

家畜人工授精技术

李清宏 任有蛇 编著

金盾出版社

目 录

第一章 概述	(1)
一、人工授精的优点	(1)
(一)提高优良公畜配种效率	(1)
(二)加速品种改良步伐,加快育种工作进程	(2)
(三)有利于品种资源保护	(2)
(四)防止疾病传播	(2)
(五)克服公母家畜体格悬殊造成的交配困难	(3)
(六)降低生产成本,提高经济效益	(3)
(七)有利于提高母畜的受胎率	(3)
二、人工授精技术的发展	(3)
(一)试验阶段	(4)
(二)应用阶段	(5)
(三)精液冷冻阶段	(5)
三、人工授精技术在我国的应用	(6)
第二章 人工授精中的生殖激素调控	(8)
一、生殖激素	(8)
(一)生殖激素的种类	(8)
(二)生殖激素的特点	(10)
(三)主要生殖激素的化学性质、生理功能与应用	(11)
二、外源激素在诱发发情中的应用	(20)
(一)常用的外源激素及处理方法	(20)
(二)催产素诱发发情技术	(22)

(三)褪黑素诱发发情技术	(23)
三、外源激素在同期发情中的应用	(25)
(一)同期发情的原理	(25)
(二)处理方法	(26)
第三章 家畜发情与鉴定	(31)
一、发情及发情周期	(31)
(一)初情期、性成熟和适配年龄	(31)
(二)母畜的发情及发情周期	(33)
(三)母畜的异常发情	(34)
二、发情鉴定方法	(35)
(一)外部观察法	(35)
(二)试情法	(36)
(三)阴道检查法	(36)
(四)直肠检查法	(36)
(五)激素测定法	(37)
(六)电测法	(38)
三、牛、羊、猪的发情鉴定	(38)
(一)母牛的发情鉴定	(39)
(二)母羊的发情鉴定	(43)
(三)母猪的发情鉴定	(45)
第四章 牛人工授精技术	(50)
一、种公牛站的设置与管理	(50)
(一)设置	(50)
(二)管理	(51)
二、采精与处理	(52)
(一)采精	(52)
(二)品质检查	(56)

(三)精液稀释	(58)
三、精液冷冻保存	(59)
(一)精液冷冻保存的原理	(59)
(二)冷冻精液标准	(60)
(三)冷冻工艺流程	(60)
(四)注意事项	(61)
(五)液氮罐的使用	(62)
(六)冷冻精液的运输	(63)
四、输精	(63)
(一)输精前的准备	(63)
(二)输精时间、输精量、输精部位和次数	(68)
(三)输精方法	(69)
(四)人工授精的组织工作	(70)
第五章 羊人工授精技术	(72)
一、准备工作	(72)
(一)授精站的建设	(72)
(二)制定选种选配计划	(76)
(三)公羊的准备	(77)
(四)母羊的整群与抓膘	(79)
(五)器材的准备与消毒	(79)
二、液态精液人工授精技术	(81)
(一)采精前的准备	(81)
(二)采精及采精频率	(82)
(三)品质检查	(83)
(四)稀释	(86)
(五)精液液态的保存与运输	(88)
(六)试情	(89)

(七)输精	(89)
三、冷冻精液人工授精技术	(91)
(一)采精	(92)
(二)精液的稀释、分装与冷冻	(92)
(三)解冻	(94)
(四)输精	(95)
第六章 猪人工授精技术	(96)
一、公猪站的建设	(96)
(一)公猪舍	(96)
(二)采精室	(97)
(三)精液处理室	(97)
二、采精与处理	(98)
(一)公猪的调教与采精频率	(98)
(二)采精前的准备	(101)
(三)采精	(103)
(四)品质检查	(105)
(五)稀释与分装	(110)
三、稀释后精液的保存	(112)
(一)常温保存	(112)
(二)低温保存	(113)
四、输精	(114)
(一)输精前的准备	(114)
(二)输精技术	(118)
第七章 妊娠诊断	(120)
一、牛的妊娠诊断	(120)
(一)直肠检查法	(121)
(二)外部观察法	(124)

(三)其他诊断方法·····	(124)
二、羊的妊娠诊断·····	(126)
(一)外部观察法·····	(127)
(二)虹膜检查法·····	(127)
三、猪的妊娠诊断·····	(127)
(一)超声波妊娠诊断仪诊断法·····	(128)
(二)外部观察法·····	(128)
(三)雌激素测定法·····	(128)
(四)其他方法·····	(129)
主要参考文献·····	(130)

