

卧龙圈养大熊猫遗传多样性现状及预测

艳丽^{1,2} 黄炎³ 张保卫^{1,2} 张陕宁^{1,2} 张和民³ 魏辅文¹ 王鹏彦³ 李明^{1*}

(1 中国科学院动物研究所, 中国科学院动物生态与保护生物学重点实验室, 北京, 100080)

(2 中国科学院研究生院, 北京, 100049) (3 中国保护大熊猫研究中心, 汶川, 623006)

摘要: 以中国最大的大熊猫圈养种群——四川卧龙中国大熊猫保护中心的圈养种群为对象, 以 8 个大熊猫微卫星位点为分子标记, 探讨了大熊猫圈养种群的遗传多样性, 并与邛崃野生种群及其他 7 个濒危物种进行比较。微卫星数据表明, 圈养种群的遗传多样性水平 ($A = 5.5$, $He = 0.620$, $Ho = 0.574$) 低于邛崃野生种群 ($A = 9.8$, $He = 0.779$, $Ho = 0.581$), 但高于其他 7 个濒危物种的种群 ($He = 0.13 \sim 0.46$)。在此数据的基础上对未来 100 个世代内圈养种群遗传多样性的变化情况做出了预测。结果表明假设种群数量比现在扩大一倍, 经历 100 个世代后也只会使平均等位基因数减少 0.4。因此继续增加野生个体对保持遗传多样性的意义已经不大, 建议该圈养种群的保护策略应将重点放到制定更有效的繁殖计划以避免近交上。

关键词: 大熊猫; 圈养种群; 遗传多样性

中图分类号: Q16

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2006) 04-0317-08

Status and prognosis of genetic diversity in captive giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) in Wolong

YAN Li^{1,2}, HUANG Yan³, ZHANG Baowei^{1,2}, ZHANG Shanning^{1,2}, ZHANG Hemin³, WEI Fuwen¹, WANG Pengyan, LI Ming^{1*}

(1 Key laboratory of Animal Ecology and Conservation, Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100080, China)

(2 Graduate School of Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049, China)

(3 China Research and Conservation Center for the Giant Panda, Wenchuan, 623006, China)

Abstract: The evolutionary potential of a species is determined by its genetic diversity. Thus, management plans should integrate genetic concerns into active conservation efforts. The giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) is an endangered species, endemic to China. Previous studies have focused primarily on genetic diversity among wild giant pandas. We compared genetic diversity of captive with wild giant pandas by obtaining 27 blood samples from pandas held at the China Research and Conservation Center for the Giant Pandas with 39 samples (feces and skin) collected from the wild. We quantified genetic diversity in each sample using 8 microsatellite loci. Genetic diversity of captive pandas was lower ($A = 5.5$, $He = 0.620$, $Ho = 0.574$) than in wild pandas ($A = 9.8$, $He = 0.779$, $Ho = 0.581$), but was higher than that of other 7 endangered species ($He = 0.13 - 0.46$). Simulations showed that the average number of alleles would increase by only 0.4 within 100 generations with a doubling of population size. Thus, we suggest that the management strategy for the captive giant panda population should develop effective reproductive plans so as to avoid inbreeding.

Key words: Captive population; Giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*); Genetic diversity

大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 是我国特有的珍稀濒危动物, 目前仅分布于秦岭以及四川盆地西缘的岷山、邛崃、凉山、大小相岭等 6 个彼此隔离的山系中。全国第三次大熊猫调查显示: 野外大熊猫种群数量仅为 1 596 只。现存大熊猫的野生种

群生境高度破碎化, 生存状况相当脆弱 (胡锦涛, 2001), 其中一些小的栖息地斑块的个体数量不足 50 只, 这可能会导致大熊猫种群的近交衰退, 并带来灭绝的危险 (胡锦涛, 1990)。

大熊猫的濒危现状要求在对该物种进行就地保

基金项目: 国家林业局国际合作项目

作者简介: 艳丽 (1980-), 女, 硕士研究生, 主要从事濒危哺乳动物保护遗传学研究。

收稿日期: 2006-05-25; 修回日期: 2006-07-19

* 通讯作者, correspondence author, E-mail: lim@ioz.ac.cn

护的同时,还应开展迁地保护。迁地保护是指把某些单独或成群的生物个体从其自然生境中移出,然后放到圈养环境里对其进行繁育或保存其遗传繁殖群(Pullin, 2002)。迁地保护是目前对濒危动物的重要保护手段之一。迁地保护种群在保护工作中能够提供野生个体的代用材料,取得管理野生种群的经验,作补充野生种群的后备基因库,为那些野外生境不复存在的物种提供最后的生存机会,为在新的生境中创建新的生物群落提供种源(蒋志刚等, 1997)。如麋鹿(*Elaphurus davidianus*)和野马(*Equus caballus*)在野外灭绝后就是靠圈养种群才得以保存。

