

# 提高绵羊冷冻精液质量 和受胎率的研究

朱裕鼎 张坚中 陈元明 蔡正华  
郭年藩 邵桂芝 焦淑贤

(中国农业科学院畜牧研究所)

刘身庆 蔡正清 张露锋 奴义 肖俄力

(青海省畜牧兽医科学研究所)

(1981年4月4日收稿)

## 摘 要

自1975年开始此项研究,五年来,着重对绵羊冷冻精液稀释液的保护性能进行研究;同时还进行了精液冻前处理、冷冻和解冻方法等方面的研究。

16种稀释液进行了受胎试验。共授精母羊2983头,产羔970头,情期受胎率平均为32.5%(13.7~58.9%)。其中各年最佳组合的情期受胎率分别为43.3%(26/60, 1975), 51.3%(39/76, 1976), 58.9%(43/73, 1977)和53.4%(47/88, 1979)和57.1%(48/84, 1979)。

## 引 言

研究和应用绵羊精液冷冻技术,对提高优良种公羊的利用率和充分发挥优良个体在绵羊育种中的作用。有着重要的意义。

近年来,国外在绵羊冷冻精液的研究中取得了一些新的进展。使用INRA稀释液(Colas, 1675)曾获75.0%的受胎率(94头母羊<sup>[1]</sup>);在稀释液中添加阻氧剂—丁基羟甲苯,并配合使用螺旋式输精器,做到子宫颈内4厘米输精(шайдуллин, ин, 1977,)受胎率分别达到 $80 \pm 5.2$ (46/57)和100%(14/14)<sup>[2]</sup>;精液经贮存3、5和7年后,用解冻后再浓缩的精液输精,受胎率分别达到52.9%(91/172), 52.9%(37/70)和51.7%(74/143)(Salamon, 1972, 1974和1976<sup>[3]</sup>)。然而,受胎率颇不稳定。据罗马尼亚1970~1972年,每年用冷冻精液配母羊15~32万只结果受胎率变动在5~65%之间(Caltou, 1974)<sup>[4]</sup>。据最近报导,9国平均受胎率为50%(30~63%)(Iritani 1978)<sup>[5]</sup>。此外,上述较高的受胎率均为输入大量精子数(3.3~4.5亿)或子宫颈内深部和子宫内输精所获得。因此,到目前为止此项技术仍处于研究阶段,尚未在生产中大面积推广应用。

国内从1974年开始进行绵羊冷冻精液的研究,目前已有不少组合的情期受胎率超过了50%。我们于1975年开始此项研究。5年来,着重对绵羊冷冻精液稀释液的保护性能

\* (1979年由于机构调整,本课题分别在北京、青海二单位继续进行试验,本文1979年不包括青海试验部分)。

进行了研究,并配合进行了精液冻前处理、冷冻及解冻方法等方面的研究。取得了较好的受胎结果。最佳试验组情期产羔率分别达到:43.3%(26/60,1975);51.32%(39/76,1976),58.9%(43/73,1977)和53.4%(47/88,1979),57.1%(48/84,1979)。

## 材 料 和 方 法

### 一、采 精

精液用假阴道采自青海半细毛高代杂种(1975~1978)及苏联美利奴(1979)公羊。精液经混合后按试验组合等量分配到各组,每批试验一般重复三次。

### 二、稀 释 液

稀释液的配制大体分成三类:1.以葡110液为基础,增加葡110Ⅱ液中葡萄糖和柠檬酸钠的浓度;2.以葡33液为基础,添加磷酸盐,  $V_{B_1}$ ,  $V_E$ , EDTA—Na—Ca, 血清、牛精清、明胶、奶类、大蒜汁及黄芪浸出液等物质;3.双糖、三糖或二种以上复合糖的不同比例配合和添加三基等。

### 三、冻前处理

除不同稀释比例,不同预冷和平衡时间等一些试验按设计要求进行处理外,其他稀释液对比试验等均按以下方法进行:两次稀释,在室温下加Ⅰ液,按1:1.5(精液:稀释液)稀释,包上8层纱布放在3~5℃冰箱内预冷3小时,然后加含甘油的Ⅱ液(与Ⅰ液等量,3~5℃),最终稀释比例为1:3。加入Ⅱ液后立即冷冻,甘油不参加平衡。细管精液以1:3或1:2.5一次稀释,然后分装于0.5或0.25毫升细管内,包上8层纱布在3~5℃冰箱中降温平衡3小时后冷冻。

