

硒对公鸡睾丸组织细胞结构的影响

张建新, 岳文斌, 李宏全, 贺俊平 (山西农业大学 动物科技学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 180只海蓝白公鸡雏(1日龄)随机分为6组, 对照组饲喂缺硒基础日粮(硒本底值为0.026~0.031 mg/kg), 试验I~V组分别补硒1、5、10、15、20 mg/kg(硒与饲料质量之比), 22周龄时屠宰, 取材睾丸组织, 制作光镜与电镜切片, 观察睾丸组织结构。结果表明, 对照组鸡睾丸发育不良; 试验I组(补硒1 mg/kg)睾丸发育良好; II~V组, 随补硒量的增加中毒症状逐渐明显, 主要表现为曲精细管上皮细胞脱落、管壁溶解, 细胞核不规则, 核膜部分溶解、破裂, 核质外流, 粗面内质网扩张, 核糖体脱落等。通过观察与分析, 建议公鸡日粮中含硒量以不超过1 mg/kg为宜。

关键词: 公鸡; 睾丸组织; 硒浓度; 显微与超微结构

中图分类号: S831.5

文献标识码: A

文章编号: 1005-4545(2004)03-0268-02

硒是动物生长发育所必需的微量元素之一, 与 V_E 的生物学作用密切相关, 对动物繁殖起重要作用^[1-5]。我国2/3以上的地区缺硒, 1/3的地区严重缺硒, 缺硒导致畜禽繁殖功能低下, 但补硒不当又极易中毒^[6-8]。有关硒的研究受到广大动物营养工作者的高度重视, 但硒对公鸡睾丸组织细胞超微结构的影响报道较少, 为此进行了本研究。

1 材料与方法

1.1 动物及其处理 选择体质质量、生长状况一致的1日龄海蓝白公鸡雏180只, 随机分为6组, 每组30只, 按免疫程序严格免疫。

对照组饲喂缺硒基础日粮, 硒本底值为0.026~0.031 mg/kg(5个月试验期内所用基础日粮含硒量的波动范围); 试验I~V组各组补硒量(硒与饲料质量比)分别为1、5、10、15、20 mg/kg, 饲喂时, 把亚硒酸钠($N_{a_2}SeO_3$)按要求溶于水中, 先喂干料, 吃完料后, 以饮水方式将每日补硒量分2次饮用, 药水喝完, 再充足供应清洁饮用水。

1.2 切片制作及观察 试鸡22周龄屠宰, 取睾丸组织, Carnoy固定液固定1.5 h, 95%乙醇冲洗2次, 每次3 min, 在80%乙醇中过夜, 梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 常规石蜡切片, HE染色^[9], 光镜观察。

另取睾丸组织, 立即用预冷(4℃)的2.5%戊二醛作前固定, 1%锇酸后固定, 梯度乙醇脱水, Epon812环氧树脂浸透包埋, LKE-8000型超薄切片机制片, 醋酸双氧铀、柠檬酸铅双重染色, 成片用于电镜观察^[10]。

2 结果

2.1 光镜观察结果 对照组, 曲精细管发育受阻, 曲精细管间有大量结缔组织, 管径小, 生精上皮细胞层数少, 无精子形成。

I组, 曲精细管发育良好, 基膜与管壁完整, 生精上皮细胞层数多, 各级生精细胞完好且排列整齐, 管腔规则, 管腔中可见大量游离的精子(图1A)。

II组, 曲精细管有肿胀现象, 基膜与管壁完整, 生精上皮细胞层数较多, 各级生精细胞排列疏松, 管腔不明显, 管腔内游离精子很少。

III组, 曲精细管发育较差, 基膜与管壁完整, 生精上皮细胞层次不清, 曲精细管部分生精细胞脱落、溶解, 细管中央有坏死脱落的细胞。

IV、V组, 曲精细管破裂, 生精细胞排列混乱, 层次不清, 溶解现象严重(图1B)。

2.2 电镜观察结果 对照组, 生精细胞核染色体分布不均, 核膜发育不完整, 细胞内线粒体有凝集性变化(图1C), 数量较少, 线粒体外膜发育不全, 精子头部染色质减少。

I组, 各级生精细胞核膜完整, 染色体分布均匀, 各种细胞器形态结构完整, 未见异常。

II组, 部分生精细胞核内染色体分布不均匀, 个别核膜细胞器膜溶解, 出现轻度中毒状态。

III组, 各级生精细胞中毒明显加重, 线粒体肿胀, 外膜破损, 结构模糊; 细胞核不规则(图1D), 核膜扩张, 核周隙增宽, 部分核膜破裂; 间质细胞、成纤维细胞和精母细胞内部都有轻度的空泡变性。

