

# 種公豬精液品質之評估

畜試所遺傳育種組

郭廷雍助理研究員

## 大綱

- 前言
- 目的
- 種公豬精液品質不佳的原因
- 精液品質不佳公豬對產業利潤的衝擊
- 精液品質的評估方法學
- 流式細胞儀在家畜精子品質分析的應用
- 結論

## 前言

- 估算人工授精用公豬平均貢獻5100頭小豬/年，種公豬精液品質的優劣至關重要。
- 產業對更精準的精子品質評估方法的強烈需求。

semen doses/ boar/year	mean fertility	Dose/ inseminated sow	Litters/ year	piglets / litter	piglets obtained / boar/ year
1,800	85%	3	510	10	5,100

## 目的

- 研發評估豬精液品質之新穎應用科技，應用於種豬精液供應體系，提升種公豬之產精效率及其遺傳擴散度於人工授精體系。



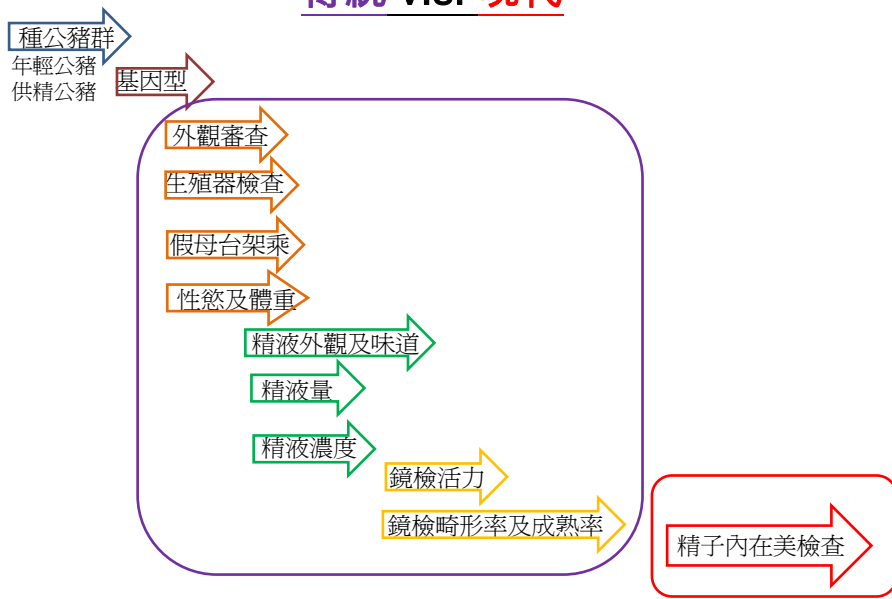
## 種公豬精液品質不佳的原因

- Infection
- Leucospermia
- Sperm cytoplasmic droplets
- Febrile illness
- Elevated testicular temperature
- Diet
- Drug use
- Exposure to environmental and occupational pollutants
- Advanced age
- Varicocele
- Hormone factors
- Infrequent ejaculation
- Genetic background

## 豬精液的特質

- 家畜中屬精液量最多的物種
- 具有代償性與不具代償性的特質

## 種公豬產精性能的檢查- 傳統 v.s. 現代



# 豬精液品質的評估方法學

## A. 一般分析

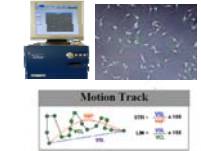
- 品種 (breed)
- 出生月份 (MD)
- 採精月份 (ME)
- 採精日齡 (DE)
- 駕乘意願 W
- 駕上假母台(秒) DS
- 陰莖外觀 PA
- 鞭長(公分) PL
- 精液量(毫升) MSC
- 精液顏色 SC
- 精子活力(90+++強) SM
- 精子數等級(+++濃厚) SG
- 精子濃度(億/毫升) SBML
- 總精子數(億) TSN
- 後肢強度 FS
- 型態不正常率



## B. 基因型分析

- 緊迫基因型 AGENE
- 多產基因型 MGENE
- 肉質基因型 HGENE
- 增肌基因型 FGENE
- 增長基因型 QGENE
- 產精基因型 PGENE

