



基于微卫星标记的雪豹种群结构及遗传多样性

周颖娜¹, 李金霖¹, 马跃^{1,2,3}, 王震^{1,2,3*}

1. 东北林业大学野生动物与自然保护地学院, 哈尔滨, 150040;
2. 国家林业和草原局野生动植物检测中心, 哈尔滨, 150040;
3. 东北林业大学司法鉴定所, 哈尔滨, 150040)

稿件运行过程

收稿日期: 2024-04-10

修回日期: 2024-05-08



关键词: 雪豹;

种群结构;

遗传多样性;

微卫星标记

Keywords: Snow leopard (*Panthera uncia*);

Population structure;

Genetic diversity;

Microsatellite markers

中图分类号: Q953

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0699-10

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240402

摘要

掌握雪豹(*Panthera uncia*)的遗传多样性信息对其保护和管理有重要意义。对104只雪豹个体的组织样品提取DNA,结合文献中提供的70个雪豹基因分型数据,利用9个微卫星多态性位点进行遗传多样性研究。结果显示:当样本量从70个增加到174个时,雪豹种群有分化为2个种群的趋势,即西北部群和中部群;共检测到45个等位基因(N_a),中部、西北部2个种群平均每个位点 N_a 分别为4.556和4.667,平均期望杂合度(H_e)分别为0.574和0.591,平均观测杂合度(H_o)分别为0.517和0.498。雪豹群体的平均近交系数(F_{is})为0.137,平均遗传分化系数(F_{st})为0.067,平均多态信息含量(P_{IC})为0.602,种群间遗传变异为15.24%,种群内遗传变异为84.76%。9个微卫星位点具有中高程度多态性,与其他雪豹研究相比,2个雪豹种群遗传多样性处于中等水平,种群间遗传分化水平处于中等程度,遗传变异大部分来源于群体内部。研究结果对全球雪豹的种群结构和遗传多样性研究具有重要意义,也为雪豹未来的科学保护提供可靠的遗传背景。

Population Structure and Genetic Diversity of Snow Leopard Based on Microsatellite Markers

ZHOU Yingna¹, LI Jinlin¹, MA Yue^{1,2,3}, WANG Zhen^{1,2,3*}

基金项目: 国家林业和草原局机关业务委托项目(HFW220200050)

第一作者简介: 周颖娜(1999—),女,硕士研究生;主要从事保护遗传学研究。E-mail:1451917339.qq.com

*通信作者: 王震, E-mail:25252170@qq.com

- (1. College of Wildlife and Protected Area, Northeast Forestry University, Harbin, 150040, China;
2. National Forestry and Grassland Administration Detecting Center of Wildlife, Harbin, 150040, China;
3. Wildlife Forensic Institute of Northeast Forestry University, Harbin, 150040, China)

Abstract: Understanding the genetic diversity of snow leopards (*Panthera uncia*) is crucial for their conservation and management. In this study, DNA was extracted from tissue samples of 104 snow leopard individuals, and combined with 70 snow leopard genotyping data from the literature, a genetic diversity analysis was conducted using nine microsatellite polymorphic loci. The results revealed that as the sample size increased from 70 to 174, the snow leopard population tended to differentiate into two distinct groups: a northwest group and a central group. A total of 45 alleles were detected in the two groups, with an average number of alleles per locus (N_a) of 4.556 and 4.667, respectively, for the central and northwest populations; The average expected heterozygosity (H_e) was 0.574 and 0.591, while the average observed heterozygosity (H_o) was 0.517 and 0.498, respectively. The average inbreeding coefficient (F_{IS}) for the snow leopard population was 0.137, the average genetic differentiation coefficient (F_{ST}) was 0.067, and the average polymorphic information content (P_{IC}) was 0.602. The genetic variation between populations accounted for 15.24%, and the genetic variation within populations is 84.76%. The nine microsatellite loci exhibited medium to high levels of polymorphism. Compared to other snow leopard studies, the genetic diversity of the two snow leopard groups was moderate, and the level of genetic differentiation between populations was at a medium level. Most of the genetic variation originated within the populations. These findings are significant for global research on snow leopard population structures and genetic diversity, and provide a reliable genetic background for future scientific conservation efforts.

雪豹(*Panthera uncia*)是全球广泛关注的濒危物种之一,隶属于食肉目(Carnivora)猫科(Felidae)豹属(*Panthera*)^[1],通常出现在海拔3 000~4 500 m的区域,但在海拔900~1 500 m的戈壁沙漠的北部地区及海拔高至5 800 m的喜马拉雅或青藏高原区域也有活动^[2]。长期以来,因栖息地丧失、猎物减少、气候变化以及非法盗猎等因素的影响,雪豹种群持续下降^[3-4],已被列为国家一级重点保护野生动物和《中国生物多样性红色名录:脊椎动物卷》濒危(EN)等级^[5-6]。目前,雪豹分布于我国青藏高原及其周边的12个国家,是山地生物多样性的旗舰物种^[7]。在中国,雪豹分布在8个省区,其栖息地面积占全球雪豹栖息地面积的60%以上,中国在雪豹的物种保护方面有重要地位^[1]。

了解并掌握雪豹的遗传背景、致危因素及遗传多样性水平,对雪豹的科学保护具有重要意义。由于雪豹活动的特殊性,样品采集面临着诸多挑战。随着技术的发展,非损伤性遗传取样法提供了解决方案,通过收集野生动物脱落的毛发及排泄物等样品,使用分子标记如扩增片段长度多态性^[8]、随机扩增多态性DNA^[9]、线粒体基因^[10]及微卫星^[11]等,在这

