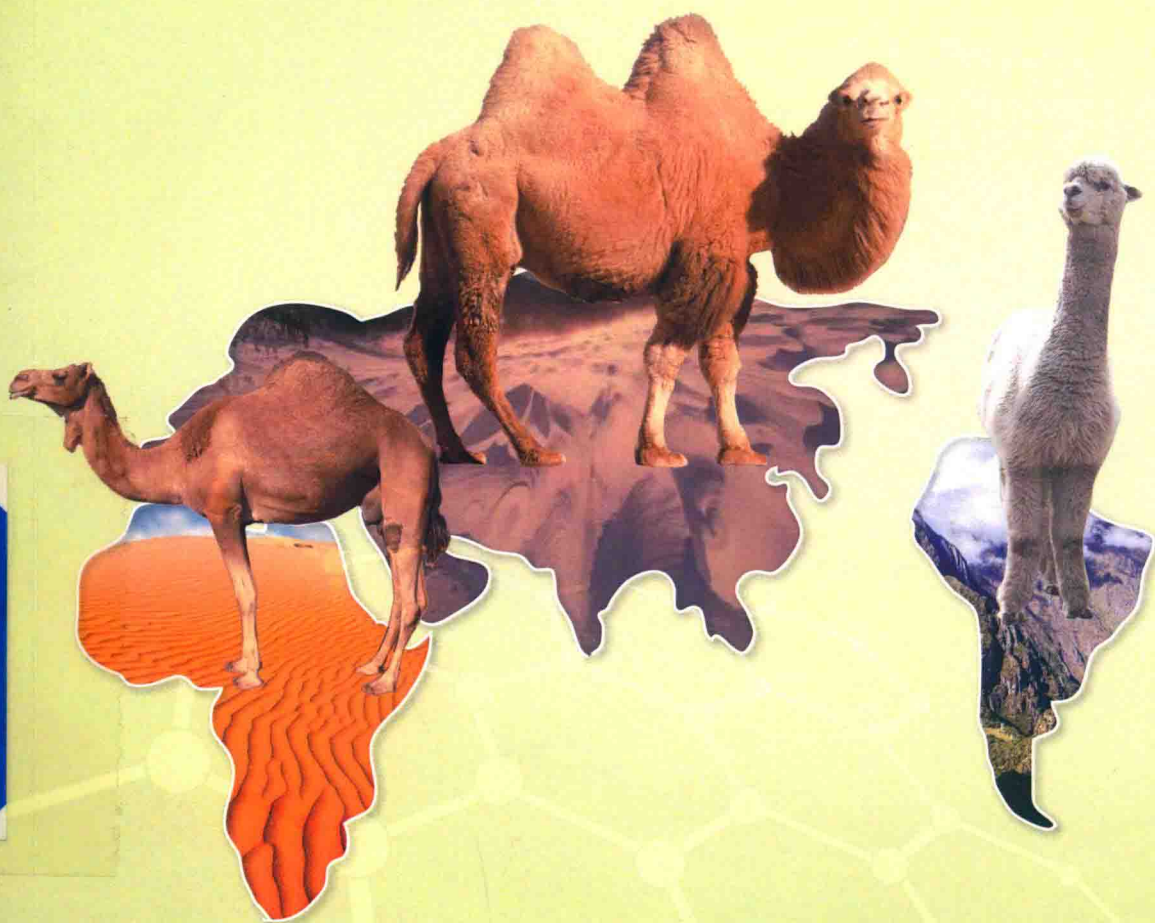


# 骆驼基因组学研究

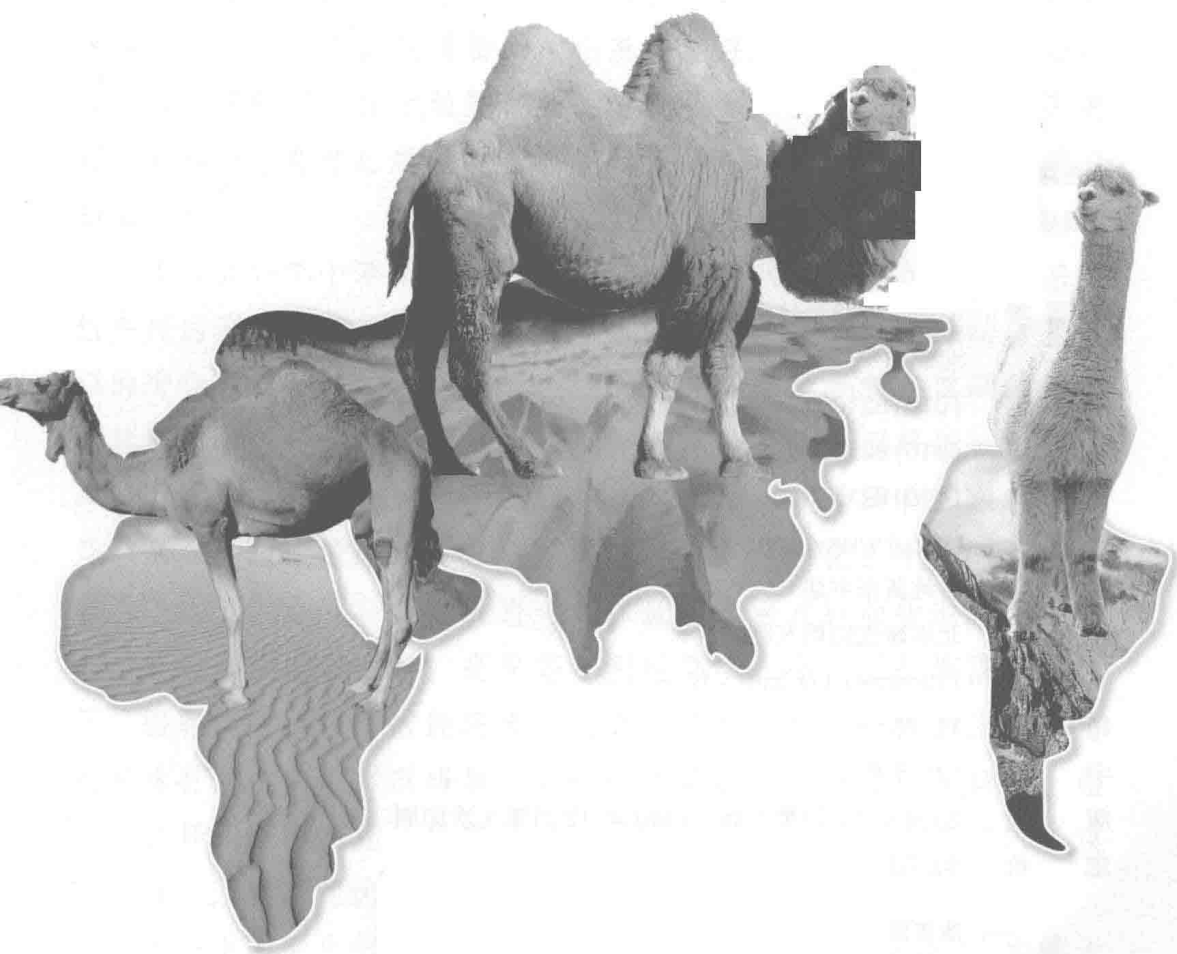
吴慧光 著



中国农业科学技术出版社

# 骆驼基因组学研究

吴慧光 著



中国农业科学技术出版社

**图书在版编目 (CIP) 数据**

骆驼基因组学研究 / 吴慧光著. —北京: 中国农业科学技术出版社,  
2018. 12  
ISBN 978-7-5116-3641-6  
I. ①骆… II. ①吴… III. ①双峰驼-基因组-研究-阿拉善盟  
IV. ①S824

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2018) 第 082067 号

**责任编辑** 金迪 崔改泵

**责任校对** 马广洋

**出版者** 中国农业科学技术出版社

北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

**电 话** (010)82109194(编辑室) (010)82109702(发行部)

(010)82109709(读者服务部)

