

张响英,唐现文,董然然,等. 日粮蛋白质水平对狮头鹅繁殖性能及相关激素水平的影响[J]. 江苏农业科学,2015,43(10):259-261.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.10.086

# 日粮蛋白质水平对狮头鹅繁殖性能 及相关激素水平的影响

张响英<sup>1</sup>, 唐现文<sup>1</sup>, 董然然<sup>1</sup>, 卞有庆<sup>2</sup>

(1. 江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300;2. 国家水禽种质资源基因库,江苏泰州 225300)

**摘要:**采用不同蛋白质水平日粮饲喂产蛋期狮头鹅,研究对其繁殖性能、血清激素水平、FSH $\beta$  及其受体表达量的影响。结果发现:日粮蛋白质水平能提高狮头鹅的产蛋率和孵化率,当蛋白质水平达到 16% 之后,产蛋数显著高于低蛋白质(13%)水平组;16%、17.5% 和 19% 蛋白质组血清 ALT 活性均显著高于低蛋白质组( $P < 0.05$ ),且随着日粮蛋白质水平增加,血清尿酸浓度呈上升趋势;16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的血清雌二醇浓度、垂体 FSH $\beta$  表达量及卵巢 FSHR 表达量均显著高于 13% 蛋白质组,与产蛋数和孵化率呈现一致的变化趋势。试验结果显示,日粮蛋白质水平可通过调节狮头鹅的内分泌及相关基因表达提高其繁殖性能。

**关键词:**狮头鹅;日粮蛋白水平;繁殖性能;血清激素;FSH $\beta$

**中图分类号:** S835.5    **文献标志码:** A    **文章编号:** 1002-1302(2015)10-0259-03

养鹅是我国的传统特色养殖业,饲养量逐年递增,2012 年我国鹅存栏量为 3.5 亿羽,占全球存栏总量的 90% 左右。由于鹅属于草食家禽,抗逆性和抗病力较强,鹅肉脂肪和胆固醇含量低,是理想的绿色食品,深受广大消费者青睐。但鹅是季节性繁殖动物,且具有性成熟晚、就巢性强、产蛋量少、雄性不育率高等缺点,严重制约了养鹅业的快速发展。目前,人们对提高种鹅繁殖力的研究大多集中在品种选育和杂交改良等方面,而且我国鹅的日粮营养水平大多参照美国、法国等国的饲养标准,不同的鹅种因品种特性和饲养环境的差异,对饲料的营养需要量也不尽相同。近年来,已有学者在不同鹅种上开展了营养需要研究,但产蛋期狮头鹅对蛋白质的需要尚未见报道。本研究以我国唯一的大型鹅种狮头鹅为研究对象,分析日粮不同蛋白质水平对产蛋期狮头鹅繁殖性能、血清生化指标、激素水平、FSH $\beta$  及其受体表达量的影响,探讨蛋白质水平与狮头鹅繁殖的关系,为产蛋期狮头鹅的饲养提出合理的日粮蛋白质水平,以提高狮头鹅的繁殖性能。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及设计

选取产蛋期健康狮头鹅种鹅 80 羽(公母比为 1:3)随机分成 5 个处理组(I、II、III、IV、V),预试期 14 d,正试期 90 d。日粮代谢能为 11.00 MJ/kg,蛋白质水平分别为 13%、14.5%、16%、17.5%、19%。试验在江苏农牧科技职业学院国家级水禽基因库进行,鹅舍为半开放式,设有陆地运动场和水面运动场,自由采食,自由饮水。每天按时捡蛋,统计各组产蛋数、蛋重、受精率和孵化率;在试验第 60 天每组各取 8 羽

母鹅翅静脉采血 10 mL,离心分离血清,-20℃ 保存;在试验第 90 天,每组取 5 羽健康狮头母鹅屠宰后立即摘取垂体和卵巢,快速用 DEPC 处理后,迅速投入液氮冷冻保存。

### 1.2 生化指标测定

采用日立 7150 型全自动生化分析仪测定血清总蛋白质(TP)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、尿酸(UA)等生化指标。