些分子标记中,微卫星因其高度多态性、选择中性和共显性等优点,在个体识别、遗传多样性评估和种群遗传结构分析等方面具有广泛的应用前景^[12]。

目前,通过采集雪豹粪便获得遗传信息,并使用微卫星分子标记对雪豹群体遗传多样性进行了较广泛的研究,已经覆盖中国、蒙古国和印度等9个国家^[13-20]。有研究推测全球雪豹应分为3个亚种,西部亚种(*P. uncia uncia*)分布于天山山脉、帕米尔高原、喀喇昆仑山脉和喜马拉雅山脉西段等;中部亚种(*P. u. uncoides*)分布于青藏高原和喜马拉雅山中东段;北部亚种(*P. u. irbis*)分布于阿尔泰山脉和蒙古国南部戈壁^[16]。综合以上研究,与豹属其他物种相比,雪豹的遗传多样性处于较低水平^[1],但雪豹的遗传多样性及亚种划分可能因样本采集位置及数量受限而导致结果差异。因此,本研究进一步扩大雪豹的采样范围及数量,以获得更准确的遗传学数据,为未来的雪豹种群划分及遗传学保护提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验样本

以东北林业大学野生动植物检测中心实验室在

执法鉴定和行业监管中采样得到的104个雪豹个体组织样本(101个来源于四川西部、西藏和青海等地,3个来自蒙古国进境执法检查)为研究对象,将其置于密封袋中,-20℃保存。由文献[16]获得70个已知来源地的3个雪豹种群微卫星基因分型数据。

1.2 DNA提取

使用AxyPrep Genomic DNA Miniprep Kit(Axygen,美国)试剂盒按说明书对104个雪豹组织样本进行DNA提取。使用1.0%琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度,用紫外分光光度计(Implen,德国)测定DNA浓度,并置于-20℃保存备用。

1.3 PCR扩增

根据雪豹已有研究成果^[16],选用9对微卫星引物(PUN1157、PUN82、PUN100、PUN8972、PUN1283、PUN80、PUN1270、PUN272、PUN44)用于肌肉样本DNA的扩增(表1)。PCR反应体系和反应条件与文献[16]一致。取3 μL PCR产物进行1.0%琼脂糖凝胶检测,其中成功扩增的PCR产物用ABI 3730XL测序仪(Applied Biosystems Inc,美国)进行毛细管电泳检测,得到等位基因大小。以上实验,除DNA提取外,均由北京六合华大基因科技有限公司完成。

表1 9对微卫星引物序列

Tab. 1 Sequences of nine pairs of microsatellite primers

引物名称 Primer name	引物序列(5'→3') Primer sequence(5'→3')	荧光标记 Fluorescent labels
PUN1157	F:GAGAGTGCAGTCAGCCAGGT R:TGAAATTCAGCTGCTTCAACTC	FAM
PUN82	F:CCGCTTAAGAAGAGGCTAAAAA R:TCAAAGAGTGTGTTAGATAATATGGA	HEX
PUN100	F:GATTGTAACCCAAAGAAAAAGA R:ATCCCTCTAGACATCTTAGTCACC	ROX
PUN8972	F:CCTGACTATTCAATCCACCT R:AAAATGTGCCTGATTGAACAAA	FAM
PUN1283	F:TCATCACCAACCTTGCATTT R:ACCAAGGATGTCTGCGTCTT	HEX
PUN80	F:GCAGCTTAACTGTAAGGTCCAA R:TCTTCCTCCTCCGTGTATG	ROX
PUN1270	F:TGCCTCCTCCTCTACTGTG R:ACAGAGTGATTCCAAGACA	FAM
PUN272	F:CACCTTTGCATCCAATAAATTC R:AACTACCTTTACCTCCTTCCAAA	HEX
PUN44	F:AACTACCTTTACCTCCTTCCAAA R:AGGCCTGAACCAAGAGAAT	ROX

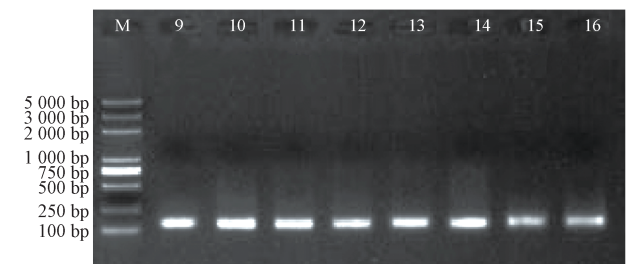
1.4 数据处理

利用9个微卫星位点分别对70个文献中的样本和合并104个样本后的全部样本(174个)进行种群结构分析。主成分分析(principal component analysis,PCA)使用R 3.2.4的adegetnet 1.2.4包^[21]。种群结构分析使用Structure 2.3.4软件^[22]中的贝叶斯聚类方法, K 值1~8,每个 K 值计算15次并确定最佳 K 值^[23]。使用GenAlEx 6.5^[24]统计3个群体的等位基因数(N_a)、有效等位基因(N_e)、观测杂合度(H_o)、期望杂合度(H_e)、香农信息指数(I)、近交系数(F_{IS})和群体遗传分化系数(F_{ST})。使用PowerMarker 3.25^[25]统计遗传多态性信息含量(P_{IC})以及个体间的Nei's遗传距离。基于174个雪豹样本间Nei's遗传距离,使用MEGA11软件^[26]的个体邻接法(neighbor-joining, NJ)构建聚类树。使用Arlequin 3.5.2.2软件^[27]进行分子方差分析(analysis of molecular variance, AMOVA)。

2 结果与分析

2.1 PCR扩增结果

用9对微卫星引物对104个雪豹样本DNA进行扩增,获得长度在100~150 bp的扩增条带,扩增条带清晰,大小一致(图1),可以用于后续多态性分析。



M代表BGI D2000 Plus DNA Ladder;9~16代表8个样本。

M represents BGI D2000 Plus DNA Ladder;9-16 represents eight samples.

