

方盛国
等著

大熊猫保护遗传学

DAXIONGMAOBAOHU
YICHUANXUE



科学出版社

www.sciencepress.com

大熊猫保护遗传学

方盛国 等著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书是关于大熊猫保护遗传学研究的一部专著。第一部分包括保护遗传学的背景、发展历史、概念、目的、内容、各级保护单元、主要分子标记及其在各保护单元中的适用性等综述内容,以及作者定义的行动单元和家庭网络等新的保护单元。第二部分内容包括福尔马林固定器官组织高质量 DNA 提取方法的建立、粪便样品高质量 DNA 提取方法的建立,以及高分辨力寡核苷酸探针(gp2000)的研制等内容;大熊猫片断化种群的遗传结构分析、家庭网络在唐家河大熊猫当代基因流评估中的运用、大熊猫秦岭新亚种的确定及其形态描述,以及大熊猫物种保护的一些建议等。

本书可供野生动物管理部门、大专院校和科研院所等单位保护遗传学与分子生态学领域的科研工作者和学生参考。

图书在版编目(CIP)数据

大熊猫保护遗传学/方盛国等著. —北京:科学出版社,
2008

ISBN 978-7-03-023004-1

I. 大… II. 方… III. 大熊猫—遗传学 IV. Q959.838.03

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 142111 号

责任编辑:李 瑾 / 责任校对:刘珊珊
责任印制:刘 学 / 封面设计:一 明

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

南京展望文化发展有限公司排版

常熟华通印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 10 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008 年 10 月第一次印刷 印张:12 插页 8

印数:1—2 100

字数:217 000

定价:58.00 元

《大熊猫保护遗传学》编委会

主 编 方盛国

副主编 万秋红

编 委	方盛国	万秋红	吴 华
	余建秋	雍严格	朱 亮

本书研究工作的资助项目

- ◆ 国家科技部“973”计划项目——《长江流域生物多样性变化、可持续利用与区域生态安全》(项目编号: G2000046800)
- ◆ 国家科技部“973”计划项目——《中国-喜马拉雅地区生物多样性演变与保护研究》(项目编号: 2007CB411600)
- ◆ 国家林业局野生动植物保护计划项目——《大熊猫等濒危野生动物基因资源库的构建》【项目编号: 护动函(2002)86 号】

本书出版的资助项目

- ◆ 国家林业局大熊猫国际合作项目(项目编号: WH0418)
- ◆ 国家科技部“973”计划项目——《中国-喜马拉雅地区生物多样性演变与保护研究》(项目编号: 2007CB411600)

序 一

大熊猫是我国的特产,以其重要的科学研究价值和无与伦比的观赏价值而成为我国的国宝。1961年,世界野生生物基金会选择大熊猫图案作为会旗和会徽的标志,更使该物种成为保护全球生物多样性的象征。也正缘于此,近40年来国内相关部门和国外一些野生动物保护组织对大熊猫的关注度和投入保护的人力与财力,始终位列各濒危物种之首。

时至21世纪,国内外有关大熊猫的研究,已广泛涉及生态学、分类学、古生物学、繁殖生物学、病理学、营养学、兽医学、细胞生物学、生物化学、分子生物学和免疫学等领域。其中一些重要研究成果,如在攻克发情难、配种受孕难和育幼成活难的“三难”问题中形成的人工繁育技术,已成为现今大熊猫人工易地保护的关键支撑技术之一。然而,在大熊猫保护遗传学这一濒危动物拯救工程中的主流学科领域,国内外学者的研究工作却始终未见突破性进展,这与大熊猫的国际地位和相关部门所投入的人力与财力是不相称的。

众所周知,国外学者在20世纪80年代揭示的“印度豹的遗传变异与精液质量和繁殖成功率紧密相关”的遗传学问题,以及90年代中后期验证的“小种群的基因变化与其发展命运息息相关”的遗传学理论,既是保护遗传学学科诞生的奠基之作,同时也促使该学科成为当今生命科学研究热点之一。而当时我国在动物保护遗传学领域,仅有零星的研究报道,即便是对大熊猫这样受世界瞩目的旗舰物种的遗传多样性研究,也未予开展深层次的探索。虽然进入21世纪以来,国内也有一些探索濒

