

德系乳肉兼用型西门塔尔牛胚胎移植效果研究

伍丽仙¹, 陈永坡¹, 王成高¹, 张立喜¹,
赵敏², 龙俊³, 佟万祥³, 和占星^{4*}

(1. 云南文山州畜牧站, 云南 文山 663099; 2. 云南文山州动物疫病预防控制中心, 云南 文山 663099;
3. 云南马关县畜牧技术推广工作站, 云南 马关 663700; 4. 云南省草地动物科学研究院, 昆明 650212)

摘要: [目的] 建立德系乳肉兼用型西门塔尔牛群体, 探索文山牛快速扩繁和生产性能提升技术。 [方法] 在马关县从 600 头文山黄牛、西本杂、安本杂和短本杂牛母牛中选择 270 头, 用 CIDR + PG 法进行同期发情处理, 选择黄体合格的受体, 采用非手术法移植德系乳肉兼用型西门塔尔牛胚胎, 在移植后 60 ~ 90 d 通过直肠检查法进行妊娠诊断, 确定妊娠率, 跟踪调查产犊情况, 并测定胚胎移植所产犊牛的初生体重和主要体尺指标。 [结果] 受体牛同期发情处理 270 头, 胚胎移植 87 头, 妊娠 28 头, 移植妊娠率 32.18%; 妊娠母牛中产犊 17 头, 产犊率 60.71%, 产犊 19 头, 成活 16 头, 产犊成活率 84.21%。公母犊牛平均的初生重 33.00 kg, 体高 69.50 cm, 体斜长 62.19 cm, 胸围 72.69 cm, 管围 13.50 cm。 [结论] 首次在水山州开展了牛胚胎移植获得成功, 杂交牛受体的移植妊娠率极显著或显著高于文山牛受体, 秋季移植的妊娠率极显著高于春季和冬季的。提示以杂交牛为受体在秋季进行胚胎移植可有效提高移植成功率。

关键词: 德系西门塔尔牛; 胚胎移植; 同期发情; 马关县; 文山牛

中图分类号: S827.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2020)02-0029-05

德系西门塔尔牛(弗莱维赫牛)是由瑞士西门塔尔牛和德系红荷斯坦牛杂交, 并引入部分其他品种血液选育而成^[1], 是世界著名的乳肉兼用牛品种之一^[2]。弗莱维赫牛遗传稳定, 具有产奶和产肉性能高, 适应性强等优良特性^[3-4], 与其他品种牛杂交后, 更能体现出其优越性, 对改良中国黄牛具有积极的意义^[5]。我国自 2008 年启动“德系西门塔尔乳肉兼用牛区域试验示范推广项目”, 通过引进德国优良的乳肉兼用德系西门塔尔牛冷冻精液与中国西门塔尔牛及其杂交牛、黄牛等进行杂交, 大大提高了中国西门塔尔牛及其杂交牛等群体的日增重、产肉性能和产奶性能, 杂交改良效果好, 综合养殖效益明显, 适合在我国推广应用^[2,6-7]。我国已从德国引进弗莱维赫牛胚胎, 通过胚胎移植获得纯种后代, 并对纯种牛进行培育、生产胚胎和冻精, 经快速扩繁, 增加种群数量, 或用冻精改良我国奶牛和肉牛的方式, 逐步在全国范围内推广应用该品种^[3,6,8-12]。文山牛

(Wenshan cattle) 又名文山高峰牛, 属役肉兼用型黄牛遗传资源, 其具有体躯结实, 繁殖力强, 耐粗饲、适应性强, 肌肉发达、皮薄骨细、肉质好等优点。主产区为云南省文山壮族苗族自治州广南、富宁、邱北、砚山等县海拔 900 m 以上的地区^[13], 以广南县、富宁县结合部的百乐、格当、花榜、下枝梅等地所产的为典型品种代表^[14]。文山牛 1987 年录入《云南省家畜家禽品种》, 2011 年被列入《中国畜禽遗传资源志·牛志》, 2014 年获农业部农产品地理标志登记证书。文山州作为云南省打造世界一流“绿色食品牌”肉牛产业的重点地区, 牛存栏和出栏数一直位居云南省 16 州市前列, 2019 年文山牛存栏 76.11 万头, 其中能繁母牛存栏 23.79 万头。文山州是云南省率先开展肉牛杂交改良的地区之一, 杂交改良牛存栏数较多。家畜胚胎生物技术是优良家畜快速扩繁、新品种培育及遗传资源生物多样性保护的有效技术之一。近 30 多年来, 牛胚胎生物技术的研究

