



# 小熊猫圈养种群遗传多样性及其影响因子

李光汉<sup>1</sup>, 杨智<sup>1</sup>, 黄祥明<sup>1</sup>, 刘选珍<sup>1</sup>, 余建秋<sup>1</sup>, 李学兵<sup>1</sup>, 方盛国<sup>2</sup>, 魏辅文<sup>3</sup>, 冯祚建<sup>3</sup>

(1. 中国成都大熊猫繁育研究基地, 成都 610081; 2. 杭州大学生命科学院, 杭州 310012; 3. 中国科学院动物研究所, 北京 100080)

**摘要:** 利用寡核苷酸指纹探针 LZF-1 检测了成都大熊猫繁育研究基地仿生态圈养场小熊猫种群全部 22 个个体的 DNA 指纹, 检测结果表明其遗传多样性参数如下: (1) 各体间 DNA 指纹图的相似性为 0.172; 个体 A 的指纹谱带在个体 B 中出现的概率为 0.1806。 (2) 圈养种群的等位基因频率为 0.0948, 杂合率为 90.52%。 (3) 种群中指名亚种亲本个体的引进是影响该种群遗传多样性的主要因子。

**关键词:** 小熊猫; DNA 指纹图; 遗传多样性; 影响因子

## Genetic diversity of captive red panda population and its influencing factor

LI Guang-Han<sup>1</sup>, YANG Zhi<sup>1</sup>, HUANG Xiang-Ming<sup>1</sup>, LIU Xuan-Zhen<sup>1</sup>, YU Jian-Qiu<sup>1</sup>, LI Xue-Bing<sup>1</sup>, FANG Sheng-Guo<sup>2</sup>, WEI Fu-Wen<sup>2</sup>, FENG Zuo-Jian<sup>3</sup> (1. Chengdu Research Base of Giant Panda Breeding, Chengdu 610081, China; 2. College of Life Science, Hangzhou University, Hangzhou 310012, China; 3. Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China)

**Abstract:** Using the method of labeling oligonucleotide probe LZF-1, we determined DNA fingerprints of 22 captive red pandas in our base to measure the genetic diversity of the captive population. The results were as follows similarity coefficient of DNA fingerprinting bands each individual was 0.172. Probability of fingerprinting bands of individual A which appeared in individual B was 0.1806. Mean allelic frequency of the captive population was 0.0948 and heterozygous ratio was 90.52%. Introducing subspecies fulgens to the captive population was the main factor to influence its genetic diversity.

**Key words:** red panda (*Ailurus fulgens*); DNA fingerprinting; genetic diversity

文章编号: 1000-0933(2000)02-0184-03 中图分类号: Q16 文献标识码: A

小熊猫 (*Ailurus fulgens*) 分布于喜马拉雅横断山脉, 是我国二类重点保护动物, 已被列入 CITES 附录 I 中, 以加强小熊猫的保护和严格控制国际间的交换。由于人类活动的影响, 从 50 年代至今, 其分布面积和数量大约下降了 40%, 而且资源还在进一步减少<sup>[1~6]</sup>。该物种的两个亚种, 指名亚种 (*A. f. fulgens*) 和川西亚种 (*A. f. styani*) 在我国均有分布, 其中川西亚种为我国特有。目前, 川西亚种分布的东北角如青川的唐家河和平武的王朗自然保护区已经绝迹, 其模式产地四川平武县泗耳乡杨柳坝亦趋于绝灭<sup>[2,3]</sup>。

为了更好地保护野生小熊猫种群, 实施小熊猫移地保护管理计划, 成都大熊猫繁育研究基地修建了占地面积为 6350m<sup>2</sup> 的小熊猫仿生态圈养场, 加强小熊猫圈养种群的繁育。截止 1997 年 12 月, 该圈养种群的数量已达 22 只, 其中 3 只亲本雄兽和 4 只亲本雌兽先后产仔 8 胎 14 仔, 存活 9 仔。随着该圈养种群的不断扩大, 其遗传多样性的定量测定和亲本的引进计划的制定, 是管理工作的当务之急。本文以小熊猫毛发为

基金项目: 成都市建设委员会重点项目, 成都大熊猫繁育研究基金会, 中国科学院 95 重大项目 (No. KZ951-A1-105)

