

00012

国外农业科学资料汇编

第三辑

家畜精液稀释和贮存

中国农业科学院编



农业出版社

国外农业科学資料汇编

第三輯

家畜精液稀釋和貯存

中国农业科学院編

农业出版社

国外农业科学资料汇编

第三輯

家畜精液稀釋和貯存

中国农业科学院編

农业出版社出版

(北京西总布胡同7号)

北京市書刊出版業營業許可証出字第106号

新华書店科技發行所發行 各地新华書店經售

农业杂志社印刷厂印刷

787×1092毫米1/16·71/4印張·162,000字

1959年12月第1版

1960年2月北京第2次印刷

印数: 1,001—2,900 定价: (9)6.76元

統一書号: 16144.828 59.12.京型

我們选譯了苏联及其他国家有关家畜人工授精方面的部分精液稀釋和貯存問題的文献,共31篇,作为“国外农业科学資料汇编”第三輯出版。其內容概括地介紹家畜人工授精的現狀和发展前途、稀釋液的配制、冰冻和干藏精液的方法以及貯存技术等,供各地研究此項問題时参考。

中国农业科学院情报資料室

中国农业科学院畜牧科学研究所

1959年10月

目 录

家畜人工授精的现状和前途.....	1	公牛精液低温冻结的一些方法及其	
哺乳动物精子的低温打击理论.....	7	对受精率结果的影响.....	87
超声波对家畜精液稀释液防御特性		牛精液的冻结保存及其效果.....	69
的作用.....	11	牛精液的低温保存在人工授精上的应用.....	72
* * *		冻结精液在牛只日常输精上的应用.....	74
抗菌素、磺胺制剂和维生素		在-70°C冰冻公马精液时某些因素	
对精液体外保存的作用.....	14	对其稳定性的影响.....	77
卵黄-檸檬酸稀释液和卵黄-氨基乙酸稀		公羊精液低温保存法.....	79
液对公牛精液受精力影响的比较.....	26	在综合稀释液中保存家兔精液时对受精、	
果糖在人工授精中的作用.....	28	后代生活力和性别的影响.....	80
利用乳汁作为家畜精液的稀释液.....	31	冰冻精液的制作技术.....	84
利用牛乳稀释公羊精液的效果.....	32	未稀释公猪精液的保存与检查方法.....	84
牛乳的特性.....	33	高气温时公牛和公羊精液的保存.....	89
公猪精液的综合稀释液及其保存方法.....	34	采用不降温以酸抑制精液的贮存方法.....	91
关于家畜精液在冷冻状态下		家畜精液的干藏法.....	102
保存问题的研究.....	39	介绍苏联有关冻干精液操作技术过程.....	104
关于精液的保存方法.....	45	磺胺化合物有辅助二氧化碳可逆地	
精液的低温保存.....	58	抑制精子的新陈代谢的作用.....	107
冰冻状态中长期保存公牛的精液.....	61	用二氧化碳作精子新陈代谢的	
在-78°C的冰冻状态中长期贮存		可逆性抑制剂.....	108
牛精液的方法.....	64	* * *	
牛精液的低温贮存和运送.....	65	人名对照表.....	110

家畜人工授精的現狀和前途

院士 米洛瓦諾夫 生物学博士 索科罗夫斯卡娅教授

家畜人工授精是大規模地、迅速地改进家畜生产率的一种十分有效的方法，由于这样，致使当今的畜牧工作者如不采用这一方法，其工作则不可想象，因为用人工授精法能够从优良的种公畜获得全部仔畜。这就是人工授精在世界各国，尤其是在那些畜牧业集約經營以及管理水平較高(包括育种工作)的州和区获得广泛应用的原因。

随着飼料基地的改进，畜群生产力的提高，人工授精的作用日益增大。例如，通过品种間杂交任一美利奴公羊都可用来改进粗毛羊的羊毛产量。但是，在每只羊平均产毛量不到7公斤的羊群中，为了进一步提高产毛量，必須养有剪毛量不少于10—12公斤的公羊。

在每头母牛的年平均挤奶量約为1,000公斤的牛群中，完全可以用那些第一代母牛能产奶1,200—1,500公斤的公牛作种公牛。但是，当挤奶量高达3,000—4,000公斤时，这种种公牛就会起不良作用。如果再进一步提高牛奶产量，那么要找到适当的种公牛就会更加困难。

家畜人工授精首先在苏联研究成功，远在革命前的年代里，伊瓦諾夫就进行了馬的人工授精；自1928年起开始进行羊的人工授精；1930年起，以全苏畜牧研究所繁殖生物学系的科学工作者为主进行了牛的人工授精。

苏联在战争爆发前一年(1940)，羊的人工授精总头数約为2,000万只，牛为150万头。

人工授精在下述几方面起着巨大的作用：通过与細毛种公羊的大規模杂交建立起苏联的細毛羊养羊业；在国家种畜繁育工作站的地區保持杂种和純种乳用牛；育成新的品种。

到1951年，羊的人工授精恢复到战前的規模。但是，更加迅速的发展是在苏共中央九月全会之后。1955年，羊的人工授精头数为2,100万只，1957年为2,600万只，1958年約达3,000万只。

人工授精不仅能够用有限的公羊将粗毛羊改变成細毛羊，而且在目前也是提高細毛羊群生产性能的一项有力措施。

其他人民民主国家也正在发展羊的人工授精，尤其是在保加利亚(羊的人工授精头数一年有250万只)和羅馬尼亚。

1936年的世界记录是一只种公羊在一个季度內授精了15,000只母羊(斯塔夫罗波尔边区)。1957年，这一记录被打破。在涅文諾麦斯克国家种畜繁育工作站的工作地区，在全苏畜牧研究所繁殖生物学系的领导下，有一只№2—57种公羊(全苏农业展覽会的冠軍，活重134公斤，剪毛量21公斤，經后裔測定，証明它具有改良作用)曾給該站所屬的16个集体农庄和国营农場的17,680只母羊进行了人工授精，并且从16,958只受孕母羊中获得18,414只羔羊。这样，一只公羊可以代替自然交配时所需的1,000只公羊，而且这些公羊在

