

# 谷胱甘肽对猪精液常温保存效果的影响

刘琦, 苏泽智, 王乐, 冉舒文, 胡亚美, 曹师瑜, 李思慧, 杨公社, 胡建宏<sup>1</sup>

(西北农林科技大学, 动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

**摘要:** 为研究谷胱甘肽 (GSH) 对猪精液常温保存的影响, 在基础稀释粉 BTS 和 Modena 中分别加入 1、5、10 和 15 mmol/L 的 GSH, 每隔 24h 观察精子活率, 统计精子有效保存时间, 检测精液中 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量及 SOD 活力, 分析 GSH 对猪精液常温保存效果的影响。结果表明, 猪稀释精液中加入 1 mmol/L 的 GSH 能够减少精子的氧化损伤, 明显降低精液中 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量 ( $P < 0.05$ ), 显著提高精液 SOD 活力 ( $P < 0.05$ ); Modena 中加入 1 mmol/L 和 5 mmol/L GSH 精子有效保存时间和精子活率无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 精子有效保存时间为 5d, 精子活率分别为 0.603 和 0.63。因此, 稀释液中加入 GSH 可以提高猪精液常温保存的品质, 稀释剂 Modena 比 BTS 更能延长猪精液有效保存时间, GSH 的最适添加量为 1 mmol/L。

**关键词:** 猪精液; 常温保存; GSH; 精液品质; 抗氧化性能

## Effects of GSH on Quality of Boar Semen Stored at Normal Temperature

LIU Qi, SU Zezhi, LI Yaxin, LEI Jiaqi, WEI Haiyan, WANG Yuying, CHEN Dagang,

YANG Gongshe and HU Jianhong

(College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University,

Yangling Shaanxi 712100, China)

**Abstract:** To investigate the effects of glutathion (GSH) on the quality of boar semen stored at room temperature, GSH was added at concentration of 1,5,10,15 mmol/L of

---

<sup>1</sup> **基金项目:** 国家生猪产业技术体系 (CARS-36), 2012 陕西省农业专项资金项目。

**作者简介:** 刘琦 (1990-), 女, 硕士研究生, 主要从事动物生殖生理调控方面的研究。E-mail: liuqi19900709@163.com; 电话: 15191450977。

**通讯作者:** 胡建宏 (1969-), 男, 陕西白水人, 博士, 教授, 主要从事家畜生殖生理调控方面的教学与科研工作。

GSH to the two kinds of extender of BTS and Modena. Sperm motility, effective survival time, concentrations of malondialdehyde (MDA), hydrogen peroxide ( $H_2O_2$ ) and superoxide dismutase (SOD) activity were measured and analyzed. The results showed that boar semen with 1 mmol/L of GSH can significantly decrease the concentration of MDA,  $H_2O_2$  ( $P < 0.05$ ) and improve SOD activity ( $P < 0.05$ ). Modena with 1 and 5 mmol/L of GSH can not significantly improve sperm motility and effective survival time ( $P > 0.05$ ). The effective survival time was five days. The sperm motility was 0.603 and 0.63 respectively on the fifth day. In conclusion, GSH can improve the quality of boar semen stored at room temperature, Modena is better to improve the effective survival time, and which optimum addition level in Modena is 1mmol/L.

**Key words:** Boar semen; Stored at room temperature; GSH; Semen quality; Antioxidant capacity

猪精液的常温保存（17~25℃）是目前生产实践中最常用的保存方法<sup>[1]</sup>。在精液的保存过程中，精子质量降低与呼吸代谢过程中产生的活性氧族（ROS）有关<sup>[2]</sup>。高浓度的 ROS 会造成精子脂质过氧化（LOP），破坏精子质膜结构，降低精子活力，影响精子受精能力<sup>[3]</sup>。因此，稀释液中添加新的抗氧化物质是提高猪精液常温保存的研究热点。

谷胱甘肽（GSH）是一种三肽化合物，可降低精子质膜上的 LOP 发生概率。Gadea 等<sup>[4,5]</sup>研究表明，随着猪精子质膜结构发生变化，精子内 GSH 含量大幅度减少，在猪冷冻稀释精液中添加 1mmol 的 GSH 对提高精子活力效果最佳。张文举<sup>[6]</sup>等研究认为，牛精液中加入 GSH 可明显提高解冻后精子受胎率。但是，任俊玲等<sup>[7]</sup>研究表明，GSH 的添加对猪冷冻精液质量作用不显著。因此，目前大多研究 GSH 对于冷冻精子的影响，对常温保存精液品质的影响未见相关报道。

本试验在 Modena 和 BTS 两种不同的猪常温保存稀释液中分别加入不同量的 GSH，通过检测精子活率，精液中的 SOD、 $H_2O_2$  和丙二醛（MDA）含量，分析 GSH 对猪精液常温保存效果的影响，为生产实践提供理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 稀释液的配置

