



## 不同稀释液生理参数对关中奶山羊精液 保存及冷冻效果的研究

王 广<sup>1</sup>, 邹家浩<sup>1</sup>, 张永涛<sup>1</sup>, 李德嫻<sup>1</sup>, 袁宇欣<sup>1</sup>,

余梦琦<sup>1</sup>, 陈 璐<sup>1</sup>, 陈 伟<sup>2</sup>, 李 广<sup>1\*</sup>

(1. 西北农林科技大学动物科技学院, 奶羊产业技术创新实验室, 陕西 杨凌 712100;

2. 陕西省榆林市定边县安边区域农牧兽医技术推广站, 陕西 定边 718600)

**摘 要:** [目的] 探讨了不同 pH 值、渗透压的稀释液对关中奶山羊冻精品质的影响, 以确定关中奶山羊精液最佳保存与冷冻效果。[方法] 通过显微检测在不同 pH 值、渗透压的稀释液处理对降温前、平衡后与解冻后的精子的活率、复苏率、精子顶体完整率、精子畸形率及精子冻后存活时间等指标进行评估。[结果] 关中奶山羊精液稀释液 pH 值为 7.3 时, 降温前、平衡后与解冻后的精子活率最高, 分别达到  $(0.742 \pm 0.011)\%$ ,  $(0.645 \pm 0.011)\%$ ,  $(0.489 \pm 0.012)\%$ ; 冻后活率、复苏率及解冻后顶体完整率分别达到  $(0.431 \pm 0.009)\%$ ,  $(63.1 \pm 0.427)\%$ ,  $(65.7 \pm 2.018)\%$ ; 精子存活时间在降温前、平衡后及解冻后分别达到  $(12.50 \pm 0.141)$  h,  $(11.96 \pm 0.186)$  h,  $(11.61 \pm 0.753)$  h, 冻后 8 h 活率为  $(0.52 \pm 0.014)\%$ ; 当渗透压为  $\Delta 0.754$  °C 时, 其精子的保护效果最佳, 降温前、平衡后与解冻后的精子活率分别达到  $(0.752 \pm 0.045)\%$ ,  $(0.671 \pm 0.024)\%$ ,  $(0.649 \pm 0.036)\%$ ; 冻后活率、复苏率及解冻后顶体完整率分别达到  $(0.481 \pm 0.019)\%$ ,  $(63.6 \pm 0.377)\%$ ,  $(69.9 \pm 1.068)\%$ ; 精子存活时间在降温前、平衡后及解冻后分别达到  $(11.82 \pm 0.165)$  h,  $(11.94 \pm 0.145)$  h,  $(11.70 \pm 0.753)$  h, 冻后 8 h 活率达到  $(0.43 \pm 0.033)\%$ 。[结论] 关中奶山羊精液稀释液最合适的 pH 值是 7.3, 最佳渗透压为  $\Delta 0.754$  °C, 这一结果对奶山羊稀释液配方优化提供了一定的理论指导。

**关键词:** 关中奶山羊; 精液; pH 值; 渗透压; 精液品质

中图分类号: S826 文献标识码: A 文章编号: 1001-9111(2022)04-0065-05

精液冷冻保存技术的研究与利用, 有利于动物遗传资源保护, 可使精液不受时间、地域的限制, 便于开展种畜资源共享和交流, 提高优良种畜的利用率和延长公畜精子的使用时限。精液保存时, 需要添加精液稀释液保护精子, 尤其是在降温、冷冻解冻过程中, 稀释液的成分可在一定程度上减轻低温对精子的损伤<sup>[1]</sup>, 精子的长期保存效果与稀释液生理参数(渗透压和 pH 值)具有重要的关系。目前对于山羊冷冻精液的研究主要集中在稀释液的优化组合

