

赵广伟, 姜东风, 王志敏, 等. 瘦素对豫西黑猪精液冷冻保存效果的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (11): 16-21.

ZHAO G W, JIANG D F, WANG Z M, et al. Effects of leptin on frozen preservation of semen from Yuxi black swine [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (11): 16-21.

瘦素对豫西黑猪精液冷冻保存效果的影响

赵广伟, 姜东风, 王志敏, 轩康波, 马健翔, 陈玉龙, 邵舒愿

(河南牧业经济学院动物科技学院/河南猪生物育种研究院, 河南 郑州 450046)

摘要: 旨在探究冷冻稀释液中添加不同浓度的瘦素 (LEP) 对豫西黑猪精子冷冻保存效果的影响。选用 12 头豫西黑公猪精液, 在冷冻稀释液中添加浓度分别为 0、2.5、5、7.5、10 ng/mL 的 LEP, 检测解冻后豫西黑猪精子的运动参数、功能参数、受孕率等指标, 筛选出最佳 LEP 添加浓度; 用最佳浓度组和对照组精液分别对发情母猪人工授精, 观察受孕效果。结果显示: 冷冻稀释液中添加 5 ng/mL LEP 组与其他组在精子的活力、曲线速度 (VCL)、直线速度 (VSL)、平均路径速度 (VAP)、线性度 (LIN) 方面差异显著 ($P < 0.05$); 在线性指数 (STR) 方面, 5、7.5、10 ng/mL LEP 组之间差异不显著 ($P > 0.05$), 但均与对照组差异显著 ($P < 0.05$); 在振动指数 (WOB) 方面, 5 ng/mL LEP 组与其他各组差异显著 ($P < 0.05$); 在 DNA 完整率、质膜完整率、线粒体膜电位和顶体完整率方面, 5 ng/mL LEP 组与其他各组差异显著 ($P < 0.05$); 新鲜精液组与 5 ng/mL LEP 组受孕率结果相近 ($P > 0.05$)。由此可见, 在冷冻稀释液中添加 LEP 能有效提高豫西黑猪精子的冷冻效果, 可能是由于 LEP 减轻了精子在快速冷冻和解冻过程中带来的氧化应激损伤, 提高了精子冷冻效果和受孕率。

关键词: 豫西黑猪; 瘦素; 冷冻精液; 人工授精

中图分类号: S814.3

文献标志码: A

文章编号: 0529-5130(2024)11-0016-06

Effects of leptin on frozen preservation of semen from Yuxi black swine

ZHAO Guangwei, JIANG Dongfeng, WANG Zhimin, XUAN Kangbo, MA Jianxiang, CHEN Yulong, SHAO Shuyuan

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Animal Husbandry and Economy/
Henan Swine Biobreeding Research Institute, Zhengzhou 450046, China)

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of different concentrations of leptin (LEP) added to frozen liquid on the cryopreservation of sperm from Yuxi black swine. The semen of 12 Yuxi black boars was added with the concentrations of 0, 2.5, 5, 7.5 and 10 ng/mL LEP in the frozen dilution. Then, the motility parameters, functional parameters and conception rate of the sperm were detected after thawing, and the optimal concentration of LEP was selected. The semen of the optimum concentration group and the control group were used for artificial insemination of estrus sows, and the fertilization effects were observed. The results showed as follows: There were significant differences in sperm motility, VCL, VSL, VAP and LIN between the 5 ng/mL LEP group and the other groups ($P < 0.05$). In terms of STR, there was no significant difference among the 5, 7.5 and 10 ng/mL LEP groups ($P > 0.05$), but there was significantly difference from the control groups. In terms of WOB, the 5 ng/mL LEP group was significantly different from the other groups ($P < 0.05$). In terms of DNA integrity rate, plasma membrane integrity rate, mitochondrial membrane potential and acrosome integrity rate, there were significant differences between the 5 ng/mL LEP group and the other groups ($P < 0.05$). The results of pregnancy rate were similar between the fresh semen group and the 5 ng/mL LEP group ($P > 0.05$). In conclusion, adding LEP to the freezing base fluid effectively improved the freezing effect of Yuxi black swine sperm, which might be the reason why LEP reduces the oxidative stress damage caused by sperm in the process of rapid freezing and thawing; and the addition improved the freezing effect of sperm and raised the pregnancy rate in the black swine.

