

D-loop Sequence Variation of Mitochondrial DNA in Captive Chinese Alligator

WANG Yi-Quan^{1,2,①}, ZHU Wei-Quan², WANG Chao-Lin³

(1. School of Life Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China;

2. Institute of Genetic Resources, College of Life Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China;

3. Reproductive Research Center of *Alligator sinensis* in Anhui, Xuanzhou 242034, China)

Abstract: Chinese alligator, *Alligator sinensis*, is a critically endangered endemic species under legislative protection in China. Result of recent investigations revealed that number of the alligators was continuously declining in the past 50 years and less than 150 individuals were surviving in the wild until 2000 years. In order to prevent the extinguishing of this species, two breeding farms were set up in early 1980s at Xuanzhou county, Anhui Province and Changxing County, Zhejiang Province respectively. After twenty years of breeding efforts the number of captive individuals has been brought up to more than 9 000 in total, forming two separate captive subpopulations Xuanzhou subpopulation (XZSP) and Changxing subpopulation (CXSP). Because of lack of the information regarding genetic diversity of the captive populations 42 captive individuals including 33 individuals from XZSP and 9 from CXSP were sampled randomly to investigate their genetic status for the strategy in the next protection action. PCR method was adopted for amplification of mitochondrial DNA control region using primers designed in this research. After purification of PCR products all of amplicons were sequenced directly with ABI BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit and ABI 310 genetic analyzer. Consequently, 5' end of control region with length of 462 base pair was obtained from 39 samples. Sequence alignment shows there is no any variation site in this range of control region among the individuals assayed here, namely only one haplotype of the region shared by these alligators. This result strongly indicates that the population of captive Chinese alligator is in very poor genetic diversity status. Reasons for the losing of genetic diversity in the population are mainly attributed to population depression and number of individual decreasing sharply in the past 50 years. Another factor accounting for the phenomena is the limit of founder number of captive population. Finally, authors proposed three pieces of advice for the genetic conservation of Chinese alligator.

Key words: *Alligator sinensis*; DNA sequence; control region of mitochondrial DNA; genetic diversity

扬子鳄饲养种群线粒体 DNA 控制区的 序列多态性

王义权^{1,2,①}, 朱伟铨², 王朝林³

(1. 厦门大学生命科学学院, 厦门 361005; 2. 南京师范大学生命科学学院遗传资源研究所, 南京 210097;

3. 安徽省扬子鳄繁殖研究中心, 宣州 242034)

摘要: 扬子鳄(*Alligator sinensis*)是中国特有的珍稀爬行动物,至2000年,野生扬子鳄的个体数已不足150条,作为保护这一物种的措施之一,先后于80年代初建起了2个养殖场,现人工繁殖的扬子鳄总数已达9000余条。为揭示扬子鳄种群遗传多样性,从两个饲养种群中采集了42个个体的样品,其中宣州样品33个(XZSP),长兴样品9个

收稿日期: 2002-06-31; 修回日期: 2003-01-08

基金项目: 教育部骨干教师资助计划项目(GG-180-21002403-1740)和江苏省“333工程”人才培养基金资助[Supported by the Foundation for Univ. Key Teacher by the Ministry of Education of China(GG-180-21002403-1740) and the 333 Project of Jiangsu Province of China]

① 通讯作者。E-mail: wangyqnj@jlonline.com

© 1994-2014 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

(CXSP), 用 PCR 方法扩增 mtDNA 控制区, 扩增产物纯化后直接用 ABI 310 全自动遗传分析仪荧光标记测序, 得到其中 39 个个体的 mtDNA 控制区 5' 端 462 bp 的序列。经比对发现, 39 个个体间的 5' 端 mtDNA 控制区没有任何变异位点, 共享一种单元型, 提示扬子鳄饲养种群的遗传多样性非常贫乏, 造成这一结果的主要原因是近 50 年来, 扬子鳄种群衰退和数量迅速减少导致的遗传多样性丢失, 其次是人工繁殖的群体同时受到始创者数量较少产生的瓶颈效应影响。针对扬子鳄遗传多样性的现状, 作者最后就这一濒危动物遗传多样性的保护对策提出 3 点建议。

