

(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 103207280 A

(43) 申请公布日 2013. 07. 17

(21) 申请号 201310092803. X

(22) 申请日 2013. 03. 21

(71) 申请人 成都大熊猫繁育研究基地

地址 610081 四川省成都市成华区外北熊猫大道 1375 号

(72) 发明人 罗婵 侯蓉 张志和 黄河

王成东 黄祥明 兰景超

(51) Int. Cl.

G01N 33/74 (2006. 01)

G01N 33/53 (2006. 01)

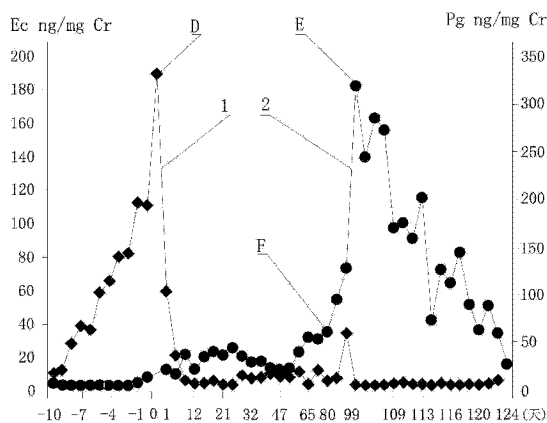
权利要求书1页 说明书7页 附图2页

(54) 发明名称

大熊猫预产期的预测方法

(57) 摘要

本发明公开了一种大熊猫预产期的预测方法,通过对繁育期间雌性大熊猫尿样的长时间检测,得到雌二醇浓度值的真实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日,然后计算出雌二醇浓度值的真实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日的间隔天数 X,根据间隔天数 X 和回归方程 y=0.921X+51.26,计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间 y,理论产仔时间 y 与产仔时间的波动范围 4.38 天相加减得到大熊猫预产期 Y=y±4.38 天,其结果与实际大熊猫妊娠期非常接近,为大熊猫种群的保护工作提供了非常宝贵的时间支持。



1. 一种大熊猫预产期的预测方法,包括以下步骤:

(1) 春季大熊猫繁殖配种期间,按时间要求对雌性大熊猫进行尿样收集,在尿样上标记后进行冷冻或冷藏保存,然后对尿样采用酶联免疫吸附试验检测雌二醇浓度值和孕酮浓度值;然后在以大熊猫排尿时间作为横坐标、以雌二醇浓度值和孕酮浓度值作为纵坐标的平面坐标上,分别标出排尿时间及其对应的雌二醇浓度值和孕酮浓度值所确定的两组坐标点,将两组坐标点分别依次连接起来,绘制出雌二醇浓度值变化曲线图和孕酮浓度值变化曲线图,找出雌二醇浓度值的真实峰值及其出现时刻;

(2) 配种后,采用酶联免疫吸附试验继续检测配种雌性大熊猫的尿样孕酮浓度值,在以上平面坐标上继续绘制出孕酮浓度值变化曲线图,找出孕酮浓度值的峰值及其出现时刻;

(3) 根据雌二醇浓度值的真实峰值时刻与孕酮浓度值的峰值时刻之间的所有检测出的孕酮浓度值,找出在两峰值时刻之间的孕酮浓度值第一次上升期的截止日;

(4) 计算出孕酮浓度值第一次上升期的截止日与雌二醇浓度值的真实峰值时刻的间隔天数 X ,根据间隔天数 X 和回归方程 $y=0.921X+51.26$,计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间 y ;

(5) 根据理论产仔时间 y 和大熊猫产仔时间的波动范围 4.38 天,得到大熊猫预产期 $Y=y\pm 4.38$ 。

2. 根据权利要求1所述的一种大熊猫预产期的预测方法,其按时间要求对雌性大熊猫进行尿样收集的过程如下:

(1) 观察雌性大熊猫外阴部,若外阴部出现红肿后,则每天收集1份雌性大熊猫晨尿;

