



不同因素对西藏阿旺绵羊胚胎冷冻与移植效果的影响

虞 莲¹,王幸栓²,卓玛拉姆²,邓增卓玛²,杨志勇²,
王 婵¹,李剑南¹,雷安民¹

(1. 西北农林科技大学 动物医学院/陕西省干细胞工程技术研究中心,陕西杨凌 712100;

2. 西藏昌都津垦牧业科技有限责任公司,西藏昌都 854000)

摘 要 为探究西藏阿旺绵羊推行胚胎移植及胚胎冷冻技术的可行性,以阿旺绵羊为供体,澳湖羊为受体,探讨发情期内不同月份对阿旺绵羊超排效果的影响、不同发育阶段鲜胚和移植数量对母羊受胎率及产羔率的影响,以及冷冻方法对胚胎移植的影响。结果显示:发情期 7 月超排组平均可用胚数(3.95 ± 4.23)显著低于 10 月超排组(5.45 ± 4.03);阿旺绵羊胚胎移植 2 枚桑椹胚的受体妊娠率最高,达到 81.81%,产羔率达 57.58%,具有显著性差异;阿旺绵羊胚胎程序化冷冻组受体妊娠率为 35.48%,显著优于玻璃化冷冻组受体妊娠率 13.63%。以上结果表明,西藏推行阿旺绵羊胚胎移植技术的可行性较高。

关键词 阿旺绵羊;发育阶段;玻璃化冷冻;程序化冷冻

阿旺绵羊是西藏地区的主要养殖畜种,以其体格大、产肉多、板皮面积大、适应性强等特点,闻名于藏区内外。1970 年初至 1980 年中期,中国先后有多个单位开展了绵羊胚胎移植的试验研究工作,并先后获得成功。目前,对于胚胎移植技术快速扩繁优良个体在绵羊上已有较多报道,如小尾寒羊^[1]、蒙古羊^[2]、杜泊克羊^[3]、萨福克^[4]、波尔山羊^[5]等。2007 年,西藏地区开展绵羊胚胎移植试验,引进纯种绵羊并进行胚胎移植给当地羊,移植后受胎率为 38.24%^[6]。但西藏地区尚无对阿旺绵羊胚胎移植及冷冻的报道,结合国内外对绵羊胚胎移植和冷冻的实践与应用,本研究进行西藏阿旺绵羊胚胎移植与胚胎冷冻的尝试,通过阿旺绵羊的超数排卵、胚胎冷冻、冷冻胚胎复苏与移植等技术链的集成示范,构建阿旺绵羊冷冻胚胎保种库,实现阿旺绵羊种质资源的有效保存,以利于对其进行保种、扩繁及优种推广工作。

1 材料与方法

1.1 材料

供体母羊:年龄 2~4 周岁的西藏阿旺绵羊母

羊 168 只,均为体格健壮、生殖器官无异常、繁殖正常。受体母羊:育成或经产的澳湖羊 150 只,均体格健康,生殖机能正常。

促卵泡素(FSH)和人绒毛膜促性腺激素(hCG)购自宁波三生生物科技有限公司;前列腺素(PG)、孕马血清促性腺激素(PMSG)和维生素 ADE 注射液购自宁波市舒生第二激素厂;孕酮阴道栓 CIDR 栓购自 Pfizer Australia Pty 公司;速眠新、陆眠宁和酒精等购自重庆市渝生制药厂;DPBS 购自 Gibco 公司,胎牛血清 FBS(fetal bovine serum)购自 Sigma 公司等。玻璃化冷冻试剂:Cryotech 玻璃化快速冷冻试剂组及冷冻载杆购于广州尊博医疗器械有限公司。程序化慢速冷冻试剂购于天津云牧生物科技有限公司。

二氧化碳培养箱、高压灭菌锅、干热灭菌器、恒温水浴器、体视镜、腹腔镜、程序化冷冻仪 CL-8800i(程序化冷冻仪 CL-8800i 由澳大利亚 CRYOLOGIC 公司设计制造)。

