

“双控”措施是人工繁殖大熊猫的最佳选择

陈大元

(中国科学院动物研究所生殖生物学国家重点实验室, 北京 100080)

[关键词] 大熊猫, 人工繁殖, “双控”, 拯救和保护

长期以来, 由于自然灾害和人为干扰, 大熊猫数量急剧减少, 现存已不到 1 000 只, 面临着灭绝的危险。这种严峻的形势引起了人们广泛的关注。因此, 研究大熊猫的生殖规律和繁殖能力, 提高大熊猫的受孕产仔率, 繁衍后代, 保存物种已迫在眉睫。

大熊猫生殖生物学规律在许多方面是非常独特的, 是当今需要解开的奥秘。例如, 在配种季节, 雄性大熊猫性欲不旺, 雌性的常不发情或发情不规律; 其妊娠期 81—180 天不等, 出生仔兽体重仅有 80—150 g 等。了解大熊猫的生殖原理及规律, 提高其繁殖能力, 是拯救大熊猫的最关键环节之一。为了探明大熊猫繁殖能力低下, 人工繁殖成功率差的原因, 中国科学院动物研究所、成都大熊猫繁育研究基地、成都动物园和四川大学的部分同志组织起来, 于 80 年代开始对大熊猫的生殖生物学特性进行了较系统的研究。

1984 年我们首次报道了大熊猫精子的超显微结构, 发现大熊猫精子有三个特点: (1) 顶体和线粒体发达, 顶体大而长, 约占精子头部的 2/3; (2) 在尾部中段和主段之间没有环状结构, 而是相嵌型的连接; (3) 在尾末段的横切面中, 轴丝的成分是由 9+2 形式变成 20 个单微管组成, 并以 13+6+1 的方式有规则地排列, 证明了大熊猫精子的结构是正常的。其后在体外受精研究中, 发现大熊猫精子在体外能够获能并完成顶体反应, 大熊猫精子在顶体反应前, 精子头部发生群集呈缙钱状, 获能后精子作直线激活运动。获能过程中精子头部质膜先膨胀, 随后破裂, 顶体双层外膜自我融合而发生囊泡化。 Ca^{2+} 在大熊猫精子获能和顶体反应中发挥重要作用。 Ca^{2+} 载体 A23187 和依赖 Ca^{2+} 的蛋白激酶 C 可有效地促进顶体反应的发生, 应用焦锑酸钾定位法, 证明精子获能过程伴随着 Ca^{2+} 在顶体区膜间的变化和迁移。继而, 我们又用顶体反应过的大熊猫精子与地鼠卵子进行异种体外受精, 发现大熊猫精子能够激活地鼠卵, 使其释放第二极体, 地鼠的卵质也能促发大熊猫精子核发育成雄性原核。这一发现首次揭示了大熊猫精子与地鼠卵之间的相互作用, 并为评价大熊猫精液质量提供了一可靠的方法。虽然大熊猫人工输精技术始于 60 年代, 但直至 80 年代末成功率仍很低。在 1986—1988 年, 连续三年人工输精只仔不产, 我们后来才发现, 人工输精前精子已失去活力, 严重影响受孕。分析其原因, 在于过去使用的解冻液都是借用奶牛冷冻精液颗粒的解冻液配方, 不适用于大熊猫。于是, 从 1988 年起在大熊猫精子体外获能液研制的基础上, 我们开始筛选大熊猫冷冻精液颗粒的解冻、稀释和培养一体性的培养系统。经过多次比较不同解冻培养液成

本文于 1996 年 7 月 23 日收到。

分、pH值、渗透压以及培养温度对精子活力的影响,采用双盲法,终于筛选出了非常有效的PSCM液。我们研制的这种培养液,在鲜精活力为90%的冷冻颗粒解冻后,精子活力平均为55%,复苏率为61%,精子体外存活时间可达17.5—21小时;TCM-199培养液次之,精子活力平均为46%,复苏率为51%,存活时间为7.5—13小时;其他几种都很不理想。这两种有效的培养系统应用于1989年大熊猫配种实践已初见成效,人工繁殖产下了幼仔,这是大熊猫生殖生物学研究中的重大突破。

对大熊猫卵巢的研究中,我们发现,虽然许多滤泡中的卵子正常,甚至见到一个滤泡中有双卵的现象,但是滤泡闭锁和囊肿现象甚为严重。而其垂体促性腺细胞发育不良,分泌颗粒甚少的事实提示,这可能是垂体促性腺激素和雌激素分泌紊乱所致。对大熊猫尿激素测定及发情行为规律分析,发现雌激素含量与发情有着密切关系,发情与不发情的激素水平差异很大。这一研究结果揭示了大熊猫生殖能力低下的根本原因是生殖内分泌失调,主要表现在促性腺激素分泌不足,导致雌激素只维持极低的基础水平,以至影响生殖细胞的发育和成熟,导致性功能衰退,繁殖能力下降。这是大熊猫繁殖生物学中的又一重要发现。

