

# 超排绵羊血液激素水平与超排效果

王玉琴, 赵有璋\*, 李发弟 (1. 河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳471003; 2. 甘肃农业大学, 甘肃兰州730070)

**摘要** 研究超排绵羊血液激素水平的动态变化与排卵结果的关系, 以预测超排效果。用放射免疫法测定血清中促卵泡素(FSH)、促黄体素(LH)、孕酮(P<sub>4</sub>)、雌二醇(E<sub>2</sub>)和促乳素(PRL)5种激素动态变化。结果, 处理期间, 超排无反应组羊血清中FSH水平显著低于超排有反应组和对照组(P < 0.05); 处理组雌激素水平呈不规则升降, 超排无反应组于发情日高于超排有反应组和对照组; 对照组, LH于发情日峰值为4.04 ± 2.98 mIU/ml; 超排无反应供体羊血清中P<sub>4</sub>水平的变化与超排有反应组的变化趋势相反; PRL在试验组和对照组间未发现差异。可见, 处理后绵羊血清中部分激素的变化可作为预测超排效果的依据。

**关键词** 超数排卵; 生化指标; 绵羊

中图分类号 S826 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2006)19-4934-03

## Study on the Hormone of Blood and Superovulation in Ewes

WANG Yuqin et al (College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003)

**Abstract** The correlation of dynamic changes of some hormones and the ovulating response used to forecast the sheep's super-ovulates efficiency were studied. Serum concentration of FSH, LH, E<sub>2</sub>, P<sub>4</sub> and PRL was analyzed with radioimmunoassay (RIA) and RIA kits. The results were as follows: during the treatment, the serum concentrations of FSH in non-ovulating response group was significantly lower (P < 0.05) than that of in good ovulating response group and control Group. The change of E<sub>2</sub> was irregular in two treatment groups, and it were higher in good ovulating response group than that of in other two groups on estrus day, and at the same day the peak of LH was found (4.04 ± 2.98 mIU/ml). During treatment, the concentrations and the change patterns of progesterone differed significantly between two treatment groups. No significant differences of PRL were found in three experimental groups. It was concluded that some hormones could be used as the basis to evaluate the efficiency of superovulation.

**Key words** Animal science; Superovulation; Hormones; Sheep

放射免疫法(RIA)的问世, 为动物生殖内分泌的研究提供了有效的研究方法和手段, 国内外在这一领域的研究取得了巨大的进展。Nsvender等测定了牛羊的促黄体素的水平<sup>[1]</sup>; Akbar等测定了牛发情周期血浆中促卵泡素的水平<sup>[2]</sup>。Karg等研究了牛促乳素的释放规律<sup>[3]</sup>。曾国庆等对滩羊发情周期血液中促黄体素、雌二醇17(E<sub>2</sub>)及孕酮的含量进行测定, 并对整个怀孕期孕酮含量变化规律作了研究<sup>[4]</sup>。徐直等测定黑白花奶牛发情周期血中促卵泡素、促黄体素、促乳素、孕酮和雌二醇的含量变化及规律<sup>[5]</sup>。在绵羊超排生产中, 研究上述激素的变化与排卵结果的关系未见报道。该研究建立在规模化绵羊胚胎移植生产的基础上, 研究绵羊超排过程中, 正常发情周期、几种相关激素变化与超排结果的关系, 为进一步探讨和建立超排效果评价体系提供理论依据。

## 1 材料与方

**1.1 试验动物和试验地点** 试验动物为经过超排处理的18只肉用品种绵羊, 12只非超排、且发情一致的纯种肉用绵羊作对照。激素测定于兰州空军医院进行。

**1.2 主要试剂** 促卵泡素(FSH)、促黄体素(LH)、孕酮(P<sub>4</sub>)、雌二醇(E<sub>2</sub>)、促乳素(PRL)5种放射免疫测定试剂盒均购于天津协和医药科技有限公司。

**1.3 主要仪器** 普通离心机, 上海精密仪器二厂生产; 756CRT紫外/可见分光光度计; 冰箱(常规、低温), 海尔公司; Eppendorf移液枪(0.1~10 μl、10~50、20~200、100~1000 μl); 数显恒温水浴锅HH4型, 国华产; FT-630G, 微机多探头计数器, 北京核仪器厂生产。

