

陕西泉护村古代黄牛的分子考古研究*

蔡大伟¹ 胡松梅² 孙洋³ 王炜林² 周慧¹

(1. 吉林大学边疆考古研究中心, 吉林 长春市 130012; 2. 陕西省考古研究院, 陕西 西安市 710054;
3. 山东省石刻艺术博物馆, 山东 济南市 250011)

关键词: 黄牛 普通牛 瘤牛 古 DNA 线粒体 DNA

摘要: 我们对陕西泉护村遗址出土的距今 3000 年左右的 8 个黄牛遗骸进行了线粒体 DNA 分析, 成功地获得了 5 个古代黄牛序列。泉护村黄牛由 T3 和 T4 世系组成, 其中 T3 世系占统治地位(80%)。中介网络分析, 泉护村黄牛与 5 个北方早期青铜时代遗址古代黄牛密切相关, 极有可能来自上述地区。此外, 主成分分析表明泉护村黄牛与现代中国北方组黄牛的遗传关系最近, 遗传结构呈现连续性。

KEY WORDS: Cattle *Bos taurus* *Bos indicus* Ancient DNA Mitochondria DNA

ABSTRACT: We conduct mitochondrial DNA analysis on eight cattle remains excavated from Quanhucun site dating to around 3000 years ago, and successfully obtained five sequences. The sequences of ancient cattle were composed of haplogroups T3 and T4, of which T3 was dominant (80%). Phylogenetic network analysis indicates that Quanhucun cattle are relative to ancient cattle from five Early Bronze Age archaeological sites in Northern China, and may be from those areas. Principal component analysis indicate that ancient cattle had a close affinity to modern cattle in Northern China by presenting a continuity of genetic structure.

在中国, 黄牛是指牦牛和水牛以外的所有家牛, 分为普通牛 (*Bos taurus*) 和瘤牛 (*Bos indicus*) 两个亚种。普通牛耐干冷严寒, 主要饲养在中国北方地区, 而瘤牛耐高温湿热, 主要生活在秦岭以南的长江和珠江流域。近年来, 考古和基因的研究结果都显示普通牛和瘤牛是分别独立驯化的: 近东地区是普通牛的驯化中心, 驯化时间可以追溯到距今约 1,1000 年前的新石器时代早期^[1]; 印度河谷地区是瘤牛的驯化中心, 时间比近东地区晚 1500 年^[2]。

考古发掘表明, 黄牛骨骸在新石器时代中期 (7500 ~ 5000 BC) 开始在北方出现, 在内蒙古赤峰白音长汗, 河北武安磁山, 河南舞阳贾湖遗址曾出土少量野生黄牛骨骸^[3]。直到新石器时代晚期 (2500 BC), 才出现了明确的家养黄牛, 远远晚于近东地区普通牛和印度河流域瘤牛的驯化时间, 因此多数学者认为中国黄牛是由外域引进的家畜^[4]。

近年来, 古 DNA 分析技术被广泛地应用到黄牛起源研究中, 并成功地揭示了近东和欧洲黄牛的起源。但是有关中国黄牛的起源过程及其对现代黄牛的影响仍然不清楚。本研究将对陕西泉护村遗址出土的 8 个黄牛样本 (表一) 进行线粒体 DNA (mtDNA) 分析, 为中国黄牛起源研究提供新的线索。

一、材料和方法

1. 遗址概况及样品的采集

陕西泉护村遗址位于陕西省华县城东柳枝镇附近, 1958 年以来先后多次发掘。根据出土的文化遗存推断, 该遗址以庙底沟文化为主, 时间距今 6000 ~ 5500 年。该遗址同时也存在一些年代较晚的地层和遗存, 如 1997 年就发现有西周晚期的遗存: 甗和鬲, 2009 年也曾发掘到西周文化层和西周墓葬 4 座。本研究中我们采集 8 个