多数情况下質量不好，或者是中常而已。这一记录証明了采用人工授精在技术上是可行的。上述經驗也証明，在一般农場的条件下，一只公羊授精5,000—6,000只母羊是不难做到的。

1958年，中国河北省张北县人民公社“五花”人工授精站的一只从苏联引进的高加索細毛种公羊，在125天内曾給21,254只母羊授了精。这还不是极限，因为在技术上有可能使一只种公羊在一个季节内給30,000只母羊授精。

在資本主义国家的养羊业中，人工授精完全沒有采用，或者是极少采用。显然，这主要是由于养羊业的管理方法粗放以及20年来試驗工作失敗所造成的。

由于巩固了飼料基地，提高了集体农庄經濟利益，从而增加了产奶量。因此，近年来牛的人工授精在苏联获得了特別迅速的发展。国营农場和集体农庄的畜牧人員懂得，在飼料得到保証的条件下，只有改变家畜本身的質量、用遺传品質优良的高产牛代替低产牛才能进一步不断提高挤奶量。

地方組織在采用新的組織形式——大型的国家或联合(集体农庄之間)人工授精站方面表现出許多主动精神。

1936—1939年，在阿斯坎尼亚諾瓦、塔吉爾斯克、普里什克宁斯克、沃洛科拉姆斯克及其他国家种畜繁育工作站首次試行建立統一的、国家的或集体农庄間的人工授精站。从1946年到1955年宣传了这一更为完善的組織形式，而且在1955年广泛开始了改組人工授精网的运动。

近3年来，苏联主要是在过去的国营种馬場和国家种畜繁育工作站的基础上建立了900个国家人工授精站。每个授精站負責5,000—50,000头母牛。在育种区，育种站和人工授精站是該地畜牧业的組織和技术工作的中心。它們深入地进行选种育种工作，通过

人工授精合理地利用优良种公畜，为集体农庄商品性生产畜牧場培育价值高的种用幼畜，对种公畜进行后裔測驗。

苏联的人工授精站主要有三种家畜的种公畜。每个站的种公畜头数为：成年公牛25—30头，公羊10—30只；公馬10—20匹。授精站用的飼料由自己生产。

授精站工作的組織形式很快地有了改进。近年来，成立了中央公牛冷冻精液貯存室。根据国内的申請由貯存室分发精液，此外，貯存室还与国外交换优良种公牛(后代經过鉴定)的精液。全苏畜牧研究所繁殖生物学系所领导的中央人工授精站成立这样的精液貯存室已有好几年了。目前，世界各国用冷冻精液授精的母牛为数不多，但是建立貯存室为育种工作开辟了广闊的前途，使之能够自如地安排家畜的配种計劃和进行公牛的后裔測驗，而不受时间和地区的限制。

为了将最有价值的公牛精液由国家育种場运往其他畜牧場，而开始更加广泛地建立起一种新的人工授精組織形式。育种場內集中有优良的种公畜，但是配种利用率很低。如果广泛地应用这些公畜就会产生巨大的經濟效益。而且，国家育种場的育种工作不会受到任何的損失。从每头优良种公牛每周至少可获得10毫升純精液，或者是100毫升稀釋精液(稀釋10倍)。这些精液足够給100头母牛輸精之用。这样，每头优良的种公牛在一年內可授精5,000头母牛左右。

成立这种組織使之有可能只从优良的种公畜获得全部仔畜。这项工作已經部分地由全苏畜牧研究所中央人工授精站(該站負責从优良的育种单位运送精液，并进行国际間的精液交换)、古比雪夫、捷列津斯克以及其他人工授精站进行。1958年，涅文諾麦斯克国家种畜繁育工作站的一只种公羊創造了授精17,680只母羊的记录。完全有可能成立一种站內沒有种公畜、而只从育种場运送精液的

人工授精站。这种組織应当在苏联以及各人民民主国家加以推广。

我們的大型育种場可以繁育出大量的优良种公牛和种公羊(有最优良种公畜的血統),并且能彼此互相合作,使每个育种場主要地繁殖某几种品系的家畜。这种育种場可能而且应当交换种公畜和精液,并在社会主义协作范围内帮助邻近的国营农場和集体农庄改良家畜。

大型人工授精站的工作成果表现为牛的人工授精头数迅速增加。苏联过去是、现在仍然是采用人工授精的先鋒。1958年,苏联人工授精的家畜为3,500万头。1959年计划人工授精1,000万头母牛和4,000万只母羊。

可以拿古比雪夫州人工授精站作为例子来说明。該站于1956年成立,业务范围遍及州內各区,現有56头特級种公牛,20头最高记录的种公牛,1958年帮助州內的集体农庄从特級种公牛获得了33,000头犏牛。而在該站成立之前,集体农庄只获得1,000头这样的犏牛。1959年预期可从特級种公牛获得55,000头犏牛,即比該站成立前增加54倍。同时,到1957年母牛的空怀率降低到3%。1955年成立的“捷列津諾”育种場(乌克兰苏維埃社会主义共和国)人工授精站也达到这样高的工作水平。該站的工作規模一年比一年扩大,它所服务的区由1955年的4个增加到1957年的14个,牛的人工授精头数由2,060头增加到32,520头,羊的人工授精数由1956年的604只增加到1957年的8,410只。

“捷列津諾”人工授精站有5个品种37头种公牛。1957年,每头性成熟的公牛平均授精1,400头母牛,幼年(2—3岁)公牛平均授精807头母牛。1957年,有一头西明塔尔种公牛“別利亚克”(白色,活重1,100公斤,母牛的产奶量为10,995公斤,含脂率4.87%)創造了授精4,906头母牛的记录。此外,“科迭克斯”公牛授精3,767头母牛,“巴兰斯”公牛授精

