

N-乙酰半胱氨酸对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果与妊娠前期外周血液雌二醇和孕酮浓度的影响

宋天增,巴 贵,次仁德吉,德 吉,索朗达,吴玉江

(西藏自治区农牧科学院畜牧兽医研究所,西藏 拉萨 850009)

摘 要:本研究旨在通过日粮中添加 N-乙酰半胱氨酸,研究 N-乙酰半胱氨酸对藏山羊公羊诱导同期发情率与妊娠前期血清雌二醇(E2)和孕酮(P4)浓度的影响。①2 岁龄 120 只体重相近的经产藏山羊母羊,随机分组,空白对照组日粮中不添加 NAC、试验 I 组日粮中添加 0.03 % 的 NAC、试验 II 组日粮中添加 0.05 % 的 NAC、试验 III 组日粮中添加 0.07 % 的 NAC,1 周后每日早晨 6:00-6:30 试情公羊戴试情布进入各组的母羊圈诱导发情、试情,统计各组 5 日内的发情母羊数量;②2 岁龄 120 只体重相近的经产藏山羊母羊,随机分为空白对照组、试验 I、II 和 III 组,各组每日配种的母羊单独小圈饲养 1 个月。对照组日粮中不添加 NAC,试验 I 组日粮中添加 0.03 % 的 NAC,试验 II 组日粮中添加 0.05 % 的 NAC,试验 III 组日粮中添加 0.07 % 的 NAC。测定试验第 15 日和 30 日外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度。结果表明:①日粮中添加 NAC,对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果显著提升($P < 0.01$),以日粮中添加 0.05 % 的 NAC 为最优,5 日内公羊诱导同期发情率达 100 %;②日粮中添加 NAC,提高藏山羊母羊妊娠期第 15 和 30 日外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度,以日粮中添加 0.05 % 的 NAC 为最高。本研究初步探究了 NAC 对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果与妊娠前期外周血液雌二醇和孕酮浓度的影响,初步明确了妊娠前期饲料中添加 0.05 % 比例的 NAC 能提高藏山羊母羊被公羊诱导发情效果与妊娠前期外周血液雌二醇和孕酮浓度,但其作用机制,还待深入研究。本研究结果为藏山羊高效繁育提供理论上的借鉴。

关键词: N-乙酰半胱氨酸;藏山羊;诱导发情;外周血液;雌二醇;孕酮;浓度

中图分类号:S826

文献标识码:A

Effects of NAC on Induction of Estrus Synchronization in 2-year-old Ewes by Ram and Levels of Peripheral Blood Estradiol and Progesterone of Tibetan Goats During Pre Pregnancy

SONG Tian-zeng, Bagui, Cirendeji, Deji, Suolangda, WU Yu-jiang

(Institute of Animal Science, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Tibet Lhasa 850009, China)

Abstract: The purpose of this study was to study the effect of N-acetylcysteine on the estrus rate and the concentrations of estradiol (E₂) and progesterone (P₄) in the serum of Tibetan goats. (i) Two year old 120 ewes with similar body weight of Tibetan goats, No NAC was added to the blank control diet, 0.03 % NAC was added to the trial group I diet, 0.05 % NAC was added to the trial group II diet, 0.07 % NAC was added to the trial group III diet after random grouping, one week later, every morning, from 6:00-6:30 in the morning, the ram wears the test cloth and enters into the ewe pen of each group to induce oestrus and test oestrus. Count the number of oestrus ewes in each group within 5 days. (ii) Two year old 120 ewes with similar body weight of Tibetan goats, they were randomly divided into three groups: Blank control group, experimental group I, experimental group II and experimental group III. Ewes of each group were bred in separate small circles for one month every day. No NAC was added to the blank control diet, 0.03 % NAC was added to the trial group I diet, 0.05 % NAC was added to the trial group II diet, 0.07 % NAC was added to the trial group III diet. The peripheral blood E₂ and P₄ concentrations were measured on the 15th and 30th day of the experiment. The results show that: (i) When NAC was added to the diet, the estrus induction effect of 2-year-old ewes was significantly improved ($P < 0.01$), and 0.05 % NAC in the diet was the best, and the estrus induction rate of ewes was 100 % within 5 days; (ii) The concentration of E₂ and P₄ in the peripheral blood of 2-year-old ewes on the 15th and 30th day

of pregnancy was increased by adding NAC in the diet, and the highest concentration was 0.05 % NAC in the diet. In this study, the effects of NAC on the induction of estrus and the concentrations of estradiol and progesterone in the peripheral blood of 2-year-old ewes were studied. It was found that the 0.05 % NAC in the pre pregnancy diet could improve the induction of estrus and the concentrations of estradiol and progester-

收稿日期:2020-04-25

基金项目:西藏自治区农业重大专项(XZ201901NA02)

作者简介:宋天增(1980-),男,硕士,副研究员,研究方向为羊的繁殖营养调控与遗传育种, E-mail: songtianzeng123@ sina.com。

one in the peripheral blood of 2-year-old ewes, but the mechanism of NAC should be further studied Research. The results of this study provide a theoretical reference for the efficient breeding of Tibetan Goats.

