

## 不同试验条件对绵羊冲胚效果的影响

高峰, 李心海\* (徐州生物工程职业技术学院, 江苏徐州 221000)

**摘要** 湖羊是江浙地区常见的绵羊品种之一, 繁殖性能优越, 肉质鲜嫩, 营养丰富, 为了进一步探索湖羊的繁殖潜力, 采用 CIDR+PMSG+PG+FSH 法对湖羊进行同期发情和超数排卵, 并在此基础上对发情母羊进行腹腔镜子宫角输精; 采用相同输精密度、不同输精时间(撤栓后 48、54、60 h) 分别对发情母羊进行腹腔镜子宫角输精, 通过冲胚进行卵子受精率和可用胚胎率检查, 探究对湖羊进行腹腔镜子宫角输精时的最适输精密度与最适输精时间。结果表明, 输精密度为  $2 \times 10^8$  个/mL 组的卵子受精率和可用胚胎率显著低于其余 4 组 ( $P < 0.05$ ), 其余 4 组差异不显著 ( $P > 0.05$ ); 撤栓后 48 h 输精组与撤栓后 54 h 输精组可用胚胎率差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 但均高于撤栓后 60 h, 且差异显著 ( $P < 0.05$ ); 不同输精密度的鲜精以及不同输精时间均会对湖羊卵子受精率和可用胚胎率产生一定的影响, 输精密度为  $3 \times 10^8$  个/mL 可以作为湖羊鲜精输精的最低有效密度, 撤栓后 48~54 h 输精可以作为湖羊腹腔镜子宫角输精的最佳时间。

**关键词** 输精密度; 输精时间; 冲胚; 胚胎质量; 绵羊

中图分类号 S826 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)08-0096-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.06.022



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

## Effects of Different Experimental Conditions on Embryo Flushing Effect of Sheep

GAO Feng, LI Xin-hai (Xuzhou Institute of Biotechnology, Xuzhou, Jiangsu 221000)

**Key words** Hu Sheep is one of the common sheep breeds in Jiangsu and Zhejiang regions, with excellent reproductive performance, fresh and tender meat and rich nutrition. In order to further explore the reproductive potential of Hu sheep, CIDR+PMSG+PG+FSH method was used to conduct simultaneous estrus and superovulation of Hu sheep, and on this basis, laparoscopic uterine horn insemination was performed on the estrous ewes; Laparoscopic uterine horn insemination was performed on estrous ewes using the same insemination density and different insemination times (48, 54, and 60 hours after thrombolysis removal). The fertilization rate and available embryo rate were examined by embryo flushing to explore the optimal infusion precision and time for laparoscopic uterine horn insemination in Hu sheep. The results showed that the fertilization rate and available embryo rate of the  $2 \times 10^8$  pieces/mL group were significantly lower than those of the other 4 groups ( $P < 0.05$ ), while the other 4 groups had no significant difference ( $P > 0.05$ ); There was no significant difference in the available embryo rate between the 48 h after thrombectomy and the 54 h after thrombectomy groups ( $P > 0.05$ ), but both were higher than those at 60 h after thrombectomy, and the difference was significant ( $P < 0.05$ ); fresh semen with different precision and different insemination time have certain influence on fertilization rate and available embryo rate of Hu sheep eggs,  $3 \times 10^8$  pieces/mL could be used as the lowest effective density of fresh semen insemination in Hu sheep. 48~54 hours after embolectomy could be the best time for laparoscopic uterine horn insemination in Hu sheep.

**Key words** Infusion precision; Insemination time; Flushing embryo; Embryo quality; Sheep

湖羊是江浙地区常见的绵羊品种之一, 繁殖性能优越, 肉质鲜嫩, 营养丰富, 具有早熟、一年四季均可发情、多羔、泌乳性能优良、生长发育速度快、耐热耐湿等优良性状, 是一种适宜广泛舍饲的优良品种<sup>[1-5]</sup>。近年来, 随着腹腔镜子宫角输精技术的成熟和发展, 优良种畜的利用率越来越受到重视。在技术水平相同条件下, 提高种公羊的精液利用率, 显得尤为重要。为了进一步利用新技术开发湖羊繁殖优势, 该研究探究对湖羊进行腹腔镜子宫角输精时的最适输精密度与最适输精时间, 以期为后续湖羊繁殖技术改良提供基础参考, 加快湖羊繁殖新技术的推广。

