

棘胸蛙人工授精试验

毛洪斌

熊荫芝

(庐山管理局科委,332900)

(庐山花径公园)

李中华

(中国人民解放军庐山疗养院)

摘要 1988—1989 年利用雄蛙活体取精、雌蛙活体挤卵的试验,对棘胸蛙卵子实行人工授精 37 次,成功率达 100%。卵子受精率和孵化率达 90%以上。不仅改变了传统的杀蛙取精方法,而且探索了棘胸蛙人工授精及受精卵的孵化技术。通过试验得知,秋后对棘胸蛙注射蛙脑垂体液进行人工催产和授精的效果是极差的,不宜采用。

蛙类的人工授精方法,国内曾有报道,但须剖杀成蛙获得配子^[1-2]。因不能保留成蛙,故授精的结果只是证明可以人工授精,但不能充分发挥优良种蛙多次繁殖后代的作用。并且,由于要杀蛙取精,比之让其自然抱对繁殖,实属“得不偿失”。为了克服棘胸蛙雌蛙注射性脑垂体液后与雄蛙自然配对率不高的情况,提高优良种蛙的繁殖力,在利用蛙脑垂体液注射促使雄蛙排精、雌性排卵的基础上,开展了棘胸蛙的人工挤卵和授精试验。

(一)方法 选择健壮和营养状况良好的性成熟(体重在100克以上)的雌蛙,对其腹腔内注射适量的同种或异种蛙的脑垂体液(以青蛙脑垂体计,体重150克左右4粒,体重200克左右5粒,体重250克左右6粒;体重150克以下及250克以上者,则酌情减少和增加。脑垂体置于玻璃匀浆器内加适量0.7% NaCl液研磨成悬液注射)。单独置于玻璃缸或其它无毒容器内饲养观察。雌蛙多在注射后72—122小时会自行排卵,因此,在注射2天内,适当进行观察,到第三天,每1—2小时观察一次,仔细检查是否有卵排出。

发现雌蛙排卵时(只需有1粒),则立即将准备好的健壮、性成熟(体重100克以上)的雄蛙腹腔内注射适量蛙脑垂体液。30分钟后,用玻璃滴管自泄殖腔吸取精液,置于载玻片上,用显微镜低倍镜检查精子密度后,滴上1滴清水(pH值为6.4以下的弱酸性,自来水须去氯),检查精子活动力。若精子密度在“中等”以上、精子活动力在“4”分以上,即可使用。判断及鉴定分级方法是:

密度:分为“稠密”、“中等”、“稀薄”、“个别”、“无精子”。稠密,即精子之间几乎无间隔,其最大间隔在1个精子长度以内;中等,即精子之间的间隔在1—2个精子的长度之间;稀薄,即精子之间的间隔超过两个精子的长度以上;个别,即显微镜视野内仅见个别精子;无精子,即精液内无精子。

活动力:根据棘胸蛙精子多为摆动,个别可见迴旋运动及直线运动的特点,根据视野内

精子群体呈摆动运动的百分率,共分5级,即100%的精子呈摆动运动的为5分;80%的精子呈摆动运动,为4分;60%的精子呈摆动运动,为3分;40%的精子呈摆动运动,为2分;20%的精子呈摆动运动,为1分;精子死亡、无运动,为0分。

精液品质经检查鉴定合格后,用洁净的试管盛装8ml左右的清水(pH值6.4以下的弱酸性的泉水或无氯自来水),用玻璃滴管连续几次从雄蛙泄殖腔吸取精液滴入试管清水中(吸取精液量约需0.2ml左右),待清水稍呈现混浊时即可。若精液不易被吸出,可用一手指平触雄蛙胸部,使其两前肢紧抱手指(似“抱对”动作)之后,滴管可吸得较多精液。

精液准备好后,先将雌蛙抓起,头朝上,用手将其固定在约30—40度倾斜的、表面铺好塑料薄膜(防止粘卵)的木板上,木板下面备好洁净的外科盆,将8ml左右中等密度以上的精子稀释液倒入盆中,即可开始挤卵。

挤卵时,将拇指与食、中指由背向腹、环抱住雌蛙上腹部,后两指与拇指下手掌处紧围贴蛙背及下腹部。先在上腹部微力加压,紧接着对下腹部加压,5—7秒钟左右放松,约间隔近10秒钟左右,又以上述方法加压、放松,如此反复。当手掌下部紧贴蛙泄殖腔处背部有似脉搏跳动感时,即表示开始排卵,此时则加压挤出卵。当挤出一串卵后,手又放松,然后又以上述方法挤压,直至排卵完成(此时手感蛙腹部松软,已不能再挤出卵)。整个过程约需30—40分钟。

在挤卵过程中,另一人用滴管将卵轻轻的平拨于盆内的稀释精液中,并迅速吸取此液淋在卵球上。排卵完后,用滴管轻轻地将卵摊平,散开排成2—3粒一排的长列,以防卵球堆积。15分钟后,即向盆内缓慢地(沿盆壁)加满清水,水深为4cm左右。过1—2小时,卵受精后,动物极朝上,植物极向下,此时可用玻棒或滴管将粘在盆底的卵群胶膜拨开,让其飘浮在水中,以防止胚胎缺氧死亡。至此,人工授精过程结束。

