

若尔盖湿地青海沙蜥红原亚种线粒体 ND4-tRNA^{leu} 基因的序列变异和遗传多样性

刘莉^{1,2}, 郭宪光¹, 王跃招^{1,*}

(1. 中国科学院成都生物研究所, 四川 成都 610041; 2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

摘要: 研究了青海沙蜥红原亚种(*Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis*)分布于四川若尔盖辖曼(XM)、红原(HY)和甘肃玛曲(MQ)这3个地理单元7个居群的ND4-tRNA^{leu}基因的序列变异和遗传多样性。72个序列比对得到785bp的片断, 含变异位点7个, 定义了9种单倍型。结果显示7个居群总的核苷酸多样性较低(0.00231±0.00016), 单倍型多样性较高(0.806±0.024); 就单个居群而言, MQa、MQb、XMb的遗传多样性低, XMc相对较高。各居群间的Kimura双参数遗传距离小(0.001—0.005), 最大遗传距离出现在MQa和XMa之间, XM单元各居群之间遗传距离最小。但分子变异分析(AMOVA)显示3个单元间出现了显著差异($P<0.01$), 遗传变异主要存在于地理单元间, 占62.61%。除MQ单元形成一支, 单倍型网络图没有显示出单倍型和地理位置的对应关系, XM各居群以及HY混杂在一起。XM单元单倍型的不配对分布(Mismatch distribution)为明显左移的单峰, 同时Fu's F_s test得到负值($F_s=-2.21937$), 这都暗示XM单元可能经历了近期种群扩张, 这是其单倍型多样性较高和核苷酸多样性较低的原因。MQ单元遗传多样性低而与其他单元显著分化, 推测与黄河在若尔盖玛曲之间贯通有关。近期沼泽的形成对XMb的隔离时间短, 使得其遗传多样性低但还不足以形成大的遗传差异。

关键词: 青海沙蜥红原亚种; 遗传多样性; 序列变异; 若尔盖湿地

中图分类号: Q959.62; Q951.3; Q349 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853-(2008)02-0121-06

Genetic Variation and Diversity of *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis* in Zoige Wetland Inferred from ND4-tRNA^{leu} Gene

LIU Li^{1, 2}, GUO Xian-guang¹, WANG Yue-zhao^{1,*}

(1. Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China;

2. Graduate University of the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract: According to the distribution of *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis* in Zoige Wetland, three geographic units: Zoige Xiaman (XM), Hongyuan (HY), both in Sichuan Province and Maqu (MQ) in Gansu Province were defined. We used molecular methods to reveal these unit's genetic variation and diversity. A 785bp fragment of the mtDNA ND4-tRNA^{leu} was determined from 72 samples in seven populations of *P. vlangalii hongyuanensis*. Seven variable nucleotide sites and nine haplotypes were identified in the 785bp fragments. As a whole, the haplotype diversity was high (0.806±0.024), but the nucleotide diversity was low (0.00231±0.00016). In a single population, MQa, MQb and XMb had very low genetic diversities, and XMc had a much higher one. The Kimura 2-parameter distances among all the populations were small (0.001-0.005), and the distance between MQa and XMa was the greatest. Analysis of molecular variance (AMOVA) showed that the three units were distinctly different ($P<0.01$), and 62.61% of the total genetic diversity was attributable to variation among units. There were 3 haplotypes shared among XM and HY, and no geographic clustering was observed except MQ from the TCS network. The results from the mismatch distribution analysis and Fu's F_s test ($F_s=-2.21937$) implied that there might be a recent population expansion in the XM unit, and this may be the reason why XM had a high haplotype diversity but a low nucleotide diversity. We estimate that the MQ and XMb have lower diversities because of some very recent geographic events, such as the formation of the Yellow river's upriver and the Zoige Wetland. Although they are distinctly different, not enough time has passed for them to have

收稿日期: 2007-10-18; 接受日期: 2008-01-31

基金项目: 国家自然科学基金(30470252); 国家科技基础条件平台工作重点项目(2005DKA21402); 中国科学院知识创新工程青年人才领域前沿项目(CIB-2007-LYQY-Q01)

*通讯作者(Corresponding author), Tel: 028-85217691, E-mail: arcib@cib.ac.cn

第一作者简介: 刘莉, 女, 硕士研究生, E-mail: transparente@163.com

diverged a great genetic distance.

