

高、低脂系肉鸡睾丸组织形态和氧化应激水平比较分析

李 辉^{1,2,3}, 李叶宁^{1,2,3}, 周思彤^{1,2,3}, 姜海煦^{1,2,3}, 程博涵^{1,2,3}

(1. 农业农村部鸡遗传育种重点实验室, 哈尔滨 150030; 2. 黑龙江普通高等学校动物遗传育种与繁殖重点实验室, 哈尔滨 150030; 3. 东北农业大学动物科学技术学院, 哈尔滨 150030)

摘 要: 研究旨在比较高、低脂系肉鸡睾丸组织形态和氧化应激水平差异。以高、低脂系第24世代27和36周龄肉种公鸡为试验材料, 利用HE染色观察睾丸组织中曲细精管生精上皮结构, 根据曲细精管面积、生精上皮厚度及Johnsen评分评估睾丸生精功能; 利用试剂盒检测睾丸组织中氧化应激产物丙二醛含量及抗氧化酶(过氧化氢酶、总超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶)活性。结果表明, 27和36周龄高脂系肉鸡腹脂重和腹脂率显著高于低脂系; 36周龄高脂系肉鸡睾丸重和睾丸比率显著高于低脂系; 27和36周龄高脂系肉鸡睾丸中生精细胞脱落且排列紊乱, 曲细精管内出现“脂肪样空泡”, 曲细精管面积、生精上皮厚度、Johnsen评分显著低于低脂系; 27和36周龄高脂系肉鸡睾丸组织中过氧化氢酶和总超氧化物歧化酶活性显著低于低脂系, 丙二醛含量显著高于低脂系。以上结果表明, 高脂系肉种公鸡腹脂沉积过多可能导致睾丸氧化应激水平升高, 引起曲细精管生精上皮结构受损和生精功能下降。

关键词: 肉种公鸡; 腹脂沉积; 睾丸; 氧化应激; 生精功能

中图分类号: S831.2

文献标志码: A

文章编号: 1005-9369(2023)06-0035-07

李辉, 李叶宁, 周思彤, 等. 高、低脂系肉鸡睾丸组织形态和氧化应激水平比较分析[J]. 东北农业大学学报, 2023, 54(6): 35-41.

DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2023.06.005.

Li Hui, Li Yening, Zhou Sitong, et al. Comparative analysis of testicular histomorphology and oxidative stress level between fat and lean broilers[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2023, 54(6): 35-41. (in Chinese with English abstract)

DOI: 10.19720/j.cnki.issn.1005-9369.2023.06.005.

Comparative analysis of testicular histomorphology and oxidative stress level between fat and lean broilers/LI Hui^{1,2,3}, LI Yening^{1,2,3}, ZHOU Sitong^{1,2,3}, JIANG Haixu^{1,2,3}, CHENG Bohan^{1,2,3} (1. Key Laboratory of Chicken Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Harbin 150030, China; 2. Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction, Education Department of Heilongjiang Province, Harbin 150030, China; 3. School of Animal Sciences and Technology, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: The study aimed to compare the differences in testicular histomorphology and oxidative stress level between fat and lean broilers. The fat and lean breeder roosters from the 24th generation of the Northeast Agricultural University broiler lines divergently selected for abdominal fat content at 27 and 36 weeks of ages were used as experimental materials. The seminiferous epithelium structure of the seminiferous tubules of testicular tissue was observed by HE staining of paraffin section. Testicular spermatogenic function was assessed based on the area of the seminiferous tubules, thickness of the seminiferous epithelium and Johnsen score. The amount of oxidative stress product malondialdehyde

基金项目: 国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41)

作者简介: 李辉(1963-), 男, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为动物遗传育种与繁殖。E-mail: lihui@neau.edu.cn

(MDA) and the activity of antioxidant enzymes, including catalase (CAT), total superoxide dismutase (T-SOD) and glutathione peroxidase (GSH-PX) in testicular tissue, were detected according to the instructions of the kits. The results showed that the abdominal fat weight and abdominal fat percentage of fat roosters were significantly higher than those of the lean roosters at 27 and 36 weeks of ages, and the testicular weight and testicular ratio of fat rooster were significantly higher than those of the lean roosters at 36 weeks of age. In the fat roosters, the spermatogenic cells were shedded and distributed disorderly in testicular tissue, "fat like vacuoles" appeared in the seminiferous tubules. The area of seminiferous tubules, thickness of seminiferous epithelium and Johnsen score of fat roosters were significantly lower than those of lean roosters at 27 and 36 weeks of ages. The activities of CAT and T-SOD in testicular tissue of fat roosters were significantly lower than those of the lean roosters, and the content of MDA was significantly higher than that of the lean roosters at 27 and 36 weeks of ages. In summary, the results of this study indicated that excessive abdominal fat deposition in the fat broiler breeder roosters might cause an increased in testicular oxidative stress levels, leading to damage to the structure of the seminiferous epithelium in the seminiferous tubules and decrease in spermatogenic function.

