

张国宇, 冉本康, 康永刚, 等. 奶山羊发情周期子宫颈口、阴道细胞及生殖激素变化规律研究 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (4): 1-7.
ZHANG G Y, RAN B K, KANG Y G, et al. Study on the changes in cervical opening, vaginal cells and reproductive hormones in dairy goats during estrous cycle [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (4): 1-7.

奶山羊发情周期子宫颈口、阴道细胞及生殖激素变化规律研究

张国宇¹, 冉本康¹, 康永刚², 陈琳³, 王卉⁴, 胡张涛¹, 胡建宏^{1*}

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2. 徐州生物工程职业技术学院, 江苏 徐州 221006;

3. 大荔县畜牧发展中心, 陕西 大荔 715100;

4. 新疆农业大学动物科学学院, 新疆 乌鲁木齐 830052)

摘要: 旨在研究奶山羊发情周期子宫颈口、阴道细胞及生殖激素的变化规律, 以期探寻奶山羊发情期最佳输精时机。选用 60 只 2 胎次、体重良好、体重相近的关中奶山羊母羊, 连续观察 1~2 个发情周期, 观测记录发情周期母羊子宫颈口状况, 阴道细胞 (有核上皮细胞、未完全角化上皮细胞、完全角化上皮细胞、白细胞) 形态及数量, 血清生殖激素中促卵泡素 (FSH)、促黄体素 (LH)、孕酮 (P_4)、雌二醇 (E_2) 含量的变化。结果: 奶山羊子宫颈口在发情期明显开张, 开张时间维持 36~48 h, 之后逐渐闭合; 发情前期阴道有核上皮细胞占比显著高于其他 3 种类型细胞 ($P<0.05$), 发情期完全角化上皮细胞占比显著高于其他 3 种类型细胞 ($P<0.05$), 发情后期和间情期白细胞占比显著高于其他 3 种类型细胞 ($P<0.05$)。血清中 FSH 和 LH 在发情期的平均含量显著高于间情期及发情前期 ($P<0.05$), 并分别于发情后 10、15 h 到达峰值; 发情期和发情后期 E_2 的平均分泌量显著高于间情期和发情前期 ($P<0.05$), 于发情开始后 15 h 达到峰值; P_4 在发情后期和间情期的平均含量显著高于发情前期及发情期 ($P<0.05$), 于发情开始后 15 h 达到峰值。综上, 关中奶山羊发情周期中雌激素和孕激素协同调控子宫颈口及阴道细胞发生周期性变化, 子宫颈口开张维持 36~48 h, 发情期阴道细胞涂片上 60% 以上为完全角化上皮细胞, 可作为关中奶山羊发情鉴定重要指标; 母羊卵巢于出现发情症状后约 15 h 接近排卵状态, 在此之前 6~8 h 开始输精能够提高母羊的受孕率。

关键词: 奶山羊; 发情周期; 子宫颈口; 阴道细胞; 生殖激素

中图分类号: S827 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)04-0001-07

Study on the changes in cervical opening, vaginal cells and reproductive hormones in dairy goats during estrous cycle

ZHANG Guoyu¹, RAN Benkang¹, KANG Yonggang², CHEN Lin³, WANG Hui⁴, HU-ZHANG Tao¹, HU Jianhong^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling 712100, China;

2. Xuzhou Polytechnic College of Bioengineering, Xuzhou 221006, China;

3. Dali Animal Husbandry Development Center, Dali 715100, China;

4. College of Animal Science, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830052, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the changes in cervical orifice, vaginal cells and reproductive hormones in dairy goats during estrous cycle, and to determine the best time for insemination in dairy goats during the cycle. A total of 60 Guanzhong dairy goats with 2 parities, good body condition and similar body weight were selected to observe continuously for 1 to 2 estrous cycles, and to monitor the changes in the cervical orifice status, the morphology and number of vaginal cells, and the contents of serum reproductive hormones (FSH, LH, P_4 and E_2) in ewes during the estrous cycle. The main results were as follows: (1) The cervical orifice of the dairy goats opened obviously during estrus, and the opening time varied from 36 to 48 hours, and then closed gradually. The proportion of vaginal nucleated epithelial cells in proestrus was significantly higher than that of the other three cell forms ($P<0.05$). The proportion of completely keratinized epithelial cells in oestrus was significantly higher than that of the other three cell forms ($P<0.05$), and the proportion of leukocytes in metestrus and diestrus was significantly higher than that of the other three cell forms ($P<0.05$). (2) The average contents of FSH and LH in serum in

收稿日期: 2024-05-15; 修回日期: 2025-02-12

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1300200); 陕西省重点研发计划项目 (2024NC-ZDCYL-03-02)

