



大熊猫演化保护生物学研究

魏辅文

中国科学院动物研究所动物生态与保护生物学重点实验室, 北京 100101

* 联系人, E-mail: weifw@ioz.ac.cn

收稿日期: 2018-06-06; 接受日期: 2018-06-08; 网络版发表日期: 2018-07-03

摘要 研究珍稀濒危动物的演化历史、濒危机制及适应性演化对策, 既是保护生物学的重大科学问题, 也是国家生态文明建设和生物多样性可持续发展的重大需求. 大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)是探讨物种濒危灭绝及适应性演化机制的理想模型. 本研究团队率先将种群基因组学和宏基因组学等新技术引入大熊猫研究中, 开拓了濒危动物种群基因组学与宏基因组学研究领域, 系统阐明了大熊猫的种群历史、濒危原因、适应性演化机制与演化潜力等科学问题. 以大熊猫为模型揭示了食性特化动物类群在食性转换和特化历程中如何在形态、行为、生理、遗传和肠道微生物等方面产生适应性演化的规律, 积极推动了国家大熊猫放归和栖息地廊道建设工程的实施.

关键词 大熊猫, 保护生物学, 濒危过程, 适应性演化, 食性特化

由于全球人口爆炸性增长、环境变化和资源过度利用, 当前物种灭绝的速率比历史背景灭绝率高100~1000倍, 可能面临第六次大灭绝^[1]. 物种丧失将导致生态系统结构改变和生态功能变化, 进而影响生态安全和资源安全, 威胁人类的福祉. 当前全球大约有1/5的脊椎动物处于濒危和易危状态, 而我国的形势则更加严峻, 约1/3的物种濒危和易危^[2]. 因此, 研究珍稀濒危动物的演化历史、濒危机制及适应性演化对策, 既是保护生物学研究领域的重大科学问题, 也是国家生态文明建设和生物多样性可持续发展的重大需求.

由于大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)独特的演化历史及生物学特性, 其已成为探讨物种濒危灭绝及适应性演化机制的理想模型. 本研究团队率先将种群基因组学和宏基因组学等新技术引入大熊猫研究中, 开

拓了濒危动物种群基因组学与宏基因组学研究领域, 系统阐明了大熊猫的种群历史、濒危原因、适应性演化机制与演化潜力等科学问题, 以大熊猫为模型揭示了食性特化动物类群在食性转换和特化历程中如何在形态、行为、生理、遗传和肠道微生物等方面产生适应性演化的规律, 主要进展概述如下.

1 阐明大熊猫濒危过程与原因, 发现其具较高的遗传多样性, 种群稳定增长

大熊猫经历了八百万年的演化历史, 其种群动态、濒危过程及成因却一直难以诠释. 通过采用第二代高通量测序技术和种群基因组学方法, 对来自六大山系的34只野生大熊猫进行全基因组重测序. 基于全

引用格式: 魏辅文. 大熊猫演化保护生物学研究. 中国科学: 生命科学, 2018, 48: 1048–1053

Wei F W. Evolutionary conservation biology of giant pandas (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2018, 48: 1048–1053, doi: 10.1360/N052018-00115

