

猪的冷冻精液试验

吉林省国营农安种马场

我们开展猪的冷冻精液试验,从1975年开始至1977年2月,已取得了实际产仔效果,14头母猪产了仔,平均每窝产仔9.57头,但授精效果颇不一致,初产母猪授精14头,情期受胎率50%,平均每窝产仔11.5头(8—14);经产母猪授精78头,情期受胎率14.1%,平均每窝产仔8.1头。目前正在继续开展提高冷冻精液授精效果的试验。现将试验的情况介绍如下。

一、精液冷冻方法

目前采取颗粒冷冻的主要操作程序,包括采精、过滤、稀释、降温、平衡、滴冻、保存等流程。

(一)采精 用拳握法采集公猪精液,取其最浓稠部分,用灭菌的细纱布滤去精液中的胶状物质,然后检查其精子活力,精子活力在0.7以上的方可以制作冷冻精液。冬季和早春要特别防止低温打击。具体做法是用1磅小口保温瓶作集精杯,在采精前将其放在40℃保温箱内,使用前用32℃稀释液冲洗,使其在采精时保持一定温度。在过滤精液时,如室温较低,可将精液瓶置于32℃水浴锅内再进行过滤,并继续放在水浴锅里,等待稀释。

(二)精液稀释 1. 稀释液:

第一液:脱脂奶(不加甘油)。

第二液:葡萄糖8克,蒸馏水100毫升,混合溶解后用滤纸滤过,经消毒后取出冷却至20℃,取溶液73毫升,加甘油4.5毫升和新鲜卵黄22.5毫升,充分混合搅拌均匀即成。

2. 稀释倍数:按稀释后每毫升含精子2—3亿为原则,一般按1:1—1:2稀释。

3. 稀释方法:根据精液质量决定稀释倍数后,可用第二液采取一次稀释,或用不含甘油的脱脂奶先按1:0.5进行第一次稀释,降温至15℃时再用上述卵黄、甘油稀释液按1:1进行第二次稀释,上面两种稀释方法效果都很好。稀释后镜检活力在0.6以上者,即可进行平衡。

(三)平衡 将盛有精液的玻璃瓶盖好,置于15℃温水中,然后移入冰箱,当夏季室温高于20℃时(稀释后的精液为32℃),应置于室内自然降温,再放入15℃水杯中移至冰箱内降温,如无冰箱设备,可放至深井中降温,使其在6—8℃下静置2—4小时。

(四)冻制方法 采取广西畜牧研究所的颗粒冷冻方法,将液氮装入广口保温瓶至7/10处,在离液氮面

2—3厘米处悬挂圆底平面的搪瓷碟,盖上中央有小孔的木盖,并从盖孔插入一根低温度计至碟面测定温度,当温度下降至-20—-30℃,即可掀开木盖,用带有胶皮头的玻璃滴管吸取平衡后精液(冻前移入盛有冰水的广口保温瓶中),进行滴精冷冻。每粒为0.1—0.12毫升,滴满搪瓷碟后加盖停留2—3分钟,待碟面温度比开始滴精时再下降-10—-15℃,便把搪瓷碟与精液一起浸入液氮内,停留片刻,待停止沸腾即成颗粒冷冻精液。取出1—2粒解冻检查,精子活力达0.3以上者,即倒入冷冻保温瓶之液氮中,待全部制冻完毕后再收集起来保存。

(五)保存 按液氮罐提漏的口径预制大小适合的细纱袋(生丝织成的或尼龙纱亦可),一般一个袋盛装冷冻颗粒1,000—2,000粒(以能容下一头公猪一次的冷冻精液量为标准),袋口系上标签,注明公猪品种、号名、制冻日期等,将冻好的颗粒收集于纱袋内。放入液氮罐内贮存。

(六)解冻 1. 解冻液:

(1) 柠檬酸三钠	24.28 克
无水葡萄糖	3.00 克
乙二胺四乙酸二钠	3.70 克
氯化钾	0.40 克
碳酸氢钠	2.10 克
硫酰胺	3.00 克
青霉素	100 万单位
链霉素	1 克
蒸馏水	1,000 毫升
(2) 葡萄糖	4.6 克
酒石酸钾钠	0.56 克
蒸馏水	100 毫升

(3) 脱脂乳

将10克甜质奶粉加入100毫升蒸馏水里混合溶解,蒸气消毒后,进行离心处理,取脱脂乳为解冻液。

为了在解冻时取用方便,可将这三种解冻液(不加抗菌素),分别封装于20毫升的安瓿中,经高压灭菌后长期保存,随用随取。

上述三种解冻液均获得实际输精效果,用第一种解冻液解冻猪的冷冻精液,镜检时视野清晰,能矫正精子凝集;第二、三种解冻液比第一种能提高精子活力0.1左右。

2. 解冻:采取干解与湿解均可。干解冻是将具有

400—200毫升容量的玻璃烧杯放在50—55℃的电热恒温水浴锅中预热至相同温度，然后将冷冻颗粒迅速倒入预热的烧杯中，在水浴锅中轻轻摇动，经1—2分钟，待全部溶解，温度达35℃左右，即将烧杯从水浴锅中取出，蘸取少量精液，检查精子活力，再以等温的稀释液(解冻液)进行稀释。