第一作者: 张国宇, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 胡建宏, 教授, 研究方向为雄性动物生殖生理调控, E-mail: hjh19732008@126.com。

oestrus were significantly higher than those in diestrus and proestrus ($P < 0.05$), and they reached the peak at 10 h and 15 h after the onset of estrus, respectively. The average secretion of E_2 in oestrus and metestrus was significantly higher than that in diestrus and proestrus ($P < 0.05$), and it reached the peak at 15 h after the onset of estrus. The average content of P_4 in metestrus and diestrus was significantly higher than that in proestrus and oestrus ($P < 0.05$), and it reached the peak at 15 h after the onset of estrus. To sum up, estradiol and progesterone cooperatively regulated the periodic changes in cervical opening and vaginal cells during the estrous cycle of the Guanzhong dairy goats. The opening of cervical orifice continued for 36 hours and more than 60% of vaginal smears were completely keratinized epithelial cells during estrus, which might serve as an important index for estrus detection of Guanzhong dairy goats. The ovaries of ewes were close to ovulation 15 hours after the onset of estrous symptoms, and insemination 6–8 hours before that could increase the conception rate of ewes.

Keywords: dairy goats; estrus cycle; cervical opening; vaginal cells; reproductive hormone

人工授精技术的应用极大提高了公母羊生产效率,越来越多的研究发现,生产中可通过提高发情鉴定的准确性、把握最佳输精时机来提高人工授精后母羊的受胎率^[1-2],从而增强人工授精的效果。奶山羊发情周期子宫颈口、阴道上皮细胞、生殖激素内分泌等呈现出的规律性变化可反映母羊发情周期所处生理阶段,帮助养殖户做好发情鉴定工作^[3]。樊江峰等^[4]研究表明,在繁殖季节第二情期的牦牛中有72.4%出现外阴红肿、阴门悬挂黏液,92.4%的母牛子宫颈口肿胀及开张,可作为发情鉴定的重要指标。火静萍^[5]研究表明,甘加藏羊在不同的发情周期中,其阴道细胞涂片的主要细胞类型有显著差异,发情期阴道细胞类型主要是角化上皮细胞,并且在整个发情周期中,阴道细胞类型和数量逐渐转变,因此阴道涂片法可较为准确区分发情周期的各个时期。钱伟^[6]研究表明,多浪羊促卵泡素(FSH)、雌二醇(E_2)、孕酮(P_4)分泌的变化可间接反映发情周期中卵泡发育及排卵动态,可为配种时机的选择提供参考。

通过研究奶山羊发情规律,能够指导养殖户科学高效地进行发情鉴定,提升人工授精效率^[7]。但是,目前尚无关中奶山羊发情周期中子宫颈口、阴道细胞及生殖激素分泌特征的深入报道。因此,本试验在关中奶山羊繁殖季节,持续跟踪记录经产母羊自然发情状态下发情周期子宫颈口、阴道细胞及生殖激素分泌动态变化,以期为关中奶山羊发情鉴定工作的高效开展提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物和饲养管理

本试验于2022年奶山羊繁殖季节8—9月,在陕西省富平县某奶山羊育种公司进行,试验时间持续7~8周,即超过关中奶山羊2个发情周期以上时长。选择60只2胎次、体况良好、体重(50.50 ± 1.75) kg的关中奶山羊母羊,每天07:00、12:00、19:00饲喂全混合日粮(TMR),自由饮水。羊舍由专人定期清扫、消毒,保证环境干净整洁。

1.2 主要试剂

苏木精、水溶性伊红染液购自Sigma-Aldrich公司(德国);95%乙醇、75%乙醇、无水乙醇、硫酸铝钾、碘酸钠、冰醋酸购自广东光华科技有限公司;山羊FSH、促黄体素(LH)、 P_4 和 E_2 酶联免疫分析试剂盒均购自上海凡科维生物科技有限公司。

1.3 发情鉴定

试验期间每天间隔4 h,采用外部观察法结合公羊试情法对试验羊进行发情鉴定。若母羊开始出现阴门红肿、精神兴奋、摇尾鸣叫、主动接近公羊时即可记为0 h。由于自然发情与同期发情状态下的0 h判断标准有别,以“孕酮阴道栓(PIDR)+孕马血清促性腺激素(PMSG)+前列腺素(PG)法”为例,同期发情0 h判断标准为撤除孕激素阴道栓后,PG注射完成时即可记为发情0 h。而自然发情无法准确捕获到发情前期(无明显发情症状的一段时间),只能以出现发情症状为标准确定0 h(此0 h比理论上发情启动时间稍晚,如图1所示)。因此,在母羊出现发情迹象后,随即进行子宫颈口图像记录并开展阴道上皮细胞涂片试验及颈静脉血样采集。