* 本文受到以下基金项目资助: 国家文物局文化遗产保护领域科学和技术研究项目 (2013 - YB - HT - 025); 科技部国家科技支撑计划项目 (2013BAK08B03); 国家基础科学人才培养基金项目 (J1210007)。

表一 样本信息和实验结果

实验室编号	考古单位	种属	部位	实验结果
QHC1	T0202②:5	Bos taurus	左桡骨	成功
QHC2	T0301③:12	Bos taurus	左跖骨	成功
QHC3	H14:9	Bos taurus	掌骨	失败
QHC4	H25:8	Bos taurus	左胫骨	成功
QHC5	H17:4	Bos taurus	右肱骨	成功
QHC6	T0301③:11	Bos taurus	右肱骨	成功
QHC7	H105①:2	Bos taurus	右跖骨	失败
QHC8	H18:2	Bos taurus	左掌骨	失败

表二 实验所用引物

引物名称	引物序列	片段长度 (bp)
L16022 H16178	5' - GCCCATGCATATAAGCAAG - 3' 5' - CACGCGGCATGGTAATTAAG - 3'	157
L16137 H16315	5' - TTCCTTACCATTAGATCAGGAGC - 3' 5' - GCAAAGAATGGACCGTTTATAGAT - 3'	179

表三 古黄牛序列变异位点及 mtDNA 世系分布表

样本	变异位点							世系	共享序列(共享个体数)
	1	1	1	1	1	1	1		
	1	1	1	1	1	1	1		
	6	6	6	6	6	6	6		
	0	0	1	1	1	1	2		
	4	9	1	1	4	8	6		
	2	3	3	9	1	5	3		
V00654	T	G	T	T	T	G	G		
QHC1	.	.	.	C	.	.	.	T3	中国 (81), 日本 (5), 韩国 (7), 蒙古 (2), 南亚 (4), 东南亚 (12), 欧洲 (6), 土耳其 (1)
QHC2	.	.	C	T3	中国 (1), 欧洲 (5), 非洲 (1)
QHC4	T3	中国 (28), 日本 (4), 韩国 (5), 蒙古 (1), 南亚 (3), 东南亚 (2), 美洲 (142), 欧洲 (337), 土耳其 (3), 伊拉克 (1)
QHC5	A	A	T3	没有
QHC6	C	A	.	.	C	.	.	T4	没有

· 表示与参考序列 V00654 位点相一致。

样本用于古 DNA 分析, 实验室编号 QHC1 - QHC8(表一), 这些样本发掘时所在地层已经被破坏, 尽管里面有庙底沟时期的陶片, 但是为了

稳妥起见, 我们对两件牛骨 QHC6 和 QHC4 进行了测年, 14C 测年数据显示为距今 3000 年左右 (数据未发表)。

2. 样本的处理

首先用毛刷除去样本表面污垢,接着用电动打磨工具去除表层1~2 mm,然后用10%次氯酸溶液浸泡古代材料5~10min,在紫外线照射下晾干,随后将样品放入液氮冷冻粉碎机之中,液氮冷却,打磨成粉,-20℃冷冻保存。

3. 古DNA抽取、PCR扩增和测序

古DNA提取参照蔡大伟等人的文献进行^[5]。

PCR扩增:依据参考序列V00654设计两对套叠引物,扩增294bp(核苷酸位置16022-16315)片段,见表二。

PCR扩增:50μL反应体系中含2.5mM Mg²⁺,1X Buffer,0.2mM dNTPs,0.5μM正反引物,1U Taq酶,2μL模版。程序如下:95℃5min,92℃1min变性,50-55℃退火1min,72℃延伸1min,36个循环后,72℃延伸10min,4℃保持。

测序:PCR扩增产物通过2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用凝胶回收试剂盒纯化PCR产物。纯化产物用ABI 310全自动遗传分析仪进行正反双向直接测序。

