

鸵鸟不同繁殖状态下血浆 $17\beta\text{-E}_2$ 和 P_4 水平变化的研究*

董武子¹, 吉亚杰², 尹燕博³, 张彦明¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨陵 712100; 2 中国科学院 动物研究所, 北京 100080; 3 农业部动物检验所, 山东 青岛 266515)

[摘要] 用RIA法对鸵鸟不同繁殖状态下血浆 $17\beta\text{E}_2$, P_4 的水平变化规律进行了研究。结果表明, 连续产蛋鸵鸟在排卵周期内血浆 $17\beta\text{E}_2$ 峰值 $[(0.932 \pm 0.049) \text{ ng/mL}]$ 出现在产蛋前10~2 h, 若在此期间无峰值则表明鸵鸟即将停产; 不产蛋鸵鸟血浆 $17\beta\text{E}_2$ 无显著峰值; 3个繁殖状态下鸵鸟血浆 $17\beta\text{E}_2$ 基础值差异不显著 ($P > 0.05$)。连续产蛋鸵鸟在排卵周期内血浆 P_4 峰值 $[(8.82 \pm 0.49) \text{ ng/mL}]$ 出现在产蛋前16~10 h, 且峰值有较长的持续期, 从峰值出现到产蛋期间, 血浆 P_4 水平是缓慢下降的; 产蛋前血浆 P_4 无峰值表明鸵鸟不再排卵产蛋; 不产蛋鸵鸟血浆 P_4 无显著峰值出现, 且其基础值比产蛋鸵鸟低, 但差异不显著 ($P > 0.05$)。

[关键词] 鸵鸟; RIA; $17\beta\text{E}_2$; P_4

[中图分类号] S854.74

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2002)06-0055-04

对血液 $17\beta\text{E}_2$, P_4 水平的监控可以比较精确的获得禽类排卵、产蛋的规律。许多学者对不同生理状态以及不同饲养管理条件下家禽血液中 $17\beta\text{E}_2$, P_4 的水平进行了研究, 并取得了一些成果^[1]。鸵鸟是大型鸟, 栏养条件下鸵鸟产蛋时间主要在3~11月份, 产蛋高峰在5~10月。鸵鸟血浆 $17\beta\text{E}_2$ 水平在各月份的差异不显著, 而3~8月时较高, 在5月时达到最高值。总的来看, 鸵鸟血浆中 $17\beta\text{E}_2$ 水平在春季上升而在秋季下降, 这种模式与鸵鸟产蛋的季节性变化相一致, 但这种变化比一些野生鸟类要缓慢, 这也说明家养鸵鸟繁殖的季节性减弱^[2]。实际生产中发现, 鸵鸟在产蛋季节产下一定数量的蛋后, 则要休产一段时间, 可见鸵鸟排卵、产蛋是非延续性的。迄今为止, 还未见有关鸵鸟在不同繁殖状态下排卵周期内血浆 $17\beta\text{E}_2$, P_4 水平变化的研究报告。本研究采用RIA系统来测定鸵鸟血浆中的 $17\beta\text{E}_2$, P_4 激素水平, 以便为研究鸵鸟的生殖生理提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

1999-07~10在山东寿光新兴鸵鸟发展有限公司和山东青岛众友鸵鸟发展有限公司养殖场挑选出实验鸵鸟。实验用鸵鸟每天喂精料2 kg, 青料6 kg(苦菜叶和苜蓿); 每天饲喂3次。从采血样前1周

开始每天观察、记录其精神状态、食量、饮水情况等。

1.2 仪器设备

一次性注射器、离心管、离心机、冰箱、洁净分装小瓶、微量加样器、万能低温离心机(型号Megafuge 2 OR, Gmany Heraeus生产)、全自动记数仪(型号GC-911, 中国科技大学实业总公司中佳光电仪器分公司生产)、减压抽液器、5 mL圆底试管、水浴锅、计时器。

