

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ЯКА *BOS GRUNNIENS*GENETIC RESEARCHES
YAK *BOS GRUNIENS*

N. Oyun

Summary. The unique ability of the yak *Bos grunniens* to exist under severe environmental conditions, withstanding extremely low temperatures, high altitude hypoxia and starvation, makes it an important model object in the studies of molecular-genetic bases of vital resources mobilization and adaptation to the high-altitude conditions. Long and complex history of yak domestication, as well as the present day, discontinuous range due to physiographic characteristics of its habitation area, determine the unique features of the genetic diversity of its populations. The present article is a review considering the current systematic position of yak, phylogenetics, and genetic diversity of populations; we also analyze here the polymorphism of genes determining the adaptation to high-altitude hypoxia.

Keywords: yak, genome, mtDNA, microsatellites, SNP, phylogenetic connections, genetic structure of the population, genetic polymorphism.

Оюн Надежда Юрьевна

Н.с., Институт общей генетики им. Н. И. Вавилова РАН (Москва); Институт медицинской паразитологии, тропических и трансмиссивных заболеваний им. Е. И. Марциновского Сеченовского университета (Москва); Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова
nad_oyun@mail.ru

Аннотация. Уникальная способность яка *Bos grunniens* жить в суровых условиях, противостоять экстремально низким температурам, высотной гипоксии и бескормице, делает его важным объектом для изучения молекулярно-генетических основ мобилизации жизненных ресурсов и адаптации организма к условиям высокогорья. Сложная и длительная история домостикации яка, а также разорванность современного ареала в силу физико-географических особенностей его местообитания, определяют особенности генетического разнообразия его популяций. В настоящей статье представлен обзор литературы касательно современного систематического положения яка, филогенетики, генетического разнообразия популяций, рассмотрен полиморфизм генов, детерминирующих степень адаптации к гипоксии в условиях высокогорья.

Ключевые слова: як, геном, мтДНК, микросателлиты, SNP, филогенетические связи, генетическая структура популяции, генетический полиморфизм.

Як *Bos grunniens* является domestцированным животным, дикая форма которого обитает на территории Цинхай-Тибетского нагорья на рекордной высоте от 2500 до 6000 м над уровнем моря. Яка разводят в высокогорных регионах на высоте 2000–5000 метров над уровнем моря, где низкие температуры и низкое содержание кислорода в атмосфере являются лимитирующими факторами. Рацион яка скудный, большую часть года корм добывается из-под снега. Як обеспечивает существование жителей целых регионов, где разведение обычного скота нерентабельно или просто невозможно. Животное используют в качестве тяглого и транспортного средства, получают диетическое мясо, питательное молоко, шкуру, шерсть, рога.

В рамках современной классификации як принадлежит роду *Bos* трибы *Vovini* подсемейства *Vovinae* семейства *Vovidae*. Вместе с тем, существуют различные точки зрения касательно родовой принадлежности яка. Так, некоторые исследователи относят яка к роду *Bison* или выделяют в отдельный род *Poephagus* (Feng et al., 1986; 2006; Zhang et al., 2009).

Вместе с тем, включение яка в род *Bos* достаточно спорно, поскольку по анатомическим признакам (количество рёбер, грудных, поясничных и копчиковых позвонков) он сильно отличается от других его представи-

телей (Liu, 2007; Miram et al., 2012). По морфологическим и анатомическим признакам як больше схож с бизоном *Bison bison*, чем с прочими представителями рода *Bos* (Leslie, Schaller, 2009). Кроме того, филогенетические деревья, построенные с использованием последовательностей митохондриальной ДНК различных популяций яка и близких видов, указывают на близкое родство дикого и domestцированного яка с *Bison bison*, в то время как остальные представители рода *Bos* образуют отдельный кластер (Guo et al., 2016; Zhong et al., 2015; Bao et al., 2016).

Наряду с этим ведутся дискуссии о выделении яка в отдельный род *Poephagus* (Feng et al., 1986; Liu, 2007; Zhang et al., 2009; Miram et al., 2012). Так, в современной классификации GenBank NCBI яку присвоено латинское наименование *Bos grunniens*, с синонимом *Poephagus grunniens* (NCBI: txid30521).

