

酉州乌羊不同季节超数排卵的试验研究^①

高立芳^{1,2}, 黄勇富³, 任航行^{1,2}, 周 鹏^{1,2},
刘良佳^{1,2}, 孙晓燕^{1,2}, 黎年富², 赵金红^{1,2}

1. 重庆市畜牧科学院, 重庆 400015; 2. 重庆市山羊工程技术研究中心, 重庆 荣昌 402460;
3. 西南大学 动物科技学院, 重庆 400716

摘要: 目的: 探讨不同季节对酉州乌羊超数排卵的影响. 方法: 选择酉州乌羊作为供体, 采用 CIDR+PG+FSH 法进行超数排卵处理, 以快速获得酉州乌羊胚胎, 统计胚胎回收数、可用胚数、退化胚数及可利用率. 结果: 5 月、12 月 2 次超排分别回收胚胎 273 枚、258 枚, 平均回收胚胎 5 月 $[(13.00 \pm 5.15)$ 枚/只]略高于 12 月 $[(10.44 \pm 4.07)$ 枚/只], 但差异不具有统计学意义($p > 0.05$); 可用胚胎分别为 247 枚、210 枚, 平均可用胚胎分别为 5 月 $[(11.76 \pm 5.73)$ 枚/只]显著高于 12 月 $[(8.52 \pm 4.98)$ 枚/只], 差异具有统计学意义($p < 0.05$), 胚胎可用率分别为 90.48% 和 81.40%. 结论: 不同季节对酉州乌羊超数排卵的可用胚数量有一定影响.

关键词: 酉州乌羊; 超数排卵; 胚胎; 不同季节

中图分类号: S814.6

文献标志码: A

文章编号: 1673-9868(2016)07-0052-04

酉州乌羊是分布于武陵山区腹地的酉阳土家族苗族自治县境内, 经长期封闭繁育自然选择而形成的一个具有独特生物学特性的优良地方山羊品种. 2006 年, 被重庆市品种审定委员会确定为重庆市地方品种; 2009 年成为国家级畜禽遗传资源. 酉州乌羊全身皮肤和可视粘膜为乌色, 多数全身被毛白色, 背脊有一条黑色脊线, 两眼线为黑色. 酉州乌羊属于皮肉兼用型山羊品种, 抗病力强, 耐粗饲, 肉质鲜嫩, 拥有“药羊”的美称. 该群体数量非常小, 处于濒临灭绝的边缘. 本研究对酉州乌羊进行超数排卵, 以期获得酉州乌羊胚胎, 快速纯繁扩群, 加快该品种的开发保护进程.

1 材料与方法

1.1 试验时间、地点

本试验于 2012 年 12 月—2013 年 5 月在酉州乌羊保种场进行.

1.2 供体母羊的选择和饲养管理

选择身体健康, 发情周期正常, 无传染和遗传疾病, 经产的 2~5 岁、膘情中上等的纯种酉州乌羊母羊. 单独饲养, 加强饲养管理, 并进行防疫和驱虫等前期工作, 注意圈舍的环境卫生, 定期消毒.

1.3 主要仪器

实体显微镜、腹腔内窥镜、胚胎采集器械、恒温台、水浴锅、外科手术器械 1 套, 一次性注射器若干、

① 收稿日期: 2014-04-11

基金项目: 重庆市科委重点攻关项目(CSTC2011AB1084); 重庆市工程技术研究中心建设项目(CSTC2011pt-gc80014).

作者简介: 高立芳(1976-), 女, 重庆垫江人, 硕士, 助理研究员, 主要从事动物胚胎研究.

通信作者: 赵金红, 助理研究员.

培养皿.

1.4 药 品

CIDR: 新西兰 Pharmacia Limited Company; FOLLTROPIN-V(FSH): 加拿大 Animal Health Canada Inc; 维生素 ADE 注射液: 中国农业科学院畜牧研究所; 氯前列醇(PG): 宁波市三生药业有限公司; 冲胚液: 自配的 PBS 缓冲液; 胚胎保存液: 美国 Vigro Pullman, WA.

1.5 超数排卵处理

本试验分别于 2012 年 12 月和 2013 年 5 月进行, 采用 CIDR+PG+ FSH 法进行超数排卵处理. 在供体羊发情周期的任意一天阴道埋置第 1 个 CIDR, 10 d 换第 2 个 CIDR, 第 16 天开始连续 4 d 颈部肌肉等量注射 FSH(20 mg/次, 2 次/d, 早晚各 1 次), 在第 7 次注射 FSH 时, 取出 CIDR; 取栓后第二天观察发情, 发情开始并进行第一次配种, 之后每隔 12 h 配种 1 次, 配种 2~3 次, 直到母羊无发情表现即配种结束.

