

优质细毛羊胚胎移植技术的研究与应用

刘积凤 白晓坤* 柳楠

(吉林省农业科学院,公主岭 136100)

李凤来 张超 栾淑琴 张洪泉 周振中 马福田

(白城家畜冷冻精液站,白城 137000)

提要 1994~1997年分别在镇南种羊场宝山分场和白城市牧草良种繁育站等地进行了优质细毛羊胚胎移植技术研究。共超排处理33只供体羊,获卵261枚,其中可用胚胎208枚,平均每只供体羊获可用胚胎6.3枚。在超排羊中有优质细毛羊18只,获可用胚胎123枚,平均每只供体羊获可用胚胎6.8枚。4a间共用鲜胚胎移植受体羊156只,妊娠105只,受胎率为67.3%。共产羔羊103只,每只供体羊平均获羔羊3.12只,达到了自然繁殖水平的3倍。

关键词 优质细毛羊;超数排卵;胚胎移植;受胎率

随着生物技术的高速发展,应用超数排卵和胚胎移植(MOET)技术育种越来越被人们所重视,它不但考虑优秀种公羊的遗传作用,同时兼顾优秀母羊的遗传效应,使优秀个体基因得到最大化复制。我国在“八五”期间对奶牛MOET核心群育种方案进行科技攻关,取得了阶段性成果。为了配合全国优质细毛羊育种工作的开展,加速种羊扩繁速度,本研究以全国优质细毛羊饲养场之一的镇南种羊场宝山分场所饲养的优质细毛羊和澳斯羊为供体,以本地羊为受体,探索一条适合我国生产条件的细毛羊超数排卵和MOET技术方法,总结出一套行之有效的技术操作程序,为在我省乃至全国推广应用提供技术和经验。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

供体母羊选自镇南种羊场宝山分场所饲养的优质细毛羊种羊群(预备试验供体母羊选自同场澳斯羊基础母羊群)。供体羊年龄为4~7周岁。受体母羊选自科右前旗呼和牧场杂种母羊群和镇南种羊场繁殖母羊群,年龄在5~7周岁,供、受体羊均健康,无疾病,性周期和生殖器官正常,供体母羊为第二胎经产羊。

试验用主要药品和器械均为国内市场销售产品,其中孕马血清促性腺激素(PMSG)为内蒙古大青山制药厂生产,促卵泡素(FSH)为中国农业科学院动物研究所生产,前列腺素(PG_{2α})为上海市计划生育科学研究所生产,绒毛膜促性腺激素(HCG)为上海生物化学制药厂生产,阴道海绵塞为澳大利亚生产。

1.2 试验方法

1.2.1 同步发情

参加试验的母羊填入阴道海绵塞,当天记为0d,第13d取出,同时肌肉注射

PMSG 400 IV, 第 16 d 开始试情 2 次(每天早 6:00 点, 晚 18:00 点), 同时做好发情记录。

1.2.2 超数排卵

按 1:1.3 的比例选定超数排卵母羊, 经调整发情周期(或自然发情), 发情后第 12 d 开始肌肉注射 FSH, 总剂量为 5.0 mg, 分 3 d 注射, 每天剂量依次递减, 即: 1.2/1.2, 0.9/0.9, 0.4/0.4(分 4 d 注射的剂量为 0.9/0.9, 0.7/0.7, 0.55/0.55, 0.35/0.35), 每天早晚各注射一次。第 4 次注射 FSH 的同时肌肉注射 $PG_{2\alpha}$ 2 mL, 发情后静脉注射 HCG 1 000 IV, 同时配种(提前发情停止注射 FSH), 人工授精, 输精量增加 1 倍, 1 日 2 次, 发情终止停止输精。

1.2.3 采胚与检胚

采胚采用外科手术法进行, 采胚时间在发情 5.5~6.0 d, 胚龄处于桑椹期到囊胚期。检胚首先在低倍镜(10×)下查找胚胎, 然后再置于高倍镜(20~40×)下观察胚胎的形态、色调、分裂球的大小、均匀度、细胞的密度与透明带的间隙以及变性情况, 进行胚胎的鉴定分级和记录, 然后分装, 准备移植。

1.2.4 受体羊胚胎移植

受体羊与供体羊按 5:1 的比例准备, 发情时间与供体羊相差 ±1 d, 采用外科手术法, 术后观察两个情期不发情判定为妊娠。

2 试验结果

2.1 超排与移植结果

共超排处理 33 只供体羊, 获得 261 枚卵, 其中可用胚胎 208 枚, 平均每只供体羊获可用胚胎 6.3 枚。

4 a 来共鲜胚移植受体羊 156 只, 其中妊娠 105 只, 受胎率为 67.3%。共计产羔羊 103 只, 每只供体羊平均获羔羊 3.12 只, 达到自然繁殖水平的 3 倍。各年度超排与移植结果详见表 1、表 2。

表 1 超数排卵结果

年度	超排 只数	有效反应		黄体		获胚		可用胚胎		
		总数	%	总数	平均	总数	平均	总数	平均	%
1994	4	4	100.0	51	12.75	19	4.75	16	4.00	84.2
1995	12	11	91.6	124	10.33	93	7.75	78	6.50	83.9
1996	11	9	81.8	132	12.00	93	8.45	69	6.27	74.2
1997	6	6	100.0	80	13.33	56	9.33	45	7.50	80.4
合计	33	30	90.9	387	11.72	261	7.91	208	6.30	79.7