В источниках встречается несколько вариантов латинских наименований яка. Дикого и одомашненного яков могут относить к разным видам или же подвидам. На данный момент можно считать основным общепринятым названием *Bos grunniens* — для одомашненного яка, и *Bos mutus* — для дикого (Leslie, Schaller, 2009). Необходимо отметить, что довольно спорным является вопрос присвоения видового статуса дикому яку и одомашнен-

ному. Между этими формами существуют морфологические, экстерьерные и не столь существенные генетические различия, связанные, прежде всего, с поведением и репродуктивной системой. В связи с этим диких и одомашненных яков именуют *Bos grunniens* (Schaller, Liu, 1996; Qi et al., 2008; Leslie, Schaller, 2009; Wang et al., 2014; Qiu et al., 2015; Shi et al., 2016; Zhang et al., 2016). Одомашненные и дикие яки скрещиваются между собой и дают плодовитое потомство. Так в результате гибридизации была создана порода Datong (Shi et al., 2016). К тому же эффект доместикикации яка заметен меньше, чем у прочих домашних животных (Qiu et al., 2015).

На основании результатов современных исследований определенная часть научного сообщества склоняется к классификации дикого и одомашненного яков как двух подвигов *Bos grunniens* L., рассматривая дикого яка в качестве предковой формы. В результате одомашненный як получил наименование *Bos grunniens grunniens*, а дикий як — *Bos grunniens mutus* (Zhang et al., 2009; Shi et al., 2016).

В связи со сложностями определения таксономического статуса яка относительно родовой и видовой принадлежности в базе данных NCBI в разделе «Таксономия» дикий як отнесен к *Bos mutus* (Przewalski, 1883), но имеет синонимичные наименования *Bos grunniens mutus* и *Poephagus mutus* (NCBI: id=72004).

В настоящее время в мире насчитывается около 14 миллионов голов одомашненного яка. Наибольшая численность яка отмечена в Китае — 92% всего поголовья. На втором месте по численности поголовья — Монголия и Россия. Яков также разводят в Непале, Индии, Бутане, Киргизии, Казахстане, Пакистане, Афганистане, Таджикистане (Dorji et al., 2000; Gerald et al., 2003; Liu, Long, 2009; Zhang et al., 2009; Guo et al., 2006; Lu, 2007), в последние годы яков разводят на Аляске (США) и в Канаде (Lu, 2007).

В Китае официально выделяют 12 пород яка. На территории России в Туве разводят породу сарлык, а в Бурятии — окинскую породу (Породы животных, 2015). Яков из других стран обычно могут называть по местности, где их разводят, но в породы, как правило, не выделяют.

Известно, что гаплоидная ДНК митохондрий наследуется по материнской линии, не рекомбинирует и имеет высокую скорость мутации, поэтому является хорошим маркером в исследовании филогении. Изучение полиморфизма наиболее изменчивой области митохондриального генома — D-петли широко применяется в популяционных исследованиях животных.

В настоящее время секвенированы полные митохондриальные геномы дикого яка (Zhong et al., 2015; Liang

et al., 2016) и многих популяций и пород одомашненного яка (Bao et al., 2016; Guo et al., 2016; Wu et al., 2016). Полный размер митохондриального генома составляет 16324 пн, с нуклеотидным составом 33.72% А, 27.25% Т, 25.28% С, 13.20% G. Он содержит 13 белок-кодирующих генов, 22 tRNA гена, 2 гена rRNA и 1 некодирующий регион (D-петля). В частности, определен размер D-петли — 891–894 п.н.

Исследование цитохрома b и D-петли мтДНК одомашненного яка выявило две гаплогруппы, которые дивергировали по крайней мере 100000 лет назад (Guo et al. 2006; Wang et al., 2010; Ma et al., 2010).

Исследование популяций яка разных стран (Бутан, Непал, Индия, Пакистан, Кыргызстан, Монголия и Россия) выявило 123 гаплотипа, которые можно разделить на 3 дивергентных линии (Wang et al., 2010). Третья дивергентная линия включала в себя два гаплотипа диких яков. Однако, более весомых доказательств в пользу существования третьей дивергентной линии в источниках не встречено.

