

孪生处理前后母牛在发情期的外周 血中 β -END 含量测定

杨利国¹ 韩正康² 李 宁¹

(¹南京农业大学畜牧系; ²动物医学学院, 南京 210095)

在黄牛人工孪生和超数排卵技术中, 目前存在的主要问题是超排反应的个体差异较大。为了解决这一技术难关, 国内外对超数排卵处理后的母牛垂体促性腺激素和卵巢类固酶激素分泌规律进行了较多的研究。近来发现, 内源性阿片肽 (EOP) 对 LH 和 GnRH 的分泌或释放具有抑制作用。然而关于母牛外周血中 β -内啡肽 (β -END) 分泌规律的研究, 尤其是关于超排处理后母牛外周血中 β -END 释放规律的研究, 目前尚未见报道。本研究通过测定超数排卵处理前后两个发情期的外周血清 β -END 水平, 试图了解: (1) 母牛发情期的 β -END 分泌规律; (2) 人工孪生处理后母牛外周血清中 β -END 水平变化趋势; (3) β -END 水平与卵泡发育和排卵的关系。

1 材料与方法 1993年春季, 在江苏省睢宁县农区选择3头产后2~4月的2~4岁母黄牛, 经兽医临床检查证明无生殖道疾病, 卵巢发育正常, 膜情中等, 体重约250kg。在产后第2次发情(当天为0 d)后第10 d, 每头母牛静脉注射孕马血清促性腺激素(PMSG)1800IU, 48 h 后, 注射15-甲苯前列腺素 F₂α 3mg。处理后的发情当天, 静脉注射兔抗 PMSG 血清 2ml, 然后用冷冻精液授精。7 d 后, 经直肠触摸卵巢、计数黄体。

母牛产后第1次发情后第7 d, 安装颈静脉血管导管。自第1次发情后第10 d 起, 每日间隔 10min、连续采血 2 h。第2和第3次发情当天, 间隔 30min 密集采血至发情结束。血样用硫柳汞钠盐防腐, 液氮冷冻保存。血清 β -END 水平采用放射免疫方法进行测定, 质量控制指标达到放免测定要求的标准。脉冲数的计算参考 Dunlap 等 (1981)^[1] 和 Peck 等 (1988) 介绍的方法^[2]。

2 结果 (1) 产后发情期的 β -END 分泌图型: 母牛产后第2次发情期间, 每隔 0.5 h 采血检出的外周血清 β -END 呈脉冲性释放(图1左半部)。脉冲释放频率在个体间波动较大, 脉冲峰值平均为 694 ± 227 pg/ml, 脉冲峰谷值平均为 130 ± 52 pg/ml, 脉冲释放基础值为 384 ± 59 pg/ml。(2) 孪生处理的 β -END 含量变化: 母牛孪生处理后, 在发情期的外周血清 β -END 仍呈脉冲性释放(图1右半部), 但释放图型发生改变, 例如, 所得母牛的 β -END 脉冲释放峰谷值均增加, 2头母牛(2/3)的脉冲释放频率增加。第2号母牛在发情开始前第3 d 间隔 10min、连续 2 h 采血的 β -END 水平, 同样以孪生处理后的值较高。孪生处理前的 β -END 基础值为 314 ± 273 pg/ml, 脉冲释放峰值、谷值、幅度和脉冲数分别

* 本研究属国家自然科学基金资助项目。上海第二军医大学神经生物学研究室协助测定 β -END, 谨致谢意。

** 收稿日期 1994-04-29。

为 543 ± 228 、 113 ± 49 、 430pg/ml 和 $1.5/\text{h}$ 。孪生处理后，相应时期的 β -END基础值、脉冲峰值、峰谷值和幅值，分别比处理前增加 114% 、 146% 、 65% 和 165% ，但脉冲数保持不变。（3） β -END水平与卵泡发育和排卵的关系：第1、2、3号牛在孪生处理后发情当天的卵泡数分别为3、5、4个，配种后第7 d的黄体数分别为0、3、2个，由此推