1.6 回收胚胎

供体母羊从发情后第 6—7 天手术法从子宫角回收胚胎. 母羊手术麻醉和胚胎回收方法参照胡永献等^[1]方法进行. 每只供体母羊在胚胎收集后分别注射 PG 0.1 mg, 以防未冲出的胚胎着床. 胚胎鉴定方法参照桑润滋^[2]方法进行, 在实体显微镜下进行胚胎等级鉴定, 根据胚胎的质量, 将胚胎分为 A,B,C,D 级, 其中 A,B,C 级为可用胚胎, D 级为不可用胚胎.

1.7 统计分析

统计每只母羊的回收胚数、可用胚数、桑椹胚数、囊胚数、退化胚数及可利用率. 所有数据用 SPSS11.5 软件进行分析处理.

2 结果分析

2.1 回收胚数量和可用胚数量

从表 1 可知, 2013 年 5 月处理 21 只羊, 2012 年 12 月处理 25 只羊, 2 次超排分别回收胚胎 273 枚和 258 枚, 平均回收胚胎 5 月[(13.00±5.15)枚/只]略高于 12 月[(10.44±4.07)枚/只], 但差异不具有统计学意义($p>0.05$); 可用胚胎分别为 247 枚和 210 枚, 平均可用胚胎分别为 5 月[(11.76±5.73)枚/只]显著高于 12 月[(8.52±4.98)枚/只], 差异具有统计学意义($p<0.05$), 胚胎可用率分别为 90.48%和 81.40%. 由此可以看出, 在相同超排处理方案情况下, 不同季节对西州乌羊超数排卵的可用胚数量有一定影响.

表 1 西州乌羊超排回收胚数和可用胚数

采胚时间	供体数	回收胚数	平均回收胚数	可用胚数	平均可用胚数	可用胚率
		/枚	/枚	/枚	/枚	/%
2013 年 5 月	21	273	13.00±5.15a	247	11.76±5.73a	90.48%(247/273)
2012 年 12 月	25	258	10.44±4.07a	210	8.52±4.98 b	81.40%(210/258)

注: 同一列数据中, 字母相同表示差异不具有统计学意义($p>0.05$), 字母不同表示差异具有统计学意义($p<0.05$).

2.2 桑椹胚数、囊胚数及退化胚数的结果

从 2013 年 5 月和 2012 年 12 月 2 次超排结果来看(表 2), 桑椹胚数分别为 111 枚和 87 枚; 囊胚数分别为 136 枚和 123 枚; 退化胚数分别为 26 枚和 48 枚. 经统计分析, 差异均不具有统计学意义($p>0.05$).

表 2 西州乌羊超排桑椹胚数、囊胚数及退化胚数

采胚时间	桑 椹 胚 数		囊 胚 数		退 化 胚 数	
	总数	平均	总数	平均	总数	平均
2013 年 5 月	111	5.29±4.37	136	6.48±5.79	26	1.24±1.51
2012 年 12 月	87	3.48±3.31	123	4.92±3.88	48	1.92±2.64

3 讨 论

3.1 供体超排效果的影响因素

正常情况下,母畜卵巢中大部分卵母细胞(99%)发育至某一阶段即退化闭锁,仅有少数(1%)发育至成熟排卵.超排技术就是通过外源激素处理,降低卵泡的闭锁率,增加成熟卵泡的数量.超排效果受很多因素的影响.孙新明等^[3]通过超排处理剖腹取卵所获取的可用卵母细胞的体外成熟率和受精率均略高于从屠宰场获取卵巢搜集的可用卵母细胞.袁玉国等^[4]对徐淮白山羊的超排效果受FSH剂量和季节的影响很大.代相鹏等^[5]对波尔山羊的研究发现,供体羊的体质量和超排季节对超排没有显著影响,但供体的年龄显著影响超排效果.Ocak等^[6]采用4种不同超排方案对杜泊尔绵羊生产胚胎,一次性注射FSH配合少量eCG与递减注射FSH取得相似结果.研究表明^[7-8],不同品种个体对FSH的应答反应不同,有其最合适的FSH剂量,供体获得可用胚和可用胚率并不会随着FSH总剂量增加而增加.因此,供体的超排效果与供体品种、年龄、营养及卵巢卵泡的发育状态,超排的季节和程序,激素的来源和剂量等相关.

