

四川 7 个地方山羊品种(类群) mtDNA 遗传多样性研究

张红平, 李 利, 向 德, 刘成建, 李学伟*

(四川农业大学动物遗传育种与繁殖学重点实验室, 雅安 625014)

摘 要: 测定了四川 7 个地方山羊品种(类群)43 个个体的 mtDNA 控制区全序列, 结果表明: 山羊 mtDNA 控制区全序列长度为 1 212 bp 或 1 213 bp, A+T 含量(59.9%)明显高于 G+C 含量(40.1%)。共检测到 74 个变异位点, 序列均为中性突变, 核苷酸多样性为 1.686%, 这些差异共定义了 27 种单倍型, 单倍型多样性为 0.966, 遗传多样性较为丰富, 品种(类群)间存在不同程度的遗传分化。7 个地方山羊品种(类群)间的遗传距离变异范围为 0.0017~0.0306。用 MEGA 软件的 NJ 法构建单倍型序列的系统发育无根树, 结果表明四川地方山羊品种(类群)有两个母系来源, 但是否就对应于角山羊(*Capra aegagrus*)和捻角山羊(*Capra falconeri*)两个野生祖先, 还有待于进一步研究。

关键词: 山羊; mtDNA 控制区; 序列变异性; 种群遗传结构; 系统发育

中图分类号: S827.2

文献标识码: A

文章编号: 0366-6964(2007)12-1300-06

Study on Mitochondrial DNA Genetic Polymorphism of Seven Indigenous Goat Breeds(Groups) in Sichuan

ZHANG Hong-ping, LI Li, XIANG De, LIU Cheng-jian, LI Xue-wei*

(Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction,
Sichuan Agricultural University, Ya'an 625014, China)

Abstract: Complete sequence of mitochondrial DNA(mtDNA) control region was sequenced in 43 individuals from 7 indigenous goat(*Capra hircus*)breeds(groups)in Sichuan province. The complete sequence of mtDNA control region was 1 212 or 1 213 base pair, and the content of A+T (59.9%)was higher than that of G+C(40.1%)significantly. 74 sites were polymorphic and all of these sequences were neutral mutation. All sequence polymorphic sites defined 27 haplotypes. High nucleotide diversity(1.686%)and haplotype diversity(0.966) were manifested. These results suggested richer genetic diversity within Sichuan indigenous goat populations and genetic divergence among them. The Kimura 2-parameter distance among breeds(groups)varied from 0.0017 to 0.0306. Phylogenetic unrooted trees constructed with neighbour-joining methods showed two maternal origins in Sichuan indigenous goats. More detailed studies should be continued to indicate whether the two maternal origins are *Capra aegagrus* and *Capra falconeri*.

Key words: *Capra hircus*; mitochondrial DNA control region; sequence variability; population genetic structure; phylogenetic

mtDNA 由于具有分子量小、结构简单稳定、进化速度快、母系遗传等特点, 已成为群体遗传多样

收稿日期: 2006-12-13

基金项目: 国家 863 基金项目(2002AA242051); 四川省育种攻关项目(2006-YZGG-16); 四川省青年科技基金(2007Q14-051)

作者简介: 张红平(1971-), 男, 四川平昌人, 博士, 副教授, 从事动物遗传育种与繁殖学的教学与科研工作, E-mail: zhp@sicau.edu.cn

* 通讯作者: 李学伟, 博士, 教授, 主要从事动物遗传育种与繁殖学的教学与科研工作, E-mail: lixuewei@ya-public.sc.cninfo.net

性、分子进化、疾病诊断、细胞衰老和凋亡等领域的研究热点^[1~4]。在山羊的起源分化研究中,mtDNA 序列也是常用的遗传标记之一。目前普遍采用的研究 mtDNA 多态性的方法主要有限制性酶切分析(RFLP)和序列测定法。Takada 等^[5]通过对 1 只角羊骨羊(*Capra aegagrus*)和 5 个家山羊品种 mtDNA 的 D 环序列进行测定和分析,研究结果表明家山羊和角羊骨羊的关系较近,因此推断家山羊的母系祖先应该是角羊骨羊。Luikart 等^[6]分析了分布于世界各地的 88 个山羊品种 mtDNA 控制区 481 bp 的高变区序列,系统进化分析结果表明家山羊有多个母系起源。

