-0047-06

## Extrapair paternity in *Parus major*

Li-Xian YIN, Lei ZHANG, Peng CHANG, Jing LI, Dong-Mei WAN\*

Department of Life Science, Liaoning University, Key Laboratory of Animal Resource and Epidemic Disease Prevention, Shenyang 110036, China

**Abstract:** Mating systems, as an evolutionary stable strategy, play an important role in animal reproductive process and result from an animal's adaption to their environment, including their inter-specific environment. In the 1980s, extrapair paternity (EPP) was first noted in the eurychoric species, the Great Tit, *Parus major*. As earlier studies indicated, morphology, physiology, behavior, ecological characteristics and mating systems of eurychoric species differ greatly between areas or populations. Accordingly, we analyzed the mating system of the Great Tit (*P.m.minor*) in Fairy Cave National Nature Reserve, Liaoning, China. We collected total parent-offspring blood samples from 22 broods. We used 8 hypervariable loci, which were selected from 11 reported microsatellite loci for paternity test. In conjunction with the known genetic pattern of the female parent, the accuracy of the paternity testing reached 99.98% with this genetic data. Results of paternity testing showed that 7 of 22 broods (31.8%) had extra-pair nestling, with 16 of 197 nestlings (8.12%) a result of extra-pair fertilizations. The EPP rate of the Great Tit we noted in Liaoning is obviously lower than those in other passerine forest birds (less than 10%). Though between 55.6% and 9.1% extrapair offspring were found among the different nests, we were, however, unable to find any explanatory rule.

**Keywords:** *Parus major*; Microsatellite DNA; Paternity testing; Mating system

面对生殖诱惑, 生物会为了得到最大的生殖机会而采取一切策略。婚配制度在动物生殖过程中具有重要意义, 它是在动物进化过程中产生的与自然选择密切相关的现象, 作为一种进化稳定对策是动物对某一环境包括种群内部环境适应的结果 (Zhang & Zhang, 2003)。一个物种的生殖策略和婚配制度在某种程度上影响了该物种的遗传多样性和种群结

构。单配制是鸟类中最普遍的婚配方式, 现存鸟类中 92% 的种类为单配制 (Ni et al, 2001)。但近年来的研究发现在很多单配制鸟类中, 非配偶的雌、雄个体交配并产出配偶外后代是一种普遍现象 (婚外父权现象), 表明动物行为表现的社会性婚配制度 (social mating system) 与其遗传婚配制度 (genetic mating system) 并不完全一致。婚外父权现象很少在

收稿日期: 2012-06-11; 接受日期: 2012-10-25

基金项目: 国家自然科学基金 (31071927)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: wandongmei@lnu.edu.cn

第一作者简介: 尹黎献, 女, 硕士研究生, 研究方向: 鸟类学; E-mail: 270353315@qq.com.cn

非雀形目鸟类中发生,但在社会性单配制的小型雀形目鸟类中,该现象则非常普遍(Burke & Bruford, 1987)。20 世纪 80 年代牛津大学首次报道了大山雀(*Parus major*)中存在的婚外父权现象(Blakey, 1994)。

大山雀(*Parus major*)是一种栖息在山区和平原林间的雀形目鸟类,是林区常见的次级洞巢鸟,其分布范围非常广泛,广布于古北界,在中国境内各省均有分布,为当地留鸟。大山雀共有 31 亚种,其中我国分布有 6 亚种(Zhao, 2001)。北方亚种(*P.m.kapustini*)主要分布于内蒙东北部及新疆西北部;华北亚种(*P.m.minor*)分布于东北、华中、华东及华北;青藏亚种(*P.m.tibetanus*)分布于西藏、青海南部及四川北部和西部;西南亚种(*P.m.subtibetanus*)分布于西藏东南部、云南、四川及贵州西部和西南部;华南亚种(*P.m.commixtus*)分布于华南、东南及台湾;海南亚种(*P.m.hainanus*)分布于海南(Zheng, 2011)。

