

# 牦牛围产期血清酮体消长规律及其对产后生殖激素分泌的影响

马晓玲<sup>1</sup> 舒适<sup>2</sup> 黄荣<sup>2</sup> 张君<sup>2\*</sup>

(1.青海大学农牧学院,西宁 810016;2.青海大学畜牧兽医科学院,西宁 810016)

**摘要:** 本研究旨在检测围产期牦牛血清酮体的消长规律,并分析其对产后生殖激素分泌的影响。选择25头年龄[(7.00±1.23)岁]、胎次[(2.00±0.07)次]和体况相近的经产母牦牛,自产前第28天至产后第28天每7d采集1次血清,共设9个时间点,检测血清中酮体指标[β-羟丁酸(BHBA)]、肝功能指标[游离脂肪酸(NEFA)、葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)、谷草转氨酶(AST)]、蛋白质营养状况指标[总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)和球蛋白(GLO)],研究各指标的消长规律;随后继续跟踪试验动物至产后第49天,每7d采集1次血清,检测产前第28天至产后第49天血清中生殖激素指标[雌二醇(E<sub>2</sub>)、孕酮(P4)、促卵泡素(FSH)和促黄体素(LH)],并监测发情情况。通过数据分析明确围产后期母牦牛生殖激素分泌情况,并结合BHBA浓度进行相关性分析,明确BHBA与生殖激素分泌的关系。结果表明:分娩当天、产后第7天和产后第14天的血清BHBA浓度显著高于其他各时间点(P<0.05)。分娩当天、产后第7天和产后第14天的血清GLU浓度显著低于产前各时间点(P<0.05)。产后第7天和产后第14天的血清NEFA浓度显著高于其他各时间点(P<0.05)。分娩当天和产后各时间点的血清TP浓度和AST活性显著高于产前各时间点(P<0.05)。分娩当天和产后各时间点的血清FSH和LH浓度显著高于产前各时间点(P<0.05)。相关性分析表明,血清BHBA浓度与E<sub>2</sub>和LH浓度存在显著正相关(P<0.05)。由此可见,母牦牛的分娩造成其机体能量的大量流失,导致机体脂肪过度动员产生了能量负平衡,围产后期蛋白质也参与了供能过程,血清BHBA浓度的升高会影响E<sub>2</sub>和LH的分泌模式,使经产牦牛产犊间隔较长而引起其繁殖率低下。

**关键词:** 牦牛;围产期;能量负平衡;酮体;繁殖性能

中图分类号:S823

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)06-3356-09

牦牛(*Bos grunniens*)是青藏高原地区的主要反刍动物之一,为我国青藏高原地区提供了主要的生活支持和经济来源。牦牛繁殖率是牦牛生产中重要的经济指标之一,但目前牦牛繁殖率低下已成为亟待解决的问题。就经产母牦牛而言,传统自由放牧的饲养模式使其围产期常常处于冬春季的枯草期,这一时期的草场状况和环境较为恶劣,直接影响牦牛的营养状况<sup>[1]</sup>。另外,青藏地区

的牧民几乎对围产期牦牛没有任何保健护理的措施,这使牦牛在围产期常处于营养缺乏状态<sup>[2-4]</sup>,牦牛的营养供给不足是降低其繁殖性能的主要原因之一<sup>[5]</sup>。目前已有围产期营养显著影响奶牛下一次妊娠的研究报道<sup>[6]</sup>,但牦牛围产期营养与下一次妊娠的关系尚未明确。围产期一般界定为产前第28天至产后第28天,该阶段是母畜生产中的一个重要时期,包括牦牛<sup>[7]</sup>。有相关研究显示,围

收稿日期:2020-11-18

基金项目:青海省自然科学基金项目(2019-ZJ-997Q)

作者简介:马晓玲(1996—),女,青海西宁人,硕士研究生,从事动物生殖生理研究。E-mail: mxl807180@163.com

\*通信作者:张君,研究员,硕士生导师,E-mail: zhangjunxn2003@163.com

产期奶牛容易表现出能量负平衡<sup>[8]</sup>。能量负平衡是指母畜分娩后体内血糖水平下降并伴随脂肪动员,造成体内游离脂肪酸[又称非酯化脂肪酸(nonesterified fatty acid, NEFA)]和酮体浓度大量增加<sup>[9]</sup>。酮体作为机体发生能量负平衡时的标志产物,其主要成分 $\beta$ 羟丁酸( $\beta$  hydroxybutyric acid, BHBA)浓度在奶牛围产后期的血液中升高,存在明显的消长规律。血液中酮体浓度的升高直接影响奶牛生产性能、泌乳性能及免疫状态等,并严重影响其繁殖性能<sup>[10]</sup>。然而,对于青藏地区牦牛围产期的研究在国内外报道甚少,而且酮体对牦牛繁殖的影响也属于研究空白。基于此,本试验研究了围产期母牦牛血清酮体的消长规律以及酮体对牦牛产后生殖激素分泌的影响,旨在探究母牦牛由于产犊间隔过长引起繁殖性能低下的原因。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验设计和样品采集