(2) 从雌二醇连续上升后的第4天开始,每天间隔8小时左右收集3份尿样;

(3) 雌性大熊猫发情高峰行为前后,每天间隔5小时左右收集5份尿样;

(4) 一旦监测到雌二醇浓度值有下降趋势,将尿样收集间隔时间缩短为3小时左右;

(5) 大熊猫配种后每周至少收三个尿样,直至产仔。

3. 根据权利要求1或2所述的任何一种大熊猫预产期的预测方法,其每一次大熊猫尿样收集包括以下步骤:

(1) 清洁并拖干兽舍地面;

(2) 将需收集尿样的大熊猫放入兽舍,工作人员守候,一旦大熊猫排出小便,立即将大熊猫放到其它兽舍;

(3) 用清洁注射器采集地面新鲜尿样,装入冷冻管,做好标记,然后立即放入冰箱冷冻或冷藏装置。

大熊猫预产期的预测方法

技术领域

[0001] 本发明涉及一种用于圈养动物人工繁育的方法,特别是涉及一种大熊猫预产期的预测方法。

背景技术

[0002] 在圈养条件下,我们观察到的大熊猫的妊娠期为 85-185 天。在过去几十年的研究中,中外科学家围绕大熊猫独特的妊娠现象进行了多方面的研究。怀孕大熊猫表现出的行为学和生理学现象包括食欲减退、做窝、外阴肿胀和颜色变化、乳腺增大和嗜睡等。但大熊猫还可能出现假孕的现象。假孕大熊猫也表现出的和真孕大熊猫类似的行为学和生理学现象。喻述蓉等(畜牧兽医学报-2003. 34(5). -452-456)认为真孕大熊猫和假孕大熊猫尿中孕酮所维持的时间和含量,发现两者没有差异。Nancy 等等(Proceedings of an international conference San Diego, California, USA, October 15-18, 2000, 195-204)通过比较 4 只真孕大熊猫和 4 只假孕大熊猫的孕激素水平和变化趋势后认为在妊娠的后期孕激素水平是有差异的。

[0003] 李学兵等(酶联法测定尿中孕酮和进行妊娠诊断. 97 成都二十一世纪环境保护与城市发展国际学术研讨会论文集. 1997)认为未产仔大熊猫孕激素在上升后维持时间较短,且激素水平波动较大,波谷可接近基础水平,而波峰则可能超过正常怀孕大熊猫。现在可以通过超声影像来确认大熊猫是否怀孕,但必须要等到大熊猫妊娠的晚期才能看到胎儿。因此,到现在为此还没有一种在早期可以有效的区分大熊猫是真孕还是假孕的方法。然而,大熊猫的内分泌和行为变化在大致估计分娩时间还是有用的。大熊猫可能出现延迟着床现象。一旦孕激素的第二次上升启动就认为胚泡在子宫壁上开始着床,胎儿的不断发育刺激了孕激素的不断产生。彭世媛等(动物学杂志-1993. 28(2). -25-28)研究认为在妊娠早期与晚期孕酮升高,到了晚期最高,妊娠中期停滞在低水平上波动,分娩前孕酮浓度值迅速下降。曾国庆等(动物学报. 1992 年 04 期)通过研究在妊娠期和非妊娠期尿中孕酮和 CG 样物质含量的变化后发现在大熊猫胚胎着床前,孕酮和 CG 样物质含量较低;胚胎着床后,二种激素的含量显着上升并达到高峰,同时也为大熊猫的妊娠诊断和预测分娩提供一些参考数据。何廷美等(雌性大熊猫配种后尿液孕酮含量的变动. 四川农业大学学报. 第 20 卷. 第 2 期. 2002 年 6 月)的研究发现大熊猫妊娠后期 1~2 个月对其尿液孕酮含量进行检测,可能有助于判断该大熊猫是否产仔。