基因组水平的SNP标记分析结果显示, 现生大熊猫可分为3个遗传种群(秦岭、岷山和邛崃-相岭-凉山种群), 每个种群均具有较高的遗传多样性. 大熊猫“晶晶”基因组信息的PSMC分析重建了从始熊猫起源到大熊猫现生种的种群动态历史, 种群基因组数据分析则深入揭示了种群分歧历史. 分析发现大熊猫种群曾经历了两次扩张、两次瓶颈和两次分歧, 从而形成秦岭、岷山和邛崃-凉山-相岭3个现生大熊猫遗传种群. 大熊猫种群的两次扩张和两次收缩与古气候动荡密切相关, 表现为由冰期气候寒冷而导致的种群缩小甚至种群瓶颈, 而间冰期气候回暖为大熊猫种群扩张提供了有利条件, 而近三千年以来的人类活动则是导致大熊猫近期种群变化的主要因素. 独特的秦岭种群大约在30万年前开始分化, 与第四纪倒数第二个冰期的发生相一致, 而岷山和其他种群的分化大约在2800年前, 可能与人类活动相关. 该研究阐明第四纪气候变化是其种群波动和分化的主因, 特别是末次冰期及全新世以来人类活动致使其种群数量严重下降以至濒危, 揭示了大熊猫的濒危过程及原因. 在现存大熊猫种群中检测到了受自然选择的基因, 其中在秦岭和其他大熊猫种群之间, 两个苦味受体基因受到正选择作用, 可能与秦岭大熊猫取食更多的含苦味物质的竹叶有关^[3]. 该研究是濒危动物种群基因组学开创性工作, *Protein & Cell*特邀笔者撰写动物种群基因组学研究综述, 该综述重点介绍了基于全基因组和种群基因组数据重构种群历史与鉴定种群适应的选择信号的新思路新方法^[4].

大熊猫曾一度被认为因繁殖力弱、种群衰退、遗传多样性贫乏等内因而濒危. 通过创建大熊猫非损伤性遗传分析技术体系, 利用粪便DNA可准确识别大熊猫个体并用于种群数量调查. 该方法已在四川王朗大熊猫自然保护区种群数量调查中得到应用, 通过野外采集300多份大熊猫新鲜粪便, 应用9个大熊猫特异的微卫星引物, 对这些样品进行个体识别. 结果发现, 在王朗保护区范围遗传鉴定了66只野生大熊猫, 高于第三次全国大熊猫调查估计的27只, 说明传统调查方法低估了大熊猫种群数量, 野生大熊猫种群数量高于传统估计, 表明其野生种群数量正逐渐恢复^[5]. 基于来自六大山系的大规模野外样品(159只个体)的种群遗传学分析, 发现大熊猫具有较高的遗传多样性, 表明其仍具有较高的长期续存的演化潜力^[6].

从20世纪30年代到1988年近50年时间里, 由于受大规模竹子开花枯死、栖息地丧失以及猎捕等生态和人为事件的影响, 野生大熊猫种群数量急剧下降. 尤其是20世纪70年代在岷山山系和80年代在邛崃山系的大规模竹子开花枯死导致大熊猫死亡事件, 在当时引起全世界对大熊猫命运的关注, 并认为该种群数量下降将对其种群生存力造成严重影响. 以1988年“野生动物保护法”颁布实施和1988年最后一次大规模竹子开花为时间节点, 比较分析了1988年前后大熊猫历史种群(443个体)和现生种群(426个体)线粒体DNA和微卫星变异, 发现其遗传多样性和有效种群大小在历史和现生种群间没有显著变化, 说明现生大熊猫种群仍维持较高的遗传多样性, 它可通过调整觅食对策或长距离迁移以应对竹子开花. 但在模拟未来200年大熊猫遗传多样性变化趋势时显示, 如果其栖息地破碎化现状及隔离种群间有限的基因流得不到有效的改善, 其遗传多样性将在未来缓慢丧失, 会对大熊猫种群生存力产生不利影响^[7]. 近交风险是珍稀濒危动物面临的普遍问题, 通过长达10年的野外大熊猫繁殖行为观察, 结合非损伤性遗传学分析方法, 从繁殖对和幼仔的父母对角度直接评估了野生大熊猫的近交水平, 发现21.1%的繁殖对, 9.1%的父母对及7.7%的大熊猫幼仔具有中等水平的近交, 未发现高水平的近交; 近交避免假说检验发现, 偏雌的出生扩散模式驱动了大熊猫的近交避免, 配偶选择机制和繁殖扩散机制并没有发挥作用^[8].