受精卵可留在盆中静水孵化,盆中放一水

表 1 棘胸蛙人工授精受精率与孵化率观察记录

雌蛙序号	体长 (cm)	平均水温 (°C)	产卵时间	挤出卵数 (粒)	卵翻正时间	卵翻正数 (粒)	卵受精数 (粒)	卵受精率 (%)	开始孵出	蝌蚪日期	蝌蚪全部孵出日期	孵出蝌蚪数 (尾)	孵化率 (%)	孵化天数
1***	10.5	20.8	1988年6月16日19点	155	19:50	155	153	98.6	6月29日		7月3日	110	72.5	17
2	10.5	21	1989年5月30日17点	225	19:00	225	203	90	6月11日		6月16日	201	99	17
3	10.7	22	1989年5月31日10点	320	12:00	320	301	94	6月14日		6月16日	294	96	16
4	11.2	22	1989年5月31日11点	262	13:00	250	249	93.8	6月14日		6月16日	228	91.5	16
5	12.2	22.1	1989年6月1日12点55分	256	14:55	253	225	87.8	6月14日		6月16日	216	95	16
挤卵数平均 243.6 粒 受精率平均 92.89% 孵化率平均 98.8%														

* 雌蛙挤卵前,均已排出 30 余粒卵,1号蛙自行排出较多的卵。

** 指产卵后至蝌蚪全部孵出的天数。

*** 此蛙因卵重叠,下层胚胎缺氧,发育至神经沟期死亡一部分。

表 2 棘胸蛙自然抱对产卵受精率与孵化率观察记录

雌蛙序号	体长 (cm)	平均水温 (°C)	产卵时间	产卵数 (粒)	卵翻正时间	卵翻正数 (粒)	卵受精数 (粒)	卵受精率 (%)	开始孵出	蝌蚪日期	蝌蚪全部孵出日期	孵出蝌蚪数 (尾)	孵化率 (%)	孵化天数
1	12	23	1986年6月16日19:00	240	20:40	240	237	98.7	6月28日		6月30日	170	71.7	14
2	11.5	17	1987年5月1日	368	未观察	368	359	97.5	未观察		5月29日	350	97.4	28
产卵数平均 309 粒 受精率平均 98% 孵化率平均 87.2%														

温计,定时观察并记录水温,每日换水一次(换水要缓慢加入,不要冲动受精卵,水温差不超过 1°C),直至全部蝌蚪孵化出为止。若拟将受精卵移入其他容器(必须无毒)中孵化,宜在受精卵翻正后至神经沟期之间进行。容器内水深保持 5—10cm,以水面盖住受精卵面 1—2cm 为宜。移卵要缓慢从事,避免胚胎受振而死亡。

(二) 结果 1988 年以来,我们进行棘胸蛙人工授精达 37 次,效果均良好。成功率达 100%。

现列出随机取样的 5 例试验结果(见表 1)。

为了对人工授精与雌、雄蛙自然抱对产卵进行比较,兹将两例注射蛙脑垂液体的雌蛙与

雄蛙自然抱对产卵,其受精率和孵化率(见表 2)。

由表 1、2 看出,人工挤压排卵平均数及受精率均低于自然抱对,但受精卵孵化率却高于自然抱对产卵的孵化率。

为了观察秋后对雌蛙注射蛙脑垂液体后排卵的人工授精效果,我们于 1989 年 8 月 14 日将 2 只雌蛙挤出的卵进行了人工授精。结果是:1 只挤卵 99 粒,有 82 粒卵受精,受精率为 82.8%。在发育过程中,有 43 粒成为葫芦状并停止发育占 52.9%;其它胚胎中途死亡,或孵出的蝌蚪多为畸形。另 1 只雌蛙挤卵 11 粒,全部受精,在发育至尾芽期后,有的卵卵黄凸出,孵出的蝌蚪均为畸形。

(三) 小结

1. 棘胸蛙人工授精率和孵化率均在90%以上,效果与自然抱对情况相近。

2. 人工授精方法不需剖杀种蛙,只要做好饲养管理工作,保持种蛙良好的营养状况,可以多次使用。从而提高雄性种蛙的繁殖效能。

3. 从表1、2试验结果得知,水温较低,则受精卵的孵化时间较长;水温较高,则受精卵的孵化时间较短。

4. 秋后人工催产雌蛙排卵数量少或极少。卵子虽然能够受精,但孵化率极低,孵出的蝌蚪也是畸形。结果说明:秋后对棘胸蛙进行人工催产和授精是不适宜的。

参 考 文 献

- 1 刘筠 1989 牛蛙的人工繁殖与养殖 中国池塘养鱼学 631页. 科学出版社。
- 2 蔡明章 1980 蛙类催产和人工授精 动物学杂志(2): 49。