

加速胚胎移植技术产业化 促进我国养牛业发展

郭志勤

(新疆畜牧科学院农业部畜牧兽医生物技术重点开放实验室, 乌鲁木齐 830000)

[摘要] 从我国养牛业的现状和存在的主要问题, 指出养牛业需要大力发展, 当前必须大量引种和繁殖种牛。而胚胎移植是引种的一种最好手段, 具有方法简便、成本低、缩短改良时间、减少疾病传播等优点。同时, 进一步分析了我国胚胎移植技术的研究概况, 阐明了胚胎移植的主要技术关键及产业化的必要性和可能性。并根据我国养牛业的现状, 提出奶牛、肉牛业应用胚胎移植技术的措施与办法。

[关键词] 胚胎移植; 产业化; 养牛业

我国自1978年第一头胚胎移植奶牛诞生以来, 已有20余年的历史。牛胚胎移植技术经过摸索、试验、实践, 并通过引进专家和设备, 不少单位已逐渐掌握技术, 形成一支基本专业队伍, 目前已初步进入产业化阶段。

1 我国养牛业的现状与问题

近年来我国畜牧业生产一直保持高速增长的势头。1997年全国肉牛存栏数为11 646万头, 奶牛441.3万头, 总数居世界第三位^[1]。总产肉量达6 397.5万t, 居世界第一位, 其中牛肉产量为494.9万t, 也名列世界前列; 但我国人均牛肉量和牛奶量分别为4.05 kg和6.01 kg, 远低于美国41.36 kg和261.63 kg及世界平均水平9.93 kg和80.67 kg^[2]。特别是个体的平均生产水平、胴体重、产奶量和存栏牛的平均产肉量均大大低于世界发达国家的水平(见表1)^[1]。

我国养牛业以前以役用为主, 没有专用的肉用品种, 改良比例仅30%^[3], 个体小, 产肉量低, 平均胴体重仅147 kg。如果能达到世界平均水平, 即可增加58.23万t牛肉; 同时我国奶牛的纯种少、饲养管理水平低, 平均产奶量仅为1 574 kg, 而世界平均在2 000 kg以上, 欧美等国的平均单

产都在6 000 kg以上^[1]。综上所述, 我国养牛业的生产水平相当低, 与先进国家相比, 差距很大, 远不能满足人民生活水平增长的需要, 必须加速牛的改良, 提高养牛业的生产水平。因此, 需培育或引进一批适应我国不同生产模式的优良品种。农业部“全国畜禽良种工程建设规划”(1998~2002年)(简称“规划”)中提出:“肉牛良种覆盖率从30%提高到35%, 奶牛从60%提高到70%, 提高良种在畜牧业增产中占技术进步作用总贡献份额, 从20%提高到25%~30%”。“规划”还明确指出:“建立良种繁育体系, 保存、培育和我国地方优良牛种, 推广应用引进优良品种, 逐步形成优势牛种的繁育体系”。而且还提出要“改进引种方式, 鼓励引进冻精和胚胎, 利用胚胎移植、胚胎切割等先进生物技术, 加快繁育改良步伐”。这就为科技成果的转化提出了更高的要求, 并为胚胎移植技术产业化拓宽了市场。

2 胚胎移植技术的研究概况

自1890年Heape在英国剑桥大学首次报道家兔胚胎移植成功后, 胚胎移植技术已有一百多年的研究历史^[4]。20世纪30年代以后, 有关胚胎移植的研究越来越多, 并相继在各种家畜上获得成功。

[收稿日期] 1999-08-02; 修回日期 1999-08-23

[作者简介] 郭志勤(1936-), 男, 浙江诸暨人, 新疆畜牧科学院研究员, 博士生导师

1975年1月在美国科罗拉多州召开了第一届国际胚胎移植学会成立大会, 标志着胚胎移植技术进入新的更高的发展阶段^[5]。1976年牛的非手术胚胎移植技术推广; 1977年开始商业化应用, 13个国家

成立了数百家商业化胚胎移植公司。仅北美1978年移植后妊娠的牛近1万例; 近10年间每年多达10万余例。目前仅美国每年达30多万例^[6]。国外胚胎移植技术的发展史概括于表2。

