

南京农业大学

羊业科学研究进展

(2015)

◎ 王 锋 主编



中国农业科学技术出版社

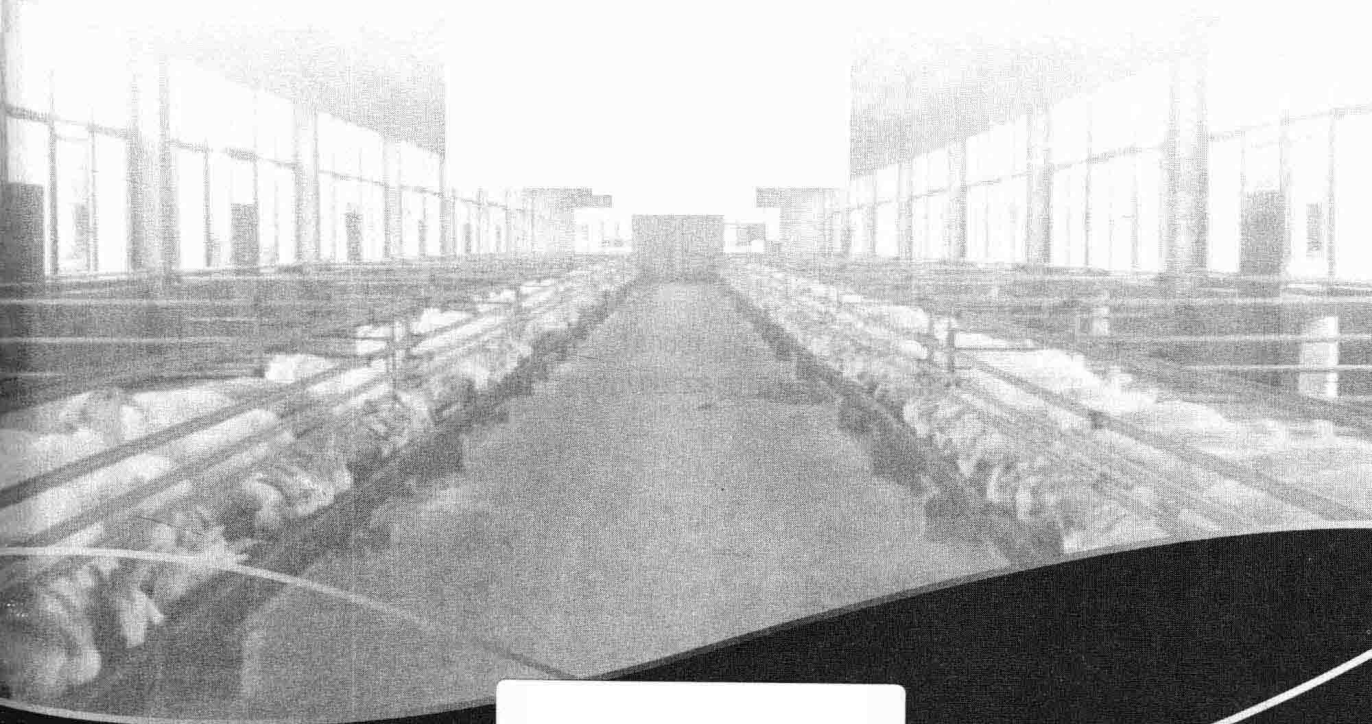
南京农业大学



羊业科学研究进展

(2015)

◎ 王 锋 主编



中国农业科学技术出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

羊业科学研究进展. 2015 / 王锋主编. —北京: 中国农业科学技术出版社, 2015. 10
ISBN 978 - 7 - 5116 - 2237 - 2

I. ①羊… II. ①王… III. ①羊 - 饲养管理 - 中国 - 文集 IV. ①S826 - 53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 202021 号

责任编辑 张国锋
责任校对 贾海霞

出版者 中国农业科学技术出版社
北京市中关村南大街 12 号 邮编: 100081

电 话 (010)82106636(编辑室) (010)82109702(发行部)
(010)82109709(读者服务部)