关键词: 扬子鳄; DNA 序列; 线粒体 DNA 控制区; 遗传多样性

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0379-4172(2003)05-0425-06

近几十年来, 由于人类生产活动的影响, 扬子鳄栖息地岛屿化, 使得扬子鳄分布区不断缩小。全球现存的 23 种鳄中^[1], 扬子鳄被世界自然保护联盟(IUCN)列为最濒危的物种之一^[2], 并载入《国际濒危动植物贸易公约》(CITES)附录 I 和《中国濒危动物红皮书》。据丁由中^[3]的调查结果, 野生扬子鳄的个体数只有 145 条; 世界野生动物保护学会专家 Thorbjarnarson^[4,5]的调查表明, 扬子鳄自然保护区内现存野生鳄数量已少于 130 条, 而且局限在若干个保护点内, 呈斑块状分布, 并仍以每年 4%~6% 的速率下降, 不同分布点的个体间缺乏有效的基因交流途径。为保护这一珍稀动物, 我国于 80 年代初, 开始扬子鳄人工繁殖研究, 并取得了巨大成功^[6], 饲养种群数量逐步上升。目前, 在安徽宣州和浙江长兴两地分别形成两个较大的扬子鳄饲养种群。然而, 对安徽省扬子鳄繁殖研究中心的扬子鳄繁殖情况调查发现, 饲养种群中, 子一代有繁殖力下降的现象, 这可能与近交衰退有关, 但尚缺少遗传学研究证据^[7]。我们报道的扬子鳄饲养种群基因组 DNA 的 RAPD 分析结果显示, 饲养种群个体间的遗传相似性非常高, 可是遗传多样性的贫乏与种群生存力下降间的关系仍有待进一步研究^[8]。

动物线粒体 DNA (mitochondrial DNA) 多态性分析是保护生物学和进化生物学研究中的重要手段之一。因为其呈母系遗传, 无重组, 且碱基替换速率快, 比核基因有更高的变异, 特别是 mtDNA 控制区(D-loop)的进化速率是其他区段的 5 倍^[9,10], 是种群遗传多样性研究中十分有效的分子标记, 可以用于多种物种的遗传管理、濒危物种的保护、种群结构和进化历史等方面的研究^[11,12]。在濒危物种的遗传多样性研究中, 往往首选线粒体 DNA 多态性分析^[13,14]。本研究运用扬子鳄 mtDNA 控制区的 5' 端序列分析, 检测扬子鳄饲养种群的遗传多样性水平, 为扬子鳄的繁殖、保护和种群复壮提供一些有价值的信息。

1 材料和方法

1.1 样品采集

安徽扬子鳄繁殖研究中心的鳄群是目前世界上最大的人工养殖扬子鳄群体, 该中心初建时, 从野外捕获 212 条野生鳄, 其中 76 条存活, 雌雄性比为 61:15, 经多年人工繁殖, 现已近 9 000 余条, 以下称宣州种群。由于该鳄群处在半自然状态下放养, 子代鳄按体长大小分开, 在不同的鳄鱼池中饲养, 同一年孵化出的子一代(F₁)和子二代(F₂)分别混养在一起。因此, 子代鳄中除有 F₁ 和 F₂ 区分外, 缺少来自几个母鳄的记录。长兴种群现有 336 条, 全部混养, 也缺少母鳄数量的记录, 以下称长兴种群。

扬子鳄血样用一次性注射器, 从尾静脉抽取, 对鳄无伤害。血样加入 1/7 体积的 0.5 mol/L EDTA 抗凝, 于冰盒中带回实验室, -80 °C 保存。本研究共包括 42 个个体: 其中 33 个来自宣州种群(XZSP), 包括 3 个亲代个体(XP), 16 个子一代个体(XF₁), 14 个子二代个体(XF₂); 9 个来自长兴种群(CXSP), 无世代记录(表 1)。

