

体毛染色结合臂环的标记技术在犬蝠室内行为研究中的应用

巩艳艳^{①②} 洪体玉^{①②} 周善义^① 杨剑^{①②} 彭涛^② 胡海龙^② 朱光剑^②
张光良^{②③} 曾玉^{②④} 张礼标^{②*}

(① 广西师范大学生命科学学院 桂林 541004; ② 广东省昆虫研究所 广州 510260;

③ 东北师范大学环境科学与工程系 长春 130024; ④ 海南医学院 海口 571101)

摘要:动物行为观察中个体识别是非常重要的。而现有对蝙蝠的标记方法,如臂环和颈圈等并不能满足室内红外线摄像头下识别个体进行行为观察的需要。本文采用体毛染色和臂环相结合的方法对犬蝠(*Cynopterus sphinx*)进行标记,可在室内行为观察中识别个体。

关键词:体毛染色;臂环;标记;蝙蝠

中图分类号:Q958 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2010)06-58-06

Individual Identification by Wing-Banding Combined with Body Hair Dyeing for Short-nosed Fruit Bat (*Cynopterus sphinx*)

GONG Yan-Yan^{①②} HONG Ti-Yu^{①②} ZHOU Shan-Yi^① YANG Jian^{①②} PENG Tao^②
HU Hai-Long^② ZHU Guang-Jian^② ZHANG Guang-Liang^{②③}
ZENG Yu^{②④} ZHANG Li-Biao^{②*}

(① College of Life Science, Guangxi Normal University, Guilin 541004; ② Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260; ③ Department of Environmental Science and Engineering, North East Normal University, Changchun 130024; ④ Hainan Medical College, Haikou 571101, China)

Abstract: It is very important to identify individuals in the animal behavioral observations. However, the methods used in current studies on bat behavior, such as wing bands or necklaces are not suitable for individual identification in lab under the infrared videography. In this paper, we marked short-nosed fruit bat (*Cynopterus sphinx*) by combining body hair dyeing and wing bands to solve this problem.

Key words: Body hair dyeing; Wing band; Marking; Bats

在动物行为生态学研究,经常用到动物的标记技术来获取相关的行为和生态学信息,如 Medina 等用塑料彩色颈圈(necklaces)来标记蝙蝠,以获得位于中美洲尼加拉瓜(Nicaragua)的马蒂瓜斯(Matiguás)农耕区蝙蝠多样性、物种丰富度等方面的信息^[1],还有学者采用无线电跟踪(radio transmitters)和化学光标(chemiluminescent tags)等技术标记蝙蝠来获取捕食行为(foraging behaviors)和栖息模式

(roosting patterns)方面的数据^[2-4]。在过去的100多年里,关于翼手目(Chiroptera)动物的行

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30800102),广西研究生教育创新项目(No. 2009106020710M53);

* 通讯作者, E-mail: zhanglb@gdei. gd. cn;

第一作者介绍 巩艳艳,女,硕士研究生;研究方向:动物行为生态学; E-mail: gongru1985124@tom. com.

收稿日期:2010-05-16,修回日期:2010-08-23

为研究也随着动物行为学的发展而不断深入。但是,相对于其他哺乳动物的室内研究来说,蝙蝠的行为研究发展相对缓慢,因为蝙蝠的体型相对较小,个体识别困难;此外,蝙蝠是夜行性动物,夜间不易观察^[5]。目前的标记方法有些对蝙蝠有一定的伤害,有些影响蝙蝠的活动和行为,甚至会导致被标记个体死亡^[6],或者被标记个体更易于被天敌捕食。如臂环(wing bands)、颈圈等主要是用来研究蝙蝠的局部迁移(regional movement)、扩散(dispersal)、寿命(longevity)、社群结构(social structure)、婚配制度(mating system)等行为生态学^[7],这些标记方法一般需要重捕来识别个体,且容易伤害被标记个体;光标、无线电跟踪技术可以在夜间观察或者跟踪蝙蝠几小时或几天,解决短期内不用重捕即能了解蝙蝠在栖息地使用和栖息地内部的种群结构等生态学信息^[8-10],但 Hoxeng 等用光标标记矛吻蝠(*Phyllostomus hastatus*)来研究光标对蝙蝠行为的影响时发现,这种发光标记方法严重影响蝙蝠的活动,被标记的个体出现了被排斥、飞行时脱离群体等现象^[11]。据 Fenton 等的报道,也证实在蝙蝠身上放置无线电跟踪设备可能改变蝙蝠行为^[10]。

