

20个山羊品种 FSH β 基因部分序列测定及与其它8个物种的序列比较分析

李利, 张红平, 吴登俊*

(四川农业大学动物科技学院, 雅安 625014)

摘要: 利用牛、绵羊等动物 FSH β 亚基基因序列设计引物, 采用 PCR 法扩增并测定出 20 个山羊品种(16 个本地品种和 4 个引进品种) FSH β 亚基基因部分序列(GenBank 登录号: AY838283 和 AY853276)。在测定出的 FSH β 亚基基因 731 bp 序列中, 包括第 1 外显子全序列(1~61 bp), 第 1 内含子全序列(62~702 bp) 以及第 2 外显子部分序列(703~731 bp), 序列的 A+T 含量(66.07%) 高于 G+C(33.93%), 编码 7 个氨基酸。在所有测定的序列中共检出 3 个突变位点, 分别是 78(-/A)、132(G/A) 和 343(G/A), 这些突变都位于内含子 1 序列中, 它们与产羔率之间的联系需进一步研究。利用山羊以及 GenBank 中其他 8 个物种的 FSH β 基因内含子 1 序列进行系统发育分析, 部分结果与传统生物分类不一致, 可能是由于大部分物种的序列长度不足 700 bp 以及物种之间的关系超过了属阶元的限制。

关键词: 山羊; FSH β 基因; 序列分析; 产羔率; 分子系统发育

中图分类号: S827.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)03-0225-07

Comparative Analysis on Partial Sequence of Follicle-Stimulating Hormone Beta Gene between 20 Goat Breeds and 8 Other Species

LI Li, ZHANG Hong-ping, WU Deng-jun*

(College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: Based on the FSH β gene sequences of bovine and sheep, the primers were designed and the partial sequences of FSH β gene from 20 goat breeds(16 indigenous breeds and 4 introduced breeds) were amplified and sequenced (GenBank accession number, AY838283 and AY853276). It contained the complete first exon (1-61 bp), first intron (62-702 bp) and partial sequence of exon2(703-731 bp) in the 731 base pairs fragment of FSH β gene. The content of A+T (66.07%) was higher than that of G+C (33.93%) and it coded 7 amino acids. Three mutation loci [78(-/A), 132(G/A) and 343(G/A)] were found and they all existed in the sequence of intron1, while the correlation between mutation loci and the birth rate could not be confirmed. The phylogenetic trees constructed by the FSH β gene intron1 of goat and other 8 species from GenBank were not completely accorded with factual taxonomy, which may be caused by the fact that most species' gene length were not longer than 700bp and that the species relationships were beyond the congeneric limit.

Key words: goat; FSH β gene; sequence analysis; kidding percentage; molecular phylogeny

卵泡刺激素也称促卵泡素(Follicle-stimulating hormone, FSH),是由垂体前叶嗜碱性粒细胞分泌的一种糖蛋白激素,它通过血液循环到达性腺和其它组织,与其受体结合,经过第2信使 Ca^{2+} 及cAMP引起一系列的生物反应。对于雌性可促进卵泡内膜细胞分化、颗粒细胞增生和卵泡液的分泌^[1],抑制卵泡闭锁和颗粒细胞凋亡^[2];对雄性可刺激支持细胞生长、增殖、成熟,促进副性腺的发育和精子的成熟^[3]。研究表明,血浆中FSH浓度与排卵率的遗传相关达到0.63^[4],可利用血浆FSH浓度进行排卵率的选择^[5]。在畜牧业生产上,FSH常用于家畜的同期发情和超数排卵以及繁殖疾病治疗。

卵泡刺激素由 α 和 β 两个亚基组成,在所有物种中 α 亚基为糖蛋白激素家族成员共有,而 β 亚基具有物种和激素的特异性^[6]。缺失FSH β 基因的雌性小鼠由于卵泡发育受阻而不育,雄性小鼠可育但睾丸较小并且精液量减少75%^[7],因而对激素的研究重点在于 β 亚基。FSH β 基因在目前已知的所有哺乳动物中都是单拷贝基因^[8],由3个外显子和2个内含子组成,第1外显子不编码,第2和第3外显子部分序列编码^[9]。到目前为止,在猪、绵羊、牛和鼠等动物中FSH β 基因的研究比较深入,而在山羊方面只有FSH β 基因cDNA序列(AF522070)的报

