

## 基于线粒体 CO2 和 ND4 基因对四川省豆状带绦虫种群遗传多样性的分析

杨德英<sup>1</sup>, 任永军<sup>2</sup>, 聂华明<sup>1</sup>, 付彦<sup>1</sup>, 谢跃<sup>1</sup>, 陈林<sup>1</sup>, 农向<sup>1</sup>, 岩宁<sup>1</sup>, 古小彬<sup>1</sup>, 王淑贤<sup>1</sup>, 杨光友<sup>1\*</sup>

(1. 四川农业大学 动物医学院, 四川 雅安 625014; 2. 四川省畜牧科学研究院, 四川 成都 610066)

**摘要:** 利用 PCR 扩增了中国四川省 7 个不同地理区域(雅安、攀枝花、乐山、广元、泸州、广安和阿坝)23 株家兔体内豆状囊尾蚴的 CO2(Cytochrome oxidase subunit 2, 468 bp)和 ND4(NADH dehydrogenase subunit 4, 1 077 bp)基因的部分序列, 并进行分析。结果显示, 7 个种群 23 个分离株中 CO2 和 ND4 基因序列中分别有 21 个和 32 个变异位点, 分别检测出了 5 个和 7 个单倍型, 2 个基因的种群分析结果显示乐山种群最为保守; CO2 分析结果显示攀枝花和雅安种群内变异最大, 且高于种群间变异。2 个线粒体基因构建的 NJ/MP 树显示 7 个种群的系统发生与他们分布的地理区域没有直接的相关性, 还未形成显著的地理种群结构。结果表明, 四川省 7 个地理种群间和种群内豆状囊尾蚴均存在一定的遗传变异和遗传多样性, 为豆状带绦虫的分子流行病学调查和群体遗传研究奠定了基础。

**关键词:** 豆状囊尾蚴; CO2; ND4; 种群遗传多样性; 中国四川

中图分类号: S852.734

文献标志码: A

文章编号: 1005-4545(2013)01-0043-06

## Population genetic diversity based on CO2 and ND4 genes in *Taenia pisiiformis* from Sichuan

YANG De-ying<sup>1</sup>, REN Yong-jun<sup>2</sup>, NIE Hua-ming<sup>1</sup>, FU Yan<sup>1</sup>, XIE Yue<sup>1</sup>, CHEN Lin<sup>1</sup>, NONG Xiang<sup>1</sup>, YAN Ning<sup>1</sup>, GU Xiao-bin<sup>1</sup>, WANG Shu-xian<sup>1</sup>, YANG Guang-you<sup>1\*</sup> (1. College of Veterinary Medicine, Sichuan Agricultural University, Ya'an, Sichuan 625014, China; 2. Sichuan Academy of Animal Science, Chengdu 610066, China)

**Abstract:** The objectives of the present paper were to determine the level of genetic variation and population genetic diversity of rabbit *Cysticercus pisiiformis* from seven different regions (Ya'an, Panzhihua, Leshan, Guangyuan, Luzhou, Guang'an, and Aba) in Sichuan, China. Partial sequences of the mitochondrial CO2 (468 bp) and ND4 (1 077 bp) gene of 23 isolates of *C. pisiiformis* were obtained by PCR and analyzed. The results showed that there were 21 variable sites and five haplotypes in CO2 sequences, 32 variable sites and seven haplotypes in ND4 sequences. Leshan population was the most conserved based on analyses of population diversity using CO2 and ND4 genes. According to CO2 gene, the maximum intrapopulation genetic diversity occurred in Panzhihua and Ya'an population, and was higher than intraspecific genetic diversity. NJ/MP trees suggested that there was no direct correlation between phylogeny of seven populations and geographical regions. The results indicate that the certain genetic variation and heredity diversity were presented in seven geographical populations among intrapopulation and intraspecific *C. pisiiformis*, and provide foundation for research on epidemiological survey and population genetic diversity.

