



古基因组学在探究大熊猫群体动态变化和适应性演化方面的应用及其潜力展望

李可欣^{1,3}, 陈泽慧^{1,2,3*}, 付巧妹^{1,2,3*}

1. 中国科学院古脊椎动物与古人类研究所, 脊椎动物演化与人类起源重点实验室, 北京 100044

2. 旧石器时代人类演化与遗传国家文物局重点科研基地, 北京 100044

3. 中国科学院大学地球与行星科学学院, 北京 100049

* 通讯作者, E-mail: fuqiaomei@ivpp.ac.cn(付巧妹), chenzehui@ivpp.ac.cn(陈泽慧)

收稿日期: 2024-11-16; 收修改稿日期: 2025-05-14; 接受日期: 2025-05-20; 网络版发表日期: 2025-06-12

国家自然科学基金项目(32100489、41925009、42262001、42102001)资助

摘要 大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)是中国特有的珍稀物种,也是全球生物多样性保护的旗舰物种,探明其演化历史对于保护工作具有重要意义。然而,目前对于大熊猫的群体动态变化及其适应性演化的认识仍存在不足,而古基因组学研究,因其具有广泛的时间和地理跨度,为解决这些科学问题提供了全新视角。基于此,论文对大熊猫演化相关的三个核心科学问题展开讨论。首先,系统梳理了从晚中新世到全新世时期大熊猫化石数据和相应研究进展,揭示出气候及人为因素对大熊猫的群体动态变化的影响。其中,气候变化是更新世期间种群波动的主要驱动因素,导致了两次种群扩张和种群瓶颈事件;而人类活动则在全新世时期大熊猫种群分化及亚群动态变化的过程中起到了重要作用。其次,阐述了大熊猫在近乎专食竹子的特化食性方面的适应过程,在形态、遗传和肠道微生物组成等方面都经历了长期的适应性演化,进而形成了独特的适应性特征。最后,探讨了古基因组学研究在深入解析大熊猫群体历史及适应性演化过程的潜力和重要性。同时,以陕西霸陵及湖南里耶八面山的大熊猫化石为例,展示了古基因组学在物种及个体鉴定中的应用前景。

关键词 大熊猫, 古基因组, 群体动态变化, 适应性演化, 种属及个体鉴定

1 引言

大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)属食肉目熊科,其祖先始熊猫生活在晚中新世(距今约700~800万年)的云南地区(Flynn和Qi, 1982; 邱占祥和祁国琴, 1989)。在长期的演化历史中,由于气候环境剧变与人类活动的双重影响,大熊猫的种群数量与栖息地范围均经历了

显著波动,导致现存大熊猫面临着种群数量始终偏少、栖息地范围严重收缩且碎片化等多重生存危机(唐小平等, 2015)。然而,古代大熊猫群体动态变化的遗传效应仍未明确。此外,由于其特化的食性,大熊猫演化出了多方面适应性特征,如用于取食的“伪拇指”结构等(Pocock, 1939; Salesa等, 2006)。尽管已有研究揭示出部分特征背后的分子机制(Zhao等, 2010; Hu等,

中文引用格式: 李可欣, 陈泽慧, 付巧妹. 2025. 古基因组学在探究大熊猫群体动态变化和适应性演化方面的应用及其潜力展望. 中国科学: 地球科学, 55(7): 2111–2122, doi: 10.1360/SSTe-2024-0320

英文引用格式: Li K, Chen Z, Fu Q. 2025. The applications and potential prospects of paleogenomics in investigating the demographic changes and adaptive evolution of the giant panda. Science China Earth Sciences, 68(7): 2061–2072, <https://doi.org/10.1007/s11430-024-1598-x>

2017), 仍需进一步分析以全面解析大熊猫适应性演化的表现及遗传机制. 不仅如此, 大熊猫完成食性转换的时间节点、古今大熊猫的表型差异等科学问题, 也亟待通过古基因组学研究加以解答. 因此, 论文将总结现有古生物学与基因组学等多方面研究进展(图1), 介绍大熊猫群体动态变化及影响因素, 梳理大熊猫适应性特征的演化过程, 讨论古基因组学研究在深入探究大熊猫群体历史和适应性演化过程的潜力及用于种属及个体鉴定的可行性, 并将古基因组学分析方法应用于霸陵及里耶八面山的大熊猫化石材料的种属及个体鉴定.

2 气候和人为因素介导的大熊猫历史分布和群体动态变化

作为华南地区更新世时期代表性哺乳动物群——“大熊猫-剑齿象动物群”的重要成员, 大熊猫曾广泛分布在中国南方各省份, 甚至在缅甸、越南、泰国和老挝等东南亚地区也有记录(图2; Woodward, 1915; 裴文中, 1980; Bacon等, 2015, 2018; Suraprasit等, 2021). 然而, 现存大熊猫的栖息地范围仅局限于陕西、四川和甘肃三省境内的秦岭、岷山、邛崃山、凉山、大相岭和小相岭六条山脉中, 并且被分割为33个相对独立的小种群(唐小平等, 2015). 系统整理已发表大熊猫化石文献记录(见网络版附表S1, <http://earthcn.scichina.com>)发现, 大熊猫自更新世以来长期具有广泛的地理分布, 然而其现今栖息地范围较过去大幅缩减(图2). 通过重建大熊猫群体历史动态变化过程, 有助于探究其种群分布范围骤缩的原因, 对了解大熊猫的演化历史具有重要意义.

现存大熊猫基因组学研究揭示出更新世时期气候变化对大熊猫群体动态变化产生显著影响(Zhao等, 2013). 根据现有化石记录, 大熊猫起源于晚中新世中国西南部的始熊猫属(*Ailurarctos*), 距今约700~800万年, 被认为是大熊猫属(*Ailuropoda*)的最早祖先(Flynn和Qi, 1982; 邱占祥和祁国琴, 1989; Jin等, 2007). 此后大熊猫属在华南地区连续演化(江左其果等, 2023), 依据时间序列可建立为“小种大熊猫-武陵山大熊猫-巴氏大熊猫-大熊猫现生种”的连续谱系演化过程(王将克, 1974; 李涛等, 2004). 在这一长期演化过程中, 大熊猫的有效群体大小曾出现显著波动, 经历了两次种

群扩张、两次种群瓶颈事件, 均与地质历史时期的气候特征相关(图3; Zhao等, 2013). 早更新世时中国南方的气候相对稳定, 整体上处于温暖潮湿的环境(Huang等, 2017), 有利于竹林规模的扩大. 化石证据表明, 此时大熊猫已经具有食素的习性, 并且它们的取食效率也在不断提高(Jin等, 2007; Jiangzuo等, 2024a), 使得大熊猫有效群体大小呈现上升趋势, 在距今约100万年出现第一次种群扩张. 然而, 在距今约70万年, 大熊猫有效群体大小开始下降, 并在距今约20万年出现首次种群瓶颈事件, 该过程与深海氧同位素阶段16~18(MIS 16~18; 距今约62~78万年)及深海氧同位素阶段6~8(MIS 6~8; 距今约13~30万年)的时间吻合(赵井东等, 2011). 随后大熊猫的有效群体大小逐渐增加, 在距今约3~5万年第二次达到顶峰, 此时的温暖气候为大熊猫种群扩张及竹林规模扩大提供了有利条件(赵井东等, 2011). 第二次种群瓶颈事件出现在距今约2万年的末次冰盛期(Last Glacial Maximum, LGM)时, 寒冷气候导致适宜大熊猫栖息的生境范围急剧缩小, 伴随大熊猫种群数量急剧下降(赵井东等, 2011).

