

神农架川金丝猴人工补食群的遗传多样性和亲缘关系

周芸芸^{1,2} 杨万吉³ 张于光^{2*} 卢慧^{1,2} 刘晓² 李佳²
周捷³ 杨敬元³ 李迪强² 冯金朝¹

(1 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081)

(2 中国林业科学研究院森林生态环境与保护研究所, 国家林业局森林生态环境重点实验室, 北京 100091)

(3 湖北神农架金丝猴保育生物学湖北省重点实验室, 神农架 442411)

摘要: 以湖北神农架国家级自然保护区的川金丝猴人工补食群体为研究对象, 利用微卫星遗传标记对该群体的遗传多样性和亲缘关系进行研究, 并对其种群的遗传多样性发展趋势进行了预测。结果显示, 12 个微卫星位点在该补食群体中共检测到 50 个等位基因, 平均观察杂合度和平均期望杂合度分别为 0.668 和 0.630, 多态信息含量为 0.442 - 0.696, 平均 0.567。亲权鉴定中共鉴定出 11 个父—母—子单元, 各单元未有近亲繁殖的状况。亲缘系数结果显示具有亲缘关系的个体对达 21.64%, 群体平均亲缘系数为 0.1108, 现 6 个家庭单元中有两对候选亲本具有亲缘关系, 表明该群体存在较高的近交风险。遗传多样性变化趋势的模拟结果表明, 种群的数量对遗传多样性的影响比较大, 群体中雄雌比例也对遗传多样性的损失有影响; 为避免近亲交配、保持群体的遗传多样性水平, 建议进一步做好人工补食群金丝猴的个体识别、完善家庭系谱, 明确繁殖个体的遗传背景; 引入一批有效的建群者来增加种群的数量及优化雄雌的比例。

关键词: 川金丝猴; 微卫星; 遗传多样性; 亲缘关系

中图分类号: Q346.5

文献标识码: A

文章编号: 1000 - 1050 (2015) 03 - 0229 - 12

Genetic diversity and relatedness of the golden snub-nosed monkey provisioned group in Shennongjia National Natural Reserve

ZHOU Yunyun^{1,2}, YANG Wanji³, ZHANG Yuguang^{2*}, LU Hui^{1,2}, LIU Xiao², LI Jia², ZHOU Jie³, YANG Jingyuan³, LI Diqiang², FENG Jinchao¹

(1 College of Life and Environment Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China)

(2 Institute of Forest Ecology, Environment and Protection, and the Key Laboratory of Forest Ecology and Environment of State Forestry Administration, Chinese Academy of Forestry, Beijing 100091, China)

(3 Key Lab of Conservation Biology for Shennongjia Golden Monkey, Hubei Province, Shennongjia Forest District, Hubei 442411, China)

Abstract: To evaluate the genetic status of the golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*) provisioned Group in Shennongjia National Natural Reserve, and to provide useful reference information for genetic management of the group, a group batch of 12 microsatellite markers (Table 2) were used in this study to analyze the genetic diversity and relatedness of the group. In addition, the loss of genetic diversity in the future was simulated by the software BottleSim. 12 microsatellite loci showed good amplification and assayed in 51 individuals (Table 1). Results of genetic diversity assessment (Table 3) indicated that a total of 50 alleles were detected. Mean observed heterozygosity (H_o), expected heterozygosity (H_e), and polymorphic information content (PIC) were 0.668, 0.630 and 0.567, respectively. Compared with Sichuan golden snub-nosed monkey populations (H_e : 0.589 - 0.740; H_o : 0.550 - 0.720) and some endangered species such as Yunnan golden monkey (*Rhinopithecus bieti*) (H_e : 0.78; H_o : 0.58), Guizhou golden monkey (*Rhinopithecus brelichi*) (H_e : 0.78; H_o : 0.58), Tonkin leaf monkey (*Trachypithecus francoisi*) (H_e : 0.559; H_o : 0.551), the genetic diversity of the Shennongjia provisioned golden snub-nosed monkey group was not low. 11 units with certain parents and offspring were detected (Table 4). Relatedness analysis showed that these units had not yet suffered from inbreeding (relatedness

基金项目: 国家“十二五”科技支撑计划项目 (2013BAD03B02)

作者简介: 周芸芸 (1986 -), 女, 博士研究生, 主要从事分子生态学研究。

收稿日期: 2015 - 01 - 21; 修回日期: 2015 - 05 - 28

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: yugzhang@sina.com.cn

index < 0.1875). The average relatedness index of this group was 0.1108, and 21.64% of individual pairs were possible relatives (relatedness index < 0.1875), which was 2 times higher than theoretical data in the wild animal population (10%). Additionally, 2 candidate parent pairs in present OMU (One Male Unit) were found to be possible relatives (> 0.1875). The results from both parent identification and relatedness suggested that this group was in high risk of inbreeding. Simulation results showed that population size and sex ratio had an impact on genetic diversity, and a loss of genetic diversity would be slowed down by increasing the population size and optimizing the sex ratio. Base on results above, it is suggested that the essential task associated with the provision group is to build an accurate family tree and to check out the genetic background of individuals, especially candidate parents. To establish a larger and more effective breeding group, with much greater genetic diversity, the group needs to get highly related individuals out of the group and to recruit suitable individuals from other groups.

Key words: Genetic diversity; Golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*); Microsatellite marker; Relatedness

川金丝猴 (*Rhinopithecus roxellana*), 隶属于灵长目 (Primates)、猴科 (Cercopithecidae)、疣猴亚科 (Colobinae)、仰鼻猴属 (*Rhinopithecus*), 系我国特有种, 是我国 I 级重点保护野生动物, 被国际自然保护联盟 (International Union for Conservation of Nature, IUCN) 名录列为易危 (IUCN, 2011)。目前川金丝猴仅分布于几个相互隔离的地区 (四川北部及甘肃南部、陕西秦岭和湖北神农架 3 个地区) (全国强和谢家骅, 2002), 其中神农架种群是分布在最东端的川金丝猴群, 在川金丝猴的保护和研究中具有重要的价值 (Li *et al.*, 2007; Luo *et al.*, 2012a, 2012b)。

神农架自然保护区通过人工补食的方法对川金丝猴进行招引试验, 现形成了一个群体, 相对稳定地在大龙潭观测站周围活动 (北纬 31°29'65"; 东经 110°17'93"; 海拔 2 170 m) (杨敬元等, 2008; Yao *et al.*, 2011)。现在, 神农架保护区大龙潭川金丝猴人工补食群体共有川金丝猴近 80 只, 包括 6 个一雄多雌家庭单元和 1 个全雄单元。以人工补食群为观察对象, 对川金丝猴的活动规律 (毕帅奇等, 2008; Yao *et al.*, 2011)、社会结构 (罗芳等, 2009; 袁梨等, 2009)、食性 (铁军等, 2011a, 2011b)、繁殖 (范鹏来等, 2013; 邓龙强等, 2013)、行为 (蔚培龙等, 2009a, 2009b; 罗芳等, 2011) 等方面进行了相关研究, 这些为川金丝猴的进一步科研工作奠定了基础, 也在川金丝猴的种群复壮机制研究及保护管理工作方面发挥了重要的作用。

