

尚月丽, 韩雪峻, 宋团伟, 等. 猪精子质量检测评价研究进展 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (7): 144-150.

SHANG Y L, HAN X J, SONG T W, et al. Advance in research on the quality measurement and assessment of boar semen [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (7): 144-150.

猪精子质量检测评价研究进展

尚月丽¹, 韩雪峻^{2*}, 宋团伟², 孙毅¹

(1. 上海农林职业技术学院, 上海 201699;

2. 上海种猪工程技术中心, 上海 201302)

摘要: 猪精液质量检测是影响人工授精技术应用效果的重要环节, 目前常用的猪精液保存方式有: 常温液态保存 (15~20 °C)、低温液态保存 (4~6 °C) 和超低温冷冻固态保存 (-196 °C), 这 3 种方式会对精液质量产生不同程度的影响, 尤其是后 2 种。由于猪精子膜上抗冻胆固醇的含量较其他动物低, 所以猪精细胞对低温比较敏感, 容易产生低温休克, 因此低温对猪精子影响不同于其他物种。一般认为精子运动、形态与分娩率和产仔数直接相关, 这也是种猪场常规的精子质量检测项目。本文对近几年国内外养殖场猪精子运动、形态检查项目和实验室猪精子代谢、抗氧化功能、DNA 完整性、精子基因、蛋白生物标记等检测项目和参数研究进展以及之间的关联性进行综述, 以期对猪精液质量检测评价研究和生产推广提供理论、方法及技术上的支持, 更好地推动人工授精技术的发展。

关键词: 猪; 精子; 低温保存; 质量检测; 评价参数; 评价方法

中图分类号: S858 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)07-0144-07

Advance in research on the quality measurement and assessment of boar semen

SHANG Yueli¹, HAN Xuejun^{2*}, SONG Tuanwei², SUN Yi¹

(1. Shanghai Vocation College of Agriculture and Forest, Shanghai 201699, China;

2. Shanghai Breeding Pig Engineering and Technology Center, Shanghai 201302, China)

Abstract: The quality measurement of boar semen plays a key role in artificial insemination. Presently, there are 3 forms of boar semen storage including normal temperature liquid (15-20 °C) preservation, low-temperature liquid (4-6 °C) storage and frozen storage (-196 °C), all of which affect the quality of boar semen at different degrees, with the last two storage types having more disadvantages. Due to the comparatively lower concentration of membrane-stabilizing cholesterol, the boar sperm is highly sensitive to low temperature due to special structure of the boar sperm plasma membrane in comparison with that of the other species. Generally, sperm kinematic parameters and morphology are associated with farrowing rates and litter sizes to ensure the sperm quality, which are determined in farms. This paper is to briefly review last few-years measurement of boar sperm kinematic parameters and morphology in farms and research on the boar sperm bioenergy metabolism, antioxidant, DNA integrity, the markers of gene and protein variant expression in laboratory and the relation of these methods and techniques in order to promote study on assessment and measurement of boar sperm quality and on production practice in artificial insemination technology.

Keywords: boar; sperm; low temperature storage; quality measurement; assessment of semen parameters; assessment method

目前全球 90% 以上的生猪生产都采用了人工授精技术, 该技术不仅提高了母猪的繁殖效率, 而且有利于优秀的种公猪基因传播^[1]。目前常用的精液保存方法有 3 种, 分别是常温液态保存 (15~20 °C)、低温液态保存 (4~6 °C) 和超低温冷冻固态保存 (-196 °C, 液氮)。相对其他动物精子已实现标准

冷冻储存 (包括人类精子), 猪精子储存仍主要停留在 15~20 °C 常温保存方式。主要原因是猪精子膜上抗冻胆固醇的含量较其他动物低, 使猪精细胞对低温比较敏感, 容易产生低温休克, 冷冻时产生的冰晶易造成猪精细胞膜的损伤, 从而降低猪精子对低温和冷冻耐受能力^[2]。Bailey 等^[3]认为, 低温和冷冻保存会引起精子胆固醇的丢失, 膜相变和结构的变化, 启动细胞功能的改变, 引起精子获能样改变, 顶体功能完整性被破坏, 表现为即使精子活力正常也不具备受精能力。也有研究者认为, 猪精子经过常温、低温及冷冻保存后活性氧 (ROS) 生成增多, 猪精子膜上多不

收稿日期: 2024-11-30; 修回日期: 2025-05-07

基金项目: 上海农林职业技术学院基金项目 (KY6-0000-24-02)

