

营养因素对母羊超数排卵后胚胎质量影响的研究进展

王聪亮, 朱海鲸, 屈雷* (榆林学院陕西省绒山羊工程技术研究中心, 陕西榆林 719000)

摘要 超数排卵作为家畜繁殖育种中的新技术, 是胚胎移植的重要技术环节, 而胚胎质量与移植后胚胎成活率、妊娠率等紧密相关, 影响羊超数排卵效果因素众多, 其中营养水平是主要影响因素。综述了脂肪酸、维生素和微量元素等营养水平对母羊超数排卵的应用现状及效果, 以期对母羊超数排卵效果的改善和提高胚胎移植效率提供参考依据。

关键词 营养; 超数排卵; 胚胎; 脂肪酸; 微量元素

中图分类号 S826 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2022)12-0026-05

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.12.006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress on the Effects of Nutritional Factors on Embryo Quality after Superovulation in Ewes

WANG Cong-liang, ZHU Hai-jing, QU Lei (Shaanxi Province Engineering&Technology Research Center of Cashmere Goat, Yulin University, Yulin, Shaanxi 719000)

Abstract As a new technology in breeding of livestock, superovulation is an important technical aspect of embryo transfer, and embryo quality is closely related to embryo survival rate and pregnancy rate after transfer, etc. There are many factors affecting the effect of supernumerary ovulation in ewes, among which nutrition level is the main influence factor. The research progress on the effects of fatty acids, vitamins and trace elements factors on embryo quality after superovulation in ewes were reviewed, in order to provide a reference for improving the effect of superovulation and increasing the efficiency of embryo transfer in ewes.

Key words Nutrition; Supernumerary ovulation; Embryo; Fatty acids; Trace elements

超数排卵和胚胎移植等繁殖新技术目前广泛应用于家畜品种改良, 成为加快家畜育种进程和高效扩繁的重要技术手段^[1-2]。超数排卵简称超排(superovulation), 是指在母畜正常发情周期中, 通过注射外源促性腺激素, 诱导大量卵泡发育并排出具有正常受精能力卵子的过程^[3], 目的是为了获得更多可移植的优质胚胎, 最大限度地利用优良种畜。研究发现, 不同质量胚胎移植后妊娠成功率往往有很大差异, 其中次质胚胎的妊娠成功率往往显著低于优质胚胎^[4-5], 移植囊胚的成功率高于桑椹胚^[6], 说明胚胎质量对于是否妊娠尤为重要。早期胚胎退化和死亡原因众多, 目前尚未有定论^[7-8], 但研究人员普遍认为营养水平可直接或间接影响超排效果, 从而影响移植后的妊娠结果^[9-10]。近年来, 国内外众多学者就营养因素与超排效果的关系进行了大量研究, 笔者就脂肪酸、维生素、微量元素影响羊超排效果的研究进行综述, 以期对羊超排后胚胎质量和移植效率的提高提供理论参考。

1 脂肪酸类

脂肪酸被认为在动物生殖功能等众多生理过程中发挥重要^[11], 研究发现, 日粮中脂肪酸含量和成分对于母畜卵母细胞成熟、早期胚胎发育和妊娠有重要影响^[12-13]。亚麻籽富含多不饱和脂肪酸, 主要以 α -亚麻酸为主, 占亚麻籽种子约50%的总脂肪酸含量, 可能通过不同的机制影响生殖相关功能^[14-16]。

早在1929年, Burr等^[17]发现, 在大鼠日粮中添加脂肪酸

会导致雌鼠出现不规则排卵, 在饲料中补充富含多不饱和脂肪酸(亚油酸和 α -亚麻酸为主)后排卵正常, 说明脂肪酸可能会导致动物排卵异常, 可能会影响排卵及早期胚胎质量。随后, 国内外研究人员就多不饱和脂肪酸与卵母细胞成熟和早期胚胎发育进行了大量研究。其中 Dutra等^[18]发现, 在波尔山羊日粮中添加亚麻籽可显著影响母羊超排后的活胚数和I级胚胎比例, 同时退化胚胎数相对减少, 说明脂肪酸对于胚胎发育至关重要, 能够影响早期胚胎质量。脂肪酸来源于脂质, 在日粮中添加脂肪酸可能与产后卵泡发育、排卵卵母细胞大小以及在发情周期的孕酮浓度有关^[19-20], 同时为卵母细胞和早期胚胎发育提供能量, 孕酮浓度增加对子宫环境产生积极影响, 进而改善卵母细胞和胚胎质量^[21]。但 Capovilla等^[22]观察到在母羊日粮中添加不同类型多不饱和脂肪酸并未显著改善超排效果, 但添加 ω -6多不饱和脂肪酸母羊的胚胎活力高于添加 ω -3多不饱和脂肪酸的。同时 Ghaffarilaleh等^[23]表示, 在绵羊卵母细胞体外培养基中添加200 μ mol/L α -亚麻酸, 雌二醇(E2)浓度降低, 孕酮(P4)浓度升高, 显著提高了前列腺素 F2 α (prostaglandin F2 α , PGF2 α)的合成量, 同时囊胚内细胞总数显著提高、细胞凋亡数有所下降, 但获得的囊胚数无明显差异, 与 Wonnacott等^[24]研究结果一致, 说明脂肪酸可能通过增加早期胚胎细胞数量来影响囊胚的发育^[25], 改变生殖激素的合成与释放速率, 但高浓度的脂肪酸会对卵母细胞成熟产生不利影响^[26-27], 例如卵母细胞达到 MII 期的比率有所降低^[28], 降低了胚胎到囊胚阶段的发育能力等^[29], 研究显示, 低浓度 E2 和较高的 P4、E2 比值与胚胎细胞快速分裂有关^[30]。Zeron等^[31]对具有正常繁殖机能母羊补充多不饱和脂肪酸, 发现补饲多不饱和脂肪酸的母羊卵巢内卵泡和卵母细胞数多于对照组, 优质卵母细胞数显著高于对照组, 同时冷冻保存后

