

## 母水牛同期发情中多卵泡发育的排卵监测

陈明棠, 李辉, 黄健, 谭正准, 赵朝步, 钟华配, 覃广胜\*

(中国农业科学院广西水牛研究所, 农业农村部(广西)水牛遗传繁育重点实验室, 广西南宁 530001)

**摘要** 用“GnRH + PGc + GnRH”法同期化处理水牛, 利用 B 超对多卵泡发育和排卵进行监测。结果表明, 经同期化处理的母水牛多卵泡发育发生率为 6.43% (42/653), 排卵率为 72.73% (24/33)。母水牛多卵泡发育的发生与品种、年龄、季节等因素无关。

**关键词** 水牛; 同期发情; B 超; 多卵泡发育; 排卵监测; 影响因素

中图分类号 S823.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2019)22-0083-02

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2019.22.026



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

### Monitoring of Multi-follicle Development on Female Buffaloes during Estrus Synchronization

CHEN Ming-tang, LI Hui, HUANG Jian et al (Guangxi Buffalo Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Guangxi Key Laboratory of Buffalo Genetics, Breeding and Reproduction, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanning, Guangxi 530001)

**Abstract** “GnRH + PGc + GnRH” treatment was used to make estrus synchronization on buffaloes. And the development of ovarian follicles were observed by ultra sound method. The results showed that the multi-follicle growth rate of synchronized buffalo was 6.43% (42/653), and the ovulation rate was 72.73% (24/33). The development of multi-follicle had no correlation with variety, age, season, etc.

**Key words** Buffalo; Estrus synchronization; Ultra sound; Development of multi-follicle; Ovulation monitoring; Influencing factors

水牛是单胎动物, 通常情况下母水牛一次发情只排 1 枚卵子, 自然状态下水牛的双胎率极低, 双胎多出现在胚胎移植。随着水牛同期发情技术的推广应用, 常用的处理程序是否会增加多卵泡发育和多排卵的问题尚未见报道。笔者用促黄体素释放激素 A<sub>3</sub>+氯前列醇同期化处理母水牛, 使用便携式兽用 B 超仪观测卵泡发育和排卵情况, 记录其中多卵泡发育和多排卵现象, 分析品种、年龄和季节等因素对母水牛多卵泡发育发生的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 试验牛。**广西区内饲养的摩拉水牛、尼里/拉非水牛、地中海水牛及其他杂交水牛。

**1.1.2 试剂和器材。**氯前列醇(PGc)、促黄体素释放激素 A<sub>3</sub>(哥娜、GnRH)为丹东市绿丹和华动物药有限公司生产; 便携式兽用 B 超仪(HONDA, HS-101V), 日本产。

### 1.2 方法

**1.2.1 同期化发情处理。**试验母水牛采用“促黄体素释放激素 A<sub>3</sub>+氯前列醇”方法进行同期化处理<sup>[1]</sup>。试验开始当天记为“0 d”, 当天肌肉注射 GnRH 100 μg/头, 第 7 天肌肉注射 PGc 0.4 mg/头, 第 9 天肌肉注射 GnRH 100 μg/头, 此后 24 h 起开始检查发情和监测排卵。

**1.2.2 发情和排卵监测。**全部试验母水牛在第 9 天肌注 GnRH 后 24 h 进行第一次发情和排卵监测, 记录卵巢上直径 ≥ 9 mm

卵泡数目。监测频率为 1~2 次/d, 使用 B 超仪经直肠逐头扫描母水牛卵巢, 60 h 内不排卵的不再监测并记为不排卵。

**1.2.3 数据统计与分析。**试验数据显著性分析采用卡方检验( $\chi^2$ )分析,  $P < 0.05$  表示差异显著。

## 2 结果与分析

**2.1 多卵泡发育和排卵的总体情况** 试验监测了母水牛多卵泡发育和排卵情况, 总样本 653 头, 一次发情优势卵泡数达到 2 个的母水牛有 40 头, 一次发情优势卵泡数达到 3 个的有 2 头, 2 个优势卵泡与 3 个优势卵泡的发生率差异显著 ( $P < 0.05$ )。2 个优势卵泡的母水牛排卵率为 70.97% (22/31), 但均为单排卵, 无双排卵现象, 有 3 个优势卵泡的母水牛出现 1 头多排卵。多卵泡发育和排卵情况具体见表 1。

