

吴井生,陈永霞. 稀释液配方和稀释倍数对猪精子活力及运动参数的影响[J]. 江苏农业科学,2019,47(6):155-158.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.06.035

稀释液配方和稀释倍数对猪精子活力及运动参数的影响

吴井生, 陈永霞

(江苏农林职业技术学院/句容市动物疫病预防控制中心,江苏句容 212400)

摘要:为研究稀释液配方和稀释倍数对猪精子活力及运动参数的影响,筛选了 5 个稀释液配方,设计了 6 个稀释倍数,采用 CASA 系统检测精子活力、活动率、运动速度及运动方式等参数指标,利用 SPSS 19.0 软件中 GLM 程序进行分析表明,5 个配方精子活力(PR)或精子活动率(PR+NP)中, F_2 最高, F_3 次之,但两者间差异不显著,与其他 3 个配方比较差异极显著;精子速度方面,同样以 F_2 最快,仍与 F_3 差异不显著,与其他配方差异显著或极显著;精子运动形式参数方面,WOB 指标中,5 个配方间差异均不显著;其他指标, F_2 和 F_3 较高。稀释倍数上,就 PR、PR+NP 而言,两者均随稀释倍数的增大而表现出先上升后下降的趋势。因此,稀释液配方中,经典的猪稀释液配方为最优,确定配方为:葡萄糖 5.0 g、柠檬酸钠 0.3 g、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na);稀释倍数 PR、PR+NP 中, $D_{0.5}$ 最优,但从经济效益来看, D_1 为最佳。

关键词:猪;人工授精;稀释液配方;稀释倍数;精子活力;CASA

中图分类号:S828.3⁺4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)06-0155-04

随着猪人工授精技术广泛应用,生产中对猪精液的要求也越来越高。猪的副性腺发达,因此猪精液中副性腺分泌物浓度高,射精量大,可达 200~300 mL,密度 $(1\sim2)\times10^9$ 个/mL。研究表明,猪精液采集后若不进行任何处理,精子活力会迅速下降,精子死亡率增加,导致母猪受胎率降低;在保证精子活力、有效精子数等前提下,对猪精液进行适当的稀释,一方面可以增加精液量,提高受配母猪头数,另一方面可以冲淡精液中副性腺分泌物,巩固原生质膜,并供给充分的营养物质,防止细菌孳生,延长精子保存时间。因此,在人工授精前对精液进行适当处理可以提高公猪的种用价值,保证母猪群的健康,提高母猪受胎率,增加畜牧生产经济效益^[1]。

收稿日期:2017-10-23

基金项目:江苏省农业三新工程项目(编号: SXGC[2014]274);农业部 and 江苏省农委畜禽资源保护项目(编号: C3201007, JS-C-23);江苏农林职业技术学院院级项目(编号: 2017kj08)。

作者简介:吴井生(1979—),男,江苏泰兴人,博士,副教授,主要从事猪育种与繁殖研究。E-mail:17190607@qq.com。

通信作者:陈永霞,高级畜牧师,主要畜禽养殖技术服务和推广工作。E-mail:1152641800@qq.com。

关于猪精液稀释液配方的报道很多,经典的稀释液配方成分主要有:葡萄糖、柠檬酸钠、乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na);许多研究者从营养物质或缓冲物质替代物等方面来研究最佳的公猪精液稀释液配方,常见的替代物有海藻糖^[2]、蔗糖^[3]、维生素 C^[4]、甘氨酸^[5]等。评价配方优劣的主要指标有精子活力、顶体完整性、质膜完整性等^[6],但这些指标的评价方法往往缺乏准确性、精确性和实效性。而关于猪精液稀释倍数的报道不多,仅见于对母猪受胎率或产仔数的影响^[8-9],但并未分析其对精子活力等指标的影响,精子活力检测是精液品质检查中的一个重要指标,同时精液品质检查是精液采集后、输精前的一项重要工作。

本试验从前人研究报道中筛选出 5 个经典稀释液配方,设计了不同的稀释倍数,利用 CASA 系统对公猪精子活力、活动率和精子运动等参数指标进行检测,以期筛选出最佳的稀释液配方和稀释倍数。

1 材料与方法

1.1 试验动物

本试验的种公猪均来自江苏农林职业技术学院种猪场,研究,2014(13):27-51。

megaterium PTB 1.4 on the population of intestinal microflora, digestive enzyme activity and the growth of catfish (*Clarias* sp.) [J]. HAYATI Journal of Biosciences, 2016, 23(4): 168-172.

