

黄体对牛胚胎移植效果的影响

黄荣春, 梁淦, 谭正准, 李辉, 黄健, 鄢胜飞,

钟华配, 冯超, 卢瑛, 梁莎莎, 李厅厅, 覃广胜*

(中国农业科学院广西水牛研究所, 广西水牛遗传繁育重点实验室, 南宁 530001)

摘要: 黄体释放的黄体酮对母畜发情周期、启动发情行为和维持妊娠起着至关重要的作用, 但目前国内外对黄体是否影响胚胎移植效果有着不同报道。本文以探究黄体对牛胚胎移植效果的影响为主线, 查阅大量文献, 归纳黄体的检查和级别判断方法, 分别分析黄体大小、黄体位置、黄体质量和黄体生产溶解过程激素水平与胚胎移植受胎率的关系, 为提高胚胎移植效果提供科学的参考依据。生产上常通过 B 超扫描结合直肠检查法判断受体牛黄体发育和位置作为能否移植的依据; 由各学者研究结果可见, 不同直径黄体的胚胎移植受胎率差异不显著, 为提高受体牛的利用, 在对受体牛黄体大小选择时可适当放宽标准; 胚胎移植到黄体同侧的受胎率比移植到黄体对侧的高, 另外, 可能因为操作者左右手操作习惯不同, 发现左侧黄体移植受胎率比右侧的要高; 较多学者认为质量好的胚胎选择黄体质量好的受体移植才能得到更高的受胎率; 胚胎移植后能否成功受孕, 还与黄体生成溶解过程中孕酮含量及孕酮与雌二醇的比例等有关。

关键词: 胚胎移植; 黄体; B 超; 受胎率

中图分类号: S823

文献标识码: A

文章编号: 1001-9111(2022)04-0050-04

胚胎移植是生物工程的一项基本技术, 能将体内外生产的早期良种母畜胚胎移植到同种相同生理状态的母畜生殖道内, 使之继续发育成新个体; 能有效发挥良种母牛的遗传和繁殖潜力, 实现短时间内培育出更多的良种母牛后代, 是快速扩繁良种牛数量的一种较好手段^[1], 具有潜在的巨大经济效益和社会效益。因而, 胚胎移植技术越来越受到国内外学者的高度重视, 但从目前的研究结果来看, 胚胎移植的成败受各种因素的限制, 仅从一个或单独几个方面进行研究很难从根本上提高胚胎移植效果的。所以, 在保证胚胎质量和非手术移植操作技术水平的前提下, 十分有必要对受体的状态进行研究, 而受体的生殖生理对繁殖性能的影响尤为突出; 因此, 从剖析受体的生殖生理出发, 探究黄体对牛胚胎移植效果的影响显得尤为重要。

黄体是一种动态的卵巢内分泌结构, 通过其连续的形态和功能变化, 帮助产生和分泌黄体酮^[2]; 黄体酮是决定母体子宫生理状态的一种甾类激素, 对控制发情周期、启动发情行为和维持妊娠具有重

要的作用^[3]; 所以, 受体牛卵巢上的黄体是影响胚胎移植效果的一个重要因素^[4-5], 其中正确检查和判定黄体大小、位置和质量是提高胚胎移植受胎率的关键。近年来, 诸多学者在黄体对牛胚胎移植效果影响方面开展研究, 并有着较多不同的报道^[6]。所以, 本文以探究黄体对牛胚胎移植效果的影响为主线, 查阅大量文献, 归纳黄体的检查和级别判断方法, 分别分析黄体大小、黄体位置、黄体质量和黄体溶解过程激素水平与胚胎移植受胎率的关系, 以期在生产上提高胚胎移植受胎率、获取更大的生产效益提供科学的参考依据。

1 黄体检查和级别判断方法

正确检查和判定黄体大小、位置和质量是提高胚胎移植受胎率的关键。过去一般是通过直肠检查时的感觉和经验来判断黄体体积的大小, 但徒手触摸检查时, 往往仅摸到黄体凸出于卵巢表面的部分, 对其嵌入部分很难触摸来辨别它的质地和大小, 所以常常不同的检查者可能因手感和经验不同而得到

