

引文格式: 朱群瑶, 丁利民, 容斌, 等. 昭通牛 mtDNA D-loop 区遗传多样性分析[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(6): 921–928. DOI: [10.12101/j.issn.1004-390X\(n\).202306010](https://doi.org/10.12101/j.issn.1004-390X(n).202306010)

昭通牛 mtDNA D-loop 区遗传多样性分析*

朱群瑶^{1#}, 丁利民^{2#}, 容斌³, 邓琦炜³, 胡瑀¹, 范新阳¹, 苗永旺^{1**}

(1. 云南农业大学 动物科学技术学院, 云南 昆明 650201; 2. 昭通市畜牧兽医技术推广站, 云南 昭通 657000;
3. 昭通市农业科学院 畜禽研究所, 云南 昭通 657000)

摘要:【目的】阐明昭通牛群体遗传背景信息。【方法】采用 PCR 产物直接测序技术对 98 头昭通牛样品的 mtDNA D-loop 区全序列变异进行检测, 进一步将昭通牛的数据与已发表的云南文山牛、德宏高峰牛、滇中牛和迪庆牛的 mtDNA 数据进行联合分析。【结果】昭通牛 mtDNA D-loop 区序列共检测到 73 个核苷酸替换位点和 3 个插入/缺失。核苷酸替换位点约占检测核苷酸位点总数的 8.13%, 其中 18 个为单一信息位点, 55 个为简约信息位点, 碱基替换主要为转换。在昭通牛群体中共确定 36 种单倍型, 其中 38.78% 的个体属于 H01~H09 单倍型, 源于瘤牛已发现的 2 个 mtDNA 世系, I1 世系占 37.76%, I2 世系占 1.02%; 其余 61.22% 昭通牛个体分布于 H10~H36 单倍型中, 都源于已发现的普通牛 mtDNA 世系, 其中 T2 世系占 5.10%, T3 世系占 43.88%, T4 世系占 12.24%。昭通牛群体的单倍型多样性为 0.880 ± 0.027 , 核苷酸多样性为 0.02443 ± 0.00094 , 群体内遗传距离为 0.026 ± 0.004 , 群体内遗传多样性指数为 0.027 ± 0.004 。昭通牛与迪庆牛间的遗传距离和遗传分化最小, 与德宏高峰牛间的遗传距离和遗传分化最大。【结论】昭通牛遗传多样性较丰富, 与云南本地其他牛种存在一定遗传分化, 在母系起源上为瘤牛和普通牛 2 个血统的混合起源, 但受普通牛的影响较大。

关键词: 昭通牛; 线粒体 DNA 控制区; 遗传多样性; 母系世系; 遗传分化

中图分类号: S823.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-390X (2023) 06-0921-08

Genetic Diversity of mtDNA D-loop Region in Zhaotong Cattle

ZHU Qunyao¹, DING Limin², RONG Bin³, DENG Qiwei³, HU Yu¹,
FAN Xinyang¹, MIAO Yongwang¹

(1. Faculty of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China;
2. Zhaotong Animal Husbandry and Veterinary Technology Extension Station, Zhaotong 657000, China;
3. Institute of Livestock and Poultry, Zhaotong Academy of Agricultural Sciences, Zhaotong 657000, China)

Abstract: [Purpose] To clarify the genetic background information of Zhaotong cattle. [Methods] The variations in mtDNA D-loop complete sequences from 98 samples of Zhaotong cattle were detected by direct sequencing of PCR products. Further, the data of Zhaotong cattle were analyzed jointly with the published mtDNA data of Yunnan indigenous cattle, including Wenshan cattle, Dehong humped cattle, Dianzhong cattle and Diqing cattle. [Results] A total of 73 nucleotide substitution

收稿日期: 2023-06-06 修回日期: 2023-11-29 网络首发日期: 2024-01-11

*基金项目: 国家自然科学基金项目 (32260822, 31760659); 云南省应用基础研究重点项目 (2014FA032, 2007C0003Z)。

作者简介: #对本文贡献等同, 为并列第一作者。朱群瑶 (1996—), 女, 云南宣威人, 在读硕士研究生, 主要从事动物遗传学研究。E-mail: 3308456924@qq.com; 丁利民 (1988—), 男, 云南昭通人, 硕士, 高级畜牧师, 主要从事畜牧兽医技术推广及畜禽品种研究。E-mail: dinglm1834@163.com