[11] 夏晓华,霍蔚然,李墨溢,等. 乙氧氟草醚对泥鳅的毒性研究[J]. 湖北农业科学, 2017, 56(8): 1522-1525.

[12] 刘翠艳,陈四玉,孙桃桃,等. 马齿苋-益生菌联用对热毒证小鼠腹泻的预防效果[J]. 浙江农业学报, 2018, 30(2): 211-219.

[13] 涂胜. 浅谈光合细菌在水产养殖上的应用[J]. 渔业致富指南, 2011(11): 33-34.

[14] 刘爱君,尹望. 微生态制剂对鱼塘养殖水体的影响[J]. 饲料

[15] 黄翔峰,王坤,陈国鑫,等. 水生动植物组合对水产养殖废水的净化能力[J]. 水处理技术, 2015, 41(2): 62-66.

[16] 陈谦,张新雄,赵海,等. 用于水产养殖的微生态制剂的研究和应用进展[J]. 应用与环境生物学报, 2012, 18(3): 524-530.

[17] Wang Y B, Xu Z R, Xia M S. The effectiveness of commercial probiotics in northern white shrimp *Penaeus vannamei* ponds [J]. Fisheries Science, 2005, 71(5): 1036-1041.

[18] 周丹丹,李延云,聂宇燕,等. 光合细菌与芽孢杆菌对淡水养殖水体修复实验研究[J]. 中兽医医药杂志, 2011, 13(4): 40-42.

品种和数量分别为:长白猪(L)3 头、大白猪(Y)3 头、杜洛克猪(D)4 头、巴克夏猪(B)2 头、梅山猪(M)6 头;均为成年种公猪(28~38 月龄)。每头种公猪采精 2 次/周,固定采精时间和采精员。试验时间为 2016 年 11 月至 2017 年 7 月,试验地点为江苏农林职业技术学院种猪场实验室。

1.2 精液采集和指标测定

公猪精液的采集用手握法进行;在采精过程中,弃去前、后段精清,收集中段富含精子部分,用 4 层灭菌纱布过滤精液,采完精后或精液稀释后,吸取 10 μL 精液,放入 2 μL 观察池(标准计数板,8 个观察池,池体积 22 μL/个,池高 20 μm),置于负相差显微镜下观察、检测。

采用西班牙 CASA 系统进行精液质量分析,测定的主要精子运动指标如下:

表 1 本试验中所用稀释液配方

配方	葡萄糖(g)	乳糖(g)	柠檬酸钠(g)	EDTA-2Na(g)	NaHCO ₃ (g)	KCl(g)	Tris(g)	ddH ₂ O(mL)	青霉素(IU)	链霉素(IU)
F ₁	5.752	0.25	0.450 0	0.350 0	0.120	0.04	—	100	1 000	1 000
F ₂ ^[10]	5.000	—	0.300 0	0.100 0	—	—	—	100	1 000	1 000
F ₃	5.100	—	0.180 0	0.160 0	0.050	—	—	100	1 000	1 000
F ₄ ^[2]	2.750	—	0.690 0	0.290 0	0.100	—	0.56	100	1 000	1 000
F ₅	3.715	—	0.683 5	0.138 5	0.125	—	—	100	1 000	1 000

采集所得精液室温下放置 1~2 h,用所配稀释液按 1:1 比例进行稀释,稀释后静置 2 min,后置于显微镜下观察检测。

1.3.2 稀释倍数的确定 取 0.0、0.5、1.0、2.0、3.0、4.0 份稀释液,稀释液配方采用表 1 中的 F₂,分别加入 1 份精液中,组成稀释倍数分别记为 D₀、D_{0.5}、D₁、D₂、D₃ 和 D₄;取 1 份稀释液,配方采用表 1 中的 F₃,加入 1 份精液中,组成稀释倍数记为 D₅。

