

# 圈养雄獐领域行为和粪便睾酮水平变化的关系

余晓俊<sup>①</sup> 陈珉<sup>①\*</sup> 张恩迪<sup>①</sup> 张志明<sup>②</sup> 叶建华<sup>②</sup> 裴恩乐<sup>③</sup> 袁晓<sup>③</sup>

① 华东师范大学生命科学学院 上海 200062; ② 上海市浦东新区林业站 上海 201210;

③ 上海市野生动物保护管理站 上海 200233

**摘要:** 2011年8月到2012年4月间,在上海市浦东新区华夏公园獐重引入试点,采用目标取样、扫描取样和全事件记录法,对圈养条件下6只成体雄獐(*Hydropotes inermis*)的6种领域行为进行观察,并利用放射免疫分析法(RIA)测定雄獐粪便中的睾酮水平变化。结果表明,雄獐的许多领域行为发生频次表现出明显的月间变化,包括打斗、威胁、取代、追逐和粪尿标记;擦额标记行为频次虽月间差异不显著,但与其他领域行为一样在11月份出现频次峰值。发情期(2011年10月~2012年1月)和非发情期(2011年9月、2012年2~4月),打斗、威胁、粪尿标记和擦额标记行为发生频次差异显著;取代和追逐行为频次差异不显著。6种领域行为的发生频次均在发情期明显高于非发情期。粪便睾酮含量在发情期和非发情期差异显著,发情期明显高于非发情期,其含量在12月份达到峰值( $51.16 \pm 9.85$  ng/g)。雄獐的威胁、擦额标记、粪尿标记和打斗行为发生频次与睾酮水平呈显著的正相关性,而取代和追逐行为与睾酮水平变化不具有显著相关性。

**关键词:** 獐;领域行为;粪便睾酮;相关性

**中图分类号:** Q958 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2013)01-43-06

## Correlation between Seasonal Changes in Territory Behavior and Fecal Testosterone Level in Captive Male Chinese Water Deer (*Hydropotes inermis*)

YU Xiao-Jun<sup>①</sup> CHEN Min<sup>①\*</sup> ZHANG En-Di<sup>①</sup> ZHANG Zhi-Ming<sup>②</sup>

YE Jian-Hua<sup>②</sup> PEI En-Le<sup>③</sup> YUAN Xiao<sup>③</sup>

① College of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062;

② Shanghai Pudong New District Forestry Station, Shanghai 201210;

③ Department of Wildlife Protection Administration, Shanghai 200233, China

**Abstract:** By the method of focal sampling, instantaneous scan sampling and all-occurrence recoding, we observed six territory behaviors, included fighting, threatening, displacing, chasing, forehead scrap-marking and defecating-marking, of 6 captive male Chinese Water Deer (*Hydropotes inermis*) from August 2011 to April 2012 in the Huaxia Park of Pudong, Shanghai. The fecal testosterone were analyzed by radio-immunoassays to investigate the correlation between hormone and territory behaviors. The results indicated that there were significant differences in fighting, threatening, displacing, chasing, and defecating-marking among months (*P*

**基金项目** 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2007)第3-6号],浦东新区科技发展基金项目(No. PKJ2006-N06);

\* 通讯作者, E-mail: mchen@bio.ecnu.edu.cn;

**第一作者介绍** 余晓俊,男,硕士研究生;研究方向:行为生态学和保护生物学;E-mail: anqing06yxj@163.com。

**收稿日期:** 2012-08-27, **修回日期:** 2012-10-25

< 0.05, one-way ANOVA analysis). The deer spent significantly more time on all of the six behaviors in November. There were significant differences in fighting, threatening, forehead scrap-marking and defecating-marking between estrus (from October 2011 to January 2012) and non-estrus (September 2011, from February 2012 to April 2012) ( $P < 0.05$ , Independent samples  $T$  test). The deer spent significantly more time on all of the six behaviors in estrus. In estrus, the fecal testosterone concentration level increased obviously than in non-estrus, and it reached the highest level in December ( $51.16 \pm 9.85$  ng/g). The fecal testosterone levels were closely correlated with threatening, forehead scrap-marking, defecating-marking and fighting.

