

炔雌醚对雄性长爪沙鼠不育效果及其可逆性

沈伟¹ 郭永旺² 施大钊^{1*} 王登¹ 海淑珍¹

(1 中国农业大学农学与生物技术学院, 北京 100193) (2 全国农业技术推广服务中心, 北京 100125)

摘要: 为探讨炔雌醚对雄性长爪沙鼠生殖器官及繁殖的影响, 将试鼠随机分为多剂量组、单剂量组和对照组。多剂量组以每次 3.5 mg/kg·BW (5 次/周, 2 周)、单剂量组以 35 mg/kg·BW 炔雌醚灌胃。处理后 15 d、30 d、60 d、90 d 剖检, 观察性腺系数、精子质量和繁殖率等指标, H·E 染色观察附睾组织病理学变化。结果表明: 与对照相比, 炔雌醚处理后 15 d、30 d 给药组试鼠睾丸、附睾及精囊腺极度萎缩 ($P < 0.01$), 精子密度、精子活力和活精子百分率明显下降 ($P < 0.01$), 精子畸形率显著上升 ($P < 0.01$), 附睾管腔内充满大量发育异常的精子细胞, 繁殖率显著下降; 与单次给药相比, 多次连续给药对试鼠生殖器官影响更严重。处理后 60 d, 除多剂量组附睾外, 各组性腺基本恢复至对照水平, 单剂量组、多剂量组精子质量及繁殖率与对照仍有极显著差异 ($P < 0.01$)。90 d 后试鼠各项指标及繁殖率均恢复正常, 表现为可逆性。结果表明: 该药对长爪沙鼠不育效果明显; 多次低剂量给药较单次高剂量给药不育效果更好; 90 d 后, 炔雌醚对生殖器官和繁殖的影响能够恢复正常。

关键词: 炔雌醚; 长爪沙鼠; 不育; 可逆性

中图分类号: R965

文献标识码: A

文章编号: 1000-1050 (2011) 02-0171-08

Anti-fertility effect of quinestrol in male Mongolian gerbils (*Meriones sunculatus*) and its reversibility

SHEN Wei¹, GUO Yongwang², SHI Dazhao^{1*}, WANG Deng¹, HAI Shuzhen¹

(1 College of Agriculture and Biotechnology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

(2 National Agro-tech Extensions and Service Center, Beijing 100125, China)

Abstract: In this study, Mongolian gerbils were randomly divided into multi-dose treated group (MDT group), one-dose treated group (ODT group) and control group (CK group) to explore effects of quinestrol on reproductive organs and reproduction. The epididymides, seminal vesicles and semen quality, fertility were assessed at 15, 30, 60 and 90 days after treatment. Histopathological changes of epididymides were observed by H. E stain. Results showed that the coefficient of testes, epididymides, and seminal vesicles were significantly decreased ($P < 0.01$) at 15 or 30 days after treatment. The normal function of the sex gland was impaired, which led to significant decrease in the density and amount of live spermatozoa and reproductive rates ($P < 0.01$), as well as a significant increase of abnormal spermatozoa ($P < 0.01$) in both MDT group and ODT group. Compared with the ODT group, the damage for gerbil reproduction in MDT group was more severely at 15 or 30 days after treatment ($P < 0.01$). After 60 days of treatment withdrawal, the sex gland in treated group was normalized except for gerbil epididymides in the MDT group, while semen quality and reproductive rates were still lower than those in the control group ($P < 0.01$). The physiological indicators were recovered by 90 days of treatment withdrawal. This indicates that quinestrol shows certain effects on reducing the fertility of male gerbil with a reversible effect after 90 days' treatment and multi-dose treatment has more effects to infertility compared with one-dose treatment.

Key words: Infertility; Mongolian gerbil (*Meriones sunculatus*); Quinestrol; Reversibility

不育控制是近 20 年来兴起的动物控制技术 (Chambers *et al.*, 1997, 1999), 不育剂按其来源可分为化学不育剂及植物源抗生育剂。化学不育剂以激素或激素类衍生物为主, 植物源抗生育剂主要

为植物产生的次生代谢物。自 Davis 在 1961 年提出使用鼠类化学不育剂以来, 不育控制在鼠害防治上应用也愈来愈受到广泛关注 (张知彬, 1995; 高源, 1996, Twigg *et al.*, 1999, 2000; Shi *et al.*,

基金项目: “973” 鼠类种群生殖调控与不育控制机理资助项目 (2007CB109105)

作者简介: 沈伟 (1979-) 男, 硕士研究生, 主要从事动物药理学研究。

收稿日期: 2010-08-24; 修回日期: 2010-12-23

* 通讯作者, Corresponding author, E-mail: shidazhao@cau.edu.cn

2002)。在我国,张知彬等(1997)研究了 α -氯代醇(α -chlorohydrin)对雄性大仓鼠(*Tscherskia triton*)的不育效果;林统先等(1988)采用醋酸棉酚(Gossypol acetic acid)对褐家鼠(*Rattus norvegicus*)的抗生育作用进行研究;郑敏等(2008)测试了环丙醇类制剂对雄性布氏田鼠不育效果;张显理等(2005a, 2005b)报道了甲基炔诺酮(Norgestrel)对ICR雌性小鼠和甘肃鼯鼠(*Myospalax cansus*)不育效果明显。