由于该群体长期活动于一个小区域内, 随着家庭群中主雄的变化, 可能存在亲子关系不清的情况, 所以, 如何维持人工补食群体遗传多样性水平和如何可持续性管理是目前面临的重要问题。遗传

多样性是估计种群长期生存可能性的重要指标, 也是生物学上制定保护计划所必需的内容之一 (Friar *et al.*, 2000)。如何避免近亲繁殖是小种群保护与管理必须解决的问题 (Frankham *et al.*, 2002; 方盛国, 2008)。近亲繁殖会导致诸如后代生存力下降、繁殖适应度降低以及死亡率高近交衰退现象 (Ralls *et al.*, 2002; Acevedo *et al.*, 2003; Bergner *et al.*, 2014; Leroy, 2014), 同时还会导致种群遗传多样性快速丢失, 从而危害种群的长期发展 (Frankham *et al.*, 2002; Reed *et al.*, 2002)。对人工补食群体的遗传多样性和亲缘关系等信息进行全面了解, 在探索如何尽可能避免近亲交配和保持遗传多样性水平等方面至关重要, 在群体的可持续性发展中具有重要的指导意义。本研究采用微卫星作为遗传标记, 对神农架川金丝猴人工补食群体进行遗传多样性、亲缘关系和亲权鉴定的研究, 并对其遗传多样性的变化趋势进行预测, 以期为该群体遗传谱系的构建及保护和管理提供方法和依据。

1 研究方法

1.1 样品采集

在神农架国家级自然保护区大龙潭川金丝猴人工补食群基地, 共采集 51 只川金丝猴的毛发样本, 样本来源于已被工作人员根据特征取名的大部分金丝猴个体 (表 1)。样本采集和资料调查的时间为 2014 年 7 - 9 月, 样本取回后存于 -20℃ 冷冻保存。

1.2 DNA 提取

采用试剂盒 QIAamp DNA Investigator Kit (Qia-gen) 从毛囊中提取 DNA, 具体操作参照试剂盒说明书。提取的 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测后于 -20℃ 冰箱保存, 作为下游 PCR 扩增模板。

1.3 微卫星扩增

本研究的微卫星标记来自于灵长类的研究文献，通过筛选，选择 12 对多态性较好的微卫星位点（表 2），用于后续的扩增与分型分析。每一对

微卫星位点的单侧引物 5' 端分别用 FAM 或 HEX 标记，引物由上海生工生物工程技术有限公司完成。

表 1 神农架川金丝猴投食群样本信息

Table 1 Sample information of the Shennongjia golden snub-nosed monkey provisioned group

编号 Code	年龄 (年) Age (year)	单元所属 Unit	编号 Code	年龄 (年) Age (year)	单元所属 Unit	编号 Code	年龄 (年) Age (year)	单元所属 Unit
M1	≈9	OMU1	M18	4	AMU	F14	5	OMU1
M2	6	OMU2	M19	≈12	AMU	F15	5	OMU1
M3	6	OMU3	M20	≈20	AMU	F16	6	OMU1
M4	7	OMU4	M21	≈14	AMU	F17	4	OMU3
M5	6	OUM5	F1	9	OMU2	F18	3	OMU3
M6	7	OUM6	F2	≈20	OUM6	F19	4	OMU3
M7	6	AMU	F3	≈19	OUM6	F20	8	OUM6
M8	4	AMU	F4	≈13	OMU2	F21	6	OUM6
M9	4	AMU	F5	≈13	OMU2	F22	3	OUM6
M10	7	AMU	F6	≈19	OUM6	F23	3	OUM6
M11	3	AMU	F7	≈16	OMU3	F24	4	OMU4
M12	3	AMU	F8	≈12	OMU2	F25	7	OUM5
M13	5	AMU	F9	9	OUM6	F26	4	OUM5
M14	5	AMU	F10	≈15	OUM6	F27	3	OMU3
M15	3	AMU	F11	≈15	OMU3	F28	6	OMU2
M16	5	AMU	F12	8	OUM5	F29	4	OMU4
M17	6	AMU	F13	8	OMU3	F30	2	OMU4

编号中 M 代表雄性个体，F 代表雌性个体；单元所属中 OMU 代表一雄多雌家庭单元，AMU 代表全雄单元

M in Code column represents male individual, and F represents female individual. OMU in Unit column represents one male unit, and AMU represents all male unit

PCR 扩增体系为 20 μ L，包括 10 - 20 ng 的基因组 DNA 模板，1 \times PCR buffer（含 $MgCl_2$ ），0.2 mmol/L dNTPs，0.1 mmol/L 的正向荧光标记引物和 0.1 mmol/L 反向引物，0.6 U HotMasterTM 聚合酶。每次扩增过程中设定阴性对照，每个样本每个微卫星位点重复 3 次。PCR 扩增条件为：94 $^{\circ}C$ 热启动 5 min；94 $^{\circ}C$ 变性 15 s、退火温度 50 $^{\circ}C$ - 60 $^{\circ}C$ 30 s、72 $^{\circ}C$ 延伸 45 s（35 个循环）；最后 72 $^{\circ}C$ 延伸 10 min；反应结束后保存于 4 $^{\circ}C$ 冰箱。

1.4 微卫星基因分型

将 PCR 产物用 ABI3730XL 遗传分析仪进行分型分析。每个泳道以 LIZ500 作为分子量内标，由 GeneMapper4.0（Applied Biosystems）分析软件输出分型结果，并辅以人工核对和校正。最后，采用 Bellemain 等（2005）微卫星基因分型的标准确定杂合位点与纯合位点。

1.5 数据分析

用 Micro - Checker V2.2.3 软件（Oosterhout *et al.*, 2004）检测是否存在无效等位基因等情况；用 Genepop V4.0 软件（Rousset, 2008）检测各微卫星位点是否符合哈温平衡（Hardy - Weinberg equilibrium），检测位点间是否存在连锁不平衡（Linkage disequilibrium）；用 Cervus V3.0 软件（Marshall *et al.*, 1998；Kalinowski *et al.*, 2007）计算等位基因数（number of alleles, N_a ）、观察杂合度（observed heterozygosity, H_o ）、期望杂合度（expected heterozygosity, H_e ）和多态性信息含量（polymorphism information content, PIC）等多样性指标，第一亲本的非排除率（non-exclusion probability for the first parent, N_{e-1p} ）（每个位点当亲本都不清楚情况下）、第二亲本的非排除率（non-exclusion probability for the second parent, N_{e-2p} ）（已知其中一个亲本的情况下）及所有位点的累计非排除率，计算微卫星位点的无亲缘关系个体间具有相同基因型的概率（PID 值）和全同胞个体间具

有相同基因型的概率 (PID_{sib} 值)。Fstat V2.9.3.2 (Goudet, 2002) 软件计算近交系数 (F_{is})。

表 2 神农架川金丝猴微卫星位点及相关信息

Table 2 Characteristics of microsatellite loci for golden snub-nosed monkey in Shennongjia

