

蛋氨酸硒对西门塔尔牛发情周期生殖激素分泌的影响

刘 强 黄应祥 岳文斌 王 聪 王 浩

(山西农业大学动物科技学院 山西 太谷 030801)

摘要 : 选用 16 头 18 月龄、体况良好、体重(380 ± 24)kg 的西门塔尔育成母牛, 采用随机区组设计分为 4 组, 以蛋氨酸硒为硒源, 研究日粮添加硒(0.0.3.0.6 和 0.9 mg/kg 干物质)对其发情周期生殖激素分泌的影响。结果表明, 日粮添加蛋氨酸硒显著提高了发情周期 LH、FSH、 P_4 、 E_2 水平, 其中添加硒 0.3 mg/kg 组、0.6 mg/kg 组显著高于 0.9 mg/kg 组和对照组, 而 0.9 mg/kg 组显著高于对照组($P < 0.05$)。结果表明, 以蛋氨酸硒为硒源时, 添加硒 0.3~0.6 mg/kg 对发情周期生殖激素分泌有显著促进作用, 以 0.6 mg/kg 为佳, 加上基础日粮含硒量, 建议以蛋氨酸硒为硒源时日粮硒水平为 0.67 mg/kg 干物质。

关键词 : 西门塔尔牛; 蛋氨酸硒; 发情周期; 生殖激素

中图分类号 S816.7 文献标识码 A 文章编号 0250-3263(2006)06-49-05

Effects of Selenium Methionine on Reproductive Hormone Level during Estrous Cycle in Simmental Heifers

LIU Qiang HUANG Ying-Xiang YUE Wen-Bin WANG Cong WANG Hao

(College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu Shanxi 030801, China)

Abstract Sixteen Simmental Heifers (average BW 380 ± 24 kg, aged 1.5 years old) consuming a corn straw diet were chosen and allocated into four treatments and supplemented with different doses of selenium(0.0.3.0.6 and 0.9 mg/kg dry matter) by feeding selenium methionine to evaluate the effects of organic selenium on reproductive hormones during the oestrous cycle. The results showed that the serum concentrations of luteinizing-hormone, follicle-stimulating hormone, progesterone and estradiol were increased significantly($P < 0.05$) in 0.3 and 0.6 mg/kg groups compared to those in 0.9 mg/kg and control groups; and the level of reproductive hormones in 0.9 mg/kg group was significantly increased compared to that in control group($P < 0.05$). The results indicate that selenium methionine has a positive effect on the reproductive hormones secretion during estrus cycle. Considering the selenium content in basal diet, the optimum selenium level in the diet is 0.67 mg/kg dry matter.

Key words Simmental Heifer ; Selenium methionine ; Estrous cycle ; Reproductive hormone

硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-px)的结构成分, 可以预防氧化作用对机体的损害, 对维持动物的繁殖机能有着重要的生物学意义。目前在生产和研究领域主要以亚硒酸钠为研究对象^[1,2]。无机硒经反刍动物瘤胃微生物代谢后, 吸收和利用率降低^[3~5]。有机硒可以减缓瘤胃微生物的代谢作用, 可提高血液、组织中硒的浓

度以及 GSH-px 的活性^[6]。目前蛋氨酸硒对发

基金项目 国家科技成果转化项目(No. 02EFN211401036), 奥特齐生物制品有限公司资助(No. 04-S-640);