1.3.3 数据统计 应用 SPSS 19.0 软件中 GLM 程序对各项数据进行方差分析,差异显著或极显著时采用 LSD 法或 Tamhane's T2 法进行多重比较,结果用“最小二乘均数±标准差($\bar{x} \pm s$)”表示,其线性模型如下:

$$Y_{ijkn} = \mu + f_i + j_j + b_k + e_{ijkn}$$

式中:Y_{ijkn}为性状观察值,μ为群体均值,f_i为配方效应或稀释效应,j_j为个体效应,b_k为品种效应,e_{ijkn}为随机误差效应。

2 结果与分析

2.1 稀释液配方对精子活力或活动率的影响

不同稀释液配方下精子活力或活动率的结果见表 2。由表 2 可知,PR 方面,F₂ 的 PR 水平最高,为 0.107 3±0.133 8,其次为 F₃,两者间差异不显著(P>0.05),但与 F₅、F₁、F₄ 间差异极显著(P<0.01);5 个配方 PR 水平的总体趋势为:F₂>F₃>F₅>F₁>F₄。PR+NP 方面,F₂ 的水平最高,F₂、F₃ 间差异不显著(P>0.05),F₅ 和 F₁ 间差异不显著(P>0.05),F₄ 的 PR+NP 水平最低,与其他各组间差异均极显著(P<0.01)。

2.2 稀释液配方对精子运动速度参数的影响

不同稀释液配方下精子运动速度参数结果见表 3。由表 3 可知,就 VCL 而言,F₂ 的速度最快,为(27.37±9.03) μm/s,其次是 F₃,两者间差异不显著;F₄ 的速度最慢,仅为(18.61±4.03) μm/s,与其他各组相比,差异极显著(P<0.01);就 VSL 而言,F₂ 的速度最快,为(6.89±2.99) μm/s,大小顺序为:F₂>

精子活力指标有 PR(前向运动精子)、NP(非前向运动精子);精子运动速度指标有 VCL(平均曲线运动速率)、VSL(平均直线运动速率)、VAP(平均路径速度);精子运动方式指标有 LIN(直线性)、STR(前向性)、WOB(摆动性)、ALH(侧摆幅度)、BCF(鞭打频率)。

检测时,要求精子总数≥500 个。

1.3 稀释液配方和数据统计

1.3.1 配制稀释液 本试验中共采用 5 个配方,分别标记为 F₁、F₂、F₃、F₄、F₅,每个配方体系为 100 mL;配方中药品,均购自 Sigma 公司,采用分析天平准确称取;药品称取后,加入 ddH₂O 在磁力搅拌器下充分溶解;用 100 mL 容量瓶定容后,放入事先高压灭菌的玻璃瓶中,贴上标签,4 ℃ 保存 3 d;稀释液使用前,升温至 37 ℃,加入青霉素和链霉素,具体配方见表 1。

表 2 不同稀释液配方精子活力(PR)或活动率(PR+NP)

配方	PR	PR+NP
F ₁	0.061 2±0.097 2Cc	0.245 0±0.248 3Bb
F ₂	0.107 3±0.133 8Aa	0.336 2±0.284 5Aa
F ₃	0.097 7±0.120 4ABab	0.334 8±0.274 1Aa
F ₄	0.016 3±0.035 0Dd	0.130 0±0.151 9Cc
F ₅	0.075 1±0.114 6BCbc	0.270 1±0.266 8Bb

注:同列数据后不同大写字母表示差异极显著(P<0.01),不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

表 3 不同稀释液配方精子运动速度参数 μm/s

配方	VCL	VSL	VAP
F ₁	22.93±6.35Cd	5.29±2.41Bc	11.04±4.20Bc
F ₂	27.37±9.03Aa	6.89±2.99Aa	13.40±5.56Aa
F ₃	26.63±7.91ABab	6.64±2.60Aab	12.83±4.82Aab
F ₄	18.61±4.03De	4.16±1.58Cd	8.92±2.94Cd
F ₅	25.04±7.85BCbc	6.17±2.58Ab	12.36±4.80ABb

F₃>F₅>F₁>F₄,F₁ 和 F₄ 分别与其他各组相比,差异均达到极显著水平;就 VAP 而言,F₂ 的速度最快,其次是 F₃,并与 F₅、F₁ 或 F₄ 相比,差异显著(P<0.05)或极显著(P<0.01)。

