

《动物繁殖学·绪论》教学的探讨

杨素芳, 蒋如明

(广西大学 动物科技学院, 广西南宁 530005)

[摘要] 《动物繁殖学》是农业院校动物科学技术学院大学本科动物科学专业开设的一门专业基础课, 本文就其如何上好绪论一节的内容进行阐述。绪论一节内容包括三个部分: 动物繁殖学的概念以及在畜牧生产中的地位、动物繁殖学的三大方面的内容和动物繁殖学的进展。

[关键词] 《动物繁殖学》; 绪论; 内容

[中图分类号] Q15

文献标识码: A

文章编号: 1001-8182(2006)增-0001-02

《动物繁殖学》是农业院校动物科学技术学院大学本科动物科学专业开设的一门专业基础课, 同时也供动物医学专业的学生选修。本课程共56个学时, 其中理论部分占36学时, 绪论一节需1.5~2个学时。虽然“万事开头难”, 但只要有个好的开端, 让同学们既要知道这门课的重要性, 又要对这门课开始感兴趣, 就需要在绪论上多下功夫了。多用的0.5~1个学时可以把后面的一些章节讲得紧凑些。绪论这一节包括三大方面的内容: 动物繁殖学的概念以及在畜牧生产中的地位; 动物繁殖学的三大方面的内容和动物繁殖学的进展。

一、动物繁殖学的概念以及在畜牧生产中的地位

动物繁殖学是家畜繁殖学的外延。动物繁殖学涉及的内容不仅是家畜, 还包括家禽, 特种经济动物(鹿、水貂等), 实验动物(小鼠, 兔等)等。

畜牧业生产涉及三大内容: 遗传育种、饲养管理和动物繁殖。那它们之间有什么关系? 遗传育种主要是研究动物的遗传规律, 品种保存, 尤其是培养新品种, 培育出了高产品种, 那么下一步, 增加其数量和质量——高产优质(这是发展畜牧业的中心任务, 而这任务的实现就需要通过动物繁殖过程, 这就是动物繁殖学方面)。现在高产品种有了, 数量也有了, 那再下一步, 就是保证动物最大限度的发挥起生产力。靠什么? 只有靠正常、正规良好的饲养管理才能做到。如通过良好的饲养管理(饲料、环境卫生、管理等), 奶牛可以保证遗传基础的最大发挥, 也就是其最大的产奶量; 肉牛, 可以保证最高的产肉量。从这里, 同学们也就知道, 动物繁殖在畜牧业生产中占有的重要地位, 同时明白动物繁殖是动物生产中的关键环节。动物数量的增加和品质的提高, 都需要繁殖过程才能实现。那么什么是动物繁殖呢? 简单、通俗地说, 动物达到一定年龄之后, 雌性动物产生卵子、雄性动物产生精子, 雌、雄动物通过交配, 精卵结合就形成受精卵, 那么母畜就怀孕了, 然后经过一定的怀孕期之后分娩, 最后产下后代, 这就是动物繁殖的过程。

可见, 动物繁殖是保证生物物种延续的最基本的生命活动之一。这一过程在动物一生中反复出现, 使后代增殖, 这是保证本品种生存、繁盛的生命活动, 也是人类获得生产资料, 生活资料的重要途径。那么什么是动物繁殖学呢? 动物繁殖学就是研究动物繁殖的自然现象、本质和规律, 并在此基础上开

发相应的技术, 调整和控制动物繁殖的过程, 以充分挖掘动物繁殖潜力, 提高繁殖力的一门科学。

动物繁殖学是动物科学的重要组成部分, 是适应动物生产的要求而发生、发展的一门独立学科。但是它以动物解剖学、细胞学、组织学、胚胎学、遗传学、生理学、生物化学、营养学、生态学和行为学为基础, 并与动物饲养学、育种学、产科学、卫生学、传染病学、分子生物学、免疫学等有密切联系。那么它到底包括哪些内容呢? 这就引出绪论的第二个大问题。

二、动物繁殖学研究的内容

它的主要内容可分为如下三个部分:

(一) 生殖生理: 研究阐明全部生殖过程的现象、规律和机理。涉及到胎儿产生一系列内在原因和原理, 如性别分化、配子的发生(精、卵的发生)、性成熟、发情、受精、胚胎发育、妊娠、分娩、泌乳和性行为等各种生殖活动的生理基础、调节机制和影响因素。在本课程中的第1、2、3、4、5、7、8、9和10章所介绍内容都是属于生殖生理方面的范畴。

在生殖生理基础, 了解生殖的一些规律, 人为的利用这些规律来创造或产生一些技术, 来提高技术来提高家畜繁殖力或生产力, 那么这就是繁殖学的第二个方面的内容。

(二) 繁殖技术: 为了提高动物繁殖力而采用的一些手段。本课程的第6、11和12章所介绍的内容都是属于繁殖技术方面的内容。包括最早的繁殖技术最早应用成功的人工授精(Artificial Insemination, AI)。我们国家50—60年代最初是在马的AI上做得比较好, 而在80年代初期, 真正推广到牛。接着, 胚胎移植, 同期发情, 分娩控制等繁殖技术都如雨后春笋般地出现。特别是随着科技发展, 许多新的仪器如高尖端的仪器不断产生, 使许多生物技术都成为可能, 如胚胎分割技术, 本来一个胚胎产生一个后代, 我们想要更多的后代, 那么就把胚胎分割成1/2, 1/4胚, 然后再进行胚胎移植(Embryo Transfer, ET), 这样就可以得到2个, 4个后代, 这也就是最原始的胚胎克隆技术, 是动物克隆的方法之一。有人可能会有疑问, 为何把胚胎分割成1/2, 1/4, 还可以产生后代, 这是因为胚胎在发育的早期具有发育的全能性, 也就是早期的胚胎每一个卵裂球都具有发育成为一个完整个体的能力; 又如体外受精技术(In Vitro Fertilization, IVF), 人们常听到的“试管

■ 作者简介: 杨素芳(1972-), 女, 广西兴安人, 广西大学动物科技学院副教授, 博士。

牛”,“试管婴儿”就是通过这一技术而来,还有克隆、转基因技术等,这些都逐渐变成了现实。这些技术我们在后面的章节都要为同学们一一讲解。特别是最初发展的、应用的非常成功几门技术,如AI、ET,是重点,是同学们必须要掌握的。

(三)繁殖管理:繁殖力的评价和影响因素,繁殖障碍的诊治以及提高繁殖力的方法和措施等。我们在对动物繁殖力的评价时总得有一些具体的指标,那么在本课程的第13章就是介绍这方面的内容,还有包括影响这些繁殖力指标的因素,繁殖障碍的诊治以及提高繁殖力的方法和措施是哪些?这就是动物繁殖学的第三个内容。

比如:同学们毕业后5年或者10年后去现场,是作为领导或者负责人来参观的,假设是去南宁市的红星奶牛场,那么奶牛场的负责人、或者饲养员或者技术员他们介绍整个牛场的情况,奶牛的情期受胎率是多少?繁殖率是多少?犊牛成活率又是多少?这时同学们脑海里必须要有清晰的印象,什么是情期受胎率?什么是不返情率?什么是繁殖率?犊牛成活率又是多少?这些都是评价繁殖力的指标,这是学习本课程必须要掌握的。

这些就是动物繁殖学所涉及的三个方面的内容。本课程力求反映当前我国在动物繁殖领域的研究进展,以及国际上有关新的理论和技术进展。既重视动物繁殖的基本原理的阐述,更重视与理论密切相联系的繁殖技术的阐述和应用。因此,动物繁殖学是一门理论密切联系生产实践的学科,基础理论知识和实践技能都不可偏废。要求学习者认真学习,提高理论和技术水平,更好的指导动物生产实践。

随着科学技术的发展,动物繁殖学的内涵与外延也不断拓展,派生出了很多分支,如生殖内分泌学、受精生物学、繁殖免疫学、配子与胚胎生物技术、生殖病理学、精子和精液生物化学,使动物繁殖学的理论和应用不断向深度和广度发展。那么动物繁殖学的进展情况如何呢?这就是绪论的第三个大问题。

三、动物繁殖学的进展

主要从动物繁殖学基本内容的前两个方面进行讲解。

(一)生殖生理方面

在20世纪60年代科学家对激素在生殖中的调节作用,有了进一步的认识;在70年代,对生殖细胞的特性和受精的环境条件、受精过程及营养对繁殖的影响等问题,比过去有了更深刻的认识。

(二)繁殖技术

在70年代,繁殖技术的研究发展到一个新的阶段,冷冻精液人工授精、发情控制、胚胎移植、诱发分娩、早期断奶等在生产中得到不同程度的利用。如ET,从70年代起至今,已在牛、猪、绵羊、山羊、马、驴、家兔等动物上获得成功。1984年以来以黄牛为受体移植奶牛的胚胎,生产良种奶牛,为胚胎移植开辟了新的道路。在80年代,配子和胚胎生物技术的进展引人注目,如卵母细胞的体外成熟和体外受精、胚胎的冷冻保存、受精卵的分割和移植等。在90年代,涌现许多繁殖新技术,如胚胎分割、体外受精、胚胎的冷冻保存、转基因动物、胚胎细胞的核移植及嵌合体等,都已有成功的报道。如1997年体细胞克隆羊“Dolly”的诞生,表明高度分化的体细胞可以恢复全能性产生新个体。

另外侧重介绍我国动物繁殖研究工作和新技术的推广应用取得了不少成绩。

以AI技术为例。AI技术在家畜特别是牛、猪、羊的遗传改良方面起了极其重要的作用。70年代冷冻精液AI的研究进

入高潮,牛、猪、马和家兔的精液冷冻保存获得成功,并开始应用于生产。1988年全国122个商品肉牛基地县,用冷冻精液授精的黄牛约79.1万头,受胎率83.1%,奶牛在全国范围内几乎全部采用冷冻精液人工授精,使奶牛的产奶量逐年提高。猪AI普及情况各省间不平衡,以江苏、四川、广西等省、区较为普及。江苏省实行以县为单位的统一供精,大大地提高了优良种公猪的利用率和瘦肉猪的改良,促进了养猪生产的发展。接着介绍我国细胞核移植技术的研究状况^[1],顺便通过流程图讲解体细胞克隆羊“Dolly”的技术过程,让同学们在接触这一门课程前,对目前最热门的动物细胞核移植技术(动物克隆技术)有所了解。首先通过图片展示目前已经在体细胞克隆上获得成功产下后代的几种动物。基本上十二生肖已经克隆了大半,如小鼠、牛、水牛、绵羊、山羊、猪、猫、狗、猴等。目前细胞核移植动物成功的例子有这么多,那么到底细胞核移植技术有哪些应用前景?这就是我们接下来要了解的问题。细胞核移植技术有如下四个方面的应用前景,对此作一简要介绍,使同学们有个感性认识^[1]。1、扩大优良畜种和稀有动物的数量;2、提高转基因动物效率;3、进行核——质间互作关系的研究;4、克隆技术的医学价值。核移植技术与基因疗法的结合,使人类许多疾病的治疗成为可能。尽管细胞核移植技术存在着诱人的应用前景,但是它还是存在着下述的问题^[2]:1、结果不稳定,效率低(1~6%);2、克隆动物怀孕期长、出生体重异常偏大、生后对环境的适应性差;3、存活率低(后代死亡率高);4、细胞质的遗传问题。

虽然已经成功克隆出了这么多种动物,但针对于细胞核移植技术存在的问题,目前全世界在克隆研究中的热点都是着手进行对克隆机理的研究,也就是从研究机理切入,去研究问题,直至去解决问题。

正因为这项技术本身还存在很多缺陷,所以如果出现“克隆人”,那真的会给人类带来无穷的灾难。“科学是一柄双刃剑”,善良的人们可以利用它来为人类服务,为人类造福,而邪恶的人们却能用它来危害人类的生存。由于羊和人类都是哺乳动物,因此,羊的克隆技术也可以用于其它哺乳动物的克隆,也包括人。如果有人利用个体克隆技术来克隆人,那会给人类带来无穷的灾难,这说是为什么许多国家的政府明令不准将动物的克隆技术用于人类。因此,我们也必须遵循人类的共同法则,反对将羊的克隆技术滥用于人类。随着人类社会的不断发展,人们的观念也会不断发生变化。比如过去也有许多人对于开展试管婴儿工作持反对意见,但现在试管婴儿已为人们所接受,因此,也很难预料今后人们对克隆人持何种态度。如果即使有那么一天,人们也接受了将克隆羊的技术应用于克隆人,那么我们就应该象现在对待试管婴儿那样。这第一次课,为了给同学们对这门《动物繁殖学》中动物配子和胚胎工程技术有一个感性的认识,就介绍到为此,具体的技术我们将会在第12章进行详细的阐述。

以上这就是《动物繁殖学》绪论一节的内容,相信通过我们的讲解,同学们应该对这门课程有个大概的了解,也明确知道学习这门课程的重要性了,这就是达到我们授课的目的了。

参 考 文 献:

- [1] 杨素芳.水牛卵母细胞孤雌激活与体细胞核移植的研究[D].广西大学博士毕业论文,2002.
- [2] 杨素芳,石德顺,韦精卫,等.哺乳动物细胞核移植技术目前存在的问题[J].动物科学和动物医学,2004,21(108):14-16.

