

PMSG+ APMSG 对山羊超排效果的研究

武 浩¹ 张和银² 马保华¹ 李裕强¹ 刘智喜¹

(1 西北农业大学动物科学与动物医学学院, 陕西杨凌 712100)
(2 陕西省商洛地区农业学校, 陕西商州 726000)

摘 要 在山羊繁殖季节, 对 17 只关中奶山羊应用 PMSG (对照组, $n=9$) 或 PMSG 及其抗血清 (APMSG) (试验组, $n=8$) 进行了超排处理, 并对超排前后血浆 17β -雌二醇 (17β - E_2) 和孕酮 (P_4) 变化进行了监测。结果表明, 试验组山羊发情后 12 h 给予 APMSG, 可以显著改善 PMSG 的超排效果。

关键词 PMSG, APMSG, 超排, 17β -雌二醇, 孕酮, 奶山羊

分类号 S827.9435, S814.4

PMSG 是目前超排中应用较为广泛的激素之一。然而, 由于其半衰期较长, 会使卵巢上出现第二次卵泡波, 产生高浓度的雌激素, 导致卵巢上未排卵的卵泡数增加、黄体早期退化等, 以致影响超排效果。为了克服 PMSG 超排后产生的副作用, 在超排程序中, 应用 APMSG 被认为是解决这一问题的理想途径。APMSG 已用于奶牛和绵羊超排, 在山羊上, Cordova 等^[1]应用 PMSG + APMSG 对阿尔卑山羊超排后, 使超排效果得到明显改善。关于 PMSG + APMSG 对山羊超排效果的研究, 目前国内尚未见报道。本研究的目的在于通过应用 PMSG + APMSG, 以确定对山羊的超排效果。

1 材料和方法

1.1 试验动物

母羊: 为成年关中奶山羊, 年龄 2~3 岁, 共 17 只。购回后, 进行驱虫药浴, 并观察食欲, 检查生殖器官状况, 在证明健康并至少观察一个发情周期后开始试验。

公羊: 为成年萨能奶山羊的种用公羊。

1.2 主要仪器和试剂

液体闪烁计数器, 西安国营二六二厂; 低温离心机, 德国 Sagma 仪器公司; 立体显微镜, 江南光学仪器厂; 孕激素阴道海绵栓, 自制; 15-甲基-PGF_{2 α} , 上海五洲药厂; PMSG 及 APMSG, 天津实验动物中心; 17β - E_2 和 P_4 标记品、标准品及抗体均购自上海内分泌研究所。

1.3 试验方法

孕激素阴道栓预处理 试验山羊随机分为两组: 试验组 (PMSG + APMSG, $n=8$); 对照组 (PMSG, $n=9$)。在至少观察一个发情周期后, 放置 18-甲基炔诺酮阴道栓, 共 16 d。

PMSG 超排处理 在阴道栓撤除前 48 h, 所有山羊肌注 PMSG 16. 67 $\mu\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{只})$ 进行超排处理, 于 PMSG 注射后 48 h (即撤栓的同时), 肌注 15-甲基-PGF_{2 α} 1. 2 mg; 在发情后 12 h 试验组注射 APMSG 16. 67 $\mu\text{mol}/(\text{s} \cdot \text{只})$, 对照组给予与 APMSG 稀释体积等量的生理盐水。

配种 于阴道栓撤除后, 用公羊试情, 并密切观察山羊发情表现, 母羊接受爬跨时配种一次, 12 h 后复配一次。

样品采集 放置阴道栓前一天至注射 PMSG, 每 24 h 颈静脉采集血样一次, PMSG 注射至发情结束后 48 h, 每 6 h 采血一次, 随后, 每 12 h 采集血样一次, 直至采集胚胎时。血样用肝素抗凝, 采集后, 立即 4 000 r/min 离心 10 min 并抽取血浆, 保存于 - 20℃ 冰箱内待测。

胚胎采集 于配后 6 d 手术采集胚胎, 在立体显微镜下检胚, 并进行分类计数, 确定超排效果。

激素测定 用放射免疫分析法对血浆中 17 β -E₂ 和 P₄ 水平进行测定, 确定 PMSG 或 PMSG+ APMSG 超排前后试验组和对照组山羊内分泌变化情况。