上, 关于不同 pH 值、渗透压的稀释液对关中奶山羊精液品质及其冷冻效果的方面的研究较少。为此试验设置了不同 pH 值、渗透压的稀释液探究其对关中奶山羊精子质量的影响, 从而为奶山羊精液的冷冻保存技术提供理论参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 试验动物

关中奶山羊种公羊: 选择陕西省三原县某种羊

收稿日期: 2022-02-12 修回日期: 2022-04-20

基金项目: 陕西省农业协同创新与推广联盟项目(LMZD202002); 陕西省农业科技创新驱动项目(NYKJ-2021-YL(XN)08)

作者简介: 王广(1997—), 男, 硕士, 主要从事动物遗传育种及繁殖学研究。

\* 通讯作者: 李广(1965—), 男, 硕士生导师, 研究员, 主要从事关中奶山羊营养与高效繁育研究。

场 3 只 1.5 岁龄正常采精种公羊,平均年龄、膘情、体重等组间差异不显著 ( $P > 0.05$ ),饲养管理条件一致。

### 1.2 稀释液组成

基础配方第 I 液:葡萄糖 3.1 g、乳糖 2.8 g、柠檬酸钠 1.8 g、三羟基甲基氨基甲烷(Tris)0.01 g、柠檬酸 0.028 g、双蒸水 100 mL;第 II 液:在第 I 液基础上加青霉素 10 万单位、链霉素 10 万单位、甘油 5 mL、卵黄 20 mL。

### 1.3 试验设计

试验在基础液的基础上,pH 值设计 4 个不同的处理组(A1、A2、A3、A4),其 pH 值依次为 6.7、7.0、7.3、7.6;渗透压设计 4 个不同的处理组(B1、B2、B3、B4),其渗透压依次为  $\Delta 0.526\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\Delta 0.682\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\Delta 0.754\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $\Delta 0.893\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

### 1.4 精液采集与处理

运用假阴道法采集 3 只公羊的精液后,立即送至实验室,在  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$  下通过显微检查,对精子样本进行精子密度和精子活力评估。精子形态正常,畸形率小于 5%,精子活力在 0.75 以上,密度大于 15 亿/mL 的精液可用于后续实验。将合格的精液用的稀释剂等温稀释,放入  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱冷藏 2 h。第 1 次平衡完成后,在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  操作台内进行第 2 次等温稀释,然后继续在  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  冰箱中平衡 2 h。平衡完成后,将精液装入 0.25 mL 的细管中,按照特定的冷冻程序将温度从  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  降到  $-140\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。然后将细管浸入  $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$  的液氮中以完成冷冻过程;解冻时将样品在  $38\text{ }^{\circ}\text{C}$  水

浴中解冻 35 s,取样进行精子检测。

### 1.5 精子品质检测

对降温前、平衡后与解冻后的精子的活率、复苏率、精子顶体完整率、精子畸形率及精子冻后存活时间等指标进行显微检测。

### 1.6 数据处理

试验数据采用 Excel 2010 软件进行分类统计,使用 SPSS 26.0 软件进行方差分析,独立样本  $t$  检验比较组间差异显著性。试验结果以“平均值  $\pm$  标准差”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同 pH 值对关中奶山羊精液保存及冷冻效果的影响

2.1.1 不同 pH 值对关中奶山羊精子不同阶段活率比较 由表 1 可见,pH 值为 7.3 时的为平衡后与解冻后的活率最高。

2.1.2 不同 pH 值对关中奶山羊冻后活力、复苏率和解冻后顶体完整率比较 由表 2 可见,pH 值为 7.3 时对精子的冻后活率、复苏率及解冻后顶体完整率有一定的影响,试验组 A3 的渗透压对精子的保护作用最好。

2.1.3 不同 pH 值对不同阶段精子存活时间和解冻后保存效果的影响 由表 3 可见,不同 pH 值对精子存活时间和冻后室温存活时间有一定的差异,其中试验组 A3 冻后室温存活时间最长,冻后 8 h 活率最高。