3,273头母牛。該站工作的結果,1956年人工授精的母牛在1957年有90%产犏(全区的变动幅度为74—93%),第一次授精的受胎率平均为75%。

在德意志民主共和国有一头“布帖里克”公牛一年內授精了6,016头母牛。目前,美国利用公牛的纪录最高。有一头哥耳什亭种公牛“涅朴通”在6年之內授精了119,000头次,平均每年18,000多头次,1957年最多达24,766头。这比自然交配增加300多倍。有趣的是这头公牛的20头女儿平均比其亲代母牛多产奶349公斤,即多产乳脂11.3公斤。后来几年又对这头公牛的50头女儿进行了检查,产奶量增加了454公斤,亦即乳脂增加了24公斤。这头公牛属于“美国育种工作者协会”(Американские Бридеры Сервис)洛克菲勒、普兰提斯的私人农場。

苏联許多人工授精站的家畜受胎率很高。例如1957年,根尼契斯克、尼古拉耶夫、奥德薩人工授精站在母畜发情期內,一次授精的受胎率为90%,二次授精的受胎率达100%。在基洛夫格勒、捷列津斯克、德罗女貝奇、尔沃夫人工授精站;一次授精的受胎率为80%以上,二次授精的受胎率达100%。

以牛的人工授精比例論,捷克斯洛伐克居第一位(約90%)。在德意志民主共和国,人工授精的牛只占48%,1960年计划达到75%。在苏联,按母牛的人工授精比例計算,乌克兰苏維埃社会主义共和国居第一位(46.5%),摩尔达維亚苏維埃社会主义共和国居第二位(23%)。在俄罗斯苏維埃联邦社会主义共和国的个别州(古比雪夫等州),有46%的牛只进行了人工授精,在許多地区(沃洛格达州、普里舍克斯宁区、波尔塔瓦州的波尔塔瓦区、列舍捷洛夫区、赫麦州的列别丁区、罗緬斯克区,等等)母牛和母犏的人工授精头数达100%。

目前,人工授精的組織具有决定性的意义,因为只有建立大型的授精站和很好地組

精液运输工作才能完成人工授精的基本任务——显著增加选择种公畜、不断执行同种选配原则以及从最优良的特级种公畜获得全部仔畜的可能性。

在苏联有一些加盟共和国，人工授精站所利用的公牛差不多百分之百地被评为特级牛和特级记录牛，例如，爱沙尼亚苏维埃社会主义共和国为100%，拉脱维亚苏维埃社会主义共和国和立陶宛苏维埃社会主义共和国为99%。在乌克兰苏维埃社会主义共和国用来进行人工授精的公畜中，98%的列别定牛、93%的爱沙尼亚牛和90%的草原红牛属于特级牛和特级记录牛。但遗憾的是，有一些地方在进行人工授精的同时，仍然有50%左右的后代是获自质量不高的公牛。

在畜牧业实践中，由于日益广泛采用人工授精及其新的组织形式，因而要求不断地改进人工授精技术，以便能够根据生物学特性的知识，经济而又熟练地进行这项工作。

精液运输问题占有首要地位。在那些铁路和公路网密布的较小国家中，这一问题易于解决。例如，在德意志民主共和国和其他一些主要是利用定期的铁路和公路运输来运送精液的国家，精液的运输组织得合理而又经济。

在苏联及其他一些国家的地理条件及地形变化多端，因此需要相应的各式各样的运输工具。在铁路及公路网不发达的地区，人工授精站应随地形及季节的不同而准备不同的运输工具，如汽车、机动双轮滑板车、摩托车、自行车、两轮车、乘马，必要时还应有直升飞机。人工授精站的工作是否有成效是看其能否经常不断地将精液供应给有母畜群的农场。

人工授精用具的质量如何也非常重要。各国都曾研究和采用采精和人工授精用器械。目前所用工具的构造都不相同，并有很多工具已陈旧过时，随着时间的不断前进

而不能符合新的要求。不断发展是各种技术的特征。在我们这个时代技术的发展特别迅速：生产过程机械化与自动化越来越普遍，并且出现了很多新材料，其中最值得注意的是人工合成聚合物，此外还制订了工艺加工的新方法。有色金属及玻璃已可用塑料取而代之。某些用植物性和动物性产品制成的塑料，如赛璐珞、硬橡胶、醋素赛璐珞等，在技术上已逐渐陈旧，在经济上又无利，正由效果较好的合成聚合物所代替。在制备人工授精器械时，这些问题都应予以考虑。

此外，家畜繁育生物学和人工授精方面所取得的科学成就，一方面使我们有可能更好地保存稀释精液、提高受孕率、防止疾病传播，同时也要求在实践中采用新器械及其他必需的技术方法，如冷藏设备、分装过程机械化、包装及绝缘材料等。因此，人工授精站的工作范围与技术装备和材料供应之间的不协调现象越来越显得突出和严重了。

必须指出目前尚未充分利用合成聚合物来制造人工授精器械和所用材料，特别是各地几乎都没有只供一次使用的器械。而用合成聚合物制成的输精用具、保温瓶、注射器、胶囊、假阴道、内胎和手套等既便宜又好用。用合成聚合物制造人工授精用具的技术十分简便，因为方法简单、价廉并具有保持无菌状态所理想的条件。应该不断地设计和试验新工具、新装备，逐渐过渡到用合成聚合物生产人工授精用具和材料，并在苏联和各人民民主国家之间经常地交换用具及生产技术资料。应改善人工授精所需用品的供应制度，不断提高各地人工授精的技术水平。

家畜精液稀释液的质量对人工授精工作十分重要。用各种不同的稀释液使精液保存在0°C条件下。有一些国家（如德意志民主共和国）多采用有机体本身液体（乳），但事先经过相当复杂的处理，在另一些国家（如波兰、捷克斯洛伐克），多用卵黄-柠檬酸盐两成份

