

# 高氟对 3 月龄公鸡生殖细胞的损伤作用

李兴霞

(内江师范学院 四川 641112)

**摘要:**为了探讨高氟对鸡生殖细胞损伤作用,选用 3 月龄蛋公鸡 10 只,实验组和对照组各一组,每组 5 只,实验组在饮水中添加 3.25 g/L 的氟化钠,对照组饮用自来水,实验周期为 120 d。分别于 60 d、80 d、100 d、120 d 采集精液,检测精子密度、早期精细胞微核率、精子畸形率及精子活率。120 d 后,处死动物,取两侧睾丸,称重并测量大小。结果表明,氟化钠可致精子数量减少,活率降低,精子畸形率和微核率上升,并呈明显的时间-效应关系。比较两组睾丸重量和大小,差异极显著( $P < 0.01$ )。说明高氟对鸡生殖细胞有遗传损伤作用,高氟可能是致突变物。

**关键词:**高氟;鸡;生殖细胞

中图分类号:Q492 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)04-93-04

## Germ Cell Damage Caused by Excessive Fluoride in Three-month Old Cocks

LI Xing-Xia

(Neijiang Teachers College, Sichuan 641112, China)

**Abstract:** To study the effects of excessive fluorine on germ cells, 10 three-month old cocks were randomly divided into 2 groups. The cocks in experimental group were fed with water containing 3.25 g/L sodium fluoride and the control individuals were fed with drinking running water for 120 days. Semen was collected after 60, 80, 100, and 120 days respectively, and sperm density, micronucleus rate, sperm deformity rate and of active sperm rate were counted. Animals were killed after 120 days, and testes were collected and weighed. The results showed that sperm density and active sperm rate were lower than those of control group, while sperm deformity rate and micronucleus rate were higher than the control. These parameters showed obvious correlativity with time. Size and weight of testes were compared, and the difference was significant ( $P < 0.01$ ). These results show that excessive fluorine damages the germ cells of cocks, and fluorine may be mutagenic.

**Key words:** Excessive fluorine; Cocks; Germ cells

过量氟是一种全身性毒物,可累及机体各组织器官,主要表现在对骨骼和牙齿的损害,但对非骨相组织也有广泛的毒性作用。近年来有关氟对哺乳动物的生殖毒性研究逐渐引起人们的重视,也成为氟研究领域的热点问题。无论是从流行病学研究,还是从动物实验研究都有证据表明,氟可作用于生殖过程的不同阶段并表现出生殖毒性<sup>[1~4]</sup>,而家禽对氟的耐受性较哺乳动物高,高氟对家禽生殖细胞是否具有损

伤作用,目前尚未见报道。本实验以 3 月龄蛋公鸡为实验对象,观察高氟对其生殖细胞的影响,这对提高家禽繁殖性能,减少禽产品中药物残留及保障人类健康具有参考价值。

基金项目 重庆市科技技术项目;

作者简介 李兴霞,女,助教;从事组织胚胎与疾病研究;E-mail: xinxiali@21cn.com.

收稿日期 2005-11-21;修回日期 2006-03-20

# 1 材料与方 法

**1.1 氟化钠剂量的确定** 参照药理实验指导方法<sup>[5]</sup>,以 0.2 ml/10 g 体重的剂量灌服,测定 LD<sub>50</sub>为 960.48 mg 氟化钠/kg 体重(换算成氟化钠浓度即为 48 mg/ml),因成年鸡比雏鸡的耐受性强,本实验确定 3.25 g/L 的氟化钠溶液(1/16 LD<sub>50</sub>)作为染毒剂量。

**1.2 动物饲养管理** 购回 10 只健康蛋公鸡,常规免疫,网上平养,自由采食和饮水。饲养观察 1 周后进行试验。

**1.3 氟化钠溶液的配制** 选用分析纯氟化钠(NaF),重庆川东化工有限公司生产,用蒸馏水配制成浓度为 3.25 g/L 的氟化钠溶液。

**1.4 动物分组与处理** 3 月龄罗曼褐蛋公鸡,由内江种鸡场提供,共分 2 组(实验组 1 组,对照组 1 组),每组 5 只。实验组鸡饮用含氟水,对照组鸡饮用自来水,两组鸡食用同一种饲料,在温度和湿度适宜以及通风良好的条件下,动物自由进食饮水,饲养 120 d。