**Key words:** *Taenia pisiiformis*; CO2; ND4; population genetic diversity; Sichuan of China

\* Corresponding author

收稿日期: 2011-11-07

基金项目: 教育部“长江学者和创新团队发展计划”创新团队项目 (TRT0848)

作者简介: 杨德英(1982-), 女, 博士。

\* 通讯作者

豆状囊尾蚴是影响养兔业发展最为常见的重要寄生虫病之一, 主要寄生于兔的肝包膜、胃大网膜和肠系膜等部位, 成虫寄生于犬、狐狸等的小肠内, 该虫种呈世界性分布<sup>[1-3]</sup>。中国是世界养兔生产大国,

豆状囊尾蚴主要引起家兔自体中毒、消瘦和抗病力减弱,甚至死亡,给养兔业带来巨大的经济损失,同时也影响犬的健康养殖。目前,对豆状带绦虫的研究多集中于流行病学、致病性及药物治疗,而对于豆状囊尾蚴的种群遗传学研究尚未见报道。mtDNA已成为研究分子分类、群体遗传、系统进化的一种重要的分子标记,已用于带绦虫的遗传变异研究<sup>[4]</sup>。分子生态学研究表明,mtDNA的碱基置换率可用于种群的分析<sup>[5]</sup>,CO2(Cytochrome oxidase subunit 2)和ND4(NADH dehydrogenase subunit 4)已用于多个物种的种群遗传学研究。为了探讨豆状囊尾蚴种群间的遗传多样性、种群结构及分化,本试验对中国四川省7个地区23个豆状囊尾蚴样本的CO2和ND4特异区段进行PCR扩增和序列多重分析,研究不同地域间豆状囊尾蚴的种群遗传变异,为该虫种的分子流行病学和防治提供分子依据。

## 1 材料与方法

**1.1 豆状囊尾蚴的采集** 本次试验中的豆状囊尾蚴( $n=23$ )采自四川省7个地区的成年家兔:雅安市( $n=4$ ),攀枝花市( $n=3$ ),乐山市( $n=3$ ),广元市( $n=4$ ),泸州市( $n=3$ ),广安市( $n=3$ )和阿坝州( $n=3$ )(表1)。分离自同1只兔的豆状囊尾蚴为1个分离株,将采集的囊尾蚴用灭菌生理盐水清洗3次后,编号并冻存于 $-20^{\circ}\text{C}$ 备用。

表1 豆状囊尾蚴的采样地域编号及序列登录号

| 采样地点 | 样品编号 | 登录序列号    |          |
|------|------|----------|----------|
|      |      | ND4      | CO2      |
| 雅安   | YA1  | JN990282 | JN990305 |
|      | YA2  | JN990283 | JN990306 |
|      | YA3  | JN990284 | JN990307 |
|      | YA4  | JN990285 | JN990308 |
| 攀枝花  | PZ1  | JN990286 | JN990309 |
|      | PZ2  | JN990287 | JN990310 |
|      | PZ3  | JN990288 | JN990311 |
| 乐山   | LS1  | JN990289 | JN990312 |
|      | LS2  | JN990290 | JN990313 |
|      | LS3  | JN990291 | JN990314 |
| 广元   | GY1  | JN990292 | JN990315 |
|      | GY2  | JN990293 | JN990316 |
|      | GY3  | JN990294 | JN990317 |
|      | GY4  | JN990295 | JN990318 |
| 泸州   | LZ1  | JN990296 | JN990319 |
|      | LZ2  | JN990297 | JN990320 |
|      | LZ3  | JN990298 | JN990321 |
| 广安   | GA1  | JN990299 | JN990322 |
|      | GA2  | JN990300 | JN990323 |
|      | GA3  | JN990301 | JN990324 |
| 阿坝   | AB1  | JN990302 | JN990325 |
|      | AB2  | JN990303 | JN990326 |
|      | AB3  | JN990304 | JN990327 |

注:“Hap”表示单倍型,“CO”代表CO2基因,“ND”代表ND4基因

**1.2 DNA的提取及测序** 取 $-20^{\circ}\text{C}$ 保存的豆状囊尾蚴0.5 g,经液氮研磨后,采用SDS/蛋白酶K消化,酚:氯仿(1:1)/氯仿:异戊醇(24:1)法抽提总DNA,乙醇沉淀,TE溶解后分装, $-20^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

