

青海省民和县喇家遗址出土家养黄牛的 DNA 初步研究*

- ◆ 赵欣 [中国社会科学院考古研究所科技考古中心
西蒙菲莎大学(Simon Fraser University)考古学系古 DNA 实验室]
- ◆ 吕鹏 (中国社会科学院考古研究所科技考古中心)
- ◆ 东晓玲
- ◆ 张桦 [西蒙菲莎大学(Simon Fraser University)考古学系古 DNA 实验室]
- ◆ 叶茂林 (中国社会科学院考古研究所)
- ◆ 蔡林海
- ◆ 杜玮 (青海省文物考古研究所)
- ◆ 马骞
- ◆ 甄强
- ◆ 袁靖 (中国社会科学院考古研究所科技考古中心、复旦大学科技考古研究院)
- ◆ 杨东亚 [中国社会科学院考古研究所科技考古中心
西蒙菲莎大学(Simon Fraser University)考古学系古 DNA 实验室]

摘要: 运用古 DNA 技术对青海省民和县喇家遗址出土 11 例黄牛遗存进行 DNA 提取和线粒体 DNA 控制区分析,其中属于齐家文化时期的有 10 例,汉代 1 例。全部样本都获得了所需的 DNA 序列,都属于家养普通牛(*Bos taurus*)。在这 11 个样本中共检测出 5 个单倍型,可以归属于 3 个不同的单倍型类群 T2、T3 和 T4。年代为齐家文化时期的家养普通牛样本(10 例)归属于 2 个不同的单倍型类群 T3 和 T4,以 T3 为主(80.0%),T4 较少(20.0%)。年代为汉代的样本(1 例)属于单倍型类群 T2。喇家遗址齐家文化时期家养普通牛的母系遗传结构与同时期甘青地区其他考古遗址出土家养普通牛非常相似,可能具有很近的母系来源。

关键词: 古 DNA;家养黄牛;喇家遗址;甘青地区

Abstract: This research aims to use an ancient DNA approach to genetically characterize ancient cattle remains of the Qijia Culture and Han Dynasty from the Lajia site at Minhe, Qinghai, China (35°42' N ~37°09' N, 101°05' E ~103°01' E). DNA has been successfully recovered from 11 ancient cattle skeletal remains in dedicated ancient DNA labs following vigorous protocols for contamination prevention (100%). Through overlapping sequencings, a mitochondrial DNA (mtDNA) D-loop fragment (285bp) was obtained for all *Bos taurus*. Ten of them from the Qijia Culture belong to two haplogroups, T3(80.0%) and T4(20.0%). Only one sample from Han Dynasty belongs to haplogroup T2. This population genetic structure of *Bos taurus* from Qijia Culture at the Lajia site confirms the pattern

* 项目编号:中华文明探源研究“中华文明起源进程中的生业、资源与技术研究”(课题编号:2020YFC1521606)、国家社会科学基金青年项目与国家社会科学基金和自然科学基金配套经费“中原地区先秦时期家养黄牛的分子考古学研究”(项目批准号:15CKG017)、国家社会科学基金青年项目“青海喇家国家考古遗址公园发掘报告(2015—2017)”(项目批准号:18CKG025)、2022 年度中国社会科学院创新工程项目、中国社会科学院“登峰战略”科技考古优势学科共同资助

previously observed in archaeological assemblages of the Ganqing region, Northwest China, from the Late Neolithic to the Early Bronze Age.

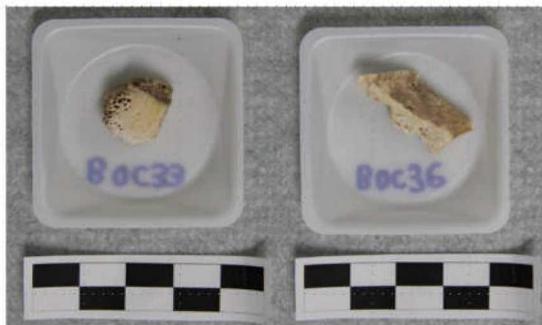
Key Words: Ancient DNA; Domesticated cattle; Lajia site; Ganqing region

喇家遗址位于青海省民和回族土族自治县官亭镇喇家村,地处黄河上游的官亭盆地,坐落在黄河河谷地带北岸的二级阶地上,地理坐标为北纬 35°42'~37°09',东经 101°05'~103°01'。喇家遗址的发掘开始于 1999 年,中国社会科学院考古研究所、青海省文物考古研究所联合对该遗址进行多年考古发掘工作;2015 年青海省文物考古研究所联合四川大学考古系、喇家遗址博物馆等单位又对喇家国家考古遗址公园即将施工区域进行了发掘。该遗址一系列重要考古发现引起了国内外学者的广泛关注,例如目前世界上最早的“面条”^①;房址内数量不等、姿态各异的人骨^②,以及他们之间的亲缘关系^③;发现了陶器、石器、骨器、玉器等重要遗物^④;尤其是喇家遗址古代环境与灾难遗存的发现^⑤,揭示了距今 4000 年前后在黄河上游地区发生的灾变事件。喇家遗址是一处以齐家文化为主的中心聚落,被评为 2001 年度全国十大考古新发现。碳十四测年分析显示,喇家遗址齐家文化的年代大致延续了 300 多年(约为公元前 2300—前 1900 年),而该遗址中的灾难性事件发生的年代为公元前 1900 年前后^⑥。

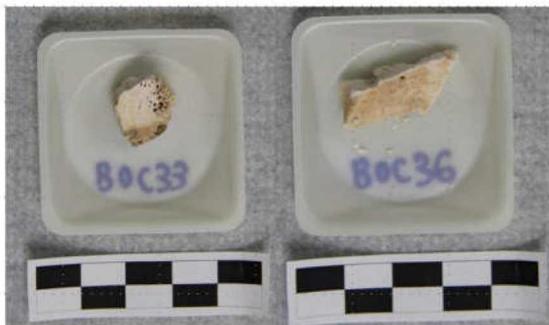
本文以青海省民和县喇家遗址出土古代黄牛遗存为研究对象,运用古 DNA 的研究方法,分析该地区古代黄牛的遗传结构特点,并与周边甘青地区以及中国其他地区古代黄牛进行比较。本文研究期望为今后甘青地区大样本的古代黄牛 DNA 研究提供新的材料。

一、材料与方法

(一) 样本采集与保存状况初步评估



A



B

图一 本文采集的喇家遗址家养黄牛骨骼情况

注:图 A 为未经实验处理的样本照片;图 B 为经过去除外源 DNA 污染处理后的样本照片。

在动物考古学家进行种属鉴定等形态学研究的基础上,本文对喇家遗址发掘出土的 11 例属于黄牛的骨骼或牙齿遗存进行了采集,从形态上看采集部位均保存较好,利于 DNA 的提取和后续实验、分析工作,其保存状况可见图一。其中有 10 例牛骨或牙齿出土的遗迹单位属于齐家文化时期,另有 1 例牛骨出土的遗迹单位为 2015 年发掘、年代属于汉代。样本的具体信息见表一。