传 真 (010)82106631

网 址 <http://www.castp.cn>

经 销 者 各地新华书店

印 刷 者 北京富泰印刷有限责任公司

开 本 787mm × 1 092mm 1/16

印 张 17.5

字 数 470 千字

版 次 2015 年 10 月第 1 版 2015 年 10 月第 1 次印刷

定 价 78.00 元

《羊业科学研究进展 (2015)》

编 委 会

主 编 王 锋

副 主 编 张艳丽 万永杰 聂海涛

编 委 (以姓氏笔画为序)

万永杰 王 锋 王子玉 王立中

王利红 左北瑶 应诗家 宋 辉

张国敏 张艳丽 孟 立 庞训胜

周峥嵘 聂海涛 黄明睿 樊懿萱

潘晓燕

前 言

我国是养羊大国，绵、山羊存栏量及出栏量、产肉量均居世界之首，然而，养羊过去作为我国的一个传统产业，从品种、养殖、疫病防控到产品加工，从生产技术到经营方式等都比较落后，经济效益不高。近些年来，随着农业产业结构调整和市场对优质羊肉需求的增加，在政府部门的大力支持下，羊业科学的研究水平和标准化养殖水平有了较大的提高，养羊产业正朝着标准化、规模化高效方向发展。

南京农业大学养羊学团队长期挂靠在动物繁育学科，曾偏重于湖羊、黄淮山羊等地方羊品种资源的保护和杂交利用。2001 年，随着校级动物胚胎工程技术中心的成立，极大地促进了该团队在羊胚胎移植、克隆、转基因等胚胎工程方面的研究。2008 年，本人有幸入选新启动的国家现代肉羊产业技术体系，被聘为饲养管理岗位专家，带领团队比较系统地开展了肉羊营养需要及调控方面的研究，从而使本团队形成了固定的、具有鲜明特色的 3 个研究方向，并先后获准建立了南京农业大学羊业科学研究所、江苏省肉羊产业工程技术研究中心和江苏省家畜胚胎工程实验室等研发平台，目前，还受命主持江苏省“十三五”草食动物产业创新链的编制工作。

特别是自 2010 年以来，在国家和省部级项目的大力支持下，经过团队成员和历届硕士、博士研究生的共同努力，紧密围绕羊的繁育、胚胎工程与营养及其对繁殖调控等方向进行了比较系统的研究，建立了“产学研政”合作机制，特别是在肉羊营养需要和体细胞克隆方面进行了一系列创新性研究，先后在国内外重要学术期刊上发表了数十篇学术论文。为了阶段性总结经验和促进学术交流，纪念历届同学的努力，也为进一步深入研究提供借鉴，特编辑出版本书。在编辑分类过程中，按照 3 个研究方向分为三大部分：第一部分为繁殖与育种，主要包括生殖相关基因的表达分析、候选基因筛选、卵泡发育与胚胎移植等；第二部分为胚胎工程与基因工程，主要包括体细胞克隆、转基因羊生产、多能

干细胞等技术与机理；第三部分为营养与繁殖营养调控，主要包括不同阶段肉羊营养需要以及不同营养水平对繁殖性能的调控等。每部分又分为两小部分，第一小部分全文收集 2010 年以来中文核心期刊发表文章；第二小部分摘要收集 2008—2009 年中文核心期刊发表文章与 2010 年以来发表的 SCI 文章。