炔雌醚(乙炔雌二醇-3-环戊醚)是以乙炔雌二醇为母体人工合成的长效雌激素,口服后经胃肠道吸收,贮存在脂肪组织内,缓慢释放达到长效避孕作用(上海第一医学院病理解剖学教研组,1978)。左炔诺孕酮-炔雌醚(Levonorgestrel-Quinestrol)复合剂是人工合成的女用避孕药,研究发现该制剂对灰仓鼠(*Cricetulus migratorius*)、布氏田鼠(*Lasiopodomys brandtii*)、子午沙鼠(*Meriones meridianus*)、大仓鼠(张知彬等,2004, 2005, 2006),黑线毛足鼠(*Phodopus campbell*) (宛新荣等,2006),长爪沙鼠(*Meriones unguiculatus*) (霍秀芳,2006, 2007)等都具有明显不育效果。张知彬等(2006)研究表明,炔雌醚可引起睾丸、附睾萎缩,导致精子数量减少,致使布氏田鼠、大仓鼠等多种鼠类雄性不育。但炔雌醚对雄性生殖器官影响的持续时间及停药后可恢复力的研究还比较少见。

本实验在室内环境下测定了炔雌醚对雄性长爪沙鼠繁殖功能的影响,并检测炔雌醚对雄性长爪沙鼠的不育效果及其可逆性,为探讨炔雌醚作为雄性不育剂机理提供基础资料。

1 研究方法

1.1 试鼠分组及处理

选健康成年发情雄性长爪沙鼠(捕自河北省康保县附近的农田)75只,于通风良好的室内单笼饲养,控制光照14L:10D,温度约25℃,供以充足饲料和水。配对适应后,驯养1周,随机分为对照组、单剂量组、多剂量组($n=25$ /组)分别灌胃给予35 mg/kg·BW (Body Weight)、3.5 mg/kg·BW 炔雌醚(购自北京紫竹天工科技有限公司),对照组以等量的食用油灌胃。单剂量组给药一次,多剂量组连续给药5 d,间隔2 d,再连续给药5 d;2种给药方式给药总量相等。首次给药后15 d、30 d、60 d、90 d称重剖检,取双侧睾丸、附睾、精囊腺

称重,计算脏器系数。

脏器系数 = 脏器重量(g) / 体重(g) × 100%。取左侧附睾尾37℃生理盐水中用眼科剪刀剪碎制成10%的组织匀浆用于精子质量检测。

1.2 精子质量检测

精子密度:血球计数板法,1%附睾尾组织匀浆,计数5个中方格中精子数N。

精子密度(个/mL) = $N \times 5 \times 10^4$ 。

精子活力:取1%的附睾尾组织匀浆,400倍光镜下随机计数200个精子中:快速前向运动(a级);慢速或呆滞的前向运动(b级);非前向运动(c级);不动(d级)4级精子的百分比(世界卫生组织,2001)。

精子顶体畸形率:10%附睾尾组织匀浆抹片,5 min晾干,95%酒精固定5 min,1%伊红(水溶)染色2 min,400倍光镜下观察200个精子,将精子顶体分为4级:正常、断头、回折、无顶体钩(Junko and Kazuo, 1986)。

1.3 繁殖率

试鼠首次给药后30 d、60 d、90 d后单剂量组、多剂量组和对照组各取5只与健康雌鼠1:1合笼,连续2周,每天早晨,对雌鼠进行阴道抹片,镜检发现精子者为合笼成功,记为孕1d,将孕鼠单笼饲养,分别记录雌鼠的分娩情况。

繁殖率 = 繁殖个数 / 配对总数 × 100%。

1.4 统计学处理

数据利用SPSS10.0统计软件处理,采用单因素方差分析(One Way ANOVA)检验多组独立样本平均值差异显著性,使用t检验法检验两组独立样本平均值差异显著性;繁殖率采用交叉列联表(Crosstabs)检验; $P < 0.01$ 为差异极显著, $P < 0.05$ 为差异显著;文中数据均符合正态分布,以均值±标准差(Mean ± SD)表示。

2 结果

2.1 炔雌醚对睾丸、附睾、精囊腺重量及脏器系数的影响

试验表明各处理组用药15 d、30 d后,睾丸、附睾、精囊腺重量,睾丸、附睾、精囊腺系数明显低于对照组(图1),15 d(睾丸 $F_{(2,12)} = 53.312$, $P < 0.001$;附睾 $F_{(2,12)} = 32.143$, $P < 0.001$;精囊腺 $F_{(2,12)} = 17.672$, $P < 0.001$),30 d(睾丸 $F_{(2,12)} = 43.334$, $P < 0.001$;附睾 $F_{(2,12)} = 28.113$, $P < 0.001$;精囊腺 $F_{(2,12)} = 7.578$, $P < 0.005$);单剂

量组及多剂量组组间差异显著, 15 d (睾丸: $t = 4.351$, $df = 8$, $P < 0.05$; 附睾: $t = 1.610$, $df = 8$, $P < 0.05$; 精囊腺: $t = 1.642$, $df = 8$, $P < 0.05$), 30 d (睾丸: $t = 3.349$, $df = 8$, $P < 0.05$; 附睾: $t = 3.280$, $df = 8$, $P < 0.05$; 精囊腺: $t = 2.651$, $df = 8$, $P < 0.05$)。60 d 后, 各组睾丸、精囊腺及单

剂量附睾的外观形态及重量明显恢复。多剂量组附睾系数仍明显低于对照 ($t = 2.590$, $df = 8$, $P < 0.05$)。90 d 后多剂量组试鼠附睾恢复到对照。说明炔雌醚可损伤生殖性腺; 多剂量组对性腺的损伤更严重; 性腺损伤 90 d 内具可逆性。