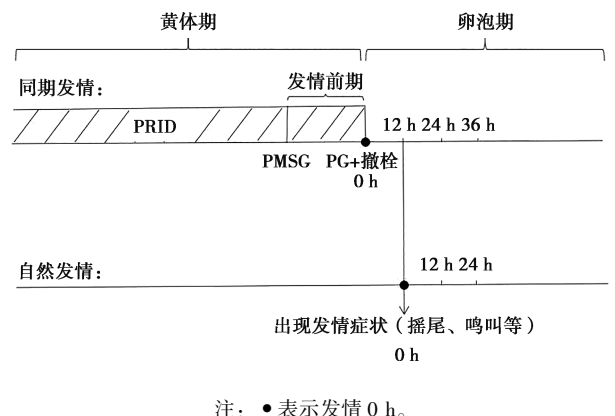


图1 同期发情与自然发情0 h判定标准示意

1.4 子宫颈口状况监测

自母羊出现发情症状起,间隔12 h使用视输精枪拍摄子宫颈口1次,持续监测4 d后,每2 d监测

1次。

阴道细胞采集及制片：将蘸有生理盐水的棉签插入阴道3~4 cm处，顺时针方向缓慢旋转棉签3~4周，随后在载玻片上滴加少量生理盐水，再将棉签上的阴道内容物均匀涂抹于载玻片上，静置涂片于阴凉干燥处自然阴干，随后进行固定、染色及封片。阴道上皮细胞涂片制作时间分别为发情期(0 h)、发情后期(48 h)、间情期(7 d)和下一个发情周期的发情前期(18 d)。

涂片观察：将阴道上皮细胞涂片置于普通光学显微镜下观察，根据细胞形态特征区分细胞种类，每张涂片随机选择5个视野，统计各类型细胞数量并计算每个视野中各类型细胞所占比例。

1.5 血样采集与激素含量测定

采血时间从0 h开始，在0~40 h时，每5 h采集1次；48~72 h时间间隔8 h采集1次；5~17 d时每2 d采集1次；18~21 d时每天定时采集1次。每次采血5 mL，以3 000 g离心15 min后收集上层血清。

使用激素酶联免疫分析试剂盒应用双抗体夹心法测定山羊血清中FSH、LH、E₂和P₄水平。往预先包被山羊激素捕获抗体的包被微孔中，依次加入标本、标准品、HRP标记的检测抗体，经过温育并彻底洗涤。用底物TMB显色，TMB在过氧化物酶的催化下转化成蓝色，并在酸的作用下转化成最终的黄色。颜色的深浅和血清中的山羊激素含量呈正相关。用酶标仪在450 nm波长下测定吸光度，通过标准曲线计算血清中激素含量。

1.6 数据统计和分析

数据通过Microsoft Excel 2016进行整理，利用SPSS 26.0软件ANOVA程序“邓肯分析”对数据进行单因素方差分析和多重比较，所有数据以“平均数±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 关中奶山羊发情周期子宫颈口变化规律

关中奶山羊出现发情症状后0~48 h，子宫颈口保持开张状态，其开口呈现逐渐缩小趋势，0~24 h子宫颈口周围黏液由清亮流体状逐渐转变为乳白色黏稠糊状，24~48 h黏液由乳白色黏稠糊状逐渐转变为团块状，之后浓白色黏液团块逐渐消失；4~16 d子宫颈口保持紧闭，子宫颈口周围无明显黏液蓄积现象；18~20 d阴道黏膜再次开始充血，子宫颈口颜色逐渐红润，其周围再次开始蓄积少量清亮黏液。根据关中奶山羊发情周期不同时间点子宫颈口状况变化(见图2)，推测其发情前期一般维持2~3 d，发情期

