

詹 年,李运生,韩春杨,等. 安徽白山羊超数排卵技术[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):214-215.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.02.069

安徽白山羊超数排卵技术

詹 年¹,李运生^{1,2,3},韩春杨¹,陈 真¹,杨宏星¹,张运海^{1,2,3},曹鸿国^{1,2},方富贵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)

摘要:为了探索安徽白山羊超数排卵方法,比较不同超数排卵(简称超排)方案和促卵泡素(FSH)给药方案对安徽白山羊超数排卵效果的影响。结果表明:以 8 次递减法注射 FSH 超排安徽白山羊,在撤栓时注射 PG,平均回收卵(12.36 ± 6.67)枚/只;而在撤栓时、撤栓后 12 h 注射 PMSG,分别平均回收卵(14.83 ± 5.88)、(16.13 ± 6.24)枚/只,可见撤栓后 12 h 注射 PMSG 的超排效果优于撤栓时注射 PG($P < 0.05$);用 200 IU FSH 分别按 8 次递减注射、8 次等量注射、6 次递减注射法使安徽白山羊超排,平均回收卵数分别为(22.3 ± 10.74)、(24.0 ± 4.16)、(16.0 ± 2.65)枚/只,且各组间差异不显著;用 Day0 方案、传统方案超排,平均排卵数分别为(16.50 ± 0.96)、(13.33 ± 3.32)枚/只,胚胎回收数分别为(13.83 ± 2.54)、(12.00 ± 2.89)枚/只,2 组间差异不显著。

关键词:安徽白山羊;超数排卵;胚胎;促卵泡素;撤栓

中图分类号:S814.6;S826.8⁺93

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2015)02-0214-02

安徽白山羊是优良的地方品种,具有耐粗饲、适应性强、繁殖率高、肉和板皮质量好的优点^[1],但也存在体型较小、生长发育速度较慢等缺点^[2]。转基因技术可在较短时间内培育出常规方法不能或需要较长期才能育成的品种或种群^[3],原核期胚胎显微注射及体细胞核移植是生产转基因动物的重要手段,而这 2 种技术都需要获得足够数量的待转动物的卵/胚。因此,研究安徽白山羊超数排卵(简称超排)方法是对其进行转基因育种的必要前提。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 从合肥博大牧业科技开发有限公司种羊场及砀山田丰牧业科技有限公司选取体况良好、无繁殖疾病史的健康经产育龄安徽白山羊。在试验前 2~3 个月单独分群饲养,并对所有供体肌肉注射 0.2 mg 氯前列烯醇(PG)以确保其处于未孕状态。

1.1.2 主要药品 注射用垂体促卵泡素(FSH),羊超数排卵专用,购自浙江省宁波市三生药业有限公司;注射用血促性素(HCG),购自宁波第二激素厂;注射用垂体促黄体素(LH)和注射用促性腺激素释放激素(GnRH),均购自宁波三生药业有限公司;氯前列烯醇,购自辽宁省丹东市绿丹和华动物药业有限公司;盐酸赛拉嗪注射液和盐酸苯唑啉注射液,均购自吉林省华牧动物保健品有限公司;羊炔诺酮阴道缓释装置(孕酮阴道栓),购自西北农林科技大学。

1.2 试验设计

1.2.1 3 种传统超排方案效果的比较 将 51 只供体山羊随机分成 3 组:第 1 组 22 只,第 2 组 6 只,第 3 组 23 只。分别采用以下 3 种不同的方案进行超排处理,比较其超排效果。

超排方案 1:于周期的任意早晨放置孕酮阴道栓(记为 0 d),从开始后 10 d 的早晨开始递减法肌肉注射 FSH,2 次/d,间隔 12 h,连用 4 d,剂量分别为 32、30、28、26、24、22、20、18 IU/只;在注射 FSH 的最后 1 d(开始后 13 d)上午撤栓,同时肌肉注射 0.3 mg/只 PG;开始后 14 d 晚上肌肉注射 100 IU/只 LH;母羊发情 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。