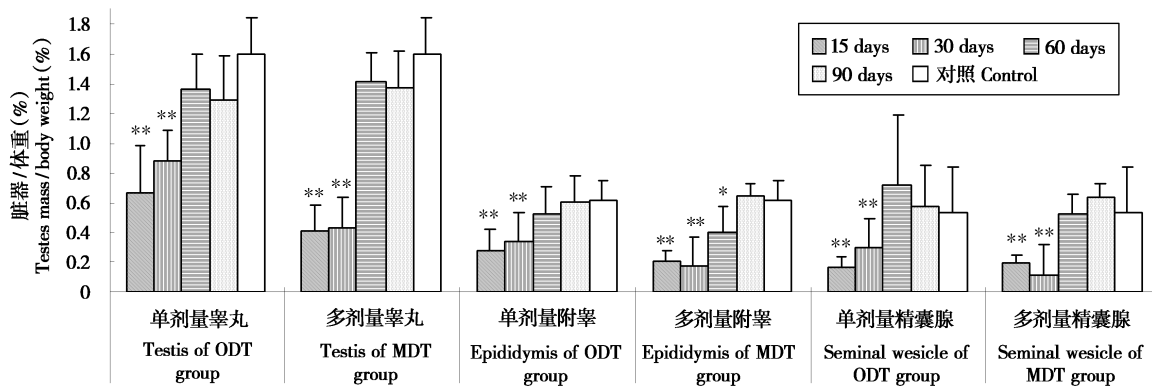


图 1 炔雌醚处理后 15 d、30 d、60 d、90 d 睾丸、附睾及精囊腺系数比较。 ** 表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); * 表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 1 Comparison of the coefficient for Testis, Epididymis and Seminal vesicle at 15, 30, 60, 90 days after the end of treatment with quinestrol. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control. ODT: One does treated; MDT: Multi does treated.

2.2 精子质量检测

2.2.1 精子密度及活力

两种给药方式均能显著降低附睾中精子密度 (图 2), 15 d ($F_{(2,12)} = 52.156$, $P < 0.001$), 30 d 精子密度稍升高但仍显著低于对照 ($F_{(2,12)} = 32.130$,

$P < 0.001$); 多剂量组精子密度明显低于单剂量组, 15 d ($t = 4.52$, $df = 8$, $P < 0.01$), 30 d ($t = 3.46$, $df = 8$, $P < 0.01$)。用药后 60 d, 多剂量仍明显低于对照 ($t = 3.65$, $df = 8$, $P < 0.01$), 单剂量基本恢复正常。90 d 后多剂量组也恢复正常。

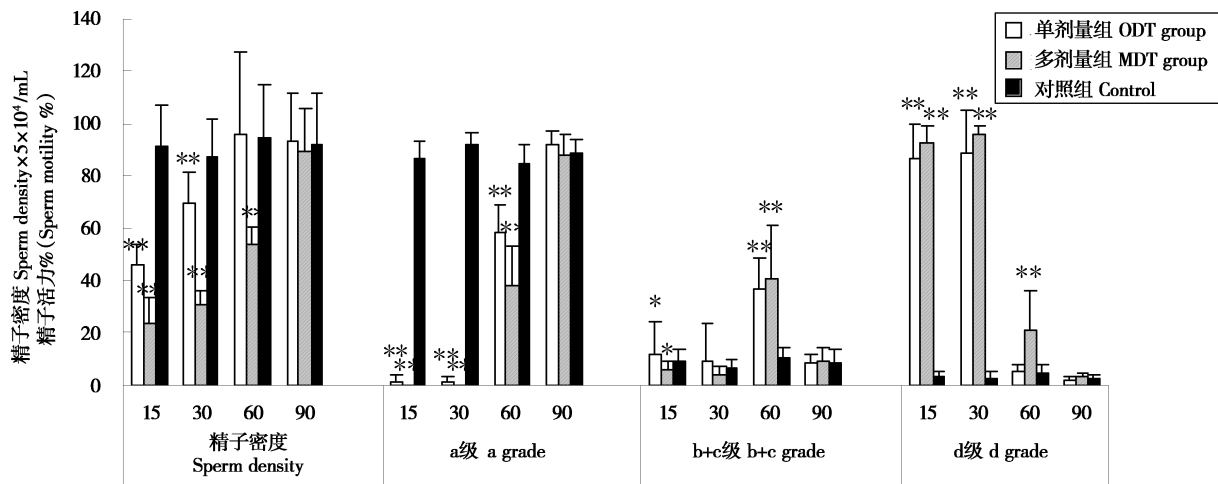


图 2 炔雌醚处理后 15 d、30 d、60 d、90 d 精子密度、活力比较。 ** 表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$); * 表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 2 Comparison of the sperm density and motility percentage at 15, 30, 60, 90 days after the end of treatment with quinestrol. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control. ODT: One does treated; MDT: Multi does treated

用药组试鼠精子活力明显低于对照, a 级精子显著降低, d 级精子显著升高 (图 2), 15 d (a

级: $F_{(2,12)} = 991.41$, $P < 0.001$; d 级: $F_{(2,12)} = 299.54$, $P < 0.001$), 30 d (a 级: $F_{(2,12)} = 947.03$,

$P < 0.001$; d 级: $F_{(2,12)} = 266.41$, $P < 0.001$), b + c 级精子各组差异不显著 (图 2); 两种给药方式间各级精子差异不显著。60 d 精子活力明显高于 30 d, 单剂量组, a、b、c 级精子显著增加, d 级精子降低 (a 级: $t = 5.279$, $df = 8$, $P < 0.001$; b + c 级: $t = 8.287$, $df = 8$, $P < 0.01$; d 级: $t = 6.728$, $df = 8$, $P < 0.001$), 多剂量组 (a 级: $t = 5.701$, $df = 8$, $P < 0.001$; b + c 级: $t = 8.651$, $df = 8$, $P < 0.01$; d 级: $t = 7.267$, $df = 8$, $P < 0.001$); 但活力仍明显低于对照, 表现为 a 级精子明显低于对照 (a 级: $F_{(2,12)} = 45.921$, $P < 0.001$), b、c、d 级精子明显高于对照 (b + c 级: $F_{(2,12)} = 13.814$, $P < 0.001$; d 级: $F_{(2,12)} = 9.997$, $P < 0.001$); 多剂量组 a 级显著低于, 而 d 级精子显著高于单剂量组 (a 级: $t = 6.546$, $df = 8$, $P < 0.001$; d 级: $t = 5.015$, $df = 8$, $P < 0.001$), b + c 级精子差异不显著。90 d 后各实验组试鼠精子活力恢复正常。说明炔雌醚能显著降低试鼠精子密