Key words: N-acetylcysteine; Tibetan goats; Induced estrus; Peripheral blood; Estradiol; Progesterone; Concentration

N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 是左旋精氨酸的天然衍生物, 其分子式为 $C_5H_9NO_3S^{[1]}$ 。NAC 是天然氨基酸 L-半胱氨酸与还原型谷胱甘肽 (glutathione, GSH) 的前体, 是 1 种含活性巯基化合物, 可提高细胞外巯基含量, 促进 GSH 细胞内生物合成^[2], 提高谷胱甘肽-S-转移酶活性^[3]。

近年来, 国内外专家学者对 NAC 在繁殖方面的研究报道逐渐增多, 在热应激条件下产前和断奶后的母猪, 日粮中添加 NAC, 可缩短母猪的发情间隔, 并提高母猪发情率^[4]。猪的精液稀释液中添加 NAC 可以显著提高精子活率、活力以及保存能力^[5-6]等。在日粮中添加一定量的 NAC 有利于提高蛋鸡生产性能及鸡蛋品质^[7]和明显提高鸡精液品质^[8]。NAC 可改善小鼠 GV 期卵母细胞经冷冻保存后复苏和体外成熟水平, 提高其发育能力^[9]。

在人的生殖方面上, 王洋等^[10]研究发现 NAC 既可通过降低血清雄激素和游离睾酮水平, 还可降低机体的活性氧簇水平, 最终辅助诱导多囊卵巢综合征患者排卵, 提高患者的受孕率。

骆金红^[11]研究了 N-乙酰半胱氨酸对努比亚山羊受胎率的影响, 发现雌二醇在第 15 和 30 天 NAC 饲喂组浓度均高于空白组, 孕酮两个时期浓度均是空白组高于 NAC 饲喂组。日粮中添加一定量的 N-乙酰半胱氨酸可提高努比亚山羊受胎率。截至目前, 尚未有关日粮中添加 N-乙酰半胱氨酸对绵羊繁殖生产方面的报道。本研究旨在通过日粮中添加 N-乙酰半胱氨酸, 研究 N-乙酰半胱氨酸对藏山羊公羊诱导同期发情率与妊娠前期血清雌二醇 (E_2) 和孕酮 (P_4) 浓度的影响, 为藏山羊高效繁育提供理论上的借鉴。

1 材料与方法

1.1 试验材料与主要设备

2 岁龄只体重相近的经产藏山羊母羊, 成年藏山羊公羊。N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) (纯度为 99 %) 购自浙江绿洲生物技术有限公司, 绵羊雌二醇 (E_2) ELISA 检测试剂盒购自武汉纯度生物, 绵羊孕酮 (P_4) ELISA 检测试剂盒购自上海仁捷生物。台式高速冷冻离心机 (LY-TGL16MD)。

1.2 试验时间与地点

2019 年 5 月 1 日至 2019 年 6 月 23 日, 试验地为那曲市尼玛县。

1.3 试验方法

1.3.1 NAC 对藏山羊 2 岁母羊被公羊诱导发情效果的影响 2 岁龄 120 只体重相近的经产藏山羊母羊, 随机分为空白对照组、试验组 I 组、试验组 II 组和试验组 III 组。

试验前 3 周, 公羊和母羊分开, 防止部分羊发情后偷配。

试验前 2 周, 对所有羊分别于隔日晚混饲喂服阿苯达唑片 15 mg/kg · W、左旋咪唑 8 mg/kg 驱蛔虫、硝氯酚 6 mg/kg · W 驱肝片吸虫和皮下注射伊维菌素注射液。

2019 年 5 月 1 日至 2019 年 5 月 7 日进行预实验。试验期间, 每组每日均按照日常饲养管理进行。对照组日粮中不添加 NAC, 试验 I 组日粮中添加 0.03 % 的 NAC, 试验 II 组日粮中添加 0.05 % 的 NAC, 试验 III 组日粮中添加 0.07 % 的 NAC。