平均维持时间在36~48 h；发情后期是发情期后的1~2 d内，间情期一般维持10~13 d。

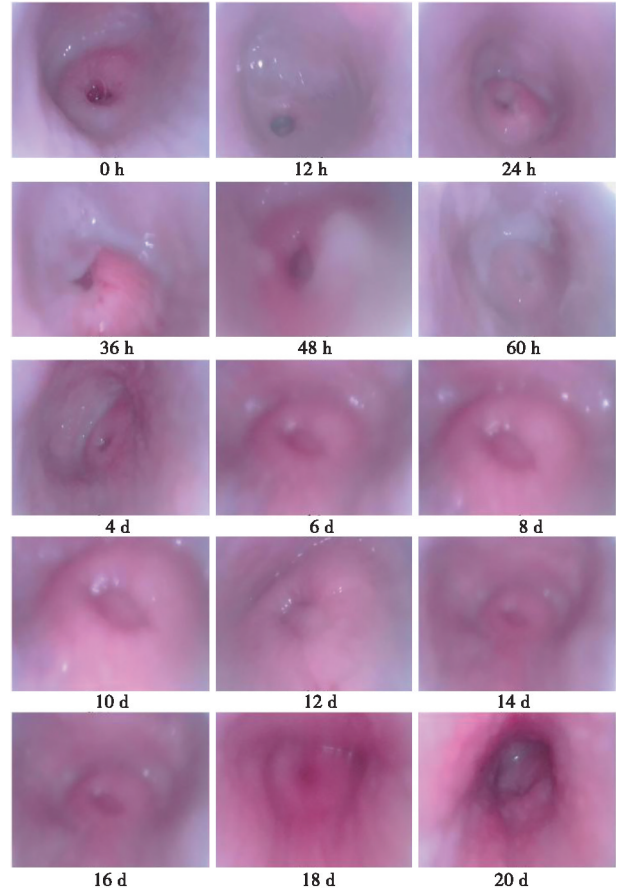
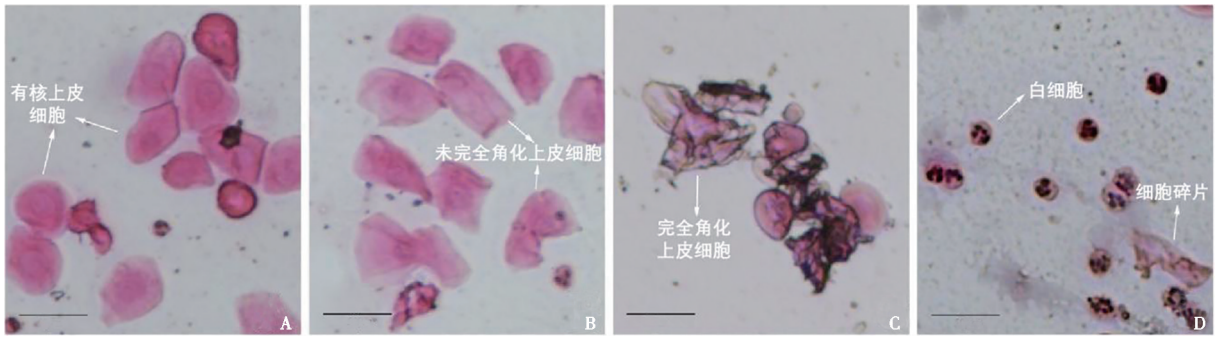


图2 关中奶山羊发情周期不同时间点子宫颈口变化情况

2.2 关中奶山羊发情周期阴道细胞变化规律

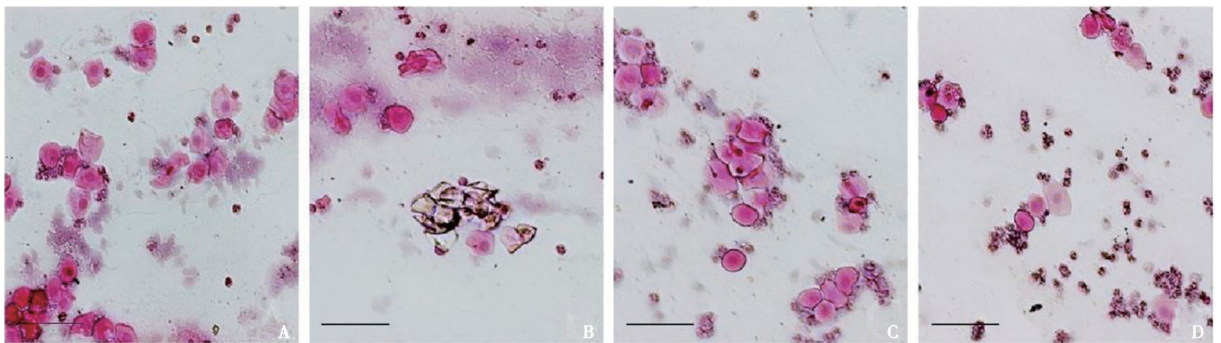
关中奶山羊发情周期阴道细胞主要包括有核上皮细胞(图3A)、未完全角化上皮细胞(图3B)、完全角化上皮细胞(图3C)以及白细胞(3D)。

关中奶山羊发情周期不同阶段阴道细胞涂片如图4所示，发情前期主要为有核上皮细胞(图4A)，发情期主要为完全角化上皮细胞(图4B)，发情后期和间情期主要为白细胞(图4C、图4D)。各类型细胞平均比例变化情况如图5所示。发情前期阴道涂片上的有核上皮细胞平均占比显著高于未完全角化上皮细胞、完全角化上皮细胞以及白细胞($P<0.05$)；发情期阴道涂片上的完全角化上皮细胞平均占比显著高于有核上皮细胞、未完全角化上皮细胞以及白细胞($P<0.05$)，达到60%以上；发情后期和间情期阴道涂片上的白细胞平均占比显著高于有核上皮细胞、未完全角化上皮细胞以及完全角化上皮细胞($P<0.05$)。



A. 有核上皮细胞; B. 未完全角化上皮细胞; C. 完全角化上皮细胞; D. 白细胞。

图3 关中奶山羊阴道细胞主要细胞类型 (HE 染色, 比例尺=50 μm)



A. 发情前期; B. 发情期; C. 发情后期; D. 间情期。

图4 关中奶山羊发情周期各阶段阴道细胞涂片 (HE 染色, 比例尺=200 μm)

