

利用微卫星标记进行凉山半细毛羊亲权鉴定的研究

高爱保^{1,2}, 吴登俊¹

(1. 四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014; 2. 山西晋中学院, 晋中 030600)

摘要:经多重 PCR 扩增 20 个微卫星标记, 对凉山半细毛羊进行亲权鉴定。荧光标记检测扩增产物, 并用 Cervus 2.0 分析。结果表明: 当双亲未知时, 累积排除概率为 0.998666, 在父系半同胞基础上进行母子亲权鉴定, 累积排除概率为 0.999994, 置信度为 95%, 最终从 8 个候选父亲中找出 215 个后裔的父亲, 又从 147 个候选母亲中找出它们的母亲, 构建了一个混合家系图谱, 为进行连锁分析、QTL 定位奠定了基础, 并对研究绵羊群体结构、历史及多样性有重要意义。

关键词:凉山半细毛羊; 微卫星标记; 多重 PCR; 亲权鉴定

中图分类号: Q953

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2005)01-0085-06

Microsatellite Markers for Paternity Testing of Liangshan Semi-fine Wool Sheep

GAO Ai-Bao^{1,2}, WU Deng-Jun¹

(1. *Animal Science and Technology College, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China;*

2. Shanxi Jinzhong College, Jinzhong 030600, China)

Abstract: The usefulness of multiplex polymerase chain reaction was evaluated and fluorescent detection with 20 microsatellites was used for paternity testing of Liangshan semi-fine wool sheep. The results in Cervus 2.0 indicated that the combined exclusion probability was 0.998666 when parents were both unknown. If father was known, combined exclusion probability was 0.999994, with confidence level of 95%. Finally, the biological parents of 215 individuals in offspring were found from eight candidate fathers and 147 candidate mothers, and a mixed pedigree was constructed. It is useful for linkage analysis of sheep chromosomes and QTL location, also for the study of population structure, history, and diversity.

Key words: Liangshan semi-fine wool sheep; microsatellite marker; multi-PCR; paternity testing

亲权鉴定又称作亲子鉴定 (parentage testing), 指应用医学、遗传学和生物学等理论、技术来检测分析父母与子女之间的遗传关联, 判断他们是否存在亲生关系^[1]。不仅在法医学上有特殊的用途, 而且在动物遗传育种繁殖领域也同样重要。在现代动物育种中, 由于要利用各种亲属的表型资料, 准确的系

谱十分重要, 但有些情况下我们不能准确地确认某些个体的父母, 如放牧方式饲养所产的羊羔, 采用混合精液授精得到的后代, 复配的母畜所产的仔, 胚胎移植的后代, 耳号丢失等。利用微卫星位点的多态性, 计算排除概率来进行血缘鉴定和血缘控制, 是明确个体间亲缘关系、建立正确系谱的重要手段^[2~4]。

收稿日期: 2004-01-06; 修回日期: 2004-05-21

基金项目: 德国联邦科技与教育部 (BMBF) 资助 (编号: CHN 00316) [Supported by Ministry of Federal Science, Technology and Education Foundation (Bundesministerium für Bildung und Forschung, BMBF) of Germany (No. CHN 00316)]

作者简介: 高爱保 (1973—) 男, 山西榆次人, 硕士, 专业方向: 动物遗传育种。E-mail: gaoaibao@163.com

通讯作者: 吴登俊 (1956—) 男, 教授, 博士生导师, 研究方向: 动物分子遗传育种。Tel: 0835-2882030

凉山半细毛羊是在亚热带、海拔 2000~3200m 高山地区、冷湿气候条件下培育的新品种,是我国培育成功的第一个长毛型粗档半细毛品种,生产性能高、产品品质好、经济效益显著,具有广阔的市场前景^[5]。本研究根据已发表的绵羊第三代基因连锁图谱,选择了绵羊第 1、2、3 和 9 号染色体上 20 个微卫星标记 *BL0004*、*BM1577*、*BM2830*、*BM3501*、*BM6465*、*BM6506*、*BMC1009*、*BMS0887*、*BMS1636*、*BMS1678*、*BMS2321*、*BMS2626*、*ILSTS004*、*ILSTS0049*、*ILSTS008*、*ILSTS22*、*OarCP0034*、*OarCP43*、*OarFCB0226*、*OarFCB20* 进行实验分析,以期揭示出被测个体的真正血缘关系,建立精确的品种系谱图。同时也是一种方法的探讨,适用于各种纷繁复杂的家系及传统方法不能鉴定的群体。

