



雌性大熊猫妊娠期孕酮变化规律的研究

沈洁娜, 张丹辉, 王晓宇, 张涛, 李蓉, 高更更, 雷颖虎*

(秦岭大熊猫研究中心 (陕西省珍稀野生动物救护基地), 周至, 710402)

稿件运行过程

收稿日期: 2024-05-29

修回日期: 2024-07-28



关键词: 大熊猫;
胚胎滞育;
孕酮

Keywords: Giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*);
Embryo diapause;
Progesterone

中图分类号: Q492

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2025)-02-0321-08

DOI: 10.12375/ysdwxb.20250209

摘要

为判断雌性大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)真/假妊娠及探索大熊猫胚胎滞育各环节(胚胎发育的停滞、维持、再激活)孕酮的变化规律,对秦岭大熊猫研究中心2019—2023年参与繁殖的11只大熊猫累计30次的妊娠期孕酮变化规律进行研究。结果表明:真/假孕大熊猫配种后,早期阶段(0~8 d)孕酮水平差异显著($P < 0.05$),第0天(首次配种当天)、第2天孕酮水平差异极显著($P < 0.01$)。滞育期(93.1 ± 5.9) d,滞育期的长短可能与光周期有关。孕酮于峰值[(17.8 ± 0.9) d(真孕)]/(16.7 ± 1.4) d(假孕)]前快速上升,峰值后[(22.0 ± 0.7) d]产仔。研究结果表明,真/假孕大熊猫妊娠期孕酮变化规律极其类似,很难判断真/假妊娠,但有助于管理人员了解大熊猫所处的妊娠阶段,可预测大熊猫预产期,提高大熊猫妊娠率,防止胎儿早期流产,可为研究大熊猫胚胎滞育分子进化机制,揭示物种进化的环境适应机制和分子调控机制提供参考。

Study on Changes of Progesterone in Female Giant Panda During Pregnancy

SHEN Jiena, ZHANG Danhui, WANG Xiaoyu,
ZHANG Tao, LI Rong, GAO Gengeng, LEI Yinghu*

(Qinling Giant Panda Research Center, Rare Wildlife Rescue Base of Shaanxi Province, Zhouzhi, 710402, China)

Abstract: In order to determine pregnancy and pseudopregnancy of female giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) and explore the changes of progesterone in each stage of embryo diapause (stagnation, maintenance and reactivation of embryo sac) of giant panda, the data of 30 pregnancies of 11 giant pandas from 2019 to 2023 in Qinling Giant Panda

基金项目: 陕西省林业科学院科技创新计划专项项目(SXLK2020-0303; SXLK-2022-0204; SXLK2021-0102)

第一作者简介: 沈洁娜(1986—),女,助理工程师;主要从事大熊猫人工繁育与野生动物保护工作。E-mail: 1043879175@qq.com

*通信作者: 雷颖虎, E-mail: 346779566@qq.com

Research Center were collated and analyzed. It was found that there were significant differences in progesterone levels in the early stage (0 - 8 days) after breeding ($P < 0.05$), and there were highly significant differences in progesterone on day 0 (the day of the first breeding) and day 2 ($P < 0.01$) of pregnancies and pseudopregnancies. Diapause period were (93.1 ± 5.9) days. The duration may be related to photoperiod. Progesterone increased rapidly before (17.8 ± 0.9) (pregnant)/ (16.7 ± 1.4) (pseudopregnant) days of the pea, and litter was produced $[(22.0 \pm 0.7) \text{ d}]$ after the peak. The results show that the changes of progesterone in pregnancy and pseudopregnancy of giant pandas are very similar, and it is difficult to judge pregnancy of giant pandas, but it can help managers understand the pregnancy stage of giant pandas, predict the expected date of delivery, improve the pregnancy rate, and prevent early fetal abortion. The research could provide reference of the molecular evolution mechanism of diapause of giant pandas, reveal the environmental adaptation mechanism and molecular regulation mechanism of species evolution.