Keywords: Yuxi black swine; leptin; frozen semen; artificial insemination

冻精技术解决了猪精液不能长期保存的难题, 为不同品种猪的种质资源保存、开发与利用奠定了坚实

基础^[1]。在地方品种猪遗传资源保护方面, 冻精技术为地方猪保种工作提供了有效的技术支持^[2]。研究证实, 在对精子实施低温保存过程中, 会导致其出现冷应激及形成冰晶现象, 进而引发活性氧 (ROS) 的生成。这些 ROS 与不饱和脂肪酸发生过度氧化作用后, 会影响到精子的顶体结构稳定度及其质膜渗透率, 从而增加精子中的 DNA 破损程度并降低其活动

收稿日期: 2024-09-14; 修回日期: 2024-10-07

基金项目: 河南省重点研发专项项目 (241111113400); 河南牧业经济学院博士科研启动基金项目 (24030028)

第一作者: 赵广伟 (1978-), 男, 博士, 讲师, 主要从事动物遗传育种与繁殖研究, E-mail: guangweizhao001@163.com。

能力,这使得冷冻精液在实际应用过程中受到了一定的阻碍^[3]。如何选择更优的抗氧化剂提高精子的冷冻效果显得非常重要。

瘦素(leptin, LEP)是由脂肪组织产生的未糖化的多肽类激素,其主要成分包括167个氨基酸,形成的大小约为16.0 kDa的三级结构呈现出球形形态^[4]。该蛋白质以聚合物的形式出现在血浆中,并且已知人类、马及猪的精子内含有LEP的接收器,这与受精成功有关,且LEP能够调节脂肪酸在氧化过程中将其过剩的能量转换成热量,从而减缓ROS的生成,限制了线粒体内膜电位的不当波动,并对氧化进程中的硫解产生了影响^[5-6]。已有证据表明,在绵羊的精液冷冻处理时加入不同浓度水平的LEP可增强精子的构造稳固度,减轻氧化损害,提升基因信息的完好程度,增加囊胚的比例,改善解冻后精子的活动能力^[5]。因此,本试验探讨了LEP对猪精液冷冻保存效果的影响,旨在为优化河南豫西黑猪种质资源的保护工作提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验动物均来自三门峡豫西黑猪保种场。挑选12头纯种豫西黑猪公猪,24月龄左右,体重在250 kg左右,性欲旺盛、强壮健康。种公猪按照场区饲养管理制度单圈饲养,每隔3 d在活动场地运动30 min。挑选20头健康有繁殖能力的二胎空怀母猪,健康无病,发情周期正常,采样时间为2023年6—8月。

1.2 试验试剂

LEP为MEC公司产品;OEP为美国Minitube公司产品;青霉素(030012659)、链霉素(H20054140)为河北远征公司产品;基础稀释为北京田园奥瑞生物科技有限公司产品;葡萄糖(G7021)、柠檬酸钾(C3029)、乳糖(L2643)为国药集团化学试剂有限公司产品;HEPES试剂(H0527)、柠檬酸钠(C8532)、L-脯氨酸(V900338)为Sigma公司产品;精子DNA染色试剂盒(A8120)为索莱宝有限公司产品;线粒体膜电位检测试剂盒JC-1(c2006)为上海碧云天生物公司产品;亚卫精液稀释粉为郑州市牧旺养殖设备有限公司产品;精液稀释粉(商品名:动力之星)为上海多仔福畜牧科技有限公司产品。