图1 部分雪豹样品的微卫星引物PCR扩增结果

Fig. 1 PCR amplification results of microsatellite primers for some snow leopard samples

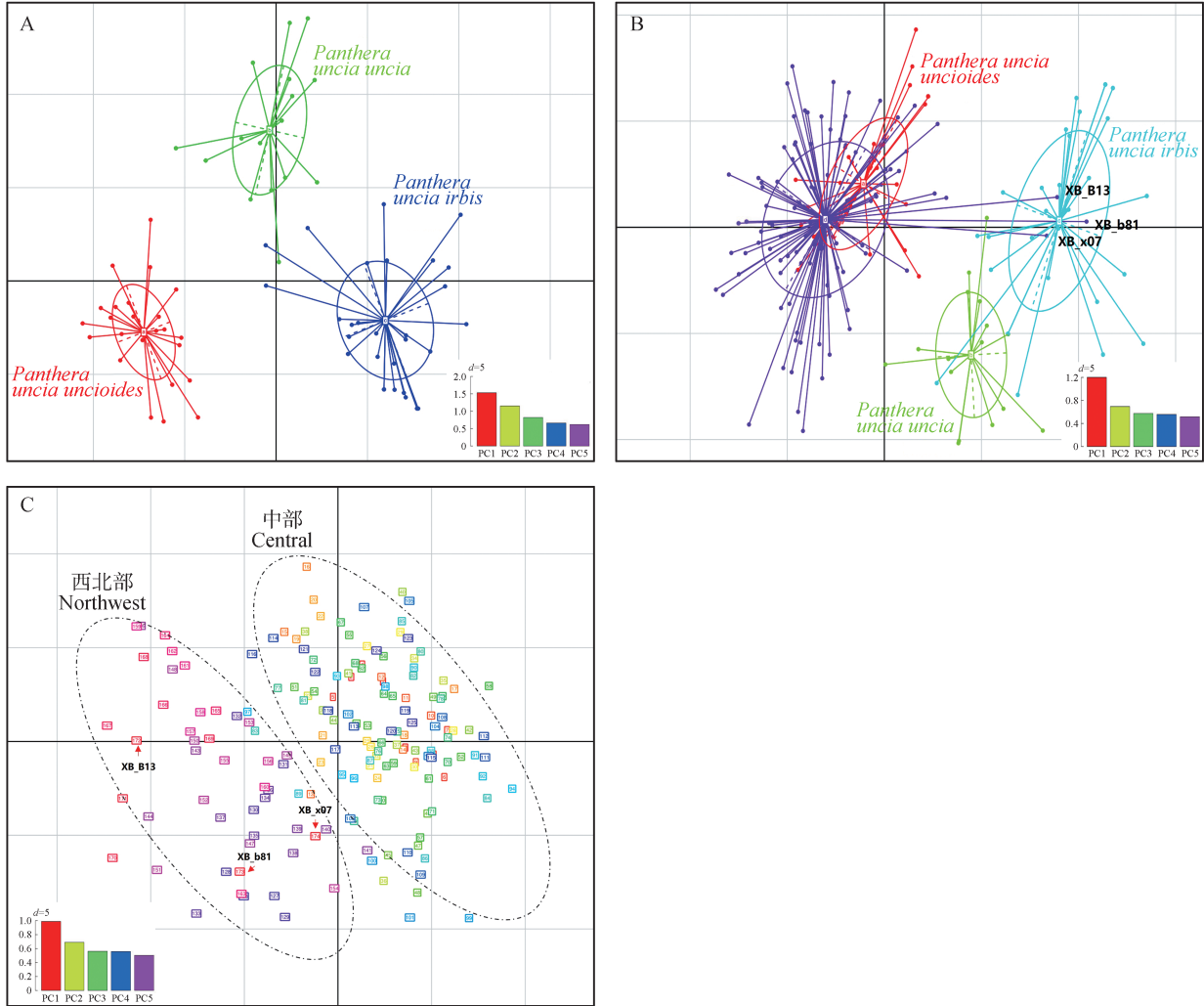
2.2 种群结构

从图2A可知,9个微卫星位点可将70个已知样本数据按照3个雪豹种群清晰分开,表明这些微卫星位点具有较高的灵敏度。

全部样本的PCA结果显示:101个样本与文献[16]中的中部样本聚集在一起,3个样本与文献[16]中的

北部样本聚集在一起,与样本来源地相符(图2B);同时相对于中部样本,西部样本与北部样本呈现出聚集的趋势。为排除地理标签对PCA分析的影响,

去除地理标签限制后绘制的PCA结果显示:整体数据主要分为2个聚类群(图2C),即西部与北部种群数据并为一个群体,中部种群数据并为一个群体。



A 为基于 70 个文献提供的雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点的 PCA 结果;B 为基于 174 个雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点的 PCA 结果;C 为基于 174 个未判定地理位置的雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点的 PCA 结果。样本来源:中部 1~125(青海北部 1~6, 青海南部 7~11, 喜马拉雅地区 12~24, 25~125 四川、西藏、青海);西部 126~141(印度 126~129, 巴基斯坦 130~133, 塔吉克斯坦 134~137, 吉尔吉斯斯坦 138~141);北部 142~174(蒙古国西部 142~156, 蒙古国南部: 157~171, 蒙古国样本 172~174), 其中 XB_B13、XB_x07、XB_b81 为蒙古国进境执法检查收集样品。

