

猛禽和夜鹰类的线粒体 DNA 序列比较 和分子进化关系的研究

雷 霆, 陈小麟*

(厦大学生命科学学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 测定和比对了隼形目、鸱形目、夜鹰目的 12S rRNA 基因片段, 长度为 415 bp 使用 MEGA2.1 软件构建分子系统树并分析其系统进化关系. 数据显示, 该基因片段的 DNA 序列变异丰富, 转换和颠换数未随着遗传距离的增加而出现饱和现象, 反映出较高真实水平的鸟类系统发育关系. 重建系统进化树表明: 与隼形目隼科相比, 隼形目鹰科与鸱形目、夜鹰目的亲缘关系更近, 提示了隼形目隼科和鹰科之间可能存在着较大的遗传变异; 与夜鹰目相比, 鸱形目和隼形目鹰科鸟类的亲缘关系较近, 与传统分类观点相同, 不支持将鸱形目和夜鹰目合并为鸱形目的观点.

关键词: 猛禽; 分子进化; 线粒体 DNA

中图分类号: Q 958.1

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2006)S-0156-07

高等动物线粒体 DNA (Mitochondrial DNA, mtDNA) 是共价闭合的环状双链 DNA, 快速进化并呈母系遗传. 由于其复制方式简单, 结构基因排列紧密, 几乎没有间隔序列和内含子, 因此近年来已应用于分子进化和系统发育的研究中^[1]. 线粒体 12S rRNA 基因由于同时具有易变区和保守区, 可以广泛应用于系统进化研究^[2].

猛禽鸟类是肉食性鸟类, 小型种类嗜食害虫, 大中型种类常捕食田间的啮齿动物, 对于农、林、牧业均有较大的益处. 而且猛禽处于食物链的较高营养级, 数量稀少, 具有重要的保护价值和研究价值^[3]. 鸟类系统分类长期以来主要基于生态学、形态特征和行为等方面的研究. 经典的鸟类分类系统将鸱、隼和鹰、夜鹰分为鸱形目、隼形目和夜鹰目^[4,5]. 鸱形目与隼形目常被统称为猛禽 (Raptors), 但依据解剖学的研究, 鸱形目和隼形目二者的差异甚多, 亲缘关系也不大密切, 二者的相似习性属于趋同适应 (Convergent evolution)^[6].

近年来, 随着分子生物学技术在鸟类分类研究的应用, 一些学者提出了新的鸟类分类系统, 如, Sibley 等^[7]根据 DNA-DNA 杂交研究的结果, 将夜鹰归并入鸱形目, 鸱形目分为鸱亚目和夜鹰亚目两类; 将鹰科和隼科则归并入鸱形目, 鸱形目分为鸱亚目和鸱亚目两类, 鹰科和隼科都属于鸱亚目. 本文测定 3 种鹰科鸟类、1 种隼科鸟类、1 种夜鹰科鸟类、2 种鸱科鸟类和

1 种草鸱科鸟类的 12S rRNA 基因, 并结合 GenBank 下载的相关序列, 探讨鸱形目、隼形目和夜鹰目鸟类的系统进化关系, 为鸟类分类系统研究提供部分新数据.

1 材料与方法

1.1 实验动物

采集隼形目鸟类 2 科 4 种、鸱形目鸟类 2 科 3 种和夜鹰目鸟类 1 科 1 种, 共 8 个个体的血液样本, 并从 GenBank 下载了夜鹰目小夜鹰 (*Chordeiles acutipennis*)、隼形目游隼 (*Falco peregrine*) 和爬行纲鳄科的美洲短吻鳄 (*Alligator mississippi*) 的相应 12S rRNA 基因序列. 实验动物及其采集地点见表 1.

1.2 DNA 提取及测序

(1) 样品采集以及 DNA 的提取方法

DNA 样本通过蛋白酶 K 法 (酚氯仿抽提法) (Proteinase K method) 直接从鸟类新鲜血液中提取. 采用 PCR 反应扩增 12S rRNA 基因片段, 空白对照检测无条带. PCR 反应液直接寄往上海生工 (Sangon) 有限公司进行 DNA 测序.

