



曹萍, 梅萨, 陈生梅, 李鸿康, 郭卫兴, 李瑞哲, 达桑, 才加, 莫延新, 官却扎西, 忠尕, 李文浩, 刘书杰, 崔宏伟, 马志杰. 基于mtDNA D-loop序列分析青海省果洛州牦牛遗传资源的母系遗传多样性及群体遗传结构[J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(08): 134-146.

CAO Ping, MEI Sa, CHEN Shengmei, LI Hongkang, GUO Weixing, LI Ruizhe, DA Sang, CAI Jia, MO Yanxin, GUANQUE Zhaxi, ZHONG Ga, LI Wenhao, LIU Shujie, CUI Hongwei, MA Zhijie. Exploring maternal genetic diversity and population genetic structure of yak genetic resources in Golog Prefecture, Qinghai, China based on mtDNA D-loop sequence variations[J]. *Journal of China Agricultural University*, 2024, 29(08): 134-146.

DOI: 10.11841/j.issn.1007-4333.2024.08.11

基于 mtDNA D-loop 序列分析青海省果洛州牦牛遗传资源的母系遗传多样性及群体遗传结构

曹萍¹ 梅萨² 陈生梅¹ 李鸿康³ 郭卫兴¹ 李瑞哲¹ 达桑⁴ 才加⁵
莫延新⁶ 官却扎西⁶ 忠尕⁴ 李文浩¹ 刘书杰¹ 崔宏伟⁷ 马志杰^{1*}

- (1. 青海大学畜牧兽医科学院/青海省高原家畜遗传资源保护与创新利用重点实验室/农业农村部青藏高原畜禽遗传育种重点实验室, 西宁 810016;
2. 青海省果洛州班玛县畜牧兽医站, 青海 果洛 814399;
3. 青海省牦牛繁育推广服务中心, 西宁 810102;
4. 青海省果洛州久治县索乎日麻乡畜牧兽医站, 青海 果洛 814499;
5. 青海省果洛州玛多县花石峡镇措柔村拉泽生态畜牧业专业合作社, 青海 果洛 813500;
6. 青海省畜禽遗传资源保护利用中心, 西宁 810016;
7. 青海省果洛州农牧和科技局, 青海 果洛 814100)

摘要 为从分子水平上对青海省果洛藏族自治州牦牛遗传资源进行系统评估, 分析其母系遗传多样性、群体遗传结构和群体遗传分化, 本研究对甘德、班玛、久治和玛多牦牛群体共 152 头个体进行线粒体 DNA (mtDNA) D-loop 区测序, 并从 GenBank 下载已公布的 37 条达日牦牛和 32 条玛沁牦牛的相应序列, 对这 6 个牦牛群体 mtDNA D-loop 序列进行综合分析。结果表明: 1) 221 条牦牛 mtDNA D-loop 序列 (636~638 bp) 比对分析共检测出 57 个变异位点, 包括 8 个单一多态位点和 49 个简约信息位点。根据 D-loop 序列间核苷酸变异共确定了 45 种单倍型, 其中班玛、达日、甘德、久治、玛多、玛沁牦牛群体分别拥有 1、6、5、4、7、6 种特有单倍型。2) 6 个牦牛群体总的单倍型多样度和核苷酸多样性为 0.901 和 0.014, 表明其母系遗传多样性丰富。其中, 甘德牦牛的单倍型多样性最高 ($H_d = 0.951$), 久治牦牛的单倍型多样性最低 ($H_d = 0.818$)。3) 遗传分化和基因流分析表明, 除久治牦牛与班玛、甘德、玛沁牦牛群体间分化程度均呈中等遗传分化水平 ($0.05 \leq F_{ST} < 0.15$), 基因交流相对贫乏外, 其他牦牛群体间 F_{ST} 值较小 ($0 < F_{ST} < 0.05$), 分化程度弱, 基因交流相对频繁。4) 聚类分析表明久治、甘德、班玛 3 个牦牛群体间亲缘关系较近, 而玛多、玛沁、达日 3 个牦牛群体间亲缘关系较近。5) 系统发育分析显示 6 个牦牛群体中除久治牦牛由 3 个母系遗传支系 (即 Mt-I、Mt-II 和 Mt-III) 组成外, 其他群体均由 Mt-I 和 Mt-II 2 个母系支系组成, 推测果洛藏族自治州中久治牦牛群体有 3 个母系起源, 其他牦牛群体均有 2 个母系起源。综上, 青海省果洛藏族自治州 6 个牦牛群体均拥有特殊的母系遗传信息且母系遗传多样性较为丰富; 各牦牛群体间遗传分化程度整体较弱; 久治、甘德和班玛 3 个牦牛群体间亲缘关系较近, 而玛多、玛沁和达日 3 个牦牛群体间亲缘关系较近; 除久治牦牛群体有 3 个母系起源外, 其他牦牛群体均有 2 个母系起源。本研究为青海省果洛藏族自治州牦牛遗传资源的合理保护和开发利用提供了理论基础。

关键词 牦牛; mtDNA D-loop 区; 遗传多样性; 遗传分化; 群体结构; 系统发育

中图分类号 S823.8+5

文章编号 1007-4333(2024)08-0134-13

文献标志码 A

收稿日期: 2023-10-09

基金项目: 青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”计划(领军人才)项目和畜禽遗传资源普查项目

作者简介: 曹萍(ORCID: 0000-0002-8648-4135), 硕士研究生, E-mail: caoping0822@126.com

通讯作者: 马志杰(ORCID: 0000-0001-7544-3533), 研究员, 主要从事动物遗传资源研究, E-mail: zhijiema@126.com

Exploring maternal genetic diversity and population genetic structure of yak genetic resources in Golog Prefecture, Qinghai, China based on mtDNA D-loop sequence variations

CAO Ping¹, MEI Sa², CHEN Shengmei¹, LI Hongkang³, GUO Weixing¹, LI Ruizhe¹,
DA Sang⁴, CAI Jia⁵, MO Yanxin⁶, GUANQUE Zhaxi⁶, ZHONG Ga⁴, LI Wenhao¹,
LIU Shujie¹, CUI Hongwei⁷, MA Zhijie^{1*}

(1. Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University/Plateau Livestock Genetic Resources Protection and Innovative Utilization Key Laboratory of Qinghai Province/ Key Laboratory of Livestock and Poultry Genetics and Breeding on the Qinghai-Tibet Plateau, Xining 810016, China;

2. Station of Animal Husbandry and Veterinary, Banma County of Golog Prefecture in Qinghai Province, Golog 814399, China;

3. Qinghai Yak Breeding Extension Service Center, Xining 810102, China;

4. Station of Animal Husbandry and Veterinary, Suohurima Town of Jiuzhi County of Golog Prefecture in Qinghai Province, Golog 814499, China;

5. Laze Ecological Livestock Specialized Cooperative, Cuorou Village of Huashixia Town of Maduo County of Golog Prefecture in Qinghai Province, Golog 813500, China;

6. Qinghai Livestock and Poultry Genetic Resources Protection and Utilization Center, Xining 810016, China;

7. Bureau of Agriculture and Livestock, Science and Technology of Golog Prefecture in Qinghai Province, Golog 814100, China)

