

鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点的遗传多态性分析*

辛亚平^{1,2}, 高 雪², 马 云¹, 郭亚宁¹,
陈若愚², 咎林森¹, 许尚忠^{1,2}, 张英汉¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 中国农业科学院 畜牧研究所, 北京 100094)

[摘 要] 提取鲁西牛血液 DNA 样品, PCR 扩增后用基因自动测序仪进行基因扫描分型, 研究 Y-STR 微卫星位点 UMN 0929, UMN 0108, UMN 0920 和 NRA 124 在鲁西牛群体中的遗传多态性。结果发现, 156 头无亲缘关系的鲁西牛公牛在 4 个 Y-STR 微卫星位点均有遗传多态性; UMN 0929 检测到 4 种等位基因, UMN 0108 检测到 5 种等位基因, UMN 0920 和 NRA 124 均检测到 2 种等位基因。UMN 0929, UMN 0108, UMN 0920 和 NRA 124 位点各等位基因的频率分别为 0.25, 0.41, 0.17, 0.17; 0.14, 0.28, 0.28, 0.14, 0.16; 0.38, 0.62 和 0.73, 0.27; 基因多样性(GD)分别为 0.71, 0.78, 0.47, 0.39。共发现了 58 种单倍型(Haplotype), 单倍型多样性(Haplotype diversity, HD)为 0.94。表明 UMN 0929, UMN 0108, UMN 0920 和 NRA 124 4 个微卫星位点在鲁西牛群体中有遗传多态性, 在鲁西牛的起源、个体识别和亲子鉴定研究中有较高的应用价值。

[关键词] 鲁西牛; Y 染色体; 短串联重复序列; 单倍型; 遗传多态性

[中图分类号] S823.8⁺3.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2007)03-0011-06

Genetic polymorphisms of four Y-STR loci in Luxi cattle

X N Ya-ping^{1,2}, GAO Xue², MA Yun¹, GUO Ya-ning¹,
CHEN Ruo-yu², ZAN Lin-sen¹, XU Shang-zhong^{1,2}, ZHANG Ying-han¹

(1 College of Animal Science and Technology, The Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute of Animal Science, China Academy of Agricultural Science, Beijing 100094, China)

Abstract: To investigate the distribution of genetic polymorphisms of four Y chromosome specific short tandem repeat loci in Luxi cattle, four-STR loci were amplified and genotypes were determined with an automated DNA sequencer. The 156 unrelated bulls or steers at the four Y-STR loci were composed of some complex repeat structure. 4, 5, 2, 2 alleles were observed in locus UMN 0929, UMN 0108, UMN 0920, NRA 124 respectively. Allele frequencies were 0.25, 0.41, 0.17, 0.17; 0.14, 0.28, 0.28, 0.14, 0.16; 0.38, 0.62 and 0.73, 0.27 respectively. The gene diversity values were 0.71, 0.78, 0.47 and 0.39. 58 haplotypes were found in 156 males, haplotype diversity values were 0.94. It showed that UMN 0929, UMN 0108, UMN 0920 and NRA 124 had genetic polymorphism in Luxi cattle, and had high value in the origin of Luxi cattle, individual identity and parentage test.

Key words: Luxi cattle; Y chromosome; specific tandem repeat; haplotype; genetic polymorphism

由于 Y 染色体(Y-DNA)是单倍型, 遗传方式是父系遗传, 因此人们对 Y 染色体上的微卫星位点

* [收稿日期] 2006-05-30

[基金项目] 国家“863”计划项目(2002AA 242011); 国家科技攻关项目(2002BA 514A-2-1)

