

内蒙古赤峰地区青铜时代古马线粒体 DNA 分析^{*}蔡大伟^{1,2} 韩璐² 谢承志² 李胜男² 周慧^{1,2**} 朱泓¹

1. 吉林大学边疆考古研究中心考古 DNA 实验室, 长春 130023; 2. 吉林大学生命科学学院, 长春 130023

摘要 为了探索中国家马的起源, 对内蒙古赤峰地区大山前和井沟子遗址青铜时代 9 匹古马进行了线粒体 DNA(mtDNA)研究, 分别扩增并测序了线粒体 16S rRNA 基因和 mtDNA 控制区(D-loop)片段。结合东亚、中亚、近东、欧洲等地家马的 mtDNA 序列进行系统发育网络分析(phylogenetic network)。对极端保守的 16S rRNA 基因分析表明赤峰地区的埋藏环境适合古 DNA 的保存。系统发育网络显示 9 匹古马并没有聚集在一个聚簇中, 而是分散在具有一定地理分布倾向的现代家马聚簇中。研究发现赤峰地区古马的母系遗传呈现高度多样性, 对现代家马 mtDNA 基因池的形成具有重要的贡献, 从一个侧面反映了中国家马起源的复杂性。

关键词 家马起源 古 DNA 线粒体 DNA 16S rRNA 基因 系统发育网络

家马(domestic horse)的出现极大地提高了人类运输和战争能力, 深深地影响着人类文明的进程^[1], 其起源和传播过程一直是考古学界长期探讨和争论的重大问题之一。以往的研究主要是对考古遗骸的形态变异进行分析^[2], 这种研究方法受到材料的质量和数量的双重限制。因为古代材料经过长期的地下埋藏往往只剩下一些残骸, 很难进行形态鉴别; 处于早期驯化阶段的遗骸数量极少, 很难得到准确的信息。古代 DNA 提取和检测技术的建立, 为解决上述问题打开了希望之门。作为被历史封存的遗传信息的携带者, 古 DNA 能够提供古代生物和现代生物之间谱系发育关系的直接证据。通过重建家养动物过去的遗传结构和变异, 可以从分子水平上追踪进化的轨迹。

在中国, 家马和马车是商代晚期(3000a)突然大量出现的, 在河南安阳殷墟、陕西西安老牛坡、山东滕州前掌大等商代晚期的遗址中, 发现了很多用于殉葬和祭祀的马坑和车马坑, 在墓室中也出现了马骨。然而晚商之前有关马的考古材料非常少, 在上千处新石器时代和早期青铜时代的遗址中, 仅

有西安半坡、河南汤阴白营、山东章丘城子崖遗址、华县南沙村等少数几个地点有出土马骨的记载, 而且都是零星的牙齿和碎骨^[3]。早期驯化阶段的缺失和商代晚期家马的“突然”出现, 使中国家马的起源扑朔迷离。

赤峰地区位于内蒙古自治区东南部, 是中国北方文化的重要发源地, 许多游牧部落在此生息繁衍, 驯马、养马是他们生产生活中的主要部分, 在许多青铜时代的考古遗址中都发现了马的踪迹。青铜时代是家马起源的一个关键阶段, 因此对该地区青铜时代的古马进行古 DNA 分析, 重建古马的遗传结构和变异, 对探索中国家马的起源具有重要意义。

1 材料和方法

1.1 样品的采集

大山前遗址位于赤峰市西南部的喀喇沁旗永丰乡大山前村(见图 1)。遗址共有 6 个地点(编号 KDI-VI), 第一地点(KDI)是一个凸出于周围河边低地的小缓丘, 台顶最高处海拔 765 m, 西、南两面紧邻清水河, 台顶高出河床 12 m。其上主要堆积

2006 06 23 收稿, 2006 08 08 收修稿

^{*} 国家自然科学基金(批准号: J0030094)和国家社科基金(批准号: 06BKG001)资助项目

^{**} 通信作者, E-mail: zhouhui@mail.jlu.edu.cn

©1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

着小河沿文化、夏家店下层文化、夏家店上层文化(2800a)、战国这 4 个时期的文化遗存,其中以夏家店下层文化为主(^{14}C 测年数据 4000 – 3500a)属于中国北方青铜时代早期文化遗存^[4]。在夏家店下层文化遗址中发现了大量适于农业生产的石制工具以及保存有炭化谷物的祭祀坑,墓葬中殉牲以猪为主,其次是牛、羊,表现出以农业为主,兼营畜牧、狩猎的复合经济形态。