(2) 引物设计

根据鸡 (*Gallus gallus*) 12S rRNA 基因及两端保守基因序列^[8], 设计了引物 L1987 (5'-GCA CAA ACT GGG ATT AGA TAC CCC ACT AT-3') 和 H1903 (5'-CCT GCG AGG AGG GTG ACG GGC GGT ATG T-3'), 由上海生工 (Sangon) 公司合成. L 和 H 分别代表线粒体 DNA 的重链和轻链, 编号与鸡 mtDNA 序列位置相对应.

(3) PCR 反应条件

收稿日期: 2006-01-08

基金项目: 国家自然科学基金 (30570254) 和福建省自然科学基金 (D0510001) 资助

作者简介: 雷霆 (1981-), 男, 硕士研究生.

* 通讯作者: xlcher@xmu.edu.cn

表 1 实验动物的物种名,分类地位和采集地
Tab 1 Species classification and collection location of experimental animals

经典分类地位*	物种名称	来 源
鸟纲		
1. 隼形目 Falconiformes		
(1) 鹰科 Accipitridae	普通鵟 <i>Buteo buteo</i>	厦门
	松雀鹰 <i>Accipiter virgatus</i>	厦门
	鹰雕 <i>Spizaetus nipalensis</i>	厦门
(2) 隼科 Falconidae	游隼 <i>Falco peregrine</i>	GenBank 下载 LOCUS (NC_000878)**
	红隼 <i>Falco tinnunculus</i>	厦门
2. 鸮形目 Strigiformes		
(3) 鸱鸃科 Strigidae	红角鸮 <i>Otus scops</i>	厦门
	黄嘴角鸮 <i>Otus spilocphalus</i>	厦门
(4) 草鸮科 Tytonidae	草鸮 <i>Tyto capensis</i>	厦门
3. 夜鹰目 Caprimulgiformes		
(5) 夜鹰科 Caprimulgidae	普通夜鹰 <i>Caprimulgus indicus</i>	厦门
	小灰眉夜鹰 <i>Chordeiles acutipennis</i>	GenBank 下载 LOCUS(AF173590)
爬行纲		
4. 鳄目 Crocodilia		
(6) 鳄科 Crocodylidae	美洲短吻鳄 <i>Alligator mississippi</i>	GenBank 下载 LOCUS(AMMTDNACG)

注: * 分类按照郑光美 (2005)^[5]; ** GeneBank 登陆号.

PCR 引物参考 PCR 扩增的 30 μL 反应体系包括: 3 μL 10 × PCR buffer(Mg²⁺ Free); 1.5 μL (25 mmol/L) MgCl₂; 2 μL (各 2.5 mmol/L) dNTP Mixture; 0.2 μL 5 U/μL 的 Taq 酶; 引物各 0.5 μL; 1 μL DNA 模板、双蒸水 21.3 μL.

PCR 反应参数为: (step1) 94 °C 预变性 3 min; (step2) 94 °C 变性 40 s, 53 °C, 复性 30 s, 72 °C 延伸 40 s; (step3) 72 °C 延伸 7 min; (step4) 4 °C 保存. 其中 step2 设置 30 个循环. 为了避免污染, 每次反应均设立不含模板的空白对照.

(4) DNA 序列测定

PCR 反应原液直接寄往上海生工 (Sangon) 公司, 纯化 DNA 样品并测序. 测序结果在 DNASTar 软件 (DNASTar Inc. 1996) 进行编辑, 编辑后的序列在 GenBank 中进行 BLAST^[9] 搜寻, 确认扩增基因是本研究所需要的目的基因.