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验用羊来自凉山半细毛羊核心育种场(布托县),种公羊 8 只、候选母亲 147 只,后代 215 只,共

353 只,用采样剪取羊耳朵组织块少许作为实验材料(-20℃ 冰箱中保存)。

1.2 实验方法

1.2.1 DNA 提取

提取 DNA 模板用传统酚-氯仿法,共抽提 4 次,轻摇 20min,然后于 6000 rpm 4℃ 离心 15 min,取上清液 4℃ 保存备用^[4~6]。

1.2.2 微卫星标记与引物合成

微卫星标记具有高度多态性,在基因组上分布均匀,不同物种和种间的高度同源保守性,为研究结果的应用开辟了较好的前景。目前已经构建的动物基因图谱都以微卫星标记为基础,并已定位在确定的染色体上,知道其相对位置即它们的遗传距离 (centimorgan, cM),根据微卫星标记设计引物,选取 4 条染色体上平均图距约 20 cM 的 47 个标记,由德国 MWG-Biotech AG 公司合成,上游引物用 3 种荧光染料 FAM、TET 和 HEX 进行标记。经多重 PCR 优化组合,筛选出 20 个标记的多重 PCR 组合,一次获得理想扩增效果,标记性质见表 1。

表 1 选用的 20 个标记的性质

Table 1 Characters of 20 selected markers

| 微卫星基因座 | 染色体 | 杂合度 | 等位基因数 | 引物 1 | 引物 2 |
|-------------------|------------|----------------|---------------|-----------------------------|---------------------------|
| Locus | Chromosome | Heterozygosity | Allele number | Primer 1 | Primer 2 |
| <i>BM6465</i> | 1 | 78 | 8 | AGGAGCAAGCATCTTTAATGTG | TGCCAGGCTATAGAAGGACTT |
| <i>BM6506</i> | 1 | 52 | 10 | GCACGTGGTAAAGAGATGGC | AGCAACTTGAGCATGGCAC |
| <i>BMS1636</i> | 1 | 66 | 5 | CATTATTCAGTGCCTTTGGATG | GTGTTGGAGTCTTCAGCAGG |
| <i>BMS2321</i> | 1 | 58 | 7 | TCACTTCACAAAATACACAATGC | CCAAACTCCATAATCACCACCTT |
| <i>ILSTS004</i> | 1 | 82 | 8 | CTTAAAACTGTCTTTCTTCC | TAGTGTGTATTGGTTTCTCC |
| <i>BMS0887</i> | 2 | 72 | 6 | AAGCTAACTGATATTCTGCCACA | TTCCCTCTCTTCCCTCTCC |
| <i>BMS2626</i> | 2 | 69 | 3 | AGACCATGCTTAACTGGGTAGA | GACATTACAAACTTTAGCCTCACA |
| <i>OarFCB0226</i> | 2 | 79 | 7 | CTATATGTTGCCTTTCCCTTCTCCTGC | GTGAGTCCCATAGAGCATAAGCTC |
| <i>OarFCB20</i> | 2 | 73 | 11 | AAATGTGTTTAAAGATTCCATACAGTG | GGAAAACCCCATATATACCTATAC |
| <i>BL0004</i> | 3 | 72 | 8 | AAATTTTTTCATCCTTCTTTCTGAC | TCACCCTGACTGTGAATGC |
| <i>BM2830</i> | 3 | 44 | 3 | AATGGGCGTATAAACACAGATG | TGAGTCTGTCCACCATCAGC |
| <i>BM3501</i> | 3 | 67 | 11 | CCAACGGGTTAAAAGCACTG | TTCTGTCTCTTCTCATCTG |
| <i>BMC1009</i> | 3 | 58 | 5 | GCACCAGCAGAGAGGACATT | ACCCGCTATTGTCCATCTTG |
| <i>ILSTS0049</i> | 3 | 50 | 9 | CAATTTTCTTGTCTCTCCCC | GCTGAATCTTGTCAAACAGG |
| <i>ILSTS22</i> | 3 | 48 | 3 | AGTCTGAAGGCTGAGAACC | CTTACAGTCTTGGGGTTGC |
| <i>OarCP0034</i> | 3 | 82 | 3 | GCTGAACAATGTGATATGTTTCAGG | GGGACAATACTGTCTTAGATGCTGC |
| <i>OarCP43</i> | 3 | 64 | 3 | GCTGAACAATGTGATATGTTTCAGG | GGGACAATACTGTCTTAGATGCTGC |
| <i>BM1577</i> | 9 | 67 | 9 | AGGAGCGAACCCTAGGAGG | TGGACTTTAGGCTTGTTTAGCC |
| <i>BMS1678</i> | 9 | 81 | 8 | TCTTCTCTGCACTTTGGTTGC | ATAGCTGACATCCACTGGGC |
| <i>ILSTS008</i> | 9 | 48 | 2 | GAATCATGGATTTTCTGGGG | TAGCAGTGAGTGAGGTTGGC |

