

张媛, 宫新城. 芩术仙灵散对夏季公兔抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (4): 29-33.

ZHANG Y, GONG X C. Effects of Qin Zhu Xian Ling Powder on antioxidant capacity, reproductive hormone level and reproductive capacity of male rabbits in summer [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (4): 29-33.

芩术仙灵散对夏季公兔抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力的影响

张媛, 宫新城*

(河北农业大学, 河北保定 071001)

摘要: 为了探究芩术仙灵散对夏季公兔抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力的影响, 将 18 只健康、性成熟新西兰公兔随机分成 3 组, 分别为常温对照组 (全价饲料), 高温高湿组 (全价饲料) 和给药组 (全价饲料+芩术仙灵散 2.5 g/d)。常温对照组饲养在温度 25 °C、相对湿度 60% 的动物房中, 其他组饲养在夏季自然温度与光照的动物房中。记录试验兔日采食量和爬跨率, 通过生化分析仪检测抗氧化能力, 显微镜观察精子形态, 放射免疫法检测生殖激素水平。结果: 与常温对照组相比, 高温高湿组公兔日采食量、爬跨率、抗氧化能力、精液品质和激素水平均显著降低 ($P < 0.05$), 射精反应时间显著延长 ($P < 0.05$)。与高温高湿组比较, 给药组公兔日采食量、爬跨率、抗氧化能力、激素水平均显著升高 ($P < 0.05$); 射精反应时间缩短了 3.67 s ($P < 0.05$); 精液品质改善明显, 精子畸形率降低了 1.72% ($P < 0.05$), 精子活率升高了 8% ($P < 0.05$)。本研究表明, 公兔在夏季产生了热应激, 日粮中添加芩术仙灵散可提高夏季公兔抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力。

关键词: 公兔; 精液品质; 生殖激素; 抗氧化能力; 生殖能力

中图分类号: S829.1 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2024)04-0029-05

Effects of Qin Zhu Xian Ling Powder on antioxidant capacity, reproductive hormone level and reproductive capacity of male rabbits in summer

ZHANG Yuan, GONG Xincheng*

(Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China)

Abstract: In order to determine the effects of Qin Zhu Xian Ling Powder on antioxidant capacity, reproductive hormone level and reproductive capacity of male rabbits in summer, 18 healthy sexually mature male New Zealand rabbits were selected and randomly divided into three groups: the normal temperature control group (fed with basic diet), the high temperature and high humidity group (with basic diet) and the medication administration group (with basic diet plus 2.5 g/d Qin Zhu Xian Ling Powder). The normal temperature control group was kept in an animal house at a temperature of 25 °C and under a relative humidity of 60%, while the other groups were kept in a house at natural temperature and under natural light in summer. Then, daily feed intake and mounting rate of the rabbits were recorded, their antioxidant capacity was detected by biochemical analyzer, their sperm morphology was observed by microscope, and their reproductive hormone levels were detected by radioimmunoassay. The results showed that, compared with the normal temperature control group, the daily feed intake, mounting rate, antioxidant capacity, semen quality and hormone level of the male rabbits in the high temperature and high humidity group were significantly decreased ($P < 0.05$), and their ejaculatory reaction time was significantly extended ($P < 0.05$). Compared with the high temperature and high humidity group, the daily feed intake, mounting rate, antioxidant capacity and hormone level of the male rabbits in the medication administration group were significantly increased ($P < 0.05$), their ejaculatory reaction time was shortened by 3.67 s ($P < 0.05$); their sperm quality was improved significantly, their abnormal sperm rate was decreased by 1.72% ($P < 0.05$), and their sperm motility rate was increased by 8% ($P < 0.05$). In conclusion, Qin Zhu Xian Ling Powder enhanced the antioxidant capacity, reproductive hormone level and reproductive ability of male rabbits in summer.