2.3 稀释液配方对精子运动方式参数的影响

不同稀释液配方下精子运动方式参数结果见表 4。由表 4 可知,LIN 方面,F₂ 最高,为(24.66±5.59)%,其次为 F₃ 和 F₅,三者间差异均不显著(P>0.05),与 F₁ 和 F₄ 间差异显著(P<0.05)或极显著(P<0.01);STR 方面,F₃ 最高,与 F₂ 和 F₅ 相比,差异均不显著(P>0.05),与 F₄ 和 F₁ 相比,差异显著(P<0.05)或极显著(P<0.01);WOB 方面,5 个配种组合间差异均不显著(P>0.05)。就 ALH 而言,F₃ 的最大,为(2.28±0.59) μm,与 F₂ 和 F₅ 均差异不显著(P>0.05),F₁、F₂ 和 F₅ 三者间差异也都不显著(P>0.05);就 BCF 而言,F₂ 和 F₃ 一样快,均为 4.17 Hz,与其他各组间差异显著(P<

表 4 不同稀释液配方精子运动方式参数

配方	LIN (%)	STR (%)	WOB (%)	ALH (μm)	BCF (Hz)
F ₁	22.00 ± 5.36BCb	46.87 ± 6.30BCb	46.59 ± 7.82	2.01 ± 0.69Bb	2.95 ± 1.60Bb
F ₂	24.66 ± 5.59Aa	50.69 ± 6.82Aa	47.98 ± 7.03	2.19 ± 0.62ABab	4.17 ± 1.90Aa
F ₃	24.36 ± 5.01Aa	51.29 ± 5.86Aa	47.16 ± 6.87	2.28 ± 0.59Aa	4.17 ± 1.73Aa
F ₄	21.57 ± 5.40Cb	46.11 ± 6.67Cb	46.54 ± 9.38	1.57 ± 0.84Cc	1.25 ± 1.16Cc
F ₅	23.91 ± 4.90ABa	49.71 ± 7.11ABa	48.15 ± 7.65	2.15 ± 0.64ABab	3.47 ± 1.76ABb

0.05)或极显著($P<0.01$)。

2.4 稀释倍数对精子活力或活动率和运动参数的影响

不同稀释倍数下精子活力(PR)和运动速度参数结果见表5。由表5可知,就PR而言,D₀~D₄间,D_{0.5}最高,为0.348 3±0.196 5;以D₀为对照组,与D_{0.5}差异显著($P<0.05$),与D₁差异不显著($P>0.05$),与D₂~D₄差异极显著($P<0.01$);D₁和D₅差异不显著($P>0.05$)。就PR+NP而言,D₀~D₄间,D_{0.5}最高,为0.772 7±0.237 2;以D₀为对照组,与D_{0.5}、D₁差异不显著($P>0.05$),与D₂、D₃间差异极显著($P<0.01$),D₁和D₅比较,差异不显著($P>0.05$)。VCL

方面,D₀~D₄间,D_{0.5}最大,为(46.37±20.51) μm/s,与D₀相比,D_{0.5}差异极显著($P<0.01$),与D₁~D₃差异不显著($P>0.05$),与D₄差异极显著($P<0.01$);D₁和D₅比较,差异显著($P<0.05$)。VSL方面,D₀~D₄间,D_{0.5}最大,为(14.38±6.35) μm/s;D₀与D_{0.5}差异极显著($P<0.01$),与D₁差异显著($P<0.05$),与D₂~D₄差异不显著($P>0.05$);D₁和D₅比较,差异不显著($P>0.05$)。VAP方面,D₀~D₄间,D_{0.5}最大,为(26.06±11.08) μm/s;D₀与D_{0.5}差异极显著($P<0.01$),与D₁~D₃间差异不显著($P>0.05$),与D₄差异极显著($P<0.01$),D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。

