

杜洛克猪与梅山猪副性腺组织学比较及精浆蛋白 mRNA 表达分析

丁海生¹, 徐德全^{1,2,3}, 罗 琰¹, 刘 敏^{1,2*}

(1. 华中农业大学动物科技学院 动物医学院, 武汉 430070; 2. 农业部猪遗传育种重点实验室, 武汉 430070; 3. 生猪健康养殖协同创新中心, 武汉 430070)

摘要: 旨在探讨杜洛克公猪和梅山公猪精囊腺和尿道球腺的组织学特征及精浆蛋白 mRNA 的表达, 运用石蜡切片并通过 HE 染色, 分别在光学显微镜下对 75 日龄、270 日龄梅山公猪与 270 日龄杜洛克公猪的精囊腺和尿道球腺进行组织学观察; 并用实时荧光定量 PCR 对精浆蛋白 mRNA 的表达进行分析。270 日龄梅山公猪与 75 日龄梅山公猪相比, 精囊腺的腺小叶增多, 小叶间结缔组织减少; 270 日龄杜洛克公猪精囊腺较 270 日龄梅山公猪有更多的腺泡黏膜褶皱和小叶间结缔组织。梅山公猪和杜洛克公猪尿道球腺被结缔组织分隔成小叶, 腺泡密集且腺腔小; 梅山猪在成年时尿道球腺腺小叶增大, 小叶间结缔组织变少; 270 日龄杜洛克公猪尿道球腺腺小叶比 270 日龄梅山公猪小, 而腺泡较大, 且结缔组织更多。精浆蛋白 *PSP-I* 和 *PSP-II* 在精囊腺中高表达, 在成熟的杜洛克和梅山公猪精囊腺中其 mRNA 表达水平相近 ($P > 0.05$)。但随着日龄的增长, 梅山公猪 *PSP-I* 和 *PSP-II* mRNA 表达水平显著升高 ($P < 0.05$)。杜洛克公猪更多的精囊腺黏膜褶皱和更大的尿道球腺腺泡, 增加了上皮分泌面积, 有助于增加精浆体积, 提高精子代谢率和存活率。另外, 性成熟公猪中精浆蛋白 *PSP-I* 和 *PSP-II* 的高表达可能参与维持精子的代谢和活力等生理过程。

关键词: 猪; 副性腺; 组织学; *PSP-I*; *PSP-II*

中图分类号: S852.16⁺2

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)08-1714-06

Histological Comparison and mRNA Expression Analysis of Porcine Seminal Protein on Accessory Glands of Duroc and Meishan Boars

DING Hai-sheng¹, XU De-quan^{1,2,3}, LUO Yan¹, LIU Min^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China; 2. Key Laboratory of Swine Genetics and Breeding of Agricultural Ministry, Wuhan 430070, China; 3. The Cooperative Innovation Center for Sustainable Pig Production, Wuhan 430070, China)

Abstract: In order to assess the histological features of the vesicular gland and bulbourethral gland, and the mRNA expression of porcine seminal protein in 270-day-old Duroc and 75-, 270-day-old Meishan boars, the paraffin sections with HE staining were performed and observed under light microscope, and quantitative real-time PCR was also used. Increased glandular lobules and decreased interlobular connective tissues were found in the vesicular glands of 270-day-old Meishan boars compared to those of 75-day-old Meishan boars. More acinus mucosal folds and interlobular connective tissues were found in the vesicular glands of 270-day-old Duroc boars than

收稿日期: 2016-01-29

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项资金(2662015PY014; 2662015PY192; 26620015PY108); 湖北省农业科技创新课题(2011-720); 国家科技支撑计划(2014BAD20B01); 国家自然科学基金(31201764); 973 项目(2014CB138500); 湖北省自然科学基金(2015CFA101); 武汉市青年科技晨光计划(2014070404010204)

