

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

# 生态学报

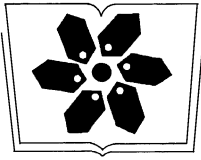
## Acta Ecologica Sinica



第32卷 第5期 Vol.32 No.5 **2012**

中国生态学学会  
中国科学院生态环境研究中心  
科学出版社

主办  
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

# 生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 5 期      2012 年 3 月 (半月刊)

## 目 次

淀山湖富营养化过程的统计学特征 .....	程 曦, 李小平, 陈小华 (1355)
拟水狼蛛对食物中镉的吸收和排泄及生物学响应 .....	张征田, 张光铎, 张虎成, 等 (1363)
接种后共培养时间对丛枝菌根喜树幼苗喜树碱含量的影响 .....	于 洋, 于 涛, 王 洋, 等 (1370)
沙尘暴发生日数与空气湿度和植物物候的关系——以民勤荒漠区为例 .....	常兆丰, 王耀琳, 韩福贵, 等 (1378)
西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性及其遗传分化 .....	张成福, 徐利娟, 姬秋梅, 等 (1387)
红松阔叶混交林林隙土壤水分分布格局的地统计学分析 .....	李 猛, 段文标, 陈立新, 等 (1396)
黄土丘陵区子午岭不同植物群落下土壤氮素及相关酶活性的特征 .....	邢肖毅, 黄懿梅, 黄海波, 等 (1403)
毛竹高速生长期土壤碳氮动态及其微生物特性 .....	王雪芹, 张奇春, 姚槐应 (1412)
长期 N 添加对典型草原几个物种叶片性状的影响 .....	黄菊莹, 余海龙, 袁志友, 等 (1419)
接种 AMF 对菌根植物和非菌根植物竞争的影响 .....	张宇亭, 王文华, 申 鸿, 等 (1428)
福州大叶榕隐头果内的小蜂群落结构与多样性 .....	吴文珊, 陈友铃, 蔡美满, 等 (1436)
不同生境朝鲜淫羊藿生长与光合特征 .....	张永刚, 韩 梅, 韩忠明, 等 (1442)
基于日均温度的华山松径向生长敏感温度研究 .....	封晓辉, 程瑞梅, 肖文发, 等 (1450)
长江三峡库区蝶类群落的等级多样性指数 .....	马 琦, 李爱民, 邓合黎 (1458)
甜瓜幼苗叶片光合变化特性 .....	韩瑞锋, 李建明, 胡晓辉, 等 (1471)
双季稻田种植不同冬季作物对甲烷和氧化亚氮排放的影响 .....	唐海明, 肖小平, 帅细强, 等 (1481)
古尔班通古特沙漠西部地下水位和水质变化对植被的影响 .....	曾晓玲, 刘 彤, 张卫宾, 等 (1490)
流溪河水库颗粒有机物及浮游动物碳、氮稳定同位素特征 .....	宁加佳, 刘 辉, 古滨河, 等 (1502)
采用本土蔬菜种子替代水藓评价污泥有机腐熟度 .....	刘颂颂, 许田芬, 吴启堂, 等 (1510)
人为营养物质输入对汉丰湖不同营养级生物的影响——稳定 C、N 同位素分析 .....	李 斌, 王志坚, 金 丽, 等 (1519)
流沙湾海草床海域浮游植物的时空分布及其影响因素 .....	张才学, 陈慧妍, 孙省利, 等 (1527)
福寿螺的过冷却研究 .....	赵本良, 章家恩, 罗明珠, 等 (1538)
水稻生育期对褐飞虱和白背飞虱卵巢发育及起飞行为的影响 .....	陈 宇, 傅 强, 赖凤香, 等 (1546)
绿盲蝽越冬卵的耐寒能力 .....	卓德干, 李照会, 门兴元, 等 (1553)
陆桥岛屿环境下社鼠种群数量的估算方法 .....	张 旭, 鲍毅新, 刘 军, 等 (1562)
北京市居民食物消费碳足迹 .....	吴 燕, 王效科, 逯 非 (1570)
社会经济系统磷物质流分析——以安徽省含山县为例 .....	傅银银, 袁增伟, 武慧君, 等 (1578)
内陆河流域试验拍卖水权定价影响因素——以黑河流域甘州区为例 .....	邓晓红, 徐中民 (1587)
<b>专论与综述</b>	
台风对森林的影响 .....	刘 斌, 潘 澜, 薛 立 (1596)
海洋酸化对珊瑚礁生态系统的影响研究进展 .....	张成龙, 黄 晖, 黄良民, 等 (1606)
三种外来入侵斑潜蝇种间竞争研究进展 .....	相君成, 雷仲仁, 王海鸿, 等 (1616)
沉积物生源要素对水体生态环境变化的指示意义 .....	于 宇, 宋金明, 李学刚, 等 (1623)
异化 Fe(III) 还原微生物研究进展 .....	黎慧娟, 彭静静 (1633)
<b>问题讨论</b>	
锡林郭勒盟生态脆弱性 .....	徐广才, 康慕谊, Marc Metzger, 等 (1643)
<b>研究简报</b>	
哥斯达黎加外海夏季表层浮游动物种类组成及分布 .....	刘必林, 陈新军, 贾 涛, 等 (1654)



**封面图说:** 气候变暖下的北极冰盖——自从 1978 年人类对北极冰盖进行遥感监测以来, 北极冰正以平均每年 8.5% 的速度持续缩小, 每年 1500 亿吨的速度在融化。这使科学家相信, 冰盖缩小的根本原因是全球变暖。北极的冰盖消失, 让更大面积的深色海水暴露出来, 使海水吸收更多太阳热辐射反过来又加剧冰盖融化。由于北极冰的加速融化, 北冰洋的通航已经成为 21 世纪初全球最重要的自然地理事件和生态事件。从这张航片可以看到北极冰缘正在消融、开裂崩塌的现状。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201101230116

张成福, 徐利娟, 姬秋梅, 信金伟, 钟金城. 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性及其遗传分化. 生态学报, 2012, 32(5): 1387-1395.

Zhang C F, Xu L J, Ji Q M, Xin J W, Zhong J C. Genetic diversity and evolution relationship on mtDNA D-loop in Tibetan yaks. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(5): 1387-1395.