度、活力; 对精子的损伤具有可逆性; 多剂量组恢复较慢。

2.2.2 精子畸形率

由试验可知, 试鼠用药后精子顶体畸形率升高极显著 (图 3, 图 4)。多剂量组 15 d、30 d 精子断头率高达 93.23% 和 96.53%; 用药 60 d 后精子畸形率下降至 59.52%, 断头精子下降至 18.55%, 但回折、无顶体钩精子数分别增至 34.48%、8.33%, 占精子畸形率 69.77%。单剂量 15 d、30 d 精子畸形率达 90.31%、98.36%, 断头率占 67.15%、86.45%; 60 d 后畸形率下降到 41.01%, 断头率降至 3.58%, 但回折率升至 35.92%。用药 60 d 两种给药方式间精子畸形率差异显著 ($t = 1.953$, $df = 8$, $P < 0.01$)。90 d 后精子顶体恢复正常, 畸形率与对照差异不显著。说明精子顶体对炔雌醚极敏感, 多剂量损伤严重; 但具有可逆性。

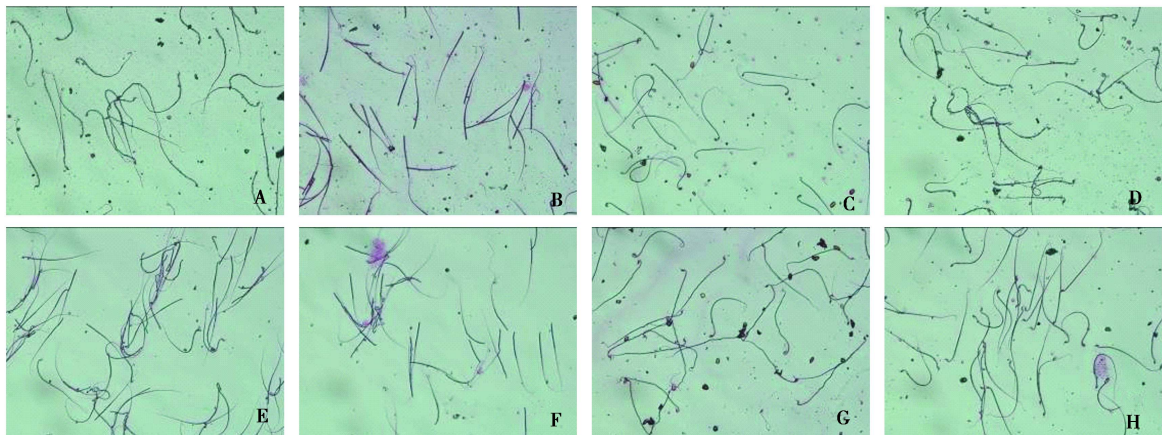


图 3 对照组 (A)、多剂量组 90 d (D)、单剂量组 90 d (H) 精子正常; 多剂量组 30 d (B) 精子几乎全部断头, 很少有正常精子; 单剂量组 15 d (E)、单剂量组 30 d (F) 断头率较高, 但有少量的正常精子; 多剂量组 60 d (C)、单剂量组 60 d (G) 畸形率下降, 断头精子显著下降, 正常精子增多, 但回折、无顶体钩精子明显增多。

Fig. 3 Control group (A), MDT group and ODT group at 90 days after the first treatment (D, H) with quineestrol showed that most of sperms were normal. MDT group (B) at 30 days following the first treatment showed that most of sperms were headless. ODT group at 15, 30 days after treatment (E, F) showing that the rate of headless was high, a few were normal. MDT group and ODT group at 60 days after treatment (C, G) showing that the rate of abnormal sperm was decreased, headless sperms were significantly decreased, normal sperms were increased, but the sperms that fold back on themselves and lacking in hook were significantly increased.

2.3 炔雌醚对附睾影响的组织学观察

对照组附 组织附 腔中有精 排列密集, 整齐 序, 充满大 长形精子; 炔雌醚处理 附 管 腔内精子 胞间的间 加大, 精子 量稀少, 散见残存的 细胞碎片, 管腔变得空 , 并出现大量发育异 的精子细 , 未见或少 长形精子 (图 5) 单剂 60 d 附 组 恢复正常。

2.4 繁殖率试验

单剂量组 30 d 及多剂量组 30 d、60 d 试鼠繁殖率均明显低于对照组 (Fisher's Exact Test $df = 1$, $P < 0.01$), 60 d 后单剂量组部分试鼠恢复生殖能力, 但仍然低于对照, 显示出明显的生殖抑制效果。90 d 后各组试鼠繁殖率恢复到对照水平 (表 1)。

