

# 人工控制奶牛性别技术

孙肖明

吉林工商学院生物工程学院, 长春 130062

对于奶牛养殖户(场)而言,除了提高奶牛的单产水平以外,提高经济效益的另一重要途径就是利用现有母牛繁育出更多的雌性犊牛,以便于持续扩繁、生产更多的牛乳。如此一来,人为地控制奶牛性别显得较为重要。奶牛性别控制的方法有多种,现介绍胚胎鉴定法、外环境控制法和精子分离法 3 种,并将最适于生产应用的精子分离技术总结如下。

## 1 胚胎鉴定法

胚胎性别鉴定技术就是利用胚胎分割和冷冻技术对奶牛的胚胎进行性别鉴定。用冷冻精液对母牛进行体外授精,生产大量纯种胚胎,然后人为采用机械或化学方法,进行早期胚胎性别鉴定。事实证明,胚胎不仅能够进行性别鉴定,而且分割后的胚胎发育正常;但是缺点在于技术繁琐、设备造价昂贵,因此难以实现大范围推广和应用。

## 2 外环境控制法

使用外环境控制法实现性别控制的途径有多种,但原理大致有以下 3 种。

1) 控制营养与年龄。饲料供应不足或采食酸性饲料的母牛多产雄犊;反之,饲料供应充足或采食碱性饲料的母牛多产雌犊。年老的母牛多产雄性后代;中年母牛多产雌性后代;父母双方都是中年牛多产雌性后代。

2) 控制母牛生殖道的 pH 值。由于含 X 染色体的精子对酸性环境的耐受力比含 Y 染色体的精子强,因此,通过控制母牛生殖道的 pH 值,可以达到控制犊牛性别的目的。

3) 控制授精时间。排卵前一定时间授精的母牛

多产雌性犊牛。虽然控制授精时间较简单,但该方法对人授精的技术要求较高且性别控制准确率较低。

## 3 精子分离法

胚胎鉴定法和外环境控制法虽然理论上可以成立,但是在现实应用中都存在着一些不足,以致无法推广和普及。所以,研究一种既能减轻养殖户(场)负担又能达到较高的性别控制准确率的方法显得意义重大。通过对含 X 染色体和含 Y 染色体的精子进行分离再实行人工授精从而有效控制性别的技术,正从若干种技术中脱颖而出,并逐渐实现了产业化,越来越多地被应用于养殖户(场)的实际生产中。

奶牛染色体的数目为 60 条,其中 58 条为常染色体,另外 2 条为性染色体(即 X 染色体和 Y 染色体)。一般认为雄性动物的性染色体组合为 XY 型,而雌性动物的性染色体组合为 XX 型,因此精卵结合时就决定了动物的性别。如果将雄性动物的精子进行染色体分离,获得纯种的 X 染色体,使用这种纯 X 染色体的精子授精配种产生的胚胎则都为雌性。

### 3.1 精子的来源

农业部对于种畜禽有一整套完善的生产许可标准,《种畜禽生产经营许可管理办法》第三条规定:畜禽原种是指经国家及省级畜禽品种审定委员会认定并公布的培育品种(配套系)和地方良种,国务院畜牧行政主管部门批准引进的国外优良畜禽原种(纯系)和曾祖代配套系。而符合精子分离技术所需的种牛更是要优中选优,种公牛的来源主要有 3 种途径:一是从加拿大直接引入活体种公牛;二是通过在加拿大配种引入妊娠母牛在国内生产;三是从美

国、加拿大等国家引进优秀种公牛的冷冻精液。

### 3.2 精子分离的方法

含 X 染色体和含 Y 染色体的精子之间存在着微弱的生物学差异(如比重、电荷运动性、DNA 含量、表面抗原等),从而为分离精子提供了依据。因此,可以通过沉降法、电泳法、免疫学方法、流式细胞光度法等多种方法来实现精子分离。

1)沉降法。原理是含 X 染色体的精子的沉降速度比含 Y 染色体的精子快。有研究显示,将认为富含 X 染色体的精子的部分收集起来并给母牛输精,母牛所产雌犊的比例为 65.4%。虽然含 X 染色体和含 Y 染色体的精子的比重有所不同,但是差别并不是很大,且比重会随精子的成熟情况而有所变化,因此该方法的效果不是十分理想。

2)电泳法。原理是精子膜电荷的大小取决于核蛋白结合的唾液酸的含量。含 X 染色体的精子与含 Y 染色体的精子膜电荷的分布存在差异,根据它们表面所带电荷量的不同,通过电泳将其分离。有研究显示,通过该法一般可获得 75.5% 的雌犊,所以该法的性别控制准确率也不是十分理想。

3)免疫学方法。原理是雄性哺乳动物细胞膜上存在特有的 H-Y 抗原,而雌性动物细胞膜上没有。通过检测胚胎的细胞膜上是否存在 H-Y 抗原,即可鉴定胚胎性别。虽然这种方法分离精子的效率较高,但经处理后的精子数量较少且活力较低,很难在生产中应用。

4)流式细胞光度法。原理主要是基于 DNA 含量的差异。研究证明,含 X 染色体的精子的 DNA 含量比含 Y 染色体的精子高 3.8%。根据这个原理,对精子进行荧光染色,DNA 含量高的含 X 染色体的精子着色量大,含 Y 染色体的精子着色量相对小一些,通过这个差别在专业分离仪器上进行分离。该法分离精子的准确率可以达到 90% 以上。

### 3.3 精子分离的操作

根据以上几种精子分离法的比较发现,流式细胞光度法分离精子最为有效和实用,该法的具体操作和注意事项如下。

1)精子的染色。该染色过程对精子的品质不会产生不良影响。因为染色所应用的染色剂是一种安全的荧光染料,其只对活细胞的 DNA 染色。为了保证精子与染料结合良好,要求精子与荧光染色分子的亲和性相对均匀一致。