试验选择 25 头年龄 $[(7.00\pm 1.23)$ 岁]、胎次 $[(2.00\pm 0.07)$ 次]和体况 $[(3.00\pm 0.63)$ 分]相近的经产母牦牛作为试验动物。牦牛自由放牧,早出牧、晚归牧,延长放牧时间,让牦牛多采食。从 4 月开始每 7 d 采集 1 次试验动物自产前第 28 天至产后第 28 天的血液,用以探究母牦牛围产期血清酮体的消长规律,分为 9 个时间点:产前第 28 天、产前第 21 天、产前第 14 天、产前第 7 天、分娩当天(第 0 天)、产后第 7 天、产后第 14 天、产后第 21 天及产后第 28 天。直到 6 月结束。另外,继续跟踪试验动物至产后第 49 天,同样每 7 d 采集试验动物血液,分为 3 个时间点:产后第 35 天、产后第 42 天和产后第 49 天,用以研究母牦牛酮体对生殖激素分泌的影响。并借助直检或肉眼观测试验母牦牛阴户流出的黏液情况、是否频繁排尿、相互舔嗅和外阴部等发情情况。

采用颈静脉采血法采集全血 10 mL,不做抗凝处理,静置 4 h 后用离心机离心 10 min,转速为 3 000 r/min,收集血清分装后,再次离心 5 min,转速为 12 000 r/min。收集上清液后,置于 $-80$  °C 冰箱保存备用。

### 1.2 血清指标的检测

各时间点血清样品应用多功能酶标仪(型号:

SYNERGY2,美国 BioTek 公司)进行检测,包括酮体指标(BHBA)、肝功能指标[NEFA、葡萄糖(glucose, GLU)、甘油三酯(triglyceride, TG)和谷草转氨酶(glutamic oxaloacetic transaminase, AST)]、蛋白质营养状况指标[总蛋白(total protein, TP)、白蛋白(albumin, ALB)和球蛋白(globulin, GLO)]及生殖激素指标[雌二醇(estradiol,  $E_2$ )、孕酮(progesterone, P4)、促卵泡素(follicle stimulating hormone, FSH)和促黄体素(luteinizing hormone, LH)]。其中, GLU 浓度应用葡萄糖氧化酶法进行检测,试剂盒购自上海荣盛生物药业有限公司(批号:1023-01-01-07);其余指标应用酶联免疫吸附测定(ELISA)方法检测,试剂盒购自江苏酶标生物科技有限公司(BHBA 批号:MB-9690A; NEFA 批号:MB-5201A; TG 批号:MB-4922A; AST 批号:MB-9689SA; TP 批号:MB-9693A; ALB 批号:MB-9688A; GLO 批号:MB-4899A;  $E_2$  批号:MB-2163A; P4 批号:MB-4772A; FSH 批号:MB-5413A; LH 批号:MB-5289A)。

### 1.3 数据分析

试验应用 SPSS 26.0 软件对各时间点数据进行统计学分析,其中各时间点间的比较应用单因素方差分析(one-way ANOVA),以平均值 $\pm$ 标准差(mean $\pm$ SD)表示;对围产期(产前 28 d 至产后 28 d)的 BHBA 浓度和生殖激素指标之间应用双变量相关的方法进行相关性分析,以皮尔逊相关系数( $R$ )表示。 $P<0.05$  为差异显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 酮体指标检测结果

根据表 1 可知,试验母牦牛血清 BHBA 浓度自分娩当天开始升高,并在产后第 7 天达到峰值,产后第 14 天开始下降,产后第 21 天恢复至产前水平。分娩当天、产后第 7 天和产后第 14 天的血清 BHBA 浓度显著高于其他各时间点( $P<0.05$ )。以上结果表明,试验母牦牛在产后第 0~14 天可能发生了能量负平衡。

### 2.2 肝功能指标检测结果

根据表 2 可知,试验母牦牛血清 GLU 浓度在分娩当天开始降低,并随着产后时间的推移逐渐升高。分娩当天、产后第 7 天和产后第 14 天的血清 GLU 浓度显著低于产前各时间点( $P<0.05$ )。

表1 试验动物血清BHBA浓度检测结果

Table 1 Detection results of serum BHBA concentration of experimental animals mmol/L

项目 Items	浓度 Concentration
产前第28天 Day 28 before delivery	0.02±0.01 <sup>c</sup>
产前第21天 Day 21 before delivery	0.02±0.02 <sup>c</sup>
产前第14天 Day 14 before delivery	0.02±0.01 <sup>c</sup>
产前第7天 Day 7 before delivery	0.02±0.01 <sup>c</sup>
分娩当天 Day of delivery	1.64±0.28 <sup>b</sup>
产后第7天 Day 7 after delivery	1.96±0.53 <sup>a</sup>
产后第14天 Day 14 after delivery	1.89±0.52 <sup>a</sup>
产后第21天 Day 21 after delivery	0.02±0.01 <sup>c</sup>
产后第28天 Day 28 after delivery	0.02±0.01 <sup>c</sup>

同列数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。表2、表3、表4同。

In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ). The same as Table 2, Table 3 and Table 4.