1.3 所用药品

肝素钠由BB公司分装, 孕酮、雌二醇试剂盒由天津九鼎医学生物工程有限公司生产。

1.4 采样方式

12只种母鸟在72 h内每4 h从颈静脉采血样1次, 鸵鸟的保定方式同文献[3]。全血中按50 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 加入肝素钠抗凝, 将获得的抗凝血置于室温10 min后, 以2 000 r/min离心10 min, 按测定需要等分装在几个小瓶中, -20℃冰箱保存, 待测。

1.5 试验操作

参考天津九鼎医学生物工程有限公司生产的 $17\beta\text{E}_2$, P_4 试剂盒说明书及文献[4]进行。

* [收稿日期] 2001-09-14

[基金项目] 山东省科委攻关项目“鸵鸟人工繁殖技术研究”的主要内容(970023)

[作者简介] 董武子(1969-), 男, 湖北洪湖人, 讲师, 硕士, 主要从事特种经济动物养殖及动物生殖生物学研究。

2 结果与分析

2.1 鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 、 P_4 激素RIA 质控指标

用 RIA 系统测定鸵鸟血浆 2 种激素 ($17\beta E_2$ 、

P_4) 水平的曲线拟合度、回收率、批内变异系数、非特异性结合 N_1 [5] 以及样品平均非特异性结合 N_2 [5], 结果见表 1。

表 1 RIA 系统测定中的质控指标

Table 1 Quality controlling parameters in RIA test

激素 Hormones	标准曲线拟合度 Replacement rate of standard curve	回收率/% Recovery rate	批内变异系数 ($n=4$) /% Variation rate w ithin batch ($n=4$)	批间变异系数 ($n=4$) /% Variation rate between batches ($n=4$)	N_1/Bq	N_2/Bq
$17\beta E_2$	0.999 5	104	6.4	7.8	2.97	10.03
P_4	0.994 4	98	6.8	9.1	1.70	3.63

2.2 鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 、 P_4 水平变化规律

2.2.1 $17\beta E_2$ 连续产蛋鸟类, 在每一个排卵周期内鸟血浆 $17\beta E_2$ 必然有一个峰值出现。本研究结果 (图 1) 显示, 鸵鸟在排卵周期内出现峰值, 但不同的生理状态下鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 基础值无显著差异 ($P > 0.05$)。连续产蛋鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 平均峰值 [(0.932 ± 0.049) ng/mL] 出现在产蛋前 2~ 10

h。峰值与基础值差异显著。非连续产蛋鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 在最后 1 枚蛋产出前无峰值, 而在倒数第 2 枚蛋产出前 10~ 2 h 有峰值, 且峰值为 (1.013 ± 0.019) ng/mL, 与连续产蛋鸵鸟的血浆平均峰值相比, 差异不显著。不产蛋鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 水平在基础值上下波动, 无显著峰值出现。

