科学通报 2008 年 第 53 卷 第 9 期: 1057 ~ 1064
论 文
《中国科学》杂志社
SCIENCE IN CHINA PRESS

雄性大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)尿液中包含亲缘关系的信息

刘定震[①], 魏荣平[②], 张贵权[②], 袁虹[①], 王智鹏[①], 孙立新[③], 张健旭[④], 张和民[②]

① 北京师范大学生态学研究所, 生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京 100875;
② 中国保护大熊猫研究中心, 濒危动物繁殖与保护遗传四川省重点实验室, 四川汶川 623006;
③ Department of Biological Science, Central Washington University, WA 98926-7537, USA;
④ 中国科学院动物研究所, 农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100080
E-mail: dzliu@bnu.edu.cn

2007-10-11 收稿, 2008-04-01 接受
国家自然科学基金(批准号: 30470233, 30170169 和 30230080)、教育部博士点基金(批准号: 98002717)、中国野生动物保护协会和中国保护大熊猫国际合作项目(批准号: 96035, WH0306 和 WH0309)资助

摘要 化学通讯在哺乳动物的亲缘选择和性选择过程中起着非常重要的作用. 以往针对啮齿动物的气味-基因协同变化关系的研究已经有很多报道, 并由此定义了名词"亲缘气味"(kinship odor). 然而有关亲缘气味的生产者——动物的遗传关系与气味中化学物质相似性之间关系的研究却尚未有过报道. 大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)主要依靠化学通讯维持其社会等级和进行相互交往. 为揭示大熊猫尿液和肛周腺分泌物中化学物质组成及其相对含量与个体间亲缘关系的内在联系, 利用大熊猫谱系表及气相色谱和质谱联用(GC-MS)技术, 对圈养大熊猫尿液和肛周腺分泌物中化学物质组成及其相对含量、个体间遗传关系相似性进行了系统分析. 在排除尿液和肛周腺分泌物中与年龄和性别有关的化学成分后, 发现个体间的亲缘系数与尿液中化学成分组成的相似性呈现显著的正相关关系($r_s = 0.851$, $P < 0.001$, $n = 15$), 而且这种显著性关系表现为对季节、性别和年龄的依赖性, 即气味中的化学物质组成相似性与个体间的亲缘系数存在显著相关关系的结果仅见于交配季节的成年雄性个体尿液中, 而在非交配季节和其他年龄组(成年雌性、亚成年雌雄等)则不存在这种显著的相关关系. 对于肛周腺分泌物, 无论成年还是亚成年雌、雄个体, 均未发现这种相关关系. 本研究结果表明, 大熊猫极有可能存在亲缘气味, 而且该气味与年龄、性别和季节等多种因素有关. 该研究结果对于借助化学通讯和性选择方面的理论进一步推动野生大熊猫保护实践工作具有重要的意义.

关键词
亲缘气味
大熊猫
Ailuropoda melanoleuca
肛周腺分泌物
尿液

许多哺乳动物依靠化学信号保持相互联系并完成相互间的社会作用. 化学通讯在嗅觉系统高度发达的啮齿类、食肉类和有蹄类动物中作用尤为显著[1]. 信号发出者和信号接受者之间的协同进化过程使化学信号变得复杂多样而又不失专一性. 许多哺乳动物通过一些特化的体表腺体或非腺体分泌物完成不同类型的化学通讯功能[2,3]. 肛门腺或肛周腺在食肉类动物中尤为发达, 其腺体分泌物经常被用来进行化学通讯. 尽管目前人们对这种腺体在食肉类动物中的广泛存在是趋同进化还是趋异进化现象还不是十分清楚[4], 但大家普遍认识到其在这些动物的社会生活和相互通讯中所起的重要作用. 腺体分泌物及其与粪便的混合物都含有丰富的化学信号. 此外, 食肉类和其他一些哺乳动物的尿液中也包含各种各样的化学信息[5,6].

用于辨别种内不同个体的气味主要由基因多态性控制, 而且遗传关系较近的个体往往具有相似的气味[7]. 以往在金仓鼠(*Mesocricetus auratus*)[8]和野生北美河狸(*Castor canadensis*)[9]的研究首次证实了亲缘气味的存在. 后来在土耳其仓鼠(*Mesocricetus*

brandti)[10]和安哥拉隐鼠(*Cryptomys mechowi*)[11]中也发现了亲缘气味. 行为学研究也证明, 拜氏黄鼠(*Spermophilus beldingi*)能够凭借气味准确地辨别具有不同亲缘关系的陌生亲属个体. 另外, 在其近缘种——金背黄鼠(*S. lateralis*)中也发现其携带用于亲缘辨别的亲缘标签 [12]. 虽然有关亲缘气味产生的内在基因机制还不是十分清楚, 但是一些前瞻性的研究表明基因和皮肤腺体的化学分泌物是协同变化的[13,14]. Todrank和Heth[15]将这种基因和气味的关联定义为"气味-基因协变". 上述的诸多研究都表明亲缘气味在哺乳动物中可能非常普遍. 尽管目前对亲缘气味的化学种类和组成所进行的化学分析较少, 以往对金仓鼠 [8]和北美河狸 [9]的研究结果都充分说明, 亲缘气味中可能包含多种化学成分, 而且这些成分很可能属于挥发性或半挥发性的物质.