作者简介: 丁海生(1987-), 女, 甘肃会宁人, 博士生, 主要从事动物分子生物学研究, E-mail: dinghs123@163.com

* 通信作者: 刘 敏, 博士, 副教授, E-mail: liumin23@mail.hzau.edu.cn; Tel: 027-87282091

those of 270-day-old Meishan boars. The bulbourethral glands were composed of multiple lobules separated by connective tissue, and dense acini with small lumens were found. When Meishan boars reached adult age, the enlarged glandular lobules and decreased interlobular connective tissues were observed in the bulbourethral glands. In addition, larger glandular lobules, smaller acini and less interlobular connective tissues were observed in the bulbourethral glands of 270-day-old Meishan boars than those of 270-day-old Duroc boars. *PSP-I* and *PSP-II* were expressed highly in seminal vesicles, but there was no significant difference between the mature Duroc and Meishan boars ($P > 0.05$). With advancing age, the mRNA expression level of *PSP-I* and *PSP-II* increased significantly in Meishan boars ($P < 0.05$). Overall, more acinus mucosal folds in vesicular glands and larger acini in the bulbourethral glands of Duroc boars increased the epithelial surface area available for secretion and led to an increase in the semen volume and the rate of sperm metabolism and survival. Moreover, high expression of *PSP-I* and *PSP-II* in mature boars may play a role in some physiological processes, such as maintaining sperm metabolism and motility.

Key words: boar; accessory glands; histology; *PSP-I*; *PSP-II*

副性腺是雄性生殖系统的重要组成部分,主要包括精囊腺、前列腺和尿道球腺等,其各自分泌的特异性液体是精液的组成部分,对于精子的运送、保护及存活都有一定意义^[1]。精囊腺为一对蠕曲的囊状结构,与性功能的调控有关^[2]。精囊腺分泌物构成精浆的大部分,为精子提供营养物质和能量,有助于提高精子活力、刺激子宫蠕动、促进精子在雌性生殖道内运动^[3-5]。如精囊腺上皮细胞分泌的 *PSP-I* (Porcine seminal protein-I) 和 *PSP-II* (Porcine seminal protein-II) 的含量约占精浆总蛋白的 50%,在精液中主要以非共价异源二聚体形式存在,是精子粘附家族的重要成员,参与体内多种生物学功能,能够维持精子膜的完整性、精子能动性 and 精子线粒体的活性等^[6-8]。尿道球腺是由具有分泌功能的腺泡构成的,其主要功能是分泌尿道球腺液,而尿道球腺液也是精液的组成成分之一,可保护精子免受阴道不利环境的影响及防止精液倒流,公猪尿道球腺液中的糖复合物可能参与精子代谢过程^[9-10]。

梅山猪以性成熟早、繁殖性能高闻名于世,而杜洛克猪在杂交育种中常作为终端父本。梅山公猪初情期为 56~84 日龄,而杜洛克、大白公猪等外来猪种的初情期一般为 120~180 日龄,且梅山公猪精子发生时间较早,但每次射精量、睾丸日产精量等一般低于杜洛克公猪^[11-14],这可能也与副性腺液的产量和组成相关。因此,本研究对杜洛克和梅山公猪精囊腺和尿道球腺进行石蜡切片制作及苏木精-伊红染色法 (Haematoxylin-eosin, HE) 染色观察,阐述其结构特征和差异性,并对精囊腺中高表达的精浆

蛋白 *PSP-I* 和 *PSP-II* 进行实时荧光定量 PCR 分析,研究杜洛克和梅山公猪精囊腺和尿道球腺的组织结构特征及精浆蛋白 mRNA 的表达,探索杜洛克公猪和梅山公猪精子产量、精子活力等性状差异的基础,为公猪繁殖性状的评价与改良奠定基础,为中国地方猪种优异种质资源的进一步开发与利用提供新思路。

1 材料与方法

1.1 试验动物

由于梅山公猪初情期仅为 56~84 日龄,早于杜洛克公猪(初情期为 120~180 日龄),因此在华中农业大学精品猪场分别选用健康的已达初情期的 75 日龄梅山公猪(体重分别为 18、21、和 23 kg)、已性成熟的 270 日龄的梅山公猪(115、119 和 125 kg)和杜洛克公猪(体重分别为 184、192 和 196 kg)各 3 头实施手术,采集精囊腺和尿道球腺组织后,生理盐水漂洗、剔除结缔和脂肪组织,切成 0.5 cm × 0.5 cm × 0.2 cm 小块,一部分用于组织切片制作和 HE 染色观察,另一部分经液氮速冻置 -80 °C 保存,用于 RNA 提取。

1.2 石蜡切片制作及 HE 染色观察

用 0.01 mol · L⁻¹ PBS (pH7.4) 洗涤多聚甲醛缓冲液(4.0%)固定的组织块 3 次,然后用梯度酒精脱水、二甲苯或水杨酸甲酯透明处理及 60 °C 浸蜡后进行包埋,采用莱卡切片器(RM2235, Leica)切片,制作 5 μm 厚的石蜡切片。将已经切好的组织放入 40 °C 温水中展开,选择完整、无皱褶的组织黏