Согласно расчетам, две обнаруженные линии разошлись около 131000–109000 лет назад (Guo et al., 2006). На основании данных полной митохондриальной ДНК, а не только D-петли, называют другие цифры: около 420000 лет назад разделились две главные линии, а третья отделилась от них 580000 лет назад (Wang et al., 2010).

Предложено два возможных объяснения наличия давно разделившихся линий. Первое предполагает очень высокую численность предковой популяции диких яков, от которых и произошли все современные дикие и домашние яки — 98000 (Wang et al., 2010) или 300000 (Guo et al., 2006) самок. Вторая версия — разделение предковой популяции ледником во время оледенения, в течение которого накапливались различия митохондриальной ДНК, и последующее объединение в одну популяцию в межледниковье (Guo et al., 2006; Wang et al., 2010).

Внутри двух основных клад выделяют несколько гаплогрупп А, В, С, D, Е. В работах, где выборка включала последовательности как одомашненных, так и диких яков, показано, что гаплотипы диких яков так же относятся к этим гаплогруппам (Wang et al., 2010; Guo et al., 2016).

В отличие от крупного рогатого скота, овец и других домашних копытных между гаплогруппами и породами (или географическим распределением популяций) не обнаружено связи, несмотря на то что морфологические различия между породами присутствуют (Guo et al., 2006; Wang et al., 2010). Судя по всему, морфологические

различия пород сформировались позже разделения клад.

Установлено, что среднее разнообразие гаплотипов у одомашненного яка ниже по сравнению с диким (Wang et al., 2010). Уровень нуклеотидного разнообразия домашнего яка сопоставим с европейскими породами крупного рогатого скота (Guo et al., 2006; Wang et al., 2010).

Предполагают, что одомашнивание яка привело к экспоненциальному росту его численности. На это указывают значимые показатели F_u 's F_s теста и характерная звездообразная картина распределения гаплотипов в пределах крупных клад, где наиболее распространённый гаплотип окружён множеством произошедших от него редких гаплотипов (Guo et al., 2006; Wang et al., 2010).

В настоящее время во всем мире широко изучаются местные популяции яка на основе различных генетических маркеров. Последние два десятилетия популярными маркерами для популяционно-генетических исследований животных являются микросателлиты (microsatellites, SSRs) — последовательности, состоящие из большого количества коротких повторов и отличающиеся высоким уровнем аллельного полиморфизма.

Межвидовая амплификация 136 микросателлитных маркеров коровы показала высокую эффективность их применения для яка (Groeneveld et al., 2010). Некоторые из данных маркеров были включены в список микросателлитных локусов для изучения яка, рекомендованных FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations).

В настоящее время на основе микросателлитного анализа наиболее полно исследованы популяции яка Китая и Тибетского нагорья (Xuebin et al., 2005; Mao et al., 2007; Zhang et al., 2008; Mao et al., 2008). Исследованы популяции яка Бутана (Dorji et al., 2000), Швейцарии (Nguyen et al., 2005), Индии (Ramesha et al., 2012) и Монголии (Xuebin et al., 2005).

Создана библиотека из 298 микросателлитных локусов специфичных для яка (Li et al., 2004). Однако в большинстве работ используются микросателлитные маркеры для КРС (*Bos taurus*), что не сказывается на информативности анализа (Xuebin et al., 2005; Zhang et al., 2008; Qi et al., 2010).

С помощью микросателлитного анализа показано, что популяции яка Китая, Монголии и Бурятии генетически различаются, на что указывают низкие, но значимые индексы F_{ST} и отсутствие корреляции между географи-

ческим и генетическим расстояниями (Xuebin et al., 2005; Zhang et al., 2008). Эта особенность отличает домашнего яка от других сельскохозяйственных животных — крупного рогатого скота, коз, свиней, для которых характерны более высокие средние значения F_{ST} и, следовательно, большие генетические различия между породами. Также не обнаружено эффекта бутылочного горлышка в недавнем прошлом монгольских и бурятских яков (Xuebin et al., 2005; Zhang et al., 2008).

