

野生香榧油与ICR小鼠生育相关研究

郑浩青 倪瑜璐 薛依婷 童瑶 吴振兴*
杭州医学院 浙江杭州 310053

摘要:目的: 分析野生香榧油饮食是否会对雌性ICR小鼠的生育能力产生影响。方法: 通过使用野生香榧油拌取的饲料喂食8周龄ICR母鼠, 然后与公鼠合笼, 在合笼过程中及到待产、生育小鼠都统一喂食, 判断饮食改变对ICR母鼠的生育能力的影响; 通过监测饲料日消耗量、体重变化、第一胎与第二胎生育小鼠个数、3周存活率、子代雌雄比例、子代小鼠的体重增长及活动能力等进行分析。结果: 野生香榧油喂食后母鼠第一胎合笼平均受孕率为50%, 大于正常组的31.6%; 而母鼠第二胎受孕率均为100%; 而野生香榧油喂食组雌性后代数较多, 且一胎与二胎平均数分别约为12只和15只; 而正常组雄性后代数较多, 且一胎与二胎平均数分别约为11只和10只; 正常组一胎子代3周的存活率约71.43%, 香榧油组80.43%; 归巢运动能力比较, 香榧油组的相对较稳定, 而正常喂食组的子代小鼠的同一窝个体差异较为明显。结论: 野生香榧油组一胎受孕率高于正常组, 这种饲养可导致生育后代个体数增多 ($P < 0.05$), 3周存活率较高; 另外, 这种喂食导致怀孕成功率并无差异; 初步判断野生香榧油对ICR小鼠的生殖能力、子代存活率及适应能力有作用, 但其产生的机制有待进一步阐明。

关键词: 野生香榧油; ICR 雌性小鼠; 生殖; 第一胎

Study on the Relationship between Wild *Torreya grandis* 'Merrillii' Oil and Fertility of ICR Mice

ZHENG Hao-qing, ZHAO Heng-yu, NI Yu-lu, XUE Yi-ting, TONG Yao, JIN Ling-na, SHAO Bo, WU Zhen-xing*
Hangzhou Medical College, Hangzhou 310053, China

Abstract: Objective: To analyze whether the wild *Torreya grandis* 'Merrillii' oil diet will influence the fertility of the female ICR mice. Methods: To explore the effect of dietary changes on the fertility of female ICR mice, these mice were divided into 2 groups. The tested group mice were fed wild *Torreya grandis* 'Merrillii' oil diet and the control group mice were given normal feed throughout the experiment. Besides, the daily feed consumption, weight change, the number of the first and second pregnancies, 3-week survival rate, sex ratio of offspring, the condition of weight gain, and the activity ability of offspring were analyzed. Results: In the first parity, the pregnancy rate of female mice was increased in the tested group (50.00%) compared to the control group (31.60%). Besides, the pregnancy rate of female mice in the tested group was 100% in the second parity. The number of female offspring of the tested group was more, while the number of male offspring in the control group was more. And the 3-week survival rate was increased in the tested group (80.43%) compared to the control group (71.43%). The homing ability of the tested group was stable, while the individual difference of the control group was obvious. Conclusion: The pregnancy rate and 3-week survival rate of female mice in the tested group were higher than the control group, which would lead to the number of offspring in the tested group being more than that in the control group ($P < 0.05$). Therefore, the wild *Torreya grandis* 'Merrillii' oil diet will influence the fertility of the female ICR mice, 3-week survival rate, and adaptability of filial generations.

Keywords: Wild *Torreya grandis* 'Merrillii' oil; Female ICR mice; Reproduction; First fertility

项目名称: 2021年省级大学生创新项目《野生香榧油对小鼠生育及抗炎作用的研究》

*通信作者: 吴振兴, 现挂职于龙泉市龙南乡人民政府, 对接野生香榧深加工的项目

野生香榧油含有金松酸、香榧酯、生育酚等营养物质。研究表明它含有的大量 α -生育酚和 β -生育酚,有利于生育;而其中含有的生物碱,对子宫有收缩作用,传统用于堕胎。以上两种说法让我们产生了疑问,野生香榧油是因为存在高质量的生育酚,有利于生育,还是会更易致流产。为解决上述疑问,我们选取了ICR雌性小鼠作为研究对象,通过改变饮食对它们的体重增长变化、生育的仔鼠个数、3周存活率、雌雄比例与发育情况进行测定和分析,以探究野生香榧油在生殖能力方面的作用,为生育政策放开后,育龄妇女合理健康的饮食提供建议。