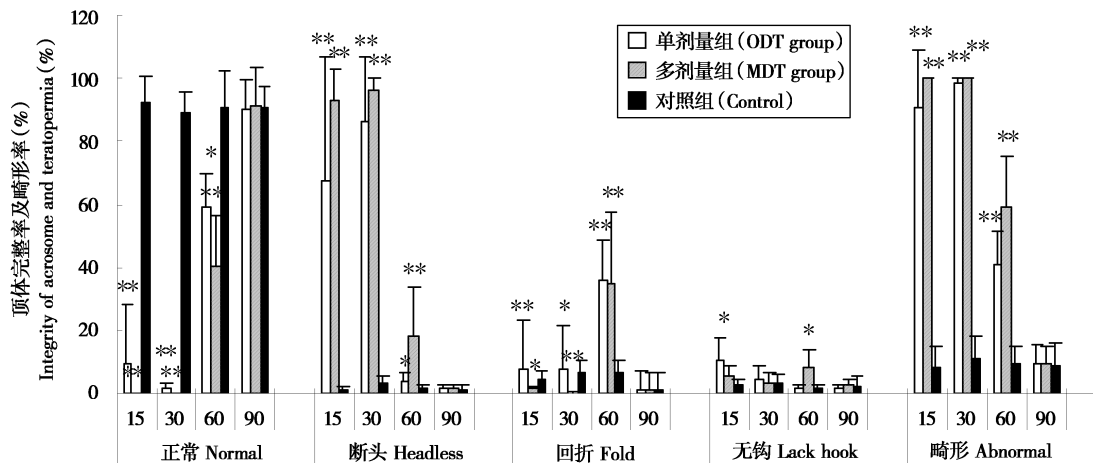


图 4 炔雌醚处理后 15、30、60、90 d 精子畸形率比较。 ** 表示与对照组比较差异极显著 ($P < 0.01$)； * 表示与对照组比较差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 4 Comparison of abnormal sperm percentages at 15, 30, 60, 90 days after the first treatment with quinestrol. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ as compared with control. ODT: One does treated; MDT: Multi does treated

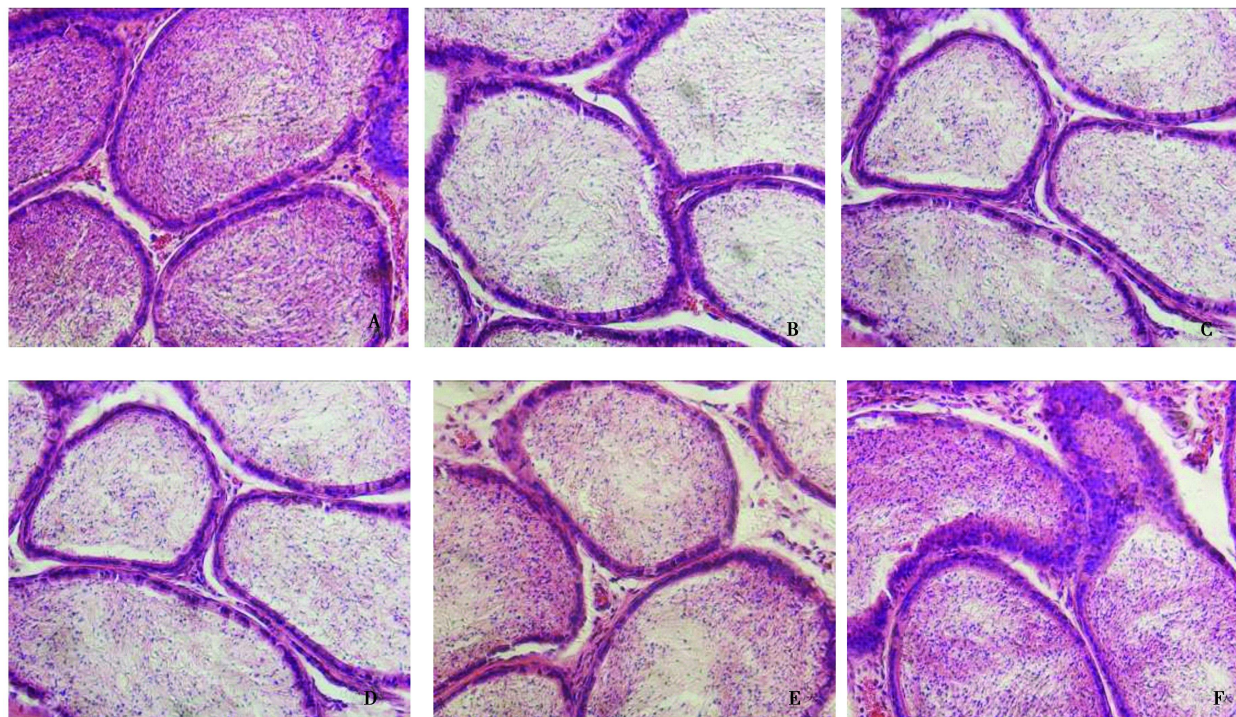


图 5 对照组 (A)、单剂量组 90 d (F) 附睾组织附睾管腔中有精子排列密集整齐有序, 多剂量组 30 d、60 d (B, C), 单剂量组 15 d、30 d (D, E) 附睾管腔内充满大量发育异常的精子细胞, 精子数量稀少. 40 ×

Fig. 5 Control group (A) and ODT group at 90 days after the first treatment with quinestrol (F) showed that sperm were dense, neat and orderly arranged in the epididymis tubular lumen. MDT group at 30, 60 days after the first treatment with quinestrol (B, C), and ODT group at 15, 30 days following the first treatment (D, E) showed that the epididymis tubular lumen filled with a large number of developmentally abnormalities sperm cells, and sperm scarce. A few sperms were found in all of the tubular lumen. 40 ×

3 讨论

前期预试验结果表明炔雌醚对长爪沙鼠不育作用的有效剂量范围多剂量组为 1 ~ 5 mg/kg, 单剂

量组为 10 ~ 50 mg/kg。Zhao 等 (2007) 试验表明布氏田鼠多次 (5 次或 14 次) 食用 0.35 mg/kg 炔雌醚雄性不育效果显著, 说明炔雌醚对布氏田鼠不育作用的剂量较低。

