

## 基于 cytb 基因探讨家绵羊和多角绵羊的系统发育

赵倩君<sup>1</sup>, 关伟军<sup>1</sup>, 乔海云<sup>1,2</sup>, 孟祥人<sup>1,3</sup>, 韩建林<sup>1</sup>, 李向臣<sup>1</sup>, 何晓红<sup>1</sup>, 浦亚斌<sup>1</sup>, 马月辉<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>中国农业科学院北京畜牧兽医研究所, 北京 100193; <sup>2</sup>河北工程大学农学院, 邯郸 056000; <sup>3</sup>黑龙江省农业科学院畜牧所, 哈尔滨 150086)

**摘要:** 【目的】研究中国家绵羊起源进化以及多角绵羊和普通家绵羊的亲缘关系。【方法】测定 8 个省区 42 个绵羊个体的细胞色素 b 基因全序列。【结果】本试验的绵羊个体可定义为 40 个单倍型, 单倍型多样性为  $0.997 \pm 0.006$ , 核苷酸多样性为 0.793%。中国绵羊群体可分为 4 个支系 (A、B、C 和 D), 其中支系 D 首次在中国绵羊群体中被检测到; 支系 B 与支系 C 的差异最大, 分化时间大约为  $595 \pm 150$  万年。多角绵羊与家绵羊聚在一起, 而与野绵羊亲缘关系较远, 分属于支系 A、B 和 D。【结论】系统发育分析表明, 中国绵羊有多个母系起源或经过多次驯化, 未发现盘羊、东方盘羊和亚洲摩佛伦羊与绵羊母系祖先形成相关的分子证据。

**关键词:** 绵羊; 细胞色素 b; 起源

## Phylogenetics of Domestic Sheep and Multi-Horned Sheep Based on cytb Gene

ZHAO Qian-jun<sup>1</sup>, GUAN Wei-jun<sup>1</sup>, QIAO Hai-yun<sup>1,2</sup>, MENG Xiang-ren<sup>1,3</sup>, HAN Jian-lin<sup>1</sup>, LI Xiang-chen<sup>1</sup>, HE Xiao-hong<sup>1</sup>, PU Ya-bin<sup>1</sup>, MA Yue-hui<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Institute of Animal Science, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193; <sup>2</sup>College of Agriculture, Hebei University of Engineering, Handan 056000; <sup>3</sup>Institute of animal science, Heilongjiang Academy of agricultural sciences, Harbin 150086)

**Abstract:** 【objective】 The aim of the study is to investigate the origin and evolution of Chinese domestic sheep (*ovis aries*) and the relationship between domestic sheep and multi-horned sheep. 【Method】 The complete cytb sequences of 42 individuals from 8 provinces were sequenced. 【Result】 The result showed that totally 40 haplotypes were detected, and Haplotype diversity (Hd) and nucleotide diversity ( $\pi$ ) were  $0.997 \pm 0.006$  and 0.793%, respectively. The neighbour-joining tree indicated that there are four distinct lineages (A, B, C and D) in Chinese domestic sheep. It is firstly reported that lineage D were detected in Chinese sheep. And lineages B and C had the highest variance value, which diverged from each other about  $595 \pm 150$  million years. The multi-horned sheep belonged to lineages A, B and D, which had closer relationship with domestic sheep than wild sheep. 【Conclusion】 Analysis of phylogenesis shows that Chinese sheep have multiple maternal origins or ever experienced several times domestication possibly. There is no evidence that urial, argali and asian mouflon had molecular contribution to the maternal ancestor of Chinese sheep.

**Key words:** sheep; cytochrome b; origin

## 0 引言

【研究意义】家绵羊起源于野绵羊, 在世界广泛分布。关于家绵羊野生祖先的数量、种类及传播路径存在不同的观点。本研究从分子水平探讨中国绵羊的起源、进化、遗传多样性和群体扩张等。【前人研究进展】通常认为与家绵羊亲缘关系较近的野绵羊有盘