(责任编辑:陆桂生)

哺乳动物细胞核移植目前存在的问题

杨素芳 石德顺 韦精卫 文国艺
(广西大学动物繁殖研究所, 广西 南宁 530005)

中图分类号: S813.14 文献标识码: A 文章编号: 1008-9381(2004)06-0014-03

摘 要: 简要概括哺乳动物细胞核移植技术的应用前景, 详细综述其目前存在的问题, 认为对待细胞核移植技术的发展, 应该理性分析。

关键词: 哺乳动物; 细胞核移植技术; 应用前景; 问题

Current Esse Problems of Mammalian Cell Nuclear Transfer

Yang Su-fang Shi De-shun Wei Jing-wei Wen Guo-yi

(Animal Reproduction Institute, Guangxi University, Guangxi Nanning 530005)

Abstract: It was generalized that applied foreground and current esse of problems of mammalian cell nuclear transfer technology. We should pay attention to the development of it reasoningly.

Keywords: mammal; cell nuclear transfer technology; applied foreground; problems

哺乳动物细胞核移植技术具有广阔的应用前景。它对于畜牧生产、科学实验及生物学基础研究均有重要意义。首先, 可使遗传性状优良的个体在群体中大量增殖, 大大加速遗传改良和育种进程; 其次, 可用来扩增转基因动物的后代数量, 提高转基因技术的效能; 第三, 胚胎通过性别鉴定, 再克隆, 可以获得大量的期望性别的动物, 对于性别控制具有现实意义; 第四, 可用于珍稀动物的扩繁和保存; 第五, 生产人胚胎干细胞用于细胞和组织替代疗法, 还可以作为辅助生殖手段, 使不孕不育患者得到自己的后代; 最后, 它可用于基础研究, 如对配子和胚胎的发生、细胞和组织分化、基因表达调控及细胞中核质互作关系等研究。

细胞核移植技术虽然具有以上优点, 目前也取得了一定的进展, 在生物医药领域也得到了初步应用, 但是, 该技术目前还很不完善, 还存在许多问题。

1 核移植的总效率低

至今为止, 体细胞克隆已经获得绵羊、小鼠、奶牛、山羊、猪、兔、猫、骡、及马后代^[1], 据发表资料来看, 对于已获得成功的体细胞克隆动物, 其总体效率仍然较低。1997年, Wilmut等用绵羊乳腺上皮细胞得到克隆羊(Dolly)的总效率仅为0.2%。Wakayama等用小鼠卵丘细胞进行的核移植研究其总效率为2.3%。Cibelli等在牛体细胞核移植研究中其总效率为1.2%。Wells等用奶牛卵泡壁颗粒细胞作核供体进行核移植的总效率是2.8%。Polejaeva等用来自成年猪的颗粒细胞进行核移植, 其效率也是1.2%。

Keefer等用山羊的卵丘颗粒细胞系作供核, 得到活的后代, 其中核移植的效率在2%~13%。迄今为止, 体细胞核移植研究中获得最高效率的是Kato等牛卵在丘细胞核移植研究中获得, 其总效率为13.8%, 但在他们后来的研究中核移植总效率为1.2%。

基金项目: 国家863计划资助课题(课题编号: 2002AA206651)博士启动资金资助(编号DD150012)

作者简介: 杨素芳(1972-), 女, 广西大学讲师, 博士, 研究方向为生殖生理。

收稿日期: 2004-05-04

效率也仅为4.0%^[2]。目前克隆研究主要集中在如何提高动物克隆的效率上。研究表明克隆效率低主要是由于克隆胚胎重构成化的不完全, 目前人们对重构胚胎的发育机制知之甚少。需要从克隆程序各环节入手, 充分考虑各影响因素如供体细胞类型及细胞周期, 供体细胞的遗传背景, 受体胞质, 核移植程序以及体外培养系统等, 达到提高其总体效率的目的。

2 存活率低

对于克隆存在的众多问题中, 存活率低是当今核移植技术中的最大缺陷。它突出表现为孕期流产率, 围产期死亡率, 出生后发病率和死亡率均高。出生的部分个体表现出生理或免疫缺陷。以克隆牛为例, 大部分克隆牛已先后死去。研究结果表明因部分犊牛胎盘功能不完善, 其血液中含氧量及生长因子的浓度都低于正常水平^[3]。核移植技术包括多个环节, 每个环节都对核移植产生直接的影响。如核移植过程中, 不完善的再程序化会造成基因表达异常, 目前所采用的体外培养系统的不完善, 也会造成某个基因缺失或基因表达异常^[9], 其结果导致核移植胚胎核移植后胎盘功能发育不全。研究表明来源于干细胞和体细胞的胚胎, 其表达基因总数中, 有4%将近10 000个基因表达异常^[4]。而在核移植中引起受体流产的最主要原因是胎盘发育异常, 和/或胎盘功能发育不完全, 从而使胎儿无法获得发育所需的营养和氧气, 和/或在妊娠后3个月由于子叶数量不足, 胎盘功能不良导致尿囊和胎膜水肿等, 最终导致胎儿后期死亡和流产。Fahrudin等^[5]研究发现, DNA碎裂发生在核移植的4-细胞阶段, 而体外受精胚胎碎裂发生在6-8细胞阶段, 两者的DNA碎裂都随着胚胎发育阶段的进行而提高, 但是前者发生百分率明显高于后者($p < 0.01$)。另外他们研究发现, 在大多数核移植胚胎的内细胞团(ICM)中, 其DNA碎裂的片断的核与卵裂球中全部细胞的数量成负相关, 而这种负相关不存在体外受精胚胎中。在核移植胚胎中观察到高的DNA碎裂率, 这可能是移植后早期胚胎的流失的主要原因之一, 同时也是造成克隆动物生产的低存活率的因素之一。

DNA 甲基化是一种主要的基因组后生遗传修饰,它调节着基因组功能的主要方面。DNA 的甲基化的时间非常重要,其中与胎盘有关基因甲基化的异常容易导致胎盘功能的不完善。这也可能是导致克隆胎儿易流产的原因之一。程序化程度不足,引起一些重要基因,尤其是印记基因表达异常,从而导致克隆失败,这是目前比较容易接受的解释,去分化和再程序化程度不足主要表现在去甲基化不充分和提前的再甲基化。在克隆牛的桑椹胚和囊胚中,几个重复序列和单一序列的甲基化水平较正常胚胎高,不同的基因组区域均发现有甲基化模式异常现象,而正常的牛胚胎中存在长的散布核因子序列去甲基化现象,在克隆胚中却没有发现^[6]。对正常小鼠和克隆小鼠的胎盘、皮肤和肾脏进行组织特异性甲基化模式的比较结果表明:在克隆鼠中,有4个CpG岛表现甲基化异常,而且不同物种的克隆动物甲基化异常的程度是不同的,这种异常主要表现在组织特异性甲基化位点^[7]。另外,新生胎儿对环境的适应性较差,生活力差,这可能是与核移植的技术各个环节有关,如去核和电融合过程会对膜和胞质的产生机械损害和电损伤,激活时细胞骨架抑制剂也可能对细胞产生化学毒素毒害作用,这些可能都是存活率低的原因。

3 核移植动物的异常发育

核移植技术可以产生健康的后代,但大多数经核移植出生的动物表现出发育异常,如出生动物出生体重过大就是一个严重的问题。核移植后代的出生体重通常比一般动物大,且普遍存在比一般动物发育快的倾向,这些都可能是死亡的原因之一。Wilson等^[8]总结了连续三年418头克隆牛初生体重和生长情况,亦发现克隆牛犊初生体重大约比正常牛犊大20%,且变化较大,其变异系数是正常牛犊的4~12倍,到205d和365d,这些克隆牛的体重又基本与正常牛相似。Garry等^[9]对克隆牛的特性分析研究表明,克隆动物在妊娠时间及初生重等方面,远远超过对照组个体。或许由于克隆个体在胎儿阶段发育失衡,出生10min内,克隆牛犊血浆中甲状腺素和3-碘化甲状腺氨酸水平都明显低于对照组,而胰岛素水平却明显高于对照组动物,这可能是克隆牛犊出生重普遍过高的原因之一。胎盘可能是造成核移植动物体格较大的主要原因^[9],而培养基中含有血清或血清含量高,受体动物用过量的孕酮处理,均可使核移植后代的出生体重变大。另外,对胚胎生长起作用的某些印记基因发生修饰,导致基因表达的改变,也可以使核移植后代的出生体重变大。有研究表明基因表达模式与克隆动物早期胚胎对压力适应、滋养层功能和DNA甲基化有关。早期胚胎的体外培养影响着各种印记基因与非印记基因的调控,其可导致克隆动物的异常生长与发育。McCreath等^[10]用基因打靶改造的细胞克隆绵羊的研究中,对在子宫内和出生后(30h~12周)死亡的羊的剖检发现,大部分羊有肾缺陷和肝病病变。这些变化与以前通过核移植而克隆的动物的病理变化相似,说明这是由于核移植克隆程序造成的,而不是基因打靶本身造成的。造成胚胎和动物异常死亡的原因目前尚不清楚,估计可能与细胞核被重新启动的效率有关。另外,Tamashiro报道,来源于卵丘细胞克隆的小鼠得了肥大症,

肥胖症并不是有性繁殖遗传所带来的,这个事实表明是由于克隆的失败造成后生遗传^[11]。

4 端粒长度缩短的问题

端粒是位于染色体末端的一段短的串边重复序列,它可以保护染色体的稳定性。在DNA复制过程中,端粒DNA序列的复制须由于一种叫作端粒酶的核酶来完成。在动物生殖细胞和早期胚胎细胞中存在活性较高的端粒,但在体细胞则没有端粒活性,因此,无论在体内还是在体外,随细胞增殖,染色体端粒会缩短,最终造成细胞衰老。正常体细胞在分裂中,端粒序列会一代一代的缩短,当缩短到一定程度(临界长度)时,启动阻止细胞分裂的信号,细胞开始衰老死亡,引发Hayflick极限,细胞不再分裂。从而也决定了细胞的寿命。也就是说,端粒长度随着年龄的增长而减少。

在核移植动物中存在端粒长度缩短的问题。Shiel等^[12]对克隆绵羊(来自胚胎细胞、胎儿成纤维细胞和成体动物乳腺细胞)的端粒长度进行了分析,发现核移植动物的端粒长度比年龄相当的对照组短,其中Dolly的端粒长度减少程度最大,而与它前体乳腺上皮细胞的端粒长度相当。对Dolly的端粒缩短的原因,最可能的解释是:核移植后代的端粒长度反映了供体核的端粒长度。另外,Xu和Yang分析胎儿成纤维细胞构建的重组胚,发现成纤维细胞在体外传代培养和血清饥饿条件下都会出现端粒变短^[13]。但后来的研究却证实克隆动物的端粒长度与年龄相应的正常动物的端粒没有不同,或者说是恢复到正常水平或长于那些年龄相应的正常动物的端粒^[14]。但鉴于动物的端粒分布较广,是否端粒长度能精确地反映核移植动物的实际生理年龄,是否一个临末端粒长度(指核移植动物与年龄相当的对照组比较所达到的一临末端粒长度)关系到核移植动物的寿命,仍需进一步证实。

5 线粒体的问题

由于核移植胚胎的构建,无论采用带下注核,还是胞质内注核,都全部或部分的将供核的细胞质带入了受体胞质内,其中包括线粒体。由于线粒体也含有遗传物质DNA,在卵母细胞线粒体存在下,这些供体细胞的线粒体的命运一直是人们关心的问题。目前,研究证实,随着胚胎的发育,供体线粒体可能有以下三种命运:一是,供体细胞的线粒体随卵裂的进行而逐渐减少,受体胞质的线粒体一直占主导地位;Evans对10只体细胞克隆羊的线粒体DNA进行检测发现,10只克隆羊的线粒体都全部来自受体线粒体DNA^[15];二是,体细胞的线粒体随胚胎发育进程而不断增加,受体胞质的线粒体逐渐减少,最终供体细胞的线粒体占主导地位^[16];三是,供体和受体的线粒体共存。Steinborn等^[17]在7头体细胞克隆牛的不同组织中也发现了供体细胞和受体细胞线粒体DNA的共存现象,但二者线粒体DNA所占的比例从核移植前到核移植后整个发育过程基本保持不变,供体线粒体DNA约占总比例的1%左右,但在对另3头克隆牛细胞中没有检测到供体细胞线粒体DNA。目前还不知道原本就存在于卵母细胞内的线粒体到底在多大程度上与个体的性质有关,但细胞核的遗传基因与线粒体的遗传基因相互影响必须引起重视。关于供体线粒体DNA缺失的