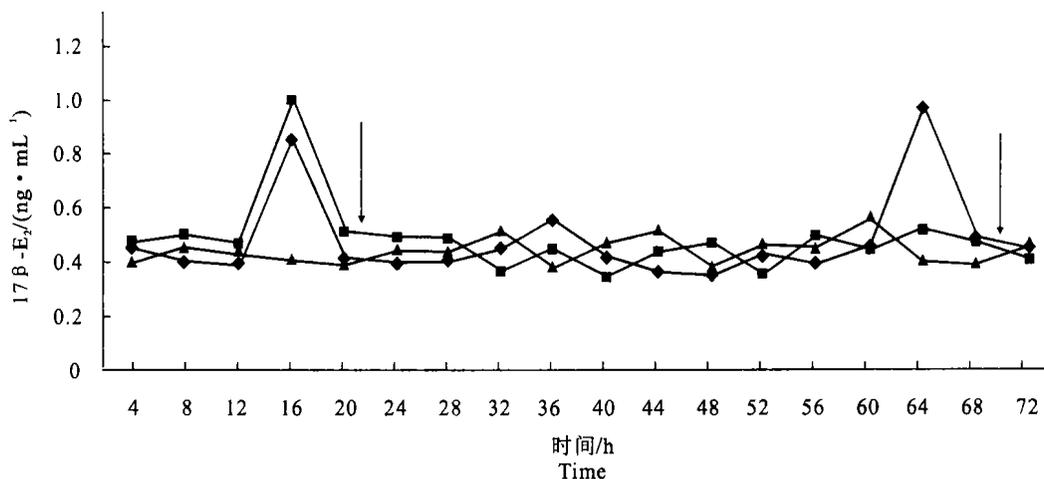


图 1 不同繁殖状态下鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 水平的变化曲线

—◆—, 连续产蛋鸵鸟; —■—, 非连续产蛋鸵鸟; —▲—, 不产蛋鸵鸟; —▶—, 产蛋时刻

Fig. 1 Changes of plasma $17\beta E_2$ values of ostrich in different reproductive stages

—◆—, Successive laying ostriches; —■—, Intermittent laying ostriches; —▲—, Non-laying ostriches; —▶—, Laying time

2.2.2 P_4 不同繁殖状态下, 鸵鸟血浆 P_4 水平的变化规律见图 2。由图 2 可见, 连续产蛋鸵鸟血浆 P_4 峰值 [(8.82 ± 0.49) ng/mL] 出现在产蛋前 16~ 10 h, 其峰值与产蛋后及峰值前各时期血浆 P_4 水平差异显著 ($P < 0.05$)。峰值出现到产蛋这一阶段, 血浆 P_4 水平是逐渐下降的, 可见, P_4 峰值有一个较长的持续期。非连续产蛋鸵鸟血浆 P_4 在最后 1 枚蛋

产出前无峰值, 而在倒数第 2 枚蛋产出前 16~ 10 h 有峰值, 且峰值为 (8.3 ± 0.58) ng/mL, 与连续产蛋鸵鸟血浆平均峰值相比差异不显著。

由图 2 还可看出, 不产蛋鸵鸟血浆 P_4 水平明显比产蛋鸵鸟血浆 P_4 水平要低, 但平均基础值差异并不显著 ($P > 0.05$)。

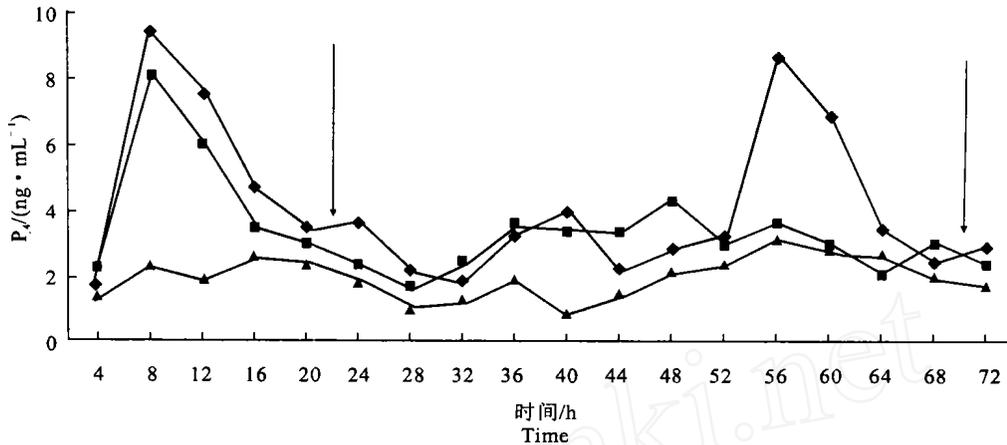


图2 不同繁殖状态下鸵鸟血浆 P_4 水平的变化

—◆—, 连续产蛋鸵鸟; —■—, 非连续产蛋鸵鸟; —▲—, 不产蛋鸵鸟; —▶—, 产蛋时刻

Fig. 2 Changes of plasma P_4 values of ostrich in different reproductive stages

—◆—, Successive laying ostriches; —■—, Intermittent laying ostriches; —▲—, Non-laying ostriches; —▶—, Laying time