羊、摩佛伦羊、赤盘羊、东方盘羊等, 目前研究证明, 仅欧洲摩佛伦羊与家绵羊的母系起源有关<sup>[1-2]</sup>。中国多样性气候、生态环境及不同饲养习惯, 经过长期的自然进化和人工选择, 孕育了丰富的绵羊资源。最近在新疆和内蒙古地区发现了多角绵羊, 区别于普通绵羊的显著特征在于角的个数, 有 4—6 只角。中国现有绵羊品种 50 个, 其中地方品种 31 个, 培育品种 9 个<sup>[3]</sup>。

收稿日期: 2009-06-19; 接受日期: 2010-04-06

基金项目: “十一五”国家科技支撑计划 (2006BAD13B08 和 2008BADB2B01) 和国家“863”计划项目 (2006AA10Z198)

作者简介: 赵倩君, 博士。Tel: 010-62815884; E-mail: zqj126@yahoo.com.cn。通信作者马月辉, 研究员。Tel: 010-62813463; E-mail: yuehui.ma@263.net

有学者认为中国是绵羊起源驯化地之一,可能起源于阿尔卡羊和羱羊及其亚种<sup>[4-8]</sup>。通过对中国 8 个绵羊群体线粒体控制区的研究,发现中国绵羊存在 3 个母系支系<sup>[9]</sup>;通过对以色列和土耳其的绵羊线粒体序列的研究,发现在近东地区有 5 个绵羊母系支系<sup>[10]</sup>。线粒体 DNA 具有母系遗传、进化速度快、基本无重组等特性,成为研究动物起源进化、系统发育的理想分子标记。细胞色素 b 基因进化速度适中而被广泛应用于系统发育研究。【本研究切入点】目前针对中国绵羊细胞色素 b (cytochrome b, *cytb*) 基因研究较少。本研究测定 12 个绵羊品种和多角绵羊的细胞色素 b 全序列,对不同地区、不同类型的中国绵羊群体 *cytb* 基因

展开研究。【拟解决的关键问题】本研究对不同绵羊群体 *cytb* 核苷酸同源序列进行比较分析,探讨多角绵羊与普通家绵羊及野绵羊的亲缘关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

随机抽取中国有代表性地方或培育绵羊品种(群体) 12 个、引入品种(南非肉用美利奴) 1 个以及多角绵羊,取耳组织作为样本。酒精棉球消毒耳钳和耳缘尖部,取约 3 mm<sup>3</sup>耳样置于离心管中,内装 1 mL 75% 乙醇。迅速带回实验室, -70℃ 冰箱冻存。样本信息见表 1。

表 1 样本信息

Table 1 Information of the samples

群体 Population	样品代码 Code	来源 Resource	尾型 Type of tail	数量 Number
阿勒泰羊 Aletai sheep	ALT	新疆阿勒泰市 Aletai city, Xinjiang	脂臀型 Fat rump	2
多浪羊 Duolang sheep	DL	新疆昌吉县 Changji county, Xinjiang	脂臀型 Fat rump	2
和田羊 Hetian sheep	HT	新疆和田县 Hetian county, Xinjiang	脂臀型 Fat rump	2
迪庆绵羊 Diqing sheep	DQ	云南迪庆县 Diqing county, Yunnan	细瘦尾 Thin tail	4
浪卡子绵羊 Langkazi sheep	LK	西藏浪卡子县 Langkazi county, Tibet	细瘦尾 Thin tail	3
岗巴绵羊 Gangba sheep	GB	西藏岗巴县 Gangba county, Tibet	细瘦尾 Thin tail	3
苏尼特羊 Sunite sheep	SU	内蒙古苏尼特左旗 Sunite zuo county, Inner mongolia	短脂尾 Short fat tail	4
内蒙细毛羊 Inner Mongolian fine wool sheep	IMF	内蒙古正蓝旗 Zhenglan county, Inner mongolia	短脂尾 Short fat tail	2
大尾寒羊 fat-tailed han sheep	FTH	山东临清市 Lingqing city, Shandong	长脂尾 Long fat tail	2
豫西脂尾羊 Yuxi fat-tailed han sheep	YX	河南省洛阳市 Luoyang city, Henan	长脂尾 Long fat tail	3
晋中绵羊 Jinzhong sheep	JZ	山西省晋中市 Jinzhong city, Shanxi	短脂尾 Short fat tail	4
滩羊 Tan sheep	T	宁夏盐池滩羊保种场 Tan sheep reservation farm, yanchi county, Ningxia	短脂尾 Short fat tail	4
多角蒙古羊 multi-horned mongolian sheep	MHM	内蒙古赤峰市 Chifeng city, Inner mongolia	短脂尾 Short fat tail	1
多角阿勒泰羊 multi-horned aletai sheep	MHA	新疆阿勒泰市 Aletai city, Xinjiang	脂臀型 Fat rump	3
南非肉用美利奴 South african muttOn Merino	M	山西沁水县 Qinshui county, Shanxi	细瘦尾 Thin tail	2