上述非损伤性遗传分析技术体系突破了濒危动物种群数量调查及种群遗传学研究的技术瓶颈, 已成为第四次全国大熊猫调查及种群动态监测的重要方法, 被借鉴于其他濒危动物研究. 该技术体系极大地促进了野生大熊猫保护遗传学研究, 因此*Molecular Ecology*特邀笔者撰写关于大熊猫保护遗传学研究最新进展的综述^[9], 该综述总结了大熊猫的系统发生、动态历史、遗传变异、遗传结构、非损伤性种群数量调查及适应性演化等方面的研究进展.

2 揭示大熊猫对食性特化的适应性演化机制

大熊猫为食肉目动物, 却完全以低营养的竹子为生, 它在食性特化过程中产生了哪些适应? 系统研究

表明, 大熊猫已在形态、遗传、行为、生理和肠道微生物等多方面对竹子产生了一系列适应。

2.1 形态与遗传适应

大熊猫前掌演化出利于抓握竹子的伪拇指, 而同样特化以竹子为食的小熊猫也演化出相同的结构。而大熊猫和小熊猫属于食肉目不同的科: 大熊猫属于熊科, 而小熊猫属于鼬超科中的小熊猫科, 二者分歧已有4000多万年。因此伪拇指和食竹食性被誉为适应性演化和趋同演化的典型案例, 然而其趋同演化的遗传机制却一直未被揭示。笔者首次对小熊猫全基因组进行从头测序、组装和注释, 并通过补充测序对大熊猫基因组进行了重新组装, 组装质量比之前版本有了较大提升。基因组水平的系统发育分析显示, 大熊猫属于熊科, 而小熊猫属于鼬超科, 结果支持之前分子水平的分类结论, 且二者分歧时间可追溯到4750万年前。在全基因组测序的基础上, 采用比较基因组学方法从基因组水平进行了大熊猫和小熊猫趋同演化的分子机制解析。在全基因组水平鉴定了70个大、小熊猫适应性趋同的基因, 其中部分基因富集在纤毛组装、肢端发育、蛋白消化与吸收、视黄醇代谢等类别或通路, 与大、小熊猫伪拇指发育和对竹子中必需营养物质吸收利用密切相关, 其中参与细胞纤毛结构组装的肢端发育基因*DYNC2H1*和*PCNT*经历了适应性趋同, 是调控熊科伪拇指发育的关键候选基因; 发现多个适应性趋同基因可增强熊科从竹子中汲取必需氨基酸、必需脂肪酸和维生素等。全基因组水平的假基因化分析鉴定了10个大、小熊猫共有的假基因, 其中包含感知肉味的鲜味受体基因*TAS1R1*。*TAS1R1*在大、小熊猫中均发生了假基因化, 而其他食肉动物的该基因正常, 呈现了一个有趣的食性特化驱动的遗传趋同事件。进一步分析显示, 小熊猫*TAS1R1*基因发生假基因化的时间应该在小熊猫食性转换为杂食之后。该研究从代谢通路、蛋白趋同到假基因化等水平揭示了大、小熊猫伪拇指发育和必需营养物质利用的遗传学机制, 为适应性趋同演化分子机制的揭示提供了新例证^[10]。

2.2 生理适应

大熊猫如何以低能量的竹子为食以维持其能量需求? 基于双标水技术对野生和圈养大熊猫的能量代谢进行测定, 结果表明, 大熊猫的能量代谢率非常低, 低

到几乎与树懒(*Folivora*)相似。进一步分析发现, 大熊猫在长期演化过程中其形态、行为、生理、遗传和基因组均发生了适应性改变。大熊猫的耗能器官(如肝脏和肾脏等)相对缩小; 通过给野生大熊猫佩戴GPS颈圈, 发现野生大熊猫每天有超过1/2的时间在休息, 平均每小时的移动距离约20 m, 这样可以节省大量的能量。此外, 大熊猫用于调节能量代谢的甲状腺激素水平也相当低。分析发现在大熊猫基因组中一个调控甲状腺激素合成的关键基因(*DUOX2*)发生了突变, 这可能与大熊猫较低的甲状腺素水平相关。进一步研究发现, 大熊猫的毛皮很厚, 能够保持体内热量不易散失, 因此其体表温度很低。热成像测定显示, 大熊猫的体表温度与同样黑白相间的其他动物, 如斑马(*Equus quagga*)和斑点狗等相比要低得多。因此, 通过维持非常低的能量代谢, 大熊猫可采食高纤维低营养及低能量的竹子(*Bambusoideae*)而得以生存繁衍, 这可能是在长期演化中大熊猫对其食性特化(专食竹子)的一种适应^[11]。这是一项整合生物学研究的典型案例, 从形态、行为、生理和遗传等多层面系统揭示了大熊猫维持低能量代谢以适应竹子的机制, Wang^[12]对研究进行了评述。