Key words: broiler breeder rooster; abdominal fat deposition; testicle; oxidative stress; spermatogenic function

我国是农业大国,畜牧业在国民经济构成中具有举足轻重的地位。肉鸡产业是我国畜牧业重要组成部分,在提高人民收入及保障民生等方面发挥重大作用。随着肉鸡产业迅速发展,鸡肉总生产量和总消费量不断上升,如今已成为我国第二大畜禽肉类消费品。在鸡肉产品中,白羽肉鸡约占55%~60%份额,是鸡肉重要来源^[1]。为满足市场需要,白羽肉鸡经过几十年不断选育,产肉量和生长速度均得到显著提高,但同时也导致体脂(尤其是腹脂)过度蓄积^[2]。肉鸡体脂过度蓄积也带来许多问题,如降低肉仔鸡的饲料转化效率、胴体瘦肉率和肉种鸡繁殖性能^[3-5]。精液品质是衡量肉种公鸡繁殖性能重要指标之一,影响精液品质主要因素有精液量、精液pH、精子浓度、精子活力及精子畸形率等^[6]。已有研究表明,肉种公鸡肥胖降低其精液品质^[7]。

睾丸是精子产生和储存的场所,其形态结构直接影响精液品质。睾丸实质充满曲细精管,曲细精管管壁上皮(即生精上皮)是精子发生场所。鸡和哺乳动物精子发生过程相似,在精子发生阶段,生精上皮可见各级生精细胞,包括精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞、精细胞和精子。曲细精管面积和生精上皮厚度是评价睾丸结构和功能是否正常的重要指标^[8]。人类和小鼠研究表明,肥胖导致睾丸组织中曲细精管结构和精子形态异常、精子浓度和活力显著降低^[9-10]。

氧化应激是指机体产生活性氧(ROS)和抗氧化系统清除ROS发生失衡,导致ROS在体内过量积累,引起细胞毒性病理过程^[11]。Funes等研究表明,小鼠睾丸组织氧化应激会导致睾丸结构损伤,影响生精功能^[12]。Xu等研究发现,睾丸氧化应激时产生过量ROS是造成精子活力降低、畸形率升高的重要原因之一^[13]。研究表明,肉种公鸡体脂过度沉积导致睾丸内氧化应激水平升高,导致精子活力下降和精子畸形率升高^[14-15]。

本课题组前期以第18世代高、低脂系肉种公鸡为试验材料,开展两个品系间精液品质比较分析,结果发现高脂系公鸡精液量、精子浓度、精子活力显著低于低脂系,精子畸形率显著高于低脂系^[5],但原因尚不清楚。本研究以第24世代27周龄(高、低脂系肉种公鸡性成熟早期)和36周龄(高、低脂系肉种公鸡繁殖性能最佳时期)高、低脂系肉种公鸡为试验材料,开展高、低脂系肉鸡睾丸组织形态和氧化应激水平比较分析。研究结果有助于揭示高、低脂系肉鸡精液品质差异原因,为提高肉种公鸡繁殖性能提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

以高、低脂系第24世代27周龄和36周龄肉种公鸡为试验材料(每个周龄每个品系各10只鸡,来

源于不同半同胞家系)，禁食 12 h 后称量体重 (BW)并屠宰，屠宰后称量腹脂重 (AFW)和睾丸重 (TW)，并计算腹脂率 (AFP=AFW/BW×100%)和睾丸比率 (TP=TW/BW×100%)。睾丸组织称重后立即将左侧睾丸放入 4%多聚甲醛中固定，4 ℃保存待用；右侧睾丸剪成小块，放置于 5 mL 采样管中，液氮速冻，-80 ℃保存待用。所有肉种鸡按照 AA+ 父母代肉鸡饲养管理手册 (2018)饲养在同一环境下。肉种公鸡从 0 日龄至 7 周龄自由采食和饮水，从 8 周龄至 53 周龄进行限饲。

