

西藏牦牛 mtDNA *ATP6* 基因的遗传多样性及系统进化分析

张雨晴¹, 姜 辉², 信金伟², 武志娟¹, 柴志欣^{1*}

(1. 四川省青藏高原草食家畜工程技术中心, 西南民族大学草地资源学院, 四川成都 610225;

2. 西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所, 西藏拉萨 850009)

摘 要: 西藏自治区是我国第二大牦牛主产区, 独特的自然生态环境积累了丰富的牦牛遗传资源, 全面认识西藏牦牛的起源与分化, 对保护地方牦牛种质资源具有重要的现实意义。在 mtDNA 基因中, *ATP* 合酶亚基 6 (*ATP6*) 表现出对自然选择的高度敏感性, 并且与在海拔环境中探讨机体适应性分子机制有关。本研究成功扩增了来自 16 个西藏牦牛群体共 367 头个体的 *ATP6* 基因序列并完成测序, 结果显示, 所获得的 *ATP6* 基因序列富含 A+T 核苷酸, 核苷酸多样性和单倍型多样性分别为 0.001 81 和 0.534, 表明西藏牦牛具有丰富的遗传多样性。在所分析的氨基酸序列中, 疏水氨基酸占 50.11%, 亲水氨基酸占 49.89%, 且亮氨酸 (占 12.92%) 与丝氨酸 (占 10.59%) 占比较高。共获得 70 个多态性位点, 包括 52 个单一突变位点和 18 个简约信息位点, 共检测到 67 个单倍型, 其中 hap_2 分布类群及数量最多, 属高频单倍型。系统发育树显示, 西藏 16 个牦牛类群聚为两大类, 类乌齐牦牛与其他 13 个牦牛类群聚为一类, 桑桑牦牛与桑日牦牛聚为一类。此外, 对 67 个单倍型的网络关系分析发现存在 2 个不同的集群, 这表明西藏牦牛可能存在 2 个不同的母系起源。本研究结果为牦牛母系起源提供了 *ATP6* 基因层面的分子证据, 且与此前多基因研究结果相互印证, 丰富了牦牛起源演化的证据体系, 也为开展牦牛分子标记辅助育种及推动产业可持续发展提供了重要参考。

关键词: 西藏牦牛; *ATP6* 基因; 遗传多样性; 系统进化

中图分类号: S823.2

文献标识码: A

DOI 编号: 10.19556/j.0258-7033.20250821-02

牦牛作为青藏高原最古老的原始驯化物种之一, 在长期进化过程中形成了独特的高寒适应性特征, 其分布区域主要集中于海拔 3 000 m 以上的高寒草甸草原, 且对低氧、冷季长、暖季短、牧草稀少等严酷生境具有极强的适应性, 是青藏高原重要的畜种资源。牦牛在中国畜牧业历史上占有重要地位, 与高原牧民的生产、生活、文化、宗教密切相关, 且在其分布区域具有不可替代的生态和经济地位^[1]。在遗传学研究领域, 学者们通

过多维度技术体系揭示了西藏牦牛种质特性。早期研究主要基于染色体核型分析^[2]、血液生化标记 (包括白蛋白、乳酸脱氢酶、碱性磷酸酶、淀粉酶)^[3-4]。随着分子生物学技术的发展, 研究手段已拓展至随机扩增多态性 (RAPD)^[5]、限制性片段长度多态性 (RFLP)^[6]、微卫星标记 (SSR)^[7] 及线粒体 DNA 标记^[8] 等方法, 用于评估牦牛品种之间的起源、遗传分化和分类。

线粒体为真核生物所必需, 在能量代谢、关键生物分子合成、介导细胞应激反应、调控程序性死亡及影响衰老进程等多种信号通路中发挥调控作用^[9-10]。较细胞核 DNA 而言, 线粒体 DNA (mtDNA) 序列具有更高的突变率, 是一种有效的分子标记。此外, mtDNA 具有替代率高、多态性丰富、无重组、母系遗传等特点, 使其成为畜禽遗传多样性、遗传结构和亲缘关系研究的重要分子遗传标记。就线粒体能量转化机制而言, *ATP* 合成酶是线粒体能量合成的关键酶, 其转化效率接近 100%, 是自然界已知的最小、最快、最有效的分子马

收稿日期: 2025-08-21; 修回日期: 2025-10-30

资助项目: 第二次青藏高原科学考察 (2019QZKK0501); 四川省科技计划项目 (2024NSFSC0391); 中央高校项目四川省协同创新中心 (ZYN2023103)

作者简介: 张雨晴 (1999-), 女, 汉族, 内蒙古牙克石人, 硕士研究生, 主要研究方向为牦牛遗传育种研究, E-mail: 15648007949@163.com

