

促性腺激素释放激素主动免疫 公鸡的研究

张云桥 毕英佐 曹永长 何 洁

(华南农业大学动物科学系,广州,510642)

摘要 将1日龄的石岐杂公鸡分成6组,第1组于7日龄进行人工阉割,第2、3、4组分别以促性腺激素(LHRH)-BSA偶联物作抗原加佛氏佐剂乳化后按不同程序免疫公鸡,第6组单以BSA免疫作对照。结果表明:与BSA免疫组相比,第4组及阉鸡组血清睾酮水平均发生显著下降,各免疫去势组公鸡睾丸、鸡冠及肉垂都有不同程度的萎缩,睾丸曲细精管发育不良或受到抑制,6日龄免疫去势效果明显比2及4日龄免疫的差,以相同的抗原量两次免疫去势效果优于一次免疫效果,其中以LHRH-BSA加佛氏佐剂分别于20及40日龄各免疫一次可获得较好的去势效果。

关键词 促性腺激素释放激素(LHRH);公鸡免疫去势

中图分类号 S 831.49

去势公鸡肉质鲜美,深受消费者喜爱,人工阉割效果好,但手术复杂费时且易造成气肿及出血死亡;化学去势法简便,但有时会引起鸡体过敏反应,且易带来药物残留问题(王宪伦等,1990),许多国家已明确禁止使用。养鸡业上至今还没有适合于大鸡场的去势方法,公鸡低廉的售价常常给种鸡场带来极大的经济损失。在免疫学、内分泌学和生物化学基础上发展起来的免疫去势技术主要是用下丘脑分泌的十肽物质促性腺激素释放激素(LHRH)与分子载体蛋白偶联后加佐剂对畜禽进行主动免疫,所产生的特异性抗体可中和内源性LHRH,使体内大部分游离态LHRH分子失活,LH及FSH水平下降,从而使动物性器官萎缩达到去势目的。理论上,免疫去势既不会带来药物残留问题,在生产上应用也比较方便,因此具有广泛的应用前景。目前,国外尚未见公鸡的免疫去势报道,而国内黄夺先等学者于1992年对公鸡进行免疫去势,取得较好效果(黄夺先等,1992),但在免疫时间、剂量及佐剂等方面未作深入研究。

本试验从便于生产应用出发,主要研究LHRH主动免疫公鸡的适宜免疫时间、免疫次数等问题,旨在研究出一种适合于大型鸡场使用的免疫去势方法。

1 材料与方法

1.1 免疫去势剂制备

1.1.1 免疫抗原 LHRH偶联 先将20 mg LHRH溶于4 mL 0.1 mol pH 7.0 PBS液中,加入84 mg BSA搅拌均匀,然后逐滴加入37 mL 2.5%戊二醛,在室温下持续搅拌24 h,再将上述反应液移入透析袋中,在4℃条件下对0.01 mol pH 7.0 PBS液透析24 h保存待用。

1.1.2 佛氏佐剂配制及抗原乳化 将石蜡油和羊毛脂按 8.5:1.5比例混合加入玻璃瓶中高压灭菌,即为佛氏不完全佐剂。在上述不完全佐剂中加入适量卡介苗即成佛氏完全佐剂。先加佐剂入乳钵中研磨,逐滴加入等量的抗原液研磨乳化至乳剂滴于水上完全不扩散为止。

1.2 实验动物的分组及处理

本实验选用石岐杂公鸡(购自华南农业大学种鸡场),第1组于78日龄进行人工阉割,第2、3、4组分别以0.8 mg LHRH-BSA加佛氏佐剂于60、40、20日龄各免疫一次,第5组以0.4 mg LHRH-BSA加佛氏佐剂分别于20、40日龄各免疫一次,第6组以BSA加佛氏佐剂于20日龄免疫作对照。每次免疫均以2 mL乳化剂量进行皮下分点注射免疫。

1.3 测试指标

鸡冠长和高,肉垂宽,睾丸重量,睾丸组织切片镜检,放射免疫法测定血清睾酮含量,肌肉水分、粗蛋白、粗脂肪含量。

1.4 生物统计方法

组间数据均以 Mini Tab 软件进行多重比较统计。

2 结果与分析

2.1 免疫去势剂处理对公鸡外观、性情及行为的影响

实验过程中可观察到,免疫去势组公鸡的外观、性情及行为与阉鸡比较接近。与 BSA 免疫对照组相比,免疫去势公鸡和阉鸡的鸡冠、肉垂都发生萎缩且颜色变淡,尾部长羽减少或脱落,少鸣叫,呈母鸡型。

