

日粮补硒对公牛精液品质及某些生化指标的影响

宋宪勃^{1*} 陆治年¹ 丁晓明¹ 金穗华² 林全增²
(¹畜牧学系, 210014; ²种公牛站)

摘要 12头黑白花公牛随机分为3组: A组, 在基础日粮(含硒0.107mg/kg)中添加硒0.1mg/kg; B组, 添加硒0.3mg/kg; C组, 仅喂基础日粮作为对照。试验期5个月。研究表明, 精子密度, 原精活力, 冻精活力和顶体完整率B组均极显著高于C组($P < 0.01$); A组原精活力显著高于B组($P < 0.05$), 但冻后活力后者高于前者($P > 0.05$); 采精量和畸形率不受补硒影响($P > 0.05$)。全血硒, 精液硒水平和谷胱甘肽过氧化物酶活性均随硒的添加量而升高, 组间差异均极显著($P < 0.01$)。原精液与冻精液谷草转氨酶活性均以B组极显著低于A和C组($P < 0.01$)。

关键词 公牛; 精液; 硒; 谷胱甘肽过氧化物酶

中图分类号 S823.3:S816.72

EFFECTS OF SELENIUM SUPPLEMENTATION IN DIET ON SEMINAL QUALITY AND SEVERAL BIOCHEMICAL INDEXES IN HOLSTEIN BULLS

Song Xianbo^{1*}, Lu Zhinian¹, Ding Xiaoming¹, Jin Suihua² and Lin Quanzeng²
(¹Dept of Animal Husbandry, Nanjing Agric Univ, Nanjing 210014;
²Station of Breeding Bull, Nanjing Agric Univ)

ABSTRACT 12 Holstein bulls were randomly distributed among 3 groups for 5-month studies with 0.10, 0.3, and 0.0 mg/kg selenium as Na_2SeO_3 supplemented per capita a day respectively in group I, II, and III as a control. The results showed that sperm concentration, pre- and post-freeze-thawing motility and acrosomal integrity in group II were improved significantly ($P < 0.01$) compared with control; however, ejaculates and morphological abnormality were not affected by Se supplementation. Furthermore, Se levels and GSH-Px activity in whole blood and seminal plasma were commensurated with Se added in diet, and there existed significant differences in GSH-Px activity in the plasma among 3 groups ($P < 0.01$) whose linear relation was found to Se level in the plasma (0.726), while the Se level in the plasma showed an exponential correlation with that in whole blood (0.728). The analysis also indicated that 0.4 mg/kg Se in diet would appear reasonable for the bull.

Key words bull; selenium; semen; GSH-Px

* 现在地址: 山东省畜牧兽医学校, 潍坊, 261041

Present address: School of Animal and Veterinary, Weifang, Shandong 261041

收稿日期: 1992-05-22

中国多数地区不同程度缺硒,这已成为改善公牛精液品质的限制因素之一。目前,国内有关硒与公牛繁殖性能方面的研究报道甚少。近年,国外的研究^[1,2]多采用注射方式给硒,使试验结果带有某些偏差。笔者采用在生产条件下于公牛日粮中补硒的方式,研究不同硒水平对公牛精液品质的影响,以探讨公牛合理的供硒量,从而为完善中国种公牛饲养标准提供依据。

1 材料与方方法

1.1 试验动物及饲养管理

选用本校公牛站12头健康成年黑白花公牛,年龄2.5~6.5岁。试验期按常规舍饲。日粮配合参考《奶牛饲养标准和典型日粮配方》^[3],供试牛的饲料配方及养分含量见表1。

表1 饲料配方及养分含量

Table 1 Feed formula and its contents

饲料配方 Feed formula (%)								养分含量(按每 kg 计) Nutrient contents per kg					
玉米	豆饼	大麦	麸皮	骨粉	石粉	鱼粉	食盐	干物质	NND	泌乳净能	粗蛋白	Ca	P
Corn	Soybean meal	Barley	Bran	Bone meal	Stone meal	Fish meal	Salt	Dry matter	Cow energy unit	Milking NE (MJ)	Crude protein (g)	(g)	(g)
20	28.5	15	30	2	1	1	2.5	0.86	2.32	7.30	207.00	13.92	8.24

混合精料和青干草分别按6 kg/头和10 kg/头每日分两次饲喂。

经测定,本站公牛日粮硒本底值为0.107 mg/kg;试验用硒为亚硒酸钠(Na_2SeO_3 , CP, 含Se 45%)。

1.2 试验设计及处理

采用二因子完全随机设计,保证繁殖性能、年龄和来源等因素在各组相对均衡分配。对试验以前3个月的精液品质所进行的统计表明,组间差异均不显著($P > 0.05$)。

因子I为饲料,设A、B和C3个水平及4个重复。A组,基于基础日粮,添加硒0.1 mg/kg;B组,添加硒0.3 mg/kg;C组,不添加硒作为对照。每头每日单独称取添加剂量,用混合精料作载体稀释并包装,于7:00拌入精料一次喂给。