2 结果与分析

2. 1 黄体数

试验组和对照组黄体总数、正常黄体数均无显著差异, 而在退化黄体数上, 试验组显著低于对照组 ($P < 0. 05$), 见表 1。

表 1 PMSG 或 PMSG+ APMSG 超排后的各类黄体数量 个

处理	正常黄体数	退化黄体数	黄体总数
PMSG 组	5. 56 $\pm$ 3. 92	2. 44 $\pm$ 3. 13	8. 00 $\pm$ 4. 08
PMSG+ APMSG 组	6. 75 $\pm$ 3. 56	0	6. 75 $\pm$ 3. 56
<i>t</i> 检验	-	< 0. 05	-

2. 2 回收的胚胎数

试验组和对照组在胚胎总数上无显著差异; 而在可用胚胎数上, 试验组约为对照组的两倍 ($P < 0. 05$), 在胚胎发育阶段方面, 试验组的结果相对集中, 这主要表现在处于桑椹胚和囊胚期的胚胎占胚胎总数的 83. 37% (41/49), 而对照组仅为 57. 79% (22/38), 见表 2。

表 2 PMSG 或 PMSG+ APMSG 超排后的胚胎数量 枚

处理	可用胚胎数	胚胎总数
PMSG 组	2. 67 $\pm$ 3. 19	4. 22 $\pm$ 3. 58
PMSG+ APMSG 组	5. 50 $\pm$ 2. 08	6. 12 $\pm$ 2. 98
<i>t</i> 检验	< 0. 05	-

2. 3 未排卵泡数

PMSG 或 PMSG+ APMSG 超排后, 对照组未排卵泡数, 尤其是大卵泡数均显著 ($P < 0. 05$) 或极显著高于试验组 ($P < 0. 01$), 见表 3。

表 3 PMSG 或 PMSG+ APMSG 超排后卵巢上未排卵泡数 个

处理	大卵泡	中卵泡	卵泡总数
PMSG 组	2.00±1.63	1.50±0.71	3.33±1.89
PMSG+ APMSG 组	0.50±0.71	0.88±1.05	1.38±1.58
t 检验	< 0.01	-	< 0.05

2.4 超排前后 17β-E₂ 分泌范型

试验组和对照组血浆 17β-E₂ 水平在放置阴道栓后一直处于较低水平,放栓期间平均水平分别为 (20.36±3.61) ng/L 和 (17.09±2.40) ng/L ,PMSG 超排前为(22.83±16.65) ng/L 和 (15.51±9.90) ng/L,超排后开始上升,至发情时达到峰值,分别为 (43.75±23.03) ng/L 和 (29.15±15.03) ng/L,显著高于超排前水平($P<0.05$),两组变化基本相似。

试验组注射 APMSG 前 6 h , 17β-E₂ 水平为(35.65±19.43) ng/L,注射 APMSG 后 6 h 急骤下降为(19.36±15.38) ng/L,差异极显著($P<0.01$)。之后,维持较低水平 (18.52~27.37) ng/L 至采集胚胎。对照组 17β-E₂ 在发情后 24 h 左右出现另一个 17β-E₂ 分泌峰 (30.29±34.32)ng/L,之后维持较低水平 (18.21~30.29) ng/L 至采集胚胎。试验组注射 APMSG(对照组给予等量生理盐水) 前 30 h 至注射后 30 h 17β-E₂ 分泌范型见图 1。

