

田占伟,赵宗胜,林 杉,等. 新疆哈萨克绵羊在乏情期和发情期生殖激素的变化规律[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):256-259.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.02.074

新疆哈萨克绵羊在乏情期和发情期 生殖激素的变化规律

田占伟¹, 赵宗胜¹, 林 杉², 翟曼君¹, 于要升¹, 雷小萍¹

(1. 石河子大学动物科技学院, 新疆石河子 832000; 2. 石河子大学生命科学院, 新疆石河子 832000)

摘要:旨在通过检测乏情期和发情期的发情绵羊外周血液中 4 种重要生殖激素孕酮(P_4)、雌激素(E_2)、促卵泡素(LH)和促黄体素(FSH)浓度,解析绵羊乏情期和发情期哈萨克绵羊发情时生殖激素的变化规律,以期阐明哈萨克绵羊发情时生殖激素变化规律,为调控绵羊的季节性发情提高激素方面的理论。采用 ELISA 方法测定 4 种生殖激素浓度,结果表明:哈萨克绵羊 P_4 和 E_2 在发情周期内呈现波动式变化,LH 和 FSH 在发情周期内呈现脉冲式变化,且乏情期和发情期 4 种激素浓度变化显著($P < 0.05$)。

关键词:哈萨克绵羊;乏情期;发情期;生殖激素

中图分类号: S826.8⁺43 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)02-0256-04

动物的季节性发情是其通过长期的自然选择逐渐演化而形成的。有研究表明,绵羊一般属于季节性发情的动物,在短日照的秋季开始发情^[1]。其季节性发情受到下丘脑——垂体——卵巢(hypothalamic-pituitary-gonadal axis, HPG)系统的调控^[2],与绵羊的生殖激素有着密切的联系。

目前国内外专家学者对绵山羊生殖激素季节性变化进行了相关的报道。Suttie 等对绵羊的 P_4 分泌规律进行相关的研究发现,短日照可以促进 P_4 分泌,而长日照则对 P_4 的分泌具有明显的抑制作用^[3];Smith 等报道,哺乳动物一般在发情前会出现一次 E_2 峰^[4];Chemineau 等研究发现绵山羊繁殖季节血液中 LH 和 FSH 浓度均存在着季节性变化,而且繁殖季节高于非繁殖季节^[5];贺建宁等研究发现,季节性发情的滩羊在春、夏、秋、冬 4 个季节生殖激素变化显著,而常年发情的小尾寒羊生殖激素在四季变化基本稳定^[6]。

哈萨克绵羊为典型的季节性发情绵羊品种,是我国三大绵羊品种之一,产肉性能较高,尤其羔羊生长发育快,4~4.5 月龄(断奶期间)就可出栏,是生产羔羊肉的理想品种^[7],具有重要的经济价值,哈萨克羊对北疆地区的生态环境和饲草料条件具有很强的适应性,是新疆宝贵的遗传资源,但绵羊的季节性发情严重制约着哈萨克羊产业的发展。本研究以哈萨克绵羊为研究对象,分别检测哈萨克绵羊乏情期和发情期的发情绵羊生殖激素的含量,以期阐明哈萨克绵羊发情的生殖激素变化规律,为调控绵羊的季节性发情提高激素方面的理论。

收稿日期:2015-03-18

基金项目:新疆生产建设兵团博士资金专项(编号:2013BB019);国家自然科学基金(编号:31260537)。

作者简介:田占伟(1988—),男,山西大同人,硕士研究生,主要从事动物分子遗传研究。E-mail:997741489@qq.com。

通信作者:赵宗胜(1969—),男,新疆石河子人,博士,教授,主要从事动物分子遗传研究。E-mail:zhaozongsh@shzu.edu.cn。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择年龄相近、体质量接近、健康的哈萨克成年母羊 36 只,饲养与免疫措施一致,饲养于石河子大学实验站。每天让羊自主采食苜蓿,自由饮水,管理和环境条件一致,栏内散放。

1.2 哈萨克绵羊发情特征鉴定

乏情期为 3—5 月份,发情期为 8—10 月份。

绵羊的发情鉴定:采用公羊试情和外阴观察相结合的方法。选择成年种公羊,捆绑试情布,早晚各试情 1 次,并观察绵羊外阴部的变化。试情公羊接近母羊,母羊主动靠近接受公羊爬跨,而且外阴部红润肿胀,并伴随有黏液流出,鉴定为发情母羊。不发情绵羊则表现为远离试情公羊,当强制牵引接近时,往往会出现躲避行为甚至踢、咬等抗拒行为。