试验母牦牛血清 NEFA 浓度在产后第7天达到峰值, 产后第14天开始下降, 产后第21天恢复至产前水平。产后第7天和产后第14天的血清 NEFA 浓度显著高于其他各时间点 ( $P<0.05$ )。

血清 AST 活性在分娩当天开始升高, 并在产后第7天、产后第14天、产后第21天和产后第28天持续升高。分娩当天、产后第7天、产后第14天、产后第21天和产后第28天的血清 AST 活性显著高于产前各时间点 ( $P<0.05$ )。

血清 TG 浓度在当天达到峰值, 产后开始降

低, 并低于产前。产后第21天和产后第28天的血清 TG 浓度显著低于其他各时间点 ( $P<0.05$ )。

以上结果表明, 试验母牦牛分娩时消耗大量糖类, 分娩后血清 GLU 浓度伴随机能恢复而提高。分娩使母牦牛的能量大量消耗, 机体通过过度的脂肪动员为其供能, 这也是在分娩当天开始产生大量 BHBA 的原因, 进一步说明试验母牦牛在产后可能发生能量负平衡的推论, 进而引起了机体的代谢障碍。

表2 试验动物血清肝功能指标检测结果

Table 2 Detection results of serum liver function indexes of experimental animals

项目 Items	游离脂肪酸 NEFA/(mmol/L)	葡萄糖 GLU/(mmol/L)	甘油三酯 TG/(mmol/L)	谷草转氨酶 AST/(ng/L)
产前第28天 Day 28 before delivery	0.44±0.09 <sup>ac</sup>	3.55±0.52 <sup>c</sup>	0.55±0.07 <sup>d</sup>	245.94±174.27 <sup>d</sup>
产前第21天 Day 21 before delivery	0.46±0.18 <sup>ac</sup>	3.91±0.56 <sup>c</sup>	0.61±0.10 <sup>b</sup>	271.99±139.75 <sup>d</sup>
产前第14天 Day 14 before delivery	0.48±0.11 <sup>ac</sup>	3.63±0.37 <sup>c</sup>	0.65±0.08 <sup>bc</sup>	230.80±71.90 <sup>d</sup>
产前第7天 Day 7 before delivery	0.49±0.10 <sup>ac</sup>	4.10±0.52 <sup>b</sup>	0.64±0.13 <sup>bc</sup>	280.44±97.18 <sup>d</sup>
分娩当天 Day of delivery	0.47±0.06 <sup>a</sup>	3.13±0.44 <sup>a</sup>	0.81±0.12 <sup>a</sup>	462.87±195.22 <sup>a</sup>
产后第7天 Day 7 after delivery	1.92±0.53 <sup>b</sup>	3.13±0.51 <sup>ad</sup>	0.67±0.11 <sup>c</sup>	444.70±127.07 <sup>a</sup>
产后第14天 Day 14 after delivery	1.87±0.42 <sup>b</sup>	3.16±0.59 <sup>ad</sup>	0.52±0.05 <sup>d</sup>	506.91±123.32 <sup>a</sup>
产后第21天 Day 21 after delivery	0.39±0.16 <sup>ac</sup>	3.32±0.77 <sup>acd</sup>	0.47±0.08 <sup>e</sup>	695.19±149.07 <sup>b</sup>
产后第28天 Day 28 after delivery	0.37±0.12 <sup>ac</sup>	3.53±0.85 <sup>c</sup>	0.45±0.05 <sup>e</sup>	755.53±160.31 <sup>c</sup>

### 2.3 蛋白质营养状况指标的检测结果

根据表3可知, 试验母牦牛血清 TP 浓度自分娩当天开始升高, 至产后第14天达到峰值, 虽然在产后第21天有所降低, 但仍高于产前。分娩当天、产后第7天、产后第14天、产后第21天和产后

第28天的血清 TP 浓度显著高于产前各时间点 ( $P<0.05$ )。

血清 ALB 浓度在产后第7天达到峰值, 虽然在产后第21天有所降低, 但仍高于产前。产后各时间点的血清 ALB 浓度无显著差异 ( $P>0.05$ ), 产

后第7天、产后第14天和产后第28天的血清ALB浓度显著高于分娩当天和产前各时间点( $P<0.05$ )。

血清GLO浓度从分娩当天至产后第14天缓慢升高,在产后第21天降至最低。产后第14天的

血清GLO浓度显著高于其他各时间点( $P<0.05$ )。

以上结果表明,试验母牦牛机体在产后蛋白质浓度整体升高,表明机体蛋白质代谢也参与了能量供给。

表3 试验动物血清蛋白质营养状况指标检测结果

Table 3 Detection results of serum protein nutritional status indexes of experimental animals