根据NCBI上已发表豆状带绦虫线粒体全基因组(GenBank:NC\_013844)的CO2和ND4基因序列设计分别设计1对引物,引物序列由上海英俊生物有限公司合成。扩增豆状囊尾蚴CO2的引物:上游引物F5'-TTATTGCTGTGTGTATGTT-TATTT-3',下游引物R5'-TTTTTATCACAT-CAACTACTTCTAC-3';ND4的引物:上游引物F5'-TTTAACTTTATTATTATGTGCTTT-3',下游引物R5'-ACATACACATTCATAC-CACTCTC-3'。扩增体系均为50  $\mu\text{L}$ ,其中PCR Mixture 25  $\mu\text{L}$ (北京天根生化科技有限公司);正反向Primer(10 pmol/ $\mu\text{L}$ )各2  $\mu\text{L}$ ;模板DNA 1  $\mu\text{L}$ (约100 ng),加灭菌超纯水至50  $\mu\text{L}$ 。CO2的扩增条件: $94^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;30个循环,每个循环中 $94^{\circ}\text{C}$ 变性45 s, $54^{\circ}\text{C}$ 退火45 s, $72^{\circ}\text{C}$ 延伸50 s;最后 $72^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。ND4基因的扩增条件: $94^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min;35个循环,每个循环中 $94^{\circ}\text{C}$ 变性1 min, $52^{\circ}\text{C}$ 退火1 min, $72^{\circ}\text{C}$ 延伸1 min;最后 $72^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。PCR产物经1%的琼脂糖凝胶电泳检测后,使用北京天根生化科技有限公司柱式DNA胶回收试剂盒进行DNA的回收纯化,回收产物送上海英俊生物有限公司测序3次。

**1.3 数据分析与处理** 先利用Clustal x 1.83程序对CO2和ND4序列进行多重比对,并转换成FASTA和MEGA格式,同时利用DNASar软件计算种群核酸序列的相似性。用DnaSP 4.10.9软件计算种群的核苷酸多样性(Nucleotide diversity, Pi)、单倍型数及单倍型多样性(Haplotypes diversity, Hd)。MEGA 4.0软件分析序列特征和计算种群的遗传距离,同时以细粒棘球绦虫作为外群(GenBank:NC\_008075),采用Kimura's two-parameter模式和1 000次的自举检验(Bootstrap test)构建NJ树。应用Phlip3.0软件DNAPARS程序,进行重复1 000次的自举检验构建Mp树。

## 2 结果

**2.1 测序结果** 7个地区23个豆状囊尾蚴分离株中CO2和ND4扩增的片段长度分别为468 bp和1 077 bp,分别占全长的80%(468/585)和85.89%(1 077/1 254)。

CO2 和 ND4 序列均出现了明显的 AT 偏倚, CO2 序列中 A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 27.7%、39.3%、11.4% 和 21.6%, A+T(67%) 的含量明显高于 G+C(33%); ND4 序列中 A、T、C、G 碱基的平均含量分别为 24.5%、47.7%、10.1% 和 17.8%, A+T(72.2%) 的含量显著高于 G+C(28.8%)。CO2 和 ND4 序列中均不存在插入和缺失位点。CO2 序列中共有 21 个变异位点, 包括 5 个简约信息位点和 16 个单变异位点, 其中有 13 个颠换位点(7 个 A→T, 3 个 G→T, 2 个 G→C, 1 个 G→C) 和 8 个转换位点(6 个 T→C, 2 个 A→G); 在碱基对频率统计中,  $R(s_i/s_v)$  平均值为 1.0。ND4 序列中有 32 个变异位点, 包括 14 个简约信息位点和 18 个单变异位点, 其中有 8 个颠换位点(5 个 T→G, 2 个 A→T, 1 个 G→C) 和 24 个转换位点(12