Abstract To systematically evaluate the maternal genetic diversity, population genetic structure and population genetic differentiation of the yak genetic resources in Golog Tibetan Autonomous Prefecture of Qinghai Province, China at the molecular level, a total of 152 yaks from Gande, Banma, Jiuzhi, and Maduo Counties were collected and the corresponding mtDNA D-loop sequences were sequenced. The six yak populations were comprehensively analyzed after downloading 37 and 32 reported mtDNA D-loop sequences of Dari and Maqin yak populations from Genbank. The results showed that: 1) 57 polymorphic sites were detected in 221 mtDNA D-loop (636- 638 bp) sequences of six yak populations, including 8 single polymorphic sites and 49 parsimony informative sites. A total of 45 haplotypes were identified based on nucleotide variations, among which 1, 6, 5, 4, 7, 6 specific haplotypes were detected in Banma, Dari, Gande, Jiuzhi, Maduo, and Maqin yak populations, respectively. 2) The haplotype diversity and nucleotide diversity of the six yak populations were 0.901 and 0.014, indicating abundant maternal genetic diversity in these yak populations. Among them, the highest haplotype diversity was found in the Gande yak population ($H_d=0.951$) and the lowest in the Jiuzhi yak population ($H_d=0.818$). 3) Analysis of genetic differentiation and gene flow showed moderate genetic differentiation ($0.05 \leq F_{ST} < 0.15$) and poor gene exchange between Jiuzhi yak population and Banma, Gande, and Maqin yak populations respectively. However, the F_{ST} values among other yak populations were lower ($0 < F_{ST} < 0.05$) and had a low genetic differentiation, indicating gene exchange was relatively frequent. 4) The clustering of Jiuzhi, Gande, and Banma yak populations was closer, while the clustering of Maduo, Maqin, and Dari yak populations was also closer. 5) Phylogenetic analysis showed that among the six yak populations, except for the Jiuzhi yak population, which was composed of three maternal lineages (i. e. , Mt-I, Mt-II, and Mt-III), the other yak populations were composed of two maternal lineages (Mt-I and Mt-II). It was speculated that Jiuzhi yak population has three maternal origins, and the other yak populations have two maternal origins. In summary, the six yak populations in Golog Tibetan Autonomous Prefecture all had unique maternal genetic information and relatively rich maternal genetic diversity. The overall genetic differentiation among the 6 yak populations was very weak. The clustering of Jiuzhi, Gande, and Banma yak populations was closer, while the clustering of Maduo, Maqin, and Dari yak populations was closer. Except for the Jiuzhi yak population with three

maternal origins, the other yak populations had two maternal origins. This study will provide a theoretical basis for further reasonable protection, development, and utilization of yak genetic resources in Golog Tibetan Autonomous Prefecture of Qinghai Province.

Keywords yak; mtDNA D-loop region; genetic diversity; genetic differentiation; population structure; phylogeny

牦牛对青藏高原高海拔、强紫外线、严寒等恶劣环境的适应性很强,有“高原之舟”的美称^[1]。青海省牦牛驯养历史悠久,全省现有牦牛约500多万头,主要分布在牧区6个州(即黄南藏族自治州、果洛藏族自治州、玉树藏族自治州、海南藏族自治州、海北藏族自治州和海西蒙古族藏族自治州),养殖数量居全国首位,是全国最大的有机牦牛肉、乳生产基地^[2]。果洛藏族自治州海拔在4 000~5 000 m,自西北向东南倾斜,地形平缓,坡陡谷深,其境内属典型的高原大陆性气候,具有高寒缺氧、气温低、光辐射强、昼夜温差大、日照时间长、降雨(雪)量较多、蒸发量大、多阵性大风等特点。牦牛既是牧民赖以生存的物质基础,也是推动牧区经济可持续发展的支柱产业和牧民稳定增收的主要来源。果洛藏族自治州下辖6个县(即达日、玛沁、甘德、班玛、久治和玛多县),是牦牛传统养殖主产区,2020年牦牛存栏数274万头,占全省牦牛总数的45%以上^[3]。

线粒体DNA(Mitochondrial DNA, mtDNA)具有母系遗传、不易发生重组且突变率高等特点,被认为是探究物种系统发育、聚类关系和遗传多样性状况的理想遗传标记之一^[4-5]。与mtDNA其他序列区域相比,D-loop区具有更丰富的多态性和更快的突变速率。因此,D-loop区被广泛应用于揭示牦牛的群体遗传结构、母系遗传多样性和系统发育关系^[5-6]。先前的研究者已利用mtDNA D-loop序列和部分蛋白编码基因变异揭示了野牦牛和我国6个牦牛产区的多个家牦牛品种(群体)的母系遗传多样性。多项研究表明我国多数牦牛品种(群体)具有较为丰富的母系遗传多样性,由2个母系支系组成,仅格尔木牦牛群体由3个母系支系组成^[7-14]。然而,Wang等^[15]、Wang等^[16]、李广祯等^[17]和Ma等^[18]基于mtDNA D-loop序列和mtDNA全序列对野牦牛和家牦牛品种(群体)的分析表明,野牦牛和部分家牦牛品种(群体)拥有丰富的母系遗传多样性,但发现雪多牦牛和野牦牛群体中少量个体存在于第3个母系分支中,故推测牦牛有3个母系起源。

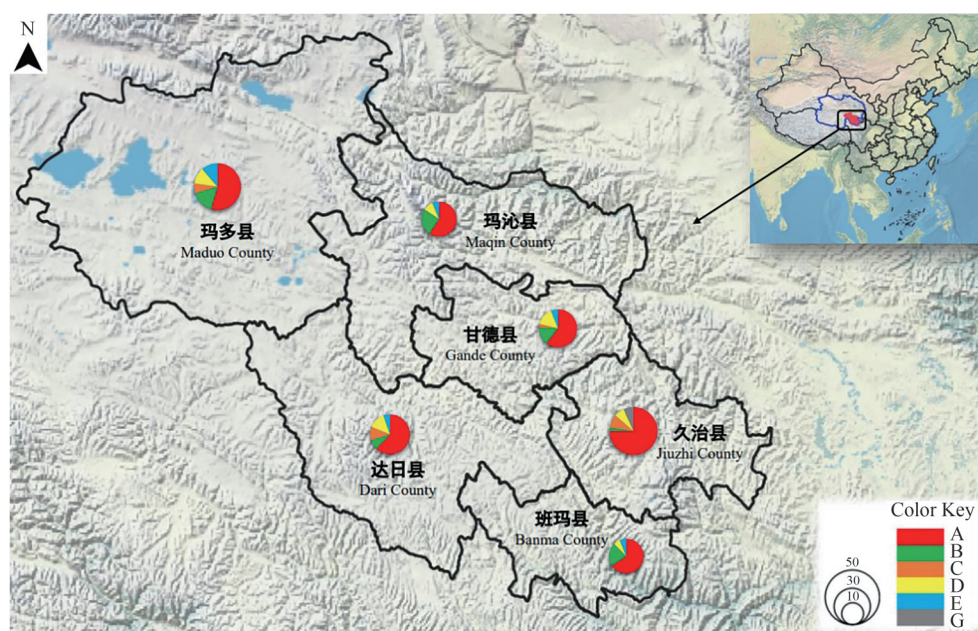
当前,在对青海省果洛藏族自治州牦牛遗传资

源的研究中,仅白诗睿等^[19]对达日、玛沁、岗龙(甘德)3个牦牛群体的mtDNA D-loop序列进行了测定分析,表明岗龙(甘德)、达日牦牛群体的母系遗传多样性水平高于玛沁牦牛群体,3个群体均由2个母系支系组成,故推测其有2个母系起源。虽然先前的研究者已对该州的部分牦牛群体(如达日、玛沁、岗龙(甘德))进行了母系遗传研究报道,但目前尚无对青海省果洛藏族自治州下辖6个县所有牦牛遗传资源的母系遗传系统分析。鉴于此,本研究基于mtDNA D-loop序列对青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体(即达日、玛沁、甘德、玛多、久治、班玛牦牛)进行综合分析,探究其母系遗传多样性水平、群体遗传结构和母系遗传背景,为果洛藏族自治州牦牛遗传资源的分子评估提供基础材料,进而为青海省乃至我国牦牛遗传资源的合理保护和开发利用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 样品采集、基因组DNA提取及序列下载

为使采集的样品具有代表性,在青海省果洛藏族自治州各县进行实地调查、询问牧户有关牦牛群体的养殖历史,同时查阅牦牛相关谱系记录,采用随机采样法在甘德县(33份)、班玛县(32份)、久治县(44份)和玛多县(43份)共采集152份牦牛颈静脉血样,各群体采样点地理分布见图1,ACD抗凝后带回实验室保存备用。使用全血基因组DNA提取试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司)提取基因组DNA,对DNA浓度和纯度进行双重检测,当样品的浓度大于100 ng/ μ L,OD₂₆₀/OD₂₈₀比值介于1.7~1.9时,提示所提取的基因组DNA质量满足后续使用,将提取的基因组DNA浓度稀释至50~100 ng/ μ L,-20℃保存备用。同时,从GenBank(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>)中分别下载已报道的果洛藏族自治州达日县和玛沁县牦牛群体的37条(GenBank No.: DQ138998-DQ139034)^[20]和32条(GenBank No.: DQ139043-DQ139074)^[20]mtDNA D-loop序列,结合本试验中测定的152条相应序列,对共计221条序列进行综合分析。



“A、B、C、D、E、G”表示6种单倍型组,图中圆面积大小与群体样本数大小成正比。

“A, B, C, D, E, G” represents six haplogroups, Circle sizes are proportional to the sample size of each yak populations.