项目 Items	总蛋白 TP/(g/L)	白蛋白 ALB/(g/L)	球蛋白 GLO/(g/L)	白蛋白/球蛋白 A/G
产前第28天 Day 28 before delivery	0.79±0.10 <sup>c</sup>	0.09±0.01 <sup>a</sup>	0.07±0.04 <sup>bc</sup>	1.56±0.16 <sup>ac</sup>
产前第21天 Day 21 before delivery	0.87±0.20 <sup>c</sup>	0.11±0.04 <sup>ac</sup>	0.08±0.04 <sup>a</sup>	1.39±0.21 <sup>a</sup>
产前第14天 Day 14 before delivery	0.92±0.14 <sup>c</sup>	0.10±0.02 <sup>a</sup>	0.07±0.01 <sup>bc</sup>	1.44±0.22 <sup>ac</sup>
产前第7天 Day 7 before delivery	0.98±0.29 <sup>c</sup>	0.11±0.03 <sup>ac</sup>	0.07±0.02 <sup>ac</sup>	1.50±0.14 <sup>ac</sup>
分娩当天 Day of delivery	1.63±0.52 <sup>a</sup>	0.11±0.05 <sup>ac</sup>	0.09±0.03 <sup>a</sup>	1.40±0.80 <sup>a</sup>
产后第7天 Day 7 after delivery	2.48±0.44 <sup>b</sup>	0.16±0.09 <sup>b</sup>	0.09±0.02 <sup>a</sup>	1.96±1.20 <sup>cd</sup>
产后第14天 Day 14 after delivery	3.26±0.65 <sup>c</sup>	0.15±0.10 <sup>b</sup>	0.11±0.02 <sup>d</sup>	1.44±0.98 <sup>ac</sup>
产后第21天 Day 21 after delivery	1.68±0.64 <sup>a</sup>	0.13±0.05 <sup>bc</sup>	0.06±0.03 <sup>bc</sup>	2.89±2.18 <sup>c</sup>
产后第28天 Day 28 after delivery	1.91±0.61 <sup>a</sup>	0.16±0.03 <sup>b</sup>	0.08±0.03 <sup>a</sup>	2.23±1.03 <sup>d</sup>

## 2.4 生殖激素指标的检测结果

通过对母牦牛从产前第28到产后第49天进行跟踪式监测发现,试验母牦牛经过休情期之后仍未出现发情行为。

根据表4可知,试验母牦牛血清P4、FSH和LH浓度在产后均维持在较高水平,血清E<sub>2</sub>浓度

在产后逐渐降低并在产后第49天略有升高。分娩当天和产后各时间点的血清FSH和LH浓度显著高于产前各时间点( $P<0.05$ )。

以上结果表明,试验母牦牛在产后乏情可能与生殖激素发生紊乱有关。

表4 试验动物血清生殖激素指标浓度检测结果

Table 4 Detection results of serum reproductive hormone indexes of experimental animals

项目 Items	雌二醇 E <sub>2</sub> /(nmol/L)	孕酮 P4/(nmol/L)	促卵泡素 FSH/(μg/L)	促黄体素 LH/(ng/mL)
产前第28天 Day 28 before delivery	0.12±0.03 <sup>a</sup>	1.21±0.26 <sup>d</sup>	2.81±0.45 <sup>c</sup>	0.04±0.02 <sup>c</sup>
产前第21天 Day 21 before delivery	0.11±0.03 <sup>ac</sup>	1.38±0.50 <sup>d</sup>	2.96±0.58 <sup>c</sup>	0.04±0.02 <sup>c</sup>
产前第14天 Day 14 before delivery	0.14±0.03 <sup>a</sup>	1.38±0.27 <sup>d</sup>	3.43±0.54 <sup>c</sup>	0.04±0.01 <sup>c</sup>
产前第7天 Day 7 before delivery	0.15±0.05 <sup>ac</sup>	1.53±0.54 <sup>cd</sup>	3.27±0.59 <sup>c</sup>	0.05±0.02 <sup>c</sup>
分娩当天 Day of delivery	0.24±0.11 <sup>a</sup>	1.83±0.81 <sup>c</sup>	4.68±2.08 <sup>a</sup>	0.06±0.03 <sup>b</sup>
产后第7天 Day 7 after delivery	0.32±0.08 <sup>b</sup>	1.78±0.76 <sup>c</sup>	4.29±2.64 <sup>a</sup>	0.07±0.03 <sup>b</sup>
产后第14天 Day 14 after delivery	0.32±0.15 <sup>b</sup>	1.44±0.71 <sup>cd</sup>	4.17±1.83 <sup>a</sup>	0.07±0.02 <sup>b</sup>
产后第21天 Day 21 after delivery	0.18±0.05 <sup>c</sup>	1.84±0.56 <sup>c</sup>	6.40±1.11 <sup>b</sup>	0.09±0.03 <sup>a</sup>
产后第28天 Day 28 after delivery	0.17±0.04 <sup>c</sup>	1.73±0.47 <sup>cd</sup>	6.33±1.12 <sup>b</sup>	0.09±0.03 <sup>a</sup>
产后第35天 Day 35 after delivery	0.15±0.04 <sup>cd</sup>	2.41±0.60 <sup>ab</sup>	6.38±1.18 <sup>b</sup>	0.07±0.02 <sup>b</sup>
产后第42天 Day 42 after delivery	0.11±0.02 <sup>d</sup>	2.22±0.42 <sup>b</sup>	5.72±0.76 <sup>b</sup>	0.06±0.01 <sup>b</sup>
产后第49天 Day 49 after delivery	0.15±0.05 <sup>cd</sup>	2.59±0.63 <sup>a</sup>	6.18±0.97 <sup>b</sup>	0.07±0.02 <sup>b</sup>

