

安哥拉山羊胚胎的手术回收和移植*

王光亚 马保华 赵晓娥 王建辰

(西北农业大学动物医学系, 陕西杨陵 712100)

杨蔼云 张永平 雷鑫 权富生

(陕西省农科院黄土高原治理研究所, 陕西米脂 718100)

摘要 对 35 只安哥拉山羊超排处理, 配种后第 3 天放置阴道海绵栓, 第 6 日由子宫手术回收胚胎。31 只发情配种的供体, 共回收胚胎 204 枚, 平均每只供体获可用胚 4.3 ± 3.96 枚。其中卵巢有功能黄体无大卵泡的 6 只供体, 回收胚胎 51 枚, 回收率为 87.15% ± 15.98%, 平均每只获可用胚 8.1 ± 2.96 枚。卵巢上有大卵泡、或子宫及输卵管有病变者可使回收率和可用胚胎数严重降低。由于配种后放置了阴道栓, 8 只有黄体退化倾向的供体, 平均每只仍获得可用胚 4.6 枚。移植桑椹胚和囊胚的 51 只受体, 36 只妊娠, 妊娠率为 70.6%。移植 4~16 细胞胚胎的对照组, 妊娠率为 51.6%。本研究还证明, 移植单胚较移植双胚的胚胎成羔率提高 28% 以上。

关键词 胚胎移植, 胚胎回收, 安哥拉山羊

中图分类号 S827.913.6, S814.6

世界上最早开展安哥拉山羊胚胎移植的国家是澳大利亚^[1], 其次为英国^[2]。70 年代澳大利亚每年要进口 300 万美元的“马海毛”, 使安哥拉山羊的价格暴涨, 为胚胎移植提供了市场条件, 促进了安哥拉山羊胚胎移植技术的发展, 1989~1990 年移植胚胎达 4 900 枚, 鲜胚移植妊娠率达到 56%, 冻胚移植妊娠率为 45%^[3]。安哥拉山羊在我国为新引进品种, 数量很少, 不能形成“马海毛”的生产能力。杨炳离等^[4]最先在国内开展了安哥拉山羊鲜胚移植试验, 其移植受胎率为 44%。为加速安哥拉山羊的繁育进程, 提高移植妊娠率, 1992 年我们进行试验研究, 本文仅报告阶段性试验结果。

1 材料和方法

供试羊 供体安哥拉山羊为陕西省农科院黄土高原治理研究所安哥拉山羊试验场引进和自繁的安哥拉山羊。受体羊购自陕北的绒山羊和当地山羊。

药品和器械 含 2%~5% 灭能胎犊血清的杜氏 (Dulbecc's) 磷酸盐缓冲液 (PBSS) 为国产试剂自行配制。FSH、PGF_{2α} 激素等均为国产。子宫回收和移植器械用国产材料自制^[6,7]。腹腔镜为德国制。

供体超排处理 供体羊预先用含 50~60 mg 18-甲基炔诺酮或孕酮的阴道海绵栓处理 14 d。按递减法连续肌注 FSH 3 d, 首日剂量为 150~200 IU, 总量为 300~350 IU。于注射 FSH 的第 2 日晨皮下注射 15-甲基-PGF_{2α} 0.6 mg, 下午撤除阴道栓, 第 3 日晨皮下注

射

收稿日期: 1995-06-15

* 国家“八五”攻关项目

15-甲基 PGF_{2α} 0.6 mg, 发情后人工授精或自然交配 配种后第 3 日放置阴道海绵栓, 第 6 日经子宫回收胚胎, 撤除海绵栓 或于自然发情周期第 14~16 d 按同法处理

受体同期发情处理 受体羊放置阴道海绵栓处理 12~14 d, 于供体处理的第 1 d 肌注 FSH30 IU 或 PMSD200 IU 同时撤除海绵栓, 发情终止时间与供体在 ± 1 d 内者, 发情后的第 5 日按王光亚^[5]的方法进行腹腔镜检, 确定卵巢上有功能黄体者作为移植受体。