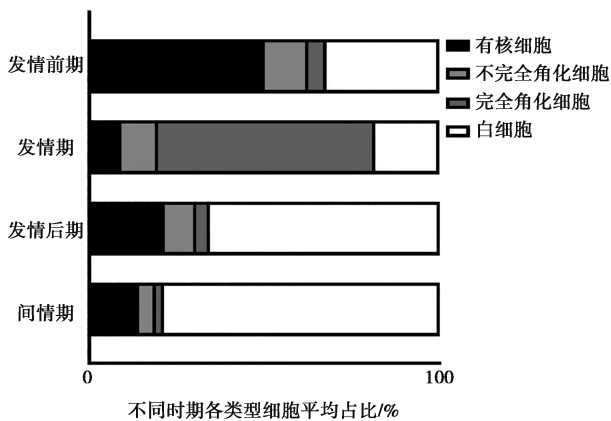


图5 关中奶山羊发情周期阴道细胞比例变化情况

2.3 关中奶山羊发情周期血清 FSH 含量变化规律

关中奶山羊发情期、发情后期、间情期、发情前期血清 FSH 平均含量分别为 (34.87±5.82)、(35.17±2.95)、(26.16±2.84) 和 (28.19±1.23) IU/L, 发情周期各时间点 FSH 含量变化详见表 1。发情期血清 FSH 含量呈现先迅速升高而后缓慢下降趋势, 血清 FSH 平均含量显著高于间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情后期血清 FSH 含量呈现缓慢上升趋势,

平均含量显著高于发情前期以及间情期 ($P < 0.05$); 间情期血清 FSH 含量呈现波动式下降趋势, 平均含量显著低于发情期、发情后期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情前期血清 FSH 含量呈现波动式上升趋势, 平均含量显著高于间情期 ($P < 0.05$)。关中奶山羊发情周期内的血清 FSH 含量自出现发情症状 0 h 开始不断上升, 直至 10 h 出现最高峰值 (44.44±3.49) IU/L, 此时卵泡发育基本完成, 之后总体呈现波动式下降趋势, 于出现发情症状后第 15 天降至最低值 (22.73±2.39) IU/L。

2.4 关中奶山羊发情周期血清 LH 含量变化规律

关中奶山羊发情期、发情后期、间情期、发情前期血清 LH 平均含量分别为 (24.78±4.77)、(25.34±2.38)、(21.07±4.14) 和 (15.57±1.60) ng/L。发情周期各时间点 LH 含量变化详见表 1。发情期血清 LH 含量呈现先上升后下降趋势, 平均含量显著高于间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情后期血清 LH 含量呈现波动式下降趋势, 平均含量显著高于间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 间情期血清 LH 含量呈现波动式下降趋势, 平均含量显著高于发情前期 ($P < 0.05$); 发情前期血清 LH 含量呈现波动式下降趋势,

平均含量显著低于发情期、发情后期以及间情期 ($P < 0.05$)。关中奶山羊发情周期内的血清 LH 含量自出现发情症状 0 h 开始逐渐上升, 直至 15 h 出现最高峰值 (32.50 ± 0.34) ng/L, 此时卵泡完全成熟, 母羊接近排卵状态。之后总体呈现波动式下降趋势, 于出现发情症状后第 20 天降至最低值 (13.70 ± 1.84) ng/L。

2.5 关中奶山羊发情周期血清 E₂ 含量变化规律

关中奶山羊发情期、发情后期、间情期、发情前期血清 E₂ 平均含量分别为 (163.03 ± 32.51)、(154.12 ± 7.17)、(123.97 ± 22.34) 和 (125.07 ± 16.98) pmol/L。发情周期各时间点 E₂ 含量变化详见表 1。发情期血清 E₂ 含量呈现先升高而后波动式下降

趋势, 平均含量显著高于间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情后期血清 E₂ 含量呈现波动式下降趋势, 平均含量显著高于间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 间情期血清 E₂ 含量呈现快速下降趋势, 平均含量显著低于发情期以及发情后期 ($P < 0.05$); 发情前期血清 E₂ 含量呈现波动式上升趋势, 平均含量显著低于发情期以及发情后期 ($P < 0.05$)。关中奶山羊发情周期内的血清 E₂ 含量自出现发情症状 0 h 开始迅速上升, 直至 15 h 出现最高峰值 (200.45 ± 3.73) pmol/L, 此时卵泡完全成熟, 母羊接近排卵状态。之后总体呈现波动式下降趋势, 于出现发情症状后第 20 天降至最低谷值 (102.91 ± 8.73) pmol/L。