图1 青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体采样点地理分布及6种单倍型组在各群体中的频率分布

Fig. 1 Geographical distribution of sampling sites and frequency distribution of six haplogroups of six yak populations in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

1.2 PCR扩增与测序

参照先前牦牛的母系遗传研究报道^[18],由生工生物工程(上海)股份有限公司合成mtDNA D-loop区序列扩增引物(上游引物F: 5'-GTAAAGAGCC TCACCAGTAT-3';下游引物R: 5'-TCCTCTAG CCATTGACTAT-3')来扩增各牦牛群体的mtDNA D-loop区。PCR扩增在25 μL反应体系中进行,包括上、下游引物各1 μL、超纯水9.5 μL、基因组DNA 1 μL、2×Premix 12.5 μL。PCR程序包括95℃预变性4 min,35个循环(95℃变性30 s,62℃退火30 s,72℃延伸30 s),72℃延长5 min,最后4℃冷却保存,后送PCR纯化产物至北京擎科生物科技有限公司进行双向测序获得测序结果。

1.3 数据分析

对青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体共221条序列使用BioEdit7.2.5软件^[21]进行人工校对和多序列比对分析,统计序列长度和多态位点。

使用DnaSP5.10软件^[22]确定6个牦牛群体的单倍型(组)数目和类型。

利用Arlequin3.11软件^[23]计算群体单倍型多样度和核苷酸多样性,通过与其他牦牛品种(群体)相应的多样性指数值大小进行比较,以揭示6个牦牛

群体的遗传多样性水平。基于固定分化指数(F_{ST})和基因流(N_m)值大小揭示6个牦牛群体间的分化状况,群体间 F_{ST} 和 N_m 值大小满足以下等式: $N_m = (1 - F_{ST}) / (4F_{ST})$ ^[24]。 R_{ST} 值通过线性化的 F_{ST} 值计算所得,满足以下等式: $R_{ST} = F_{ST} / (1 - F_{ST})$ ^[25]。

用MEGA5.05软件^[26]基于 R_{ST} 值来构建UPGMA (Unweighted pair group method with arithmetic mean, UPGMA)树状图以揭示6个牦牛群体间的遗传关系。

采用邻接法(Neighbor-Joining, NJ)用MEGA 5.05软件^[26]构建系统发育树及Network10.1软件^[27]构建网络中介图(Median-Joining, MJ)探究6个牦牛群体单倍型(组)间的系统发育关系来揭示其群体结构组成和母系遗传背景。

2 结果与分析

2.1 果洛藏族自治州6个牦牛群体母系遗传多样性分析

对青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体mtDNA D-loop序列(636~638 bp)进行比对分析,排除2处插入(缺失)位点后,共检测到57处多态位点(图2),包括8处单一多态位点和49处简约信息

单倍型名称	变异核苷酸位点						N/Hg
Haplotype	Varied nucleotide sites						
	1111	1111111112	2222222222	2222222222	2333333333	4444456	
	2556780001	3356699990	0011123445	5556667777	7003344689	3448890	
	3461972358	3996913451	2712918194	5690240134	9126734963	9061457	
H1	AACGCGGGAT	GTAGCATTCTG	AAAAAAACCC	TACCACGTTA	CCTGGCCCTC	CCCAGCG	18/B (☆)
H2		C..	G..G...T..		T....		25/A (☆)
H3		C..					4/B (△)
H4				A..			2/B (BM)
H5			G..G...T..		...A.T....		3/A (●)
H6	.T.ATA....	AC.A...CTA	...G.GG..T	C...G..C..	TT.AAT....	..T.A..	17/D (☆)
H7			G..G...T..		T....		57/A (☆)
H8			...G....	G	T....		11/E (◇)
H9			G..G...T..		T...T....		6/A (●)
H10			G..G...T..	...T....	T....		4/A (○)
H11	C		G..G...T..	...T....	T....		6/A (●)
H12		C..			...A....		1/B (DR)
H13			G.GG...T..		T....		1/A (DR)
H14	...TA....	AC....C.A	...G.GG..T	CG..G..C..	.T.AAT....	..T.A..	7/C (●)
H15			G..G...TT.		T...T....		1/A (DR)
H16			G..G...T..	...T....	T....	...A	1/A (DR)
H17		C..	G..G...T..	...T....	T....	...G...	1/A (DR)
H18	...TA....	AC....C.A	...G.GG..T	C...G..C..	TT.A.T....	..T.A..	3/D (○)
H19			G..G...T..	...T....C..	T....		3/A (●)
H20	.T.ATA....	AC.A...CTA	...G.GG..T	C...G..C..	TT.A.T.T....	..T.A..	1/D (DR)
H21	GC		G..G...T..		T....		2/A (GD)
H22					...A....		2/B (○)
H23			G..G...T..	C..	T....		1/A (GD)
H24	C		GG.G...T..		T....		1/A (GD)
H25			G..G...T..	...T....	T....		4/A (○)
H26	...TA....	AC....C.A	...G.GG..T	CG..G..C..	TT.AAT....	..T.A..	1/C (GD)
H27		T..	G....T....	C..	T....		1/A (GD)
H28			G..G...T..		T.T....		2/A (JZ)
H29	...TAA....	AC....C.A	...G.GG..T	CG..G..C..	.T.AAT....	..T.A..	2/C (JZ)
H30	C		G..G...T..		T....		12/A (●)
H31	G.G.....	A..AT..C.A	...GGGG..T	C..TGT.C..	.T.AATT...	TTT.AG.	3/G (JZ)
H32			G....T....		T....		3/A (JZ)
H33	...T....		...G....	G	T....		2/E (MD)
H34	...TA.A..	AC....C.A	...G.GG.TT	CG..G..C..	TT.AAT....	..T.A..	1/C (MD)
H35		C..			...C....	..T....	1/B (MD)
H36	C		G..G...T..	...T....	T...T		1/A (MD)
H37	C	T..	G..G...T..	...T....	T....		1/A (MD)
H38		G..	G..G...T..		T....		1/A (MD)
H39	...TA....	AC....C.A	...G.GG..T	C...G..C..	.T.AAT....	..T.A..	1/C (MD)
H40			G..G...T..	G	T....		1/A (MQ)
H41		C..	G..G...T..	...T....	...A.T....		1/A (MQ)
H42	.T.ATA....	ACGA...CTA	...G.GG..T	C...G..C..	TT.AAT..C.	..T.A..	1/D (MQ)
H43		CC..	G..G...T..		T....		1/A (MQ)
H44	.T.ATA....	AC.A...CTA	...G.GG..T	C...G..C..	TT.AAT..C.	..T.A..	1/D (MQ)
H45					T.C....C.		2/B (MQ)