表1 炔雌醚处理后15 d、30 d、60 d、90 d繁殖率比较

Table 1 Comparison of the fertility at 15, 30, 60, 90 days after the first treatment with quinestrol

天数 Days	组别 Group	配对数 (对) No copulations	繁殖雌鼠 (只) Reproducing females	幼崽数 (只) Total litters	繁殖率 (%) Natality (%)
30	单剂量组 ODT group	5	0	0	0
	多剂量组 MDT group	5	0	0	0
	对照 Control group	5	4	19	80
60	单剂量组 ODT group	5	2	9	40
	多剂量组 MDT group	5	0	0	0
	对照 Control group	5	3	16	60
90	单剂量组 ODT group	5	4	22	80
	多剂量组 MDT group	5	4	20	80
	对照 Control group	5	4	23	80

ODT: One does treated; MDT: Multi does treated

睾丸是精子发生的场所, 实质部分为弯曲的曲精细管, 在众多基因和激素的协同调控下, “更新的生殖干细胞” (B型生殖干细胞) 经过有丝分裂和两次减数分裂形成单倍体的精子细胞, 再经过一系列的形态变化最后发育成完整的精子。本实验结果表明, 长爪沙鼠食用炔雌醚15 d、30 d后睾丸极度萎缩、重量及系数极度显著下降 ($P < 0.01$), 精子畸形率显著升高 ($P < 0.01$), 附睾极度萎缩 ($P < 0.01$), 精子总量显著降低, 精子密度显著低于对照 ($P < 0.01$), 同时附睾管腔发生了不同程度病理损伤, 腔内充满大量发育异常的精子细胞, 应为炔雌醚作用于睾丸, 阻碍睾丸的正常生精的结果 (杨筱珍等, 2005)。试验结果还发现用药15 d和30 d后 a 级精子百分比极显著低于对照, 而 b 级、c 级和 d 级精子百分比显著升高, 精子活力显著降低, 可能是由于附睾管上皮细胞功能受损, 导致附睾管管腔内精子不能获得运动能力, 不能发育为成熟的精子 (Hinton *et al.*, 1995); 精囊腺萎缩, 上皮细胞分泌功能下降, 不能为精子提供足够的果糖也造成精子的活力降低 (杨增明等, 2005, 朱士恩, 2006)。试鼠繁殖率显著降低, 进一步证实其生殖功能严重下降。

精囊腺是对外界因素影响非常敏感的器官 (Hendry *et al.*, 2006)。本研究发现, 三个性腺组织中精囊腺用药60 d前后变化最为显著, 说明炔雌醚对其影响大。经过60 d缓解睾丸重量及系数基本恢复正常。附睾的重量及系数是三个性腺中恢复最慢的性腺。用药60 d后单剂量组附睾的重量及系数虽恢复到正常水平, 但多剂量组仍显著低于对照; 单剂量组和多剂量组附睾尾中精子畸形率虽有很大的改善, 但仍极显著低于对照, 繁殖力仍未得到完全恢复。推测可能与生精周期有关 (杨增明等,

2005), 即病变后恢复正常的睾丸产生正常精子要经过35 d后才能在附睾中体现出来。本实验结果也说明给药60 d后虽然睾丸恢复正常但其产生的精子质量没有立即在附睾体现出来, 而是由于生精周期的存在产生一段时间的滞后, 90 d后附睾的重量及附睾中的畸形精子及精子活力均恢复正常, 试鼠繁殖力恢复正常。这与 Zhao 等 (2007) 室内饲喂炔雌醚90 d后布氏田鼠仍雄性不育的结果不相同, 可能是鼠种差异所致。

本实验室的野外试验已经证实炔雌醚的可逆性对长爪沙鼠种群影响显著。栖息于农牧交错区的6月份前出生的当年雌鼠产1窝时已基本接近种群有效繁殖的最后期限 (刘伟等, 2004), 进入秋季贮粮以备越冬 (夏武平等, 1982; 王梦军等, 1998), 此时沙鼠若继续繁殖显然对其自身及其子代未来生存不利。当年性成熟雄体采取性活动休止对策, 减少或避免与越冬雄鼠在竞争配偶和交配过程中对其攻击造成的伤害或死亡, 降低无效的繁殖投资, 确保其获得较大的繁殖收益 (Agren *et al.*, 1989; 刘伟等, 2004)。自然状态下长爪沙鼠个体寿命小于1.5岁 (刘伟等, 2004)。显然, 当年鼠是翌春种群繁殖主体。本实验室野外试验表明, 春季投药 (炔雌醚) 后长爪沙鼠的繁殖受阻, 使当年鼠的数量减少, 当年鼠在秋季 (9~10月) 种群中的比例下降; 有效繁殖的最后期限后 (9~10月), 由于药物可逆性, 部分沙鼠出现妊娠、产崽繁殖期后移现象, 幼鼠比例较大, 而这种现象减少雌鼠在觅食贮粮过程中投入的时间和能量, 影响了家群个体的适合度, 进而降低种群数量 (刘伟等, 2004)。此外, 可逆性对长寿命 (>2岁) 非靶目标动物相对的安全性, 值得进一步研究。

给予相同剂量的炔雌醚, 药物处理后15 d、

30 d 多次给药组睾丸、附睾、精囊腺重量、系数和精子密度极显著低于单次给药组。其结果说明多剂量组试鼠生殖功能下降更严重。给药后 60 d, 多剂量组附睾系数、精子密度、活力及畸形率显著低于单剂量组 ($P < 0.05$), 进一步说明多次给药较单次给药对试鼠的不育作用更好。野外试验表明某些鼠类通过搬运储存药饵, 持续进食药饵 (等同于多次给药) 延续药效作用时间 (宛新荣等, 2006)。提示, 野外一次性投放饵料, 由于鼠类连续取食, 可能达到类似多剂量的效果 (张知彬等, 2005; 宛新荣等, 2006)

