YY 超雄黄颡鱼精子保存液和激活液的 筛选及在生产上的应用

古勇明1 陈柏湘1 韩林强1 刘冰南1 黎 洁2

1.广东省佛山市南海百容水产良种有限公司,广东佛山 528216;2.华中农业大学水产学院,武汉 430070

摘要 分别以精子活力和受精率为标准,对 5 种精子保存液在不同稀释倍数下保存超雄黄颡鱼精子的效果及不同浓度 NaCl 激活液的应用效果进行了比较研究。结果表明,B 保存液效果最好,精子活力和寿命保持时间最长,8 倍稀释液在 4 ℃条件下,96 h 内可保持 80%以上的活力;低浓度 NaCl 溶液能延长精子的寿命,在 0.3% NaCl 溶液中激活精子活力最强。本实验筛选的超雄黄颡鱼精子保存液和激活液在全雄黄颡鱼生产中具有良好的推广应用价值。

关键词 YY 超雄黄颡鱼;精子;保存液;激活液;受精率

黄颡鱼(Pelteobagrus fulvidraco)隶属于鲶形目、 鲿科、黄颡鱼属,俗称嘎鱼、黄姑、黄蜡丁,是一种小 型底层经济鱼类,其肉质细嫩、味道鲜美、营养丰 富,肌间刺少,深受消费者喜爱,已成为我国名特优 水产品重点养殖对象之一,2013年全国黄颡鱼总产 量超过50万 t¹¹。

在相同养殖条件下,全雄黄颡鱼的养殖效益显著高于普通黄颡鱼[^{2-3]},使得全雄黄颡鱼苗种市场需求量不断增加。全雄黄颡鱼人工繁殖生产需杀超雄黄颡鱼取精,剪碎研磨,再用精子保存液清洗和稀释,若处理不当将会影响精子活力,造成受精率低下,同时造成 YY 超雄鱼亲本浪费,增加生产成本。

有关黄颡鱼等鲇形目鱼类精子保存液和激活液的研究已有报道[4-7],但超雄黄颡鱼(YY)与一般黄颡鱼雄鱼(XY)在遗传基础上存在本质差异,两者精子组成不同,保存液效果是否一致,目前还未见相关的研究报道。

本研究初步探讨了 5 种保存液及不同浓度激活液对超雄黄颡鱼精子活力的影响,以筛选出效果最优的保存液和激活液参数,并在人工繁殖生产中应用,指导苗种生产。

1 材料与方法

1.1 材料来源

YY 超雄黄颡鱼为佛山市南海百容水产良种有限公司研发育成,使用前利用分子标记鉴定确认。在繁殖季节,选取体表无伤、无病、个体健康、性成熟的 YY 超雄黄颡鱼,体重为 200~250 g。精子保存容器为经洗涤和高温灭菌处理后的 10 mL 可密封青霉素玻璃瓶。

1.2 精子保存液的制备

根据鱼类精子保存的生理需要,参考相关文献¹⁴⁻⁷, 配制了 A~E 共 5 种精子保存液,具体配方成分组成见表 1。

1.3 超雄黄颡鱼精子采集

采用人工催产的方法进行精子采集。催产激素及剂量为:LHRH-A₂ 4 μ g/kg,DOM 1.0 mg/kg,到达效应时间时,先用干毛巾擦干鱼身,然后剖腹取出乳白色的精巢,剔除血污等,置于吸水纸上吸去水分,在孔径为 0.150 mm 的干净网布中挤出精子,4 °C冰箱保存备用。

1.4 精液的保存

使用定量移液枪将精液分别用保存液 A~E进

收稿日期:2015-06-08

基金项目:高雄性率黄颡鱼的杂交育种及规模化人工繁育技术推广,清远市科技计划项目(2013C007) 古勇明,男,1960年生,中级工程师。

表 1 精子保存液配方组成情况

保存液	配方成分	参考文献
A	氯化钠 4.68 g/L, 氯化钾 3.73 g/L, 氯化钙 0.12 g/L, 碳酸氢钠 0.42 g/L, 氯化镁 0.41 g/L, 青霉素 80 万 IU/L, 链霉素 100 万 IU/L	[5]
В	柠檬酸钠三钠 34 mmol/L, 葡萄糖 146.5 mmol/L, 氯化钾 4 mmol/L, 碳酸氢钠 23.80 mmol/L, 青霉素 80 万 IU/L, 链霉素 100 万 IU/L	[4]
C	葡萄糖 0.0018 mol/L, 氯化钙 0.006 mol/L, 氯化钾 0.0018 mol/L, 碳酸氢钠 0.025 mol/L, 青霉素 80 万 IU/L, 链霉素 100 万 IU/L	[4]
D	氯化钠 8.01 g/L, 氯化钾 0.40 g/L, 氯化钙 0.56 g/L, 碳酸氢钠 0.35 g/L, 磷酸二氢钾 0.06 g/L, 葡萄糖 0.34 g/L, 青霉素 80 万 IU/L, 链霉素 100 万 IU/L	[6]
E	氯化钠 7.8 g/L, 氯化钾 0.20 g/L, 氯化钙 0.21 g/L, 碳酸氢钠 0.021 g/L, 青霉素 80 万 IU/L, 链霉素 100 万 IU/L	[7]

行 4、8 倍稀释,保存瓶置于冰箱(4 ℃)保存,设置 3 个平行。

1.5 精子活力观察

用 1 mL 微型注射器针尖挑取少量精液,放至事先滴好低渗溶液的计数板上,激活精子,在数码显微镜下拍摄出精子在各种低渗溶液中的运动状况。用精子激活后的活力(快速运动精子占总精子数的百分比)为指标对保存效果进行评价。"+++"表示 100%精子快速运动;"++"表示 80%精子快速运动;"+"表示 50%精子快速运动;"+-"表示 10%~30%精子快速运动;"-"表示少量精子在原地振动或全部死亡。精子的激活率、强烈运动期、慢速运动期和寿命的观察参照相关文献⁸。

1.6 人工授精受精率统计

每组各取卵子约 500 粒于培养皿中,分别加入 0.1 mL 精液,并加入 10 mL 水激活,迅速振荡使卵子和精子充分结合并黏于培养皿底部后统一置于塑料大盆中,定期换水、充气,保证溶氧。受精卵处于原肠中期时,在解剖镜下抽样观察并计数受精卵,计算其受精率,受精率=(原肠中期卵数目/总卵数)×100%。每组设置 3 个平行。

1.7 试验设计

1)不同保存液对超雄黄颡鱼精子保存效果的 影响。

在低温(4 °C)条件下,观察 5 种精子保存液 4 、 8 倍稀释保存的结果。前 12 h 每隔 2 ~4 h 观察 1 次,以后 12 ~24 h 时观察 1 次,记录结果。获得超雄黄颡鱼精子活力的时间变化规律,确定最优保存液和最佳保存时间。

2)不同保存时间对人工授精效果的影响。

利用筛选的最优保存液保存精液,评估不同保存时间的授精效果。选择发育良好的雌鱼 3 尾和超雄鱼 2 尾,注射催产激素,2 次注射,针距 10 h,第 1 针 LHRH-A₂ 10 μg/kg,第 2 针 LHRH-A₂ 5 μg/kg、

DOM 2.0 mg/kg 和 HCG 1 500 IU/kg, 效应时间后 挤卵,选择卵质良好、数量较多的同一尾雌鱼卵用 于实验。在培育皿中各取约 500 颗卵粒分别与不同 保存时期保存的精液和新鲜精液授精,加水激活,然后放入塑料盆中孵化,统计受精率,每组设置 3 个平行。

3)不同低渗激活液对超雄黄颡鱼精子活力的 影响。

考察超雄黄颡鱼精子在不同盐度激活液中的 激活情况,统计精子快速运动时间、慢速运动时间 和平均寿命,筛选出最佳的激活液浓度。

4)不同低渗激活液对人工授精效果的影响。

生产过程中选择发育较好的雌鱼,注射催产激素,效应时间后,选择卵质良好的卵用于实验,干法授精,分别用不同浓度激活液(0.0%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%)激活,统计受精率,每组设置3个平行。

1.8 数据统计

试验数据在 SSPP 19.0 软件中整理并作多重比较分析,显著水平为 P=0.05。

2 结果与分析

2.1 不同保存液对超雄黄颡鱼精子保存效果的影响

超雄黄颡鱼精子在不同保存液中的保存效果 见表 2。低温条件下(4 ℃),5 种保存液 4 倍和 8 倍 稀释保存下的精液在前 24 h 内精子活力均很强, 激活后几乎 100%的精子在作快速运动;24 h 后活 力出现下降趋势,但不同保存液中的精子活力变化 有所不同,不同稀释倍数间也开始出现差异。

1)保存液 A:4 倍稀释保存中,24 h 后活力下降 趋势明显,48~72 h 激活后 80%的精子在作快速运动;96 h 激活后仅约 50%的精子作快速运动;120 h 精子基本死亡。8 倍稀释保存中,保存 48 h 后精子 活力下降不明显,激活后仍有接近 100%的精子在 作快速运动;72~120 h 活力下降明显,激活后作快

保存液	稀释倍数	保存时间 /h									
		2	4	8	12	24	48	72	96	120	144
A	4	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-	
А	8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+-	-
В	4	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+	+-
Б	8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+
С	4	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	++	+	-
C	8	+++	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	-
D	4	+++	+++	+++	+++	+++	++	++	+	+-	+-
D	8	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+-	-
E	4	+++	+++	+++	+++	+++	+	+	+-	-	
Ľ	8	+++	+++	+++	+++	+++	++	+	+	+-	-
原精	-	+++	+++	+++	++	+	-				
		-		_	_	-				-	

表 2 超雄黄颡鱼精子在不同保存液中的保存效果(4 %)

速运动的精子量从 80%逐步降低到 10%;144 h 精子基本死亡。

2)保存液 B:4 倍稀释保存中,24 h 后活力下降 趋势明显,48~72 h 激活后 80%的精子在作快速运 动;96~120 h 激活后约 50%的精子作快速运动; 144 h 精子仍有约 10%的精子可以快速运动。8 倍稀 释保存中,保存 48 h 后精子活力下降不明显,激活后 仍有接近 100%的精子在作快速运动;72~96 h 激活 后 80%的精子在作快速运动;120~144 h 激活仍可 观察到约 50%的精子在作快速运动。

3)保存液 C:4 倍稀释保存中,24 h后精子活力下降,48~96 h激活后超过80%的精子在作快速运动;120 h激活后仅约50%的精子作快速运动;144 h后仅有不到10%的精子可以快速运动。8 倍稀释保存中,24 h后精子活力变化不大,48 h仍可观察到100%的精子快速运动;72~96 h激活后超过80%的精子在作快速运动;120 h激活后仅有约50%的精子作快速运动;144 h观察仅有不到10%的精子可以快速运动。

4)保存液 D:4 倍稀释保存中,24 h后活力下降趋势明显,48~72 h激活后 80%的精子在作快速运动;96 h激活后约 50%的精子作快速运动;120~144 h仅有约 10%~30%的精子可快速运动。8 倍稀释保存中,24 h后精子活力下降较明显,48~120 h激活后作快速运动的精子量从 80%逐步降低至10%;144 h精子基本死亡。

5)保存液 E:4 倍稀释保存中,24 h 后活力下降 趋势明显,48~72 h 激活后 50%的精子在做快速运动;96 h 激活后仅有约 20%的精子作快速运动;120 h 精子基本死亡。8 倍稀释保存中,24 h 后活力下降 趋势明显,48 h 激活后 80%的精子在作快速运动; 72~96 h 激活后仅有约 50%的精子作快速运动; 120 h 激活后仅有约 10%~30%的精子作快速运动; 144 h 精子基本死亡。

6)原精:保存8h精子活力未见明显降低,8h之后活力下降明显,12h激活后80%左右精子作快速运动,24h激活后约50%精子作快速运动,48h观察基本看不到快速运动的精子了。

实验结果表明保存液 B 对超雄黄颡鱼精液的保存效果相对较佳。稀释倍数方面,除了保存液 D 的 4 倍稀释效果略优于 8 倍稀释外,其他保存液的结果均显示 8 倍稀释较 4 倍稀释的效果好。综合以上结果,筛选出保存液 B 的 8 倍稀释作为超雄黄颡鱼精液的保存液。