我国的一些学者^[7~9]认为中国家山羊的野生祖先有角呈镰刀状的角羊骨羊(*Capra aegagrus*)和角呈螺旋状的捻角山羊(*Capra falconeri*)两个野生种,它们起源于欧洲和亚洲大陆。贾永红等研究了贵州省 4 个山羊品种线粒体 DNA 多态性,推测贵州山羊 mtDNA 单倍型 I 和 II 可能来源于两个母系祖先,其分化时间约在 19 万年前^[10]。李祥龙等用限制性酶切法研究了我国 18 个地方山羊品种 mtDNA 的 RFLP,结果表明在研究的所有个体中检测到的 18 种限制性态型可归结为 6 种基因单倍型,单倍型 I 和单倍型 II 为两种基本单倍型,由此推测我国地方山羊品种可能起源于两种不同的母系祖先^[11]。中国是世界上山羊饲养量最多的国家,四川省山羊品种资源十分丰富,在我国养羊业中占有十分重要的地位,除了《中国羊品种志》中所记载的成都麻羊、藏山羊和建昌黑山羊外^[8],还有近年来选育并由四川省畜禽品种资源委员会审定的北川白山羊、金堂黑山羊、乐至黑山羊和简阳大耳羊等品种(类群)。然而对这些品种(类群)只有一些关于形态特征、生产性能及地理分布的资料,目前还没有关于这些地方山羊品种 mtDNA 遗传多样性的系统研究报告,本研究通过对四川地方山羊品种(类群)mtDNA 控制区序列变异进行测定和分析,从分子水平上研究其遗传多样性,为我国山羊品种资源的保护、利用与开发提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 材料

在原产地共采集了藏山羊(Ti, n=9)、北川白山羊(BCW, n=4)、金堂黑山羊(JTB, n=5)、乐至黑山羊(LZB, n=6)、成都麻羊(CDM, n=9)、简阳大

耳羊(JYD, n=5)和建昌黑山羊(JCB, n=5)7 个地方山羊品种(类群)43 个个体的血样。采样过程中,要避免污染,所采个体要符合品种特征,并且尽可能地避开样本个体之间的血缘关系。每只羊颈静脉采血 3 mL,与冻存管中的 DNA 保存液按 1:1 混合均匀,带回实验室-70℃ 保存。

1.2 DNA 扩增、纯化和序列测定

用苯酚-氯仿抽提法提取基因组 DNA。PCR 扩增引物为: L5'-CAGTCGAACATCCCTACAT-TATTATTGG-3' 和 H5'-TTAGTCTTATTGAT-TTGAGGGCGTTA-3'。引物名称中的 L 表示轻链, H 表示重链,所有的引物均由上海生工生物公司合成。PCR 反应体系为 50 μL,其中 H₂O 28.6 μL, 10×buffer 5.0 μL, dNTPs(每种 dNTP 终浓度为 0.2 mmol/L)4.0 μL,正、反向引物(10 pmol/μL)各 2.0 μL, Taq DNA 聚合酶(5 U/μL)0.4 μL, MgCl₂(25 mmol/L)3.0 μL,模板 DNA(10~20 ng)5.0 μL。PCR 反应条件为:94℃ 预变性 1 min;94℃ 变性 30 s,65℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 90 s,共 35 个循环;最后 72℃ 再延伸 4 min;4℃ 保存。

采用上海生工生物公司生产的小量胶柱式纯化回收柱进行扩增产物的回收与纯化。测序反应使用 PE/ABI 公司的 BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kit,将纯化后的测序产物用 ABI310 测序仪测序。

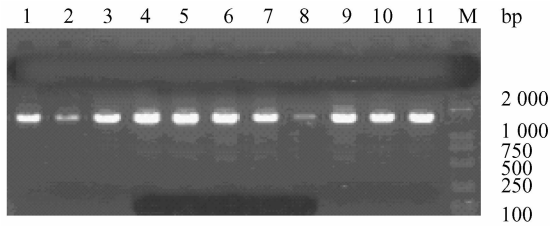
1.3 数据分析处理

序列结果首先用 CLUSTAL W 程序进行对位排列,然后进行手工比对^[12]。用分子进化遗传分析软件 MEGA2.0 确定多态位点、核苷酸总变异位点、简约信息位点以及点突变位点的统计^[13];用 DnaSP 软件(Version 3.53)计算各品种群体的单倍型多样性及其标准误差,种群内的核苷酸多样性和种群间的序列歧异水平等多态性统计参数^[14,15]。采用 Fu 等的 D* 统计检验值检验序列是否中性^[16]。用邻接法(NJ)构建四川地方山羊品种的 D-loop 序列的分子系统无根树^[13]。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

