

小 结

激光诱发的卵色突变体白卵(Ze^w)和红卵(Ze^{rs}), 经过酯酶同工酶电泳染色带分析及杂交遗传试验分析, 以及茧质差异比较, 可以得出: 该突变体发生多种性状的变化, 其卵色是由一新突变基因控制, 它同 Ze^+ 、 $w-2$ 等位, 为隐性突变, 但同 re 为非等位, 存在隐性上位作用, 其茧质虽同亲本(Ze^+)无显著差异, 但极显著优于现有白卵($w-2$)和红卵(re)。

杨瑞丽同志也参加了部分工作, 谨表谢意。

参 考 文 献

- 1 徐厚谔, 陈震古, 应用激光联刊, 6(6), 45(1987)
- 2 胡能书, 万贤国编, 同工酶技术及其应用(湖南科学技术出版社, 1985), p. 96
- 3 刘权, 陆星恒编著, 蚕桑试验设计及统计方法(上海科学技术出版社, 1987), p.115~123

(收稿日期: 1988年8月26日)

激光辐照对家兔精子体外受精的影响

李金泉

(内蒙古农牧学院, 010018)

Effects of laser irradiation on rabbit sperm in-vitro fertilization

Li Jinqun

(Inner Mongolia College of Agriculture and Animal Husbandry, Huhehaote)

Abstract: The effect of laser irradiation on rabbit's sperm in-vitro fertilization were studied by using SPA(Sperm Penetration Assay) method and it has been found that laser may promote the formation of male pronucleus after fertilization.

Key words: laser, rabbit's sperm, in-vitro fertilization

一、引 言

激光作为一种新的诱变源已广泛地用于辐射育种, 在微生物、植物和低等动物方面取得了不少成果。但推广到高等动物, 特别是家畜尚有相当大的距离。然而, 有关激光辐照动物性腺、胚胎乃至性细胞的研究仍十分活跃, 人们试图为激光早日用于家畜诱变育种探索一条新路。Il'ina 用 He-Ne 激光辐照猪精液, 发现精液保存过程中 pH 上升速度减慢, 精子活力

增强^[1]。之后又有人对人^[2]、牛^[3]、绵羊^[4]、山羊^[5]等的精液作了激光辐照生物学效应的探讨,均得到了提高精子活力,延长精子保存寿命的结论,并发现可改变精清中和精子内酶的活性。针对以往辐照精液多偏重形态学、活力以及酶学分析等特点,本试验用 He-Ne 激光照射家兔精液,对精子与卵相互作用、穿入卵黄膜、形成雄原核等体外受精能力进行了一系列的研究,旨在进一步探索激光用于家畜诱变育种之可行性。

二、材料和方法

本试验所用精液是用假阴道法采自 4 只白色纯种新西兰公兔,用于试验的精液共 45 只次。精液带回实验室后用特定培养液^[6]1:3 等温稀释,然后在室温下静置 20 分钟,混匀后随即分装于 5 只直径为 14mm 的无毒透明塑料管中,其中 1 管为对照组。其余 4 管用 HN-T 型 He-Ne 激光器,以 $0.0138\text{W}/\text{cm}^2$ 的功率密度分别散焦照射 1 分钟、2 分钟、4 分钟和 8 分钟。照射后全部样本均置于 38°C 水浴锅中恒温孵育,4 小时之后作精子的体外获能处理^[7]、并按精子穿透分析法程序进行试验和测定^[7],每份样本设三个平行组,取平均值进行统计分析。

三、结果与讨论

根据已有的试验资料证明,SPA 试验中以下列三项参数与精子输精后的实际受精能力(即母畜怀孕率)相关最大,是估测精子功能的可靠指标:a.与精子作用的卵子数所占百分比,说明精卵相互作用机会的多少;b.含原核的卵子数所占百分比,反映雄性原核形成的难易程度,说明精子体外受精的真实能力;c.被精子穿透的卵子数所占百分比,说明精子穿入卵黄膜的能力。本试验也只对该三项参数作了统计。结果见表 1。