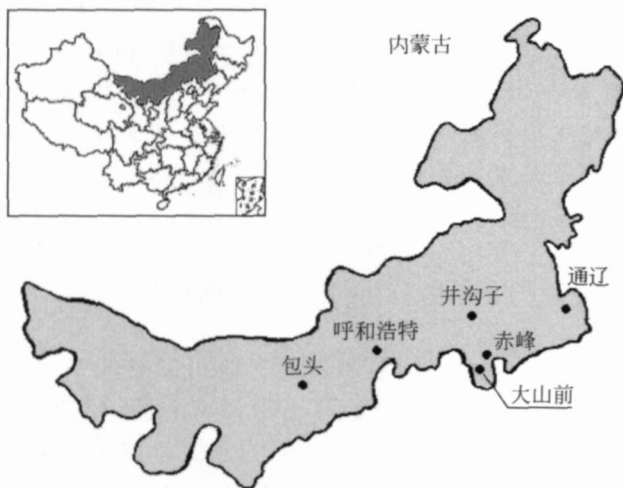


图 1 大山前遗址以及井沟子遗址地理分布图

井沟子遗址西区墓葬位于赤峰市北部的林西县井沟子自然村北(见图 1),年代大致在春秋晚期至战国前期,属于中国北方青铜时代晚期文化遗存(^{14}C 测年数据, $(2115 \pm 65)\text{a}$)。从遗址所反映出来的经济形态上看,是一个发达的畜牧业类型遗存,马的地位在畜群中显得尤为突出,从时间、地域和经济形态等方面看,井沟子类型都与文献记载的古代东胡有着紧密的联系^[5]。

我们采集了大山前遗址和井沟子遗址三个不同时期(夏家店下层、春秋战国时期、战国时期)的 9 匹古马标本用于古 DNA 分析,年代跨度从 4000 –

2000a, 详见表 1。值得注意的是,大山前遗址夏家店下层中的 4 个马骨,它们散乱地分布在几个考古探方中,通过形态学的观察和测量表明它们和现代家马极为相似。此前赤峰地区已发掘的旧石器时代至秦汉时期的考古遗址中,仅在夏家店上层文化以及战国堆积层中发现过马骨,在夏家店下层文化层中并没有发现马骨^[6]。毫无疑问,这 4 个青铜时代早期的马骨对于揭示中国家马的起源具有重要的意义。

表 1 样品采集的位置和编号

序号	遗址	出土单位	部位	实验编号	出土层位
1	大山前第一地点	96KDI T433④e	牙	K433	夏家店下层
2	大山前第一地点	96KDI T410②	牙	K410	夏家店下层
3	大山前第一地点	97KDI T316⑥	牙	K316	夏家店下层
4	大山前第一地点	96KDI T420⑥	蹄	K420	夏家店下层
5	大山前第一地点	96KDI T425②	股骨	K425	战国晚期
6	井沟子遗址	02LJM 23	趾骨	LJM23	春秋战国
7	井沟子遗址	03LJM 49	趾骨	LJM49	春秋战国
8	井沟子遗址	03LJM 51	牙	LJM51	春秋战国
9	井沟子遗址	03LJM 52	趾骨	LJM52	春秋战国

1.2 样品的处理

首先用毛刷清理样品表面的灰尘和泥土,紫外线照射 30 min,用钻头(Strong 90)打磨骨样表面,进一步除去骨表面的杂质以及外源 DNA(重复 3 遍打磨掉 2 – 3 mm 厚),液氮中保存过夜,第二天,将样品放入球磨机的磨碗中打磨成骨粉,分装成 2 g/管, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冷冻保存。

1.3 古 DNA 提取、PCR 扩增和测序

古 DNA 抽提采用文献[7]的方法。依据参考序列 X79547^[8],设计了两对套叠引物扩增 300 bp 的 mtDNA 控制区(D loop)片段,一对引物扩增 150 bp 的 16S rRNA 基因片段(见表 2)。使用上述引物扩增了 9 匹古马的 mtDNA 控制区和 5 匹大山前遗址古马的 16S rRNA 基因片段。