## 2.5 围产期酮体与生殖激素指标相关性分析的结果

根据表5可知,血清BHBA浓度与E<sub>2</sub>浓度呈

极显著正相关( $P<0.01$ ),与P4和LH浓度呈显著正相关( $P<0.05$ ),与FSH浓度不相关( $P>0.05$ )。



血清  $E_2$  浓度与 P4 和 LH 浓度呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ ), 与 FSH 浓度不相关 ( $P > 0.05$ )。血清 P4 浓度与 FSH、LH 浓度呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )。血清 FSH 浓度与 LH 浓度呈极显著正相关 ( $P < 0.01$ )。

以上结果表明, 试验母牦牛血清 BHBA 浓度影响了后期生殖激素的分泌, 由此推测高原地区母牦牛围产后期发生能量负平衡影响了生殖激素的分泌模式, 导致其产犊间隔延长, 进而引起繁殖率低下。

表 5 试验动物围产期血清酮体与生殖激素指标相关性分析

Table 5 Correlation analysis between serum ketone body and reproductive hormone indexes of experimental animals during perinatal period

项目 Items		$\beta$ -羟丁酸 BHBA	雌激素 $E_2$	孕酮 P4	促卵泡素 FSH	促黄体素 LH
$\beta$ -羟丁酸	<i>R</i>	1.000	0.659**	0.144*	0.049	0.155*
BHBA	<i>P</i>		<0.001	0.031	0.461	0.020
雌激素	<i>R</i>	0.659**	1.000	0.199**	0.060	0.312**
$E_2$	<i>P</i>	<0.001		0.003	0.372	<0.001
孕酮	<i>R</i>	0.144*	0.199**	1.000	0.223**	0.364**
P4	<i>P</i>	0.031	0.003		0.001	<0.001
促卵泡素	<i>R</i>	0.049	0.060	0.223**	1.000	0.475**
FSH	<i>P</i>	0.461	0.372	0.001		<0.001
促黄体素	<i>R</i>	0.155*	0.312**	0.364**	0.475**	1.000
LH	<i>P</i>	0.020	<0.001	<0.001	<0.001	

*R*: 皮尔逊相关系数; *P*: *P* 值。数据肩标 \* 表示显著相关 ( $P < 0.05$ ), 数据肩标 \*\* 表示极显著相关 ( $P < 0.01$ )。

*R*: the Pearson correlation coefficient; *P*: *P*-value. Values with \* superscripts mean significant correlation ( $P < 0.05$ ), and values with \*\* superscripts mean extremely significant correlation ( $P < 0.01$ ).

### 3 讨论

牦牛营养代谢是影响其繁殖性能的主要原因之一, 而围产期营养代谢与牦牛繁殖性能的关系尚未明确。酮体是脂肪代谢产物之一, 也是机体发生能量负平衡时的代谢产物<sup>[11-12]</sup>, 可以作为判定能量负平衡的指标。本研究对试验母牦牛围产期血清酮体、肝功能指标、蛋白质营养状况指标和生殖激素指标进行跟踪式监测, 结果发现试验母牦牛在围产后期发生了能量负平衡, 并伴随糖类、脂类及蛋白质代谢的异常。另外, 研究还发现试验牦牛产后  $E_2$  和 LH 分泌发生异常, 且与 BHBA 浓度呈现显著的相关性, 说明能量负平衡的发生影响了生殖激素的分泌模式, 这与 Tsukamura 等<sup>[13]</sup>的研究结果一致。

#### 3.1 牦牛围产期酮体的消长规律

母畜由于分娩消耗机体大量的能量, 产犊后碳水化合物加速代谢, 一方面补充分娩时的能量消耗, 另外一方面为乳汁合成供能。当机体消耗

量大于供给量时, 就会发生能量负平衡<sup>[14]</sup>。在本研究中, 试验母牦牛在分娩当天血清 GLU 浓度降低, 说明试验母牦牛分娩时血清 GLU 的代谢消耗提高。在机体 GLU 浓度降低时, 原本进入到三羧酸循环消耗 GLU 的草酰乙酸参与糖异生过程合成 GLU<sup>[15]</sup>。与此同时, 机体会动员脂肪以继续提供能量, 在这过程中会产生大量的 NEFA<sup>[16-17]</sup>, 而 NEFA 浓度升高与能量负平衡有关<sup>[18]</sup>。母牦牛产后第 7~14 天血清 NEFA 浓度达到了峰值, 并且血清 TG 浓度降低, 说明试验母牦牛发生能量负平衡, 且机体在 GLU 浓度低时, 动员脂肪以提供能量。根据试验结果可知, 血清 TG 浓度的降低持续至围产期结束, 且低于产前, 这说明母牦牛在产后发生着过度的脂肪动员。脂肪动员中产生大量的乙酰辅酶 A, 当大量的草酰乙酸参与糖异生时, 乙酰辅酶 A 同样无法进入三羧酸循环中, 进而转向其他途径, 其中之一就是生成酮体<sup>[19]</sup>。在奶牛的研究中, 围产后期常发生能量负平衡, 酮体的产生是诊断能量负平衡的金标准。当血清 BHBA 浓度高于 1.2 mmol/L 时, 则认定奶牛发生了能量负