第一章 概 述

早在 20 世纪中后期,人工授精技术就成为家畜改良的重要手段,并在传统畜牧业中,特别是养牛业中发挥了重要作用,产生了巨大的经济效益。时至今日,人工授精技术仍然是家畜生产领域中急待推广的繁殖手段之一,有人把人工授精技术称为家畜繁殖技术领域的“第一次革命”。

一、人工授精的优点

人工授精(artificial insemination, AI)是指利用器械以人工方法采集雄性家畜的精液,经检查、稀释、保存等特定处理后,用器械输入到发情雌性家畜生殖道的特定部位,使其妊娠的一种家畜繁殖技术。由此可见,人工授精包括三大步骤:精液采集、精液处理、精液输入。人工授精作为先进的繁殖技术,在畜禽品种改良、疾病控制、提高效益等方面发挥着重要的作用。

(一)提高优良公畜配种效率

人工授精不仅可改变自然交配的过程,还能提高公畜的与配母畜数量,特别是冷冻精液的长期保存和应用,大幅度地提高了种公畜的配种效率,使优种家畜及个体得到了充分利用。据报道,新西兰 1 头娟姗公牛 1 年授精母牛 42 847 头,美国 1 头海福特公牛一生授精母牛达 35 万头;而采用自然交配方式,1 头公牛 1 年可配母牛只有 40~100 头。在自然交配的

情况下,1头公猪1年负担25~30头母猪的配种任务,繁殖仔猪600~800头;而采用人工授精技术,1头公猪可负担800~1500头母猪的配种任务,繁殖仔猪1万头以上。

(二)加速品种改良步伐,加快育种工作进程

人工授精技术,特别是冷冻精液的应用,可突破时间和地域的限制,使最优秀的种公畜用于配种,扩大其优良遗传基因的影响,将它们的优质基因迅速推广,大幅度地提高后代的生产性能,加速品种改良的步伐。此外,人工授精技术和冷冻精液的应用,能提供完整的配种记录,保证配种计划的实施,进而加快育种工作的进程。

(三)有利于品种资源保护

牛的冷冻精液最长的保存期可达40年。随着家畜精液冷冻技术的不断改进和发展,各地相继建立了家畜原种精液库,收集、贮藏具有种用价值和濒临灭绝畜种的冷冻精液,使冷冻精液成为一种理想的保种手段。在今后的育种工作中,一旦需要某一品种的某些遗传性状,就可以在短时间内,通过提取冷冻精液使其得到利用和恢复。因此,在遗传学上具有重要的科学价值。

(四)防止疾病传播

进行人工授精的公、母猪,一般都是经过检查为健康的猪只,可避免公、母猪的直接接触,只要严格按照操作规程配种,避免采精和精液处理过程中的污染,可以减少部分疾病,特别是生殖道疾病(不能通过精液传播的疾病)的传播,从而提高母猪的受胎率和产仔数。人工授精整个操作过程中,必须严格

消毒,并按操作规程进行,否则,会由于消毒不严或操作不正确而引发家畜生殖道疾病,影响其繁殖效率。

(五)克服公母家畜体格悬殊造成的交配困难

良种公畜绝大多数体格硕大,与本地体型较小的母畜交配十分困难。如 400~500 千克良种公猪与 50~80 千克的本地母猪交配就很困难。采用人工授精技术使这一问题迎刃而解。采用人工授精技术还可使马和驴、牦牛和黄牛的种间交配得以顺利进行。

