

行政院農業委員會畜產試驗所主管科技計畫
98年度細部計畫說明書

98農科-2.1.1-畜-L1(2)

種畜禽研究團隊-豬精液冷凍效率之提升
Food Animal Breeding Research Consortium-
Improvement of boar semen freezing efficiency



1234753047203 2009/02/16 10:57:27

行政院農業委員會畜產試驗所
中華民國98年1月



執行機構(計畫)識別碼：020101L102

行政院農業委員會畜產試驗所主管科技計畫 98年度細部計畫說明書

一、計畫序號及名稱

- (一) 序號：2
- (二) 中文名稱：種畜禽研究團隊-豬精液冷凍效率之提升
- (三) 英文名稱：Food Animal Breeding Research Consortium-Improvement of boar semen freezing efficiency

二、計畫編號

- (一) 國科會審議編號：9821010106-03020101L1
- (二) 本年度計畫編號
 - 中文：98農科-2.1.1-畜-L1
 - 英文：98AS-2.1.1-LI-L1
- (三) 去年度計畫編號
 - 中文：新提計畫
 - 英文：

三、計畫依據

農委會施政計畫

四、計畫屬性

科技類

五、研究性質/研究方式

研究性質：技術發展

研究方式：自行研究

六、研究領域/研究目的





研究領域：59 畜牧獸醫類

研究目的：發展農林漁牧(不含食品加工與包裝)

七、執行機關與執行人

機 關 名 稱	執 行 人	職 稱
行政院農業委員會畜產試驗所	黃英豪	所長

八、協辦（合作）機關

無

九、計畫主持人

機關名稱：行政院農業委員會畜產試驗所

姓 名：陳裕信

職 稱：助理研究員

單位名稱：生理組

電 話：06-5911884

傳 真：06-5912581

電子信箱：yhchen@mail.tlri.gov.tw

十、研究人員

序號	機 關 名 稱	單 位 名 稱	研究人員	職 稱
1.	農委會畜產試驗所	彰化種畜繁殖場	賈玉祥	副研究員兼場長
2.	農委會畜產試驗所	生理組	陳立人	研究員兼組長
3.	農委會畜產試驗所	彰化種畜繁殖場	王錦盟	助理研究員
4.	農委會畜產試驗所	彰化種畜繁殖場	粘碧珠	約聘人員
5.	農委會畜產試驗所彰化種畜繁殖場	彰化種畜繁殖場	張雁智	約聘人員
6.	農委會畜產試驗所	彰化種畜繁殖場	胡見龍	助理研究員兼主任
7.	農委會畜產試驗所生理組	生理組	劉振發	助理研究員
8.	農委會畜產試驗所生理組	生理組	曲鳳翔	助理研究員





9. 行政院農業委員會畜產
試驗所

康定傑 助理研究員

十一、執行期限

全程計畫： 98 年 1 月 1 日至 99 年 12 月 31 日止
本年度計畫： 98 年 1 月 1 日至 98 年 12 月 31 日止

十二、實施地點

1. 畜產試驗所生理組
2. 畜產試驗所彰化種畜繁殖場

十三、計畫內容

(一) 已完成/相關之重要計畫成果摘要：

新提計畫

(二) 擬解決問題：

在人工授精和體外受精技術中，優質精液乃為母畜人工授精的受胎率和體外受精成功的關鍵。隨著精液冷凍保存技術的不斷改善，在生產和實際研究應用時，幾乎都採用冷凍保存的精液。這主要是由於冷凍精液應用方便，不受時間及地域的限制，減少公畜的飼養量及節省飼養成本，提高畜牧業經濟效益，有利於家畜品種的育種改良。但經冷凍 - 解凍過程後的精液，其精子活力遠不及新鮮精液，人工授精技術在實際生產上雖已得到廣泛應用，但其受胎率仍低於使用新鮮精液者。本計畫的目的在於探討稀釋液成分、冷凍稀釋液成分以及豬隻個體因素對豬冷凍精液的影響，以改善豬冷凍精液的品質以及提升豬精液製備的技術。