## 1 材料与与方法

## 1.1 试验材料

**1.1.1 试验动物。**试验母羊选择 1~2 岁龄, 体重 50 kg 左右, 膘情良好, 无生殖道疾病, 未怀孕的经产湖羊母羊 80 只。试验公羊选择体格健壮, 性欲旺盛, 体重 60 kg 左右, 无生殖道疾病的湖羊公羊 10 只。母羊与公羊分开饲养。

**1.1.2 药品与仪器。**羊用阴道栓(CIDR, 南非 ZOETIS 公司生产), 规格: 每包 20 支, 每支含 0.3 g 孕酮; 兽用孕马血清

(PMSG, 宁波三生生物科技有限公司生产), 规格: 1 000 IU/瓶, 批号: 110914564; 氯前列烯醇(PGF<sub>2α</sub>, 宁波三生生物科技有限公司生产), 规格: 每支 2 mL 每支含量 0.2 mg, 批号: 110912207; 促卵泡素(FSH, 宁波第二激素厂)规格: 100 IU/瓶, 批号 110254629, 4 ℃ 条件保存。

试验仪器包括冲胚管、母羊保定台、恒温水浴锅、腹腔镜、体视显微镜、子宫钳、集精杯、手术剪、医用喷壶、止血钳、注射器、培养皿、手术刀片、医用缝合线、留置针等。

## 1.2 试验方法

**1.2.1 饲养管理。**精料选择全价颗粒料, 粗料选择苜蓿、花生秧、秸秆等青贮饲料。每日上、下午各饲喂 1 次, 置自动饮水器饮水。种公羊采精鲜精, 活力在 0.7 以上才可使用。

**1.2.2 试验动物分组与给药。**试验时间: 2021 年 10—11 月, 试验地点: 徐州湖羊养殖基地。

试验发情母羊共 80 只, 均进行同期发情和超数排卵处理, 处理过程中不分组。

**1.2.3 同期发情与超数排卵处理。**对所有母羊采用 CIDR+PMSG+PG+FSH 法进行同期发情和超数排卵处理。埋栓当天记为第 1 天, 每只母羊都埋栓 13 d, 第 11 天下午开始肌注 FSH, 每隔 12 h 注射 1 次, 连续注射 7 次, 剂量逐渐递减, FSH 总剂量为 400 IU/只。

**1.2.4 不同输精密度冲胚效果试验过程。**将经过同期发情

基金项目 徐州市科技项目(KC20048)。

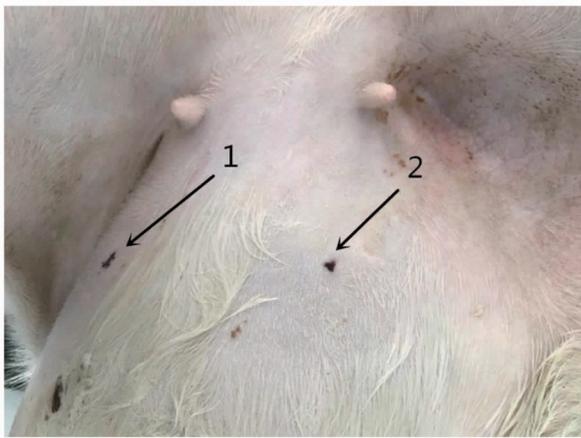
作者简介 高峰(1975—), 男, 江苏徐州人, 副教授, 硕士, 从事动物繁殖、遗传育种研究。\* 通信作者, 讲师, 博士, 从事羊疫病防控与扩繁研究。

收稿日期 2022-05-20

和超数排卵处理的发情母羊随机分为 5 组,组别分别为 I、II、III、IV、V 组,每组 10 只,撤栓后 48 h 进行腹腔镜子宫角授精。I、II、III、IV、V 组分别使用不同精液密度的鲜精,依次为  $2 \times 10^8$ 、 $3 \times 10^8$ 、 $4 \times 10^8$ 、 $5 \times 10^8$ 、 $6 \times 10^8$  个/mL;每只母羊输入 0.2 mL 精液,活力在 0.7 以上。

