

77-81

第25卷 第3期
1997年6月西北农业大学学报
Acta Univ. Agric. Boreali-occidentalisVol. 25 No. 3
Jun. 1997

山羊超数排卵和同期发情研究^①

李裕强 张涌

(西北农业大学动物医学系, 陕西杨陵 712100)

摘 要 用FSH(以4种程序注射)配合LH和前列腺素对安哥拉山羊和奶山羊进行超排处理。结果表明,FSH各给予方式的超排效果间没有显著差异($P > 0.05$),安哥拉山羊对超排的反应弱于奶山羊($P < 0.05$),超排后回收的可用卵母细胞数显著高于可用胚胎数($P < 0.01$)。15-甲基PGF_{2α}和氯前列烯醇对奶山羊的同期发情率基本一致;但二者从注射到发情的间期具有显著差异($P < 0.05$)。注射前列腺素的时间显著影响诱导发情效率,对奶山羊而言,在情期的8~16 d内使用,效果确切。

关键词 超数排卵, 同期发情, 奶山羊, 安哥拉山羊

中图分类号 S827.36, S814.6

超数排卵技术可为胚胎工程的研究和生产需求提供大量的卵母细胞或胚胎。经过多年的研究和总结,人们已基本认识了超排反应的影响因素,也掌握了各种家畜较为稳定的超排方式^[1]。在此基础上,目前人们致力于提高超排效率的研究。本研究是在以前研究^[2]的基础上,调整了FSH的给予剂量和程序,旨在探索一种更为高效、经济的奶山羊超排方式。安哥拉山羊是近年引进推广的新品种,国内正在研究建立其快速繁殖体系,超数排卵是其中的基础技术,为此本实验研究了安哥拉山羊对超排的反应性能。

国内多用15-甲基PGF_{2α}使动物发情同期化,在山羊上尚未见到使用氯前列烯醇的报道,本文总结了氯前列烯醇对山羊同期发情的作用效果及规律,并和15-甲基PGF_{2α}进行了比较。

1 材料与方法

1.1 超排处理

在舍饲的奶山羊和安哥拉山羊的发情季节,于情期的9~12 d开始,以FSH(武汉激素厂,930324)每天上午8:00、下午4:00肌肉注射(给予方式见表1);发情后立即颈静脉注射LH(武汉激素厂,930620)70 IU;于首次注射FSH后第2 d下午肌肉注射1次15-甲基PGF_{2α}(上海五洲制药厂,920101)1.0 mL/次或氯前列烯醇(上海计划生育研究所,930301)0.1 mg/次。采胚者分别在注射LH同时及8 h后各配种1次。

1.2 卵胚回收

卵母细胞的回收:发情(注射LH)后30~35 h手术,暴露卵巢、输卵管和子宫,检查卵巢表面有排卵点者再用Dubecco's PBS(体积分数为5%FCS)(自配)冲输卵管回收。

收稿日期 1996-11-12

课题来源 农业部“八五”生物技术重点项目

作者简介 李裕强,男,1969年生,助教,学士

胚胎回收:首次交配后 4~7 d 手术,用 DPBS 冲子宫回收。

显微镜下观察胚、卵形态,记录发育正常者数目。

表 1 FSH 给予程序

IU

组别	总量	第 1 d	第 2 d	第 3 d
A	230	50×2	35×2	30×2
B	250	100,50	30×2	20×2
C	300	100,50	50×2	25×2
D	300	50×2	50×2	50×2

1.3 同期发情处理

在周期的一定天数(多在 8~16 d),肌肉注射 15-甲基 PGF_{2α} 1.0 mL/次只或氯前列稀醇 0.1mg/次只,观察记录发情时间。

2 结果与分析

2.1 不同处理方式对山羊超排效率的影响

2.1.1 奶山羊可用卵母细胞数 经 4 种处理后,获得的奶山羊可用卵母细胞数见表 2。由表 2 可见,FSH 的 4 种给予方式对可用卵子数没有显著影响。但随总剂量的增加,平均排卵数也有所增加(A,B,C 组),相同剂量时,减量法的效果比恒量法稍优(C,D 组)。

表 2 超排方式对卵母细胞数的影响

组别	处理 (只)	获可用卵总数 (枚)	头均可用卵数($\bar{X} \pm SE$) (枚/只)
A	5	36	7.2±1.79
B	5	38	7.6±2.30
C	7	62	8.9±2.12
D	6	43	7.2±2.92