(六)降低生产成本,提高经济效益

人工授精和自然交配相比,使每头种公畜的与配母畜数大大增加,饲养公畜数量相对减少,节省了部分人工、饲料、栏舍及资金等饲养管理费用,从而提高了经济效益。

(七)有利于提高母畜的受胎率

人工授精前要对母畜进行发情鉴定,这样既可以掌握适宜配种时间,又可以及时发现与治疗难孕母畜,淘汰不孕母畜。因此,有利于减少空怀率,提高母畜的受胎率。

但是,如果本身生产水平不高,授精技术不过关,很可能造成母猪子宫炎、受胎率低和产仔数少的情况。

二、人工授精技术的发展

国外人工授精技术的发展大致可分为 3 个阶段:试验阶段、应用阶段和精液冷冻阶段。

(一)试验阶段

最早有文献记载人工授精的是1780年,意大利生理学家Spallanzani用处于体温温度的精液给1只母狗人工授精并获得3只小狗。1782年,Rossi等成功地重复了他的试验。Spallanzani随后通过过滤把精液中能够受精的成分与精清分开,并证实通过滤纸的液体不能受精,而留在滤纸上的成分有极高的受精率。1803年,Spallanzani报告用雪把精子冷却后精子并未死亡,但停止了运动,加热后又恢复了运动,且能持续数小时。

俄国学者Ivanoff是世界上第一个将人工授精技术用于羊和家禽的学者。1899年,他开始研究家畜的人工授精,于20世纪初在马上获得成功;随后成功地进行了牛和绵羊的人工授精。

假阴道的发明是人工授精技术中的重要进展。1914年,罗马大学的Amantea成功研制出世界上第一个用于狗采精的假阴道。俄国科学家随后仿制出马、牛、绵羊用的假阴道。当前,假阴道仍然是牛、绵羊、山羊、马采精的主要工具。

稀释液的开发加快了人工授精的推广步伐。在20世纪30年代的晚期,威斯康星大学的Phillips等开发了一种具有缓冲和营养作用的卵黄-磷酸盐稀释液。这种稀释液不仅对精子从体温冷却到5℃能起到保护作用,而且能给精子代谢提供营养,保持精液稀释前后的pH值恒定。使用这种稀释液稀释精液,精子能存活和保持受精能力3~4天。Salisbury等随后对这种稀释液进行了改进,用柠檬酸钠代替了磷酸盐,使精子在显微镜下被清楚地看见,为稀释后更准确地评定精子活力提供了方便。二战之后,青霉素和链霉素开始应用于畜牧

业。宾夕法尼亚大学的 Almquist 第一个报告了使用青霉素和链霉素可控制牛精液中的细菌污染。随后,青霉素和链霉素被广泛用于人工授精技术中,显著地提高了受胎率。

早期的输精只是简单地把精液输送到母畜的阴道内。阴道扩张器和玻璃输精管(输精器)的应用,使精液能输送到子宫颈内约 2 厘米深处。1937 年,丹麦的兽医又开发了母牛的直肠——阴道输精法(也称子宫颈直肠把握输精法)。

所有这些输精技术的改进,进一步提高了人工授精的受胎率,推动人工授精由试验走向应用阶段。

(二)应用阶段

到 20 世纪 30 年代,人工授精技术逐步建立了较为规范的操作规程,人工授精从试验阶段进入应用阶段。20 世纪 40~60 年代,人工授精技术的应用得到了蓬勃发展,成为家畜遗传改良的一项最有成效的技术。现在世界各国,特别是西欧、北美、大洋洲、前苏联、日本等许多畜牧业发达的国家,将人工授精技术应用于畜牧生产已十分普遍,尤其在奶牛的繁殖方面应用最广泛,技术水平最高,很多国家在奶牛生产中,人工授精技术的普及率已达到 100%。

(三)精液冷冻阶段

随着人工授精技术在生产中的广泛应用,人们更加渴望能将精液长期保存起来,以便随时取用。Parkes 等在研究冷冻和解冻鸡精子的过程中,发现甘油能起到保护作用,但用于哺乳家畜的精液冷冻并不成功。后来,他们发现,把甘油加入精液后停留一个晚上,采用干冰作为制冷剂进行冷冻就能成功。英国人 Polge 等将甘油用于保存牛冷冻精液试验,在

-79℃超低温下保存牛精液并用于输精获得成功,于1951年获得世界上第一头冷冻精液牛犊,把人工授精技术推向崭新的发展阶段。目前,在奶牛业中,应用冷冻精液人工授精结合后裔测定等措施,使优良种公牛的利用不受时间和地域限制,其受胎率与新鲜精液无明显差异。正是人工授精技术的运用,使奶牛的产奶量在近30年来提高了数倍。

1957年,美国育种服务组织(American Breeders Service)率先使用液氮作为制冷剂来冷冻和贮存精液。Linde公司随后开发生产了一种只需每隔60~90天补充一次液氮的大型不锈钢真空容器,实现了精液长时间贮存,方便了远距离运送。