全新世以来, 人类活动逐渐替代气候变化成为塑造现存大熊猫内部群体结构及影响不同种群群体历史动态的关键因素(Zhao等, 2013; Guang等, 2021; Lan等, 2024). 大熊猫现生种(*Ailuropoda melanoleuca*)根据表型与遗传差异可以分为秦岭亚种(*Ailuropoda melanoleuca qinlingensis*)与四川亚种(*Ailuropoda melanoleuca melanoleuca*)(Wan等, 2003, 2005), 二者在距今约12,000~7,000年完全分离, 可能与新仙女木事件时期气温骤冷导致大熊猫栖息地受到影响有关(Guang等, 2021). 四川亚种内进一步分化出了岷山种群(MIN)、凉山种群(LS)和邛崃-相岭(QX)种群, 其中凉山种群在距今约11,000~6,000年最先分化, 最终在距今约6000~3,000年形成了现今的遗传结构. 在岷山种群内部还存在更为复杂的亚群体结构(Zhao等, 2013; Guang等, 2021; Lan等, 2024). 四川亚种的分化受到地理隔离与人类活动的双重影响. 一方面, 岷江构成了岷山种群与非岷山种群之间的天然地理屏障; 另一方面, 古蜀先民可能长期在岷江流域活动, 二者共同作用下形成了四川亚种内部的遗传结构(Zhao等, 2013). 各个大熊猫种群在分化后经历了不同的种群历史, 即秦岭种群的有效群体大小持续下降, 非秦岭种群则稍有恢复(图3). 秦岭种群衰退可能与当地长期作为先民定居

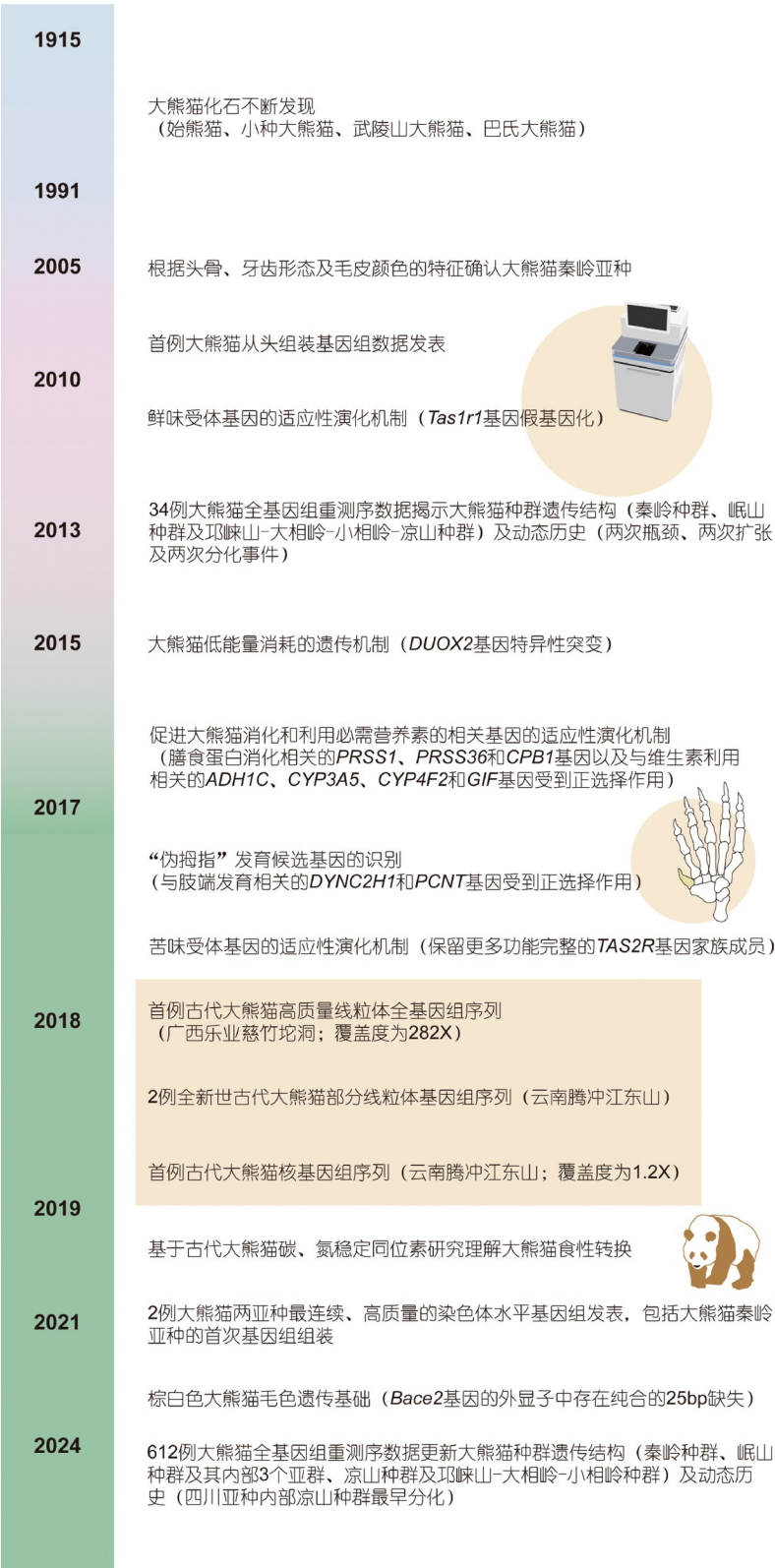


图 1 古今大熊猫研究脉络总结

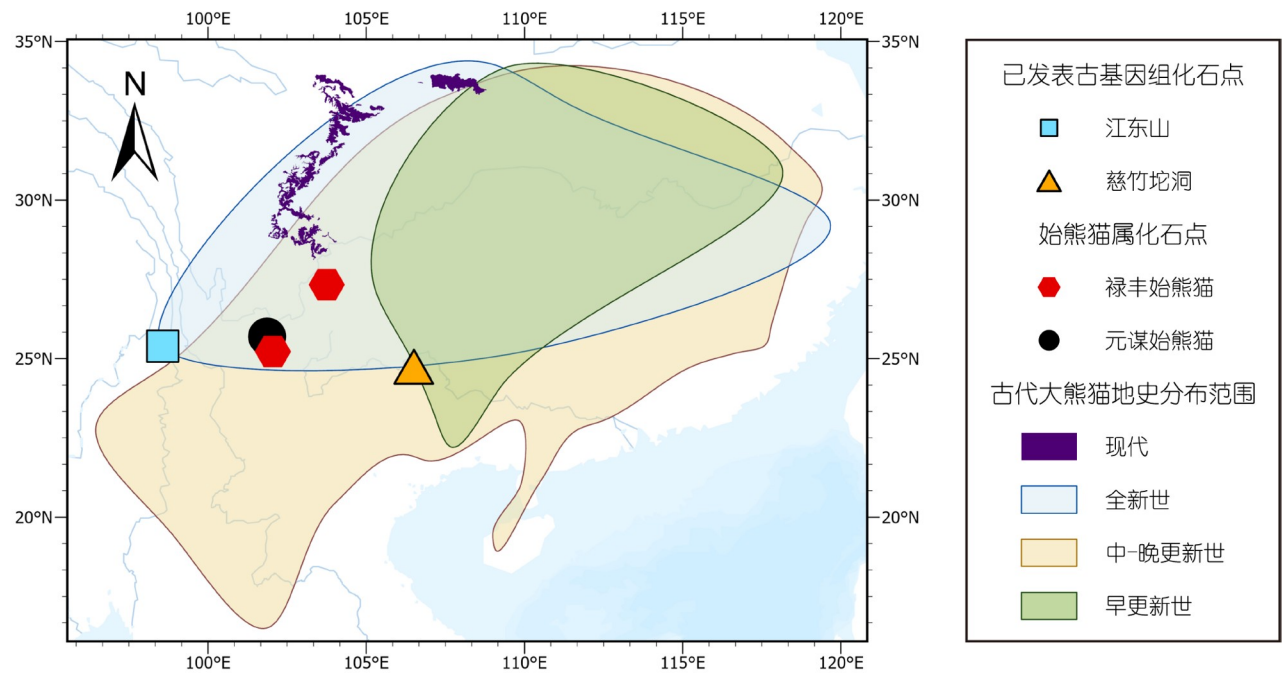


图 2 大熊猫地史分布范围

不同地质年代大熊猫地史分布范围变化(详见附表; 较此前的分布范围排除了周口店1号地点, 依据Jiangzuo等(2018); 现代大熊猫分布范围依据Wang(2016))及已获得古基因组数据的大熊猫样本分布及测年信息(依据Ko等(2018)和Sheng等(2018))