* 通信作者: 柴志欣 (1984-) 女, 山西大同人, 副研究员, 硕士, 主要从事牦牛遗传育种研究, E-mail: chaizhixin2525@163.com

达^[11]，该酶由水溶性 F1 和跨膜脂溶性 F0 亚基组成，分别由细胞核和线粒体基因编码，且在大肠杆菌、叶绿体和牛线粒体中分别包含 8、9、16 个亚基，尽管亚基数量不同，但其结构在同一物种内保持一致，酶的数量根据组织代谢而变化^[12]。作为 mtDNA 的一部分，ATP 基因具有序列保守性，并且因其无重组和快速累积中性突变的特点而具备特异性，这使它成为构建动物种群系统发育树、解析物种起源与演化规律的理想分子标记。ATP 合酶亚基 6 (ATP6) 基因主要编码线粒体 ATP 合成酶 F0 亚基，是线粒体膜呼吸链的关键基因^[13]，与 ATP 合成酶的活性密切相关，而 ATP 合成效率对动物适应环境（如高海拔、低温等）至关重要，且不同海拔地区的动物种群中，ATP 合成酶基因的氨基酸序列存在差异，可能与动物对环境的适应性进化有关^[14-15]。ATP6 基因表现出很高的氨基酸序列变异，特别是在北极地区。可能由于气候的影响，生活在气候变化极端环境中的牦牛也可能表现出类似的 ATP6 变异。本研究通过对西藏 16 个牦牛群体共计 367 头个体的 mtDNA ATP6 进行了测序和序列分析，探讨其遗传多样性和聚类关系，旨在为有效保护和合理利用西藏牦牛遗传资源提供参考。

1 材料与方法

1.1 样本收集和 DNA 提取 采集西藏 16 个牦牛群体共 367 头个体的耳组织样本如表 1 所示，置于 75% 乙醇中保存带回实验室，于 -80℃ 保存备用，样本信息详见表 1。使用动物组织基因组 DNA 提取试剂盒提取其基因组 DNA，所得产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测，符合后续试验要求后于 -20℃ 保存备用。

1.2 PCR 扩增与测序 以牦牛线粒体基因组 (GenBank: AY684273.2) 为基础，利用 Primer Premier 5.0 设计特异性引物，采用 PCR 技术及直接测序法对 ATP6 基因序列进行扩增及测序。上下游引物序列分别为 5'-GTTAGAGATTGAGAGCAGTATGCT-3' 和 5'-AAAC CACATGGCTAAGCCGG-3'。PCR 扩增体系为 25 μL，其中 DNA 模板 (200~600 ng/μL) 1 μL、上下游引物 (10 pmol/μL) 各 1 μL、2×long Taq 预混 DNA 聚合酶 (Thermo) 12.5 μL (0.625 U)、灭菌 ddH₂O 9.5 μL。PCR 扩增程序：95℃ 预变性 2 min；95℃ 变性 45 s，55℃ 退火 15 s，72℃ 延伸 2 min，共 30 次循环；最后 72℃ 延伸 5 min。PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶检测后

表 1 西藏牦牛样本采集信息

类群	代码	样品数量	采样地点
斯布牦牛	SB	10	拉萨市墨竹工卡县
类乌齐牦牛	LWQ	31	昌都市类乌齐县
嘉黎牦牛	JL	10	那曲市嘉黎县
巴青牦牛	BQ	10	那曲市巴青县
聂荣牦牛	NR	51	那曲市聂荣县
日多牦牛	RD	49	拉萨市墨竹工卡县
错那牦牛	CN	22	山南市错那县
工布江达牦牛	CB	10	林芝市工布江达县
帕里牦牛	PL	10	日喀则市亚东县
桑日牦牛	SR	10	山南市桑日县
隆子牦牛	LZ	42	山南市隆子县
丁青牦牛	DQ	46	昌都市丁青县
江达牦牛	JD	10	昌都市江达县
桑桑牦牛	SS	10	日喀则市昂仁县
康布牦牛	KB	10	日喀则市亚东县
仲巴牦牛	ZB	36	日喀则市仲巴县
总计		367	

利用 DNA 纯化回收试剂盒 (Axygen) 进行分离纯化。将所有纯化片段克隆到 pMD19-T 载体 (Takara) 中，再转化到大肠杆菌 (DH5α) 中。培养 12~16 h，接种所有单菌落，获得重组质粒。提取重组质粒的 DNA，送北京擎科生物技术股份有限公司测序。

