

# 雌性大熊猫发情期与妊娠期尿液性激素的变化

彭世媛

李复东

(西南财经大学农枝室,成都 610074) (四川大学生物系)

叶志勇 黄祥明 何光昕

(成都动物园)

**摘要** 用放射免疫法测定了两头雌性大熊猫发情期尿中雌二醇与孕酮含量及妊娠期尿中孕酮含量的变化。发情期开始,雌二醇量逐渐升高,在发情高潮期达高值。孕酮量则在发情高潮期下降,在发情后期上升。在发情高潮期雌二醇出现高峰的当日和次日配种,获致妊娠产仔。妊娠期尿中孕酮含量的变化特点是:在妊娠早期与晚期升高,晚期最高,妊娠中期停滞在低水平上波动,分娩前孕酮值迅速下降。

大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 是我国特有的珍稀动物,繁殖力低,数量不断减少,已濒临绝灭危境。大熊猫人工繁殖的难度很大,对其生殖生物学的了解甚少,急待大力开展研究。大熊猫发情期生殖内分泌的变化特点,曾有许多报道<sup>[1-3]</sup>,并分别提出根据激素监测可提供大熊猫适时配种的时间。但迄今对配种成功大熊猫发情期和妊娠期生殖内分泌的研究还不多,大熊猫妊娠期的性激素水平仅见 Hodges<sup>[4]</sup> 对马德里动物园大熊猫的一例报道。本文对成都动物园两头正常产仔大熊猫发情期与妊娠期的性激素含量变化作了初步研究。

## 材料方法

(一) **实验动物** 雌性大熊猫两头,成都动物园饲养。大熊猫 I 号, 5 岁, 1988 年初次配种未孕。大熊猫 II 号, 17 岁, 曾多次产仔。

(二) **尿样收集** 收集时间 1989 年 4—9 月。每天清晨收集新鲜尿液约 5 毫升, 加入万分之一的叠氮钠, 离心后置 -20℃ 冰箱保存。

(三) **尿液肌酐 (Creatinine, 略写 Cr.) 测定** 根据 Jaff 反应, 肌酐与碱性苦味酸反应生成橙黄色的苦味酸肌酐, 用 721 分光光度计

比色测定每个尿样的肌酐浓度, 波长 520 毫微米。肌酐标准曲线范围: 0—0.5 毫克/毫升, 标准曲线的批内与批间变异系数分别为 2.9% (n=5) 和 3.5% (n=6)。

(四) **激素测定** 尿中雌二醇与孕酮用放射免疫法测定。尿样先酶解, 每份尿液加入等体积的 β-葡萄糖苷酶液 (10 iu/ml, Sigma 产品) 37℃ 孵育 2 小时。放射免疫测定药盒由上海内分泌所提供。尿液激素用重蒸纯化后的二氯甲烷提取, 参照 Aso 法<sup>[5]</sup> 加温萃取 (30℃, 10 分钟), 回收率为 95%—108%。雌二醇与孕酮的分析内变异系数分别为 5.99% (n=6) 和 6.41% (n=6); 分析间变异系数分别为 10.83% (n=6) 和 13.76% (n=7)。

(五) **尿液中激素含量计算** 为修正每份尿样中水分含量变化带来的差异, 将每份尿样中激素浓度除以肌酐浓度, 换算成激素浓度与每毫克肌酐的比值, 即毫微克激素/毫克肌酐 (ng/mgCr) 作为尿液中激素计量单位。

## 结果

### (一) 发情进程及配种

1. 大熊猫 I 号, 1989 年 5 月 10 日开始发

清, 11 日出现蹭擦阴部, 12 日出现咩叫, 以后擦阴、咩叫、活动次数等发情行为及外阴变化等发情征状日趋强烈, 15 日进入发情高峰期, 咩叫骤增, 食欲大减, 烦躁不安, 活动频繁, 外阴充血肿大, 16 日咩叫次数进一步增加, 17 日出现咩叫高潮, 在 16 日、17 日, 相继进行了两次人工授精, 18 日进入发情后期, 咩叫骤减, 以后各种发情表现日渐消退, 至 24 日发情结束。发情期共计 15 天。该大熊猫于当年 10 月 4 日正常产仔 1 头, 妊娠期 167 天。