基金项目 国家自然科学基金项目(31702115); 榆林学院高层次人才科研启动基金项目(16GK06); 陕西省农业科技创新与攻关项目(2016NY-106)。

作者简介 王聪亮(1996—), 男, 陕西榆林人, 硕士研究生, 研究方向: 动物繁殖。* 通信作者, 教授, 博士, 硕士生导师, 从事哺乳动物胚胎工程研究。

收稿日期 2021-12-11

卵母细胞膜的完整性也显著提高,提高卵母细胞对冷冻的耐受性,为精卵结合和早期胚胎细胞分化提供有力保障^[32]。

动物卵母细胞富含脂肪酸,通过进行 β -氧化参与调节卵母细胞的生长分化,是卵母细胞成熟和胚胎后续发育的重要能量来源^[25,33-34]。脂肪酸是细胞膜的重要组成部分,能够影响细胞膜的流动性^[35],在日粮中添加的脂肪酸经血液循环进入卵泡液,改变卵丘颗粒细胞膜的结构和通透性^[36],提高卵母细胞和早期胚胎的发育能力^[37];同时不饱和脂肪酸可促进母体生成 IGF-1,而 IGF-1 具有促进早期卵裂、刺激内细胞团和滋养层细胞合成蛋白质的作用^[38],提高存活胚胎的数量与质量,促进早期胚胎发育^[14,39]。而 Matsui 等^[40-41]的研究均支持这一假设,表明 IGF-1 可刺激促进细胞分裂和胚胎发育。黄体退化是山羊胚胎移植中的重要问题,大量不饱和脂肪酸会抑制 PGF2 α 的分泌,延长黄体寿命,从而提高活胎数量^[42-44]。此外,研究显示,亚麻籽中的 ω -3 多不饱和脂肪酸可诱导抗炎细胞因子的增加,稳定细胞膜功能^[45],对卵泡和卵母细胞发育产生积极作用。早期研究显示^[18,22],在日粮中添加脂肪酸,并不总是对羊早期胚胎发育起到正向作用,其中添加不饱和脂肪酸的量 and 类别是主要影响因素,物种、品种差异以及区域环境也是重要影响因素。

2 维生素 A、D 和 E

维生素参与动物机体的生长发育和代谢,其中某些维生素对于动物繁殖功能起着不可缺少的作用。研究显示^[46],在日粮中添加维生素可促进动物生长发育,提高繁殖性能,其中以维生素 A、维生素 E 和维生素 D 为主。缺乏维生素 A、E、D 导致母畜卵巢机能下降、胚胎或胎儿发育异常等^[47-48],降低繁殖率,这可能是影响早期胚胎发育不良的主要原因之一。

超数排卵目的就是为了最大程度得到更多优质胚胎。朱芳贤等^[49]报道,在内蒙古绒山羊日粮中添加高摄入量的铜、碘、锌、硒和维生素 A、D、E,超排后胚胎数量和 I 级胚胎数有明显增加,可能是微量元素和维生素的协同作用,其中硒和维生素 E 的协同抗氧化作用巨大。相关报道^[50-51]称,维生素 E 和硒存在某种生理上的联系,具有协同作用,可共同组成细胞膜上抗氧化、防止形成自由基的防线。罗海玲等^[52]报道称,脂溶性维生素对于羊的超数排卵有着积极作用,在母羊日粮中单独补饲维生素 E 和肌注维生素 A、D 或者联合使用均可提高胚胎数,单独补饲维生素 E 可显著提高 I 级胚胎的数量,单独注射维生素 A、D 后 I 级胚胎数也有不同程度提高,但效果不如维生素 E。其中联合使用 3 种维生素的 I 级胚胎数量低于单独使用补饲维生素 E 或单独注射维生素 A、D,猜测可能是由于维生素 A 和维生素 E 之间存在某种拮抗或竞争作用,其中机理目前尚不清楚, Jenkins 等^[53]在大鼠饲料中添加维生素 A 和维生素 D,两种维生素显著影响大鼠的生长,维生素 A 使得睾丸和肾上腺重量增加,但维生素 D 却减弱抵消了这种作用。吐逊·吾守尔^[54]发现,在黑头杜泊羊配种前 6 天和前 3 天分两次注射维生素 AD 液可

