

陈 蓉,雷明明,何宗亮,等. 樱桃谷鸭种公鸭睾丸发育和生殖轴基因表达[J]. 江苏农业学报, 2021, 37(2): 405-411.
doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2021.02.017

樱桃谷鸭种公鸭睾丸发育和生殖轴基因表达

陈 蓉¹, 雷明明¹, 何宗亮², 朱欢喜¹, 戴子淳¹, 应诗家¹

(1.江苏省农业科学院畜牧研究所,江苏 南京 210014; 2.南京市畜牧家禽科学研究所,江苏 南京 210036)

摘要: 为了揭示樱桃谷鸭种公鸭的睾丸发育规律,本研究以 75 日龄、105 日龄、135 日龄和 165 日龄樱桃谷鸭种公鸭为研究对象,首先通过组织学方法观察睾丸发育和精子发生情况,其次通过 Q-PCR 方法检测下丘脑-脑垂体-睾丸轴组织中相关基因表达情况。结果发现,与 105 日龄相比,135 日龄时睾丸质量增加了 10 倍以上,曲精细管直径和上皮生精细胞数量增加,脑垂体 *FSH β* 基因 mRNA 表达量增加了 40 倍以上。与 75 日龄相比,105~165 日龄脑垂体组织中 *GnIHR* 基因 mRNA 表达量显著降低。随着日龄增加,樱桃谷鸭种公鸭睾丸支持细胞特异性 *FSHR*、*INH α* 、*INH β* 、*AMH* 基因和间质细胞特异性 *LHR*、*StAR*、*CYP11A1*、*3 β -HSD* 基因的 mRNA 表达量显著增加。以上结果表明,自 135 日龄开始,在脑垂体 FSH 和 LH 刺激下,樱桃谷鸭种公鸭睾丸进入快速发育阶段,支持细胞和间质细胞的分泌功能增强;165 日龄时,睾丸能够产生成熟精子,表明睾丸发育达到性成熟阶段。本研究结果为后续樱桃谷鸭种鸭的繁殖研究提供基础资料。

关键词: 樱桃谷鸭; 睾丸; 生殖轴; 基因表达

中图分类号: S834 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-4440(2021)02-0405-07

Testicular development and expression of reproductive axis genes in Cherry Valley breeding drakes

CHEN Rong¹, LEI Ming-ming¹, HE Zong-liang², ZHU Huan-xi¹, DAI Zi-chun¹, YING Shi-jia¹

(1. *Institute of Animal Science, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Nanjing 210014, China*; 2. *Nanjing Institute of Animal Husbandry and Poultry Science, Nanjing 210036, China*)

Abstract: In order to understand the testicular development of Cherry Valley breeder ducks, this study took 75, 105, 135, and 165 day-old Cherry Valley breeder ducks as the research objects. Firstly, the testicular development and spermatogenesis were defined through histological methods, and secondly the mRNA expression levels of reproductive axis genes were detected by the method of Q-PCR. The results showed that compared with the 105th day, the testicular weight of Cherry Valley breeder ducks on the 135th day increased by more than 10 times with the increase of the diameter of seminiferous tubules and the number of epithelial spermatogenic cells, and the mRNA expression level of their pituitary *FSH β* gene increased by more than 40 times. Compared with the 75th day, the mRNA expression level of pituitary *GnIHR* gene was significantly reduced on the 105th, 135th, and 165th day respectively. With the increase of days, both the mRNA expression levels of sertoli cell-specific *FSHR*, *INH α* , *INH β* , *AMH* genes and Leydig cell-specific *LHR*, *StAR*, *CYP11A1*, *3 β -HSD*

收稿日期: 2020-08-07

基金项目: 江苏省农业科技自主创新基金项目[CX(14)5032]; 江苏省自然科学基金项目[BK20160592]

作者简介: 陈 蓉(1985-), 女, 江苏淮安人, 博士, 副研究员, 主要从事家禽遗传育种与繁殖调控的研究。(E-mail) chenrong_big@163.com

通讯作者: 朱欢喜, (E-mail) xuanzaizhu@163.com

genes were significantly increased in the testicular tissues of Cherry Valley breeder ducks. The above results suggested that the testicular tissues of Cherry Valley breeder ducks had underwent the rapid development since the 135th day under the stimulation of FSH and LH of the pituitary gland, and the secretory function of both Sertoli cells and Leydig cells was enhanced; on the 165th day,

the testes could produce mature sperms, indicating that the testicular development had reached sexual maturity. This study provides the basic data for the subsequent research on the reproductive activity of Cherry valley breeder ducks.

