

家畜繁殖与人工授精

——全国第一届家畜繁殖与人工授精学术会议论文选编

中国畜牧兽医学学会编

农业出版社

家畜繁殖与人工授精

——全国第一届家畜繁殖与人工授精

学术会议论文选编

中国畜牧兽医学会编

农 业 出 版 社

封面设计 刘玉忠

家畜繁殖与人工授精

——全国第一届家畜繁殖与人工授精学术会议论文选编

中国畜牧兽医学学会编

农业出版社出版(北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 兰州新华印刷厂印刷

787×1092毫米 32 开本 11.5 印张 256千字

1980年8月第1版 1980年8月北京第1次印刷

印数1—6,500册

统一书号 16144·2108 定价 1.20 元

前 言

建国以来，我国在家畜繁殖科学和人工授精这一领域内有了很大发展。牛、羊、猪、马等主要家畜的人工授精已相当普及。特别是近几年，一些新的繁殖科学技术，如家畜精液超低温冷冻保存、同期发情、胚胎移植以及发情和妊娠测定等都已开始研究，虽然时间不长，但取得了一定成绩，有些已在生产中得到应用，对发展我国新兴的肉牛业和工厂化养畜业起了促进作用。但和国外先进水平相比，无论在理论上还是在技术上，都还有一个相当大的差距，应奋起直追，迎头赶上。

本汇编收集了全国第一届家畜繁殖及人工授精学术会议的论文报告，反映了近几年来我国家畜繁殖科学和人工授精技术上所取得的部分研究成果。在收集到的61篇论文中，有几篇已在《中国畜牧杂志》、《畜牧兽医学报》、《中国农业科学》上发表，因此，本集只刊登了48篇。本集可作为家畜繁殖科学及人工授精进展的一个记载。

毫无疑问，今后我国家畜繁殖科学和人工授精技术研究必将不断地发展，在今后多届全国家畜繁殖及人工授精学术会议的论文汇编中也必将不断增加新内容，并反映出新的水平，为我国家畜繁殖科学及人工授精技术现代化做出贡献。

郑丕留

1979年3月

目 录

牛精液冷冻保存和使用技术的进展·····	(1)
牛精液冷冻配方筛选和解冻温度	
对精子复苏率的影响·····	(19)
细管法牛冷冻精液技术的研究·····	(25)
延长牛冷冻精液解冻后精子存活时间的试验·····	(36)
延边黄牛冷冻精液长期保存及其	
使用效果的试验总结·····	(39)
水牛精液冷冻技术研究动态·····	(45)
水牛精液颗粒冷冻工艺流程试验报告·····	(62)
摩拉水牛精液冷冻初步试验·····	(79)
摩拉水牛精液颗粒冷冻试验简结——几种稀释液的比较、	
平衡温度与平衡时间的研究·····	(86)
本地水牛精液冷冻试验(摘要)·····	(91)
公猪精液冷冻技术的研究·····	(93)
猪精液冷冻技术研究·····	(99)
猪精液冷冻试验研究·····	(108)
猪精液颗粒冷冻试验(摘要)·····	(116)
国内绵羊精液冷冻技术研究进展情况·····	(119)
提高绵羊冷冻精液质量及受孕率的研究·····	(131)
绵羊精液冷冻技术研究报告·····	(153)

甘油在绵羊精液冷冻过程中保护作用的研究

——不同甘油水平对绵羊精液冷冻效果的影响.....(178)

滩羊精液冷冻技术的研究.....(184)

电子显微镜和光学显微镜观察精子顶体的

结果比较及其与夏配不返情率的关系.....(190)

鸡精液冷冻试验初报.....(197)

牛同期发情试验综合报告(1976—1978).....(201)

前列腺素诱发黄牛同期发情试验.....(212)

应用合成孕激素对黄牛同期发情试验.....(219)

15甲基PGF₂α和PGF₁α甲酯对母牛同期

发情效果观察.....(225)

十八甲基炔诺酮诱发黄牛同期发情试验.....(230)