2019 年 5 月 8 日至 12 日为试验期, 每日早晨 6:00 - 6:30 试情公羊戴试情布进入各组的母羊圈诱导发情、试情, 发情母羊 2 次人工受精配种。统计各组 5 日内的发情母羊数量。

1.3.2 NAC 对藏山羊妊娠前期外周血液 E_2 和 P_4 浓度的影响 2 岁龄 120 只体重相近的经产藏山羊母羊, 随机分为空白对照组、试验组 I 组、试验组 II 组和试验组 III 组。

试验前 3 周, 公羊和母羊分开, 防止部分羊发情后偷配。

试验前 2 周, 对所有羊分别于隔日晚混饲喂服阿苯达唑片 15 mg/kg · W、左旋咪唑 8 mg/kg 驱蛔虫、硝氯酚 6 mg/kg · W 驱肝片吸虫和皮下注射伊维菌素注射液。

2019 年 5 月 1 日至 2019 年 5 月 15 日进行预实验。在试验期间, 每组每日均按照日常饲养管理进行。

2019 年 5 月 15 日至 2019 年 5 月 22 日, 每日早晨 6:00 - 6:30 试情公羊戴试情布进入各组的母羊圈试情, 发情母羊 2 次人工受精配种。

各组每日配种母羊单独小圈饲养, 并做记录。各组母羊受配当日按照如下标准开始试验。

对照组日粮中不添加 NAC, 试验 I 组日粮中添加 0.03 % 的 NAC, 试验 II 组日粮中添加 0.05 % 的 NAC, 试验 III 组日粮中添加 0.07 % 的 NAC。各试验组每只试验羊连续饲喂 NAC 1 个月。

各试验组每只试验羊饲喂 NAC 的第 15 和 30 天早晨 7:00 空腹颈静脉采血 5 mL, 室温放置 1.5 h, 以 3000

表 1 NAC 对藏山羊 2 岁母羊被公羊诱导同期发情效果的影响
Table 1 Effects of NAC on induction of estrus synchronization in 2-year-old ewes

发情率	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组
第 1 天发情数量	2	3	5	4
第 2 天发情数量	5	6	6	6
第 3 天发情数量	6	8	8	7
第 4 天发情数量	6	8	7	7
第 5 天发情数量	7	4	4	5
合计	26(86.67 %) ^A	29(96.67 %) ^{Ba}	30(100 %) ^{Bb}	29(96.67 %) ^{Ba}

注:同列不同小写字母标示差异显著($P<0.05$),不同大写字母差异极显著($P<0.01$)。
Note: In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and different capital letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$).

r/min 离心 15 min,取血清检测雌二醇和孕酮浓度。

1.4 外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度的测定

参照绵羊雌二醇(E₂)ELISA 检测试剂盒和绵羊孕酮(P₄)ELISA 检测试剂盒说明书,测定血清 E₂ 和 P₄ 浓度。

1.5 数据处理

所有数据采用 SPSS11.5 软件 One-Way ANOVA 进行方差分析,结果用平均数±标准差表示,检验误差为 5 % 和 1 %。

2 结果与分析

2.1 NAC 对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果的影响

NAC 对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果显著提升($P<0.01$)。各试验组以日粮中添加 0.05 % 的 NAC 为最优,5 日内公羊诱导同期发情率达 100 %,但各试验组差异不显著。

日粮中添加 NAC,第 1 天公羊诱导同期发情效果较对照组显著($P<0.01$);日粮中添加 NAC 的各试验组母羊被公羊诱导同期发情较日粮中未添加 NAC 的对照组快(表 1)。

2.2 NAC 对藏山羊妊娠前期外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度的影响

日粮中添加 NAC,藏山羊妊娠期第 15 天,各试

验组藏山羊外周血液 E₂ 浓度较对照组升高差异极显著($P<0.01$),试验 II 组藏山羊外周血液 E₂ 浓度较试验 I 和 III 组升高差异极显著($P<0.01$),试验 III 组藏山羊外周血液 E₂ 浓度较试验 I 组升高显著($P<0.05$)。但是,妊娠期第 15 天的藏山羊外周血液 P₄ 浓度、第 30 天的藏山羊外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度,均呈现各试验组较对照组升高差异极显著($P<0.01$),试验 II 组较试验 I 组和试验 III 组升高差异极显著($P<0.01$),试验 I 组较试验 III 组无显著差异(表 2)。

3 讨论

在正常藏山羊母羊体内,E₂ 和 P₄ 共同作用于生殖活动^[12],日粮中添加 NAC 可调节妊娠母羊的外周血液 E₂ 浓度,促进藏山羊的发情,本研究结果与程玲华^[4]和骆金红^[11]研究结果一致。

