

种牛精液冷冻和保存效果研究进展

王卿妍¹, 彭巍², 李欣森¹, 赵杨杨³, 田全召³,
刘贤⁴, 杨其恩², 张君², 雷初朝¹, 黄永震^{1*}

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 青海省畜牧兽医科学院, 青海大学, 西宁 810016;
3. 河南省鼎元种牛育种有限公司, 郑州 450000; 4. 河南省畜牧总站, 郑州 450008)

摘要:随着养牛业的高速发展, 牛精液液体保存技术的研究也在逐步深入。人工授精技术降低了养殖成本, 加速了肉牛的繁殖改良, 同时还促进了育种工作的进程, 合理有效地使用人工授精技术能够提高牛的饲养效益。本文从牛精液新型冷冻保护剂和损伤修复、牛精液冷冻保存添加剂、牛冷冻精在人工受精中的应用、冷冻保存的发展前景等方面总结了我国牛精液冷冻保存技术的研究和发展, 以期对今后种牛精液冷冻和保存技术发展有所帮助、提供参考。

关键词: 牛精液; 精液冷冻保护剂; 保存效果; 研究进展

中图分类号: S823 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-9111(2022)04-0061-04

牛精液的冷冻保存技术于 20 世纪 50 年代研究成功, 我国于 1972 年底对该技术进行研究和推广, 80 年代从国外引进了冷冻精液的设备和技术, 90 年代逐渐从颗粒型转向细管型, 距今已有半个世纪的历史。自该技术研制至今对于畜牧业的发展有着举足轻重的作用, 近现代随着科技的发展和人类对于基因水平研究的进步, 加上该技术可以长期保存, 使用时不受时间、地域以及雄性动物年龄等方面的限制, 人工授精成为了育种工作中最主要的繁殖方式, 该技术也成为畜牧养殖方面的重要技术。

众所周知, 优良的种牛精液品质是种牛改良的关键。有试验表明, 遗传、气候环境、饲养管理等因素都会影响牛的精液品质^[1]。种牛是否进行强制运动也能决定种牛精液品质的优劣^[2]。合理的精液冷冻与保存不仅能发挥优良的精液品质, 同时也为人工授精技术的发展提供保障。近几年, 随着国外牛冷冻精液生产先进设备的引进, 生产工艺也取得了很大的进步, 牛冷冻精液生产技术进展迅速。但是, 在冻精生产中仍存在问题, 主要表现在, 部分种公牛的冷冻精液顶体完整率低、畸形率高、死精多等, 无法达到国家规定的牛冷冻精液质量标准, 废弃率高^[3]。

牛的冷冻精液一般是以液氮作为冷冻源保存在

液氮储罐内进行保存和运输的, 经过低温保存可以大大提高牛精液的保存时间, 可以有效扩大良种精子的使用范围, 近年来国内外技术发展迅速, 生产工艺也有很大改进, 牛精液冷冻技术也取得了相当大的进步, 但也存在着许多的问题, 受过程和多种因素的影响, 我国牛冷冻精液达标率不高, 本文通过对牛精液冷冻保存添加剂进行对比, 旨在对今后种牛精液冷冻和保存技术发展提供参考。

1 牛精液冷冻损伤与冷冻保护剂

1.1 牛精液冷冻损伤

精子的冷冻保存过程极其复杂, 需要经过取样、稀释、降温、冷冻等一系列操作后才能供生产应用。精子与体内其他细胞相比有较大差异, 精子的耐冻能力更强、膜流动性高、水分含量低, 但精子细胞膜结构和胞内代谢也会在冷冻过程中发生改变, 使精子产生冷冻损伤^[4]。冷冻过程中, 精子会因胞内蛋白质变性、胞内形成冰晶、渗透压升高等原因使精子的生理状态发生改变。如过量氧自由基等功能性紊乱、胞质不稳定、膜的相变、细胞酸化毒性、离子失衡、蛋白酶失活或激活等问题, 从而造成精子氧化应激、线粒体完整性、质膜完整性顶体完整性、以及遗传物质等形态及功能损伤^[5]。