胚胎回收和移植 用王光亚报道的方法和器械^[6,7]于配种后的第 6 日经子宫回收桑椹胚和囊胚, 用于鲜胚移植、胚胎冷冻和胚胎分割试验 同时按杨炳离等^[4]的方法, 于发情后的第 3 日经输卵管回收 4~16 细胞的胚胎, 进行鲜胚移植作为对照 经子宫回收的胚胎用自制器械, 移植于同期发情受体黄体侧的子宫角前 1/3 由输卵管回收的胚胎, 经输卵管喇叭口移植于同期发情受体黄体侧的输卵管。

2 结 果

2.1 超排处理与胚胎回收

超排处理供体 42 只, 有 36 只供体发情配种 其中用阴道海绵栓预处理的供体 35 只, 发情配种的 31 只, 回收可用胚胎 134 枚, 平均每只发情供体获得可用胚 4.3 ± 3.96 枚 供体羊卵巢和生殖器官状态与胚胎回收情况见表 1。

表 1 供体羊生殖器官状态与胚胎回收的关系*

卵巢和生殖器官状态	供体数	黄体数	回收胚胎数 (%)	可用胚数 (%)	可用胚数 / 只
卵巢上有黄体无卵泡	6	57	51(87.2 ± 15.89)	49(96.1)	8.2 ± 2.96
有 3 个以下大卵泡	8	54	41(81.9 ± 18.41)	23(56.1)	2.9 ± 2.32
有 3 个以上大卵泡	7	55	41(71.8 ± 31.62)	24(58.5)	3.4 ± 2.66
黄体有退化倾向	8	87	60(61.5 ± 37.52)	37(61.7)	4.6 ± 4.99
子宫输卵管病变**	2	18	11(61.1)	1(9.1)	0.5
合 计	31	271	204(74.7 ± 29.53)	134(65.7)	4.3 ± 3.96

注: * 用孕酮海绵栓预处理; ** 一只为一侧输卵管囊肿, 一只为子宫浆膜上遍布珍珠状结节。

由表 1 可见, 用阴道海绵栓预处理的发情配种供体中, 巢上有正常黄体而无大卵泡时, 胚胎回收率高, 可用胚胎比率也高。卵巢上有正常黄体同时存在大卵泡时, 其胚胎回收率和可用胚胎比率降低。2 只子宫或输卵管有明显的病理变化的供体, 其回收率和可用胚比率最低。黄体变小、色淡、有退化倾向的 8 只供体, 由于配种后第 3 天放置了阴道海绵栓, 仍可回收到相当数量的胚胎。未用阴道海绵栓预处理的 7 只供体, 有 6 只发情配种, 其中 1 只有 12 个退化倾向的黄体 (配种后放置阴道海绵栓) 回收到 12 枚可用胚; 另 2 只黄体退化 (其中 1 只还伴有卵泡) 仅回收到 1 枚退化胚; 其余 3 只于腹腔镜检查时发现黄体早期退化或卵泡囊肿未进行手术回收。平均每只发情供体仅获得可用胚 2.0 枚。

2.2 鲜胚移植

移植受体的妊娠及产羔情况见表 2, 移植经子宫回收的桑椹胚和囊胚的受体妊娠率, 明显高于移植经输卵管回收的 4-16 细胞胚胎的受体

表 2 不同胚龄胚胎移植产羔结果

胚龄	年度	移植受体数	妊娠数 (%)	产羔数 (%)
4-16 细胞	1993	217	112(51.6)	78(69.6)
桑椹胚~囊胚	1992	36	24(66.7)	26(108.2)
	1994	15	12(80.0)*	12(100)

注: * 有 2 只流产, 10 只妊娠受体产羔 12 只。

2.3 移植单胚与双胚

受体移植单胚与双胚的妊娠和产羔结果见表 3, 移植单胚的胚胎成羔率显著高于移植双胚。

表 3 移植单胚与双胚的妊娠和产羔结果

移植胚胎数	受体数	妊娠数 (%)	产羔数	胚胎成羔率 (羔数/胚数)
双胚	13	9(69.2)	11	42.3(11/26)
单胚	38	28(73.6)	27	71.1(27/38)