胚胎生殖细胞体外培养体系研究进展

李吉霞 葛秀国 李权武

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨陵 712100)

中图分类号: S814.8 文献标识码: A 文章编号: 1008-9381(2004)06-0016-04

摘要: 本文简述了胚胎生殖细胞(Embryonic Germ Cells, EG 细胞)生物学特性, 原始生殖细胞生存的维持需要有饲养层或应用条件培养基, 现在大多数的培养要加入细胞因子以维持其生存和增殖。本文作一简述。

关键词: 胚胎生殖细胞; 体外培养; 细胞因子; 饲养层; 培养基

胚胎生殖细胞的分离和克隆是国内外近年来研究较多并取得显著进展的一种“新奇的”多能干细胞资源, 来源于原始生殖细胞(Primordial Germ Cells, 简称 PGCs)。PGCs 在体内分化成卵原细胞和精原细胞, 进而发育成两种性别的配子(卵子和精子), 因此在传统意义上被认为具有发育的全能性。

作者简介: 李吉霞(1977-), 在读硕士, 主要从事哺乳动物胚胎工程的研究。

收稿日期: 2004-05-11

(Totipotency)。原生殖细胞是一种具有发育全能性的胚胎多能干细胞, 它的形态、标志及体内外分化潜能都类似于胚胎干细胞, 且其种系传递能力也已被证实。

PGCs 是各级生殖母细胞和成熟配子共同的祖先。PGCs 对于物种的延续至关重要, 在体内, 它们将发育分化为生殖细胞, 为物种的延续提供物质基础; 在体外, 如果创造合适的培养环境, 可建立多潜能的 EG 细胞系, 为转基因动物的建立、嵌合体的制作提供良好的技术平台, 在组织工程研究有巨大的应用潜力。

原因尚未明了, 科学家认为体细胞的体外培养传代, 血清饥饿以及冷冻可能是造成供体细胞线粒体退化的一个原因^[17]。虽然线粒体 DNA 的异质性似乎并不影响克隆牛的正常发育, 但线粒体 DNA 的缺陷或者与核 DNA 之间的不正确协调是否是造成克隆胚胎活力低下的原因之一, 这值得深入研究。

总之, 体细胞核移植技术的成功及其应用前景无疑是激动人心的, 我们有理由期待, 随着体细胞核移植技术的进一步发展和完善, 它将给世界带来巨大贡献。目前细胞核移植技术本身还不完善, 胚胎发育机制及调控等基础性问题知之甚少, 除了成功率低以外, 尚存在畸胎、死产、难产、晚产等一系列问题, 这一技术结果的不确定性所引起的负面效应引起我们足够的重视。因此, 对待细胞核移植技术的发展, 我们应理性分析。

参考文献

- [1] Galli C, Lagutina I, Crotti G, et al. A cloned horse born to its dam twin[J]. Nature, 2003(424): 635.
- [2] Kato Y, Tani T and Tsunoda Y. Cloning of calves from various somatic cell types of male and female adult, newborn and fetal cows[J]. J Reprod Fertil, 2000(120): 231-237.
- [3] Pennis E. After dolly, a pharming freezy[J]. Science, 1998, (279): 646-648.
- [4] Humpherys D, Eggan K, Akutsu H, et al. Abnormal gene expression in cloned mice derived from embryonic stem cell and cumulus cell nuclei[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2002, (99): 12889-12894.
- [5] Fahrudin M., Otoi T, Karja NWK, et al. Analysis of DNA fragmentation in bovine somatic nuclear transfer embryos using TUNEL[J]. Research, 2002, (124): 813-819.
- [6] Kang YK, Koo DB, Park JS, et al. Aberrant methylation of donor genome in cloned bovine embryos[J]. Nat. Genet, 2001(28): 173-177.

- [7] Dhagane J, Wakayama T, Kogo Y, et al. DNA methylation variation in cloned mice[J]. Genesis, 2001(30): 45-50.
- [8] Wilson JM, Williams JD, Bondioli KR, et al. Comparison of birth weight and growth characteristics of bovine calves produced by nuclear transfer (cloning), embryo transfer and natural mating[J]. Anim Reprod Sci, 1995(38): 1-2, 73-83.
- [9] Garry FB, Adams R, McCann JP, et al. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning[J]. Theriogenology, 1996(45): 141-152.
- [10] Garry FB, Adams R, McCann JP, et al. Postnatal characteristics of calves produced by nuclear transfer cloning[J]. Theriogenology, 1996(45): 141-152.
- [11] Tamashiro, KL. Cloned mice have an obese phenotype not transmitted to their offspring[J]. Nature Med, 2002, (8): 262-267.
- [12] Shiel PG, King AJ, Campbell KHS, et al. Analysis of telomere lengths in cloned sheep[J]. Nature, 1999, (399): 316-317.
- [13] Xu J and Yang X. Telomerase activity in early bovine embryos derived from parthenogenetic activation and nuclear transfer[J]. Biol Reprod, 2001, 64(3): 770-774.
- [14] Wakayama T, Shinkal Y, Tamashiro KLK, et al. Aging: Cloning of mice to six generations[J]. Nature, 2000(407): 318-319.
- [15] Evans MJ, Gurer C, Loike JD, et al. Mitochondrial DNA gene types in nuclear transfer-derived cloned sheep[J]. Nat Genet, 1999, (23): 90-93.
- [16] Lanza RL, Cibelli JB, West MD. Prospects for use of nuclear transfer in human transplantation[J]. Nature Biotechnol, 1999, (17): 171-174.
- [17] Steinborn R, Schinog P, Zakhartchenko V, et al. Mitochondrial DNA heteroplasmy in cloned cattle produced by fetal and adult cell cloning[J]. Nature Genet, 2000, 25(3): 255-257. ■

动物超数排卵技术研究进展

王新蕾¹, 邵义祥¹, 王 鹏²

(1. 南通大学实验动物中心 南通226001; 2. 苏州大学基础医学院 苏州215123)

[摘要] 基于哺乳动物超数排卵技术在畜牧生产、濒危动物物种保存和生物工程研究中的重要作用以及其对人类辅助生殖技术的特殊贡献, 本文概述了国内外超数排卵技术中各种超排激素的用途和特点, 介绍了超排技术在不同种属哺乳动物中的应用, 以及此项技术最新的研究进展。

[关键词] 哺乳动物; 超数排卵; 激素; 辅助生殖技术

[中图分类号] Q95-33 [文献标识码] A [文章编号] 1004-8448(2007)04-0280-05

超数排卵是在雌性哺乳动物发情周期的一定阶段, 应用外源性促性腺激素诱导卵巢多个卵泡发育, 并排出具有受精能力的卵子的方法, 简称“超排”。通过外源性激素的注入, 提高血液中促性腺激素浓度, 降低发育卵泡的闭锁, 增加早期卵泡发育到成熟卵泡的数量, 从而使雌性动物每次排卵数目增加^[1]。通过超数排卵技术, 可以充分挖掘母畜的繁殖潜力, 为胚胎移植提供充足的胚胎。因此, 超数排卵技术是胚胎移植过程中必不可少的一环, 同时也是进行转基因动物生产和动物克隆等研究中应用的一种重要的技术手段。

超数排卵技术的研究始于20世纪20年代, Smith和Engle首先发现了超数排卵现象^[2], 他们在性成熟的雌性小鼠身上做了垂体前叶组织肌肉埋植试验, 结果从输卵管内回收了60多个卵子, 大约是正常的4~5倍。此后不久, Cole和Hart发现了孕马血清可使未成熟大鼠超排, 奠定了超排技术的基础^[2]。基于超数排卵技术在畜牧生产、濒危动物物种保存和生物工程研究中的重要作用以及其对人类辅助生殖技术的贡献, 本文就其研究进展作一综述。

1 超数排卵中常用的激素

用于动物超数排卵的激素种类较多, 但目前较常用的超排激素大体分为两大类: 一类是促进卵泡生长发育, 主要有孕马血清促性腺激素(PMSG)和卵泡刺激素(FSH); 另一类是促进排卵, 主要有人绒毛膜促性腺激素(hCG)和黄体生成素(LH)。

1.1 PMSG

是动物中广泛应用的超排激素, 是一种糖蛋白激素, 具有FSH和LH双重作用, 但由于其分子中N-乙酰-神经氨酸含量较高, 导致PMSG在动物体内半衰期较长, 远远高于LH^[3]。因此, 使用后会引发多种不良效应, 如卵巢囊肿, 卵巢易出现大量不排卵卵泡, 黄体早期退化, 胚胎发育不正常, 超数排卵的季节性变异范围大等等^[4]。这些都会影响超数排卵的效果。

1.2 FSH

也是一种较常用的超排激素, 由于其在动物体内的半衰期短, 因此需要多次注射, 处理程序烦琐。但最近有人报道将FSH溶于30%的聚乙烯吡咯酮(PVP)中, 由于PVP对FSH具有包被和缓释的作用, 可延长FSH在动物体内的半衰期, 从而减少FSH的注射次数, 简化超排的操作程序^[5]。

1.3 LH

常与FSH配合使用, LH可和FSH协同作用促进卵泡成熟、触发排卵、促进黄体形成并分泌雌

[收稿日期] 2007-03-16

[作者简介] 王新蕾(1980-), 女, 硕士研究生, 主要从事临床医学检验与实验动物模型的研究。

E-mail: wxl_wp@163.com

[通讯作者] 邵义祥, 男, 博士, 副教授, 主要从事实验动物学研究 E-mail: shaoyx@ntu.edu.cn

激素和孕激素,在动物的生殖过程中发挥着重要作用^[6]。LH 峰是控制排卵发生的关键因素,注射外源性 LH,增加卵巢血液供应,诱发排卵。

1.4 hCG

与 LH 的生物学作用与免疫特性基本相似,常与 PMSG 和 FSH 配合使用,具有促黄体激素的作用,于卵泡发育近成熟时给药可促进排卵,并可有力阻止 PMSG 超排引起的动物黄体早期退化。

另外,促性腺激素释放激素(GnRH)也可用于动物超排。排卵前由于成熟卵泡分泌的雌激素高峰对下丘脑产生正反馈作用,下丘脑大量释放 GnRH,刺激垂体合成与释放促性腺激素,LH 和 FSH 分泌增加,刺激排卵。应当注意的是,应用于超排的激素用量应适当,不应过高或过低,剂量过低,不足以引起较多卵泡的成熟,剂量过高又会引起“过刺激”(Overstimulation),从而减少胚胎和卵母细胞的收集率。

2 超数排卵技术在不同哺乳动物中的应用及研究进展

2.1 大、小鼠

大、小鼠具有繁殖力强,易饲养,给药方便等特点,在实验研究中应用广泛,特别是小鼠,由于其体形小,生长快,因此是生物医学研究领域应用最广泛的实验动物,因此对其进行超数排卵的研究对动物胚胎工程等工作的开展具有重要意义。有关大、小鼠超排的文献国外报道较多^[7,8],方法是通过注射不同的外源激素,如 Kon 等用 PMSG 和 hCG 在成年 Wistar 大鼠动情周期诱导其超排^[9],Nariai 等用黄体生成素释放激素类似物诱导小鼠超排^[10],Kanter 等用 GnRH 激动剂来增加小鼠的排卵数量^[11],均取得良好成效。国内李秦等曾报道用 PMSG 和 hCG 对 SD 大鼠进行超数排卵,注射间隔时间为 72 h,腹腔注射激素 40 IU/只,达到最佳超排效果^[12]。梁成光报道间隔 72 h,肌肉注射激素 60 IU/只,收集 Wistar 大鼠囊胚^[13]。左琴等则证实大鼠的超排与小鼠超排相似,间隔 48 h 腹腔注射激素 50 IU/只,Wistar 大鼠的超排效果最好^[14]。戴丽军等对各品系小鼠超排的激素剂量和注射间隔时间进行比较,得出最佳激素剂量为 5 IU PMSG+5 IU hCG,最适合的注射间隔时间为 48 h^[15]。高善颂