在本书编辑过程中，得到本团队许多毕业生和在校生的大力支持，在此感谢他们的辛勤劳动。

由于作者水平所限，不足之处在所难免，敬请批评指正。

王锋

南京农业大学教授、博士生导师

国家肉羊产业技术体系岗位专家

江苏省家畜胚胎工程实验室主任

江苏省肉羊产业工程技术研究中心主任

目 录

第一部分 羊繁殖与育种研究进展

湖羊不同发育阶段卵泡内代谢产物和激素含量的比较研究	应诗家, 王昌龙, 贾若欣等 (3)
高繁殖力黄淮山羊大卵泡颗粒细胞上调表达基因的研究	庞训胜, 王子玉, 应诗家等 (12)
山羊卵巢颗粒细胞差异表达基因消减文库的建立	庞训胜, 王子玉, 应诗家等 (22)
湖羊 <i>Lrh-1</i> 基因 cDNA 序列及组织表达谱分析	王利红, 高勤学, 张伟等 (31)
德国肉用美利奴羊 <i>BMPR-IB</i> 、 <i>BMP15</i> 和 <i>GDF9</i> 基因 10 个突变位点的多态性检测分析	左北瑶, 钱宏光, 刘佳森等 (44)
绵羊 <i>LHR</i> 基因 PCR-SSCP 多态性与繁殖性状的关联分析	王利红, 高勤学, 张伟等 (55)
湖羊促黄体素受体基因 (<i>LHR</i>) 外显子 11 多态性与繁殖性能相关性研究	王利红, 张伟, 高勤学等 (66)
绵羊 <i>BMP15</i> 基因的多态性及其与湖羊产羔数的相关性	吴勇聪, 应诗家, 闫益波等 (73)
绵羊 <i>LHβ</i> 基因多态性与繁殖性能的相关性	刘源, 应诗家, 吴福荣等 (81)
<i>NRF-1</i> 和 <i>PGC-1α</i> 在山羊卵巢卵泡发育中的作用研究	周峥嵘, 万永杰, 张艳丽等 (90)
<i>PGC-1α</i> 和 <i>NRF-1</i> 在山羊卵泡发育和闭锁过程中表达变化的研究	张国敏, 万永杰, 张艳丽等 (92)
湖羊 17β 羟基类固醇脱氢酶基因的分子克隆与表达研究	王昌龙, 应诗家, 王子玉等 (94)
湖羊 <i>Lrh-1</i> 基因分子特性与表达研究	王利红, 张伟, 吉俊玲等 (96)
湖羊 <i>LHR</i> 基因在发情周期非性腺组织中的表达研究	王利红, 张伟, 高勤学等 (98)
巴音布鲁克羊 <i>BMPR-IB</i> 基因的研究	左北瑶, 钱宏光, 王子玉等 (100)
高低极端繁殖力黄淮山羊在发情周期和卵巢摘除后外周血液孕酮和雌二醇浓度变化的比较	庞训胜, 王子玉, 祝铁刚等 (102)
绵羊角蛋白中间丝 I 型基因多态性及其与羊毛性状的关系	应诗家, 王锋, 石国庆等 (104)
湖羊 <i>GnRH</i> 受体基因的单核苷酸多态性研究	刘源, 应诗家, 祝铁钢等 (105)
三个山羊群体抑制素 -α 5' 区的单核苷酸多态性分析	王瑞芳, 祝铁钢, 庞训胜等 (106)
长江三角洲白山羊 <i>GDF9</i> 基因第二外显子 SSCP 分析	张寒莹, 丁晓麟, 应诗家等 (107)

第二部分 羊胚胎与基因工程进展

- 人乳铁蛋白 cDNA 基因乳腺表达载体的构建与鉴定 孟立, 张艳丽, 许欣等 (111)
- 奶山羊胎儿成纤维细胞的分离培养及脂质体法转染研究
..... 张艳丽, 许丹, 庞训胜等 (122)
- 转山羊 *IRF-1* 基因牛胎儿成纤维细胞的 BVDV 抗性研究
..... 齐巍巍, 唐泰山, 王子玉等 (131)
- 山羊 *DAZL* 基因的克隆及在山羊骨髓间充质干细胞中的表达
..... 张艳丽, 钟部帅, 樊懿萱等 (140)
- miRNA 介导山羊胎儿成纤维细胞 *MSTN* 基因沉默的研究
..... 钟部帅, 张艳丽, 闫益波等 (151)
- 体细胞核移植方法制备 *Myostatin* 基因打靶山羊 周峥嵘, 钟部帅, 贾若欣等 (153)
- Scd1* 乳腺特异性表达载体构建及在奶山羊耳成纤维细胞过表达的研究
..... 王立中, 游济豪, 钟部帅等 (155)
- 奶山羊乳腺上皮细胞的分离培养及荧光报告系统的建立
..... 王立中, 任才芳, 游济豪等 (157)
- 外源 *hGCase* 基因转染对奶山羊供体细胞周期、活力和 mRNA 表达的影响
..... 张艳丽, 万永杰, 王子玉等 (159)
- 体细胞核移植技术生产转入溶酶体 β -葡萄糖苷酶基因奶山羊胚胎的研究
..... 张艳丽, 万永杰, 许丹等 (161)
- 供体细胞准备和受体卵母细胞来源对于转 *hLF* 基因核移植奶山羊生产效率的影响
..... 万永杰, 张艳丽, 周峥嵘等 (163)
- 健康和死亡转基因克隆山羊肺脏在生长调节、基因印记和表观遗传转录相关基因表达的
差异 孟立, 贾若欣, 孙艳艳等 (165)
- 成纤维细胞来源的 5 只人乳铁蛋白转基因克隆山羊生产及其 *IGF2R* 和 *H19* 印记基因的
甲基化分析 孟立, 万永杰, 孙艳艳等 (168)
- 不同类型绵羊胚胎体外发育率的比较研究 潘晓燕, 杨梅, 王正朝等 (171)
- 盘羊-绵羊异种核移植胚胎的构建和体外发育研究 潘晓燕, 张艳丽, 郭志勤等 (172)
- 性成熟前山羊卵母细胞减数分裂进程的研究 武建朝, 王锋, 洪俊君等 (174)
- 山羊卵母细胞老化过程中基因表达变化的研究 张国敏, 顾晨浩, 张艳丽等 (175)
- 影响新疆细毛羊羔羊超排及体外受精效果的研究 吴伟伟, 哈尼克孜, 田可川等 (178)
- 山羊骨髓间充质干细胞的分离、鉴定与基因修饰研究
..... 张艳丽, 樊懿萱, 王子玉等 (180)
- 过表达 *DAZL* 基因及外源诱导物 RA、BMP4 对山羊骨髓间充质干细胞向生殖细胞分化的
影响 颜光耀, 樊懿萱, 李佩真等 (182)
- 山羊成纤维细胞重编程为诱导性多能干细胞的研究 宋辉, 李卉, 黄明睿等 (185)

