

不同季节对牛冻融胚胎移植效果的影响

文志平¹, 阎萍^{2,3*}, 高 彥¹, 张海滨¹, 才让闹日¹, 徐才让¹

(1. 甘肃省甘南州畜牧工作站, 甘肃 合作 747000; 2. 中国农业科学院兰州畜牧与兽药研究所, 兰州 730050;

3. 甘肃省牦牛繁育重点实验室, 兰州 730050)

摘 要: [目的] 为探究不同季节(月份)对西门塔尔牛冻融胚胎移植效果的影响。[方法] 分析 2015 年 10 月—2017 年 8 月在张掖和定西地区移植冻融胚胎 143 枚, 其中春、夏、秋、冬分别移植 36 枚, 58 枚, 45 枚, 4 枚。[结果] 在本试验条件下, 春、夏、秋、冬的妊娠率分别是 61.11% (22/36), 72.41% (42/58), 80.00% (36/45), 25% (1/4); 春、夏、秋、冬的流产率分别是 31.82% (7/22), 23.81% (10/42), 30.55% (11/36), 100% (1/1); 经检验, 组间差异极显著 ($P < 0.01$)。7 月中旬, 9 月, 10 月妊娠率均在 80% 以上, 4 月和 7 月下旬均在 60% 左右, 1 月只有 25%。[结论] 在甘肃秋季是牛冻融胚胎移植较佳的季节。

关键词: 不同季节; 胚胎移植; 冻融胚胎; 妊娠率; 流产率

中图分类号: Q78

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2019)05-0010-04

应用现代生殖技术加速品种改良及扩大种群是目前国际上推动畜牧业、尤其是养牛业发展的重要途径之一^[1]。胚胎移植技术是畜牧业生产中继人工授精后家畜繁殖技术的又一次重大改革^[2]。据报道, 采用该技术建立一个优秀奶牛核心繁育群的速度比一般繁育技术要提高 10 倍以上^[3]。随着超数排卵、活体采卵、细胞培养、性别控制、体外受精、转基因技术、克隆技术、胚胎保存等与动物繁殖与育种相关的现代生物技术的发展与完善, 已经能够批量生产高产甚至具有不同特性的玻璃化冷冻细管胚胎。玻璃化冷冻法大大降低了胚胎生产的条件和成本, 细管保存简化了胚胎移植的过程, 使胚胎移植可以变得常规化。冻融胚胎的平均妊娠率已经从原来 40% ~ 50% 提高到了 60% ~ 70%, 已经达到了国际领先水平。尽管不同季节对西门塔尔牛胚胎移植的影响研究较多, 但不同地域气候条件差别很大。为了解在甘肃不同的季节(月份)对西门塔尔牛冻融胚胎移植的影响, 2015 年 10 月—2017 年 8 月在定西和张掖地区西门塔尔牛冻融胚胎移植 143 枚, 对其移植结果进行统计分析, 为冻融胚胎移植在甘肃更好的推广提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验时间与地点 试验于 2015 年 10 月—2017 年 8 月在甘肃省高台县甘肃共裕高新农牧科技开发有限公司、定西博峰肉牛改良繁育中心有限公司和陇西县永兴养殖有限公司开展。

1.1.2 试验地气候概况 高台县的位于河西走廊中部, 黑河中游下段, 气候属于大陆沙漠干旱型气候, 年均气温 7.4 ℃。县境内有黑河等 6 条河, 全县有中小型水库和塘坝 26 座, 水资源充足。陇西县位于甘肃省东南部, 气候属于温带大陆性季风气候, 多属温和半干旱区, 年平均气温 8.1 ℃。

1.1.3 胚胎 由甘肃省家畜繁育中心提供。

1.1.4 药品与器械 所用药品有: ① PG(氯前列醇钠)(宁波第二激素厂制备, 规格 10 × 2 mL; 0.2 mg); ② 盐酸利多卡因注射液(规格 5 × 5 mL; 0.1 g); ③ 酒精和高锰酸钾。器械涉及: ① 卡式移植枪、软硬外套(法国进口)和液氮罐; ② 一次性注射器、温度计 4 支、解冻盒、长臂镊子、止血钳和指甲刀或者剪刀以及一些清洗和消毒用品。