1 实验材料与方法

1.1 动物

8周龄的ICR小鼠,外观健康活泼,由浙江中医药大学提供(20210610Abzz0100018405)。雌鼠10只、雄鼠2只,体重20~25克,饲养在SPF级动物实验室。

1.2 样品

野生香榧油由浙江省顶峰生态农业有限公司联合丽水市龙泉市龙南乡建龙村、兴川村、粗溪村联建项目生产并提供,已通过SC认证,通过拌入正常饲料中食用。

1.3 方法

1.3.1 动物分组

本实验设计分两个组,喂食正常饲料组的作为对照,饲料中香榧油所占比例为1/30。每组ICR小鼠按雌雄比例5:1合笼,雌雄小鼠同笼5天后计算其受孕率。

1.3.2 饲喂途径

香榧油混合的饲料中供小鼠自由采食,并计算每日消耗量。雌鼠连续喂食至生产,此后待产孕鼠每日补充5粒葵花籽,产后哺乳期每日补充10粒葵花籽直至3周后仔鼠断乳。仔鼠自断乳后连续喂食含香榧油的饲料。

1.3.3 主要器材

鼠笼、200ml水瓶、天平、50ml离心管

1.3.4 统计分析

通过SPSS进行方差分析与卡方检验进行统计分析。

2 结果

2.1 孕鼠体重增长变化统计

统计各孕鼠一胎产前2天体重平均增长量。野生香榧油喂食的孕鼠,在产前两天平均共增重7.48g,正常组平均增重6.57g(见表1),野生香榧油组产前两天总体重增长大于正常组,推测与其产仔数量有关。统计孕鼠产前两天饲料日消耗量,野生香榧油喂食的母鼠平均日消耗量分娩前多于分娩当天,正常组消耗量无明显差异。说明孕鼠待产前对食物的依赖性较高,可能有利于产仔。

表1 孕鼠第一胎产前两天体重增长与饲料消耗情况

	平均增长量(g)			平均日消耗量(g)	
	产前2天 (日增)	产前1天 (日增)	产前2天 (总增长量)	产前 2天	产前1天 (分娩)
正常喂食	2.64	3.93	6.57	5.46	5.27
野生香榧 油喂食	4.02	3.47	7.48	5.46	4.13

2.2 生育仔鼠的个数统计

统计第一、二胎生育仔鼠的个数(包括未生产的孕鼠体内的胚胎数目),并计算平均值。野生香榧油喂食的孕鼠,第一胎生育仔鼠的个数共为146只,均数约12只,第二胎生育仔鼠的个数总共为62只,均数为15只;而正常饲料喂食第一胎共为88只,均数约11只,第二胎总共为64只,均数为10只(见表2)。野生香榧油组第一胎略高于正常组,第二胎则显著高于正常组。说明野生香榧油有提高ICR母鼠生育后代数量的作用。

表2 生育仔鼠的个数

	生育仔鼠的个数	
	总数	平均
一胎正常喂食	88	11
一胎野生木榧油喂食	146	12
二胎正常喂食	64	10
二胎野生木榧油喂食	62	15

2.3 仔鼠3周存活率

统计仔鼠3周死亡个体数。野生香榧油组第一胎仔鼠的个数总共为146只,3日龄6只死亡,4日龄3只死亡;第二胎仔鼠的个数总共为63只,16日龄1只死亡,17日龄2只死亡。现已明确17日龄死亡的2只仔鼠为非正常死亡。正常饲料组第一胎生育仔鼠的个数总共为88只,1日龄死亡个体数为10只,3日龄死亡个体数为6只,另有一只未明确具体死亡时间;第二胎生育仔鼠的个数总共为64只,17日龄死亡个体数为2只、18日龄、19日龄死亡个体数均为1只(见表5)。结果表明,野生香榧油喂食的组后代仔鼠存活率较高。