用优化后的反应体系和条件扩增出山羊 mtDNA 片段,PCR 产物经 1% 的琼脂糖凝胶检测约 1 500 bp(图 1),与预期片段大小相符。



1,2. 藏山羊 (Ti); 3,4. 北川白山羊 (BCW); 5,6. 金堂黑山羊 (JTB); 7,8. 乐至黑山羊 (LZB); 9. 成都麻羊 (CDM); 10. 简阳大耳羊 (JYD); 11. 建昌黑山羊 (JCB); M. DNA marker

1,2. Tibet goat; 3,4. Baichuan White goat; 5,6. Jintang Black goat; 7,8. Lezhi Black goat; 9. Chengdu Ma goat; 10. Jianyang Da Ear goat; 11. Jianchang Black goat; M. DNA marker

图1 PCR产物回收后的琼脂糖凝胶电泳

Fig. 1 PCR products purified by agrose electrophoresis

2.2 四川地方山羊品种(类群)mtDNA D-loop序列多态性

试验测定的7个山羊品种(类群)43个个体的mtDNA控制区长度为1 212或1 213 bp, A、T、G、C 4种核苷酸的比例分别为31.2% (30.9%~31.4%)、28.7% (28.5%~29.2%)、14.1% (13.8%~14.4%)和26.0% (25.6%~26.2%), A+T含量明显高于G+C含量。经检验,四川7个地方山羊品种(类群)的D值分别为0.707 5(北川白山羊BCW)、-0.480 0(成都麻羊CDM)、-0.890 0(建昌黑山羊JCB)、1.786 1(金堂黑山羊JTB)、0.949 1(简阳大耳羊JYD)、2.153 6(乐至黑山羊LZB)和0.387 2(藏山羊Ti),均不显著($P > 0.10$),说明各品种(类群)控制区序列均为中性突变。将测定的序列与AF53441^[17]比较,共发现74个变异位点,其中单一多态位点17个,简约信息位点56个,此外在1 075位有一个核苷酸C的插入/缺失(图2)。

这些差异共定义了27种单倍型,单倍型数目和类型在各品种间分布有差异。其中藏山羊有7种单倍型,建昌黑山羊有5种单倍型而且所测定的序列都为不同的单倍型类型。

2.3 四川地方山羊品种(类群)mtDNA D-loop遗传多样性

四川7个地方山羊品种(类群)内单倍型多样度和平均核苷酸多样性见表1。表中所示,我国四川

7个地方山羊品种(类群)单倍型多样性从0.583~1.000变化,核苷酸多样性则在0.000 69~0.020 96之间变化,平均核苷酸多样性为1.686%,平均单倍型多样性为0.966,表明四川山羊品种(类群)单倍型类型和核苷酸多样性较为丰富。四川北川白山羊、凉山州的建昌黑山羊、阿坝州的藏山羊都有自己独特的单倍型,与其它品种间都没有共享类型。金堂黑山羊和乐至黑山羊类群内没有独特的单倍型类型,都与其它品种(类群)共享。

2.4 四川地方山羊品种(类群)间的遗传距离

用nucleotide-Kimura 2-parameter模型计算各品种(类群)间的距离和运用bootstrap方法估计标准差,结果见表2。从Kimura双参数距离可以看出,7个地方山羊品种(类群)间的遗传距离变异范围为0.001 7~0.030 6,金堂黑山羊与建昌黑山羊、藏山羊的遗传距离较大,为0.030 6。从表2中两种野生山羊与家山羊群体的Kimura双参数距离可以看出,捻角山羊(*Capra falconeri*, AB044305, AB044306)与家山羊群体的距离(0.070 4~0.081 8)显著大于角羊骨羊(*Capra aegagrus*, AB004076)与家山羊的遗传距离(0.005 8~0.031 5),而两个野生种之间的距离为0.080 8。

