

中国4个绒山羊品种微卫星DNA遗传多样性和亲缘关系的初步分析

狄冉^{1,2}, 何晓红¹, 关伟军¹, 浦亚斌¹, 赵倩君¹, 马月辉¹

(1 中国农业科学院 北京畜牧兽医研究所, 北京 100094; 2 中国农业科学院 研究生院, 北京 100081)

【摘要】【目的】调查中国4个地方绒山羊品种的遗传多样性现状,为其资源保护策略的制定提供理论依据。**【方法】**利用联合国粮农组织(FAO)推荐的6个微卫星标记,并结合荧光多重PCR,计算等位基因频率、杂合度、多态信息含量(PIC)、有效等位基因数(Ne),评估其种内遗传变异和品种间遗传关系,利用NJ法和主成分分析法进行聚类,利用相关分析考察品种间遗传距离与地理距离的相关性。**【结果】**SRCRSP5、OarFCB48、INRA063、OarFCB20、OarFCB304 5个位点均为高度多态位点,可作为有效的遗传标记用于山羊品种的遗传多样性和系统发生关系分析;4个绒山羊品种在6个微卫星座位均具有多态性,平均等位基因数为8.33~11.00,杂合度和多态信息含量均较高,品种平均杂合度在0.696 7~0.802 7。NJ树显示,河谷绒山羊与河西绒山羊遗传关系最近,与新疆绒山羊遗传关系次之,与辽宁绒山羊遗传关系最远,这一结果在主成分分析中也得到了验证;相关分析显示,4个绒山羊品种间的遗传距离与地理距离呈中度正相关。**【结论】**目前4个绒山羊保种场均较好地保存了这些品种的遗传多样性,品种间亲缘关系与品种育成史及地理分布基本一致。

【关键词】 绒山羊;微卫星DNA;遗传多样性;系统发生

【中图分类号】 S827

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)04-0015-07

Initial analysis of genetic diversity status and phylogenetic relationship of Chinese cashmere goats breeds using microsatellite makers

DI Ran^{1,2}, HE Xiao-hong¹, GUAN Wei-jun¹, PU Ya-bin¹, ZHAO Qian-jun¹, MA Yue-hui¹

(1 Institute of Animal Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100094, China;

2 Graduate School of Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China)

Abstract: **【Objective】** The study investigated genetic diversity of four Chinese indigenous cashmere goats breeds and proposed conservation strategy for Chinese cashmere goats Breeds. **【Method】** The genetic diversity of cashmere goats and genetic relationships among the four breeds were assessed using 6 microsatellite markers recommended by the Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO) through fluorescence-multiplex PCR. The allele frequency, mean heterozygosity, polymorphic information content were calculated. Dendrogram analysis, principal component analysis and correlation analysis were used. **【Result】** 5 loci (SRCRSP5, OarFCB48, INRA063, OarFCB20, OarFCB 304) are highly polymorphic, which are effective markers for analysis of genetic diversity and relationship among goats breeds. The four populations were polymorphic according to the 6 loci, their heterozygosity and polymorphic information content were high. The mean alleles of each population were from 8.33 to 11.00 and the mean heterozygos-

* [收稿日期] 2007-05-09

[基金项目] 国家自然科学基金项目(30371026);科技部基础性工作项目(2001DEA10006)

[作者简介] 狄冉(1979—),女,山东泰安人,博士,主要从事动物遗传资源保护研究。E-mail:dirangirl@163.com

[通讯作者] 马月辉(1964—),男,吉林伊通人,研究员,主要从事动物遗传资源保护研究。E-mail:yuehui.ma@263.net

ity were from 0. 696 7 to 0. 802 7. NJ tree showed: Hegu cashmere goat and Hexi cashmere goat were closely related, then clustered with Xinjiang cashmere goat and finally clustered with Liaoning cashmere goat. Significant correlation was found between genetic distance and geographical distance. 【Conclusion】 The genetic diversity of these breeds is rich; The dendrogram relationship between different goat breeds was generally in accordance with their breeding history and localities.