**传 真** (010)82106650

**网 址** <http://www.castp.cn>

**经 销 者** 各地新华书店

**印 刷 者** 北京建宏印刷有限公司

**开 本** 710mm×1 000mm 1/16

**印 张** 11.75

**字 数** 172 千字

**版 次** 2018 年 12 月第 1 版 2018 年 12 月第 1 次印刷

**定 价** 48.00 元

◀ 版权所有·翻印必究 ▶

# 前 言

骆驼是大型的沙漠适应性哺乳动物，在干旱地区的畜牧业经济中占有重要地位。骆驼基因组上保存有抗逆相关的优良遗传资源，有着极其重要的科研和育种价值。目前世界上已经形成了以优秀的物种资源为研究基础，以功能基因开发利用为技术核心，以培育优良品种为高利润产品的生物产业模式。基因组测序技术的进步和测序成本的降低为人们获得物种的全基因组序列提供了条件。开展动物基因组学研究，揭示动物之间的进化关系，发掘动物优异基因资源，实施分子育种已经成为目前动物科学及畜牧业的重要研究前沿领域。

本书共分7个章节，包括国内外研究现状、骆驼科动物全基因组序列的测序与组装、骆驼科动物基因组的注释、骆驼科动物基因组的进化分析、骆驼沙漠适应性的比较基因组学分析、双峰驼肾脏的转录组学分析等内容。全面系统地介绍了阿拉善双峰驼、阿拉伯单峰驼和羊驼三个骆驼科动物的基因组测序组装结果和基因注释结果；从分歧的遗传原因、分歧时间和种群历史变化三个方面系统地揭示了这三个骆驼科动物的进化史；证实了骆驼科动物通过其特有的加速进化以适应干旱、高原等不利的环境。揭示了长时期水条件下，骆驼低能量消费的经济模式以及骆驼肾脏在水分保持上进化出的特殊补偿机制。对双峰驼、单峰驼和羊驼进行全基因组测序、组装、注释和进化研究，为揭示骆驼科动物的进化历史及骆驼的沙漠适应性，开发骆驼优秀种质资源奠定基础。

本书由国家自然科学基金项目（31402106，31660648）、内蒙古

自治区高等学校科学研究项目 (NJZC16189) 以及内蒙古民族大学博士科研启动基金 (BS364) 资助。

由于作者水平有限, 书中疏漏或不妥之处在所难免, 恳请同行和读者批评指正。

著 者

2018年11月

# 目 录

第1章 引言 .....	1
1.1 研究背景和意义 .....	1
1.2 国内外研究进展 .....	4
1.2.1 骆驼科动物的进化 .....	4
1.2.2 现存骆驼科动物的生物学特性 .....	11
1.2.3 生物信息学及其发展历史 .....	17
1.2.4 基因组测序技术 .....	22
1.3 研究内容 .....	24
第2章 骆驼科动物全基因组序列的测序与组装 .....	26
2.1 材料与amp;方法 .....	26
2.1.1 试验材料 .....	26
2.1.2 DNA 提取及检测 .....	27
2.1.3 基因组测序 .....	27
2.1.4 测序数据过滤 .....	27
2.1.5 K-mer 分析估计基因组大小 .....	28
2.1.6 小片段数据纠错 .....	29
2.1.7 骆驼科动物基因组的组装 .....	29
2.1.8 骆驼科动物基因组的测序效果评价 .....	30
2.2 结果与分析 .....	31
2.2.1 DNA 样品检测结果 .....	31
2.2.2 基因组测序结果 .....	32

2.2.3	测序数据过滤结果 .....	34
2.2.4	K-mer 分析估计基因组大小的结果 .....	35
2.2.5	小片段数据纠错的结果 .....	37
2.2.6	3个骆驼科动物基因组的组装结果 .....	37
2.2.7	3个骆驼科动物基因组的组装后基因组分析 .....	39
2.3	讨论 .....	43
2.3.1	测序物种的选择 .....	43
2.3.2	测序平台与策略 .....	44
2.3.3	基因组大小的估计 .....	44
2.3.4	基因组的组装指标 .....	45
2.4	本章小结 .....	46
<b>第3章</b>	<b>骆驼科动物的基因组注释 .....</b>	<b>47</b>
3.1	材料与方法 .....	47
3.1.1	试验材料 .....	47
3.1.2	重复序列注释 .....	47
3.1.3	基因预测 .....	48
3.1.4	功能注释 .....	50
3.1.5	ncRNA 注释 .....	50
3.1.6	基因集评估 .....	51
3.1.7	直系同源关系分析 .....	51
3.2	结果与分析 .....	51
3.2.1	重复序列注释统计结果 .....	51
3.2.2	基因预测统计结果 .....	52
3.2.3	功能注释统计结果 .....	58
3.2.4	ncRNA 注释统计结果 .....	60
3.2.5	基因集评估统计结果 .....	61
3.2.6	直系同源关系分析结果 .....	62