**2.2 多卵泡发育与年龄的关系** 将全部样本按年龄段(青年、成年)进行分类统计, 发现青年水牛和成年水牛多卵泡发育发生率差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。

**2.3 多卵泡发育与品种的关系** 将全部样本按品种进行分类统计, 发现各品种水牛多卵泡发育的发生率差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 3)。

**2.4 多卵泡发育与季节的关系** 将样本按开展试验的季节进行分类统计, 发现夏季多卵泡发育发生率最高, 而冬季最低, 但各季节间差异不显著 ( $P > 0.05$ ) (表 4)。

## 3 讨论

在牛的直肠检查操作中, 有一些关键操作环节只能依靠操作者的经验和感觉来完成, 不同操作者间会存在判断误差。该试验采用 B 超技术来解决这些问题具有很强的特异性和实用性<sup>[2-3]</sup>。水牛是单胎动物, 一次发情只排出 1 枚卵子。该试验发现 6.43% (42/653) 的母水牛在同期发情处理后出现多卵泡发育现象 ( $\Phi \geq 9$  mm), 排卵率为 69.70% (24/33), 与陈明棠等<sup>[4]</sup>、马会明<sup>[5]</sup>报道的同期发情试验的排卵率 (72.88%、75%) 差异不显著 ( $P < 0.05$ )。该试验结果发现, 多排卵率为 0.26% (1/384), 出现概率极低, 说明“促黄体

**基金项目** 广西科技厅开发项目(桂科能 1598020-9); 广西水产畜牧兽医局项目(桂渔牧科 1204916); 防城港市科学研究与技术开发计划项目(防科 16053004); 广西科技计划项目(桂科 AB16380040); 亚热带农业生物资源保护与利用国家重点实验室开放课题(SKLCUSA-b201814)。

**作者简介** 陈明棠(1972—), 男, 广西防城港人, 高级畜牧师, 从事动物繁殖研究。\*通信作者, 研究员, 博士, 从事动物育种与繁殖研究。

**收稿日期** 2019-04-17

素释放激素 A<sub>3</sub>+氯前列醇”处理方案没有造成母水牛排卵异常,表明水牛的双胎现象与同期发情处理没有必然关联。

表1 母水牛多卵泡发育的总体情况

Table 1 Overall situation of multi-follicle development in female buffaloes

类别 Sort	总样本数 Total sample size//头	发生数 Incidence number 头	发生率 Incidence rate//%	监测水牛数 Number of monitored buffaloes 头	排1枚卵的水牛数 Number of buffaloes ovulating 1 egg//头	排2枚卵的水牛数 Number of buffaloes ovulating 2 eggs//头	排3枚卵的水牛数 Number of buffaloes ovulating 3 eggs//头
2枚优势卵泡 2 dominant follicles	653	40	6.13 a	31	22	0	0
3枚优势卵泡 3 dominant follicles	653	2	0.31 b	2	1	0	1

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )

Note: Different lowercase letters in the same column indicated significant differences( $P<0.05$ )

表2 青年、成年母水牛多卵泡发育和排卵情况

Table 2 The multi-follicle development and ovulation in young and adult female buffalo

类别 Sort	总样本数 Total sample size 头	发情数 Estrus number 头	多卵泡水牛数 Number of buffaloes with multi-follicle//头	占比1 Proportion 1//%	占比2 Proportion 2//%	监测水牛数 Number of monitored buffaloes 头	排卵水牛数 Number of ovulated buffaloes 头	排卵率 Ovulation rate//%
青年牛 Young buffalo	286	211	15	5.24	7.11	12	8	66.67
成年牛 Adult buffalo	367	302	27	7.36	8.94	21	16	76.19

注:占比1是指多卵泡发育样本占总样本的比例,占比2是指多卵泡发育样本占发情样本的比例

Note: "Proportion 1" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the total samples, and "Proportion 2" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the estrus samples