水牛同期发情与定时输精试验报告.....(232)

利用氯地酚促使母猪同期发情试验.....(235)

应用垂体促卵泡素(FSH)及垂体促黄体素(LH)

促使母猪发情的初步试验.....(244)

绵羊同期发情试验的综合报告.....(247)

绵羊受精卵移植试验报告.....(253)

关于绵羊超数排卵的几个问题(摘要).....(264)

绵羊超数排卵及受精卵移植效果的探讨.....(269)

绵羊超数排卵试验报告.....(277)

我国牛胚胎移植成功.....(280)

黄牛受精卵移植试验.....(285)

牛胚胎移植试验初报.....(291)

家畜受精卵非手术移植技术的新进展.....(297)

广西桂南地区黄牛的发情、排卵、

输精适期和提高受孕率的研究.....(308)

湖北省本地黄母牛的若干繁殖情况观察·····	(313)
龙溪地区母水牛生殖活动一般规律的观察·····	(319)
黄牛卵泡发育状况统计·····	(326)
电测母牛发情试验·····	(328)
离子选择性电极和它在母马发情鉴定上的应用·····	(333)
发情母马子宫颈粘液蛋白质测定·····	(343)
母牛简易妊娠诊断方法·····	(348)
东北部分马场母马早期胚胎死亡的调查分析·····	(350)
前列腺素 F 及其类似物对奶牛持久黄体 性不孕症的疗效观察·····	(355)

牛精液冷冻保存和使用技术的进展

吉林省农业科学院畜牧研究所 杨学时

前 言

牛精液冷冻是二十世纪五十年代初由英国的波尔吉(Polge)等人提出的一项具有重大科学价值的新繁殖技术。它是建立在家畜育种工作的迫切需要和人工授精技术高度发展的基础上的。近代生理学、生物化学、分子生物学、低温科学、化工学、电子学以及超声波技术的进展,为精液的冷冻保存、运输和使用技术,提供了现代化的技术装备。又进一步推动了这项新技术,不仅在畜牧生产上获得显著的效果和广泛的应用,而且迅速地扩大到其它生物贮存和其它学科领域里的广泛应用。因此,由牛精液冷冻保存开始成功的新技术,被认为是畜牧业发展上一项划时代的科学成就。

家畜采用冷冻精液人工授精,具有重大的经济意义。用自然交配(本交),一年一头种公牛只能配二十到三十头,最多不过五十头母牛。用液状精液亦即鲜精低温($0-10^{\circ}\text{C}$),或常温($15-25^{\circ}\text{C}$)保存的精液人工授精,每年只能配几百头,顶多上千头。用冷冻保存的精液,则一年一头优秀种公牛,可授精几千头甚至几万头母牛。从理论上和实际上都可以证明了一头优秀种公牛,一年可以授精母牛一万、三万甚至五万头以上。

目前,世界上一头最好的种公牛,一生可以“冷配”母

牛三十五万头（美国）。平均一头种公牛“冷配”母牛最多的是八千二百六十头（新西兰）。

按一头种公牛一次采精量平均约五毫升计算，一年可采精80—100次，稀释20—30倍。按现用的颗粒、安瓿法保存，一次剂量为一粒（支），每年可“冷配”母牛五千至一万头。如采用0.25毫升微型细管法，则效率能增加2倍以上。

冷冻精液，在技术上解决了一个重大问题——长期保存。所以，有人称冷冻精液可以做到半永久性保存。这就促进了家畜育种工作和人工授精技术，更易于做到有组织、有计划、有步骤和大规模地开展省际、国际，乃至洲际之间的协作。不仅能使育种工作速度加快而且质量更高。由于冷冻精液不受时间、地点和种畜寿命的限制，结果带来巨大的好处。因此，近几年来，国内外现代化的牛人工授精中心站相继建立，冷冻精液从六十年代列为国际贸易项目以来的十多年间，发展很快。现在搞牛冷冻精液出口的国家已由当初的美国、加拿大、英国等十七个国家，发展到三十多个国家。近年来，世界上每年进出口牛冷冻精液已达四百六十万份，占七十年代初期十七个国家出口总数的70%以上。