收稿日期: 1999-09-28 修回日期: 1998-11-15

作者简介: 李光汉 (1942~), 男, 高级兽医师。

DNA 的材料来源,利用 LZF-1 DNA 指纹探针<sup>[7]</sup>对该圈养种群全部 22 只个体进行了遗传多样性的 DNA 指纹检测,现将检测结果报道于后。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

实验利用小熊猫毛发样 22 个,取自成都大熊猫繁育研究基地仿生态小熊猫圈养场。

### 1.2 探针来源

寡核苷酸探针 LZF-1,由浙江大学生命科学院(浙江省细胞与基因工程重点实验室)提供。

### 1.3 试剂

蛋白酶 K,  $T_4$  多核苷酸激酶、限制性内切酶 *Hinf* I, 分子量标准  $\lambda$  DNA-Hind III、DNA 提取试剂盒均由北京塞百盛(美国)生物工程有限责任公司提供;同位素  $\gamma$ -<sup>32</sup>P-ATP 由北京亚辉生物医学工程公司提供;琼脂糖由上海东海制药厂生产;X 光胶片由天津感光胶片厂生产。

### 1.4 方法

DNA 的提取、纯度测定、限制性酶切、电泳、干胶、探针的同位素标记、分子杂交、信号检测等与方盛国等<sup>[8]</sup>的方法相同。

## 2 结果

2.1 利用寡核苷酸指纹探针 LZF-1 检测成都大熊猫繁育研究基地仿生态圈养场 22 只小熊猫的 DNA 指纹,获得了清晰可辨的 DNA 指纹图谱(图 1)。据 Jeffreys 等关于(1)相似系数( $D$ )= $2N_{AB}/(N_A+N_B)$ , (其中  $N_A$  和  $N_B$  分别为个体 A 和个体 B 的谱带数,  $N_{AB}$  为个体 A 和个体 B 共有的谱带数);(2)共有带率( $x$ )= $\frac{1}{2}(\frac{N_{AB}}{N_A} + \frac{N_{AB}}{N_B})$ ; (3)等位基因频率( $q$ )= $1 - \sqrt{1-x}$ ; (4)杂合率( $Ht\%$ )= $(1-q)\%$ 的计算方法<sup>[9]</sup>, 获得了整个圈养种群的遗传多样性参数: $D=0.1721$ ;  $x=0.1806$ ;  $q=0.0948$ ;  $Ht(\%)=90.52\%$ 。

2.2 在该种群的 13 只亲本中,仅有 3 只雄兽(大公猫、小公猫和红公猫)和 4 只雌兽(小白妈、花尾巴、小黄猫和烂脑壳)参与了繁殖,共存活  $F_1$  代幼仔 9 只,余下 6 只亲本未参与繁殖。参与繁殖的亲本除一只雄兽(红公猫)为指名亚种外,其余均为川西亚种。若将参与繁殖的亲本和  $F_1$  代幼仔共 16 只个体作为一个繁殖群体,其遗传多样性相关参数分别为: $D=0.1987$ ;  $x=0.2136$ ;  $q=0.1132$ ;  $Ht(\%)=88.68\%$ 。

2.3 在繁殖群体中,若去掉指名亚种雄兽(红公猫)和川西亚种雌兽(花尾巴)及其 2 幼仔(夹克和夹兄)后,该种群的遗传多样性相关参数为: $D=0.2683$ ;  $x=0.2814$ ;  $q=0.1523$ ;  $Ht=84.77\%$ 。其杂合率较整个圈养种群的杂合率下降了约 6%,而相似系数将增加约 0.1。

2.4 在繁殖群体中,若去掉一个川西亚种雄兽(小公猫)和雌兽(小黄猫)及其 2 幼仔(缺尾巴和小断尾巴)后,该种群的遗传多样性相关参数为: $D=0.2182$ ;  $x=0.2335$ ;  $q=0.1245$ ;  $Ht(\%)=87.55\%$ 。其杂合率较整个圈养种群的杂合率下降约 3%,而相似系数将增加约 0.04。

2.5 在繁殖群体中,若去掉一只为两个家系之父的川西亚种雄兽(大公猫)及其 2 幼仔(老大和老二)后,该种群的遗传多样性相关参数为: $D=0.2010$ ;  $x=0.2163$ ;  $q=0.1147$ ;  $Ht(\%)=88.53\%$ 。其杂合率较整个圈养种群的杂合率下降了约 2%,而相似系数将增加约 0.03。