2.2 免疫去势剂对公鸡鸡冠、肉垂发育的影响

128日龄进行屠宰,测定鸡冠长、高及肉垂宽。由表1结果可见,与对照组相比,各免疫去势组鸡冠及肉垂均发生萎缩,但萎缩程度不及人工阉鸡组;其中第2组免疫的效果比较差,第3组的免疫去势较好。

表 1 128日龄时的鸡冠长、高及肉垂宽¹⁾ cm

组别	样品数	鸡冠长	鸡冠高	肉垂宽
1	11	6.2±0.7 a	2.7±0.5 a	3.0±0.5 a
2	9	8.5±0.8 b	3.9±0.5 b	4.1±0.5 b
3	10	7.9±0.9 bc	3.6±0.6 bc	3.8±0.4 bc
4	10	7.9±0.7 bcd	3.7±0.8 bcd	3.9±0.5 bcd
5	9	7.6±0.8 cde	3.7±0.7 bcde	3.6±0.6 cde
6	10	9.1±0.8 b	4.4±0.5 f	4.5±0.3 b

1) 组间若有相同字母者表示在 $P=0.05$ 水平无显著差异,组间若无相同字母者表示在 $P=0.05$ 水平下差异显著

2.3 免疫去势剂对睾丸重量的影响

128日龄屠宰取睾丸称重。由表2结果可见,与对照组相比,各免疫去势组睾丸均发生萎缩,其中第4组萎缩程度最大,第2组萎缩程度最小。说明在60日龄以0.8 mg/kg剂量免疫一次去势效果较差,而以0.4 mg/kg剂量在20日龄、40日龄各免疫一次的去势效果最好。

表 2 128日龄各组鸡睾丸的绝对重量及相对重量

组别	样品数	睾丸重 ¹⁾	
		绝对重 /g	相对重 (绝对重 /100g 体重)
2	9	8.7± 4.40 a	0.518± 0.367 a
3	10	5.13± 3.02 ab	0.264± 0.297 ab
4	10	5.35± 2.48 bc	0.308± 0.287 abc
5	9	3.39± 1.37 bcd	0.256± 0.174 bc d
6	10	11.96± 2.82 e	0.576± 0.141 a

1) 组间若有相同字母者表示在 $P=0.05$ 水平下无显著差异,组间若无相同字母者表示在 $P=0.05$ 水平下差异显著

2.4 免疫去势剂对睾丸组织形态的影响

LHRH免疫组(第2组)曲细精管排列紧密,间质发育受到抑制,精原细胞和各级精母细胞有一定程度发育,可见有少量精子形成(如图1) LHRH免疫组(第3组)曲细精管细小且排列紧密,发育不良,精原细胞和各级精母细胞发育不正常(如图2) BSA对照组(第6组)曲细精管发育正常,结构完好,精原细胞、各级精母细胞及精子均清晰可见(如图3)。

2.5 免疫去势剂对血清睾酮含量的影响

第145组血清睾酮含量测定结果如表3可知 BSA免疫对照组血清睾酮浓度在20~111 d维持在9.07~13.81 ng/L范围, LHRH-BSA免疫去势组及阉鸡组在免疫或阉割后血清睾酮浓度即发生显著下降,至111 d仍保持在较低的水平,从激素水平上说明 LHRH-BSA免疫处理具有去势效果。



图1 第2组 LHRH- BSA免疫鸡睾丸组织形态(150×)

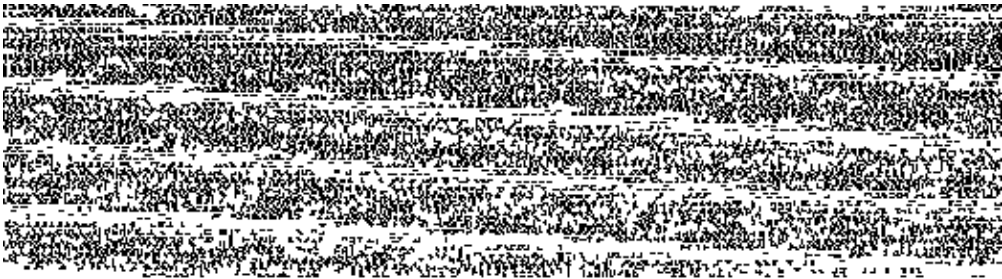


图2 第3组 LHRH- BSA免疫鸡睾丸组织形态(150×)

图3 BSA对照组鸡睾丸组织形态(150×)