等采用四种不同剂量 PMSG(2.5~10.0 IU)和 hCG(2.5~10.0 IU)对小鼠超排,也得出同样结论^[16]。Kagabu 等通过实验证明对小鼠进行超排时,选择 12 周龄的小鼠,可以得到较多的卵子^[17]。各种动物的排卵都依赖于 LH,在发情周期中,当内源性 LH 达到高峰时,即触发排卵。在超排反应中,内源性 LH 不足以满足大量卵泡成熟的需要,若不立即给予大量外源性 LH 或其类似物(如 hCG 等)将导致部分卵泡闭锁,从而引起排卵数的减少^[16]。

2.2 羊

到目前为止,有关羊超数排卵方面的资料很多。在绵、山羊超排的外源激素主要有 FSH 和 PMSG。Armstrong 等在安哥拉山羊超排处理中,对 PMSG 和 FSH-P 作了比较,结果 FSH-P 的效果(平均获卵数 16.1 ± 8.0),明显优于一次性注射 PMSG 组(平均获卵数 10.8 ± 1.2)^[18]。Pintado 等采取 PMSG 和 FSH 相结合的方法,用 PMSG 代替了部分 FSH 进行超排处理,获得了单纯使用 FSH 一样数量的可用胚胎,大大降低了超排成本^[19]。岳奎忠等于第一次注射 FSH 的同时,加注 PMSG 200 IU,超排母羊的平均红体数为 13.94 ± 1.11 个,平均获卵数 10.5 ± 0.97 显著超过了单纯使用 FSH 处理^[20]。芮荣等用 4 种方法对 30 只山羊进行超数排卵。结果发现:PMSG(1000~1350 IU)肌注+hCG(750~1000 IU)静注得到的平均排卵数最高(7.4 个/只);其次为 FSH(总剂量为 300 IU,连续 3 日,每日 2 次肌注)+LH(100~150 IU)静脉注射(6.5 个/只)。这两种方法较为有效^[21]。山羊处理方法:一般是在山羊发情周期的第 13~15 天开始使用 PMSG 一次性注射或 FSH 连续处理 3~4 d,剂量递减,每天两次,每次间隔 12 h^[4]。注射 PMSG 后,适当时间注射 APMSG(PMSG 抗体)可中和 PMSG 在动物体内的残留,并能够控制发育卵泡不会过多,排卵时间比较集中。李秦等通过不同给药方法导致的 PMSG(1500 IU)和 APMSG(1000 IU)对海门山羊的超排效果比较,认为在羊采用一次性投给比小剂量多次投药效果好^[12]。

2.3 兔

Hashimoto 等用纯化的猪卵泡刺激素对兔超排,取得较好效果^[22]。李秦等用 400 IU 和 200 IU PMSG 和 hCG 两种剂量对兔超排,结果表明 400 IU 排卵数明显高于 200 IU 组,但两者受精率基本相同。

可以认为PMSG和hCG对兔的超排效果甚佳^[12]。刘亚等采用PMSG(75 IU)+hCG(100 IU)和FSH(100 IU)+hCG(75 IU)两种方法对青年和经产日本大耳白兔进行超排处理,结果表明后者方案优于前者,经产兔比青年兔超排效果好^[23]。廉颖等用FSH衡量法(兔颈部皮下注射FSH,每次0.15 mg/只,每次间隔14 h共注6次。末次注射FSH后12 h经耳缘静脉注射hCG 75 IU/只)和递减法(兔颈部皮下注射FSH 6次,每次间隔10~14 h,注射剂量递减,第1、2次剂量为0.15 mg/只,第3、4次0.1 mg/只,第5、6次0.05 mg/只,末次注射FSH后12 h,耳缘静脉注射hCG 75 IU/只),发现两种方法无明显差异。但不同品种兔对超排影响较大,品种不同对激素的敏感性差异较大^[24]。毛冠平等用两种剂量(50和100 IU)PMSG处理后的母兔卵巢平均排卵点数分别为10.83个和13.80个,差异不显著。平均获卵数分别为7.05个和7.96个,差异不显著。但平均充血卵泡数分别为7.30个和15.36个,差异极显著^[25]。

2.4 猪

由于猪属于多排卵动物,其超数排卵的意义不如单胎动物大,所以对猪的超排报道相对较少。但近年来,关于猪胚胎移植、核移植、转基因等技术的研究日趋增多,为了获得充足的卵母细胞和胚胎,超数排卵技术的研究被提上了日程。国内外猪的超排处理方法多用PMSG(或FSH)+hCG(或LH)。Ziecik等采用PMSG+hCG法对猪一次或两次给药,得到可用胚胎数与未用激素组比较均有显著差异^[26]。陈乃清等采用PMSG(250~1000 IU)配合hCG(250~1000 IU)肌肉注射对猪进行超排,获得了良好的超排效果,平均每头排卵数23.9~27.9枚。结果表明此方法是既简便又有效的母猪超排程序^[27]。李文化等对湖北白猪用PMSG和hCG进行超排处理,发现10 IU/kg体重的PMSG能促进母猪发情,并且显著提高青年母猪的排卵数。处理方法:在距上一个发情周期开始的第16天一次性肌注PMSG 10 IU/kg,72 h后注射相同剂量hCG^[28]。芮荣等分别用PMSG(1000 IU)+hCG(500 IU)法和PMSG+PG(0.1 mg)+hCG法对小型猪进行超排,结果表明后者的头均排卵数(12.2 ± 4.9)明显高于前者(2.0 ± 5.3)^[29]。岳奎忠等在对长白猪和哈白猪超排的研究中,也使用前列烯醇先溶解黄体,再用

PMSG(1000 IU)和hCG(1000 IU)进行处理,也取得了较好效果^[30]。另外,陈乃清^[27]和岳奎忠^[30]均认为猪的品种是影响超排效果的一个主要因素。

2.5 猫

家猫是唯一一种没有被列为珍稀或濒危物种的猫科动物,通过对家猫超数排卵的研究,可促进家猫的胚胎移植,因此,对其他濒危猫科动物物种的延续有重要的意义。对家猫的超排方案主要有PMSG/hCG、FSH/hCG、eCG/hCG等三种方法。其中以eCG/hCG的超排效果最好。猫是典型的刺激性排卵动物,eCG(马绒毛膜促性腺激素)是目前用来刺激家猫卵泡发育较好的激素。用eCG/hCG对家猫超排获得比正常排卵多4倍的卵子(23.3 ± 2.3)^[31]。文端成等则比较了PMSG/hCG和FSH/hCG两种方案以及不同剂量和注射方式对家猫超排效果的影响,结果表明,PMSG的注射方式不影响家猫超排效果,用200 IU的PMSG超排家猫是较合适的剂量,FSH和PMSG都可用于家猫超排,但PMSG方案更合适^[32]。

2.6 犬

Yamada等在研究排卵前犬卵母细胞体外成熟和受精时应用了eCG/hCG对犬进行了超排,取出卵母细胞培养72 h后,经超排处理的排卵前犬卵母细胞到达细胞分裂中期百分率(31.9%)高于对照组即未用激素组(12.1%)^[33]。目前看来,关于犬科动物超数排卵的资料十分有限,因为犬科动物属季节性单发情动物,其生殖生理特点与其他哺乳动物有所不同,对发情周期中激素的变化还不是很了解,用激素诱导发情相对其他动物较困难。况且,这种动物发情结束后长时间处于间情期与下一次发情周期的开始受激素调控的机理也不清楚,给诱导发情试验带来了许多困难^[34]。而且,犬对外源性激素处理的反应差异较大。因此,犬科动物超排的研究还处于起步阶段。

2.7 灵长类动物

在灵长类动物的超排中,有关猕猴的研究最多。猕猴的组织结构、生理和代谢机能等与人类最为相似,是研究人类疾病最理想的动物模型,但实验用猕猴数量有限,遗传背景不明,按照普通的动物繁殖方法无法满足现代生物医学对其数量和质量的要求,体细胞核移植技术的成熟为猕猴的大量生产提供了途径^[35]。在对猕猴超数排卵时,

应考虑到其发育年龄和繁殖季节以及激素种类等的影响^[35]。王林嵩等对FSH及大剂量氯蔗酚诱发猕猴超数排卵的效果进行观察分析,结果表明FSH每只1 mg/d诱发超数排卵的效果比氯蔗酚每只50~100 mg/d效果好,氯蔗酚诱发超数排卵的效应与剂量不呈正比,两侧卵巢的卵泡发育存在交替优势现象,同一只动物两次超排实验中间隔一次月经周期后,其卵巢对药物诱发超排效果反应良好,超排不影响猕猴的正常生育能力^[36]。在体外受精和胚胎移植过程中, Hayes等对短尾猕猴使用了重组人松弛激素,并用重组人FSH和hCG进行超数排卵,受孕率和移植成功率较高^[37]。国内熊成培等则用促性腺激素刺激动物超数排卵后,用hCG促使卵泡进一步发育并接近排卵,手术法采集卵母细胞,在卵母细胞进一步成熟过程中,添加血清和激素会取得更好的效果^[38]。

3 超数排卵技术在医学研究中的价值

超数排卵技术不仅在畜牧生产、物种保存和生物工程研究领域有很重要的价值,它在医学研究中的价值也是不容忽视的,特别是在体外受精胚胎移植(IVF-ET)中,促超排卵是其成功的先决条件,对治疗目前令许多夫妇和妇科专家头痛的不孕不育疾病起到至关重要的作用。目前,临床上常采用长效和短效促性腺激素释放激素激动剂(GnRH- α)用于超促排卵降调节,它可以增加卵泡的募集,抑制内源性黄体生成素峰,避免卵泡过早黄素化,从而提高妊娠率^[39]。Gleicher等对1494名不孕症妇女使用了促性腺激素,结果有441人怀孕,其中127人为两胎或多胎^[40]。因此动物超数排卵技术在医学研究领域具有重要的借鉴价值,对人类辅助生殖技术的发展与完善起到促进作用,与人类的繁衍及社会的稳定和发展有着不可或缺的联系。

4 超数排卵技术的前景展望

目前,对于一些动物如羊、牛、兔等的超排处理方法已趋于完善和稳定,但对于猪、猫、犬等动物超排的研究相对较少,而且技术上也不够完善,可能是由于此前对在这几种动物身上应用超排的意义认识不足,困难较多,研究者也相对较少。在对家猫进行超排时,由于猫具有天生神经

质的特性,对周围环境变化敏感,操作起来较困难,而在犬科动物,到现在为止,尚未找到一种非常可靠的确定母犬排卵时间的方法,但家猫和犬的超排研究对同种属其他濒危或珍稀物种的保护有重要意义。随着动物胚胎移植、核移植、胚胎冷冻、转基因技术的不断发展和应用,超数排卵技术越来越受到人们的广泛重视。超排技术正在医学生物学研究和畜牧生产中不断地发展和改进,有望在家畜品种改良、珍稀濒危物种保护、人类辅助生殖技术的发展过程中得以应用,具有广阔的发展前景,值得广大学者进一步探讨和研究。

[参考文献]

- [1] 田亚丽,赵成平.牛超数排卵的方法及其影响因素[J].当代畜牧,2004,(3):32-33.
- [2] Armstrong D.T著.赵晓霞,高昌恒译.家畜超排的生理基础[J].国外畜牧科技,1991,18(2):18-19.
- [3] Boland M.P著.郭年藩摘译.奶牛超排激素的种类及效果[J].国外畜牧科技,1991,18(5):7-10.
- [4] 章志国,章孝荣.动物超数排卵的影响因素及发展现状[J].安徽农业科学,2003,31(1):41-43.
- [5] 马群山,沈勇,叶剑敏,等.聚乙烯吡咯酮在家兔超数排卵中的应用初探[J].中国畜牧杂志,2001,37(3):39-40.
- [6] 李莲,王根林.促黄体素R基因表达中的转导通路及转录因子[J].生理科学进展,2004,35(3):215-218.
- [7] Su P, Wu JC, Sommer JR, et al. Conditional induction of ovulation in mice[J]. Biol Reprod, 2005, 73(4): 681-687.
- [8] Ishigame H, Medan MS, Watanabe G, et al. A new alternative method for superovulation using passive immunization against inhibin in adult rats[J]. Biol Reprod, 2004, 71(1): 236-243.
- [9] Kon H, Tohei A, Hokao R, et al. Estrous cycle stage-independent treatment of PMSG and hCG can induce superovulation in adult Wistar-Kyoto rats[J]. Exp Anim, 2005, 54(2): 185-187.
- [10] Nariai K, Ishinazaka T, Suzuki K, et al. Optimum dose of LH-RH analogue Fertirelin Acetate for the induction of superovulation in mice[J]. Exp Anim, 2005, 54(1): 97-99.
- [11] Kanter M, Yildiz C, Meral I, et al. Effects of a GnRH agonist on oocyte number and maturation in mice superovulated with eCG and hCG[J]. Theriogenology, 2004, 61: 393-398.
- [12] 李秦,朱德生,刘玉林,等.不同激素对哺乳动物超数排卵中作用的研究[J].实验动物科学与管理,1997,14(3):1-6.
- [13] 梁成光,崔建英,薛晓先,等.利用不同冷冻方法建立大鼠胚胎保种库的研究[J].内蒙古大学学报(自然科学版),2001,32(6):653-656.