从1990年全国范围统计来看,在1987—1989年的3年间,全国圈养大熊猫死亡21只,而存活的仔兽仅3只,如此下去,要想增加数量是极其困难的,因此应迫切改进人工繁育技术,以拯救和保护大熊猫。在十余年对大熊猫生殖生物学研究基础上,我们率先提出“双控”措施,即对发情不佳或不规律的雌兽补充外源促性腺激素,促进滤泡发育、卵子成熟及排卵或超数排卵;采用我们研制的适合大熊猫冷冻精液颗粒解冻的培养系统(PSCM或TCM-199),完全改变了过去大熊猫精子在体外只存活几分钟的状况,而使其存活时间最长能延至21小时,并提高了活力。这项措施的应用,结束了过去几十年里人工繁殖每年产仔甚少,甚至连续3年只仔不生的现象。1989年首次在成都动物园“庆庆”母兽获得成功,产下了世界上第一胎用垂体促性腺激素诱导成功的幼仔“星星”。而后从1990—1995年的6年里,在成都获得了7次双胎和7次单胎,共得幼仔21只。在福州大熊猫研究中心,过去从未有产仔的情况,自采用了PSCM培养系统,1994年和1995年两年连续产仔,获得2只后代,从而出现了大熊猫繁殖史上空前繁荣的大好形势,这是一大创举。这些成果是生殖生物学理论指导大熊猫人工繁殖的一个典范。从此宣告,拯救大熊猫已赢得主动,保护大熊猫有了希望。

虽然在大熊猫生殖生物学方面获得了可喜成绩,但不等于大熊猫的研究可以结束,相反,仍须继续努力,深入研究,加强保护,迅速增加大熊猫数量。在进一步研究大熊猫的生殖和繁殖的同时,一定要加强野外保护,特别要防止箭竹开花。一旦箭竹开花,出现大面积枯死的话,大熊猫将会又一次遭到灭顶之灾,那就将束手无策,后果不堪设想。

最近新华社周梅月记者在《Science》上发表了关于试管大熊猫生产的评论性文章,这一问题在国内专家中,引起了争论;有的主张开始“试管”大熊猫研究;有的认为可以做这方面试验,但现在时机还不成熟;有人则认为“试管”大熊猫根本不要谈,大熊猫圈养就是错误的,应该将大熊猫全部送回大自然。这3种绝然不同的意见,究竟应该如何正确对待呢?

在大熊猫数量急剧减少的情况下,试管大熊猫的生产是拯救和保护大熊猫的最佳方法吗?大熊猫有自身的生殖生物学特性,其妊娠期很特殊。从大熊猫孕酮测定的结果来看,在大熊猫胚泡着床前,孕酮含量很低;着床后孕酮含量显著上升并达到高峰,而非妊娠雌兽孕酮含量始终处于基础水平。根据雌兽孕酮含量的变化规律及怀孕期长短不一,仔兽小的情况,说

明大熊猫可能是延缓着床型动物。众所周知，孕酮是胚泡着床不可缺少的因素，孕酮来源于卵巢黄体的分泌，在有胎盘类动物中，妊娠后期的胎盘为孕酮更重要的来源。胎盘功能极为复杂，它具有物质转运、合成、代谢、激素分泌及免疫保护等多种功能，以维持胎儿在子宫内的正常发育。对于大熊猫的胎盘能否产生孕酮，整个妊娠期是否都需要妊娠黄体持续存在，目前还不了解，但孕酮对大熊猫胚泡着床和维持胚胎发育所必需是无疑的。虽说人类试管婴儿及家畜试管牛、羊的成功经验和技能，对试管大熊猫的研究将会有所帮助，但鉴于大熊猫是延缓着床动物，因此试管婴儿与牛、羊的研究经验也不一定完全照搬。鉴于80年代初，试管婴儿及试管动物在国际上刚刚成功，而国内尚未有成功的例子，1985年，作者曾首次向成都市和园林局提出试管大熊猫生产的可能性。但现在看来，试管婴儿和动物生产的成功率很低，并且大熊猫数量甚少，可获得的卵子数量将是十分有限，加上人们对大熊猫的胚胎发育规律还处在知其然而不知其所以然的状况下，尤其是大熊猫不能随意动手术，因此，我奉劝目前试图要进行试管大熊猫（胚胎移植）生产的人们，在我国拯救和保护大熊猫的方针仍然是增加数量的当前，最佳的选择，应该是“双控”措施，因为它能做到提高受精率、妊娠率和产仔率。切勿为了轰动和荣耀一时，使育龄大熊猫作出不应有的牺牲。试管大熊猫只能说明技术水平，却不能大幅度增加数量。待到大熊猫数量翻一番或更大增加时，再来研究试管大熊猫也不迟。

至于把圈养大熊猫全部放回大自然（野外），目前这也不太切合实际，濒危动物保护的历史经验也证明了这一点。原是我国特有的麋鹿和野马，在我国已经灭绝，而麋鹿在英国，野马在英、德、法、俄和荷兰等国因采用了人工圈养和繁殖的方法却把物种保存了下来。因此，目前大熊猫不仅不能放回野外，相反地应加强圈养和人工繁殖，以迅速增加其数量和扩大其种群。我们认为，圈养和野外工作都应加强，特别要防止箭竹再度开花。因此，无论是从事生殖生物学研究的工作者，还是从事生态研究的工作者，应该联合起来，同心同德，既重视野外大熊猫的研究，也要重视圈养大熊猫的人工繁殖。我们相信，只要目标一致，有朝一日总会考虑大熊猫回归大自然的，到那时驯养又将成为一个重大科研课题。

最后，再次呼吁有关部门、从事大熊猫研究和饲养管理工作者，加强合作，密切配合，多出成果，多出人才，多作贡献，只有这样，大熊猫才能达到多生少死，增加数量，保存物种，实现拯救和保护大熊猫的目标。

“DOUBLE CONTROL” MEASURE IS THE BEST CHOICE FOR ARTIFICIAL BREEDING OF THE GIANT PANDA

Chen Dayuan

(State Key Lab. of Reproductive Biology, Inst. of Zool., CAS, Beijing 100080)

Key words giant panda, artificial breeding, “double control”, active salvage and protection