Key words: cashmere goat; microsatellite DNA; genetic diversity; phylogenetic relationship

绒山羊是中亚地区特有的一种生物资源,在我国分布较为广泛。经过长期的自然选择和人工选育,我国的绒山羊品种已成为目前世界上产绒量最高、绒纤维品质最好的优良品种;其主要产品——山羊绒细而柔软、轻而保暖,被誉为“纤维宝石”,具有较高的经济价值。现代定向育种对于我国绒山羊的多样性是否存在不利影响,已经成为相关研究人员关注的问题。近几年,国内学者已经对部分绒山羊品种进行了遗传多样性评价^[1-5],但尚未系统阐述中国产绒山羊品种的遗传多样性问题。本研究利用微卫星标记对我国不同生态地区 4 个绒山羊品种的遗传多样性进行了分析,以期评估目前中国绒山羊品

种的遗传多样性状况,为探讨更合理、更有效的品种保护和育种方案提供研究手段及理论依据。

1 材料与方法

1.1 材 料

1.1.1 绒山羊 我国 4 个不同的绒山羊品种在长期培育过程中逐渐形成了自身的特色。辽宁绒山羊产绒量高;河西绒山羊适应性强、绒品质高;新疆绒山羊所产绒毛细长而柔软,是肉、绒兼用的地方品种;西藏河谷绒山羊适应能力很强,是一个古老的地方品种,各品种的来源及数量见表 1。试验材料来自以上 4 个绒山羊群体的耳组织。

表 1 绒山羊的样本来源及数目

Table 1 Collection sites and quantities of sample of ear tissue

品种 Breed	产区生态类型 Entironmental style	样本来源 Collection site	样本数 Sample quantity
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	干旱沙漠 Drought desert	宽甸县、盖州市 Kuandian, Gaizhou city	46
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	干旱沙漠 Drought desert	甘肃省天祝县、肃南县 Tianzhu, Sunan county	47
新疆绒山羊 Xinjiang cashmere goat	干旱草原 Drought grassland	乌鲁木齐市 Wulumuqi city	43
河谷绒山羊 Hegu cashmere goat	高寒草地 Frigid pasture	西藏江孜地区 Jiangzi county	46

1.1.2 试剂及仪器 试剂: *Taq* DNA 聚合酶、dNTP,均购自宝生物工程有限公司;荧光引物,由上海生工生物工程有限公司合成。主要仪器:PCR 仪,宝生物工程有限公司;ABI3130 分析仪,美国应用生物系统公司。

1.1.3 微卫星引物 所用引物是由联合国粮农组织和国际家畜研究所推荐的,且已经公开发表的微卫星引物,序列及相关参数见表 2。

1.2 绒山羊耳组织的采集

每个绒山羊群体随机采集约 50 只(其中公羊不少于 10 只),共计 182 只。采集地及样本数目见表 1。要求采样个体具备品种的典型特征,并且在三代或二代内没有血缘关系。采样时均采集面积约 0.5 cm² 的耳组织块,置于装有体积分数 70%乙醇的灭菌离心管中。

1.3 绒山羊基因组 DNA 的提取

采取常规的酚抽提法提取 DNA。具体参考《分

子克隆实验指南》(第 3 版)。

1.4 绒山羊基因组 DNA 的 PCR 扩增

表 2 中前 3 对引物 PCR 扩增体系为 12 μL,含基因组模板 30~50 ng, *Taq* DNA 聚合酶 1.25 U, 2.5 mmol/L dNTP 1 μL, 10 μmol/L 引物 0.25 μL, 25 mmol/L Mg²⁺ 1 μL, 10×Buffer 1.2 μL, 用水补齐 12 μL。按各引物条件于 PCR 扩增仪上进行扩增。PCR 反应程序:95 ℃预变性 5 min;然后 94 ℃变性 30 s, 50~60 ℃退火 30 s, 72 ℃延伸 30 s, 35 个循环;最后 72 ℃延伸 10 min。

表 2 中后 3 对引物采用三重 PCR,扩增体系为 25 μL。通过正交试验 L₉(4³)确定 PCR 扩增体系中 dNTP 与 3 对引物的量,另做一个重复试验,因此共有 18 管 PCR 产物样品。试验结果见图 1。

通过对比,确定三重 PCR 扩增体系中 dNTP 的用量为 1 μL, 3 对引物(OarFCB20, OarFCB304, IL-STS005)的用量分别为 0.3, 0.1, 0.4 μL(浓度 10

μmol/L)。体系中其他成分用量为:基因组模板 80 10×Buffer 2.5 μL,用水补齐 25 μL。PCR 反应程
ng, *Taq* DNA 聚合酶 3 U, 25 mmol/L Mg²⁺ 2 μL, 序与前面一致。