2.3 肠道微生物适应

竹子是一种高纤维和低营养的食物, 已有研究表明, 大熊猫除消化竹子中90%以上的蛋白质和脂肪等营养物质外, 还能利用约8%的纤维素和27%的半纤维素。然而, 已公布的大熊猫全基因组未能发现大熊猫具有编码纤维素和半纤维素等消化酶的基因。因此, 大熊猫是如何消化利用竹子中纤维素与半纤维素等营养物质的, 一直是未解之谜。通过分析来自15只健康大熊猫新鲜粪便的肠道菌群的5000多条16S rRNA基因序列, 发现野生大熊猫肠道菌群的主要特点是具有高比例的梭菌纲物种, 其中梭菌类群 I 和 X IVa 是已知能消化纤维素的细菌类群; 并且, 基于3只野生大熊猫肠道菌群的宏基因组研究, 鉴定出了大部分来自梭菌属的纤维素酶、 β -葡萄糖苷酶、1,4- β -木糖苷酶以及1,4- β -木聚糖酶的相关编码基因。结果表明, 大熊猫可通过肠道微生物实现对竹子纤维素的消化, 揭示了纤维素消化机制^[13]。这是野生动物肠道微生物宏基因组学开创性的工作, *Trends in Microbiology*特邀笔者撰写Spotlight文章, 重点介绍大熊猫肠道微生物组研究进展^[14]。大熊猫

在不同季节会选择性觅食不同种的竹子和竹子的不同部位(竹笋、竹叶和竹茎). 对觅食的竹叶期、竹笋期及叶笋转换期的食物营养成分分析发现, 觅食竹叶期竹叶具有显著较高的纤维素、半纤维素含量, 而竹笋期竹笋具有显著较高的蛋白含量. 宏基因组分析发现, 纤维素、半纤维素含量较高的竹叶期, 部分比例较高的微生物基因与纤维素/半纤维素降解和细胞周期调控有关; 而蛋白含量较高的竹笋期, 部分比例较高的微生物基因与蛋白质合成及细菌与肠道互作有关, 说明大熊猫食物营养成分的季节性变化影响了其肠道微生物的结构与功能变化, 反映了大熊猫和肠道微生物协同演化的关系^[15].

2.4 行为适应

发现大熊猫在觅食对策、活动节律和栖息地利用等方面均产生了行为适应. 大熊猫通过大量觅食, 选择营养最优的竹子种类、营养最优的竹笋和新鲜竹叶及基径适中营养较好的竹茎, 从而最大限度地从食物中获取足够的营养和能量^[16]; 通过应用营养计量学, 测量了大熊猫4种主要食物的氮、磷、钙含量变化, 发现氮/磷/钙的营养平衡影响着大熊猫的季节性移动与觅食策略, 以尽可能地从竹子中均衡获取所需营养, 并降低能量消耗^[17]. 大熊猫巢域面积相对较小, 很少进行长距离移动, 每天用于休息的时间可占50%以上, 其活动节律可为其有效地节约能量消耗^[18]. 基于第三次全国大熊猫调查(1999–2003年)的生境利用数据, 采用信息论方法的景观水平分析发现, 除竹子这一必然因素外, 大熊猫更愿意选择生活在未经砍伐的或者未曾受到人类活动影响的原始林中^[19].