Keywords: male rabbit; semen quality; reproductive hormone; antioxidant capacity; reproductive capacity

收稿日期: 2023-07-18; 修回日期: 2024-01-18

基金项目: “十四五”国家重点研发计划项目 (2022YFD1801104); 河北省中药材产业技术体系资助项目 (HBCT2023080202)

第一作者: 张媛, 女, 硕士

* 通信作者: 宫新城, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为中兽医学, E-mail: gongxin6328@sina.com。

公兔在高温高湿的夏季容易发生热应激,引起食欲减退、抗氧化能力降低、性欲和精液品质下降,严重影响家兔的生长繁殖能力。中草药以其无耐药性与无药物残留的优势在畜禽养殖中被广泛应用^[1]。淫羊藿有补肾壮阳的功效,可提高性欲并改善精液品质^[2],且淫羊藿的有效成分是天然的抗氧化剂,能降低细胞氧化应激程度,减少细胞损伤^[3]。白术可祛除胃热、健脾和胃、刺激食欲、增加采食量^[4]。黄芩具有清热燥湿的功效,可祛除暑热,降低体温^[5]。自拟方剂芩术仙灵散包括淫羊藿、白术和黄芩三味药,总方从清热、健脾、补肾方面来提高夏季公兔的抗氧化能力和生殖能力。目前以清热、健脾、补肾组方的中药制剂来提高夏季公兔抗氧化能力和生殖能力的报道较少。本研究通过饲喂芩术仙灵散,探讨其对夏季公兔的采食量、抗氧化能力、生殖激素水平和精液品质的影响,为清热、健脾、补肾组方的中药制剂在提高夏季公兔抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力的应用中提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

12月龄性成熟新西兰公兔18只,体重约3 kg,母兔6只,体重约2.5 kg,购自河北农业大学养兔场。

1.2 试验设计

试验时间为6月9日—7月14日,购进公兔及母兔适应性饲养1周后,将公兔随机分为常温对照组、高温高湿组和给药组共3组,每组6只,单笼饲养。常温对照组动物房采用空调与加湿器,保持室温为25℃,相对湿度为60%;其余2组试验组饲养在夏季自然温度与光照的动物房中,试验期间平均温度为31.37℃,平均相对湿度为75.2%。常温对照组与高温高湿组饲喂全价饲料,给药组每只公兔喂给2.5 g/d芩术仙灵散(0.5 g黄芩、1 g白术和1 g淫羊藿),给药后自由采食全价饲料,持续饲喂4周,末次给药后,耳缘静脉采血,空气栓塞法处死公兔剖取睾丸组织。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 饲养环境温湿度

每天下午1点记录动物房温、湿度,参考文献[6]计算温湿度指数THI。

1.3.2 日采食量

每日投喂全价饲料1次,统计1周内平均日采食量。

1.3.3 抗氧化能力

给药4周后,空气栓塞法处死公兔,取0.5 g辜

丸组织于研钵中,加入4.5 mL生理盐水研磨,4℃条件下2 500 r/min离心15 min,取上清液于新的Ep管中,即为10倍稀释的辜丸组织上清液。使用超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号:20210415)和丙二醛(MDA)试剂盒(批号:20210409)检测辜丸中的SOD活性和MDA浓度,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3.4 激素水平

公兔耳缘静脉采血3 mL,室温放置30 min,4℃条件下2 500 r/min离心15 min,移取上清液即得到血清,-20℃保存。使用促黄体生成素(LH)(试剂盒批号:210420),促卵泡素(FSH)(试剂盒批号:210420)和辜酮(T)(试剂盒批号:210420)放射性免疫试剂盒分别检测血清LH、FSH和辜丸中T浓度,试剂盒均购自北京北方生物技术研究所有限公司。