表 1 关中奶山羊发情周期 FSH、LH、E₂ 和 P₄ 含量变化

发情时间	FSH 含量/ (IU · L ⁻¹)	LH 含量/ (ng · L ⁻¹)	E ₂ 含量/ (pmol · L ⁻¹)	P ₄ 含量/ (pmol · L ⁻¹)	
发情期	0 h	27.97±1.51 ^e	19.95±1.30 ^f	110.07±3.71 ^h	1 028.96±63.84 ⁱ
	5 h	28.87±2.42 ^e	18.23±2.13 ^g	117.70±2.82 ^g	941.46±15.73 ^k
	10 h	44.44±3.49 ^a	20.13±1.29 ^f	189.53±2.85 ^a	933.13±31.25 ^k
	15 h	41.19±0.75 ^a	32.50±1.26 ^a	200.45±3.73 ^a	901.88±39.03 ^l
	20 h	36.43±5.28 ^b	27.44±1.83 ^b	152.32±8.80 ^e	981.04±28.18 ⁱ
	25 h	37.03±2.86 ^b	24.41±2.97 ^c	177.21±10.32 ^b	866.46±62.60 ^l
	30 h	37.25±2.99 ^b	29.54±1.62 ^a	195.87±8.45 ^a	978.96±30.83 ^j
	35 h	31.14±2.37 ^c	24.06±2.53 ^{cd}	169.11±7.68 ^c	1 062.29±99.67 ^h
发情后期	40 h	29.47±3.59 ^d	26.73±1.36 ^b	155.02±3.27 ^d	1 174.79±56.37 ^f
	48 h	31.61±5.07 ^c	26.02±1.77 ^b	145.28±9.18 ^e	1 231.04±29.54 ^e
	56 h	33.93±7.67 ^c	28.36±1.76 ^b	160.07±16.07 ^d	1 289.38±60.27 ^e
	64 h	38.05±1.10 ^{ab}	24.00±3.45 ^d	159.84±10.48 ^d	1 314.38±66.14 ^e
间情期	72 h	37.08±2.24 ^b	22.96±2.13 ^e	151.27±9.76 ^e	1 316.46±42.54 ^e
	5 d	34.58±2.34 ^b	26.27±1.29 ^b	157.02±12.01 ^d	1 441.46±74.04 ^c
	7 d	27.52±2.66 ^e	26.46±1.26 ^b	155.26±9.33 ^d	1 685.21±129.95 ^a
	9 d	24.78±3.18 ^g	22.91±1.83 ^e	113.94±7.19 ^h	1 439.38±86.60 ^c
	11 d	24.95±1.50 ^g	17.42±2.97 ^g	117.11±1.86 ^g	1 428.96±65.05 ^c
	13 d	28.84±5.90 ^c	17.24±3.06 ^g	111.95±10.60 ^h	1 535.21±13.01 ^b
	15 d	22.73±2.39 ^h	19.90±2.53 ^f	105.26±5.59 ⁱ	1 568.54±115.64 ^b
发情前期	17 d	26.72±2.91 ^f	17.31±3.31 ^g	107.25±3.71 ⁱ	1 474.79±66.24 ^b
	18 d	28.34±5.72 ^c	17.54±3.14 ^g	128.97±4.17 ^g	1 247.71±44.34 ^e
	19 d	26.55±4.78 ^g	15.14±1.33 ⁱ	143.99±6.26 ^f	1 337.29±60.06 ^d
	20 d	28.34±3.82 ^c	13.70±1.84 ^j	102.91±8.73 ⁱ	1 174.79±37.67 ^f
	21 d	29.54±3.41 ^d	15.90±2.82 ^h	124.39±5.72 ^g	1 118.54±48.55 ^g

注: 同列肩标小写字母相同表示差异不显著 ($P > 0.05$), 不同表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.6 关中奶山羊发情周期血清 P₄ 变化规律

关中奶山羊发情期、发情后期、间情期、发情前期血清 P₄ 平均含量分别为 (985.44 ± 93.22)、($1 287.82 \pm 39.80$)、($1 510.51 \pm 93.32$) 和 ($1 219.58 \pm$

94.63) pmol/L。发情周期各时间点 P₄ 含量变化详见表 1。发情期血清 P₄ 含量呈现波动式上升趋势, 平均含量显著低于发情后期、间情期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情后期血清 P₄ 含量呈现连续上升趋势, 平

均含量显著高于发情期 ($P < 0.05$); 间情期血清 P_4 含量呈现波动式上升趋势, 平均含量显著高于发情期、发情后期以及发情前期 ($P < 0.05$); 发情前期血清 P_4 含量呈现波动式下降趋势, 平均含量显著高于发情期 ($P < 0.05$)。关中奶山羊发情周期内的血清 P_4 含量自出现发情症状 0 h 开始缓慢上升, 直至间情期出现最高峰值 ($1\ 685.21 \pm 129.95$) pmol/L, 随后动态地维持在较高水平, 直至下一发情周期的发情前期开始逐渐下降。

