

光周期和气味信号对雄性布氏田鼠 血浆睾酮含量的影响*

张 立 孙儒泳 房继明

(北京师范大学生命科学学院, 北京 100875)

关键词 布氏田鼠 光照周期 气味信号 睾丸酮

对气味信号的辨别是动物间进行社会行为交往的第一步 (Ferkin *et al.*, 1995)。气味信号在啮齿动物社群中, 既能直接作用于空间行为、交配行为、双亲行为和配偶选择等方面 (Carter *et al.*, 1993; Hurst, 1990; 1993; 许忠健等, 1996; 尹峰等, 1998; Storey *et al.*, 1994; 张立等, 1999; 李庆芬等, 1995), 又影响着动物体内的激素分泌 (Johnston, 1990; Vandenberghe, 1994)。Macrides 等 (1974) 发现: 当使雄性仓鼠接触动情雌鼠或让雄鼠嗅闻雌鼠阴道分泌物气味时, 其血浆睾丸酮水平有所升高。这种雄激素在血浆中的聚集, 是通过犁鼻器内的化学感受器接受雌鼠气味信号后引发的生理反应之一 (Pfeiffer *et al.*, 1986), 而且与动物的生长发育状况有关 (Johnston, 1990)。此外, 许多研究也发现: 光周期和性激素水平影响着动物个体气味的产生以及对气味信号的行为反应 (Ferkin *et al.*, 1992; 1993; 1995), 如雌二醇对雌性大仓鼠 (*Cricetulus triton*) 肋腺的大小和分泌活动存在明显的抑制作用; 雄鼠性成熟后雄激素的增多能够促进其肋腺的迅速增长 (张建旭等, 1999a; 1999b)。

对布氏田鼠嗅觉通讯的行为研究还表明, 种内个体或群体的气味可以引起被试鼠嗅闻、挖掘、搔扒体侧、尿标记等行为的增多 (张立等, 1996a; 1996b)。但气味信号对体内性激素变化的作用和影响的报道在国内还不多见。本实验通过¹²⁵I作为标记物的性激素放射免疫分析方法测定给予陌生雄鼠气味后成体雄鼠血液中睾酮水平的变化, 试图探讨雄性个体气味对动物体内性激素水平的影响, 以及雄鼠性激素水平的变化与其气味行为反应之间的关

系。

1 材料和方法

实验采用北京师范大学生物系动物行为实验室饲养的布氏田鼠繁殖种群中 F5 代成体雄鼠 (90~150 日龄)。分别从出生于长光照 14L:10D (long photoperiod, LD, 光亮 06:00~20:00) 和短光照 10L:14D (short photoperiod, SD, 光亮 07:00~17:00) 下有性经历的成年雄鼠各 24 只作为被试鼠, 体重在 50~60 g 之间; 另取 10 只生活在光周期 12L:12D (光亮 07:00~19:00) 下的成年雄鼠作为气味源提供者, 单独饲养在塑料饲养笼 (25 cm × 15 cm × 15 cm) 内。以清洁锯末作为巢垫物, 每 2 周更换一次。供以充足的饲料 (全营养颗粒饲料, 北京实验动物饲料厂) 和饮水, 并维持原有光照周期, 四周后开始实验。

实验前随机取 1 只气味源提供者饲养笼中的已经铺垫 1 周以上的巢垫物, 将其中夹杂的尿液、粪便等混匀后平铺在 1 个洗净的塑料笼 (25 cm × 15 cm × 15 cm; 用 95% 酒精和大量自来水冲洗, 以去除遗留鼠味) 中, 厚 1 cm 左右, 作为陌生雄鼠气味源。每个塑料笼及其中的气味源在实验中只使用 1 次, 即仅被给予 1 只被试雄鼠。实验进行于 1998 年 5 月至 10 月。

将 LD 和 SD 被试雄鼠单独饲养 1 个月后, 随机分为 4 组 (每组 6 只): 第 1 组不给予鼠标刺激, 将动物断颈处死后收集血浆; 第 2 组将被试雄鼠放入铺有陌生雄鼠气味源的塑料笼中, 30 min 后断颈处死, 收集血浆; 第 3 组给予陌生雄鼠气味刺激 1 h 后取血浆; 第 4 组给予陌生雄鼠气味刺激 2 h