Key words: Cherry valley drake; testis; reproductive axis; gene expression

中国是世界肉鸭养殖和消费大国,2019 年肉鸭出栏质量约占全球 68%^[1]。2019 年,中国肉鸭总出栏量约 4.43×10^9 只,总产肉量约 9.44×10^6 t,鸭肉总产值达到 1.42×10^{11} 元。在中国,大量饲养的肉用型鸭品种包括北京鸭、樱桃谷鸭、丽佳鸭、狄高鸭等。樱桃谷鸭是以北京鸭为育种材料选育而成的,具有生长速度快、瘦肉率高和饲料转化率高以及抗病性强等优点。但是,与中国地方蛋用型鸭(如连城白鸭)相比,樱桃谷鸭(肉用型)种鸭体型大,性成熟时间晚。目前,有关樱桃谷种鸭的研究主要集中在养殖模式升级和产蛋性能提高方面^[2-3],对于其性成熟启动和睾丸发育的研究很少。

禽类性腺发育过程受到下丘脑-脑垂体-性腺轴的内分泌调控^[4]。在性成熟前某一时间点,下丘脑促性腺激素释放激素(Gonadotropin-releasing hormone, GnRH)脉冲释放增加,引起脑垂体卵泡刺激素(Follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成素(Luteinizing hormone, LH)的分泌增加,进而刺激性腺发育^[5-6]。此外,FSH 和 LH 分泌受到下丘脑促性腺激素抑制激素(Gonadotropin-inhibitory hormone, GnIH)的调控^[7]。在睾丸组织中,FSH 通过特异性受体(FSH receptor, FSHR)作用于支持细胞,促进支持细胞增殖和分化;LH 则通过特异性受体(LH receptor, LHR)作用于间质细胞,促进睾酮合成和分泌。睾酮是维持精子产生过程所必需的,主要通过旁分泌方式作用于支持细胞间接调控精子产生^[8]。支持细胞能够分泌多种生长因子,如抑制素 A(INH α 和 INH β A 亚基形成的异二聚体)负反馈调控脑垂体 FSH 分泌^[9],抗缪勒氏管激素(Anti-mullerian hormone, AMH)抑制间质细胞分泌睾酮^[10]。为了揭示樱桃谷鸭种公鸭的睾丸发育规律,本研究拟以不同日龄的樱桃谷鸭种公鸭为研究对象,首先通过组织学方法观察睾丸发育和精子产生情况,其次通过实时定量 PCR(Real-time quantitative PCR, Q-PCR)方法检测下丘脑-垂体-睾丸轴组织中基因表达情况。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选取樱桃谷鸭种鸭(父母代)雏鸭 140 只(公鸭

母鸭各 70 只),饲养于南京市畜牧家禽科学研究所养殖基地。地面育雏结束后,采用半舍内饲养方式进行混群饲养,舍内设有独立的饲槽,舍外设有水上运动场。人工定时定量喂料,卫生防疫工作按照种鸭饲养管理基本要求进行,日粮营养标准按照种鸭标准进行配制。

1.2 样本采集与激素测定

分别随机选取 75 日龄、105 日龄、135 日龄和 165 日龄公鸭各 8 只,宰前禁食 12 h,称取活体质量后,翅静脉采血,静置 30 min 后分离血清, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。经颈部放血致死,采集左右两侧睾丸组织并称质量。其中,左侧睾丸组织一部分置于 4% 多聚甲醛溶液中固定,用于石蜡切片制作;一部分置于液氮中快速冷冻,用于总 RNA 提取。同时,采集每个个体的下丘脑和脑垂体组织,置于液氮中快速冷冻, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。

采用北京北方生物技术研究所有限公司睾酮检测试剂盒(酶联免疫法)进行血清睾酮质量浓度测定。

1.3 石蜡切片制作和组织学观察

睾丸组织经 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h 后,各日龄公鸭随机挑选 3 个样本,每个样本切取一小块组织(0.125 cm^3),首先置于乙醇梯度溶液(体积分数为 60%、70%、90% 和 95% 乙醇)中进行逐级脱水,然后置于二甲苯溶液中进行透明处理 2 次,最后置于石蜡中进行透蜡处理,并制备成石蜡块。石蜡切片($5\text{ }\mu\text{m}$)固定于载玻片上,进行苏木精-伊红染色。染色切片置于光学显微镜下拍照并观察曲精细管直径以及精原细胞、精母细胞和精细胞数量。