3.3 讨论 .....	63
3.3.1 骆驼科动物基因组重复序列的注释 .....	64
3.3.2 骆驼科动物基因组基因结构的预测 .....	65
3.3.3 骆驼科动物基因组基因功能和非编码 RNA 的注释 .....	65
3.4 本章小结 .....	66
<b>第4章 骆驼科动物基因组进化分析 .....</b>	<b>67</b>
4.1 材料与方法 .....	67
4.1.1 试验材料 .....	67
4.1.2 共线性鉴定 .....	68
4.1.3 片段复制分析 .....	68
4.1.4 基因家族聚类分析 .....	68
4.1.5 物种进化树的构建 .....	69
4.1.6 物种分歧时间的计算 .....	70
4.1.7 分支特异性 $Ka/Ks$ 率计算 .....	70
4.1.8 SNP 判读和分布比较分析 .....	71
4.1.9 群体历史重建 .....	71
4.2 结果与分析 .....	72
4.2.1 共线性鉴定结果 .....	72
4.2.2 片段复制分析结果 .....	73
4.2.3 基因家族聚类分析结果 .....	74
4.2.4 物种进化树的构建结果 .....	76
4.2.5 物种分歧时间的计算结果 .....	77
4.2.6 分支特异性 $Ka/Ks$ 率计算结果 .....	78
4.2.7 SNP 判读和分布比较分析结果 .....	79
4.2.8 群体历史重建结果 .....	81
4.3 讨论 .....	82
4.3.1 骆驼科动物基因组的共线性与片段复制 .....	82

4.3.2	骆驼科动物进化关系和分歧时间推算	83
4.3.3	骆驼科动物的选择压力	85
4.3.4	骆驼科动物的群体历史规模的变化	85
4.4	本章小结	87
<b>第5章 骆驼沙漠适应性的比较基因组学分析</b>		<b>88</b>
5.1	材料与方法	88
5.1.1	试验材料	88
5.1.2	基因家族收缩扩张分析	88
5.1.3	正选择分析	89
5.1.4	包含特异氨基酸变异的蛋白筛查	89
5.1.5	基因获得和缺失	90
5.1.6	快速进化	90
5.2	结果与分析	91
5.2.1	基因家族收缩扩张分析结果	91
5.2.2	正选择分析结果	98
5.2.3	包含特异氨基酸变异的蛋白筛查结果	98
5.2.4	基因获得和缺失结果	101
5.2.5	快速进化基因结果	103
5.3	讨论	105
5.3.1	骆驼能量代谢	105
5.3.2	骆驼应激能力	105
5.3.3	骆驼对沙尘和日照的适应性	106
5.3.4	骆驼对缺水的适应性	107
5.4	本章小结	107
<b>第6章 双峰驼肾脏的转录组分析</b>		<b>108</b>
6.1	材料与方法	108
6.1.1	试验材料及试验处理	108