大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)属于季节性单次发情动物,一般每年春季发情一次,秋季产仔^[1]。大熊猫胚胎滞育(embryonic diapause)导致雌性大熊猫妊娠期长短变化很大,通常89~186 d^[2]。大熊猫存在假孕现象,真/假孕大熊猫妊娠期均会表现出母性行为(即筑巢和怀抱物体)、食欲下降、乳腺生长和外阴形态变化^[3-4]。国内外学者曾分别对大熊猫妊娠期尿液中雌激素、铜蓝蛋白和13,14-二氢-15-酮前列腺素 $F_{2\alpha}$ (PGFM)浓度进行检测来判断大熊猫真假妊娠,发现真孕大熊猫产前29 d雌激素浓度升高^[5],配种后1周尿液中铜蓝蛋白浓度升高^[6],真孕大熊猫尿液中PGFM和假孕相比具有较早的初始峰、较高的峰间浓度和较大的终峰^[7]。

孕酮在哺乳动物孕期具有维持妊娠的重要作用,是妊娠期最常检测的类固醇激素。本研究利用非损伤性生殖激素ELISA检测方法检测雌性大熊猫妊娠期尿液中孕酮含量,旨在判断大熊猫真/假妊娠并探索大熊猫胚胎滞育各环节(胚囊发育的停滞、维持、再激活)孕酮的变化规律,为开展相关科学研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

实验动物为秦岭大熊猫研究中心(陕西省珍稀野生动物救护基地)(34.065° N, 108.325° E;海拔500 m左右)2019—2023年参与繁殖的11只成年雌性大熊猫(表1)。调查期间,11只大熊猫共累计出

现30次妊娠,其中18例怀孕,2例未配种,受孕率为64.3%。大熊猫白天均自由出入内舍及外活动场,晚上收回内舍,灯光关闭。产前1~3周,待产大熊猫收于内舍饲养观察,内舍采光、通风均良好。

1.2 样品收集

大熊猫配种期间如因人工授精需要麻醉,对当天采尿时间不作要求,大熊猫自然排尿后及时收集,配种后每天收集新鲜晨尿,-20℃保存。

目前由于技术手段不成熟无法准确判断出大熊猫排卵时间,根据雌酮及孕酮变化判断大熊猫的一个最佳受孕窗口期,时间一般跨度1~2 d,配种2~5次(秦岭大熊猫研究中心数据)。据经验判断,首次配种时间较为关键,因此将雌性大熊猫首次配种当天记为妊娠第0天,首次配种时的孕酮值记为第0天孕酮值。未配种的大熊猫孕酮变化在时间计算方法上和配种大熊猫相同,只是没有进行授精。

1.3 检测方法

采用ELISA检测方法对大熊猫尿液中孕酮进行检测。孕酮检测试剂盒(CL425, Smithsonian Conservation Biology Institute)包含抗体(P4-Ab)、酶标抗原(P4-HRP)和标准品(P4-St)。其他常规试剂均来自Sigma-Aldrich^[8]。

1.4 数据处理

使用SPSS 22中的ANOVA程序用于多组比较中的方差分析。两组结果之间的比较通过Student双尾 t 检验进行, $P < 0.05$ 表示显著差异, $P < 0.01$ 表示极显著差异。

表1 大熊猫个体繁育基本信息
Table 1 Basic breeding information of giant pandas

编号 No.	谱系号 Studbook	出生年份 Year of birth	配种时间 Breeding time	配种方式 Breeding pattern	妊娠情况 Pregnancy status	妊娠时间 /d Gestation
1#	909	2013	2019-02-19	人工	×	
			2020-03-17	本交	×	
			2021-02-07	本交+人工	×	
			2022-05-31	本交	√	111
			2023-07-15	未配种	×	
2#	872	2013	2019-05-27	人工	×	
			2021-03-24	本交+人工	√	175
			2023-03-23	本交+人工	√	167
3#	509	2000	2019-03-27	人工	√	105
			2020-05-30	本交	√	134
			2021-06-24	人工	×	
4#	562	2003	2019-05-01	人工	√	115
			2020-07-04	人工	×	
			2021-03-12	人工	√	106
			2022-05-24	人工	×	
5#	757	2009	2021-03-26	本交+人工	√	127
			2023-04-05	本交	√	131
6#	663	2006	2019-07-05	人工	×	
			2022-05-25	人工	√	129
7#	908	2013	2019-02-13	人工	×	
			2020-02-22	人工	√	182
			2022-03-22	人工	√	154
8#	911	2014	2020-04-11	人工+本交	√	128
			2021-06-25	人工	×	
			2022-04-11	本交	√	122
9#	834	2012	2021-03-16	人工	√	122
			2023-03-29	本交	√	133
10#	672	2007	2022-03-16	本交+人工	√	133
			2023-06-21	未配种	×	
11#	1085	2017	2023-04-17	本交+人工	√	114