(二) 样本处理与 DNA 提取

采集到的骨骼或牙齿样本,依次经过钻头机械打磨表面和截面、次氯酸钠溶液(有效氯 6%)浸泡和紫外照射(紫外灯置于样本以上 8cm 的高度,波长 254nm, UVP, 美国),用以去除表面尘垢和可能存在的外源 DNA 污染,之后使用液氮冷冻研磨机(SPEX, 美国)将骨骼或牙齿打磨成粉。在此基础上取 0.2~0.5g 骨粉或牙粉,使用 Yang 等^⑦提出的硅柱离心法进行 DNA 提取。每个样本得到约 100μL 的 DNA 样本置于 -20℃ 保存备用。

(三) DNA 扩增与测序

首先,使用引物 L1269/H1346^⑧扩增线粒体基因组中 12S rRNA 基因,获取 76bp 的短片段 DNA,从分子水平对所选样本进行初步种属鉴定;在此基础上选择 Yang 等^⑨、Troy 等^⑩和蔡大伟等^⑪设计的四对套叠引物来扩增属于黄牛样本的线粒体 DNA 控制区的片段并进行拼接,获得黄牛线粒体 DNA 控制区 331bp 的序列(16004~16334,包括引物长度)。使用 AmpliTaq Gold™ 聚合酶(Thermo fisher, 美国)进行 PCR 扩增,具体 PCR 扩增体系与程序设置见参考文献^⑫。扩增产物使用 2% 琼脂糖凝胶进行电泳检测。PCR 阳性产物送到测序公司直接进行 Sanger 测序,

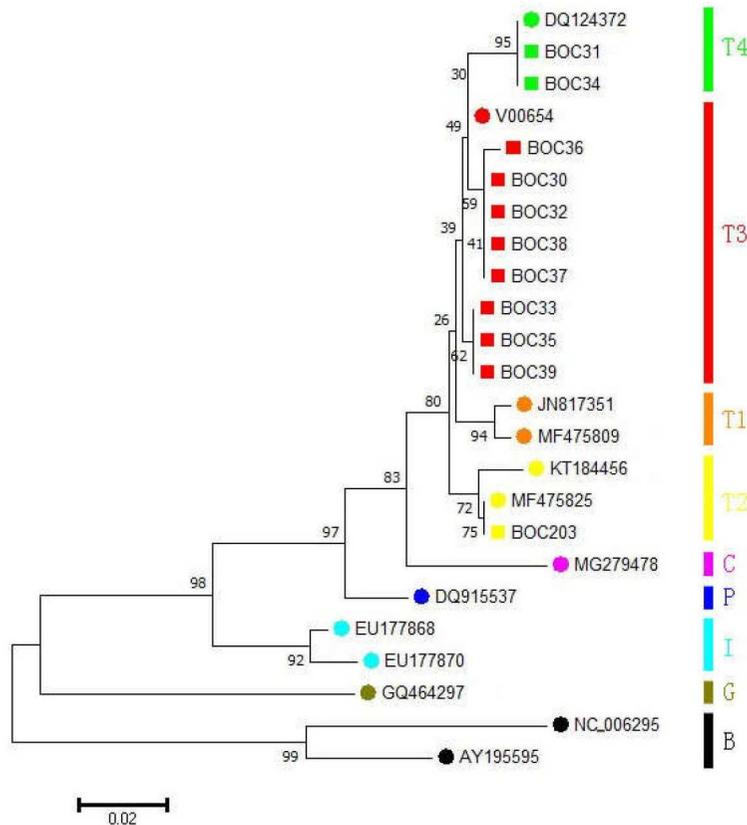
表一 喇家遗址出土黄牛样本的考古学背景信息及 DNA 鉴定结果

序号	时代	实验编号	出土单位	取样部位	形态鉴定	mtDNA 鉴定 (12S)	mtDNA 鉴定 (D-loop)
1	齐家文化早期	BOC30	2000QMLT2613G1:④	左侧桡骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
2		BOC34	2000QMLT2613G1⑤	右侧肩胛骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T4
3		BOC39	2000QMLT2613G1⑤	肋骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
4	齐家文化晚期	BOC31	2005QMLT1013 硬面	左侧肱骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T4
5		BOC32	2001QMLT513①下 F15	左侧肩胛骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
6		BOC33	2003QMLT533H53	右侧肩胛骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
7		BOC35	2005QMLT0913 灰层	牙齿	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
8		BOC36	2002QMLT528⑦a	第三趾骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
9		BOC37	99QMLT344④	炮干骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
10	齐家文化	BOC38	2000QMLT2613H8	牙齿	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T3
11	汉代	BOC203	2015QMLVT3H210③	肢骨	黄牛	牛属 <i>Bos</i>	<i>B. taurus</i> T2

正反引物双向测序。基于本课题组在古代牛骨 DNA 的实验经验^⑧，在本实验的 PCR 扩增过程中全部未使用 BSA(牛血清白蛋白)。

(四) 数据分析

使用 Chromas Pro 软件对获得的 DNA 序列进行序列信号的读取和检测，使用 Clustal X2 软件^⑨对



图二 系统发育邻接树

注:本研究样本用方块表示,用 BOC 标注编号。对比序列来自 GenBank 数据库,用圆圈表示,序列编号为 GenBank 号,包括:普通牛单倍型类群 T1 (GenBank:JN817351 和 GenBank:MF475809)、普通牛单倍型类群 T2 (GenBank:KT184456 和 GenBank:MF475825)、普通牛单倍型类群 T3 (GenBank:V00654)、普通牛单倍型类群 T4 (GenBank:DQ124372)、瘤牛单倍型类群 I (GenBank:EU177868 和 GenBank:EU177870)、亚洲原始牛单倍型类群 C (用 C 表示, GenBank:MG279478)、欧洲原始牛 (用 P 表示, GenBank:DQ915537)、牦牛 (用 G 表示, GenBank:GQ464297) 和水牛 (用 B 表示, GenBank:NC_006295 和 GenBank:AY195595)。全部节点都标注自展值,比例尺表示每一个位点的核苷酸替代率。

表二 喇家遗址出土黄牛样本的线粒体 DNA 序列情况

ID	16042	16055	16057	16068	16093	16119	16135	16185	16255	16302	Haplogroup
V00654	T	T	G	T	G	T	T	G	T	G	T3
BOC30	.	C	T3
BOC31	C	.	.	.	A	A	T4
BOC32	.	C	T3
BOC33	C	T3
BOC34	C	.	.	.	A	A	T4
BOC35	C	T3
BOC36	.	C	.	C	T3
BOC37	.	C	T3
BOC38	.	C	T3
BOC39	C	T3
BOC203	.	.	C	.	.	.	C	A	C	.	T2