稀释液，在苏联、保加利亚、匈牙利、罗马尼亚主要采用葡萄糖-柠檬酸盐-卵黄三成份综合稀释液。

我們研究出并采用糖(葡萄糖或果糖)、多价阴离子盐类(磷酸盐、酒石酸、柠檬酸盐)、卵黄或卵磷脂三成份综合稀释液。

三成份稀释液优于两成份稀释液。三成份稀释液能够更好地防止精子在保存过程中损耗和受到破坏，因为其中每一成份都具有某种重要的生物学功能。

与有机体本身液体相比，综合稀释液的优点是能够准确地调整综合稀释液的成份和各成份间的比例，并且合成稀释液的改进不受到限制。而有机体本身液体(如乳)，成份极不相同，并因供给者的生活条件不同而变化甚大，与综合稀释液相比，其制备程序并不简单，有时还更为复杂。

最近10年来苏联已研究出含制菌剂的酶素稀释液配方，其中含有粘蛋白酶、抗菌素和磺胺。这种稀释液已作过生产试验。苏联于1943年发现粘蛋白酶。粘蛋白酶不同于以前用的透明质酸酶，前者解聚的不是玻尿酸，而是母牛子宫类分泌物的含硫胶体，因此改善了精液通过母畜生殖道的条件。在3,500头母牛的试验处理中，采用粘蛋白酶，受胎率平均提高12%，在各母牛群中受胎率分别提高3—69%。

为获得上述效果，仅需要0.25毫克干燥酶素，但在实际运用酶素时产生过一些困难，因为不是在各地都有可能进行酶素加工，以及精确地定酶素和制菌物质的剂量。因而曾采取过一些措施，以便在实践中能更广泛地应用含制菌剂的酶素稀释液。为此，全苏畜牧研究所曾研究制备含粘蛋白酶和制菌物质的稀释液干剂的工艺技术。稀释液中含有氨基乙酸、柠檬酸钠、卵黄或卵磷脂、粘蛋白酶、抗菌素和磺胺等成分。

稀释液可以生产呈真空干剂状、粉状或

片状。自1950年起，全苏畜牧研究所生产了并在人工授精的实际工作中采用剂量为500万单位以上的含制菌剂酶素稀释液干剂。从1958年年底起，精液稀释液干剂由生物工业部门开始生产。

人工授精的成效在很大程度上取决于精液评定是否正确。我們拟定的公牛精液品质评定法可在各处推广采用，并适用于各种不同稀释液品质比较评定——这方法是测定精子的存活时间绝对指数。该方法的优点在于能比较正确地评定精液品质，因为采用这一方法能计算出精液稀释最适倍数和正确的时间因素。精液品质的第二个重要指标是抗力系数。

近年来，测定精液抗力系数的技术已有改进，由于精液抗力系数及其受胎率之偶呈正比例的关系，因而这一评定法被广泛采用。

精液冷冻贮藏技术近年来越渐普遍。其优点为：精液的运输和珍贵种公畜精液利用期的延长有可能不受什么限制。苏联在家畜精液干藏上取得了良好结果，并在继续研究大家畜的精液干藏法。

在30年代里，我們曾借助弱酸的作用使可逆酸钝化，而不再行冷却的方法，进行精液短期(几天)保存试验。

在苏联、捷克斯洛伐克、波兰及其他国家正继续研究用酸钝化法的各种处理保存精液的方法。在人工授精的实际工作中输精技术也非常重要。

大多数国家都将精液注入子宫颈。应用这个方法不同之处仅在于有些国家习惯用阴道开张器，而在另一些国家输精则用隔直肠控制法。

从苏联所进行的研究看，公牛精液注入子宫颈较之输入子宫内，精子存活时间和母牛受胎率都要高些。采用这种方法，子宫受感染以及流产的危险性较小，因而将精液注入子宫颈是比较合宜的。

在实践中精液用量问题也很重要。因家畜种类不同，各国所用精液稀释倍数以及稀释精液的用量也不相同。

在苏联已研究出因综合稀释液稀释精液的最适倍数而异的精液稀释，以及因精液抗力系数和浓度而异的精液用量，这些都已大量推荐采用。采用这种方式后受胎率将普遍提高7—10%，并能合理利用优质精液。

公母畜的合理饲养对于人工授精的效果具有非常重要的意义。不仅应注意日粮的总营养价值，还应注意饲料的成份。

种公畜、母畜及其配子由于性别不同，其间存在着生理学上的自然差异。而与此同时，不同的饲料也会加强或减弱此种自然差异性。谷类饲料（谷类、麸皮、豆饼）能使氧化作用强于还原作用，这本为公畜的代谢作用所固有的特征，谷类饲料中还含有产生精液所必需的磷。青饲料（植物绿色部分及青贮饲料）、干草能使还原作用强于氧化作用，此为母畜代谢作用的特征。青饲料中含有生殖所必需的钙和胡萝卜素。

在苏联利用两性间的生理学差异和不同饲料的生理作用特点，为种公畜和母畜制订了并应用着不同类型的日粮。为获得较高的受精率，种公牛的日粮中在保证较高的总营养价值和有一定量的胡萝卜素（每公斤活重不少于1微克）的情况下，谷类饲料应占70—75%。母畜的日粮恰恰相反，其中70—75%应为青饲料。

不同类型的饲养条件，一方面自然地加强有机体及其配子业已形成的两性间差异，同时大大提高受胎率，这种方法也有可能被普遍推荐为获得母牛较高受胎率的主要条件。

在公畜日粮中加入一些动物性饲料，将会加强这种方法的效果。根茎类饲料对公畜

有特别的作用。根茎类饲料能强化性反射，但不能改善精液品质，也不能提高受精率，如日粮中根茎类饲料数量多，甚至会降低受精率，公畜日粮中根茎类饲料所占的营养价值最好不要超过5—10%，并以红色胡萝卜为宜，因其胡萝卜素含量丰富。

在德意志民主共和国和捷克斯洛伐克为种公牛生产一种标准混合饲料，其中含有矿物质饲料及动物性饲料，这一点极有价值，值得推广。在缺乏某种微量元素的地区，可在混合饲料中加入这种微量元素。

在苏联根据巴甫洛夫条件反射学说，制订了并且有成效地采用着防止公牛性反射作用抑制及举止狂暴的方法。在捷克斯洛伐克，则根据公牛神经系统类型来制订公牛利用方法。在人工授精实际工作中广泛采用这些方法与措施。