1.4 基因表达分析

采用动物组织总 RNA 提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司产品]提取总 RNA, NanoDrop 2000 分光光度计检测 RNA 的纯度($OD_{260/280} \geq 1.8$; $OD_{260/230} \geq 1.0$)和含量。采用 PrimeScriptTM RT Master Mix 试剂盒[宝日医生物技术(北京)有限公司产品]以总 RNA 为模板合成互补 cDNA 第一链。

根据 GenBank 中绿头鸭或者近缘物种相关 mRNA 序列设计基因特异性引物(表 1),以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参基因,按照 TransStart Top GreenSu-

perMix 试剂盒(北京全式金生物技术有限公司产品)的说明书配制反应体系并在 ABI 7500 Real-Time PCR 仪上进行 Q-PCR 反应,每个样品重复 3

次。其中, *GnRH-I*、*GnRHR*、*GnIH*、*GnIHR*、*LHβ*、*FSHR*、*INHα*、*INHβA*、*LHR* 基因引物序列引自参考文献[11]~[14]。

表 1 引物信息表

Table 1 Primers information for quantitative PCR

名称	登录号	序列 (5'→3')	退火温度 (°C)	产物长度 (bp)
<i>β-actin</i>	NM_001310421.1	F: GAGAAATGTGCGTGACATCA R: CCTGAACCTCTCATTGCCA	60	152
<i>GnRH-I</i>	KF219566.1	F: CCTTTGTTGGTATCCTCCTGTT R: AGATTGTCCACGTTCTTTTTC	60	103
<i>GnIH</i>	KC514473.1	F: ATCTACCTAGGCATGCTCCAA R: ACAGGCAGTGACTTCCCAAAT	60	115
<i>GnRHR</i>	KC759146.1	F: TCTGCTGGACCCCTACTAC R: TCCAGGCAGGCATTGAAGAG	60	127
<i>GnIHR</i>	KF696709.1	F: GTCGTCATGTACACCCGCAT R: TCTTGCGAGACACCTTCCTC	60	103
<i>FSHβ</i>	DQ232890.1	F: ATGGTGCTCAGGATACTGCTTCA R: ACTGCAGTCAGTGCTCAGTGCTCA	60	208
<i>LHβ</i>	DQ023159.1	F: GACCCGGGAGCCGGTGTA R: AGCGCCCAACGCTCGTAG	60	90
<i>FSHR</i>	KC477215.1	F: CCTAGCCATTGCTGTGCATTT R: TGCCAGGTTGCTCATCAAGG	60	106
<i>INHα</i>	XM_027462315.1	F: AGAGGACACGTCGAGGTGAT R: GGGCTGGAAGAGCTAGGTGAAGAT	60	112
<i>INHβA</i>	XM_005014947.4	F: CAGTGGACACCCGAAAGA R: GCACAGGTCACAGGCAAT	60	113
<i>AMH</i>	NM_001310362.1	F: CTCGGATGACAAATGCTTCA R: ACTCCATCAGCGGAGAGGTA	60	111
<i>LHR</i>	XM_027453600.1	F: CTCTGTGATAACTTGCGTAT R: AAGGCATGACTGTGGAT	60	119
<i>StAR</i>	XM_027443533.1	F: GCCGAAGACGATCATCAAC R: TCCCTACTTTTACCCCTGA	60	181
<i>CYP11A1</i>	KY463321.1	F: GGCTCAACCTCTACCACTT R: GGGCTTGTTGCGGTAGTC	60	233
<i>3β-HSD</i>	KC310447.1	F: GACCTGGGGTTTGAATTGAG R: TAGGAGAAGGTGAATGGGCTGT	60	170

1.5 数据分析

采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行 Q-PCR 试验数据处理,目的基因的 mRNA 表达量采用平均数±标准差的形式表示。采用 SPSS 软件进行统计分析,均值比较采用