6.1.2	RNA 提取及检测 .....	109
6.1.3	RNA 样品处理与测序 .....	109
6.1.4	转录组数据过滤 .....	109
6.1.5	基因表达水平计算 .....	110
6.1.6	差异表达基因筛选 .....	111
6.1.7	差异表达基因的 GO 功能显著性富集分析 .....	111
6.1.8	差异表达基因的通路显著性富集分析 .....	111
6.2	结果与分析 .....	112
6.2.1	RNA 提取检测结果 .....	112
6.2.2	转录组测序的碱基组成和碱基质量分析结果 .....	114
6.2.3	双峰驼肾脏转录组基本分析结果 .....	118
6.2.4	双峰驼肾脏转录组基因表达注释结果 .....	119
6.2.5	双峰驼肾脏转录组基因差异表达分析结果 .....	119
6.2.6	双峰驼肾脏转录组差异表达基因的 GO 分析结果 .....	120
6.2.7	双峰驼肾脏转录组差异表达基因的通路富集分析结果 .....	121
6.3	讨论 .....	122
6.3.1	骆驼肾脏钠重吸收相关基因的转录特点 .....	122
6.3.2	骆驼肾脏水孔蛋白基因家族转录特点 .....	123
6.3.3	骆驼肾脏的高渗调节特点 .....	123
6.3.4	骆驼肾髓质有机适应性渗透物的调节 .....	124
6.3.5	骆驼肾髓质的渗透调节与血糖 .....	126
6.3.6	骆驼肾髓质的渗透保护 .....	126
6.4	本章小结 .....	127
<b>第 7 章</b>	<b>全书总结 .....</b>	<b>128</b>
7.1	全书结论 .....	128
7.2	研究创新点 .....	129
7.3	有待进一步研究的内容 .....	129

## ✧ 骆驼基因组学研究

7.3.1 基因组组装版本的更新 .....	129
7.3.2 基因组注释工作的完善 .....	130
7.3.3 骆驼科动物进化基因的研究 .....	130
7.3.4 骆驼肾脏生理的分子和细胞学研究 .....	131
缩略词表 .....	132
附录 .....	134
参考文献 .....	159

### 1.1 研究背景和意义

基因组学研究包括以全基因组测序为目标的结构基因组 (Structural genome) 研究和以基因功能鉴定为目标的功能基因组 (Functional genome) 研究两部分。结构基因组研究所获得的生物体全基因组序列仅仅是人类认识和了解生命奥秘的第一步, 而更为重要的工作是鉴定基因的功能, 即通过分析基因组的结构, 来揭示基因组内核苷酸序列所蕴含的生物学功能, 从而有效地利用和改造生物。

基因组测序技术的进步和测序成本的降低为人们获得物种的全基因组序列提供了便利条件。在此基础上, 秀丽隐杆线虫<sup>[1]</sup>、果蝇<sup>[2]</sup>、小鼠<sup>[3]</sup>等模式生物陆续被测序。进行模式生物基因组研究的优点在于: 第一, 模式生物的基因组为人们研究生物的基因功能提供了研究的蓝图, 大量的基因被定位、克隆和进行功能研究。第二, 模式生物基因组为人们揭示生物的生长、发育、遗传、进化等方面的规律、特点和机制奠定了基础。第三, 基于全基因组序列, 人们可以系统的研究生物各个方面, 从而使系统生物学研究成为可能。第四, 基于模式生物基因组, 人们也陆续完善和发展了基因组测序技术、基因组分析方法, 从而建立一套完整的基因组学理论体系。此外, 模式生物基因组对于促进人类疾病及药物开发等方面都具有十分重要的应用价值。

开展动物基因组学研究, 揭示动物之间的进化关系, 发掘动物优异基

因资源，实施分子育种已经成为目前动物科学及畜牧业的重要研究前沿领域。众多的具有优异性状和重大经济价值的家养动物陆续被测序，如家蚕<sup>[4]</sup>、家鸡<sup>[5]</sup>、狗<sup>[6]</sup>、蜜蜂<sup>[7]</sup>、猫<sup>[8]</sup>、马<sup>[9]</sup>、牛<sup>[10]</sup>、山羊<sup>[11]</sup>、牦牛<sup>[12]</sup>、骆驼<sup>[13,14]</sup>、猪<sup>[15]</sup>等。