表 2 PCR 引物列表

扩增区域	引物名称 ^{a)}	引物序列	片段长度 / bp
16S rRNA (位点 1277–1426)	L1277	5'-CGAATCTTCTCACTATTTTGC 3'	150
	H1426	5'-GCTTACCCCTTTACCTTTTGE 3'	
mtDNA 控制区 (位点 15473–15772)	L15473	5'-CTTCCCTAAACGACAACAA 3'	220
	H15692	5'-TTTGACTTGGATGGGGTATG 3'	
	L15571	5'-AATGGCCTATGTACGTCGTG 3'	202
	H15772	5'-GGGAGGGTTGCTGATTTE 3'	

a) 代表引物序列 5'端起始位点, H 和 L 分别代表线粒体和重链轻链

扩增程序: 95℃ 5 min, 92℃ 1 min 变性, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 8 个循环后进入 92℃ 1 min 变性, 50—55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 1 min, 28 个循环后, 72℃ 延伸 10 min, 4℃ 保持. 扩增反应均在 Mastercycler® personal 热循环仪(Eppendorf, Germany) 上进行. 12.5 μL 反应体系中含 2.5 mmol · L⁻¹ Mg²⁺, 1X Buffer, 200 μmol · L⁻¹ dNTPs, 1.6 g · L⁻¹ BSA, 0.5 mmol · L⁻¹ 每条引物, 1U Taq 酶, 2 μL 模版. PCR 扩增产物通过 2% 琼脂糖(Biowest, German)凝胶电泳检测, 再将扩增所得的 DNA 片段进行连接并用 QIAEX® II GEL Extraction Kit 胶回收试剂盒(QIAGEN, Germany) 纯化 PCR 产物. 纯化产物用 ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer 全自动遗传分析仪(Applied Biosystems, USA) 通过 Dyeprimer 试剂盒进行正反双向直接测序.

1.4 数据分析

古 DNA 序列被截取到位点 15494—15755(262bp), 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(haplotype). 我们从 GeneBank 上选取了东亚、中亚、近东、欧洲等地的代表性家马品种作为比对序列^[9-19]. 此外, 我们还选择了普氏野马^[9-11] 以及一些考古遗址出土的古马序列: 哈萨克斯坦 Berel 遗址(2300a)和俄罗斯 Yakutsk 遗址(300—200a)^[18], 韩国 Jeju 遗址(1300—1200a)^[13], 美国 Alaska 遗址(28 000—12 000a)^[19], 瑞典南部几个考古遗址(2000—1000a)^[19], 一共是 456 个序列. 用 Network 4.1 软件构建单倍型的系统发育网络(phylogenetic network)分析古马和现代家马的母系遗传关系. 用 DnaSP 软件(Version 4.10)计算单

倍型多样性(Haplotype diversity, h) 以及核苷酸多样性(Nucleotide diversity, π). 本研究中的 9 匹古马的 mt DNA 序列已经提交到 GenBank 上, 登录号为 DQ900922 DQ900930.

2 结果与分析

2.1 线粒体 16S rRNA 基因序列分析

16S rRNA 基因是一个非常保守的区域, 通过对该区域部分片段扩增和测序, 检测该部分序列的完整性, 可以判断是否发生了碱基氧化修饰或者 Taq 酶的错配, 进而判断埋藏环境是否有利于古 DNA 的保存^[20]. 5 匹大山前遗址古马的 16S rRNA 片段序列和参考序列 X79547 完全一致, 没有发生碱基氧化修饰和 Taq 酶错配, 表明赤峰地区的埋藏环境有利于古 DNA 的保存.

2.2 mtDNA 控制区序列变异

我们成功地从 9 个马骨中扩增出 300 bp 的 mtDNA 控制区序列片段, 与参考序列 X79547 相比, 共有 19 个变异位点, 占所分析位点总数的 7.3%, 全部是转换(transition), 无颠换(transversion)和插入缺失(insertion/deletion, indel)发生, 其中简约信息位点(parsimonious informative site) 8 个, 占 3.1%. 这些变异位点共定义 7 个单倍型, 除 K410, K420 和 K433 共享一个单倍型以外, 其他 6 个样本分享不同的单倍型(见表 3). 9 匹古马的单倍型多样性(h) 为 0.917±0.092, 核苷酸多样性(π) 为 2.29%±0.25%, 该值和 Vila 等在 10 个种群 191 匹马中观测到的平均核苷酸多态性 π 值(0.22)基本相同^[10].