表3 仔鼠3周存活率

	仔鼠3周存活情况			
	总数	死亡个体数	3周存活率	死亡率
一胎正常	88	17	81.69%	19.31%
一胎野生香榧油	146	9	93.84%	6.16%
二胎正常	64	4	93.75%	6.35%
二胎野生香榧油	63	3	95.24%	4.76%

2.4 子代的雌雄比例

分别选取第一胎经正常喂食产的仔鼠共46只和经野生香榧油喂食产的仔鼠共83只,选取第二胎经正常喂食

产的仔鼠共64只，和经野生香榧油喂食产的仔鼠共62只，观察其生殖器后判断，雌鼠外生殖器与肛门之间有一无毛小沟，雄鼠外生殖器与肛门之间长毛。统计发现，两组雌雄比例基本一致。结果表明，野生香榧油对小鼠雌雄比例无明显影响。

表4 子代一胎的雌雄比例

	子代的雌雄情况		
	雌性个体数	雄性个体数	雌雄比
一胎正常喂食	20	26	10: 13
一胎野生香榧油喂食	40	43	40: 43
二胎正常喂食	29	35	29: 35
二胎野生香榧油喂食	27	35	27: 35

2.5 子代小鼠的体重增长及活动能力

2.5.1 子代小鼠的体重增长

选取第一胎正常组仔鼠58只和野生香榧油组仔鼠83只，选取第二胎正常组仔鼠54只，以及经野生香榧油组仔鼠32只，对两组仔鼠进行标记并用电子称称重，计算体重的平均值（见表5）。结果表明，野生香榧油组的仔鼠体重增长率相对较为稳定。

表5 子代小鼠的平均体重

	子代小鼠的平均体重 (g)		
	Day17	Day18	Day19
一胎正常	7.26	7.69	8.42
一胎香榧油	6.94	7.08	7.41
	Day22	Day23	Day24
二胎正常	8.70	9.70	10.50
二胎香榧油	6.81	7.58	8.52

2.5.2 子代小鼠的活动能力

将两组第一胎仔鼠以头朝下的方式放入50ml离心管中，平放离心管，用计时器测定仔鼠爬出离心管的时间，并计算平均离管的时间来评估子代小鼠的活动能力（见表6）。统计结果显示，野生香榧油组仔鼠爬离的速度总体快于正常组，且其活动能力渐占优势，动作敏捷，可以说明子代小鼠在喂食野生香榧油后生存的活力较高。

表6 子代小鼠的活动能力

	子代小鼠爬离的平均时间 (s)						
	Day15	Day16	Day17	Day18	Day19	Day20	Day21
正常	64.36	9.87	12.26	15.04	8.21	7.24	8.45
香榧油	7.10	7.35	7.03	12.54	7.34	9.27	5.78

2.5.3 子代小鼠的体长增长

将第一胎仔鼠置于笼上，用直尺测得其四肢伸直时，两耳连线中点至体尾相接处的距离，即为仔鼠的体长，计算平均值（见表12）。正常喂食组子代小鼠2天体

长增速为8.2%，野生香榧油组子代小鼠2天体长增速为5.7%，因此野生香榧油组仔鼠体长增长小于正常组。

表7 子代小鼠的体长增长

	子代小鼠的平均体长 (cm)		
	Day17	Day18	Day19
正常	5.86	6.25	6.34
香榧油	5.80	5.89	6.13

3 讨论

3.1 关于野生香榧油对母鼠怀孕和妊娠情况的分析

野生香榧油组平均5日一胎的受孕率为50.0%，正常喂食组平均5日一胎的受孕率为31.6%，说明野生香榧油能提高母鼠一胎受孕率，具有促进生育作用。这可能与野生香榧油含有大量的 α 生育酚和 β 生育酚有关，生育酚具有提高生殖能力的作用，可提高母鼠的卵巢和子宫功能，提高公鼠精子的产生和活性。此外，两组母鼠平均5日二胎的受孕率均为100%，推测这可能与喂食对象的种属特异性相关，一定程度上存在实验的偶然性，需要大样本实验数据进一步展开研究。