伴随着野外生态学研究的发展,蝙蝠的室内行为研究也有较快的发展,标记方法更是层出不穷。但以往报道的标记方法对于在夜间用红外线摄像仪器长期识别个体并不适用,因此我们在 LeBlanc 等^[12]的标记方法基础上进行了改进,以期解决利用红外线摄像仪器长期识别蝙蝠个体的问题。

1 材料与方法

1.1 材料 犬蝠(*Cynopterus sphinx*),属狐蝠科(Pteropodidae)犬蝠属,采自广州市区,用于交配行为(mating behaviors)和抢食行为(snatching behaviors)的研究,共 34 只。染色材料为用于人类染发的产品 seri color(12%)和 hair colorant(00/0)。金属臂环(metal bands, Split Metal Bat Rings,英国 Porzana Ltd 公司,型号 3.5)。

1.2 方法

1.2.1 制备固定架 固定架材料要求对蝙蝠没有伤害但又有一定硬度,我们选择泡沫板作为固定架的材料。泡沫板要有一定的厚度(至少 5 cm),用模型蝙蝠在泡沫板上做一个蝙蝠趴卧姿势的槽,并选择两根比蝙蝠身体长的固定板,固定板可以用塑料板(或者塑料米尺)、木板,边缘一定要光滑,不可用金属板。因为染色时间较长,固定在固定架上的时间也较长,蝙蝠可能出现挣扎行为,如果用金属板,蝙蝠在挣扎过程中可能会受伤,而用塑料板可以避免出现伤害的情况。

1.2.2 清洗 将要染色的犬蝠背部用清水洗干净,放在干净的笼内等待干燥。

1.2.3 制备染色剂 将 seri color(12%)和 hair colorant(00/0)按照 1:1 的比例放入陶瓷或玻璃容器内,用染色梳搅拌,直至混合均匀。

1.2.4 对被染色犬蝠个体进行皮肤过敏测试 用剪刀剪去犬蝠耳后直径约 5 mm 一小片区域的毛发,暴露出皮肤,用塑料棒沾取少量染色混合物,轻轻涂于犬蝠耳后无毛区,30 min 后检查是否有红肿等不适现象,如果没有则用于下一步的染色,如果有则放弃对此个体进行染色。

1.2.5 固定 将没有出现过敏反应的犬蝠两翼展开,放在固定架的凹槽上,在两翼上方放置固定板,用胶带将固定板固定。

1.2.6 染色 用干净的染色梳将犬蝠身体背部被清洗干净区域的毛发理顺,用染色梳粘取适量的染发混合液,轻轻地在毛发上画上阿拉伯数字。重复画 3~5 次,在重复的过程中,切忌把染色剂画到阿拉伯数字以外的地方,否则毛发会被大面积染色,无法识别数字。在室温下放置 30 min 左右(根据当时的天气条件不同,着色时间也不同),待染发剂完全渗透毛发,染色部位与其他部位颜色不同后,用染色梳提拉梳理被染色区域,去掉多余的染色剂。此过程中切忌把染色区域的染色剂污染其他区域,防止出现无法识别染色的阿拉伯数字。

1.2.7 清洗 将完成染色的犬蝠从固定架上取下,用清水清洗被染区域,洗脱残留的染色

剂。

1.2.8 佩戴臂环 在清洗干净的犬蝠前臂上,与翼膜连接处划开一个小口,将有编号的铝制金属臂环佩戴在切口处。根据 Bateman、Bonaccorso 等的报道,建议给其他蝙蝠物种佩戴臂环时,最好也采用这种方法,因为在翼膜与前臂连接处划开一定的小口,可以防止臂环沿前臂滑动,减轻对蝙蝠前臂的伤害,此种方法比直接佩戴臂环对蝙蝠的身体伤害要轻^[13-14]。佩戴臂环时,雌性戴右臂、雄性戴左臂^[15],以便区分性别。