1.2 试验方法

1.2.1 睾丸组织石蜡切片的 HE 染色

对 4%多聚甲醛固定后睾丸组织进行石蜡包埋，具体操作步骤如下：去除组织表面杂质，放入包埋盒，流动自来水冲洗 12 h，滤纸擦干，依次放入 30% (1 h)、50% (1 h)、70% (1 h)、80% (1 h)、95% (1 h)、100% (1 h)、100% (1 h)乙醇中逐级脱水，脱水后将组织放入无水乙醇：二甲苯 (1:1)混合液中浸泡 30 min，放入二甲苯中浸泡至组织块完全透明。将组织块依次置于融化的石蜡 I (1 h)和石蜡 II (1 h)中，放入 56 ℃烘箱中。打开包埋仪，使石蜡处于融化状态。在包埋框底部注入一薄层石蜡，迅速用镊子将浸蜡后组织块平整放入包埋框中央，置于冷冻台上。待组织块固定后，继续注入石蜡，将包埋框底盖在组织上方，再注入足够量石蜡，移至冷冻台，待冷冻完全后，将包埋好的组织蜡块取下，4 ℃保存。切片前将包埋好的组织蜡块进行修整，去除组织周围多余石蜡。切片时先将切片厚度调至 20 μm，切掉组织表面多余蜡，再将切片厚度调至 5 μm 切取组织，得到切片后移至装有 42 ℃温水的展片机充分展片，用载玻片捞取切片，放在 37 ℃烘片机上烘干，保存于切片盒待用。

将制作好的切片置于玻片架上，在 60 ℃烘箱中放置 1 h。利用北京索莱宝科技有限公司苏木素伊红 (HE)染色试剂盒对切片染色 (每只鸡取 2 张睾丸组织切片进行 HE 染色)，具体步骤如下：将切片依次放入二甲苯 I (5 min)、二甲苯 II (5 min)、无水乙醇 (5 min)、95%乙醇 (2 min)、80%乙醇 (2 min)、70%乙醇 (2 min)、蒸馏水 (2 min) 中；苏木素染液染色 15 min，自来水冲洗；分化液分化 30 s；自来水浸泡 15 min 后，置于伊红染液染色

2 min，自来水冲洗；自来水浸泡 5 min 后，依次放入 95%乙醇 I (3 s)、95%乙醇 II (3 s)、无水乙醇 I (3 s)、无水乙醇 II (1 min)、二甲苯 I (1 min)、二甲苯 II (1 min)中进行脱水和透明；将透明后的切片滴加中性树脂，盖上盖玻片进行封片。

使用 Nikon eclipse 80 i 荧光正置显微镜 (目镜 10X，物镜 20X)观察经 HE 染色的睾丸组织切片。在显微镜视野下随机选择 15 个轮廓规则的曲细精管，利用 Image J v6.0 (Media Cyber netics, Inc. Maryland, USA)软件将曲细精管基底膜圈定，所得面积即为曲细精管面积；每个曲细精管随机选取 3 个位置，用 Image J v6.0 软件测量基底膜至管腔内成熟精子间距离，3 次测量结果平均值即为该曲细精管生精上皮厚度。此外，根据 Johnsen 评分，评估每张切片中 15 个曲细精管生精上皮生精情况。Johnsen 评分标准见表 1^[6]。

表 1 Johnsen 评分标准

Table 1 Johnsen scoring criteria

评分 Score	精子发生水平 Spermatogenesis level
10	可见精子发生全过程
9	精子发生轻微受损
8	每个曲细精管少于 5 个精子
7	成熟生精细胞缺乏，可见多数早期生精细胞
6	少数或没有早期生精细胞， 生精过程停滞在生精细胞形成时期
5	较多精母细胞
4	少数精母细胞，生精过程停滞在初级精母细胞时期
3	仅有精原细胞
2	无生精细胞，仅有支持细胞
1	无曲细精管上皮细胞，管状硬化

1.2.2 睾丸组织氧化应激水平检测

利用南京建成生物工程研究所有限公司的丙二醛 (MDA)测定试剂盒 (TBA 法)、过氧化氢酶 (CAT)测定试剂盒 (可见光法)、总超氧化物歧化酶 (T-SOD)测定试剂盒 (羟胺法)和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX)测定试剂盒 (比色法)检测睾丸组织中 MDA 含量及 CAT、T-SOD、GSH-PX 酶活性，评估睾丸组织氧化应激水平。所有氧化应激指标测定均按照试剂盒说明书操作。使用上海碧云天