1.2 方法

1.2.1 超排处理 超排处理示意图如图 1,以放置阴道栓塞记为第 1 天。进行发情鉴定时,用同

收稿日期:2022-05-14 修回日期:2022-08-06

基金项目:陕西省重点研发计划(2020NY-011);西藏昌都地区阿旺绵羊的胚胎冷冻研究与应用示范。

第一作者:虞 莲,女,硕士研究生,从事动物胚胎工程研究。E-mail:yuyulian2021@163.com

通信作者:雷安民,男,博士,研究员,主要从事动物胚胎工程研究。E-mail:anminleiryan@nwsauf.edu.cn

种阿旺绵羊公羊进行一对一配种,以母羊站立接受爬跨并完成本交过程为止,连续配种 3 次~4 次,配种间隔 8 h~12 h。同时,对供体羊在第 15

天配种结束后注射促黄体素释放激素 A3 25 μg , 做好标记与记录。

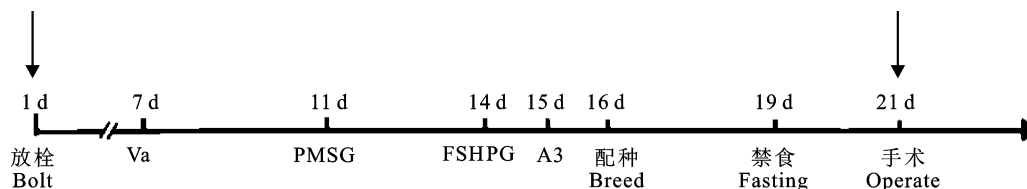


图 1 供体阿旺绵羊超排处理

Fig. 1 Superovulation processing chart of donor Awang sheep

1.2.2 手术法采胚 供体阿旺绵羊采用手术法冲胚,术前 2 d 禁食禁水。手术当日将供体阿旺绵羊保定,麻醉,局部消毒后打开腹腔,首先观察并记录左右侧卵巢上的黄体数及卵泡数,胚胎回收完毕放置于体视显微镜下检胚。皮肤缝合后,伤口周围涂抹碘酊,肌注氯前列烯醇(PG)。

1.2.3 胚胎检查与鉴定 体式显微镜下检查每只供体的回收胚胎,统计数量后,分别记录和剔除未受精胚、崩解胚,保留授精存活胚胎,通过胚胎

形态观察,对其进行等级鉴定。

胚胎鉴定:将每只供体回收胚胎置于 20 倍~40 倍体式显微镜下,首先判断受精及死活情况,再观察其形态、均匀度、色调、分裂球大小、细胞密度、透明带间隙以及变性情况等,并记录。根据胚胎形态,将胚胎分级(表 1),A、B、C 级胚胎均为可用胚胎,A、B 级胚胎可进行冷冻和移植,C 级胚胎可用于鲜胚移植。

表 1 胚胎分级鉴定

Table 1 Grading and identification of embryos

分级 Grading	鉴别 Identification
A	胚胎形态结构紧凑且完整,整体轮廓清晰,卵裂球大小均匀,色调及透明度适中,无附着的细胞和液泡 The embryos were compact and complete in morphology, well-defined overall, with uniform blastomere size, moderate hue and transparency, and there was no attached cells and vacuoles
B	胚胎轮廓清晰,色调及细胞密度良好,可见少量附着的细胞和液泡,变性细胞约占 10%~30% The embryos were well delineated, with good hue and cell density, a few attached cells and vacuoles could be seen, and about 10%~30% of the degenerating cells were observed
C	胚胎轮廓不清晰,色调发暗,结构较松散,游离的细胞或液泡较多,变性细胞约占 30%~50% The embryos had ill defined outlines, darker shades, looser structures, more free cells or vacuoles, and approximately 30%~50% of degenerating cells
D	胚胎无轮廓,结构十分松散,且变性细胞占 50%以上 The embryos were not contoured, their structures were loose, and more than 50% of the degenerating cells were present

1.2.4 玻璃化冷冻及解冻 冷冻步骤:将卵或胚胎放入平衡液 ES 中 10 min,然后转移至冷冻液 VS 混合几次,将卵或胚胎放置载杆末端,投入液氮,此步骤要求在 60~90 s 内完成。整个过程可在室温下进行,每次最多操作 10 枚胚胎,以上液体均提前至少 1 h 放置于室温环境中。

复苏步骤:将卵或胚胎取出,置入复苏液 TS 停留 1 min,转移至复苏液 TS:稀释液 DS=1:1 的混合液,停留 3 min;之后将胚胎依次放入稀释液 DS、清洗液 WS1、清洗液 WS2,各自停留 2 min;将 WS2 中恢复形态的胚胎转移至提前孵育的培养液中。