3 讨论

3.1 采样时间间隔的确定

用RIA法对鸟类激素测定中, 由于研究的鸟类和研究目的不同, 采用的研究方法和采样的时间间隔亦不一样。Susan等^[6]每3h采集KhakiCampbell鸭的血样研究排卵周期内LH和 P_4 的变化规律; 李维^[7]、汪琳仙^[8]以每2h采集北京鸭血样分别研究了其排卵周期内的LH和 P_4 水平。鸵鸟是大型鸟类, 正常产蛋鸵鸟系每2d产1枚蛋, 鸵鸟1个正常的排卵周期应为2d左右。本研究既考虑到研究的需要, 同时还要尽量减少对鸵鸟的影响, 以降低其应激程度, 故间隔4h采血样1次, 基本上达到了本研究的目的。

3.2 N_2 管的设定

为了排除RIA测定系统中的干扰因素对测定结果的影响, 本试验参考了张彦明等^[5]的方法, 在测定系统中设 N_1 和 N_2 两个非特异性结合对照管, 其中, N_2 管的样品是抽取等体积所有被测鸵鸟的血浆样品混匀后获得的混合样品, 同其他被测样品一样, 进入整个测试过程, 并测定双管 N_2 取平均值。若是混合样品足够多, 可以测定多管 N_2 值后取平均值, 这样更有代表性。这样使得各血浆样品是在与标准曲线相同的条件下测定, 从而获得的结果更接近真实的结果。

在哺乳动物乳汁^[5]以及其他动物(羽)毛^[9]、尿液^[10]、全血(或血浆)等激素含量的测定中, 尤其

是在异源性测定中, 因杂质的干扰或种源差异, 抗原抗体之间的结合率较低, 利用设定 N_2 管可除去样品中影响因素而获得较好的结果。

3.3 血浆 $17\beta E_2$, P_4 水平变化与排卵、产蛋的关系

野生鸟类的繁殖有较强的季节性, 经过长期驯养的鸟类, 其繁殖的季节性减弱, 家禽在人工控制的环境条件(温度、光照等)下可以全年产蛋。鸵鸟由于驯养时间较短, 不同个体的繁殖方式差别较大, 除少数鸵鸟在一个产蛋季节产蛋不连续外, 大多数属非连续产蛋方式。

鸵鸟作为一种最大的鸟类, 其血浆 $17\beta E_2$, P_4 水平变化与其他鸟类相似。连续产蛋鸵鸟在排卵周期内血浆 $17\beta E_2$ 峰值出现在产蛋前10~2h, 蛋鸡在排卵前6h左右血浆 $17\beta E_2$ 水平出现峰值, 本试验表明, 鸵鸟血浆 $17\beta E_2$ 水平的平均值无论在那一个生理状态下都比鸡高^[11, 12]。

连续产蛋鸵鸟在排卵周期内, 血浆 P_4 峰值出现在产蛋前16~10h, 泰和鸡血浆 P_4 水平峰值是在排卵前6~4h^[12]。北京鸭在产蛋前5h血浆 P_4 水平达到峰值, 产蛋时降到基础值^[13]。鸵鸟血浆 P_4 峰值持续时间较长, 这与Tanabe等^[14]对24h内产蛋鸭血浆 P_4 水平变化的测定结果一致, 但鸵鸟血浆 P_4 水平从峰值出现到产蛋这一阶段下降较缓, 这可能与鸵鸟卵比其他鸟卵大, 需要较长和较高水平 P_4 反馈引起LH峰值出现, 促进排卵有关。

[参考文献]