超排方案 2:在撤栓时注射 250 IU/只 孕马血清促性腺激素(PMSG),其余同“超排方案 1”。

超排方案 3:与“超排方案 2”相似,但 PMSG 的注射时间改在撤栓后 12 h。

1.2.2 不同 FSH 给药方案超排效果的比较 将 18 只供体母羊随机分成 3 组,每组 6 只,分别采用如下 3 种不同的 FSH 注射方案进行超排,比较其超排效果。

FSH 给药方案 1:与“1.2.1”节超排试验设计 1 中的方案 3 完全相同。

FSH 给药方案 2:与“FSH 给药方案 1”基本相同,将 FSH 递减注射改为等量注射,即注射 FSH 25 IU/(只·次),连续注射 8 次。

FSH 给药方案 3:与“FSH 给药方案 1”相似,将 FSH 递减注射由 8 次改为 6 次,剂量分别为 50、50、30、30、20、20 IU/只。

1.2.3 Day0 超排方案与传统超排方案效果的比较 Day0 超排方案。供体山羊在任意日放置孕酮阴道栓(记为 -9 d),6 d 后撤栓(-3 d),同时注射 250 IU/只 PMSG 和 0.2 mg/只 PG 进行同期发情处理。撤栓后 1 d 注射 25 μg/只 GnRH,约 2 d 后母羊排卵(此时记为 0 d)。自 0 d 早晨开始,按递减法间隔 12 h 每天早、晚 2 次注射 FSH,连续 3 d,剂量分别为 40、

收稿日期:2014-03-14

基金项目:安徽省自主创新专项(编号:12x010244)。

作者简介:詹 年(1988—),男,安徽明光人,硕士研究生,主要从事哺乳动物胚胎工程研究。E-mail:zhanian@126.com。

通信作者:刘 亚,博士,副教授,主要从事动物繁殖生物技术研究。

Tel:(0551)65785492;E-mail:liuya@ahau.edu.cn。

38、36、34、32、30 IU/只,第 5、第 6 次注射 FSH 的同时注射 0.2 mg/只 PG。周期第 3 天下午再次注射 25 μg/只 GnRH,第 11 天回收胚胎。

传统超排方案。与“1.2.1”节中超排方案 3 相同。

1.3 胚胎回收

在最后一次配种后 3 d 通过腹腔镜检查卵巢反应,并采用手术法从输卵管回收胚胎。

1.4 统计分析

试验数据采用 SPSS 17.0 软件进行方差分析。

2 结果与分析

2.1 不同传统超排方案超排效果的比较

如表 1 所示,在撤栓后 12 h 注射 PMSG 组的平均回收卵数最多,达(16.13±6.24)枚/只,显著高于撤栓时注射 PG 组($P<0.05$);其次为撤栓时注射 PMSG 组,平均回收卵(14.83±5.88)枚/头,与其余 2 组之间的差异均不显著。

表 1 3 种超排方案超排效果比较

超排方案	供体数 (只)	回收卵数	
		总数(枚)	平均(枚/只)
撤栓时注射 PG	22	272	12.36±6.67a
撤栓时注射 PMSG	6	89	14.83±5.88ab
撤栓后 12 h 注射 PMSG	23	371	16.13±6.24b

注:同列数据后标有不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

2.2 不同 FSH 给药方案超排效果的比较

3 种 FSH 给药方案的平均回收胚胎数分别为 22.3、24.0、16.0 枚/只,说明同剂量 FSH 分 4 d 进行 8 次注射优于分 3 d 进行 6 次注射,但进行 8 次递减注射与等量注射间超排效果差异不显著(表 2)。

表 2 3 种 FSH 给药方案超排效果比较

FSH 给药方案	供体数 (只)	回收卵数	
		总数(枚)	平均(枚/只)
8 次递减注射	3	67	22.3±10.74a
8 次等量注射	3	72	24.0±4.16a
6 次递减注射	3	48	16.0±2.65a

注同表 1。

2.3 Day0 超排方案与传统超排方案效果的比较

Day0 方案 and 传统方案的平均黄体数分别为 16.50、13.83 个/只,平均回收胚胎数分别为 13.3、12.0 枚/头,说明 Day0 超排方案可以用于安徽白山羊,与传统超排方案差异并不显著(表 3)。