表 1 不同 pH 值处理间精子不同阶段活率比较

%

| 试验组 | 降温前                 | 平衡后                 | 解冻后                    |
|-----|---------------------|---------------------|------------------------|
| A1  | $0.751 \pm 0.031^a$ | $0.618 \pm 0.043^b$ | $0.411 \pm 0.006^{Aa}$ |
| A2  | $0.748 \pm 0.012^a$ | $0.626 \pm 0.014^b$ | $0.423 \pm 0.016^{Aa}$ |
| A3  | $0.742 \pm 0.011^b$ | $0.645 \pm 0.011^a$ | $0.489 \pm 0.012^{Bb}$ |
| A4  | $0.741 \pm 0.006^b$ | $0.637 \pm 0.008^a$ | $0.457 \pm 0.009^c$    |

注:表中同列比较,标注相同小写字母表示差异不显著 ( $P > 0.05$ ),不同为差异显著 ( $P < 0.05$ ),不同大写字母为差异极显著 ( $P < 0.01$ )。下同。

表 2 不同 pH 值处理间对精子的冻后活力、复苏率和解冻后顶体完整率比较

%

| 试验组 | 冻后活率                   | 复苏率                | 解冻后顶体完整率              |
|-----|------------------------|--------------------|-----------------------|
| A1  | $0.381 \pm 0.024^{Ba}$ | $58.6 \pm 0.219^b$ | $59.8 \pm 2.314^{Bb}$ |
| A2  | $0.395 \pm 0.013^c$    | $62.5 \pm 0.543^b$ | $64.3 \pm 1.674^b$    |
| A3  | $0.431 \pm 0.009^b$    | $63.1 \pm 0.427^a$ | $65.7 \pm 2.018^{Ab}$ |
| A4  | $0.478 \pm 0.012^{Aa}$ | $60.9 \pm 0.318^b$ | $68.2 \pm 3.129^{Aa}$ |

表 3 不同 pH 值对精子存活时间和冻后室温活率比较

| 试验组 | 降温前/h                      | 平衡后/h                      | 解冻后/h                       | 冻后 8 h 活率/%                |
|-----|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| A1  | 11.16 ± 0.186 <sup>b</sup> | 10.70 ± 0.167 <sup>d</sup> | 9.68 ± 0.248 <sup>Bd</sup>  | 0.21 ± 0.016 <sup>Ce</sup> |
| A2  | 12.11 ± 0.232 <sup>a</sup> | 11.80 ± 0.141 <sup>b</sup> | 11.38 ± 0.075 <sup>Ab</sup> | 0.46 ± 0.014 <sup>Cd</sup> |
| A3  | 12.50 ± 0.141 <sup>b</sup> | 11.96 ± 0.186 <sup>c</sup> | 11.61 ± 0.753 <sup>Bc</sup> | 0.52 ± 0.014 <sup>Bc</sup> |
| A4  | 12.51 ± 0.117 <sup>a</sup> | 11.86 ± 0.163 <sup>b</sup> | 10.21 ± 0.117 <sup>Ab</sup> | 0.50 ± 0.011 <sup>Bb</sup> |

2.2 不同渗透压对关中奶山羊精液保存及冷冻效果的影响

2.2.1 不同渗透压对关中奶山羊精子不同阶段活率比较 由表 4 可见,试验组 B3 的渗透压为 Δ0.754 ℃时,精子平衡后与解冻后的活率最高。

2.2.2 不同渗透压对精子的冻后活力、复苏率和解冻后顶体完整率的影响 由表 5 可见,渗透压对精

子的冻后活率、复苏率及解冻后顶体完整率有一定的影响,试验组 B3 的渗透压对精子的保护作用最好。

2.2.3 不同渗透压对不同阶段精子存活时间和解冻后保存效果的影响 由表 6 可见,不同 pH 值对精子存活时间和冻后室温存活时间有一定的差异,其中试验组 B3 冻后室温存活时间最长。