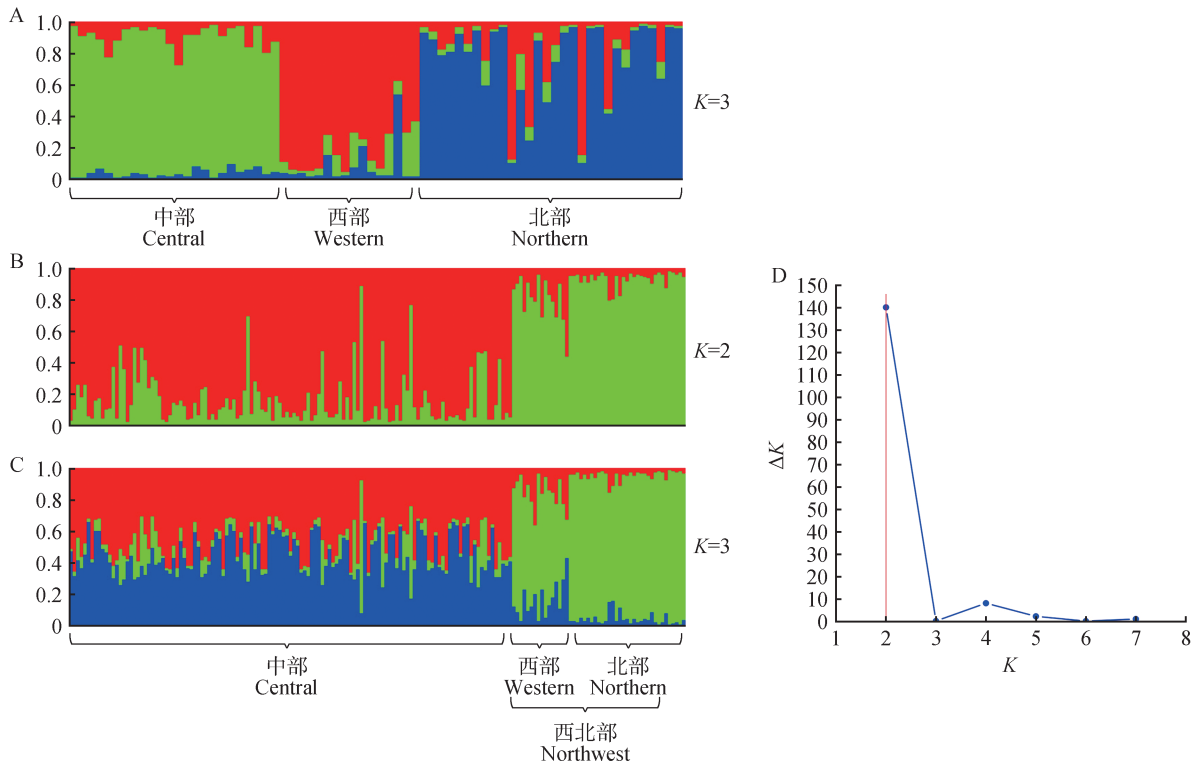
Figure A shows PCA results based on 70 literature provided snow leopard genotyping data and nine microsatellite loci; Figure B shows PCA results based on 174 snow leopard genotyping data and nine microsatellite loci; Figure C shows PCA results based on 174 undetermined geographic locations snow leopard genotyping data and nine microsatellite loci. Sample sources: central 1-125(northern Qinghai 1-6, southern Qinghai 7-11, Himalayan 12-24, 25-125 Sichuan, Xizang, Qinghai). Western 126-141(India 126-129, Pakistan 130-133, Tajikistan 134-137, Kyrgyzstan 138-141). Northern 142-174 (western Mongolia 142-156, southern Mongolia: 157-171, Mongolia sample 172-174), of which XB_B13, XB_x07, XB_b81 are samples collected from Mongolia's inbound law enforcement inspections.

图2 雪豹种群主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis (PCA) of snow leopard populations

基于 PCA 结果,对雪豹的种群结构进行分析。由图 3A 可知,对于 70 个已知样本,当 $K = 3$ 时,中部、西部和北部种群祖先成分呈不同结构,与文献[16]中的结果基本一致。174 个样本的分析结果显示:当

$K = 2$ 和 $K = 3$ 时,两种结果均体现出西部种群和北部种群祖先成分具有一致性(图 3B,C),且当 $K = 2$ 时, ΔK 呈现最大值(图 3D)。结果表明,雪豹分为 2 个种群具有一定的合理性。



A 为 $K=3$ 时,基于 70 个文献提供的雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点种群结构结果;B 为 $K=2$ 时,基于 174 个雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点的种群结构结果;C 为 $K=3$ 时,基于 174 个雪豹基因分型数据及 9 个微卫星位点的种群结构结果;D 为 ΔK 评估值。

Figure A shows the result of snow leopard population structure based on 70 literature provided genotyping data and nine microsatellite loci at $K=3$. Figure B shows the result of snow leopard population structure based on 174 genotyping data and nine microsatellite loci at $K=2$. Figure C show the results of snow leopard population structure based on 174 genotyping data s and nine microsatellite loci at $K=3$. Figure D shows the evaluated values of ΔK .

图3 雪豹种群结构分析结果

Fig. 3 Population structure analysis results of snow leopard

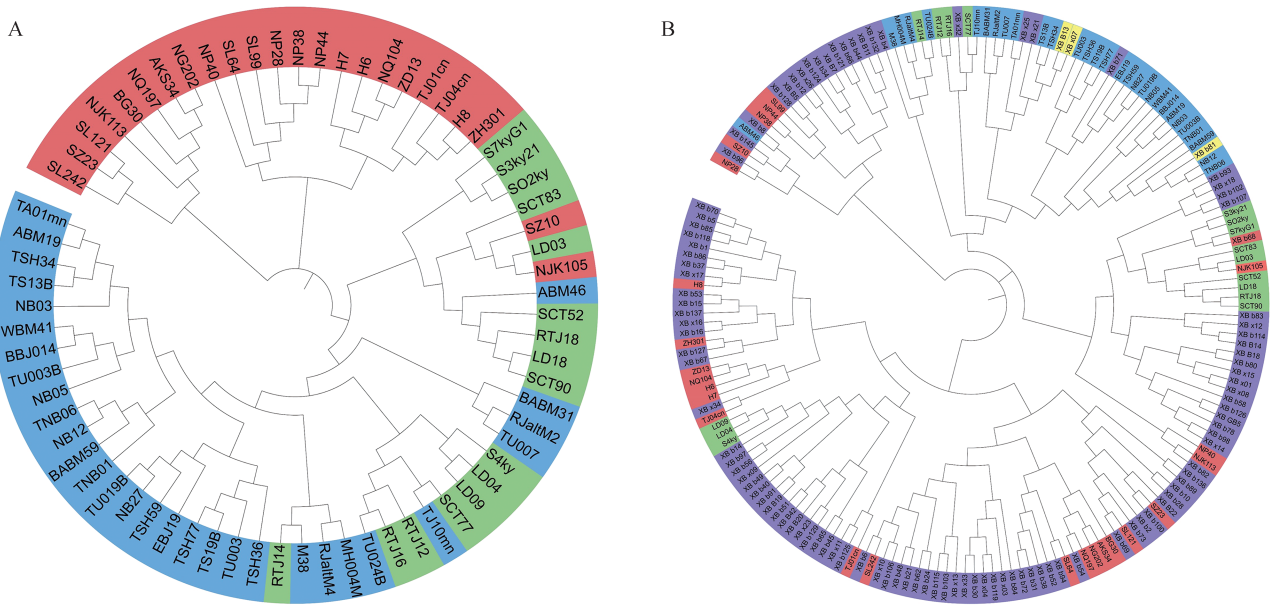
此外,基于 70 个样本和 174 个样本的 Nei's 遗传距离分别构建了 NJ 聚类树(图 4)。70 个样本的聚类树显示(图 4A),西部与北部个体混合在一支,中部个体主要分为两支;174 个样本的聚类树显示(图 4B),西部与北部大部分个体仍主要聚集在一支,不过一部分中部个体与西部个体混在一支。虽然两个 NJ 聚类树均存在少量个体的混合穿插,但均表明西部与北部个体的遗传距离较近,也支持雪豹西部与北部种群并为一个群体。

