

棘胸蛙精子在不同水域活动力的研究

毛洪斌

李中华

熊荫芝

(江西省庐山管理局科委, 33 2900)

(中国人民解放军庐山疗养院)

(江西省庐山花径公园)

摘要 本研究系利用 pH6.4 以下弱酸性泉水、无氯自来水及不同浓度的 NaCl 液稀释棘胸蛙精液, 观察精子的活动力。实验证明, 泉水和无氯自来水可保持精子良好的活力, 并持续 7 个小时, 是良好的稀释液。精子在 NaCl 溶液中活力差, 与溶液浓度呈反相关, 棘胸蛙的人工授精不宜在该溶液中进行。

棘胸蛙 (*Rana spinosa*) 系在水中行体外受精繁殖后代的两栖动物, 雄蛙精子在水中的活动力及生存时间直接关系到雌蛙卵子的受精率。同时, 开展棘胸蛙人工授精是采用湿法(同鱼人工授精的湿法), 所以, 就更有必要觅求既经济、简便, 又有利精子活动及生存的稀释液, 以提高雌蛙卵子的受精效果。

关于棘胸蛙精子在不同水域中活动力的观察, 国内尚未见资料报道。本实验根据棘胸蛙的繁殖生物学特性, 利用泉水、无氯自来水及不同浓度的 NaCl 溶液稀释雄蛙精液, 观察精子的生存时间及活动状况, 为人工授精的开展提供依据。

(一) 方法

1. 利用洁净的小试管分别盛装 2ml 泉水、无氯自来水 0.1%—0.8% 8 种浓度的 NaCl 溶液, 依次标号并排列在试管架上。

2. 雄蛙须选择体格健壮, 体长在 10cm 以上、体重在 150 克以上的大小相近的个体。

3. 取同种、同量(粒)蛙脑垂体, 用同量 0.7% NaCl 溶液进行匀浆后, 以其悬浮液或浸出液对待试雄蛙进行腹腔内注射。

4. 雄蛙开始排精后, 即可用玻璃滴管自泄殖腔吸取精液依次滴入装有稀释液的小试管中, 每试管滴入精液约 0.05ml 左右。作好时间记录, 然后定时用滴管蘸取少量稀释精液置

显微镜下观察。每只雄蛙的每一试管各专用一试管。

(二) 结果 实验于 1988 年 6 月 24 日进行, 共选择 3 只雄蛙, 其中第二号蛙因精子无活动力被废弃。以第一号和第三号蛙实验观察的结果(见表 1)。

由表 1 看出, 雄蛙精子在泉水、无氯自来水中活动良好, 活动时间可持续达 9.25 个小时, 以人工授精要求(视野有 80% 精子呈摆动以上运动), 活动力可持续 7 个小时左右。而在各种浓度的 NaCl 溶液中, 活动能力及其持续时间均不如泉水和无氯自来水, 与 NaCl 溶液浓度成反相关。第一号蛙观察结果, 全部具有摆动能力者仅在 0.1% NaCl 溶液中维持 4 个小时活动, 0.2% NaCl 溶液中维持 1 个小时, 0.3% NaCl 溶液以上的浓度中, 精子呈微摆动和不动, 精子的活力均不符合人工授精要求。第三号蛙的精子在任何浓度 NaCl 溶液中的精子活力都不符合人工授精的要求。

(三) 讨论与小结

1. 第一号蛙和第三号蛙精子活力存在着小差异, 可能是个体差异所致。前者精液品质优于后者。

2. 实验表明, 随着时间的推移, 第三号蛙的精子在无氯自来水中表现为摆动→一半摆动→摆动, 以及在 0.4% NaCl 溶液中表现的少数

表 1 不同水域精子活动力及寿命观察* (室温: 22℃)

观察时间	观察结果									
	泉水	无氯自来 来水	NaCl 溶液(%)							
			0.1	0.2	0.3	0.4	0.5	0.6	0.7	0.8
10 点 55 分	摆动	摆动	摆动	摆动	微摆动	微摆动	不动	不动	不动	不动
11 点 25 分	摆动	摆动	摆动	摆动	微摆动	少数微摆动	不动	不动	不动	不动
11 点 30 分	摆动	摆动	摆动	摆动	微摆动	少数微摆动	不动	不动	不动	不动
11 点 45 分	摆动	摆动	摆动	摆动	微摆动	少数微摆动	不动	不动	不动	不动
11 点 55 分	摆动	摆动	摆动	2/3 摆动	部分微摆动	极少数微摆动	不动	不动	不动	不动
12 点 55 分	摆动	摆动	摆动	2/3 摆动	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动
13 点 55 分	摆动	摆动	2/3 微摆	1/2 微摆	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动
14 点 55 分	大部分摆动	大部分摆动	少数微摆动	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
16 点整	大部分摆动	大部分摆动	少数微摆动	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
17 点整	大部分摆动	大部分摆动	少数微摆动	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
18 点整	1/2 摆动	1/2 摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
19 点整	少数微摆动	少数微摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
20 点整	个别微摆动	个别微摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
21 点整	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
11 点 45 分	摆动	摆动	少数微动	不动	不动	少数微动	不动	不动	不动	不动
12 点 15 分	摆动	一半微摆动	少数微动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
13 点整	摆动	摆动	少数微动	不动	不动	少数微动	不动	不动	不动	不动
14 点零 5 分	摆动	摆动	少数微动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
15 点零 5 分	摆动	摆动	少数微动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
16 点整	摆动	摆动	摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
17 点整	摆动	摆动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
18 点整	1/2 摆动	大部分微动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
19 点整	少部分微动	少部分微动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
20 点整	尾动	尾动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动
21 点整	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动	不动

注: 各稀释液经 pH 值测定,均在 6.4 以下,呈弱酸性;

*: 实验时间 1988 年 6 月 24 日,其中 10 点 55 分至 21 点,观察 1 号雄蛙,其体长 12cm, 体重 254 克, 9 点 45 分注射。11 点 45 分至 21 点,观察 3 号雄蛙,其体长 12.5cm, 体重 247 克, 11 点整注射。以上两者均注射的青蛙脑垂体 2.5 个研磨混悬液。

摆动→不动→少数摆动的反常现象,可能是实验操作中不慎所导致的结果。但这对实验结果的整体没有影响。

3. 泉水和无氯自来水(pH 值为 6.4 以下的弱酸性)是棘胸蛙精液的良好稀释液,既经济简便,维持精子有效活力时间长。目前,我们已在棘胸蛙人工授精中普遍采用,收效良好。各种

浓度的 NaCl 液不论从经济和效果角度,都不宜在棘胸蛙的人工授精中采用。

4. 采用湿法对棘胸蛙雌蛙卵子授精,事先须用泉水和无氯自来水稀释精液并进行显微镜检查,有 80% 以上的精子具活力者才可使用,以保证卵子获得高的受精率。