

牦牛线粒体基因组研究进展

马志杰

(青海大学 畜牧兽医科学院/青海高原牦牛研究中心, 西宁 810016)

摘要 系统了解牦牛线粒体基因组(mtDNA)的研究现状,探究其存在的缺陷与不足,为今后更好地开展牦牛基因组学研究提供依据和基础材料。笔者通过查阅近20年有关牦牛mtDNA研究的文献资料,对牦牛mtDNA全序列和部分序列的研究进展进行综述。自20世纪80年代末以来,mtDNA作为一种很好的分子标记已被研究者用于探究牦牛的起源驯化、遗传多样性、迁徙模式、历史发展动态、分类学地位、适应性机理及系统发育关系等问题,并取得了具有结论性的诸多成果。然而,有关牦牛mtDNA全序列基础上的群体基因组学研究、线粒体转录组和蛋白质组学研究、核基因组与线粒体基因组间的互作和调控研究、线粒体基因组与部分性状间的关联分析等内容,还有待继续深入研究。

关键词 牦牛;线粒体基因组;遗传多样性;起源;系统发育

中图分类号 S 823.8⁺5; Q 78

文章编号 1007-4333(2014)03-0154-08

文献标志码 A

Research progress of the yak (*Bos grunniens*) mitochondrial genome

MA Zhi-jie

(Academy of Animal Science and Veterinary Medicine/Qinghai Plateau Yak Research Center, Qinghai University, Xining 810016, China)

Abstract In order to systematically understand the research situation of yak mitochondrial genome (mtDNA), explore the limitations of previous studies and to provide perspectives for the future development of yak genome research, the author summarised the yak mtDNA research progress during the last 20 years. Since the late 1980 s, mtDNA, as a powerful molecular marker, has been used to explore the origin and domestication, genetic diversity, migration, demographic history, taxonomic status, adaptation mechanisms and phylogeny of the yak. While some important progress has been made, population genomics using whole mtDNA sequences, mitochondrial transcriptomics and proteomics, understanding the interaction and regulation between the nuclear and mitochondrial genomes, and the relationship between mitochondrial genome sequences and quantitative traits, are areas that need more focus in this regionally important domestic species.

Key words yak; mitochondrial genome; genetic diversity; origin; phylogeny

牦牛(*Bos grunniens*)生活在青藏高原及其毗邻的高山、亚高山地区,全世界约有1 400多万头,其中我国是世界上拥有牦牛数量和品种(群体)最多的国家,占牦牛总数的95%以上^[1]。牦牛拥有宝贵的遗传基因库,具有适应性强、耐粗饲,对高寒草地利用率高等特点,可供当地牧民奶、肉、毛等畜产品以及运输、燃料和役力,是高寒草地畜牧业生态系统中不可缺少的重要畜种。动物线粒体基因组

(Mitochondrial genome, mtDNA)是核外遗传物质,与核基因组相比具有分子量小、结构简单、进化速率快、多态性丰富、无重组和遵循母系遗传等特点,被认为是开展动物群体遗传学、分子生态学、生物地理学、系统发育学、分类学以及进化学等研究的一种很好的分子标记^[2]。自20世纪80年代末以来,人们已陆续采用分子标记和测序技术对牦牛mtDNA部分序列及全序列进行综合分析,深入探

收稿日期:2013-09-26

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31360267);青海大学中青年科研基金项目(2012-QNT-3);青海省人事厅留学人员科技活动项目;青海省牛(奶、肉、绒)产业科技创新平台项目

作者简介:马志杰,副研究员,主要从事高原动物遗传育种与繁殖研究,E-mail:zhijiema@126.com

究了牦牛的起源驯化、遗传多样性、历史发展动态、分类学地位、系统发育关系和适应性机理等问题^[3-49]。然而,迄今为至,尚无有关牦牛 mtDNA 研究概况的综述报道。鉴于此,笔者对近年来牦牛 mtDNA 研究的最新进展进行综述,探讨研究中存在的缺陷与不足,并对其前景进行展望,旨在为今后继续开展牦牛基因组学等研究提供基础资料。