注：. 表示与参考序列一致。

DNA 序列进行比对, 使用 BioEdit 软件[®]进行编辑和拼接。使用 MEGA 7 软件[®]构建系统发育树, 详见图二。使用 Dna-SP (v.6.12.03) 软件[®]和 Arlequin (v.3.5) 软件[®]计算单倍型多样性与核苷酸多样性; 使用 PopART (v. 1.7) 软件[®]构建中介网络图 (图三 A), 使用 TempNet R 程序[®]构建甘青地区家养黄牛的分层网络图 (图三 B, 按照遗址年代划分层次); 以遗址为单位计算单倍型类群分布频率 (图四), 选择中国考古遗址出土家养普通牛作为对比序列, 包括: 山西陶寺、山西周家庄、河南花地嘴、河南望京楼、河南二里头、河南殷墟孝民屯、陕西泉护村、陕西石峁、吉林后套木嘎、内蒙古大山前、青海长宁、宁夏打石沟、宁夏沙塘北塬、宁夏王大户、宁夏中庄、宁夏九龙山、新疆小河等[®]。

(五) 污染的防止与序列真实性验证

残存在古代生物遗骸中的遗传物质 DNA 分子具有含量极低、高度降解、广泛损伤等几个特点。基于此, 使得古 DNA 研究极易受到外源 DNA 污染。外源 DNA 污染的防止与去除, 样本 DNA 序列真实性验证等, 是进行古 DNA 研究的前提, 也是保证古 DNA 研究可靠性的最大问题。本文全部实验都严格按照古 DNA 操作规范进行。所有实验都在专门的古 DNA 实验室完成, 且每次 DNA 提取与 PCR 扩增都设置空白对照, 以判断是否在实验过程中存在外源污染。实验中所有样本都提取 3 次以上, 保证不同次提取产物结果相同。所有的 DNA 片段都进行正反引物双向测序且得到完全一致的结果, 用以识别和排除实验中可能存在的误差。虽然 BSA (牛血清白蛋白) 可以有效地提高 PCR 扩增成功率, 在古 DNA 实验中应用广泛。但是 BSA 是从牛组织中提取的产物, 本文的研究样本是古代黄牛, 考虑到无法排除 BSA 可能会带来外源 DNA 污染, 因此本文实验未使用

BSA, 从实验试剂方面排除了外源污染的可能。

二、结果

本文实验设置的全部空白对照都是阴性, 未检测到实验污染; 获得的 DNA 序列都得到了重复验证, 显示出所获得的 DNA 数据的可信性。

在采集的 11 例古代样本中, 全部获得了线粒体基因组中 12S rRNA 基因的部分 DNA 序列 (引物 L1269/H1346, 去除两端引物后序列长度为 76bp), 在 GenBank 数据库中 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 对这些 DNA 序列进行了 BLAST 共享序列搜索, 结果发现全部样本的共享序列都属于牛属 (*Bos*)。同样这 11 例样本都获得了线粒体 DNA 控制区的 285bp 序列 (16029~16313, 去除两端引物), 在 GenBank 数据库中 (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) 对这些 DNA 序列进行了 BLAST 共享序列搜索, 结果发现全部样本都属于家养普通牛 (*Bos taurus*)。

以 V00654[®]作为参考序列, 将这 11 个线粒体 DNA 控制区序列与之进行比对, 实验结果见表二。共检测出 10 个多态性位点, 其中有 9 个为转换, 1 个为颠换 (16057G→C), 没有插入或缺失, 且转换在嘧啶之间的比例略高占 66.7% (6/9)。在这 11 个序列中共检测出 5 个单倍型, 其中 BOC30、BOC32、BOC37 和 BOC38, BOC33、BOC35 和 BOC39, BOC31 和 BOC34 分别共享有相同的单倍型。虽然 BOC36 在该遗址中无共享序列, 但是与 BOC30 这一单倍型仅有一个位点的差异 (16068T→C), 表现出较近的母系亲缘关系。根据家养普通牛单倍型类群划分的已有研究成果[®], 基于线粒体 DNA 控制区序列变异模式, 本文发现的 5 个单倍型可以归属于 3 个不同的单倍型类群 T2、T3 和 T4, 以 T3 为主占 72.7%, T4 仅发现 2 个个体 (BOC31 和 BOC34) 占 18.2%, T2 仅发现 1 个

个体(BOC203)占9.1%,未见其他单倍型类群,结果详见表二和图二。

由于BOC203出土的遗迹单位属于汉代,其他样本出土的遗迹单位都属于齐家文化时期,二者年代相距较远,应该依据其年代分为两个组分别进行统计更为妥当。因此将同时期样本进行单倍型类群分布频率计算,结果如下:属于齐家文化时期的10个家养普通牛中共发现4个单倍型可以归属于2个不同的单倍型类群T3和T4,以T3为主占80.0%,T4仅发现2个个体(BOC31和BOC34)占20.0%,未见其他单倍型类群;年代为汉代的样本仅1例(BOC203)属于单倍型类群T2。

三、讨论

古DNA研究的可行性主要依赖于考古遗址出土样本DNA的保存状况。青海地处高海拔地区,气候相对低温干燥,利于古DNA的保存,是本文实验中DNA提取成功率达到100%的主要环境因素。

作为“六畜”之一,黄牛的饲养在我国有着悠久的历史。牛(Bovine)为牛亚科下的一个族,属牛族,包括牛属(*Bos*)、水牛属(*Bubalus*)等,又分为多个种,既有野生种也有驯化种。在中国通常所说的黄牛^⑧,主要包括普通牛(*Bos taurus*)和瘤牛(*Bos indicus*)两个种,都属于驯化种。虽然学术界对家养黄牛在中国最早出现的时间这个问题并未达成一致,但是一般认为家养普通牛大约是在公元前3600—前2000年左右从西亚地区传入中国^⑨。关于瘤牛在中国最早出现的时间,并不能确定,因为目前还没有发现明确属于瘤牛的骨骼遗存材料。