1964年,法国Cassoues研究小组开发出了容量为1.2毫升的细管。此细管与1毫升的玻璃安瓿相比,冻精活力有明显的提高,并发现冷冻表面系数是决定冻后活力的主要因素。随后他们转向开发直径为原来的1/2、容量是0.5毫升的中型细管,应用效果良好。于1968年又开发出容量只有0.25毫升的微型细管,其应用效果进一步提高。目前微型细管在世界范围内已被广泛应用,并有逐渐取代中型细管的趋势。

三、人工授精技术在我国的应用

人工授精技术在我国的应用,始于1935年的句容种马场,20世纪40年代初,应用于绵羊和乳牛,1951年以后主要在东北应用于马匹。人工授精对我国马和绵羊的改良与新品种培育起了重要作用。我国新疆细毛羊的培育成功与人工授精技术的推广应用是分不开的。奶牛的人工授精工作始于20世纪50年代中期,60年代普及,70年代使用冷冻精液,对中

国黑白花奶牛的培育起到了重要的作用。目前,奶牛应用冷冻精液的普及率已达到 90% 以上。猪的人工授精自 50 年代起,相继在广西、江苏、北京、黑龙江、广东等地推广,但发展缓慢,主要应用于规模化养猪场。我国马的人工授精技术应用不论是配种的数量还是受胎率,均处于世界前列。目前人工授精的母猪数量位于世界首位。鸡的人工授精由于笼养鸡的发展得到广泛应用。但我国人工授精的普及率及其技术和管理水平与畜牧业发达的国家相比差距甚远。目前,整个畜牧业对人工授精技术的需求十分迫切,在加强技术与完善技术规程的同时,需要一大批高级技术人员与专业化的人工授精公司进行配套,实现我国畜牧业繁殖技术的进一步提高。

第二章 人工授精中的生殖激素调控

诱发乏情母畜发情、实施同期发情,进行人工授精,可提高家畜的繁殖力,能大幅度地缩短配种时间,节约人力、物力,提高生产效率,降低生产成本,有利于人工授精技术的推广和应用。而这些技术成功的关键在于科学合理地使用生殖激素。

一、生殖激素

激素是由家畜机体产生,经体液循环作用于靶器官或靶细胞,具有调节机体生理功能的一系列微量的生物活性物质。生殖激素是指与家畜性器官、性细胞、性行为等的发生、发育,以及发情、排卵、妊娠、分娩和泌乳等生殖活动有直接关系的激素。生殖激素由家畜内分泌腺体(无管腺)产生,故又称生殖内分泌激素。某些激素虽然与母畜的生殖活动无直接关系,但通过影响家畜生长发育及代谢功能而间接影响生殖功能,故把这类激素称为次生殖激素,如生长激素、促肾上腺皮质激素、促甲状腺素、甲状腺素、皮质醇、醛固酮、胰岛素、甲状旁腺素等。

(一)生殖激素的种类

生殖激素种类繁多,了解生殖激素的种类有助于把握激素的性质与使用。

1. 根据来源、分泌器官及转运机制分类

(1)脑部激素 由脑部各区神经细胞团如松果腺、下丘脑

和垂体等分泌,对脑内和脑外生殖激素的分泌活动起调节作用。包括下丘脑分泌的促性腺激素释放激素(GnRH)、催产素、褪黑素(MLT)和腺垂体分泌的促卵泡素(FSH)、促黄体素(LH)和催乳素(PRL)。

(2)性腺激素 由睾丸和卵巢分泌,参与生殖激素分泌的调节,对性细胞的发生、卵泡发育、排卵、受精、妊娠和分娩等生殖活动有直接或间接作用,根据化学本质可分为性腺类固醇激素和性腺含氮激素,包括雌激素、孕激素、雄激素、抑制素和松弛素。

(3)胎盘激素 由雌性家畜胎盘产生,对妊娠维持和分娩启动等有直接作用,包括孕马血清促性腺激素(PMSG)和人绒毛膜促性腺激素(HCG)。

(4)其他组织器官分泌的激素 生殖系统以外的所有组织器官均可分泌,对卵泡发育、黄体消退等具有直接作用。

(5)外激素 由外分泌腺体(有管腺)分泌,借助空气和水传递而作用于靶器官,主要影响家畜的性行为。

2. 根据其化学本质分类

(1)蛋白质、多肽类 由垂体分泌的所有生殖激素和脑部分泌的大部分生殖激素都属此类。此外,胎盘和性腺以及生殖器官外的其他组织器官也可分泌蛋白质和多肽类激素。这类激素对性腺或乳腺的发育和分泌功能有直接作用。