收稿日期: 2019-05-16 修回日期: 2019-06-12

基金项目: 中国农业科学院牦牛资源与育种创新团队项目(CAAS-ASTIP-2014-LIHPS); 现代肉牛牦牛产业技术体系项目

作者简介: 文志平(1985—), 男, 甘肃临潭人, 助理畜牧师, 主要从事动物科学研究。E-mail: 384162144@qq.com

* 通讯作者: 阎萍(1963—), 女, 山西运城人, 博士, 研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。E-mail: wujp@gsagr.

ac.cn

1.2 方法

根据冻融胚胎移植的需要对西门塔尔牛群进行微调日粮和饲养管理,选择适合移胚的受体母牛。在 2016 年 3 月—2017 年 8 月在甘肃共裕高新农牧科技开发有限公司(以下简称共裕)的西门塔尔牛冻融胚胎移植 6 批,2016 年的 4 月、5 月、7 月(2 次)和 9 月(2 次),累计达 100 头;博峰肉牛改良繁育中心有限公司(以下简称博峰)2016 年 6 月、8 月(2 次)西门塔尔牛冻融胚胎移植累计 22 头;陇西县永兴养殖有限公司(以下简称永兴)2016 年 1 月、6 月和 10 月累计移植西门塔尔牛冻融胚胎 21 头,三厂总计 143 头。

1.2.1 同期发情的方法 PGF_{2α} I 和 PGF_{2α} II。每头一次注射 2.5 支(0.5 mg)氯前列醇。PGF_{2α} II 二次注射间隔时间为 11 d,在上午 9:30 之前完成注射,注射当日为 0 d,注射后 2~4 d 观察和记录发情情况。

1.2.2 胚胎移植 在发情后(发情当日为 0 d)的第 6 天下午检查黄体质量,黄体直径在 0.7 cm 以上有明显排卵点的受体牛确定为合格。第 7 天下午 17:00 开始移植。按照细管冻融胚胎移植的操作规范移植,本组试验的解冻温度为 35~36℃之间。在移植后 60 d 通过直肠检查确定妊娠情况。

1.2.3 数据处理 用 Excel 软件对试验数据进行初步处理,采用数据统计软件 SPSS 17.0 的单因素

方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 氏法进行差异显著性分析 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 不同月份对西门塔尔牛冻融胚胎移植效果

由“共裕”冻融胚胎移植统计结果(表 1)可以看出,5 月中旬的这一组妊娠率最高(100%),其次是 9 月的两批(83.33%),第三是 7 月中旬(80%)、4 月中旬(61.11%)和 7 月底 8 月初的较低(60.89%);5 月中旬这一组流产率(0)最低,7 月中旬(12.5%)比较低,4 月中旬(31.82%)、7 月底 8 月初的低(35.75%)和 9 月下旬相对较高,9 月份中旬最高(50%);5 月中旬的单个活犊需胚胎数最低(1 枚/头)。经检验,组间妊娠率、流产率和单个活犊需胚胎数差异极显著($P < 0.01$)。可能是 4 月相对较冷、7 月下旬太热而引起妊娠率相对较低,累计流产率高达 30.98%。主要是因为“调圈”引起的相互追赶、爬跨甚至摔倒引起的机械性流产;寒冷的冬天牛群喝冰水、水泥地面太光滑有冰滑倒摔伤也是引起流产的主要因素之一。由“博峰”(表 2)的不同月份冻融胚胎移植统计结果可以看出,不同月份妊娠率、流产率差异显著。由“永兴”(表 3)可以看出,2016 年 1 月 7 日移植失败,表明了气温太低和光照不足的情况下不易做胚胎移植。

表 1 “共裕”西门塔尔牛冻融胚胎移植统计结果

日期 (年-月-日)	移植数/头	妊娠数/头	妊娠率/%	流产数/头	流产率/%	单个活犊需 胚胎数/枚
2016-04-16	36	22	61.11 ^d	7	31.82 ^d	2.25 ^b
2016-05-16	7	7	100.00 ^a	0	0.00 ^f	1.00 ^e
2016-07-19	10	8	80.00 ^c	1	12.50 ^e	1.42 ^d
2016-07-30	23	14	60.86 ^e	5	35.71 ^e	1.43 ^d
2016-09-12	12	10	83.33 ^b	5	50.00 ^a	2.40 ^a
2016-09-23	12	10	83.33 ^b	4	40.00 ^b	2.00 ^c
合计/平均	100	71	71.00	22	30.98	1.96