**通信作者 Corresponding author: 苗永旺 (1964—), 男, 内蒙古通辽人, 博士, 教授, 主要从事动物遗传学研究。E-mail: yongwangmiao1@126.com

网络首发地址: <https://link.cnki.net/urlid/53.1044.S.20240110.1602.003>



sites and three indels were found in the mtDNA D-loop sequence of Zhaotong cattle. The nucleotide substitutions found accounted for about 8.13% of the total nucleotide sites detected and base substitutions were mainly transitions, of which 18 were single informative sites, 55 were parsimony informative sites. A total of 36 haplotypes were identified in Zhaotong cattle, of which 38.78% belonged to the haplotypes H01-H09 derived from two mtDNA lineages of *Bos indicus* been found: I1 lineage accounted for 37.76% and I2 lineage accounted for 1.02%. And the remaining 61.22% of this cattle was distributed in haplotypes H10-H36, which were derived from the discovered mtDNA lineages of *B. taurus*, of which T2 lineage accounts for 5.10%, T3 lineage accounts for 43.88%, and T4 lineage accounts for 12.24%. The haplotype diversity of Zhaotong cattle was 0.880 ± 0.027 , the nucleotide diversity was 0.024 ± 0.000 , the genetic distance within population was 0.026 ± 0.004 , and the genetic diversity index within the population was 0.027 ± 0.004 . The genetic distance and genetic differentiation between Zhaotong cattle and Diqing cattle were the lowest, and that between Zhaotong cattle and Dehong humped cattle were the highest. [Conclusion] The genetic diversity of Zhaotong cattle is rich, and this cattle has a certain degree of genetic differentiation with other indigenous cattle breeds in Yunnan. The cattle has mixed maternal origins of *B. taurus* and *B. indicus*, but it is greatly affected by *B. taurus*.

Keywords: Zhaotong cattle; mtDNA D-loop; genetic diversity; matrilineal lineage; genetic differentiation

牛属于脊椎动物亚门 (Vertebrata) 哺乳纲 (Mammalia) 偶蹄目 (Artiodactyla) 反刍亚目 (Ruminantia) 洞角科 (Covicornia) 牛亚科 (Bovidae) 牛属 (*Bos*), 可分为普通牛 (*B. taurus*) 和瘤牛 (*B. indicus*) 2 个类型。近年对世界范围内牛种线粒体 DNA 控制区 (mitochondrial DNA control region, mtDNA D-loop) 序列的研究表明: 普通牛和瘤牛各自起源于独立的驯化事件^[1-2]。普通牛的驯化中心位于近东地区, 欧洲、非洲和东北亚地区也可能存在普通牛的驯化事件; 瘤牛则可能起源于印度河流域^[3-4]。在普通牛中主要存在 5 个 mtDNA 世系 (T 和 T1~T4), 且这些世系存在明显的地理区域分布, 近东和欧洲地区以 T、T2 和 T3 世系为主, 非洲地区以 T1 世系为主, 而 T4 世系为东北亚所特有; 在瘤牛中存在 2 个 mtDNA 世系 (I1 和 I2), 常见于印度次大陆, 且以 I1 世系为主^[1-3]。对中国国家牛的 mtDNA 世系研究表明: 中国国家牛普遍存在普通牛和瘤牛 2 个血统^[2, 5], 且普通牛血统构成主要包含 T1~T4 mtDNA 世系, 瘤牛血统则包含 I1 和 I2 mtDNA 世系。

昭通牛因产于云南省昭通市而得名, 在全市各县 (区) 均有分布。昭通市位于云南省东北部, 地处云、贵、川三省结合部的乌蒙山腹地, 群山

林立, 水资源和饲料资源丰富, 为昭通牛遗传资源的形成和养殖提供了良好条件^[6-7]。昭通牛属役肉兼用型牛种, 体型中等, 体质结实, 结构匀称, 短宽平直, 被毛以黄色为主; 对当地自然生态条件有良好的适应性, 具有耐粗饲、抗逆性和抗病力强等优良种质特性^[6]。昭通牛于 1980 年全国畜禽品种资源调查时定名, 属云南省地方优良品种, 于 1987 年列入《云南省家畜家禽品种志》, 2011 年列入《中国畜禽遗传资源志·牛志》。

畜禽的遗传多样性不仅可以描述群体的遗传背景信息, 为其保种和选育提供参考, 还对群体的亲缘关系、起源分化和基因渗入等研究具有重要意义^[1]。近年来, 多个遗传标记被用于遗传多样性的研究中, 其中 mtDNA D-loop 序列主要用于畜禽母系遗传研究。mtDNA 具有分子结构简单、不重组和高突变等特征, 在哺乳动物中遵循严格的母系遗传, 是物种鉴定和祖先母系起源研究的最佳遗传标记。mtDNA D-loop 区是线粒体基因组中突变率最高的区域, 因此被广泛用于畜禽遗传多样性研究^[8]。2000 年前, 引入外来商业化牛品种进行的杂交改良对昭通牛的影响较大, 导致其血统混杂, 纯种牛数量急剧减少^[6-7]。虽然已有研究对昭通牛的遗传多样性进行了报道^[9-11],