[作者简介] 辛亚平(1965-), 男, 陕西扶风人, 讲师, 在读博士, 主要从事生物技术与家畜育种研究。E-mail: xinyaping@126.com

[通讯作者] 许尚忠(1950-), 男, 河北尚义人, 研究员, 博士生导师, 主要从事分子数量遗传学与家畜育种研究。

E-mail: simmental@vip.sina.com

(Y chromosome specific tandem repeats, Y-STR) 研究具有特殊的兴趣。95% 的 Y 染色体的特异区不重组, 以单倍体形式遗传^[1-2]。近年来, 在人类进化、遗传分析以及法医鉴定方面, Y-STR 微卫星位点的遗传多态性得到越来越多的应用^[3]。但是在动物上有关 Y-STR 的研究还比较少, 其原因可能是由于缺乏牛的 Y 遗传连锁图和有效的微卫星标记^[4]。Y-DNA 中的多态性虽然较少, 但在多态性研究中却有独特的优势: Y-DNA 的突变率很低, 发生回复突变的可能性很小, 更能忠实地记录父系突变的历史。另外, Y-DNA 多态性的种类多, 如单碱基突变、插入和缺失, 这些不同的多态性类型能对进化的历史提供更多的解释。Liu 等^[4-5], Hanotte 等^[6]和 Edwards 等^[7]发现了 46 个牛 Y-STR, 并初步研究了牛 Y-STR 的多态性。本试验对鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点的遗传多态性及其单倍型的分布进行了研究, 以为鲁西牛的分子起源、个体识别和亲子鉴定提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 鲁西牛血样及精液样品 156 份鲁西牛静脉抗凝血采自山东菏泽地区鄄城县鲁西牛原种场(15 份)、牡丹区(60 份)、鄄城县(30 份)、山东曹县银香伟业集团(20 份)以及河北大厂育肥牛场(31 份), 从牛前腔静脉采血 10 mL, ACD 抗凝(血液(mL) ACD(mg) = 6 : 1), 运输温度 4℃, 冷藏保存 -20℃。精液样品来自中国农科院畜牧研究所牛遗传育种室。

1.1.2 试剂 Taq DNA 聚合酶、10 × Buffer、dNTPs 购自北京赛百盛生物有限公司; DNA 片段回收纯化试剂盒购自北京天为时代科技有限公司; 测序反应由北京恒通科技有限公司完成。

1.1.3 引物 参照文献[4-7], 选择 4 个牛 Y-STR 引物(表 1)。引物由北京赛百盛生物工程有限公司合成。

表 1 鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点信息

Table 1 Data of 4 microsatellite loci

位点 Loci	引物序列 Primer sequence	退火温度/ Annealing temperature	重复序列类型 Type of repeat	预期扩增片段 长度/bp Fragment size
UMN 0929	F: 5' ACCA GCTGA TACACAA GTGC-3' / R: 3' GGTCA GA GAA TGAAACA GA G-5'	61	(CA) ₁₉	190
UMN 0108	F: 5' GA TCCA TCCACA TTGCTCCA-3' / R: 3' CCAA GCGTCCA TCAA TTTAC-5'	60	(TG) ₁₈	195
UMN 0920	F: 5' GTTGA GGACTCTTGCA TCTG-3' / R: 3' CACA GGCCTA GAA GA TTGA G-5'	58	(TG) ₁₂	269
NRA 124	F: 5' GATCTTTGCAACTGGTTTG-3' / R: 3' AGGACACA GGTCTGACAA TG-5'	55	(GT) ₄ A (TG) ₉	132

1.2 鲁西牛血液 DNA 的提取

取鲁西牛冰冻血样, 室温融化后加蛋白酶 K 消化过夜, 加入等体积的 Tris 饱和酚重复抽提 2 次, 再向上清中加入等体积的 V(酚) : V(氯仿) : V(异戊醇) = 25 : 24 : 1 和 V(氯仿) : V(异戊醇) = 24 : 1 的混合液, 各抽提一次, 向所收集的上清液中加入 1/10 体积的 3 mol/L 醋酸钠(pH 5.2)及 2.5 倍体积的冰乙醇沉淀 DNA, 盖紧管盖, 水平摇晃数次即可看到絮状 DNA 沉淀, 将 DNA 沉淀挑出, 置于 1.5 mL 灭菌离心管中, 加入 1 mL 体积分数 75% 的乙醇洗涤 DNA 沉淀 2 次, 待乙醇完全挥发干净, 加入 100~200 μL TE, 4℃ 过夜以溶解 DNA。

