

大豆异黄酮对香猪睾丸形态及精子发生标志基因表达的影响

范觉鑫^{1,2} 张彬¹ 李丽立^{2*} 袁晓雪² 王水莲³ 谢婷³ 耿梅梅²

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 长沙 410128; 2. 中国科学院亚热带农业生态研究所, 动物生态营养与健康养殖联合实验室, 亚热带农业生态过程重点实验室, 长沙 410125; 3. 湖南农业大学动物医学院, 长沙 410128)

摘要: 为研究大豆异黄酮(soybean isoflavones, SI)对香猪睾丸形态及精子发生标志基因表达的影响,选择40头健康的28日龄雄性香猪,随机分成4组,每组10个重复,每个重复1头猪。1、2、3和4组分别在基础饲料中添加0、125、250和500 mg/kg SI,饲喂60 d后从各组分别随机选取5头屠宰,采取睾丸样品,分析睾丸的组织形态及E型钙粘连蛋白1(*Cdh1*)、联合会合体蛋白3(*SCP3*)、过渡蛋白1(*Tnp1*)和波形蛋白(*Vim*)基因的表达。结果表明:各添加水平的SI均造成了睾丸曲细精管中空泡的形成,减少了管腔中成熟精子的数量;饲料添加SI极显著降低了睾丸组织*Cdh1*、*SCP3*和*Tnp1*基因的表达量($P < 0.01$);添加250 mg/kg的SI显著降低了睾丸组织*Vim*基因的表达量($P < 0.05$)。由此可知,饲料添加125、250、500 mg/kg的SI对香猪睾丸形态有明显损伤,抑制了精子发生标志基因的表达;250 mg/kg SI显著抑制猪睾丸支持细胞标志基因表达。

关键词: 大豆异黄酮;香猪;睾丸组织形态;精子发生;基因表达

中图分类号: S816.7; S828

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2012)10-2021-07

大豆异黄酮是自然界中广泛存在的植物雌激素之一,具有类似 β -雌二醇的结构^[1],能和雌激素受体结合,产生类雌激素的作用。目前已在雄性动物的睾丸中发现雌激素受体(ERs)的表达,近年来也有报道表明大豆异黄酮抑制了雄性动物的睾丸发育^[2],导致精子数减少、活力下降^[3]、精子畸形率上升^[4],提示大豆异黄酮等类雌激素可通过与睾丸中的雌激素受体结合而影响睾丸发育。

睾丸是雄性动物的主要生殖器官,其发育程度直接影响雄性动物的生殖机能。精子发生是雄性生殖细胞经过减数分裂从二倍体的精原细胞分化成单倍体精子的复杂过程,包括一系列复杂的有丝分裂和减数分裂,需要多基因的程序性表达

来调控^[5]。其中,E型钙粘连蛋白1(E-cadherin protein 1, *Cdh1*)基因被证明是A型精原细胞的标志基因^[6],联合会合体蛋白3(synaptonemal complex protein 3, *SCP3*)基因是雄性生殖细胞中联合会合体形成的必需的基因,同时对精母细胞中染色体联会、减数分裂和精子发生也起着重要作用^[7],过渡蛋白1(transition protein-1, *Tnp1*)则是在圆形精子细胞中合成的关键基因^[8],通过监测这些基因的表达能较好地反映雄性动物的精子发生情况。精子发生的部位位于曲细精管内,睾丸支持细胞通过相互之间的紧密连接形成血-睾屏障的一部分,维持精子发生的稳定环境。波形蛋白(vimentin, *Vim*)在维持睾丸支持细胞的细胞骨

收稿日期: 2012-04-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30972118); 湖南省自然科学基金资助项目(08JJ3080)