Key words: *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis*; Genetic diversity; Sequence variation; Zoige Wetland

若尔盖湿地地跨四川西北部和甘肃南部, 分布在总面积约34 000平方千米的区域内。沙蜥在若尔盖湿地主要分布于四川红原县瓦切乡, 若尔盖县辖曼乡以及甘肃玛曲。Jiang et al (1980)根据分布在红原瓦切的沙蜥上唇鳞、颊鳞行数与青海沙蜥(*Phrynocephalus vlangalii*)地模标本有差异将其定名为青海沙蜥红原亚种(*P. vlangalii hongyuanensis*)。分布于辖曼的沙蜥根据其形态、染色体及分子特征应属于青海沙蜥红原亚种(Pang et al, 2003; Wang et al, 2002)。近年来, 我们在野外考察中发现, 玛曲与红原瓦切的沙蜥居群形态特征一致, 视为青海沙蜥红原亚种。

沙蜥喜生活在荒漠、半荒漠地区, 其种群密度与植被盖度呈负相关(Wu et al, 2004), 更不出现在湿润的沼泽区域。但是, 沙蜥在若尔盖湿地的生境十分特殊, 它属于高寒湿润型气候, 具有世界面积最大的高原沼泽湿地, 且沙丘和沼泽都是动态变化的(Yong et al, 2003), 沙丘一般以古河道为中心, 与草地、沼泽呈镶嵌分布的格局(Li et al, 2001), 这和青藏高原隆升引起的河流改道、气候变迁等地质事件有关(Wang et al, 2006; Zhang et al, 2003)。

遗传多样性在一定程度上能体现物种的进化潜力, 是物种适应环境变化的基础, 认清物种的遗传多样性现状, 将有利于评价各个群体的进化关系以

及确定需要保护的重点单元(Humphries et al, 1995; Petit et al, 1998)。已有研究表明, 影响遗传多样性的因素很多, 如种群大小、选择压力、基因交流等(Madsen et al, 2000; Monsen & Blouin, 2003; Randi & Lucchini, 1998; Li et al, 2002)。本研究以进化速率相对较快的线粒体ND4-tRNA^{Leu}基因片段为遗传标记, 对若尔盖湿地3个地理单元7个居群的沙蜥进行了序列变异和遗传多样性分析, 旨在了解该地区不同居群间的分化程度以及在这种特殊的生境下不同居群之间的基因交流情况, 从而为进一步研究青海沙蜥的种群遗传结构和亲缘地理学积累资料 and 提供一定的参考。

1 材料和方法

1.1 材料

选取青海沙蜥红原亚种在若尔盖湿地的7个居群68个样品作为研究材料(表1)。样品采集点基本覆盖了该亚种在若尔盖湿地的分布(图1), 为方便叙述与讨论, 按地理距离将7个居群划分为HY、XM、MQ三个地理单元。采用的组织样品均为95%的酒精固定, 标本用福尔马林固定后保存于中国科学院成都生物研究所两栖爬行动物标本馆。此外, 从GenBank下载了四条ND4-tRNA^{Leu}序列, GenBank登录号为AY054051—AY054054(Pang et