### 四、分装与冷冻

1.颗粒精液:加Ⅱ液后的稀释精液,在距液氮面1~1.5厘米的铝板上滴冻成0.1毫升的颗粒。

2.安瓿精液:加Ⅱ液后的精液,以1毫升剂量分装于灭菌的安瓿内,火焰封口,用两种方法冷冻:(1)安瓿平放在铝筐中,放在广口杜拉瓶中距液氮面1.5~2厘米处熏蒸6~7分钟,然后浸入液氮(1975,1979),(2)铝筐置于简易急速冻结器(日本产)上沿30厘米处,经1.5分钟匀速下降到距液氮面2~3厘米处,停留3分钟,然后浸入液氮(1976~1978)。

3.细管精液:细管精液平衡后用两种方法冷冻。(1)细管直立在简易急速冻结器的铁丝筐内,每框300支(不足部分;用空细管补足),从冻结器上沿30厘米处开始,经1.5分钟匀速下降到距液氮面2~3厘米处,停留片刻待温度降到-100℃时浸入液氮(1978);(2)细管平放在铝盒中的铜纱网上,纱网距液氮面2厘米处,重蒸5分钟后投入液氮(1979)。

### 五、解 冻

颗粒精液采用干解冻方法,将一粒精液放在干试管内,在70℃水浴中不断摇晃到颗粒融化2/3时取出,再继续摇晃至全部融化。安瓿精液采用两步解冻法,先在75℃水浴中摇晃8秒钟,再入38℃水浴中摇晃到精液全部融化。细管精液在35℃水浴中摇晃15

秒钟。

## 六、输 精

解冻后精液活率在0.35以上者用于输精。在生产条件下按常规方法输精。输精剂量(每头次)分别为0.1, 0.15, 0.2, 0.3毫升及浓缩精液(采用两种方法: ①用手摇离心机(1,000—1,200转/分)离心15分钟(1977, 1978); ②电动离心机(2,500转/分)离心15分钟(1979)。两者均去上清液2/3, 余下的浓厚部分备作输精用)0.05, 0.10毫升。当年观察母羊情期不返回率; 翠年按实际产羔结果计算受孕率。

## 七、精液品质评定

1. 评定活率: 精液冷冻过程中各阶段均使用目测法在显微镜下进行活率评定。解冻后精液在38℃下保存, 进行活率评定, 直至精子全部死亡, 并计算存活指数。

2. 测定顶体完整率: 将精液样品制成抹片, 经8%福尔马林磷酸缓冲固定液固定后, 用20%姬姆萨(Giemsa)染液染色, 在1000倍光学显微镜下观察精子顶体。每样品制片两张, 每片测定300个精子, 每样品的顶体完整率为600个精子测定值的平均数。

3. 测定酶活性: 将精液样品(至少0.5毫升)置于离心管中, 以4,000转/分(冻前精液)或3,000转/分(解冻后精液)离心十五分钟, 用细吸管小心吸出精清, 用比色法测定精清中的谷氨酸—草酰乙酸转氨酶(GOT)和透明质酸酶活性。如不能立即测定, 可将精清贮存于-20℃冰箱中, 几天之内酶活性不会下降。

# 结 果

## 一、稀释液的保护性能的研究

1. 五年以来共筛选和改进156种稀释液, 其中16种稀释液进行了受孕试验, 几种受孕率较好的稀释液配方为表1。

表1 几种较好稀释液配方

稀 释 液	I 液							取 溶 液 量 (毫升)	卵 黄 (毫升)	山 羊 奶	II 液	
	加蒸馏水到100毫升										取 I 液 毫 升 数	甘 油
简 称	葡萄糖 (克)	乳糖 (克)	果糖 (克)	柠檬 酸钠 (克)	磷酸氢 二钠 (克)	磷酸二 氢钾 (克)	VB <sub>1</sub> (克)					
葡33	3			3				80	20		88	12
① 葡33磷 VB <sub>1</sub> ④⑤	3			3	0.11	0.021	0.003	80	20		88	12
葡33奶	3			3				55	20	25	88	12
② 乳2奶	1.5	2	0.5	3				55	20	25	94	6
I 液	1.5			3.5				80	20			
葡110 II 液	1.65			3.85				80	20		(取 I 液) 88	12