危动物遗传多样性的成果面世,但其系统性和创新性与国外同领域相比较,又实有不小的差距。

通览方盛国等所著的《大熊猫保护遗传学》,不但其系统性在国内外同领域鲜有所见,且其中有效分子标记 gp2000 的研制,固定器官组织和粪便高质量 DNA 提取方法的建立,对物种遗传多样性和遗传结构的阐述,据以确定的遗传保护管理单元,以及秦岭新亚种的发现和提出的“行动单元”与“家庭网络”这两个保护遗传学的新的理论管理单元等,均突显出较强的原始创新性,可谓我国濒危动物保护遗传学走向成熟并迈向世界先进水平行列的代表之作。

应方盛国教授之邀为此书作序,但在这里我要特别指出的是,我国动物保护遗传学的整体研究水平与世界同类研究相比,仍存在相当差距,期望方盛国研究小组再接再厉,在未来推出更高水平的学术成果,同时希望他们携手同仁,共同推动我国动物保护遗传学学科的发展。



中国科学院院士

中国动物学会理事长

国家自然科学基金委员会主任

2008年8月7日

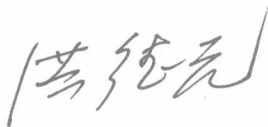
序 二

我国特有的大熊猫现仅分布于四川、陕西和甘肃三省毗邻的秦岭、岷山、邛崃、凉山、大相岭和小相岭等山系,形成了具有濒危野生动物典型栖息地特征的六个孤立小居群。为了拯救大熊猫这一世界濒危动物标志性物种,国内外一些学者和野生动物保护组织于20世纪80年代就提出了“建立大熊猫六个隔离山系之间的走廊带”的建议。我国政府对此非常重视,如国务院在2002年批准的“林业六大工程建设”的项目中,就包括了大熊猫的“走廊带”建设工程(计划资金4.1亿人民币)。所谓大熊猫的“走廊带”工程,就是指在大熊猫分布的六个隔离山系之间,拆除建筑物(包括居民点)、改建铁路和公路、退耕还林和大面积植树造林,将隔离的山系连接起来,使野外的大熊猫形成一个大居群,防止近亲繁殖,从而达到复壮野生居群和拯救物种的目的。然而,“走廊带”的科学性一直存在争议。持异议者认为:山系之间的大熊猫可能已经产生了遗传分化,建立“走廊带”不仅不能达到防止近亲繁殖和复壮野生居群的目的,反而会因山系之间的遗传不亲和性造成大熊猫的远交衰退而置整个物种于灭绝的险境之中。与此同时,“走廊带”建设不仅需要花费国家数亿元的巨资,居民点的拆除和移民的搬迁还有可能带来难以估计的社会问题。因此,“走廊带”虽然在“十五”期间就获准建设,但争议的存在使之被搁置。于是,六个山系的大熊猫之间是否产生了遗传分化,以及在六个山系之间是否需要建立“走廊带”来促进大熊猫的基因交流等问题,就成为大熊猫物种保护中亟待解决的关键科学问题之一,这也是我所主持的国家科技部“973”项目所要解决的重点科学问题之一。作为标志性

濒危物种的大熊猫,其遗传多样性、居群的遗传结构和进化潜力,也是科学界关注的重要问题。

方盛国教授领导的研究组自 2000 年以来针对大熊猫山系之间遗传分化研究必须解决的高分辨力分子标记、福尔马林固定器官组织高质量 DNA 的提取方法,以及非损伤性粪便样品的高质量 DNA 的提取方法等关键科学和技术问题,逐一开展攻关研究,率先在大熊猫保护遗传学领域取得了方法学上的突破性进展——研制了大熊猫高分辨力的第二代 DNA 指纹探针 gp2000,建立了大熊猫保护遗传学研究的分子标记系统,建立了由福尔马林固定的器官组织样品、福尔马林固定的粪便样品,以及新鲜的粪便样品中提取高质量 DNA 的技术方法,解决了大熊猫保护遗传学研究中的非损伤性取样策略和大样本 DNA 的来源问题。由于有了这些方法学上的突破,才有继后的一系列创新性成果:阐明了大熊猫的遗传多样性、遗传结构和遗传分化等科学问题,发现了大熊猫的秦岭亚种,界定了大熊猫的各级保护管理单元,提出了濒危动物保护遗传学中的两个新的管理单元(行动单元和家庭网络),并以大熊猫的一个自然保护区为样点,对提出的“家庭网络”进行了实践研究,深刻地诠释了该保护管理单元在保护遗传学领域中的重要意义。