1.2.3 多重 PCR 程序^[6~8]

PCR 反应体系为:DNA 2 μL,多重引物混合物 8 μL, *Taq-Mix* 酶 5 μL (包括 *Taq* 酶、dNTP、H₂O、10× Buffer、MgCl₂),扩增程序:95℃ 10 min,94℃ 45 s,55℃ 1 min 30 s,72℃ 1 min, 35 Cycles,72℃

10 min,4℃ 保存。

1.2.4 PCR 产物的检测

(1)在 0.5 mL ABI 专用管中添加 H₂O、HiDi、Standard 分别为 3.35 μL、11 μL、0.2 μL。(2)分别添加多重 PCR 产物 0.6 μL。(3)ABI Prism™ 310 Ge-

netic Analyzer 检测,电压 15 kV,温度 60℃,检测荧光的激光强度 9.9 mW。

1.2.5 亲子鉴定分析

由 ABI310 检测得到的原始数据,用 GeneScan3.1 分析后,再用 Genotyper2.5 获得基因座的等位基因和基因型,建立基因型数据库。用 Cervus 2.0 分析获得每一位点等位基因频率、杂合度、期望杂合度、多态信息含量 (Bolstein *et al.*, 1980) 及平均排除概率;同时计算出 Hardy-Weinberg 平衡的 χ^2 值及零等位基因频率 (Guo & Thompson, 1992)。然后进行亲权分析,估计一系列共显性基因座的分辨能力,每个候选父母的 LOD 值,LOD 正值越大越可能是真实的父母^[9~11]。

标记在群体中杂合度 (H) 计算公式: $H =$

$$1 - \sum_{i=1}^n q_i^2$$

多态信息含量 (PIC) 计算公式: $PIC = 1 -$

$$\sum_{i=1}^n q_i^2 - \sum_{i=1}^{n-1} \sum_{j=i+1}^n 2q_i^2 q_j^2$$

在个体父母双方都不知道情况下,亲子鉴定的概率计算:

$$P = 1 + 4 \sum_{i=1}^n P_i^4 - 4 \sum_{i=1}^n P_i^5 - 3 \sum_{i=1}^n P_i^6 -$$

$$8 \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right)^2 + 8 \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right) \left(\sum_{i=1}^n P_i^3 \right) + 2 \left(\sum_{i=1}^n P_i^3 \right)^2$$

只有一个单亲记录能用时的排除概率: $P = 1 -$

$$4 \sum_{i=1}^n P_i^2 + 2 \left(\sum_{i=1}^n P_i^2 \right)^2 + 4 \sum_{i=1}^n P_i^3 - 3 \sum_{i=1}^n P_i^4$$

2 实验结果

微卫星 PCR 产物的电泳图谱,对于每个个体来说,每个标记只有一个或两个峰值,一个表示纯合子,两个表示杂合子。如图 1 中个体 1-255(子代)的 OarFCB20 基因座为杂合型 (84, 100),与两个候选