## 1.4 主要方法

**1.4.1 血样的采集和处理。** 在超排过程中, 从绵羊埋栓

(含孕酮的CIDR)之日起, 每隔72 h从颈静脉采血10 ml, 连续采血5次, 第4次(第4次采样是绵羊发情日, 同时是超排处理期间)和第5次采血间隔时间为6 d(测得数据实为采血日早、晚2次平均值)。现场离心后, 分离血液, 分装在1.5 ml离心管中, 于-20℃条件下保存。试验分处理I、II和对照组(CK)。处理I为有超排反应, 处理II为绵羊经过超排, 但无排卵反应; 对照组为非超排绵羊在发情周期的相应时间所测得数据。对照组是在发情周期中相应的时间和配种后第7天采血。

**1.4.2 生物物质的测定方法。** 促卵泡素(FSH)、促黄体素(LH)、孕酮(P<sub>4</sub>)、雌二醇(E<sub>2</sub>)、促乳素(PRL)按试剂盒说明并加以修改进行测定。

**1.5 数据处理** 所有数据均用SPSS 11.5统计软件统计。各组数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 并用t检验分析试验组和对照组均数间差异的显著性。

## 2 结果与分析

绵羊同期发情和超排期间, 在处理前, 处理II和对照组的FSH接近, 分别为(0.32 ± 0.09)、(0.38 ± 0.08) mIU/ml, 低于处理I的(0.73 ± 0.46) mIU/ml。FSH在超排有反应组于发情时(即第4次采样时)达最高值, 为(0.98 ± 0.47) mIU/ml, 显著低于对照组峰值(1.42 ± 0.48) mIU/ml (P < 0.05), 高于超排无反应组的(0.28 ± 0.02) mIU/ml, 差异显著(P < 0.05)。LH在处理I、II和对照组中, 第3次采样以前, 变化趋势基本一致, 处理II值低于处理I和对照组。于第4次采样时, 对照组显著升高, 为(4.04 ± 2.98) mIU/ml, 移植时又显著下降到(0.44 ± 0.03) mIU/ml, 与处理I和处理II差异显著(P < 0.05)。

绵羊经同期发情处理后, 血清E<sub>2</sub>的水平在处理I和II组中分别由处理前的(2.74 ± 1.48)、(2.15 ± 1.02) pg/ml升至(4.66 ± 2.13)和(3.94 ± 2.05) pg/ml。但经促超排后, 超排有反应组下降, 稳至发情配种时, 采胚时又升至最高

基金项目 河南科技大学人才科学研究基金资助(09001095); 甘肃省“十五”科技攻关项目(GS012-A41-042)。

作者简介 王玉琴(1972-), 女, 内蒙古赤峰人, 博士, 副教授, 从事动物遗传育种与繁殖研究。\* 通讯作者。

收稿日期 2006-06-27

(4.90 ± 1.91) pg/ml。超排无反应组于处理后继续升高,于发情时下降至与超排有反应组和对照组接近。对照组血清 E<sub>2</sub> 水平在发情周期基本稳定。

绵羊经 P<sub>4</sub> 处理后,第2次采样时,血清 P<sub>4</sub> 水平显著升高,处理 I 和 II 分别由处理前的(9.70 ± 2.50)、(9.55 ± 2.31) ng/ml 升高至第2次采样时的(17.45 ± 3.72)、(20.44 ± 4.62) ng/ml。处理 I 于第3次采样时达峰值(23.01 ± 12.67) ng/ml,而处理 II 此时处于最低值(1.04 ± 0.98)

ng/ml,第4次采样时,处理 I P<sub>4</sub> 水平下降,而处理 II 升高,且差异显著(P < 0.05)。对照组的血清 P<sub>4</sub> 水平基本处于稳定状态,但发情日较低。

血清 PRL 水平在绵羊同期发情和超排期间的变化趋势在超排有反应组和超排无反应组相似,在发情日,对照组高于超排有反应组和超排无反应组,3组试验值分别为(6.48 ± 1.10)、(3.45 ± 1.05)和(4.26 ± 1.28) ng/ml。在采胚时对照组又低于超排有反应组和超排无反应组(P < 0.05)。