显著提高母羊发情率和胚胎数,且 I、II 级胚胎数和移植后妊娠率均有显著提高。

体外胚胎培养技术是体外胚胎生产的重要环节,可以使优良家畜产出更多的优质胚胎用于移植, Rajesh 等^[55]发现在不同浓度 O₂ 水平下,分别向卵母细胞成熟培养基添加浓度为 6 μ mol/L 的维生素 A,可显著提高总细胞数、胚泡数量和卵裂率;其中在 20% O₂ 水平下,将浓度为 6 μ mol/L 的维生素 A 添加到胚胎培养基中,可明显提高胚泡数量。研究显示,当维生素 A 缺乏时,雌性动物胎盘上皮细胞的形成与发育减缓,引起生殖道上皮角质化,最终影响早期胚胎形成与发育^[48,56]。且维生素 A 直接参与细胞的增殖分化,在卵泡成熟时调控卵泡激素环境^[57],同时刺激卵巢影响孕酮分泌,而孕酮作用于子宫内膜,刺激子宫内膜腺生长和分泌子宫乳,为早期发育提供环境,卵母细胞和胚胎得以发育存活^[47]。

维生素 D 具有调节钙、磷代谢和吸收的功能^[58],在免疫功能调节方面也具有重要作用^[59]。研究表明^[60-61],缺乏维生素 D 时会通过低磷、钙血症,降低动物机体整体生殖水平,同时注射维生素 A 和 D 可提高 I 级胚的质量^[54],表明复合维生素 A、D 的确会对生殖和内分泌机能起到积极作用。同时 Garbedian 等^[62-63]的报道也证实维生素 D 可以提高体外卵母细胞成熟质量、从而提高胚胎质量、提高体外生产胚胎效率。目前研究认为,一方面,维生素 A 和维生素 D 主要通过影响卵母细胞成熟进而对胚胎产生作用^[54];另一方面,维生素 A 和维生素 D 可能通过影响某些基因转录和抑制相关炎症因子等直接或间接影响胚胎发育^[64],也有研究认为^[65],维生素 D 更多的是参与调节动物骨钙素来影响胚胎后期发育,其中具体机制仍需进一步研究。

研究认为^[66-67],早期胚胎发育不良是由于生成过氧化物等原因造成的, Guerin 等^[68-69]研究显示,大量的活性氧会导致脂质过氧化和不同程度的膜结构损伤^[70],在胚胎发育过程中通过信号转化分子加速细胞凋亡^[71],最终导致胚胎发育缓慢或停止,而维生素 E 则具有较好的抗氧化性^[56],当母羊体内缺乏维生素 E 时,会出现不孕、早期胚胎死亡情况,也会造成胚胎血管损伤等^[52],这可能是早期胚胎发育较差的主要原因。Thiyagarajan 等^[72]发现在胚胎培养基中加入 100 μ mol/L 的维生素 E 可以促进卵裂和胚泡形成,促进胚胎发育。维生素 E 作为一种脂溶性抗氧化剂,可以抑制不饱和脂肪酸氧化^[73],保护生物膜免受氧化降解^[74]和维持细胞的完整性、稳定性。维生素 C 同样具有抗氧化物的作用,但 Massaeli 等^[75]表示,维生素 E 抑制过氧化反应的效果要优于维生素 C,随后, Yousef 等^[76]证实维生素 E 相对于维生素 C 更能减少活性氧的产物。研究报道^[74],维生素 E 是维持动物卵巢功能的重要物质,可以通过垂体前叶分泌促性腺激素调节性机能和增加卵巢机能,使得卵泡黄体细胞增加,提高胚胎发育以及确保胚胎正常发育。

3 微量元素

微量元素是动物机体生命活动必需的营养物质,虽然动物机体对其所需要的量极少,但对于动物正常生理和机体代

谢等具有重要生理作用^[77]。微量元素缺乏可导致动物机体内分泌生殖激素紊乱、生殖相关的酶活性异常和生殖系统的某些病变,影响母畜繁殖^[78]。在母畜妊娠期间,微量元素除了用于母体骨骼沉淀,还在形成功能蛋白和酶系统中发挥作用,通过某种机制直接或间接影响早期胚胎的生长发育^[79-80]。虽然动物机体对于微量元素需求量很小,但这些元素对繁殖会产生重大影响。据报道^[81-84],硒、锌、铜等主要微量元素均不同程度的影响母畜的繁殖力。

Naziroglu等^[85]发现,母羊流产是由于微量元素摄入不足导致的,其中硒和铜摄入量不足是主要原因,说明微量元素是影响胚胎发育的因素之一。研究发现^[86],低铜饮食会导致山羊或绵羊妊娠率的降低,抑制早期胚胎发育,造成死亡。研究结果^[87-88]显示,新生羔羊共济失调是由于妊娠母羊摄入牧草中铜元素量不足所导致的,因此,在母羊妊娠期间补充适量的微量元素是保证母羊正常繁殖活动的基本保证。