1.3 数据分析方法

DNA 序列采用 ClustalX^[10] 进行比对, 并计算物种间的 DNA 序列差异. 使用 MEGA2.0^[11] 软件处理并分析数据. 构建进化树时使用 UPGMA 法, NJ 法 (Neighbor-joining method), ME 法 (Minimum evolution method) 和 MP 法 (Maximum parsimony method) 法重建系统

进化树, 分别采用 p-distance、Kimura 2-Parameter distance 和 Tamura-Nei distance 计算遗传距离, DNA 序列中颠换和转换赋予同等加权, 删除成对缺失数据. 系统发育树中分支的自举置信水平 (Bootstrap confidence level, BCL) 采用自引导值 (Bootstrap value) 进行评价, 重复次数为 1 000 次. 聚类分析中采用爬行纲鳄科美洲短吻鳄 (*Alligator mississippi*) 的相应序列作为外群.

2 结果与分析

2.1 12S rRNA 序列的比对

测序获得了 7 种猛禽鸟类和 1 种夜鹰目鸟类的 12S rRNA 基因序列, 测序结果从 405 bp 到 420 bp 不等. 经过 ClustalX 比对后, 切齐两端序列, 总长度为 415 bp. 可变位点有 181 个, 简约信息位点有 122 个, 单一位点有 58 个. 10 种鸟类的 12S rRNA 基因片段变异度丰富. 碱基的变化主要是转换和颠换, 插入和缺失占 3.86%. 各物种间 A、T、C、G 4 种碱基的平均含量分别为 30.6%、18.5%、30.6%、21.3%. A + T 的含量 (49.1%) 约等于 G + C 的含量 (51.9%).

不同物种序列间碱基替代情况和基于 p-distance 模型校正后遗传距离的关系见表 2. 从表 2 可以看出, 在已获得 12S rRNA 基因片段的 10 种鸟类中, 红隼和黄嘴角鸮的遗传距离最大, 为 0.245. 内群间的遗传距

表 2 猛禽和夜鹰类 12S rRNA 基因片段的碱基替代数与遗传距离关系

Tab 2 Transitions/transversions numbers of 12S rRNA genes sequences and genetic distance in raptors and nighthawks

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1		35/22	30/4	39/25	49/21	46/23	38/24	48/23	50/38	54/29	64/62
2	0.143		38/20	42/35	50/33	51/35	37/39	34/38	41/46	46/40	63/65
3	0.085	0.145		39/21	46/21	39/21	35/22	44/22	46/34	45/25	69/58
4	0.160	0.193	0.150		42/21	40/30	38/27	45/27	50/38	51/28	64/60
5	0.177	0.210	0.169	0.159		41/11	46/26	48/25	55/42	60/34	67/67
6	0.174	0.217	0.151	0.176	0.130		44/26	44/25	48/44	50/38	61/64
7	0.158	0.194	0.146	0.165	0.184	0.179		32/4	36/35	42/29	65/60
8	0.181	0.184	0.169	0.183	0.187	0.177	0.091		46/34	51/24	69/56
9	0.221	0.220	0.202	0.221	0.245	0.232	0.179	0.198		20/10	60/57
10	0.209	0.218	0.177	0.199	0.238	0.222	0.179	0.190	0.075		62/51
11	0.318	0.326	0.322	0.313	0.340	0.317	0.318	0.319	0.294	0.285	

注: 上三角的数据为转换 颠换数, 下三角为遗传距离; 1—普通鵟, 2—鹰雕, 3—松雀鹰, 4—草鵟, 5—黄嘴角鵟, 6—红角鵟, 7—普通夜鹰, 8—小灰眉夜鹰, 9—红隼, 10—游隼, 11—美洲短吻鳄。

离在 0.075~0.245 之间. 内群间总遗传距离的平均值是 0.179. 包括外群在内的总遗传距离的平均值是 0.204. 隼科 2 个物种与其它 8 种鸟类的平均遗传距离为 0.209, 超过了 10 种鸟类间的平均遗传距离, 也超过所有物种间的总遗传距离的平均值. 10 种研究物种与外群的遗传距离在 0.285~0.340 之间. 其中隼科 2 种鸟类和鹰科 3 种鸟类之间的平均遗传距离为 0.208, 超过了隼科与鵟形目之间、隼科与夜鹰目之间的遗传距离. 红隼与游隼之间、普通鵟和松雀鹰之间的遗传距离最小, 分别只有 0.075 和 0.085.