“.”表示与H1单倍型序列中核苷酸相同,N表示共享同一种单倍型的个体数,Hg表示单倍型组类型;其中BM、DR、GD、JZ、MD和MQ分别代表班玛、达日、甘德、久治、玛多、玛沁牦牛特有的单倍型;“○”表示由2个牦牛群体共享的单倍型,其中H10被班玛、甘德牦牛群体所共享,H18被达日、甘德牦牛群体所共享,H22被玛多、甘德牦牛群体所共享,H25被久治、甘德牦牛群体所共享;“●”表示由3个牦牛群体共享的单倍型,H5被班玛、达日、玛多牦牛群体所共享,H9被班玛、达日、甘德牦牛群体所共享,H11被班玛、甘德、玛多牦牛群体所共享,H14被达日、久治、玛多牦牛群体所共享,H19被达日、甘德、玛沁牦牛群体所共享,H30被久治、玛多、玛沁牦牛群体所共享;“△”表示由班玛、达日、甘德、玛多4个牦牛群体共享的单倍型;“◇”表示由班玛、达日、甘德、玛多、玛沁5个牦牛群体共享的单倍型;“☆”表示由班玛、达日、甘德、玛多、玛沁、久治6个牦牛群体共享的单倍型。

“.”represents the same nucleotide as the H1 haplotype sequence; N represents the number of individuals sharing the same haplotype; Hg represents the haplogroup type. Among them, BM, DR, GD, JZ, MD and MQ represent the specific haplotypes of Banma, Dari, Gande, Jiuzhi, Maduo, and Maqin yak populations, respectively. “○” represents the haplotypes shared by the two yak populations. H10 haplotype is shared by Banma and Gande yak populations, H18 haplotype is shared by Dari and Gande yak populations, H22 haplotype is shared by Maduo and Gande yak populations, and H25 haplotype is shared by Jiuzhi and Gande yak populations. “●” represents the haplotypes shared by the three yak populations. H5 haplotype is shared by Banma, Dari and Maduo yak populations, H9 haplotype is shared by Banma, Dari and Gande yak populations, H11 haplotype is shared by Banma, Gande and Maduo yak populations, H14 haplotype is shared by Dari, Jiuzhi and Maduo yak populations, H19 haplotype is shared by Dari, Gande and Maqin yak populations, and H30 haplotype is shared by Jiuzhi, Maduo and Maqin yak populations. “△” represents the haplotypes shared by the Banma, Dari, Gande, Maduo yak populations. “◇” represents the haplotypes shared by the Banma, Dari, Gande, Maduo, Maqin yak populations. “☆” represents the haplotypes shared by the Banma, Dari, Gande, Maduo, Maqin, Jiuzhi yak populations.

图2 青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体45种mtDNA D-loop序列单倍型核苷酸变异、频率大小及单倍型组类型

Fig. 2 Nucleotide variations, frequencies and haplogroup types of 45 haplotypes based on mtDNA D-loop sequence variations of six yak populations in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

位点。在班玛、达日、甘德、久治、玛多和玛沁牦牛群体中分别检测到33、38、36、41、38和36个变异位点。根据序列间的遗传变异,共确定了45种单倍型,单倍型序列已提交NCBI数据库,登录号(GenBank No.)为:PP077356-PP077400。在班玛、达日、甘德、久治、玛多和玛沁牦牛群体中分别确定了11、17、18、11、18和13种单倍型,而各自拥有特有单倍型1、6、5、4、7和6种(表1、表2和图2)。其中,H1、H2、H6和H7 4种单倍型为优势单倍型,均被6个牦牛群体共享,分别由18、25、17和57个个体(序列)所拥有;同时,有21种单倍型均由不同牦牛群体的1个个体(序列)所拥有,为稀有单倍型。参考先前的研究报道^[18,20],对6个牦牛群体的线粒体D-Loop单倍型序列进行单倍型组类型确定及分布分析(表2)。结果表明,6个牦牛群体的221个个体(序列)分布在A、B、C、D、E和G共6种单倍型组中,所占比例分别为63.35%(140/221)、13.57%(30/221)、5.43%(12/221)、10.41%(23/221)、

5.88%(13/221)和1.36%(3/221),其中A、B和D 3种单倍型组被6个牦牛群体所共享,而C单倍型组被除班玛、玛沁牦牛外的其他4个牦牛群体共享,E单倍型组被除久治牦牛以外的5个牦牛群体共享,G单倍型组只被久治牦牛群体所拥有。

遗传多样性指数计算结果如表1所示,6个牦牛群体总的单倍型多样性为0.901,核苷酸多样性为0.014。甘德(Hd=0.951)、达日(Hd=0.901)牦牛群体的单倍型多样性高于班玛(Hd=0.897)、玛沁(Hd=0.887)、玛多(Hd=0.876)、久治(Hd=0.818)牦牛群体的单倍型多样性,而班玛、玛沁和玛多牦牛群体的单倍型多样性也相对较高,相比而言久治牦牛群体具有较低的单倍型多样性(表1)。与此同时,将本研究6个牦牛群体多样性指数值大小与先前报道的野牦牛及17个我国其他家牦牛品种相应的多样性指数值相比(表1和表3),可以看出,青海省果洛州6个牦牛群体多样性值均较高。

表1 青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体遗传多样性指数大小

Table 1 Genetic diversity index of six yak populations in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

群体 Populations	个体数(序列数) Number of individuals (Sequence number)	单倍型数 Haplotype number	单倍型多样性 (Hd±SD) Haplotype diversity	核苷酸多样性 (π ±SD) Nucleotide diversity	平均核苷酸差异数 Average number of nucleotide differences
甘德牦牛 Gande yak	33	18	0.951±0.019	0.015±0.008	9.121
达日牦牛 Dari yak	37	17	0.901±0.034	0.016±0.008	9.844
班玛牦牛 Banma yak	32	11	0.897±0.028	0.009±0.005	5.405
玛沁牦牛 Maqin yak	32	13	0.887±0.033	0.012±0.006	7.054
玛多牦牛 Maduo yak	43	18	0.876±0.041	0.015±0.008	9.112
久治牦牛 Jiuzhi yak	44	11	0.818±0.047	0.016±0.008	9.652
合计 Total	221	45	0.901±0.013	0.014±0.007	16.806

表2 青海省果洛藏族自治州各群体单倍型(组)分布

Table 2 Distribution of haplotypes (haplogroups) in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

群体 Populations	个体数(序 列数) Number of individuals (Sequence number)	单倍型数 Haplotype number	特有单倍 型数 Number of specific haplotypes	单倍型分布 Haplotype distribution	单倍型组分布 Haplogroup distribution					
					A	B	C	D	E	G
甘德牦牛 Gande yak	33	18	5	H1(3)、H2(2)、H3(1)、H6(3)、H7(5)、H8(2)、H9(1)、H10(1)、H11(4)、H18(2)、H19(1)、H21(2)、H22(1)、H23(1)、H24(1)、H25(1)、H26(1)、H27(1)	20	5	1	5	2	
达日牦牛 Dari yak	37	17	6	H1(1)、H2(5)、H3(1)、H5(1)、H6(3)、H7(10)、H8(2)、H9(2)、H12(1)、H13(1)、H14(4)、H15(1)、H16(1)、H17(1)、H18(1)、H19(1)、H20(1)	23	3	4	5	2	
班玛牦牛 Banma yak	32	11	1	H1(4)、H2(7)、H3(1)、H4(2)、H5(1)、H6(2)、H7(6)、H8(2)、H9(3)、H10(33)、H11(1)	21	7		2	2	
玛沁牦牛 Maqin yak	32	13	6	H1(6)、H2(8)、H6(1)、H7(5)、H8(2)、H19(1)、H30(2)、H40(1)、H41(1)、H42(1)、H43(1)、H44(1)、H45(2)	19	8		3	2	
玛多牦牛 Maduo yak	43	18	7	H1(3)、H2(2)、H3(1)、H5(1)、H6(5)、H7(14)、H8(3)、H11(1)、H14(1)、H22(1)、H30(3)、H33(2)、H34(1)、H35(1)、H36(1)、H37(1)、H38(1)、H39(1)	24	6	3	5	5	
久治牦牛 Jiuzhi yak	44	11	4	H1(1)、H2(1)、H6(3)、H7(17)、H14(2)、H25(3)、H28(2)、H29(2)、H30(7)、H31(3)、H32(3)	33	1	4	3		3
合计 Total	221	45			140	30	12	23	13	3