**1.2.5 不同输精时间冲胚效果试验过程。**将经过同期发情和超排处理的发情母羊随机分为 3 组,每组 10 只,采用相同输精密度、不同输精时间进行腹腔镜子宫角授精。根据输精时间分组如下:I 组(撤栓后 48 h)、II 组(撤栓后 54 h)、III 组(撤栓后 60 h);每只母羊输入 0.2 mL 精液,活力在 0.7 以上。

**1.2.6 腹腔镜子宫角输精。**穿刺部位一般选择在母羊乳头下方 14 cm 左右,腹中线两侧各穿刺 1 孔,见图 1 乳头下方黑点所在位置<sup>[6-7]</sup>。在左侧乳头下方 14 cm 左右,偏离腹中线左侧 3~4 cm 处插入 0.7 cm 的套管针,刺穿皮肤深度 2 cm,将套管送入腹腔。通过套管往腹腔伸入带有冷光源的内窥镜,观察卵巢上排卵点和红体状态以及数量。此时,在右侧相同位置处插入套管针,拔针后通过套管插入输精枪。用输精枪轻轻挑起卵巢,以便观察排卵点和红体。如果卵巢上有多个红体和排卵点时即可输精,若没有排卵点和红体则不必输精。找到子宫角分叉处,在一侧子宫角距离分叉 1/3 处,输精枪前端针头刺入子宫角内,应感觉到有阻力,缓慢注射 1/2 精液量,然后拔出针头,将剩余精液注入另一侧子宫角相应位置,完成输精。



注:1,2 为穿刺部位。

Note: 1,2 are puncture sites.

图 1 腹腔镜输精穿刺部位

Fig.1 Location of laparoscopic insemination puncture

**1.2.7 胚胎的采集。**输精后第 6 天对供体湖羊采卵。手术前对供体湖羊肌肉注射陆眠宁 1 mL/只。在靠近乳房的腹部作一纵行切口,用食指和中指夹住子宫角并拉出腹腔外,生理盐水冲洗,用灭菌的回形针刺破子宫角壁,并从此处插入套管针,将针芯抽出,再用回形针刺破子宫角另一端,并在此处插入冲胚管。用注射器向冲胚管内注入适量水,能够将子宫角撑开,但不能将子宫角壁撑破,在冲胚管的另一端用集卵皿收集胚胎。用注射器吸取生理盐水从套管处注入冲胚,在冲胚管的末端收集冲胚液,然后用注射器将水囊的水抽

完,从子宫角抽出冲胚管,冲洗子宫并放回腹腔,缝合腹壁,手术完成后肌肉注射陆眠宁 1 mL/只,并肌肉注射青链霉素以防发生感染。

**1.2.8 检胚。**将冲胚液静置 10 min,在室温下用体视显微镜放大 20 倍检胚。先用吸管吸取上清液并弃掉,再用吸管将胚胎转移至另一培养皿中,反复寻找胚胎,将所有胚胎检出。

胚胎质量鉴别依据:胚胎按发育状况和形态可依次分为 A、B、C、D 4 个等级。A 级,胚胎和胚龄发育阶段吻合、结构紧凑、轮廓清晰、内细胞团完整均匀、透明带光滑均匀、存在极少游离细胞,变性细胞比例少于 10%;B 级,基本符合胚胎胚龄发育一致、轮廓清晰、内细胞团较完整、透明带较均匀、变性细胞为 10%~30%;C 级,胚胎与胚胎发育阶段胚龄有差异,色泽与透明度较暗,变性和游离细胞占 30~40%;D 级,发育停滞、退化或萎缩的胚胎。其中,A 级和 B 级胚胎为可移植胚胎,其妊娠率明显高于 C、D 级胚胎。仔细严格检查收集到的胚胎,并且做好胚胎的质量鉴定分级和记录。把同级的胚胎用吸管检出放入内有胚胎保存液的培养皿,在盖上做好标记备用。