## 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性 及其遗传分化

张成福<sup>1</sup>, 徐利娟<sup>2</sup>, 姬秋梅<sup>1</sup>, 信金伟<sup>1</sup>, 钟金城<sup>2,\*</sup>

(1. 西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所, 拉萨 850000;

2. 动物遗传育种学国家民委-教育部重点实验室, 西南民族大学, 成都 610041)

**摘要:**通过测定和分析西藏 11 个牦牛类群 114 个个体的 mtDNA D-loop 区全序列, 对西藏牦牛的遗传多样性、类群间的亲缘关系及其遗传分化进行了研究。结果表明:①西藏牦牛 mtDNA D-loop 区全序列长度为 890—896 bp, 4 种核苷酸 T、C、A、G 的平均比例分别为 28.5%、25.3%、32.4%、13.8%, 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区富含碱基 A+T, 表现出一定的碱基偏好性。②共检测到 130 个变异位点, 占分析总位点数的 14.33%; 其中单一多态位点 85 个, 占多态位点总数的 65.38%, 简约信息位点 45 个, 占多态位点总数的 34.62%。序列变异中碱基缺失、插入和碱基替换等均有, 其中碱基替换变异类型中转换 114 次, 颠换 12 次, 在转换变异类型中以 A/G、T/C 为主, 占 95.61%, 在颠换变异类型中以 A/T 为主, 占 75%。③在 114 个个体中鉴定出 90 种单倍型, 单倍型多样性为  $0.981 \pm 0.008$ , 核苷酸多样性为  $0.01056 \pm 0.00701$ , 均说明西藏牦牛具有丰富的单倍型类型。④90 种单倍型分为 2 个聚类簇 (I、II), 聚类簇 I 包含 80 种单倍型, 占全部单倍型的 88.89%, 涵盖本研究中所有的西藏牦牛类群; 聚类簇 II 中有 10 种单倍型, 占单倍型总数的 11.11%, 涉及的类群有工布江达、帕里、丁青、巴青、江达、类乌齐、桑桑、桑日、斯布, 说明西藏牦牛可能有 2 个母系起源。⑤西藏牦牛类群间核苷酸分歧度 ( $D_{xy}$ ) 在 0.503%—1.416% 之间, 聚类分析和 AMOVA 分析显示西藏牦牛可分为两大类, 康布牦牛、嘉黎牦牛为一类, 其余的牦牛类群为另一类。

**关键词:** 西藏牦牛; mtDNA D-loop 区; 遗传多样性

## Genetic diversity and evolution relationship on mtDNA D-loop in Tibetan yaks

ZHANG Chengfu<sup>1</sup>, XU Lijuan<sup>2</sup>, JI Qiumei<sup>1</sup>, XIN Jinwei<sup>1</sup>, ZHONG Jincheng<sup>2,\*</sup>

1 Institute of Animal Science and Veterinary Medicine, Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Autonomous Region, Lhasa 850000, China

2 Key Laboratory of Animal Genetics and Breeding, State Ethnic Affairs Commission and Ministry of Education, Southwest University for Nationalities, Chengdu 610041, China

**Abstract:** To investigate the genetic diversity, clustering relationships and genetic differentiation of Tibetan yak (*Bos grunniens*) populations, we analyzed the complete sequence of the mitochondrial DNA control region (D-loop) of 114 individuals from 11 yak populations. To clarify the origin, phylogeny and taxonomic position of *B. grunniens*, we retrieved a further 48 D-loop sequences from five diverse populations of *B. runniens*, resulting in 162 sequences from 16 populations in total. Results showed some nucleotide bias in the 890—896bp bp Tibetan yak mtDNA D-loop sequence, with nucleotide frequencies of 28.5%, 25.3%, 32.4% and 13.8% for T, C, A and G respectively. A total of 90 haplotypes were identified, with 130 polymorphic sites (14.33% of total analyzed sites). Of these, 45 sites represented single nucleotide polymorphisms; while a further 85 sites were parsimony-informative. The population haplotype diversity ranged from 0.93—

基金项目: 西藏自治区重点科研项目计划资助(20092-1)

收稿日期: 2011-01-23; 修订日期: 2011-10-31

\* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zhongjincheng518@126.com

1.00 with an average of  $0.98 \pm 0.008$ , indicating a high level of genetic diversity within Tibetan yak populations. The majority of polymorphisms were A/G and T/C transitions or A/T transversions. Polymorphisms were more frequent in the Sangri yak and Baqing yak populations, and occurred less frequently in the Kangbu yak and Jiali yak populations. The 90 haplotypes were divided into two clusters by constructing a network relationship chart. This result suggests that Tibetan yaks may be derived from two separate maternal lineages. The degree of nucleotide difference among the 11 populations ranged from 0.503%—1.416%. The Sangri and Baqing populations had the highest degree of difference, whereas the lowest difference was observed between the Kangbu and Jiali populations. Because of this data, we suggest an apparent genetic differentiation between the Sangri and Baqing populations. Tajima's test of selective neutrality was significant ( $0.01 < P < 0.05$ ) for the Leiwuqi yak, Dingqing yak, Jiangda yak, and Gongbujiangda yak populations, but not significant ( $P > 0.05$ ) for other populations. These results suggested that the Leiwuqi, Dingqi, Jiangda, and Gongbujiangda populations may have undergone expansions. The molecular variance among groups of the 16 Bovinae populations, as well as differences observed in the significant test, indicated that *Bison bison* is likely the ancestor of *B. grunniens*, and that there may be 2 maternal lineages. There also appears to be a high level of genetic diversity within Tibetan yak populations. The clustering relationship and analysis of molecular variance also suggested that Tibetan yak could be divided into two species. These study results not only provide an important theoretical basis for assessment and selection of genetic diversity in Tibetan yak populations, but are of great significance for elucidating the origin and classification of *B. grunniens*, and for the conservation of genetic resources.

**Key Words:** Tibetan yak; D-loop region of mitochondrial DNA; genetic diversity

牦牛 (*Bos grunniens*) 是世界上生活在海拔最高的珍稀牛种, 主要分布于海拔 3000m 以上, 以我国青藏高原为中心及其毗邻的高山、亚高山地区, 具有“高原之舟”和“全能家畜”的美誉<sup>[1]</sup>。中国牦牛数量占世界总数 1400 多万头的 92% 以上, 其中西藏有 415 万头<sup>[2]</sup>, 占全国总数的 30%。牦牛在藏区人民的生活中有着极其重要的作用, 除能提供优质的乳、肉、皮、绒等多种产品外, 牦牛还与藏族人民的生产、生活、文化、宗教等有着极密切的关系。十世班禅大师曾说过“没有牦牛就没有藏民族”。