家养动物基因组序列图谱的绘制，在很大程度上为培育优秀动物品种或品系、提高畜产品的质量和数量，满足社会需要提供了极大的帮助。目前，采用育种手段对动物品种进行改良，是提高动物畜产品品质和数量的主要方法。但是，常规的育种方法由于遗传进展慢、效率低，已经逐渐不能满足社会对畜产品的需求。而分子育种（Molecular breeding）由于时间短、效果显著等特点，已经成为主要育种手段之一。分子育种的首要前提条件就是获取具有开发价值的目标基因。这些目标基因可以是与动物生产性状相关的基因，如控制肉品质、生长速度等基因，也可以是和动物适应环境相关的基因，如与抗病、抗粗饲、抗逆性等相关基因。但是采用常规的育种技术或方法对动物的优异性状相关基因进行定位需要极其长的时间，且很难取得较大的成效。而采用基因组技术可以在较短的时间内获得一个物种的全部遗传信息。通过对动物基因组上相关遗传信息进行详细解读，人们可以获得与该物种典型性状相关的优异基因，继而通过对这些基因后续的开发和利用，推动产业发展。因此世界各国都将研究重点放在家养动物基因组学分析、种质资源的基因鉴定与分离等方面，并展开了激烈的竞争。

目前世界上已经形成了以优秀的物种资源为研究基础，以功能基因开发利用为技术核心，以培育优良品种为高利润产品的生物产业模式。在基因组学的促进与推动下，分子育种已经被广泛地应用于现代畜牧业育种和生产。借助分子育种技术，与动物生产性状相关的各种相关基因被定位和克隆，在此基础上，通过分子标记实现了对优良畜种的高效、精确育种。其中，使用 DNA 标记技术结合选种，筛选猪应激综合征（Porcine stress syndrome, PSS）基因就是一个典型的例子。此外，借助转基因技术对异种生物的优秀性状遗传资源进行开发与利用也是分子育种的趋势之一。

家养动物的基因组序列的测定也为人们研究物种之间的进化关系等铺平了道路。众多的家养动物本身在生物进化中就处于一个相对特殊的地位。对家养动物基因组进行分析和研究,对于揭示各物种之间进化关系,阐明物种的进化历史具有重要帮助。例如,通过对猪基因组的比较分析,人们确定了家猪和野猪之间曾发生多次基因交流<sup>[15]</sup>。

此外,对动物基因组的分析有助于揭示物种形成机制。很多家养动物对外界环境具有极强的适应性。例如,牦牛对高原缺氧环境具有极好的适应性,而骆驼对于干旱的沙漠环境具有极强的适应性。对这些家养动物基因组进行研究、分析,为阐述自然选择、人工选择和家养动物适应性进化之间的相互作用,开发宝贵的基因资源奠定基础。部分拥有基因组参考序列的重要农业物种通过基因组工具的辅助,在种质资源开发利用和保护、品种精确定向培育上,已经取得了显著的进展。例如,通过对40个野生蚕和家蚕的基因组重测序数据进行研究,获得了约1 600万个基因组变异位点,并鉴定出354个在家蚕驯化过程中起重要作用的基因<sup>[16]</sup>。对这些数据的进一步研究将会加深人们对家蚕驯化过程的理解,并对进一步的家蚕育种工作具有指导意义。

内蒙古自治区(以下简称内蒙古)地处中国西部,经济发展相对滞后,但生物多样性十分丰富。特殊的地理环境造成了当地具有大量的特色珍稀濒危动植物物种资源。在长期的进化中,这些物种经受住了蒙古高原的寒冷、干旱和瘠薄的生态环境的考验而生存下来,具有许多独特的遗传特性和生理特征,在它们的基因组中保存有大量其他生物所没有的与抗逆性相关的基因序列。这些生物资源是国家重要的战略资源,具有宝贵的开发利用价值,对于农牧业生产、科学研究和促进经济发展都具有十分重要的意义。

阿拉善双峰驼主要分布在中国内蒙古阿拉善左旗、阿拉善右旗等地。在长期的进化过程中,形成了独特的适应荒漠化生态条件的生物学特性,如耐粗饲、耐渴、耐饥饿、耐热及耐寒等。该驼种不仅能利用其他家畜所不能利用的荒漠草场,而且能为人类提供大量毛、役、乳、肉,因此在蒙古族畜牧业经济中占有重要地位,是开发和利用荒漠地区自然资源的优良