尽管目前尚缺乏有关遗传学方面的证据, 但有关亲缘气味的两种行为学功能已被人们广为认同, 即动物依此维持一个合适的婚配系统和诱发并实施利他行为 [16]. 然而, 究竟哪一种功能更重要, 这主要依赖于个体间的社会关系及其所处的环境条件. 对于群居动物, 两种功能可能都很重要. 而对于独居型动物, 亲缘气味的存在对于寻找一个既非过分近亲也非过分远亲的理想配偶是至关重要的, 而其对利他行为的影响可能会很小. 当然, 无论哪一种情况, 准确的亲缘识别是两种功能发挥作用的重要前提 [17,18].

大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)属独居型动物, 主要分布于我国的四川、陕西和甘肃省的群山之中, 视力和听力较弱. 大熊猫主要使用肛周腺分泌物和尿液来完成其社会行为, 如进行领域标记、寻找配偶和判定雌性个体的生殖状态等 [19~21]. 以往的行为学和化学研究表明两种气味标记都包含有关个体、性别和年龄方面的信息 [22~26]. 另外, 行为学观察表明, 野生和圈养大熊猫都表现强烈的配偶选择行为 [27,28]. 对于雄性不参与亲代抚育和后代关怀的一夫多妻制中的雌性, 其较雄性参与后代抚育的单配制中的雌性, 选择配偶时会更为慎重[29,30]. 每年仅发情一次的雌性大熊猫就更符合这种情况. 因为它们在交配季节(春季发情期: 每年二月底到六月初)仅有 1~3 d能够接受交配. 尽管偶有雌性秋季发情现象的报道 [31], 但是若在这个短暂的时间中失去交配、繁殖的机会, 它们则将错过一年的繁殖. 如果野生大熊猫平均年龄按照 13 岁计算, 雄性个体的生育期为 5 年, 雌性个体为 6 年 [32]. 错失一次繁殖期就意味在其生命周期中繁殖成功率降低 16%~20%[27]. 面对如此大的代价, 雌性大熊猫应选择最合适的配偶使其繁殖成功率最大. 所以, 在选择配偶的过程中, 寻找一个既非过分近亲也非过分远亲的雄性配偶就显得尤为重要.

基于上述原因并结合亲缘气味对大熊猫尤其雌性大熊猫的关键作用, 我们推断亲缘气味在大熊猫中是普遍存在的. 以往的研究都表明, 大熊猫较多利用气味标记保持相互间的联系并维持其社群地位[19,21]. 因此我们假设肛周腺分泌物和/或尿液是用于亲缘识别的主要亲缘气味源 [17,18,33,34]. 照此推断, 如果亲缘气味确实存在的话, 我们可以预测气味源(肛周腺分泌物或/和尿液)的化学组成在亲缘关系相近的个体之间比亲缘关系较远的个体间具有较多的共同特征. 本研究通过大熊猫个体间遗传关系与尿液和肛周腺分泌物的化学成分组成的相似性关系验证上述假设.

1 材料与方法

(ⅰ) 实验动物和样品采集. 本研究所涉及的肛周腺分泌物样品分别于 2000 年和 2001 年的交配季节采自四川卧龙中国保护大熊猫研究中心的 24 只圈养大熊猫. 尿液样品分别于 2002 年的交配季节采自于 13 只大熊猫, 2001 年、2002 年和 2004 年非交配季节的尿液样品采自于 31 只大熊猫(表 1). 首先依据王昌琼和胡锦矗 [35]对大熊猫的年龄划分标准将所有动物划分为 4 个性别/年龄组, 即成年雄性、成年雌性、亚成年雄性和亚成年雌性. 然后, 针对不同的年龄组和性别的个体进行尿液和肛周腺分泌物样品的采集. 有关动物的饲养管理以及

表 1 交配和非交配季节采集样品所使用的动物数量

研究对象	交配季节		非交配季节	
	肛周腺分泌物	尿液	肛周腺分泌物	尿液
成年雄性	5	6(4)[a)]	–	14(1)[b)]
成年雌性	6	7(3)[a)]	–	10
亚成年雄性	6	–	–	6
亚成年雌性	7	–	–	1
总计	24	13	–	31

a) 表示在非交配季节采集尿液样品时重复使用的动物个体数量; b) 表示在 2001 年和 2004 年采集尿液样品时重复使用的动物个体数

肛周腺分泌物以及尿液样品的采集等详细信息请参阅文献 [25,36].

