

文章编号: 1001-411X(2001)02-0069-04

铬对产蛋鸡生殖激素分泌的影响

刘平祥^{1,2}, 陈鹭江¹, 谢德彪¹, 邓舜洲¹, 熊小妹¹

(1 江西农业大学动物科技学院, 江西 南昌 330045; 2 华南农业大学动物科学系, 广东 广州 510642)

摘要:为探讨铬元素对产蛋鸡生殖激素分泌的影响及其机制, 在基础日粮(含 Cr 5.09 mg/kg)中分别添加铬 0.5 和 50 mg/kg 饲养 4 个月, 观察其产蛋性能, 检测血浆雌二醇(E₂)、孕酮(P)、促黄体生成素(LH)水平, 并于试验结束时进行卵泡细胞的离体培养。结果表明, 添加 5 mg/kg 铬有利于产蛋率的提高及产蛋高峰期(> 90%)的持久。不同铬日粮对血浆中上述激素水平无显著影响, 但在组间产蛋率出现显著差异时, 试验 P、LH 水平也相应地比对照组高, 离体试验表明, 铬可以通过直接对卵泡发生作用促进 E₂ 的合成与分泌($P < 0.01$), 对 P 分泌也有促进趋势。

关键词: Cr; 产蛋鸡; 产蛋率; 雌二醇(E₂); 孕酮(P); 黄体生成素(LH)

中图分类号: S816.7

文献标识码: A

铬(Cr³⁺)是人和动物机体所必需的元素。已有的研究表明, 日粮中的 Cr 不能满足动物的需要^{1,2}。许多学者进行了大量的日粮补 Cr 试验, 发现 Cr 在提高生产性能, 调节内分泌, 提高胴体品质, 影响免疫反应, 改善糖和矿物质代谢等方面均发挥一定的作用^{1~5}, 但这些试验大多以家畜为研究对象。有关 Cr 对家禽生殖内分泌的研究较少⁶。

本试验以海兰褐壳蛋鸡为材料, 日粮中添加不同剂量 CrCl₃·6H₂O, 观察蛋鸡生产性能、生殖激素分泌情况, 以寻求蛋鸡 Cr 的适宜添加量; 通过卵泡细胞离体培养以探讨 Cr 对鸡生殖激素分泌的影响机制。

1 材料与方法

1.1 试验动物分组处理

80 只 23 周龄开产前海兰褐壳蛋鸡饲喂基础日粮。基础日粮组成: w(玉米)=61%; w(麦麸)=5.5%; w(豆饼)=14%; w(棉饼)=3%; w(菜饼)=3%; w(鱼粉)=3%; w(磷酸氢钙)=1.5%; w(石粉)=7.55%; w(食盐)=0.35%。其中 ME 为 11.45 MJ/kg; w(CP)=16.67%; w(Ca)=3.52%; w(P)=0.62%; w(Lys)=0.78%; w(Met)=0.29%; 每 100 kg 饲料另加多种维生素 10 g, 蛋氨酸 50 g, 多种微量元素 100 g。各种营养物质均为理论计算值。测得该基础日粮 Cr 含量为 5.09 mg/kg。预试 2 周后挑选出 72 只体质量相似的健康鸡随机分为 3 组, 然后作适当调整, 使组间体质量、平均开产日龄不出现统计学差异。试验开始后 I 组继续饲喂基础日粮, II、III 组以

CrCl₃·6H₂O 形式在基础日粮中分别添加 5、50 mg/kg Cr。自由采食、饮去离子水, 自然加人工光照(14L:10D)。试验期 120 d。

1.2 试验记录及检测项目

(1)记录: 每天记录每只鸡健康状况、产蛋情况。每天 11:00 记录舍温。

(2)取样: 试验开始前 1 d, 每组随机抽取 16 只鸡, 跖静脉采血 3 mL, 以后固定个体, 每隔 30 d 采血 1 次, 时间在下午 2:00 开始, 血样肝素抗凝, 分离血浆, 加 0.1 kg/L NaN₃ 各 1 滴防腐, 置低温(-20℃)保存, 待测其中促黄体生成素(LH)、雌二醇(E₂)、孕酮(P)含量。

