

热应激对不同品种鸡繁殖性能、血液生殖激素 及相关基因 mRNA 表达量的影响

李永洙¹ CUI Yong-quan²

(1. 临沂大学 生命科学学院, 山东 临沂 276005; 2. 国立冈山大学 自然科学研究科, 日本 冈山 700-8530)

摘要 为探讨热应激对我国地方鸡种与国外培育蛋鸡品种繁殖性能、血液生殖激素及相关基因 mRNA 表达量的影响, 试验选择体况相近的 112 日龄济宁百日鸡和海兰褐鸡各 96 只, 随机分为适温组 (25 ± 0.26) °C 和高温组 (38 ± 0.26) °C 2 个处理, 在人工环境气候舱中饲养, 每个处理各设 8 个重复, 每个重复 6 只, 试验持续 28 d。测定 112、119、126 和 140 日龄时的卵巢重量、卵泡总数和血液生殖激素浓度及生殖轴相关基因 mRNA 相对表达量。结果表明: 1) 适温条件下海兰褐鸡的卵巢、总卵泡发育好于济宁百日鸡, 而热应激第 7 天济宁百日鸡和海兰褐鸡只出现明显的卵巢发育受阻、总卵泡数量增生缓慢 ($P < 0.05$)。2) 在整个热应激期高温组卵泡刺激素 (FSH) 和促黄体生成素 (LH) 含量显著下降 ($P < 0.05$), 热应激 7 d 后雌二醇 (E2) 含量显著减少 ($P < 0.05$)、孕酮 (P4) 含量先升高后显著下降 ($P < 0.05$); 促肾上腺皮质激素释放激素 (CRH) 含量显著高于适温组 ($P < 0.05$), 济宁百日鸡高温组各血液生殖激素水平的变异系数高于海兰褐, 且差异不显著 ($P > 0.05$)。3) 适温组的济宁百日鸡促性腺激素释放激素 (GnRH)、催乳素 (prolactin, PRL)、卵泡刺激素- β (FSH- β)、促卵泡素受体 (LHR)、雌激素受体 (ESR)、催乳素受体 (PRLR)、卵泡刺激素受体 (FSHR) 的 mRNA 表达量均高于海兰褐鸡, 但无显著差异 ($P > 0.05$); 而高温组济宁百日鸡 mRNA 表达量除 PRL 以外, 均显著高于海兰褐鸡 ($P < 0.05$)。结果提示, 地方品种在热应激环境条件下卵巢、总卵泡发育和各血液生殖轴相关激素的分泌调控机能强于外来品种; 并且生殖轴相关激素 mRNA 表达量的变化具有品种效应。

关键词 鸡; 热应激; 生殖激素; mRNA 表达量; 卵巢

中图分类号 S 831.4

文章编号 1007-4333(2013)01-0134-08

文献标志码 A

Effects of heat stress on reproductive performance, blood reproductive hormone concentrations and gene mRNA expression in different varieties of chicken

LI Yong-zhu¹, CUI Yong-quan²

(1. College of Life Science, Linyi University, Linyi 276005, China;

2. Faculty of Agriculture, Okayama University, Okayama 700-8530, Japan)

Abstract This study is to explore the effects of thermal stress on reproductive performance, blood reproductive hormones and genes mRNA expression to the country local variety and foreign cultivate layers varieties. Test choice body condition similar 16 Ninety-six sixteen-week Jining Bairichicken and 96 Hy-line variety Brown chicken were random grouped into optimum temperature group (25 ± 0.26) °C and High temperature group (38 ± 0.26) °C testing for 28 days. Each group has eight repeats with 6 chicken in each repeat. Ovary weight, follicle total and blood reproductive hormone concentration and reproductive shaft related gene expression mRNA relative quantity were determination at 112, 119, 126, and 140 days of age. The results show that: 1) Ovarian and total follicular of the Hailan brown chicken

收稿日期: 2012-08-19

基金项目: 山东省临沂市科技攻关项目(201012009); 临沂大学博士科研启动基金(BS07011); 日本学生支援机构归国外国留学生短期研究制度基金项目(JP22GR037)

