

中国濒危兽类保护基因组学和宏基因组学 研究进展与展望

魏辅文* 黄广平 樊惠中 胡义波

(中国科学院动物研究所, 动物生态与保护生物学院重点实验室, 北京 100101)

摘要: 揭示濒危兽类的演化历史、濒危机制及适应性演化策略, 是保护生物学关注的重大科学问题。近十几年来, 高通量测序技术的不断发展以及多学科交叉融合, 为揭示濒危物种的演化历史、遗传结构、适应性演化及其与肠道微生物的协同演化的分子机制提供了重要的技术支撑, 由此产生了保护基因组学和保护宏基因组学两个分支学科, 为野生动物尤其是濒危动物的保护生物学研究提供了新的方向与思路。本文综述了我国在保护基因组学和保护宏基因组学领域取得的重要进展, 并展望未来的发展趋势, 以期进一步推动我国濒危兽类保护生物学的发展。

关键词: 保护基因组学; 保护宏基因组学; 濒危兽类; 适应性演化; 肠道微生物

中图分类号: Q16 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000–1050 (2021) 05–0581–10

Research advances and perspectives of conservation genomics and metagenomics of threatened mammals in China

WEI Fuwen*, HUANG Guangping, FAN Huizhong, HU Yibo

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

Abstract: Understanding the evolutionary processes, endangered mechanisms and adaptive evolution are key scientific issues in conservation biology. During the past decades, advances in high-throughput sequencing and multi-disciplinary crossover provide deep insights into the evolutionary history, genetic structure, adaptive evolution, and host-microbiota coevolution of endangered species. The emergence of two new branches of conservation biology, Conservation Genomics and Conservation Metagenomics, provides novel insights into wildlife conservation. In this review, we summarize the important advances in the two fields and discuss the future research directions, aiming to promote the conservation biology of threatened animals in China.

Key words: Conservation genomics; Conservation metagenomics; Threatened mammals; Adaptive evolution; Gut microbiota

基因组学和宏基因组学技术的快速发展, 使得其与保护生物学研究快速融合, 产生了保护基因组学和保护宏基因组学两个分支学科。保护基因组学本质是保护遗传学理论思想和基因组学方法技术的融合, 推动了保护遗传学研究内容和手段革新性的变化。从传统的遗传多样性、遗传结构和近期种群动态研究, 深入到从古至今的演化历史重构及物种适应性演化, 揭示种群特殊性状形成的分子机制, 从而从物种演化的过去、现在和未来全面探讨物种

濒危的过程、原因及演化潜力。保护宏基因组学侧重从宿主和肠道微生物协同演化的角度, 揭示肠道微生物在濒危动物濒危和适应中发挥的作用, 从而全面认识物种濒危和幸存的原因。

过去十几年, 基因组测序技术的快速进步极大地促进了保护基因组学和保护宏基因组学的快速发展。基因组测序技术经历了从一代测序到现在三代测序技术的发展历程。第一代测序技术又称 Sanger 测序, 其核心原理是在 DNA 合成过程中通过凝胶

基金项目: 国家自然科学基金创新研究群体项目 (31821001)

作者简介: 魏辅文 (1964–), 男, 博士, 研究员, 中国科学院院士, 主要从事保护生物学研究。

收稿日期: 2020–12–15; 接受日期: 2021–04–26

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: weifw@ioz.ac.cn

电泳对不同长度的含有同位素标记的 DNA 片段进行成像,进而判断不同位置 DNA 碱基信息 (Sanger *et al.*, 1977)。第一代测序具有读长长、准确率高等优点,但其通量低、测序成本高以及测序时间长,不适合大规模的基因组测序。第二代测序技术又称下一代高通量测序技术,其核心原理是在 PCR 扩增过程中, DNA 聚合酶添加由不同颜色荧光标记的 4 种 dNTP, 测序仪根据捕捉到的荧光信号实时获取 DNA 碱基信息 (Mardis, 2008)。相对一代测序,第二代测序具有通量高、速度快以及成本低等优点,但也有读长短、组装碎等不足。第三代测序技术又称为单分子实时测序技术,其核心思想是在对单分子 DNA 进行实时测序时,测序仪通过捕捉到的光信号或电信号实时获取 DNA 碱基信息 (Roberts *et al.*, 2013; Loman *et al.*, 2015)。第三代测序具有读长长 (10 ~ 150 kb)、速度快、无 PCR 扩增以及不存在 GC 偏好性等优点,结合 Hi-C、Bio-nano、10x Genomics 等辅助技术,大大提高了基因组组装的完整性 (Lee *et al.*, 2016),但其不足是单碱基测序错误率比较高 (可高达 15%),需要利用二代测序数据对碱基进行校正。

在我国,随着新测序技术的应用,濒危兽类物种保护基因组学和保护宏基因组学研究取得了快速发展。本综述将介绍这些领域取得的进展并展望未来的发展趋势。

1 保护基因组学研究进展

保护基因组学 (Conservation Genomics) 是近年来兴起的一门交叉学科,使用基因组学技术解决保护遗传学问题 (Allendorf *et al.*, 2010)。与保护遗传学相比,保护基因组学除了传统的物种分类地位、遗传多样性、群体遗传结构、保护管理单元的界定等方面能够提供更加精准的研究结果以外,还能对物种演化历史、种群局域适应、遗传混合、杂交、远交衰退、基因渐渗等方面提供更加深入的研究 (Allendorf *et al.*, 2010)。进入 21 世纪以来,随着高通量测序技术快速发展,尤其是二代、三代测序的普及 (Mardis, 2008),越来越多的濒危物种基因组序列被不断破译,这为解决保护生物学众多问题提供了可能。在我国,保护基因组学发展迅猛,大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*)、金丝猴 (*Rhinopithecus* spp.)、野牦牛 (*Bos mutus*)、小熊猫 (*Ailurus* spp.)、麋鹿 (*Elaphurus davidia-*

nus)、虎 (*Panthera tigris*)、穿山甲 (*Manis* spp.)、白鱘豚 (*Lipotes vexillifer*)、长江江豚 (*Neophocaena asaeorientalis*) 等物种的全基因组序列已被我国科学家相继破译 (Fan *et al.*, 2018),这些物种全基因组序列的公布,为解析其濒危的遗传学机制,以及提出更有效的保护管理建议提供了重要基础。本文从以下几个方面介绍近十年来我国濒危兽类保护基因组学的研究进展。

