

蛙类催产和人工授精方法

蔡明章

(福建师范大学生物系)

一、人工催产

人工催产就是对卵球已成熟的雌蛙注射蛙类的脑垂体、绒毛膜促性腺激素或促黄体素释放激素等含有促性腺激素的物质,促使雌蛙产卵。催产的操作过程包括下列几步:

(一)雌蛙的选择 雌蛙体内卵子成熟与否,这是人工催产成败的关键。未成熟的卵是催产不出的,即使勉强产出,也不会受精。因此,选择卵子成熟的雌蛙,这是人工催产的先决条件。除少数卵无色素的种类外,凡属成熟的蛙卵,其卵粒较大,色泽鲜艳,卵球的上半边(称动物半球)黑褐色,卵的下半边(称植物半球)乳白色;而未成熟的卵,其卵粒较小,色泽暗淡,两个半球黑白不分明。方法就是将雌蛙腹侧皮肤剪开一个小口,即可透视卵巢,观察判断蛙卵成熟与否,从而决定取舍,挑选卵成熟的雌蛙备用。

(二)脑垂体混悬液的制备

1. 脑垂体的摘取与保存 用剪刀剪开蛙的二口角,从口角后缘将蛙头剪下,蛙头剪断处露出一个骨孔(称枕骨大孔),把蛙头的腹面翻转向,用剪刀下半月的尖端伸入枕骨大孔,斜向眼球,左右各剪一刀,用镊子翻起剪开的副蝶骨片,即可见到在脑腹面有视神经交叉后面有一

堆白色的东西,其中有一粒粉红色、约半粒芝麻大的颗粒(有时粘附在翻起来的骨片上)这就是脑垂体。用镊子小心地取下整个脑垂体备用,或放在4℃左右保存,如果放在丙酮中,可保存一年以上。

2. 脑垂体的用量 通常催产一只泽蛙,需用雄蛙的脑垂体2—6个(各种蛙均可)。具体用量要根据蛙体的大小,水温的高低而定。脑垂体是取自雄蛙或雌蛙(雄蛙的垂体效力比雌蛙的差),根据不同情况灵活掌握。如被催产的雌体较大,催产时水温较低,所用的垂体取自雄蛙,若希望它尽快产卵,则脑垂体的用量应多些;反之,则应少些。据观察在24—26℃下,对体长38—43毫米的雌性泽蛙,用2个雄蛙的脑垂体催产,经9—10小时即可产卵。在28℃下,对体长40毫米的雌性泽蛙,用5—6个雄蛙的脑垂体催产,经过5小时即可产卵。

3. 捣碎脑垂体制成混悬液 取出所需数量的脑垂体,放入盛有1—1.5毫升蛙类生理盐水(0.7%)的玻璃皿中。取注射器套上大号针头(或不套针头)将脑垂体和水吸入注射器中,然后换上中号针头,把器内的水和脑垂体挤出,即可使脑垂体破碎;再换上口径更小的针头,把垂体碎片和水吸入后又挤出来,如此反复多次,就制成了脑垂体混悬液,可供注射之用。采用这种

方法制备脑垂体混悬液比较简便易行。有条件的地方也可用组织匀浆器研磨。

(三)注射 用注射器吸取脑垂体混悬液,先排掉气泡,然后进行皮下注射或腹腔注射。腹腔注射时,不要刺得太深,以免刺伤内脏,最好是针头从大腿腹面的肌肉刺入,再伸向腹腔,这样一般不会刺伤内脏。同时,在针头拔出后,垂体液也不致从注射孔倒流出体外。注射完毕,把蛙放在一个玻璃缸或其他容器里,加入少量清水,缸口罩以纱布,放置于僻静之处。半小时后,若蛙体皮肤颜色变黑,即表明催产有效。根据催产时的水温和垂体的用量,可估计其产卵的大概时间。在预计的产卵时间之前2小时左右,可从蛙体腹侧观察其卵球有否脱离卵巢跌落体腔(跌落的卵会滚动),如有卵跌落体腔,即催产成功。待卵子全部进入子宫后,轻轻压挤雌蛙腹部两侧,卵就会流水般地产出,可取之进行人工授精。

二、人工授精

首先要准备好精液。取一只性成熟的雄蛙,剖开腹腔,取出睾丸,放于培养皿中,加入5毫升左右干净的池水或井水(忌用新鲜的自来水或沾有油污的水),用镊子将睾丸夹碎,精子就从睾丸里游至水中,制成精子混悬液,静置几分钟,待精子充分活跃起来,将蛙卵挤入培养皿内的精液中,并轻轻摇动培养皿,使卵一一散开,以利受精。蛙卵刚受精时,有些是动物半球向上,有些是植物半球向上,有些是侧面向上,没有一定的规则。在24℃时,授精后10分钟左右,绝大多数卵子的动物半球翻转向上,皿中水面呈现一片黑色。这种现象称为卵翻转正位(简称卵翻正)。卵翻正与否,可作为有否受精的标志。卵翻正后,应倾去精液,换入新鲜的清水,以提供充足的氧气,满足受精卵进一步发育的需要。此后,每天都要换水1—2次,直至孵化成小蝌蚪。