野外观察显示大山雀为社会性单配制鸟类,繁殖期雌、雄亲鸟共同育雏。Blakey (1994)在 1985—1987 年首次用 DNA 指纹识别技术揭示了大山雀存在较低频率的婚外受精,但其研究仅基于英国牛津(Oxfordshire)的大山雀种群,而 Sun (2001)认为广布种的形态、生理、行为和生态特征在不同地区或种群间存在显著差异。因此,我们选择中国辽宁地区仙人洞国家级自然保护区的大山雀(*P.m.minor*)种群开展其婚配制度研究,并与国外同类研究进行比较,以期了解同一种鸟类的婚配制度是否存在种群或地域差异。

## 1 材料与方法

### 1.1 研究地区自然概况

辽宁仙人洞国家级保护区位于辽东半岛大连市庄河境内的北部山区(E122°53'24"~123°03'30", N39°54'00"~40°03'00"),海拔 200~600 m,总面积 3574.7 hm<sup>2</sup>。该地区植物资源丰富多样,拥有目前亚洲面积最大的赤松—栎林顶级植物群落,天然赤松林达 234.1 hm<sup>2</sup>,主要树种有赤松(*Pinus densiflora*)、蒙古栎(*Quercus mongolica*)、红松(*Pinus koraiensis*)、核桃楸(*Juglans mandshurica*)及花曲柳(*Fraxinus rhynchophylla*)等。现有脊椎动物 5 纲 29 目 75 科 363 种,其中兽类 38 种,鸟类 257 种,爬行类 15 种。国家重点保护动物有金雕(*Aquila*

*chrysaetos*)及白尾海雕(*Haliaeetus albicilla*)等 8 种。该地区因濒临黄海,夏季受海洋性季风影响,多为东南风,冬季多为西北风,具有典型的海洋性季风气候特点。四季温和,雨热同季,光照和降雨集中。年平均气温为 8.7 °C,无霜期 181.9 d。

### 1.2 样本采集

于辽宁仙人洞国家级自然保护区悬挂人工巢箱招引大山雀繁殖,4 月中旬大山雀开始筑巢时巡查所有巢箱,并记录有大山雀占据的巢箱。2011 年共招引并成功繁殖大山雀 27 巢,其中取到血液样本的共 22 巢,共采集到 231 个样品,其中亲代 34 个,子代 197 个。

样本采集时采用非损伤性取样。雏鸟 7 日龄前,在巢箱口设计诱捕机关捕捉进巢喂食的亲鸟,同时给亲鸟带脚环并取血,巢中雏鸟在 10 日龄取血,均采取翅下肱静脉取血,用无菌滤纸吸收血液,干燥后-20 °C 保存。

### 1.3 实验方法

1.3.1 DNA 提取 采用常规酚-氯仿抽提法提取样品 DNA,提取的基因组 DNA 经 0.8% 琼脂糖电泳检测,-20 °C 保存备用。

1.3.2 微卫星位点筛选 从已发表的大山雀研究文献中选择了 11 对引物(Saladin et al, 2003; Katsura, 2003)用于预实验,最终选用了 8 个多态性较好的微卫星位点(见表 2)用于本实验。

1.3.3 荧光引物 PCR 扩增 荧光引物由上海美吉生物医药科技有限公司合成。每个位点 PCR 反应退火温度见表 1,PCR 反应体系为 20 μL: Takara Taq 0.2 μL, dNTP 1.6 μL, 10× buffer 2 μL, 引物 0.5 μL, 其中 Pma42 及 Pma179 中需加入 10 μL 2× GCbuffer。PCR 反应过程: 94 °C 5 min; (94 °C 30 s, 退火温度 30 s, 72 °C 30 s)×30 cycles, 72 °C 10 min, 10 °C 保存。

1.3.4 PCR 产物的基因分型及等位基因判读 PCR 产物基因分型在 ABI3730XL 自动测序仪上进行,以 ROX-500(红色)作为分子量内标,利用 GeneMapper 4.0 软件进行等位基因分析和判读,并辅以人工校对。经 Cervus3.0 软件统计计算得到主要多态性参数,用于亲子关系鉴定。

1.3.5 统计分析 使用 Cervus3.0 软件统计 8 个位点的等位基因数目(number of alleles, *N*)、表观杂合度(observed heterozygosities, *H<sub>o</sub>*)、期望杂合度(expected heterozygosities, *H<sub>e</sub>*)以及多态信息含量