简单地讲，就是用干净的棉球直接擦拭因实施人工采精或人工授精而被麻醉的活体大熊猫的肛周腺表面获得肛周腺分泌物样品. 另外，在 2001 年所采集的样品中，有部分样品采自于大熊猫在墙壁、水泥地或石头表面遗留的新鲜、干净气味标记. 针对来自于同一只个体的分泌物样品一般同时采集两份，不做任何化学处理，分别密封于两个洁净的小瓶中，并迅速放入–20℃冰箱中保存. 对于尿液样品，取样时间一般为早上 9: 00 和下午 2: 00. 每次采样时以干净的一次性注射器收集大熊猫新排泄在水泥地面上的尿液 5~10 mL，置于干净的冻藏管中. 与肛周腺分泌物样品类似，每只个体每次采样两份，分别放入两个洁净的密封冻藏管中，并迅速置于–20℃冰箱贮存. 在同一季节的肛周腺分泌物和尿液样品采集工作基本在 2 周以内完成. 之后以空运方式将所有肛周腺分泌物和尿液样品从成都运至北京师范大学的实验室(大约 2.5 h 飞行时间). 在运输过程中以保温盒包装所有样品，内装冰袋和冰块降温，到达目的地后迅速置于–20℃冰箱直至分析. 受大熊猫研究中心对动物的饲养和管理，尤其对怀孕和繁殖产仔的成年雌性的严格管理制度限制，在 3 年的研究过程中，我们未能获得所有个体在非交配季节的肛周腺分泌物样品. 另外，由于在非交配季节亚成体一般被混养于同一圈舍，而成年雄性则被散养于有围栏的半自然状态环境下而不利于获取气味标记物. 受同样条件的限制，我们仅获得了非交配季节的成年雄性、成年雌性、亚成年雄性和一个亚成年雌性(因样品量太小而未做分析)大熊猫尿液样品. 如前所述，由于在非交配季节亚成年个体被混养于同一圈舍，采集尿液样品时主要依靠饲养员在上午 9: 00 到下午 2: 00 对各自所负责动物的持续行为监测. 当发现某一动物排尿后，饲养员会迅速进入笼舍收集尿液，再用水将遗留有尿液的地面冲洗干净并用拖布擦干，以减少不同个体间尿液样品的污染.

(ⅱ) 气质联用分析. 首先采用气相色谱和质谱联用(GC-MS)技术对每只个体的尿液和肛周腺分泌物样品的化学物质组成及其相对含量进行分析. 然后依据美国标准和技术研究所(National Institute of Standards and Technology)质谱数据库检索并初步鉴定样品内所含化学物质，同时通过对质谱库内物质和文献报道物质的比较来确定化学物质的种类和名称 [26]. 有关GC-MS的具体实验步骤与方法、肛周腺分泌物和尿液中检出物信息等请参阅以往的相关报道 [25,36]. 因为时间的限制，对采自 2000 年到 2002 年间的尿液和肛周腺分泌物样品，在 2002 年 11 月完成其GC-MS分析，而对采自 2004 年的尿液样品则在当年的 11 月和 12 月完成GC-MS分析.

(ⅲ) 数据分析. 由于肛周腺分泌物和尿液中所含有的部分化学成分编码了性别、年龄以及生殖状态的信息 [25,36]，因此从理论上讲它们不会用来表明遗传关系的信息，因为其缺乏个体差异性 [3,9]. 因而首先排除对这些化学物质的更深层次的分析. 针对所剩余的化学物质成分，首先将每一种物质的相对含量转换成其占全部剩余物质总量的比例，然后用于个体间气味物质组成的相似性分析 [9].

为定量分析两只个体间在肛周腺分泌物和尿液所含有的多种物质间的差异，首先采用欧式距离法(euclidean distance)对肛周腺分泌物和尿液中与年龄、性别和繁殖状态无关的化学物质及其相对含量，计算其相似性指数. 同时结合大熊猫谱系表 [37]，借助软件LINEAGE (Trial version, Cornell University)计算所有个体间的亲缘关系指数. 最后利用Spearman's rank 相关分析法分析亲缘系数和气味中物质组成相似性指数间的关系. 所有统计分析借助SPSS for Windows 10.0 完成，显著性标准$\alpha = 0.05$.

2 结果

排除肛周腺分泌物中与年龄和性别相关的化学物质后，剩余 28 种化学成分(表 2). 这些物质中大部分是分子量在 200 Da 以上的十四碳或更多碳链化合物. 其中含有 5 种醛、7 种脂肪酸酯、4 种甾类和 1 种酰胺. 尿液样品中许多化合物具有大致相同的保留时间，它们是 5 种醇、3 种醛、8 种烷烃、2 种酰胺、8 种醚、3 种脂肪酸酯、5 种酮、9 种酚类化合物和 2 种饱和脂肪酸(表 3).