IV、V组, 中毒症状严重, 空泡变性连接成片, 细胞核凹陷, 核膜溶解、破裂, 核质外流(图1E); 粗面内质网扩张成条袋形(图1F), 核糖体脱落, 失去合成功能。

3 讨论

本试验观察结果表明, 由于基础日粮严重缺硒, 使公鸡发育减慢, 生殖上皮发育受阻, 各级生精细胞细胞核核膜和细胞器膜部分发育不全, 睾丸组织发育不良。

I组睾丸发育明显加快, 曲精细管内生殖细胞层数多, 各级生殖细胞排列整齐, 并且有大量成熟游离的精子, 细胞结构与亚细胞结构均发育良好。

II、III、IV、V组随着日粮含硒量的增加, 睾丸组织中毒明显加剧, 表现为曲精细管上皮细胞脱落、管壁溶解, 细胞核核膜溶解、破裂, 核质外流, 粗面内质网扩张, 核糖体脱落, 说明机体处于严重的中毒状态。

由以上公鸡睾丸组织显微和超微结构观察与分析可知, 日粮缺硒公鸡睾丸发育严重受阻; 适量补硒可明显促进公鸡睾丸发育, 生殖机能改善; 补硒过量导致公鸡睾丸组织结构损伤, 生精机能降低甚至丧失。由此可见, 公鸡对硒的耐受力虽然很强, 但日粮中硒的含量以不超过1 mg/kg为宜。

收稿日期: 2003-09-10

基金项目: 山西省青年基金资助项目(991037)

