

DOI:CNKI:61-1390/S.20110711.1714.001

网络出版时间:2011-07-11 17:14:00

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20110711.1714.001.html>

滇东南水牛 mtDNA 控制区遗传多样性及其系统地位分析

亏开兴^{1,2}, 和占星², 苗永旺³, 李红伟⁴, 金显栋²,
张继才², 杨国荣², 黄必志², 咎林森^{1,5}

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2 云南省草地动物科学研究院, 云南 昆明 650212;

3 云南农业大学 动物科技学院, 云南 昆明 650201; 4 蒙自市畜牧技术推广站, 云南 蒙自 661100; 5 国家肉牛改良中心, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】 **【目的】** 深入了解滇东南水牛(*Bubalus bubalis*)的遗传多样性及其在水牛中的系统地位。**【方法】** 以 29 头滇东南水牛血样为材料, 通过 PCR 扩增直接测序, 测定了 29 条滇东南水牛个体的线粒体 DNA D-loop(mtDNA D-loop)全序列, 并引用 GenBank 公布的埃及、印度、地中海、巴西及中国水牛 mtDNA D-loop 序列, 构建各单倍型间的聚类树。**【结果】** 滇东南水牛 mtDNA D-loop 全序列长度为 910~917 bp, 结合 GenBank 中公布的 5 条来自云南省马关县的滇东南水牛序列, 界定滇东南水牛 mtDNA D-loop 有单倍型 20 种, 单倍型多态性、核苷酸多态性和核苷酸差异数分别为 0.877 ± 0.053 , 0.011 ± 0.005 和 9.865 ± 21.419 , 错配分布分析表明, 滇东南水牛保持着较为平稳的群体水平, 揭示滇东南水牛现生群体的遗传多样性较为丰富。聚类结果显示, 滇东南水牛所有个体都聚在沼泽型水牛支系, 与印度、埃及、地中海等江河型水牛支系截然分列于 2 大独立的支系; 滇东南水牛又分为支系 A(SW-A)和支系 B(SW-B), 与其他中国水牛品种的表现一致。**【结论】** 滇东南水牛群体规模平稳, 且群体未曾受到印度水牛基因的渐渗, 完全属于沼泽型水牛, 支持滇东南水牛起源于中国或东南亚的假说。

【关键词】 滇东南水牛; mtDNA D-loop; 遗传多样性; 系统地位; 沼泽型水牛

【中图分类号】 S823.8⁺32

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2011)09-0073-08

Genetic diversity and phylogenetic status of mitochondrial DNA control region in Diandongnan buffalo

QU Kai-xing^{1,2}, HE Zhan-xing², MIAO Yong-wang³, LI Hong-wei⁴,
JIN Xian-dong², ZHANG Ji-cai², YANG Guo-rong²,
HUANG Bi-zhi², ZAN Lin-sen^{1,5}

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

2 Yunnan Academy of Grassland and Animal Science, Kunming, Yunnan 650212, China;

3 College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming, Yunnan 650201, China;

4 Mengzi Center of Animal Disease Control and Prevention, Mengzi, Yunnan 661100, China;

5 National Beef Cattle Improvement Center of China, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: **【Objective】** The aim of this study is to shed light on the genetic diversity and phylogenetic status of Diandongnan buffalo (*Bubalus bubalis*). **【Method】** Through polymerase chain reaction (PCR) and

* [收稿日期] 2011-02-28

[基金项目] 云南省应用基础研究计划面上项目(2007C130M, 2006C0034M); 农业部公益性行业专项(NYHYZX07-035); 教育部长江学者与创新团队发展计划专项“肉牛、奶牛遗传改良与种质创新团队”

[作者简介] 亏开兴(1975—), 男, 云南祥云人, 在读博士, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: kaixqu@yahoo.com.cn

[通信作者] 咎林森(1963—), 男, 陕西扶风人, 教授, 博士生导师, 主要从事肉牛、奶牛遗传改良与种质创新研究。

E-mail: zanls@yahoo.com.cn

direct sequence, 29 mtDNA D-loops were sequenced. A NJ tree was constructed by gathering the mtDNA D-loop sequences involving in Egyptian, Indian, Mediterranean, Brazilian, and Chinese buffalo breeds. 【Result】 The lengths of mtDNA D-loops ranged from 910—917 bp. Combined with five mtDNA D-loops of Diandongnan buffalo from GenBank, 20 haplotypes were defined showing that haplotype diversity, nucleotide diversity and average number of nucleotide differences were 0.877 ± 0.053 , 0.011 ± 0.005 and 9.865 ± 21.419 , respectively. Mismatch distribution analysis showed that extant Diandongnan buffalo population lasts a stable population with abundant diversity. The NJ tree revealed two distinct clades (swamp-type and river-type clades), and all the Diandongnan buffalo clustered together with swamp-type clade and split from river-type buffalo including Indian, Egyptian and Mediterranean buffalo. Diandongnan buffalo further split two sub-clades, SW-A and SW-B in accordance with the cases of other Chinese buffalo breeds. 【Conclusion】 Diandongnan buffalo keep a stable population size and no Indian river-type mitochondrial haplotypes were found in Diandongnan buffalo indicating that Diandongnan buffalo hadn't yet been undergone gene introgression from Indian buffalo and Diandongnan buffalo belongs to pure swamp-type without Indian river-type haplotypes supporting the hypothesis of China or Southeast Asian origin.