位点 Locus	引物序列 Primer sequence (5' - 3')	退火温度 Annealing temperature	来源 Source
D1S1656	F: GTGTTGCTCAAGGGTCAACT R: GAGAAATAGAATCACTAGGGAACC	54	Chang <i>et al.</i> , 2012
D1S1665	F: TAAGTAAAGTTCAAATTCATCAGTGC R: TTCCAAGCTTCACAGTGTCA	58	Chang <i>et al.</i> , 2012
D6S1056	F: ACAAGAACAGCATGGGTTAA R: CCTGGATCATGAATTGCTAT	58	Chang <i>et al.</i> , 2012
D6S474	F: TGTACAAAAGCCTATTTAGTCAGG R: TCATGTGAGCCAATTCCTCT	52	Pan <i>et al.</i> , 2005
D6S493	F: ATCCCAACTCTTAAATGGGC R: TTCCATGGCAGAAATTTGTT	54	Pan <i>et al.</i> , 2005
D7S2204	F: TCATGACAAAACAGAAATTAAGTG R: AGTAAATGGAATTGCTTGTACC	54	Chang <i>et al.</i> , 2012
D10S1432	F: CAGTGGACACTAAACACAATCC R: TAGATTATCTAAATGGTGGATTTC	55	Pan <i>et al.</i> , 2005
D10S676	F: GAGAACAGACCCCAAATCT R: ATTCAGTTTACTATGTGCATGC	52	Chang <i>et al.</i> , 2012
D17S1290	F: GCCAACAGAGCAAGACTGTC R: GGAAACAGTTAAATGGCCAA	54	Pan <i>et al.</i> , 2005
D3S1766	F: ACCACATGAGCCAATTCCTGT R: ACCCAATTATGGTGTGTTACC	60	Chambers <i>et al.</i> , 2004
D9S905	F: GTGGGAAAATTGGCCTAAGT R: CTTCTGAGCCTCACACCTGT	54	Rogers <i>et al.</i> , 2000
D14S306	F: AAAGCTACATCCAAATTAGGTAGG R: TGACAAAGAACTAAAATGTCCC	52	Chang <i>et al.</i> , 2012

亲权鉴定利用 Newpat V5.0 (Worthington *et al.*, 1999) 和 Cervus V3.0 软件, 以排除法和似然法来确定该种群出生个体的亲生父本。亲缘系数用软件 Coancestry 的 TrioML 估算方法 (Wang, 2007; Witzemberger *et al.*, 2013)。通过软件 BottleSim V2.6 对未来遗传多样性进行模拟 (Kuo and Janzen, 2003), 参数设置为: 平均寿命 25 年, 繁殖年龄 5 龄 (全国强和谢家骅, 2002), 模拟迭代值为 5000。

2 结果

2.1 遗传多样性

本研究选用的 12 个微卫星位点在 51 个样本中均成功扩增, 并且各位点均呈现出多态性, 共检测到 50 个等位基因, 每个座位的等位基因数在 3 - 5 个之间, 平均等位基因数为 4.170, 每个位点均未偏离哈温平衡。Micro-Checker 软件检测未发现无

效等位基因。连锁不平衡检测中, 发现位点 D10S1432 和位点 D10S676 显著偏离连锁平衡。12 个微卫星位点的平均观察杂合度为 0.668 (0.471 - 0.824), 平均期望杂合度为 0.630 (0.471 - 0.750)。各位点的多态信息含量范围为 0.442 - 0.696, 平均多态信息含量为 0.567。12 个微卫星位点, 当双亲都不清楚时, 累计排除率为 95.30%; 当知道一个亲本时, 累计排除率为 99.69%。12 个位点的 PID 值和 PID_{sib} 值分别为 2.86E - 9 和 1.02E - 4。除 D10S676 的 11 个微卫星位点, 当双亲都不清楚时, 累计排除率为 94.98%; 当知道一个亲本时, 累计排除率为 99.53%。11 个位点的 PID 值和 PID_{sib} 值分别为 1E - 8 和 3.21E - 4。亲权鉴定和亲缘关系的分析由除 D10S676 外的 11 个位点进行分析。神农架川金丝猴人工补食群体的详细遗传信息见表 3。

表 3 神农架川金丝猴人工补食群微卫星位点的遗传信息

Table 3 Genetic characteristics of 12 microsatellite loci in the Shennongjia golden snub-nosed monkey provisioned group

位点 Loci	等位基因频率 Frequency of alleles					等位基因数 Number of alleles	观察杂合度 Observed heterozygosity	期望杂合度 Expected heterozygosity	多态性信息含量 Polymorphism information content	第一非排除率 None-exclusion probability for the first parent (N_{e-1p})	第二非排除率 None-exclusion probability for the second parent (N_{e-2p})
	P1	P2	P3	P4	P5						
D1S1656	0.255	0.559	0.078	0.059	0.049	5	0.471	0.617	0.561	0.799	0.634
D1S1665	0.255	0.117	0.353	0.274		4	0.765	0.728	0.669	0.706	0.535
D6S1056	0.050	0.176	0.607	0.167		4	0.608	0.575	0.522	0.824	0.662
D6S474	0.382	0.490	0.128			3	0.686	0.603	0.514	0.821	0.693
D6S493	0.225	0.010	0.343	0.216	0.205	5	0.784	0.750	0.696	0.673	0.497
D7S2204	0.716	0.068	0.049	0.078	0.088	5	0.490	0.471	0.445	0.867	0.700
D10S1432	0.010	0.049	0.392	0.343	0.206	5	0.686	0.690	0.623	0.738	0.576
D10S676	0.392	0.519	0.088			3	0.667	0.574	0.479	0.836	0.716
D17S1290	0.313	0.264	0.264	0.157		4	0.824	0.744	0.688	0.685	0.511
D3S1766	0.627	0.294	0.010	0.069		4	0.627	0.520	0.442	0.867	0.742
D9S905	0.098	0.196	0.177	0.529		4	0.647	0.647	0.592	0.772	0.602
D14S306	0.304	0.480	0.186	0.029		4	0.765	0.648	0.576	0.742	0.579
平均值 Mean						4.170	0.668	0.630	0.567	累计第一非排除率 Combined $N_{e-1p} = 0.0470$	累计第二非排除率 Combined $N_{e-2p} = 0.00309$

2.2 亲权鉴定及亲缘关系

由于有些样本已死亡、已走失或者漏采，在人工补食群中最终确定 11 个父—母—子单元（表 4）。通过 TrioML 计算，单元内母子对间的平均亲缘系数为 0.5225 (0.4600–0.6197)，父子对间的平均亲缘系数为 0.4899 (0.4347–0.5732)，亲本间的亲缘系数都小于 0.1875；人工补食群整体的平均亲缘系数为 0.1108，21.64% 个体对的亲缘关系大于 0.1875；该群体中候选亲本有 39 只（据工