**Key words:** *Hydropotes inermis*; Territory behavior; Fecal testosterone level; Correlation

领域(territory)是动物维系生命活动、进行社会和非社会行为及繁殖后代的场所(Sheridan et al. 1988, Clutton-Brock 1989, 张堰铭等 2005)。领域的占有者会通过各种不同形式的行为方式向入侵者显示其领域范围,如犬科、猫科和啮齿类等嗅觉灵敏的领域占有者通过有特殊气味的分泌物来标志其领域的边界。当其他个体进入其领域时,动物会采取威胁、直接进攻等行为驱赶入侵者(孙儒泳 2001)。

睾酮水平的变化对雄性动物维持第二性征、产生精子、繁殖竞争行为的产生等繁殖活动具有重要作用(Dixon 1998, 陈燃等 2008),发情期高浓度的睾酮可以促进雄性动物的攻击性,两者有显著的相关关系(Cavigelli et al. 2000, Muller et al. 2004, Sperry et al. 2010)。一些动物种类中,睾酮水平的提高会引起领域行为的出现;而另一些动物种类则有出现领域行为,但睾酮水平却维持不变的情况(Lynn et al. 2007)。

獐(*Hydropotes inermis*),又名河鹿,属偶蹄目鹿科,为国家Ⅱ级保护野生动物。獐在我国现主要分布于浙江舟山群岛、江西鄱阳湖、江苏滨海湿地和安徽省等地区(盛和林等 1992, 陈珉等 2009)。獐是一种孤居性动物,有明显的繁殖季节性(盛和林等 1992),发情期一般为 11 月份到翌年的 1 月份之间(盛和林等 1999)。本研究通过雄獐发情期前后的领域行为观察和粪便睾酮水平分析,以期揭示两者之间的关系,更好地了解其领域行为发生的生殖内分泌机制,为今后獐的人工繁殖、种群管理和保护等提供理论依据。

## 1 研究地点与方法

**1.1 研究地点** 华夏公园位于上海市浦东新区(N30°08'20"~31°23'22", E121°27'18"~121°48'43"),建成于 2003 年,属人工养护林带,99% 植被为人工种植,属亚热带湿润季风海洋气候。獐的重引入试点位于公园东北角,总面积为 5 400 m<sup>2</sup>,2007 年首批引入成体獐 21 只,为 1~3 龄个体,在本研究期间种群数量为 70 只。獐个体处于散放、自由取食状态,食物主要来源于人工投放的青饲料三叶草和精饲料干豆粕,投饲时间为 09:00 时和 15:30 时左右。

### 1.2 研究方法

**1.2.1 个体识别** 根据獐的耳标编号和面部特征,共区分出 5 只 2 年龄和 1 只 3 年龄雄性个体。

**1.2.2 行为的观察** 对獐的观察分两个阶段进行。2011 年 8 月 15~8 月 21 日为预观察期,每天 06:30~18:00 时使用 8×40 双筒望远镜,采用扫描取样和全事件记录法记录獐的各种行为,以熟悉和掌握獐的行为及活动规律。正式观察时间为 2011 年 9 月至 2012 年 4 月,如无暴雨雷电天气,每周取 2 个观察日。每个观察日观察时间为 06:30~18:00 时,采用目标取样和全事件记录法,找到观察区域内目标个体,对其进行连续 5 min 的观察,记录该时间段内目标动物的各种行为类型、发生频次及行为持续时间等,之后立刻找到下一头最近的目标个体进行相同的观察,6 只个体全部观察一遍为一轮,一轮观察结束后休息 20 min 进行下一轮观察,依此类推进行。

**1.2.3 行为的定义** 本研究观察到雄獐的领

域行为共 6 种,包括 4 种冲突行为(打斗、威胁、取代和追逐)和 2 种标记行为(擦额标记和粪尿标记),分别定义如下。

**打斗(fighting):**个体间有明显的身体接触性侵犯,如踢打、撕咬对方等。

**威胁(threatening):**个体颈直立,昂头,展露上犬齿,有时伴随趋向另一个体的行为。

**取代(displacing):**一个体直接趋向另一个体,或用前蹄踢打另一个体,取代其位置,后者退避。

**追逐(chasing):**冲突发生时处于劣势个体逃离,占优势个体追起并攻击逃离个体,常伴随牙齿碰撞发出的响亮的“咯咯”声。

**擦额标记(forehead scrap-marking):**雄獐用额部摩擦栅栏、树枝或者草皮等,利用眶下腺进行标记。

**粪尿标记(defecating-marking):**排遗(常为排尿)前伴随的刨地行为,通常是用前肢伸直刨地。

**1.2.4 粪便的采集和处理** 样品采集时间为 2011 年 9 月~2012 年 4 月,尽量保证每周采集新鲜粪便一次,最多每半月采集一次。收集时,采 6~10 粒,去除泥土、杂草等非粪便物后,装入 50 ml 离心管中,标好采样的个体和日期,立即放入冰箱 -20℃ 保存。