分别以序列中的转换和颠换距离为纵坐标, 遗传距离为横坐标作二维散点图 (图 1). 从图 1 中可以看

呈线性增加, 未出现饱和现象.

2.2 构建系统进化树

本文在构树时选用不同参数模型和不同构树方法, 对进化树结果进行多重比较. 重建的 10 种猛禽鸟类的系统发生树如图 2 所示. 在 12 个分支图中, 都一致显示游隼和红隼先组成一个单系分化出来, BCL 值为 99~100, 置信度非常高. 猛禽和夜鹰类各科之间, 各物种与外群之间均形成明显的差异, 置信度值均较高, 数据可靠. 在其它 8 个物种构树时, 选用不同的方法构建的系统进化树有所不同.

分别使用 MP 法和 UPGMA 法构树 (图 2 的 A1、A4、B1、B4、C1、C4), 其中 UPGMA 法分别选择 Kimura2-Parameter distance、Tamura-Nei distance 或 p-distance 参数模型, 从图中可以看到, 游隼和红隼最先聚成一个分支, 然后夜鹰目夜鹰科的 2 种夜鹰聚成一个小分支, 然后是鹰科 3 种鸟类聚成一支, 鵟形目 3 种鸟类聚成一支.

分别使用 MP 法和 UPGMA 法构树 (图 2 的 A1、A4、B1、B4、C1、C4), 选择 Kimura2-Parameter distance、Tamura-Nei distance 或 p-distance 作为参数模型, MP 法计算 3 次, 红隼和游隼同样是先聚成一个分支, 但是这两种方法构建的系统进化树与 NJ 法或 ME 法存在部分差异: 草鵟科草鵟单独分成一个单系, 与鹰科 3 种鸟类、夜鹰科 2 种鸟类和仓鵟科 2 种鸟类成平行关系, 很难判断出它们之间的系统进化关系. 其中, 鹰科 3 种鸟类中, 松雀鹰和普通鵟的亲缘关系较近; 鵟形目 3 种鸟类中, 仓鵟科 2 种鸟类红角鵟和黄嘴角鵟的关系较近.