表 1 采样点以及样品信息
Tab. 1 Information of samples and their localities

居群编号 Abbreviation	采集地 Locality	经纬度 Coordinate	样本量 Sample Size	标本号 Sample No.
HY	红原 (HY)	N33.17649 E102.62830	9	DLW200607001-2, DL050002-5, 2LDW001, 0714, 0541
XMa	辖曼 (XM)	N33.70605 E102.48526	17	DLW200607007-9, DLW200607011-15, DLW200607017-23, Xm276, Xm277
XMb		N33.77507 E102.54921	9	DLW200607024-26, DLW200607029-34
XMc		N33.72512 E102.46995	13	DLW200607035-40, DLW200607042-46, DLW200607048, DLW200607050
XMd		N33.74796 E102.50430	8	DL050011-15, DL050017-18, DL050020
MQa	玛曲 (MQ)	N33.95074 E102.08892	8	DLW200607052, DLW200607054-55, DLW200607057-58, DLW200607060-62
MQb		N33.89865 E102.12673	8	DLW200607064-70, DLW200607072

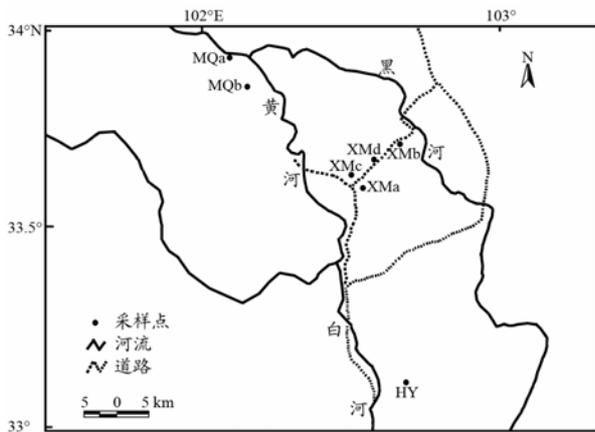


图 1 若尔盖湿地沙蜥的采样点

Fig. 1 The sampling localities of Sand Lizards in Zoige Wetland in this study

al, 2003), 对应标本号依次为 Xm276、Xm277、0714、0541, 根据标本采集时记录的经纬度, 将 0714、0541 归入 HY 居群, Xm276、Xm277 归入 XMa 居群。

1.2 基因组 DNA 提取、PCR 扩增及测序

取适量肝脏或肌肉用于总DNA提取, 采用常规蛋白酶K裂解细胞, 然后苯酚-氯仿/异戊醇抽提, 最后用乙醇沉淀总DNA。PCR扩增和测序均使用通用引物对ND4和Leu(Arévalo et al, 1994)。PCR反应体积为25 μ L, 包括模板1 μ L (含DNA10—100 ng), 10 \times buffer (含MgCl₂15mmol/L) 2.5 μ L, 12.5mmol/L的dNTP 0.5 μ L, 10 pmol/ μ L的引物各1 μ L, 5 U/ μ L的Taq酶0.2 μ L, 最后加ddH₂O补齐25 μ L。PCR反应在PTC-200型基因扩增仪上进行。扩增条件如下: 94 $^{\circ}$ C预变性4min; 然后进行35个循环, 包括94 $^{\circ}$ C变性40s, 52 $^{\circ}$ C退火40s, 72 $^{\circ}$ C延伸60s; 最后72 $^{\circ}$ C延伸7min。PCR产物送上海基康生物公司纯化测序。

1.3 数据分析

DNA序列用Bioedit(Hall, 1999)进行比对和编辑, 并辅以手工校正。采用MEGA3.1软件(Kumar et al, 2004)计算核苷酸的组成, 变异位点数等序列特征, 基于Kimura双参数(Kimura 2-parameter)模型, 计算不同居群间的遗传距离。用DNAsp4.0 (Rozas et al, 2003)计算核苷酸多样度和单倍型多样性, 并用该软件做单倍型的不配对分布图以及计算Fu's *F_s*值。遗传多样性与样品量的相关性分析选用Pearson相关系数。采用Arlequin3.1(Excoffier et al, 2005)的AMOVA分析计算遗传变异在群体间和群体内的分布情况。基于简约法原理用TCS (Clement et al, 2000)构建单倍型网络图。