## D. 精子泳動力分析



精子細胞泳動力分析儀

## C. 品質分析

## 螢光染色分析

- ◆ 活率%
- ◆ 頭帽完整率%
- ◆ 粒腺體完整率%
- ◆ 高鈣精子%
- ◆ 平均鈣離子濃度
- ◆ 染色體完整性%
- ◆ 氧化傷害%
- ◆ 細菌污染

EASYCYTE PLUS

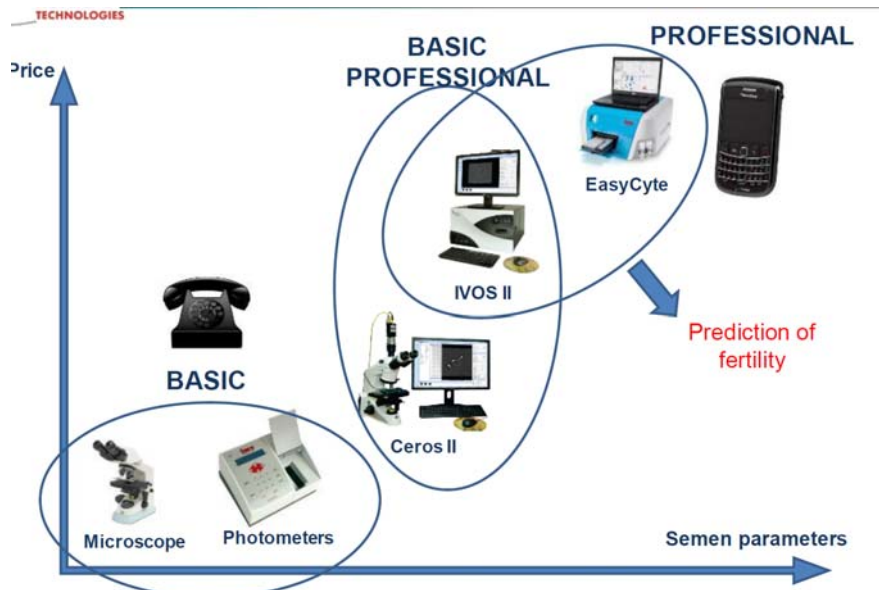


Compact EasyCyte R&D bench top  
Plug in / Tubes and wells  
IMV Cytosoft  
IMV EasySoft  
Side scatter (open)ad