每100毫升加青霉素10万单位, 链霉素0.1克。

①a 1:2 稀释, 解冻后用山羊奶再稀释, 最终稀释比例为1:3, 离心浓缩后用作输精。

b 冻前1:2 稀释, 解冻后再加20%安钠加针剂2毫升和山羊奶98毫升的稀释液进行再稀释, 最终比例为1:3。

②只有一种稀释液作一次稀释用。

2. 几种受胎率较好的稀释液的冷冻效果及受胎率见表 2。

表 2 用于受胎试验的稀释液的冷冻和受胎效果 (年份: 1975~1979年)

稀释液	冻精季节	包装方法	活 率			存活(小时)	生存指数	顶体完整率(%)	输精季节	输精(毫升/头)	输精母羊数	产羔母羊数	情期受胎率(%)
			冻前	冻后	占冻前(%)								
葡 33	夏季	安瓶	0.71	0.41	57.7	13.1	2.96	52.8	夏季	0.15	370	87	23.5 (22.01~27.45)
	秋季	细管安瓶	0.72	0.33	45.2	12.5	2.98	48.5	冬季	0.20	69	21	30.4①
			0.73	0.41	56.2	9.96	2.34	50.6		0.15	147	64	43.5 (35.2~51.32)
		安瓶	0.67	0.38	56.7	7.8	1.63	49.2		0.30	158	81	51.3 (48.6~53.4)
										0.10②	73	43	58.9
									0.30③	44	19	43.2	
葡33磷VB <sub>1</sub> a	夏季	安瓶	0.70	0.42	60.0	14.1	3.59	—	夏季	0.15	211	59	27.96
葡33磷VB <sub>1</sub> b	秋季	安瓶	0.69	0.38	55.1	7.5	1.49	48.3	冬季	0.10④	84	48	57.1
葡33磷VB <sub>1</sub> c	秋季	安瓶	0.69	0.38	55.1	7.0	1.48	38.6	冬季	0.30	40	20	50
葡33磷VB <sub>1</sub> E	夏季	安瓶	0.73	0.42	57.6	12.2	3.20	—	夏季	0.15	108	24	22.2
葡33VB <sub>1</sub> E大蒜汁	夏季	安瓶	0.63	0.36	57.1	10.1	2.37	50.9	夏季	0.15	72	30	41.7①
葡33奶	秋季	安瓶	0.68	0.37	54.4	7.8	1.65	47.7	冬季	0.30	74	31	41.9①
	夏季	安瓶	0.75	0.45	60.0	12.0	3.32	—	夏季	0.15	131	18	13.74
葡110	夏季	颗粒	0.75	0.30	40.0	10.15	2.26	—	夏季	0.15	15	8	20
		安瓶	0.74	0.42	56.8	—	—	0.15		75	29	38.6	
	秋季	安瓶	0.73	0.41	56.2	11.97	3.22	—	冬季	0.15	238	90	37.8 (31.7~43.33)
										0.30	71	34	47.9
葡120	夏季	安瓶	0.73	0.40	54.8	12.0	—	—	夏季	0.15	71	14	19.71
葡110血清	秋季	安瓶	0.78	0.38	48.5	12.5	—	—	冬季	0.15	76	29	38.16
棉 乳	夏季	颗粒	0.70	0.38	54.29	11.50	2.93	—	夏季	0.15	35	14	40.0
		安瓶	0.71	0.50	69.4	8.66	3.44	—		0.15	176	30	17.05
	秋季	安瓶	0.72	0.52	72.2	6.80	1.37	—	冬季	0.10	43	9	20.93
									0.15	55	9	16.36	
蔗 5	夏季	安瓶	0.70	0.40	57.1	8.1	—	—	夏季	0.15	86	15	17.44
蔗 10	夏季	颗粒	0.75	0.33	44.0	11.50	1.96	—		0.15	34	6	17.65
		安瓶	0.68	0.43	67.6	11.20	3.09	—		0.15	67	15	22.38
	秋季	安瓶	0.71	0.41	57.7	7.50	0.82	—	冬季	0.15	40	13	32.50
乳 6	夏季	安瓶	0.78	0.44	56.4	11.0	—	—	夏季	0.15	69	13	18.84
葡 213	秋季	安瓶	0.70	0.40	57.1	11.5	—	—	冬季	0.15	77	30	38.96
乳 2 奶	秋季	细管	0.70	0.35	50.0	8.5	1.33	44.8	冬季	0.20	21	10	47.6
三 基	秋季	安瓶	0.70	0.40	57.1	12.5	—	—	冬季	0.15	70	23	32.86