[0004] 过去的研究多受限于所参与的大熊猫数量,还没有对一个群体进行多年、大量地跟踪研究。尽管超声波检查可以作为大熊猫是否怀孕的一个确诊手段,但只有在大熊猫产前约 3 周才能检测到胚胎/胎儿,同时还需要提前对大熊猫进行驯化,使得整个研究的难度增大。目前还没有关于大熊猫产仔时间预测的报导。

发明内容

[0005] 本发明要解决的技术问题是一种如何利用雌性大熊猫雌激素和孕激素的变化规

律、科学、合理推定配种后雌性大熊猫妊娠天数的大熊猫预产期的预测方法。

[0006] 为解决上述技术问题,本发明一种大熊猫预产期的预测方法,包括以下步骤:

[0007] (1) 春季大熊猫繁殖配种期间,依照专利申请号 201210191762.5 所述,按时间要求对雌性大熊猫进行尿样收集,在尿样上标记后进行冷冻或冷藏保存,然后对尿样采用酶联免疫吸附试验检测雌二醇浓度值和孕酮浓度值;然后在以大熊猫排尿时间作为横坐标、以雌二醇浓度值和孕酮浓度值作为纵坐标的平面坐标上,分别标出排尿时间及其对应的雌二醇浓度值和孕酮浓度值所确定的两组坐标点,将两组坐标点分别依次连接起来,绘制出雌二醇浓度值变化曲线图和孕酮浓度值变化曲线图,找出雌二醇浓度值的真实峰值及其出现时刻;

[0008] (2) 配种后,采用酶联免疫吸附试验继续检测配种雌性大熊猫的尿样孕酮浓度值,以雌二醇浓度值的真实峰值的出现时刻为 0 天,在以上平面坐标上继续绘制出孕酮浓度值的变化曲线图,找出孕酮浓度值的峰值及其出现时刻;所述孕酮浓度值的峰值为所有孕酮浓度值的最大值;

[0009] (3) 根据雌二醇浓度值的真实峰值时刻与孕酮浓度值的峰值时刻之间的所有检测出的孕酮浓度值,参考孕酮浓度值变化曲线图,找出在两峰值时刻之间的孕酮浓度值第一次上升期的截止日;

[0010] (4) 计算出孕酮浓度值第一次上升期的截止日与雌二醇浓度值的真实峰值时刻的间隔天数 X,根据间隔天数 X 和回归方程 $y=0.921X+51.26$,计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间 y;

[0011] (5) 根据理论产仔时间 y 和大熊猫产仔时间的波动范围 4.38 天,得到大熊猫预产期 $Y=y \pm 4.38$ (天)。

[0012] 所述的一种大熊猫预产期的预测方法,其孕酮浓度值第一次上升期的截止日也是孕酮浓度值第二次上升期的开始日,它的判断方法如下:

[0013] ①选取雌性大熊猫雌二醇浓度值的真实峰值时刻与孕酮峰值时刻之间的所有检测出的孕酮值,计算出孕酮值的平均值 A_1 和标准差 B_1 ,得出 $A_1 + 2B_1 = C_1$;

[0014] ②剔除所有高于 C_1 的数据,在剩余孕酮值中,计算出孕酮值的平均值 A_2 和标准差 B_2 ,得出 $A_2 + 2B_2 = C_2$;

[0015] ③剔除所有高于 C_2 的数据,然后按以上方法再进行计算,直到剩下的数据中没有高于 C_n 时为止, $C_n = A_n + 2B_n$,其中 n 代表自然数;

[0016] ④最接近 C_n 的孕酮值的出现时刻为孕酮值第一次上升期截止日。

[0017] 所述的一种大熊猫预产期的预测方法,其按时间要求对雌性大熊猫进行尿样收集的过程如下:

[0018] (1) 观察雌性大熊猫外阴部,若外阴部出现红肿后,则每天收集 1 份雌性大熊猫晨尿;

[0019] (2) 从雌二醇连续上升后的第 4 天开始,每天间隔 8 小时左右收集 3 份尿样;

[0020] (3) 雌性大熊猫发情高峰行为前后,每天间隔 5 小时左右收集 5 份尿样;

