

猪精液中式稀释液筛选研究^{*}

张兆旺, 吴永孝

(甘肃农业大学动物科学技术系, 兰州 730070)

Screening Test on Chinese-style Diluent of Boar Semen

Zhang Zhaowang, Wu Yongxiao

(Department of Animal Science, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070)

Abstract: The Chinese-style semen diluent (CSSD) which were prepared with natural Chinese herbal medicines and of ordinary drinking water can completely replace the Westernstyle semen diluent (WSSD) which were prepared with pure chemicals and distilled water. During storing at low temperature (3~ 8°C) the general sperm survival time of four CSSD were 91.86 ± 24.79 h, 103.80 ± 19.98 h, 108.22 ± 17.33 h and 108.25 ± 22.23 h in turn, which were respectively 2.07 times, 2.44 times, 2.34 times and 2.44 times that of control(WSSD)($P < 0.01$). Besides, the effective general sperm survival time(i.e. the sperm survival time which the sperm motility rate is more than 60%) and the sperm survival index were significantly more than those in control ($P < 0.01$). In addition, after insemination with diluent 4 diluted semen (1: 1), the non-return rate of sixty days was 86%, and 6% higher than that of control ($P < 0.05$).

Key words: Chinese-style semen diluent; Boar semen; Sperm survival index; General sperm survival time

关键词: 中式稀释液; 猪精液; 精子生存指数; 精子总存活时间

中图分类号: S828 文献标识码: A 文章编号: 0578-1752(2000)02-0104-03

为克服基层单位设备不足, 药品不全、称量不准、配制工序繁琐等精液稀释液的缺点, 继吴永孝等用全天然中草药制备牛冻精解冻液获得成功^[1], 我们开展了中式精液稀释液的研究课题, 现将有关猪精液中式稀释液的研究结果报道如下。

1 材料与amp;方法

1.1 试验组中式稀释液的制备

供试的4个方剂依次编号为1号、2号、3号和4号, 均由市售常用中药组成。溶剂是天然饮用水。为了验证天然中草药复杂成分的整体效应和便于在生产中应用, 本试验所用中药

收稿日期: 1999-02-08

基金项目: 甘肃省科委资助项目

作者简介: 张兆旺(1955-), 男, 甘肃武威人, 副教授, 主要从事家畜繁殖学方面的教学及科研工作。

一律不用“提纯”工序, 只按中药的常用水剂方式制备。

1.2 对照液

对照液配方为葡萄糖 5g、柠檬酸钠 0.3g、乙二胺四乙酸钠 0.1g、重蒸馏水 100m l、青霉素 12 万单位、链霉素 0.15g。

1.3 精液来源

精液采自 5 头年龄 2~ 3 岁长白公猪, 采精量 100~ 150m l、精子活率 60%~ 80%, 精子密度 $0.3 \times 10^8 \sim 3 \times 10^8$ 个/m l, 滤除胶状物的全份精液。

1.4 精液的保存处理

预热与精液接触的所有用具至 28~ 30℃。手握法采精。取 6m l 精液与等温等量的参试与对照稀释液混匀, 经 1h 降温至 9~ 10℃。再按 4m l 量分装 3 瓶, 加盖放入 3~ 8℃ 冰箱保存。每间隔 12h 镜检精子活率 1 次, 直至精子全部死亡, 统计精子总存活时间、有效存活时间(即精子活率大于 60% 的存活时间, 生产上输精时把 60% 作为最低精子活率标准)和生存指数。上述过程重复 5 次。

1.5 受胎率测定

分别用 4 号中式稀释液和对照液 1: 1 稀释猪精液, 在生产条件下给每头发情母猪输精两次, 每次输稀释精液 20m l, 间隔时间 8~ 12h, 统计 60d 不返情率进行比较。

2 结果与分析

2.1 精子在 3~ 8℃ 下的生存质量

试验组内 4 个中式稀释液的精子总存活时间、有效存活时间和生存指数均较接近, 无显著性差异($P > 0.05$), 试验组各液与对照组比, 上述指标均有极显著的延长和提高。精子总存活时间试验组 1、2、3 和 4 号液比对照组分别高 2.07 倍、2.34 倍、2.44 倍和 2.44 倍($P < 0.01$), 精子有效存活时间比对照组高 4.43 倍、4.32 倍、5.30 倍和 5.40 倍($P < 0.01$), 生存指数比对照组分别高 2.31 倍、2.00 倍、2.35 倍和 2.60 倍($P < 0.01$), 见表 1。