2. 大熊猫 II 号, 1989 年 4 月 11 日开始发情, 16 日出现蹭阴, 19 日出现咩叫, 22—24 日为发情高潮期, 23 日有翘尾、尿频、咩叫频繁等一系列强烈的发情行为, 因未实现自然交配, 作了人工授精。24 日咩叫达高潮, 自然交配成功。25 日咩叫骤减, 不再接受交配, 28 日发情征状消失, 拒绝与雄兽接近。发情期共 18 天。在当年 9 月 23 日产仔 1 头, 妊娠期 152 天。

## (二) 大熊猫发情期尿中雌二醇与孕酮含量

1. 大熊猫 I 号发情期尿中雌二醇与孕酮含量的变化(见图 1)。

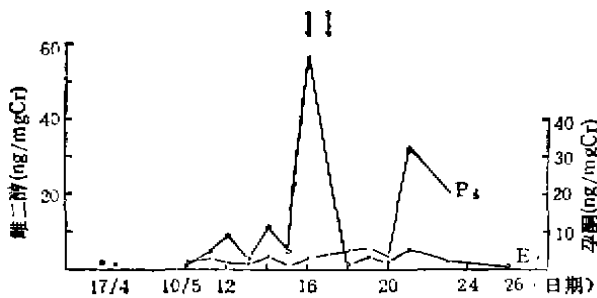


图 1 大熊猫 I 号发情期尿中雌二醇与孕酮含量的变化  
“↓”示人工授精

尿中雌二醇含量, 在发情前期随着发情行为的增强逐渐升高, 到发情高潮期的第 2 天(5 月 16 日)急骤上升, 出现雌二醇高峰, 峰值达 55.47 ng/mgCr。在出现雌二醇峰的当日和次日, 发情行为很强烈, 进行了人工授精。在出现雌二醇峰后第 3 天, 雌二醇已急速下降到基底值, 发情行为及征状显著减弱。发情后期, 雌

二醇量略有回升波动, 随着发情行为的进一步减弱、消退, 雌二醇继续下降, 至发情结束时已降至基础水平。

尿液中孕酮含量, 发情前期在低水平上波动, 平均值为 1.77 ng/mgCr。发情高峰期仍为低值, 平均 1.81 ng/mgCr。发情后期则显著上升, 平均值为 13.19 ng/mgCr, 明显高于发情前期 ( $p < 0.05$ ), 发情期结束时仍未下降。

2. 大熊猫 II 号发情期尿中雌二醇与孕酮含量的变化(见图 2)。

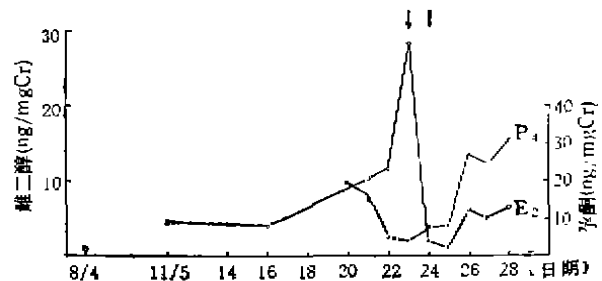


图 2 大熊猫 II 号发情期尿中雌二醇与孕酮含量的变化  
“↓”示人工授精

大熊猫 II 号尿中雌二醇含量, 未发情时甚低, 为 0.97 ng/mgCr, 发情前期逐渐上升。雌二醇高峰 (28.24 ng/mgCr) 出现在发情高潮期第 2 天, 自然交配发生在发情高潮期的第 3 天, 此时雌二醇已从高峰值骤降到基础水平 (1.97 ng/mgCr)。发情后期雌二醇有明显的回升, 发情期结束后一周又逐渐下降到基础值。

尿中孕酮含量在发情高潮期显著降低, 从发情前期的 19.40 ng/mgCr 下降到 4.00 ng/mgCr。在发情高潮期的最后 1 天实现自然交配, 自然交配后的第 2 天孕酮量迅速升高到 27.35 ng/mgCr。发情期结束时, 孕酮仍持续保持在较高水平 (31.47 ng/mgCr), 并未下降。