注:同列数据上标相同小写字母表示两者之间差异不显著($P > 0.05$);标有不同小写字母表示两者之间差异显著($P < 0.05$)。下同。

表 2 “博峰”西门塔尔牛冻融胚胎移植统计结果

日期 (年-月-日)	移植数/头	妊娠数/头	妊娠率/%	流产数/头	流产率/%	单个活犊需 胚胎数/枚
2016-06-10	9	6	66.67 ^b	4	66.67 ^a	4.50 ^a
2016-08-15	4	3	75.00 ^a	0	0 ^c	1.33 ^c
2016-08-26	9	6	66.67 ^b	2	33.33 ^b	2.25 ^b
合计/平均	22	15	68.18	6	40.00	2.44

表 3 “永兴”西门塔尔牛冻融胚胎移植统计结果

日期 (年-月-日)	移植数/头	妊娠数/头	妊娠率/%	流产数/头	流产率/%	单个活犊需 胚胎数/枚
2016-01-07	4	1	25.00 ^c	1	100 ^a	无活犊
2016-06-30	9	7	77.78 ^b	0	0 ^b	1.28 ^a
2016-10-22	8	7	87.50 ^a	0	0 ^b	1.14 ^b
合计/平均	21	15	71.42	1	6.67	1.50

2.2 不同季节对西门塔尔牛冻融胚胎移植效果

2016 年立春、立夏、立秋、立冬的日期分别是 2 月 4 日、5 月 5 日、8 月 7 日、和 11 月 7 日;2016 年 6 月 21 日是夏至,12 月 21 日是冬,以此作为标准对 3

个地区的胚胎移植情况按季节进行统计,相对宏观地分析不同季节对西门塔尔牛冻融胚胎移植的影响,秋季妊娠率最高 80%,结果见表 4。

表 4 不同季节冻融胚胎移植统计结果

季节	移植数/头	妊娠数/头	妊娠率/%	流产数/头	流产率/%	单个活犊需 胚胎数/枚
春季	36	22	61.11 ^c	7	31.82 ^b	2.40 ^a
夏季	58	42	72.41 ^b	10	23.81 ^d	1.81 ^b
秋季	45	36	80.00 ^a	11	30.55 ^c	1.80 ^b
冬季	4	1	25.00 ^d	1	100.00 ^a	—
合计/平均	143	101	70.63	29	28.71	1.99

3 讨 论

3.1 不同月份对冻融胚胎移植的影响

本试验结果在 5 月、6 月(在夏至以前)、8 月(在立秋以后)、9 月、10 月上旬、10 月中旬适宜做胚胎移植与陈江凌等^[4](试验地河南)的研究结果“1—2 月和 5—6 月份是荷斯坦牛冷冻胚胎移植的最佳时间”有差异。河南大部分地区属于温带季风气候,1—2 月河南已经回暖,处于大西北的甘肃气温还很低。

3.2 不同季节对冻融胚胎移的影响

本试验是在规模养殖场草料相对稳定的情况下进行,季节对西门塔尔牛胚胎移植造成的影响不考虑因季节变化而造成的饲草料的变化,主要是因气候的变化而引起。秋季妊娠率最高 80%,其次夏季 72.41%,春季 61.11%,冬季最低 25%。秋季是最佳的冻融胚胎移植的季节,这一结果与殷宗俊等^[5]研究的结果一致;夏季妊娠率高于春季这一结果与蔡周山等^[6]研究(凉州区)春、秋季的受胎率(55.09%)较高夏季(52.69%)的结果有差异,2 个试验都在甘肃的河西走廊气候差异不大,造成这一差别的主要原因可能是在规模养殖场与在农户条件下的饲养管理的差异造成,也可能与胚胎的品种(奶牛)与受体品种(西杂)是否一致有关。秋季的妊娠率(80%)高于夏季的(72.41%),冬季的 25%

最低,与孙凤俊等^[7]研究(试验地点内蒙古和北京)结果“春季受胎率最高(71%),其次是冬季(63.2%),最低是秋季(60.6%)”不一致,内蒙古属于温带大陆性气候和温带季风气候,北京属于温带季风气候,而本试验的主要基地高台属于大陆沙漠干旱型气候,气候差异是可能造成春季受胎率高于秋季的主要原因,冬天受胎率的差异可能是养殖场是否采取取暖措施有关;本试验结果与吴眩等^[8]的研究结果“(试验地西安)春季胚胎移植受胎率最高(60%),其次是冬季(52%),最后是秋季(48%)”差别很大。西安的气候暖温带半湿润大陆性季风气候。从以上讨论可以看出,不同的省份气候一般不属于同一类型,甚至同一省的不同地区气候差异也较大,同一季节(月份)的气候条件在不同的地区差异较大,甚至同一个县的不同乡镇气候条件也不同,相同的地方因厂区的圈舍的设计差异也会造成饲养场的微环境的差异,因而不能生搬硬套,应根据不同饲养场的地理位置、饲草料来源和圈舍以及当地的历史天气预报和近期的天气状况、基础母畜的存栏情况,以及牛犊的饲养条件做出全面详细计划。