**1.3 数据处理** 冲胚数包括未受精卵和受精卵形成受精卵胚胎的总数。受精率=受精胚胎数/冲胚数 $\times 100\%$ ,可用胚胎率=可用胚胎/受精胚胎数 $\times 100\%$ 。

用 Excel 2003 软件记录试验数据并进行整理,用 SAS 软件中的 PROC FREQ 程序进行差异显著性检验。

## 2 结果与分析

**2.1 不同密度鲜精液对供体母羊冲胚的影响** 由表 1 可知,不同密度鲜精液对供体母羊腹腔镜子宫角输精后的冲胚结果有一定影响。I、II、III、IV、V 组鲜精冲胚数最高为 137 枚、最低为 127 枚;受精胚胎数最高为 128 枚、最低为 110 枚;卵子受精率最高为 93.43%、最低为 85.27%。受精胚胎中的可用胚胎数最高为 111 枚,最低为 83 枚;可用胚胎率最高为 86.72%,最低为 75.45%。I 组( $2 \times 10^8$  个/mL)与其余各组相比,无论在卵子受精率和可用胚胎率上均存在显著差异( $P < 0.05$ ),其余各组不存在显著差异( $P > 0.05$ )。

**2.2 不同输精时间对供体母羊冲胚的影响** 由表 2 可知,不同输精时间对供体母羊腹腔镜子宫角输精后的冲胚结果有一定影响。I、II、III 组冲胚数最高为 146 枚、最低为 132 枚;受精胚胎数最高为 139 枚、最低为 118 枚;卵子受精率最高为 95.21%、最低为 84.29%。受精胚胎中的可用胚胎数最高为 122 枚、最低为 93 枚;可用胚胎率最高为 87.77%、最低为 78.81%。III 组(60 h)与其余各组相比,无论在卵子受精率和可用胚胎率上均存在显著差异( $P < 0.05$ ),其余各组不存在显著差异( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

随着腹腔镜子宫角输精技术的成熟和发展,优良种畜的利用率越来越受到重视。在技术水平相同条件下,提高种公羊的精液利用率显得尤为重要。

**3.1 不同输精密度对绵羊胚胎移植供冲胚的影响** 试验结果表明,在进行湖羊腹腔镜子宫角输精时可以将精液密度稀

表 1 不同密度鲜精液对供体母羊冲胚的影响

Table 1 Effect of fresh semen with different densities on donor ewe embryo flushing

组别 Group	供体母羊数 Number of donor ewes//只	冲胚数 Blastocyst number//枚	受精胚胎数 Number of fertilized embryos//枚	受精率 Fertilization rate//%	可用胚胎数 Number of embryos available//枚	可用胚胎率 Available embryo rate//%
I	10	129	110	85.27b	83	75.45b
II	10	132	121	91.67a	104	85.95a
III	10	127	118	92.91a	101	85.59a
IV	10	134	125	93.28a	108	86.40a
V	10	137	128	93.43a	111	86.72a

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ )。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ), while the same letter indicates no significant differences ( $P>0.05$ ).

表 2 不同输精时间对供体母羊冲胚的影响

Table 2 Effect of different insemination times on donor ewe embryo flushing

组别 Group	供体母羊数 Number of donor ewes//只	冲胚数 Blastocyst number//枚	受精胚胎数 Number of fertilized embryos//枚	受精率 Fertilization rate//%	可用胚胎数 Number of embryos available//枚	可用胚胎率 Available embryo rate %
I(48 h)	10	132	123	93.18a	106	86.18a
II(54 h)	10	146	139	95.21a	122	87.77a
III(60 h)	10	140	118	84.29b	93	78.81b

注:同列不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),相同字母表示差异不显著( $P>0.05$ )。

Note: Different lowercase letters in the same column indicate significant differences ( $P<0.05$ ), while the same letter indicates no significant differences ( $P>0.05$ ).