作人员介绍，川金丝猴的性成熟年龄约为 5 龄，终止妊娠的年纪约为 17 龄，本研究设 4–16 龄的川金丝猴为候选亲本），平均亲缘系数为 0.1093；目前的家庭单元中（2014 年 9 月），M1、M2、M3、M4、M5、M6 家庭中除 M6–F10 (0.2601)、M3–F7 (0.3564)，其他候选亲本间的亲缘系数小于 0.1875。通过 Fstat 软件计算得到人工补食群的近交系数 F_{is} 为 -0.041 。

表 4 神农架人工投食金丝猴群体中检测出的亲子关系及亲缘系数

Table 4 Parentage identified in the Shennongjia golden snub-nosed monkey provisioned group and their relatedness

母本 Mother	子代 Offspring	父本 Father	亲缘系数 Relatedness index		
			母子 Mother-offspring	父子 Father-offspring	亲本 Mother-father
F1	M8	M19	0.5811	0.4347	0.0000
F4	F15	M19	0.4985	0.4739	0.0003
F4	F24	M19	0.4911	0.4660	0.0003
F5	M11	M19	0.6197	0.4882	0.0519
F8	F29	M19	0.4986	0.4731	0.0159
F8	F30	M19	0.4780	0.4942	0.0159
F13	M15	M19	0.4600	0.4782	0.0000
F2	F21	M21	0.5200	0.4562	0.0617
F3	F22	M21	0.5442	0.5511	0.0472
F9	M18	M21	0.5000	0.5000	0.1179
F10	F23	M21	0.5567	0.5732	0.0688

2.3 遗传多样性模拟预测

BottleSim 软件对神农架人工补食群体未来 100 年的遗传多样性进行模拟。以 12 个微卫星位点数据为基础，设置群体雌雄性比为 1:1，种群数量为 200、100、50、30、10，模拟不同种群数量对群体遗传多样性的影响。结果显示，随着种群数量的降低，100 年后保留的等位基因数目越少，则杂合度降低，且数量越少降低的幅度越大（图 1）。当种群数量为 10 时，前三年等位基因损失最多，约 14.24%，100 年后保留下来的等位基因和杂合度分别是 51.86% 和 64.20%；当种群数量为 100、200 时，等位基因和杂合度下降速度非常缓慢，当数量为 100 时，100 年后等位基因和杂合度分别保留 90.77% 和 95.16%，当数量为 200 时，等位基因和杂合度分别保留 95.55% 和 97.64%。

在模拟不同性别对遗传多样性变化影响时，因

川金丝猴一般以一雄多雌家庭为基本活动单元，模拟将雄雌性别比例分别设为 1:1、1:2、1:3、1:4、1:5。当数量一定时，性别比例偏离 1:1，所固定的等位基因数目和杂合度会减少和降低；从与雄雌比为 1:1 时等位基因保留率和杂合度保留率相比，性比为 1:4、1:5 时，其递减率更低，特别是当种群数量越少，性比越不均衡，等位基因和杂合度损失的速率更大（表 5）。

3 讨论

本研究中神农架川金丝猴人工补食群体的期望杂合度和观察杂合度分别为 0.630 和 0.668。通过与其他川金丝猴地理种群的川金丝猴、滇金丝猴 (*Rhinopithecus bieti*)、黔金丝猴 (*Rhinopithecus brelichi*) 及一些濒危动物（如东北虎 (*Panthera tigris altaica*)、大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*)、黑叶

猴 (*Trachypithecus francoisi*) 的研究结果相比 (表 6), 神农架人工补食群体基于所用的 12 个微卫星位点的遗传多样性处于中等水平。值得注意的是, 神农架人工补食群体在 12 个微卫星位点上的 16 个等位基因的基因频率小于 0.1,

占等位基因总数的 32.00%, 当在群体数量少的情况下, 易受遗传漂变等的影响, 低频率的等位基因很可能会随着世代减少或消失, 这样一定程度上会导致遗传变异水平的降低, 其应对环境的能力相应也会下降。

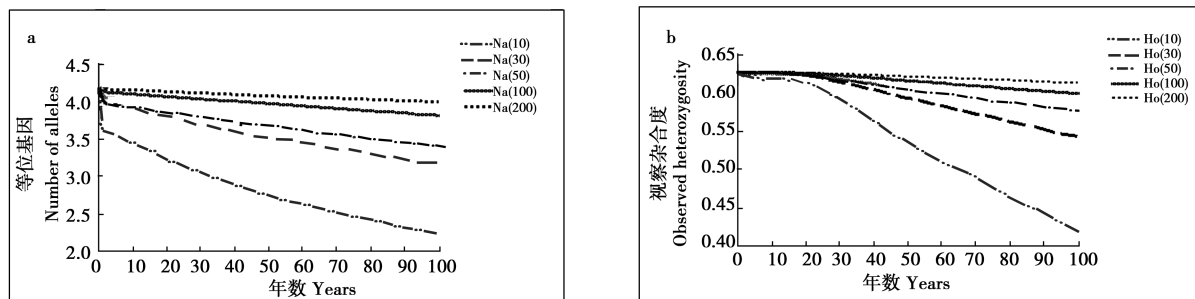


图 1 川金丝猴神农架人工补食群体未来 100 年内等位基因 (a) 和杂合度 (b) 的变化趋势 (群体雌雄比为 1:1). Na (200)、Na (100)、Na (50)、Na (30)、Na (10) 表示群体数量为 200、100、50、30、10 时的等位基因; Ho (200)、Ho (100)、Ho (50)、Ho (30)、Ho (10) 表示群体数量为 200、100、50、30、10 时的观察杂合度

Fig. 1 Variations of alleles (a) and observed heterozygosity (b) for the Shennongjia golden snub-nosed monkey provisioned group in 100 years. Na (200), Na (100), Na (50), Na (30), Na (10) indicated number of allele for population size of 200, 100, 50, 30, 10. Ho (200), Ho (100), Ho (50), Ho (30), Ho (10) indicated observed heterozygosity for population size of 200, 100, 50, 30, 10

表 5 不同预测模拟下神农架人工投食金丝猴群体 100 年后遗传多样性的存留比例

Table 5 Reserved genetic diversity of the Shennongjia golden snub-nosed monkey provisioned group after 100 years under different simulation modules and parameters