因子II为阶段,1990年1月~6月,5个月试验期分为5个阶段,每阶段为1个月。

每周采集2次精液,进行品质评定。部分精液经4000 r/min离心15 min,分离精清。每月颈静脉采血1次,分装2支试管,一管用肝素抗凝,另一管凝血后经3000 r/min离心20 min,分离血清,上述样品于-20℃保存待测。

1.3 精液品质评定

按照农业部牛冷冻精液质量检测规程规定方法和内容进行精液品质6项指标评定。

1.4 生化指标测定

1.4.1 精清和全血硒水平 采用微量硒荧光测定法^[4],在日立850荧光光度计上测定。

1.4.2 精清谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性 采用中国医学科学院克山病防治科研小分队推荐的GSH-Px活力微量测定法^[5]。

1.4.3 谷草转氨酶(GOT)活性 采用《临床生化检验》推荐的方法, 用岛津 UV-120-02 分光光度计进行测定。

1.5 数据处理

用最小二乘方差分析程序, 将数据输入计算机进行均数多重比较及相关与回归分析。

2 结 果

2.1 不同处理及不同阶段对公牛精液品质的影响

3 种处理 5 个阶段公牛的采精量、精子密度、原精与冻精活力、畸形率等变化见表 2。

表 2 不同处理和不同阶段的精液品质

Table 2 Seminal quality in different groups and stages

组与阶段 Groups and stages	采精量 Vol. of ejaculates (ml)	精子密度 Sperm concentration ($\times 10^8$ / ml)	原精活力 冻精活力 (十级制) Sperm motility (10-grade system)		畸形率 Abnormality (%)	顶体完整率 Acrosomal integrity (%)
			Pre-freeze	Post-freeze		
			A	6.17 ± 0.43		
B	6.07 ± 0.42	13.32 ± 1.09A	0.664 ± 0.022Ab	0.342 ± 0.014A	12.54 ± 1.25	45.66 ± 2.14B
C	5.90 ± 0.42	11.17 ± 1.09B	0.640 ± 0.023C	0.318 ± 0.013B	12.34 ± 1.22	41.10 ± 2.30a
I	5.56 ± 0.49a	11.36 ± 1.29ac	0.667 ± 0.027	0.348 ± 0.016	12.92 ± 1.54Aa	45.27 ± 2.64a
II	5.86 ± 0.49a	11.90 ± 1.29ac	0.665 ± 0.026	0.330 ± 0.016	11.83 ± 1.39Ab	42.84 ± 2.37a
III	6.00 ± 0.49a	13.21 ± 1.29bc	0.657 ± 0.026	0.341 ± 0.016	10.99 ± 1.43Ab	43.18 ± 2.44a
IV	6.02 ± 0.51a	12.87 ± 1.33ac	0.671 ± 0.026	0.325 ± 0.016	11.58 ± 1.54b	41.15 ± 2.64b
V	6.25 ± 0.51B	14.40 ± 1.33Bb	0.674 ± 0.027	0.317 ± 0.016	15.14 ± 1.60Aa	40.89 ± 2.46b

注: 表中值为最小二乘均数 ± 标准误; 不同处理和阶段内, A 与 B, C, b, c 或 d 表示 $P < 0.01$; a 与 b, c 或 d 表示 $P < 0.05$; 未标者及 a 与 a, b 与 b, c 与 c 表示 $P > 0.05$ 。

Note: All values are least square means plus standard errors. In different groups & stages, A vs B, C, b, c, or d indicates $P < 0.01$; a vs b, c or d $P < 0.05$; and a vs a, b vs b, c vs c or the unlabelled $P > 0.05$.

2.1.1 采精量 采精量为 A 组 > B 组 > C 组, 但 q 检验表明, 组间差异均不显著 ($P > 0.05$)。随阶段推移, 采精量略有上升, 仅阶段 V 同其前各阶段差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.1.2 精子密度 精子密度以 B 组极显著高于 C 组 ($P < 0.01$); A 组略高于 C 组 ($P > 0.05$); A 与 B 组接近 ($P > 0.05$)。阶段 V 极显著高于阶段 I, II 和 IV ($P < 0.01$); 其它阶段间差异均不显著 ($P > 0.05$)。

2.1.3 原精活力与冻精活力 A 组与 B 组原精活力均极显著高于 C 组 ($P < 0.01$), A 组显著高于 B 组 ($P < 0.05$); 冻精活力以 B 组极显著高于 C 组 ($P < 0.01$), 其它组间差异均不显著 ($P > 0.05$)。原精及冻精活力在各阶段间的差异均不显著 ($P > 0.05$), 但分别有波动上升和下降趋势。

