

植物多糖对史氏鲟精子超低温冷冻保存的影响

于麦茹¹, 别世凯¹, 刘曼红^{1*}, 白雅溶²

¹东北林业大学野生动物与自然保护地学院, 黑龙江 哈尔滨

²黑龙江省林业技术服务中心, 黑龙江 哈尔滨

收稿日期: 2026年3月23日; 录用日期: 2026年5月14日; 发布日期: 2026年5月22日

摘要

为优化史氏鲟精子超低温冻存方案, 缓解冻存过程中的氧化损伤, 本研究以史氏鲟精子为研究对象, 在冻存稀释液中添加不同浓度黄芪多糖(0.1~0.5 g/L)和人参多糖(0.1~0.5 g/L), 检测冻存7 d、30 d后精子活力、能量代谢指标(ATP含量、SDH活性、LDH活性)及抗氧化指标(MDA含量、T-AOC水平、SOD活性), 探究两种植物多糖的保护效果及最优浓度。结果表明, 超低温冻存后, 对照组精子活力显著下降($P < 0.05$), 能量代谢紊乱, 氧化损伤加剧; 两种植物多糖均能呈浓度依赖性缓解上述损伤, 其中黄芪多糖最优保护浓度为0.3 g/L, 人参多糖最优保护浓度为0.2 g/L, 且相同浓度下人参多糖保护效果显著优于黄芪多糖。最优浓度组可显著提升冻存精子活力, 改善能量代谢, 抑制脂质过氧化反应, 增强抗氧化能力, 延缓冻存损伤累积。本研究为史氏鲟精子超低温冻存液优化及珍稀鲟类种质资源保护提供理论支撑与实践参考。

关键词

史氏鲟, 精子, 超低温冷冻, 黄芪多糖, 人参多糖, 氧化损伤

The Effect of Plant Polysaccharides on Cryopreservation of *Acipenser schrenckii* Sperm

Mairu Yu¹, Shikai Bie¹, Manhong Liu^{1*}, Yarong Bai²

¹College of Wildlife and Protected Area, Northeast Forestry University, Harbin Heilongjiang

²Heilongjiang Provincial Forestry Technology Service Center, Harbin Heilongjiang

Received: March 23, 2026; accepted: May 14, 2026; published: May 22, 2026

*通讯作者。

文章引用: 于麦茹, 别世凯, 刘曼红, 白雅溶. 植物多糖对史氏鲟精子超低温冷冻保存的影响[J]. 世界生态学, 2026, 15(2): 318-331. DOI: 10.12677/ije.2026.152035

Abstract

To optimize the ultra-low temperature cryopreservation protocol for *Acipenser schrenckii* sperm and alleviate oxidative damage during cryopreservation, this study took *Acipenser schrenckii* sperm as the research object. Different concentrations of Astragalus polysaccharides (APS, 0.1~0.5 g/L) and ginseng polysaccharides (GPS, 0.1~0.5 g/L) were added to the cryopreservation diluent. The sperm motility, energy metabolism indicators (ATP content, SDH activity, LDH activity) and antioxidant indicators (MDA content, T-AOC level, SOD activity) were detected after cryopreservation for 7 d and 30 d to explore the protective effects and optimal concentrations of the two plant polysaccharides. The results showed that after ultra-low temperature cryopreservation, the sperm motility of the control group decreased significantly ($P < 0.05$), energy metabolism was disturbed, and oxidative damage was aggravated. Both plant polysaccharides could alleviate the above damages in a concentration-dependent manner. The optimal protective concentration of APS was 0.3 g/L, and that of GPS was 0.2 g/L. Moreover, the protective effect of GPS was significantly better than that of APS at the same concentration. The optimal concentration groups could significantly improve the motility of cryopreserved sperm, ameliorate energy metabolism, inhibit lipid peroxidation, enhance antioxidant capacity, and delay the accumulation of cryopreservation damage. This study provides theoretical support and practical reference for optimizing the ultra-low temperature cryopreservation diluent of *Acipenser schrenckii* sperm and protecting the germplasm resources of rare sturgeon species.

Keywords

Acipenser schrenckii, Sperm, Cryopreservation, Astragalus Polysaccharide, Ginseng Polysaccharide, Antioxidation

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

史氏鲟(*Acipenser schrenckii*)作为珍稀濒危冷水性鱼类,隶属于鲟科鲟属,不仅在鱼类系统演化研究中具有不可替代的科研价值,同时也是极具经济潜力的养殖品种[1]。受过度捕捞、栖息地碎片化及水文环境变化等多重因素影响,其天然种群数量锐减,人工繁育与种质资源长期保存成为物种保护的核心举措。精子超低温冷冻保存技术具有低成本、长时效保存遗传物质的优势,可突破史氏鲟繁殖季节的时空限制,实现优良亲鱼基因的传递,为种质资源库构建提供关键技术支撑[2]。然而,超低温冷冻-解冻过程中极易引发精子损伤:冰晶形成导致细胞膜机械性破裂、渗透压剧烈波动破坏胞内稳态、线粒体功能紊乱引发能量供应不足,尤为突出的是活性氧(ROS)大量累积引发的氧化应激反应,可导致DNA碎片化、蛋白质氧化修饰等系列损伤,显著降低冻后精子活力与受精能力[3]-[5]。因此,筛选兼具安全性与高效性的抗冻保护剂,阐明其保护机制,成为提升史氏鲟精子冷冻保存质量的核心需求。

多糖类物质是一类由多个单糖分子通过糖苷键连接形成的天然大分子化合物,广泛存在于植物、动物及微生物体内[6],具有良好的生物相容性、水溶性及低毒性,在生物材料冻存中展现出优异的保护性能,逐渐成为传统化学冷冻保护剂的重要补充或替代材料。人参多糖(*Ginseng Polysaccharides*, GPS)与黄芪多糖(*Astragalus Polysaccharides*, APS)是两种重要的植物源多糖,分别从五加科植物人参(*Panax ginseng*)和豆科植物黄芪(*Astragalus membranaceus*)的根中提取纯化得到,二者因丰富的生物活性,在医药、食品

及畜牧领域的研究与应用已较为成熟[7]-[9]。尽管两种多糖的生物活性研究已较为深入,但将其应用于鱼类精子超低温冻存的研究仍处于起步阶段,其在低温环境下对鱼类精子的保护作用、适宜浓度及作用机制尚未明确,存在较大的研究空间。

基于此,本研究以史氏鲟精子为研究对象,聚焦冷冻过程中的氧化应激损伤核心问题,在冷冻稀释液中添加不同浓度的黄芪多糖及人参多糖,通过检测冻后精子活力、寿命等核心功能指标,结合 ATP 含量等能量代谢指标及超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量等氧化应激相关指标,系统探究两种植物多糖的保护效果并筛选最优添加浓度。本研究旨在明确植物多糖缓解史氏鲟精子冷冻损伤的作用效能及潜在机制,为优化史氏鲟精子超低温冷冻保存方案、完善珍稀鲟类种质资源保护技术体系提供理论支撑与实践参考。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

试验所用精子样本取自人工养殖的 7 龄雄性史氏鲟,由抚远东龙鲟业有限公司提供。于 2025 年 5 月经人工催产后采集精子,立即送往实验室置于 4℃待检;用移液器蘸取少量精液置于载玻片,用养殖用水激活后迅速在显微镜下观察,选取活力大于 90%的精子进行后续试验。

2.2. 试验步骤

2.2.1. 稀释液的配制

基础稀释液的配制:以养殖用水为溶剂,精确溶解氯化钠、氯化钾、氯化钙等无机盐成分,调节溶液渗透压至与史氏鲟精浆渗透压一致,并将 pH 值稳定在 7.2~7.4,经 0.22 μm 微孔滤膜过滤除菌后,4℃密封保存备用。

多糖梯度稀释液的配制:取一定量的黄芪多糖粉末(北京索莱宝科技有限公司,纯度 ≥ 90%)及人参多糖粉末(四川省维克奇生物科技有限公司,纯度 ≥ 90%),用预冷的基础稀释液充分溶解,分别配置成浓度为 0.1 g/L、0.2 g/L、0.3 g/L、0.4 g/L、0.5 g/L 的梯度稀释液,每个浓度设置 3 个平行样本。

配制完成后,在稀释液中加入总体积 10%的甲醇作为抗冻剂,将所有稀释液置于 4℃平衡 2 h,以确保多糖分子完全溶解且体系稳定,避免因浓度不均对后续实验造成干扰。