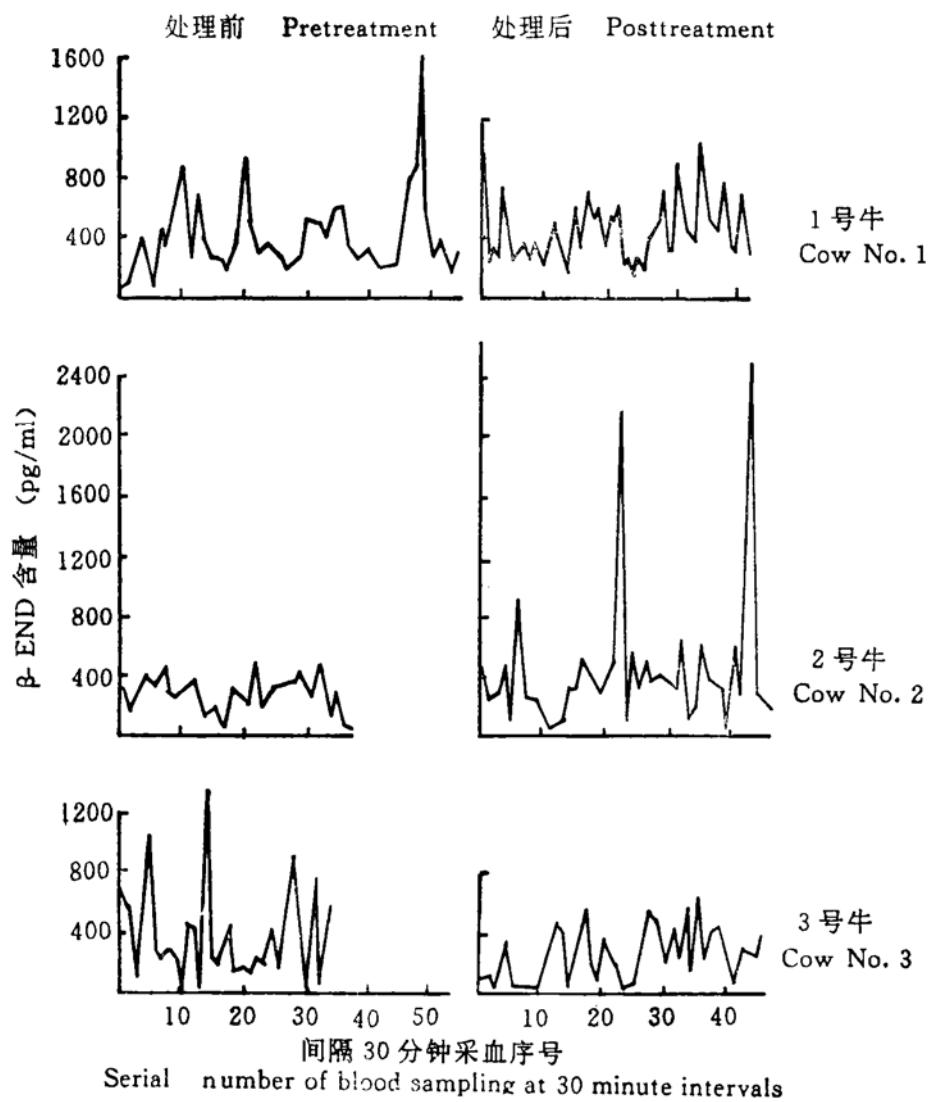


图1 孪生处理前后2个情期、3头母牛在发情当天的外周血清 β -END分泌图型（采血间隔时间为30min）。

Fig. 1 The secretion patterns of β -endorphin in peripheral blood of three cows during two estruses before and after twinning treatment (30 minutes of sampling interval).

算未排卵卵泡数分别为3、2、2个。分析血清 β -END水平与卵泡数、黄体数和未排卵卵泡数的相互关系，发现孪生处理母牛发情期的 β -END脉冲释放峰谷值和脉冲数均与未排卵卵泡数有极显著的正相关关系($r>0.9990$, $P<0.01$)。此外， β -END脉冲释放峰谷值和脉冲数均与排卵数有负相关关系($r=-0.9298$, $P<0.2$)。

3 讨论 β -END为 β -促脂素(β -LPT)氨基酸序列中的一部分，其血清与 β -LPT有一定的交叉反应，从而使测得的 β -END值包含部分 β -LPT。因此， β -END的实际含量应低于本研究所检出的值。

本研究发现，孪生处理母牛在处理后首次发情前第3d和发情当天，外周血清 β -END含量增加，表明PMSG可以引起脑组织释放 β -END。此外，孪生处理母牛在处理后发情当天、血周血清 β -END脉冲释放峰谷值和脉冲数均与未排卵卵泡数有相同的变化趋势，表明EOP对排卵具有抑制作用，其作用机制可能涉及EOP对G_nRH和LH或两者之一的抑制作用。据国外文献报道，EOP既可通过脑部视前区和正中隆起等部位抑制G_nRH的分泌，又可直接作用于垂体、抑制LH的分泌。

由图1可知，3头母牛在孪生处理前、后的外周血清 β -END水平及其变化趋势，均存在个体差异，这可能是引起母牛对超排或孪生处理的反应存在个体差异的原因之一。因此，探索缩小 β -END分泌或释放个体差异的方法，可望提高超数排卵或人工孪生技术的成功率。

参 考 文 献

- [1] Dunlap S E et al. Effect of suckling on cortisol, progesterone and luteinizing hormone in postpartum beef cows. *Theriogenology*, 1981, 16:185~192.
- [2] Peck D D et al. Effect of morphine on serum gonadotropin concentrations in postpartum beef cows. *J. Anim. Sci.*, 1988, 66:2930~2936.