第一作者介绍 刘强, 男, 博士, 副教授, 研究方向: 动物营养与繁殖, E-mail: liuqiangabc@163.com

收稿日期 2006-07-20, 修回日期 2006-09-01

情周期生殖激素分泌影响的研究未见报道。本实验的目的在于通过在日粮中添加不同水平的蛋氨酸硒,测定西门塔尔牛发情周期外周血液 LH、FSH、 P_4 、 E_2 的含量,了解其正常变化规律及蛋氨酸硒对其分泌水平的影响,为研究西门塔尔牛的生殖生理和利用蛋氨酸硒进行繁殖技术调控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物和设计 在山西省和顺县阳光占乡牛场,选择 16 头 18 月龄,体况良好,体重 (380 ± 24) kg 的西门塔尔育成母牛。采用随机区组设计分为 4 组,对照组:饲喂基础日粮;处理组添加蛋氨酸硒,处理一:基础日粮 + 硒 0.3 mg/kg 干物质;处理二:基础日粮 + 硒 0.6 mg/kg 干物质;处理三:基础日粮 + 硒 0.9 mg/kg 干物质。蛋氨酸硒为喷干型白色粉末,分子式为 $C_{20}H_{40}N_4O_8S_4Se$, 分子量为 675 u。蛋氨酸硒 $\geq 5\ 800$ ppm。由浙江建德维丰饲料兽药有限公司提供。预试期 30 d,正试期 21 d。

1.2 试验日粮及饲养管理 基础日粮由 60% 玉米秸秆和 40% 混合精料组成,混合精料组成及日粮营养水平见表 1。每日饲喂 3 次(07:00、15:00、23:00 时)单槽饲养,专人负责,自由饮水。

表 1 混合精料组成和日粮营养水平

Table 1 Ingredients of concentrate and nutrient level of diet

混合精料组成 Composition of concentrate	%	日粮营养水平 Nutrient levels of diets	%
玉米 Corn grain	52.0	综合净能 NE_m^1 (MJ/kg)	6.54
麸皮 Wheat bran	10.0	粗蛋白质 CP	10.74
豆粕 Soybean meal	16.5	中性洗涤纤维 NDF	56.51
棉粕 Cottonseed cake	12.0	酸性洗涤纤维 ADF	35.59
菜粕 Rapeseed meal	5.0	钙 Ca	0.75
石粉 Limestone	1.5	磷 P	0.52
食盐 Salt	1.0	硒 S (mg/kg)	0.07
预混料 Premix*	2.0		

* V_A : 150 000 IU/kg, V_{B3} : 60 000 IU/kg, V_E : 750 IU/kg, Fe: 1 500 mg/kg, Cu: 400 mg/kg, Zn: 1 500 mg/kg, Mn: 2 000 mg/kg, I: 12.5 mg/kg, Co: 5 mg/kg.

1.3 发情周期的判定及血液样品的采集与制

备 预试期仔细观察母牛,出现爬跨行为即行直肠检查,触摸卵泡发育及排卵情况,根据发情征兆判断是否发情。发情开始 21 h 内每隔 3 h 采血 1 次,之后每天采血 1 次,直至下次发情期前 1 d。采血时间恒定在 09:00 时,均在颈静脉采血,采血量 20 ml,静置 30 min,在 2 500 r/min 离心 10 min 后,取血清,置于 -40°C 冰箱保存。

1.4 生殖激素的测定与计算 采用放射免疫分析方法用 GC-911 γ -计数仪测定促黄体素 (luteinizing-hormone, LH)、促卵泡素 (follicle-stimulating hormone, FSH)、雌二醇 (estradiol, E_2) 和孕酮 (progesterone, P_4) 含量,试剂盒是由北京科美东雅生物技术有限公司提供。

1.5 数据处理及统计分析 试验数据应用 SPSS 10.0 统计分析软件的 One-way-Anova 进行方差分析和 LSD 多重比较,分析结果以平均数 \pm 标准差表示。

2 结果与分析

2.1 蛋氨酸硒对促黄体素分泌的影响 由表 2 可知,发情周期 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组 LH 平均值显著高于 0.9 mg/kg 和对照组,0.9 mg/kg 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。发情后 12 h 为最高,0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。之后处于较低水平。第 10 d 和第 16 d 出现峰值,0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于 0.9 mg/kg 和对照组,0.9 mg/kg 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