作者简介: 范觉鑫(1988—),男,湖南长沙人,硕士研究生,从事畜禽营养生理研究。E-mail: fjsx8804@163.com

* 通讯作者: 李丽立,研究员,硕士生导师, E-mail: lili@isa.ac.cn

架、睾丸支持细胞与生精细胞的黏附起着重要作用。

目前关于大豆异黄酮等植物雌激素对雄性动物生殖发育的研究大多还停留在表观阶段,缺乏对其机制的研究。本文旨在以雄性香猪为模型,应用组织切片及实时定量 PCR (qRT-PCR) 技术探讨饲料中添加不同水平的大豆异黄酮对雄性动物睾丸组织形态,精子发生各阶段标志基因的表达的影响,为大豆异黄酮在动物生产中的正确使用提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验设计

以单因子试验设计,在广西环江某香猪养殖

场选择 40 头健康的 28 日龄雄性香猪,随机分成 4 组,每组 10 个重复,每个重复 1 头猪。1、2、3 和 4 组分别在基础饲料中添加 0、125、250 和 500 mg/kg 大豆异黄酮(纯度 80%,购自湖南王中华生物技术有限公司,高压高效液相色谱仪法测得其中含大豆苷元 10.2%、染料木黄酮 6.34%、雌马酚 0.03%),添加水平参照文献[9]设定,试验周期为 60 d。根据仔公香猪的营养需求和生理特点配制饲料。饲料组成及营养水平见表 1。饲料中不含豆类及其他富含植物雌激素的成分。试验过程中,猪只单栏饲养,喂料时将准备好的不同剂量的大豆异黄酮水溶液准确加入各组饲料中,并加以适量的水充分混匀。试验全期猪只自由饮水。

表 1 饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of diets (DM basis)

%

项目 Items	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
原料 Ingredients				
大豆异黄酮 Soybean isoflavones		0.012 5	0.025 0	0.050 0
玉米 Corn	62.000 0	61.990 0	61.980 0	61.950 0
鱼粉 Fish meal	8.000 0	8.000 0	8.000 0	8.000 0
乳清粉 Whey powder	5.000 0	5.000 0	5.000 0	5.000 0
菜籽粕 Rapeseed meal	8.000 0	8.000 0	8.000 0	8.000 0
麦麸 Wheat bran	10.000 0	10.000 0	10.000 0	10.000 0
脂肪粉 Fat powder	3.000 0	3.000 0	3.000 0	3.000 0
预混料 Premix	4.000 0	4.000 0	4.000 0	4.000 0
合计 Total	100.000 0	100.000 0	100.000 0	100.000 0
营养水平 Nutrient levels				
消化能 DE/(MJ/kg)			13.390 0	
粗蛋白质 CP			15.338 0	
赖氨酸 Lys			0.785 7	
蛋氨酸 + 胱氨酸 Met + Cys			0.556 4	
钙 Ca			0.618 1	
磷 P			0.667 4	

每千克预混料含有 One kilogram of premix contained the following: VA 301 000 IU, VD₃ 52 800 IU, VE 742 IU, VK₃ 71 mg, VB₁ 30 mg, VB₂ 177 mg, VB₆ 32 mg, VB₁₂ 0.8 mg, 烟酸 nicotinic acid 1 073 mg, 泛酸 pantothenic acid 540 mg, 叶酸 folic acid 22.0 mg, 生物素 biotin 3.0 mg, 胆碱 choline 8 g, Fe 2.0 g, Cu 1.0 g, Zn 3.5 g, Mn 1.3 g, I 14 mg, Co 35.0 mg, Se 8.3 mg。

1.2 采样

饲养结束后,每组随机抽取 5 头猪屠宰。宰前禁食 12 h,称取体重后颈静脉放血处死,分离双侧睾丸组织。将左侧睾丸分切,放入 10% 中性福尔马林中固定;右侧睾丸组织分切后,用锡箔纸包好,液氮速冻,并转移至 -80 °C 冻存。

1.3 石蜡切片制作

将固定好的睾丸组织,用手术刀切为 1.5 cm³ 的小块,冲洗杂质后,用不同浓度的酒精脱水,二甲苯透明处理,石蜡包埋,切片机切片至 5 μm 厚,进行苏木精-伊红(HE)染色,光学显微镜观察切片并照相。