表1 超排绵羊激素水平测定结果

采样次数	FSH mIU/ml			LH mIU/ml			E <sub>2</sub> pg/ml		
	I	II	CK	I	II	CK	I	II	CK
1	0.73 ± 0.46 a	0.38 ± 0.08 b	0.32 ± 0.09 b	0.86 ± 0.44 a	0.38 ± 0.09 b	0.83 ± 0.62 a	2.74 ± 1.48 a	2.15 ± 1.02 a	2.35 ± 0.19 a
2	0.52 ± 0.35	0.22 ± 0.32	1.11 ± 0.08	0.92 ± 0.38	0.40 ± 0.08	1.12 ± 1.08	4.66 ± 2.13 b	3.94 ± 1.05	2.35 ± 0.23
3	0.55 ± 0.42	0.38 ± 0.08	0.95 ± 0.25	0.77 ± 0.36	0.38 ± 0.09	0.41 ± 0.05	3.26 ± 1.04	4.59 ± 0.98	2.79 ± 0.47
4	0.98 ± 0.47 a	0.28 ± 0.02 b	1.42 ± 0.48 a	0.87 ± 0.42 a	0.67 ± 0.10 a	4.04 ± 2.98 b	3.18 ± 1.32 a	3.73 ± 1.31 a	2.95 ± 1.61 a
5	0.27 ± 0.14 a	0.35 ± 0.07 a	0.64 ± 0.16 b	1.42 ± 0.17 a	1.44 ± 0.25 a	0.44 ± 0.03 b	4.90 ± 1.91 a	3.99 ± 1.26 a	2.43 ± 0.14 b

  

采样次数	P <sub>4</sub> ng/ml			PRL ng/ml		
	I	II	CK	I	II	CK
1	9.70 ± 2.50 a	9.55 ± 2.31 a	4.22 ± 0.71 b	2.14 ± 1.31 a	0.46 ± 0.08 b	1.72 ± 2.30 a
2	17.45 ± 3.72	20.44 ± 4.62	6.74 ± 3.63	1.41 ± 0.27	1.42 ± 0.38	2.30 ± 2.05
3	23.01 ± 12.67	1.04 ± 0.98	3.67 ± 0.27	1.81 ± 0.94	2.55 ± 0.75	2.64 ± 2.47
4	8.93 ± 2.68 a	20.67 ± 5.19 b	2.56 ± 0.13 c	3.45 ± 1.05 a	4.26 ± 1.28 a	6.48 ± 1.10 b
5	15.83 ± 3.57 a	1.57 ± 0.27 b	3.67 ± 0.33 b	1.85 ± 1.197 a	2.05 ± 0.95 a	0.21 ± 0.28 b

注:同一测定项目中同一行数据小写字母不同者表示差异显著(P < 0.05)。

### 3 讨论

**3.1 生殖激素对卵泡发育的调控作用** 由于促超排卵可引起多个卵泡发育和多个黄体形成,使机体内分泌水平发生明显的变化。研究发现,FSH和LH是卵巢卵泡发育和分化的外源调控因子,它们各自受体在卵泡上表达的数量和活性以及卵泡内激素和蛋白因子的合成水平不仅制约着FSH和LH的作用效果,而且反馈性地调节着FSH和LH的分泌水平。FSH对雌性动物的主要作用是刺激卵泡的生长和发育。FSH的分泌受下丘脑GnRH、卵泡抑素、激动素等直接调节而促进FSH的分泌,同时也受卵泡分泌的雌激素通过抑制FSH分泌而进行的反馈调节。用外源激素对绵羊进行同期发情和超排处理后,其血液相关激素水平发生了动态变化。

**3.2 超排绵羊血液激素水平发生的变化与排卵效果有关** 试验中超排无反应组绵羊的FSH水平显著低于超排有反应组,而对于个体而言,可能由于卵泡发育的不同步,造成超排个体无显著反应,表现在激素水平上与超排反应良好的个体存在显著差异。研究表明<sup>[6]</sup>,产羔性能高的绵羊品种较之性能低的品种含有较高浓度的FSH(Diancourt, 1991),笔者的研究中较低浓度的FSH出现在超排无反应组,支持上述观点。另外,超排无反应组发情日低的FSH和高的P<sub>4</sub>水平提示二者存在必然的协同关系,该试验表明二者存在负相关( $r = 0.393$ ,  $P > 0.05$ )。

当LH水平低时,约有62.5%母羊于24h内发情,说明LH水平的高低与发情同期化程度有关<sup>[7]</sup>。报道指出,应用GnRH及其类似物时,发现超排动物在发情后的LH水平低于非超排动物,有的动物缺乏LH峰,而且没有采集到胚胎的超排动物的LH水平最低。笔者的试验在超排期未发现

