

# 雌貉繁殖期血清雌二醇、孕酮水平的变化和阴道涂片的观察

肖永军 佟煜人 宋建华 华树芳 金得哲

(中国农业科学院特产研究所)

焦淑贤

(中国农业科学院畜牧研究所)

**摘要** 本研究利用放射免疫分析法,测定了雌貉繁殖期血清雌二醇、孕酮水平的变化。分析并探讨了血清雌二醇、孕酮水平与阴道涂片中各类细胞数量比例和阴门开口宽度间的关系。结果表明,角化鳞状上皮细胞的数量比例及阴门开口宽度与血清雌二醇水平有显著的正相关。通过检测阴道涂片中角化鳞状上皮细胞的数量比例,可作为雌貉发情鉴定的方法之一。

貉 (*Nyctereutes procyonoides*) 是一种珍贵的毛皮动物, 近年来已大量引为家养。由于驯化时间较短, 对其繁殖生理和繁殖技术还缺乏深入系统的研究。有关雌貉发情、交配和排卵等生殖活动的激素调节机制至今未见报道。雌貉的发情鉴定目前也只是依靠外生殖器的形态观察和放对试情。这些方法不够准确, 对隐性发情的雌貉更不易识别。动物阴道涂片中的细胞组成及各类细胞之间的数量比例变化与血中性激素水平有密切关系, 并能反映发情周期的进程, 在猪<sup>[4]</sup>、狐<sup>[5]</sup>和水貂<sup>[6]</sup>等中小型动物上可作为发情鉴定和妊娠诊断的方法。本研究测定并分析了雌貉繁殖期血清雌二醇、孕酮水平的变化及其与阴道涂片中各类细胞数量比例变化的关系, 以期为进一步研究雌貉的生殖生理提供基础资料和为发情鉴定提供依据。

## 一、材料与方法

(一) 供试动物 1987年2月中旬在中国农科院特产研究所试验貉场, 选择6只1986年出生(10月龄)、体况中等、健康的雌貉, 饲养在室外带有木制小室的铁网笼内, 饲喂常规繁殖期用饲料, 每日添加饮水2次, 自由饮用。

(二) 血样采集 貉属年季节性1次发情的动物。在其发情周期采血3次。第1次在2月17日, 此时从行为和外生殖器观察, 所有供试雌貉均刚开始有发情表现。第2次在每只雌貉接受第1次交配(简称初配, 下同)后立即进行。雌貉接受初配以后, 每日复配1次, 直至拒配为止。第3次在雌貉开始拒绝复配(简称拒配, 下同)时进行。在雌貉的妊娠期(初配后15—20天)采血1次, 分娩后7—8天采血1次。每次采血在上午9.00—11.00时完成, 用心脏穿刺法采血6—7毫升。血样经30分钟静止后离心(2000转/分)15分钟。血清封装于5毫升的安瓶中, 保存于-25℃的冰箱中待测。

(三) 阴道涂片的制备及阴门开口宽度的测量 从试验开始到初配后第12天, 每天采取阴道粘液制成涂片。具体方法是, 在室内用经70%酒精消毒、长12厘米的吸管, 插入阴道约

8—9厘米处, 吸取阴道粘液, 制成的涂片。用瑞特氏(Wright)法染色, 并观察、记录外生殖器的形态变化, 用游标卡尺测量阴门开口宽度(阴门内缘开口最宽处)。

(四) 血清雌二醇和孕酮浓度的测定 血清雌二醇和孕酮浓度采用放射免疫分析法(RIA)进行测定。药盒由上海市内分泌研究所购入。本测定的灵敏度, 雌二醇为5.7pg/ml; 孕酮为35ng/ml, 批内变异数, 雌二醇为10.47%; 孕酮为8.27%, 提取回收率, 雌二醇为89%; 孕酮为95%。

(五) 阴道涂片的观察和各类细胞数量比例的计算方法 首先对涂片中的各种细胞鉴别分类。然后, 连续观察同一涂片两个视野用血细胞计数器对视野中的各类细胞进行计数。两个视野同类细胞数量平均后, 分别计算每类细胞占细胞总数的百分比。