畜种。2006年阿拉善双峰驼被国家农业部列入国家级畜禽品种资源保护名录。

先前的骆驼基因组研究,只是在双峰驼和牛的分化时间、基因组 SNP 率、人工选择、胰岛素抗性、盐耐受性等<sup>[13,14]</sup>方面进行了分析,并没有从基因组角度揭示骆驼科动物的进化历史,也没有从基因组层次上系统的对骆驼干旱沙漠的特殊适应性进行研究。本书拟讲述双峰驼、单峰驼和羊驼的全基因组学研究。通过对这3个骆驼科动物的全基因组进行测序、组装、注释和进化分析,揭示骆驼科动物的进化历史、分歧时间及其种群历史规模,并通过骆驼基因组学、转录组数据的研究,分析骆驼的沙漠适应性的遗传学基础。本书将会为理解骆驼对沙漠环境适应能力的生理学特性和遗传学基础提供帮助,同时也为开发骆驼抗干旱的优秀种质资源奠定基础。

## 1.2 国内外研究进展

### 1.2.1 骆驼科动物的进化

#### 1.2.1.1 骆驼科动物的进化概述

骆驼科(Camelidae)动物最早出现在4590万年以前(Million years ago, Mya)北美大陆始新世(Eocene)(56~33.9 Mya)中期的Uintan动物群阶(Faunal stage)<sup>[17,18]</sup>。与其他的食草动物相比,骆驼科物种在始新世的时候比较少。

在骆驼科物种进化的早期,骆驼科动物主要生活在一个很小的地域范围内。科罗拉多州的怀特河(White river)和怀俄明州的沉积物出土了大量Chadronian动物群阶(37.2~33.9 Mya)晚期和Orellan动物群阶(33.9~33.3 Mya)<sup>[18]</sup>的骆驼科动物化石。然而在离其北部不远的达科他地区却很少发现其化石,这表明可能存在某些因素限制了骆驼科动物的纬度分布<sup>[17]</sup>。中新世时期,骆驼科动物活动范围几乎覆盖北美大陆的绝大部分地区,并且在某些化

石动物区系中是最常见的大型食草动物<sup>[17]</sup>。

骆驼科动物曾经多达 36 个属 (Genera) 95 个种 (Species)<sup>[17]</sup>, 是新生代 (Cenozoic) 北美大陆上一个高度发达的群体。骆驼科动物的群体扩张开始于 Arikareean 北美陆生哺乳动物阶 (Arikareean North American Land Mammal Stage, 30.8~20.43 Mya)<sup>[19]</sup>, 而其群体的大规模扩张则主要发生在中新世 (Miocene, 23.03~5.333 Mya)<sup>[18]</sup>。在亥明佛德动物群阶 (Hemingfordian age, 20.6~16.3 Mya) 和巴斯图动物群阶 (Barstovian age, 16.3~13.6 Mya)<sup>[18]</sup>, 骆驼科动物包括至少 13 个属, 这一时期骆驼科动物的遗传多样性达到最大<sup>[17]</sup>。在巴斯图动物群阶晚期, 骆驼科动物至少有 20 个种<sup>[17]</sup>。在中新世晚期和上新世 (Pliocene, 5.333~2.588 Mya) 的时候, 虽然骆驼科动物仍然相对较为普遍, 但是其群体多样性已经发生下降<sup>[17]</sup>。随着更新世晚期大多数的陆生巨型动物灭绝 (Megafauna extinction)<sup>[20]</sup>, 骆驼科物种在北美大陆也开始逐渐灭绝。在大约 11000 年前的时候, *Camelops hesternus*、*Hemiauchenia macrocephala* 和 *Palaeolama mirifica* 作为最后的北美骆驼科动物在北美大陆消失<sup>[21]</sup>。

在前 3600 万年的漫长进化过程中, 骆驼科动物长期生活在北美大陆, 直到中新世晚期约 7.246~4.9 Mya<sup>[17,22]</sup>, 骆驼科动物的一个分支才通过白令地峡迁徙到欧亚大陆并扩散到非洲<sup>[17,23-25]</sup>, 并且在其进入欧亚大陆以后, 骆驼科动物才开始在非洲和亚洲的沙漠地带生活<sup>[17]</sup>。在更新世 (Pleistocene, 2.588~0.0118 Mya) 早期的 Uquian 期 (Uquian age, 3~1.2 Mya), 骆驼科物种的另一个分支开始扩散到南美大陆<sup>[26,27]</sup>。

