

含酚棉籽饼对公兔抗精子 发生效应的研究

李凤元 张志强 刘玉翠 李宏

(河北省科学院生物研究所)

张宝顺

(河北省保定新生种兔场)

摘 要

以占日粮不同比例的含酚棉籽饼喂饲公兔后, 观察了睾丸曲细精管的组织学变化, 以探讨含酚棉籽饼对公兔的抗精子发生效应和饲用方法。当棉籽饼占日粮的5%、喂饲20天时, 公兔睾丸生精上皮正常, 能产生形态正常的精子; 同样的比例、喂饲40天, 或棉籽饼在日粮中超过10%喂饲20天, 均可导致睾丸生精上皮蜕化, 精子形成受阻。试验表明, 以含酚棉籽饼喂饲公兔的适宜量, 40天内不应超过日粮的10%, 60天内不应超过日粮的5%。睾丸生精上皮受损时并无因进食含酚棉籽饼而出现的临床中毒症状。同时观察到血清丙谷转氨酶(SGPT)在任何添加比例下, 20天时均有升高, 无随喂饲时间延长进一步升高的趋向。

前 言

我国1984年产棉花607.7万吨〔1〕, 大约可产棉籽饼1600万吨。棉籽饼含蛋白质16.2~20.7%, 去壳棉仁饼含蛋白质高达31.3~40.8%〔2〕, 可能成为畜禽饲料的蛋白来源之一。但由于目前种植的大部分棉花其种子中含有大量的游离棉酚(Free-Gossypol), 可导致畜禽中毒(Wither and Carruth, 1915, 1916; Couch et al., 1955; Rigdon et al., 1958)。

本世纪七十年代以来, 我国医学界深入地研究了棉酚的抗生育效应, 证明对雄性实验动物的主要作用是抗精子发生效应〔3〕。此种效应发生在受试动物产生临床中毒症状之前。

本项研究的目的是以现有的知识和方法去探索以占日粮不同比例的含酚棉籽饼喂饲公兔, 在产生临床中毒症状之前的抗精子发生效应, 以及此效应的产生与加入棉籽饼的量和饲喂时间的关系, 从而评价含酚棉籽饼的饲用价值。

材 料 和 方 法

一、试验兔的选择

选择性发育成熟的健康肉用青年种公兔54只, 按组体重相等分成9组, 预试一周, 剔除病兔。

二、分组及饲料配方

(一) 棉籽饼组: 分设4个小组, 每小组6只公兔, 分别投饲占日粮5%、10%、

* 本文于1985年6月18日收稿。

15%、20%的棉籽饼粉, 并相应调整日粮中其它成分的比例。所用棉籽饼系以土法榨制的带壳棉籽饼, 以苯胺比色法〔4〕测得含游离棉酚0.137%。

(二) 醋酸棉酚组: 分设4个小组, 每小组6只公兔, 投给基本日粮, 并按棉籽饼各小组日粮的棉籽饼中通过计算所得的游离棉酚含量, 分别加入相应量的醋酸棉酚粉剂(西安油脂化工厂提供), 与棉籽饼组做比较。

表1 各组日粮搭配* 单位: %

分 组	成 分	玉米粉	小麦麸	大豆饼	棉籽饼粉	骨粉	草粉	合 计
		配 比						
棉籽饼组	1	40	4	9	5	2	40	100
	2	39	4	5	10	2	40	100
	3	39	2	2	15	2	40	100
	4	38	0	0	20	2	40	100
醋酸棉酚组		36	10	12	0	2	40	100
对照组		36	10	12	0	2	40	100