1.3.5 生殖能力

于给药前、给药1周、给药2周、给药3周和给药4周分别对公兔进行爬跨和射精反应时间检测。将1只母兔放到公兔笼中,观察公兔是否有爬跨行为,统计爬跨数并计算爬跨率。

射精反应时间为母兔放入公兔笼中开始计时至公兔射精完成所需要的时间。

于给药前、给药1周、给药2周、给药3周和给药4周分别对公兔进行采精并检测精液品质。采精器夹层中加入45℃温水,内腔涂抹凡士林软膏,公兔阴茎周围消毒,将母兔放到公兔笼中,在公兔有爬跨行为时立即用采精器盛接精液,37℃恒温保存备用。精液经生理盐水稀释后置37℃恒温载物台上,检测精子密度、精子活率与精子畸形率^[7]。

1.4 数据统计与分析

采用SPSS 20.0对数据进行单因素方差分析,各组数据以“平均数±标准差”表示, $P<0.01$ 表示差异极显著, $P<0.05$ 表示差异显著, $P>0.05$ 表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 饲养环境温湿度

由表1可知,试验期间自然温度与光照的饲养室平均THI为30.06,根据 $THI<27.8$ 表示不发生热应激, THI 介于27.8至28.9表示中度热应激,29.0至30.0表示重度热应激, $THI>30.0$ 表示严重热应激^[6],说明本试验中自然温湿度饲养室对公兔产生了热应激。

表1 饲养环境温湿度

项目	对照组环境	试验组环境
温度/℃	25.00±1.52	31.37±1.19
相对湿度/%	60.09±7.36	75.20±4.61
THI	23.69±1.32	30.06±1.17

2.2 芩术仙灵散对夏季公兔日采食量的影响

由表2可知, 给药第1周和第2周各组间公兔平

均日采食量均没有统计学差异 ($P>0.05$)。给药第3周, 高温高湿组公兔平均日采食量较常温对照组减少了12.17 g ($P<0.05$); 给药组公兔平均日采食量较高温高湿组提高了11.83 g ($P<0.05$)。给药第4周, 公兔采食量受热应激影响更加明显, 高温高湿组公兔平均日采食量较常温对照组减少了39.84 g, 差异极显著 ($P<0.01$); 给药组公兔平均日采食量较高温高湿组提高了28.67 g, 差异极显著 ($P<0.01$)。

表2 芩术仙灵散对公兔日采食量的影响

组别	第1周	第2周	第3周	第4周
常温对照	177.67±10.13	179.17±5.81	176.17±8.18 ^a	179.17±6.43 ^A
高温高湿	175.00±17.17	171.50±9.22	164.00±12.03 ^b	139.33±6.44 ^C
给药	178.83±11.16	174.67±7.84	175.83±3.60 ^a	168.00±6.00 ^B

注: 同列比较, 无字母或小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。

2.3 芩术仙灵散对夏季公兔睾丸组织抗氧化能力的影响

由表3可知, 高温高湿组睾丸组织的MDA浓度显著高于常温对照组 ($P<0.05$); 给药组睾丸组织的

MDA浓度显著低于高温高湿组 ($P<0.05$)。高温高湿组睾丸SOD活性较常温对照组降低了9.72 U/mg ($P<0.05$); 给药组睾丸SOD活性较高温高湿组提高了5.92 U/mg ($P<0.05$)。

表3 芩术仙灵散对公兔睾丸组织MDA浓度和SOD活性的影响

项目	常温对照组	高温高湿组	给药组
MDA/(nmol·mL ⁻¹)	3.60±0.34 ^b	4.41±0.46 ^a	3.90±0.24 ^b
SOD/(U·mg ⁻¹)	58.24±3.89 ^a	48.52±5.47 ^b	54.44±2.17 ^a

注: 同行比较, 无字母或小写字母相同表示差异不显著 ($P>0.05$), 小写字母不同表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

2.4 芩术仙灵散对夏季公兔生殖激素水平的影响

由表4可知, 高温高湿组公兔血清FSH、LH和睾丸中T浓度较常温对照组分别降低了75.16 U/L ($P<0.05$)、284.72 U/L ($P<0.05$) 和0.31 ng/mL

