

粪样在大熊猫研究上的应用

黄河 张志和 侯蓉*

成都大熊猫繁育研究基地 四川省濒危野生动物保护生物学重点实验室 成都 610081

摘要: 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 数量少, 传统取样法难以实施, 样品的缺乏给大熊猫研究带来很大困难。而采集大熊猫粪样对大熊猫自身无损伤, 粪样易获得和保存。本文总结了应用粪样进行的大熊猫食性与消化吸收、种群与个体识别、类固醇激素、寄生虫与病原微生物等方面的研究进展, 对大熊猫粪样的应用前景进行了展望。

关键词: 大熊猫; 粪样; 研究进展

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2012)06-156-08

Application of Feces in Giant Panda Research

HUANG He ZHANG Zhi-He HOU Rong*

Chengdu Research Base of Giant Panda breeding, Sichuan Key Laboratory of Conservation Biology on
Endangered wildlife, Chengdu 610081, China

Abstract: For a long time, researches on giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) have been insufficient due to their less number and difficulties of sampling by conventional methods such as destructive and invasive sampling. But fecal samples are easy to collect, easy to keep after simple treatment and noninvasive to the giant pandas. This paper outlined the application of feces in giant panda research in the fields of food compositions, nutrient absorption, population survey, individual identification, fecal steroid hormones, parasite and pathogenic microorganism. Finally, this paper discusses the prospects of applying feces in research of giant panda.

Key words: Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*); Feces; Research progress

近年来, 在对濒危动物的保护研究中, 非损伤性取样法已被广泛提倡和接受, 即在不伤害或触及动物前提下收集脱落的毛发、粪便、口腔脱落细胞、陈旧皮张等样品进行分析^[1-2]。大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 数量稀少, 直接取样非常困难, 而大熊猫每日粪便排泄量大, 易于获取; 粪便由未消化的竹子组成, 含有丰富的消化道脱落细胞、类固醇激素、肠道微生物等。因此, 粪便是进行大熊猫研究的理想材料。本文总结了应用粪样进行的大熊猫食性与消化吸收、种群与个体识别、类固醇激素、寄生虫与病原微生物等方面的研究进展, 对粪样的应用前景进行了展望。

1 大熊猫食性与消化吸收研究

大熊猫以竹子为主食, 野生大熊猫的食物中 99% 是竹类, 它们吃得多、拉得多、拉得快, 每天排粪量 20 kg 左右, 粪便中几乎全是未消

基金项目 国家科技支撑计划项目 (No. 2012BAC01B06), 四川省科技计划项目 (No. 2009SZ0036), 四川省青年科技基金计划项目 (No. 2010JQ0059), 成都市城市建设科技项目 (大熊猫食用竹笋安全性研究);

* 通讯作者, E-mail: hourong2000@yahoo.com;

第一作者介绍 黄河, 男, 助理研究员; 研究方向: 野生动物繁育与保护; E-mail: youngtree@163.com.

收稿日期: 2012-06-18, 修回日期: 2012-09-18

化的竹秆、竹叶的碎渣^[3-5]。分析粪便残留物的组成和排泄量,可以判断大熊猫对采食竹子种类、部位等的选择与喜好;分析粪便营养成分,则可以了解大熊猫对食物的消化吸收情况。

大熊猫食性的研究通常采用将粪样烘干称重的方法,求出粪样中叶、秆、笋各自百分比,同时结合大熊猫采食现场残留的食物痕迹对大熊猫食性进行综合分析。研究发现,四川冶勒自然保护区大熊猫在 11 月份至次年的 3 月份对竹叶、竹茎的选择具有随机性,4~5 月份以食竹茎为主,6~7 月份以竹笋为主食,8~10 月份主要选食竹叶^[6]。分布于四川马边大风顶自然保护区不同山系的大熊猫,尽管所处环境的主食竹种不同,但各山系大熊猫均以叶为主食,并兼食部分秆,如果有竹子处于笋期,则更多地以竹笋为食^[7],而四川白河自然保护区大熊猫则对华西箭竹(*Fargesia nitida*)有明显的偏好^[8]。汤纯香等^[9]对 21 只圈养于四川卧龙和 3 只圈养于四川蜂桶寨自然保护区的大熊猫排泄粪便进行分析,结果显示,大熊猫对竹子取食量秋季最少,冬季最多,5 月为次高峰期。

