

时间程序控制采精器在猕猴上的应用*

白寿昌 杨秀华 邹淑荃

(中国科学院昆明动物研究所)

曾 中 兴

(广东省昆虫研究所)

在动物中应用电刺激采精术,至今已有 60 余年历史。哈罗德 (Harold) 等引述:从 1922 年贝特立 (Bateli) 首先报道在豚鼠上应用电刺激采精获得成功。然后很多学者不断地研究改进,现在电刺激采精术已广泛地应用于畜牧业上。而在猕猴上应用这种技术是 60 年代初期才开始,1963 年马斯特罗尼 (Mastroini) 和麦森 (Wanson) 首先在猕猴 (*Macaca mulatta*) 上成功地应用了阴茎电刺激法采精,1965 年韦斯罗茨 (Weisröth) 等又进行改进,使用直肠探子法电刺激采精成功。显然,这种方法比阴茎刺激法有许多优点,例如,使用电压低对动物不易灼伤、精液无尿液污染、采出率高等等。目前直肠采子法在 20 多种猿猴上应用成功,所以电刺激采精术被认为是安全、实用、有效的方法。

许多作者在介绍电极采精的经验时,主要谈及使猕猴阴茎勃起、射精时所需要的电流、电压、频率、波型及刺激的持续和间歇时间。哈罗德等认为更重要的是刺激的电极与直肠组织介

面之间的电流密度,因为电流过强会使动物组织离子发生位移而造成组织瓦解,使组织损伤,导致采精无效。但是这些电参数之间对动物体来说,在一定范围内是可变的,实际应用时难于控制,所以在重复这种刺激时要获得成功并且不损伤动物组织就难于办到了。可认为在一台采精器上组合所需要的电参数是极为必要的,而且关键之一是这种组合要控制适宜的刺激时间。为此,我们在 1982 年设计了一台时间程序控制的直肠探子采精器,(型号:CK-DCJ-A),经过在猕猴上的实验证明,这种采精器可以使刺激程序简化、使用方便、采出率高、精液无尿液污染、对动物无损伤等。本文主要介绍该采精器的使用方法及效果,供有关人员参考。

材料与 方法

(一) 电采精器 “CK-DCJ-A 型” 采精器

* 杨克勤、徐慧敏、郭凤琴、吴鹏云等同志协助工作,特此致谢。

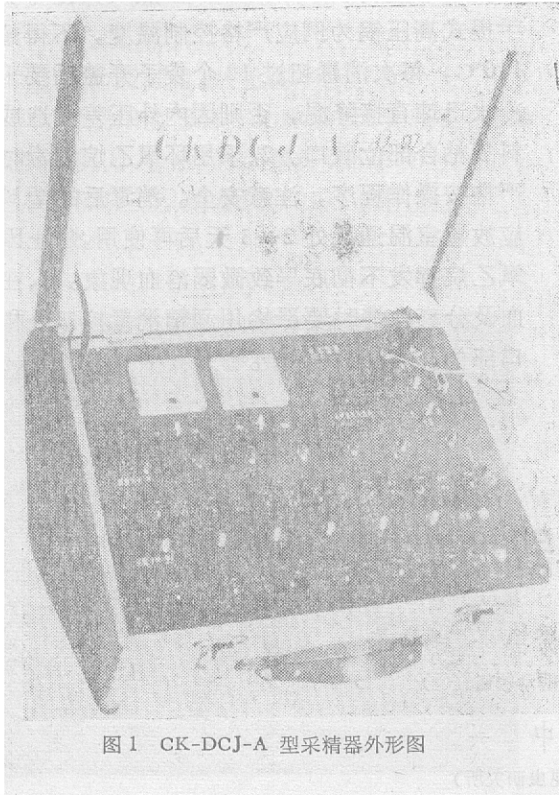


图1 CK-DCJ-A 型采精器外形图

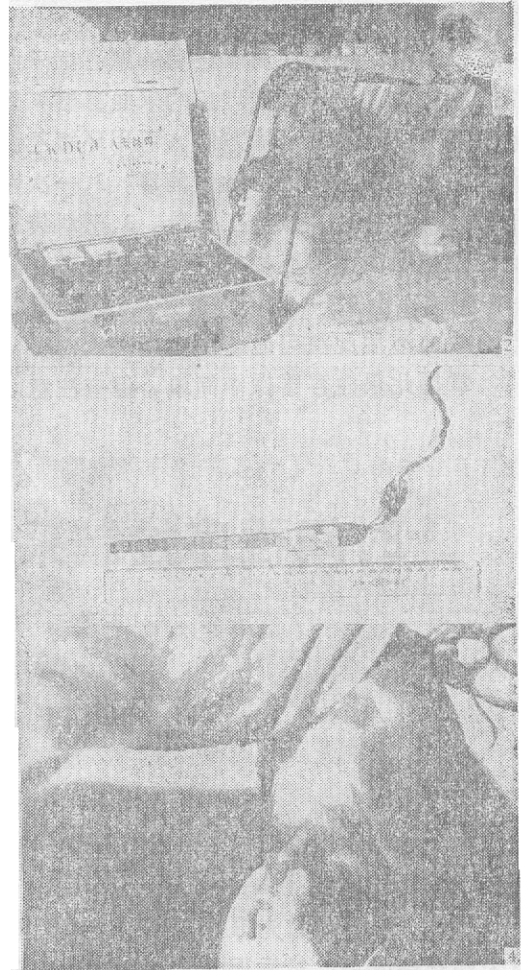


图2 猕猴保定姿势；图3. 直肠探子；
图4 采精。

(见图1)。仪器由刺激定时电路、间隙(无刺激输出)定时电路组成的时间程序控制器来实现断续刺激。输出为正弦波50赫芝,考虑到不同动物的个体差异较大,输出的幅度(总刺激电压)可分九档选用,刺激的电压,电流值由二个表头输出。仪器设有起动钮供刺激开始使用,一个程序的刺激完毕后,仪器能自动停止刺激。若在刺激程序未完,欲暂停刺激,或从头开始,仪器设有停止钮供这一目的使用。欲需在某一刺激强度持续刺激可按手动按钮控制刺激。

(二) 动物 选取性成熟、配种期间的健康雄猴5只。

(三) 采精操作

1. 在采精前动物用氯胺酮(Ketamine)按每公斤体重6毫克计算。肌肉注射进行麻醉[注:据一百例的麻醉效果诱导期平均为4分29秒(波动范围2'—11'9''),麻醉期平均为36分36秒(范围为16'20"—86'),恢复期平均为55分48秒(范围为15'—90')]。待动物进入麻醉期后,将其呈自然扑卧姿势于采精架上保定(见图2)。

2. 动物保定后,用猴直肠扩张器检查直肠是否存留粪便,如有粪便,可用温开水灌肠清除。用生理盐水湿润后插入直肠(见图3),其深度为6厘米左右(以直肠探子的最末一金属环进入肛门1—2厘米),探子紧贴动物腹面靠副性腺附近即可通电刺激。

3. 电刺激 通常应用低压有节律的刺激方法,即刺激电压在采精器上预先选定,当通电后刺激电压自动递增(见表1)。

每级刺激时间以前短后长逐渐增加,即在七档定时旋钮上顺序定时为2、3、4、5、6、8、10秒。每档刺激后间歇时间均定为2秒,依此顺序有节奏地刺激。一般如此往返重复2—3次

表1 刺激电压递增顺序值(伏)

| 总电压↓ | 电压递增顺序值(→) | | | | | | |
|------|------------|------|-----|------|-----|------|------|
| 2.0 | 0.8 | 1.0 | 1.2 | 1.4 | 1.6 | 1.8 | 2.0 |
| 3.5 | 1.4 | 1.75 | 2.1 | 2.25 | 2.8 | 3.15 | 3.5 |
| 5.0 | 2.0 | 2.5 | 3.0 | 3.5 | 4.0 | 4.5 | 5.0 |
| 7.5 | 3.0 | 3.75 | 4.5 | 5.25 | 6.0 | 6.75 | 7.5 |
| 10.0 | 4.0 | 5.0 | 6.0 | 7.0 | 8.0 | 9.0 | 10.0 |

表2 1982年10—12月电刺激采精记录

| 猴号 | 采精次数 | 各次采出精液量(毫升) |
|-----|------|------------------------------------------|
| 13 | 3 | 0.4.0.5.0.6. |
| 44 | 10 | 1.7.1.0.1.6.1.5.1.3.1.0.0.4.0.5.0.8.1.0. |
| 240 | 3 | 1.5.1.2.1.7. |
| 14 | 4 | 1.0.0.5.0.7.1.3. |
| 74 | 5 | 1.5.1.0.1.0.1.1.1.3. |

表3 44号雄猴在14天内采精6次记录

| 采精日期 | 采精次数 | 采出精液量(毫升) | 距上次采精天数 |
|-------------|------|-----------|---------|
| 1982年10月15日 | 1 | 1.7 | |
| 10月16日 | 1 | 1.5 | 1 |
| 10月19日 | 1 | 0.4 | 3 |
| 10月22日 | 1 | 1.2 | 3 |
| 10月26日 | 1 | 1.0 | 4 |
| 10月29日 | 1 | 1.0 | 2 |