表 3 9 匹古马 mtDNA 变异位点列表

样品编号	多态性位点																	
	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
	4	5	5	5	5	5	5	6	6	6	6	6	6	7	7	7	7	7
	9	2	4	8	9	9	9	0	0	3	5	5	6	6	0	2	2	3
	5	1	2	5	5	6	7	2	4	5	0	9	6	7	3	0	6	7
参考序列 X79547	T	G	C	G	A	A	A	C	G	C	A	T	G	A	T	G	G	T
K316	C	G	T	A	G	C	A	.	.
K410, K420, K433	C	.	T	A	.	.	.	T	A	.	G	.	A	.	.	A	.	.
K425	C	G	.	A	.	C	A	.	.
LJM23	C	A	.	.	.	G	.	T	A	.	C
LJM49	C	.	T	T	.	T	.	.	A	.	C	A	.	.
LJM51	C	T	A	.	.	C	.	.	C	A	A	G
LJM52	C	.	.	.	G	.	G	T	A	C	A	.	G

. 表示和参考序列相同的碱基

2.3 系统发育网络分析

系统发育网络图显示 456 匹家马、野马、古马以 A6 簇为中心形成一个放射状星形结构(见图 2), 9 匹古马分布在 3 个谱系(Lineage A, F, E; 根据

Vila 等的分型标准^[10]) 之中, 在每个谱系之中, 又进一步地划分为几个聚簇(cluster, 根据 Jansen 等的分类标准^[19]).