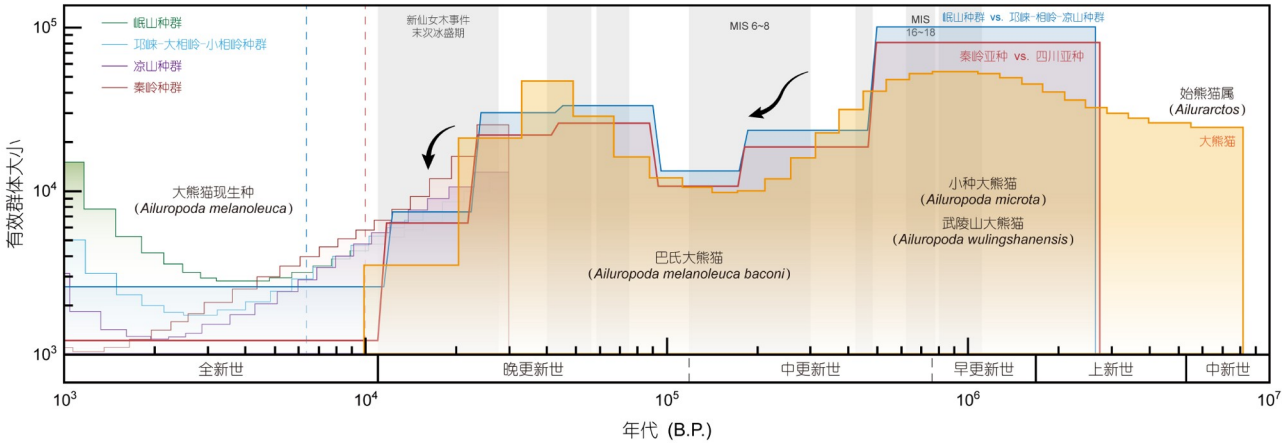


图 3 大熊猫群体历史

大熊猫群体历史动态变化示意图(依据Zhao等(2013)、Guang等(2021)、Lan等(2024)), 灰色阴影部分代表气候寒冷时期(依据赵井东等(2011))

的中心区域有关, 农业活动使得周边森林被持续开垦, 导致大熊猫栖息地逐渐丧失(Ren, 2000). 而尽管非秦岭种群有所恢复, 近300年来人为因素(如耕地开垦等)显著加剧了大熊猫栖息地丧失与破碎化程度, 使它们在其历史分布范围内局部灭绝(朱立峰等, 2013).

然而, 基于野外调查以及遗传标记等方式表明, 气

候环境与人类活动并未对现存野外大熊猫的进化潜力产生显著的负面效果. 现存大熊猫的种群数量长期以来始终维持在小种群水平, 其栖息地严重碎片化, 还呈现出食性特化、繁殖率低等特征. 因此, 部分学者认为它们已经表现出开始衰亡或即将绝灭的现象(裴文中, 1965; Zhang等, 2002; 唐小平等, 2015). 然而, 不

同遗传标记对现存大熊猫的遗传多样性水平调查的结果显示, 相比于其他濒危食肉目物种及人类, 现存大熊猫的遗传多样性水平并非较低, 而属于中-高水平(Wei等, 2015).

由此可见, 更新世期间气候变化是大熊猫长期演化过程中影响群体动态历史的最主要原因, 推动了群体分化、扩张和瓶颈事件的发生; 而全新世以来, 人类活动的影响导致大熊猫内部种群分化, 并使各种群在分化后经历了不同的种群历史. 然而, 现存大熊猫基因组数据的时间分辨率在重建长时间尺度下的群体动态变化过程中具有一定的局限性, 可能会掩盖重要演化事件, 因而无法全面反映大熊猫的群体历史. 此外, 尽管现存大熊猫保有适度的遗传多样性水平, 但在不同种群间的变化仍有待进一步探索, 尤其是与末次冰盛期前后或人类活动显著影响前的古代群体比较时. 古基因组数据凭借其具有独特的时空优势, 不仅能够还原大熊猫的群体动态提供有力工具, 还可为对比不同时期大熊猫的遗传多样性水平提供基准参照, 从而成为评估气候变化或人类活动对大熊猫进化潜力的影响方式及程度的有效手段.

3 大熊猫的适应性特征演化

大熊猫形态特征的适应性演化是一个渐变的过程, 主要表现在其牙齿、头骨及“伪拇指”这三方面. 牙齿结构的变化包括前臼齿附尖与臼齿舌侧附尖发育、臼齿咀嚼面结节增多等, 说明大熊猫的牙齿逐渐向碾压、研磨的功能发展(黄万波, 1993; 李涛等, 2004). Hu等(2022)总结了大熊猫头骨形态的演化趋势, 主要表现为与咀嚼功能相关特征的增强, 如颞窝扩大、矢状嵴更发达等. 此外, 大熊猫还演化出了“伪拇指”——即增大的桡侧籽骨, 可以使它们在进食的时候能够紧紧抓住竹竿(Pocock, 1939; Salesa等, 2006). 早期的“伪拇指”仅表现为伸长的特征, 后期出现了外侧扁平(便于行走)、内侧弯曲(增强抓握)的末端弯钩以及末端的轻微缩短, 最终演化为现生大熊猫“伪拇指”的形态(Wang等, 2022).

大熊猫食性转换的适应性演化不仅表现在“伪拇指”等形态特征, 在分子水平上也有所体现. 例如, 与肢端发育相关的*DYNC2H1*和*PCNT*基因编码的蛋白质在现存大熊猫中出现氨基酸替换并受到正选择, 可能是

“伪拇指”发育的重要候选基因, 揭示了该结构的遗传基础(Hu等, 2017). 食性转换使大熊猫的鲜味受体基因*TAS1R1*假基因化, 导致它们失去了感知肉类鲜味的能力(Zhao等, 2010). 不仅如此, 相比于多数食肉动物, 大熊猫保留了更多的功能完整的*TAS2R*基因家族成员来感受竹子中的苦味物质(Shan等, 2018). 为了获得足够的营养物质, 大熊猫基因组中许多与促进大熊猫消化和利用竹子中必需营养素相关的基因(如与膳食蛋白消化相关的*PRSS1*、*PRSS36*和*CPB1*基因; 与维生素利用相关的*ADH1C*、*CYP3A5*、*CYP4F2*和*GIF*基因)受到了正选择(Hu等, 2017). 与此同时, 大熊猫还会尽可能减少其日常活动过程中的能量消耗. 例如, 相较于其他哺乳动物, 大熊猫部分高代谢器官的尺寸相对于其体型显著更小(Nie等, 2015), 可能与Hippo信号通路中的部分基因的特异性突变和基因调控元件的变化有关(Guang等, 2021). Nie等(2015)还发现在大熊猫基因组中与甲状腺激素合成相关的*DUOX2*基因出现了特异性突变, 使其调控的甲状腺激素水平及能量代谢水平较低.

由于大熊猫保留着类似于食肉动物的消化系统(Schaller等, 1985), 其肠道微生物也在组成和功能上对其特化的食性进行了适应. 研究结果表明, 大熊猫肠道微生物群落中能编码纤维素酶(Zhu等, 2011)、半纤维素酶(Zhang等, 2018)的基因丰度较低, 其表达水平也较低, 说明大熊猫并不能从中高效获取额外能量(Guo等, 2018; Deng等, 2023). 相反, 从肠道微生物群落中鉴定出高丰度及高表达的非解乳糖乳链球菌(*Streptococcus alactolyticus*), 它有助于动物必需氨基酸的合成, 揭示出大熊猫肠道微生物可能更多地参与蛋白质代谢以适应于其食性(Deng等, 2023).

