

德宏水牛微卫星标记分析的群体遗传变异

杨泽宇¹, 苗永旺^{1,2,*}, 李大林³, 霍金龙¹, 陈涛¹, 何朝阳⁴, 创向辉⁵, 汤守银⁶

(1. 云南农业大学 动物科学学院, 云南 昆明 650201; 2. 云南大学 生物资源保护与利用重点实验室, 云南 昆明 650091; 3. 云南省家畜改良工作站, 云南 昆明 650021; 4. 云南省德宏州畜牧局, 云南 潞西 678400; 5. 云南省德宏州动物疾病控制中心, 云南 潞西 678400; 6. 云南省德宏州潞西市畜牧站, 云南 潞西 678400)

摘要: 德宏水牛是云南省地方水牛的优良品种之一, 为了进一步阐明其群体遗传变异和遗传结构, 筛选了分别位于水牛 14 条染色体上的 15 对微卫星引物, 对德宏水牛 81 个个体进行了检测分析。共检测到 62 个等位基因, 每个座位等位基因数目从 2 到 6 个不等, 平均等位基因数为 4.13, 该水牛群体期望杂合度和多态信息含量分别为 0.6520 ± 0.1526 和 0.5863 ± 0.1789 , 各座位的遗传分化系数在 0~0.0919 之间, 平均值为 0.0202。每个座位的基因流较大, 平均 12.1502。研究结果表明德宏水牛群体遗传多样性较丰富, 亚群间的遗传分化程度低, 基因流较大, 且很少发生近交。

关键词: 德宏水牛; 微卫星标记; 遗传变异; 遗传分化; 基因流

中图分类号: Q959.842; Q347 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853-(2007)06-0659-05

Unfolding of Population Structure in Dehong Buffalo Using Microsatellite DNA Markers

YANG Ze-yu¹, MIAO Yong-wang^{1,2,*}, LI Da-lin³, HUO Jin-long¹, CHEN Tao¹, HE Chao-yang⁴, CHUANG Xiang-hui⁵, TANG Shou-kun⁶

(1. Faculty of Animal Sciences, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China; 2. Laboratory for Conservation and Utilization of Bio-resources, Yunnan University, Kunming 650091, China; 3. Domestic Animal Crossbreed-improvement Station of Yunnan Province, Kunming 650021, China; 4. Bureau of Husbandry and Veterinary of Dehong Area, Luxi 678400, China; 5. Animal Disease Control Center of Dehong Area, Luxi 678400, China; 6. Animal Husbandry and Veterinary Station of Luxi City, Luxi 678400, China)

Abstract: Dehong buffalo are an indigenous buffalo breed in Yunnan province, China. A total of 81 unrelated samples from Dehong buffalo breeds were genotyped using 15 microsatellite DNA markers from 14 chromosomes to estimate genetic diversity, genetic differentiation and gene flow within populations. A total of 62 alleles were detected across the 15 loci assayed. All the loci were polymorphic and the number of alleles ranged from two to six, giving a mean number of 4.13 alleles per locus. The expected heterozygosity and polymorphism information content of 15 microsatellite loci were 0.6520 ± 0.1526 and 0.5863 ± 0.1789 , respectively. Coefficients of genetic differentiation ranged from 0 to 0.0919, with the average of 0.0202. Gene flow at each locus was large, with a mean Nm of 12.1502. The results indicated that the genetic diversity was rich among Dehong buffalo and the genetic differentiation in its sub-populations was relatively low, with larger gene flow and less inbreeding.

Key words: Dehong buffalo; Microsatellite DNA; Genetic variation; Genetic differentiation; Gene flow

德宏水牛是云南优良的地方水牛品种之一, 产于德宏傣族景颇族自治州而得名, 主要分布于该州的潞西、梁河、陇川及盈江等市县, 也分布于该

州相邻的其他地区。德宏水牛体躯高大、结实, 骨骼粗壮, 结构匀称, 具有耐粗饲、持久力、抗病力强等特点, 属个体体型较大的沼泽型水牛(The

收稿日期: 2007-09-18; 接受日期: 2007-10-26

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30660024); 云南省应用基础研究计划面上项目 (2006C0034M); 云南省应用基础研究重点项目 (2007C0003Z)。

* 通讯作者 (Corresponding author), Tel:13700650615, E-mail: yongwangmiao999@yahoo.com.cn