1.2.5 程序化冷冻及解冻 冷冻步骤:选择内置

程序 4,运行程序至-7 $^{\circ}\text{C}$ 时,放入胚胎管,停留时间在 1 min 后诱导植冰;三孔板添加 Holding 培养液,另外两孔均为 10%甘油冷冻保存液。整个冷冻操作过程中的室温要求维持在 23 $^{\circ}\text{C}$ 以上。

复苏步骤:冻胚细管取出后,空气停留 10~15 s,将细管浸入 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中,停留 15~20 s 左右。剪掉细管塞子,将胚胎依次放入 6%甘油+0.3 mol/L 蔗糖、3%甘油+0.3 mol/L 蔗糖和 0.3 mol/L 蔗糖冲洗,每次停留 5 min,再移入 Holding 培养液内停留 30 min。观察胚胎的胞质结构是否完整、能否继续发育的情况,选择状态较好的胚胎进行培养。解冻操作过程中的室温要求在 23 $^{\circ}\text{C}$ 以上。

1.2.6 鲜胚及冻胚移植 冻胚解冻后,观察冻胚恢复形态,选择结构完整的胚胎进行培养。鲜胚及冻胚均采用手术法植入,受体术前 1 d 禁食,肌注陆眠宁 0.1 mL/kg,术部消毒。打开腹腔后,首先确认卵巢黄体发育情况,将胚胎植入后,皮肤切口用碘酒消毒,根据切口大小缝合。冻胚解冻后

的质量评价标准,参照表 1 进行胚胎分级鉴定。

1.2.7 受体同期发情与饲养管理 受体澳湖母羊进行同期发情处理,如图 2。术前 1 d 禁食,第 21 天手术移植胚胎。受体在胚胎移植术后加强饲养管理,注意营养状况,防止因营养不良而引起胚胎早期死亡。

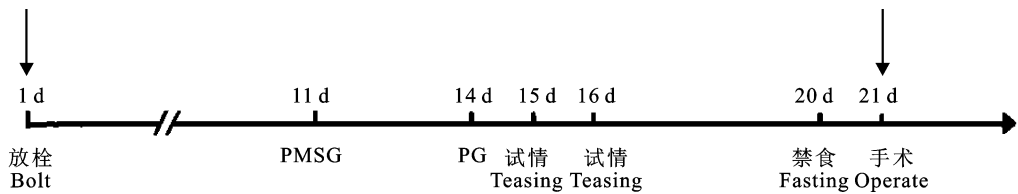


图 2 受体澳湖羊同期发情处理

Fig. 2 Receptor Aohu sheep under estrus synchronization treatment

1.2.8 统计分析 采用试验统计软件 SPSS 20 进行方差分析。结果用“平均值±标准差”的形式表示,以 $P<0.05$ 作为判断差异显著性的标准。

2 结果与分析

2.1 发情期不同月份对阿旺绵羊超排的影响

由表 2 可知,阿旺绵羊自然发情时间普遍集中于 7 月—10 月。阿旺绵羊 7 月已有 40% 母羊发情,10 月 90% 以上母羊发情。为探究阿旺绵羊

发情期不同月份对超排效果的影响,在阿旺绵羊发情期 7 月、10 月分别超排 48 只和 120 只。7 月组均黄体数 (8.89 ± 4.64 vs 8.40 ± 4.07) 与 10 月组结果相对稳定;7 月组均回收胚数 (5.47 ± 4.06 vs 6.51 ± 4.16)、胚胎回收率 (61.61% vs 77.57%) 及可用胚率 (72.22% vs 83.69%) 等均低于 10 月组,但无显著性差异 ($P>0.05$)。而 7 月超排组平均可用胚胎数 (3.95 ± 4.23 vs 5.45 ± 4.03) 显著低于 10 月超排组 ($P<0.05$)。

表 2 不同月份的阿旺绵羊超排效果

Table 2 Superovulation efficacy in Awang sheep during different months

月份 Month	有效供体数 /总供体数 Effective number of donors/Total number of donors	卵巢黄体平均数 Average number of corpus luteum of ovary	回收胚胎数平均数 Average number of recovered embryos	胚胎回收率/% Embryo recovery rate	可用胚胎数平均数 Average number of available embryos	可用胚率/% Available embryo rate
7 月 July	46/48	8.89 ± 4.64 a	5.47 ± 4.06 a	61.61	3.95 ± 4.23 a	72.22
10 月 October	112/120	8.40 ± 4.07 a	6.51 ± 4.16 a	77.57	5.45 ± 4.03 b	83.69

注:表中每列数值比较,相同小写字母表示差异不显著 ($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。
Note: In the value comparison within each column, the same lowercase letters indicate no significant differences ($P>0.05$), and different lowercase letters indicate significant differences ($P<0.05$). The same below.