2000-02-16 收稿, 2000-11-06 修回

* 农业虫鼠害综合治理国家重点实验室基金 (No.9501) 资助项目

第一作者简介 张立, 男, 28 岁, 博士, 讲师。研究方向: 行为生态学。E-mail: asterzhang@sina.com

后取血浆。取被试雄鼠血浆 2~3 ml, 使用超速离心机 (8 000 r/min) 离心 10 min 后取血清 200 μ l, 置于 -20°C 冰箱内, 在 2 周内完成睾酮的测定。

血清中睾酮含量的测定: 用北京北方生物技术研究所生产的性激素放射免疫分析测定试剂盒, 对待测样品进行睾酮含量的测定。使用北京师范大学分析测试中心上海核福光电仪器有限公司产 SN-682 型放射免疫 γ 计数器记数。

使用 SPSS/PC+ 进行数据分析。采用 Mann-Whitney 检验比较长、短光照下雄鼠接受气味刺激后血液中睾酮含量的变化; 采用 Kruskal-Wallis 单因素方差分析比较接受气味刺激后不同时间内的睾酮含量的变化; 采用线性回归分析雄鼠血液中睾酮含量与其接受气味刺激时间长短之间的关系。

2 结 果

2.1 不同光周期下雄鼠接受气味刺激后血浆睾酮含量的变化

未给予实验气味时 (0 min) LD 雄鼠血浆睾酮含量高于 SD 雄鼠, 但没有达到显著性水平 ($P = 0.0782$)。LD 雄鼠在被给予陌生雄鼠气味后 30 min 时的血浆睾酮含量显著高于 SD 下的被试雄鼠的血浆睾酮含量; 而给予陌生雄鼠气味 1 h 和 2 h 后, LD 雄鼠的血浆睾酮含量虽然在平均值上分别高于 SD 被试雄鼠血浆睾酮含量的 64% 和 76%, 但其差别均未达到显著性水平 (Mann-Whitney 检验, 表 1)。

2.2 睾酮含量变化与接受气味刺激时间的关系

被给予陌生雄鼠气味后, 雄鼠血浆睾酮含量随时间的延长而增加, 并且差异显著 (Kruskal-Wallis 检验, 表 1)。接受气味刺激后 2 h 内的 LD 和 SD 被试雄鼠血浆睾酮水平都呈明显的线性上升趋势, $Y_{LD} = 3.6302 + 0.5890X$, Y_{LD} : 长光照下被试雄鼠血浆睾酮含量 (ng/ml), X : 被试雄鼠接受实

验气味的时间 (min), $F = 9.0066$, $P = 0.0066$; $Y_{SD} = 2.5521 + 0.5172X$, Y_{SD} : 短光照下被试雄鼠血浆睾酮含量 (ng/ml), X : 被试雄鼠接受实验气味的时间 (min), $F = 8.03378$, $P = 0.0097$ 。

3 讨 论

影响哺乳动物季节性繁殖的最主要的非生物因子是光。与其它气候因子 (如温度、湿度和降雨量等) 不同, 光的变化具有恒定性和规律性, 是动物最好的指示计 (predictor of phase)。对金色中仓鼠 (*Mesocricetus auratus*) 的研究表明: 当每天的白昼长度超过 12.5 h 时, 雄激素的分泌和精子的生成才能够维持在正常水平; 当白昼长度缩短到 11 hr 或更短, 性腺大约在 9 周内发生退化, 生精作用停止, 雄激素减少 80%, 性腺重量降低约 85% (Hoffman et al., 1965; Reiter et al., 1983)。对草地田鼠 (*Microtus pennsylvanicus*) 的研究也发现: 在身体的生长发育上, 长光照下生活的母鼠其幼仔出生 9 周后体重较重, 体毛短且稀疏; 而短光照下出生的幼鼠体重较轻, 体毛长而稠密, 而且睾丸或子宫的重量只有长日照亚成体的一半 (Lee, 1993)。本实验室对布氏田鼠的研究也表明: 不同光周期下的 60 日龄雄鼠, 个体性腺发育程度有显著差异。在各项性腺形态指数 (GSI) 即睾丸、附睾及储精囊形态指数方面, LD 雄鼠显著高于 SD 雄鼠。本研究发现: 生活在长光照下的雄鼠血浆睾酮含量高于短光照雄鼠 ($P = 0.0782$); LD 被试雄鼠被给予陌生雄鼠气味 30 min 后的血浆睾酮含量显著高于 SD 被试雄鼠; 而且被给予陌生雄鼠气味 1 h 和 2 h 后, LD 被试雄鼠血浆睾酮含量都高于 SD 被试雄鼠, 但没有达到显著性水平 (见表 1)。结果表明: 光周期对布氏田鼠血液中的睾酮水平是有影响的。