(3)血浆中 LH、P、E₂ 含量测定: 采用放射免疫分析法(RIA)按相应试剂盒说明书进行。P、E₂ 试剂盒由北京北方生物技术研究所提供。LH 试剂盒由山东潍坊 3V 诊断技术公司提供, 利用 LH 和 HCG 的交叉免疫特点, 测定 LH 的相对含量⁷。测定仪器为 FH-408 型自动定标器和 FJ-603 型 γ-闪烁探头。

1.3 离体细胞培养试验

(1)试剂: a. Cr 标准液配制: 准确称取 CrCl₃·6H₂O 1.046 0 g 溶于 1 000 mL 双蒸水, 使 Cr 浓度为 4×10^{-3} mol/L, 再稀释成所需的不同浓度; b. 0.1 mol/L NaOH, 0.1 mol/L HCl, 0.05 g/L NaHCO₃; c. Hanks 液, D-Hanks 液, 胰蛋白酶液, 199 培养液(199 粉末为日本水制药株式会社产品)均按常规方法配制和灭菌。

收稿日期: 2000-10-08

作者简介: 刘平祥(1974-), 男, 硕士, 华南农业大学动物科学系在读博士研究生。

基金项目: 江西省自然科学基金资助项目(973066)

(2)细胞悬液制备: 试验结束时, 以对照组鸡只
为材料, 按江青艳^[9]所述方法制得腺垂体、F₁ 卵泡、
F₃ 卵泡细胞悬液以及下丘脑提取液. 每 8 个下丘脑
制成 1 mL 提取液. 垂体细胞、F₁ 卵泡、F₃ 卵泡悬液
浓度分别为 65 万、50 万、65 万个/mL; 成活率 分别为
75%、72%、84%.

(3)细胞培养试验: F₁ 卵泡细胞、各细胞悬液和试

剂用量按表 1 进行. 加样后, 用橡皮塞盖紧培养管, 放
入 CO₂ 培养箱, 摆成 3°~5°斜面, 37℃ 培养 12 h, 取出
置-20℃低温保存. F₃ 卵泡细胞复合培养的方法及
处理同 F₁ 卵泡细胞. 样品的 E₂、P 测定同血浆.

1.4 数据处理
所得数据用方差分析进行检验, 差异显著者再
用 *q* 检验法进行多重比较.

表 1 Cr+ 垂体细胞+ 下丘脑提取液+ 卵泡细胞复合培养¹⁾

Tab. 1 Compound culture medium with different treatment								
培养 类型 type	C(Cr) / (mol° L ⁻¹)	V/ mL						199 培养液 culture medium
		卵泡 细胞 folli cul ar cell	垂体 细胞 pitui tary cell	下丘脑 提取液 hypothalamus extracts	C(Cr 标准液 standard chromium fluid)/(mol° L ⁻¹)			
					4× 10 ⁻⁵	4× 10 ⁻⁴	4× 10 ⁻³	
卵泡 细胞 follicular cell	0	0. 7						0. 3
	4× 10 ⁻⁶	0. 7			0. 1			0. 2
	4× 10 ⁻⁵	0. 7				0. 1		0. 2
	4× 10 ⁻⁴	0. 7					0. 1	0. 2
卵泡 follicular cell + 垂体 pituitary	0	0. 7	0. 15					0. 15
	4× 10 ⁻⁶	0. 7	0. 15		0. 1			0. 05
	4× 10 ⁻⁵	0. 7	0. 15			0. 1		0. 05
	4× 10 ⁻⁴	0. 7	0. 15				0. 1	0. 05
卵泡 follicular cell + 垂体 pituitary cell + 下丘脑 hypothalamws	0	0. 7	0. 15	0. 05				0. 1
	4× 10 ⁻⁶	0. 7	0. 15	0. 05	0. 1			0
	4× 10 ⁻⁵	0. 7	0. 15	0. 05		0. 1		0
	4× 10 ⁻⁴	0. 7	0. 15	0. 05			0. 1	0
卵泡 follicular cell + 下丘脑 hypothalamus	0	0. 7		0. 05				0. 25
	4× 10 ⁻⁶	0. 7		0. 05	0. 1			0. 15
	4× 10 ⁻⁵	0. 7		0. 05		0. 1		0. 15
	4× 10 ⁻⁴	0. 7		0. 05			0. 1	0. 15

