

南丹牛 Y-SNPs 与 Y-STRs 遗传多样性研究

李秀良¹, 张俸伟², 曹艳红¹, 吴柱月¹, 党瑞华², 李绍波¹, 陈 宏², 雷初朝^{2*}

(1. 广西壮族自治区畜牧研究所, 南宁 530001; 2. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

摘 要: [目的] 分析南丹牛的 Y 染色体遗传多样性及父系起源。 [方法] 用 PCR 扩增、测序及生物信息学方法进行分析。 [结果] 通过对 25 头南丹牛的 Y-SNPs 和 Y-STRs 分析, 发现南丹牛仅包含瘤牛 Y3 单倍型组, 细分为 Y3-88-156 和 Y3-90-156 两种单倍型, 单倍型频率分别为 92% 和 8%, 南丹牛的 Y 染色体单倍型多样性为 0.1533 ± 0.0915 。 [结论] 南丹牛是瘤牛父系起源, 其遗传基础很稳定。

关键词: 南丹牛; Y-SNPs; Y-STRs; 遗传多样性; 父系起源

中图分类号: S823.8⁺1

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2019)02-0026-03

南丹牛属于役肉兼用地方黄牛品种, 中心产区位于广西壮族自治区南丹县境内, 以中堡、月里、里湖、八圩 4 个乡镇及周边地区为主。南丹县地理位置独特, 北接贵州省, 西边与云南省比邻。云贵高原在此地地势放缓, 由高原向丘陵地带过渡, 海拔 800~1 000 m, 因此南丹县气候条件优越, 无严寒酷暑。南丹、天峨、环江等县自古生活着许多少数民族(壮、瑶、苗、彝、仫佬等), 这些少数民族历来就有养牛的习惯, 并且每逢红白喜事有杀牛的民族风俗。因此, 独特的自然环境和社会条件形成了南丹牛爬坡能力强、适应性好、易于饲养、肉质细嫩、味道鲜美、营养丰富的特色^[1-2]。

哺乳动物 Y 染色体遵循父系遗传, 突变率很低, 较易产生动物特异的单倍型, 能准确地反映动物进化的历史。Y 染色体分子遗传标记是研究父系遗传多样性的理想材料, 常用的 Y 染色体标记有 Y-SNPs (UTY-19、ZFY-10 和 USP9Y) 和 Y-STRs (INRA189 和 BM861)。使用 Y-SNPs 确定哺乳动物 Y 染色体单倍型组, 再根据 Y-STRs 进行各单倍型组内部细化, 结合 Y-SNPs 和 Y-STRs 区分 Y 染色体父系起源更加准确^[3]。Edwards 等^[4]利用 Y-SNPs (UTY-19 和 ZFY-10) 和 Y-STRs (INRA189 和 BM861) 标记研究了 138 个牛品种的父系遗传多样性, 结果表明欧洲家牛属于普通牛 (Y1 和 Y2), 亚洲西南部分布瘤牛 Y3 单

倍型组。

目前, 有关南丹牛 Y 染色体遗传多样性、种群遗传结构的研究未见报道。因此, 本研究采用 2 对 Y-SNPs 标记 (UTY-19 和 ZFY-10) 和 2 对 Y-STRs (INRA189 和 BM861) 分析南丹牛的父系起源, 以期对南丹牛的种质资源保护和育种工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集和基因组 DNA 提取

从广西壮族自治区南丹县采集 25 头南丹公牛耳组织样本, 用传统酚氯仿法提取基因组 DNA, 并将其稀释到 10 ng/ μ L, 保存在 -20 °C 备用。

1.2 引物合成和 PCR 扩增

选用侯佳雯等^[5]报道的 2 个家牛 Y-SNPs 标记 (UTY-19 和 ZFY-10) 引物信息和家牛 2 个经典的 Y-STRs 位点, 即 INRA189 和 BM861 标记。由生工生物工程 (上海) 股份有限公司合成引物。PCR 扩增体系为 12.5 μ L: 2 $\times$ PrimeSTAR Max Premix 6.25 μ L 引物 (10 pmol/L) 各 0.25 μ L, 模板 DNA 1 μ L, 超纯水 5.25 μ L。PCR 反应程序为: 95 °C 预变性 4 min; 94 °C 变性 30 s, 53 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 30 s, 36 个循环, 4 °C 保存。PCR 扩增产物由 1% 琼脂糖凝胶电泳检测。

收稿日期: 2019-01-11 修回日期: 2019-01-26

基金资助: 国家肉牛牦牛产业技术体系项目 (CARS-37); 利用广西黄牛杂交培育优质雪花牛肉示范与推广项目 (桂渔牧科 201452035); 广西良种肉牛繁育关键技术与产业化应用示范项目 (桂科 AA17204028)

作者简介: 李秀良 (1978—), 男, 广西巴马人, 畜牧师, 主要从事牛遗传育种与技术推广工作。

* 通讯作者: 雷初朝 (1968—), 男, 湖南常宁人, 教授, 博导, 主要从事牛遗传资源研究。

1.3 测序、单倍型组分型及单倍型多样性分析

检验合格的 PCR 产物由生工生物工程(上海)股份有限公司进行正向测序,使用 SeqMan v7.1 软件对 Y-SNPs 的测序结果进行统计,使用 GeneMarker V1.91 软件对 Y-STRs 结果进行查看和校正,并用 Arlequin 3.0 软件进行单倍型多样性($H\pm SD$)计算。