[0021] (4) 一旦监测到雌二醇浓度值有下降趋势,将尿样收集间隔时间缩短为 3 小时左右;

[0022] (5) 大熊猫配种后每周至少收三个尿样,直至产仔。

[0023] 所述的任何一种大熊猫预产期的预测方法,其每一次大熊猫尿样收集包括以下步骤:

[0024] (1) 清洁并拖干兽舍地面;

[0025] (2) 将需收集尿样的大熊猫放入兽舍,工作人员守候,一旦大熊猫排出小便,立即将大熊猫放到其它兽舍;

[0026] (3) 用清洁注射器采集地面新鲜尿样,装入冷冻管,做好标记,然后立即放入冰箱冷冻或冷藏装置。

[0027] 成都大熊猫繁育研究基地通过连续 5 年记录 29 次大熊猫妊娠产仔记录,结果见表 1:

[0028] 表 1. 大熊猫妊娠期三个组成时期

[0029]

呼名	发情年份	孕酮第一次上升期(天)	孕酮第二次上升到峰值天数(天)	孕酮峰值到产仔(天)	妊娠期(天)
娇子	2006	115	15	28	158
奇缘	2006	114	26	17	157
奇珍	2006	90	36	17	143
大双	2006	138	13	26	177
二丫头	2006	82	27	16	125
娅娅	2006	81	36	16	133
娇子	2007	57	26	22	105
蜀庆	2007	83	24	15	122
二丫头	2007	50	27	8	85
莉莉	2007	88	22	29	139
冰冰	2007	110	15	23	148
成绩	2008	92	38	23	153
大双	2008	117	25	17	159
奇缘	2008	69	25	23	117
奇珍	2008	74	45	24	143
蜀庆	2008	50	33	15	98
珠珠	2008	73	33	18	124
娅娅	2008	105	25	28	158
圆圆	2008	116	22	20	158
莉莉	2009	82	15	24	121
娅老大	2009	78	13	9	100
大双	2009	96	18	20	134
奇珍	2010	125	20	18	163
圆圆	2010	118	8	24	150
娇子	2010	80	19	25	124
二丫头	2010	94	19	19	132
娅娅	2010	113	25	20	158
奇珍	2011	63	23	19	105
庆贺	2011	102	7	17	126

[0030] 通过表 1 数据得到回归方程 $y=0.921X+51.26$, 其中 y 为理论产仔时间, X 为孕酮浓度值第一次上升期的截止日与雌二醇浓度值的真实峰值时刻的间隔天数。通过计算回归方程所得 y 值与实际大熊猫妊娠期的差异值, 并得到该组数据的平均数, 即为大熊猫产仔时间的波动范围, 其结果见表 2:

[0031] 表 2. 大熊猫产仔时间的波动范围及其与实际妊娠期比较

[0032]

呼名	产仔年份	实际妊娠期(天)	理论产仔时间(天)	理论产仔时间与实际妊娠期的差异(天)
娇子	2006	158	158.79	0.78
奇缘	2006	157	156.86	0.14
奇珍	2006	143	132.5	10.5
大双	2006	177	179.35	2.35
二丫头	2006	125	126.87	1.87
娅娅	2006	133	125.94	7.06
娇子	2007	105	103.45	1.55
蜀庆	2007	122	118.44	3.56
二丫头	2007	85	96.89	11.89
莉莉	2007	139	132.5	6.5
冰冰	2007	148	153.11	5.11
成绩	2008	153	147.49	5.51
大双	2008	159	159.67	0.67
奇缘	2008	117	114.69	2.31
奇珍	2008	143	145.61	2.61
蜀庆	2008	98	96.89	1.11
珠珠	2008	124	118.44	5.56
娅娅	2008	158	159.67	1.67
圆圆	2008	158	158.73	0.73
莉莉	2009	121	117.5	3.5
娅老大	2009	110	121.25	11.25
大双	2009	134	131.56	2.44
奇珍	2010	163	167.17	4.16
圆圆	2010	150	137.18	12.82
娇子	2010	124	125	1
二丫头	2010	132	138.12	6.12
娅娅	2010	158	158.73	0.73
奇珍	2011	105	109.07	4.07
庆贺	2011	126	135.31	9.31
大熊猫产仔时间的波动范围(天)				4.38