表 1 扬子鳄样品产地、代号及数目

Table 1 Localities codes and sample numbers of Chinese alligator sampled in this study

产地	代号	数目
Localities	Code	No.
安徽, 宣州 Xuanzhou, Anhui	XP	3
	XF ₁	16
	XF ₂	14
浙江, 长兴 Changxing, Zhejiang	CXSP	9

1.2 DNA 提取

冻存的血样室温下解冻后, 取 50~100 μl, 经蛋白酶 K 消化、酚/氯仿抽提、异丙醇沉淀提取总 DNA,

所得 DNA 用 ddH₂O 溶解。取适量 DNA 溶液, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳, EB 染色, 紫外观察估测浓度后, -20 °C 保存备用。

1.3 引物设计、DNA 扩增、序列测定和数据分析

根据我们已测得的扬子鳄线粒体 DNA 全序列, 设计用于扩增 mtDNA 控制区 5' 端序列的引物(图 1)。上游引物 p-Phe 位于苯丙氨酸 tRNA 序列中, 其序列为: 5'-AAAGCATAGCACTGAAAATG-3', 下游引物 Con-mm 位于控制区 490 bp 处, 在 poly-C 的上游, 其序列为: 5'-CAATAGAGCATTTAGAGTATG-3'。PCR 扩增体积为 30 μl, 内含 10× buffer 3 μl, Mg²⁺ (25 mmol/L) 2 μl, dNTPs (各 2 mmol/L) 2 μl, 模板 DNA 1.5 μl, Taq DNA 聚合酶 1 U, 上下游引物各 1 μl (10 pmol/L), 加适量的 ddH₂O。扩增反应在 PTC-200 型 PCR 仪(MJ Research Inc.)上完成。95 °C 预变性 4 min 后, 按下列参数循环: 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 60 s, 30 个循环后, 72 °C 延伸 10 min。PCR 产物用 WASTON 公司 PCR Purification Mini Kit 纯化, 其中样品 C9907 和 XF₂9907 的 PCR 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳检测, 发现 PCR 产物中有杂带, 切下目的片段, 用 WASTON 公司的 Gel Extraction Kit 纯化。纯化后的 PCR 产物直接测序, 试剂为 BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Ready Reaction Kit, 反应按试剂盒要求进行, PE 公司 ABI310 遗传分析仪测序。所得序列用 Clustal X 1.8 软件^[15] 比对分析, 比对结果辅以人工校对确定单元型。

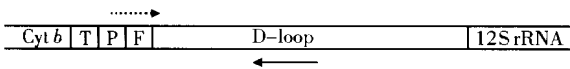


图 1 引物在线粒体 DNA 上的位置

虚线箭头: 引物 p-Phe; 实线箭头: 引物 Con-mm; Cyt b: 细胞色素 b 基因; T: 苏氨酸 tRNA 基因; P: 脯氨酸 tRNA 基因; F: 苯丙氨酸 tRNA 基因; D-loop: 控制区; 12S rRNA: 12S rRNA 基因。

Fig 1 Location of primers in the mtDNA

Broken line arrowhead: primer p-Phe; Solid arrowhead: primer Con-mm; Cyt b: Cyt b gene; T: Thr-tRNA gene; P: Pro-tRNA gene; F: Phe-tRNA gene; D-loop: control region; 12S rRNA: 12S rRNA gene.

2 结 果

扬子鳄 mtDNA 控制区全长 1 047 bp (GenBank 登录号: AF511507), 在第 516 bp 处有一段 poly-C 序列, 将控制区分为 3' 端、poly-C 和 5' 端 3 个部分, 其