表 1 8 个微卫星标记信息及 PCR 退火温度  
Table 1 Information of 8 microsatellite markers and PCR annealing temperature

| 位点<br>Locus | 引物序列(5'~3')<br>Primer sequences(5'-3')             | 荧光标记<br>Fluorescent<br>mark | 荧光颜色<br>Fluorescent<br>color | 重复序列<br>Repeat type                         | 参考长度<br>Reference length<br>(bp) | 退火温度<br>Annealing temp.<br>(°C) |
|-------------|--|-----------------------------|------------------------------|---|----------------------------------|---------------------------------|
| Pma71       | F-TCAGCCTCCAAGGAA AACAG<br>R-GCATAAGCAACACCATGCAG  | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (TAGG) <sub>6</sub> (TAGA) <sub>11</sub>    | 186                              | 59                              |
| Pma33       | F-TTCCCAAGTATCCTGCATC<br>R-AAACCATATCACCCAGTGCC    | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (GATA) <sub>14</sub> GAT(GATA) <sub>8</sub> | 305                              | 55                              |
| Pma48m      | F-CACTCAGCCTCTCAGATCTG<br>R-CGGGCTGGTACTTATTGGGAG  | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (TG) <sub>11</sub>                          | 178~199                          | 60                              |
| PmaC25      | F-CGTCCTGCTGTTTGTATTCTG<br>R-CCATGA ACCATTTTAGGGTG | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (CAT) <sub>11</sub>                         | 323                              | 59                              |
| Pma179      | F-GGAGGCTTAAACATTCTGTGTG<br>R-GGGCTGAAGGAGTTTGCTAC | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (TG) <sub>14</sub>                          | 176~193                          | 61                              |
| PmaD22      | F-GATCAGAGCTTGCTCAACAC<br>R-TCTGGGCTGAAATACCTACCC  | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (CTAT) <sub>15</sub> (CCAT) <sub>12</sub>   | 403                              | 60                              |
| Pma42       | F-ACTTCCACATGCCAGTTTCC<br>R-TGTTAAGGCAGAGAGGTGGG   | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (TCCA) <sub>15</sub>                        | 285                              | 57                              |
| PmaD27      | F-TATAAACCACAGCCACACGC<br>R-CACAACCACAGAGGCATGAG   | FAM                         | 蓝色<br>blue                   | (CAT) <sub>16</sub>                         | 202                              | 55                              |

(polymorphic information content, *PIC*)等。非父排除率 *Ecxl 1*(first parent): 对于同一巢内的子代和亲本, 当亲本基因型均不确定时, 在子代的基因型基础上, 检验父本或者母本基因型的准确率。非父排除率 *Ecxl 2*(second parent): 对于同一巢内的子代和亲本, 已知子代和母本基因型, 检验父本基因型的准确率。

1.3.6 亲子关系确定 判定亲子关系的理论依据为孟德尔遗传定律。由于本研究中捕获的所有亲本中, 母本均确定为巢内母本, 父本为疑似父本, 因此可以采用排除法(Jamieson & Taylor, 1997)进行父权鉴定。根据基因分型结果排除父权遵循以下原

则: 父子间不符合孟德尔遗传定律的微卫星位点数  $\geq 2$  时, 确定排除父子关系;  $=1$  时, 检查该位点的 *PIC* 值, 若  $PI > 0.7$ , 则排除父子关系(Gill et al, 1996)。