大熊猫的圈养工作至今已有70年的历史,截至2005年底,全国圈养大熊猫种群数量达183只,并已初步实现了圈养种群的自我维持(王鹏彦等, 2005)。但是,大熊猫圈养也面临着许多问题,如近亲交配、种源枯竭的风险增加等(沈富军等, 2002)。胡锦涛(2001)根据卧龙、北京和成都的繁殖群体和2000年的幼仔存活率,预计全国范围内的圈养大熊猫每年能增加20只以上。但近来每年的数量实际增长却大多远远低于预期值(谢钟等, 2005^{*1})。这可能是由于圈养大熊猫种群规模小、非自然选择,从而导致遗传变异的损失,繁殖适合度下降(沈富军等, 2002)。

遗传多样性是估计种群长期生存可能性的重要指标(Frankel and Soule, 1981),也是生物学上制定保护计划所必需的内容之一(Friar *et al.*, 2000)。世界自然保护联盟(IUCN)将遗传多样性保护与生态系统多样性保护、物种多样性保护列为全球生物多样性保护的三个优先内容(McNeely *et al.*, 1990)。遗传多样性对种群至关重要,它为进化提供遗传基础。遗传多样性的丧失会引起个体繁殖适合度的下降(Ballou and Ralls, 1982)。针对大熊猫的遗传多样性也进行过很多研究(Lu *et al.*, 2001; Fang *et al.*, 2002),但是这些研究大多集中于野生种群而忽视了圈养种群。

圈养种群的遗传多样性是大熊猫迁地保护的重要研究内容。它在优化圈养种群遗传结构,制定进一步的保护策略及放归种源的培育等方面都具有重要意义。本研究以目前最大的迁地保护种群——四川卧龙中国大熊猫保护中心(以下简称“卧龙中心”)的圈养种群为对象,利用微卫星作为分子标记对圈养大熊猫种群和野生种群进行比较研究,以了解圈养大熊猫种群的遗传现状,同时对种群遗传

多样性的变化趋势进行了预测,在此基础上对大熊猫圈养种群的遗传学管理提出建议。

1 材料与方法

1.1 样品采集

圈养种群样品分别于2004年11月和2005年4月采自中国保护大熊猫研究中心。共采集27个大熊猫个体的血液样品各3 ml,采样方式为随机采样。野生大熊猫种群样品来自宝兴、芦山和汶川,包括死亡个体的皮张样品和野外收集的粪便样品,共计39个个体。血液样品和皮张样品-80℃冷冻保存,粪便样品常温保存于无水乙醇中。

1.2 微卫星位点选择

Lu等(2001)通过大熊猫基因组文库的筛选发现18个双碱基重复(AC)_n的微卫星多态位点。本文通过实验,选择了其中扩增效果最好且多态性高的8个位点(Ame-μ10, 11, 13, 16, 19, 24, 26, 27),进行“卧龙中心”大熊猫的遗传多样性分析。对每一微卫星位点的单侧引物5'端进行荧光标记(FAM、HEX、TET)。

1.3 DNA提取、扩增和基因分型

1.3.1 DNA提取

冻存血样的基因组DNA提取,按照标准方法进行(Sambrook, 1989)。皮张样品的提取按照饶刚等(2001)方案进行。粪便样品的提取使用QIAamp DNA Stool Mini Kit(Qiagen, Germany)试剂盒,按照操作手册进行。通过2.0%的琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA纯度,-20℃保存。

1.3.2 微卫星扩增

微卫星位点的扩增体系为:Ex Taq DNA聚合酶1.0(Takara),dNTP各0.2 mM,MgCl₂ 2 mM,5'端荧光标记及非标记引物各0.5 μM,DNA模板2 μl,BSA 0.1 μg/μl,反应总体积20 μl;反应的循环设置使用降落PCR程序:95℃热启动反应15 min后,95℃变性30 s,退火30 s,72℃延伸30 s,退火温度自60℃始,按每循环降1℃至50℃后,再进行40个循环。

血液样品重复扩增2次,皮张、粪便样品各重复扩增3次。

1.3.3 微卫星基因分型

微卫星扩增产物经过1.5%的琼脂糖凝胶电泳

* 谢钟, Gipps J. 2005. The 2005 International Studbook for Giant Panda. 中国动物园协会, Zoological Society of London.