## (三) 大熊猫妊娠期尿液中孕酮含量

1. 大熊猫 I 号妊娠期尿中孕酮含量的变化(见图 3)。

大熊猫 I 号人工授精后, 尿中孕酮含量逐渐升高, 第 4 天迅速升高达 32.21 ng/mgCr, 继之表现为强烈的上升波动, 在妊娠早期形成多

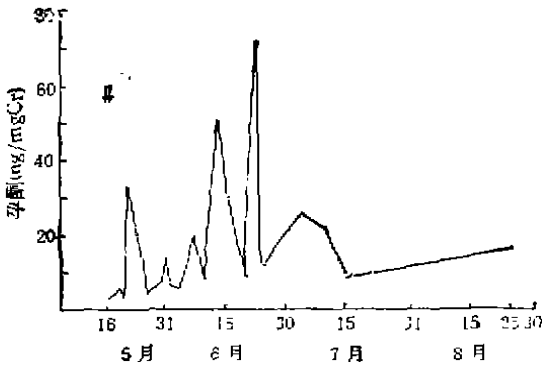


图3 大熊猫 I 号妊娠期尿中孕酮含量的变化  
“↓”同图 1

个高低不同的上升峰。妊娠第 28 天,孕酮值从配种前的 4 ng/mgCr 以下升高到 50.39 ng/mgCr,妊娠 38 天,进一步升高到 71.58 ng/mgCr。但自妊娠第 48 天到第 100 天,孕酮值都一直在较低水平上波动,无显著增加,最高值未超过 25.59 ng/mgCr,最低值接近 9 ng/mgCr,但皆显著高于配种前水平。

## 2. 大熊猫 II 号妊娠期尿中孕酮含量的变化(见图 4)

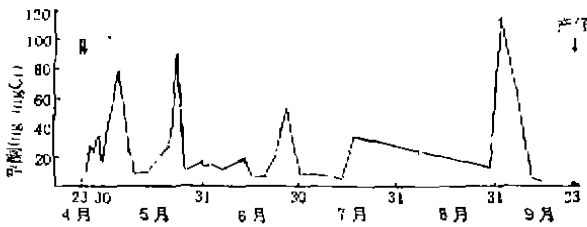


图4 大熊猫 II 号妊娠期尿中孕酮含量的变化  
“↓”示自然交配(本交)

大熊猫 II 号妊娠期第一月,尿中孕酮含量的上升波动非常显著,在妊娠第 12 天与第 30 天出现两次峰值,分别为 78.96 ng/mgCr 与 89.64 ng/mgCr,孕酮量的上下波动甚大,最低值为 9.74 ng/mgCr。妊娠期 6—30 天的孕酮平均值为 36.43 ng/mgCr,比发情后期孕酮平均值 22.90 ng/mgCr 高 59.1%,比发情期前的孕酮水平 11.34 ng/mgCr 高 221.25%。

在妊娠第二月初,尿中孕酮量下降到低水平后,除偶有不太高的上升峰外,一般在 4.04—

19.50 ng/mgCr 的范围内波动,一直持续到妊娠晚期。但分娩前一月又开始升高,在分娩前 23 天,孕酮量急剧上升,达到整个妊娠期中的最高值 112.00 ng/mgCr。临近分娩前 13 天,孕酮量迅速下降到 6.76 ng/mgCr,到分娩前 10 天进一步下降到 3.91 ng/mgCr,是实验期中出现的最低值。

## 讨 论

大熊猫的最佳配种时间,有不同报道。曾国庆等<sup>[1-2]</sup>提出,在发情高峰期出现雌二醇高峰的次日最佳;施少清等<sup>[3]</sup>认为在出现雌二醇高峰的当日最好;Bonney 等<sup>[4]</sup>认为应是雌激素峰后 2 日为宜;Hodges 等<sup>[5]</sup>则认为人工授精最适时间大概是在雌激素峰后 2—3 日。本实验中,两头大熊猫都是在发情高潮期尿中出现雌二醇高峰的当日和次日配种后,怀孕产仔,说明配种时间适宜。雌二醇峰后 3 日,则发情征状明显消减,拒绝雄兽亲近。但配种最佳时间是在出现雌二醇峰的当日还是次日,仍尚难确定,还需深入研究雌二醇峰与排卵时间的确切时距。