2.2 蛋氨酸硒对促卵泡素分泌的影响 由表 3 可知,发情周期 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组 FSH 平均值显著高于对照组 ($P < 0.05$)。发情期处于较低水平,0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。FSH 在第 8 d、第 12 d、第 15 d 出现 3 个峰值,而此时 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组的 FSH 水平显著高于 0.9 mg/kg 和对照组的 FSH 水平 ($P < 0.05$)。

2.3 蛋氨酸硒对孕酮分泌的影响 由表 4 可知,发情周期 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组 P_4 平均值显著高于对照组 ($P < 0.05$)。发情期 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

1~7 d 的 P_4 水平较低, 8~15 d 含量增加, 形成一个台状峰, 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高

于对照组 ($P < 0.05$), 然后开始下降直到发情期。

表 2 蛋氨酸硒对西门塔尔牛发情期促黄体素分泌的影响 (mIU/ml)

Table 2 Effects of selenium methionine on serum LH during estrous cycle in Simmental Heifers

	蛋氨酸硒添加量 Supplemental selenium methionine (mg/kg DM)			
	0	0.3	0.6	0.9
发情期 Estrous period (h)				
0	3.41 ± 0.39 ^c	7.87 ± 0.32 ^a	8.83 ± 0.48 ^a	6.18 ± 0.39 ^b
3~9	4.52 ± 0.45 ^c	9.00 ± 0.52 ^a	10.27 ± 0.37 ^a	7.77 ± 0.63 ^b
12	22.53 ± 0.84 ^c	27.01 ± 0.58 ^a	28.63 ± 0.87 ^a	25.04 ± 0.65 ^b
15~21	4.29 ± 0.29 ^c	8.07 ± 0.41 ^a	9.14 ± 0.28 ^a	7.36 ± 0.42 ^b
发情周期 Estrous cycle (d)				
21 (平均 Average)	4.56 ± 0.59 ^c	8.84 ± 0.63 ^a	9.87 ± 0.71 ^a	7.93 ± 0.67 ^b

同行不同上标字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 后同。

Means in the same row with different superscripts letters are significantly different ($P < 0.05$), the same as the following tables.

表 3 蛋氨酸硒对西门塔尔牛发情期促卵泡素分泌的影响 (mIU/ml)

Table 3 Effects of selenium methionine on serum FSH during estrous cycle in Simmental Heifers

	蛋氨酸硒添加量 Supplemental selenium methionine (mg/kg DM)			
	0	0.3	0.6	0.9
平均发情期 Estrous period (h)				
	1.65 ± 0.40 ^b	2.91 ± 0.49 ^a	3.94 ± 0.32 ^a	2.47 ± 0.37 ^{ab}
发情周期 Estrous cycle (d)				
8	12.42 ± 0.38 ^b	13.86 ± 0.52 ^a	15.72 ± 0.64 ^a	13.69 ± 0.55 ^b
12	6.36 ± 0.51 ^b	8.39 ± 0.63 ^a	9.08 ± 0.39 ^a	6.17 ± 0.61 ^b
15	4.97 ± 0.49 ^b	6.90 ± 0.53 ^a	7.68 ± 0.64 ^a	4.76 ± 0.51 ^b
21 (平均 Average)	2.47 ± 0.35 ^b	3.79 ± 0.41 ^a	4.71 ± 0.46 ^a	3.18 ± 0.51 ^{ab}

表 4 蛋氨酸硒对西门塔尔牛发情期孕酮分泌的影响 (ng/ml)

Table 4 Effects of selenium methionine on serum P_4 during estrous cycle in Simmental Heifers