- [1] 彭曼丽, 杨传任 鸭开产前血浆雌二醇、孕酮、总脂、甲状腺素和碘甲状腺原氨酸水平的变化规律 [J]. 畜牧兽医学报, 1986, 17 (1): 7- 14
- [2] Allan Degen A. Plasma level of LH and steroid hormones in male and female domestic ostrich (*Struthio camelus*) [J]. Gen Comp Endocr, 1994, 93: 21- 27.
- [3] 崔保维 鸵鸟养殖技术 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [4] 张家骅 放射免疫测定方法 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [5] 张彦明, 弓广智, 王建辰 牛乳汁 $17\beta\text{E}_2$ 放射免疫测定方法的改进 [J]. 西北农业大学学报, 1987, (2): 49- 51.
- [6] Susan C, Wilson S C, Morris T R. Concentration of LH and progesterone in plasma during sexual development of the khaki campbell duck [J]. J Endocr, 1982, 93: 47- 53.
- [7] 李 维, 王海云, 徐一树 鸭垂体促黄体素 (LH) 测定方法的研究及鸭排卵周期血浆含量 [J]. 畜牧兽医学报, 1986, (2): 31- 32.
- [8] 汪琳仙, 彭曼丽 北京鸭开产前和开产周期中血浆 LH 和孕酮水平的变化 [J]. 畜牧兽医学报, 1987, (2): 31- 32.
- [9] 刘显义, 陈发菊, 宋雪华 测定乳牛和山羊毛中类固醇激素的研究 [J]. 核农学报, 1995, 16 (2): 70- 73.
- [10] 李复东, 彭世媛 雌性大熊猫发情期尿中 $17\beta\text{E}_2$ 与孕酮水平的变化及其与配种的关系 [J]. 兽类学报, 1993, 13 (3): 166- 171.
- [11] Senior B E, Cunningham F J. Estradiol and LH during the ovulatory cycle of the hen [J]. J Endocrinology, 1974, 60: 201- 202.
- [12] 陈鹭江, 宾 斌, 傅伟龙, 等 泰和鸡的繁殖特性 [J]. 中国畜牧杂志, 1988, (6): 28- 29.
- [13] 汪琳仙, 张利增, 黄孝玢 北京鸭产蛋周期中血浆孕酮水平昼夜变化规律的研究 [J]. 中国畜牧杂志, 1985, (2): 31- 32.
- [14] Tanabe Y, Nakamura T, Omiya Y, et al Changes in the plasma LH, progesterone and estradiol during the ovulatory cycle of the duck exposed to different photoperiods [J]. Gen Comp Endocrinology, 1980, 41: 378- 383.

Study on changes of plasma $17\beta\text{E}_2$, P_4 values of ostrich in different reproductive stages

DONG Wu-zi¹, JI Ya-jie², YIN Yan-bo³, ZHANG Yan-ming¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Shaanxi, Yangling 712100, China;

2 Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, China;

3 Animal Quarantine Institute, Ministry of Agriculture, Shandong, Qingdao 650032, China)

Abstract: Values of $17\beta\text{E}_2$, P_4 of the plasma of ostrich were measured by h ($17\beta\text{E}_2$, P_4)-RIA. The result indicated: the peak values of $17\beta\text{E}_2$ [$(0.932 \pm 0.49) \text{ ng/mL}$] and P_4 [$(8.82 \pm 0.49) \text{ ng/mL}$] of successive laying ostriches respectively appeared 10- 2 h and 16- 10 h before laying peak values of P_4 reduced slowly before laying. Intermittent ostriches hadn't the peak of $17\beta\text{E}_2$ and P_4 during 24 h before laying the latest egg. Non-laying ostriches hadn't the peak of $17\beta\text{E}_2$ and P_4 . Between this 3 kinds of reproductive stages, $17\beta\text{E}_2$, P_4 basic values in ostrich's plasma were respectively not differential ($P > 0.05$).

Key words: ostrich; RIA; $17\beta\text{E}_2$; P_4