1.3 数据分析 利用 DNAMAN 5.2.2 软件，结合 ClustalX 2.0.11^[16] 多重比对程序，将 367 头牦牛个体的 ATP6 核苷酸序列进行比对，并进行人工校对。使用 MEGA 5.05^[17] 计算序列内的核苷酸多态性及 Kimura 遗传距离，并通过邻接法对所有单倍型构建系统发育树。

使用 DnaSP 5.10 软件^[18] 估算群体内的单倍型、单倍型多样性和核苷酸多样性。利用 Network 4.6.1.1 软件^[19] 构建中间联接网络。

2 结果

2.1 核苷酸变异、氨基酸组成和单倍型多样性 对 367 头西藏牦牛的 mtDNA ATP6 基因全序列进行了遗传多样性分析。序列分析显示，4 种核苷酸的平均比例分别为 T (28.6%)、C (26.7%)、A (33.3%) 和 G (11.4%)，其中 A+T 含量 (61.9%) 显著高于 G+C 含量 (38.1%)，表明存在明显的碱基组成偏好。在所有分析的 ATP6 序列中，共检测到 233 个转换、10 个颠换和 6 个插入事件。进一步分析其编码的氨基酸组成，结果显示疏水氨

氨酸比例（50.11%）略高于亲水氨基酸（49.89%），其中亮氨酸（12.92%）与丝氨酸（10.59%）含量最为丰富（表 2）。共鉴定出 70 个多态性位点，其中 52 个单一突变位点和 18 个简约信息位点。该基因的核苷酸多样性为 0.001 81，表明西藏牦牛具有相对丰富的遗传多样性（表 3）。此外，基于 70 个多态性位点共鉴定出 67 个单倍型（Hap_1~Hap_67），单倍型多样性范围为 0.000~0.756，平均值为 0.534（表 3），显示出西藏牦牛具有较高的单倍型多样性。其中，高频单倍型 Hap_2 在所有 16 个牦牛群体中均有分布，且个体数量最多，其次为 Hap_1，低频单倍型 53 个（如 Hap_3、Hap_5、Hap_6 等）均只在一个个体中检出（表 4）。

表 2 西藏牦牛 *ATP6* 基因序列的氨基酸组成

氨基酸	占比,%	氨基酸	占比,%	氨基酸	占比,%	氨基酸	占比,%
Ala	5.74	Gly	4.31	Met	5.19	Ser	10.59
Cys	0.95	His	3.83	Asn	7.65	Thr	8.67
Asp	0.95	Ile	5.25	Pro	7.12	Val	1.92
Glu	1.47	Lys	1.45	Gln	7.64	Trp	1.92
Phe	5.74	Leu	12.92	Arg	1.91	Tyr	4.78

表 3 西藏牦牛 *ATP6* 基因单倍型多样性和核苷酸多样性

类群	单倍型数(H)	单倍型多样性(Hd)	核苷酸多样性(Pi)
聂荣牦牛	16	0.646	0.00205
日多牦牛	8	0.366	0.00093
丁青牦牛	19	0.660	0.00237
隆子牦牛	7	0.527	0.00194
仲巴牦牛	9	0.481	0.00173
类乌齐牦牛	10	0.684	0.00272
错那牦牛	5	0.407	0.00091
巴青牦牛	4	0.533	0.00245
斯布牦牛	2	0.200	0.00088
康布牦牛	1	0.000	0.00000
桑桑牦牛	5	0.756	0.01678
桑日牦牛	2	0.533	0.00235
江达牦牛	4	0.644	0.00170
工布江达牦牛	4	0.533	0.03243
帕里牦牛	2	0.200	0.00029
嘉黎牦牛	5	0.756	0.00141
总计	67	0.534	0.00181

2.2 遗传距离、系统发育树和进化关系 基于 Kimura 双参数模型，对西藏 16 个牦牛类群间的遗传距离进行分析，结果如表 5 所示，可见各类群间遗传距离变异范围为 0.000 1~0.003 4，其中，桑桑牦牛（SS）和日多牦牛（RD）与其他类群间的遗传距离较大，而康布牦

牛（KB）和工布江达牦牛（GB）与其他类群间的遗传距离较小。基于 Kimura 双参数模型计算的遗传距离，采用邻接法（NJ）和最大似然法（ML）构建 16 个牦牛群体的系统发育树，结果显示，所有群体可划分为两大分支（图 1），其中第一大分支包含 14 个类群，该分类中类乌齐牦牛（LWQ）单独形成一支，而桑日牦牛（SR）与桑桑牦牛（SS）共同构成了第二大分支。进一步通过 Network 4.6.1.1 软件，基于序列变异位点构建了 mtDNA *ATP6* 的 67 个单倍型的网络关系图（图 2）。结果显示，这些单倍型可划分为 2 个主要聚类：Cluster I 和 Cluster II。Cluster I 包含了 54 个单倍型，占总数的 80.60%，Cluster II 则包含了其余 13 个单倍型。这一聚类结构表明，西藏 16 个牦牛类群可能主要来源于 2 个母系遗传起源。