Key words: Diandongnan buffalo; mtDNA D-loop; genetic diversity; phylogenetic status; swamp-type buffalo

滇东南水牛(*Bubalus bubalis*)主要分布于云南省南部的红河州、文山州及玉溪、曲靖地区,并因此而得名^[1-2]。滇东南水牛为沼泽型(swamp-type)、西南高原型地方水牛品种之一,以水田耕作、拉车等役用方式为主。滇东南水牛是云南省的 3 大地方水牛品种之一,同时被列为中国 18 个地方水牛品种^[3];它具备耐粗饲、耐湿热、耐粗放,适应能力、抗病力强,役用性好、性情温顺及肉质优良等水牛共性。近年来,随着农村机械化程度的提高和林权制度改革的落实,滇东南水牛存栏数逐年骤减,而且使用方向正由役用向肉用转变。

线粒体 DNA D-loop(Mitochondrial DNA displacement, mtDNA D-loop),即线粒体高变区或控制区,其变异速率为其他片段的 5~10 倍。目前,国内外学者成功地运用牛 mtDNA D-loop 诠释了家养牛和水牛的起源、驯化及遗传背景等^[4-11]。家养水牛依据染色体倍数不同而分为江河型($2n=50$)与沼泽型($2n=48$)水牛两大类,且有不同的起源和驯化事件。Lei 等^[9]研究表明,中国的沼泽型水牛遗传多样性丰富,并界定了 2 个母系起源,即支系 A 与支系 B,其中以支系 A 的影响面较大,中国水牛品种几乎都涵盖在这 2 个支系中,与地理分布的关系不大^[9-10],支持沼泽型水牛可能是中国独立驯化的假说^[9,12-14];而江河型水牛起源于印度西部的 Gujarat 和 Maharastra 地区^[8],奥尔森^[12]也认为,中国是动物早期驯化的一个中心,是研究早期家养动物最有前景的地区。徐旺生^[14]基本同意谢成侠^[13]认为中

国水牛起源于中国本地的观点,但单从考古发现的化石和骨骼等方面进行论述,证据还不够充分。本研究以 29 头滇东南水牛血样为材料,通过 PCR 扩增直接测序,测定了 29 条滇东南水牛个体的 mtDNA D-loop 全序列,并引用 GenBank 公布的埃及、印度、地中海、巴西及中国水牛 mtDNA D-loop 序列构建各单倍型间的聚类树,深入研究了滇东南水牛的遗传多样性及其在水牛中的系统地位,以期为了了解和弥补滇东南水牛的遗传多样性及其在水牛中的系统地位提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

29 头滇东南水牛血样采自红河州蒙自县的芷村、冷泉和新安所等,颈静脉采血 3~5 mL,肝素钠抗凝,低温运回实验室, -20℃ 保存备用。

1.2 滇东南水牛总 DNA 的提取与序列测定

总 DNA 提取按常规酚/氯仿法。PCR 引物和扩增参照 Kierstein 等^[7]的方法,正向引物 L15617: 5'-TAGTGCTAATACCAACGGCC-3'、L15925: 5'-CCATCAACACACCTGACC-3'和 int-a: 5'-CCATGCTCACACATAACTGTGC-3',反向引物 H399: 5'-AGGCATTTTTCAGTGCCTTGC-3',以 L15925 和 int-a 为测序内引物。PCR 反应体系 48 μ L,其中超纯水 36.7 μ L, 10 $\times$ Buffer 5.0 μ L, dNTPs 2.0 μ L (2.5 mmol/L), 正、反向引物各 1.0 μ L (10 pmol/ μ L), 小牛血清蛋白(BSA) 1.0 μ L, rTaq 酶

0.3 μL (5 U/ μL), 模板 DNA 1.0 μL (20 ~ 50 ng/ μL)。PCR 扩增程序:94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 4 min;然后 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 1 min,56 $^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min,72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min,36 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 后延伸 7~10 min。

由上海生工生物技术有限公司完成正反链双向测序,并用 2 个内引物 L15925 和 int-a 进行重叠测序,对不完整的序列进行重复 PCR 及测序。文中滇东南水牛的单倍型编号(样品号)为非连续,因为所测序列是在样本中随机抽取的。

1.3 数据分析

以海南省海口市水牛 mtDNA D-loop 序列(GenBank 登录号:NC_006295-1)为参照,合并 GenBank 中云南省马关县的 5 条滇东南水牛 mtDNA D-loop 序列(GenBank 登录号:EF597583~EF597587),引用 6 条巴西 Carabao 水牛 mtDNA D-loop 序列(GenBank 登录号:AF197218~AF197223),及江河型水牛中的埃及水牛(GenBank 登录号:EU268908)、印度水牛(GenBank 登录号:AF475220、AF475233、AF475248、AF475250、AF475264、AY195589)、地中海水牛(GenBank 登录号:AF197199、AF197200、AY195593、AY195594) mtDNA D-loop 等。

通过 DNASTar 5.0 软件 Seqman 人工校对测定的序列,经 Clustal V 排列;采用 Mega 4.0.2 软件统计多态位点及变异情况;利用 DnaSP 4.0 软件包进行多态信息参数、Tajima’s D 检验和 Mismatch