1) 试验重复数均为 5

2 结果与分析

2.1 不同 Cr 水平日粮对蛋鸡产蛋性能的影响

试验开始后即进入产蛋高峰期(> 90%), 第 I
组产蛋高峰持续至第 100 d; 第 II 组持续至试验结束
即第 120 d; 第 III 组持续至第 70 d 后产蛋率即下降,
在第 91~100 d 有所回升, 而后下降. 试验至 21~30
d, II 组产蛋率显著高于 III 组 (*P*<0.05); 41~60 d, II

组产蛋率显著高于 I 组 (*P*<0.05), 而后虽未观察到
各组间的显著差异, 但在数值上 II 组比 I、II 组略高
(表 2). 表明添加适当的 Cr 可能对产蛋率的提高和
高峰期的延长产生积极的影响.

2.2 Cr 对外周血浆 E₂、P、LH 含量的影响
经统计分析, 3 种 Cr 日粮对血浆 LH、E₂、P 均无
显著影响, 但在第 60 d 血浆 LH、P 的水平在数值上
II、III 组均大于 I 组(表 3).

表 2 Cr 对产蛋率(%)的影响

组别		t/ d											
group		1~ 10	11~ 20	21~ 30	31~ 40	41~ 50	51~ 60	61~ 70	71~ 80	81~ 90	91~ 100	101~ 110	111~ 120
I		93. 04	93. 75	94. 17 ^{ab}	98. 75	94. 58 ^b	91. 67 ^b	92. 50	93. 80	90. 91	91. 25	88. 26	86. 16
II		96. 25	94. 69	96. 25 ^a	97. 08	98. 75 ^a	96. 52 ^a	93. 33	93. 68	93. 18	93. 04	90. 00	90. 04
III		92. 61	93. 18	92. 50 ^b	97. 08	97. 50 ^{ab}	96. 67 ^a	93. 04	89. 33	89. 58	90. 87	86. 25	84. 98

1) 同列小写字母不同表示差异显著 (*P*<0.05); 字母相同或未标字母均表示无显著差异
1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

表 3 Cr 对外周血浆 E₂、P、LH 的影响¹⁾

Tab. 3 Influence of chromium on plasma concentration of E₂、P、LH

t/ d	组别 groups	ρ(E ₂)/(ng° L ⁻¹)	ρ(P)/(ng° L ⁻¹)	ρ(LH)/(μg° L ⁻¹)
1	I	102. 29±55. 71(10)	1 405. 57±297. 98(10)	9. 34±2. 43(10)
	II	75. 82±33. 62(12)	1 571. 19±406. 79(12)	8. 56±1. 40(12)
	III	89. 89±35. 54(10)	1 170. 24±366. 62(10)	9. 29±1. 09(10)
60	I	75. 64±31. 93(10)	1 134. 22±278. 25(10)	9. 29±0. 99 (10)
	II	70. 92±37. 74(12)	1 252. 36±261. 68(12)	9. 92±1. 56 (12)
	III	65. 77±39. 87(10)	1 360. 99±375. 82(10)	10. 17±1. 26 (10)
120	I	187. 18±69. 02(12)	1 551. 33±423. 67(12)	8. 67±1. 41(12)
	II	130. 02±59. 51(12)	1 569. 29±499. 15(12)	9. 17±1. 36(12)
	III	138. 85±31. 29(12)	1 427. 20±594. 43(12)	10. 07±1. 66(12)

1) 括号内为样品数

2.3 不同剂量 Cr 水平对 E₂、P 分泌的影响

由表 4、5 可以看出, 离体培养条件下, 不同浓度 Cr 对 P 分泌无显著影响, 在复合培养中也未观察到显著效果, 但添加 Cr 剂后, 对单独培养的 F₁ 卵泡 P 分泌有提高的趋势. 单独培养时, 低浓度 Cr 极显著

促进 F₃ 卵泡 E₂ 的分泌($P<0.01$), 高浓度时这种促进作用消失. 4×10^{-6} mol/L Cr 水平作用下, 单独培养与“F₃+垂体+下丘脑”复合培养 E₂ 分泌效果相同, 两者均高于其它两种处理. 表明适宜浓度 Cr 直接对 F₃ 卵泡发生作用, 促进 E₂ 分泌的显著增加.