3 讨论

3.1 生殖激素对关中奶山羊发情周期子宫颈口和阴道细胞变化的影响

随着卵泡不断生长, 卵巢 E_2 合成不断增加, 外周血液中 E_2 水平也随之上升。母畜生殖道是性腺激素的靶器官, 在高水平 E_2 刺激下会产生一系列较大幅度的变化, 包括血管舒张、毛细血管通透性改变以及新的毛细血管生长等^[8]。关中奶山羊发情前期表现出阴道黏膜红润、子宫颈口黏液分泌增多、阴道细胞涂片上有核上皮细胞为主; 发情期阴道细胞涂片上角化上皮细胞最多、白细胞数量最少, 这与高磊等^[9]关于多浪羊的研究结果基本一致。其原因是从发情前期到发情期, 外周血液中 E_2 浓度逐渐上升并作用于生殖道不同部位, 子宫颈口腺体分泌作用增强, 导致黏液增多, 上皮细胞更新加快, 体积较大、形状扁平的表层上皮细胞彼此连接变得稀疏并逐渐凋亡脱落; 与此同时, 由于阴道黏膜上皮增生阻挡了白细胞向阴道表面渗透, 所以在此期间阴道中白细胞数量较少^[10]。关中奶山羊发情后期子宫颈口逐渐闭合、黏液黏稠度增加、阴道细胞涂片上白细胞开始迅速增加, 这与牦牛研究结果一致^[4]。其主要原因是发情后期卵泡破裂排卵, 颗粒细胞和内膜细胞分化形成黄体, 由于毛细血管侵入颗粒细胞层, 黄体颗粒细胞内的胆固醇水平上升, 在羟化酶和芳香化酶的作用下, 胆固醇被转化为 P_4 并释放到血液循环中发挥作用。子宫内膜间质细胞上的孕激素受体与 P_4 结合导致子宫内膜上皮细胞增殖、子宫内膜增生、子宫塞逐渐形成^[11]。间情期关中奶山羊子宫颈口闭合、黏液消失、阴道细胞涂片上主要为白细胞, 这与西门塔尔牛研究结果一致^[12]。因为随着发情后期及间情期 E_2 分泌量减少, 上皮细胞更新完成, 白细胞开始大量进入阴道以维持阴道内环境稳定, 防止因糖原减少而造成细菌感染^[13]。因此, E_2 和 P_4 协同控制着关中奶山羊发情周期生殖道动态变化, 生产中可根据子宫颈口状况、阴道细胞涂片等可较为准确地判断发情周期的不同生理阶段, 通过准确的发情鉴定提高人工授精效果。

3.2 关中奶山羊发情周期生殖激素变化规律

FSH 和 LH 是直接促进哺乳动物性腺生长发育及内分泌作用的两大激素, 其分泌量及释放节律与动物发情周期的生理变化密切相关^[14]。史军红^[15]研究表明, 甘加藏羊发情周期中 FSH 与 LH 均呈脉冲式分泌与波动式分泌特点, 发情期脉冲式分泌最明显, 此现象与本研究中关中奶山羊生殖激素分泌特点一致, 说明 FSH 和 LH 的分泌是由上游下丘脑促性腺激素释放激素 (GnRH) 的间歇性释放所控制。Ozawa 等^[16]研究表明, 环境温度过高会抑制山羊卵巢颗粒细胞中促性腺激素受体的表达以及芳香化酶的活性, 从而减弱 E_2 的合成, 而低水平 E_2 通过对 kisspeptin 神经元的负反馈作用抑制 GnRH 分泌。本研究结果表明, 关中奶山羊发情周期内 FSH 分泌水平上升开始于 LH 之前, 这也符合 FSH 促进卵泡生长发育、LH 促进卵泡成熟及排卵的生理功能^[17], 且本研究结果与邢凤等^[18]在和田羊的研究结果一致。

Medan 等^[19]研究表明, 在山羊发情周期中, FSH 波峰数量与卵泡波数量相对应, 且优势卵泡成熟时间与 E_2 波峰出现时间相吻合。关中奶山羊发情当天首先出现了 FSH 最高峰, 之后又同时出现 LH 和 E_2 最高峰, 由此推测关中奶山羊在发情期当天 LH 最高峰之后开始排卵, 这与周玲莉^[20]关于燕山绒山羊的研究结果一致。这是由于在卵泡选择时期, FSH 分泌水平下降和 LH 分泌水平上升协同控制卵泡的优势化进程, 在优势卵泡上存在较多黄体生成素受体 (LHR), 且优势卵泡内膜细胞上 LH 结合位点增多, 进而支持其继续生长发育直至排卵; 且排卵需要 FSH、LH、 E_2 协同作用, 若出现卵泡波而 LH 及 E_2 水平较低时, 则不会诱发成熟卵泡破裂排卵^[21]。吴艳芳等^[22]研究表明, 滩羊发情期 P_4 维持在全周期最低水平, 发情后期至间情期上升至较高水平, 且波动幅度较小, 此现象与本研究结果一致。其主要原因是排卵之后颗粒细胞在 LH 作用下发生黄体化, 间情期黄体对母羊生殖活动起到主要调节作用。黄体颗粒细胞开始大量合成 P_4 , 高水平 P_4 对下丘脑-垂体-卵巢轴产生负反馈作用, 抑制下丘脑 GnRH 合成与分泌, 从而减少下游 FSH 与 LH 的分泌, 母羊卵泡发育停滞, 发情活动停止^[23]。

