

不同因素对安徽白山羊超数排卵的影响

刘亚莉¹,李运生^{1,2,3},章美林^{1,4},陈真¹,詹年¹,章孝荣^{1,2,3},刘亚^{1,2,3}

(1. 安徽农业大学动物科技学院,安徽合肥 230036; 2. 安徽地方畜禽遗传资源保护与生物育种省级实验室,安徽合肥 230036; 3. 安徽省羊繁育工程技术研究中心,安徽合肥 230036; 4. 安徽省妇幼保健院,安徽合肥 230000)

摘要:为获得更多安徽白山羊受精卵,以开展转基因育种工作,研究了不同孕酮阴道栓来源、季节以及供体妊娠状态对安徽白山羊超数排卵效果的影响。结果表明:使用国产孕酮阴道栓(CIDR)对供体母羊进行同步发情处理,头均排卵数和回收受精卵数分别为 15.0 ± 7.62 和 14.6 ± 7.88 枚,受精率为97.3%,而应用进口孕酮阴道栓对供体山羊进行同步发情处理,头均排卵数和回收受精卵数分别为 11.0 ± 5.38 和 10.8 ± 5.16 枚,受精率为98.2%,两组间差异不显著($P > 0.05$);安徽白山羊在春、秋、冬3个季节超数排卵,头均回收卵子数分别为 13.71 ± 6.28 、 16.54 ± 7.43 和 13.95 ± 6.15 枚,季节间差异不显著($P > 0.05$);妊娠母羊和未妊母羊头均排卵数分别为14和15.2枚,两者差异不显著($P > 0.05$),但妊娠组回收卵子的受精率显著低于空怀组($P < 0.05$)。

关键词:山羊;超数排卵;CIDR;季节;妊娠

中图分类号:S827.36

文献标识码:A

文章编号:1002-2767(2014)06-0077-05

超数排卵受到动物的品种、营养水平、季节、卵巢状况、激素以及重复超排等诸多因素的影响^[1]。安徽白山羊是优良的地方品种,但迄今尚未见到报道对安徽白山羊超数排卵进行过系统研究。为获得更多的安徽白山羊受精卵以开展转基因育种工作,研究不同因素对安徽白山羊超数排卵效果的影响,以进一步提高安徽白山羊超排效率。

1 材料与方法

1.1 材料

供试材料为体况良好、无繁殖疾病史的健康经产育龄安徽白山羊,选自合肥博大牧业科技有限公司种羊场及砀山田丰牧业有限公司。

主要药品为促卵泡素(FSH)(羊超数排卵专用)、促黄体素(LH)和促性腺激素释放激素(GnRH),均购自宁波三生药业有限公司;注射用绒毛膜促性素(HCG)购自宁波第二激素厂;氯前列烯醇(PG)购自丹东市绿丹和华公司;盐酸赛拉嗪注射液和盐酸苯噻唑注射液均购自吉林省华牧动物保健品有限公司;羊孕酮阴道海绵栓购自西北农

林科技大学;羊用CIDR购自新西兰Pfizer Animal Health公司(Cat No:11281)。

1.2 方法

1.2.1 国产和进口孕酮阴道栓超排效果比较

将参试母羊随机分两组,每组5头,分别采用国产和进口孕酮阴道栓进行同步化处理,比较两组间超排效果。超排采用传统方法:于周期的任意日早晨放置孕酮阴道栓(记为0 d),从第10天早晨开始递减法肌肉注射FSH,2次·d⁻¹,间隔12 h,连用4 d,剂量分别为32、30、28、26、24、22、20和18 IU;在注射FSH的最后1 d(第13天)上午撤栓,撤栓后12 h肌肉注射250 IU PMSG;第14天晚上肌肉注射100 IU LH;母羊发情开始12 h后配种,间隔12 h复配1~2次。配种结束后3 d从输卵管回收胚胎。

1.2.2 不同季节超排效果的比较

对2010年9~10月(秋季)、2010年12月~2011年1月(冬季)和2011年4~5月(春季)所做的安徽白山羊超排(方法同上)结果进行统计,比较不同季节对超排效果的影响。