大熊猫妊娠期尿中孕酮含量的马鞍形变化特点反映了大熊猫妊娠期的特殊性。孕酮量在妊娠早期和妊娠晚期升高,是妊娠黄体发育的表现。妊娠中期孕酮量长时间停滞在低水平波动,反映此时间黄体发育停滞,也暗示胚胎发育处于停滞状态。Hodges<sup>[5]</sup>曾报道一例大熊猫妊娠期尿中孕酮代谢产物含量变化的测定结果,与我们对尿中孕酮的测定结果相似。他曾推测大熊猫可能存在胚胎延缓着床过程。Semper<sup>[7]</sup>、Hoffmann<sup>[8]</sup>等曾对胚胎延缓着床的动物——狍 (*Capreolus capreolus*) 妊娠期的血浆浓度与胚胎发育进程对照研究,证实狍妊娠早期与晚期孕酮浓度升高时,胚胎发育迅速,妊娠中期孕酮值滞留在低水平时,胚胎发育则处于停滞状态。根据现知的大熊猫生殖特点,妊娠期的长度变化大(80 多天到 180 多天),初生重与成体重之比很低(约 1/千),妊娠中期孕酮值长时间处于低水平等特征,大熊猫很可能

有胚胎滞育 (*Embryonic diapause*) 的特点, 对这方面的深入研究必将有助于大熊猫的人工繁殖。根据大熊猫分娩前两周, 孕酮量急剧下降的特点, 可用作大熊猫临近分娩的监测指标, 利于人工饲养下为接生作好准备。

### 参 考 文 献

- 1 刘维新 1981 大熊猫人工授精的几个问题 畜牧兽医学报 12(2): 73—76。
- 2 施少清, 董琳, 陈玉村等 1988 大熊猫雌性个体发情期生殖内分泌变化的研究 兽类学报 8(1): 1—6。
- 3 曾国庆, 孟智斌, 蒋广泰等 1984 大熊猫雌兽发情期尿中雌激素含量变化和发情行为的关系 动物学报 30(4): 324—329。

- 4 曾国庆, 蒋广泰, 杨克勤等 1990 大熊猫生殖生物学研究: 1. 大熊猫发情期血清和尿液中促黄体素、孕酮和  $17-\beta$  雌二醇含量的变化 动物学报 36(1): 63—69。
- 5 Aso T., R. Guerrero, Z. Cekan, et al. 1975 A rapid 5 hour radioimmunoassay of progesterone and oestradiol in human plasma. *Clinical Endocrinology*, 4: 173—182.
- 6 Bonney R., D J Wood and D. G. Kleimen 1982 Endocrine correlates of behavioural oestrus in the female giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) and associated hormonal changes in the male. *J. Reprod. Fert.* 64: 209—215.
- 7 Hodges J. K., D. J. Bevan., M. Celma, et al. 1984 Aspects of the reproductive endocrinology of the female giant panda (*Ailuropodu melanoleuca*) in captivity with special reference to the detection of ovulation and pregnancy. *J. Zool Lond.* 203: 269—278.  
(下转第 59 页)

## THE CHANGES OF THE SEXUAL HORMONE CONCENTRATION IN FEMALE GIANT PANDAS (*AILUROPODA MELANOLEUCA*) URINE DURING THE ESTROUS CYCLE AND PREGNANCY

PENG Shiyuan

(Department of Agricultural Economy, Southwestern University of Finance and Economics, Chengdu)

LI Fudong

(Department of Biology, Sichuan University, Chengdu)

YE Zhiyong, HUANG Xiagming, HE Guangxin

(Chengdu Zoo, Chengdu)

**ABSTRACT** Changes of urinary sex steroid hormone levels of two female giant pandas were determined by radioimmunoassay during the estrous cycle and pregnancy.

In two giant pandas, the estrous period occurs in April and May. The length of estrous cycles varies from 15 to 18 days. The onset of their estrus is associated with gradual increase of urinary estradiol.

During the estrus, the decline in the levels of urinary progesterone is accompanied by rapid rise of the estradiol levels up to the peak value (28.2—55.47 ng/mg creatinine), and then falling to the baseline level. The date of the maximum sexual activity or natural mating occurs one day after that of the urinary estradiol peak or at that same day.

Progesterone levels (mean) are low at the date of mating and increase abruptly after 2—3 days, and continue to rise until the day of 31th then decline to levels of proestrus.

The length of the gestation periods for the two giant pandas is 139 and 152 days. The characteristic change of urinary progesterone levels during pregnancy, the urinary progesterone levels increase during first month of pregnancy, then decline to low levels and remain low levels for two to three month. After that the levels of urinary progesterone increase again and remain of high levels until two weeks before parturition.