1.4 引物检测及 qRT-PCR

将冻存的睾丸组织取出,于液氮中研磨至粉末,加 100 mg 至分装好的 Trizol 溶液中。采用 Trizol 法进行组织总 RNA 提取,用美国 Fermentas 公司生产的试剂盒进行 RNA 纯化,以 2 μg 总 RNA 为模板,采用美国 Promega 公司的反转录试剂盒合成 cDNA 备用。

引物设计好后,交由上海生工生物工程技术有限公司合成。以 2 μL 混合 cDNA 模板、5 μL 2 \times 混合 dNTP(购自天根生化科技有限公司)、2.6 μL 二乙基焦磷酸胺(DEPC) 水、上游和下游引物各 0.2 μL (10 $\mu\text{mol/L}$, PCR 引物序列见表 2), 混合成 10 μL 体系进行反转录 PCR, 以检测引物特异性。扩增程序为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 4 min 将模板变性; 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 1 min, 40 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min; 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存。将扩增产物以 2% 的

琼脂糖凝胶电泳分离, 美国 Bio-Rad 公司的显影系统照相。

运用 qRT-PCR 技术检测睾丸组织 *Cdh1*、*SCP3*、*Tnp1* 及 *Vim* 基因的表达。qRT-PCR 反应按照试剂盒(大连宝生物)说明进行两步法的 PCR 扩增。反应程序为(10 μL 体系): 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 34 s, 40 个循环, 溶解曲线程序采用仪器自带的程序, 为 95 $^{\circ}\text{C}$ 15 s; 95 $^{\circ}\text{C}$ 60 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 15 s。扩增结果采用阈值循环(Ct)法进行相对定量, 结果以 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 表示^[10]。

1.5 数据分析

试验数据用 Microsoft Excel 2007 进行预处理后, 用 SPSS 17.0 对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 LSD 多重比较, 结果以平均值 \pm 标准误差表示, 以 $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

表 2 PCR 引物序列

Table 2 Sequences of primers for the PCR

基因 Genes	登录号 Accession No.	序列 Sequences(5'—3')	产物长度 Product size/bp
β -肌动蛋白 β -actin	AK392362.1	上游: TGC GGG ACATCAAGGAGAAG 下游: AGT TGA AGGTGGTCTCGTGG	216
E 型钙粘连蛋白 1 <i>Cdh1</i>	NM_001163060.1	上游: TCTCTCTGCTCTCTCTGCTGCTGTTG 下游: GCCCACTTTGAATCGGGTGTTCAT	214
过渡蛋白 1 <i>Tnp1</i>	XM_003133647.1	上游: CCAGCCGCAAGTTAAAGAGCCAT 下游: TCTGTTGCTGCCTGGTGTCTTGG	215
波形蛋白 <i>Vim</i>	DQ190948.1	上游: ATGCGGCTGCGGGAGAAGTT 下游: GGACGTGCTGTTTCTGGATCTGAG	217
联合会合体蛋白 3 <i>SCP3</i>	XM_003126677.1	上游: CGGGAAATCTGGAAAGCCATCC 下游: CTGCCTTTGCTCTTGCTGGGTTT	331

2 结果

2.1 大豆异黄酮对香猪睾丸组织形态的影响

通过对各组香猪睾丸组织切片观察可知, 1 组香猪睾丸精原细胞、精子细胞和精子结构均正常, 曲细精管腔内有较多的成熟精子, 只有少量空泡(图 1-A), 2、3 和 4 组曲细精管内均出现较多且大空泡, 精母细胞和精子细胞数量减少(图 1-B、图 1-C 和图 1-D)。

2.2 引物特异性检测

由图 2 可知, 用反转录 PCR 扩增 β -肌动蛋白(β -actin)、*Cdh1*、*SCP3*、*Tnp1* 和 *Vim* 基因均能得到较特异的产物, 产物的大小和引物设计时的产