但都是几年甚至 10 年前的研究,且当时研究的样品数量有限,不能准确反映当前该牛的群体遗传结构状况。考虑到当前昭通牛保种与选育利用的迫切需要,本研究利用 mtDNA D-loop 区序列为遗传标记,采用 PCR 产物直接测序技术对当前该牛的群体变异进行检测,进一步结合已发表的云南本地其他牛的 mtDNA 数据进行深入的群体遗传学分析,试图从母系遗传的角度阐明昭通牛的群体遗传结构、血统构成和起源分化,为该牛的保种和选育提供依据。

1 材料与方法

1.1 研究材料

在云南省昭通市昭阳区旧圃镇和彝良县洛泽河镇采集了 98 份昭通牛耳组织样品(45 头母牛和 53 头公牛),置于装有 500 μL 95% 酒精的 1.5 mL 离心管中带回实验室, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,用于基因组 DNA 的提取。样品的采集由当地畜牧部门的专家负责纯种牛的鉴定,要求具备典型的品种特征、无直接血缘关系且在分布上具有代表性。为了更好地评价昭通牛的遗传多样性特征并弄清其与云南其他地方牛种的遗传差异,从 NCBI 数据库 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 下载了 189 条云南地方牛的 mtDNA D-loop 区序列 (GenBank 登录号: MF410466~MF410654),其中包括 53 头文山牛、34 头德宏高峰牛、49 头迪庆牛和 53 头滇中牛,用于与本研究数据进行比较分析。

1.2 基因组 DNA 的提取

采用酚—氯仿法提取基因组 DNA,并用 TE 液溶解,再用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测 DNA 原液的完整性,用 Nano Drop 2000 紫外可见分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 检测其质量浓度和 OD 值,并稀释成质量浓度为 100 ng/ μL 的 DNA 工作液备用。

1.3 目的片段扩增及序列测定

所用引物为 LOFTUS 等^[12]公布的特异性引物扩增 D-loop 全序列片段 (Cattle-F_L15757: 5'-CTGCAGTCTCACCATCAACC-3'; Cattle-R_H496: 5'-GGGGTGTAGATGCTTGC-3'),目的片段扩增及测序所需引物相同。PCR 反应体系为 20.0 μL ,包括 10 $\times$ buffer (Mg^{2+} 15 mmol/mL) 2.0 μL , dNTP 1.6 μL , 10 $\mu\text{mol}/\mu\text{L}$ 上、下游引物各 0.4 μL , 5 U/ μL rTaq DNA 聚合酶 0.1 μL 和 100 ng/ μL 的 DNA 工

作液模板 2.0 μL ,加 ddH₂O 补足体系。反应程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 3 min $\rightarrow$ 34 个循环 (94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s $\rightarrow$ 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 40 s $\rightarrow$ 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 40 s) $\rightarrow$ 72 $^{\circ}\text{C}$ 后延伸 5 min。PCR 产物由生工生物工程 (上海) 股份有限公司进行双向直接测序。

1.4 数据统计与分析

采用 Lasergene 软件包 (DNA Star Inc., USA)^[13] 中的 SeqMan 程序对昭通牛 mtDNA D-loop 序列进行人工校正和输出;采用 ClustalX 软件^[14]进行序列比对,采用 BioEdit 软件^[15]调整和编辑比对好的序列;采用 MEGA6 软件^[16]对序列进行单倍型输出和碱基组成分析,计算群体内遗传距离和群体内遗传多样性指数等;群体间遗传距离采用最大似然法基于 T92+G 模型进行估算,采用 Bootstrap 法 (5 000 次) 估算稳健的标准误差,然后采用邻接法根据群体间遗传距离构建群体间遗传关系树,并利用在线软件 iTOL (<https://itol.embl.de/#>) 对其进行美化;利用 DNASP 6 软件^[17]计算群体遗传多样性参数 (单倍型数、单倍型多样度和核苷酸多样性),估算群体间的遗传分化指数 (genetic differentiation index, F_{st} 值),根据公式 $N_m = (1/F_{st} - 1)/4$ ^[18] 计算基因流 (gene flow, N_m 值);采用 Network 10 软件 (<https://www.fluxus-engineering.com/>) 的中接法构建昭通牛群体各单倍型遗传关系的中介网络图,其中赋予转换和插入/缺失的权重分别为 10 和 15;采用 MEGA6 软件^[16]构建昭通牛群体单倍型的系统发育树。