1.3 血液样品采集及激素测定

选择乏情期及发情期的发情绵羊,每天早晨 8:00—9:00 采集不抗凝血 1 次,每次 3 mL,共 40 d。37℃ 静置 2 h 后,3 000 r/min 离心 15 min,取上清液于干净的 1.5 mL 离心管中,放入 -20℃ 冰箱待测。用酶联免疫测定法(ELISA)试剂盒检测血清中的 P_4 、 E_2 、LH 和 FSH 的浓度。数据通过 SPSS 13.0 和 Excel 等统计软件处理,计算以上 4 种激素在血清中的平均水平和标准差,并做相应的方差分析。

2 结果与分析

2.1 哈萨克绵羊的发情特点

经过在乏情期和发情期对试验绵羊发情情况的观察记录,发现哈萨克绵羊发情表现明显,并呈现一定的规律:哈萨克羊乏情期成年母羊的发情周期为 18~20 d,发情持续时间为 24~48 h。

2.2 哈萨克发情绵羊血液中 P_4 、 E_2 、LH 和 FSH 在乏情期的变化规律

由表 1 可知,乏情期内,哈萨克发情母羊 P_4 的分泌量在

发情周期内存在显著的变化($P<0.05$),呈现波动式变化,在发情周期的第 13 天达到最高值 18.77 ng/mL;哈萨克发情母羊 E_2 的分泌量在发情期内变化显著($P<0.05$),呈现波动式变化,发情周期的第 5、10、17 天均出现局部峰值,与谢炳坤等发现哺乳动物通常在发情前后会有一个较低的 P_4 水平,其变化有利于母畜进入下一个发情周期的研究^[8]结果相同;哈萨克发情母羊 LH 的分泌量在发情周期内存在显著变化($P<$

0.05),呈现脉冲式变化,发情周期的第 4、17 天,达到发情周期的最高值,显著高于其他天数($P<0.05$);哈萨克发情母羊 FSH 的分泌量在发情周期内变化显著($P<0.05$),呈现脉冲式变化,在发情周期的前几天出现脉冲波,在第 5 天达到峰值,此后回落。LH 和 FSH 的变化与祁云霞等报道巴美肉羊的 LH 和 FSH 在发情期均呈脉冲式分泌的研究^[9]结果一致,在发情期都有 1 个峰值。

表 1 乏情期哈萨克发情绵羊血液中 P_4 、 E_2 、LH 和 FSH 的分泌量(平均值±标准误)

时间 (d)	P_4 (ng/mL)	E_2 (pg/mL)	LH (ng/mL)	FSH (ng/mL)
1	4.88±0.14h	56.14±2.99e	5.08±0.69f	1.62±0.38b
2	5.14±0.34gh	60.70±15.67e	4.40±0.58f	1.76±0.17b
3	4.82±0.48h	49.94±17.43e	4.43±0.11f	1.47±0.23b
4	4.11±0.76hi	101.20±74.02e	41.37±1.81a	1.76±0.46b
5	6.80±0.42g	375.63±14.23c	3.77±0.54f	9.59±0.21a
6	11.65±0.31de	61.81±24.68e	4.03±1.61f	2.05±0.15b
7	13.25±0.23d	44.75±3.51e	3.99±0.56f	2.44±0.46b
8	12.83±0.39d	36.51±16.35e	5.97±0.56f	1.51±0.54b
9	15.06±0.28c	115.67±23.58e	3.11±0.77f	2.79±0.78b
10	15.61±0.61c	227.04±12.03d	4.53±0.28f	3.03±0.66b
11	17.21±0.63ab	93.42±5.71e	3.92±0.36f	2.27±1.22b
12	17.75±0.48a	37.18±14.26e	5.13±0.32f	2.18±1.05b
13	18.77±0.56a	48.95±14.55e	3.96±0.42f	1.91±0.41b
14	17.15±0.23b	36.79±18.11e	7.89±0.46ef	2.41±0.07b
15	13.80±0.55cd	40.02±7.51e	11.78±0.38e	2.37±0.06b
16	11.08±0.69e	530.51±14.82b	18.65±1.17d	2.62±0.03b
17	9.98±0.75ef	913.65±39.63a	30.61±1.74b	2.65±0.15b
18	8.98±0.69f	257.71±16.88d	21.77±0.34c	1.73±0.36b
19	6.61±0.38g	64.13±10.99e	4.01±0.58e	3.12±0.05b
20	6.66±0.32g	14.01±2.97ef	5.07±0.46f	2.24±0.51b