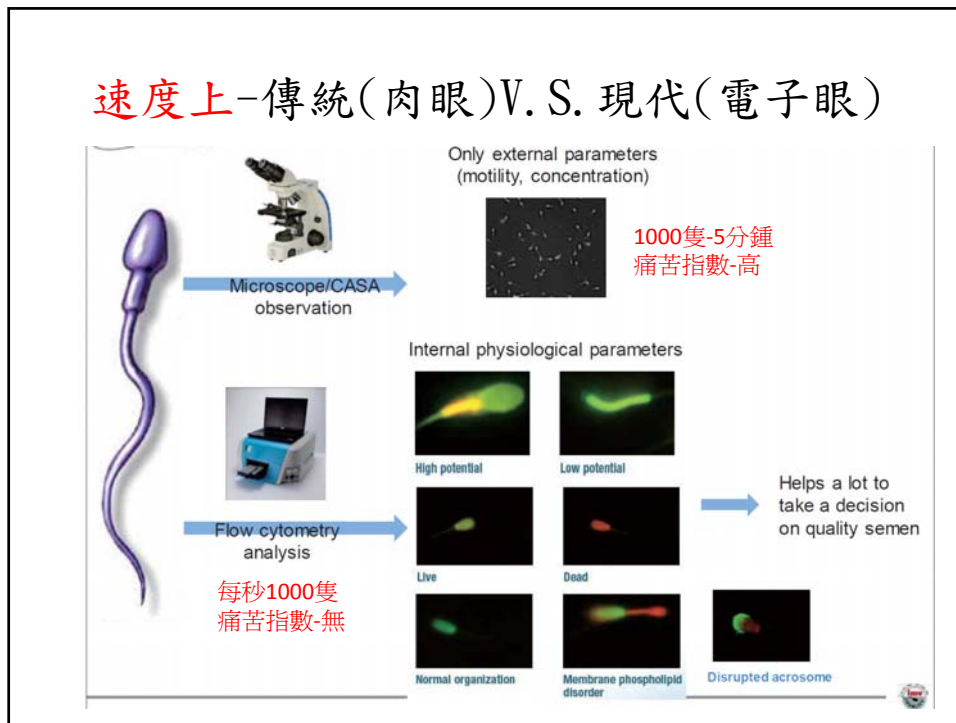
精子體能分析儀

圖、種公豬產精紀錄與精液分析項目

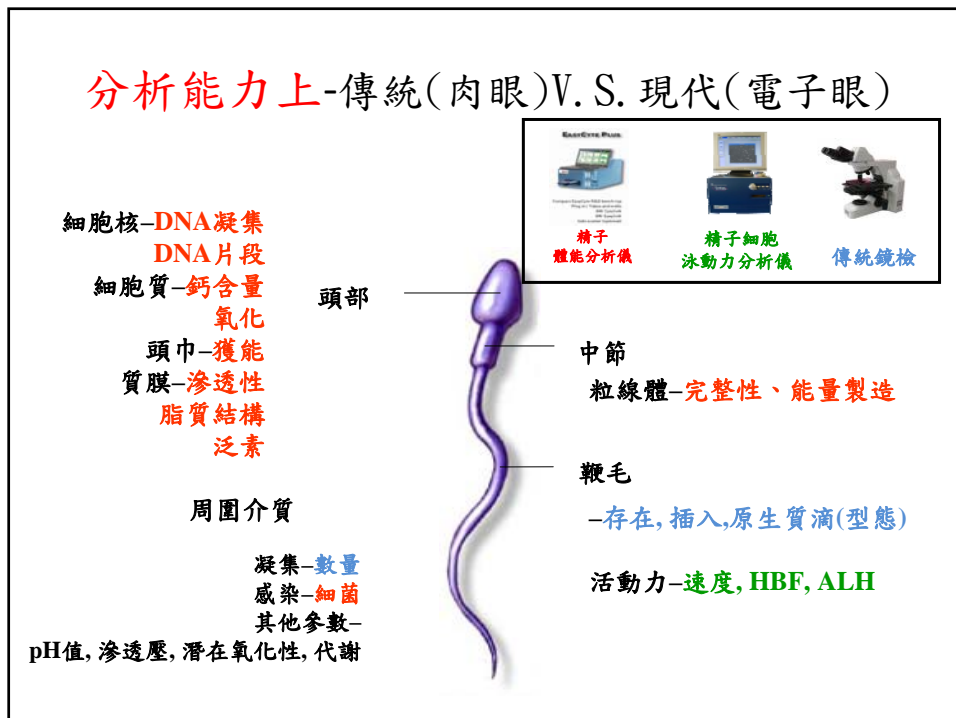
# 流式細胞儀的分析能力



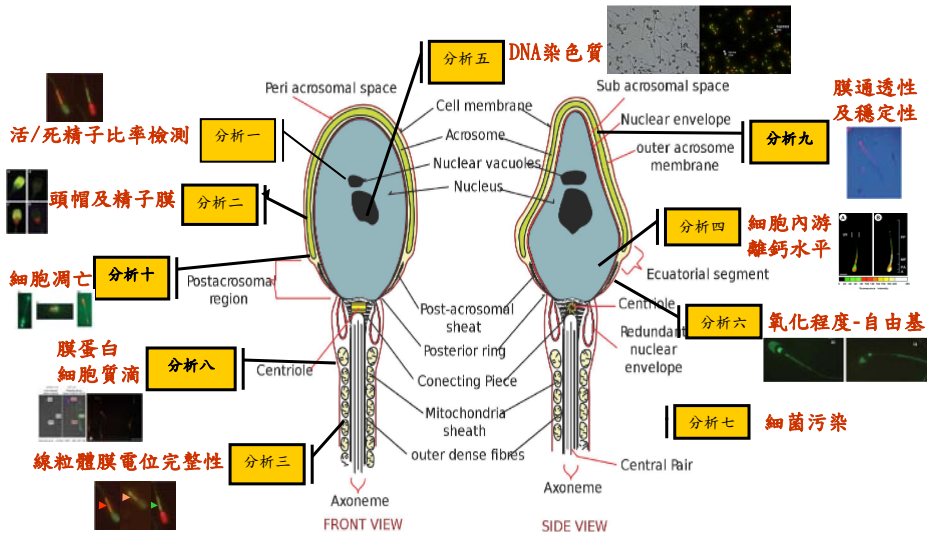
## 速度上-傳統(肉眼)V.S. 現代(電子眼)