2.2.2. 鲜精的处理

用灭菌吸管蘸取微量鲜精滴于载玻片上,加入等体积的养殖用水激活精子,迅速置于显微镜下观察。记录精子活力(运动的精子百分比)、快速运动时间(从激活到快速运动比例低于 50%的时长)及寿命(从激活到无运动精子的时长),仅选取精子活力 > 90%的精液用于后续实验,以保证初始精液质量的一致性。选取精子活力 > 90%的鲜精于 4℃、3000 r·min⁻¹离心 15 min 后,吸取上清精浆,置于 4℃待检;将沉淀用生理盐水洗涤 2 次,加入与精浆等体积的生理盐水,投入液氮 2 min 后取出,待室温融化后于 4℃、3000 r·min⁻¹离心 15 min,吸取上清用于精子的酶活检测。

2.2.3. 精液的冷冻与解冻

将活力 > 90%的鲜精与各浓度黄芪多糖稀释液按体积比 1:2 的比例缓慢混合,轻轻吹打使精液与稀释液充分混匀,避免产生气泡。将混合后的精液分装至 2 mL 冻存管中,每管分装 1.5 mL,标记对应的多糖浓度及平行样本编号。随后将冻存管置于 4℃冰箱中平衡 2 h,使精子细胞逐步适应稀释液的渗透压及多糖分子的作用,减少应激损伤。将平衡后的精液采用“三步法”[8]投入液氮中保存。解冻时将冻存管于液氮中取出后迅速置于 37℃水浴,待精液解冻后用养殖用水激活,置于显微镜下观察精子的活力、运动时间、寿命及酶活测定,测定方法同鲜精。

2.3. 相关指标的测定

本试验 ATP 含量、乳酸脱氢酶(LDH)活性、琥珀酸脱氢酶(SDH)活性、丙二醛(MDA)含量、总抗氧化能力(T-AOC)水平及超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定均采用比色法,使用合肥莱尔生物科技有限公司的相关试剂盒,并严格按照试剂盒说明书进行测定,每个浓度样品测定三个重复样本,结果取平均值。

2.4. 数据处理

数据以平均值 \pm 标准误差的形式呈现,采用 IBM SPSS Statistics 27 进行单因素方差分析和 Turkey 多重比较分析,检验各组样品之间差异是否显著。 $P < 0.05$ 表示差异显著。

3. 结果与分析

3.1. 超低温冻存前后精子活力的变化

鱼类精液经冷冻保存后,其活力都有一定程度的降低[10],本实验测定了鲜精及经不同浓度黄芪多糖处理后冻存 7 d、30 d 精子的活力、快速运动时间与寿命指标。结果显示,史氏鲟鲜精活力达 $(93.72 \pm 1.55)\%$,快速运动时间为 (99.51 ± 4.70) s,寿命为 (277.44 ± 16.23) s。经超低温冻存 7 d 和 30 d 后,无论是否添加多糖,精子活力、快速运动时间及寿命均显著下降($P < 0.05$)。不同浓度多糖处理组中,精子品质呈浓度依赖性差异(表 1),0.3 g/L 黄芪多糖组保护效果最优,而人参多糖浓度为 0.2 g/L 时保护效果最优,且相同浓度处理下人参多糖保护效果明显优于黄芪多糖:0.2 g/L 人参多糖处理下,冻存 7 d 时,活力较对照组提高 18.63%,冻存 30 d 时,活力较对照组提高 17.17%;0.3 g/L 黄芪多糖处理下,冻存 7 d 时活力较对照组提高 14.18%,冻存 30 d 时,活力较对照组提高 15.42%。当两种植物多糖浓度高于 0.3 g/L 时,保护效果均减弱。

Table 1. Effects of plant polysaccharides on sperm motility of *Acipenser schrenckii*

表 1. 植物多糖对史氏鲟精子活力的影响

	多糖浓度/g·L ⁻¹	超低温冻存 7 天			超低温冻存 30 天		
		活力/%	快速运动时间/s	寿命/s	活力/%	快速运动时间/s	寿命/s
对照组	0	60.21 \pm 2.14 ^d	77.29 \pm 1.79 ^d	191.57 \pm 3.90 ^c	51.10 \pm 2.40 ^b	69.09 \pm 2.35 ^d	172.54 \pm 3.32 ^b
黄芪多糖组	0.1	64.89 \pm 1.52 ^{bc}	78.97 \pm 2.05 ^c	193.43 \pm 3.37 ^{bc}	54.90 \pm 2.05 ^{ab}	76.91 \pm 3.39 ^{bc}	176.29 \pm 2.85 ^b
	0.2	69.02 \pm 0.71 ^{ab}	87.07 \pm 1.55 ^{ab}	225.86 \pm 4.07 ^a	57.02 \pm 2.42 ^{ab}	78.32 \pm 1.38 ^{bc}	184.68 \pm 3.32 ^{ab}
	0.3	74.39 \pm 2.25 ^a	92.41 \pm 1.35 ^a	207.89 \pm 4.28 ^{ab}	66.52 \pm 2.61 ^a	84.95 \pm 2.76 ^{ab}	191.73 \pm 5.84 ^a
	0.4	68.95 \pm 1.266 ^{ab}	85.28 \pm 2.41 ^b	204.38 \pm 3.73 ^{bc}	55.55 \pm 2.25 ^{ab}	76.37 \pm 1.54 ^{bc}	184.27 \pm 3.19 ^{ab}
	0.5	65.68 \pm 1.65 ^{cd}	82.09 \pm 1.32 ^{cd}	197.60 \pm 8.34 ^{bc}	52.50 \pm 2.83 ^b	73.00 \pm 2.02 ^{cd}	176.89 \pm 2.35 ^b
人参多糖组	0.1	73.27 \pm 4.07 ^{ab}	84.73 \pm 2.53 ^c	210.38 \pm 4.79 ^{ab}	59.19 \pm 2.62 ^{ab}	79.58 \pm 3.52 ^{bc}	178.69 \pm 4.30 ^b
	0.2	78.84 \pm 2.93 ^a	94.82 \pm 3.68 ^a	226.42 \pm 4.86 ^a	68.27 \pm 5.42 ^a	91.42 \pm 3.31 ^a	194.37 \pm 4.32 ^a
	0.3	76.87 \pm 2.47 ^{ab}	93.17 \pm 2.88 ^{ab}	214.75 \pm 6.45 ^a	67.13 \pm 2.53 ^a	90.67 \pm 2.04 ^a	192.96 \pm 3.93 ^a
	0.4	71.31 \pm 2.62 ^{bc}	86.60 \pm 3.10 ^{bc}	209.20 \pm 3.44 ^{ab}	58.72 \pm 3.56 ^{ab}	83.38 \pm 4.23 ^{ab}	187.71 \pm 2.90 ^{ab}
	0.5	65.83 \pm 3.48 ^{cd}	83.72 \pm 1.53 ^c	201.82 \pm 3.03 ^{bc}	56.47 \pm 3.21 ^{ab}	77.92 \pm 2.46 ^{bc}	178.40 \pm 2.04 ^b

Note: Means in the same column with the same superscript letter are not significantly different ($P > 0.05$); different letters denote significant difference ($P < 0.05$).

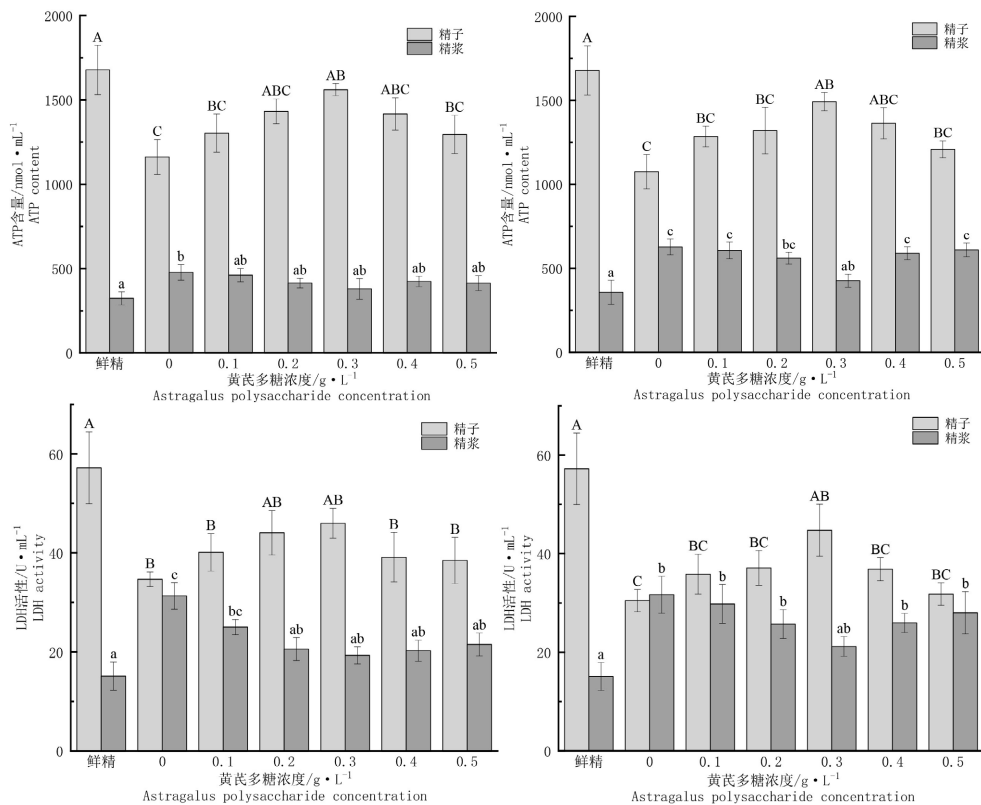
注: 同列中上标相同字母表示差异不显著($P > 0.05$), 不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