2.3 遗传多样性分析

首先分析全部样本的总体遗传多样性,共识别出 45 个 N_a 。由表 2 可知,所有微卫星位点的 N_a 平均值为 4.611(3.500 ~ 7.500); N_e 平均值为 2.587(1.655 ~ 4.124); I 平均值为 1.079(0.707 ~ 1.468); H_o 平均值为 0.508(0.271 ~ 0.679); H_e 平均值为 0.583(0.396 ~ 0.756); F_{is} 平均值为 0.137,其中 PUN82 为负值,其余 8 个位点为正值; F_{st} 平均值为 0.067(0.010 ~

0.179); P_{ic} 平均值为 0.602(0.411 ~ 0.787)。结果表明,9 个位点均呈现中高程度的遗传多样性,其中 3 个位点表现为中度多态性($0.25 < P_{ic} < 0.50$),分别为 PUN44、PUN1283 和 PUN82,其余位点均为高度多态性位点($P_{ic} > 0.50$),遗传多样性较丰富。

中部群和西北部群的遗传多样性结果显示(表 3):9 个位点在 2 个种群中检测到 3 ~ 8 个 N_a ,其中 PUN1270 位点检测到的 N_a 数量最多,PUN1283、PUN80 和 PUN82 位点检测到的 N_a 数量最少;中部和西北部 2 个种群的平均 N_a 分别为 4.556 和 4.667;平均 N_e 分别为 2.548 和 2.626;平均 H_o 分别为 0.517 和 0.498;平均 H_e 分别为 0.574 和 0.591。哈迪温伯格平衡检验结果显示:在中部种群中,PUN44 和 PUN82 两个位点不符合哈迪温伯格平衡;西北部种群中 PUN44、PUN1157、PUN1270、PUN1283、PUN8972 和 PUN82 六个位点偏离哈迪温伯格平衡(表 4)。



A为文献[16]提供的70个样本;B为整合的174个样本。红色、绿色和蓝色分别为文献[16]提供的中部、西部和北部个体;紫色、黄色分别为本研究收集的中部、北部个体。

Figure A shows the 70 samples provided in the reference [16] and Figure B shows the 174 integrated samples. In these figures, the red, green, and blue colors represent individuals from the central, western, and northern regions provided by the reference [16], respectively. The purple and yellow colors represent individuals from the central and northern regions collected in this study, respectively.

图4 基于70只或174只雪豹个体间的Nei's遗传距离构建的NJ聚类树

Fig. 4 NJ clustering tree based on Nei's genetic distance among 70 individuals or 174 individuals of snow leopard

表2 174个雪豹样本中9个微卫星位点的遗传多样性信息

Tab. 2 Genetic diversity information of nine microsatellite loci in 174 snow leopard samples

位点 Locus	N_a	N_e	I	H_o	H_e	F_{IS}	F_{ST}	P_{IC}
PUN100	5.000	4.124	1.468	0.679	0.756	0.102	0.037	0.787
PUN44	4.500	2.084	0.929	0.384	0.506	0.240	0.021	0.484
PUN1157	4.500	2.963	1.247	0.553	0.661	0.163	0.109	0.701
PUN1270	7.500	3.038	1.382	0.544	0.671	0.188	0.051	0.691
PUN1283	3.500	1.655	0.707	0.271	0.396	0.315	0.025	0.411
PUN80	3.500	2.030	0.826	0.391	0.506	0.227	0.096	0.526
PUN8972	5.000	2.697	1.136	0.582	0.603	0.035	0.079	0.672
PUN82	3.500	2.289	0.924	0.596	0.562	-0.060	0.010	0.487
PUN272	4.500	2.401	1.096	0.569	0.583	0.025	0.179	0.657
平均值 Mean value	4.611	2.587	1.079	0.508	0.583	0.137	0.067	0.602

2.4 微卫星标记的遗传分化

AMOVA结果显示,在雪豹2个种群中,种群间的遗传变异占15.24%,种群内的遗传变异占84.76%(表5),表明变异大部分发生在种群内部,种群之间的遗传变异所占比例较小,同时也表明2个雪豹种群间的基因交流较少,大部分的变异来源于群体内部。

3 讨论

3.1 雪豹种群遗传结构

关于雪豹群体或亚种的划分一直存在争议。最早在2015年,Riordan *et al.* [28]根据模型分析雪豹种群的连通性,建议将雪豹分为南、北2个地理种群。在2017年,Kitchener *et al.* [29]在对猫科动物重新分

表3 2个雪豹群体中9个微卫星位点的遗传多样性信息
Tab. 3 Genetic diversity information of nine microsatellite loci in two snow leopard populations