1.3 试验方法

1.3.1 精液采集

间隔5 d采用手握法分别采集12头公猪精液,收集射精中段精液并用滤纸过滤,现场检测精子活力

85%以上,精液稀释液等比例稀释。置于25℃保温箱中1 h,然后放到17℃车载保温箱运回实验室,期间定期混匀精液。

1.3.2 试验设计

本试验设置1个对照组和4个试验组,对照组冷冻稀释液不添加LEP,试验组分别添加2.5、5、7.5、10 ng/mL LEP,冻精在液氮中保存30 d后,检测解冻后精子各项指标。每组3个重复试验,记录数据并进行统计分析。

1.3.3 稀释液配制

原精稀释液:将常温稀释粉溶于1 L超纯水中,4℃保存备用。冷冻基础液I:在烧杯中加入适量超纯水,加入35 g乳糖,15 g葡萄糖,0.60 g青霉素,1.00 g硫酸链霉素,磁力搅拌器混匀后加入卵黄200 mL,定容至1 000 mL,再次置于磁力搅拌器上混匀,混匀后于4℃保存。冷冻基础液II:在基础液I的容器内加入3%甘油和1%OEP,磁力搅拌器混匀分装备用。

果糖-柠檬酸钠低渗溶液:在烧杯中加入1 000 mL超纯水,将7.35 g二水柠檬酸钠和13.51 g果糖溶于超纯水中,混匀4℃备用。

LEP溶液的配制:将LEP的冻干粉末溶解于超纯水中,浓度为1 ng/ μ L,分装在冻存管内冷冻备用。

1.3.4 精液平衡与冷冻

送到实验室的精液进行镜检,选择活力在70%以上的精液进行冻存前处理。在低温离心机离心10 min,2 400 r/min,弃去离心管沉淀上面部分清亮液体,加入预冷基础液I,用移液枪缓慢冲洗混匀后,放置冰箱中4℃备用,预冷3 h后加入相同量的基础液II,缓慢混合均匀,检查精子活力,机器灌装封口。然后把冻精管放到程序冷冻仪进行冷冻操作,冷冻温度是在7 min内从4℃降温到-10℃再降到-110℃,-110℃降温到-140℃,之后取出立刻放入液氮中保存备用。

1.3.5 冷冻精液解冻方法

从液氮罐中取出待测样品,迅速放入50℃水浴锅解冻16 s,转移至30℃预热的离心管中并加入3 mL 30℃预热的稀释液待检。

1.4 精子指标的检测

1.4.1 精子活力和运动参数检测

从液氮中取出待检冷冻精液,用精液质量分析系统检测,观察和记录样品中精子的活力、平均路径速度(VAP)、曲线速度(VCL)、直线速度(VSL)、线性度(LIN)、振动指数(WOB)和线性指数(STR)。

1.4.2 精子质膜完整性检测

利用精子低渗透膨胀试验 (HOST) 检验精子质膜完整性。精液解冻后加入到预热 37 °C 果糖-柠檬酸钠低渗溶液内, 调整精子合适的浓度, 在 37 °C 水浴锅中稳定 15 min 后镜检样本, 质膜完整和受损与精子尾部是卷曲和不卷曲相对应, 每个样本 3 个重复。

1.4.3 精子顶体完整性检测

在 38 °C 下将冷冻精液和 DMEM 培养液预热, 然后在避光条件下将 FITC-PNA 加入 DMEM 培养液中, 充分混匀后, 在离心机中离心, 速度为 1 500 r/min, 离心时间为 10 min, 弃除上清液。接着在沉淀的精子中加入基础液 I, 在避光条件下平衡 15 min, 再次离心, 弃除上清液。将预热的 DMEM 培养液加入至离心管中, 轻轻混匀, 同样离心后, 重复上述操作 2 次进行测定。最后, 按照姬姆萨染色法检测, 根据精子顶体情况进行判断。

1.4.4 精子 DNA 完整性检测

测试顶体完整的步骤来处理精液样本, 然后使用 PBS 对其清洗 3 次, 接着将其均匀地铺设于载玻片之上并等待其干燥后, 再以无水乙醇和冰醋酸为媒介进行 3 h 的固定操作, 之后利用 AO 染料进行 10 min 的遮蔽式照射, 最后再次使用 PBS 轻轻冲洗, 并在完全阴暗的环境下自然风干, 最后用石蜡封片。荧光显微镜下重复观察 3 次以上。