2.5 系统进化分析

用MEGA软件的NJ法和7个品种(类群)mtDNA控制区的27条单倍型序列,构建的系统发育树如图3(系统树分枝上方的数值表示1 000次重复检验得到的支持率;下方的数值表示枝长)。Bootstrap检验的结果表明:系统发育树各分支的统计置信度都高于50%,而且内部分支长度均为非负值,说明所构建的系统发育树的拓扑结构是正确的,且置信度较高。

进化树明显分为两大枝,其中单倍型序列H5、H6、H8、H13、H15和H20聚为一类(II),包括成都麻羊、金堂黑山羊、简阳大耳羊和乐至黑山羊等品种(类群),占单倍型总数的22.22%;其余单倍型序列聚为另一大类(I),其中北川白山羊和的藏山羊的全部序列以及建昌黑山羊的大部分序列都位于其中,占单倍型总数的77.78%。此外,成都麻羊、金堂黑山羊、简阳大耳羊和乐至黑山羊的控制区序列单倍型还分别聚在不同的分枝上。说明四川地方山羊有两个母系来源。

	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000000	000000111 1111
	0001112222	2233333444	4444444445	5555555555	5555555555	5555666666	6777888000 0000
	2361230001	5912378001	1345566890	1123334444	4455566777	8889901113	5123057012 4578
	4053901672	0876371352	3435736300	5705793456	7812329016	0197870256	3700213578 7555
AF53441	ACTCAAAGTG	TGATGTCAA	GCAAGCCGGT	CTTTTATTT	CTCGGATTTC	TGCGGCTTCC	TCCCTAACT TC-G
H1A.....A.....G.C.....C.....A.....A.A.C.T.....C.A...G...-.
H2C.....A.....C.....A.C.....C.....C.C.....C.....C.C.....A.....T.....A...G...-.C.A...G...-.
H3C.....A.....C.....AC.....C.....C.C.....C.....C.....C.....C.....C.A...T.....C.A...G...-.
H4	...T...G.C.	AG...C...	A...CT.AAC	CC...CG.CC	T.TA.G...T	CCAAATC.T	C...AT...TC CT-A
H5	...T...G.C.	A...C.T.	AT...CT.AAC	CCCC...CC	T.TAA...T	CCAAATC.T	C...ATC...C C-A
H6	GT...G...C.....C.....C.....A.....TA...G...-.TA...G...-.
H7	...T...G.C.	A...C.....	AT...CT.AAC	CCCC...CC	T.TAA...	CCAAATC.T	C...AT...G CTCA
H8	...C...A...G.....C.....C.....C.....C.....A.....T.....A...G...-.A...G...-.
H9	...C...A...C.....G.C.....A.....C.....C.....C.....C.....A.....T.....A...G...-.
H10	...T...G.C.	AG...C.....	A...CT.AAC	CC...CG.CC	T.TA.G...T	CCAAATC.T	C...AT...C CT-A
H11G.....C.....C.....C.....A.....A.A.CCT.....C.A...G...-.
H12	...T...G.C.	AG...C.....	A...CT.AAC	CC...CG.CC	T.TA.G.C.T	CCAAATC.T	C...AT...G.C CT-A
H13A.....A.....	A...GC...CC.....A.C.....A.A.C.T.....C.A...G...-.
H14	...C...A...C.....C.....AC.....C.....C.....C.....C...AT...T.....A...G...-.
H15A.....C.....C.....C.....A.....A.A.CCT.....C.A...G...-.
H16G.....C.....C.....C.....C.A.....A.C.T.....C.A...G...-.
H17	...T...G.C.	AG...C.....	A...CT.AAC	CC...CG.CC	T.TA.G...T	CCAAATC.T	C...AT...G.C CT-A
H18G.....C.....C.....	T...CQC...AA.....C.A...G...-.C.A...G...-.
H19G.....C.....C.....C.....A.....TA...G...-.TA...G...-.
H20C.....C.....C.....CQC.C.....A.....C.A...G...-.C.A...G...-.
H21G.....C.....C.T.....C.....A.....AA...CT.....C.A...GG...-C.
H22G.....C.....C.T.....C.....A.....AA...CT.....A...GG...-C.
H23G.....C.....C.....C.....A.....TA...G...-.TA...G...-.
H24A.....C...C.....C.....C.....A.A...T.....A...G...-.A...G...-.

