

动物直肠电刺激采精试验*

陈乾生 欧阳子焯 梁佩全

(广东省昆虫研究所动物研究室, 广州动物园)

采集动物精液是人工授精的重要环节之一。假阴道采精法是目前动物人工采精的最常用的方法。近来, 动物直肠电刺激采精技术亦日益广泛地应用于珍贵野生动物的人工繁殖研究。我们从 1976 年开始, 与广东省科学院实验工厂协作, 研制成功动物直肠电刺激采精器, 对多种动物进行了电采精试验。

一、材料和方法

(一) 试验动物是采用人工圈养的梅花鹿、马鹿、猕猴和家畜(黄牛、水牛、山羊、绵羊、兔), 以及大熊猫等 11 种共 30 头。

(二) 直肠电刺激采精器(见图 1)。仪器包括刺激发生器和直肠探子两部分。

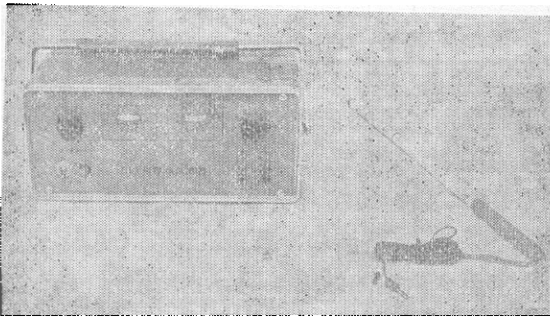


图 1 直肠电刺激采精器

1. 刺激发生器的主要技术参数是: 电源电压: 交流电 220 伏; 可调频率: 20—60 赫芝; 输出波形: 正弦波或方波; 输出可调电压: 0—20 伏; 输出电流: 0—1,000 毫安。

2. 直肠探子是一根硬质塑料棒。一端装上数个互相绝缘的金属环(电极), 由两根导线引出与刺激发生器连接。塑料棒的直径以及棒上

金属环的数目和间距是随动物种类的大小不同而异的。

(三) 试验方法

1. 试验是在动物发情季节内进行。受试动物作仰卧或侧卧保定, 用肥皂水灌肠, 排净动物直肠内的粪便, 洗净包皮, 然后由肛门慢慢插入直肠探子, 通电刺激。电压由低至高, 直至动物排精, 即行收集。对梅花鹿、马鹿和大熊猫等, 在通电刺激时分别作变换与不变换频率对采精效果影响的比较试验。

2. 对采集得的精液, 用常规的方法测定精液量、精子活力(%), 精子密度和总数、精子抗力系数等, 并经稀释后分别作 0—4℃ 及液氮(-196℃)保存试验。

3. 对 3 头成年梅花鹿连续四年在发情季节内电采精。观察其精液品质和产茸量的逐年变化, 检验该技术对动物有何长期性的影响。

二、结果与讨论

(一) 电采精试验结果(见表 1)。其中电压、电流两项系指动物排精时电刺激器所输出的电压和电流。

从表 1 可以看出, 在适当的电压、电流的刺激下, 鹿、牛羊、大熊猫等动物都能采出品质良好的精液。我们曾用上述方法取得公鹿精液, 经稀释输入母鹿的生殖道内而使之妊娠产仔。北京动物园于 1979 年亦应用上述的采精器和操作技术首次使大熊猫人工授精获得成功。