## 2 结果

### 2.1 基因分型结果

微卫星位点的基因分型峰图见图 1(以 Pma42 为例)。分型结果理想, 可以较为准确的判断等位基因大小, 分别为 275 及 279。

### 2.2 微卫星位点的多态性和特征

8 个微卫星位点在大山雀样本中均表现有效的扩增和多态性(表 2)。

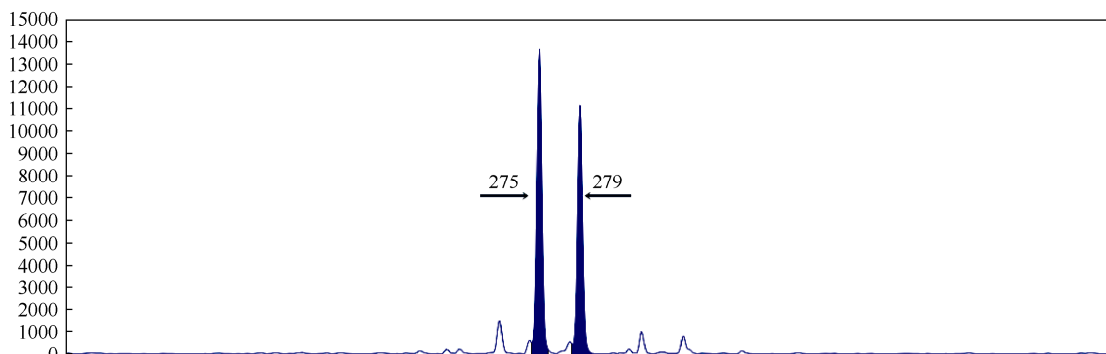


图 1 微卫星位点 Pma42 的部分基因分型峰图  
Figure 1 Microsatellite loci Pma42 genotyping

表 2 8 个微卫星位点的多态性参数  
Table 2 Polymorphism parameters of 8 microsatellite loci

| 位点<br>Locus | 等位基因数目<br><i>N</i> | 表观杂合度<br><i>Ho</i> | 期望杂合度<br><i>He</i> | 多肽信息含量<br><i>PIC</i> | 第一非父排除率<br>Excl1 | 第二非父排除率<br>Excl2 |
|-------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------|------------------|------------------|
| Pma42       | 10                 | 0.847              | 0.825              | 0.800                | 0.520            | 0.347            |
| Pma179      | 8                  | 0.721              | 0.749              | 0.710                | 0.647            | 0.468            |
| Pma71       | 7                  | 0.803              | 0.717              | 0.675                | 0.690            | 0.512            |
| PmaD22      | 20                 | 0.939              | 0.911              | 0.902                | 0.310            | 0.183            |
| Pma33       | 22                 | 0.891              | 0.919              | 0.911                | 0.286            | 0.167            |
| PmaC25      | 7                  | 0.397              | 0.368              | 0.354                | 0.926            | 0.785            |
| PmaD27      | 22                 | 0.952              | 0.909              | 0.901                | 0.311            | 0.184            |
| Pma48m      | 10                 | 0.921              | 0.717              | 0.682                | 0.678            | 0.476            |
| Mean        | 13.25              | 0.809              | 0.764              | 0.7409               | 0.5465           | 0.3928           |
| Total       |                    |                    |                    |                      | 0.9959           | 0.9998           |

*N*: 等位基因数目 Number of alleles; *Ho*: 表观杂合度 Observed heterozygosities; *He*: 期望杂合度 Expected heterozygosities; *PIC*: 多态信息含量 Polymorphic information content; Excl1: 第一非父排除率 Combined non-exclusion probability(first parent); Excl2: 第二非父排除率 Combined non-exclusion probability(second parent)。

根据 Botstein et al(1980)提出的多态信息含量衡量基因多态性指标:  $PIC > 0.5$  为高度多态性;  $0.2 < PIC < 0.5$  为中度多态性;  $PIC < 0.25$  为低度多态性。据此, 本实验选择的微卫星位点中只有 Pmac25 属于中度多态性位点, 其余 7 个均属于高度多态性位点。对于遗传标记而言, 多态性越高识别能力越强, 因此我们所选择的微卫星位点均具有较高的识别能力。

### 2.3 父权关系分析

8 个微卫星位点累积非父排除率 Excl1 为 99.59%, 累积非父排除率 Excl2 为 99.98%(表 2), 即利用该 8 个微卫星位点, 对任意一个子代确定父权的准确率为 99.59%, 而在母本已知的情况下确定父权的准确率可达 99.98%。能有效地应用于杂色山雀的父权鉴定。我们对 22 巢的所有样本进行了父权鉴定, 详细结果如表 3。