• . 表示相同碱基;- . 表示缺失
 • . Means the identical base pair;- . Means the deletion base pair

图 2 各单倍型序列的变异位点

Fig. 2 Variable sites in mtDNA D-loop of haplotype sequences of Sichuan goats

表 1 四川地方山羊品种(类群)D-loop 遗传多样性

Table 1 The genetic diversity of D-loop region in Sichuan goat breeds

样本数 Sample size	单倍型数目 Number of haplotypes	单倍型 Types of haplotypes	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	C_H	U_H
北川白山羊 BCW	4	3	H1~H3	0.833±0.222	0.007 70±0.002 02	0 3
成都麻羊 CDM	9	4	H4~H7	0.583±0.183	0.014 30±0.005 00	2 2
建昌黑山羊 JCB	5	5	H8~H12	1.000±0.126	0.017 16±0.004 78	0 5
金堂黑山羊 JTB	5	3	H13~H15	0.800±0.164	0.015 02±0.006 66	3 0
简阳大耳羊 JYD	5	4	H13, H16~H18	0.900±0.161	0.020 96±0.004 03	1 3
乐至黑山羊 LZB	6	4	H13, H15, H19, H20	0.800±0.172	0.018 37±0.003 86	4 0
藏山羊 Ti	9	7	H21~H27	0.944±0.070	0.000 69±0.000 77	0 7

C_H . 表示品种(类群)间共享单倍型的数目, U_H . 表示品种(类群)内所特有的单倍型的数目

C_H means the number of common haplotypes among breeds(groups), and U_H means the number of unique haplotypes within breeds(groups)

3 讨论

3.1 山羊 mtDNA 控制区序列的扩增

家养山羊 mtDNA 控制区长度为 1 212 bp 左右,本试验用于扩增 mtDNA 控制区全序列的上游引物从 D 环上游 tRNA-Pro 前的 *cyt b* 基因后半段

大约 100 bp 开始,反向引物为 tRNA-Phe 的部分序列。根据推算,如果扩增成功,产物片段大小应大约为 1 500 bp 左右。本试验用优化后的反应体系和条件扩增出山羊线粒体 DNA 中长度大约 1 500 bp 的片段,与预期片段大小相符。扩增产物经过回收、纯化处理后,在 ABI310 测序仪上进行序列测定。

表 2 品种(类群)间的 Kimura 2-parameter 距离

Table 2 Kimura 2-parameter pairwise distances by bootstrap method among breeds

	北川白山羊 BCW	成都麻羊 CDM	建昌黑山羊 JCB	金堂黑山羊 JTB	简阳大耳羊 JYD	乐至黑山羊 LZB	藏山羊 Ti	角脊羊	捻角山羊
北川白山羊 BCW		0.002 6	0.002 2	0.005 3	0.002 5	0.003 2	0.001 1	0.002 5	0.009 2
成都麻羊 CDM	0.008 3		0.001 5	0.005 4	0.002 9	0.004 5	0.002 6	0.003 0	0.009 2
建昌黑山羊 JCB	0.005 0	0.003 3		0.005 5	0.002 9	0.004 2	0.002 2	0.002 7	0.009 2
金堂黑山羊 JTB	0.028 9	0.028 9	0.030 6		0.004 4	0.003 6	0.005 4	0.005 1	0.008 5
简阳大耳羊 JYD	0.008 3	0.010 0	0.010 0	0.020 2		0.003 9	0.002 8	0.003 4	0.008 9
乐至黑山羊 LZB	0.013 4	0.021 9	0.018 5	0.016 8	0.015 1		0.003 3	0.003 6	0.009 2
藏山羊 Ti	0.001 7	0.008 3	0.005 0	0.030 6	0.010 0	0.013 4		0.002 3	0.009 3
角脊羊	0.007 5	0.012 5	0.009 2	0.031 5	0.014 2	0.017 6	0.005 8		0.009 3
捻角山羊	0.079 9	0.078 0	0.078 0	0.070 4	0.076 1	0.078 0	0.081 8	0.080 8	

表中对角线上方为标准差;对角线下方为 Kimura 双参数距离

Standard error(above diagonal)and Kimura 2-parameter pairwise distances (below diagonal)