中 3' 端含有 4 个 21~22 bp 的重复单元, 每个重复单元重复 3~6 次不等。由于 poly-C 和重复序列的干扰, 群体样品的 mtDNA 控制区 3' 端序列测定十分困难, 因此, 现仅就扬子鳄群体样品中控制区 5' 端序列, 作进一步分析。实验共检测 42 条扬子鳄的 mtDNA 控制区序列, 因样品 C9909 (长兴种群)、XF₂9912 (宣州种群)、XF₂9909 (宣州种群) 的 PCR 扩增效果不好, 未得到满意的测序结果, 实际得到其中 39 个个体的 mtDNA 控制区 5' 端序列, 长度为 462 bp (图 2)。经比对分析发现, 这段 DNA 序列在 39 个个体间完全相同, 不存在任何变异位点, 即 39 个个体共享同一种单元型, 提示扬子鳄饲养种群遗传多样性水平低。所得序列中, A、T、G、C 的含量分别为 21.68%、31.17%、17.75%、29.87%, A+T (52.38%) 含量高于 G+C (47.62%) 含量。

```
1 CACCCGGGC AACCCAGGC GCCATGTCT CAACCCATAT TTAGTCACTT
51 CCTCCCTATG TATATCGCG CATTCATCTA TTTGCCCAT ACACACATCCC
101 CCACTCAGA TTGGTCCAC TGTACAGGGG TTCTCGCTAT CCGCGTATCT
151 TTCGTTCACT ACTAACTAT TACTAGCTTC AAGCTCATA CTGGACACGGC
201 TTCCATGTAT TGCTTTTTA AGAGGCCTCT GGTATCACT CTCACGTCCAT
251 ATCTTGGAT TGCCGTGAC ATTCGTCCTT CTTCCTAGAG GCCTCAACCCG
301 CACCGCTGTG GTCTCCACT CATTTTTGTC CGTGATCGCG GCATCTCCAGC
351 TTGAGCACAT TTAAGTGA TTTTATTTT TTGGGGGAGA GTTCAGGTTC
401 ACTTGGCGGA CTATTTCTT TAAATTCGGC GTCAGTAAGA AAACACTCTAG
451 ACTTATAAAA CT
```

图 2 扬子鳄线粒体 DNA 控制区 5' 端序列

Fig. 2 5' end sequence of mitochondrial DNA control region of *Alligator sinensis*

3 讨 论

3.1 扬子鳄 mtDNA 控制区序列多样性分析

扬子鳄这一极度濒危的物种, 种群数量自 20 世纪上半叶开始下降, 特别是 50 年代以来, 由于栖息地的破坏和人为捕杀, 种群数量下降加速, 至 1981 年, 中美科学家联合调查结果显示, 当时野外尚存的扬子鳄不到 500 条^[19]。现在宣州饲养的扬子鳄便是 80 年代初从野外捕捉、并存活下来的 76 条鳄繁殖而来, 其中雌鳄 61 条。长兴饲养的扬子鳄也是在这一时期由野外捕获的 4 条鳄(无雌鳄数量记录)繁殖的。80 年代, 扬子鳄人工繁殖成功^[9], 养殖种群的数量大增, 有限的人工养殖场所已难以承受养殖群体的进一步扩大, 部分鳄已移到动物园等其他场所。不幸的是, 野生鳄种群数量仍在以惊人的速度减少, 有专家呼吁把部分养殖的扬子鳄放回自然, 重

建野生种群^[3,5],有关部门也正在积极筹划、组织实施这一具有战略意义的野生种群重建工程。然而,由于扬子鳄种群遗传多样性研究不够,在如何选择放归个体等问题上,尚缺少遗传学方面的数据参考。