由表 3 可见, 31.8%(7/22)的巢包含婚外父权, 婚外子代占全部子代的 8.12%(16/197), 在存在婚外交配的全部 7 巢中有 25%(16/64)的雏鸟为婚外配 (extra-pair copulation, EPC)子代。有婚外子代的 7 巢大山雀中, 各巢的婚外子代比例各异(55.6%~9.1%), 且无明显规律, 即婚外子代分布不均匀。16 个婚外子代中与父本不匹配的微卫星位点数  $\geq 1$ , 平均不匹配位点数=2.93。根据婚外子代基因型数据推断, 无明确证据证明婚外父本数  $\geq 2$ 。

## 3 讨论

亲子鉴定所采用的方法主要有排除法、似然法

和基因型重建法(Jones & Ardren, 2003)。排除法根据孟德尔遗传定律检测母本与可疑父本基因型组

表 3 22 巢大山雀父权鉴定结果  
Table 3 Parentage identify results of 22 nests

| 序号<br>Number | 巢箱号<br>Case number<br>of nests | 总子代数<br>Number of<br>offspring | 婚外子代数<br>Number of<br>EPO | 婚外子代比例(%)<br>The proportion of<br>EPO |
|--------------|--------------------------------|--------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|
| 1            | X22                            | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 2            | X3                             | 8                              | 1                         | 12.5                                  |
| 3            | X4                             | 10                             | 4                         | 40.0                                  |
| 4            | X26                            | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 5            | X43                            | 6                              | 1                         | 16.7                                  |
| 6            | X56                            | 7                              | 0                         | 0                                     |
| 7            | X65                            | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 8            | X82                            | 7                              | 0                         | 0                                     |
| 9            | X93                            | 7                              | 0                         | 0                                     |
| 10           | X109                           | 9                              | 5                         | 55.6                                  |
| 11           | X136                           | 10                             | 0                         | 0                                     |
| 12           | X145                           | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 13           | X155                           | 10                             | 0                         | 0                                     |
| 14           | X177                           | 8                              | 0                         | 0                                     |
| 15           | X180                           | 9                              | 2                         | 22.2                                  |
| 16           | X188                           | 11                             | 0                         | 0                                     |
| 17           | X198                           | 8                              | 0                         | 0                                     |
| 18           | X253                           | 11                             | 2                         | 18.2                                  |
| 19           | X242                           | 11                             | 0                         | 0                                     |
| 20           | X249                           | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 21           | X277                           | 9                              | 0                         | 0                                     |
| 22           | X279                           | 11                             | 1                         | 9.1                                   |
| Total        |                                | 197                            | 16                        | 8.12                                  |

合能否产生子代基因型, 否则排除相应可疑父本; 似然法通过等位基因频率来计算各个非排除父本作为亲生父本的概率, 进而确定最大可能的父本; 而基因型重建法则根据已知亲本和后代的基因型, 推断未知亲本的基因型, 较多的用于研究存在多父本现象的物种种群结构。本研究旨在验证雄性亲本在自己的繁殖巢内是否失去了父权, 因此采用排除法。

Verboven & Mateman (1997) 在对荷兰弗兰克岛屿的大山雀种群进行研究时, 发现该地区大山雀种群存在种内巢寄生的现象。但本实验中未发生子代和母本等位基因不匹配的情况, 即无种内巢寄生现象。

对于仅有母本和子代的数据(本次实验有 6 巢未采集到巢内父亲的样本), 根据孟德尔遗传定律和母本及子代的基因型也可以判定此巢中是否存在婚外父权。即, 若对于某一微卫星位点而言, 根据子代和母本基因型数据而推断出的父本基因型不统一, 再结合其余 7 个微卫星位点的判定结果, 若 $\geq 2$  个位点出现类似不统一的结果, 就可断定此巢内存在婚外父权。

在存在婚外子代的 7 巢中, X4 和 X109 这两巢婚外子代的比例分别为 40% 和 55.6%, 远高于其他巢婚外子代比例, 我们推测该结果可能是交配时精子储存所致。Birkhead et al (1998) 在斑胸草雀研究中发现一次授精足以让整巢的卵受精。Kempnaers et al (1994) 在大山雀的研究中也发现精子储存现象。这就意味着一次婚外交配也许会产下多个受精卵。对于本实验来说, 由于巢内亲本为育雏期间在巢箱中所捕获, 所以无法排除现在的巢内父本为巢内母本交配期的原配偶死亡后更换的配偶这一可能。如果从这个角度出发, 这些子代应该并非为婚外子代, 如果排除这些子代, 婚外子代的比例将降低至 3.5% ( $n=197$ )。但由于这种情况在野外取样时很难判定, 故在统计时将其均归入婚外子代。