贴于干净的载玻片上,作好标记,然后置于漂烘仪(TEC-2500,常州)上 40 °C 烘片 1 h 左右,待水分烘干后置于 60 °C 烘箱过夜,次日用二甲苯脱蜡;再用梯度酒精置换二甲苯;蒸馏水洗去酒精后用苏木素染液染色 8 min;1.0% 盐酸酒精分化 1 min,然后蒸馏水洗 2 s;梯度酒精脱水各 2 min;伊红染液染色 2 min;再用梯度酒精脱水各 2 min;二甲苯透明后滴加适量中性树胶封片,用 Olympus-BX51 显微镜观察拍照^[15-16]。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物

Table 1 Primers for real-time PCR

目的基因 Target genes	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物大小/bp Products length
PSP-I	F:GGAGCCCCAGGATCTAAGAG,R:GTGGAAGATCACGCTCATCA	211
PSP-II	F:AATCTGTGCACCTGGACCAT,R:AAAAGACAATCGCTGCACCT	163
<i>βactin</i>	F:CCAGGTCATCACCATCGG,R:CCGTGTTGGCGTAGAGGT	158

1.4 数据处理与分析

所有数据采用 Excel 进行整理,利用 *t* 检验进行统计处理, $P > 0.05$ 表示差异不显著; $P < 0.05$ 表示差异显著; $P < 0.01$ 表示差异极显著。 $n = 3$ 。结果用“平均数±标准差”表示。运用作图软件 GraphPad Prism 进行图的绘制。所有组织的 PSP-I 和 PSP-II mRNA 表达量均是以 *βactin* 为内参基因。

2 结果

2.1 杜洛克与梅山公猪精囊腺组织学形态观察

75 日龄、270 日龄梅山公猪以及 270 日龄杜洛克公猪的精囊腺组织结构结果见图 1。结果显示杜洛克和梅山公猪精囊腺为分叶腺,包含有多个大的腺小叶,小叶间以疏松的结缔组织相连接,腺黏膜伸出一系列皱褶,黏膜皱褶突入腔内,使黏膜呈蜂窝状,黏膜泡内可见大量的精囊腺分泌物。品种内相比,梅山公猪从 75~270 日龄腺小叶增多,且更加密集紧致,小叶间结缔组织减少。品种间相比,270 日龄梅山公猪与杜洛克公猪腺小叶数目类似,但其腺泡黏膜褶皱少于 270 日龄杜洛克公猪,且其小叶间结缔组织隔膜比 270 日龄杜洛克公猪稀疏。

2.2 杜洛克与梅山公猪尿道球腺组织学形态观察

75 日龄、270 日龄梅山公猪以及 270 日龄杜洛克公猪的尿道球腺组织结构结果见图 2,结果显示梅山公猪和杜洛克公猪尿道球腺被纤维结缔组织分

1.3 实时荧光定量 PCR

采用 SYBR Green I 染料法,反应在 Bio-Bio Rad CFX384™ Real-Time PCR Systems 上进行。PCR 反应条件:95 °C 2 min;95 °C 15 s,60 °C 15 s,40 个循环;4 °C 保存。qRT-PCR 的反应体系为 10 μL: CW-BIO 2×Es Taq Master Mix 5 μL,上下游引物(72.5 μmol·L⁻¹)各 0.15 μL,cDNA 模板为 0.5 μL,加灭菌去离子水至 10 μL。基因引物设计采用 Primer premier 5.0,各引物序列见表 1,退火温度为 60 °C。

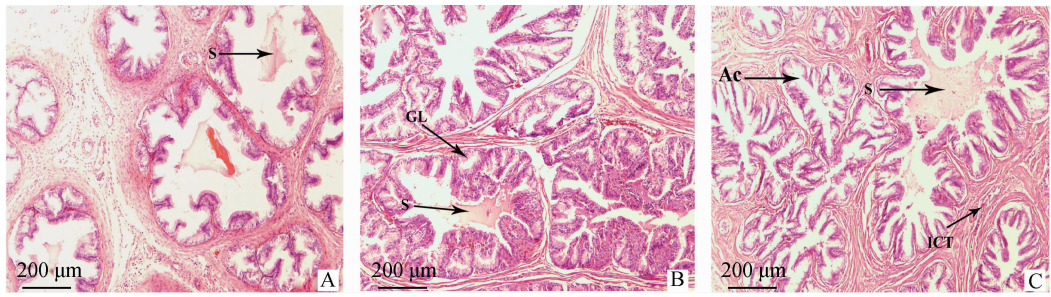
隔成小叶。尿道球腺腺泡密集成小圆形,且腺腔小。品种内相比,270 日龄梅山公猪比 75 日龄的腺泡更加密集紧实,腺小叶更大,小叶间结缔组织稀少。而品种间相比,270 日龄杜洛克公猪有更大的腺泡,且小叶间结缔组织更多,但其腺小叶却小于 270 日龄梅山公猪。