表 2 6 对微卫星引物的序列及退火温度

Table 2 Sequence and annealing temperature of 6 pairs of microsatellite primers		
引物名称 Primer name	引物序列(5'-3') Primer sequence(5'-3')	退火温度/℃ Annealing temperature
SRCRSP5	GGACTCTACCAACTGAGCTACAAG	55
	TGAAATGAAGCTAAAGCAATGC	
OarFCB48	GAGTTAGTACAAGGATGACAAGAGGCAC	58
	GACTCTAGAGGATCGCAAAGAACCAG	
INRA063	GACCACAAAGGGATTTGCACAAGC	58
	AAACCACAGAAATGCTTGGAAG	
ILSTS005	6FAM - GGAAGCAATGAAATCTATAGCC	55
	TGTTCTGTGAGTTTGTAAGC	
OarFCB20	6FAM-AAATGTGTTTAAGATTCCATACATGT	55
	GGAAAACCCCATATATACCTATAC	
OarFCB304	VIC-CCCTAGGAGCTTTCAATAAAGAATCGG	55
	CGCTGCTGTCAACTGGGTCAGGG	

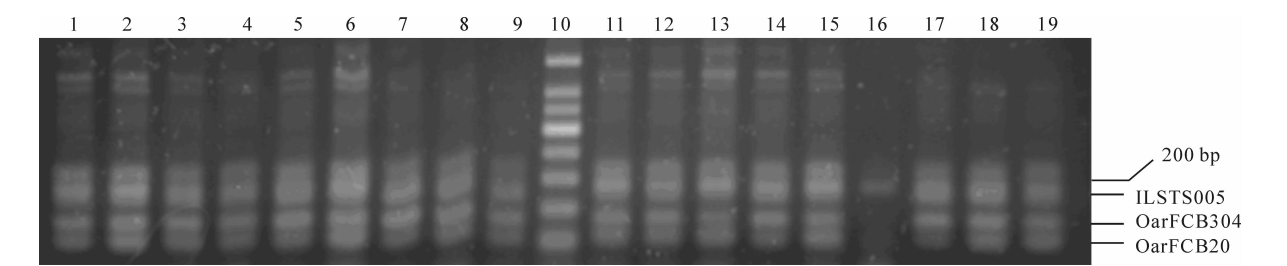


图 1 三重 PCR 正交试验 L₉(4³)电泳图

1~9. 9 个试验号;11~19. 重复试验组的 9 个试验号;10. Maker, 从下往上分别为 100,150,200,250,300,350,400,500 bp
Fig. 1 Agrose gel eletrophoresis of multi-per products at 3 loci (OarFCB20,OarFCB304,ILSTS005) for orthogonal test
1—9. A set of orthogonal test;11—19. Repeat of test;10. Maker(down to up):100,150,200,250,300,350,400,500 bp

1.5 绒山羊微卫星 DNA 遗传多样性的分析

用灭菌的去离子水将 PCR 产物稀释 2~32 倍,取出 2.0 与 0.25 μL 内标(ROX250)以及 7.75 μL Loading solution 充分混匀,95 ℃加热变性 5 min,然后冰浴 5 min。变性的 PCR 产物采用 pop7 胶在

ABI3130 分析仪中电泳大约 40 min,生成胶文件,使用 Genemapper 软件分析胶文件,然后进行泳道线校正、数据转换、内在标准分子量校正、迁移片段大小测定。后 3 个位点 PCR 产物的电泳峰图见图 2。

