

张鹤山,陈明新,田 宏,等. 行距和播量对巴东红三叶生产性能的影响[J]. 江苏农业科学,2014,42(11):225-228.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.080

行距和播量对巴东红三叶生产性能的影响

张鹤山,陈明新,田 宏,蔡 化,熊军波,刘 洋

(湖北省农业科学院畜牧兽医研究所/湖北省动物胚胎工程及分子育种重点实验室,湖北武汉 430064)

摘要:研究播种量和栽培行距对巴东红三叶生产性能的影响。结果表明,播种量和栽培行距对牧草产量、种子产量及株高等性状的作用显著,而不同组合间的交互作用差异并不显著。在一定范围内,牧草产量随播种量增加呈抛物线趋势,在播量 0.9 g/m^2 时具有最大牧草产量;栽培行距越大,牧草产量越低。种子产量主要受栽培行距的影响,60 cm 行距比 40、20 cm 具有更高的种子产量($P<0.05$),播种量低于 0.9 g/m^2 时利于种子生产。所有处理中,以组合(播量 0.9 g/m^2 ,行距 20 cm)牧草产最高,而以组合(播种量 0.6 g/m^2 ,行距 60 cm)具有最高的种子产量。

关键词:栽培行距;播种量;红三叶;生产性能;牧草;产量

中图分类号: S541⁺.204 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)11-0225-03

红三叶(*Trifolium pratense* L.)为豆科三叶草属植物,短多年生,平均寿命 4~6 年,在所有三叶草属植物中种植最广泛。红三叶广泛栽培于世界温带、亚热带地区,是极为重要的豆科牧草之一,为马、牛、羊等草食家畜重要的饲草来源。在 19 世纪末,红三叶由外国传教士带入我国,最初在湖北巴东县种植,作为养马的牧草。目前,红三叶已在全国各地广泛栽培,仅湖北省恩施地区就有 $6\,666.67\text{ hm}^2$ 以上;云南省也引种 46 个红三叶品种进行试种,已成为当地当家草种之一^[1]。

合理的种植密度是提高牧草种子产量和营养体产量的基础,而行距和播种量则是实现种子田植株密度调控的主要方式^[2]。在实际生产中,红三叶生产除受土壤、气候、肥料等因素影响以外,栽培行距和播种量也是调控红三叶生产性能的重要因素。俞联平等发现,不同栽培行距和播种量组合对岷山红三叶牧草和种子生产性能具有显著影响^[3]。陈述明等认为,紫花苜蓿播种行距较小时,群体密度相应增大,单个植株获得的水分和土壤养分减少,枝条的生长受到限制,种子产量相应降低^[4]。因此,为获得较高红三叶牧草产量和种子产量,为红三叶牧草栽培技术推广提供技术支撑,本试验以巴东红三叶为材料,研究不同栽培行距和播种量对红三叶牧草产量和种子产量的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验材料为巴东红三叶,种子为武汉市原种田自产种子。红三叶种子发芽率在 85% 以上,纯净度在 95% 以上。

1.2 试验地概况

收稿日期:2014-03-19

基金项目:农业部农业资源保护项目(编号:2130135);湖北省动物胚胎工程及分子育种重点实验室开放课题(编号:2013ZD201)。

作者简介:张鹤山(1979—),男,山东乐陵人,副研究员,主要从事种质资源保护、牧草育种及牧草产业化示范研究。E-mail:sdzhanghs@163.com。

通信作者:刘 洋,研究员,主要从事牧草种质资源保护及产业化推广研究。E-mail:liuyang430209@163.com。

试验地设于湖北省畜牧所牧草资源圃,地理位置 $114^{\circ}10'E$ 、 $30^{\circ}18'N$,海拔 31 m,属亚热带北缘季风气候,光照充足,热量丰富,雨水充沛,年均温度 $16.7^{\circ}C$,年降水量约 1 200 mm,无霜期 269 d;该地区为丘陵岗地,土壤属丘陵黄土,酸性;土壤有机质含量 1.88%,pH 值 5.4,速效氮、速效磷、速效钾的含量分别为 91.8、18.0、88.3 mg/kg。播前结合深翻整地施入农家肥 15 t/hm^2 ,磷肥 20 kg/hm^2 ,播种时做到地表平整,土块细碎。