注: ①情期不返回率。

②离心浓缩。

③用Cortee(法国)的洗涤液配方 1 : 9 稀释原精, 3000转/分离心洗涤去上清液, 重复 2 次, 每次 15 分钟。再用葡 33 稀释。

④用解冻后的稀释精液再用山羊奶稀释(稀释精液 3 : 山羊奶 17, 离心浓缩)。

从表2看出, 加大输精量和离心浓缩增加精子密度, 都能提高受胎率。从夏秋季冷冻精液的品质检查指标看无显著差异, 而受胎率却差异非常显著。

## 二、精液处理、冷冻和解冻方法的研究

1. 甘油添加方法, 稀释倍数及降温、平衡时间的比较试验。详见表3。

表3 不同甘油添加方法, 稀释比例及降温平衡时间对绵羊精液冷冻效果的比较\*

	A <sub>1</sub>	A <sub>2</sub>	A <sub>3</sub>	B <sub>1</sub>	B <sub>2</sub>	B <sub>3</sub>	C <sub>1</sub>	C <sub>2</sub>	C <sub>3</sub>
存活指数二次结果	2.95	2.98	3.14	3.52	3.69	3.69	3.72	3.72	4.04
分组平均		3.01			3.63			3.83	
第二次精子顶体完整率(%)	47.2	39.2	41.5	40.9	51.4	44.4	41.3	52.3	43.7
顶体完整率分组平均		42.7			45.7			45.9	

\* A组, 一次稀释, 室温下添加甘油, 稀释比例为1:2, A<sub>1</sub> A<sub>2</sub>和A<sub>3</sub>组降温平衡时间分别为4、6和8小时。  
B组, 一次稀释, 室温下添加甘油, 稀释比例为1:3, B<sub>1</sub>B<sub>2</sub>和B<sub>3</sub>组降温平衡时间分别为4、6和8小时。  
C组, 两次稀释, 甘油在3—5℃下添加, 稀释比例为1:3, C<sub>1</sub> C<sub>2</sub>和C<sub>3</sub>组降温平衡时间分别为3、0 (降温3小时, 平衡0小时), 3、3 (降温3小时, 平衡3小时) 4、4 (降温4小时, 平衡4小时)。

从表3结果看, 甘油不同添加方法(B组与C组)存活指数, 差异不显著( $P > 0.05$ ); 而不同稀释比例(A组与B组)之间, 差异非常显著( $P < 0.01$ ), 说明1:3稀释优于1:2稀释。各组内不同降温平衡时间差异不显著( $P > 0.05$ )。三组平均顶体完整率差异不显著( $P > 0.05$ )。

2. 不同稀释比例对细管精液冷冻效果的比较试验, 结果列入表4。

表4 不同稀释比例对细管精液冷冻效果的比较试验

稀释比例	活 率			存活时间(时)	存活指数	顶体完整率(%)
	冻 前	冻 后	占冻前(%)			
1:1	0.63±0.029 <sup>a</sup>	0.05±0 <sup>a</sup>	8	3.0±0 <sup>a</sup>	0.15±0 <sup>a</sup>	40.1±6.01 <sup>a</sup>
1:1.5	0.63±0.029 <sup>a</sup>	0.17±0.029 <sup>b</sup>	26.9	5.5±0 <sup>b</sup>	0.65±0.09 <sup>b</sup>	41.8±8.76 <sup>a</sup>
1:2	0.63±0.029 <sup>a</sup>	0.23±0.029 <sup>b</sup>	36.5	8.2±0.76 <sup>c</sup>	1.04±0.09 <sup>c</sup>	45±11.9 <sup>a</sup>
1:3	0.60±0.086 <sup>a</sup>	0.3±0 <sup>c</sup>	50	10.2±0.76 <sup>d</sup>	1.77±0.12 <sup>d</sup>	40±5.39 <sup>a</sup>
1:5	0.60±0.086 <sup>a</sup>	0.32±0.029 <sup>c</sup>	53.3	10.2±0.76 <sup>d</sup>	1.89±0.15 <sup>d</sup>	39.7±8.26 <sup>a</sup>