1.1 基因组多样性评估

遗传多样性与物种的适应性演化和演化潜力密切相关。传统的遗传多样性评估是以线粒体基因、微卫星等分子遗传标记为基础,计算不同种群的遗传多样性,但这些计算,只是基于对遗传标记为代表的部分座位等位基因频率的评估,无法全面反映物种关键编码区基因序列的遗传多样性水平和全貌。随着基因组学的快速发展,从全基因组水平评估遗传多样性已成为可能。基因组多样性指的是基于全基因组水平的变异位点整体评估物种或种群的遗传多样性。近年来,随着濒危物种的基因组序列不断被破译,以及基于重测序的群体基因组数据的积累,越来越多的濒危物种基因组多样性被评估。例如, Li 等 (2010) 对大熊猫基因组多样性的评估发现其基因组杂合度是 1.17×10^{-3} ,比人的基因组杂合度 0.69×10^{-3} 还高,显示大熊猫仍有演化潜力,未走到演化的尽头。Cho 等 (2013) 对虎、非洲狮 (*P. leo*) 和雪豹 (*P. uncia*) 基因组杂合 SNP 位点的分析发现,虎和狮的杂合度和人相当,但雪豹的杂合度是其他豹属物种的一半。Zhou 等 (2013) 对已经功能性灭绝的白鱘豚的基因组多样性进行评估,发现其基因组杂合度为 1.21×10^{-4} ,在我国已报道的濒危物种基因组多样性中为最低水平 (Fan *et al.*, 2018)。Zhu 等 (2018) 对麋鹿遗传多样性的评估发现,尽管麋鹿群体存在极端的种群瓶颈,其仍具有较高的遗传多样性,长期的近亲繁殖可能有助于其清除有害的隐性等位基因。Hu 等 (2020) 对穿山甲的遗传多样性评估发现,马来穿山甲 (*M. javanica*) 和中华穿山甲 (*M. pentadactyla*) 的平均杂合度分别为 1.27×10^{-3} 和 0.85×10^{-3} ,这和其他濒危的金丝猴、孟加拉虎 (*P. t. tigris*) 以及猛犸象 (*Mammuthus primigenius*) 类似,表明穿山甲的演化潜力下降。Kuang 等 (2020) 对金丝猴 5 个近缘物种的遗传多样性

的分析发现,小种群的黔金丝猴 (*R. brelichi*) 和越南金丝猴 (*R. avunculus*) 以及川金丝猴 (*R. roxellana*) 中的神农架种群有较高的遗传多样性水平和低水平的近交,表明尽管这些物种种群数量较小,但没有丢失过多的遗传变异,仍具有较高的演化潜能;而大种群的川金丝猴虽然有较高的遗传多样性水平,却有较高的近交水平,有近交衰退的风险。基于种群基因组数据开展核苷酸多样性评估,是基因组多样性评估的另外一种形式。随着高通量测序技术的发展,越来越多的哺乳动物种群基因组多样性被评估。图 1 为我国部分哺乳动物基于种群基因组数据的核苷酸多样性评估结果。结果显示,整体上受威胁物种比无危物种具有更低的种群核苷酸多样性。

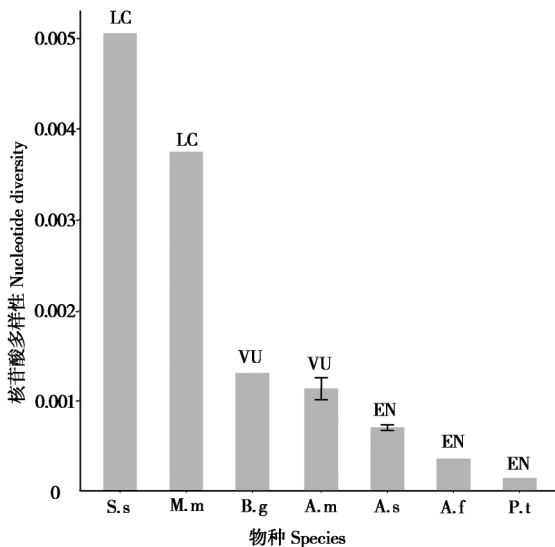


图 1 代表性哺乳动物基因组水平的种群核苷酸多样性比较。其中大熊猫和中华小熊猫有多个种群数据,因此有标准差显示。S. s: 野猪; M. m: 猕猴; B. g: 野牦牛; A. m: 大熊猫; A. s: 中华小熊猫; A. f: 喜马拉雅小熊猫; P. t: 虎; LC: 无危; VU: 易危; EN: 濒危

Fig. 1 Comparison of nucleotide diversity based on population genome data of representative mammals. There are data of multiple populations for giant panda and Chinese red panda, standard deviations of nucleotide diversity are calculated. S. s: *Sus scrofa*; M. m: *Macaca mulatta*; B. g: *Bos grunniens*; A. m: *Ailuropoda melanoleuca*; A. s: *Ailurus styani*; A. f: *Ailurus fulgens*; P. t: *Panthera tigris*; LC: Least Concerned; VU: Vulnerable; EN: Endangered

1.2 种群历史动态

种群历史动态解析是对物种种群动态变化过程中关键事件的定性分析,包括物种起源、分化、扩张以及瓶颈等。传统的保护遗传学利用线粒体或微卫星遗传标记多态性在不同种群的差异,或对比种群正常演替状态下的理论值去推断种群历史动态,但是这些方法一方面需要有群体水平大量样品的分

析,另一方面仅能追溯最近一次的种群动态事件,不能反映物种历史动态的全貌。近年来,使用全基因组信息重建物种种群数量变化过程成为可能。例如,基于成对序列马尔可夫共祖分析 (pairwise sequentially Markovian coalescent, PSMC) 结果显示,大熊猫从其起源到现在共经历了两次种群扩张、两次种群瓶颈以及两次种群分化,进一步分析发现,大熊猫的种群历史动态和更新世古气候变化以及全新世人类活动密切相关 (Zhao *et al.*, 2013)。小熊猫保护基因组学的研究结果显示,小熊猫可以分为中华小熊猫 (*A. styani*) 和喜马拉雅小熊猫 (*A. fulgens*),其中中华小熊猫经历了两次种群瓶颈和一次大的种群扩张,喜马拉雅小熊猫经历了三次种群瓶颈和一次很小的种群扩张,二者在更新世倒数第二个冰期开始分化 (Hu *et al.*, 2020)。金丝猴的研究结果显示,金丝猴在 6.7 百万年前起源于青藏高原东南缘,并在 1.69 百万年前分化形成了北方祖先种群和喜马拉雅祖先种群,随后于 1.6 百万年和 0.33 百万年前分别从两个祖先物种先后分化形成了川金丝猴、黔金丝猴、滇金丝猴 (*R. bieti*)、缅甸金丝猴 (*R. strykeri*) (Zhou *et al.*, 2014)。反刍动物的研究结果显示,反刍亚目动物在 10 万年前发生了显著的下降,这个时期与智人走出非洲的时间相符,这预示着人类在晚更新世至全新世间哺乳动物物种的大量减少过程中扮演了重要的角色 (Chen *et al.*, 2019)。白鱀豚的研究结果显示,白鱀豚在 1 万年前经历了一次种群瓶颈,可能是导致其遗传多样性较低的原因之一 (Zhou *et al.*, 2013)。虎的研究结果显示,虎起源于 2 百万至 3 百万年前,在更新世时期至少经历了一次与寒冷事件相关的种群瓶颈 (Liu *et al.*, 2018)。猕猴 (*Macaca mulatta*) 的研究结果显示,猕猴经历了多次种群扩张和收缩,其种群历史动态伴随着气候历史的变化 (Liu *et al.*, 2018)。我国主要濒危兽类物种种群基因组学研究见表 1。