养猪业中人工授精的作用日益显著，这不仅能加速良种化的过程，并能加速和提高种猪场猪的生产率，降低成本。为一产母猪授精时，人工授精能取得显著的经济效益，因为采用人工授精法后能大大减少公猪数，而相应地增加了母猪群。

全苏畜牧研究所在30年代基本上已研究出猪的人工授精技术。近年来的研究表明，在一次发情中授精一次的受胎率约为75—80%。

苏联及各人民民主国家的畜牧工作者在研究和推广人工授精方面曾进行了很多工作。

为了更快地提高畜牧业生产率，就要求社会主义阵营国家的畜牧工作者更紧密地团结起来，并创造性地致力于研究，以进一步改善和推广能控制家畜繁殖的人工授精法。

（蒋建平、单明端译自“国际农业杂志”，

1959，4，102—110，道良佐校）

哺乳动物精子的低温打击理论

院士 米洛瓦諾夫 生物学博士 索科罗夫斯卡娅

在家畜的人工授精工作中，精子的低温打击具有颇为重大的意义。精子因低温打击而产生的骤然死亡，给精液的采取和工艺处理造成很大的困难，同时，也增加了人工授精用房舍的造价。

低温打击的有害影响，不单单限于有效精子百分数的降低这一点上。经低温打击过的精子所产后代，存活率低，活重变化幅度大，生长较缓（索科罗夫斯卡娅，1951）。我们在向集体农庄和国营农场畜牧生产中广泛推行人工授精的同时，也应当提出以正确理论为依据的、防止这一危害现象的可靠方法。目前知道有几种减弱低温打击的实验方法，然而，从发现这一现象（米洛瓦諾夫，1932）以来的28年中，并没有人找出原因和提出有根据的理论。根据在精子生物化学和生理学中所得的一些新事实，有可能建立通过实验检验的精子低温打击理论。

只有刚射出体外的新鲜精液才易遭受低温打击。从副睾取得的精子，也就是说尚未与副性腺分泌物接触的精子，几乎不产生低温打击现象（列斯利和馬伊耶尔，1944）。

已射出体外的并置于室温下3—4小时的精子，对低温打击不敏感（莫罗左夫，1950）。

因此，精子易于遭受低温打击，并非其組織上所固有的，而仅仅是发生于刚射出体外条件下的“临界期”内。牛羊精液在数小时内由体温温度徐徐冷却到0°C，可消除低温打击现象（米洛瓦諾夫，1934—1951；斯卡特金，

1940；莫罗左夫，1959；等等），这一事实不应看作是精子“适应”或“习惯”低温的现象，而应看作是低温打击现象的暂时性结果。我们知道，鸡卵黄，以及卵黄、卵巢黄体 and 动物大脑中的磷脂，甚至是植物性的磷脂，都有防御精子不发生低温打击的作用，在精液较快地冷却到0°C时，也不发生明显的危害性（米洛瓦諾夫和謝利瓦諾娃，1932；費利浦斯和拉爾迪，1940；舍尔布，1951；等等）。对这一现象，曾试用精子表层磷脂增多的原因来解释，但这种解释在逻辑上又讲不通：精子本身就有大量磷脂（7—9%左右），它不仅富含于精子尾部（达80%），头部也存有大量磷脂（曼恩1954；馬伊耶尔，1955）。为什么这些自然有的磷脂不能使精子免受低温打击，而加进外源的磷脂又能防止它呢？显而易见，二者是不一样的。

还在1930年，瓦西里·梅尔扎曾从組織化学上指出，精子体部和尾部与亚硫酸复红一起产生醛反应，这一醛反应恰与卵磷脂反应相吻合。这就使人对精子内含有卵磷脂的說法产生怀疑，因为卵磷脂不产生醛反应或“糖醛”反应（Плазмальная реакция），最近几年，英国的一些生物化学家（拉常恩、奧利、加尔特里、曼恩，1957）证实了哺乳动物（公羊）精子内完全不含卵磷脂。一些被许多人看作是精子卵磷脂的物质原来是糖醛磷脂，糖醛磷脂不同于卵磷脂的一点是其中不含脂肪酸根，而含有脂肪醛根。这类醛一般是属于极不溶性脂肪酸——硬脂酸和软脂酸（图1）。例

如, 軟脂酸 $\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_{14} \cdot \text{COOH}$ 的熔点为 $63-64^\circ\text{C}$, 其醛类为 34°C ; 硬脂酸的熔点为 69.3°C , 其醛类为 63.5°C 。

自精子内分出的此类磷脂質(縮醛磷脂)的有机溶液, 一般都是淺灰褐色的硬蜡状物, 呈硬固的結晶状(坦加烏慎、班科多和史密特, 1951)。

从鷄卵黃或大豆的同样溶媒中分出的卵磷脂, 是淺黃色半液状物。这种卵磷脂和縮醛磷脂不同, 它含有的不是醛, 而是脂肪酸, 一

般含有不少于50%的液状不饱和酸。油脂酸 $\text{CH}_3 \cdot (\text{CH}_2)_7 \times \text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7 \times \text{COOH}$; 熔点約为 14°C ; 以及較少量的飽和酸(有二双鍵): 亞麻油二烯酸 $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4 \cdot \text{CH}=\text{CH}-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}-(\text{CH}_2)_7 \cdot \text{COOH}$ 。据尼德格姆(1931)謂, 鷄卵黃的卵磷脂脂肪酸, 可見到有下列組成比例: 油脂酸——33%, 亞麻油二烯酸——24%, 軟脂酸——28.5%, 硬脂酸——14.2%。不过, 这一比例随母鷄的飼养不同而改变, 这一点我們下面还要談到。