第一作者: 李永洙, 副教授, 博士, 主要从事家禽遗传育种与营养生理研究, E-mail: riyongzhu@yahoo.com.cn

developed better than which in Jining Bairi chicken under the optimum temperature conditions, however, Jining Bairi chicken and Hy-line variety Brown chicken appeared obvious ovarian development hindered, total follicle number hyperplasia slow ($P < 0.05$) at 7th days of the heat stress. 2) in the whole thermal stress period, high temperature group of follicle stimulating hormone (FSH) and luteinizing hormone (LH) hormone content significant change ($P < 0.05$), heat stress after 7d estradiol (E2) was significantly reduced ($P < 0.05$), progesterone (P4) increased at first, then dropped significantly ($P < 0.05$); CRH level significantly higher than that of optimum temperature group ($P < 0.05$), reed jining one hundred days chicken high temperature group of each blood reproductive hormone level of the coefficient of variation of the Hy-line variety Brown, and no significant difference ($P > 0.05$). 3) optimum temperature treatment group of reed jining one hundred days chicken GnRh, PRL, FSH- β , ESR, LHR, FSHR mRNA expression quantity are Hy-line variety Brown chicken, but no significant difference ($P > 0.05$); and high temperature group reed Jining Bairi chicken mRNA expression quantity except outside PRL significantly Hy-line variety Brown chicken ($P < 0.05$). The results indicate, local variety in thermal stress condition ovarian, total follicular development and the blood reproductive shaft relevant hormone secretion regulation function better than foreign varieties; And reproductive shaft relevant hormone mRNA expression quantity changes with various effect.

Key words chicken; thermal stress; reproductive hormone; mRNA expression quantity; ovarian

近年来,随着养鸡业集约化、规模化的发展及全球性气温的普遍升高^[1],较高的饲养密度和季节高温引起的热应激对鸡采食量、血液激素水平、免疫功能、繁殖性能及某些理化指标均产生一定影响,严重时将导致器官功能衰竭,短时间内造成大批鸡死亡,给养禽业带来极大的危害^[2]。探索热应激对禽类生理活动的影响并研究出高效经济的抗热应激措施,从根本上解决热应激的不利影响,进而提高养鸡生产的经济效益已成为禽类养殖中的一个重要课题。多项研究表明,母鸡在长期热应激刺激下,会造成卵巢重量下降、卵泡数量减少、卵巢机能减退和卵泡发育形成障碍等一系列生理异常现象;另外,蛋鸡的繁殖性能是现代家禽生产中重要的经济性状,主要受下丘脑-垂体-性腺轴调控,热应激对 HPG 生殖轴相关激素的影响则最为严重,直接通过调控生殖系统的生理功能降低蛋鸡繁殖性能^[3-6]。热应激的机理十分复杂,相关的作用机制也只有部分被揭示,还有待于更深入系统的研究。但有关地方鸡种与高产培育品种鸡在高温环境下其繁殖性能、血液生殖激素及相关基因 mRNA 表达量等方面的变化规律还未见相关报道。本研究以济宁百日鸡与海兰褐鸡为试验对象,研究不同热暴露时间对其繁殖性能、血液生殖激素及相关基因 mRNA 表达量的影响,旨在为抗热应激的地方草鸡新品种选育研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选择体质健康的 112 日龄济宁百日鸡和海兰褐

鸡各 96 只,随机分为适温组 (Optimal-temperature group, OTG: $(25 \pm 0.26)^\circ\text{C}$) 和高温组 (High-temperature group, HTG: $(38 \pm 0.26)^\circ\text{C}$) 2 个处理,分别在人工环境气候舱中饲养,每个处理各设 8 个重复,每个重复 6 只,试验持续 28 d; 试验期间自由饮水,舱内除温度外,其他各环境因素保持一致,相对湿度 55%,光照 16 h,照度 10 lx,舱内持续均匀通风。研究期间所有试验鸡饲喂相同日粮玉米-豆粕型日粮,参照中国鸡饲养标准 (NY/T33—2004) 配制日粮^[7]。

1.2 测定指标及方法

1.2.1 脑和卵巢重量及卵泡的采集

济宁百日鸡和海兰褐鸡在 112、119、126 和 140 日龄时,每组选取 4 只母鸡,在无麻醉的情况下断头宰杀,参照文献^[8]报道的方法快速取出鸡脑,立即分离整个卵巢,观测卵巢发育情况,记录卵巢重及卵泡分类计数。称重、计数后迅速放入液氮中冷冻,然后置于 -80°C 冰箱保存待测。备测生殖轴相关基因 mRNA 相对表达量。卵泡分类标准:DF 为优势卵泡,直径 > 10 mm;SY 为小黄卵泡,直径为 5~10 mm;LW 为大白卵泡,直径为 2~5 mm;SW 为小白卵泡,直径为 1~2 mm。

1.2.2 血液生殖激素浓度

1) 血样采集。每组随机选取母鸡 6 只,翅静脉采血 5 mL/只,收集于加有 0.2 mL EDTA 抗凝剂 (浓度为 0.02 mol/L) 的离心管内,轻轻摇匀后,经 3 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,置于 -80°C 冰箱中保存备用。