## 分析能力上-傳統(肉眼)V.S. 現代(電子眼)



## 流式細胞儀精子品質檢測項目(二)

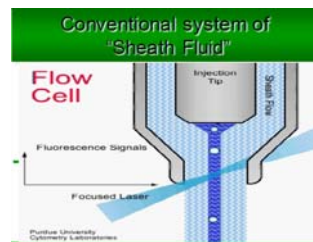


圖、種畜禽精子體能檢測九項結構及功能性品質及精液性狀檢測

## 流式細胞儀偵測與計算原理 Analyze by Flow Cytometry



Easycyte 5HT: semen



- One machine (the flow cytometer)
- One computer (laptop with the machine)
- One software for data analysis and interpretation

精子流式細胞儀為是計算並檢測顯微粒子的技術，例如細胞被懸浮在流動液體中，經過電子檢測儀器而被檢測。它可以在每秒內同時對上千個粒子進行物理和(或)化學的多參數分析。

## 傳統 v. s. 現代判定方法

- 傳統鏡檢(70%活動力與70%正常形態率)能篩除低生育力公豬，並配合現代的流式細胞儀(精子內在品質8項指標)可選留中高生育力公豬，甚至可應用於產精性能佳之種公豬選育。
- 傳統與現代方法應相互配合並將數據結果進行交叉比對分析，有效判別供精公豬之精液品質。