注:同列数据后小写字母不同表示差异显著($P<0.05$)。

2.3 哈萨克发情绵羊血液中 P_4 、 E_2 、LH 和 FSH 在发情期的变化规律

由表 2 可知,发情期内,哈萨克发情母羊 P_4 的分泌量在发情周期内存在显著的变化,呈波动式变化,第 13 天前后的分泌量显著高于其余几天($P<0.05$),发情周期的前 4 d 和后 4 d P_4 的分泌量较低; E_2 的分泌量在发情周期内也存在显著变化,呈波动式变化,第 16、17、18 天的分泌量显著高于其他天数($P<0.05$),与 Smith 等报道的哺乳动物一般在发情前会出现 1 次 E_2 峰的结果^[4]相一致;LH 的分泌量在发情周期内存在显著变化,呈脉冲式变化,第 4、17 天的分泌量显著高于其他天数($P<0.05$),在第 4 天达到最高值;FSH 的分泌规律与 LH 相似,呈脉冲式变化,在第 5 天的分泌量与发情周期内的其他天数相比,结果差异显著($P<0.05$),且第 5 天的含量达到最大。发情期 LH 和 FSH 的变化趋势与乏情期相似。本研究测定 LH 和 FSH 的分泌模式与侯衍猛推论的莱芜黑山羊发情周期中促黄体素、卵泡刺激素分泌峰出现的时间可能与卵泡波出现的时间相吻合的研究结果^[10]相似。

2.4 哈萨克绵羊血液在乏情期和发情期血液中 P_4 、 E_2 、LH 和 FSH 的变化比较

由图 1 可知,哈萨克绵羊乏情期和发情期发情母羊同一

个发情周期内 P_4 变化趋势相同,在发情周期的第 12、13、14、15、16 天 P_4 的发情期的发情母羊的 P_4 分泌量显著大于乏情期($P<0.05$),其在发情周期的其他天数,发情期发情绵羊体内 P_4 的含量基本高于乏情期。研究结果与赵晓娥等研究 P_4 主要由黄体分泌、呈波动式分泌^[11]的结果一致。

由图 2 可知,哈萨克绵羊乏情期和发情期发情母羊同一个发情周期内 E_2 变化趋势相同,但在发情周期的第 16、17、18 天,乏情期和发情期发情绵羊的 E_2 含量均达到发情周期的最高水平,且发情期发情绵羊 E_2 的分泌量显著高于乏情期($P<0.05$),在发情周期的其他天数里,乏情期和发情期发情母羊 E_2 的含量分泌稳定。本研究结果与 Smith 等报道的哺乳动物一般在发情前会出现 1 次 E_2 峰的结果^[4]相一致,提示 E_2 的大量分泌是绵羊发情的必要前提。

由图 3 可知,哈萨克绵羊乏情期和发情期发情母羊同一个发情周期内 LH 变化趋势相同,发情期发情绵羊 LH 的分泌量在发情周期的第 4、9、17、19 天显著大于乏情期($P<0.05$),但在第 15 天,发情期发情绵羊 LH 的分泌量却显著低于乏情期($P<0.05$),这可能与绵羊的个体差异性相关;在发情周期的其他天数乏情期和发情期 LH 的分泌量差异不显著($P>0.05$)。

表 2 发情期哈萨克发情绵羊血液中 P₄、E₂、LH 和 FSH 的分泌量(平均值±标准误)