表 4 不同渗透压处理间精子不同阶段活率比较 %

| 试验组 | 降温前                        | 平衡后                        | 解冻后                         |
|-----|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| B1  | 0.750 ± 0.076 <sup>a</sup> | 0.623 ± 0.045 <sup>b</sup> | 0.531 ± 0.034 <sup>Aa</sup> |
| B2  | 0.753 ± 0.062 <sup>a</sup> | 0.633 ± 0.014 <sup>b</sup> | 0.573 ± 0.053 <sup>Aa</sup> |
| B3  | 0.752 ± 0.045 <sup>b</sup> | 0.671 ± 0.024 <sup>a</sup> | 0.649 ± 0.036 <sup>Bb</sup> |
| B4  | 0.741 ± 0.026 <sup>b</sup> | 0.647 ± 0.024 <sup>a</sup> | 0.617 ± 0.017 <sup>c</sup>  |

表 5 不同渗透压对精子的冻后活力、复苏率和解冻后顶体完整率比较 %

| 试验组 | 冻后活率                        | 复苏率                       | 解冻后顶体完整率                   |
|-----|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| B1  | 0.383 ± 0.044 <sup>Ba</sup> | 59.6 ± 0.634 <sup>b</sup> | 59.7 ± 1.344 <sup>Bb</sup> |
| B2  | 0.395 ± 0.056 <sup>c</sup>  | 61.5 ± 0.323 <sup>b</sup> | 63.6 ± 1.684 <sup>b</sup>  |
| B3  | 0.481 ± 0.019 <sup>b</sup>  | 63.6 ± 0.377 <sup>a</sup> | 69.9 ± 1.068 <sup>Ab</sup> |
| B4  | 0.463 ± 0.012 <sup>Aa</sup> | 60.1 ± 0.518 <sup>b</sup> | 64.2 ± 1.139 <sup>Aa</sup> |

表 6 不同渗透压对精子存活时间和冻后室温活率比较

| 试验组 | 降温前/h                      | 平衡后/h                      | 解冻后/h                       | 冻后 8 h 活率/%                |
|-----|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| B1  | 11.36 ± 0.134 <sup>b</sup> | 10.77 ± 0.154 <sup>d</sup> | 9.78 ± 0.248 <sup>Bd</sup>  | 0.31 ± 0.011 <sup>Ce</sup> |
| B2  | 12.32 ± 0.254 <sup>a</sup> | 11.79 ± 0.161 <sup>b</sup> | 11.28 ± 0.075 <sup>Ab</sup> | 0.38 ± 0.026 <sup>Cd</sup> |
| B3  | 11.82 ± 0.165 <sup>b</sup> | 11.94 ± 0.145 <sup>c</sup> | 11.70 ± 0.753 <sup>Bc</sup> | 0.43 ± 0.033 <sup>Bc</sup> |
| B4  | 12.22 ± 0.124 <sup>a</sup> | 11.86 ± 0.153 <sup>b</sup> | 10.91 ± 0.117 <sup>Ab</sup> | 0.40 ± 0.022 <sup>Bb</sup> |

3 讨 论

在关中奶山羊细管冻精制作过程中,精子代谢很强烈,能量消耗快,同时代谢产物的积累也会改变环境 pH,导致某些酶的活性被抑制,致使精子丧失受精能力,因此稀释液 pH 的控制很重要,精液的 pH 值可因精子代谢或其它原因而发生变化,当精液 pH 值降低时,精子的代谢活动减弱,反之,pH 上升时,代谢活动增强,能量迅速耗竭,存活时间减