注：√. 真孕；×. 假孕。

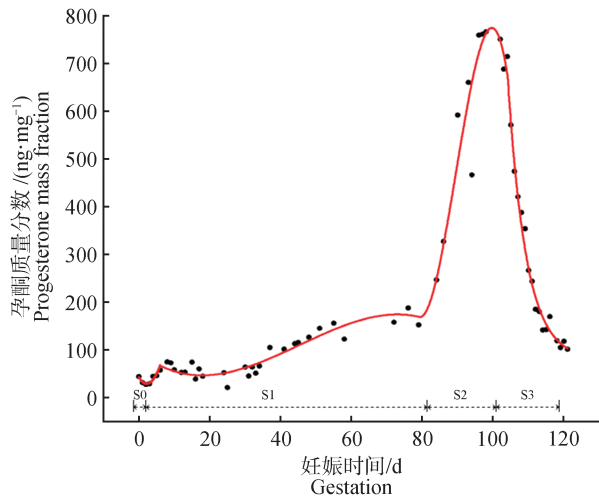
Note: √. Pregnant; ×. Pseudopregnant.

2 结果

2.1 真/假孕大熊猫妊娠期孕酮变化规律

真/假孕大熊猫妊娠期孕酮变化趋势类似,便于描述,使用OriginPro 2021对8#大熊猫2022年孕酮相

对含量变化进行非线性回归拟合(图1),将大熊猫妊娠0~2 d这一阶段记为S0,第(3±1)d到孕酮快速上升前记为S1(胚胎滞育期),孕酮快速上升到峰值记为S2(如果S1阶段从某天开始孕酮5 d内显著上升,认为从那天开始进入S2阶段),峰值到产仔记为S3。



调整后 R^2 为 0.973 19。

The adjusted R^2 of the fitting curve is 0.973 19.

图1 大熊猫妊娠期孕酮拟合曲线

Figure 1 Gestation progesterone fitting curve of giant panda

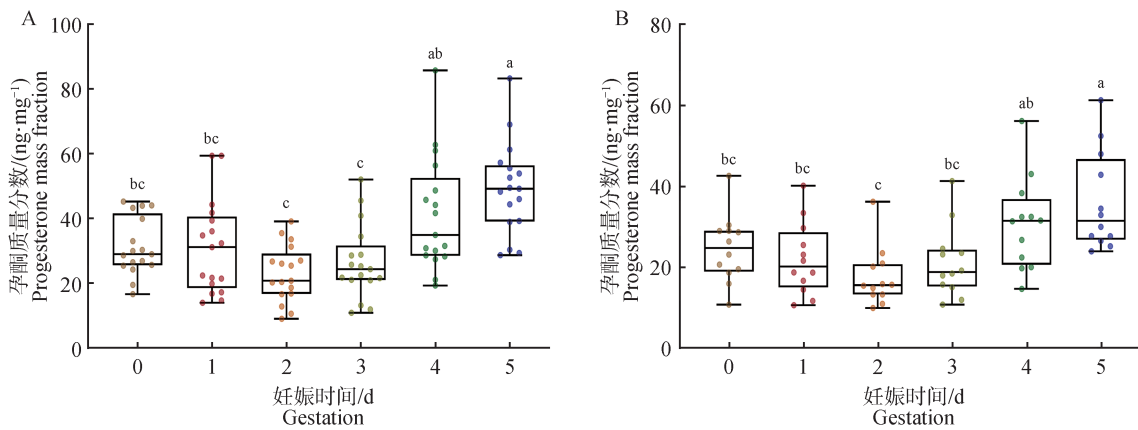
2.2 S0阶段孕酮变化

真/假孕大熊猫配种后 1~2 d 的孕酮含量与配种前相比均呈下降趋势(图2),第0天、第2天孕酮差异极显著($P < 0.01$),第1天差异显著($P < 0.05$)(图3)。

2.3 S1—S3阶段孕酮变化

真/假孕大熊猫妊娠S1初始阶段,第(3±1)天孕酮开始上升,第4天比第2天显著上升($P < 0.05$)(图2),第8天之后基本趋于稳定(图3),S1后期孕酮较前期偏高。真孕大熊猫S1时长62~142 d,平均(93.1±5.9)d,假孕大熊猫S1时长(59~135)d,平均(90.0±7.7)d,二者差异不显著(表2)。