第一作者简介: 杨泽宇(1982-), 男, 硕士生, 专业方向: 动物分子遗传学。E-mail: y05yangzeyu@126.com

Bureau of Yunnan Husbandry Industry, 1987)。过去, 对于该水牛的体型外貌、肉质和血液蛋白多态性等的研究已有一些研究报道 (Zuo & Shi, 1993; Wang et al, 2007; Zhu et al, 2007), 这对揭示其品种特征具有重要价值。近年来, 随着动物基因组学的快速发展, 建立在 DNA 多态基础上的遗传标记, 已成为揭示家养动物群体遗传变异、遗传关系和基因渗透等重要种质特性的重要工具 (Bruford et al, 2003)。微卫星 DNA 标记多态性丰富、选择中性、呈孟德尔共显性遗传, 广泛分布于真核生物基因组中 (Zhang & Zhang, 2001)。为进一步在 DNA 分子水平上揭示德宏水牛的种质特性, 本研究采用微卫星 DNA 标记对德宏水牛群体遗传变异进行检测, 深入了解其群体遗传结构, 以期为德宏水牛种质资源的保存和选育利用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

共采集了 81 头 (♀: 48, ♂: 33) 德宏水牛的血液样品, 样品采自泸西市芒市镇 (15 头)、勐戛镇 (26 头)、风平镇 (20 头) 和陇川县城子镇 (20 头) 等地, 个体间避免存在直接血缘关系。每头牛静脉采血 10 mL, 与等体积 DNA 保存液混合, 低温带回实验室, -20°C 冻存。

1.2 基因组 DNA 的提取

参照《分子克隆 (第三版)》(Joseph & David, 2002) 的方法提取基因组 DNA, 经琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度法双重检测其纯度和浓度, 稀释至 $25\text{ ng}/\mu\text{L}$, 作为 PCR 扩增的模板。

1.3 随机引物的合成及筛选

研究所用 20 对微卫星引物均来自 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> 网站, 由上海生工生物工程技术有限公司合成。用部分样品构建 DNA 池, 然后经 PCR 扩增和琼脂糖凝胶及非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳检测, 从 20 对微卫星引物中筛选出 15 对多态性好的引物用于德宏水牛群体遗传变异分析, 15 个微卫星座位分别位于水牛 1、2、3、5、8、10 等 14 条常染色体上, 分别是 CSSM019、ILSTS030、TGLA263、CSSM022、CSSM047、CSSM038、ILSTS033、MB058、CSSM033、CSSM008、CSSM041、MB0109、CSSM043、CSSM036 和 CSSM013。

1.4 PCR 反应条件及电泳检测

PCR 反应体系为 $25\ \mu\text{L}$, 含基因组 DNA 模板

$50\ \text{ng}$, Mg^{2+} 浓度 $1.5\sim 2.5\ \text{mmol/L}$ (因座位而异), $10\times\text{buffer}\ 2\ \mu\text{L}$, dNTP $200\ \mu\text{mol/L}$, Taq 酶 (北京 TIANGEN) $1.25\ \text{U}$, 引物 $0.1\sim 1\ \mu\text{mol/L}$, 按各引物条件于德国 Biometra Tgradient PCR 仪上进行扩增。PCR 反应条件: 95°C 预变性 3 min; 然后 94°C 变性 1 min, $50\sim 60^{\circ}\text{C}$ 退火 1 min (温度因座位而异), 72°C 延伸 1 min, 30 个循环; 72°C 后延伸 10 min。PCR 产物先在 1.5% 的琼脂糖凝胶上进行检测, 然后取 PCR 产物 $3.5\ \mu\text{L}$ 与 $2\ \mu\text{L}$ 上样缓冲液混合后, 上样, 在 120 V 电压下 10% 的非变性聚丙烯酰胺凝胶上电泳 8~12 h。银染显色成像, 保存。

1.5 数据处理与统计分析

利用与凝胶成像系统配套的 Labwork 4.5 软件, 确定扩增片段大小并判定个体基因型。然后用 Excel 和 Popgene 1.31 软件 (Yeh et al, 1999) 计算各微卫星座位的等位基因频率、等位基因数、有效等位基因数、表观杂合度、期望杂合度、多态信息含量及遗传距离、群体分化和基因流等参数。