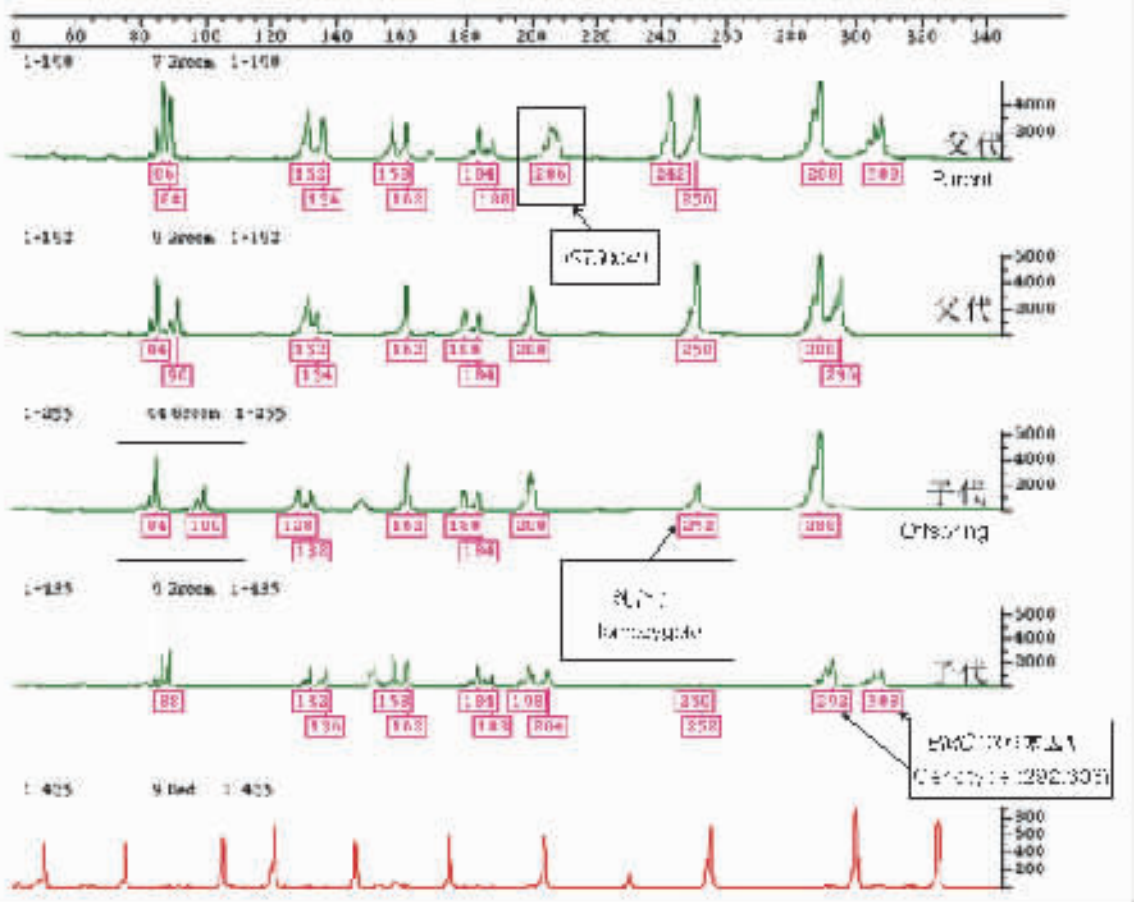


图 1 亲权鉴定中基因分型
绿色为 TET 标记; 红色为标准。
Fig.1 Genotyping in parentage testing
TET appears Green; standard appears red.

公羊 1-190 和 1-192 比较, 1-255 的等位基因 84 只能来自 1-192, 而等位基因 100 来自其母羊, 由此可排除 1-190 而判定 1-192 为其父亲; 同样子代 1-435 的各位点比较可判定 1-190 为其父亲。为防止自动读取数据时出现的错误, 这些位点都需要经过人工

校正, 如 1-190 个体第五个基因座 *ISTS0049* 自动读取基因型为 (206, 206), 经比较可知前面小峰未读出, 应判为 (204, 206)。