少<sup>[2]</sup>。精液正常 pH 值是渗透压,酶系统,电离度趋于稳定水平的标志,pH 值发生变化就意味着精液受到污染,代谢物积累时 pH 值降低,造成渗透压改变,电离度增高,加速精子死亡<sup>[-3]</sup>。为了维持正常代谢活动,精子需要一个适宜的 pH 值<sup>[-4]</sup>,本试验发现稀释液 pH 值在 7.3 时有较高的精子活力。本试验通过调节稀释液中 pH 值对关中奶山羊精液进行冷冻,发现不同 pH 值对精子活力影响较大,从试验结果来看,精液冷冻过后,pH 值为 7.3 的试验组解

冻活力较高,建议在制作冻精时稀释液的 pH 值应控制在 7.3 左右。此结论与祝发明等<sup>[5]</sup>对波尔山羊冻精的研究结果相似,最佳 pH 值应该控制在 7.2 ~ 7.4 之间,但与 Buckrell 等<sup>[6]</sup>建议的羊冻精 pH 保持在 6.8 左右有所不同。目前,国内对羊冷冻精液 pH 值相关研究较少。马英玉等<sup>[7]</sup>建议羊冻精稀释液 pH 值应控制在 6.8 ~ 7.2 之间;丁瑜<sup>[8]</sup>认为 pH 值过高会影响冷冻精液的保存。当稀释液酸度增大时,精细胞膜表面的亲水基团的中心原子,便趋向于形成带正电荷的阳离子。随着阳离子半径的变小,有效核电荷数增大,亲水基团的水合作用加强,相应稳定了精细胞膜表面的结合水,在液相结冰水分子重组时,便可对精细胞膜起到保护作用<sup>[9]</sup>。本试验中基础液 pH 值 7.3 效果最好,这可能是由于精子在 pH 值 6.6 ~ 6.8 运动比较旺盛,能量消耗过快,导致平衡后、解冻后活力较低;另一方面是 pH 值的调整引起渗透压相应的变化,导致冻后活力和冻后顶体完整率受影响。从试验可见稀释液渗透压稍高对精液保存有利<sup>[10]</sup>。Tris (三羟甲基氨基甲烷) 其 pH 缓冲范围在 7 ~ 9, Tris 能使精液的 pH 值在一定程度上倾向于碱性,从而有利于提高精子活力。多数稀释液的 pH 值为弱碱性,因为精液在保存过程中会产生酸性代谢产物,碱性稀释液能够中和一部分酸性物质,防止 pH 值过酸造成精子死亡<sup>[11]</sup>。在动物的生殖系统中,副性腺的分泌物为偏碱性,刚排出的精子是弱酸性,处于“休眠”状态,精子的弱酸性在阴道中被分泌物中和后,精子会解除休眠状态,活力增加<sup>[12]</sup>;分泌物是精子天然的缓冲液,可以抵抗阴道中的酸性物质,使精子在阴道内部运输、贮存时维持较好的活性和受精能力<sup>[13]</sup>。在本试验配方中添加了一定量的 Tris 液,精子的冻后活率及冻后室温保存 8 h 后活率较高;柠檬酸是一种有机酸,具有一定的缓冲作用,在机体内参与糖、脂肪和蛋白质代谢,在本试验配方中添加了一定量的柠檬酸,精子的冻后活率及冻后室温保存 8 h 后活率最高,这可能是羊原精中钠的含量较高<sup>[14]</sup>,精液中的钠与稀释液中柠檬酸结合,维持精液的 pH 值与渗透压,有利于提高活力。

精子的顶体是完成受精过程的重要细胞结构,顶体完整率越高,存活指数越大,精子的存活时间越长<sup>[15]</sup>。精子畸形率高,对受精能力的影响就大。稀释液的渗透压对精子的影响很大,过高和过低都会

产生不良的影响。在一定范围内,精子对不同渗透压的稀释液有逐渐适应的能力,但精子对低渗比高渗较为敏感<sup>[15-17]</sup>。本试验中的精子稀释液渗透压为  $\Delta 0.754$  °C 时,冻后精子顶体完整率最高、畸形率最低,所以,在配制稀释液时要特别注意稀释液的渗透压调整。