### 1.2.5 激素的提取和测定

(1)激素的提取 激素提取主要参照李春旺等(2000)、李春等(2003)、Zanetti 等(2010)方法,并在振荡时间和离心时间及转速上进行改进:将湿粪便粉碎混匀,去除砂粒和粗纤维等,取一份(0.5~1.0 g)称重,120℃ 烘干后再称重,测含水量。取研磨混匀的湿粪样 0.5 g,加入甲醇:蒸馏水(体积比)为 8:1 的混合液 4 ml 振荡 5 min,再加入 2.5 ml 石油醚振荡 2 min 以除去酯质,然后离心 15 min (3 500 r/min),取甲醇层 2 ml 于小试管中,37℃ 水浴蒸干,测试时加 0.02 mol/L 的磷酸缓冲液(pH = 7.0~7.2) 2 ml,震荡 5 min,制成待测样品。

(2)激素的放免测定 性激素水平测定使用的试剂盒购自北京福瑞生物工程公司,待测

样品采用双管平行测定,以 GC-1200 放射免疫计数器计数。试剂盒主要计数参数:测定范围 0.1~10 ng/ml;灵敏度 0.002 ng/ml;精密性:批内变异系数  $CV_w < 10\%$ ,批间变异系数  $CV_b < 15\%$ ;回收率 94%~106%。

若测定值为 A ng/ml,则湿粪样中睾酮浓度为  $T = 8A$  ng/g,式中常数 A 为针对提取稀释过程换算所得。最后,把各个湿样本的激素含量换算成干粪样中的含量。

**1.3 数据处理** 所有统计分析借助 Excel 2003 软件和 SPSS 17.0 软件完成。在进行统计分析前,先通过单样本 Kolmogorov-Smirnov 检验数据的正态性,结果显示数据均符合正态分布,因此采用 one-way ANOVA 分析比较行为和睾酮水平变化的月间差异;独立样本 *T* 检验分析比较发情期与非发情期行为及睾酮水平变化的差异;通过 LSD 检验分析行为和激素变量月间的两两差异;用 Pearson correlation 检验比较领域行为与睾酮水平变化的相关程度。所有数据以平均值 ± 标准误表示,显著性水平设置为  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 雄獐领域行为和粪便睾酮水平的月间变化** 在领域行为发生频次上(图 1),单因素方差分析(one-way ANOVA)表明,打斗( $F = 3.975, P < 0.05$ )和威胁( $F = 3.926, P < 0.05$ )月间差异显著;取代( $F = 5.545, P < 0.01$ )、追逐( $F = 7.975, P < 0.01$ )和粪尿标记( $F = 9.863, P < 0.01$ )月间差异极显著;擦额标记( $F = 2.062, P > 0.05$ )月间差异不显著。LSD 检验显示,打斗、威胁、取代、追逐和粪尿标记行为发生频次均在 11 月份明显高于其他月份;擦额标记行为虽月间差异不显著,但 11 月份发生频次也较其他月份有升高。睾酮含量月间差异不显著( $F = 2.671, P > 0.05$ )。