道。本研究采用20个山羊品种(16个本地品种和4个引进品种)共37份样品为研究材料,测定出FSH β 基因部分DNA序列,为进一步研究山羊的繁殖性能积累科学资料。

1 材料和方法

1.1 样品采集和基因组DNA的获得

川东白山羊(1只)、板角山羊(1只)、南江黄羊(7只)、西藏山羊(2只)、北川白山羊(1只)、金堂黑山羊(2只)、乐至黑山羊(1只)、成都麻羊(1只)、简阳本地羊(4只)、简阳大耳羊(1只)、波尔山羊(2只)、建昌黑山羊(1只)、安哥拉山羊(2只)、努比山羊(1只)、萨能奶山羊(1只)主要采样地点在四川,辽宁绒山羊(1只)的样品来自甘肃省。每只羊颈静脉采血2 mL,与冻存管中的DNA保存液按1:1混合均匀后-20℃低温保存。血样基因组DNA的提取采用酚/酚:氯仿(1:1)/氯仿:异戊醇(24:1)抽提,异丙醇沉淀,超纯水溶解,-20℃保存。马头山羊(2只)、昭通山羊(2只)、榕江小香羊(1只)和雷州山羊(3只)基因组DNA由湛江海洋大学刘宁老师提供。另外,FSH β 基因序列来自GenBank的几个物种见表1。

表1 来自GenBank的物种FSH β 基因intron1序列
Table 1 Some species FSH β intron1 sequences from GenBank

Species	Species(Latin)	Accession number	Reference
绵羊 Sheep	<i>Ovis aries</i>	S64745	Guzman K, Miller C D, Phillips C L (1991)
牛 Cow	<i>Bos taurus</i>	M83753	Kim K E, Gordon D F, Maurer R A(1988)
水牛 Water buffalo	<i>Bubalus bubalis</i>	AY449463	Wang A, Shi D, Li N(2003)
人 Human	<i>Homo sapiens</i>	AL358944	Martin S(2005)
猪 Pig	<i>Sus scrofa</i>	D00621	Rohrer G A, Alexander L J (1994)
小鼠 Mouse	<i>Mus musculus</i>	U12932	Kumar T R, Kelly M, Mortrud M, et al. (1995)
大鼠 Norway rat	<i>Rattus norvegicus</i>	M27044	Gharib S D, Roy A, Wierman M E, et al. (1989)
朱鹭 Crested ibis	<i>Nipponia nippon</i>	AB089502	Kawasaki D, Kanai M, Aotsuka T(2002)

1.2 DNA扩增和纯化、序列测定

参照奶牛(M83753)、水牛(AY449463)、绵羊(S64745)的FSH β 基因序列设计引物,引物序列由上海生物工程公司合成。上、下游引物分别为5'-ACAGCTTCCCCAGACAAGG-3',5'-AAG-CAG AACTGGATGGAC-3'。总反应体系25 μ L,主要包括:上、下游引物(10pmol)各1 μ L,LA Taq (5U)0.25 μ L,DNA模板2~3.5 μ L。94℃预变性1 min;98℃变性10 s,57.5℃退火1 min,72

℃延伸2 min,30个循环;最后72℃再延伸5 min。产物采用上海生物工程公司生产的小量柱式胶回收试剂盒回收。

1.3 序列测定

以纯化的PCR产物为模板,测序反应使用PE/ABI公司的BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit。测序反应产物用乙醇/醋酸钠纯化,ABI3100测序(在四川农业大学动物遗传育种重点学科实验室完成)。

