

光周期对马岗鹅产蛋、PRL 和 LH 分泌 季节性变化的影响

黄运茂¹, 施振旦², 李孝伟², 刘志², 刘颖²

(1 仲恺农业技术学院 生命科学学院, 广东 广州 510225; 2 华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州 510642)

摘要:通过人工控制光照研究了光周期对马岗鹅产蛋、PRL 和 LH 分泌季节性变化的影响。整个试验期间对照组接受自然光照, 处理组先后接受 2 次人工控制长短光照处理。研究结果表明, 在非繁殖季节(4—7 月), 对照组的血浆 PRL 质量浓度升高(20~30 ng/mL), LH 质量浓度下降(<1 ng/mL), 鹅完成换羽; 在繁殖季节(8—翌年 3 月), 血浆 PRL 质量浓度处在低水平(10 ng/mL), LH 质量浓度则上升(1~2 ng/mL); 在处理组, 2 次的延长光照均使 PRL 质量浓度上升(20~30 ng/mL), LH 下降(<1 ng/mL), 母鹅进入休产期并完成换羽; 缩短光照则降低 PRL 质量浓度(10 ng/mL), 促使 LH 分泌(2~3 ng/mL), 使母鹅进入产蛋期。试验结果证明, 光周期主要是通过影响 PRL 和 LH 的分泌来调控马岗鹅季节性繁殖活动。

关键词:马岗鹅; 季节性繁殖; 光周期; 调控

中图分类号:S835

文献标识码:A

文章编号:1001-411X(2007)03-0094-03

Effect of Photoperiod on the Seasonal Changes of Laying, Plasma PRL and LH in Magang Geese

HUANG Yun-mao¹, SHI Zhen-dan², LI Xiao-wei², LIU Zhi², LIU Ying²

(1 College of Life Science, Zhongkai University of Agriculture and Technology, Guangzhou 510225, China;

2 College of Animal Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: The present study examined the effect of photoperiod on the seasonal changes of laying, plasma PRL and LH in Magang geese. Adult breeding geese were either exposed to natural photoperiod (controls), or subjected to treatments of long and short photoperiods throughout the experiment. Plasma PRL concentrations increased in non-breeding season from April to July, and remained low in the rest of the year, while LH concentrations decreased in April to July and peaked in August to September. Increasing photoperiod increased PRL and decreased LH secretion, terminated lay and induced moulting in treated geese. These results demonstrated that long photoperiod directly inhibited reproductive activities in Magang geese while short photoperiod stimulating effect. The effect of photoperiod was mediated via the secretions of PRL and LH, whose seasonal secretions coordinated the breeding seasonality of this bird.

Key words: Magang geese; reproductive seasonality; photoperiod; control

大多数鸟(禽)类都属季节性繁殖动物,光是重要控制因子^[1,2]。研究表明,光照是通过作用于下丘脑的光感受器将光电磁信号转换为激素信号,然后通过一系列信号传导和内分泌系统调节鸟(禽)类的

生殖活动。研究发现,光照能调控下丘脑促性腺激素释放激素(gonadotrophin, GnRH)和血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)的分泌^[3,4],促进 PRL 分泌,且使 PRL 分泌呈季节性变化,一般在生殖

收稿日期:2006-12-01

作者简介:黄运茂(1976—),男,讲师,博士;通讯作者:施振旦(1964—),男,教授,博士,E-mail: zdshi@scau.edu.cn

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金(20050564001);仲恺引进优秀人才科研启动项目(G2360232)

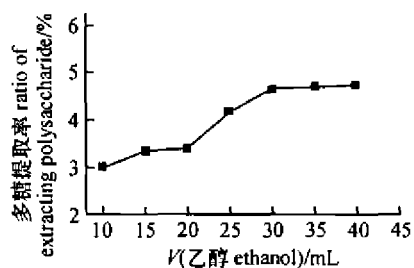


图2 乙醇加入量对多糖提取率的影响

Fig. 2 Effects of additive ethanol on the ratio of extracting polysaccharides

加入量为 30 mL 较为适宜,并在此条件下比较了不同微波提取方式对喜树多糖提取率的影响,结果见表 2,以微波+2 次浸泡的多糖提取率较高。

沉淀放置 12、24、36、48 和 60 h 对提取率影响的比较试验结果证明,沉淀放置 48 和 60 h 的效果最好且结果相当,故选择 48 h。

表 2 不同微波提取方式对多糖提取率的影响

Tab. 2 Effects of different microwave treatments on extraction ratio of polysaccharides

微波提取方式 microwave treatments	提取率 ratio of extracting polysaccharides/%		
	第 1 次 first	第 2 次 second	总计 total
直接 no soak	3.02	0	3.98
1 次浸泡 one time soak	30.00	0	3.30
2 次浸泡 two times soak	3.27	1.60	4.87