1.2.9 记录 将染色编号和臂环编号作对应记录,同时记录其他需要的数据(包括性别、年龄、体重、前臂长等)。

2 结果

我们共抓获犬蝠 56 只,34 只采用上述方法标记。在染色前对这 34 只个体全部进行皮肤过敏测试,无个体出现过敏反应,因此全部采用本方法染色(图 1)。染色后将实验蝙蝠 31 只(另外 3 只个体,因为开始染色时,操作出现问题,造成无法识别数字)放回实验棚内(4 m × 3 m × 3 m),进行抢食行为和交配行为的实

验。在实验棚内多个角度装置了 4 个外接红外摄像头(OS-24G19),与电脑内置采集卡(JDVR6802B 系列数字监控系统)采用视频线连接构建成实时监控系统(与防盗系统的构建相似)。在该监控系统下,可清晰地分辨犬蝠个体身上的数字,达到了识别个体的目的。

从 2009 年 11 月 15 日至 2010 年 3 月 10 日连续 4 个月观察用于实验的 31 只被标记个体,并没有出现因染色而造成的伤害,但出现了 5 只因标记臂环而造成的前臂肿胀和部分前臂溃烂,5 只个体中,有 2 只因前臂严重溃烂,于 2010 年 1 月 12 日和 14 日死亡,编号为 11 号和 16 号。前面提到的 3 只染色后无法识别数字的个体未戴臂环,我们将这 3 只蝙蝠个体与没有染色的 22 只犬蝠个体(也没有佩戴臂环)在另外一个同等大小的实验棚内进行混合饲养,没有出现排斥或种群不融合现象。且这 3 只没有戴标记臂环的染色个体在连续饲养 4 个月,也没有出现因染色而造成的伤害。