2 结果与分析

通过对 25 头南丹牛 2 个 Y-SNPs 标记(即 UTY-19 和 ZFY-10)PCR 扩增产物进行测序,发现 UTY-19 标记存在 C>A 颠换,而 ZFY-10 标记存在 C>T 颠换和 1 个 GT 核苷酸插入/缺失多态位点。以侯佳雯等^[5]报道的家牛 Y 染色体单倍

型组判定的标准,并结合 2 个标记的核苷酸变异确定单倍型组,结果显示,25 头南丹牛都属于 Y3 单倍型组,表明南丹牛全部是瘤牛父系起源。同时利用 2 个家牛 Y 染色体特异性微卫星标记 INRA189 和 BM861 分析南丹牛 Y 染色体多态性,结果显示,在 INRA189 标记中检测到 2 个等位基因,分别是 88 bp 和 90 bp;在 BM861 标记中仅检测到 1 个等位基因,片段大小为 156 bp。结合 Y-SNPs 与 Y-STR 标记联合分析,在 25 头南丹牛中共确定了 Y3-88-156 和 Y3-90-156 单倍型(表 1),其中 Y3-88-156 单倍型占优势(92%),Y3-90-156 单倍型的概率很低(8%)。南丹牛的 Y 染色体单倍型多样性为 0.1533 ± 0.0915 。

表 1 南丹牛 Y 染色体单倍型组频率及多样性

样本数	Y-SNP			插入/缺失	Y-STR	单倍型组频率	单倍型多样性
	UTY-19	ZFY-10	ZFY-10	INRA189	BM861		
25	A	T	GT	88	156	0.92(23)	0.1533±0.0915
	A	T	CT	90	156	0.08(2)	

3 讨 论

Y 染色体分子标记是研究家牛父系起源的理想工具,已经被应用于世界各地家牛品种的父亲起源研究中。Götherström 等^[6]对 180 头欧洲家牛进行 Y-SNPs 分析,结果表明欧洲家牛是普通牛 Y1 和 Y2 起源,其中 Y1 单倍型组主要分布在北欧,Y2 单倍型组集中在南欧。顿珠加才等^[7]用 2 对 Y-SNPs(UTY-19 和 ZFY-10)对西藏地区的西藏牛和日喀则驼峰牛的父亲遗传进行研究,结果表明西藏牛包含普通牛 Y1、Y2 及瘤牛 Y3 共 3 种单倍型组;日喀则驼峰牛具有普通牛 Y2 和瘤牛 Y3 共 2 种单倍型组。本研究表明,南丹牛属于瘤牛 Y3 单倍型组。该结果与雷初朝等^[8]提出的中国南方黄牛受瘤牛的影响较大的论述一致。

Y 染色体单倍型多样性是评价群体变异程度的重要指标。侯佳雯等^[5]利用 Y-SNPs 标记和 Y-STRs 标记对皖南牛的父亲遗传多样性进行研究,结果表明皖南牛的单倍型多样性是 0.218 5。Li 等^[8]对中国 16 个黄牛品种 302 头牛进行研究得出的平均单倍型多样性为 0.683 1。本研究发现南丹牛的 Y 染色体单倍型多样性为 0.153 3,低于侯佳雯等^[5]对皖南牛的 Y 染色体单倍型多样性(0.218 5),同样低于 Li 等^[9]对中国 16 个地方黄牛品种的平均 Y 染色体单倍型多样性(0.683 1),但明

显高于李芳玉等^[10]对大别山牛的 Y 染色体单倍型多样性(0),表明南丹牛的 Y 染色体遗传多样性较低,这可能与南丹牛的繁殖方式落后有关^[11],也说明南丹牛 Y 染色体遗传性能稳定,种质资源保存完好。

南丹牛产于温湿山地,经当地人民长期选育和水土驯化,具有耐粗饲、耐热、耐寒和遗传性能稳定等优点^[1]。目前,由于农村机械化程度提高,导致优良南丹牛大量作为肉牛饲养与屠宰,使得南丹牛的整体质量下降,个体变小^[1,11]。所以应对南丹牛进行全面保种和本品种选育提高,实行异地交换种公牛,防止近亲交配,逐步提高南丹牛的生产性能。

参考文献:

[1] 国家畜禽遗传资源委员会. 中国畜禽遗传资源志:牛志[M]. 北京:中国农业出版社,2011.

[2] 陆维和,磨考诗,吴柱月,等. 浅谈广西地方黄牛品种资源的现状与对策[C]//中国畜牧业协会,西北农林科技大学,中国畜牧业协会养牛学分会,中国良种黄牛育种委员会. 第 2 届中国牛业发展大会论文集. 北京:中国畜牧业协会,2007.

[3] 李冉,常振华,徐苹,等. 黄牛 Y 染色体分子遗传多样性研究进展[J]. 中国牛业科学,2012,38(4):43-47.