表 5 不同稀释倍数下精子活力(PR)和运动速度参数

稀释倍数	PR	PR+NP	VCL (μm/s)	VSL (μm/s)	VAP (μm/s)
D ₀	0.313 7 ± 0.188 5Ab	0.739 7 ± 0.276 7Aa	41.24 ± 15.28BCbc	12.33 ± 4.60BCb	22.77 ± 8.36BCbc
D _{0.5}	0.348 3 ± 0.196 5Aa	0.772 7 ± 0.237 2Aa	46.37 ± 20.51Aa	14.38 ± 6.35Aa	26.06 ± 11.08Aa
D ₁	0.320 0 ± 0.198 1Aab	0.736 2 ± 0.251 4Aa	42.84 ± 18.44ABb	13.78 ± 6.39ABa	24.35 ± 10.45ABab
D ₂	0.268 3 ± 0.206 2Bc	0.666 9 ± 0.273 2Bb	38.83 ± 18.20BDc	12.46 ± 6.59BCb	21.78 ± 10.64CDcd
D ₃	0.246 4 ± 0.214 6Bc	0.618 6 ± 0.293 5Bc	38.00 ± 19.73CDcd	12.00 ± 6.45Cb	20.96 ± 11.81CDcd
D ₄	0.244 0 ± 0.202 9Bc	0.604 4 ± 0.283 0Bc	35.27 ± 15.45Dd	12.03 ± 6.59Cb	20.05 ± 9.56Dd
D ₅	0.344 9 ± 0.208 0Aab	0.753 1 ± 0.267 9Aa	46.48 ± 21.02Aa	14.43 ± 6.94Aa	25.75 ± 11.63Aa

2.5 稀释倍数对精子运动方式的影响

不同稀释倍数下精子运动方式参数结果见表6。由表6可知,LIN方面,D₀~D₄中,D₄最高,为33.90%±12.70%;以D₀为对照组,与D_{0.5}~D₃差异不显著($P>0.05$),与D₄差异极显著($P<0.01$);D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。STR方面,D₀~D₄中,D₄最高,为58.12%±12.36%;以D₀为对照组,与D_{0.5}和D₁差异不显著($P>0.05$),与D₂和D₃差异显著($P<0.05$),与D₄差异极显著($P<0.01$);D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。WOB方面,D₀~D₄中,D₁最高,

为(56.64±7.76)%;D₀与D_{0.5}~D₄间差异均不显著($P>0.05$);D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。就ALH而言,D₀~D₄中,D_{0.5}最高,为(2.81±0.70) μm;D₀与D_{0.5}和D₁差异不显著($P>0.05$),与D₂~D₄差异极显著($P<0.01$);D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。就BCF而言,D₀~D₄中,D₂最快,为(5.23±1.49) Hz;D₀与D_{0.5}~D₂间差异极显著($P<0.01$),与D₃差异不显著($P>0.05$),与D₄差异显著($P<0.05$);D₁和D₅间差异不显著($P>0.05$)。

表 6 不同稀释倍数下精子运动方式参数

稀释倍数	LIN (%)	STR (%)	WOB (%)	ALH (μm)	BCF (Hz)
D ₀	30.15 ± 7.34Bb	54.03 ± 6.99Bc	55.09 ± 6.53Aab	2.69 ± 0.57Aab	4.60 ± 1.23Bc
D _{0.5}	31.27 ± 8.39ABb	54.77 ± 7.55Bbc	56.22 ± 7.12Aa	2.81 ± 0.70Aa	5.06 ± 1.07Aab
D ₁	32.10 ± 9.67ABab	55.48 ± 9.39ABbc	56.64 ± 7.76Aa	2.65 ± 0.68ABb	5.08 ± 1.38Aab
D ₂	32.13 ± 10.98ABab	56.07 ± 10.65ABb	55.77 ± 8.84Aab	2.49 ± 0.64Bc	5.23 ± 1.49Aab
D ₃	31.48 ± 12.41ABb	56.04 ± 10.90ABb	54.40 ± 10.58Ab	2.47 ± 0.75Bc	4.91 ± 1.58ABbc
D ₄	33.90 ± 12.70Aa	58.12 ± 12.36Aa	56.43 ± 9.91Aa	2.22 ± 0.76Cd	5.04 ± 1.98ABab
D ₅	31.30 ± 9.28ABb	55.46 ± 8.35Bbc	55.37 ± 7.78Aab	2.78 ± 0.66Aab	5.36 ± 1.38Aa