### 1.3 血清激素水平测定

利用全自动电化学发光免疫分析仪检测血清中 PRL、孕酮和雌二醇浓度。

### 1.4 引物设计与合成

本研究根据鹅的 FSH $\beta$  mRNA 序列(GenBank 登录号:EU252532)、FSHR mRNA 序列(GenBank 登录号:NM205079)和持家基因(GAPDH)mRNA(GenBank 登录号:AY436595)序列,应用 Premier 5.0 软件分别设计引物。引物信息见表 1。

### 1.5 荧光定量 PCR

利用 Trizol 试剂盒提取总 RNA 并反转录,然后进行荧光定量 PCR 测定。反应体系为 50  $\mu$ L:2 $\times$  PCR buffer 25  $\mu$ L,Primers(25 pmol/ $\mu$ L) 2  $\mu$ L,灭菌 DEPC 水 20.5  $\mu$ L,模板 cDNA 2.0  $\mu$ L,SYBR Green I 0.5  $\mu$ L。反应条件为 94℃ 预变性 4 min;94℃ 变性 20 s,60℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 30 s,35 个循环;72℃ 检测信号。反应在 FTC2000 荧光定量 PCR 仪上进行,自动分析荧光信号并将其转换为  $C_T$  值及溶解曲线图。每个样本设 3 个重复管,每份样本基因的表达强度用其对应的 GAPDH 基因的量进行校正,即  $\Delta C_T = C_T(\text{FSH}\beta \text{ 或 FSHR}) - C_T(\text{GAPDH})$ ,不同组别 FSH $\beta$  mRNA 和 FSHR mRNA 的相对表达量采用  $2^{-\Delta\Delta C_T}$  法进行分析。

### 1.6 统计分析

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 SPSS 13.0 中的 ANOVA 进行方差分析,LSD 进行多重比较。

收稿日期:2014-10-12

基金项目:江苏农牧科技职业学院科研基金(编号:201312806019X)。

作者简介:张响英(1974—),女,山东烟台人,博士,副教授,主要从事畜禽遗传繁育方向的研究。E-mail:724673081@qq.com。

表 1 狮头鹅 *FSHβ*、*FSHR* 和 *GAPDH* mRNA 的 PCR 引物

基因名称	引物序列	产物长度 (bp)
<i>FSHβ</i>	F:5′-CACCAGTATCATCCGTTTCAGC-3′;R:5′-CACTGCTATCAGTGTACAGGTC-3′	153
<i>FSHR</i>	F:5′-TCCTGTGCTAACCCTTTCTCTCTA-3′;R:5′-AACCAGTGAATAAATAGTCCCATC-3′;	207
<i>GAPDH</i>	F:5′-CGACCCCAGCAACATCAAG-3′;R:5′-CGGAGATGATGACACGCTTAG-3′	128

2 结果与分析

2.1 不同蛋白质水平对狮头鹅产蛋性能的影响

由表 2 可以看出,日粮不同蛋白质水平对狮头鹅产蛋数和孵化率的影响呈现相同的变化趋势,当蛋白质水平达到 16% 之后,每羽产蛋数和孵化率显著高于低蛋白(13%)水平组( $P < 0.05$ ),但对平均蛋重和种蛋受精率影响不显著( $P > 0.05$ )。

表 2 不同蛋白质水平对狮头鹅产蛋性能的影响

组别	产蛋数 (枚/羽)	平均蛋重 (g)	受精率 (%)	孵化率 (%)
I	12.6 ± 0.52b	175.81 ± 4.28a	78.11 ± 1.36a	86.52 ± 3.56b
II	13.2 ± 0.71ab	176.22 ± 3.74a	78.93 ± 0.35a	88.69 ± 1.88ab
III	14.5 ± 0.46a	177.59 ± 2.16a	79.07 ± 1.21a	91.33 ± 3.20a
IV	14.6 ± 0.39a	176.93 ± 3.57a	78.88 ± 0.89a	90.95 ± 0.86a
V	14.3 ± 0.68a	177.18 ± 4.61a	78.74 ± 2.39a	91.15 ± 2.58a