将校正好的基因型值用 Cervus2.0 软件处理, Allele frequency analysis 运行结果见表 2。

表 2 Cervus 分析结果
Table 2 Analysis result in Cervus

| 微卫星基因座 Locus | 等位 基因数 k | 基因 分型数 N | 杂合子数 Hets | 纯合子数 Homs | 杂合度 | | 多态信 息含量 PIC | 排除概率 | | 哈温平衡 HW | 零等位 基因频率 Null freq. |
|---|----------------|----------------|--------------|--------------|----------------|-------|-------------------|--------------------|---------|------------|---------------------------|
| | | | | | Heterozygosity | | | Exclusionary power | | | |
| | | | | | H(O) | H(E) | | Excl(1) | Excl(2) | | |
| <i>BL0004</i> | 8 | 353 | 191 | 162 | 0.541 | 0.517 | 0.481 | 0.147 | 0.308 | NA | -0.0297 |
| <i>BM1577</i> | 10 | 352 | 222 | 130 | 0.631 | 0.603 | 0.572 | 0.217 | 0.397 | NA | -0.0309 |
| <i>BM2830</i> | 6 | 351 | 241 | 110 | 0.687 | 0.761 | 0.721 | 0.358 | 0.536 | NA | +0.0523 |
| <i>BM3501</i> | 9 | 347 | 247 | 100 | 0.712 | 0.765 | 0.735 | 0.386 | 0.567 | NA | +0.0350 |
| <i>BM6465</i> | 9 | 353 | 246 | 107 | 0.697 | 0.666 | 0.635 | 0.273 | 0.458 | NA | -0.0360 |
| <i>BM6506</i> | 8 | 287 | 157 | 130 | 0.547 | 0.583 | 0.542 | 0.192 | 0.360 | NA | +0.0268 |
| <i>BMC1009</i> | 9 | 353 | 271 | 82 | 0.768 | 0.775 | 0.747 | 0.400 | 0.582 | NA | +0.0031 |
| <i>BMS0887</i> | 7 | 353 | 212 | 141 | 0.601 | 0.577 | 0.519 | 0.178 | 0.329 | NA | -0.0228 |
| <i>BMS1636</i> | 7 | 351 | 269 | 82 | 0.766 | 0.786 | 0.752 | 0.403 | 0.581 | NA | +0.0125 |
| <i>BMS1678</i> | 11 | 353 | 319 | 34 | 0.904 | 0.835 | 0.814 | 0.504 | 0.674 | NA | -0.0425 |
| <i>BMS2321</i> | 5 | 315 | 64 | 251 | 0.203 | 0.224 | 0.216 | 0.026 | 0.119 | NA | +0.0506 |
| <i>BMS2626</i> | 5 | 353 | 191 | 162 | 0.541 | 0.528 | 0.472 | 0.140 | 0.283 | NA | -0.0087 |
| <i>ILSTS004</i> | 8 | 334 | 247 | 87 | 0.740 | 0.772 | 0.735 | 0.380 | 0.558 | NA | +0.0199 |
| <i>ILSTS0049</i> | 8 | 353 | 235 | 118 | 0.666 | 0.715 | 0.662 | 0.293 | 0.463 | NA | +0.0345 |
| <i>ILSTS008</i> | 4 | 352 | 140 | 212 | 0.398 | 0.410 | 0.340 | 0.084 | 0.179 | NA | +0.0089 |
| <i>ILSTS22</i> | 4 | 353 | 147 | 206 | 0.416 | 0.447 | 0.405 | 0.100 | 0.236 | NA | +0.0410 |
| <i>OarCP0034</i> | 6 | 352 | 280 | 72 | 0.795 | 0.757 | 0.722 | 0.362 | 0.544 | NA | -0.0285 |
| <i>OarCP43</i> | 5 | 353 | 240 | 113 | 0.680 | 0.681 | 0.615 | 0.247 | 0.404 | NA | +0.0019 |
| <i>OarFCB0226</i> | 9 | 340 | 141 | 199 | 0.415 | 0.538 | 0.455 | 0.149 | 0.266 | NA | +0.1321 |
| <i>OarFCB20</i> | 11 | 353 | 307 | 46 | 0.870 | 0.847 | 0.827 | 0.523 | 0.691 | NA | -0.0137 |
| 平均等位基因数 Mean number of alleles per locus | | | | | | | | | | 7.45 | |
| 平均基因分型率 Mean proportion of individuals typed | | | | | | | | | | 0.979 | |
| 平均杂合度 Mean expected heterozygosity | | | | | | | | | | 0.639 | |
| 平均多态信息含量 Mean PIC | | | | | | | | | | 0.598 | |
| 累积排除概率 Total (first parent) | | | | | | | | | | 0.998666 | |
| 累积排除概率 Total exclusionary power (second parent) | | | | | | | | | | 0.999994 | |