表 1 LD 和 SD 被试雄鼠血浆睾酮含量 (ng/ml) 的比较 ($\bar{X} \pm SE$) ($n = 6$)

Table 1 Plasma testosterone level of LD and SD male voles

雄 鼠	0 分钟	30 分钟	1 小时	2 小时	K-W 检验
Male vole	0 min	30 min	1 h	2 h	K-W test
LD 被试雄鼠 (LD male actors)	1.620 ± 0.950	3.754 ± 2.297	5.900 ± 2.631	13.005 ± 4.196	*
SD 被试雄鼠 (SD male actors)	0.077 ± 0.026	0.102 ± 0.039	3.579 ± 2.543	7.426 ± 3.247	*
Mann-Whitney 检验	ns	*	ns	ns	

* $P < 0.05$ ns: $P > 0.05$

性激素能够影响动物社会交往和繁殖行为。Johnston (1981) 发现：雄性仓鼠对种内个体气味的侧腺标记次数与其血液中的睾酮水平密切相关，而侧腺标记物中有关社会等级、繁殖状况等个体气味信息，在金色仓鼠的嗅觉通讯中起着重要的作用 (Ferris *et al.*, 1987; Johnston, 1990)。一般认为，性激素与神经肽的相互作用影响着动物的行为。这些神经肽包括对社会行为和繁殖行为有着重要调控作用的加压素 (vasopressin) 和催产素 (oxytocin) 等。研究表明：雌二醇可以使雌鼠视前核 (MPOA-AH) 加压素的敏感性增强，从而使受加压素调控的侧腺标记行为 (搔扒体侧) 显著增多 (Huhman *et al.*, 1993)；睾丸酮则可以使视前核、视交叉上核 (LS-BNST) 和中央灰质 (CG) 对加压素的敏感性增强，引起侧腺标记行为增多 (Albers *et al.*, 1995)。张建旭等 (1999a) 也发现雌二醇不仅能够抑制大仓鼠胰腺大小的增长，而且也抑制了胰腺的分泌活动。

此外，性激素水平的高低还直接作用于个体间的争斗行为。争斗行为能够反映出动物社会容忍力的大小，影响着动物的社会等级、繁殖及越冬集群等。许多啮齿动物种类都存在这样一种社会行为策略的季节性转变，即在繁殖季节表现出很强的领域

性，而在冬季则表现出较高社会容忍力。一般认为，繁殖季节后期，动物会对短光照信息发生行为和生理上的反应，由此而产生的机体性激素水平的降低，是这种行为策略季节性转变的内分泌基础 (Nelson, 1995)。对草地田鼠的野外研究表明：在繁殖季节 (长日照时期)，动物种内同性的争斗行为要高于非繁殖季节 (短日照时期) (Madison *et al.*, 1987)。我们对布氏田鼠的研究也发现：生活在长光照和短光照下雄性个体间的争斗行为持续时间是有明显差别的 (争斗行为持续时间 $\bar{X} \pm SE$: LD ♂, 73.76 ± 25.44 s; SD ♂, 26.65 ± 15.21 s; Wilcoxon 检验, $P < 0.05$)。许多野外研究表明，布氏田鼠的空间分布格局存在季节性变化，并与其繁殖状况密切相关，即种群在繁殖期之前为聚集趋势，从非繁殖期进入繁殖期显示扩散趋势，繁殖期结束后又呈聚集趋势 (房继明等, 1991)。因此，暴露在陌生雄鼠气味下的 SD 雄性布氏田鼠血浆睾酮含量少于 LD 雄鼠，这种激素水平上的对光周期的适应性变化，可能是集群生活的啮齿类动物在短日照环境下降低体内性激素水平或对性激素的敏感性，以减少繁殖行为 (包括相应的社会探究) 和争斗行为，提高个体之间的社会容忍性以利于集群越冬的内分泌机制之一。

参考文献 (References)