由于新技术的应用，在人工授精站的组织上有较大的改变。过去，三十年代到五十年代是由少到多大量建立饲养种公畜的人工授精站。这样，不仅费钱、费事和费工，如果不是母畜繁多而集中的地方，因精液不能长期保存，不能迅速运输，限制了中心站的有效半径，优良种畜配种效率无法提高，杂交改良和育种工作的速度势必缓慢。

从六十年代，各国相继研究并采用牛的“冷配”。以奶牛领先，肉牛也随着开展起来。前者有不少国家的普及率已达百分之八十至一百（美国、加拿大、英国、法国、西德和日

本等)；后者有些国家已在重视。普及率由原来的百分之几猛增到百分之六、七十。例如，法国过去肉牛既不搞人工授精，更不搞“冷配”。粗放饲养的肉牛，由于费人工、不好抓，全用“本交”。可是到1975年，法国采用人工授精的肉牛：夏洛来种为1,120,436头；利木赞种为705,894头。肉牛人工授精已占适配母牛的70%以上。日本肉牛人工授精“冷配”普及率已由原来的20%左右，一跃猛增到70%以上。

现在一个国家内，有的只设几个到几十个规模不同的人工授精(冷冻精液)中心站；不仅可以满足全国需要的冻精，并可大量出口。实际上就是家畜冷冻精液生产工厂化了。美国全国只有67个站，古巴全国只有13个站。种公牛饲养头数大大减少，利用率显著提高。古巴全国有牛750万头，只养1,247头种公牛。新西兰全国适配奶牛652,540头，只养79头种公牛。

目前，在国外每年奶牛“冷配”推广数达100万头以上的有七个国家。其中以美国居首位(850万)，其次是法国(722万)，西德居第三位(265万)。其它为英国、日本、加拿大和捷克斯洛伐克等国。亚洲各国除日本外，牛的“冷配”普及率都很低。例如印度牛数多达1.8亿头，人工授精仅为110万头。“冷配”只占其中的1.7%。

据意大利 Bonadonna(1975)的调查报告，世界上奶牛的“冷配”总数已达1.2—1.5亿头。但肉牛“冷配”开展较晚。

一、牛冷冻精液的生产水平

目前，世界上牛“冷配”的生产水平，大多数国家是一头种公牛一年平均授精母牛1,500—3,000头，除新西兰特别高之外，法国4,000头，美国3,000头，加拿大2,500头。一次

情期受胎率约达60—70%。近年来少数国家已达72—75%。最终受胎率可达85—90%。近年不少国家已达90—95%。每受胎一头母牛所需输精次数，平均为1.5次左右。好的1.3次；差的3次以上。据各国多年的经验，高产奶牛较为难孕，一般要3次以上。

牛冷冻精液保存时间最长的虽已超过二十五年以上(T. Mann, 1976)，但在保存期间，精子活力和受胎率并未发生明显下降。据美国报道，牛冷冻精液保存7—14天，六个月，一、四、八年和十二年（八年以后由干冰移到液氮中保存），情期受胎率各为66.5、66.8、66.2、56.1、59.2和41.7%。保存12年的牛冷冻精液，虽然活力只剩9%，但仍获得了41.7%的受胎率。按其精子活力对比，并不算差。法国用保存六个月，一、二、三年和四年半的冻精“冷配”母牛28万多头，受胎率各为68.69、68.91、69.30、69.93和70.77%。在这四年多时间，未看出受胎率有明显差异。苏联观察了在-196℃液氮保存2—7年的牛冻精，精子活力无大差异。