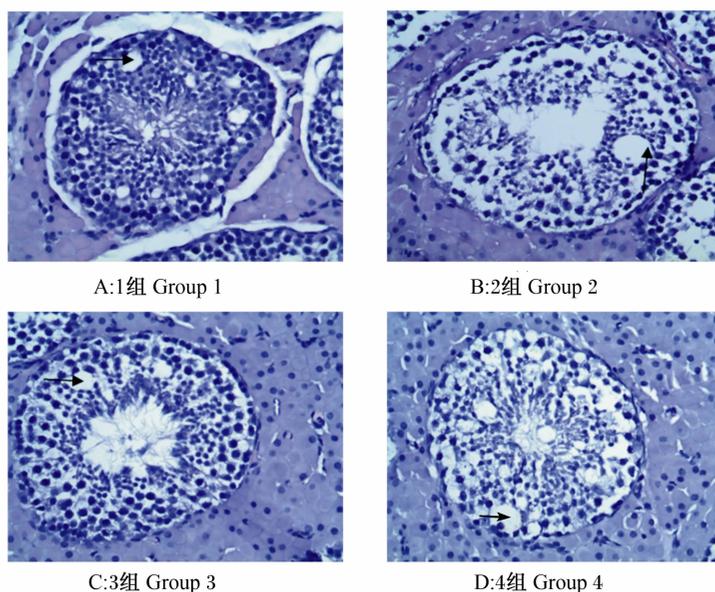
物大小相符, 说明这些引物均具有一定的代表性。

2.3 香猪睾丸组织 *Cdh1*、*SCP3*、*Tnp1* 基因的表达量

由图 3 可见, 饲料中添加大豆异黄酮极显著降低了 A 型精原细胞标志基因 *Cdh1*、减数分裂联合会合体蛋白基因 *SCP3* 和精细胞过渡蛋白基因 *Tnp1* 的表达量($P < 0.01$), 2、3 和 4 组间无显著差异($P > 0.05$)。

2.4 香猪睾丸组织 *Vim* 基因的表达量

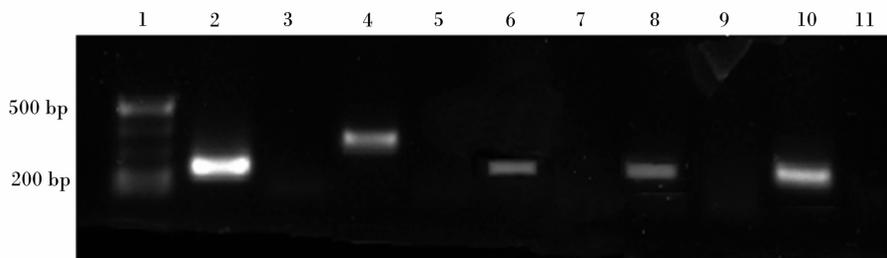
由图 4 可见, 与 1 组相比, 3 组睾丸支持细胞的结构标志物 *Vim* 基因的表达量显著降低了($P < 0.05$)。



箭头所示为空泡。Vacuoles were signed with arrows.

图 1 大豆异黄酮对香猪睾丸组织形态的影响

Fig. 1 Effects of soybean isoflavones on tissue morphology of testis of *Xiang* pigs (400 ×)



1: 分子质量标准 molecular weight marker, 2: 过渡蛋白 1 *Tnp1*, 3: 2 孔空白对照 blank control of lane 2, 4: 联会复合体蛋白 3 *SCP3*, 5: 4 孔空白对照 blank control of lane 4, 6: E 型钙粘蛋白 1 *Cdh1*, 7: 6 孔空白对照 blank control of lane 6, 8: β -肌动蛋白 β -actin, 9: 8 孔空白对照 blank control of lane 8, 10: 波形蛋白 *Vim*, 11: 10 孔空白对照 blank control of lane 10。

空白对照均以 DEPC 水代替模板 cDNA。The cDNA of blank control was substituted with DEPC water.