### 1.2 方法

1.2.1 PCR 扩增及测序 采用酚-氯仿法提取绵羊基因组 DNA<sup>[11]</sup>。参照文献[12]所用引物扩增细胞色素 B 基因 (Cytb) 全序列。引物序列上游: 5'-ACACCC AACCCACCCAC-3'; 下游: 5'-GTGGGTGGTTGTG CTTTTCT-3'。PCR 扩增采用 60 μL 反应体系, 包含约 200 ng 基因组 DNA, 200 μmol·L<sup>-1</sup> dNTPs, 10 pmol 引物, 250 μmol·L<sup>-1</sup> MgCl<sub>2</sub>, 2.5 U Taq DNA 聚合酶。反应程序为: 94℃ 预变性 5 min, 95℃ 变性 30s, 59℃ 退火 45s, 72℃ 延伸 60s, 循环 30 次后, 72℃ 延伸 8 min。

4℃ 保存。PCR 产物经琼脂糖凝胶 DNA 纯化试剂盒(购自天根生化科技有限公司)进行纯化回收, 将 PCR 纯化产物连接到 PMD19-T 载体 (TAKARA) 上, 然后转化到大肠杆菌 Top10 感受态细胞。筛选阳性克隆的质粒 DNA 进行测序。引物合成及测序由上海生物工程技术服务有限公司完成。

1.2.2 数据统计 应用 Clustal X (1.83) 软件进行序列比对并手工校对。Dnasp4.0 软件计算单倍型多样性、核苷酸多样性等<sup>[13]</sup>。MEGA3.0 软件分析变异位点, 采用邻接法 (Neighbour-joining) Kimura 双参数模型构

建系统发育树, 对拓扑图进行自展检验 (Bootstrap), 重复抽样次数为 1 000 次<sup>[14]</sup>。DnaSP4.0 软件进行 Tajima's D 以及 Fu 和 Li's D 和 F 中性检验, 估测群体在过去是否发生扩张或经受多重瓶颈效应。依据分歧时间的计算公式  $D = 2\alpha t^{[15]}$  计算支系间的分歧时间。

## 2 结果

### 2.1 绵羊线粒体 *cytb* 基因遗传变异分析

测定 42 个个体的 *cytb* 基因全序列。经序列校正和比对, 基因序列长度为 1 140bp, 共检测到 105 个多态位点, 其中包括 84 个单态位点, 21 个简约信息位点。用于序列分析的 1 140 个位点, 转换位点 85 处, 颠换位点 18 处, 插入 (缺失) 015 处。转换与颠换之比为 4.72, 表现较高的转换偏向。根据变异位点, 可定义为 40 个单倍型, 其中和田羊、大尾寒羊和迪庆羊各有 1 个个体共享同 1 个单倍型。所有单倍型碱基 T、C、A、G 的平均含量分别为 27.1%、28.5%、31.4% 和 13.0%。A+T 平均含量为 58.5%, C+G 平均含量为 41.5%, A、T 含量明显高于 C、G; 其中 G 在第三密码子的含量最低。所有单倍型多样性 (Hd) 为  $0.997 \pm 0.007$ , 核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 为 0.805%, 核苷酸差异数 (K) 为 9.078。中性检验均为负值且呈显著性差异, 其中 Tajima's D 为 -2.201 ( $P < 0.01$ ), Fu and Li's D 和 F 分别为 -4.886 ( $P < 0.05$ )、-4.673 ( $P < 0.05$ )。