目前，牛的冷冻精液生产，包装有三种方式方法：

(一)安瓿法 此法最早是随着牛冷冻精液的诞生，从五十年代开始一直沿用。主要是用硅酸盐硬质玻璃。剂量多为1.0毫升，近年也有0.5毫升的。有人曾试用塑料安瓿，因效果不太好，一直没推广。安瓿法在北美洲，美国、加拿大两国盛行；西德、罗马尼亚等国也都在沿用。优点是：剂量标准、标记明显、卫生条件好、不必再用解冻液解冻、使用方便、精子复苏率和受胎效果都好。缺点是：体积大、保存占地地方、制作工艺（主要是封口麻烦）、运输时易破、解冻时易炸、损失率大、成本较高，所以有下降趋势。

(二)颗粒法 此法是日本永濑等人(1961)发明的。

优点是：方法简便、易于制作、体积小便于大量贮存，精子复苏率和受胎率不次于安瓿法。但缺点较多：剂量不标准、每个剂量(粒)不易标记、保存时长期暴露在液氮中，容易污染杂菌和混淆公牛血统、用时要用解冻液再稀释、解冻。所以，条件较好的国家多不采用。但目前还有的国家强调用它。例如：芬兰100%用颗粒。波兰、保加利亚等也多沿用此法。近年来，有些国家在研究改进颗粒法冻精的制作、包装，在改为锭剂化和用铝箔小包装并附加标记后，此法又见抬头。

(三)细管法 是由一九三六年苏联最先采用的麦管法演变而来的。从麦管到玻璃纸或蜡纸管逐渐改进为塑料细管，发展历史已不下三十多年。六十年代中期，法国凯苏 R. Cassou 研究出聚氯乙烯(P.V.C.)塑料细管。长度133厘米。容量有0.5和0.25毫升两种。近年来，又有聚丙烯、聚戊烯细管。现在各国把塑料细管通称为“Straw”原意即来自麦管。此法具备以上两法所不具备的优点。解决了诸如卫生条件好、容易于标记、剂量标准化、体积小、便于大量保存、精子复苏率高和受胎效果好等许多优点。也是当前世界各国都在努力研究改进和大量普及应用的一种方法。例如法国的凯苏(Cassou)法1974年仅有37个国家采纳；1976年已发展到包括我国在内的61个国家；1977年已超过80多个国家。普及面越来越广。已研究出细管精液的印字、灌封自动化仪器设备并采用超声波静电压缩封口。封口率可达100%。

法国的I.M.V.细管印字机，每小时可印0.5、0.25毫升细管8,000—10,000支。MRS—1和MRS—3型细管精液自动化灌封机，每小时可分装精液4,000和12,900支。西德近几年由斯密特 Simmet 研制出的MT—65和MT—83型细管灌封机，每小时生产6,000和8,000支，65—90—133毫米长

的各式细管精液。其特点是：常温下灌封，用钢珠或玻璃珠两端封口。这种仪器，结构较简单，已在西欧一些国家如丹麦、比利时等传播。最近在北京举办的外国农机展览会上展出的就是MT—83型机。但不如法国凯苏式细管流行面广。

美国、加拿大、日本和古巴等国也根据自己的用途，搞出了聚丙烯、聚戊烯细管。美国、加拿大自制的细管称为“大陆细管”，同法国的基本相同。古巴自己生产的是一种硬塑料长细管，31厘米长，管壁较厚，外径0.5厘米，内径0.2厘米，每根刻划十节，每节长2.88厘米。一根长细管可装稀释精液1.0毫升，每节内精液为0.1毫升。因为细管无塞，要求用室温解冻，不能投入温水浴中。据古巴少量试验结果，受胎率为60%左右。

我国上海牛奶公司也参照西德MT—65型的细管分装机，研制出JZ—45型细管精液自动分装机。每小时可分装0.3毫升（长94毫米）细管精液2,700支，目前正在改制中。

二、牛精液冷冻保存技术的改进

（一）冻精的冷源及其来源 各国多年的实践经验认为，冻精用的冷源主要以干冰（固体二氧化碳-79℃）和液体氮（-196℃）为好。但干冰气化快，长期保存精液时，补充冷源周期时间短，温度不稳定，一旦精液露出干冰表面，温度骤然回升易遭损失。因此，近年大多采用液氮（-196℃）。液氮属于隋性液化气体，安全、价廉、来源广。由于它的原料是空气，安装一台液氮机，有电动、水冷、通过空气压缩分馏，就可提纯空气中含78.8%的氮。纯度可达99.5%以上。