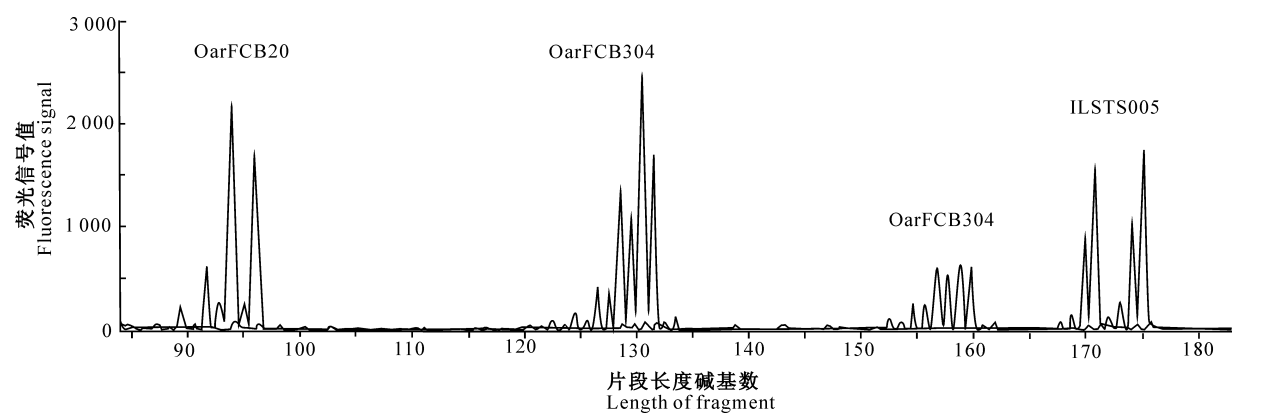


图 2 利用 ABI3130 分析仪分析 OarFCB20、OarFCB304、ILSTS005 3 个位点 PCR 产物的原始电泳峰

Fig. 2 Result for genescaning of 3 microsatellite loci by ABI3130 genetic analyzer
利用 GDA、POPGENE、MICROSATELLITE TOOLKIT 软件计算有效等位基因数、等位基因频

率、杂合度 (Heterozygosity, H)、多态信息含量 (PIC)、F-统计量、遗传距离。用 NJ 法 (邻接法) 和主成分分析法对群体进行聚类。利用 SAS 软件的相关分析法功能分析品种间遗传距离与地理距离的相关性。

2 结果与分析

2.1 绒山羊微卫星座位的多态性

6 个位点 SRCRSP5、OarFCB48、INRA063、OarFCB20、OarFCB304、ILSTS005 的有效等位基因数和平均杂合度分别为 7.176 3, 7.231 1, 9.402 2,

4.139 2, 8.658 7, 1.832 9; 0.863 119, 0.896 131, 0.864 327, 0.760 497, 0.886 946, 0.455 671。根据多态位点的判断标准 (即有效等位基因数 $\geq 4^{[6]}$ 或平均杂合度 >0.5) 可知, 前 5 个位点均为高度多态位点, 可作为有效遗传标记用于各绒山羊品种的遗传多样性和系统发生关系分析。

2.2 绒山羊群体的遗传结构

2.2.1 各群体杂合度 (H) 和多态信息含量 (PIC)
4 个绒山羊品种在 6 个微卫星座位均具有多态性, 平均等位基因数为 8.33~11.00, 杂合度及多态信息含量见表 3。

表 3 4 个绒山羊品种的微卫星位点遗传变异分析

Table 3 Estimation of genetic variability of 4 cashmere goat breeds at 6 microsatellite loci

品种 Breed	参数 Parameter	微卫星位点 Microsatellites DNA loci						平均 Average
		SRCRSP5	INRA063	OarFCB48	OarFCB20	OarFCB304	ILSTS005	
河谷绒山羊 Hegu cashmere goat	H	0.845 2	0.841 0	0.845 2	0.548 4	0.736 3	0.317 8	0.696 7
	PIC	0.827 6	0.822 0	0.828 6	0.478 8	0.711 0	0.294 2	0.660 5
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	H	0.873 8	0.858 8	0.828 4	0.730 0	0.832 7	0.379 6	0.759 0
	PIC	0.862 4	0.843 6	0.806 4	0.684 5	0.813 7	0.358 5	0.728 2
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	H	0.843 2	0.824 8	0.877 1	0.667 5	0.835 8	0.483 9	0.763 9
	PIC	0.828 1	0.802 0	0.865 6	0.632 3	0.817 0	0.427 1	0.728 7
新疆绒山羊 Xinjiang cashmere goat	H	0.845 5	0.783 7	0.879 7	0.810 7	0.848 6	0.590 1	0.802 7
	PIC	0.829 0	0.755 3	0.868 9	0.784 7	0.830 5	0.540 2	0.768 2