单因素方差分析法,两两比较采用 LSD 法。为了缩小不同日龄数据间存在的差异,对睾丸质量、*FSHβ*、*LHβ*、*FSHR*、*AMH*、*INHα*、*INHβA*、*LHR*、*StAR*、*CYP11A1*、*3β-HSD* 基因 mRNA 表达量等数据在统计

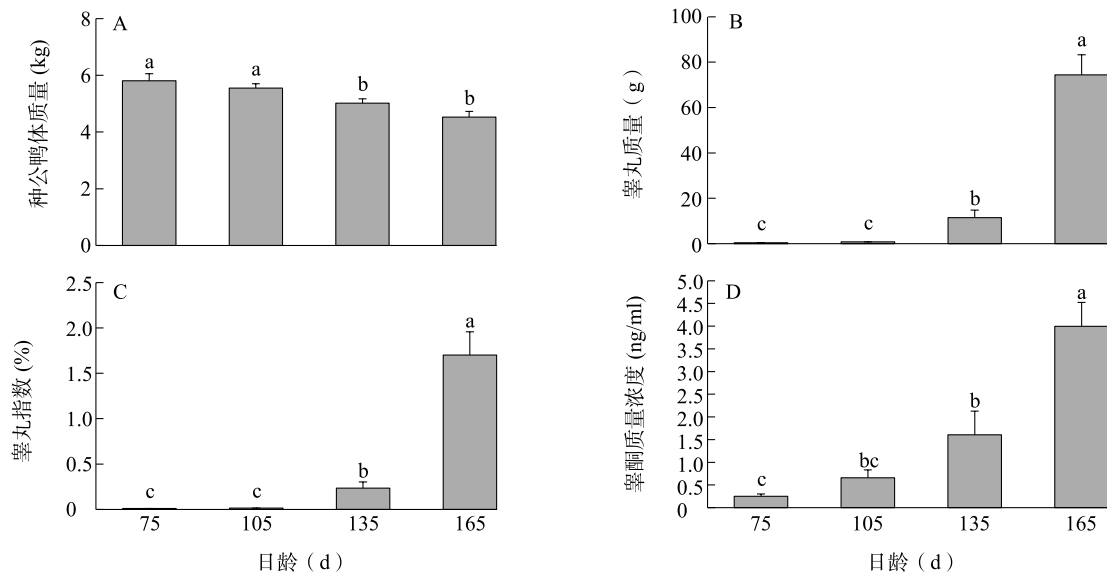
分析前进行对数转化处理。

2 结果与分析

2.1 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸发育和血清睾酮浓度变化

随着日龄增加,樱桃谷鸭种公鸭的体质量逐渐降低并达到开产前标准体质量(图 1A),其睾丸质量和睾丸指数急剧增加(图 1B、图 1C)。与 105 日龄相比,135 日龄时睾丸质量增加了 10 倍以上,表

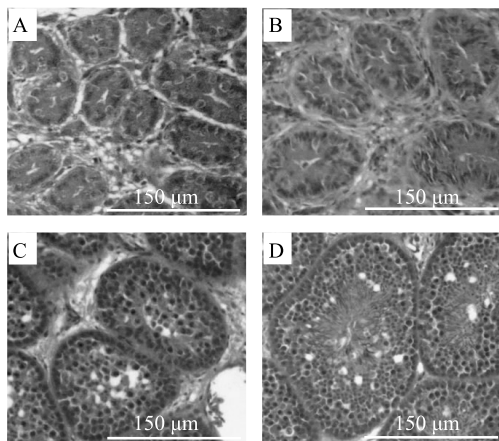
明此时睾丸进入快速发育阶段。组织学观察结果表明,随着日龄增加,睾丸曲精细管直径和上皮生精细胞数量增加(图 2)。75~105 日龄时,睾丸曲精细管上皮由单层变为双层,主要由支持细胞和精原细胞组成;135 日龄时,睾丸曲精细管上皮变为多层,出现了不同发育阶段的生精细胞;165 日龄时,睾丸曲精细管管腔中出现了成熟精子,表明睾丸发育达到性成熟阶段。随着睾丸发育至成熟,血清睾酮质量浓度显著增加(图 1D)。



A: 种公鸭体质量; B: 睾丸质量; C: 睾丸指数 (睾丸质量/体质量); D: 睾酮质量浓度; 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 1 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸质量和血清睾酮质量浓度变化

Fig.1 Testicular weight and serum testosterone concentration of Cherry Valley breeding drakes at different growing stages