目前，世界各工业发达的国家，液氮价廉。美国一加仑

(折合4.54公升)为20—30美分,(约合人民币一角多钱)。澳大利亚一公升约合澳币5分,折合人民币0.13元。

据1978年了解我国20个省市自治区60个单位,每一公升液氮平均售价3.53元,贱的0.50元左右,贵的14—15元。目前,贮精、贮氮的高真空金属容器设备尚不能大量生产,暂时有一定困难。但是相信,伴随着我国工农业向现代化高速度发展,这些问题将会逐步解决。

(二)冷冻精液人工授精技术方法的改进

1.优良种公牛的饲养管理 各国在办大站的同时都高度重视如何保持检定种公牛的健康和精液的优质、高产问题。好多国外中心站都一致认为:“种公牛健康状况的好坏,决定中心站事业的发展”。因此,多注意全价饲料,不过分强调运动,主张逍遥运动,反对强制运动。近年来,对饲料中的微元素给予重视,证明对提高精液品质有益。

2.采精技术 由于冷冻精液生产已走向工厂化,特别强调种公牛的畜体、阴筒、包皮、采精场地的环境卫生和消毒清洗工作。国外室内采精场所都有专设的紫外线杀菌和喷洒消毒设备。采精用的假阴道也有所改进,日本设计一种双层内胎牛用假阴道,集精杯是一个带刻度的15毫升玻璃管,预先安装在腔内,不仅能保持一定的温度,同时,采完精就事稀释,减少精液离体后的氧化,有利于精子的生存。各国对采精技术和工具也都在研究改进,不仅有保温防震装置,近年来,还盛行用机械假台牛或称为“采精车”采精,使用方便。为防采精时污染,除了定期给种公牛清洗阴筒包皮外,还研究在假阴道的进口增加一个泡沫塑料环,既卫生防尘,又起到母牛阴门括腰肌的作用。

各国对采出的鲜精防止低温冲击较为重视。大都强调采

出后，立即放入30—32℃恒温水浴或水杯中。采精频度，健康成年种公牛试验证实，每克睾丸组织，每周可生产精子5,000万个，一般睾丸重250—300克，即一侧睾丸每周可生产精子150亿左右。两侧睾丸每周可生产精子300亿。每次采精排出精子约为100—150亿。因此，在正常条件下，以每周采精2次，必要时，每次间隔10—15分钟，可连排精2次。

3.精液品质检查评定方法 除了常用的主观评定法、肉眼鉴定、光学显微镜下目评、比浊法和光电比色计法之外，几年来又研究出：显微镜荧光屏法，显微电视录相法。最近又在研究记波照相法（西德），光子对射分光镜法（加拿大），电摄影计算光扩散技术（日本），用来评定、分析精子的活力和运动状态。

此外，为了进一步深入观察精子活力和运动状态，细部结构以及生化性状，用电视磁带录相器，低温显微镜，透射电子显微镜，扫描电子显微镜，以及最近几年研制出的超导电子显微镜等等，已相继用于精子超微结构的研究工作上。这些高精密度的仪器，有的放大倍数高，几十万至上百万倍（透射），有的分辨率高（25 Å）、立体感鲜明（扫描），有的能把磁透镜放在液氮（-269℃）低温下，避免热干扰，观察DNA大分子螺旋结构的细节，还可以分割DNA（超导）。因此，都被认为是研究精子生理生化和冷冻精液基础理论方面最新的实验手段。