Note: Number of loci: 20; Number of individuals: 353.

运行 simulation 模拟 10 000 次,置信度为 95% 时,9 999 个 Delta 值有定义,再运行 parentage wizard, 鉴定结果输出到 Excel 表格中,按 LOD 值排序,并计算出 $LOD > 0$ 时的 Delta 值,据 Delta 值找出候选父母。LOD 值最小为 1.4,最大为 19.7, Delta 最小 0.017,最大为 19.7,LOD 值越大越可能是其亲生父母。置信水平都为显著,观察值平均错误率为 0.0026。为保证鉴定结果准确,所有位点全匹配的才确认亲子关系,最终确认了 166 个后裔的父母亲。

3 讨 论

目前,亲子鉴定普遍采用 STR 位点,其多态性程度高,符合孟德尔遗传规律,呈并显性遗传,检测容易、重复性好、省时,适于进行自动化分析,且位点突变发生率较低,据文献报道平均约为 $10^{-4} \sim 10^{-5}$,两核苷酸重复的 STR 突变率为 6×10^{-6} [12,13]。因而在动物的个体识别(包括亲子鉴定)、基因连锁分析、群体遗传研究等方面正发挥着巨大的作用。Luikart G, Biju-Duval MP 等用 22 个微卫星在羊亲子鉴定中非父排除概率:0.9999(Saanen),0.99999(Angora 和 Murciana-Grenadina),0.999999(cashmere breed),谢小虎、林锦锋等(2003)利用复合扩增 D3S1358 等 9 个 STR 位点在亲子鉴定中非父排除概率为 0.9999。本次实验所用 20 个标记均为两碱基重复,杂合度在 0.6 以上的有 13 个,最大的 BMS1678 达 0.904,有 14 个标记多态信息含量在 0.5 以上,最高平均期望杂合度 0.639、PIC 值 0.598,每个位点平均等位基因数为 7.45,累积排除概率达 0.999994,已具有了亲权鉴定的应用价值。

亲子鉴定以排除法为基础,按孟德尔定律逐个检查可疑父亲和可疑母亲,只要有一个基因型不合就排除。然而在实验中常找出多个可疑父母,由于亲缘关系很近已有的基因座难以排除,就需增加微卫星标记,排除到剩下惟一父亲、母亲。另一个问题,在基因分型时并非所有的基因座都能获得正确的分型结果。基因突变、零等位基因(null gene)等因素的存在都会造成一定频率的错配,影响亲子鉴定的准确性[4,14]。

经亲权鉴定,找到 166 个后裔的惟一父亲和惟一的母亲,建立了凉山半细毛羊实验系谱(其中包括

F_1 、 F_2 代、全同胞、半同胞及回交后代),其余 49 只没有找到其母亲,可能原因是母羊死亡或已卖出。利用系谱中连锁不平衡群体,构建资源参考家系,为下一步进行遗传连锁分析、连锁图的构建及经济性状 QTL 分析、定位奠定了基础,并对研究绵羊群体结构、历史及多样性有重要意义[5,15]。

参 考 文 献 (References):