## 参考文献:

- [1] 权富生,黄欣,马会明,等. 添加 VB12、VE、VC 对无角道塞特绵羊精液冷冻效果的影响[J]. 西北农业学报,2010,19(11):13-17.
- [2] 辛国省,张勇,赵兴绪. pH 值和甘油平衡时间对藏獒精液冷冻保存活力的影响[J]. 甘肃农业大学学报,2008(2):18-21.
- [3] 王振家. 关于家畜精液冷冻的几个技术问题[J]. 辽宁畜牧兽医,1987(6):13-14.
- [4] 郑银伟,买尔哈巴·艾合麦提,耿娟,等. 不同 pH 值稀释液对杜泊羊冷冻精液活率的影响[J]. 中国草食动物科学,2020,40(5):81-83.
- [5] 祝发明,杜保华,曹斌云. 波尔山羊冷冻精液稀释液配方研究[J]. 中国畜牧杂志,2005(12):18-20.
- [6] BUCKRELL B C, BUSCHBECK C, GARTLEY C J, et al. Further development of a transcervical technique for artificial insemination in sheep using previously frozen semen[J]. Theriogenology, 1994, 42(4): 601-611.
- [7] 马玉英,贺严峰. 萨福克肉羊精液冷冻保存技术浅析[J]. 中国畜禽种业,2017,13(1):66-67.
- [8] 丁瑜. 优质肉羊精液冷冻稀释液的研究[D]. 长春:吉林农业大学,2005.
- [9] 郝易风. 不同 pH 稀释液对精液冷冻效果的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,1985(8):16.
- [10] 刘孝德,褚衍普,谢端俊,等. 不同稀释液常温保存山羊精液的效果[J]. 畜牧与兽医,2002,34(5):16-17.
- [11] 戈新,张宝珣,王建华,等. 商品稀释剂 pH 值、渗透压测定及其对猪常温精液保存效果的比较[J]. 畜牧与兽医,2011,43(2):37-40.
- [12] 莫显红,李俊杰,桑润滋,等. 牛羊卵母细胞玻璃化冷冻保存的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医,2011(7):26-28.
- [13] 桑润滋. 我国奶牛胚胎移植和胚胎工程现状及“十一五”的重点研究领域[J]. 农业生物技术学报,2006(4):451-455.
- [14] 北京农业大学. 家畜繁殖学[M]. 北京:中国农业出版社,1982.
- [15] 岳文斌. 绵羊精子的顶体反应与精液品质相关的研究[J]. 畜牧与兽医,1993,25(1):17.
- [16] 赵晓娥,于光亚. 布尔山羊细管冷冻精液研制初报[J]. 畜牧与兽医,1999(2):19-22.
- [17] 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.

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

WANG Guang<sup>1</sup>, ZOU Jia-hao<sup>1</sup>, ZHANG Yong-tao<sup>1</sup>, LI De-xian<sup>1</sup>, YUAN Yu-xin<sup>1</sup>,  
YU Meng-qi<sup>1</sup>, CHEN Lu<sup>1</sup>, CHEN Wei<sup>2</sup>, LI Guang<sup>1\*</sup>

(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  $(12.50 \pm 0.141)$  h,  $(11.96 \pm 0.186)$  h, and  $(11.61 \pm 0.753)$  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  $(11.82 \pm 0.165)$  h,  $(11.94 \pm 0.145)$  h, and  $(11.70 \pm 0.753)$  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-yan<sup>1</sup>, PENG Wei<sup>2</sup>, LI Xin-miao<sup>1</sup>, ZHAO Yang-yang<sup>3</sup>, TIAN Quan-zhao<sup>3</sup>,  
LIU Xian<sup>4</sup>, YANG Qi-en<sup>2</sup>, ZHANG Jun<sup>2</sup>, LEI Chu-zhao<sup>1</sup>, HUANG Yong-zhen<sup>1\*</sup>

(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