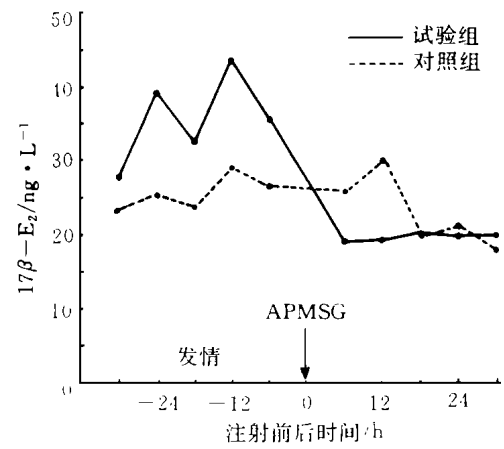


图 1 试验组和对照组血浆 17β-E₂ 水平变化

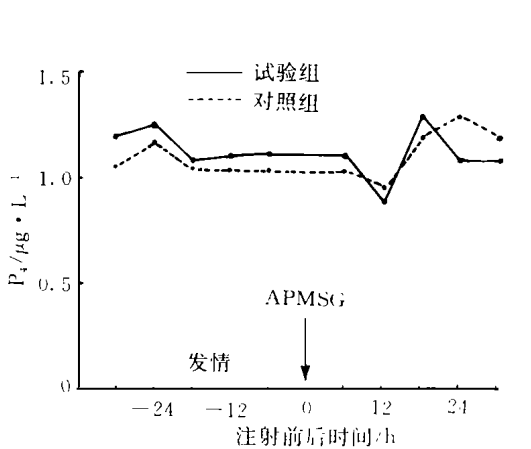


图 2 试验组和对照组血浆 P₄ 水平变化

2.5 超排前后 P₄ 分泌范型

试验组和对照组放栓前 P₄ 水平分别为 (0.90±0.55) μg/L 和 (1.21±0.51) μg/L,放栓期间有所升高,平均水平为 (1.29±0.11) μg/L 和 (1.04±0.11) μg/L;注射 PMSG 前后,P₄ 水平无显著差异($P>0.05$),于发情时降至最低水平,分别为 (0.97±0.48) μg/L 和 (1.02±0.61) μg/L;之后,逐渐上升,至采集胚胎时达峰值 (3.19±1.39) μg/L 和 (2.58±1.82) μg/L。

在整个试验过程中,试验组和对照组 P₄ 水平变化范型基本相似,两组间存在极显著正相关($r=0.8156, P<0.01$),试验组注射 APMSG (对照组给予等量生理盐水) 前 30 h

至注射后 30 h P_4 分泌范型见图 2。

3 讨 论

3.1 注射 APMSG 对 PMSG 超排羊黄体数的影响

用 PMSG 超排后, 卵巢上不断有卵泡发育并排卵, 这时卵巢环境中雌激素水平较高。其结果卵巢上有部分卵泡不排卵变为大卵泡或发生黄体化。如果在 PMSG 超排后适时给予 APMSG, 则可通过中和外周循环中的 PMSG, 抑制卵巢上过多卵泡的发育, 维持黄体的正常功能。本研究结果表明, 于发情后 12 h 注射 APMSG, 试验组退化黄体数显著低于对照组 ($P < 0.05$)。这与在奶牛和绵羊上所取得的结果一致^[2,3]。

3.2 注射 APMSG 对 PMSG 超排羊胚胎数的影响

本研究表明: 试验组与对照组胚胎总数差异不显著, 这与谭景和等^[4]在绵羊上取得的结果相似。在可用胚胎数上, 试验组和对照组间存在显著差异 ($P < 0.05$)。在胚胎发育阶段方面, 试验组的结果相对集中, 说明应用 APMSG 可以显著改善 PMSG 的超排效果, 增加优质胚胎数量。

3.3 注射 APMSG 对 PMSG 超排羊卵泡数的影响

PMSG, PMSG+ APMSG 超排后, 对照组与试验组平均未排卵卵泡数有显著差异 ($P < 0.05$), 特别是在未排卵大卵泡数上, 对照组极显著高于试验组 ($P < 0.01$)。Cordova 等^[5]应用 PMSG 或 PMSG+ APMSG 对阿尔卑山羊超排后发现, PMSG+ APMSG 组超排后的未排卵大卵泡数显著低于 PMSG 组, 与本研究结果一致。关于 PMSG 超排后未排卵卵泡数 (尤其是大卵泡数) 增多的原因, 主要是由于 PMSG 的半衰期较长, 超排后未能及时清除, 产生后效应, 使卵巢上出现次级卵泡波的发育, 导致雌激素水平升高, 随后发育的卵泡不能正常排卵, 结果卵巢上未排卵卵泡数目增加。此时如能及时给予 APMSG, 则可通过改善卵泡周围的内分泌环境, 使卵巢上有更多的卵泡正常发育并排卵。