2.1.4 畸形率 各组畸形率均接近($P > 0.05$)。阶段V极显著高于阶段IV($P < 0.01$)，并显著高于阶段II和III($P < 0.05$)。

2.1.5 顶体完整率 顶体完整率以B组极显著高于A和C组($P < 0.01$)；A与C组差异不显著($P > 0.05$)。阶段I，II和III显著高于IV和V($P < 0.05$)，其它阶段间差异均不显著($P > 0.05$)。

2.2 不同处理及阶段有关生化指标的变化

3个处理5个阶段公牛全血、精清硒水平，GSH-Px活性，GOT活性变化见表3。

表3 不同处理和阶段的有关生化指标

Table 3 Several biochemical indexes in different groups and stages

组与阶段 Groups and stages	硒水平(mg/kg)		GSH-Px (活性单位) ¹⁾ GSH-Px (Activity unit)	GOT(活性单位) ²⁾	
	全血 In blood	精清 In seminal plasma		冻前 Pre-freeze (Activity unit)	冻后 Post-freeze (Activity unit)
A	0.158 ± 0.012A	0.589 ± 0.036A	202.51 ± 8.26A	206.8 ± 16.1a	1322.0 ± 169.7a
B	0.254 ± 0.013B	0.610 ± 0.033B	219.05 ± 8.56B	194.2 ± 14.5B	1253.1 ± 155.0B
C	0.131 ± 0.012C	0.375 ± 0.033C	177.25 ± 8.41C	201.8 ± 14.7a	1320.7 ± 156.0a
I	0.120 ± 0.013a	0.391 ± 0.038A	186.67 ± 9.77a	239.2 ± 17.5a	1337.2 ± 184.0a
II	0.125 ± 0.014a	0.486 ± 0.041B	185.42 ± 9.77a	184.8 ± 16.4B	1350.1 ± 185.0a
III	0.169 ± 0.013B	0.524 ± 0.040C	192.50 ± 9.27a	232.0 ± 16.4a	1337.8 ± 178.0a
IV	0.184 ± 0.013C	0.612 ± 0.039d	207.08 ± 10.08b	202.9 ± 20.4B	1229.8 ± 199.0B
V	0.303 ± 0.015D	0.610 ± 0.043d	226.36 ± 10.43B	145.8 ± 19.0C	1238.4 ± 199.0B

注：表注同表2。Notes see table 2.

1) 8 μ l 精清在 37 $^{\circ}$ C 反应 5 min，使 GSH-Px 降低的 μ mol 数。

2) 0.1ml 精清在 37 $^{\circ}$ C 反应 60 min 每减少 4.83×10^{-4} μ mol NAD 为 1 活力单位。

Note: 1) Reduction of GSH-Px activity units in 8 μ l seminal plasma after incubation at 37 $^{\circ}$ C for 5min.

2) Reduction of GOT activity units in 0.1ml seminal plasma after incubation at 37 $^{\circ}$ C for 60 min. Reduction of 4.83×10^{-4} μ mol NAD corresponds to 1 activity unit.

2.2.1 硒水平 各组全血硒及精清硒水平均随日粮含硒量的增高而升高，组间差异极显著($P < 0.01$)。全血硒水平持续上升，除阶段I与II差异不显著($P > 0.05$)外，其它阶段间差异均极显著($P < 0.01$)。精清硒水平在前4阶段内差异均极显著($P < 0.01$)，但自阶段IV趋于恒定($P > 0.05$)。

2.2.2 GSH-Px 活性 精清 GSH-Px 活性决定于日粮含硒量，组间差异极显著($P < 0.01$)。前3阶段该酶活性变化较小($P > 0.05$)，阶段IV及V同其前各阶段有显著和极显著变化($P < 0.05$ 和 $P < 0.01$)。