2.2 不同保存时间对人工授精效果的影响

不同保存时间的精液人工授精的受精率见图 1。 从图 1 可知,对照组的受精率始终保持在约90%的水平,且不同时间的差异较小。低温条件下,保存液 B 的 8 倍稀释保存精液在 48 h 内的受精率(84.5%~94.6%)与原精(85.3%~94.3%)相比差异极小,受精效果均较好。48~96 h 与原精相比,受精率呈现一定下降趋势,120 h 后保存精液的受精率急剧下降,144 h 受精率降低至约 60%。结果表明,保存液 B 的 8 倍稀释保存精液最好在 2~3 d 内使用,保存时间过长,受精效果存在一定的风险,同时使用前要求镜检精子的活力情况,该结果与观察到的不同保存时间精液的精子活力结果基本吻合。

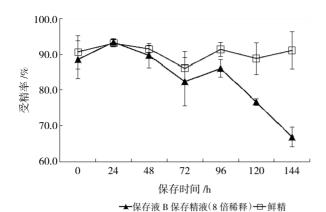


图 1 不同保存时间的精液人工授精的受精率

2.3 不同低渗激活液对超雄黄颡鱼精子活力的影响

超雄黄颡鱼精液在不同浓度 NaCl 溶液中激活的情况见表 3。

结果显示,低渗溶液能不同程度地提高超雄黄 额鱼精子的活力与寿命。各试验组的精子强烈运动时间显著高于对照组,以 0.2%浓度组和 0.3%浓度组最高,分别为 32.3 ± 4.6、38.7 ± 3.8 s,相比对照组延长了 9~15 s;精子慢速运动时间同样以 0.2%浓度组和 0.3%浓度组最高,其次是 0.4%浓度组,均显著高于对照组。精子寿命以 0.3%浓度组最高,0.4%和 0.2%次之,同样显著高于对照组。

精子被激活数量的观察结果显示,随着低渗激活液浓度增大激活比例呈下降趋势,但 0.0%~0.3%浓度组精子的激活率下降不明显,均保持在 90%以上,而 0.4%~0.5%浓度组精子的激活率显著下降,仅 60%左右。

2.4 不同低渗激活液对人工授精受精率的影响

不同低渗激活液激活条件下全雄黄颡鱼人工 授精受精率的结果统计见图 2。

结果表明不同低渗激活液条件下获得的受精率存在差异(69.9%~77.1%),激活液在0.0%~0.3%的浓度范围,受精率随着浓度的升高而上升;在0.3%~0.5%的浓度范围,受精率随浓度的升高而

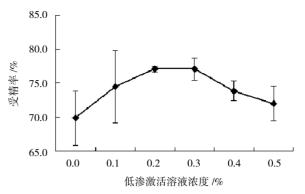


图 2 不同浓度 NaCl 激活液条件下人工授精的受精率下降,其中以 0.3%浓度组的受精率最高,0.2%的次之,两者显著高于对照组。

3 讨论

3.1 不同保存液及稀释比例对超雄黄颡鱼精液保存效果的影响

本研究考察了4 ℃条件下5种精子保存液保 存超雄黄颡鱼精液的效果,与对照组相比,5种保存 液均可延长 YY 超雄黄颡鱼精液的保存时间。各保 存液之间存在一定差异,保存液 B 的保存效果相对 最佳,其次是D,再次是C、A、E。不同保存液间效果 的差异与保存液的配方组成有关。精液的保存需要 适当的渗透压、离子组成、pH、能量供给等一系列条 件,保存液的组成越接近精浆的组成,保存时间就 会越长¹⁹。本实验中 5 种精子保存液均在相关研究 中证实对精液短期低温保存具有良好效果,但对于 超雄黄颡鱼精液的保存效果存在一定的差异。超雄 黄颡鱼精子在含葡萄糖溶液中的寿命较其他保存 液中相对较长,可能葡萄糖除提供适宜的渗透压 外,还起着额外的作用。这与苏德学等凹在黄颡鱼精 子保存中的研究结果类似,推测黄颡鱼精子具有利 用细胞外源性葡萄糖的能力,以弥补在活动过程中 消耗的部分能量,从而使精子寿命得到延长。Gardiner[12]也认为体外受精鱼类的精子具有三羧酸循环