硒是动物必需微量元素之一,可通过谷胱甘肽抗氧化物酶发挥抗氧化作用,是谷胱甘肽过氧化物酶的重要组成部分,同时也具有维持细胞膜完整和功能正常的作用^[89],在免疫机能、维持机体正常新陈代谢等发挥重要作用。报道称^[90-92],缺硒可导致内分泌功能紊乱,引起母畜流产、早产等,影响家畜繁殖性能。吴森等^[93]发现,供体羊超数排卵前通过注射亚硒酸钠- V_E 注射液,回收胚胎数和I、II级胚胎数显著提高,超排效果较好,且试验羊黄体饱满,血清中孕酮(P4)和雌激素(E2)水平均显著高于对照组,与陈福财等^[94-95]研究结果相同。Harrison等^[96]报道,给繁殖母畜补硒,可增强子宫活动力和提高排卵数,并且可以影响精子在子宫内的运动能力。杨志强^[97]表示,对母羊补充硒和 V_E 可减少胚胎早期死亡和流产。补充硒- V_E 可以提高卵巢机能和胚胎数量,可能是由于硒和 V_E 不仅给母体提供了必需的微量元素,还可能影响生殖激素的分泌,进而影响到排卵的效果^[95],也可能是其中硒的抗氧化作用和 V_E 发挥协同作用,表现为相互协同和相互节省效应^[98]。Piper等^[81]表示,硒与动物的繁殖密切相关,被认为是通过改变卵巢外周血浆孕酮浓度,进而影响胚胎存活。雌激素具有刺激并维持母畜生殖道的发育和促进生殖道生理变化的作用,一定量的孕酮可促进子宫内膜分泌增生使腺体发育,抑制子宫自发活动,与雌激素协同作用,使母畜表现外部发情,同时抑制子宫肌的兴奋性,促进胎盘发育,促使胚胎附植,维持正常妊娠^[94,99-100]。研究显示^[101],硒可通过刺激小卵泡的细胞增殖和增加大小卵泡中的E2含量来调控卵泡的生长质量,且可抑制卵泡中细胞的一氧化氮产量,而一氧化氮被认为在卵巢活动中有着重要的作用^[102]。放射性示踪研究证明,硒容易通过各种动物胎盘,而且硒在催化谷胱甘肽过氧化物酶活性中发挥重要作用^[103],硒是谷胱甘肽过氧化物酶(GSP- P_x)和其他蛋白质的辅助因子,并在培养基中一般作为抗氧化剂^[98],所以笔者推测,硒可能是通过GSP- P_x 的抗氧化作用保护卵母细胞细胞和早期胚胎免受氧化损害,维持正常发育。

锌作为动物必需的微量元素之一,不仅参与体内的蛋白质、碳水化合物和维生素的吸收与合成过程,而且还直接或间接参与氨基酸、核酸等物质的代谢过程。当雌性动物缺锌时,会导致卵巢发育不良和萎缩,容易流产,早期胚胎容易死亡^[83,99]。研究表明^[100],锌通过参与酶系统的调控而对性激素的合成产生影响,也通过刺激垂体性腺激素的释放^[104]和改变卵巢对促性腺激素刺激反应^[105]影响整个母畜的生殖机能。研究报道^[104],在小尾寒羊日粮中添加一定量的甘氨酸锌可显著提高其黄体数量和血清中孕酮(P4)、雌激素(E2)、游离三碘甲腺原氨酸(FT3)含量,提高胚胎附植率,提高胚胎质量,与边建朝等^[106-107]研究结果相似。T3是与蛋白结合的甲状腺素,通过转化为FT3才可进入细胞发挥其生理功能^[104],而甲状腺激素对于维持母畜正常生殖机能和调节肾上腺皮质激素的分泌具有重要作用,锌通过调节垂体肾上腺、垂体甲状腺和性腺系统等功能,调节激素分泌影响母畜内分泌生殖系统^[108]。

4 结语

超数排卵作为目前获取胚胎最有效、最便捷、最直接的方法,在良种家畜快速扩繁和加快育种进程等方面具有重大应用前景。但超排效果的不稳定性是当前急需解决的关键问题,其中营养因素是影响羊的超排效果的重要影响因素,营养水平与激素在母羊卵母细胞发育与排卵和早期胚胎发育中的作用机制十分复杂,需加大研究力度,这对于我国养殖产业的发展具有重大现实意义。

参考文献

- [1] MISRA A K, PRAGSAD S, TANEJA V K. Embryo transfer technology (ETT) in cattle and buffalo in India: A review [J]. *The Indian journal of animal sciences*, 2005, 75(7): 842-857.
- [2] SEIDEL G E, JR, SEIDEL S M. Training manual for embryo transfer in cattle [M]. Fort Collins: Food and Agriculture Organization of the United Nations, 1991: 168.
- [3] 种玉晴, 朱芳贤, 沈洪学, 等. 宜昌白山羊超数排卵效果的研究 [J]. *湖北农业科学*, 2020, 59(1): 110-113, 201.
- [4] 郭志勤, 丁红, 陈静波, 等. 绵羊鲜胚分割移植试验 [J]. *国外畜牧学(草食家畜)*, 1992(S1): 59-61.
- [5] 买尔旦·依米提, 柯尔克孜羊超数排卵、同期发情及胚胎移植效果研究 [D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2016.
- [6] ARMSTRONG D T, EVANS G. Factors influencing success of embryo transfer in sheep and goats [J]. *Theriogenology*, 1983, 19(1): 31-42.
- [7] BETTS D H, KING W A. Genetic regulation of embryo death and senescence [J]. *Theriogenology*, 2001, 55(1): 171-191.
- [8] 于春梅. 提高牛羊繁殖力的技术措施 [J]. *吉林畜牧兽医*, 2014, 35(10): 47-48.
- [9] 房义, 李树静, 余文莉, 等. 影响家畜超数排卵效果的因素 [J]. *中国奶牛*, 2006(8): 27-30.
- [10] KAKAR M A, MADDOCKS S, LORIMER M F, et al. The effect of periconception nutrition on embryo quality in the superovulated ewe [J]. *Theriogenology*, 2005, 64(5): 1090-1103.
- [11] WATHES D C, ABAYASEKARA D R E, AITKEN R J. Polyunsaturated fatty acids in male and female reproduction [J]. *Biology of reproduction*, 2007, 77(2): 190-201.
- [12] MAREI W F A, ALVAREZ M A, VAN HOECK V, et al. Effect of nutritionally induced hyperlipidaemia on *in vitro* bovine embryo quality depends on the type of major fatty acid in the diet [J]. *Reproduction fertility & development*, 2017, 29(9): 1856-1867.
- [13] CERRI R L A, JUCHEM S O, CHEBEL R C, et al. Effect of fat source differing in fatty acid profile on metabolic parameters, fertilization, and embryo quality in high-producing dairy cows [J]. *Journal of dairy science*, 2009, 92(4): 1520-1531.