第一作者: 尚月丽, 女, 博士, 副教授

* 通信作者: 韩雪峻, 硕士, 技术总监, 主要从事猪冷冻精液的研究及推广, E-mail: shxxgx@163.com。

饱和脂肪酸含量较高 (ROS 敏感底物), 容易引起猪精子的氧化损伤^[4], 冷冻保存过程中精子膜的氧化损伤是引起精子损伤的主要因素^[5]。经过冷冻, 降低精子质膜与顶体完整性、精子活力、精子代谢和线粒体活性, 增加 ROS 生成, DNA 碎片化增加, 影响 DNA 甲基化导致信使核糖核酸 (mRNAs) 和微核糖核酸 (miRNAs) 降解, 诱导核蛋白结构完整性变化^[6]。为确保高质量生产, 需对精子质量进行科学地评价, 尤其是经过低温或者超低温保存的精子, 以确保人工授精质量^[6-7]。

近年来, 结合基因组关联研究、高通量基因芯片、RNA-测序编码和非编码的基因以及表观基因组学, 揭示猪精子的分子组成, 寻找精子质量相关分子

参数^[8], 这些研究促进了更加快捷有效地检测猪精子质量。本文在 PubMed 数据库中输入 “boar sperm quality assessment”, 共检索到 300 篇相关文章, 其中近 5 年 90 篇, 结合输入 “sperm quality assessment” 检索近 5 年的文章, 对这些文章进行运动、形态、功能、分子标记等归类综述, 以期猪精液在常温、低温和冷冻保存下质量检测评价研究, 以及在猪生产中的应用推广提供理论及技术支持, 推动人工授精技术更好地为生猪产业服务。图 1 示意了养殖场和实验室常见的猪精液质量评价项目及检测技术, 及对应技术常见的检测方法, 计算机辅助精子分析 (computer assisted sperm analysis, CASA) 和流式细胞技术是猪精液质量的主要检测方法。

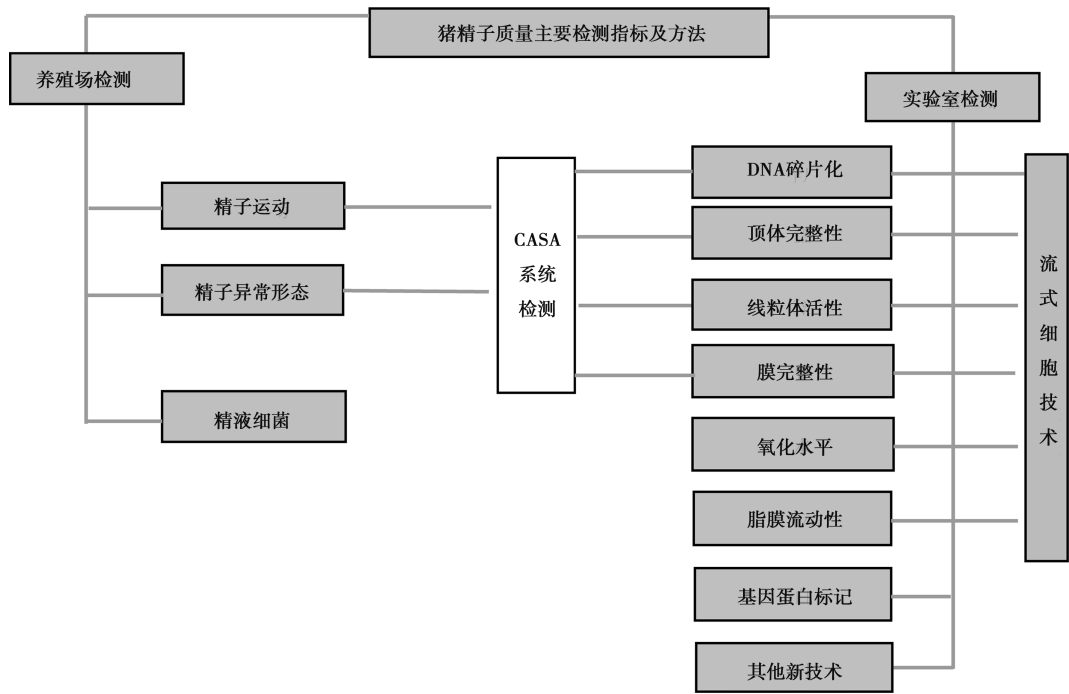


图 1 猪精液质量检测技术及不同应用场景

1 猪精子运动及形态检测

在寻找猪精子质量与生殖之间关联性的大量研究中, 由于缺乏客观性和可重复性的评价方法, 经常会得出相互矛盾的结果。自从有了 CASA 检测系统, 降低了人为主观因素, 提高了精子质量检测的准确性和客观性^[9]。虽然猪精液不像人精液有明确的国际标准, 不过不同国家对猪人工授精中心规定了精子运动、形态学和细菌检测的相应标准^[10]。