收稿日期: 2022-04-17 修回日期: 2022-05-16

基金项目: 财政部和农业农村部——国家现代农业产业技术体系资助项目(CARS-37); 青海省科技计划项目(2021-ZJ-736); 青海省重大科技专项(2021-NK-A5); 河南省肉牛产业技术体系项目(S2013-08)

作者简介: 王卿妍(2000—), 女, 本科生, 主要从事动物遗传与育种研究。

* 通讯作者: 黄永震(1982—), 男, 博士, 副教授, 博士生导师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究。

1.2 牛精液冷冻保护剂

近年来,我国通常采取将精液置于 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的液氮中的方式进行精液的冷冻保存。低温保存精液可以使精子细胞内新陈代谢降低,从而实现精液的长期保存。但是,由于超低温冷冻会使精子在稀释液中的存活率与受精能力降低。因此,在精液冷冻时,需要在稀释液中有选择性地添加一些冷冻保护剂来保护精子。通常会在冷冻稀释液中添加抗生素,如链霉素和青霉素等;加入盐维持内环境稳定,如柠檬酸和柠檬酸钠等;缓冲液如 Tris 碱等;与此同时还会添加一种或多种糖,如海藻糖、蔗糖、棉子糖、乳糖、葡萄糖等,最后加入冷冻保护剂从而提高冻融后精子的存活率^[6]。冷冻保护剂分为渗透性冷冻保护剂和非渗透性冷冻保护剂,渗透性冷冻保护剂有 DMSO、乙二醇和甘油等,非渗透性保护剂有牛奶和卵黄等。冷冻保护剂的添加量可以改变精液冷冻稀释液的渗透压。针对同一物种不同个体或不同物种的冻精进行研究,可以划分冷冻保护剂的浓度梯度,将冷冻保护剂浓度梯度设置在精子能承受的范围之内,与此同时还要使精子在稀释液中维持渗透压稳定,这样才能较大程度提高精子在稀释液中和冻融后的存活率^[7]。

2 牛精液稀释液冷冻保存添加剂

稀释液不仅具有增加输精母畜头数和扩大精液容积作用,还具备提高精子存活率、抑制细菌生长、防止低温冷冻、供给精子能量等作用,对精液的冷冻效果有着决定性的影响^[8]。在稀释液中添加一些特殊物质并选择最适合的牛冷冻精液稀释液配方,可以为增加冻精生产量、提高冻精生产水平和产品质量及加速牛群遗传改良进展提供参考。

2.1 渗透性冷冻保护剂

渗透性冷冻保护剂可以通过细胞膜进入细胞,一般为小分子量物质。适当地添加可以保护细胞不受外界环境的伤害,但若使用过量则会产生毒性从而破坏细胞结构或导致细胞死亡。常见的渗透性冷冻保护剂有维生素类和糖类。

2.1.1 甘油 甘油是精子超低温冷冻过程中最常用的抗冻保护剂,且其浓度大小直接影响到精子的冻后活力^[9]。除了甘油浓度,甘油稀释剂的加入方法也会影响冻融精子品质。金穗华等^[10]通过试验发现甘油的二次加入法比一次加入法对精液的保存效果更好。一次加入法会使精子内渗透压突然变化从而导致精子顶体受到损伤。而二次加入法则采用先加无伤害的基础液,在精子半休眠状态下缓缓加入甘油的办法,减少了高渗的稀释打击。二次加

入法不仅可以减少精液在稀释、平衡及冷冻过程中对精液的损伤,还可以使不同稀释倍数的精液最终甘油浓度一致,最终达到保护精子的目的。

2.1.2 维生素类 维生素 E 作为一种主要的抗氧化剂之一,具有极易被氧化和不易被酸、碱或热破坏的性质。陈晓英等人研究表明:在 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下保存 48 h 的娟珊牛精液稀释液中添加维生素 E 可以有效提高保存过程中精子的活力和顶体完整率。更重要的是,维生素 E 还可以保护精液中 CAT 酶的活性和 GR 酶的活性,从而保证精子的品质^[11-12]。