1.2.3 妊娠对超排效果的影响

将10头供体山羊肌肉注射PG进行同期发情处理;在注射PG后的首次发情时,其中4头供体进行自然交配,其余6头不配种;间隔2个情期后,采用上述方法对所有供体进行处理。所有供体不论发情与否,均在撤栓后48 h进行自然交配,间隔8 h复配1~2

收稿日期:2014-02-26

基金项目:安徽省自主创新专项资助项目(12z010244)

第一作者简介:刘亚莉(1990-),女,安徽省灵璧县人,硕士,从事哺乳动物胚胎工程研究。

通讯作者:刘亚(1972-),男,安徽亳州人,博士,副教授,从事动物繁殖技术研究。E-mail:liuya@ahau.edu.cn。

次。最后1次配种后3d从供体输卵管回收胚胎。比较2组发情发应、排卵数(根据黄体数计)及受精卵数/率等。

1.3 数据处理

数据采用SPSS 17.0软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同来源孕酮阴道栓超排效果比较

由表1看出,应用国产孕酮阴道栓对供体进行同步化处理,平均回收卵子数及受精卵数分别达15和14.6枚·头⁻¹,比应用进口孕酮阴道栓组

表1 国产与进口CIDR用于超排的效果比较

Table 1 Comparison on superovulation effect between homemade and imported CIDR

组别 Groups	供体 头数/头 Donors number	回收卵数/枚·头 ⁻¹ Number of collected oocytes		受精卵数/枚·头 ⁻¹ Fertilized oocytes		受精率/% Fertilization rate
		总数 Total number	平均数 Average	总数 Total number	平均数 Average	
		国产 CIDR Domestic CIDR	5	75	15.0±7.62 a	
进口 CIDR Imported CIDR	5	55	11.0±5.38 a	54	10.8±5.16 a	98.2

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

Note: Different lowercases mean significant difference at 0.05 level ($P<0.05$). The same below.

多4枚,但差异不显著($P>0.05$)。两组处理卵子受精率分别为97.3%和98.2%,也无明显差异($P>0.05$)。说明国产孕酮阴道栓完全可替代进口孕酮阴道栓用于山羊的超排处理。

2.2 季节对新品系安徽白山羊超排效果的影响

由表2可知,在春季、秋季和冬季进行超数排

卵,新品系白山羊头平均回收卵数分别为13.71±6.28、16.54±7.43和13.95±6.15枚·头⁻¹,各季节处理差异不显著($P>0.05$)。说明合肥地区春、秋、冬季超排新品系白山羊均可取得稳定的超排效果。

表2 不同季节超排效果的比较

Table 2 Comparison on superovulation effect in different seasons

超排季节 Seasons	供体头数 Donors number	回收卵数/枚·头 ⁻¹ Number of collected oocytes	
		总数 Total number	平均数 Average
春季 Spring	7	96	13.71±6.28 a
秋季 Autumn	13	215	16.54±7.43 a
冬季 Winter	19	265	13.95±6.15 a

2.3 妊娠对超排效果的影响

2.3.1 妊娠对超排处理母羊发情的影响 从表3看出,在所进行超排处理的4头妊娠母羊中,有2头在预定时间内出现外阴红肿、流黏液等发情表现,并接受公羊爬跨;另2头既无发情的外部表现,也不接受公羊爬跨。而对照组6头(未妊)供体中有5头出现外阴红肿、流黏液等发情表现,并接受公羊爬跨;另1头虽未出现发情的外部征状,但却接受爬跨。两组间在发情率及接受爬跨率上无明显差异。

2.3.2 妊娠对排卵及受精的影响 在4头超排的妊娠母羊中,除1头没发情的供体无超排反

应(仅有1个大黄体)外,其余3头供体卵巢都对超排处理产生反应。妊娠供体共计排卵56枚,头均排卵14枚,其中出现正常发情且接受爬跨的2只羊超排反应排卵数(即黄体数)分别为20和25枚,而无发情外部表现且不接受爬跨的供体排卵数分别为10和1枚(1个大黄体),未冲胚。因所有妊娠母羊各有一侧子宫角有胎囊,所以每头供体只从其中未孕一侧输卵管回收胚胎,所回收胚胎数总计为30枚,其中可用胚11枚,可用胚率36.7%。而对照组总计排卵91枚,其中可用胚78枚,可用胚率85.7%(见表3)。两组山羊头均排卵数无显著差异($P>0.05$),但空怀组可用胚