1.3 试验设计

试验为 2 因素设计,A 因素为播种量,设 0.6 g/m^2 (A1)、 0.9 g/m^2 (A2)、 1.2 g/m^2 (A3) 3 个水平,B 因素为栽培行距,设 20 cm (B1)、40 cm (B2)、60 cm (B3) 3 个水平,小区面积 15 m^2 ($5\text{ m}\times 3\text{ m}$);随机区组设计,每个处理 3 次重复,分牧草测产区和种子测产区,共 54 个小区(其中牧草生产区 27 个,种子生产区 27 个)。

1.4 测定内容与方法

株高:在开花期测量红三叶植株草层高度,重复 10 次;牧草产量:以单位面积鲜草产量计,根据试验要求刈割后立刻称鲜质量,各次产量累加即为总产量, kg/m^2 ;单株花序数:在开花盛期计数每个植株所有已经开花的花序数,现蕾期花序未计数在内;花序小花数:开花盛期计数每个花序上的小花数,重复 30 次,取平均值;种子千粒质量:选取大小较一致的种子,用分析天平称量 100 粒种子的质量,重复 3 次;种子产量:种子成熟时人工分批采收,各次产量累计后计算每小区种子总产量。

1.5 数据处理

试验数据应用 Excel 和 SPSS 13.0 软件统计分析。

2 结果与分析

2.1 播种量和行距对红三叶生产性能的交互影响

不同播种量和栽培行距条件下红三叶生产性能各指标统计方差分析(表 1)表明,不同播种量处理对红三叶花序小花数和种子产量种子千粒质量影响显著($P<0.05$),对株高、牧草产量、单株花序数和种子千粒质量影响极显著($P<0.01$);不同栽培行距处理对种子产量影响显著($P<0.05$),对株高、牧草产量和单株花序数极显著($P<0.01$),说明通过采取不

同的栽培措施可以有效调控红三叶生产性能。但是,不同播种量和不同栽培行距的交互作用在红三叶牧草生产和种子生产相关指标内差异不显著。

表 1 不同播种量和栽培行距试验因子间方差分析						
变异来源	F 值					
	株高	牧草产量	单株花序数	花序小花数	种子产量	种子千粒质量
A	29.79**	25.54**	14.99**	11.08*	4.08*	15.02**
B	42.35**	52.87**	51.69**	2.88	10.58*	21.00
A×B	0.45	1.96	1.09	0.43	0.28	8.68

注:“*”“**”分别表示差异显著($P<0.05$)、极显著($P<0.01$)。A 表示播种量;B 表示栽培行距;A×B 表示播种量与栽培行距互作。

2.2 播种量对红三叶生产性能的影响

播种量对红三叶生产性能指标具有显著影响(表 2),统计分析表明,不同播种量处理对红三叶株高影响显著($P<0.05$),其中播量为 1.2 g/m² 时株高最高,为 62.4 cm;播种量为 0.9 g/m² 处理的红三叶株高也具有良好的表现,为 61.4cm,与播种量为 1.2 g/m² 的处理差异不显著;但播种量为 0.6 g/m² 处理的株高显著低于其他 2 个处理,为 59.1 cm。播种量在 0.6~1.2 g/m² 范围内时,牧草产量出现先增后减的趋势,在播种量为 0.9 g/m² 时,牧草生产量最大,为 1.164 kg/m²,相比而言,播种量过高(1.2 g/m²)或过低(0.9 g/m²)都会显著降低红三叶牧草产量($P<0.05$),且 2 个处理间牧草产量差异并不显著。不同播种量对种子生产相关指标的影响不尽相同,单株花序数、花序小花数和种子产量具有相同的变化趋势,3 个指标在播种量为 0.6 g/m² 和 0.9 g/m² 处理间差异并不显著,但均显著高于 1.2 g/m² 处理,说明过高的播种密度不适宜红三叶种子生产。结果表明,不同红三叶播种量对其种子千粒质量也有影响,播种量 0.6 g/m² 处理下种子千粒质量显著高于其他 2 个处理,说明较低的栽培密度相对高密度栽培而言,红三叶植株可获得充足的光照和热量,种子饱满度高。