- [14] 左 琴, 岳秉飞, 刘双环, 等. Wistar大鼠超数排卵及胚胎移植[J]. 实验动物科学与管理, 2003, 20: 70-72.
- [15] 戴丽军, 叶炳飞, 黄月玲. 小鼠超数排卵的比较实验[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(2): 108-113.
- [16] 高善颂, 李树明. 不同剂量PMSG和hCG对小鼠超排效果的影响研究[J]. 浙江畜牧兽医, 2006, (1): 6-8.
- [17] Kagabu S, Umezumi M. Variation with age in the numbers of ovulated ova and follicles of Wistar-Kyoto adult rats superovulated with eCG-hCG[J]. Exp Anim, 2006, 55(1): 45-48.
- [18] Armstrong DT. Superovulation treatment and embryo transfer in angora goat[J]. Reprod Fertil, 1983, 67(2): 407-410.
- [19] Pintado B, Gutierrez-Adan A, Perez Liano B. Superovulatory response of murciano goats to treatments based on PMSG/anti-PMSG or combined FSH/PMSG administration[J]. Theriogenology, 1998, 50(3): 357-364.
- [20] 岳奎忠, 于元松. 改进山羊超数排卵方法的研究[J]. 东北农业大学学报, 2000, 31(1): 72-76.
- [21] 芮 荣. 山羊超数排卵试验[J]. 四川农业大学学报, 1991, 9(3): 382-383.
- [22] Hashimoto S, Kuramochi T, Aoyagi K, et al. Refined porcine follicle stimulating hormone promotes the responsiveness of rabbit to multiple-ovulation treatment[J]. Exp Anim, 2004, 53(4): 395-397.
- [23] 刘 亚, 张运海, 章美玲, 等. 兔超数排卵比较实验[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2003, (5): 35-36.
- [24] 廉 颖, 李劲松, 朱子玉, 等. 影响兔超数排卵因素的研究[J]. 中国兽医科技, 2001, 31(4): 14-16.
- [25] 毛冠平, 张金友, 刘云波, 等. PMSG对兔超数排卵效果的影响及卵巢组织学观察[J]. 中国养兔杂志, 2004, (6): 17-22.
- [26] Ziecik AJ, Biallowicz M, Kaczmarek M, et al. Influence of estrus synchronization of prepubertal gilts on embryo quality[J]. J Reprod Dev, 2005, 51(3): 379-84.
- [27] 陈乃清, 苟德明, 路兴中, 等. 猪的超数排卵[J]. 畜牧兽医杂志, 1997, 16(1): 1-3.
- [28] 李文化, 熊忠良, 樊俊华, 等. 母猪超数排卵对胚胎发育和胚胎质量的影响[J]. 华中农业大学学报, 2000, 19(1): 40-43.
- [29] 芮 荣, 鲍世民, 包林平, 等. 小型猪超数排卵与早期胚胎的手术回收[J]. 四川农业大学学报, 2000, 18(3): 260-261.
- [30] 岳奎忠, 刘中华, 于元松, 等. 长白猪和哈白猪超数排卵的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2005, (6): 23-2.
- [31] 文端成, 刘忠华, 陈大元, 等. 家猫胚胎工程[J]. 动物学杂志, 2002, 37(3): 97-102.
- [32] 文端成, 寇朝辉, 陈大元, 等. 不同激素和注射方式对家猫超排效果的比较[J]. 动物杂志, 2002, 37(4): 30-34.
- [33] Yamada S, Shimazu Y, Kawano Y. In vitro maturation and fertilization of preovulatory dog oocytes[J]. Reprod Fertil, 1993, 47: 227-229.
- [34] 张洪海, 马承宝, 刘国世, 等. 犬科动物繁殖生物技术研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41(12): 54-57.
- [35] 朱华萍, 杨贵忠, 万东君, 等. 猕猴核移植研究进展及前景[J]. 动物科学与动物医学, 2002, 19(7): 18-20.
- [36] 王林嵩, 李文明, 侯进怀, 等. FSH和氯蔗酚对猕猴超数排卵和异体授精的影响[J]. 河南师范大学学报, 1997, 25(1): 74-76.
- [37] Hayes ES, Curnow EC, Trounson AO, et al. Implantation and pregnancy following in vitro fertilization and the effect of recombinant human relaxin administration in Macaca fascicularis[J]. Biol Reprod, 2004, 71(5): 1591-1597.
- [38] 熊成培, 陈学进, 陈永昌, 等. 影响猕猴体外授精与胚胎移植成功率的因素分析[J]. 上海实验动物科学, 2004, 24(2): 67-71.
- [39] 王莉云, 党小红, 马学工, 等. 长效与短效促性腺激素释放激素激动剂用于超促排卵期降调节的探讨[J]. 实用妇产科杂志, 2005, 21(1): 60-62.
- [40] Gleicher N, Oleske DM, Tur-Kaspa I, et al. Reducing the risk of high-order multiple pregnancy after ovarian stimulation with gonadotropins[J]. N Engl J Med, 2000, 343(1): 2-7.

The Progress of Research on Animals Superovulation Technology

WANG Xin-lei¹, SHAO Yi-xiang¹, WANG Peng²

(1. Laboratory Animal Centre of Nantong University, Nantong 226001, China;

2. Preclinical Medical College of Soochow University, Suzhou 215123, China)

[Abstract] On account of the significant role of the superovulation technique to prologue production and preservation for endangered species and biotechnology research as well as its special contribution to human assisted reproductive technique, this article summarizes the usages and characteristics of hormones used for superovulation technology in domestic and abroad. It also introduces the application of superovulation technology on different genus mammals and the recent development of this technology.

[Key words] Mammal; Superovulation; Hormone; Assisted reproductive technology

动物繁殖技术应用进展

山东畜牧兽医学会常务理事

山东农业大学教授 谭景和

罗明久 吴延光 (山东农业大学动物科技学院 271018)

中图分类号: S814.6 文献标识码: A 文章编号: 1007-1733(2008)01-0001-03

动物繁殖技术是生物技术的重要组成部分,是以动物生殖细胞和胚胎为主要研究对象,以生物科学为基础,研究调控和提高动物繁殖性能、发掘动物繁殖潜能。动物繁殖是动物生产中的关键环节,对动物数量的增加和质量的提高具有重要作用。随着科学技术的发展,动物繁殖技术的研究不断深入,应用范围日益广泛。动物繁殖技术从20世纪50年代的人工授精到70年代的胚胎移植的应用,开始了新纪元。常规人工授精和胚胎移植、性别控制等一系列高新技术的应用使得动物繁殖的速度更快、生产性能更高、准确性更好,给畜牧业带来了巨大的经济效益和社会效益,为其产业化发展提供了强大的动力和竞争力。另外,分子生物学的某些突破使人们能够分离基因,并在体外进行重组。这些突破迎来了动物繁殖技术发展的新时代。本文主要阐述了家畜的人工授精、动物胚胎工程、繁殖性状遗传标志开发和超声波诊断等几个方面的动物繁殖技术应用进展。

1 家畜的人工授精

人工授精(artificial insemination, AI)是家畜繁殖应用最为广泛的一项技术。经过几十年来的发展,家畜人工授精在欧洲、北美及日本等经济发达国家的普及率很高。在人工授精技术中,精液的保存、精子质量的测定以及授精技术在不断发展。

1.1 精液的保存

在1948年,向精液保存液中添加甘油,能使精子在冷冻-解冻后保持受精力,这个发现使精液的保存进入了一个新的阶段。目前,精液保存大多以细管冷冻精液为主。对于精液保存,力求保存液的配方简单,使用方便。在精液中添加脱脂奶或卵黄、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、甘油(G)、二甲基亚砷(DMSO)、乙二胺四乙酸钠(EDTA)、聚乙烯吡咯烷酮(PVP)或乙二醇(EG)等,进行精液的冷冻保存,取得了良好的效果。

家畜精液冻干的研究近年来取得了进展,美国E.V.拉尔森等人将牛精液冻成颗粒,抽干至含水量25%,在25℃常温下保存约1个月,然后授精,受

胎率达34%。如果冻干精液在技术上取得突破,各种家畜精液的耐冻性问题得以完全解决,将给家畜人工授精技术带来新的革命。

1.2 精子质量的测定

测定精子的活力,除应用显微镜观测外,可使用流式细胞分类器。现已证明,有几种荧光染料用于精子染色,以适当波长的光激发,可以较准确地评定精子的活力。另外,更应该用测定顶体完整的精子和有顶体反应的精子数量来评定精液质量。

为了深入观察精子活力、运动状态以及细微结构,近年来出现了显微镜萤光屏法、显微电视录相法、记波照相法、光子对射分光镜法和电摄影计算光扩散技术等。这些高精密度的仪器,都是研究精子生理生化和冷冻精液基础理论方面最新的实验手段。

1.3 人工授精技术

开展人工授精对促进养殖业的发展至关重要,但输精的效果要受到精液保存方式、单次输精剂量的精子数、精液量、排卵时间、输精次数和输精部位等多种因素的影响。另外,子宫的生理状况也影响输精的效果。由于子宫的吞噬作用会杀死精子,所以要尽快地将精子运输到输卵管中。

通过子宫颈在子宫内授精的技术在牛、马和猪的繁殖上是有效的,并得以普及。腹腔镜子宫内输精在绵羊和山羊的繁育上已被应用。然而,该技术操作的局限性不适合商业生产中应用。经过改进的子宫内输精和子宫角深部输精技术结合精液性别鉴定技术,将继续推动人工授精技术在育种、畜群管理和特殊商品家畜生产领域的应用。

2 动物胚胎工程技术

在动物繁殖中应用胚胎工程技术不仅可增加良种的数量,而且还能提高动物的生产性能。胚胎工程中的家畜胚胎移植技术,主要用于快速扩大优秀种公畜和核心母畜的数量。由于种公畜和种母畜有较高的经济价值和社会价值,利用胚胎移植在育种方面可以获得全同胞或同卵双生家畜进行后裔测定等优势。因此,该技术在种公畜的选育和优质核心母畜群的培育以及加快育种步伐方面均具有

明显的优越性。

2.1 超数排卵和胚胎移植 (MOET)

MOET 是一项较好的技术,商品化生产的胚胎中有 80%多是通过应用纯品 FSH (猪和牛) 进行超数排卵获得的。但因纯品中 FSH 和 LH 的含量不同,有反应过度、不排卵、卵泡持续存在等副作用。纯品激素最初来源于动物的特定具有危险的组织,因为疯牛病 (BSE) 的暴发,在一些国家反对直接使用纯品激素。另外,FSH 和 LH 应用于人是有价值的,而用于家畜,因价格昂贵,不容易被接受。

MOET 发展多年,各地获得了大量的胚胎。长期以来研究人员试图提高胚胎的产量,但收效甚微,然而,这些研究使得 MOET 简化和实用。超排处理会使具有优良遗传性状的良好奶牛的产奶量下降,使之达不到产奶高峰,限制了供体牛的使用,同时相对地降低了供体的繁殖性能。泌乳牛的重复超排处理对受精有副作用,引起牛乳房韧带松弛,表现为遗传特征分值下降。小牛的超排处理还能引起乳房发育早熟,影响其将来的泌乳功能。供体牛干奶后进行超排可获得较好的结果,优势卵泡的去除、调节发情使卵泡被同期化、超排处理适时进行,应用联合处理取得了较好的结果。

2.2 体外胚胎生产

体外生产 (IVP) 胚是指应用从不同年龄和生理状态的供体卵巢上获取未成熟的卵母细胞,在体外培养成熟、受精,并培养发育,获得可进行移植或冷冻保存的胚胎。体外生产胚胎是一种新的、更灵活的方法,然而为保证胚胎质量,需要专业性很强的特殊的实验人员和设备。

2.2.1 IVP 胚过程 IVP 胚的过程涉及卵母细胞体外成熟 (IVM)、体外受精 (IVF) 和胚胎培养 (IVC) 等三个部分。卵母细胞采集的方法因其来源不同而有差异。卵母细胞对温度变化很敏感,在采集过程中,温度很容易波动,因此,温度的控制是很重要的。IVF 常用冻精,精液解冻后,常用密度梯度分离法分离活精子。虽然其它方法 (如 Swimming-up、离心等) 也可用来分离精子,但需要系统的、稳定的、可靠的操作系统,确定适当的精子浓度进行 IVF,以使用最少量精子获得最好的受精结果。IVF 的另一个办法是显微受精,可采用透明带修饰、卵周间隙内精子注射 (ZUSI)、胞浆内精子注射 (ICSI) 等方法。胚胎培养有多种方法,如体外培养和体内培养。IVC 过程需要特殊的实践技能和准确的胚胎处理操作。生产的大批量胚胎被鉴定后,可用于移植或冷冻保存。IVP 胚胎降低了胚胎生产成本,提高了胚胎移植技术的应用水平。