个 T→C, 12 个 A→G);  $R(s_i/s_v)$  平均值为 3.1。

**2.2 CO2 和 ND4 序列相似性及种群遗传多样性分析** 23 个 CO2 序列的分歧度为 0%~3.0%, 阿坝 AB3 与其他样本间的分歧度在 1.9%~3.0% 之间, 其中与广元 GY3 的分歧度最高(3.0%)。7 个种群中, 乐山种群最为保守, 序列相似性为 100%; 攀枝花种群内的变异最大, 4 个样本间的平均遗传距离最高(0.014 4)(表 2)。在 7 个种群中共检测出 7 个单倍型, 其中有 4 个样本独立为单倍型, 单倍型间的  $H_d$  值和  $P_i$  值分别为 0.625 和 0.005 38。7 个单倍型之间的遗传距离为 0.002 1~0.023 9, Hap\_CO1 与 Hap\_CO2 之间的遗传距离最近(0.002 1), Hap\_CO6 与 Hap\_CO7 之间的遗传距离为最远(0.023 9)。

表 2 23 个 CO2 序列分析豆状囊尾蚴 7 个群体遗传多样性

| 项 目    | 雅安       | 攀枝花      | 乐山 | 广元       | 泸州       | 广安       | 阿坝       |
|--------|----------|----------|----|----------|----------|----------|----------|
| 多态位点数  | 1        | 8        | 0  | 5        | 3        | 4        | 6        |
| 单倍型数   | 2        | 3        | 1  | 2        | 2        | 3        | 2        |
| 单倍型多样性 | 0.500    | 1        | 0  | 0.500    | 0.667    | 1        | 0.677    |
| 核苷酸多态性 | 0.001 07 | 0.014 25 | 0  | 0.005 34 | 0.004 27 | 0.005 70 | 0.008 55 |
| 遗传距离   | 0.001 58 | 0.014 40 | 0  | 0.005 40 | 0.004 30 | 0.005 70 | 0.008 60 |

23 个 ND4 序列之间的分歧度为 0%~2.9%, 雅安 GY1 与 YA1 之间的分歧度最高(2.9%)。攀枝花、阿坝和乐山种群内样本 ND4 序列完全一致, 相似性为 100%, 雅安种群变异最大(表 2)。在 23 个 ND4 序列中共检测出 5 个单倍型, 其中有 3 个样本独立为单倍型, 单倍型间的  $H_d$  值和  $P_i$  值分别为

0.451 和 0.005 36。5 个单倍型的遗传距离为 0.000 9~0.029 5, Hap\_ND2 与 Hap\_ND3 之间的遗传距离最近(0.000 9), Hap\_ND1 与 Hap\_ND5 之间的遗传距离最远(0.029 5)。根据 CO2 和 ND4 检测出的单倍型可知, LZ1、LZ2 和 GA3 共享单倍型, GY3、AB3 均独立为单倍型。

表 3 23 个 ND4 序列分析豆状囊尾蚴 7 个群体遗传多样性

| 项 目    | 雅安       | 攀枝花 | 乐山 | 广元       | 泸州       | 广安       | 阿坝 |
|--------|----------|-----|----|----------|----------|----------|----|
| 多态位点数  | 30       | 0   | 0  | 1        | 15       | 14       | 0  |
| 单倍型数   | 2        | 1   | 1  | 2        | 2        | 2        | 1  |
| 单倍型多样性 | 0.500    | 0   | 0  | 0.667    | 0.677    | 0.677    | 0  |
| 核苷酸多态性 | 0.013 93 | 0   | 0  | 0.000 62 | 0.009 29 | 0.008 67 | 0  |
| 遗传距离   | 0.019 00 | 0   | 0  | 0.000 60 | 0.009 40 | 0.008 80 | 0  |

**2.3 CO2 和 ND4 系统发育树分析** 以细粒棘球绦虫作为外群, 采用 MEGA4.0 软件中的 NJ 法和 Phlip3.0 软件包中的 MP 法构建了豆状囊尾蚴种群间的系统发育树(图 1、2), 由于 2 种树的拓扑结构相似, 文中只展示出 NJ 树。根据 CO2 和 ND4 基因构建的 NJ/MP 树可知, 地理种群间没有形成明显的分支, 单倍型也未形成明显的地理分支。共享单倍型的 LZ1、LZ2 和 GA3 聚为一个分支, 且有较高的节点支持率。ND4 构建的 NJ/MP 树形成了 2 个明显

的进化分支(即 A 分支和 B 分支), 2 个分支间没有共享的单倍型。在 A 分支中, 攀枝花、乐山、阿坝和广元种群为姊妹群, 但由于与其他种群共享 A 分支, 未形成明显的分支。