在大熊猫对食物消化吸收方面,Dierenfeld 等^[10]记录下华盛顿国家动物园 2 只大熊猫的摄入竹子总量和粪便排泄总量,并对竹子和粪样处理后进行营养成分分析。结果显示,大熊猫对竹子干物质的消化率不到 20%,对半纤维素和纤维素的消化率分别为 27% 和 8%。Sims 等^[11]对孟菲斯动物园 2 只大熊猫(1 只雄性,5 岁;1 只雌性,3 岁)进行竹子饲喂实验。通过分析竹子和粪样干物质含量,发现雄性大熊猫和雌性大熊猫对竹子的表观消化率无差异。在野外,何礼等^[12]通过追踪大熊猫,统计大熊猫排出新鲜粪便数量和估计采食竹子量,研究四川相岭山系大熊猫对营养和能量利用情况。结果显示,该山系大熊猫不仅消化竹子中的粗蛋白和粗脂肪,也能消化部分半纤维素。当以秆叶为食时,大熊猫对粗蛋白、粗脂肪和半纤维素消化率分别为 61.5%、50.3% 和 23.3%;而当以竹笋为食时,消化率分别为 71.9%、61.5% 和 29.6%,大熊猫对竹笋中营养物质的利用率

高于秆叶;由于不同季节食物组成、干物质摄入量和消化率不同,大熊猫春季获取能量最低,夏秋季最高,冬季介于其间。何东阳^[13]采用全收粪法和酸不溶灰分法测定 4 只圈养成年大熊猫与 2 只野外救护成年大熊猫对竹子粗蛋白、粗脂肪和粗纤维的消化率,两种方法均得出一致结论,圈养大熊猫的消化率高于野生大熊猫,推测野生大熊猫采取快速排泄和低消化率可能是一种适应对策,是野生大熊猫应对营养价值较为稳定,生物量相对丰富的竹类食物的营养和能量对策。

2 大熊猫种群与个体识别研究

大熊猫在采食过程中,常常将竹茎一节一节地咬断,但并不完全咀嚼和磨碎,成段的竹茎经过大熊猫消化道被排出后,几乎仍保持着原来的形状和长短。粪便中的竹茎称为咬节,咬节的长度和形态被普遍认为具有个体特征^[3,14]。另外,随着年龄的增大,大熊猫肛门括约肌逐渐松弛,粪团直径的大小产生差异。野外调查中,粪便中残竹咬节和粪团直径成为大熊猫数量及年龄判断的重要依据^[15-16]。此外,粪便作为大熊猫的活动痕迹,其数量和分布情况也反应出大熊猫种群的分布格局。

杨光等^[17]通过测定大熊猫粪样的典型咬节和粪便直径,确定四川马边大风顶自然保护区有大熊猫(36±6)只。陈泳宏等^[18]、陈炳耀等^[19]将大熊猫粪样咬节长度进行聚类分析的方法应用到大熊猫数量调查中,分别确定四川冶勒自然保护区核心区内有 4 只大熊猫以及在四川贡嘎山保护区不足 20 km²的研究面积上生活着 3 只大熊猫。郭建等^[20-21]对大熊猫粪便分布的空间格局进行了研究,并将其引入到大熊猫数量调查中,研究认为四川冶勒自然保护区生活有 8 只左右大熊猫。刘新玉等^[22]以陕西佛坪自然保护区大熊猫监测数据为基础,并以历年各监测样线上发现的痕迹总数作为种群动态趋势的指标,研究涉及足迹、粪便、食迹等痕迹,其中粪便占了全部痕迹总数的 95% 以上。研究认为,陕西佛坪自然保护区的痕迹总

数显示大熊猫种群呈缓慢增长的态势。曹庆等^[23]对陕西佛坪和观音山自然保护区内大熊猫的活动痕迹(包括实体、粪便、食迹等)进行样线调查并用于研究该区内大熊猫种群。研究表明,大熊猫在观音山自然保护区活动的痕迹密度、范围均小于佛坪自然保护区;研究区内 2 个大熊猫高密度等级的活动中心均分布在佛坪自然保护区内。

另一方面,动物粪便中含有脱落的消化道细胞,从中可以分离出动物的基因组 DNA,从而进行个体遗传信息的分析^[24]。应用粪便 DNA 进行个体遗传信息分析的方法主要有 DNA 指纹技术和 PCR 扩增 DNA 微卫星技术。方盛国等^[25-26]发现大熊猫脱落的皮毛和粪便能作为 DNA 指纹分析材料,同一大熊猫个体的皮毛、血液、精液、固定组织、粪样及尿样的 DNA 指纹图谱完全一致。基于 DNA 指纹具有个体特异性,冯文和等^[27]、万秋红等^[28]先后从野生大熊猫粪样中提取 DNA 用于指纹图谱分析,对大熊猫野生种群的数量和个体关系进行确认。PCR 扩增 DNA 微卫星技术具有很好的稳定性,常用于系谱分析、亲源关系鉴定、群体间遗传距离分析、进化和遗传多样性研究等。Zhan 等^[29]首次将微卫星技术运用到四川王朗大熊猫保护区种群调查中,粪样分析结果精确地显示了该保护区大熊猫的数量和分布情况。何蔚^[30]对采集于四川王朗和宝兴的 63 份大熊猫粪样进行微卫星基因型分析,评估大熊猫遗传多样性。总共分离到 130 个等位基因,其中有 35 个为王朗所特有,53 个为宝兴所特有,42 个为两种群共享。结果显示,王朗和宝兴 2 个大熊猫种群间缺乏基因交流。Yang 等^[31]采用微卫星技术分析四川唐家河自然保护区大熊猫粪样,研究发现该保护区大熊猫种群具有高遗传多样性和低遗传分化特点。Zhan 等^[32]、Hu 等^[33]分别利用野外大熊猫粪样,先后进行了大熊猫微卫星基因型和空间遗传结构研究,均认为野外大熊猫具有偏于雌性的扩散模式。此外, Xu 等^[34]进行了利用粪样 DNA 鉴定大熊猫性别技术的改进,该技术用大熊猫粪样 DNA 为模板,