2.2 果洛藏族自治州6个牦牛群体间遗传分化分析

为揭示牦牛群体间的母系遗传分化情况,本研究计算了6个牦牛群体间的固定分化指数值(F_{ST})和基因流(N_m)大小(表4),结果表明:果洛州6个牦牛群体 F_{ST} 值为 $-0.006\sim0.072$,久治牦牛群体与班玛、甘德和玛沁牦牛群体间为中等以上程度的遗传分化($0.05\leq F_{ST}<0.15$),而其他牦牛群体间 F_{ST} 值较小($F_{ST}<0.05$),分化程度不显著。6个牦牛群

体 N_m 的范围为 $3.222\sim124.750$,久治牦牛群体与玛沁牦牛群体间基因流值最小(3.222),班玛牦牛群体与达日、玛多牦牛群体间以及达日牦牛与玛多牦牛群体间基因流值均较高(124.750)。

利用群体间 R_{ST} 值构建UPGMA树(图3),结果显示6个牦牛群体明显地聚为2类:甘德牦牛与久治牦牛最先聚在一起,再与班玛牦牛聚为一类;而玛多牦牛与玛沁牦牛最先聚在一起,后与达日牦牛聚为另一类。

表 3 青海省果洛藏族自治州 6 个牦牛群体与中国其他 18 个家、野牦牛品种(群体)母系遗传多样性指数值比较

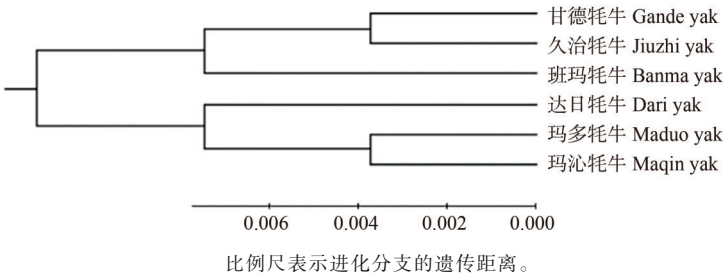
Table 3 Comparison of genetic diversity indexes among six Qinghai yak populations in this study and other 18 domestic or wild yak breeds/populations in China

品种(群体) Breeds (Populations)	样本数 Number of samples	单倍型多样性 (Hd) Haplotype diversity	核苷酸多样性 (π) Nucleotide diversity	研究者 Researchers
环湖牦牛 Huanhu yak	12~60	0.785~0.985	0.011~0.013	郭松长等 ^[8] 、Yue 等 ^[12]
大通牦牛 Datong yak	31~34	0.942~0.945	0.014~0.016	郭松长等 ^[8] 、Yue 等 ^[12]
玉树牦牛 Yushu yak	34~64	0.885~0.952	0.013~0.018	侯孟典等 ^[28] 、李广祯等 ^[29]
雪多牦牛 Xueduo yak	33	0.900	0.012	李瑞哲等 ^[30]
甘南牦牛 Gannan yak	23	0.917	0.017	Yue 等 ^[12]
天祝白牦牛 Tianzhu White yak	40~269	0.662~0.950	0.004~0.162	Yue 等 ^[12] 、Li 等 ^[13] 、 成述儒等 ^[10] 、李广祯等 ^[31]
类乌齐牦牛 Leiwuqi yak	47	0.924	0.014	侯孟典等 ^[28]
帕里牦牛 Pali yak	10~30	0.844~0.891	0.009~0.015	郭松长等 ^[8] 、Yue 等 ^[12] 、侯孟典等 ^[28]
斯布牦牛 Sibu yak	21~39	0.947~0.957	0.023~0.159	郭松长等 ^[8] 、侯孟典等 ^[28]
九龙牦牛 Jiulong yak	10~19	0.883~0.929	0.009~0.016	赖松家等 ^[7] 、郭松长等 ^[8] 、Yue 等 ^[12]
昌台牦牛 Changtai yak	84	0.883	0.017	官久强等 ^[11]
金川牦牛 Jinchuan yak	26~101	0.827~0.917	0.017~0.020	官久强等 ^[11] 、Yue 等 ^[12]
木里牦牛 Muli yak	20	0.621	0.008	官久强等 ^[11]
麦洼牦牛 Maiwa yak	5~33	0.867~1.000	0.011~0.023	赖松家等 ^[7] 、郭松长等 ^[8] 、 官久强等 ^[11] 、Yue 等 ^[12]
巴州牦牛 Bazhou yak	15	0.800	0.007	郭松长等 ^[8]
中甸牦牛 Zhongdian yak	10~15	0.911~0.983	0.005~0.021	Yue 等 ^[12] 、涂世英等 ^[32]
帕米尔牦牛 Pamir yak	156	0.806	0.015	李静等 ^[33]
野牦牛 Wild yak	13~84	0.957~0.967	0.016~0.022	Yue 等 ^[12] 、Wang 等 ^[15] 、 Ma 等 ^[18] 、Guo 等 ^[20]
甘德牦牛 Gande yak	33	0.951	0.015	本研究
达日牦牛 Dari yak	37	0.901	0.016	本研究
班玛牦牛 Banma yak	32	0.897	0.009	本研究
玛沁牦牛 Maqin yak	32	0.887	0.012	本研究
玛多牦牛 Maduo yak	43	0.876	0.015	本研究
久治牦牛 Jiuzhi yak	44	0.818	0.016	本研究

表4 青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体间 F_{ST} 值(R_{ST} 值)及 N_m 值
Table 4 F_{ST} (R_{ST}) value and N_m value among six Qinghai yak populations

群体 Populations	班玛牦牛 Banma yak	达日牦牛 Dari yak	甘德牦牛 Gande yak	久治牦牛 Jiuzhi yak	玛多牦牛 Maduo yak	玛沁牦牛 Maqin yak
班玛牦牛 Banma yak		124.750	83.083	3.656	124.750	41.417
达日牦牛 Dari yak	0.002(0.002)		31.000	9.750	124.750	12.250
甘德牦牛 Gande yak	0.003(0.003)	0.008(0.008)		4.750	24.750	12.908
久治牦牛 Jiuzhi yak	0.064(0.068)	0.025(0.026)	0.050(0.052)		49.750	3.222
玛多牦牛 Maduo yak	0.022(0.022)	-0.002(0)	0.010(0.010)	0.005(0.005)		7.103
玛沁牦牛 Maqin yak	-0.006(0)	0.020(0.020)	0.019(0.019)	0.072(0.077)	0.034(0.035)	

注: 对角线以下为 F_{ST} 值(R_{ST} 值), 对角线以上为 N_m 值。
Note: The lower triangle represents the F_{ST} (R_{ST}) value, and the upper triangle represents the N_m value.



The scale bar represents the genetic distance of evolutionary branches.
图3 基于UPGMA法构建的青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体间聚类关系

Fig. 3 Clustering relationships among six yak populations based on UPGMA method in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