表3 各品种母水牛多卵泡发育和排卵情况

Table 3 Follicular development and ovulation of different varieties of female buffaloes

品种 Variety	总样本数 Total sample size//头	发情数 Estrus number//头	发情率 Estrus rate//%	多卵泡水牛数 Number of buffaloes with multi-follicle//头	占比1 Proportion 1//%	占比2 Proportion 2//%	监测水牛数 Number of monitored buffaloes 头	排卵水牛数 Number of ovulated buffaloes 头	排卵率 Ovulation rate//%
地中海水牛 Mediterranean buffalo	176	141	80.1	7	3.977	4.965	6	4	66.67
摩拉水牛 Murrah buffalo	79	53	67.1	6	7.595	11.320	4	4	100.00
尼里/拉菲水牛 Nili buffalo	39	34	87.2	4	10.260	11.760	3	2	66.67
杂交水牛 Hybrid offspring	359	285	79.4	25	6.964	8.772	20	14	70.00

注:占比1是指多卵泡发育样本占总样本的比例,占比2是指多卵泡发育样本占发情样本的比例

Note: "Proportion 1" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the total samples, and "Proportion 2" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the estrus samples

表4 各季节母水牛多卵泡发育和排卵情况

Table 4 Follicular development and ovulation in female buffalo in every season

季节 Season	总样本数 Total sample size//头	发情数 Estrus number 头	多卵泡水牛数 Number of buffaloes with multi-follicle	占比1 Proportion 1//%	占比2 Proportion 2//%	监测水牛数 Number of monitored buffaloes//头	排卵水牛数 Number of ovulated buffaloes//头
春 Spring(3~5月)	202	167	14	6.93	8.38	11	9
夏 Summer(6~8月)	31	20	3	9.68	15.00	3	2
秋 Autumn(9~11月)	288	222	20	6.94	9.01	16	11
冬 Winter(12月~次年2月)	132	104	5	3.79	4.81	3	2

注:占比1是指多卵泡发育样本占总样本的比例,占比2是指多卵泡发育样本占发情样本的比例

Note: "Proportion 1" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the total samples, and "Proportion 2" stands for the proportion of multi-follicular development samples in the estrus samples

姚晓磊等<sup>[6]</sup>研究了卵泡发育相关基因在牛发情周期内第一卵泡波中优势卵泡(dominant follicles, DF)和从属卵泡(subordinate follicles, SF)颗粒细胞中的表达差异,发现与卵泡发育相关基因(*SFRP2*、*CPEB1*、*PRKAG2*、*MAPK8*、*PPP2R2A*和*PRSS23*)在DF和SF中都有不同程度表达,其中*CPEB1*和*PRKAG2*对卵泡的发育可能有促进作用,*SFRP2*和*MAPK8*

对卵泡的发育可能有抑制作用。

Messer等<sup>[7]</sup>报道了视黄酸受体(retinoic acid receptor, RAR)基因在法国超高产仔大白猪中窝产仔数平均加性效应是每窝增加0.21头,在法国对照大白猪中则是每窝增加0.14头。郭晓红等<sup>[8]</sup>发现*RARG*基因CC基因型小尾寒羊平均产

(下转第145页)

轮枝菌寄主范围广,主要在蚧壳虫和蚜虫上。虫生镰刀菌 (*Fusarium sp.*) 在自然界普遍分布,在一定条件下对控制蚜虫种群起着重要作用<sup>[24]</sup>。寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*)、金龟子绿僵菌 (*Metarhizium anisopliae*)、青霉 (*Penicillium sp.*)、球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana*)、粉质拟青霉 (*Paecilomyces farinosus*) 和布氏白僵菌 (*B. brongniartii*) 侵染蚜虫的报道也不少,鲜见成熟应用的案例。