作者简介: 张建新(1970-), 男, 讲师, 在职博士。



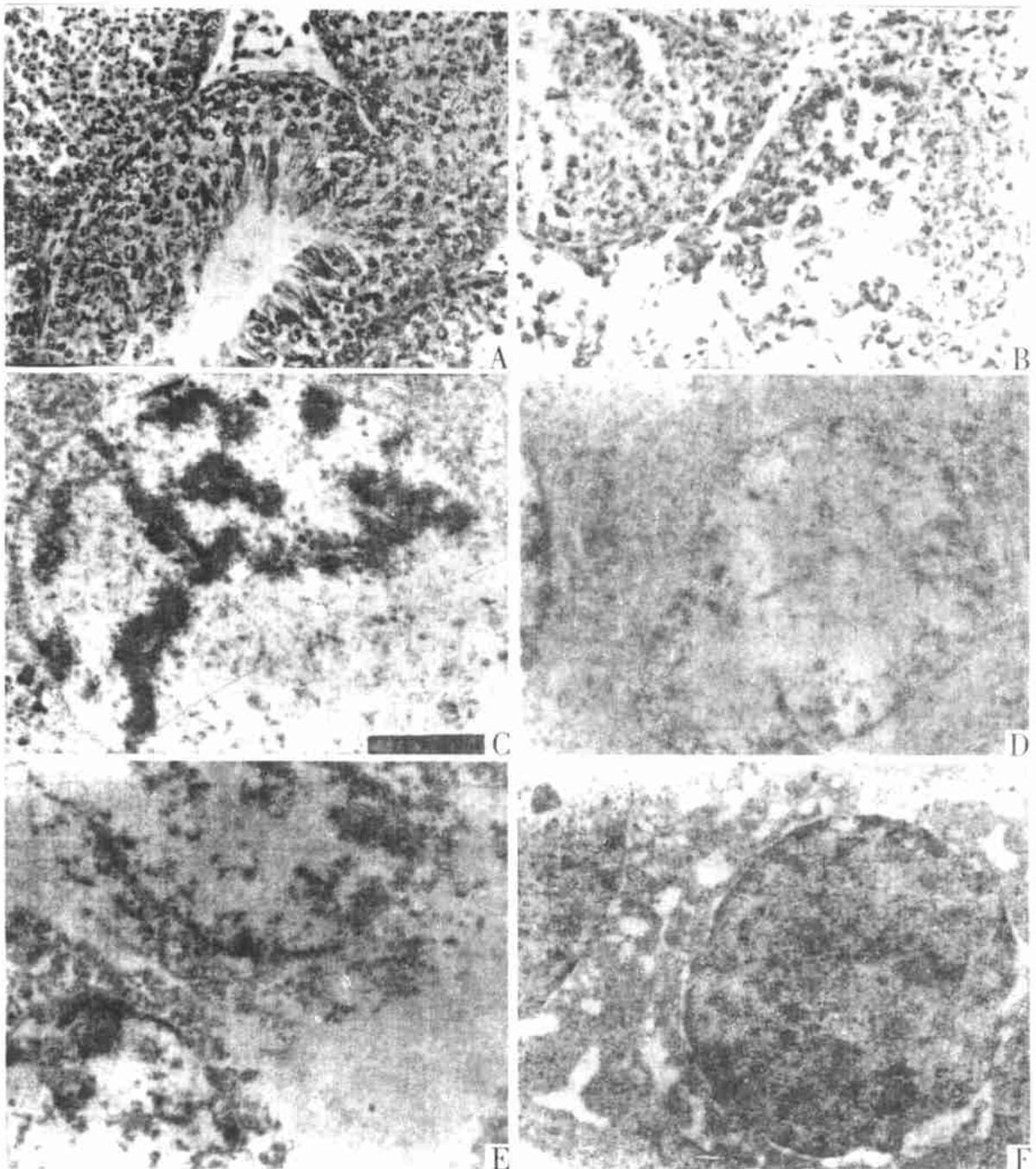


图1 A. 发育正常的睾丸曲精细管 ×88; B. 中毒溶解的睾丸曲精细管 ×88; C. 线粒体凝集性变化 ×12 000; D. 细胞核不规则 ×8 700; E. 核质外流 ×8 710; F. 内质网扩张 ×8 710

参考文献:

- [1] 崔恒敏 雏鸡缺硒病的病理形态学研究[J]. 畜牧兽医学报, 1998, 19(1): 52-56
- [2] 栾新红 硒的生物学功能及在家禽中的应用研究现状[J]. 中国家禽, 1997, (10): 33-34
- [3] Pharazyn A. Vitamin E and its role in the nutrition of the gilt and sow: a review [J]. *Livest Product Sci*, 1990, 24(1): 1-13
- [4] 史言, 曲鸿章, 徐忠宝 硒的生物学效应及动物缺硒病发病机理的研究[J]. 畜牧兽医学报, 1989, 19: 140-145
- [5] Groce A W, Iller E R, Ulley D E, et al. Selenium requirement corn soy diets for growing and finishing swine[J]. *J Anim Sci*, 1997, 37: 948
- [6] 贺俊平, 张建新 过量硒对种公鸡睾丸组织细胞结构的电镜研究[J]. 电子显微学报, 2002, 21(5): 511-512
- [7] 李引乾 硒的毒理机制与毒理动力学[J]. 畜牧兽医杂志, 1997, 16(1): 41-43
- [8] 祁周约 育成鸡有机硒中毒的实验研究[J]. 畜牧兽医学报, 1992, 21(3): 281-284
- [9] 刘介眉, 严庆汉, 路英杰, 等 病理组织染色的理论方法和应用[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1983 21-28
- [10] 杭振镰 电子显微镜技术在临床医学的应用[M]. 重庆: 重庆出版社, 1988 14-31.

抗菌肽与抗生素的体外抗菌效果比较

汪以真, 王中强, 许梓荣 (浙江大学 饲料科学研究所 教育部动物分子营养重点实验室, 浙江 杭州 310029)

摘要: 应用由 Hancock 实验室改进的微量肉汤稀释法测定了 cecropin P1、cecropin A、magainin 2、defensin 1、bactenecin、lactoferricin 和 indolicidin 等 7 种抗菌肽和盐酸金霉素、去甲万古霉素、土霉素、强力霉素等 4 种抗生素的体外抗菌活性, 并且使用薄层琼脂糖孔穴扩散法比较了抗菌肽中 cecropin P1 和 cecropin A 与土霉素和呋喃唑酮对大肠杆菌 K88 的抑菌效果。结果发现, 抗菌肽与抗生素一样对几种革兰氏阳性菌和阴性菌都有不同程度的抗菌效果。其中 cecropin A、cecropin P1 和 defensin 1 对大肠杆菌的 2 个菌株 ATCC25922 和 K88 的抗菌活性高于抗生素, defensin 1 是各种抗菌肽中对金黄色葡萄球菌抗菌效果最好的。抗生素对试验用金黄色葡萄球菌的抑制活性总体上要好于抗菌肽。与抗生素相比, cecropin A、cecropin P1 和 indolicidin 对猪霍乱沙门氏菌和鼠伤寒沙门氏菌具有更好的抗菌效果。另外, 抗菌肽的抑菌圈边缘十分清晰, 而抗生素的整个抑菌圈都比较模糊且界线不明。因此, 从抗菌效果方面考虑, 抗菌肽可以代替抗生素用于疾病的预防和治疗。