2.3 栽培行距对红三叶生产性能的影响

栽培行距可以调控红三叶植株间的空间距离,影响植株对光照的吸收和通风性。本试验结果(表 3)表明,不同栽培行距对红三叶的牧草产量和种子生产影响显著。株高和牧草产量均随栽培行距的增加而降低,且在 3 个不同行距处理(20、40、60 cm)间差异显著($P<0.05$);而对种子产量和单株花序数而言,其变化趋势与牧草产量恰好相反,随栽培行距的

表 2 不同播种量对红三叶生产性能指标的差异性比较						
播种量处理	株高 (cm)	牧草产量 (kg/m ²)	单株花序数(个)	花序小花数(朵)	种子产量 (g/m ²)	种子千粒质量 (g)
A1	59.1b	1.076b	182.3a	129.3a	1.439a	1.569a
A2	61.4a	1.164a	181.0a	130.0a	1.427a	1.552b
A3	62.4a	1.093b	170.7b	121.4b	1.389b	1.557b

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)。表 3、表 4 同。

表 3 不同栽培行距对红三叶各指标差异性比较						
栽培行距处理	株高 (cm)	牧草产量 (kg/m ²)	单株花序数 (个)	花序小花数 (朵)	种子产量 (g/m ²)	种子千粒质量 (g)
B1	62.6a	1.180a	166.5c	124.8a	1.362c	1.547a
B2	60.8b	1.108b	177.4b	126.4a	1.432b	1.551a
B3	58.6c	1.045c	190.0a	129.6a	1.461a	1.550a

增加,牧草产量和单株花序数逐渐增加,并且不同处理间差异显著,说明通过增加行距可有效提高红三叶的种子生产性能。种子千粒质量和花序小花数受栽培行距的影响较小,虽然不同处理间相应数值不同,但处理间差异不显著。

2.4 不同处理下各指标差异性分析

不同行距和播种量栽培组合下红三叶各性状统计结果如表 4 所示。从株高性态来看,高播种量窄行距组合具有较高的植株高度,相反低种播量大行距组合其株高明显较低。所有处理组合中以 A₃B₁(播种量 1.2 g/m²,行距 20 cm)株高最高,为 64.7 cm,其次为 A₃B₂(播种量 1.2 g/m²,行距 40 cm),为 62.6 cm;植株高度最低的组合为 A₁B₃(播种量 0.6 g/m²,行距 60 cm),其次为 A₂B₃(播种量 0.9 g/m²,行距 60 cm),统计分析表明,高播种量窄行距处理的株高显著高于低播种量宽行距处理($P<0.05$)。牧草产量方面,以 A₂B₁(播种量 0.9 g/m²,行距 20 cm)和 A₂B₂(播种量 0.9 g/m²,行距 40 cm)2 个组合产量较高,而牧草产量较低的几个组合出现在低播种量宽行距和高播量宽行距的几个组合中,如 A₁B₂、A₁B₃、A₃B₂ 和 A₃B₃。统计结果表明,较窄行距的处理具有显著的牧草产量优势,可见红三叶在窄行距、适宜播种量下具有较好的牧草产量。