3.2. 超低温冻存前后能量代谢指标变

精子的运动能力与受精潜能高度依赖能量代谢稳态, 本研究通过检测 ATP 含量、SDH 活性及 LDH 活性, 明确了黄芪多糖对史氏鲟精子能量代谢的保护机制。

3.2.1. ATP 含量变化

鲜精中精子 ATP 含量为(1677.93 ± 146.42) nmol/mL, 精浆中为(324.26 ± 38.91) nmol/mL, 表明鲜精能量储备充足且膜完整性良好。超低温冻存后, ATP 含量的变化如图 1 所示, 对照组出现显著的能量代谢紊乱: 冻存 7 d 时精子 ATP 含量降至(1161.86 ± 103.00) nmol/mL, 较鲜精下降 30.77%, 精浆 ATP 含量升至(477.82 ± 46.78) nmol/mL, 较鲜精增加 47.36%; 冻存 30 d 时, 精子 ATP 含量进一步降至(1075.13 ± 102.30) nmol/mL, 精浆 ATP 含量升至(627.51 ± 47.01) nmol/mL, 提示细胞膜通透性增加导致胞内 ATP 大量外泄。而 0.3 g/L 黄芪多糖组与 0.2 g/L 人参多糖组可显著逆转这一趋势: 0.3 g/L 黄芪多糖处理组冻存 7 d 时精子 ATP 含量达(1561.20 ± 35.95) nmol/mL, 较对照组高 34.37%; 精浆 ATP 含量为(380.01 ± 61.27) nmol/mL, 显著低于对照组(P < 0.05), 冻存 30 d 时, 精子 ATP 含量仍保持(1492.29 ± 54.47) nmol/mL, 较对照组高 38.80%, 精浆 ATP 含量(426.49 ± 39.23) nmol/mL; 0.2 g/L 人参多糖处理组冻存 7 d 时精子 ATP 含量较对照组提高 38.1%, 精浆 ATP 含量较对照组降低 28.14%, 冻存 30 d 时精子 ATP 含量较对照组提高 46.81%, 精浆 ATP 含量较对照组降低 42.68%; 植物多糖的添加有效抑制了 ATP 的胞外泄漏, 表明植物多糖可通过保护细胞膜完整性与能量合成功能, 维持精子能量供应。



Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups (P < 0.05).

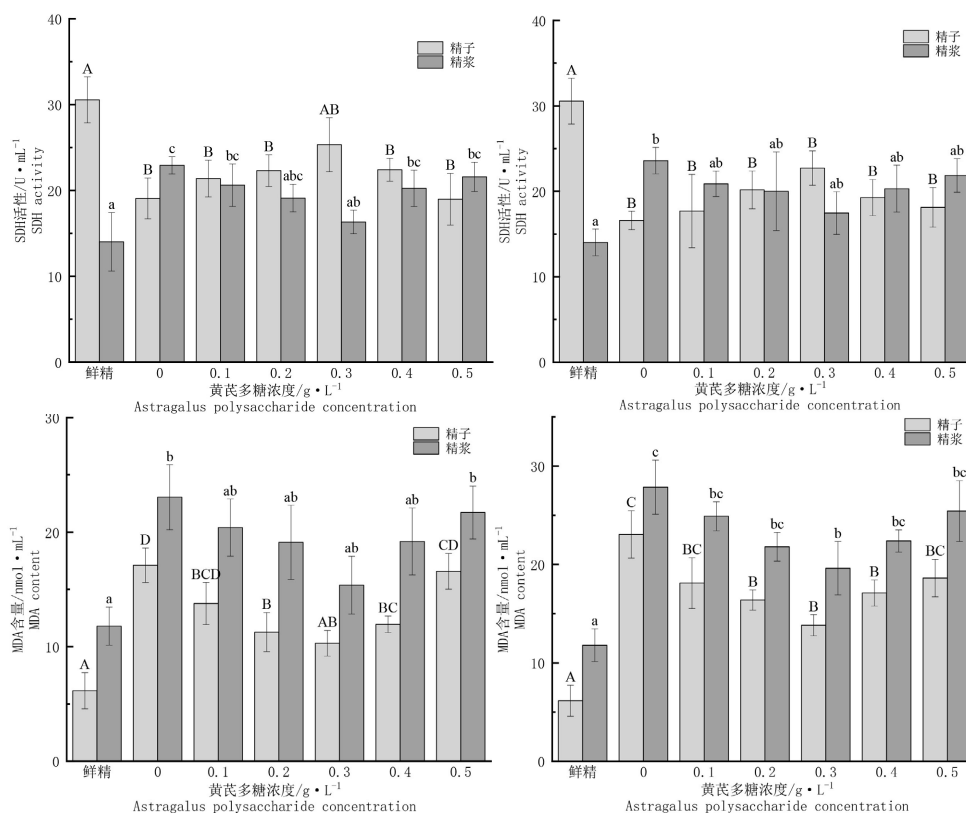
注: 柱状图上不同字母表示组间差异显著(P < 0.05)。

Figure 1. Effect of plant polysaccharides on ATP content in *Acipenser schrenckii* sperm

图 1. 植物多糖对史氏鲟精子 ATP 含量的影响

3.2.2. SDH 活性变化

SDH 作为线粒体呼吸链复合体II的关键酶,其活性可直接反映线粒体的功能状态[11]。由图 2 知,鲜精中精 SDH 活性为 (30.55 ± 2.68) U/mL,精浆中为 (14.02 ± 3.40) U/mL。超低温冻存后,对照组线粒体功能严重受损:冻存 7d 时,精子 SDH 活性降至 (19.06 ± 2.38) U/mL,较鲜精下降 37.61%,精浆 SDH 活性升至 (22.93 ± 1.26) U/mL,较鲜精增加 63.55%;冻存 30 d 时,精子 SDH 活性进一步降至 (16.59 ± 1.08) U/mL,精浆 SDH 活性升至 (23.59 ± 1.54) U/mL,提示线粒体膜破裂导致 SDH 释放至精浆。0.3 g/L 黄芪多糖组可显著保护线粒体功能:冻存 7 d 时精子 SDH 活性为 (25.33 ± 3.14) U/mL,较对照组高 32.89%,接近鲜精水平;精浆 SDH 活性为 (16.33 ± 1.37) U/mL,显著低于对照组($P < 0.05$);冻存 30d 时精子 SDH 活性保持 (22.73 ± 2.01) U/mL,较对照组高 36.99%,表明黄芪多糖可维持线粒体结构完整性,保障有氧呼吸能量合成通路。相同浓度处理下人参多糖保护效果优于黄芪多糖,以 0.2 g/L 处理组最优,其冻存 7 d 时精子 SDH 活性较对照组高 54.04%,接近鲜精水平,精浆 SDH 活性显著低于对照组($P < 0.05$),仅较鲜精升高 2.14 U/mL;冻存 30 d 时,精子 SDH 活性为 (26.35 ± 4.26) U/mL,精浆 SDH 活性为 (16.79 ± 2.45) U/mL,均优于黄芪多糖组。