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ ),下表同。

2.2 不同蛋白质水平对狮头鹅血清生化指标的影响

由表 3 可以看出,日粮不同蛋白水平对狮头鹅血清谷丙转氨酶(ALT)影响显著,试验Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ组的 ALT 活性均显著高于试验Ⅰ组和试验Ⅱ组( $P < 0.05$ );随着日粮蛋白质水平提高,血清尿酸浓度呈上升趋势,19% 蛋白质组的尿酸浓度显著高于其他 4 组( $P < 0.05$ );试验各组血清总蛋白(TP)和碱性磷酸酶(ALP)活性差异不显著( $P > 0.05$ )。

表 3 不同蛋白质水平对狮头鹅血清生化指标的影响

组别	ALP (IU/L)	ALT (IU/L)	TP (g/L)	UA (μmol/L)
I	425.71 ± 74.37a	18.42 ± 2.44b	52.38 ± 7.10a	453.18 ± 86.25b
II	433.56 ± 128.66a	20.55 ± 1.95b	53.13 ± 2.75a	462.80 ± 74.67b
III	437.84 ± 142.36a	29.75 ± 5.54a	56.35 ± 6.49a	478.35 ± 115.22b
IV	519.26 ± 98.27a	28.26 ± 1.39a	55.74 ± 10.21a	504.02 ± 109.45b
V	469.18 ± 105.93a	26.85 ± 2.04a	56.88 ± 9.32a	557.18 ± 69.33a

2.3 不同蛋白质水平对狮头鹅血清生殖激素的影响

由表 4 可以看出,各组血清催乳素(PRL)浓度差异不显著( $P > 0.05$ );试验Ⅲ、Ⅳ、Ⅴ组的血清雌二醇浓度显著高于试验Ⅰ组( $P < 0.05$ ),其他各组之间差异不显著;试验Ⅲ、Ⅳ组孕酮浓度显著高于试验Ⅰ组和Ⅱ组( $P < 0.05$ )。

2.4 不同蛋白质水平对狮头鹅垂体和卵巢组织中 *FSHβ* 相对表达量的影响

由图 1 可以看出,16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的垂体 *FSHβ* 相对表达量显著高于 13% 蛋白质组( $P < 0.05$ ),卵巢 *FSHβ* 相对表达量各组差异不显著。

表 4 不同蛋白质水平对狮头鹅血清生殖激素的影响

组别	PRL (ng/mL)	雌二醇 (pg/mL)	孕酮 (ng/mL)
I	12.49 ± 0.81a	182.33 ± 43.25b	4.07 ± 0.48b
II	13.11 ± 0.28a	236.72 ± 55.98ab	4.15 ± 0.71b
III	11.87 ± 0.49a	290.03 ± 39.52a	5.38 ± 0.63a
IV	12.53 ± 0.52a	311.66 ± 81.37a	4.99 ± 0.89a
V	13.09 ± 0.36a	282.67 ± 79.21a	4.67 ± 0.46ab

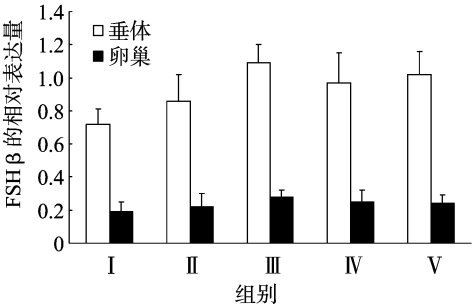


图 1 不同蛋白质水平对狮头鹅垂体和卵巢组织中 *FSHβ* 相对表达量的影响

2.5 不同蛋白质水平对狮头鹅垂体和卵巢组织中 *FSHR* 相对表达量的影响

由图 2 可以看出,卵巢中 *FSHR* 相对表达量较高,16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的卵巢 *FSHR* 相对表达量显著高于 13% 和 14.5% 蛋白质组( $P < 0.05$ );垂体 *FSHR* 相对表达量较低,且各组差异不显著。