表1 1997年世界主要国家养牛业生产水平

Table 1 The production levels of cattle industry in the world in 1997

国家和地区	肉牛和肉牛犊牛 (Beef)					奶牛 (Dairy)	
	头数/10 ³ 头	屠宰数/10 ³ 头	产肉量/10 ³ t	平均胴体重/kg	存栏数产肉量/kg	头数/10 ³ 头	平均产奶量/kg
全世界	1 333 620	274 104	58 998	197	43.56	227 674	2 072
中国	116 460	33 027	5 200	147	44.82	4 413	1 574
美国	101 460	37 591	11 236	306	110.74	9 242	7 690
巴西	163 000	36 197	5 140	197	31.53	23 600	809
俄罗斯	35 800	17 790	2 670	132	74.58	15 876	2 142
英国	11 609	2 293	692	304	59.61	2 479	5 713
法国	15 760	4 753	1 665	324	105.65	5 195	5 534
荷兰	4 366	2 300	494	239	113.15	1 700	6 581
日本	4 749	1 345	531	399	111.81	1319	6 552
韩国	3 396	1 125	291	259	85.69	310	6 684
澳大利亚	26 356	8 415	2 063	215	78.27	2 046	4 547
新西兰	8 950	3 524	619	175	69.16	3 260	3 414

* 根据联合国粮食及农业组织 (FAO, 1997) 提供资料计算

表2 国外胚胎移植及其有关技术发展概况

Table 2 General situation in embryo transfer and related technology in overseas

作者	事例	动物
Heape, 1890	首次胚胎移植成功	家兔
Beidl 等, 1922	胚胎移植成功	家兔
Nicholas, 1933	胚胎移植成功	大鼠
Warwick & Berry, 1949	胚胎移植成功	绵羊和山羊
Kvansnickii, 1951	胚胎移植成功	猪
Willett 等, 1951	胚胎移植成功	牛
Marden & Chang, 1952	首次洲际运输 (保存在 10℃)	家兔
Alberta, 1971	首次成立家畜胚胎移植商业公司	
Whittingham 等, 1972	经长期保存, 胚胎发育产仔	牛
1975年1月	国际胚胎移植学会成立	
Steptoe & Edwards, 1978	体外受精-胚胎移植, 获得世界上第一例试管婴儿	

* 引自 Hafe, 1980, 许怀征等译

20世纪70年代以来, 牛的胚胎移植技术首先在北美迅速发展, 以后广泛应用于家畜改良, 增加特定品种数量、引种以及动物品种资源保存等方面, 有十几个国家成立了商业性的胚胎公司。美国、加拿大以及西欧一些国家的牛胚胎移植已经商业化, 经胚胎移植产下的犊牛占出生犊牛总数的0.2%, 其中的70%是肉牛^[7]。

在我国这一技术起步较晚, 自1973年家兔胚胎移植成功以后, 相继在各种家畜上均取得突破^[8] (表3)。80年代以后我国又在胚胎克隆、嵌合体等方面均取得成功。

新疆畜牧科学院于1988年建立新疆家畜生物工程实验中心。10年来该中心累计生产荷斯坦奶牛、西门塔尔等品种胚胎6000余枚, 以黄牛为受体的鲜胚平均妊娠率为55%, 最高达73%, 冻胚的平均妊娠率为40%, 最高达50%以上。“八五”期间由该院和中国农科院畜牧所合作承担“中国荷斯坦奶牛MOET育种体系的建立与实施”攻关项目中胚胎移植任务, 共超排供体278头, 平均每头获可用胚6.3枚, 鲜胚移植给青年奶牛的妊娠率为

70% (240/343)、冻胚 53% (133/251) 的好成绩”。1999 年, 与新疆 20 余县签定了近 3 000 枚胚胎移植的技术服务合同, 截止年底已完成移植胚胎 2 000 枚。内蒙古家畜改良站累计自产牛胚胎近千枚, 并从加拿大等国引进肉牛胚胎 2 000 余枚, 冻胚移植后的妊娠率达 50% 左右。此外, 国家在“九五”期间分别以“肉牛胚胎移植产业化”和“奶牛胚胎移植产业化”作为重大科技攻关项目立项。国家科技部生物技术开发中心还设立了“牛胚胎移植产业化研究”的“八六三”中试开发项目。与此同时, 以胚胎移植为产业的科技企业也应运而生。