1 牦牛线粒体基因组研究进展

1.1 牦牛 mtDNA 序列片段的研究

1.1.1 D-loop 区

在牦牛线粒体基因组研究中,D-loop 区是近年来运用最为广泛的序列片段之一。Miyamoto 等^[3]和 Kraus 等^[4]通过测定 mtDNA 247 bp 的 D-loop 区序列和 2 726 bp 的保守区域(包括 2 个 rRNA 基因和 3 个毗邻的 tRNA 基因序列),分析了野牛属、牛属和水牛属物种间的系统发育关系,结果依据 2 套数据构建的最大简约树均提示野牛属与牛属间相对于各自与水牛属间的亲缘关系较近;牦牛与美洲野牛先聚,后与普通牛聚类;结合繁殖学和其他分子数据,建议将野牛属物种归于牛属中。Ward 等^[5]依据 mtDNA 标记发展了快速检测牦牛、欧洲野牛和美洲野牛群体中普通牛 mtDNA 单倍型的 PCR 技术。Han 等^[6]基于多重 PCR 技术以一对普通牛的 mtDNA D-loop 区特异引物和一对普通牛、牦牛 16S rRNA 通用引物检测了 4 个中国牦牛群体(包括甘南、大通、天祝黑牦牛和天祝白牦牛)和 1 个不丹牦牛群体中普通牛的渐渗水平,发现 239 头牦牛中只有 3 头母牦牛个体携带普通牛 mtDNA,表明这 5 个牦牛群体中普通牛的渐渗水平较低。Bailey 等^[7]对中国、不丹、尼泊尔和蒙古的部分牦牛群体 mtDNA D-loop 区进行测定分析,结果表明以上牦牛群体有 2 个分歧较大的单倍型组,具有与欧洲普通牛相似的遗传多样性水平,但缺乏明显的系统地理分布特征,可能存在双驯化模式。郭松长等^[8-10]对中国 10 个家牦牛品种和 1 个野牦牛群体的 mtDNA D-loop 区部分序列进行测定,分析了牦牛的起源驯化,遗传多样性,分化、分类学地位和类型划分,表明家、野牦牛均表现出较高的遗传多样性,但野牦牛多样性水平高于家牦牛;家牦牛遗传多样性存在地域差异,以青海牦牛遗传多样性最高,而新疆巴州牦牛为最低;家牦牛起源于 2 个高度分歧的母

系,这 2 个母系来自同一个大的基因库,而不是遗传上的不连续群体;家牦牛的起源地为青海省,而不是西藏,大致的驯化时间为距今 8 000~12 000 年;研究不支持将牦牛作为一独立属,建议将野牛属、牛属这 2 个属合并为 1 个属,并将牦牛纳入该属;家牦牛品种(类群)间遗传距离与地理分布无明显相关;总体上家牦牛品种(类群)间存在显著的遗传分化,但这种遗传分化仅存在于斯布牦牛与天祝白牦牛、大通牦牛、环湖牦牛、青海高原牦牛、帕里牦牛、巴州牦牛以及麦洼牦牛与环湖牦牛、青海高原牦牛之间,而其他品种(类群)间遗传分化不显著,各品种(类群)缺乏独特的遗传基础;支持依据遗传分化程度将我国家牦牛划分为两大类型即横断高山型和青藏高原型的观点。宋大伟^[11]基于牦牛 mtDNA D-loop 全序列、Y 染色体 TSPY 和 DBY 基因部分序列以及核基因 BoLA-DRB 基因部分序列探究了牦牛与牛亚科其他物种间的系统发育关系,系统聚类结果表明家、野牦牛首先聚为一起,后与美洲野牛聚类,再与普通牛/瘤牛组成的分支相聚类,说明牦牛与美洲野牛的亲缘关系较近,而与牛属物种的亲缘关系较远。马志杰等^[12-13]基于 mtDNA D-loop 区对野牦牛群体进行分析,结果表明野牦牛具有丰富的遗传多样性,有 2 个高度分化的遗传分支。马云等^[14]对青海高原牦牛、环湖牦牛 2 个品种的 mtDNA D-loop 区全序列进行分析,结果提示青海高原牦牛与野牦牛的亲缘关系较近,而环湖牦牛与家牦牛的亲缘关系较近。Liu 等^[15]利用 mtDNA D-loop 区和 β -乳球蛋白多态性检测了 43 头藏黄牛中牦牛的基因渗入状况,结果表明有 3 头藏黄牛显示出牦牛特异的 β -Lg E 变异体,与此同时,在 D-loop 区聚类分析中该 3 头藏黄牛与牦牛聚在了一起,而其他藏黄牛与普通牛聚在一起,显示在青藏高原藏黄牛自然育种与进化过程中有牦牛的基因渗入情况发生。

1.1.2 *Cyt b* 基因

除 D-loop 区外,*Cyt b* 基因也是牦牛 mtDNA 中运用较广泛的标记基因之一。Hassanin 等^[16]为探究越南武广牛的分类学地位及与牛科中其他物种间的系统发育关系,对其 mtDNA *Cyt b*(1 143 bp)、12S rRNA(956 bp)以及核基因细胞色素 P-450(Aromatase cytochrome P-45)(199 bp)和乳转铁蛋白基因的非编码区序列进行测定分析,结果表明牛科包括牛亚科和羊亚科 2 个主要支系;牛亚科中牛