稀释比例由1:1增加到1:3时, 存活时间显著( $P < 0.05$ )延长, 存活指数也相应显著( $P < 0.05$ )增加, 稀释比例增加到1:5时与1:3比较差异不显著( $P > 0.05$ )。而各组的顶体完整率都没有显著差异( $P > 0.05$ )。

3. 安瓿的不同初冻温度对绵羊精液冷冻效果的影响。详见表5。

从表5三项对比指标看, 1毫升剂量的-80和-120℃下冷冻效果较好。0.5毫升的以-80℃冷冻效果较好, 但顶体完整率低于-120℃( $P < 0.05$ )。两种剂量的安瓿冷冻, 似乎有共同的趋势, 即-50℃冷冻的效果均较差, 而低于-80℃冷冻似对精子冷冻效果影响不大。

表5 不同初冻温度对1及0.5毫升安瓿精液冷冻效果的影响

分装剂量	对比指标	初 冻 温 度			
		-50°C	-80°C	-120°C	-150°C
1 毫升	解冻后活率	0.28	0.35	0.35	0.32
	存活指数	1.62	1.93	2.02	1.65
	顶体完整率(%)	20.8	27.5	24.3	21.9
0.5 毫升	解冻后活率	0.27	0.35	0.30	0.33
	存活指数	1.60	1.88	1.54	1.88
	顶体完整率(%)	24.1	26.6	35.4	28.5

注: 1毫升安瓿精液在75°C下, 水浴解冻8秒钟。

0.5毫升安瓿精液在60°C下, 水浴解冻4秒钟。

### 三、不同输精剂量及浓缩精液受胎效果的试验。详见表6。

表6 不同输精剂量及葡33浓缩精液的受胎结果

稀 释 液	输精剂量(毫升)	输入活精子数(一次)	产羔母羊率(%)
葡 33	0.15	49-55×10 <sup>6</sup>	35.2(25/71)
	0.30	98-110×10 <sup>6</sup>	48.6(34/70)
	0.10(浓缩)	98-110×10 <sup>6</sup>	58.9(42/73)
葡 110	0.15	49-55×10 <sup>6</sup>	31.7(33/101)
	0.30	98-110×10 <sup>6</sup>	47.9(34/71)

表6结果看出, 加大输精量和浓缩精液都能提高受胎率, 浓缩的受胎率最高, 但两者差异不显著( $P > 0.05$ )。浓缩组与输0.15毫升比差异非常显著( $P < 0.01$ )。葡33组输0.3比0.15毫升的提高13.4%, 但差异不显著( $P > 0.05$ )。而葡110输0.3比0.15毫升的提高16.2%, 差异显著( $P < 0.05$ )。

## 讨 论

### 一、关于稀释液中甘油的特性和使用方法问题。

甘油在精液稀释冷冻过程中的作用机制, 目前还不很清楚。虽然某些作者认为甘油具有毒性, 对精子有破坏作用, 从而导致精子丧失受精能力。但在家畜冷冻精液的实践中, 迄今为止, 甘油仍是最好的防冻剂。一些作者试验结果认为, 甘油含量在4或6%较为合适。我们所用的葡33稀释液的甘油含量(包括精液)为4.5%, 取得较好的受胎效果。

我们对含甘油稀释液冰点下降度测定结果(表8)表明, 稀释液I液(不含甘油)和II液(含甘油)混合后, 其渗透压提高了几倍(如葡33为绵羊精液的4.5倍)。精子在这样的高渗溶液中由于甘油的存在精细胞没有受到严重破坏, 反而适应这种“特殊高渗环境”, 同时经冷冻后还一定程度地保护了精子的受精能力。关于甘油参加“平衡”的问题, 随着精液冷冻技术的发展, 甘油“平衡”由20个小时以上减少到3~6小时。最近的研究认为, 甘油可以不参加平衡。Colas(1975)试验证明, 在30°C下添加甘油的绵羊冻精, 解冻当时精子的平均活力比在4°C下添加者显著( $P < 0.01$ )降低(36.1%比47.0%), 受胎率也较低(每组23头母羊, 受胎率分别为35.0%和48.0%)<sup>[1]</sup>。而我们的试验结果证明, 甘油参加与不参加“平衡”对解冻后精液品质和受精能力无大影响。因此, “平衡”这一术语似乎没有反应出甘油与精子之间真实的相互作用。