1.3 适应性演化和种群局域适应

适应性演化指的是物种在自然选择的压力下不断积累有利于生存和繁衍的遗传变异,以更好地适应环境并增加自身的适合度。传统的适应性演化研究主要通过候选基因方法来进行。但候选基因方法依赖于对已知的候选基因进行筛选、定向扩增、逐一比对,分析效率较低。基因组学数据的出现使得

在全基因组水平上检测适应性演化的信号变为可能，从对单个基因的理解，提升到全基因组背景下多基因网络交互作用的水平。目前已经广泛应用于濒危动物的适应性演化和种群局域适应研究中。

表1 中国重要濒危兽类物种种群基因组学研究进展
Table 1 The summary of population genomics studies for important threatened mammals in China

目 Order	物种名 Species	重要结果 Main results	参考文献 Reference
食肉目 CARNIVORA	大熊猫 <i>A. melanoleuca</i>	大熊猫在历史上发生了两次种群扩张、两次种群瓶颈以及两次种群分化，大熊猫的种群历史动态与古气候以及人类活动密切相关 The giant panda has experienced two population expansions, two bottlenecks and two divergences in history and the climate changes and human activities were the primary drivers of giant panda's demographic history	Zhao <i>et al.</i> , 2013
	小熊猫 <i>A. styani</i> and <i>A. fulgens</i>	小熊猫可分为中华小熊猫和喜马拉雅小熊猫，二者在倒数第二个冰期开始分化 The red panda could be classified as Himalayan red panda and Chinese red panda, and they were divided in the Penultimate Glaciation	Hu <i>et al.</i> , 2020
	虎 <i>P. tigris</i>	虎起源于2百万至3百万年前，分为6个亚种。虎在更新世经历了一次种群瓶颈 The tiger was originated from 2-3 million years ago, it could be divided into six subspecies. The tigers have experienced a bottleneck in Pleistocene	Liu <i>et al.</i> , 2018
	虎、狮和雪豹 <i>P. tigris</i> , <i>P. leo</i> and <i>P. uncia</i>	虎和狮的遗传多样性和人相当，但雪豹的遗传多样性只有其它豹属物种的一半 The genetic diversity level of tiger and lion is similar to that of human, but the diversity of snow leopard is half that of other <i>Panthera</i> species	Cho <i>et al.</i> , 2013
灵长目 PRIMATES	金丝猴 <i>Rhinopithecus</i> spp.	金丝猴的遗传多样性低于其他灵长类物种，金丝猴种群历史的波动和气候变化相关。在高海拔金丝猴中鉴定出与低氧相关的基因受到选择 The genetic diversity of golden monkey is lower than that in other primates, and the episodes of climatic variation associated with golden monkey's demographic history. Several hypoxia-related genes were identified under selection in high-altitude golden monkeys	Zhou <i>et al.</i> , 2016
	金丝猴 <i>Rhinopithecus</i> spp.	金丝猴的祖先群体广泛地分布于中国中部和西南山区，古气候的变化导致不同种群发生隔离 The ancestral population of golden monkey occurred in south and central China, and the climate changes lead to the isolation of golden monkey's different populations	Kuang <i>et al.</i> , 2019
	金丝猴 <i>Rhinopithecus</i> spp.	金丝猴5个近缘种的遗传多样性分析发现，小种群的金丝猴具有高水平的遗传多样性和低水平的基因近交，而大种群的川金丝猴具有高水平的遗传多样性和基因近交 The analysis of five closely related species for golden monkey revealed that the species with small population show high level of genetic diversity and low lever of genomic inbreeding. However, the species with large population have high level of genetic diversity and genomic inbreeding	Kuang <i>et al.</i> , 2020
	猕猴 <i>M. mulatta</i>	猕猴在历史上经历了多次的种群扩张和收缩，其种群历史动态和古气候变化息息相关 The rhesus macaques have experienced several population expansions and bottlenecks in history, and the climate changes were the primary reason for the rhesus macaque's demographic history	Liu <i>et al.</i> , 2018
鳞甲目 PHOLIDOTA	穿山甲 <i>M. javanica</i> and <i>M. pentadactyla</i>	穿山甲的遗传多样性和其它濒危物种类似，说明穿山甲的适应潜力下降 The genetic diversity of pangolins is similar to that of other endangered species, indicting their survival potential to adapt to environmental changes decreased	Hu <i>et al.</i> , 2020
鲸偶蹄目 CETARTIO- DACTYLA	牦牛 <i>B. grunniens</i>	牦牛在7300年前被游牧民族驯化，其在适应高原环境中有一系列与行为及驯化相关的基因受到选择 The yak was domesticated by nomads 7300 years ago, some genes related to behavior and domestication were identified during its adaptation to high altitude environment	Qiu <i>et al.</i> , 2015
	麋鹿 <i>E. davidianus</i>	麋鹿仍具有较高的遗传多样性，近亲繁殖历史可能有助于其清除有害的隐性等位基因 The Milu show high level of genetic diversity, and its inbreeding history may help to purge deleterious recessive alleles	Zhu <i>et al.</i> , 2018
	长江江豚 <i>N. asaeorientalis</i>	与东亚海洋江豚相比，长江江豚的基因组中有一系列与渗透调节相关的基因受到正选择作用，揭示其已经对淡水环境产生了适应 Compared to marine porpoise, a series of genes related to osmotic pressure regulation were identified under selection in Yangtze finless porpoise's genome, indicating that it has adapted to its freshwater environment	Zhou <i>et al.</i> , 2018

Zhao 等 (2013) 比较了来自不同野生种群大熊猫的基因组数据, 发现一系列与味觉和嗅觉感知系统、免疫、信号传导等方面基因选择信号与快速演化的位点, 暗示大熊猫不同的种群在适应当地环境过程中多个系统的相关基因发生了改变。Cho 等 (2013) 通过比较东北虎的全基因组序列和孟加拉虎、非洲狮、白化非洲狮和雪豹的基因组序列, 结果显示虎基因组中与肌肉、能量代谢及感觉相关的基因发生快速进化, 而基因 *TYR260* 中的氨基酸位点突变可能与白狮的毛色相关。Hu 等 (2017) 通过比较大、小熊猫基因组筛选得到 70 个适应性趋同基因, 其中有两个和肢端发育相关的关键基因 *DYNC2H1* 和 *PCNT* 可能与伪拇指发育密切相关。比较驯鹿 (*Rangifer tarandus*) 和其他反刍动物的基因组, 发现驯鹿 *CCND1* 基因上游的一个突变可能导致该基因在低雄性激素的水平下表达增强, 从而导致雌性鹿茸生长 (Lin *et al.*, 2019)。Yu 等 (2016) 比较高海拔和低海拔金丝猴物种的全基因组序列, 发现在高海拔金丝猴中有 6 个与肺功能、DNA 修复和血管生成相关的基因发生趋同替换, 这些突变可能有助于金丝猴在高海拔环境中抵抗紫外线。Qiu 等 (2012) 比较高海拔和低海拔牦牛基因组数据, 发现与感觉系统相关的基因发生了扩张, 与低氧相关的基因受到正选择, 这些基因可能在牦牛适应高原环境中发挥重要作用。Zhou 等 (2018) 通过比较长江江豚和东亚江豚 (*N. sunameri*) 的种群基因组数据, 发现长江江豚基因组中有一系列与渗透调节相关的基因受到正选择作用, 揭示其已经对淡水环境产生了适应性演化。Ge 等 (2013) 破译了藏羚 (*Pantholops hodgsonii*) 基因组, 并与其它多种平原动物进行比较, 发现藏羚基因组中与能量代谢和氧气运输等相关的基因家族发生了显著扩张, 这可能是其适应低氧环境的重要机制。鉴于演化生物学思想在保护生物学中的深度融合, 魏辅文等 (2019) 提出了保护演化生物学 (Conservation Evolutionary Biology) 这一保护生物学新兴分支学科, 推动将演化生物学思想融入到保护生物学的研究与实践中, 为保护濒危物种, 从理论生物学角度提供更高层面的科学依据。