1.1 精子运动

目前针对猪精子运动检测的 CASA 系统, 有米尼图的 Androvision, 汉密尔顿的 IVOS 和 CEROS, 卡

苏的 SCA, 皮杰提斯·艾斯维斯 R+D 有限公司的 ISAS^[10], 这些软件可以检测精子浓度、活动性, 追踪运动轨迹。亿观生物科技公司的 iSperm, 可以检测精子浓度、活动性, 但不能对精子的运动路径进行追踪, 也不能评价精子形态^[11]。在使用 CASA 进行精子活动性检测时, 需要 38 °C 孵育激活精子, 对精子浓度也有一定的要求, 过度地稀释会降低精子的活动性检测结果, 但高浓度样本可能因出现精子的相互碰撞而使结果偏高。利用 CASA 检测精子活动性, 推荐精子的密度在 $2 \times 10^6 \sim 50 \times 10^6$ 个/mL 之间比较好。新鲜精液评价精子活动性主要反映公猪的生产性能, 国际上认为精子的总活动性要大于 70% ~ 80%^[10]。

Boe-Hansen 等^[11]认为, CASA 追踪猪精子运动轨迹的平均路径速度 $>20 \mu\text{m/s}$, 直线速度 $\geq 40 \mu\text{m/s}$, 总活动性大于 70%, 为公猪的默认标准, 大约每份精液精子总数要大于 20 亿个。在 GB 23238—2021《种猪常温精液》中有相应的规定, 精子总活力大于等于 60%。2021 年版世界卫生组织《人类精液检测和处理实验室手册》重新将精子运动分为 4 个等级, 认为快速运动精子对受孕比较重要^[12]。在兽医领域内针对猪精子的运动也有快速前向运动、中速前向运动、非前向运动精子、不运动精子的分类检测^[13]。关于快速前向运动精子与猪受孕和产仔数的关联性, 还有待进一步研究。

精液经过 3~5 d 液体贮存, 精子活动性逐渐降低, 液体贮存 4 d 总活动性仍大于 75%, 前向运动精子大于 70%, 引起贮存获能显著升高^[14], 顶体完整性下降明显^[15]。与液体贮存比, 猪精子冷冻保存显著降低精子运动参数, 精子总活动性一般在 45%~57%, 前向运动在 24%~45%。有研究认为, 总活动性 $<25\%$ 时会降低人工授精仔猪数, 冷冻后精子总活动性 $>30\%$ 不影响胎儿数。也有研究显示, 复苏后前向运动精子与总出生仔猪数和出生活仔数相关, 与受孕率无关^[16]。2017—2022 年, 国内一些地方相继出台了猪精子冷冻标准, 如: 河北省的《猪冷冻精液》(DB 13/T 2633—2017), 江西省的《猪冷冻精液生产技术操作规程》(DB36/T 1367—2020), 甘肃省的《猪冷冻精液生产技术规程》(DB62/T 4474—2021), 河南省的《猪冷冻精液生产技术规范》(DB41/T 2371—2022), 规范了冷冻复苏后精子活动性、形态和细菌含量标准, 每个地方标准中有关总活动、形态和细菌含量都不一样。目前关于猪冷冻精液生产还未见国家标准。猪精子经冷冻-复苏, 其总活动性和前向运动的参数范围需结合大量繁殖性能指标做进一步的关联性研究, 从而促进全国猪冷冻精子运动参数的出台。

1.2 精子形态检查

人精子正常形态 $<15\%$ 会降低精子体外受孕率, 在《人类精液检测和处理实验室手册》第 5 和第 6 版中, 精子形态评价都采用了严格的标准, 说明精子形态评价在精子质量评价中的重要作用^[17]。第 6 版手册将描述精子形态标准的“正常、临界和异常”改为“头部、中间、尾部异常”^[12]。精子形态评价在生殖中比较重要, 精子形态与畜牧养殖中的分娩率和产仔数直接相关, 也是养殖场需要检测的项目^[10]。

一般认为, 猪精液不经过保存, 精子畸形率小于 20%为正常状态, 其中原生质滴要小于 15%^[10]。也有认为猪精液生产需要保存, 规定新鲜精液正常精子

形态要大于 75%^[11]。英国规定猪精液形态异常 $<30\%$, 活动性 $\geq 70\%$, 精子保存期内活动性 $\geq 60\%$, 对细菌的含量限制要求非常高; 德国、澳大利亚、新西兰规定猪常温精液精子活动性 $\geq 70\%$, 形态异常率 $<25\%$, 贮存 72 h 内精子活动性 $\geq 65\%$, 收集到的新鲜精液中无动物和人的特殊病原微生物^[16]。GB 23238—2021《种猪常温精液》也规定了相应的种猪常温精液畸形率标准。不同国家地区规定的原始精液的标准不同, 不过一般规定最低的总活性 $>70\%$, 形态异常低于 20%~30%, 有的规定了原生质滴的含量要低于 15%~30%^[18]。近来的研究也发现, 高原生脂滴含量的精子其运动性和受精能力都不如正常精子^[19]。对于新鲜精液质量检测, 原生脂滴可能也是一个繁殖性参数, 需要更多的研究关注和数据支撑。