3 讨论

3.1 西藏牦牛 mtDNA *ATP6* 的氨基酸组成 核苷酸变异、氨基酸组成和单倍型多样性是在分子水平上评价群体遗传多样性的基本指标。本研究对 367 头西藏牦牛的 mtDNA *ATP6* 序列进行了分析，发现 *ATP6* 基因序列是 mtDNA 基因组中富含 A+T 的区域，与 mtDNA 中的 D-loop 区^[20]、*COIII*^[21] 以及 *Cytb*^[22] 碱基组成情况类似。蛋白质的疏水性氨基酸含量较亲水性氨基酸含量高，较高的疏水氨基酸含量可能预示着该蛋白具有一个紧密的疏水核心，这不仅驱动其自发折叠，也为形成特定的疏水相互作用或膜结合功能区提供了结构基础。367 头西藏牦牛的核苷酸多样性为 0.001 81，这与西藏牦牛 *ATP8* 的核苷酸多样性（0.001 89）相当^[23]，表明它们可能经历了相似强度的进化压力，*ATP6* 与 *ATP8* 作为线粒体 ATP 合酶复合体的关键组分，在西藏牦牛中很可能因强烈的功能约束而发生了协同进化。在 *ATP6* 氨基酸序列中，亮氨酸和丝氨酸是含量最丰富的氨基酸。亮氨酸在动物生理过程和营养代谢中发挥着重要作用，其功能主要包括：作为能量代谢底物、调节免疫反应以及调控蛋白质代谢^[24]，特别是在降低骨骼肌蛋白质分解方面具有调节作用^[25]。高剂量的亮氨酸在体内可以刺激肌肉蛋白质的合成，同时也可以抑制骨骼肌和肝脏中蛋白质的降解^[26]。牦牛肉具有高蛋白、低脂肪的特点，或许源于牦牛肉中丰富的亮氨酸能促进体内蛋白质的合成，这可能是牦牛肉蛋白质含量高的重要原因。由

表 4 西藏 16 个牦牛类群 ATP6 核苷酸序列单倍型分布

单倍型	单倍型分布类群（个体数量，头）	单倍型	单倍型分布类群（个体数量，头）
Hap_1	LZ（8）、NR（6）、LWQ（5）、SR（4）、RD（3）、ZB（2）、SS（2）、DQ（2）、BQ（1）、GB（1）、JD（1）、SB（1）	Hap_35	LWQ（1）、ZB（1）
Hap_2	RD（39）、NR（30）、LZ（28）、DQ（27）、ZB（26）、CN（17）、LWQ（17）、KB（10）、SB（9）、PL（9）、GB（7）、BQ（7）、SR（6）、JD（6）、JL（5）、SS（5）	Hap_36	LWQ（1）
Hap_3	BQ（1）	Hap_37	LWQ（1）
Hap_4	BQ（1）、DQ（1）	Hap_38	LWQ（1）
Hap_5	CN（1）	Hap_39	LZ（1）
Hap_6	CN（1）	Hap_40	LZ（2）
Hap_7	CN（1）	Hap_41	LZ（1）
Hap_8	CN（2）	Hap_42	LZ（1）
Hap_9	DQ（1）	Hap_43	NR（1）
Hap_10	DQ（1）	Hap_44	NR（1）、ZB（1）
Hap_11	DQ（1）	Hap_45	NR（1）
Hap_12	DQ（1）	Hap_46	NR（1）
Hap_13	DQ（1）	Hap_47	NR（1）
Hap_14	DQ（1）	Hap_48	NR（1）
Hap_15	DQ（1）	Hap_49	NR（1）
Hap_16	DQ（1）	Hap_50	NR（1）
Hap_17	DQ（1）	Hap_51	NR（1）
Hap_18	DQ（1）、JL（1）、NR（1）、PL（1）、RD（1）、LWQ（1）	Hap_52	NR（1）
Hap_19	DQ（1）	Hap_53	NR（1）
Hap_20	DQ（1）	Hap_54	NR（1）
Hap_21	DQ（1）	Hap_55	SS（1）
Hap_22	DQ（1）	Hap_56	SS（1）
Hap_23	DQ（1）	Hap_57	SS（1）
Hap_24	DQ（1）	Hap_58	ZB（1）
Hap_25	GB（1）	Hap_59	ZB（2）
Hap_26	GB（1）	Hap_60	ZB（1）
Hap_27	JD（2）	Hap_61	ZB（1）
Hap_28	JD（1）	Hap_62	ZB（1）
Hap_29	JL（2）	Hap_63	RD（2）
Hap_30	JL（1）	Hap_64	RD（1）
Hap_31	JL（1）、NR（2）	Hap_65	RD（1）
Hap_32	LWQ（2）、LZ（1）	Hap_66	RD（1）
Hap_33	LWQ（1）	Hap_67	RD（1）
Hap_34	LWQ（1）		