生物技术有限公司BCA蛋白浓度测定试剂盒(增强型)测定样品蛋白浓度,用于校正MDA含量及CAT、T-SOD、GSH-PX酶活性。

1.2.3 统计分析

所有数据结果均表示为平均值±标准差。使用SPSS 26.0软件分析所测得数据。分析数据前,对数据资料进行正态分布和方差齐性检验。对于数据资料开展差异性分析时,符合正态分布采用双尾独立样本 T 检验,不符合正态分布则采用非参数独立样本Mann-Whitney检验。 $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 高、低脂系肉种公鸡腹脂性状及睾丸性状的比较分析

在27和36周龄时,高脂系肉种公鸡腹脂重和腹脂率显著或极显著高于低脂系($P<0.05$ 或 $P<0.01$,见表2)。在27周龄时,高脂系肉种公鸡睾丸重有高于低脂系的趋势,但未达到显著水平($P>0.05$),睾丸比率在两系间无差异($P>0.05$,见表2);36周龄高脂系肉种公鸡睾丸重和睾丸比率极显著或显著高于低脂系($P<0.05$ 或 $P<0.01$,见表2和图1)。

表2 27、36周龄高、低脂系肉种公鸡腹脂性状和睾丸性状比较

Table 2 Comparison of abdominal fat and testicular traits between fat and lean broiler breeder roosters at 27 and 36 weeks of age

周龄 Age	性状 Traits	高脂系 Fat line	低脂系 Lean line	P 值 P value
27周龄 27 weeks of age	腹脂重(g)	76.571±14.890	6.007±2.567	<0.001**
	腹脂率(%)	0.017±0.011	0.001±0.002	<0.001**
	睾丸重(g)	45.757±7.526	41.867±7.205	0.236
	睾丸比率(%)	0.010±0.001	0.010±0.002	0.433
36周龄 36 weeks of age	腹脂重(g)	26.782±9.527	1.106±1.106	0.015*
	腹脂率(%)	0.006±0.006	0.0002±0.0007	<0.001**
	睾丸重(g)	42.212±9.592	30.276±11.327	0.020*
	睾丸比率(%)	0.010±0.002	0.007±0.002	0.003**

注: * $P<0.05$ 表示差异显著, ** $P<0.01$ 表示差异极显著。下同。

Note: * $P<0.05$ indicates significant difference, ** $P<0.01$ indicates remarkably significant difference. The same as below.



A-36周龄高脂系肉种公鸡; B-36周龄低脂系肉种公鸡。

A-Fat broiler breeder rooster at 36 weeks of age; B-Lean broiler breeder rooster at 36 weeks of age.

图1 36周龄高、低脂系肉种公鸡睾丸组织形态

Fig. 1 Testicular morphology of fat and lean broiler breeder roosters at 36 weeks of age

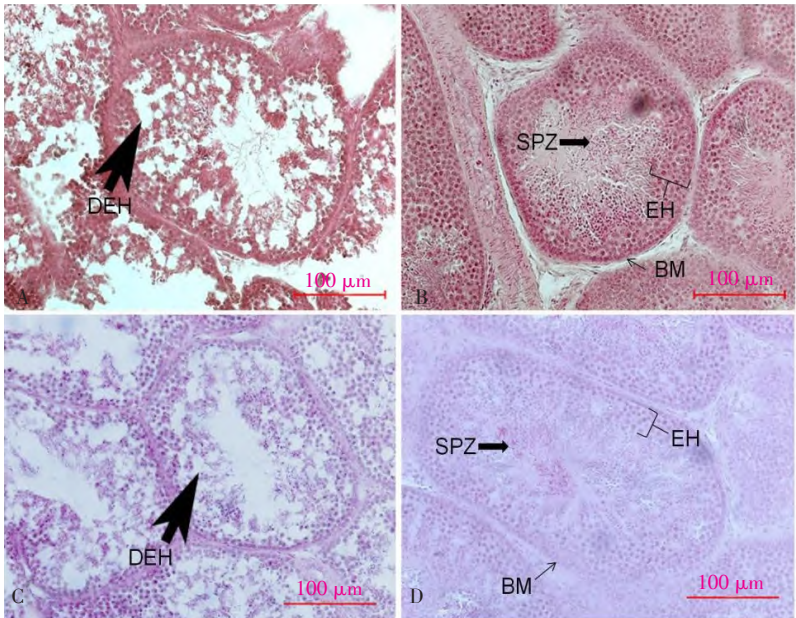
2.2 高、低脂系肉种公鸡睾丸组织结构比较分析

27和36周龄高、低脂系肉种公鸡睾丸组织切片的HE染色结果显示,高脂系肉种公鸡睾丸中生精细胞层数减少、排列紊乱,曲细精管内出现“脂

肪样空泡”(见图2A、C);低脂系肉种公鸡睾丸中生精细胞层数正常、排列有序,管腔内可见大量精子(见图2B、D)。测量和统计分析睾丸组织切片中曲细精管面积和生精上皮厚度,结果显示,高脂