以上研究结果表明, 大熊猫的濒危主要是古气候变化和人类活动等外因所致, 它对竹子已产生一系列适应, 繁殖能力并未衰退, 种群稳定增长, 遗传多样性并非贫乏, 仍具演化潜力. 基于对大熊猫生态学、遗传学和演化生物学开展的长期系统的研究, *Molecular Biology and Evolution*特邀笔者撰写关于大熊猫演化保护生物学最新进展综述^[20], 该综述总结了形态学、生

态学、生理学和遗传学等方面的证据反驳了“大熊猫演化尽头”的论调, 论证了大熊猫并不是一个走到“演化死胡同”的孑遗物种, 大熊猫的濒危由自身以外的因素造成, 而人类应为其种群濒危负有不可推卸的责任.

3 揭示栖息地破碎化导致大熊猫孤立小种群崩溃的机制, 推动国家大熊猫放归和栖息地廊道建设工程的实施

基于大、小相岭53只大熊猫个体的景观遗传学分析发现, 大渡河导致小相岭与大相岭种群发生显著遗传分化, 小相岭种群被108国道分割为2个亚种群, 大河与公路严重阻碍了大熊猫的迁移扩散与种群间的基因流, 促使孤立小种群间产生显著的遗传分化^[21]. 基于卫星数据的贝叶斯溯祖分析发现, 小相岭种群于大约250年前开始经历严重的种群下降, 下降幅度达60倍, 最可能由于清朝时期人口爆发和外来作物的引入导致人类活动急剧增加所致^[22]. 进一步预测, 如果小相岭种群生存环境继续保持现状, 在不久的将来该种群发生灭绝的概率很高, 建议实施大熊猫放归和栖息地廊道建设工程以拯救孤立小种群. 国家已在小相岭实施“泸欣”等熊猫的放归和大相岭“泥巴山”廊道的建设工程, 被*Science*评论为“野生大熊猫的希望”^[23]. 最新研究发现, 3只放归在小相岭山系的大熊猫的活动模式与野生大熊猫相似, 其中一只野生来源的放归个体“泸欣”已成功产仔育幼; 放归个体的加入给当地野生种群引入了新的遗传基因^[24].

根据大熊猫保护生物学研究及大熊猫保护成效, 2016年世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)将大熊猫从“濒危”降为“易危”等级^[25], 标志中国大熊猫保护为世界生物多样性保护树立了成功的范例. 但大熊猫的受威胁程度降至易危并不说明大熊猫保护的等级要降低, 如果接下来的保护工作做不好, 大熊猫的生存状况有可能重回“濒危”等级.

参考文献

- 1 Barnosky A D, Matzke N, Tomiya S, et al. Has the Earth's sixth mass extinction already arrived? *Nature*, 2010, 471: 51–57
- 2 Hoffmann M, Hilton-Taylor C, Angulo A, et al. The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, 2010, 330: 1503–