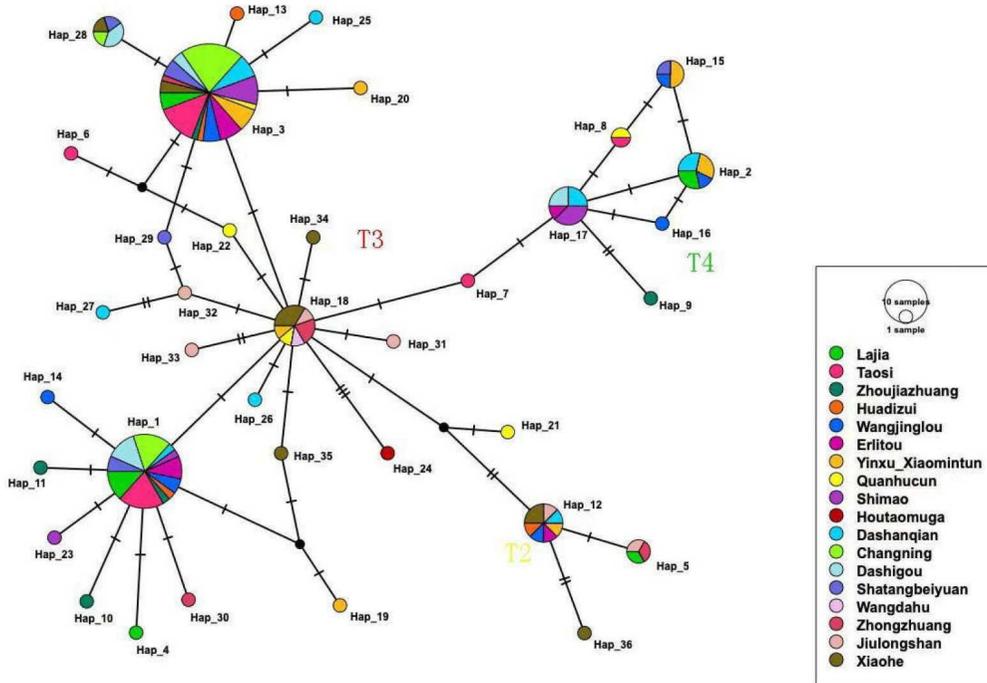
本文采集的喇家遗址出土黄牛样本全部属于家养普通牛(表二、图二)。依据考古发掘背景信息可知,属于齐家文化时期的有10例,其中3例可归属到齐家文化早期(BOC30、BOC34和BOC39),6例可归属到齐家文化晚期(BOC31、BOC32、BOC33、BOC35、BOC36和BOC37),BOC38属于齐家文化时期但不能确定是早期亦或晚期,BOC203属于汉代。属于齐家文化时期的10例家养普通牛中共发现4个单倍型,归属于2个不同的单倍型类群T3和T4,以T3为主占80.0%,T4仅发现2个个体(BOC31和BOC34)占20.0%。以齐家文化早期和晚期分别统计可以看出,属于齐家文化早期的3例家养普通牛中共发现3个不同的单倍型,归属于2个不同的单倍型类群T3和T4,以T3为主占66.7%,T4发现1个个体占33.3%;属于齐家文化晚期的6例家养普通牛中共发现4个单倍型,同样可以归属于2个不同的单倍型类群T3和T4,以T3为主占83.3%,T4发现1个个体占16.7%。从所发现的单倍型(即共享序列)来看,齐家文化早期的3个样本在齐家文化晚期

的家养普通牛中都找到了共享有相同序列的样本。因此,可以认为齐家文化早期与晚期家养普通牛的母系遗传结构相似、并且具有非常近的母系亲缘连续性。由于喇家遗址齐家文化早期与晚期家养普通牛的遗传结构相似,因此下文中将喇家遗址齐家文化家养普通牛作为一个群体进行统计分析。目前来看喇家遗址在齐家文化时期没有发现属于单倍型类群T2的样本,属于单倍型类群T2的样本在该遗址出现的年代较晚在汉代、且仅有1例样本(BOC203),下文在进行统计分析时将不再包括这1例汉代黄牛样本。

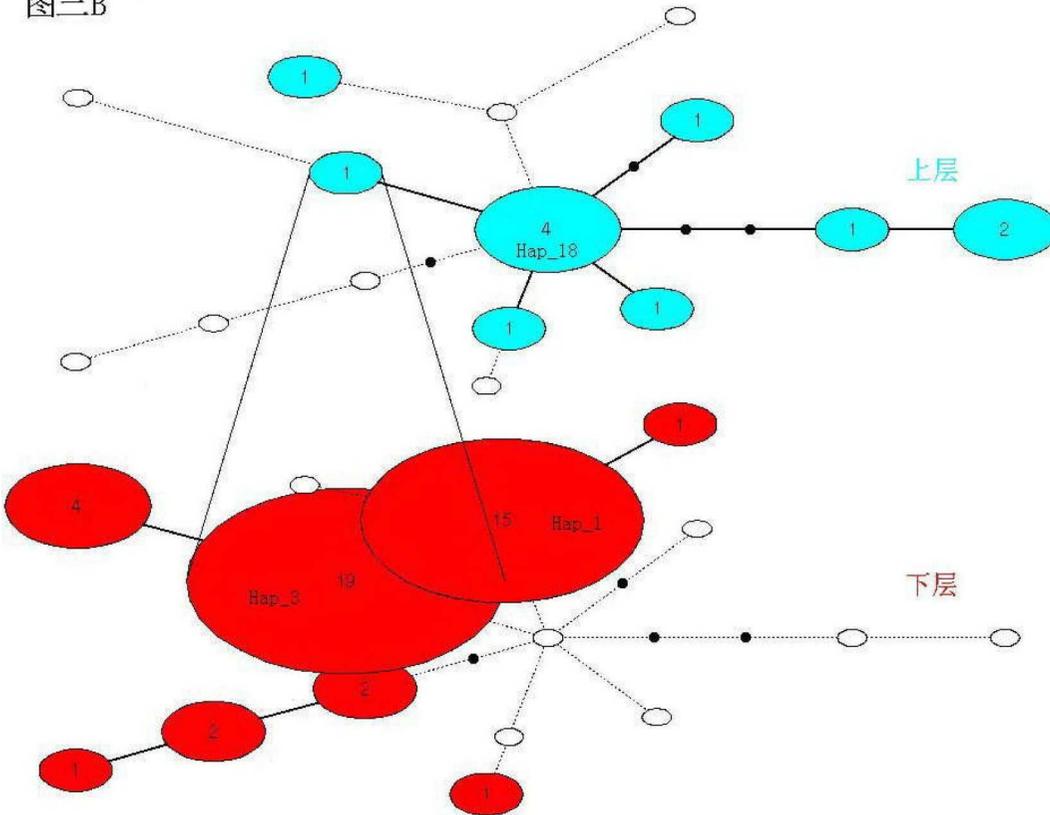
从图三A中可以看出,在喇家遗址发现的5个单倍型(Hap_1~Hap_5)中,有4个单倍型(Hap_1~Hap_3,Hap_5)在中国其他古代家养普通牛中都有发现。如前文所述Hap_4(本文实验编号BOC36)虽然在其他中国古代家养黄牛中未找到共享序列,但是与Hap_1这一单倍型仅有一个位点的差异(16068T→C),表现出比较近的母系亲缘关系。Hap_5(本文实验编号BOC203)属于汉代,将在下文中单独讨论。在其他的3个单倍型(Hap_1~Hap_3)中,Hap_1和Hap_3属于家养普通牛T3中最常见也是所占比例非常高的单倍型,在中国多个考古遗址的家养普通牛中都有发现,特别是在新石器时代晚期至青铜时代早期甘青地区的几个遗址中都有发现。Hap_2属于家养普通牛T4,在大山前、望京楼和殷墟孝民屯三个遗址中有发现,但是在甘青地区其他遗址中未见。