3.4 超排对 $17\beta\text{-E}_2$ 和 P_4 水平的影响

PMSG 超排后, 对照组 $17\beta\text{-E}_2$ 水平开始升高, 发情时达峰值, 于发情后 24 h 又出现了另一个分泌峰。这是由于 PMSG 在体内生物半衰期较长, 会引起卵巢上第二次卵泡波的发育, 造成卵巢上未排卵卵泡数增加, 这些卵泡不断产生雌激素, 结果出现试验中发现的第二次 $17\beta\text{-E}_2$ 分泌峰。循环中过高的雌激素水平对早期胚胎发育会产生不良影响, 并使部分黄体过早退化。因此, 对照组的可用胚胎数显著低于试验组, 而退化黄体数则比试验组明显增加, 超排效果受到很大影响。

与对照组所不同的是, 试验组在 PMSG 超排后给予 APMSG, 血液中 $17\beta\text{-E}_2$ 水平急剧下降, 注射前后存在极显著差异 ($P < 0.01$), 而且并未有 $17\beta\text{-E}_2$ 二次峰值出现。这种良好的内分泌环境, 对早期胚胎发育和黄体的维持是必需的。研究结果也证明了这一点。

在整个试验过程中, 对照组和试验组 P_4 分泌范型基本一致。这与 Cordova 等^[5]在阿尔卑山羊上所取得的结果相似。由此可见, PMSG 超排后用与不用 APMSG, 对 P_4 水平并无明显影响。这也许因为 P_4 是由黄体分泌的, 与卵巢上的黄体功能情况密切相关。

参 考 文 献

- 1 Cordova Santamaria L A, Jimenez Krasel F, Hernandez Ledezma J J. Serum progesterone concentration in goats superovulated with FSH or PMSG outside the breeding season. *Tecnica Pecuaria en Mexico*, 1992, 30(3): 232~239
- 2 Dieleman S J, Bevers M M, Wurth Y A, et al. Improved embryo yield and condition of donor ovaries in cows after PMSG superovulation with monoclonal anti-PMSG administered shortly after the preovulatory LH peak. *Theriogenology*, 1989, 31(2): 473~487
- 3 Martemucci G, Alessandro A D, Totoda F, et al. Embryo production and endocrine response in ewes superovulated with PMSG, with or without monoclonal anti-PMSG administered at different times. *Theriogenology*, 1995, 44: 691~703
- 4 谭景和. 绵羊同步发情和超数排卵的研究. *黑龙江畜牧兽医*, 1993, (6): 4~6
- 5 Cordova Santamaria L A, Jimenez Krasel F, Hernandez Ledezma J J. Extraseasonal superovulation of goats with FSH or PMSG and monoclonal anti-PMSG. *Veterinaria Mexico*, 1992, 23(4): 319~324

Effect of Superovulation with PMSG plus Anti-PMSG Serum in Goat

Wu Hao¹ Zhang Heyin² Ma Baohua¹ Li Yuqiang¹ Liu Zhixi¹

(1 College of Animal Science and Veterinary Medicine, Northwestern

Agricultural University, Yangling, Shannxi, 712100)

(2 Shaanxi Shangluo Agricultural School, Shangzhu, Shannxi, 726000)

Abstract Female goats ($n=17$) were superovulated with PMSG or PMSG plus anti-PMSG serum (APMSG) in the seasonal estrus period, and the changes of blood P_4 and $17\beta-E_2$ concentrations were measured. The result was that superovulatory treatment with PMSG plus APMSG administrated at 12 h after the onset of estrus may improve the response of ovarian and the yield of viable embryos in goat.

Key words PMSG, anti-PMSG serum, superovulation, $17\beta-E_2$, P_4 , goat