通过对染色体特定片段——锌指内含子 7 区域进行 PCR 扩增,即可鉴定大熊猫性别。Zhu 等^[35]用线粒体控制区的部分序列和 9 个微卫星标记对来自野外的 192 个粪便样品和 1 个血液样品进行研究,分析大、小相岭地区大熊猫的种群历史与空间遗传结构。研究发现大渡河阻隔了大熊猫种群间的基因流,导致大相岭和小相岭为不同的遗传基因簇;而公路(108 国道)限制了道路两侧大熊猫种群间的基因流。

3 大熊猫类固醇激素研究

动物体内各项类固醇激素水平对衡量其繁殖状态和应激反应水平具有有效指示作用。传统的类固醇激素检测途径是采集动物的血液样本来分析类固醇激素水平,但是捕捉、麻醉以及采血对动物机体而言是刺激,会影响动物机体的内分泌水平。研究表明,动物粪便与血液的类固醇激素水平存在直接对应关系^[36]。大熊猫主食竹类,食物残渣在消化道内积累过程中混合了大量消化液和类固醇激素等代谢产物,应用大熊猫粪样替代血液样本分析类固醇激素水平,极大地降低了采样的难度并避免了对大熊猫的刺激。目前,大熊猫粪样类固醇激素的研究主要集中在与繁殖状态相关的雌激素、孕激素、雄性激素等,以及与应激反应相关的肾上腺糖皮质激素、皮质醇等。

Kubokawa 等^[37]对 2 只成年(1 雌,1 雄)、2 只未成年(1 雌,1 雄)大熊猫粪样中类固醇激素进行连续检测发现,同一个时期内,成年雄性大熊猫睾酮含量比雌性高;在大熊猫发情季节,雌性大熊猫雌二醇含量出现峰值;未成年大熊猫无论雌雄,睾酮和雌激素含量都相对低,并且不存在季节性变化。该研究认为,可以通过比较睾酮含量区分成年大熊猫性别;在大熊猫繁殖季节可以通过检测雌二醇含量来粗略判断雌性大熊猫的排卵情况。Kersey 等^[38]连续 3 年对 10 只雌性大熊猫粪样进行雌激素和孕激素测定。结果显示,在大熊猫发情期,粪便中雌激素和孕激素含量呈规律性波动,变化模式符合生理特征,粪便中雌激素和孕激素水平能够正

确反映雌性大熊猫繁殖状态。Kersey 等^[39]另一项研究还发现,雌性大熊猫繁殖周期各阶段对应的粪便中孕激素变化规律不能用来区分大熊猫是否怀孕或者假孕。Aitken 等^[40]通过测定雄性大熊猫粪样中雄性激素,分析其变化规律,并结合雄性大熊猫睾丸形态、精液质量及大熊猫活动行为,研究结果揭示雄性大熊猫激素变化规律与大熊猫繁殖的季节性相一致,即每年 2~5 月是雄性大熊猫的繁殖期,这恰好与雌性大熊猫繁殖期同步。此外,Charlton 等^[41]发现雄性大熊猫粪便中雄性激素含量与发情时叫声持续时间呈正相关。