系肉种公鸡曲细精管面积和生精上皮厚度极显著低于低脂系 ($P<0.01$, 见表3)。为进一步分析高、低脂系肉种公鸡睾丸生精上皮生精功能, 进行Johnsen评分, 结果发现, 高脂系肉种公鸡Johnsen

评分显著或极显著低于低脂系 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$, 见表3)。以上结果表明, 在27和36周龄时, 与低脂系肉鸡相比, 高脂系肉鸡睾丸组织中曲细精管生精上皮结构受损, 生精功能较差。



(A) 27 周龄高脂系肉种公鸡; (B) 27 周龄低脂系肉种公鸡; (C) 36 周龄高脂系肉种公鸡; (D) 36 周龄低脂系肉种公鸡; DEH 表示生精上皮损伤区域; SPZ 表示精子; BM 表示基底膜; EH 表示生精上皮。

(A) Fat broiler breeder rooster at 27 weeks of age; (B) Lean broiler breeder rooster at 27 weeks of age; (C) Fat broiler breeder rooster at 36 weeks of age; (D) Lean broiler breeder rooster at 36 weeks of age; DEH indicates the damaged area of the spermatogenic epithelium; SPZ indicates the spermatozoa; BM indicates the basement membrane; EH indicates the spermatogenic epithelium.

图2 高、低脂系肉种公鸡睾丸组织切片 HE 染色

Fig. 2 HE staining of testicular tissue sections of fat and lean broiler breeders

表3 27、36 周龄高、低脂系肉种公鸡睾丸组织学比较

Table 3 Comparison of testis histology between fat and lean broiler breeder roosters at 27 and 36 weeks of age

周龄 Age	检测指标 Detection indicators	高脂系 Fat line	低脂系 Lean line	P 值 P value
27 周龄 27 weeks of age	曲精细管面积(μm^2)	38 642.615 $\pm$ 3 174.331	44 716.783 $\pm$ 5 157.162	0.006**
	生精上皮厚度(μm)	45.809 $\pm$ 4.199	64.677 $\pm$ 6.101	<0.001**
	Johnsen 评分	9.5767 $\pm$ 0.171	9.740 $\pm$ 0.127	0.031*
36 周龄 36 weeks of age	曲精细管面积(μm^2)	35 433.906 $\pm$ 3 809.686	41 248.424 $\pm$ 4 636.087	0.007**
	生精上皮厚度(μm)	45.534 $\pm$ 6.500	58.080 $\pm$ 5.421	<0.001**
	Johnsen 评分	8.383 $\pm$ 0.345	9.061 $\pm$ 0.246	<0.001**

2.3 高、低脂系肉种公鸡睾丸组织氧化应激水平比较分析

如表4所示, 在27和36周龄时, 高脂系肉种公鸡睾丸组织中氧化应激产物MDA含量显著或极显著高于低脂系 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 抗氧化酶T-

SOD和CAT活性显著或极显著低于低脂系 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 抗氧化酶GSH-PX活性有低于低脂系的趋势, 但未达到显著水平 ($P>0.05$)。以上结果表明, 高脂系肉种公鸡睾丸组织氧化应激水平高于低脂系。

表4 27、36周龄高、低脂系肉种公鸡睾丸组织氧化应激指标比较

Table 4 Comparison of index of testis oxidative stress between fat and lean broiler breeder roosters at 27 and 36 weeks of age

周龄 Age	检测指标 Detection indicators	高脂系 Fat line	低脂系 Lean line	P值 P value
27周龄 27 weeks of age	丙二醛(nmol·mg ⁻¹ prot)	5.300±0.477	3.998±0.184	0.026*
	总超氧化物歧化酶(U·mg ⁻¹ prot)	30.837±2.429	45.554±2.411	<0.001**
	谷胱甘肽过氧化物酶(U·mg ⁻¹ prot)	241.950±29.323	346.628±68.401	0.163
	过氧化氢酶(U·mg ⁻¹ prot)	58.338±3.022	102.707±7.508	<0.001**
36周龄 36 weeks of age	丙二醛(nmol·mg ⁻¹ prot)	6.116±0.213	4.480±0.074	<0.001**
	总超氧化物歧化酶(U·mg ⁻¹ prot)	24.868±3.936	39.740±6.261	<0.001**
	谷胱甘肽过氧化物酶(U·mg ⁻¹ prot)	324.964±18.574	362.978±8.892	0.081
	过氧化氢酶(U·mg ⁻¹ prot)	56.869±3.639	120.318±24.280	0.023*