由表 3 可知, 4 个绒山羊品种在 6 个微卫星座位上的杂和度和多态信息含量均值较高, 均大于 0.6, 其中新疆绒山羊的杂合度、多态信息含量相对较高, 而西藏河谷绒山羊的杂合度、多态信息含量相对较低。表明目前西藏河谷绒山羊、河西绒山羊、辽宁绒山羊和新疆绒山羊遗传多样性较为丰富, 新疆绒山羊的遗传多样性最高。4 个绒山羊品种的平均观察杂合度分别为 0.603 640, 0.700 332, 0.646 072 和 0.623 222, 均低于期望杂合度。

2.2.2 群体间的遗传关系 F-统计量是用来测量

群体间遗传分化程度的指标。6 个微卫星位点在所有群体内各个亚群体的固定系数 (FST) 为 0.009 7~0.092 1, 均值为 0.049 8; 整个群体的个体固定系数 (FIT) 为 -0.097 0~0.448 6, 均值为 0.181 9; 亚群体内的个体固定系数 (FIS) 为 -0.135 1~0.425 7, 均值为 0.139 1。这表明 4 个绒山羊群体的遗传变异主要来源于群体内部, 群体间遗传变异不大。

遗传距离是度量群体间遗传关系的主要统计量。基于等位基因频率计算出 Nei's (1978 年) 标准遗传距离, 结果见表 4, 然后构建 NJ 树 (图 3)。

表 4 4 个绒山羊品种间的遗传距离

Table 4 Genetic distance among 4 cashmere goat breeds

品种 Breed	河谷绒山羊 Hegu cashmere goat	河西绒山羊 Hexi cashmere goat	辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat
河西绒山羊 Hexi cashmere goat	0.725 835		
辽宁绒山羊 Liaoning cashmere goat	0.879 812	0.765 653	
新疆绒山羊 Xinjiang cashmere goat	0.857 349	0.860 262	0.896 504

由图 3 可以看出, 河谷绒山羊与河西绒山羊的遗传关系最近, 与新疆绒山羊的遗传关系次之, 与辽宁绒山羊的遗传关系最远。基于等位基因频率对 4 个绒山羊品种进行主成分分析, 前 3 个特征根的累计贡献率分别为 44.39%, 75.22% 和 100%。由图

4 可以看出, 第二主成分把河谷绒山羊、河西绒山羊与其他两个绒山羊品种分开, 这也较好地验证了以上聚类结果。

绒山羊品种间遗传距离与地理距离的相关分析结果表明, 4 个绒山羊品种间的遗传距离与地理距

离呈中度正相关(相关系数 $r=0.5359$)。

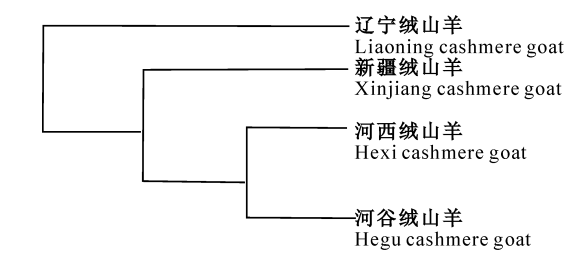


图3 根据遗传距离构建的4个绒山羊品种NJ树
Fig.3 A NJ dendrogram of 4 cashmere goat breeds by Nei distance

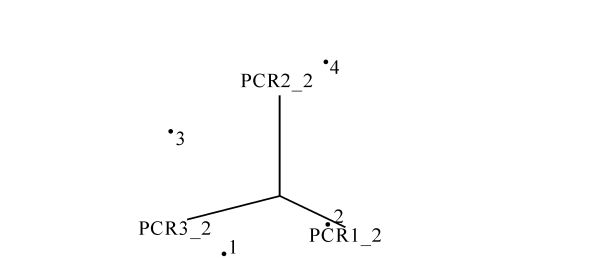


图4 4个绒山羊品种3个主成分立体散点图
1.河谷绒山羊;2.河西绒山羊;3.辽宁绒山羊;4.新疆绒山羊
Fig.4 Three-dimensional scatter plot of 4 cashmere goat breeds
1. Hegu cashmere goat;2. Hexi cashmere goat;
3. Liaoning cashmere goat;4. Xinjiang cashmere goat