位点 Locus	N_a		N_e		H_o		H_e	
	中 Central	西北 Northwest	中 Central	西北 Northwest	中 Central	西北 Northwest	中 Central	西北 Northwest
PUN100	5.000	5.000	3.841	4.407	0.648	0.711	0.740	0.773
PUN44	4.000	5.000	1.729	2.440	0.322	0.447	0.421	0.590
PUN1157	5.000	4.000	2.756	3.169	0.617	0.489	0.637	0.684
PUN1270	7.000	8.000	3.127	2.950	0.672	0.417	0.680	0.661
PUN1283	3.000	4.000	1.624	1.686	0.320	0.222	0.384	0.407
PUN80	4.000	3.000	1.937	2.122	0.415	0.367	0.484	0.529
PUN8972	5.000	5.000	3.390	2.005	0.664	0.500	0.705	0.501
PUN82	4.000	3.000	2.196	2.381	0.463	0.729	0.545	0.580
PUN272	4.000	5.000	2.331	2.471	0.533	0.604	0.571	0.595
各群体平均值 Mean value of each population	4.556	4.667	2.548	2.626	0.517	0.498	0.574	0.591
总体平均值 Overall mean	4.611		2.586		0.508		0.583	

表4 2个雪豹群体中9个微卫星位点的哈迪温伯格平衡
Tab. 4 Hardy-Weinberg equilibrium at nine microsatellite loci among the two snow leopard populations

位点 Locus	中部群体 Central	西北部群体 Northwest
PUN100	0.342 ^{ns}	0.493 ^{ns}
PUN44	< 0.001 ^{***}	< 0.001 ^{***}
PUN1157	0.380 ^{ns}	0.013 [*]
PUN1270	0.302 ^{ns}	< 0.001 ^{***}
PUN1283	0.096 ^{ns}	0.002 ^{**}
PUN80	0.427 ^{ns}	0.117 ^{ns}
PUN8972	0.745 ^{ns}	0.004 ^{**}
PUN82	< 0.001 ^{***}	0.037 [*]
PUN272	0.832 ^{ns}	0.747 ^{ns}

注：ns表示符合哈迪温伯格平衡；*、**、***分别代表 $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 及 $P < 0.001$ ，表示偏离哈迪温伯格平衡。

Note: ns indicates compliance with Hardy-Weinberg equilibrium; *, **, and *** represent $P < 0.05$, $P < 0.01$, and $P < 0.001$, respectively, indicating deviation from Hardy-Weinberg equilibrium.

表5 基于9个微卫星位点的雪豹2个种群的AMOVA分析
Tab. 5 AMOVA analysis of two snow leopard populations based on nine microsatellite loci

变异来源 Source of variation	自由度 df	平方和 Sum of squares	方差组分 Variance components	变异占比 % Percent of variance
种群间 Between populations	1	41.219	0.281 62	15.24
种群内 Within populations	346	541.753	1.565 76	84.76
总体 Total	347	582.971	1.847 38	100.00

类时没有采纳该意见,依然判断全球雪豹为1个种群。同年,Janecka *et al.* [16]基于33个微卫星位点,对70个雪豹粪便样本进行基因分型,结合遗传结构和地理隔离,支持将全球雪豹分为3个亚种。本研究利用9个微卫星位点,先后对文献[16]中70只雪豹个体数据和174只个体数据进行分析,得到了不同的种群结构。70只雪豹数据的种群结构与文献[16]结果相近(图2A,图3A),支持雪豹3个群体的划分。但是,在174个样本的结果中,西部群体和北部群体接近,形成一个群体,与中部种群相对应(图2B、C);种群结构上也支持了2个群体的划分(图3B、C,图4)。出现这样的变化,可能归因于Janecka *et al.* [16]研究的样本量较小、地理覆盖不全,进而放大了小群体之间的差异。当样本量增大时,西部群体和北部群体逐步聚集。实际上,Janecka *et al.* [16]的研究结果也支持这一观点,例如,在其小样本分析中,虽然

都存在少量混合,但北方群体的蒙古国西部群(15个样本)和南部群(17个样本)形成了2个不同的集群(文献[16]图2i);中部群体也分成了2个群体(文献[16]图2g),青海地区群(北部和南部,共11个样本)与西藏地区群(含不丹和尼泊尔,共13个样本)。Senn *et al.* [30]也认为 Janecka *et al.* 的研究缺乏足够的样本量,不足以支持3个亚种的划分。两个NJ聚类树也支持北部与西部群体并为一个群体,聚类树上少量个体的混合穿插,可能与群体间的基因流动有关,也可能与微卫星位点数量偏少、精度不够有关。因此,本研究认为目前的研究结果不支持 Janecka *et al.* 雪豹3个亚种的划分,支持将雪豹按照2个群体划分,即中部群和西北部群。在地理上,雪豹中部群体与北部、西部群体也存在一定的阻隔。雪豹中部群体,在北方有戈壁沙漠与北部群体相隔^[1],南部有喜马拉雅山脉与其南麓相隔,西部有塔克拉玛干沙漠、塔里木盆地和南部的喀喇昆仑山脉等^[31],也可能阻隔了其西部群体的交流。不过,相对于中部样本(125个),西部(16个)和北部(33个)的样本数量仍较少,样本数量不平衡可能影响了研究结果。

3.2 雪豹种群遗传多样性

遗传多样性水平可以反映物种的进化潜力^[32],能为物种现状评估和保护提供重要信息^[33]。目前,使用微卫星标记的方法对雪豹种群进行遗传多样性研究,样本范围覆盖了9个国家,样本数共达到211只,但单次研究中每个地区有效的样本采集数量不超过30只^[1],而且关于雪豹群体遗传多样性的不同研究结果出现了一定的波动。

多态信息含量是表示微卫星位点变异程度高低、衡量基因片段多态性的一个指标^[34],包括低度多态性位点($P_{IC} < 0.25$)、中度多态性位点($0.25 < P_{IC} < 0.50$)和高度多态性位点($P_{IC} > 0.50$)^[35]。本研究使用的9个微卫星位点中,不存在低度多态性位点,适用于雪豹遗传学分析。全部雪豹群体在9个微卫星位点上检测到的 N_a 为3~8, N_e 为1.655~4.124,在其他雪豹研究中, N_a 为2.571~6.286^[13-20], N_e 为2.031~2.800^[16,20],本研究结果与已有研究结果基本一致。本研究结果中 N_a 和 N_e 的数值范围更大,可能与样本量大有关。此外, N_a 值均大于 N_e ,表明等位基因分布不均匀,存在差异,可能受到群体间潜在的近亲繁殖或遗传漂变等因素的影响,未来种