ATP6 编码的蛋白质在 ATP 合酶中发挥着重要作用，是能量生成不可或缺的组成部分^[27]。牦牛具有抗寒、抗饥生理特性，这与体内高效的能量代谢密切相关，其中支链氨基酸如亮氨酸、异亮氨酸和缬氨酸能在肌肉等组织中直接代谢供能，是其重要的能量来源之一^[28]，同时也可调节血糖水平，加速运动后的肌肉恢复。丝氨酸

是一种非必需氨基酸，在脂质和脂肪酸代谢中起重要作用，同时也促进抗体和免疫球蛋白的产生，从而对免疫系统起重要的维持作用^[29]。ATP6 的氨基酸序列变异是否影响 ATPase 的结构与功能，这种潜在的影响是否与牦牛对高寒低氧环境的特殊适应性有关，以及将 ATP6 基因作为影响牦牛高寒适应性的候选基因也是今后科学

表 5 西藏 16 个牦牛类群的遗传距离（下三角）和核苷酸分歧度（上三角）

类群	GB	DQ	BQ	CN	LWQ	LZ	NR	JL	KB	PL	SR	ZB	JD	SB	SS	RD
GB	0.00	0.59	0.75	0.40	0.92	0.76	0.65	0.50	0.34	0.36	1.14	0.62	0.62	0.53	1.03	1.46
DQ	1.89		0.77	0.41	0.91	0.77	0.66	0.53	0.36	0.39	1.12	0.63	0.64	0.54	1.02	1.44
BQ	1.90	2.35		0.60	1.01	0.89	0.81	0.68	0.57	0.58	1.17	0.78	0.79	0.71	1.10	1.52
CN	1.21	1.73	1.81		0.80	0.61	0.48	0.47	0.21	0.29	1.07	0.44	0.47	0.33	0.94	1.31
LWQ	2.21	2.65	2.55	2.19		1.02	0.95	0.86	0.77	0.79	1.21	0.94	0.94	0.88	1.17	1.57
LZ	1.72	2.18	2.12	1.64	2.34		0.82	0.68	0.58	0.59	1.18	0.80	0.80	0.73	1.11	1.53
NR	1.74	2.21	2.20	1.60	2.46	2.00		0.58	0.43	0.46	1.15	0.69	0.69	0.61	1.06	1.46
JL	1.48	2.00	2.08	1.19	2.46	1.91	1.86		0.38	0.44	1.11	0.54	0.56	0.46	0.98	1.35
KB	0.74	1.26	1.34	0.47	1.73	1.17	1.14	0.74		0.14	1.06	0.39	0.42	0.26	0.92	1.43
PL	0.89	1.40	1.49	0.59	1.87	1.32	1.28	0.86	0.15		1.06	0.41	0.45	0.30	0.93	1.29
SR	2.17	2.58	2.41	2.26	2.47	2.19	2.36	2.53	1.78	1.93		1.14	1.16	1.11	1.26	1.76
ZB	1.57	2.05	2.04	1.42	2.31	1.85	1.89	1.69	0.95	1.10	2.24		0.66	0.57	1.04	1.48
JD	1.54	2.04	2.05	1.36	2.36	1.87	1.89	1.63	0.89	1.04	2.38	1.72		0.58	1.05	1.50
SB	1.10	1.59	1.61	0.92	1.91	1.42	1.44	1.19	0.45	0.59	1.87	1.27	1.25		1.00	1.45
SS	2.38	2.81	2.68	2.41	2.80	2.46	2.60	2.68	1.93	2.08	2.53	2.47	2.53	2.08		1.68
RD	2.23	2.68	2.83	1.68	3.12	2.65	2.56	1.93	1.48	1.33	3.27	2.43	2.37	1.93	3.42	0.00