族包括水牛支系(即亚洲水牛和非洲水牛)和普通牛支系(即野牛属和牛属),其中牦牛与美洲野牛先聚为一类,再与普通牛聚在一起,其研究结果与 Miyamoto 等^[3]和 Kraus 等^[4]的一致;武广牛聚于牛亚科中,与普通牛支系形成一个姐妹群关系。蔡欣等^[17]对包括 3 头牦牛在内的共 18 头中国黄牛、牦牛和水牛 mtDNA *Cyt b* 基因全序列进行测定,探究各牛种的遗传多样性和系统发育关系,结果表明中国黄牛具有较丰富的核苷酸多样性,牦牛次之,水牛最低;黄牛、牦牛和欧洲野牛之间的亲缘关系相对较近,而与水牛间的亲缘关系则相对较远。Li 等^[18]对 27 条牦牛 mtDNA *Cyt b* 基因部分序列分析表明,牦牛 *Cyt b* 基因序列变异较小,多样性贫乏;牦牛与美洲野牛首先聚在一起,后与普通牛/瘤牛聚类;认为家牦牛是由不同于当前野牦牛的“原始牦牛”驯化而来,应该将其看作一个独立属。杨万远等^[19]测定了野牦牛 *Cyt b* 基因全序列,构建了野牦牛等牛亚科种间系统进化树,结果表明野牦牛 *Cyt b* 基因序列间共有 13 个 SNP 多态位点,支持将牦牛划分为牛亚科中一个独立属的观点。而常国斌等^[20]对巴州牦牛 *Cyt b* 基因部分序列进行分析,共发现 7 个变异位点,定义了 4 种单倍型;认为将牦牛归属为牛属中的一个亚属更为合理,巴州牦牛可能具有 2 种母系起源。耿荣庆等^[21]利用 mtDNA *Cyt b* 基因全序列分析了 6 个牛亚科物种间系统发育关系,结果表明普通牛与瘤牛的亲缘关系最近,而它们与大额牛、牦牛和亚洲水牛的亲缘关系依次逐渐疏远;6 个物种分布于 4 个主要的单系群分支,可划归为家牛属、牦牛属、准野牛属和水牛属;牛种间的分歧时间在 77.5~643.0 万年前。

1.1.3 D-loop 区和 *Cyt b* 基因的结合分析

部分研究者将牦牛 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 基因序列相结合,进而综合探究了牦牛群体遗传学研究中的诸多问题。如黄秉周等^[22-23]对 18 头黄牛和 2 头天祝白牦牛 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 基因序列进行测定分析,结果提示牦牛与黄牛具有不同的母系起源。刘强^[24]利用 D-loop 区和 *Cyt b* 基因序列差异探究了野、家牦牛的系统进化关系,结果表明野、家牦牛有着较瘤牛、普通牛和野牛更近的亲缘关系,两者都归于牛属,认为它们是同一种的不同亚种,野牦牛是家牦牛的近祖,其分歧时间大约在 42~44 万年前。王玲^[25]和赖松家等^[26-27]先后测定

了中国 4 个牦牛品种(包括九龙、麦洼、天祝和西藏高山)和少量犏牛个体的 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 基因部分序列,对其遗传多样性和起源驯化进行分析,结果表明各牦牛群体具有丰富的遗传多样性;推测中国牦牛起源于同一祖先,可能有 2 个主要的驯化点或来自具有 2 个分化支系的杂合基因库;同时受黄牛一定的基因渐渗影响。李齐发等^[28-29]先后基于 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 基因对牦牛的分类学地位进行探究,结果表明家、野牦牛首先与美洲野牛聚为一类,牦牛与野牛属间的关系较之牛属其他物种更近;结合古生物学、形态学和分子生物学的证据,支持将家、野牦牛划分为牛亚科中一个独立属的观点。Qi 等^[30-31]使用 SSR 标记结合 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 基因全序列对分布于中国、不丹、尼泊尔、印度、巴基斯坦、哈萨克斯坦、蒙古和俄罗斯的 29 个牦牛群体进行综合分析,系统聚类显示有 3 个大的牦牛支系,推测各支系间分化时间在距今 63 000~136 100 年之间;检测到 3 个支系中有 1 个支系发生群体扩张事件,大约发生在 5 000 年前;在 4 个组群中,青藏高原产区的牦牛群具有最高的单倍型多样性,蒙古和俄罗斯产区以及喜马拉雅山东部的牦牛群次之,而喜马拉雅山西部牦牛群最低;青藏高原、蒙古和俄罗斯牦牛产区中普通牛基因渐渗水平较高,而在喜马拉雅和帕米尔地区渐渗水平较低,但渐渗水平高低与海拔高度无显著相关;支持当前的牦牛群约在距今 5 000 年前经历了一个单独的驯化事件,驯化前至少有 3 个支系的野牦牛群生活在不同的避难所,推测青藏高原东部可能是牦牛的驯化点;同时,提示牦牛的迁徙路线有 2 种可能:一是自青藏高原东部西经喜马拉雅和昆仑山到“帕米尔结”,二是自青藏高原东部直接经蒙古的南戈壁和戈壁阿尔泰山到蒙古和俄罗斯。此外,钟金城等^[32]、赵上娟等^[33]、张成福等^[34]和姬秋梅等^[35]通过 RAPD 标记以及 mtDNA D-loop 区、COIII 和 *Cyt b* 基因序列,分别研究了西藏 11 个牦牛群体的遗传多样性、群体间系统进化关系等,结果表明:1) 西藏牦牛具有丰富的遗传多样性,且西藏东部相对于西部地区的牦牛类群遗传多样性水平较高,推测西藏东部地区可能是家牦牛的起源地之一;2) 西藏牦牛可分为两大类、5 大系(即帕里牦牛系、江达牦牛系、巴青牦牛系、桑日牦牛系、类乌齐牦牛系),有 2 个母系起源;3) 牦牛与美洲野牛的亲缘关系最近,认为将牦