**2.2 发情期和非发情期雄獐领域行为及粪便睾酮水平的变化** 在领域行为发生频次上(图 2),独立样本 *T* 检验分析表明,在发情期(10 月~次年 1 月)和非发情期(9 月、次年 2 月~4

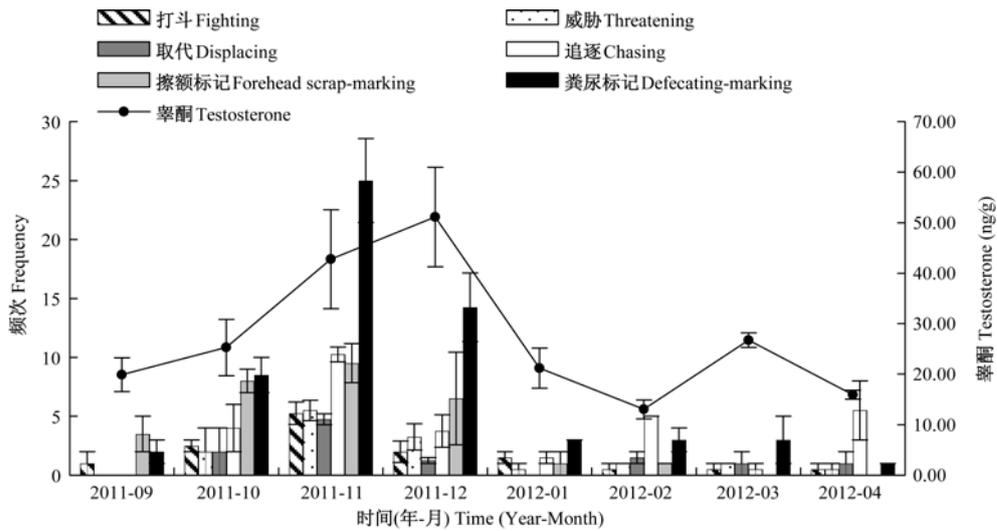


图 1 雄獐领域行为发生频次和睾酮的月变化(平均值 ± 标准误)

Fig. 1 Monthly frequency changes of territory behaviors and fecal testosterone level in male *Hydropotes inermis* (Mean ± SE)

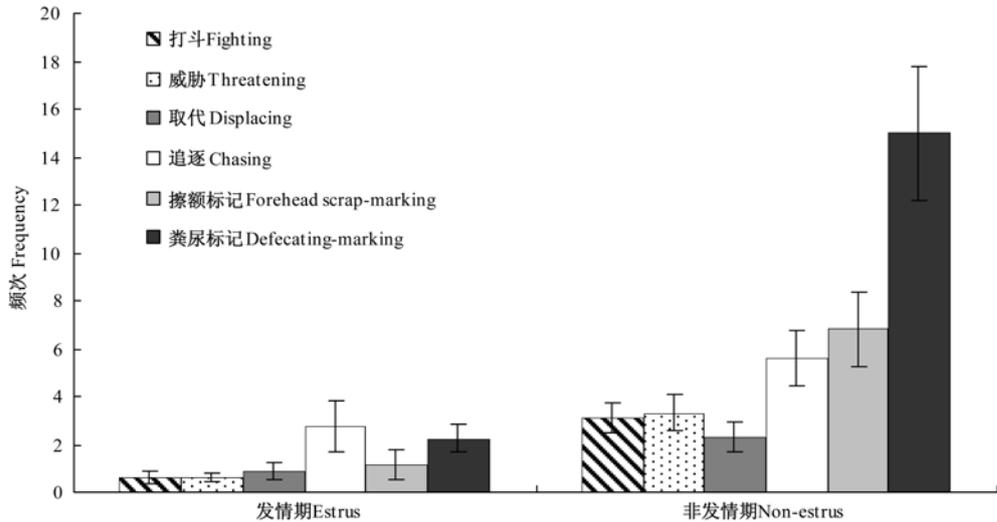


图 2 发情期和非发情期雄獐领域行为发生频次变化(平均值 ± 标准误)

Fig. 2 Frequency changes of territory behaviors in estrus and non-estrus of male *Hydropotes inermis* (Mean ± SE)

月), 打斗 ( $F = 3.879, P < 0.01$ )、威胁 ( $F = 10.834, P < 0.01$ ) 和粪尿标记 ( $F = 14.326, P < 0.01$ ) 差异极显著; 擦额标记 ( $F = 8.072, P < 0.05$ ) 差异显著; 取代 ( $F = 10.325, P > 0.05$ ) 和追逐 ( $F = 1.502, P > 0.05$ ) 差异不显著。LSD 检验显示, 打斗、威胁、粪尿标记和擦额标记行为发生频次均在发情期明显高于非发情期; 取

代和追逐行为虽差异不显著, 但发情期的发生频次也较非发情期高。

独立样本  $T$  检验分析表明, 发情期 (10 月 ~ 次年 1 月) 和非发情期 (9 月、次年 2 月 ~ 4 月) 粪便睾酮含量差异显著 ( $F = 5.966, P < 0.05$ ), 睾酮在发情期平均含量为 ( $39.04 \pm 5.55$ ) ng/g, 明显高于非发情期的 ( $18.90 \pm$

2.10) ng/g。LSD 检验显示,睾酮含量在发情期的 12 月达到峰值(51.16 ± 9.85) ng/g,明显高于其他月份。

**2.3 雄獐领域行为与粪便睾酮水平变化的关系** Pearson correlation 检验表明,雄獐的领域行为中,擦额标记、粪尿标记和威胁的发生频次

与睾酮水平都呈极显著正相关( $P < 0.01$ ); 打斗行为发生频次与睾酮水平呈显著正相关( $P < 0.05$ ); 而取代和追逐行为发生频次与睾酮水平变化不具有显著相关性( $P > 0.05$ ) (表 1)。