从气味的化学组成和个体间的遗传关系分析，在非交配季节，对成年雄性、成年雌性、亚成年雄性尿液中化学成分相似性指数和亲缘关系指数的分析未发现显著性相关关系. 在交配季节，对成年雌性、亚成年雄性、亚成年雌性的尿液和肛周腺分泌物的化学成分相似性指数和亲缘关系指数间的相关分析也未发现显著性相关关系(表 4). 非常有

表 2 在大熊猫肛周腺分泌物中初步鉴定出的化学物质(已排除与性别和年龄有关的物质)[a)]

峰号	保留时间/min	暂时鉴定的化合物名称	分子量	峰号	保留时间/min	暂时鉴定的化合物名称	分子量
4	18.54	tetradecanal	212	33	31.16	pentacosane	352
8	19.78	tetradecanoic acid, ethyl ester	256	34	32.35	hexacosane	366
10	20.24	hexadecanal	240	35	33.44	heptacosane	380
13	21.47	pentadecanoic acid, ethyl ester	270	36	34.13	a steroid	?
15	21.95	octadecanal	268	37	34.44	a steroid	?
16	22.63	n-hexadecanoic acid	256	38	34.57	squalene	410
19	23.69	eicosanal	296	41	35.15	cholesteryl benzoate	490
22	24.90	heptadecanoic acid, ethyl ester	298	42	35.30	3β-cholesta-4,6-dien-3-ol	384
23	25.43	docosanal	240	43	35.56	cholesta-3,5-diene	368
24	25.57	Z9, Z12-octadecadienoic acid	280	47	37.80	a terpene	?
27	26.59	octadecanoic acid, ethyl ester	312	49	38.21	cholesterol	386
29	28.22	9-Methyl-octadecanoic acid, ethyl ester	326	54	39.35	cholesta-3,5-dien-7-one	382
30	29.25	Z9-octadecenamide	281	55	39.73	campesterol	400
32	29.75	eicosanoic acid, ethyl ester	340	56	39.91	cholest-4-en-3-one	384

a) 化合物按照(G+C)保留时间排序, 痕量成分尚未列出. ? 表示尚未完全确定的成分

表 3 在大熊猫尿液中初步鉴定出的化学物质(已排除与性别和年龄有关的物质)[a)]

峰号	保留时间/min	暂时鉴定的化合物名称	分子量	峰号	保留时间/min	暂时鉴定的化合物名称	分子量
1	11.36	1-(1-Methylethoxy)-butane,	116	32	16.62	2,5-diethylphenol	
2	11.51	3-hydroxy-butanoic acid, ethyl ester	132	33	16.73	2-Methoxy-4-vinylphenol	150
3	11.8	3,6-dimethyl-4,5-octanediol	174	34	16.77	unknown	150
7	12.86	2-ethoxy-butane	102	35	17.04	3-(1-methylbutoxy)-2-butanol	?
8	13.11	an ether	?	36	17.14	p-mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	160
9	13.17	an ether	?	38	17.46	4-hydroxy-benzaldehyde	152
10	13.21	hexyl isopropyl-ether	144	40	17.65	9-hydroxy-2-nonanone	122
11	13.33	phenylethyl alcohol	122	41	17.7	4-propyl-phenol	158
12	13.86	2,4-dimethyl-phenol	122	42	18.14	2-n-butyladamantane	136
13	13.98	Z3-nonen-1-ol	142	43	18.28	Tetradecane	192
14	14.14	4-ethyl-phenol	122	44	18.62	2-cyclohexyl-1-(1-methyl-1H-imidazol-	198
15	14.17	2,3-dimethyl-phenol	122			4-yl)-ethanone	206
16	14.62	1-dodecene	168	45	18.91	1-(3-hydroxyphenyl)-ethanone	136
17	14.63	1-methylene-1H-Indene	128	46	18.93	1-(2-hydroxyphenyl-)-ethanone	136
18	14.76	dodecane	170	47	19.2	unknown	?
19	15.01	2,3-dihydro-benzofuran	120	48	19.25	2-benzothiazolecarboxaldehyde	163
20	15.17	2-(1-methylethyl)-phenol	136	49	19.29	2-benzothiazolecarboxaldehyde	163
21	15.22	an ether	?	50	19.37	ethyl 4-hydroxy-dl-mandelate	196
22	15.27	2-(2-propenyl)-1,3-Dioxolane	114	51	19.86	1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-ethanone	166
23	15.36	2-ethyl-5-methyl-phenol	136	86	27.92	unknown	?
24	15.61	an ether	?	88	28.4	isopropyl palmitate	298
25	15.71	an ether	?	91	29.58	octadecanoic acid, methyl ester	298
26	15.78	nonanoic acid	158	92	29.93	octadecanoic acid	284
27	15.92	an ether	?	93	30.13	hexadecanamide	255
28	16.06	4-ethyl-2-methoxy-phenol	152	94	30.38	docosane	310
29	16.25	an ether	?	95	31.36	tricosane	324
30	16.41	indole	117	96	31.92	Z9-octadecenamide	281
31	16.48	tridecane	184				