2.2 不同胚胎发育阶段及移植胚胎枚数对胚胎移植效果的影响

2.2.1 阿旺绵羊移植胚胎数量对受胎率的影响

由表 3 可知,根据移植胚胎数量分为单胚、双胚两组,结果显示受体妊娠率 (50.00% vs 77.27%)、产羔受体占移植受体比例 (50.00% vs 71.74%) 及胚胎成羔率 (50.00% vs 54.55%),双胚组均略高于单胚组,两组无显著性差异 ($P>0.05$)。

2.2.2 阿旺绵羊移植不同发育阶段胚胎对受胎率的影响

由表 4 可知,共移植受体澳湖羊 54

只,移植胚胎 98 枚,移植两枚桑椹胚的受体妊娠率较高,达到 81.8%,同时其产羔率也相对较高,达到 57.58%,与其他组数据有显著性差异 ($P<0.05$)。当受体澳湖母羊分别移植 1 枚囊胚或 1 枚桑椹胚时,受体妊娠率、产羔受体占移植受体比率及胚胎成羔率等均为 50%。当移植 2 枚囊胚的受体妊娠率 (50.00% vs 81.8%)、产羔受体占移植受体比率 (50.00% vs 81.8%) 及胚胎成羔率 (50.00% vs 57.58%) 显著低于移植 2 枚桑椹胚,结果差异显著 ($P<0.05$)。

表 3 不同鲜胚数的胚胎移植效果

Table 3 Embryo transfer with different fresh embryo numbers

胚胎数量 Number of embryos	移植受体数 Number of transplant recipients	妊娠受体数 Number of pregnant recipients	受体妊娠率/% Recipient pregnancy rate	产羔受体占移植受体比例/% Proportion of lambing recipients to transplant recipients	胚胎成羔率/% Embryo lambing rate
单胚 Single embryo	10	5	50.00 a	50.00(5/10) a	50.00(5/10) a
双胚 Double embryo	44	34	77.27 a	75.00(33/44) a	54.55(48/88) a

注:受体妊娠率=受体妊娠数/移植受体数×100%;产羔受体占移植受体比例=实际产羔受体/移植受体数×100%;胚胎成羔率=实际产羔数/移植胚胎枚数×100%。下同。

Note:Recipient pregnancy rate was number of recipient pregnancies/number of transplant recipients×100%; Ratio of lambing recipients to transplant recipients was actual lambing recipients/number of transplant recipients×100%; Embryonic lambing rate was actual number of lambs/number of embryos transferred×100%. The same below.

表 4 不同鲜胚发育阶段的胚胎移植效果

Table 4 Embryo transfer at different fresh embryo developmental stages

胚胎阶段及数量 Embryo stage and number	移植受体数 Number of transplant recipients	移植胚胎数 Number of embryos transferred	受体妊娠率/% Recipient pregnancy rates	产羔受体占移植受体比率/% Proportion of lambing recipients to transplant recipients	胚胎成羔率/% Embryo lambing rate
1 枚囊胚 One blastocyst	2	2	50.00%(1/2) a	50.00%(1/2) a	50.00%(1/2) a
2 枚囊胚 Two blastocysts	2	4	50.00%(1/2) a	50.00%(1/2) a	50.00%(2/4) a
1 枚桑葚胚+1 枚囊胚 One morula + one blastocyst	9	18	66.67%(6/9) ab	55.56%(5/9) ab	44.44%(8/18) ab
1 枚桑葚胚 One morula	8	8	50.00%(4/8) a	50.00%(4/8) a	50.00%(4/8) a
2 枚桑葚胚 Two morulas	33	66	81.81%(27/33) b	81.81%(27/33) b	57.58%(38/66) b

2.3 不同冷冻方法对阿旺绵羊胚胎移植的影响

对阿旺绵羊的胚胎做不同冷冻处理,将部分冷冻胚胎解冻并复苏后移植入受体澳湖母羊体内,结果显示(表 5),程序化冷冻胚移植组受体的妊娠率为 35.48%,显著高于玻璃化冷冻胚移植组受体的妊娠率为 13.63%($P<0.05$)。程序化