2 保护宏基因组学研究进展

自列文虎克首次在自制显微镜下观察到细菌以来, 微生物的神秘面纱逐渐被揭开。动物体表及消

化道的微生物数量庞大且种类繁多, 包括细菌、真菌、病毒、原生生物等。早先人们对微生物的研究基于传统的纯培养方法, 鉴定出的微生物种类不足环境微生物的 1%, 严重限制了人们对微生物资源的开发和利用。在 2001 年人类基因组草图完成时, 微生物学家提出应用基因组测序技术研究肠道微生物群落之间的关系。Handelsman (2004) 首次提出“宏基因组学”概念来定义不经纯培养直接提取环境中全部微生物的 DNA 进行测序分析的方法。2009 年我国科学家提出的万种微生物基因组计划和 2017 年中国科学院微生物组计划的实施, 推动了我国微生物研究领域的发展。随着非损伤性取样技术的应用, 人们能够深入了解野生动物的肠道微生物组成。2011 年, 魏辅文研究团队首次将宏基因组学技术引入到野生动物肠道微生物研究中, 发现大熊猫肠道微生物具有消化纤维素和半纤维素的酶基因, 揭示了大熊猫消化竹子部分纤维素之谜 (Zhu *et al.*, 2011; Wei *et al.*, 2015); 并基于宏基因组学技术的应用与发展, 首次提出保护宏基因组学 (Conservation Metagenomics) 这一新兴的保护生物学分支学科 (Wei *et al.*, 2019), 为野生动物尤其是濒危动物肠道微生物及其生态保护研究提供了方向与思路。主要研究方法包括: 扩增子测序、宏基因组测序、培养组等。研究范畴主要包括: 野生动物消化道、体表、分泌腺 (如肛周腺、麝腺等) 等部位的微生物组成与功能, 及生态位分布、食性、系统发育关系、栖息地质量等因素对微生物组成和功能的影响。

在过去的十几年, 国内兽类保护宏基因组学研究取得众多突破, 包括大熊猫、中华小熊猫、麝鹿、林麝 (*Moschus berezovskii*)、金丝猴等濒危物种的肠道微生物研究 (表 2), 涉及关于营养、代谢、疾病、适应性演化等重大科学问题 (丁赞等, 2017; Wei *et al.*, 2019)。宿主的系统发育关系 (Huang *et al.*, 2020)、食性 (Zhu *et al.*, 2011; Wu *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2018)、性别 (Liu *et al.*, 2018)、生理 (Li *et al.*, 2018a; Zhu *et al.*, 2018)、野生或圈养状态 (Guo *et al.*, 2019) 等不同程度地影响微生物的结构和功能; 动物的微生物组成和功能又反过来影响着宿主的健康状况 (Zhu *et al.*, 2018) 和适应性演化 (Zhu *et al.*, 2011)。

表 2 中国已开展保护宏基因组学研究的主要濒危兽类

Table 2 Summary of the threatened mammals that have been subjected to metagenomic studies in China

目 Order	物种 Species
食肉目 CARNIVORA	大熊猫 <i>Ailuropoda melanoleuca</i> , 中华小熊猫 <i>Ailurus styani</i> , 虎 <i>Panthera tigris</i> , 豹 <i>Panthera pardus</i> , 雪豹 <i>Panthera uncia</i> , 云豹 <i>Neofelis nebulosa</i> , 豺 <i>Cuon alpinus</i> , 亚洲黑熊 <i>Ursus thibetanus</i> , 紫貂 <i>Martes zibellina</i>
灵长目 PRIMATES	滇金丝猴 <i>Rhinopithecus bieti</i> , 黔金丝猴 <i>Rhinopithecus brelichi</i> , 川金丝猴 <i>Rhinopithecus roxellana</i> , 北白颊长臂猿 <i>Nomascus leucogenys</i> , 黑叶猴 <i>Trachypithecus francoisi</i> , 藏酋猴 <i>Macaca thibetana</i>
鲸偶蹄目 CETARTIODACTYLA	野牦牛 <i>Bos mutus</i> , 野骆驼 <i>Camelus ferus</i> , 林麝 <i>Moschus berezovskii</i> , 豚鹿 <i>Axis porcinus</i> , 麝鹿 <i>Elaphurus davidianus</i> , 马鹿 <i>Cervus elaphus</i> , 扭角羚 <i>Budorcas taxicolor</i> , 獐 <i>Hydropotes inermis</i> , 长江江豚 <i>Neophocaena asiatica</i> , 印太江豚 <i>Neophocaena phocaenoides</i> , 中华白海豚 <i>Sousa chinensis</i>
奇蹄目 PERISSODACTYLA	野马 <i>Equus ferus</i> , 蒙古野驴 <i>Equus hemionus</i>
长鼻目 PROBOSCIDEA	亚洲象 <i>Elephas maximus</i>
鳞甲目 PHOLIDOTA	马来穿山甲 <i>Manis javanica</i>

现就国内兽类保护宏基因组学研究进展综述如下, 主要包括以下几个方面:

2.1 肠道微生物参与宿主的适应性演化过程

肠道微生物在宿主长期演化过程中, 与其形成密切联系, 在宿主适应性演化过程中发挥重要作用, 主要体现在食性适应、高原适应等方面。代表性的例子是大熊猫与其肠道微生物。大熊猫隶属食肉目动物, 但特化为以高纤维低能量的竹子为食。大熊猫本身无编码纤维素酶和半纤维素酶的基因, 而肠道微生物具有该类酶, 能帮助宿主消化竹子 (Zhu *et al.*, 2011), 并且在大熊猫采食高纤维竹叶时, 该酶的基因丰度比采食竹笋时更高 (Wu *et al.*, 2017)。犬形亚目内的大熊猫、小熊猫、北极熊 (*Ursus maritimus*)、雪貂 (*Mustela putorius furo*) 的比较宏基因组学研究结果显示, 大、小熊猫的专性食竹特性驱动两者肠道微生物结构, 相比其各自的近缘物种更加接近; 其功能上在降解纤维素、合成维生素 B12 通路方面发生趋同 (Huang *et al.*, 2020)。与其它植食性物种相比, 以竹子为食的大、小熊猫食用了大量竹子内含量丰富的有毒物质氰化物, 因而在肠道微生物上, 表现出与氰化物解毒相关酶 (如硫氰酸酶) 的丰度也更高 (Zhu *et al.*, 2018), 进一步阐释了大、小熊猫以竹子为食的适应性演化机制。同样, 适应高原极端环境的牦牛 (*B. grunniens*) 和藏绵羊 (*Ovis aries*) 的肠道微生物在短链脂肪酸合成代谢通路上发生趋同, 合成能力显著高于低海拔的黄牛 (*B. taurus domestica*)