3 讨论与结论

本研究以第24世代高、低脂系肉种公鸡为试验材料,开展高、低脂系肉鸡睾丸组织形态和氧化应激水平比较分析。

研究表明,肥胖小鼠和大鼠睾丸重量显著高于正常小鼠和大鼠,且与正常鼠相比,肥胖鼠睾丸组织中脂肪含量显著升高,提示肥胖鼠睾丸重量高于正常鼠可能与肥胖鼠睾丸中沉积过多脂肪有关^[17-18]。Marks以日本鹌鹑为研究材料发现,腹脂含量与睾丸重之间呈显著正相关^[19]。本课题组Zhang等研究发现,7、14、25、30和56周龄高脂系公鸡腹脂重和腹脂率显著高于低脂系;在7、14、25周龄时,低脂系公鸡睾丸重和睾丸比率显著高于高脂系,但在30和56周龄时,高脂系公鸡睾丸重和睾丸比率显著高于低脂系^[5]。本研究发现,27和36周龄高脂系肉种公鸡腹脂重和腹脂率极显著高于低脂系,且36周龄高脂系肉种公鸡睾丸重和睾丸比率显著高于低脂系;另外,本研究发现27和36周龄高脂系肉种公鸡睾丸生精上皮细胞出现大量“脂滴样空泡”,这与上述前人研究结果一致。基于此,推测在性成熟前睾丸生长发育期(25周龄之前),高脂系肉鸡腹脂沉积过度抑制睾丸生长发育,降低睾丸重量,但在性成熟后(25周龄之后),高脂系肉鸡体内可能有大量脂肪沉积到睾丸组织中,增加睾丸重量。

睾丸作为精子发生场所,其内部含有间质组织和曲细精管。睾丸组织结构正常对维持雄性动物繁殖性能尤为重要。小鼠肥胖导致睾丸组织中曲细精管结构异常、曲细精管面积减少及Johnsen

评分下降^[20-21]。本研究睾丸组织学分析结果显示,在27和36周龄时,低脂系肉种公鸡曲细精管中生精细胞层数正常且排列有序,管腔内可见大量精子;高脂系肉种公鸡曲细精管中生精细胞层数紊乱,生精细胞数量较少且排列紊乱,出现生精细胞脱落现象,且高脂系肉种公鸡睾丸曲细精管面积、生精上皮厚度、Johnsen评分均极显著低于低脂系,说明肉种公鸡腹脂过度沉积对睾丸组织中曲细精管生精上皮结构造成损伤,这与人类和小鼠研究结果一致。Hu等研究发现,小鼠睾丸组织结构损伤导致精子数量减少^[22]。Demirci等和Yan等研究发现,肥胖大鼠睾丸组织结构受损,曲细精管面积减少、Johnsen评分和精子浓度下降^[21,23]。综上,推测本课题组前期发现的第18世代高脂系肉种公鸡精液量和精子浓度显著低于低脂系^[5],可能与高脂系肉种公鸡睾丸组织结构受损有关。

Funes等研究发现,喂食高脂饲料的小鼠出现睾丸氧化应激水平升高,导致睾丸结构受损(如生精细胞排列松散、曲细精管出现空泡化),对睾丸生精功能产生不利影响^[12]。Ghosh等研究发现,喂食高脂饲料的小鼠睾丸内ROS过量积累引起氧化应激导致睾丸结构异常(如曲细精管破裂、空泡化增加),睾丸生精功能降低^[24]。Alahmar等研究表明,由于精子细胞质较少,抗氧化能力较弱,更易发生氧化应激损伤^[25]。正常细胞活动需要线粒体提供能量,线粒体通过电子传递链利用4个电子结合氧分子将氧气还原成水产生ATP。家禽精子线粒体作为精子能量供应中心,其功能状况直接决定精子活力^[26]。研究发现,ROS在细胞中积累导致氧化应激时最先攻击的细胞器是线粒体,降低精子