LH明显峰值,由于LH强的脉冲性分泌,可能与取样时间间隔时间长有关,但超排有反应组于取卵日达峰值。徐向明等<sup>[8]</sup>在山羊上作超排试验研究时,与此结论一致。叶红等在人上研究表明,血清中低浓度的LH致卵泡内环境中的雌激素相对缺乏,不适宜卵子成熟,表现为卵子成熟时间延长,受精率下降,早期流产率增加<sup>[9]</sup>。笔者的试验从绵羊开始处理至发情前的几次采样中,超排无反应组的LH血清浓度低于超排有反应组,可能由于上述原因所致。

Greve等研究指出,超排发情牛血清E<sub>2</sub>水平明显高于非处理牛<sup>[10]</sup>,笔者的研究结果为超排有反应组和超排无反应组血清E<sub>2</sub>水平高于非处理组羊,支持上述观点。钟依平等在人上研究控制性超排卵时,指出多卵泡的发育产生高水平的E<sub>2</sub>,血浆E<sub>2</sub>水平的高低反映卵泡的分泌功能,E<sub>2</sub>水平与双卵巢内的卵泡数量及大小有关,代表卵巢对控制性超排卵的反应程度,间接反映卵母细胞的质量<sup>[11]</sup>。采卵日超排有反应组平均雌激素浓度高于超排无反应组,可用上述观点解释。

黄群山等对非超排西农萨能奶山羊妊娠期外周血浆P<sub>4</sub>、17-雌二醇和皮质醇的变化的研究表明,外周血浆P<sub>4</sub>水平在配种日最低,为0.5 ng/ml<sup>[12]</sup>。笔者的试验中配种日最低值为8.93 ng/ml,配种后7d为15.83 ng/ml,水平较高可能是由于超排时用P<sub>4</sub>进行同期发情的缘故。该试验中超排无反应组中血清P<sub>4</sub>水平低峰值比超排有反应组提前出现,可能是卵泡期提前出现,至配种时卵泡成熟期已过,或未成熟的卵子还没有发育完全,因而导致超排时没有任何胚胎或卵子出现。

研究表明,PRL在妊娠过程中发挥重要作用,但关于超排过程中对PRL的分泌情况的研究报道不多。该试验各组

PRL 的变化趋势基本一致,可能超排因素不直接影响 PRL 的分泌。

**3.3 激素间的协同作用为预测超排结果进一步提供信息**  
激素间的协同作用研究表明,绵羊一般在发情周期的第 14 天进入卵泡期,此时的  $P_4$  水平急剧下降,失去反馈作用,引起 LH 剧增,出现排卵前 LH 峰(最高值可达  $32 \times 10^{-9}$  g/ml),同时雌激素水平也迅速升高,其峰值可达  $14 \times 10^{-9}$  g/ml。排卵前后几天内,外周血中的  $P_4$  水平较低,至 3~11 d 迅速升高。绵羊在黄体期至少出现 2 个卵泡生长波,相应地有 2 个雌激素水平峰值,第 2 个峰愈明显,排卵率就越高。如果能准确探测到第 2 个峰值出现时间及其规律,那么在生产中具有非常重要的指导意义。

Karch 等研究了绵羊排卵前  $P_4$ 、LH 和雌激素的变化关系,结果表明,LH 峰值出现前 48~60 h,黄体开始急剧退化,导致血中  $P_4$  浓度急剧下降。同时血中 LH 浓度相应地开始缓慢升高,约达原来水平的 5 倍,并持续约 48 h。此时卵泡也大量分泌雌激素,且与血中 LH 增加相平行,持续 48 h 约达到原来水平的 5 倍,与 LH 相同。雌激素水平的升高,促使垂体释放大量 LH 而引起排卵<sup>[13]</sup>。Aniridis 等在雪维特羊上作试验测定黄体数目与  $P_4$  水平的关系,当黄体平均数目分别为 9~13 和大于 13 时,血中的  $P_4$  水平分别为 23.2 和 27.2 ng/ml,而黄体数分别为 0~3 和 4~8 个时,母羊的  $P_4$  水平则分别为 4.6 和 13.1 ng/ml<sup>[14]</sup>。因此说明,血清中  $P_4$  水平与黄体数目呈显著的正相关,当不能准确测定所形成黄体的数目时,通过测定血中  $P_4$  水平,可以预测母羊的排卵反应。Santiago-Moreno 等在研究  $P_4$  水平与黄体的关系时也指出,血浆  $P_4$  水平和黄体的质量可以作为选择受体羊的标准。这样可能通过测定  $P_4$  水平,并结合超声波测定黄体技术获取相关信息以充分发挥并利用受体母羊的潜力<sup>[15]</sup>。该研究结果分析表明,在发情日,黄体存在的数目与  $P_4$  水平呈正相关( $r = 0.236, p > 0.05$ ),在超排日,黄体数目与  $P_4$  水平呈显著正相关( $r = 0.821, P < 0.01$ ),与报道的一致。在生产上进行大规模绵羊超排时,可以通过测定  $P_4$  水平预测供体羊超排效果,避免对无超排反应的供体羊继续施行不必要的手术采卵,从而节约成本和时间,也有利于供体羊以后的繁