3 讨论

3.1 群体遗传多样性分析

本研究的4个绒山羊品种中,辽宁绒山羊、西藏河谷绒山羊被列为国家级畜禽遗传资源保护名录,对这些品种资源进行保护的前提是遗传多样性评估。本研究采用杂合度和多态信息含量2个指标来考察我国4个绒山羊品种的遗传多样性。杂合度(H)反映群体在多个位点上的遗传变异,一般认为它是度量群体遗传变异的一个最适参数;多态信息含量(PIC)是等位基因频率和等位基因数的变化函数,是衡量标记多态性较好的指标。本研究结果显示,4个绒山羊品种的H和PIC均值均高于0.6,表明遗传多样性较为丰富,具有很大的保种潜力;同时也反应出各个保种场较好的保种效果,实现了尽量保留未来可利用遗传基因的保种初衷。这一结果与国内其他相关报道基本一致:Li等^[2]研究认为,12个中国山羊群体的总遗传杂合度(H_T)均值为0.798;汪志国等^[7]利用23个微卫星标记分析7个山羊群体总基因杂合度为0.8190,7个群体PIC均值在0.6305~0.6919;张爱玲等^[8]分析中国6个山羊品种的平均位点杂合度在0.3832~0.4277;张英杰等^[9]分析3个山羊品种的平均杂合度在0.6689~0.8296。而某些国外山羊品种的多样性较低:Saitbekova等^[10]检测的8个瑞士山羊平均期望杂合度为0.51~0.58;印度地方山羊的杂合度则在0.45~0.69^[11]。

本研究中新疆绒山羊的遗传多样性最高,这可能与其培育历史和非定向选育有关。新疆各地自古以来就有饲养山羊的历史;公元2世纪中期丝绸之

路开通后,新疆成为我国和中亚经济、文化交流的枢纽,这也为大批引进中亚地区山羊提供了可能。从育种角度来说,新疆绒山羊是一个在民间广泛饲养、无专一生产方向,肉、毛、绒、乳兼用的地方品种。这些都可能成为新疆绒山羊遗传多样性高的原因。西藏绒山羊的杂合度、多态信息含量相对较低,这可能是由于动物群体长期处于地理隔离和生殖隔离,保种群数量较小,品种趋于单一化或专门化,与其他动物群体的差异增加,群体的同质性加大^[12-13]。另外,随着人工授精和胚胎移植的普及化,动物个体的近交系数会上升,群体的同质性也随着提高,这也导致其杂合度降低。

本试验中,观察杂合度均低于期望杂合度,亚群体内的个体固定系数(FIS)也较高,说明所研究群体具有较高的基因一致度。群体内小范围的非随机交配、保种场隔离保种、现阶段常采用的人工育种技术、引进外来品种进行改良等一些育种保种措施的实施等均可导致这个结果。因此,虽然本研究的4个样本群体遗传多样性较为丰富,但由于人为因素的影响已导致群体处于不平衡状态,这应该引起育种者的足够重视,在保种育种过程中应尽量避免过度人工选择以及遗传多样性的丢失,防止品种退化。

3.2 品种间遗传分化分析

4个绒山羊品种群体内各个亚群体的固定系数(F_{ST})均值为0.0498,衡量群体间基因流的指标 N_m 值在2.4650~25.4344。这表明绒山羊品种间分化不明显,存在一定的基因流动。因此,绒山羊具有遗传多样性高且群体间遗传分化低的特点,推测其主要原因是:绒山羊是适应性最强、地理分布最广泛的家畜。一方面,山羊对自然条件具有很强的适

应能力,抗逆性强,能在严寒、酷热等各种气候条件下繁衍生存,因此在人类居住的大部分地区几乎都有山羊的分布。另一方面,山羊生性好动,喜攀登陡坡和悬崖,加之容易携带、运输和转移,因此增加了群体间基因流动的可能性。此外,高的突变率会掩盖历史上曾存在于群体间的差异^[14-15],由于 SSR 基因座的突变率较其侧翼及非 SSR 基因座的突变率高,因此采用 SSR 基因座可能会低估群体间的遗传分化。

4 个绒山羊品种间的遗传距离与地理距离呈中度正相关,表明绒山羊群体的遗传变异分布格局与地理分布一致,反映出品种形成与进化过程受到了生态学作用的影响。绒山羊分布范围广,群体分布的经度、纬度跨度大,环境变异性强,不同群体所承受的生境选择压力存在较大差异,最终导致群体间的遗传距离与地理距离存在一定水平的相关性。