收稿日期: 2022-03-10 修回日期: 2022-04-26

基金项目: 广西壮族自治区水牛研究所基本科研业务费(水牛基 2201); 广西重大科技专项(桂科 AA22361); 广西人才基地项目(桂科 AD19259009); 广西自然科学基金项目(2022GXNSFAA035588); 国家现代农业产业技术体系广西奶水牛产业创新团队项目(nycytxgxctd-2021-21-01)

作者简介: 黄荣春(1986—), 女, 畜牧师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

* 通讯作者: 覃广胜(1975—), 男, 研究员, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

不同的结论^[6]。如今在胚胎移植过程中,根据卵巢实质组成和黄体的组织结构密度不同,通过 B 超影像学上反射表现出差异的原理,用 B 超扫描受体牛卵巢,再结合直肠检查法,判断黄体大小并进行分级更准确且易于掌握。通常在胚胎移植前 1 d 或移植

当天用 B 超对受体卵巢进行扫描,结合直肠检查黄体的弹性和凸出状,确定黄体的有无并根据黄体大小、质地进行分级,各品种受体牛胚胎移植时(发情第 7±1 天)的黄体级别判断可参考表 1。

表 1 受体牛发情第(7±1)天黄体级别判断^[7]

牛品种	黄体判定参考标准
奶水牛	A 级:黄体明显突出卵巢表面,顶部有冠状开口(呈火山口样),直径在 1.5 cm 以上,弹性好。 B 级:黄体突出卵巢表面,直径在 0.8~1.5 cm 之间,弹性适中。 C 级:黄体不突出,直径<0.8 cm,硬、弹性差;直径>0.8 cm,但突出不明显或不突出,质地过软,弹性差。
奶牛	A 级:黄体明显突出卵巢表面,顶部有冠状开口(呈火山口样),直径约 2.0 cm,弹性好。 B 级:黄体突出卵巢表面,直径约 1.5 cm,弹性适中。 C 级:黄体不突出,直径<1.0 cm,硬、弹性差;直径>1.0 cm,但突出不明显或不突出,质地过软,弹性差。
纯种肉牛或杂交牛	A 级:黄体明显突出卵巢表面,顶部有冠状开口,直径约 1.5 cm,弹性好。 B 级:黄体突出卵巢表面,直径约 1.0 cm,弹性适中。 C 级:黄体突出不明显,直径<1.0 cm,硬、弹性差;直径>1.0 cm,但突出不明显或不突出,质地过软,弹性差。
云南黄牛	A 级:黄体明显突出卵巢表面,顶部有冠状,直径 1.0~1.5 cm,弹性好。 B 级:黄体明显突出卵巢表面,直径 0.6~1.0 cm,弹性适中。 C 级:黄体突出卵巢表面,但直径<0.5 cm,硬;虽然黄体突出卵巢表面,直径>0.5 cm,但或软,弹性差;黄体不突出于巢表面。
BMV 牛	A 级:黄体明显突出卵巢表面,顶部有冠状开口,直径约 1.5 cm,弹性好。 B 级:黄体突出卵巢表面,直径约 1.0 cm,弹性适中。 C 级:黄体突出不明显,直径<1.0 cm,硬、弹性差;直径>1.0 cm,但突出不明显或不突出,质地过软,弹性差。
C 级(含 C 级)以下或有 大 卵 泡 同 时 存 在 者 不 宜 移 植。	

2 黄体大小与胚胎移植受胎率的关系

在黄牛的有关研究报道上,国内外学者对受体牛黄体大小是否影响胚胎移植受胎率有着不同的观点^[6]。有的认为胚胎移植受胎率会随着黄体的体积增大而升高^[8],甚至因受体的黄体体积小而不做移植;也有的认为不同黄体大小的移植受胎率没有明显差别^[9]。卢全晟通过对不同黄体大小的受体牛进行移植效果比较,发现黄体直径为 1.2 cm 的受体牛组的流产数、难产数最高,分别为 16.13% 和 12.9%,但是受体牛的黄体直径不同对流产数、难产数的影响差异不显著($P>0.05$)^[10]。在水牛方面相关研究仍甚少,陈明棠等对 234 头水牛受体进行移植,结果显示:黄体直径在 1.5 cm 以上的受胎率为 27.27%,黄体直径在 0.8~1.5 cm 之间的受胎率为 19.23%,黄体直径在 0.8 cm 以下的受胎率为 22.73%,而不作黄体分级,有新生黄体即行移植的对照组受胎率为 20.00%,得出不同黄体大小的受胎率无明显差异^[6]。仓明等以中国荷斯坦奶牛受体为研究对象,发现黄体为 A 级