Distribution 分析;应用 Mega 4.0.2 软件构建各单倍型间的 NJ 树,并结合 GenBank 中公布的水牛 mtDNA D-loop 单倍型,以印度瘤牛 Haryana 牛(*Bos indicus*)的 mtDNA D-loop(GenBank 登录号:AB085922)为外群构建 NJ 聚类树。

2 结果与分析

2.1 滇东南水牛 mtDNA D-loop 序列的遗传多态性

结合 GenBank 中公布的海南省海口市水牛(GenBank 登录号:NC_006295-1)及 5 条来自云南省马关县的滇东南水牛(GenBank 登录号:EF597583~EF597587)序列,按照 Kierstein 等^[7]发表的 mtDNA D-loop 序列(GenBank 登录号:AY195589~AY195599),界定滇东南水牛 mtDNA D-loop 全序列的长度为 910~917 bp,其变异主要存在于第 178~193 位碱基中 5~10 个数量不等的 Poly G 和第 776~806 位碱基中的 Poly C(图 1)。忽略以上 2 个 Poly G 和 Poly C 造成的插入/缺失,界定了这些 mtDNA D-loop 序列的 99 个多态位点与 31 种单倍型(图 2),其中滇东南水牛有单倍型 20 种。沼泽型水牛的 Ploy G 数量有 5~11 个,江河型水牛有 4~11 个,而 Ploy C 数量均有 7~9 个;沼泽型水牛与江河型水牛在这 2 个结构上的差异不大。

滇东南水牛的遗传多样性指数见表 1。

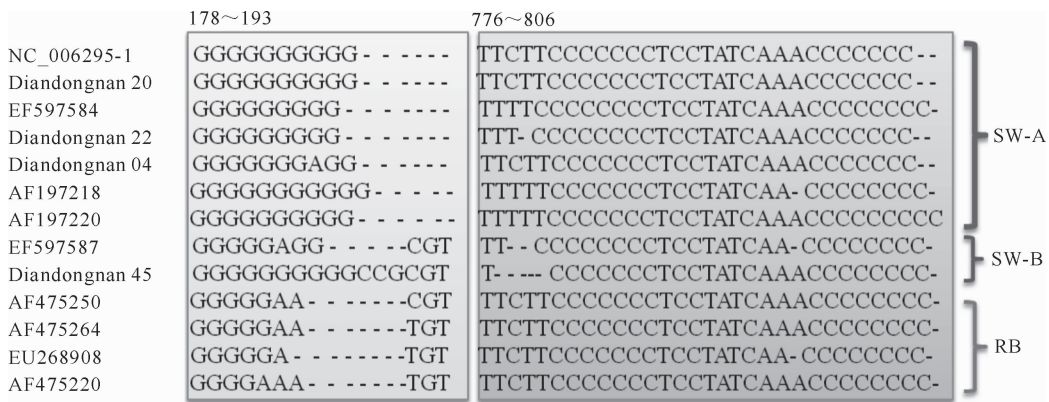


图 1 滇东南水牛 mtDNA D-loop 区的 2 个 Poly G/C 结构
以海口市水牛 mtDNA D-loop 序列 (GenBank 登录号:NC_006295-1)为参照进行排列,沼泽型水牛为引用数据与滇东南水牛数据合并,缩写为 SW,沼泽型水牛支系 A 与 B 也是同样的情况,分别缩写为 SW-A 和 SW-B,江河型水牛缩写为 RB。下同。“-”表示碱基缺失/插入

Fig. 1 Two Ploy G/C stretches of mtDNA D-loop in Diandongnan buffalo
Aligned by the reference of mtDNA D-loop from Haikou buffalo (GenBank Accession nos:NC_006295-1),swamp buffalo combined the cited data and Diandongnan buffalo,abb. SW. SW-A,SW-B are the swamp clade A and B, respectively. RB. River-type buffalo. The following is the same. “-” denoted nucleotide deletion/insertion