时间 (d)	P ₄ (ng/mL)	E ₂ (pg/mL)	LH (ng/mL)	FSH (ng/mL)
1	7.04 ± 0.75f	73.85 ± 6.22e	5.31 ± 0.51f	3.74 ± 0.05b
2	6.16 ± 0.77f	73.40 ± 3.88e	6.17 ± 0.75f	2.15 ± 0.29c
3	4.2 ± 0.65fg	65.21 ± 3.22e	6.00 ± 0.63f	2.56 ± 0.09b
4	5.87 ± 0.47f	115.24 ± 58.53e	45.55 ± 0.84a	3.60 ± 0.38b
5	7.58 ± 0.64e	360.75 ± 15.81c	6.06 ± 0.32f	11.27 ± 0.43a
6	12.73 ± 0.38cd	83.48 ± 67.86e	6.11 ± 0.49f	3.15 ± 0.38b
7	13.60 ± 0.37c	52.82 ± 0.81e	5.04 ± 0.85f	3.04 ± 0.18b
8	14.86 ± 0.51bc	52.87 ± 4.97e	7.20 ± 0.22f	2.90 ± 0.38b
9	16.33 ± 0.51b	141.10 ± 43.68e	6.28 ± 0.54f	2.66 ± 0.33b
10	17.36 ± 0.38b	262.49 ± 6.84d	5.91 ± 0.82f	3.49 ± 0.60b
11	18.09 ± 0.74ab	123.01 ± 36.67e	5.51 ± 0.52f	3.58 ± 0.18b
12	19.81 ± 0.46a	53.41 ± 0.26e	5.17 ± 0.23f	2.88 ± 0.07b
13	20.96 ± 0.72a	45.48 ± 14.88e	5.68 ± 0.15f	3.12 ± 0.65b
14	19.35 ± 0.99a	74.40 ± 4.99e	7.21 ± 0.52ef	2.19 ± 0.21bc
15	16.88 ± 0.58b	45.46 ± 0.58e	9.05 ± 0.35e	2.44 ± 0.09b
16	14.54 ± 0.21c	628.59 ± 45.24b	20.39 ± 0.08d	3.82 ± 1.12b
17	11.33 ± 0.51d	1021.40 ± 22.01a	32.40 ± 2.57b	2.95 ± 0.47b
18	9.26 ± 0.02e	304.89 ± 56.54d	23.97 ± 0.65c	2.51 ± 0.14b
19	8.23 ± 0.02e	60.65 ± 9.94e	8.43 ± 0.49e	1.84 ± 0.28c
20	7.26 ± 0.03ef	59.31 ± 7.15ef	5.22 ± 0.82f	2.68 ± 0.04b

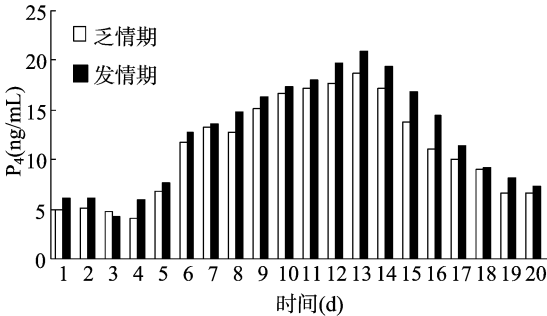


图1 哈萨克发情母羊乏情期与发情期分泌 P₄ 的变化比较

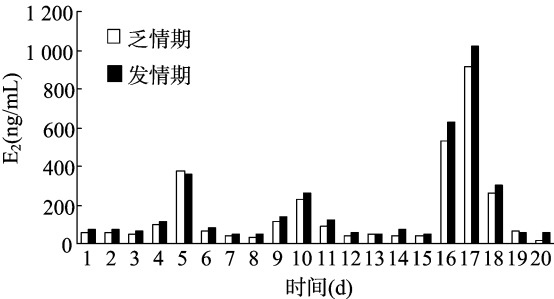


图2 哈萨克发情母羊乏情期与发情期分泌 E₂ 的变化比较

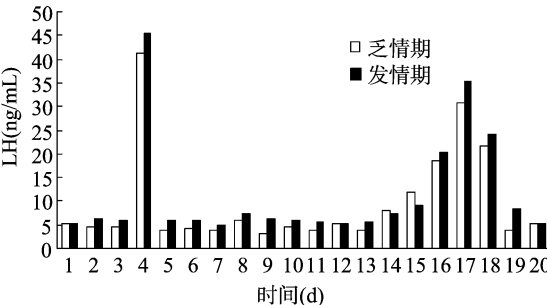


图3 哈萨克发情母羊乏情期与发情期分泌 LH 的变化比较

由图 4 可知,哈萨克绵羊乏情期和发情期的发情母羊同一个发情周期内 FSH 变化趋势相同,在发情周期的第 1、4、5 天,发情期发情绵羊 FSH 的分泌量极显著高于乏情期的发情绵羊 ($P < 0.01$);在发情周期的第 6、8、11、13、16 天,发情期发情绵羊 FSH 的分泌量显著高于乏情期的发情绵羊 ($P < 0.05$);研究结果与祁云霞等报道巴美肉羊的 LH 和 FSH 在发情期均呈脉冲式分泌^[9]的研究结果一致,在发情期都有 1 个峰值。