CASA 系统检测精子头长、宽, 头围和头的面积, 胞浆脂滴, 中部、尾部的长度和形态的异常。大部分的形态检测参考世界卫生组织《人类精液检测和处理实验室手册》, 猪精子头部形态不同于其他物种, 卡苏公司的 SCA[®] CASA System Automatic Sperm Analyzer - HT CASA 检测猪精子形态的软件内置参数, 细微的头部变化会影响精子的受孕能力和冷冻效果, 采用物种特异性的软件有其必要性。有研究显示, 猪精液 17 °C 保存显著影响精子头部参数, 且使用精子蓝 (spermblue) 染色检测较为准确^[20]。Garcia-Herreros 等^[21]认为, 冷冻会显著影响猪精子头部粗糙度和精子中段区域, 对猪冷冻-复苏精子主要评价这 2 个部位的参数比较重要。CASA 具有自动分析功能, 如果能将其作为冷冻-复苏评价标准, 对于优化猪精液冷冻程序及试剂的开发具有重要价值。

精子形态异常伴随 DNA 碎片化增加。DNA 碎片化在人精子质量检测中是较为常见评价精子生育能力和预测生育结果的指标, 是一个比较重要的指标^[22]。然而, 与人类精子不同, 家畜精子 DNA 碎片化与生殖结果之间存在较低的关联性。更多的研究提出, 评估 DNA 碎片化作为精子质量评价参数的实际价值可能与 DNA 碎片化评价方法的敏感性有关。利用脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (TUNEL) 探索对 DNA 碎片化检查发现, 加入 5 mmol/L 的 DTT 和 1 mol/L 的氯化钠可以有效去除猪精子 DNA 凝聚性, DNA 碎片化从 $(1.89 \pm 1.63)\%$ 提高到了 $(8.74 \pm 6.05)\%$, 大大提高了 DNA 碎片化检测比率, 但仍没有发现 DNA 碎片化与猪精子活力和精子形态之间的关联性^[23]。Mateo-Otero 等^[24]发现, 猪精子整体 DNA 损伤与精子正常形态和前向运动呈负相关, 但不影响受精; 若是整个 DNA 损伤, 单链 DNA 断裂和双链 DNA 断裂则影响胚胎的发育,

彗星试验结合常规的精子质量检查能提高对囊胚形成的预测,这一研究说明检测猪精子DNA损伤对评价猪精子的繁殖能力有一定的作用。Zhao等^[25]研究表明,猪精子形态改变伴随背后基因结构的变化,使用加权单步全基因组关联研究(wssGWAS),发现精子卷尾、弯尾、中段弯折,近端脂滴和远端脂滴这些形态的改变与多基因数量性状基因位点变化有关。精子形态的变化关联精子DNA及基因数量性状,对进一步优化形态检测参数的研究提供了一定的分子学研究基础,促进形态检测参数的完善。

DNA碎片化检测方法主要有彗星试验、TUNEL方法和精子染色体扩散试验^[26],这些试验都有相应的试剂盒,经过试剂盒测试后可以使用CASA系统中的形态进行分析。猪精子经过常温、低温及冷冻保存,增加ROS生成,影响DNA的完整性,其与形态学检查之间的关联性需要进一步的试验研究。

2 精子功能检测

2.1 代谢及膜功能

精子运动受线粒体产生ATP的控制,其产生有2个途径,即氧化磷酸化和糖酵解。氧化磷酸化产生的ATP伴随ROS的生成,一定量的ROS会刺激精子获能,顶体反应,对卵子的趋化作用及与卵子融合,但过多的ROS引起精子DNA破坏、活力降低,从而失去受精能力,通过评价精子糖酵解、ROS,ATP判断精子代谢功能^[27]。精子低渗透膨胀试验,亦称精子尾部低渗透膨胀试验(HOST),与出生活仔猪数和窝产仔数呈显著正相关,精子线粒体活性显著影响出生活仔数,评价精子运动,加HOST测精子功能膜的完整性,线粒体膜电位和精子膜蛋白谷胱甘肽过氧化物酶5和骨桥蛋白70能代表猪精液的繁殖能力,没有发现DNA碎片化与繁殖参数之间的关系^[8]。除猪精子运动参数外,精子功能膜完整性和线粒体功能在精子质量评价中也相当重要。Garriga等^[28]使用电压依赖性阴离子通道抑制剂(TRO19622)抑制猪精子线粒体外膜上的离子通道,流式细胞技术和CASA检测猪精子前向运动比例、活力、线粒体膜电位和线粒体功能,结果显示精子线粒体及膜结构的完整性是猪精子17℃保存质量的主要指标。

Jäkel等^[29]利用多参数流式细胞技术,发现5℃保存精子高线粒体膜电位的精子数量显著降低,伴随细胞内钙离子水平的降低,为猪精子低温保存的研究提供了实验室检查评价参数及方法。Gonzalez-Castro等^[30]利用流式细胞技术采用3染色3通道和4染色4通道,研究经冷藏和冷冻精子的活力、顶体完整性和线粒体活性,发现利用3通道和4通道检测活精子、