4. DNA数据分析

古代黄牛序列被截取到位点16023~16262,共240bp以适应GenBank上下载的用来进行比对的现代和古代黄牛序列。DNA序列利用Clustal X 1.83软件进行序列对位比对,确定变异位点及单倍型。利用Network 4.6软件构建中

介网络图。主成分分析由SPSS 18.0完成。

二、结果与讨论

1. 泉护村黄牛序列变异

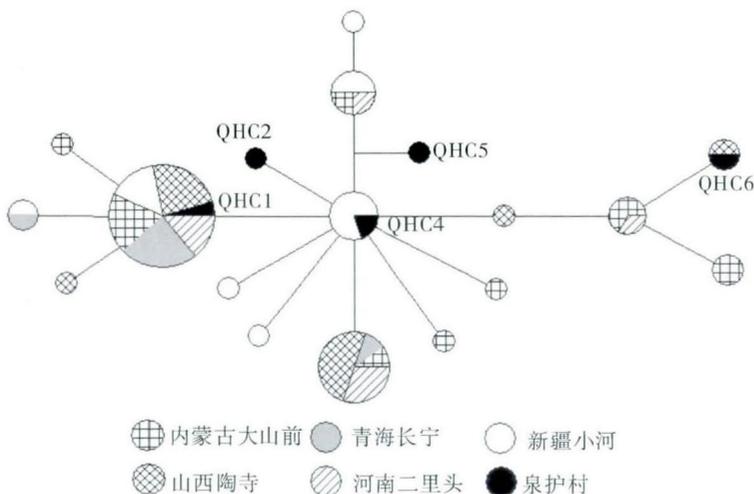
我们从8个古代序列里获得5个古代黄牛序列,其中3个样本QHC3,QHC7和QHC8失败,成功率为62.5%,略低于北方样本的成功率,可能与遗址所处的地域有关,一般情况下,北纬35度以北地区的样本要比以南地区的样本保存要好。所有的抽提和扩增的空白对照均为阴性,表明在骨样的抽提和扩增过程中无可观察到的污染发生。在所得到的5个序列中,QHC4与参考序列V00654一致,其他4个样本与V00654相比有7个变异位点(表三)。

2. 共享序列搜索

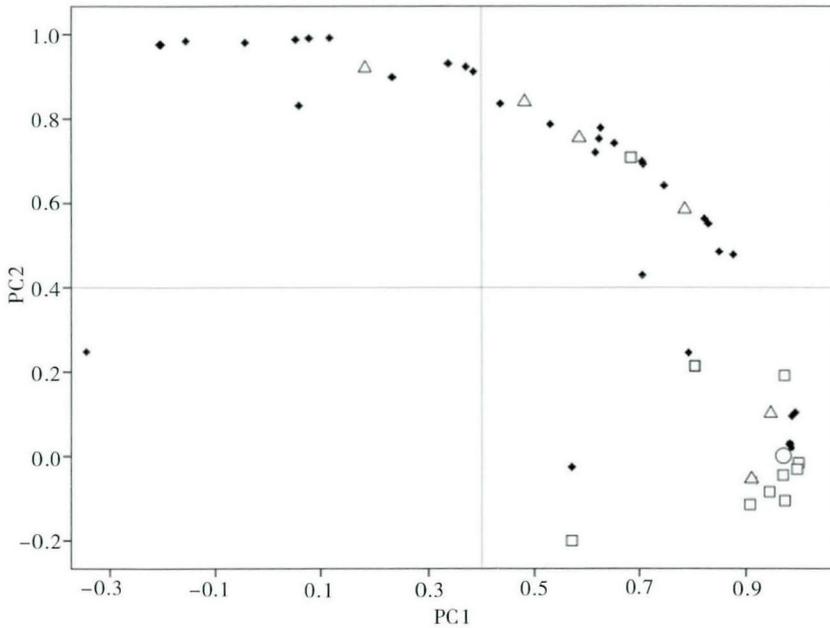
为了查看泉护村黄牛序列在现代黄牛群体中的分布情况,我们利用BLAST程序在GenBank数据库中进行了搜索,寻找与其共享的序列,结果见表三。单倍型QHC1,QHC2和QHC4在现代黄牛群体中都存在共享序列,QHC5和QHC6没有搜索到共享序列。QHC4的共享个体最多,高达526个,其中欧洲多达337个,暗示这是一个非常重要的欧洲基因型。值得注意的是QHC1的共享序列大部分来自东亚地区,尤其是中国。这一结果表明QHC1和QHC4不论是在青铜时代,还是在现代都是一个非常重要的单倍型,并呈现稳定的遗传连续性。

3. 泉护村黄牛世系

对现代黄牛群体的mtDNA分析显示,在瘤牛群体中存在2个主要的世系I1和I2,起源于印度河流域^[6];在普通牛群体中存在5个主要的世系T*、T1、T2、T3、T4^[7,8],全部起源于近东地区。其中,T3世系是新石器时代早期在近东地区形成,并占有统治地位。值得注意的是T4世系主要由东北亚黄牛构成,极有可能是近东地区黄牛向东扩散进入东亚地区时形成的。在本研究中,根据黄牛世系特异性分型位点,5个古代黄牛都属于普通牛,其中4个属于T3世系,



图一 6个遗址古代黄牛中介网络图,每个圆圈代表一个单倍型,圈的大小与样本数量成正比。



图二 基于泉护村和 56 个中国地方品种黄牛的主成分分析图,黑色实心菱形代表南方黄牛组、空心三角代表中原黄牛、空心方块代表北方黄牛、空心圆代表泉护村黄牛。

1 个属于 T4 世系。没有发现瘤牛,这暗示距今 3000 年左右瘤牛并没有向北扩散到泉护村地区,可能是由于北方的低气温以及秦岭、长江等的阻隔造成的。

4. 泉护村黄牛与中国古代黄牛的关系

我们选择新疆小河、青海长宁、内蒙古大山前、河南二里头、山西陶寺等早期青铜时代遗址(距今约 4000 年前)的古代黄牛序列(GenBank Accession No. KC634011 - KC634072)作为对比,进行中介网络分析(图一)。QHC1 与五个青铜遗址部分黄牛共享一个单倍型,该型不仅在古代黄牛中的分布频率最高,而且主要分布在现代东北亚黄牛群体中(表三)。QHC4 与新疆小河基地的 3 个黄牛共享一个单倍型。QHC6 与山西陶寺遗址的 1 个黄牛共享一个单倍型。考虑到泉护村样本的年代比其他 5 个遗址都晚,暗示泉护村部分黄牛的可能来自上述地区。QHC2 和 QHC5 是泉护村所特有的单倍型,在其他遗址中没有出现。

5. 泉护村黄牛与中国现代黄牛的关系

《中国牛品种志》根据地理分布,生态环境、体型特征,将中国黄牛可分为三大基本类型:北方黄牛、中原黄牛和南方黄牛^[9]。血液蛋白多态性、染色体核型以及 mtDNA 研究显示北方黄牛

以普通牛为主,南方黄牛以瘤牛为主,中原黄牛同时受到普通牛和瘤牛的影响,是由普通牛和瘤牛长期交汇融合形成的,秦岭和长江是两种类型黄牛在中国的主要分界线。为了研究泉护村黄牛与中国三种类型黄牛之间的遗传关系,我们收集 56 个现代中国黄牛群体 DNA 数据(参考 Jia 等(2010)^[10]),基于 mtDNA 世系的频率,进行了主成分分析(图二),结果显示,在第二主成分上,北方组与南方组和中原组形成明显的分离,泉护村古代黄牛主要与北方黄牛聚集在一起,这表明两者的亲缘关系比较近。另一方面,现在对中国