大熊猫的食性转换经历了长期的适应过程. 化石证据表明, 该过程在距今约600~700万年就已经开始. 在云南昭通水塘坝晚中新世遗址发现的始熊猫(*Ailuroides* cf. *A. lufengensis*)具有目前最早的“伪拇指”结构, 意味着此时大熊猫已经拥有可以抓握竹子的能力, 说明它们取食竹子这一行为的起源时间可前推至距今约600~700万年(Wang等, 2022). 此外, 始熊猫还出现了用于压碎食物的齿列, 标志着其颅骨和下颌结构开始向适应于咀嚼的方向演化(Jin等, 2007). 在后续的演化过程中, 大熊猫不断适应于食竹的食性, 逐渐提高了它们利用竹子的效率. 一方面, 大熊猫的牙齿形态随时间的推移表现出在切割、研磨能力上的增强(Jiangzuo等,

2024b); 另一方面, 大熊猫对肉类的依赖性降低, 因此鲜味感知功能对它们来说并不重要, 导致 *TAS1R1* 基因在距今约420万年假基因化, 进一步加强了它们对食素的偏好(Zhao等, 2010)。

然而, 目前对于它们完成食性转换的时间仍存在不同的观点。基于对古代大熊猫形态特征的观察, 早更新世时大熊猫就已经具有专食竹子的食性。通过与现生种白齿的构造进行对比, 普遍认为生存于更新世早期的小种大熊猫(*Ailuropoda microta*)已经以食竹叶和嫩竹枝为生(裴文中, 1974)。Jin等(2007)在广西乐业金银洞发现了首个小种大熊猫完整头骨, 其牙齿、颅骨及下颌均表现出能够用于碾压、研磨坚硬的高纤维食物的特征, 即在距今约200万年, 小种大熊猫可能已经对竹子产生依赖, 进一步支持了此前的结论。Jiang-zuo等(2024b)发现大熊猫牙齿轮廓存在较大的种内变异以及较小的种间差异, 且早更新世时大熊猫的牙齿已具有较为稳定的形态及功能, 说明此时的小种大熊猫可能已经以食竹为主, 与一些稳定同位素分析得到的结果(Stacklyn等, 2017; Sun等, 2019)较为一致。不过也有研究认为古代大熊猫直到全新世中期才专门以竹子为食。Han等(2019)测定了全新世中期的古代大熊猫牙齿及骨胶原中C、N同位素比值, 发现相比于现存大熊猫, 古代大熊猫的食性更为复杂, 可能并不以竹子作为主要食物来源, 而会摄取大量其他食物。换言之, 古代大熊猫直至全新世中期仍未完全演化出现存大熊猫的特殊食性。

综上所述, 在大熊猫的长期演化过程中, 食性转换使它们在形态、遗传及肠道微生物组等方面表现出了一系列适应性特征。尽管如此, 由于这一过程可以追溯到距今约600~700万年, 可能存在仍未被充分认识的适应性特征或遗传机制, 对于大熊猫完成食性转换时间的争议也有待进一步讨论, 尤其是针对后者目前仍未有相关基因组学研究工作发表。因此, 除了补充更多长时空范围的化石、基因组学及稳定同位素研究外, 深入分析同时具有时间、地空、遗传信息的大熊猫古基因组数据, 有望为解决上述问题提供新的证据。

4 大熊猫古基因组学研究现状及未来潜在的延展应用

大熊猫的群体动态及适应性演化机制是进化生物

学、遗传学领域的热点和难点问题, 古基因组学是研究上述问题的关键途径。一方面, 得益于古DNA捕获新技术的出现与测序技术的进步, 古基因组数据的获取较好地克服了此前面临的诸多问题, 使获得大量来源不同、时间久、保存环境差的古基因组数据成为可能(Dabney等, 2013; Fu等, 2013; Yang等, 2020; Zhang等, 2020; Zhang等, 2021)。另一方面, 中国南方地区具有丰富的大熊猫化石材料, 近年来不断有新的大熊猫化石点被发现, 并且常有从单个洞穴挖掘出大量保存完好的化石材料的情况, 为大熊猫古基因组学研究奠定了可靠的基础(邹松林等, 2016; 高占冬等, 2016; 张贝等, 2017; 王德远等, 2021)。

开展古基因组学研究能够探明古代大熊猫系统演化关系及群体历史动态。相较于现存大熊猫, 古代大熊猫的系统发育地位更为复杂。Ko等(2018)应用古DNA杂交捕获技术, 基于大熊猫线粒体DNA参考序列(Genbank序列号: NC_009492.1), 设计了专用于大熊猫线粒体基因组富集的生物素化探针, 成功从广西乐业慈竹坨洞中距今约2.2万年(^{14}C 校正年龄为21910~21495B.P.)的古代大熊猫个体中获取首个高质量线粒体全基因组序列(覆盖度为基因组的282倍)。该研究中首次报道的慈竹坨大熊猫代表了一支已绝灭, 且在距今约18.3万年与现存大熊猫分化的独特遗传谱系, 该谱系经历了与现存大熊猫不同的演化历史, 为后续从母系遗传角度开展大熊猫及其他濒危或灭绝物种的古基因组学研究提供了标准范例。同时期, Sheng等(2018)通过对云南腾冲江东山小水井落水洞中两个全新世古代大熊猫个体(^{14}C 校正年龄分别为(5025±35)B.P.和(8470±25)B.P.)线粒体基因组中的部分序列(包括完整的*cytb*和12S rRNA基因以及部分16S rRNA、*ND1*基因和控制区片段)进行研究, 发现距今约8000年的古代个体所代表的单倍型为较现存大熊猫更早分化的独特单倍型, 而距今约5000年的古代个体所代表的单倍型则与现存大熊猫聚在一起。Barlow等(2019)整合已发表的线粒体古基因组进行综述, 探讨了3个古代大熊猫个体所代表的群体间的遗传联系。研究发现, 距今约5000年的江东山大熊猫位于现存大熊猫群体内部, 而慈竹坨大熊猫与距今约8000年的江东山大熊猫构成了一支与所有现存大熊猫及距今约5000年的古代个体分开的单系分支。Sheng等(2019)从此前已发表的距今约5000年的云南个体中获得了首个古代大熊猫核基因组数据

(覆盖度为基因组的1.2倍),发现该个体代表了现存大熊猫种群多样化前就已经与它们分离的古代群体.上述结果表明,在大熊猫演化历史中,至少存在一支已灭绝的独特遗传谱系,展现出古基因组学研究在解析以大熊猫为代表的濒危或灭绝哺乳动物演化历史中不可替代的优势.通过获取古代样本的基因组数据,结合多种群体遗传学分析方法,不仅可以识别已灭绝谱系,还能够重建时间校准的物种群体历史动态.例如,使用ADMIXTOOLS软件包(Patterson等, 2012)中各模块分别计算 f_3 、 D 统计量或 $qpAdm$ 、 $qpWave$ 、 $qpGraph$ 等统计方法以检测基因流动事件、祖先混合比例、方向等;而MSMC2(Schiffels和Durbin, 2014)、SMC++(Terhorst等, 2017)等方法能够通过多样本基因组数据估算有效群体大小随时间的动态变化,识别出演化历史中的种群扩张或瓶颈事件.可预见的是,随着古基因组数据数量及质量的不断提升,基于系统发育分析、群体历史推断、基因流分析等方法,或将揭示不同濒危或灭绝哺乳动物的演化历史,以及其中演化事件的关键驱动因素.目前关于真猛犸象(Dehasque等, 2024)、原始牛(Rossi等, 2024)等物种的研究已初显古基因组学在研究灭绝动物群体历史和结构的优势和潜力.