2.2.2 青年家畜的胚胎体外生产 为缩短世代间隔,可从性成熟前的青年家畜上获取卵母细胞。通过腹腔手术,可获取幼龄家畜的卵母细胞,继而体外成熟和受精,并培养发育至囊胚,然后移植给受体。对于牛来说,在犊牛 11 月龄时即可获得后代,也就是说在供体牛泌乳之前或者是在证明供体牛是优质牛之前,供体牛的后代就出生了。处理结果受到供体牛本身和处理方法的影响。

2.3 活体采卵 (Ovum pick up, OPU)

OPU 是指应用超声波、腹腔镜介导或腹腔手术采集卵巢上的卵母细胞来生产胚胎。OPU 可重复进行,获得最大量的卵母细胞。OPU 技术不像 MOET 那样影响供体的正常繁殖和生产。应用 OPU,可在很短的时间,甚至在一次 (当采集很多卵母细胞时) 就能获得不同父母组合的后代。OPU 与 MOET 相比,其缺点为需要特殊的实验设备和操作技能来完成胚胎的生产过程,因此花费昂贵,操作较为复杂。

2.4 胚胎冷冻保存

胚胎冷冻技术的发展非常迅速,冷冻胚胎克服了时间、地点的限制,使胚胎移植技术实现市场化、产业化,为良种家畜品种的快速繁殖提供可靠的基础。从最初的常规冷冻法中解冻后要分步脱去保护剂到解冻后直接装枪移植,如今玻璃化冷冻法已在体外胚胎保存上广泛使用。

2.5 胚胎移植和后代出生

常规移植的胚胎已可以像冷冻精液一样解冻后,无需在显微镜下操作,而直接移植,并且解冻后的胚胎质量、受胎率等指标都有很大的提高,从而真正实现了胚胎移植操作的简单易行。

受体牛的组织状况成为制约胚胎移植工作的主要因素。艰难的组织工作和受体的低可用率使胚胎移植的成本居高不下,严重影响了胚胎移植技术的应用。只有科学、合理地做好胚胎移植受体的组织工作,认真挑选出足量、适合的受体,才能保证胚胎移植推广工作高效率进行并获得理想的结果。

妊娠建立后的头 3 个月,流产率高达 10%~12%。在分娩时可能会出现一些问题,如怀孕期延长、难产、胎儿巨大等,增加了胎儿的死亡率,这些被称为胎儿过大综合征 (LOS)。利用输卵管做体内培养或利用 SOF 系统,在没有高浓度血清或 BSA 条件下,可获得较高的妊娠率,减少了 LOS 的发生。

2.6 核移植 (克隆) 技术

多年来,克隆技术引起了养殖业者的关注。克隆技术能增加具有优秀或特殊遗传特性的动物的

数量,克隆技术一旦提高了效率,克隆技术就会得以应用。胚胎克隆技术仅作为一项研究工具,尚未真正进入商业领域。体细胞克隆是一项发展很快的技术,对于复制优质基因、生产或复制出转基因动物有重要作用。现已证明来自成年动物的体细胞核能被用来克隆,体细胞克隆技术对于饲养者来说更具吸引力。为了使克隆胚胎生产更为简单,目前,可以不使用显微操作仪,不过效率很低。

克隆胚(无论是鲜胚还是冻胚)移植后流产率很高,高流产率和受体的浪费造成了动物克隆费用较高。实验已证实许多克隆动物能发育至性成熟,可进行配种并且是正常的。对以繁育为目的克隆动物的应用,将是具有意义和有益处的。除了动物的繁育,克隆技术对转基因动物在生物医学上的应用有重要意义。

2.7 性别控制

在畜牧生产中,需要后代为单一性别的家畜,以利于育种、生产、管理和销售。在受精前,应用精子分离技术将带X染色体的精子从精液中分离出来,可获得有效预想性别后代。目前,通过流式细胞分离仪分离的精子已在生产中应用,预示着人为控制家畜性别的时代已经到来,这是畜牧业和生殖生育等领域发生的一场革命性变化。性控精液是一种最经济、最实用的性别控制方法,从受精环节上解决了性别控制问题,对提高家畜繁殖力,繁殖出理想性别家畜,增加良种数量,提高选育强度,促进畜牧业发展有着重要意义。

性控技术是一项具有巨大的潜在利用价值的生物繁殖技术,但也存在性控精液的活力较低、有效精子数偏少等问题,对受胎率有一定的影响。利用性控冻精可进行体内或体外性控胚的生产,促进胚胎移植技术的发展和运用。另外,也可应用性控的单精子注射,技术上虽不受精子活力、精子数量的影响,但是应用性控精液进行单精子注射技术,离生产应用还有一段距离。

2.8 需要解决的问题和前景

2001年以来,世界各地一系列的BSE、口蹄疫(FMD)等传染病的先后暴发,先进的繁殖技术研究和应用也受到影响。目前,增加动物的数量已不是主要目的,需要提高动物的质量,通过获得优质的奶、肉、皮、毛、精液、胚胎和后代获得经济利益。在动物的饲养过程中,重要任务是应用可靠的和有价值的先进繁殖技术,很多研究都朝这个方向发展。

胚胎工程技术应用于动物繁殖,对于增加群体

中优秀基因具有重要作用。体细胞克隆技术若能成为商业化繁育的一种有用工具,对于生产来说,可保证生产性能相同和稳定。当有疾病存在(如乳房炎)时,再和转基因技术结合起来,引入另一个特定基因,可抑制疾病的发生。为了从应用角度获得最大益处,需要更广泛地、更切实地应用这项技术。因此,进一步提高培养系统水平,促使胚胎健康生长,减少妊娠过程中及胎儿出生后出现的一些问题,将是很有益的。

胚胎基因检测是胚胎选择的另一个手段。除应用性别控制精子生产性控胚胎外,胚胎中携带致病基因的修饰也被应用。目前,为寻找具有繁殖价值的位点来检测胚胎是一个重要方式。来自于胚胎活体的少量DNA,进行可靠扩增,即可检测有价值的位点。

3 繁殖性状遗传标志开发

遗传标志(genetic marker)是加速动物特定性状的育种选拔最佳工具,然而即使在分子生物学技术与基因组学相当发达的今日,正确而适用的遗传标志开发工作仍然很难,真正可被应用于遗传育种的遗传标志还十分有限。在遗传标志的开发上,除了抗病力以外,以提升繁殖力性状最具应用效益。利用生理学上已知功能与繁殖性状有关的基因多态型作为探索目标,来提升动物的生产效率,这将成为研发工作的重点。

4 超声波诊断技术的应用

B-型超声波诊断技术应用于动物的繁殖生产,可检测到胎儿或羊水,并能够确诊怀孕,可大大提早动物妊娠检查的时间,有利于缩短动物的胎间距,提高其繁育速度,加快育种进程。通过不孕和难孕诊断,治疗繁殖疾病,推动动物繁殖和胚胎移植产业化和规模经营,可获得良好的经济效益。但受到超声波诊断系统本身的价格、应用范围及技术水平等因素的影响,在研究和生产实践中受到了一定的限制。

5 结论

动物繁殖技术的应用对于增加群体数量、提高群体中优秀基因的比例具有重要作用。为了从应用角度获得最大益处,需要更广泛地、更切实地研究和应用动物繁殖技术。将来,动物繁殖新技术的出现和发展会在现代动物繁殖和生产中起到越来越重要的作用。随着科学技术的发展,人们关注着新的繁殖技术,并期望了解更多的新技术的安全性和进入食物链中的产品的安全性等问题。

参考文献(略)

动物繁殖学教学中创新教育的初探

陆凤花

(广西大学 动物繁殖研究所, 广西 南宁 530005)

摘要: 创新教育的核心是培养学生的创新精神和实践能力,其前提是培养学生创新意识和创新思维。动物繁殖学既是一门重要的专业性学科,又是一门具有广阔前景和效益的应用性学科。在动物繁殖学教学中实施创新教育,必须加强培养学生的创新意识,创新思维,创新能力和创新精神。

关键词: 动物繁殖学; 创新教育; 教学

中图分类号: G642

文献标识码: A

21 世纪是科学技术突飞猛进、信息快捷、竞争激烈的经济社会。知识经济需要创新知识,创新人才,自然也需要创新教育。实行创新教育,发展学生的创新精神和创新能力,培养能主动适应 21 世纪我国社会主义现代化需要的高级人才,已成为我校“211 工程”建设和创建本科教学优秀学校的重要内容。因此提高学生创新素质及提高教学质量已成为当代教育的首要任务,我们把创新教育主阵地定位于课堂,让创新教育的思想和做法落实到每节课中去。本文就大学本科动物繁殖学教学进行创新教育作一探讨。

1 激发学生的创新意识

创新教育,首先要培养学生的创新意识,因为意识是创新活动强有力的推动力,只有在强烈的创新意识引导下,人们才有可能产生强烈的创新动机,充分发挥创新潜能。教育学家研究表明:兴趣与创新紧密相连,兴趣是创新意识产生的前提,而创新过程中又会产生无穷无尽的兴趣促进进一步创新。作为教师,要善于研究学科特点,将教材变材,充分挖掘教学资源,激发学生探究创新兴趣,使学生善于发现问题,提出问题,渴望解决问题,从而培养学生的创新意识。

我在动物繁殖学教学中,首先在教学内容上将理论与实践并重,积极吸收本学科的最新成就和信息进入教材,并恰当地把当今世界分子生物学、生物技术产业等新的科学技术研究成果补充进入课堂,充分体现出教学内容的开放性和前沿性,从而增强学生学习的兴趣和动力。例如在讲授“配子生物技术”这一章节时,我们介绍了 Wilmut 等怎样浓缩了前人的科研成果,打破传统的权威观点,获得世界首例成年动物体细胞克隆绵羊——“多莉”,成为生物史上划时代的里程碑的过程;Cibelli 等怎样将转基因技术与克隆技术相结合,生产转基因克隆动物等科研成果,从而大大提高了优良个体的繁殖潜力。学生们随着这些讲授也了解了生物领域发展的科学过程,领悟到要提高动物的繁殖力,就应采用新的繁殖技术手段才得以实现。他们也深深意识到任何一项新技术的出现,并不是天上掉下来的,或是社会固有的,而是由人创立发现的,还在不断发展的;并且从中领略到任何一种理论、观点的建立都不是一帆风顺的,也并不具有绝对的权威,每个人都有创新、发展的潜能。通过这些讲解,极大地调动了同学们学习这门课程的兴趣,也培养了学生创新的个性品质。同时,在教学上,我放权威思想,建立新型的师生关系,与学生平等地进行学术思想交流,允许学生对老师、对书本提出质疑,允许学生突发奇想和学生之间有争议;此外,为帮助学生树立创新的信念,我在设计课堂活动和提问时,不要求同学马上回答,而是给他们留下足够的思考时间,对他们的答案也不急于判断,而是采用讨论等方法让学生学会自我评价和判断,鼓励学生把自己的创新潜能充分发挥出来。自己在课堂上担当好“组织者、指挥者、学习者”等多种角色,调动学

收稿日期:2005-04-11;修订日期:2005-05-19

作者简介:陆凤花(1973-),女(壮族),广西武鸣人,博士,广西大学讲师。

生主动学习的欲望,多看学生求异思维中的合理因素,并及时予以鼓励,以激发学生创新心理,培养学生的创新意识。

2 培养学生的创新思维

创新思维是指发明或发现一种新方法用以处理某事物的思维过程,它是整个创新活动的关键,创新教育必须着力培养这种可贵的思维品质。在教学中,教师要善于创造一种民主氛围,激发学生的探索欲望,使其处于积极求知、跃跃欲试的积极状态;或提出启发性的问题,鼓励学生大胆发言,诱导学生对每个问题多问几个为什么,而且对每个为什么再进一步追问下去,沿着这种思路去思考问题,就能诱发学生的创新思维。例如,在实验教学中,我不仅要求学生进行验证性实验的操作,更重视学生进行创造性实验的设计,而且激励学生不依常规的实验设计,或者进行实验材料的创新探索,或者进行研究方法的创新探索。在学习家畜精液冷冻保存实验时,同学们根据所学到的精液冷冻原理,提出了多种冷冻方法,作为老师,我不予评价各种方法的优劣,而是为他们提供了各种方法所需的试剂、材料和器材。同学们分成几个小组,各组的同学们按照各自的方法进行了测试,最后再将其过程和结果进行比较,看看哪种方法的冷冻过程更简易,解冻后精子的活力最好。这样使同学们在相互启发的氛围中多中选优,推出了更为科学、简便易行的方法,使思维流畅。