关键词: 抗菌肽; 抗生素; 药敏试验

中图分类号: S859.79

文献标识码: A

文章编号: 1005-4545(2004)03-0270-04

近些年来, 畜产品中的抗生素药物残留问题越来越受到人们的重视, 许多国家包括我国已经严格限制将抗生素作为保健和促生长剂添加到畜禽饲料中, 有的甚至禁止任何抗生素的使用。同时, 由于抗生素的乱用与滥用, 也造成了许多细菌产生了耐药菌株, 并且其出现的频率已超过抗生素新药的开发速度, 给疾病的治疗带来了很大的难度。因此, 寻找安全高效的抗生素替代品就显得十分重要。抗菌肽是生物体内存在的一种天然抗菌活性物质, 已经从哺乳动物(包括人)及昆虫、两栖动物中发现了几百种抗菌肽, 其中有些已经分离提取了出来, 并对其结构、抗菌活性等作了许多的研究, 发现其抗菌活性高效、广谱, 并且本身无毒、无害^[1,2]。天然的抗菌肽主要存在于生物体中的中性粒细胞、舌部、气管和小肠表面, 其自身携带有大量的正电荷^[2,3]。尽管目前人们对其抗菌机理还

没有完全弄清楚, 但比较一致的观点认为, 它们是通过横跨膜内外的离子通道的形成来达到杀菌作用的, 并且这种作用不需要特殊的受体^[2-6]。正是由于这种独特的作用机制, 许多人认为其不易产生耐药性, 是一种高效安全的预防、治疗疾病的药物^[6]。本试验通过体外试验研究, 比较了 7 种抗菌肽和 4 种临床使用的抗生素对几种革兰氏阳性菌和阴性菌的抑菌效果, 旨在为抗菌肽替代抗生素应用于生产提供资料。

1 材料与方法

1.1 主要试剂、药品及设备 抗菌肽 cecropin P1(猪)、cecropin A(猪)、magainin 2(蛙)、defensin 1 HNP-1(人)、bactenecin(牛)、indolicidin 和 lactoferricin(牛), 购自美国肽公司(American Peptide Company), 其氨基酸序列见表 1; 4 种抗生素为盐酸金霉素(Chlortetracycline hydrochloride)、去甲万古霉素(Demethylvancomycin)、土霉素(Oxytetracycline)和强力霉素(Doxycycline), 购自中国药品生物制品检定所; 琼脂粉(纯化), 购自中国医药(集团)上海化学试剂公司; Peptone 和 yeast extract, 购自 OXO D 公司; 琼脂糖(agarose), 购

收稿日期: 2003-03-10

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30040036); 浙江省人才培养专项基金资助项目(RC01053)

作者简介: 汪以真(1965-), 男, 教授。

E-mail: yzwang@zju.edu.cn

Histiocytic Ultrastructure of Testes in Cocks Raising at Different Dietary Concentrations of Selenium

ZHANG Jian-xin, YU E Wen-bin, LI Hong-quan, HE Jun-ping (College of Animal Science and Technology, Shanxi Agricultural University, Taiyuan, Shanxi 030801, China)

Abstract To observe the influence of selenium on the histiocytic ultrastructure in cocks testes 180 cocks were divided into 6 groups at one day old. The CK group was supplied basic feed which contains the selenium of 0.026-0.031 mg/kg. From 1st group to 5th group the cocks were supplied sodium selenite 1, 5, 10, 15, 20 mg/kg respectively. The cocks were killed at 22-week-old and the histiocytic ultrastructure of the testis tissue was observed. The result showed that as the sodium selenite content increased in ration, the damages in testes tissues became serious. Cell nucleus of seminiferous tubule epithelial cell became irregular, nucleus membrane partly dissolved, and chromatin flowed out of cell nucleus. Moreover, endoplasmic reticulum were enlargement, mitochondria disappeared and vacuoles formed. But the testes tissues of 1st group developed well, suggesting that the sodium selenite content of cock's ration should not be more than 1 mg/kg.

Key words: cock; testes tissue; sodium selenite concentration; microstructure and ultrastructure