3 讨论

关于猪精液稀释液配方的报道很多,马红等用本试验中的F₄作为冷冻基础液或稀释液研究了民猪精液冷冻技术^[7]。

程明等研究4种稀释液对不同品种公猪精子活力的影响,结果显示,用葡-柠-乙液(本试验中的F₂)稀释的精液在保存后20 h和32 h观察到的精子活力平均数要显著高于葡萄糖液、葡-柠液和自制多成分稀释液,因此认为葡-柠-乙液比

其他稀释液更适合猪精的稀释^[10]。王占赫等研究了不同稀释液对公猪精液保存效果的影响,所用11个稀释液配方必选药品有葡萄糖和柠檬酸钠,其他药品有EDTA、碳酸氢钠和KCl,结果显示,1号和2号稀释液的精子有效存活时间和精子存活总时间是最优的,两者间差异不显著,1号稀释液配方为:葡萄糖3.72 g、柠檬酸钠0.60 g、EDTA 0.12 g、碳酸氢钠0.12 g、KCl 0.08 g,2号稀释液配方为:葡萄糖2.4 g、柠檬酸钠1.0 g、EDTA 0.1 g、碳酸氢钠0.1 g,2个配方的体系均为100 mL^[11]。陈晓畅等研究了关中黑猪精液常温保存情况,结果显示不同稀释液中,保存效果最好的是Ⅲ号稀释液,可保存5 d,活力为0.5,短时间内(≤ 2 d),Ⅰ号和Ⅲ号保存效果无明显差异;而Ⅰ号稀释液成本更低,更适合生产实践中的应用;Ⅲ号稀释液配方为:葡萄糖27.50 g、柠檬酸钠6.90 g、EDTA 2.35 g、碳酸氢钠1.00 g、柠檬酸2.90 g、Tris 5.65 g,Ⅰ号稀释液配方为:葡萄糖37.00 g、柠檬酸钠6.00 g、EDTA 1.25 g、碳酸氢钠1.25 g、Tris 0.75 g,2个配方的体系均为1 L^[12]。许多研究报道中猪精液稀释液配方中主要药品有:葡萄糖、柠檬酸钠、EDTA-2Na^[2],在此基础加入其他药品,诸如谷氨酰胺(Gln)^[6]、羧甲基纤维素钠(CMC)^[13]、海藻糖^[2]、黄芪多糖^[14]、精浆^[15]、维生素C^[4]、红景天多糖^[5]、蔗糖^[3]、甘氨酸^[5]等,以期筛选出最佳的精液稀释液配方。本试验5个配方中,就精子活力(PR)或精子活动率(PR+NP)而言,F₂的最高,其次是F₃,但两者间差异不显著,与其他3个配方比较差异极显著;精子速度方面,也是以F₂最快,与F₃差异不显著,与其他配方差异显著或极显著;精子运动形式参数方面,就WOB指标而言,5个配方间差异不显著,其他指标以F₂和F₃为高。

关于猪精液稀释倍数的报道不多,沈培敏研究了猪精液不同倍数稀释授精效果,结果显示,稀释6倍时,受胎率最高,为92%,窝均产仔数最多,为11头,随后为稀释倍数2、4、8、10倍,认为精液稀释倍数小,精子密度大,供给精子贮存过程中的养分偏少,而稀释倍数过大,则有效精子会降低,而且活力也会降低,影响母猪繁殖性能^[8]。李鼎禄等研究猪精液稀释倍数对受胎率窝产仔数的影响,采用的稀释液为葡-柠-乙液(本试验中的F₂,配方略有不同,葡萄糖5.55 g、柠檬酸钠0.50 g、EDTA-2Na 0.10 g),分别稀释3、5、8倍,结果显示,采用的各品种公猪精液进行8倍稀释时,与常规的3倍稀释间,对情期受胎率、窝产仔数无影响^[9]。关于精液稀释倍数在羊^[16-17]和鸡^[18-19]上也有报道。在南江黄羊上,郭洪杞认为精液有效存活时间、第1情期受胎率以稀释倍数15倍较高,分别为50 h、80%^[16]。徐相亭等研究显示,精液稀释3、4、5倍解冻后精子活率分别为0.502、0.501、0.495($P>0.05$),均高于稀释6、7、8倍的精子活率($P<0.01$),表明波尔山羊冷冻精液稀释倍数以3~5倍为宜^[17]。张晓华等研究了鸡精液稀释的影响因素,结果显示鸡精液在先冷藏后等温稀释,高倍稀释的鸡精子活力显著低于低倍稀释,而先等温稀释后冷藏,高倍和低倍稀释的鸡精子活力差异不显著^[18]。本试验中,就PR和PR+NP而言,两者均随稀释倍数的增大而表现出先上升后下降的趋势,D_{0.5}最大,这种现象在其他动物均未有报道,其中原因值得探究;从不同稀释液相同稀释倍数条