### 3 讨论

mtDNA 是一个封闭的环状双链, 按照严格的母性遗传方式, 基因顺序和组成总体上保守, 建立了当代系统发育假说<sup>[6]</sup>。由于 mtDNA 进化较核糖体基

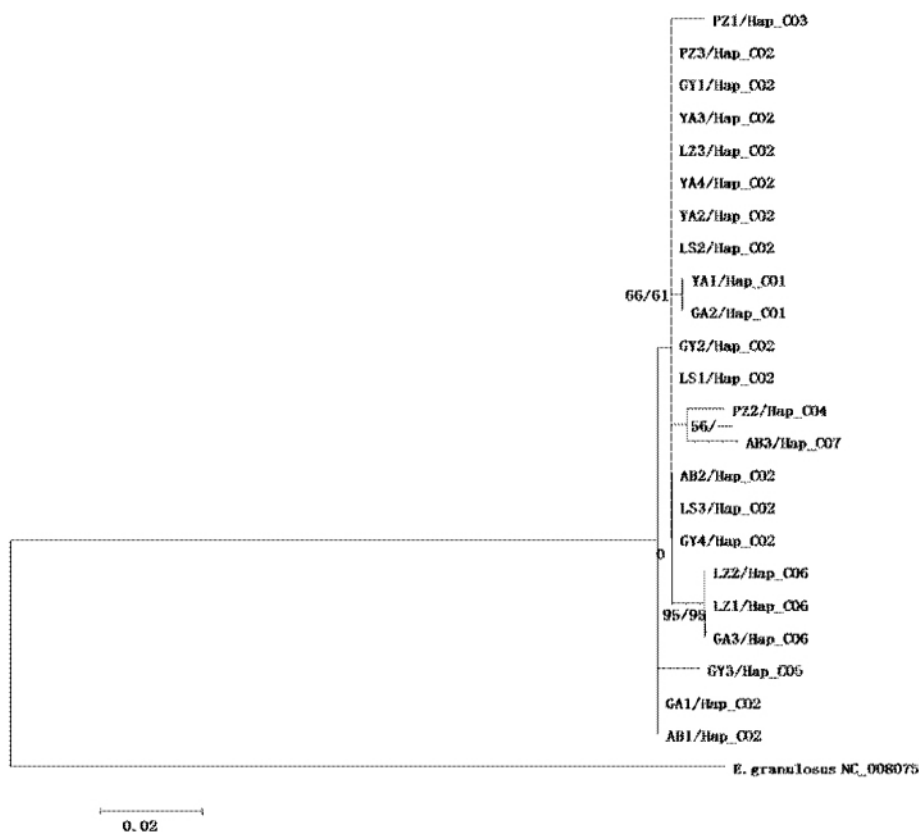


图 1 基于豆状囊尾蚴 CO2 部分序列的 NJ 系统进化树 节点处数据由左到右依次为 NJ/MP 的 Bootstrap 值(%)。下同

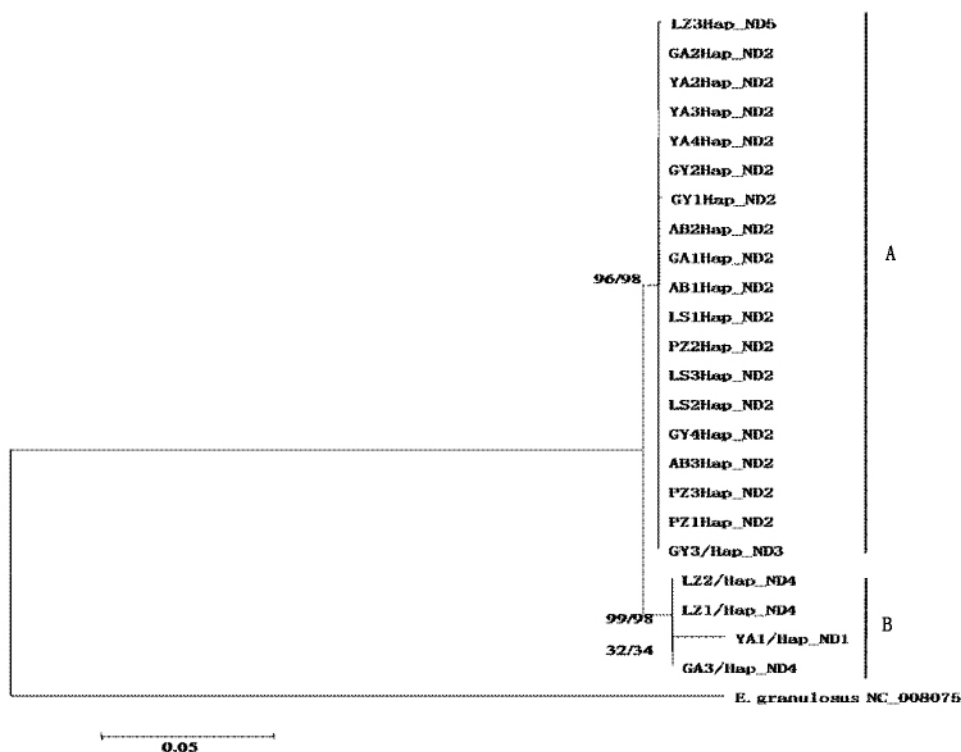


图 2 基于豆状囊尾蚴 ND4 部分序列的 NJ 系统进化树

因快,更适合于鉴定最为接近的有机体,常用于系统发生学和群体分化的研究,而且不受宿主的影响<sup>[7]</sup>。本试验将 CO2 和 ND4 基因用于豆状囊尾蚴种群遗传多样性的分析。

本试验中,CO2 (67%) 和 ND4 (72.25%) 基因存在 AT 偏倚,与贾万忠等<sup>[8]</sup>和 Li<sup>[9]</sup>的研究结果相似,他们发现猪带绦虫、牛带绦虫、亚

洲带绦虫、多头带绦虫、泡状带绦虫和肥头绦虫的 mt DNA 全序列富含 AT, 含量均超过 70%。据认为这种对碱基 A 和 T 的偏好, 与突变偏好—翻译选择模式有关, 即密码子使用偏好受到突变和选择的影响。

在特定的动物种群中, 虽然线粒体 DNA 序列的组成在长期的演化过程中会保持相对的稳定, 但是不同线粒体基因的变异程度是有差异的。而绦虫属于雌雄同体, 进行自体受精, 这种繁殖模式在降低种群内的遗传变异的同时, 增加了种群间的差异<sup>[10]</sup>, 从而给种群的遗传结构带来巨大的影响。不同绦虫种群的线粒体基因序列变异率均有差异, 同一个绦虫种群内不同的线粒体基因变异率也存在差异。