和普通绵羊 (*O. aries*) (Zhang *et al.*, 2016)。通过比较野牦牛和黄牛瘤胃粘膜转录组发现, 野牦牛短链脂肪酸运输和吸收相关的基因显著上调, 表明了宿主和肠道微生物的协同演化 (Zhang *et al.*, 2016)。

2.2 肠道微生物与宿主生态适应

自然环境中, 野生动物的食谱呈现季节性转换, 驱动肠道微生物组成和功能的季节性变化。大熊猫在采食竹笋和竹叶的不同时期, 其肠道微生物显著不同, 其多样性在食笋的季节更高 (Wu *et al.*, 2017)。林麝在采食干叶 (冬、春) 和鲜叶 (夏、秋) 时, 其肠道微生物显著不同 (Hu *et al.*, 2018)。野生藏酋猴 (*M. thibetana*) 的粪便中真菌多样性在冬、春季显著高于夏、秋季 (Sun *et al.*, 2018)。秦岭扭角羚 (*Budorcas taxicolor*) 的肠道微生物多样性在春季高于冬季 (Chen *et al.*, 2017)。

2.3 肠道微生物与宿主健康状况

迁地保护作为物种保护的重要组成部分, 野生动物圈养种群数量不断扩大, 因此圈养种群的健康管理至关重要, 关乎野生动物种群的可持续发展。基于圈养种群的保护宏基因组学研究发现, 肠道微生物可作为宿主生理健康状况的晴雨表。由于圈养环境的变化, 食谱的人为控制, 很多动物的圈养种群和野外种群在微生物组成上有很大差异。如野生大熊猫肠道微生物以厚壁菌门为主, 而圈养种群则以变形菌门和厚壁菌门为主 (Zhu *et al.*, 2011;

Xue *et al.*, 2015)。相对于圈养种群, 黔金丝猴、双峰驼 (*Camelus ferus*) 的野外种群均拥有多样性更高的微生物群落 (Yuan *et al.*, 2017; Hale *et al.*, 2019); 不同的饲养条件下, 北白颊长臂猿 (*Nomascus leucogenys*)、亚洲黑熊 (*Ursus thibetanus*) 等物种的肠道微生物也不同 (Song *et al.*, 2017; Jia *et al.*, 2018)。

病原微生物是圈养动物面临的巨大挑战之一。总体来看, 圈养种群的微生物群落不同于野外个体, 一直以来, 多个物种都有不同程度的病原菌感染病例报道 (表 3)。要克服这些问题, 维持肠道微生物稳态至关重要。可见, 保护宏基因组学为物种保护和管理政策的制定提供了科学支撑。

表 3 中国已报道的圈养濒危兽类感染病原菌案例
Table 3 Case reports of the captive threatened mammals in China

物种 Species	病原菌 Pathogens	疾病 Disease	参考文献 Reference
东北虎 <i>Panthera tigris altaica</i>	产气荚膜梭菌 <i>Clostridium perfringens</i>	出血性肠炎, 死亡 Hemorrhagic colitis, death	Zhang <i>et al.</i> , 2012
华南虎 <i>Panthera tigris amoyensis</i>	奇异变形杆菌 <i>Proteus mirabilis</i>	急性死亡 Acute death	范克伟等, 2018
林麝 <i>Moschus berezovskii</i>	葡萄球菌 <i>Staphylococcus</i>	喉头脓肿 Throat abscess	付文龙等, 2010
蒙古野驴 <i>Equus hemionus</i>	肉毒杆菌 <i>Clostridium botulinum</i>	死亡 Death	Shao <i>et al.</i> , 2020
亚洲象 <i>Elephas maximus</i>	真菌 Fungi	皮肤病 Dermatoses	韦莉等, 2012; Qiao <i>et al.</i> , 2016

2.4 肠道微生物与宿主通讯

鹿科动物林麝、马麝 (*M. chrysogaster*) 或原麝 (*M. moschiferus*) 成熟雄体香囊中的干燥分泌物, 即麝香, 用于标志领域和吸引配偶。对林麝的研究发现, 未交配的雄性通常产更多的麝香酮, 其香囊中含有更高的微生物多样性, 这可能与麝香发酵有关 (Li *et al.*, 2018a)。同时, 麝香的成熟过程也伴随着微生物区系的变化。相比于成熟的固态麝香, 在初始的液态麝香中, 微生物多样性更高 (Li *et al.*, 2018b)。

综上, 保护宏基因组学在解决野生动物, 包括哺乳动物的生态、演化、生理、保护等相关问题中发挥不可替代的作用, 从微生物与宿主协同演化的角度为野生动物的保护和管理提供一个全面的视角。

3 未来展望

随着基因组学等多组学技术的快速发展和应用, 保护基因组学和保护宏基因组学也迎来了发展的新时代。濒危兽类作为最受关注的动物类群之一, 其保护基因组学和保护宏基因组学领域的发展也必将在未来取得更大的进展。

3.1 保护基因组学将成为研究主流

保护基因组学不仅可解决传统的保护遗传学关注的遗传多样性、种群遗传结构和种群动态等科学问题, 还可以进一步回溯从古至今的物种演化历史, 解析种群局域适应和物种适应性演化的分子机制。而且全基因组水平分析得来的结果更全面可靠。此外, 除粪便还不能普遍用于高通量测序外, 濒危兽类的陈旧皮张和博物馆皮张已普遍用于基因组重测序, 使得研究所需的样品获得相对比较容易。因此, 在未来保护基因组学将成为兽类濒危的遗传学机制研究的主流。

基因组学技术的快速发展, 揭示了众多濒危兽类适应性演化的分子机制。然而, 目前绝大多数比较基因组学和种群基因组学研究都是基于单核苷酸多态性 (Single nucleotide polymorphism, SNP) 标记的分析, 对于结构变异 (structural variations, SV) 在濒危物种适应性演化和种群局域适应中发挥的作用仍知之甚少。随着第三代测序技术的普及应用, 准确解析 SV 的能力大大提高, 这必将促进对 SV 在濒危兽类适应性演化和种群局域适应中发挥作用的认知。