2)测定指标与方法。采用放射免疫法测定母鸡血液中卵泡刺激素(Follicle stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)、促肾上腺皮质激素释放激素(Corticotropin releasing hormone, CRH)、雌二醇(Estrogen, E2)、孕酮(Progesterone, P4)的浓度。

1.2.3 生殖轴相关基因 mRNA 相对表达量

1)总 RNA 提取。参照文献[8]报道的方法,取下丘脑、垂体和卵巢组织各 100 mg 左右,卵巢组织采样以避免卵泡为原则。采集的组织样置于用冰预冷的玻璃组织研磨器中捣碎,使用 RNeasy Lipid Tissue Mini Kit 试剂盒(美国 QIAGEN)提取组织样的总 RNA。提取的总 RNA 经微量分光光度计检测浓度和纯度后,贮存在 -80°C 冰箱中保存,备用促性腺激素释放激素(Gonadotropin releasing hormone, GnRH)、卵泡刺激素- β (Follicle stimulating hormone β , FSH- β)、促卵泡素受体(Luteinizing hormone receptor, LHR)、催乳素(Prolactin, PRL)、催乳素受体(Prolactin receptor,

PRLR)、雌激素受体(Estrogenreceptor, ESR)、卵泡刺激素受体(Follicle stimulating hormone receptor, FSHR)基因 mRNA 相对表达量。

2)实时荧光定量 PCR。根据 GenBank(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)中目标基因的 mRNA 序列,利用 Primerpremier5.0 软件设计 PCR 引物,并委托宝生物工程(大连)有限公司合成,引物序列见表 1。采用 OnestepSYBR PrimeScriptPT PCR Kit II 试剂盒(Takara 大连分公司)在 ABI7300 实时荧光定量 PCR 仪(美国 ABI 公司)中完成目标基因和内参基因 mRNA 相对表达量检测。反应体系(25 μL)为:2 \times Onestep SYBRPT PCR Buffer 412.5 μL 、PrimeScript1 stepenzymemix 21 μL 、上游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)1 μL 、下游引物(10 $\mu\text{mol/L}$)1 μL 、模板总 RNA 2 μL 、Rox Reference Dye 0.5 μL 、RNasefreeH 207 μL 。反应程序为:42 $^{\circ}\text{C}$ 反转录 5 min,95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 10 s,95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 5 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 退火延伸 30 s,40 个循环后,进入熔解曲线程序 64~94 $^{\circ}\text{C}$,升温速度为每 10 s 0.5 $^{\circ}\text{C}$ 。

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence for real time qPCR

基因 Gene	登录号 Accession No.	引物序列 Primer sequence	片段大小/bp Product size
促性腺激素释放激素 GnRh	DQ023158	F:5'GTCTGTGAAATCTGCTTGGCTC 3' R:5'CAGACTTGCCATGGCTTCCTTCA 3'	199
卵泡刺激素- β FSH β	EF563910	F:5'GATACTGCTTCACAAGGGATCC3' R:5'CAGACTTGCCATGGCTTCCTTCA3'	157
促卵泡素受体 LHR	NM-205079	F:5'TTCATCTGCCAGGAGATCAAG 3' R:5'CAGAAGTCCTGTGAAAGATC 3'	124
雌激素受体 ESR	EF502025	F:5'TATTACTGGACAGGAATCAAGGGA3' R:5'CAGGATGATGGACTTAAGGCA3'	137
催乳素 PRL	DQ660983	F:5'TTTGTGCTGGTGGTCCTTC 3' R:5'GAGATTTAACCGCACGGTC 3'	138
催乳素受体 PRLR	DQ660982	F:5'CCCAAGGAAACAGACAGCGAC3' R:5'TCCGTTCTAAGGCTACGCAC 3'	180
卵泡刺激素受体 FSHR	EF621308	F:5'CGGCTACGGAAATGCTATGA 3' R:5'GCACTTGATCTTCTGAATTGCG 3'	106

1.3 数据分析

试验结果用平均值 \pm 标准误表示。卵巢重、血液生殖激素浓度和生殖轴相关基因 mRNA 相对表

达量的组间差异采用 t 检验,血液生殖激素浓度利用方差分析,如显著则采用 Duncan 氏法进行多重比较。各组试验数据均以平均值 \pm 标准误(Means \pm

SE)表示。

2 结果与分析

2.1 热应激对不同品种鸡卵巢重和卵泡发育的影响

试验对热应激条件下不同时段不同品种鸡群卵巢重以及卵巢表面各类卵泡的数量进行了统计(表 2)。由表 2 结果可知,短时间和长时间的热应激都使鸡群卵巢重和总卵泡数减少。济宁百日鸡和海兰褐鸡卵巢重在 112 日龄适温、高温处理组间及 126 和 140 日龄时适温处理组间差异不显著($P >$