2 结果

2.1 序列特征

实验获得68个序列 (GenBank登录号: EU294028-EU294095), 所有序列比对后得到785个位点, 其中1—636为ND4基因的3'端, 637—700为tRNA-His, 701—758为tRNA-Ser, 759—785为tRNA-Leu的5'端。ND4基因终止密码子为TAA, 该基因内部未发现终止密码子。A、T、C、G平均含量分别为36.9%、25.1%、26.6%、11.4%, 表现出明显的反G偏倚, 同时A+T的含量(62.0%)明显高于G+C的含量(38.0%), 这些都是脊椎动物线粒体DNA的特点。785bp的序列含变异位点7个, 均为简约信息位点, 未发现插入缺失, 发生在密码子第3位的变异占57.1%, 第1位的占42.9%, 第2位未检测到变异。

2.2 单倍型分布

72个序列共定义了9种单倍型, 所有单倍型在居群中的分布见表2。单倍型1为XMa、XMb、XMc、

表 2 ND4-tRNA^{leu} 基因单倍型在各居群中的分布Tab. 2 The distribution of the ND4-tRNA^{leu} gene haplotypes in different populations

采样点 Locality(n1/n2/n3)	单倍型代码 Haplotype code								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
HY (9/2/0)	2	7							
XMa (17/3/1)	3		11	3					
XMb (9/1/0)	9								
XMc (13/5/3)	4		6		1	1	1		
XMd (8/3/0)	4	2	2						
MQa (8/1/1)								8	
MQb (8/1/1)									8
Total (72/9/6)	22	9	19	3	1	1	1	8	8

圆括号中的数字 (n1/n2/n3) 依次表示采样数/单倍型数/特有单倍型数。

The numbers in parentheses (n1/n2/n3) show numbers of individuals sampled/haplotypes observed/private haplotypes.

XMd、HY五个居群的共享单倍型,出现次数最多,占22/72;单倍型3为XMa、XMc、XMd的共享单倍型,占19/72;单倍型2被HY和XMd共享;其余均为特有单倍型。

2.3 遗传多样性分析

选择核苷酸多样性 (Pi) 和单倍型多样性 (Hd) 作为体现遗传多样性的指数 (表3), 其中, MQa、MQb、XMb的两项指数均为0, XMc、XMd的遗传多样性相对较高, XMa和HY居中, 就整个若尔盖湿地而言, 核苷酸多样性较低, 单倍型多样性较高。同时, 就各地理单元来看, XM单元遗传多样性最高。为了排除各居群样品量差异对分析结果的影响, 计算了 Pi 和 Hd 分别与样本量的相关性, 结果显示没有显著相关性 (P 值分别为0.540和0.245), 也就是说, 本研究中遗传多样性差异不是由样品量差异引起的。

2.4 居群间的遗传变异

采用 Kimura 双参数模型统计得出七个居群 ND4-tRNA^{leu} 基因序列的遗传距离 (表4)。七个居群之间的遗传距离都较小 (0.001—0.005), 最大距

离0.005出现在MQa和XMa之间, MQa和其他几个居群 (除MQb) 的遗传距离也相对较大。XM各居群之间的遗传距离最小 (0.001—0.002)。XM单元与HY, MQ单元的平均遗传距离分别为0.003, 0.004, HY和MQ单元的平均遗传距离为0.003。当分为三个地理单元时, AMOVA分析显示, 变异主要存在于单元间, 占62.61%, $P < 0.01$, 说明各单元间有显著差异。

2.5 单倍型网络图和不配对分布图

从网络图可以看出, 9个单倍型相邻两个之间均只有一步突变, 没有未观察到的中间单倍型 (图2)。单倍型5位于网络图的中心, 推测这个单倍型可能是较为原始的, 其他单倍型由其衍生而来。MQ单元的两个单倍型单独形成一支。除MQ单元外, XM几个居群和HY之间有广泛的共享单倍型, 各居群混杂在一起, 没有显示出地理位置和单倍型的对应关系。

