

季节对羊同期发情和胚胎移植效果的影响研究

宫旭胤¹, 苏永生¹, 王 斐¹, 刘立山¹, 姚喜喜²

(1. 甘肃省农业科学院畜草与绿色农业研究所, 甘肃 兰州 730070; 2. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 采用放置 CIDR 栓结合激素处理的方法, 对 204 只供体和受体羊分别在冬季和春季进行同期发情处理和胚胎移植试验。结果表明, 供体羊只冬季的发情率为 90.9%, 显著高于春季的发情率 75.0% ($P < 0.05$); 受体羊冬季的发情率 84.0%, 显著高于春季的发情率 76.4% ($P < 0.05$)。季节对供体母羊超数排卵个数、可利用卵子个数及卵子回收率均有不同影响, 冬季供体羊只可利用卵子个数高于春季; 冬季卵子回收率 85.3%, 显著高于春季的 67.4% ($P < 0.05$)。季节对受体母羊受胎率和繁殖率均有不同的影响, 冬季受体羊的受胎率 65.0% 和春季受体羊的受胎率 60.0% 差异不显著 ($P > 0.05$); 冬季受体羊的繁殖率达到 100.0%, 显著高于春季受体羊的繁殖率 82.0% ($P < 0.05$)。

关键词: 季节; 绵羊; 同期发情; 胚胎移植; 影响

中图分类号: S814.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1001-1463(2018)04-0056-04

doi: 10.3969/j.issn.1001-1463.2018.04.018

Study on the Influence of Seasons on the Synchronous Estrus and Embryo Transfer Effect in Sheep

GONG Xuyin¹, SU Yongsheng¹, WANG Fei¹, Liu Lishan¹, YAO Xixi²

(1. Animal Husbandry, Pasture and Green Agriculture Institute, Gansu Academy Agricultural Sciences, Lanzhou Gansu 730070, China; 2. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou Gansu 730070, China)

Abstract: In this study, estrus treatment and embryo transfer in 204 donors and recipient sheep were performed in winter and spring respectively, using the method of placing CIDR combined with hormone treatment. The results showed that the oestrus rate of winter donor sheep was 90.9%, significantly higher than that of spring donor sheep (75.0%) ($P < 0.05$), and that of winter recipient sheep was 84.0%, which was significantly higher than that of spring sheep ($P < 0.05$). The number of superovulation, the number of available ovum and the recovery rate of ovum in donor seasons also had different effects in winter. The number of oocytes available to donor sheep in winter was higher than the number of eggs available in spring, the recovery rate of eggs in winter was 85.3%, significantly higher than that in spring (67.4%) ($P < 0.05$). The seasons had different effects on the pregnancy rate and reproduction rate of recipient ewes. ($P < 0.05$). The reproduction rate of recipient sheep in winter was 100.0%, which was significantly higher than that of spring sheep (82.0%) ($P < 0.05$).

Key words: Season; Sheep; Estrus synchronization; Embryo transfer; Effect

绵羊属于季节性发情动物, 除少数常年发情品种如湖羊、小尾寒羊和陶赛特等之外, 大多数的绵羊品种都在短日照的秋冬季发情, 春夏季进入乏情期, 繁殖活动较弱^[1]。绵羊一般为单胎, 1胎产羔 1 只, 即使是如边区莱斯特、东弗里生以及布鲁拉美利奴等多胎品种, 1胎也只产羔 2~3 只^[1]。因此, 将同期发情与胚胎移植技术配合使用, 可以充分发挥一些优良绵羊品种的生产潜能, 加快绵羊繁殖的速度, 提高绵羊的生产水平, 具

有明显的经济效益。

同期发情是绵羊繁殖技术的主要方法之一, 它可以使母羊在短时间内集中发情, 以便有计划地组织配种或人工输精, 同时也是胚胎移植的基础和重要环节^[2]。尤其在优良绵羊品种的改良和推广示范工作中, 需要对母羊进行大批同期发情处理, 来提高生产效率, 从而达到集中移植和产羔的目的。有研究表明, 供体和受体发情的同期化直接影响到胚胎移植的成功率^[3], 母畜生殖状