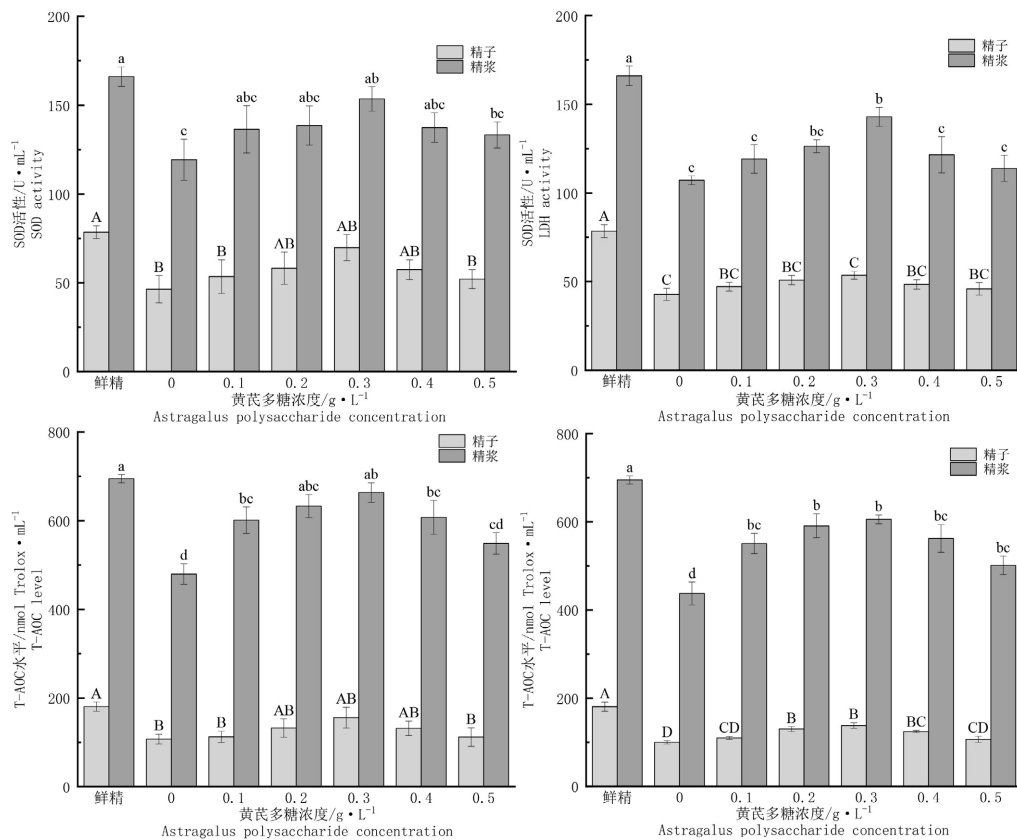
Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups ($P < 0.05$).
注: 柱状图上不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

Figure 2. Effect of astragalus polysaccharides on SDH activity of *Acipenser schrenckii* sperm
图 2. 植物多糖对史氏鲟精子 SDH 活性的影响

3.2.3. LDH 活性变化

LDH 在缺氧环境下可通过无氧糖酵解为精子供能,鲜精中精子 LDH 活性为 (57.22 ± 7.25) U/mL,精浆中为 (15.08 ± 2.85) U/mL。超低温冻存后,LDH 活性变化如图 3 所示,对照组无氧代谢功能受损:冻存

7 d 时精子 LDH 活性降至(34.68 ± 1.46) U/mL, 较鲜精下降 39.39%, 精浆 LDH 活性升至(31.31 ± 2.68) U/mL, 较鲜精增加 107.63%; 冻存 30 d 时精子 LDH 活性降至(30.47 ± 2.27) U/mL, 精浆 LDH 活性升至(31.68 ± 3.74) U/mL。0.3 g/L 黄芪多糖组可有效维持 LDH 活性: 冻存 7 d, 精子 LDH 活性为(45.99 ± 3.02) U/mL, 较对照组高 32.61%; 精浆 LDH 活性为(19.30 ± 1.74) U/mL, 显著低于对照组(P < 0.05); 冻存 30 d, 精子 LDH 活性保持(44.74 ± 5.27) U/mL, 较对照组高 46.83%; 人参多糖 0.2 g/L 为最优处理浓度, 保存效果优于对照组与黄芪多糖处理组: 冻存 7 d, 精子 LDH 活性为(53.03 ± 6.65) U/mL, 精浆 LDH 活性为(16.40 ± 3.82) U/mL; 冻存 30 d, 精子 LDH 活性保持(47.80 ± 8.01) U/mL, 精浆 LDH 活性为(17.97 ± 3.36) U/mL。表明植物多糖在保护有氧呼吸的同时, 也保障了无氧代谢通路的完整性, 为低温环境下的精子提供双重能量支持。



Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups (P < 0.05).
注: 柱状图上不同字母表示组间差异显著(P < 0.05)。

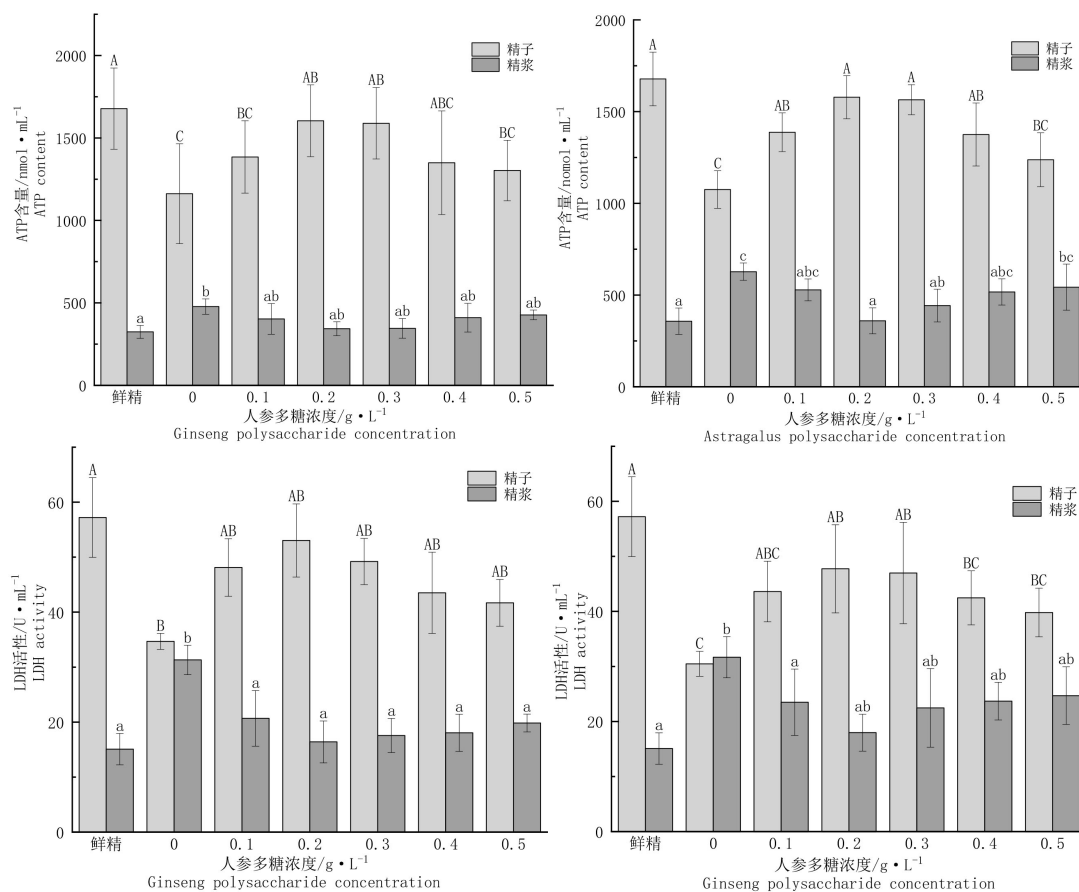
Figure 3. Effect of plant polysaccharides on LDH activity of *Acipenser schrenckii* sperm
图 3. 植物多糖对史氏鲟精子 LDH 活性的影响

3.3. 超低温冻存前后能量代谢指标变

3.3.1. MDA 含量变化

MDA 含量直接反映氧化损伤程度, 超低温冻存后, LDH 活性变化如图 4 所示鲜精中精子 MDA 含量为(6.16 ± 1.58) nmol/mL, 精浆中为(11.80 ± 1.66) nmol/mL。冻存 7 d 时, 精子、精浆 MDA 含量较鲜精组分别提高 10.94 nmol/mL、11.25 nmol/mL; 冻存 30 d 时, 进一步提高至(23.05 ± 2.41) nmol/mL、(27.85 ± 2.75) nmol/mL。添加两种多糖后, MDA 含量均下降且呈浓度依赖性与种类差异。黄芪多糖以 0.3 g/L 最

优：冻存 7 d、30 d 时，精子 MDA 较对照组分别降低 39.77%、29.55%。人参多糖最优浓度为 0.2 g/L 且效果更优：冻存 7 d、30 d 时，精子 MDA 较对照组分别降低 47.72%、48.63%，同期显著低于 0.3 g/L 黄芪多糖组 ($P < 0.05$)，表明其抑制脂质过氧化能力更强。



Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups ($P < 0.05$).