冷冻组的胚胎成羔率(26.96%)也显著高于玻璃化冷冻组(12.00%)($P<0.05$)。阿旺绵羊两种方法冻胚移植 104 枚胚胎,共移植 84 只受体,B 超结果显示 25 只受体母羊妊娠,妊娠率为 29.76%,产羔 27 只,胚胎成羔率为 25.96%,新生羔羊状态较好(图 3)。

表 5 不同冷冻方法的胚胎移植效果

Table 5 Embryo transfer efficacy with different freezing methods

冷冻方法 Freezing method	胚胎数 Number of embryos	移植受体数 Number of transplant recipients	妊娠受体数 Pregnancy receptors	受体妊娠率/% Recipient pregnancy rate	胚胎成羔率/% Lambing rate
玻璃化冷冻法 Vitrification	25	22	3	13.63 a	12.00(3/25) a
程序化冷冻法 Programmed freezing	79	62	22	35.48 b	30.37(24/79) b

3 讨论与结论

3.1 发情期内不同月份对阿旺绵羊超排的影响

根据对阿旺绵羊繁殖性能,以及气候和温度等环境条件,阿旺绵羊自然发情时间普遍集中于 7 月—10 月。为探究阿旺绵羊繁殖季不同月份对超排效果的影响,在 7 月与 10 月对阿旺绵羊超排处理后,7 月组平均可用胚数(3.95±4.23)显著低于 10 月组(5.45±4.03),结果差异显著($P<0.05$)。其他结果虽无显著性差异,但整体超排效果 10 月

份更优。

本试验结果与多位研究者结果一致,如吕礼良等^[7]在繁殖季对萨福克绵羊超排处理后,9 月末—10 月中旬均回收胚数、均可用胚数和回收率较 7 月末—8 月中旬、8 月中旬—9 月初的超排效果更好。李福俊等^[8]在对绵羊超排处理后,9—10 月绵羊超排效果最好。奥旭东等^[9]对杜泊克绵羊全年不同月份进行超排后移植,发现 10—12 月超排后均回收胚数及均可用胚数显著高于 4—6 月份超排效果($P<0.05$),且受体 1 月、3 月、6 月、12



图3 鲜胚(左)与冻胚(右)羔羊及受体母羊

Fig. 3 Fresh embryo (left) and frozen embryo (right) lambs and acceptor ewes

月的妊娠率显著高于其他月份($P < 0.05$)。大量研究结果均表明不同月份对绵羊超排效果具有一定的影响,发情早晚对其超排处理后卵巢卵泡均可发育,但在普遍发情期间成年母羊的卵巢更活动频繁,对 FSH 激素反应敏感,卵巢卵泡发育较好、数量多,超排后可用胚数量多。

3.2 不同胚胎发育阶段及移植胚胎数对移植效果的影响

受体接受移植胚胎的数量影响妊娠的成功率及胚胎存活率。本试验关于鲜胚移植阶段及数量的研究结果(表 3 和表 4),移植 2 枚桑椹胚的受体妊娠率与产羔受体占移植受体比率较高,均达到了 81.81%,同时其产羔率也相对较高,达到 57.58%,与其他组数据有显著性差异($P < 0.05$)。

本试验结果与大多数研究报道一致,移植双胚妊娠率及胚胎存活率高于移植单胚,且移植桑椹胚效果优于囊胚。同时移植 2 枚或 3 枚胚胎时,受体妊娠率和产羔率较移植 1 枚胚胎显著提高^[10-11]。也有学者证实,当受体移植胚数增加至 3 枚以上,其受体妊娠率有所增加但差异不显著,且降低了胚胎利用率^[12-14]。罗生金等^[15]对萨福克绵羊 6 d 鲜胚进行移植后,移植囊胚的妊娠率低于移植桑椹胚的受体妊娠率,差异不显著。肖婷^[16]对萨福克绵羊 6.5 d 鲜胚进行移植数量及胚胎阶段进行探究,结果显示移植 2 枚胚胎的产羔率高于移植 1 枚胚胎。黄承俊等^[17]研究显示移植 2 或 3 枚胚胎的妊娠率(57.89%、59.43%)高于移植 1 枚胚胎的妊娠率(53.33%)。研究表明,移植双胚的妊娠成功率和胚胎存活率可以比