该研究从自然感染死亡的蚜虫体中,分离出具有杀蚜活性的寄生曲霉 (*Aspergillus parasiticus*) 菌株,采用固体发酵产生孢子,高含量的孢子粉作为侵染单元,通过在小西葫芦上瓜蚜进行生防试验以及在棉田中对棉蚜的防治效果进行试验,结果显示该菌株表现出较强的侵染力和持续控制力,持效期长达 15 d 以上。扩充杀蚜真菌的资源库、提高蚜虫生防真菌杀蚜广谱性,为开发新型杀蚜微生物农药提供技术基础。

#### 参考文献

- [1] 张永军,刘爱英,梁宗琦.真菌在蚜虫生物防治中的研究进展[J].贵州农业科学,1998,26(3):59-62.
- [2] XIA L Q, MA Y Z, HE Y, et al. GM wheat development in China: Current status and challenges to commercialization[J]. Journal of experimental botany, 2012, 63(5): 1785-1790.
- [3] NAULT L. Arthropod transmission of plant viruses: A new synthesis[J]. Annals of the entomological society of America, 1977, 90(5): 521-541.
- [4] 李娟,安德荣.捕杀特黄板对烟蚜及烟田蚜传病毒病防治效果的研究[J].中国烟草学报,2010,16(2):70-72.
- [5] 陆剑飞,郑永利,夏永锋.蔬菜主要害虫抗药性发展现状与治理对策探讨[J].农药科学与管理,2004,52(2):10-13.
- [6] GRENIER A M, DUPORT G, PAGES S, et al. The phytopathogen *Dickeya dadantii* (*Erwinia chrysanthemi* 3937) is a pathogen of the pea aphid[J]. Applied and environmental microbiology, 2006, 72(3): 1956-1965.
- [7] COSTECHAREYRE D, BALMAND S, CONDEMINO G, et al. *Dickeya da-*

- dantii*, a plant pathogenic bacterium producing cyt-like entomotoxins, causes septicemia in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*[J]. PLoS One, 2012, 7(1): 1-9.
- [8] MILNIER R J. Prospects for biopesticides for aphid control[J]. Entomophaga, 1997, 42(1/2): 227-239.
- [9] VANDENBERG J D, SANDVOL L E, JARONSKI S T, et al. Efficacy of fungi for control of Russian wheat aphid (Homoptera: Aphididae) in irrigated wheat[J]. Southwest Entomol, 2001, 26(1): 73-85.
- [10] 刘金国,涂璇,涂晓嵘,等.种子工艺优化对链霉菌 702 发酵产抑真菌生物活性物质的影响[J].江西科学,2007,25(3):253-257.
- [11] 沈萍,范秀荣,李广武.微生物学实验[M].北京:高等教育出版社,1996.
- [12] 李贵正,张营,郑树林,等.蓝光和黑暗培养淡紫拟青霉形态及产孢量差异[J].湖北农业科学,2018,57(4):36-38.
- [13] 梁宗琦.昆虫病原真菌的毒力[M]//《杀虫微生物》编委会.杀虫微生物:第2卷.北京:中国农业科技出版社,1989:11-18.
- [14] 蒲蛰龙,李增智.昆虫真菌学[M].合肥:安徽科学技术出版社,1996.
- [15] 魏景超.真菌鉴定手册[M].上海:上海科学技术出版社,1979:235-241.
- [16] 李爱华,岳思君,马海滨.真菌孢子三种计数方法相关性的探讨[J].微生物学杂志,2006,26(2):107-110.
- [17] 于晓庆.防治小麦田蚜虫高效药种[J].农药市场信息,2018(5):52.
- [18] 周建如,张永军.高毒力杀蚜真菌菌株筛选[J].植物医生,2003,16(2):31-33.
- [19] 唐光义,冯明光.实用统计分析及其 DPS 数据处理系统[M].北京:科学出版社,2002:1-8.
- [20] 顿玉慧,冯明光,应盛华.新型球孢白僵菌孢子悬液剂的高效杀蚜活性及其评价方法[J].微生物学报,2003,43(6):781-787.
- [21] FENG M G, LI H P. Experimental epizootiology of *Zoophthora anhuiensis* (Entomophthorales) against *Mypus peticose* (Homoptera: Aphididae) with a description of a modified Gompertz model for aphid epizootic[J]. Eaviron Microbiol, 2003, 5(11): 1203-1211.
- [22] 王未名.蚜虫寄生真菌-诺氏虫疫霉[M]//中国植物学会真菌学会虫生真菌专业组.中国虫生真菌研究与应用:第1卷.北京:学术期刊出版社,1988:153-155.
- [23] 陈吉棣.蜡蚧轮枝菌及其在生防中的应用[J].生物防治通报,1985,1(4):32-37.
- [24] 李宏科.虫生镰刀菌的初步研究[M]//中国植物学会真菌学会虫生真菌专业组.中国虫生真菌研究与应用:第1卷.北京:学术期刊出版社,1988:211-255.