≠ 2	超雄黄颡鱼精子在不同浓度低渗溶液中的活力。)
ৰহ <i>১</i>	起继贯烈电恒丁仕小叫水及低冷冷放中时沾力。	

激活液浓度 /%	快速运动时间 /s	慢速运动时间 /s	精子寿命 /s	激活率 /%	受精率 /%
0.0	$23.3 \pm 0.6a$	58.3 ± 7.1	120.0 ± 19.9a	96.3 ± 2.3c	69.9 ± 4.0a
0.1	$28.0 \pm 4.0 \mathrm{abc}$	59.3 ± 8.5	$434.7 \pm 21.2 \mathrm{b}$	$93.7 \pm 3.2 \mathrm{c}$	$74.5 \pm 5.3 ab$
0.2	$32.3 \pm 4.6 \mathrm{c}$	78.7 ± 20.7	$480.0 \pm 26.2 \mathrm{cd}$	$93.3 \pm 2.9 \mathrm{c}$	$77.0 \pm 0.4 \mathrm{b}$
0.3	$38.7 \pm 3.8 \mathrm{d}$	77.0 ± 19.0	$528.0 \pm 17.1 \mathrm{f}$	$93.1 \pm 2.9 \mathrm{c}$	$77.1 \pm 1.6 \mathrm{b}$
0.4	$31.7 \pm 1.5 \mathrm{be}$	68.7 ± 8.5	$496.0 \pm 31.4 \mathrm{de}$	$63.3 \pm 5.8 \mathrm{b}$	$73.8 \pm 1.5 \mathrm{ab}$
0.5	$26.0 \pm 2.6 \mathrm{ab}$	64.0 ± 10.4	$441.3 \pm 10.1 \mathrm{bc}$	$55.0 \pm 5.0a$	$72.0 \pm 2.6 \mathrm{ab}$

¹⁾同列标注相同字母表示差异不显著(P>0.05),不同字母表示差异显著(P<0.05)。

代谢的能力,可以通过氧化作用利用细胞外源性碳水化合物,尤其是葡萄糖、半乳糖和果糖,这三种单糖可以是精子活动存活的可选择和次级的能源。

保存液不同的稀释倍数对保存效果同样存在影响。本研究结果表明,除了保存液 D 的 4 倍稀释效果略优于 8 倍稀释外,其他保存液 8 倍稀释均较 4 倍稀释效果好,这与丁淑荃等鬥在实验中获得的黄颡鱼保存液以 5~7 倍的稀释比例较好的实验结果一致。

3.2 保存精液对受精率的影响

对照组的受精率始终保持在90%左右的高受 精率水平,且不同时间点的差异极小,表明实验过 程中选择的雌鱼和雄鱼发育情况良好,精卵质量优 良。精子保存过程中运动受到一定的抑制作用,精 子的运动和渗透压的维持是一个耗能的过程,保存 液中精子活力随保存时间的延长出现不同程度的 下降,推测跟精子的能量消耗有关。低温条件下,保 存液 B 8 倍稀释保存的精子在 48 h 内的受精率 (84.5%~94.6%)与鲜精(85.3%~94.3%)相比差异 极小,受精效果均较好。在48~96 h 与鲜精相比受 精率略微下降,120 h 后则急剧下降,144 h 受精率 下降至60%左右。该保存液保存的精子在72~96 h 激活后80%的精子在作快速运动,由此可推测全雄 黄颡鱼人工授精要达到满意的受精效果,使用的精 液应满足激活后80%以上的精子可以快速运动,另 外保存的精液最好在 2~3 d 内使用, 保存时间过 长,受精效果存在一定的风险,同时使用前要求镜 检精子的活力情况。鲁大椿等[13-15]的研究结果表明 家鱼人工授精时,精卵的量比以30万~40万时受 精率最高。大部分的鲤科鱼类的精子浓度在60%~ 70%,密度大都在 200 亿~400 亿/mL之间,即每毫 升原精可以使 50 万~100 万粒鱼卵受精。超雄黄颡 鱼的精液量相对家鱼少得多,精液不能挤出,人工 繁殖过程中合适倍数的稀释精液将大大提高生产 的效率,减少精液的浪费。