检测后，使用 Tamara 350 荧光分子量标准在 ABI 377 DNA 测序仪中进行基因分型。微卫星基因分型结果使用 Genescan2.0 软件 (Mac 版本) 读取。

微卫星基因分型采用 Bellemain (2005) 依据的标准，具体是指：血液样品重复扩增 2 次或皮张、粪便样品重复扩增 3 次后，仅出现 1 个等位基因的，认为是纯合位点；血液样品重复扩增 2 次或皮张、粪便样品重复扩增 3 次后，总是出现 2 个不同的等位基因时判定为杂合位点。血液样品重复扩增 2 次或皮张、粪便样品重复扩增 3 次后，若只能判定出一个等位基因确实存在时 (即每次扩增都能得到这个等位基因，但是另一个等位基因不是每次都出现时)，则再增加一次扩增之后根据待确定的那个等位基因出现的频次来判定，若待确定的等位基因出现 2 次以上则判定为杂合子；若待确定的等位基因只出现 1 次则判定为纯合子。

1.4 数据分析

常见的衡量遗传多样性的方式包括位点的等位基因数、杂合度等指数 (Frankel and Soule, 1981)。本研究中利用软件包 Excel Microsatellite Toolkit (Version3.1, Park, 2001) 和软件 Fstat (Version2.9, Goudet, 1995) 计算了圈养种群和野生种群的观察值杂合度 (observed heterozygosity, H_o)、期望值杂合度 (expected heterozygosity, H_e)、平均等位基因数 (average number of alleles per locus, A)、多态信息含量 (polymorphism information content, PIC) 和固定系数 (inbreeding coefficient, F_{is})，以用于圈养种群和野生种群的遗传多样性的比较。同时，通过软件 BOTTLESIM (Kuo and Janzen, 2003)，模拟了该圈养种群在未来 100 代内遗传多样性水平的变化情况。软件 Bottlesim 中

具体的参数设置为：性成熟年龄为 6 岁、性比为 1:1 (胡锦涛, 2001)；平均寿命为 25 岁 (朱靖, 1980)。

2 结果

2.1 基因组 DNA 的提取

成功提取了 27 个圈养种群血液样品和 39 个野生种群的粪便、皮张样品，图 1 为其中部分样品基因组 DNA 的琼脂糖凝胶电泳结果，其中 Marker 为 D 2000。

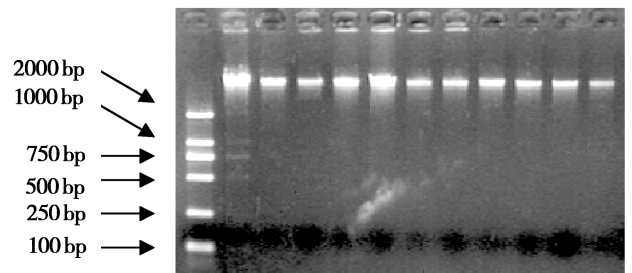


图 1 基因组 DNA 凝胶电泳图

Fig. 1 Electrophoresis map for Genomic DNA

2.2 圈养种群和野生种群的遗传多样性比较

8 个大熊猫微卫星位点在圈养种群样品中共得到 44 个等位基因，各个位点的等位基因数目 (A) 为 3~7，平均等位基因数为 5.5。各位点的等位基因大小和分布见图 2。8 个微卫星位点杂合度的期望值 (H_e) 和观察值 (H_o) 分别为 0.409~0.767 和 0.259~0.778，平均值分别为 0.620 和 0.574。各位点的多态信息含量 (PIC) 为 0.392~0.730，8 个位点总体 PIC 为 0.575。整个圈养种群的固定系数 (F_{is}) 为 0.061。以上各遗传多样性指数的详细信息见表 1。

表 1 圈养种群中 8 个大熊猫微卫星位点的遗传多样性数据

Table 1 Expected heterozygosity, observed heterozygosity, polymorphism information content, alleles/locus, and inbreeding coefficient for 8 microsatellite loci in 27 captive giant pandas

Loci	H_e	H_o	PIC	A	F_{is}
Ame- μ 10	0.709	0.778	0.667	7	-0.079
Ame- μ 11	0.627	0.667	0.557	5	-0.045
Ame- μ 13	0.767	0.704	0.730	7	0.1010
Ame- μ 16	0.409	0.407	0.392	6	0.022
Ame- μ 19	0.680	0.259	0.625	5	0.630
Ame- μ 24	0.455	0.519	0.431	6	-0.120
Ame- μ 26	0.613	0.741	0.542	3	-0.191
Ame- μ 27	0.703	0.519	0.653	5	0.280
All	0.620	0.574	0.575	5.5	0.061

注：A 为平均等位基因数； H_e 为杂合度的期望值； H_o 为杂合度的观察值；PIC 为多态信息量； F_{is} 为固定系数。

Note: A = number of alleles per locus; H_e and H_o = observed and expected heterozygosity; PIC = polymorphism information content; F_{is} = inbreeding coefficient.