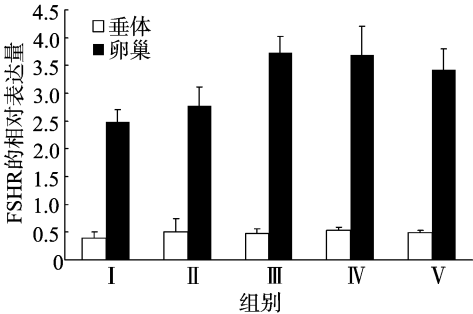


图 2 不同蛋白质水平对狮头鹅垂体和卵巢组织中 *FSHR* 相对表达量的影响

3 讨论

蛋白质是家禽最基本的营养需求之一,日粮蛋白质水平对家禽的产蛋量和蛋重均有重要影响。Bunchasak 等报道,与日粮 16% 和 18% 粗蛋白质水平相比较,14% 粗蛋白质水平显著降低了蛋鸡产蛋高峰期的产蛋性能<sup>[1]</sup>。Hussein 研究发现,在蛋鸡产蛋期日粮中 19% 的粗蛋白质水平比 17.5% 粗蛋白质水平能显著提高蛋重<sup>[2]</sup>。本研究发现,日粮蛋白质水平对

狮头鹅产蛋数和孵化率的影响呈现相同的变化趋势,当蛋白质水平达到 16% 之后,产蛋数和孵化率显著高于 13% 低蛋白组 ( $P < 0.05$ ),这在溆浦种鹅也有类似的报道<sup>[3]</sup>。其原因可能为:日粮蛋白质摄入不足,导致蛋壳变厚、雏鹅啄壳困难,从而降低了受精蛋的孵化率。

血清生化指标是畜禽生命活动的物质基础,其含量及动态变化反映了机体各种新陈代谢和生理活动是否正常,并可作为调整饲养管理方式以及进行兽医临床诊断和治疗的参考依据<sup>[4-5]</sup>。本研究发现,16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的 ALT 活性均显著高于低蛋白质组 ( $P < 0.05$ ),说明日粮高蛋白质水平可提高蛋白质的代谢率和饲料转化率。但日粮蛋白质过量则会导致尿酸生成增多<sup>[6]</sup>,本试验中 19% 蛋白质水平组血清尿酸浓度显著高于其他 4 组,说明日粮蛋白质水平过高,造成了部分蛋白质浪费,因此产蛋期狮头鹅的日粮蛋白质水平应低于 19%。

禽类的生殖活动受生殖轴激素的调节,下丘脑促性腺激素释放激素 (GnRH) 的释放可促进垂体前叶释放促卵泡素 (FSH) 和促黄体素 (LH),刺激卵巢上的卵泡发育,从而调节孕酮和雌二醇的释放,二者相互作用促使母禽产蛋<sup>[7-8]</sup>。对溆浦种鹅研究发现,血清孕酮与雌二醇浓度高的试验组产蛋率与蛋重也相对较高<sup>[3]</sup>。鸡血清雌二醇水平高的试验组产蛋率和蛋重也相对较高<sup>[9]</sup>。本试验发现,16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的血清雌二醇浓度显著高于 13% 蛋白质组,16% 和 17.5% 蛋白质组的血清孕酮浓度显著高于 13% 蛋白质组,且血清雌二醇和孕酮浓度与产蛋量和孵化率呈现一致的变化趋势。可见,高蛋白质水平日粮能通过调节家禽下丘脑释放 GnRH,促进孕酮和雌二醇的释放,从而提高产蛋性能。

FSH 是垂体前叶嗜碱性细胞分泌的一种糖蛋白激素,可促进卵巢的卵泡发育和成熟。研究发现,FSH 能提高鸡胚卵巢生殖细胞的增殖活性并存在一定的剂量效应关系,表明 FSH 可促进禽类生殖细胞的发育<sup>[10]</sup>。禽类产蛋期 FSH 不断刺激卵泡的产生、发育,直至形成成熟卵泡,在少量 LH 的配合下,刺激卵泡颗粒细胞的增生及与 FSHR 的结合能力<sup>[11-12]</sup>。本研究发现,16%、17.5% 和 19% 蛋白质组的垂体 FSH $\beta$  相对表达量和卵巢 FSHR 相对表达量均显著高于 13% 蛋白质组,与产蛋量变化趋势相一致。提示,高蛋白质水平可通过促进 GnRH 的释放提高 FSH 水平,刺激卵巢生殖细胞发