3.2 保护宏基因组学将成为濒危物种系统研究和保护的重要组成部分

随着对动物肠道微生物组成和功能认识的不断深入,肠道微生物影响着宿主的食性、生理、行为及健康等方方面面。因此,有效保护濒危动物,离不开对其肠道微生物结构和功能的理解和掌握。而新鲜粪便样品的容易获取,也助力了濒危动物保护宏基因组学的快速发展。另一方面,濒危动物与其肠道微生物协同演化,能帮助我们更好理解濒危动物演化过程及其驱动因素,进而为濒危动物的科学保护服务。此外,随着宏基因组技术的发展,微生物纯培养被渐渐忽视,但培养技术对阐明特定微生物的功能是必需的。近年来培养组学技术重新开始成为研究热点,它可以培养目标微生物,发现测序中无法鉴定到的新物种,在一定程度上弥补宏基因组方法的不足。培养组学技术的发展势必为我国兽类肠道微生物资源的挖掘和保藏提供重要的科技保障。

参考文献:

- Allendorf F W, Hohenlohe P A, Luikart G. 2010. Genomics and the future of conservation genetics. *Nature Reviews Genetics*, **11**: 697 – 709.
- Chen J, Zhang H X, Wu X Y, Shang S, Yan J K, Chen Y, Zhang H H, Tang X X. 2017. Characterization of the gut microbiota in the golden takin (*Budorcas taxicolor bedfordi*). *AMB Express*, **7**: 81.
- Chen L, Qiu Q, Jiang Y, Wang K, Lin Z, Li Z, Bibi F, Yang Y, Wang J, Nie W, Su W, Liu G, Li Q, Fu W, Pan X, Liu C, Yang J, Zhang C, Yin Y, Wang Y, Zhao Y, Zhang C, Wang Z, Qin Y, Liu W, Wang B, Ren Y, Zhang R, Zeng Y, da Fonseca R R, Wei B, Li R, Wan W, Zhao R, Zhu W, Wang Y, Duan S, Gao Y, Zhang Y E, Chen C, Hvilson C, Epps C W, Chemnick L G, Dong Y, Mirarab S, Siegmund H R, Ryder O A, Gilbert M T P, Lewin H A, Zhang G, Heller R, Wang W. 2019. Large-scale ruminant genome sequencing provides insights into their evolution and distinct traits. *Science*, **364**: eaav6202.
- Cho Y S, Hu L, Hou H L, Lee H, Xu J H, Kwon S, Oh S, Kim H M, Jho S, Kim S, Shin Y A, Kim B C, Kim H, Kim C U, Luo S J, Johnson W E, Koepfli K P, Schmidt-Kuntzel A, Turner J A, Marker L, Harper C, Miller S M, Jacobs W, Bertola L D, Kim T H, Lee S, Zhou Q, Jung H J, Xu X, Gadhvi P, Xu P, Xiong Y, Luo Y, Pan S K, Gou C Y, Chu X H, Zhang J L, Liu S Y, He J, Chen Y, Yang L F, Yang Y L, Wang J, Kim C H, Kwak H, Kim J S, Hwang S, Ko J, Kim C B, Bayarlaghava D, Paek W K, Kim S J, O'Brien S J, Bhak J. 2013. The tiger genome and comparative analysis with lion and snow leopard genomes. *Nature Communications*, **4**: 2433.
- Fan H Z, Hu Y B, Wu Q, Nie Y G, Yan L, Wei F W. 2018. Conservation genetics and genomics of threatened vertebrates in China. *Journal of Genetics and Genomics*, **45**: 593 – 601.
- Ge R L, Cai Q, Shen Y Y, San A, Ma L, Zhang Y, Yi X, Chen Y, Yang L, Huang Y, He R, Hui Y, Hao M, Li Y, Wang B, Ou X, Xu J, Zhang Y, Wu K, Geng C, Zhou W, Zhou T, Irwin D M, Yang Y, Ying L, Bao H, Kim J, Larkin D M, Ma J, Lewin H A, Xing J, Platt R N 2nd, Ray D A, Auvi L, Capitanu B, Zhang X, Zhang G, Murphy R W, Wang J, Zhang Y P, Wang J. 2013. Draft genome sequence of the Tibetan antelope. *Nature Communications*, **4**: 1858.
- Guo W, Mishra S, Wang C D, Zhang H M, Ning R H, Kong F L, Zeng B, Zhao J C, Li Y. 2019. Comparative study of gut microbiota in wild and captive giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*). *Genes*, **10**: 827.
- Hale V L, Tan C L, Niu K, Yang Y, Zhang Q, Knight R, Amato K R. 2019. Gut microbiota in wild and captive Guizhou snub-nosed monkeys, *Rhinopithecus brelichi*. *American Journal of Primatology*, **81**: e22989.
- Handelsman J. 2004. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, **68**: 669 – 685.
- Huang G P, Wang X, Hu Y B, Wu Q, Nie Y G, Dong J H, Ding Y, Yan L, Wei F W. 2020. Diet drives convergent evolution of gut microbiomes in bamboo-eating species. *Science China – Life Sciences*, doi: 10. 1007/s11427 – 020 – 1750 – 7.
- Hu J Y, Hao Z Q, Frantz L, Wu S F, Chen W, Jiang Y F, Wu H, Kuang W M, Li H, Zhang Y P, Yu L. 2020. Genomic consequences of population decline in critically endangered pangolins and their demographic histories. *National Science Review*, **7**: 798 – 814.
- Hu X L, Liu G, Li Y M, Wei Y T, Lin S B, Liu S Q, Zheng Y L, Hu D F. 2018. High-throughput analysis reveals seasonal variation of the gut microbiota composition within forest musk deer (*Moschus berezovskii*). *Frontiers in Microbiology*, **9**: 1674.
- Hu Y, Wu Q, Ma S, Ma T, Shan L, Wang X, Nie Y, Ning Z, Yan L, Xiu Y, Wei F. 2017. Comparative genomics reveals convergent evolution between the bamboo-eating giant and red pandas. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **114**: 1081 – 1086.
- Hu Y, Thapa A, Fan H, Ma T, Wu Q, Ma S, Zhang D, Wang B, Li M, Yan L, Wei F. 2020. Genomic evidence for two phylogenetic species and long-term population bottlenecks in red pandas. *Science Advances*, **6**: eaax5751.
- Jia T, Zhao S F, Knott K, Li X G, Liu Y, Li Y, Chen Y F, Yang M H, Lu Y P, Wu J Y, Zhang C L. 2018. The gastrointestinal tract microbiota of northern white-cheeked gibbons (*Nomascus leucogenys*) varies with age and captive condition. *Scientific Reports*, **8**: 3214.
- Kuang W M, Ming C, Li H P, Wu H, Frantz L, Roos C, Zhang Y P, Zhang C L, Jia T, Yang J Y, Yu L. 2019. The origin and population history of the endangered golden snub-nosed monkey (*Rhinopithecus roxellana*). *Molecular Biology and Evolution*, **36**: 487 – 499.