群也存在等位基因丢失以及遗传多样性下降的风险。

杂合度是衡量群体遗传多样性程度最重要的指标之一,数值越大代表种群间遗传多样性越丰富。此前关于雪豹的遗传多样性研究中,不同调查群体的 H_o 在0.371~0.887, H_e 在0.330~0.781^[13-20]。本结果中,中部和西北部2个雪豹群体的 H_o 分别为0.517和0.498, H_e 分别为0.574和0.591,与此前的研究结果相比,处于中等水平,可能是样本量增大之后得到了更接近于雪豹整体实际情况的结果。在这些研究中,周芸芸等^[19]在青海2个县以及甘肃阿克塞县调查的雪豹遗传多样性偏高(平均 H_o 为0.843,平均 H_e 为0.759),可能归因于样本量小而产生的差异。通过杂合度数值,与豹属其他物种^[1]相比,雪豹的遗传多样性较低。

结果中所有位点的 F_{IS} 平均值为0.137,远低于巴基斯坦地区雪豹的 F_{IS} 平均值(0.38)^[18]。可能归因于在巴基斯坦进行雪豹样本采集的5个地区相距较近,而且该国雪豹分布范围较小、数量较少^[7],因此,可能加剧了群体内部近亲繁殖的概率。当种群数量扩大时,近交系数下降,表明在更大的雪豹分布区中,雪豹的近交程度可能没有达到更高的水平。相比于近交程度较低的大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)(种群平均 F_{IS} 为0.081)^[12,36]和近交程度很高的华南虎(*Panthera tigris amoyensis*)($0 < F_{IS} < 0.42$)^[12,37],雪豹种群近交程度偏低。

以上分析中,不同研究得到的雪豹遗传多样性指标存在着一定的波动,这可能受到样本数量及采样范围大小的影响,当样本量大、地理来源更广时,得到的结果可能更接近于实际情况。不过局部小样本量的研究,对当地雪豹小种群的保护管理也具有一定的指导意义。

本研究利用174只雪豹个体9个位点的微卫星数据,对雪豹种群结构和遗传多样性进行分析,现有的结果支持将雪豹划分为2个群体,即中部群体和西北部群体。与其他雪豹有关研究相比,这2个种群的遗传多样性处于中等水平,近交水平也较低(低于 Aruge *et al.* [18]的研究),略高于大熊猫。本研究通过大样本微卫星数据对全球雪豹的遗传结构进行了分析,对雪豹的种群划分和遗传多样性提供了更全面的数据支持,对雪豹的遗传多样性研究和指导保护实践具有重要意义。

参考文献:

- [1] 郝宇波, 金红, 杨林, 等. 雪豹保护遗传学和基因组学研究进展[J]. 兽类学报, 2022, 42(5): 508-518.
HAO Y B, JIN H, YANG L, *et al.* Research advances in conservation genetics and genomics of snow leopard (*Panthera uncia*) [J]. Acta Theriologica Sinica, 2022, 42(5): 508-518.
- [2] JACKSON R, MALLON D, MISHRA C, *et al.* Snow leopard survival strategy: revised version 2014. 1 [R]. Seattle: Snow Leopard Network, 2014: 17.
- [3] MAHESHWARI A, NIRAJ S K. Monitoring illegal trade in snow leopards: 2003-2014 [J]. Global Ecology and Conservation, 2018, 14: e00387.
- [4] 洪洋, 张晋东. 卧龙自然保护区雪豹的生境选择偏好与食源结构特征[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2): 295-305.
HONG Y, ZHANG J D. Habitat selection and food source of snow leopard (*Panthera uncia*) in Wolong National Nature Reserve, Sichuan Province, China [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2021, 42(2): 295-305.
- [5] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订)[J]. 野生动物学报, 2021, 42(2): 605-640.
National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of national key protected wild animals (revised on February 1, 2021) [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2021, 42(2): 605-640.
- [6] 生态环境部, 中国科学院. 中国生物多样性红色名录: 脊椎动物卷(2020)[EB/OL]. (2023-05-18) [2024-04-10]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html.
Ministry of Ecology and Environment, Chinese Academy of Sciences. China's red list of biodiversity: vertebrate volume (2020) [EB/OL]. (2023-05-18) [2024-04-10]. https://www.mee.gov.cn/xxgk/2018/xxgk/xxgk01/202305/t20230522_1030745.html.
- [7] 杨子文, 韩姝伊, 李壹, 等. 气候变化对雪豹全球潜在适生区分布的影响与评估[J]. 生态学报, 2023, 43(4): 1412-1425.
YANG Z W, HAN S Y, LI Y, *et al.* Impacts and assessment of climate change on the global distribution of potentially suitable habitats for *Panthera uncia* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2023, 43(4): 1412-1425.
- [8] PFAU R S, KOZORA A N, GATICA-COLIMA A B, *et al.* Population genetic structure of a Chihuahuan Desert endemic mammal, the desert pocket gopher, *Geomys arenarius* [J]. Ecology and Evolution, 2023, 13(10): e10576.
- [9] HUSSEIN M A A, EID M, RAHIMI M, *et al.* Comparative assessment of SSR and RAPD markers for genetic diversity in some mango cultivars [J]. PeerJ, 2023, 11: e15722.
- [10] RAJ N, SUKUMARAN S, JOSE A, *et al.* Population genetic structure of Randall's threadfin bream *Nemipterus randalli* in Indian waters based on mitochondrial and nuclear gene sequences [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 7556.
- [11] SHANG K, ZHANG L W, SONG J R, *et al.* Characterization of the microsatellite landscape provides insights into the evolutionary dynamics of the mammals based on the chromosome-level genomes [J]. Gene, 2023, 851: 146965.
- [12] 魏辅文, 马天笑, 胡义波. 中国濒危兽类保护遗传学研究进展与展望[J]. 兽类学报, 2021, 41(5): 571-580.
WEI F W, MA T X, HU Y B. Research advances and perspectives of conservation genetics of threatened mammals in China [J]. Acta Theriologica Sinica, 2021, 41(5): 571-581.
- [13] JACKSON R, AHLBORN G. Snow leopards (*Panthera uncia*) in Nepal: home range and movements [J]. National Geographic Research, 1989, 5(2): 161-175.
- [14] JANECKA J E, JACKSON R, MUNKHTSOG B, *et al.* Characterization of 9 microsatellites and primers in snow leopards and a species-specific PCR assay for identifying noninvasive samples [J]. Conservation Genetics Resources, 2014, 6(2): 369-373.
- [15] JANEČKA J E, JACKSON R, YUQUANG Z, *et al.* Population monitoring of snow leopards using noninvasive collection of scat samples: a pilot study [J]. Animal Conservation, 2008, 11(5): 401-411.
- [16] JANECKA J E, ZHANG Y G, LI D Q, *et al.* Range-wide snow leopard phylogeography supports three subspecies [J]. Journal of Heredity, 2017, 108(6): 597-607.
- [17] ROZHNOV V V, ZVYCHAINAYA E Y, KUKSIN A N, *et al.* Noninvasive molecular genetic analysis in studying the ecology of the snow leopard: problems and prospects [J]. Russian Journal of Ecology, 2011, 42: 439-444.
- [18] ARUGE S, BATOOL H, KHAN F M, *et al.* A pilot study: genetic diversity and population structure of snow leopards of Gilgit-Baltistan, Pakistan, using molecular techniques [J]. PeerJ, 2019, 7: e7672.
- [19] 周芸芸, 朵海瑞, 薛亚东, 等. 雪豹的微卫星DNA遗传多样性[J]. 动物学杂志, 2015, 50(2): 161-168.
ZHOU Y Y, DUO H R, XUE Y D, *et al.* Genetic diversity analysis of microsatellite DNA in snow leopard (*Panthera uncia*) [J]. Chinese Journal of Zoology, 2015, 50(2): 161-168.
- [20] 张于光, HACKER C, 张宇, 等. 三江源和祁连山国家公园雪豹种群的遗传结构分析[J]. 兽类学报, 2019, 39(4): 442-449.
ZHANG Y G, HACKER C, ZHANG Y, *et al.* An analysis of genetic structure of snow leopard populations in Sanjiangyuan and Qilianshan National Parks [J]. Acta Theriologica Sinica, 2019, 39(4): 442-449.
- [21] JOMBART T. *ade4*: a R package for the multivariate analysis of genetic markers [J]. Bioinformatics, 2008, 24(11): 1403-1405.
- [22] PRITCHARD J K, STEPHENS M, DONNELLY P. Inference of population structure using multilocus genotype data [J]. Genetics, 2000, 155(2): 945-959.
- [23] LI Y L, LIU J X. StructureSelector: a web-based software to select and visualize the optimal number of clusters using multiple