表 3 血清睾酮含量¹⁾

ng/L

日龄	第 1组	第 4组	第 3组	第 2组
20	—	13. 81± 3. 47	14. 07± 3. 65	13. 81± 3. 71
27	—	8. 14± 4. 92	6. 40± 5. 57	12. 62± 2. 29
41	—	4. 39± 3. 94	2. 27± 0. 83	9. 78± 0. 44
55	—	5. 05± 3. 35	4. 21± 3. 27	10. 06± 8. 82
69	11. 64± 1. 29	3. 42± 3. 06	5. 29± 0. 80	10. 67± 4. 41
83	4. 92± 2. 69	4. 34± 4. 51	4. 34± 2. 62	9. 07± 6. 12
97	2. 43± 1. 93	3. 96± 0. 87	3. 18± 1. 87	11. 66± 7. 48
111	2. 58± 1. 05	2. 69± 2. 37	3. 59± 1. 20	13. 37± 2. 23

1) 各组每次取血清样品 5 个

2. 6 免疫去势剂对公鸡肉质的影响

公鸡小腿肌肉成分分析结果如表 4 可见,免疫去势组、人工阉鸡组与对照组的水分及粗蛋白含量不存在明显差异,而粗脂肪含量有较大的差异。其中阉鸡组含脂肪量最高,免疫效果较好的第 4组与之最接近,而免疫效果较差的第 2组与对照组最为接近。这表明去势效果反映在肉质上主要表现为粗脂肪含量不同

表 4 128日龄鸡小腿肌肉成分¹⁾

%

组别	水分	粗蛋白	粗脂肪
1	6. 39± 1. 42	82. 13± 3. 51	9. 90± 1. 57 a
2	7. 18± 1. 64	80. 03± 1. 05	6. 23± 0. 15 b
3	7. 52± 0. 10	79. 10± 3. 10	8. 17± 2. 99 abc
4	7. 28± 1. 29	79. 90± 2. 34	8. 07± 1. 10 abc d
5	7. 72± 0. 38	81. 07± 2. 21	9. 23± 0. 76 ac de
6	7. 33± 1. 07	80. 77± 0. 12	6. 01± 1. 55 bed

1)组间若有相同字母者表示在 $P= 0. 05$ 水平下无显著差异,组间若无相同字母者表示在 $P= 0. 05$ 水平下差异显著

3 讨论及结论

3. 1 促性腺激素释放激素 (LHRH)的免疫去势作用

存在于畜禽下丘脑中的 LHRH具有刺激腺垂体合成并释放促性腺激素的作用,通过下丘脑-垂体-性腺轴的作用促使性腺成熟、排卵或排精(龚岳亭, 1985)。作为一种半抗原的小分子物质 LHRH若与载体蛋白偶联后主动免疫畜禽,产生的特异性抗体可中和血液中内源性 LHRH,从而使体内 LH 睾酮及孕酮激素水平下降,性器官萎缩而达到去势目的(李键等, 1993)。70年代以来,许多学者 (Falvo et al, 1986; Johnson et al, 1988; Robertson et al, 1979; 1982)陆续在牛、猪、马等动物上证实了这一点。本实验结果各免疫去势组公鸡鸡冠、内垂及睾丸均发生不同程度的萎缩,与黄夺先等所得的结果相似。公鸡免疫去势或阉割后血清睾酮水平即显著下降,并一直维持在较低的水平,这与许多学者 (Falvo et al, 1986; Huang et al, 1992; Johnson et al, 1988)的实验结果相同,表明 LHRH-BSA免疫确实具有免疫

去势效果

肉质分析结果表明,公鸡阉割或免疫去势后,肌肉水分及蛋白质含量差异不大而脂肪含量比对照组高,与国外 Robertson 等学者(1982)所报道的免疫去势具有提高肌肉脂肪含量、增加背膘厚的效果类似。畜禽阉割或去势后肌肉脂肪含量升高,与体内激素水平改变有关。畜禽体内均含有一定量的雄激素和雌激素,一般说来雄激素可使体内脂肪贮存减少,而雌激素则可增加组织中脂肪沉积量(Sturkie, 1982)。阉割或去势处理使雄激素水平下降,雌激素比例相应升高,从而有利于脂肪在肌肉或其它组织中沉积(Sturkie, 1964)。另有研究表明,经雌激素处理的鸡由于皮下脂肪沉积增加以及皮肤更为光滑柔软,不仅改进了其嫩度,也提高了等级。可见,去势公鸡肉味鲜美且易育肥主要与雌激素比例升高有关。