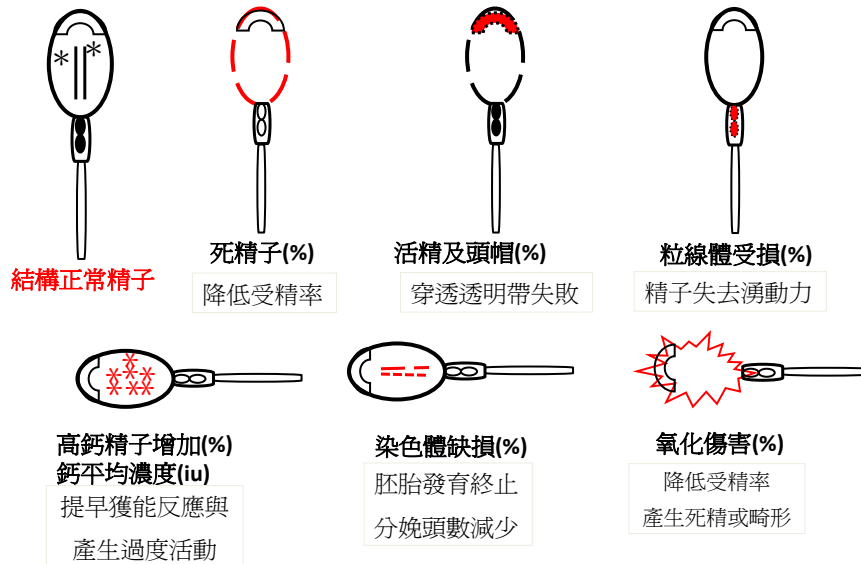


精子內在美檢查

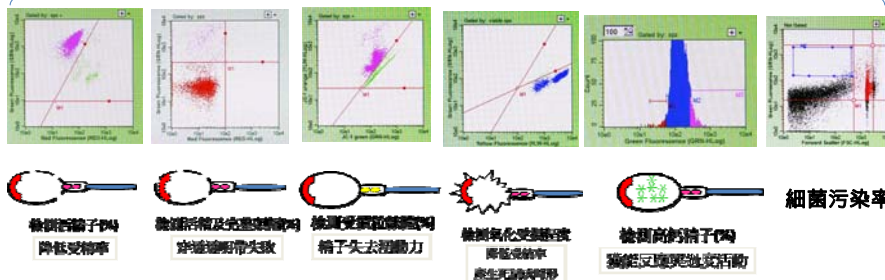
條件:速度快慢與分析能力的高低



## 流式細胞儀透視精子哪些內在美與其影響



## 應用於本所精子品質分析方法 Other Sperm Quality Indicator assays in LRI

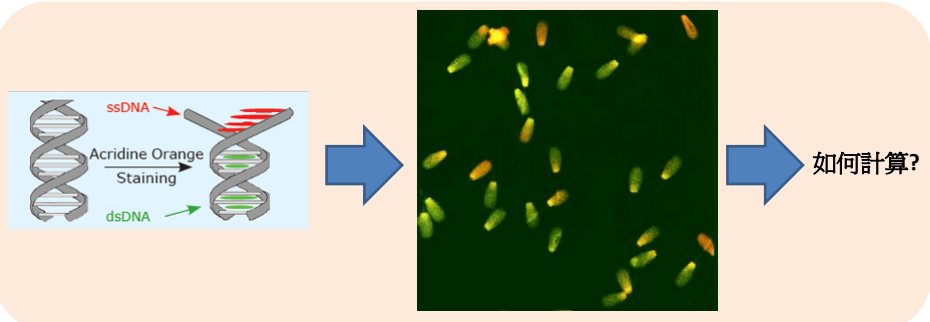


# 精子染色體結構分析法

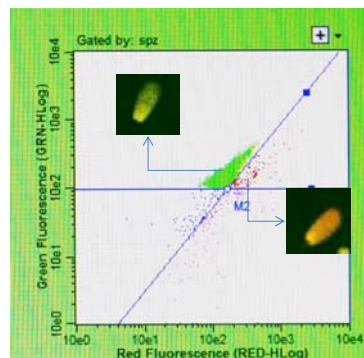
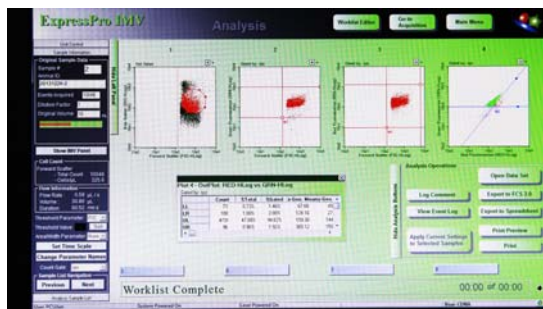
分析目的: 評估DNA被吖啶橙酸 (AO) 攻擊後其DNA凝集緻密之狀態 (degree of compaction of the DNA)。

分析原理: Acridine orange (AO) 與單股DNA結合產生紅螢光，而雙股DNA結合產生綠螢光。綠色-表示大多為完整的雙股DNA，或DNA較為緊實及緻密。紅色-表示大多為受損後的單股DNA，或DNA呈較不緊實及緻密狀態。

結果報告: 樣品內的精子其DNA染色質結構為完整者所佔的百分比



## 流式細胞儀對染色體DNA染色後精子的分析



影片播放

### 流式細胞儀分析後顯示之DNA受損程度與判讀 SCSA Method for Boar sperm DFI Assay in LRI

Status	A	B	C	D	E
Flow Cyto SCSA (Dot Plot)					
Result	<pre> Plot 4: DFI:DFI: FSC-H vs GFP-FL1 Gated: 40 Count: 8725 9261 SS: 2 0.02% 0.02% SL: 20 0.23% 0.24% SI: 490 5.53% 58.83% SIH: 19 0.22% 0.23% </pre>	<pre> Plot 4: DFI:DFI: FSC-H vs GFP-FL1 Gated: 40 Count: 9 0.01% 0.01% SS: 1 0.01% 0.01% SL: 8 0.09% 0.09% SI: 403 4.58% 54.81% SIH: 11 0.12% 0.15% </pre>	<pre> Plot 4: DFI:DFI: FSC-H vs GFP-FL1 Gated: 40 Count: 2 0.02% 0.02% SS: 10 0.11% 0.14% SI: 189 2.15% 28.37% SIH: 217 2.46% 33.17% </pre>	<pre> Plot 4: DFI:DFI: FSC-H vs GFP-FL1 Gated: 40 Count: 2 0.02% 0.02% SS: 9 0.10% 0.13% SI: 260 2.96% 40.35% SIH: 471 5.36% 72.49% </pre>	<pre> Plot 4: DFI:DFI: FSC-H vs GFP-FL1 Gated: 40 Count: 16 0.18% 0.24% SS: 48 0.54% 0.74% SI: 462 5.25% 71.46% SIH: 217 2.46% 33.17% </pre>
DFI%	0-1%	>1-5%	>5-10%	10-20%	>20%
Quality	Very Good	Good	Acceptable	Not Good	Bad

Fig. Examples of data generated by flow cyto with boar semen.