3.3 聚类分析

本研究利用 NJ 法和主成分分析法进行 4 个绒山羊品种的聚类,2 种方法结果基本一致,均表明绒山羊群体间的遗传关系与地理分布一致。其中河谷绒山羊与河西绒山羊亲缘关系较近,可能是由于它们之间的地理距离相对较近所致。而它们与辽宁绒山羊的亲缘关系较远,除地理分布的原因外,这也许可以从它们的性状特征得到解释:辽宁绒山羊具有产绒量大的特性,而其他 3 个群体具有绒纤维细的特征,培育的侧重点不同进一步加大了群体间的遗传分化程度。

3.4 绒山羊遗传改良和保护策略

绒山羊在我国分布广泛,但由于长期以来对优良性状的选择育种使遗传多样性会有所下降。一方面,针对目前绒山羊地方群体遗传多样性丰富,且其遗传变异绝大部分都存在于群体内这一特性,在进行遗传多样性保护和种质资源保存时,应充分重视群体内不同类型个体的保存,防止人为因素对地方群体的进一步破坏。另一方面,随着地理距离的增大,群体间的分化也呈增大趋势。因此,对绒山羊种质资源实施保存策略时,也要在分布区不同区域内保存不同群体。对于一些被隔离的小种群,应扩大其分布区域,相互建立起一定的基因流,改善现存的种群状况。另外,建议通过选取遗传多样性丰富的个体作为亲本,进行扩繁和再引入,以避免其遗传多样性进一步丧失。

给予耐心细致的指导;赵生国、李莱娥等研究生在实验操作和数据分析中也给予了很大帮助,在此一并致谢!

[参考文献]

[1] Yang L,Zhao S H,Li K,et al. Determination of genetic relationships among five indigenous Chinese goat breeds with six microsatellite markers [J]. *Animal Genetics*,1999,30:452-455.

[2] Li M H,Zhao S H,Bian C,et al. Genetic relationships among twelve Chinese indigenous goat populations based on microsatellite analysis [J]. *Genetics Selection Evolution*,2002,34:729-744.

[3] Jin M,Guo C L,Hu J H,et al. Correlation analysis of economic traits in Liaoning new breed of cashmere goats using microsatellite DNA markers[J]. *Acta Genetica Sinica*,2006,33:230-235.

[4] 陈世林,赵书红,朱猛进,等. 绒山羊随机扩增多态 DNA 研究 [J]. *湖北农业科学*,2002,41:76-78.
Chen S L,Zhao S H,Zhu M J,et al. Studies on random amplified polymorphic DNA(RAPD) of cashmere goats [J]. *Hubei Agricultural Science*,2002,41:76-78. (in Chinese)

[5] 李祥龙,张亚平,陈圣偶,等. 我国主要地方山羊品种随机扩增多态 DNA 研究 [J]. *畜牧兽医学报*,2000,31(5):416-422.
Li X L,Zhang Y P,Chen S O,et al. Study on the random amplified polymorphic DNA (RAPD) of main native goat breeds in China[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*,2000,31(5):416-422. (in Chinese)

[6] Barker J S F. A global protocol for determining genetic distances among domestic livestock breeds [C]. *Proceeding of the 5th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production*,1994,21:501-508.

[7] 汪志国,杨章平,马月辉,等. 长江中下游以及东南沿海的 7 个山羊群体的遗传多样性分析[J]. *畜牧兽医学报*,2006,37(1):1-6.
Wang Z G,Yang Z P,Ma Y H,et al. Analysis of genetic diversity among seven goat population in the Middle and Lower Yangtse River Valley and East and South Mainland near the Sea [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*,2006,37(1):1-6. (in Chinese)

[8] 张爱玲,马月辉,李宏滨,等. 利用微卫星标记分析 6 个山羊品种遗传多样性 [J]. *农业生物技术学报*,2006,14(1):38-44.
Zhang A L,Ma Y H,Li H B,et al. Genetic diversity of six Chinese indigenous goat breeds using microsatellite analysis[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*,2006,14(1):38-44. (in Chinese)

[9] 张英杰,赵有璋,刘月琴,等. 3 个山羊群体中 4 个微卫星 DNA 多态性及其与杂种优势的关系[J]. *遗传*,2004,26(5):631-636.
Zhang Y J,Zhao Y Z,Liu Y Q,et al. Genetic polymorphism of 4 microsatellites DNA in 3 goat populations and relationship with heterosis [J]. *Hereditas*,2004,26(5):631-636. (in Chinese)

致谢:国际家畜研究所韩建林研究员在实验数据分析中

[10]

Saitbekova N, Gaillard C, Obexer-Ruff G, et al. Genetic diversity in Swiss goat breeds based on microsatellite analysis [J]. *Animal Genetics*, 1999, 30(1): 36-41.