2 结果与分析

2.1 微卫星扩增结果及多态性

15 个微卫星座位均呈现出多态性, 共检测到 62 个等位基因, 各等位基因片段大小在 $123\sim 293\ \text{bp}$ 之间。每个座位的等位基因数在 2~6 个之间, 平均等位基因数 4.13 个, 有效等位基因数 3.36 个。等位基因最多的座位是 CSSM019、ILSTS030、CSSM033、CSSM008 和 CSSM043, 各有 6 个等位基因; 最少的座位是 CSSM022、MB058、CSSM041 和 CSSM013, 各有 2 个等位基因, 其他座位各有 3~5 个不等的等位基因。座位 CSSM033 检测到 11 个基因型, 基因型种类数最多, 而 CSSM022、MB058 和 CSSM041 有最少的基因型种类, 只检测到 2 种基因型。各座位的等位基因频率、等位基因数和有效等位基因数结果见表 1。

2.2 群体遗传多样性分析

根据微卫星座位的等位基因频率计算出各座位的表观杂合度、期望杂合度及多态信息含量, 见表 2。各座位的表观杂合度在 $0.3600\sim 1.0000$ 之间, 群体平均值为 0.9529 ± 0.1645 ; 期望杂合度在 $0.2982\sim 0.8205$ 之间, 群体平均值为 0.6520 ± 0.1526 ; 各座位的多态信息含量范围在 $0.2516\sim 0.7955$ 之间, 群体平均值为 0.5863 ± 0.1789 。期望杂合度和多态信息含量最高的座位是 CSSM019, 分

表 1 各座位的等位基因频率、等位基因数和有效等位基因数
 Tab. 1 Allele frequencies, number of alleles and effective number of alleles at each locus

座位 Locus	等位基因频率 Allele frequencies						na	ne
	P_1	P_2	P_3	P_4	P_5	P_6		
CSSM019	0.1458	0.2083	0.1354	0.1354	0.2500	0.1250	6.0000	5.5719
ILSTS030	0.1000	0.0778	0.2778	0.1889	0.2444	0.1111	6.0000	4.9754
TGLA263	0.2812	0.2188	0.2917	0.2083			4.0000	3.7453
CSSM022	0.5000	0.5000					2.0000	2.0000
CSSM047	0.0417	0.0833	0.4167	0.0833	0.3750		5.0000	2.9833
CSSM038	0.1809	0.3191	0.1809	0.3191			4.0000	3.7157
ILSTS033	0.4800	0.5000	0.0200				3.0000	2.0799
MB058	0.5000	0.5000					2.0000	2.0000
CSSM033	0.2955	0.0455	0.2159	0.2727	0.0682	0.1023	6.0000	4.4353
CSSM008	0.0417	0.3021	0.0417	0.1979	0.3229	0.0938	6.0000	4.0492
CSSM041	0.5000	0.5000					2.0000	2.0000
MB019	0.3409	0.1591	0.3750	0.1250			4.0000	3.3582
CSSM043	0.0532	0.1596	0.0745	0.2766	0.2872	0.1489	6.0000	4.6505
CSSM036	0.0978	0.3696	0.3804	0.1522			4.0000	3.1843
CSSM013	0.1800	0.8200					2.0000	1.4188
Mean \pm SD							4.1333 \pm 1.6417	3.3591 \pm 1.262

P_i 代表某一座位第 i 个等位基因的频率。 P_i is the frequency of the i th allele at a locus, $i=1,2,3,4,5,6$ 。

na: 等位基因数 (Number of alleles); ne: 有效等位基因数 (Effective number of alleles); SD: 标准差 (Standard deviation)。

表 2 各座位的表观杂合度、期望杂合度及多态信息含量

Tab. 2 Observed heterozygosity, expected heterozygosity and polymorphism information content at each locus

座位 Locus	表观杂合度 Observed H	期望杂合度 Expected H	多态信息含量 PIC	座位 Locus	表观杂合度 Observed H	期望杂合度 Expected H	多态信息含量 PIC
CSSM019	1.0000	0.8205	0.7955	CSSM033	0.9545	0.7834	0.7392
ILSTS030	1.0000	0.7990	0.7697	CSSM008	1.0000	0.7610	0.7129
TGLA263	1.0000	0.7446	0.6838	CSSM041	1.0000	0.5051	0.3750
CSSM022	1.0000	0.5000	0.3750	MB019	1.0000	0.7103	0.6477
CSSM047	1.0000	0.6701	0.6045	CSSM043	0.9787	0.7934	0.7526
CSSM038	1.0000	0.7309	0.6813	CSSM036	1.0000	0.6935	0.6276
ILSTS033	1.0000	0.5192	0.4036	CSSM013	0.3600	0.2982	0.2516
MB058	1.0000	0.5000	0.3750				
Mean \pm SD	Observed $H=0.9529\pm 0.1645$; Expected $H=0.6520\pm 0.1526$; PIC=0.5863 \pm 0.1789						

别为 0.8205 和 0.7955; 最低的座位是 CSSM013, 分别为 0.2982 和 0.2516。

2.3 群体遗传分化和基因流

2.3.1 各亚群体间的遗传距离与遗传一致度 将所分析样品按采样地的不同分成不同的亚群进行分析以估算德宏水牛群体遗传分化及基因流。各亚群体间的 Nei 氏遗传距离较小, 范围在 0.0333~0.0695 之间, 而遗传一致度较大, 范围在 0.9329~0.9673 之间, 见表 3。图 1 为用非加权组对算术平

均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)构建的聚类图, 位于潞西地理距离较近的 3 个亚群体 MS、MJ、FP 之间的遗传关系较近, 与地理距离较远的陇川 CHZ 群体遗传关系相对较远, 几个亚群间的聚类关系与地理位置关系一致。

2.3.2 固定指数与基因流 由表 4 可见, 本研究得出的 F_{is} 、 F_{it} 值都为负值, F_{is} 值在 -0.2339~1.0000 之间, 平均值为 -0.4926。 F_{it} 值在 -0.2207~1.0000

之间, 平均值为 -0.4625 。各座位的遗传分化系数 F_{st} 在 $0\sim 0.0919$ 之间, 平均值为 0.0202 。各座位的基因流较大, 都在 1 以上; 平均 Nm 值为 12.1502 。ILSTS033 座位有最大的基因流, $Nm=179.5060$, 而座位 CSSM013 有最小的基因流, $Nm=2.4702$ 。

3 讨论

3.1 群体遗传变异

每个座位等位基因的平均数, 也称为等位基因多样性, 是表征遗传多样性高低的重要参数。有效等位基因数是基因纯合度的倒数, 反映了等位基因的相互影响, 也可作为群体遗传变异的一个指标 (Frankham, 2002)。本研究各座位的等位基因数在 $2\sim 6$ 个之间, 平均每个座位等位基因和有效等位基因数分别为 4.13 和 3.36 个。

表观杂合度是一个座位的杂合子数除以观察个体总数, 它与期望杂合度相比, 更易受样本大小等因素的影响。期望杂合度是假定各基因座位符合哈迪-温伯格平衡的前提下算得的杂合度。多个座位期望杂合度的平均值即为平均期望杂合度, 又称群体基因多样性。它受样本取样的影响较小, 常用它来度量群体的遗传多样性, 其高低可反映群体的遗传一致性程度 (Frankham, 2002)。平均期望杂合度值越高, 反映群体的遗传一致性就越低, 其遗传多样性就越丰富。本研究中各座位的期望杂合度在 $0.2982\sim 0.8205$ 之间, 群体平均值为 0.6509 , 为较高的平均期望杂合度, 提示德宏水牛群体有着较丰富的遗传多样性。多态信息含量 (PIC) 是根据 Botstein et al (1980) 提出的公式计算出来的, 它是衡量微卫星 DNA 座位变异程度高低的重要指标。当某微卫星座位 $PIC > 0.5$ 时, 即表明该座位为高度多态座位; $0.25 < PIC < 0.5$ 时, 为中度多态座位; $PIC < 0.25$ 时, 该座位为低度多态座位。本研究德宏水牛群体 15 个微卫星座位中, 10 个微卫星座位属于高度多态座位, 5 个属于中度多态座位。群体平均多态信息含量为 0.5863 , 揭示了德宏水牛属于高度多态的群体。这与杂合度分析结果相一致, 表明德宏水牛群体遗传变异较大, 遗传多样性较丰富。

3.2 群体遗传分化

遗传分化系数 (F_{st}) 是反映各亚群间遗传分化的重要指标。Wright (1978) 认为: 若群体 F_{st} 值在 $0\sim 0.05$ 之间, 则表明其各亚群间不存在分化; 若 F_{st} 值在 $0.05\sim 0.15$ 之间, 为中度分化; 若 F_{st} 值在 $0.15\sim$

表 3 Nei 氏遗传距离 (对角线之下) 及遗传一致性 (对角线之上)

Tab. 3 Nei's genetic distance (below diagonal) and genetic identity (above diagonal)

群体	MJ	FP	MS	CHZ
MJ	****	0.9640	0.9647	0.9329
FP	0.0366	****	0.9673	0.9395
MS	0.0359	0.0333	****	0.9391
CHZ	0.0695	0.0624	0.0628	****

MS、MJ、FP 和 CHZ 分别代表本研究样品的采集地: 德宏潞西芒市镇、勐戛镇、风平镇和陇川城子镇。

MS, MJ, FP and CHZ denote the four different localities sampled in Dehong area.: Mangshi, Mengjia, Fengping and Chengzi.

表 4 各检测位点的 F 值和基因流 (Nei, 1978)

Tab. 4 F value and gene flow for all loci (Nei, 1978)

微卫星座位 Locus	F_{is}	F_{it}	F_{st}	Nm
CSSM019	-0.2339	-0.2207	0.0107	23.0706
ILSTS030	-0.2797	-0.2538	0.0203	12.0725
TGLA263	-0.3824	-0.3414	0.0296	8.1842
CSSM022	-1.0000	-1.0000	0.0000	****
CSSM047	-0.5577	-0.5055	0.0335	7.2159
CSSM038	-0.3976	-0.3604	0.0266	9.1394
ILSTS033	-0.9330	-0.9303	0.0014	179.5060
MB058	-1.0000	-1.0000	0.0000	****
CSSM033	-0.2658	-0.2245	0.0326	7.4140
CSSM008	-0.3503	-0.3255	0.0184	13.3523
CSSM041	-1.0000	-1.0000	0.0000	****
MB019	-0.4335	-0.4267	0.0047	52.8198
CSSM043	-0.2673	-0.2423	0.0197	12.4338
CSSM036	-0.5158	-0.4662	0.0327	7.3838
CSSM013	-0.3675	-0.2418	0.0919	2.4702
Mean	-0.4926	-0.4625	0.0202	12.1502

Nm : 从 $F_{st} = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$ 估计的基因流 (Nm : Gene flow estimated from $F_{st} = 0.25(1 - F_{st})/F_{st}$.)

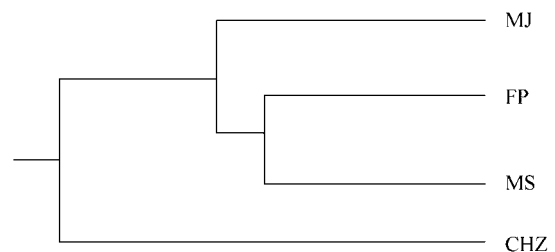


图 1 几个水牛亚群间的 UPGMA 聚类图

Fig. 1 UPGMA dendrogram of the buffalo sub-populations

MS、MJ、FP 和 CHZ 分别代表本研究样品的采集地: 德宏潞西芒市镇、勐戛镇、风平镇和陇川城子镇。

MS, MJ, FP and CHZ denote the four different localities sampled in Dehong area.: Mangshi, Mengjia, Fengping and Chengzi.

0.25之间, 则为高度分化。本研究中各座位的 F_{st} 平均值为0.0202, 即2.02%的遗传变异来自于亚群间, 97.98%的变异存在于亚群内, 揭示德宏水牛虽然由于地理、生态条件而被分割成一些亚群, 但其群体遗传变异大部分来自于亚群体内, 亚群间相对较少, 各亚群间遗传分化程度低或不存在分化。本研究Nei氏遗传距离和遗传一致度分析结果也显示, 德宏水牛各亚群体间遗传差异较小, 而遗传一致性却较大。

群体遗传分化水平的高低与遗传漂变、选择和基因流等因素密切相关。随机性的遗传漂变和选择的作用是群体产生遗传分化重要因素, 而基因流则是抵抗群体分化, 维持群体遗传均质化的力量。强而大范围的基因流能有效抑制由遗传漂变和选择作用引起的遗传分化, 使群体趋于一致。Wright (1931)认为, 如果群体间基因流指数 $Nm > 1$, 基因