的受体牛的受胎率为 28.6%,黄体为 B 级的受体牛的受胎率为 42.9%,黄体为 C 级的受体牛的受胎率为 0。可见,利用黄体触诊法选择受体牛虽然有非量化的弊端,但是实际生产操作中仍是可行的^[11]。方东辉等以西杂母牛作为受体进行胚胎移植,发现受体母牛的黄体直径在 0.8 cm、1.0 cm 和 1.2 cm 的,其妊娠率分别为 33.33%、35.71% 和 36.36%;而黄体在 1.5 cm 及以上的受体母牛的妊娠率更高(达 50.00%),建议黄体质量好且略大的受体母牛,优先进行胚胎移植^[12]。张建军等对安格斯牛进行胚胎移植时,发现黄体直径为 0.8 cm 的,与黄体直径为 1 cm 和 1.2 cm 的受体母牛所得的移植受胎率差异不明显,而黄体直径在 1.5 cm 和 1.8~2.0 cm 以上的受体母牛的移植受胎率明显较高。说明,受体母牛子宫正常,具有 0.8 cm 以上质地良好的黄体,均适合进行胚胎移植^[13]。

从上述各学者研究结果可见,不同品种受体牛黄体大小对胚胎移植受胎率产生了不同程度的影响,但不同直径黄体的胚胎移植受胎率差异不显著,

所以,在参考黄体大小的选择标准时,应适当放宽,如果选择过严,用于移植的受体母牛数量将大大减少。不仅移植人员的工作量过大,也大大影响了母牛的正常配种,给养殖户们带来了许多不便。

3 黄体位置与胚胎移植受胎率的关系

胚胎移植过程中,移植部位不同给胚胎移植受胎率带来了不同影响。有关胚胎移植位置的研究报道,移植单胚时,移植到黄体同侧子宫角的受胎率要比移植到黄体对侧的高得多(43%~55%);也有研究表明,移植到黄体同侧比移植到黄体对侧的受胎率高 14%。尽管所得的结果不太相同,总体认为,移植到黄体同侧子宫角的受胎率均比移植到黄体对侧的受胎率高^[14],这可能是因为移植到黄体对侧的胚胎促黄体分泌及抗黄体溶解的信号很难达到黄体,所以影响了它的受胎率。且牛胚胎附植部位一般是子宫角内血管稠密、营养充足的部位,所以,通常移植到黄体同侧子宫角深部 1/2~1/3 处,原则在不造成子宫角损伤的前提下尽可能靠前,越深越好^[15]。

孙凤俊^[16-19]等人研究发现左侧黄体受体牛受胎率略高于右侧,但差异不显著($P>0.05$),但付静涛^[20-21]等人研究认为移植左侧黄体受体牛的受胎率显著高于移植右侧黄体受体牛的受胎率。之所以造成左右侧黄体受体牛的移植受胎率不同,可能是跟移植操作人员的左右手操作习惯,以及不同群体有关。

4 黄体质量与胚胎移植受胎率的关系

受体牛黄体发育质量是判断能否移植的依据之一。有关研究报道,黄体发育好有弹性并柔软的受体牛通常有较好的移植受胎率^[14]。桑润滋等研究表明,移植黄体状况良好的受体得到妊娠率为 63.5%,而移植黄体发育较差的受体得的结果仅为 28.6%,差异悬殊。可见,受体的黄体质量是影响移植妊娠率的主要因素之一^[22]。卢春霞等也发现黄体的质量越好,受胎率越高,以移植鲜胚为例,A 级黄体的受胎率极显著高于 C 级黄体($P<0.01$),B 级黄体的受胎率显著高于 C 级黄体($P<0.05$),而移植冻胚时,A、B、C 级黄体的移植受胎率差别则不显著($P>0.05$)^[23]。这可能与移植的冻胚多为 A 级胚胎有关,但在生产上,往往需要考虑胚胎生产成本而选择 C 级胚胎移植 C 黄体,肯定会造成受胎率低。

在生产中,胚胎移植受胎率不仅与黄体质量还与胚胎质量有关,兼顾到胚胎生产的成本,要根据实际情况选择 C 级黄体的受体要不要移植,如果胚胎属于自己生产的,需要的成本低一些,为了充分利用