a) 化合物按照(G+C)保留时间排序, 痕量成分尚未列出. ? 表示尚未完全确定的成分

表 4 交配和非交配季节各年龄和性别组的个体亲缘指数与气味化合物相似性系数的 Spearman 相关系数(R_s) a)

研究对象	交配季节		非交配季节	
	AGS	Urine	AGS	Urine
成年雄性	0.262 (0.464,10)	–0.851 (0.000,15)	–	–0.134 (0.242, 78)
成年雌性	0.000[a)](15)	0.222 (0.334, 21)	–	–0.049(0.750, 45)
亚成年雄性	–0.258 (0.353, 15)	–	–	0.200 (0.475, 15)
亚成年雌性	–0.149 (0.518, 21)	–	–	–
全部个体	0.056 (0.355, 276)	–0.175 (0.126, 78)	–	0.019(0.706, 406)

a) 括号中的数字分别表示显著性 P 值和样品量. “–”表示样品没有采集到. a 表示因为个体间亲缘关系太远而未能计算出相关系数

趣的是, 仅在对交配季节的成年雄性尿液分析中发现其化学成分相似性指数与亲缘关系指数间存在显著的相关关系($r_s = 0.851$, $n = 15$, $P < 0.001$).

3 讨论

尽管由于研究中心对大熊猫的严格饲养管理制度和动物福利等原因限制了部分样品的采集, 尤其是肛周腺分泌物样品的采集工作 [25], 造成采样未能覆盖全部季节和个体, 尤其缺乏非交配季节的肛周腺分泌物样品(表 1), 但我们的研究结果仍有重要的启示作用. 在交配季节, 亲缘关系较近的成年雄性个体的尿液化学成分之间存在显著的相似性. 这一点充分支持了大熊猫亲缘气味存在的假说. 这是首次在大型非啮齿类哺乳动物研究并发现亲缘气味存在的可能性. 该研究结果引发了我们对以下几个问题的重新思考: 亲缘气味的存在与性别、年龄和季节因素有关.

首先, 为什么是成年雄性而不是成年雌性尿液中含有亲缘信息? 尽管雄性和雌性都表现配偶选择行为 [28], 而行为观察显示在交配季节, 野生大熊猫雄性个体间为了获得与雌性的交配权而发生相互的争斗 [21,27]. 雌性则表现出强烈的配偶选择倾向, 并且可能与不止一只雄性个体交配 [27]. 因此, 大熊猫也是属于大多数哺乳动物性选择的模式, 即雄性竞争而雌性选择. 由于雌性大熊猫在生殖上的较大投入, 选择具有合适遗传关系的配偶, 实现成功繁殖的压力对于雌性来说较雄性要大得多. 从雄性的角度分析, 如果它们能够为雌性个体提供关于其遗传组成(如基因的相容性、质量或身份特征)的信息, 它将吸引更多的雌性个体并与之交配. 因此, 有关亲缘关系的信息应该与性别、年龄和生殖状态一样, 作为雄性的一整套吸引异性特征表现出来 [25,36,38].

当然, 这又引出一个新的问题: 为什么成年雄性尿液中包含亲缘信息, 而在亚成年雄性中却不存在? 因为亚成体在性成熟前并不参与繁殖, 它们可能不需要提供亲缘信息来吸引异性个体. 另外, 亲缘气味在亚成体尿液中延迟出现有利于保护亚成体免受成年雄性的攻击和伤害 [27,39]. 野外研究发现, 在交配季节亚成年雄性一般出现在争斗场所观看雄性成体间的竞争, 但并不参与其争斗 [40]. 根据气味的发生过程, 一些脂肪酸的相对含量与年龄呈显著正相关关系, 而烷烃类物质则与年龄表现出负相关关系 [36]. 随大熊猫亚成体身体的生长发育成熟, 其肛周腺分泌物和尿液中的脂肪酸含量逐渐增加 [25]. 因而, 在大熊猫的不同发育阶段, 其气味分泌物中的化学成分发生一系列的变化, 这有可能是与气味产生相关的基因在动物进入发情期后才开始表达所致. 许多文献表明, 如同由睾丸分泌的雄激素在血液中的变化一样, 雄性脑垂体前叶分泌的黄体酮(LH)、卵泡刺激素(FSH)和泌乳素(PRL)在血清中的增加也是随睾丸以及附属生殖器官质量的增加而增加的, 而睾丸以及附属生殖器官质量的这种变化是与动物身体的生长和发育紧密相关的 [41]. 对白犀牛(*Ceratotherium simum simum*)的研究也进一步证实随着性成熟, 雄性个体血液中雄激素及其代谢产物的浓度也不断增加 [42].