Благодаря высокой степени адаптации к высокогорью, як может рассматриваться в качестве модельного объекта для понимания молекулярных основ адаптации к высотной гипоксии. По сравнению с другими представителями рода *Bos* для яка характерны следующие физиологические особенности, связанные с адаптацией к гипоксии: больше красных кровяных клеток, повышенное содержание гемоглобина в крови, более развитая гладкая мускулатура в артериях легких, клетки легочных артерий яка намного длиннее, шире и круглее (Li et al., 2006; Wang et al., 2006; Ma et al., 2011).

Геномное сравнение яка и крупного рогатого скота выявило гены-кандидаты, которые могут играть ключевую роль в высотной адаптации яка. Данные гены кодируют белки, участвующие в сигнальном пути, активируемом в ответ на гипоксию (HIF signalling pathway). Одним из важнейших генов сигнального пути является *VEGF-A* (Vascular endothelial growth factor-*A*) — фактор роста эндотелия сосудов. Известно, что *VEGF-A* участвует в процессах ангиогенеза, васкулогенеза и деления сосудистых эндотелиальных клеток. В ответ на гипоксию *VEGF-A* стимулирует формирование новых кровяных телец и повышает проницаемость кровеносных сосудов, обеспечивает мощный митогенез сосудистых эндотелиальных клеток и клеток гладкой мускулатуры. Он может активировать синтазу оксида азота, что приводит к повышению уровня продукции оксида азота, который расслабляет кровеносные сосуды и увеличивает скорость кровотока, предотвращая легочную гипертензию.

Коллективом авторов (Wu et al., 2013) выявлены SNPs в позициях *g.8430T>C* в 4 интроне гена *VEGF-A* и *g.14853G>A* в 3'-нетранслируемой области гена *VEGF-A*, ассоциированные с адаптацией у яков, обитающих на разных высотах Цинхай-Тибетского нагорья. Была показана тенденция увеличения частоты SNP *g.14853G>A* у пород яка, обитающих в высокогорье. Гипоксия также индуцирует факторы, которые регулируют стабильность РНК-носителей *VEGF-A* путем связывания с последовательностями, расположенными в 3'-нетранслируемой области. Стабильность РНК-носителя *VEGF-A* может значительно увеличить период полураспада нормальных короткоживущих транскриптов. Замещение *G>A* в *VEGF-A* обеспечивает лучшую защиту от гипоксии.

EPAS-1 (Endothelial PAS domain protein 1), также известный как *HIF-2 α* (Hypoxia-inducible factor-2 α), принадлежит *HIF* пути и играет главную роль в ответе на гипоксию. *EPAS-1* вовлечен в процессы эритропоэза, гомеостаза железа, легочной гипертензии и сосудистой проницаемости. Показано, что варианты этого гена связаны с различиями в концентрации гемоглобина у жителей Тибета (Beall et al., 2012). При изучении тибетских мастифов и коренных собак, живущих на больших высотах, выявлено, что *EPAS-1* подвержен селективному отбору (Li et al., 2014; Gou et al., 2014). Полиморфизм гена *EPAS-1* и его связь с гематологическими параметрами яка представлен в работе китайских авторов (Wu et al., 2015). Анализ показал наличие 3 видов SNP в 8 интроне гена *EPAS-1* и ассоциацию каждого вида SNP с концентрацией гемоглобина.

Таким образом, имеющиеся данные говорят о высоком генетическом разнообразии дикого и одомашненного яка. По-видимому, современные популяции яка произошли от предковой популяции с большой эффективной численностью, а само разделение на породы и локальные популяции произошло относительно недавно по сравнению с крупным рогатым скотом и другими сельскохозяйственными животными.