胚胎和受体牛,C 级黄体的受体是可以移植的;但如果胚胎是购买回来的,消耗的成本相对要高些,为了得到更好的受胎率,最好还是质量好的胚胎选择黄体质量好的受体移植才能得到更高的受胎率。

5 黄体生成溶解过程激素水平与胚胎移植的关系

黄体生成、溶解过程中激素水平的变化对胚胎移植效果产生了重要的影响,通过测定血浆或奶中孕酮含量,是判断黄体是否适合移植的更为准确的手段。吴美文等认为受体牛排卵第 6~8 天以后,血浆孕酮浓度超过一定的水平,如大于 5 ng/mL,小于 11 ng/mL,黄体质量就应该没有问题,胚胎移植后,均有可能妊娠^[24]。另外,孕酮与雌二醇的比例高,妊娠率随之升高。如果孕酮与雌二醇的比例变小,即使孕酮浓度超过 5 ng/mL,同样会降低其受胎率^[13]。陈明棠等对水牛 3 个等级黄体与移植日孕酮含量进行监测,发现 A 级(黄体直径在 1.5 cm 以上)黄体的孕酮含量极显著高于 C 级(黄体直径在 0.8 cm 以下)黄体的孕酮含量($31.31 \text{ nmol/L} > 16.77 \text{ nmol/L}, P<0.01$);B 级(黄体直径在 0.8~1.5 cm 之间)黄体的孕酮含量显著高于 C 级(黄体直径在 0.8 cm 以下)黄体的孕酮含量($19.47 \text{ nmol/L} > 16.77 \text{ nmol/L}, P<0.05$)^[6];可见黄体大小与孕酮含量有着密切的关系。

在生产上,受体胚胎移植后能否妊娠,与黄体分泌孕酮的能力,饲养管理,特别是维生素和矿物质营养都有很大的关系,这些因素不仅会影响受体母牛的发情和排卵,还会影响以后的胚胎早期发育都有很大影响。

6 小 结

受体牛黄体发育和位置是判断能否移植的依据,因此确认黄体等级及存在的位置是胚胎移植的重要环节之一,黄体发育好的移植效果才好。而牛的胚胎移植是一个系统的胚胎生物工程,受到多环节、多因素的影响,每一个环节、每一个因素都会牵一发而动全身,影响最终的胚胎移植效果。如果想提高胚胎移植效果,每一个细节都应当做到尽善尽美。

参考文献:

- [1] 王生明,黄橙,胡建宏.牛胚胎移植关键技术与影响因素分析[J].畜牧兽医杂志,2017,36(1):42-44.
- [2] NISWENDER G D, JUENGL J L, SILVA P J, et al. Mechanisms controlling the function and life span of the corpus luteum[J]. Physiol. Rev., 2000, 80: 1-29.
- [3] GOMEZ-SECO C, ALEGRE B, MARTINEZ-PASTOR F et al. Evolution of the corpus luteum volume determined ultrasonographi-