移单枚胚胎提高 10%~15%^[18]。本试验对受体母羊移植双胚,不仅提高胚胎成羔率,同时也减少同批次移植受体的数量,提高受体母羊利用率。

3.3 不同胚胎冷冻方法对阿旺绵羊胚胎移植的影响

本研究结果显示,程序化冷冻胚组受体妊娠率 35.48%,显著高于玻璃化冷冻胚组受体妊娠率 13.63%($P < 0.05$)。程序化冷冻组受体妊娠率显著高于玻璃化冷冻胚组($P < 0.05$)。程序化冷冻组胚胎成羔率也显著高于玻璃化冷冻组。本次冷冻胚胎移植效率略低于国内正常冻胚移植效率,解冻步骤中可能由于热应激引起透明带破裂,降低冻胚移植效率^[19]。王丽娟^[20]对绵羊胚胎玻璃化冷冻移植,受体妊娠率为 47.36%。付静涛等^[21]对绵羊冷冻胚胎移植,其妊娠率在 40%~45%。吐尔洪·阿木提等^[22]使用玻璃化胚胎冷冻法冻存黑头萨福克绵羊胚胎,冻胚移植受胎率 54.2%显著高于常规胚胎冷冻法的冻胚移植受胎率 44.0%。影响冷冻胚胎移植效果的因素较多,如供体品种原因、胚胎质量和数量、受体年龄、受体生理状态或卵巢黄体发育情况、受体同期化效果、季节、操作者的熟练度、冷冻保护剂或复苏液、移植冷冻胚数量和质量等^[23]。

本试验对阿旺绵羊采集胚胎进行全部冻存,为避免胚胎的浪费,未严格进行胚胎质量的筛选及鉴定,可能导致胚胎冷冻后复苏效率低,受体妊娠及产羔率也较低。本试验在西藏高海拔地区进行,对受体的状态及后期营养状况要求应较低海拔地区更严格。海拔高、冬季气温低,受体移植胚

胎后应注意气温变化,避免环境低温使胚胎着床失败导致受体妊娠率低^[23]。分析本试验结果差异性较大,联系实际生产及胚胎冷冻相关文献报道,需再进行阿旺绵羊胚胎冷冻效果的探究。

3.4 结论

西藏阿旺绵羊普遍发情时(10月)超排效果更好,其胚胎可利用率更高;受体母羊同时移植2枚阿旺绵羊胚胎,其妊娠率及产羔率更高;程序化冷冻胚组受体妊娠率及产羔率优于玻璃化冷冻组。因此,对西藏地区阿旺绵羊进行胚胎移植技术推广工作可行性极高,本试验阿旺绵羊鲜胚移植98枚胚胎,共移植54只受体,B超监测39只受体母羊妊娠,其妊娠率达72.22%,产羔53只,胚胎成羔率达54.08%。

参考文献 Reference:

- [1] 王珂,于轩,任茂源,等.不同受体羊同期发情及胚胎移植效果的研究[J].畜牧兽医杂志,2018,37(6):1-3,7.
WANG K, YU X, REN M Y, *et al.* Study on the effect of simultaneous estrus and embryo transfer in different recipient sheep[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018, 37(6): 1-3, 7.
- [2] 张博宇,任俊光,武迪,等.绵羊输卵管移植和子宫角腹腔镜微创移植2种胚胎移植方法受胎率的比较分析[J].畜牧与饲料科学,2017,38(7):42-44.
ZHANG B Y, REN J G, WU D, *et al.* Comparative analysis of conception rate between two methods of embryo transfer by laparoscopic minimally invasive transfer of fallopian tubes and uterine horns in sheep[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2017, 38(7): 42-44.
- [3] 张帆,李晓丽,王俊,等.杜泊绵羊超数排卵及胚胎移植影响因素分析[J].黑龙江动物繁殖,2014,22(3):40-44.
ZHANG F, LI X L, WANG J, *et al.* Analysis of influencing factors of superovulation and embryo transfer in Dorper sheep[J]. *Animal Reproduction in Heilongjiang*, 2014, 22(3): 40-44.
- [4] 阚向东.萨福克肉用绵羊胚胎移植技术的推广应用[J].当代畜牧,2015(29):22-23.
KAN X D. Popularization and application of embryo transfer technology in suffolk meat sheep [J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2015(29): 22-23.
- [5] 沈文正,马建涛,严飞.波尔山羊批量胚胎移植莎能奶山羊[J].西北农业学报,2005,14(2):1-4.
SHEN W ZH, MA J T, YAN F. Bulk embryo transfer of Boer goat to Shanen dairy goat [J]. *Acta Agriculturae Bo-reali-occidentalis Sinica*, 2005, 14(2): 1-4.
- [6] 仓木拉,央金. MOET 技术发展及其在西藏绵羊业中的应用前景[J].西藏科技,2008(8):46-48.
CANGMULA, YANGJIN. Development of MOET technology and its application prospect in Tibetan sheep industry [J]. *Tibetan Science and Technology*, 2008(8): 46-48.
- [7] 吕礼良,王晓阳,王大广,等.繁殖季节不同月份对萨福克绵羊超排效果的影响[J].现代农业科技,2008(16):243-246.
LÜ L L, WANG X Y, WANG D G, *et al.* Effects of different months of breeding season on superovulation effect of Suffolk sheep[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2008(16): 243-246.
- [8] 李福俊,方南洙,金虎,等.不同季节、不同超排次数对绵羊超数排卵效果的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2010(5):52-53.
LI F J, FANG N ZH, JIN H, *et al.* Effects of different seasons and different times of superovulation on the effect of superovulation in sheep[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2010(5): 52-53.
- [9] 奥旭东,陈大勇,石新宇,等.季节对杜泊羊体内胚胎生产与移植效果的影响[J].畜牧与饲料科学,2019,40(1):24-27.
AO X D, CHEN D Y, SHI X Y, *et al.* Effects of seasons on embryo production and transfer in Dorper sheep[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2019, 40(1): 24-27.
- [10] 代相鹏,王锋.波尔山羊胚胎移植影响因素的分析[J].家畜生态,2004(4):230-232.
DAI X P, WANG F. Analysis of influencing factors of boer goat embryo transfer [J]. *Livestock Ecology*, 2004(4): 230-232.
- [11] 杨秀娟,丁建平,章美林,等.不同品种受体对波尔山羊胚胎移植效率的影响[J].现代农业科技,2008(19):279-280.
YANG X J, DING J P, ZHANG M L, *et al.* Effects of different varieties of receptors on embryo transfer efficiency of Boer goat [J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2008(19): 279-280.
- [12] 王锋,代相鹏.激素对波尔山羊超排效果影响的研究[J].畜牧与兽医,2006(5):8-10.
WANG F, DAI X P. Study on the effect of hormones on the superovulation effect of Boer goat [J]. *Livestock and Veterinary*, 2006(5): 8-10.
- [13] 赵振华,周敏敏,钱红娟,等.山羊超数排卵效果的影响因素分析[J].上海畜牧兽医通讯,2008(1):48-49.
ZHAO ZH H, ZHOU M M, QIAN H J, *et al.* Analysis on the influencing factors of superovulation effect in goats [J]. *Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2008(1): 48-49.
- [14] 王敬军,胡大伟,刘国辉,等.FSH剂量、受体品种及移植胚胎数对崇明白山羊胚胎移植效率的影响[J].上海交通大学学报(农业科学版),2011,29(1):38-42.
WANG J J, HU D W, LIU G H, *et al.* Effect of the dose of FSH, the species of recipient and the number of embryos transplanted on the efficiency of embryo transfer of Chongming white goat [J]. *Journal of Shanghai Jiaotong University (Agricultural Science Edition)*, 2011, 29(1): 38-42.