《大熊猫保护遗传学》是我国动物保护遗传学领域的第一部专著,将以其系统性和创新性而成为同类研究的范例,相信该书在我国动物保护遗传学的学科发展中,能够起着带头和模范作用。



中国科学院院士

国家自然科学基金委员会生命学部主任

国家科技部“973”计划项目(长江流域生物多样性变化、
可持续利用与区域生态安全)首席科学家

2008 年 8 月 8 日

序 三

我国是野生动物资源最为丰富的国家之一,但同时又是濒危物种的大国之一。因此,拯救濒危野生动物,保护生物多样性,已成为实现我国社会和经济可持续发展及人与自然和谐目标的重要任务之一。

大熊猫是世界濒危动物保护的旗舰物种,我国对该物种的保护工作虽起步较晚,但无论是野外就地保护,还是人工圈养易地保护,也有近半个世纪的历史了。其间,自然保护区建设,一直是保护工作的重点。例如,1963年首批5个大熊猫自然保护区的面积仅为95 885公顷,但时至2005年的保护区数量已增加到56个,总面积高达2 900 400公顷,已能为60%以上的野生大熊猫提供生存庇护场所,特别是实施大熊猫保护工程以来,其物种的野外就地保护工作,取得了令世界瞩目的成就,但形势依然严峻。

保护区面积的急速增长,是否就一定意味着大熊猫的生存质量也得到了极大的提高呢?在为数众多的自然保护区中,国家有限的保护资金应该按照怎样的优先性保护等级来合理地予以安排呢?随着生物技术的发展,有关部门是否可以通过对保护区内部以及保护区之间的基因流检测情况,来揭示大熊猫的迁移机制,从而评价栖息地的质量呢?……这些原本应在保护区的建设之前和建设之后就需及时予以解答的一系列科学问题,然而国内外却鲜有报道,这在一定程度上限制了有关部门对大熊猫就地保护成效和其中存在的不足的真切评估。

众所周知,近10年来国外动物保护遗传学的迅猛发展,使得我国在

此领域的整体水平与之相差甚远！然感叹之中又有欣慰——《大熊猫保护遗传学》这一关于物种遗传管理的专著就要面世了！其首次发现大熊猫的秦岭亚种并阐明大熊猫的遗传多样性和遗传结构，首次明确地界定大熊猫六个山系之各级保护管理单元，首次在动物保护遗传学领域提出具有精确遗传管理细节的两个新的理论管理单元——行动单元和家庭网络，标志着我国在动物保护遗传学领域，已取得了具有世界先进水平的局部性突破。而2006年6月在国家林业局和陕西省人民政府联合主办的“秦岭大熊猫保护及发展战略研讨会”上通过的“秦岭大熊猫保护行动计划纲要”所采纳该书之“将原计划在两亚种的栖息地之间修建走廊带的建设工程，调整为修复秦岭山系内部的破碎化栖息地”的建议，以及2008年4月国家发展和改革委员会基于该书之“大熊猫秦岭亚种的发现”成果而批准实施的“陕西秦岭大熊猫繁育基地建设项目”，均深刻地诠释了该书的核心成果在推动我国动物保护遗传学学科深层次发展中的重要作用和在政府重大决策中的科学参考价值。

我相信《大熊猫保护遗传学》这一在一定程度上标志着我国动物保护遗传学学科发展的奠基之作，将能在学科未来的更深层次的发展中，发挥重要作用。



中国工程院院士

东北林业大学动物资源学院教授

2008年8月7日

序 四

大熊猫以其濒危的严峻性、惹人喜爱的广泛性、科学研究的重要性和化石物种的代表性而成为了全世界生物多样性保护的象征。也正因为如此,野外全部六个山系的大熊猫,都应受到人类的大力保护,换言之,六个山系的大熊猫种群之间,应该是没有保护的优先性区分的。然而,现实的残酷性又令其不能为之。例如,受财力的限制,我国在短期内是难以拨付数以亿计的资金来同时修复六个山系内部的破碎化栖息地的,因此,在财力有限的情况下,相关部门按优先性原则对大熊猫的六个山系实施等级保护,就成其为必然。

不言而喻,确定大熊猫六个山系优先性保护等级的关键,首先是要阐明物种的遗传多样性和遗传结构,并揭示山系的进化历史等科学问题。但阐明或揭示这些科学问题的前提,又需要有适宜的分子标记和可靠的非损伤性大样本 DNA 来源等方法学方面的保障。然在该书的研究之初,大熊猫遗传多样性和遗传结构检测的分子标记和固定组织与粪便之 DNA 来源的非损伤性方法,均有诸多不完善之处,从而导致山系分化等相关科学问题的研究在较长的时间内都未能取得突破性进展,限制了政府主管部门制定大熊猫的物种保护策略与保护计划。

方盛国等针对大熊猫保护遗传学研究中的上述科学问题,在首先突破分子标记和非损伤性取样策略的情况下,率先系统深入地阐明了大熊猫的遗传多样性、遗传结构和各山系种群的进化历史。这些研究成果,以及对大熊猫秦岭亚种的发现,很好地诠释了保护遗传学在濒危动物拯

救工程中的重要作用。

《大熊猫保护遗传学》专著的出版,虽标志着我国对该旗舰物种的保护遗传学研究已步入了世界同类研究的先进水平行列,但纵观国内动物保护遗传学的研究现状,又叹其与世界同类研究的整体水平存有不小的差距。在此,我作为项目的首席科学家,希望该书的出版,不仅仅是方盛国研究小组迈向更高学术层次的起点,也将有助于推动我国动物保护遗传学研究的发展。



中国科学院院士

国家科技部“973”计划项目(中国-喜马拉雅地区
生物多样性演变与保护研究)首席科学家

2008年8月6日

前言

我是1998年8月到浙江大学生命科学学院工作的。过去的10年,真是弹指一挥间啊!至2000年的三年里,我把大部分时间都用在了申请与答辩“濒危野生动物保护遗传与繁殖教育部重点实验室”上,没有发表过一篇学术论文,没有给学生上过一节课,然而学校却毫不犹豫地于1999年7月给我特评了教授,2000年3月批准了我的博士生导师资格。学校对引进人员的政策,实在是令我万分地感动,但三年“一事无成”的现实,又使我深感不安。

好在之后的几件事情:(1)2000年8月教育部批准了“重点实验室”建设项目;(2)2003年我获得了“国家杰出青年基金”项目资助;(3)2004年获得了“国家科技部‘973’计划研究先进个人”称号;(4)2006年6月“秦岭大熊猫保护行动计划纲要”(陕西省林业厅2006年7月文件汇编)采纳了我所提出的“取消原计划在两亚种的栖息地之间修建旨在增进个体基因交流的走廊带建设工程”的建议;(5)2008年4月国家发展和改革委员会批准了“陕西秦岭大熊猫繁育基地建设项目”【发改农经(2008)941号文件】,从而达到了我所提出的“……政府有关部门适时地投入足量的资金,建立秦岭大熊猫的繁育研究基地,以便为日后野外种群的个体补充和公众教育等,提供必要的种源储备”建议的目的,才使得备受“有辱使命”之精神压力的我能够如释重负,并随即延续我的研究工作。

在这里,我要特别感谢时任校长的潘云鹤院士和副校长程家安教授、现任副校长朱军教授和副校长吴朝辉教授,以及时任教育部科技司

司长谢焕忠(现在任)和基础处处长陈冬生(现武汉理工大学副校长)、时任成都市园林局局长张安居和时任浙江大学科研处处长汪乐宇等领导所给予的支持与关怀,并对与我并肩完成上述重点实验室申报工作的葛朝阳(时任学校科研处副处长)、夏文莉、张敏、杜尧舜、吴雪昌(时任生命科学学院党委书记)、张志和和王基山等七位同志谨表谢意。