1.4.5 线粒体膜电位检测

本试验按照线粒体膜电位检测试剂盒说明书步骤进行操作, 采用 JC-1 荧光探针法进行检测, 按照说明书处理精液后进行流式检测, 检测样品中线粒体膜电位高的精子比例。

1.5 妊娠试验

挑选 20 头 2 胎繁殖性能正常的母猪随机分为 2 组, 即对照组和试验组, 每组 10 头, 使用精子质量符合输精要求的新鲜精液为对照组, 冷冻液中添加最佳浓度 LEP 的解冻精液为试验组, 随机抽取 5 头健康公猪精液进行制作, 精液不混合随机分配母猪。哺乳母猪断奶 24 h 后肌肉注射艾力生 1 000 单位, 72 h 肌肉注射生源 100 μg, 第 6 天下午 16: 00 对发情母猪进行第 1 次输精同时加 10 单位缩宫素, 第 7 天 8: 00 进行第 2 次输精加 10 单位的缩宫素, 第 8 天试情公猪查情, 28 d 后用 B 超检查怀孕状况, 确定猪只怀孕状态。

1.6 数据统计与分析

在 Excel 2021 中对所有数据进行了统计处理, 然后使用 SPSS 24.0 软件中的 Oneway-Anova 进行了方差分析, 同时采用邓肯法进行多重比较, 数据以“平均值±标准误”表示, 当 $P < 0.05$ 时表示存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 不同浓度 LEP 对精子解冻后活力和运动参数的影响

由表 1 可知, 与对照组相比, 精子活力在 2.5、5 和 10 ng/mL LEP 组差异显著 ($P < 0.05$), 其中 5 ng/mL LEP 组能显著提升精子活力 ($P < 0.05$), 随着 LEP 浓度的上升活力也出现下降 ($P < 0.05$)。与对照组相比, VCL、VSL 在 5 和 7.5 ng/mL LEP 组显著上升 ($P < 0.05$); VAP 和 STR 在 2.5、5、7.5 和 10 ng/mL LEP 组均显著上升 ($P < 0.05$); LIN 和 WOB 在 5 ng/mL LEP 组显著上升 ($P < 0.05$)。

表 1 不同浓度 LEP 对猪精子解冻后运动参数的影响

参数	对照组	LEP 不同浓度/ (ng · mL ⁻¹)			
		2.5	5	7.5	10
活力/%	63.20±3.12 ^b	55.21±2.23 ^c	68.63±0.30 ^a	65.60±1.35 ^{bc}	50.42±2.34 ^d
VCL/ (μm · s ⁻¹)	35.04±2.13 ^c	37.32±3.20 ^{bc}	45.82±1.01 ^a	40.14±1.32 ^b	37.72±0.62 ^{bc}
VSL/ (μm · s ⁻¹)	19.53±1.41 ^c	22.92±1.54 ^{bc}	31.64±1.18 ^a	24.23±2.33 ^b	23.86±2.45 ^{bc}
VAP/ (μm · s ⁻¹)	27.42±1.52 ^c	30.12±4.43 ^b	37.41±2.43 ^a	31.21±1.34 ^b	30.45±1.03 ^b
LIN/%	59.12±2.33 ^c	59.43±2.46 ^c	68.82±1.34 ^a	60.24±2.93 ^c	64.71±1.85 ^b
STR/%	73.75±1.98 ^c	78.17±2.35 ^b	81.82±2.42 ^a	78.92±0.68 ^{ab}	81.22±1.54 ^{ab}
WOB/%	79.10±2.34 ^{bc}	76.35±1.53 ^d	83.17±1.63 ^a	77.80±0.93 ^{cd}	80.24±1.85 ^b