由于大熊猫S1时长不等,不能对该阶段真/假孕每天孕酮值进行分析比较,现取S1起始后、结束前各约15 d进行对比分析(图3,图4),其中第3天、第4天、第5天和第8天差异显著($P < 0.05$)(图3),第8天后均不显著(图3,图4)。



A. 真孕大熊猫;B. 假孕大熊猫。不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

A. Pregnant giant pandas;B. Pseudopregnant giant pandas. Different lowercase letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

图2 真/假孕大熊猫妊娠0~5 d孕酮变化

Figure 2 Changes of progesterone during 0~5 days of pregnant and pseudopregnant giant pandas

表2 真/假孕大熊猫妊娠期各阶段时长及孕酮峰值

Table 2 Comparison of peak value of progesterone and time of each stage in pregnant/pseudopregnant giant panda

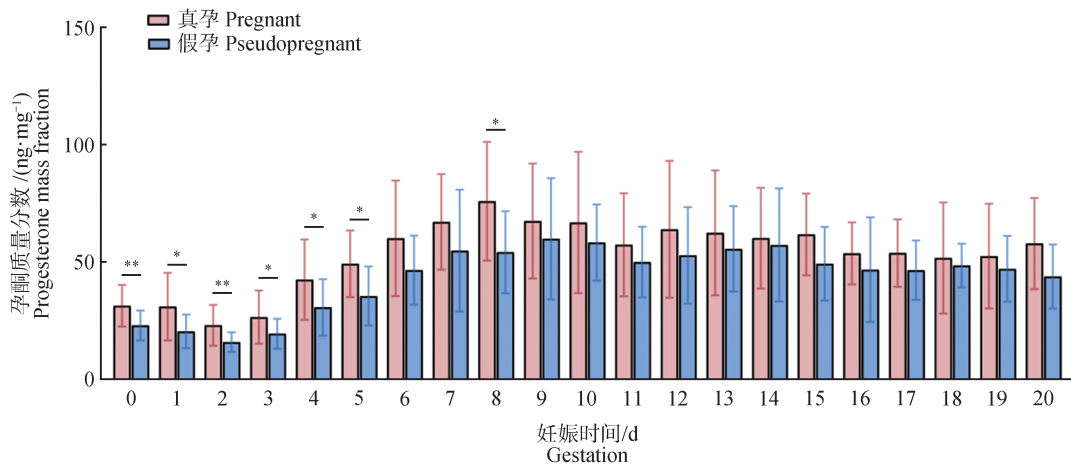
妊娠情况 Pregnancy status	S1 /d	S2 /d	S3 /d	孕酮峰值/(ng·mg ⁻¹) Progesterone peak value
真孕 Pregnant	93.1 ± 5.9	17.8 ± 0.9	22.0 ± 0.7	1 019.9 ± 86.1
假孕 Pseudopregnant	90.0 ± 7.7	16.7 ± 1.4		881.5 ± 143.4

真/假孕大熊猫S2阶段孕酮快速上升,时间及峰值差异均不显著(表2),真孕大熊猫的孕酮峰值平均为(1 019.9±86.1) ng/mg,于峰值后(22.0±0.71) d产仔。

2.4 S1长短影响因素

大熊猫S1期的长短可能受光周期影响。对本

研究中产仔大熊猫的配种时间及产仔时间做统计,发现二者差异不显著($P > 0.05$),但随着配种月份的推迟(2—5月),白天光照时间延长,大熊猫妊娠期有变短的趋势,但是差异未达到显著水平(表3)。