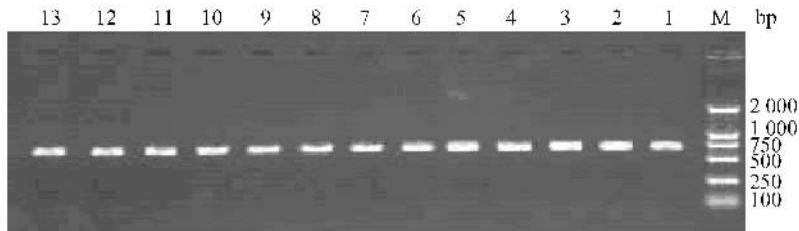
1.4 数据分析处理

所有序列使用 BioEdit (Version 6.0.7) 进行人工辅助校对,再分别利用 MegAlign 的 Clustal V 程序进行同源性比较, Mega 2.0 软件进行物种间系统发育树的构建,并进行重复 1 000 次的自举检验 (Bootstrap test)。

2 结果与分析

2.1 PCR 扩增

PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶,电压 100V 电泳后于紫外透射仪上观察,在 750bp 左右出现一条清晰的 DNA 带(图 1)。



M. DNA marker; 1. 板角山羊; 2. 西藏山羊 1[#]; 3. 南江黄羊 5[#]; 4. 北川白山羊; 5. 乐至黑山羊; 6. 波尔山羊 1[#]; 7. 成都麻羊; 8. 建昌黑山羊; 9. 安哥拉山羊 2[#]; 10. 努比山羊; 11. 萨能奶山羊; 12. 辽宁绒山羊; 13. 马头山羊 1[#]
M. DNA marker; 1. Banjiao goat; 2. Tibet goat 1[#]; 3. Nanjiang Huang goat 5[#]; 4. Baichuan white goat; 5. Lezhi black goat; 6. Boer goat 1[#]; 7. Chengdu Ma goat; 8. Jianchang black goat; 9. Angora goat; 10. Nubian goat; 11. Sannen dairy goat; 12. Liaoning Cashmere goat; 13. Ma tou goat 1[#]

图 1 PCR 扩增产物电泳

Fig. 1 Agarose gel electrophoresis photo of PCR products

2.2 序列测定

将测定出的序列利用 BioEdit Version 6.0.7 进行人工辅助校对,列出一致序列如图 2。在测定出的总长度 731 bp 片段中,参照绵羊 (S64745) 和牛 (M83753, AY449463) FSH β 基因结构,判定并分离出山羊 FSH β 基因部分序列中的内含子和外显子如下:在第 62~702 bp 之间(641 bp)为第 1 内含子序列,其前面部分为外显子 1 的序列,其后为外显子 2 的部分序列。从 709 bp 开始为编码区,起始密码子为 ATG,共编码 7 个氨基酸。

从碱基组成来看,在整个序列中,A、C、G、T 的含量分别为 34.47%、16.01%、17.92% 和 31.60%,其 A+T 含量(66.07%)极显著高于 G+C 的含量(33.93%)。以内含子和外显子划分,发现在外显子中 A+T 的含量(47.78%)稍小于 G+C 含量(52.22%),而在内含子中 G+C 含量(31.36%)不到 A+T(68.64%)的一半。若以是否编码来划分序列,则非编码区(第 1~708 位)G+C 为 33.29% 而 A+T 为 66.71%,编码区中 G+C 和 A+T 含量分别为 43.48% 和 56.52%。

将其余序列与图 2 比较,发现存在 3 个变异位点,它们都是简约信息位点。第 1 个是序列第 77 与 78 位之间,昭通山羊、简阳本地羊和安哥拉山羊各

有一条序列以及所测定的成都麻羊、建昌黑山羊的序列插入碱基 A。在第 132 位和 343 位,有 5 个品种共有 6 条序列在 2 个位点都由 G 突变为 A,它们分别是 2 只安哥拉山羊、1 只简阳本地羊、1 只努比山羊、1 只乐至黑山羊以及 1 只辽宁绒山羊,其余 31 个体的序列在此两位点结果与图 2 相同。