*不含棉籽饼和醋酸棉酚的为基本日粮

表2 各组10日量饲料中棉籽饼、醋酸棉酚含量

棉籽饼组	组 号	只 数	组体重 (千克)	棉籽饼含 量(克)	平均每千 克体重每 日摄入的 棉酚量 (毫克)	醋酸 棉酚 组	组 号	只 数	组体重 (千克)	醋酸棉酚 含量 (克)	平均每千 克体重每 日摄入的 醋酸棉 酚含量 (毫克)
棉籽饼组	1	6	18.00	450	3.4	醋酸棉酚组	5	6	17.80	0.617	3.4
	2	6	17.75	900	6.9		6	6	17.80	1.233	6.9
	3	6	17.75	1350	10.4		7	6	17.85	1.850	10.4
	4	6	17.75	1800	13.9		8	6	17.85	2.466	13.9
对照组	9	6	17.80	0	0				0	0	

(三) 对照组: 公兔6只, 投以基本日粮, 作为空白对照。

各组日粮搭配见附表。每10日配料一次, 混合均匀。每日投料三次, 自由采食, 以吃饱而无剩余饲料为度。平均每日每千克体重采食混合料50克。

三、试验方法

1984年8月13日开始喂饲, 同年10月11日停喂, 历时60天。在试验的40、60天随机取样, 处死动物, 取睾丸组织块, 常规制片, 以苏木精-伊红染色, 进行组织学观察和显微摄影, 比较各组曲细精管内精子发生过程的变化。

结 果

一、受试兔均未出现棉籽饼中毒的临床症状。

二、睾丸曲细精管的组织学观察: 与对照组比较, 棉籽饼占日粮的5%、10%、15%40天时均有精子发生, 但15%组精子数量明显减少(照片B), 曲细精管的生精上皮比5%、10%两组变薄(5层)。棉籽饼占日粮的20%40天时, 精母细胞产生明显的核异固缩, 精子细胞数量减少, 无精子产生(照片C)。相应的棉酚各组均改变较轻。“20%”醋酸棉酚组虽无精子产生, 但生精上皮比20%棉籽饼组层次较多(7层, 照片D、E)。

当喂饲60天时, 受试各组与对照组比较曲细精管生精上皮均发生严重的退行性变。生精上皮只由2~4层细胞组成, 甚至只残留支持细胞, 各组管腔内出现不等量的脱落细胞, 或有多核细胞浸润(照片F), 均无精子产生。

试验表明,以含酚棉籽饼喂饲公兔,棉籽饼占日粮的15% (平均每千克体重每日摄入游离棉酚10.4毫克),40天时精子发生已受到干扰。棉籽饼占日粮的20% (平均每千克体重每日摄入游离棉酚13.9毫克),40天时,则无精子形成,产生了明显的抗精子发生效应。醋酸棉酚各组与相应的棉籽饼组比较,有类似的改变,但受损程度较轻。

喂饲60天,试验各组的睾丸曲细精管生精上皮均遭受严重损害,均无精子产生。抗精子发生效应十分明显。

讨 论

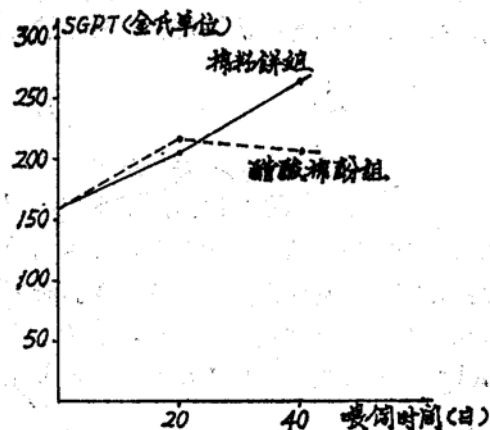
棉酚(Gossypol)是棉籽色素腺中所含的多酚二萜衍生物,分子式为 $C_{30}H_{30}O_5$ 。游离棉酚(Free-Gossypol)在其结构中的有活性的醛基和羟基具有毒性,并有蓄积效应,能导致畜禽的急性和蓄积中毒。游离棉酚与蛋白质、氨基酸(赖氨酸)结合形成无毒的“结合棉酚”。在棉籽中还含有棉紫素(Gossypurpurin)和棉绿素(Gossy-verdurin),它们是棉酚的异构体,但具有比棉酚更强的毒性。所以,棉酚含量不能代表棉籽饼中存在的总毒性。本试验中棉籽饼占日粮的5%、10%、15%、20%时,每组10日量饲料中游离棉酚含量分别为0.0617、0.1233、0.1850、0.2466克,平均每千克体重每日摄入的游离棉酚量分别为3.4、6.9、10.4、13.9毫克,在喂饲40天时每千克体重累积摄入的游离棉酚量分别为136.0、276.0、416.0、556.0毫克。组织学观察到睾丸曲细精管生精上皮各层细胞排列出现紊乱,已受到不同程度的损害。与其相对应的醋酸棉酚各小组受损较轻。从而证明了棉籽饼的毒性高于醋酸棉酚毒性的结论。本试验所用公兔均系青年种用公兔,品种纯度较高,对棉毒可能具有较高的敏感性。