- [1] HU Jie, XUE Shi-Jie, JIN Jing-Qun, HE Ping. Appli-ance of STR in parentage testing. *Fujian Medical Journal*, 2000, 22(5): 104~105.
胡 洁, 薛士杰, 金静群, 何 萍. STR 在亲子鉴定中的应用. *福建医药杂志*, 2000, 22(5): 104~105.
- [2] P M Visscher, J A Woolliams, D Smith, J L Williams. Estima-tion of pedigree errors in the UK dairy population using microsate-llite markers and the impact on selection. *Journal of Dairy Sci-ence*, 2002.
- [3] LUO Wen-Yong, HU Jun, LI Xiao-Fang. The evolution and appli-cation of microsatellites. *Hereditas* (Beijing), 2003, 25(5): 615~619.
罗文永, 胡 骏, 李晓方. 微卫星序列及其应用. *遗传*, 2003, 25(5): 615~619.
- [4] ZHANG Yu-Guang, LI Di-Qiang, RAO Li-Qun, XIAO Qi-Ming, LIU Dan. Identification of polymorphic microsatellite DNA loci and pater-nity testing of Amur tigers. *Acta Zoologica Sinica*, 2003, 49(1): 118~123.
张于光, 李迪强, 饶力群, 肖启明, 刘 丹. 东北虎微卫星 DNA 遗传标记的筛选及在亲子鉴定中的应用. *动物学报*, 2003, 49(1): 118~123.
- [5] WU Deng-Jun, WU Ji-Fa, JIA Lan-Ping, ZHAO JUN-Li, M Foe-ster, I Medjugurac. The progress of QTL mapping in Liangshan semi-wool sheep. *China Herbivores*, 2003, z1: 59~67.
吴登俊, 吴继法, 贾兰萍, 赵俊丽, M Foester, I Medjugurac. 凉山半细毛羊 QTL 作图研究进展. *中国草食动物*, 2003, z1: 59~67.
- [6] JIA Bin, CHEN Jie, ZHAO Ru-Qian, LUO Qiu-Jiang, YAN Gen-Qiang, CHEN Jie. Microsatellite analysis of genetic diversity and phylogenetic relationship of eight sheep breeds in Xinjiang. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(9): 847~854.
贾 斌, 陈 杰, 赵茹茜, 雒秋江, 剡根强, 陈 杰. 新疆 8 个绵羊品种遗传多样性和系统发生关系的微卫星分析. *遗传学报*, 2003, 30(9): 847~854.
- [7] GUO Xiao-Ling, XU Ning-Ying, LOOFT Christian, REINSCH Nor-berth, KALM Ernst. Amplification of pig microsatellite markers using multiplex PCR. *Hereditas* (Beijing), 2004, 26(1): 40~44.
郭晓令, 徐宁迎, LOOFT Christian, REINSCH Norbert, KALM Ernst. 猪微卫星标记多重 PCR 扩增组合. *遗传*, 2004, 26(1):

40~44.

- [8] DU Li-Xin, CAO Ding-Guo. Studies on microsatellite and RAPD marker in little-tailed Han sheep. *Acta Genetica Sinica*, 2003, 30(11):1041~1044.

杜立新, 曹顶国. 小尾寒羊微卫星与 RAPD 标记的研究. *遗传学报*, 2003, 30(11):1041~1044.

- [9] Smith B R, Herbinger C M, Merry H R. Accurate partition of individuals into full-sib families from genetic data without parental information. *Genetics*, 2001, 158: 1329~1338.

- [10] Slate J, Marshall T, Pemberton J. A retrospective assessment of the accuracy of the paternity inference program CERVUS. *Molecular Ecology*, 2000, 9 (6):801~808.

- [11] Marshall T C, Slate J, Kruuk L E B, Pemberton J M. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, 1998, 7 (5):639~655.

- [12] GUO Xiao-Hong, CHU Ming-Xing, ZHOU Zhong-Xiao. Progress on the sheep genome project. *Hereditas (Beijing)*, 2004, 26 (1):103~108.

郭晓红, 储明星, 周忠孝. 绵羊基因组研究进展. *遗传*, 2004, 26(1):103~108.

- [13] Ranajit Chakraborty, Marek Kimmel. Relative mutation rates at di-, tri-, and tetranucleotide microsatellite loci. *PNAS*, 1997, 94:1041~1046.

- [14] ZHANG Zhi-He, SHEN Fu-Jun, SUN Shan, Victor A David, ZHANG An-Ju, Stephen J O'Brien. Paternity assignment of giant panda by microsatellite genotyping. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25(5):504~510.