所有单元的不配对分布 (mismatch distribution) 为单峰型 (图3), Fu's F_s 值为-0.96982 ($P = 0.38300$)。就 XM 单元而言, 由于单倍型两两差异

表 3 各居群以及各单元的遗传多样性

Tab. 3 The genetic diversity in different populations and geographic units

居群 Population	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	单倍型多样性 Haplotype diversity	地理单元 Geographic unit	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	单倍型多样性 Haplotype diversity
HY	0.00099±0.00042	0.389±0.164	HY	0.00099±0.00042	0.389±0.164
XMa	0.00079±0.00020	0.551±0.114	XM	0.00122±0.00018	0.662±0.043
XMb	0.00000	0.00000			
XMc	0.00140±0.00030	0.731±0.096			
XMd	0.00164±0.00043	0.714±0.123			
MQa	0.00000	0.00000	MQ	0.00068±0.00006	0.533±0.046
MQb	0.00000	0.00000			
总计 Total	0.00231±0.00016	0.806±0.024			

表 4 若尔盖湿地青海沙蜥各居群间的遗传距离

Tab. 4 The genetic distance for *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis* populations in Zoige Wetland

	HY	XMa	XMb	XMc	XMd	MQa
XMa	0.003					
XMb	0.002	0.001				
XMc	0.003	0.001	0.001			
XMd	0.002	0.002	0.001	0.002		
MQa	0.004	0.005	0.004	0.004	0.004	
MQb	0.003	0.004	0.003	0.003	0.003	0.001

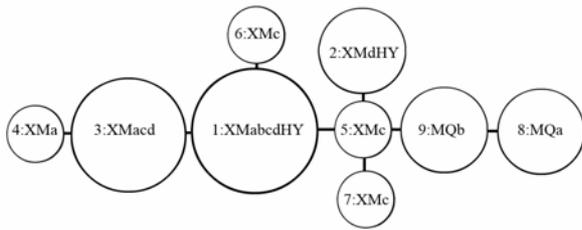


图 2 基于统计简约法构建的单倍型网络图

Fig. 2 The Statistical parsimony network of haplotypes

圆圈包括单倍型代码(同于表 2)以及出现该单倍型的居群名缩写, XMabcdHY 表示 XMa、XMb、XMc、XMd、HY; XMacd 表示 XMa、XMc、XMd; XMdHY 表示 XMd 和 HY。连接单倍型的线表示一步变异。圆圈大小大约表示该单倍型出现的次数。

Numbers of haplotypes correspond to Tab. 2. XMabcdHY is short for XMa, XMb, XMc, XMd, HY; XMacd is short for XMa, XMc, XMd; XMdHY is short for XMd and HY. Each mutational step is shown as a line. The sizes of circles roughly represent the numbers of individuals.

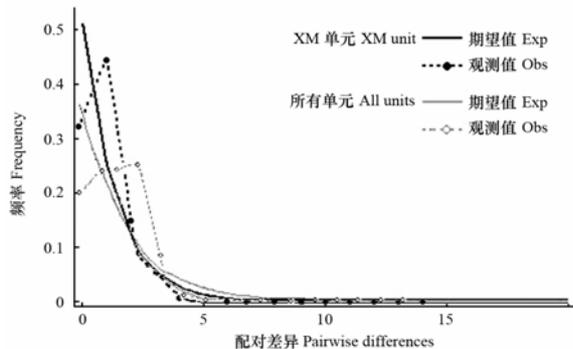


图 3 若尔盖湿地青海沙蜥红原亚种单倍型的不配对分布

Fig. 3 The mismatch distributions of the haplotypes of *Phrynocephalus vlangalii hongyuanensis* in the Zoige Wetland