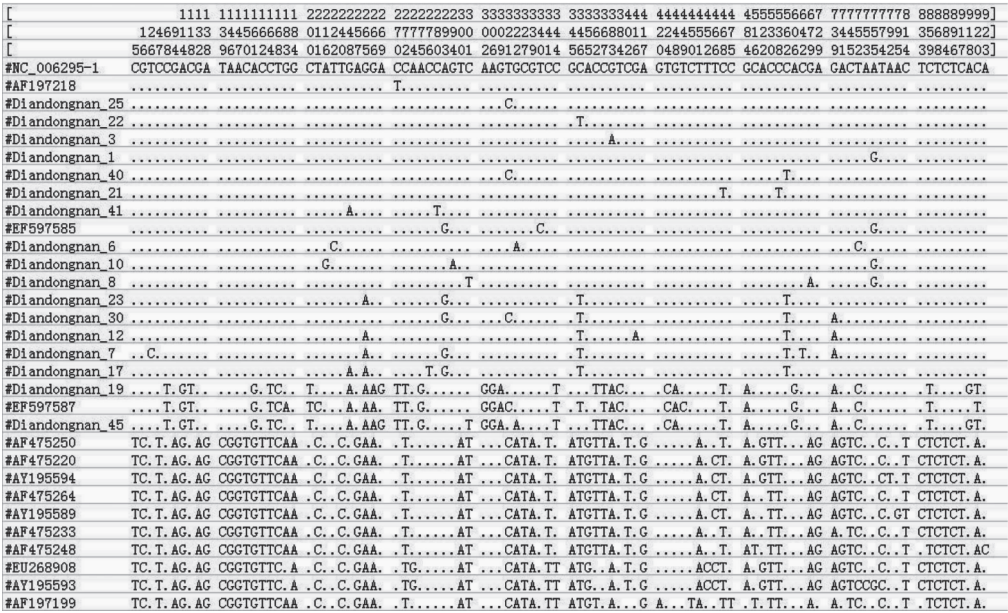


图 2 沼泽型水牛与江河型水牛 mtDNA D-loop 区的变异位点
“.”表示碱基与 NC_006295-1 序列相同

Fig. 2 Variations of mtDNA D-loop in swamp-type and river-type buffalo
“.” denoted the same nucleotide as NC_006295-1 sequence

表 1 滇东南水牛的遗传多样性指数

Table 1 Index of genetic diversity in Diandongnan buffalo

群体或支系 Populations/Clade	单倍型多态度(H) Haplotype diversity (H)	核苷酸多态度(Pi) Nucleotide diversity (Pi)	核苷酸差异数(k) Average number of nucleotide differences (k)	Tajima's D 检验 Tajima's D test	P 值 P value
滇东南水牛 Diandongnan buffalo	0.877±0.053	0.011±0.005	9.865±21.419	-0.875	>0.10
沼泽型水牛 Swamp-type buffalo	0.869±0.051	0.010±0.004	8.850±17.387	-1.054	>0.10
沼泽型水牛支系 A Swamp buffalo lineage A	0.842±0.061	0.003±0.002	3.022±2.606	-1.812	<0.05
沼泽型水牛支系 B Swamp buffalo lineage B	0.833±0.222	0.006±0.004	5.333±10.574	-0.222	>0.10
江河型水牛 River-type buffalo	0.935±0.031	0.006±0.003	5.428±7.337	-0.439	>0.10

由表 1 可以看出,滇东南水牛的单倍型多态度(H)、核苷酸多态度(Pi)和核苷酸差异数(k)分别为 0.877±0.053,0.011±0.005 和 9.865±21.419, Tajima's D 值为-0.875,群体处于中性突变($P>0.10$),表明滇东南水牛现生群体的遗传多样性较为丰富。无论是滇东南水牛,还是沼泽型水牛的 2 个支系,乃至沼泽型水牛与江河型水牛,都显示出较高的遗传多样性。Tajima's D 检验表明,沼泽型水牛支系 A(SW-A)的 Tajima's D 值为-1.812,显著偏离中性突变($P<0.05$)。

由图 3 可以看出,沼泽型水牛 SW-A 支系为 1 条不十分平滑的左移峰曲线,推测 SW-A 经历了 1 次近期的群体扩张;而其他支系都遵从中性突变,群体规模平稳。

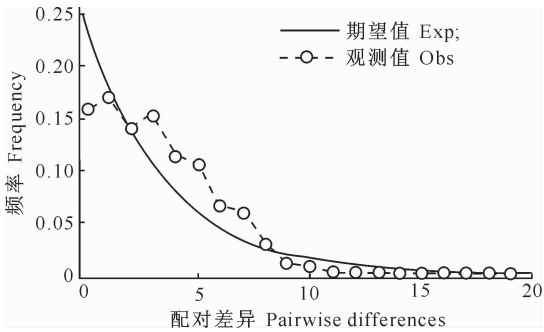


图 3 沼泽型水牛 SW-A 支系 mtDNA D-loop 单倍型错配分布
Fig. 3 Mismatch distribution analysis of mtDNA D-loop in clade SW-A of swamp-type buffalo

2.2 滇东南水牛分化及其系统地位

基于滇东南水牛 mtDNA D-loop 单倍型构建的 NJ 聚类树见图 4。

注:为明确沼泽型水牛与江河型水牛的系统地位,增加了埃及水牛(GenBank 登录号:EU268887、EU268888),印度Pandharpuri水牛(AF475247)、Surti水牛(AF47524763)、Murrah水牛(AF475274、AF475277、AY195591-92、AY195595、AF197215-17)、Jafarabadi水牛(AY195590)及地中海水牛(AY195595)的mtDNA D-loop序列来构建NJ树;0.02为枝长;节点上的数值为1 000次重复抽样检验的支持率。

Note:To identify the phylogeny of SW with RB,mtDNA D-loop sequences of Egyptian buffalo (GenBank Accession nos:EU268887,EU268888);Indian Pandharpuri buffalo (Af475247),Surti buffalo (Af47524763),Murrah (Af475274,Af475277,AY195591-92,AY195595,A F19721-5-17),Jafarabadi buffaao (AY195590) and Mediterranean buffalo(A-Y195595) were additionally combined to construct NJ tree.0.02 is the branch length unit. The values at the nodes represent the bootstrap value of 1 000 replications for each cluster.