2.3 物种间 FSH β 基因 intron1 序列比较

2.3.1 不同物种的 FSH β 基因 intron1 组成 不同物种的 FSH β 基因内含子 1 组成比较结果见表 2。从表 2 可以看出,在几种哺乳动物中,FSH β 基因 intron1 序列长度变异较大,猪的碱基数达 917 bp,人的次之(848 bp),草食动物(632~641 bp)以及大鼠(639 bp)的碱基数接近且处于中间水平,小鼠碱基数最少,只有 528 bp。从碱基组成来看,除朱鹭以 G 含量最低以外,其余物种表现出 C 含量最低,而除小鼠和朱鹭的 T 比 A 含量高以外,其余物种的 A 含量最高。从 G+C 的变化分析,从少到多的顺序依次是:水牛、牛、山羊、绵羊、朱鹭、人、小鼠、大鼠和猪。在不考虑人以后,哺乳动物中 G+C 含量有随单胎到多胎的物种变化而递增的趋势。

2.3.2 不同物种的 FSH β 基因 intron1 核苷酸序列间的相似性和分歧度 利用 MegAlign 的 Clustal V 程序比较几个物种的 FSH β 基因 intron1,并计算序

1 ACAGCTTTCC CCAGACAAGG CAGCTGTCTC AGGAAGTCTC AGCATCCACA GTTACCAAGT
 61 GGTGAGTTAC TTCTGCATTC GCAGATTTTT AAGGATCTAG AGAACAAATT TAGAGCTTTT
 121 TAACCTCTAT CGTATAGGGA ATCTGTGCTT TTCAACCTGG CTTCTTAAAT AACTGTAAAT
 181 CAATGTTAGC AAGCAATTGA CTTTATATAG ATCAATTCAT CTGGCCTCTG AAATAGTCTC
 241 ATTTTAAACA AAGGGGGGCA AAAGCAAATG ATAACATTTA TGAGATGCTA AGAATGATGA
 301 ACTAATTTTG TAATACAGAA GTTCTTTTTT AGTCTTTTAA ATGGTAATAA AGGGACAAAT
 361 ACAATGATCA TGATTGCTTG CTTCAGAGTA ATCACTCTAA AATAGACAGC AATAATGTTT
 421 TAAACCAAAC ACTGCTCTGC TTAAGTCATT ATATTGGAGT TTTGATCTGT AATATGTTTC
 481 TACTTTAACA ACAACAAAAA AAATTGAGGA GCATAATTAG AAATGCTTGT TCAAGAAACA
 541 AAGAAGTAAA GCAAAGAAAA AGGAAGGAAA AAACATTGCT GGAGCAAAT ATGATGGGAG
 601 ACGATGGATA GAAAAATTAT TTTTGGTTTG GTCAGCATAT ATAAATGATT ATAATTCTTT
 661 GGTTTTTTTCAG TTTCTCACAG TCCTTAATTG TTTGTTTCCC AGCCGAGG

ATG AAG TCC ATC CAG TTC TGC TT 731
 M K S I Q F C

图 2 山羊 FSH β 基因部分核苷酸及氨基酸序列

Fig. 2 Partial nucleotide and amino acid sequence of goat FSH β gene

表 2 不同物种 FSH β 基因 intron1 碱基组成比较

Tab. 2 The nucleotide content of FSH β Intron 1 in different species

物种 Species	长度 Length	G	C	A	T	G+C
山羊 Goat	641	17.5	13.9	35.7	32.9	31.4
绵羊 Sheep	638	17.9	14.3	35.0	32.9	32.2
牛 Cow	632	17.3	13.8	36.7	32.1	31.0
水牛 Buffalo	636	17.6	13.4	36.5	32.5	31.0
人 Human	848	19.7	15.4	33.7	31.1	35.1
猪 Pig	917	21.8	15.7	33.9	28.6	37.5
小鼠 Mouse	528	19.1	16.9	30.1	33.9	36.0
大鼠 Rat	639	18.8	17.8	31.9	31.5	36.6
朱鹭 Ibis	458	13.97	18.56	28.82	38.65	32.53

牛(cow, M83753) FSH β 基因 intron1 的第 96 位碱基为 n(0.16%)