较小且这种情况出现频率较高, 其不配对分布为显著左移的单峰, F_u 's F_s 值为 -2.21937 ($P = 0.11400$)。单倍型不配对分布和负的 F_u 's F_s 值都显示 XM 单元可能经历了近期的种群扩张。

3 讨论

3.1 瓶颈效应与近期扩张

本研究中, XM 单元共检测到 7 个单倍型, 且其中 4 个为特有单倍型, 表现出了较高的单倍型多样性和较低的核苷酸多样性, Li et al (2003) 对羚羊四川地理单元的研究也有类似结果, 他们推测可能是由于种群处于近期种群扩张, 有足够的时间积累单倍型的多态性, 还不足以大幅提高核苷酸多样性。根据单倍型的不配对分布以及 F_u 's F_s test 的负值结果, 推测 XM 单元也出现过类似的近期扩张事件。单倍型 5 虽然位于单倍型网络图中心, 但仅在 XMc

中出现一次, 说明若尔盖湿地居群可能曾经经历过一次瓶颈效应, 导致该单倍型大量丢失, 之后种群又恢复扩张, 在这个过程中单倍型 1、3 逐渐占主导地位。

3.2 遗传多样性与隔离作用

MQ 单元的 2 个单倍型均为特有单倍型, 且 2 个单倍型之间仅一个碱基变异, 这在一定程度上反映了它的遗传多样性低, 同时, 从 AMOVA 分析结果来看, 它与 XM 单元, HY 之间出现了明显差异。根据文献资料, 地质学家在玛曲以西以及唐克以南发现有黄河古河道, 中更新世时期, 黄河并不从玛曲和若尔盖之间穿过, 之后由于青藏高原加速隆升导致黄河改道, 大约 3 万年前黄河才在若尔盖与玛曲之间贯通 (Sun & Zhang, 1987; Zhang et al, 2003)。黄河的贯通使得被随机隔离在 MQ 的居群不能同 XM 居群交流, 同时又没有大量自身有效种群的调节, 从而容易受到奠基者作用和遗传漂变的影响, 导致现生居群遗传多样性低。

孢粉记录表明, 10.0kaBP 开始, 冰期结束, 若尔盖地区进入了全新世温暖湿润期, 气候变化使得临近高山上的冰雪融化注入谷地和洼地, 发育为沼泽草甸、沼泽植被及泥炭 (Wang et al, 2006)。沼泽的形成使得沙蜥喜好的干旱生境减少, 同时沙丘与沙丘之间隔离开来。XMc 居群遗传多样性很低, 其单倍型 1 与 XM 其他居群以及 HY 共享, 这可能就与近期的沼泽分割有关, 沼泽的形成将一部分小种群隔离在 XMc, 而在这个较小的居群中单倍型 1 中占优势 (单倍型 1 在整个 XM 单元也占优势), 这种较短时间的隔离虽然阻碍了基因交流, 但还不足以形成新的单倍型。同时这种隔离作用也使得 XM 单元其他居群之间虽然存在共享单倍型, 但也有特有单倍型存在。

就整个若尔盖湿地居群而言, 存在共享单倍型, 遗传变异小, 说明它们之间存在或者曾经存在基因交流。但分子变异分析表明, 三个单元之间出现了显著差异, 这与 Liu et al (2003) 对中国大陆梅花鹿的研究结果相似。这是由于无论黄河的贯通还是沼泽的形成其隔离形成的时间都不长, 其作用改变了单倍型出现的频率, 也出现了一些特有单倍型, 但共享单倍型还广泛存在, 还不足以使得不同居群之间形成较大的遗传距离。