- Kuang W M, Hu J Y, Wu H, Fen X T, Dai Q Y, Fu Q M, Xiao W, Frantz L, Roos C, Nadler T, Irwin D M, Zhou L C, Yang X, Yu L. 2020. Genetic diversity, inbreeding level, and genetic load in endangered snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus*). *Frontiers in Genetics*, **11**: 615926.
- Lee H, Gurtowski J, Yoo S, Nattestad M, Marcus S, Goodwin S, McCombie W R, Schatz M. 2016. Third-generation sequencing and the future of genomics. *BioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/048603>.
- Li R Q, Fan W, Tian G, Zhu H M, He L, Cai J, Huang Q F, Cai Q L, Li B, Bai Y Q, Zhang Z H, Zhang Y P, Wang W, Li J, Wei F W, Li H, Jian M, Li J W, Zhang Z L, Nielsen R, Li D W, Gu W J, Yang Z T, Xuan Z L, Ryder O A, Leung F C, Zhou Y, Cao J J, Sun X, Fu Y G, Fang X D, Guo X S, Wang B, Hou R, Shen F J, Mu B, Ni P X, Lin R M, Qian W B, Wang G D, Yu C, Nie W H, Wang J H, Wu Z G, Liang H Q, Min J M, Wu Q, Cheng S F, Ruan J, Wang M W, Shi Z B, Wen M, Liu B H, Ren X L, Zheng H S, Dong D, Cook K, Shan G, Zhang H, Kosiol C, Xie X Y, Lu Z H, Zheng H C, Li Y R, Steiner C C, Lam T Y, Lin S Y, Zhang Q H, Li G Q, Tian J, Gong T M, Liu H D, Zhang D J, Fang L, Ye C, Zhang J B, Hu W B, Xu A L, Ren Y Y, Zhang G J, Bruford M W, Li Q B, Ma L J, Guo Y R, An N, Hu Y J, Zheng Y, Shi Y Y, Li Z Q, Liu Q, Chen Y L, Zhao J, Qu N, Zhao S C, Tian F, Wang X L, Wang H, Xu L Z, Liu X, Vinar T, Wang Y J, Lam T W, Yiu S M, Liu S P, Zhang H M, Li D S, Huang Y, Wang X, Yang G H, Jiang Z, Wang J Y, Qin N, Li L, Li J X, Bolund L, Kristiansen K, Wong G K, Olson M, Zhang X Q, Li S G, Yang H M, Wang J, Wang J. 2010. The sequence and de novo assembly of the giant panda genome. *Nature*, **463**: 311–317.
- Li Y M, Zhang T X, Qi L, Yang S, Xu S H, Cha M H, Zhang M S, Huang Z X, Yu J, Hu D F, Liu S Q. 2018a. Microbiota changes in the musk gland of male forest musk deer during musk maturation. *Frontiers in Microbiology*, **9**: e22989.
- Li Y M, Hu X L, Yang S, Zhou J T, Qi L, Sun X N, Fan M Y, Xu S H, Cha M H, Zhang M S, Lin S B, Liu S Q, Hu D F. 2018b. Comparison between the fecal bacterial microbiota of healthy and diarrheic captive musk deer. *Frontiers in Microbiology*, **9**: 300.
- Lin Z, Chen L, Chen X, Zhong Y, Yang Y, Xia W, Liu C, Zhu W, Wang H, Yan B, Yang Y, Liu X, Kvie K S, Røed K H, Wang K, Xiao W, Wei H, Li G, Heller R, Gilbert M T P, Qiu Q, Wang W, Li Z. 2019. Biological adaptations in the Arctic cervid, the reindeer (*Rangifer tarandus*). *Science*, **364**: eaav6312.
- Liu X C, Fan P L, Che R X, Li H, Yi L N, Zhao N, Garber P A, Li F, Jiang Z G. 2018. Fecal bacterial diversity of wild Sichuan snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*). *American Journal of Primatology*, **80**: e22753.
- Liu Y C, Sun X, Driscoll C, Miquelle D G, Xu X, Martelli P, Upphyrkin O, Smith J L D, O'Brien S J, Luo S J. 2018. Genome-wide evolutionary analysis of natural history and adaptation in the world's tigers. *Current Biology*, **28**: 3840–3849.
- Liu Z, Tan X, Orozco-terWengel P, Zhou X, Zhang L, Tian S, Yan Z, Xu H, Ren B, Zhang P, Xiang Z, Sun B, Roos C, Bruford M W, Li M. 2018. Population genomics of wild Chinese rhesus macaques reveals a dynamic demographic history and local adaptation, with implications for biomedical research. *Gigascience*, **7**: giy106.
- Loman N J, Quick J, Simpson J T. 2015. A complete bacterial genome assembled de novo using only nanopore sequencing data. *Nature Methods*, **12**: 733–735.
- Mardis E R. 2008. Next-generation DNA sequencing methods. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, **9**: 387–402.
- Qiao X F, Hu J, Wu D F, Wei L, Yang Y, Chen J K, Mi B Z, Yang S Q. 2016. Isolation and identification of *Microsporium canis* from Asian elephants (*Elephas maximus*) in the Chongqing Zoo, China. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **47**: 844–845.
- Qiu Q, Zhang G, Ma T, Qian W, Wang J, Ye Z, Cao C, Hu Q, Kim J, Larkin D M, Auvil L, Capitanu B, Ma J, Lewin H A, Qian X, Lang Y, Zhou R, Wang L, Wang K, Xia J, Liao S, Pan S, Lu X, Hou H, Wang Y, Zang X, Yin Y, Ma H, Zhang J, Wang Z, Zhang Y, Zhang D, Yonezawa T, Hasegawa M, Zhong Y, Liu W, Zhang Y, Huang Z, Zhang S, Long R, Yang H, Wang J, Lenstra J A, Cooper D N, Wu Y, Wang J, Shi P, Wang J, Liu J. 2012. The yak genome and adaptation to life at high altitude. *Nature Genetics*, **44**: 946–949.
- Qiu Q, Wang L, Wang K, Yang Y, Ma T, Wang Z, Zhang X, Ni Z, Hou F, Long R, Abbott R, Lenstra J, Liu J. 2015. Yak whole-genome resequencing reveals domestication signatures and prehistoric population expansions. *Nature Communications*, **6**: 10283.
- Roberts R J, Carneiro M O, Schatz M C. 2013. The advantages of SMRT sequencing. *Genome Biology*, **14**: 405.
- Sanger F, Nicklen S, Coulson A R. 1977. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **74**: 5463–5467.
- Shao J W, Ruan X D, Qin X C, Yan J, Zhang Y Z. 2020. Metatranscriptomics reveals that the death of a Mongolian wild ass was caused by *Clostridium botulinum* in Inner Mongolia, China. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **32**: 287–290.
- Song C, Wang B C, Tan J, Zhu L C, Lou D S. 2017. Comparative analysis of the gut microbiota of black bears in China using high-throughput sequencing. *Molecular Genetics and Genomics*, **292**: 407–414.
- Sun B H, Gu Z Y, Wang X, Huffman M A, Garber P A, Sheeran L K, Zhang D, Zhu Y, Xia D P, Li J H, Cen X X. 2018. Season, age, and sex affect the fecal microbiota of free-ranging Tibetan macaques (*Macaca thibetana*). *American Journal of Primatology*, **80**: e22880.
- Wei F W, Wang X, Wu Q. 2015. The giant panda gut microbiome. *Trends in Microbiology*, **23**: 450–452.
- Wei F W, Wu Q, Hu Y B, Huang G P, Nie Y G, Yan L. 2019. Conservation metagenomics: a new branch of conservation biology. *Sci China-Life Sciences*, **62**: 168–178.
- Wu Q, Wang X, Ding Y, Hu Y B, Nie Y G, Wei W, Ma S, Yan L, Zhu L F, Wei F W. 2017. Seasonal variation in nutrient utilization shapes gut microbiome structure and function in wild giant pandas. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, **284**:

- 20170955.
- Xue Z S, Zhang W P, Wang L H, Hou R, Zhang M H, Fei L S, Zhang X J, Huang H, Bridgewater L C, Jiang Y, Jiang C L, Zhao L P, Pang X Y, Zhang Z H. 2015. The bamboo-eating giant panda harbors a carnivore-like gut microbiota, with excessive seasonal variations. *mBio*, **6**: e00022 – 15.
- Yu L, Wang G D, Ruan J, Chen Y B, Yang C P, Cao X, Wu H, Liu Y H, Du Z L, Wang X P, Yang J, Cheng S C, Zhong L, Wang L, Wang X, Hu J Y, Fang L, Bai B, Wang K L, Yuan N, Wu S, Li B G, Zhang J G, Yang Y Q, Zhang C L, Long Y C, Li H S, Yang J Y, Irwin D M, Ryder O A, Li Y, Wu C I, Zhang Y P. 2016. Genomic analysis of snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus*) identifies genes and processes related to high-altitude adaptation. *Nature Genetics*, **48**: 947 – 952.
- Yuan L, Qi A, Cheng Y, Sagen G L, Qu Y, Liu B. 2017. Fecal microbiota of three bactrian camels (*Camelus ferus* and *Camelus bactrianus*) in China by high throughput sequencing of the V3 – V4 region of the 16S rRNA gene. *Journal of Arid Land*, **9**: 153 – 159.
- 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 Journal*, **12**: 1319 – 1328.
- Zhang Y L, Hou Z J, Ma J Z. 2012. Hemorrhagic enterocolitis and death in two felines (*Panthera tigris altaica* and *Panthera leo*) associated with clostridium perfringens type A. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, **43**: 394 – 396.
- Zhang Z G, Xu D M, Wang L, Hao J J, Wang J F, Zhou X, Wang W W, Qiu Q, Huang X D, Zhou J W, Long R J, Zhao F Q, Shi P. 2016. Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals. *Current Biology*, **26**: 1873 – 1879.
- Zhao S, Zheng P, Dong S, Zhan X, Wu Q, Guo X, Hu Y, He W, Zhang S, Fan W, Zhu L, Li D, Zhang X, Chen Q, Zhang H, Zhang Z, Jin X, Zhang J, Yang H, Wang J, Wang J, Wei F. 2013. Whole-genome sequencing of giant pandas provides insights into demographic history and local adaptation. *Nature Genetics*, **45**: 67 – 71.
- Zhou X, Sun F, Xu S, Fan G, Zhu K, Liu X, Chen Y, Shi C, Yang Y, Huang Z, Chen J, Hou H, Guo X, Chen W, Chen Y, Wang X, Lv T, Yang D, Zhou J, Huang B, Wang Z, Zhao W, Tian R, Xiong Z, Xu J, Liang X, Chen B, Liu W, Wang J, Pan S, Fang X, Li M, Wei F, Xu X, Zhou K, Wang J, Yang G. 2013. Baiji genomes reveal low genetic variability and new insights into secondary aquatic adaptations. *Nature Communications*, **4**: 2708.
- Zhou X, Wang B, Pan Q, Zhang J, Kumar S, Sun X, Liu Z, Pan H, Lin Y, Liu G, Zhan W, Li M, Ren B, Ma X, Ruan H, Cheng C, Wang D, Shi F, Hui Y, Tao Y, Zhang C, Zhu P, Xiang Z, Jiang W, Chang J, Wang H, Cao Z, Jiang Z, Li B, Yang G, Roos C, Garber P A, Bruford M W, Li R, Li M. 2014. Whole-genome sequencing of the snub-nosed monkey provides insights into folivory and evolutionary history. *Nature Genetics*, **46**: 1303 – 1310.
- Zhou X, Meng X, Liu Z, Chang J, Wang B, Li M, Wengel P O, Tian S, Wen C, Wang Z, Garber P A, Pan H, Ye X, Xiang Z, Bruford M W, Edwards S V, Cao Y, Yu S, Gao L, Cao Z, Liu G, Ren B, Shi F, Peterfi Z, Li D, Li B, Jiang Z, Li J, Gladyshev V N, Li R, Li M. 2016. Population genomics reveals low genetic diversity and adaptation to hypoxia in snub-nosed monkeys. *Molecular Biology and Evolution*, **33**: 2670 – 2681.
- Zhou X, Guang X, Sun D, Xu S, Li M, Soim I, Jie W, Yang L, Zhu Q, Xu J, Gao Q, Kaya A, Dou Q, Chen B, Ren W, Li S, Zhou K, Gladyshev V N, Nielsen R, Fang X, Yang G. 2018. Population genomics of finless porpoises reveal an incipient cetacean species adapted to freshwater. *Nature Communications*, **9**: 1276.
- Zhu H, Zeng D, Wang Q, Wang N, Zeng B, Niu L L, Ni X Q. 2018. Diarrhea-associated intestinal microbiota in captive Sichuan golden snub-nosed monkeys (*Rhinopithecus roxellana*). *Microbes and Environments*, **33**: 249 – 256.
- 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. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **108**: 17714 – 17719.
- Zhu L F, Yang Z S, Yao R, Xu L L, Chen H, Gu X D, Wu T G, Yang X Y. 2018. Potential mechanism of detoxification of cyanide compounds by gut microbiomes of bamboo-eating pandas. *mSphere*, **3**: e00229 – 18.
- 丁赞, 吴琦, 胡义波, 王潇, 聂永刚, 吴小平, 魏辅文. 2017. 野生哺乳动物肠道微生物组研究进展与展望. *兽类学报*, **37** (4): 399 – 406.
- 韦莉, 韩志刚, 吴登虎, 姚勇, 杨金龙, 潘永全. 2012. 重庆动物园亚洲象真菌性皮肤病的治疗探讨. *四川动物*, **31** (2): 266 – 268.
- 付文龙, 付春梅, 王建明, 蔡永华. 2010. 林麝喉头后侧深部脓肿的诊断与治疗. *经济动物学报*, **14** (4): 222 – 224.
- 范克伟, 余佳, 杨守深, 傅文源, 林开雄, 杨小燕, 黄翠琴, 戴爱玲, 林青青, 林宏彬, 王娟, 邓阿丽. 2018. 华南虎源奇异变形杆菌的分离鉴定及其系统发育分析. *中国兽医科学*, **48** (1): 69 – 75.
- 魏辅文, 单磊, 胡义波, 聂永刚. 2019. 保护演化生物学: 保护生物学的新分支. *中国科学 – 生命科学*, **49** (4): 498 – 508.