0.05),但 119、126、140 日龄时高温组间差异显著($P < 0.05$);两品种高温组均卵巢发育受抑制,并且长时间的热应激条件下济宁百日鸡卵巢增重的变异系数显著高于海兰褐($P < 0.05$)。另外,济宁百日鸡和海兰褐鸡总卵泡数量在 112 日龄时适温、高温组间差异不显著($P > 0.05$),但随着日龄的增大适温组的海兰褐鸡总卵泡数量显著高于济宁百日鸡($P < 0.05$);与此相反,高温组的海兰褐鸡总卵泡数量显著低于济宁百日鸡($P < 0.05$),并且随着高温处理时间的延长济宁百日鸡总卵泡数量的变异系数

表 2 热应激对不同品种鸡卵巢重和卵泡发育的影响

Table 2 Effects of heat stress on different varieties ovarian heavy and follicular of chicken

项目 Items	日龄 Day	济宁百日鸡		海兰褐鸡		SEM	P 值 P-Value
		Jining one hundred days chicken		Hy-line variety brown chicken			
		适温组(OTG)	高温组(HTG)	适温组(OTG)	高温组(HTG)		
卵巢重/g Ovarian weight	112	6.17±0.59 a	6.25±0.48 a	6.41±0.34 a	6.48±0.26 a	0.057	NS
	119	13.86±0.47 c	9.64±0.86 a	15.98±0.78 d	10.62±0.71 b	0.174	**
	126	25.46±8.28 c	18.37±5.27 b	26.94±5.87 c	17.84±6.74 a	2.449	*
	140	40.37±7.34 c	34.04±9.58 b	41.96±7.54 c	29.23±5.24 a	3.066	0.295
	变异系数 Coefficient of variation	0.87	0.76*	0.91	0.65*		
总卵泡数/个 Total follicle number	112	2.3±0.5 a	2.5±0.2 a	2.7±0.5 b	2.4±0.1a	0.613	NS
	119	5.5±0.1 b	4.2±0.9 a	7.2±0.7 c	4.0±0.4 a	1.332	0.668
	126	12.4±1.2 c	11.0±1.3 b	15.9±2.9 d	9.6±4.1 a	2.412	0.054
	140	18.9±2.4 b	17.1±4.3 ab	22.7±6.4 c	15.4±5.8 a	3.128	0.221
	变异系数 Coefficient of variation	1.06	0.95	1.10	0.89		

注:同行字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。* $P \leq 0.05$, ** $P \leq 0.01$, NS 差异不显著。下表同。

Note: Values with different small letter superscripts in the same row mean significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

高于海兰褐($P > 0.05$)。

2.2 热应激对不同品种鸡血液生殖激素浓度的影响

由表 3 结果可知,试验开始 112 日龄时适温、高温处理组的海兰褐鸡各血液生殖激素浓度高与济宁百日鸡水平,但差异不显著($P > 0.05$)。在整个热应激期高温组与适温组比较,FSH 和 LH 含量显著变化($P < 0.05$),热应激 7 d 后 E2 含量显著减少

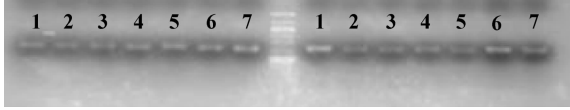
($P < 0.05$);而且雌激素的变化具有品系效应;P4 含量先升高后显著下降($P < 0.05$);高温组 CRH 含量显著高于适温组($P < 0.05$)。海兰褐鸡的适温组各血液生殖激素水平的变异系数高于济宁百日鸡,且差异不显著($P > 0.05$);而济宁百日鸡高温组各血液生殖激素水平的变异系数高于海兰褐,且差异不显著($P > 0.05$)。