参考文献:

- Agren G, Zhou Q, Zhong W. 1989. Ecology and social behaviour of Mongolian gerbils, *Meriones unguiculatus*, at Xilinhot Inner Mongolia, China. *Animal Behavior*, **37**: 11 - 27.
- Chambers L K, Singleton G R, Hinds L A. 1999. Fertility control of wild mouse population: the effects of hormonal competence and an imposed level of sterility. *Wildlife Research*, **26**: 579 - 591.
- Chambers L K, Singleton G R, Hood G M. 1997. Immunocontraception as a potential control method of wild rodent populations. *Belgian Journal of Zoology*, **127**: 145 - 156.
- Gao Y. 1996. The advance of chemosterilants. *Journal of China Pest Biology and Management*, **6**: 481 - 485. (in Chinese)
- Hendry W J, Weaver B P, Naccaraato T R, Kham S A. 2006. Differential progression of neonatal diethylstilbestrol-induced disruption of the hamster testis and seminal vesicle. *Reproductive Toxicology*, **21**: 225 - 240.
- Hinton B T, Palladino M A. 1995. Epididymal epithelium: its contribution to the formation of a luminal fluid micro-environment. *Microscopy Reserach Technology*, **30**: 67 - 81.
- Huo X F, Wang D, Liang H C, Shi D Z, Zhang H Q, Liang J J. 2006. A preliminary study on the anti-fertility effect of two sterilants to clawed jirds (*Meriones Unguiculatus*). *Acta Agrestia Sinica*, **14** (2): 184 - 187. (in Chinese)
- Huo X F, Shi D Z, Wang D. 2007. Effect of levonorgestrel-quinestrol on fertility of female Mongolia gerbils, *Meriones unguiculatus*. *Acta Phytolacica Sinica*, **34** (3): 321 - 325. (in Chinese)
- Junko S, Kazuo H. 1986. Reproductive toxicity of acrylamide and related compounds in mice-effect on fertility and sperm morphology. *Toxicology*, **59**: 201 - 205.
- Lin T X, Zeng J X. 1988. Studies on the anti-fertility effect of gossypol for rats. *Acta Theriologica Sinica*, **8** (3): 208 - 214. (in Chinese)
- Liu W, Wan X R, Wang G H, Liu W D, Zhong W Q. 2004. Reproductive pattem of cohort and its adaptation in life history of Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*). *Acta Theriologica Sinica*, **24** (3): 229 - 234. (in Chinese)
- Shi D Z, Wan X R, Davis S A, Pech R P, Zhang Z B. 2002. Simulation of lethal control and fertility control in a demographic model for Brandt's vole *Microtus brandti*. *Journal of Applied Ecology*, **39** (2): 337 - 348.
- Twigg L E, Lowe T J, Martin G R, Wheeler A G, Gray G S, Griffin S L, O'Reilly C M, Robinson D J, Hubach P H. 2000. Effects of surgically imposed sterility on free-ranging rabbit populations. *Journal of Applied Ecology*, **37** (1): 16 - 39.
- Twigg L E, Williams C K. 1999. Fertility control of overabundant species; Can it work for feral rabbits? *Ecology Letters*, **2**: 281 - 285.
- Wan X R, Shi Y S, Bao X, Guan Q G, Yu C, Wan G H, Liu W, Zhang Z B, Zhong W Q, Jiao Y S, Hasi Q M G. 2006. Effect of the contraceptive compound (EP-1) on reproduction of the Djungarian hamster (*Phodopus campbelli*) in the typical steppe. *Acta Theriologica Sinica*, **26** (4): 392 - 397. (in Chinese)
- Xia W P, Liao C H, Zhong W Q, Sun C L, Tian Y. 1982. On the population dynamics and regulation of *Meriones unguiculatus* in agricultural region north to Yin Mountains, Inner Mongolia. *Acta Theriologica Sinica*, **2** (1): 51 - 71. (in Chinese)
- Yang X Z, Chen Y X, Wang Z X, She R P. 2005. Changes on expression of bcl-2, p53 and cadherin in adult hamster spermatogenic cells during DES inducing abnormal spermatogenesis. *Acta Anatomica Sinica*, **36** (3): 254 - 258. (in Chinese)
- Zhang X L, Duan Y H, Wu Y F, Wang W N, Cao W L. 2005a. Effect of two of the contraceptive medicine on fertility of mice. *Journal of Ningxia University (Natural Science Edition)*, **26** (1): 71 - 74. (in Chinese)
- Zhang X L, Tang W, Gu Z Y, Wang Y K, Zhang Y H, Cheng H. 2005b. Experiment of population control with norgestrel (NGT) on Gansu zokor (*Myospalax cansuslyon*) in Mountainous Area of Southern Ningxia. *Journal of Agricultural Sciences*, **26** (1): 37 - 42. (in Chinese)
- Zhang Z B. 1995. The ecological fundamentals of rodent control by contraception. *Acta Theriologica Sinica*, **15** (3): 229 - 234. (in Chinese)
- Zhang Z B, Liao L F, Wang S Q, Cao X P, Wang F S, Wang C, Zhang J X, Wan X R, Zhong W Q. 2004. Effect of a contraceptive compound (EP-1) on fertility of female Brandt's voles, gray hamsters and mid-day gerbils. *Acta Zoologica Sinica*, **50** (3): 341 - 347. (in Chinese)
- Zhang Z B, Wang Y S, Wang S Q, Wang F S, Cao X P, Zhang J X. 2005. Effect of a contraceptive compound on reproduction of greater Long-tailed hamsters (*Tscherskia triton*) in experimental enclosures. *Acta Theriologica Sinica*, **25** (3): 269 - 272. (in Chinese)
- Zhang Z B, Zhao M R, Cao X P, Wang Y L, Zhang J X. 2006. Effects of a contraceptive compound (EP-1) on reproductive organs of male greater long-tailed hamsters (*Tscherskia triton*). *Acta Theriologica Sinica*, **26** (3): 300 - 302. (in Chinese)
- Zhao M R, Liu M, Li D, Wan X R, Hinds L A, Wang Y L, Zhang Z B. 2007. Anti-fertility effect of levonorgestrel and quinestrol in Brandt's voles (*Lasiopodomys brandtii*). *Integrative Zoology*, **2**: 260 - 268.
- Zhang Z B, Wang S Q, Hao S S, Wang F S, Cao X P. 1997. Effect of α -chlorohydrin on male rat like-hamsters. *Acta Theriologica Sinica*,