**1.5 公鸡采精方法** 公鸡采精一般由 2 人配合完成,保定人员分别握住公鸡两腿,尾向前置于胸前,鸡头轻夹于腋下。采精人员左手自然伸开,以掌面从公鸡腰背部向尾部按摩。一般经过训练的公鸡 1 次按摩即出现性反射,表现为尾羽上翘,泄殖腔外翻。采精人员左手迅速将尾羽拨向背侧,左手拇指和食指跨在泄殖腔两侧的柔软部,轻轻挤压生殖器,这时有精液从精沟内流出,右手持接精杯接精。左手挤压几次见已无精液流出时,即可将接精杯移去<sup>[6]</sup>。

**1.6 动物中毒判定指标** 食欲下降,生长缓

慢,精神萎靡,羽毛杂乱无光。长骨、肋骨、喙变软变形,肋骨和肋软骨结合部呈串珠样肿胀,足趾卷曲、变形,跛行,关节肿大、僵硬。

**1.7 精子密度、畸形率、活率检测、精细胞微核实验、睾丸称重及大小测定**

**1.7.1 精子密度、畸形率、活率检测** 方法参照张一玲<sup>[7]</sup>。统计分析采用 SPSS 软件。

**1.7.2 睾丸形态大小比较和精细胞微核测定** 动物处死后,取两侧睾丸,称重,测定大小并按辛华<sup>[8]</sup>等简易方法制备早期精细胞微核标本,每只鸡的标本在油镜下计数 1 000 个早期精子细胞,计算微核细胞千分率。统计分析采用 SPSS 软件。

# 2 结 果

**2.1 试验鸡只临床表现** 实验组鸡只食欲下降,生长缓慢,鸡冠变小、苍白,出现跛行,关节肿大。对照组鸡只生长良好。

**2.2 精子密度、畸形率及活率** 其检测结果见表 1~3 及图 1~5。总体上看,实验组的精子密度低于对照组,虽两者的精子密度均符合种公禽品质指标(15~30 亿/ml),但说明该氟化物浓度对精子密度具有一定的抑制作用。

表 1 不同时期各组鸡精子密度测定结果 (n = 5,  $\bar{X} \pm S \checkmark \times 500$  万个/ml)

	n	60 d	80 d	100 d	120 d
实验组	5	374 ± 3.54*	353 ± 14.20**	340 ± 9.54**	328 ± 4.69**
对照组	5	380 ± 3.74	391 ± 9.92	378 ± 6.67	389 ± 8.80

同一列数值中,与对照组比较,\*表示差异显著(P < 0.05),\*\*表示差异极显著(P < 0.01)。下表同。

表 2 不同时期各组鸡精子畸形率测定结果(n = 5,  $\bar{X} \pm S \checkmark \times 500$  万个/ml)

	n	60 d	80 d	100 d	120 d
实验组	5	0.30 ± 0.044*	0.34 ± 0.029**	0.39 ± 0.026**	0.42 ± 0.034**
对照组	5	0.13 ± 0.011	0.12 ± 0.016	0.12 ± 0.012	0.13 ± 0.035

表 3 不同时期各组鸡精子活率测定结果(n = 5,  $\bar{X} \pm S \checkmark \times 500$  万个/ml)

	n	60 d	80 d	100 d	120 d
实验组	5	0.53 ± 0.021**	0.50 ± 0.016**	0.45 ± 0.030**	0.39 ± 0.022**
对照组	5	0.70 ± 0.025	0.74 ± 0.016	0.68 ± 0.019	0.70 ± 0.016

由表 2 可知,60 d 时,两组精子畸形率差异显著( $P < 0.05$ ),80 d、100 d、120 d 时,两者差异极显著( $P < 0.01$ )。在整个实验期,对照组畸形率均维持在 12%~13%,而实验组则从 30% 上升至 42%,呈现出一定的时间-效应关系。

由表 3 可知,对照组的精子活率达 70% 左右,达到种公禽精液品质要求,实验组的精子活率显著低于对照组( $P < 0.01$ )。随着时间的延长,实验组精子活率呈下降趋势,有明显的时间