另外,古基因组学研究在探究大熊猫表型-基因型适应性演化机制方面同样具有潜在价值.已有研究利用古基因组数据阐明了哺乳动物对环境的适应以及适应性演化的遗传基础(Lynch等, 2015; Boeskorov等, 2016; Smith等, 2017; van der Valk等, 2021; Díez-del-Molino等, 2023).相关研究常通过重建目标物种的古基因组数据并将其与其现生近缘物种基因组数据进行比较,筛选出在其基因组中固定的特有非同义突变.随后,进一步挑选位于基因区域内的变异,通过SIFT(Ng和Henikoff, 2003)、PROVEAN(Choi等, 2012)等方法评估在这些基因中氨基酸改变对相应蛋白质功能的影响程度以定位候选基因.此外,还可以直接扫描基因组中可能受到正选择的区域,例如PAML软件(Yang, 2007)能够基于非同义突变率与同义突变率的比值判断物种间特定基因组区域受到的选择压力.在此基础上,利用GO、KEGG等公共数据库或已发表文献对涉及的受选择基因进行功能注释,并借助DAVID(Sherman等, 2022)、GOrilla(Eden等, 2009)等富集分析工具,通过统计学方法识别出显著富集的功能类别,从而讨论与适应性演化相关的分子机制.然而,相关方

法尚未在大熊猫适应性演化的作用机制及动态变化的研究中得到应用.大熊猫的适应性演化主要表现在从形态、遗传等多方面对于其特化食性的适应,但目前对这些适应性特征的起源仍不明确,这些适应性特征是否在古代大熊猫中也有所体现?是否存在仅发现于古代大熊猫谱系、现已丢失的适应性特征?另外,此前研究指出,现存大熊猫可能保有古代群体的遗传成分,但该遗传成分对现存大熊猫群体的贡献及其意义仍然是未知的(Sheng等, 2019).上述问题亟待通过古基因组学研究解答.相较于基于化石证据的古生物学研究和基于现生基因组数据的遗传学研究,古基因组学研究不但能够揭示形态及生理等各方面的适应性特征及其遗传基础,而且引入了时间信息,因而能够探究适应性演化过程的动态及模式,包括关键表型特征的演化时间节点、演化速率及相关基因的作用方式等,搭建出时间维度下基因型-分子功能-表型特征的多层级演化框架.因此,古基因组研究不仅能够增进目前对大熊猫适应性演化过程的认知,还具备广泛应用于其他哺乳动物的相关研究的潜力,例如生活在寒冷或高海拔等极端环境下物种的适应(如真猛犸象表现出在毛发与皮肤发育、脂肪储存与代谢、免疫应答等形态及生理方面对寒冷环境的适应),以全面理解在不同环境压力的作用下物种的分子响应机制(Díez-del-Molino等, 2023).

作为连接化石材料形态特征与遗传信息的桥梁,应用古基因组学分析方法能够为大熊猫化石鉴定提供可靠属种信息并阐明其个体来源.在古基因组学得以快速发展之前,对于考古遗址或化石点中发现的古代生物遗骸鉴定多采用形态对比的方法.然而,如果化石保存质量较差,关键形态特征的缺失会导致化石材料的物种无法识别;此外,如果不同物种间形态差异程度较小,或者单一物种具有高水平种内形态变异,同样可能混淆化石材料的种属信息.不仅如此,依据形态特征进行准确的个体鉴定更是充满挑战.能否从大量古代样本中明确属种甚至个体信息,很大程度上取决于化石材料的发现和保藏状况.例如,如果在化石地点仅发现大熊猫不同类型的零散缺失或者碎裂的牙齿,通常无法确定这些牙齿是否属于同一个体.在这种情况下,只能根据化石发现的层位信息初步判断.古基因组的研究能够补充传统形态学分析存在的局限性,为物种及个体鉴定提供了遗传学方向的新思路.具

体而言, 从待鉴定的动物骨骼或牙齿等遗存样本中获得对应个体古基因组信息后, 首先, 基于BLAST程序(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>)在NCBI核酸数据库中检索最佳匹配, 该数据库全面覆盖了公开的哺乳动物核酸数据, 通过比较目标古基因组序列与具有明确物种信息的核酸数据的相似度, 能够为古代样本的种属信息进行初步打分。随后, 在古基因组序列间进行多序列全局比对, 该方法适用于处理总体较为相似但在某些区域存在细微差异的序列, 因而能够有效凸显种内个体水平的遗传差异, 判明序列个体的具体来源。最后, 通过最大似然法或贝叶斯法构建系统发育树以推断古代样本与现代样本或已报道的古代样本间的系统发育关系, 进一步确认其种属信息, 同时对个体鉴定的结果加以验证。基于该分析流程(图4), 成功对两处化石地点的古代样本进行了种属及个体鉴定。化石材料分别来自湖南省湘西自治州吉首市龙山县里耶镇八面山洞穴及陕西省西安市灞桥区江村东部的汉文帝霸陵动物殉葬坑。应用古基因组学分析方法确认了两个地点的化石材料均为大熊猫, 且进一步明确了17件里耶大熊猫碎骨中包含3个大熊猫个体遗传信息。综上所述, 作为考古学、古生物学、分子遗传学研究的基础, 古代生物遗骸的物种及个体鉴定亟需更高效、精

细的方法支撑。古基因组学研究能够直接从化石材料中获取其保存的遗传信息, 使鉴定过程不再依赖于有限的形态特征, 使得通过该学科相关方法解决形态学鉴定中可能存在的争议成为可能。在现有针对东亚样本的研究中, 古基因组学研究在大部分物种的鉴定中都展现出广阔的应用前景。例如, Zhang等(2024)通过古基因组学研究, 成功将此前CT扫描结果只能认定为猫科动物的残缺哺乳动物头骨鉴定为华北豹; Zhu等(2022)获取了由于不同形态学方法导致鉴定结果出现争议的陕西泉护村遗址兽骨的线粒体古基因组数据, 成功将其鉴定为豹猫。由此可见, 未来古基因组学研究将为辅助物种鉴定、探究遗传关系提供标准方法及流程。

5 结语与展望

在大熊猫近八百万年以来的演化历史中, 气候变化或人类活动在不同时间阶段影响着该物种的群体动态历史, 包括导致种群扩张或瓶颈、推动群体分化等。大熊猫的食性转换同样经历了长期演化过程中, 使它们在形态、遗传及肠道微生物组等方面表现出了一系列适应性特征。然而, 随着对大熊猫演化历史及其适应

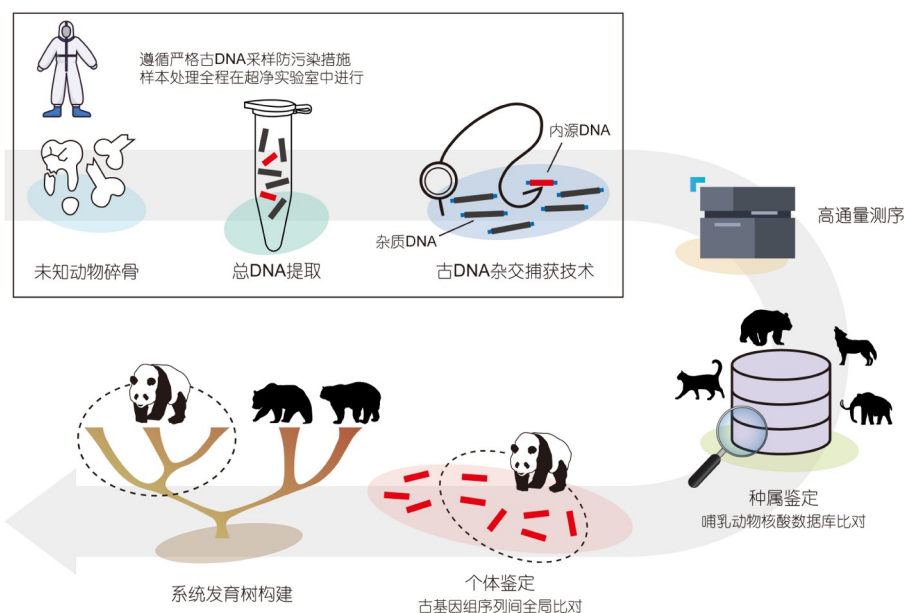


图4 应用古基因组学进行种属及个体鉴定流程示意图

动物剪影来自PhyloPic网站(<https://www.phylopic.org>), 防护服、测序仪及放大镜图片来自Freepik网站(<http://www.freepik.com>)及bioicons网站(<https://bioicons.com>)