#### 1.2.1.2 骆驼科动物的四次进化辐射

骆驼科动物在北美大陆上有 4 次进化辐射 (Evolutionary radiation)。第一次是从 Chadronian 动物群阶到 Arikareean 动物群阶早期 (始新世晚期到渐新世中期) 的古骆驼动物 *Poebrotherium* 和 *Paratylopus* 的进化<sup>[17]</sup>。第二次进化辐射是从 Whitneyan 动物群阶 (33.3~30.8 Mya) 到 Arikareean 动物群阶 (渐新世晚期到中新世早期) 的 *Stenomylinae* 亚科的进化辐射<sup>[17]</sup>。

早期的骆驼科动物个体很小, 体重非常轻, 与现代的美洲驼很相似,

只有 2 英尺<sup>①</sup>高, 50 磅<sup>②</sup>重<sup>[17]</sup>。所以, 在骆驼科动物的进化历史中, 最突出的一个事件可能属于渐新世晚期和中新世早期 (Arikareean 动物群阶早期到晚期) “高骆驼科动物” 出现, 该事件也促进了骆驼科动物的第三次进化辐射<sup>[17]</sup>。在 Arikareean 动物群阶晚期, 骆驼科动物属的数量增加了 2 倍<sup>[17]</sup>。但是, Arikareean 动物群阶出现高骆驼并不是一个独立的事件。在俄勒冈州约翰迪地层 (John day formation) 中曾发现过处于 Arikareean 动物群阶晚期大型的骆驼科动物——*Gentilicamelus* 属<sup>[17,28,29]</sup>。在内布拉斯加州 Arikareean 动物群阶晚期的哈里森地层 (Harrison formation) 发现了最早的高骆驼科动物 *Oxydactylus* 属<sup>[30]</sup>。但是, *Tanymyktek* 属和 *Michenia* 属却在中新世的马斯兰地层 (Marsland formation) 中出现<sup>[31,32]</sup>。相比之下, *Protolabis* 属也是在 Arikareean 动物群阶末期的时候才出现<sup>[17]</sup>。从进化上看, 由于 (*Gentilicamelus*) 具有变小的中齿尖, 所以可能并没有起源于 *Stenomyline* 家族, 而有可能起源于 *Paratylopus* 属<sup>[17,28]</sup>, 并且 *Gentilicamelus sternbergi* 可能是 *Priscocamelus* 属、*Oxydactylus* 属和 *Tanymyktek* 属的共同祖先<sup>[17,28]</sup>。

骆驼科动物的第四次进化辐射开始于亥明佛德动物群阶晚期和巴斯图动物群阶早期, 这次辐射进化主要是 *Camelinae* 亚科动物种类的扩张<sup>[17,33]</sup>。广义上说, *Aepycamelus* 可能是现存的美洲驼族 (*Lamini*) 和骆驼族 (*Camelini*) 的祖先单元 (Ancestral taxon)<sup>[17]</sup>。早期的 *Procamelus* 形态特征与 *Aepycamelus* 极为相似, 而晚期的 *Aepycamelus* 已经具有了美洲驼族一些形态特征<sup>[17]</sup>, 这表明大约在巴斯图动物群阶早期或者更早的一些时候, 美洲驼族和骆驼族可能已经发生了分化。*Protolabines* 和 *Miolabines* 等一些古类群 (Archaic group) 仅仅在 Clarendonian 动物群阶 (13.6~10.3 Mya) 兴盛<sup>[17,18]</sup>。但根据对大桑迪地层 (Big sandy formation) 的研究表明, 在亥姆菲尔阶动物群阶 (Hemphillian age, 10.3~4.9 Mya) 晚期, 这些古类群开始衰落, 并最终在中新世晚期灭绝<sup>[17,18,34]</sup>。在这一时期骆驼科动物的种属多样性发生了很大的变化, 从亥明佛德动物群阶和巴斯图动物群阶最高的 11 到 13 个种属减少到上新世晚期的

① 1 英尺 ≈ 30.48cm

② 1 磅 ≈ 0.454kg