4 结 论

在甘肃秋季是西门塔尔牛冻融胚胎移植最佳的季节,春天和夏天可以根据具体天气情况适当的进行胚胎移植,冬季不宜。具体来说,在 5—6 月(在

夏至以前)、8月(在立秋以后)至10月中旬适宜做胚胎移植;3—4月、10月下旬至11月(立冬前)可以移植,但预产期在寒冷的冬天或者盛夏对母子均有不利影响,不建议移胚;7月、12月和1月,太热或者太冷不适宜移植,2月春节前后,劳动力短缺不便移植。总之,在滴水成冰的寒冬和夏阳酷暑之时不宜做同期发情、胚胎移植和产犊。流产率和单个活犊所需胚胎与后期的饲养管理有关。

参考文献:

- [1] 孙凤俊,吴胜权,张佳谊.影响奶牛胚胎移植效果的主要因素分析[J].中国奶牛,2016(1):16-19.
- [2] 岳奎忠,罗明久,武浩楠,等.分离后精子输精对超排奶牛卵子受精和胚胎质量的影响[J].中国畜牧杂志,2008(3):10-12.
- [3] 王加启.现代奶牛养殖科学[M].北京:中国农业出版社,2011.
- [4] 陈江凌,汪聪勇,王现军,等.河南省荷斯坦牛冷冻胚胎移植效果分析[J].中国奶牛,2016(2):12-14.
- [5] 殷宗俊,龙学仁,许瑞锋,等.受体牛品种和移植季节对胚胎移植妊娠率的影响[J].中国畜禽种业,2006(6):51-59.
- [6] 蔡周山,李建新,李岳灿,等.以西杂母牛为受体采取胚胎移植技术繁育良种奶牛的应用研究[J].中国牛业科学,2016,42(1):10-13.
- [7] 孙凤俊,吴胜权,张佳谊.影响奶牛胚胎移植效果的主要因素分析[J].中国奶牛,2016(1):16-19.
- [8] 吴眩,程英虎,杨璐,等.影响荷斯坦牛胚胎移植受胎率因素的研究[J].中国奶牛,2015(10):21-22.
- [9] 娄瑞娟,罗利龙,张霞,等.巴斯德毕赤酵母表达系统的研究进展和前景展望[J].生物学杂志,2010,27(5):73-76.

Effects of Different Seasons on the Transplantation Result of Frozen-thawed Embryos of Cattle

WEN Zhi-ping¹, YAN Ping^{2,3*}, GAO Ga¹, ZHANG Hai-bin¹, CAI RANG Nao-ri¹, XU Cai-rang¹

(1. Animal Husbandry Workstation of Gannan Tibetan Autonomous Prefecture, Hezuo, Gansu 747000;

2. Lanzhou Institute of Husbandry and Pharmaceutical Sciences, Chinese Academy of Agricultural Science, Lanzhou 730050;

3. Key Laboratory for Yak Breeding Engineering, Lanzhou 730050)

Abstract: [Objective] It was to explore the effects of different seasons (months), on the transplantation of frozen-thawed embryos of Simmental cattle in Gansu province. [Method] Analysis of 143 freeze-thaw embryos transferred in Zhangye and Dingxi from October 2015 to August 2017, including 36, 58, 45 and 4 embryos respectively in spring, summer, autumn and winter. [Result] The results showed that pregnancy rate in spring, summer, autumn and winter respectively was 61.11% (22/36), 72.41% (42/58), 80.00% (36/45), 25.00% (1/4); that abortion rate of cattle in spring, summer, autumn and winter respectively was 31.82% (7/22), 23.81% (10/42), 30.55% (11/36), 100% (1/1). Differences among groups were extremely significant by Chi-square testing ($P < 0.01$). Rate of pregnancy of the second ten-day period of July, September, October are all over 80%; that of April and the third ten-day period of July was about 60%; that of January was only 25% (1/4). [Conclusion] Autumn was better season for transplantation of frozen embryos in Gansu province.

Key words: different seasons; embryo transfer; frozen-thawed embryo; pregnancy rate; abortion rate