梅花鹿、马鹿精液稀释保存试验的结果(见

* 参加本试验的还有黄进同、郭玉蓉、林惠莲等同志。

表 1 动物直肠电刺激采精试验结果

动物种类	试验头数	试验次数	电 刺 激 条 件			精 液 品 质 测 定 (平均值)*				
			频 率 (Hz)	电 压 (V)	电 流 (mA)	采精量 (毫升)	活 力 (%)	精子密度 ($\times 10^7/ml$)	精子总数 ($\times 10^9$)	抗力系数
梅花鹿	7	26	20—50	12—16	100—250	1.42±1.24	60—90	201.2±67	195.6±76.3	4750
马 鹿	1	4	30—40	12—20		1.57±0.9	90	133.0	208.8±119	4000
水 牛	1	1	30—60	12	100	1.2	70	38.0	45.6	2500
黄 牛	2	3	20—50	12—16	150—250	1.32±0.43	80—90	86.7±31.8	105.17±14.8	4500
山 羊	8	9	30—50	12—16	40—100	0.79±0.25	80—90	117.5±79.3	86.4±48.7	7500
绵 羊	3	3	40—50	9—12		0.83±0.4	90			
大熊猫	2	6	30—40	12—16	130—140	0.9±0.48	70—80	110.5±59.5	83.0±74.3	3000
熊 猴	2	4	20—60	18—20	50—140	0.—1.0	75			
恒河猴	1	1	20	20				精液凝固,呈白色条状		
家 兔	1	2	20	9—12	100	0.15	90			
猪	2	2	30	20	45—310	18.0	70			
合 计	30	61								

* 表中所列出的精液品质测定的数据都是动物每次射精的平均数值。

表 2 电刺激采集的鹿精液的保存试验结果

动物种类	试验次数	0°—4°C 保存		-196°C (液氮) 保存	
		时间(小时)	精子活力(%)	时间(天)	精子活力(%)
梅 花 鹿	5	24—48	60—80	60—150	40
马 鹿	2	24—72	50—80	30	40 以上

表 2)。直肠电采精法所采得的动物精液经稀释后,能经受普通冰箱和液氮的冷冻保存。

0—4°C保存是用脱脂鲜牛奶加卵黄作稀释液,每毫升稀释液加入青、链霉素各 1,000 国际单位,精液作 1:3—4 倍稀释,置普通冰箱内保存;液氮保存用 12% 蔗糖 77 毫升、甘油 3.5 毫升、卵黄 20 毫升作稀释液,每毫升稀释液加青、链霉素各 1,000 单位,精液作 1:2 稀释,在干冰或液氮中滴成颗粒,置液氮中保存。在试验中,梅花鹿精液在 0°—4°C 保存最长可达 192 小时,精子活力仍达 50%;液氮保存最长达 12 个月,精子活力 40%。马鹿的精液在 0°—4°C 保存最长曾达 123 小时,精子活力 50%。

采精和保存试验结果表明,上述电刺激采

精器和所实施的采精技术是一种有效的人工采精方法。

(二) 由 1976 年开始对 3 头梅花鹿连续四年电采精,其精液和产茸量的情况(见表 3)。

表 3 所列的结果表明,直肠电采精技术经多次长期使用对梅花鹿的精液品质和产茸量均无明显的影响。齐约克(Dziuk)亦曾用牛做过类似的电采精安全试验,也得出电采精法安全可靠的结论。

(三) 施行电采精时,应注意遵循刺激电压由低至高逐步递增的原则。图 2 表明了梅花鹿电采精时,电压的递增和通电次数的情况。它是根据梅花鹿多次电采精的情况而绘出的。采精效果与频率的选择也很有关系。对鹿和大熊

表 3 3头梅花鹿电采精的结果和产茸量

动物编号	年 份	采精次数	精液品质		产茸量(克)		备 注
			采精量(毫升)	活 力 (%)	鲜 重	干 重	
18	1976	2	0.9±0.1	80	750	215	3头公鹿的产茸量均系二杠茸的重量
	1977	3	1.71±0.24	80	1300	475	
	1978	3	0.8±0.28	80—90	1200	400	
	1979	1	2.5	75	1575	500	
103	1976	2	2.5				
	1977	3	1.0±0.16	90	1225	450	
	1978	2	1.1±0.1	90	650	190	
0	1976	4	1.9±1.7		1175	425	77、78年仍有采精但记录不全
	1979	2	0.8±0.09	90	1052	385	

表 4 在刺激过程中,变换与不变换频率的采精效果比较

动物	采精日期	频率(Hz)的变化	采精结果	
			采精量(毫升)	精子活力(%)
梅花鹿	1979年11月10日	20→30→40→50	0.85	90
	1976年11月15日	50	0.80	—
马 鹿	1979年10月31日	20→30→40→50	3.0	90
	1977年10月16日	40	1.2	90
大熊猫	1979年5月21日	20→30	1.8	75
	1979年5月2日	30	1.0	80