致谢：加拿大Guelph大学的傅金钟教授和中国科学院成都生物研究所两栖爬行动物研究室戴强

老师在数据分析方面提出宝贵意见，谨此一并致谢。

参考文献：

- Arévalo E, Davis SK, Sites JW. 1994. Mitochondrial DNA sequence divergence and phylogenetic relationships among eight chromosome races of the *Sceloporus grammicus* complex (Phrynosomatidae) in central Mexico[J]. *Systematic Biology*, **43**(3): 387-418.
- Clement M, Posada D, Crandall KA. 2000. TCS: A computer program to estimate gene genealogies[J]. *Molecular Ecology*, **9**(10):1657-1659.
- Excoffier L, Laval G, Schneider S. 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis[J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, **1**: 47-50.
- Hall TA. 1999. BioEdit: A user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT[J]. *Nucleic Acids Symposium Series*, **41**: 95-98.
- Humphries CJ, Williams PH, Vanewright RI. 1995. Measuring Biodiversity Value for Conservation[J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **26**: 93-111.
- Jiang YM, Huang QY, Zhao EM. 1980. A new subspecies of *Phrynocephalus vlangalii*(Strauch) and preliminary observations on its ecology[J]. *Acta Zoologica Sinica*, **26**(2): 178-183. [江耀明, 黄庆云, 赵尔宓. 1980. 青海沙蜥一新亚种及其生态初步观察. 动物学报, **26**(2): 178-183.]
- Kumar S, Tamura K, Nei M. 2004. MEGA3: Integrated software for molecular evolutionary genetics analysis and sequence alignment[J]. *Briefings in Bioinformatics*, **5**(2): 150-163.
- Li M, Meng SJ, Wei FW, Wang J, Yong YG. 2003. Genetic diversity and population genetic structure of takin (*Budorcas taxicolor*)[J]. *Acta Theriologica Sinica*, **23**(1): 10-16. [李明, 蒙世杰, 魏辅文, 王静, 雍严格. 2003. 羚牛的遗传多样性及其种群遗传结构分析. 兽类学报, **23**(1):10-16.]
- Li M, Rao G, Wei FW, Fang SG, Tang C, X, Tamate HB. 2002. Population genetic structure and geographic subdivision of the red panda (*Ailurus fulgens*)[J]. *Acta Zoologica Sinica*, **48**(4): 480-486. [李明, 饶刚, 魏辅文, 方盛国, 汤纯香, 玉手英利. 2002. 小熊猫种群遗传结构和地理分化. 动物学报, **48**(4): 480-486.]
- Li S, Dong YX, Dong GR, Yang P, Zhang CL. 2001. Regionalization of land desertification on Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Journal of Desert Research*, **21**(4): 418-427. [李森, 董玉祥, 董光荣, 杨萍, 张春来. 2001. 青藏高原土地沙漠化区划. 中国沙漠, **21**(4): 418-427.]
- Liu H, Yang G, Wei FW, Li M, Hu JC. 2003. Sequence variability of the mitochondrial DNA control region and population genetic structure of sika deers (*Cervus nippon*) in China[J]. *Acta Zoologica Sinica*, **49**(1): 53-60. [刘海, 杨光, 魏辅文, 李明, 胡锦涛. 2003. 中国大陆梅花鹿mtDNA控制区序列变异及种群遗传结构分析. 动物学报, **49**(1): 53-60.]
- Madsen T, Olsson M, Wittzell H, Stille B, Gullberg A, Shine R, Andersson S, Tegelstrom H. 2000. Population size and genetic diversity in sand lizards (*Lacerta agilis*) and adders (*Vipera berus*)[J]. *Biological Conservation*, **94**(2): 257-262.
- Monsen KJ, Blouin MS. 2003. Genetic structure in a montane ranid frog: restricted gene flow and nuclear-mitochondrial discordance[J]. *Molecular Ecology*, **12**(12):3275-3286.