预测模型参数 Parameters of simulation modules	等位基因保留率 Rate of reserved observed alleles (%)	观察杂合度保留率 Rate of reserved obser- ved heterozygosity (%)	期望杂合度保留率 Rate of reserved expe- cted heterozygosity (%)	递减率 Declining rate (%)
种群数量为 100 只 Population size = 100				
群体雌雄比 1:1 Sex ratio = 1:1	91.737	95.547	94.388	
群体雌雄比 1:2 Sex ratio = 1:2	91.122	95.118	93.793	0.997 (±0.000485)
群体雌雄比 1:3 Sex ratio = 1:3	89.998	94.995	92.834	0.992 (±0.000409)
群体雌雄比 1:4 Sex ratio = 1:4	88.887	93.121	91.722	0.985 (±0.001177)
群体雌雄比 1:5 Sex ratio = 1:5	87.641	91.892	90.424	0.978 (±0.000729)
种群数量为 50 只 Population size = 50				
群体雌雄比 1:1 Sex ratio = 1:1	84.167	91.624	89.202	
群体雌雄比 1:2 Sex ratio = 1:2	82.924	90.763	88.332	0.994 (±0.00124)
群体雌雄比 1:3 Sex ratio = 1:3	81.889	89.355	86.758	0.986 (±0.000590)
群体雌雄比 1:4 Sex ratio = 1:4	79.744	87.561	84.819	0.975 (±0.00172)
群体雌雄比 1:5 Sex ratio = 1:5	74.015	81.453	78.657	0.939 (±0.00217)

续表 5 Continued from table 5

预测模型参数 Parameters of simulation modules	等位基因保留率 Rate of reserved observed alleles (%)	观察杂合度保留率 Rate of reserved obser- ved heterozygosity (%)	期望杂合度保留率 Rate of reserved expe- cted heterozygosity (%)	递减率 Declining rate (%)
种群数量为 30 只 Population size = 30				
群体雄雌比 1:1 Sex ratio = 1:1	75.687	86.181	82.517	
群体雄雌比 1:2 Sex ratio = 1:2	74.335	84.715	81.007	0.991 (±0.00027)
群体雄雌比 1:3 Sex ratio = 1:3	73.015	83.461	79.531	0.983 (±0.00311)
群体雄雌比 1:4 Sex ratio = 1:4	70.269	80.834	76.812	0.965 (±0.00209)
群体雄雌比 1:5 Sex ratio = 1:5	68.126	78.113	74.168	0.949 (±0.00174)

递减率是指种群数量相同时，不同性比的各参数（等位基因保留比例、观察杂合度保留比例和期望杂合度保留比例）与性比为 1:1 时相应各参数的递减率的平均值

Population sex ratio means the sex ratio of male and female. Declining rate is the average value of declining on reserved alleles, reserved observed heterozygosity, and reserved expected heterozygosity compared to ones when the sex ratio of male and female is 1:1

表 6 基于微卫星的不同物种遗传多样性
Table 6 Genetic diversity of different species based on microsatellite loci

物种 Species	期望杂合度 Expected heterozygosity	观察杂合度 Observed heterozygosity	参考文献 Reference
川金丝猴（湖北神农架种群） <i>Rhinopithecus roxellana</i> (SNJ)	0.550 - 0.589	0.590 - 0.750	潘登等, 2005; 何丽等, 2010; Chang <i>et al.</i> , 2012
川金丝猴（四川 - 甘肃种群） <i>Rhinopithecus roxellana</i> (SC - GS)	0.700 - 0.727	0.670 - 0.720	潘登等, 2005; Chang <i>et al.</i> , 2012
川金丝猴（陕西秦岭种群） <i>Rhinopithecus roxellana</i> (QL)	0.500 - 0.711	0.560 - 0.649	潘登等, 2005; Guo <i>et al.</i> , 2010; Chang <i>et al.</i> , 2012
黔金丝猴 <i>Rhinopithecus brelichi</i>	0.720	0.710	Yang <i>et al.</i> , 2012
滇金丝猴 <i>Rhinopithecus bieti</i>	0.780	0.580	Yang <i>et al.</i> , 2012
东北虎 <i>Panthera tigris altaica</i>	0.608	0.605	Wu <i>et al.</i> , 2009
大熊猫 <i>Ailuropoda melanoleuca</i>	0.559 - 0.718	0.525 - 0.683	Zhang <i>et al.</i> , 2007; Shen <i>et al.</i> , 2009; Hu <i>et al.</i> , 2010; Yang <i>et al.</i> , 2011
黑叶猴 <i>Trachypithecus francoisi</i>	0.559	0.551	史芳磊等, 2014

SNJ: Shennongjia Population; SC - GS: Sichuan-Gansu Population; QL: Qinling Population

由于位点 D1iv0S1432 和位点 D10S676 在连锁不平衡的检测中显著偏离连锁平衡，在亲权鉴定和亲缘关系的分析中，由除 D10S676 外的 11 个位点信息进行分析。11 个位点的 PID 值和 PIDsib 值分别为 $1E - 8$ 和 $3.21E - 4$ ；在母子关系不清的情况下，11 个微卫星标记的非父排除率为 0.9498，在母子关系确定的条件下，非父排除率为 0.9953，由于本研究中后代的母亲都是清楚的，因此这 11

对微卫星位点能够有效用于人工投食群的亲子鉴定。似然法分析也表明，本研究获得的亲子鉴定结果置信度在 95% 以上。从亲子关系结果中看出，成年雄性 M21 和 M19 在种群中繁殖非常活跃，11 个后代中，分别有 7 个和 4 个，这与川金丝猴一雄多雌的配偶制度有关，有竞争力的雄性个体拥有相对较多的雌性及雌性产下的子代。蒋志刚等 (2006) 认为有效种群大小不仅与种群中参加繁殖

的雌性与雄性个体数目比相关，还与雄性个体繁殖的后代数及其方差有关。各建群者的贡献率不均衡会导致遗传多样性损失，圈养大熊猫种群就出现这种情况，该群体具有较明显的“建群者效应”，造成遗传多样性水平降低（Shen *et al.*，2009）。种群的遗传多样性保护目的是将奠基者的基因尽可能的保留下来，并在后代中均匀分布（赵学敏，2006）。基于保存种群遗传多样性和优化后续繁殖策略的考虑，需要权衡成熟雄性个体在繁育中的作用，采取适当的措施，增加雄性个体参与繁殖，均衡个体间的遗传贡献。

在 11 个父—母—子单元中，母子对间的亲缘系数与父子对间的平均亲缘系数均与父母子对的理论值 0.5 相近（Blouin *et al.*，1996），表明本研究由 11 个多态微卫星位点计算得到的亲缘系数基本准确可信。在实际种群中，基于微卫星计算得到的亲缘系数通常会在理论值上下浮动，所以本研究将二级亲缘关系（0.2500）和三级亲缘关系（0.1250）的均值 0.1875 作为区分亲缘关系和无亲缘关系的阈值（Blouin *et al.*，1996；Csilléry *et al.*，2006；陈敏敏等，2014）。人工补食群中存在亲缘关系的个体对达 21.64%，候选亲本中具有亲缘关系的个体对有 21.05%，均大于理论上正常自然种群中具有亲缘关系的个体对比例（10.00%）（Csilléry *et al.*，2006）。51 个个体中有 26 个拥有大于 10 个亲缘个体，其中 F17 最多（16 个）。在鉴定的父—母—子单元中，暂未发现近亲繁殖的状况，但是在 6 个家庭单元中，发现候选亲本 M6 与 F10（0.2601）、M3 与 F7（0.3564）具有亲缘关系。金丝猴群体内一般会以迁移等方式避免近亲繁殖（Yao *et al.*，2011），但是由于人工补食群一直稳定的活动于一个较小的区域，小种群中，随着后代中具有亲缘关系的个体不断增加，该种群发生近亲繁殖的概率也会不断增加（方盛国，2008）。基于亲缘关系系数表明，人工补食群存在较高的近交风险。所以，需要尽快完善遗传谱系，找出亲缘关系最多的个体并移出，迁入一些有繁殖潜力的有效雌雄个体，尽量减少或避免近亲繁殖。

