

文章编号: 1003-8701(2007)01-0044-03

特克赛尔肉羊胚胎移植效果

王大广, 吕礼良, 王晓阳, 郎洪彦, 王浩

(吉林省农业科学院畜牧分院, 吉林 公主岭 136100)

摘要: 2003~2005年, 共同期发情处理特克赛尔供体母羊60只, 发情58只, 同期发情率达96.67%; 同期发情处理受体母羊337只, 发情325只, 同期发情率达96.44%。2003年超排处理特克赛尔供体母羊14只, 查黄体142个, 采用输卵管冲胚技术回收卵137枚, 回收率96.48%, 可用胚126枚, 移植鲜胚126枚, 移植受体羊97只, 受胎率56.7%。2004~2005年超排处理特克赛尔供体母羊46只, 查黄体485个, 采用子宫冲胚技术回收卵403枚, 回收率83.09%, 有效胚327枚, 移植鲜胚217枚, 鲜胚移植受体羊186只, 受胎率54.92%; 制作冻胚110枚, 移植冻胚104枚, 冻胚移植受体羊80只, 未返情受体羊数41只, 受胎率51.25%。

关键词: 特克赛尔肉羊; 超排; 冲胚; 移植

中图分类号: S826.9*2 S814.8

文献标识码: A

羊胚胎移植技术是一项先进的家畜繁殖控制技术, 该技术可以使优秀母羊的繁殖潜力得以充分发挥。2003~2005年, 吉林省农业科学院畜牧分院与大安市肉羊胚胎移植中心合作, 利用特克赛尔肉用种羊作供体, 当地基础母羊作受体, 开展胚胎移植技术的应用研究并取得了良好效果。

1 材料与方 法

1.1 供试羊

选择健康的特克赛尔纯种肉用基础母羊和2~5岁的地方品种东北细毛羊基础母羊为供、受体羊。

1.2 药品

猪垂体促滤泡素(FSH): 宁波市激素制品厂生产, 100 IU/支; 猪垂体促黄体素(LH): 宁波市激素制品厂生产, 200 IU/支; 兽用氯前列烯醇(PG): 宁波市激素制品厂生产, 200 IU/支。

1.3 同期发情

在同期发情前2个月, 将计划用作供体母羊和受体母羊选出并进行补饲, 补饲标准根据羊群的膘情而定, 经40~50 d天补饲能达到7~8成膘即可。当预选群中的供体母羊和受体母羊有3%~5%的羊出现自然发情时, 开始连续8 d进行试情, 在发情母羊全部做上标记并记数后的第5 d, 对标记过的(发情5~13 d)母羊每只肌注PG 0.2 mg, 并在第2~3 d进行试情, 将未发情的母羊剔出并记数。

1.4 超数排卵

供体母羊在同期发情后的第15、16和17 d早6点和晚6点分别肌注促滤泡素(FSH), 每天肌注的剂量分别为70 IU、60 IU和50 IU。

1.5 输精

供体母羊肌注完促滤泡素(FSH)后开始试情, 在母羊出现发情征兆后12 h进行人工输精, 人工输精要做两次, 两次间隔约12 h。每次输入精子数不少于1亿。供体母羊首次输精后与受体母羊一起同时肌注促黄体素(LH)每只150 IU。

收稿日期: 2006-03-08

基金项目: 吉林省畜牧业管理局项目(20030068号)资助

作者简介: 王大广(1960-), 男, 副研究员, 主要从事畜牧生产应用技术研究。

1.6 输卵管冲胚与移植

在供体母羊输精后的 66~72 h, 胚胎为 2~8 细胞期时, 通过手术方法将冲胚管一端由输卵管伞部喇叭口插入约 3~4 cm 深处(打活结或用钝圆的夹子固定), 另一侧接集卵皿, 用注射器吸取 37 的冲卵液 5~10 mL, 在子宫角靠近输卵管的部位, 将针头朝输卵管方向扎入, 用手指连同输卵管和针头一起捏紧, 由助手推注射器注入冲卵液后再注入 5 mL 空气, 使冲卵液由宫管结合部流入输卵管, 经输卵管流入集卵皿, 然后进行检胚并分级。在对供体羊进行输卵管冲胚的同时做好受体母羊接受胚胎移植的手术准备, 将采集到的可用鲜胚通过手术方法沿输卵管喇叭口送入 3~4 cm 深处, 移植时不能打入气泡。