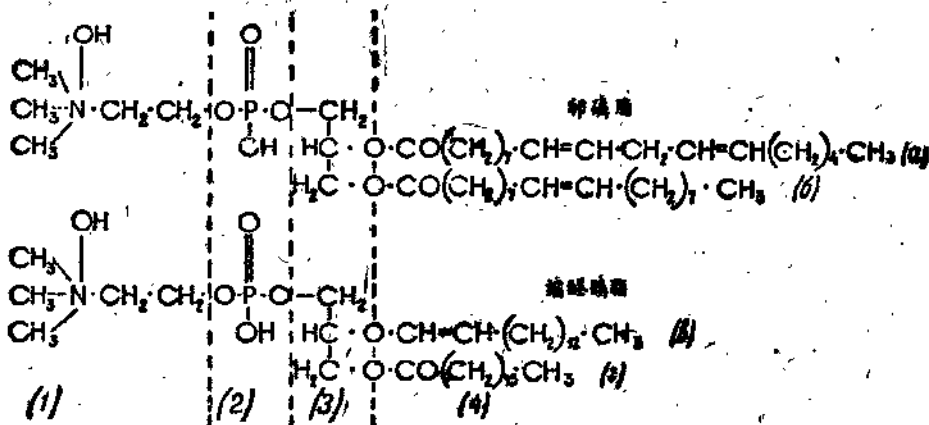


图 1. 卵磷脂和縮醛磷脂的分子结构。

(1)胆碱; (2)磷酸根; (3)甘油根; (4)羧基;

(a)亞麻油二烯酸; (b)油脂酸; (c)軟脂酸; (d)硬脂酸。

因此, 我們从逻辑上得出結論, 从理化特性看, 精子的磷脂与卵黃或大豆的磷脂大不相同, 并且不能防御精子不遭受低温打击。

为什么精子的自然有的磷脂不能防御低温打击, 而外源的非精子原有的卵磷脂却能在临界期防止低温打击的出現呢? 我們的結論是: 这主要是因精子縮醛磷脂的物理特性不良所致。縮醛磷脂是不熔的, 也就是冷却时容易硬化, 这样就閉塞了維持体外精子生命过程的整个新陳代謝的反应系統。由副墨中取得的精子对低温打击之所以不敏感, 就因其新陳代謝作用由于副墨管内氧不敷呼吸所需和糖不足酵解所用, 而被强烈抑制着的緣

故(柏香, 1956), 但当精子射出体外时, 因受副性腺分泌物的影响, 精子的呼吸过程和糖酵解过程轉趋旺盛。我們知道, 精子的內呼吸产物是脂肪酸和甘油, 二者产生于精液射出时即行开始的縮醛磷脂酶作用递减过程中(曼恩, 1954, 1958)。由于縮醛磷脂硬化, 不仅将会使呼吸受到閉塞, 而且在相当大的程度上也抑制着糖酵解作用, 因为在糖酵解过程中不断被破坏的三磷酸腺甙再合成所需的磷脂, 代謝受到破坏。事实上也发现精子遭到低温打击时, 精液內不見有三磷酸腺甙存在(曼恩和柳特瓦克, 1955)。

牛羊精液置于室温下3—4小时后对低

溫打击不敏感，可能是在这一段时间内有足够量的糖甾磷脂得以分解，所需代謝产物也正在积累起来的关系所致。很早以前，业已知道新鮮精液中不含有胆硷，胆硷是当精液处于体外时积聚起来的事实（卡甘涅和列維，1937）。胆硷在精液內的积聚証明了有磷脂分解过程和由此而生的代謝产物积聚过程存在。

由此可見，精子低溫打击“临界期”的出現，是精液射出体外一刻被强化的精子新陳代謝作用与其进行的过程，因精子的不溶性磷脂主要代謝产物（糖甾磷脂）硬化而發生的不可能性二者之間存有矛盾的一种結果。

精液冷却时，精子的运动不立即停止，到0°C时，磷脂业已硬化，而运动仍繼續一段时间，这时，精子的体部和尾部也可能受到机械性损伤。援引下一事实足資証明，受到低溫打击的精子，其尾呈环状弯曲。精子的运动变成繞圈运动或原地运动。

我們加入的易溶性卵磷脂（俾能保护精子免受低溫打击），肯定进入精子内部（这可应用含示踪性放射磷的卵黄来証实，帕克納斯）。所有一切自然的脂肪和磷脂質，一般都不是純物質，而是几种相互溶解的物質之混合物。在这类混合物中，几种物質的相互溶解性和超出液相的結合，生成脂肪物質。

这样一来，保护精子免受低溫打击的任务在于，将精子的硬固状飽和磷脂質軟化为含有大量不飽和脂肪酸的半液状磷脂質。

这一精子低溫打击理論，可通过各种方法檢驗。

为解决檢驗理論作的試驗在于比較研究各种磷脂質制剂的防御作用。

1. 精子浸出液（在一定条件下，称作“糖甾磷脂”）。取冻藏牛羊混合精液，用96°乙醇浸出，俟酒精蒸餾后，得到褐色蜡状物。

2. 卵黄浸出液（在一定条件下，称作“卵磷脂”）。用上法制得，淺黃色，有“卵磷脂”芳

香气味，半液状物。

3. 大豆浸出液（“脑肌醇磷脂”）。

这些浸出液以0.04—5%的量加到基础溶液內。基础溶液由1.11克氨基乙酸、1.56克五水檸檬酸三鈉、100毫升蒸餾水組成，并加入常量的磺胺、青霉素、鏈霉素和粘蛋白酶制剂。将公牛一次射出的精液分成几份再用制成的溶液稀释，对照的用不加磷脂質的基础溶液稀释。試驗結果如下表。

	稀 釋 液			
	加卵 磷 脂	加腦肌 醇 磷 脂	加糖甾 磷 脂	不加磷 脂 質
精子低溫打击后的活力 （与原有活力相比）	0.9	0.9	0.2	0.1
精子相对存活時間指數 （不加磷脂質=1）	18	9	3	1

由表可知，卵黄和大豆的磷脂質，能使低溫打击后的精子活力增强9倍，保存于0°C的精子，其存活時間也至少高出9倍以上，而精子自然有的磷脂，仅能使上述指标分別高出1倍和2倍。