了解遗传多样性丧失的变化趋势，对种群保护遗传学研究具有重要的意义，基于生物学、生态学和遗传学等基础研究数据，通过软件模拟预测濒危物种的灭绝风险已在保护生物学领域广泛应用

（Bellinger *et al.*，2003；England *et al.*，2003；Hoban *et al.*，2012；周钊等，2012）。本研究对神农架川金丝猴人工补食群群体进行遗传多样性模拟，旨在找出影响该群体未来遗传多样性丧失的主要影响因素。借助 BottleSim 软件固定种群数量模型的模拟功能，对种群的数量和性比进行设置，预测不同参数模型下遗传多样性的变化趋势。结果显示，种群的数量对遗传多样性的丧失有较大的影响，种群数量越少，等位基因和杂合度损失的速率越大，最后保留得越少。保护遗传学的主要目标之一是尽可能保存遗传对象的遗传多样性，尽量在 100 年内保存物种 90.00% 的遗传多样性（Soulé *et al.*，1986；Frankham *et al.*，2002）。当雄雌比为 1:1 时，当种群数量为目前人工补食群中在家庭单元可繁育的个体水平 30，100 年后等位基因损失 24.31%，杂合度损失 13.82%；只有当种群数量达到 100、200 时，群体才能分别保留原有等位基因和杂合度的 90% 和 95% 以上。性别比例对遗传多样性的损失有影响，种群数量一致，雄雌性比不均衡，当比例达到 1:4、1:5 时，等位基因和杂合度损失会越多，而当种群数量越少，其损失率越明显。基于以上结果，为保持人工补食群的遗传多样性水平，建议种群的雄雌比例尽量在 1:3 以内，群体的数量应尽快增加，达到 100 只及以上为宜。

遗传学管理的主要目标是防止近亲交配以及保护遗传多样性，使种群奠基者的基因保留下来，并在后代中均匀分布（方盛国，2008），而如果不采取人为干扰措施，任何封闭的小种群最终都将会近亲繁殖（Frankham *et al.*，2002）。鉴于以上研究结论，建议（1）完善个体信息档案。对种群的所有个体，做好身份的识别工作；利用微卫星等分子标记，明确每一头参加繁殖的川金丝猴的遗传背景；做好年度母子关系的繁殖记录，通过家庭主雄更换记录推测疑似父本，并通过分子遗传学的手段确定其父系来源，做好入档工作。（2）按性别比例引入一批繁殖个体，增加群体建群者的数量。引入一批与人工补食群体亲缘关系较远、基因丰富度较高且具备繁殖能力的雌雄个体增加群体的数量、优化雄雌的比例。（3）降低候选亲本间的亲缘系数，隔离或迁出亲缘关系对较多的繁殖雌雄个体，如 F17、M3、M12。（4）控制家庭单元大小。群体的有效种群大小与群体中雄性个体繁殖的后代数目

相关(蒋志刚等, 2006), 采取合适的措施, 适当控制家庭中主雄的雌性个体数量, 尽量多给予其他雄性金丝猴参与繁殖的机会, 将遗传基因保留达到最大值。

参考文献:

- Acevedo W K, Gulland F, Greig D, Amos W. 2003. Inbreeding: disease susceptibility in California sea lions. *Nature*, **422**: 35.
- 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.
- Bellemain E, Swenson J E, Tallmon D. 2005. Estimating population size of elusive animals with DNA from hunter-collected feces: four methods for brown bears. *Conservation Biology*, **19**: 150 - 161.
- Bergner L M, Jamieson I G, Robertson B C. 2014. Combining genetic data to identify relatedness among founders in a genetically depauperate parrot, the Kakapo (*Strigops habroptilus*). *Conservation Genetics*, **15**: 1013 - 1020.
- Bi S Q, Bi J H, Huang Y, Tie J. 2008. Preliminary observation of diurnal activity of a provisioning group of golden monkey (*Rhinopithecus roxellana*) in spring on Dalongtan of Shennongjia. *Journal of Inner Mongolia Normal University (Natural Science Edition)*, **37** (4): 546 - 549. (in Chinese)
- Blouin M S, Parsons M, Lacaille V, Lotz S. 1996. Use of microsatellite loci to classify individuals by relatedness. *Molecular Ecology*, **5**: 393 - 401.
- Chang Z F, Luo M F, Liu Z J, Yang J Y, Xiang Z F, Li M, Vigilant L. 2012. Human influence on the population decline and loss of genetic diversity in a small and isolated population of Sichuan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*). *Genetica*, **140** (4 - 6): 105 - 114.
- Chambers K E, Reichard U H, Moller A, Nowak K, Vigilant L. 2004. Cross-species amplification of human microsatellite markers using noninvasive samples from white-handed gibbons (*Hylobates lar*). *American Journal of Primatology*, **64**: 19 - 27.
- Chen M M, Zheng J S, Gong C, Zhao Q Z, Wang D. 2014. Inbreeding evaluation on the Ex situ conserved Yangtze finless porpoise population in Tian'ezhou National Natural Reserve. *Chinese Journal of Zoology*, **49** (3): 305 - 316. (in Chinese)
- Csilléry K, Johnson T, Beraldi D, Clutton-Brock T, Coltman D, Hansson B, Spong G, Pemberton J M. 2006. Performance of marker-based relatedness estimators in natural populations of outbred vertebrates. *Genetics*, **173**: 2091 - 2101.
- Deng L Q, Wei P L, Bao W D, Liao M R, Li L J. 2013. Preliminary observation on copulation of Sichuan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*) in a provisioned group in the Shennongjia National Nature Reserve. *Hubei Forestry Science and Technology*, (3): 29 - 31. (in Chinese)
- England P R, Osler G H, Woodworth L M, Montgomery M E, Briscoe D A, Frankham R. 2003. Effects of intense versus diffuse population bottlenecks on microsatellite genetic diversity and evolutionary potential. *Conservation Genetics*, **4**: 595 - 604.
- Fan P L, Chen H C, Yao Hui, Wang Z L, Yang J Y, Xiang Z F. 2013. Measurement of urinary and fecal steroid metabolites in a provisioned group of golden snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*) at Shennongjia Reserve, Hubei, China. *Acta Theriologica Sinica*, **33** (3): 286 - 292. (in Chinese)
- Fang G S. 2008. Studies on Conservation Genetics of the Giant Panda. Beijing: Science Press. (in Chinese)
- Frankham R, Ballou J D, Briscoe D A. 2002. Introduction to Conservation Genetics. 2th ed. UK: 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. *Sandwicensis* (Asteraceae), and its implications for reintroduction. *Molecular Ecology*, **9**: 2027 - 2034.
- Goudet J. 2002. FSTAT, a program to estimate and test gene diversities and fixation indices (Ver. 2. 9. 3. 2). [EB/OL]. [2002 - 2]. <http://www2.unil.ch/popgen/softwares/fstat.htm>.
- Guo S T, Ji W H, Li M, Chang H L, Li B G. 2010. The mating system of the Sichuan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*). *American Journal of Primatology*, **72** (1): 25 - 32.
- He L, Zhang Y G, Peng H L, Li D Q, Li D Q. 2010. Genetic diversity of *Rhinopithecus roxellana* in Shennongjia National Nature Reserve as estimated by non-invasive DNA technology. *Acta Ecologica Sinica*, **30** (16): 4340 - 4350. (in Chinese)
- Hoban S, Bertorelle G, Gaggiotti O E. 2012. Computer simulations: tools for population and evolutionary genetics. *Nature Reviews Genetics*, **13**: 110 - 122.
- Hu Y B, Zhan X J, Qi D W, Wei F W. 2010. Spatial genetic structure and dispersal of giant pandas on a mountain-range scale. *Conservation Genetics*, **11** (6): 2145 - 2155.
- IUCN. 2011. IUCN Red list of threatened species. Version 2011. 2. <www.iucnredlist.org>.
- Jiang Z G, Li C W, Zeng Y. 2006. Mating system, mating tactics and effective population size in Père David's deer (*Elaphurus davidianus*). *Acta Ecologica Sinica*, **26**(7): 2255 - 2260. (in Chinese)
- Kalinowski S T, Taper M L, Marshall T C. 2007. Revising how the computer program *Cervus* accommodates genotyping error increases success in paternity assignment. *Molecular Ecology*, **16**: 1099 - 1106.
- 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.
- Leroy G. 2014. Inbreeding depression in livestock species: review and meta-analysis. *Animal Genetics*, **45**: 618 - 628.
- Li M, Liu Z J, Guo J X, Ren B G, Pan R L, Su Y J, Funk S M, Wei F W. 2007. Phylogeography and population structure of the golden monkeys (*Rhinopithecus roxellana*): inferred from mitochondrial