	蛋氨酸硒添加量 Supplemental selenium methionine (mg/kg DM)			
	0	0.3	0.6	0.9
平均发情期 Estrous period (h)	0.39 ± 0.13 ^b	0.76 ± 0.19 ^a	0.87 ± 0.24 ^a	0.65 ± 0.20 ^{ab}
发情周期 Estrous cycle (d)				
1~7	0.34 ± 0.12 ^b	0.68 ± 0.17 ^a	0.79 ± 0.16 ^a	0.60 ± 0.11 ^{ab}
8~15	1.01 ± 0.18 ^b	1.24 ± 0.20 ^a	1.35 ± 0.23 ^a	1.15 ± 0.25 ^{ab}
16~21	0.35 ± 0.16 ^b	0.70 ± 0.15 ^a	0.81 ± 0.19 ^a	0.64 ± 0.17 ^{ab}
21 (平均 Average)	0.60 ± 0.21 ^b	0.90 ± 0.24 ^a	1.01 ± 0.26 ^a	0.82 ± 0.25 ^{ab}

2.4 蛋氨酸硒对雌二醇分泌的影响 由表 5 可知, 发情周期 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组 E_2 平均值显著高于 0.9 mg/kg 和对照组, 0.9 mg/kg 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。发情开始后的 12 h 达到高峰, 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于 0.9 mg/kg 和对照组, 0.9 mg/kg 显著高于对照组

($P < 0.05$)。随后下降到较低水平, 形成第一个峰。第 4 d 后逐渐上升, 第 5~8 d 出现第二个台状峰, 0.3 mg/kg 和 0.6 mg/kg 组显著高于 0.9 mg/kg 和对照组, 0.9 mg/kg 显著高于对照组 ($P < 0.05$)。第 10~16 d 处于较低水平, 第 17 d 逐渐上升到下次发情时水平。

表 5 蛋氨酸硒对西门塔尔牛发情期雌二醇分泌的影响 (pg/ml)

Table 5 Effects of selenium methionine on serum E₂ during estrous cycle in Simmental Heifers

	蛋氨酸硒添加量 Supplemental selenium methionine (mg/kg DM)			
	0	0.3	0.6	0.9
发情期 Estrous period (h)				
0	6.98 ± 1.53 ^c	21.79 ± 2.54 ^a	23.75 ± 1.91 ^a	20.38 ± 2.34 ^b
3~9	5.80 ± 1.49 ^c	21.62 ± 2.31 ^a	23.67 ± 2.25 ^a	18.76 ± 1.87 ^b
12	17.28 ± 1.54 ^c	33.58 ± 1.96 ^a	36.16 ± 2.39 ^a	30.24 ± 2.43 ^b
15~21	5.60 ± 1.64 ^c	15.74 ± 2.47 ^a	18.11 ± 1.76 ^a	13.86 ± 2.35 ^b
发情周期 Estrous cycle (d)				
2~4	4.63 ± 0.85 ^c	20.02 ± 0.79 ^a	22.13 ± 0.94 ^a	17.50 ± 1.12 ^b
5~8	10.19 ± 0.47 ^c	26.46 ± 0.85 ^a	28.71 ± 0.77 ^a	24.67 ± 0.64 ^b
9~16	4.56 ± 1.32 ^c	16.66 ± 0.64 ^a	18.84 ± 1.43 ^a	14.34 ± 0.81 ^b
17~21	5.47 ± 0.97 ^c	19.74 ± 0.48 ^a	21.95 ± 0.92 ^a	17.73 ± 0.72 ^b
21 (平均 Average)	6.32 ± 1.03 ^c	20.13 ± 1.68 ^a	22.25 ± 1.54 ^a	18.08 ± 1.32 ^b

3 结论与讨论

LH 与 FSH 协同作用,促进卵泡生长成熟和卵泡膜增生,促进排卵和形成黄体,参与内膜细胞合成分泌雌激素。变化规律与以前测定结果一致^[7]。Madej 报道 LH 基础值为 0.3~3.5 ng/ml,排卵前出现一个单独的峰,峰值为 6.7~16 ng/ml^[8]。Larsson 用超声波结合测定 LH,认为 LH 峰出现在发情开始后的 7.4 h^[9],本试验确认为 12 h,可能是因为品种差异,或 LH 呈脉冲释放而每次采血间隔 3 h 所致。蛋氨酸硒促进了 LH 的分泌,以 0.3 mg/kg DM 较为显著。