在大熊猫应激反应的研究上,刘娟等^[42]采用放射免疫法测定大熊猫粪样中肾上腺糖皮质激素含量,研究圈养大熊猫刻板行为与激素水平的关系。结果表明,大熊猫刻板行为的发生是由于环境胁迫所导致的肾上腺糖皮质激素水平上升和不合理的管理方式引起的。李骏^[43]对圈养大熊猫粪样进行皮质醇分析发现,大熊猫粪样中皮质醇水平呈现出明显的昼夜节律性变化;麻醉可导致大熊猫粪样中皮质醇水平急剧上升;环境温度处于 5~29℃ 之间时,粪样中皮质醇在较正常的水平波动,当气温高于 30℃ 时,粪样中皮质醇含量增高至正常水平的 2~3 倍,表明大熊猫出现了热应激。王亚超^[44]对 5 只圈养大熊猫粪样进行皮质醇含量分析发现,大熊猫在 16~20℃ 温度区域,粪便中皮质醇含量分别比 5~15℃、20~30℃ 的含量低且相对稳定。崔媛媛等^[45]研究人为干扰与圈养大熊猫粪样中的皮质醇水平关系发现,随着游客量的明显上升,参展大熊猫个体粪样中的皮质醇水平出现了明显的升高;其中雄性和雌性大熊猫粪样中的皮质醇含量分别与前一日的游客量呈显著和极显著相关,认为人为干扰会使大熊猫产生很强应激。为了解肾上腺糖皮质激素水平对大熊猫适应的意义,Kersey 等^[46]对 17 只成年雌性大熊猫在发情期和乏情期排泄粪样进行肾上腺糖皮质激素研究。结果发现,大熊猫所处的繁殖状态和季节对调节肾上腺功能起着重要作用。此外,于小杰等^[47]对 5 只圈养大熊

猫排泄粪样表层和内部的雌二醇、孕酮、皮质醇含量进行对比分析。结果表明,大熊猫粪样表层雌二醇、孕酮、皮质醇的含量均显著高于内部,研究认为大熊猫粪样表层消化液残留多于内部,并由此导致类固醇激素含量在粪样表层和内部出现差异。

4 大熊猫寄生虫与病原微生物研究

在大熊猫的各类疾病中,以消化系统、呼吸系统疾病最为常见,但这类疾病的诊断及治疗较容易。相反,各种传染性疾病给大熊猫带来了十分严重的危害,其中以寄生虫病尤为突出^[48]。当大熊猫内体出现寄生虫时,虫体的卵或是成虫通过粪便排出。此外,各种病原微生物也混合在粪便中。因此,分析大熊猫粪便所含寄生虫或虫卵及病原微生物,可摸清大熊猫感染寄生虫或病原微生物情况及传播规律,是制定疾病防治措施的有效路径。

赖从龙等^[49]自 1985 年 11 月~1988 年 12 月采集了四川省 27 个县、市和 8 个自然保护区及甘肃省的文县和白水河自然保护区的不同海拔、不同地域的野外大熊猫粪样共计 2 680 份,采用沉淀法和漂浮法进行了寄生虫检查。结果显示,在 1 505 份粪样内发现有西氏蛔虫 (*Ascaris schroederi*) 卵,感染率为 56.15%;在 121 份粪样内发现熊弓蛔虫 (*Toxascaris seleactis*) 卵,阳性率 4.51%;在 13 份粪样中发现槽盘吸虫 (*Ogmocotyle* sp.) 卵,感染率 0.48%;在 3 份粪样中发现圆形目 (*Strongylata*) 线虫卵,感染率 0.11%;在 1 份粪样内发现肺线虫幼虫,阳性率 0.04%。调查表明,西氏蛔虫是大熊猫体内寄生虫的优势种,而且不同地区、不同海拔和不同年龄的大熊猫感染情况无明显差别。杨光友等^[50]1995~2003 年解剖四川宝兴县境内 3 只野生大熊猫尸体,在其体内采到一种钩口线虫 (*Ancylostoma ailuropodae* sp. nov.);检查该地区野生大熊猫粪样 15 份,发现此钩口线虫卵阳性率达 93.3%,初步表明这种寄生虫在调查地区野生大熊猫体内普遍存在。鉴于传统大熊猫寄生虫感染调查法需解剖大熊

猫尸体,但局限于大熊猫样本而不能进行大规模调查统计;单一粪样寄生虫分析法由于缺乏粪样与大熊猫个体的对应关系,导致各调查结果无可比性,Zhang 等^[51]采用微卫星技术,在鉴定粪样对应大熊猫个体的基础上进行粪样寄生虫分析,该方法克服了传统和单一粪样寄生虫分析方法的弊端。经其调查分析发现,西氏贝蛔虫(*Baylisascaris schroederi*)是调查区域(包含秦岭、岷山、邛崃山、大相岭、小相岭及凉山山系)野生大熊猫体内的优势寄生虫。此后,Zhang 等^[52]运用微卫星技术对四川唐家河自然保护区野生大熊猫粪样进行个体鉴定后,采用 PCR 和毛细管单链构象多态性分析的方法(PCR/CE-SSCP)诊断野生大熊猫蛔虫感染强度和感染率。该研究方法解决了当大熊猫粪样中的蛔虫卵数量较少时,传统的漂浮/显微镜法难以准确诊断蛔虫感染率和感染强度的不足。