2.1.2 奶山羊、安哥拉山羊超排效果比较 比较奶山羊、安哥拉山羊经超排后(均为 FSH B,C 法)所能回收的可用胚数(表 3)可见,安哥拉山羊的头均获胚数小于奶山羊,二者差异显著。

表 3 安哥拉山羊、奶山羊超排后胚、卵回收数

供体类型	处理 (只)	总回收数 (枚)	头均回收数($\bar{X} \pm SE$) (枚/只)
安哥拉山羊供胚	13	55	4.23±2.69 a
奶山羊供胚	6	32	5.33±2.65 b
奶山羊供卵	12	100	8.33±2.19 c

2.1.3 奶山羊超排后卵胚数比较 从 6 例(FSH B,C 法)供胚奶山羊和 12 例(FSH B,C 法)供卵奶山羊所回收的可用胚、卵数(见表 3)比较中可见,奶山羊经超排、交配后所能回收到的可用胚胎数,显著低于直接回收卵母细胞的数目($P < 0.05$)。

2.2 前列腺素对山羊同期发情的影响

2.2.1 不同前列腺素的同期发情效果 由表 4 可见,用 15-甲基 PGF_{2α} 和氯前列稀醇共对 92 只(次)奶山羊进行同期发情处理,有 80 只(次)在 1.5~3.5 d 发情(注射日为 0),有

效率为 86.96%。5-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 和氯前列烯醇的有效率分别为 89.28% 和 83.33%, 二者无明显差异, 如在 8~16 d 注射两者基本一致。

表4 不同前列腺素的同期发情效率

%

激素	8~16 d	<7 d, >17 d	合计
15-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$	95.74(45/47)	55.56(5/9)	89.28(50/56)
氯前列烯醇	95.65(22/23)	61.54(8/13)	83.33(30/36)
合计	95.71(67/70) A	59.09(13/22) B	86.96(80/92)

2.2.2 注射时间对同期发情的影响 前列腺素的注射时间对同期发情效果有很大影响, 在情期的 8~16 d 注射, 与其他时间(7 d 以下, 17 d 以上)注射的有效率具有极显著差异($P < 0.01$)。

2.2.3 平均发情时间 统计氯前列烯醇和 15-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 从注射到发情的时间(表 5)表明, 氯前列烯醇组从注射至发情的间期明显长于应用 15-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 者, 差异达极显著水平($P < 0.01$)。

表5 注射两种前列腺素后至发情的间期

激素	有效反应数 (只)	平均发情时间 (h)
15-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$	50	51.00±17.87 A
氯前列烯醇	30	67.71±11.19 B

3 讨论

超排效果的估计指标有多种, 如卵巢的排卵点数、获卵(胚)总数、可用卵(胚)数等, 本研究所以用卵(胚)数为指标, 是因为超排的目的就是获得能够运用的卵(胚), 如果排卵数量很大, 但质量太劣, 也不能认为达到很好的效果。FSH 超排山羊效果优于 PMSG^[2,3], 故目前山羊超排多用 FSH 多次注射法。即使使用 FSH, 也仍可因不同纯度而影响超排效果^[4]; 此外, 个体对超排处理的不同反应还与遗传特性、年龄、FSH 与 LH 的比率以及开始处理日在周期中的天数等因素有关^[1,4,5,6]。本研究显示, 关中奶山羊在周期的 9~12 d 开始处理, FSH 总量在 230~300 IU 时, 剂量大小, 给予程序(恒量、递减)不会显著影响可用卵母细胞的数目。但相对而言, 以 300 IU FSH 递减法进行超排, 可以获得较好的效果。自然状态下高繁殖羊品种在超排时的排卵率高于低繁殖的品种^[7], 安哥拉山羊的超排效果不及关中奶山羊, 也可能正是由于两者繁殖性能的差异。超排后所回收的胚胎数少于卵母细胞数, 因为在子宫回收胚胎不及输卵管回收卵母细胞彻底, 更重要的是, 超数排出的卵可能难以全部得到正常的受精机会和之后的正常运行和发育, 导致胚胎数减少。

F 型前列腺素对动物黄体有明显的溶解作用^[8], 这是同期发情技术所依据的原理。本试验显示, 只有在情期的 8~16 d 注射前列腺素, 才能使山羊的黄体溶解获得确切的效果(95.70%), 牛上也有类似的报道^[9], 即在情期的 8~18 d 使用 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的效果明显优于 4~7 d。牛和羊的黄体在 7~10 d 发育至最大^[8], 可见只有发育充分的黄体才能接受前列腺素的作用。17 d 以后, 黄体萎缩, 新的卵泡已得到相当程度的发育, 卵巢按自然的周期进程活动, 即使注射前列腺素, 也不能使其提前排卵。国内多用 15-甲基 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 进行同期发情处

