

河南省三种地方牛种超数排卵结果与分析

施巧婷¹, 张子敬¹, 滑留帅¹, 冯亚杰¹, 李志钢², 祁兴磊³,

王玉海⁴, 许 斌⁵, 徐照学¹, 王二耀^{1*}

(1. 河南省农业科学院畜牧兽医研究所, 郑州 45002; 2. 平顶山市畜牧技术推广站, 河南平顶山 467000;

3. 河南省泌阳县夏南牛研究推广中心, 河南 泌阳 463700; 4. 南阳黄牛科技中心, 河南南阳 473005;

5. 伊吾县畜牧改良站, 新疆 哈密 839300)

摘 要: [目的] 为了分析河南三种肉牛超数排卵效果。[方法] 分别选择夏南牛、郟县红牛、南阳牛作为试验母牛, 采用两次 PG + 促卵泡素 (FSH) 的方法对试验母牛进行超数排卵, 观测试验母牛获得总胚胎数、可用胚数分析超数排卵效果。[结果] 结果显示, 夏南牛可用胚 9.86 枚/头, 南阳牛可用胚 7.71 枚/头, 郟县红牛为 6.75 枚/头, 可用胚中夏南牛最高与郟县红牛和南阳牛有显著性差异。可用胚率郟县红牛最高 79.41%, 显著高于夏南牛和南阳牛。[结论] 结果表明, PG + FSH 法可以用于夏南牛、郟县红牛和南阳牛的超数排卵。

关键词: 夏南牛; 郟县红牛; 南阳牛; 超数排卵

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2021)05-0024-03

地方牛品种具有体躯高大结实、结构匀称、耐粗饲、适应性强、抗病性强、性情温顺、遗传性能较稳定等优点。是我国宝贵的种质资源。但受引进品种影响, 地方品种普遍存在品种退化、数量锐减等问题。牛胚胎移植技术可充分利用现有种质资源, 生产更多优良种公、母畜, 它是加速牛群改良和纯种繁育进程, 迅速提高中国牛群整体水平的重要而有效的手段。

通过超数排卵技术可以获得更多可用卵子和胚胎。影响牛超数排卵效果因素较多, 牛的品种、年龄、饲养管理、药品种类剂量、环境条件、重复超排、超排及采胚技术熟练程度等都能影响超排效果^[1-5]。本次试验旨在分析河南肉牛繁育关键技术实施现状, 建立起一套适合于地方肉牛产业化生产的超数排卵方案, 探讨切实有效的扩繁技术, 以提高牛的超数排卵效率, 使胚胎移植技术更好的为畜牧业生产服务。

1 材料与方法

1.1 试验设计

1.1.1 体牛的选择 选择夏南牛、南阳牛、郟县红牛母牛作为供体, 所有供体牛体格健壮, 无遗传及传

染性疾病、寄生虫、生殖系统疾病等, 供体繁殖机能正常, 生产性能良好, 遗传稳定, 系谱清楚, 胎次在 3 胎以下。

1.1.2 试验物品及器材 垂体促卵泡素 (FSH) (加拿大进口), 400 mg/瓶 (20 mL 稀释); 氯前列烯醇 (PG) 上海市计划生育科学研究所出品, 每支 0.2 mg; 2% 盐酸普鲁卡因; MEM. Gibco 公司生产, 每份 9.73 g; 保存液 (Holding), 美国 ICP 公司出品, 每袋 50 mL; 冷冻液, 美国 ICP 公司生产每袋 20 mL; 程序冷冻仪 (型号 ET-1N), 日本富士平公司出品; 体式显微镜, 由德国卡尔蔡司公司 (Carl Zeiss, 型号: Ste-mi 305) 生产, 冲胚管、扩张棒、集卵杯、抽粘液棒购于北京绿欣康农牧科技有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 供体牛超排方法 采用两次 PG + FSH 法, 具体操作方法如下: 发情周期任意一天肌肉注射 PG 2 mL 记为第 1 天, 第 12 天第二次肌肉注射 PG 2 mL, 第 23 天连续 4d 递减注射 FSH, 并在注射 FSH 的第 3 天下午注射 PG 2 mL。用药剂量根据牛的体重是否经产等因素确定。供体牛发情后进行人工授精。

收稿日期: 2021-05-06 修回日期: 2021-05-16

基金项目: 本项目由河南省重大科技专项 (201300111200); 国家肉牛牦牛产业技术体系专项 (CARS-37); 河南省肉牛产业技术体系 (S2013-08); 河南省农业科学院自主创新专项基金 (2019ZC41); 河南省农业科学院科技发展专项资金项目 (2019CY08) 资助完成。

作者简介: 施巧婷 (1972—) 女, 博士, 副研究员, 研究方向: 为家畜繁殖与胚胎工程。

*** 通讯作者:** 王二耀 (1971—) 男, 博士, 研究员, 硕士生导师, 研究方向: 家畜繁殖学与动物胚胎工程。

1.2.2 牛胚胎采集方法 供体牛发情后人工授精的第 7 天采用二路冲胚管法进行非手术冲胚。首先将供体牛保定,用 2% 普鲁卡因 4 mL 进行荐尾间隙硬膜外腔麻醉,剂量为 4~6 mL,用子宫颈粘液去除棒吸除粘液。将带钢芯的冲胚管插入阴门,达到子宫颈口。用直肠把握法将冲胚管导入子宫颈和子宫角。当冲胚管前端到达子宫角前端,给冲胚管气囊充气约 8~15 mL,抽出冲胚管内芯;用 100 mL 注射器吸取冲胚液从输入管注入子宫角,然后回收冲胚液,每侧子宫反复 4~5 次,每个子宫角用 500 mL 冲胚液,将回收液收集集卵杯在室温下(18℃~22℃)静置 5~10 min,镜检。

1.2.3 胚胎级别鉴定 根据胚胎的轮廓、细胞发育的均匀性、细胞的色泽等将胚胎分为 4 级。A 级:优良胚胎,形态典型、卵细胞和分裂球的轮廓清晰、细胞质致密、色泽和分布均匀一致;B 级:普通胚胎,与

典型的胚胎相比,稍有变形,但卵细胞和分裂球的轮廓清晰、细胞质较致密、分布均匀、水泡样和变性细胞占 10%~30%;C 级:不良胚胎,形态变化明显,卵细胞和分裂球的轮廓稍不清晰或部分不清晰、细胞质不均匀、色泽发暗、水泡样和变性细胞占 30%~50%;D 级:变性、退化胚胎。其中 A、B 级胚胎为可用胚。

1.3 统计方法

依据胚胎鉴定分级法对各组回收的胚胎进行鉴定分级,统计各组总的胚胎数、可用胚数。采用 SPSS 17.0 统计软件处理试验数据。依据下列公式计算可用胚率和一级胚胎率,可用胚率=可用胚胎数/总胚胎数×100%,采用 2 个样本百分数差异显著性检验(t 法)分别对各组可用胚率作差异性检验。

2 结果

表 1 河南三种地方牛超排结果分析

品种	超排数/头	冲胚数/枚	可用胚/枚	平均可用胚/枚	可用胚率/%
夏南牛	7	90	69	9.86 ^a	76.67 ^a
南阳牛	7	95	54	7.71 ^b	56.84 ^b
郟县红牛	8	68	54	6.75 ^b	79.41 ^a

注:同行数据肩标含相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$)

由表 1 可知夏南牛超排 7 头获得 90 枚胚胎,其中 69 枚可用,可用胚 9.86 枚/头,南阳牛可用胚 7.71 枚/头,郟县红牛为 6.75 枚/头,可用胚中夏南牛最高与郟县红牛和南阳牛有显著性差异($P<0.05$)。可用胚率郟县红牛最高 79.41%,夏南牛喂 76.67%,显著高于南阳牛($P<0.05$)。

3 讨论

影响牛超排效果的因素较多,牛的品种、营养水平、超排处理方法、激素种类及冲胚技术的娴熟度等对超排效果均有影响^[1-5]。本试验采用 PGF2+FSH 处理河南三种地方肉牛,获得比较好的效果。