RADIOIMMUNOASSAY OF β -ENDORPHIN IN PERIPHERAL BLOOD OF BEEF COWS DURING ESTRUSES BEFORE AND AFTER TWINNING TREATMENT

Yang Liguo^①, Han Zhengkang^②, Li Ning^①

(Department of Animal Science^①; College of Animal Medicine^②, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095)

Abstract

Three beef cows were treated with pregnant mare serum gonadotrophin (PMSG) in combination with prostaglandin F₂ α and rabbit antiserum against PMSG to induce twining started on day 10 after the second postpartum estrus. Blood samples were harvested via indwelling jugular cannulae at 10 minute intervals for consecutive 2 hours every day from day 10 to the end of the first postpartum estrous cycle, and at 30 minute intervals during the second and third estruses. The levels of β -endorphin in sera were measured

by a radioimmunoassay method. The results are shown as follows. (1) Pulsatile secretions of β -endorphin were detected in peripheral blood of cows during the second postpartum estrus; (2) The level of β -endorphin increased in blood of cows treated for twinning; (3) The increase of β -endorphin was positively related to the number of unovulated follicles.

Key words β -Endorphin, Radioimmunoassay, Twinning, Beef cows, Estrus

本刊在中国科学引文数据库农林类核心期刊中名列第14位

据中国科学院文献情报中心中国科学引文数据库课题组统计, 1989~1991年中国科学引文数据库中全国农林类期刊共有768种。采用绝对数量法对该类期刊的引文统计分析确定, 农林类核心期刊为128种。《畜牧兽医学报》在核心期刊中列居第14位。现将前50名核心期刊被引序次公布如下:

中国科学引文数据库农业类核心期刊 (1989~1991)

序 次	刊 名	被引频次				序 次	刊 名	被引频次			
		1989	1990	1991	89~91			1989	1990	1991	89~91
1	中国农业科学	111(1)	111(2)	146(1)	368	25	浙江农业大学学报	15(30)	16(33)	29(14)	60
2	土壤学报	85(4)	131(1)	125(2)	341	27	江苏农业科学	17(24)	26(17)	16(38)	59
3	兽类学报	100(2)	74(4)	111(3)	285	27	土壤学进展	20(20)	17(32)	22(24)	59
4	作物学报	85(4)	71(5)	108(4)	264	29	南京林业大学学报	11(38)	25(19)	21(27)	57
5	林业科学	66(6)	100(3)	88(5)	254	30	华南农业大学学报	13(32)	23(24)	18(33)	54
6	水产学报	93(3)	70(7)	56(9)	219	30	中国油料	14(31)	22(26)	18(33)	54
7	北京农业大学学报	54(10)	71(5)	62(8)	187	32	热带作物学报	17(24)	14(38)	22(22)	53
8	园艺学报	56(7)	48(10)	73(7)	177	33	西南农业大学学报	9(50)	19(29)	23(23)	51
9	南京农业大学学报	36(11)	51(9)	85(6)	172	34	中国兽医科技	9(50)	16(33)	25(20)	50
10	北京林业大学学报	55(8)	60(3)	56(9)	171	35	土壤肥料	9(50)	15(36)	19(30)	43
11	淡水养鱼	55(8)	35(15)	29(14)	119	36	蚕业科学	11(38)	11(48)	19(30)	41
12	土壤通报	32(12)	39(11)	31(13)	102	37	中国蔬菜	10(43)	16(33)	14(43)	40
13	土壤	29(14)	35(16)	37(12)	101	38	湖南农业大学学报	10(43)	13(44)	16(38)	39
14	畜牧兽医学报	30(13)	24(22)	38(11)	92	38	农业环境保护	13(32)	14(38)	12(49)	39
15	水土保持通报	16(26)	39(11)	29(14)	84	38	种子	3(-)	22(26)	14(43)	39
16	林业科技通讯	19(21)	38(13)	26(19)	83	41	江苏农业学报	8(57)	13(44)	17(37)	38
17	农业机械学报	21(17)	25(19)	29(14)	75	41	中国果树	19(21)	12(47)	7(77)	38
18	原子能农业应用	22(16)	25(19)	22(24)	69	43	东北农学院学报	16(26)	10(54)	9(60)	35
19	华中农业大学学报	18(23)	23(24)	27(18)	68	44	浙江农业科学	10(43)	8(63)	16(38)	34
20	中国水土保持	27(15)	19(31)	21(27)	67	45	福建农学院学报	10(43)	7(75)	16(38)	33
21	水土保持学报	21(17)	22(26)	23(23)	66	45	上海农业科学	8(57)	14(38)	11(54)	33
21	西北农业大学学报	21(17)	20(29)	25(20)	66	47	华北农学报	5(83)	8(63)	19(30)	32
23	东北林业大学学报	16(26)	26(17)	20(29)	62	47	杂交水稻	8(57)	9(58)	15(42)	32
24	农业工程学报	10(43)	37(14)	14(43)	61	49	核农学报	3(-)	10(54)	18(33)	31
25	大豆科学	12(35)	24(22)	24(22)	60	50	北京农业工程大学学报	5(83)	15(36)	10(56)	30