3.3 超雄黄颡鱼精子在不同浓度 NaCl 溶液中活力

由于精巢中具有诸多抑制精子活动的因素,精子的运动被抑制^[5],鱼类的精子在精巢中是不运动的,但具有很强的运动潜能^[16]。当精子排出体外,在适当的条件下精子便开始运动,这一过程称之为激活^[17]。渗透压是调节鱼类精子活力的主要因子,鱼类精子激活比例随外界溶液渗透压的变化而变化,在一定范围内淡水鱼精子激活比例随外界溶液渗透

压的降低而上升^[18]。本实验结果表明不同浓度 NaCl 溶液对精子的活力与寿命有非常显著的影响。在 0.1%~0.5%的 NaCl 溶液中,精子寿命均高于直接用 水激活。从精子被激活强烈运动时间来看,在 0.3% NaCl 溶液中精子强烈运动时间最长为 38.7 s,在 0.5%溶液中精子强烈运动时间最短为 26.0 s。从精子数量来看,在 0.0%~0.3% NaCl 溶液中被激活的精子在 93%以上,在 0.4%~0.5% NaCl 溶液中被激活的精子占 50%~60%。由此得出 0.3% NaCl 溶液是超雄黄颡鱼精子的最佳激活液,可提高人工繁殖效率,在生产上大规模应用。

本研究中超雄黄颡鱼精子在浓度为 0.0% ~ 0.5%的低渗溶液中,被激活后保持活力的时间和精子激活率的结果与黄颡鱼基本一致,最适盐度范围为 0.2% ~ 0.3%^[8],但与瓦氏黄颡鱼精子激活的最适盐度范围为 0.45% ~ 0.55%不同^[19],这与鱼类不同的生态习性存在一定关系,一般认为鱼类精子激活最适的条件与其繁殖的环境相一致。

3.4 结 论

鱼类精原细胞经过一系列阶段成为精子。染色体为 XY & 的黄颡鱼,产生 X、Y 两种精子,而 YY & 超雄鱼仅产生 Y 精子。大量研究表明,X、Y 精子存在多方面的差异,如精子膜表面电荷、精子核和头部的形态学差异、对 pH 值的敏感性、Y 精子中独特的乳酸脱氢酶和 H-Y 抗原、精子密度、泳动速度、运动特性、DNA 含量等[20-21]。两种不同雄鱼的精子组成所适应的保存条件要求是否一致,需要通过实验确认。研究结果表明,黄颡鱼精液保存效果良好的保存液对于超雄黄颡鱼的精子保存同样具有较好的效果,其中以保存液 B 的 8 倍稀释,0.3% NaCl 激活液,可以提高繁殖生产的效率,适合在生产中推广应用。但两者的保存液要求是否完全一致及是否有更加良好的超雄黄颡鱼的精子保存液配方,还需进一步深入研究。

参考文献

- [1] 农业部渔业局.中国渔业统计年鉴[M].北京:中国农业出版社, 2014.
- [2] 叶金明,董同瑚,董学洪,等.放养密度对全雄黄颡鱼和普通黄颡鱼养殖产量和效益的影响 [J]. 水产科技情报,2014,41(2):61-64.
- [3] 唐德文,范红深,段春生,等.黄颡鱼"全雄1号"与黄颡鱼饲养效

果对比分析[J].淡水渔业,2014(1):102-105.