表 3 我国胚胎移植和相关技术发展概况

Table 3 General situation in embryo transfer and related technology in China

作者 (年代)	内 容	动物
陈玉琦 (1973)	胚胎移植成功	兔
中科院遗传所 (1974)	胚胎移植成功	绵羊
中科院遗传所 (1976)	胚胎低温 (10℃) 保存产仔	兔
谭丽玲、郭志勤 (1976)	胚胎低温 (10℃) 保存产羔	绵羊
广东协作组 (1978)	手术法胚胎移植成功	奶牛
中科院遗传所 (1980)	-196℃ 保存胚胎产仔	兔
王建辰等 (1980)	胚胎移植成功	奶山羊
王运京, 王秀阁等 (1980)	非手术法胚胎移植成功	奶牛
中国农科院畜牧所 (1980)	-196℃ 保存胚胎产羔	绵羊
姚振沅、谭丽玲等 (1982)	-196℃ 保存胚胎产犊	奶牛
马玉斌 (1982)	胚胎移植成功	奶山羊
王光亚等 (1987)	冷冻胚产羔	奶山羊
张涌等 (1987)	胚胎分割移植成功	奶山羊
谭丽玲, 马世援 (1989)	鲜胚分割同卵双生产犊	奶牛
郭志勤 (1989)	冻胚分割同卵双生产犊	奶牛
谭丽玲 (1989)	鲜胚分割四分胚产犊	奶牛
郭志勤 (1992)	鲜胚分割四分胚产羔	绵羊

* 引自《家畜胚胎工程》, 郭志勤等编著

3 胚胎移植的几个关键技术环节

家畜胚胎移植是一种新的人工繁殖技术, 用这种方法将新形成而未着床的早期胚胎从一头母畜体内取出植入另一头同种母畜的生殖道内, 使其正常发育至分娩。这项技术一般用良种或优秀母畜作供体, 将生产性能低的个体作受体, 通过“借腹怀胎”获得增加良种后代的目的。经胚胎移植出生的后代是从供体母畜和与供体母畜交配的公畜那里获得了遗传基因 (图 1)。

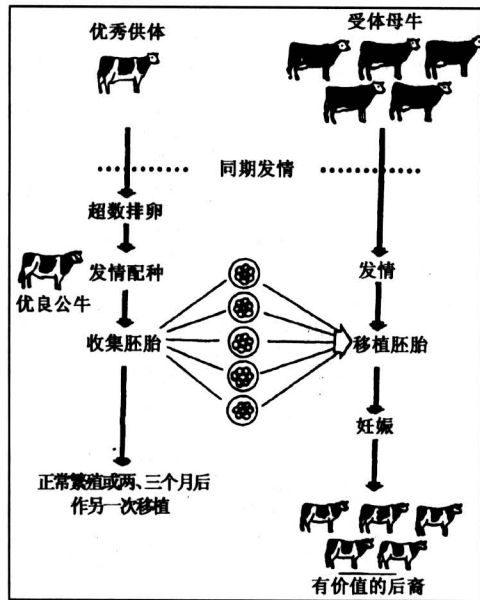


图 1 牛胚胎移植技术流程示意图

Fig.1 The charter for cattle MOET

3.1 超数排卵

超数排卵是胚胎移植的一个关键技术环节, 受多种因素影响, 个体反应差异很大。首先是超排用激素是影响其效果的主要因素。随着进口激素的应用和国产激素质量的提高, 目前这种因素的影响逐渐变小, 但每批新激素的应用, 均应作预备试验调整合适的剂量。其次是供体牛所处生理条件和个体反应。近年来, 由于前列腺素 $F_{2\alpha}$ 及其类似物在超排上的应用, 增加了超排处理的机动性。我国近期大多数单位超排一头次可获 5~6 枚可用胚, 已达相当高的水准。重复超排是增加优秀供体后代的有效措施, 一年可超排 4~5 次, 每次间隔 2~3 个月, 平均每头供体一年可获 20~25 枚可用胚, 即可获得 10 头以上后代, 一般隔年处理。