表 1 雄獐领域行为发生频次与粪便睾酮水平的相关

Table 1 Correlation between fecal testosterone level and frequency of territory behaviors in male *Hydropotes inermis*

	行为 Behavior					
	擦额标记 Foreheadscrap-marking	粪尿标记 Defecating-marking	威胁 Threatening	打斗 Fighting	取代 Displacing	追逐 Chasing
相关系数 Correlation indexr	0.767	0.736	0.724	0.495	0.320	0.282
双侧概率 2-tailed P	0.000	0.000	0.000	0.026	0.169	0.228

### 3 讨论

**3.1 领域行为的变化** 领域行为与动物的食物竞争和配偶竞争等有关,动物常常通过听觉、视觉和嗅觉等信号来标记并在入侵者来犯时保卫其领域(尚玉昌 1986, 1987)。獐是一种孤居、具有领域性的动物(Sun et al. 1995),在发情期有频繁的标记行为(孙立新 1989, 盛和林等 1992)。本研究结果表明,雄獐的打斗、威胁、粪尿标记和擦额标记这些领域行为的发生频次均在发情期明显高于非发情期;取代和追逐同性个体行为虽与非发情期差异不显著,但发情期的发生频次也较非发情期高;6 种领域行为均在 11 月份达到发生频次的峰值。这与它们在交配期的繁殖竞争有关,是其为获得最大繁殖利益而采取的一种行为策略(胡杰等 2007),类似的结果也见于对马麝(*Moschus sifanicus*) (孟秀祥等 2006)、黄山短尾猴(*Macaca thibetana*) (陈燃等 2008) 和环尾狐猴(*Lemur catta*) (Cavigelli et al. 2000) 等的研究。

### 3.2 粪便睾酮水平变化与领域行为的关系

季节性繁殖的雄性动物睾酮分泌呈现季节性变化,发情季节显著高于非发情季节(李春等 2003, Sperry et al. 2010)。大量研究表明,睾酮

对雄性个体占有和保卫领域的攻击行为产生促进作用,如对成年狢(*Callithrix jacchus*) (Dixson 1993)、川金丝猴(*Rhinopithecus roxellana*) (任宝平等 2003)、黑猩猩(*Pantroglogytes schweinfurthii*) (Muller et al. 2004) 等的研究。本研究得到相同的结果,雄獐睾酮含量在发情期明显高于非发情期,并在 12 月份达到峰值。相关性分析显示,雄獐睾酮含量与威胁、擦额标记、粪尿标记和打斗这些领域行为具有显著的正相关性,领域行为发生频次的峰值出现早于睾酮水平的峰值,说明雄獐睾酮含量的升高可能是由发情初期占有并保卫其领域的行为引起的。为了更好地保护该物种,在獐的人工繁殖和种群管理中,发情期应密切关注和监测雄獐领域行为的发生频次及睾酮含量变化,合理控制圈内雌雄个体的数目,避免领域行为为高频次发生造成的个体伤亡,增加其成功繁殖的机会。

“繁殖竞争假说(challenge hypothesis)”认为,季节性繁殖的雄性动物由于繁殖季节的繁殖竞争压力,会通过提高体内睾酮浓度促使占有领域的攻击行为上升,以获得更多的交配机会和增加交配成功率(Wingfield et al. 1990)。该学说在鱼类(Pankhurst et al. 1993)、爬行类(Klukowski et al. 1998)、鸟类(Johnsen et al.