猫的试验表明,在电刺激过程中,随着电压的升高逐步变换频率,是可以提高采精效果的(见表4)。

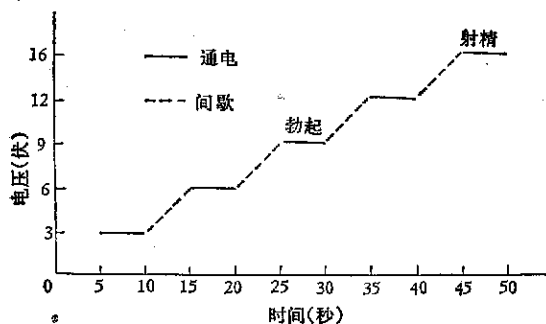


图 2 梅花鹿电采精的电压、通电时间和次数

电刺激采精应在动物性成熟和发情季节内进行。对一些猴类,有时采精效果不佳(表1),

亦可能与是否在发情季节进行有关。直肠探子的电极刺激部位不当会使动物在通电时出现嘶叫或频频排尿等现象。直肠探子插入肛门的深度应与动物骨盆腔的长度大体一致,金属环应紧贴直肠的底壁。

(四) 除一些中、小动物外,电采精时大多数采用化学保定方法来保定动物。可选择采用的化学药物有氯胺酮、氯化琥珀酰胆碱和静松灵等。实验证明,用上述化学药物保定采精,可经反复多次应用。表3所列的3头梅花鹿连续几年的电采精都是用化学药物作保定的,每次采精都获得成功。韦尔斯(Wells)曾用牛作使用与不使用化学保定的电采精比较试验,甚至认为电采精时使用镇静药物能提高所得的精液品质。但由于有些药物安全剂量范围小,没有相应的拮抗剂,使用不当会有一些的危险性。因此选择更适合的药物,仍值得探讨。

(五) 对直肠电采精的机制问题是值得探讨的。威尔什(Welsh)和约翰逊(Johnson)对公牛的试验表明,电采精时动物血浆内睾酮的浓度并没随着动物的性兴奋而升高。奥斯本(Osborne)亦发现采精前的性引诱不能明显地提高牛的电采精效果。我们用氯胺酮或静松灵等中枢性离解麻醉剂,对动物作保定后,仍可采到品质优良的精液。由此看来,直肠电刺激采精很可能是通过刺激输精管壶腹附近的神经末梢,使低级射精中枢兴奋而促使动物排精的。

参 考 文 献

- 广东省昆虫研究所动物研究室, 1977 《动物直肠电刺激采精简报》, 动物学杂志, 3: 42—43。
- 刘维新等, 1979 《大熊猫人工授精繁殖试验》, 科学通报, 24 (9): 414。
- 西川義正, 1956 《理论实际家畜人工授精法》 東京書肆株式會社, 462—466。
- Bierchawal, C. J. et al., 1968, Collection of deer semen by electroejaculation Proc. 6th. Internatl. Congr. Animal Reprod. 2: 1001—1004.
- Dziuk, P. J. et al., 1954, The technique of electroejaculation and its use in dairy bulls. *J. Dairy Sci.* 37: 1035—1041.
- Osborne, P. I. et al., 1977 Sexual stimulation prior to collecting semen by artificial vagina and electroejaculation. ASAS. Abstr. 45 Suppl. 1: 415.
- Watson, P. F. and Hime, J. M. 1976 Semen collection from the Brindled gun. Internatl. Zoo Yearbook 16: 174—175.
- Weisbroth, S. et al., 1965 The collection of primate semen by electroejaculation. *Fertil. Steril.* 16: 229—235.
- Wells, M. E. et al., 1966 Effect of method of semen collection and tranquilization on semen quality and bull behavior. *J. Dairy Sci.* 49(10): 500—503. (Anim. Breed. Abstr, 34(4): 516.)
- Welsh, T. H. et al., 1977 Effect of LH and electroejaculation on testosterone secretion in bulls. ASAS. Abstr. 45 Suppl. 1: 218.