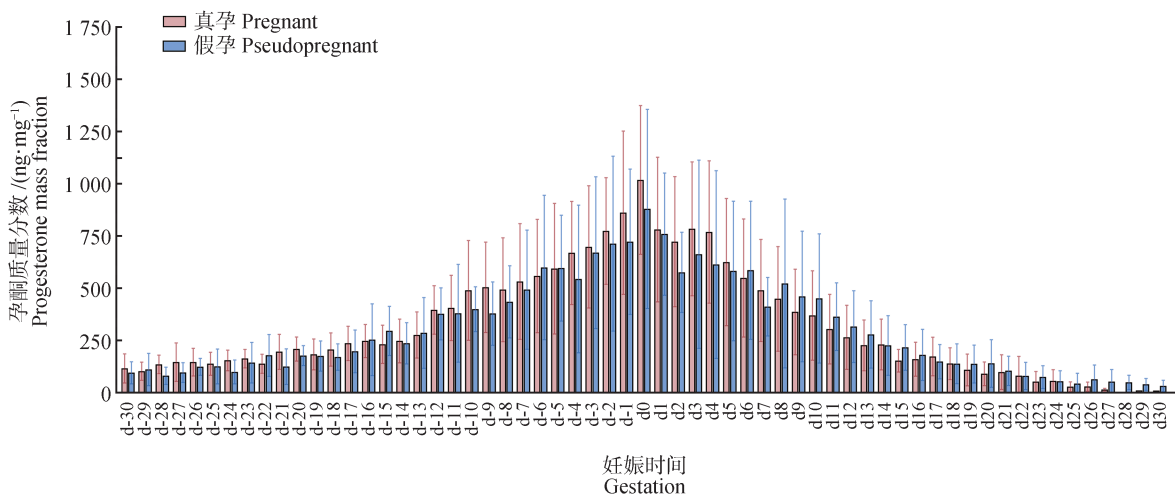


*表示显著差异($P < 0.05$); **表示极显著差异($P < 0.01$)。0~20 d为S0阶段(0~2 d)与S1起始后约15 d时间[(3±1)~20 d]。

* means significant difference ($P < 0.05$); ** means extremely significant difference ($P < 0.01$). Days 0~20 are the S0 phase (0~2 d) and about 15 days after the start of S1 [(3±1) to 20 d].

图3 真/假孕大熊猫妊娠0~20 d孕酮差异

Figure 3 Comparison of progesterone changes during 0~20 days of pregnant/pseudopregnant giant pandas



孕酮峰值当天记为d0;d0前后30 d分别记为d-1~d-30和d1~d30,包含了S1后期约15 d,S2,S3三个时间段。

The day of peak progesterone is denoted as day 0, The 30 days before and after d0 are marked as d-1 to d-30 and d1 to d30 respectively, the 30 days before and after the peak of progesterone included about 15 days at the end of S1, S2 and S3.

图4 真/假孕大熊猫孕酮峰值前后30 d差异

Figure 4 Comparison of 30 days before and after the peak of progesterone in pregnant/pseudopregnant giant pandas

表3 雌性大熊猫配种月份与妊娠期时长

Table 3 Comparison between breeding month and gestation period of female giant pandas

样本数量/只 Sample quantity	配种月份 Breeding month	妊娠时间/d Gestation
1	2	182.0
9	3	135.8 ± 8.3
4	4	123.8 ± 3.8
4	5	122.3 ± 5.5

3 讨论

3.1 胚胎滞育的启动、维持、重新激活

胚胎滞育又称延迟着床,是指囊胚期的细胞增殖过程受到抑制而导致的动物胚胎发育暂时停滞的可逆生理现象^[9]。胚胎滞育的生物学意义是让后代出生在最有利于生存的环境下,以提高后代的存活率^[10-11]。胚胎滞育分为3个阶段:(1)进入胚胎滞育;(2)胚胎滞育的维持;(3)重新激活^[12]。胚胎滞育受

光周期、哺乳刺激和营养等各方面因素的影响,同时还受激素和多种生长因子等调节^[12]。目前已在130余种哺乳动物中发现了胚胎滞育现象^[13]。近年来的研究表明,孕酮在胚泡着床过程中起着重要的调节作用^[14]。孕酮主要通过孕酮受体(progesterone receptor, PR)来起作用,PR基因敲除的小鼠表现为多种生殖障碍^[15]。关于大熊猫胚胎滞育方面的研究较少,有学者认为是黄体不足所引起^[16-17]。

本研究结果表明,大熊猫胚胎滞育各环节对应其孕酮变化:S0期孕酮下降,启动胚胎滞育;S1期孕酮维持在低水平,为胚胎滞育期;S2期孕酮快速上升,胚胎重新激活,可能于孕酮峰值附近着床;S3期孕酮逐渐下降,为胚胎发育期。