2 结果与分析

2.1 序列变异

昭通牛 mtDNA D-loop 区的突变位点及定义的单倍型如图 1 所示。98 头昭通牛的 mtDNA D-loop 区序列扩增片段长 915 bp,去掉两端测序质量较差的序列后,用于分析的序列长度为 898 bp。序列中 A、T、C 和 G 碱基的平均含量分别为 33.30%、29.00%、23.90% 和 13.80%,序列 A+T 平均含量为 62.30%,共检测到 73 个核苷酸替换位点和 3 个插入/缺失,核苷酸替换位点约占检测核苷酸位点总数的 8.13%,核苷酸替换主要为转换。在发现的 73 个突变位点中,包含 18 个单一信息位点和 55 个简约信息位点。基于发现的核苷酸替换位点及插入/缺失信息,在昭通牛群体中共

表 1 云南地方牛群体的遗传多样性
Tab. 1 Genetic diversity of Yunnan local cattles

群体 populations	单倍型数 number of haplotype	单倍型多样性 haplotype diversity	核苷酸多样性 nucleotide diversity	群体内遗传距离 mean distance within population	群体内遗传多样性指数 genetic diversity index within population
昭通牛 Zhaotong cattle	36	0.880±0.027	0.024 43±0.000 94	0.026±0.004	0.027±0.004
文山牛 Wenshan cattle	23	0.823±0.052	0.022 83±0.001 96	0.024±0.003	0.025±0.005
德宏高峰牛 Dehong humped cattle	11	0.585±0.100	0.001 83±0.000 54	0.002±0.001	0.002±0.001
迪庆牛 Diqing cattle	27	0.963±0.012	0.021 00±0.002 70	0.022±0.003	0.023±0.004
滇中牛 Dianzhong cattle	18	0.869±0.032	0.022 66±0.001 77	0.024±0.003	0.025±0.006
全部 total	86	0.882±0.017	0.024 82±0.000 30	0.027±0.004	0.027±0.005

表 2 云南地方牛群体间遗传距离
Tab. 2 Genetic distances between local cattle in Yunnan

群体 populations	德宏高峰牛 Dehong humped cattle	迪庆牛 Diqing cattle	滇中牛 Dianzhong cattle	文山牛 Wenshan cattle
迪庆牛 Diqing cattle	0.037			
滇中牛 Dianzhong cattle	0.019	0.029		
文山牛 Wenshan cattle	0.019	0.030	0.024	
昭通牛 Zhaotong cattle	0.031	0.024	0.027	0.028

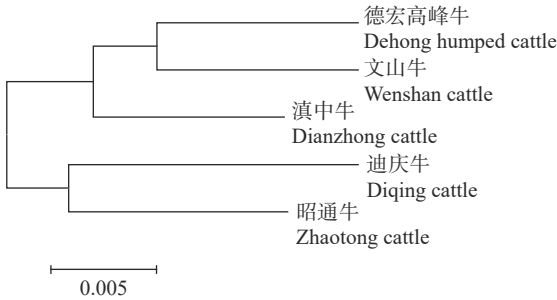


图 2 基于群体间遗传距离构建的聚类树
Fig. 2 Cluster tree based on the genetic distances between populations

表 3 云南地方牛群体间遗传分化指数和基因流
Tab. 3 Genetic differentiation index and gene flow among of local cattle in Yunnan

群体 populations	德宏高峰牛 Dehong humped cattle	迪庆牛 Diqing cattle	滇中牛 Dianzhong cattle	文山牛 Wenshan cattle
迪庆牛 Diqing cattle	0.671 32/0.12			
滇中牛 Dianzhong cattle	0.305 48/0.57	0.216 57/0.90		
文山牛 Wenshan cattle	0.298 82/0.59	0.218 57/0.89	-0.015 34/-16.54	
昭通牛 Zhaotong cattle	0.552 10/0.20	0.023 32/10.47	0.098 42/2.29	0.099 26/2.27

注: “/”前的数据为遗传分化指数, “/”后的数据为基因流。
Note: The data before “/” are genetic differentiation index, and the data after “/” are gene flow.