精子“自身”有的磷脂質，正如我們理論上所得結論那样，并不能消除低溫打击，但是，外源的大豆磷脂質（脑肌醇磷脂）对精子的防御作用不次于卵黄。大豆磷脂質分子中含有的不是胆硷，而是六原子的肌醇。由此可知，造成磷脂質的重要的防御作用不是其化学结构，主要是其物理特性。

在第二次試驗中，我們研究了得自卵黄的各种磷脂浸出液的防御作用。新鮮卵黄（未干燥的）如用96°乙醇浸泡多次，每份单独蒸干的話，則因卵黄中含有水分，磷脂質的亲水性較高的“卵磷脂”部分成为最初的三份，而卵黄磷脂質的疏水性較高的“糖甾磷脂”部分，則从乙醇所处理的細胞中轉为最后的几份。先生成的是半液状物，淺黃色，有“卵磷脂”的芳香气味，后生成的是蜡状物，褐色，具有高懸的雅聞气味（索科罗夫斯卡娅、別耳凱維奇等，1969）。

对卵黄乙醇浸出液的这一些不同部分，曾进行过各自抗低温打击的防御作用及延长公牛精子存活时间的能力的测定（图2）。由图2可看出，卵黄磷脂先生成的液状亲水部分，其防御特性和稳定精子存活时间的能力最好。后生成的部分尽管具有良好的抗低温打击的防御特性，但其稳定精子存活时间的能力较先生成部分低一半。最后四份“浓缩磷脂”部分与对照组相比，几乎不具有防御和延长精子存活时间的作用。这一次的研究也证实了我们关于液状磷脂质为防御精子不发生低温打击所必要的假定。这样，磷脂质的防御作用实与其易溶性和亲水性程度有关。

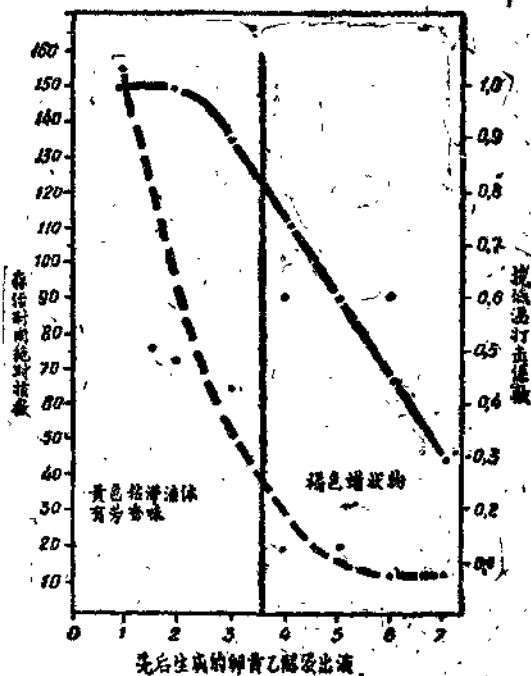


图2 鸡卵黄各次生成的磷脂浸出液对公牛精子的作用。

- 精子 0°C 时的存活时间绝对指数
- 抗低温打击系数（与新鲜卵黄的作用相比，12%）

第三次试验表明，不溶性脂肪和易溶性脂肪乳剂都不具有保护精子免受低温打击的

能力，但葵子油除外，它多少有些防御作用（看来，恐系未提纯的油中含有卵磷脂的关系）。

正如一再所肯定的那样，具有抗低温打击的防御作用不只是磷脂质，脂肪也具有此种作用，而且脂肪的作用常较磷脂质为大（舍尔巾，1951；卡朴什密特，马伊耶尔和格尔曼，1953；等等）。这类约含有30%磷脂质的不稳定性化合物有亲水性，加入水中呈粘滞性的悬浊液，溶于5%氯化钠溶液，此一盐类的弱溶液即可将其破坏（李、霍克，1952）。看来，这类化合物的亲水性特性有助于卵黄的磷脂越过异相界面（脂肪——水和水——脂肪）而复分解为精子脂肪层的成份。这里，蛋白质犹如磷脂的导体。显然，加到稀释液中的纯磷脂，借助于蛋白质也表现出相当大的作用，因为精子周围的水液实际上从不含有精液蛋白质，而卵黄的卵磷脂是与它一起进入脂肪化合物中的。脂肪的这一特性，可用里克纳斯彼耳的试验结果来解释。里克纳斯彼耳除去卵黄稀释液中全部有形的乳化脂类成分，得到脂肪溶液中所含的透明液体，具有抗低温打击的防御作用。

我们在斯米尔诺夫-乌格留莫夫（1958）用葵子油精炼后的磷脂残渣饲喂公牛的试验中，也找到我们的理论根据。在这次试验中，精子抗冷冻性和抗低温打击性提高。斯米尔诺夫-乌格留莫夫以后用家兔所作的试验，也表明家兔喂以液状葵子油（相当于磷脂）日粮，结果也使精子的抗冷冻性提高。与此相反，有一组日粮中加入富含硬脂酸的硬固牛脂，精子抗低温打击性降低，虽然精子置于室温下仍呈有很高的抗力系数。

通过种公畜的特异饲养来提高精子的抗冷冻性，无疑地具有很大前途，因为这样做可将那些迄今尚不能作精液冷冻保存的公牛精液在冷冻状态下保存。

最后，根据我们的理论，可以作出关于通

过产卵母鸡(用其卵配制稀释液)的饲养,来提高精子抗低温打击性的假定。这一假定的根据源自下列关于饲料对卵黄卵磷脂的碘价影响材料(尼德格姆, 1931): 在无脂类日粮时, 碘价为34.8, 在谷类(稻米、大麦、豌豆)日粮时, 碘价为63.5—72.5, 加入亚麻仁油时, 碘价为73.4, 加入玉米(籽粒)时, 碘价为98.1, 加入大麻子时, 碘价为111.1。