1.7 子宫冲胚与移植

子宫冲胚法是在供体羊发情配种后 6~7 d, 采用手术法将子宫暴露于创口表面后, 用套有胶管的肠钳夹在子宫角分叉处, 注射器吸入冲卵液 20~30 mL(一侧用 50~60 mL), 冲卵针头(钝形)从子宫角尖端插入, 当确认针头在宫腔内, 进退通畅时, 将硅胶管连接于注射器上, 推注冲卵液, 当子宫角膨胀时, 将回收卵针头从肠钳基部的上方迅速扎入, 冲卵液经硅胶管收集于集卵皿内, 最后用两手指和食指将子宫捋一遍, 另一侧子宫角用同样的方法冲胚, 冲胚后立即进行检胚并分级。在对供体羊进行子宫冲胚的同时做好受体母羊接受胚胎移植的手术准备, 将采集到的可用鲜胚通过手术方法移植到发情后 6~7 d 受体的黄体侧子宫角。

1.8 胚胎的冷冻保存与移植

采用三步平衡冷冻法: 冷冻液保存液为 10%的甘油及改进的 PBS 混合液, 将胚胎分别在 3%、6%、10%的甘油冷冻液中浸 5 min, 并按一定顺序装入吸管封好, 直接放入冷冻仪的冷冻槽内, 以 1 /min 速度从室温降至 -6 ~ -7 , 停 5 min 后植冰, 再停 10 min, 以 0.3 /min 降至 -36 后, 直接投入液氮长期保存。胚胎冷冻解冻复活后, 进行移植, 方法与子宫鲜胚移植相同。

2 结果与分析

2.1 同期发情效果

由表 1 可知, 供体羊同期发情率平均为 96.67%, 受体母羊同期发情率平均为 96.12%, 这一结果说明, 利用自然发情 5~13 d 的母羊做同期发情可以获得很理想的同期发情率。

表 1 供体和受体母羊同期发情效果

品种	数量(只)	同期发情数(只)	同期发情率(%)
特克赛尔羊(供体)	60	58	96.67
东北细毛羊(受体)	337	325	96.12

2.2 冲胚效果

冲胚部位分输卵管冲胚和子宫冲胚, 效果见表 2。

表 2 冲胚效果

冲胚部位	供体羊数(只)	黄体数(个)	回收卵数(枚)	回收率(%)	可用胚数(枚)				等外胚(枚)	
					合计	平均	A	B		C
输卵管	14	142	137	96.48	126	9.0	4.4	3.0	1.6	11
子宫	46	485	403	83.09	327	7.1	3.1	2.1	1.9	76
比较				13.39		1.9	1.3	0.9	-0.3	

由表 2 可知, 输卵管冲胚技术比子宫冲胚技术平均卵回收率高 13.39 个百分点; 可用胚多 1.9 枚, 其中 A 级胚胎多 1.3 枚; B 级胚胎多 0.9 枚; C 级胚胎少 0.3 枚。说明无论是冲胚数量还是质量, 采用输卵管冲胚效果均好于采用子宫冲胚效果。

2.3 胚胎移植效果

由表 3 可知, 鲜胚移植受胎率明显好于冻胚移植受胎率, 而输卵管冲胚的鲜胚移植受胎率又好于子宫冲胚的鲜胚移植受胎率, 这种结果主要还是由胚胎的质量决定的。

表 3 胚胎移植效果

胚胎来源	移植可用胚数(枚)	受体羊数(只)	未返情羊数(只)	受胎率(%)
输卵管冲胚鲜胚	126	97	55	56.70
子宫冲胚鲜胚	207	186	107	54.92
冻胚	104	80	41	51.25