牛划分为牛亚科中一个独立属——牦牛属更合适。

1.1.4 其他基因序列

除 D-loop 区和 *Cyt b* 基因外,其他 mtDNA 基因也被用于牛亚科内不同属(族)间的亲缘关系探究,以及牦牛、普通牛和水牛种间畜产品(如肉及制品)分离鉴别的分子标记技术发展。如 Jancek 等^[36]以山羊为外群,通过测定牛亚科中牛族、蓝牛羚族和薹羚族代表性物种的 mtDNA 细胞色素 c 氧化酶亚基 II (Cytochrome oxidase subunit II, CO II) 基因进而探究各物种间系统发育关系,结果表明野牛属作为姐妹支与牛属(牦牛包括在内)聚类;相比欧洲野牛,美洲野牛与牛属物种间亲缘关系更近,同时支持牛族作为一个单系支与蓝牛羚族成姐妹群关系的结论。陈冬等^[37]、王兰萍等^[38]以牦牛、普通牛和水牛肉为研究材料,利用限制性酶切方法和直接测序技术,基于 mtDNA 12S rRNA 基因发展了可用于鉴别混合鲜牛肉及其制品牛种来源的分子技术。

可以看出,上述研究中人们测定和确定了牦牛 mtDNA D-loop 区和 *Cyt b* 等基因的分子结构特征,开展了与普通牛、瘤牛和水牛等近缘种间相应序列的特征比较分析。在此基础上,对牦牛的起源驯化、遗传多样性、类型划分、分化状况、迁徙模式、分类学地位、系统发育关系、群体历史发展动态和谱系地理结构等问题进行了探究。同时,发展了快速检测同一牛种群体中其他牛种 mtDNA 单倍型的 PCR 技术。结合核基因组分子标记,较为系统地分析了牦牛品种(群体)内普通牛的基因渐渗状况。

1.2 牦牛 mtDNA 全序列的研究

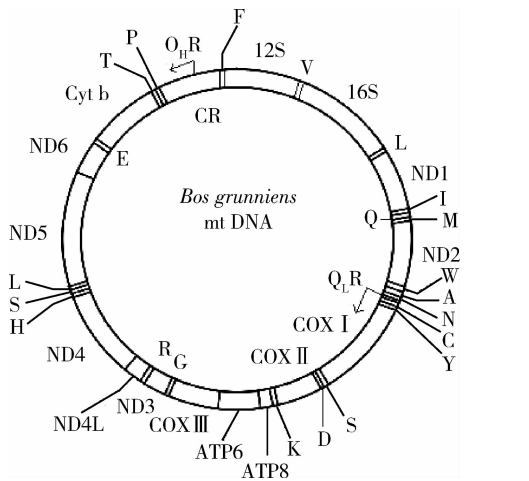
1.2.1 mtDNA 全序列

自 Zhao 等^[39-40]、涂正超等^[41]最早利用 PCR-RFLP 标记技术对中国的部分牦牛群体以及犏牛、普通牛 mtDNA 分析后,随着测序技术的迅猛发展,家、野牦牛 mtDNA 全序列被相继测定。Gu 等^[42]最早对家牦牛 mtDNA 全序列进行了测定,分析了反刍动物间的进化关系,结果表明家牦牛与普通牛 mtDNA 序列结构组成一致,由 22 个 tRNA 基因、2 个 rRNA 基因、13 个蛋白编码基因和 1 个 D-loop 区序列结构组成;基于 mtDNA 单个基因序列、多个毗连或不毗连的基因序列串分别构建的系统树均表明普通牛/瘤牛作为一个姐妹支先与牦牛聚类,后依次与水牛、绵羊/山羊、猪聚类;推测牦牛与普通牛/

瘤牛、水牛、绵羊/山羊的分化时间分别在距今 438~532, 1 054~1 385 和 1 314~2 799 万年前。钟金城等^[43]对野牦牛 mtDNA 全序列进行测定并进行了综合分析,表明获得的野牦牛 mtDNA 全序列长度为 16 322 bp,序列结构与普通牛、家牦牛完全一致,基因组中无间隔序列,基因间排列紧密,基因内无内含子;以线粒体全基因组序列、蛋白编码基因序列、rRNA 基因序列、tRNA 基因序列、D-loop 区为分子标准分别进行牛亚科物种聚类,均一致表明家牦牛与野牦牛首先聚为一类,接着与美洲野牛相聚,后与普通牛/瘤牛聚为一类,再与水牛聚为一大类,支持牦牛为牛亚科中一个独立属——牦牛属的观点。此外,徐利娟等^[44]对牦牛 mtDNA 蛋白编码基因序列进行了密码子使用模式和特性分析,并根据基因序列和密码子的偏好性对牦牛与其他物种间的系统发育关系进行聚类。结果表明牦牛 mtDNA 蛋白编码基因偏爱使用碱基 A 以及以 A 结尾的密码子, UUC、UAC、CAC 和 CAA 等 28 个密码子为其偏好性密码子;家、野牦牛亲缘关系最近,首先聚为一类,然后依次与其他牛、山羊、绵羊等物种相聚。可以看出,上述研究首次测定了家、野牦牛 mtDNA 全序列的分子结构特征(图 1),揭示了牦牛与部分近缘种间 mtDNA 全序列的结构差异、牦牛的分类学地位以及各物种间的分化状况和系统发育关系。同时,对牦牛 mtDNA 密码子使用模式进行了分析,从密码子的使用偏好性差异对牦牛与其他近缘种间的系统发育关系进行了探究。