2.3 猪 PSP-I 和 PSP-II mRNA 表达量的检测

由图 3 可以看出,PSP-I 和 PSP-II 在 75 日龄梅山公猪、270 日龄的杜洛克和 270 日龄梅山公猪精囊腺中表达量均极显著高于尿道球腺($P < 0.01$)。品种内,270 日龄的梅山公猪精囊腺和尿道球腺中 PSP-I 和 PSP-II mRNA 表达量均显著高于 75 日龄梅山公猪($P < 0.05$);品种间,270 日龄梅山公猪和杜洛克公猪精囊腺和尿道球腺 PSP-I 和 PSP-II mRNA 表达量均相近($P > 0.5$),但其蛋白水平是否存在差异需要进一步验证。

3 讨论

副性腺分泌物是精浆的重要组成部分,其主要功能是为精子的运载介质,帮助精子运动,防止自然交配时,精液倒流。猪精囊腺和尿道球腺都特别发达,且精浆大部分成分来自精囊腺和尿道球腺,这可能是公猪射精量远高于其他家畜的原因之一^[17-18]。研究 75、270 日龄梅山公猪和 270 日龄杜洛克公猪的精囊腺和尿道球腺为公猪生精能力的差

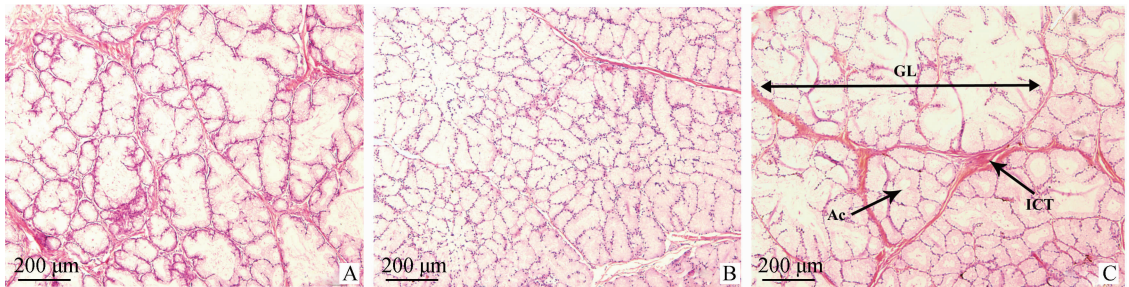


A. 75 日龄梅山公猪精囊腺; B. 270 日龄梅山公猪精囊腺; C. 270 日龄杜洛克公猪精囊腺。GL. 腺小叶; Ac. 腺泡; S. 分泌物; ICT. 小叶间结缔组织

A. Vesicular gland of 75-day-old Meishan boar; B. Vesicular gland of 270-day-old Meishan boar; C. Vesicular gland of 270-day-old Duroc boar. GL. Glandular lobule; Ac. Acinus; S. Secreta; ICT. Interlobular connective tissue

图 1 不同日龄杜洛克与梅山公猪精囊腺组织学观察(苏木精-伊红染色, 100×)

Fig. 1 The histological observation of vesicular gland from Duroc and Meishan boars at different age (Haematoxylin-eosin staining, 100×)