在病原微生物研究方面,杨水云等^[53]运用 PCR 特异 DNA 片段诊断技术,建立了大熊猫肠道耶尔森氏菌(*Yersinia enterocolitica*)的检测方法,该方法可以在大熊猫未发病时,通过检测大熊猫粪样,对大熊猫肠道可能存在的耶尔森氏菌进行诊断排查。王成东等^[54]取发病大熊猫幼兽粪样、血液以及呕吐物进行细菌学和寄生虫学检查,未检出病原;用轮状病毒(*Rotavirus*)粪便抗原 ELISA 快速诊断,受检的 8 只大熊猫幼兽腹泻便多次检出阳性结果。对发病大熊猫的病料进行病毒病原分离,从腹泻大熊猫幼兽的粪样中分离出病毒颗粒,并确认分离病毒为轮状病毒,该研究对预防和治疗大熊猫幼兽的这种群发性、顽固性和传染性腹泻病起到了极其重要作用。此外,鲁海峰等^[55]从大熊猫粪样抽提微生物群落总 DNA,并以此为模板获得反映肠道微生物群落结构特征的杂交指纹图谱,进而用于分析大熊猫肠道微生物结构与大熊猫健康状况的关系。Zhang 等^[56]对大熊猫粪样所含细菌的耐药性进行分析,发现大熊猫粪便细菌具有广泛的多重耐药性,该研究还针对耐药性细菌的表型与基因型进行了鉴定。鲍楠等^[57]、马清义^[58]、Wu 等^[59]通过粪样先后进行

了大熊猫消化道菌群的种类及相关分离鉴定和药敏性研究。以上应用粪样进行的大熊猫肠道微生物的分析研究,对预防和治疗大熊猫疾病,保护大熊猫健康具有积极作用。

5 结 语

纵观粪样在大熊猫研究上的应用过程,其实也是新的科学技术和研究方法不断引入和运用的过程。特别是在大熊猫种群与个体识别、寄生虫与病原微生物研究中,分子生物学技术的引入大大提升了大熊猫种群数量调查、个体识别的准确性,寄生虫与病原微生物诊断的灵敏及时性。可以说,新的科学技术和研究方法的引入与运用极大地发掘出粪样在大熊猫研究中的应用价值。最近,Wiedower 等^[60]首次将一种革新的动物种群调查方法——粪便近红外反射光谱(fecal near infrared reflectance spectroscopy, FNIRS)技术运用到大熊猫研究上。该技术可通过分析大熊猫粪样进行大熊猫性别、年龄、繁殖状态等鉴定。尽管研究中发现大熊猫采食竹子不同部位造成的粪样成分差异会影响鉴定的准确性,但该研究走出了将 FNIRS 技术运用到大熊猫种群调查的第一步,随着 FNIRS 技术的改进完善,必将在今后野外大熊猫种群调查中发挥积极作用。另外,在大熊猫粪样应用上多学科多领域展开科研合作是趋势。如 Zhu 等^[61]对 15 只健康大熊猫(7 只野生大熊猫,8 只圈养大熊猫)新鲜粪样的肠道菌群进行 16S rRNA 基因序列分析,发现大熊猫肠道菌群的主要特点是具有高比例的能消化纤维素的梭菌属(*Clostridium*)菌群,之后采用宏基因组测序技术,测定了其中 3 只野生大熊猫粪样的肠道菌群,进一步证实了大熊猫能消化纤维素与半纤维素,肠道梭菌属菌群扮演了重要角色。该研究从分析大熊猫肠道微生物入手,揭示大熊猫消化吸收竹子的机制,实验综合了分子生物学、微生物学、营养代谢等多个研究领域。最后,相信随着科学技术和研究方法的发展与创新,更多更好的科研技术、仪器设备及创新性思维将引入和运用到大熊猫保护研究