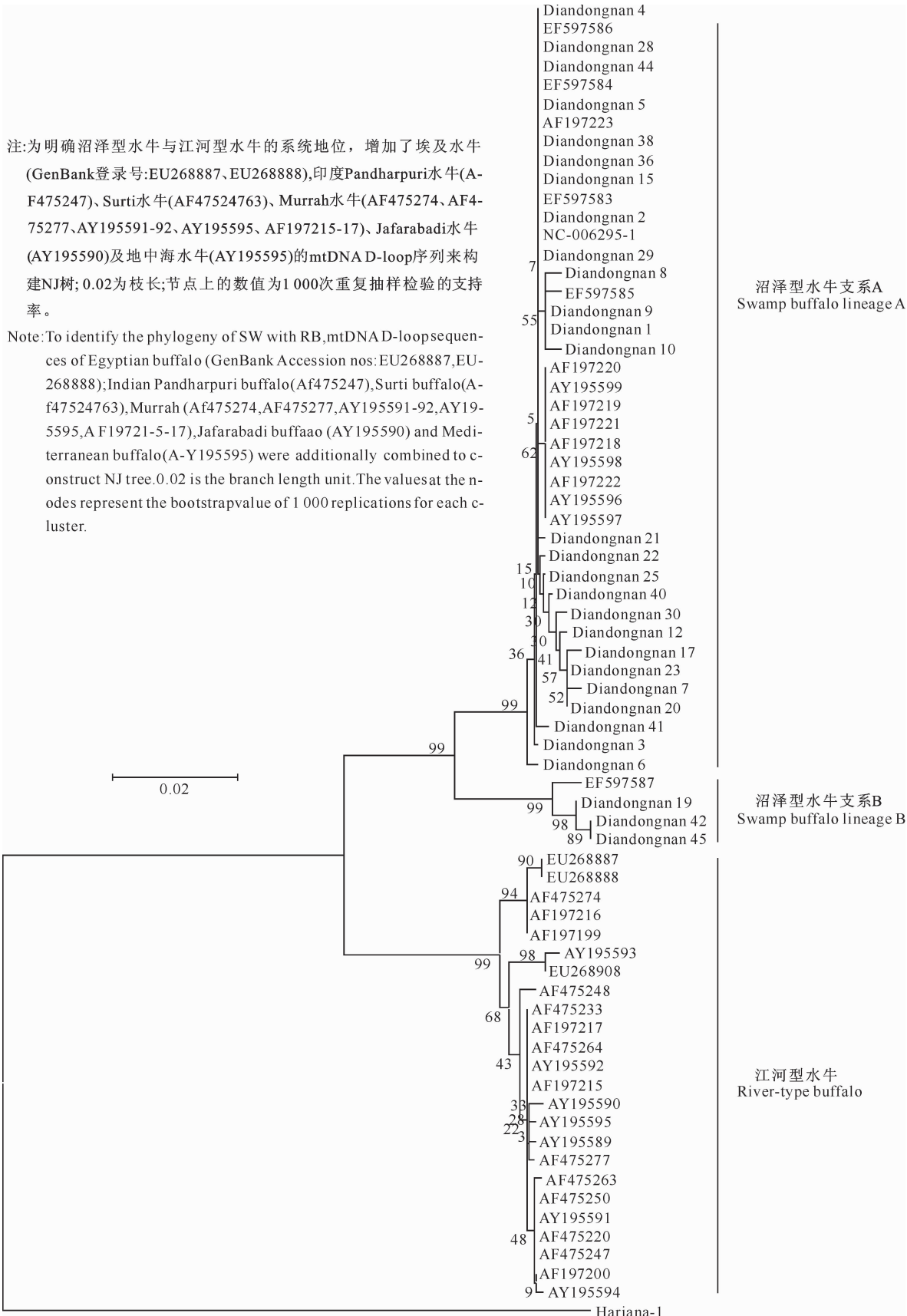


图 4 基于滇东南水牛 mtDNA D-loop 单倍型构建的 NJ 聚类树

Fig. 4 NJ tree based on mtDNA D-loop haplotypes in Diandongnan buffalo

由图 4 可以看出,沼泽型水牛与江河型水牛明显分为 2 大支,而滇东南水牛和其他水牛品种一样,分布在 SW-A 和 SW-B 中,并呈现出较高的遗传多样性。沼泽型水牛分为 SW-A 和 SW-B 2 个支系,这与 Lei 等^[9]和谢文美等^[11]的研究结果一致,SW 支系有海口水牛、滇东南水牛、巴西水牛等沼泽型水牛个体,并以其中的 SW-A 支系影响面较大。SW-A 支系占沼泽型水牛单倍型的 91.11%(41/45),且以单倍型 NC_006295-1 最为普遍,占 SW-A 支系的 34.15%(14/41);而 SW-B 支系的影响面较小,仅为 8.89%(4/45)。

滇东南水牛与印度、地中海、埃及等地的江河型水牛分别聚在明显的两大亚支系中,属于沼泽型水牛,没有发现滇东南水牛聚在江河型水牛支系上,这也从一个侧面反映出滇东南水牛没有受到印度水牛的影响或渐渗。尽管云南地处我国历史上素有“西南丝绸之路”之称的西南边境上,毗邻东南亚诸国,但在滇东南水牛群体中并未检测到江河型水牛的单倍型,与我国南方黄牛受瘤牛影响较大^[6,15-17]的情况截然不同。由此推测,滇东南水牛的起源与驯化可能在中国大地或东南亚大陆,并非由东南亚引进,也并非来自于印度。