表 3 Day0 超排方案 and 传统超排方案的比较

超排方案	供体数 (只)	黄体数		回收卵数	
		总数 (个)	平均 (个/只)	总数 (枚)	平均 (枚/只)
Day0	6	99	16.50±0.96a	80	13.33±3.32a
传统	6	83	13.83±2.54a	72	12.00±2.89a

注同表 1。

3 结论

3.1 不同常规超排方案对超排效果的影响

岳奎忠等发现,在第 1 次注射 FSH 时加注 PMSG 200 IU/只可显著提高供体母羊平均排卵数及胚胎回收数^[4]。本研究发现,在撤栓后 12 h 注射 PMSG 的平均排卵数最高(16.13 枚/只),显著高于撤栓时注射 PG 组(12.36 枚/只)($P<0.05$),而在撤栓时注射 PMSG 的平均回收胚胎数为 14.83 枚/只,与其余 2 组间差异均不显著,这可能与试验样本量较少有关。但也有研究表明,在撤栓时注射 PMSG 减少了排卵数,并降低了 A、B 级胚胎比例^[5],与本试验结果截然相反。因此,有关注射 PMSG 的时机及其对超排效果的影响还有待进一步扩大试验进行验证。

3.2 不同 FSH 给药方案对山羊超排效果的影响

在应用 FSH 进行超数排卵时一般都是采用递减注射法,有分为 8 次注射(2 次/d,间隔 12 h,连注 4 d)的,也有分为 6 次的(2 次/d,间隔 12 h,连注 3 d)^[6-7]。本试验结果显示,同等 FSH 剂量下,分为 8 次的递减注射法及等量注射法平均获卵数高于分为 6 次的递减注射法(三者排卵数分别为 22.3、24.0、16.0 枚/只),但各组间差异并不显著,这可能是由于样本数过少。

3.3 Day0 超排方案与传统超排方案效果的比较

Day0 方案是近年来出现的一种新的超数排卵方案,即在排卵当日进行超排处理,使周期的第 1 波卵泡成熟排卵。此时无优势卵泡存在,也就不存在优势卵泡对卵泡募集的抑制作用,从而增加了排卵数及胚胎回收数。本试验中 Day0 方案与传统方案在黄体数和胚胎数上差异并不显著,验证了 Day0 方案在安徽白山羊超排上的可行性,进一步可测定安徽白山羊的卵泡波曲线,找到更准确的第 1 次卵泡波时间,改进超排方案。考虑到 Day0 方案可减少排卵后异常情况(如未排的大卵泡及早期黄体退化等)的发生^[8],今后可使用此方案。

参考文献:

[1] 刘 彪. 安徽白山羊品种资源的保护与开发利用[J]. 养殖与饲料,2009(4):76-78.
[2] 任守文,张 浩,李赛明,等. 杂交对安徽白山羊生长发育性能的影响[J]. 南京农业大学学报,2002,25(3):57-60.
[3] 童 佳,李 宁. 转基因技术改良家畜的现状与趋势[J]. 中国农业科技导报,2007,9(4):26-31.
[4] 岳奎忠,于元松,周佳勃,等. 改进山羊超数排卵方法的研究[J]. 东北农业大学学报,2000,31(1):72-76.
[5] Menchaca A, Vilarino M, Pinczak A, et al. Progesterone treatment, FSH plus eCG, GnRH administration, and Day 0 protocol for MOET programs in sheep[J]. Theriogenology, 2009, 72(4):477-483.
[6] Ginther O J, Kot K, Wiltbank M C. Associations between emergence of follicular waves and fluctuations in FSH concentrations during the estrous cycle in ewes[J]. Theriogenology, 1995, 43(3):689-703.
[7] Cognié Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer[J]. Theriogenology, 1999, 51(1):105-116.
[8] Rubianes E, Ungerfeld R, Viñoles C, et al. Ovarian response to gonadotropin treatment initiated relative to wave emergence in ultrasonographically monitored ewes[J]. Theriogenology, 1997, 47(8):1479-1488.