1.3 鲁西牛血液 DNA 的 PCR 扩增及检测

PCR 反应体系为 25 μL, 其中 10 × Buffer 2.5 μL, 15 mmol/L Mg²⁺ 2.5 μL, 2 mmol/L dNTPs 2.5 μL, 10 μmol/L 上下游引物各 0.5 μL, 0.5 U/μL Taq 酶 0.25 μL, DNA 模板 1.25 μL, ddH₂O 15 μL。反应条件为: 95℃ 变性 5 min; 94℃ 30 s, 59℃ 30 s, 共 33 个循环; 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保存^[8]。取 1~2 μL PCR 产物与 2 μL 6 × 溴酚蓝上样缓冲液混匀, 点样于 15 g/L 琼脂糖凝胶(含 0.5 g/L EB)上, 5 V/cm、电泳 0.5~1 h, 紫外灯下观察结果, 并拍照。

1.4 鲁西牛血液DNA多态性检测

取2 μL PCR产物和8 μL 的Loading Buffer, 混匀后在160 g/L 非变性聚丙烯酰胺凝胶(PAGE, $m(\text{Acr}) : m(\text{Bis}) = 39 : 1$) 中电泳(220 V/cm, 2 h), 银染显色。

1.5 鲁西牛血液DNA PCR产物测序

检测到多态时, 切胶回收PCR产物, 送北京恒通科技有限公司测序。

1.6 数据处理

差异显著性检验用SPSS软件进行。基因频率通过单一计数法计算。基因多样性(Genediversity, GD)采用下式计算:

$$GD = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2$$

式中: p_i 为第 i 个等位基因的基因频率, n 为等位基

因数。

有效等位基因数(N_e)、多态信息含量(PI)的计算公式为:

$$N_e = 1 / \sum_{i=1}^n p_i^2$$

$$PI = 1 - \sum_{i=1}^n p_i^2 - \sum_{j=1}^{n-1} \sum_{k=1}^n 2p_i^2 p_j^2$$

式中: p_i 为第 i 个等位基因的基因频率, p_j 为第 j 个等位基因的基因频率, n 为等位基因数。

2 结果与分析

2.1 鲁西牛4个Y-STR微卫星位点的PCR扩增

鲁西牛4个Y-STR的PCR扩增结果(图1)显示, 片段长度与预期的结果相符, 且特异性良好。

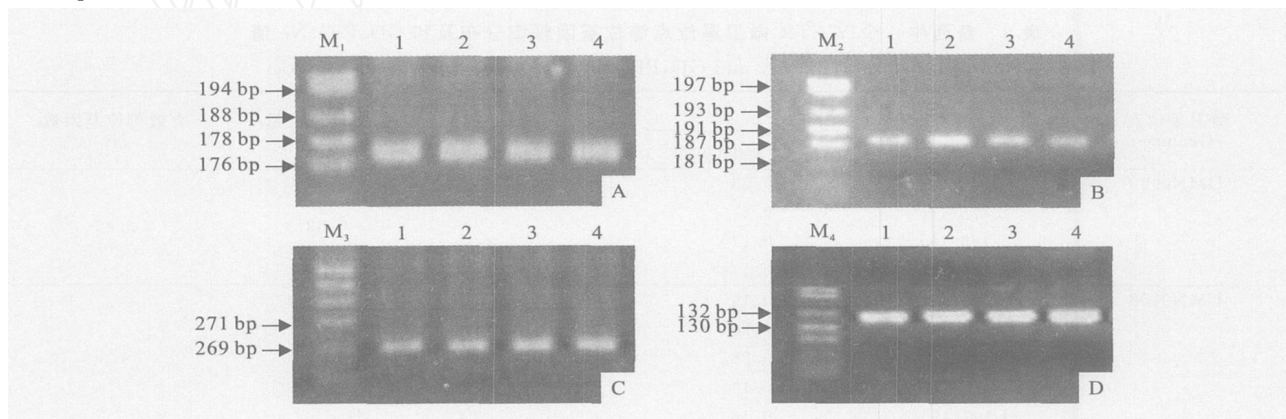


图1 鲁西牛4个Y-STR微卫星位点PCR产物电泳结果

A. UMN 0929; B. UMN 0108; C. UMN 0920; D. NRA 124; 1~4 DNA sample 1~4; M1~M4 DNA marker

Fig 1 PCR products of the four Y-STR loci in Luxi cattle

A. UMN 0929; B. UMN 0108; C. UMN 0920; D. NRA 124; 1~4 DNA sample 1~4; M1~M4 DNA marker

2.2 鲁西牛4个Y-STR微卫星位点等位基因频率及基因多样性

由PAGE结果(图2)和测序结果可知, 鲁西牛的UMN 0929、UMN 0108、UMN 0920和NRA 124 4个Y-STR微卫星位点分别有4, 5, 2和2个等位基因, 其片段大小分别为176, 178, 188, 194; 181, 187, 191, 193, 197; 269, 271和130, 132 bp。鲁西牛4个Y-STR微卫星位点等位基因频率分布和GD、 PI 、 N_e 值见表2。由表2可知, UMN 0108等位基因的多样性最大(0.78), NRA 124等位基因的多样性最小(0.39), UMN 0108和UMN 0929等位基因的多态信息含量最大(0.68), UMN 0108等位基因的

有效等位基因数最大(4.5), UMN 0920等位基因的有效等位基因数最小(2.13)。

2.3 鲁西牛各单倍型的分布频率与统计分析

为了充分利用Y-DNA的多态信息, 建立合适的单倍型是必要的。本试验用直接计数法计算了156头鲁西牛个体单倍型分布频率, 结果发现了58种单倍型, 其中41种只出现1次, 另外17种出现2次以上。

UMN 0929、UMN 0108、UMN 0920和NRA 124 4个微卫星位点单倍型的分布情况见表3。经计算, 单倍型多样性为0.94。

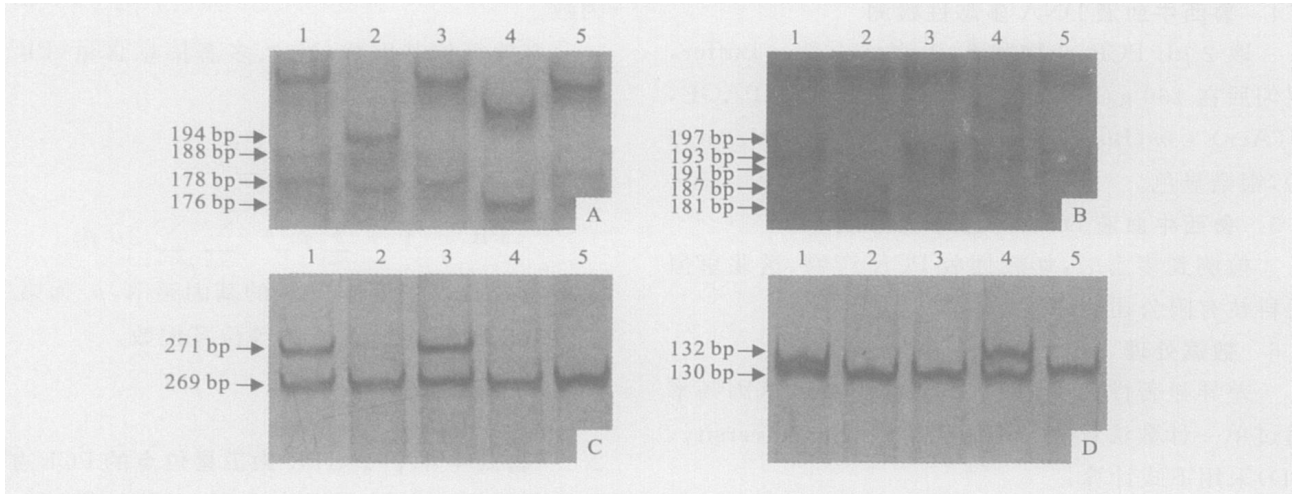


图 2 鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点聚丙烯酰胺凝胶电泳结果
A. UMN 0929; BUMN 0108; C. UMN 0920; D. NRA 124; 1~ 5 DNA sample 1~ 5
Fig 2 PAGE products of the four Y-STR loci in Luxi cattle
A. UMN 0929; BUMN 0108; C. UMN 0920; D. NRA 124; 1- 5 DNA sample 1- 5
表 2 鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点等位基因频率分布及和 GD、PIC、Ne 值
Table 2 Allele frequency and GD, PIC and Ne of the 4 microsatellite loci