2.3 滇东南水牛的群体事件

滇东南水牛 mtDNA D-loop 单倍型错配分布见图 5。

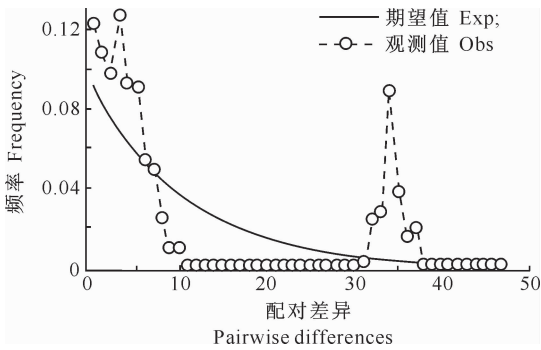


图 5 滇东南水牛 mtDNA D-loop 单倍型错配分布
Fig. 5 Mismatch distribution analysis of mtDNA D-loop in Diandongnan buffalo

由图 5 可见,滇东南水牛 mtDNA D-loop 单倍型分布呈 1 条不平滑的双峰曲线,表明滇东南水牛群体大小在历史上保持着稳定状态,未曾发生过群体扩张事件。同时沼泽型水牛品种多数由 2 个亚支系组成,所以中国地方水牛都表现出丰富的遗传多样性^[9-11,18]。

3 结论与讨论

3.1 滇东南水牛的遗传多样性及系统地位

本研究结果表明,滇东南水牛的单倍型多态度(H)、核苷酸多态度(Pi)和核苷酸差异数(k)分别为 0.877 ± 0.053 , 0.011 ± 0.005 和 9.865 ± 21.419 ,表明云南地方水牛现生群体的遗传多样性较为丰富,表现出广泛的生态适应性,这与对我国地方水牛品种,如贵州青水牛、东流水牛、温州水牛、涪陵水牛等^[9-10,18]的研究结果一致。沼泽型水牛支系 A(SW-A)的 Tajima'D 值为 -1.812,显著偏离中性突变($P<0.05$),碱基错配分析则为 1 条不十分光滑的左移单峰曲线,推测其经历过 1 次近期的群体扩张事件。SW-A 支系也是我国沼泽型水牛的中流砥柱,在滇东南水牛中占到了 4/5 以上,在云南水牛中则占到了 88.07%(数据未发表),可见该支系对沼泽型水牛的贡献很大。

从 NJ 聚类树可以看出,滇东南水牛所有个体都聚在沼泽型水牛支系中,与印度、埃及、地中海等地的江河型水牛支系明显分列于 2 大独立的支系。滇东南水牛在 SW-A 和 SW-B 皆有分布,属于 2 个母系起源^[9],并以 SW-A 的影响面较大(91.11%)。滇东南水牛的驯化历史与云南黄牛不同,云南黄牛是同时受普通牛(*Bos taurus*)和瘤牛(*Bos indicus*)的双重影响^[15-16]。尽管云南省地处我国“西南丝绸之路”^[19-21]的入口,但我国西南边境,如云南、广西、贵州、海南等省(区)的水牛,未曾受到印度水牛的影响或渐渗(数据未发表),未发现滇东南水牛个体在江河型水牛支系中的分布,完全属于沼泽型,说明滇东南水牛并非来自于印度,支持中国大陆起源的假说。虽然云南省腾冲县的槟榔江水牛属于江河型水牛,但其是在 500 多年前由印度、缅甸边境贸易引入的嘎拉牛驯化演变而来^[22-24]。关于水牛的起源扩张路线,Lau 等^[25]和 Kierstein 等^[7]做了翔实的演绎,勾画出水牛扩散至全球各地的路径,且沼泽型水牛和江河型水牛应是独立驯化,江河型水牛起源于印度西部及西北部,而沼泽型水牛很有可能起源于中国或东南亚大陆,但还需要更多的证据来验证。

3.2 水稻耕作与水牛起源

水牛是一类生长在有沼泽或河流的湿润环境中的喜炎热、喜水动物。水牛化石在我国中东部、南北方都有发掘,分布于中更新世到晚更新世地层中^[26-27]。剑川县海门口(公元前 1406—公元前 440 年)的水牛化石和沧源县的“沧源崖画”是云南省内

发现最早的水牛信息记录^[1,28]。国内关于水牛拉犁和稻田耕作的传统看法可能稍有偏颇,因为水牛虽常常与稻田的耕作联系在一起,但并未找到水牛-水稻-犁三者同时出现的考古证据,刘莉等^[28]从多方面论证了中国水牛的起源,但始终未找到满意的答案,说明考古研究对于家养动物的孑遗不够重视,或者得到的化石尚不能解释目前面临的问题。但可以大胆猜测:如果蹄耕在古代曾经盛行^[14,29],那么没有犁的稻作耕种就顺理成章;换个角度而言,中国古代的青砖、青瓦、瓷器等土制器物的使用既然非常成熟与普及,那么水牛的蹄耕也许正是用于砖瓦泥“盲目”踩踏的一项最为重要的功能。

[参考文献]