在物种遗传多样性和个体遗传学背景的研究中,有多种分子遗传标记可供选择。mtDNA 控制区不编码基因,受到的选择压力较编码基因小,群体中的变异较多。如在贵州水族人群中随机抽取 64 个样本的 495 bp mtDNA 控制区序列中,有 48 种单元型,相应区段的广东人群 20 个样本中,包含 20 中不同的单元型^[7]。因此,mtDNA 控制区序列分析常用于研究种下水平的遗传分化,特别是用于濒危物种的保护遗传学研究,以期获得较多的遗传变异信息,制订有效的保护这些遗传变异的措施。目前,饲养的扬子鳄是在其种群数量大幅度减少后,由野外捕获的少数鳄繁衍得到,所以选择遗传变异可能性较大的分子标记十分重要,这是本研究选用 mtDNA 控制区序列作为分子标记的主要依据。然而,与我们期盼的结果相反,39 个来自两个主要养殖群体样品 5'端序列的比对结果,没有发现任何变异位点,所有个体共享同一种单元型。虽然濒危物种由于瓶颈效应的作用,可以预料种群遗传多样性一般较低,但在 mtDNA 控制区内仍可发现一些变异位点。如在 102 头江豚(*Neophocaena phocaenoides*)的 720 bp mtDNA 控制区序列中,发现了 7 个变异位点,定义了 9 种单元型^[18],平均每 103 bp 有一个变异位点,每 11 个个体可检测到 1 种新的单倍型;张亚平等^[19]分析了 40 个大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)mtDNA 控制区 318 bp 的序列,发现 5 个变异位点,9 种单元型,平均每 64 bp 出现一个变异位点,每 4.4 个个体中可找到 1 种新的单元型;而对大翅鲸(*Megaptera novaeangliae*)mtDNA 控制区 5'端 283 bp 序列研究,结果显示出更高的遗传变异^[13]。虽然 mtDNA 控制区不同部分变异速率可以不同,但本研究中的 5'端序列长度已接近其控制区全长的一半,在这样大的样本数和序列长度中,却没有一个变异位点被发现,与上述几种濒危动物的研究结果相比,可见扬子鳄饲养种群的遗传多样性非常低。造成这一结果的原因可能有两个:1)扬子鳄是沼泽湿地生活的爬行动物,其活动范围和迁徙能力较哺乳动物小得多。如在某一处出现新的突变,这种新突变的基因在群体中扩散和均一化的速度比较缓慢,局部分布的基因型非常容易随这一地区个体的消亡,而从物种基因库中永久性地

消失。早在开始扬子鳄饲养繁殖之前,这一原先广泛分布于长江中下游水网地带的动物,已在许多湖泊湿地中消亡,分布区退缩至皖南丘陵地区的狭小范围内,呈斑块状散布于海拔 200 米以下的低山池塘中^[6]。在种群衰退过程中已有大量的等位基因丢失,这是该物种近 50 年来遭受到的第一次,也是影响最深刻的一次瓶颈效应,这次瓶颈效应作用于整个扬子鳄种群,可以推测扬子鳄的遗传多样性已在持续地数量减少过程中丢失了许多;2)目前扬子鳄的饲养种群由 80 条捕自野外的种鳄繁殖而来,这种有限的奠基者数量,是饲养种群受到的第二次瓶颈效应,这次瓶颈效应仅作用于现在的扬子鳄饲养种群。

3.2 扬子鳄 mtDNA 控制区序列一致性与核基因组遗传多样性

由于 mtDNA 是母系遗传,且无重组,张亚平等^[19]在研究大熊猫 mtDNA 遗传多样性时,视每个来自野外的个体为一个线粒体基因组创立者,对于人工繁殖的个体,按照它们来自野外的母亲数量计算创立者。同样,宣州扬子鳄饲养种群为 76 个 mtDNA 基因组创立者,长兴饲养种群为 4 个创立者。从这样一个由多达 80 个创立者产生的养殖群体中,随机抽取的 39 个样品,仍未发现任何个体间差异,考虑到 mtDNA 控制区各区段间变异速率的差异,虽然不能肯定扬子鳄饲养种群 mtDNA 基因组一定为单态,但这一结果仍反映了其种群遗传多样性极低的事实。我们注意到 mtDNA 多态性水平与基因组 DNA 多态性水平有时并不一致^[20,21],但同一群体样品的核基因组 RAPD 分析,得到的个体间遗传相似性系数平均为 0.99^[8];为进一步验证结果的可靠性,还做了核基因组 AFLP 分析,得到的个体间遗传相似性系数平均为 0.90(另文发表)。这两方面的数据都反映了扬子鳄饲养种群的遗传多样性非常低,核基因组和线粒体基因组遗传多样性的研究结果完全一致。这种 mtDNA 控制区的单态性现象,在高度濒危的加湾鼠豚(*Phocoena sinus*)43 个个体 mtDNA 控制区 380 bp 的 DNA 序列分析中也曾发现过^[11],当时该物种数量大约仅存 576 头,与 1981 年开始人工养殖时,扬子鳄野外种群个体数相近。