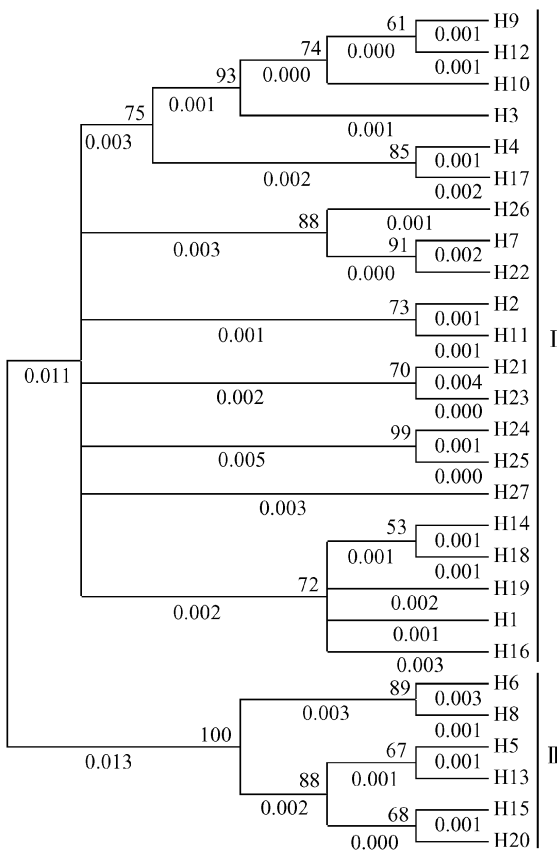


图 3 系统发育 NJ 树(基于 mtDNA 控制区序列,使用 Kimura 双参数模型)

Fig. 3 Phylogenetic tree of the D-loop sequences constructed with NJ method using Kimura's two-parameter model

L₂ 5'-GATCCCTCTTCTCGCTCC-3', 通过使用内引物和全序列引物的重叠和重复测序验证的方法,以保证测序的准确性。序列经校正后,与 GenBank 中已报道的山羊 mtDNA 控制区全序列^[15] 比对,发现两者同源性很高,说明本实验扩增和测序的目的 DNA 片段是山羊的 mtDNA 控制区。

3.2 四川地方山羊品种(类群)mtDNA 的遗传多样性

衡量一个品种(群体)mtDNA 变异程度的指标有两个——H 值和 Pi 值。H 是单倍型多样性,指样本中随机抽取到两个不同单倍型的频率;Pi 值是核苷酸多样性。H 值和 Pi 值越小,群体的多态程度越低,遗传多样性越贫乏。本研究对四川 7 个地方山羊品种(类群)43 个个体进行的 mtDNA 控制区全序列测定,H 值和 Pi 值分别为 0.966 和 1.686%,结果表明四川地方山羊品种(类群)的遗传多样性较为丰富。

李祥龙等^[9,12] 用 18 种限制性内切酶对我国部分家养山羊的 mtDNA 进行了 RFLP 分析,核苷酸多样性仅为 0.149%,单倍型间的平均距离为 0.006 1,结果认为中国家养山羊的遗传多样性比较贫乏。造成这种结果差异的主要原因是样本来源和研究手段的不同。Luikart 等^[6] 测定了世界上 88 个品种的 406 个个体 mtDNA 高变区 I 481 bp 的序列,结果也表明家养山羊控制区序列表现出很高的多态性。本研究结果支持了 Luikart 等的观点。

四川北川白山羊、凉山州的建昌黑山羊、阿坝州的藏山羊都有自己独特的单倍型,与其它品种(类

为了保证序列测定的准确性,同时设计出测序反应的内引物 L₁ 5'-GCGGACATACAGCCTTCA-3' 和

群)间都没有共享类型。这些品种对特殊自然环境有良好的适应性,在商品生产过程中,要防止片面追求经济效益,防止盲目杂交,避免基因库的混杂和地方品种某些优良基因的丢失,以保持山羊品种资源的遗传多样性。建昌黑山羊是四川古老的一个地方山羊品种,主要分布于凉山州的附近各县,长期地理隔离导致基因流动较少,单倍型多样性较为丰富。金堂黑山羊和乐至黑山羊分别是 2000 年和 2003 年由四川省畜禽品种资源委员会命名的两个地方山羊品种,两地相隔较近且有交叉,基因交流机会多,可能是造成它们亲缘关系近且遗传多态性相对低的原因之一,此外,品种内的长期选育也可能是导致它们共享单倍型多、遗传组成单一的原因。