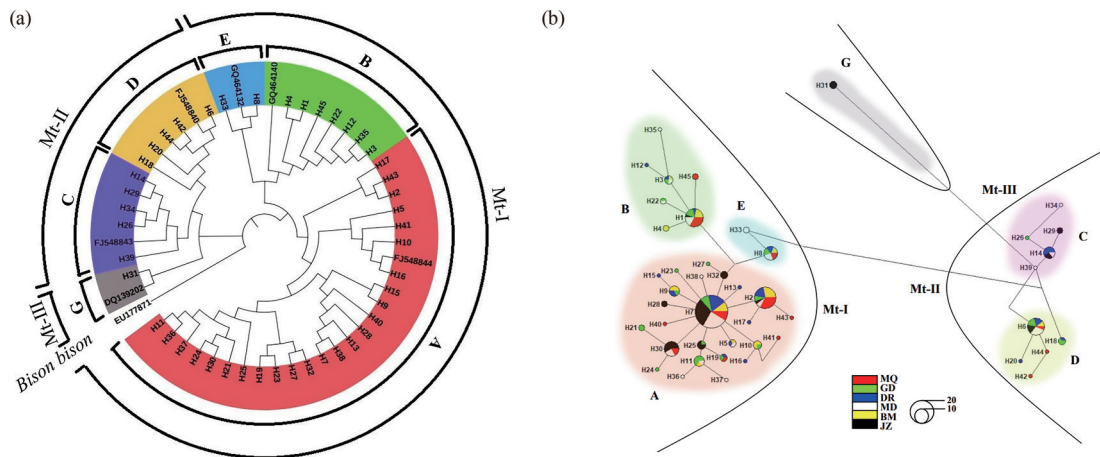
2.3 果洛藏族自治州6个牦牛群体系统发育分析

从 GenBank 中下载美洲野牛 (*Bison bison*) 的 mtDNA D-loop 序列 (GenBank No. : EU177871) 作为外群, 以已报道的牦牛母系遗传研究中 3 个母系支系所包含的不同单倍型组序列作为参考序列^[18], 即支系 I (包括 A、B、E 单倍型组, 代表序列分别为 FJ548844、GQ414640、GQ464132), 支系 II (包括 C、D 单倍型组, 代表序列分别为 FJ548843、FJ548840) 和支系 III (包括 G 单倍型组, 代表序列为 DQ139202), 对 6 个牦牛群体确定的 mtDNA D-loop 单倍型构建系统发育树 (图 4)。结果表明: 45 种单倍型分布在 A、B、C、D、E 和 G 共 6 种单倍型组中, 分别占 55.56% (25/45)、15.56% (7/45)、11.11% (5/45)、

11.11% (5/45)、4.44% (2/45) 和 2.22% (1/45)。其中, A 单倍型组包含 25 种单倍型 (即 H2、H5、H7、H9、H10、H11、H13、H15、H16、H17、H19、H21、H23、H24、H25、H27、H28、H30、H32、H36、H37、H38、H40、H41 和 H43), B 单倍型组包含 7 种单倍型 (即 H1、H3、H4、H12、H22、H35 和 H45), C 单倍型组包含 5 种单倍型 (即 H14、H26、H29、H34 和 H39), D 单倍型组包含 5 种单倍型 (即 H6、H18、H20、H42 和 H44), E 单倍型组包含 2 种单倍型 (即 H8 和 H33), 而 G 单倍型组包含 1 种单倍型 (即 H31)。45 种单倍型明显的聚为 3 个大的母系支系 (即 Mt-I、Mt-II 和 Mt-III), 其中 Mt-I 支系包含 A、B 和 E 3 种单倍型组, 由 34 种单倍型的 183 个个体 (序列) 所拥有, 占比为

75.56%(34/45);Mt-II 支系包括 C 和 D 2 种单倍型组,由 10 种单倍型的 35 个个体(序列)所拥有,占比为 22.22%(10/45);而 Mt-III 支系仅包括 G 单倍型组一种,由 1 种单倍型的 3 个个体(序列)拥有,占比为 2.22%(1/45)。与此同时,班玛、玛沁牦牛群体的单

倍型个体存在于 A、B、D 和 E 4 种单倍型组中,达日、甘德和玛多牦牛群体的单倍型个体属于 A、B、C、D 和 E 5 种单倍型组,而久治牦牛的单倍型个体属于 A、B、C、D 和 G 5 种单倍型组。值得注意的是,G 单倍型组只存在于久治牦牛群体中。



“A、B、C、D、E、G”表示 6 种单倍型组;“Mt-I、Mt-II、Mt-III”表示 3 个母系支系;BM、DR、GD、JZ、MD 和 MQ 分别代表班玛、达日、甘德、久治、玛多和玛沁牦牛群体。(a)NJ(Neighbor-Joining)法;(b)MJ(Median-Joining)法。

“A, B, C, D, E, G” represents six haplogroups; “Mt-I, Mt-II, Mt-III” represents three maternal lineages; BM, DR, GD, JZ, MD, and MQ represents the Bama, Dari, Gande, Jiuzhi, Maduo, Maqin yak populations, respectively. (a) Phylogenetic tree constructed by NJ (Neighbor-Joining) method; (b) Network diagram constructed by MJ (Median-Joining) method.

图 4 青海省果洛藏族自治州 6 个牦牛群体母系单倍型(组)间系统发育关系

Fig. 4 Phylogenetic relationships among haplotypes/haplogroups of six yak populations in Golog Tibetan Autonomous Prefecture, Qinghai, China

3 讨论

家畜的遗传多样性研究有助于了解其所蕴含的特殊遗传信息,对进一步开展其遗传资源的客观评估、发掘、保护和开发利用具有重要意义。在本研究中,基于 mtDNA D-loop 对青海省果洛藏族自治州的 6 个牦牛群体进行母系遗传分析,确定了 45 种单倍型,发现班玛、达日、甘德、久治、玛多和玛沁牦牛中分别拥有 1、6、5、4、7 和 6 种特有单倍型,说明这 6 个牦牛群体均拥有特殊的母系遗传信息。6 个牦牛群体总的单倍型多样性为 0.901,核苷酸多样性为 0.014,提示这 6 个牦牛群体拥有较为丰富的母系遗传多样性。先前家牦牛品种(群体)($H_d=0.621\sim1.000$)和野牦牛群体($H_d=0.957\sim0.967$)的研究发现,多数牦牛品种(群体)的母系遗传多样性相对较为丰富^[7-20,28-33],这与本研究结果一致。然而,与野牦牛及我国其他家牦牛品种(群体)相

比^[7-20,28-33],甘德、达日牦牛拥有丰富的母系遗传多样性,班玛、玛沁、玛多牦牛的母系遗传多样性较为丰富,而久治牦牛的母系遗传多样性水平相对较低。可以看出,上述果洛藏族自治州 6 个牦牛群体的母系遗传多样性存在较大差异,这可能与各群体间遗传漂变、生存环境、选育程度及群体结构组成等存在差异相关,其具体原因有待进一步深入探究。

遗传分化指数(F_{ST})和基因流(N_m)是反映种群或个体间遗传关系和分化程度的主要指标。 F_{ST} 值越小,种群之间的遗传差异就越小,分化程度就越弱,其 N_m 值就越大,提示群体间的基因交流越频繁,反之亦然。Wright^[34]研究认为,如果种群间 F_{ST} 值在 0~0.05,表明群体间遗传分化很弱, F_{ST} 值在 0.05~0.15,则表明存在中等分化, F_{ST} 值在 0.15~0.25,则表示高度分化, F_{ST} 值大于 0.25,则说明群体间遗传分化程度极大。在本研究中,6 个牦牛群体间的 F_{ST} 值在 -0.006~0.072, N_m 值在 3.222~

124.750,表明这6个牦牛群体间的遗传分化具有一定差异,且存在不同程度的基因交流。值得注意的是,久治牦牛与班玛、甘德、玛沁牦牛群体间分化程度均达到中等遗传分化水平($0.05 \leq F_{ST} < 0.15$),基因交流相对贫乏。除此之外,其他牦牛群体间的 F_{ST} 值为 $-0.006 \sim 0.034$ ($0 < F_{ST} < 0.05$),表明这些牦牛群体间分化程度较弱,基因交流相对频繁。聚类分析中,6个牦牛群体聚为明显的2类,甘德牦牛与久治牦牛最先聚在一起,再与班玛牦牛聚为一类;玛多牦牛与玛沁牦牛最先聚在一起,后与达日牦牛聚为另一类;二者再聚为一起形成一大类。该聚类结果表明,久治、甘德、班玛牦牛群体间亲缘关系较近,而玛多、玛沁、达日牦牛群体间亲缘关系较近。从地理分布来看,甘德、久治、班玛牦牛群体地理位置相对距离较近,而玛多、玛沁、达日牦牛群体地理位置较远,说明本研究聚类结果所反映的群体间遗传关系与各牦牛群体间的地理分布基本一致。