1.2.2 mtDNA 全序列、D-loop 区、*Cyt b* 基因及其他基因的结合分析

部分研究者结合牦牛 mtDNA 全序列、D-loop 区、*Cyt b* 及其他基因序列的综合分析,探究了牦牛的遗传多样性、起源驯化、分化状况、系统发育关系、谱系地理结构、适应性机理等问题。如 Wang 等^[45-46]分析了中国 48 头家牦牛和 21 头野牦牛的 mtDNA 全序列、405 头家牦牛以及 47 头野牦牛的线粒体 D-loop 区以及 51 头家牦牛和 21 头野牦牛的 mtDNA 蛋白编码序列,结果表明野牦牛的单倍型多样性以及核苷酸多样性都高于家牦牛;共检测到 3 个高度分化的遗传分支,其中两大主要分支在家、野牦牛中都有分布,第 3 个分支包含的个体数较少,只分布在野牦牛居群之中;家牦牛中没有明显的谱系地理结构;牦牛种内 3 大分支的分化时间估计



22个tRNA基因以相应氨基酸的单个大写字母表示;ND1~6为NADH脱氢酶亚基1~6;COX I~Ⅲ为细胞色素氧化酶亚基I~Ⅲ;ATP6和ATP8为三磷酸腺苷酶亚基6和8;Cyt b为细胞色素b;CR为D-loop区;O_HR和O_LR分别代表H链和L链的复制起点;Q、A、N、C、Y、S、E、P 8个tRNA基因和ND6基因分布在L链上,其他基因和D-loop区分布在H链上。

22 tRNA genes are shown by capital from corresponding amino acids; NADH dehydrogenase subunit 1 to NADH dehydrogenase subunit 6 indicated with ND1 to ND6; Cytochrome oxidase subunit I to Cytochrome oxidase subunit III indicated with COX I to COX III; ATP 6, ATP 8, Cyt b and CR represent adenosine triphosphatase 6, adenosine triphosphatase 8, cytochrome b and D-loop region, respectively. O_HR and O_LR represent replication origins of H and L chains; ND6 gene and 8 tRNA genes including Q, A, N, C, Y, S, E and P genes exist in L chain, and other genes and D-loop region locate on H chain.

图1 牦牛线粒体基因组结构简图

Fig. 1 Brief structural map of the complete mitochondrial genome of yak (*Bos grunniens*)

在42~58万年之间,与青藏高原第四纪冰期事件发生的时间相吻合;线粒体蛋白编码序列分析发现家牦牛分支的非同义突变率显著地高于野牦牛分支,一定程度上提示驯化以及驯化过程中的瓶颈效应导致了家牦牛线粒体所受选择压力减小;同时,研究还对17头野牦牛和32头北美野牛的线粒体基因组蛋白编码序列进行了分析,发现在牦牛线粒体蛋白跨膜螺旋区域中存在苏氨酸残基的增加,推测该苏氨酸残基的增加可能与牦牛对高海拔环境的适应有关。Zeyland等^[47]利用mtDNA编码序列(除D-loop区)探究了牛族各牛种间的系统发育关系,结果表明牦牛与美洲野牛间的亲缘关系较欧洲野牛近,推测牦牛与欧洲野牛在160~200万年前分化和隔离,与考古学研究结果一致。Mipam等^[48]为探究金川牦牛(中国四川省的一个牦牛群体,其中部分

牦牛个体肋骨数为15对,比其他牦牛多1对)的母系起源信息,测定了3头该牦牛的mtDNA全序列和23头牦牛的D-loop区部分序列,结合已发表的74条家、野牦牛mtDNA全序列和453条家、野牦牛D-loop区序列,分析结果表明金川牦牛分布在2个大的母系分支中,暗示该群体与其他牦牛品种比较无显著不同的系统发育关系;帕丽、金川、九龙和麦洼牦牛各品种(群体)较高的单倍型多样性提示牦牛可能首次在喜马拉雅中部地区和横段山北部地区由野牦牛驯化而来。

2 结 语

2.1 牦牛线粒体基因组研究所获得的成果

综观牦牛线粒体基因组的研究概况,得出一些结论性的成果:

1)家、野牦牛与普通牛、猪等哺乳动物mtDNA全序列结构组成相似,长度约16.3 kb,由22个tRNA基因、2个rRNA基因、13个蛋白编码基因和1个D-loop区序列组成(图1);

2)家、野牦牛均具有丰富的遗传多样性,相比之下,野牦牛较家牦牛群体具有较高的遗传多样性水平;家牦牛多样性以青藏高原产区的群体水平最高,蒙古和俄罗斯产区及喜马拉雅山东部群体次之,喜马拉雅山西部群体最低;

3)支持青藏高原东部可能是牦牛驯化点的结论;推测牦牛经历了一个单个的驯化事件,驯化发生在约5000年前;