[1] 《云南省家畜家禽品种志》编写委员会. 云南省家畜家禽品种志 [M]. 昆明: 云南科技出版社, 1987: 95-122.
Editorial Committee of “Records of Domestic Livestock and Poultry Breeds in Yunnan Province”. Records of domestic livestock and poultry breeds in Yunnan province [M]. Kunming: Yunnan Science & Technological Press, 1987: 95-122. (in Chinese)

[2] 李红伟, 亏开兴, 王艳芬, 等. 滇东南水牛的生态特征及其生产性能 [J]. 中国农学通报, 2009, 25(6): 29-32.
Li H W, Qu K X, Wang Y F, et al. Performances and ecological characteristics on Diandongnan buffalo [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2009, 25(6): 29-32. (in Chinese)

[3] 章纯熙. 中国水牛科学 [M]. 南宁: 广西科学技术出版社, 2000: 120-155.
Zhang C X. Science and technology in Chinese buffaloes [M]. Nanning: Guangxi Science and Technological Press, 2000: 120-155. (in Chinese)

[4] Loftus R T, MacHugh D E, Bradley D G, et al. Evidence for two independent domestications of cattle [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1994, 91: 2757-2761.

[5] van Hooft W F, Groen A F, Prins H H T. Genetic structure of African buffalo herds based on variation at the mitochondrial D-loop and autosomal microsatellite loci: Evidence for male-biased gene flow [J]. Conservation Genetics, 2003, 4: 467-477.

[6] Lai S J, Liu Y P, Liu Y X, et al. Genetic diversity and origin of Chinese cattle revealed by mtDNA D-loop sequence variation [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2006, 38: 146-154.

[7] Kierstein G, Vallinoto M, Silva A, et al. Analysis of mitochondrial D-loop region casts new light on domestic water buffalo (*Bubalus bubalis*) phylogeny [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2004, 30: 308-324.

[8] Kumar S, Nagarajan M, Sandhu J S, et al. Phyleogeography and domestication of Indian river buffalo [J]. BMC Evolutionary Biology, 2007, 7: 186.

[9] Lei C Z, Zhang W, Chen H, et al. Independent maternal origin of Chinese swamp buffalo (*Bubalus bubalis*) [J]. Animal Ge-

netics, 2007, 38(2): 97-102.

[10] 齐国强, 咎林森, 张桂香, 等. 中国部分地方水牛品种 mtDNA D-loop 区遗传多样性与起源研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(1): 7-11.
Qi G Q, Zan L S, Zhang G X, et al. Mitochondrial DNA D-loop genetic diversity and origin of some Chinese domestic buffalo breeds [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2008, 39(1): 7-11. (in Chinese)

[11] 谢文美, 苏 锐, 张晓明, 等. 中国水牛 mtDNA D-loop 区遗传多样性与母系起源 [J]. 中国牛业科学, 2009, 35(5): 3-7.
Xie W M, Su R, Zhang X M, et al. mtDNA D-loop genetic diversity and maternal origin in Chinese swamp buffalo [J]. China Cattle Science, 2009, 35(5): 3-7. (in Chinese)

[12] 奥尔森 斯坦利 J. 中国是动物早期驯化的一个中心 [J]. 人类学学报, 1993, 12(2): 120-125.
Olsen S J. China as a center for early animal domestication [J]. Acta Anthropologica Sinica, 1993, 12(2): 120-125. (in Chinese)

[13] 谢成侠. 《中国养牛羊史》附养鹿简史 [M]. 北京: 农业出版社, 1985: 95-122.
Xie C X. “History of Cattle and Sheep Science in China” attached brief history of deer science [M]. Beijing: Agriculture Press, 1985: 95-122. (in Chinese)

[14] 徐旺生. 中国国家水牛的起源问题研究: 上、中、下 [J]. 四川畜牧兽医, 2005(3): 56; 2005(4): 57; 2005(5): 58.
Xu W S. Research on the origin of Chinese domestic buffalo [J]. Sichuan Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2005(3): 56; 2005(4): 57; 2005(5): 58. (in Chinese)

[15] Yu Y, Nie L, He Z Q, et al. Mitochondrial DNA variation in cattle of South China: Origin and introgression [J]. Animal Genetics, 1999, 30: 245-250.

[16] Jia S, Chen H, Zhang G, et al. Genetic variation of mitochondrial D-loop region and evolution analysis in some Chinese cattle breeds [J]. Journal of Genetics and Genomics, 2007, 34(6): 510-518.

[17] 房兴堂, 周 艳, 陈 宏, 等. 中国黄牛 mtDNA D-loop 遗传多样性及起源 [J]. 动物学报, 2007, 53(5): 928-933.
Fang X T, Zhou Y, Chen H, et al. Genetic diversity of mtDNA D-loop and origin of the Chinese cattle [J]. Acta Zoologica Sinica, 2007, 53(5): 928-933. (in Chinese)

[18] 谢文美, 苏 锐, 李明晖, 等. 涪陵水牛 mtDNA D-loop 区遗传多样性研究 [J]. 西北农业学报, 2008, 17(5): 56-60.
Xie W M, Su R, Li M H, et al. Study on mtDNA D-loop genetic diversity in Fuling swamp buffalo [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2008, 17(5): 56-60. (in Chinese)

[19] 童恩正. 试谈古代四川与东南亚文明的关系 [J]. 文物, 1983(3): 73-81.
Tong E Z. Discussion on the cultural relationship between ancient Sichuan and Southeast Asian [J]. Cultural Relic, 1983(3): 73-81. (in Chinese)

[20] 张增祺. 滇文化 [M]. 北京: 文物出版社, 2001.
Zhang Z Q. Yunnan cultural [M]. Beijing: Cultural Relic

Press,2001. (in Chinese)

[21] 管彦波. 试论南诏多源与多元的文化格局 [J]. 民族研究, 1993(2):88-96.