注：表中所有数值均需乘以 10⁻³。

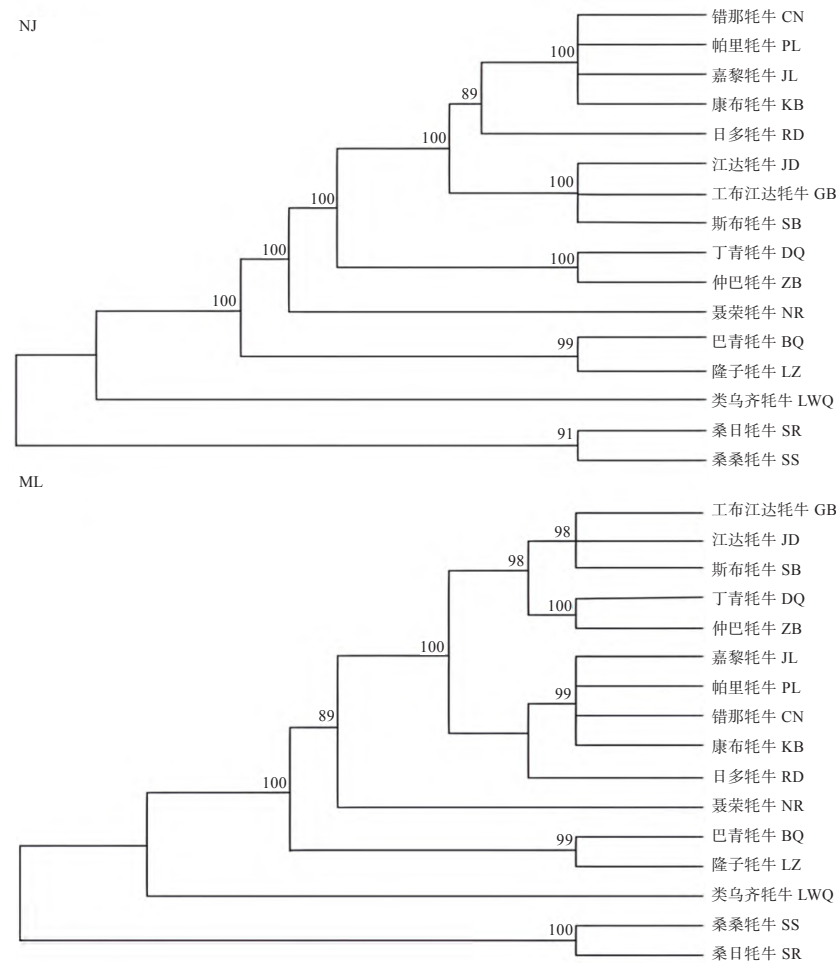
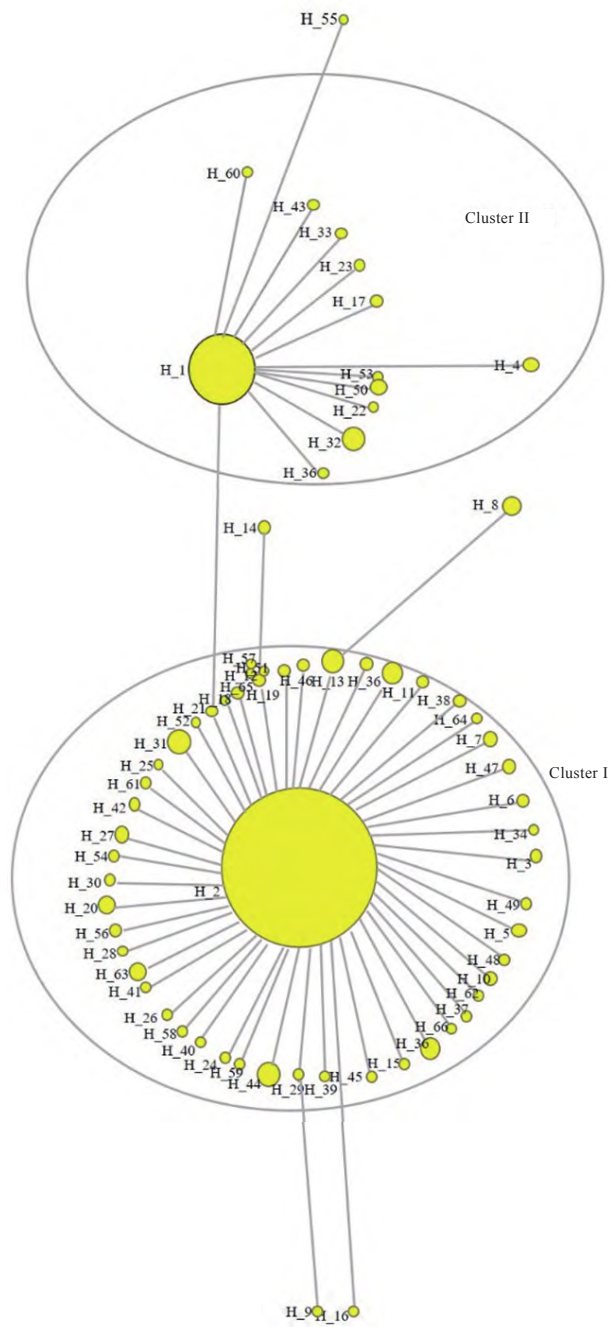