A、B、C、D 分别为 75 日龄、105 日龄、135 日龄和 165 日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸组织切片 (10 倍光学显微镜)。

图 2 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸组织学观察

Fig.2 Histological observation of testis in Cherry Valley breeding drakes at different growing stages

2.2 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭下丘脑和脑垂体组织基因表达变化

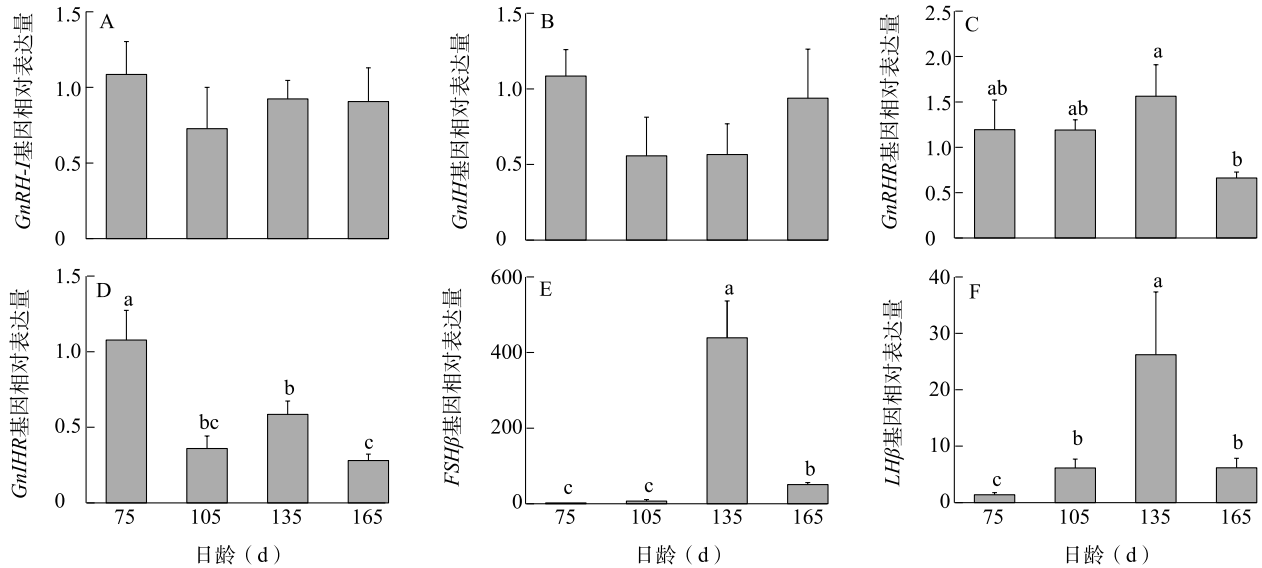
随着日龄增加,樱桃谷鸭种公鸭下丘脑组织中 *GnRH-I* 和 *GnIH* 基因 mRNA 表达量呈现先降低后升高的趋势,但是不同日龄之间差异不显著(图 3A、图 3B)。与 135 日龄相比,165 日龄时脑垂体组织中 *GnRHR* 基因 mRNA 表达量显著降低(图 3C)。与 75 日龄相比,105~165 日龄时脑垂体组织中 *GnIHR* 基因 mRNA 表达量显著降低(图 3D)。与 105 日龄相比,135 日龄时脑垂体组织中 *FSHβ* 基因 mRNA 表达量增加了 40 倍以上(图 3E),表明此时睾丸进入快速发育阶段。*LHβ* 基因与 *FSHβ* 基因的 mRNA 表达量变化趋势相一致(图 3F)。