- [15] 罗生金,张 磊,马春江,等. 萨福克羊超排处理与胚胎移植技术应用研究[J]. 中国草食动物科学,2016,36(2):26-28.
- LUO SH J,ZHANG L,MA CH J,*et al.* Application of superovulation treatment and embryo transfer technology in Suffolk sheep[J]. *China Herbivores Science*,2016,36(2):26-28.
- [16] 肖 婷. 肉羊程序化与玻璃化冷冻胚胎移植效果的比较[D]. 乌鲁木齐:新疆农业大学,2017.
- XIAO T. Comparison of the effect of programmed and vitrified embryo transfer in mutton sheep[D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University,2017.
- [17] 黄承俊,张文军,李 宁. 牛羊胚胎移植研究进展[J]. 现代畜牧兽医,2019(5):51-58.
- HUANG CH J,ZHANG W J,LI N. Advances in embryo transfer of cattle and sheep[J]. *Modern Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*,2019(5):51-58.
- [18] BIITON R J,MOORE N W. In vitro culture,storage and transfer of goat embryos[J]. *Australian Journal of Biological Sciences*,1976,1(29):1-2.
- [19] 王光亚,马保华,赵晓娥,等. 安哥拉山羊胚胎冷冻试验[J]. 西北农业学报,1996,5(4):41-45.
- WANG G Y,MA B H,ZHAO X E,*et al.* Embryos freezing experiment of Angola goat[J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,1996,5(4):41-45.
- [20] 王丽娟. 绵羊玻璃化冷冻胚胎直接移植试验研究[D]. 哈尔滨:东北农业大学,2003.
- WANG L J. Research on direct transfer of sheep vitrified embryos[D]. Harbin: Northeast Agricultural University,2003.
- [21] 付静涛,朱士恩,余文莉,等. 绵羊同期发情与冷冻胚胎移植技术的研究[J]. 中国畜牧杂志,2005(8):32-33,57.
- FU J T,ZHU SH E,YU W L,*et al.* Research on simultaneous estrus and frozen embryo transfer technology in sheep[J]. *Chinese Journal of Animal Husbandry*,2005(8):32-33,57.
- [22] 吐尔洪·阿木提,阿布力孜·吾斯曼,宋玉坤,等. 黑头萨福克绵羊胚胎玻璃化快速冻胚移植效果分析[J]. 中国畜牧兽医文摘,2016,32(7):73-74.
- TUERHONG AMUTI,ABULIZI WUSIMAN,SONG Y K,*et al.* Analysis on the effect of quick frozen embryo transfer by vitrification of black-headed Suffolk sheep embryos[J]. *Chinese Animal Husbandry and Veterinary Abstracts*,2016,32(7):73-74.
- [23] 尹海科,雷安民,王忠林,等. 液氮内冻存8年的布尔山羊胚胎移植试验[J]. 西北农业学报,2011,20(9):11-13,60.
- YIN H K,LEI A M,WANG ZH L,*et al.* Embryo transfer experiment of Boer goat frozen in liquid nitrogen for 8 years [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*,2011,20(9):11-13,60.

Effects of Different Factors on Freezing and Transplantation of Awang Sheep Embryos

YU Lian¹, WANG Xingshuan², Drolma Ran², Tenzin Drolma²,
YANG Zhiyong², WANG Chan¹, LI Jiannan¹ and LEI Anmin¹

(1. College of Veterinary Medicine, Northwest A&F University/Shaanxi Stem Cell Engineering and Technology Research Center, Yangling Shaanxi 712100, China; 2. Tibet ChangduJinken Animal Husbandry Technology Co., Ltd., Changdu Xizang 854000, China)

Abstract To explore the feasibility of embryo transfer and embryo freezing in Xizang Awang sheep. Awang sheep is used as donor and Aohu sheep as acceptor to study effect of different months of estrus on the superovulation in Awang sheep, the effect of fresh embryos at different developmental stages and the number of transferred embryos on the conception rate together with lambing rate of Awang sheep, as well as the effect of freezing methods on embryo transfer. The results showed that the number of embryos available in the superovulation group in July in estrus (3.95 ± 4.23) is evidently lower than that in the superovulation group in October (5.45 ± 4.03). The pregnancy rate of two morulae transferred from Awang sheep is the highest at 81.81%, and the lambing rate is 57.58%. The pregnancy rate of Awang sheep embryos in programmed freezing group is 35.48%, while the vitrification group is 13.63%. Therefore, Awang sheep embryo transfer technology is feasible in Xizang.

Key words Awang sheep; Developmental stage; Vitrification; Programmed freezing

Received 2022-05-14

Returned 2022-08-06

Foundation item Key R&D Program of Shaanxi Province(No. 2020NY-011); Research and Application Demonstration of Embryo Freezing of Awang Sheep in Qamdo of Tibet.

First author YU Lian, female, master student. Research area: animal embryo engineering. E-mail: yuyulian2021@163.com

Corresponding author LEI Anmin, male, Ph. D, research fellow. Research area: animal embryo engineering. E-mail: anminleiryan@nwsauf.edu.cn

(责任编辑: 顾玉兰 Responsible editor: GU Yulan)