正常成年发情大熊猫繁殖期无论是否授精,无论是否成功受孕,配种后或是未配种孕酮均会下降(S0阶段),因此胚胎滞育可能是非胚胎因素。孕酮的降低可能引起子宫内环境的变化,使子宫处于非容受态,导致囊胚进入滞育,启动胚胎滞育。

大熊猫妊娠S1阶段孕酮保持低水平状态可使胚胎处于一个低增殖和维持基础代谢的水平,是由于母体子宫内环境缺少胚胎发育所必需的因子还是子宫通过抑制胚胎发育维持休眠状态尚不明确。

在水貂(*Mustela vison*)中,当光照时间延长时,褪黑激素的分泌水平下调,使催乳素释放出来,催乳素激活黄体,诱导孕酮的分泌,在孕酮的作用下最终导致胚胎着床^[18]。在大熊猫中,可能随着配种日期的推迟,光照时间逐渐延长,从而缩短了黄体形成到活化以及分泌孕酮的时间,也就缩短了胚胎在子宫内的游离期。有学者认为孕激素不是决定胚泡着床的原因而是结果^[19]。推测决定因素可能在垂体、中枢神经的控制,或是日光通过中枢神经系统影响垂体,并促使卵巢黄体化,最终导致孕激素水平变化^[19]。但也有例外,本研究中3#大熊猫2019年、4#2021年均于3月配种,但妊娠期短于5月配种的大熊猫。有研究发现,胚胎滞育再激活还和营养物质糖酵解、脂肪酸分解和亚精胺的合成代谢有关^[20]。

S2阶段子宫有可能在为胚胎活化及着床做准备。一般认为,子宫内膜的蜕膜化不仅有利于着床过程,而且在胎盘形成之前,蜕膜细胞还负责供给早期胚胎的营养^[21]。大熊猫子宫内膜的蜕膜化还有待于进一步验证。

有学者认为胚胎实际着床于子宫的时间与孕酮

水平的峰值密切相关^[22]。Zhang *et al.*^[23]利用超声波技术发现孕酮峰值出现时间与随后探测到的胎儿显著相关,因此大熊猫胚胎有可能在孕酮峰值附近着床。

3.2 大熊猫真/假妊娠判断

本研究表明,真/假孕大熊猫配种后早期阶段(0~8 d)孕酮水平差异显著(图3),第0天、第2天孕酮差异极显著($P < 0.01$)。显著差异产生的原因可能与首次配种时间的选择有关。第0天孕酮变化较快,且处于上升阶段^[8],首次配种时间选择的早晚不但会导致第0天差异极显著,还影响孕酮下降出现在第1天还是第2天,进一步导致孕酮上升出现时间差,从而造成孕酮水平差异显著。第2天有部分大熊猫孕酮下降,也有部分上升,表现差异极显著。8 d之后真/假孕大熊猫孕酮水平差异不显著。

首次配种时间选择的早晚可能会影响大熊猫是否成功配种,配种失败的大熊猫一般会表现出假孕现象,但无法排除配种时间合适仍出现假妊娠这一情况,因为孕酮变化很难反映出大熊猫是否成功排卵及受孕。真/假孕大熊猫妊娠期孕酮变化规律极其类似,因此,只从孕酮变化很难判断真/假妊娠。

犬的假孕是由于孕酮产生过多或黄体持续时间过长所引起,犬没有黄体溶解机理,不需要胎儿来延长黄体寿命^[24-25]。大熊猫的假孕黄体类型有可能与犬的相似,未孕时发情后期的长度与妊娠期相近,孕酮水平的变化范围与妊娠期相似。这种现象的发生可能是大熊猫在长期进化过程中适应环境而形成的一种生理特征,防止未受孕的大熊猫提前进入下一轮繁殖周期,保证在最适宜的季节进行繁殖,在一定程度上可以提高自身的繁殖率和后代的生存率。

本研究中大熊猫受孕率为64.3%。黄炎等^[26]曾报道中国保护大熊猫研究中心1998—2000年大熊猫以自然交配与人工授精相结合的方式配种,繁殖成功率66.7%。杨波等^[27]报道运用激素监测方法可促使自然交配受孕率达75%以上,人工授精受孕率在25%以上,甚至有接近50%的受孕率。因此,本研究首次配种“第0天”的选择和定义是较为合适的。