释 7~10 倍,达到  $3\times 10^8$  个/mL,每只母羊输入 0.2 mL,有效精子数 0.42 亿~0.54 亿,其卵子受精率可达 91.67%,可用胚胎率达 85.95%。一般来讲,绵羊的精液密度为 20 亿~30 亿/mL,每次采精 1.5 mL 左右。传统的子宫颈输精和阴道人工授精普遍采用 3~4 倍稀释后,每只母羊输入 0.2 mL 的精液,这在一定程度上造成了优质精液的浪费,加上传统输精效果有限,就限制了优质精液的利用。刘桂娟等<sup>[8]</sup>在绵羊人工授精和腹腔镜输精效果比较研究中发现腹腔镜输精受胎率为 89.9%,远高于人工授精组的 39.2%。苏和等<sup>[9]</sup>在对美利奴羊、无角陶赛特羊的腹腔镜输精试验中发现腹腔镜输精受精率 92.71%,远高于人工授精组的受精率 79.33%,并且腹腔镜输精有效精子数 0.3 亿时,冲胚受精率可达 90.83%。毛凤显等<sup>[10]</sup>在腹腔镜输精对白山羊研究中,采用鲜精有效精子数 0.5 亿输精,其母羊受精率达到 85.71%。魏玉刚<sup>[11]</sup>将精液稀释 5 倍采用腹腔镜子宫角输精对卡拉库尔羊进行试验,其受胎率达到 89.8%,远高于人工授精组的受胎率 70.9%。许文海<sup>[12]</sup>在对萨福克绵羊进行腹腔镜输精技术研究中也发现,输精密度为  $3\times 10^8$  个/mL 时,其可用胚胎率可达 88.2%。从以上研究结果来看,将公羊鲜精进行多倍稀释后,受胎率仍可以达到 85% 以上,其研究结果与该次试验结果基本一致。由此可见,传统的子宫颈输精和阴道输精虽然操作方法较为简单,但是由于很多客观原因,如阴道和子宫颈弯曲程度和皱褶程度高,精子难以穿过,还容易出现倒流的现象,所以造成传统输精方法受胎率低。相比传统输精方法,腹腔镜输精操作虽然有一定难度,但是经过训练后短时间可以掌握,加之对母羊伤害并不大、受胎率远高于传统输精方

法,应该得到大力推广。另外,从试验结果来看,在腹腔镜输精背景下,一定程度上对精液进行高倍稀释,卵子受精率和可用胚胎率都会相应提高,可以节省精液,提高优质公畜精液的利用率。但是,该次试验仅涉及鲜精的使用,对于不同密度冷冻精液对腹腔镜子宫角输精的效果还有待研究。

### 3.2 不同输精时间对绵羊胚胎移植供体冲胚效果的影响

分析该次研究结果可知,撤栓后 48 和 54 h 的腹腔镜输精在卵子受精率和可用胚胎率上差异不显著,但是要高于撤栓后 60 h,且差异显著。高志英等<sup>[13]</sup>在对多浪羊的研究中发现,撤栓后 48 h 采用冻精进行阴道输精,受胎率达到 24.52%。肖西山<sup>[14]</sup>在对小尾寒羊的研究中发现,撤栓后 48~60 h 采用鲜精连续阴道输精 2 次,受胎率达到 68.33%。韩旭飞等<sup>[15]</sup>在对东北细毛羊的研究中发现,撤栓 48 h 后,腹腔镜输精受胎率达到 89.9%。王晶晶<sup>[16]</sup>在对美利奴羊的研究中发现,撤栓后 48 h 腹腔镜输精受胎率达到 90%,要远高于撤栓后 24、36 和 72 h。赵霞等<sup>[17]</sup>在对绵羊腹腔镜输精研究中发现,撤栓后 46~58 h 获得的受胎率在 89.92%~97.44%,远高于其他时间段的受胎率。张静等<sup>[18]</sup>在对乌珠穆沁羊腹腔镜输精研究中发现,最佳输精时间应在撤栓后 48~58 h,受胎率在 92.4%~94.8%。综上可知,无论是阴道和子宫颈输精还是腹腔镜输精,输精时间均为 36~58 h,与该次试验结果基本一致。绵羊排卵基本发生在发情结束前后,精子维持受精时间在 3 d 左右,卵子维持受精的时间较短,在 5 h 左右,而绵羊同期发情大致在撤栓以后的 48 h 左右。相比传统输精方式,腹腔镜输精节省优质精液的使用量和精子的运行时间。从该

(下转第 108 页)