注: 移植双胚和单胚的妊娠受体各有一只发生流产

3 讨 论

3.1 影响子宫胚胎回收率的因素

回收胚龄较高的胚胎, 需经子宫回收。经子宫回收胚胎, 术后生殖器官的粘连率也低于输卵管回收^[2], 术后绝大多数供体可在当年配种受胎, 对供体的繁殖力影响小。但子宫回收的手术方法和器械不当很难获得高的回收率。本试验所采用的子宫回收方法和器械是成熟的。超排处理的供体山羊, 卵巢反应良好, 卵巢上只有功能黄体, 无未排卵的大卵泡时, 其回收率平均可达 $87.15\% \pm 15.98\%$, 胚胎可用率高达 96% 。卵巢上有大卵泡或黄体早期退化可影响回收率和胚胎可用率。这与 Tervit 等^[2]的研究结果一致。另外, 子宫及卵巢的病理状态也可使回收率严重降低。超排处理的激素质量、处理程序和气候因素等均可影响供体的卵巢反应, 从而影响回收率。据作者观察, 卵巢反应异常、卵巢上未排卵的大卵泡多于黄体数时, 其回收率极低, 且回收到的多为不受精卵。这可能与激素分泌范型改变有关。据观察, 我国陕北山羊的发情周期长短在个体间差异很大, 即使同一个体每个周期也不恒定, 这就给超排的安排造成困难, 易导致超排失败。超排前用孕酮海绵栓预处理, 可改善超排效果, 提高胚胎回收率和可用胚胎数。超排羊配种后第 3 天放置阴道海绵栓, 对防止黄体早期退化导致的胚胎退化有一定作用。8 只有黄体退化倾向的供体, 由于放置了阴道海绵栓, 其胚胎回收率仍可达 $61.5\% \pm 37.52\%$, 可用胚占 61.7% , 每只仍平均获得 4.6 ± 4.99 枚可用胚。而早期的研究^[6]证明发生黄体早期退化时, 胚胎回收率仅为 27% 。

子宫回收胚胎不但可回收胚龄较高的胚胎, 移植成功率高, 而且对供体的手术损伤也小, 术后一般均能在当年配种受胎。1993 年回收胚胎的 31 只供体, 1994 年, 除 2 只为多年来一直是屡配不孕羊外, 有 26 只产羔, 当年配种受胎者达 90% 。有趣的是有一只供体

由于回收胚胎时已处于繁殖季节末期,为不影响其当年配种,将回收出的胚胎又向其子宫角内移植 2 枚,次年产羔 1 只。

3.2 回收和移植部位与成功率的关系

我们的研究证明,由输卵管回收的 2~4 细胞胚的移植成功率为 25%,由子宫回收的奶山羊桑椹胚和囊胚的冻胚移植成功率可达 60%^[8]。本研究经输卵管回收输卵管移植的胚胎移植成功率高于杨炳离^[4]的结果,低于 Evans^[3]的结果。而经子宫回收的桑椹胚和囊胚的移植成功率平均高达 70.6%,1994 年的移植成功率达 80%。山羊发情的持续期不同(为 1~3 d),由于山羊排卵发生于性兴奋将近结束时,因此应以发情结束做为判断同期的标准,才可望获得较高的移植成功率。此外,在发情季节早期,由于受体羊发情不规则,多呈现短周期,移植成率很低。在陕北 10 月中旬以后移植成率较高。1994 年 9 月进行超排药物剂量试验时所回收到的胚胎,为避免浪费,移植了 7 只受体,仅有 1 只受体妊娠产羔。

3.3 移植胚胎数与成羔率的关系

移植单胚与双胚在妊娠率方面差异不显著,但由于受体羊在自然情况下多为单胎,移植双胚所获得的双羔率很低,移植单胚时的成羔率较移植双胚时高出 28.8%,因此以移植单胚较为合适,这对于提高胚胎利用率和受体繁殖率都有益处。