有报道称,VB₁₂ 可以提高精子活力和受胎率。李玉凡^[13]从在牛精液稀释剂中添加 VB₁₂ 并测定解冻后精子各项生理指标的试验中发现:在牛的精子冻存液中加入 VB₁₂ 可以提高精子冻融后顶体的完整率和精子活力。VB₁₂ 不仅降低了精子 GOT 活性和畸形率还延长了精子的存活时间,对冻融精子有保护和减少结构损伤的作用。

2.2 非渗透性冷冻保护剂

非渗透性冷冻保护剂多为一些不可穿过细胞膜的大分子物质。这些大分子物质可以通过提高细胞外液渗透压使细胞脱水,进而减少精子冷冻过程中冰晶的产生减少精子损伤。

2.2.1 卵黄 卵黄作为最经济最广泛的一种牛细管冻精稀释保护剂在精液保存领域占有重要地位。一般情况下,将卵黄、柠檬酸钠、糖类、抗菌素、抗冻剂按比例混合,制作精液稀释保护剂。卵黄不仅可以防止冷刺激,低温下保护精子、延长精子的存活时间还可以扩大稀释倍数。但同时也要注意:卵黄在有氧条件下会因经氨基酸经酶的作用产生过氧化氢危害精子,所以还要在稀释液中添加适量的过氧化氢酶来减少对精子损伤^[14]。

2.2.2 糖类 海藻糖作为一种双糖,具有防止细胞凋亡、抗衰老和氧化性强的特性,且其抗寒能力极强。在精子被冷冻时,海藻糖可以束缚住水分子,保持细胞湿润,稳定蛋白质结构和细胞膜结构。不仅如此,海藻糖还可以保护精子在低温条件下因失水导致的细胞结构的损伤和精子内营养物质的流失。在其充当冷冻保护剂的同时还能为精子提供营养,结合甘油使用效果更加显著。刘维平等人^[15]通过向冷冻精液中添加不同浓度海藻糖的对比试验得出结论:海藻糖不仅可以提高精子活率,还可以提高质膜完整率和顶体完整率。但是海藻糖浓度过高也会使渗透压升高,对精子产生不利影响。

香菇多糖作为一类从香菇中提取的活性成分,具有抗氧化、免疫增强以及清除 ROS 的功能。香菇多糖的抗氧化能力一般与其含量成正比,但过高浓

度的香菇多糖会抑制冻融后精子活力。陈帅等人^[16]观察到,在牛精液稀释冷冻液中添加适量的香菇多糖可以减少蛋白质的冷冻应激并维持精子内蛋白质结构。这就是为什么香菇多糖可以提高牛精子质膜完整率、顶体完整率、动力学参数和精子活率,从而有效提高冻融牛精子质量。

红景天多糖是一种由阿拉伯糖、葡萄糖、半乳糖、甘露糖、鼠李糖、木糖和半乳糖所组成的多糖类物质^[17]。红景天多糖不仅具有抗衰老和防止细胞凋亡的特性还有极强的抗氧化性和抗寒性。向南斌等人^[18]经试验发现:向牛冷冻稀释液中添加红景天多糖可以提高精子运动的各项参数以及质膜和顶体的完整率,且红景天多糖只有和甘油共同使用时才能协同作用保护低温条件下的精子^[19-20]。

黄芪多糖是一种具有抗氧化和抗应激作用的水溶性多糖。因为黄芪多糖可以提高黄酮类的稳定性和溶解度,所以可以和一类具有强抗氧化性并且可以抗炎抗病毒的黄酮类化合物芹菜素协同作用于牛精液冷冻稀释液。王洪涛^[21]经过实验发现:如果向牛精液冷冻稀释液中单独添加黄芪多糖或芹菜素,精液的超氧化物歧化酶、精子过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶水平会得到改善,从而显著提高解冻后的精液质量。但若单独添加芹菜素,效果就没有前者显著。且黄芪多糖可以通过提高精子的总运动力、曲线距离、曲线速度、直线速度、平均路径速度、直线距离、平均路径距离等运动特征,多方面改变精子的运动性能。