### 3 结论与讨论

河北雾灵山国家级自然保护区药用植物资源丰富,该调查共统计药用植物 845 种,隶属于 137 科 433 属。其中,被子植物 772 种,蕨类植物 39 种,裸子植物 5 种,苔藓植物 29 种。按植物的生活类型分类,多年生草本的种类最多,有 460 种;其次是一、二年生草本植物,有 204 种;即草本药用植物共 664 种,占所有药用植物的 78.57%,其他生活类型植物只占 21.43%。

根据药用部分分类调查结果,入药部位最多的是全草类(株),其次依次为根和根茎类、茎和枝及树皮类,这 3 种入药部位主要是植物的生殖器官和营养器官,应进行合理的开发利用,并采取相应措施禁止过度采伐。河北雾灵山国家级自然保护区药用植物按照功效可分为 21 类,其中清热类数量最大。表明河北雾灵山国家级自然保护区药用植物资源丰富,能够对当地发展中药材事业起到很大的补充作用。

通过对河北雾灵山国家级自然保护区药用植物的调查研究,建立该保护区药用植物数据库,同时为开发利用药用植物提供理论依据。应通过建立药用植物标本、种子基因库、药用植物展馆等方式宣传珍稀药用植物,提高人们对药用植物合理利用的认识。

### 参考文献

- [1] 黄璐琦,陆建伟,郭兰萍,等.第四次全国中药资源普查方案设计与实施[J].中国中药杂志,2013,38(5):625-628.
- [2] 魏俊,郑维超,杨陈,等.唐家河国家级自然保护区药用植物资源及多

(上接第 98 页)

试验结果来看,在撤栓后 48~54 h 输精可以使可用胚胎率达到 87.77%,有效地保证输精效果。但是,该试验仅涉及鲜精的使用,对于不同时间段冷冻精液对腹腔镜子宫角输精的效果还有待研究。

### 4 结论

近年来,羊的腹腔镜输精技术得到了飞速的发展,而精液品质的好坏,是此项技术能否成功推广的关键。最佳输精密度和输精时间是推广腹腔镜输精技术、扩大优质公畜利用率关键技术之一。输精密度低,会导致卵子受精率下降;精液密度过高,不仅会浪费优质种质资源,也会造成恶化精子生存环境,降低精液品质。输精时间过早母羊未及时排卵,卵子不够成熟;输精时间过晚卵子会出现退化,同样难以完成受精作用。该研究通过分析不同输精密度和输精时间对鲜精腹腔镜子宫角输精效果,认为:在腹腔镜子宫角输精技术背景下,湖羊的输精最低输精密度可以设置为  $3 \times 10^8$  个/mL,高于此密度卵子受精率和可用胚胎率并没有大幅度提高,低于此密度会造成下降;最佳输精时间宜在撤栓后 48~54 h。通过最低输精密度和最佳输精时间的设置,可以大大提高优秀种公羊的利用率和覆盖面,降低种公羊的饲养规模,从人力、物力等多方面节约成本,给羊场带来更大的经济效益。