同牧草含量一样,红三叶的种子生产也受播种量和栽培行距的影响。所有处理中,以 A₁B₃(播种量 0.6 g/m²,行距 60 cm)为最高,为 1.486 g/m²;其次为处理 A₂B₃(播种量 0.9 g/m²,行距 60 cm),为 1.481 g/m²。统计结果表明,种子

表 4 不同栽培组合处理下红三叶相关性状统计结果						
栽培组合	株高 (cm)	牧草产量 (kg/m ²)	单株花序数 (个)	花序小花数 (朵)	种子产量 (g/m ²)	种子千粒质量 (g)
A ₁ B ₁	61.1bc	1.167ab	168.3de	128.3ab	1.417bc	1.535d
A ₁ B ₂	59.2cd	1.054d	181.3bcd	129.7ab	1.461ab	1.567b
A ₁ B ₃	57.0d	1.007d	197.2a	130.0ab	1.486a	1.604a
A ₂ B ₁	61.9b	1.225a	170.6cde	127.7ab	1.406c	1.535d
A ₂ B ₂	60.6bc	1.183a	182.5bcd	128.3ab	1.449abc	1.553bcd
A ₂ B ₃	58.7cd	1.085cd	189.8ab	134.0a	1.481a	1.566b
A ₃ B ₁	64.7a	1.149abc	160.7e	118.3b	1.328d	1.542cd
A ₃ B ₂	62.6ab	1.087bcd	168.5de	121.3b	1.405c	1.557bc
A ₃ B ₃	60.0bc	1.044d	183.0abc	124.7ab	1.433bc	1.571b

产量受播种量和栽培行距的影响较大, 较低的播种量和较宽的栽培行距有利于红三叶种子生产。同样, 单株花序数、花序小花数和种子千粒质量也受播种量和栽培行距的影响, 低播种量、宽行距组合有利于红三叶植株花序数量的增加, 最优处理为 A_1B_3 (播种量 0.6 g/m^2 , 行距 60 cm); 花序小花数量最多的处理为 A_2B_3 (播种量 0.9 g/m^2 , 行距 60 cm), 每株 134 朵, 种子千粒质量最大的处理为 A_1B_3 (播种量 0.6 g/m^2 , 行距 60 cm)。

3 结论与讨论

合理的群体结构是植物有效截获太阳辐射、提高光能利用、获得高产的重要基础。通过改变植物群体结构促使其冠层内的太阳辐射分布得到改善, 提高不同部位叶片的光合作用效率是进一步提高作物产量潜力的重要途径^[5]。研究指出, 田间植株最理想的状况是能够等距离排列, 达到均等地利用植物生长资源并消除植株与植株间的干扰与竞争^[6], 以期获得最大生物产量和种子产量。要达到这一目的, 合理的播种量和栽培行距是必不可少的 2 个重要因素。

3.1 栽培行距和播种量对红三叶牧草产量的影响

从牧草的生物学角度来看, 株高是反映牧草生长状况及其产量高低较为理想的一个特征量, 也可反映牧草平均经济产量的形成规律^[7]; 株高通常和生物量呈正相关, 它可以决定产量的 65%^[8]。本试验结果表明, 播种量在 $0.6 \sim 1.2 \text{ g/m}^2$ 范围内, 株高随播种量的增加而提高, 牧草产量呈现先增后降的趋势; 栽培行距在 $20 \sim 60 \text{ cm}$ 范围内, 红三叶株高和牧草产量均随栽培行距的增大而降低, 因此, 更大的播种量或更窄的行距有利于植株生长。俞联平等在研究岷山红三叶时得出播种量增加可提高牧草产量的结论^[3], 岳民勤等也得出红三叶栽培行距为 20 cm 时具有最大牧草产量^[9]。此外, 在红三叶和其他牧草混播试验中, 杨春华等认为, 混播后的红三叶具有比单播更高的株高^[10-11]。可见较高的栽培密度使得红三叶植株为获得充分的光照而引起相互竞争, 导致植株高度增加, 从而获得更高的生物量。但是这种影响在红三叶不同生育期有不同的影响, 在分枝期, 岷山红三叶的播种量越大, 株高越高; 而盛花期则相反^[3]。