二、试验中同时做了精液质量检验。在喂饲40天时,15%和20%棉籽饼组的精液稀薄,精子数量低于0.55亿/毫升(对照组为2.2亿/毫升)。15%组活动不良和畸形精子占84%,而20%组则仅可见到少量畸形精子,无正常精子。表明喂饲40天时15%和20%棉籽饼组精子发生过程确已受到干扰。

三、本试验检测了血清谷-丙转氨酶(SGPT)水平。文献报告家兔SGPT正常值变动很大,且有品种差异^[5]。本试验以金(King)氏改良赖氏法^[6]对6只比利时公兔测得正常值为158(S=8.3)金氏单位。

喂饲20天、40天的SGPT结果如右图所示。

棉籽饼组与对照组比较($F=20.115$, $F_{0.01}=9.33$)差异极显著($P<0.01$);醋酸棉酚组与对照组比较($F=33.209$, $F_{0.01}=9.33$)差异极显著($P<0.01$);受试两组的SGPT平均值,在20天、40天时比较($F=1.193$, $F_{0.01}=8.9$),差异



受试公兔SGPT的变化

不显著 ($P > 0.01$)。说明在喂饲20天后试验各组与对照组比较均有SGPT的升高, 但SGPT值的改变并不随喂饲时间的延长进一步增加。关于SGPT变化的规律还应进一步探索。

四、本试验在喂饲40天、60天时取材进行肝、肾、脾的组织学观察, 均未发现异常改变。此种结果似乎证明了睾丸曲细精管生精上皮和精子发生过程对棉毒的高度敏感性〔8〕。

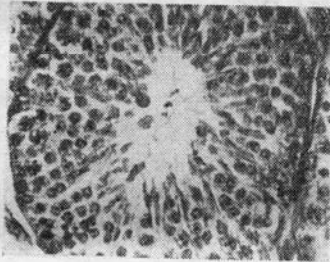
五、试验所用材料均系生长发育成熟的青年公兔, 未能观察棉籽饼对仔兔生长、发育是否发生影响。因条件所限, 也未做受胎率和停喂后恢复情况的观察。

六、本研究表明, 喂饲含酚棉籽饼后所导致的抗精子发生效应和SGPT的升高, 均早于临床中毒症状的出现。所以, 对畜禽棉籽饼中毒的诊断标准应给予重新评价。

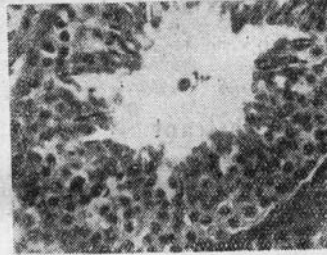
七、综上所述, 以含酚棉籽饼喂饲种公兔, 棉籽饼占日粮的5%时, 不宜超过20天。种兔场应避免应用含酚棉籽饼。若以含酚棉籽饼饲用时需经安全可靠的脱毒处理。

照片说明:

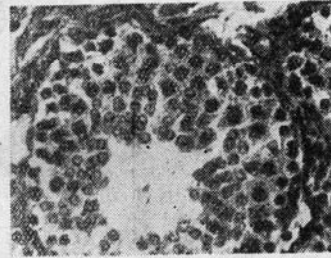
喂饲含酚棉籽饼或醋酸棉酚后家兔的睾丸组织学改变 (苏木精-伊红染色, $\times 160$)