2.3 微波提取与煮沸回流法比较

从表 3 可见:采用微波提取法的提取率要高于传统的煮沸回流法,而且,微波作用时间共 20 min,传统的煮沸回流法回流时间为 2 h;NaOH 溶液作为提取液得率最高,提取得率与溶剂的极性和介电常数有关,NaOH 溶液极性和介电常数最高。

2.4 验证试验

用均匀设计法优选出的条件及 1.3.3、1.3.4 试验单因素优化的条件进行验证试验。称取 5.0 g 喜树果渣,加入 1.55 mol/L NaOH 50 mL,微波辐射 10 min。其渣再加 50 mL 提取液,重复操作,将 2 次得到的液体混合,置于水浴上加热浓缩至 10 mL,加 30 mL 乙醇,放在 2~4 °C 冰箱沉淀 48 h,离心分离,得沉淀物。用蒸馏水溶解多糖,定容至 50 mL,取 2.00 mL,以苯酚-硫酸法测定光密度为 4.95、4.89,预测值 4.97,表明均匀设计法的归一化方程对试验条件的选择有预测和指导作用,1.3.3、1.3.4 试验单因素优化的条件具有重现性。

表 3 煮沸回流法与微波提取法的比较

Tab. 3 Comparison of traditional method and microwave extracting

提取液 sample	煮沸回流法 traditional method		微波提取法 microwave extracting	
	$D_{490\text{ nm}}$	得率 yield/%	$D_{490\text{ nm}}$	得率 yield/%
H ₂ O	0.293	3.87	0.327	4.31
1 mol/L NaOH	0.323	4.15	0.376	4.85
w=6% (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄	0.271	3.55	0.349	4.55

3 结论

通过均匀设计法优化及一系列条件选择,喜树多糖的微波提取条件是:固液比为 0.1 (1:10), NaOH 浓度 1.55 mol · L⁻¹,微波功率 284 (或 300) W,微波作用时间 9.2 (或 10) min。采取 2 次浸泡、2 次微波处理方式,提取液的浓缩比为 5,乙醇加入量为 30 mL,沉淀放置 48 h。微波提取作用 2 次共 20 min,所得多糖高于煮沸回流法 2 h 的多糖得率,充分体现了微波省时、高效、节能等优点。微波作用能使细胞壁破裂,使细胞中的多糖流出或溶出,从而被提取。目前,治疗癌症的主要方法是:外科手术、放射疗法和化学疗法。但近年来世界上普遍认为癌症的免疫疗法是更为优越的方法。多糖作为免疫促进剂将会发挥更大作用。

参考文献:

- [1] HOPIA A, HEINONEN M A. Antioxidant activity of flavonol aglycones and their glycosides in methyl linoleate[J]. Journal of the American Oil Chemists, 1999, 76 (1): 139-144.
- [2] 王学利. 喜树叶、枝水溶性糖提取的研究[J]. 林产化工通讯, 2001(3): 13-16.
- [3] 钱和,张添,刘长虹. 改进苯酚-硫酸法测定芦荟多糖含量[J]. 江苏食品与发酵, 2002, (3): 3-6.
- [4] 王晓华,陈家春. 湖北麦冬多糖含量的测定[J]. 湖北中医杂志, 2005, 27(3): 50-51.
- [5] 秦岩,董薇,葛欣. 木瓜中多糖和微量元素含量分析[J]. 光谱实验室, 2005, 22(2): 287-289.
- [6] 方建虎,顾顺明,周根华,等. 姬松茸多糖提取的测定[J]. 食品科学, 2004, 25(7): 142-144.
- [7] 刘青梅,杨性民,邓红霞,等. 紫菜多糖提取分离及纯化技术研究[J]. 浙江大学学报, 2005, 31(3): 293-297.
- [8] 龚盛昭,杨卓如. 微波辅助提取黄芪多糖的工艺研究[J]. 华南理工大学学报, 2004, 32(8): 93-96.
- [9] 冯怡,傅荣杰. 黄酮类组分微波萃取与传统水煎提取的比较[J]. 中药材, 2005, 27(10): 1138-1140.

【责任编辑 李晓卉】

1.2 喜树多糖的测定方法

利用精制喜树多糖测得喜树多糖对葡萄糖的换算因子,以消除用葡萄糖为标准所带来的误差^[3-6],然后用苯酚-硫酸法测定多糖。

配制系列葡萄糖标准溶液,以苯酚-硫酸法分别测定其光密度,进行线性拟合,得回归方程: $y = 0.08125x - 0.02083$, $r = 0.9997$,绘制标准曲线。

1.3 喜树多糖的提取

1.3.1 喜树多糖的提取及分离工艺 喜树果渣→微波辐射,溶剂提取→浓缩→乙醇沉析→过滤→粗多糖^[7-8]。

1.3.2 均匀设计优化喜树多糖微波提取条件 影响喜树多糖得率的因素主要有固液比、NaOH 浓度、微波功率、微波作用时间,根据多糖的溶解情况及微波作用机理,为求得回归方程系数,选择 $N = 12$ (表1),每份称取 5.0 g 喜树果渣,分别改变 NaOH 加入量、NaOH 浓度、微波辐射时间、微波作用功率进行微波提取。重复 1 次,2 次液体混合,测定其中多糖含量。