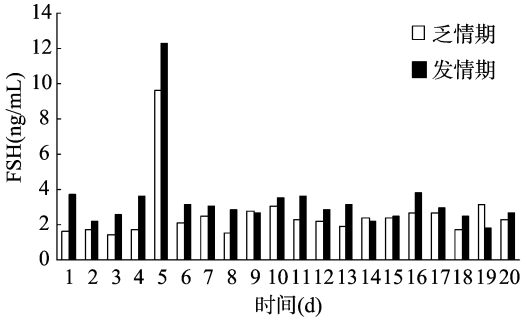


图4 哈萨克发情母羊乏情期与发情期分泌 FSH 的变化比较

3 讨论

3.1 孕酮主要由卵巢上的黄体分泌

自然情况下, P₄ 和 E₂ 通过协同和拮抗作用进行复杂的调节,共同作用于母畜的生殖活动。Suttie 等对绵羊的 P₄ 分泌规律进行了相关研究发现,短日照可以促进 P₄ 分泌,而长日照则对 P₄ 的分泌具有明显的抑制作用^[3],本试验的哈萨克绵羊 P₄ 在乏情期和发情期的变化结果与之相一致。依据 Sogorescu 等研究发现,喀而巴仟山羊进入繁殖季节后, P₄ 的浓度开始升高,并在繁殖的旺盛期达到最大值^[12],本研究结果与之相一致,试验中处于发情期的哈萨克绵羊 P₄ 的浓度

普遍大于乏情期时 P_4 的浓度,这可能与绵羊在发情期达到哈萨克绵羊发情的高峰期和绵羊个体之间的互相影响有关。

3.2 雌激素由卵泡内膜和颗粒细胞分泌

雌激素具有促进尚未成熟母畜生殖器官的生长发育,促使成年母畜发情等一系列与生殖生理有关的功能。Smith 等报道哺乳动物一般在发情前会出现 1 次 E_2 峰^[4],本研究结果与之一致,无论是在乏情期还是发情期,绵羊发情必然伴随 E_2 的大量分泌;高云芳等测定不同季节雌性川金丝猴尿液中的雌二醇浓度,结果显示繁殖季节 E_2 滤泡期和黄体期的分泌水平分别是非繁殖季节的 72.13 倍和 89.91 倍,表明 E_2 的分泌具有显著的季节性差异^[13];本研究结果与之相一致,试验中发情期的哈萨克绵羊 E_2 的含量高于乏情期,在发情周期的第 17 天左右远远高于乏情期 E_2 的分泌量。但也有研究报道, E_2 的分泌量在萨福克绵羊的体内四季保持相对稳定的变化^[14],本研究结果与之不一致,这可能与绵羊的品种、所处地域及样品的采集时间等不同有关。

3.3 促黄体素是由垂体嗜碱性细胞分泌

促黄体素的作用是协同促卵泡素促使卵泡发育成熟,并分泌雌激素。据 Chemineau 等研究报道,山羊血液中 LH 的浓度存在明显的季节性变化,乏情期浓度较低,进入发情期时显著上升^[5];Billings 等研究表明,萨福克绵羊在乏情季节母羊的 LH 浓度低,在发情季节 LH 的浓度较乏情季节高^[15];同时有研究发现,小尾寒羊、滩羊、同羊血液中的 LH 浓度及 LH 脉冲频率有着明显季节性变化,春分之时 LH 浓度低,而在夏至和秋分之时显著升高^[16];本试验结果与之相一致,哈萨克绵羊在发情期 LH 的分泌量高于乏情期绵羊的分泌量,并有显著差异。

3.4 促卵泡素是腺垂体嗜碱性细胞分泌的糖蛋白质激素之一

促卵泡素可以促进绵羊子宫内膜生产、排卵、刺激多卵泡发育等功能,同时也可刺激卵泡生长至成熟。祁云霞等报道巴美肉羊的 LH 和 FSH 在发情期均呈脉冲式分泌,在发情期都有 1 个峰值^[9];本试验中测得无论乏情期还是发情期,发情母羊 FSH 在发情期内均是呈现脉冲式变化,与其结果一致。Chemineau 等研究发现绵山羊繁殖季节血液中 LH 和 FSH 浓度均存在着季节性变化,而且繁殖季节高于非繁殖季节^[5];本研究结果与之相一致,发情期哈萨克绵羊 FSH 的分泌量高于乏情期的分泌量。