中,大熊猫粪样必将有更为广泛而重要的用途,我们对大熊猫的认知也将会更加全面,对大熊猫的保护将会更加科学。

参 考 文 献

- [1] Washburn B E, Millsbaugh J J. Effects of simulated environmental conditions on glucocorticoid metabolite measurements in white-tailed deer feces. *General and Comparative Endocrinology*, 2002, 127(3): 217 - 222.
- [2] Wasser S K, Azkarate J C, Booth R K, et al. Noninvasive measurement of thyroid hormone in feces of a diverse array of avian and mammalian species. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 168(1): 1 - 7.
- [3] 胡锦涛, Schaller G B, 潘文石, 等. 卧龙的大熊猫. 成都: 四川科学技术出版社, 1985: 33 - 158.
- [4] Reid D G, Hu J C. Giant panda selection between *Bashania fangiana* bamboo habitats in Wolong Reserve, Sichuan, China. *Journal of Applied Ecology*, 1991, 28(1): 228 - 243.
- [5] 魏辅文, 胡锦涛, 王维, 等. 马边大风顶自然保护区大熊猫能量摄入和食物资源能量估算. *兽类学报*, 1997, 17(1): 8 - 12.
- [6] 唐平, 周昂, 李操, 等. 冶勒自然保护区大熊猫摄食行为及营养初探. *四川师范学院学报: 自然科学版*, 1997, 18(1): 1 - 4.
- [7] 周材权, 胡锦涛, 袁重桂, 等. 马边大风顶自然保护区大熊猫的食性与采食行为. *四川师范学院学报: 自然科学版*, 1997, 18(4): 273 - 277.
- [8] 曾涛, 冉江洪, 刘少英, 等. 四川白河自然保护区大熊猫对生境的利用. *应用与环境生物学报*, 2003, 9(4): 405 - 408.
- [9] 汤纯香, 许尔兴, 汤洋, 等. 大熊猫迁居碧峰峡新生境的适应能力研究. *应用与环境生物学报*, 2007, 13(5): 686 - 690.
- [10] Dierenfeld E S, Hintz H F, Robertson J B, et al. Utilization of bamboo by the giant panda. *The Journal of Nutrition*, 1982, 112(4): 636 - 641.
- [11] Sims J A, Parsons J L, Bissell H A, et al. Determination of bamboo-diet digestibility and fecal output by giant pandas. *Ursus*, 2007, 18(1): 38 - 45.
- [12] 何礼, 魏辅文, 王祖望, 等. 相岭山系大熊猫的营养和能量对策. *生态学报*, 2000, 20(2): 177 - 183.
- [13] 何东阳. 大熊猫取食竹选择、消化率及营养和能量对策的研究. 北京: 北京林业大学博士学位论文, 2010: 43 - 59.
- [14] 黄乘明, 胡锦涛. 野外大熊猫调查方法的研究. *四川师范学院学报: 自然科学版*, 1989, 10(1): 93 - 99.
- [15] 胡锦涛. 从野外大熊猫的粪便估计年龄及其年龄结构的研究. *兽类学报*, 1987, 7(2): 81 - 84.
- [16] 郭建, 胡锦涛. 大熊猫咬节分布型的研究. *四川师范学院学报: 自然科学版*, 1997, 18(3): 179 - 181.
- [17] 杨光, 胡锦涛, 魏辅文, 等. 马边大风顶自然保护区大熊猫种群数量及动态分析. *四川师范学院学报: 自然科学版*, 1994, 15(2): 114 - 118.
- [18] 陈洪宏, 郭建, 胡锦涛. 粪便聚类法在大熊猫数量调查中的应用. *南京师大学报: 自然科学版*, 2002, 25(1): 24 - 27, 37.
- [19] 陈炳耀, 李红, 张君, 等. 贡嘎山湾坝乡大熊猫的数量调查及方法比较. *西华师范大学学报: 自然科学版*, 2003, 24(4): 402 - 405.
- [20] 郭建, 胡锦涛. 冶勒自然保护区大熊猫种群密度调查及保护. *南京林业大学学报: 自然科学版*, 1999, 23(6): 29 - 32.
- [21] 郭建, 胡锦涛. 大熊猫粪团分布型的研究及其应用. *兽类学报*, 2001, 21(3): 180 - 186.
- [22] 刘新玉, 张泽钧, 郑晓燕, 等. 从长期监测数据看佛坪自然保护区大熊猫种群的发展趋势与生态习性. *兽类学报*, 2008, 28(2): 174 - 179.
- [23] 曹庆, 朱云, 阮英琴, 等. 观音山自然保护区和佛坪自然保护区大熊猫种群的分布格局. *应用生态学报*, 2009, 20(9): 2271 - 2276.
- [24] Taberlet P, Luikart G. Noninvasive genetic sampling and individual identification. *Biological Journal of the Linnean Society*, 1999, 68(1/2): 41 - 55.
- [25] 方盛国, 陈冠群, 冯文和, 等. 大熊猫 DNA 指纹在野生种群数量调查中的应用. *兽类学报*, 1996, 16(4): 246 - 249.
- [26] 方盛国, 冯文和, 张安居, 等. 大熊猫父权认定的 DNA 指纹图分析. *兽类学报*, 1997, 17(2): 92 - 99.
- [27] 冯文和, 方盛国, 张安居, 等. 大熊猫种群数量调查法的研究与应用//成都动物园. '97 成都国际大熊猫保护学术研讨会论文集. 成都: 四川科学出版社, 1997: 124 - 130.
- [28] 万秋红, 方盛国, 李建国, 等. 唐家河自然保护区大熊猫的家庭网络: 当代基因流评估. *科学通报*, 2005, 50(16): 1738 - 1745.
- [29] Zhan X J, Li M, Zhang Z J, et al. Molecular censusing doubles giant panda population estimate in a key nature reserve. *Current Biology*, 2006, 16(12): R451 - R452.
- [30] 何蔚. 王朗和宝兴大熊猫遗传多样性的微卫星分析. 四川: 四川大学硕士学位论文, 2007: 11 - 25.
- [31] Yang J D, Zhang Z H, Shen F J, et al. Microsatellite variability reveals high genetic diversity and low genetic