依照这种推论, 我们可以回答第 3 个问题: 为什么亲缘信息仅在交配季节有所表现? 如果亲缘信息被雄性个体用来吸引雌性个体, 则雄性应当至少在交配季节产生这种亲缘气味. 在非交配季节缺乏这种亲缘气味, 可能大熊猫亲缘气味的产生是受交配季节体内激素的控制或者与激素同时产生. 实际上在其他许多哺乳动物, 其体内的许多激素会在交配季节发生显著的增加 [41]. 例如具有领域性的白犀牛的雄激素代谢物浓度呈现典型的季节性波动, 这反过来又影响其信息素的产生 [42]. 一些雄性特有的信息素表现为雄激素依赖性, 不同的浓度水平会在同伴中诱发不同的行为反应 [43~45]. 此外, 血液中性激

素水平高低还影响哺乳动物皮肤腺体的分泌功能[46]. 这在雄性山羊、金仓鼠、非洲象(*Loxodonta africana*)和亚洲象(*Elephas maximus*)中得到了很好的证实[41]. 比如山羊的体表腺体中包含的诱导性外激素就属于雄激素依赖型外激素[47]. 对大熊猫而言, 如果在交配季节亲缘气味的产生依赖于雄激素, 当然雌性个体就不会产生这种信息素. 这个结果很好地解释了Swaisgood等人[24]的研究中为何成年雄体对成年雌体的尿液气味未表现出不同行为反应的结果.

在河狸中, 肛周腺分泌物中含有与遗传有关的信息[9]. 但很奇怪, 尽管我们努力进行了尝试, 但在大熊猫的肛周腺分泌物中却未能找到这种信息. 尽管如此, 如果成年雄性个体将亲缘气味作为其吸引雌性的"广告"气味, 它们不一定需要长时间的效果. 尿液是一种比肛周腺分泌物更利于表达亲缘信息的气味源. 因为产生尿液的速度较肛周腺分泌物不仅快得多, 也经济地多. 如果这种推测符合逻辑的话, 我们推断在交配季节雄性个体为吸引更多的雌性, 应该采用尿液而非肛周腺分泌物进行气味标记. 以往的行为观察显示性活跃的雄性个体用尿液进行气味标记的频次比不活跃的个体显著得多[20]. 相反, 肛周腺分泌物则可能更多地用于雄性个体间的竞争和社会地位的维持[48]. 显然肛周腺分泌物和尿液在通讯方面的功能是不同的. 如同在小鼠中发现的一样, 尿液中挥发性物质较其胁腺中挥发性物质更容易受遗传变异的影响, 即使一个基因的变化会导致尿液中挥发性物质组成成分的截然不同[49].

尽管我们发现大熊猫亲缘气味的存在与年龄、性别和季节等因素有关, 但我们清楚地认识到本研究工作的一些缺陷, 尤其没有获得非交配季节肛周腺分泌物的样品及有关数据. 这有待于以后的进一步研究. 对交配季节个体的肛周腺分泌物中亲缘气味的研究对于揭示大熊猫的扩散和生境选择机制具有重要意义. 因而如何探索一种新的、非损伤性采样方法来补充完善这些数据, 佐证我们的假设是非常必要也是很重要的. 另外, 在本研究中缺少对雄性亲缘气味及其行为学功能的直接验证实验, 是本研究工作的另一不足. 尽管已获得一些零散的行为学证据, 但是为准确判定亲缘气味在配偶选择中的作用, 尚需针对亲缘气味, 通过直接的行为学实验对雌性的配偶选择进行进一步验证.

揭示大熊猫亲缘气味的存在对于大熊猫的保护工作具有重要的意义. 在野生环境条件下, 栖息环境破碎化会限制大熊猫的扩散并将它们局限在其出生地附近[50]. 如果雌性个体选择配偶时依靠气味判定其与气味释放者的遗传关系, 受迁徙限制的影响, 雌性个体对配偶的强烈选择会导致整个种群繁殖的减少. 因生境缩小, 雌性可能会拒绝和携带与自己相似气味, 即有亲缘关系的雄性个体交配. 这也可能是圈养大熊猫中三分之一雌性个体交配行为表现不好的原因之一[28].

综上, 尽管野生大熊猫的食物竹子近些年在中央和地方政府严格的保护措施下得以恢复, 但雌性对雄性配偶遗传学上的严格要求和选择会导致破碎化生境中的种群增长率减缓甚至下降. 虽然这些推测需要进一步的验证, 但我们的研究至少从理论上揭示了化学通讯与性选择的关系及其对野生大熊猫保护工作的潜在影响.