表 4 Cr 对离体 F₁ 卵泡分泌 P 的影响

Tab. 4 Influence of chromium on concentration of P secreted by *in vitro* cultured follicular cell F₁

C(Cr)/(mol° L ⁻¹)	ρ(P)/(ng° L ⁻¹)			
	F ₁ 卵泡	F ₁ + 垂体	F ₁ + 垂体+ 下丘脑	F ₁ + 下丘脑
	follicular cell F ₁	F ₁ + pituitary cell	F ₁ + pituitary cell+ hypothalamus extracts	F ₁ + hypothalamus extracts
0	1 583. 88±379. 80	1 484. 53±198. 44	1 568. 63±127. 29	1 680. 35±434. 96
4×10^{-6}	1 681. 63±546. 42	1 680. 68±504. 72	1 546. 68±461. 31	1 765. 20±510. 59
4×10^{-5}	2 131. 92±422. 56	1 749. 25±226. 42	1 693. 72±123. 74	1 369. 54±570. 79
4×10^{-4}	2 216. 15±726. 50	2 065. 09±330. 69	1 734. 50±375. 33	1 793. 08±519. 47

表 5 Cr 对体外培养 F₃ 卵泡分泌 E₂ 的影响

Tab. 5 Influence of chromium on concentration of E₂ secreted by *in vitro* cultured follicular cell F₃

C(Cr)/(mol° L ⁻¹)	ρ(E ₂)/(ng° L ⁻¹)			
	F ₃ 卵泡	F ₃ + 垂体	F ₃ + 垂体+ 下丘脑	F ₃ + 下丘脑
	follicular cell F ₃	F ₃ + pituitary cell	F ₃ + pituitary cell+ hypothalamus extracts	F ₃ + hypothalamus extracts
0	19. 36±6. 58 ^{Aa}	28. 86±6. 43 ^{Aa}	32. 34±10. 61 ^{Ab}	30. 88±5. 48 ^{Aa}
4×10^{-6}	41. 84±4. 71 ^{Bb}	31. 94±3. 03 ^{ABa}	38. 82±5. 09 ^{ABb}	29. 92±2. 83 ^{Aa}
4×10^{-5}	30. 91±6. 64 ^{BAa}	34. 46±9. 49 ^{ABa}	33. 51±5. 92 ^{ABab}	30. 21±3. 64 ^{ABa}
4×10^{-4}	27. 93±7. 24 ^{ABa}	21. 47±4. 89 ^{ABa}	29. 58±4. 07 ^{ABab}	26. 59±1. 66 ^{ABa}

1) 表中同列不同大写字母表示差异极显著($P<0.01$); 同列 相同字母或未标字母均表示无显著差异

3 讨论

本试验中产蛋率出现组间显著差异时(60 d), 试验组血浆 LH、P 基础水平在数值上均比对照组高. 离体培养也发现适当浓度 Cr 有促进 P 分泌的趋势. 此外, Cr 能极显著促进 F₃ 卵泡 E₂ 分泌, 提示产蛋率的变化与激素波动相关, 而日粮中不同的 Cr 水平可

能是激素水平变化的原因.

血浆 P 可刺激垂体 LH 的合成与释放, LH 的释放促使排卵发生, 最终对产蛋发生影响. F₁ 卵泡离体培养及外周血浆 P 检测结果表明 Cr 可能直接作用于 F₁ 卵泡, 引起血浆 P 水平的升高, P 水平的升高进一步促使 LH 水平升高, 这印证了本试验中试验组 LH、P 水平在 60 日龄比对照组高.

E₂ 主要由卵泡内膜细胞分泌, 是卵泡细胞迅速生长发育与成熟所必需. 多数人认为 E₂ 主要通过提高血钙、血脂和蛋白质的含量, 以适应卵泡生长发育与蛋壳的形成需要. 本次试验中外周血浆 E₂ 基础水平在组间不出现统计差异, 但离体 F₃ 卵泡培养试验发现, 适当浓度 Cr 直接且显著促进 E₂ 分泌 ($P<0.01$). 因此, Cr 可能直接作用于 F₃ 卵泡, 促进 E₂ 合成与分泌, 并对卵泡自身生长发育发生作用, 加速卵泡生长发育与成熟, 从而提高产蛋率、延长产蛋高峰期.