率显著高于妊娠供体组($P < 0.05$)(见表 4)。

表 3 4 头妊娠供体超排反应结果

Table 3 Results of superovulation in four donor goats

供体编号 Identifier of donor	发情表现 Signs of estrus	接受爬跨 Accept mounting	黄体数 CL number	回收胚数 Number of collected oocytes	可用胚数 Usable oocytes number
120331	无	否	10	4	0
S1701	无	否	1	0	0
120929	有	是	25	14	0
S1767	有	是	20	12	11

表 4 妊娠供体与空怀供体超排效果比较

Table 4 Comparison on superovulation effect between pregnant and open donor goats

组别 Group	供体数 Donors number	发情数 Estruos donors number	发情 率/% Estrus rate	接受 爬跨数 Number of accept mounting	接受 爬跨 率/% Rate of mounting acceptation	排卵数/枚 Number of ovulated oocytes		回收胚数 Number of collected embryos	可用胚数 Number of usable embryos	可用 胚率/% Usable embryo rate
						总数 Total	平均 Average			
妊娠 Pregnant donor	4	2	50.0	2	50	56	14.0 a	30*	11	36.7 a
空怀 Non-pregnant donor	6	5	83.3	6	100	91	15.2 a	91	78	85.7 b

注: * 只回收了空角侧输卵管内的胚胎。

Note: * means embryos collected in non-pregnant horn of uterus.

3 结论与讨论

3.1 不同来源孕酮阴道栓对山羊超排效果的影响

韩志强等人^[2]比较了国产牛用孕酮阴道栓与进口阴道栓对奶牛的超排效果,研究结果表明国产阴道栓易阻塞阴道分泌物的排出,造成阴道内较多的炎性分泌物从而影响超排效果。该课题组以前在奶牛上的试验也发现类似问题。但目前尚未见报道国产孕酮阴道栓与进口阴道栓用于山羊超排的效果比较。该研究发现使用国产阴道栓头均获胚 14.6 枚,优于进口阴道栓(10.8 枚·头⁻¹),但两组间差异不显著($P > 0.05$)。因此,国产阴道栓完全可替代进口阴道栓用于山羊超数排卵。

3.2 季节对超排效果的影响

山羊属于季节性发情动物,其发情季节为每

年秋冬季^[3]。在我国南方温暖地区,大部分品种山羊发情季节不明显,全年均可发情,但也以秋季发情较为旺盛,受胎率较高^[4]。尽管很多研究^[5-6]在非繁殖季节成功对山羊进行了超排并获得较好的效果,但繁殖季节是山羊卵巢活动最为活跃的时期,它对激素的敏感性较强,理论上应该获得更好的超排效果^[7]。该试验研究了两种不同超排方案在春、秋、冬三个季节的超排效果,发现季节对超排效果无明显影响,均可获得较好的超排效果。一方面可能是因为在发情周期、乏情季节及妊娠都存在卵泡发育波^[8],另一方面可能与试验地点处于江淮之间,山羊发情的季节性不是非常明显有关。李键等^[9]研究也证明在每年春季和秋季对波尔山羊进行超数排卵均可获得稳定的超排效果,且春秋两季无明显差异。

但关于季节对超排效果的影响也有不同的意见。有研究表明^[10],之所以在非繁殖季节能取得较好的超排效果,其原因可能由于凡是在非繁殖季节对促性腺素产生反应的个体,都是繁殖性能好的个体,因此可获得较好的超排效果。张锁林等^[11]研究表明,波尔山羊在繁殖季节对FSH比较敏感,大多数卵巢发育较好,而在非繁殖季节,卵巢发育一般,平均获卵数在繁殖季带和非繁殖季节组间差异显著。袁玉国等^[12]比较了在扬州地区4~6月与10~12月波尔山羊超排效果,发现10~12月超排效果显著优于4~6月。扬州地区气候条件与合肥地区非常相似,但却得出不同结果,是品种反应差异还是其它因素造成还不清楚。因此,有关季节对山羊超排效果的影响也有待进一步探讨。