- DNA sequences. *American Journal of Primatology*, **69**: 1195 – 1209.
- Luo F, Yang J Y, Bao W D, Wei P L. 2009. The changes of golden monkey social unit in Shennongjia Nature Reserve. *Progress in Natural Science*, **19** (10): 1038 – 1041. (in Chinese)
- Luo F, Chen J Y, Wei P L, Bao W D. 2011. Infant-care behaviors exhibited toward 0 – 6 month-old infants of a provisioned group of Sichuan snub-nosed monkey in Shennongjia National Nature Reserve. *Acta Theriologica Sinica*, **31** (4): 422 – 427. (in Chinese)
- Luo M F, Liu Z J, Pan H J, Zhao L, Li M. 2012. Historical geographic dispersal of the golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*) and the influence of climatic oscillations. *American Journal of Primatology*, **74**: 91 – 101.
- Luo M F, Pan H J, Liu Z J, Li M. 2012. Balancing selection and genetic drift at major histocompatibility complex class II genes in isolated populations of golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*). *BMC Evolutionary Biology*, **12**: 207.
- Marshall T C, Slate J, Kruuk L E B, Pemberton J M. 1998. Statistical confidence for likelihood-based paternity inference in natural populations. *Molecular Ecology*, **7**: 639 – 655.
- Oosterhout C V, Hutchinson W F, Wills D P M, Shipley P. 2004. Micro-checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes*, **4**: 535 – 538.
- Pan D, Li Y, Hu H X, Meng S J, Men Z M, Fu Y X, Zhang Y P. 2005. Microsatellite polymorphisms of Sichuan golden monkeys. *Chinese Science Bulletin*, **50** (22): 2849 – 2855. (in Chinese)
- Quan G Q, Xie J Y. 2002. Research on the Golden Monkey. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers. (in Chinese)
- Rousset F. 2008. Genepop 007: A complete re-implementation of the Genepop software for Windows and Linux. *Molecular Ecology Resources*, **8**: 103 – 106.
- Ralls K, Ballou J D. 2002. Conservation concerns with inbreeding. In: Frankham R, Ballou J D, Ballou J D, Briscoe D A eds. Introduction to Conservation Genetics. UK: Cambridge University Press, 256 – 257.
- Reed D H, Briscoe D A, Frankham R. 2002. Inbreeding and extinction: the effect of environmental stress and lineage. *Conservation genetics*, **3**: 301 – 307.
- Rogers J, Mahaney M C, Witte S M, Nair S, Newman D, Wedel S, Rodrigue L A, Rice K S, Slifer S H, Perelygin A, Slifer M, Palladino-Negro P, Newman T, Chambers K, Joslyn G, Parry P, Morin P A. 2000. A genetic linkage map of the baboon (*Papio hamadryas*) genome based on human microsatellite polymorphisms. *Genomics*, **67**: 237 – 247.
- Shen F J, Zhang Z H, He W, Yue B S, Zhang A J, Zhang L, Hou R, Wang C D, Watanabe T. 2009. Microsatellite variability reveals the necessity for genetic input from wild giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) into the captive population. *Molecular Ecology*, **18**: 1061 – 1070.
- Shi F L, Yang H X, Tang Z H, Bao W D, Jue T C, Feng B Y, Jiang Y H, Li M, Liu Z J, Pan H J. 2014. Genetic diversity of captive langurs in the Wuzhou Langur Breeding Center and individual selection for reintroduction. *Chinese Science Bulletin*, **59** (6): 529 – 536. (in Chinese)
- Soulé M E, Gilpin M, Conway W, Foose T. 1986. The millennium ark: how long a voyage, how many staterooms, how many passengers? *Zoo Biology*, **5**: 101 – 113.
- Tie J, Zhang J, Peng L P, Zhang Z X. 2011a. Factors affecting the foraging of *Rhinopithecus roxellana* in Shennongjia Nature Reserve in winter and spring. *Chinese Journal of Ecology*, **30** (11): 2565 – 2569. (in Chinese)
- Tie J, Zhang J, Peng L P, Zhao B Y, Zhang Z X. 2011b. Analysis of main factors influencing summer and autumn feeding of *Rhinopithecus roxellana* in Shennongjia Nature Reserve. *Scientia Silvae Sinicae*, **47** (7): 108 – 115. (in Chinese)
- Wang J L. 2007. Triadic IBD coefficients and applications to estimating pairwise relatedness. *Genetical Research*, **89**: 135 – 153.
- Wang J. 2010. COANCESTRY: a program for simulating, estimating and analyzing relatedness and inbreeding coefficients. *Molecular Ecology Resources*, **11**: 141 – 145.
- Wei P L, Yang J Y, Bao W D, Yu H L, Yao H, Wu F. 2009a. Social behavior spectrum of a provisioned group of Sichuan snub-nosed monkeys at Shennongjia. *Journal of Biology*, **6**: 8 – 10. (in Chinese)
- Wei P L, Yang J Y, Bao W D, Yu H L, Yao H, Wu F. 2009b. Aggressive behaviors and the rank order of a provisioned group of Sichuan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*) in Shennongjia. *Acta Theriologica Sinica*, **29** (1): 7 – 11. (in Chinese)
- Witzenberger K A, Hochkirch A. 2013. Evaluating ex situ conservation projects: genetic structure of the captive population of the Arabian sand cat. *Mammalian Biology*, **78**: 379 – 282.
- Worthington W J, Allen P J, Pomeroy P P, Twiss S D, Amos W. 1999. Where have all the fathers gone? An extensive microsatellite analysis of paternity in the grey seal (*Halichoerus grypus*). *Molecular Ecology*, **8**: 1417 – 1429.
- Wu J H, Lei Y L, Fang S G, Wan Q H. 2009. Twenty-one novel tri- and tetrans nucleotide microsatellite loci for the Amur tiger (*Panthera tigris altaica*). *Conservation Genetics*, **10**: 567 – 570.
- Yang J D, Hou R, Shen F J. 2011. Microsatellite variability reveals significant genetic differentiation of giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) in the Minshan habitat. *African Journal of Biotechnology*, **10** (60): 12804 – 12811.
- Yang M Y, Yang Y Q, Cui D, Fickenscher G, Zinner D, Roos C, Brameier M. 2012. Population genetic structure of Guizhou snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus brelichi*) as inferred from mitochondrial control region sequences, and comparison with *R. roxellana* and *R. bieti*. *American Journal of Physical Anthropology*, **147**: 1 – 10.
- Yao H, Liu X C, Stanford C, Yang J Y, Huang T P, Wu F, Li Y M. 2011. Male dispersal in a provisioned multilevel group of *Rhi-*