那么, Cr 究竟通过何种方式影响卵泡 E、P 的分泌? 本课题组在 Cr 对糖、脂代谢影响的研究中发现 (另文发表), 添加适宜剂量 Cr 使鸡的血糖水平在饥饿时不至于过低, 进食时不至于过高. 表明 Cr 对糖代谢发挥重要的调节作用. 因此, 推测缺 Cr 可能引起卵泡细胞糖代谢紊乱, 甚至引起 E、P 合成与分泌所需能量的不足, 最终使 E、P 合成或分泌发生障碍, 这可能是 I 组基础日粮未添加适量 Cr 导致产蛋率下降、产蛋高峰提前结束的原因之一.

参考文献:

[1] BURTON J L, MALLAD B A, MOULT D N. Effect of supplemental chromium on immune response of perparturient and ear-

ly lactation dairy cow[J]. J Anim Sci, 1993, 71: 1 532—1 539.
[2] PAGE T G, SOUTHERN L L. Effect of Chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing finishing pigs [J]. J Anim Sci, 1992, 71: 656.
[3] MOONEY K W, CROMWELL G L. Efficacy of chromium picolinate and chromium chloride as potential carcass modifiers in swine[J]. J Anim Sci, 1997, 75(10): 2 661—2 672.
[4] KEGLEY E B, SPEARS J W. Effect of shipping and chromium supplementation on performance, immune response, and disease resistance of steers[J]. J Anim Sci, 1997, 75(7): 1 956—1 965.
[5] MOONEY K W, CROMWELL G L. Efficacy of chromium picolinate on performance and tissue accretion in pigs with different lean gain potential[J]. J Anim Sci, 1999, 77(5): 1 188—1 199.
[6] ELBETIEHA A, AL-HAMOOD M H. Long term exposure of male and female mice to trivalent and hexavalent chromium compounds; Effect on fertility[J]. Toxicology, 1999, 116: 39—42.
[7] 陈鹭江, 宾 斌, 傅伟龙, 等. 用 hCG-RIA 药盒测定鸡“LH”的探讨[J]. 中国畜牧杂志, 1988, (6): 28—29.
[8] 江青艳, 傅伟龙, 陈鹭江. 日粮中高碘对母鸡繁殖性能的影响[J]. 华南农业大学学报, 1996, 17(3): 33—38.

Effects of Dietary Chromium on the Egg Yield and Reproductive Hormone Secretion of Laying Hens

LIU Ping-xiang^{1,2}, CHEN Lu-jiang¹, XIE De-biao¹, DENG Shun-zhou¹, XIONG Xiao-mei¹
(1 Animal Science and Technology Institute, Jiangxi Agric. Univ., Nanchang 330045, China)
2 Dept. of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China;

Abstract: Seventy two laying hens 25 weeks of age, were randomly allocated into 3 groups and fed with diets containing 5.09, 10.09, 55.09 mg/kg chromium respectively for 4 months. Egg yield was observed. Estradiol (E₂), progesterone (P) and luteinizing hormone (LH) were determined by radioimmunoassay (RIA). Follicular cells were cultured with pituitary cells or hypothalamus extracts. Different dosages of chromium were added to the culture medium to observe the influence of chromium on concentrations of E₂ or P secreted by *in vitro* cultured follicular cell F₃ and F₁ respectively. The results showed that the rations containing 10.09 mg/kg chromium suited the hens better and enhanced egg productive ratio so as to prolong the laying peak period ($>90\%$). Proper concentration of chromium could directly affect the secretion of E₂ by follicular cells to a significant extent ($P<0.01$). The mechanisms concerning how chromium affected the endocrine activity of laying hens as well as the association with the metabolism of glucose and lipids were also discussed.

Key words: chromium; laying hens; egg yield; estradiol(E₂); progesterone(P); luteinizing hormone(LH)

【责任编辑 柴 焰】