第三部分 羊营养与调控研究进展

4~6月龄杜湖羊杂交 F_1 代母羔净蛋白质需要量	聂海涛, 肖慎华, 兰 山等 (189)
杜泊羊和湖羊杂交 F_1 代公羊能量及蛋白质的需要量 ...	聂海涛, 施彬彬, 王子玉等 (203)
育肥中后期杜泊羊湖羊杂交 F_1 代公羊能量需要量参数	聂海涛, 游济豪, 王昌龙等 (214)
不同营养水平对湖羊黄体期血液理化指标及卵泡发育的影响	应诗家, 聂海涛, 张国敏等 (230)
营养水平对波杂羔羊产肉性能和羊肉品质的影响	王 锋, 孙永成, 王子玉等 (240)
不同采食量水平对杜湖 F_1 代羊肉品质的影响	聂海涛, 王子玉, 应诗家等 (247)
日龄对 20~50kg 杜湖杂交 F_1 代母羊维持和生长能量需要量的影响	聂海涛, 万永杰, 游济豪等 (254)
杜湖杂交 F_1 代羔羊能量、蛋白质需要量的确定及性别因素对营养需要量的影响	聂海涛, 张 浩, 游济豪等 (256)
杜湖杂交羊微量元素净维持和生长需要量及其在主要体组织的分布情况	张 浩, 聂海涛, 王 强等 (258)
限饲对未性成熟雌性绵羊卵巢发育、RFRP-3 以及下丘脑-垂体-卵巢轴的影响	李 卉, 宋 辉, 黄明睿等 (260)
短期饲喂对湖羊黄体期卵泡发育、卵泡液和血浆中乳酸脱氢酶、葡萄糖浓度以及 激素的影响	应诗家, 王子玉, 王昌龙等 (262)
黄体期不同饲喂水平对湖羊血液理化和卵巢类固醇激素调节基因表达的影响	应诗家, 肖慎华, 王昌龙等 (264)
营养水平对不同 RFI (剩余采食量) 组母羊生长性能、血液代谢指标和生长轴基因 表达量的影响	聂海涛, 王子玉, 兰 山等 (266)
采食量水平对杜湖杂交 F_1 代羔羊骨骼肌 <i>MSTN</i> 、 <i>IGF-I</i> 和 <i>IGF-II</i> 基因表达量的影响	邢慧君, 王子玉, 钟部帅等 (269)

第一部分 羊繁殖与育种研究进展

湖羊不同发育阶段卵泡内代谢产物和 激素含量的比较研究^{*}

应诗家^{**}, 王昌龙, 贾若欣, 吴勇聪, 王子玉,
聂海涛, 张国敏, 何东洋, 王 锋^{***}

(南京农业大学羊业科学研究所, 南京 210095;