即排精。

一般当电压达2—3伏,电流40—60毫安时,动物即提睾(睾丸回缩到腹股沟内),继而阴茎勃起。当电压升至4—7.5伏,电流100—150毫安,即出现后肢强直用力前挺的排精现象,此时,阴茎完全勃起,龟头膨大,阴茎不断抖动,直到射精。排精时用集精杯或小烧杯收集精液(见图4)。精液排出后约10秒钟即迅速凝结成块,有的凝块也发生在尿道内,但它很容易移动绝不阻塞尿道,当再次电刺激排精时它即被挤出,呈粗线状。

一般从刺激到射精,仅5分钟左右完成。在射精过程中,仍需要持续进行电刺激(用手动按钮有节奏地控制刺激)使其持续排精。当完成一次排精后,如果精液量少未达到精液排空的程度,可以让动物休息5—10分钟再重复进行刺激,即可得到第二次排精。一般猕猴在生殖季节(8月至次年1月份)一次精液的排空量约为3毫升。

结 果

(一) 采精量 就供采精的5只性成熟的猕猴看,先后正式记录采精25次均能成功地获取精液,平均每次采精1.1毫升(范围0.4—1.7毫升)(见表2)。其中对未用于配种的第44号雄猴在14天内采精6次(做精液液化试验用),每次间隔1—4天,平均每次采精1.13毫升(范围0.4—1.7毫升)(见表3)。

(二) 精液品质检查 采出的精液很快即凝固成块,可作两种处理,一种是将精液凝块置于37—38℃的恒温箱中待其自然液化(一般90分钟即有85%的凝块液化),取其自然液化

液作pH、精子浓度、精子密度的检查;另一种是将凝块,在37—38℃的恒温箱中用1%的胰酶溶液液化处理,60—90分钟即有50—85%的凝块液化,再按精液常规检查精子活力、畸形率及精子形态。其结果如下。

pH 为6.4—6.7;

精子浓度平均为4.8亿/毫升;

精子密度(低倍镜下观察)中等;

精子活力 活力正常者达85%(50—60%的精子能呈前进运动),在室温下(14℃)精液滴加盖玻片4小时后仍有40%的精子存活。

精子畸形率 平均为14%(其中以断尾,尾尖卷曲呈环者占畸形率的70%以上)。

精子形态 全长60.48微米(范围50—90微米);头长5.22微米(范围5—8微米);头宽3.12微米(范围3—4微米);体长10.54微米(范围8—20微米);尾长44.70微米(范围35—70微米)。

讨 论

时间程序控制电采精器在猕猴上应用,证明可以获得足量的精液。用于精液的收集,品质的鉴定是一种可靠而实用的方法,并且可用于猕猴的人工授精。此种采精器只要配上不同

型号的直肠探子，也可用于其他灵长类动物及其它野生、家养动物等。

对猕猴施行直肠探子电刺激采精是可靠的，但是个体之间也存在着差异。一般当刺激电压达4—7伏，电流150毫安时即产生射精。有个别动物需要超过7伏到10伏的电压，电流200毫安以上。例如在3次采精中，由于第一次电压起点稍高，刺激时间短，当时动物极为敏感，出现提辜、阴茎勃起，但达6—7伏时未排精，故在第二次重复使用电压低于上次时则不起反应，只有高于上次的电参数才出现排精。但是由于使用电压高于10伏，次日发现猴笼下有遗精凝块(2.5克)，说明电刺激过程。另外一例使用电压达13伏，次日见粪便表面有血液附着，经检查发现直肠粘膜有电灼伤。所以电压超过正常安全值对动物必然有损伤。

对同一只猴(44号雄猴)，在14天内断续采精6次(平均每次采出精液1.13毫升)，即间

隔1—4天采精一次，未发现对动物有任何损伤，至于采精量的多少与采精的次数有关。我们认为在猕猴生殖季节以间隔3—4天采精一次比较适宜。

在25次采精中均未发现有尿液污染，所采的精液品质与自然排出的精液(从交媾后的雌猴阴道口取出的精液凝块)相比，未发现差异，所以认为电刺激采出的精液对猴进行人工授精及某些实验是适用的。

参 考 文 献

- [1] 广东省昆虫研究所动物研究室等，1977 动物直肠电刺激简报。动物学杂志，(3): 42—43。
- [2] Harold, W. et al., 1974 Electroejaculation of the great apes, *Annals of Biological Engineering*. 2: 419—432.
- [3] Mastroianni, L. et al., 1963 Collection of monkey semen by electroejaculation. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 112(4): 1025—1027.
- [4] Weisbroth, S. et al., 1965 Primate Semen by electroejaculation. *Fert. Steril.* 16(2):229—235.