注：柱状图上不同字母表示组间差异显著 ($P < 0.05$)。

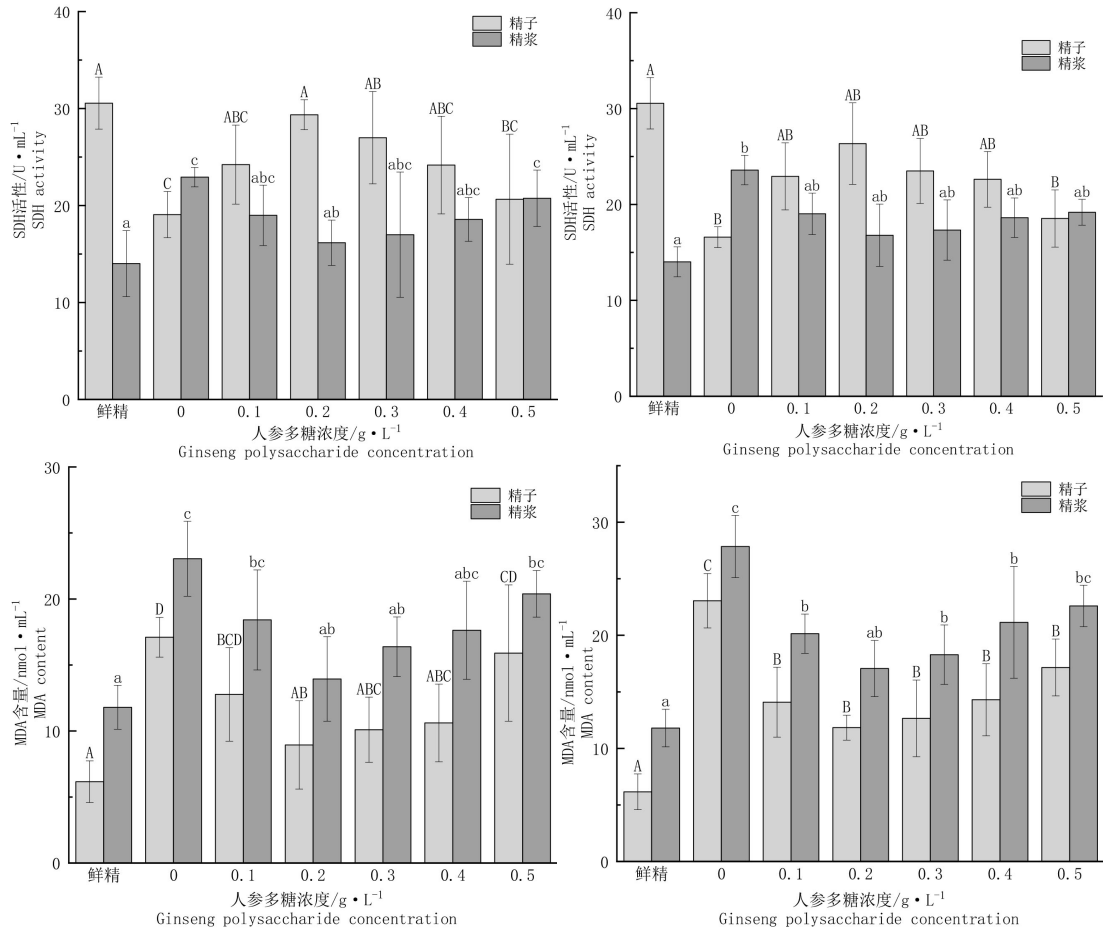
Figure 4. Effect of plant polysaccharides on MDA content in *Acipenser schrenckii* sperm

图 4. 植物多糖对史氏鲟精子 MDA 含量的影响

3.3.2. T-AOC 变化

T-AOC 反映机体清除 ROS 的综合能力，本实验检测超低温冻存 7 d、30 d 后史氏鲟精子及精浆 T-AOC，探究不同浓度人参多糖与黄芪多糖的抗氧化保护作用，结果如图 5：鲜精组精子、精浆 T-AOC 分别为 (180.75 ± 10.41) nmol Trolox/mL、 (694.85 ± 9.23) nmol Trolox/mL，为新鲜精子及精浆的基础抗氧化水平。冻存后，未添加多糖的对照组 T-AOC 显著下降 ($P < 0.05$)：冻存 7 d 时，精子 T-AOC 降至 (107.51 ± 11.06) nmol Trolox/mL，精浆 T-AOC 降至 (479.73 ± 23.32) nmol Trolox/mL；冻存 30 d 时，两项指标进一步降至 (99.97 ± 3.50) nmol Trolox/mL、 (437.29 ± 26.02) nmol Trolox/mL，表明超低温冻存可显著损伤其抗氧化功能。两种多糖对冻存精子及精浆 T-AOC 的保护效果均呈浓度依赖性：人参多糖最优浓度为 0.2 g/L，冻存 7 d 时，精子、精浆 T-AOC 分别为 (171.67 ± 31.27) nmol Trolox/mL、 (651.39 ± 55.61) nmol Trolox/mL；冻存 30 d 时，对应指标为 (146.62 ± 24.10) nmol Trolox/mL、 (622.16 ± 33.59) nmol Trolox/mL。黄芪多糖最优浓度为 0.3 g/L，冻存 7 d 时，精子、精浆 T-AOC 分别为 (155.78 ± 23.50) nmol Trolox/mL、

(663.51 ± 22.02) nmol Trolox/mL; 冻存 30 d 时, 对应指标为(146.09 ± 11.54) nmol Trolox/mL、(607.40 ± 53.37) nmol Trolox/mL。上述最优浓度组 T-AOC 均显著高于同期对照组($P < 0.05$), 且人参多糖最优组的保护效能整体优于黄芪多糖最优组。

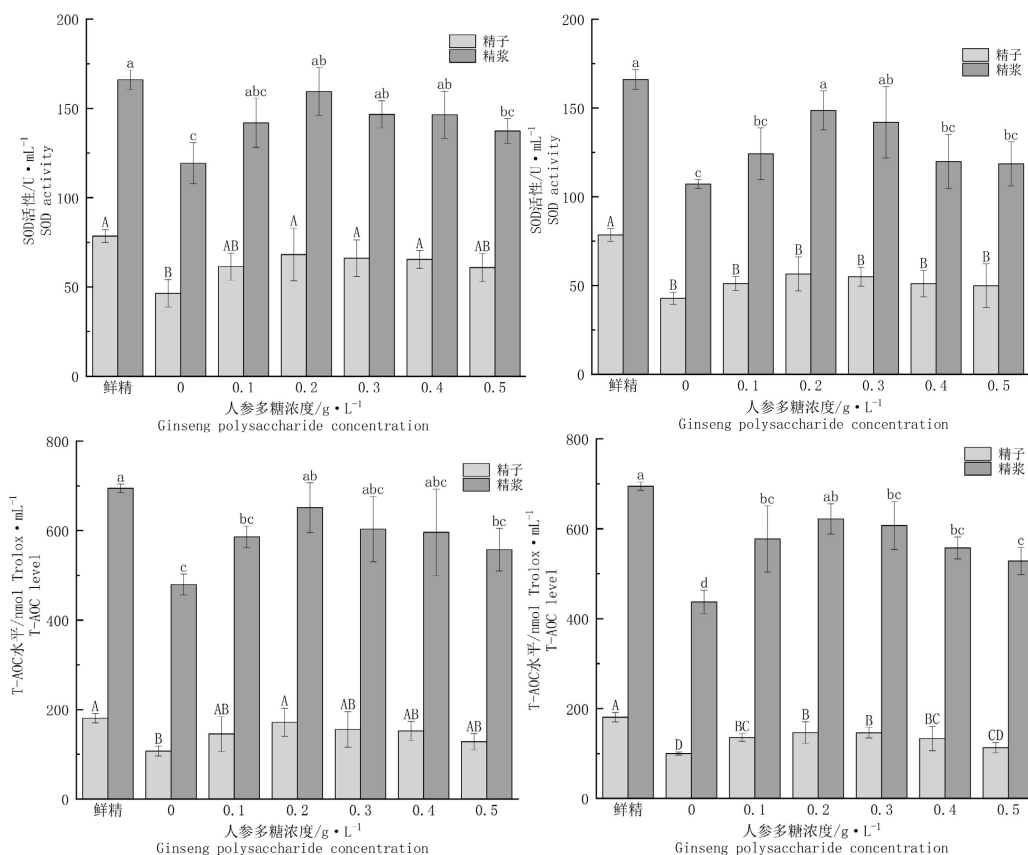


Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups ($P < 0.05$).
注: 柱状图上不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$).

Figure 5. Effect of plant polysaccharides on the T-AOC level of *Acipenser schrenckii* sperm
图 5. 植物多糖对史氏鲟精子 T-AOC 水平的影响

3.3.3. SOD 活性变化

SOD 是清除超氧阴离子的关键酶, 本实验检测超低温冻存 7 d、30 d 后史氏鲟精子及精浆 SOD 活性, 探究黄芪多糖与人参多糖的保护作用, 结果如图 6: 鲜精组精子、精浆 SOD 活性分别(78.52 ± 3.61) U/mL、(166.08 ± 5.52) U/mL。冻存后对照组 SOD 活性显著下降($P < 0.05$), 7 d 时, 精子、精浆 SOD 分别为(46.44 ± 7.71) U/mL、(119.28 ± 11.53) U/mL; 30 d 时, 对照组精子、精浆 SOD 为(42.82 ± 3.41) U/mL、(107.20 ± 2.50) U/mL。黄芪多糖最优浓度为 0.3 g/L, 7 d 时精子、精浆 SOD 为(69.77 ± 7.38) U/mL、(153.48 ± 6.86) U/mL, 30 d 时为(53.58 ± 2.24) U/mL、(142.94 ± 5.37) U/mL。人参多糖最优浓度为 0.2 g/L, 7 d 时精子、精浆 SOD 为(68.18 ± 14.74) U/mL、(159.48 ± 13.30) U/mL, 30 d 时为(56.53 ± 9.60) U/mL、(148.66 ± 11.02) U/mL。两种多糖最优浓度组 SOD 活性均显著高于同期对照组($P < 0.05$), 表明黄芪多糖可通过保护 SOD 活性, 增强精子对 ROS 的清除能力, 减轻氧化应激损伤且人参多糖保护效能更优。



Note: Different letters above the bars indicate significant differences among groups ($P < 0.05$).
注: 柱状图上不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$).

Figure 6. Effect of plant polysaccharides on SOD activity of *Acipenser schrenckii* sperm
图 6. 植物多糖对史氏鲟精子 SOD 活性的影响

4. 讨论

4.1. 植物多糖对史氏鲟精子活力的影响

精子的活力是评估冷冻保存效果的核心指标,可直接反映精子膜的完整性和生理功能状态[12]。超低温冻存过程中,冰晶形成、渗透压剧烈变化及氧化应激等因素会破坏精子膜结构完整性、损伤细胞器功能,进而导致精子活力下降、运动能力衰退及寿命缩短,这是鱼类精子冻存过程中的共性问题[10] [13]-[15]。本实验中,史氏鲟的鲜精活力高达 $(93.72 \pm 1.55)\%$,而经 7 d、30 d 超低温冻存后,无论是否添加植物多糖,精子活力、快速运动时间及寿命均显著下降($P < 0.05$),这与陈张帆等[3]在史氏鲟精子冻存中的研究结果一致,证实超低温冻存会对史氏鲟精子造成不可逆的基础损伤,也凸显了添加外源保护剂优化冻存效果的必要性。

本实验中,两种植物多糖对史氏鲟冻存精子均表现出显著保护作用,但最优浓度存在差异:黄芪多糖的最优保护浓度为 0.3 g/L,而人参多糖的最优保护浓度为 0.2 g/L,这可能与两种多糖的分子结构、理化性质及生物活性差异相关,不同多糖的分子量、亲水基团数量不同,其调节渗透压、结合自由基的能力也存在差异,进而导致最优作用浓度出现分化[16]-[18]。这种浓度依赖性保护效应,与黄芪多糖对羊驼精子[17]、人参多糖对公鸡精子冻存的保护规律相符,即适宜浓度的多糖可发挥最佳保护作用,而浓度过高或过低都会削弱保护效果。精子活力的维持依赖细胞膜完整性、能量供应及运动装置功能的协同[19],

研究表明[20], 史氏鲟精子的冷冻损伤主要表现为膜系统的损伤及细胞器的损伤。而渗透压过高会导致细胞膜系统的破裂, 本研究中高浓度多糖(>0.3 g/L)保护效果下降, 可能与稀释液渗透压失衡有关: 黄芪多糖作为大分子多糖, 过高浓度会破坏精子细胞膜内外渗透压平衡, 反而加剧细胞膜皱缩损伤[21] [22]。

值得注意的是, 相同浓度处理条件下, 人参多糖对史氏鲟冻存精子的保护效果显著优于黄芪多糖。其中, 0.2 g/L 人参多糖处理组冻存 7 d、30 d 时, 精子活力较对照组分别提高 18.63%、17.17%, 而 0.3 g/L 黄芪多糖处理组同期活力提升幅度仅为 14.18%、15.42%, 且人参多糖最优组的精子快速运动时间、寿命也均高于黄芪多糖最优组, 这表明人参多糖缓解史氏鲟精子冻存损伤的能力更强。

4.2. 植物多糖对史氏鲟精子代谢指标的影响

精子的运动能力及受精潜能高度依赖能量代谢, 其中 ATP 作为直接能量供体, 为细胞的各种生命活动如物质运输、生物合成等提供能量[23], 检测精子内的 ATP 含量可评估其代谢活性, 反映精子活力水平[24]; 琥珀酸脱氢酶(SDH)是作为线粒体呼吸链关键酶, 其活性是线粒体功能的核心标志, 可预测精子的活力及受精率[25]; 而乳酸脱氢酶(LDH)则是无氧代谢的关键酶, 可在缺氧环境下补充能量[26], 因此, 能量代谢酶可作为精子活力评价的参考指标[27]。

实验结果显示, 未添加多糖的对照组冻存 30 d 后, 精子 ATP 含量大幅下降、精浆 ATP 外泄增加, SDH 及 LDH 活性显著降低($P < 0.05$), 表明冻存损伤已严重影响精子能量合成与供应, 这也是导致冻存精子活力下降的核心原因之一[28] [29]。黄芪多糖与人参多糖均可通过保护精子能量代谢, 缓解超低温冻存损伤, 但二者的保护强度存在显著差异, 且均体现出最优浓度依赖性。在最优浓度条件下, 0.2 g/L 人参多糖处理组的保护效果显著优于 0.3 g/L 黄芪多糖处理组: 冻存 30 d 时, 人参多糖组精子 ATP 含量较对照组提高 46.81%, 精浆 ATP 外泄量降低 42.68%, SDH 活性达(26.35 ± 4.26) U/mL, 接近鲜精水平, LDH 活性维持在(47.80 ± 8.01) U/mL, 较对照组提高 46.83%; 而黄芪多糖组同期各项指标的提升幅度均显著低于人参多糖组, 表明其对精子能量代谢的保护作用相对较弱。

从作用共性来看, 植物多糖作为大分子活性物质, 其对精子能量代谢的保护作用, 主要源于两大核心特性: 一是可通过与精子细胞膜磷脂双分子层形成氢键, 稳定细胞膜结构, 降低冻存过程中冰晶与渗透压波动造成的膜破裂风险, 减少胞内 ATP 与代谢酶的外泄; 二是可通过抗氧化活性减少活性氧(ROS)对线粒体膜的脂质过氧化损伤, 维持线粒体结构与功能完整, 保障有氧呼吸能量合成通路的稳态, 同时保护无氧糖酵解关键酶 LDH 的活性, 为低温环境下的精子提供双重能量支持。两种多糖保护效果的差异, 推测与二者对线粒体结构的保护能力及抗氧化活性相关。SDH 活性的差异直接反映线粒体损伤程度, 人参多糖可能通过更强的抗氧化能力, 减少冻存过程中活性氧对线粒体膜的脂质过氧化损伤, 维持线粒体正常功能, 从而提升有氧呼吸效率; 同时其对无氧糖酵解关键酶 LDH 的保护作用更显著, 可协同保障精子能量供应。而黄芪多糖的抗氧化调控能力较弱, 对线粒体结构与酶活性的保护效果有限, 进而导致其对能量代谢的保护作用不及人参多糖。