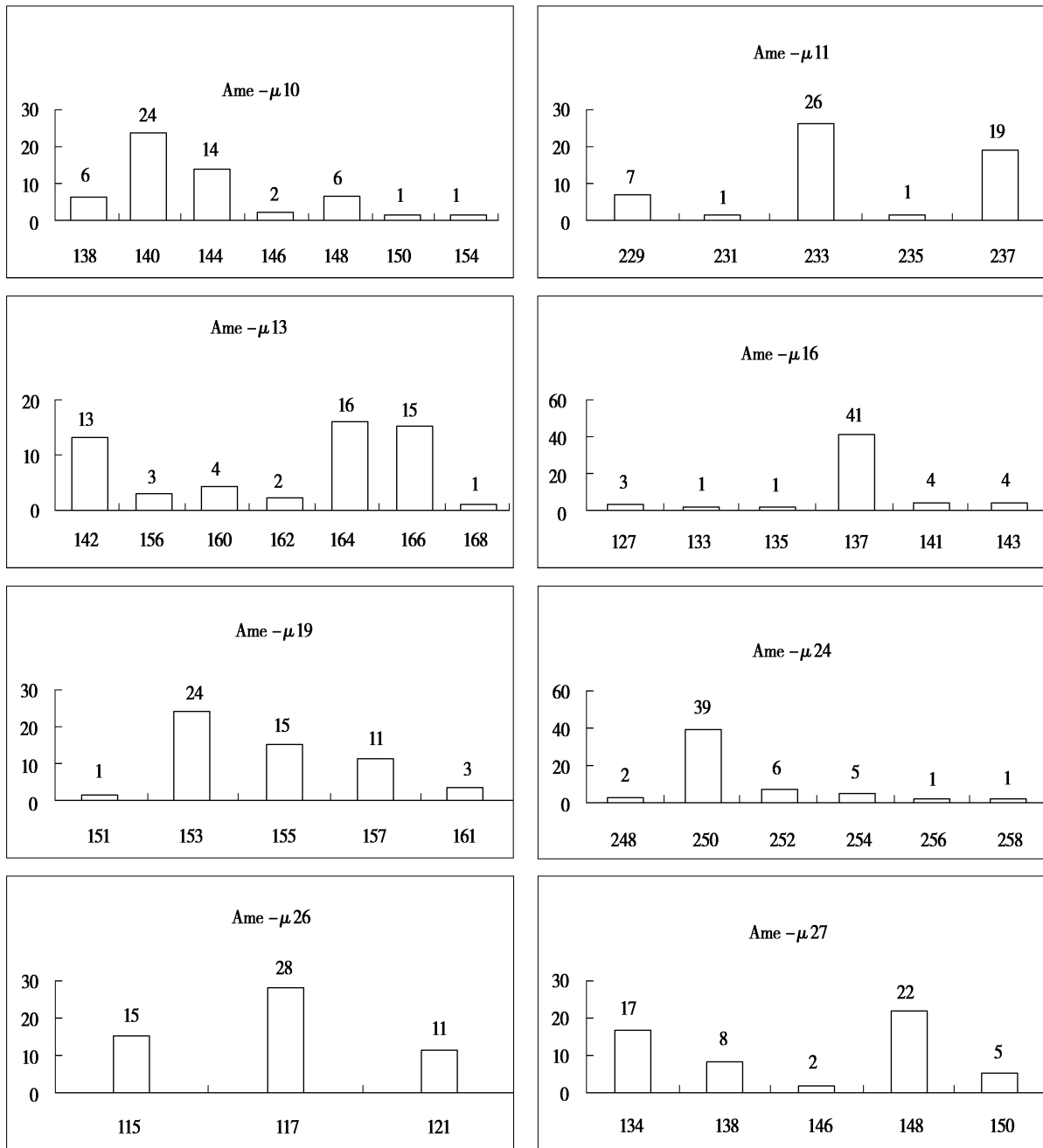


图2 8个微卫星位点等位基因分布图,其中x轴的数字代表不同的等位基因大小(bp),而与Y轴对应的柱及数字则表示该等位基因在研究中的频率

Fig. 2 Frequency of alleles for 8 microsatellite loci in captive pandas. X-axis = allele size (base-pairs); Y-axis = allele frequency.

2.3 与邛崃野生种群遗传多样性比较

在邛崃野生种群中位点 Ame-μ16、Ame-μ19 有 39 个个体成功扩增,位点 Ame-μ10、Ame-μ26 有 38 个个体成功扩增,位点 Ame-μ11、Ame-μ27 有 37 个个体成功扩增,位点 Ame-μ13、Ame-μ24 有 36 个个体成功扩增。8 个位点共得到 78 个等位基因,各个位点的等位基因数目(A)为 7~14,平均等位基因数为 9.8。邛崃野生种群 8 个微卫星位点杂合度的期望值(He)和观察值(Ho)分别为 0.737~0.820 和 0.462~0.711,平