(2)类固醇类 主要由性腺和肾上腺所分泌,对家畜性行为 and 生殖激素的分泌有着直接或间接作用。

(3)脂肪酸类 主要由子宫、前列腺、精囊腺(前列腺素)和某些外分泌腺体(外激素)所分泌。

(二)生殖激素的特点

1. 对靶器官或靶细胞的选择性 生殖激素均有其一定的作用器官或细胞,称之为靶器官或靶细胞。激素必须与靶器官或靶细胞中的特异性受体(内分泌激素)或感受器(外激素)结合后才能产生生物学效应。分子较大的激素一般与其靶细胞膜上的受体结合,而分子较小的激素一般与其靶细胞内核膜上的受体结合。受体与激素结合的能力影响生殖激素的生物学效应。通常,结合能力愈强,激素的生物学作用愈高。受体水平或结合能力下降时,激素的生物学作用就降低。

2. 活性丧失很快 激素在家畜机体中由于受分解酶的作用,其生物活性很快丧失。生殖激素的生物学作用在体内消失一半时所需时间,称为半衰期。半衰期短的生殖激素,一般呈脉冲性释放,在体外必须多次提供才能产生生物学作用。相反,半衰期长的激素(如孕马血清促性腺激素),一般只须一次供药就可产生生物学效应。

3. 微量性 微量的生殖激素便可产生巨大的生物学效应。在生理状况下,家畜体内生殖激素含量极低(血液中的含量一般只有 $10^{-12} \sim 10^{-9}$ 克/毫升),但所起的生理作用十分明显。例如,家畜体内的孕酮水平只要达到 6×10^{-9} 克/毫升,便可维持正常妊娠。

4. 协同作用或拮抗作用 某种生殖激素在另一种或多种生殖激素的参与作用下,其生物学作用显著提高,这种现象称为协同作用。例如,一定剂量的雌激素可以促进子宫发育,在孕激素的协同作用下子宫发育更加明显。相反,一种激素如果抑制或减弱另一种激素的生物学作用,则该激素对另一激素具有拮抗作用。例如,雌激素具有促进子宫收缩的作用,而孕

激素则可抑制子宫收缩。

5. 生物学效应与家畜生理状态、激素的用量和用法密切相关 同种激素在不同生理时期或不同使用剂量和使用方法情况下,所起的作用不同。例如,在家畜发情排卵后一定时期连续使用孕激素,可诱导发情;但在发情时应用孕激素,则可抑制发情;在妊娠期使用低剂量的孕激素可以维持妊娠,但如果使用大剂量孕激素后突然停止使用,则可终止妊娠。

6. 结构类似的生殖激素,生物学效应相近 如己烯雌酚与雌二醇有相似的分子结构,其生物学作用相似。相反,即使分子组成相同而分子结构不同的激素,其生物学作用也可能不同。例如,松弛素与胰岛素虽有类似的分子组成,但因分子结构(二硫键所处位置)不同,其生物学作用差异很大。

(三)主要生殖激素的化学性质、生理功能与应用

1. 促性腺激素释放激素

(1)来源与化学性质 促性腺激素释放激素是由下丘脑神经细胞分泌的多肽类(九肽)激素。

(2)生理功能 促性腺激素释放激素主要生理功能是促进垂体前叶分泌促卵泡素和促黄体素。试验证明,注射外源促性腺激素释放激素几分钟后,母牛血液中的促卵泡素和促黄体素便开始升高,但是促性腺激素释放激素促进促黄体素分泌比促进促卵泡素分泌更强。促性腺激素释放激素对雄性家畜有促进精子发生和增强性欲的作用,对雌性家畜有诱导发情、排卵,提高配种受胎率的功能。

(3)临床应用 促性腺激素释放激素常用于治疗雄性家畜性欲减弱和精液品质下降、雌性家畜卵泡囊肿和排卵异常等症。此外,在母猪配种前2小时或配种后10天内注射促性