4 结论

关中奶山羊发情周期中雌激素和孕激素协同调控子宫颈口及阴道细胞发生周期性变化, 子宫颈口开张维持 36~48 h, 阴道细胞涂片上 60% 以上为完全角化上皮细胞, 可作为关中奶山羊发情鉴定重要指标。血清生殖激素变化显示, 母羊首先在发情 10 h 出现

FSH 峰值, 随后在发情 15 h 同时出现 LH 和 E₂ 峰值, 即母羊卵巢于出现发情症状后 15 h 接近排卵状态, 在此之前数小时开始输精能够提高母羊的受胎率。

参考文献:

- [1] 张聪, 陆乃升, 姜雪元, 等. 光周期对奶山羊性激素分泌的影响 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2018 (3): 38-39.
- [2] 马保国. 保证奶山羊繁殖力的综合措施 [J]. 山东畜牧兽医, 2020, 40 (4): 11-12.
- [3] WANG J, BELL M, LIU X, et al. Machine-learning techniques can enhance dairy cow estrus detection using location and acceleration data [J]. *Animals*, 2020, 10 (7): 1160.
- [4] 樊江峰, 余四九, 徐庚全, 等. 牦牛发情后生殖器官变化及卵巢动态发育过程 [J]. 中国牛业科学, 2020, 46 (3): 9-15.
- [5] 火静萍. 甘加藏羊发情周期血浆中 FSH 和 LH 分泌动态变化规律研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2015.
- [6] 钱伟. 多浪羊繁殖期主要生殖激素变化规律的研究及妊娠早期监测 [D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2019.
- [7] 韩志强, 王海军, 赵家平, 等. 动物发情鉴定技术的研究进展 [J]. 畜牧兽医学报, 2018, 49 (10): 2086-2091.
- [8] CHUMDURI C, TURCO M Y. Organoids of the female reproductive tract [J]. *Journal of Molecular Medicine*, 2021, 99 (4): 531-553.
- [9] 高磊, 甘尚权, 杨井泉, 等. 多浪羊发情周期不同阶段阴道细胞变化观察 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2012 (11): 35-37.
- [10] 秦清明, 程浩, 周劲松, 等. 犬发情周期的人工模拟和阴道细胞观察 [J]. 中国兽医杂志, 2010, 46 (4): 33-34.
- [11] 尹相杰, 李昆明, 段涛. 妊娠期黄体分泌激素的变化及其临床意义 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2021, 37 (4): 414-417.
- [12] 托力哈那义·托力肯, 孙亚伟, 李娜, 等. 健康与屡配不孕西门塔尔牛发情周期不同阶段阴道细胞变化研究 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2022 (13): 58-62.
- [13] LACROIX G, GOUYER V, GOTTRAND F, et al. The cervicovaginal mucus barrier [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21 (21): 8266.
- [14] 陈培勇, 蔡玉, 杨花, 等. 神经营养因子受体 Trkb 对湖羊垂体细胞增殖及促性腺激素分泌的影响 [J]. 南京农业大学学报, 2024, 47 (1): 166-173.
- [15] 史军红. 高原甘加型藏羊发情周期垂体 FSH 和 LH 细胞的表达及其激素分泌的动态变化研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2016.
- [16] OZAWA M, TABAYASHI D, LATIEF T A, et al. Alterations in follicular dynamics and steroidogenic abilities induced by heat stress during follicular recruitment in goats [J]. *Reproduction*, 2005, 129 (5): 621-630.
- [17] SON W Y, DAS M, SHALOM-PAZ E, et al. Mechanisms of follicle selection and development [J]. *Minerva Ginecologica*, 2011, 63 (2): 89-102.
- [18] 邢凤, 张朝阳, 廖秋萍, 等. 多浪羊与和田羊初情期启动过程中生殖激素的变化规律 [J]. 四川农业大学学报, 2017, 35 (3): 414-419.
- [19] MEDAN M S, WATANABE G, SASAKI K, et al. Follicular and hormonal dynamics during the estrous cycle in goats [J]. *The Journal of Reproduction and Development*, 2005, 51 (4): 455-463.
- [20] 周玲莉. 燕山绒山羊泌乳期生殖激素变化及诱导发情效果研究 [D]. 保定: 河北农业大学, 2019.
- [21] BODENSTEINER K J, WILTBANK M C, BERGFELT D R, et al. Alterations in follicular estradiol and gonadotropin receptors during development of bovine antral follicles [J]. *Theriogenology*, 1996, 45 (2): 499-512.
- [22] 吴艳芳, 仲长胜, 陈玉林, 等. 滩羊发情周期内 4 种生殖激素动态变化规律研究 [J]. 中国畜牧杂志, 2022, 58 (9): 184-187.
- [23] RUOHONEN S T, POUTANEN M, TENA-SEMPERE M. Role of kisspeptins in the control of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis: old dogmas and new challenges [J]. *Fertility and Sterility*, 2020, 114 (3): 465-474.