收稿日期: 2019-11-16 修回日期: 2019-11-20

基金项目: 云南省现代农业肉牛产业技术体系项目(2017KJTX005); 云南省重大科技专项(2019ZG011)

作者简介: 伍丽仙(1974—), 女, 汉族, 高级畜牧师, 主要从事畜牧技术推广工作。

* 通讯作者: 和占星(1963—), 男, 纳西族, 硕士, 研究员, 主要从事动物繁殖与遗传育种研究。

应用取得了重大进展,2011 年全世界生产牛体内胚胎 73.3 万枚,移植受体牛 57.2 万头次^[15]。自 20 世纪 70 年代以来,我国家畜胚胎移植研究与应用取得重要进展,云南省牛胚胎移植的研究始于 20 世纪 80 年代末,奶牛、肉牛胚胎移植先后获得成功,并得到应用^[16-19]。近几年来河北、山东等开展了弗莱维赫牛胚胎移植工作,并获得成功^[8-12]。为全面推动马关县的肉牛产业发展,提高肉牛品质,缩短品种改良年限,文山州马关县引进德系乳肉兼用型西门塔尔牛胚胎,以文山牛及杂交母牛为受体进行胚胎移植“借腹怀胎”,开展了肉牛胚胎移植技术的应用及效果研究,现总结如下,谨供参考。

1 材料与方法

1.1 胚胎来源

德国乳肉兼用型西门塔尔牛冻胚由新疆动物胚胎工程技术研究中心提供。

1.2 药品试剂

喜达(CIDR)孕酮阴道缓释剂(1.38 g 孕酮/支,宁波三生药业有限公司);氯前列醇注射液(宁波三生药业有限公司);盐酸利多卡因(山东华鲁制药有限公司);新洁尔灭(昆明兴中制药厂);维生素 ADE 注射液(中国农业科学院畜牧研究所)。

1.3 器材

专用埋栓枪、解冻杯、胚胎移植枪等。

1.4 受体牛的选择

在文山州马关县大讯肉牛养殖专业合作社、马关县都龙康达肉牛养殖农民专业合作社等共 12 个肉牛养殖合作社或养牛场饲养的牛群中选择年龄 2~10 岁、体重 300 kg 以上的西本杂(西门塔尔♂×文山黄牛♀)、短本杂(短角牛♂×文山黄牛♀)和本地黄牛母牛 600 头,从中选择空怀、产犊 3 个月以上,生殖器官发育良好、发情周期正常、无生殖系统疾病的 270 头健康母牛作为受体供同期发情处理。

1.5 受体牛的同期发情处理

采用 CIDR + PG 法进行受体同期发情处理,具体处理程序为:第 1 天在母牛阴道内插入(埋植)CIDR 孕酮阴道栓 1 个/头(在性周期的任一天,除发情当天外),同时肌注维生素 ADE 5 mL/头;第 8 天注射氯前列醇 0.6 mg/头,同时肌注维生素 ADE 5 mL/头;第 11 天撤出 CIDR;第 19~21 天进行胚胎移植。

1.6 胚胎移植

对同期发情处理第 19~21 d(发情第 7 天)的受体牛进行直肠检查,触摸卵巢上的黄体,对黄体质量较好(A、B 级)的采用非手术法进行胚胎移植。

1.7 妊娠检查

受体牛胚胎移植后 60~90 d,经直肠检查进行妊娠诊断。对妊娠的受体牛加强饲养管理。

1.8 试验时间

2016—2017 年分 3 批进行移植。

1.9 统计分析

移植妊娠率比较采用卡方(χ^2);不同性别犊牛的初生重和体尺比较采用 t 检验;不同季节出生犊牛的初生重和体尺比较采用单因子方差分析。数值以平均值±标准差表示,并以 $p < 0.05$ 和 $p < 0.01$ 表示分别达到显著和极显著差异。