活力^[11, 27]。以上研究表明, 睾丸组织中过量积累的ROS可能通过攻击精子线粒体降低精子活力。哺乳动物和鸟类精子细胞膜富含大量不饱和脂肪酸, 在ROS作用下发生脂质过氧化, 造成精子细胞结构异常, 导致精子畸形^[15]。Li等与Partyka等研究均表明, 肉种公鸡体脂过度沉积导致睾丸内氧化应激水平升高, 导致精子活力下降和精子畸形率升高^[14-15]。体内氧化应激水平通常用氧化应激产物MDA含量和抗氧化酶T-SOD、CAT、GSH-PX活性评估^[28]。本研究发现, 在27和36周龄时, 高脂系肉种公鸡睾丸组织中MDA含量显著高于低脂系, T-SOD和CAT活性显著低于低脂系, 说明与低脂系相比, 高脂系肉种公鸡睾丸组织抗氧化能力较差, 氧化应激更严重。本研究结果与上述Li等和Partyka等研究结果一致。本课题组前期发现的高脂系肉种公鸡精子活力显著低于低脂系^[5], 可能是因高脂系肉种公鸡睾丸内氧化应激水平升高, 损伤精子线粒体ATP合成能力导致; 而高脂系肉种公鸡精子畸形率显著高于低脂系^[5], 可能是因高脂系肉种公鸡睾丸内氧化应激水平升高, 损伤精子细胞膜结构导致。

本研究结果表明, 高脂系肉种公鸡腹脂沉积过多可能导致其睾丸氧化应激水平升高, 引起曲细精管生精上皮结构受损和生精功能下降。

[参 考 文 献]

- [1] 李辉, 杜志强, 王守志, 等. 白羽快大型肉鸡育种的过去、现在和将来[J]. 中国家禽, 2016, 38(19): 1-8.
- [2] Kim M, Voy B H. Fighting fat with fat: n-3 polyunsaturated fatty acids and adipose deposition in broiler chickens[J]. Front Physiol, 2021, 12: 755317.
- [3] Chen C, Su Z, Li Y, et al. Estimation of the genetic parameters of traits relevant to feed efficiency: Result from broiler lines divergent for high or low abdominal fat content[J]. Poult Sci, 2021, 100(2): 461-466.
- [4] Zhan X A, Wang M, Ren H, et al. Effect of early feed restriction on metabolic programming and compensatory growth in broiler chickens[J]. Poult Sci, 2007, 86(4): 654-660.
- [5] Zhang X Y, Wu M Q, Wang S Z, et al. Genetic selection on abdominal fat content alters the reproductive performance of broilers[J]. Animal, 2018, 12(6): 1232-1241.
- [6] Vitorino C A, Soler L, Thelie A, et al. Proteomic changes associated with sperm fertilizing ability in meat-type roosters[J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 655866.
- [7] Nir I, Waites G M, Cunningham F J. Obesity induced by force-feeding and accompanying changes in body temperature and fertility in the male domestic fowl[J]. Br Poult Sci, 1975, 16(5): 505-515.
- [8] Pintus E, Ros-Santaella J L, Garde J J. Beyond testis size: Links between spermatogenesis and sperm traits in a seasonal breeding mammal[J]. PLoS One, 2015, 10(10): e139240.
- [9] Yang F L, Wei Y X, Liao B Y, et al. Effects of lycium barbarum polysaccharide on endoplasmic reticulum stress and oxidative stress in obese mice[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 742.
- [10] Peng Y, Zhao W, Qu F, et al. Proteomic alterations underlie an association with teratozoospermia in obese mice sperm[J]. Reprod Biol Endocrinol, 2019, 17(1): 82.
- [11] Sies H, Jones D P. Reactive oxygen species (ROS) as pleiotropic physiological signalling agents[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2020, 21(7): 363-383.
- [12] Funes A, Saez L T, Santillan L D, et al. A chronic high-fat diet causes sperm head alterations in C57BL/6J mice[J]. Heliyon, 2019, 5(11): 2868.
- [13] Xu Z, Qin Y, Lv B, et al. Effects of moderate-intensity continuous training and high-intensity interval training on testicular oxidative stress, apoptosis and m6A methylation in obese male mice[J]. Antioxidants (Basel), 2022, 11(10): 1874.
- [14] Li Y, Sun Y, Ni A, et al. Seminal plasma proteome as an indicator of sperm dysfunction and low sperm motility in chickens[J]. Mol Cell Proteomics, 2020, 19(6): 1035-1046.
- [15] Partyka A, Lukaszewicz E, Nizanski W. Lipid peroxidation and antioxidant enzymes activity in avian semen[J]. Anim Reprod Sci, 2012, 134(3-4): 184-190.
- [16] Johnsen S G. Testicular biopsy score count--A method for registration of spermatogenesis in human testes: Normal values and results in 335 hypogonadal males[J]. Hormones, 1970, 1(1): 2-25.
- [17] 孙明琪. 不同性发育阶段高脂喂养对小鼠睾丸功能的影响[D]. 济南: 山东大学, 2018.
- [18] Ruiz-Valderrama L, Posadas-Rodriguez J, Bonilla-Jaime H, et al. Sperm dysfunction in the testes and epididymides due to overweight and obesity is not caused by oxidative stress[J]. Int J Endocrinol, 2022, 2022: 3734572.