DFI: Sperm DNA Fragmentation Index

Simon Kuo, 2013  
Unpublished Data

### 流式細胞儀法在本所家畜精子品質的工作流程



2013年種豬產業協會採精公豬群  
精子染色體缺損分布  
Frequency distribution of DFI in boars

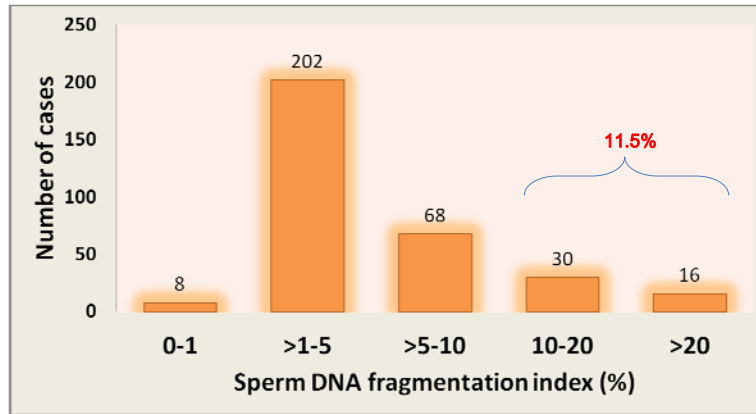


Fig. Frequency distribution of data of sperm DNA fragmentation index in a sample of 398 boar ejaculates in 2013  
(種豬產業協會採精公豬群n=324)

Simon Kuo, 2013  
Unpublished Data

精力型種豬應選留參數為  
V75-A40-M30-C500-CH90-SC95-OX90-B0之年輕公豬  
Selection Index of DNA quality for top pig



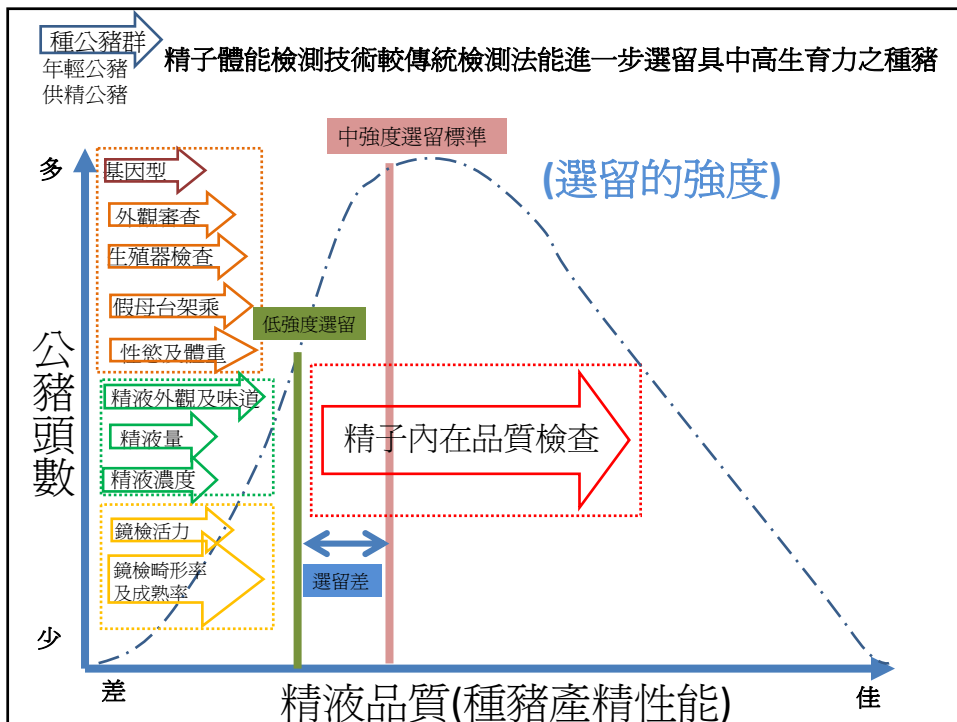
## 種豬精力獎頒獎 Award of Pig Farm with Best Semen Quality