($P<0.05$); 给药组公兔血清FSH、LH和睾丸中T浓度较高温高湿组分别提高了16.95 U/L ($P<0.05$)、178.09 U/L ($P<0.05$) 和0.11 ng/mL ($P<0.05$)。

表4 芩术仙灵散对公兔生殖激素水平的影响

项目	常温对照组	高温高湿组	给药组
FSH/(U·L ⁻¹)	233.58±3.31 ^a	158.42±5.64 ^c	175.37±4.91 ^b
LH/(U·L ⁻¹)	595.15±18.26 ^a	310.43±22.19 ^c	488.52±18.47 ^b
T/(ng·mL ⁻¹)	0.99±0.11 ^a	0.68±0.08 ^c	0.79±0.06 ^b

2.5 芩术仙灵散对夏季公兔生殖能力的影响

2.5.1 芩术仙灵散对夏季公兔爬跨率和射精反应时间的影响

由表5可知, 高温高湿组公兔爬跨率较常温对照组显著降低 ($P<0.05$); 给药组公兔爬跨率较高温高

湿组显著提高 ($P<0.05$)。高温高湿组公兔射精反应时间较常温对照组延长了6.33 s ($P<0.05$); 给药组公兔射精反应时间较高温高湿组缩短了3.67 s ($P<0.05$)。

表 5 芩术仙灵散对公兔爬跨率和射精反应时间的影响

项目	常温对照组	高温高湿组	给药组
爬跨率/%	83.33±11.79 ^a	56.67±9.13 ^b	73.33±9.13 ^a
射精反应时间/s	13.00±1.90 ^b	19.33±3.50 ^a	15.66±1.86 ^b

2.5.2 芩术仙灵散对夏季公兔精液品质的影响

由表 6 可知, 高温高湿组公兔平均采精量较常温对照组降低了 0.17 mL ($P<0.05$); 给药组平均采精量较高温高湿组提高了 0.12 mL ($P<0.05$)。高温高湿组公兔精子密度较常温对照组显著降低 ($P<0.05$); 给药组公兔精子密度较高温高湿组显著提高

($P<0.05$)。高温高湿组精子活率较常温对照组降低了 24.4% ($P<0.05$); 给药组精子活率较高温高湿组提高了 8% ($P<0.05$)。高温高湿组精子畸形率较常温对照组升高了 13.76% ($P<0.05$); 给药组精子畸形率较高温高湿组降低了 1.72% ($P<0.05$)。说明芩术仙灵散可显著提高夏季公兔的精液品质。

表 6 芩术仙灵散对公兔精液品质的影响

项目	常温对照组	高温高湿组	给药组
采精量/mL	0.50±0.05 ^a	0.33±0.03 ^b	0.45±0.04 ^a
精子密度/($10^8 \cdot \text{mL}^{-1}$)	2.27±0.15 ^a	1.51±0.15 ^b	2.09±0.11 ^a
精子活率/%	91.60±3.21 ^a	67.20±7.26 ^c	75.20±5.26 ^b
精子畸形率/%	3.26±0.98 ^c	17.02±1.14 ^a	15.30±0.78 ^b

3 讨论

在热应激刺激下, 公兔采食中枢受到抑制, 动物机体表现食欲不振、采食量严重减少, 引起胃肠功能下降的交感神经可以在热应激期间减少食物摄入以减少产热^[8]。本试验中, 高温高湿组公兔日采食量显著下降, 这与蒲启建等^[9]发现 5—8 月份热应激期间 3 种品系的青年肉牛的干物质采食量较非热应激期间降低结果一致, 说明了本试验中高温高湿组公兔产生了热应激。给药组公兔饲喂的芩术仙灵散根据课题组前期研究“消暑促精散”方剂中黄芩、白术和淫羊藿的剂量设计本研究的给药剂量, 给药组公兔日采食量显著提高, 说明了芩术仙灵散可促进夏季公兔食欲, 这是方剂中的白术增强了小肠平滑肌的收缩幅度和频率, 加速胃肠内容物的运动, 从而达到健胃健脾的效果^[10]。