注: 同列数据肩标不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

2.2 不同浓度 LEP 对精子解冻后质膜完整率、顶体完整率、DNA 完整率和线粒体膜电位的影响

由表 2 可知, 当使用不同的 LEP 浓度来处理冷冻稀释液中的豫西黑猪精子时, 其各个指标如质膜完整度、顶体完整度、DNA 完整度及线粒体膜电压的数值均有明显变化。与对照组相比, 质膜完整率在 5 ng/mL LEP 组显著升高 ($P < 0.05$), 与 2.5、7 和 10 ng/mL LEP 组差异不显著 ($P > 0.05$)。与对照组相比, 顶体完整率在 2.5、5、7.5 和 10 ng/mL LEP

组显著升高 ($P < 0.05$)。与对照组相比, DNA 完整率在 2.5、5 和 7.5 ng/mL LEP 组显著升高 ($P < 0.05$), 与 10 ng/mL LEP 浓度组差异不显著 ($P > 0.05$)。与对照组相比, 在线粒体膜电位比例方面与 5、7.5 和 10 ng/mL LEP 浓度组差异显著 ($P < 0.05$), 与 2.5 ng/mL LEP 浓度组差异不显著 ($P > 0.05$)。稀释液中添加 LEP 可影响解冻后精子的 DNA 完整率、顶体完整率、质膜完整率和线粒体膜电位, 其中 5 ng/mL LEP 组效果最佳。

表 2 不同浓度 LEP 对猪精子解冻后质膜完整率、顶体完整率、DNA 完整率和线粒体膜电位的影响

指标	对照组	LEP 不同浓度 / (ng · mL ⁻¹)			
		2.5	5	7.5	10
质膜完整率/%	36.32±0.12 ^{bc}	38.05±1.01 ^b	49.25±0.04 ^a	42.23±0.24 ^b	35.56±0.42 ^c
顶体完整率/%	45.20±0.31 ^c	50.23±2.14 ^b	58.31±0.85 ^a	51.21±0.21 ^b	50.23±0.52 ^b
DNA 完整率/%	40.84±0.51 ^d	42.85±0.25 ^c	48.53±0.02 ^a	44.71±0.43 ^{bc}	42.34±0.53 ^{cd}
线粒体膜电位比例/%	43.51±0.21 ^d	44.52±0.31 ^{cd}	56.64±0.52 ^a	51.12±0.21 ^b	45.58±0.07 ^c

2.3 冷冻稀释液中添加 LEP 对母猪妊娠的影响

采用冷冻稀释液中添加 5 ng/mL LEP 的解冻精液作为试验组进行母猪妊娠试验, 结果见表 1。对照组

中有 7 头母猪妊娠, 妊娠率为 87.5%; 试验组中有 7 头母猪妊娠, 妊娠率为 77.8%。结果显示, 对照组妊娠率高于试验组。

表 3 妊娠试验

组别	总头数	发情头数	发情率/%	妊娠头数	输精次数	输精方式	输精密度 / (亿 · 次 ⁻¹)	受胎率/%
对照	10	8	80	7	2	常规	22	87.5
试验	10	9	90	7	2	深部	15	77.8

3 讨论

3.1 不同浓度 LEP 对精子解冻后运动参数的影响

LEP 是来自脂肪细胞的一种多肽类激素, 它能刺激精母细胞增殖与发育, 在雄性生殖系统中的作用不容忽视^[7]。已有试验结果显示, 绵羊的外生殖系统和精液样本中都含有 LEP 对应的受体^[8]。不同浓度 LEP 对冻精过程中精子的保护作用也不同^[9-10]。与对照组相比, 当稀释液中的 LEP 含量为 2.5、5 和 10 ng/mL 时精活力差异显著, 其中 5 ng/mL 能显著提升精子的活动能力, 随着 LEP 浓度上升至 10 ng/mL, 试验数据开始出现显著下滑。研究发现添加过量 LEP 有可能会改变液体的渗透性直接影响精子膜内外的浓度差压, 当精液子膜内外浓度差压超过临界值时, 精子会出现脱水造成精子死亡^[11-13]。本试验中最佳的效果是添加 5 ng/mL LEP 组, 可能与该浓度对精子膜浓度差压影响较小有关。采精季节是影响公猪繁殖性能的重要因素, 可能与一年中不同季节的

温度和光周期有关, 尤其在高温季节, 精子发生易受热应激影响导致精子活力、正常形态比例、精液浓度和体积及整体生育力下降^[14-15]。本试验时间是在夏天的 6—8 月份, 高温高湿对公猪精液活力和畸形率影响比较大, 精液解冻后的活力受到影响。本试验解冻后精子活力在 32%~41% 之间, 有可能是高温高湿天气影响精液质量造成解冻后精子活力等指标下降。

3.2 不同浓度 LEP 对精子解冻后质膜完整率、顶体完整率、DNA 完整率和线粒体膜电位的影响

新鲜精液中富含丰富的抗氧化酶, 可以抵抗冷冻保存初期的氧化作用, 但是随着保存时间的延长, 这些抗氧化酶会逐渐失效, 因此需要额外添加抗氧化剂缓解精子的过氧化, 从而提高保存效果^[16]。LEP 主要通过抗氧化作用提高精子的冷冻保存效果^[17]。豫西黑猪新鲜精液中的抗氧化酶含量和冷冻精液保存时间与效果呈负相关, 因此需选择合适的抗氧化物质抑制精子冷冻过程中的氧化作用。研究表明, LEP 能够通过刺激抗凋亡蛋白质 B 淋巴细胞瘤-2 (BCL2)

的启动从而增强精子的活力。精子质膜完整性和顶体完整性是影响精子质量的重要因素,其中精子质膜完整性影响精子的存活,顶体完整性影响精子顶体反应,精子质膜上存在大量的多不饱和脂肪酸,这些成分会在精子冷冻的过程中与活跃的氧自由基相互作用,导致脂质结构的变化,进而降低精液的冷冻质量^[18]。ROS 浓度升高会让 DNA 结构完整率降低,LEP 可以抑制 ROS 的产生,提高 DNA 结构完整率,还可以通过解偶联作用,消减脂肪酸氧化过程中的硫解,抑制线粒体产生过多 ROS,线粒体膜电位的过度变化。解冻后精子的线粒体活性是影响精子质量的一个重要的参考指标。线粒体产生 ATP 为精子运动提供能量,冷冻后线粒体活性下降,精子运动能力降低导致精子不能到达受精部位,从而影响精子的受精能力^[19]。LEP 添加剂量过高浓度范围时,ROS 降低过多会影响精子的正常生理功能,造成精子死亡率升高,影响精子的正常生理功能指标,影响受胎率^[20-22]。这些与本研究结果 LEP 添加浓度为 7.5 和 10 ng/mL 时精子各项指标下降相符合。当精液渗透压超过正常范围值后,精子会发生不同程度的损伤,出现脱水、肿胀等现象,精子细胞膜结构和顶体完整性等会遭到破坏,精液品质会受到影响^[23]。研究结果显示,在冷冻稀释液中加入添加 5 ng/mL LEP 可显著提升各项性能指标,过高或过低会对精子冷冻效果产生影响,可能与添加剂量会影响精液渗透压有关。

3.3 冷冻精液输精后的妊娠效果

通过冻精解冻后人工授精试验能进一步验证精液冷冻效果,很多因素都会影响妊娠过程。研究表明体外培养猪^[24]、鼠^[25]、牛^[26]的卵母细胞,适宜浓度的 LEP 对卵母细胞的成熟具有促进作用。精子对低温比较敏感,冷冻过程中精子获能和运动时容易发生线粒体功能障碍,从而引起线粒体膜电位和钙离子含量的下降,供能(ATP)不足^[27-28]。上述精子功能指标均会影响精子质量,最终影响受胎率^[29]。本研究发现,使用新鲜精液的对照组妊娠率高于添加 LEP 的冷冻精液试验组。