## 二、结果与讨论

### (一) 雌貉的发情周期、妊娠期及胎产仔数

雌貉开始发情交配的时间受驯化程度、年龄及营养因素的影响, 个体间差异较大, 一般从2月初至3月下旬, 集中在2月下旬至3月上旬。供试雌貉均选自同一年龄的家养貉后代, 开始发情交配的日期较集中(2月22—28日), 且出现在大群貉的配种高峰期。从雌貉开始有发情表现, 即行为焦躁不安、阴毛分开、阴门外露略显红肿时到达成初配的时间(发情前期)平均为 $7.3 \pm 2.34$ 天(5—11天)。持续接受交配的时间(发情期)平均为 $4.3 \pm 1.03$ 天(4—6天)。由于供试雌貉均受配产仔, 因此未观察到发情后期的持续时间。妊娠期平均为 $60 \pm 1.26$ 天(59—62天); 胎产仔数年均均为 $4.8 \pm 0.98$ 只(4—6只)。供试貉胎产仔数较大群貉( $6.8 \pm 1.0$ 只,  $n = 175$ )低, 可能与数量少且为初产有关。

(二) 血清雌二醇和孕酮水平的变化 在繁殖期的不同阶段血清雌二醇和孕酮水平存在极显著的变化( $P < 0.01$ , 见图1)。

在雌貉开始有发情表现时(初配前7.3天),

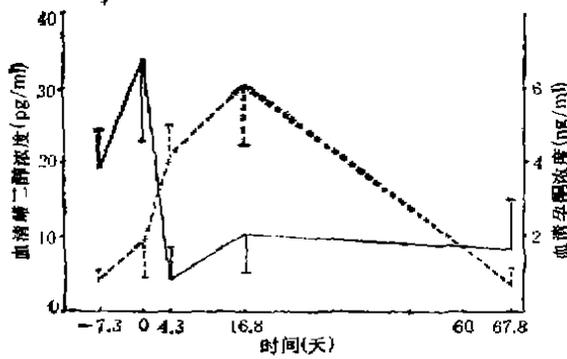


图1 雌貉繁殖期血清雌二醇和孕酮水平的变化  
— 雌二醇; ---- 孕酮; 横坐标上的“0”为初配当日; “60”为雌貉的分娩时间

血清雌二醇浓度已处较高水平 ( $19.27 \pm 5.47$  pg/ml), 之后, 随交配日期的接近进一步上升, 初配当日达  $33.85 \pm 11.30$  pg/ml ( $P < 0.01$ ), 出现整个繁殖期的峰值。雌貉拒配时

(初配后 4.3 天), 雌二醇水平则迅速下降 ( $4.30 \pm 3.93$  pg/ml,  $P < 0.01$ )。妊娠初期(初配后 16.8 天)雌二醇水平与拒配时比较有所升高, 但没有明显差异 ( $P > 0.05$ )。分娩后的雌二醇浓度 ( $8.25 \pm 7.16$  pg/ml) 明显降低。

初配时的血清孕酮浓度 ( $1.89 \pm 1.07$  ng/ml) 与初配前 7.3 天 ( $0.83 \pm 0.28$  ng/ml) 比较有所升高, 但没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。拒配时则迅速上升达  $4.17 \pm 0.83$  ng/ml  $P < 0.01$ 。妊娠初期, 孕酮浓度进一步升高达到本试验的峰值 ( $6.07 \pm 1.56$  ng/ml)。分娩后, 血清孕酮浓度 ( $0.67 \pm 0.34$  ng/ml) 大幅度下降。

与其他动物相似, 在繁殖期中雌貉血清雌二醇和孕酮水平随生理状态的不同呈现交替上升或下降的变化趋势, 二者间呈负相关(见表 1)。雌貉的性欲表现与血清雌二醇水平的变化

表 1 雌貉繁殖期血清雌二醇、孕酮浓度、阴道涂片中各类细胞数量比例和阴门开口宽度间的相关系数

项 目	雌二醇	孕酮	角化鳞状上皮细胞	角化圆形上皮细胞	白细胞	阴门开口宽度
雌二醇	1.00					
孕酮	-0.42	1.00				
角化鳞状上皮细胞	0.62**	-0.36	1.00			
角化圆形上皮细胞	0.20	-0.03	0.32	1.00		
白细胞	-0.58*	0.33	-0.99**	-0.52*	1.00	
阴门开口宽度	0.49*	-0.17	0.74**	0.24	-0.72**	1.00