表3 热应激对不同品种鸡血液生殖激素浓度的影响

Table 3		Effects of heat stress on different varieties blood of concentration the reproductive hormone of chicken						mIU/mL
项目 Items	日龄 Day	济宁百日鸡		海兰褐鸡		SEM	P 值 P-Value	
		Jining one hundred days chicken		Hy-line variety brown chicken				
		适温组(OTG)	高温组(HTG)	适温组(OTG)	高温组(HTG)			
卵泡刺激素 FSH	112	4.80±0.46 a	4.22±0.54 a	4.55±0.47 a	4.74±0.18 a	0.261	NS	
	119	7.97±0.37 b	5.18±0.69 a	7.43±0.22 b	5.20±0.73 a	1.466	0.184	
	126	8.65±0.62 c	5.76±0.72 a	8.74±0.86 c	6.08±0.84 b	1.496	0.120	
	140	8.94±0.83 c	6.51±0.82 b	9.06±0.92 c	5.43±0.51 a	1.544	0.071	
	变异系数 Coefficient of variation	0.25	0.16	0.29	0.11			
促黄体生成素 LH	112	4.24±0.47 a	4.31±0.11 a	4.63±0.75 a	4.42±0.81 a	0.175	NS	
	119	6.58±0.58 c	4.91±0.26 a	7.27±0.60 d	5.85±0.39 b	1.011	0.054	
	126	5.96±0.31 c	4.05±0.64 a	6.55±0.71 d	5.16±0.52 b	1.082	*	
	140	8.13±0.68 b	6.24±0.80 a	8.84±0.28 b	6.28±0.90 a	1.291	0.243	
	变异系数 Coefficient of variation	0.27	0.17	0.27	0.14			
促肾上腺皮质 激素释放激素 CRH	112	0.21±0.02 a	0.25±0.08 a	0.22±0.01 a	0.23±0.05 a	0.017	NS	
	119	0.37±0.05 a	0.47±0.09 b	0.48±0.06 b	0.66±0.03 c	0.121	0.052	
	126	0.56±0.01 a	0.76±0.06 b	0.87±0.08 c	1.17±0.08 d	0.255	*	
	140	1.56±0.17 a	2.40±0.03 b	1.94±0.09 a	2.28±0.13 b	0.346	0.642	
	变异系数 Coefficient of variation	1.02	1.22	1.07	1.20			
雌二醇 E2	112	2.15±0.68 a	2.67±0.61 a	2.48±0.74 a	2.23±0.21 a	0.238	NS	
	119	3.33±0.35 b	3.08±0.23 a	3.57±0.86 b	2.95±0.53 a	0.275	0.145	
	126	7.45±0.29 b	4.13±0.17 a	7.91±0.28 b	4.65±0.62 a	1.921	0.084	
	140	19.74±0.76 c	11.21±0.47 b	20.45±0.16 c	9.57±0.37 a	5.650	*	
	变异系数 Coefficient of variation	1.08	0.74	1.15	0.65			
孕酮 P4	112	4.76±0.17 a	4.35±0.22 a	4.54±0.48 a	4.67±0.12 a	0.178	NS	
	119	7.65±0.23 b	7.04±0.54 a	7.97±0.53 c	7.15±0.42 ab	0.442	0.576	
	126	8.37±0.46 b	5.62±0.82 a	8.65±0.34 c	6.15±0.30 a	1.535	0.185	
	140	9.43±0.85 c	6.46±0.41 a	9.07±0.62 b	6.44±0.46 a	1.623	*	
	变异系数 Coefficient of variation	0.28	0.19	0.30	0.15			

2.3 热应激下不同品种鸡群生殖轴相关基因 mRNA 表达的变化

济宁百日鸡与海兰褐鸡在热应激下(140 日龄)生殖轴相关基因 mRNA 共同进行 RT-PCR 后,产物经凝胶电泳的结果见图 1,统计分析结果见图 2。



济宁百日鸡 海兰褐鸡

Jining one hundred days chicken Hy-line variety Brown chicken

1. GnRh, 2. FSH-β, 3. LHR, 4. PRL, 5. PRLR, 6. ESR, 7. FSHR。

图 1 不同品种鸡在热应激下生殖轴相关基因 mRNA RT-PCR 产物电泳图

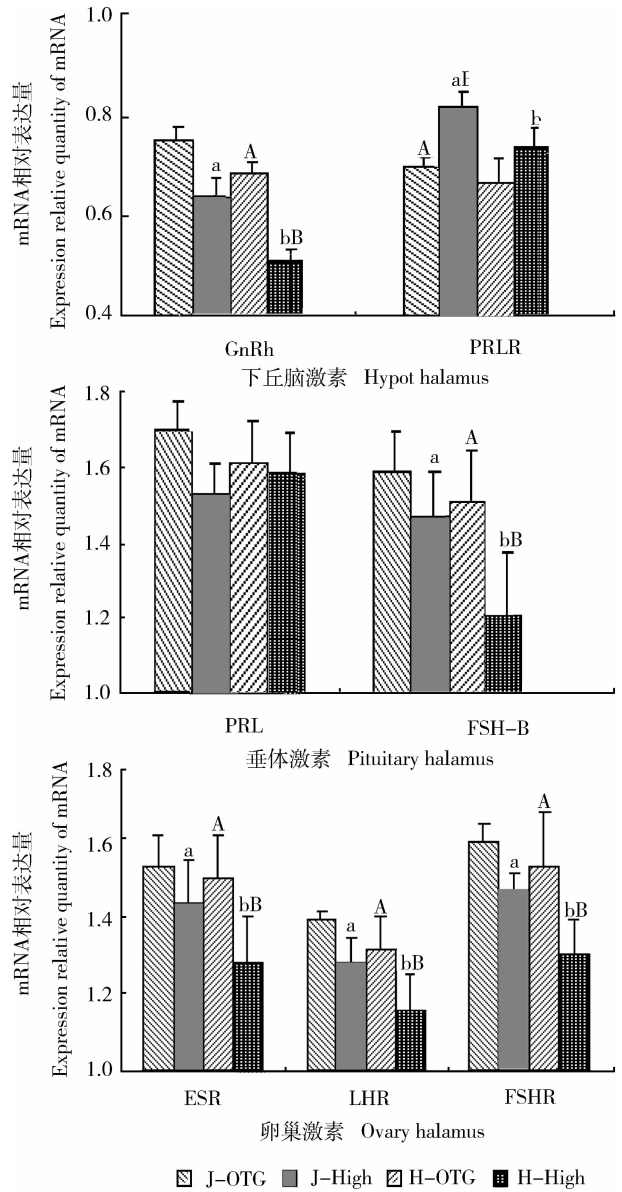
Fig. 1 Electrophoresis analysis of FSHR mRNA RT-PCR products in different varieties Heat stress in the reproductive related gene axis