3.2 胚胎冷冻

胚胎冷冻 (-196℃) 保存是胚胎移植技术真正走向商业化的关键因素。胚胎的冷冻保存可使胚胎移植在任何时间、任何地点进行, 并可减少运输费用, 简化引种过程, 使优良家畜遗传资源在世界范围内转移。

1949 年 Polge 等^[9]发现甘油在精子冷冻过程中的作用; 1959 年 Lovelock 等^[5]论述了二甲亚砜

* 北京奶牛协会, 奶牛实用化胚胎移植配套技术, 1998

(DMSO) 的低温保护作用, 激起人们对哺乳动物胚胎保存的研究兴趣; 1973 年 Wilmut 和 Rowson^[10] 进行牛胚胎冷冻保存并成功产犊。近年来人们着重于简化冷冻程序、快速冷冻、“一步细管法”及玻璃化冷冻等研究, 但仍普遍采用程序冷冻法。早期通常采用甘油和 DMSO 为抗冻保护剂, 后来逐渐转向用乙二醇和 1, 2-丙二醇。目前在牛胚胎商业化生产中常用 1.8 mol/L 乙二醇加 0.25 mol/L 蔗糖。防冻剂的添加方法, 从最初的 4 步或 6 步, 简化为 3 步。植冰温度一般在 $-4^{\circ}\text{C} \sim -8^{\circ}\text{C}$ 范围内, 根据防冻剂种类而定。乙二醇不得高于

-7°C , 否则很难诱发乙二醇液形成冰; 甘油一般在 -5.5°C 植冰。植冰后的降温速度, 以 $0.3^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 降至 -35°C , 再以 $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 降至 -38°C , 投入液氮 (-196°C) 保存^[11]。

解冻温度一般选在 20°C 或 37°C , 胚胎经冷冻后易发生透明带破损, 而透明带的破损主要是解冻时造成的。经作者^[12] 观察, 在 37°C 水浴解冻的胚胎, 透明带破损率与冷冻时胚胎的品质发育阶段有关 (表 4)。表中所列的结果显示出质量好的、发育快的胚胎, 透明带破损少, 胚胎存活也呈好的趋势。透明带的破损率约占 20% 左右。

表 4 不同等级胚胎的冷冻效果

Table 4 Freezing result of different grade embryos

项目类别	胚胎数	透明带 (%)		细胞团形态 (%)		胚胎存活 (%)				
		完整	破损	紧密	松散	发育	不发育			
CM A	36	77.78	22.22	80.56	19.44	75.00	25.00			
B	10	70.00	30.00	70.00	30.00	60.00	40.00			
EB A	25	92.00	8.00	84.00	16.00	76.00	24.00			
B	14	85.71	14.29	71.43	28.57	57.14	42.86			
BL A	33	75.76	24.24	87.86	12.12	69.70	30.30			
B	12	75.00	25.00	66.67	33.33	75.00	25.00			
EXB A	15	20.00	93.33	6.67	86.67	13.33				
总和	145	116	80%	20.00	118	81.38%	18.62	105	72.41%	27.59

据郭志勤等^[12] 观察, 透明带完整与否对解冻后胚胎的存活率影响不大。解冻后不论透明带完整与否, 凡细胞团结构紧密、清晰的, 培养后继续发育的存活率高达 95.61%, 细胞团松散的仅占 28.13%, 差异极显著 ($p < 0.01$)。若以透明带完整与破损区分, 存活率分别为 81.42% 和 78.79%, 差异不显著 ($p > 0.05$) (表 5)。从以上研究可以得出这样的结论: 胚胎经冷冻解冻后的质量判别应以胚胎细胞团的形态结构为主。

表 5 胚胎冷冻及解冻后的发育情况

Table 5 Embryo development after freezing and thawing

内 容	透明带		细胞团形态	
	完整	破损	紧密	松散
胚胎数	113	33	114	32
发育/%	81.42	78.79	95.61	28.13
不发育/%	18.58	21.12	4.39	71.87

3.3 胚胎切割技术的应用与展望

胚胎切割技术是目前更有效地挖掘胚胎移植潜力的方法之一, 具有广泛的应用价值。同时又是进行动物遗传学、发生学等方面研究工作的一种手段。我国奶牛的胚胎切割于 1989 年取得成功 (表 6)。