2.4 世系组成

按照近年对普通牛和瘤牛 mtDNA 世系划分的标准^[2-3], 云南 5 个本地牛的 mtDNA 世系划分结果(表 4)显示: 昭通牛存在普通牛和瘤牛 2 个 mtDNA 世系。就瘤牛世系而言, 昭通牛在目前已发现的 2 个瘤牛 mtDNA 世系中都有分布, 其中 I1 世系占 37.76%, I2 世系占 1.02%; 就普通牛世系而言, 昭通牛群体中只含有 T2、T3 和 T4

世系, 分别占 5.10%、43.88% 和 12.24%。

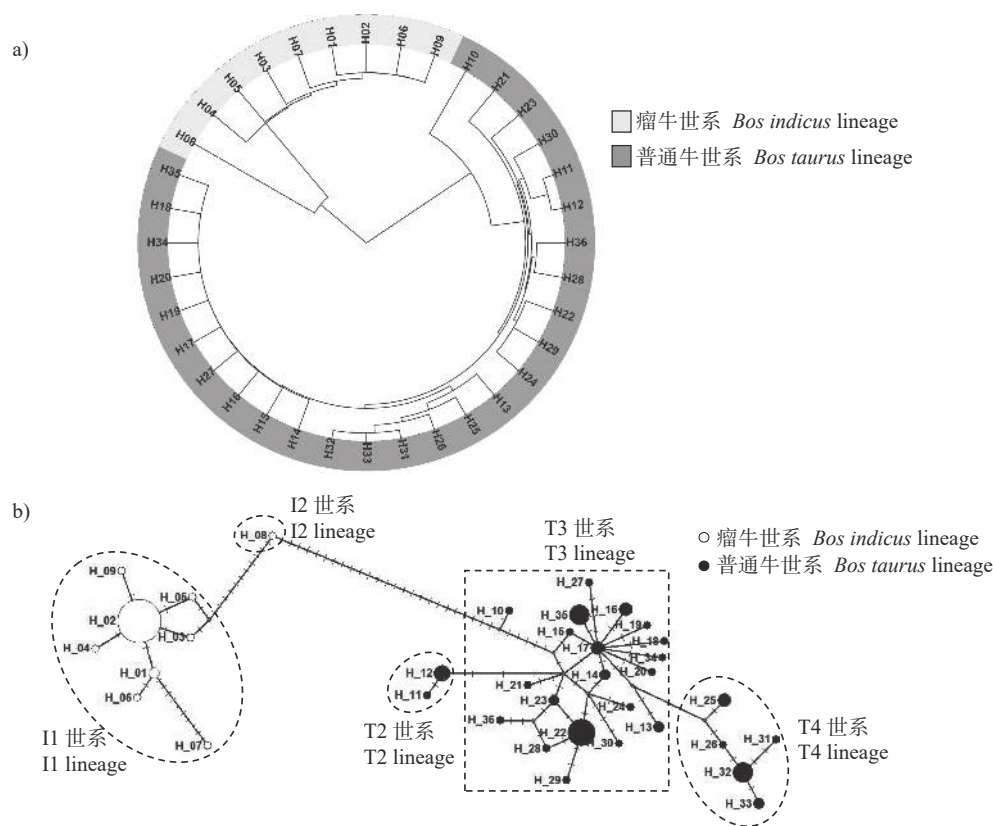
2.5 单倍型遗传关系的系统发育树与中介网络图

由图 3a 可知: 36 个单倍型中, H01~H09 属于瘤牛血统, 其中 H01~H07 和 H09 属于瘤牛血统的 I1 世系, H08 属于瘤牛血统的 I2 世系; H10~H36 属于普通牛血统, 其中 H11 和 H12 属于普通牛血统的 T2 世系, H10、H13~H24、H27~H30 和 H34~H36 属于普通牛血统的 T3 世系, H25、H26

表 4 云南本地牛群体的 mtDNA 世系及占比
Tab. 4 mtDNA lineages and proportions of the Yunnan native cattle

群体 populations	个体数 number of individuals	瘤牛 <i>Bos indicus</i>			普通牛 <i>Bos taurus</i>			
		I1世系 I1 lineage	I2世系 I2 lineage	总和/% total	T2世系 T2 lineage	T3世系 T3 lineage	T4世系 T4 lineage	总和/% total
昭通牛 Zhaotong cattle	98	37 (37.76)	1 (1.02)	38.78	5 (5.10)	43 (43.88)	12 (12.24)	61.22
文山牛 Wenshan cattle	53	31 (58.49)	3 (5.66)	64.15	3 (5.66)	13 (24.53)	3 (5.66)	35.85
德宏高峰牛 Dehong humped cattle	34	32 (4.12)	2 (5.88)	100.00	0	0	0	0
迪庆牛 Diqing cattle	49	7 (14.29)	6 (12.24)	26.53	2 (4.08)	29 (59.19)	5 (10.20)	73.47
滇中牛 Dianzhong cattle	53	32 (60.38)	2 (3.77)	64.15	0	18 (33.96)	1 (1.89)	35.85

注：括号前的数据为数量；括号中的数据为占比，单位：%。
Note: The data before brackets are the number; the data in brackets are proportion, unit: %.