图 2 各基因反转录 PCR 扩增结果

Fig. 2 Amplification results of genes by the reverse transcription PCR

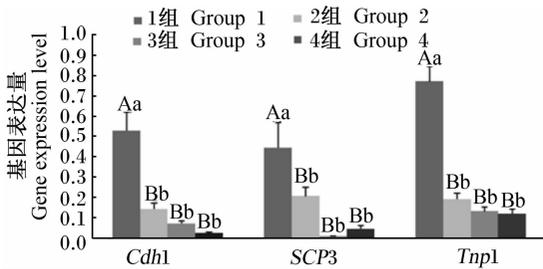
3 讨论

睾丸是雄性动物生成生殖细胞,分泌性激素,维持第二性征的重要器官,内源性和外源性物质的作用均能影响其发育和功能的发挥。目前关于大豆异黄酮对雄性动物生殖器官发育的研究有所增加,证明其能与生殖器官上的雌激素受体结合,影响动物的生殖功能。

哺乳动物精子在睾丸的曲细精管中发生。曲细精管由固有层和生殖上皮组成,而生殖上皮又包含生精细胞和睾丸支持细胞^[11]。睾丸支持细胞

是曲细精管中唯一的体细胞,它们通过曲细精管基部的紧密连接形成血-睾屏障,伸向曲细精管腔来包裹不同发育阶段的生殖细胞,为生殖细胞的分化和增殖提供营养及调节物质^[12]。本试验得出,在香猪饲料中添加 125 ~ 500 mg/kg 水平的大豆异黄酮均对曲细精管的形态产生了一定的负面影响,导致曲细精管内生成较多且大的空泡,管腔内成熟精子减少,这与 Delclos 等^[13]的研究结果有相似之处,该试验给 SD 孕鼠及仔鼠饲喂不同浓度的染料木黄酮发现,1 250 mg/kg 的染料木黄酮导致仔公鼠曲细精管中畸形精子数增加,精子发

生延迟。Katarzyna 等^[14]也发现大豆异黄酮导致某些大鼠曲细精管中未成熟生殖细胞的脱落和曲细精管的内陷。鉴于大豆异黄酮对精子发生的可能性抑制和曲细精管空泡的形成,本试验进一步探讨了精子发生各阶段标志基因及睾丸支持细胞结构基因的表达量,以进一步阐明大豆异黄酮损坏曲细精管的机制。



数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。图 4 同。

Data columns with different small letters mean significant difference ($P < 0.05$), and with different capital letters mean significant difference ($P < 0.01$). The same as Fig. 4.

图 3 香猪睾丸组织 *Cdh1*、*SCP3*、*Tnp1* 基因的表达量

Fig. 3 The expression levels of *Cdh1*, *SCP3* and *Tnp1* genes in testis tissue of Xiang pigs

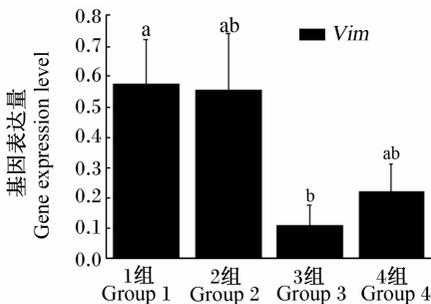


图 4 猪睾丸组织 *Vim* 基因的表达量

Fig. 4 The expression levels of *Vim* gene in testis tissue of Xiang pigs

Cdh1 基因是 A 型精原细胞中的标志基因, Tokuda 等^[6]报道了 *Cdh1* 基因在小鼠睾丸里 A 型未分化精原细胞中特异表达。本试验中各添加水平的大豆异黄酮均极显著降低了 *Cdh1* 基因的表达,提示在香猪饲料中添加大豆异黄酮可能抑制了 A 型精原细胞的分化和增殖。*SCP3* 基因是减数分裂联会时期表达的关键基因,*SCP3* 基因表达的缺失或基因突变可引起联会复合体的异常或功