将中国古代家养黄牛以遗址为单位进行单倍型类群统计(图三A、图四)发现,与喇家遗址齐家文化家养普通牛母系遗传结构特征相似(同时存在T3和T4,且以T3为主)的遗址主要包括山西陶寺(龙山时期)、山西周家庄(龙山时期)、陕西泉护村(青铜时代)、陕西石峁(龙山末期至二里头时期)、宁夏打石沟(新石器时代)和宁夏沙塘北塬(新石器时代晚期至青铜时代早期)。一方面,从年代来看,在这些遗址中,除陕西泉护村属于青铜时代外,其他几个遗址的年代都可以早到新石器时代晚期,说明在这一时期中国北方地区的古代家养黄牛的母系遗传结构比较简单、且各遗址比较相似。除上述遗址外年代可以早到新石器时代的遗址仅有吉林后套木嘎遗址,但是该遗址仅发现1例家养普通牛属于T3并不具备统计学意义。另一方面,从地域来看,位于甘青地区且年代可以早到新石器时代至青铜时代早期的遗址共有4个,为青海长宁、青海喇家、宁夏打石沟和宁夏沙塘北塬,除长宁遗址家养普通牛的遗传结构更为简单(仅存在T3)外,喇家、打石沟和沙塘北塬三个遗址出土的家养普通牛的母系遗传结构非常相似,并且在这四个遗址中都存在共享有相同单倍型的现

图三A



图三B

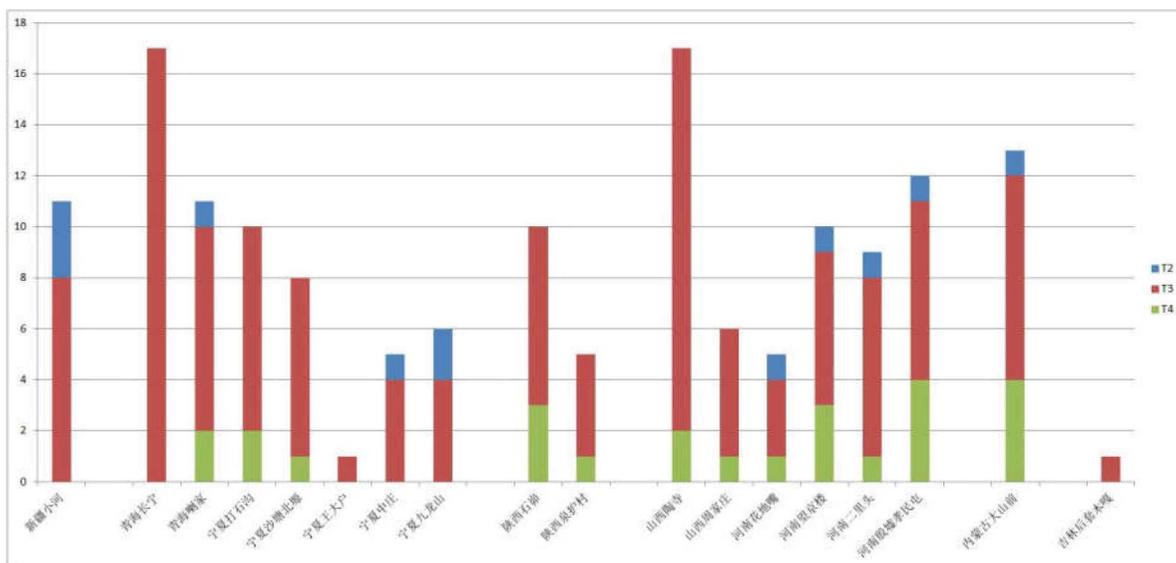


图三 中介网络图

注:每一个圆圈代表一个单倍型,圆圈的大小与共享这一单倍型的样本数量成正比。

图三 A:基于中国古代家养普通牛线粒体 DNA 控制区序列构建的中介网络图(不同颜色代表不同遗址)。

图三 B:基于中国甘青地区古代家养普通牛线粒体 DNA 控制区序列构建的分层网络图,按照遗址年代划分为两个层次:下层(红色)为新石器时代至青铜时代,上层(蓝色)为春秋战国时期。不同年代共享的单倍型由竖直的实线相连,圆圈中的数字表示共享这一单倍型的样本数量;Hap_1、Hap_3 和 Hap_18 分别对应图三 A 中的单倍型。



图四 中国考古遗址出土家养普通牛单倍型类群分布频率

象(Hap_1和Hap_3)。长宁遗址位于青海省西宁市大通县长宁乡长宁村西南约3千米处,湟水流域一处重要的以齐家文化(距今4200—3800年左右)为主的大型聚落遗址,处于新石器时代向青铜时代的过渡阶段^④。打石沟遗址位于宁夏彭阳县古城店洼村水库东50米的坡地上,发掘者研究认为该遗址的文化特征属于新石器时代晚期客省庄二期文化(距今4300—4000年左右)^⑤。沙塘北塬遗址所处地理位置与打石沟较近,最新研究认为应该属于常山下层文化向齐家文化的一个过渡类型(公元前2200—前1900年之间)^⑥。喇家遗址主体属于齐家文化,距离上述三个遗址位置不远,从考古学文化区系上讲都属于甘青地区,年代亦与上述三个遗址相近。虽然遗址所属考古学文化有异,但是新石器时代至青铜时代早期在甘青地区考古遗址出土的家养普通牛具有非常近的母亲亲缘关系,不排除有很近的母亲来源。

进入春秋战国时期以后,属于甘青地区的有宁夏王大户、中庄和九龙山共三个遗址黄牛DNA研究成果已经发表。它们仍然都是家养普通牛,但是与甘青地区早期家养黄牛相比,其母系遗传结构有比较明显的变化(图三A、图四)。从单倍型类群来看,除王大户遗址仅发现1例家养普通牛属于T3不具备统计学意义以外,中庄和九龙山都出现了新的单倍型类群T2,并且直到汉代依然存在(喇家);而原来一直存在的单倍型类群T4在春秋战国时期的考古遗址中并未发现。该单倍型类群分布频率仅与新疆小河遗址相似,与已发表的其他中国考古遗址都不同。