性演化过程的认识加深, 更多的问题涌现出来, 如古气候事件或人类活动在不同阶段如何影响大熊猫群体遗传多样性、大熊猫完成食性转换潜在的遗传机制等, 开展大熊猫古基因组学研究成为解决这些问题的重要途径。古DNA实验技术的蓬勃发展及相关生物信息学分析方法的不断更新, 使古DNA数据的获取不再完全受限于化石材料的保存质量, 极大拓展了古基因组学研究应用的时空范围。同时, 中国第四纪地层中富含大熊猫化石, 因此有针对性地开展相关古基因组学研究具有良好的前景。迄今为止, 古基因组学研究主要着眼于重构大熊猫的演化历史, 同时结合相应气候事件或人类活动, 解读种群历史动态变化的驱动原因。对于环境介导的相应表型调控机制的研究还有待发展。通过古基因组数据开展表观基因组学研究将有助于深入理解大熊猫在环境作用下的应对方式及种群衰退的原因等相关内容。不过现阶段古基因组学研究仍受限于样本埋藏情况, 难以直接获取百万年前古代大熊猫的遗传信息, 在一定程度上制约了对大熊猫演化早期阶段的遗传特征及适应性演化模式的探讨。因此, 在开展古基因组学研究的同时, 可以结合古蛋白质组学、古微生物组学、稳定同位素分析等共同探讨大熊猫演化相关的核心科学问题。多学科交叉的综合性研究能够将不同方法的独特优势加以利用, 有望在长时间尺度下重构古代大熊猫的种群历史、阐释其适应性演化机制, 进而探明其面对气候动荡环境的响应模式并评估其进化潜力, 为制定切实可行的保护策略提供更多信息。

参考文献

高占冬, Bottazzi J, 赵欣楠, 贺卫, Sanson E, 李坡, 程海. 2016. 双河洞中大熊猫-剑齿象动物群化石的发现. 中国岩溶, 35: 402–406

黄万波. 1993. 大熊猫颅骨、下颌骨及牙齿特征在进化上的意义. 古脊椎动物学报, 31: 191–207

江左其果, 姜皓, 王世骥. 2023. 中国晚新生代食肉目演替及其古生态意义. 第四纪研究, 43: 673–691

李涛, 赖旭龙, 王颀, 周修高. 2004. 大熊猫的分类与演化综述. 地质科技情报, 23: 40–46

裴文中. 1965. 关于第四纪哺乳动物体型增大和缩小的问题的初步讨论. 古脊椎动物与古人类, 9: 37–46

裴文中. 1974. 大熊猫发展简史. 动物学报, 20: 188–190

裴文中. 1980. 大熊猫——剑齿象动物群. 贵阳师范大学学报(社会科学版), (1): 1–4

邱占祥, 祁国琴. 1989. 云南禄丰中更新世的大熊猫祖先化石. 古脊椎动物学报, 27: 153–169

唐小平, 贾建生, 王志臣, 张德辉, 遇宝成, 岳建兵, 龚明昊, 刘洋. 2015. 全国第四次大熊猫调查方案设计及主要结果分析. 林业资源管理, (1): 11–16

王德远, 高占冬, 黎有为, Bottazzi J, 杜花, 傅良同, 赵祖伦, 宁有丰, 程海, 周文龙. 2021. 贵州双河洞晚更新世大熊猫化石高度聚集现象及其意义. 中国岩溶, 40: 1038–1045

王将克. 1974. 关于大熊猫种的划分、地史分布及其演化历史的探讨. 动物学报, 20: 191–201

张贝, 邹松林, 陈曦, 赵克良, 文军, 邓里, 同号文. 2017. 江西萍乡杨家湾2号洞哺乳动物化石及其时代探讨. 第四纪研究, 37: 155–165

赵井东, 施雅风, 王杰. 2011. 中国第四纪冰川演化序列与MIS对比研究的新进展. 地理学报, 66: 867–884

朱立峰, 胡义波, 张泽钧, 魏辅文. 2013. 历史时期人类侵蚀对大熊猫种群的影响. 科学通报, 58: 1534–1538

邹松林, 陈曦, 张贝, 赵克良, 文军, 邓里, 同号文. 2016. 江西萍乡上栗县晚更新世哺乳动物化石发现. 人类学学报, 35: 109–120

Bacon A-M, Westaway K, Antoine P-O, Durringer P, Blin A, Demeter F, Ponche J-L, Zhao J X, Barnes L M, Sayavonkhamdy T, Thuy N T K, Long V T, Patole-Edoumba E, Shackelford L. 2015. Late Pleistocene mammalian assemblages of Southeast Asia: New dating, mortality profiles and evolution of the predator-prey relationships in an environmental context. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*, 422: 101–127

Bacon A-M, Antoine P-O, Huong N T M, Westaway K, Tuan N A, Durringer P, Zhao J X, Ponche J-L, Dung S C, Nghia T H, Minh T T, Son P T, Boyon M, Thuy N T K, Blin A, Demeter F. 2018. A rhinocerotid-dominated megafauna at the MIS6-5 transition: The late Middle Pleistocene Coc Muoi assemblage, Lang Son province, Vietnam. *Quat Sci Rev*, 186: 123–141

Barlow A, Sheng G L, Lai X L, Hofreiter M, Pajmians J L A. 2019. Once lost, twice found: Combined analysis of ancient giant panda sequences characterises extinct clade. *J Biogeogr*, 46: 251–253

Boeskorov G G, Mashchenko E N, Plotnikov V V, Shchelchkova M V, Protopopov A V, Solomonov N G. 2016. Adaptation of the woolly mammoth *Mammuthus primigenius* (Blumenbach, 1799) to habitat conditions in the glacial period. *Contemp Probl Ecol*, 9: 544–553

Choi Y, Sims G E, Murphy S, Miller J R, Chan A P, de Brevern A G. 2012. Predicting the functional effect of amino acid substitutions and indels. *PLoS ONE*, 7: e46688

Dabney J, Knapp M, Glocke I, Gansauge M T, Weihmann A, Nickel B, Valdiosera C, García N, Pääbo S, Arsuaga J L, Meyer M. 2013. Complete mitochondrial genome sequence of a Middle Pleistocene