- Albers, H. E. and T. T. Cooper 1995 Effects of testosterone on the behavioral response to arginine vasopressin microinjected into the central gray and septum. *Peptides* **16** (2): 269~273.
- Carter, C. S. and L. L. Getz 1993 Monogamy and the prairie vole. *Scientific American* **6**: 100~106.
- Fang, J. M. and R. Y. Sun 1991 Seasonal dynamic of the spacial distribution pattern of Brandt's vole. *Acta Ecol. Sin.* **11** (2): 111~116. [房继明, 孙儒泳 1991 布氏田鼠空间分布格局的季节动态. 生态学报 **11** (2): 111~116.]
- Erkin, M. H. and M. R. Gorman 1992 Photoperiod and gonadal hormones influence odor preferences of the male meadow vole, *Microtus pennsylvanicus*. *Physiol. Behav.* **51**: 1 087~1 091.
- Erkin, M. H. and R. E. Johnston 1993 Roles of gonadal hormones in control of five sexually attractive odors of meadow voles (*Microtus pennsylvanicus*). *Horm. Behav.* **27**: 523~538.
- Erkin, M. H. and R. E. Johnston 1995 Effects of pregnancy, lactation and postpartum oestrus on odour signals and the attraction to odours in female meadow voles, *Microtus pennsylvanicus*. *Anim. Behav.* **49**: 1 211~1 217.
- Ferris, C. F., J. F. Axelson, L. H. Shinto and H. E. Albers 1987 Scent marking and the maintenance of dominant/subordinate status in male golden hamsters. *Physiol. Behav.* **40**: 661~664.
- Hoffman, K. and R. J. Reiter 1965 Pineal gland: influence on gonads of male hamsters. *Science* **148**: 1 609~1 611.
- Huhman, K. L. and H. E. Albers 1993 Estradiol increases the behavioral response to arginine vasopressin (AVP) in the medial preoptic-anterior hypothalamus. *Peptides* **14**: 1 049~1 054.
- Hurst, J. L. 1990 Urine marking in populations of wild house mice *Mus domesticus* Rutty. III. Communication between the sexes. *Anim. Behav.* **40**: 233~243.
- Hurst, J. L. 1993 The priming effects of urine substrate marks on interaction between male house mice, *Mus musculus domesticus* Schwarz & Schwarz. *Anim. Behav.* **45**: 55~81.
- Johnston, R. E. 1981 Testosterone dependence of scent marking by male hamsters (*Mesocricetus auratus*). *Behav. Neural Biol.* **31**: 96~99.
- Johnston, R. E. 1990 Chemical communication in golden hamsters: from behavior to molecules and neural mechanisms. In: Dewsbury, D. A.