4)家、野牦牛均有2个或3个高度分化的遗传分支,且各分支分化时间发生在其驯化事件以前;

5)牛亚科中属间关系以及牦牛的分类学地位问题仍存在争议,但更多的支持将牛亚科中的野牛属和牛属合并为一个属(即将牦牛看作合并后的广义牛属内的一个种),或将牦牛当作牛亚科中一个独立属的观点;牦牛与野牛关系较之普通牛和瘤牛更近,且与美洲野牛较之欧洲野牛更近。

6)家牦牛品种(群体)间具有不同程度的遗传分化,但大多不够显著。更多的遗传变异存在于各牦牛品种(群体)内,品种(群体)间无明显的谱系地理结构,其遗传距离与地理分布无明显相关;

7)牦牛的迁徙路线有两种可能,一是自青藏高原东部西经喜马拉雅和昆仑山到“帕米尔结”进行扩散,二是自青藏高原东部直接经蒙古的南戈壁和戈

壁阿尔泰山到蒙古和俄罗斯等地;

8)家牦牛 mtDNA 非同义突变率显著地高于野牦牛,牦牛线粒体蛋白跨膜螺旋区域中存在苏氨酸残基的增加;

9)牦牛群体中普通牛的基因渐渗程度总体较低。以区域来看,青藏高原、蒙古和俄罗斯牦牛产区中普通牛基因渐渗水平较高,而在喜马拉雅和帕米尔地区渐渗水平较低,渐渗水平高低与海拔高度无显著相关;

10)支持依据遗传分化程度将中国国家牦牛划分为两大类型即横断高山型和青藏高原型的观点。

2.2 该领域的前景探析

整体来看,近年来人们对牦牛线粒体基因组已开展了大量的研究工作^[3-49],取得了具有结论性的诸多成果,这为整体了解牦牛的核外遗传物质即线粒体基因组分子结构以及摸清各牦牛品种(群体)的遗传资源状况等问题,进而合理地开展牦牛的保护和开发利用奠定了理论基础。然而,在综合分析牦牛 mtDNA 研究的基础资料上,结合笔者对该领域的研究与思考,认为今后仍有若干研究内容有待继续深入探究和推进:1)基于线粒体基因组全序列为基础的牦牛群体基因组学研究。尽管当前已有利用 mtDNA 全序列对牦牛群体基因组学的研究报道^[45-48],但整体研究还相对较少,缺乏系统性。随着新一代测序技术的发展和测序费用的降低,分析世界范围内 mtDNA 全序列信息基础上的牦牛群体基因组学将是母系遗传角度深入探究牦牛起源驯化、分类、分化状况等一系列问题的主要策略之一。2)牦牛线粒体转录组和蛋白质组学研究。当前,已有果蝇、按蚊、玻璃海鞘、猪等物种线粒体转录组学的研究报道,但有关牦牛线粒体 DNA 的转录组学研究尚未开展。线粒体蛋白质组学是系统性地研究线粒体在生理、病理过程中的功能变化以及研究疾病发生机制的重要策略,而牦牛该领域研究也尚属空白,有必要探究牦牛线粒体转录组和蛋白质组的研究方法、线粒体蛋白质组的性质及其在相关疾病研究中的作用,并对牦牛线粒体蛋白质组学在疾病发生机制和诊断治疗中的发展前景进行探索研究。3)牦牛核基因组与线粒体基因组之间的互作和调控研究。线粒体遗传系统的完整性对细胞能量的产生至关重要,同时线粒体在细胞分化或凋亡等过程中也扮演着重要的角色。研究核基因组与线粒体基因

组两基因组之间的调控机制,对于研究整个真核基因表达调控具有深远意义。然而,当前对牦牛两基因组之间的互作、调控研究尚未开展,需要加大该研究领域的力度。4)牦牛线粒体基因组与部分性状间的关联研究。当前,对牦牛线粒体基因组与一些性状(如高原适应、肿瘤、癌症和糖尿病等)间的关联分析尚未开展。可将牦牛当作上述疾病研究的模式生物,加大关联分析,为高原地区人类相关疾病诊断与防治提供前提指导信息和经验借鉴。

可以相信,随着 2012 年牦牛全基因组序列的测定和公布^[49-50],可进一步借助新一代测序技术和基因组关联分析等方法,在开展牦牛核基因组研究的同时,加大其线粒体基因组的功能研究力度,为整体上开展牦牛全基因组信息基础上的系统研究奠定基础,进而为牦牛遗传资源的合理保护和开发利用等实践提供理论指导。