能丧失,使减数分裂发生失败或产生非整倍体配子^[15]。*Tnp1* 基因的 mRNA 在圆形精子细胞中合成,在长形精子细胞中被激活指导翻译^[8],其突变体的生育力降低^[16]。低、中、高剂量水平的大豆异黄酮均降低了猪睾丸组织 *Cdh1*、*SCP3* 和 *Tnp1* 基因的表达,说明大豆异黄酮对精原细胞的分裂和分化以及减数分裂过程中的联会和精子细胞的变态反应有抑制作用,这 3 个基因的显著降低提示大豆异黄酮可能抑制香猪的精子发生,减少睾丸中的精子数量,这与睾丸组织切片的结果部分一致。Della-Maria 等^[17]研究也发现 β -雌二醇抑制鼠雄激素结合蛋白共培养的睾丸支持细胞的 *Tnp1* 基因的表达,说明大豆异黄酮对精子发生的抑制是以雌激素样作用实现的。

Vim 的中间丝介导邻近睾丸支持细胞间形成紧密连接、睾丸支持细胞与生殖细胞间形成桥粒样连接及生殖细胞与高级生殖细胞间形成外质膜特异连接^[18],主要在睾丸支持细胞中表达,在维持睾丸支持细胞的细胞骨架、睾丸支持细胞与生精细胞的粘附及两者间的信号传递等方面起重要作用。本试验得出,250 mg/kg 的大豆异黄酮显著抑制了睾丸组织 *Vim* 基因的表达,提示 250 mg/kg 水平的大豆异黄酮可能影响了睾丸支持细胞的结构及其与精细胞的连接,从而导致了曲细精管中空泡的出现。

4 结论

饲料添加 125、250、500 mg/kg 的大豆异黄酮对香猪睾丸形态有明显损伤,抑制了精子发生标志基因的表达;250 mg/kg 大豆异黄酮显著抑制猪睾丸支持细胞标志基因表达。

参考文献:

- [1] AKINGBEMI B T, BRADEN T D, KEMPPAINEN B W, et al. Exposure to phytoestrogens in the perinatal period affects androgen secretion by testicular leydig cells in the adult rat [J]. *Endocrinology*, 2007, 148 (9): 4475 - 4488.
- [2] 周远忠, 申旭波, 袁国平, 等. 大豆异黄酮对雄性子代大鼠生殖系统影响 [J]. *中国公共卫生*, 2008, 24 (4): 450 - 451.
- [3] CHRISTOPHER R C, CELINE Z, JEAN-LOUIS B, et al. Potential detrimental effects of a phytoestrogen-rich diet on male fertility in mice [J]. *Molecular and Cellular*