动物受到热应激后, 机体代谢紊乱, 产生过多的氧自由基需要酶促系统来清除从而减轻细胞损伤。在热应激状态下, 机体抗氧化酶 SOD 活性下降, MDA 含量上升, 生殖细胞结构损伤。段晨磊等^[11]研究表明, 长毛兔在夏季产生热应激, 血清 SOD 活性显著降低, MDA 含量显著升高, 这与本试验结果一致, 进一步说明了本试验中高温高湿组公兔产生了热应激。黄芩含有丰富的类黄酮, 具有很强的抗氧化活性^[12]。曹清华^[13]研究显示, 白术各萃取物中黄酮类和多酚类可能是主要抗氧化物质并具有较强的抗氧化

活性。淫羊藿有效成分可提高老龄动物抗氧化能力, 降低血液过氧化物酶浓度, 提高 SOD 活性^[14]。本试验中给药组较高温高湿组公兔 SOD 活性显著升高, MDA 含量显著降低, 这说明了饲喂芩术仙灵散可有效提高夏季公兔的抗氧化能力, 这可能归因于黄芩、白术与淫羊藿的抗氧化活性成分。

夏季公兔性欲降低, 直接影响家兔的繁殖能力。淫羊藿是补肾壮阳的良药, 可以提高雄性动物的性欲^[15]。本试验中给药组公兔爬跨次数显著提高, 射精反应时间显著缩短, 说明饲喂含有淫羊藿成分的芩术仙灵散可提高夏季公兔性欲。

精子的发生、发展和维持依赖于垂体对下丘脑促性腺激素释放激素的反应而产生的 LH 和 FSH^[16]。LH 刺激 T 的产生, 被认为是有效精子发生和第二性特征合成代谢作用的基石^[17]。精子发生于睾丸的曲细精管, 成熟于附睾, 适宜的温度是精子正常发生与成熟的前提^[18]。高温会抑制下丘脑促性腺激素释放激素的合成和分泌, 严重影响睾丸功能, 导致公兔精液品质降低。FSH、LH 和 T 水平降低, 精子的发育和成熟受到抑制, 精液品质下降, 母畜受胎率及胚胎成活率降低, 繁殖性能下降。本试验中高温高湿组公兔血清 FSH、LH 及睾丸中 T 的浓度显著降低, 精液品质下降, 这与张立永等^[19]研究结果一致。有报道淫羊藿能缓解睾丸损伤, 提高睾酮激素水平^[20]。方春燕等^[21]研究表明, 淫羊藿可以显著提高少弱精子症的精液品质, 这与本试验中给药组精液品质显著

提高的研究结果相似,这种效果可归因于睾酮合成的改善或黄芩与淫羊藿的抗氧化活性可能保护不同阶段的精母细胞免受凋亡,导致精子质量提高。

综上,公兔在夏季自然温湿度的饲养环境下产生了热应激。芩术仙灵散可显著提高夏季公兔日采食量、爬跨率、生殖激素水平、采精量、精子密度及精子活率,降低射精反应时间及精子畸形率,有效提高夏季公兔的抗氧化能力、生殖激素水平和生殖能力。

参考文献:

- [1] 雷棋琛. 中草药饲料添加剂在畜禽生产中的应用 [J]. 中南农业科技, 2022, 43 (2): 52-54.
- [2] 胡浩武, 高羽, 周青罡, 等. 不同基原淫羊藿补肾壮阳相关药效学比较研究 [J]. 江西中医药, 2022, 53 (8): 59-62.
- [3] YANG X H, LI L, XUE Y B, et al. Flavonoids from *Epimedium pubescens*: extraction and mechanism, antioxidant capacity and effects on CAT and GSH-Px of *Drosophila melanogaster* [J]. PeerJ, 2020, 8; e8361.
- [4] 靳玉秋, 陈光顺, 赵哲. 《伤寒杂病论》中白术健脾功效探究 [J]. 中国民间疗法, 2022, 30 (11): 13-15.
- [5] 杨秀娟, 杨志军, 张金保, 等. 甘肃不同产地黄芩的根和茎叶清热燥湿作用比较 [J]. 中国临床药理学杂志, 2017, 33 (8): 730-733.
- [6] EL-RATEL I T, ATTIA K A H, EL-RAGHI A A, et al. Relief of the negative effects of heat stress on semen quality, reproductive efficiency and oxidative capacity of rabbit bucks using different natural antioxidants [J]. Animal Bioscience, 2021, 34 (5): 844-854.
- [7] 张琛. 热应激对新西兰白兔种公兔精液品质和精浆代谢物的影响 [D]. 扬州: 扬州大学, 2022.
- [8] 张庆茹, 郭红斌, 张红德. 热应激对动物机体生理机能的影响 [J]. 动物医学进展, 2007, 28 (1): 101-105.
- [9] 蒲启建, 王之盛, 彭全辉, 等. 热应激对不同品种 (系) 青年

肉牛生产性能、营养物质表观消化率及血液生化指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2017, 29 (9): 3120-3131.

- [10] 马晓松, 樊雪萍, 陈忠, 等. 白术对动物胃肠运动及小肠平滑肌肌电的影响 [J]. 基础医学与临床, 1995 (增刊): 65-66.
- [11] 段晨磊, 李文立. 维生素 C 缓解夏季长毛兔热应激的研究 [J]. 饲料广角, 2014 (17): 16-18.
- [12] 申佳佳. 添加类黄酮黄芩甙元对肉鸡生长性能, 免疫力和抗氧化能力的影响 [J]. 广东饲料, 2019, 28 (5): 52.
- [13] 曹清华. 白术抗氧化活性成分的提取及鉴定研究 [D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2018.
- [14] 曾南, 孟宪丽, 张艺, 等. 淫羊藿有效成分抗氧化作用研究 [J]. 中国中药杂志, 1997 (1): 47-49.
- [15] 郑洁, 谢晓红, 雷岷, 等. 热应激对公兔精液品质的影响及机理的研究进展 [J]. 中国养兔, 2018 (6): 24-28.
- [16] ODUWOLE O O, HUHTANIEMI I T, MISRAHI M. The Roles of luteinizing hormone, follicle-stimulating hormone and testosterone in spermatogenesis and folliculogenesis revisited [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22 (23): 12735.
- [17] HUHTANIEMI I. MECHANISMS IN ENDOCRINOLOGY: hormonal regulation of spermatogenesis: mutant mice challenging old paradigms [J]. European Journal of Endocrinology, 2018, 179 (3): R143-R150.
- [18] LIANG Z L, CHEN F, PARK S, et al. Impacts of heat stress on rabbit immune function, endocrine, blood biochemical changes, antioxidant capacity and production performance, and the potential mitigation strategies of nutritional intervention [J]. Frontiers in Veterinary Science, 2022, 9: 906084.
- [19] 张立永, 张富梅. 地衣芽孢杆菌对热应激公兔精液品质及激素水平的影响 [J]. 中国兽医学报, 2017, 37 (1): 177-182.
- [20] 农淄心, 潘志强. 温补肾阳中药促进睾丸间质细胞睾酮分泌研究进展 [J]. 陕西中医药大学学报, 2021, 44 (5): 135-140.
- [21] 方春燕, 叶玉龙, 叶乃菁, 等. 基于网络药理学与分子对接技术研究淫羊藿治疗少弱精症的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28 (19): 194-203.