4 结论

研究结果表明,在冷冻稀释液中添加一定浓度的 LEP 有利于改善豫西黑猪精液冷冻效果,改善解冻后精子的各种参数,提升精子活力,冷冻精液组人工授精后受孕率比较理想,其中 LEP 的浓度 5 ng/mL 组为最优,浓度升高和降低都会影响精液的冷冻效果,但仍优于对照组。本研究结果为豫西黑猪遗传资源“静态”保种提供了一定的理论参考,然而除瘦素在猪精液冻精中起到抗氧化作用外,在其他方面如

保护细胞膜的完整性、促进细胞的存活和复苏、与其他抗冻剂的协同作用机理等报道较少,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张振,郭勇,倪和民,等.综合利用新技术开创育种新格局[J].中国畜牧,2020(6):86-88.
- [2] 童世锋,李雅楠,朱墨,等.影响猪冻精质量因素的研究进展[J].畜牧与兽医,2021,53(5):133-137.
- [3] TRZCIŃSKA M, BRYŁA M. A new sperm selection criterion for cryopreservation of boar semen [J]. Ann Anim Sci, 2021, 21(2): 513-525.
- [4] OBRADOVIC M, SUDAR-MILOVANOVIC E, SOSKIC S, et al. Leptin and obesity: role and clinical implication [J]. Front Endocrinol, 2021, 12: 585887.
- [5] 断然,瘦素对奶山羊精液冷冻保存的影响[D].呼和浩特:内蒙古农业大学,2023:5-6.
- [6] YU X, HE S, WANG L, et al. Effects of vitamin C and vitamin E on cryopreservation of guanzhong donkey semen [J]. Pak J Zool, 2019, 51(5): 38-43.
- [7] 李炜焯.肥胖者和妊娠妇女血清瘦素水平的临床研究[J].国际医药卫生导报,2003(12):32.
- [8] ZHANG J, DENG Z, LIAO J, et al. Leptin attenuates cerebral ischemia injury through the promotion of energy metabolism via the PI3K/Akt pathway [J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2013, 33(4): 567-574.
- [9] HERRID M, O'SHEA T, et al. Ontogeny of leptin and its receptor expression in mouse testis during the postnatal period [J]. Mol Reprod Dev, 2008, 75(5): 874-880.
- [10] CHILDS G V, ODLE A K, MACNICOL M C, et al. The importance of leptin to reproduction [J]. Endocrinology. 2021, 56(2): 21-24.
- [11] 管芯蕊,张志彬,王珺,等.白藜芦醇对松辽黑猪精液冷冻效果的影响[J].猪业科学,2020,37(7):130-134.
- [12] 管芯蕊,钱芙蓉,王珺,等.聚乙烯吡咯烷酮对公猪精液冷冻的影响[J].中国畜牧兽医,2020,47(8):2553-2560.
- [13] 韩迎雪,高鹏,李楠,等.维生素E对驴精液冷冻保存效果的影响[J].中国畜牧杂志,2022,58(9):179-183.
- [14] AUSEJO R, MARTINEZ J M, SOLER-LLORENS P, et al. Seasonal changes DNA fragmentation of nuclear in boar spermatozoa in Spain [J]. Animals (Basel), 2021, 11(2): 465.
- [15] PENAS T, STONE F, GUMMOW B, et al. Susceptibility of boar spermatozoa to heat stress using *in vivo* and *in vitro* experimental models [J]. Tropical Animal Health and Production, 2021, 53(1): 97.
- [16] MOSLEMI M K, ZARGAR S A. Selenium-vitamin E supplementation in infertile men: effects on semen parameters and pregnancy rate [J]. Int J Gen Med, 2011, 4: 99-104.
- [17] AITKEN R J, LAMBOURNE S, GIBB Z. The John Hughes memorial lecture: aspects of sperm physiology-oxidative stress and the functionality of stallion spermatozoa [J]. J Equine Vet Sci, 2014, 34(1): 17-27.