## 二、关于稀释液的渗透压问题(详见表7)。

表7 稀释液的渗透压与受胎率的关系

		输 精 季 节					输 精 季 节		
		夏 季		情 期 受 胎 率 (%)			冬 季		情 期 受 胎 率 (%)
稀 释 液		冰 点 下 降 度 ( $\Delta t^{\circ}$ )			稀 释 液	冰 点 下 降 度 ( $\Delta t^{\circ}$ )			
		I 液	I + II 液	I 液		I + II 液			
葡 33		0.90	2.94	27.45	葡 33	0.90	2.94	51.32	
葡 110		0.81	2.92	38.6	葡 110	0.81	2.92	40.26	
葡 120		0.81	3.00	19.71	葡 213	0.89	2.92	38.96	
乳 6		0.81	2.28	18.84	葡110血清	0.81	2.92	38.16	
蔗 5		0.59	2.10	17.44	三 基	0.61	1.86	32.86	

注: 原精渗透压为 $0.64(\Delta t^{\circ})$

从我们的试验结果看, 稀释液具有较高的渗透压, 有助于受胎率的提高。从表8看出, 精子对渗透压的适应似有一定的范围。I液冰点下降度在 $0.81\sim 0.9\Delta t^{\circ}$ 之间, I + II液在 $2.92\sim 2.94\Delta t^{\circ}$ 之间为宜, 低于或高于此范围者, 受胎率均降低。

### 三、关于稀释液中糖类的保护性能问题。

在我们所用的几种糖类稀释液中, 以葡萄糖的保护性能最好, 其中葡33稀释液在1976, 1977, 1979年的冬配中受胎率均超过50%。其他糖类稀释液, 解冻后精液品质与葡33和葡110相近或有所提高。但受胎率均低于葡33和葡110。

据报道, 稀释液中的葡萄糖成份对绵羊精子除具有糖类一般所具有的理化保护性能外, 葡萄糖与果糖相比, 较易于被精子吸收, 成为精子的部分补充能源而参加精子代谢。用磷酸盐及柠檬酸盐缓冲剂稀释绵羊精液时, 精子对细胞内果糖的利用最高, 而在含葡萄糖的稀释液中, 果糖分解指数最低。Милованов(1976)在试验中证实葡萄糖是阻氧剂。在葡萄糖稀释液中配合添加其他物质(阻氧剂— $V_E$ 等)并严格控制冻前处理过程的无氧条件, 冷冻解冻后的绵羊精液能获得较高的受胎结果( $51.2\% \quad 43/84$ )〔7〕。

以上说明, 稀释液中的葡萄糖成分可部分地充当精子的能源, 同时也是一种抑制卵磷脂酶A活性, 防止精液中溶血卵磷脂积累的阻氧剂。因此在葡萄糖稀释液中, 适当地增加葡萄糖含量并相应地减少柠檬酸钠含量, 配成葡33稀释液对绵羊精子有较好的保护性能。在我们的研究中, 虽然对不同糖类的保护性能进行了一些对比试验, 但还不够充分。

此外, 一些国家应用奶类作绵羊冻精的稀释液, 得到较好的受胎率。我们也进行了一些奶类稀释液的试验, 未见奶类对提高受胎率有良好的作用。需进一步研究。

### 四、关于一次输入活精子数问题

关于绵羊冷冻精液的输精剂量和一次输入活精子数的问题, 未曾见过专门的研究报告。但对输入活精子数与受胎率之间的关系问题似有不同的见解。варновский(1974)认为绵羊冷冻精液受胎低的原因之一, 是每个输精剂量中具有完整结构的精子数不足。加大输精剂量, 使活精子数达到 $1.5\sim 1.8$ 亿, 其中未受低温打击的约有 $0.7\sim 0.9$ 亿后, 受胎率达到 $59.1\% (55/93)$ 〔8〕。Colas(1975)采用大剂量(输入 $0.45$ 毫升精液, 精子数约 $2.25$ 亿)输精, 获得75%的受胎结果〔1〕。Salamon(1972, 1974, 1976)使用分别贮存3、5和7年的冷冻精液, 浓缩后以 $0.1$ 毫升含有不低于 $1.6$ 亿活精子的剂量输