(三) 前人研究概況：

自從Polage et al. (1949)將甘油應用於精子冷凍保存後，於1951年產下第一頭犢牛 (Watsonm 1990)。在豬方面，直到1975年公豬的冷凍精液才被廣泛的用於現場研究 (Johanson et al., 2000)。而豬冷凍精液技術始於1956年Polge首次報告用豬冷凍精液進行人工授精獲得仔豬。Pursel et al.(1975) 報告中利用顆粒狀冷凍精液給23 頭女豬進行人工授精，48 h 後剖檢11 頭，有5 頭受孕；25~30 天後剖檢另外12 頭，有10 頭懷孕。在1980 年召開的第九屆國際動物繁殖和人工授精會議上，日本學者報告了歐亞7國在1977~1979 年開展豬冷凍精液人工授精的情況，其中美國、瑞士、法





國、匈亞利、西班牙利用凍精配種母豬達800~1000頭，英國、澳大利亞用凍精配種母豬50~200頭(Johnson et al., 2000)。對於新鮮精液，其中約含76%~98%水分，稀釋後含水量可達95%~99%，而在超低溫冷凍時，凍結狀態對精子活力影響很大，冰點以下的溫度就會造成精子死亡。雖然對生物細胞在冷凍過程中細胞內外所發生的理化變化，以及引起細胞損傷機制了解很少，但基本變化可以歸類為細胞內外溶質濃度和滲透壓增高；細胞脫水，蛋白質變性，特別是細胞的膜結構受到損傷；解凍時細胞遭到同樣危害。在家畜中，牛和馬精子的耐凍性較強，豬精子極不耐凍，在冷凍和解凍之後，其精子頭核、頸部和尾部總體結構變化不大，但由於細胞膜內脂類-蛋白的結合發生改變，細胞膜的通透性增加，以致氨基酸、脂肪酸和有關酶損失，從而造成精子頭部外形頂體膨脹、脫落，出現皺褶、突起，細胞膜破損。因此在生產中，應用豬冷凍精液人工授精的受胎率普遍較低，產仔數較少，遠遠不及自然交配時的受胎效果，嚴重限制了豬冷凍精液的應用(Lisa et al., 2003；Woelders et al., 2005)。經過多年的研究與應用，在資料的累積與技術方面有很多的進展，然而目前公豬冷凍精液解凍後，在現場應用配種的受胎率約為新鮮精液的80%，產仔頭數則較新鮮精液約減少2-3頭，顯示公豬的冷凍精液的應用與技術尚有改善的空間。

(四) 計畫目標：

1. 全程目標：

(1)總目標：

建立豬精液保護稀釋劑的基礎配方及其製作的基本流程與技術。

(2)分年度工作目標：

98年度：

建立豬冷凍精液基本技術。

99年度：

探討公豬個體因素對豬冷凍精液品質的影響。

2. 本年度目標：

自行配製冷凍保護稀釋劑之基礎配方，建立豬精液冷凍製作流程為基礎，進行豬冷凍精液的試製與調整，並比較Merk和BTS與自行配製配方三者間對豬冷凍精液品質影響的差異，以建立冷凍保護稀釋劑的基礎配方，另可供第二年試驗使用。

(五) 重要工作項目及實施方法：

1.精液的準備採集自杜洛克品種的公豬精液，採精時以手握法採集公豬中間濃厚段精液。採集之精液經濾紙杯過濾於集精杯中，立即在35~38℃下進行常規品質評定，要求原精液的pH 值為6.3~6.8，精子濃度達到3億/mL以上，精子活力





達75%以上，無異常氣味，色澤為乳白色。以商用冷凍保護稀釋劑進行豬精液製作。

2. 麥管式豬精液冷凍製作流程將稀釋精液冷卻至15℃(4小時)後於15℃下離心10分鐘(x800g)並移除上清液，使用Merk和BTS稀釋液稀釋精液後冷卻至5℃(2.5小時)，加入6%甘油之稀釋液稀釋精液後，填入5ml的稀釋精液，將麥管置於液氮液面上保持-80℃/20分，移入液氮桶內凍存。冷凍精液解凍則為：將液氮桶內取出之冷凍精液麥管置入50℃之溫水槽中45秒後，剪開麥管之另一端，讓精液流入80ml(25%)稀釋液中，取20μL之樣品於載玻片，並以蓋玻片覆蓋，於37℃加溫板加熱30秒，移至顯微鏡上觀察精子活動力、頭帽完整及細胞膜的完整。