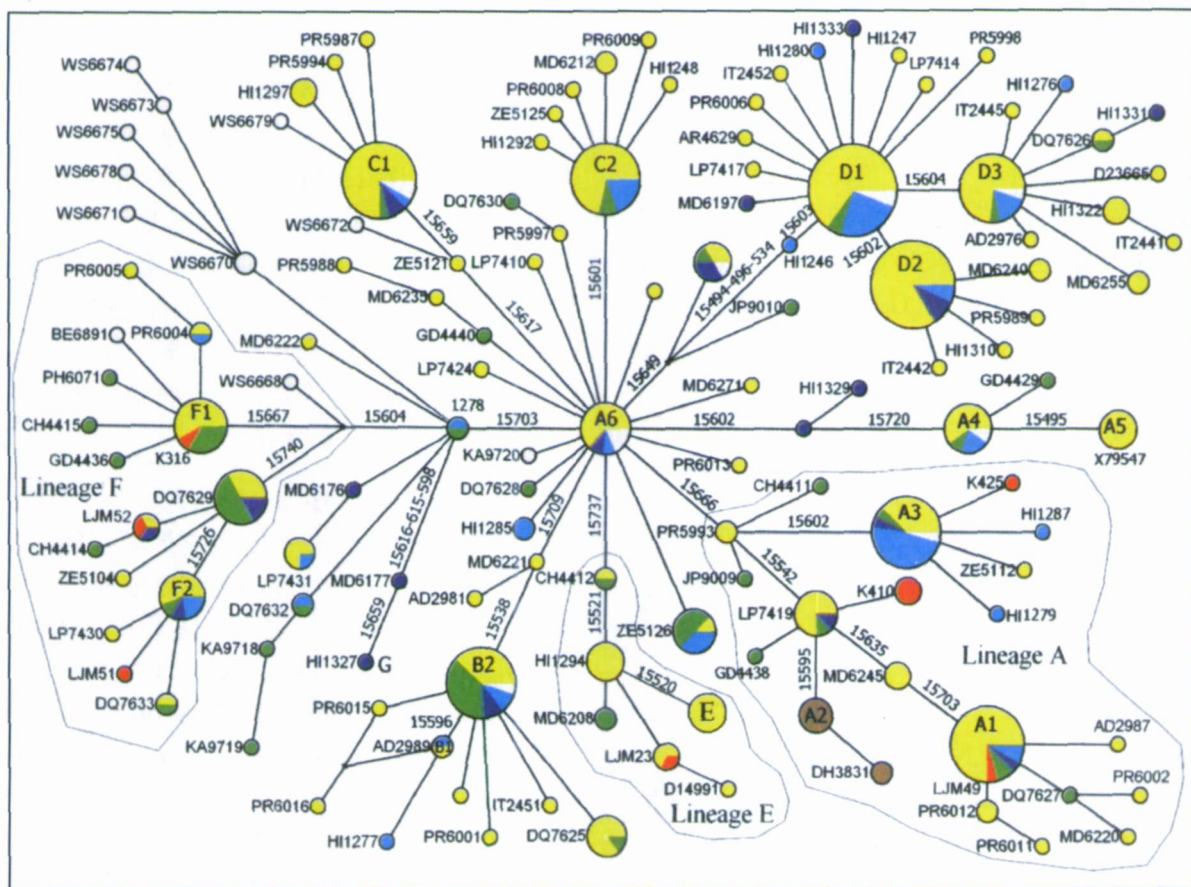


图 2 456 匹马、野马、古马的系统发育网络图

圆圈代表 mtDNA 的单倍型, 圆圈的大小与单倍型的数量成正比, 圆圈中的字母代表聚簇的名称, 命名根据 Jansen 等的研究^[19].

图中 AD=AF07, AR=AF06, BE=AJ87, CH=AF01, DH=AJ41, GD=AF35, GZ=AY13, HI=AF48, IT=AY46, JP=AF16, KA=AY04, LP=AY05, MD=AY24, PH=AF05, PR=AF46, WS=AF32, ZE=AY57 是我们选取的对比序列的 GenBank 接受号前四位数的缩写。红色代表大山前和井沟子遗址古马, 灰色代表从 GenBank 获得的古马, 黄色代表欧洲家马,

绿色代表东亚家马, 蓝色代表中亚家马, 浅蓝色代表近东家马, 褐色代表普氏野马

在谱系 F 中聚集有青铜时代早期的古马 K316 和春秋战国时代的古马 LJM51 和 LJM52, 其中 K316 聚集在 F1 簇中, 分享 F1 簇建立者的单倍型, 在 F1 簇中欧洲的家马品种占 27.8%, 近东占 22.2%, 东亚占 44.4%。东亚的品种主要是中国蒙古马和韩国 Cheju 马, 历史文献记录表明韩国 Cheju 马是 1276 年引入的蒙古马的后代^[11]; 此外 F1 簇中还聚集有 1 匹来自俄罗斯 Yakutsk 遗址的古马, 根据 Keyser Tracqui 等的研究俄罗斯 Yakutsk 遗址

中的古马也被认为是来自蒙古草原^[18]。在 F1 簇中蒙古草原起源的马占整个聚簇的 50%, 暗示了一个有限的地理分布特征。LJM51 聚集在 F2 簇, 该簇中来自东亚的家马品种占 13%, 近东占 20%, 欧洲占 67%, 在欧洲的品种中, 英国的矮马 Shetland pony 占 60%。LJM52 与 F2 簇有着共同的祖先节点(15740), 表明它们有着较近亲缘关系。

在谱系 A 中有 3 个聚簇(A1, A2, A3), 青铜时代早期的古马 K410 K420 K433 和 A2 簇有一个

共同的祖先节点(15542), 其中 A2 簇聚集的全部是普氏野马. LJM 49 聚集在 A1 簇中, 在该簇中东亚的品种占 7%, 中亚占 7%, 近东占 17.8%, 欧洲 78.2%. 在欧洲的品种中, 南欧的矮马占 63%, 暗示 A1 可能是一个以南欧小型马为主的聚簇. K425 (大山前遗址)聚集在 A3 簇中, 在该簇中近东地区家马品种占 47.8%, 欧洲占 39.2%, 中亚占 8.6%, 东亚占 4.4%. 值得注意的是哈萨克斯坦 Berel 遗址 (2300a) 的 1 匹古马也聚集在 A3 簇.

在谱系 E 中仅有一个较小的聚簇 E, 该簇中以北欧的小型马为主, 战国时代的古马 LJM23 和 E 簇有一个共同的祖先节点(15521), 表明它们有着较近的母系遗传关系.