以 Modena 和 BTS 作为基础液，分别加入 1、5、10 和 15mmol/L 的 GSH。静置 2h 后，用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤除菌。置于 37°C 水浴锅中水浴加热待用。

## 1.2 精液收集

陕西省武功镇山佳种猪场的健康成年大白种猪。利用手握法收集中断精子丰富部分，1h 带回实验室。选择色泽正常，活力大于 0.8，密度  $3\times\sim 5\times 10^8/\text{mL}$  的精液用于试验。

## 1.3 精液的稀释

将过滤好的稀释液与精液置于 37°C 的水浴锅中水浴至与稀释剂等温。将精液平均分成 8 份，将等温的稀释剂缓慢倒入精液中，稀释倍数为 1:1。用 4 层毛巾包裹稀释好的精液，待降至室温（25°C），置于 17°C 的保温箱中保存。

## 1.4 检测指标

(1) 精子活率：采用目测法测定，每个样品随机选取 3 个视野，求平均值。

(2) 精子有效存活时间：精子活力不低于 0.6 的保存时间为有效保存时间。

(3) MDA 浓度、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量、SOD 活力检测：测定精液保存第 3d MDA、MDA 浓度， $\text{H}_2\text{O}_2$  含量和 SOD 活力，按照南京建成生物工程研究所的试剂盒说明进行。

## 1.5 统计分析

用 SPSS 17.0 统计软件对相关数据进行显著性检验，结果以平均数  $\pm$  标准差表示。所有试验均重复 3 次。

## 2 结果与分析

## 2.1 不同猪精液常温稀释剂对精子活率的影响

不同稀释粉中添加不同剂量 GSH 对猪精子活率的影响见表 1 和表 2。

表 1 稀释剂 BTS 中加不同浓度 GSH 对精子活率的影响

GSH 添加量 /mmol L <sup>-1</sup>	保存时间/d				
	1	2	3	4	5
1	0.837 <sup>a</sup> ±0.012	0.807 <sup>a</sup> ±0.015	0.750 <sup>a</sup> ±0.010	0.690 <sup>ab</sup> ±0.020	0.590 <sup>a</sup> ±0.010
5	0.780 <sup>b</sup> ±0.040	0.753 <sup>b</sup> ±0.006	0.727 <sup>a</sup> ±0.006	0.703 <sup>a</sup> ±0.012	0.567 <sup>b</sup> ±0.015
10	0.777 <sup>b</sup> ±0.015	0.720 <sup>b</sup> ±0.020	0.630 <sup>b</sup> ±0.020	0.670 <sup>ab</sup> ±0.020	0.547 <sup>bc</sup> ±0.012
15	0.757 <sup>b</sup> ±0.015	0.747 <sup>b</sup> ±0.050	0.707 <sup>ab</sup> ±0.015	0.603 <sup>c</sup> ±0.012	0.537 <sup>c</sup> ±0.006

注：同列中不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )，相同小写字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ )。下同。

表 2 稀释剂 Modena 添加不同浓度 GSH 对精子活率的影响

GSH 添加量 /mmol L <sup>-1</sup>	保存时间/d				
	1	2	3	4	5
1	0.820a±0.010	0.797a±0.015	0.753a±0.025	0.680a±0.026	0.607a±0.047
5	0.803a±0.006	0.763a±0.015	0.717a±0.015	0.703a±0.012	0.630a±0.010
10	0.757c±0.015	0.720b±0.020	0.643b±0.021	0.620b±0.020	0.583a±0.015
15	0.780b±0.010	0.780a±0.026	0.723a±0.015	0.627b±0.021	0.597a±0.021

由表 1 可知，稀释剂 BTS 中加入 1mmol/L GSH 时，精子活率明显高于其他添加量 ( $P < 0.05$ )，有效保存时间为 4d。表 2 可知，稀释剂 Modena 中加入 1mmol/L 和加入 5mmol/L 的 GSH，精子活率明显高于加入 10 和 15mmol/L 的 GSH ( $P < 0.05$ )，但加入 1mmol/L 或 5mmol/L 的 GSH，精子活率差异不显著 ( $P > 0.05$ )，猪精液有效保存时间为 5d。