1509

- 3 Zhao S, Zheng P, Dong S, et al. Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nat Genet*, 2013, 45: 67–71
- 4 Wu Q, Zheng P, Hu Y, et al. Genome-scale analysis of demographic history and adaptive selection. *Protein Cell*, 2014, 5: 99–112
- 5 Zhan X, Li M, Zhang Z, et al. Molecular censusing doubles giant panda population estimate in a key nature reserve. *Curr Biol*, 2006, 16: R451–R452
- 6 Zhang B W, Li M, Zhang Z J, et al. Genetic viability and population history of the giant panda, putting an end to the “Evolutionary Dead End”? *Mol Biol Evol*, 2007, 24: 1801–1810
- 7 Zhu L F, Hu Y B, Qi D W, et al. 2013. Genetic consequences of historical anthropogenic and ecological events on giant pandas. *Ecology*, 2013, 94: 2346–2357
- 8 Hu Y, Nie Y, Wei W, et al. Inbreeding and inbreeding avoidance in wild giant pandas. *Mol Ecol*, 2017, 26: 5793–5806
- 9 Wei F, Hu Y, Zhu L, et al. Black and white and read all over: the past, present and future of giant panda genetics. *Mol Ecol*, 2012, 21: 5660–5674
- 10 Hu Y, Wu Q, Ma S, et al. Comparative genomics reveals convergent evolution between the bamboo-eating giant and red pandas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114: 1081–1086
- 11 Nie Y, Speakman J R, Wu Q, et al. Exceptionally low daily energy expenditure in the bamboo-eating giant panda. *Science*, 2015, 349: 171–174
- 12 Wang D H. Low daily energy expenditure enables giant pandas to survive on bamboo. *Sci China Life Sci*, 2015, 58: 925–926
- 13 Zhu L, Wu Q, Dai J, et al. Evidence of cellulose metabolism by the giant panda gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 17714–17719
- 14 Wei F, Wang X, Wu Q. The giant panda gut microbiome. *Trends microbiol*, 2015, 23: 450–452
- 15 Wu Q, Wang X, Ding Y, et al. Seasonal variation in nutrient utilization shapes gut microbiome structure and function in wild giant pandas. *Proc R Soc B*, 2017, 284: 20170955
- 16 Wei F W, Feng Z J, Wang Z W, et al. Feeding strategy and resource partitioning between giant and red pandas. *Mammalia*, 1999, 63: 417–430
- 17 Nie Y G, Zhang Z J, Raubenheimer D, et al. Obligate herbivory in an ancestrally carnivorous lineage: the giant panda and bamboo from the perspective of nutritional geometry. *Funct Ecol*, 2015, 29: 26–34
- 18 Zhang Z J, Sheppard J K, Swaisgood R R, et al. Ecological scale and seasonal heterogeneity in the spatial behaviors of giant pandas. *Integr Zool*, 2014, 9: 47–61
- 19 Zhang Z, Swaisgood R R, Zhang S, et al. Old-growth forest is what giant pandas really need. *Biol Lett*, 2011, 7: 403–406
- 20 Wei F, Hu Y, Yan L, et al. Giant pandas are not an evolutionary cul-de-sac: evidence from multidisciplinary research. *Mol Biol Evol*, 2015, 32: 4–12
- 21 Zhu L, Zhang S, Gu X, et al. Significant genetic boundaries and spatial dynamics of giant pandas occupying fragmented habitat across southwest China. *Mol Ecol*, 2011, 20: 1122–1132
- 22 Zhu L, Zhan X, Wu H, et al. Conservation implications of drastic reductions in the smallest and most isolated populations of giant pandas. *Conserv Biol*, 2010, 24: 1299–1306
- 23 Schenkman L. Hope for wild pandas. *Science*, 2010, 328: 553
- 24 Yang Z, Gu X, Nie Y, et al. Reintroduction of the giant panda into the wild: a good start suggests a bright future. *Biol Conserv*, 2018, 217: 181–186
- 25 Swaisgood R R, Wang D, Wei F. Panda downlisted but not out of the woods. *Conserv Lett*, 2018, 11: e12355

Evolutionary conservation biology of giant pandas

WEI FuWen

CAS Key Lab of Animal Ecology and Conservation Biology, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101, China

The evolutionary history, endangered mechanism and adaptive evolution of endangered species are not only the key research focuses of conservation biology, but also the important scientific bases for national ecological civilization construction and sustainable biodiversity conservation. The giant panda is an ideal model for studying animal endangered mechanism and adaptive evolution. Using the giant panda as the study object, we pioneered the field of population genomics and metagenomics for endangered wild animals. Our recent studies clarified the demographic history, endangered causes, and evolutionary potential of giant pandas, and revealed the morphological, behavioral, physiological, genetic and gut microbiota adaptations to specialized bamboo diet in giant pandas. Our findings facilitate the implementation of national projects for giant panda reintroduction and habitat corridor construction.

giant panda, conservation biology, endangered process, adaptive evolution, diet specialization

doi: [10.1360/N052018-00115](https://doi.org/10.1360/N052018-00115)