3 讨 论

输卵管冲胚的胚胎回收率和胚胎质量虽然好于子宫冲胚,但输卵管冲胚易造成输卵管粘连。建议输卵管冲胚在同一供体身上每年最好只做 1 次,而利用子宫冲胚技术在同一供体身上可以重复做。

在试验中出现个别供体未受精卵多,可能与种公羊精液质量有关,所以在生产中要注意加强种公羊的早期饲养管理和配种前的调教及精液品质鉴定。

在试验中出现个别供体羊过度超排使卵巢比正常体积大 3~4 倍,造成回收卵少,这主要是与国产超排药不同批次稳定性差有关。建议在应用中要对国产超排药不同批分别做好用前小群预试,确定合适剂量后再大群使用。由于国产超排药价格明显低于进口超排药,只要通过用前小群预试确定好合适剂量,在生产中广泛使用是可行的。

在子宫冲胚中出现个别供体羊退化胚多,这主要是由于该供体羊子宫内环境差所致。建议在应用推广中要加强对供体羊的选择,对上一个繁殖季节产羔异常、出现子宫污染、产后配种难孕的母羊要剔除,不能做供体羊。

The Effect of Embryo Transfer in Te Ke Syre Meat Sheep

Wang Da-guang, LU Li-liang, WANG Xiao-yang, LANG Hong-yan, WANG Hao

(Branch of Animal Science, Academy of Agricultural Sciences of Jilin Province, Gongzhuling 136100, China)

Abstract: The synchronization of estrus of 60 Te Ke Syre donors was carried out from 2003 to 2005, among which 58 donors were in the state of synchronization of estrus. The rate of synchronization of estrus is 96.67%. The synchronization of estrus of 337 recipients was also carried out, among which 325 recipients were in the state of synchronization of estrus. The rate of synchronization of estrus is 96.44%. The super ovulation of 14 Te Ke Syre donors was carried out in 2003 and 142 yellow bodies were acquired in the ovary and 137 embryos were collected using the technique of flushing the embryos at the oviduct tube. The rate of collecting is 96.48%. There were 126 available embryos among them and all the fresh embryos were transferred into 97 recipients. The pregnancy rate is 56.7%. From 2004 to 2005, the super ovulation of 46 Te Ke Syre donors was carried out and 485 yellow bodies acquired in the ovary and 403 embryos was collected using the technique of flushing the embryos at the Womb. The rate of collecting is 83.09%. There were 327 available embryos among them, 217 fresh embryos were transferred into 186 recipients. The pregnancy rate is 54.92%. Other 110 embryos were frozen and 104 of them were transferred into 80 recipients. Among them 41 recipients were not return to the state of estrus and the pregnancy rate is 51.25%.

Key words: Te Ke Syre meat sheep; Super ovulation; Flushing embryos; Transfer

(上接第 16 页)

- HAL1 gene improves salt tolerance of transgenic tomato[J]. Plant Physiol , 2000,123 :393 - 402 .
- [7] Zhang Q,Wang SF,Zhao YX , Zhao KF ,Zhang H . Cloning of HAL1 gene and characterization for salt tolerance tomato [J]. Chin J Biotech (生物工程学报), 2001,17 : 658 - 662(in Chinese) .
- [8] 田吉林,杨玉爱,何玉科 . 转 HAL1 基因番茄的耐盐性[J] . 植物生理与分子生物学学报, Journal of Plant Physiology and Molecular Biology,2003 , 29(5) :409 - 414 .
- [9] Li Shujuan , Yang Chuanping , Liu Guifeng , Jiang Jing and Fu Chang .Transgenic Tobacco of HAL1 Gene and Its Ability of Salt Tolerance [J].Journal of Northeast Forestry University. Jul,2004 ,32(4):47- 49 .
- [10]Maqbool B , Zhong H , El-Maghraby Y, Ahmad A , Chai B ,Wang W , Sabzikar R , Sticklen B . Competence of oat shoot apical meristems for integrative transformation , inherited expression , and osmotic tolerance of transgenic lines containing HAL1 [J]. Theo A ppl Gen , 2002,105 :201- 208 .
- [11]Rohila J S , Jain GK, Wu R . Genetic improvement of Basmati rice for salt and drought tolerance by regulated expression of a barley HAL1 cDNA[J]. Plant Sci , 2002,163 (3) :525 - 532 .