### 2.2 系统发育分析

结合盘羊 (*Argali, Ovis ammon*)、东方盘羊 (*Urial, Ovis vignei*) 亚洲摩佛伦羊 (*Asian mouflon, Ovis orientalis*) 和欧洲摩佛伦羊 (*European mouflon, Ovis musimon*) (GenBank 登录号分别为 AJ867276、EU366069、AJ867271、D84203) 4 种野绵羊的序列, 以及 13 条家养绵羊的 *cytb* 序列 (GenBank 登录号分

别为: DQ097413、DQ097408、DQ097419、DQ903210、DQ903213、DQ903214、DQ903218、DQ097410、DQ097416、DQ097422、DQ097420、DQ097429、DQ097414)。采用邻接法构建绵羊群体系统发育树 (图), 盘羊、东方盘羊和亚洲摩佛伦羊被聚到最外侧, 欧洲摩佛伦羊与家绵羊支系 B 聚在一起, 表明摩佛伦羊与家绵羊亲缘关系较近, 未发现其它 3 种野绵羊对家绵羊母系祖先形成的分子证据。根据前人研究结果, 可归结为 4 个独立的支系 (A—D)。基于 *cytb* 全序列的系统发育分析提示, 中国家绵羊至少存在 4 个独立母系起源, 支系 A 主要存在于亚洲绵羊群体, 支系 B 存在于欧洲, 支系 C 存在于中国、土耳其等地区, 支系 D 在中国绵羊群体中首次出现。

### 2.3 支系间遗传变异

通过不同支系间 *cytb* 基因全序列的比较, 绵羊群体 4 个支系间 (A—D) 的遗传变异分析见表 2。支系 B 与 C 差异最大, 然后依次为 B 与 D、A 与 C、A 与 D、A 与 B, C 与 D 变异较小。由于支系 D 仅包括 3 个个体, 未估测与其它 3 个支系的分化时间。支系 A 与 B 的歧化时间为  $297.5 \pm 65$  万年, B 与 C 的歧化时间为  $595 \pm 150$  万年, 支系 A 与 C 的分歧时间约为  $595 \pm 135$  万年。

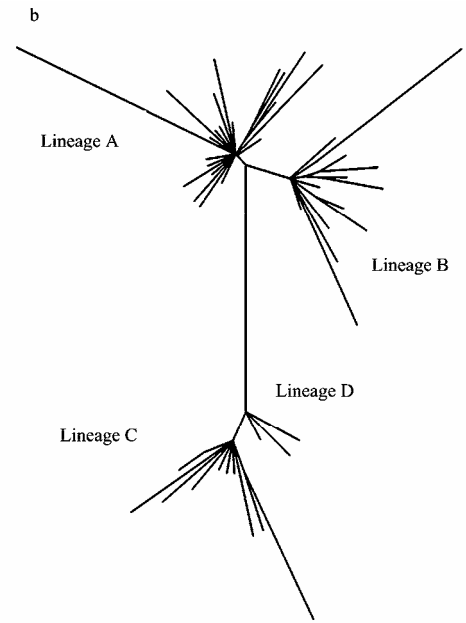
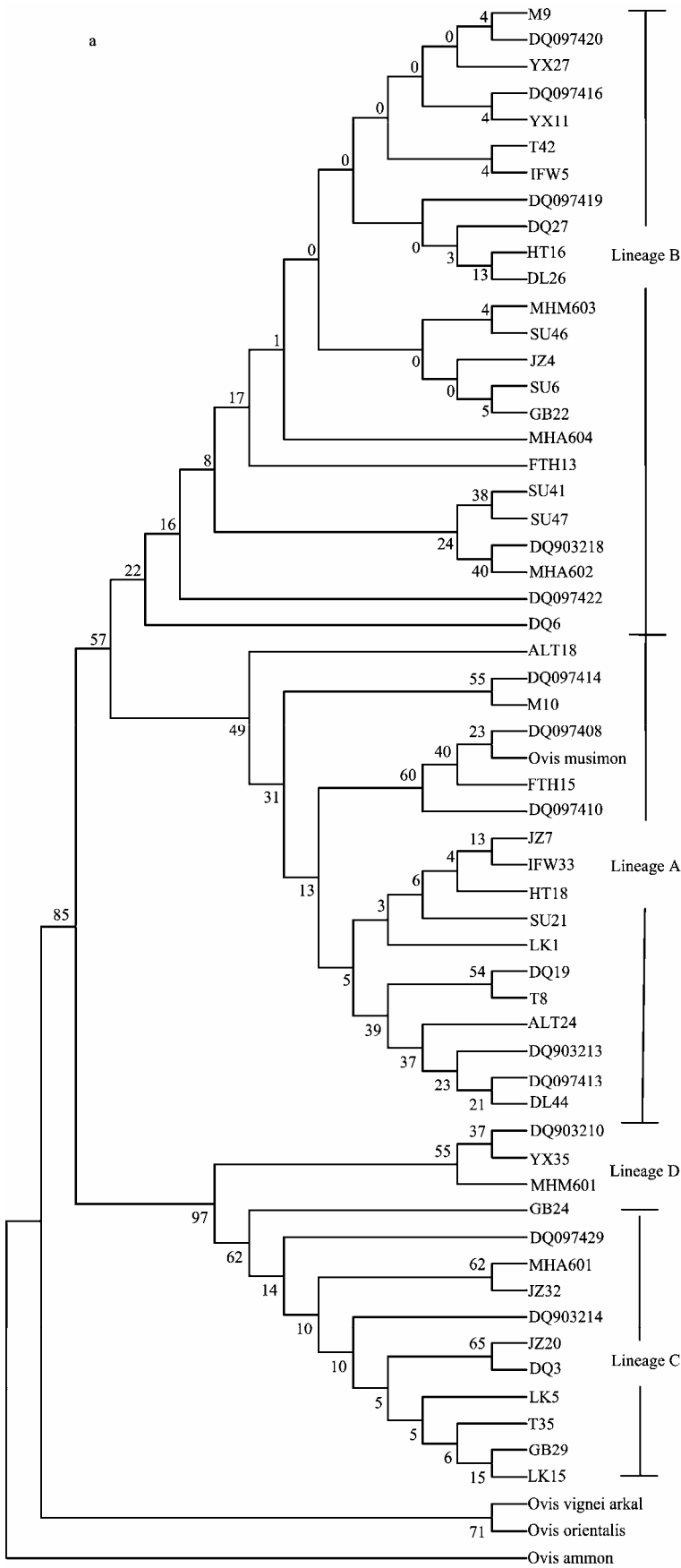
## 3 讨论

