

# 猪冷冻精液在规模化猪场中的应用实践

才永娟, 贺佳伟, 黄如渠, 邓东养, 钟日聪

(湛江广垦沃而多原种猪有限公司 广东湛江 524348)

**摘要:** 本文阐述了猪冷冻精液的发展简史及在养猪业生产中的实际应用价值及其局限性, 着重表述了从冻精保存, 稀释液的配制, 冻精的解冻, 冻精的稀释至用于配种的整个过程, 及冷冻精液在规模化猪场中实践应用过程中的操作情况和效果。

**关键词:** 猪; 冷冻精液; 实践应用

猪的人工授精技术已经广泛应用于畜牧业生产, 所用精液多为常规液态保存精液, 但液态精液不便于远距离运输, 不能充分发挥种公猪的优良性能, 所以人们的视线逐渐转移到冷冻精液上。猪冷冻精液技术是指利用干冰 (-79 °C)、液氮 (-196 °C)、液氦 (-269 °C) 等作冷却源, 将精液特殊处理后冷冻, 保存在超低温的液氮 (-196 °C) 状态下, 达到长期保存的目的, 并且解冻后输精的过程。自 Polge<sup>[1]</sup>等 1956 年开始猪的冻精研究试验以来, 许多国家相继开展了此项技术的研究, 目标是提高它的繁殖成绩, 达到现实生产可接受的水平。我国养猪业已从传统副业型转变到效益型, 专业化的瘦肉产品生产, 猪的常温液态保存精液技术已经被大面积的推广和应用到养猪生产实践中。精液冷冻保存是人工授精的一项重大变革, 不但解决了精液长期保存的问题, 同时也有利于本地猪种资源保护, 还使得精液长期保存, 便于开展省际、国际之间的协作, 提高了优良种猪的利用率; 而且极大地延长了种猪基因物质的使用寿命, 使优良种猪在短期进行后裔测定, 在保留和恢复精液供应、血统更新、引种降低生产成本等方面均有重要意义<sup>[2]</sup>。随着全国性、区域性种猪联合育种工作的深入开展, 猪的冷冻精液技术研究越来越显得迫切。

## 1 猪精液冷冻技术研究简史

从意大利人 Spallanzani 最早开始研究哺乳动物精液冷冻开始至今有 200 多年的历史。

猪的精液冷冻研究是从 1949 年英国人 Polge 等发现甘油(丙三醇)对牛精子具有抗冻保护作用后开始的。1956 年, 他首次报道了应用这个原理进行猪精液的冷冻操作, 并进行人工授精<sup>[1]</sup>。1957 年 Hess 等将猪冻精经子宫颈输入, 并产下仔猪。1975 年, Pursel<sup>[3]</sup>等发明了简便的猪精液冷冻和解冻方法, 从此打开了猪冷冻精液的商品化之路。

## 2 猪精液冷冻保存的意义

由于冻精可以使优良基因得到长期的保存, 延长公猪使用年限, 而不受该公猪死亡、损失、采精间隔或繁殖不育的限制, 有利于人为地使用高性能水平的种公猪与较多数量的母猪配种, 获得更大的遗传进展。引进国外高性能公猪冻精取代活体公猪的引进, 使种猪选择扩大到世界范围各群体进行成为可能, 不受时间和地理位置差异的限制, 可节省外汇支出。

生物安全的保证,有利于人工授精体系的完善,公猪冷冻精液可以在后裔测定或疾病检测后才开始大量供应,为稳定的遗传发展和严格的生物安全提供额外保障。从健康角度考虑,冻精为疾病检测提供了足够的时间,冻精还为大型的人工授精站暴发疾病时提供了稳定的精液供应保障。

### 3 猪精液冷冻保存的局限性

当前,猪的冻精应用估计占世界人工授精不到 1%的比例,这个比例在许多年里都没有大的变化<sup>[4]</sup>,其原因:

3.1 冻精没有得到大面积应用的主要原因是繁殖成绩不理想。冻精分娩率为 40%~70%,较保存精液低 20%~30%;仔猪数为 7~10 头,较常温精液少 2~3 头。