3.3 妊娠对超排效果的影响

一般认为妊娠母畜不宜作为供体进行超排,但迄今尚未见到有关妊娠对家畜超排效果影响的文献。该研究首次报道了母羊妊娠40 d对超排效果的影响。从该试验结果来看,妊娠初期应用促性腺激素超排山羊同样可以引起其出现正常发情及排卵,但其发情率低于空怀供体(分别为50%和83.3%),且二者之间差异不显著,这可能是由于样本量小而造成。因此,有关妊娠对超排山羊发情的影响还需进一步扩大试验。

根据卵泡发育调控理论,当卵巢上存在黄体时,会由于黄体分泌孕酮而抑制下丘脑GnRH(促性腺激素释放激素)的分泌及垂体促性腺区活动,从而抑制卵泡发育,只有当黄体消退后卵泡才能成熟排卵^[13]。但在妊娠期间,尽管有功能黄体存在,有些家畜也会出现发情及排卵^[4]。与此情况相似,该研究发现,在应用外源性促性腺激素作用下,即使卵巢上存在功能黄体,卵泡仍可成熟排卵,而且头均排卵数与对照组相比差异不显著(14.0和15.2枚·头⁻¹, $P>0.05$)。这可能是在卵泡发育后期注射了PMSG,而PMSG兼有FSH和LH作用^[4],从而使超排的卵泡能够发育成熟。而在第1次配种时,由于注射了100 IU LH,几乎所有超排卵泡都能排卵。

母畜在排卵后,在新形成的黄体分泌的孕酮作用下,子宫颈会收缩,并分泌黏液栓将宫颈口封

闭,这种黏液可阻止精子通过子宫颈^[4]。另一方面,孕酮还会抑制子宫及输卵管的蠕动,而这种蠕动恰恰是精子从阴道向受精部位(输卵管壶腹-峡结合部)运行的主要动力^[4]。因此,理论上母畜一旦妊娠,即会由于精子运输问题而造成在孕期发情排卵,通过本交也不能受精。该试验3头对超排有反应的妊娠供体中有2头从输卵管回收的卵子全为未受精卵,与理论相吻合。但从另1头妊娠供体所回收12枚卵中有11枚为发育正常的受精卵,这说明在某些个体妊娠期间仍有精子可正常从阴道穿过子宫颈、子宫及输卵管而到达受精部位。由于样本数量少,这种现象是个别还是较为普遍的现象还需进一步研究证实。

参考文献:

- [1] 张果平,王金文,王德芹,等.影响杜泊绵羊超数排卵效果的因素分析[J].江苏农业学报,2008,24(3):293-297.
- [2] 韩志强,徐松滨,朱强. CIDR与牛欢诱导同期发情超数排卵效果比较[J].黑龙江动物繁殖,2006,16(3):19-20.
- [3] 赵兴绪.兽医产科学(第四版)[M].北京:中国农业出版社,2009:102.
- [4] 章孝荣.兽医产科学[M].北京:中国农业大学出版社,2011:41-281.
- [5] Holtz W, Wang X, El-Gayar M, et al. The effect of exogenous gonadotropins on ovarian function in goats actively immunized against inhibin[J]. Theriogenology, 2012, 77(2): 253-259.
- [6] 刘建斌,李发弟,刘月琴,等.非繁殖季节太行山羊胚胎移植方案研究[J].甘肃农业大学学报,2006,41(5):5-9.
- [7] 于钦秀,赵西彪,高子尧,等.影响山羊超数排卵的因素[J].动物医学进展,2008,29(S):30-32.
- [8] Menchaca M, Vilario A M, Crispo B M, et al. New approaches to superovulation and embryo transfer in small ruminants[J]. Reproduction, Fertility and Development, 2010, 22:113-118.
- [9] 李键,张红,马保华,等.波尔山羊超数排卵研究[J].西南农业学报,2002,15(4):92-95.
- [10] Cognié Y, Baril G, Poulin P, et al. Current status of embryo technologies in sheep and goat[J]. Theriogenology, 2003, 59(1):171-188.
- [11] 张锁林,王述宇.波尔山羊超数排卵方案的研究[J].中国草食动物,2001,3(4):10-13.
- [12] 袁玉国,安礼友,于宝利,等.不同FSH剂量、季节和重复超排对山羊超数排卵的影响[J].安徽农业科学,2011(18):11076-11077.
- [13] 王建辰,章孝荣.动物生殖调控[M].合肥:安徽科技出版社,1997:189.