Nakao 等<sup>[11]</sup>研究表明, 从世界各地采集回来的猪带绦虫虫体的 CO1 (Cytochrome Oxidase subunit 1) 和 Cytb 基因序列的变异率分别为 4.7% 和 4.0%, 本试验中的 CO2 (0~2.9%) 和 ND4 (0~3.0%) 序列的种群变异率低于猪带绦虫。Varcasia 等<sup>[12]</sup>报道了萨丁尼亚 40 个多头绦虫的 ND1 序列碱基差异 (1.27%~2.54%) 高于 CO1 (0.22%~0.67%)。另外 Zhang 等<sup>[13]</sup>研究了肯尼亚多种绦虫的种内变异, 根据 CO1 序列: 0.25%~0.76% (*T. hydatigena*), 0.25%~1.0% (*T. madoquae*), 0.50% (*T. regis*), 0.5% (*T. serialis*) 和 0% (*T. saginata*), 0.3%~4.1% (*T. taeniaeformis*), 1.7% (*T. solium*); 根据 ND1 序列: 0.2%~0.8% (*T. madoquae*), 0.6%~2.1% (*T. regis*), 0.4%~2.1% (*T. serialis*), 0.41% (*T. saginata*)。而本试验中, CO2 和 ND4 基因的序列变异度差异不明显, 而攀枝花、乐山和阿坝种群分离株 ND4 的序列相似性为 100%, 可见 CO2 基因的变异程度大于 ND4。从这 2 个基因分析来看, 乐山种群 (LS1, LS2, LS3) 3 个分离株 CO2 和 ND4 的序列相似性均为 100%, 因此乐山种群在 7 个种群中最为保守。