### 参考文献

- [1] 高峰,李心海,王岩.不同处理方法对湖羊同期发情效果的影响[J].山

- 样性特征分析[J].西北植物学报,2019,39(7):1307-1315.
- [3] 岳永杰,余新晓,牛丽丽,等.北京雾灵山植物群落结构及物种多样性特征[J].北京林业大学学报,2008,30(S2):165-170.
- [4] 王振杰,黄士良,金红霞,等.雾灵山药用苔藓植物资源及开发利用前景[J].安徽农业科学,2008,36(9):3735-3736.
- [5] 黄大庄,冯大领,李远坤.河北雾灵山国家级自然保护区植物图鉴[M].哈尔滨:东北林业大学出版社,2020.
- [6] 王德艺,李东义,冯学全.暖温带森林生态系统[M].北京:中国林业出版社,2003.
- [7] 张妙娟,贺学礼.河北菊科药用植物种质资源和区系分析[J].河北林果研究,2013,28(3):314-319.
- [8] 王建荣,邓必玉,李海燕,等.海南省木本科药用植物资源概况[J].热带农业科学,2010,30(2):13-18.
- [9] 萨如拉,白学良.大兴安岭南部山地药用苔藓植物多样性[J].分子植物育种,2019,17(18):6186-6197.
- [10] 郭晓莉,赵建成,彭献军.河北珍稀濒危药用植物资源研究[J].干旱区资源与环境,2010,24(4):144-149.
- [11] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴[M].北京:科学出版社,2002.
- [12] 南京中医药大学.中药大辞典[M].2版.上海:上海科学技术出版社,2006.
- [13] 项凤影,伦绪彬,孙继旭.黑龙江小北湖国家级自然保护区药用植物资源调查[J].安徽农业科学,2017,45(19):7-9,12.
- [14] 肖瑶,刘春生,白贞芳.北京松山自然保护区野生药用植物资源调查[J].亚太传统医药,2016,12(19):15-17.
- [15] 刘蕊.内蒙古高格斯台罕乌拉国家级自然保护区野生药用植物资源的调查与评价[D].呼和浩特:内蒙古师范大学,2014.
- [16] 杨淑萍,阎平,任姗姗,等.新疆北塔山地区药用植物资源及多样性分析[J].植物科学学报,2016,34(3):371-380.
- [17] 肖特,胡平,舒光明,等.四川省岳池县药用植物资源调查[J].安徽农业科学,2017,45(12):110-112,115.
- [18] 罗建,费文群,李琴,等.西康色季拉山野生药用植物资源多样性及其保护与利用[J].西北植物学报,2018,38(2):353-362.

- 东畜牧兽医,2021,42(7):6-9.
- [2] 殷雨洋,李江涛,丁志鹏,等.湖羊规模化养殖中存在的问题及对策[J].养殖与饲料,2016(11):81-82.
- [3] 李沐森,高兵,常彤,等.湖羊的品种形成、特征特性与品种保护[J].特种经济动植物,2016,19(10):8-11.
- [4] 陈家振,马月辉,刘会敏,等.湖羊的 12 个优良特性[J].现代畜牧科技,2017(11):1-2.
- [5] 李艾元,岳万福.湖羊的发展规律及其保护利用[J].现代畜牧兽医,2020(9):58-60.
- [6] 张效生,张金龙,李鹏,等.影响绵羊腹腔内窥镜输精效果因素的研究[J].中国畜牧杂志,2016,52(1):26-28,54.
- [7] 刘燕飞,李刚.羊腹腔镜输精技术注意事项[J].畜牧兽医杂志,2018,37(1):77-78.
- [8] 刘桂娟,李武.绵羊人工授精与腹腔镜输精效果比较[J].黑龙江畜牧兽医,2009(7):38-39.
- [9] 苏和,达来,邵凯,等.腹腔镜输精对绵羊超数排卵受精率的影响[J].畜牧与饲料科学(奶牛版),2006,27(5):42-43.
- [10] 毛凤显,陈浩林,廖梅,等.腹腔镜输精在贵州白山羊胚胎移植中的受精效果研究[J].黑龙江畜牧兽医,2014(20):26-27.
- [11] 魏玉刚.两种绵羊人工输精技术对受胎率的影响[J].黑龙江动物繁殖,2016,24(2):16-17.
- [12] 许文海.利用腹腔镜技术进行绵羊快速扩繁的研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2016:23-25.
- [13] 高志英,霍飞,艾尼阿木提,等.多浪羊同期发情、定时输精效果探讨[J].中国草食动物科学,2014,34(4):80-81.
- [14] 肖西山.定时输精技术在绵羊繁殖中的应用效果[J].中国畜牧杂志,2016,52(23):26-27.
- [15] 韩旭飞,卢小芳,李飞,等.定时输精技术在绵羊繁殖中的研究与应用[J].畜牧与兽医,2020,52(8):145-148.
- [16] 王晶晶.不同定时输精技术对绵羊受胎率的影响[D].石河子:石河子大学,2019:23-27.
- [17] 赵霞,马跃军,李玉荣,等.羊同期发情腹腔镜输精最佳时间的研究[J].畜牧与饲料科学,2021,42(4):46-48.
- [18] 张静,焦熙亮,高晓茜,等.不同时间单次定时输精对绵羊受胎率的影响[J].中国兽医学报,2020,40(8):1647-1651,1659.