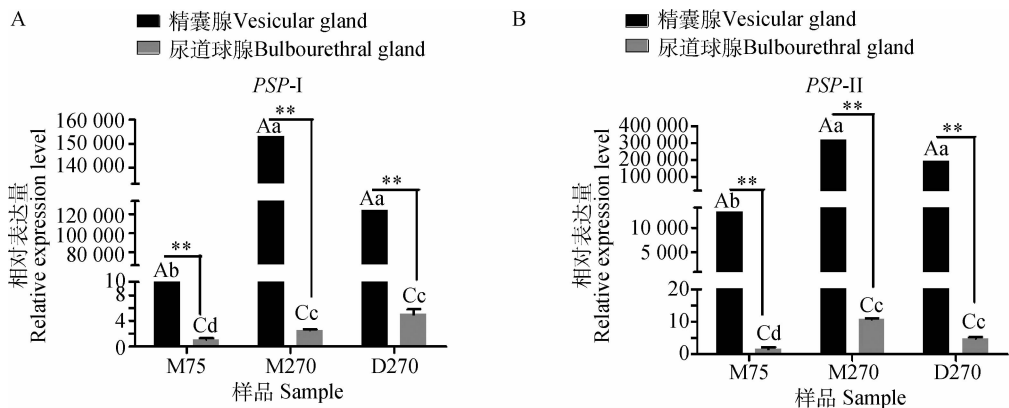


A. 75 日龄梅山猪尿道球腺; B. 270 日龄梅山猪尿道球腺; C. 270 日龄杜洛克猪尿道球腺。Ac. 腺泡; ICT. 小叶间结缔组织; GL. 腺小叶

A. Bulbourethral gland of 75-day-old Meishan boar; B. Bulbourethral gland of 270-day-old Meishan boar; C. Bulbourethral gland of 270-day-old Duroc boar. Ac. Acinus; ICT. Interlobular connective tissue; GL. Glandular lobule

图 2 不同日龄杜洛克与梅山公猪尿道球腺组织学观察(苏木精-伊红染色, 100×)

Fig. 2 The histological observation of bulbourethral gland from Duroc and Meishan boars at different age (Haematoxylin-eosin staining, 100×)



A. PSP-I; B. PSP-II, 不同小、大写字母分别表示同一组织不同时期差异显著和极显著 ($P < 0.05$; $P < 0.01$), $n = 3$ 。* * 表示同一时期不同组织差异极显著 ($P < 0.01$)

A. PSP-I; B. PSP-II, the different upper and lower case letters indicate significant difference ($P < 0.05$) or highly significant difference ($P < 0.01$) between different periods in the same tissue. * * indicate highly significant difference between different tissues in the same period ($P < 0.01$)

图 3 PSP-I 和 PSP-II 在精囊腺和尿道球腺中的表达

Fig. 3 Expression level of PSP-I and PSP-II in seminal vesicle and bulbourethral gland

异奠定基础。公猪精囊腺是呈分叶状的腺体,位于输精管壶腹外侧。图 1 显示 270 日龄的梅山公猪精囊腺比 75 日龄的梅山公猪有更加密集的腺小叶和更深更多的黏膜褶皱。由于精囊腺分泌物中碳酸氢盐能够增强精子活力^[19],性成熟梅山公猪较多的黏膜褶皱能够分泌较多的精囊腺分泌物,因此这也可能是性成熟的梅山公猪精子活力高于初情期的梅山公猪的原因之一^[11]。另外,270 日龄杜洛克公猪与 270 日龄的梅山公猪相比,其精囊腺腺泡上皮的黏膜褶皱更多,黏膜褶皱扩大了分泌面积并有利于分泌物的贮存和腺体的扩张。因此性成熟的杜洛克公猪可比梅山公猪分泌更多的精囊腺分泌物以及具有更强的排出分泌物的能力。更多的精囊腺分泌物增加精液中精浆的量以及对精子的营养和能源供给,且精囊腺分泌物能够提高精子核染色质的稳定性和抑制雌性生殖道对精子的免疫反应^[19-21],这也可能是两品种在日产精量、精子活力等繁殖性状方面存在差异的原因之一。

公猪的尿道球腺为复合型管泡状腺体,周围被致密的结缔组织包围,在上皮细胞中分布有大量的分泌颗粒,分泌颗粒中含有大量的中性和羧酸化粘多糖以及少量的硫酸化粘多糖,其分泌物在射精之前释放,具有清除尿道和润滑阴道的作用,而糖复合物在精子的代谢过程中发挥重要的作用^[10,22-23]。本研究显示 270 日龄杜洛克公猪的尿道球腺腺泡较同日龄梅山公猪的大,而梅山公猪随着性成熟腺小叶增大,腺泡明显增多,大而多的腺泡含有更多的上皮细胞,故而有更多的分泌颗粒存在,有利于精子的代谢和存活,这也为两品种在有关性状方面的差异提供了基础。