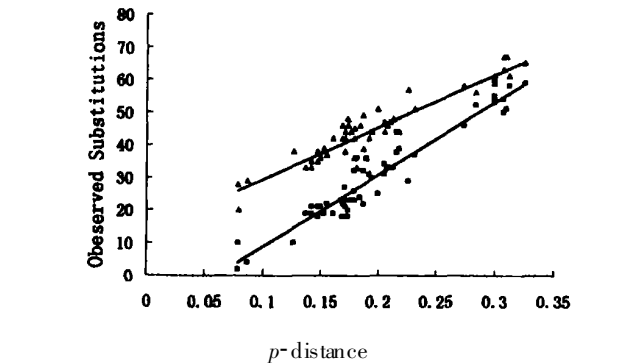
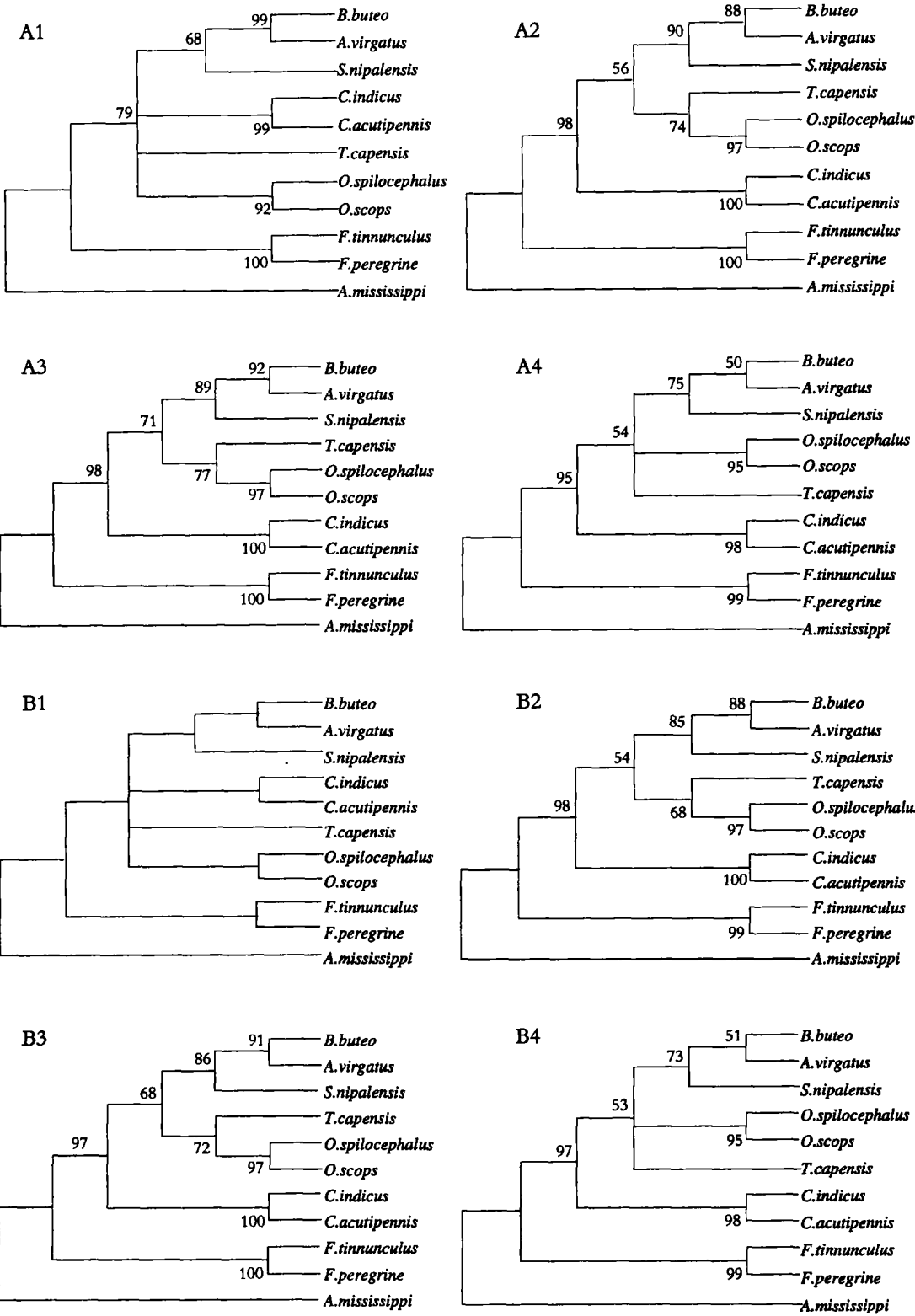


图 1 猛禽和夜鹰类 12S rRNA 碱基替代情况
注: “▲”为碱基转换数, “■”为碱基颠换数, 直线分别为碱基替代数与遗传距离的回归线

Fig 1 Substitution patterns of 12S rRNA genes sequences in raptors and nighthawks