表1 试验因素水平表
Tab.1 experimental treatments

水平 levels	m(固体 solid):m (液体 liquid)	c(NaOH)/ (mol · L ⁻¹)	P/W	t/min	得率 yield/%
1	0.03	0	200	5	2.00
2	0.03	0	220	6	2.20
3	0.04	0.5	240	7	2.77
4	0.04	0.5	260	8	2.83
5	0.05	1.0	280	9	2.85
6	0.05	1.0	300	10	2.90
7	0.10	1.5	320	11	4.08
8	0.10	1.5	340	12	4.97
9	0.15	2.0	360	13	4.80
10	0.15	2.0	380	14	4.82
11	0.20	2.5	400	15	4.70
12	0.20	2.5	420	16	4.75

1.3.3 微波提取方式 1 次微波直接提取:称取 5.0 g 喜树果渣,加入 1.0 mol/L NaOH 50 mL,微波功率 300 W,辐射 10 min。1 次微波浸泡提取:其他条件不变,增加 1 次浸泡时间(20 min)。2 次微波 2 次浸泡提取:其他条件不变,增加为 2 次微波(各 10 min)2 次浸泡(各 20 min)。

1.3.4 提取液浓缩程度、沉淀剂乙醇加入量、沉淀时间的选择 (1)将收集的液体置水浴上加热浓缩至浓缩比为 2、4、6、8、10,测定其多糖含量,计算沉降率^[9]。(2)取 10 mL 浓缩液分别加乙醇 10、15、20、25、30、35、40 mL,放在冰箱 2~4 °C 沉淀相同时间,离心分离,收集沉淀物,测定其多糖含量。(3)取

10 mL 浓缩液分别加乙醇 25 mL,放在冰箱 2~4 °C 分别沉淀 12、24、36、48、60 h,离心分离,收集沉淀物,测定其多糖含量。

1.3.5 微波提取与煮沸回流法比较 称取 3 份 5.0 g 喜树果渣,分别加 1 mol/L NaOH、 $w = 6\%$ 草酸铵、水各 50 mL,按试验优化条件进行微波提取。其渣再加 50 mL 提取液,重复操作,将 2 次液体混合,置于水浴上加热浓缩,沉析,离心分离,收集沉淀物,得粗多糖。用蒸馏水溶解多糖,定容至 50 mL,取 2.00 mL,以苯酚-硫酸法测定光密度。比较三者的提取率。另称取 3 份 5.0 g 喜树果渣,分别加入 1 mol/L NaOH、 $w = 6\%$ 草酸铵、水各 50 mL,于回流管 85 °C 回流 2 h。取 2.00 mL,以苯酚-硫酸法测定 $D_{490\text{ nm}}$,比较三者的提取率。

1.3.6 验证试验 按照喜树多糖微波提取优化条件进行试验验证。

2 结果与分析

2.1 均匀设计优化喜树多糖微波提取条件

利用均匀设计法优化试验条件。经 DPS 软件逐步回归,回归方程为 $y = 29.4 + 79.3x_1 - 6.56 \times 10^{-2}x_2 - 1.3 \times 10^{-2}x_3 - 0.122 \times 10^{-2}x_4 - 277x_1^2 + 5.23 \times 10^{-2}x_2^2 + 2.3 \times 10^{-5}x_3^2 + 3.5 \times 10^{-3}x_4^2$, 式中, x_i 为因素项, y 为响应项。置信限 $\alpha = 0.05$, f 统计量值为 19.46, $f_{(8,3)} = 8.84$, 相关系数 $r = 0.995$ 。在所考察的试验范围内,提取率最高的试验条件为:固液比 0.1 (1:10), NaOH 浓度 $1.55 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$,微波功率 284 W,微波作用时间 9.2 min。

2.2 不同微波提取方式比较

根据提取工艺流程,对提取液需进行浓缩,再加入乙醇作沉淀剂,使多糖沉淀析出成为粗多糖。由于提取液的浓缩程度和沉淀剂的加入量直接影响多糖的提取率,因而对这 2 项因素进行了评价,结果见图 1、2。从图 1、2 可见,选择提取液的浓缩比为 5、乙醇

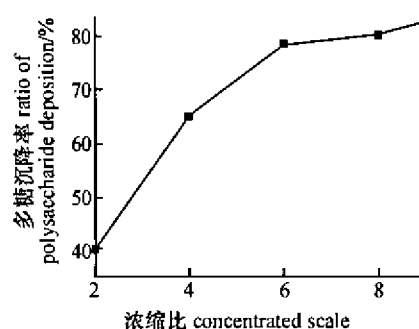


图1 提取液浓缩比对多糖沉降率的影响

Fig.1 Effects of concentrated scale on the ratio of polysaccharide deposition