4.3. 植物多糖对史氏鲟精子抗氧化指标的影响

超低温冻存过程中, 精子细胞易诱发氧化应激反应, 大量活性氧(ROS)蓄积, 进而诱发脂质过氧化损伤、抗氧化酶活性失衡, 最终损害精子活力、顶体完整性及受精能力[30]。丙二醛(MDA)、总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(SOD)是评价精子氧化损伤程度及自身抗氧化防御系统功能的核心指标, 其中 MDA 为脂质过氧化反应的终末产物, 其含量直接反映细胞膜损伤程度[31] [32], 翟晓虎等[33]明确的 MDA 细胞毒性机制也进一步印证, MDA 的过量生成会直接破坏精子生物膜结构完整性, 加剧细胞功能损伤; SOD 作为机体清除超氧阴离子自由基的关键抗氧化酶, T-AOC 则综合体现机体清除各类 ROS 的整体能

力[34]。本实验结果显示,超低温冻存后史氏鲟精子及精浆 MDA 含量显著升高,T-AOC 水平与 SOD 活性显著下降,进一步证实氧化损伤是超低温冻存导致史氏鲟精子功能损伤的核心机制之一。

从作用共性来看,作为大分子活性物质,两种植物多糖均具备典型的自由基清除与抗氧化活性:一方面可通过直接清除冻存过程中蓄积的 ROS,减少脂质过氧化反应的发生,降低 MDA 生成;另一方面可通过保护 SOD 等内源性抗氧化酶的活性,提升精子总抗氧化能力,维持细胞内氧化还原稳态,从而缓解氧化应激对精子结构与功能的损伤。张杰等[35]、余东游等[36]均证实天然活性物质具有稳定的抗氧化生物活性,可通过清除自由基、提升内源性抗氧化酶活性发挥生物保护效应,与本研究结论高度契合。但黄芪多糖与人参多糖的抗氧化保护效果存在显著种类差异:人参多糖的最优保护浓度为 0.2 g/L,黄芪多糖的最优保护浓度为 0.3 g/L,且人参多糖最优浓度组在降低 MDA 含量、提升 T-AOC 水平与 SOD 活性方面均优于黄芪多糖最优浓度组。推测其差异可能源于两种多糖的化学结构、活性基团组成及作用靶点的不同:人参多糖主要由葡萄糖、半乳糖等单糖组成,富含人参皂苷等活性成分,其分子结构更易与精子细胞膜结合,发挥更强的抗氧化及膜保护作用[37][38];而黄芪多糖的活性成分以黄芪皂苷、黄酮类化合物为主,其活性发挥需更高浓度才能达到等效的抗氧化效能[39][40],这与 Chen 等[41]研究发现不同植物多糖抗氧化活性差异源于其化学组成与结构的结论相吻合。Osipova 等[42]、程颖[43]的研究也证实,天然抗氧化剂在动物配子超低温冻存中具有普适性的保护价值,吴玲芳等[44]对药用植物活性成分的研究则为后续更多高活性植物多糖的筛选提供了方向。

4.4. 冻存时间的影响

有研究表明,冻存时间对精子复苏后活力的影响不大[45],但也有研究表明随着冻存时间的延长,精子的存活率会降低[46]。本研究通过对比 7 d 与 30 d 冻存效果,发现所有实验组均呈现冻存时间延长,精子质量下降的共性规律,但 7 d 与 30 d 的冻存效果差异并不显著,而植物多糖处理组的下降幅度低于对照组,表明植物多糖可延缓冷冻损伤的累积进程。针对冻存时间延长导致精子损伤加剧的现象,推测其原因可能为:超低温液氮环境下,冰晶虽整体处于相对稳定状态,但仍存在分子层面的缓慢重结晶过程[47],30 d 的累积效应会加剧对精子膜的物理穿刺损伤,表现为精浆中 LDH、SDH 等胞内酶活性 30 d 较 7 d 进一步升高,而多糖通过膜表面氢键作用形成的保护层[48][49],可减少重结晶带来的膜破裂。

综上,黄芪多糖与人参多糖均可通过抑制超低温冻存过程中精子的脂质过氧化反应、增强自身抗氧化系统功能,有效缓解氧化损伤对史氏鲟精子冻存过程中的损害,其中人参多糖以 0.2 g/L 浓度时保护效果最优。本研究结果为优化史氏鲟精子超低温冻存液配方、提高冻存精子质量提供了重要的理论依据与实践参考。后续研究可进一步探究两种多糖的协同抗氧化保护作用,明确其调控精子氧化应激的具体分子靶点,同时结合精子活力、顶体反应率等指标,完善植物多糖在史氏鲟精子冻存中的应用研究。

本研究仍存在一定的局限性:未对两种多糖的精细化学结构、单糖组成与活性基团进行系统的定性分析与定量分析,未明确其调控精子氧化应激与能量代谢的具体分子靶点,无法对二者保护效果的差异来源做出确定性结论。后续研究可针对上述不足,开展多糖结构与活性的关联分析、两种多糖的协同冻存效果验证,以及其保护作用的分子机制研究,同时结合精子顶体反应率、受精率等功能性指标,进一步完善植物多糖在鲟类精子超低温冻存中的应用体系。

参考文献

- [1] 周晓华. 中国鲟鱼保护与产业发展管理[J]. 中国水产, 2019(9): 34-39.
- [2] 陈松林. 鱼类配子和胚胎冷冻保存研究进展及前景展望[J]. 水产学报, 2002(2): 161-168.
- [3] 陈张帆, 丁兰清, 程鹏, 等. 施氏鲟精子超低温冷冻前后的蛋白组学分析[J]. 水产学报, 2025, 49(1): 27-37.