- nopithecus roxellana* in Shennongjia Nature Reserve, China. *American Journal of Primatology*, **73**: 1280–288.
- Yuan L, Bao W D, Hu H B, Liao M R, Yang J Y, Zhao B Y. 2009. Colony structure and reproduction of a provisioned group of Sichuan snub-nosed monkey at Shennongjia of Hubei Province, central China. *Journal of Beijing Forestry University*, **31** (4): 141–144. (in Chinese)
- Zhang B W, Li M, Zhang Z J, Goossens B, Zhu L, Zhang S, Hu J, Bruford M W, Wei F W. 2007. Genetic viability and population history of the giant panda, putting an end to the “evolutionary dead end”. *Molecular Biology and Evolution*, **24** (8): 1801–1810.
- Zhao X M. 2006. Giant Pandas – Natural Heritage of the Humanity. Beijing: China Forestry Publishing House. (in Chinese)
- Zhou Z, Deng J S, Chen M M, Zhao Q Z, Wang D. 2012. Genetic evaluation and development prognosis on Ex situ conserved Yangtze finless porpoises living in Tian’ezhou National Natural Reserve. *Acta Hydrobiologica Sinica*, **36** (3): 403–411. (in Chinese)
- 毕帅奇, 毕俊怀, 黄英, 铁军. 2008. 神农架大龙潭投食点川金丝猴群春季日活动情况的初步观察. 内蒙古师范大学学报: 自然科学汉文版, **37** (4): 546–549.
- 陈敏敏, 郑劲松, 龚成, 赵庆中, 王丁. 2014. 天鹅洲迁地保护江豚种群近亲繁殖状况评估. 动物学杂志, **49** (3): 305–316.
- 邓龙强, 蔚培龙, 鲍伟东, 廖明尧, 李丽娟. 2013. 神农架自然保护区金丝猴投食群性行为的初步观察. 湖北林业科技, (3): 29–31.
- 范鹏来, 陈浩春, 姚辉, 王振龙, 杨敬元, 向左甫. 2013. 神农架川金丝猴粪便和尿液中类固醇激素的检测. 兽类学报, **33** (3): 286–292.
- 方盛国. 2008. 大熊猫保护遗传学. 北京: 科学出版社.
- 何丽, 张于光, 彭红兰, 李迪强, 李大全. 2010. 利用非损伤性方法评估神农架保护区川金丝猴种群遗传多样性. 生态学报, **30** (16): 4340–4350.
- 蒋志刚, 李春旺, 曾岩. 2006. 麋鹿的配偶制度、交配计策与有效种群. 生态学报, **26** (7): 2255–2260.
- 罗芳, 杨敬元, 鲍伟东, 蔚培龙. 2009. 神农架川金丝猴社会单元组成的变化. 自然科学进展, **19** (10): 1038–1041.
- 罗芳, 陈九屹, 蔚培龙, 鲍伟东. 2011. 神农架川金丝猴投食群0–6月龄的母亲照顾行为. 兽类学报, **31** (4): 422–427.
- 潘登, 李英, 胡鸿兴, 蒙世杰, 门正明, 符云新, 张亚平. 2005. 川金丝猴群体的微卫星多态性研究. 科学通报, **50** (22): 2849–2855.
- 全国强, 谢家骅. 2002. 金丝猴研究. 上海: 上海科技教育出版社.
- 史芳磊, 杨红喜, 唐朝晖, 鲍伟东, 阙腾程, 冯碧燕, 蒋迎红, 李明, 刘志瑾, 潘慧娟. 2014. 梧州繁殖中心圈养黑叶猴遗传多样性分析和野外放归种源选择. 科学通报, **59** (6): 529–536.
- 铁军, 张晶, 彭林鹏, 张志翔. 2011a. 神农架川金丝猴冬春季取食影响因素. 生态学杂志, **30** (11): 2565–2569.
- 铁军, 张晶, 彭林鹏, 赵本元, 张志翔. 2011b. 夏秋季神农架川金丝猴取食主要影响因素分析. 林业科学, **47** (7): 108–115.
- 蔚培龙, 杨敬元, 鲍伟东, 余辉亮, 姚辉, 吴峰. 2009a. 神农架川金丝猴投食群的社会行为谱. 生物学杂志, (6): 8–10.
- 蔚培龙, 杨敬元, 鲍伟东, 余辉亮, 姚辉, 吴峰. 2009b. 神农架川金丝猴投食群的攻击行为及等级序列. 兽类学报, **29** (1): 7–11.
- 杨敬元, 廖明尧, 余辉亮, 姚辉. 2008. 神农架金丝猴保护与研究现状. 世界科技研究与发展, **30** (4): 418–421.
- 袁梨, 鲍伟东, 胡汉斌, 廖明尧, 杨敬元, 赵本元. 2009. 湖北神农架川金丝猴投食群结构与繁殖. 北京林业大学学报, **31** (4): 141–144.
- 周钊, 郑劲松, 陈敏敏, 赵庆中, 王丁. 2012. 天鹅洲迁地保护江豚群体的遗传评估与发展预测. 水生生物学报, **36** (3): 403–411.
- 赵学敏. 2006. 大熊猫——人类共有的自然遗产. 北京: 中国林业出版社.