\* 差异显著 ( $P < 0.05$ ), \*\* 差异极显著 ( $P < 0.01$ )。

相吻合。发情期雌二醇水平的峰值可能是使雌貉能够接受交配的主要内在因素。此外, 孕酮也可能起着协同作用。

从雌貉开始有发情表现直至妊娠期, 血清孕酮水平持续上升, 这与 Novikova 等<sup>[2]</sup>和 Møller 等(1984)在北极狐上的研究结果一致。为了避免对生产造成影响, 在妊娠中后期没有采血, 因此未观察到这个时期雌二醇和孕酮水平的变化情况。

(三) 阴道涂片细胞组成 阴道涂片中的细胞可分为四种类型。

1. 大、稜形角化鳞状上皮细胞。其直径为  $44.80 \pm 10.38$  微米, 大多数无核。在发情期聚集或重叠在一起, 其他时期则分散存在。

2. 小、稜形或船形角化鳞状上皮细胞。其

长径为  $44.60 \pm 11.69$  微米; 短径为  $15.60 \pm 3.97$  微米。

3. 角化圆形上皮细胞。为圆形或椭圆形, 大多数有核, 胞质染色均匀, 直径为  $35.31 \pm 9.24$  微米。一般单独分散存在。

4. 白细胞。主要为多型核白细胞。在发情前期及进入妊娠期后, 一般分散存在, 分布均匀, 边缘清晰, 直径为  $9.15 \pm 1.84$  微米。

(四) 阴道涂片中各类细胞数量比例、阴门开口宽度及其与血清雌二醇、孕酮水平的关系 阴道涂片细胞组成的前二种细胞实为同类细胞。因此, 在计算其数量比例时, 将二者合起来作为“角化鳞状上皮细胞”计数。

在雌貉刚开始有发情表现时, 阴道涂片中的白细胞占有相当高的比例(94.60%), 而角化

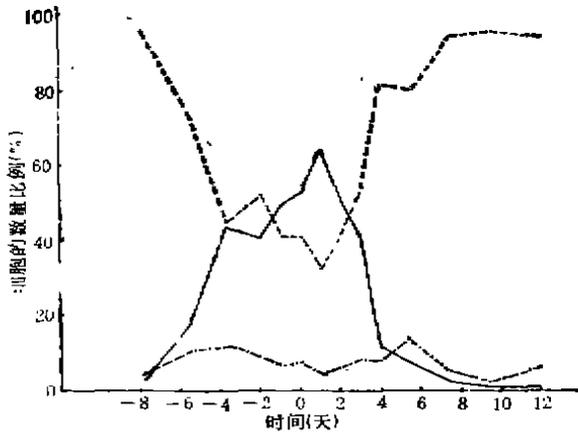


图2 雌貉繁殖期阴道涂片中各类细胞数量比例的变化  
 ——角化鳞状上皮细胞；----白细胞；- - - -角化圆形上皮细胞；横坐标上的“0”为补配当日

鳞状上皮细胞和角化圆形上皮细胞仅占有极低

的比例(分别为 2.42% 和 2.98%, 见图 2)。随交配日期的临近, 角化鳞状上皮细胞的数量比例逐渐上升, 到初配后第 1 天时达到最高值 (62.35%)。其明显升高的时间在初配前第 3 天 (43.18%,  $P < 0.05$ )。初配前第 3 天至初配后第 3 天均处较高水平, 各天间无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 拒配时则迅速下降 (10.88%,  $P < 0.05$ ), 进入妊娠期后 (初配后第 7—12 天) 恢复到刚有发情表现时的水平。白细胞的数量比例与角化鳞状上皮细胞一样存在明显的变化 (见图 2), 且二者呈现此起彼伏的变化趋势 ( $r = -0.99$ ,  $P < 0.01$ , 见表 1)。角化圆形上皮细胞的数量比例在整个繁殖期没有显著的变化 ( $P > 0.05$ )。在雌貉开始有发情表现时, 阴门外露略显红肿, 开口宽度为  $0.34 \pm 0.10$  厘米 (见表 2)。初配前