微卫星位点 Genome	等位基因 Allele		多样性 GD	多态信息含量 PIC	有效等位基因数 Ne
	种类 Kind	频率 Frequency			
UMN 0929	A -176 (12)	0.25	0.71	0.68	3.47
	B -178 (13)	0.41			
	F -188 (18)	0.17			
	F -194 (21)	0.17			
UMN 0108	A -181 (11)	0.14	0.78	0.68	4.5
	D -187 (14)	0.28			
	F -191 (16)	0.28			
	G -193 (17)	0.14			
	F -197 (19)	0.16			
UMN 0920	A -269 (12)	0.38	0.47	0.36	2.13
	B -271 (13)	0.62			
NRA 124	A -130 (11)	0.73	0.39	0.31	2.56
	B -132 (12)	0.27			

表 3 鲁西牛群体单倍型及其频率
Table 3 Haplotype and its frequency of 4 microsatellite loci in Luxi cattle population

单倍型 Haplotype	UMN 0929	UMN 0108	UMN 0920	NRA 124	例数 (n) N	频率/% Frequency	单倍型 Haplotype	UMN 0929	UMN 0108	UMN 0920	NRA 124	例数 (n) N	频率/% Frequency
1	12	14	13	11	14	9	30	13	16	13	11	21	13.46
2	12	14	13	12	6	3.8	31	13	16	12	11	7	4.49
3	12	11	12	11	1	0.64	32	13	19	12	12	1	0.64
4	12	11	12	12	2	1.28	33	13	19	13	12	1	0.64
5	12	12	11	11	1	0.64	34	19	12	11	11	1	0.646
6	12	11	13	11	1	0.64	36	18	16	13	11	1	0.64
7	12	11	13	11	1	0.64	37	18	17	12	11	2	1.28
8	12	11	13	12	1	0.64	38	18	16	13	12	1	0.64
9	12	19	12	12	1	0.64	39	18	19	12	12	1	0.64
10	12	16	12	11	3	1.92	40	18	17	13	12	1	0.64
11	12	19	13	12	1	0.64	41	18	19	12	11	2	1.28
12	12	17	13	11	1	0.64	42	18	11	13	12	1	0.64
13	12	17	13	12	1	0.64							

续表 3 Continued of Table 3

单倍型 Hap b type	UMN 0929	UMN 0108	UMN 0920	NRA 124	例数 (n) N	频率/% Frequency	单倍型 Hap b type	UMN 0929	UMN 0108	UMN 0920	NRA 124	例数 (n) N	频率/% Frequency
14	12	17	12	11	1	0.64	43	18	11	12	12	1	0.64
15	12	16	13	11	19	12.18	44	18	14	13	11	1	0.64
16	12	14	12	12	1	0.64	45	18	14	12	11	1	0.64
17	12	16	13	12	6	3.85	46	18	14	13	12	1	0.64
18	13	11	12	12	1	0.64	47	18	14	12	12	2	1.28
19	13	11	13	11	1	0.64	48	21	14	12	11	1	0.64
20	13	16	13	12	3	1.92	49	21	16	13	11	1	0.64
21	13	16	12	12	1	0.64	50	21	14	13	12	1	0.64
22	13	14	12	12	1	0.64	51	21	16	13	12	1	0.64
23	13	11	12	11	1	0.64	52	21	14	13	11	4	2.56
24	13	14	12	11	1	0.64	53	21	16	12	11	1	0.64
25	13	14	13	12	1	0.64	54	21	17	13	12	1	0.64
26	13	14	13	11	23	14.74	55	21	17	12	11	1	0.64
27	13	17	13	11	1	0.64	56	21	19	13	11	2	1.28
28	13	17	13	12	1	0.64	57	21	19	13	12	1	0.64
29	13	14	13	12	1	0.64	58	21	19	12	11	1	0.64

2.4 鲁西牛 4 个 Y-STR 等位基因的组织同一性和雄性特异性

取同一公牛的血液和精液, 分别提取其DNA 进行 PCR 扩增, 得到的分型结果完全一样, 表明这 4 个 Y-STR 基因座具有较好的组织同一性, 这与 Giovambattista 等^[8]和 Ward 等^[9]的研究结果一致。取 10 份鲁西牛母牛血样, 提取其DNA 并进行扩增, 结果未发现 Y 特异性扩增产物, 表明在 Y 染色体的拟常区减数分裂时有基因重组现象, 特异区的 4 个位点均未发现扩增产物, 4 个基因座有较好的雄性特异性分析。灵敏性试验结果显示, 1.0 μL DNA 样品即可进行分析, 说明这种方法具有较高的灵敏度。