致谢 衷心感谢钟金城教授、雷初朝教授和韩建林研究员在论文撰写中提出的宝贵建议。

参 考 文 献

- [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] Bruford M W, Bradley D G, Luikart G. DNA markers reveal the complexity of livestock domestication[J]. Nature Reviews Genetics, 2003, 4(11): 900-910
- [3] Miyamoto M M, Tanhauser S M, Laipis P J. Systematic relationship in the artiodactyls tribe Bovini (Family Bovidae), as determined from mitochondrial DNA sequences [J]. Systematic Zoology, 1989, 38(4): 342-349
- [4] Kraus F, Jarecki L, Miyamoto M M, et al. Mispairing and compensational changes during the evolution of mitochondrial ribosomal RNA[J]. Molecular and Biological Evolution, 1992, 9(4): 770-774
- [5] Ward T J, Bielawski J P, Davis S K, et al. Identification of domestic cattle hybrids in wild cattle and bison species: A general approach using mtDNA markers and the parametric bootstrap[J]. Animal Conservation, 1999, 2(1): 51-57
- [6] Han J L, Ochieng J W, Rege J E O, et al. Low level of cattle introgression in yak populations from Bhutan and China: Evidences from Y-Specific microsatellites and mitochondrial DNA markers [C]// Han J L, Richard C, Hanotte O, et al. Yak Production in Central Asian Highlands. Proceedings of the Third International Congress on Yak. Nairobi: International Livestock Research Institute, 2000: 190-196

- [7] Bailey J F, Healy B, Han J L, et al. Genetic variation of mitochondrial DNA within domestic yak populations [C]// Han J L, Richard C, Hanotte O, et al. Yak production in central Asian Highlands. Proceedings of the third International Congress on Yak. Nairobi: International Livestock Research Institute, 2000: 181-189
- [8] Guo S C, Savolainen P, Su J P, et al. Origin of mitochondrial DNA diversity of domestic yaks [J]. BMC Evolutionary Biology, 2006, 6(73): 1471-2148
- [9] 郭松长, 刘健全, 祁得林, 等. 牦牛的分类学地位及起源研究: mtDNA D-loop 序列的分析[J]. 兽类学报, 2006, 26(4): 325-330
- [10] 郭松长, 祁得林, 陈桂华, 等. 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): 4287-4294
- [11] 宋大伟. 牦牛的起源及系统发育分析[D]. 南京: 南京农业大学, 2008
- [12] 马志杰, 钟金城, 韩建林, 等. 野牦牛 (*Bos grunniens mutus*) mtDNA D-Loop 区的遗传多样性[J]. 生态学报, 2009, 29(9): 4798-4803
- [13] Ma Z J, Zhong J C, Han J L, et al. Genetic diversity and demographic history of wild yak (*Bos grunniens mutus*) inferred from mtDNA D-loop sequences[J]. African Journal of Biotechnology, 2010, 9(46): 7805-7810.
- [14] 马云, 于波, 徐永杰, 等. 中国部分地方牛种 mtDNA D-loop 区全序列的遗传多样性与系统进化分析[J]. 信阳师范学院学报: 自然科学版, 2012, 25(2): 202-217
- [15] Liu Z X, Lu B M, Mao Y J, et al. Yak introgression into Tibetan Yellow cattle: Evidences from mitochondrial DNA D-loop sequence analysis and beta-lactoglobulin genetic variants [J]. Indian Journal of Animal Sciences, 2012, 82(9): 1012-1015
- [16] Hassani A, Douzery E J P. Evolutionary affinities of the enigmatic saola (*Pseudoryx nghetinhensis*) in the context of the molecular phylogeny of Bovidae[J]. Proceedings. Biological sciences, 1999, 266(1422): 893-900
- [17] 蔡欣, 陈宏, 雷初朝, 等. 中国 3 个牛种 *cyt b* 基因多态性及其系统发育研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2007, 35(2): 43-52
- [18] Li S P, Chang H, Song G M, et al. Molecular phylogeny and taxonomic status of domestic yak inferred from cytochrome B gene partial sequences[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2007, 6(12): 1495-1499
- [19] 杨万远, 陈雪梅, 钟金城, 等. 野牦牛 mtDNA *Cytb* 基因全序列测定及系统进化关系[J]. 中国草食动物, 2009, 29(3): 8-13
- [20] 常国斌, 常洪, 陈国宏, 等. 基于 *Cytb* 基因部分序列分析巴州牦牛遗传多样性及其系统地位[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(17): 19-21
- [21] 耿荣庆, 王兰萍, 冀德君, 等. 基于细胞色素 b 基因序列的中国牛亚科家畜系统发育关系[J]. 中国农业科学, 2011, 44(19): 4081-4087
- [22] 黄秉周, 徐公瑾, 李相烈, 等. 牛线粒体 *CYT B* 基因的序列分析及进化关系[J]. 延边大学农学学报, 2004, 26(3): 153-170
- [23] 黄秉周, 徐公瑾, 金松哲, 等. 牛线粒体 D-loop 的序列分析及进化关系[J]. 延边大学农学学报, 2004, 26(4): 233-240
- [24] 刘强. 从线粒体细胞色素 b 基因和 D-loop 控制区序列差异研究野牦牛和家牦牛的系统进化关系[D]. 杭州: 浙江大学, 2005
- [25] 王玲. 中国牦牛线粒体 DNA 多态性及遗传分化研究[D]. 雅安: 四川农业大学, 2004
- [26] 赖松家, 王玲, 刘益平, 等. 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
- [27] Lai S J, Chen S Y, Liu Y P, et al. Mitochondrial DNA sequence diversity and origin of Chinese domestic yak [J]. Animal Genetics, 2007, 38(1): 77-80
- [28] 李齐发, 李隐侠, 赵兴波, 等. 牦牛线粒体 DNA 细胞色素 b 基因序列测定及其起源、分类地位研究[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(11): 1118-1123
- [29] 李齐发, 李隐侠, 赵兴波, 等. 牦牛线粒体 DNA D-loop 区序列测定及其在牛亚科中分类地位的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2008, 39(1): 1-6
- [30] Qi X B, Han J L, Blench R, et al. Understanding the yak pastoralism in Central Asian Highlands: Genetic evidence for origin, domestication and dispersion of domestic yak [C]// Sanchez-Mazas A, Blench R, Ross M D, et al. Past human migrations in East Asia; Matching archaeology, linguistics and genetics. London and New York: Routledge, Taylor & Francis Group, 2008: 427-442
- [31] Qi X B, Han J L, Wang G, et al. Assessment of cattle genetic introgression into domestic yak populations using mitochondrial and microsatellite DNA markers [J]. Animal Genetics, 2010, 41(3): 242-252
- [32] 钟金城, 柴志欣, 姬秋梅, 等. 西藏牦牛的遗传多样性及其系统进化研究[J]. 西南民族大学学报: 自然科学版, 2011, 37(3): 368-378
- [33] 赵上娟, 陈智华, 姬秋梅, 等. 西藏牦牛 mtDNA COIII 全序列测定及系统进化关系[J]. 中国农业科学, 2011, 44(23): 4902-4910
- [34] 张成福, 徐利娟, 姬秋梅, 等. 西藏牦牛 mtDNA D-loop 区的遗传多样性及其遗传分化[J]. 生态学报, 2012, 32(5): 1387-1395
- [35] 姬秋梅, 唐懿挺, 张成福, 等. 西藏牦牛 mtDNA *cytb* 基因的序列多态性及其系统进化分析[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(11): 1723-1732
- [36] Janecek L L, Honeycutt R L, Adkins R M, et al. Mitochondrial gene sequences and the molecular systematics of the artiodactyl subfamily Bovinae[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 1996, 6(1): 107-119
- [37] 陈冬, 柏凡, 周明亮, 等. 基于线粒体 12S rRNA 基因鉴别混合牛肉及制品的牛种来源[J]. 遗传, 2008, 30(8): 1008-1014
- [38] 王兰萍, 耿荣庆, 王伟, 等. 基于线粒体 12S rRNA 基因序列鉴别牛肉的种源[J]. 家畜生态学报, 2013, 34(2): 19-21
- [39] Zhao X B, Zhong G H, Cai L. Studies on mitochondrial DNA RFLP of yaks and cattle-yak[C]. // Zhang R C, Han J L, Wu J