- cave bear reconstructed from ultrashort DNA fragments. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 15758–15763
- Dehasque M, Morales H E, Díez-del-Molino D, Pečnerová P, Chacón-Duque J C, Kanellidou F, Muller H, Plotnikov V, Protopopov A, Tikhonov A, Nikolskiy P, Danilov G K, Gianni M, van der Sluis L, Higham T, Heintzman P D, Oskolkov N, Gilbert M T P, Götherström A, van der Valk T, Vartanyan S, Dalén L. 2024. Temporal dynamics of woolly mammoth genome erosion prior to extinction. *Cell*, 187: 3531–3540.e13
- Deng F L, Wang C D, Li D S, Peng Y J, Deng L H, Zhao Y X, Zhang Z H, Wei M, Wu K, Zhao J C, Li Y. 2023. The unique gut microbiome of giant pandas involved in protein metabolism contributes to the host's dietary adaption to bamboo. *Microbiome*, 11: 180
- Díez-del-Molino D, Dehasque M, Chacón-Duque J C, Pečnerová P, Tikhonov A, Protopopov A, Plotnikov V, Kanellidou F, Nikolskiy P, Mortensen P, Danilov G K, Vartanyan S, Gilbert M T P, Lister A M, Heintzman P D, van der Valk T, Dalén L. 2023. Genomics of adaptive evolution in the woolly mammoth. *Curr Biol*, 33: 1753–1764.e4
- Eden E, Navon R, Steinfeld I, Lipson D, Yakhini Z. 2009. GOrilla: A tool for discovery and visualization of enriched GO terms in ranked gene lists. *BMC BioInf*, 10: 48
- Flynn L J, Qi G Q. 1982. Age of the Lufeng, China, hominoid locality. *Nature*, 298: 746–747
- Fu Q M, Meyer M, Gao X, Stenzel U, Burbano H A, Kelso J, Pääbo S. 2013. DNA analysis of an early modern human from Tianyuan Cave, China. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110: 2223–2227
- Guang X M, Lan T M, Wan Q H, Huang Y, Li H, Zhang M C, Li R G, Zhang Z Z, Lei Y H, Zhang L, Zhang H M, Li D S, Li X P, Li H M, Xu Y, Qiao M J, Wu D F, Tang K Y, Zhao P P, Lin J Q, Kumar Sahu S, Liang Q Q, Jiang W K, Zhang D H, Xu X, Liu X, Lisby M, Yang H M, Kristiansen K, Liu H, Fang S G. 2021. Chromosome-scale genomes provide new insights into subspecies divergence and evolutionary characteristics of the giant panda. *Sci Bull*, 66: 2002–2013
- Guo W, Mishra S, Zhao J C, Tang J S, Zeng B, Kong F L, Ning R H, Li M, Zhang H Z, Zeng Y T, Tian Y L Z, Zhong Y H, Luo H D, Liu Y H, Yang J D, Yang M Y, Zhang M W, Li Y, Ni Q Y, Li C W, Wang C D, Li D S, Zhang H M, Zuo Z L, Li Y. 2018. Metagenomic study suggests that the gut microbiota of the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) may not be specialized for fiber fermentation. *Front Microbiol*, 9: 229
- Han H, Wei W, Hu Y B, Nie Y G, Ji X P, Yan L, Zhang Z J, Shi X X, Zhu L F, Luo Y B, Chen W C, Wei F W. 2019. Diet evolution and habitat contraction of giant pandas via stable isotope analysis. *Curr Biol*, 29: 664–669.e2
- Hu H Q, Tong H W, Shao Q F, Wei G B, Yu H D, Shi J S, Wang X Q, Xiong C, Lin Y, Li N, Wei Z Y, Wang P, Jiangzuo Q G. 2022. New remains of *Ailuropoda melanoleuca baconi* from Yanjinggou, China: Throwing light on the evolution of giant pandas during the Pleistocene. *J Mammal Evol*, 30: 137–154
- Hu Y B, Wu Q, Ma S, Ma T X, Shan L, Wang X, Nie Y G, Ning Z M, Yan L, Xiu Y F, Wei F W. 2017. Comparative genomics reveals convergent evolution between the bamboo-eating giant and red pandas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 114: 1081–1086
- Huang S M, Hong H L, Bae C J, Cheng L L, Li D W, Liao W, Yin K, Wang C W, Wang W. 2017. Paleoenvironmental background of the Early Pleistocene *Gigantopithecus* fauna in Bubing Basin, south China. *Quat Int*, 434: 163–168
- Jiangzuo Q G, Wagner J, Chen J, Dong C P, Wei J H, Ning J, Liu J Y. 2018. Presence of the Middle Pleistocene cave bears in China confirmed—Evidence from Zhoukoudian area. *Quat Sci Rev*, 199: 1–17
- Jiangzuo Q G, Wang D Y, Zhang C M, Bottazzi J, Kuang G X, Li S J, Fu J, Hu H Q, Tong H W, Zhang B, Ilyas M, Chen Z H, Huang S, Wang S Q, Wang Y, Liu J Y. 2024a. Body mass evolution of the Quaternary giant panda coincides with climate change of southern China. *Innov Geosci*, 2: 100096
- Jiangzuo Q G, Huang Z E, Yu C H, Tong H W, Zhang B, Hu H Q, Wang D Y, Wang S Q, Liu J Y. 2024b. Dental shape evolution of the giant panda (*Ailuropoda*, Ursidae) during the Quaternary. *Historical Biol*, 37: 695–701
- Jin C Z, Ciochon R L, Dong W, Hunt R M Jr, Liu J Y, Jaeger M, Zhu Q Z. 2007. The first skull of the earliest giant panda. *Proc Natl Acad Sci USA*, 104: 10932–10937
- Ko A M-S, Zhang Y Q, Yang M A, Hu Y B, Cao P, Feng X T, Zhang L Z, Wei F W, Fu Q M. 2018. Mitochondrial genome of a 22,000-year-old giant panda from southern China reveals a new panda lineage. *Curr Biol*, 28: R693–R694
- Lan T M, Yang S C, Li H M, Zhang Y, Li R G, Sahu S K, Deng W W, Liu B Y, Shi M H, Wang S Q, Du H Y, Huang X Y, Lu H R, Liu S L, Deng T, Chen J, Wang Q, Han L, Zhou Y J, Li Q Y, Li D S, Kristiansen K, Wan Q H, Liu H, Fang S G. 2024. Large-scale genome sequencing of giant pandas improves the understanding of population structure and future conservation initiatives. *Proc Natl Acad Sci USA*, 121: e2406343121
- Lynch V J, Bedoya-Reina O C, Ratan A, Sulak M, Drautz-Moses D I, Perry G H, Miller W, Schuster S C. 2015. Elephantid genomes reveal the molecular bases of woolly mammoth adaptations to the Arctic. *Cell Rep*, 12: 217–228
- Ng P C, Henikoff S. 2003. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res*, 31: 3812–3814