3 讨论

3.1 鲁西牛 4 个 Y-STR 微卫星位点的多态性分析

作为母系遗传 mtDNA 多态性研究的补充, 父系连锁遗传的 Y-STR 多态性的分析为阐明现代肉牛群体间的关系以及中国牛的起源时间和地点提供了新的分子生物学证据, 尤其是 Y 染色体特异 STR 的发展更是很大程度上改变了 Y 染色体缺乏多态性的观念, 为研究中国肉牛近期进化事件提供了新的可能性^[9-12]。肉牛父系进化史的揭示需要对不同牛种的 Y-STR 多态性进行仔细比较^[13-14]。鲁西牛是中国五大地方良种黄牛之一, 具有悠久的历史。本研究对鲁西牛群体在 4 个 Y 染色体特异的 STR 微卫星位点(UMN 0929、UMN 0108、UMN 0920 和 NRA 124)的多态性分布进行了筛查, 结果显示鲁西牛在这 4 个微卫星位点均有遗传多态性, 等位基因较

多, 多态性较好, 而且这 4 个微卫星位点的等位基因片段较小, 较容易扩增^[15-16]。

研究发现, Y-STR 基因座在不同群体间基因型构成和等位基因频率分布有差异^[7]。鲁西牛与秦川牛 UMN 0929 位点有 2 个等位基因(A-176 和 B-178)相同, 推测中国五大地方黄牛在 UMN 0929 位点上 A-176 和 B-178 是共有基因; 鲁西牛与秦川牛在 UMN 0108 位点有 2 个等位基因(D-187 和 F-191)相同, 推测中国五大地方黄牛在 UMN 0929 位点上 D-187 和 F-191 是共有基因。

3.2 4 个 Y-STR 微卫星位点鲁西牛起源分类中的应用

牛 Y 染色体微卫星已经被用于区分瘤牛和普通牛^[17-18]及野牛和普通牛。Vaiman 等^[11]、Kappes 等^[12]、Bishop 等^[13]、Edwards 等^[7]对牛 Y 染色体进行微卫星分析, 结果发现在 NRA 124 和 BM S861 2 个位点上, 瘤牛和普通牛有明显的序列差异。Liu 等^[4-5]、Hanotte 等^[6]和 Edwards 等^[7]发现了 46 个微卫星标记, 其中 14 个可能具有多态性。

鲁西牛与秦川牛在 NRA 124 位点起源上的差异为, 鲁西牛瘤牛起源为 73%, 普通牛为 27%; 秦川牛瘤牛起源为 24%, 普通牛为 76%。表明鲁西牛中瘤牛起源占主要地位, 秦川牛中普通牛起源占主要地位。这与张志清等^[2]、Cai Xin 等^[3]、Hanotte 等^[6]和 Edwards 等^[7]的研究结果一致。

3.3 4 个 Y-STR 微卫星位点在鲁西牛个体鉴定中的应用

本研究结果显示, 鲁西牛单倍型的遗传多样性为 0.94, 对 Y 染色体来说, 此值等于个体识别率和非父排除率^[19], 表明 Y-STR 具有较高的个体识别

率,在非父排除及个体鉴定方面有重要作用。一份鲁西牛冷冻精液在 1 个 Y-STR 位点上如果出现 2 个或 2 个以上等位基因,就可推断该精液为混合样品,这样就可以分析混合精液的来源。因此,在鲁西牛血缘关系检验中有利于搞清下一代的血统来源^[20],具有明显的优势。

3.4.4 4 个 Y-STR 微卫星位点在鲁西牛亲子鉴定方面的应用

由于 Y-STR 基因座的父系遗传特点,同一父系下所有雄性个体的分型一致,在缺乏父系样本的情况下,如果还能获得可疑父亲的雄性父系亲属(如兄弟)的样本,就可以用这些样本来代替父亲样本进行父子间 Y-STR 基因座的单亲亲子鉴定^[21]。在只有父亲与儿子样本的情况下,就可以通过对比父子间的 Y-STR 基因座的等位基因,确定是否存在父子关系。

[参考文献]