南京农业大学胚胎工程技术中心, 南京 210095)

摘 要: 本试验旨在研究代谢产物、代谢激素和生殖激素在湖羊黄体期不同发育卵泡内的变化。选用体重 40kg 左右的湖羊 11 头, 同期发情结束后第 12 天屠宰, 按不同大小卵泡, 分离卵泡液。试验结果表明, 与 $\leq 2.5\text{mm}$ 卵泡相比, $> 2.5\text{mm}$ 卵泡内葡萄糖浓度显著提高 ($P < 0.05$), 胰高血糖素浓度显著降低 ($P < 0.05$), 乳酸脱氢酶活性和睾酮浓度极显著降低 ($P < 0.01$), 雌二醇浓度极显著提高 ($P < 0.01$), 而血氨、游离脂肪酸、尿素、胰岛素和孕酮浓度差异不显著。雌二醇浓度与 LDH 活性极显著负相关 ($P < 0.01$), 与葡萄糖浓度显著正相关 ($P < 0.05$), 与胰高血糖素浓度显著负相关 ($P < 0.05$), 与睾酮浓度极显著负相关 ($P < 0.01$), 与孕酮浓度接近正相关 ($P = 0.051$)。试验结果表明代谢产物和激素共同参与调节卵泡发育。

关键词: 代谢产物; 代谢激素; 生殖激素; 卵泡发育; 卵泡液; 湖羊

^{*} 基金资助: 国家肉羊产业技术体系 (nyeytx-39); 江苏省高校重点实验室开放基金 (YDKT0801);

^{**} 作者简介: 应诗家 (1984—), 男, 安徽巢湖人, 在读博士生, 研究方向: 动物生殖生理与营养调控。E-mail: ysj2009205007@yahoo.com, Tel: 025-84395381;

^{***} 通讯作者: 王锋 (1963—); 男, 教授, 博导, 研究方向: 动物胚胎工程、动物生殖调控和草食动物安全生产。E-mail: caeet@njau.edu.cn, Tel: 025-84395381

A Comparative Study of Follicular Fluid Metabolism and Hormone Concentrations from Different-sized Follicles in Hu Sheep

Ying Shijia, Wang Changlong, Jia Ruoxin,
Wu Yongcong, Wang Ziyu, Nie Haitao,
Zhang Guomin, He Dongyang, Wang Feng

(Institute of Sheep & Goat Science, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; Center of Animal Embryo Engineering & Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: This study was conducted to investigate the follicular fluid metabolism, metabolic hormones and reproductive hormones concentrations from different-sized follicles in Hu sheep during the luteal phase. 11 cast age Hu sheep of proven fertility were used. After estrus synchronization, all ewes were slaughtered and follicular fluid was collected according to different-sized follicles on day 12 of estrous cycle. There were no significant effects of follicle size on serum ammonia, NEFA, urea, insulin and progesterone concentrations. Compared with follicles ≤ 2.5 mm in diameter, the follicular fluid glucose and estradiol concentrations in follicles > 2.5 mm in diameter were increased ($P < 0.05$) and the testosterone and glucagon concentrations and LDH activity were decreased ($P < 0.05$). The follicular fluid concentration of estradiol was positively correlated with glucose ($P < 0.05$) and progesterone ($P = 0.051$) and negatively correlated with LDH ($P < 0.01$), glucagon ($P < 0.05$) and testosterone ($P < 0.01$). In conclusion, follicle development was co-regulated by intrafollicular metabolites and hormones.