平衡<sup>[20-21]</sup>。虽然在母牦牛的研究中,没有相关的标准对是否处于能量负平衡进行判定,但是试验母牦牛自分娩开始直至产后 14 d, BHBA 浓度急剧升高,峰值达到 1.961 mmol/L,也能够说明母牦牛在围产后期发生着能量负平衡。另外,血清 GLU 和 TG 浓度的降低, NEFA 浓度的升高,也说明母牦牛机体内发生了代谢变化。蛋白质是动物机体供能的最后来源。脂肪过度消耗后,机体会通过减弱脂肪分解而加强蛋白质分解代谢来维持生存<sup>[22]</sup>。本研究中,试验母牦牛产后体内血清 TP、ALB、GLO 浓度升高,说明产后试验母牦牛体内的糖类与脂肪为其供能不足,蛋白质也参与了供能过程。

### 3.2 围产期酮体对生殖激素分泌的影响

为了探究母牦牛围产期酮体生成后对其生殖激素分泌的影响,本研究还对围产期母牦牛主要生殖激素指标和发情情况进行了监测,并对 BHBA 浓度与生殖激素指标进行了相关性分析。结果发现,试验母牦牛在产后 E<sub>2</sub> 和 LH 分泌异常,并未出现发情的分泌模式,这可能是试验牦牛未表现发情的原因。另外, BHBA 浓度分别与 E<sub>2</sub>、P4 和 LH 浓度存在相关性,说明血液 BHBA 浓度的改变直接或间接影响生殖激素的分泌。虽然 BHBA 浓度与 P4 浓度呈显著正相关,但 P4 产后的分泌模式并未表现异常,这可能是由于能量缺乏会造成孕酮分泌量的下降而产生的相关性<sup>[23]</sup>。LH 的主要作用是促进卵泡生长与成熟,并诱导排卵<sup>[24]</sup>,但当机体发生能量负平衡时,体内蓄积的 BHBA 会抑制 LH 的脉冲频率,而产后早期脉冲式 LH 的分泌对于排卵前卵泡的生长、E<sub>2</sub> 的分泌以及优势卵泡的排卵是非常重要的<sup>[25-26]</sup>。E<sub>2</sub> 主要是促进雌性动物器官成熟及第二性征出现,并维持发情周期的变化和生殖活动<sup>[27]</sup>。研究发现,严重的能量负平衡会通过降低卵泡 E<sub>2</sub> 含量而降低卵泡的功能,使得卵泡的排卵滞后<sup>[26,28]</sup>。在对生殖激素和发情表现持续跟踪监测发现,母牦牛的生 殖激素仍分泌异常,且直至产后第 49 天母牦牛仍没有发情表现。有研究表明,牦牛的受胎率和营养水平是呈正相关的<sup>[29]</sup>。这可能是由于营养物质补充不足引起了能量负平衡,进而影响牦牛生殖激素的分泌模式,使牦牛在分娩后首次排卵时间

间隔延长,休情期后不发情,导致繁殖性能低下<sup>[30-31]</sup>。这也可能是营养供给不足影响母牦牛繁殖力低下的一个主要原因,但具体发生机制需要进一步验证。

## 4 结 论

本研究首次对青海地区围产期母牦牛血清酮体及相关指标进行检测,通过数据分析得出围产期母牦牛血清酮体浓度的变化规律,并发现母牦牛分娩造成其机体能量的大量流失,导致机体脂肪过度动员产生了能量负平衡。能量负平衡的发生能够通过影响生殖激素的分泌模式,进而导致母牦牛繁殖率低下。

### 参考文献:

- [1] FAN J F, HAN X H, HE H H, et al. The expression of ERK1/2 in female yak (*Bos grunniens*) reproductive organs [J]. *Animals*, 2020, 10(2): 334.
- [2] ZI X D. Reproduction in female yaks (*Bos grunniens*) and opportunities for improvement [J]. *Theriogenology*, 2003, 59(5/6): 1303-1312.
- [3] ZHANG Q W, WANG Q, ZHANG Y, et al. Comprehensive analysis of microRNA-messenger RNA from white yak testis reveals the differentially expressed molecules involved in development and reproduction [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(10): 3083.
- [4] 张君. 不同繁殖类型的牦母牛在发情期和围产期的体况评分 [J]. *青海畜牧兽医杂志*, 2007, 37(2): 13-14.  
ZHANG J. Body condition score of different reproductive types of female yak in oestrus and perinatal period [J]. *Chinese Qinghai Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2007, 37(2): 13-14. (in Chinese)
- [5] GUO X, PEI J, DING X Z, et al. Comparative proteomic analysis of yak follicular fluid during estrus [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2016, 29(9): 1239-1246.
- [6] 张帆, 冯于明, 熊本海. 围产期奶牛能量负平衡营养调控研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(7): 2966-2974.  
ZHANG F, YAN Y M, XIONG B H. Research progress on nutritional regulation of negative energy balance in dairy cows during transition period [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(7): 2966-2974. (in Chinese)