注：b) 虚线框代表不同 mtDNA 世系，“|”代表变异位点，圆圈面积大小与单倍型频率成正比。
Note: b) dashed regions represent different mtDNA lineages, the “|” represent variation sites, the circle area is proportional to the haplotype frequency.

图 3 昭通牛群体单倍型遗传关系的系统发育树 (a) 和中介网络图 (b)

Fig. 3 Phylogenetic tree (a) and mediation network diagram (b) of genetic relationships among haplotypes in Zhaotong cattle

和 H31~H33 属于普通牛的 T4 世系。昭通牛的群体遗传构成是普通牛和瘤牛 mtDNA 世系的混合组成，普通牛和瘤牛世系的占比分别为 61.22% 和 38.78%。中介网络图 (图 3b) 分析表明：普通牛 mtDNA 单倍型世系与瘤牛 mtDNA 单倍型世系间差异较大，两者间存在至少 25 个突变位点。

3 讨论

中国多个地方黄牛群体的 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究表明：中国地方黄牛群体具有丰

富的遗传多样性^[2, 11, 19]。本研究对 98 头昭通牛 mtDNA D-loop 区序列进行测定,共发现 73 个突变位点,定义了 36 种单倍型,单倍型多样性为 0.880 ± 0.027 ,核苷酸多样性为 0.02443 ± 0.00094 ,群体内遗传距离为 0.026 ± 0.004 ,群体内遗传多样性指数为 0.027 ± 0.004 。其中,单倍型多样度和核苷酸多样性是衡量群体遗传变异的重要指标^[19],它们的值越大,说明群体的遗传多样性越丰富。核苷酸多样性不受样本量和序列长度的影响,因此是衡量群体遗传多样性水平的首要指标。对中国 57 个地方牛群体的 mtDNA D-loop 序列进行变异分析发现:所有序列的单倍型多样性为 0.904 ± 0.008 ,核苷酸多样性为 0.0257 ± 0.0001 ;其中,26 个牛种的单倍型多样性低于昭通牛 (0.880),36 个牛种的核苷酸多样性低于昭通牛^[2]。LEI 等^[5]对 33 个中国地方黄牛群体的研究表明:中国黄牛的 mtDNA D-loop 区序列的单倍型多样性为 0.9148 ± 0.0131 ,核苷酸多样性为 0.0258 ± 0.0126 ;其中 19 个黄牛群体的核苷酸多样性小于昭通牛。XIA 等^[20]对广西 3 个本地牛品种的 mtDNA D-loop 序列进行测定及分析发现:隆林牛、南丹牛和涠洲牛的单倍型多样性分别为 0.957 ± 0.030 、 0.876 ± 0.063 和 0.949 ± 0.037 ,核苷酸多样性分别为 0.00409 ± 0.00163 、 0.00640 ± 0.00143 和 0.00024 ± 0.00003 ,3 个牛种的核苷酸多样性都低于昭通牛。昭通牛与本研究对比的云南其他 4 个地方牛群体相比,核苷酸多样性最高。以上结果表明昭通牛群体的群体遗传多样性在中国地方牛中处于相对较高的水平。

遗传距离可以衡量群体间的遗传关系和遗传差异^[21]。本研究表明:昭通牛与迪庆牛间的遗传距离最小 (0.024),与德宏高峰牛间的遗传距离最大 (0.031),表明昭通牛与迪庆牛间的遗传关系最近,而与德宏高峰牛间的遗传关系最远,遗传差异较大。遗传分化指数 (F_{st} 值) 是估测种群间和种群内遗传相似性的指数,以亚种群间的遗传分化占总的遗传多样性的比例来表示^[22],是群体间遗传分化的度量值。基因流 (N_m 值) 是群体间的基因流动,是影响群体内和群体间遗传变异程度的重要因素^[18]。本研究显示:昭通牛与迪庆牛间遗传分化最小, F_{st} 值为 0.02332, N_m 值为 10.47;与德宏高峰牛间遗传分化最大, F_{st} 值为 0.55210, N_m 值为 0.20。以上结果表明昭通牛与迪庆牛间