表 1 激光对家兔精子体外受精能力的影响 $N=15(\%)$

孵育时间 (小时)	项 目		试验卵数 (枚)	a ($\bar{X} \pm S$)	b ($\bar{X} \pm S$)	c ($\bar{X} \pm S$)
	分 组	照射时间 (分钟)				
辐照后 4~10	对照组	0	631	51.81 ± 12.24	12.15 ± 3.00	29.04 ± 10.03
	试验组	1	622	50.12 ± 13.27	13.27 ± 4.18	28.93 ± 11.73
		2	629	55.49 ± 14.80	14.44 ± 3.52	33.04 ± 10.56
		4	630	54.53 ± 15.62	14.08 ± 3.59	30.20 ± 10.71
		8	616	52.41 ± 13.48	11.32 ± 5.33	27.41 ± 11.09

由表 1 可知:a、c 两项参数,标准差大,说明试验结果不稳定, F 检验各组间无显著差异($P > 0.05$),这与 Brackett 等人的报道结果相一致^[8]。一方面说明试验方法尚需进一步完善,由于地鼠超排效果的不同,酶处理卵子程度的差异,以及孵育环境的温度、湿度,培养液 pH 和

渗透压等的微小差别,均可直接影响结果。精卵作用的生物学过程是非常微妙的,因此,试验时应尽量减少上述因素的影响。另一方面,在一定程度上说明,激光对该两项参数的影响不存在明显的规律性。但从试验结果可以看出,总的趋势是试验组较对照组有所提高,最好的2分组 *a*、*c* 两项参数比对照组各提高 7.10% 和 13.77%。这主要是由于激光辐照提高了精子的活力和存活力,在本试验条件下测定结果表明,最好的2分组,精子活力和存活力分别比对照组提高 15.52% 和 12.90%,经 LSR 法分析表明差异显著 ($P < 0.05$)。至于在一定的剂量和试验条件下激光可增强精子内部分酶类的活性等结果^[3~5],也为激光可增强精卵相互作用的机会和穿入卵黄膜的能力提供了一定的依据。

而 *b* 参数却与上不同,标准差明显降低,各组内试验结果较稳定,说明激光对受精过程中原核形成的影响比较明显,具有一定的规律性,*F* 检验表明,处理间存在着显著差异 ($P < 0.05$),LSR 法进一步分析的结果是2分组显著高于8分组和对照组(分别提高 27.50% 和 18.84%, $P < 0.05$),其他组间差异不显著 ($P > 0.05$)。这说明,一定剂量的激光辐照精子,可促进精子穿入卵黄膜后,形成雄性原核,本试验条件下,以2分组效果较好,8分组 *b* 参数反而低于对照组。另外本次试验对照后孵育4小时的精子作了体外获能的 TST 染色(即精子顶体三步染色法)分析,结果表明,活精子获能率以2分组为最高,比对照组增加了 7.88%,差异显著 ($P < 0.05$),另外,总顶体反应率,4分组、2分组和8分组都极显著地高于对照组(分别提高 6.97%、6.47% 和 6.24%, $P < 0.01$)。而对于哺乳动物来说,业已证明,未经获能的精子不具备受精的能力,显然,获能精子的增多也是激光促进精卵相互作用、精子穿入卵黄膜、形成雄原核的途径之一。而激光可促进细胞 ATP 的合成,使得精子代谢增强,也是促进受精过程的原因所在。在本试验条件下,8分组已构成了对精子细胞的损伤作用,试验中发现,精子畸形率和顶体异常率都明显高于其他各组。从8分组 *b* 参数低于对照组的事实推论,高能量密度的激光不仅会导致精子细胞的形态发生异常,而且对细胞内代谢物质也存在着一定的抑制或损伤作用。

本研究得到了内蒙古农牧学院教授刘震乙、税世荣、副教授敖秀珠,讲师李翠环等的大力帮助,作者谨表谢意。

参 考 文 献

- 1 Il'ina T. A., *Animal Breeding Abst.*, **48**(5), 377(1977)
- 2 Sato H. et al., *Andrologia*, **46**(1), 23(1984)
- 3 张全有 1986, 内蒙古农牧学院研究生论文集。
- 4 朱九明,中国激光, **15**(6), 382(1988)
- 5 安玉君,中国激光, **15**(2), 127(1988)
- 6 Benjamin G. Brackett et al., *Biology of Reproduction*, **12**, 260(1975)
- 7 Bousquet D. et al., *Theriogenology*, **2**(17), 199(1982)
- 8 Bousquet D. et al., *Theriogenology*, **20**(5), 601(1983)

(收稿日期:1988年10月10日)