2)精子的分离。经过染色后的精子在经过流式细胞仪时,由于喷嘴产生高频率的振动,高速喷射出的精液就形成肉眼看不见的包含单个含 X 染色体的精子和单个含 Y 染色体的精子的微小液滴。微小液滴逐个与激光拦截,精子上的荧光染料被激光激发产生蓝光。蓝光被正、侧 2 个光电倍增管接收后放大荧光信号,光电倍增管将接收的信号传入主控机,主控机根据荧光强度的差别(由于含 X 染色体的精子所含 DNA 的量比含 Y 染色体的精子多,其 DNA 结合的较多的荧光染料所激发的荧光强度比含 Y 染色体的精子强)分辨出哪个是含 X 染色体的精子、哪个是含 Y 染色体的精子,同时给包含单个含 X 染色体的精子或含 Y 染色体的精子的微小液滴加载正电荷或负电荷。携带正电荷或负电荷精子的液滴在电场力的引导下,分别落入不同的收集容器中,这样 2 种精子即被分离。

3)精子的罐装。将分离的精子进行细管罐装,每支细管含 220 万个含 X 染色体的精子,每头种公牛每年大约能生产 2 万~3 万支细管的精子。然后,将装有纯种 X 染色体的精子的细管经过真空冷冻以后,放入液氮罐(温度为 $-196^{\circ}\text{C}$ )保存。

### 3.4 人工授精

经过流式细胞仪分离的冷冻精液比普通冷冻精液的价值高很多,因此,在实际生产中这种细管精液要求配以较严格的人工授精操作。

1)选择适宜母牛。育成牛年龄需在 15 月龄以上、体重需达 360 kg 以上;经产牛需在产后 60 d 以上,并且要保证分娩后没有发生胎衣不下或子宫炎症;膘情适中,过肥或过瘦都会影响受胎率。

2)检查精子活力。将解冻后的精液于显微镜下观察,100% 精子呈直线前进运动的判为 1.0 级,90% 精子呈直线前进运动的判为 0.9 级,依次类推。牛冷冻精液解冻后精子的活力要求在 0.3 以上,用于性别控制的精子由于经过筛选,活力一般在 0.4~0.5。经过精子活力检查以后再进行人工授精,会大大提高母牛的受胎率。

3)控制母牛发情。在人工授精之前的 15~20 d,要对母牛进行一定的处理,以控制其发情时间。将孕酮阴道栓置于母牛阴道中,一般药物取出后,母牛会出现集中发情的现象(即同期发情),这样就可以集中对母牛进行人工授精。

## 4 结 语

据统计,2011 年我国奶牛存栏量为 1 440 万头。但由于奶牛自然繁殖率低、繁殖速度慢,使得种群扩繁受到很大限制,从国外引入大批种奶牛要花费大

量的资金。人工控制奶牛性别技术的出现,将会克服我国高产纯种奶牛缺乏的问题,使我国的奶牛养殖业得到蓬勃发展。

(责任编辑:刘 娟)

### 肉鸡补充维生素的几个误区

#### 1 维生素品种单一

养殖户在添加维生素时只选择复合维生素系列。肉鸡生长速度较快,对维生素的需求较多。补充维生素时应该充分考虑肉鸡不同日龄的生理需要和不同环境下的需要。例如从开食到 1 周龄期间的雏鸡胆小、抵抗力弱,外界环境任何微小的变化都可能使其产生应激反应,同时也极易受到外界各种有害生物的侵袭而感染疾病。所以在育雏前期添加 VC 对雏鸡而言是极为有益的。雏鸡在 2~6 周龄期间生长发育快、代谢旺盛,需要大量的酶参与,因此,对作为酶的重要组成部分的 B 族维生素的需要量会同时增加,此时需根据实际情况额外补充一些 B 族维生素。当鸡群发生疾病时,添加维生素作为治疗的辅助措施具有十分重要的意义,特别是添加 VE、VC 和 VK。有研究表明,VE 和 VC 能增强机体的免疫功能,提高鸡体对各种应激的耐受力,促进病后恢复和生长发育。VK 能缩短凝血时间,减少失血,因此对一些有出血症状的患鸡能起到减轻症状、减少死亡的作用。

#### 2 过量使用

养殖户在生产中随意过量添加维生素的行为不仅增加了养殖成本,严重时还会影响鸡群的健康。例如当 VD 投喂量超过饲养标准时,可使大量钙从鸡骨组织中转移出来,并促进钙在胃肠道内的吸收,使血钙浓度增高,钙沉积于动脉管壁、关节、肾小管、心脏及其他软组织中,鸡只临床表现为食欲减退、腹泻、肾结石,病鸡常常死于尿毒症。

#### 3 盲目混用

在鸡发病时,养殖户经常会将几种药物和维生素混合,兑水让鸡群饮用。添加维生素时应注意维生素之间及与其他药物或矿物质间的拮抗作用,如 VB 与氨丙啉不能混用、链霉素与 VC 不能混用等。

#### 4 添加方式欠妥

在开放式饮水中,尤其是夏季,维生素在水中的质量下降得很快,这时添加量应该比规定量稍高些,而且要保证鸡群能在短时间内饮完。

#### 5 选购不当

市场上维生素品种繁多、质量参差不齐,养殖户会受认识水平的限制选择低劣的产品,影响了维生素的效果。

总之,养殖户在饲养过程中应根据各种维生素的代谢特点,肉鸡各时期的生理特点以及不同饲养条件作出合理选择。盲目地添加维生素不仅会增加养殖成本,严重的还会影响整个鸡群的健康。

来源:鸡病专业网