出, 猛禽和夜鹰类 12S rRNA 基因碱基变异是转换多于颠换, 而且随着差异程度的增加, 碱基转换与颠换数均



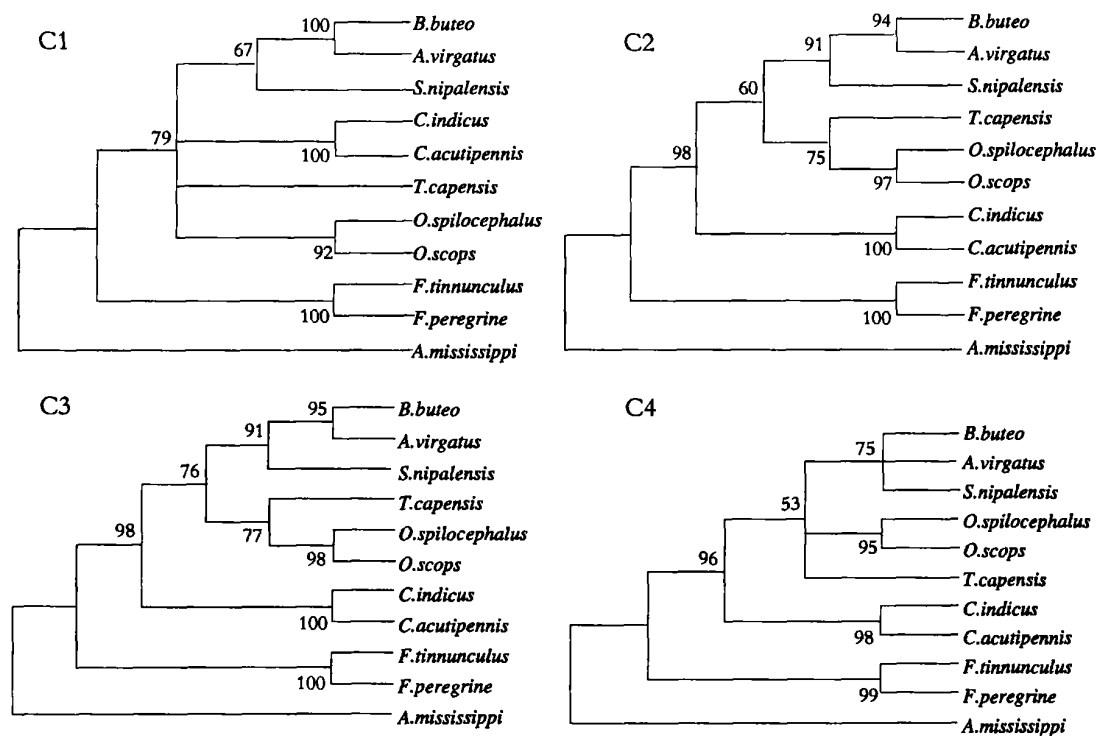


图 2 猛禽和夜鹰类的 12S rRNA 基因聚类关系
注: 图中 A1~C4 为选用不同的方法构建的系统进化树, 其中:

A1 K inura 2-Parameter distance	UPGMA	A2 K inura 2-Parameter distance	NJ
A3 K inura 2-Parameter distance	ME	A4	MP
B1 Tamura-Nei distance	UPGMA	B2 Tamura-Nei distance	NJ
B3 Tamura-Nei distance	ME	B4	MP
C1 p-distance	UPGMA	C2 p-distance	NJ
C3 p-distance	ME	C4	MP

Fig 2 Phylogenetic trees of raptors and night hawks based on 12S rRNA genes sequences

3 讨 论

在本研究中,隼形目隼科最早形成一个单系分化出来,与隼形目鹰科存在较远的亲缘关系.隼形目鹰科与隼科之间具有较大的遗传变异性,但隼科的种间遗传距离很小,只有 0.075.鹰科的种间遗传距离也非常小,普通鵟和松雀鹰之间的遗传距离也是 0.085.该结果提示,红隼与游隼、松雀鹰与普通鵟是本研究物种中亲缘关系最近的两对物种.王翔等^[12]在对 15 种猛禽鸟类线粒体 rRNA 基因研究中发现,猛禽鸟类 rRNA 线粒体的个体间差异一般在 0.019~0.171 之间,平均值为 0.081.在本研究中,隼形目鹰科与隼科之间 12S rRNA 基因的平均遗传距离为 0.208,远超过猛禽鸟类 rRNA 基因的平均遗传距离,也超过了其它鸟类线粒体基因的平均值^[13,14].根据该数据所得出的隼科与鹰科的分类关系与前人的研究存在显著分歧^[4,5,15].隼科鸟类和鹰科鸟类之间表现出较高的遗

传变异性,有关隼形目的进化关系以及隼形目在 12S rRNA 基因上的快速突变现象有待于进一步研究.另外,卞小庄等对鸟类核型的研究显示,隼形目隼科和鹰科鸟类的核型各有自己的特点^[16].这也从一个方面反映了隼形目鸟类在基因上存在着较大的差异.