理,氯前列稀醇的应用不很多,李文萍^[10]曾报道,随机选择新疆细毛羊注射氯前列稀醇,得同期发情率为 92.01%。本试验表明,对山羊使用 15-甲基 PGF_{2α}和氯前列稀醇的同期发情效果几乎一致。但二者从注射到发情的间期具明显的差异,前者平均为 51 h,后者为 67.71 h。据此,即可依不同的激素和要求发情的日期而选择合适的注射时间。另一方面,两种激素处理后至发情的间期都表现出一定的变化范围,这可能与处理时卵泡所处的状态有关。现存卵泡可以在黄体形成期排卵,如果在优势卵泡中静止相(mid-static phase)之前诱导黄体形成,该卵泡即排卵,从处理到发情的周期较短。相反,如果在静止相之后诱导黄体形成,则排卵卵泡由下一波的优势卵泡发育而来,从而表现一较长的间期。有报道^[11]称可以采取控制卵泡波出现的方式来降低这种变化范围,如孕酮和雌激素的处理或卵泡部分切除等方式可被用于消除优势卵泡的不同影响。

参 考 文 献

- 1 Armstrong D T. Recent advances in the superovulated cow. *Therio*. 1993, 39, 7~24
- 2 张 涌,刘 灵,钱菊汾等. 关中奶山羊超数排卵的研究. *西北农业大学学报*, 1992, 20(增刊): 125~128
- 3 Armstrong D T, Pfitzner A P, Warnes G M et al. Superovulation treatments and embryo transfer in Angora goats. *J Reprod Fert*, 1983, 67, 403~410
- 4 Boland M P, Roche J F. Embryo production in vivo. Problems and prospects. In: Luria A et al (ed). *New trends in embryo transfer*. London, Portland press, 1992, 195~206
- 5 Bindon B M, Piper L R, Cahill L P et al. Genetic and hormonal factors affecting superovulation. *Therio*, 1986, 25, 53~77
- 6 Nuti L C, Minhas B S, Baker W C et al. Superovulation and recovery of zygotes from nubion and alpine dairy goats. *Therio*, 1987, 28, 481~488
- 7 谭景和. 山羊卵子的研究 [学位论文]. 哈尔滨: 东北农学院畜牧系, 1988, 59~77
- 8 甘肃农业大学主编. 兽医产科学(第 2 版). 北京: 农业出版社, 1992, 28~49
- 9 Laverdiere G, Roy G L, Proulx J et al. Estrus synchronization efficiency of PGF_{2α} injection in shorthorn-hereford and crossbred charolais Cattle not having exhibited estrus at 4 or 7 days prior to treatment. *Therio*, 1995, 43, 899~911
- 10 李文萍. 氯前列稀醇控制新疆细毛羊同期发情试验效果. *草食家畜*, 1993(5), 27~28
- 11 Adams G P. Control of ovarian follicular wave dynamics in cattle: implications for synchronization and superstimulation. *Therio*, 1994, 41, 19~24

Superovulation and Estrus Synchronization of Goats

Li Yuqiang Zhang Yong

(Department of Veterinary Medicine, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Abstract The superovulatory response in Guanzhong dairy goats and Shaanbei angora goats has been studied. Superovulation was performed in four ways with FSH (total doses from 230 IU to 300 IU), LH (70 IU) and prostaglandin. The results indicated that the response of angora goats to superovulation was weaker than that of dairy goats ($P < 0.05$), the different administration ways of FSH did not influence the superovula-

tory effects significantly, and in the same treatment, the recovered viable oocyte numbers were greater than those of viable embryos ($P < 0.01$). The estrus synchronization of dairy goats had also been investigated in the present experiment. It appeared that cloprostenol had the same synchronizing efficiency as that with 15-methy $\text{PGF}_{2\alpha}$, but the duration from injection of cloprostenol to estrus is much longer compared with that with 15-methy $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P < 0.05$). Only if cloprostenol or 15-methy $\text{PGF}_{2\alpha}$ was injected in the 8 ~ 16th day of goat estrus cycle, it could induce efficient synchronization consequence.

Key words superovulation, estrus synchronization, dairy goat, angora goat