- differentiation in a critical giant panda population. *Current Zoology*, 2011, 57(6): 717–724.
- [32] Zhan X J, Zhang Z J, Wu H, et al. Molecular analysis of dispersal in giant pandas. *Molecular Ecology*, 2007, 16(18): 3792–3800.
- [33] Hu Y B, Zhan X J, Qi D W, et al. Spatial genetic structure and dispersal of giant pandas on a mountain-range scale. *Conservation Genetics*, 2010, 11(6): 2145–2155.
- [34] Xu X, Li Y Z, Wang X F. Zinc-finger intron 7: a new locus for sex identification of Giant Panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *Zoo Biology*, 2010, 29(4): 526–531.
- [35] Zhu L F, Zhang S N, Gu X D, et al. Significant genetic boundaries and spatial dynamics of giant pandas occupying fragmented habitat across southwest China. *Molecular Ecology*, 2011, 20(6): 1122–1132.
- [36] Wasser S K, Risler L, Steiner R A. Excreted steroids in primate feces over the menstrual cycle and pregnancy. *Biology of Reproduction*, 1988, 39(4): 862–872.
- [37] Kubokawa K, Ishii S, Tajima H, et al. Analysis of sex steroids in feces of giant pandas (Reproductive Biology). *Zoological Science*, 1992, 9(5): 1017–1023.
- [38] Kersey D C, Wildt D E, Brown J L, et al. Endocrine milieu of perioestrus in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*), as determined by non-invasive hormone measures. *Reproduction, Fertility and Development*, 2010, 22(6): 901–912.
- [39] Kersey D C, Wildt D E, Brown J L, et al. Unique biphasic progesterone profile in parturient and non-parturient giant pandas (*Ailuropoda melanoleuca*) as determined by faecal hormone monitoring. *Reproduction*, 2010, 140(1): 183–193.
- [40] Aitken P C, Hou R, Burrell C, et al. Protracted reproductive seasonality in the male giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) reflected by patterns in androgen profiles, ejaculate characteristics, and selected behaviors. *Biology of Reproduction*, 2012, 86(6): 1951–1961.
- [41] Charlton B D, Keating J L, Kersey D, et al. Vocal cues to male androgen levels in giant pandas. *Biology Letters*, 2011, 7(1): 71–74.
- [42] 刘娟, 陈玥, 郭丽然, 等. 圈养大熊猫刻板行为观察及其激素水平测定. *北京师范大学学报: 自然科学版*, 2005, 41(1): 75–78.
- [43] 李骏. 大熊猫 (*Ailuropoda melanoleuca*) 应激初步研究. 四川: 四川农业大学硕士学位论文, 2005: 21–37.
- [44] 王亚超. 温热环境对圈养成年大熊猫热调节行为和生理生化指标的影响. 四川: 四川农业大学硕士学位论文, 2007: 24–36.
- [45] 崔媛媛, 胡德夫, 张金国, 等. 黄金周游客干扰对圈养大熊猫应激影响初探. *四川动物*, 2009, 28(5): 647–651.
- [46] Kersey D C, Wildt D E, Brown J L, et al. Rising fecal glucocorticoid concentrations track reproductive activity in the female giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*). *General and Comparative Endocrinology*, 2011, 173(2): 364–370.
- [47] 于小杰, 胡德夫, 唐勇清, 等. 大熊猫粪团表层和内部类固醇激素含量比较. *经济动物学报*, 2010, 14(4): 187–189.
- [48] 张华, 王小慧, 范文安, 等. 大熊猫寄生虫病综述. *甘肃畜牧兽医*, 2010, 40(3): 40–43.
- [49] 赖从龙, 邱贤猛, 罗秀芬, 等. 野外大熊猫粪便中内寄生虫病的研究. *大自然探索*, 1991, 10(1): 68–71.
- [50] 杨光友, 张同富, 张志和, 等. 大熊猫钩口线虫的研究 // 中国畜牧兽医学学会家畜寄生虫学分会. 中国畜牧兽医学学会家畜寄生虫学分会第五次代表大会暨第八次学术研讨会论文集. 2004: 491.
- [51] Zhang L, Yang X, Wu H, et al. The parasites of giant pandas: individual-based measurement in wild animals. *Journal of Wildlife Disease*, 2011, 47(1): 164–171.
- [52] Zhang W P, Yie S M, Yue B S, et al. Determination of *Baylisascaris schroederi* infection in wild giant pandas by an accurate and sensitive PCR/CE-SSCP method. *PLoS One*, 2012, 7(7): e41995.
- [53] 杨水云, 裴渭静, 孙飞龙, 等. 依赖粪便材料的大熊猫肠道耶尔森氏菌的检测. *兽类学报*, 2004, 24(2): 182–184.
- [54] 王成东, 颜其贵, 张志和, 等. 大熊猫幼兽腹泻粪便分离出的轮状病毒鉴定. *兽类学报*, 2008, 28(1): 87–91.
- [55] 鲁海峰, 魏桂芳, 李仲达, 等. ERIC-PCR 分子杂交技术分析大熊猫肠道菌群结构. *中国微生物学杂志*, 2005, 17(2): 81–84.
- [56] Zhang A Y, Wang H N, Tian G B, et al. Phenotypic and genotypic characterisation of antimicrobial resistance in faecal bacteria from 30 giant pandas. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2009, 33(5): 456–460.
- [57] 鲍楠, 刘成君, 谭志, 等. 野外放归大熊猫肠道菌群变化的研究. *畜牧与兽医*, 2005, 37(8): 10–13.
- [58] 马清义. 大熊猫消化道正常菌群的分离鉴定及药敏性研究. 陕西: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2006: 26–43.
- [59] Wu X C, Chen W F, Qian C D, et al. Isolation and identification of newly isolated antagonistic *Streptomyces* sp. strain AP19-2 producing chromomycins. *The Journal*