Lubjuhn et al (1999b) 在对德国下萨克森

(Lower Saxony) 的大山雀研究中, 发现每年有 27.8%~44.2% 的鸟巢中至少有一只雏鸟为婚外配后代, 5.4%~8.6% 的雏鸟为婚外配子代。本研究结果与 Lubjuhn et al 对大山雀婚外子代和婚外配的比例研究结果相似, 说明不同区域的大山雀种群有着相似的婚配制度及婚外父权比例。

Osmo et al (1995) 在对斑姬鹀 (*Ficedula hypoleuca*) 的研究中发现 11% ( $n=223$ ) 的雏鸟是婚外配后代, 22% ( $n=36$ ) 的巢中存在婚外配。Lubjuhn et al (1999a) 在煤山雀 (*Parus ater*) 的研究中发现 75% ( $n=20$ ) 的巢中出现婚外配, 25.3% ( $n=158$ ) 的雏鸟为婚外配子代。Kempnaers et al (1997) 在超过 4 年的青山雀 (*Parus caeruleus*) 研究中发现 31%~47% 的巢中出现婚外配, 11%~14% 的雏鸟为婚外配子代。类似的研究还在白眉姬鹀 (*Ficedula zanthopygia*)、鸢鹀 (*Troglodytes aedon*) 及黄色林莺 (*Dendroica petechia*) 等鸟类中展开, 结果表明有 20%~40% 的后代为婚外子代 (Alatalo et al, 1984; Soukup & Thompson, 1997; Yezerinac et al, 1995)。本研究数据显示大山雀与其他已研究的雀形目森林鸟类相比, 其婚外子代比例明显偏低 ( $<10\%$ )。

社会性单配制鸟类的婚外配行为表明该种鸟的雌、雄个体均存在多配(与多个异性交配)倾向, 但迫于环境压力, 雌、雄必须共同参与孵卵及育雏等繁殖活动才能保证繁殖成功, 所以会表现出单配制的特性, 而一旦环境发生一定变化, 这种单配制即可能向其它婚配形式转化。存在婚外配现象的单配制犹如一雄多雌制与一雌多雄制之间的临界状态, 因此称之为临界型一雄一雌制 (critical monogamy), 即带有婚外配现象的单配制 (Ni et al, 2001)。大山雀即属于此种婚配制度, 今后我们将对大山雀婚外交配的诱因作进一步研究, 虽然国外已有这方面的研究报告 (Oers et al, 2008; Strohbach et al, 1998; Kawano et al, 2009; Otter et al, 1999), 但迄今为止还没有一个鸟类婚外配假说能够完美地解释大山雀种群婚外配的原因。

## 参考文献:

Alatalo RV, Gustafsson L, Lundberg A. 1984. High frequency of cuckoldry in Pied and Collared Flycatchers. *Oikos*, 42(1): 41-47.

Birkhead TR, Fletcher F, Pellatt EJ. 1998. Sexual selection in the zebra finch *Taeniopygia guttata*: condition sex traits and immune capacity. *Behav Ecol Sociobiol*, 44(3): 179-191.

Blakey JK. 1994. Genetic evidence for extra-pair fertilizations in a monogamous passerine, the Great Tit *Parus major*. *Ibis*, 136(4): 457-462.

Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *Am J Hum Genet*, 32(3): 314-331.