[0033] 由表2可知,理论产仔时间和实际妊娠期的差异系数低于5%的占84%,差异性检验 $P=0.916$,差异不显著。

[0034] 本发明通过对繁育期间雌性大熊猫尿样的长时间检测,得到雌二醇浓度值的真

实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日,然后计算出雌二醇浓度值的真实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日的间隔天数 X ,根据间隔天数 X 和回归方程 $y=0.921X+51.26$,计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间 y ,理论产仔时间 y 与产仔时间的波动范围 4.38 天相加减得到大熊猫预产期 $Y=y \pm 4.38$ (天),其结果与实际大熊猫妊娠期非常接近,为大熊猫种群的保护工作提供了非常宝贵的时间支持。

附图说明

[0035] 下面结合附图和具体实施方式对本发明作进一步详细的说明。

[0036] 图 1 为本发明雌性大熊猫孕酮浓度值第一次上升期维持天数与妊娠期天数的强正关系图;

[0037] 图 2 为本发明成年雌雄大熊猫娇子 2010 年繁育期间的雌二醇浓度值和孕酮浓度值的变化曲线图。

[0038] 图中标识:1- 雌性大熊猫雌二醇浓度值的变化曲线,2- 雌性大熊猫孕酮浓度值的变化曲线,D- 雌二醇浓度值的真实峰值的坐标点,E- 孕酮浓度值的峰值的坐标点,F- 孕酮浓度值第一次上升期截止日的坐标点, E_c ng/mg Cr 表示为肌酐校正后的雌二醇浓度值, P_g ng/mg Cr 表示为肌酐校正后的孕酮浓度值。

具体实施方式

[0039] 本发明依照专利申请号 201210191762.5 所述,在春季繁育期间每日观察雌性大熊猫外阴颜色,大熊猫外阴红肿为大熊猫发情启动的特征表现,一旦发现外阴红肿,即可初步确定大熊猫进入发情期,继续每日观察大熊猫发情行为,若出现频繁标记行为、咩叫行为则可确定大熊猫已经发情。

[0040] 大熊猫发情启动后,开始对雌性大熊猫尿样进行收集,在尿样上记录熊猫呼名、排尿时间、是否出现典型发情高峰行为等标记,并及时地对收集的大熊猫尿样进行化验分析,采用酶联免疫吸附试验检测出与大熊猫呼名及排尿时间对应的雌二醇浓度值和孕酮浓度值;起初每天收集 1 份晨尿;雌二醇浓度值连续上升后第 4 天开始,每天收集 3 份尿样,间隔 8 小时左右,时间分别为 7:00,15:00,23:00 左右;发情高峰前后,每天尿样增加到 5 个左右,间隔 5 小时左右,收集时间分别为:6:00,11:00,16:00,21:00,1:00 左右;一旦监测到雌二醇浓度值有下降趋势,将尿样收集间隔时间缩短为 3 小时左右;在大熊猫配种后每周至少收三个尿样,直至产仔。

[0041] 每一次大熊猫尿样收集都是从清洁后的硬化地面收集,先清洁并晾干兽舍地面后,将需收集尿样的大熊猫放入兽舍;然后工作人员守候,一旦大熊猫排出小便,立即将大熊猫放到其它兽舍,用清洁注射器采集地面新鲜尿样,装入冷冻管,做好标记,立即放入冰箱冷冻室冷冻保存或冷藏室冷藏保存。

[0042] 然后对尿样采用酶联免疫吸附试验检测雌二醇浓度值和孕酮浓度值,如图 2 所示,在以大熊猫排尿时间作为横坐标、以雌二醇浓度值和孕酮浓度值作为纵坐标的平面坐标上,分别标出排尿时间及其对应的雌二醇浓度值和孕酮浓度值所确定的两组坐标点,将两组坐标点分别依次连接起来,绘制出雌二醇浓度值变化曲线图和孕酮浓度值变化曲线图,得到雌二醇浓度值的真实峰值及其出现时刻,即坐标点 D,然后将坐标点 D 的时刻作为