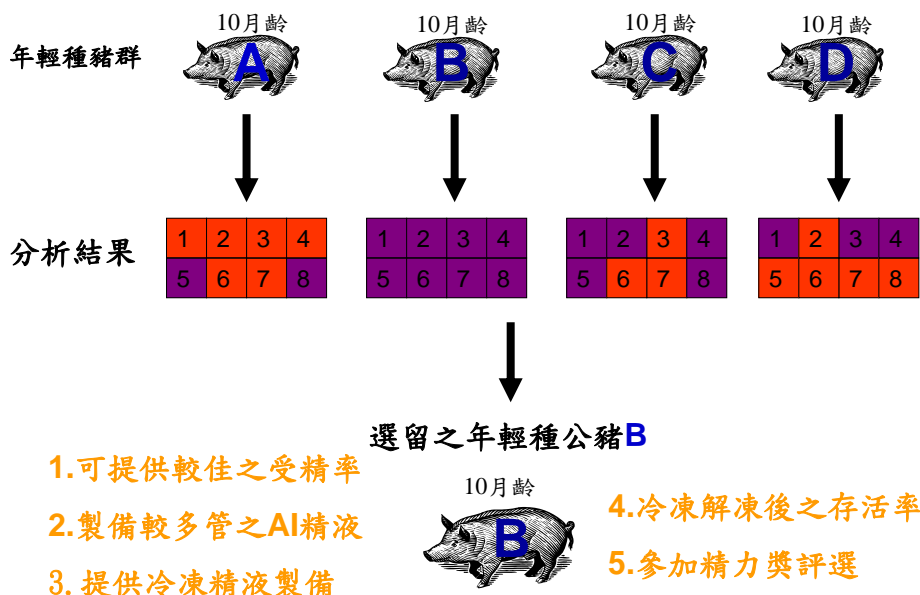
2011 年獲獎種豬場



2012 獲獎種豬場



## 參考8項參數值結果進行選留



## 自留種豬體能檢測參數及其對生育力之影響

表13、自留種豬精子體能檢測

品種	活率% Viable %	頭帽完整率 Acrosome %	受損粒線體 Depolarized mitocho %	鈣平均濃度 Calcium mean	高鈣精子% Calcium Assay %	染色體受損 CDNA %	氧化傷害 Oxidation %
L	82.14	31.06	23.72	402.04	52.2	94.52	0.12
D1	94.91	9.08	46.4	403.49	41.51	83.74	4.61
D2	86.15	36.36	30.16	429.33	58.79	96.04	0.6

表14、自留種豬繁殖力檢測

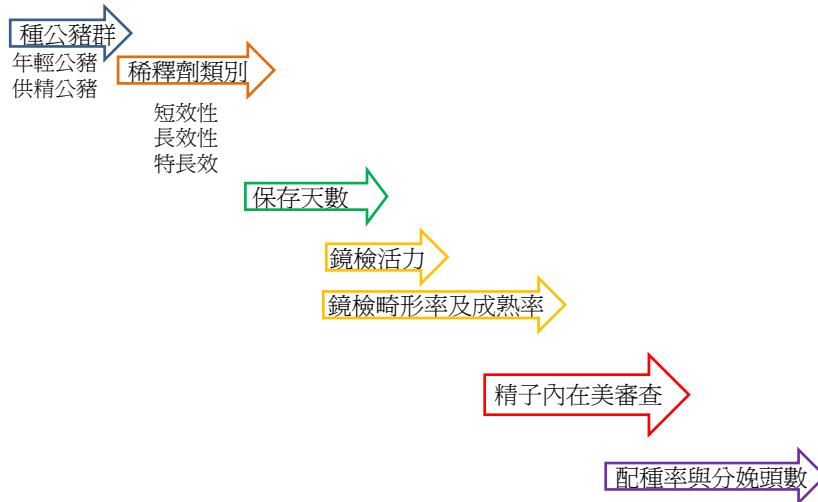
品種	配種胎數	分娩胎數	分娩比例	平均分娩總數	母豬胎數		公:母
					配上	未配上	
L	45	38	84%	13.5	-	-	52:48
D1	5	4	80%	9	1,1,1,4	7	50:50
D2	4	2	50%	10.5	1,6	1,8	57:43