胚胎切割技术目前已进入应用阶段, 切割后的鲜胚半胚移植成功率接近 50%, 并创造了用玻璃针和刀片的徒手切割方法。

胚胎切割的主要用途可归纳为:

1) 提高胚胎移植时的总受妊率: 半胚与胚胎移植相结合可提高胚胎的受妊率。由于在数量上半胚比全胚增加一倍, 其总受胎率远远超过全胚。

2) 生产同卵双生后代: 在牛上不仅移植一对半胚生产同卵双胞胎、增加头数, 而且还可避免异性双胞胎造成的母犊不孕。

3) 有效的遗传育种试验材料: 由于同卵的 2 个半胚, 它们在遗传性状上相同。使用同卵双生后

代作遗传育种方面的试验材料,将会相对减少遗传性状差异带来影响。

此外,还可进行胚胎的性别鉴定,以及增加和保存珍贵家畜及濒危动物的种质等。总之,胚胎切割技术本身已进入实用化阶段。但在切割胚的长期保存及切割技术的改进方面,还有很多有待研究的问题,其发展的前景是广阔的。

表6 我国奶牛胚胎切割研究概况*

Table 6 Research on dairy embryo splitting

研究内容	年度	作者
奶牛半胚移植于黄牛成功	1989	谭丽玲、桑润滋等
分割胚胎同卵双生	1989	谭丽玲、廖和模等,郭志勤等
冷冻-解冻胚胎分割同卵双生	1989	郭志勤等
鲜胚分割、半胚移植产犊	1989	郭志勤等,贾福德等
鲜胚分割产犊	1990	王秀阁等
鲜胚分割产犊	1991	陶淘等
鲜胚四分胚产犊	1992	谭丽玲、李乐义等
鲜胚四分胚、同卵三生产犊	1992	窦忠英等
分割胚胎性别鉴定	1994	高建明、吴学清等
半胚裸露冷冻保存	1996	柏学进等

* 引自《家畜胚胎工程》,郭志勤等编著。

4 牛胚胎移植技术产业化的

前景与措施

综上所述,我国养牛业亟待发展,生产水平急需提高。农业部制定的规划中已明确规定了我国养牛业今后的发展目标和建设的基本思路,这就为家畜高新技术成果的转化,特别是胚胎移植技术的推广应用开拓了广阔的前景和市场。与此同时,还需采取以下主要措施:

1) 胚胎移植是以扩大优良种畜和引种为目的,所以必须考虑到供体牛的品质,不论是引种或扩大种畜群,都应从供体牛的品质、遗传因素等方面选择。不能将胚胎移植技术单纯作为商业获利的手段。

2) 我国现有奶牛 441 万多头,但平均产奶量低。平均产奶量超过 3 000 kg 的占全国奶牛总头数的 55.68%^[4];但在各省市大中城市的部分牛场产奶量大多在 6 000 kg 以上,有的还超过 8 000 kg。鉴于我国奶牛业的具体情况,可采用两种方法,即可适量引进高产奶牛胚胎,利用超数排卵和胚胎移植技术,进行 MOET 育种,建立高产、优质奶牛核心群;利用现在的高产奶牛群生产胚胎,

用低产奶牛或土种母牛作受体牛,扩大高产优质奶牛的数量。

3) 我国肉牛数量大,生产水平低。根据《规划》规定,除保存、培育、提高我国原有地方优良牛种外,要逐渐推广应用优良品种,逐步形成优势牛种的繁育体系。为此,今后肉牛的发展方向与胚胎移植技术的应用应注意以下方面:

要因地制宜的引入良种,建立优质肉牛繁育基地,同时要考虑到今后牛肉的品质和品牌问题;建立良种肉牛胚胎的工厂化生产,在肉用种牛的繁殖基地,选出一定数量的种母牛用来生产胚胎,一般每头供体年可作 4~5 次,可产胚胎约 20~25 枚,第二年正常妊娠,用另一部分种母牛生产胚胎,依次轮换;双胎牛的生产通过激素诱发,用正常超排用量的 1/5~1/3 FSH 分 3 天注射,可诱发排 2~3 个卵,移植 2 个胚胎,另一个胚胎分割后,移两个同卵半胚,前两种方法可能产生异性双胎,但对增加肉源来说还是有好处的,因为双胎可以增加头数,此外怀单胎和双胎母牛,对摄取的食物量没有差异。