件下的结果来看,两者差异不显著,说明所选2个稀释液配方对精子的影响相当。

4 结论

本试验中,就稀释液配方而言,以经典的猪精液稀释液配方为最优,配方如下:葡萄糖5.0 g、柠檬酸钠0.3 g、EDTA-2Na;就稀释倍数而言,从PR和PR+NP方面,D_{0.5}最优,但从经济效益来看,D₁是最佳的。

参考文献:

- [1]胡建宏.猪精液冷冻保存研究[D].杨凌:西北农林科技大学,2006.
- [2]胡建宏,李青旺,江中良,等.海藻糖对猪精液冷冻保存效果的影响[J].畜牧兽医学报,2006,37(12):1297-1303.
- [3]席常胜.猪冷冻精液稀释液配方正交旋转设计筛选研究[D].兰州:甘肃农业大学,2008.
- [4]任子利,赵彦玲,王建洲,等.维生素C对藏猪精液4℃保存及其精子全基因组DNA甲基化的影响[J].畜牧兽医学报,2016,47(5):1057-1061.
- [5]张树山.猪精液冷冻保存技术研究——二甲基甲酰胺、红景天多糖等四种保护剂对猪精液冷冻效果影响[D].杨凌:西北农林科技大学,2009.
- [6]卫师毅,刘琦,谢东洪,等.Gln对猪精液常温保存效果的影响[J].中国畜牧杂志,2016,52(13):32-36.
- [7]马红,王文涛,刘娣.民猪精液冷冻技术研究[J].猪业科学,2013(7):124-125.
- [8]沈培敏.猪精液不用倍数稀释授精效果[J].畜牧兽医杂志,2012,31(3):71.
- [9]李鼎禄,廖树宽.猪精液稀释倍数对受胎率窝产仔数的影响[J].云南畜牧兽医,1994(4):18.
- [10]程明,范宝雷,黄文.不同稀释液对猪精子活力与保存时间的影响[J].中国畜禽种业,2013(5):71-72.
- [11]王占赫,杜永所,郭玉琴,等.不同稀释液配方对不同品种公猪精液常温保存效果的试验研究[J].当代畜牧,2006(1):26-29.
- [12]陈晓畅,宋学太,王师哲,等.关中黑猪精液常温保存研究[J].畜牧兽医杂志,2015,34(2):1-4.
- [13]张家庆,陈东峰,王献伟,等.羧甲基纤维素钠对猪精液常温保存效果的影响[J].家畜生态学报,2017,38(2):33-38.
- [14]胡传话,许春荣,陆媚,等.黄芪多糖对猪精液低温保存的影响[J].中国兽医学报,2015,35(1):150-154.
- [15]刘彪,逯心玉,孔庆然,等.精浆对猪精子冷冻效果影响的研究[J].中国畜牧兽医,2012,39(11):161-164.
- [16]郭洪杞.山羊精液稀释液常温保存及稀释倍数的研究[J].安徽农业科学,2007,35(19):5770-5771.
- [17]徐相亭,贾兰萍,杨万郊,等.波尔山羊冷冻精液稀释液及稀释倍数研究[J].山东畜牧兽医,2005,1(2):3-5.
- [18]张晓华,孙鹰,朱立军,等.鸡精液稀释打击影响因素及其应用价值分析[J].中国家禽,2017,39(1):6-10.
- [19]徐松山,孙研研,李云雷,等.稀释和低温保存对鸡精液品质和受精能力的影响[J].畜牧兽医学报,2017,48(4):645-651.