本研究通过对大熊猫妊娠期孕酮的监测,虽然难以判断真/假妊娠,但尝试找到大熊猫胚胎滞育的各个环节孕酮的变化规律,这有助于管理人员了解大熊猫所处的妊娠阶段,预测大熊猫预产期,加强妊

娠期管理。有研究表明,大量的胚胎损失发生在胚胎着床期前后^[12],对此阶段深入研究将有助于克服大熊猫早期胚胎损失,认识胚胎与母体相互作用及调节的机制,提高大熊猫妊娠率,防止胎儿早期流产,为研究大熊猫胚胎滞育分子进化机制,揭示物种进化的环境适应机制和分子调控机制提供参考。

参考文献:

- [1] 黄炎. 雌性大熊猫发情期雌酮的研究[D]. 成都: 四川农业大学, 2006: 9.
HUANG Y. Study on estrogens during estrus of giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*)[D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University, 2006: 9.
- [2] 黄炎, 张贵权, 张和民. 大熊猫(*Ailuropoda melanoleuca*)的繁殖研究[J]. 四川师范学院学报(自然科学版), 2001, 22(3): 203-208.
HUANG Y, ZHANG G Q, ZHANG H M. Reproduction in giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*)[J]. Journal of Sichuan Teachers College (Natural Science), 2001, 22(3): 203-208.
- [3] 周星宇, 吉礼鸿. 大熊猫的真假妊娠试验[J]. 四川林业科技, 2016, 37(6): 91-93.
ZHOU X Y, JI L H. The true and false pregnancy test of giant pandas[J]. Journal of Sichuan Forestry Science and Technology, 2016, 37(6): 91-93.
- [4] STEINMAN K J, MONFORT S L, MCGEEHAN L, et al. Endocrinology of the giant panda and application of hormone technology to species management[M]// WILDT D E, ZHANG A J, ZHANG H M, et al. Giant pandas: biology, veterinary medicine and management. Cambridge: Cambridge University Press, 2006: 198-230.
- [5] WILSON K S, WAUTERS J, VALENTINE I, et al. Urinary estrogens as a non-invasive biomarker of viable pregnancy in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) [J]. Scientific Reports, 2019, 9: 12772.
- [6] WILLIS E L, KERSEY D C, DURRANT B S, et al. The acute phase protein ceruloplasmin as a non-invasive marker of pseudo-pregnancy, pregnancy, and pregnancy loss in the giant panda[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e21159.
- [7] ROBERTS B M, BROWN J L, KERSEY D C, et al. Use of urinary 13, 14, dihydro-15-keto-prostaglandin F_{2α} (PGFM) concentrations to diagnose pregnancy and predict parturition in the giant panda (*Ailuropoda melanoleuca*) [J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0195599.
- [8] 沈洁娜, 李根新, 张强, 等. 秦岭大熊猫繁殖期尿液中生殖激素变化规律的研究[J]. 野生动物学报, 2020, 41(4): 868-872.
SHEN J N, LI G X, ZHANG Q, et al. Study on the reproductive hormones in urine of Qinling giant panda during reproduction[J]. Chinese Journal of Wildlife, 2020, 41(4): 868-872.
- [9] LOPES F L, DESMARAIS J A, MURPHY B D. Embryonic diapause and its regulation[J]. Reproduction, 2004, 128(6): 669-678.
- [10] FENELON J C, BANERJEE A, MURPHY B D. Embryonic diapause: development on hold[J]. The International Journal of Developmental Biology, 2014, 58(2/3/4): 163-174.
- [11] RENFREE M B. Embryonic diapause and maternal recognition of pregnancy in diapausing mammals [M]//GEISERT R D, BAZER F W. Regulation of implantation and establishment of pregnancy in mammals: tribute to 45 year anniversary of Roger V. Short's "maternal recognition of pregnancy". Cham: Springer International Publishing, 2015, 216: 239-252.
- [12] 栾黎明, 于浩, 杨增明. 哺乳动物的延迟着床及其分子调控[J]. 细胞生物学杂志, 2005, 27(2): 138-142.
LUAN L M, YU H, YANG Z M. Molecular regulation of delayed implantation in mammals [J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2005, 27(2): 138-142.
- [13] 刘俊, 张培君, 李松海. 哺乳动物胚胎滞育及其调控机制研究进展[J]. 兽类学报, 2022, 42(1): 95-107.
LIU J, ZHANG P J, LI S H. Review on embryonic diapause and its regulation mechanisms in mammals [J]. Acta Theriologica Sinica, 2022, 42(1): 95-107.
- [14] WANG H B, DEY S K. Roadmap to embryo implantation: clues from mouse models[J]. Nature Reviews Genetics, 2006, 7(3): 185-199.
- [15] 迟毓婧, 杨增明. 孕酮调节途径在着床过程中的作用[J]. 生理科学进展, 2008, 39(3): 275-278.
CHI Y J, YANG Z M. The role of progesterone regulation pathway in implantation [J]. Progress in Physiological Sciences, 2008, 39(3): 275-278.
- [16] 喻述容, 张志和, 余建秋, 等. 繁殖期雌性大熊猫尿中激素变化的研究[J]. 畜牧兽医学报, 2003, 34(5): 452-456.
YU S R, ZHANG Z H, YU J Q, et al. Research on the changes of sex hormones in female giant pandas' urine during estrus and gestation [J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2003, 34(5): 452-456.
- [17] 罗婵, 李键, 张志和, 等. 产仔大熊猫孕激素变化规律研究[J]. 西南民族大学学报(自然科学版), 2011, 37(5): 752-756.
LUO L, LI J, ZHANG Z H, et al. The progesterone change in parturition giant pandas [J]. Journal of Southwest University for Nationalities (Natural Science Edition), 2011, 37(5): 752-756.
- [18] 曹新燕, 刘晗璐, 赵靖波, 等. 水貂胚胎滞育的影响因素及调节机制[J]. 中国畜牧兽医, 2013, 40(3): 169-172.
CAO X Y, LIU H L, ZHAO J B, et al. Influencing factors and regulation of embryonic diapause in mink [J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2013, 40(3): 169-172.