2 结果与分析

2.1 受体牛同期发情效果

同期发情处理受体牛 270 头,其中达到移植标准的 81 头,占同期发情处理牛的 30.00%,即受体牛经同期发情处理后的可移植率为 30%。

2.2 受体牛胚胎移植效果

胚胎移植 87 头受体(含选择自然发情 6 头),妊娠 28 头,平均妊娠率 32.18%。

2.2.1 不同品种受体的移植妊娠率比较 表 1 所示,西本杂受体的移植妊娠率达 40.74%,明显比短本杂受体和文山黄牛受体的分别高 18.01 个百分点和 31.65 百分点($p < 0.01$),短本杂受体的移植妊娠率亦明显比文山黄牛受体的高 13.64 百分点($p < 0.01$)。

表 1 不同品种受体的胚胎移植妊娠率

品种	移植数/头	妊娠数/头	妊娠率/%
西本杂	54	22	40.74 ^A
短本杂	22	5	22.73 ^B
文山黄牛	11	1	9.09 ^C

2.2.2 季节对受体胚胎移植妊娠率的影响 表 2 所示,受体同期发情处理后可移植率以春季最高(52.86%),极显著高于冬、秋季节的($p < 0.01$);秋季移植受体的妊娠率比春季和冬季的分别极显著高 27.52 个百分点和 36.37 百分点($p < 0.01$),春季比冬季极显著高 8.86 百分点($p < 0.01$)。表明春季同期发情处理效果好,而移植妊娠率以秋季高于冬、春季。

2.2.3 自然发情和同期发情受体的移植妊娠率比较 表 3 所示,自然发情受体的胚胎移植妊娠率极显著比同期发情受体的高 1.23 个百分点($p < 0.01$)。表明受体牛的移植效果以自然发情受体更好,但可能与样本数少有关。

表 2 季节对受体同期发情处理效果及胚胎移植妊娠率的影响

季节	同期发情处理 数/头	移植数/头	可移植率/%	妊娠数/头	60~90 d 妊娠率/%
冬季	100	22	22.00 ^B	4	18.18 ^C
春季	70	37	52.86 ^A	10	27.03 ^B
秋季	100	22	22.00 ^B	12	54.55 ^A

表 3 自然发情和同期发情受体胚胎移植妊娠率比较

发情牛来源	移植头 数/头	妊娠 数/头	60~90 d 妊娠率/%
自然发情	6	2	33.33 ^A
同期发情	81	26	32.10 ^B

2.2.4 受体牛移植单胚和双胚的妊娠率比较 表 4 所示,移植双胚受体牛($n=2$)的妊娠率 100%,极显著高于移植单胚受体($n=85$)的妊娠率 30.59% ($p<0.01$),但此次试验中双胚移植的样本数少,有待进一步研究。

表 4 单胚和双胚移植受体的妊娠率比较

移植胚数	移植 数/头	妊娠 数/头	60~90 d 妊娠率/%
双胚	2	2	100 ^A
单胚	85	26	30.59 ^B

2.3 产犊率

在 28 头妊娠受体中流产 11 头,流产率 39.29%,17 头受体产犊(其中 2 头母牛产双犊),产犊率 60.71%,按移植产犊率为 21.84%,共产犊 19 头,产犊成活 16 头(公犊 6 头,母犊 10 头),产犊成活率 84.21%。

2.4 犊牛的初生体重和体尺

2.4.1 不同性别犊牛的初生重和体尺的比较 表 5 所示,公、母犊($n=16$)的平均初生重、体高、体斜长、胸围和管围分别为 33.00 kg,69.50 cm,62.19 cm,72.69 cm 和 13.50 cm,公犊的体高、胸围和管围大于母犊的,体重和体斜长小于母犊的,但公、母犊的体重和体尺分别比较差异不显著($p>0.05$)。

表 5 胚胎移植所产犊牛的初生体重和体尺比较

性别	n	初生重/kg	体高/cm	体斜长/cm	胸围/cm	管围/cm
公	6	32.17±6.59	70.67±6.44	58.33±7.50	75.7±10.7	13.92±1.24
母	10	33.5±5.90	68.8±4.83	64.5±7.99	70.90±6.38	13.25±0.79
公、母	16	33.0±5.96	69.50±5.35	62.19±8.16	72.69±8.244	13.50±1.00