2.2.3 蛋白质类 PTD-FNK 蛋白可以减少不利因素对细胞的影响。PTD-FNK 蛋白可以在细胞内部抑制精子凋亡过程的激活从而发挥抗凋亡作用,并且其对牛精子冻融损伤造成的多种损伤刺激有明显的防御作用。刘蛟等人^[22]研究发现,向水牛精液稀释冷冻液中添加 PTD-FNK 蛋白不仅可以直接改善精液中精子质膜完整率及精子活力和活率,还有利于精卵结合及受精的完成。

精浆肝素结合蛋白是一种由副腺体分泌产生到精液中的蛋白质,其在射精时与精子结合,结合后不仅可以促进精子的获能和顶体反应还能改变免疫系统对精子的排斥反应。Patel 等^[23]研究发现,用 20 $\mu\text{g/mL}$ 的精浆肝素结合蛋白处理精液后,纯精液的平均活力和质膜完整率都显著提高,精子的平均数量也有所增加。不仅如此,用肝素结合蛋白处理后的未解冻精液的体外获能和顶体反应的转化率也能得到提高,这是因为精浆肝素结合蛋白与精子结合不仅可降低顶体的损伤还可预防脂质的过度氧化。

2.2.4 多酚类化合物 白藜芦醇是一种抗氧化活

性高于维生素 C 和维生素 E,且毒性远小于两者的活性物质,可以保护精子免受脂质过氧化损伤。刘程等人^[24]在牛精液稀释冷冻液中添加不同量的白藜芦醇,发现且其对精子的作用随浓度的升高而增强。当添加量达到 150 $\mu\text{mol/L}$ 时,精子的抗氧化能力和谷胱甘肽过氧化物酶活力最强且脂质氧化产生的丙二醛含量降低。因此,在稀释精液中添加适量白藜芦醇可有效提高牛精子的抗氧化性,有利于精子的长期保存。

原花青素是一种天然多酚化合物且有抗癌抗氧化的功效。竹叶黄酮取于天然竹叶,与其有相同功效。不仅如此,竹叶黄酮还有提高机体免疫力的作用。鲁平^[25]研究表明,当在牛冷冻稀释精液中单独添加低聚原花青素或竹叶黄酮后,冻融后精液质量会被明显改善。但若组合地添加两者可以再一步提高精液中抗氧化酶活性、质膜顶体完整率、运动学参数和精子活力并显著降低精子中的活性氧和丙二醛水平,从而达到显著的精液冷冻保存效果。

2.3 其它类冷冻保护剂

咖啡碱是一种可以提高动物精子活力、启动动力不足精子的生物碱化合物。咖啡碱不仅可以抑制环核苷酸磷酸二酯酶的作用还可以通过抑制腺苷酸酶的分解来影响细胞内腺苷酸的水平,从而起到挺高精子活力的作用。虽然其作用效果与浓度成正比,但浓度过高的咖啡碱反而会抑制精子活力^[26]。

丙酮酸盐在营养物质代谢上有很重要的作用,也是细胞的能源物质。与此同时还有抗病毒、抗菌和抗氧化等作用。胡传活等人^[27]对丙酮酸盐在精液保存中的作用进行研究,发现在常用的牛细管冻精稀释保护剂由卵黄、柠檬酸钠、糖类、抗菌素、抗冻剂组成的牛细管冻精稀释液中加入丙酮酸钙、丙酮酸钠或丙酮酸钾等丙酮酸盐类均可提高精子的复苏率和冻融后活力,从而达到保护冻融精子的作用。