3 讨论

3.1 古 DNA 序列的真实性

经历了漫长地质年代所保存下来的古 DNA 分子通常遭到严重的破坏和氧化修饰, 所有 DNA 分子都被降解成几百个碱基对的小片段, 并存在碱基的缺损、交联等现象, 在 PCR 扩增反应过程中, 那些降解的、破损的古 DNA 极易受到外源 DNA 分子的竞争而被污染. 此外, 氧化修饰造成的 Taq 酶错配也时有发生. 在本研究中, 所有的实验都是在一个专门的古 DNA 实验室内完成的. 样品的处理、古 DNA 的抽提、PCR 扩增均在专用的相互隔离的操作间进行, 实验的每一个步骤都有专用的设备, 不能相互混用, 而且在 PCR 加样室设有空气过滤正压排风系统. 在实验过程中均使用高温灭菌的一次性实验用品, 带一次性帽子和口罩、手套, 每完成一步操作, 立即更换手套. 随时用 DNA off™ (Q. BIO gene, Germany) 试剂擦拭超净台和用紫外线照射以消除污染, 同时在 DNA 的抽提过程和 PCR 扩增过程中设立空白对照. 基于以下原因, 这些序列是真实可信的: (1) 在实验过程中, 所有的抽提空白和 PCR 空白都呈现阴性的结果, 表明抽提试剂和 PCR 反应试剂没有被污染. (2) 所获得的序列都是经过多次抽提、PCR 扩增以及正反测序获得的. (3) 16S rRNA 的序列分析表明赤峰地区的埋藏环境有利于古 DNA 的保存, 氧化修饰所造成的碱基损伤很小. (4) 在我们实验室并没有进行过现代马的 PCR 扩增, 使外源现代 DNA 污染的可能

性降到了最低. (5) 所有的结果都分别由两个人在不同的时间进行了重复(蔡和韩).

3.2 古马和现代家马的关系

在本研究中, 9 匹古马的核苷酸多样性 π 值和 Vila 等在 10 个种群 191 匹马中观测到的平均值基本相同^[10], 系统发育网络分析显示 9 匹古马并没有聚集在一个聚簇中, 而是分散在多个现代家马的聚簇上, 一些样本(K316, LJM 49)还分享聚簇建立者的单倍型, 表明古马的母系遗传呈现高度多样性, 对现代家马的 mtDNA 基因池的形成具有重要的贡献. 此外, 其他遗址的古马 mtDNA 也分散在不同的聚簇中, 结合 Jansen 等研究所显示的每个聚簇很早的分歧时间^[19], 表明这些母系分支有着古老的起源, 而不是一个近期形成的事件. 古马所在的一些聚簇显示了一定的地理分布倾向, 暗示这些聚簇可能起源于不同的地点, 反映了古马母系来源的多样性, 表明中国家马的起源比以前想象的要复杂, 可能既有本土起源的因素, 也有外来的因素. 另外, 系统发育网络显示古马所在的聚簇都呈现出品种混合的现象, 来自不同地区的品种分享相同的单倍型, 表明它们之间存在较强的基因流, 这可能反映了古代民族在欧亚大陆广阔活动范围内的交流和互相影响. 从时间的框架上看, 一些青铜时代早期和晚期的古马有着很近的共同母系祖先, 例如 K425, LJM 49 和 K410 K420 K433 都来自谱系 A, K316, LJM 51, LJM 52 来自谱系 F.

3.3 古马和普氏野马的关系

野马是家马赖以产生的必要条件, 中国是普氏野马的故乡, 在中国北方的许多晚更新世动物群和古人类遗址中都曾发现过普氏野马的化石, 其范围从新疆西部直到台湾海峡^[21]. 考虑到普氏野马在历史上的地理分布, 以及欧亚草原史前人类的活动, 一些学者认为中国早期的家马源自普氏野马^[21, 22]. 然而, 在我们的研究中, 普氏野马形成一个特有的聚簇, 没有一个古马聚集到普氏野马所特有的 A2 聚簇, 表明它们和普氏野马没有直接的母系遗传关系. 值得注意的是, K425, LJM 49, K410 K420 K433 和 A2 簇都属于谱系 A, 表明它们与普氏野马有着较近的共同母系祖先.

我们的研究揭示了赤峰地区青铜时代古马和现

代马的母系遗传关系, 为探索中国家马的起源提供了一个有价值的线索. 今后, 对不同地区、不同年代的样本进行古 DNA 分析将会提供更多的信息, 同时开展 Y 染色体的研究有助于我们了解马的父系遗传关系, 两者结合起来, 我们会对家马的起源有一个全面深刻的了解.