精, 受胎率稳定在50%以上<sup>[3]</sup>。但是, 有的作者认为, 0.3毫升的剂量输精看来是多余的, 因为当用这个剂量输精时, 经常发现精液从子宫颈倒流至阴道内。

我们的试验结果表明, 随输入精子数的增加受胎率也逐渐提高, 特别是解冻后再浓缩的精液, 除可以保证一定的精子数外, 同时降低了输精剂量, 部分地除去甘油成分, 增加精液的粘稠度, 减少精液倒流, 为改善精子的受精能力和使精子通过子宫颈进入子宫提供有利条件, 从而提高了受胎率。在目前绵羊冷冻精液受胎率低的情况下, 适当地增加输入精子数有利于提高受胎率。但必须进一步研究减少输入精子数提高受胎率的方法, 从而提高种公羊的利用率。

#### 五、关于不同季节绵羊冷冻精液的受精能力问题。

在我们的受胎试验中发现夏季受胎率比冬季低。如葡33组夏季比冬季低20% ( $P < 0.01$ )。而解冻后精液品质的检查指标却没有显著差异 ( $P > 0.05$ )。Colas (1976) 报道, 绵羊精液在一年内冷冻后其受精能力有波动。春季采的精液受胎率始终偏低 (春季采制的精液在春、秋季配种, 受胎率分别为41.0%和57.5%, 而秋季采制的精液在春、秋季配种, 受胎率分别为51.1%和60.9%<sup>[6]</sup>)。以上一方面说明了夏秋季精液品质可能存在着差异 (未探知因素), 另一方面必须考虑到母羊的情况, 母羊试情冬季比夏季好, 性机能旺盛, 表现发情集中, 易于受胎, 所以冻精受胎率也能提高。

#### 参 考 文 献

- [1] Colas, C (1975) J. Reprod. Fert, 42 (2): 277.
- [2] шайдуллин, и.н. (1977). Животноводство, № 8, 58.
- [3] Salamon, S. (1976) 8th Int. Cong. Anim Reprod and A.I. 224.
- [4] Coltau, G. et al. (1974). A.B.A. 43: 1763.
- [5] Iritani, A (1980). 9th Int. Cong. Anim, Reprod and A.I., 115.
- [6] Colas, et al. (1976). A.B.A. 45: 803.
- [7] Милованово, В.К. et al. (1976). Животноводство, № 8, 54.
- [8] Варнавский, А.Н. et al. (1974). Животноводство, № 4, 65.

#### STUDIES ON THE IMPROVEMENT OF QUALITY AND FERTILITY OF FROZEN RAM SEMEN

Zhu Yüding, Zhang Jianzhong, Chan Yuanming,  
Cai Zhenghua, Guo Nianfan, Shao Guizhi  
Jiao Shuxian

(Institute of Animal Science, Chinese Academy  
of Agricultural Sciences, )

Liu Shenqing, Cai Zhengqing, Zhang Lufeng, Nu Yi, Xiao Eli  
(Qinghai Provincial Institute of Animal Husbandry  
and Veterinary Science, )

Abstract

We have begun the present studies since 1975, and have laid special emphasis on the studies of the protective function of the extenders for deepfreezing ram semen. At the same time, experiments on the treatment of sperms before freezing and the freezing and thawing methods were also conducted.

The semen diluted with 16 extenders was frozen and used for insemination experiments of 2,983 ewes, from which 970 have lambed. The overall average conception rate after the first oestrus was 32.5% (from 13.7 to 58.9%). The conception rates for the best groups in separate years are as follows 43.3% (26/60, 1975), 51.3% (39/76, 1976), 58.9% (43/73, 1977), 53.4% (47/88, 1979) and 57.1% (48/84, 1979).