2.3 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸组织基因表达变化

随着日龄增加,樱桃谷鸭种公鸭睾丸支持细胞

特异性 *FSHR*、*INH α* 、*INH β* 、*AMH* 基因的 mRNA 表达量显著增加(图 4)。同时,睾丸间质细胞特异性

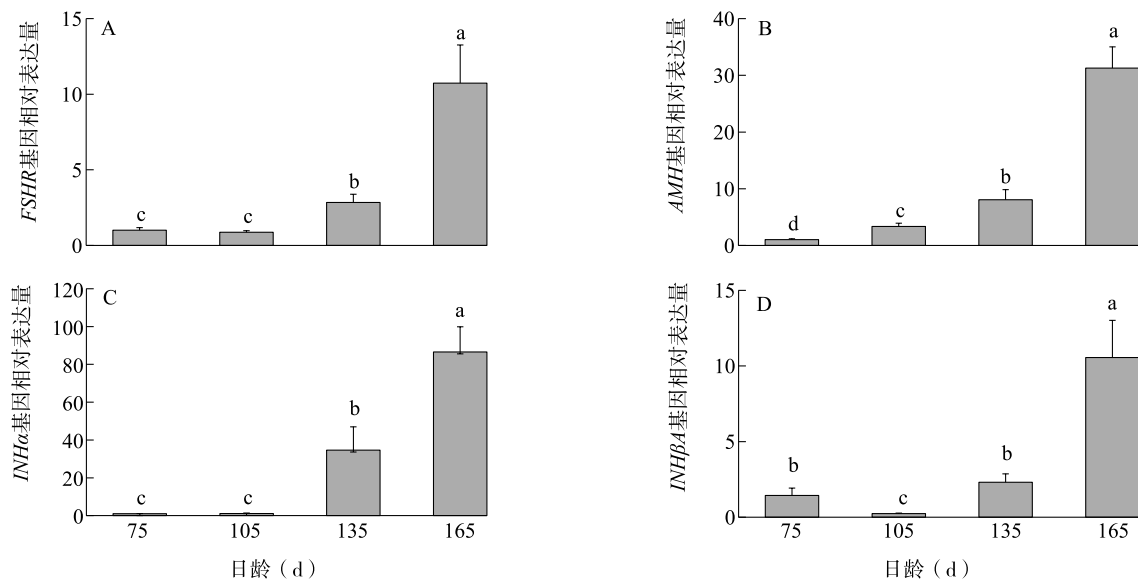
LHR、*StAR*、*CYP11A1*、*3 β -HSD* 基因的 mRNA 表达量也显著增加(图 5)。



A 和 B 为下丘脑 *GnRH-I* 和 *GnIH* 基因 mRNA 表达量;C、D、E、F 分别为脑垂体 *GnRHR*、*GnIHR*、*FSHB* 和 *LHβ* 基因 mRNA 表达量;不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 3 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭下丘脑和脑垂体组织基因表达变化

Fig.3 Expressional levels of genes in hypothalamus and pituitary gland tissues of Cherry Valley breeding drakes ducks at different growing stages



A~D 为睾丸支持细胞特异性 *FSHR*、*INH α* 、*INH β* 、*AMH* 基因 mRNA 表达量;不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

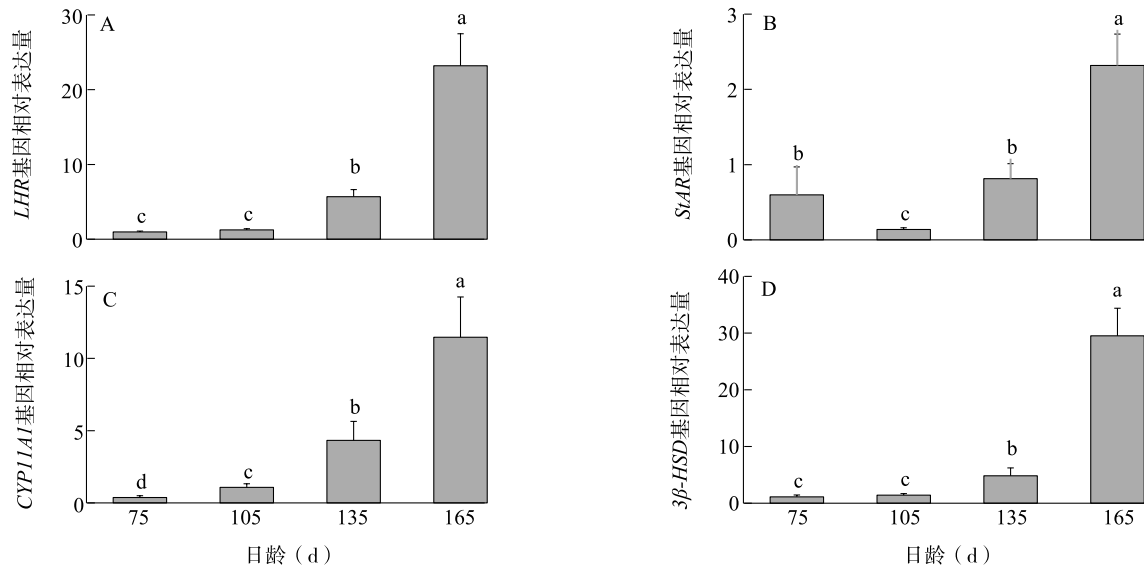
图 4 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸支持细胞基因表达变化