Вероятно, этому способствовало и то, что в ходе одомашнивания яка условия его обитания почти не менялись. В результате наблюдается генетический эффект trade-off, позволяющий якам выживать как на суровой высоте, так и в условиях высокогорных пастбищ (Qiu et al., 2015). Этот эффект, безусловно, влияет на эволюционное развитие и доместикацию яка в целом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bao P., Guo X., Pei J. et al. Complete mitogenome sequencing and phylogenetic analysis of Pali yak (*Bos grunniens*) // Mitochondrial DNA. 2016. Part A. 1394. P. 1–2.
2. Beall C. M., Cavalleri G. L., Deng L. et al. Natural selection on EPAS1 (HIF2 α) associated with low hemoglobin concentration in Tibetan highlanders // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2012. V. 107. P. 11459–11464.
3. Dorji T., Goddard M., Perkins J. et al. Genetic diversity in Bhutanese yak (*Bos grunniens*) populations using microsatellite markers // Proceedings of the third international congress on yak held in Lhasa. 2000. P. 197–201.
4. Feng Z. J., Cai G. Q., Zheng C. L. The mammal in Tibet // Beijing: Science Press. 1986.
5. Gerald W., Han J. L., Long R. J. The yak // Food and Agricultural Organization of the United Nations. 2003. P. 460.
6. Gou X., Wang Z., Li N., et al. Whole-genome sequencing of six dog breeds from continuous altitudes reveals adaptation to high-altitude hypoxia // Genome Research. 2014. doi: 10.1101/gr.171876.113.
7. Groeneveld L. F., Lenstra J. A., Eding H. et al. The GLOBALDIV Consortium. Genetic diversity in farm animals — a review // Animal Genetics. 2010. V. 41(1). P. 6–31.
8. Guo S., Savolainen P., Su J. et al. Origin of mitochondrial DNA diversity of domestic yaks // BMC Evol. Biol. 2006. V. 6(73) doi:10.1186/1471-2148-6-73
9. Guo X., Pei J., Bao P. et al. The complete mitochondrial genome of the Qinghai Plateau yak *Bos grunniens* (Cetartiodactyla: Bovidae) // Mitochondrial DNA. 2016. V. 27(4). P. 2889–2890.
10. Leslie D., Schaller G. *Bos grunniens* and *Bos mutus* (Artiodactyla: Bovidae) // Mammalian Species. 2009. P. 1–17.
11. Li L., Shen M., Yu H. Significance and determination of RBC, Hb and Mb in yak of various ages // Acta Ecologiae Animalis Domastici. 2006. V. 27. P. 51–54.
12. Li Q., Zhao X., Li Y. et al. Construction of microsatellite-enriched library of yak and phylogenetic study of six Chinese yak populations using yak-specific microsatellites // Proceedings of the fourth International Congress on Yak. Chengdu. Sichuan. China. 2004. P. 109–111.
13. Li Y., Wu D., Boyko A., et al. Population variation revealed high-altitude adaptation of Tibetan mastiffs // Molecular Biology and Evolution. 2014. V. 31. P. 1200–1205.
14. Liang C., Wu X., Ding X. et al. Characterization of the complete mitochondrial genome sequence of wild yak (*Bos mutus*) // Mitochondrial DNA. 2016. V. 27(2). P. 1014–1015.
15. Liu F. Y., Long R. J. Effect of different grazing intensities on grazing behavior of yak in summer // Journal of Lanzhou University (Natural Science). 2009. V. 45(2). P. 55–60.
16. Liu W. L. The origins and current situation of wild Yaks // Journal of Tibet University. 2007. V. 22(1). P. 114–117.
17. Lu Z. L. Retrospect and prospect on science and technology development of yak in China // China Cattle Science. 2007. V. 33(4). P. 3–13.
18. Ma X., Cui Y., He J., Yang B. Observation of the histological structure of adult yak bronchial arteries // Chinese Vet. Science. 2011. V. 39. P. 261–265.
19. Ma Z., Zhong J., Han J. et al. Genetic diversity and demographic history of wild Yak (*Bos grunniens mutus*) inferred from mtDNA D-loop sequences // African Journal of Biotechnology. 2010. V. 9(46). P. 7805–7810.
20. Mao Y., Chang H., Yang Z. et al. The analysis of genetic diversity and differentiation of six Chinese cattle populations using microsatellite markers // J. Genet Genomics. 2008. V. 35(1). P. 25–32.
21. Mao Y., Chang H., Yang Z. et al. Genetic structure and differentiation of three Chinese indigenous cattle populations // Biochem Genet. 2007. V. 45(3). P. 195–209.
22. Mipam T., Wen Y., Fu C. et al. Maternal phylogeny of a newly-found yak population in China // International Journal of Molecular Science. 2012. V. 13(9). P. 11455–11470.
23. Nguyen T., Genini S., Menetrey F. et al. Application of bovine microsatellite markers for genetic diversity analysis of Swiss yak (*Capra hircus*) // Animal Genetics. 2005. V. 36(6). P. 484–489.