均值分别为 0.779 和 0.581。野生种群与圈养种群遗传多样性的比较见表 2。

2.4 与其他 7 种濒危物种遗传多样性比较

从文献中收集到 7 种濒危物种共计 10 个种群以微卫星为分子标记的遗传多样性资料作为大熊猫圈养种群遗传多样性的参照。各种群杂合度的期望值为 0.13~0.46。上述 10 个种群与大熊猫圈养种群的遗传多样性比较见表 3。在这 11 个种群中,大熊猫圈养种群杂合度的期望值最高(He = 0.62)。

表 2 大熊猫卧龙圈养种群与邛崃野生种群遗传多样性比较

Table 2 Genetic diversity among captive wild Qionglai giant pandas

位点 Loci	Sample size		A		He		Ho	
	邛崃野生种群 Qionglai population	卧龙圈养种群 Captive population	邛崃野生种群 Qionglai population	卧龙圈养种群 Captive population	邛崃野生种群 Qionglai population	卧龙圈养种群 Captive population	邛崃野生种群 Qionglai population	卧龙圈养种群 Captive population
Ame - μ 10	38	27	10	7	0.803	0.709	0.711	0.778
Ame - μ 11	37	27	7	5	0.737	0.627	0.622	0.667
Ame - μ 13	36	27	10	7	0.786	0.767	0.639	0.704
Ame - μ 16	39	27	14	6	0.786	0.409	0.462	0.407
Ame - μ 19	39	27	8	5	0.772	0.680	0.487	0.259
Ame - μ 24	36	27	9	6	0.820	0.455	0.639	0.519
Ame - μ 26	38	27	8	3	0.759	0.613	0.553	0.741
Ame - μ 27	37	27	12	5	0.768	0.703	0.541	0.519
All	37.5	27	9.8	5.5	0.779	0.620	0.581	0.574

注: Sample size 为个体数; A 为平均等位基因数; He 为杂合度的期望值; Ho 为杂合度的观察值。

Note: Sample size is the number of genotyped individuals per locus; A is number of alleles per locus; He and Ho is observed and expected heterozygosity.

表 3 8 个物种种群间遗传多样性水平比较

Table 3 Genetic diversity among populations of 8 species

物种名 Species	种群数 Number of population	He	遗传多样性低的原因 Reason for low genetic diversity	数据来源 Data source
大熊猫 <i>Ailuropoda melanoleuca</i>	1	0.62	圈养种群 Captive population	This study
昆士兰毛吻袋熊 <i>Lasiorhinus krefftii</i>	1	0.27	经历过瓶颈 History of bottleneck	Taylor <i>et al.</i> , 1994
草原胡狼 <i>Canis simensis</i>	2	0.21 0.36	— —	Gottelli <i>et al.</i> , 1994
狮 <i>Panthera leo persica</i>	1	0.15		Menotti-Raymond and O'Brien, 1995
加拿大盘羊 <i>Ovis canadensis</i>	1	0.43	种群来源于 12 个个体 Population founded by 12 individuals	Forbes <i>et al.</i> , 1995
猎豹 <i>Acinonyx jubatus</i>	1	0.39	经历过瓶颈 History of bottleneck	Menotti-Raymond and O'Brien, 1995
树袋熊 <i>Phascolarctos cinereus</i>	1	0.33	由 18 个成年个体复建的孤岛种群 Island population reconstructed by 18 adults	Houlden <i>et al.</i> , 1996
		0.13	来源于 2 个个体的圈养种群 Captive population from 2 individuals	
狼 <i>Canis lupus</i>	3	0.26	来源于 2 个个体的圈养种群 Captive population from 2 individuals	Hedrick <i>et al.</i> , 1997
		0.46	来源于 3 个个体的圈养种群 Captive population from 3 individuals	

He: 杂合度期望值; He = expected heterozygosity

2.5 圈养大熊猫种群未来遗传多样性水平的预测

利用软件 Bottlesim 对大熊猫圈养种群未来 100 个世代内平均等位基因数和杂合度的观察值的变化趋势进行了模拟。每个指数各进行了 3 次模拟。(1) 假设种群数量保持在建群初期水平 (个体数 = 10) 时, 等位基因数在 10 代内迅速从 5.2 降至 2.1。10 ~ 50 代之间等位基因数的下降速度减慢, 至 50 代时降到 1.1。50 ~ 100 代等位基因数稳定在

1.0 左右。杂合度的观测值在 50 代内迅速从 0.58 下降至 0.30, 50 代之后下降速度趋缓至 90 代降为 0.00。(2) 假设种群数量保持在现今水平 (个体数 = 100) 时, 等位基因数一直缓慢降低, 至 80 代时降至 2.2。80 ~ 100 代内始终接近 2.0。杂合度的观测值持续缓慢地降低, 至 100 代时降至 0.15。(3) 假设种群数量增长 1 倍 (个体数 = 200) 时, 等位基因数变化趋势与个体数 = 100 时相似但降低