流则能发挥均质化作用, 能有效防止不同地区亚群体间遗传分化的产生; 反之, 如果群体间基因流指数 $Nm < 1$, 则表明各亚群间基因流受阻, 群体可能走向遗传分化。本研究各座位的基因流较大(Nm 值都大于1), 平均 $Nm = 12.1502$, 揭示德宏水牛不同地区亚群体间基因交流程度较高, 进而导致其群体遗传分化较低。

F_{is} 、 F_{it} 分别指亚群内个体之间的近交系数和总群内亚群间近交系数, 它们的取值范围均为 $-1 \sim 1$ 。当 F_{is} 和 F_{it} 的值为极显著的正值时, 则表示群体内近交程度较严重, 如是极显著的负值时, 群体内观测杂合度大于期望杂合度, 则表示群体内存在远交(Weir & Cockerham, 1984)。本研究得出 F_{is} 、 F_{it} 值都为负值, 说明德宏水牛种群内杂合体较多, 基因交流频繁, 提示德宏水牛群体很少发生近交。

参考文献:

- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW. 1980. Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms [J]. *Am J Hum Genet*, **32**: 314-331.
- Bruford, MW, Bradley DG, Luikart G. 2003. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication [J]. *Nature Reviews Genetics*, **4**: 900-910.
- Frankham R, Ballou JD, Briscoe DA. 2002. Introduction to Conservation Genetics[M]. Cambridge University Press, 29-62.
- Joseph S, David WR. 2002. Molecular Cloning: A Laboratory Manual (Third Edition)[M]. Cold Spring Harbor: CSHL Press, 483-485.
- Nei M. 1972. Genetic distance between populations [J]. *Am Nat*, **106**: 283-292.
- Nei M. 1978. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals [J]. *Genetics*, **89**: 583-590.
- The Bureau of Animal Husbandry of Yunnan Province. 1987. The breeds introduction of domestic animals in Yunnan [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 229-232, 246-249. [云南省畜牧局. 1987. 云南省家畜家禽品种志. 昆明: 云南科技出版社, 229-232, 246-249.]
- Wang XH, Huang QC, Shao JH, Ge CR, Tang SK. 2007. Study on body shape of pure Dehong buffalo, Nili \times Dehong buffalo and Murrah \times Dehong buffalo on pasture system [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, **23** (1): 21-23. [王晓华, 黄启超, 邵俊花, 葛长荣, 汤守锟. 2007. 德宏水牛及其杂交品种体尺测定. 中国农学通报, **23** (1): 21-23.]
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimation F-statistics for the analysis of population structure [J]. *Evolution*, **38**: 1358-1370.
- Wright S. 1931. Evolution in mendelian population [J]. *Genetics*, **16**: 97-159.
- Wright S. 1978. Evolution and the genetics of populations [A]. In: Variability Within and Among Natural Populations [C]. Chicago: University of Chicago Press, 4.
- Yeh FC, Yang RC, Boyle T. 1999. POPGENE Microsoft Windows-Based Freeware for Population Genetic Analysis Release 1.31 [M]. Edmonton: University of Alberta.
- Zhang YW, Zhang YP. 2001. Microsatellites and its application [J]. *Zoological Research*, **22**(4): 315-320. [张云武, 张亚平. 2001. 微卫星及其应用. 动物学研究, **22**(4): 315-320.]
- Zhu RJ, Hu WG, Huang QC, Shao JH, Wang XH, Yang XZ, Ge CR, Tang SK. 2007. Study of meat physico-chemical characteristics of pure Dehong buffalo, Dehong \times Nili buffalo and Dehong \times Murrah buffalo on pasture system [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, **23** (3): 24-27. [朱仁俊, 胡卫国, 黄启超, 邵俊花, 王晓华, 杨兴章, 葛长荣, 汤守锟. 2007. 德宏水牛及其不同杂交品种肉质特性研究. 中国农学通报, **23** (3): 24-27.]
- Zuo FY, Shi RX. 1993. Blood protein polymorphism of Dehong buffalo [J]. *Yunnan Animal Science and Veterinary Medicine*, (2): 5-7. [左福元, 史荣仙. 1993. 德宏水牛血液蛋白多态性研究. 云南畜牧兽医, (2): 5-7.]