24. Qi X. B., Han, J. L., Blench, R. et al. Understanding yak pastoralism in Central Asian Highlands: genetic evidence for origin, domestication and dispersion of domestic yak // *Past human migrations in East Asia: matching archaeology, linguistics and genetics*. T & F Group. 2008. P. 427–442.
25. Qi X. B., Jianlin H., Wang G. et al. Assessment of cattle genetic introgression into domestic yak populations using mitochondrial and microsatellite DNA markers // *Animal Genet.* 2010. V. 41(3). P. 242–252.
26. Qiu Q., Wang L., Wang K. et al. Yak whole-genome resequencing reveals domestication signatures and prehistoric population expansions // *Nature Communicat.* 2015. V. 6. Article number 10283.
27. Ramesha K. P., Biswas T. K., Jayakumar S. et al. Application of cattle microsatellite markers to assess genetic diversity of Indian yaks // *The Indian Journal of Animal Sciences.* 2012. V. 82(7). P. 770–772.
28. Schaller G. B., Liu W. L. Distribution, status, and conservation of wild yak *Bos grunniens*. *Biological Conservation.* 1996. V. 76. P. 1–8.
29. Shi Q., Guo Y., Engelhardt S. C. et al. Endangered wild yak (*Bos grunniens*) in the Tibetan plateau and adjacent regions: Population size, distribution, conservation perspectives and its relation to the domestic subspecies // *J. Nature Conservat.* 2016. V. 32. P. 35–43.
30. Wang K., Hu Q., Ma H. et al. Genome-wide variation within and between wild and domestic yak // *Mol. Ecol. Res.* 2014. V. 14(4). P. 794–801.
31. Wang Z., Shen X., Liu B. et al. Phylogeographical analyses of domestic and wild yaks based on mitochondrial DNA: New data and reappraisal // *Journal of Biogeography.* 2010. V. 37. P. 2332–2344.
32. Wu X., Ding X., Chu M., et al. Novel SNP of EPAS1 gene associated with higher hemoglobin concentration revealed the hypoxia adaptation of yak (*Bos grunniens*) // *Journal of Integrative Agriculture.* 2015. V. 14(4). P. 741–748.
33. Wu X., Liang C., Ding X. et al. Association of novel single-nucleotide polymorphisms of the vascular endothelial growth factor-A gene with high-altitude adaptation in yak (*Bos grunniens*) // *Genetics and Molecular Research.* 2013. V. 12(4). P. 5506–5515.
34. Wu X., Min C., Liang C. et al. The complete mitochondrial genome sequence of the Datong yak (*Bos grunniens*) // *Mitochondrial DNA.* 2016 V. 27(1). P. 539–540.
35. Xuebin Q., Jianlin H., Lkhava B. et al. Genetic diversity and differentiation of Mongolian and Russian yak populations // *J. Animal Breed. Genet.* 2005. V. 122(2). P. 117–126.
36. Zhang G., Chen W., Xue M. et al. Analysis of genetic diversity and population structure of Chinese yak breeds (*Bos grunniens*) using microsatellite markers // *J. Genet. Genome.* 2008. V. 35. P. 233–238.
37. Zhang X., Wang K., Wang L. et al. Genome-wide patterns of copy number variation in the Chinese yak genome // *BMC Genomics.* 2016. V. 17.
38. Zhang Z. G., Xia L., Yang Q. S. Distribution and conservation of yak (*Bos grunniens*) // *Chinese Journal of Zoology.* 2009. V. 44(1). P. 148–150.
39. Zhong J., Chai Z., Ma Z. et al. Mitochondrial complete genome sequencing and phylogenetic research on wild yak // *Acta Ecologica Sinica.* 2015. V. 35(5). P. 1564–1572.

© Оюн Надежда Юрьевна (nad_oюн@mail.ru).

Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»



Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова