

南阳牛同期发情和超数排卵研究

孔雪旺¹,宋亚鹏¹,牛 晖²,肖 杰^{1,2}

(1. 河南农业职业学院,河南 中牟 451450; 2. 河南省肉牛工程技术研究中心,河南 郑州 450003)

摘要: 为探讨南阳牛同期发情和超数排卵方案,采用1次氯前列烯醇(PG)法、2次PG法、孕激素阴道栓(CIDR)+PG法3种同期发情方法,PG+垂体促卵泡素(FSH)和CIDR+FSH+PG法2种超排方案对南阳牛进行处理,FSH剂量分别采用270、300、330 mg/头,研究不同药物、方法、剂量对南阳牛同期发情率和超排效果的影响。结果显示,CIDR+PG法、2次PG法处理的同期发情率较高,分别显著高于1次PG处理38.26、35.30个百分点;用PG+FSH法和CIDR+FSH+PG法对南阳牛进行超排处理的头均黄体数、头均获胚总数和头均可用胚数均无显著差异;300 mg/头FSH剂量组的育成牛头均可用胚数显著高于270、330 mg/头剂量组;330 mg/头剂量组的经产牛头均可用胚数显著高于270、330 mg/头剂量组。表明,南阳牛比较适宜的同期发情方案为CIDR+PG法和2次PG法,超数排卵方案为PG+FSH和CIDR+FSH+PG法,FSH的适宜剂量为育成牛300 mg/头、经产牛330 mg/头。

关键词: 南阳牛; 同期发情; 超数排卵

中图分类号: S814.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2014)06-0137-04

Research on Synchronization of Estrus and Superovulation of the Nanyang Cattle

KONG Xue-wang¹, SONG Ya-peng¹, NIU Hui², XIAO Jie^{1,2}

(1. Henan Vocational College of Agriculture, Zhongmu 451450, China;

2. Engineering Research Centre for Beef Cattle of Henan Province, Zhengzhou 450003, China)

Abstract: To discourse the effect of different medicines and treatments on the synchronization of estrus and superovulation, three methods of synchronization of estrus (single treatment with PG, double treatment with PG, CIDR+PG) and two superovulation plans (PG+FSH, CIDR+FSH+PG) were used with 270, 300, 330 mg FSH on the Nanyang cattle in this research, respectively. The results showed that: The synchronization of estrus rate of the double treatment with PG group and the combination CIDR with PG group were higher than the single treatment with PG group by 38.26 and 35.30 percentage points; There were no significant difference of the corpus luteum, picking embryo and available embryos after Nanyang cattles were superovulated with PG+FSH method and CIDR+FSH+PG method, respectively. The effect on the delivered female cattle was slightly better than the heifer, but the difference was not significant; The available embryos of the treatment with 300 mg FSH group was significant higher than the group of the 270 mg and 330 mg group in young cattle heifer, and the treatment with 330 mg FSH group was significant higher than the group of the 270 mg and 300 mg group in delivered cattle. The research shows that the better plan of the Nanyang cattle estrus synchronization embryo is CIDR+PG and double treatment with PG, superovulation is PG+FSH and CIDR+FSH+PG; The proper dose of the FSH for the delivered cattle is 330 mg, 300 mg for heifer.

Key words: Nanyang cattle; estrus synchronization; superovulation

收稿日期: 2013-11-20

基金项目: 河南省科技成果转化资金项目(112201110032)

作者简介: 孔雪旺(1975-), 男, 河南郑州人, 讲师, 硕士, 主要从事反刍动物生产技术的研究。E-mail: kxwde@163.com

南阳牛原产于河南省南阳地区,是我国五大黄牛品种之一,其突出特点是体格高大、耐粗饲、适应性强、役用性能好、肉质鲜美。近年来,随着肉牛业的快速发展,南阳牛以其优良性能受到重视,既可以作为肉牛进行育肥,也是很好的杂交母系。牛属于单胎动物,繁殖周期较长,在正常情况下难以在短期内获得大量后代,严重制约了其生产利用和繁殖育种。河南省是肉牛大省,规模化饲养数量快速增加,需要有大量、成批次的架子牛供应,零星产犊已难以适应规模化生产的需要。牛同期发情技术可使牛同时发情,提高发情率,便于同时配种、同时产犊,犊牛生产周期一致,有利于规模化生产;牛超数排卵则能让牛 1 次发情排出几个甚至十几个可用卵子,人工授精后进行胚胎移植,使优质母牛快速获得更多的后代,显著提高繁殖率。这 2 项技术相结合对缩短繁殖周期、提高繁殖率,加快育种工作进展具有重要作用,是肉牛规模化饲养中的关键技术。在同期发情、超数排卵方面针对奶牛的研究较多,而针对黄牛的研究相对较少,仅王木等^[1]有少量报道,主要是胚胎工程项目的研究,缺乏规模化生产中方案的研究。为此,研究了药物、处理方法、剂量等因素对南阳牛同期发情和超数排卵的影响,旨在探索适合于南阳牛的同期发情和超数排卵处理方法,为规模化生产中南阳牛的繁殖育种提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 供试动物

选择纯种南阳牛母牛 33 头,其中育成牛 23 头,经产牛 10 头,均购于河南省南阳黄牛研究所,牛只健康,无生殖疾病。试验期间,所有供试牛均以青粗

饲料配合精饲料饲喂,膘情中等。

1.2 主要试剂及仪器

垂体促卵泡素(FSH)购自加拿大 Bioniche 公司,氯前列烯醇(PG)购自上海计划生育研究所,孕激素阴道栓(CIDR)购自新西兰 InterAg 公司。

实体显微镜购自北京泰克仪器有限公司,非手术采卵器械购自日本 FHK。

1.3 方法

1.3.1 同期发情处理方法 将试验牛(经产牛、育成牛)随机分为 3 组,采用 3 种处理方案进行同期发情处理。方案 I:1 次 PG 处理,对于直检有明显黄体的母牛按 0.4 mg/头的剂量肌注 PG,观察发情情况;方案 II:2 次 PG 处理,在发情周期的任一天按 0.4 mg/头的剂量肌注 PG,记为第 0 天,不观察发情,第 11 天再按 0.4 mg/头的剂量肌注 PG,观察发情情况;方案 III:CIDR+PG,在发情周期的任一天于试验牛阴道放置 CIDR 栓,记为第 0 天,第 12 天早上去栓,同时按 0.4 mg/头的剂量肌注 PG,观察发情情况。

1.3.2 超数排卵处理方法 采用 2 种方案进行处理,试验方案见表 1。方案 I:PG+FSH,与 PG 法同期发情相结合,母牛经 2 次 PG 法同期发情处理后,发情的当天记为第 0 天,超排处理选择在发情周期第 9~12 天进行。经产牛和育成牛各随机分为 3 组应用递减法肌注 FSH,每日 2 次,间隔 12 h,连续 4 d,在第 5、6 次注射时,同时以 0.2 mg/头的剂量肌注 PG。观察发情情况,进行人工授精,间隔 12 h 各输精 1 次,每次输细管冻精 2 支^[2]。方案 II:CIDR+FSH+PG,与 CIDR 法同期发情相结合,放 CIDR 栓当天记为第 0 天,第 9 天开始递减剂量肌注 FSH,

表 1 超数排卵实验方案

方案	胎次	组别	FSH 用量/ (mg/头)	每天用量/(mg/头)			
				第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
PG+FSH	育成牛	1 组	270	120	80	40	30
		2 组	300	130	90	50	30
		3 组	330	140	100	60	30
	经产牛	1 组	270	120	80	40	30
		2 组	300	130	90	50	30
		3 组	330	140	100	60	30
CIDR+FSH+PG	育成牛	1 组	270	120	80	40	30
		2 组	300	130	90	50	30
		3 组	330	140	100	60	30
	经产牛	1 组	270	120	80	40	30
		2 组	300	130	90	50	30
		3 组	330	140	100	60	30

每日 2 次,间隔 12 h,连续 4 d,第 12 天晚上去栓,同时以 0.4 mg/头肌的剂量注 PG,发情后间隔 12 h 各输精 1 次,每次输细管冻精 2 支。

1.4 采胚及捡胚

输精后的第 6~7 天进行非手术采胚,在实体显微镜下捡胚并按照胚胎分级标准^[3]进行评定,挑出可用胚。

1.5 数据处理

试验数据用 SPSS 统计软件进行方差分析和 *t* 检验。

2 结果与分析

2.1 不同处理对南阳牛同期发情效果的影响

由表 2 可知,试验共处理南阳牛 107 头次,72 h 内发情 75 头次,同期发情率达到 70.09%。CIDR+PG 法、2 次 PG 法处理的同期发情率较高,分别显著高于 1 次 PG 处理法 38.26、35.30 个百分点 ($P<0.05$);CIDR+PG 法与 2 次 PG 法差异不显著。

试验共处理育成牛 79 头次,经产牛 28 头次,二者同期发情率分别为 69.62%、71.43%,差异不显著。

2.2 不同处理对南阳牛超排效果的影响

由表 3 可知,本试验共有效超排 60 头次,头均黄体数为 12.88 个,头均获胚总数 6.43 枚,头均可用胚数为 3.92 枚。PG+FSH、CIDR+FSH+PG 2 种处理方法的头均黄体数、头均获胚总数、头均可用胚数差异均不显著。不同剂量的 FSH 处理结果显示,方案 I 中,育成牛 2 组的头均获胚总数分别比 1、3 组高 23.92%、47.54%,头均可用胚数分别高出 11.64%、22.67%;经产牛 3 组的头均获胚总数比 1、2 组均高 9.76%,头均可用胚数分别高 52.29%、18.44%;方案 II 中,育成牛 2 组的头均获胚总数分别比 1、3 组高出 22.59%和 44.93%,头均可用胚数分别高 12.18%、36.59%;经产牛 3 组的头均获胚总数分别比 1、2 组高 23.86%、11.76%,头均可用胚数分别高 66.67%、11.11%。由此可见,FSH 剂量选择上,育成牛宜选用 300 mg/头、经产牛 330 mg/头。

表 2 不同处理方法下南阳牛同期发情的效果

处理方法	处理头次			72 h 内发情头次			同期发情率/%		
	育成牛	经产牛	合计	育成牛	经产牛	合计	育成牛	经产牛	合计
1 次 PG	27	10	37	12	5	17	44.44b	50.00b	45.95b
2 次 PG	24	8	32	19	7	26	79.17a	87.50a	81.25a
CIDR+PG	28	10	38	24	8	32	85.71a	80.00a	84.21a

注:同列中不同字母表示差异显著($P<0.05$),下同。

表 3 不同处理方法下南阳牛的超排效果

方案	胎次	组别	处理头次	头均黄体数/个	头均获胚总数/枚	头均可用胚数/枚	
PG+FSH	育成牛	1 组	9	12.22±4.11	5.56±4.02a	3.78±2.22a	
		2 组	9	12.56±4.20	6.89±3.57b	4.22±2.35b	
		3 组	9	12.11±3.90	4.67±3.62a	3.44±3.38a	
	经产牛	1 组	2	14.50±2.12	8.50±2.12c	3.50±0.71a	
		2 组	2	15.00±2.83	8.50±0.71c	4.50±0.71b	
		3 组	3	15.33±1.53	9.33±1.53d	5.33±1.53c	
		合计	34	12.76±4.73	6.24±4.11	3.82±3.54	
	CIDR+FSH+PG	育成牛	1 组	7	12.43±4.22	5.71±4.66a	3.86±3.26a
			2 组	6	12.50±4.02	7.00±3.87b	4.33±3.53b
3 组			6	11.83±3.40	4.83±3.52a	3.17±3.15a	
经产牛		1 组	3	15.00±1.73	7.67±1.53c	3.00±1.00a	
		2 组	2	14.50±2.12	8.50±0.71c	4.50±0.71b	
		3 组	2	15.00±1.41	9.50±0.71d	5.00±1.41c	
		合计	26	13.04±4.86	6.69±5.06	4.04±4.35	
合计		60	12.88±5.11	6.43±5.26	3.92±4.52		

3 结论与讨论

王金柱^[4]对黄牛的研究结果显示,CIDR+PG 法和 2 次 PG 法效果显著优于 1 次 PG 处理;肖杰等^[5]对郟县红牛的研究结果显示,CIDR+PG 法和 2 次 PG 法效果显著优于 1 次 PG 处理。本试验结

果与上述结果一致。PG 处理法只有当母牛在发情周期第 5~18 天(有活性黄体存在)才能产生效果,对于新生黄体,PG 处理并无作用,通常采用直肠检查的方法确定黄体的存在,但因为检查技术的熟练程度不同以及牛之间的个体差异,检查黄体的误差比较大。因此,1 次 PG 处理后,有一定数量的母牛