的遗传分化最小,而与德宏高峰牛间的遗传分化最大。

本研究表明:昭通牛存在普通牛和瘤牛 2 个母系世系,普通牛血统占 61.22%,瘤牛血统占 38.78%。在遗传组成上,昭通牛与云南其他 4 个牛种存在一定的差异。迪庆牛、昭通牛、文山牛和滇中牛的普通牛 mtDNA 世系占比分别为 73.47%、61.22%、35.85% 和 35.85%,其瘤牛 mtDNA 世系占比分别为 26.53%、38.78%、64.15% 和 64.15%;而德宏高峰牛的血统构成有别于这 4 个牛种,仅存在瘤牛血统,占比为 100.00%。形成这种遗传组成地理格局的原因可能与普通牛和瘤牛 2 种血缘世系在中国的扩散路线及其相遇混合的程度有较大关系。中国云南省的西部和南部与南亚瘤牛的主要扩散地缅甸、老挝和越南等东南亚国家接壤,这一地区的牛种受瘤牛血统的影响较大。就本研究中的 5 个牛种而言,德宏高峰牛、文山牛和滇中牛的瘤牛 mtDNA 世系占比较高,其分布地与东南亚地区相邻或较近,特别是德宏高峰牛,其分布地与缅甸相邻,离印度 (瘤牛分布地) 较近,其瘤牛血统占比最高 (100.00%);而分布于云南省北部的迪庆牛和东北部的昭通牛,其普通牛 mtDNA 世系占比较高,它们的分布地距离东南亚地区相对较远,与四川和贵州相邻,推测它们受中国内地牛种普通牛血统的影响更大。本研究发现:昭通牛的普通牛 T2 世系占 5.10%, T3 世系占 43.88%, T4 世系占 12.24%;瘤牛 I1 世系占 37.76%, I2 占 1.02%。推测昭通牛中的普通牛 T2、T3 和 T4 世系可能是在中原文化向云南的传播过程中由中国北方牛种混入,这些普通牛 mtDNA 世系最初起源于近东、欧洲和东北亚地区,而昭通牛中的瘤牛 I1 和 I2 世系则来自东南亚地区传入的南亚瘤牛血统。在一系列的文化传播与交流中,来自 2 个方向的普通牛血统和瘤牛血统在当地汇合,经过长期的人工选育和风土驯化,逐渐形成了现在的昭通牛。

周艳等^[10]和 JIA 等^[1]分别对 7 头和 21 头昭通牛 mtDNA D-loop 区序列进行了测定,结果显示:序列的单倍型多样性为 0.952 ± 0.096 ,核苷酸多样性为 0.02504;普通牛和瘤牛血统分别占 71.43% 和 28.57%。LI 等^[11]对云南地方牛 mtDNA 多样性及系统地理结构的研究结果显示:昭通牛群体的单倍型多样性为 0.974,核苷酸多样性为 0.02547;

普通牛血统和瘤牛血统分别占 60.9% 和 39.1%。与以上结果相比,本研究揭示目前的昭通牛群体遗传多样性水平有所下降,群体中普通牛和瘤牛 mtDNA 世系占比有一定变化,普通牛血统比例下降,瘤牛血统比例上升,说明该牛种近年可能存在更多瘤牛血统的基因渗入。昭通牛与瘤牛血统占比较高的云南文山牛、滇中牛群体间基因流较大,该牛近年是否与这 2 个牛种或云南其他牛种有过基因交流,导致其瘤牛血统比例上升,有必要进一步研究。

4 结论

昭通牛群体遗传多样性丰富,存在普通牛和瘤牛 2 个母系起源,其血统占比分别为 61.22% 和 38.78%,血统构成有别于云南其他地方牛种。本研究推测昭通牛群体中的普通牛 T2、T3 和 T4 世系可能是在中原文化的传播过程中由中国北方牛种中的普通牛世系混入所致;而瘤牛 I1 和 I2 世系则来自东南亚地区传入的瘤牛血统。现今的昭通牛与 10 年前的昭通牛在血统构成上有较大差异,推测近年可能存在一定瘤牛血统的基因渗入。

[参考文献]