4.精液的稀释保护剂 从冷冻精液新技术问世的近二十多年以来，各国一直都在注意稀释液基础药剂和添加剂的研究，并不断取得新的成就。归纳起来，不外以下几大类：

①盐类。除了鲜精稀释后立即使用，常用氯化钠外，用于保存精液的稀释液常用的盐类有：柠檬酸盐、磷酸盐、重

碳酸盐、硫酸盐和酒石酸盐等。其中最常用的是柠檬酸盐。

②糖类。离体后的精子的能源物质主要是糖。作为稀释液用糖主要有：葡萄糖、蔗糖、乳糖和果糖。近年，有些国家强调用高分子的棉子糖亦即水合甜菜糖。国内外已有些试验证明：适当增加稀释保护剂的含糖量可减少甘油水平，甚至完全不用甘油，对精子冷冻和解冻过程也起到了保护作用。

③奶类。自从米海依洛夫（1950）报道用牛奶、马奶做家畜精液稀释液以来，二十多年来，大多数国家都在研究采用。在奶类中最常用的是鲜牛奶、全脂、脱脂奶粉。也有用马奶和羊奶的，一般效果都很好。近年，在国外已有不少国家采用U.H.T.牛奶，亦即超高温瞬间消毒的（130—150℃，1—8秒钟）牛奶。瞬间使奶胶体化，不破坏鲜奶的蛋白质和维生素，可在20—30℃常温下保持10—14天，风味不变（Hurton, 1975）。

④卵黄。作为稀释液的重要组成部分，已有四十年的历史。自从非利普斯（1939）和沙利斯基里等人（1940），提出用卵黄-磷酸盐和卵黄-柠檬酸盐缓冲液，直到目前仍广泛应用。对卵黄的作用，有的地方还不十分明白。但据目前已证实的至少有三点：A. 延长精子存活时间；B. 扩大稀释倍数；C. 对精子超低温冷冻时起到保护作用。近年来，又阐明卵黄的低浓度脂蛋白碎片（LDF）对公牛精子有保护作用。许多文献都报道过卵黄中的类脂质，特别是磷脂、卵磷脂以及含磷脂的脂蛋白复合体等，能使精子耐低温冷冻。

⑤蜂蜜。含有74.4%的转化糖，其中果糖占37—42%，也是一种较好的稀释剂。有人经过二十五年的研究证明：蜂蜜中除了含有葡萄糖、果糖和各种维生素之外，还含有“抑制素”的抗菌物质。据法国科学家们的研究结果表明：蜂蜜

中的这类“抑制素”还不止一种，有的在加热后还相当稳定，甚至在80℃下加热30分钟也不破坏。蜂蜜做为稀释液也是一种好的能源物资。但蜜源要好，以椴树蜜最好。蜜质要纯净（没有夹杂物），才适于配制稀释液。

⑥植物汁液。利用植物性体液作稀释液，是近二十年的事。自从巴西奇也非等（1959）提出用番茄、椰子汁成功之后，已引起一些国家的重视。这些年来，在北美、拉丁美洲和印度，对这方面的研究报道较多。意大利Bonadonna对此曾有过好评：“用植物汁液作为现有稀释液的代用品，从生物学观点来看，比实用更有意义”。但是，近年西川对此提出不同看法，认为用植物汁液做为稀释液是不成功的。可是近年，南美、印度、印度尼西亚和非洲一些国家的研究报道仍还不少。

利用植物汁液作稀释液的历史不久，还有许多问题，一时搞不清楚。西川的评价似乎过早。我们早在六十年代初曾试用“豆乳”（大豆汁液）作稀释保护剂冷冻牛马精液，初获良好效果。此法和一些药用植物汁液，如经适当的泡制或提纯，也可获得适于冷冻或冻干用的，比现在更好的东西。

⑦稀释液的添加剂。

制菌剂：常用的有青霉素、链霉素等，以双氢水溶剂的较好。最近有用氨卡青霉素（BR—1341—Ampicillin）、林古霉素（Lincomycin）、卡那霉素（Kanamycin）和多粘菌素（Polymycin）等。一般用量为1,000—2,000单位或微克/毫升。也有人试用白霉素、生霉素和土霉素等，证明对精子都有害。

磺胺类：氨苯磺胺（S.N.）在常温保存时可用。冷冻精液不能用。