图 2 表示热应激对不同品种鸡下丘脑、垂体和卵巢激素相关基因 mRNA 相对表达量的影响。由图 2 可见,适温处理组的济宁百日鸡 GnRh、PRL、FSH-β、ESR、LHR 和 FSHR mRNA 表达量均高于海兰褐鸡,但无显著差异 ($P > 0.05$);而高温处理组济宁百日鸡 mRNA 表达量除 PRL 以外显著高于海兰褐鸡 ($P < 0.05$)。另外,海兰褐鸡高温组 GnRh、FSH-β、ESR、LHR 和 FSHR mRNA 表达量均显著低于适温组 ($P < 0.05$);而济宁百日鸡高温组各激素 mRNA 表达量均低于适温组,但无显著差异 ($P > 0.05$)。PRL mRNA 表达量在济宁百日鸡和海兰褐鸡的适、高温组间无显著差异 ($P > 0.05$),而 PRLR mRNA 表达量在济宁百日鸡的高温组显著高于适温组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 热应激对不同品种鸡卵巢发育及血液生殖激素浓度的影响

热应激对家禽带来很多负面影响,家禽受到热应激时,体内的生殖器官直接受到损害,导致生理机能发生紊乱和变化。高温应激还可导致蛋鸡卵泡数量^[9-10]和卵巢重量^[3]显著下降。Rozenboim I 等^[3]研究表明,对 30 周龄的白来航鸡进行为期 15 d 的 42 °C 热应激处理,结果表明,在热应激第 6 天的鸡只已经出现明显的卵巢重量下降、卵泡数量减少现象,到第 15 天这种现象更加严重。本研究结果也显



J. 济宁百日鸡; H. 海兰褐鸡。

J. jining one hundred days chicken; H. Hy-line variety Brown chicken.

大写字母不同表示同品种不同热处理组间达显著差异 ($P < 0.05$)。小写字母不同表示不同品种同热处理组间达显著差异 ($P < 0.05$)。无大写或小写字母肩标表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

Different capital letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$) at With the variety of different heat treatment groups, and different small letter superscripts mean significant difference ($P < 0.05$) at Different varieties with heat treatment among groups, while no capital or small letter superscripts mean no difference ($P > 0.05$).

图 2 热应激对不同品种鸡激素相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig. 2 Effects of heat stress on different varieties Head hormones related gene expression mRNA relative quantity of chicken

示,适温条件下海兰褐鸡的卵巢、总卵泡发育好于济宁百日鸡,而热应激第7天济宁百日鸡和海兰褐鸡只出现明显的卵巢发育受阻、总卵泡数量增生缓慢,到第14天时海兰褐鸡与济宁百日鸡比较这种现象更加突出。本试验结果与上述研究结果一致,表明热应激抑制蛋鸡卵泡的发育。

鸡生殖器官的发育、性成熟及卵泡的发育、成熟及排出主要受下丘脑-垂体-性腺轴调控,其中在很大程度上依赖于下丘脑 GnRH 的脉冲方式释放^[11-12]。当蛋鸡受到热应激时,机体的内分泌生理失调,首先减少下丘脑 GnRH 分泌,使垂体 GTH 生成减少,并导致 LH 与 FSH 含量降低^[13]。另外, Rozenboim I 等^[3]研究表明,热应激第2天时,30周龄的白来航鸡血浆 LH 与 FSH 含量均有轻微的降低,睾酮和孕酮有明显的下降。高温刺激下丘脑使促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)含量增高,促进垂体分泌促肾上腺皮质激素(ACTH),从而使肾上腺结构和功能发生变化,肾上腺皮质激素分泌增多^[14-15]。本研究结果也表明,济宁百日鸡和海兰褐鸡在热应激处理7d后高温组的 LH、FSH、E2 和 P4 水平显著低于适温组;并且高温组的 CRH 水平显著高于适温组。这与 Rozenboim 等研究结果相符合。