- Burke T, Bruford MW. 1987. DNA fingerprinting in birds. *Nature*, **327**(6118): 149-152.
- Gill P, Urquhart A, Millican E, Oldroyd N, Watson S, Sparkes R, Kimpton CP. 1996. A new method of STR interpretation using inferential logic-development of a criminal intelligence database. *Int J Leg Med*, **109**(1): 14-22.
- Jamieson A, Taylor SCS. 1997. Comparisons of three probability formulae for parentage exclusion. *Anim Genet*, **28**(6): 397-400.
- Jones AG, Ardren WR. 2003. Methods of parentage analysis in natural populations. *Mol Ecol*, **12**(10): 2511-2523.
- Katsura MK. 2003. Isolation of polymorphic microsatellite markers in the great tit (*Parus major minor*). *Mol Ecol Notes*, **3**(2): 314-315.
- Kawano KM, Yamaguchi N, Kasuya E, Yahara T. 2009. Extra-pair mate choice in the female great tit *Parus major*: good males or compatible males. *J Ethol*, **27**(3): 349-359.
- Kempnaers B, Plaompen W, Briskie JV. 1994. Patterns of sperm storage in two species of tits. *Ardea*, **82**(1): 185-192.
- Kempnaers B, Geert RV, Dhondt AA. 1997. Extra-pair paternity in the blue tit (*Parus caeruleus*): female choice, male characteristics, and offspring quality. *Behav Ecol*, **8**(5): 481-492.
- Lubjuhn T, Gerken T, Brun J, Epplen JT. 1999a. High frequency of extra-pair paternity in the Coal Tit. *J Avian Biol*, **30**(2): 229-233.
- Lubjuhn T, Strohbach S, Brun J, Gerken T, Epplen JT. 1999b. Extra-pair paternity in great tits (*Parus major*) - a long term study. *Behavior*, **136**(9): 1157-1172.
- Ni XJ, Zheng GM, Zhang ZW. 2001. Ecological classification of avian mating system. *Chn J Zool*, **36**(1): 47-54. [倪喜军, 郑光美, 张正旺. 2001. 鸟类婚配制度的生态学分类. *动物学杂志*, **36**(1): 47-54.]
- Otter K, McGregor PK, Terry AMR, Burford FRL, Peake TM, Dabelsteen T. 1999. Do female great tits (*Parus major*) assess males by eavesdropping? A field study using interactive song playback. *The Royal Society*, **266**(1426): 1305-1309.
- Saladin V, Bonfils D, Binz T, Richner H. 2003. Isolation and characterization of 16 microsatellite loci in the Great Tit *Parus major*. *Mol Ecol Notes*, **3**(4): 520-526.
- Soukup SS, Thompson CF. 1997. Social mating system affects the frequency of extra-pair paternity in house wrens. *Anim Behav*, **54**(5): 1089-1105.
- Strohbach S, Curio E, Bathen A, Epplen JT, Lubjuhn T. 1998. Extrapair paternity in the great tit (*Parus major*): a test of the "good genes" hypothesis. *Behav Ecol*, **9**(4): 388-396.
- Sun RY. 2001. Principles of Animal Ecology. Beijing: Beijing University Press, 239-246. [孙儒泳. 2001. 动物生态学原理. 北京: 北京大学出版社, 239-246.]
- Van Oers KV, Drent PJ, Dingenanse NJ, Kempnaers B. 2008. Personality is associated with extrapair paternity in great tits, *Parus major* *Anim Behav*, **76**(3): 555-563.
- Verboven N, Mateman AC. 1997. Low frequency of extra-pair fertilizations in the Great Tit *Parus major* revealed by DNA fingerprinting. *J Avian Biol*, **28**(3): 231-239.
- Yezerinac SM, Weatherhead PJ, Boag PT. 1995. Extra-pair paternity and the opportunity for sexual selection in a socially monogamous bird (*Dendroica petechia*). *Behav Ecol Sociobiol*, **37**(3): 179-188.
- Zhang JJ, Zhang ZB. 2003. Animal mating system. *Chn J Zool*, **38**(2): 84-89. [张建军, 张知彬. 2003. 动物的婚配制度. *动物学杂志*, **38**(2): 84-89.]
- Zhao ZJ. 2001. The China Bird Blot. Changchun: Jilin Science Publishing House, 688-691 [赵正阶. 2001. 中国鸟类志. 长春: 吉林科学技术出版社, 688-691.]
- Zheng GM. 2011. A Checklist on the Classification and Distribution of the Birds of China. 2<sup>nd</sup> ed. Beijing: The Science Publishing House, 339 [郑光美. 2011. 中国鸟类分类与分布名录. 2 版. 北京: 科学出版社, 339.]