- Pang JF, Wang YZ, Zhong Y, Hoelzel AR, Papenfuss TJ, Zeng XM, Ananjeva NB, Zhang YP. 2003. A phylogeny of Chinese species in the genus *Phrynocephalus* (Agamidae) inferred from mitochondrial DNA sequences[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **27**(3): 398-409.
- Petit RJ, El Mousadik A, Pons O. 1998. Identifying populations for conservation on the basis of genetic markers[J]. *Conservation Biology*, **12**(4): 844-855.
- Randi E, Lucchini V. 1998. Organization and evolution of the mitochondrial DNA control region in the avian genus *Alectoris*[J]. *Journal of Molecular Evolution*, **47**(4): 449-462.
- Rozas J, Sanchez-DelBarrio JC, Messeguer X, Rozas R. 2003. DnaSP, DNA polymorphism analyses by the coalescent and other methods[J]. *Bioinformatics*, **19**(18): 2496-2497.
- Sun GY, Zhang WF. 1987. Old channels of the Huanghe River on Zoige Plateau and its palaeogeographic significance[J]. *Scientia Geographica Sinica*, **7**(3): 266-272. [孙广友, 张文芬. 1987. 若尔盖高原黄河古道河道及其古地理意义. 地理科学, **7**(3): 266-272.]
- Wang Y, Zhao ZZ, Qiao YS, Wang SB, Li CZ, Song LF. 2006. Paleoclimatic and paleoenvironmental evolution since the late glacial epoch as recorded by sporopollen from the Hongyuan peat section on the Zoige Plateau, northern Sichuan, China[J]. *Geological Bulletin of China*, **25**(7): 827-832. [王燕, 赵志中, 乔彦松, 王书兵, 李朝柱, 宋利峰. 2006. 川北若尔盖高原红原泥炭剖面孢粉记录的晚冰期以来古气候古环境的演变. 地质通报, **25**(7): 827-832.]
- Wang YZ, Zeng XM, Fang ZL, Wu GF, Liu ZJ, Papenfuss TJ, Macey RJ. 2002. A valid species of the genus *Phrynocephalus*: *P.putjata* and a discussion on taxonomy of *Phrynocephalus hongyuanensis* (sauria:agamidae)[J]. *Acta zootaxonomica sinica*, **27**(2): 372-383. [王跃招, 曾晓茂, 方自力, 吴贯夫, 刘志君, Papenfuss TJ, Macey RJ. 2002. 沙蜥属一有效种贵德沙蜥及红原沙蜥的分类研究(蜥蜴亚目:鬣蜥科). 动物分类学报, **27**(2): 372-383.]
- Wu PF, Wang YZ, Zhu B, Zeng ZY. 2004. *Phrynocephalus vlangalii* at Zoige, Sichuan: burrow density and depth and their implications[J]. *Zoological Research*, **25**(4): 311-315. [吴鹏飞, 王跃招, 朱波, 曾宗永. 2004. 若尔盖青海沙蜥——洞穴密度与深度的生态内涵. 动物学研究, **25**(4): 311-315.]
- Yong GW, Shi CC, Qiu PF. 2003. Monitoring on desertification trends of the grassland and shrinking of the Wetland in Zoige Plateau in northwest Sichuan by Means of Remote-sensing[J]. *Journal of Mountain Science*, **21**(6): 758-762. [雍国玮, 石承苍, 邱鹏飞. 2003. 川西北高原若尔盖草地沙化及湿地萎缩动态遥感监测. 山地学报, **21**(6): 758-762.]
- Zhang ZY, Yu QW, Zhang KX, Gu YS, Xiang SY. 2003. Geomorphological Evolution of Quaternary River from upper Yellow River and geomorphological evolution investigation for 1:250 000 scale geological mapping in Qinghai-Tibet Plateau[J]. *Earth Science-Journal of China University of Geoscience*, **28**(6): 621-633. [张智勇, 于庆文, 张克信, 顾延生, 向树元. 2003. 黄河上游第四纪河流地貌演化兼论青藏高原1:25万新生代地质填图地貌演化调查. 地球科学——中国地质大学学报, **28**(6): 621-633.]