对热应激高温(35℃,24h)使血浆 LH 降低,可能是由于下丘脑中促性腺激素释放激素含量减少,从而进一步使垂体前叶 FSH 的合成和分泌减少,进而降低雌激素的分泌,雌激素能够促进母鸡附属生殖器官的发育和成熟,孕酮能够在雌激素作用的基础上进一步促进子宫内膜增生,血管和腺体增长,并引起这些腺体分泌^[16]。本试验结果中同样发现,高温可使开产前母鸡血浆孕酮水平显著降低。济宁百日鸡高温组卵巢增重、总卵泡数量以及各血液生殖激素水平的变异系数高于海兰褐鸡,且差异不显著($P>0.05$)。说明济宁百日鸡在热应激条件下其卵巢发育以及 LH、FSH、E2、P4 等血液生殖激素水平的变化幅度高于海兰褐。可见,外来种与地方品种比较对热应激环境的适应能力较差。

3.2 热应激对不同品种鸡群生殖轴相关基因 mRNA 表达的影响

卵巢、卵泡的发育主要受垂体分泌的 FSH 和 LH 调节,而 FSH 和 LH 的作用是通过卵巢上相应特异性受体所介导。在用雌激素预处理的去垂体大鼠,发现单独的 FSH 处理可提高 FSH 结合力和

FSHR mRNA 水平,促进卵泡发育和排卵^[17]。Rozenboim 等^[3]研究发现,短期热暴露可降低细胞色素 P450 羟化酶 mRNA 的表达量,长期暴露引起所有类固醇合成相关酶 mRNA 表达水平的下降,而且高温诱导家禽氧化损伤的程度与应激强度、持续时间以及家禽品种有关^[18]。本研究结果显示,热应激导致其 LHR、FSHR mRNA 表达量的减少,而且 mRNA 表达量的变化具有品种效应,与前者研究结果一致。

前期研究表明,卵泡尚未发育成熟的阶段,垂体 FSH- β mRNA 表达水平较低^[19];而 PRL 对母鸡卵泡类固醇激素有一定的调控作用,能够抑制卵泡发育^[5]。生殖轴 PRL 信号的弱化有利于缩短母鸡就巢时间,增加繁殖季节内的产蛋窝数^[20],并且下丘脑 GnRH 水平的增加可促进垂体 FSH 和 LH 合成和分泌,提高血液 P4、E2 浓度,从而改善母鸡繁殖性能^[21]。本试验结果显示,济宁百日鸡受热应激后下丘脑 GnRH 基因和垂体 FSH- β mRNA 相对表达量显著高于海兰褐鸡;下丘脑 PRLR 基因 mRNA 相对表达量显著增加,而垂体 PRL 基因 mRNA 相对表达量少于海兰褐鸡;另外,济宁百日鸡卵巢 ESR 基因 mRNA 相对表达量显著高于海兰褐鸡。因此,济宁百日鸡在热应激的环境条件下生殖器官发育以及生殖轴相关激素的分泌调控机能强于海兰褐鸡。至于热应激对不同品种鸡群的激活磷脂酶 C-磷酸肌醇-蛋白激酶 C(PKC)信号传导通路以及急性调控蛋白以及相关酶 mRNA 表达和酶的表达相关性有待于进一步研究。

4 结 论

1)在112日龄时适温条件下海兰褐鸡的卵巢、总卵泡发育好于济宁百日鸡,而热应激第7天济宁百日鸡和海兰褐鸡只出现明显的卵巢发育受阻、总卵泡数量增生缓慢,到第14天时海兰褐鸡与济宁百日鸡比较这种现象更加严重。

2)济宁百日鸡在热应激环境条件下各血液生殖激素水平的变异系数显著高于海兰褐鸡,生殖轴相关激素的分泌调控机能强于海兰褐鸡,即地方品种的抗热应激能力强于国外培育蛋鸡品种。