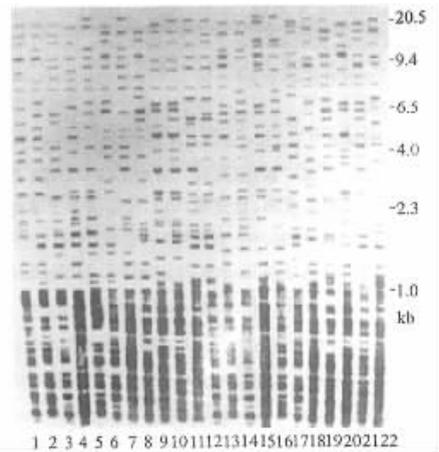


图 1 成都大熊猫繁育研究基地小熊猫 DNA 指纹图谱

Fig. 1 DNA fingerprints of red pandas in Chengdu Research Base of Giant panda breeding

综上所述发现,成都大熊猫繁育研究基地的人工仿生态圈养场内以川西亚种为主体(在 13 只亲本中,川西亚种 12 只,占 92.31%)的小熊猫种群,无论是引进一只川西亚种雄兽或是一雄一雌参与该种群繁殖,亦产 1 胎 2 仔,该种群的杂合率都将增加 2~3 个百分点;而引进一只指名亚种雄兽参与繁殖,亦产 1 胎 2 仔,其杂合率将增加约 6 个百分点。因此,该圈养种群无论是引进指名亚种亲本,还是引进川西亚种亲本,都将提高其遗传多样性,但指名亚种亲本的引进,是影响该圈养种群遗传多样性的主要因子。

### 3 讨论

对野生动物实施人工圈养繁殖,是增加种群数量、保护或拯救物种以及减轻动物园系统野外捕捉压力的重要措施之一。然而,人工圈养种群是数量有限的小种群,当其子代生长发育到育龄期并参与种群的繁殖后,该种群内的近亲交配将难以避免。虽然成都大熊猫繁育研究基地仿生态圈养场的小熊猫种群的杂合率目前仍高达 90.52%,尚未出现近亲繁殖,但是该种群中的幼仔已达性成熟,不久将参与繁殖,这将增加该种群的近交率。本文利用 DNA 指纹技术,定量地检测出该圈养种群的遗传多样性参数,并阐明其影响因子,这将为更好地实施小熊猫圈养繁殖计划和合理地引进亲本,从而维持该种群合理的遗传结构,防止该种群中个体的基因型趋向纯合提供了可靠的科学依据。

### 参考文献

- [1] 魏辅文,胡锦涛. 四川小熊猫的保护及现状. 见:夏武平主编. 人类活动下兽类的变迁. 北京:中国林业出版社, 1993. 56~60.
- [2] 魏辅文,冯祚建,胡锦涛,等. 中国野生小熊猫资源及管理状况评估. 见:胡锦涛,吴毅主编. 脊椎动物资源及保护. 成都:四川科技出版社,1998. 59~69.
- [3] Wei F, Feng Z, Wang Z, et al. Assessment on the current status of the red panda in China. *Small Carnivore Conservation*, 1998, **18**: 1~4.
- [4] Glatston A R. ed. *Status Survey and Conservation Action Plan for Procyonids and Ailurus: The red panda, Olingos, Coatis, Raccoons, and their Relations*. IUCN/SSC Mustelid, Viverrid and Procyonid Specialist Groups. 1993.
- [5] Yonzon P B, Hunter M L. Cheese tourists and red pandas in the Nepal Himalayas. *Conserv. Biol.*, 1991a, **5**: 196~202.
- [6] Yonzon P B, Hunter M L. Conservation of the red panda *Ailurus fulgens*. *Biol. Conserv.*, 1991b, **57**: 1~11.
- [7] 方盛国,黄敏,陈冠群. 鱼类 LZF-I DNA 指纹探针的制备. *遗传学报*, 1997, **24**(1): 7~14.
- [8] 方盛国,冯文和,张安居,等. 大熊猫亲子鉴定——DNA 指纹技术的应用. *四川大学学报(自然科学版)*, 1994, **31**(3): 389~395.
- [9] Jeffreys A J, Wilson V, Thein S L. Individual-specific "fingerprints" of human DNA. *Nature*, 1985, **316**: 76~79.