无反应,同期发情率较低,2 次 PG 法可确保所有的母牛都处于黄体期。CIDR 栓放入以后,可以缓慢释放孕酮而持续抑制母牛发情,撤栓后结合应用 PG 加快溶解黄体,同期发情效果较好^[6]。本研究发现,运用 CIDR+PG 法和 2 次 PG 法处理南阳牛可获得较高的同期发情率,可根据实际情况灵活选用。动物的品种、年龄、疾病、营养状况、卵巢功能状态等因素都会影响同期发情的处理效果。肖杰等^[5]对郟县红牛采用多种处理表明,经产牛同期发情率略高于青年牛,李旭等^[7]用 PG 处理经产水牛的同期发情率略高于青年母牛,但差异均不显著。本试验中 1 次、2 次 PG 同期发情处理方法作用于经产母牛的效果均优于育成牛($P>0.05$),与上述报道一致。其原因可能是经产牛完全达到性成熟且经过生育,对外源性激素反应敏感,而育成牛虽已达到性成熟,但没有生育经历,对外源激素反应较差,从而影响同期发情效果。

本试验共有效超排南阳牛供体 60 头次,头均黄体数为 12.88 个,头均获胚总数 6.43,头均可用胚数为 3.92 枚,稍低于奶牛(6.00 枚),与地方黄牛秦川牛(4.20 枚)^[8]、晋南牛(3.94 枚)^[9]、郟县红牛(4.28 枚)^[10]接近。表明地方黄牛品种的超排效果较奶牛差,具体原因有待于进一步研究。本试验 2 种处理方案设计采用超数排卵与同期发情方法相结合,研究同期发情方法对超数排卵的影响。结果表明,2 种方案的头均黄体数、头均获胚总数和头均可用胚数差异均不显著。FSH 剂量方面,如果剂量不足,不能充分满足多个卵泡发育的需要,则排卵数较少,效果不佳;剂量过大,则可能过度刺激卵巢,可能导致卵巢囊肿,进而出现排卵障碍,也会降低排卵数量。本试验发现,育成牛 300 mg/头、经产牛 330 mg/头的 FSH 剂量组,头均获胚总数与可用胚总数显著高于其他剂量组。经产牛需要剂量稍高于育成牛,可能与家畜品种、年龄、胎次、营养水平和环境等因素有关。育成牛卵巢体积较小,超数排卵后所发育的卵泡数和排卵数均少于经产牛,且未经各种激

素处理,其子宫、卵巢、输卵管疾病少,利于卵子受精和胚胎发育,故采用较低剂量的 FSH 即可取得良好的效果。而经产牛发生繁殖疾病较多、泌乳对繁殖的抑制、子宫内环境差等因素均会影响超排效果,本次试验选用的经产牛进行重复超数排卵,可能导致其对激素产生免疫耐受性,从而影响激素的效果,需适当加大剂量,才能取得良好的效果。其他因素如季节、营养等对超数排卵的影响有待于进一步研究。

本试验结果表明,对南阳牛进行同期发情和超数排卵处理在生产中是完全可行的。CIDR+PG 法和 2 次 PG 处理法优于 1 次 PG 法,可获得较高的同期发情率,可以采用 FSH+PG 和 CIDR+FSH+PG 2 种超数排卵方案,育成牛、经产牛比较适宜的 FSH 剂量分别为 300、330 mg/头。

参考文献:

- [1] 王木,王新庄,牛晖,等. 南阳牛超数排卵研究[J]. 中国农学通报,2010,22(8):47-49.
- [2] 王新庄. 家畜胚胎移植技术[M]. 郑州:河南科学技术出版社,2004.
- [3] 郭志勤. 家畜胚胎工程[M]. 北京:中国科技出版社,1998.
- [4] 王金柱. 黄牛同期发情与冷冻胚胎移植的研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2008.
- [5] 肖杰,孙攀峰. 郟县红牛同期发情技术研究[J]. 中国奶牛,2012(2):18-20.
- [6] 杨增明,孙青原,夏国良. 生殖生物学[M]. 北京:中国农业出版社,2005.
- [7] 李旭,赵政,李仕坚,等. 不同同期发情技术提高奶水牛繁殖率试验[J]. 广东农业科学,2011(2):121-123.
- [8] 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(2):136-138.
- [9] 明世清. 建立晋南牛性别化胚胎库的尝试[J]. 黄牛杂志,2003(5):17-19.
- [10] 王新庄,和小娥,张静芳,等. 郟县红牛超数排卵研究[J]. 西北农业学报,2010,19(12):1-4.