(下转第96页)

- two dominant vegetation communities in a semiarid riparian ecosystem[J]. *Agricultural and Forest Meteorology*, 2000, 105(1/3): 241–256.
- [50] Yang B, Gong J R, Zhang Z H, et al. Stabilization of carbon sequestration in a Chinese desert steppe benefits from increased temperatures and from precipitation outside the growing season[J]. *Science of The Total Environment*, 2019, 691: 263–277.
- [51] Meng B, Shi B K, Zhong S Z, et al. Drought sensitivity of above-ground productivity in *Leymus chinensis* meadow steppe depends on drought timing[J]. *Oecologia*, 2019, 191(3): 685–696.
- [52] Knapp A K, Beier C, Briske D D, et al. Consequences of more extreme precipitation regimes for terrestrial ecosystems[J]. *BioScience*, 2008, 58(9): 811–821.
- [53] Karie C, Alan K. Unexpected patterns of sensitivity to drought in three semi-arid grasslands[J]. *Oecologia*, 2012, 169(3): 845–852.
- [54] Cook F J, Orchard V A. Relationships between soil respiration and soil moisture[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2008, 40(5): 1013–1018.
- [55] Borken W, Matzner E. Reappraisal of drying and wetting effects on C and N mineralization and fluxes in soils[J]. *Global Change Biology*, 2009, 15(4): 808–824.
- [56] Chen S P, Liu G H, Huang J H, et al. Dependence of carbon sequestration on the differential responses of ecosystem photosynthesis and respiration to rain pulses in a semiarid steppe[J]. *Global Change Biology*, 2009, 15(10): 2450–2461.
- [57] Li L F, Zheng Z Z, Biederman J A, et al. Ecological responses to heavy rainfall depend on seasonal timing and multi-year recurrence[J]. *New Phytologist*, 2019, 223(2): 647–660.
- [58] Wilcox K R, Shi Z, Gherardi L A, et al. Asymmetric responses of primary productivity to precipitation extremes: A synthesis of grassland precipitation manipulation experiments[J]. *Global Change Biology*, 2017, 23(10): 4376–4385.
- (上接第41页)
- [19] Marks H L. Abdominal fat and testes weights in diverse genetic lines of Japanese quail[J]. *Poult Sci*, 1990, 69(10): 1627–1633.
- [20] Komninos D, Ramos L, van der Heijden G W, et al. High fat diet-induced obesity prolongs critical stages of the spermatogenic cycle in a *Ldlr*($-/-$) Leiden mouse model[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 430.
- [21] Demirci T, Sahin E. The effect of chronic stress and obesity on sperm quality and testis histology in male rats; a morphometric and immunohistochemical study[J]. *Histol Histopathol*, 2019, 34(3): 287–302.
- [22] Hu Z, Zhang Y, Zhang L, et al. Respiratory exposure to carbon black nanoparticles may induce testicular structure damage and lead to decreased sperm quality in mice[J]. *Reprod Toxicol*, 2021, 106: 32–41.
- [23] Yan W J, Mu Y, Yu N, et al. Protective effects of metformin on reproductive function in obese male rats induced by high-fat diet [J]. *J Assist Reprod Genet*, 2015, 32(7): 1097–1104.
- [24] Ghosh S, Mukherjee S. Testicular germ cell apoptosis and sperm defects in mice upon long-term high fat diet feeding[J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(10): 6896–6909.
- [25] Alahmar A T. Role of Oxidative Stress in Male Infertility: An Updated Review[J]. *J Hum Reprod Sci*, 2019, 12(1): 4–18.
- [26] Froman D P, Feltmann A J, Rhoads M L, et al. Sperm mobility: A primary determinant of fertility in the domestic fowl (*Gallus domesticus*)[J]. *Biol Reprod*, 1999, 61(2): 400–405.
- [27] Zorov D B, Juhaszova M, Sollott S J. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release[J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909–950.
- [28] Tian Z, Liu H, Chen X, et al. The activated ATM/p53 pathway promotes autophagy in response to oxidative stress-mediated DNA damage induced by Microcystin-LR in male germ cells[J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021, 227: 112919.