- [14] COSTA S L, COSTA E P, PEREIRA E C M, et al. Influence of Insulin-like Growth Factor I (IGF-I) on the survival and the *in vitro* development of caprine preantral follicles [J]. *Pesquisa veterinária brasileira*, 2014, 34 (10): 1037-1044.
- [15] SPECTOR A A. Essentiality of fatty acids [J]. *Lipids*, 1999, 34: S1-S3.
- [16] GULLIVER C E, FRIEND M A, KING B J, et al. The role of omega-3 polyunsaturated fatty acids in reproduction of sheep and cattle [J]. *Animal reproduction science*, 2012, 131(1/2): 9-22.
- [17] BURR G O, BURR M M. A new deficiency disease produced by the rigid exclusion of fat from the diet [J]. *Journal of biological chemistry*, 1929, 82 (2): 345-367.
- [18] DUTRA P A, PINTO L F B, CARDOSO NETO B M, et al. Flaxseed improves embryo production in Boer goats [J]. *Theriogenology*, 2019, 127: 26-31.
- [19] BILBY T R, BLOCK J, DO AMARAL B C, et al. Effects of dietary unsaturated fatty acids on oocyte quality and follicular development in lactating dairy cows in summer [J]. *Journal of dairy science*, 2006, 89(10): 3891-3903.
- [20] VAN HOECK V, STURMEY R G, BERMEJO-ALVAREZ P, et al. Elevated non-esterified fatty acid concentrations during bovine oocyte maturation compromise early embryo physiology [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): 1-8.
- [21] CHILDS S, HENNESSY A A, SREENAN J M, et al. Effect of level of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on systemic and tissue fatty acid concentrations and on selected reproductive variables in cattle [J]. *Theriogenology*, 2008, 70(4): 595-611.
- [22] CAPOVILLA L C T, RIGOLON L P, CAVALIERI F L B, et al. Superovulação e viabilidade de embriões de ovelhas santa Inês alimentadas com ácidos graxos essenciais [J]. *Revista acadêmica ciência animal*, 2006, 4(3): 65-73.
- [23] GHAFARILALEH V, FOULADI-NASHTA A, PARAMIO M T. Effect of α -linolenic acid on oocyte maturation and embryo development of prepubertal sheep oocytes [J]. *Theriogenology*, 2014, 82(5): 686-696.
- [24] WONNACOTT K E, KWONG W Y, HUGHES J, et al. Dietary omega-3 and-6 polyunsaturated fatty acids affect the composition and development of sheep granulosa cells, oocytes and embryos [J]. *Reproduction*, 2010, 139(1): 57-69.
- [25] DUNNING K R, AKISON L K, RUSSELL D L, et al. Increased beta-oxidation and improved oocyte developmental competence in response to L-carnitine during ovarian *in vitro* follicle development in mice [J]. *Biology of reproduction*, 2011, 85(3): 548-555.
- [26] VELAZQUEZ M A, NEWMAN M, CHRISTIE M F, et al. The usefulness of a single measurement of insulin-like growth factor-I as a predictor of embryo yield and pregnancy rates in a bovine MOET program [J]. *Theriogenology*, 2005, 64(9): 1977-1994.
- [27] LEROY J L M R, OPSOMER G, DE VliegHER S, et al. Comparison of embryo quality in high-yielding dairy cows, in dairy heifers and in beef cows [J]. *Theriogenology*, 2005, 64(9): 2022-2036.
- [28] MAREI W F, WATHES D C, FOULADI-NASHTA A A. The effect of linolenic acid on bovine oocyte maturation and development [J]. *Biology of reproduction*, 2009, 81(6): 1064-1072.
- [29] WAKEFIELD S L, LANE M, SCHULZ S J, et al. Maternal supply of omega-3 polyunsaturated fatty acids alter mechanisms involved in oocyte and early embryo development in the mouse [J]. *American journal of physiology-Endocrinology and metabolism*, 2008, 294(2): E425-E434.
- [30] MORGAN P M, BOATMAN D E, BAVISTER B D. Relationships between follicular fluid steroid hormone concentrations, oocyte maturity, *in vitro* fertilization and embryonic development in the rhesus monkey [J]. *Molecular reproduction & development*, 1990, 27(2): 145-151.
- [31] ZERON Y, SKLAN D, ARAV A. Effect of polyunsaturated fatty acid supplementation on biophysical parameters and chilling sensitivity of ewe oocytes [J]. *Molecular reproduction and development*, 2002, 61(2): 271-278.
- [32] ANGUITA B, JIMENEZ-MACEDO A R, IZQUIERDO D, et al. Effect of oocyte diameter on meiotic competence, embryo development, p34 (cdc2) expression and MPF activity in prepubertal goat oocytes [J]. *Theriogenology*, 2007, 67(3): 526-536.
- [33] STURMEY R G, REIS A, LEESE H J, et al. Role of fatty acids in energy provision during oocyte maturation and early embryo development [J]. *Reproduction in domestic animals*, 2009, 44(S3): 50-58.