另外,在课堂上,学生们难免提出一些稀奇古怪的问题,我对学生产生的不同想法不急于肯定和否定,而是鼓励学生用理性思索去尝试成功或失败,从而获得正确的研究方法。在进行精液稀释时,精子有个适应环境的过程,所以应把稀释液缓慢地加入精液中,而不能直接将精液往稀释液中加,但学生有时会产生逆向思维,偏偏就直接将精液加入稀释液中,从而导致大量精子死亡。这时,我并没有责怪或批评学生,而是通过指导,让学生重新进行正确的操作,结果学生发现:经过正确的操作后精子的活率很好,从而得出科学的结论:精子的存活需要适宜的条件。这样的实验操作令同学们印象非常深刻。

3 培养学生的创新能力

动物繁殖学是一门与生产联系紧密的专业课,生产的发展、生产方式的改变必然会要求学生不仅能将理论知识与实践相联系起来,而且还要注重创新能力的培养。在当今知识经济时代,要使学生灵活多样有创意地获取知识,扩大知识面,拓展思维空间,就必须加强学习方法的教育,提高学生的创新能力,教会他们怎么学会思考,培养他们独立分析和解决问题的能力,而不是概念的堆积。因此,教师应在课堂教学中重视动物繁殖学理论、技术与社会的联系,把知识、技能教学 and 实际应用有机结合起来,引导学生在掌握知识的同时去掌握知识的应用,使学生在对知识的应用中提高自己的创新能力。

在培养学生的创新能力时,我首先积极转变观念,努力提高自身素质,大胆探索以及实践新型和恰当的方法,并利用计算机多媒体进行教学,通过声音、图像等多种表现形式,使学生能对知识掌握得更加透彻。在讲到动物繁殖新技术时,学生往往对体外受精、胚胎分割、精子显微注射以及克隆等技术都感到非常抽象、难理解,但我利用多媒体技术,将各项技术的操作过程形象直观地呈现出来,不仅丰富和深化课堂教学内容,而且使学生能深刻、准确地掌握丰富的生命科学知识,从而促进学生的创造性想象。另外,通过实验方法的改进,可大大增强学生的观察能力和分析、解决问题的能力,促进学生的创造性思维活动。例如:在“兔子的超数排卵”的实验教学中,我激励学生不依常规的实验设计,而是进行研究方法的创新探索,首先让学生复习各种生殖激素的作用以及超数排卵技术的原理后,向学生们提出问题:“对兔子进行超数排卵,提高其排卵的数量,可以采用哪些方法?并说明实验原理。”这时学生们就开始分组展开讨论,提出各自的想法,并拿出方案进行实验,这样可使学生通过进入探究式的实验操作过程,来证明自己的实验设计,老师在学生的各组实验中多加以点拨,起到“导”和“扶”的作用,这无疑对提高学生的创新能力大有裨益。

4 培养学生的创新精神

创新精神对创新结果的最终实现起着重要的作用。为了培养学生的创新精神,在教学中,我首先结

合一些科学家、发明家的创造性思维、成果来鼓励学生敢想、敢干,消除创新的神秘感;同时告诉学生,在探索知识的过程中,自己通过探求形成的见解就有迎新的因素,而且要勤于开动脑筋,积极思考,敢于发表自己的见解,勇于捍卫自己观点,乐于投身创新实践的态度品质。如在讲到当今动物繁殖技术的研究进展时,介绍了我国生物科学家卢克焕、石德顺等教授如何进行创新性的探索并在逆境中克服重重困难,最后培育出我国最大的试管牛群和第一例胚胎克隆牛以及世界首例体细胞克隆水牛等成就。通过这种知识的迁移,拓展了学生的视野,丰富了学生的头脑,缩短了教学活动与科技发展的距离,激发学生学习的兴趣,调动学生的学习积极性,培养学生独立思考、勇于开拓、坚持不懈地寻求真理的科学精神,使他们树立起坚强的意志以及战胜困难的能力。

总之,“创新是一个民族的灵魂,是一个国家兴旺发达的不竭动力”。我们正处在一个日新月异的时代,科学竞争日趋激烈,创新教育已成为经济时代对教育提出的时代要求。动物繁殖学既是一门重要的专业性学科,又是一门具有广阔前景和效益的应用性学科,其学科特点决定了它在教育中的重要地位。无论从新世纪建设人才的需要,还是学生素质全面提高和发展来看,都要求在动物繁殖学教学中加强创新教育,从而才能进一步提高教学质量,保证专业培养目标的顺利实现。

参考文献:

- [1] 郭志勤. 家畜胚胎工程 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1998.
- [2] 许坤华. 谈生物教学中的创新教育 [J]. 宁波教育学院学报, 2003, 11: 56-58.
- [3] 桑润滋. 动物繁殖生物技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2002.
- [4] 周 虚, 张嘉保, 田允波, 等. 动物繁殖学 [M]. 吉林: 吉林人民出版社, 2003.

Creative education in animal reproduction teaching

LU Feng-hua

(Animal Reproduction Institute, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: The core of creative education is to train the students' spirits and practical ability of creativity. The precondition is to cultivate the students' creative consciousness and creative thinking. Animal reproduction is an important and applicable science. Creative education must be applied in animal reproduction teaching by cultivating the students' creativity in consciousness, thinking, ability and spirit.

Key words: animal reproduction; creative education; teaching

(责任编辑 刘海涛)

动物繁殖学实验教学改革探索

龙翔, 邵秀林

(西南大学荣昌校区动物科学系, 402460)

摘要:动物繁殖学是一门具有较强操作性的学科,对学生的实验技能和专业基础要求较高。为进一步提高实验教学质量,必须改革实验课教学模式,更新实验课教学内容,改善实验课教学条件。本文对该课程改革的思路和初步实践进行了有益的探索和总结。

关键词:实验教学;改革;实践

中图分类号: G521

文献标识码: A

文章编号: 1672-9536(2007)02-0071-03

Abstract: "Animal Reproduction" is a kind of subject with strong sense of experiment so that the students' abilities in experiment and basis of their major knowledge are very important. The model of experiment teaching should be reformed, the content of the course be renewed and the condition be improved to enhance the quality of teaching. The paper makes exploration and summary of the reform of this course.

Key words: experiment teaching; reform; practice

实验是自然科学领域中广泛采用的认识和研究问题的科学方法,与一般广义的实践活动相比,它具有目的性、计划性、集中性和典型性等特征,同时更具有原创性;现代教育理论和观点都是通过大量的实验和实践研究总结出来的,通过实验学习和研究能迅速而准确地把握自然界。以往动物科学专业所配设的实验,大部分是为理论服务,属于验证性实验。学生习惯了常规的、验证性的实验思路,就导致一些创新性的、设计性的实验被忽略。传统的验证性实验远远跟不上生命科学的高速发展。高等学校的实验与实践教育,应该使学生熟悉掌握常用仪器的功能与使用,培养学生较强的动手能力,开发他们的创造性思维并具有初步的理论联系实际的能力;而传统的实验教学模式已越来越不适应市场经济对该类人才的需要,改革高校实验管理体制和实验教学体系已成为高校面临的一个重大课题,改变实验教学的旧模式势在必行。

动物繁殖学是动物科学专业主干课程,是一

门理论与实际联系非常紧密的学科,具有很强的实践性、操作性,对学生的实验技能和专业基础要求较高。我们把绝大多数的实验改革成让学生主动探究活动,而这些实验活动正是学生获得各种体验的最基本、最重要的载体。经过几年的实践证明,学生只有通过亲身经历实验探究过程,才可以自我体会、自我领悟,才能学得最好。随着素质教育的深入开展,创新精神和实践能力作为21世纪优秀人才所必备的素质已为社会认可。为了进一步提高实验教学质量,培养具有创新能力的应用型人才,本实验室在实验教学改革和人才培养模式方面进行了多年的探索,确立了以能力培养为主线的教学过程,形成了实践教学与理论教学相互渗透、相互交叉的教学体系,加强了学生的技能教育,在教学中取得了不错的效果。

1 逐步缩减验证性、原理性实验,增设综合性、设计性实验

在以往的实验教学中,动物繁殖学的实验主

收稿日期:2007-01-08

作者简介:龙翔(1971-),男,在读硕士,讲师,主要从事动物繁殖学的教学工作。研究方向:胚胎工程。

要是以验证性、原理性实验居多,探索性、创新性实验相对较少;学生实验还是按照实验目的、原理、要求、步骤、讨论的模式进行,实验内容多是现有课本知识的验证,缺乏创新能力的培养,学生被束缚在教师限定的框架中,很少能提出自己的见解和想法,积极性和主动性不够,兴趣也很难提高。造成了有些同学抄袭实验报告的习惯,甚至连实验数据也是照抄的消极结果。同时,有些实验需时较长,由于实验学时所限,学生不能亲自参与实验的全过程;有些实验需要的费用较高,受设备费用投入的制约,不能正常开出实验。这些都在一定程度上制约了学生的积极性和主动性,抑制了学生创新能力的培养。我们根据实验室的具体条件,缩减了一些验证性的实验,逐步开设综合性、设计性的实验。如生殖激素的测定,以往只是根据教材进行PMSG的验证性测定,现在我们鼓励学生根据所学激素知识查阅资料,将功能相近的相关激素进行比较,写出实验方案,由老师审核,再在实验中实施;如PMSG与FSH、HCG与LH的比较测定,同时PMSG、FSH与HCG、LH进行不同剂量的配合,了解激素对家畜生殖生理的影响,利用不同剂量的各种激素配合对家兔进行超数排卵处理,分析不同剂量、不同配合对动物的作用,使学生能充分的消化所学到的知识,极大的提高了学生的学习积极性与主动性。

2 引导学生自学,实施开放式实验教学

开放式实验教学能够有效地提高学生的动手能力和综合解决问题的能力,保证每一个学生都能够亲自动手完成整个实验过程;自主获取知识的方式对开阔思维,增强创新意识,锻炼独立工作能力有着很好的促进作用。同时,在实验内容和时间的安排上,以学生个人为主,充分发挥学生学习的积极性和主动性,极大的培养了学生对知识的综合能力。

实验教学内容的改革是实验教学的突破口,为此在实验教学内容中突出了对学生自学能力、实践能力、应用能力、创新能力的培养。在统一的教学计划下,我们重组了实验中理论教学和实践教学内容的比例,既要保证让学生学到基本的实验技能,又要增开一些新的实验课程,使其与理论教学相互配合。我们在实验教学中将以前由

教师准备的部分全部向学生开放,根据教学的需求,让学生在教师的指导下,自己准备实验材料与实验用具,操作实验处理过程,分析总结结果,写出实验报告,让学生独立的完成整个实验的全过程。在期终考核中,绝大部分学生都能独立完成所有的考核项目,显著的提高了实验教学的效果。

同时,我们在实验教学中,充分发挥学生在实验教学中的主体地位,突破“教师中心论”,推行互动式教学,激发学生参与的积极性。针对实验中的问题经常组织讨论,鼓励学生大胆质疑,诱发学生深入思考,培养学生敢想、敢问、敢说的意识和行为,以求得对问题的深入分析,使学生对实验有更深入的了解,印象也更加深刻。实践证明,该方法使学生更容易接受新知识,更加充分发挥独立思考的能力。

当然,开放式教学不仅对学生提出了较高的要求,而且对实验室的管理工作也提出了新的内容。首先在内容的确定上其深度与数量既应满足教学的要求,又应结合实验室的具体条件做好各种物质准备和预备实验。在实验室开放期间应全天候的值班,负责答疑、讨论和处理突发事件。实验室开放后,实验室中仪器和设备的损坏程度增大,从而也就加大了实验室及指导人员的工作量。因此,如何高效、合理的利用实验室资源,是今后工作中必须思考的问题。

3 鼓励学生课外开放性实验

实验教学体系和内容的调整,要求实验教学方式不能局限于单独在实验课内进行训练的框架中,必须为学生提供一个更广泛、更具新意的创造空间。为此,应鼓励学生进行自助式实验或开放式实验,它没有学分,不占课内学时,完全是自愿的,目的就是为有兴趣、有志向的学生提供一个更深层次的发展空间。

实验室每周都设有固定的时间对学生开放,只要有兴趣,不同基础的学生都可根据自己的实际情况参与进来,自主选题,题目可以是与动物繁殖课程相关的,也可以是带有探索性的研究型课题,只要实验室条件允许,都全力支持。为了规范操作,我们要求学生自选实验应提前向教师提交实验申请书,写明实验的名称、目的、原理、所需仪器及实验时间等,然后教师主要从可行性方面加以把关,