3. 建立豬精液冷凍保護稀釋劑的基礎配方自行配製葡萄糖蛋黃基礎配方之冷凍保護稀釋劑，以上述豬精液冷凍製作流程為基礎，進行豬冷凍精液的試製與調整，並比較Merk和BTS與自行配製配方兩者間對豬冷凍精液品質影響的差異，以建立冷凍保護稀釋劑的基礎配方，另可供第二年試驗使用。

(六) 預定進度：

重要工作項目	工作比重 %	預定進度	98 年				備註
			1-3月	4-6月	7-9月	10-12月	
建立冷凍精液製作流程	50	工作量或內容	50	80	90	100	
		累計百分比	50	80	90	100	
建立基礎配方	40	工作量或內容	50	70	90	100	
		累計百分比	50	70	90	100	
期中期末報告撰寫	10	工作量或內容		期中報告撰寫		期末報告撰寫	
		累計百分比	0	50	50	100	
累計總進度	百分比		45	73	86	100	

(七) 預期效益及評估指標：

1. 預期效益：

1. 建立豬精液冷凍基本技術。
2. 開發豬精液冷凍保護稀釋劑的基礎配方。

2. 評估指標：

(1) 期中審查標準：

建立豬冷凍精液製作流程之基礎技術。





(2)期末審查標準：

比較商用與自行配製冷凍保護稀釋劑對豬冷凍精液品質的差異。

十四、計畫經費分類

(單位：千元)

經費類別	經常門	資本門	合計
自辦費	2,500	0	2,500

十五、預算細目

機關名稱： 行政院農業委員會畜產試驗所

(單位：千元)

預算科目代號	預算科目	經費來源					合計	說明
		農委會畜產試驗所			其他			
		經常門	資本門	小計	金額	配合款單位		
01-00	人事費	600	0	600	0		600	
01-03	法定編制人員待遇	600	0	600	0		600	公務用品，影印裝訂，研討會海報輸出，勞務外包人員費用，專利申請，誤餐費，保全費等
02-00	業務費	900	0	900	0		900	
02-02	水電費	250	0	250	0		250	水費，電費及其他動力費
02-03	通訊費	20	0	20	0		20	電話通訊費
02-15	資訊服務費	10	0	10	0		10	資訊設施相關費用
02-71	物品	400	0	400	0		400	試驗分析用藥品，耗材與非消耗品
02-82	房屋建築修繕費	20	0	20	0		20	房屋與建築修繕費
02-84	設施及機械設備養護費	100	0	100	0		100	儀器設備，消防設施，廢水處理，機電設施，現場畜舍與實驗室等維修
02-91	國內旅費	100	0	100	0		100	國內差旅費
合計		1,500	0	1,500	0		1,500	

會計人員簽章：

機關名稱： 農委會畜產試驗所彰化種畜繁殖場

(單位：千元)





預算科目代號	預算科目	經費來源					合計	說明
		農委會畜產試驗所			其他			
		經常門	資本門	小計	金額	配合款單位		
02-00	業務費	1,000	0	1,000	0		1,000	
02-02	水電費	15	0	15	0		15	
02-03	通訊費	15	0	15	0		15	
02-71	物品	480	0	480	0		480	
02-79	一般事務費	430	0	430	0		430	
02-93	國外旅費	60	0	60	0		60	
合計		1,000	0	1,000	0		1,000	

會計人員簽章：

十六、關鍵詞

精液;Semen;公豬;Boar;低溫冷凍;Cryopreservation;

十七、主要參考文獻

- Johnson, L. A., K. F. Weitze, P. Fiser, and W. M. C. Maxwell. 2000. Storage of boar semen. Anim. Reprod. Sci. 62: 143- 172.
- Polge, C., A. U. Smith, and A. S. Park. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. Nature 164: 666.
- Watson, A. 1957. Cold shock of spermatozoa. Proc. R. Soc. Biol. 147: 508.
- Pursel, V. G. and L. A. Johnson. 1975. Freezing of boar spermatozoa: Fertilizing capacity with concentrated semen and a new thawing procedure. J. Anim. Sci. 40: 99- 102.
- Lisa, M. T., V. H. William, and F. W. Paul. 2003. Post-thaw functional status of boar spermatozoa cryopreserved using three controlled rate freezers: a comparison. Theriogenology. 60 : 101-113.
- Woelders, H., A. Matthijs, C. A. Zuidberg and A. E. N. Chaveiro. 2005. Cryopreservation of boar semen: equilibrium freezing in the cryomicroscope and in straws. Theriogenology. 63 : 383-395.