张志和, 沈富军, 孙 姗, Victor A David, 张安居, Stephen J O'Brien. 利用微卫星进行大熊猫父权鉴定. *遗传*, 2003, 25 (5):504~510.

- [15] LI Xiang-Long, GONG Yuan-Fang, LIU Zheng-Zhu, ZHANG Zeng-Li. Studies of genetic structure and enetic relationship of Boer goat and its upgrading offspring to Tangshan diary goat. *Hereditas (Beijing)*, 2003, 25(4):397~400.

李祥龙, 巩元芳, 刘铮铸, 张增利. 波尔山羊及其杂交改良后代群体遗传结构与亲缘关系研究. *遗传*, 2003, 25(4):397~400.

《中国学术期刊综合引证报告》(2004 版)发布

[本刊讯] 2004 年 11 月 30 日,《中国学术期刊综合引证报告》(2004 版)首发报告会在北京清华大学举行。会上发布了《中国学术期刊综合评价数据库》5716 余种统计源期刊 2003 年的主要文献计量指标,包括影响因子、总被引频次等;依据《中国学术期刊综合引证报告》2002~2004 三年版本的文献计量指标的均值数据,按“同类相聚,同级相比”的原则,公布其中综合计量指标值高于三年均值的期刊表,《遗传学报》和《遗传》等期刊被列入环境与生命\生命\人类学与生物科学类中的高均值计量指标期刊。同时,还发布了《中国学术期刊网络计量测试报告》(2004 版),报告了中国期刊网(www.cnki.net)4827 种上网中文期刊 2003 年 1 月 1 日至 2003 年 12 月 31 日被全国各地包库用户下载频次的统计数据。

现将部分“人类学与生物科学”期刊 2003 年影响因子、总被引频次以及 2002~2004 三年影响因子均值、被引频次均值以及 2003 年网站下载量等计量指标予以公布,仅供读者参考。

| 序号 | 期刊名称 | 影响因子 | 总被引频次 | 影响因子均值 | 总被引频次均值 | Web 下载总频次 |
|----|---------------|--------|-------|--------|---------|-----------|
| 1 | 生物多样性 | 1.3462 | 607 | 1.0851 | 474 | 12024 |
| 2 | 遗传学报 | 1.0224 | 1454 | 0.9617 | 1192 | 24925 |
| 3 | 遗传 | 0.8935 | 961 | 0.7907 | 797 | 21687 |
| 4 | 生物技术通报 | 0.8507 | 422 | 1.3375 | 394 | 16173 |
| 5 | 生物工程学报 | 0.7539 | 761 | 0.7500 | 670 | 26563 |
| 6 | 中国生物化学与分子生物学报 | 0.7188 | 814 | 0.6559 | 747 | 21554 |
| 7 | 生物化学与生物物理进展 | 0.6179 | 1181 | 0.5958 | 1060 | 36324 |
| 8 | 水生生物学报 | 0.6130 | 937 | 0.5805 | 847 | 10930 |
| 9 | 应用与环境生物学报 | 0.5865 | 566 | 0.5599 | 412 | 16400 |
| 10 | 中国生物工程杂志 | 0.5759 | 622 | 0.6989 | 583 | 34436 |
| 11 | 生物化学与生物物理学报 | 0.5609 | 611 | 0.7535 | 687 | 18558 |
| 12 | 生命科学 | 0.5316 | 270 | 0.5032 | 223 | 17860 |
| 13 | 天然产物研究与开发 | 0.5108 | 624 | 0.4129 | 474 | 16949 |
| 14 | 人类学学报 | 0.4217 | 385 | 0.5567 | 385 | 2868 |
| 15 | 生物物理学报 | 0.4091 | 420 | 0.3681 | 376 | 12278 |
| 16 | 生物技术通讯 | 0.3655 | 166 | 0.2562 | 106 | 16139 |
| 17 | 生命科学研究 | 0.3613 | 124 | 0.3699 | 98 | 11980 |
| 18 | 生命的化学 | 0.3151 | 339 | 0.2982 | 273 | 22112 |
| 19 | 古生物学报 | 0.2966 | 361 | 0.3654 | 380 | 2298 |
| 20 | 生物技术 | 0.2857 | 345 | 0.3191 | 285 | 19622 |