参 考 文 献

- 1 Armstrong D T, Miller P, Walton E A, et al. Endocrine response and factors which limit the response of follicles to PMSG and FSH Embryo transfer in Cattle, Sheep and Goats Eds. Shelton J Trounson AO, and Moore NW. Sydney Soc. reprod Biol. 1982 8- 15
- 2 Tervit H R, Goold P G, McKenzie R D, et al. Techniques and success of embryo transfer in Angora goats, New Zealand Veterinary Journal, 1983, 31: 67- 70
- 3 Evans G. 著;马玉昆译.繁殖技术在澳大利亚畜牧业中的应用.国外畜牧技术, 1992, 19(3): 16- 194
- 4 杨炳离,杜方义,韩涛等.山羊绵羊胚胎移植初报.见:陕西省科学技术委员会编,农业生物技术,西安:陕西科学技术出版社, 1990
- 5 王光亚,马保华.腹腔镜技术在山羊胚胎移植中的应用.西北农业大学学报, 1988, 15(4): 73- 78
- 6 王光亚,马保华,王建辰等.山羊胚胎子宫回收和移植的手术方法.见:陕西省科学技术委员会编,农业生物技术,西安:陕西科学技术出版社, 1990
- 7 王光亚,段恩奎.山羊胚胎工程.陕西杨陵:天则出版社, 1993
- 8 王光亚,马保华,段恩奎等.奶山羊胚胎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

Surgical Collection and Transfer of Embryos in Angora Goat

Wang Guangya Ma Baohua Zhao Xiaoe Wang Jianchen

(Department of Veterinary Science, Northwestern Agricultural University, Yangling, Shaanxi 712100)

Yang Aiyun Zhang Yongping Lei Xin Quan Fusheng

(Shaanxi Institute of Loess Plateau Control, Mizhi, Shaanxi 718100)

Abstract 35 female Angora goats, pretreated with progesterone vaginal sponges for

14 days were superovulated with FSH and 31 goats showing estrous were mated. Vaginal sponges were inserted again on the 3rd day after mating and embryos were collected surgically on the 6th day. 204 embryos were recovered with a mean recovery rate of 75. 9% , among which 65. 7% embryo was transferable. Each donor yielded 4. 3 transferable embryo on average. However, 51 embryos were collected from 6 donors with 57 functional corpora lutea (CL) and without large follicles. The recovery rate and the number of transferable embryo decreased seriously when there were large follicles on ovaries or pathological changes in uteri. Vaginal sponge inserted after mating prevented in a certain degree embryo degeneration resulted from CL degeneration. Therefore, 37 transferable embryos were collected from 8 donors with a tendency of CL degeneration. 70. 6% (36/51) recipients became pregnant after transferred morulae and blastocysts collected from uteri whereas 51. 6% recipients did for the 4- 16 cell embryos transferred and collected from oviducts. The survival rate of the embryo was 20% higher in single embryo transfer than that in double embryo transfer.

Key words embryo transfer, embryo collection, angora goat

· 简 讯 ·

我校“八五”科技成果概览

“八五”期间我校共有 2189人次参加了 298项科学研究课题,其中国家科技攻关课题 13项,部委重点课题 25项,国家自然科学基金 61项,陕西省科技攻关课题 78项,科研经费总额为 1771. 5万元。

“八五”期间我校共有 62项研究课题通过鉴定,其中达到国际水平的 19项,国内首创 11项,国内领先 23项;通过品种审定的农作物品种共 11个,其中小麦品种 10个,玉米品种 1个。

“八五”期间,我校共申报专利 27项,获专利权 9项

“八五”期间,我校共承担各类推广项目 85项(仅指列入推广计划的项目),获鉴定成果 14项,累计推广农业实用技术成果 100多项次,直接经济效益达 7亿多元;通过良种繁育、科技推广、科技承包工作,使地方农村经济净增产值 20多亿元。

“八五”期间,我校共获各级研究成果奖励 101项次,其中国家级 2项,部(省)级 51项,厅(局)级 48项。共获省级推广成果奖 11项。

“八五”期间,我校共出版科技著作 356部,其中专著 137部,译成外文的专著 3部,教材 136部,科普著作 80部,发表科技论文 3014篇,其中国外刊物发表 117篇,全国性刊物发表 1860篇,地方性刊物发表 1037篇

(代 军 桂党会)