的速度更慢, 至 100 代降至 2.4。杂合度的观测值下降速度比个体数 = 100 时降低, 至 100 代时降为 0.29。模拟结果见图 3、图 4。

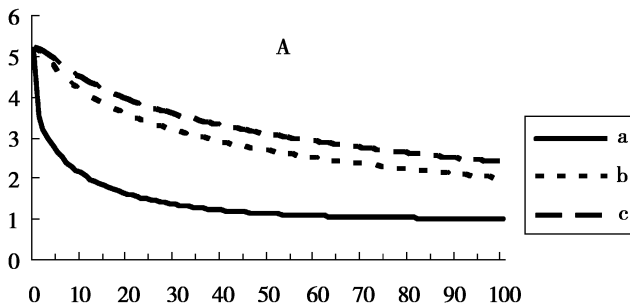


图 3 平均等位基因数在 100 个世代内的变化趋势

注: A 为等位基因数: a 假设种群数量 = 10; b 假设种群数量 = 100; c 假设种群数量 = 200

Fig. 3 Trend of number of alleles in 100 generations. A = number of alleles; a assumed population size = 10; b assumed population size = 100; c assumed population size = 200

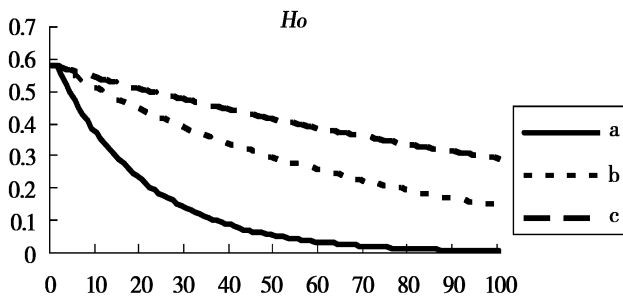


图 4 杂合度的观察值在 100 个世代内的变化趋势

注: H_o 为杂合度观察值: a 假设种群数量 = 10; b 假设种群数量 = 100; c 假设种群数量 = 200

Fig. 4 Trend of H_o in 100 generations, H_o = observed heterozygosity; a assumed population size = 10; b assumed population size = 100; c assumed population size = 200

3 讨论

3.1 圈养大熊猫种群的遗传多样性现状

微卫星作为具有共显性的高度多态的分子标记, 目前几乎是种群遗传分析领域中最有效的分子标记 (Balloux and Lugon-Moulin, 2002), 已经基本取代了其他标记在生态研究中的地位 (Schlötterer and Pemberton, 1998)。很多濒危哺乳类物种中都进行过以微卫星为分子标记的种群遗传学研究, 我们选择了一些与大熊猫圈养种群情况相似的种群作为对照来衡量其遗传多样性水平的高低。

本实验选用的 8 个大熊猫特异性微卫星位点在此种群中扩增成功率高, 多态信息含量值较高 (PIC = 0.575)。8 个位点的平均等位基因数为

5.5, 杂合度的期望值为 0.62。对照的濒危物种共有 10 个种群, 其中狼 (*Canis lupus*) 的 3 个种群 (Hedrick *et al.*, 1997) 为圈养种群, 其余 7 个种群多为经历过严重数量瓶颈的野生种群。其中大熊猫圈养种群的杂合度最高, 狼圈养种群的杂合度最低 (0.13), 其余种群的杂合度分布在 0.15 ~ 0.46 之间。可见与其他濒危种群相比, 大熊猫圈养种群的遗传多样性水平仍然保持较高水平。

导致这种结果的原因可能主要是卧龙中心圈养种群中参与繁殖的野生个体本身遗传多样性很高。该中心最初成立时共有 10 只从野外抢救的大熊猫, 在发展人工繁殖的同时还集中了全国各地分散饲养的个体 (胡锦涛, 2001)。从现在的遗传多样性状况看, 该种群在繁殖过程中较好地保存了这些野生个体的遗传多样性。另一方面可能是由于人为制定繁殖配对计划, 从而降低了近交对遗传多样性的不利影响 (汤纯香和张和民, 2001)。

鉴于圈养种群建群的野生个体多来自邛崃山系, 因此还选取了该地区的野生种群作为参照, 来反映圈养种群的遗传多样性丧失的情况。8 个微卫星位点的平均等位基因数、杂合度的期望值和观察值均是野生种群较高, 其中平均等位基因数相差 4.3, 杂合度的期望值和观察值在两个种群间分别相差 0.2 和 0.1。这表明尽管大熊猫圈养种群与其他濒危物种的种群相比遗传多样性水平较高, 但是相对于野外种群其遗传多样性的水平仍然有所降低。圈养种群等位基因下降的原因, 一方面可能是建群个体未能包含整个野生种群的等位基因造成的, 另一方面也可能是由于在人工繁殖过程中一些基因频率较低的等位基因没有保留下来。