收稿日期: 2017-12-07

基金项目: 嘉峪关市科技局重大专项“肉羊高效繁育技术研究与示范”(15-21)。

作者简介: 宫旭胤(1983—), 男, 甘肃武威人, 研究实习员, 主要研究方向为动物遗传育种与繁殖。E-mail: ngxyl@sagr.ac.cn。

况、药品质量、处理方案的选择、季节等构成影响绵羊同期发情效果的诸多因素^[4]。

胚胎移植技术作为一项新的繁殖技术,为家畜迅速良种化提供了新的途径^[5]。胚胎移植在扩大良种覆盖率方面有重要作用^[6-7],已广泛地应用于生产并发挥了巨大的商业价值^[8]。影响胚胎移植效果的因素很多,目前对影响移植效果的因素研究多集中在胚胎、受体以及胚胎与受体的相互作用这3个方面^[9],其中胚胎质量和胚龄是影响胚胎移植成功率的重要因素^[10-13]。受体对移植成功率的影响因素较多,包括诱导发情方法、发情状况、外源性激素的处理以及受体年龄和季节等^[14-16]。其中季节因素对移植的影响较为复杂,其研究结果不尽一致。有研究表明,在非繁殖季节和繁殖季节时进行绵羊胚胎移植,受体的同期发情效果有差异,妊娠率却无显著差异^[17];母羊在春夏季(尤其是2—5月)繁殖活动较秋冬季^[18]。因此,研究季节因素对受体绵羊同期发情和胚胎移植效果具有重要意义。我们以小尾寒羊为试验受体,采用放置CIDR结合注射PG、FSH的方法,对供体和受体绵羊分别在冬季和春季进行同期发情处理,并在发情后进行胚胎移植试验,以期为绵羊冬春季诱导同期发情、胚胎移植等技术提供应用参考。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供体为年龄2~4岁、膘情良好、无明显产道损伤、无繁殖障碍和其他传染性疾病的特科赛尔和黑头萨福克羊,受体为小尾寒羊。试验药品有羊用海绵栓CIDR(EAZI-BREED CIDR Sheep and

Goat Device 新西兰生产)、PMSG(内蒙古松山兽药厂生产,1000 IU/瓶)、FSH(宁波市三生药业有限公司生产)、PG(宁波市三生药业有限公司生产0.2 mg×10/盒)。

1.2 试验设计

根据配对试验设计原则,选择年龄在2~4岁,膘情良好无明显产道损伤、无繁殖障碍和其他传染性疾病的特科赛尔和黑头萨福克共12只作为供体羊,其中1只萨福克在冬季时有阴道发炎症状,故冬季未使用。选择204只小尾寒羊作为受体羊,第1批冬季处理94只,第2批春季处理110只,由于实验动物量过大,为减少操作误差,将试验组羊只随机分为I、II和III3个处理组,各试验组采用相同的处理条件。

1.3 时间和地点

试验选择在冬季(2016年12月27日至2017年1月18日)和春季(2017年3月2日至4月22日)进行。试验地点位于嘉峪关市新景养殖农民专业合作社,该场地处东经104°12'48"~105°01'06"、北纬35°17'54"~36°02'40",海拔1850 m,年平均日照时数2500 h,年平均气温6.3℃。

1.4 试验羊只的饲养管理

试验母羊均为舍饲饲养,以组单独组群,专人管理。提供良好的外部环境,供给全价的日粮和清洁的饮水,保持足够的运动。公羊在配种前除提供全价日粮和清洁饮水外,补饲以适量的胡萝卜和鸡蛋,并进行训练。所有羊只在处理前均打耳号,采集血样并做布病检测。

1.5 同期发情处理方法

同期发情方法如表1所示。对供体羊只和受

表1 胚胎移植羊只处理方式

处理时间	处理方法	
	供体	受体
第1天	注射 PG 0.1 mg	视情况注射PG 0.1 mg
第7天	置栓	置栓
第16~18天	减量注射 FSH	
第18天	19:00时 FSH 1.0(1.0) mL + PG 0.1 mg, 去栓	7:00时 FSH 25 单位(或 PMSG 300 单位), 去栓, 12 h 后开始每隔 8 h 试情
第19天	上午试情, 未发情者注射 FSH 0.5(0.5) mL+PG 0.1 mg	
第19~22天	18:00~20:00时, 8~12 h 后首次配种, 同时 LRH-A310-20 ug, 此后每 8 h 配种 1 次	
第23天	首次配种后 3.0~3.5 d 或最后一次有效配种后 2.5~3.0 d 置栓	
第25天	7:00时手术前 24 h 停食	7:00时手术前 24 h 停食
第26天	8:00~16:00时手术冲胚	8:00~16:00时手术移植

体羊只处理方法不同, 供体羊只为 PG + CIDR 栓 + FSH 处理组, 首次注射 PG 0.1 mg 后第 6 天放栓, 第 17 天注射 FSH 25 IU 并同时去栓, 处理组在最后一次注射后连续 72 h 试情。受体羊只为 PG+PMSG 处理组, 间隔 8 d 分别注射 2 次 PG 0.1 mg, 并在第 2 次注射同时注射 PMSG 300 IU。