育、成熟和排卵,FSH 是调节卵泡正常发育和抗闭锁的重要因素之一,通过 FSH $\beta$  及其受体表达的调控有望提高狮头鹅的产蛋性能。

#### 参考文献:

- [1] Bunchasak C, Poosuan K, Nukracw R, et al. Effect of dietary protein on egg production and immunity responses of laying hens during peak production period[J]. International Journal of Poultry Science, 2005, 4(9): 701-708.
- [2] Hussein A S. Effect of dietary protein programs on pullet development and egg production performance of local hens[J]. Emir J Agric Sci, 2002, 14: 34-44.
- [3] 和希顺, 李翔, 何瑞国, 等. 糙米型日粮不同蛋白水平对溆浦鹅种鹅产蛋性能的影响[J]. 中国粮油学报, 2007, 22(5): 113-118.
- [4] 杨光荣, 李翠蓉. 鹅血浆某些生化指标的测定[J]. 畜牧与兽医, 2004, 36(10): 29.
- [5] 韩庆, 张彬, 夏维福, 等. 笼养灰胸竹鸡血液生理生化指标的测定[J]. 经济动物学报, 2004, 8(3): 148-150, 170.
- [6] 凌明亮, 黄仁术. 日粮蛋氨酸、赖氨酸水平对皖西白鹅种鹅繁殖力的影响[J]. 中国草食动物, 2004, 24(5): 17-19.
- [7] Sharp P J, Blache D. A neuroendocrine model for prolactin as the key mediator of seasonal breeding in birds under long- and short-day photoperiods[J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2003, 81(4): 350-358.
- [8] 周敏, 张细权. 家禽就巢行为的分子遗传基础[J]. 中国家禽, 2007, 29(20): 32-34.
- [9] 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.
- [10] 解美娜, 张才乔, 米玉玲, 等. 卵泡刺激素和雌激素对培养的鸡胚卵巢生殖细胞增殖的影响[J]. 动物学研究, 2004, 25(1): 53-56.
- [11] Erdost H. Immunohistochemical localization of FSH cells in the pars distalis of the pituitary gland in five-month-old laying hens[J]. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences, 2005, 29(5): 1125-1128.
- [12] 李波, 梁鸿雁, 周虚, 等. 性腺外 FSH 受体和 LH 受体表达研究进展[J]. 中国兽医学报, 2009, 29(6): 816-820.
- [13] 林建丽. 福建省野生石斛属植物分布及生境调查研究[J]. 林业勘察设计, 2009(2): 13-16.
- [14] 何涛, 淳泽, 罗傲雪, 等. 四川石斛野生资源及其保护研究[J]. 应用与环境生物学报, 2008, 14(5): 710-715.
- [15] 赵天榜, 陈志秀, 杨献国, 等. 河南石斛属植物资源的开发利用研究[J]. 地域研究与开发, 1994, 13(2): 59-61.
- [16] 龚建英, 王华新, 孙利娜, 等. 九种引种石斛生物学特性及栽培适应性研究[J]. 北方园艺, 2013(20): 75-78.
- [17] 龚建英, 余雪标, 徐大平. 石斛兰无土栽培基质优化筛选研究[J]. 广西林业科学, 2007, 36(2): 82-85.

(上接第 235 页)

- [7] 赖家业, 林少芳, 何荣, 等. 广西雅长兰科植物自然保护区石斛属植物资源保护与利用[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(5): 1824-1825, 1829.
- [8] 雷衍国, 缪剑华, 赖家业, 等. 桂西北三地野生石斛属资源调查研究[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(23): 9963-9964.
- [9] 周丽, 王苑. 黔西南州石斛资源调查保护与开发利用[J]. 黔西南民族师范高等专科学校学报, 2006(2): 85-87.
- [10] 任羽, 尹俊梅, 杨光穗. 海南石斛属植物亲缘关系的 SRAP 分析[J]. 热带作物学报, 2008, 29(6): 767-770.