- cally and its relation to the plasma progesterone concentration after artificial insemination in pregnant and nonpregnant dairy cows[J]. Vet. Res. Commun., 2017, 41: 183-188.
- [4] 宣柏华,孙凤俊,张新慧,等.牛胚胎移植妊娠率主要影响因素分析[J].黑龙江畜牧兽医,2007,3(15):22-23.
- [5] GARCIA A, SALAHEDDINE M. Ultrasonic morphology of the corpora lutea and central luteal cavities during selection of recipients for embryo transfer[J]. Reprod. Domest. Anim., 2000, 35: 113-118.
- [6] 陈明棠,张秀芳,赵朝步,等.不同等级黄体与牛胚胎移植受孕率关系的研究[J].中国牛业科学,2011,37(2):43-45.
- [7] 和占星,王喆,张继才,等.DB 53/T 447.4—2012 BMY 牛 第4部分:胚胎移植技术规范[S].昆明:云南省质量技术监督局,2012.
- [8] 周顺成,马志远,尹世东,等.受体牛营养对黄体的影响及黄体等级对冻胚移植受孕率影响的试验研究[J].甘肃畜牧兽医,2006,37(4):5-7.
- [9] 何光中,龚铭,张向鹏,等.受体牛不同处理方法冷冻胚胎移植效果研究[J].贵州农业科学,2008,36(3):108-109.
- [10] 卢全晟.牛胚胎移植及相关生物技术在双胞胎生产上的研究与应用[D].石河子:石河子大学,2005.
- [11] 仓明,阎继生,刘文生,等.奶牛胚胎移植中生殖激素含量变化及黄体发育状况与移植效率的关系[J].中国畜牧兽医,2005(9):40-42.
- [12] 方东辉,黄成军,王巍,等.牛胚胎移植技术在旺苍县的应用试验[J].四川畜牧兽医,2022,49(2):23-24.
- [13] 张建军,肖锐,牛志宏,等.不同黄体大小对受体妊娠率的影响[J].新疆畜牧业,2010,6(19):43-44.
- [14] 魏建生.提高黄牛胚胎移植妊娠率的配套技术研究[D].贵阳:贵州大学,2007.
- [15] 鲁立刚,刘江,曾继晶,等.影响牛胚胎移植效果的主要因素分析[J].中国牛业科学,2022,48(1):38-41.
- [16] 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(5):16-19.
- [17] 何光中,龚铭,张向鹏,等.受体牛黄体位置及黄体等级对胚胎移植效果的影响[J].贵州农业科学,2008,36(3):108-109.
- [18] 吴旻,程英虎,杨璐,等.影响荷斯坦牛胚胎移植受孕率因素的研究[J].中国奶牛,2015(10):21-22.
- [19] 胡高博,赵鑫,卞江涛,等.受体牛黄体大小及黄体位置对性控冻胚胎移植妊娠率的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2010,7(13):62-63.
- [20] 付静涛,朱士恩,李树静,等.影响受体牛冷冻移植胚胎效果的主要因素[J].中国畜牧杂志,2008,44(17):14-17.
- [21] 李波.贵州黄牛冷冻胚胎移植配套技术应用研究[D].贵阳:贵州大学,2009.
- [22] 桑润滋,王凤鸣,靳胜新,等.奶牛胚胎分割移植试验研究[J].河北农业大学学报,1993(3):1-6.
- [23] 卢春霞,刘长彬,石国庆.影响本地杂交黄牛胚胎移植妊娠率的因子分析[J].草食家畜,2005,3(1):43-45.
- [24] 吴美文,王旻子.奶牛奶中孕酮含量变化模式及其对繁殖率的影响[J].中国畜牧杂志,1999(2):15-17.

Effects of Corpus luteum on Bovine Embryo Transfer

HUANG Rong-chun, LIANG Gan, TAN Zheng-zhun, LI Hui, HUANG Jian, YAN Sheng-fei, ZHONG Hua-pei, FENG Chao, LU Ying, LIANG Sha-sha, LI Ting-ting, QIN Guang-sheng*

(Key Laboratory of Buffalo Genetics, Breeding and Reproduction Technology, Guangxi Buffalo Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530001)

Abstract: Progesterone released by the corpus luteum plays an important role in the estrous cycle, initiating estrous behavior and maintaining pregnancy, but there are different reports on whether the corpus luteum affects the effect of embryo transfer at home and abroad. Based on the purpose of exploring the influence of corpus luteum on the effect of bovine embryo transfer, this paper refers to a large amount of literature, summarizes the methods of examination and classification of corpus luteum, and analyzes the relationship between the size, location, quality, hormone level in the process of corpus luteum dissolution and the conception rate of embryo transfer, to provide a scientific reference basis for improving the effect of embryo transfer. In production, the development and location of corpus luteum determined by B-ultrasound scanning combined with rectal examination in recipient bovine are used as the basis for transplantation. The research results from various scholars showed that there is no significant difference in the conception rate of embryo transfer with different diameters of the corpus luteum. In order to improve the utilization of recipient cattle, the standard of corpus luteum size selection of recipient cattle can be accordingly lowered. The conception rate of embryo transfer to the uterine horn at the same side to the corpus luteum is higher than that of embryo transfer to the opposite side to the corpus luteum. In addition, it may be due to the different operation habits of the operators, it is found that the conception rate of left hand corpus luteum transfer is higher than that of right hand corpus luteum transfer. Many scholars believe that high-quality embryos can get a higher conception rate by selecting recipients with high-quality corpus luteum. The success of pregnancy after embryo transfer is also related to the amount of progesterone and the ratio of progesterone and estradiol in the process of luteinization and dissolution.

Key words: embryo transfer; corpus luteum; B-mode ultrasonography; conception rate