- ed. *Contemporary Issues in Comparative Psychology*. New York: Sinauer Press, 381~409.
- Lee, T. M. 1993 Development of meadow voles is influenced postnatally by maternal photoperiodic history. *Amer. J. Physiol.* **265**: R749~R755.
- Li, Q. F., C. X. Huang and X. T. Liu 1995 Effects photoperiod and temperature on thermogenesis in Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Acta Zool. Sin.* **41** (4): 362~369. [李庆芬, 黄晨西, 刘小团 1995 光照周期对布氏田鼠产热的影响. 动物学报 **41** (4): 262~369.]
- Macrides, F., A. Bartke, F. Fernandez and W. D'Angelo 1974 Effects of exposure to vaginal odor and receptive females on plasma testosterone in the male hamster. *Neuroendocrinol.* **15**: 355~364.
- Madison, D. M. and W. J. McShea 1987 Seasonal change in reproductive tolerance, spacing, and social organization in meadow vole: a microtine model. *American Zoologist* **27**: 899~908.
- Nelson, R. J. 1995 Chemical senses. In: *An Introduction to Behavioral Endocrinology*. Sunderland: Sinauer, 302~327.
- Pfeiffer, C. and R. E. Johnston 1986 Role of olfaction in socially induced testosterone release in the male hamster. *Biol. Reprod.* **34** (Suppl. 1): 159.
- Reiter, R. J., B. A. Richardson and T. S. King 1983 The pineal gland and its indole products: their importance in the control of reproduction in mammals. In: Relkin, R. ed. *The Pineal Gland*. New York: Elsevier Science Publishing Co., 151~199.
- Storey, A. E. and C. J. Walsh 1994 Are chemical cues as effective as pup contact for inducing paternal behaviour in meadow voles? *Behaviour* **131** (3~4): 139~151.
- Vandenberg, J. G. 1994 Pheromones and mammalian reproduction. In: Knobil, E. and J. D. Neil ed. *The Physiology of Reproduction*, 2nd Edition. New York: Raven Press, 343~359.
- Xu, Z. J., D. M. Stoddart, H. B. Ding, J. Zhang, L. Q. Qiu and Y. H. Tong 1996 The influence of housing density and adult-male soiled bedding on the growth and sexual maturation of young male *Rattus rattoides*. *Acta Zool. Sin.* **42** (1): 42~51.
- Yin, F. and J. M. Fang 1998 Mate choice in Brandt's voles (*Microtus brandti*). *Acta Zool. Sin.* **44** (2): 162~169. [尹峰, 房继明 1998 布氏田鼠的择偶行为. 动物学报 **44** (2): 162~169.]
- Zhang, J. X., Z. W. Wang and Z. B. Zhang 1999a A preliminary study of effects of estradiol on flank glands in Ratlike hamsters (*Cricetulus triton*). *Acta Theriol. Sin.* **19** (4): 262~274. [张建旭, 王祖望, 张知彬 1999a 雌二醇对大仓鼠副腺抑制作用的研究. 兽类学报 **19** (4): 262~274.]
- Zhang, J. X., Z. B. Zhang and Z. W. Wang 1999b Development and sexual differences in flank glands of Ratlike hamsters (*Cricetulus triton*). *Acta Zool. Sin.* **45** (4): 390~397. [张健旭, 张知彬, 王祖望 1999b 大仓鼠副腺的发育及性别差异. 动物学报 **45** (4): 390~397.]
- Zhang, L. and J. M. Fang 1996a Discrimination of male adult Brandt's vole (*Microtus brandti*) on group odor during nonbreeding period. *Acta Theriol. Sin.* **16** (4): 285~290. [张立, 房继明 1996a 非繁殖期成年雄性布氏田鼠对群体气味的辨别. 兽类学报 **16** (4): 285~290.]
- Zhang, L. and J. M. Fang 1999 Discrimination of male individual scent by female Brandt's vole (*Microtus brandti*). *Acta Zool. Sin.* **45** (3): 294~301. [张立, 房继明 1999 雌性布氏田鼠对雄鼠气味的辨别. 动物学报 **45** (3): 294~301.]
- Zhang, L., Y. Q. Wang and J. M. Fang 1996a Olfactory communication of Brandt's vole I: intraspecific discrimination in nonbreeding season. *J. of Beijing Normal University (Nature Science)* **32** (1): 116~119. [张立, 王煜全, 房继明 1996a 布氏田鼠的嗅觉通讯 I——非繁殖期的种内识别. 北京师范大学学报(自然科学版) **32** (1): 116~119.]

外文摘要 (Abstract)

**EFFECT OF PHOTOPERIOD AND CONSPECIFIC ODOR ON THE PLASMA TESTOSTERONE LEVEL OF MALE BRANDT'S VOLE^{*}
(*MICROTUS BRANDTI*)**

ZHANG Li SUN Ru-Yong FANG Ji-Ming

(College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China)

Chemical signals provide important cues in social behavior of many mammalian speciesly, mediating sexual, aggressive, parental and spacing behavior, as well as influencing an animal's internal hormonal milieu. Conspecific novel male's substrate was given as individual odor stimulus to adult male Brandt's voles (*Microtus brandti*) that left in individual cases in long-photoperiod (LD) and short-photoperiod (SD) resfectioely. The plasma testosterone of these male actors was mensurated by radioimmunoassay. The results indicated that plasma testosterone increased with the duration that the male vole was exposed to the odor of a novel male. Plasma testosterone concentration in LD males increased significantly than those in SD males in 30 minutes. After 1 hour or 2 hours, exposed to the novel scents, the testosterone levels of LD males were higher than SD males, but didn't show significant difference. The results demonstrated that the chemical signals induced releasing of androgen and the increase of plasma testosterone of males voles exposed to novel conspecific odors was also influenced by the photoperiod. It suggest that the change of testosterone concentration would underlie the odor producing and odor preferences of Brandt's vole.

Key words Brandt's vole (*Microtus brandti*), Photoperiod, Odor, Testosterone

* The work was supported by the grant from State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents (Grant No. 9501)
to JF