致谢: 本研究的马骨标本由内蒙古文物考古研究所、吉林大学边疆考古研究中心汤卓炜和陈全家先生提供, 作者在此并致谢忱.

参 考 文 献

- 1 Anthony DW. The "Kurgan culture" Indo European origins and the domestication of the horse: A reconsideration. *Curr Anthropol*, 1986, 27: 291—313
- 2 赖旭龙. 古代生物分子与分子考古学. *地球科学进展*, 2001, 16(2): 163—171
- 3 陈文华. 中国农业考古图录. 江西: 江西科学技术出版社, 1994. 491—512
- 4 中国社会科学院考古研究所, 内蒙古自治区文物考古研究所, 吉林大学考古系赤峰考古队. 内蒙古喀喇沁旗大山前遗址 1996 年发掘简报. *考古*, 1998, 9: 43—49
- 5 吉林大学边疆考古研究中心, 内蒙古文物考古研究所. 2002 年内蒙古林西县井沟子遗址西区墓葬发掘纪要. *考古与文物*, 2004, 1: 6—18
- 6 宋 蓉, 陈全家. 赤峰地区汉代以前动物遗存初探. *内蒙古文物考古*, 2004, 2: 85—101
- 7 Yang DY, Eng B, Wayne JS, et al. Technical note: Improved DNA extraction from Ancient Bones using silica based spin columns. *Am J Phys Anthropol*, 1998, 105: 539—543
- 8 Xu X, Arnason U. The complete mitochondrial DNA sequence of the horse *Equus caballus*: Extensive heteroplasmy of the control region. *Gene*, 1994, 148(2): 357—362
- 9 Lister AM, Kadwell M, Kaagan LM, et al. Ancient and modern DNA in a study of horse domestication. *Ancient Biomol*, 1998, 2: 267—280
- 10 Vila C, Leonard JA, Gotherstrom A, et al. Widespread origins of domestic horse lineages. *Science*, 2001, 291(5503): 474—477
- 11 Kim KI, Yang YH, Lee SS, et al. Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D loop sequence polymorphism. *Anim Genet*, 1999, 30(2): 102—108
- 12 Yang YH, Kim KI, Cothran EG, et al. Genetic diversity of Cheju horses (*Equus caballus*) determined by using mitochondrial DNA D loop polymorphism. *Biochem Genet*, 2002, 40(56): 175—186
- 13 Jung YH, Han SH, Shin T, et al. Genetic characterization of horse bone excavated from the Kwakji archaeological site, Jeju, Korea. *Mol Cells*, 2002, 14(2): 224—230
- 14 Hil EW, Bradley DG, Al Barody M, et al. History and integrity of thoroughbred dam lines revealed in equine mtDNA variation. *Anim Genet*, 2002, 33(4): 287—294
- 15 Ishida N, Hasegawa T, Takeda K, et al. Polymorphic sequence in the D loop region of equine mitochondrial DNA. *Anim Genet*, 1994, 25(4): 215—221
- 16 Mirol PM, Garcia PR, Vega Pla JL, et al. Phylogenetic relationships of Argentinean Creole horses and other South American and Spanish breeds inferred from mitochondrial DNA sequences. *Anim Genet*, 2002, 33(5): 356—363
- 17 Kavar T, Habe F, Brem G, et al. Mitochondrial D loop sequence variation among the 16 maternal lines of the Lipizzan horse breed. *Anim Genet*, 1999, 30(6): 423—430
- 18 Keyser Tracqui C, Blandin Frappin P, Francfort H B, et al. Mitochondrial DNA analysis of horses recovered from a frozen tomb (Berel site, Kazakhstan, 3rd Century BC). *Anim Genet*, 2005, 36(3): 203—209
- 19 Jansen T, Forster P, Levine MA, et al. Mitochondrial DNA and the origins of the domestic horse. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(16): 10905—10910
- 20 Di Bernardo G, Galderisi U, Del Gaudio S, et al. Genetic characterization of Pompeii and Herculaneum. *J Cell Physiol*, 2004, 199: 200—205
- 21 邓 涛. 中国矮马与普氏野马的亲缘关系. *畜牧兽医学报*, 2000, 31(1): 28—33
- 22 张春生. 野马、家马及东亚养马中心. *农业考古*, 2004, 1: 252—254