动物线粒体 DNA (mitochondrial DNA, mtDNA) 具有结构简单、母系遗传、基因成分相对稳定、进化速度快, 且在种间、种内群体间以及群体内具有普遍的多态性等特点, 因而被作为探索物种 (或品种) 的起源、演化以及重建物种系统发育史的一个实用遗传标记<sup>[3-5]</sup>, 其中 D-loop 区的进化速度较快, 变异较大, 适于进行较近亲缘关系种间、种内的系统分类研究<sup>[6-8]</sup>。赖松家<sup>[9]</sup>、郭松长<sup>[10]</sup>、李齐发<sup>[11]</sup> 等对牦牛 mtDNA D-loop 区都有研究, 但目前对西藏牦牛的 mtDNA 遗传多样性及其遗传分化等方面至今未见系统的研究和报道。本研究以西藏 11 个牦牛类群为研究对象, 采用测序技术测定了牦牛 mtDNA D-loop 区全序列, 目的在于分析西藏牦牛的遗传多样性, 探讨西藏牦牛类群间的亲缘关系和遗传分化, 为西藏牦牛遗传多样性评估及选育提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物和材料

从西藏 11 个牦牛类群中, 选取健康成年的牦牛 114 头, 采集耳组织, 75% 乙醇保存带回实验室, 存于  $-80^{\circ}\text{C}$  的冰箱中备用。西藏 11 个牦牛类群样本信息及分布见表 1 和图 1。

### 1.2 基因组 DNA 的提取及检测

采用动物组织基因组 DNA 提取试剂盒 (TianGen 生物技术公司) 提取基因组 DNA, 用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法检测 DNA 的纯度和浓度, 稀释成  $100\text{ng}/\mu\text{L}$ ,  $-20^{\circ}\text{C}$  保存备用。

### 1.3 mtDNA D-loop 区序列的扩增及测序

参照 NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 上已有牦牛 mtDNA D-loop 区序列 (GenBank Accession No: NC\_006380), 使用 Primer Premier 5.0 软件设计引物, 由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司 (cnservice.invitrogen.



com) 合成。引物序列为:DF:5'-CTACAGTCTCACCGTCAACC-3'与 DR:5'-TAAGAGTCAACAGGAAGGCT-3'。

PCR 反应总体积为 50 $\mu$ L,其中含模板 DNA1 $\mu$ L (100ng/ $\mu$ L),上下游引物各 2 $\mu$ L (10pmol/ $\mu$ L),Taq 混合酶 25 $\mu$ L,超纯水 20 $\mu$ L。

PCR 反应条件为:94 $^{\circ}$ C 预变性 4 min,32 个循环 (94 $^{\circ}$ C 变性 35 s,53 $^{\circ}$ C 退火 35 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min)后 72 $^{\circ}$ C 延伸 7 min。扩增产物用 1% 琼脂糖凝胶电泳检测其片段大小及亮度,然后用 DNA 胶回收试剂盒 (AXYGEN) 进行胶回收分离纯化,再连接到 pMDTM19-T 载体 (TaKaRa 公司)上,然后转化到高效感受态细胞 DH5 $\alpha$  中,在 LB 平板培养基 (含有 X-Gal、IPTG 和 Amp)上 37 $^{\circ}$ C 过夜培养,筛选阳性克隆在 LB 液体培养基 (含 Amp)中 37 $^{\circ}$ C 振荡培养 5h 左右。经菌液 PCR 鉴定重组子后,将重组质粒用 ABI 3730XL 全自动 DNA 测序仪进行序列测定。

表 1 样本信息

Table 1 List of samples used for analyses

分布区 Distribution in Tibet	品种(类群) Breeds (group)	样本数 No. of samples
拉萨	斯布牦牛	11
昌都	类乌齐牦牛	10
	丁青牦牛	10
	江达牦牛	10
山南	桑日牦牛	10
林芝	工布江达牦牛	10
日喀则	帕里牦牛	10
	桑桑牦牛	10
	康布牦牛	11
那曲	嘉黎牦牛	11
	巴青牦牛	11
合计 Total		114

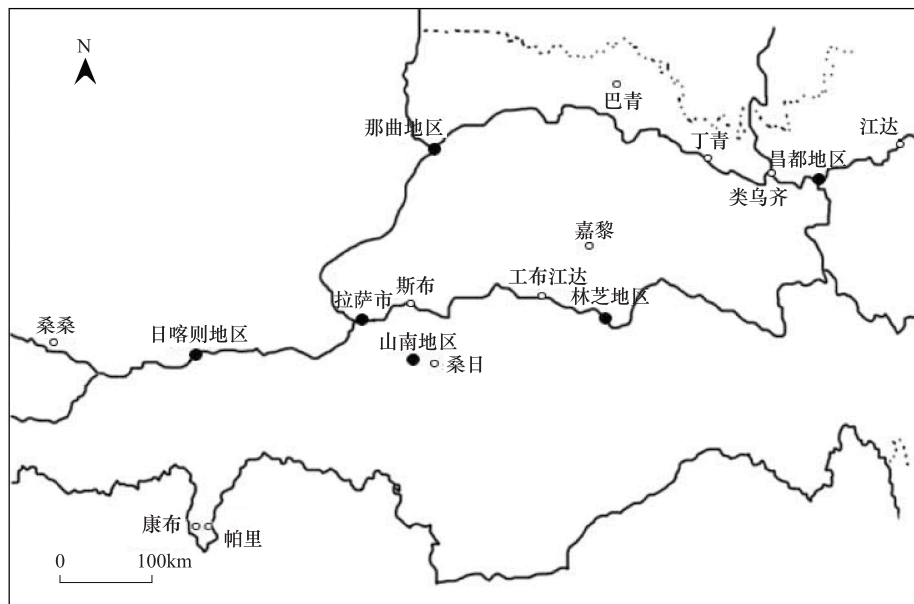


图 1 西藏牦牛类群分布

Fig. 1 Groups distribution of Tibetan yaks

#### 1.4 数据处理分析

用 DNASTar 软件对所测序列进行拼接、编辑、比对,并进行人工校对。MEGA Ver4.0 软件统计序列的长度和碱基组成,以及计算类群间的 Kimura 双参数距离并分别以邻接法 (Neighbor-Joining, NJ) 和最小进化法 (Minimum Evolution, ME) 及非加权平均值法 (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic means, UPGMA) 构建品种间聚类关系;DnaSP (4.10.9) 软件进行多态位点、单倍型多样性和核苷酸多样性分析;Network (4.1.10) 软件构建单倍型网络关系图;Arlequin (3.1.1) 软件中的分子方差分析 (Analysis of Molecular Variance, AMOVA) 和 Neutrality tests 模块分别进行牦牛的遗传分化分析和 Tajima's D 中性检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性

#### 2.1.1 序列长度与碱基组成

本研究测定了西藏的 11 个牦牛类群 114 个体的 mtDNA D-loop 区全序列,其长度为 890—896bp,T、C、A、G 等 4 种核苷酸的平均比例分别为 28.5% (28.1%—29.0%)、25.3% (24.7%—25.7%)、32.4% (32.0%—33.1%)、13.8% (13.0%—14.2%)。A+T 含量 60.9%,G+C 含量 39.1%,表明西藏牦牛 mtDNA D-loop 区富含碱基 A+T,表现出一定的碱基偏好性。

#### 2.1.2 序列的核苷酸多态性

全序列共有 130 个变异位点,其中单一多态位点 85 个,占多态位点总数的 65.38%,简约信息位点 45 个,占多态位点总数的 34.62%。序列变异中碱基缺失、插入和碱基替换等均有,其中碱基替换变异类型中转换 114 次,颠换 12 次,在转换变异类型中以 A/G、T/C 为主,占 95.61%,在颠换变异类型中以 A/T 为主,占 75%。总体上,西藏牦牛 mtDNA D-loop 区核苷酸多样性为  $0.01056 \pm 0.00701$ 。类群内的核苷酸多样性见表 2,桑日牦牛和巴青牦牛较高,分别为  $0.018977 \pm 0.010445$  和  $0.017024 \pm 0.009308$ ,而康布牦牛和嘉黎牦牛较低,分别为  $0.007062 \pm 0.004093$  和  $0.007815 \pm 0.004488$ 。类乌齐、丁青、江达、工布江达牦牛 Tajima's D 中性检验显著 ( $0.01 < P < 0.05$ ),其余均不显著 ( $P > 0.05$ ),表明类乌齐、丁青、江达、工布江达这 4 个类群可能出现过群体扩张模式;西藏牦牛类群间核苷酸分歧度 ( $D_{xy}$ ) 见表 3,各类群间的  $D_{xy}$  在 0.503%—1.416% 之间变化,嘉黎牦牛与康布牦牛  $D_{xy}$  最小,为 0.503%;巴青牦牛与桑日牦牛  $D_{xy}$  最大,为 1.416%;表明巴青牦牛和桑日牦牛间有着明显的遗传分化。

表 2 西藏牦牛类群内 mtDNA D-loop 区核苷酸多态性

Table 2 Nucleotide polymorphism of mtDNA D-loop within yak groups

类群 Groups	转换次数 No. of Ts.	颠换次数 No. of Tv.	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	Tajima's D	Tajima's D P-value
斯布	34	1	0.016234±0.008895	-0.33524	0.39870
类乌齐	40	2	0.013135±0.007356	-1.67461	0.03030
丁青	37	2	0.013566±0.007584	-1.66048	0.03680
巴青	44	0	0.017024±0.009308	-0.67313	0.25690
江达	40	3	0.014385±0.008017	-1.61487	0.04070
桑日	34	3	0.018977±0.010445	0.12123	0.58070
工布江达	38	6	0.013957±0.007790	-1.66212	0.03530
帕里	45	2	0.014955±0.008319	-1.55724	0.05080
桑桑	41	6	0.015739±0.008732	-1.48270	0.06670
康布	10	1	0.007062±0.004093	0.11338	0.57290
嘉黎	16	2	0.007815±0.004488	-1.17099	0.12260

表 3 西藏牦牛类群间核苷酸分歧度

Table 3 Nucleotide divergence between populations

类群 Groups	工布江达	康布	帕里	斯布	丁青	巴青	江达	类乌齐	嘉黎	桑桑
康布	0.785									
帕里	1.124	0.850								
斯布	1.134	0.918	1.213							
丁青	0.994	0.770	1.120	1.101						
巴青	1.231	1.028	1.323	1.272	1.203					
江达	1.035	0.796	1.144	1.154	1.025	1.259				
类乌齐	1.033	0.804	1.124	1.119	1.008	1.226	1.061			
嘉黎	0.791	0.503	1.903	0.924	0.758	1.018	0.823	0.800		
桑桑	1.095	0.840	1.186	1.197	1.088	1.308	1.121	1.102	0.871	
桑日	1.223	1.009	1.310	1.301	1.222	1.416	1.247	1.244	1.058	1.299

以上值均扩大了 100 倍

### 2.1.3 序列的单倍型

根据西藏牦牛 mtDNA D-loop 区全序列 130 个变异位点,在 114 个个体中鉴定出 90 种单倍型,其单倍型多样性为  $0.981 \pm 0.008$ ;而各类群的单倍型多样性(表 4)介于 0.9273 至 1.0000 之间,均表明西藏牦牛具有丰富的单倍型类型。

表 4 西藏牦牛类群内的单倍型多样性

Table 4 Haplotype diversity of D-loop within yak populations

类群 Groups	样本数 No. of samples	单倍型数 Number of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity
斯布	11	9	$0.9636 \pm 0.0510$
类乌齐	10	10	$1.0000 \pm 0.0447$
丁青	10	9	$0.9778 \pm 0.0540$
巴青	11	10	$0.9818 \pm 0.0463$
江达	10	9	$0.9778 \pm 0.0540$
桑日	10	9	$0.9778 \pm 0.0540$
工布江达	10	9	$0.9778 \pm 0.0540$
帕里	10	10	$1.0000 \pm 0.0447$
桑桑	10	10	$1.0000 \pm 0.0447$
康布	11	8	$0.9273 \pm 0.0665$
嘉黎	11	10	$0.9818 \pm 0.0463$

根据西藏牦牛 mtDNA D-loop 区单倍型序列的变异位点,运用 Network 4.5 软件作出西藏牦牛 mtDNA D-loop 区单倍型网络关系图(图 2)。结果 90 种单倍型分为 2 个聚类簇(I、II),聚类簇 I 包含 80 种单倍型,占全部单倍型的 88.89%,涵盖本研究中所有的西藏牦牛类群;聚类簇 II 中有 10 种单倍型,占单倍型总数的 11.11%,涉及的类群有工布江达、帕里、丁青、巴青、江达、类乌齐、桑桑、桑日、斯布,说明西藏牦牛可能有 2 个母系起源。

## 2.2 西藏牦牛的遗传分化

### 2.2.1 西藏牦牛类群间的遗传距离和聚类分析

西藏牦牛类群间的 Kimura 双参数遗传距离见表 5,数据显示遗传距离变异范围为 0.005—0.014。基于 Kimura 双参数距离,分别用邻接法(NJ)、最小进化法(ME)、非加权组平均法(UPGMA)对西藏牦牛 11 个类群进行聚类分析,其中 NJ 和 ME 聚类关系基本相似,NJ 和 UPGMA 聚类关系见图 3 和图 4。图 3 所示,康布牦牛和嘉黎牦牛先聚在一起,然后再和工布江达牦牛聚在一起;而图 4 所示,康布牦牛和嘉黎牦牛先聚在一起,然后再和类乌齐牦牛聚在一起。