公猪精浆中 80%~90% 的蛋白是由精囊腺上皮细胞分泌的,而这些蛋白在雌性生殖管道中对精子起保护作用^[17]。而 PSP-I 和 PSP-II 蛋白占猪精囊腺蛋白的 50% 以上,主要是由精囊腺上皮分泌,且能够提高成熟精子的生存力和能动性^[7,24-25]。本研究中 PSP-I 和 PSP-II 的 mRNA 在精囊腺中的高表达更进一步支持了该异质体的主要来源。而 PSP-I 和 PSP-II 在 270 日龄比 75 日龄表达量更高,说明公猪性成熟阶段精囊腺上皮及尿道球腺分泌 PSP-I 和 PSP-II 的能力显著增强,从而可能导致性成熟梅山公猪精子存活率和能动性高于 75 日龄的梅山公猪。F. Centurion 等^[26]研究也表明纯化的 PSP-I /PSP-II 二聚体对高倍稀释的精子具有

保护作用,在体外生理温度下,该复合物能在 5 h 内维持精子的活力、运动能力和线粒体的活性。

综上所述,270 日龄杜洛克公猪精囊腺腺泡上皮有更多的黏膜褶皱,扩大了分泌面积,使得黏膜泡内分泌物增多,也增强了排出分泌物的能力。且杜洛克公猪的尿道球腺腺泡上皮细胞可释放更多的分泌物。较多的精囊腺和尿道球腺分泌物会增加精浆量,提高精子代谢率和在雌性生殖道内的存活率。而精浆蛋白 PSP-I /PSP-II 在性成熟的公猪精囊腺上皮及尿道球腺中的高表达可能在精子的代谢和活力维持等生理过程中发挥重要作用,全面了解 PSP-I /PSP-II 的功能,对于精液体外保存和提高猪的受胎率与体外受精成功率具有重要意义。

参考文献 (References):

- [1] OMORI A, HARADA M, OHTA S, et al. Epithelial Bmp (Bone morphogenetic protein) signaling for bulbourethral gland development: A mouse model for congenital cystic dilation[J]. *Congenit Anom (Kyoto)*, 2011, 51(3):102-109.
- [2] 金保方, 黄宇烽, 朱照平, 等. 精囊腺摘除对大鼠性功能影响的观察[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2006, 26(4):268-270.
JIN B F, HUANG Y F, ZHU Z P, et al. Experimental study on the influence upon rat's sexual function after seminal vesicle was excised[J]. *Acta Universitatis Medicinalis Nanjing (Natural Science)*, 2006, 26(4):268-270. (in Chinese)
- [3] 北京农业大学. 家畜组织学与胚胎学[M]. 北京: 人民教育出版社, 1960.
Beijing Agricultural University. *Histology and embryology of domestic animal*[M]. Beijing: People's Education Press, 1960. (in Chinese)
- [4] 马仲华. 家畜解剖学及组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2005:275-276.
MA Z H. *Livestock anatomy and histoembryology* [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005:275-276. (in Chinese)
- [5] PANG S F, CHOW P H, WONG T M. The role of the seminal vesicles, coagulating glands and prostate glands on the fertility and fecundity of mice[J]. *J Reprod Fertil*, 1979, 56(1):129-132.
- [6] 滕尚辉, 宋成义. 猪 PSP-I /PSP-II 的生物学特性研究[J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2007(5):54-55.
TENG S H, SONG C Y. The study of biological character on porcine PSP-I /PSP-II [J]. *Shanghai Jour-*