3.2 季节对羊超排的影响

酉州乌羊一年四季都有发情,秋季集中发情,春季次之,其他季节也有零星发情.从本研究春季和冬季的2次超排结果来看,总回收胚数、桑椹胚数和囊胚数,5月都略高于12月,但差异都不具有统计学意义($p>0.05$);退化胚数5月略低于12月,差异也不具有统计学意义($p>0.05$).但是,可用胚5月显著高于12月,差异具有统计学意义($p<0.05$),胚胎可用率分别为90.48%和81.40%.这说明了不同季节对酉州乌羊超排的可用胚数量有一定影响.据书存等^[9]采用中国科学院生产的FSH分别对波尔山羊进行超排处理,繁殖季节(春秋季节)和非繁殖季节(冬夏季)的平均可用胚数差异具有统计学意义,与本研究结果一致.因为在繁殖季节,成年母羊卵巢活动旺盛,对FSH比较敏感,卵巢发育较好,卵泡数量较多且大小均匀,超排具有一定的稳定性,可用胚数量多^[4,9].但Lehloenya等^[10]对波尔山羊在繁殖季节和非繁殖季节超排后发现,虽然非繁殖季节的未受精率显著高于繁殖季节,但总回收胚数、退化胚数和可移胚数不受季节影响,与赵伟等^[11]的结果一致.季节对羊超排效果的研究报告结论各不相同.赵永聚等^[12]还发现,不同季节对山羊的同期发情也有一定影响.

本研究在春季和冬季对酉州乌羊进行了超排,在秋季和夏季对酉州乌羊超排还需要进一步试验.该研究采用的激素是加拿大进口的FSH,取得了不错的超排效果,但是成本较高.如何优化酉州乌羊的超排方案,FSH的来源、最佳剂量及重复超排还需要进一步系统研究.

参考文献:

- [1] 胡永献,袁丽,李艳凤,等.波尔山羊超排取胚技术研究初报[J].中国畜牧兽医,2008,35(5):141-142.
- [2] 桑润滋.动物繁殖生物技术[M].北京:中国农业出版社,2002.
- [3] 孙新明,魏泓,王爱平,等.山羊不同来源卵母细胞体外受精的研究[J].西南农业大学学报(自然科学版),2005,27(2):197-200.
- [4] 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,2011,39(18):11076-11077,11130.
- [5] 代相鹏,侯战亮,王锋.体况和季节等因素对供体波尔山羊超排效果的影响[J].家畜生态学报,2006,27(2):28-33.
- [6] OCAK S, EMSEN E, OGUN S. Ovulation Rate and Embryo Yield of Dorper Sheep in Non-Breeding Season under Different Superovulatory Protocols[J]. Journal of Animal and Veterinary Advances, 2013, 12(6): 726-730.
- [7] 王敬军,胡大伟,刘国辉,等.FSH剂量、受体品种及移植胚胎数对崇明白山羊胚胎移植效率的影响[J].上海交通大学学报(农业科学版),2011,29(1):38-42.
- [8] 王凯丰,郭海龙.FSH剂量对陇东黑山羊超数排卵效果的研究[J].甘肃畜牧兽医,2011,41(4):17-18.

- [9] 据书存, 郭奎, 李艳. 季节对波尔山羊超数排卵处理效果及受体妊娠率的影响 [J]. 安徽农学通报, 2006, 12(7): 178.
- [10] LEHLOENYA K C, GREYLING J P C, GROBLER S. Effect of Season on the Superovulatory Response in Boer Goat Does [J]. Small Ruminant Research, 2008, 78(1): 74–79.
- [11] 赵伟, 王公金, 徐晓波, 等. 波尔山羊不同季节重复超排的效果 [J]. 上海畜牧兽医通讯, 2006(1): 39.
- [12] 赵永聚, 孙新明, 李跃民, 等. 季节对山羊同期发情处理效果的影响 [J]. 西南农业大学学报(自然科学版), 2004, 26(6): 759–761.

Experimental Study of Superovulation on Youzhou Black-Skinned Goat in Different Seasons

GAO Li-fang^{1,2}, HUANG Yong-fu³, REN Hang-xing^{1,2},
ZHOU Peng^{1,2}, LIU Liang-jia^{1,2}, SUN Xiao-yan^{1,2},
LI Nian-fu^{1,2}, ZHAO Jin-hong^{1,2}

1. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 400015, China;

2. Chongqing Engineering Research Center for Goat, Rongchang Chongqing 402460, China;

3. School of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400716, China

Abstract: Objective: To investigate the effect of superovulation on Youzhou Black-skinned Goat in different seasons. Methods: Youzhou Black-skinned Goat were selected as donor, and treated with CIDR + PG+FSH to obtain embryos. Then, the collected fresh embryos, available embryos and degenerate embryos were counted. Results: The total number of recovered embryos was 273 and 258 in May and in December, respectively. The number of average recovered embryos was (13.00 ± 5.15) in May, which was higher than that of in December (10.44 ± 4.07) , but the difference was not significant ($p > 0.05$). The total number of available embryos 247 and 210, respectively. The average number of available embryos was (11.76 ± 5.73) in May, which was higher than that of in December (8.52 ± 4.98) , the difference was significant ($p < 0.05$). The availability of embryos was 90.48% and 81.40%, respectively. Conclusion: The different seasons had significant impact on the number of available embryos superovulation for Youzhou Black-skinned Goat.

Key words: Youzhou Black-skinned Goat; superovulation; embryo; different seasons

责任编辑 夏娟