表 5 西藏牦牛类群间 Kimura 双参数遗传距离

Table 5 Kimura 2-parameter genetic distance in Tibetan yak

类群 Groups	工布江达	康布	帕里	斯布	丁青	巴青	江达	类乌齐	嘉黎	桑桑
康布	0.008									
帕里	0.012	0.009								
斯布	0.012	0.009	0.012							
丁青	0.011	0.008	0.011	0.011						
巴青	0.013	0.010	0.013	0.013	0.012					
江达	0.011	0.008	0.012	0.012	0.010	0.013				
类乌齐	0.011	0.008	0.011	0.011	0.010	0.012	0.011			
嘉黎	0.008	0.005	0.009	0.009	0.008	0.010	0.008	0.008		
桑桑	0.012	0.009	0.012	0.012	0.011	0.013	0.011	0.011	0.009	
桑日	0.013	0.010	0.013	0.013	0.012	0.014	0.013	0.013	0.011	0.013

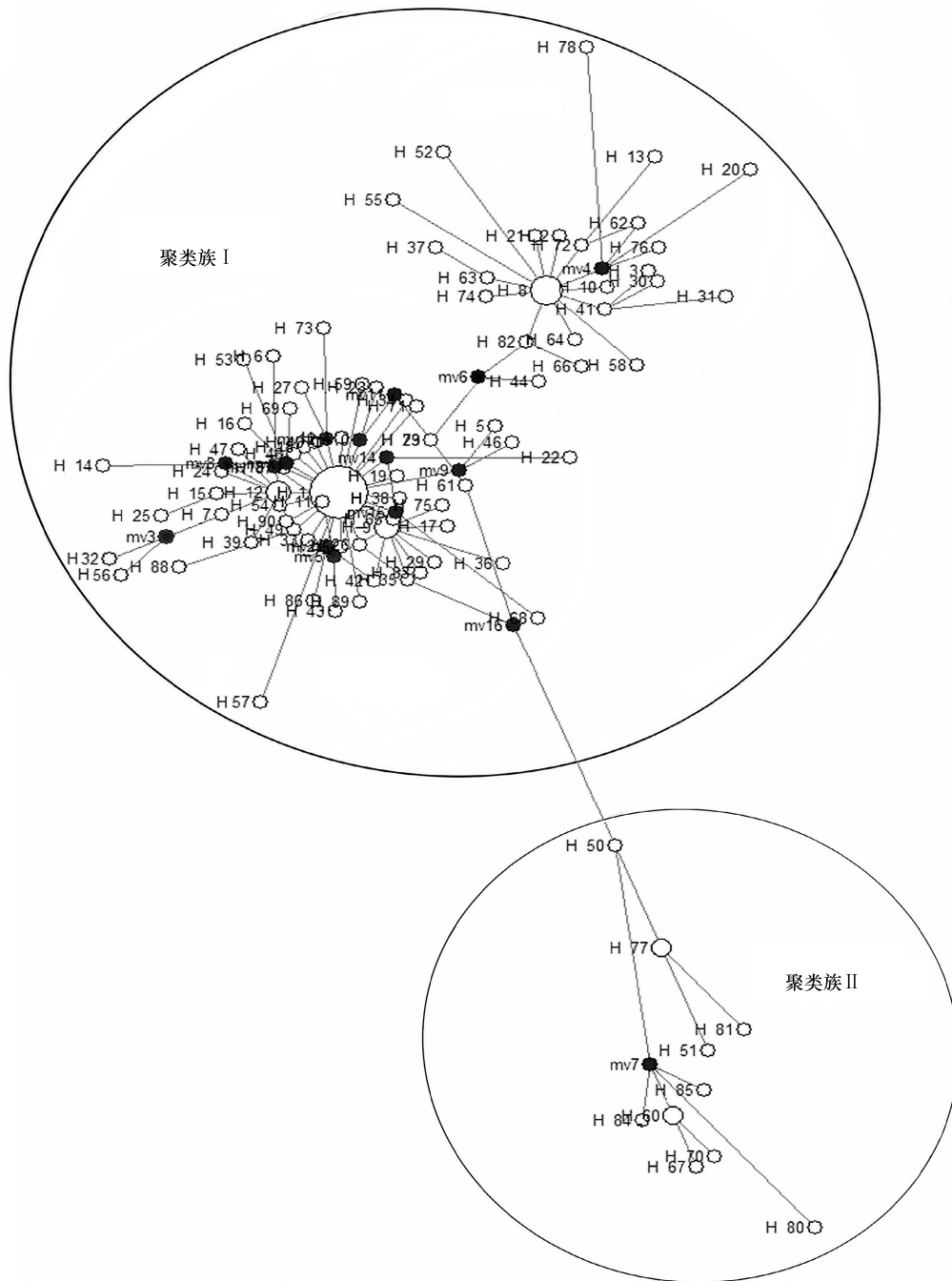


图2 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区 90 种单倍型网络关系图

Fig.2 Network relationship chart of 90 haplotypes of mtDNA D-loop in Tibetan yak

每个圆圈代表一种单倍型,其大小与该种单倍型出现的频率成正比

### 2.2.2 分子方差分析

根据西藏牦牛 11 个类群的聚类结果以及西藏牦牛序列的核苷酸多样性和单倍型多样性将西藏牦牛 11 个类群进行分组,计算各组间的分子方差,以  $F_{CT}$  表示组间分子方差统计量,并进行显著性检验,分组情况及分子方差分析结果见表 6,显示差异显著( $0.01 < P < 0.05$ )。

## 3 讨论

### 3.1 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性

本研究测定了 11 个西藏牦牛类群共 114 个个体的 mtDNA D-loop 区全序列,序列长度为 890—896bp,发



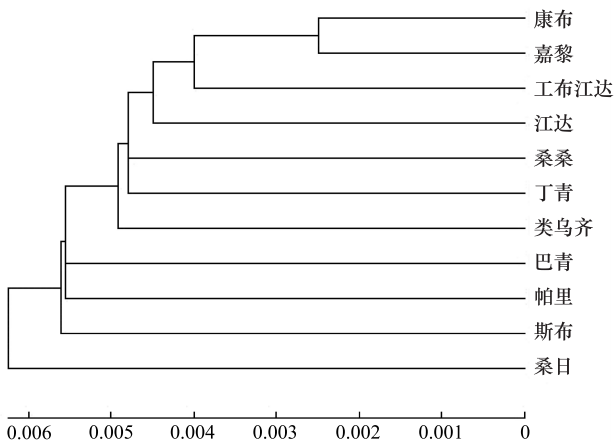


图3 基于 Kimura 双参数距离的西藏牦牛类群间的 NJ 聚类关系  
Fig.3 NJ tree based on Kimura 2-parameter distance in Tibetan yak

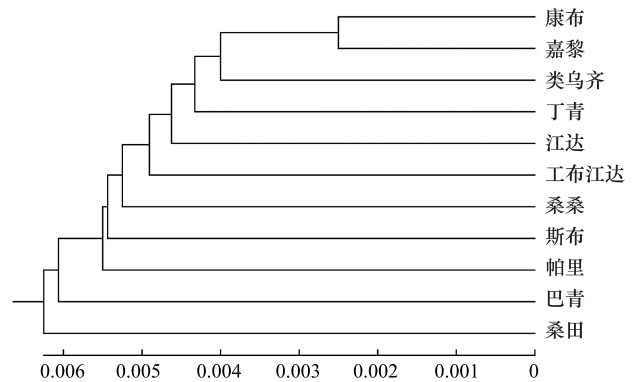


图4 基于 Kimura 双参数距离的西藏牦牛类群间的 UPGMA 聚类关系  
Fig.4 UPGMA tree based on Kimura 2-parameter distance in Tibetan yak

表6 西藏牦牛类群的分子方差

Table 6 Analysis of molecular variance in Tibetan yak groups

组别 Group	自由度 df	方差组分 Variance components	方差比率 Percentage of variation	$F_{CT}$	显著性检验 Significance test
I:[康布,嘉黎],[工布江达,江达,桑桑,丁青,类乌齐,巴青,帕里,斯布,桑日]	1	0.18354	3.67	0.03669	0.01614
II:[康布,嘉黎,工布江达],[江达,桑桑,丁青,类乌齐,巴青,帕里,斯布,桑日]	1	0.10588	2.14	0.02036	0.02624
III:[康布,嘉黎,类乌齐],[工布江达,江达,桑桑,丁青,巴青,帕里,斯布,桑日]	1	0.08141	1.65	0.01653	0.04782

现 1—6 个碱基的差异;114 条序列中有 130 个变异位点,占分析总位点数的 14.33%;获得 90 种单倍型,西藏牦牛的单倍型多样性为  $0.981 \pm 0.008$ ,核苷酸多样性为  $0.01056 \pm 0.00701$ ,表明西藏牦牛具有丰富的遗传多样性。与郭松长等<sup>[10]</sup>以我国 10 个家牦牛品种(类群)共 296 个个体为研究对象以及谢文美等<sup>[12]</sup>、贾善刚等<sup>[13]</sup>以我国不同地方水牛和黄牛品种为研究对象得出的结果相比,其单倍型多样性都低于西藏牦牛,但核苷酸多样性高于西藏牦牛,表明西藏牦牛可能曾经历过短期的瓶颈效应<sup>[14]</sup>。对测定的序列进行 Tajima's D 值中性检验,其中类乌齐、丁青、江达、工布江达等牦牛品种或类群的 Tajima's D 值(表 2)分别为 -1.67461、-1.66048、-1.61487、-1.66212,中性检验显著( $0.01 < P < 0.05$ ),说明这 4 个品种或类群可能出现过群体扩张模式。据记载,春冬的雪灾是西藏牧区最常见的自然灾害,常造成牲畜的重大损失<sup>[15-16]</sup>,这样牲畜数量在短期内会呈一个增长趋势,种群增长能提高新突变的保持力<sup>[17]</sup>,从而产生新的单倍型,但不能在短期内提高核苷酸多样性<sup>[18]</sup>。丰富的单倍型类型反应了西藏牦牛虽然地理分布范围极其有限,但由于其特定的自然环境和社会生态环境,在人工选择和自然选择作用下,遗传结构已发生了较大的变异。

### 3.2 西藏牦牛的遗传分化

本研究基于 Kimura 双参数距离对西藏牦牛 11 个类群进行了聚类分析,嘉黎牦牛首先和康布牦牛聚在一起,然后再和其他西藏牦牛类群相聚,可见西藏牦牛明显分为两类,这与钟金城等<sup>[19]</sup>根据西藏牦牛、黄牛的染色体和血液蛋白多态性,把西藏牦牛分为藏东南山地牦牛和藏西北草地牦牛两个生态类群基本一致。

本研究中西藏牦牛的 90 种单倍型网络关系图分为 I、II 两个聚类簇(图 2),聚类簇 I 共包含 80 种单倍型,包括本研究中所有的西藏牦牛类群;聚类簇 II 中有 10 种单倍型,涉及的类群是除了康布牦牛和嘉黎牦牛以外的其它 9 个类群。将西藏牦牛分为两个组分进行 AMOVA 分析(表 6),3 个组( $0.01 < P < 0.05$ )都显示差

异显著,表明西藏牦牛趋向于分为两类<sup>[20]</sup>,其中,组 I 的  $P$  值最小,表明康布和嘉黎为一类,工布江达、类乌齐更趋向于和其余的类群归为一类。西藏牦牛分为两类表明西藏牦牛可能有 2 个母系起源,也表明西藏牦牛的遗传分化受地理隔离的影响程度随着人类的干预而逐渐减弱。

#### 4 结论

从 mtDNA D-loop 区全序列来看,西藏牦牛具有丰富的遗传多样性;11 个西藏牦牛类群可分为两大类,即康布牦牛、嘉黎牦牛为一类,其余的牦牛类群为另一类;西藏牦牛有 2 个母系起源。