表 2 雌貉繁殖期阴门开口宽度的变化(厘米)

距初配天数	-(7-8)	-(5-6)	-(3-4)	-2	-1	0	1	2	3	4	5-6	7-8	9-10	11-12
样本数	6	6	6	5	6	6	6	5	5	6	6	5	6	6
阴门开口宽度	$0.34 \pm 0.10$	$0.45 \pm 0.06$	$0.58 \pm 0.05$	$0.71 \pm 0.22$	$0.79 \pm 0.12$	$0.69 \pm 0.14$	$0.74 \pm 0.08$	$0.66 \pm 0.16$	$0.74 \pm 0.12$	$0.54 \pm 0.11$	$0.54 \pm 0.09$	$0.45 \pm 0.13$	$0.44 \pm 0.14$	$0.38 \pm 0.08$

第 2 天开始明显升高 ( $P < 0.05$ ), 至初配后第 3 天, 均处较高水平, 各天间无明显差异 ( $P > 0.05$ )。达到最高值的时间在初配前 1 天 ( $0.79 \pm 0.12$  厘米)。拒配后开始明显下降。由此可以看出阴门开口宽度与阴道涂片角化鳞状上皮细胞的数量比例的变化趋势相似, 二者间呈强正相关 (见表 1)。

阴道涂片中角化鳞状上皮细胞的数量比例, 在临近发情期时随血清雌二醇水平的升高而提高, 在发情期后又随雌二醇水平的降低而下降, 二者间呈极显著的正相关 (见表 1)。阴门开口宽度与血清雌二醇水平间也存在显著的正相关。说明角化鳞状上皮细胞数量比例的增减及阴门的肿胀程度受血中雌二醇水平的影响。在发情周期中随卵泡的不断发育成熟, 所分泌的雌二醇量增加, 又促使阴道上皮细胞增生、角化、阴门充血肿胀, 以为交配作准备。受配排卵后, 雌二醇的分泌量迅速下降, 生殖道的生理变化及阴道粘液中的角化鳞状上皮

细胞数量又逐渐恢复到原来的状态。血清孕酮水平与阴道涂片中各类细胞数量比例及阴门开口宽度的变化无明显的相关。

本研究结果表明, 通过观察阴道涂片中角化鳞状上皮细胞的数量比例变化, 可以作为雌貉发情鉴定的一种方法。由于供试雌貉全部受配妊娠, 未观察到雌貉妊娠与未妊娠间阴道涂片中细胞组成及数量比例变化间的差异, 故依此进行妊娠诊断有待今后进一步研究。

貉、狐等属季节性繁殖动物, 外界因素 (主要是光周期) 对调节其生殖活动起重要作用。本研究只测定了雌貉繁殖期中血清雌二醇和孕酮水平的变化, 今后的研究应着重于 LH、FSH 和褪黑激素在生殖活动中的调节作用, 并探讨其与光周期之间的关系。

### 参 考 文 献

[1] 山西大学生物系 1975 水貂阴道涂片的初步观察 养貂通讯 6: 22—25。

(下转第 35 页)

(上接第 33 页)

- [2] 董伟等 1985 家畜的生殖激素 239—334。农业出版社。
- [3] 伊林娜 E. Д. (吴仲贤译) 1955 毛皮动物饲养学 179—181 高等教育出版社。
- [4] 菅沢武敏等 1986 繁殖用雌豚の性器粘液中の細胞所見 獣医畜産新報 774: 26—28。
- [5] Novikova T. G. et al. 1986 The concentration of sex hormones in female arctic foxes during the reproductive cycle. *Animal Breeding Abstracts*. 54(3): 1818.
- [6] Møller O. M. 1984 Temporal relationships between hormonal concentrations and the electrical resistance of the vaginal tract of blue foxes at pro-oestrus. *J. Reprod. Fert.* 70: 15—24.
- [7] Møller O. M. 1985 Hormonal concentrations of blue foxes during pregnancy and parturition. *Animal Breeding Abstracts*. 53(3): 1576.