顶体完整精子、顶体反应的死精子比例没有差异,不过使用3通道检测到经冷藏精子完整比例比4通道的显著提高,不同检测方法在检测2种不同贮存精子的参数中存在明显相关性,流式细胞4色法检测精子活力、顶体完整性、线粒体功能是比较简单、可靠的方法。通过流式细胞技术高通量检测精子样本,对经保存精子功能的评价更加精确。不过流式细胞仪价格昂贵,维护费高,对检测人员专业性要求较高,需要购买的检测试剂盒费用高,可能更适合作为实验室研究使用,如果该技术能为精子常规运动学检查和形态检测提供更加精细的参数参考范围,则可以提高精子运动学和形态检测对精子繁育性能的预测准确性。

2.2 抗氧化活性

除精子活力、运动、形态、精子顶体完整性、膜完整性和线粒体功能,还包括一些抗氧化指标,如谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)、总抗氧化能力(TAC)和脂质过氧化物丙二醛(MDA),可以反映猪精子质量,判断其繁育能力^[31]。这些评价精子功能的指标经常结合运动和形态参数一起评价精子质量。精子储存过程中产生的ROS,会引起精子的氧化损伤,40 μm/L迷迭香酸显著提高猪17℃条件下精子运动、膜完整性和顶体完整性,检测到总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)活性、ATP和线粒体膜电位显著升高,MDA生成显著降低^[32]。谷胱甘肽转移酶S是精子主要的抗氧化酶,对抗氧化应激和毒性化学物质,猪精液17℃保存时添加该酶的抑制剂利尿酸,可显著降低精子质量和功能,显示该酶能保护线粒体膜电位和维持膜完整性^[33]。这些抗氧化指标,在评价猪精子保存和抗氧化试剂功能效用中是有效的实验室检测评价指标^[4]。这些检测指标更适合精子保存、抗冻试剂和材料开发中的效果评估。

GPx、CAT、TAC、MDA和ATP,这些参数都可以使用检测试剂盒,用酶标仪根据试剂盒推荐的波长进行检测,检测方法相对比较简单。不过需要购买试剂盒,同时样品处理需要配套的仪器设备,如细胞超声粉碎仪、酶标仪等,同时需要对检测结果进行统计分析,对检测人员要求比较高,适合在实验室中进行。目前出售的SCA和流式细胞检测中也包含抗氧化检测项目,需要特定的试剂盒。

3 精子分子标记及其他新兴技术

3.1 生物分子标记

在检测精子运动参数、活力和获能状态没有差异的情况下,发现猪精液蛋白I和II(PSP I, PSP II)mRNA的表达水平与产仔数呈显著负相关,

使用基因生物标志,较经典的精子质量检测能更精确地预测公猪的繁殖性能^[34]。随着生物技术的发展,高通量分析检测,如蛋白组学和转录组学,寻找与繁殖关联的生物标记基因,能提高猪的窝产仔数和繁殖性能,开发利用分子生物标记能精确地检测精子质量,有望成为精子质量评价的新方法。

血清和精索后精液中对氧磷酶-1的活性与精子运动参数呈负相关,射精中段精液对氧磷酶-1活性与精子浓度、精子运动和DNA完整性等精子参数呈正相关,与精子直线度和线性度呈负相关,该酶也可能成为猪精液质量一个潜在生物分子标记^[35]。公猪精液中的催产素浓度依赖公猪年龄,与猪精量和精液人工授精母猪分娩率呈正相关^[36]。研究发现,猪精子膜上的热休克蛋白家族D成员1(HSPD1)表达与公猪繁殖高度相关,HSPD1 mRNA表达水平与精子的运动参数相关,其高表达伴随高窝产仔数,HSPD1 mRNA有望成为选择优良公猪的生物标记分子^[37]。与经典精子运动和功能评价方式相比,这些生物标记分子有望成为精确预测精子繁殖能力的参数,不过这些参数的有效性还需要进一步地深入研究。

环形RNA是一种特殊的非编码RNA,环形RNA中有很多miRNA结合位点,在细胞中起到miRNA的海绵作用,进而解除miRNA对其靶基因表达的抑制作用,提高靶基因的表达水平。148个环形RNA与精子的运动参数直接相关,其中ssc_circ_1458和ssc_circ_1321这2个环形RNA与精子运动参数呈高度负相关,精子中环状RNA有望成为猪精子质量和繁殖性能的生物标志物^[38]。16S rRNA测序检测16℃保存条件下精液中细菌种群和数量,发现精液菌群会随时间推移而变化,并伴随精子质量降低和精子形态变差,将来可以用微生物测序的技术,评价猪精液细菌群,评价精液的受精能力^[39]。这些参数及方法为进一步研究精液质量评价提供更为多样的评价方式。