Guan Y B. Discussion on the multisources and multicultural patterns of Nanzhao [J]. Ethno-National Studies, 1993(2): 88-96. (in Chinese)

[22] 艾有林,沈雪鹰,尹玉安,等. 腾冲县槟榔江水牛资源及应用前景初探 [J]. 云南草业,2008(1):29-34.

Ai Y L, Shen X Y, Yin Y A, et al. Water resource and perspective utilization on Binlangjiang water buffalo in Tengchong county [J]. Yunnan Prataculture, 2008(1): 29-34. (in Chinese)

[23] 屈在久,沈雪鹰,杨加用,等. 腾冲县槟榔江水牛的起源及初步研究 [J]. 云南畜牧兽医,2008(S2):34-37.

Qu Z J, Shen X Y, Yang J Y, et al. The origin and preliminary study on Binlangjiang water buffalo [J]. Yunnan Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2008(S2): 34-37. (in Chinese)

[24] 屈在久,李大林,苗永旺,等. 槟榔江水牛种质资源调查与评价 [J]. 云南农业大学学报,2008,23(2):265-269.

Qu Z J, Li D L, Miao Y W, et al. A survey on the genetic resource of Binlangjiang water buffalo [J]. Journal of Yunnan Agricultural University, 2008,23(2):265-269. (in Chinese)

[25] Lau C H, Drinkwater R D, Yusoff K, et al. Genetic diversity of Asian water buffalo (*Bubalus bubalis*): Mitochondrial DNA D-loop and cytochrome b sequence variation [J]. Animal Genetics, 1998, 29:253-264.

[26] 周明镇,徐余瑄. 河南孟县一新种水牛化石 [J]. 古生物学报, 1957,5(3):457-465.

Zhou M Z, Xu Y X. A new species of fossil *Bubalus* from Mengxian county, Henan province [J]. Acta Palaeontologica Sinica, 1957, 5(3):457-465. (in Chinese)

[27] 薛祥煦,李晓晨. 陕西水牛化石及中国水牛化石的地理分布和种系发生 [J]. 古脊椎动物学报, 2000, 38(3):218-231.

Xue X X, Li X C. Fossil *Bubalus* from Shaanxi, distribution and phylogeny of fossil *Bubalus* in China [J]. Vertebrata Palasiatica, 2000, 38(3):218-231. (in Chinese)

[28] 刘莉,杨东亚,陈星灿. 中国家养水牛起源初探 [J]. 考古学报, 2006(2):141-178.

Liu L, Yang D Y, Chen X C. The origin of the *Bubalus bubalis* in China [J]. Acta Archaeologica Sinica, 2006(2):141-178. (in Chinese)

[29] 管彦波. 稻作农耕技术的研究:以云南稻作为例 [J]. 古今农业, 2004(3):66-74.

Guan Y B. Rice and peasant plough: Regarding rice of Yunnan province as an example [J]. Ancient and Modern Agriculture, 2004(3):66-74. (in Chinese)

(上接第 72 页)

[17] 李鸿雁,王宗礼. 苜蓿种质资源描述规范及数据标准 [M]. 北京:中国农业出版社,2007.

Li H Y, Wang Z L. Descriptors and data standard for medic (*Medicago* Linn). [M]. Beijing: Agriculture Press of China, 2007. (in Chinese)

[18] Bernadette J, Sandrine F. Construction of genetic linkage maps in cultivated tetraploid alfalfa (*Medicago sativa*) using micro-satellite and AFLP markers [J]. BMC Plant Biology, 2003, 3(1):1-19.

[19] 李志辉,罗平. SPSS for Windows 统计分析教程 [M]. 北京:电子工业出版社,2004:156-209.

Li Z H, Luo P. Course of statistical analysis of SPSS for Windows [M]. Beijing: Electronic Industry Press, 2004:156-209. (in Chinese)

[20] Rohlf F J. NTSYS-pc numerical taxonomy and multivariate analysis system, version2. 1 [M]. NewYork: Exeter Pub, 2000.

[21] 白占兵,栗建光,陈基权,等. 利用 ISSR 标记分析青麻种质资源遗传多样性 [J]. 中国农业科学, 2008, 41(11):3532-3541.

Bai Z B, Su J G, Chen J Q, et al. Genetic diversity of *Velvetleaf germplasm* revealed by ISSR marker [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2008, 41(11):3532-3541. (in Chinese)

[22] 王利锋,李会勇,唐保军,等. 利用表型和 SSR 标记分析河南省玉米地方品种的遗传多样性 [J]. 中国农业科学, 2009, 42(4):1136-1144.

Wang L F, Li H Y, Tang B J, et al. Genetic diversity analysis of Henan maize landrace by phenotype and simple sequence repeat (SSR) markers [J]. Scientia Agricultura Sinica, 2009, 42(4):1136-1144. (in Chinese)