2.4.2 不同季节出生犊牛的初生体重和体尺比较

表 6 所示,产犊季节对犊牛初生体重和体尺有一定的影响。夏季出生犊牛的初生重最小,分别比春、秋和冬季出生的分别轻 6.2 kg,3.7 kg 和 5.4 kg,但差异不显著($p>0.05$);夏季出生犊牛的体斜

长显著比冬季出生的分别短 13.60 cm($p<0.01$),比春季和秋季出生的分别短 3.30 cm 和 10.10 cm ($p>0.05$);各季节出生犊牛的体高、胸围和管围分别比较,差异不显著($p>0.05$)。表明产犊季节对犊牛的体斜长影响较大。

表 6 不同季节出生胚胎移植所产犊牛的初生体重和体尺比较

季节	n	初生重/kg	体高/cm	体斜长/cm	胸围/cm	管围/cm
春季	2	36.50±2.1	68.50±4.9	60.00±2.8 ^{ab}	65.00±4.2	13.00±0.0
夏季	7	30.30±4.0	70.00±7.0	56.70±5.3 ^b	73.60±11.2	13.50±1.3
秋季	4	34.00±8.5	70.50±5.3	66.80±3.9 ^{ab}	74.80±5.7	13.30±0.5
冬季	3	35.70±7.5	67.70±2.5	70.30±11.7 ^a	73.00±2.0	13.30±0.8

3 讨 论

影响牛胚胎移植妊娠率的因素很多,包括胚胎质量等级与胚龄、冷冻与否、移植胚胎的数量及受体

牛的饲养方式、营养状况与移植时的黄体质量、移植季节、移植人员的技术熟练程度等。

胚胎移植过程中气候和季节是必须考虑客观因素^[20]。胡高博^[10]研究表明,在春季、秋季移植德

系西门塔尔牛胚胎的妊娠率分别为 60.00% 和 51.22%, 高于夏季和冬季节的 45.56% 和 44.74%, 但差异不显著;文志平等^[21]研究表明,春、夏、秋、冬的妊娠率分别是 61.11%, 72.41%, 80.00% 和 25%, 在寒冬不宜进行同期发情、胚胎移植和产犊;陈永昌等^[18]研究表明在云南省内偏冷凉地区,夏、秋季是开展胚胎移植的最佳季节。本研究秋季移植的妊娠率(54.55%)极显著高于春季和冬季,春季显著高于冬季的,与前人的报道基本一致。同时,产犊季节对犊牛的初生体重、体尺有一定影响,体重和体斜长以夏季最小,提示在考虑移植季节的同时还应考虑到产犊季节。

黄牛、西黄杂和黑黄杂受体移植荷斯坦牛胚胎的妊娠率分别为 49.09%, 46.67% 和 42.86%, 差异不显著^[22]。本研究杂种受体的移植妊娠率极显著高于黄牛受体的,其中以西本杂最高(40.74%),其次是短本杂受体(22.73%),黄牛最低至 9.09%。这可能与杂种牛的体格较大,膘情好等有关。建议今后开展牛胚胎移植中多选用杂种母牛作为受体,以便获得更高的妊娠率和产犊率。

移植双胚是提高胚胎移植妊娠率的措施之一。和占星等^[23]在母牛自然交配后第 7 天在有黄体一侧子宫角移植 1 枚奶牛 IVF 冻胚和母牛发情的第 7 天在有黄体一侧子宫角同时移植 2 枚奶牛 IVF 冻胚,两者妊娠率均为 50%,前者双胎率 50%;桑润滋等^[24]通过移植双胚胎,获得的妊娠率和双胎率分别达 61.3% 和 52.6%;卢克焕等^[25]采用体内胚胎单侧移植后获得的妊娠率和双胎率分别为 65% 和 50%。本研究对 2 头受体移植双胚获得的妊娠率和双胎均为 100%,但由于试验样本数过少,有待今后通过加大样本数移植进一步探讨。

文志平等^[21]研究表明,春、夏、秋、冬季节胚胎移植后受体的流产率分别是 31.82%, 23.81%, 30.55% 和 100%。本次胚胎移植受体的妊娠率偏低,流产率较高,其主要原因与受体牛饲养管理不到位,诸如饲喂酒糟、频繁更换饲料、饲料营养差等诸多因素的影响有关。其次是与初期移植时操作熟练程度不够也有一定的关系。