湿解冻是先将解冻液放入玻璃杯内预热50—55℃，然后将冷冻颗粒(按每毫升加入两粒)放入解冻液中频频摇动至完全溶解时为止。

我们还采取了高温转中温解冻方法，具体做法是：将解冻液预热至70—75℃放入颗粒精液后稍加摇晃，立即移入30℃水浴锅中，这种方法可提高精子复苏率，比其他解冻方法可提高活力0.1左右，采用这种解冻方法用以输精也收到了实际效果。

二、冷冻精液观察试验

(一)公猪个体间精液冷冻效果的差异 1976年试冻了6头公猪的精液，其中冷冻效果好的有3头，较差的有2头，冻后无活力的有1头，说明公猪个体间存在着显著差异。另据观察发现精液密度与冷冻效果成正比，即精液密度越大冷冻效果越好。

(二)解冻后精子存活时间 将其白猪6号的冷冻精液，分别采取干解(后稀释)和湿解两种方法，保存在10—13℃的环境中，其存活时间分别为51时30分和72小时。

(三)冷冻精液长期贮存 3头公猪冷冻精液贮存95—306天后，有2头冻精解冻后精子活力无明显变化，一头显著降低，详见表1。

表1 不同品种公猪的冻精保存后活力比较

种 公 猪	制冻日期 (1976年)	冷冻方法	冻后当时活力	贮存后活力		贮存前后相差
				贮存天数	解冻后活力	
长 白 6 号	9月29日	饼 片	0.4	95	0.4	0
	3月17日	颗 粒	0.45	306	0.4	-0.05
苏 白 127 号	5月3日	颗 粒	0.5	144	0.4	-0.1
	3月20日	颗 粒	0.4	300	0.4	0
三 组 合 0 号	6月14日	颗 粒	0.4	99	0.26	-0.14
	6月13日	颗 粒	0.4	160	0.30	-0.19

备注：均根据冷冻和授精试验记录。

三、提高授精效果的探讨

在授精试验中，初产母猪受胎率50%，经产母猪为14%，初产母猪效果显著高于经产母猪。我们考虑几次授精试验中在发情鉴定，输精方法和时间安排以及输精标准等方面都存在需要探讨之处。

(一)根据母猪开始爬跨16—24小时进行第一次输精，再间隔24小时进行第二次输精。单纯依靠这种鉴定方法做为输精依据，而没有按品种个体不同情况，掌握每头母猪发情持续期去适时输精，这种做法粗造，故授精效果高低不一，相差悬殊。

(二)母猪输精后出现逆流现象，据观察发现逆流

的原因可能是：用的输精胶管尖端平钝，不易插入子宫颈内，输精的深度不够；注入精液的动作过快，在冬、春季节气温低，输入精液温度低于体温，使母猪感受寒冷的刺激而促使其子宫收缩之故。由于精液逆流，必然影响授精效果。

(三)在输精标准上，试验初步证明处女母猪每次输精量20—25毫升，总精子数不少于6亿，前进精子数不少于1.8亿，对配种受胎和产仔影响不大。

从表2和表3看出一次输入25—40个冷冻颗粒，其受胎率虽显著低于100粒的，每窝产仔数则显著高于前者，其中75—48号系苏白纯种，一次输精25粒，产仔14头，成活10头，低标准输精，产仔数并不低。

表2 不同输精标准的受胎效果比较

输精头数	受配母猪类群	一次输精量			一次输精子数		配后60天 不发情 (头)	无发情 (%)	正常产 仔窝数	平均每窝 产仔头数
		解冻液 (毫升)	颗粒 (个)	输精量 (毫升)	总数 (亿)	前进数 (亿)				
7	处女母猪 10—12月龄	10—15	100	20—25	25—30	5—7.5	4	57.1	4	10.25
7	处女母猪 10—13月龄	20	25—40	22—24	6—10	1.8—4.0	3	42.8	2	14.0

(下转第37页)

表 3 应用公猪冷冻精液第一批授精试验产仔情况统计 (1976 年)

品 种	耳 号	一 次 输 精 量			一次输入精子数		输 精 (月. 日)	分 娩 (月. 日)	产仔数 (头)	存活数 (头)
		解冻液 (毫升)	颗粒数 (个)	输精量 (毫升)	总数 (亿)	前进精子 (亿)				
杂 种	75-40	10	120	25	30	6.0	1.1	4.24	8	8
杂 种	75-38	10	120	25	30	6.0	1.1	4.23	10	8
杂 种	75-74	10	120	25	30	6.0	1.2	4.24	13	12
杂 种	75-42	10	90	20	25	7.5	1.13	5.5	10	9
苏 白	75-48	15	25	18	6	1.8	2.28	6.23	14	10
苏 白	75-82	20	40	25	10	5.0	4.2	7.23	14	14
合 计									69	61