研究结果表明，在分娩前的野生香榧油组孕鼠体重增长量高于正常组，推测野生香榧油可提高母鼠的食欲，促进胚胎发育。另外，野生香榧油组后代个数均多于正常组，可推测香榧油可以促进胚胎数目增加的作用。此外，香榧油组仔鼠的个数数量波动较小。因此，香榧油一定程度上能提高母鼠的生存生育的稳定性及生育仔鼠的个数，但是以上经过产生的机制有待进一步研究。

3.2 关于野生香榧油对子代小鼠3周存活率的分析

从研究结果可以发现，即使有意外致死的仔鼠的情况下，野生香榧油组仔鼠的3周存活率均高于正常喂食组，且低日龄仔鼠早夭数量相对较少。这可以说明野生香榧油喂食有助于仔鼠的存活率增加，也反馈母鼠对于弑仔的行为减少。弑仔行为可能与缺乏营养以及惊吓有关。而弑仔的行为减少可能与野生香榧油含有金松酸、榧黄素、生育酚等多种丰富营养物质，尤其是大量的 α 生育酚和 β 生育酚有关。其中两种生育酚具有预防溶血性贫血、改善血液循环、强化肝细胞膜、降低肺部及呼吸系统遭受感染的几率、保护皮肤免受紫外线和污染的伤害等作用^[1-3]，这些作用对各器官尚处于发育状态的仔鼠具有重要意义，拥有良好状态的仔鼠更加受到母鼠的保护而不会导致夭折。

3.3 关于野生香榧油对子代小鼠生长发育影响的分析

根据实验数据可知，野生香榧油组的哺乳期仔鼠间体重无太多差异。发现10只仔鼠同笼的组别的体重，在

出生后21天平均7.92g, 13只仔鼠同笼的组别为7.82g。反观正常组, 哺乳期仔鼠体重会因同笼仔鼠个数的多少出现较显著的差异。而将8只仔鼠同笼的组别与11只仔鼠同笼的组别进行对比, 可发现8只组的体重在出生后21天平均为13.19g, 而11只组仅5.08g。上述结果表明, 野生香榧油组母鼠的乳汁相对丰富, 仔鼠可充分得到喂养。此外, 野生香榧油组的仔鼠在日龄21天的平均体重均在7~9g左右, 不会出现正常喂食组21日龄仔鼠平均体重在11g以上的情况。表明野生香榧油虽属于油脂类, 但不会让仔鼠过重, 这将利于仔鼠的健康。

由统计结果可发现, 野生香榧油组的第一、二胎仔鼠活动能力渐占优势, 动作随着成长会逐渐敏捷, 正常组活动能力则相对较弱。在野生香榧油组, 仔鼠体重增长小于正常组的情况下, 前者的活动能力强, 可说明野生香榧油中所含的营养物质, 或许可促进仔鼠运动系统、神经系统的发育。然而, 目前对于野生香榧油喂食仔鼠

后的这些变化, 还未从分子水平的角度探讨其可能发生的机制, 这就有待进一步研究来阐述野生香榧对于哺乳类生育及生存质量的影响。

参考文献:

[1] Endo Y ,Osada Y , Kimura F , et al. Effects of Japanese torreyea (*Torreya nucifera*) seed oil on lipid metabolism in rats[J]. *Nutrition*, 2006, 22(5):553-558.

[2] Berger A ,Monnard I , M BaurF , et al. Effects of Japanese torreyea (*Torreya nucifera*) seed oil on lipid metabolism in rats[J]. in cultured keratinocytes, and PPAR activation[J]. *Lipids in Health & Disease*, 2002, 1:1-12.

[3] Endo Y ,Tsunokake K , Ikeda I . Effects of Non-Methylene-Interrupted Polyunsaturated Fatty Acid, Sciadonic (All-cis-5,11,14-eicosatrienoic Acid) on Lipid Metabolism in Rats[J]. *Journal of the Agricultural Chemical Society of Japan*, 2009, 73(3):577-581.