There is one n (0.16%) existed in cow FSH β intron1 at loci 96

列的相似性百分数(Percent identity)和分歧度(Divergence),结果见表 3。从表 3 可知,不同物种间 FSH β 基因 intron1 的相似性百分数差异大,其变异范围为 22.7%~95.0%,分歧度则为 2.4%~82.2%。其中山羊分别与水牛、绵羊和牛之间的相似性百分数都很大,分别是 95.0、93.7 和 90.5,水牛与牛以及绵羊之间的值也达到 90 以上。从分歧度来看,4 种草食动物的值都较低(在 5.0 以下),其余物种之间的值都在 19.6 以上。朱鹭与其它哺乳动物间相似性百分数较低而分歧度较大。

2.3.3 基于物种间的 FSH β 基因 intron1 构建系统发育树 基于所获得的 9 个物种 FSH β 基因内含子 1 序列,利用 Mega 2.0 软件分别构建了 NJ 树和

ME 树(见图 3 和图 4),两棵树的拓扑结构完全相同并都具有较高的 Bootstrap 值。将建树结果与动物界的演化树^[11]比较,总的来说分类学上较近的动物分别聚在一起,小鼠、大鼠等啮齿动物在一个分支上,全部草食动物聚在一个分支,朱鹭作为鸟类在进化树的下层。

3 讨论

3.1 序列的碱基组成

在所测定的山羊 FSH β 基因序列中,从整条序列、内含子、编码序列以及非编码序列角度来分析碱基组成,都发现 A+T 含量高于 G+C 含量,非编码区的 G+C 含量还是较编码区低 10 百分点,这与一

表 3 物种间的 FSH β 基因 intron1 相似性百分数和分歧度
Table 3 The Percent identity and of FSH β Intron 1 between species

物种 Species	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1 山羊 Goat		93.7	90.5	95.0	43.1	57.2	36.9	35.2	25.5
2 绵羊 Sheep	2.4		86.9	91.2	51.4	62.5	32.4	35.9	25.3
3 牛 Cow	3.8	4.7		93.8	49.7	63.0	36.7	32.0	22.7
4 水牛 Water buffalo	2.6	3.8	2.6		53.3	58.0	36.7	35.5	24.5
5 人 Human	40.5	42.1	42.0	40.1		53.5	35.6	33.2	23.8
6 猪 Pig	40.0	40.5	38.9	39.0	62.6		36.9	30.8	24.9
7 小鼠 Mouse	47.6	49.6	49.3	48.7	69.8	82.2		61.0	24.2
8 大鼠 Rat	50.4	52.8	54.0	52.1	65.7	80.4	19.6		24.5
9 朱鹭 Ibis	52.0	57.5	53.2	53.0	79.1	70.7	71.9	61.2	

对角线上表示相似性百分数;对角线下表示分歧度。相似性百分数和分歧度的计算方式不一样,分歧度的计算与系统重建(phylogeny reconstructed)有关,而计算相似性百分数时直接比较两两序列,没有考虑系统发育关系,因此分歧度并不是相似性百分数的反面^[10]

Percent identity in upper triangle;Divergence in lower triangle. Divergence is calculated by comparing sequence pairs in relation to the phylogeny reconstructed. Percent identity compares sequences directly, without accounting for phylogenetic relationships. Note that divergence is not usually the inverse of percent identity^[10]

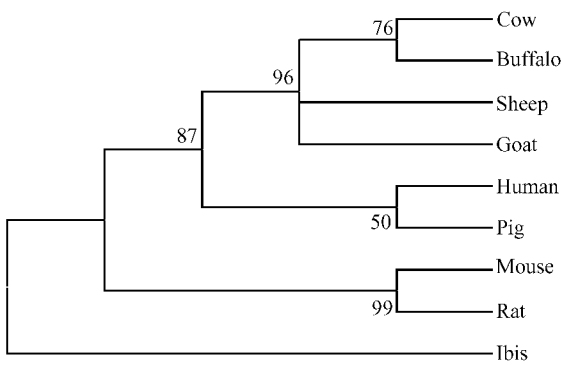


图 3 利用物种间 FSH β intron1 序列构建的 NJ 树(枝上的为自展值)

Fig. 3 Neighbour-Joining tree of FSH β intron1 among species(The numbers below or above the branches are Bootstrap values)