- [ 7 ] 张君,更求久乃.补饲对青海高原型围产期牦母牛的影响[J].中国畜牧杂志,2007,43(9):59-60.  
ZHANG J, GENGQIU J N. Effect of supplementary feeding on *Qinghai* plateau type perinatal yak cows [J]. Chinese Journal of Animal Husbandry, 2007, 43(9):59-60. (in Chinese)
- [ 8 ] 阿顺贤,罗增海,张文颖,等.菊苣酸对围产期放牧牦牛生长性能、血清生化指标及抗氧化能力的影响[J].中国畜牧兽医,2019,46(2):449-457.  
A S X, LUO Z H, ZHANG W Y. Effects of chicory acid on growth performance, serum biochemical indices and antioxidant ability of grazing yak in perinatal period[J]. Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019, 46(2):449-457. (in Chinese)
- [ 9 ] 宋玉锡,白云龙,钱伟东,等.肉牛能量负平衡发生风险的预警指标建立[J].动物医学进展,2019,40(9):133-136.  
SONG Y X, BAI Y L, QIAN W D, et al. Establishment of early warning indicators for the risk of negative energy balance in beef cattle[J]. Progress in Veterinary Medicine, 2019, 40(9):133-136. (in Chinese)
- [ 10 ] 胡奎.浅析奶牛酮病[J].中国畜禽种业,2017,13(3):132.  
HU K. Brief analysis of cow ketosis[J]. The Chinese Livestock and Poultry Breeding, 2017, 13(3):132. (in Chinese)
- [ 11 ] NEWMAN J C, VERDIN E. Ketone bodies as signaling metabolites[J]. Trends in Endocrinology & Metabolism, 2014, 25(1):42-52.
- [ 12 ] HO C F, CHAN K W, YEH H I, et al. Ketone bodies upregulate endothelial connexin 43 (Cx43) gap junctions[J]. The Veterinary Journal, 2013, 198(3):696-701.
- [ 13 ] TSUKAMURA H, MAEDA K I. Non-metabolic and metabolic factors causing lactational anestrus: rat models uncovering the neuroendocrine mechanism underlying the suckling-induced changes in the mother[J]. Progress in Brain Research, 2001, 133:187-205.
- [ 14 ] STOLDT A K, MIELENZ M, NÜRNBERG G, et al. Effects of a six-week intraduodenal supplementation with quercetin on liver lipid metabolism and oxidative stress in periparturient dairy cows[J]. Journal of Animal Science, 2016, 94(5):1913-1923.
- [ 15 ] MCCUE M D. Snakes survive starvation by employing supply- and demand-side economic strategies[J]. Zoology, 2007, 110(4):318-327.
- [ 16 ] OSORIO J S, TREVISI E, JI P, et al. Biomarkers of inflammation, metabolism, and oxidative stress in blood, liver, and milk reveal a better immunometabolic status in periparturient cows supplemented with Smartamine M or MetaSmart[J]. Journal of Dairy Science, 2014, 97(12):7437-7450.
- [ 17 ] SORDILLO L M, CONTRERAS G A, AITKEN S L. Metabolic factors affecting the inflammatory response of periparturient dairy cows[J]. Animal Health Research Reviews, 2009, 10(1):53-63.
- [ 18 ] VANHOLDER T, LEROY J L, VAN SOOM A, et al. Effect of non-esterified fatty acids on bovine theca cell steroidogenesis and proliferation *in vitro* [J]. Animal Reproduction Science, 2006, 92(1/2):51-63.
- [ 19 ] SUTTON J D, DHANOA M S, MORANT S V, et al. Rates of production of acetate, propionate, and butyrate in the rumen of lactating dairy cows given normal and low-roughage diets [J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(11):3620-3633.
- [ 20 ] MCART J A A, NYDAM D V, OETZEL G R, et al. Elevated non-esterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate and their association with transition dairy cow performance [J]. The Veterinary Journal, 2013, 198(3):560-570.
- [ 21 ] CALOIN M. Modeling of lipid and protein depletion during total starvation[J]. American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism, 2004, 287(4):E790-E798.
- [ 22 ] MORAES G, ALTRAN A E, AVILEZ I M, et al. Metabolic adjustments during semi-aestivation of the marble swamp eel (*Synbranchus marmoratus*, Bloch 1795)-a facultative air breathing fish [J]. Brazilian Journal of Biology, 2005, 65(2):305-312.
- [ 23 ] VILLA-GODOY A, HUGHES T L, EMERY R S, et al. Association between energy balance and luteal function in lactating dairy cows[J]. Journal of Dairy Science, 1988, 71(4):1063-1072.
- [ 24 ] WEGHOFER A, SCHNEPF S, BARAD D, et al. The impact of luteinizing hormone in assisted reproduction: a review [J]. Current Opinion in Obstetrics and Gynecology, 2007, 19(3):253-257.
- [ 25 ] CROWE M A. Resumption of ovarian cyclicity in post-partum beef and dairy cows[J]. Reproduction in Domestic Animals, 2008, 43(Suppl.5):20-28.
- [ 26 ] DISKIN M G, MACKAY D R, ROCHE J F, et al. Effects of nutrition and metabolic status on circulating hormones and ovarian follicle development in cattle [J]. Animal Reproduction Science, 2003, 78(3/4):345-370.