3.2 免疫程序的探讨

本实验结果表明,40日龄免疫去势效果最好,20日龄免疫去势效果其次,60日龄免疫效果最差。推测20日龄免疫效果稍差可能是因为免疫时间太早,所产生的 LHRH 抗体不能维持太久,对后期内源性 LHRH 不能起到很好的中和作用,因而对后期性器官的发育也就不能起到有效的抑制作用,60日龄免疫效果差,可能是因为此时内源性 LHRH 对性器官发育已有良好的促进作用,免疫所产生的抗体已错过中和体内 LHRH 抑制其促进性器官发育的最佳时期。以相同抗原量两次免疫公鸡去势效果明显优于一次免疫,而以 0.4 mg LHRH - BSA 加佛氏完全及不完全佐剂分别于 20 及 40 日龄进行皮下分点注射免疫去势效果最好。

3.3 免疫去势剂的应用前景

70 年代兴起的免疫去势技术,已相继在猪、牛、羊、马等动物上获得成功。本实验结果表明,将免疫去势技术用于公鸡是完全可行的。但从成本上看,目前使用免疫去势剂每只鸡约需 4~5 元,仍高于化学去势或人工阉割。因此,若能在进一步提高免疫去势效果及降低成本上有所突破的话,公鸡免疫去势将可在生产上得到推广应用。免疫去势效果不及人工阉割好主要表现在免疫公鸡仍保留部分雄性性征。值得注意的是,家畜的免疫去势表明保留部分雄性性征具有促生长发育作用;若公鸡免疫去势也存在上述作用的话,公鸡免疫去势将有更好的应用前景。

参 考 文 献

- 王宪伦,潘长恩. 1990. 家畜化学去势. 中国兽医科技, (5): 34~ 35
- 李 键,刘智喜. 1993. 生殖激素免疫的进展研究. 草食家畜, (6): 1~ 4
- 黄夺先,赵 伟,朱建辉,等. 1992. 公鸡免疫去势简报. 中国家禽, (2): 30
- 龚岳亭. 1985. 生物活性肽结构与功能. 上海: 上海科学技术出版社, 40~ 53, 124~ 129
- Sturkie P D. 1964. 家禽生理学. 谢善勤,王长青译. 上海: 上海科学技术出版社, 292~ 295
- Sturkie P D. 1982. 禽类生理学.《禽类生理学》编译组译. 北京: 科学出版社, 271~ 273
- Falvo R E, Chandrashekar V, Arthur R D, et al. 1986. Effect of active immunization against LHRH or LH in boars' reproductive consequences and performance traits. J Anim Sci, 63 986~ 994
- Huang D X, Zhao W, Sun Y X, et al. 1992. Effect of immunization against GnRH on reproductive function in boars and gilts. Jiangsu J Agr Sci, 8(2): 31~ 35
- Johnson H E, Deavila D M, Chang C F, et al. 1988. Active immunization of heifers against luteinizing hormone-releasing hormone, human chorionic gonadotropin and bovine luteinizing hormone. J Anim Sci, 66 719~ 726

- Robertson I S, Wilson J C, Fraser H M. 1979. Immunological castration in cattle. *Veterinary Record*, 105: 556~ 557
- Robertson I S, Fraser H M, Innes G M, et al. 1982. Effect of immunological castration on sexual and production characteristics of male cattle. *Veterinary Record*, 111: 529~ 531

STUDIES ON ACTIVE IMMUNIZATION AGAINST IMMUNOCASTRATING ANTIGEN IN COCKERELS

Zhang Yunqiao Bi Yingzuo Cao Yongchang He Jie
(Dept. of Animal Science, South China Agr. Univ., Guangzhou, 510642)

Abstract

Thirteen-day-old Shiqi cockerels were divided into 6 groups, group 1 was castrated on the 78th day, groups 2, 3, 4, 5 were immunized against LHRH-BSA conjugate with Freund adjuvant (FA) following different vaccination schedules, group 6 served as control which was immunized against BSA with FA. This trial showed that, in contrast with BSA control, the level of serum testosterone decreased greatly in both immunized groups 4, 5 and castrated group, the testis, combs and wattles of cockerels in each immunized group became atrophic to varying degree, development of seminiferous tubules were inhibited and the tubules were abnormal, immunization on the 40th or 20th day significantly brought better castration effects than immunization on the 60th day, two immunizations resulted in better immunization effect than one immunization though the same dose of antigen was used, satisfactory immunocastration effects can be achieved in cockerels by immunization with LHRH-BSA in FA on the 20th and 40th day respectively.

Key words luteinizing hormone releasing hormone (LHRH); cockerel immunocastration