最好是将产卵母鸡在不同饲养时获得的卵磷脂进行防御作用测定试验。因此, 也给用植物性磷脂质代替动物性磷脂质创造了很大的可能性。

这样一来, 上述的低温打击理论, 为进一步分析和完全掌握这一长久都是个谜的现象开辟了道路。

结 论

1. 根据自发现精子低温打击现象以来的

28年内所积累的事实进行的分析, 提出解释这一现象的理论: 新鲜精液冷却时, 精子新陈代谢作用的剧烈强化与主要代谢产物(缩醛磷脂)的硬化二者之间发生矛盾, 故有上述现象产生。

2. 对现有的防止低温打击方法(徐徐冷却、久置、应用磷脂质或卵黄)作了解释。

3. 肯定了具有防御作用的仅有得自卵黄或植物性的易熔性磷脂质。不溶性磷脂(如精子中的缩醛磷脂)几乎不能保护精子不发生低温打击。

4. 提出了提高精子抗冷冻性的新方法: 种公畜的日粮中加入富含不饱和脂肪酸的易熔性脂肪(亚麻仁油、鱼肝油等), 或在母鸡(专取其蛋配制精液稀释液者)日粮中加入富含易熔性脂肪的饲料。

(道良佐译自“全苏列宁农业科学院报告”,
1959, 8, 3—8; 李心光校)

超声波对家畜精液稀释液防御特性的作用

(米洛瓦诺夫院士推荐)

生物学博士 索科罗夫斯卡娅

生物学候补博士 别利克维奇

生物学候补博士 高利赛娃

生物学候补博士 莫图左娃

生物学候补博士 克柳查列娃

超声波能使有机体或其局部细胞致死, 也能使细胞分解成单个的细胞成分, 同时小剂量的超声波还能刺激某些生命过程, 加强杀菌物质的作用。超声波的处理效果在很大程度上取决于细胞的特点和有机体的发育阶段。

全苏列宁农业科学院研究了超声波对鸡

卵黄(精液稀释液的重要成分)脂肪球和卵黄粒分散程度和速度的作用, 以及超声波对处理过的卵黄防御低温打击、改进精子存活时间和消毒稀释液等的作用。(稀释液的配方如下: 蒸馏水1克, 檸檬酸鈉1.56克, 粘蛋白酶0.378克、卵黄12.5毫升、水100毫升)。

卵黄、去壳全卵、卵黄稀释液三者均經超

再处理3、6、9、12、15和18分鐘。

各项处理中分散程度的测定方法，是用螺旋式接目鏡測微計量出卵黃粒和脂肪球处理前后的直径，每一处理测量100次。此外，为能更精确地分出卵黃的脂肪成份，采用了尼罗蓝(硫酸盐)和苏丹Ⅲ組織化学染色法。

将不同浓度的經超声波处理过的卵黃加入公牛精液稀释液中，研究超声波处理对防御低温打击能力的作用(抗力系数——精子在迅速放入融冰中15分鐘后的活动力与受低温打击前的活动力的比例)，和稀释倍数不同精液在0°C下存活时间的作用。

卵黃和稀释液的細菌学检查是用肉羹培养基接种法。

卵黃(处理过的)稀释液干剂是在冷藏器温度为25°C时用离心法作亲液干燥(Лиофильная сушка)，繼而密封于安瓿内制得的。

在研究卵黃稀释液干剂对防御低温打击、精子存活时间和干剂本身貯藏时间的作用时，所用方法与用于非干剂的卵黃稀释液相同。

超声波处理时，卵黃粒的大小平均减小50%，这在处理卵黃时，需时9—15分鐘。处理全卵时，需时3分鐘。如用机械粉碎25分鐘，卵黃粒直径平均减少13%(玻璃粉碎器处理时)和22%(金屬粉碎器处理时)。卵黃在匀化器(Гомогенизатор)处理后，其卵黃粒的分散效果不如用超声波处理的，同时卵黃粒的大小也很不一致，而經超声波处理的，可以看出它的一致性。

在顯微鏡下比較卵黃(处理者与未处理者)涂片，处理卵黃中仅見有卵黃球的小裂片，未处理卵黃中則有不同形式和不同結構的卵黃粒。

超声波对脂肪球大小的作用不一样。随着处理时间的延长，脂肪球的直径相应地从90微米减小到36、26、22和20微米，但繼續处理时，脂肪球的直径又增加到25微米(处理15

分鐘)和46微米(处理18分鐘)。同时亦出現很小的和很大的脂肪球。显然，碎散的脂肪球具有結合在一起并形成大脂肪滴的趋势。

据公牛精子抗力系数的計算，卵黃(处理过或未处理过)量从12.5%減到6%和3%，对精子的低温打击的抵抗力实际上无影响。低温打击前后的精子活动力相差不过1級。

試驗証明，低温打击的作用不仅表现在精子活动力因迅速冷却而降低，而且也表现在存活时间的减少上。

下表的材料是卵黃加入稀释液中經超声波处理，对公牛精子存活时间的影响。

精子存活时间 稀释倍数	稀释液中卵黃的濃度(%)					
	3.12		6.25		12.5	
	超声波处理	未处理	超声波处理	未处理	超声波处理	未处理
2	107	106	74	109	155	178
4	109	139	144	121	155	185
8		114	148	139	154	162
16	113	114	114	112	133	125
32	95	95		80	123	124
64	94	95	96	67	123	97

由上表看出，經超声波处理和未經处理的卵黃，其精子存活时间和稀释的适宜程度并无太大的差异。把稀释液中的卵黃(經超声波处理和未經处理的)量从3.12%增加到12.5%，精子的存活时间也随之增加。

同时，肉羹培养基接种法用細菌学检查也表明，在无菌操作的条件下，在超声波处理的卵黃内微生物不能繁殖。

卵黃的脂蛋白質在精液稀释液中起着防御作用，能防止低温打击，并能提高精子在体外的存活时间。假如說，脂蛋白質的防御作用与卵黃的显微构造(特别是和卵黃粒的构造)有关，那末，脂蛋白質的分解就能增大总的的作用表层，从而加强生物学作用，或者破坏酶或其他生物学上的重要成份，使生物学作用减弱。

研究表明，卵黃粒在超声波作用下碎裂，