- [27] 谢炳坤.广西黄牛和水牛发情周期血清生殖激素变化规律的研究[D].硕士学位论文.南宁:广西大学, 2005.  
XIE B K.Studies on changes of serum concentrations of reproductive hormones during the estrous cycle in cattle and buffaloes in *Guangxi*[D].Master's Thesis. Nanning: Guangxi University, 2005. (in Chinese)
- [28] BUTLER W R. Energy balance relationships with follicular development, ovulation and fertility in postpartum dairy cows[J]. *Livestock Production Science*, 2003, 83(2/3): 211-218.
- [29] 陈孝德.幼年牦牛出栏时间对其生产性能的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(1): 136-137.  
CHENG X D. Effect of stocking time on production performance of young yaks[J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2009, 36(1): 136-137. (in Chinese)
- [30] HERDT T H. Ruminant adaptation to negative energy balance; influences on the etiology of ketosis and fatty liver[J]. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2000, 16(2): 215-230.
- [31] BUTLER W R. Nutritional interactions with reproductive performance in dairy cattle[J]. *Animal Reproduction Science*, 2000(60/61): 449-457.



## Growth and Decline Regular Pattern of Serum Ketone Body of Yak during Perinatal Period and Its Effects on Secretion of Postpartum Reproductive Hormone

MA Xiaoling<sup>1</sup> SHU Shi<sup>2</sup> HUANG Rong<sup>2</sup> ZHANG Jun<sup>2\*</sup>

(1. College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016, China; 2. Academy of Animal Husbandry and Veterinary Sciences, Qinghai University, Xining 810016, China)

**Abstract:** The aim of this study was to examine the growth and decline regular pattern of serum ketone body of yak during perinatal period, and to analyze its effects on secretion of postpartum reproductive hormone. Twenty-five multiparous female yak with similar age [(7.00±1.23) years], parity [(2.00±0.07) birth] and body condition were selected, and the serum was collected every 7 d from day 28 before delivery to day 28 after delivery, and there were 9 time points. The serum ketone body index [ $\beta$  hydroxybutyric acid (BHBA)], liver function indexes [nonesterified fatty acid (NEFA), glucose (GLU), triglycerides (TG) and glutathione aminotransferase (AST)] and protein nutritional status indexes [total protein (TP), albumin (ALB) and globulin (GLO)] were detected, and to study growth and decline regular pattern of each index. The animals were then followed until day 49 after delivery, and the serum was collected every 7 d. The serum reproductive hormone indexes [estradiol ( $E_2$ ), progesterone (P4), follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH)] were measured from day 28 before delivery to day 49 after delivery, and the estrus was monitored. Through the data analysis, the reproductive hormone secretion of female yak during late perinatal period was determined, and the correlation analysis was carried out with the concentration of BHBA, so as to clarify the relationship between serum BHBA and reproductive hormone secretion. The results showed that the serum BHBA concentration on day of delivery, day 7 after delivery and day 14 after delivery was significantly higher than that on other time points ( $P<0.05$ ). The serum GLU concentration on day of delivery, day 7 after delivery and day 14 after delivery was significantly lower than that on time points before delivery ( $P<0.05$ ). The serum NEFA concentration on day 7 after delivery and day 14 after delivery was significantly higher than that on other time points ( $P<0.05$ ). The serum TP concentration and AST activity on day of delivery and time points after delivery were significantly higher than those on time points before delivery ( $P<0.05$ ). The serum FSH and LH concentrations on day of delivery and time points after delivery were significantly higher than those on time points before delivery ( $P<0.05$ ). Correlation analysis showed that there was a significant positive correlation between serum BHBA concentration and  $E_2$  and LH concentrations ( $P<0.05$ ). It can be seen that the delivery of yak causes a large amount of energy loss, resulting in excessive mobilization of body fat, resulting in negative energy balance, and the protein also participates in the energy supply process in the late perinatal period. The increase of BHBA concentration will affect the secretion mode of  $E_2$  and LH, which will lead to a long calving interval and low reproduction rate of multiparous yak. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6):3356-3364]

**Key words:** yak; perinatal period; negative energy balance; ketone body; reproductive performance

\* Corresponding author, professor, E-mail: zhangjunxn2003@163.com

(责任编辑 武海龙)