致谢 感谢栾和林教授和姚文高级工程师在 GC-MS 分析工作方面的帮助.

参考文献

1 MacDonald D W, Brown R E. Introduction: The pheromone concept in mammalian chemical communication. In: Brown R E, MacDonald D W, eds. Social Odours in Mammals. New York: Oxford University Press, 1985. 1—18

2 Johnston R E, Derzie A, Chiang G, et al. Individual scent signatures in golden hamsters: Evidence for specialization of function. Anim Behav, 1993, 45: 1061—1070[doi]

3 Sun L, Müller-Schwarze D. Chemical signals in the beaver: One species, two secretions, many functions? In: Johnston R E, Müller-Schwarze D, Sorensen P, eds. Advances in Chemical Signals in Vertebrates. New York: Kluwer Academic/Plenum Publishers, 1999. 281—288

4 MacDonald D W. The Carnivores: Order Carnivora. In: Brown R E, Macdonald D W, eds. Social Odours in Mammals. Oxford: Oxford University Press, 1985. 619—722

5 MacDonald D W. Patterns of scent marking with urine and faeces amongst carnivore communities. Proc Symp Zool Soc Lon, 1980, 45: 107—139

6 Müller-Schwarze D. Chemical Ecology of Vertebrates. New York: Cambridge University Press, 2006. 536

7 Yamazaki K, Beauchamp G K, Singer A, et al. Odortypes: Their origin and composition. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(4): 1522—1525[doi]

8 Todrank J, Heth G, Johnston R E. Kin recognition in golden hamsters: Evidence for kinship odours. Anim Behav, 1998, 55: 377—386[doi]

9 Sun L, Müller-Schwarze D. Anal gland secretion codes for relatedness in the beaver, *Castor canadensis*. Ethology, 1998, 104: 917—927

10 Heth G, Todrank J, Johnston R E. Similarity in the qualities of individual odors among kin and species in Turkish (*Mesocricetus brandti*) and golden (*Mesocricetus auratus*) hamsters. J Comp Psychol, 1999, 113(3): 321—326[doi]

11 Heth G, Todrank J, Burda H. Individual odor similarities within colonies and across species of Cryptomys mole rats. J Mammal, 2002, 83(2): 569—575[doi]

12 Mateo J M. Kin-recognition abilities and nepotism as a function of sociality. P Roy Soc B-Biol Sci, 2002, 269(1492): 721—727[doi]

13 Heth G, Todrank J, Busquet N, et al. Odour-genes covariance and differential investigation of individual odours in the Mus species complex. Biol J Linn Soc, 2001, 73(2): 213—220

14 Heth G, Todrank J, Busquet N, et al. Genetic relatedness assessment through individual odour similarities in mice. Biol J Linn Soc, 2003, 78(4): 595—603[doi]

15 Todrank J, Heth G. Odor-genes covariance and genetic relatedness assessments: Rethinking odor-based "recognition" mechanisms in rodents. Adv Study Behav, 2003, 32: 77—130

16 Holmes W G, Sherman P W. The ontogeny of kin recognition in two species of ground squirrels. Am Zool, 1982, 22(3): 491—517

17 Fletcher D J, Michener C D. Kin recognition in animals. Chichester: John Wiley & Sons, 1987. 465

18 Hepper P G. Kin Recognition. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 457

19 Kleiman D G. Ethology and reproduction of captive giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*). Z Tierpsychol, 1983, 62: 1—46

20 刘定震, 房继明, 孙儒泳, 等. 大熊猫个体不同性活跃能力的行为比较. 动物学报, 1998, 44(1): 27—34

21 Schaller G B, Hu J, Pan W, et al. The Giant Pandas of Wolong. Chicago: University of Chicago Press, 1985. 298

22 刘定震, 王立文, 张晓彤, 等. 大熊猫尿液中挥发性成分分析与比较. 北京师范大学学报(自然科学版), 2003, 39(1): 123—130

23 Swaisgood R R, Lindburg D G, Owen M A. The effects of sex, reproductive condition and context on discrimination of conspecific odours by giant pandas. Anim Behav, 2000, 60: 227—237[doi]

24 Swaisgood R R, Lindburg D G, Zhou X. Giant pandas discriminate individual differences in conspecific scent. Anim Behav, 1999, 57: 1045—1053[doi]

25 Yuan H, Liu D, Sun L, et al. Anogenital gland secretions code for sex and age in the giant panda, *Ailuropoda melanoleuca*. Can J Zool, 2004, 82: 1596—1604[doi]