3 讨论

从 1916 年第一只蝙蝠被标记,到 20 世纪 70 年代,已经有 5 种标记方法被应用到蝙蝠的

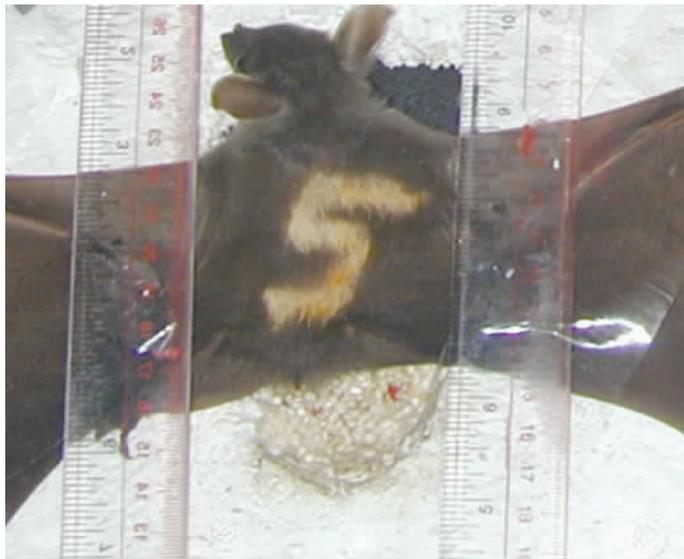


图 1 染色后的犬蝠身体颜色与染色区域的色差

Fig. 1 Difference in colour between nature and dyed hair

行为生态学研究,分别是臂环、颈圈、光标、无线电跟踪以及以上 4 种技术中某 2 种的综合技术 (miscellaneous techniques)^[6,16]。在之后研究过程发展的相关技术中,有些是在上述 5 种标记技术的基础上进行的改进,如 Luft 等^[17]在 2002 年报道的颈圈。有些虽然可以识别个体,如 PIT-tags、Punch mark 等,但是存在一些缺陷。PIT-tags 是采用在蝙蝠皮下植入微芯片,在体外采用阅读器 (reader) 读取个体信息,这种方法在 2 只个体非常靠近的时候就无法读取个体信息 (芯片间干扰,即信号冲撞),而且在读取个体信息的过程中,阅读器要非常靠近个体 (通常是 7~10 cm),对个体活动干扰很大;Punch mark 采用带有不同颜色标签的针穿过蝙蝠的背部或身体的其他部位,再根据标签颜色来识别个体,这种标记方法在光线好的情况下可以识别几米外的个体,但是红外线摄像仪器在夜间无法分辨标签的不同颜色,也就无法做到数量较多的个体识别。

LeBlanc 等^[12]使用颈圈和毛色漂染来标记蝙蝠,该方法采用了 Clairol Professional® Pure White 和 BW2 的混合成分进行毛色漂染,采用念珠状的颈圈来实现重复标记。该文献中提到,使用 Clairol Professional® Pure White 和 BW2 混合物染色后的蝙蝠个体,只能在短期内进行识别,但具体原因并未给出,我们推测可能是由于 Clairol Professional® Pure White 和 BW2 混合物只能漂染毛色,在理毛过程中,漂染的颜色容易脱落,而露出原来的毛色,所以只能做到短期标记。LeBlanc 等的标记方法虽然可以采用重复标记,但经常性的“标记-释放-标记”对蝙蝠的个体活动会造成影响。因此要长期观察还需要采用其他的混合液进行标记。人类头发染色剂具有较长时间不脱色的特性,因此我们使用了染发剂 seri color (12%) 和 hair colorant (00/0) 来代替 Clairol Professional® Pure White 和 BW2,个体识别时间明显延长到 4~6 个月。这是因为 seri color (12%) 的作用主要是去除毛发本身的色素,而 hair colorant (00/0) 是在退色的毛发上重新上色,因此毛发脱色所需时间较

长,可做到中、长期识别个体。但根据实验,我们建议标记动物时,最好是在动物换毛之后。因为处于换毛期的动物,毛发容易脱落,被标记的个体会因为换毛而丢失记号,至使无法识别个体。

臂环是研究蝙蝠空间活动、扩散、生命周期等行为生态学较为理想的标记方法,分为金属臂环 (metallic bands) 和塑料臂环 (plastic bands) 2 种。金属臂环对蝙蝠身体的标记部位有一定的伤害^[18-19],并因其局部降温较大而影响温带戴环蝙蝠的冬眠和育婴^[20-21],严重时甚至会引起戴环个体的死亡^[22]。在 20 世纪 70 年代,英、美、西德、法等国家曾经禁止使用金属臂环标记蝙蝠^[23-25],原因是 Jones、Tuttle 等认为在蝙蝠身上带金属臂环可能是引起欧、美地区蝙蝠种群数量下降的主要原因^[23,26]。20 世纪 90 年代,Bontadina 等通过摄像观察和野外重捕发现,原来认为对臂环严重敏感的小菊头蝠 (*Rhinolophus hipposideros*) 仅仅是少部分对金属臂环敏感^[27-28]。因此金属臂环标记方法又重新进入蝙蝠的研究领域,并在蝙蝠行为生态学研究广泛使用。塑料臂环多使用于研究蝙蝠的社会组织结构、母婴交流、交配行为和栖息地内部的迁移等行为,但塑料臂环比金属铝制臂环大且较重,而且容易被蝙蝠咬断而脱落^[6],同时塑料臂环只能通过颜色进行少量个体识别,而金属铝制臂环每个环均刻有惟一的数字,可以进行大量个体标记,因此塑料臂环一般使用率较低。