吉林农业科技名人



吕礼良(LV Li-liang), 男, 1962年生, 汉族, 研究生学历, 吉林省农业科学院研究员, 畜牧分院学术委员会委员, 主要研究方向为胚胎工程技术及遗传育种。自1985年参加工作以来一直在吉林省农科院从事家畜疫病、繁殖、育种工作。

曾任吉林省农科院畜牧所兽医室主任、吉林省农科院畜牧科学分院疫病检测中心主任、肉牛中心副主任, 政协吉林省公主岭市常委。现任动物生物技术研究室主任, 主要从事家畜胚胎移植及胚胎工程技术、生殖生理、动物繁殖营养与疾病、配子发育工程、分子辅助育种等方面的研究。

兼任吉林农业大学和延边大学硕士研究生校外导师; 吉林省首批科技援藏专家、吉林省专家服务团专家、吉林长春优质种牛中心专家、长岭县人民政府畜牧业科技发展顾问、吉林省科技厅和吉林省农发办项目首席专家、长春市科技专家。

现主持的项目: 省科技厅的“优质肉羊现代生产技术科技示范”、“萨福克肉羊快繁及利用关键技术研究示范”、“藏西北绒山羊快繁技术的研究”、“草原红牛胚胎移植技术应用研究”; 省农发办的“桦甸市榆木桥镇优质高效奶牛养殖技术示范”等项目。

近3年获得的荣誉: 2004年2月被农业部授予2003年全国农业科技活动年先进工作者, 2004年1月被吉林省农科院授予2003年度吉林省农科院先进工作者, 2004、2005年被院评为年度农科院优秀职工, 2005年度政协公主岭市先进个人, 带领的生物技术研究室被院授予2003、2004年度院先进课题组, 主持的专家大院项目2006年被省科技厅授予先进课题集体, 2006年10月被科技部授予星火科技先进工作者, 2006年被院评为年度农科院优秀职工。

近3年发表的第一作者论文与主编著作:

“国内外肉牛生产现状及发展对策”、“如何使用动物(菌)苗”、“胚胎移植技术在萨福克肉羊扩繁中的应用”、“对夏季不同结构育肥猪舍小气候环境的测定”、“胚胎移植技术在肉羊快速制种中的应用”、“萨福克肉羊非繁殖季节诱导发情和超数排卵试验研究”、“不同杂交组合牛舍饲生产性能的研究”、“舍饲条件下影响母牛繁殖性能要素的研究”在公开刊物上发表; 《塑料大棚养猪技术》金盾出版社, 2005年9月出版, 2006年1月再版。

近3年获得的成果: “肉羊胚胎移植技术的应用研究”2005年通过验收, 达到了国内领先水平。“绵羊精液低温保存技术规范”中华人民共和国地方标准DB22/T1027-2003。参加的项目获省科技进步二等奖1项, 三等奖1项。

吕礼良同志学识渊博积极进取, 常年奋战在畜牧科研生产第一线, 尤其在牛羊胚胎移植技术产业化推广方面, 为吉林省优质牛羊品种的快速繁育作出了巨大贡献, 创造了较大的经济与社会价值, 并培养了一批实用技术操作人才。