核苷酸多样性 ( $\pi$ ) 和单倍型多样性 (Hd) 是衡量群体 mtDNA 遗传变异的理想参数, 在一定程度上反映群体多样性和遗传变异丰富度。王昕等检测 8 个地方绵羊品种和 1 个引入品种中 *cytb* 的核苷酸多样性为 0.602%, 单倍型多样性为 0.97<sup>[12]</sup>。与之相比, 本试验结果略高, 这可能与样本分布地域广泛和群体类型多样有关。本试验首次涉及中国多角绵羊, 试验群体

表 2 绵羊 4 个母系支系间的遗传变异指标分析

Table 2 Analysis of genetic variation among 4 ovine maternal lineages

支系 Lineage	支系 Lineage	群体间核苷酸歧异度 Average number of nucleotide substance per site between lineages (%)	P 距离 P distance	净遗传距离 Number of net nucleotide substance per site between lineages (%)
A	B	0.613	0.0059	0.182
A	C	1.189	0.0118	0.802
A	D	1.044	0.0103	0.710
B	C	1.432	0.0140	0.985
B	D	1.284	0.0126	0.891
C	D	0.443	0.0044	0.094



a: 包含 4 种野生绵羊构建的系统发育树, b: 未包含野生绵羊构建的系统发育树  
 a: Phylogenetic tree (4 wild sheep sequences were included);  
 b: Phylogenetic tree (wild sheep sequences were not included)

图 采用邻接法构建绵羊 cytb 系统发育邻接树  
 Fig. Phylogenetic tree was constructed by neighbor-joining method based on ovine cytb sequences

分布于内蒙古、新疆、西藏、宁夏、云南和山东等绵羊主产区, 包括藏羊、哈萨克羊和蒙古羊三大粗毛羊。A、B、C 3 个主要支系间遗传变异大小依次为 B 与 C、A 与 C 和 A 与 B, 支系 B 与 C 分化时间长于其它支系分化时间, 这与 Pedrosa 研究结果相一致<sup>[16]</sup>。分子钟测定的分支演化时间明显早于化石资料绵羊的驯化时间(8 000—9 000 年前)。由此可见, 基于分子估算的分化时间远远早于化石估算。