Sibley 等根据 DNA-DNA 杂交资料^[7,17],将鸢形目分为鸢亚目和夜鹰亚目两大类群.本研究所检测的 3 种鸢形目鸟类和 2 种夜鹰目鸟类中,两者并无明显的亲缘关系,各自聚成一个分支.与夜鹰目相比,鸢形目和隼形目鹰科鸟类的亲缘关系较近.因此,本结果不支持将鸢形目和夜鹰目合并为鸢形目,与 Sibley^[17]等的 DNA-DNA 杂交结果存在分歧;与王翔等^[12]对猛禽类线粒体 rRNA 基因的研究结果基本相同.本文通过对草鸢科草鸢的 12S rRNA 基因研究表明:与隼形目鹰科相比,同为鸢形目的草鸢科与鸢科之间的亲缘关系更近,符合传统分类学观点^[4,5].但王翔等^[12]根据 rRNA 基因使用不同参数设置构建系统进化树,认为草

鸱科仓鸱应归入隼形目鹰科,与传统分类学的研究结果不一致;在鸱鸺科的系统分类问题方面,王翔等利用 rRNA 基因全序列构建的系统进化树认为鸱形目鸱鸺科的红角鸱与隼形目鹰科鸟类间的关系较近,与鸱形目其它科鸟类关系较远,同传统分类学的观点存在显著差异^[4 5 15 18 19];但在利用 rRNA 茎区序列分析红角鸱与隼形目鹰科和鸱形目鸱鸺科的亲缘关系时,则同传统分类观点一致;根据该现象提示,鸱形目鸟类在 DNA 分子进化上的问题可能要通过选择更长的线粒体基因片断或是选择其它核内基因来作为解决系统进化问题的依据。

本文在构树时选用不同的参数模型: *p*-distance, Kimura 2-Parameter distance 和 Tamura-Nei distance, 对构树结果没有明显影响;但在构树时选用不同的构树方法:UPGMA、ME、NJ 和 MP, 对构树结果引起局部差异。ME 法和 NJ 法相似,都是基于寻找树枝总长最短的树形,但是 NJ 法不对所有可能的树形进行分析,而是利用启发性 (Heuristic methods) 推算出符合的树形,将最接近的序列依次连接,所获得的结果通常与 ME 树形相差不远。UPGMA 法具有广泛的应用,在描述近缘物种间常使用此法。MP 法以各种假设的进化数学模型对数据进行检验,选出具有最大似然函数的模型构树,以解释进化过程。本研究采用了 3 种参数结合 4 种构树方法分别构建了 12 种系统进化树,结果基本趋于一致,较客观真实地反应了猛禽与夜鹰类的系统进化关系;但是部分系统分枝存在差异,需要采用更丰富的 DNA 信息来进一步分析。

转换和颠换的替代比率是鉴别分歧水平的重要性特征之一^[20~22]。转换和颠换比率随着遗传距离的增加未出现饱和情况,而是呈稳定的线性增长,证明 12S rRNA 基因能够提供可靠的遗传变异信息,适合作为鸟类分子进化的研究材料。本研究在检测物种的数量上和目的基因的长度上还存在一定的局限性,通过更长的线粒体基因序列或是结合核内基因序列,将更有利于猛禽鸟类系统进化关系的研究。

参考文献:

- [1] Simon C, Frati F, Bechenback A, et al. Evolution, weighting and phylogenetic utility of mitochondrial gene sequences and a compilation of conserved polymerase chain reaction primers [J]. *Ann Entomol Soc Am.*, 1994, 87 (6): 651–701
- [2] Mindell D P, and Honeycutt R L. Ribosomal RNA in vertebrates: evolution and phylogenetic applications [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1990, 21: 541–566
- [3] 高玮. 中国隼形目鸟类生态学 [M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [4] 郑作新. 中国鸟类系统检索 [M]. 北京: 科学出版社, 2002
- [5] 郑光美. 中国鸟类分类与分布名录 [M]. 北京: 科学出版社, 2005 29–45 116–128
- [6] 郑作新. 中国动物志—鸟纲, 第六卷 (鸱形目) [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 141–146
- [7] Sibley C G, Ahlquist J E, Monroe B L. A classification of the living birds of the world based on DNA-DNA hybridization studies [J]. *A Quarterly Journal of Ornithology*, 1988, 105 (3): 409–423
- [8] Desjardins P, Morais R. Sequence and gene organization of the chicken mitochondrial genome: a novel gene order in higher vertebrates [J]. *Mol Biol*, 1990, 212 (4): 599–634
- [9] Altschul S F, Madden T L, Schaffer A A, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs [J]. *Nucleic Acids Res.*, 1997, 25 (17): 3389–3402
- [10] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, et al. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools [J]. *Nucleic Acids Research*, 1997, 25 (24): 4876–4882
- [11] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, et al. MEGA2: molecular evolutionary genetics analysis software [J]. *Bioinformatics*, 2001, 17 (12): 1244–1245
- [12] 王翔, 孙毅, 袁晓东, 等. 猛禽类 15 种鸟类线粒体 rRNA 基因序列及二级结构的比较研究 [J]. *遗传学报*, 2004, 31 (4): 411–419
- [13] Ericson P G P, Johansson U S. Phylogeny of Passerida (Aves: Passeriformes) based on nuclear and mitochondrial sequence data [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2003, 29: 126–138
- [14] 陈晓芳, 王翔, 袁晓东, 等. 鸮形目 12 种鸟类线粒体细胞色素 b 基因序列差异及其系统发育关系 [M]. *遗传学报*, 2003, 30 (5): 419–424
- [15] Mindell D P, Sorenson M D, Huddleston C J, et al. Phylogenetic relationships among and within select avian orders based on mitochondrial DNA [M] // Mindell D P, eds. *Avian Molecular Evolution and Systematics*. New York: Academic Press, 1997: 214–247.
- [16] 卞小庄, 李庆伟, 张恒庆. 鸟类核型研究 (隼形目 9 种) [J]. *动物学杂志*, 1989, 24 (4): 11–3
- [17] Sibley C G, Ahlquist J E. Replication of animal mitochondrial DNA [J]. *Cell*, 1982, 28 (4): 693–705
- [18] Li Qing Wei, Lin Jin, Wen Wei, et al. Diversity of Mitochondrial DNA in eight species of Strigiformes [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1998, 44 (1): 94–101
- [19] 高玮. 鸟类分类学 [M]. 长春: 东北师范大学出版社, 1992
- [20] Pereira S L, Grau E T, Wajntal A. Evolutionary genomics in metazoans: Molecular architecture and rates of DNA substitutions of the mitochondrial control region of cracid birds [J]. *Genome*, 2004, 47 (3): 535–545
- [21] Griffiths C S, Barrowclough G F, Groth J G, et al. Phylog-

eny of the Falconidae: a comparison of the efficacy of morphological, mitochondrial and nuclear data[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 32: 101– 109.

[22] Xia Xuhua, Xie Zheng, Marco Salmeri, et al. An index of substitution saturation and its application[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2003, 26: 1– 7.

Sequence Comparison of Mitochondrial DNA and Phylogenetic Evolution in Raptors and Nighthawks

LEI Ting CHEN Xiao-lin*
(School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract The 415 basepair fragments of the mitochondrial 12S rRNA genes from raptors and nighthawks were determined and compared in this paper. Their phylogenetic relationships were assessed by MEGA 2.1 software to reconstruct phylogenetic trees. The results showed that the genetic variation of raptors and nighthawks was abundant. The Substitution patterns of 12S rRNA genes indicated that the phylogenetic relationship was truthfully reflected. Phylogenetic analysis showed that Accipitridae were closer to Strigiformes and Caprimulgiformes than to Falconidae, which suggesting that they might have great genetic variation, and that there was a farther relationship between Strigiformes and Caprimulgiformes. The result obtained did not support the view merging the Strigiformes and Caprimulgiformes into one Strigiformes.

Key words raptor; molecular evolution; mitochondrial DNA