3.3 四川地方山羊品种(类群)mtDNA D-loop 聚类分析

一般认为现代家山羊的祖先可能是山羊属的两个野生代表种,即角羊骨羊(*Capra aegagrus*)和捻角山羊(*Capra falconeri*)^[7,8]。李祥龙等通过对国内一些地方山羊品种的 mtDNA-RFLP 分析得出家山羊混合起源于两个不同祖先的结论^[11];常洪对血液蛋白型研究认为家山羊是单一起源^[19]。Luikart 等认为世界家养山羊有多个母系起源^[6,19]。本试验单倍型的系统发育分析表明,四川地方山羊品种(类群)有两个母系来源。现在的家养山羊都是从野生山羊起源驯化的,而野山羊又分为很多个种^[3],如角羊骨羊、高加索山羊、东山羊、捻角山羊、北山羊、奴比北山羊、西伯利亚北山羊。也有人认为还包括:欧洲野山羊和西班牙北山羊。因此要真正回答母系来源有哪些,这些野生山羊到底是种之间先杂交,不同母系血缘类型的杂交后代再由人类驯养驯化,还是先有独立的驯养,后来再有野生种或者其它起源的家养品种的基因渗入,仅有 mtDNA 标记是远不够的,必须借助其它标记,甚至包括核基因的研究。

参考文献:

[1] 巩云芳,李祥龙,刘铮铸.我国主要地方绵羊品种的 mtDNA 细胞色素 *b* 基因 PCR-RFLP 研究[J]. 畜牧兽医学报,2005,36(7):649~653.

[2] Bhat P P, Mishra B P, Bhat P N. Polymorphism of mitochondrial DNA (mtDNA) in cattle and buffaloes[J]. Biochem Genet,1990,28(7/8):311~318.

[3] Upholt W B, David I B. Mapping of mitochondrial DNA of individual sheep and goats; rapid evolution in the D-loop region[J]. Cell, 1977,11:571~583.

[4] Kim K I, Yang Y H, Lee S S, et al. Phylogenetic relationships of Cheju horses to other horse breeds as determined by mtDNA D-loop sequence polymorphism[J]. Animal Genetics,1999,2: 102~108.

[5] Takada T, Kikkawa Y, Yonekawa H, et al. Bezoar (*Capra aegagrus*) is a matriarchal candidate for ancestor of domestic goat (*Capra hircus*): evidence from the mitochondrial DNA diversity[J]. Biochem Genet, 1997, 35(9-10): 315~326.

[6] Luikart G, Gielly L, Excoffier L, et al. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2001,98(10):5 927~5 932.

[7] 谢成侠.中国养牛羊史(附养鹿简史)[M].北京:农业出版社,1985.140.

[8] 郑丕留.中国羊品种志[M].上海:上海科学技术出版社,1992.3~4.

[9] 李祥龙,张亚平,陈圣偶,等.山羊品种间线粒体 DNA 限制性片段长度多态性研究[J].动物学研究,1997,18(4): 421~428.

[10] 贾永红,史宪伟,简承松,等.贵州四个山羊品种 mtDNA 多态性及起源分化[J].动物学研究,1999,20(2):88~92.

[11] 李祥龙,张亚平,陈圣偶,等.山羊 mtDNA 多态性及其起源分化研究[J].畜牧兽医学报,1999,30(4):313~319.

[12] Thompson J D, Higgins D G, Gibson T J. Clustal W: Improving the sensitivity of progressive multiple alignment through sequence weighting[J]. Nucl Acids Res,1994,22: 4 673~4 680.

[13] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I, et al. MEGA: molecular evolutionary genetics analysis[M]. Arizona State University, Tempe, 2000. 65~80.

[14] Rozas J, Rozas R. DnaSP version 3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis[J]. Bioinformatics,1999,15:174~175.

[15] Nei M. Molecular Evolutionary Genetics[M]. New York: Columbia University Press,1987. 88~112.

[16] Fu Y, Li W. Statistical tests of neutrality of mutations[J]. Genetics, 1993,133:693~709.

[17] Feligini M, Parma P. The complete nucleotide sequence of goat (*capra hircus*) mitochondrial genome[J]. DNA Seq, 2003,14 (3):199~203.

[18] 常洪.家畜遗传资源学纲要[M].北京:中国农业出版社,1995.66~68.

[19] MacHugh D E, Bradley D G. Livestock genetic origins: Goats buck the trend[J]. Proc Natl Acad Sci USA,2001, 98:5 382~5 384.