- JIA S G, ZHOU Y, LEI C Z, et al. A new insight into cattle's maternal origin in six Asian countries[J]. Journal of Genetics and Genomics, 2010, 37(3): 173. DOI: 10.1016/S1673-8527(09)60035-7.
- XIA X, QU K, ZHANG G, et al. Comprehensive analysis of the mitochondrial DNA diversity in Chinese cattle[J]. Animal Genetics, 2019, 50(1): 70. DOI: 10.1111/age.12749.
- UPADHYAY M, BORTOLUZZI C, BARBATO M, et al. Deciphering the patterns of genetic admixture and diversity in southern European cattle using genome-wide SNPs[J]. Evolutionary Applications, 2019, 12(5): 951. DOI: 10.1111/eva.12770.
- ZHANG K, LENSTRA J A, ZHANG S, et al. Evolution and domestication of the Bovini species[J]. Animal Genetics, 2020, 51(5): 637. DOI: 10.1111/age.12974.
- LEI C Z, CHEN H, ZHANG H C, et al. Origin and phylogeographical structure of Chinese cattle[J]. Animal Genetics, 2006, 37(6): 579. DOI: 10.1111/j.1365-2052.2006.01524.x.
- 覃兴合, 黄伟, 撒义东, 等. 昭通黄牛遗传资源调查报告[J]. 中国牛业科学, 2009, 35(4): 69. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9111.2009.04.021.
- 黄伟. 昭通牛种质资源保护技术措施[J]. 当代畜牧, 2017, 4(12): 20. DOI: 10.3390/ani.1002-2996.2017.4.011.
- MARINI M, PEDROSA-GERASMIO I R, SANTOS M D, et al. Genetic diversity, population structure and demographic history of the tropical eel *Anguilla bicolor pacifica* in Southeast Asia using mitochondrial DNA control region sequences[J]. Global Ecology and Conservation, 2021, 26(3): e01493. DOI: 10.1016/j.gecco.2021.e01493.
- 张桂香, 郑友民, 王志刚, 等. 我国部分黄牛品种线粒体 D-loop 区遗传多样性与起源分化[J]. 遗传, 2009, 31(2): 160. DOI: 10.3724/SP.J.1005.2009.00160.
- 周艳, 陈宏, 贾善刚, 等. 云南昭通黄牛 mtDNA D-loop 区遗传变异分析[J]. 中国牛业科学, 2007, 33(6): 38. DOI: 10.3969/j.issn.1001-9111.2007.06.010.
- LI R, LI C Q, LIU H S, et al. Mitochondrial diversity and phylogeographic structure of native cattle breeds from Yunnan, Southwestern China[J]. Livestock Science, 2018, 214(7): 129. DOI: 10.1016/j.livsci.2018.06.003.
- LOFTUS R T, MACHUGH D E, BRADLEY D G, et al. Evidence for two independent domestications of cattle[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1994, 91(7): 2757. DOI: 10.1073/pnas.91.7.2757.
- THAWNG C N, SMITH G B. A transcriptome software comparison for the analyses of treatments expected to give subtle gene expression responses[J]. BMC Genomics, 2022, 23(1): 452. DOI: 10.1186/s12864-022-08673-8.
- FAUZI M N M, BAKAR A A A, ADNAN L A, et al. Sequencing and annotated of goat's milk using bioinformatics tool: ClustalX[J]. Malaysian Journal of Science Health & Technology, 2021, 7(1): 28. DOI: 10.33102/mjosht.v7i1.155.
- ALZOHAIYRY A M. BioEdit: an important software for molecular biology[J]. Gerf Bulletin of Biosciences, 2011, 2(1): 60.
- TAMURA K, STECHER G, PETERSON D, et al. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2013, 30(12): 2725. DOI: 10.1093/molbev/mst197.
- ROZAS J, FERRER-MATA A, SANCHEZ-DELBARRIO J C, et al. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets[J]. Molecular Biology and Evolution, 2017, 34(12): 3299. DOI: 10.1093/molbev/msx248.
- KASSA A, KONRAD H, GEBUREK T. Molecular diversity and gene flow within and among different subspecies of the wild olive (*Olea europaea* L.): a review[J]. Flora, 2019, 250: 18. DOI: 10.1016/j.flora.2018.11.014.
- SRINIVAS Y, PANDE A, GOLE S, et al. Mitochondrial phylogeography reveals high haplotype diversity and unique genetic lineage in Indian dugongs (*Dugong dugon*)[J]. Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems, 2021, 31(4): 818. DOI: 10.1002/aqc.3490.
- XIA X T, HUANG G Y, WANG Z, et al. Mitogenome diversity and maternal origins of Guangxi cattle breeds[J]. Animals, 2020, 10(1): 19. DOI: 10.3390/ani10010019.
- 郭平仲. 种群间遗传距离与进化趋异[J]. 北京师范学院学报(自然科学版), 1992, 13(2): 63.
- BIRD C E, KARL S A, SMOUSE P E, et al. Detecting and measuring genetic differentiation[M]//KOENEMANN S, HEID C, SCHUBART C. Phylogeography and Population Genetics in Crustacea. Boca Raton: CRC Press, 2011.

责任编辑: 何承刚