Key words: metabolism; metabolic hormone; reproductive hormone; follicle development; follicular fluid; Hu sheep

下丘脑、垂体和卵巢内分泌系统调控有腔卵泡发育,而卵泡内代谢产物和代谢激素对卵泡微环境稳态维持,卵母细胞成熟,颗粒细胞分化及激素分泌具有重要的作用^[1]。卵泡液由通过血管-卵泡屏障的血浆成分和卵泡内分泌物和代谢物组成^[2-4]。卵泡微环境改变直接影响卵母细胞发育和颗粒细胞增殖^[5],随着卵泡发育,卵泡液增多,卵泡液内物质的动态变化对微环境稳态维持具有重要的意义。绵羊黄体期短期补饲(4~6天)没有引起血液促卵泡素和雌二醇改变,但促进卵泡发育,增加了排卵率,这种黄体期促排卵效应机制可能是升高的葡萄糖、胰岛素和瘦素直接作用于卵巢,减少了黄体溶解后闭锁卵泡数量,促进更多的卵泡排卵^[6],而卵泡期补饲没有促排卵效应^[7],因此,研究黄体期不同发育阶段卵泡内微环境的差异,对进一步研究营养影响繁殖机制奠定基础。卵巢黄体形成和退化,以及卵泡

发育的动态变化是处于黄体期的成年母羊最大的生理特点之一。绵羊黄体期卵泡内代谢产物和激素间应具有内在相关性,这种相关性维持卵泡微环境稳态,确保卵泡正常发育。因此,研究黄体期不同发育阶段卵泡内代谢产物和激素的变化具有重要的意义。虽然不同发育阶段卵泡内代谢产物和激素的变化已有相应报道^[3,8-10],但仅局限于单独的代谢产物或生殖激素的变化,没有在同一营养和生理状态下系统的研究卵泡内代谢产物,代谢激素和类固醇激素的变化特点及其内在的关系。

绵羊发情周期不同阶段卵巢类固醇激素分泌具有不同的特点。不同营养水平影响血液代谢产物和代谢激素含量^[11-13],而不同大小卵泡内化学成分对血液成分具有不同的反应性^[3]。因此,本试验在样本处于同一营养水平和生理阶段下,研究湖羊不同发育卵泡内代谢产物、代谢激素和生殖激素的变化,为卵泡发育的代谢机理、代谢与内分泌互作以及营养影响繁殖的机理研究奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计

于2010年5月至7月在徐州申宁羊业有限公司选择体重40kg,体况中等,3~4岁的经产健康母羊11头。体重维持(M)预饲7天后同期发情处理,发情结束第6天按1.5倍体重维持需要量饲喂(母羊配种前正常饲喂量^[14]),第12天屠宰,取卵巢。

1.2 试验日粮

参照国内肉羊饲养标准(2004),按照其中推荐的体重为40kg的空怀母羊每只每天维持需要量(ME=6.69 MJ/d, CP=67g/d)设计饲料配方,由连云港舜润公司制成全价颗粒饲料(TMR)。

1.3 同期发情处理

上午8点阴道埋植孕酮海绵栓,12天后上午8点撤栓,次日公羊试情,每天6点和18点试情,直至发情结束。

1.4 饲养管理

半封闭式羊舍单栏饲养(单栏大小:长2.55m,宽1.27m),自由饮水,自然光照。每天分别于9点和17点饲喂两次,体重维持需要量饲喂时,每次520g,1.5倍体重维持需要量饲喂,每次780g。

1.5 卵泡液收集

同期发情结束后第12天16点后颈静脉放血屠宰,取卵巢于冰预冷的D-PBS中,参考Somchit等的方法^[10],分离可视大于1.0mm的卵泡,放入含D-PBS的塑料培养皿中,培养皿下放一个方格纸栅格(精确到1mm)测量卵泡直径,按Moor等^[15]的方法剔除闭锁卵泡。分离的卵泡分别按<2.0mm,2.0~2.5mm和>2.5mm 3组放在含1mL D-PBS的24孔培养皿中,其中<2.0mm和2.0~2.5mm卵泡卵泡液各放一组,>2.5mm卵泡卵泡液单独分析,眼科剪对半切开卵泡,4℃,13 000rpm离心10min,取上清液,-20度保存。每头羊卵泡液

在 30min 内分离完成，且在生物冰上操作。

1.6 指标分析

卵泡液葡萄糖，尿素，乳酸脱氢酶分析试剂盒购自南京建成生物工程研究所；卵泡液孕酮，睾酮，雌激素，胰岛素和胰高血糖素放免分析试剂盒购自北京福瑞生物科技有限公司。

1.7 统计分析

卵泡液按 $\leq 2.5\text{mm}$ 和 $> 2.5\text{mm}$ 两组分析，卵泡液体积^[9] $V = 0.52 (D)^{2.7}$ ， V 表示体积 (mm)， D 表示直径 (mm)。采用 SPSS13.0 软件线性混合模型统计分析，每头羊为随机变量，数据结果以“平均值 $\pm$ 标准误”表示。卵泡液指标相关性分析采用 Pearson’s 或 Spearman’s 方法。