3 牛冷冻精在人工受精中的应用

3.1 冷冻精液解冻后活力

标准中规定解冻后活力 $\geq 30\%$ (直线前进运动的精子数所占的百分比)。在常规冷冻精液生产技术中原精液的精子在稀释、冷冻、解冻过程中可能损失 50% 左右,因此为了保证冷冻、解冻后的活力达到 30% 原精液的活力需要达到 60% 以上^[28]。

3.2 冷冻精液精子顶体完整率

顶体的透明质酸酶位于细胞质膜上,具有水解透明质酸的作用能促使精子顺利穿透卵子的卵丘到达冠状放射团,当顶体受到破坏时该酶释放到精液中使精子失去受精能力。有实验证明牛精子在冷冻

过程中技术不当可导致透明质酸酶活力降低使其受精率相应降低。

3.3 冷冻精液精子畸形率

精子的畸形有以下的几个方面:头部缺陷,比如大头、小头、锥形头、梨形头、圆头、无定形头、有空泡的头、顶体过小的头、双头以及上述缺陷的任何组合;颈部和中段的缺陷,比如颈部弯曲、中段非对称性接在头部,还有粗或不规则的中断,异常细的中段和上述缺陷的任何组合;尾部缺陷,比如短尾、多尾、发卡形尾、尾部断裂、尾部弯曲、尾部宽度不规则、尾部弯曲或上述缺陷的任何组合。

当畸形精子所占的比例大时就可能影响受精率,畸形精子比例越高受精率越低,甚至可造成遗传障碍,因此这样的精子是不能参与受精的碍。牛精子在一般情况下畸形率不应超过10%,若超过15%以上时受精率下降,50%以上时受精率急剧下降^[29-30]。

4 牛精液冷冻保存的发展前景

牛精液的冷冻保存技术目前还在发展中,提高冻融后精子存活率和质膜与顶体膜的完整性是我们的目标。牛精液的冷冻和保存是推动联合育种、加速中国育牛产业转型的重要步骤,与此同时也对提高种公牛利用率、保存优质遗传资源、防止疾病传播等有着重要意义。为保护我国优良种牛资源,加快养牛业发展,我们未来对牛精液冷冻保存方面的研究应从这几个方面展开:一是开发更加高效的精液稀释液,提高精液保存质量,延长精液保存时间;二是完善牛精液冷冻保存体系并研发智能高效的冷冻保存设备;三是探索发现其他高效冷冻保存添加剂。

参考文献:

- [1] 赵家才,毛翔光,高玉琼,等.影响种公牛精液品质的因素[J]. 中国牛业科学,2021,47(3):6-10.
- [2] 张宝良,苏文娟,马玉婷,等.强制运动对种公牛精液品质的影响[J]. 中国牛业科学,2020,46(4):35-36.
- [3] 胡月超,辛英霞.不同稀释方法对种公牛冷冻精液品质的影响[J]. 中国奶牛,2009(7):21-23.
- [4] MARYAM H, MOHSEN S, MOHSENI K H, et al. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches[J]. Reproductive Biomedicine Online, 2018, 37(3): 327-339.
- [5] UGUR M R, ABDELRAHMAN A S, EVANS H C, et al. Advances in cryopreservation of bull sperm[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2019, 6: 268.
- [6] MARYAM H, MOHSEN S, MOHSENI K H, et al. Sperm cryopreservation: A review on current molecular cryobiology and advanced approaches[J]. Reproductive Biomedicine Online, 2018, 37(3): 327-339.
- [7] 王娜,张洁,海超,等.牛精子冷冻损伤及其改善方法[J]. 中国畜牧兽医, 2021,48(6):2101-2112.
- [8] 桑国俊,邱忠玉,郭海龙,等.牛精液新型冷冻保护剂的研究[J]. 畜牧兽医杂志,2015,34(1):22-27.
- [9] 刘晓宁,赵大伟.不同甘油浓度对公牛精液冷冻后活力的影响[J]. 黑龙江动物繁殖,2006(1):36-37.
- [10] 金穗华,王鹏武,胡树香,等.甘油稀释液的加入方法对公牛精液冷冻后活力的影响[J]. 畜牧兽医杂志,2017,36(1):21-23.
- [11] 陈晓英,赵丽,马金英,等.VE对4℃保存娟珊牛精液品质的影响[J]. 中国草食动物科学,2017,37(2):8-10.
- [12] 任李俊,韩帅琪,胡建宏.抗氧化剂对精液冷冻保存效果的影响[J]. 畜牧兽医杂志,2021,40(2):43-44,47.
- [13] 李玉凡.维生素B₁₂对牛冷冻精液精子质量的影响[J]. 河北农业职业技术学院学报,1998,12(1):40-41.
- [14] 金花,许斌,姜晓东.种公牛精液冷冻保存技术和质量评定[J]. 新疆农业科学,2003,40(增刊):25-28.
- [15] 刘维平,杨鸿斌,周颖,等.海藻糖对牛精液冷冻保存效果的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2014(23):82-83.
- [16] 陈帅,李浩,王艳华,等.香菇多糖对牛精液冷冻保存效果的研究[J]. 畜牧兽医杂志,2020,39(3):14.
- [17] 顾艳丽,王冻凯.红景天的研究进展[J]. 中国医药学报, 2003,19(9):560-561.
- [18] 南向斌,王刚第,李青旺,等.红景天多糖对牛精液冷冻效果影响的研究[J]. 黑龙江畜牧兽医,2010(9):41-43.
- [19] STOREY B T, NOILES E E, THOMPSON K A. Comparison of glycerol other polyols trehalose, and raffinose to provide a defined cryoprotectant medium for mouse sperm cryopreservation[J]. Cryobiology, 1998, 37: 46-58.
- [20] JELINKOVA L, SELMAN H A, ARAV A, et al. Twin pregnancy after vitrification of 2-pronuclei human embryos[J]. Fertil. Steril., 2002, 76(2): 412-414.
- [21] 王洪涛.芹菜素和黄芪多糖对公牛精液冷冻保存的影响[D]. 长春:吉林农业大学,2021.
- [22] 刘蛟,许春荣,覃志贵,等.PTD-FNK蛋白对水牛精子的冷冻保护作用[J]. 中国兽医科学,2020,50(3):396-402.
- [23] MAULIKKUMAR P. Seminal plasma heparin binding proteins improve semen quality by reducing oxidative stress during cryopreservation of cattle bull semen[J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2016, 29(9): 1247-1255.
- [24] 刘程,方乾,杨瑞,等.白藜芦醇对牛精液冷冻保存的抗氧化作用研究[J]. 畜牧兽医杂志,2017,36(3):4-6.
- [25] 鲁平.原花青素和竹叶黄酮对肉牛精液冻存效果的影响[D]. 长春:吉林农业大学,2021.
- [26] EI-GAAFARY M N. 单志清.咖啡碱对牛精液质量的作用[J]. 国外畜牧科技,1991(2):21-22.
- [27] 胡传话,杨俊涛,梁琪妹,等.丙酮酸盐对牛精液冷冻效果的影响[J]. 河南农业科学,2006(7):105-108.
- [28] 任李俊,王智,朱大伟,等.影响绵羊精液冷冻保存效果的因素[J]. 畜牧兽医杂志,2021,40(3):39-41.
- [29] 杨学时.全国牛冷冻精液国家标准培训班教材[M]. 长春:吉林省农业科学院,1988:134-135.
- [30] 汪聪勇,赵杨杨,陈江凌,等.种公牛超声波活体测定分析与研究[J]. 家畜生态学报,2021,42(7):39-42.