近年来中国奶牛体内生产和胚胎移植数量正在逐渐减少,引入肉牛品种体内胚胎生产有增加的趋势,每头平均有用胚胎为 5.7~7.0 枚^[5]。牛的品种会影响超排效果,但地方品种牛超数排卵效果差。对奶牛(头均 1.2~7.2 枚),可用胚率可达到 76.3%^[6]。Huseyin Erdem 超排西门塔尔牛,146 头牛获得 618 枚可用胚,头均 4.23 枚^[7]。Fernando Naranjo-Chacón 在热带地区超排瘤牛×家牛,可用胚达到 5.9 枚^[8]。王木等^[9]报道南阳黄牛头均有用胚数为 2.89 枚;李金辉等^[10]报道秦川牛头均有用胚数为 4.20 枚;乔利敏等^[11]报道晋南牛头均有用胚胎数为 3.90;王新庄等^[12]报道郟县红牛头

均有用胚数为 4.28 枚;胡在钲等^[13]报道广西南丹黄牛头均有用胚数为 4.40 枚。朱芳贤对复州牛进行了 47 头次超数排卵处理,头均回收卵子数 7.98 枚,其中头均有效胚数 4.62 枚^[14]。但王峰^[15]对荷斯坦牛、西门塔尔、海福特、安格斯、利木赞、夏洛莱进行了超数排卵实验,表明相同超排处理方法可用胚,除夏洛莱无显著性差异,夏洛莱头均可用胚较低(4.41±3.56)枚。我们超排处理了河南地方三种肉牛,三种牛超排后可用胚数均超过 7 枚,高于以上报道,说明三种河南地方肉牛都具有很好的繁殖性能,可以用胚胎移植方法快速扩繁。

超排方法对超排效果也有显著影响。宁财等采用日本进口 FSH 处理锦江牛获得胚胎数 5.8 枚和可用胚 3.8 枚稍高^[16],与薛仰全等采用 CUE+MA-TE 孕酮栓+FSH+PGF2α 处理奶牛获得头均可用胚 4.86 枚相当^[17]。FSH 剂量可以影响胚胎数量和质量,在实践中掌握牛的胎次及年龄,确定合适的 FSH 剂量方能达到较好的超排效果^[2,4-5]。营养和环境因素对超排母牛也有影响^[3],应尽量规避和降低不良应激因素对牛体的影响。本次 3 种供体牛饲养管理和所处的环境不同,所用激素和处理方法相同,采胚操作是同一人完成,牛个体对激素应答反应有差异,可能是超排效果有差别的原因。笔者经验认为,经产牛第一针 PG 处理时清宫可以获得等多

的可用胚。

河南的规模化牛场大都具备做牛超数排卵、胚胎移植的条件,基本掌握牛同期发情、超数排卵及胚胎移植等技术及流程,但在技术细节上还需要加强和提高,主要表现在供体牛的选择,清宫及冲胚技术等方面。在实际生产中,一些牛场在选择供体牛时,只选择外表和繁殖器官正常,无明显的繁殖性疾病的母牛,我们认为还应当查看牛只配种档案,挑选体格健康、情期受胎率高、繁殖性能优良的母牛作为超数排卵母牛,才能确保繁育技术的高效和稳定。另外,冲胚技术的熟练程度对胚胎回收率和母牛健康有很大影响,生产实践中也应加强和提高。

4 结论

试验采用两次 PG + FSH 的方法对河南省肉牛超数排卵效果良好,获得的总胚胎数、可用胚数及可用胚率,较国内同行超排获得胚胎数多,可用胚率高,试验结果为今后肉牛繁育技术的更广泛开展提供参考。

参考文献:

- [1] 和占星,松崎伸生,市野清博,等. 不同超排处理的效果及可用胚数的影响因素分析[J]. 黄牛杂志,2000,26(5):12-15.
- [2] 王峰,黄春华,张东,等. 多种因素对牛超数排卵效果影响的研究[J]. 中国农学通报,2013,29(17):19-24.
- [3] 薛仰全,倪兴军,余四九,等. 不同因素对奶牛超数排卵效果影响的研究[J]. 中国草食动物科学,2013,33(5):22-24.
- [4] 孙凤俊,焦子康,薛建华,等. 不同剂量促卵泡素对成年和牛超数排卵效果的影响分析[J]. 江西农业,2018(2):43.
- [5] 郝海生,耿少旺,陈余,等. 不同 FSH 对和牛超数排卵效果的影响[J]. 中国牛业科学,2014,40(2):34-37.
- [6] 雪雅妮. B 超检查奶牛同期发情和超数排卵卵巢发育研究[J]. 畜牧兽医科技信息,2016(7):36-37.
- [7] HUSEYIN ERDEM, TAHIR KARASAHIN, HASAN ALKAN, et al. Effect of embryo quality and developmental stages on pregnancy rate during fresh embryo transfer in beef heifers[J]. Trop Anim Health Prod, 2020(52):2 541 - 2 547.
- [8] FERNANDO NARANJO-CHACÓN, FELIPE MONTIEL-PALACIOS, RODOLFO CANSECO-SEDANO, et al. Embryo production in middle-aged and mature Bos taurus × Bos indicus cows induced to multiple ovulation in a tropical environment[J]. Tropical Animal Health and Production, 2019(51):2 641 - 2 644.
- [9] 王木,王新庄,牛晖,等. 南阳牛超数排卵研究[J]. 中国农学通报,2006,22(8):47-48.
- [10] 李金辉,王新庄,梁家奎,等. 秦川牛超数排卵效果的研究[J]. 中国畜牧兽医,2007,34(2):136-138.
- [11] 乔利敏,黄成定,李向臣,等. 山西晋南黄牛的超数排卵配种研究[J]. 湖北农业科学,2008,47(7):751-753.
- [12] 王新庄,肖杰,何俊丹,等. 郟县红牛超数排卵研究[J]. 中国奶牛,2010(10):23-26.
- [13] 胡在钊,李铭,莫柳忠,等. 广西南丹黄牛超数排卵效果初报[C]//中国畜牧业协会牛业分会.《第八届中国牛业发展大会》论文集.陕西杨凌:中国牛业科学编辑部,2013.
- [14] 朱芳贤,刘丑生,王志刚,等. 复州牛超数排卵效果研究[J], 中国畜牧兽医 2015,42(3):668-675.
- [15] 王峰,黄春华,张东,等. 多种因素对牛超数排卵效果的研究[J]. 中国农学通报,2013,29(17):19-24.
- [16] 宁财,姜树林,钟志勇,等. 影响锦江牛胚胎制作效果的因素分析[J]. 江西畜牧兽医杂志,2016(5):15-18.
- [17] 薛仰全,倪兴军,余四九,等. 不同因素对奶牛超数排卵效果影响的研究[J]. 中国草食动物科学,2013,33(5):22-24.

Observation on Superovulation Effect of Three Local Beef Cattle in Henan

SHI Qiao-ting¹, ZHANG Zi-jing¹, HUA Liu-shuai¹, FENG Ya-jie¹, LI Zhi-gang²,
QI Xing-lei³, WANG Yu-hai⁴, XU Bin⁵, XU Zhao-xue¹, WANG Er-yao^{1*}

(1. Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Henan Academy of Agricultural Sciences, Zhengzhou, Henan 45002;

2. Pingdingshan Animal Husbandry Technology Promotion Station, Pingdingshan, Henan 467000;

3. Henan Biyang County Xiannan Cattle Research and Extension Center, Biyang, Henan 463700;

4. Nanyang cattle science and Technology Center, Nanyang, Henan 473005;

5. Yiwu County Animal Husbandry Improvement Station, Hami, Xinjiang 839300)

Abstract: [Objective] To analyze the effect of superovulation in Henan three beef cattle. [Methods] Xia'nan cattle, Jiaxian Red cattle and Nanyang cattle were selected as experimental cows respectively, and the method of PG + FSH was used to superovulate the experimental cows, the total number of embryos obtained and the effect of superovulation were observed and analyzed. [Results] There were 9.86 embryos each cow in Xia'nan cattle, 7.71 embryos each cow in Nanyang cattle and 6.75 embryos each cow in Jiaxian red cattle. The available embryo rate of Jiaxian red cattle was 79.41%, which was significantly higher than that of Xianan cattle and Nanyang cattle. [Conclusion] The results showed that PG + FSH method could be used for superovulation in Xia'nan cattle, Jiaxian Red cattle and Nanyang cattle.

Key words: Xia'nan cattle; Jiaxian Red cattle; Nanyang cattle; superovulation