Effect of Different Factors on Superovulation of Anhui White Goat

LIU Ya-li¹, LI Yun-sheng^{1,2,3}, ZHANG Mei-lin^{1,4}, CHEN Zhen¹, ZHAN Nian¹,
ZHANG Xiao-rong^{1,2,3}, LIU Ya^{1,2,3}

(1. College of Animal Sciences and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei, Anhui 230036; 2. Anhui Provincial Laboratory for Local Livestock and Poultry Genetic Resource Conservation and Bio-Breeding, Hefei, Anhui 230036; 3. Engineering Research Center of Reproduction and Breeding in Goat of Anhui Province, Hefei, Anhui 230036; 4. Maternal and Child Health Hospital of Anhui Province, Hefei, Anhui 230000)

Abstract: To obtain more oocytes from Anhui white goat for transgenic study, the effects of season, dornors' pregnancy and the source of CIDR on superovulation in Anhui white goat were investigated. The results showed that when synchronized with domestic CIDR, average number of ovulated oocytes and colleted fertilized oocytes per donor were 15.0 ± 7.62 and 14.6 ± 7.88 respectively, and fertilization rate was 97.3%, while synchronized with imported CIDR, average number of ovulated oocytes and colleted fertilized oocytes per donor were 11.0 ± 5.38 and 10.8 ± 5.16 respectively, and fertilization rate was 98.2%, there was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$); Average number of collected oocytes per donor were 13.71 ± 6.28 , 16.54 ± 7.43 and 13.95 ± 6.15 respectively when superovulated in spring, autumn and winter, there was no significant difference between any seasons ($P > 0.05$); Average number of ovulated oocytes in pregnant and nonpregnant dornors were 14.0 and 15.2 respectively, there was no significant difference between two groups, but the fertilization rate of oocytes collected from pregnant dornors was lower than that of non-prenant dornors significantly ($P < 0.05$).

Key words: goat; superovulation; CIDR; season; pregnancy

(该文作者还有张运海、杨宏星、吴蓉花,单位同第一作者;方富贵、曹鸿国,单位同第二作者)

(上接第 74 页)

Control Effects of Several Kinds of Pesticides Against *Psylliodes attenuata* Koch in the Field

GUO Li, WANG Ming-ze, WANG Dian-kui, LI Ze-yu, CHE Ye, ZHANG Hai-jun

(Daqing Branch of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Daqing, Heilongjiang 163316)

Abstract: In order to screen the pesticide with better control effect against *Psylliodes attenuata* Koch to guide the industrial hemp production, taking six kinds of pesticides as experimental materials which were used to observe the field control effect. The results showed that the control effect of 30% Dimethacarb·Buprofezin was the best, the control effect for 1 day after applying was 90.48%. The control effect for 3, 7 and 14 d after applying had been all over 87.88%. And the control effect of 10% Acetamiprid was better which were 85.17%, 87.94%, 85.53% and 85.17% after applying for 1, 3, 7 and 14 d respectively. These two kinds of pesticides both displayed better availability and effectiveness, they could be used as suitable pesticides against *Psylliodes attenuata* Koch, and the security of hemp field was better.

Key words: pesticides; hemp; *Psylliodes attenuata* Koch; pharmacodynamics test