附表一

參與計畫人力資料表

	參與計畫 人員姓名	英文姓名	身份證 字 號	出生 年 民國	專長 領域	職級	學歷	性別	參與 人月	參與 性質
1	陳裕信	Chen Yu-Hsin	S12487****	58	59	4	2	1	4	1
2	賈玉祥	Jea Yu-Shine	A10292****	41	59	2	1	1	1	5
3	陳立人	Chen Lih-Ren	C12002****	50	6L	1	1	1	1	5
4	王錦盟	Wang Chin-Meng	N12146****	54	59	3	5	1	4	2
5	粘碧珠	Nien Pi-Chu	N22147****	63	59	3	2	0	2	4
6	張雁智	Chang Yen-Ch	N22219****	63	59	3	2	0	3	4
7	胡見龍	Hu Chien-Lung	P12059****	45	59	3	2	1	3	4
8	劉振發	Liou Jenn-fa	J12089****	53	59	3	5	1	2	4
9	曲鳳翔	Chu Feng-Hsiang	A12000****	61	59	3	6	1	4	4
10	康定傑	Kang Ting-Chieh	R12213****	63	59	3	6	1	2	4





附表二

本研究計畫主持人及共同主持人本年度及以往三年之研究計畫名稱

計畫主持人： 陳裕信			備 註			
年度	計畫名稱	委託機關	主持	非主持	申請中	核定
98	種畜禽研究團隊-豬精液冷凍效率之提升	農委會畜產試驗所	√		√	
97	轉基因複製山羊乳中人類第八凝血因子之分離與生物活性分析	農委會畜產試驗所	√			√
96	未提計畫					
95	未提計畫					

共同主持人： 王錦盟			備 註			
年度	計畫名稱	委託機關	主持	非主持	申請中	核定
98	種畜禽研究團隊-豬精液冷凍效率之提升	農委會畜產試驗所		√	√	
97	白羅曼鵝粒線體DNA變異與精子活力之關係	農委會畜產試驗所	√			√
96	白羅曼鵝粒線體DNA變異與精子活力之關係	農委會畜產試驗所	√			√
95	補充光照提升低產蛋種母鵝產蛋分析	農委會畜產試驗所	√			√





附表八

計畫摘要

計畫名稱：種畜禽研究團隊-豬精液冷凍效率之提升

計畫編號：98農科-2.1.1-畜-L1

審議編號：9821010106-03020101L1

主管機關：行政院農業委員會畜產試驗所

執行單位：行政院農業委員會畜產試驗所

計畫主持人：陳裕信

聯絡人：陳裕信

聯絡電話：06-5911884

傳真號碼：06-5912581

期程：98年1月1日至99年12月31日

經費：(全程) 5,000 仟元

98(年度)：2,500 仟元

人力預估：(全程) 4.32 人年

98(年度)：2.16 人年

執行內容(中文摘要)：

人工授精是將優良公畜遺傳能力的重要生物技術，而精液冷凍的目的是提供人工授精所需精子保存的一種重要環境。冷凍保存之後精子的受精能力是動物懷孕的重要因素，冷凍暨解凍後精子的品質有密切關係。冷凍與解凍過程中，精子細胞內部結構可能發生改變，導致豬精液冷凍保存的效果不甚理想。冷凍暨解凍後，精子活力、細胞膜的完整性、頭帽完整率以及發育能力遠不及新鮮精液，利用冷凍精液進行人工授精，對於母豬有較低懷孕率及較少產仔數等，導致公豬冷凍精液應用於養豬產業上之困難度。

英文摘要：

Artificial insemination(AI) is an important tool for distribution of the genetic potential of males. The aim of sperm freezing is the production of a bank of sperm cells to be used for it. The ability of fertilizing after cryopreservation is an important factor of high-pregnancy rates in mammalian after insemination, and it being associated with the quality of sperm after freeze-thaw process. However, various biochemical and anatomical compartments in the spermatozoa cells may be altered during cumbersome freeze-thaw process, and the current methods for cryopreservation of boar spermatozoa are unsatisfactory. They have poorer motility, plasma membrane integrity, acrosome integrity and in vitro fertilization capability than fresh sperm. The resulting of low fecundity rates and low litter size have made frozen boar semen impractical for the commercial swine producer.