- nal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2007(5):54-55. (in Chinese)
- [7] GARCÍA E M, VÁZQUEZ J M, PARRILLA I, et al. Localization and expression of spermadhesin PSP- I / PSP- II subunits in the reproductive organs of the boar[J]. *Int J Androl*, 2008, 31(4):408-417.
- [8] CABALLERO I, VÁZQUEZ J M, GARCÍA E M, et al. Immunolocalization and possible functional role of PSP- I /PSP- II heterodimer in highly extended boar spermatozoa[J]. *J Androl*, 2006, 27(6):766-773.
- [9] 龚永胜,任小平,赵茂生,等. 人类尿道球腺液初探[J]. 中国性科学, 2004, 13(11):20-21.
- GONG Y S, REN X P, ZHAO M S, et al. The preliminary study of human cowper's fluid[J]. *Chinese Journal of Human Sexuality*, 2004, 13(11):20-21. (in Chinese)
- [10] ADEBAYO A O, AKINLOYE A K, OLUKOLE S G, et al. Gross, histological and ultrastructural features of the bulbourethral gland in the greater cane rat (*Thryonomys swinderianus*)[J]. *Anat Histol Embryol*, 2015, 44(1):59-65.
- [11] LUNSTRA D D, FORD J J, KLINDT J, et al. Physiology of the Meishan boar[J]. *J Reprod Fertil Suppl*, 1997, 52:181-193.
- [12] BORG K E, LUNSTRA D D, CHRISTENSON R K. Semen characteristics, testicular size, and reproductive hormone concentrations in mature duroc, meishan, fengjing, and minzhu boars[J]. *Biol Reprod*, 1993, 49(3):515-521.
- [13] HARAYAMA H, NANJO I, KANDA S, et al. Testicular development in Chinese Meishan boars[J]. *Theriogenology*, 1991, 36(4):637-643.
- [14] 胡启蒙. 梅山猪和杜洛克猪精子活力和蛋白磷酸化比较研究[D]. 上海:上海交通大学, 2014.
- HU Q M. The differences in sperm motility and protein phosphorylation between Meishan boar and Duroc boar [J]. Shanghai: Shanghai Jiaotong University, 2014. (in Chinese)
- [15] 唐娟,肖珂,郑昕婷,等. 硼酸对非洲雏鸵鸟肺组织形态学的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(12):2291-2298.
- TANG J, XIAO K, ZHENG X T, et al. Effect of boric acid on the morphology of African Ostrich chicks lung [J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2015, 46(12):2291-2298. (in Chinese)
- [16] 位兰,彭克美,罗来强,等. 雄性雏鸵鸟生殖器官的形态学研究[J]. 畜牧兽医学报, 2007, 38(8):851-855.
- WEI L, PENG K M, LUO L Q, et al. Morphological study on the reproductive organs of the male Ostrich chicks[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2007, 38(8):851-855. (in Chinese)
- [17] JELEZARSKY L, VAISBERG C H, CHAUSHEV T, et al. Localization and characterization of glutathione peroxidase (GPx) in boar accessory sex glands, seminal plasma, and spermatozoa and activity of GPx in boar semen [J]. *Theriogenology*, 2008, 69(2):139-145.
- [18] 陈秋生,刘宗平,陈北亨,等. 双峰驼卵巢的组织结构[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(4):381-383.
- CHEN Q S, LIU Z P, CHEN B H, et al. Histologic observation of ovary in bactrian camel [J]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, 2002, 22(4):381-383. (in Chinese)
- [19] BROMFIELD J J, SCHJENKEN J E, CHIN P Y, et al. Maternal tract factors contribute to paternal seminal fluid impact on metabolic phenotype in offspring [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2014, 111(6):2200-2205.
- [20] NOORAFSHAN A, KARBALAY-DOUST S. Curcumin protects the seminal vesicles from metronidazole- I nduced reduction of secretion in mice [J]. *Acta Medica (Hradec Kralove)*, 2012, 55(1):32-36.
- [21] GONZALES G F. Function of seminal vesicles and their role on male fertility[J]. *Asian J Androl*, 2001, 3(4):251-258.
- [22] BADIA E, BRIZ M D, PINART E, et al. Structural and ultrastructural features of boar bulbourethral glands[J]. *Tissue Cell*, 2006, 38(1):7-18.
- [23] CHUGHTAI B, SAWAS A, O'MALLEY R L, et al. A neglected gland: a review of Cowper's gland[J]. *Int J Androl*, 2005, 28(2):74-77.
- [24] CABALLERO I, VAZQUEZ J M, GIL M A, et al. Does seminal plasma PSP- I /PSP- II spermadhesin modulate the ability of boar spermatozoa to penetrate homologous oocytes *in vitro*? [J]. *J Androl*, 2004, 25(6):1004-1012.
- [25] CABALLERO I, VAZQUEZ J M, MAYOR G M, et al. PSP- I /PSP- II spermadhesin exert a decapacitation effect on highly extended boar spermatozoa[J]. *Int J Androl*, 2009, 32(5):505-513.
- [26] CENTURION F, VAZQUEZ J M, CALVETE J J, et al. Influence of porcine spermadhesins on the susceptibility of boar spermatozoa to high dilution[J]. *Biol Reprod*, 2003, 69(2):640-646.