表 2 胚胎移植结果

年度	受体移植		受胎		产羔		
	总数	双胚	总数	%	总数	%	平均
1994	13	3	9	69.2	9	100.0	2.25
1995	59	19	37	62.7	37	100.0	3.08
1996	53	16	37	69.8	36	97.3	3.27
1997	31	7	22	70.9	21	95.5	3.50
合计	156	45	105	67.3	103	98.1	3.12

2.2 不同超排处理与超排结果

在超数排卵处理时,FSH注射总剂量均为5.0 mg条件下,分别采用分3 d(1.2/1.2, 0.9/0.9, 0.4/0.4)和分4 d(0.9/0.9, 0.7/0.7, 0.55/0.55, 0.35/0.35)不同超排天数的对比试验,其结果详见表3。

表3 激素不同超排天数与超排结果

(单位:d、枚、%)

方 式	试验只数	有效反应		黄 体		获 卵		可用胚胎		退化胚		未受精卵	
		总数	%	总数	平均	总数	平均	总数	平均	总数	平均	总数	平均
3 d组	7	7	100.0	76	10.9	57	8.14	47	6.71	3	0.43	7	1.0
4 d组	5	4	80.0	48	9.6	36	7.20	31	6.20	2	0.43	3	0.6

注:本试验仅为1995年结果

从表3可知,超排激素分3 d处理的平均获卵数(8.14)和平均获可用胚胎数(6.71)均高于4 d组,退化胚和未受精卵略低于4 d组。

2.3 不同品种与超排效果

该试验的供体母羊分别选用了优质细毛羊和澳斯羊。从表4中看出,优质细毛羊无论是从超排有效反应,还是平均获卵数和平均获可用胚胎数等其超排效果均好于澳斯羊,分别为94.4%、8.6枚和6.8枚。

表4 不同品种羊超排结果

品 种	超排 只数	有效反应		黄 体		获 卵		可用胚胎		
		总数	%	总数	平均	总数	平均	总数	平均	%
优 质 细毛羊	18	17	94.4	216	12.0	155	8.6	123	6.80	79.4
澳斯羊	11	9	81.8	120	10.9	87	7.91	69	6.27	79.3

2.4 胚胎级别、发育阶段与受胎率

从试验得知,A级胚胎的受胎率为71.4%(15/21),B级为69.2%(9/13),C级为41.6%(5/12),A、B级胚胎之间的移植受胎率比较接近,而A、B级与C级胚胎的移植受胎率差异较大。从胚胎发育阶段看,以致密桑椹胚的移植受胎率71.4%(10/14)为最高,桑椹胚次之(50.0%),早期囊胚的受胎率最低,仅为25%。

2.5 胚胎移植数与受胎率

4 a间共双胚移植受体45只,受胎38只,移植受胎率为84.4%,明显高于单胚移植受胎率60.4%(67/111)。

3 讨 论

从不同品种与超排效果对比试验来看,造成品种间的超排结果差异,主要因素是供体羊在营养水平上的差异,优质细毛羊无论在日粮水平(尤其是青绿饲料的数量和质量),还是饲养管理均优于澳斯羊。实践证明,合理的营养供给和科学的管理不仅是获得大量优质胚胎的基础,也是保证胚胎移植羔羊正常生长发育所必需的条件。

在羊胚胎移植技术中,超数排卵是关键的技术环节,只有高效稳定的超排效果,才能提

供充足的胚源。而影响超数排卵效果的因素很多,我们仅从激素给予方式、品种等方面作了初步探讨,从4a的试验研究中发现,超数排卵存在的主要问题是个体间的反应差异较大,其原因有待今后进一步研究。

影响羊胚胎移植受胎率的因素很多,如受体羊的营养、健康状态、生殖机能、胚胎质量、胚胎发育阶段、供受体发情同期化程度以及操作技术等等。本试验研究表明,胚胎级别和胚胎发育阶段等均与受胎率有着密切的关系。因此,准确鉴定胚胎,严格选择移植胚胎的质量是提高受胎率的关键。

从本项研究产羔结果表明,增加个体移植胚胎数可提高受胎率,从育种需要考虑,以移双胚较为适宜,可保证优质细毛羊育种繁殖速度和增加经济效益。

参 考 文 献

- 1 曾培坚等·老年和幼龄细毛羊的超排效果试验·中国畜牧杂志,1994,31(4):32~33
- 2 易 华·牛羊胚胎移植技术的回顾与瞻望·新疆畜牧业,1995,(1):32~35
- 3 王光亚等·奶山羊冻胚长期保存长途运输和移植试验·西北农业大学学报,1994,22(3):108~110

A Study and Utilization of the Technology of Embryonic Implantation on High Quality Fine Wool Sheep

LIU Jifeng BAI XiaoKun and LIU Nan

(Jilin Academy of Agricultural Sciences, Gongzhuling 136100)

Abstract From 1994 to 1997, Sheep embryo transplant technique was conducted in different livestock breeding station. 33 donor sheep was over ovulation and obtained 261 eggs, 298 of which were efficient, obtaining 6.3 eggs from each donor sheep in average. There was 18 fuzzi sheep of the over oviposited sheep and obtained 123 efficient embryo, obtaining 6.8 embryo from each donor sheep in average. From 1994 to 1997, 156 sheep were transplanted using fresh embryo, 105 transplanted sheep pregnant, insemination rate was 67.3%, 103 lamb were born, obtaining 3.12 lamb from each donor sheep in average. It is three times to natural breeding.

Key words Fine wool shoop, Over ovulation, Embryo tromplant, Insemination rate

(责任编辑:任 禾)