- [18] BABAEI A, KHERADMAND N, BAAZM M, et al. Protective effect of vitamin E on sperm parameters in rats infected with *Candida albicans* [J]. *Andrologia*, 2020, 2: e13593.
- [19] GUTHRIE H D, WELCH G R, LONG J A. Mitochondrial function and reactive oxygen species action in relation to boar motility [J]. *Theriogenology*, 2008, 70 (8): 1209-1215.
- [20] SCHAAB M, KRATZSCH J. The soluble leptin receptor [J]. *Best practice & research: clinical endocrinology & metabolism*, 2015, 82 (3): 21-34.
- [21] EGUCHI M, LIU Y, SHIN E J, et al. Leptin protects H9c2 rat cardiomyocytes from H₂O₂ - induced apoptosis [J]. *Febs Journal*, 2008, 275 (12): 3136-3144.
- [22] KHAKI A, BATAVANI R A, NAJAFI G. The *in vitro* effect of leptin on semen quality of water buffalo (*Bubalus bubalis*) bulls [J]. *Vet Res Forum*, 2013, 4 (1): 7-12.
- [23] CHABAN R, BUSCHMANN K, GHAZY A, et al. *In vitro* effect of leptin on human cardiac contractility [J]. *Nutr Sci*, 2019, 10 (8): e12.
- [24] 梅军四, 江中良, 袁勤科, 等. 维生素 E 对不同品种的种公猪精液品质的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2016 (4): 4.
- [25] YE Y, KAWAMURA K, SASAKI M, et al. Leptin and ObRa/MEK signalling in mouse oocyte maturation and preimplantation embryo development [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19 (2): 181-190.
- [26] 殷颖. 瘦素对牛卵母细胞体外成熟的影响 [D]. 延吉: 延边大学, 2021: 7-8.
- [27] PLESSIS S S D, AGARWAL A. Oxidative phosphorylation versus glycolysis: what fuel do spermatozoa use? [J]. *Asian J Androl*, 2015, 17 (2): 230-235.
- [28] AMATU A, IMBERTI R. Oxidative stress in applied basic research and clinical practice: studies on experimental models [J]. *Eur J Histochem*, 2012. DOI: 10.4081/ejh.2012.br9.
- [29] HANNAN M A, HANEDA S, MURATA K, et al. Successful embryo transfer from Hokkaido native pony after artificial insemination with frozen semen [J]. *J Vet Med Sci*, 2018, 81 (2): 241-244.

· 信息 ·

倡导健康养殖新理念 解读疫病防控新技术

欢迎订阅 2025 年《畜牧与兽医》

ISSN 0529-5130, CN 32-1192/S

《畜牧与兽医》月刊由教育部主管、南京农业大学主办。1935年创刊，由原中央大学畜牧兽医系编辑出版，著名兽医学家罗清生教授任主编，至今已有89年的办刊历史。始终遵循“为社会服务，为畜牧生产服务”和“理论与实践相结合，普及与提高并举”的办刊宗旨。本刊连续入选中国科技核心期刊（中国科技论文统计源期刊）、《中文核心期刊要目总览》，先后荣获华东地区优秀期刊、江苏期刊方阵双效期刊、江苏省优秀科技期刊、全国高校优秀期刊、全国畜牧兽医类优秀期刊等。

读者对象：畜牧、兽医科技工作者和大专院校师生等。

主要内容：主要刊登畜牧、兽医两学科各领域的研究报告、文献综述等。主要栏目有遗传繁育、动物营养、环境卫生、基础兽医、预防兽医、临床兽医和专题综述等。

征订办法：本刊为月刊，大16开，定价：28.00元，全年12期共336.00元。邮发代号：28-42，全国各地邮局均可订阅。邮局漏订者可直接汇款至本刊杂志社补订。

地 址：江苏省南京市江北新区滨江大道666号南京农业大学行政楼A320《畜牧与兽医》编辑部

邮 编：210031

电 话：025-84395701（编辑部）

E-mail：muyizz@njau.edu.cn