(上接第 84 页)

羔数比 CD 基因型多 0.55 只 ( $P < 0.05$ )。张路培等<sup>[9]</sup>研究了生长分化因子 9 (growth differentiation factor 9, *GDF9*) 基因的遗传变异与牛双胎性状的关系,发现在鲁西牛中 *GDF9* 基因的 3' UTR 出现缺失突变,单胎牛群体与双胎牛群体基因型分布有极显著差异 ( $P = 0.006$ ),双胎牛群体的 B 等位基因频率明显大于单胎牛群体。黄萌等<sup>[10]</sup>将鲁西牛群体的视黄素 X 受体基因 (retinoid X receptor-gamma, *RXRG*) A1941G 位点的基因型效应与双胎性状进行相关分析,发现基因型分布在鲁西单、双胎牛群体上存在极显著差异 ( $P < 0.01$ ),表明基因型对牛双胎现象有较大影响,但并未发现基因型效应与双胎性状相关,且在其他品种群体中没有发现类似现象。

该研究试验对象来自广西区内数个奶水牛场牛群,经同期化处理后有 0.26% (1/384) 的多排卵现象,但没有出现双胎,而水牛双胎性状是否存在关联基因型则有待进一步研究。

#### 4 结论

奶水牛经同期化处理出现 6.43% 的多卵泡发育现象,但只有 0.26% 形成多排卵,多卵泡发育水牛的排卵率与单优

势卵泡发育水牛的排卵率差异不显著,没有出现多胎情况。多卵泡发育与品种、季节、年龄等因素无关。

#### 参考文献

- [1] 陈明棠,李辉,谭正准,等.母水牛同期发情的排卵监测[J].黑龙江畜牧兽医,2018(18):206-208.
- [2] 赵凯,田文儒,刘焕奇,等.超声诊断技术在兽医产科上的应用[J].黑龙江畜牧兽医,2000(9):39-40.
- [3] 顾红兵,詹国英,张月昔,等.用超声诊断仪检测牛黄体的研究进展[J].山东畜牧兽医,2002(2):36-37.
- [4] 陈明棠,谭正准,黄健,等.不同处理方法对水牛同期发情效果的观察[J].中国牛业科学,2014,40(4):16-17,20.
- [5] 马会明. B 超监测母牛同期发情和超数排卵中卵巢动态变化的研究[D].石河子:石河子大学,2005.
- [6] 姚晓磊,李鹏飞,姜晓龙,等.卵泡发育相关基因在牛优势和从属卵泡颗粒细胞中表达的研究[J].畜牧兽医学报,2014,45(12):1957-1963.
- [7] MESSER L, WANG L, LEGAULT C, et al. Mapping and investigation of candidate genes for litter size in French Large White pigs[J]. Animal genetics, 1996, 27(S2): 101-119.
- [8] 郭晓红,储明星,周忠孝,等.小尾寒羊高繁殖力候选基因 *RARG* 的研究[J].畜牧兽医学报,2006,37(8):756-760.
- [9] 张路培,张小辉,许尚忠,等.牛 *GDF9* 和 *BMP15* 基因遗传变异与双胎性状的关系研究[J].畜牧兽医学报,2007,38(8):800-805.
- [10] 黄萌,许尚忠,谷林森,等.牛 *RXRG* 基因遗传变异与双胎性状的关联分析[J].遗传,2008,30(2):190-194.