

種鵝精液品質檢測技術

推廣場所：

行政院農業委員會畜產試驗所彰化種畜繁殖場

彰化縣北斗鎮拓農路80號

電話：(04)8884106

傳真：(04)8886183

聯絡人：賈玉祥場長、張仲彰助理研究員、林旻蓉助理研究員

一、操作的基本設備與用具

- (一) 顯微鏡 yellow-green 濾光片
- (二) 載玻片(Acid-and alcohol-washed) 75 mm×25 mm
- (三) 蓋玻片(Acid-and alcohol-washed) 37.5 mm×22 mm。
- (四) 定量分注器 (0.2 及 1.0 ml)
- (五) 玻片恆溫板
- (六) 紅外線滅菌器
- (七) 白金耳吊環
- (八) 精子型態計數器
- (九) 血球計數板
- (十) 恆溫水浴槽。

二、操作步驟

(一) 精液外觀

新鮮採集的鵝隻精液可由外觀初步判定鵝隻精子濃度，精液為均勻且不透明之乳白色外觀，此表示精子濃度甚高。若呈微透明狀則表示精子濃度較低。採集之新鮮精液應儘量避免遭羽毛、排泄物、飼料及血液等之污染並應僅速進行品質之檢測。

(二) 精液量

公鵝利用人工按摩法採集精液，以圓柱狀玻璃瓶收集精液。新鮮精液採集後，可利用注精器管壁上之刻度讀取精液量。鵝隻每次平均精液量為 0.2 mL 左右。惟不同個體或同一個體不同次採精時間點亦有所差異。

(三) 精子濃度：血球計數板法

將原精液以 3% NaCl 稀釋 200 倍，溫和攪拌 2 分鐘，使混合均勻，吸取稀釋 200 倍之精液流入蓋玻片和血球計數板間之空間而充滿計數室，於水氣飽和的密閉盒中靜置 10~15 分鐘以上，以 200×-400× 顯微鏡鏡檢，計算計數板上方格區

(每方格有16個小格)的精子數，方格內精子數小於10，計算全部方格；方格內精子數介於10~40 間，計算10個方格；方格內精子數大於40，則計算4個角落及中央共5個方格區的精子數，5個方格區內的精子數乘以 10^7 即每mL精液所含精子數。

(四) 精子泳動性評分

具凹槽之載玻片置於 37.5°C 的恆溫板上預熱，原精液溫和搖動使其混合均勻，以玻棒沾取新鮮精液一小滴於蓋玻片上，沾有精液之蓋玻片面朝下，反蓋於載玻片之凹槽上，以低倍(10×10)鏡檢精液波動情形。評分依0~5 分計，評分標準如下表。

評分等級	泳動波情形
5	快速的泳動波，有漩渦
4	快速的泳動波，但沒有漩渦
3	普通的泳動波，波幅很低
2	非常緩慢的泳動波
1	僅局部有波動
0	完全靜止

(五) 精子活力

依 Allen and Champion (1955) 方法以乾淨經消毒之載玻片，使用消毒後之白金耳吊環，取一滴混合完全之精液放置玻片上，立即以顯微鏡 100 X 觀察及評估精子活力(motility)，將精子活力分為 1 至 5 級數。

(六) 精子存活比率

原精液以 eosin-nigrosin 活體染劑進行染色，製成抹片2片，快速風乾並存放於乾燥皿中待測，以避免受潮，於顯微鏡下以400 倍觀察，每一抹片計算500 隻精子，精子頭部染成紅色者即代表死精子。本法依據具完整細胞膜的精子無法被 eosin-Y 染色，僅細胞膜有損傷的精子可被染色之原理，因此，精子被染色後呈現紅色者即代表死精子，而 nigrosin 則用來當作染色的背景，提高未被染色，而呈現白色的活精子之辨識度。

(七) 畸形精子分析

依 Carbol-Fuchsin 染色法，首先將精液塗抹於玻片後在空氣中風乾，用甲醇固定 3 分鐘後水洗，並以 Carbol-fuchsin stain solution 染色 5 分鐘後水洗，靜置乾燥後鏡檢 (1,000 X)，逢機選取玻片上經染色後之精子 300 隻，依精子形態學區分為正常形態、頭部異常、中段異常、尾部異常及其他異常等五類。Carbol-fuchsin stain solution 之配方為 phenol crystals (melted) 2.5 mL、alcohol (100%) 5.0 mL、basic fuchsin 0.5 g 及去離子水 50.0 g。

三、記錄表格

種鵝新鮮精液性狀紀錄表

品種	籠號	採精日期	精液外觀	精液量 (ml)	精子濃度 (/ml)	精子活力 (1-5)	精子存活 率 (%)	精子型態	備註

五、已研習本技術的畜牧場名冊(包括精液進口公司)

種鵝精液品質檢測技術可應用於種鵝之個體選拔育種與人工授精技術，然民間種鵝場目前尚無應用個體選拔育種與人工授精技術，故對種鵝精液品質檢測技術尚未有需求。