FSH 刺激卵巢生长和生长至出现空腔的卵泡继续发育增大并接近成熟^[10]。发情期 FSH 为上升趋势,之后较低,第 8 d 出现高峰,然后逐渐下降,第 9~10 d 处于较低水平,直到第 12 d 出现第二个峰,第 15 d 出现第三个峰。Akbar, Bolt 的测定结果均高于本实验^[11,12],但趋势十分近似,说明发情后 FSH 维持较高水平约 12 h^[7]。蛋氨酸硒促进了 FSH 的分泌,以 0.3 mg/kg 较为显著。排卵虽然主要是由 LH 峰引起的,在 LH 出现峰值时,FSH 也出现一个高峰,可在本试验中未测定到这样的变化,这可能是每次采血间隔 3 h,FSH 呈脉冲释放,存在一定误差导致的,这有待于进一步验证。

少量的 P₄ 能与雌激素共同作用使用母畜出现外部发情表现,而大量 P₄ 会抑制垂体 FSH 和

LH 的释放,从而抑制发情。发情期及开始 1~7 d P₄ 平均较低,8~15 d 形成一个台状峰。第 16 d 下降直到发情,这是由于发情周期末黄体分泌孕酮而引起^[13]。Smith 报道发情前 4 d P₄ 开始下降直到发情时达最低值 1 ng/ml,在周期中最高值可达到 6~7 ng/ml^[14]。Beckers 报道从发情前 5 d 的 6.0 ng/ml 降低到发情时的 0.6 ng/ml,之后增加到第 15 d 的 7.19 ng/ml^[15]。与本实验 P₄ 含量的变化趋势相似。日粮添加蛋氨酸硒促进了 P₄ 的分泌,以 0.3~0.6 mg/kg 较为显著。

E₂ 与 P₄ 变化相反,P₄ 下降时,E₂ 却上升,并在发情时达到最高,这与卵泡的发育及形态变化相一致^[16],这种 P₄ 水平下降,随后雌激素的迅速上升是引起发情行为所必须的^[17]。给切除卵巢的奶牛注射低剂量的 P₄,12 h 后再注射雌激素,结果引起奶牛明显的发情现象^[18],可见 P₄ 与 E₂ 在引起发情时是协同作用的。Smith 认为周期中 E₂ 有两个峰:发情前 1 d,峰值为 11.2 pg/ml;第 6~8 d,峰值为 7.9 pg/ml^[14],与本实验结果相接近。日粮添加蛋氨酸硒促进了 E₂ 的分泌,以 0.3~0.6 mg/kg 较为显著。一般认为雌激素的峰值下降后才出现 LH 峰值,但在本实验中 LH 和雌激素的峰值出现的时间一致,均是 12 h,这可能是每次采血间隔 3 h,而 LH 呈脉冲释放,存在一定误差导致的,

这有待于进一步增加采血点密度来验证。

硒可显著增加生殖激素的含量,是因为硒参与谷胱甘肽过氧化物酶的组成,对体内氢和脂质过氧化物有较强的还原作用,保护细胞膜结构完整和功能正常,并且硒能显著促进日粮营养物质的消化吸收与代谢,从而增加生殖激素的合成与分泌^{*}。当硒含量增大到一定程度时反而效果下降是因为硒元素具有两面性,牛对硒的需要有一个适宜范围,低于下限,导致硒缺乏,超过上限,会导致中毒。虽然本实验的 0.9 mg/kg 未达到中毒剂量,但根据文献资料报道,硒过量时对繁殖功能也会造成不利的影响,母畜受胎率和产仔数均下降,仔畜发育迟缓^[9]并且硒过量导致营养物质消化代谢降低^{*},从而抑制生殖激素的合成与分泌。

日粮添加蛋氨酸硒后显著提高了发情周期生殖激素的分泌水平,以 0.6 mg/kg 为好。兼顾基础日粮含硒量,建议以蛋氨酸硒为硒源时日粮硒水平为 0.67 mg/kg 干物质。