关于中国绵羊起源的早期研究主要基于考古学、形态学和解剖学等。河北武安磁山出土的迄今为止中国最早的羊骨将中国绵羊驯化上溯到 8 000 年前。考古学证据显示, 中国绵羊在不同地区先后被驯化、传播, 认为绵羊是由北方向南方发展。在中国新疆等地区, 至今仍存在东方盘羊等野生绵羊, 有学者认为盘羊、赤盘羊是中国家绵羊的始祖<sup>[4,5]</sup>。根据大量出土的羊骨, 推测中国可能是绵羊的驯化地之一<sup>[17]</sup>。但基于形态学和解剖学等证据不足以阐明绵羊起源和系统发育。为了进一步探究绵羊起源进化, 先后采用限制性酶切片多态性和测序等方法对线粒体控制区进行研究, 提出中国绵羊存在亚洲和欧洲两大起源<sup>[18-19]</sup>。随着研究样本分布区域及数量的不断扩大, 在中国绵羊群体中又发现了第 3 个母系支系, 即支系 C<sup>[9-22]</sup>。随后相继报道蒙古、伊比利亚、土耳其及近东等地区绵羊检测也得到支系 C<sup>[16,23]</sup>。Tapio 等对欧亚地区绵羊线粒体控制区研究, 在高加索地区绵羊群体中发现第四个支系, 且仅包含 1 个个体, 命名为支系 D<sup>[24]</sup>; Meadows 检测近东地区绵羊群体的 *cytb* 序列, 发现土耳其 2 个绵羊个体归属支系 D<sup>[10]</sup>。本试验首次在中国绵羊群体中检测到该支系, 表明中国绵羊遗传变异丰富, 存在多个母系起源。Meadows 在近东地区发现第五个绵羊母系支系, 但中国绵羊未发现该支系<sup>[10]</sup>。

本试验 *cytb* 全序列系统发育分析表明, 中国绵羊分为四大支系, 其中多浪绵羊、豫西脂尾羊和多角蒙古羊聚为一支, 单独成为一个新的支系。为了验证是否属于新支系, 还是支系 C 的一个亚支, 本试验利用不同方法获得的系统进化树拓扑形状基本相似, 说明将其单独划分出来是合理的。本试验选取盘羊、欧洲摩佛伦羊、亚洲摩佛伦羊和东方盘羊等野绵羊与家绵羊的 *cytb* 全序列构建系统发育树, 发现仅摩佛伦羊与家绵羊聚为支系 B, 其它野生绵羊聚到最外侧, 中国绵羊支系 B 与欧洲摩佛伦羊表现出较近的亲缘关系, 支持欧洲摩佛伦羊是现代家绵羊的母系始祖, 或者摩佛伦羊与家绵羊有共同祖先。

多角羊为最近在中国新疆阿勒泰地区和内蒙古赤峰地区新发现的特殊绵羊, 与普通家绵羊的差异在于角的数目和形状。系统发生树聚类结果显示, 多角羊与普通家绵羊聚为一支, 表明多角绵羊与普通家绵羊亲缘关系较近, 而与野生绵羊关系较远。本试验发现多角绵羊虽然仅有 6 只, 却存在 A、C 和 D 支系。由于本试验样本数量有限, 虽然测定了线粒体 *cytb* 序列, 仍不能确定多角绵羊为普通家绵羊, 或者可能带有野生绵羊血统。

瘤牛、绵羊、山羊等家畜起源进化研究表明, 家养动物驯化地不仅局限于近东地区<sup>[25-27]</sup>。考古学证明绵羊支系 B 的驯化可能在近东地区, 但由于野生绵羊样品获得有限, 无法对驯化及传播提供可靠的证据。起源进化研究表明, 绵羊存在 3 个母系支系, 支系 A 以亚洲绵羊为主, 支系 B 以欧洲绵羊为主; 支系 C 为最近研究发现的一类单倍型, 在中国、蒙古、土耳其及高加索地区绵羊中发现。从绵羊母系支系分布来看, 绵羊各支系分布相对均匀, 其中支系 A 分布于东亚和欧洲; 欧洲以支系 B 为主, 同时存在支系 A、D; 支系 C 主要分布在中东和亚洲。这种分布模式与其放牧方式有关, 绵羊是人们主要的生产资料, 伴随人类迁移而传播。