德系西门塔尔牛具有产奶和产肉性能好、适应性强、杂种优势明显等特点^[24,26-27],利用其胚胎移植获得纯种牛作为种牛,通过人工输精或本交扩繁,并选择优秀种公牛改良本地黄牛或杂交牛,着力提高杂交后代的生产性能,有利于由单一的肉用或乳用向兼顾乳、肉业同步发展,调动农户养殖母牛的积极性,降低养殖风险,增加经济收入和稳定牛源,促进养牛业的可持续健康发展。

4 结 论

首次在文山州开展牛胚胎移植并获得成功。杂交牛受体的移植妊娠率极显著高于文山牛受体的,秋季移植的妊娠率极显著高于春季和冬季的。提示以杂交牛为受体在秋季进行胚胎移植可有效提高移植成功率,并且在今后胚胎移植中需加大受体牛的选择力度和重视受体的同期发情处理细节,加强受体牛的全程饲养管理,尽量降低流产率,着力提高移植成功率。本次胚胎移植技术的应用为文山牛的快速扩繁和保种提供了技术支持和积累了宝贵经验。

参考文献:

- [1] 任海波,杨清香,陆东林,等.发酵驴乳的生理功能初探[J].农产品加工学刊,2009(9):33-35.
- [2] 张金松,关龙,史建民.德系西门塔尔乳肉兼用牛的推广示范进展及应用前景[J].中国奶牛,2013(14):59-60.
- [3] 陈若愚,王翹.弗莱维赫的特性及其在德国奶牛业中的应用现状[J].中国乳业,2006(12):59-61.
- [4] 朱建营,梅洋,李改英,等.弗荷杂交牛与荷斯坦牛热适应性、免疫功能和抗氧化性能比较研究[J].西南师范大学学报(自然科学版),2017,42(4):38-43.
- [5] 咎林森,刘永峰.中国奶牛、肉牛选育改良现状及基本方略[J].中国畜牧杂志,2008,44(10):1-5.
- [6] 朱义忠,褚洪忠,余明江,等.伊犁州引进德系西门塔尔牛冻精改良本地牛效果观察[J].新疆畜牧业,2018,33(4):19-20,18.
- [7] 张淑二,孙仁修,李有志.德系西门塔尔牛在国内的应用研究进展[J].养殖与饲料,2017(10):25-29.
- [8] 赵树昌,张淑二,董海贵.不同季节弗莱维赫牛胚胎移植效果分析[J].黑龙江畜牧兽医,2011(10):82-83.
- [9] 毕江华,冯春涛,朱士恩,等.胚胎移植技术在扩繁德系西门塔尔牛核心群中的应用[J].中国农学通报,2011,27(26):43-46.
- [10] 胡高博.提高德系西门塔尔牛胚胎移植供体和受体利用率的研究[D].石河子:石河子大学,2010.
- [11] 张淑二,尹旭升,刘芹,等.胚胎移植德系西门塔尔种公牛在山东地区的适应性观察[J].中国草食动物科学,2012,32(4):29-31.
- [12] 朱伯阳,李卓琳,田凤,等.弗莱维赫牛在北京地区超数排卵效果初探[J].中国农学通报,2017,33(14):125-129.
- [13] 云南省畜禽遗传资源委员会.云南省畜禽遗传资源志[M].昆明:云南科技出版社,2015:85-89.
- [14] 王辛,文际坤.文山牛品种资源及杂交改良效果观察[J].中国畜牧杂志,1983(5):23-24.
- [15] 朱化彬,王皓宇,杜卫华,等.我国胚胎生物技术进展及其在良种牛扩繁中的应用[J].中国畜牧杂志,2014,50(2):61-67.
- [16] 陈云鹤,门红升,周理良,等.云南省奶牛胚胎移植试验[J].动物学研究,1991(4):381-385.
- [17] 和占星,和协超,文际坤,等.云南省牛胚胎移植技术研究与应用进展[J].云南畜牧兽医,2002(4):36-39.