3.2 冻精的体外活力和解冻后受精能力在不同的公猪个体之间存在很大的差异。

3.3 液态保存精液每剂只需要 20~30 亿精子数,而冻精每剂需要更多的精子,一般为 50~60 亿。

3.4 成本高,从工作量和实验室设备考虑,冷冻和解冻是一个耗费资金的过程。

3.5 需要可靠的实验室设备以供准确测试精液质量,最大的问题是解决体外精子的活力与其实际的受精力、受胎效果的相关性。

3.6 把握适当输精的时机。冻精输入母猪体内后的理想受精时间较液态保存精液大大缩短。

因此,继续改进猪精子的冷冻和解冻操作方案仍是养猪业面临的一个课题。猪精子与其他家畜相比,有许多不同之处。猪一次射精量大,采精后对外界温度的突然改变相当敏感(所谓的“冷休克”反应)。冷冻精液技术的成功与否,关键在于影响猪精子在冷冻和解冻过程中失去活力、保持受精能力等多因素的理解和监控。这些因素包括外界因素、精子本身生物学特性、种公猪个体差异和每次采精的质量差异。外界因素有稀释液的组成成分、抗冻剂的选择及其质量浓度、稀释比例和冷却或缓冲速度、冷冻和解冻所采取的方法。遗憾的是我们只能通过改变外界因素来优化冷冻精液操作过程和提高繁殖成绩<sup>[5-6]</sup>。

为了适应猪肉的高效、优质生产需要,全世界的种猪都在不断地向更高遗传水平的群体所转变,在一个国家和地区范围内,采用保存 3~5d 的液态精液或者活种猪进行遗传物质传递已经足够,但从我国幅员辽阔的地域,种猪的跨国贸易和在遗传交流时减少疾病传播的角度考虑,猪的冷冻精液技术需要非常迫切。

## 4 冻精解冻及应用的实践操作

### 4.1 设备和材料

冻精稀释粉（SGI 购买）、蒸馏水、输精瓶（有刻度、容量至少为 80 mL）、烧杯或塑料杯（无菌、1~2 L 容量）、恒温水浴锅、计时器、长钳子或大镊子、纸巾、剪刀、精确温度计。

#### 4.2 冻精稀释液的配制

将蒸馏水预热至 30~34 °C 后加稀释粉（为所购买冻精配制的稀释粉，一包可配制 1 L 的稀释液），充分搅拌或用磁力搅拌器混匀，在室温条件下，待稀释液 20~40 min 稳定化。稳定化后的稀释液分装到 12 个带有刻度的塑料输精瓶中，每瓶至少 80 mL，然后在输精瓶上标明稀释液的配制日期。用完的烧杯等材料都要用清水洗涤干净后，再用蒸馏水漂洗 6 次，最后煮沸或用干燥箱灭菌，保存以待下次使用。配制好的稀释液如当天未用完可放在 5 °C 条件下保存或 -20 °C 条件下保存。

将当天配制的或冷冻保存的稀释液调至 20 °C，上下可以浮动 1 °C。同时将恒温水浴锅内的蒸馏水调至 50 °C，上下可以浮动 1 °C。如操作过程中使用的是普通温度计，因普通温度计存在 ±2°C 以上的误差，所以一定要使用精确水银温度计或电子温度计对普通温度计进行调正。

#### 4.3 冻精的解冻

将液氮罐靠近解冻用的恒温水浴锅或其他解冻设备，这样能够尽量缩短冻精管从液氮罐转至解冻设备过程中处于室温下的时间。将液氮罐内装有冻精的提桶提升到液氮罐颈部上方能够用钳子将冻精管取出为宜，用长钳子或大镊子迅速取出一管（1 头份）精液（如图片 1），当提桶内还保存有其他冻精时，避免冻精管离开液氮环境并暴露于室温环境不要超过 5 s，否则将导致精液质量下降。在快速将冻精管从液氮罐取出的同时，需要核查公猪的编号是否正确，快速将冻精管放入 50 °C 蒸馏水的水浴锅中（如图片 2），冻精管在水浴锅中的时间需要使用秒表计时 45 s，快速取出。解冻时无需用手或工具拿着冻精管；如同时需要解冻 1 管以上冻精，须确保水浴温度维持 50 °C 稳定。如解冻时发生密封球弹出冻精管，致使冻精管爆裂，需废弃此管冻精。

#### 4.4 冻精的稀释

将冻精管从水浴中取出后，可用干净的纸巾将表面的蒸馏水擦干，剪断冻精管一端的密封球并插入到 20 °C 的稀释液瓶底，同时剪断另一端的密封球以使精液顺利快速流入瓶底，稀释完成（如图片 3）。建议稀释时上下快速抽动冻精管避免因为精液黏稠而大量附着在管内壁而被遗弃。可以使用经预热的凝胶块或咖啡因包被的载玻片来对精液质量进行分析。