2 结果与分析

2.1 卵泡液代谢产物变化

卵泡液代谢产物变化见表 1。其中 $> 2.5\text{mm}$ 卵泡内葡萄糖平均浓度显著高于 $\leq 2.5\text{mm}$ 卵泡内葡萄糖平均浓度 ($P < 0.05$)；不同大小卵泡内血氨，游离脂肪酸和尿素平均浓度差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 1 绵羊卵泡液内代谢产物、代谢激素和内分泌激素水平

Table 1 Metabolites, metabolic hormones and endocrine hormones levels in ovine follicular fluid

	$\leq 2.5\text{mm}$ 卵泡 ²⁾ SFF ²⁾	$> 2.5\text{mm}$ 卵泡 ²⁾ LFF ²⁾	P 值 ¹⁾ P value ¹⁾
卵泡数 ³⁾ Number of follicles ³⁾	138	28	
血氨 Plasma ammonia (mmol/L)	3.17 $\pm$ 0.73	2.89 $\pm$ 0.78	0.790
游离脂肪酸 NEFA (mmol/L)	23.85 $\pm$ 6.82	26.16 $\pm$ 6.61	0.810
尿素 Urea (mmol/L)	37.77 $\pm$ 2.44	34.32 $\pm$ 3.88	0.460
葡萄糖 Glucose (mmol/L)	1.27 $\pm$ 0.13	1.73 $\pm$ 0.12 *	0.018
胰岛素 Insulin ($\mu\text{IU/mL}$)	228.92 $\pm$ 20.91	178.05 $\pm$ 26.87	0.151
胰高血糖素 Glucagon (ng/mL)	4.63 $\pm$ 0.54 *	2.66 $\pm$ 0.45	0.011
乳酸脱氢酶 LDH (kU/L)	5.64 $\pm$ 0.74 **	1.29 $\pm$ 0.36	<0.001
孕酮 Progesterone (ng/mL)	11.08 $\pm$ 1.31	20.81 $\pm$ 4.61	0.053
睾酮 Testosterone (ng/mL)	35.18 $\pm$ 3.89 **	11.66 $\pm$ 3.80	<0.001

(续表)

	≤2.5mm 卵泡 ²⁾ SFF ²⁾	>2.5mm 卵泡 ²⁾ LFF ²⁾	P 值 ¹⁾ P value ¹⁾
雌二醇 Estradiol (ng/mL)	2.84 ± 0.72	24.24 ± 2.90 **	<0.001

1) 同行肩标 * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。2) SFF 表示直径 ≤ 2.5mm 的卵泡, LFF 表示直径 > 2.5mm 卵泡。3) 138 个 SFF 中包含 108 个 1.0 ~ 2.0mm 和 28 个 2.0 ~ 2.5mm

1) * indicates significant difference in the same row ($P < 0.05$), ** indicates extremely significantly different ($P < 0.01$).

2) SFF indicates follicles ≤2.5mm in diameter, LFF indicates follicles >2.5mm in diameter.

3) Of 138 SFF, the number of follicles 1.0 ~ 2.0mm and 2.0 ~ 2.5mm in diameter is 108 and 28, respectively

2.2 卵泡液代谢激素和 LDH 活性变化

卵泡液代谢激素和 LDH 活性变化见表 1。其中 ≤2.5mm 高于 >2.5mm 卵泡内胰岛素平均浓度, 但差异不显著 ($P > 0.05$); >2.5mm 卵泡内胰高血糖素平均浓度显著低于 ≤2.5mm 卵泡内胰高血糖素平均浓度 ($P < 0.05$); >2.5mm 卵泡内乳酸脱氢酶 (LDH) 活性极显著低于 ≤2.5mm 卵泡内乳酸脱氢酶活性 ($P < 0.01$)。