从以上分析可见,虽然我国扬子鳄人工繁殖已非常成功,饲养种群的数量随着养殖场所的增加还将进一步增长。但濒危物种的保护不仅是阻止其迅

速灭绝,更重要的是防止其遗传多样性的丧失,使物种保持进化上的潜力,有效地保存千百万年来,物种进化形成的丰富多样的遗传资源库。本研究揭示的扬子鳄饲养种群遗传多样性现状告诫我们,扬子鳄的保护不能盲目乐观,为此我们提出以下建议。

3.3 扬子鳄遗传多样性保护对策的建议

目前,人工养殖的扬子鳄由于近期受到两次瓶颈效应的严重影响,饲养种群的始创者数量不足 100 条,遗传多样性水平极低。北美海岸的北象海豹(*Mirounga angustirostris*)与之相似,19 世纪后期,由于捕猎使这一物种个体数降到 100 头以下,实行严格的全面保护后,个体数量以每年 6% 的速率增长,至 1993 年达到 100 000 头,但此期的 mtDNA 控制区多态分析仅在 67 个个体中发现 3 个变异位点,定义了两种单元型,仍显示了很低的遗传多样性水平^[4],这 3 个变异位点的两种单元型是实施禁猎保护前即已存在?还是经过近百年的保护,种群个体数增长了 100 多倍后重新产生的变异?尚不得而知。但这个例子使我们懂得,仅简单地扩大扬子鳄养殖规模,增加养殖群体的个体数量,在经历相当长的一个时期,个体数量大幅增长后,仍难以有效地恢复物种的遗传多样性。因此,如何有效地保护扬子鳄遗传多样性,使种群迅速复壮,是下一步保护行动中值得重视的问题。

根据已获得的遗传多样性数据,我们认为:首先,要加强对扬子鳄遗传资源和遗传多样性的研究,包括对野生和人工繁殖的扬子鳄研究,打破部门分割,组织更多关心扬子鳄保护的科学家参加到这项研究中来;其次,野外生存的扬子鳄现已不足 150 条,这是扬子鳄种群复壮的重要遗传资源,应对其逐个加以严格保护,有计划地把其中一些目前饲养种群中没有的基因型个体,移入到养殖群体中参加繁殖,使其携带的稀有等位基因得到迅速扩增;此外,在养殖种群的遗传管理上,由于遗传多样性研究结果表明,宣州和长兴的两个养殖群体没有遗传分化,因此,应作为同一个进化显著性单元(ESU)加以管理,把注意力的焦点集中在对饲养群体中稀有遗传型个体的发现上,对发现到的这种个体采取特别的繁殖保护措施,避免因随机漂变造成等位基因丢失。

参考文献(References):

[1] Grenard S. Handbook of alligators and crocodiles, Malabar, Florida.