1.6 发情判断标准

以母羊主动接近公羊鸣叫表现温顺接受爬跨, 同时人工观察母羊阴道口红肿有黏液流出为母羊发情的判断标准。

1.7 受体羊黄体观察及胚胎移植

试验羊只发情后第 7 天(发情日为 0 d), 利用腹腔镜观察发情羊卵巢排卵及黄体发育情况^[19], 选择正常排卵并发育为功能黄体的受体小尾寒羊进行胚胎移植, 移植所用胚胎无角陶赛特和黑头萨福克羊从供体体内采集, 不同季节按相同的方法处理。

1.8 数据处理与统计分析

所有试验数据采用 Excel 进行初步统计, 再用 SPSS19.0 软件进行 t 检验, 分析季节对小尾寒羊同期发情与胚胎移植效果的差异。

2 结果与分析

2.1 季节对母羊同期发情率的影响

采用激素阴道海绵栓法, 对供体羊和受体小尾寒羊进行超数排卵同期发情处理。结果表明(表 2), 冬季供体羊只的发情率为 90.9%, 显著高于春季的发情率 75.0% ($P < 0.05$); 冬季受体小尾寒羊的发情率 84.0%, 显著高于春季的发情率 76.4% ($P < 0.05$)。

表 2 冬春两季受体羊只的同期发情

季节	供体			受体		
	数量 / 只	发情数量 / 只	发情率 / %	数量 / 只	发情数量 / 只	发情率 / %
冬季	11	10	90.9 a	94	79	84.0 a
春季	12	9	75.0 b	110	84	76.4 b

2.2 季节对供体母羊超数排卵的影响

由表 3 可知, 季节对供体母羊超数排卵个数、可利用卵子个数及卵子回收率均有不同影响。冬季供体羊只可利用卵子个数高于春季, 冬季的卵子回收率 85.3%, 显著高于春季的

表 3 冬春两季受体羊只的超排

季节	供体		
	超数排卵个数 / 个	可利用个数 / 个	回收率 / %
冬季	75	64	85.3 a
春季	89	60	67.4 b

67.4% ($P < 0.05$)。

2.3 季节对母羊胚胎移植的影响

由表 4 可知, 季节对受体母羊受胎率和繁殖率均有不同的影响。冬季受体小尾寒羊的受胎率为 65.0%, 与春季的 60.0% 差异不显著 ($P > 0.05$); 冬季受体小尾寒羊的繁殖率达到 100.0%, 显著高于春季的 82.0% ($P < 0.05$)。

表 4 冬春两季受体羊只的胚胎移植

季节	受体			
	移植数量 / 只	妊娠数 / 只	受胎率 / %	繁殖率 / %
冬季	52	34	65.0 a	100.0 a
春季	45	27	60.0 a	82.0 b

3 小结与讨论

绵羊是短日照季节性多次发情的繁殖家畜, 因此, 绵羊的繁殖季节一般为 9—11 月^[19]。本试验分别于 2016 年 12 月和 2017 年 4 月对小尾寒羊作为受体进行发情同期化处理, 结果表明, 冬季供体羊只的发情率为 90.9%, 显著高于春季的 75.0%; 冬季受体羊只的发情率为 84.0%, 显著高于春季的 76.4%。说明胚胎移植供体同期发情处理在冬春两季均可进行, 无论供体和受体, 均表现出冬季发情率显著高于春季, 其中小尾寒羊在冬季的同期发情率显著高于春季的结果与李焕玲等^[20]和 Mitchell 等^[21]等报道的一致。

研究表明, 绵羊的季节性生殖特性会影响到在不同季节进行的同期发情和超排效果^[21]。在冬季发情季节, 卵巢上卵泡在内环境各种激素协调作用下呈现周期性发育, 因此超排效果较好, 可以得到较高的排卵数。本研究表明, 冬季供体羊只可利用卵子个数多于春季, 冬季卵子回收率 85.3%, 显著高于春季的 67.4%, 这与文献报道一致。

目前有关胚胎移植季节和受胎率之间的关系文献报道较多,如昭通绵羊在秋冬季移植的妊娠率显著高于春季^[21-22],秋季移植的妊娠率(68.6%)显著高于春季(58.5%)^[22],秋冬季移植的羊羔率比在春季的要高^[23],与本研究冬季受体小尾寒羊的受胎率 65.0%和春季受体小尾寒羊的受胎率 60.0%差异不显著;冬季受体小尾寒羊的繁殖率达到 100.0%,显著高于春季的 82.0%的结果一致。