4) 胚胎移植技术本身还需进一步研究,提高超排效果,冷冻胚胎的存活和移植技术,以及开展活体取卵、体外受精等以扩大卵源,降低成本,提高胚胎移植成功率。

总之,在当前我国大力发展养牛业的大好形势下,应尽快将胚胎移植这一高技术成果产业化,促进我国养牛业的进一步发展。

参考文献

- [1] FAO. 1997 年世界畜牧生产统计资料 [J]. 国外畜牧科技, 1999, 26 (2)
- [2] 中国统计年鉴 [J]. 1997
- [3] 李胜利, 冯仰廉. 我国肉牛发展现状、对策及展望 [A]. 养牛科学研究进展 [C]. 北京: 中国农业科技出版社, 1999
- [4] Heape W. Preliminary note on the transplantation and growth of mammalian ova within a uterine foster mother [J]. Proc. Roy. Soc., (Lond.) 1890, 48: 457
- [5] Hafez E S E. 农畜繁殖学 [M]. 许怀等译. 重庆: 科技文献出版社重庆分社, 1982
- [6] Seidel G E, Jr. 生物技术对未来人工授精业的影响 [M]. 陈静波译. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1989
- [7] 内海恭三. 生物技术在肉牛生产中的应用 [J]. 畜

产研究 (日文), 1994, 48 (1)

[8] 郭志勤, 张继慈, 张沅, 等. 家畜胚胎工程 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1998

[9] Polge C. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperature [J]. Nature, 1949, 164: 666

[10] Wilmut L, Rowson L E A. Experiments on the low-temperature preservation of cow embryos [J]. Vet. Roc. 1973, 92: 686

[11] Pettit W H. Theriogenology [M]. 1985, 23

[12] 郭志勤, 丁红, 陈静波, 等. 新疆牛胚胎移植技术的开发与应用研究 [A]. 中国农学会. 生物工程在农业上的应用研究 [C]. 北京: 中国大百科全书出版社, 1993

Accelerating the Industrialization of Embryo Transfer Technology and Developing National Cattle Industry

Guo Zhiqin

(Key Lab of Animal & Veterinary Biotechnology of MOA, Xinjiang Academy of Animal Science, Urumqi 830000, China)

[Abstract] In view of the present status and main problems in China's cattle industry, it is necessary to increase the introduction of good breeds and the breeding sires. Embryo transfer is the best way for cattle improvement, for it has the following advantages: simple operations, low cost, short period of improvement and less disease dispersal. The research status, the key technology and the necessity and possibility of industrialization of China's embryo transfer are analyzed and described in this paper. Measures and methods for the application of embryo transfer technology to dairy and beef cattle are proposed.

[Key words] embryo transfer; industrialization; cattle industry

* * * * *

《中国工程科学》2000 年第 4 期要目预告

<p>21 世纪电力工业的一个重要发展方向 ——超导电力技术 唐跃进等</p> <p>跨入新世纪对我国炼油工业发展的思考 吕家欢等</p> <p>多尺度数字地球模型及其在地球科学研究中的应用 李伯衡</p> <p>技术创新及创新的管理 张 曙</p> <p>21 世纪油气工业发展刍议 陈俊武</p> <p>引海水冲刷河口治理黄河下游 林秉南等</p> <p>现役飞机结构腐蚀疲劳及寿命研究 穆志韬等</p> <p>新型电光调 Q 腔内倍频绿光激光器 陈 飞等</p> <p>利用航空航天影像更新地形图地物要素的 栅格化方法 林宗坚</p>	<p>动力气垫地效翼船的流体空气动力性能研究 恽 良等</p> <p>一种新型的多功能油——清洁润滑防护武器三用油 冯薇荪等</p> <p>CAD/CAPP/CAM 集成系统的研究与开发 魏而巍等</p> <p>新型弧焊电源及其智能控制 黄石生等</p> <p>地铁线网规划中的几个值得商榷的问题 全永荣</p> <p>维胺酸的癌化学预防作用研究 付招娣等</p> <p>金属矿山尾矿问题及其综合利用与治理 蔡嗣经等</p>
--	--