3)生殖轴相关激素 mRNA 表达量的变化具有品种效应,本试验设定的济宁百日鸡生殖轴调控作用比海兰褐鸡在热应激条件下更为明显。

参 考 文 献

- [1] Meehl G A, Tebaldi C. More intense, more frequent, and longer lasting heat waves in the 21st century[J]. *Science*, 2004, 305(5686):994-997
- [2] 刘文波, 柴同杰. 饲养密度和季节对肉仔鸡猝死综合症发生的影响[J]. *动物医学进展*, 2001, 22(2):94-95
- [3] Rozen boim I, Tako E, GalGarber O, et al. The effect of heat stress on ovarian function of laying hens[J]. *Poul Sci*, 2007, 86:1760-1765
- [4] Roth Z. Heat stress, the follicle, and its enclosed oocyte: Mechanisms and potential strategies to improve fertility in dairy cows[J]. *Reprod Domest Anim*, 2008, 43(2):238-244
- [5] Lupoli B, Johansson B, Uvas-Moberg K, et al. Effect of suckling on the release of oxytocin, prolactin, cortisol, gastrin, cholecystokinin, somatostatin and insulin in dairy cows and their calves[J]. *J Dairy Res*, 2001, 68:175-187
- [6] 谢佳, 陈忠, 王博, 等. 热应激对蛋鸡繁殖性能影响研究进展[J]. *动物医学进展*, 2011, 32(6):112-115
- [7] 中华人民共和国农业行业标准: 鸡饲养标准(NY/T33-2004)[J]. *湖南饲料*, 2006(4):19-27
- [8] Zhou W D, Murakami M, Hasegawa S, et al. Neuropeptide y content in the hypothalamic paraventricular nucleus responds to fasting and refeeding in broiler chickens[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2005, 141(2):146-152
- [9] Star L, Nieuwland M, Kemp B, et al. Effect of single or combined climatic and hygienic stress on natural and specific humoral immune competence in four layer lines[J]. *Poultry Science*, 2007, 86(9):1894-1903
- [10] Mashaly M M, Hendricks Rd G L, Kalama M A, et al. Effect of heat stress on production parameters and immune responses of commercial laying hens[J]. *Poultry Science*, 2004, 83(6):889-894
- [11] Akazome Y, Abe T, Mori T, et al. Differentiation of chicken gonad as an endocrine organ: Expression of LH receptor, FSH receptor, cytochrome P450c17 and aromatase genes [J]. *Reproduction*, 2002, 123(3):721-728
- [12] Hernandez A G, Bahr J M. Role of FSH and epidermal growth factor (EGF) in the initiation of steroidogenesis in granulosa cells associated with follicular selection in chicken ovaries[J]. *Reproduction*, 2003, 125:683-91
- [13] Kang B, Jiang D M, Zhou R J, et al. Expression of follicle stimulating hormone receptor (FSHR) mRNA in The ovary of Zi Geese during developmental and egg laying stages[J]. *Folia Biologica*, 2009, 58(12):61-66
- [14] Sohail M U, Ijaz A, Yousaf M S, et al. Alleviation of cyclic heat stress in broilers by dietary supplementation of mannanoligosaccharide and Lactobacillus-based probiotic: Dynamics of cortisol, thyroid hormones, cholesterol, C-reactive protein, and humoral immunity [J]. *Poul Sci*, 2010, 89:1934-1938
- [15] Star L, Decuypere E, Parmentier H K, et al. Effect of single or combined climatic and hygienic stress in four layer lines: 2. Endocrine and oxidative stress responses [J]. *Poul Sci*, 2008, 87:1031-1038
- [16] Donoghue D. Thermal stress reduces serum luteinizing hormone and bioassayable hypothalamic content of luteinizing hormone releasing hormone in hens[J]. *Biology of Reproduction*, 1989, 41:419-424
- [17] Galway A B, Lapolt P S, Tsafiriri A, et al. Recombinant follicle-stimulating hormone induces ovulation and tissue plasminogen activator expression in hypophysectomized rats [J]. *Endocrinology*, 1990, 127:3023-3028
- [18] Altan Ö, Pabuçcuoglu A, Altan A, et al. Effect of heat stress on oxidative stress, lipid peroxidation and some stress parameters in broilers[J]. *British Poultry Science*, 2003, 44(4):545-550
- [19] 姜润深, 杜晓东, 陈兴勇, 等. 皖西白鹅繁殖周期中垂体 FSH β mRNA 的表达规律[J]. *中国农业大学学报*, 2010, 15(6):84-88
- [20] March J B, Sharp P J, Wilson P W, et al. Effect of active immunization against recombinant-derived chicken prolactin fusion protein on the onset of broodiness and photoinduced egg laying in bantam hens [J]. *Journal of Reproduction and Fertility*, 1994, 101(1):227-233
- [21] 刘家国, 张宝康, 赵志辉, 等. 中药组方对蛋鸡产蛋初期生产性能及相关激素和抗氧化能力的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2005, 40(4):457-461

责任编辑: 苏燕