## 2.2 不同浓度 GSH 对精液中 MDA 浓度的影响

不同稀释粉中添加不同浓度的 GSH 的对精液中 MDA 的影响如图 1 所示。

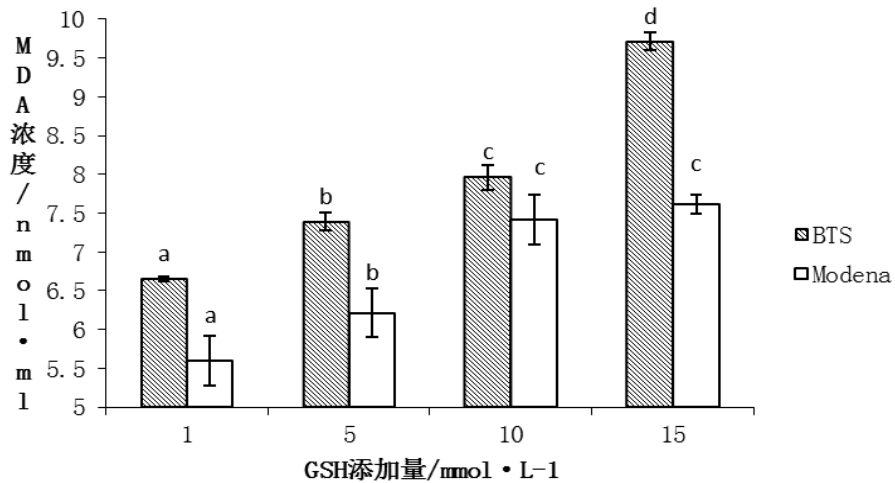


图 1 添加不同浓度的 GSH 对精液中 MDA 浓度的影响

由图 1 可知，随着加入 GSH 添加量的增加，MDA 浓度显著增加 ( $P < 0.05$ )，但加入 1mmol/L 的 GSH，精液中的 MDA 含量显著低于其他添加量 ( $P < 0.05$ )。稀释液 Modena 中加入 1~10mmol/L 的 GSH 时，精液中的 MDA 含量逐渐增加，超过 10mmol/L 的 GSH 时，MDA 含量基本稳定。

### 2.3 不同浓度 GSH 对精液中 $H_2O_2$ 含量的影响

基础液中加入不同浓度 GSH 对精液中  $H_2O_2$  含量的影响见图 2。

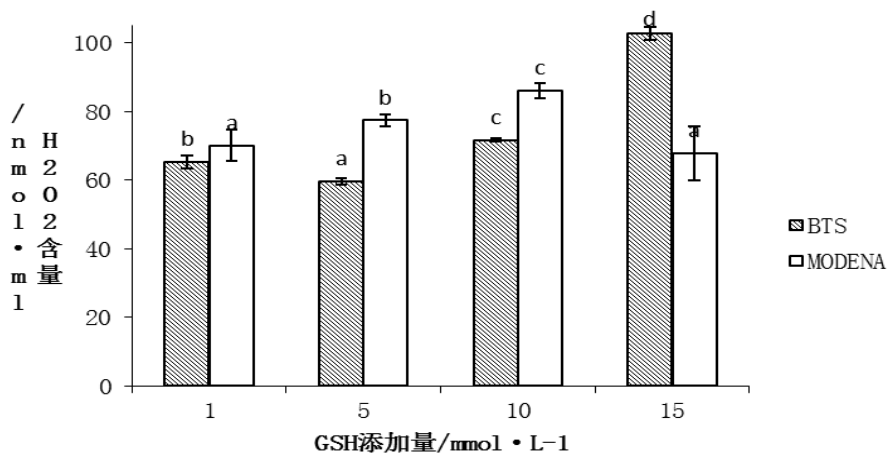


图 2 添加不同浓度的 GSH 对精液中  $H_2O_2$  含量的影响

由图 2 可知，当添加 1~10mmol/L 的 GSH，Modena 的  $H_2O_2$  含量显著增加 ( $P < 0.05$ )，且基础液 Modena 稀释的精液中  $H_2O_2$  含量高于 BTS。当加入 5~15mmol/L 的 GSH 时，BTS 稀释的精液中  $H_2O_2$  含量显著增加 ( $P < 0.05$ )。