有关寻找精子质量分子标记的研究比较活跃。有研究精浆中的抗缪勒管激素,不过该标记与精子运动参数和精子功能指标关系不大,与人工授精的繁殖参数无关^[40]。醛糖还原酶B1在猪射精不同段精清中的含量不同,该酶与精子质量和功能之间有关联^[41]。这些探索为猪精子质量分子标记提供了更丰富的数据支撑,但大部分处于实验室研究阶段。

3.2 其他技术

WST-8检测表明猪精子质量与CASA评价前向运动、活率、顶体完整性、线粒体完整性呈正相关,能够指示精子质量,WST-8检测可能成为潜在快速评价精子质量方法^[42],这一技术可评价细胞活力,该法与CASA方法在评价猪精子质量的经济、快捷、

准确性方面有待进一步考证。最近Keller等^[43]开发了一款基于图像的高通量流式细胞技术(high-throughput image-based flow cytometry, IBFC),不需要进行染色和人工计数,可以进行猪精子形态异常和精子顶体健康评价,达到流式细胞精子计数多(10 000)且不用染色的优点,更加准确、快捷、方便。Kruit等^[44]利用微流控阻抗细胞技术,不用对猪精子细胞进行标记,依赖猪精子细胞的亚结构特点,检测精子顶体的完整性,发现19 MHz高出0.5 MHz时,可以检测猪精子顶体的完整性,临界阈值为0.86,使检测灵敏度和特异性分别达到98%和97%。这些生物技术的不断发展,为更加方便、快捷、精确评价精子质量提供了更多选择。不过,这些新技术在精子繁殖能力检测中的有效性方面仍有待进一步研究。

通过生物传感可视人工智能监测猪精子收集过程中阴囊收缩与精子活力、运动学参数、精子膜功能完整性和精子形态参数的相关性,发现公猪射精过程中阴囊的收缩密度与精子平均路径速度和胞浆脂滴百分比存在相关性,使用人工智能评价精囊功能从而评价精子质量可能成为预测猪生产高质量精子的补充方法^[45]。这些新技术的出现,丰富了精液质量评价方法和手段,不过这些新技术需要进一步结合生产实践应用,通过与猪受孕率、产仔数、产活仔数的关联性分析,以体现这些技术在精子质量中的有效性。

4 小结

目前猪人工授精商品化精液生产中,以精子的运动学参数为主要的质量检测 and 评估方式,CASA已经成为商业公猪精液质量检测的主要检测方法,具有先进、客观、简便和低成本性,但对精子形态的评价,特别是经过低温和冷冻保存后造成的轻微精子头部、颈部异常等还有待进一步研究。深入研究低温液态保存与冷冻保存实验室检查参数(实验室评价方法)与CASA检测精子形态、运动之间的关联性,最终落实到繁殖性能上,是制定形态和运动参数参考范围的重要科学依据。研究简单评价参数,如:运动形式,快速前向运动、总前向运动、非前向运动、不动,使用3D追踪精子运动轨迹,能更加精确定量检测精子运动^[46],更加便于与实验室评价方法和繁殖性能的关联性分析。研究精子形态,精子头部、颈部、尾部等参数的轻微变化,结合实验室检查方法,更有效地寻找形态学参数指标。这些都需要进行实验室精子质量参数和繁殖性能的关联性分析。

流式细胞仪能快速检测大量样本,相对准确性比较高,是CASA系统的有力补充,尤其在检测精子功

能方面, 法国 IMV 公司 (世界动物繁殖服务供应商) 已有专门用于动物精子质量检测的流式细胞仪 Easy-cyte。随着流式细胞仪成本的降低, 将会进一步推动其在猪人工授精中的应用。其他如基因分子标记技术, 由于成本较高和检测方法的便捷性问题等, 更适合在实验室研究中应用, 为猪精子运动检测参数和形态检测参数完善提供研究数据。

参考文献:

- [1] MELLAGI A P G, WILL K J, QUIRINO M, et al. Update on artificial insemination: semen, techniques, and sow fertility [J]. *Mol Reprod Dev*, 2023, 90 (7): 601-611.
- [2] WIEBKE M, HENSEL B, NITSCHKE-MELKUS E, et al. Cooled storage of semen from livestock animals (part I): boar, bull, and stallion [J]. *Anim Reprod Sci*, 2022, 246: 106822.
- [3] BAILEY J L, LESSARD C, JACQUES J, et al. Cryopreservation of boar semen and its future importance to the industry [J]. *Theriogenology*, 2008, 70 (8): 1251-1259.
- [4] RIBAS-MAYNOU J, MATEO-OTERO Y, DELGADO-BERMEDEZ A, et al. Role of exogenous antioxidants on the performance and function of pig sperm after preservation in liquid and frozen states: a systematic review [J]. *Theriogenology*, 2021, 173: 279-294.
- [5] SHI H, LI Q Y, LI H, et al. ROS-induced oxidative stress is a major contributor to sperm cryoinjury [J]. *Hum Reprod*, 2024, 39 (2): 310-325.
- [6] YANEZ-ORTIZ I, CATALAN J, RODRIGUEZ-GIL J E, et al. Advances in sperm cryopreservation in farm animals: cattle, horse, pig and sheep [J]. *Anim Reprod Sci*, 2022, 246: 106904.
- [7] SCHULZE M, JUNG M, HENSEL B. Science-based quality control in boar semen production [J]. *Mol Reprod Dev*, 2023, 90 (7): 612-620.
- [8] SA P, GODIA M, LEWIS N, et al. Genomic, transcriptomic and epigenomic analysis towards the understanding of porcine semen quality traits. Past, current and future trends [J]. *Anim Reprod Sci*, 2024, 269: 107543.
- [9] MICHOS I, TSANTARLIOTOU M, BOSCO C M, et al. Effect of boar sperm proteins and quality changes on field fertility [J]. *Animals (Basel)*, 2021, 11 (6): 1813.
- [10] MASIDE C, RECUERO S, SALAS-HUETOS A, et al. Animal board invited review: an update on the methods for semen quality evaluation in swine—from farm to the lab [J]. *Animal*, 2023, 17 (3): 100720.
- [11] BOE-HANSEN G B, SATAKE N. An update on boar semen assessments by flow cytometry and CASA [J]. *Theriogenology*, 2019, 137: 93-103.
- [12] CHUNG E, ARAFA M, BOITRELLE F, et al. The new 6th edition of the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen: is it a step toward better standard operating procedure? [J]. *Asian J Androl*, 2022, 24 (2): 123-124.
- [13] MICROPTIC S L U. SCA[®] Production CASA System [EB/OL]. [2024-11-01]. <https://www.micropticsl.com/products/sperm-class-analyzer-casa-system/additional-modules/sca-datashare/>.
- [14] TREMOEN NH, GAUSTAD AH, ANDERSEN-RANBERG I, et al. Relationship between sperm motility characteristics and ATP concentrations, and association with fertility in two different pig breeds [J]. *Anim Reprod Sci*, 2018; 193: 226-234.
- [15] KOMMISRUDE E, PAULENZ H, SEHESTED E, et al. Influence of boar and semen parameters on motility and acrosome integrity in liquid boar semen stored for five days [J]. *Acta Vet Scand*, 2002, 43 (1): 49-55.
- [16] FAIR S, ROMERO-AGUIRREGOMEZCORTA J. Implications of boar sperm kinematics and rheotaxis for fertility after preservation [J]. *Theriogenology*, 2019, 137: 15-22.
- [17] WANG C, MBIZVO M, FESTIN M P, et al. Evolution of the WHO "Semen" processing manual from the first (1980) to the sixth edition (2021) [J]. *Fertil Steril*, 2022, 117 (2): 237-245.
- [18] WABERSKI D, RIESENBECK A, SCHULZE M, et al. Application of preserved boar semen for artificial insemination: past, present and future challenges [J]. *Theriogenology*, 2019, 137: 2-7.
- [19] 魏创鑫, 赵云翔, 石俊松, 等. 原生质滴对猪精子形态、运动参数及体外受精效果的影响 [J]. *中国畜牧杂志*, 2024, 60 (4): 202-206.
- [20] SZABLICKA D, WYSOKINSKA A, PAWLAK A, et al. Morphometry of boar spermatozoa in semen stored at 17 degrees C—the influence of the staining technique [J]. *Animals (Basel)*, 2022, 12 (15): 1888.
- [21] GARCIA-HERREROS M, BARON F J, APARICIO I M, et al. Morphometric changes in boar spermatozoa induced by cryopreservation [J]. *Int J Androl*, 2008, 31 (5): 490-498.
- [22] PANG T, ZHANG X. Technical evaluation of commercial sperm DFI quality control products in SCSA testing [J]. *J Health Eng*, 2022, 2022: 9552123.
- [23] RIBAS-MAYNOU J, GARCIA-BONAVILA E, BONET S, et al. The TUNEL assay underestimates the incidence of DNA damage in pig sperm due to chromatin condensation [J]. *Theriogenology*, 2021, 174: 94-101.
- [24] MATEO-OTERO Y, LLAVANERA M, RECUERO S, et al. Sperm DNA damage compromises embryo development, but not oocyte fertilisation in pigs [J]. *Biol Res*, 2022, 55 (1): 15.
- [25] ZHAO Y, GAO N, LI X, et al. Identifying candidate genes associated with sperm morphology abnormalities using weighted single-step GWAS in a Duroc boar population [J]. *Theriogenology*, 2020, 141: 9-15.
- [26] HOA NT, SON N K, HOA T P, et al. The effectiveness of sperm preparation using density mini-gradient and single-layer centrifugation for oligospermia samples [J]. *Acta Inform Med*, 2022, 30 (2): 100-104.
- [27] LI Y, WANG Y, AN T, et al. Non-thermal plasma promotes boar sperm quality through increasing AMPK methylation [J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 257 (Pt 2): 128768.
- [28] GARRIGA F, MARTINEZ-HERNANDEZ J, GENER-VELASCO N, et al. Voltage-dependent anion channels are involved in the maintenance of pig sperm quality during liquid preservation [J]. *Theriogenology*, 2024, 224: 26-33.
- [29] JAKEL H, HENNING H, LUTHER A M, et al. Assessment of chilling injury in hypothermic stored boar spermatozoa by multicolor flow cytometry [J]. *Cytometry A*, 2021, 99 (10): 1033-1041.