系统发育分析有助于明确牦牛遗传资源的群体结构、进化历史和遗传背景。本研究中,45种单倍型分布在A、B、C、D、E和G 6种单倍型组中,其中,A单倍型组在6个牦牛群体中为优势单倍型组,这与先前关于我国多数牦牛品种(群体)的系统发育研究结果完全一致^[7-20,28-33]。本研究中,6个牦牛群体的45种单倍型聚为3个母系分支,即Mt-I、Mt-II和Mt-III,所占比例分别为75.56%、22.22%和2.22%。然而,值得注意的是,除久治牦牛由3个母系遗传支系(即Mt-I、Mt-II和Mt-III)组成外,其他5个牦牛群体均由Mt-I和Mt-II 2个母系支系组成,提示果洛州除久治牦牛群体有3个母系起源外,其他牦牛群体有2个母系起源。在先前的研究报道中^[7-20,28-33],部分研究者基于线粒体基因组全序列及其D-loop区、蛋白编码序列等对我国家、野牦牛的系统发育进行了综合分析,表明多数家牦牛品种(群体)只拥有2个母系分支(即Mt-I和Mt-II),而第3个母系分支(即Mt-III)仅存在于野牦牛、雪多牦牛和格尔木牦牛群体中且所占比例很低,推测牦牛拥有3个高度分化的母系遗传分支^[7-20,28-33],这与本研究果洛州6个牦牛群体的母系遗传研究结果一致。

4 结 论

青海省果洛藏族自治州6个牦牛群体均拥有特殊的母系遗传信息,母系遗传多样性较为丰富;6个

牦牛群体间遗传分化程度整体较弱,除久治牦牛与班玛、甘德和玛沁牦牛群体间分化程度均呈中等遗传分化外,其他牦牛群体间分化程度均很弱;久治、甘德和班玛3个牦牛群体间亲缘关系较近,而玛多、玛沁和达日3个牦牛群体间亲缘关系较近;除久治牦牛群体由3个母系遗传支系组成外,其他群体均由2个母系支系组成,推测果洛藏族自治州除久治牦牛群体有3个母系起源外,其他牦牛群体均有2个母系起源。

参考文献 References

- [1] Wiener G, Han J L, Long R J. *The Yak* [M]. Bangkok: Regional Office for Asia and the Pacific of the Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2003: 1-16
- [2] 谢秀梅. 青海牦牛业可持续发展的新思路[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2015, 45(6): 43
Xie X M. New ideas for sustainable development of yak industry in Qinghai [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2015, 45(6): 43 (in Chinese)
- [3] 农业农村部. 青海省人民政府关于印发《农业农村部青海省人民政府共同打造青海绿色有机畜产品输出地行动方案》的通知[J]. 中华人民共和国农业农村部公报, 2021(10): 23-31
Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Qinghai Provincial People's Government on the issuance of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs of Qinghai Provincial People's Government to jointly build the Qinghai green organic agricultural and livestock products exporting place of the action notice [J]. *Bulletin of the Ministry of Agriculture and Rural Development of the People's Republic of China*, 2021 (10): 23-31 (in Chinese)
- [4] Kamalakkannan R, Jose J, Thomas S, Prabhu V R, Nagarajan M. Genetic diversity and maternal lineages of South Indian goats [J]. *Molecular Biology Reports*, 2018, 45(6): 2741-2748
- [5] Ma Z J, Zhong J C, Han J L, Xu J T, Liu Z N, Bai W L. Research progress on molecular genetic diversity of the yak (*Bos grunniens*). *Hereditas*, 2013, 35(2): 151-160
- [6] Lecis R, Norris K. Population genetic diversity of the endemic Sardinian newt *Euproctus platycephalus*: Implications for conservation [J]. *Biological Conservation*, 2004, 119(2): 263-270
- [7] 赖松家, 王玲, 刘益平, 李学伟. 中国部分牦牛品种线粒体DNA遗传多态性研究[J]. 遗传学报, 2005, 32(5): 463-470
Lai S J, Wang L, Liu Y P, Li X W. Study on mitochondrial DNA genetic polymorphism of some yak breeds in China [J]. *Journal of Genetics and Genomics*, 2005, 32(5): 463-470 (in Chinese)
- [8] 郭松长, 祁得林, 陈桂华, 徐世晓, 赵新全. 家牦牛线粒体DNA(mtDNA)遗传多样性及其分类[J]. 生态学报, 2008, 28(9): 4286-4294
Guo S C, Qi D L, Chen G H, Xu S X, Zhao X Q. Genetic diversity and classification of domestic yaks inferred from mitochondrial DNA sequences [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2008, 28(9): 4286-4294 (in Chinese)
- [9] 宋乔乔, 钟金城, 张成福, 信金伟, 姬秋梅, 柴志欣. 西藏牦牛线粒体DNA的遗传多样性及系统进化分析[J]. 兽类学报, 2014, 34(4): 356-365