时间起点 0 小时,继续检测孕酮浓度值;在配种后,每周至少收三个尿样、直至产仔,采用酶联免疫吸附试验继续检测配种雌性大熊猫的尿样孕酮浓度值,在图 2 上绘制出孕酮浓度值变化曲线图,找出孕酮浓度值的峰值及其出现时刻,即坐标点 E,所述孕酮浓度值的峰值为所有孕酮浓度值的最大值。

[0043] 再后,根据坐标点 D 与坐标点 E 之间的所有检测出的孕酮浓度值,参考孕酮浓度值变化曲线图,找出两坐标点间的孕酮浓度值第一次上升期的截止日,即坐标点 F;所述坐标点 F 也是孕酮浓度值第二次上升期的开始日,它的判断方法如下:

[0044] ①选取坐标点 D 与坐标点 E 之间的所有检测出的孕酮值,计算出孕酮值的平均值 A_1 和标准差 B_1 ,得出 $A_1 + 2B_1 = C_1$;

[0045] ②剔除所有高于 C_1 的数据,在剩余孕酮值中,计算出孕酮值的平均值 A_2 和标准差 B_2 ,得出 $A_2 + 2B_2 = C_2$;

[0046] ③剔除所有高于 C_2 的数据,然后按以上方法再进行计算,直到剩下的数据中没有高于 C_n 时为止, $C_n = A_n + 2B_n$,其中 n 代表自然数;

[0047] ④最接近 C_n 的孕酮值的出现时刻为孕酮值第一次上升期截止日,即坐标点 F。

[0048] 从图 1 上可以看出,雌性大熊猫孕酮浓度值第一次上升期维持天数与妊娠期天数呈强正关系。

[0049] 最后,计算出坐标点 D 与坐标点 F 的间隔天数 X,根据间隔天数 X 和回归方程 $y=0.921X+51.26$,计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间 y;根据理论产仔时间 y 和大熊猫产仔时间的波动范围 4.38 天,得到大熊猫预产期 $Y=y \pm 4.38$ 。

[0050] 如图 2 所示,雌雄大熊猫娇子的坐标点 D 与坐标点 F 的间隔天数为 80 天,由回归方程计算出娇子的理论产仔时间 y 为 125 天,娇子的预产期 Y 为 125 ± 4.38 天,其实际实际妊娠期为 124 天,与理论产仔时间 y 或预产期 Y 相差非常接近。