参 考 文 献

- [1] 李飞,杨华,侯延旭等.亚硒酸钠维生素 E 对奶牛繁殖性能的影响.中国奶牛,2000,20(5):36~37.
- [2] Erskine R J, Eberhart R J, Grasso P J, et al. Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium-deficient or selenium-supplemented diets. *Am J Vet Res*, 1989, 50: 2 093 ~ 2 100.
- [3] Church D C, Hansard S L, Miller J K, et al. The trace elements. In: Church D C ed. *Digestion Physiology and Nutrition of Ruminants*. O & B Books, Inc Corvallis OR, 1971, 100 ~ 156.
- [4] Paulson G D, Bauman C A, Pope A L. Metabolism of ⁷⁵Se-selenite, ⁷⁵Se-selenate, and ⁷⁵Se-selenomethionine and ³⁵S-sulfate by rumen microorganisms *in vitro*. *J Anim Sci*, 1968, 27: 497 ~ 504.
- [5] Hudman J F, Glenn A R. Selenite uptake and incorporation by *Selenomonas ruminatum*. *Arch Microbiol*, 1984, 140: 252 ~ 256.

- [6] Henry P R, Ammerman C B. Selenium Bioavailability in Bioavailability of Nutrients for Animals, Amino Acids, Minerals and Vitamins C. New York: American Academic Press, 1995.
- [7] 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、雌二醇含量及变化规律.华北农学报,1996,11(3):121~127.
- [8] Madej A, Stupuicki R. Peripheral plasma levels of LH in the cow through the estrus cycle. *Endokrynologia (Poland)*, 1975, 65(2): 121 ~ 125.
- [9] Larsson B. Determination of ovulation by ultrasound examination and its relation to the LH-peak in heifers. *Zentralbl Veterinarmed A*, 1987, 34(10): 749 ~ 754.
- [10] 王建辰主编.家畜生殖内分泌学.北京:中国农业出版社,1993,159~169.
- [11] Akbar A M, Reichert L E Jr, Dunn T G, et al. Serum levels of follicle-stimulating hormone during the bovine estrus cycle. *J Anim Sci*, 1974, 39(2): 360 ~ 365.
- [12] Bolt D J, Rollins R. Development and application of radioimmunoassay for bovine follicle-stimulating hormone. *J Anim Sci*, 1983, 56(1): 146 ~ 154.
- [13] 陈海燕,傅衍.中国荷斯坦牛发情周期中孕酮、雌二醇含量的变化规律.上海交通大学学报(农业科学版), 2005, 23(2): 122 ~ 124, 142.
- [14] Smith J F, Faricrough R J, Payne E. Plasma hormone levels in the cow. I. changes in progesterone and oestrogen during normal estrus cycles. *New Zealand J Agri Res*, 1975, 18: 123 ~ 129.
- [15] Beckers J F, Ballman P, Ectors F. Radioimmunoassay of progesterone in the cow. *Sci Naturales*, 1975, 28(3): 335 ~ 338.
- [16] Henricks D M, Dickey J F, Hill J R, et al. Plasma estrogen and progesterone levels after mating and during late pregnancy and postpartum in cows. *Endocrinology*, 1972, 90(5): 1 336 ~ 1 342.
- [17] Hafez E S E. *Reproduction in Farm Animals*, 4th Edition. Publisher: Lea & Febiger, 1980, 103.
- [18] Melampy R M, Emmerson M A, Rakes J M, et al. The effect of progesterone on the estrous response of estrogen condition ovarietomized cows. *J Anim Sci*, 1957, 16: 967 ~ 978.
- [19] 王宗元主编.动物营养代谢和中毒病学.北京:中国农业出版社,1997,120~122.

* 刘强. 硒源对西门塔尔牛发情周期和胎衣滞留母牛分娩前后生殖激素分泌及营养代谢的影响[D]. 山西农业大学博士学位论文, 2006, 106 ~ 113.