臂环标记一般主要用于野外的标记重捕,需要重捕后才能识别个体,在实验室内要想在不干扰蝙蝠的活动而在实时录像监控系统下直接观察个体的行为,单独使用臂环标记是很难做到个体识别的。一只蝙蝠一个前臂标记一个臂环都有可能引起前臂的肿痛,甚至影响飞行;如果单独使用臂环标记,要在实验室内实时录像监控系统下识别个体,需要在前臂上佩戴多个臂环进行排列组合,这样不仅引起蝙蝠前臂的肿痛、降低飞行能力,严重的还会导致死亡。在我们用臂环标记的个体中,有 3 只个体

出现肿胀 2 只个体出现严重溃烂而死亡,这与 Dietz 等^[7]2006 年关于臂环标记对蝙蝠造成损伤的报道,以及 Zambelli 等^[29]2009 年关于臂环太小对蝙蝠前臂有负面影响的报道基本一致。

我们曾尝试用彩色塑料臂环来代替金属臂环进行个体识别,结果也不成功,原因主要有 2 个:第一是因为在夜间红外摄像头下只能识别黑白色,不能识别不同颜色的彩色臂环;第二是塑料臂环很容易被蝙蝠直接咬断而脱落。而用光标标记蝙蝠价格昂贵,而且不同光标颜色也不能在红外摄像头下区分^[6]。

与其他标记蝙蝠的方法相比,本方法有如下 5 个优点:① 如果发生染色的体毛掉色,可根据臂环编号,重新标记;② 用 seri color (12%) 和 hair colorant (00/0) 的混合膏染色,染色部分与原体毛的颜色对比明显,可以在红外线摄像头下明确地识别个体;③ seri color (12%) 和 hair colorant (00/0) 本身是用于人类头发染色的染发剂,安全性高,而且价格便宜;④ 本标记方法可在红外摄像头与电脑构建的实时监控系统中不干扰蝙蝠的情况下进行个体识别,无需重捕;⑤ 用染色剂染色后,蝙蝠身上的毛发要恢复原来的颜色需要 4 个月以上(一般 5 个月左右就需要重新标记),因此本方法适合在实验室内对蝙蝠进行中长期的行为研究。但是,本标记方法只适用于室内行为观察,对野外研究是否可用还需要进一步的验证。

致谢 感谢陈丽珍医生在蝙蝠皮试过程中的指导,同时感谢马杰博士在文献查阅方面给予的帮助,以及广州动物园、流花湖公园、黄花岗公园和白云山景区等单位管理处在野外工作中给予的支持,特别感谢广州动物园刘小青副研究员的指导。

参 考 文 献

- [1] Medina A , Harvey C A , Merlo D S , et al. Bat diversity and movement in an agricultural in Matiguás , Nicaragua. *Biotropica* , 2007 , 39(1) : 120 - 128.
- [2] Williams T C , Williams J M. Radio tracking of homing bats. *Science* , 1967 , 155: 1435 - 1436.
- [3] Barclay R M R. Foraging behavior of the African insectivorous bat , *Scotophilus leucogaster*. *Biotropica* , 1985 , 17: 65 - 70.
- [4] Brigham M R , Francis R L , Hamdorf S. Microhabitat use by two species of *Nyctophilus* bats: a test of ecomorphology theory. *Australian Journal of Zoology* , 1997 , 45: 553 - 560.
- [5] Buchler E R. A chemiluminescent tag for tracking bats and other small nocturnal mammals. *Journal of Mammalogy* , 1976 , 57: 173 - 176.
- [6] Barclay R M R , Bell G P. Marking and observational techniques//Kunz T H. *Ecological and Behavioral Method for the Study of Bats*. Washington , DC: Smithsonian Institution Press , 1988 , 59 - 76.
- [7] Dietz C , Dietz I , Ivanova T , et al. Effects of bands on horseshoe bats (Chiroptera: Rhinolophidae). *Acta Chiropterologica* , 2006 , 8: 523 - 535.
- [8] Wilkinson G S , Boughman J W. Social calls coordinate foraging in greater spear-nosed bats. *Animal Behavior* , 1998 , 55: 337 - 350.
- [9] Murray K L , Britzke E R , Robbins L W. Variation in search-phase calls of bats. *Journal of Mammalogy* , 2001 , 82: 728 - 737.
- [10] Fenton M B , Benard E , Bouchard S , et al. The bat fauna of Lamanai , Belize: roosts and trophic roles. *Journal of Topical Ecology* , 2001 , 17: 511 - 524.
- [11] Hoxeng C M , Apling M M , Ritson P I , et al. Light tagging disrupts social dynamics of bat harems. *Acta Chiropterologica* , 2007 , 9: 161 - 169.
- [12] LeBlanc D M , DeeAnn M R , Nicole S K. Individual marking of captive flying foxes for behavioral observations. *Bat Research News* , 2002 , 43: 163
- [13] Bateman G C , Vaughan T A. Nightly activities of mormoopid bats. *Journal of Mammalogy* , 1974 , 55: 45 - 65.
- [14] Bonaccorso F J , Smythe N , Humphrey S R. Improved techniques for making bats. *Journal of Mammalogy* , 1976 , 57: 181 - 182.
- [15] 吴毅 , 徐剑. 蝙蝠的采集标记与重捕. *动物学杂志* , 2001 , 36(5) : 33 - 35.
- [16] Bonaccorso F J , Smythe N. Punch-marking bats: An alternative to banding. *Journal of Mammalogy* , 1972 , 53: 389 - 390.
- [17] Luft S , Curio E. An improved necklace for marking fruit bat. *Ecotropica* , 2002 , 8: 249 - 251.
- [18] Davis W H. Band injuries. *Bat Banding News* , 1960 , 1: 1 - 2.