Study on Preservation and Freezing Effect of Physiological Parameters of Different Diluents of Semen of Guanzhong Dairy Goat

WANG Guang¹, ZOU Jia-hao¹, ZHANG Yong-tao¹, LI De-xian¹, YUAN Yu-xin¹,
YU Meng-qi¹, CHEN Lu¹, CHEN Wei², LI Guang^{1*}

(1. Technical Innovation Laboratory of Dairy Sheep Industry, College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100; 2. Agricultural and Animal Husbandry Veterinary Technology Extension Station in Anbian Area of Dingbian County, Dingbian, Shaanxi 718600)

Abstract: [Objective] To explore the effects of diluents with different pH and osmotic pressure on the quality of frozen semen of Guanzhong dairy goats, and to determine optimal effect of semen preservation and freezing of Guanzhong dairy goats. [Method] The sperm motility rate, recovery rate, sperm acrosome integrity rate, sperm abnormality rate, and sperm survival time after freezing, after the equilibrium, and after thawing were evaluated by microscopic detection of diluent treatment with different pH values and osmotic pressure. [Result] When the pH value of semen diluent of Guanzhong dairy goat was 7.3, the sperm motility rate before cooling, after the equilibrium, and after thawing was the highest, reaching $(0.742 \pm 0.011)\%$, $(0.645 \pm 0.011)\%$ and $(0.489 \pm 0.012)\%$ respectively. The survival rate, recovery rate, and acrosome integrity after thawing were $(0.431 \pm 0.009)\%$, $(63.1 \pm 0.427)\%$, and $(65.7 \pm 2.018)\%$ respectively. The sperm survival time reached (12.50 ± 0.141) h, (11.96 ± 0.186) h, and (11.61 ± 0.753) h respectively before cooling, after equilibrium, and after thawing. The motility rate was $(0.52 \pm 0.014)\%$ 8 hours after freezing. When the osmotic pressure was $\Delta 0.754$ °C, the sperm protection effect was optimal. The sperm motility before cooling, after equilibrium, and after thawing reached $(0.752 \pm 0.045)\%$, $(0.671 \pm 0.024)\%$, and $(0.649 \pm 0.036)\%$ respectively. The survival rate, recovery rate, and acrosome integrity rate after thawing were $(0.481 \pm 0.019)\%$, $(63.6 \pm 0.377)\%$, and $(69.9 \pm 1.068)\%$, respectively. The sperm survival time reached (11.82 ± 0.165) h, (11.94 ± 0.145) h, and (11.70 ± 0.753) h before cooling, after the equilibrium, and after thawing respectively, and the motility rate reached $(0.43 \pm 0.033)\%$ 8 hours after freezing. [Conclusion] The most suitable pH value of semen diluent of Guanzhong dairy goat was 7.3, and optimal osmotic pressure was $\Delta 0.754$ °C, which provides certain theoretical guidance for the optimization of the diluent formula of dairy goats.

Key words: Guanzhong dairy goat; semen; pH value; osmotic pressure; semen quality

(上接第 64 页)

Research Progress on Freezing and Preservation of Semen in Cattle Breeding

WANG Qing-yan¹, PENG Wei², LI Xin-miao¹, ZHAO Yang-yang³, TIAN Quan-zhao³,
LIU Xian⁴, YANG Qi-en², ZHANG Jun², LEI Chu-zhao¹, HUANG Yong-zhen^{1*}

(1. College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling, Shaanxi 712100;
2. Qinghai Academy of Animal Science and Veterinary Medicine, Qinghai University, Xining 810016;
3. Henan Dingyuan Cattle Breeding Co., Ltd., Zhengzhou 450000; 4. Henan Provincial Animal Husbandry General Station, Zhengzhou 450008)

Abstract: With the rapid development of cattle industry, the research on technology of preserving bovine semen in a liquid state is gradually deepening. Artificial insemination technology not only reduces the breeding cost and accelerates the breeding improvement of beef cattle, but also promotes the breeding process. This paper summarized the research and development of bovine semen cryopreservation technology in China in terms of new cryoprotectants, damage repair and cryopreservation additives of bovine semen, the application of bovine frozen semen in artificial fertilization and the development prospects of cryopreservation to help and provide references for future the development bovine semen cryopreservation technology.

Key words: bovine semen; semen cryoprotectant; preservation effect; research progress