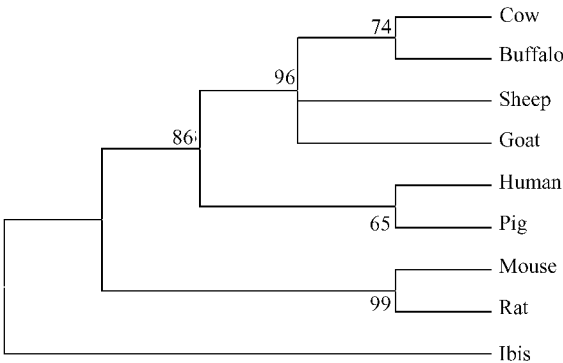


图 4 利用物种间 FSH β intron1 序列构建的 ME 树(枝上的为自展值)

Fig. 4 Minimum-Evolution tree of FSH β intron1 among species(The numbers below or above the branches are Bootstrap values)

些文献中认为非编码区中 A+T 含量高相符^[12]。其他物种的 FSH β 基因第一内含子的 G+C 含量在 31.0%~37.5%之间变化,表明 FSH β 基因在动物基因组中处于贫 GC 区域^[13]。

3.2 突变位点与产羔率的关系

由于 FSH β 基因与繁殖产羔密切相关,本试验研究了 20 个山羊品种(16 个本地品种和 4 个引进品种)的 FSH β 基因片段,希望就试验结果与山羊产羔率之间的关系进行探讨,以期找到能应用于生产的分子标记。但在序列研究中发现大多数品种间 FSH β 基因片段没有变异,同时测序虽然准确但成本较高,因此大多数品种只测定了一个个体。

根据魏伍川提出的多胎一般指产羔率在 160% 以上这一判断标准^[14],本试验所研究 20 个山羊品种(群体)中,只有西藏山羊、建昌黑山羊、安哥拉山羊和辽宁绒山羊 4 个品种的产羔率在 110% 左右,而不具有多胎性,其余品种均具有多胎性,其中四川的乐至黑山羊和贵州白山羊的产羔率达到 270%,而贵州的榕江小香羊则达到 300%。虽然本试验所测定的 DNA 片段共存在 3 个变异位点,但这 3 个变异位点并没有表现出明显的与高、低产羔率品种的对对应关系,即单从品种内和品种间这 3 个基因的序列变异位点进行品种产羔率的比较还不能得出一个明确的结论。这可能存在两种情况:一方面这几个变异位点由随机漂变等引起,它们与产羔率之间确实没有较大关联;另一方面,它们之间的密切联系主要由于以下几个可能原因而未表现出来。第一,

被不同的环境和饲养管理方式掩盖。产羔率是一个受多因素影响的低遗传力性状,不同的环境和饲养管理都会使其发生变化,同时我国地方品种大多数还没有针对产羔性状进行选育,因而其在品种内的变异非常大,如安哥拉山羊中群体的平均产羔率只有100%~110%左右,但少数地区可达200%左右^[15]。第二,抽样误差掩盖了真实差异。本试验样本含量较小,大多数品种只测定了1个个体,因而会产生较大的抽样误差。因此,对于FSH β 基因的3个碱基突变位点的变化与产羔率之间的关系,还需要利用RFLP、SSCP、SNP等技术,并结合数量遗传学进一步深入研究。

3.3 核功能基因内含子与物种进化分析

王宁提出核基因内含子序列可以像外显子一样为研究近亲缘物种之间的进化关系提供有用的信息,而且内含子中不存在替代速率在物种中的差异,相对于外显子,内含子序列是一个更好的分子钟^[16]。马玉坤也认为单拷贝核DNA(scndNA)内含子有望成为继线粒体基因后另一个系统发育研究热点^[17]。本试验利用FSH β 基因内含子1进行物种间的系统发育分析,虽然自检值(Bootstrap Value, BV)都大于50%,但部分结果与传统分类学不一致。Li指出当序列G+C含量会进一步影响基因的演变速率^[18],Nei M提出重构系统发育树的关键因素是序列长度,一般要求大于700 bp^[19],而且目前的研究认为scndNA内含子主要用于属间到科间阶元的系统发育研究上或解决同属内远缘物种之间的系统关系^[17,20]。分析本试验中几个物种的FSH β 基因第1内含子序列,发现它们的G+C含量非常相近(31.0%~37.5%),而只有两个物种(人和猪)的序列长度超过700 bp。说明GC含量的差异可能不会引起物种间基因替代速率的较大变化,序列长度可能是本试验物种进化分析结果与实际有一定差异的原因之一,同时本试验利用scndNA内含子序列构建的系统树超出了属的阶元也可能引起结果的偏离。