- [1] 陈宏,邱怀. 中国四个地方黄牛品种的染色体研究[J]. 黄牛杂志, 1991(2): 8-10
- [2] 张志清,陈宏,雷初朝. 南阳牛父系和母系起源研究[J]. 动物生物技术 Bulletin, 2004, 9: 302-306
- [3] Cai Xin, Chen Hong, Wang Shan, et al. Polymorphisms of two Y chromosome microsatellites in Chinese cattle breeds[J]. Genetics Selection Evolution, 2006, 38(4): 1230-1234
- [4] Liu W S, Mariani P, Beattie C W, et al. A radiation hybrid map for the bovine Y Chromosome[J]. Mammalian Genome, 2002, 13: 320-326
- [5] Liu W S, Beattie C W, Ponce de León F A. Bovine Y chromosome microsatellite polymorphisms[J]. Cytogenetic and Genome Research, 2003, 102(1-4): 53-58
- [6] Hanotte O, Tawah C L, Bradley D G, et al. Geographic distribution and frequency of a taurine *Bos taurus* and an indicine *Bos indicus* Y specific allele amongst sub-saharan African cattle breeds[J]. Molecular Ecology, 2000, 9(4): 387-396
- [7] Edwards C J, Gaillard C, Bradley D G, et al. Y-specific microsatellite polymorphisms in a range of bovid species[J]. Animal Genetics, 2000, 31(2): 127-130
- [8] Giovambattista G, Ripoli M V, De Luca J C, et al. Male-mediated introgression of *Bos indicus* genes into Argentine and Bolivian Creole cattle breeds[J]. Animal Genetics, 2000, 31(5): 302-305
- [9] Ward T J, Skow L C, Gallagher D S, et al. Differential introgression of uniparentally inherited markers in bison populations with hybrid ancestries[J]. Animal Genetics, 2001, 32(2): 89-91
- [10] Van Hooft W F, Groen A F, Prins H H. Phylogeography of the African buffalo based on mitochondrial and Y-chromosomal loci: pleistocene origin and population expansion of the Cape buffalo subspecies[J]. Molecular Ecology, 2002, 11(2): 267-279
- [11] Vaiman D, Mercier D, Moazami-Goudarzi K, et al. A set of 99 cattle microsatellites: characterization, synteny mapping, and polymorphism[J]. Mammalian Genome, 1994, 5(5): 288-297
- [12] Kappes S M, Keele J W, Stone R T, et al. A second-generation linkage map of the bovine genome[J]. Genome Research, 1997, 7(3): 235-249
- [13] Bishop M D, Kappes S M, Keele J W, et al. A genetic linkage map for cattle[J]. Genetics, 1994, 136(2): 619-639
- [14] Kikkawa K, Takada T, Sutopo K, et al. Phylogenies using mtDNA and SRY provide evidence for male-mediated introgression in Asian domestic cattle[J]. Animal Genetics, 2003, 34(2): 96-101
- [15] Cathey A C, Bickham J W, Patto J C. Introgressive hybridization and nonconcordant evolutionary history of maternal and paternal lineages in north-american deer[J]. Evolution, 1998, 52: 1224-1229
- [16] Kadwell M, Fernandez M, Stanley H F, et al. Genetic analysis reveals the wild ancestors of the llama and the alpaca[J]. Proceedings Biological Sciences/The Royal Society, 2001, 268(1485): 2575-2584
- [17] Pecon-Slattery J, Pearks W A J, Murphy W J, et al. Phylogenetic assessment of introns and SNPs within the Y chromosome using the cat family felidae as a species tree[J]. Molecular Biology and Evolution, 2004, 21(12): 2299-2309
- [18] Takeda K, Takahashi S, Onishi A, et al. Dominant distribution of mitochondrial DNA from recipient oocytes in bovine embryos and offspring after nuclear transfer[J]. Reproduction and Fertility, 1999, 116(2): 253-259
- [19] Mannen H, Tsuji S, Loftus R T, et al. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (*Bos taurus*) [J]. Genetics, 1998, 150(3): 1169-1175
- [20] Lee K J, Sim C J. Taxonomic study on marine sponges of komundo Island, Korea[J]. Korean J System Zool, 1999, 15(1): 141-152
- [21] MAA, MacHugh D E, Bradley D G. A microsatellite survey of cattle from a centre of origin: the Near East[J]. Molecular Ecology, 1999, 8: 2015-2022