除了有单倍型类群分布频率的较大变化外,就单倍型类群T3内部而言,从新石器时代到春秋战国时期也有较大改变(图三A、图三B)。在新石器时代至青铜时代早期最主要的单倍型是Hap_1和Hap_3,分别占到甘青地区这一时期全部黄牛的33.3%(15/45)

和42.2%(19/45),分别占到单倍型类群T3的37.5%(15/40)和47.5%(19/40)。到了春秋战国时期后,未发现单倍型Hap_1,属于单倍型Hap_3的也只有1个个体(中庄遗址),在甘青地区单倍型Hap_3是唯一一个新石器时代至青铜时代早期和春秋战国时期同时存在的单倍型;而新石器时代至青铜时代早期并未发现的单倍型Hap_18在王大户、中庄和九龙山这三个遗址中都有发现,占到甘青地区春秋战国时期全部黄牛的33.3%(4/12),占到T3的44.4%(4/9)。由此可见进入青铜时代以后,特别是到了春秋战国时期以后,甘青地区家养黄牛的母系遗传结构发生了比较大的改变(图三B),这种改变已经超过了中国其他地区的考古遗址。在其他地区考古遗址出土家养普通牛中,单倍型Hap_1和Hap_3比较常见,特别是在中原地区,从新石器时代到青铜时代都占有较高的比例;并且随着时间的发展,进入青铜时代以后,多数遗址发现了新的单倍型类群T2,但是单倍型类群T4也依然存在。由此推测不同的地区对于家养黄牛饲养品种具有不同的选择性。进入青铜时代以后甘青地区家养黄牛多样性的变化,不排除是从西亚、中亚等地区不断地引进新品种的结果。

属于单倍型类群T2的样本(BOC203)在喇家遗址出现的年代较晚在汉代,且仅有1例,不具备统计学分析的意义。但是从图三A中可以看出,与其共享有相同单倍型(Hap_5)的样本还有2例,分别发现于中庄和九龙山,都为甘青地区春秋战国时期的考古遗址。或许可以说从春秋战国时期到汉代甘青地区古代黄牛的母系遗传具有一定的连续性。

目前为止还没有证据能够证明龙山时代晚期是家养黄牛在中国出现的最早时期,但是动物考古学与古DNA研究都可以证明在龙山时代晚期已经饲养黄牛,并且这一时期中国北方考古遗址出土的家

养黄牛遗传结构相对简单。同时有的遗址中又伴出有野生原始牛和圣水牛^②,推测当时黄牛的饲养数量和饲养能力相对较低,可能处于黄牛饲养的早期阶段^③。但是到了公元前 2000 年前后单倍型类群 T2、T3 和 T4 在中国已全部存在^④,并且这种遗传模式在中原地区延续下来。

综合已发表的古 DNA 研究成果认为,中国北方地区青铜时代黄牛均为普通牛,未见瘤牛;中国古代家养黄牛对现代东亚家养普通牛具有重要的遗传贡献。中国家养黄牛最早由近东地区引入中国,近东起源的普通牛可能经过两条路线进入中国。经由河西走廊、最终到达中原地区的“西线”,以及经欧亚草原通道到达中国北方的东部地区的“北线”^⑤都有可能是黄牛在中国扩散的主要路线,并且暗示着这两条路线的扩散活动可能是同时进行的^⑥。本文关于喇家遗址古代黄牛的 DNA 研究结果,为家养普通牛通过“西线”传播进入中国又提供了新的证据。与“西线”相比,目前来看“北线”及相关区域的材料太少,这将会是今后工作的重点。

中国甘青地区处于北方农牧交错带及河西走廊沿线,考古学研究表明,自古以来就是东西文化交流的要冲和活跃地带,是重要的生业技术传播的交通要道。依据各类家养动物在甘青地区出现的时间、顺序和特征,可以看出来新石器时代的甘青地区是一个接纳来自不同方向的多种家养动物的区域^⑦。本课题组在对喇家遗址出土汉代家马的线粒体 DNA 遗传研究中推测,作为丝绸之路的一部分,喇家所在的甘青地区在沟通中原地区和新疆地区中处于独特的地理位置,是家马从新疆传入中原的必经之路。结合本文研究结果可知,对于探索早期家养动物的起源与驯化,揭示从新石器时代向青铜时代过渡时期黄河上游地区不同考古学文化对这些家养动物的饲养与使用策略的多样化,甘青地区具有至关重要的作用。

本文从线粒体 DNA 母系遗传的角度着手对喇家遗址出土黄牛进行古 DNA 研究,成功率达到了 100%,显示出这批材料保存状况良好,喇家遗址的埋藏环境适于古代动物遗存及其 DNA 的保存。下一步我们将对这批材料开展以下一代测序技术为核心的基因组学研究,获取古代黄牛基因组数据,并抓出其中有用的遗传信息,运用基因组学大数据为解决考古学问题提供更多的线索,以弥补单一从母系遗传角度进行分析而有可能忽略父系方面遗传信息的问题。

四、结论

考古学家研究认为被誉为东方的庞贝古城的喇家遗址处于半农半牧的经济形态^⑧,该遗址大量动物

遗存的发现,为研究甘青地区早期家养动物的饲养与传播提供重要的动物考古学信息。本文对喇家遗址出土黄牛的 DNA 研究,虽样本量不大,且主要是通过线粒体 DNA 母系遗传结构进行分析,但仍得出以下认识:

(1) 喇家遗址出土黄牛样本全部属于家养普通牛。属于齐家文化时期的家养普通牛可以归属于线粒体 DNA 单倍型类群 T3 和 T4,以 T3 为主,T4 次之;齐家文化早期与晚期家养普通牛的母系遗传结构相似,并且具有非常近的母系亲缘连续性。另有 1 例样本年代为汉代,属于单倍型类群 T2。

(2) 新石器时代至青铜时代早期甘青地区考古遗址出土的家养普通牛具有非常近的母系亲缘关系,不排除有很近的母亲来源。但是春秋战国时期该地区几个考古遗址出土家养普通牛的母系遗传结构有了比较明显的变化。不排除青铜时代以后甘青地区家养普通牛的多样性变化,是从西亚、中亚等地区不断地引进新品种的结果。

致谢:感谢中国社会科学院考古研究所、青海省文物考古研究所、四川大学考古系、喇家遗址博物馆等为本研究提供了宝贵的样本;感谢编辑部老师提出的宝贵意见。

注释:

① a. Lü H, Yang X, Ye M, et al. Culinary archaeology: Millet noodles in Late Neolithic China. *Nature*, 2005, 437: 967-968; b. 吕厚远、李玉梅、张健平等:《青海喇家遗址出土 4000 年前面条的成分分析与复制》,《科学通报》2015 年第 60 卷第 8 期,第 744~756 页。