## 2.4 不同浓度 GSH 对精液中 SOD 活性的影响

不同浓度 GSH 的精液中 SOD 活力的影响如图 3 所示。

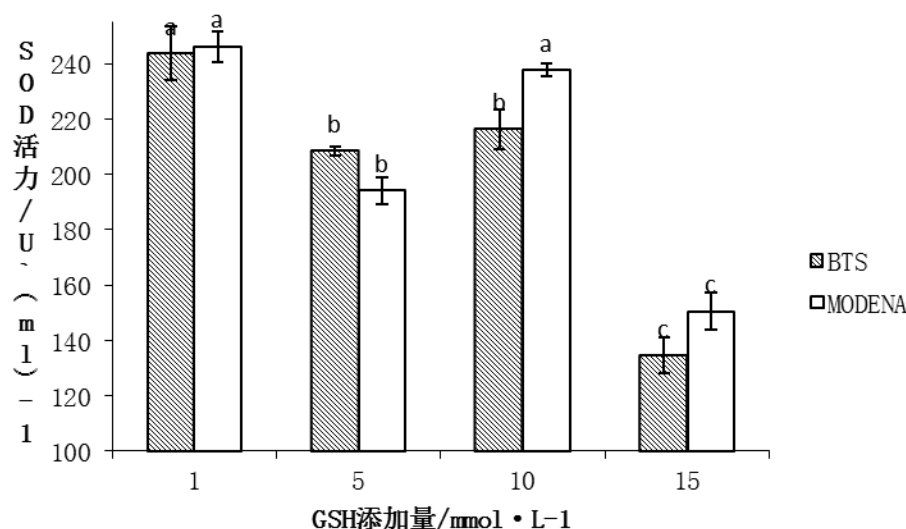


图 3 添加不同浓度的 GSH 对精液中 SOD 活力的影响

根据图 3 可知,两种稀释剂内添加 1mmol/L 的 GSH,精液内 SOD 活力显著高于其他试验组 ( $P < 0.05$ )。稀释液 Modena 中加入 1 和 10mmol/L 的 GSH 时, SOD 活力显著高于其他试验组 ( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

本研究结果表明,稀释液中添加一定量的 GSH 可以减缓精子脂质过氧化,延长精子有效保存时间,显著降低精液中 MDA、 $\text{H}_2\text{O}_2$  含量,增强 SOD 活力,与任俊玲等<sup>[8]</sup>的研究结果一致,且 Modena 中添加 GSH 比 BTS 保存效果更好,精子有效保存时间更长。但是,王争光等<sup>[9]</sup>研究认为,稀释液中添加 0.5mmol/L GSH 显著提高金华猪冷冻精液活率,而本研究表明 GSH 的最适添加量为 1mmol/L,这可能是基础液不同的原因所致。

GSH 是一种广泛存在于哺乳动物细胞内的含有巯基 (-SH) 的三肽,具有抗氧化作用。当外源性补充 GSH 时,会抑制精液 ROS 的产生,降低 LOP 程度<sup>[10]</sup>。GSH 可以催化 GSH-PX 活性,将细胞内  $\text{H}_2\text{O}_2$  还原成  $\text{H}_2\text{O}$ ,切断 LOP 循环链<sup>[11]</sup>; GSH 可直接清除自由基,从  $\text{H}_2\text{O}_2$  和氢过氧自由基夺取电子,使其还原成  $\text{H}_2\text{O}$ ; GSH 还可保护细胞膜 PUFA 形成稳定的化合物,使之免受 ROS 攻击<sup>[12]</sup>。Uysal

等<sup>[13]</sup>研究表明，马精液中加入 GSH 后，精子的抗氧化能力明显增强。本研究结果表明，基础液中加入 1mmol/L 的 GSH，精子活率显著优于其他剂量，且 Modena 的保存效果比 BTS 好。可能是因为随着精液保存时间的延长，精子代谢产生大量的酸性产物，不利于猪精液的常温保存。Modena 含有碳酸氢钠、柠檬酸钠、Tris 等缓冲剂，可以很好维持猪稀释精液的 PH 值，保证精子活率，而 BTS 缺少可以缓解精子代谢性酸中毒的产物<sup>[14]</sup>，从而导致 BTS 的维持精液酸碱稳定的能力比 Modena 差，因而精子活率和有效保存时间没有 Modena 好。

随着精液保存时间的延长，精液内环境发生变化，抑制了精子内抗氧化酶对 ROS 的消除作用，过多的 ROS 作用于精子质膜上的多不饱和脂肪酸（PUFA），使质膜发生脂质过氧化（LOP）<sup>[15]</sup>，损伤精子膜，降低精子质量。Watson<sup>[16]</sup>研究表明，LOP 是降低精子活率重要原因之一。MDA 是 LOP 的终产物之一，其含量与 LOP 程度成正相关<sup>[8]</sup>。SOD 作为抗氧化酶系统最重要的酶，可将细胞内的 O<sub>2</sub> 变成 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，其活力代表精液抗 LOP 的能力<sup>[17]</sup>。本试验显示，当添加 1mmol/L 的 GSH 可以显著增强精子内 SOD 活力，降低精子 LOP 程度，MDA 含量最低。但当 GSH 添加量逐渐增加时，SOD 活力反而降低而 MDA 含量增加，这是可能随着 SOD 活力增强产生的 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 逐渐增多，致使精液抗氧化系统无法及时清除，使得精子 LOP 程度增强，同时氧化产物 MDA、H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 增加，精子受到损伤，活率降低。

## 4 结论

在猪常温保存的稀释精液中加入 1mmol/L 的 GSH 时，能够提高精子活率，延长精子有效保存时间，降低精子质膜脂质过氧化损伤，改善猪精液常温保存效果。猪精液常温保存稀释剂 Modena 比 BTS 精子有效保存时间更长，精子活率更好。

参考文献（略）