2.2 受胎率结果

由表 2 可知, 试验组(4 号中式稀释液)60d 不返情率比对照组高 6% ($P < 0.05$)。

表 1 3~ 8℃ 下猪精子生存质量指标比较¹⁾

Table 1 Contrast between survival quality index of boar sperm at 3~ 8℃

组 别 Group	总存活时间 General survival time (h)	有效存活时间 Effective general survival time (h)	生存指数 Survival index
试验 1 Exp.	91.86± 24.79a	55.40± 20.29a	36.26± 7.47a
2	103.80± 19.98a	54.00± 10.85a	31.42± 4.72a
3	108.22± 17.33a	66.22± 20.38a	36.94± 12.53a
4	108.25± 22.23a	67.50± 21.40a	40.82± 13.96a
对照组 Control	44.33± 15.46b	12.50± 13.16b	15.69± 6.25b

¹⁾不同字母表示差异极显著($P < 0.01$) The different letters mean differences significantly($P < 0.01$)

表 2 受胎率结果¹⁾

Table 2 Result of conception rate

项 目 Item	试验组(4号中式稀释液) Exp. (4 Chinese-style diluent)	对照组 Control
输精头数 Numbers of insemination	550	550
60d 不返情头数 Numbers of non-return of 60d	473	440
60d 不返情率(%) Non-return rate of 60d	86a	80b

¹⁾不同字母表示差异显著(P < 0.05) The different letters mean differences significantly (P < 0.05)

3 讨论

3.1 中式稀释液对猪精子在 3~ 8℃ 下生存质量的影响 生存指数是精子在保存期间多次观察活率与间隔时间乘积的总和。这个指标包含了存活时间和活率维持时间两个组分,再与有效存活时间结合,能准确地反映精子在特定条件下的生存质量(survival quality of sperm)。本试验所筛选的 4 个中式稀释液上述指标均比对照液高数倍。与国内外类似研究如 Moya(1994)^[6],温小明(1988)^[2]等的结果比仍有优越性。说明数味中药按中医理论组方后,显著地改善了衰老和死亡时间。而 3~ 8℃ 一般认为对猪精子是敏感的^[4]。显示了中医学的基本理论和实践在猪精液低温保存中具有“抗衰”效应,提示动物复杂机体与单倍体细胞——精子在生命维持本质上具有一致性。可见中医学的整体思维模式和“增强有机体抵抗能力”的“扶正”理论,可以用来指导猪精稀释液的设计。

3.2 中式稀释液对受胎率的影响 关于猪人工授精受胎率报道较多。Moya 为 79.6%~ 82.5%^[6],Cheng 为 55.8%~ 100%^[5],Zhou 为 73.7%^[7],Waberski 为 74.3%~ 84.7%^[8],苟兴能为 70%~ 87%^[3]。本文 4 号中式稀释液为 86%,可以认为中式稀释液安全可靠,无毒副作用,且加工成本只有西式稀释液的 1/9~ 1/6,可以在生产中推广应用。

3.3 中式稀释液对猪精液良好稀释效果的可能机理 本研究所涉及的中草药所含的化学成分,主要有糖类、微量元素、皂甙、挥发油、黄酮类、氨基酸类、有机酸类和类激素,这些物质有的在西式稀释液中已经当做常用成分而添加,有些则从未在稀释液中出现过。上述 8 类物质的作用根据药效报道可归纳为:(1)与细胞膜有较强的亲和性,能稳定和保护细胞膜;(2)参加细胞功能的活化过程,改善细胞生存质量;(3)具有兴奋、抗炎、抗病毒和广谱抗菌作用;(4)对超氧阴离子及羟自由基有清除作用和抗脂质过氧化作用等。以上这些对有机体细胞的作用似乎对离体的精子也能产生类似的效应,但确切的机制,尚需进一步证实。

参考文献:

- [1] 吴永孝,等.牛颗粒冻精中药解冻液首次开发成功[J].中国农业科学.1992,25(2):90~92.
- [2] 温小明.猪精液稀释液中水质对精子活力的影响[J].中国畜牧杂志.1988,(5):49.
- [3] 苟兴能.猪人工授精技术的关键环节[J].四川畜牧兽医.1995,(1):44.
- [4] Vernon G Pursel.(郑志康译).猪精子保存法的进展[J].猪与禽.1982,(2):9~14.
- [5] Cheng W T K. Preservation of boar at 15℃ [J]. Animal Breeding Abstract. 1990, 58(7): 645.
- [6] Moya A. Fertility of diw ted pig semen stored in a new solution [J]. Animal Breeding Abstract. 1994, 62(7): 533.
- [7] Zhou Q S, Lu Z K. Preservation of boar semen at 8~ 10℃ [J]. Animal Breeding Abstract. 1987, 55(9): 707.
- [8] D Waberski Fertility of long-term-stored boar semen: Influence of extender (Androhep and Kiev), Storage time and plasma droplets in the semen [J]. Animal Reproduction Science. 1994, (36): 145~ 151.