图 1 基于 *ATP6* 基因序列的西藏牦牛类群系统发育树



每个圆圈代表一种单倍型，其大小与该种单倍型出现的频率成正比。

图 2 西藏 16 个牦牛类群 ATP6 序列 67 个单倍型的网络关系

研究的一个重要内容。

3.2 西藏牦牛 mtDNA ATP6 的遗传多样性 在 ATP6 序列分析中，共检测到 70 个多态性位点和 67 种单倍型，平均单倍型多样性为 0.534，与先前针对 mtDNA D-loop 区^[20]、Cytb 基因^[22]的研究结果相比，ATP6 基因表现出较低的单倍型多样性。ATP6 是线粒体 ATPase 的一个关键亚基，直接参与能量（ATP）的合成。对于生活

在高原缺氧、寒冷、低营养环境的牦牛来说，能量代谢效率是生存和繁衍的核心因素。因此，该基因的功能性约束极强，绝大多数突变可能是有害的，以致其较低的有利单倍型被固定下来。但同时该基因具有较高的核苷酸多样性，这一结果表明，ATP6 基因在进化速率上相较于 D-loop 和 Cytb 较慢，而与 COIII 基因^[21]较为接近。此外，这种较高的核苷酸多样性可能源于西藏牦牛群体曾经历过种群波动（如瓶颈效应），随后发生种群扩张，在扩张过程中，各种群随机固定了不同的中性突变，最终导致整体核苷酸多样性水平升高。

本研究进一步揭示了西藏牦牛具有丰富的遗传多样性，ATP6 中存在多个单倍型，其中部分单倍型为西藏特定牦牛类群所特有，该结果与 Wang 等^[27]的研究一致。这些特有单倍型的出现可能与西藏牦牛对高海拔环境的适应性进化有关。此外，工布江达牦牛表现出最高的核苷酸多样性，工布江达县隶属于西藏自治区林芝市，该地区气候温暖湿润，森林与草场资源丰富，水资源充沛，优越的自然生态环境可能为该群体维持较大的有效群体规模提供了条件，从而减少了遗传漂变的影响，有利于遗传多样性的保存。

3.3 西藏牦牛 mtDNA ATP6 的聚类关系 本研究基于 Kimura 双参数模型的聚类分析表明，西藏 16 个牦牛类群可聚为两大类，其中类乌齐牦牛与其他 13 个牦牛群体聚为一类，桑桑牦牛与桑日牦牛则聚为另一类，其中在的第一大类中类乌齐牦牛独自形成一个分支，进一步说明其在西藏牦牛群体中具有的独特遗传地位。据系统发育树的聚类结果，来自同一地理区域的西藏牦牛并未完全聚集，表明其遗传结构与地理分布之间存在一定程度的非一致性。16 个西藏牦牛类群的单倍型聚为 2 个簇，表明西藏牦牛可能存在 2 个不同的母系，这与张成福等^[20]、姬秋梅等^[22]、杨琴等^[23]报道的结果一致。该发现揭示了 ATP6 序列与西藏牦牛种群地理分布之间的部分相关性，可能与牦牛群体之间的基因流动和家牦牛的共同祖先有关。在本研究中，某些西藏牦牛种群的样本数量有限，可能影响了研究结果的准确性。

4 结 论

本研究基于 mtDNA ATP6 序列对西藏牦牛的遗传多样性和分类进行了研究，发现西藏牦牛具有较高的遗传多样性，共识别 70 个多态位点并检出 67 种单倍型，

其中 hap_2 为优势类型。系统发育与单倍型网络分析均显示, 西藏 16 个牦牛群体可分为 2 大类, 类乌齐牦牛与多数群体聚为一支, 桑桑与桑日牦牛聚为另一支, 提示西藏牦牛可能具有 2 个不同的母系起源。

参考文献:

- [1] Wiener G, Han J L, Long R J, *et al.* The yak[M]. Bangkok: RAP Publication, 2003: 1-4.
- [2] 钟金城, 陈智华, 邓晓莹, 等. 西藏牦牛染色体研究 [J]. 西南民族大学学报·自然科学版, 1996, 22(1): 30-32.
- [3] 陈智华, 钟金城, 胡欧明, 等. 西藏牦牛和黄牛遗传多态性的研究 [J]. 西南民族大学学报·自然科学版, 1996, 25(3): 274-277.
- [4] 李齐发, 谢庄, 强巴央宗, 等. 西藏牦牛血液酶活性与产奶量的相关性研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2003, 39(6): 19-20.
- [5] 柴志欣, 赵上娟, 姬秋梅, 等. 西藏牦牛的 RAPD 遗传多样性及其分类研究 [J]. 畜牧兽医学报, 2011, 42(10): 33-39.
- [6] Buntjer J B, Otsen M, Nijman I J, *et al.* Phylogeny of bovine species based on AFLP fingerprinting[J]. Heredity, 2002, 88(1): 46-51.
- [7] 徐宇辉, 马志杰, 郭卫兴, 等. 牦牛全基因组单倍型微卫星分布特征分析 [J]. 中国农业大学学报, 2024, 29(3): 134-142.
- [8] 李广祯, 马志杰, 陈生梅, 等. 野牦牛及青海地方牦牛品种全线粒体基因组母系遗传多样性、分化及系统发育分析 [J]. 畜牧兽医学报, 2022, 53(5): 1420-1430.
- [9] Spinelli J B, Haigis M C. The multifaceted contributions of mitochondria to cellular metabolism[J]. Nat Cell Biol, 2018, 20(7): 745-754.
- [10] Bock F J, Tait S W G. Mitochondria as multifaceted regulators of cell death[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21: 85-100.
- [11] Yang F Y. ATP synthase: the world's tiniest rotary protein motor[J]. J Mol Biol, 2005, 2(4): 243-249.
- [12] 孙润广. F1F0-ATP 酶的超分子结构和功能的研究 [J]. 陕西师范大学学报 (自然科学版), 2003, 31(1): 71-75.
- [13] Mishmar D, Ruiz-Pesini E, Golik P, *et al.* Natural selection shaped regional mtDNA variation in humans[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, 100(1): 171-176.
- [14] Chen Y, Gong L, Liu X Y, *et al.* Mitochondrial DNA genomes revealed different patterns of high-altitude adaptation in high-altitude Tajiks compared with Tibetans and Sherpas[J]. Sci Rep, 2020, 10(1): 10592.
- [15] Zhang Q, Zhang L, Zhao T X, *et al.* Gene sequence variations and expression patterns of mitochondrial genes are associated with the adaptive evolution of two Gynaephora species (Lepidoptera: Lymantriinae) living in different high-elevation environments[J]. Gene, 2017, 610: 148-155.
- [16] Larkin M A, Blackshields G, Brown N P, *et al.* Clustal W and Clustal X version 2.0[J]. Bioinformatics, 2007, 23: 2947-2948.
- [17] Tamura K, Peterson D, Peterson N, *et al.* MEGA5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods[J]. Mol Biol Evol, 2011, 28(10): 2731-2739.
- [18] Librado P, Rozas J. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data[J]. Bioinformatics, 2009, 25(11): 1451-1452.
- [19] Bandelt H J, Forsrer P, Röhl A. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies[J]. Mol Biol Evol, 1999, 16(1): 37-48.
- [20] 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.
- [21] 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.
- [22] 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.
- [23] 杨琴, 柴志欣, 姬秋梅, 等. 西藏牦牛 mtDNA ATP8 全序列测定及遗传多样性分析 [J]. 河南农业大学学报, 2015, 49(3): 368-373.
- [24] 毛湘冰. 亮氨酸与瘦素协同调节生长鼠骨骼肌蛋白质代谢的研究 [D]. 北京: 中国农业大学, 2010.
- [25] 毛湘冰, 余冰, 陈代文, 等. 亮氨酸调节动物骨骼肌蛋白质分解的研究进展 [J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(17): 73-75.
- [26] Garlick P J. The role of leucine in the regulation of protein metabolism[J]. J Nutr, 2005, 135(6): 1553-1556.
- [27] Wang J, Shi Y, Elzo M A, *et al.* Genetic diversity of ATP8 and ATP6 genes is associated with high-altitude adaptation in yak [J]. Mito DNA Part A, 2018, 29(3): 385-393.
- [28] 赵称赫, 敖日格乐, 王纯洁, 等. 库布齐沙漠蒙古牛肉品质及肌肉矿物质元素含量分析 [J]. 中国畜牧兽医, 2016, 43(4): 980-984.
- [29] Gao X, Lee K, Reid M A, *et al.* Serine availability influences mitochondrial dynamics and function through lipid metabolism[J]. Cell Rep, 2018, 22(13): 3507-3520.

(责任编辑: 赵楠)