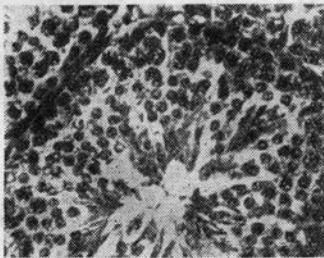
A. 对照组家兔正常睾丸曲细精管生精上皮各级生精细胞的结构和排列次序。



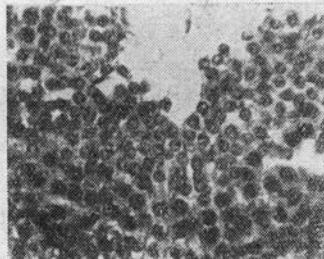
B. 喂饲15%棉籽饼40天时, 家兔睾丸曲细精管的各级生精细胞变得疏松, 粗线期精母细胞核异固缩, 精子细胞减少, 但仍可见到精子。



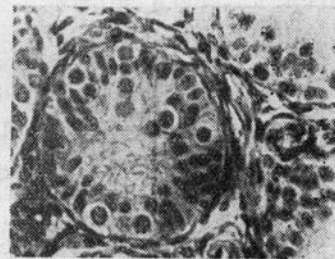
C. 喂饲20%棉籽饼40天时, 生精上皮更加疏松, 精母细胞核异固缩, 无精子产生。



D. 喂饲“15%”醋酸棉酚组, 示仍有精子发生。



E. 喂饲“20%”醋酸棉酚组, 与相应的棉籽饼组比较改变略轻, 仍有少量精子。



F. 含酚棉籽饼占日粮的5%, 喂60天时, 家兔睾丸曲细精管各级生精细胞脱落, 退化, 无精子产生, 只残存支持细胞并有多核细胞浸润。

参 考 文 献

- [1] 宋平, 1985, 关于1985年国民经济和社会发展计划草案的报告。人民日报, 1985年4月13日第2版。
- [2] 青海省海西自治州计划委员会, 海西自治州农牧科学研究所, 1977, 海西科技(饲料营养专辑), 2, 248~251。
- [3] 薛社普等, 1983, 男用节育的研究。第1版, 2~8、218~224, 北京, 人民卫生出版社。
- [4] 中华人民共和国卫生部, 1978, 食品卫生检验方法(理化部分)。112~113, 北京, 技术标准出版社。
- [5] 芦宗藩主编, 1983, 家畜及实验动物生理生化参数。第1版, 190~191, 北京, 农业出版社。
- [6] 福州部队总医院, 1984, 临床医学检验。第1版, 328~330, 上海, 科学技术出版社。

EFFECTS OF COTTONSEED CAKE CONTAINING GOSSYPOL ON ANTISPERMATOGENESIS OF MALE RABBIT

Li Fengyuan, Zhang Zhiqiang, Liu Yucui, Li Hong
(*Institute of Biology, Hebei Academy of Sciences*)

Zhang Baoshuen

(*Baoding Xinsheng Breeding Rabbit Farm*)

Abstract

It was demonstrated that including cottonseed cake (contained 0.137% free gossypol) in different proportions in male rabbit diet resulted in histological degeneration of seminiferous epithelium. The degree of degeneration positively correlater with the percentages of cottonseed cake included in the diet and the duration of feeding. Before appearing the gossypol poisoning symptoms clinically the effect of antispermatogenesis has been shown histologically. No histological changes were observed in liver, kidney and spleen.

Meanwhile the serum glutamic-pyruvic transaminase (SGPT) rose remarkably at any proportions included. The experiment shows that continuous feeding 5% cottonseed cake containing gossypol in the diet over 20 days is not suggested. It was postulated that the diagnostic standard for animals poisoned by cottonseed cake might should be reevaluated.