結果顯示，配種公豬其體能參數如頭帽完整差、粒線體差及染色體完整性差者其母豬平均分娩頭數下降，另外游離鈣離子濃度高者其母豬分娩比率則下降。

26

資料來源:配合之民間豬場 2013

# 精液稀釋劑保存能力的檢查項目



## 稀釋液對豬精液冷藏前後DNA完整性之保存能力 Ability of DNA protection and selection of Extender

表1、不同稀釋液對畜試原精液冷藏前後之體能變化

保存能力差異	A	B	C	D	E	F	G	無添加
活率差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	5.5	7.8	8.5	8.4	7.3	7.5	7.5	17.9
頭帽完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	6.5	5.8	6.7	15.4	7.5	8.4	8.2	18.6
粒線體完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	6.6	9.6	9.9	16.2	12.3	13.3	8.0	26.3
染色體完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	3.2	5.0	4.2	5.7	4.3	6.1	6.9	13.7
高鈣差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	7.0	11.3	14.0	19.4	20.6	21.7	10.5	33.9
鈣濃度平均值差(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	19.5	-4.1	-23.8	8.8	-88.9	-48.4	-54.0	-35.9
細菌污染(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	0.14	0.22	0.17	0.25	0.23	0.15	0.12	56.87

表2、不同稀釋液對台灣紅豬精液之冷藏前後之體能變化(A-G)

保存能力差異	A	B	C	D	E	F	G	無添加
活率差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	22.4	30.1	33.3	31.0	39.7	33.7	36.5	44.4
頭帽完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	8.4	23.2	18.5	19.6	16.6	11.0	12.5	32.0
粒線體完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	14.8	22.6	24.7	21.0	34.0	25.9	26.7	38.7
染色體完整差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	2.3	3.4	4.4	2.6	4.3	2.9	5.5	10.7
高鈣差%(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	-11.6	-14.8	-11.6	-7.7	-12.5	-2.8	-4.0	3.8
鈣濃度平均值差(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	57.7	58.7	51.1	47.7	77.6	71.7	68.0	130.1
細菌污染(D <sub>0</sub> -D <sub>4</sub> )	-0.12	0.11	0.11	0.06	0.14	0.16	0.16	0.83

Simon Kuo, 2013  
Unpublished Data

# 以最佳精液濃度配種試驗

供精公豬: 畜試黑豬  
 人工授精總精子數: 50億/劑  
 精液品質分析: 活率95% 完整頭帽率68% 完整粒腺體率 85%  
 最佳精液濃度設定值: 完整良好的總精子數需大於30億隻

人工授精之最佳劑量精液分析表(2013081)	
I. 試豬之基本資料	
1. 試豬耳號: 201308-13	
2. 試驗日期: 2013-08-13	
3. 試驗地點: 畜試黑豬	
4. 試驗人員: 201308-13	
II. 試驗結果: 精液品質分析表	
1. 試豬耳號: 201308-13	試驗日期: 2013-08-13
2. 試驗地點: 畜試黑豬	試驗人員: 201308-13
III. 試驗結果: 精液品質分析表	
1. 精液量 (mL): 2.5	2. 精子數 (x10 <sup>6</sup> ): 50
3. 活率 (%): 95	4. 完整頭帽率 (%): 68
5. 完整粒腺體率 (%): 85	6. 總精子數 (x10 <sup>6</sup> ): 47.5
IV. 試驗結果: 精液品質分析表	
1. 試驗日期: 2013-08-13	試驗人員: 201308-13
2. 試驗地點: 畜試黑豬	試驗地點: 畜試黑豬
V. 試驗結果: 精液品質分析表	
1. 試驗日期: 2013-08-13	試驗人員: 201308-13
2. 試驗地點: 畜試黑豬	試驗地點: 畜試黑豬

表12、人工授精最佳劑量精液分析表



圖六、本所二股豬舍



圖七、最佳精液濃度配種試驗之順利懷孕畜試母豬(耳號:552-06)(預計分娩日期103年1月15日)



# Thank You