- [34] PRATES E G, NUNES J T, PEREIRA R M. A role of lipid metabolism during cumulus-oocyte complex maturation: Impact of lipid modulators to improve embryo production [J]. *Mediators of inflammation*, 2014, 2014: 1-11.
- [35] SCHWENK R W, HOLLOWAY G P, LUIKEN J J F P, et al. Fatty acid transport across the cell membrane: Regulation by fatty acid transporters [J]. *Prostaglandins leukotrienes & essential fatty acids*, 2010, 82(4/5/6): 149-154.
- [36] FOULADI-NASHTA A A, GUTIERREZ C G, GONG J G, et al. Impact of dietary fatty acids on oocyte quality and development in lactating dairy cows [J]. *Biology of reproduction*, 2007, 77(1): 9-17.
- [37] TATSUMI T, TAKAYAMA K, ISHII S, et al. Forced lipophagy reveals that lipid droplets are required for early embryonic development in mouse [J]. *Development*, 2018, 145(4): 1-10.
- [38] GHARIB-HAMROUCHE N, CHEËNE N, GUILLOMOT M, et al. Localization and characterization of EGF/TGF- α receptors on peri-implantation trophoblast in sheep [J]. *Journal of reproduction & fertility*, 1993, 98(2): 385-392.
- [39] MAGALHÃES-PADILHA D M, DUARTE A B G, ARA ÚJO V R, et al. Steady-state level of insulin-like growth factor-I (IGF-I) receptor mRNA and the effect of IGF-I on the *in vitro* culture of caprine preantral follicles [J]. *Theriogenology*, 2012, 77(1): 206-213.
- [40] MATSUI M, TAKAHASHI Y, HISHINUMA M, et al. Stimulation of the development of bovine embryos by insulin and insulin-like growth factor-I (IGF-I) is mediated through the IGF-I receptor [J]. *Theriogenology*, 1997, 48(4): 605-616.
- [41] JOUSAN F D, HANSEN P J. Insulin-like growth factor-I promotes resistance of bovine preimplantation embryos to heat shock through actions independent of its anti-apoptotic actions requiring PI3K signaling [J]. *Molecular reproduction and development*, 2007, 74(2): 189-196.
- [42] PETIT H V, CAVALIERI F B, SANTOS G T D, et al. Quality of embryos produced from dairy cows fed whole flaxseed and the success of embryo transfer [J]. *Journal of dairy science*, 2008, 91(5): 1786-1790.
- [43] STAPLES C R, BURKE J M, THATCHER W W. Influence of supplemental fats on reproductive tissues and performance of lactating cows [J]. *Journal of dairy science*, 1998, 81(3): 856-871.
- [44] ARMSTRONG D T, PFITZNER A P, PORTER K J, et al. Ovarian responses of anoestrous goats to stimulation with pregnant mare serum gonadotrophin [J]. *Animal reproduction science*, 1982, 5(1): 15-23.
- [45] CILIBERTI M, FRANCAVILLA M, INTINI S, et al. Phytosterols from *Dunaliella tertiolecta* reduce cell proliferation in sheep fed flaxseed during post partum [J]. *Marine drugs*, 2017, 15(7): 1-14.
- [46] 任焕景. 脂溶性维生素在动物饲料中的应用 [J]. *乡村科技*, 2020(10): 103, 105.
- [47] HOFFMAN M, 周虚. 维生素 A 在胚胎形态分化中的作用 [J]. *国外畜牧科技*, 1991, 18(4): 15-16.
- [48] 代航. 饲料添加维生素 A 对种鹅繁殖性能、抗氧化性和组织维生素 A 沉积量的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2019.
- [49] 朱芳贤, 许海涛, 孟飞, 等. 微量元素维生素对超数排卵效果的影响 [J]. *中国畜牧业*, 2014(16): 62-63.
- [50] 汪连云. 谈硒-维生素 E 在奶牛业上的应用技术 [J]. *乳业科学与技术*, 2006, 29(1): 31-32.
- [51] 王传蓉, 王加启, 周振峰. 奶牛维生素 E 和微量元素硒的营养研究进展 [J]. *饲料研究*, 2008(5): 51-54.
- [52] 罗海玲, 朱士恩, 丁金芝, 等. 脂溶性维生素对肉用绵羊超数排卵效果的影响 [C]// 田桂山. 中国青年农业科学学术年报(2004). 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 293-298.
- [53] JENKINS M Y, MITCHELL G V. Influence of excess vitamin E on vitamin A toxicity in rats [J]. *The journal of nutrition*, 1975, 105(12): 1600-1606.
- [54] 吐逊·吾守尔. 注射复合维生素 A、D 对绵羊胚胎移植应用效果的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2015, 51(23): 28-30.
- [55] RAJESH N, SHANKAR M B, DEECARAMAN M. Effect of vitamin A supplementation at different gaseous environments on *in vitro* development of pre-implantation sheep embryos to the blastocyst stage [J]. *animal*, 2010, 4(11): 1884-1890.
- [56] 王炳清. 复方维生素制剂对母猪生产性能及免疫功能的影响 [D]. 福州: 福建农林大学, 2013.
- [57] 王水莲, 薛立群, 贺建华, 等. 维生素 A 在猪早期胚胎发育期间的转运 [J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2004, 30(1): 91-94.
- [58] 魏真真, 陈威威, 王磊, 等. 孕酮维生素 D 缺乏对大鼠生殖功能的影响 [J]. *教育生物学杂志*, 2016, 4(2): 70-73.
- [59] 张振祥. 维生素 D₃ 对断奶仔猪生长性能、抗氧化性能和免疫功能的影响 [J]. *中国饲料*, 2018(18): 53-57.
- [60] HALLORAN B P, DELUCA H F. Effect of vitamin D deficiency on fertility