3.2 栽培行距和播种量对红三叶种子产量的影响

牧草或作物的栽培密度与其种子和牧草产量具有直接的关系。张自和在研究紫花苜蓿种子生产时提出了紫花苜蓿种子生产的稀植化理论, 认为如果种植密度过大, 紫花苜蓿的通风、透光、授粉等受到严重障碍, 生长后期遇到大风或大雨, 容易倒伏, 导致种子产量极低或收不到种子^[12]。在其他的研究中, 研究学者认为稀植可改善紫花苜蓿群体的单株营养面积, 增加有效分枝数和花序数, 提高结实率和种子产量^[13-15]。在其他作物上也有类似的结论, Lafond 得出硬质小麦和大麦在免耕种植条件下 30 cm 行距的产量比 10 cm 行距的高的结论^[16]。本试验结果表明, 增加行距或适宜的播种量能显著提高红三叶种子产量, 栽培行距为 60 cm 时种子产量显著高于栽培行距为 $40, 20 \text{ cm}$ 的处理; 而播种量在 $0.6 \sim 0.9 \text{ g/m}^2$ 范围内巴东红三叶种子产量差异不显著, 但都显著高于播种量为 1.2 g/m^2 的处理, 说明“稀植”栽培红三叶可获得较高种子产量。但是, 岳民勤等研究岷山红三叶种子生产时认为, 播种

量为 0.45 g/m^2 时, 行距为 40 cm 的岷山红三叶种子产量比行距为 $20, 60 \text{ cm}$ 的高^[17]。因此, 红三叶种子生产受许多因素的影响, 如材料、播种量、地域环境、栽培措施、施肥等, 即便同一个草种也可能会有不一样的结论。

3.3 栽培行距和播种量对红三叶牧草和种子产量的交互作用

栽培行距和播种量是牧草或作物生产中非常重要的调控因素, 单纯地调节其中一个因素即可改变生产性能, 但是二者的交互作用在牧草或作物生产上影响却不显著。研究发现, 在加拿大和美国半干旱地区, 小麦籽粒产量均随着播种量的增加而增加, 但是行距和播种量之间却没有明显的互作效应^[18-19]。本试验结果表明, 在所有栽培行距和播种量组合中, 牧草产量以 A_2B_1 (播种量 0.9 g/m^2 , 栽培行距 20 cm) 为优, 种子生产以 A_1B_3 (播种量 0.6 g/m^2 , 栽培行距 60 cm) 为优。可见, 巴东红三叶牧草生产需要较低的栽培密度, 而种子生产需要适当提高栽培密度。即便如此, 播种量和栽培行距的交互作用在巴东红三叶各指标性状上差异不显著。

参考文献:

- [1] 陈默君, 贾慎修. 中国饲用植物 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002: 38.
- [2] 王显国, 韩建国, 刘富渊, 等. 穴播条件下株行距对紫花苜蓿种子产量和质量的影响 [J]. 中国草地, 2006, 28(2): 28-32.
- [3] 俞联平, 李发弟, 程文定, 等. 钼、播种量和行距对岷山红三叶产量及异黄酮含量的影响 [J]. 中国草地学报, 2009, 31(1): 52-57.
- [4] 陈述明, 李卫军, 李雪峰. 密度对苜蓿生长发育及种子产量的影响 [J]. 新疆农业科学, 2005, 42(3): 189-191.
- [5] Long S P, Zhu X G, Naidu S L, et al. Can improvement in photosynthesis increase crop yields? [J]. Plant, Cell & Environment, 2006, 29(3): 315-330.
- [6] Chen C C, Neill K, Wichman D, et al. Hard red spring wheat response to row spacing, seeding rate, and nitrogen [J]. Agronomy Journal, 2008, 100(5): 1296-1302.
- [7] 李凤霞, 颜亮东. 青海环湖地区天然牧草群体生长动态数值模拟 [J]. 青海气象, 1997, 14(3): 17-19.
- [8] 田 迅, 杨允非. 西辽河平原不同生境草芦种群分株生长的可塑性 [J]. 草地学报, 2004, 12(1): 17-20, 30.
- [9] 岳民勤, 王志明, 虎凌云, 等. 不同播种方式对岷山红三叶草产量的影响 [J]. 草业科学, 2009, 26(11): 106-108.
- [10] 杨春华, 李向林, 张新全, 等. 扁穗牛鞭草 + 红三叶混播草地生物量及种间竞争的动态研究 [J]. 四川农业大学学报, 2006, 24(1): 32-36.
- [11] 田 宏, 刘 洋, 张鹤山, 等. 扁穗雀麦单混播草地产草量和品质的研究 [J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(2): 228-233, 253.
- [12] 张自和. 紫花苜蓿旱区播期选择与灌区稀植化种子生产 [J]. 草业科学, 2004, 21(12): 88-89.
- [13] 刘法涛, 杨志忠, 条了汉. 紫花苜蓿种子田密度试验 [J]. 新疆畜牧业, 1993(3): 18.
- [14] 吴素琴. 苜蓿种子丰产关键因子及产量构成因素的研究 [D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2003.
- [15] 史富军, 宋学臣. 行距与施肥对苜蓿种子产量的影响 [J]. 黑龙江畜牧科技, 2000(1): 17-19.

王士勇, 杨月春, 郑军军, 等. 秋水仙胺诱导牛卵母细胞显核的研究[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(11): 228–230.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2014.11.081

秋水仙胺诱导牛卵母细胞显核的研究

王士勇^{1,2}, 杨月春³, 郑军军¹, 刘宗岳¹, 方大雨⁴, 杨福合¹

(1. 中国农业科学院特产研究所, 吉林长春 130112; 2. 延边大学农学院, 吉林延吉 133002;
3. 吉林农业科技学院动物科学学院, 吉林吉林 132101; 4. 吉林省长春市动植物公园, 吉林长春 130022)

摘要:为了观察秋水仙胺(demecolcine, DEME)诱导牛卵母细胞的显核效果,从吉林省长春市某屠宰场收集牛卵巢后采用抽吸法获取卵泡液,在体视显微镜下选择卵丘完整、胞质均匀的卵丘-卵母细胞复合体(COCs),微滴法体外成熟(*in vitro* mature, IVM)培养 19~22 h,在 0.3% 透明质酸酶中漩涡振荡去除卵母细胞周围的卵丘细胞,挑选排出第一极体的卵母细胞随机分组,分别进行 DEME 浓度和作用时间诱导牛卵母细胞显核的研究。结果表明,DEME 处理 60、90、120 min 组间显核率差异不显著($P>0.05$),但是 60、120 min 组的显核率显著高于 DEME 处理 30 min 组($P<0.05$)。当 DEME 浓度为 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 时,显核率最高,为 78.9%,显著高于 0.3、0.4 $\mu\text{g/mL}$ 组($P<0.05$),但是与 0.6 $\mu\text{g/mL}$ 组差异不显著($P>0.05$)。牛的 COCs 经 IVM 培养 19、20、21、22 h,结果发现培养 22 h 组显核率最高,显著高于培养 19 h 组($P<0.05$),但是与培养 20、21 h 组差异不显著($P>0.05$)。可见牛卵母细胞经 IVM 培养 20~22 h 后,用 0.5 $\mu\text{g/mL}$ DEME 处理 60 min 可以有效诱导其显核。