本书的创新论点和系统性工作除源于作者的学习与思考之外,更得益于陈宜瑜院士、洪德元院士、翟中和院士、朱作言院士、张亚平院士、曹文宣院士、郑光美院士、赵尔宓院士、马建章院士、旭日干院士、向仲怀院士、张建龙教授(国家林业局副局长)、Fujihara 教授、冯文和教授、胡锦涛教授和冯祚建研究员等多位德高望重的科学家们的亲切指导与教诲。而由张建龙副局长、陈宜瑜院士、马建章院士、洪德元院士、朱作言院士、旭日干院士和翟中和院士力荐,并于 2001 年 10 月由国家林业局与教育部联合在浙江大学共建的“国家濒危野生动植物种质基因保护中心”,并于后续得到国家林业局赵学敏副局长和张建龙副局长,以及卓榕生、陈建伟、王伟、严旬、靳芳、刘永范、王维胜、刘德望、张陕宁、杨锋伟、罗颖、斯萍、王春玲、张德辉和阮向东等先生,国家自然科学基金委员会生命科学部杜生明、陈越、于振良、李人卫等先生,以及教育部科技司谢焕忠和雷忠良等先生的关心与支持,是本书能够得以顺利完成的关键因素之一,感激之情难以言表。

在 2000 年国家科技部“973”项目《长江流域生物多样性变化、可持续利用与区域生态安全》(项目编号: G2000046800)即将启动的前夕,首席科学家洪德元院士和第六课题组长傅承新教授破例接纳我成为了课题组的一名骨干成员(项目中期检查后调整为课题副组长)。而 2007 年又一个“973”项目的启动(项目名称: 中国-喜马拉雅地区生物多样性演变与保护研究;首席科学家: 张亚平;项目编号: 2007CB411600),我则有

幸被张亚平院士委以第六课题组长之职。正是因为有了这两次机会,再加之受到了洪德元院士、陈宜瑜院士、朱作言院士、张亚平院士、马建章院士和旭日干院士的深切指导,才使我能够及时地针对我国濒危野生动物保护遗传学领域中的一些关键科学问题,作出前瞻性思考。

在本书研究样品的采集中,胡锦涛、冯文和、张和民、王鹏彦、李德生、张贵权、汤纯香、黄炎、郭健、李建国、张黎明、谢锋、欧维富、鲜方海、陈万里、李学兵、黄祥明、费立松、陈红卫、张志和、张坚、王万云、李绍昌、何光昕、李光汉、任建设、陈冠群、张万诚和丁朝武等先生,以及佛坪国家级自然保护区管理局、长青自然保护区管理局、卧龙国家级自然保护区管理局、卧龙中国保护大熊猫研究中心、唐家河国家级自然保护区管理局、宝兴国家级自然保护区管理局、白水江国家级自然保护区管理局、陕西省动物研究所、西安动物园、成都大熊猫繁育研究基地、成都动物园、北京动物园、重庆动物园、福州动物园、西华师范大学生命科学学院动物标本馆、四川大学动物标本馆、西南农业大学鱼类标本馆、四川农业大学动物标本馆、中国科学院成都生物研究所两栖爬行标本馆、西藏高原生物研究所标本室、成都市中级人民法院法庭科学研究所和成都市人民医院等单位,均给予了大力的支持和帮助,作者谨此致谢。

自2001年以来,葛云法实验师作为我的助手,一直承担着实验室的行政管理、日常运行与维护,以及研究生与访问学者的思想教育和生活安排等工作。正是由于他的出色表现,才使我能够将主要的精力用于本书科学问题的思考和实验方案与技术路线的设计等方面。在此,我对他所付出的辛勤劳动,表示由衷的感谢。

有智者,十年磨剑剑出鞘。然吾笨鸟慢飞者,抛砖也!鉴于此,作者由衷地期待同仁们有更好更多的作品不日问世,并携手推动我国野生动物保护遗传学学科的深层次发展。

最后,恳请诸位专家、学者、同行和读者对本书中缘于作者有限的水平而难免产生的错误,予以批评指正。

方盛国

2008年8月于浙江大学紫金港校区