- [30] GONZALEZ-CASTRO R A, PENA F J, HERICKHOFF L A. Validation of a new multiparametric protocol to assess viability, acrosome integrity and mitochondrial activity in cooled and frozen thawed boar spermatozoa [J]. *Cytometry B Clin Cytom*, 2022, 102 (5): 400–408.
- [31] SINGH M, TALIMOA MOLLIER R, SHARMA P R, et al. Dietary flaxseed oil improve boar semen quality, antioxidant status and *in vivo* fertility in humid sub-tropical region of North East India [J]. *Theriogenology*, 2021, 159: 123–131.
- [32] FENG T Y, LV D L, ZHANG X, et al. Rosmarinic acid improves boar sperm quality, antioxidant capacity and energy metabolism at 17 degrees C via AMPK activation [J]. *Reprod Domest Anim*, 2020, 55 (12): 1714–1724.
- [33] LLAVANERA M, DELGADO-BERMEDEZ A, OLIVES S, et al. Glutathione S-transferases play a crucial role in mitochondrial function, plasma membrane stability and oxidative regulation of mammalian sperm [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2020, 9 (2): 100.
- [34] KANG S, PANG W K, RYU D Y, et al. Porcine seminal protein-I and II mRNA expression in boar spermatozoa is significantly correlated with fertility [J]. *Theriogenology*, 2019, 138: 31–38.
- [35] LUCCA M S, GOULARTE K L, ROVANI M T, et al. Paraoxonase 1 activity in the sperm-rich portion of boar ejaculates is positively associated with sperm quality [J]. *Anim Reprod*, 2022, 19 (3): e20220039.
- [36] PADILLA L, LOPEZ-ARJONA M, MARTINEZ-SUBIELA S, et al. Oxytocin in pig seminal plasma is positively related with *in vivo* fertility of inseminated sows [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2021, 12 (1): 101.
- [37] PANG W K, SON J H, RYU D Y, et al. Heat shock protein family D member 1 in boar spermatozoa is strongly related to the litter size of inseminated sows [J]. *J Anim Sci Biotechnol*, 2022, 13 (1): 42.
- [38] GODIA M, CASTELLO A, ROCCO M, et al. Identification of circular RNAs in porcine sperm and evaluation of their relation to sperm motility [J]. *Sci Rep*, 2020, 10 (1): 7985.
- [39] MCANALLY B E, SMITH M S, WIEGERT J G, et al. Characterization of boar semen microbiome and association with sperm quality parameters [J]. *J Anim Sci*, 2023, 101: skad243.
- [40] BARRANCO I, FERNANDEZ-FUERTE B, PADILLA L, et al. Seminal plasma anti-mullerian hormone: a potential AI-boar fertility biomarker? [J]. *Biology (Basel)*, 2020, 9 (4): 78.
- [41] MATEO-OTERO Y, VINOLAS-VERGES E, LLAVANERA M, et al. Aldose reductase B1 in pig seminal plasma: identification, localization in reproductive tissues, and relationship with quality and sperm preservation [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 683199.
- [42] CHEN Y H, WU C P, LIN H L, et al. Tetrazolium salt WST-8 as a novel and reliable chromogenic indicator for the assessment of boar semen quality [J]. *Animals (Basel)*, 2020, 10 (12): 2293.
- [43] KELLER A, MAUS M, KELLER E, et al. Deep learning classification method for boar sperm morphology analysis [J]. *Andrology*, 2024. DOI: 10.1111/andr.13758.
- [44] KRUIT S A, de BRUIJN D S, BROEKHUIJSE M, et al. Label-free microfluidic impedance cytometry for acrosome integrity assessment of boar spermatozoa [J]. *Biosensors (Basel)*, 2022, 12 (9): 679.
- [45] STRAVOGIANNI V, SAMARAS T, BOSCOS C M, et al. Investigating visual monitoring of the scrotum as a supplementary tool for boar semen quality evaluation [J]. *Vet Sci*, 2022, 10 (1): 9.
- [46] van der HORST G. Computer aided sperm analysis (CASA) in domestic animals: current status, three D tracking and flagellar analysis [J]. *Anim Reprod Sci*, 2020, 220: 106350.