[11]

Aggarwal R A K, Dixit S P, Verma N K, et al. Population genetics analysis of Mehsana goat based on microsatellite markers [J]. *Current Science*, 2007, 92: 1133-1137.

[12]

Hanslik S, Harr B, Brem G, et al. Microsatellite analysis reveals substantial genetic differentiation between contemporary New World and Old World Holstein Friesian population [J]. *Animal Genetics*, 2000, 31(1): 31-38.

[13]

Takezaki N, Nei M. Genetic distances and reconstruction of phylogenetic trees from microsatellite DNA [J]. *Genetics*, 1996, 144(1): 389-399.

[14]

Hedrick P W. Prespective highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation [J]. *Evolution*, 1999, 53: 313-3181.

[15]

Ribeiro M M, Mariette S, Vendramin G G, et al. Comparison of genetic diversity estimates with and among populations of maritime pine using chloroplast simple sequence repeat and amplified fragment length polymorphism data [J]. *Molecular Ecology*, 2002, 11: 869-877.

(上接第 14 页)

[13]

郭金双, 赵广勇. 添加乳酸菌对大麦青贮品质及中、酸性洗涤纤维瘤胃降解率的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 1999, 35(4): 27-28.
Guo J S, Zhao G Y. Effects of lactobacillus on ensiling quality and degradation rate of NDF and ADF in rumen [J]. *Animal Science Journal of China*, 1999, 35(4): 27-28. (in Chinese)

[14]

侯俊财, 刘 飞, 杨丽杰. 添加乳酸菌对全株玉米青贮饲料品质的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2006, 2: 50-52.
Hou J C, Liu F, Yang L J. Effect of lactobacilluse on the quality of whole corn ensilage [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2006, 2: 50-52. (in Chinese)

[15]

席兴军, 韩鲁佳, 原慎一郎, 等. 添加乳酸菌和纤维素酶对玉米秸秆青贮饲料品质的影响 [J]. *中国农业大学学报*, 2003, 8(2): 21-24.
Xi X J, Han L J, Hara Shin-ichiro, et al. Effects of lactobacillus and cellula se on the quality of corn stover silage [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2003, 8(2): 21-24. (in Chinese)

[16]

Tengerty R P. Ensiling alfalfa with additives of lactic acid bacteria and enzymes [J]. *Journal of Science of Food Agricuture*, 1991, 55: 215-228.

[17]

Zieliska K, Zastawny J, Wrobel B. Improvement of grass quality by inoculation withlactic acid bacteria acid and enzyme [C]. The XⅢ th International Silage Conference September, 11-13, 2002: 204-205.

[18]

Kung L, Carmean J B R, Tung R S. Microbial inoculation or cellulase enzymetreatment of barely and vetch silage harvested at three maturities [J]. *Journal of Dairy Science*, 1990, 73: 1304-1311.

[19]

Kung L, Thng J R S, Maciorowski K G, et al. Effects of plant cell-wall-degrading enzymes and lactic acid bacteria on silage fermentation and composition [J]. *Journal of Dairy Science*, 1991, 74: 4284-4296.

[20]

王 安, 张淑芳, 钟一民, 等. 纤维素复合酶作为青贮饲料添加剂的研究 [J]. *东北农业大学学报*, 1997, 28(4): 358-365.
Wang A, Zhang S F, Zhong Y M, et al. Study on usage of Cel-lulose mixture in ensiled feeds [J]. *Journal of Dongbei Agri-cultural University*, 1997, 28(4): 358-365. (in Chinese)

[21]

王继成, 晏和平. 不同水平纤维素酶和木聚糖酶对青贮高粱品质的影响 [J]. *饲料研究*, 2006, 5: 57-61.
Wang J C, Yan H P. Effects of different contents of Cellulose and Shearzyme on the quality of grain sorghum silage [J]. *Feed Research*, 2006, 5: 57-61. (in Chinese)

[22]

Stokes M R, Chen J. Effects of enzyme and bacteria treat-ments on the fermentation and composition of corn stover si-lage [J]. *J Anim Sci*, 1992, 70(Sup. 1): 191.