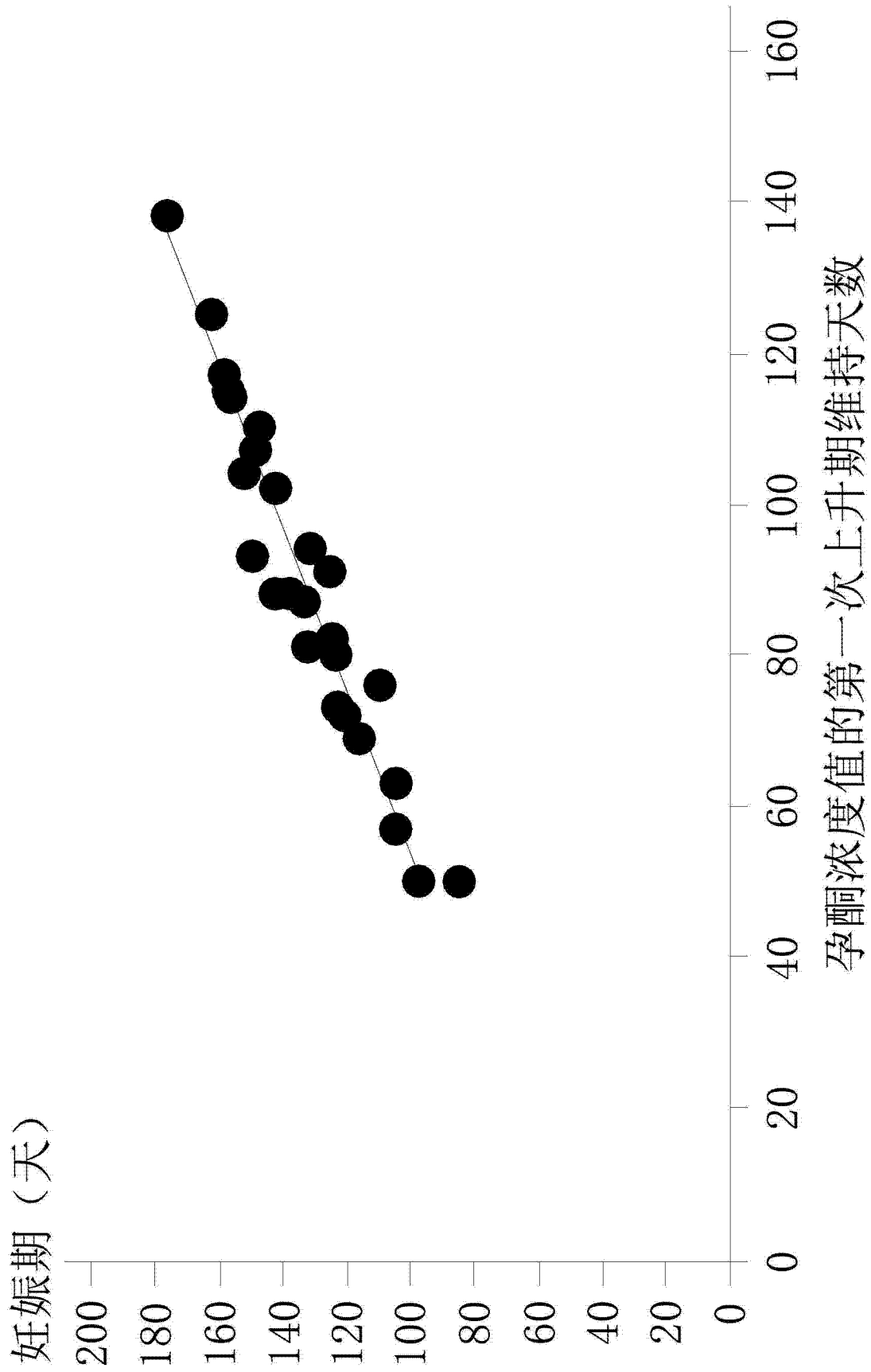


图 1

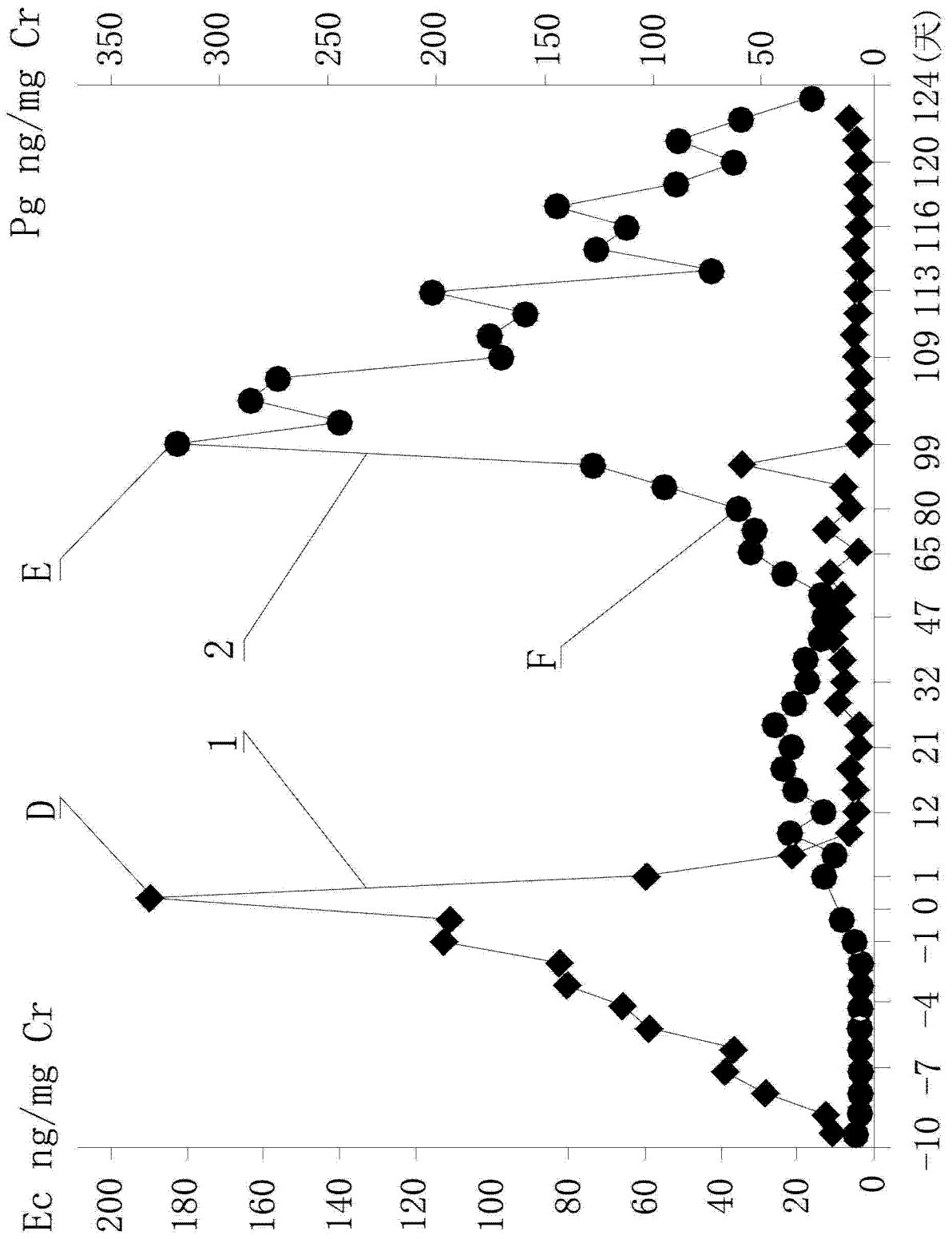


图 2

专利名称(译)	大熊猫预产期的预测方法		
公开(公告)号	CN103207280A	公开(公告)日	2013-07-17
申请号	CN201310092803.X	申请日	2013-03-21
[标]申请(专利权)人(译)	成都大熊猫繁育研究基地		
申请(专利权)人(译)	成都大熊猫繁育研究基地		
当前申请(专利权)人(译)	成都大熊猫繁育研究基地		
[标]发明人	罗婵 侯蓉 张志和 黄河 王成东 黄祥明 兰景超		
发明人	罗婵 侯蓉 张志和 黄河 王成东 黄祥明 兰景超		
IPC分类号	G01N33/74 G01N33/53		
其他公开文献	CN103207280B		
外部链接	Espacenet SIPO		

摘要(译)

本发明公开了一种大熊猫预产期的预测方法，通过对繁育期间雌性大熊猫尿样的长时间检测，得到雌二醇浓度值的真实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日，然后计算出雌二醇浓度值的真实峰值时刻和孕酮浓度值第一次上升期的截止日的间隔天数X，根据间隔天数X和回归方程 $y=0.921X+51.26$ ，计算出怀孕雌性大熊猫理论产仔时间y，理论产仔时间y与产仔时间的波动范围4.38天相加减得到大熊猫预产期 $Y=y\pm 4.38$ 天，其结果与实际大熊猫妊娠期非常接近，为大熊猫种群的保护工作提供了非常宝贵的时间支持。