关键词:地美可辛;牛;卵母细胞;体外成熟;化学辅助去核

中图分类号:S823.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)11-0228-03

自 1997 年第 1 只体细胞核移植动物——“多莉”诞生^[1]以来,体细胞核移植技术已经发展十几年的时间,由于其在核质互作、濒危动物保护方面具有深远的应用前景^[2],同时可利用的大量濒危动物卵母细胞通常很难获得,而屠宰场屠宰后的母牛卵巢方便获取且易获得大量卵母细胞作为受体胞质,利用其进行种间体细胞核移植技术研究在当前较广泛。但是包括牛在内的家畜卵母细胞不像鼠科动物的卵母细胞在光学显微镜下可以直接看到细胞核^[3],所以通常去核时采用盲吸法^[4]、荧光辅助法^[5]或秋水仙胺(demecolcine, DEME)诱导显核法^[6]。利用盲吸法去核时为了提高去核效率通常要去除较大体积的胞质,之后还需要在紫外光下照射以确定去核成功率,这会给受体胞质造成不可逆的伤害,而荧光辅助法去核法同样需要对卵母细胞进行紫外光照射,具有同样或更重的伤害^[7]。DEME 诱导显核法利用 DEME 对受体卵母细胞处理后能够破坏其微管稳定性、干扰染色体的正常分离和纺锤体的功能促进核内所有染色质聚集在胞质表面形成一个突

起,去核时仅去除极少量的胞质即可达到完全去核的目的,去核后在没有 DEME 的培养液中培养时即可恢复微管的聚集^[8]。本试验就牛卵母细胞经过微滴法体外成熟(*in vitro* mature, IVM)不同时间后用 DEME 处理对其显核情况进行研究,旨在确定 DEME 诱导去核时的适宜浓度和处理时间,以满足体细胞核移植研究需要,为其进一步应用奠定基础。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂

DEME 和丙酮酸钠购自西格玛奥德里奇公司,人绒毛膜促性腺激素(hCG)和孕马血清促性腺激素(PMSG)购自浙江省宁波市三生药业有限公司,其余试剂均购自生命科技公司。

1.2 卵巢的获取及卵母细胞的收集

卵巢采集于吉林省长春市某屠宰场,母牛屠宰后立即采取卵巢将其放入含有双抗的 25~35 $^{\circ}\text{C}$ 生理盐水中,8 h 内带回实验室。将收集的卵巢剪去附着的系膜和输卵管,用灭菌生理盐水清洗 3 次后,用带有 16 号针头的 10 mL 注射器抽吸法收集卵泡液,在体视显微镜下选择卵丘完整、胞质均匀的卵丘-卵母细胞复合体(cumulus-oocyte-complexes, COCs)用含 5% FBS 的 PBS 洗净。

1.3 卵母细胞体外成熟

将挑选好的 COCs 用成熟液洗 3 次,然后移入平衡 2 h 以

收稿日期:2014-01-15

基金项目:国家科技基础条件平台项目(编号:2005DKA21102);吉林省自然科学基金(编号:20130101107JC)。

作者简介:王士勇(1980—),男,吉林永吉人,博士研究生,讲师,主要从事动物繁殖生物技术的研究。E-mail:wangshiyong@caas.cn。

通信作者:杨福合,研究员,博士生导师。E-mail:yangfh@126.com。

[16] Lafond G P, Derksen D A. Row spacing and seeding rate effects in wheat and barley under a conventional fallow management system [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1996, 76 (4): 791–793.

[17] 岳民勤, 王志明, 虎凌云, 等. 不同播种行距对岷山红三叶种子产量的影响[J]. 内蒙古草业, 2009, 21(4): 42–44.

[18] Lafond G P. Effects of row spacing, seeding rate and nitrogen on yield of barley and wheat under zero-till management[J]. Canadian Journal of Plant Science, 1994, 74(4): 703–711.

[19] Teich A H, Welacky T, Hamil A, et al. Row-spacing and seed-rate effects on winter wheat in Ontario [J]. Canadian Journal of Plant Science, 1993, 73(1): 31–35.