- [4] Mostek, A., Słowińska, M., Judycka, S., Karol, H., Ciereszko, A. and Dietrich, M.A. (2018) Identification of Oxidatively Modified Proteins Due to Cryopreservation of Carp Semen1. *Journal of Animal Science*, **96**, 1453-1465. <https://doi.org/10.1093/jas/sky063>
- [5] Ge, W., Yan, S., Wang, J., Zhu, L., Chen, A. and Wang, J. (2015) Oxidative Stress and DNA Damage Induced by Imidacloprid in Zebrafish (*Danio rerio*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **63**, 1856-1862. <https://doi.org/10.1021/jf504895h>
- [6] Peters, T., Meyer, B., Stuike-Prill, R., Somorjai, R. and Brisson, J. (1993) A Monte Carlo Method for Conformational Analysis of Saccharides. *Carbohydrate Research*, **238**, 49-73. [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(93\)87005-d](https://doi.org/10.1016/0008-6215(93)87005-d)
- [7] 董小英, 唐雨辰, 唐胜球. 植物多糖改善猪精液冻存效果的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2024, 60(12): 80-85.
- [8] 王义翠, 魏炳琦, 陈柳, 等. 黄芪多糖的生物学功能及其在畜禽生产中的应用研究进展[J]. 动物营养学报, 2024, 36(5): 2830-2844.
- [9] 黎阳, 张铁军, 刘素香, 等. 人参化学成分和药理研究进展[J]. 中草药, 2009, 40(1): 164-166.
- [10] 陈松林, 刘宪亭, 鲁大椿, 章龙珍, 傅朝君, 方建平. 鲢、鲤、团头鲂和草鱼精液冷冻保存的研究[J]. 动物学报, 1992(4): 413-424.
- [11] Russell, P.E. (2009) Fungicide Resistance Action Committee (FRAC): A Resistance Activity Update. *Outlooks on Pest Management*, **20**, 122-125. <https://doi.org/10.1564/20jun08>
- [12] 胡建宏. 猪精液冷冻保存研究[D]: [博士学位论文]. 咸阳: 西北农林科技大学, 2007.
- [13] 王姜, 陈婧, 宋爱环, 等. 抗氧化剂对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)精子超低温冷冻保存效果的影响[J]. 青岛农业大学学报(自然科学版), 2025, 42(4): 275-282.
- [14] 张莹, 齐鑫, 王孝杰, 等. 许氏平鲉精子超微结构及超低温冷冻对其形态的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2020, 35(3): 355-359.
- [15] Asadpour, R., Jafari, R. and Nasrabadi, H.T. (2011) Influence of Added Vitamin C and Vitamin E on Frozen-Thawed Bo-vine Sperm Cryopreserved in Citrate and Tris-Based Extenders. *Veterinary Research Forum*, **2**, 37-44.
- [16] 方积年, 丁侃. 天然药物——多糖的主要生物活性及分离纯化方法[J]. 中国天然药物, 2007(5): 338-347.
- [17] 路自涵, 江畔, 韩欣润, 等. 黄芪多糖对羊驼精液冷冻保存效果的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2026, 62(4): 281-290.
- [18] Song, J., Akhalaia, M., Platonov, A., Kim, H., Jung, I., Han, Y., et al. (2004) Effects of Polysaccharide Ginsan from *Panax ginseng* on Liver Function. *Archives of Pharmacal Research*, **27**, 531-538. <https://doi.org/10.1007/bf02980127>
- [19] Serafini, P.C., Hauser, D., Moyer, D. and Marrs, R.P. (1986) Cryopreservation of Human Spermatozoa: Correlations of Ultrastructural Sperm Head Configuration with Sperm Motility and Ability to Penetrate Zona-Free Hamster Ova. *Fertility and Sterility*, **46**, 691-695. [https://doi.org/10.1016/s0015-0282\(16\)49650-0](https://doi.org/10.1016/s0015-0282(16)49650-0)
- [20] 陈张帆, 程鹏, 胡谋, 等. 海藻糖对施氏鲟精子冷冻保存效果的影响及其冷冻损伤机理的初步探究[J]. 海洋渔业, 2023, 45(1): 1-13.
- [21] Li, S., Qi, Y., Ren, D., Qu, D. and Sun, Y. (2019) The Structure Features and Improving Effects of Polysaccharide from *Astragalus membranaceus* on Antibiotic-Associated Diarrhea. *Antibiotics*, **9**, Article 8. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9010008>
- [22] Alavi, S. and Cosson, J. (2006) Sperm Motility in Fishes. (II) Effects of Ions and Osmolality: A Review. *Cell Biology International*, **30**, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.cellbi.2005.06.004>
- [23] 黄晓荣, 章龙珍, 庄平, 等. 超低温冷冻对长鳍篮子鱼精子中几种酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2009, 33(7): 16-22.
- [24] Bilgeri, Y.R., Winkelmann, A., Berzin, M., Lyons, G. and Reinach, S.G. (1987) Adenosine Triphosphate Levels in Human Spermatozoa. *Archives of Andrology*, **18**, 183-188. <https://doi.org/10.3109/01485018708988481>
- [25] 熊承良, 夏文家, 滕嘉敏, 肖敦振, 沈继云, 周洁玲. 精子琥珀酸脱氢酶与精子活率关系的研究[J]. 男性学杂志, 1994(3): 138-140, 156.
- [26] Pörtner, H.O., Heisler, N. and Grieshaber, M.K. (1985) Oxygen Consumption and Mode of Energy Production in the Intertidal Worm *Sipunculus nudus* L.: Definition and Characterization of the Critical Po₂ for an Oxyconformer. *Respiration Physiology*, **59**, 361-377. [https://doi.org/10.1016/0034-5687\(85\)90139-2](https://doi.org/10.1016/0034-5687(85)90139-2)
- [27] Piasecka, M., Wenda-Rózewicka, L. and Ogoński, T. (2001) Computerized Analysis of Cytochemical Reactions for Dehydrogenases and Oxygraphic Studies as Methods to Evaluate the Function of the Mitochondrial Sheath in Rat Spermatozoa. *Andrologia*, **33**, 1-12. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0272.2001.00369.x>
- [28] Wang, H., Lu, P., Yuan, C., Zhao, J., Liu, H., Lu, W., et al. (2021) Effects of Apigenin and Astragalus Polysaccharide on the Cryopreservation of Bull Semen. *Animals*, **11**, Article 1506. <https://doi.org/10.3390/ani11061506>
- [29] Kopalli, S.R., Cha, K., Hwang, S., Jeong, M. and Kim, S. (2019) Korean Red Ginseng (*Panax ginseng* Meyer) with

- Enriched Rg3 Ameliorates Chronic Intermittent Heat Stress-Induced Testicular Damage in Rats via Multifunctional Approach. *Journal of Ginseng Research*, **43**, 135-142. <https://doi.org/10.1016/j.jgr.2018.06.004>
- [30] 崔剑, 李兆陇, 洪啸吟. 自由基生物抗氧化与疾病[J]. 清华大学学报(自然科学版), 2000, 40(6): 9-12.
- [31] Wang, B., Tang, X., Mao, B., Zhang, Q., Tian, F., Zhao, J., *et al.* (2024) Effects of *in Vitro* Fecal Fermentation on the Metabolism and Antioxidant Properties of Cyanidin-3-O-Glucoside. *Food Chemistry*, **431**, Article ID: 137132. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2023.137132>
- [32] 王文越, 刘珊, 吕琴, 等. 黄芪-当归药对益气活血药理作用研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(6): 207-216.
- [33] 翟晓虎, 杨海锋, 陈慧英, 等. 丙二醛的毒性作用及检测技术研究进展[J]. 上海农业学报, 2018, 34(1): 144-148.
- [34] 董亮, 何永志, 王远亮, 等. 超氧化物歧化酶(SOD)的应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(5): 53-58.
- [35] 张杰, 韩琪琪, 李春静, 等. 黄芪多糖对淇河鲫生长性能、抗氧化功能及抗病力的影响[J]. 中国水产科学, 2022, 29(8): 1160-1167.
- [36] 余东游, 毛翔飞, 秦艳, 等. 枯草芽孢杆菌对肉鸡生长性能及其抗氧化和免疫功能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2010, 46(3): 22-25.
- [37] 边亮, 陈华国, 周欣. 植物多糖的抗肿瘤活性研究进展[J]. 食品科学, 2020, 41(7): 275-282.
- [38] 万江桔, 罗季, 刘疆, 等. 人参辅助治疗艾滋病及其机会性感染的研究进展[J]. 云南医药, 2024, 45(6): 75-79.
- [39] 马传贵, 张志秀, 王如良, 等. 黄芪多糖的提取、结构及生物活性研究[J]. 特种经济动植物, 2024, 27(10): 124-128.
- [40] 魏明艳, 胡燕玲, 张雪. 黄芪多糖的生物活性及应用研究进展[J]. 世界复合医学(中英文), 2025, 11(8): 180-184.
- [41] Chen, N., Jiang, T., Xu, J., Xi, W., Shang, E., Xiao, P., *et al.* (2024) The Relationship between Polysaccharide Structure and Its Antioxidant Activity Needs to Be Systematically Elucidated. *International Journal of Biological Macromolecules*, **270**, Article ID: 132391. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.132391>
- [42] Osipova, V.P., Berberova, N.T., Gazzaeva, R.A. and Kudryavtsev, K.V. (2016) Application of New Phenolic Antioxidants for Cryopreservation of Sturgeon Sperm. *Cryobiology*, **72**, 112-118. <https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2016.02.006>
- [43] 程颖. 白藜芦醇和绿原酸对绒山羊精液冷冻保存效果的影响[D]: [硕士学位论文]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2025.
- [44] 吴玲芳, 王子墨, 赫柯芊, 等. 赤芍的化学成分和药理作用研究概况[J]. 中国实验方剂学杂志, 2021, 27(18): 198-206.
- [45] Weibring, K., Lundberg, F.E., Cohn-Cedermark, G. and Rodriguez-Wallberg, K.A. (2024) Parenthood in a Swedish Prospective Cohort of 1,378 Adolescents and Young Adults Banking Semen for Fertility Preservation at Time of Cancer Diagnosis. *Frontiers in Endocrinology*, **15**, Article 1502479. <https://doi.org/10.3389/fendo.2024.1502479>
- [46] Feldschuh, J., Brassel, J., Durso, N. and Levine, A. (2005) Successful Sperm Storage for 28 Years. *Fertility and Sterility*, **84**, 1017.e3-1017.e4. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2005.05.015>
- [47] 韩伟. 二硫化钼形貌效应在细胞低温保存中的冰晶抑制和快速复温效果影响研究[D]: [硕士学位论文]. 重庆: 重庆交通大学, 2025.
- [48] 孙福广. 黄芪多糖对肉鸡抗氧化及免疫指标的影响[J]. 中国畜牧业, 2025(19): 34-35.
- [49] 鲁妍妍, 赵梦柯, 赵璇, 等. 自组装在解析中药药效物质基础中的应用[J]. 中草药, 2025, 56(21): 8033-8042.