-效应关系,表明 3.25 g/L 的饮水氟化钠浓度对鸡精子活率有一定的抑制作用。

**2.2 睾丸形态大小比较和精细胞微核测定**  
结果见表 4。实验组微核率显著高于对照组( $P < 0.01$ ),说明高氟可诱发生殖细胞染色体畸变;实验组睾丸大小和重量明显低于对照组( $P < 0.01$ ) (图 3),表明高氟可影响性机能和雄激素的分泌,导致睾丸体积变小。

表 4 不同时期各组鸡睾丸形态大小和精细胞微核测定结果

	<i>n</i>	睾丸大小(cm)	睾丸重量(g)	精细胞微核率(%)
实验组	5	(3.00±0.48)×(0.80±0.10)**	10.00±0.51**	13.00±1.58**
对照组	5	(4.25±0.18)×(0.10±0.01)	28.35±0.81	5.00±1.58

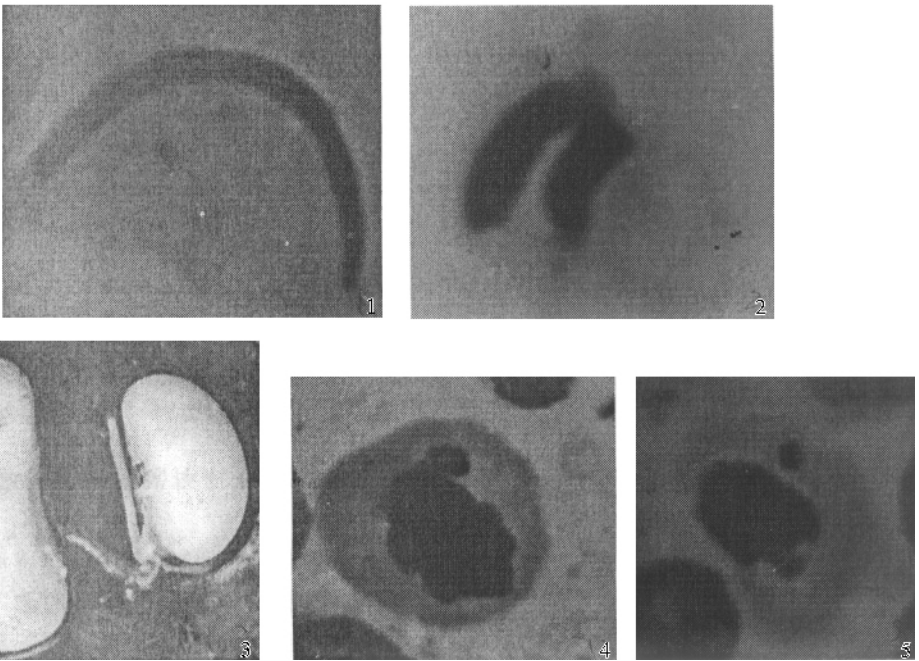


图 1 正常精子; 图 2 短小精子且中部缺损; 图 3 对照组和实验组睾丸大小比较; 图 4 早期精细胞微核; 图 5 晚期精细胞微核 均为 10×100)

### 3 讨论

实验组鸡饮水氟化钠浓度为 1/16 LD<sub>50</sub>,染氟 4 个月,分别于 60 d、80 d、100 d、120 d 采集精液,研究慢性氟中毒对鸡精液品质的影响。通

过对饮水慢性染氟,研究慢性氟中毒对鸡睾丸及精液品质的影响,结果发现高氟可明显影响鸡精子畸形率、活率、精子密度及睾丸形态大小,说明氟对家禽生殖细胞有一定的损害作用,具有致畸和致突变作用。动物实验发现<sup>[10]</sup>给

大鼠饮用 13 mg/L 的含氟水可导致大鼠精子的数目减少,畸形率增高,而本实验的中毒剂量是 3.25 g/L,这进一步说明鸡对氟的耐受性远高于实验动物小鼠。本实验结果与许多研究报道一致,氟化物可使精子的完整性、形态均发生改变。研究发现<sup>[11]</sup>,高浓度氟化物可导致鼠、羊的卵母细胞染色体损伤,认为氟化物对哺乳类卵母细胞是一种潜在的诱变剂。赵超英等<sup>[12]</sup>认为,氟化钠对小鼠生殖细胞具有遗传毒性作用,使睾丸初级精母细胞染色体的畸变增加,精子的畸形率增加。

本研究只限于慢性氟中毒对鸡睾丸习惯内胎和精液品质的影响,其中毒原因有待于进一步研究。据实验结果和文献报道,推测中毒原因可能与以下因素有关:氟可直接作用于睾丸、附睾等组织,破坏各级生精细胞、支持细胞及睾丸间质细胞的结构,并且氟可通过睾丸屏障,干扰精子正常发育过程,导致精子畸形率增加<sup>[13]</sup>。氟通过抑制酶活性干扰糖类代谢<sup>[14~17]</sup>。氟使附睾中琥珀酸脱氢酶(SDH)、三磷酸腺苷酶(ATPase)活性下降,附睾精子中的蛋白质、钠、钾含量明显降低,睾丸组织中 SDH、乳酸脱氢酶(LDH)活性明显降低。SDH、ATPase、LDH 是糖类代谢的重要酶类,它们对精子能量释放反应及氧化代谢方面均有重要作用。这些酶活性的改变,很可能是由于其辅基中有镁、钙或锌离子的存在,因为氟是一种酶抑制剂,尤其对以二价阳离子为辅基的酶有明显的抑制作用,从而导致精子活率和密度下降。

## 参 考 文 献

[ 1 ] Chinoy N J, Sequira E. Fluoride induced biochemical changes in reproductive organs of male mice. *Fluoride*, 1989, 22(2):78

- ~ 85.
- [ 2 ] 王爱国, 杨克敌, 李贤相等. 氟氟联合作用对雄性大鼠生殖毒性的影响. *中国地方病学杂志*, 1996, 15(4):202~204.
- [ 3 ] 高红. 氟对细胞及遗传的毒性. *国外医学地理分册*, 1990, 11(4):149~151.
- [ 4 ] 张晨, 肖碧玉, 马龙等. 氟砷对大鼠生长发育及精子和微核率的影响. *新疆医学院学报*, 1996, 19(4):257~260.
- [ 5 ] 沈春岚, 李文阳, 宋鲁敏等. 家畜药理学实验指导. 中国人民解放军兽医大学, 1987, 71~73.
- [ 6 ] 董伟, 王胚建, 谢成侠等. 家畜繁殖学. 北京: 北京农业大学出版社, 1986, 234~235.
- [ 7 ] 张一玲. 家畜繁殖学实验实习指导. 北京: 农业出版社, 1990, 23~25.
- [ 8 ] 辛华. 制备小鼠雄性生殖细胞微核标本的简易方法. 癌变, 畸变, 突变, 1994, 6(6):58~59.
- [ 9 ] 宋可钦, 袁淑德, 刘伟. 慢性氟中毒大鼠睾丸和前列腺的超微结构观察. *中国医科大学学报*, 1990, 19(5):339~342.
- [ 10 ] 师明中. 氟化钠致大鼠精子畸形的诱变实验. *现代预防医学*, 1993, 20(1):15.
- [ 11 ] 甄炯, 陈荣安, 章孟本等. 氟化钠对雄性大鼠生殖系统影响的实验研究. *工业卫生与职业病*, 1993, 19(4):202~204.
- [ 12 ] 赵超英. 氟化物对小鼠生殖细胞毒性研究. *卫生毒理学杂志*, 1996, 4(4):285.
- [ 13 ] 袁淑德. 氟中毒对雄鼠垂体-性腺轴功能的影响. *中国地方病学杂志*, 1989, 8(2):75.
- [ 14 ] 祁成, 余达林, 沈凌汛. 氟暴露对工人血中抗氧化酶类的影响及“抗氧欣”的预防作用研究. *中国工业医学杂志*, 1999, 12(3):142~143.
- [ 15 ] 吴南屏, 赵忠良, 高文华. 氟对大鼠子代雄鼠睾丸生化毒作用的影响. *中国地方病学杂志*, 1995, 14(5):261~262.
- [ 16 ] 王国清译. 细胞周期不同阶段氟化钠所致的染色体畸变. *国外医学医学地理分册*, 1996, 17(2):84~85.
- [ 17 ] 刘雨清译. 氟化钠的诱变性. *国外医学医学地理分册*, 1996, 17(2):58~60.