现在已有很多统计方法用于分子数据来重建系统发育树,但由于真树常常是不知道的,因而难以判断在某一具体情况下哪种方法最佳,得到最接近真实结果的系统关系^[21]。此外不同的分子标记也会影响建树结果的真实性和准确性。虽然Griffiths提出在系统发育研究中nDNA序列优于mtDNA序列,后者又优于形态学数据^[22],但形态特征和分子标记之间

以及不同分子标记之间有着不同的进化规律和进化速度^[17]。因此,在利用功能基因进行物种间的系统发育分析时,不但一个基因片段要利用多种方法构建进化树并进行检验,而且要用多个基因建树,同时应尽量从形态学、生态学、遗传学、地理学等多学科角度进行综合研究,才能得到比较真实的所研究类群的起源演化过程^[23]。

参考文献:

- [1] Silva J M, Christopher A P. Effect of follicle-stimulating hormone on steroid secretion and messenger ribonucleic acids encoding cytochromes P450 aromatase and cholesterol side-chain cleavage in bovine granulosa cells *in vitro* [J]. Biol Reprod, 2000, 62: 186~191.
- [2] Maizels E T, Cottom J, Jones J R, et al. Follicle stimulating hormone(FSH) activates the p38 mitogen-activated protein kinase pathway, inducing small heat shock protein phosphorylation and cell rounding in immature rat ovarian granulosa cells [J]. Endocrinology, 1998, 139(7): 789~796.
- [3] 杨筱珍, 陈耀星, 王子旭, 等. 生殖激素对雄性生殖细胞凋亡调控的研究进展 [J]. 动物医学进展, 2003, 24(6): 7~10.
- [4] Montgomery G W, McNatty K P, Davis G H. Physiology and molecular genetics of mutations that increase ovulation rate in sheep [J]. Endocrine Reviews, 1992, 13: 309~328.
- [5] Cassady J P, Johnson R K, Ford J J. Comparison of plasma FSH concentration in boars and gilts from lines selected for ovulation rate and embryonal survival, and litter size and estimation of (co)variance components for FSH and ovulation rate [J]. J Anim Sci, 2000, 78(6): 1430~1435.
- [6] Davis G H, Montgomery G W, Allison A J, et al. Segregation of a major gene influencing fecundity in progeny of Booroola sheep [J]. N Z J Agric Res, 1982, 25: 525~529.
- [7] Roche J F, Boland M P. The turnover of dominant follicles in cattle of different reproductive states [J]. Theriogenology, 1991, 35: 81~90.
- [8] Guzman K. The gene encoding ovine follicle-stimulating hormone β : isolation characterization, and comparison to a related ovine genomic sequence [J]. DNA Cell Biology, 1991, 10: 593.
- [9] Clark A D, Layman L C. Analysis of the Cys82Arg mutation in follicle-stimulating hormone beta (FSH β)