- lar Endocrinology, 2010, 321: 152 – 160.
- [4] 杨科峰, 蔡美琴, 毛绚霞, 等. 大豆异黄酮对邻苯二甲酸二丁酯致小鼠遗传毒性的保护作[J]. 营养学报, 2008, 30(2): 199 – 202.
- [5] DE KRETZER D M, LOVELAND K L, MEINHARDT A, et al. Spermatogenesis[J]. Human Reproduction, 1998, 13(1): 1 – 8.
- [6] TOKUDA M, KADOKAWA Y, KURAHASHI H, et al. CDH1 is a specific marker for undifferentiated spermatogonia in mouse testes[J]. Biology of Reproduction, 2007, 76: 130 – 141.
- [7] YUAN L, LIU J G, ZHAO J, et al. The murine *SCP3* gene is required for synaptonemal complex assembly, chromosome synapsis, and male fertility[J]. Molecular Cell, 2000, 5(1): 73 – 83.
- [8] MARRET C, AVALLET O, PERRARD-SAPORI M H, et al. Localization and quantitative expression of mRNAs encoding the testis-specific histone TH2B, the phosphoprotein P19, the transition proteins 1 and 2 during pubertal development and throughout the spermatogenic cycle of the rat[J]. Molecular Reproductive Development, 1998, 51: 22 – 35.
- [9] PAYNE R L, BINDNER T D, SOUTHERN L L, et al. Effects of dietary soy isoflavones on growth, carcass traits, and meat quality in growing-finishing pigs[J]. Journal of Animal Science, 2001, 79: 1230 – 1239.
- [10] 纪冬, 辛绍杰. 实时荧光定量 PCR 的发展和数据分析[J]. 生物技术通讯, 2009, 20(4): 598 – 600.
- [11] YOKO S, SHIARI N, TERUAKI I. Study of spermatogenesis and thickening of lamina propria in the human seminiferous tubules[J]. Fertility and Sterility, 2008, 90(4): 1310 – 1312.
- [12] FUBIN W, QIANGGE Z, JINGLI C, et al. The microtubule plus end-binding protein EB1 is involved in Sertoli cell plasticity in testicular seminiferous tubules[J]. Experimental Cell Research, 2008, 314: 213 – 226.
- [13] DELCLOS K B, THOMAS J B, LARYY G L, et al. Effects of dietary genistein exposure during development on male and female CD (Sprague-Dawley) rats[J]. Reproductive Toxicology, 2001, 15: 647 – 663.
- [14] KATARZYNA P, IRENA B B, MARIOLA M, et al. Changes in male reproductive system and mineral metabolism induced by soy isoflavones administered to rats from prenatal life until sexual maturity[J]. Nutrition, 2011, 27(3): 372 – 279.
- [15] PELTTARI J, HOJA M R, YUAN L, et al. Meiotic chromosomal core consisting of cohesion complex proteins recruits DNA recombination proteins and promotes synapsis in the absence of an axial element in mammalian meiotic cells[J]. Molecular Cell Biology, 2001, 21: 5667 – 5677.
- [16] YU Y E, ZHANG Y, UNNI E, et al. Abnormal spermatogenesis and reduced fertility in transition nuclear protein 1-deficient mice[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2000, 97: 4683 – 4688.
- [17] DELLA-MARIA J, GERARD A, FRANCK P, et al. Effects of androgen-binding protein (ABP) on spermatid *Tnp1* gene expression *in vitro* [J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2002, 198: 131 – 141.
- [18] SOUAD H M, BEKHEET, RALF S. Disruption of gap junctional intercellular communication by antibiotic gentamicin is associated with aberrant localization of occludin, N-cadherin, connexin 43, and vimentin in SerW3 Sertoli cells *in vitro* [J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2009, 28: 155 – 160.

Soybean Isoflavones Affect Testis Morphology and Expression of Marker Genes during Spermatogenesis of *Xiang* Pigs

FAN Juexin^{1,2} ZHANG Bin¹ LI Lili^{2*} YUAN Xiaoxue²

WANG Shuilian³ XIE Ting³ GENG Meimei²

(1. *College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China*; 2. *Laboratory of Animal Nutrition and Human Health, Key Laboratory for Agro-Ecological Processes in Subtropical Region, Institute of Subtropical Agriculture, the Chinese Academy of Sciences, Changsha 410125, China*;
3. *College of Veterinary Medicine, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China*)

Abstract: To investigate the effects of soybean isoflavones (SI) on testis morphology and expression of marker genes during spermatogenesis of *Xiang* pigs, 40 healthy male pigs aged 28 days were selected and divided randomly into 4 groups with 10 replicates in each group and 1 pig per replicate. Pigs in groups 1, 2, 3 and 4 were fed a basal diet supplemented with 0, 125, 250 and 500 mg/kg SI, respectively. Five pigs in each group were slaughtered after 60 d of feeding, and the tissue of testis was sampled for the analysis of tissue morphology and gene expression of *Cdh1*, *SCP3*, *Tnp1* and *Vim*. The results showed as follows: supplementation of SI (all doses in the study) induced vacuolization in seminiferous tubules, and decreased the number of mature sperm in tubules; the supplementation significantly decreased the expression levels of *Cdh1*, *SCP3* and *Tnp1* genes ($P < 0.01$); the expression level of *Vim* gene was significantly decreased by 250 mg/kg SI ($P < 0.05$). In conclusion, dietary SI at doses of 125 to 500 mg/kg has obvious injury on testis morphology of *Xiang* pigs, and inhibits expressions of marker genes during spermatogenesis. Dietary SI at a dose of 250 mg/kg inhibits expression of the marker gene of sustentacular cell of testis. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(10):2021-2027]

Key words: soybean isoflavones; *Xiang* pigs; testis morphology; spermatogenesis; gene expression