随着世界各地越来越多绵羊群体被检测, 特别是考古学已确定的家养动物起源地的样本, 发现了更多的家养绵羊母系支系, 在一定程度上揭示了家绵羊的起源问题, 但许多科学问题无法解释。为了更深入了解绵羊起源、进化, 下一步加强古 DNA 研究, 以期能够回答家绵羊的野生祖先、驯化时间和地点、群体扩张等问题, 为 DNA 谱系提供来自古生物依据。

## 4 结论

基于 *cytb* 基因全序列研究, 显示中国绵羊遗传多样性, 至少存在 4 个母系支系, 且在中国绵羊群体中首次检测到支系 D。多角绵羊与普通家绵羊亲缘关系较近, 与野生绵羊较远。中国绵羊支系 B 与欧洲摩佛伦羊有较近的亲缘关系。

## References

- [1] Hiendleder S, Mainz K, Plante Y, Lewalski H. Analysis of mitochondrial DNA indicates that domestic sheep are derived from two different ancestral maternal sources: no evidence for contributions from urial and argali sheep. *Heredity*, 1998, 89(2): 113-120.

- [2] 罗玉柱, 成述儒, Lkhagva B, Badamdorj D, Hanotte O, 韩建林. 用 mtDNA D-环序列探讨蒙古和中国绵羊的起源及遗传多样性. 遗传学报, 2005, 32: 1256-1265.  
Luo Y Z, Cheng S R, Lkhagva B, Badamdorj D, Hanotte O, Han J L. Origin and genetic diversity of Mongolian and Chinese Sheep using mitochondrial DNA D-loop sequences. *Acta Genetica Sinica*, 2005, 32: 1256-1265. (in Chinese)
- [3] 《中国畜禽遗传资源状况》编委会, 中国畜禽遗传资源状况. 北京: 中国农业出版社, 2004, 12-13.  
The Editorial Board. *Report on Domestic Animal Genetic Resources in China*. Beijing: Chinese Agricultural Press, 2004, 12-13. (in Chinese)
- [4] 谢成侠. 中国养牛羊史(附养鹿简史), 北京: 农业出版社, 1985.  
XIE C X. *History of Chinese Cattle, Sheep and Goat Feeding* (appended by simple history of deer feeding). Beijing: Agricultural Press, 1985. (in Chinese)
- [5] 冯维祺. 我国古代绵羊品种形成初考. 农业考古, 1991, 3: 338-345.  
Feng W Q. Primary discuss of breeding history for ancient sheep in China. *Agriculture Archaeology*, 1991, 3: 338-345. (in Chinese)
- [6] 薄吾成. 藏羊渊源初探. 农业考古, 1987, 1: 276-280.  
Bo W C. Primary discuss of history for tibetan sheep. *Agriculture Archaeology*, 1987, 1: 276-280. (in Chinese)
- [7] 李志农. 中国养羊学. 北京: 农业出版社, 1993: 44-55.  
Li Z N. *Sheep Science in China*. Beijing: Agriculture Press, 1993: 44-55. (in Chinese)
- [8] 中国羊品种志编写组. 中国羊品种志. 上海: 上海科学技术出版社, 1988.  
Editorial Section of the Sheep and Goat Breeds in China. *Sheep and Goat Breeds in China*. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1988. (in Chinese)
- [9] Guo J, Du L X, Ma Y H, Guan W J, Li H B, Zhao Q J, Li X, Rao S Q. A novel maternal lineage revealed in sheep (*Ovis aries*). *Animal Genetics*, 2005, 36: 331-336.
- [10] Meadows J R S, Cemal I, Karaca O, Gootwine E, Kijas J W. Five ovine mitochondrial lineages identified from sheep breeds of the near east. *Genetics*, 2007, 175: 1371-1379.
- [11] Sambrook J, Russell D. *Molecular Cloning: a Laboratory Manual* (3rd). New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 2001.
- [12] Wang X, Ma Y H, Chen Hong. Analysis of the Genetic Diversity and the Phylogenetic Evolution of Chinese Sheep Based on Cytb Gene Sequences. *Journal of Genetics and Genomics*, 2006, 33: 1081-1086.
- [13] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, Nei M. MEGA: molecular evolutionary genetic analysis software, verb 2. 0 *Bioinformatics*, 2001, 17: 1244-1245.
- [14] Rozas J, Rozas R, DnaSP. Version3: an integrated program for molecular population genetics and molecular evolution analysis. *Bioinformatics*, 1999, 15: 174-175.