1998) 和哺乳类 (Cavigelli et al. 2000, 陈燃等 2008) 动物中得到证实, 本研究结果同样支持该学说。

## 参 考 文 献

- Cavigelli S A, Pereira M E. 2000. Mating season aggression and fecal testosterone levels in male Ring-tailed lemurs (*Lemur catta*). *Hormones and Behavior*, 37(3): 246–255.
- Clutton-Brock T H. 1989. Female transfer and inbreeding avoidance in social mammals. *Nature*, 337(6202): 70–72.
- Dixon A F. 1993. Effects of testosterone propionate upon the sexual and aggressive behavior of adult male Marmosets (*Callithrix jacchus*) castrated as neonates. *Hormones and Behavior*, 27(2): 216–230.
- Dixon A F. 1998. *Primate Sexuality*. Oxford: Oxford University Press.
- Johnsen T S. 1998. Behavioural correlates of testosterone and seasonal changes of steroids in Red-winged blackbirds. *Animal Behaviour*, 55(4): 957–965.
- Klukowski M, Nelson C E. 1998. The challenge hypothesis and seasonal changes in aggression and steroids in male Northern fence lizards (*Sceloporus undulatus hyacinthinus*). *Hormones and Behavior*, 33(3): 197–204.
- Lynn S E, Hahn T P, Breuner C W. 2007. Free-living male Mountain white-crowned sparrows exhibit territorial aggression without modulating total or free plasma testosterone. *Cooper Ornithological Society*, 109(1): 173–180.
- Muller M N, Wrangham R W. 2004. Dominance, aggression and testosterone in wild Chimpanzees: a test of the ‘the challenge hypothesis’. *Animal Behaviour*, 67(1): 113–123.
- Pankhurst N W, Barnett C W. 1993. Relationship of population density, territorial interaction and plasma levels of gonadal steroids in spawning male Demoiselles *Chromis dispilus* (Pisces: Pomacentridae). *General and Comparative Endocrinology*, 90(2): 168–176.
- Sheridan M, Tamarin R H. 1988. Space use, longevity, and reproductive success in meadow voles. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 22(2): 85–90.
- Sperry T S, Wacker D W, Wingfield J C. 2010. The role of androgen receptors in regulating territorial aggression in male Song sparrows. *Hormones and Behavior*, 57(1): 86–95.
- Sun L X, Xiao B. 1995. The effect of female distribution on male territoriality in Chinese water deer (*Hydropotes inermis*). *Zeitschrift fur Saugetierkunde*, 60(1): 33–40.
- Wingfield J C, Hegner R E, Dufty A M Jr, et al. 1990. The ‘challenge hypothesis’: theoretical implications for patterns of testosterone secretion, mating systems, and breeding strategies. *The American Naturalist*, 136(6): 829–846.
- Zanetti E S, Polegato B F, Duarte J M B. 2010. Comparison of two methods of synchronization of estrus in Brown brocket deer (*Mazama gouazoubira*). *Animal Reproduction Science*, 117(3/4): 266–274.
- 陈珉, 张恩迪, 杨乃乙, 等. 2009. 江苏省盐城滨海湿地獐的春季种群数量与分布. *湿地科学*, 7(1): 1–4.
- 陈燃, 李进华, 朱勇, 等. 2008. 雄性黄山短尾猴攻击行为和粪便睾酮水平季节性变化. *动物学报*, 54(3): 393–398.
- 胡杰, 孟秀祥. 2007. 圈养雄獐的行为格局. *西华师范大学学报: 自然科学版*, 28(3): 172–175.
- 李春, 魏辅文, 李明, 等. 2003. 雄性大熊猫粪便中睾酮水平的变化与繁殖周期的关系. *兽类学报*, 23(2): 115–119.
- 李春旺, 蒋志刚, 房继明, 等. 2000. 麋鹿繁殖行为和粪样激素水平变化的关系. *兽类学报*, 20(2): 88–100.
- 孟秀祥, 冯金朝, 周宜君. 2006. 野捕和圈养繁殖雄性马麝行为格局的比较. *应用生态学报*, 17(11): 2084–2087.
- 任宝平, 夏述忠, 李庆芬, 等. 2003. 雄性川金丝猴睾酮分泌与其社群环境变化的关系. *动物学报*, 49(3): 325–331.
- 尚玉昌. 1986. 行为生态学(十四): 动物的领域行为(1). *生态学杂志*, 5(6): 60–64.
- 尚玉昌. 1987. 行为生态学(十五): 动物的领域行为(2). *生态学杂志*, 6(2): 58–62.
- 盛和林, 大秦司纪之, 陆厚基. 1999. *中国野生哺乳动物*. 北京: 中国林业出版社, 174.
- 盛和林, 徐宏发, 张恩迪. 1992. *中国鹿类动物*. 上海: 华东师范大学出版社, 96–116.
- 孙立新. 1989. 獐的社会行为和社会组织研究. 上海: 华东师范大学硕士学位论文.
- 孙儒泳. 2001. *动物生态学原理*. 3 版. 北京: 北京师范大学出版社, 284–285.
- 张堰铭, 张知彬, 魏万红, 等. 2005. 高原鼠兔领域行为时间分配格局及其对风险环境适应的探讨. *兽类学报*, 25(4): 333–338.