黄牛的类型划分不太准确,中原地区的黄牛受南方瘤牛的影响较大,以划分为南方组和北方组为宜。

三、结论

最近的研究显示近东黄牛可能经过欧亚草原以及河西走廊进入中国^[11]。此次泉护村遗址黄牛中发现的 T3 和 T4 世系,表明距今 3000 年左右近东谱系的黄牛已经扩散中华文明起源的核心区:中原地区。泉护村的古代黄牛序列在现代黄牛中广泛分布,从一个侧面反映了中原文化对中华文明发展的贡献。

[1] Helmer D, Gourichon L, Monchot H, et al. Identifying early domestic cattle from Pre - Pottery Neolithic sites on the Middle Euphrates using sexual dimorphism. [C] // The First Steps of Animal Domestication: New Archaeozoological Approaches, Ed. By J. D. Vigne J P D H, Oxford: Oxbow Books, 2005: 86 - 95.

[2] Ajmone - Marsan P, Garcia J F, Lenstra J A. On the origin of cattle: How aurochs became cattle and colonized the world [J]. Evolutionary Anthropology. 2010, 19(4): 148 - 157.

[3] 袁靖,黄蕴平,杨梦菲,等. 公元前 2500 年 ~ 公元前 1500 年

- 中原地区动物考古学研究—以陶寺、王城岗、新砦和二里头遗址为例 [C]//科技考古(二). 中国社会科学院考古研究所考古科技中心编. 北京: 科学出版社, 2007: 12-34.
- [4] 傅罗文, 袁靖, 李水城. 论中国甘青地区新石器时代家养动物的来源及特征 [J]. 考古. 2009(5): 80-86.
- [5] Cai D, Tang Z, Yu H, et al. Early history of Chinese domestic sheep indicated by ancient DNA analysis of Bronze Age individuals [J]. *Journal of Archaeological Science*. 2011, 38(4): 896-902.
- [6] Baig M, Beja-Pereira A, Mohammad R, et al. Phylogeography and origin of Indian domestic cattle [J]. *Current Science*. 2005, 89(1): 38-40.
- [7] Troy C S, Machugh D E, Bailey J F, et al. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle [J]. *Nature*. 2001, 410(6832): 1088-1091.
- [8] Mannen H, Kohno M, Nagata Y, et al. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in North Eastern Asian cattle [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 2004, 32(2): 539-544.
- [9] 邱怀. 中国黄牛品种志 [M]. 上海: 上海科技出版社, 1986.
- [10] 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: 173-180.
- [11] 蔡大伟, 孙洋, 汤卓炜等. 中国北方地区黄牛起源的分子考古学研究 [J]. 第四纪研究. 2014, 34(1): 166-172.

(责任编辑 张鹏程)

本刊编辑部可邮购以下书刊

(价格均为人民币元, 免邮资)

《考古与文物》精装合订本 1980—2012 年, 每册 150 元。

《考古与文物》部分单行本, 每本 15 元, 现有:

1990 年 1-6 期 1991 年 1、4-6 期

1992 年 1-5 期 1993 年 1、4、6 期

1994 年 5、6 期 1995 年 2-6 期

1996 年—2014 年 4 期

《史前研究》1986、1987 年精装合订本, 每册 80 元; 1990—1991 年辑刊, 每册 20 元

《考古与文物 100 期总目索引》, 每册 10 元

《中国考古学论集》, 每册 20 元

《古文字论集》(二), 每册 20 元

《古文字论集》(三), 每册 30 元

《考古与文物》2002 年先秦考古专号, 每册 50 元

《考古与文物》2002 年汉唐考古专号, 每册 50 元

《考古与文物》2004 年先秦考古专号, 每册 50 元

《考古与文物》2004 年汉唐考古专号, 每册 50 元

《考古与文物》2007 年先秦考古专号, 每册 50 元

《考古与文物》2007 年汉唐考古专号, 每册 50 元