#### References:

- [ 1 ] Wiener G, Han J L, Long R J. The Yak. 2nd ed. Bangkok: The Regional Office for Asia and the Pacific, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003.
- [ 2 ] Committee of domestic Animal and Poultry Genetic Resources in China. Domestic Animal and Poultry Genetic Resources in China. Beijing: China Agriculture Press, 2004; 18-18.
- [ 3 ] Brown W M, George M Jr, Wilson A C. Rapid evolution of animal mitochondrial DNA. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1979, 76(4):1967-1971.
- [ 4 ] Zhang Y P, Shi L M. Mitochondrial DNA polymorphisms in animals: a review. *Zoological Research*, 1992,13(3):289-298.
- [ 5 ] Niu Y D, Li M, Wei F W, Feng Z J. Reliability of mtDNA as molecular marker and its perspective. *Hereditas*, 2001, 23(6):593-598.
- [ 6 ] Tamura K, Nei M. Estimation of the number of nucleotide substitutions in the control region of mitochondrial DNA in humans and chimpanzees. *Molecular Biology and Evolution*, 1993, 10(3):512-526.
- [ 7 ] Li H T, Gu W W, Wu Q H, Yuan J, Wang W S, Lin J H, Wang C Y. Genetic analysis of mitochondrial DNA D-loop region sequence in Tibet hogs and Bama miniature pigs. *Journal of Zhengzhou University: Medical Sciences*, 2008,43(5):933-935.
- [ 8 ] Xie J Y, Feng J, Bai X, Hu J H, Gao C. Study on sequence variation of mitochondrial D-loop gene and polymorphism among four populations of reed vole (*Microtus fortis*). *Laboratory Animal and Comparative Medicine*, 2008,28(5):299-303.
- [ 9 ] Lai S J, Wang L, Liu Y P, Li X W. Study on mitochondrial DNA genetic polymorphism of some yak breeds in China. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32(5):463-470.
- [ 10 ] Guo S C, Qi D L, Chen G H, Xu S X, Zhao X Q. Genetic diversity and classification of domestic yaks inferred from mitochondrial DNA sequences. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28 (9): 4286-4294.
- [ 11 ] Li Q F, Li Y X, Zhao X B, Pan Z X, Liu Z S, Zhang Q B, Qu X G, Song D W, Dong L Y, Li N, Xie Z. Sequencing D-loop region of mitochondrial DNA in yak and study on its taxonomic status in Bovinae. *Acta Veterinaria Et Zootechnica Sinica*, 2008,39(1):1-6.
- [ 12 ] Xie W M, Su R, Zhang X M, Zhang Y S, Wang X B, Lei C C. mtDNA D-loop genetic diversity and maternal origin in Chinese swamp buffalo. *China Cattle Science*, 2009, 35(5):3-7.
- [ 13 ] Jia S G, Chen H, Zhang G X, Wang Z G, Lei C Z, Yao R, Han X. Genetic variation of mitochondrial D-loop region and evolution analysis in some Chinese cattle breeds. *Journal of Genetics and Genomics*, 2007, 34(6):510-518.
- [ 14 ] Zheng X Z, Xu H F, Lu H J. Research progress on population genetic heterogeneity. *Chinese Biodiversity*, 1997,5(3):210-216.
- [ 15 ] Min Q W, Cheng S K. Poverty, ecology and development in Tibet. *Resources Science*, 2001, 23(3):62-67.
- [ 16 ] Jia L, Pu B Z M. Climatic character of snow disasters in Qinghai-Plateau. *Tibet's Science and Technology*, 1995,67(1):22-24.
- [ 17 ] Avise J C, Neigel J E, Arnold J. Demographic influences on mitochondrial DNA lineage survivorship in animal populations. *Journal of Molecular Evolution*,1984,20(2):99-105.
- [ 18 ] Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*,1975,29:1-10.
- [ 19 ] Chen Z H, Zhong J C, Hu O M, Deng X Y, La N, Lie C. A study on genetic polymorphism in Tibetan yak and yellow cattle. *Journal of Southwest Nationalities College (Natural Science Edition)*, 1999, 25(3):274-277.
- [ 20 ] Paulo O S, Jordan W S, Bruford M W, Nichols R A. Using nested clade analysis to assess the history of colonization and the persistence of populations of an Iberian Lizard. *Molecular Ecology*, 2002, 11(4): 809-819.

#### 参考文献:

- [ 2 ] 中国畜禽遗传资源状况编委会. 中国畜禽遗传资源状况. 北京:中国农业出版社,2004,18-18.

- [ 4 ] 张亚平,施立明. 动物线粒体 DNA 多态性的研究概况. 动物学研究,1992,13(3):289-298.
- [ 5 ] 牛屹东,李明,魏辅文,冯祚建. 线粒体 DNA 用作分子标记的可靠性和研究前景. 遗传,2001,23(6):593-598.
- [ 7 ] 李洪涛,顾为望,吴清洪,袁进,王万山,林继红,王纯耀. 实验用藏猪和巴马小型猪线粒体 DNA 控制区碱基序列比较. 郑州大学学报(医学版),2008,43(5):933-935.
- [ 8 ] 谢建云,冯洁,柏熊,胡建华,高诚. 四种群东方田鼠线粒体 DNA D-loop 多态性研究. 实验动物与比较医学,2008,28(5):299-303.
- [ 9 ] 赖松家,王玲,刘益平,李学伟. 中国部分牦牛品种线粒体 DNA 遗传多态性研究. 遗传学报,2005,32(5):463-470.
- [ 10 ] 郭松长,祁得林,陈桂华,徐世晓,赵新全. 家牦牛线粒体 DNA(mtDNA)遗传多样性及其分类. 生态学报,2008,28(9):4286-4294.
- [ 11 ] 李齐发,李隐侠,赵兴波,潘增祥,刘振山,张庆波,屈旭光,宋大伟,董丽艳,李宁,谢庄. 牦牛线粒体 DNA D-loop 区序列测定及其在牛亚科中分类地位的研究. 畜牧兽医学报,2008,39(1):1-6.
- [ 12 ] 谢文美,苏锐,张晓明,张云生,王小斌,雷初朝. 中国水牛 mtDNA D-loop 区遗传多样性与母系起源. 中国牛业科学,2009,35(5):3-7.
- [ 14 ] 郑向忠,徐宏发,陆厚基. 动物种群遗传异质性研究进展. 生物多样性,1997,5(3):210-216.
- [ 15 ] 闵庆文,成升魁. 西藏的贫困、生态与发展探讨. 资源科学,2001,23(3):62-67.
- [ 16 ] 假拉,普布卓玛. 青藏高原雪灾气候规律. 西藏科技,1995,67:22-24.
- [ 19 ] 陈智华,钟金城,胡欧明,邓晓莹,拉尼,烈措. 西藏牦牛和黄牛遗传多态性的研究. 西南民族学院学报(自然科学版),1999,25(3):274-277.

# ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 5 March, 2012 (Semimonthly)

## CONTENTS

- Statistical characteristics of eutrophication process in Dianshan Lake ..... CHENG Xi, LI Xiaoping, CHEN Xiaohua (1355)
- Cadmium assimilation and elimination and biological response in *Pirata subpiraticus* (Araneae: Lycosidae) fed on Cadmium diets .....  
..... ZHANG Zhengtian, ZHANG Guangduo, ZHANG Hucheng, et al (1363)
- Effect of co-cultivation time on camptothecin content in *Camptotheca acuminata* seedlings after inoculation with arbuscular  
mycorrhizal fungi ..... YU Yang, YU Tao, WANG Yang, et al (1370)
- Relationship between frequency of sandstorms and air humidity as well as plant phenology: a case study from the Minqin desert  
area ..... CHANG Zhaofeng, WANG Yaolin, HAN Fugui, et al (1378)
- Genetic diversity and evolution relationship on mtDNA D-loop in Tibetan yaks .....  
..... ZHANG Chengfu, XU Lijuan, JI Qiumei, et al (1387)
- Geostatistical analysis on spatiotemporal distribution pattern of soil water content of forest gap in *Pinus koraiensis* dominated  
broadleaved mixed forest ..... LI Meng, DUAN Wenbiao, CHEN Lixin, et al (1396)
- Soil nitrogen and enzymes involved in nitrogen metabolism under different vegetation in Ziwuling mountain in the Loess Plateau,  
China ..... XING Xiaoyi, HUANG Yimei, HUANG Haibo, et al (1403)
- Soil carbon, nitrogen and microbiological characteristics during bamboo high-speed growth .....  
..... WANG Xueqin, ZHANG Qichun, YAO Huaiying (1412)
- Effects of long-term increased soil N on leaf traits of several species in typical Inner Mongolian grassland .....  
..... HUANG Juying, YU Hailong, YUAN Zhiyou, et al (1419)
- Influence of arbuscular mycorrhizal associations on the interspecific competition between mycorrhizal and non-mycorrhizal plants .....  
..... ZHANG Yuting, WANG Wenhua, SHEN Hong, et al (1428)
- Structure and biodiversity of fig wasp community inside syconia of *Ficus virens* Ait. var. *sublanceolata* (Miq.) Corner in Fuzhou ...  
..... WU Wenshan, CHEN Youling, CAI Meiman, et al (1436)
- Growth and photosynthetic characteristics of *Epimedium koreanum* Nakai in different habitats .....  
..... ZHANG Yonggang, HAN Mei, HAN Zhongming, et al (1442)
- The critical temperature to Huashan Pine (*Pinus armandi*) radial growth based on the daily mean temperature .....  
..... FENG Xiaohui, CHENG Ruimei, XIAO Wenfa, et al (1450)
- The analysis of grade diversity indices of butterfly community in the Three Gorges Reservoir Area of Yangtze River .....  
..... MA Qi, LI Aimin, DENG Heli (1458)
- Research on dynamic characteristics of photosynthesis in muskmelon seedling leaves .....  
..... HAN Ruifeng, LI Jianming, HU Xiaohui, et al (1471)
- Effects of different winter covering crops cultivation on methane (CH<sub>4</sub>) and nitrous oxide (N<sub>2</sub>O) emission fluxes from double-  
cropping paddy field ..... TANG Haiming, XIAO Xiaoping, SHUAI Xiqiang, et al (1481)
- Variations in groundwater levels and quality and their effects on vegetation in the western Grubantonggut Desert .....  
..... ZENG Xiaoling, LIU Tong, ZHANG Weibin, et al (1490)
- Carbon and nitrogen stable isotope characteristics of particulate organic matter and zooplankton in Liuxihe Reservoir .....  
..... NING Jiajia, LIU Hui, GU Binhe, et al (1502)
- Selection of vegetable seeds native in China instead of the cress seed for evaluating the maturity of biosolids .....  
..... LIU Songsong, XU Tianfen, WU Qitang, et al (1510)
- Effects of anthropogenic nutrient input on organisms from different trophic levels in Hanfeng Lake: evidence from stable carbon  
and nitrogen isotope analysis ..... LI Bin, WANG Zhijian, JIN Li, et al (1519)
- Temporal and spatial distribution of phytoplankton in Liusha Bay ..... ZHANG Caixue, CHEN Huiyan, SUN Xingli, et al (1527)
- Study on the supercooling of golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) .....  
..... ZHAO Benliang, ZHANG Jia'en, LUO Mingzhu, et al (1538)
- The effects of rice growth stages on the ovarian development and take-off of *Nilaparvata lugens* and *Sogatella furcifera* .....  
..... CHEN Yu, FU Qiang, LAI Fengxiang, et al (1546)
- Cold tolerance of the overwintering egg of *Apolygus lucorum* Meyer-Dür (Hemiptera: Miridae) .....  
..... ZHUO Degan, LI Zhaohui, MEN Xingyuan, et al (1553)
- A suggestion on the estimation method of population sizes of *Niviventer confucianus* in Land-bridge island .....  
..... ZHANG Xu, BAO Yixin, LIU Jun, et al (1562)
- The carbon footprint of food consumption in Beijing ..... WU Yan, WANG Xiaoke, LU Fei (1570)
- Anthropogenic phosphorus flow analysis of Hanshan County in Anhui Province .....  
..... FU Yinyin, YUAN Zengwei, WU Huijun, et al (1578)
- A laboratory study of auctions for water rights transactions in inland river basin: a case study of irrigation areas of Heihe river  
basin ..... DENG Xiaohong, XU Zhongmin (1587)
- Review and Monograph**
- A review of the effect of typhoon on forests ..... LIU Bin, PAN Lan, XUE Li (1596)
- Research progress on the effects of ocean acidification on coral reef ecosystems .....  
..... ZHANG Chenglong, HUANG Hui, HUANG Liangmin, et al (1606)
- Interspecific competition among three invasive *Liriomyza* species .....  
..... XIANG Juncheng, LEI Zhongren, WANG Haihong, et al (1616)
- Indicative significance of biogenic elements to eco-environmental changes in waters .....  
..... YU Yu, SONG Jinming, LI Xuegang, et al (1623)
- Recent advances in studies on dissimilatory Fe(III)-reducing microorganisms .....  
..... LI Huijuan, PENG Jingjing (1633)
- Discussion**
- Ecological vulnerability research for Xilingol League, Northern China ..... XU Guangcai, KANG Muye, Marc Metzger, et al (1643)
- Scientific Note**
- Spatial distribution and species composition of zooplanktons in the eastern tropical Pacific Ocean off Costa Rica .....  
..... LIU Bilin, CHEN Xinjun, JIA Tao, et al (1654)

# 《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

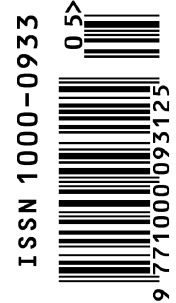
第 32 卷 第 5 期 (2012 年 3 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 5 2012

<b>编 辑</b>	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	<b>Edited by</b>	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel: (010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
<b>主 编</b>	冯宗炜	<b>Editor-in-chief</b>	FENG Zong-Wei
<b>主 管</b>	中国科学技术协会	<b>Supervised by</b>	China Association for Science and Technology
<b>主 办</b>	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	<b>Sponsored by</b>	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add: 18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
<b>出 版</b>	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	<b>Published by</b>	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
<b>印 刷</b>	北京北林印刷厂	<b>Printed by</b>	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
<b>发 行</b>	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717 电话:(010)64034563 E-mail: journal@espg.net	<b>Distributed by</b>	Science Press Add: 16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel: (010)64034563 E-mail: journal@espg.net
<b>订 购</b>	全国各地邮局	<b>Domestic</b>	All Local Post Offices in China
<b>国外发行</b>	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	<b>Foreign</b>	China International Book Trading Corporation Add: P. O. Box 399 Beijing 100044, China
<b>广告经营 许 可 证</b>	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933  
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元