[4] Edwards C J, Ginja C, Kantanen J, et al. Dual origins of dairy cattle farming-evidence from a comprehensive survey of European Y-chromosomal variation [J]. Plos One, 2011, 6 (1):e15922.

[5] 侯佳雯,夏小婷,贾玉堂,等. 皖南牛 Y-STRs 与 Y-SNPs 遗传

- 多样性研究[J]. 中国牛业科学, 2018, 44(1): 30-32.
- [6] Götherström A, Anderung C, Hellborg L, et al. Cattle domestication in the Near East was followed by hybridization with aurochs bulls in Europe[J]. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, 2005, 272(1579): 2345.
- [7] 顿珠加才, 张俸伟, 夏小婷, 等. 西藏牛和日喀则驼峰牛 Y-SNPs 遗传多样性及父系起源研究[J]. 中国牛业科学, 2017, 43(6): 7-9.
- [8] 雷初朝, 陈宏, 胡沈荣. Y 染色体多态性与中国黄牛起源和分类研究[J]. 西北农业学报, 2000, 9(4): 43-47.
- [9] Li R, Zhang X M, Campana M G, et al. Paternal origins of Chinese cattle[J]. *Animal Genetics*, 2013, 44(4): 446-449.
- [10] 李芳玉, 夏小婷, 贾玉堂, 等. 大别山牛 Y-STRs 与 Y-SNPs 遗传多样性及父系起源研究[J]. 中国牛业科学, 2018, 44(2): 4-6.
- [11] 李铭, 陈芳云, 刘瑞鑫. 广西地方黄牛优良品种保种与开发利用问题探讨[C]//中国畜牧业协会, 西北农林科技大学, 中国畜牧业协会养牛学分会, 中国良种黄牛育种委员会. 第 3 届中国牛业发展大会论文集. 北京: 中国畜牧业协会, 2008.

Genetic Diversity of Y-SNPs and Y-STRs in Nandan Cattle

LI Xiu-liang¹, ZHANG Feng-wei², CAO Yan-hong¹, WU Zhu-yue¹,

DANG Rui-hua², LI Shao-bo¹, CHEN Hong², LEI Chu-zhao^{2*}

(1. *Animal Husbandry Institute of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001*; 2. *College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100*)

Abstract: [Objective] The aim of this paper was to analyze Y chromosome genetic diversity and the paternal origin of Nandan cattle. [Methods] Polymerase chain reaction amplification, sequencing and bioinformatics were used for this study. [Results] Based on the analysis of Y-SNPs and Y-STRs markers of 25 Nandan cattle male samples, the results indicated that the Nandan cattle belonged to only zebu Y3 haplogroup, was divided into two haplotypes: Y3-88-156 and Y3-90-156, and their haplotype frequencies were 92% and 8%, respectively. The Y chromosome haplotypediversity was 0.1533 ± 0.0915 in Nandan cattle. [Conclusion] Nandan cattle belong to the zebu paternal origin with low paternal genetic diversity, indicating a very stable genetic basis.

Key words: Nandan cattle; Y-SNPs; Y-STRs; genetic diversity; paternal origin

(上接第 25 页)

- [5] 汪仁莉, 张珠明, 何生虎. 牛心朴子体外抑菌作用研究[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(31): 15233-15235.
- [6] 祁利民, 杨洁, 贾健荣. 宁夏野生植物: 老瓜头药用有效成分的研究[J]. 新技术应用, 1990(4): 18-21.
- [7] 农兴旭, 樊亦军, 周军. 老瓜头提取物初步药理研究[J]. 中草药, 1987, 18(12): 21-23.
- [8] 杨卫东, 郝银菊, 李红兵, 等. 老瓜头生物总碱镇痛、抗炎作用的实验研究[J]. 宁夏医学院学报, 2005, 27(3): 191-193.
- [9] 杨文莉, 杨卫东. 老瓜头生物总碱对大鼠佐剂性关节炎继发性炎症的影响[J]. 宁夏医学院学报, 2007, 29(1): 16-18.
- [10] 陈靖, 陈杰, 刘悦, 等. 荒漠植物老瓜头全草镇痛抗炎活性部位研究[J]. 药物评价研究, 2013, 36(5): 355-358.

Studies on Ache Easing and Anti-inflammatory Effect of 7-Demethoxyphosphorine

ZHANG Yong-kang, YANG Gang, LI Sheng-hu

(*Ningxia Polytechnic, Yinchuan, Ningxia 750021*)

Abstract: [Method] Studying on ache easing effect from different concentrations 7-Demethoxyphosphorine with hot plate, and choosing different concentrations 7-Demethoxyphosphorine injectables researching anti-inflammatory effect. [Result] The results showed 50 mg/kg weight have clear restraint ache of mice; the smallest dose of 7-Demethoxyphosphorine in 0.50 mg/kg had obvious inhibition effect to ears swelling of mice by xylene $C_6H_4(CH_3)_2$ ($P < 0.01$), the effect and dose was positive relevant.

Key words: 7-Demethoxyphosphorine; ache easing; anti-inflammatory