② a. 中国社会科学院考古研究所甘青工作队、青海省文物考古研究所:《青海民和县喇家遗址 2000 年发掘简报》,《考古》2002 年第 12 期,第 12~25 页; b. 中国社会科学院考古研究所、青海省文物考古研究所:《青海民和喇家史前遗址的发掘》,《考古》2002 年第 7 期,第 3~5 页。

③ a. 王明辉:《青海民和喇家遗址人骨及相关问题》,《考古》2002 年第 12 期,第 26~28 页; b. 赵春燕、王明辉、叶茂林:《青海喇家遗址人类遗骸的锶同位素比值分析》,《人类学学报》2016 年第 35 卷第 2 期,第 212~222 页; c. Gao S, Yang Y, Xu Y, et al. Tracing the genetic history of the Chinese people: mitochondrial DNA analysis of a Neolithic population from the Lajia Site. *American Journal of Physical Anthropology*, 2007, 133: 1128-1136; d. 张雪莲、叶茂林:《喇家遗址先民食物的初步探讨——喇家遗址灾难现场出土人骨的碳氮稳定同位素分析》,《南方文物》2016 年第 4 期,第 197~202 页。

④ a. 叶茂林:《青海民和县喇家遗址出土齐家文化玉器》,《考古》2002 年第 12 期,第 89~90 页; b. 青海省文物考古研究所等:《青海民和喇家遗址 2015 年发掘收获》,见国家文物局主编:《2015 中国重要考古发现》,第 40~44 页,文物出版社,2016 年。

- ⑤夏正楷、杨晓燕、叶茂林：《青海喇家遗址史前灾难事件》，《科学通报》2003年第48卷第11期，第1200~1204页。
- ⑥张雪莲、叶茂林、仇士华等：《民和喇家遗址碳十四测年及初步分析》，《考古》2014年第11期，第91~104页。
- ⑦Yang D Y, Eng B, Wayne J S. Technical Note: Improved DNA extraction from ancient bones using silica-based spin columns. *American Journal of Physical Anthropology*, 1998, 105(4): 539-543.
- ⑧Rollo F, Ubaldi M, Ermini L, et al. Ötzi's last meals: DNA analysis of the intestinal content of the Neolithic glacier mummy from the Alps. *PNAS*, 2002, 99 (20): 12594-12599. doi/10.1073/pnas.192184599.
- ⑨Yang D, Liu L, Chen X, et al. Wild or domesticated: DNA analysis of ancient water buffalo remains from north China. *Journal of Archaeological Science*, 2008, 35 (10): 2778-2785. http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2008.05.010.
- ⑩Troy C S, MacHugh D E, Bailey J F, et al. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 2001, 410 (6832): 1088-1091. http://dx.doi.org/10.1038/35074088.
- ⑪Cai D, Sun Y, Tang Z, et al. The origins of Chinese domestic cattle as revealed by ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 2014, 41: 423-434. http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.09.003.
- ⑫赵欣、顾万发、吴倩等：《河南省郑州地区青铜时代遗址出土牛骨的DNA研究》，《南方文物》2018年第4期，第126~134+40页。
- ⑬a. 赵欣、顾万发、吴倩等：《河南省郑州地区青铜时代遗址出土牛骨的DNA研究》，《南方文物》2018年第4期，第126~134+40页；b. 赵欣、李志鹏、东晓玲等：《河南安阳殷墟孝民屯遗址出土家养黄牛的DNA研究》，《第四纪研究》2020年第40卷第2期，第321~330页；c. 赵欣、东晓玲、刘铭等：《宁夏隆德县沙塘北源遗址出土家养黄牛的DNA研究》，《南方文物》2021年第5期，第167~172页。
- ⑭Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, et al. Clustal W and clustal X version 2.0. *Bioinformatics*, 2007, 23: 2947-2948. http://dx.doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404.
- ⑮Simmons M P. Independence of alignment and tree search. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 31 (3): 874-879.
- ⑯Kumar S, Stecher G, Tamura K. MEGA 7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 2016, 33(7): 1870-1874.
- ⑰Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics*, 2009, 25: 1451-1452.
- ⑱Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10: 564-567.
- ⑲Bandelt H-J, Forster P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Molecular Biology and Evolution*, 1999, 16(1): 37-48.
- ⑳Prost S, Anderson C N. TempNet: a method to display statistical parsimony networks for heterochronous DNA sequence data. *Methods in Ecology and Evolution*, 2011, 2(6): 663-667.
- ㉑a. Brunson K, Zhao X, He N, et al. New insights into the origins of oracle bone divination: Ancient DNA from Late Neolithic Chinese bovines. *Journal of Archaeological Science*, 2016, 74: 35-44. http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2016.08.008; b. Cai D, Sun Y, Tang Z, et al. The origins of Chinese domestic cattle as revealed by ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 2014, 41: 423-434. http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.09.003; c. 赵欣、顾万发、吴倩等：《河南省郑州地区青铜时代遗址出土牛骨的DNA研究》，《南方文物》2018年第4期，第126~134+40页；d. 赵欣、李志鹏、东晓玲等：《河南安阳殷墟孝民屯遗址出土家养黄牛的DNA研究》，《第四纪研究》2020年第40卷第2期，第321~330页；e. 蔡大伟、胡松梅、孙洋等：《陕西泉护村古代黄牛的分子考古学研究》，《考古与文物》2014年第5期，第116~120页；f. 蔡大伟、胡松梅、孙玮璐等：《陕西石崩遗址后阳湾地点出土黄牛的古DNA分析》，《考古与文物》2016年第4期，第122~127页；g. Cai D, Zhang N, Zhu S, et al. Ancient DNA reveals evidence of abundant aurochs (*Bos primigenius*) in Neolithic Northeast China. *Journal of Archaeological Science*, 2018, 98: 72-80; h. Cai D, Luan Y, Gao Y, et al. Molecular archaeological research on ancient cattle from the early bronze age changning site, Qinghai Province. *Asian archaeology*, 2015, 3: 167-175; i. 蔡大伟、张乃凡、朱存世等：《宁夏新石器时代晚期至春秋战国时期黄牛的分子考古学研究》，《边疆考古研究》(第23辑)，第315~329页，科学出版社，2018年；j. 赵欣、东晓玲、刘铭等：《宁夏隆德县沙塘北源遗址出土家养黄牛的DNA研究》，《南方文物》2021年第5期，第167~172页。
- ㉒Anderson S, de Bruijn M H L, Coulson A R, et al. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology*, 1982, 156 (4): 683-717. http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836(82)90137-1.
- ㉓a. Anderson S, de Bruijn M H L, Coulson A R, et al. Complete sequence of bovine mitochondrial DNA conserved features of the mammalian mitochondrial genome. *Journal of Molecular Biology*, 1982, 156 (4): 683-717. http://dx.doi.org/10.1016/0022-2836(82)90137-1; b. Mannen H, Tsuji S, Loftus R T, et al. Mitochondrial DNA variation and evolution of Japanese black cattle (*Bos taurus*). *Genetics*, 1998, 150 (3): 1169-1175; c. Mannen H, Kohno M, Nagata Y, et al. Independent mitochondrial origin and historical genetic differentiation in north eastern Asian cattle. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 32 (2): 539-544. http://dx.doi.org/10.1016/j.ympev.2004.01.010; d. Troy C S, MacHugh D E, Bailey J F, et al. Genetic evidence for Near-Eastern origins of European cattle. *Nature*, 2001, 410(6832): 1088-1091. http://dx.doi.org/10.1038/35074088.
- ㉔a. 郭鄂、李约瑟、成庆泰：《中国古代动物学史》，科学出版社，1999年；b. 邱怀主编：《中国黄牛》，农业出版社，1992年。