4 结论

通过研究发现,哈萨克绵羊在乏情期和发情期均可发情,而且发情表现明显,并呈现一定的规律:哈萨克羊乏情期成年母羊的发情周期为 18~20 d,发情持续时间为 24~48 h。哈萨克绵羊 P_4 和 E_2 在发情周期内呈现波动式,LH 和 FSH 在发情周期内呈现脉冲式变化,乏情期和发情期 4 种激素浓度变化显著($P<0.05$),发情期内激素的浓度普遍高于乏情期内激素的含量。

参考文献:

- [1] Ortavant R, Pelletier J, Ravault J P, et al. Photoperiod: main proximal and distal factor of the circannual cycle of reproduction in farm mammals [J]. Oxford Reviews of Reproductive Biology, 1985, 7 (4): 305 - 345.
- [2] Greives T J, Mason A O, Scotti M, et al. Environmental control of kisspeptin: implications for seasonal reproduction [J]. Endocrinology, 2007, 148 (3): 1158 - 1166.
- [3] Suttie J M, Gluckman P D, Butler J H, et al. Insulin - like growth factor 1 (IGF - 1) antler - stimulating hormone? [J]. Endocrinology, 1985, 116 (2): 846 - 848.
- [4] Smith J F, Fairclough R J, Payne E, et al. Plasma hormone levels in the cow: I. Changes in progesterone and oestrogen during the normal oestrous cycle [J]. New Zealand Journal of Agricultural Research, 1975, 18 (2): 123 - 129.
- [5] Chemineau P, Gauthier D, Poirier J C, et al. Plasma levels of LH, FSH, prolactin, oestradiol - 17 β and progesterone during natural and induced oestrus in the dairy goat [J]. Theriogenology, 1982, 17 (3): 313 - 323.
- [6] 贺建宁, 王金鑫, 狄冉, 等. 常年发情和季节性发情绵羊在不同季节生殖激素变化规律 [J]. 畜牧兽医学报, 2013, 44 (10): 1547 - 1553.
- [7] 贾琦珍, 杨菊清, 罗康波, 等. 特克斯县哈萨克羊品种资源概况 [J]. 新疆畜牧业, 2012 (1): 23 - 26.
- [8] 谢炳坤, 覃兆鲜, 公方强, 等. 沼泽型水牛发情期血清生殖激素的变化规律研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44 (5): 18 - 21.
- [9] 祁云霞, 何小龙, 刘晓芳, 等. 巴美肉羊发情期血清 FSH 和 LH 浓度变化规律及其与产羔数关系分析 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2014 (7): 17 - 20.
- [10] 侯炳猛, 曹洪防, 徐云华, 等. 莱芜黑山羊发情周期中 FSH、LH、 E_2 和 P 的分泌规律 [J]. 中国兽医学报, 2006, 26 (3): 340 - 343.
- [11] 赵晓娥, 俞晓丽, 李运生, 等. 泌乳期小尾寒羊 5 种生殖激素的变化规律研究 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2011 (10): 63 - 70.
- [12] Sogorescu E, Zamfirescu S, Anghel A H, et al. Seasonal variations of progesterone level and characteristics of breeding season and anoestrus period on Carpathian goats [J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2012, 11 (9): 1472 - 1477.
- [13] 高云芳, 高更更, 白绪祥, 等. 雌性川金丝猴尿液中雌二醇与孕酮水平的季节性变化 [J]. 西北大学学报: 自然科学版, 2005, 35 (5): 592 - 596.
- [14] Goodman R L, Bittman E L, Foster D L, et al. Alterations in the control of luteinizing hormone pulse frequency underlie the seasonal variation in estradiol negative feedback in the ewe [J]. Biology of Reproduction, 1982, 27 (3): 580 - 589.
- [15] Billings H J, Vigueiré C, Karsch F J, et al. Temporal requirements of thyroid hormones for seasonal changes in LH secretion [J]. Endocrinology, 2002, 143 (7): 2618 - 2625.
- [16] 张小辉. MLT、LH 和 FSH 对绵羊季节性发情的调控作用研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2004.