如果可行,则提供相应的实验条件。教师在指导时,只引导他们如何去查找资料文献,然后放手让学生去自主设计。学生提交设计方案后,实验室负责提供仪器、设备和场地,由学生自己去动手实践,至于选择什么方案、什么仪器、什么方法,完全由学生自己确定。如昆明小白鼠的超数排卵、配种与胚胎的冲洗试验,所有药物的选择、小白鼠处理与配种方式等都是由同学们自己提出方案,并自己实施。在开放性实验的指导中,我们不再以实验结果的准确性作为衡量成功与失败的唯一标准,而是坚持重实验过程,重结果处理,重独创性,因此无论实验结果如何,学生都得到了极大的锻炼和提高,也对学生的积极性是一个极大的促进。

4 加强目标化管理,改进实验成绩的考核

实验课的特点是工作量大、任务重、时间紧,要求学生实验目的明确,操作规范。如何考核和评定实验课的成绩,是学生非常关心的一件事。以往采取的是对每次实验报告评分,最后累加每次成绩的做法。这种方法弊端较多,达不到提高学生的动手能力的目的。因此,我们改进了实验成绩考核的办法。考核应包括较多的内容:实验报告、实验考勤、实验操作及实验理论考查等内容。具体做法是:对无故旷课不做实验、不交实验报告者扣当次实验的全分,对于单元实验,每个实验根据学生的预习、仪器使用的正确程度、实验时的工作态度、实验操作规范程度、学生交来的实验报告、对实验数据的记载、数据处理、实验结果分析等综合评分,给出实验平时成绩。对于一些特定的实验,进行当场考核;如假阴道的安装、母畜发情的鉴定、奶牛的人工授精等,根据学生的操作过程、操作规程的水平等当场给出实验成绩,这就要求每个学生都必须参与到实验中,严格规范的操作,提高实验的教学质量。

5 增加技能和先进仪器设备操作训练

随着科学技术的发展,各种新的仪器设备不断涌现,实验教学必须紧跟社会的发展,紧密联系实际,学生在实验中学到的东西应该与社会生产能够配套,这就要求我们在教学中要加强学生常用实验仪器的操作技能、设计实验步骤的技能等。在这些技能中,不论是操作技能还是智力技能,都

必须通过练习才能巩固,前提则是以知识的领会为基础,这就要求我们必须按照学生的认知规律来安排实验教学,同时带领学生进入实际生产场地,了解企业生产中的仪器设备。

6 利用计算机多媒体,开设模拟实验

实验教学是培养实践能力的重要环节,是学生获取知识的重要手段。为了提高实验效果,我们将每个实验内容做成多媒体课件,将有关文字、图形、图像等信息完美地结合起来,图文并茂,形象生动,且具有较强的交互功能和动画演示功能。我们将一些实验过程做成碟片,并申请一定的经费购置一些目前无法自制的有关繁殖技术的VCD光碟,根据教学进程提供给同学们观看,使学生对动物繁殖先有直观的印象,当然由于实验室条件不是很完善,模拟实验的开设还需进一步的加强。

7 结束语

实践证明,实验教学新体系的建立,教改新措施的实行,受到了学生的普遍欢迎。经过几年的探索、改革和实践,改变了过去实验、实习内容少,实验以验证理论为主,学生只按实验指导书的步骤去做,被动学习的局面,而代之以实验内容丰富多样,理论与实践相连贯,培养了学生的创造能力和解决问题的能力,也提高了学生的学习积极性,达到了提高教学质量的目的。

随着社会的发展,对动物繁殖实验提出的要求越来越高,我们虽然采取了一些改进措施,但这些措施还不能完全适应当前社会发展和实验教学改革的需要。如何使学生能系统地在实验理论、实验技能和分析解决问题能力等方面,得到切实的训练和培养,仍是目前实验教学改革中需研究的重点。我们也将在今后的教学中不断探索、总结、提高,充实实验内容,及时注入新的科技知识,更新教学手段,进一步深化实验教学改革。

参考文献:

- [1] 潘 岚,卢 颀.从实验内容到实验模式实验教学改革探索[J].电气电子教学学报,2001,(4):25-26.
- [2] 王 蕾.加快实验改革 提高实验教学效果[J].药学教育,2002,1(18):52-53.

(责任编辑:谢 暴)

桑润滋 张忠诚 朱士恩： 动物繁殖基础理论与繁殖技术研究进展

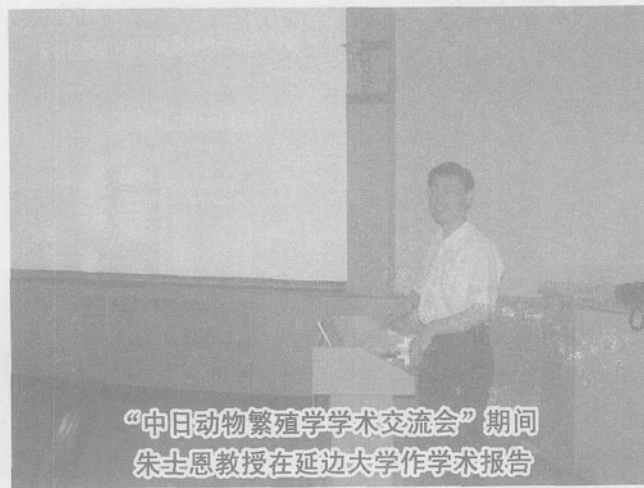


桑润滋教授向“河北省牛羊胚胎工程技术研究中心”

验收专家组汇报实验室建设情况



张忠诚教授在山东奥克斯生物技术有限公司指导工作



“中日动物繁殖学学术交流会”期间
朱士恩教授在延边大学作学术报告

家畜繁殖学内容分别附属于家畜生殖生理学、育种学和产科学。随着科学研究的深入和畜牧业的发展,到 20 世纪 50 年代,逐渐形成一门独立的学科——家畜繁殖学;家畜繁殖学的研究对象前期以牛、羊、马、兔为主,后随动物养殖业的发展,伴侣动物如犬、猫,经济动物如狐狸、水貂、鹿、麝、熊猫,实验动物及家禽等,受到愈来愈多的重视,研究对象日益扩大,到 20 世纪 80 年代中期,扩展为动物繁殖学。几十年来,动物繁殖学无论是动物繁殖基础理论研究,还是繁殖技术改进与创新,都取得了举世瞩目的进展。

1 生殖生理是动物繁殖学科研究进展较快的领域,20 世纪 70 年代后,放免测定技术(RIA 法)和酶免测定技术(ELISA)的引进和建立,使生殖内分泌研究取得了长足进步,如对我国主要家畜品种的初情期、早熟性、多胎性机理的研究等;不同繁殖阶段生殖激素变化规律的研究,为利用外源激素控制动物繁殖活动提供了依据;阐明了生殖细胞抗原性,母体与胎儿之间的免疫关系,免疫性不育等,充实了繁殖免疫学内容;由于电镜的应用和胚胎工程的开展,对配子发生、受精生物学、早期胚胎发育等到方面,有了更深入地了解,为胚胎生物技术研究奠定了基础。根据比较繁殖学研究,发现不同动物在繁殖规律上有共同处,如各种激素的作用及其繁殖机能的生理反应、发情周期的周而复始、受精、妊娠至分娩“规律性变化,而繁殖季节、繁殖周期、排卵类型、胎盘类型、窝产仔数、泌乳期以及对繁殖疾病的敏感性则有其特殊性。因此使人们才能有针对性提高不同动物的繁殖力。

2 在理论研究方面不断取得重大突破的基础上,繁殖技术也获得了迅速进展,主要表现在人工授精和精液冷冻保存的普及和胚胎生物技术研究方面。

我国马人工授精最早于 1935 年在江苏句容马场开展了实验研究,但直到 20 世纪 50~60 年代才开始在黑龙江、吉林等北方省区大规模开展,其应用范围及实际效果均居世界领先地位,到 20 世纪

70 年代末共改良近百万匹。

20 世纪 60 年代普及了乳牛人工授精,从 1977 年开始在全国推广牛的冷冻精液,目前各省区都有冷冻精液站,据估测,已形成年产约 1800 万剂冻精的能力,奶牛已普及了冷冻精液人工授精,利用冻精人工授精技术杂交改良黄牛每年都在千万头以上。

我国绵羊人授精的规模及冷冻精液研究水平,居世界前列。在养羊发达的新疆、内蒙古等北方省区已经普及人工授精,对中国美利奴、新疆细毛羊及东北细毛羊的育成起了重要作用。

猪的人工授精自 20 世纪 50 年代在广西开展以来,目前南方各省区开展得较为广泛,我国猪人工授精及冷冻精液的研究开始较早,技术水平及输精母猪数均处于世界领先地位。

除了上述家畜外,骆驼、鹿、兔、熊猫、狐等特种经济动物及某些野生动物人工授精也相继获得成功。

总之,人工授精技术的推广应用,对家畜品种改良、提高动物生产力、促进畜牧业的发展发挥了巨大作用。

我国的胚胎生物技术的研究始于 20 世纪 70 年代初期,经过试验研究阶段(20 世纪 70 年代初~20 世纪 70 年代中)、发展提高阶段(20 世纪 80 年代中~20 世

纪 90 年代初)和生产应用阶段(20 世纪 90 年代初至今)的三个阶段后,目前正向胚胎工程延伸,向产业化方向发展(其中旭日干、卢克焕、陈永福、朱裕鼎、范必勤、陈大元、郭志勤、窦忠英、谭丽玲、曾溢涛、张涌、李宁等对我国动物胚胎生物技术研究方面做出了重要贡献)。

在我国已有多种动物的胚胎移植,胚胎冷冻、体外受精、胚胎分割、胚胎和体细胞核移植、性别控制获得成功,并具有大规模生产性控奶牛精液和胚胎的能力;已获得小鼠、山羊、牛、猪等动物的类胚胎干细胞、在牛、羊、猪转基因和乳腺生物反应器方面也取得较大进展。其中在动物胚胎玻璃化冷冻保存、牛羊体外受精、动物克隆技术等研究方面达到国际先进水平。

胚胎生物技术做为家畜育种(MOET)的主要手段,在中国荷斯坦奶牛和超细毛羊、肉用羊育种中发挥了重要作用;在肉用种牛、肉用种羊快速扩繁方面效果明显,缓解了我国肉用种牛和肉用种羊的不足,对提高肉牛、肉羊的良种覆盖率发挥了重要作用;更值得一提的是,因奶牛是家畜中经济效值最高的畜种之一,加之可以采用非手术方法采胚和移植,所以奶牛胚胎移植的应用最为广泛。

桑润滋 男,1942 年生,河北农业大学教授,河北农业大学“牛羊胚胎工程技术研究中心”主任,全国动物繁殖学会副理事长、教育部第四届科学技术委员会学部委员会、中国畜牧业协会养羊业分会专家咨询团成员、河北省奶业协会副理事长。主要从事家畜繁育领域的教学、科研、推广工作,先后主持国家和省部级科研课题多项,发表论文近百篇,主编并出版《动物繁殖生物技术》研究生教材和《肉羊快繁新技术》等著作 10 部。

张忠诚 男,1942 年生,山东省昌邑县人,中国农业大学动物科技学院教授,博士生导师,中国农业大学动物科技学院动物生产系主任、动物繁殖教研室主任;211 工程“重点项目动物胚胎生物工程实验室主任。国际动物繁殖学会常务理事、中国畜牧兽医学学会动物繁殖研究分会副理事长、中国奶牛协会繁殖专业委员会副主任。主要从事动物繁殖教学和科研工作,先后主持和参加部级以上科研课题 10 项,发表科研论文 58 篇,专著 4 本,合著 5 本。1981~1984 年赴澳大利亚进行合作研究,将公畜繁殖力评定和检查的理论和方法引入我国,促进和提高了我国对该领域的研究和应用。在改进我国猪人工授精器材和技术方面做了一些有成效的工作。近年来,指导研究生主要进行了胚胎生物技术方面的基础研究。

朱士恩 男,1956 年生,教授,博士生导师,中国农业大学动物科技学院动物遗传育种与繁殖系副系主任,中国畜牧兽医学学会动物繁殖学分会副理事长兼秘书长。主要研究方向为哺乳动物的配子与胚胎生物技术,专业特长为配子和胚胎玻璃化冷冻保存技术。目前主持和参加国家“863”高科技计划、国家自然科学基金及北京市农业重大科技项目等 10 余项,曾获得省部级科技进步一、二等奖 4 项,获得国家发明专利 2 项,发表学术论文 70 余篇,其中 SCI 第一、二作者 9 篇,主编与参编教材与科普书籍 9 部。