- [18] 陈永昌,马晓宁,赵家明,等. 利用夏季自然发情的云南黄牛进行奶牛胚胎移植效果研究[J]. 中国牛业科学,2008,34(5):24-26,34.
- [19] 和占星,王喆,创向辉,等. 云南亚热带地区奶牛胚胎移植初探[J]. 中国奶牛,2006(3):27-28.
- [20] JOHN F H. Factors affecting frozen and fresh embryo transfer pregnancy rates in cattle [J]. Theriogenology, 2001, 56: 1401-1415.
- [21] 文志平,阎萍,高尢,等. 不同季节对牛冻融胚胎移植效果的影响[J]. 中国牛业科学,2019,45(5):10-13.
- [22] 李颂孙,余益荪,李梁材,等. 影响黄牛和杂交受体牛胚移植妊娠率的因素[J]. 畜牧与兽医,1990(2):66-68.
- [23] 和占星,朱芳贤,王喆,等. 利用肉牛自然交配+胚胎移植诱导1胎双犊(肉、奶牛)初报[J]. 中国畜牧兽医,2004(8):32-33.
- [24] 桑润滋. 动物高效繁殖理论与实践[M]. 北京:中国农业大学出版社,2011:480-485.
- [25] 卢克焕,黄凤玲,阳年生. 牛体外受精胚胎移植后的怀孕率及双胎率[J]. 广西农业生物科学,1994,13(1):83-87.
- [26] 王鹏武. 乳肉兼用型西门塔尔牛在大理州的应用现状与推广前景分析探讨[C]//中国奶业协会. 第三届中国奶业大会论文集(上册). 北京:中国奶牛编辑部,2012:71-73.
- [27] 哈依那提·哈力. 新疆察布查尔县使用德系西门塔尔牛细管冻精改良本地黄牛效果[J]. 畜牧兽医科学(电子版),2019(18):20-21.

Study on the Effects of Embryo Transfer from German Simmental Cattle

WU Li-xian¹, CHEN Yong-bo¹, WANG Cheng-gao¹, ZHANG Li-xi¹,
ZHAO Min², LONG Jun³, TONG Wan-xiang³, HE Zhan-xing^{4*}

(1. Animal Husbandry Station of Wenshan State, Wenshan, Yunnan 663099;

2. Animal Disease Control Center of Wenshan State, Wenshan, Yunnan 663099;

3. Animal Husbandry Technical Promotion Station of Maguan County, Maguan, Yunnan 663700;

4. Yunnan Academy of Grassland and Animal Science, Kunming, Yunnan 650212)

Abstract: [Objective] To establish a German Simmental cattle group, the technology of the rapid expansion of Wenshan cattle and production performance improvement were discussed. [Method] In Maguan county, 270 out of 600 cattle were selected from Wenshan yellow cattle and their hybrids with Simmental, Angus and Shorthorn, which were subjected to estrus synchronization by CIDR + PG. To select the qualified corpus luteum recipient, the embryos of Simmental cattle were transplanted by non-surgical method. Pregnancy was diagnosed by rectal examination at 60 to 90 days after transplantation. The pregnancy rate was determined, the calving status was followed up, and the birth weight and main body size indexes of calves from embryo transfer were determined. [Result] 270 recipient cattle were treated with estrus synchronization, then 87 out of 270 recipients were transferred embryos, 28 out of 87 recipient cattle were pregnant, and the pregnancy rate was 32.18%. Among pregnant cattle, 17 recipient cattle were give the calves, which the rate of calving was 60.71%; 16 out of 19 calves were lived, and the rate of lived calves was 84.21%; Average birth weight of female and male calves was 33.00 kg, and height at withers, body length, heart girth and circumference of cannon bone were 69.50 cm, 62.19 cm, 72.69 cm and 13.50 cm, respectively. [Conclusion] The first successful embryo transfer was carried out in Maguan county of Wenshan state. The pregnancy rate of hybrid recipients was very significant or significantly higher than that of Wenshan cattle. And the pregnancy rate of transferred embryo in autumn was significantly higher than that in spring and winter. It is indicated that the hybrid cattle as the recipients for embryo transfer can effectively improve the success rate of embryo transfer in autumn.

Key words: German Simmental cattle; embryo transfer; estrus synchronization Maguan county; Wenshan cattle