- Krieger Publishing Company, 1991.
- [2] The 2000 IUCN red list of threatened species. 网址: <http://www.redlist.org/>
- [3] DING You-Zhong, WANG Xiao-Ming, HE Li-Jun, SHAO Min, XIE Wan-Shu, Thorbjarnarson B J, McMurry S T. Study on the current population and habitat of the wild China alligator (*Alligator sinensis*). *Biodiversity Science*, 2001, 9(2): 102~108.
丁由中, 王小明, 何利军, 邵民, 谢万树, Thorbjarnarson B J, McMurry S T. 野生扬子鳄物种及栖息地现状研究. 生物多样性, 2001, 9(2): 102~108.
- [4] Thorbjarnarson J, Wang X M. The conservation status of the Chinese alligator. *Oryx*, 1999, 33(2), 152~159.
- [5] Thorbjarnarson J, Wang X M, Shao M, He L J, Ding Y Z, Wu Y L, McMurry S T. Wild populations of the Chinese alligator approach extinction. *Biological Conservation*, 2002, 103(1): 93~102.
- [6] CHEN Bi-Hui, WANG Chao-Lin. Artificial reproduction of *Alligator sinensis*. *Acta Herpetologica Sinica*, 1984, 3(2): 49~54.
陈壁辉, 王朝林. 扬子鳄的人工繁殖. 两栖爬行动物学报, 1984, 3(2): 49~54.
- [7] WU Xiao-Bing, WANG Yi-Quan, ZHOU Kai-Ya, NIE Ji-Shan, WANG Chao-Lin, XIE Wan-Shu. Analysis on reproduction of captive population of *Alligator sinensis* in Xuanzhou, Anhui. *Chin J Appl Environ Biol*, 1999, 5(6): 585~588.
吴孝兵, 王义权, 周开亚, 聂继山, 王朝林, 谢万树. 安徽宣州扬子鳄饲养种群繁殖率分析. 应用与环境生物学报, 1999, 5(6): 585~588.
- [8] WU Xiao-Bing, WANG Yi-Quan, ZHOU Kai-Ya, ZHU Wei-Quan, NIE Ji-Shan, WANG Chao-Lin, XIE Wan-Shu. Genetic variation in captive population of Chinese alligator *Alligator sinensis*, revealed by random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Biological Conservation*, 2002, 106(3): 435~441.
- [9] Cann R L, Brown W M, Wilson A C. Polymorphic sites and the mechanism of evolution in human mitochondrial DNA. *Genetics*, 1984, 106: 479~499.
- [10] Rosel P E, Haygood M G, Perrin W F. Phylogenetic relationship among the true porpoise (Cetacean: Phocoenidae). *Mol Phy Evol*, 1995, 4(4): 463~474.
- [11] Rosel P E, Rojas-Bracho L. Mitochondrial DNA variation in the critically endangered vaquita *Phocoena sinus* Norris and MacFarland, 1958. *Marine Mammal Science*, 1999, 15(4): 990~1003.
- [12] WANG Jing-Bo, HU Chang-Long, XU Hong-Fa. Applications of mitochondrial DNA variability analysis in zoological conservation biology. *Biodiversity Science*, 2001, 9(2): 181~187.
王静波, 胡长龙, 徐宏发. 线粒体 DNA (mtDNA) 多态性在动物保护生物学中的应用. 生物多样性, 2001, 9(2): 181~187.
- [13] Baker C S, Peny A, Barnister J L, Weinrich M T, Abemethy R B, Calambokidis J, Lien J, Lambertsen R H, Ramirez J U, Vasquez O, Clapham P J, Alling A, O'Brien S J, Palumbi S R. Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1993, 90: 8239~8243.
- [14] Hoelzel A R, Halley J, O'Brien S J, Campagna C, Ambam T, Le Boeuf B, Ralls K, Dover G A. Elephant seal genetic variation and use of simulation models to investigate historical population bottlenecks. *Journal of Heredity*, 1993, 84: 443~449.
- [15] Thompson J D, Gibson T J, Plewniak F, Jeanmougin F, Higgins D G. The CLUSTAL -X windows interface: flexible strategies for multiple

- sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Res.* 1997, 24: 4876~4882.
- [16] CHEN Bi-Hui, HUA Zhao-Hua, LI Bing-Hua. Chinese alligator. Hefei: Anhui Science and Technology Press, 1985.
陈壁辉, 花兆合, 李炳华. 扬子鳄. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1985.
- [17] YU Yue-Sheng, YAO Yong-Gang, KONG Qing-Peng, RONG Ju-Quan, LUO Zai-Gang, REN Guang-Xiang, ZHANG Ya-Ping. Mitochondrial DNA sequence variation of Shui ethnic group. *Acta Genetica Sinica*, 2001, 28(8): 691~698.
余跃生, 姚永刚, 孔庆鹏, 戎聚全, 罗载刚, 任光祥, 张亚平. 贵州水族人群 DNA 序列多态分析. 遗传学报, 2001, 28(8): 691~698.
- [18] Yang G, Zhou K, Ren W, Liu S, Ji G, Yan J. Population genetic structure of finless porpoises, *Neophocaena phocaenoides*, in Chinese waters inferred from mitochondrial control region sequences. *Marine Mammal Science*, 2002, 18(2): 336~347.
- [19] ZHANG Ya-Ping, Ryder A O, FAN Zhi-Yong, ZHANG He-Ming, HE Ting-Mei, HE Guang-Xi, ZHANG An-Ju, FEI Li-Song, ZHONG Shun-Long, CHEN Hong, ZHANG Cheng-Lin, YANG Ming-Hai, ZHU Fei-Bing, PENG Zhen-Xin, PU Tian-Chun, CHEN Yu-Cun, YAO Min-Da, GUO Wei. DNA sequence variation and genetic diversity of giant panda. *Science in China (C series)*, 1997, 27(2): 139~144.
张亚平, Ryder A O, 范志勇, 张和明, 何廷美, 何光昕, 张安居, 费立松, 钟顺隆, 陈红, 张成林, 杨明海, 朱飞兵, 彭真信, 普天春, 陈玉村, 姚敏达, 郭伟. 大熊猫 DNA 序列变异及其遗传多样性研究. 中国科学(C辑), 1997, 27(2): 139~144.
- [20] Moritz C. The origin and evolution of parthenogenesis in *Heteronotia binoei* (Gekkonidae): evidence for recent and localized origins of widespread clones. *Genetics*, 1991, 129(1): 211~219.
- [21] Cuore J P, Thams D K. Mitogenomics: digging deeper with complete mitochondrial genomes. *TREE*, 1999, 14: 394~398.

(责任编辑: 陈晓芳)

纪念 DNA 双螺旋结构模型发表 50 周年、祝贺人类基因组计划最终完成
一部无法绕过的经典文献

The Human Genome 《人类基因组——我们的 DNA》出版

C. 丹尼斯, R. 加拉格尔 编著

众多国际知名学者与诺贝尔奖获得者参与编写

J. D. 沃森 作序

华大基因研究中心承担翻译

科学出版社 2003 年 4 月出版, ISBN 7-03-010570-2/Q. 1191

240 页, 全彩大 16 开, 定价: 48 元

人类基因组计划是这个时代最具突破性的科学事件。该书全面记录了这一划时代工作的方方面面。自 Crick 和 Watson 发现 DNA 结构以来, 还没有一部科学出版物受到如此的赞许和期望。

《自然》杂志(Nature)的两位生物学主编 Carina Dennis 和 Richard Gallagher 编著的这本书引人入胜, 装帧精美, 使人类基因组计划得以接近普通读者。本书从对生物学和技术的基础简介开始, 以发表于 2001 年 2 月的由国际人类基因组测序协作组合写的历史性研究论文《人类基因组测序和初步分析》(*Initial Sequencing and Analysis of the Human Genome*)全文结尾。自始至终, 书中描述了主要参与者和事件, 论及该项工作的影响的各种观点, 囊括全世界媒体报道, 及对人类基因组测序的伦理、法律和社会意义的评估。

本书将作为理解人类基因组必不可少的资源和参考指南, 以纪念人类最伟大的成就之一。

在过去 40 年中, 我已见过许多令人振奋的生物学事件的发生。但是, 当我第一次读到这篇描述我们基因组概貌的草图时, 我仍然感到震撼。……这是一篇启蒙后基因组时代的种子论文。

——诺贝尔奖得主 David Baltimore

本书源于国际著名科学家的手笔, 涉及人类基因组计划的方方面面, 引人入胜。本书图文并茂, 雅俗共赏, 是一部意义非凡的好书, 也是对这一堪称我们这个时代最具突破性的科学事件的最好纪念。

——杨焕明(国际人类基因组计划中国协调人)