26 Zhang J X, Liu D, Sun L, et al. Potential chemosignals in the anogenital gland secretion of giant pandas, *Ailuropoda melanoleuca*, associated with sex and individual identity. J Chem Ecol, 2008, 34(3): 398—407[doi]

27 雍严格, 魏辅文, 叶新平, 等. 佛坪自然保护区野生大熊猫交配行为的观察. 兽类学报, 2004, 24(4): 346—349

28 张和民, 张科文, 魏荣平, 等. 卧龙大熊猫的繁殖与人工巢. 见: 张安居, 何光昕, 主编. 成都国际大熊猫保护学术研讨会论文集. 成都: 四川科学技术出版社, 1994. 221—225

29 Anderssen M. Sexual Selection. Princeton: Princeton University Press, 1994. 599

30 Dugatkin L A, Godin J G J. How females choose their mates. Sci Am, 1998, 278(4): 56—61

31 胡锦矗. 大熊猫的繁殖生态学研究. 见: 胡锦矗, 魏辅文, 袁重桂, 等主编. 大熊猫生物学研究与进展. 成都: 四川科学技术出版社, 1990. 309—315

32 魏辅文, 胡锦矗, 许光璨, 等. 野生大熊猫繁殖特征及生命表初探. 见: 胡锦矗, 魏辅文, 袁重桂, 等主编. 大熊猫生物学研究与进展. 成都: 四川科学技术出版社, 1990. 177—186

33 Boyse E A, Beauchamp G K, Yamazaki K, et al. Genetic components of kin recognition in mammals. In: Hepper P G, ed. Kin Recognition. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 148—161

34 Brown R E, MacDonald D W. Soical Odours in Mammals. Oxford, USA: Oxford University Press, 1985. 568

35 王昌琼, 赵灿南. 大熊猫的行为生态学研究. 见: 胡锦矗, 魏辅文, 袁重桂, 等主编. 大熊猫生物学研究与进展. 成都: 四川科学技术出版社, 1990. 263—271

36 Liu D, Yuan H, Tian H, et al. Do the anogenital gland secretions of giant panda code for their sexual ability? Chin Sci Bull, 2006, 51(16): 1986—1995[doi]

37 Xie Z, Gipps J. 2002 大熊猫谱系. 北京: 中国动物园协会, 2002

38 Mateo J M. The nature and representation of individual recognition odours in Belding's ground squirrels. Anim Behav, 2006, 71: 141—154[doi]

39 潘文石, 吕植, 朱小健, 等. 继续生存的机会. 北京: 北京大学出版社, 2001. 235

40 王雄清. 大熊猫追逐交配初步观察. 见: 胡锦矗, 魏辅文, 袁重桂, 等主编. 大熊猫生物学研究与进展. 成都: 四川科学技术出版社, 1990. 272—274

41 Asa C S. Reproductive Physiology. In: Kleiman D G, Allen M E, Thompson K V, Lumpkin S, eds. Wild Mammals in Captivity-Principles and Techniques. Chicago: The University of Chicago Press, 1996. 390—417

42 Kretzschmar P, Ganslosser U, Dehnhard M. Relationship between androgens, environmental factors and reproductive behavior in male white rhinoceros (*Ceratotherium simum simum*). Horm Behav, 2004, 45(1): 1—9[doi]

43 Gawienowski A M, Denicola D B, Stacewiczsapuntzakis M. Androgen dependence of a marking pheromone in rat urine. Horm Behav, 1976, 7(4): 401—405[doi]

44 Monahan E J, Maxson S C. Y chromosome, urinary chemosignals, and an agonistic behavior (offense) of mice. Physiol Behav, 1998, 64(2): 123—132[doi]

45 Novotny M, Harvey S, Jemiolo B. Chemistry of male-dominance in the house mouse. *Mus domesticus*. Experientia, 1990, 46(1): 109—113[doi]

46 Ebling F J. Hormonal control of mammalian skin glands. In: Müller-Schwarze D, Mozell M M, eds. Chemical Signals in Vertebrates. New York: Plenum Press, 1977. 17—39

47 Iwata E, Wakabayashi Y, Kakuma Y, et al. Testosterone-dependent primer pheromone production in the sebaceous gland of male goat. Biol Reprod, 2000, 62(3): 806—810[doi]

48 White A M, Swaisgood R R, Zhang H. The highs and lows of chemical communication in giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*): effect of scent deposition height on signal discrimination. Behav Ecol Sociobiol, 2002, 51: 519—529[doi]

49 Zhang J X, Rao X P, Sun L, et al. Putative chemical signals about sex, individuality and genetic background in the preputial gland and urine of the house mouse (*Mus musculus*). Chem Senses, 2007, 32(3): 293—303[doi]

50 Loucks C J, Lü Z, Dinerstein E, et al. ECOLOGY: Giant pandas in a Changing landscape. Science, 2001, 294(5546): 1465[doi]