3.2 圈养大熊猫种群的遗传多样性的变化趋势

预测种群未来的遗传多样性水平也是种群遗传学研究的重要内容。种群经历数量锐减后会导致遗传多样性的迅速丧失, 从而使种群面临灭绝的危险 (Newman and Pilson, 1997; Saccheri *et al.*, 1998)。例如北象海豹 (*Mirounga angustirostris*) 就是在经历了 10 ~ 20 个个体的数量瓶颈后遗传多样性降到极低水平 (Hoelzel, 1999)。

理解遗传多样性丧失的趋势对研究濒危物种更有重要意义。针对各种遗传多样性指数的变化方式的差异, 已经提出了多种预测这些指数变化的模型。如 Crow 和 Kimura (1970) 描述杂合度降低的模型、等位基因数变化的模型 (Nei *et al.*, 1975; Allendorf, 1986) 等。近来许多研究就是基于上述

理论进行模拟, 预测种群遗传多样性丧失的变化趋势, 进而制定相应的保护策略 (Bellinger *et al.*, 2003; England *et al.*, 2003)。

本研究中使用的软件 Bottlesim 能够利用微卫星位点信息以种群现在的遗传多样性水平为基础来预测种群未来遗传多样性丧失的情况。该软件特别适合用于重叠世代的物种, 并且可以根据目标物种设定繁殖机制、种群大小、种群数量波动情况等参数 (Kuo and Janzen, 2003)。在假设圈养种群数量保持建群初期 10 只水平时, 在 10 代以内等位基因数会急剧下降, 至 40 代后趋于稳定保持在 1 上下; 杂合度会在 80 代内持续下降直至 90 代时降为 0, 即遗传多样性在短时间内迅速降低。种群数量保持在现今 100 只水平时, 大大降低了等位基因数和杂合度降低的速率。表明建群个体对整个圈养种群遗传多样性水平有非常大的影响, 其遗传多样性水平越高、数量越多, 圈养种群的遗传多样性会保持的更好。本实验结果说明目前该圈养种群的规模已可以较好地遏制遗传多样性的丧失, 因为假设种群数量扩大一倍, 在 100 代内也只会使等位基因数减少 0.4。同时会极大地增加管理成本。因此对管理者来说, 在建立圈养种群时应该充分保证野生个体的数量并且尽量选择亲缘关系远的个体。若圈养种群规模发展到可以自我维持的水平 (例如卧龙圈养种群), 则继续增加野生个体对保持种群遗传多样性的贡献不大, 此时应该制定更有效的繁殖计划避免近交以降低圈养种群杂合度的下降速度。

参考文献:

- Ballou J D, Ralls K. 1982. Effects of inbreeding on juvenile mortality in some small mammal species. *Laboratory Animals*, **16**: 159 - 166.
- Ballou F, Lugin-Moulin N. 2002. The estimation of population differentiation with microsatellite markers. *Molecular Ecology*, **11**: 155 - 165.
- Bellemain E, Swenson J E, Tallon D. 2005. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears. *Conservation Biology*, **19**: 150 - 161.
- Bellinger M R, Johnson J A, Toepfer J, Dunn P. 2003. Loss of genetic variation in greater prairie chickens following a population bottleneck in Wisconsin, USA. *Conservation Biology*, **17**: 717 - 724.
- Crow J F, Kimura M. 1970. An Introduction to Population Genetics Theory, New York: Harper and Row.
- England P R, Osler G H R, Woodworth L K M. 2003. Effects of intense diffuse population bottlenecks on microsatellite genetic diversity and evolutionary potential. *Conservation Genetics*, **4**: 595 - 604.
- Fang S G, Wan Q H, Fujihara N. 2002. A new oligonucleotide probe for the giant panda. *Molecular Ecology Notes*, **2**: 352 - 355.
- Forbes S H, Hogg J T, Buchanan F C, Crawford A M, Allendorf F W. 1995. Microsatellite evolution in congeneric mammals: domestic and highland sheep. *Molecular Biological Ecology*, **12**: 1106 - 1113.
- Frankel O H, Soule M E. 1981. Conservation and Evolution. Cambridge: Cambridge University Press.
- Friar E A, Ladoux T, Roalson E H, Robichaux R H. 2000. Microsatellite analysis of a population crash and bottleneck in the Mauna Kea silversword, *Argyroxiphium sandwicense* ssp. *sandwicense* (Asteraceae), and its implications for reintroduction. *Molecular Ecology*, **9**: 2027 - 2034.
- Gottelli D, Sillero-Zubiri C, Applebaum G D, Roy M S, Girman D, Garcia-Moreno J, Ostrander E, Wayne R K. 1994. Molecular genetics of the most endangered canid: the Ethiopian wolf *Canis simensis*. *Molecular Ecology*, **3**: 301 - 312.
- Goudet J. 1995. Fstat: A computer program to calculate F-statistics. *Journal of Heredity*, **86**: 485 - 486.
- Hedrick P W, Miller P S, Geffen E, Wayne R. 1997. Genetic evaluation of the three captive Mexican wolf lineages. *Zoo Biology*, **16**: 47 - 69.
- Hoelzel A R. 1999. Impact of population bottlenecks on genetic variation and the importance of life-history; a case study of the northern elephant seal. *Biological Journal of the Linnean Society*, **68**: 23 - 39.
- Houlden B A, England P R, Taylor A C. 1996. Low genetic variability of the koala *Phascolarctos cinereus* in south-eastern Australia following a severe population bottleneck. *Molecular Ecology*, **5**: 269 - 281.
- Hu J C. 1985. Ecogeographical distribution of the giant panda. *Journal of Sichuan Teachers College*, **2**: 7 - 15. (in Chinese)
- Kuo C H, Janzen F J. 2003. Bottlesim: a bottleneck simulation program for long-lived species with overlapping generations. *Molecular Ecology Notes*, **3**: 669 - 673.
- Lu Z, Johnson W E, Enotti-Raymond M. 2001. Patterns of genetic variation in remaining Giant Panda populations. *Conservation Biology*, **15**: 1596 - 1607.
- Menotti-Raymond M A, O'Brien S J. 1995. Evolutionary conservation of ten microsatellite loci in four species of Felidae. *Journal of Heredity*, **86**: 319 - 322.
- Nei M, Maruyama T, Chakraborty R. 1975. The bottleneck effect and genetic variability in populations. *Evolution*, **29**: 1 - 10.
- Newman D, Pilson D. 1997. Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia pulchella*. *Evolution*, **51**: 354 - 362.
- Park S D E. 2001. Trypanotolerance in West African Cattle and the Population Genetic Effects of Selection [PhD thesis (in prep)], University of Dublin.
- Pullin A S. 2002. Conservation Biology. Cambridge: Cambridge University Press.
- Saccheri I, Kuussaari M, Kankare M, Vikman P, Fortelius W, Hanski I. 1998. Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature*, **392**: 491 - 494.
- Rao G, Li M, Niu Y D, Wang J, Wei F W, Fang S G. 2001. A new method for DNA extraction from dried skins. *Chinese Journal of Zoology*

- ogy, **36**: 53 – 57. (in Chinese)
- Sambrook J, Fritsch E F, Maniatis T. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor: Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York.
- Schlötterer C, Pemberton J. 1998. The use of microsatellites for genetic analysis of natural populations – a critical review. *Molecular approaches to ecology and evolution*, Birkhäuser, Basel.
- Shen F J, Zhang A J. 2002. Pedigree analysis of captive giant panda. *Acta Genetica Sinica*, **29**: 307 – 313. (in Chinese)
- Tang C X, Zhang H M. 2001. Role of captive breeding in giant panda's conservation biology. *Sichuan Journal of Zoology*, **20**: 91 – 93. (in Chinese)
- Taylor A C, Sherwin W B, Wayne R K. 1994. Genetic variation of microsatellite loci in a bottlenecked species: the northern hairy-nosed wombat *Lasiorninus krefftii*. *Molecular Ecology*, **3**: 277 – 290.
- Wang P Y, Huang Y, Cao J L. 2005. Developments in captive giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) population. *Sichuan Journal of Zoology*, **24**: 484 – 489. (in Chinese)
- 王鹏彦, 黄炎, 曹家林. 2005. 圈养大熊猫种群的动态及发展趋势. *四川动物*, **24** (4): 484 – 489.
- 朱靖. 1980. 大熊猫. 北京: 科学出版社.
- 汤纯香, 张和民. 2001. 圈养繁殖在大熊猫保护生物学中的作用. *四川动物*, **20** (2): 91 – 93.
- 沈富军, 张安居. 2002. 圈养大熊猫的系谱分析. *遗传学报*, **29** (4): 307 – 313.
- 饶刚, 李明, 牛屹东, 王静, 魏辅文, 方盛国. 2001. 陈旧皮张中 DNA 提取的新方法. *动物学杂志*, **36** (4): 53 – 57.
- 胡锦涛. 1985. 大熊猫的生态地理分布. *南充师范学院学报*, **2**: 7 – 15.
- 胡锦涛. 1990. 岷山山系的大熊猫. 见胡锦涛主编. *大熊猫生物学研究与进展*, 成都: 四川科技出版社.
- 胡锦涛. 2001. *大熊猫研究*. 上海: 上海科技教育出版社.
- 蒋志刚, 马克平, 韩兴国. 1997. *保护生物学*. 杭州: 浙江科学技术出版社.