殖和健康。

#### 4 小结

相关激素在超排绵羊血液中的动态变化得到进一步研究,为预测超排效果定性地提供了有价值的信息,并对胚胎移植生产具有一定的指导意义。但由于激素的释放受中枢神经系统控制,短时间的变化较大,尤其是 LH 的脉冲式分泌。该试验采样的间隔时间较长,其峰值或其平均值难以确定,因而不能说明其与  $P_4$ 、雌激素之间的变化关系,同时由于生产需要而不能进行频密采样,其动态变化与超排效果关系尚需深入研究。

#### 参考文献

- [1] NSWENDER G D, REICHERT L E. Radioimmunoassay for bovine and ovine luteinizing hormone[J]. *Endocrinology*, 1969, 84: 166.
- [2] AKBAR A M, REICHERT L E, DUNN T G. Serum levels of follicle-stimulating hormone during the bovine estrous cycle[J]. *J Anim Sci*, 1974, 39: 360.
- [3] KARG H, SCHAM S. Prolactin release in cattle[J]. *J Reprod Fert*, 1974, 39: 463-472.
- [4] 曾国庆, 徐直. 滩羊发情周期血液促黄体素 LH、孕酮、雌二醇 17 含量的测定[J]. *畜牧兽医学报*, 1980, 11(3): 153-156.
- [5] 徐直, 蒋振国, 徐一树, 等. 黑白花奶牛发情周期血液中促卵泡素、促黄体素、促乳素、孕酮、雌二醇的含量及变化规律[J]. *华北农学报*, 1996, 11(3): 121-127.
- [6] DRANCOURT M A. Follicular dynamics in sheep and cattle[J]. *Theriogenology*, 1991, 35: 55-59.
- [7] TORRES S, SEVELLEC C. Repeated superovulation and surgical recovery of embryos in the ewe[J]. *Reprod Nutr Dev*, 1987, 27(4): 859-863.
- [8] 徐向明, 叶进培, 张朝昆, 等. 山羊血浆生殖激素浓度与超排反应的关系[J]. *江苏农学院学报*, 1996, 17(1): 77-82.
- [9] 叶红, 黄国宁, 裴莉, 等. 控制超排卵中血清促黄体生成素浓度过低对体外受精-胚胎移植的影响[J]. *实用妇产科杂志*, 2002, 18(3): 154-157.
- [10] GREVE T, CALLESEN H. 梁冠生, 译. 外源激素给胚胎移植带来的问题[J]. *草食家畜*, 1995, 88(3): 7-8.
- [11] 钟依平, 周灿权, 庄广伦, 等. 血清雌二醇水平和获卵数对体外受精胚胎移植治疗结局的影响[J]. *中国实用妇科与产科杂志*, 2002, 18(3): 187-190.
- [12] 黄群山, 武浩, 王建辰. 西农萨奶山羊妊娠期外周血浆孕酮、17-雌二醇和皮质醇的变化[J]. *中国畜牧杂志*, 1994, 30(1): 7-8.
- [13] KARSCH F J, MOENIER S M, CARATY A. The neuroendocrine signal for ovulation[J]. *Anim Reprod Sci*, 1992, 28: 329-341.
- [14] AMIRIDS G S, REKKAS C A, FTHENAKIS G C, et al. Progesterone concentration as an indicator of ovarian response to superovulation in Cios ewes[J]. *Theriogenology*, 2002, 57(3): 1143-1150.
- [15] SANTIAGO MORENO J, GONZALEZ BULNES A, GOMEZ BRUNET A, et al. Procedure for successful interspecific embryo transfer from mouflon (*Ovis montanus*) to Spanish Mino sheep (*Ovis aries*) [J]. *J Zoo Wild Med*, 2001, 32(3): 336-341.