- [15] Li W H, Gokobori T, Nei M. Pseudogenes as a paradigm of neutral evolution. *Nature*, 1981, 292: 237-239.
- [16] Pedrosa S, Uzun M, Arranz J J, Gutiérrez-Gil B, San Primitivo F, Bayón Y. Evidence of three maternal lineages in near eastern sheep supporting multiple domestication events. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2005, 272: 2211-2217.
- [17] 陈玉林. 中国绵羊分子进化与遗传多样性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2000.  
Chen Y L. Study on molecular evolution and genetic diversity of Chinese sheep[D]. Yangling: North West Agriculture and Forestry University, 2000. (in Chinese)
- [18] 赵兴波, 储明星, 李 宁, 龚国春, 吴常信. 绵羊线粒体 DNA 控制区 5' 端序列 PCR-SSCP 与序列分析. 遗传学报, 2001, 28: 225-228.  
Zhao X B, Chu M X, Li N, Gong G C, Wu C X. PCR-SSCP and sequencing analysis on 5' terminal region of mtDNA control region in sheep. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28: 225-228. (in Chinese)
- [19] 李祥龙, 张增利, 巩元芳, 刘铮铸, 贾 青, 王立泽. 我国主要地方绵羊品种 mtDNA D-loop 区 PCR-RFLP 研究. 遗传, 2006, 28(2): 165-170.  
Li X L, Zhang Z L, Gong Y F, Liu Z T, Jia Q, Wang L Z. Study on mtDNA D-loop of Chinese main indigenous sheep breeds using PCR-RFLP. *Hereditas*, 2006, 28(2): 165-170. (in Chinese)
- [20] 成述儒, 韩建林, Oliver Hanotte, 罗玉柱. 中国绵羊群体 mtDNA D-Loop 的遗传多样性分析. 甘肃农业大学学报, 2005, 140: 440-447.  
Cheng S R, Han J L, Hanotte O, Luo Y Z. Genetic diversity of chinese domestic sheep using mitochondrial DNA D-loop. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2005, 140: 440-447. (in Chinese)
- [21] Chen S Y, Duan Z Y, Sha T, Xiangyu J, Wu S F, Zhang Y P. Origin, genetic diversity, and population structure of Chinese domestic sheep. *Gene*, 2006, 376: 216-223.
- [22] Pedrosa S, Arranz J J, Brito N, Molina A, San Primitivo F, Bayón Y. Mitochondrial diversity and the origin of Iberian sheep. *Genetics Selection Evolution*, 2007, 39(1): 91-103.
- [23] Tapio M, Marzanov N, Ozerov M, Cinkulov M, Gonzarenko G, Kiselyova T, Murawski M, Viinalass H, Kantanen J. Sheep mitochondrial DNA variation in european, caucasian, and central Asian areas. *Molecular Biology Evolution*, 2006, 23: 1776-1783.

- [24] Wood N J, Phua S H. Variation in the control region sequence of the sheep mitochondrial genome. *Animal Genetics*, 1996, 27(1): 25-33.
- [25] Hiendleder S, Kaup B, Wassmuth R, Janke A. Molecular analysis of wild and domestic sheep questions current nomenclature and provides evidence for domestication from two different subspecies. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2002, 269: 893-904.
- [26] Loftus R T, Machugh D E, Bradley D G, Sharp P M, Cunningham E P. Evidence for two independent domestication in cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91: 2575-2761.
- [27] Luikart G, Gielly L, Excoffier L, Vigne J D, Bouvet J, Taberlet P. Multiple maternal origins and weak phylogeographic structure in domestic goats. *The Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2001, 98: 5927-5932.

(责任编辑 高 雨, 林鉴非)