- and reproductive capacity in the female rat[J].The journal of nutrition, 1980, 110(8):1573-1580.
- [61] JOHNSON L E, DELUCA H F. Reproductive defects are corrected in vitamin D-deficient female rats fed a high calcium, phosphorus and lactose diet[J].The journal of nutrition, 2002, 132(8):2270-2273.
- [62] GARBEDIAN K, BOGGILD M, MOODY J, et al. Effect of vitamin D status on clinical pregnancy rates following *in vitro* fertilization[J].CMAJ open, 2013, 1(2):E77-E82.
- [63] RUDICK B J, INGLIS S A, CHUNG K, et al. Influence of vitamin D levels on *in vitro* fertilization outcomes in donor-recipient cycles[J].Fertility and sterility, 2014, 101(2):447-452.
- [64] 陈雪, 于震, 陈远华, 等. 维生素 D 缺乏对宫内胎鼠发育的影响[J].安徽医科大学学报, 2013, 48(12):1470-1472.
- [65] 解新霞, 闫素梅. 脂溶性维生素 A、D、E、K 对动物骨钙素影响的研究进展[J].饲料工业, 2010, 31(10):52-54.
- [66] CAMARGO L S A, VIANA J H M, SÁ W F, et al. Factors influencing *in vitro* embryo production[J].Animal reproduction, 2006, 3(1):19-28.
- [67] 金磊, 张子敬, 朱尚亭, 等. 抗氧化剂对家畜胚胎体外发育影响的研究进展[J].中国牛业科学, 2019, 45(6):55-58.
- [68] GUÉRIN P, EL MOUATASSIM S, MÉNÉZO Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings[J].Human reproduction update, 2001, 7(2):175-189.
- [69] TAKAHASHI M, KEICHO K, TAKAHASHI H, et al. Effect of oxidative stress on development and DNA damage in *in-vitro* cultured bovine embryos by comet assay[J].Theriogenology, 2000, 54(1):137-145.
- [70] SCHEIBYE-KNUDSEN M, FANG E F, CROTEAU D L, et al. Protecting the mitochondrial powerhouse[J].Trends in cell biology, 2015, 25(3):158-170.
- [71] ALLEN R G, BALIN A K. Oxidative influence on development and differentiation: An overview of a free radical theory of development[J].Free radical biology and medicine, 1989, 6(6):631-661.
- [72] THIYAGARAJAN B, VALIVITTAN K. Ameliorating effect of vitamin E on *in vitro* development of preimplantation buffalo embryos[J].Journal of assisted reproduction and genetics, 2009, 26(4):217-225.
- [73] 王崇睿, 罗佳捷, 杨永生. 维生素 E 在动物生产中的应用研究进展[J].饲料博览, 2012(4):39-41.
- [74] 任善茂, 陶勇, 张牧. 维生素对母畜繁殖力的影响[J].饲料博览, 2001(3):12-15.
- [75] MASSAELI H, SOBRATTEE S, PIERCE G N. The importance of lipid solubility in antioxidants and free radical generating systems for determining lipoprotein peroxidation[J].Free radical biology and medicine, 1999, 26(11/12):1524-1530.
- [76] YOUSEF M I, ABDALLAH G A, KAMEL K I. Effect of ascorbic acid and Vitamin E supplementation on semen quality and biochemical parameters of male rabbits[J].Animal reproduction science, 2003, 76(1/2):99-111.
- [77] 范振港, 肖定福. 微量元素在畜禽养殖业的应用及对环境的影响[J].饲料博览, 2019(6):19-23, 28.
- [78] 伊朗, 刘健. 营养调控技术对母羊繁殖性能的影响[J].当代畜禽养殖业, 2020(9):41-42, 54.
- [79] TOWNSEND S F, BRIGGS K K, KREBS N F, et al. Zinc supplementation selectively decreases fetal hepatocyte DNA synthesis and insulin-like growth factor II gene expression in primary culture[J].Pediatric research, 1994, 35:404-408.