- Song Q Q, Zhong J C, Zhang C F, Xin J W, Ji Q M, Chai Z X. Analysis on genetic diversity and phyletic evolution of mitochondrial DNA from Tibetan yaks [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2014, 34(4): 356-365 (in Chinese)
- [10] 成述儒, 曾玉峰, 王欣荣, 张利平, 吴建平. 甘肃境内6个牦牛群体mtDNA D-环序列遗传多样性与聚类分析[J]. 华北农学报, 2014, 29(3): 16-21
- Cheng S R, Zeng Y F, Wang X R, Zhang L P, Wu J P. Genetic diversity and cluster analysis of six yak populations in Gansu Province using mitochondrial D-loop sequence [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2014, 29(3): 16-21 (in Chinese)
- [11] 官久强, 谢荣清, 高晓云, 侯定超, 刘曦, 吴伟生, 安添午, 蒋小兵, 罗晓林. 四川省不同类群牦牛遗传进化树构建[J]. 畜牧与兽医, 2015, 47(9): 61-65
- Guan J Q, Xie R Q, Gao X Y, Hou D C, Liu X, Wu W S, An T W, Jiang X B, Luo X L. Construction of genetic phylogenetic tree of different yaks in Sichuan Province [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2015, 47(9): 61-65 (in Chinese)
- [12] Yue X P, Liang Y S, Liang Y L, Li F D. Comprehensive investigation of nucleotide diversity in yaks [J]. *Animal Genetics*, 2016, 47(6): 752-755
- [13] Li G Z, Luo J, Chen S M, Hanif Q, He D C, Ma Z J. Maternal genetic diversity, differentiation and phylogeny of three white yak breeds/populations in China [J]. *Animal Biotechnology*, 2023, 34(3): 728-733
- [14] 白诗睿, 马志杰, 李广祯, 杨振非, 陈生梅, 谢银禄, 郭东风, 陈立. 青海省格尔木牦牛的母系遗传多样性及支系组成[J]. 中国牛业科学, 2022, 48(2): 33-38
- Bai S R, Ma Z J, Li G Z, Yang Z F, Chen S M, Xie Y L, Guo D F, Chen L. Maternal genetic diversity and lineage composition of Golmud yak population in Qinghai Province [J]. *China Cattle Science*, 2022, 48(2): 33-38 (in Chinese)
- [15] Wang Z F, Shen X, Liu B, Su J P, Yonezawa T, Yu Y, Guo S C, Ho S Y W, Vilà C, Hasegawa M, Liu J Q. Phylogeographical analysis of domestic and wild yaks based on mitochondrial DNA: New data and reappraisal [J]. *Journal of Biogeography*, 2010, 37(12): 2332-2344
- [16] Wang X D, Pei J, Bao P J, Cao M L, Guo S K, Song R D, Song W R, Liang C N, Yan P, Guo X. Mitogenomic diversity and phylogeny analysis of yak (*Bos grunniens*) [J]. *BMC Genomics*, 2021, 22(1): 325
- [17] 李广祯, 马志杰, 陈生梅, 雷初朝, 李瑞哲, 谢银禄, 晁生玉. 野牦牛及青海地方牦牛品种全基因组基因遗传多样性、分化及系统发育分析[J]. 畜牧兽医学报, 2022, 53(5): 1420-1430
- Li G Z, Ma Z J, Lei C Z, Lei C Z, Li R Z, Xie Y L, Yao S Y. Maternal genetic diversity, differentiation and phylogeny of mitogenome sequence variations of wild yak and local yak breeds in Qinghai. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2022, 53(5): 1420-1430 (in Chinese)
- [18] Ma Z J, Li G Z, Chen S M, Han J L, Hanif Q. Rich maternal and paternal genetic diversity and divergent lineage composition in wild yak (*Bos mutus*) [J]. *Animal Biotechnology*, 2022, 33(6): 1382-1386
- [19] 白诗睿, 马志杰, 梅萨, 陈生梅, 陈付菊, 郭卫兴. 青海省3个牦牛群体母系遗传多样性、分化及系统发育分析[J]. 四川农业大学学报, 2022, 40(5): 664-669
- Bai S R, Ma Z J, Mei S, Chen S M, Chen F J, Guo W X. Maternal genetic diversity, differentiation and phylogenetic analysis of three yak populations in Qinghai, China [J]. *Journal of Sichuan Agricultural University*, 2022, 40(5): 664-669 (in Chinese)
- [20] Guo S C, Savolainen P, Su J P, Zhang Q, Qi D L, Zhou J, Zhong Y, Zhao X Q, Liu J Q. Origin of mitochondrial DNA diversity of domestic yaks [J]. *BMC Evolutionary Biology*, 2006, 6(1): 73-86
- [21] Hall T A. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT [J]. *Nucl Acids Symp Ser*, 1999, 41(41): 95-98
- [22] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: A software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. *Bioinformatics*, 2009, 25(11): 1451-1452
- [23] Excoffier L, Laval G, Schneider S. Arlequin (version 3.0): An integrated software package for population genetics data analysis [J]. *Evolutionary Bioinformatics Online*, 2007, 23(1): 47-50
- [24] Cui L K, Deng J L, Zhao L H, Hu Y X, Liu T L. Genetic diversity and population genetic structure of *Setosphaeria turcica* from *Sorghum* in three provinces of China using single nucleotide polymorphism markers [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 853202
- [25] Slatkin M. A measure of population subdivision based on microsatellite allele frequencies [J]. *Genetics*, 1995, 139(1): 457-462
- [26] Tamura K, Peterson D, Peterson N, Stecher G, Nei M, Kumar S. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2011, 28(10): 2731-2739
- [27] Bandelt H J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16(1): 37-48
- [28] 侯孟典, 宋仁德, 王会, 柴志欣, 杨玉文, 尕才仁, 汪永洲, 信金伟, 钟金城. 玉树牦牛与4个牦牛群体线粒体DNA D-Loop区遗传多样性分析[J]. 家畜生态学报, 2020, 41(3): 21-26
- Hou M D, Song R D, Wang H, Chai Z X, Yang Y W, Ga C R, Wang Y Z, Xin J W, Zhong J C. Analysis on genetic diversity of mtDNA D-loop region from Yushu yak population and other four yak populations [J]. *Journal of Domestic Animal Ecology*, 2020, 41(3): 21-26 (in Chinese)
- [29] 李广祯, 马志杰, 陈生梅, 杨秋蕾, 窦全林, 若巴仁青. 青海省曲麻莱牦牛的母系遗传多样性及遗传背景探究[J]. 青海大学学报, 2020, 38(1): 27-31
- Li G Z, Ma Z J, Chen S M, Yang Q L, Dou Q L, Ruo B. Maternal genetic diversity and genetic background of Qumalai yaks in Qinghai Province [J]. *Journal of Qinghai University*, 2020, 38(1): 27-31 (in Chinese)
- [30] 李瑞哲, 马志杰, 陈生梅, 孙永刚, 官却扎西, 陈永伟, 徐惊涛. 基于mtDNA D-loop序列分析探究青海雪多牦牛的遗传多样性及母系遗传背景[J]. 青海畜牧兽医杂志, 2018, 48(2): 1-3
- Li R Z, Ma Z J, Chen S M, Sun Y G, Guan Q, Chen Y W, Xu J T. Exploration on genetic diversity and matrilineal genetic background of Xueduo yak based on mtDNA d-loop sequence analysis [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2018, 48(2): 1-3 (in Chinese)
- [31] 李广祯, 马志杰, 陈生梅, 尕布藏, 李瑞哲. 基于mtDNA D-loop序列探究门源白牦牛与天祝白牦牛间的遗传差异[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(5): 1647-1654
- Li G Z, Ma Z J, Chen S M, Ga B Z, Li R Z. Genetic difference between Menyuan white yaks and Tianzhu white yaks based on mtDNA D-loop sequences [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2021, 48(5): 1647-1654 (in Chinese)
- [32] 涂世英, 汪琦, 柴志欣, 钟金城. 中甸牦牛mtDNA D-Loop区遗传多样性及系统进化分析[J]. 中国草食动物科学, 2016, 36(3): 5-10
- Tu S Y, Wang Q, Chai Z X, Zhong J C. Analysis on genetic diversity and phyletic evolution of mitochondrial DNA D-loop region from Zhongdian yak [J]. *China Herbivore Science*, 2016, 36(3): 5-10 (in Chinese)
- [33] 李静, 郭丽君, 王莉, 胡平, 肖逸, 韩建林, 王玉涛. 喀喇崑仑-帕米尔地区牦牛mtDNA D-loop区遗传多样性及系统发育分析[J]. 中国畜牧兽医,

2020,47(8):2481-2492

Li J, Guo L J, Wang L, Hu P, Xiao Y, Han J L, Wang Y T. Analyses of genetic diversity and phylogeny of mtDNA D-loop from yak in Kinkarakoram-Pamir area [J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2020, 47(8): 2481-2492 (in Chinese)

[34] Wright S. Evolution and the genetics of populations vol. 4: variability within and among natural populations [M]. Chicago: University of Chicago Press: 1978

责任编辑: 秦梅



第一作者简介:曹萍,青海大学畜牧专业在读硕士研究生(2021-)。在校期间曾获国家励志奖学金,获优秀学生干部、先进个人等称号,获第六届(2023)中国肉牛选育改良与产业发展国际研讨会学术墙报二等奖。现阶段参与青海省“昆仑英才·高端创新创业人才”计划(领军人才)、国家自然科学基金(31960656)、国家第三次畜禽遗传资源普查等项目,发表1篇SCI及4篇中文文章,参与发表论文4篇。



通讯作者简介:马志杰,博士,硕士生导师,研究员。国家第三次畜禽遗传资源普查牛专业组技术专家组成员,英国卡迪夫大学公派访问学者,中国畜牧兽医学会畜禽遗传标记学会理事,青海省牛产业科技创新平台建设岗位专家,青海省重大项目谋划专家库成员,青海省种业联盟副秘书长,青海省专家人才联合会成员,青海大学硕士研究生导师和《中国牛业科学》《中国草食动物科学》杂志编委。*Animal genetics*, *Heredity* 和畜牧兽医学报等期刊审稿专家。主要从事牦牛、黄牛遗传资源评估、遗传育种和基因组学研究。2016年入选青海省“科学与工程学科”学术带头人,2017年入选青海省高端创新人才千人计划“拔尖人才”,2018年入选中国科学院“西部青年学者”,2022年入选青海省“昆仑英才·高端创新创业人才计划”领军人才。多次被青海大学评为“先进工作者”和“优秀共产党员”,荣获“青海大学2023届毕业研究生优秀学位论文指导教师”称号。主持完成国家自然科学基金、青海省科技厅、西部之光等项目10余项,参与申报获批5个国家牦牛、绵羊遗传资源,完成地方标准2项,获批专利4项、软件著作权11项。发表学术论文80余篇(第一作者发表SCI论文20余篇)。参编世界首部大型高原医学系列专业丛书——《高原适应的生物基础》专著1部。目前,正在主持国家自然科学基金和国家农业农村部及省科技厅项目共3项。