- [19] Davis W H. Band injuries. *Bat Banding News* ,1961 ,2: 30.
- [20] Beaucournu J C. Observations sur le baguage des chiroptères: résultats et dangers. *Mammalia* ,1962 ,26: 539 - 565.
- [21] Saint-Girons H , Saint-Girons M C. Le baguage des chauves-souris par les Spéléologues. *Spelunca-Bulletin* , 1968 ,19 - 21.
- [22] Bell G P , Fenton M B. Visual acuity , sensitivity , and binocularity in a gleaning , insectivorous bat , *Macrotus californicus* (Chiroptera: Phyllostomidae). *Animal Behavior* ,1986 ,34: 409 - 414.
- [23] Jones C. Economics and conservation//Baker J R , Jones J K , Carter D C. *Biology of Bats of the New World Family Phyllostomatidae*. Lubbock: Texas Technical University Press ,1976 218.
- [24] Brosset A , Barbe L , Beaucourun J C , et al. Lararéfaction du rhinolophe euryale (*Rhinolophus euryale*) en France. Recherche d'une explication. *Mammalia* ,1988 ,52: 101 - 122.
- [25] Kiefer A , Hutterer R. Fledermausmarkierung in der Bundesrepublik Deutschland: Beispiele für die Auswertung von Beringungsdaten mit Hilfe der Datenbank BatRing// Ökologie , Wanderungen und Genetik von Fledermäusen in Wäldern. Untersuchungen als Grundlage für den Fledermausschutz. Schriftenreihe für Landschaftspflege und Naturschutz , 71. Bonn , Bundesamt für Naturschutz , 2002 259 - 266.
- [26] Tuttle M D. Status , causes of decline , and management of endangered gray bats. *The Journal of Wildlife Management* ,1979 ,43: 1 - 17.
- [27] Bontadina F , Arlettaz R , Frankhauser T , et al. The lesser houseshoe bat *Rhinolophus hipposideros* in Switzerland: present status and research recommendations. *Swiss Coordination Center for the study and Protection of Bats* , Zürich and Geneva ,2001 ,1 - 24.
- [28] Bontadina F , Märki K. Neues vom Forschungsprojekt 'Rhippos'. *Fledermaus-Anzeiger* ,2003 ,74: 1 - 2.
- [29] Zambelli N , Moretti M , Mattei-Roesli M , et al. Negative consequences of forearm bands that are too small for bats. *Acta Chiropterologica* ,2009 ,11: 216 - 219.