妊娠早期,日粮中添加 NAC 各试验组藏山羊外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度升高,P₄ 通过诱导子宫内膜腺体分泌和储存大量糖原,通过促使内膜血管大量增生支持早期胚胎发育^[12]。更有利于促进胚胎附植、胚胎/胎儿发育。但是,促进胚胎附植、胚胎/胎儿发育相关的繁殖通路和免疫耐受与应答、抗氧化的免疫通路中基因变化有待进一步研究。

表 2 N-乙酰半胱氨酸对藏山羊妊娠前期外周血液 E₂ 和 P₄ 浓度的影响

项目	时间	对照组	试验 I 组	试验 II 组	试验 III 组
雌二醇(E ₂)(pg/mL)	第 15 天	100.115±22.339 ^A	103.392±25.524 ^{Ba}	108.146±29.601 ^C	104.315±25.998 ^{Bb}
	第 30 天	47.819±27.399 ^A	50.558±29.991 ^B	53.212±22.211 ^C	50.679±30.121 ^B
孕酮(P ₄)	第 15 天	0.611±0.044 ^A	0.588±0.049 ^B	0.611±0.012 ^C	0.593±0.051 ^B
	第 30 天	1.178±0.073 ^A	1.170±0.065 ^A	1.162±0.048 ^B	1.171±0.069 ^A

注:同列不同小写字母标示差异显著($P<0.05$),不同大写字母差异极显著($P<0.01$)。
Note: In the same column, values with different small letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), and different capital letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$).

4 结 论

本研究初步探究了 NAC 对藏山羊母羊被公羊诱导发情效果与妊娠前期外周血液雌二醇和孕酮浓度的影响,初步明确了妊娠前期饲料中添加 0.05 % 比例的 NAC 能提高藏山羊母羊被公羊诱导发情效果与妊娠前期外周血液雌二醇和孕酮浓度,但其作用机制,还待深入研究。

参考文献:

[1] 魏小娟,石炳光. N-乙酰半胱氨酸在特发性肺纤维化及慢性阻塞性肺疾病中的应用进展[J]. 海峡药学,2010,22(6):149-151.

[2] Wei Gao, Jin-Xiao Liang, Chi Ma, et al. The Protective Effect of N-Acetylcysteine on Ionizing Radiation Induced Ovarian Failure and Loss of Ovarian Reserve in Female Mouse[J]. Bio Med Research International,2017(8): 1-11.

[3] Whitaker B D, Casey S J, Taupier R. N-acetyl-l-cysteine Supplementation Improves Boar Spermatozoa Characteristics and Subsequent Fertilization and Embryonic Development[J]. Reproduction in Domestic Animals, 2012, 47(2):263-268.

[4] 程玲华,薛振华,齐鑫,等. N-乙酰半胱氨酸缓解母猪夏季热应

激的初报[J]. 黑龙江动物繁殖,2016,24(3):12-14.

[5] 魏世宝,金一,苗婷婷. 稀释液中添加 N-乙酰半胱氨酸对猪精液冷冻保存效果的影响[J]. 黑龙江动物繁殖,2007,15(2):1-3.

[6] 张春龙,周佳勃,岳顺利,等. 添加 N-乙酰半胱氨酸对猪精子常温保存的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2015(11):85-87.

[7] 赵熠群,顾剑新,陈国. 乙酰半胱氨酸对热应激蛋鸡生产指标及抗氧化指标的影响[J]. 畜牧与兽医,2018,50(2):31-35.

[8] 李洁,董瑞生,王建福,等. 稀释液中添加不同抗氧化剂对鸡精液保存的影响[J]. 甘肃畜牧兽医,2019,49(1):39-44.

[9] 周佳勃,张宇霆,岳巍,等. N-乙酰半胱氨酸对玻璃化冻存小鼠 GV 期卵母细胞成熟和后续胚胎发育能力影响[J]. 东北农业大学学报,2017(2):79-85.

[10] 王洋,陆超亦,钱云,等. N-乙酰半胱氨酸在多囊卵巢综合征中的应用研究进展[J]. 国际生殖健康/计划生育杂志,2018,37(4):312-316.

[11] 骆金红. N-乙酰半胱氨酸对努比亚山羊受胎率的影响[D]. 花溪:贵州大学,2019.

[12] 杨增明,孙青原,夏国良. 生殖生物学(第二版)[M]. 北京:科学出版社,2019:91-92.