- methods [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2018, 18 (1) : 176-177.
- [24] PEAKALL R, SMOUSE P E. GenAlEx 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research: an update[J]. *Bioinformatics*, 2012, 28(19): 2537-2539.
- [25] LIU K J, MUSE S V. PowerMarker: an integrated analysis environment for genetic marker analysis [J]. *Bioinformatics*, 2005, 21(9): 2128-2129.
- [26] TAMURA K, STECHER G, KUMAR S. MEGA11: molecular evolutionary genetics analysis version 11 [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38(7): 3022-3027.
- [27] EXCOFFIER L, LISCHER H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, 10(3): 564-567.
- [28] RIORDAN P, CUSHMAN S A, MALLON D, *et al.* Predicting global population connectivity and targeting conservation action for snow leopard across its range [J]. *Ecography*, 2016, 39(5): 419-426.
- [29] KITCHENER A C, BREITENMOSE WÜRSTEN C, EIZIRIK E, *et al.* A revised taxonomy of the Felidae: the final report of the cat classification task force of the IUCN/SSC cat specialist group [J]. *Cat News*, 2017(Special Issue 11): 1-80.
- [30] SENN H, MURRAY-DICKSON G, KITCHENER A C, *et al.* Response to Janecka *et al.* 2017 [J]. *Heredity*, 2018, 120(6): 581-585.
- [31] LI J, MCCARTHY T M, WANG H, *et al.* Climate refugia of snow leopards in High Asia [J]. *Biological Conservation*, 2016, 203: 188-196.
- [32] FRANKEL O H, SOULÉ M E. Conservation and evolution [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1981: 358.
- [33] HOGBIN P M, PEAKALL R. Evaluation of the contribution of genetic research to the management of the endangered plant *Zieria prostrata* [J]. *Conservation Biology*, 1999, 13(3): 514-522.
- [34] 耿广耀, 由玉岩, 刘群秀. 豚鹿 SSR 标记开发与遗传多样性分析 [J]. *野生动物学报*, 2022, 43(3): 816-820.
- GENG G Y, YOU Y Y, LIU Q X. SSR molecular marker development and genetic diversity analysis of *Axis porcinus* [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(3): 816-820.
- [35] 方黎明, 付春正, 李慧, 等. 浙江长兴扬子鳄种群遗传多样性研究 [J]. *野生动物学报*, 2022, 43(3): 741-751.
- FANG L M, FU C Z, LI H, *et al.* Research on population genetic diversity of *Alligator sinensis* in the Changxing City, Zhejiang Province [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(3): 741-751.
- [36] SHAN L, HU Y B, ZHU L F, *et al.* Large-scale genetic survey provides insights into the captive management and reintroduction of giant pandas [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2014, 31(10): 2663-2671.
- [37] XU Y C, FANG S G, LI Z K. Sustainability of the south China tiger: implications of inbreeding depression and introgression [J]. *Conservation Genetics*, 2007, 8(5): 1199-1207.