- P. Yak Production in Central Asian Highlands. Proceedings of the First International Congress on Yak. Lanzhou: The Editorial Board for Journal of Gansu Agricultural University, 1994;96-98
- [40] Zhao X B, Wu C X, Li N, et al. PCR-RFLP and SSCP of mt-DNA *ATPase6*, *ATPase8* in yak and cattle populations[C]. // Yang R Z, Han X T, Luo X L. Yak production in central Asian highlands. Proceedings of the Second International Congress on Yak. Xining, Qinghai People's Publishing House, 1997;59-61
- [41] 涂正超, 张亚平, 邱怀. 中国牦牛线粒体 DNA 多态性及遗传分化[J]. 遗传学报, 1998, 25(3):205-212
- [42] Gu Z L, Zhao X B, Li N, et al. Complete sequence of the yak (*Bos grunniens*) mitochondrial genome and its evolutionary relationship with other ruminants[J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 2007, 42:248-255
- [43] 钟金城, 杨万远, 陈智华, 等. 野牦牛线粒体基因组的结构及其系统进化研究[C]//中国畜牧兽医学会 动物遗传育种学分会. 中国动物遗传育种研究进展, 2009
- [44] 徐利娟, 钟金城, 杨万远, 等. 牦牛 mtDNA 编码蛋白质的基因密码子偏好性研究及聚类分析[J]. 西北农业学报, 2010, 19(6):13-17
- [45] Wang Z F, Shen X, Liu B, et al. Phylogeographic analyses of domestic and wild yaks based on mitochondrial DNA: New data and reappraisal[J]. Journal of Biogeography, 2010, 37(12), 2332-2344
- [46] Wang Z F, Yonezawa T, Liu B, et al. Domestication relaxed selective constraints on the yak mitochondrial genome[J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(5):1553-1556
- [47] Zeyland J, Wolko L, Lipiński D, et al. Tracking of wisent-bison-yak mitochondrial evolution[J]. Journal of Applied Genetics, 2012, 53(3):317-322
- [48] Mipam T D, Wen Y, Fu C, et al. Maternal phylogeny of a newly-found yak population in china[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2012, 13(9):11455-11470
- [49] Qiu Q, Zhang G J, Ma T, et al. The yak genome and adaptation to life at high altitude[J]. Nature Genetics, 2012, 44:946-949
- [50] Hu Q J, Ma T, Wang K, et al. The Yak genome database: an integrative database for studying yak biology and high-altitude adaptation[J]. BMC Genomics, 2012, 13:600

责任编辑: 苏燕