- [19] 谢源英. 孕激素对母貂胚胎着床、产仔率和胎平均产仔数的影响[J]. 毛皮动物饲养, 1985(1): 11-13.
XIE Y Y. Effects of progesterone on embryo implantation, litter rate and average litter size of mink [J]. Fur Animal Farming, 1985(1): 11-13.
- [20] ELSAFADI S, HANKELE A K, GIESBERTZ P, *et al.* Roe deer uterine fluid metabolome reveals elevated glycolysis, fatty acid breakdown, and spermidine synthesis upon reactivation from diapause[J]. Biology of Reproduction, 2025, 112(1): 70-85.
- [21] 袁其晓. 着床和早孕的内分泌调节[J]. 生殖与避孕, 1982, 2(4): 51-56.
YUAN Q X. Endocrine regulation of implantation and early pregnancy[J]. Reproduction & Contraception, 1982, 2(4): 51-56.
- [22] TSUBOTA T, TAKAHASHI Y, KANAGAWA H. Changes in serum progesterone levels and growth of fetuses in Hokkaido brown bears [J]. Bears: Their Biology and Management, 1987, 7: 355-358.
- [23] ZHANG H M, LI D S, WANG C D, *et al.* Delayed implantation in giant pandas: the first comprehensive empirical evidence[J]. Reproduction, 2009, 138(6): 979-986.
- [24] 曹琛福, 黄群山. 母犬的假孕[J]. 广西畜牧兽医, 2005, 21(1): 25-27.
CAO C F, HUANG Q S. False pregnancy of bitch [J]. Guangxi Journal of Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2005, 21(1): 25-27.
- [25] PAPA P C, KOWALEWSKI M P. Factors affecting the fate of the canine corpus luteum: potential contributors to pregnancy and non-pregnancy[J]. Theriogenology, 2020, 150: 339-346.
- [26] 黄炎, 王鹏彦, 张贵权, 等. 大熊猫人工授精的研究[J]. 发育与生殖生物学报, 2002, 11(2): 88-94.
HUANG Y, WANG P Y, ZHANG G Q, *et al.* Efficiency of artificial insemination in giant pandas at the Wolong breeding center [J]. Developmental & Reproductive Biology, 2002, 11(2): 88-94.
- [27] 杨波, 赖燕舞, 周强, 等. 圈养雌性大熊猫发情及排卵监测方法论述及展望[J]. 四川动物, 2022, 41(3): 348-360.
YANG B, LAI Y W, ZHOU Q, *et al.* Discussion and prospect of monitoring methods for estrus and ovulation of female giant pandas in captive [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2022, 41(3): 348-360.