综上所述,季节对供体、受体(小尾寒羊)同期发情率均有显著影响,且冬季发情率高于春季;冬季供体羊只可利用卵子个数高于春季可利用卵子个数,冬季卵子回收率 85.3%显著高于春季的卵子回收率 67.4%。季节对冬春季小尾寒羊的受胎率没有显著影响,冬季受体小尾寒羊的繁殖率 100.0%显著高于春季受体小尾寒羊的发情率 82.0%。

参考文献:

- [1] 易金云. 季节与品种对绵羊超数排卵的影响[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2005.
- [2] 李秋艳, 阎凤祥, 侯健, 等. 不同因素对绵羊同期发情的影响[J]. 畜牧与兽医, 2008(12): 48-50.
- [3] ROWSON L E A, MOORE R M. Embryo transfer in sheep: the significance of synchronizing oestrus in the donor and recipient animal[J]. J. Reprod. Fertil., 1986, 11(7): 207-212.
- [4] 桑润滋. 动物繁殖生物技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- [5] 徐君. 在繁殖季节与非繁殖季节以小尾寒羊为受体进行冷冻胚胎移植的对比试验[J]. 中国畜牧兽医, 2007(34): 139-140.
- [6] THIBIER M, NIBART M. Clinical aspects of embryo transfer in some domestic farm animals [J]. Anim. Rep. Sci., 1992(28): 139-148.
- [7] SMITH C. Use of embryo transfer in genetic improvement of sheep[J]. Anim. Reprod., 1986(42): 81-88.
- [8] COGNIE Y. State of the art in sheep-goat embryo transfer[J]. Theriogenology, 1999(51): 105-116.
- [9] SPELL A R, BEAL W E, CORAH L R, *et al.* Evaluation recipient and embryo factors that affect pregnancy rates of embryo transfer in beef cattle[J]. Theriogenology, 2001(56): 287-297.
- [10] QI M Y, LI W. Study on the embryo transfer in non-breeding season with imported sheep embryos[J]. China Herbiv, 2003, 23(6): 17-18.
- [11] BARI F, KHALID M, HARESIGN W, *et al.* Factors affecting the survival of sheep embryos after transfer within a MOET program[J]. Theriogenology, 2003(59): 1265-1275.
- [12] 王永军, 田秀娥, 陈玉林, 等. 胎龄对 Dorper 羊冷冻胚胎移植效果的影响研究[J]. 中国农业科学通报, 2003, 19(5): 10-11.
- [13] SLAVIK T, FULKA J, GOLL I. Pregnancy rate after the transfer of sheep embryos originated from randomly chosen oocytes matured and fertilized in vitro[J]. Theriogenology, 1992(38): 749-756.
- [14] 赵霞, 达来, 阿拉坦沙. 不同诱导发情对胚胎移植产羔率的影响[J]. 中国草食动物, 2003, 23(2): 6-7.
- [15] 和力新, 曹冶, 李红, 等. 不同品种受体羊对胚胎移植后代生长发育的影响[J]. 西南农业学报, 2004, 17(3): 386-389.
- [16] WEI ZHANG, JIANHUA SUN, LIXIA PEI, *et al.* Systematic review of acupuncture for functional constipation[J]. Journal of Acupuncture and Tuina Science, 2014(12): 89-95.
- [17] 丁威, 李武. 繁殖与非繁殖季节绵羊冷冻胚胎移植结果的比较[J]. 湖北畜牧兽医, 2004(3): 23-24.
- [18] LASSOUED N, REKIK M, KHENISSI S, *et al.* Seasonality of oestrus, ovulation and ovulation rate of Sicilo Sarde sheep[J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2014, 98(4): 686-692.
- [19] 王家贵. 不同条件绵羊同期发情效果研究[D]. 兰州: 甘肃农业大学, 2007.
- [20] 李焕玲, 王立铭, 王金文, 等. 季节对绵羊冷冻胚胎移植效果的影响[J]. 当代畜牧, 2004(5): 37-38.
- [21] MITCHELL L M, DINGWALL W S, MYLNE M J A, *et al.* Season affects characteristics of preovulatory LH surge and embryo viability in superovulated ewes[J]. Anim. Rep. Sci., 2002(74): 163-174.
- [22] 吴晓东, 苏雷, 和协超, 等. 受体品种、体重及移植季节对杜泊羊胚胎妊娠率和新生羔羊体重的影响[J]. 动物学研究, 2005, 26(6): 627-631.
- [23] CHAGAS E SILVA J, LOPES DA COSTA L, CIDADAO R, *et al.* Plasma progesterone profiles, ovulation rate, donor embryo yield and recipient embryo survival in native Saloia sheep in the fall and spring breeding seasons [J]. Theriogenology, 2003(60): 521-532.

(本文责编: 陈伟)