2.3 卵泡液生殖激素变化

卵泡液生殖变化见表 1。>2.5mm 卵泡内孕酮平均浓度高于 ≤2.5mm 卵泡内孕酮平均浓度, 但差异不显著 ($P = 0.053$); >2.5mm 卵泡内睾酮平均浓度极显著低于 ≤2.5mm 卵泡内睾酮平均浓度 ($P < 0.01$); >2.5mm 卵泡内雌二醇平均浓度极显著高于 ≤2.5mm 卵泡内雌二醇平均浓度 ($P < 0.01$)。

2.4 卵泡内代谢产物和激素相关性

卵巢内代谢产物和激素相关性分析结果见表 2。分析表明尿素与游离脂肪酸 ($r = 0.508$; $P = 0.016$)、血氨 ($r = 0.446$; $P = 0.038$) 和胰岛素 ($r = 0.425$; $P = 0.049$) 显著相关; 乳酸脱氢酶与雌二醇 ($r = -0.553$; $P = 0.008$)、胰高血糖素 ($r = 0.676$; $P = 0.001$) 和睾酮 ($r = 0.597$; $P = 0.003$) 显著相关; 雌二醇与葡萄糖 ($r = 0.434$; $P = 0.044$)、胰高血糖素 ($r = -0.486$; $P = 0.022$) 和睾酮 ($r = -0.563$; $P = 0.006$) 显著相关; 胰岛素和胰高血糖素具有相关性 ($r = 0.501$; $P = 0.018$) 显著相关; 孕酮与睾酮呈显著负相关 ($r = -0.457$; $P = 0.032$), 与雌二醇接近显著相关 ($r = 0.421$; $P = 0.051$)。

表 2 卵泡内代谢产物、代谢激素和生殖激素间相关性。
Table 2 Correlation coefficients among intrafollicular metabolites,
metabolic hormones and endocrine hormones.

	相关性 (r) Correlations (r)									
	尿素 Urea (mmol/L)	乳酸脱氢 酶 LDH (kU/L)	游离脂肪 酸 NEFA (mmol/L)	血氨 Plasma ammonia (mmol/L)	葡萄糖 Glucose (mmol/L)	孕酮 Progest- erone (ng/mL)	雌二醇 Estradiol (ng/mL)	胰高血 糖素 Glucagon (ng/mL)	胰岛素 Insulin (μ IU/ mL)	睾酮 Testosterone (ng/mL)
尿素 Urea (mmol/L)	1.000	0.223	0.508 *	0.446 *	0.109	0.196	-0.061	0.337	0.425 *	-0.071
乳酸脱氢酶 LDH (kU/L)	0.223	1.000	-0.046	0.339	-0.185	-0.138	-0.553 **	0.676 **	0.418	0.597 **
游离脂肪酸 NEFA (mmol/L)	0.508 *	-0.046	1.000	0.072	0.070	0.142	0.144	-0.053	-0.125	-0.275
血氨 Plasma ammonia (mmol/L)	0.446 *	0.339	0.072	1.000	0.051	0.028	0.173	0.404	-0.174	-0.156
葡萄糖 Glucose (mmol/L)	0.109	-0.185	0.070	0.051	1.000	0.257	0.434 *	-0.106	0.078	-0.236
孕酮 Progesterone (ng/mL)	0.196	-0.138	0.142	0.028	0.257	1.000	0.421 ^A	0.036	0.251	-0.457 *
雌二醇 Estradiol (ng/mL)	-0.061	-0.553 **	0.144	0.173	0.434 *	0.421 ^A	1.000	-0.486 *	-0.413	-0.563 **
胰高血糖素 Glucagon (ng/mL)	0.337	0.676 **	-0.053	0.404	-0.106	0.036	-0.486 *	1.000	0.501 *	0.211
胰岛素 Insulin (μ IU/mL)	0.425 *	0.418	-0.125	-0.174	0.078	0.251	-0.413	0.501 *	1.000	0.271
睾酮 Testosterone (ng/mL)	-0.071	0.597 **	-0.275	-0.156	-0.236	-0.457 *	-0.563 **	0.211	0.271	1.000

* 表示显著性相关 ($P < 0.05$), ** 表示极显著性相关 ($P < 0.01$), ^A 表示接近显著相关 ($P = 0.051$)。

* indicates significant correlation ($P < 0.05$), ** indicates extremely significantly correlation ($P < 0.01$) and ^A indicates approximate correlation ($P = 0.051$).