- using a novel FSH expression vector[J]. *Fertility and Sterility*, 2003, 79(2): 379~385.
- [10] Ricardo C T A, Kunihiro T, Chunyan H, *et al.* B-aggressive lymphoma family proteins have unique domains that modulate transcription and exhibit poly (ADP-ribose) polymerase activity[J]. *J Biol Chem*, 2005, 280(40): 33 756~33 765.
- [11] 丁汉波. 脊椎动物学[M]. 高等教育出版社, 1986. 487~489.
- [12] 张 静, 杨自天, 刘次全. 内含子序列的“三碱基组”的信息分析[J]. 云南大学学报(自然科学版), 1997, 19(3): 324~327.
- [13] Bernadi G, Mouchiroud D, Gautier C, *et al.* Compositional patterns in vertebrate genomes: Conservation and change in evolution[J]. *J Mol Evol*, 1988, 28: 7~18.
- [14] 魏伍川. 牛、羊 FSHR 基因 5' 端转录启动调控区和部分结构区序列的研究[D]. 杨陵: 西北农林科技大学, 2000, 12.
- [15] 陈圣偶. 养羊全书[M]. 第 2 版, 四川科学技术出版社, 2000, 44
- [16] 王 宁, 陈润生. 基于内含子和外显子的系统发育分析的比较[J]. *科学通报*, 1999, 44(19): 2 095~2 102.
- [17] 马玉坤, 牛黎明, 国会艳. DNA 在鸟类分子系统发育研究中的应用[J]. *遗传*, 2006, 28(1): 97~104.
- [18] Li W H, Craur D. *Fundamentals of molecular evolution*[M]. Massachusetts: IAC Publishers, 1991.
- [19] Nei M. Phylogenetic analysis in molecular evolutionary genetics[J]. *Annual Reviews Genetics*, 1996, 30: 371~403.
- [20] Russello M A, Amato G. A molecular phylogeny of Amazona: implications for neotropical parrot biogeography, taxonomy, and conservation [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 30(2): 421~437.
- [21] Felsenstein J. Phylogenies from molecular sequences: Inference and Reliability[J]. *Annu Rev Genet*, 1988, 22: 521~565.
- [22] Griffiths C S, Barrowclough G F, Groth J G, *et al.* Phylogeny of the Falconidae (Aves): a comparison of the efficacy of morphological, mitochondrial, and nuclear data[J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2004, 32(1): 101~109.
- [23] 张淑霞, 杨 岚, 杨君兴. 近代鸟类分类与系统发育研究[J]. *动物分类学报*, 2004, 29(4): 675~682.

动物疫情速递

日本接触传染性无乳症后续报道

2007 年 2 月 19 日, 日本向 OIE 报告了该国的接触传染性无乳症疫情。经过请教专家, 日本方面认为 2006 年 7 月 24 日报告疫情的主角应该是传染性无乳症, 而不是传染性胸膜肺炎(参见《畜牧兽医学报》2006 年第 8 期 739 页)。这是日本首次发生接触传染性无乳症, 病原是丝状支原体丝状亚种 LC 型(*Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides* LC type)。此次疫情属临床病例, 依靠临床诊断、实验室检测和尸体剖解作出诊断。感染事件始于 2006 年 5 月 21 日, 疫区在冲绳县 Nakagusuku 的一个农场, 有 2 只山羊发病, 未出现死亡, 病畜于 2006 年 6 月 16 日扑杀。疫情于 2006 年 7 月 3 日首次确认, 日本国家动物卫生研究所 7 月 31 日提供的病原培养分离试验结果为阳性。日本采取的措施有设施及设备消毒、扑杀。这是此次疫情的终了报道。

俄罗斯发生猪瘟

2007 年 2 月 21 日, 俄罗斯向 OIE 报告了该国的猪瘟疫情。报告人是俄罗斯兽医局 Evgueny A. Nepoklonov 局长。疫情始于 2007 年 2 月 17 日, 并于当日得到确认。病原是猪瘟病毒, 属临床病例, 依靠临床诊断、实验室检测和尸体剖解作出诊断。疫区位于克拉斯诺达尔边疆区 Starominsk 的 Starominskaya, 共计 6 192 例易感动物和 870 例病例, 死亡 351 例。感染来源尚不清楚。实验室诊断在联邦动物健康中心(FGI-ARRIAH)进行, 手段为 RT-PCR, 结果呈阳性。俄罗斯采取的措施: 国内限制移动、筛查、紧急免疫、设施及设备消毒、检疫。未对感染动物进行治疗。在克拉斯诺达尔边疆区, 已用活苗对 6 192 头猪进行了免疫。俄罗斯上一次发生猪瘟是在 2005 年 1 月 17 日。