⑳a. Flad R K, Yuan J, Li S. Zooarchaeological evidence for animal domestication in northwest China. In: Madsen D B, Chen F H, Gao X. (eds.) *Late Quaternary Climate Change and Human Adaptation in Arid China*. Amsterdam; London: Elsevier. 2007: pp. 167 -203. [https://doi.org/10.1016/S1571-0866\(07\)09012-4](https://doi.org/10.1016/S1571-0866(07)09012-4); b. 吕鹏:《论中国家养黄牛的起源》,《动物考古(第一辑)》,第152~176页,文物出版社,2010年; c. Lu P, Brunson K, Yuan J, et al. Zooarchaeological and genetic evidence for the origins of domestic cattle in ancient China. *Asian Perspectives*, 2017, 56(1): 92-120.

㉑任晓燕:《青海长宁遗址抢救性考古取得重要成果》,《中国文物报》2006年12月20日第2版。

㉒马强、郭家龙:《彭阳县打石沟新石器时代遗址》,见中国考古学会编:《中国考古学年鉴(2014)》,第464页,中国社会科学出版社,2015年。

㉓宁夏文物考古研究所:《宁夏隆德县沙塘北塬遗址2016年发掘简报》,《考古》2020年第4期,第3~21页。

㉔a. Brunson K, Zhao X, He N, et al. New insights into the origins of oracle bone divination: Ancient DNA from Late Neolithic Chinese bovines. *Journal of Archaeological Science*, 2016, 74: 35 -44. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2016.08.008>; b. Cai D, Zhang N, Zhu S, et al. Ancient DNA reveals evidence of abundant aurochs (*Bos primigenius*) in Ne-

olithic Northeast China. *Journal of Archaeological Science*, 2018, 98: 72-80.

㉕赵欣:《中国考古遗址出土黄牛骨骼的分子考古学研究初探》,《科技考古(第六辑)》,第138~151页,科学出版社,2021年。

㉖Cai D, Sun Y, Tang Z, et al. The origins of Chinese domestic cattle as revealed by ancient DNA analysis. *Journal of Archaeological Science*, 2014, 41: 423 -434. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jas.2013.09.003>.

㉗赵志军:《小麦东传与欧亚草原通道》,《三代考古(三)》,第456~459页,科学出版社,2009年。

㉘蔡大伟、张乃凡、朱存世等:《宁夏新石器时代晚期至春秋战国时期黄牛的分子考古学研究》,《边疆考古研究》(第23辑),第315~329页,科学出版社,2018年。

㉙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》,《考古》2009年第5期,第80~86+113页。

㉚叶茂林:《齐家文化农业发展的生态化适应:原始草作农业初探——以青海喇家遗址为例》,《农业考古》2015年第6期,第19~26页。

(特约责编:李志鹏)

上接第213页

年; b. 袁靖:《中原地区的生业状况与中华文明早期发展的关系》,《西部考古(第11辑)》,第1~12页,科学出版社,2016年; c. 李中轩、吴国玺、孙艳丽等:《4.2—3.5 ka BP 嵩山南麓的史前社会对逆向环境的适应》,《山地学报》2018年第36卷第6期。

㉛a. 赵辉:《“古国时代”》,《华夏考古》2020年第6期; b. 张海:《中原核心区文明起源研究》,上海古籍出版社,2021年。

㉜陈相龙:《中原地区新石器时代生业经济的发展与社会变迁》,《南方文物》2021年第1期。

㉝徐良高:《中国三代时期的文化大传统与小传统》,《考古》2014年第4期。

㉞郭荣臻:《中原地区夏商时期农业结构的考古学观察》,《四川文物》2020年第5期。

㉟李新伟:《岱宗夫如何?——在广阔背景下理解中华文明的特质》,《人民日报》2018年7月11日。

㊱a. 刘莉、陈星灿:《中国早期国家的形成:从二里头和二里岗时期的中心和边缘之间的关系谈起》,《古代文明(第1卷)》,第71~134页,文物出版社,2002年; b. 陈相龙、李志鹏、赵海涛:《河南偃师二里头遗址1号巨型坑祭祀遗迹出土动物的饲养方式》,《第四纪研究》2020年第40卷第2期。

㊲张光直:《中国青铜时代》,张光直编:《中国青铜时代》,第1~26页,生活·读书·新知三联书店,1983年。

㊳袁靖:《中国古代家马的研究》,陕西省文物局、陕西

省考古研究所、西安半坡博物馆编:《中国史前考古学研究》,第436~443页,三秦出版社,2003年。

㊴刘一曼:《殷墟车子遗迹及甲骨文中的车字》,《中原文物》2000年第2期。

㊵杨宝成:《商代马车及其相关问题研究》,《考古学研究(五)》,第330~345页,科学出版社,2003年。

㊶吕鹏:《商人利用黄牛资源的动物考古学观察》,《考古》2015年第11期。

㊷⑥⑥Lin M, Luan F, Fang H, et al. Pathological evidence reveals cattle traction in North China by the early second millennium BC. *The Holocene*. 2018,28(8): 1205-1215.

㊸Sherratt A. The Secondary Exploitation of Animals in the Old World. *World Archaeology*. 1983,15(1): 90-104.

㊹方燕明:《2019年度河南省五大考古新发现》,《华夏考古》2020年第3期。

㊺岳洪彬、岳占伟:《关于商周马车轨距的思考》,《三代考古(四)》,第511~516页,科学出版社,2011年。

㊻Brunson K, He N, Dai X. Sheep, Cattle, and Specialization: New Zooarchaeological Perspectives on the Taosi Longshan. *International Journal of Osteoarchaeology*. 2016,26(3): 460-475.

㊼张弛:《龙山—二里头:中国史前文化格局的改变与青铜时代全球化的形成》,《文物》2017年第6期。

(特约责编:李志鹏)