### 5 精液配种使用

精液解冻后存放在隔热的精液保存箱内（20~27 °C），及时配种使用。因解冻后精液

的精子活力会随着时间的延长而下降，所以解冻 1 h 后将不能使用。保鲜精液输精时间为经产母猪断奶 3~4 d 早上发现发情第 2 天早上配种（24 h 后），配种 2 次间隔 12 h，经产母猪断奶 4~7 d 早上发现发情下午配种（12 h 后），配种 2 次间隔 12 h，经产母猪断奶 7 d 以上早上发现发情立即配种，配种 3 次间隔 12 h。后备猪早上发现发情下午配种（12 h 后），配种 2 次间隔 12 h。而冷冻精液建议输精时间根据母猪发情情况，参考冷冻精液建议输精时间，如表 1。

表 1 应用冷冻精液配种建议输精时间 h

配种母猪	单次输精	两次输精	
		第 1 次	第 2 次
后备母猪	29~32	24~29	30~34
经产母猪	33~36	29~32	34~38

注：①此表中的数字是母猪第 1 次静立反应后的时间；②建议 2 次输精为好。

## 6 实践操作情况

### 6.1 液氮冻精的保存

为确保冻精保存质量和冷冻精液配种工作的顺利开展，要经常检查液氮罐的有效性，保温性能下降或性能损失时要及时停用。液氮冻精保存时要根据液氮罐的性能要求，每天定期添加液氮，确保罐内冻精不能露在液氮面外，防止因缺少液氮致使罐内温度回升而导致精子死亡。储存液氮和冻精的液氮罐应放置在阴凉、干燥、通风好的房间内；运输液氮和冻精时，严禁用任何物品将液氮罐口密闭，以免引起爆炸。

### 6.2 冻精稀释后镜检精子活力

冻精解冻稀释后取少量用于镜检即可（如图片 4），提前将用于镜检精液的玻片预热，镜检合格后立即将存放在隔热的精液保存箱内的精液拿至配种岗位配种。用预热后的玻片检查时可以观察到视野中精子从少到多的开始蠕动至游走的全过程，1 min 内会观察到镜检视野内精子全部苏醒，精子游走速度与常温稀释后保存的精液精子游走速度基本相同，精子活力为 0.95~1.0。

### 6.3 配种及配种率

冻精解冻稀释后应快速用于配种，因解冻后精液的精子活力会随着时间的延长而下降，所以配种必须在解冻 1 h 内用完，稀释后越短时间内用于配种越好。配种时间宜在傍晚凉爽或夜间配种。用于冻精配种的母猪应具备健康度高，发情特征明显，繁殖性能高，且是第 2

胎至第 6 胎的母猪。运用冻精配种的母猪配种后的饲养管理与常温液态人工授精母猪相同，夏季高温季节需做好防暑降温工作。

#### 6.4 受胎及分娩情况

笔者经过近 1 年的猪冷冻精液在本场的应用实践，应用大白、长白、杜洛克公猪的冻精共 72 头份配种，可能是笔者首次应用冻精配种，且在夏季配种受到气温影响，操作上以及稀释粉配制上有待进一步改进，以缩小两者之间差距，提高冻精应用效果。

表 12 应用冷冻精液配种数据表

品种	配种头数	返情头数	分娩窝数	出生活仔数	出生窝重 Kg
杜洛克	12	8	4	24	46.8
长白	11	7	4	22	41.2
大白	13	3	10	83	147.6

#### 参考文献

- [1] Polge C. Artificial insemination in pigs[J]. Vet Rec, 1956, 68: 62-76.
- [2] 嵇艳书, 王坚, 刘铁铮. 猪精液冷冻保存研究进展[J]. 江苏农业科学, 2006, (3): 136-140.
- [3] Pursel V G, Johnson L A Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing Procedure.  
[J] Anim Sci, 1975, 40: 99 — 102
- [4] Thibier M, Wagner H G. World statistics for artificial insemination in cattle[C]. Proc 14th Intern Conf Anim Reprod, 2000, 22: 76.
- [5] 李青旺, 江中良, 王立强, 等. 猪精液冷冻保存的初步研究[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2003, 31(4): 63-66.
- [6] 杜立银, 曹少先, 刘铁铮. 猪精液 0.5ml 细管快速冷冻和解冻方法的优化[J]. 中国农业科学, 2009, 42(5): 1875-1880.