- 17 (3): 232-233. (in Chinese)
- Zheng M, Guo Y W, Ji L L, Shi D Z. 2008. The sterility effect of halo propanediol derivative to the male Brandt's voles. *Acta Phytophylacica Sinica*, **35** (1): 93-94. (in Chinese)
- 上海第一医学院病理解剖学教研组, 生物化学教研组. 1978. 口服长效避孕药复方炔雌醚的药理作用. *新医学*, **9** (2): 233-234.
- 王梦军, 钟文勤, 宛新荣. 1998. 长爪沙鼠的生态学及控制对策. 见: 张知彬, 王祖望主编. 农业重要害鼠的生态学及控制对策. 北京: 海洋出版社, 221-238.
- 世界卫生组织. 2001. WHO 人类精液及精液-子宫颈粘液相互作用实验室检验手册 (第四版). 北京: 人民卫生出版社, 5-14.
- 刘伟, 宛新荣, 王广和, 刘文东, 钟文勤. 2004. 不同季节长爪沙鼠同生群的繁殖特征及其在生活史对策中的意义. *兽类学报*, **24** (3): 229-234.
- 朱士恩. 2006. 动物生殖生理学. 北京: 农业出版社, 83-97.
- 杨筱珍, 陈耀星, 王子旭, 余锐萍. 2005. 二乙基己烯雌酚诱发成年仓鼠睾丸生精异常及对生精细胞表达 bcl-2、p53 和 Cadherin 的影响. *解剖学报*, **36** (6): 31-35.
- 杨增明, 孙青原, 夏国梁. 2005. 生殖生物学. 北京: 科学出版社, 8-45.
- 张知彬, 王淑卿, 郝守身, 王福生, 曹小平. 1997. α -氯代醇对雄性大仓鼠的不育效果观察. *兽类学报*, **17** (3): 232-233.
- 张知彬, 廖力夫, 王淑卿, 曹小平, 王福生, 王诚, 张健旭, 宛新荣, 钟文勤. 2004. 一种复方避孕药物对三种野鼠的不育效果. *动物学报*, **50** (3): 341-347.
- 张知彬, 王玉山, 王淑卿, 王福生, 曹小平, 张健旭. 2005. 一种复方避孕药物对围栏内大仓鼠种群繁殖力的影响. *兽类学报*, **25** (3): 269-272.
- 张知彬. 1995. 鼠类不育控制的生态学基础. *兽类学报*, **15** (3): 229-234.
- 张知彬, 赵美蓉, 曹小平, 王雁玲, 王福生, 张健旭. 2006. 复方避孕药物 (EP-1) 对雄性大仓鼠繁殖器官的影响. *兽类学报*, **26** (3): 300-302.
- 张显理, 段玉海, 吴永峰, 王万宁, 曹文丽. 2005a. 人用不育剂对小鼠繁殖的影响. *宁夏大学学报 (自然科学版)*, **26** (1): 71-74.
- 张显理, 唐伟, 顾真云, 王玉科, 张玉海, 成红. 2005b. 不育剂甲基炔诺酮对宁夏南部山区甘肃鼯鼠种群控制试验. *农业科学研究*, **26** (1): 37-42.
- 宛新荣, 石岩生, 宝祥, 关其格, 于成, 王广和, 刘伟, 张知彬, 钟文勤, 焦裕生, 哈斯其木格. 2006. EP-1 不育剂对黑线毛足鼠种群繁殖的影响. *兽类学报*, **26** (4): 392-397.
- 林统先, 曾缙祥. 1988. 醋酸棉酚对褐家鼠抗生育作用的研究. *兽类学报*, **8** (3): 208-214.
- 郑敏, 郭永旺, 嵇莉莉, 施大钊. 2008. 环丙醇类制剂对雄性布氏田鼠的不育作用. *植物保护学报*, **35** (1): 93-94.
- 夏武平, 廖崇惠, 钟文勤, 孙崇潞, 田云. 1982. 内蒙古阴山北部农业区长爪沙鼠的种群动态及其调节的研究. *兽类学报*, **2** (1): 51-71.
- 高原. 1996. 鼠类化学不育剂的发展. *中国媒介生物学及控制杂志*, **6**: 481-485.
- 霍秀芳, 王登, 梁红春, 施大钊, 张焕强, 梁继军. 2006. 两种不育剂对长爪沙鼠的作用. *草地学报*, **14** (2): 184-187.
- 霍秀芳, 施大钊, 王登. 2007. 左炔诺孕酮-炔雌醚对长爪沙鼠的不育效果. *植物保护学报*, **34** (3): 321-325.