2.2.3 GOT 活性 原精清及冻精清 GOT 活性均以B组极显著低于A与C组($P < 0.01$)，A与C组差异不显著($P > 0.05$)。原精清及冻精清 GOT 活性在阶段IV和V均下降到极显著低水平($P < 0.01$)。

3 讨论

3.1 补硒对公牛精液品质的影响

试验分析表明, 不同处理的各项精液品质指标存在不同程度差异。在补硒较多的 B 组, 精子密度, 原精及冻精活力和顶体完整率比对照分别提高 19.25%, 3.80%, 7.55% 和 11.09%。引人注目的是, 试验期的精子密度与试验前 3 个月比较, B 组增加 10.80%, A 组两值接近, 而 C 组降低 4.50%。这与 Bartel 和 Scgerson 等采用注射给硒试验得出补硒不能显著改善精液品质的结论不同。精子密度的提高, 可能与公牛体内存在“Se → GSH-Px → PGF_{2α} → 睾酮 → 日产精子数”的促进机制^[6,7]及 Sc-tRNA 在调节某些含有 GAG 和 AAG 密码子的 mRNA 转译成蛋白质效率上具有重要作用^[8], 从而加速精子形成。在精子活力方面, 本试验结果倾向于 Slawceta^[9]的结论, 认为含硒和 GSH-Px 活性较高且脂质过氧化物较低的精液, 其精子活力一般较高。顶体完整率的改善及 B 组 GOT 活性显著降低表明, 在日粮中适量补硒, 可对精液中破坏膜的因素产生一定程度的抵消作用, 有利于保持精子质膜的正常结构与功能。

本试验表明, 不在日粮中补硒, 公牛虽通常不表现明显缺硒的临床或亚临床症状, 但冬春季节强度利用的公牛其繁殖潜力的发挥受到一定程度的限制。在日粮中补加 0.3 mg/kg 硒有利于动员其繁殖潜力, 从而显著改善精液品质。

A 组原精活力显著高于 B 组, 但冻后活力略低, 这有待进一步试验观察。采精量与畸形率很少受补硒影响, 与多数学者的研究相符。

此外, 采精量与精子密度持续上升, 至阶段 V 均达到极显著高水平, 表明持续摄取适量硒对精液品质产生有利效应。

3.2 添加硒对某些生化指标的影响及其相互关系

3.2.1 全血硒与精清硒 血硒和精清硒水平都持续上升, 但后者自阶段 IV 后趋于恒定。从微量元素代谢动力学分析^[10]可见, 体内屏障和保护作用使精清硒达到一定水平时与血硒呈现动态平衡。表明补加 0.3 mg/kg 硒可达到生殖器官对硒的需要量。另外发现, 精清硒水平与全血硒水平间存在幂函数关系: $y = 1.125 9x^{0.459 0}$; $r = 0.728(n = 47; x: 全血硒, y: 精清硒)$ 。

3.2.2 GOT GOT 是细胞代谢的重要酶。精子质膜遭受损伤或冷冻打击时, 胞内酶逸入精清, 使精子活力部分或全部丧失。因此, 精清 GOT 活性可作为反映膜损伤程度的标志。B 组原精清及冻精清 GOT 活性显著降低, 表明补加 0.3 mg/kg 硒可保持精子质膜和增强精子抗冻能力。

3.2.3 硒与 GSH-Px 活性 硒是 GSH-Px 的辅因子。该酶具有保持质膜免受过氧化物损伤的作用。分析显示, 全血硒及精清硒与精清 GSH-Px 活性间的相关系数分别为 0.620 和 0.726。该酶是硒赖以发生作用的形式之一。

4 结语

鉴于我国多数地区缺硒, 必然导致饲料植物缺硒。为进一步改善精液品质, 建议为公牛

补硒,使之达到 0.4 mg/kg(相当于前苏联推荐使用范围的上限值)。

参 考 文 献

- 1 Bartle J L, Senger P L, Hillers J K. Influence of injected selenium in dairy bulls on blood and semen selenium, glutathione peroxidase and seminal quality. *Bio Reprod*, 1980, 23(5): 1007~1013
- 2 Scgeron E C, Johnson B H. Selenium and reproductive function in yearling Angus bulls. *J Ani Sci*, 1980, 51(2): 395~401
- 3 奶牛饲养标准科研协作组等编. 奶牛饲养标准和典型日粮配方. 北京: 农业出版社, 1989
- 4 杨荣甫. 2,3-二氨基萘荧光法测定人血中的硒. *中山医学院学报*, 1984, 3: 59~62
- 5 张嘉麟, 方允中. 血液中谷胱甘肽过氧化物酶活力微量测定法. *中华医学检验杂志*, 1985, 8(4): 199~201
- 6 Redd C C. The role of selenium-dependent and selenium-independent glutathione peroxidase in formation of prostaglandin in F_{2x} . *J Cell Biol*, 1988, 107(6): 859a
- 7 谢成侠. 家畜繁殖原理. 南京: 江苏科学技术出版社, 1983, 79
- 8 李慎涛. 硒的生物化学效应. *中国兽医科技*, 1989, 6: 20~21
- 9 Slaweta R, Wasowicz W, Laskowska T. Selenium content, glutathione peroxidase level in fresh bull semen and its relationship to motility of spermatozoa after freezing-thawing. *J Vet Med*, 1988, 35(6): 455~460
- 10 杨顺江. 动物微量元素营养学. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1989, 54~92, 117~121

(责任编辑 是雅蓓)