- [4] 丁淑荃,万全,刘磊,等.不同温度下精子保存液对黄颡鱼精子活力的影响[J].水利渔业,2007,27(1);10-12.
- [5] 万全,沈保平,孙文贤,等.长吻鮠精子保存液在人工授精中的应 用试验[J].水产养殖,2006,27(3):4-6.
- [6] 沈建忠,江庆.南方鲇精子保存方法的初步研究[J].水利渔业, 2002,22(2);13-15.
- [7] PAN J L, DING S Y, GE J C, et al. Development of cryopreservation for maintaining yellow catfish Pelteobagrus fulvidraco sperm[J]. Aquaculture, 2008, 279; 173–176.
- [8] 杨彩根,宋学宏,王永玲.pH及不同浓度 NaCl 液对黄颡鱼精子活力的影响[J].水利渔业,2003,23(3):10-11.
- [9] 邓岳松, 林浩然. 鱼类精子活力研究进展 [J]. 生命科学研究, 1999,3(4):271-278.
- [10] 苏德学,严安生,田永胜,等.阳离子、葡萄糖及渗透压对丁鱥精子活力的影响[J],水利渔业,2004(1):9-10.
- [11] 苏德学,严安生,田永胜,等.钠、钾、钙和葡萄糖对白斑狗鱼精子活力的影响[J].动物学杂志,2004,39(1):16-20.
- [12] GARDINER D M. Utlisation of extracellular glucose by spermatozoa of two viviparous fishes[J].Comparative Biochemistry and Physiology, 1978, 59A:165–168.

- [13] 鲁大椿,傅朝君.我国主要淡水养殖鱼类精液的生物学特性[J]. 淡水渔业,1989(2):34-37.
- [14] 鲁大椿,刘宪亭,方建萍,等.我国主要淡水养殖鱼类精浆的元素组成[J].淡水渔业,1992(2):10-12.
- [15] 鲁大椿,刘宪亭,章龙珍.鱼类精液冷冻保存技术操作规程[J].淡水渔业,1997,27(4):13-15.
- [16] 严安生,王其和,李诗模.渗透压和钾对鲤、团头鲂精子活力的影响[J].淡水渔业,1993,23(3):19-21.
- [17] MORISAWA M, SUZUKI K.Osmolality and potassiumion; their roles in initiation of sperm motility in teleost [J]. Science, 1980, 210; 1145–1147.
- [18] TAKAI H, MORISAWA M.Change in intracellular K⁺ concentration caused by exteral osmolality change regulates sperm motility of marine and freshwater teleosts [J].J Cell Sci, 1995, 108: 1175–1181
- [19] 杨家云.瓦氏黄颡鱼精巢发育及精子生物学研究[J].西南师范大学学报:自然科学版,2005,30(4):719-724.
- [20] 韩凤桐,李武.配子水平上对家畜性别控制的研究进展[J].畜牧兽医杂志,2005(5):26-28.
- [21] 石磊,岳文斌.X、Y 精子分离性别控制技术研究进展[J].上海畜牧兽医通讯,2007(2):6-7.

肉鸡饲料中如何正确添加油脂

- 1)油脂的使用方法。因油脂黏性大,若添加不当很难拌均。采用人工添加时,要先做到加热溶化油脂(冬季要求温度高些),逐步用粉料扩大稀释,搅拌均匀,最后与剩余日粮混均。切忌油脂直接与饲料添加混合。也可用喷雾器把油脂均匀喷洒在颗粒饲料表面,从而提高肉鸡饲料的适口性。
- 2)油脂种类与适宜添加量。油脂包括动物油和植物油,动物油如猪油、牛羊油、鱼油等,其代谢能在33.5 MJ/kg以上,植物油如菜籽油棉籽油玉米油等,其代谢能在29.3 MJ/kg左右。一般来讲,肉鸡日粮中油脂的最佳用量前期为0.5%,中后期逐渐加5%~6%,使日粮中代谢能达到13.4~14.2 MJ/kg,能保持肉鸡较快的生长速率和最佳的经济效益。
 - 3)使用油脂应注意的问题。油脂在肉鸡饲料中添加使用,还应该注意以下几点。
- 一是注意日粮营养平衡。油脂添加以后,提高了日粮能量水平,饲料中其他营养成分也要做相应的调整,特别是要保持饲料蛋白与能量比不变。
- 二是贮存时间不要太长。油脂中含有较多的不饱和脂肪酸,贮存时间过长或在高温条件下存放易氧化酸败,因此,存放时间越短越好,夏季一般不超过7d,冬季不超过3周为宜。变质和有异味的油脂不能使用。

三是加入抗氧化剂。由于加油饲料具有易氧化的特点,加入抗氧化剂是不可缺少的。

四是不能饲喂禽类油脂。肉鸡不能饲喂禽类油脂,以防感染各类传染病。

来源:中国畜牧兽医信息网