of Microbiology, 2007, 45(6): 499–504.

[60] Wiedower E E, Kouba A J, Vance C K, et al. Fecal near infrared spectroscopy to discriminate physiological status in giant pandas. PLoS One, 2012, 7(6): e38908.

[61] Zhu L, Wu Q, Dai J Y, et al. Evidence of cellulose metabolism by the giant panda gut microbiome. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108(43): 17714–17719.

(上接 120 页)

1) 专题报告会:时间为 120 分钟,由 5~6 个 20 分钟的专题报告构成。每个专题报告会由两名主持人共同申请,主持人应来自不同单位,申请时需要提交小于 1 000 字的摘要,阐述该专题的学术意义、重要性等,并提出已邀请的报告人和报告题目(申请时应至少明确 3 名报告人)。

专题讨论会申请的截止时间为 2013 年 5 月 31 日,申请者发送 email 至 sunyh@ioz.ac.cn。

2) 圆桌讨论会:时间为 60 分钟,一般包括主持人 10 分钟的开题报告、45 分钟的讨论和 5 分钟的总结。圆桌讨论会亦由两名主持人共同申请,并应来自不同单位。申请时需要提交小于 1 000 字的摘要,阐述讨论会的主题及意义,并在摘要中说明所讨论的主要议题,是否邀请专家进行开题报告等。

圆桌讨论会申请的截止时间亦为 2013 年 5 月 31 日,申请者发送 email 至 sunyh@ioz.ac.cn。

3) 口头报告会:时间单元为 120 分钟,从申请大会口头报告的摘要中遴选。

4) 墙报:大会将在黄金时间设立墙报单元(每个单元 60 分钟),届时墙报提交者要求在自己的墙报边,随时回答代表的问题。大会将设立最佳墙报奖。

口头报告和墙报申请的截止时间为 2013 年 8 月 31 日。

大会出版物:

本届大会前将出版大会论文摘要集和《动物学杂志》为本届大会的专刊,分发各位代表用于会上交流。具体要求如下。

1. 大会论文摘要集:

提交论文摘要的截止日期为 2013 年 8 月 31 日。摘要字数控制在 500 字以内。摘要格式同《动物学杂志》,具体包括:题目(中英文),作者,单位(含地址、邮编),摘要正文,关键词,电子邮箱。论文摘要通过中国动物学会学术会议系统投稿。

提交论文摘要时,请务必说明论文报告形式:申请口头报告或墙报。

大会摘要集为非正式出版物,近两年的已发表成果亦可在本届大会报告,此种情况请论文摘要提交者注明所发表论文的期刊信息。

2. 《动物学杂志》专刊

《动物学杂志》2013 年第 5 期将为本届大会出版专刊,大会科学委员会将对来稿进行评审,达到要求的论文在专刊上发表。

发表论文费用:无需审稿费,接受论文的版面费为动物学杂志常规版面费的半价,每页 100 元(彩版另议)。

论文格式要求请见《动物学杂志》(dwzxx.ioz.ac.cn),必须为原创性工作或高水平的综述文章,本期专刊论文提交的截止日期为 2013 年 5 月 31 日。论文全文请登录《动物学杂志》网站在线投稿,投稿时务必在备注栏注明“第十二届全国鸟类学术研讨会论文”。

本次会议由中国动物学会鸟类学分会主办,浙江自然博物馆、浙江省动物学会和浙江大学等单位承办。研讨会期间,同时举办第九届全国鸟类学研究生翠鸟论坛。欢迎全国各研究单位、大专院校、博物馆、动物园、自然保护区和野生动物主管部门等单位的鸟类科技工作者报名参会。相关信息请随时关注中国动物学会网站(www.czs.ioz.ac.cn)和中国动物学会鸟类学分会的网站(www.chinabird.org)。