- Nie Y G, Speakman J R, Wu Q, Zhang C L, Hu Y B, Xia M H, Yan L, Hambly C, Wang L, Wei W, Zhang J G, Wei F W. 2015. Exceptionally low daily energy expenditure in the bamboo-eating giant panda. *Science*, 349: 171–174
- Patterson N, Moorjani P, Luo Y T, Mallick S, Rohland N, Zhan Y P, Genschoreck T, Webster T, Reich D. 2012. Ancient admixture in human history. *Genetics*, 192: 1065–1093
- Pocock R I. 1939. The prehensile paw of the giant panda. *Nature*, 143: 206
- Ren G. 2000. Decline of the mid- to late Holocene forests in China: Climatic change or human impact? *J Quat Sci*, 15: 273–281
- Rossi C, Sinding M H S, Mullin V E, Scheu A, Erven J A M, Verdugo M P, Daly K G, Ciucani M M, Mattiangeli V, Teasdale M D, Diquelou D, Manin A, Bangsgaard P, Collins M, Lord T C, Zeibert V, Zorzin R, Vinter M, Timmons Z, Kitchener A C, Street M, Haruda A F, Tabbada K, Larson G, Frantz L A F, Gehlen B, Alhaique F, Tagliacozzo A, Fornasiero M, Pandolfi L, Karastoyanova N, Sørensen L, Kiryushin K, Ekström J, Mostadius M, Grandal-d'Anglade A, Vidal-Gorosquieta A, Benecke N, Kropp C, Grushin S P, Gilbert M T P, Merts I, Merts V, Outram A K, Rosengren E, Kosintsev P, Sablin M, Tishkin A A, Makarewicz C A, Burger J, Bradley D G. 2024. The genomic natural history of the aurochs. *Nature*, 635: 136–141
- Salesa M J, Antón M, Peigné S, Morales J. 2006. Evidence of a false thumb in a fossil carnivore clarifies the evolution of pandas. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103: 379–382
- Schaller G B, Hu J C, Pan W S, Jing Z. 1985. The Giant Pandas of Wolong. Chicago: University of Chicago Press
- Schiffels S, Durbin R. 2014. Inferring human population size and separation history from multiple genome sequences. *Nat Genet*, 46: 919–925
- Shan L, Wu Q, Wang L, Zhang L, Wei F W. 2018. Lineage-specific evolution of bitter taste receptor genes in the giant and red pandas implies dietary adaptation. *Integr Zool*, 13: 152–159
- Sheng G L, Barlow A, Cooper A, Hou X D, Ji X P, Jablonski N G, Zhong B J, Liu H R, Flynn L J, Yuan J X, Wang L R, Basler N, Westbury M V, Hofreiter M, Lai X L. 2018. Ancient DNA from Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*) of South-Western China reveals genetic diversity loss during the Holocene. *Genes*, 9: 198
- Sheng G L, Basler N, Ji X P, Pajmans J L A, Alberti F, Preick M, Hartmann S, Westbury M V, Yuan J X, Jablonski N G, Xenikoudakis G, Hou X D, Xiao B, Liu J H, Hofreiter M, Lai X L, Barlow A. 2019. Paleogenome reveals genetic contribution of extinct giant panda to extant populations. *Curr Biol*, 29: 1695–1700. e6
- Sherman B T, Hao M, Qiu J, Jiao X L, Baseler M W, Lane H C, Imamichi T, Chang W Z. 2022. DAVID: A web server for functional enrichment analysis and functional annotation of gene lists (2021 update). *Nucleic Acids Res*, 50: W216–W221
- Smith S D, Kawash J K, Karaikos S, Biluck I, Grigoriev A. 2017. Evolutionary adaptation revealed by comparative genome analysis of woolly mammoths and elephants. *DNA Res*, 24: 359–369
- Stacklyn S, Wang Y, Jin C Z, Wang Y, Sun F J, Zhang C F, Jiang S J, Deng T. 2017. Carbon and oxygen isotopic evidence for diets, environments and niche differentiation of early Pleistocene pandas and associated mammals in South China. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*, 468: 351–361
- Sun F J, Wang Y, Wang Y, Jin C Z, Deng T, Wolff B. 2019. Paleocology of Pleistocene mammals and paleoclimatic change in South China: Evidence from stable carbon and oxygen isotopes. *Palaeogeogr Palaeoclimatol Palaeoecol*, 524: 1–12
- Suraprasit K, Jaeger J-J, Chaimanee Y, Sutharit C. 2021. Taxonomic reassessment of large mammals from the Pleistocene *Homo*-bearing site of Tham Wiman Nakin (Northeast Thailand): Relevance for faunal patterns in mainland Southeast Asia. *Quat Int*, 603: 90–112
- Terhorst J, Kamm J A, Song Y S. 2017. Robust and scalable inference of population history from hundreds of unphased whole genomes. *Nat Genet*, 49: 303–309
- van der Valk T, Pečnerová P, Díez-del-Molino D, Bergström A, Oppenheimer J, Hartmann S, Xenikoudakis G, Thomas J A, Dehasque M, Sağlıcan E, Fidan F R, Barnes I, Liu S L, Somel M, Heintzman P D, Nikolskiy P, Shapiro B, Skoglund P, Hofreiter M, Lister A M, Götherström A, Dalén L. 2021. Million-year-old DNA sheds light on the genomic history of mammoths. *Nature*, 591: 265–269
- Wan Q H, Fang S G, Wu H, Fujihara T. 2003. Genetic differentiation and subspecies development of the giant panda as revealed by DNA fingerprinting. *Electrophoresis*, 24: 1353–1359
- Wan Q H, Wu H, Fang S G. 2005. A new subspecies of giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) from Shaanxi, China. *J Mammalogy*, 86: 397–402
- Wang D J. 2016. *Ailuropoda melanoleuca* (spatial data). The IUCN Red List of Threatened Species 2023(1). <https://www.iucnredlist.org>. Accessed on 27 June 2024
- Wang X M, Su D F, Jablonski N G, Ji X P, Kelley J, Flynn L J, Deng T. 2022. Earliest giant panda false thumb suggests conflicting demands for locomotion and feeding. *Sci Rep*, 12: 10538
- Wei F W, Hu Y B, Yan L, Nie Y G, Wu Q, Zhang Z J. 2015. Giant pandas are not an evolutionary cul-de-sac: Evidence from multi-disciplinary research. *Mol Biol Evol*, 32: 4–12
- Woodward S. 1915. On the skull of an extinct mammal related to *Ailuropus* from a cave in the ruby mines at Mogok, Burma. *Proc*

- Zool Soc London*, 85: 425–428
- Yang M A, Fan X C, Sun B, Chen C Y, Lang J F, Ko Y C, Tsang C-H, Chiu H L, Wang T Y, Bao Q C, Wu X H, Hajdinjak M, Ko A M S, Ding M Y, Cao P, Yang R W, Liu F, Nickel B, Dai Q Y, Feng X T, Zhang L Z, Sun C K, Ning C, Zeng W, Zhao Y S, Zhang M, Gao X, Cui Y Q, Reich D, Stoneking M, Fu Q M. 2020. Ancient DNA indicates human population shifts and admixture in northern and southern China. *Science*, 369: 282–288
- Yang Z H. 2007. PAML 4: Phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol Biol Evol*, 24: 1586–1591
- Zhang D J, Xia H, Chen F H, Li B, Slon V, Cheng T, Yang R W, Jacobs Z, Dai Q Y, Massilani D, Shen X K, Wang J, Feng X T, Cao P, Yang M A, Yao J T, Yang J S, Madsen D B, Han Y Y, Ping W J, Liu F, Perreault C, Chen X S, Meyer M, Kelso J, Pääbo S, Fu Q M. 2020. Denisovan DNA in Late Pleistocene sediments from Baishiya Karst Cave on the Tibetan Plateau. *Science*, 370: 584–587
- Zhang M, Cao P, Dai Q Y, Wang Y Q, Feng X T, Wang H R, Wu H, Ko A M-S, Mao X W, Liu Y C, Yu L, Roos C, Nadler T, Xiao W, Andrew Bennett E, Fu Q M. 2021. Comparative analysis of DNA extraction protocols for ancient soft tissue museum samples. *Zool Res*, 42: 280–286
- Zhang M, Wang C H, Zheng Y X, Jiangzuo Q G, Hou Y M, Cao P, Dai Q Y, Yang R W, Liu F, Feng X T, Mo L H, Fu Q M. 2024. Ancient DNA unravels species identification from Laosicheng site, Hunan Province, China, and provides insights into maternal genetic history of East Asian leopards. *Zool Res*, 45: 226–229
- Zhang W P, Liu W B, Hou R, Zhang L, Schmitz-Esser S, Sun H B, Xie J J, Zhang Y F, Wang C D, Li L F, Yue B S, Huang H, Wang H R, Shen F J, Zhang Z H. 2018. Age-associated microbiome shows the giant panda lives on hemicelluloses, not on cellulose. *ISME J*, 12: 1319–1328
- Zhang Y P, Wang X X, Ryder O A, Li H P, Zhang H M, Yong Y G, Wang P Y. 2002. Genetic diversity and conservation of endangered animal species. *Pure Appl Chem*, 74: 575–584
- Zhao H B, Yang J R, Xu H L, Zhang J Z. 2010. Pseudogenization of the umami taste receptor gene *Tas1r1* in the giant panda coincided with its dietary switch to bamboo. *Mol Biol Evol*, 27: 2669–2673
- Zhao S C, Zheng P P, Dong S S, Zhan X J, Wu Q, Guo X S, Hu Y B, He W M, Zhang S N, Fan W, Zhu L F, Li D, Zhang X M, Chen Q, Zhang H M, Zhang Z H, Jin X L, Zhang J G, Yang H M, Wang J, Wang J, Wei F W. 2013. Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nat Genet*, 45: 67–71
- Zhu L F, Wu Q, Dai J Y, Zhang S N, Wei F W. 2011. Evidence of cellulose metabolism by the giant panda gut microbiome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 108: 17714–17719
- Zhu S L, Chen Z H, Hu S M, Wang W L, Cao P, Liu F, Dai Q Y, Feng X T, Yang R W, Ping W J, Fu Q M. 2022. Ancient DNA traces a Chinese 5400-year-old cat specimen as leopard cat (*Prionailurus bengalensis*). *J Genet Genomics*, 49: 1076–1079

(责任编辑: 谢树成)