单倍型多样性值 (Hd) 和核苷酸多样性值 (Pi) 是衡量种群遗传变异程度和遗传多样性的重要指标, 二者值越大, 群体的多样性程度越高, 遗传多样性越丰富, 反之群体的多样性程度越低, 遗传多样性越贫乏<sup>[14]</sup>。对于大多数动物来说, Pi 值在 0.01 以上时被认为变异较大<sup>[15]</sup>。本试验中, CO2 和 ND4 基因在 7 个地理种群中序列的 Pi 值均低于 0.01, 可见 7 个种群间的变异程度较低。而根据 CO2 基因可知攀枝花种群的 Hd 值为 1.0, Pi 值为 0.014 25; 根据 ND4 基因可知雅安种群的 Hd 值为 0.5, Pi 值为 0.013 93, 由此可见这 2 个种群内的变异大于种

群间变异。在 2 个基因序列的单倍型鉴定中, GY3 均独立为单倍型; LZ1、LZ2 和 GA3 均共享单倍型, 并在构建的 NJ 树中聚为一个独立的分支。可见 CO2 和 ND4 在一定程度上说明了四川省 7 个地理豆状囊尾蚴种群间和种群内存在一定的遗传变异和遗传多样性。

根据 CO2 和 ND4 构建的 NJ 树显示, 单倍型并未形成显著的地理分支。虽然根据 ND4 构建的 NJ/MP 树有 2 个明显的进化分支, 攀枝花、乐山、阿坝和广元种群为姊妹群, 但是因与其他种群分享 A 分支, 因此还未形成显著的地理种群结构。不同地理种群间可以共享单倍型, 一个地理种群内不同样品可以独立为单倍型, 且单倍型的形成与地理位置的远近没有相关性, 除了泸州种群内 3 个样品序列的相似性为 100% 外, 根据 CO2 基因的单倍型显示其余种群内均有单倍型出现。

本试验利用 CO2 和 ND4 基因分析了四川省 7 个地理种群豆状囊尾蚴的遗传变异性, 结果表明种群间和种群内均存在一定的遗传多样性, 但是并未形成明显的地理分支, 本试验为今后豆状囊尾蚴的种群遗传学研究及其分子流行病学和防治奠定了一定的基础。

#### 参考文献:

- [1] Martínez-Moreno F J, Hernández S, López-Cobos E, et al. Estimation of canine intestinal parasites in Córdoba (Spain) and their risk to public health. [J]. Vet Parasitol, 2007, 143(1): 7-13.
- [2] Lahmar S, Sarciron M E, Rouiss M, et al. *Echinococcus granulosus* and other intestinal helminths in semi-stray dogs in Tunisia; infection and re-infection rates [J]. Tunis Med, 2008, 86(7): 657-664.
- [3] Bagrade G, Kirjusina M, Vismanis K, et al. Helminth parasites of the wolf *Canis lupus* from Latvia [J]. J Helminthol, 2009, 83(1): 63-68.
- [4] Lavikainen A, Haukialmi V, Lehtinen M J, et al. Mitochondrial DNA data reveal cryptic species within *Taenia krabbei* [J]. Parasitol Int, 2010, 59(2): 290-293.
- [5] Ho S Y, Saarma U, Barnett R, et al. The effect of inappropriate calibration; three case studies in molecular ecology [J]. PLoS One, 2008(3): 1615.
- [6] Saarma U, Jogisalu I, Moks E, et al. A novel phylogeny for the genus *Echinococcus*, based on nuclear data, challenges relationships based on mitochondrial evidence [J]. Parasitology, 2009, 136(3): 317-328.
- [7] Gasser R B. NADH dehydrogenase subunit 1 and cytochrome c oxidase subunit I sequences compared for