- [80] HOSTETLER C E, KINCAID R L, MIRANDO M A. The role of essential trace elements in embryonic and fetal development in livestock[J].The veterinary journal, 2003, 166(2):125-139.
- [81] PIPER L R, BINDON B M, WILKINS J F, et al. The effect of selenium treatment on the fertility of Merino sheep[J].Proceedings of the Australian society of animal production, 1980, 13:241-244.
- [82] 杨玉福, 周建斌. 绵羊复合微量元素添加剂饲喂试验[J].饲料博览, 1995(4):6-9.
- [83] 梁明振, 梁贤威, 黎宗强, 等. 微量元素锌、铬、硒与动物繁殖性能[J].广西农业生物科学, 2001, 20(4):295-300.
- [84] 苏从成. 微量元素对家畜繁殖机能的影响[J].中国动物保健, 2010, 12(8):13-16.
- [85] NAZIROĞLU M, ÇAY M, KARATA S F, et al. Plasma levels of some vitamins and elements in aborted ewes in Elazığ region[J].Turkish journal of veterinary and animal sciences, 1998, 22(2):171-174.
- [86] HIDIROĞLU M. Trace element deficiencies and fertility in ruminants: A review[J].Journal of dairy science, 1979, 62(8):1195-1206.
- [87] BANTON M I, LOZANO-ALARCON F, NICHOLSON S S, et al. Enzootic ataxia in Louisiana goat kids[J].Journal of veterinary diagnostic investigation, 1990, 2(1):70-73.
- [88] BENNETTS H W, CHAPMAN F E. Copper deficiency in sheep in Western Australia: A preliminary account of the aetiology of enzootic ataxia of lambs and an anaemia of ewes[J].Australian veterinary journal, 1937, 13(4):138-149.
- [89] 李万栋, 郝力壮, 刘书杰. 铁、锌、硒三种微量元素对反刍动物作用的研究[J].青海畜牧兽医杂志, 2015, 45(4):55-58.
- [90] 张磊. 微量元素对种公牛精液品质的影响[D].扬州:扬州大学, 2006.
- [91] 杨凤. 动物营养学[M]. 2版. 北京:中国农业出版社, 2001:82.
- [92] 张乃生. 畜禽营养代谢病防治[M]. 北京:金盾出版社, 2005:105.
- [93] 吴森, 陈福财, 王燕燕, 等. 补硒对萨福克羊血清激素水平和超排效果的影响[J].中国农学通报, 2011, 27(23):32-35.
- [94] 陈福财, 张磊, 王燕燕, 等. 外源 Se 对胚胎移植受体母羊黄体发育和血清激素水平的影响[J].家畜生态学报, 2012, 33(4):43-46.
- [95] 李爱朵, 赵建华, 杜俊芳, 等. 补硒-V_E 及授精方法对萨福克羊超数排卵和受精率的影响[J].中国畜禽种业, 2015, 11(7):51-54.
- [96] HARRISON J H, HANCOCK D D, CONRAD H R. Vitamin E and selenium for reproduction of the dairy cow[J].Journal of dairy science, 1984, 67(1):123-132.
- [97] 杨志强. 硒缺乏对畜禽繁殖机能的影响[J].甘肃畜牧兽医, 1995, 25(2):27-28.
- [98] 赵向利, 张英杰. 微量元素硒在羊生产上的应用研究进展[J].中国草食动物科学, 2014, 34(S1):61-63.
- [99] 王峰. 日粮中不同锌水平对瘤胃微生物活力及代谢的影响[D].太谷:山西农业大学, 2001.
- [100] 康顺之. 家畜繁殖机能与矿物质营养的关系[J].国外畜牧学(草食家畜), 1986(3):22-24.
- [101] BASINI G, TAMANINI C. Selenium stimulates estradiol production in bovine granulosa cells: Possible involvement of nitric oxide[J].Domestic animal endocrinology, 2000, 18(1):1-17.
- [102] 罗文奇, 吴长初, 李双容, 等. 一氧化氮对大鼠卵巢中细胞凋亡的影响[C]//第三届全国解剖学技术会议论文集. 广州:中国临床解剖学杂志编辑部, 2011:95-98.
- [103] CERRI R L A, RUTIGLIANO H M, LIMA F S, et al. Effect of source of supplemental selenium on uterine health and embryo quality in high-producing dairy cows[J].Theriogenology, 2009, 71(7):1127-1137.
- [104] 吴森, 王燕燕, 陈福财, 等. 甘氨酸锌对受体羊血清激素水平、黄体数和受孕率的影响[J].西北农业学报, 2012, 21(4):6-10.
- [105] 杨钢. 内分泌生理与病理生理学[M]. 2版. 天津:天津科学技术出版社, 2000:217-218.
- [106] 边建朝, 杨晓霞, 郭晓尉, 等. 锌对低磷孕鼠发育及相关激素影响的研究[J].营养学报, 2005, 27(3):210-213.
- [107] 邓学良, 袁秀琴, 谢红卫, 等. 缺锌及补锌对大鼠甲状腺激素的影响[J].实用预防医学, 2005, 12(4):736-737.
- [108] 刘惠芳. 微量元素锌对动物繁殖性能的影响[J].畜禽业, 2003(7):31.