- members of the genus *Taenia* (Cestoda)[J]. Int J Parasitol, 1999, 29(12):1965-1970.
- [8] Liu S, Zhou Z, Lu J, et al. Generation of genome-scale gene-associated SNPs in catfish for the construction of a high-density SNP array[J]. BMC Genomics, 2011, 12:12-53.
- [9] 贾万忠, 闫鸿斌, 史万贵, 等. 带属绦虫线粒体基因组全序列生物信息学分析[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(11):1480-1485.
- [10] Charlesworth B, Morgan M T, Charlesworth D. The effect of deleterious mutations on neutral molecular variation[J]. Genetics, 1993, 134(4):1289-1303.
- [11] Nakao M, Okamoto M, Sako Y, et al. A phylogenetic hypothesis for the distribution of two genotypes of the pig tapeworm *Taenia solium* worldwide [J]. Parasitology, 2002, 124(6):657-662.
- [12] Varcasia A, Lightowlers M W, Cattoli G, et al. Genetic variation within *Taenia multiceps* in Sardinia, Western Mediterranean (Italy)[J]. Parasitol Res, 2006, 99(5):622-626.
- [13] Zhang L, Hu M, Jones A, et al. Characterization of *Taenia madoquae* and *Taenia regis* from carnivores in Kenya using genetic markers in nuclear and mitochondrial DNA, and their relationships with other selected taeniids[J]. Mol Cell Probes, 2007, 21(5/6):379-385.
- [14] 陈建兴, 孙玉江, 沈伟, 等. 基于 ND4 基因部分片段探讨中国 4 个家驴品种的母系构成[J]. 青岛农业大学学报:自然科学版, 2008, 26(4):271-275.
- [15] Neigel J E, Abise J C. Application of random walk model to geographic distribution of animal mitochondrial DNA variation[J]. Genetics, 1993, 135(4):1209-1220.

(上接 15 页)

- [2] Saif Y M. 禽病学[M]. 11 版. 高福, 苏敬良, 译. 北京: 中国农业出版社, 2003:857-867.
- [3] 陈薄言. 兽医传染病学[M]. 5 版. 北京: 中国农业出版社, 2006:383-385.
- [4] 甘孟侯. 中国禽病学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003:109-119.
- [5] Shawky S, Schat K A. Latency sites and reactivation of duck enteritis virus[J]. Avian Dis, 2002, 46(2):308-313.
- [6] 李玉峰, 何叶峰, 黄兵, 等. 鸭瘟病毒基因组的提取和限制性酶切分析[J]. 中国家禽, 2007, 29(5):12-14.
- [7] 马秀丽, 宋敏训, 李玉峰, 等. PCR 用于鸭瘟病毒诊断的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2005, 27(5):408-411.
- [8] 程安春, 汪铭书, 刘菲, 等. PCR 在鸭瘟临床诊断和免疫及致病机理研究中的初步应用[J]. 病毒学报, 2004, 20(4):364-370.
- [9] Shawky S. Target cells for duck enteritis virus in lymphoid organs[J]. Avian Pathol, 2000, 39:609-616.
- [10] Shawky S T, Sandhu S, Shiivaprasad H L. Pathogenicity of a lowvirulence duck virus enteritis isolate with apparent immunosuppressive ability[J]. Avian Dis, 2000, 44:590-599.
- [11] 杨晓燕, 程安春, 汪铭书, 等. 鸭瘟病毒强毒株在感染鸭实质器官内的增殖与分布[J]. 中国兽医学报, 2008, 28(11):1254-1258.
- [12] 张新富, 胡永浩, 柳金雄, 等. 鸭瘟病毒疫苗株在免疫 SPF 鸭体内的生长动力学检测[J]. 中国兽医科学, 2011, 41(05):514-518.
- [13] 齐雪峰, 罗薇, 杨晓燕, 等. 鸭瘟病理组织学动态观察[J]. 中国预防兽医学报, 2006, 28(1):44-47.
- [14] 王俊东, 刘宗平. 兽医临床诊断学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004:230-231.
- [15] 郑艳, 殷中琼, 聂奎, 等. 青刺果黄酮对鸡血清抗体和血液生化指标的影响[J]. 安徽农业科学, 2007, 35(8):2279-2280.
- [16] 黄雪新, 王远孝, 艾丽霞, 等. 日粮不同动植物油配比对黄羽肉鸡血清学指标和抗氧化特性的影响[J]. 畜牧与兽医, 2009, 42(9):8-12.