Fig.4 Expression levels of genes in testicular Sertoli cells of Cherry Valley breeding drakes at different growing stages

3 讨论

本研究通过组织学和 Q-PCR 方法分别检测了

不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸发育和生殖轴相关基因表达情况。结果表明,自 135 日龄开始,在脑垂体 FSH 和 LH 刺激下,樱桃谷鸭种公鸭睾丸进入快速



A~D 为睾丸间质细胞特异性 *LHR*、*StAR*、*CYP11A1*、*3β-HSD* 基因 mRNA 表达量;不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图 5 不同日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸间质细胞基因表达变化

Fig.5 Expressional levels of genes in testicular Leydig cells of Cherry Valley breeding drakes at different growing stages

发育阶段,支持细胞和间质细胞的分泌功能增强。165 日龄时,睾丸能够产生成熟精子,表明睾丸发育达到性成熟阶段。

禽类性腺发育过程受到下丘脑-脑垂体-性腺轴的内分泌调控。当个体生长发育至某一时间点,下丘脑 GnRH 脉冲分泌增加,引起脑垂体 FSH 和 LH 分泌增加,进而刺激性腺发育。在本研究中,随着日龄增加,樱桃谷鸭种公鸭下丘脑 *GnRH-I* 和 *GnIH* 基因 mRNA 表达量无显著变化,但是脑垂体 *GnIHR* 基因 mRNA 表达量显著降低,表明 *GnIH* 活性降低与睾丸发育的启动有关。潘建秋^[15] 研究报道,对育成期公鸡主动免疫 *GnIH* 后,免疫组 *GnIH* 活性降低,脑垂体 *LHβ* 基因 mRNA 表达量增加,促进睾丸发育。与 105 日龄相比,135 日龄时脑垂体 *FSHβ* 和 *LHβ* 基因 mRNA 表达量显著增加,推测这是由于 *GnIH* 活性降低所导致的。

135 日龄开始,在高浓度 FSH 的刺激下,睾丸支持细胞和精原细胞快速增殖并发生分化,导致曲精细管直径增加,最终表现为睾丸质量增加。同时,在高浓度 LH 的刺激下,睾丸间质细胞合成睾酮能力增强,具体表现为 *LHR*、*StAR*、*CYP11A1* 和 *3β-HSD* 等睾酮合成相关基因 mRNA 表达量显著增加^[16]。165 日龄时,睾丸曲精细管中可见成熟精子,表明睾丸发育达到性成熟阶段。此时,脑垂体 *FSHβ* 基因

mRNA 表达量显著降低,这可能是睾丸支持细胞分泌的高浓度抑制素 A 负调控脑垂体 FSH 分泌的结果。在哺乳动物中,研究人员发现 *AMH* 能够直接作用于脑垂体调控 FSH 和 LH 分泌^[17-18],但在禽类中尚未有相关报道。在本研究中,165 日龄樱桃谷鸭种公鸭睾丸 *AMH* 基因高表达是否与脑垂体 *FSHβ*、*LHβ* 基因 mRNA 表达量下调有关,需要进一步深入研究。

与中国地方蛋用型鸭相比,樱桃谷鸭(肉用型)种鸭体型大,性成熟时间晚^[19]。姚远等^[20] 研究报道,连城白鸭 90 日龄时睾丸曲精细管中可见成熟精子。在本研究中,樱桃谷鸭种公鸭 135 日龄时睾丸曲精细管中尚未见成熟精子,比连城白鸭迟 45 d 以上。基于朱云芬等^[21] 的研究结果,血清 LH 浓度的显著增加与性腺组织的快速发育相一致,本研究推测樱桃谷鸭种公鸭脑垂体 FSH 和 LH 分泌量增加的时间晚于连城白鸭,因此性成熟时间被延迟。

参考文献:

- [1] 侯水生,刘灵芝. 2019 年水禽产业现状、未来发展趋势与建议[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(3):130-135.
- [2] 林 勇,师蔚群,顾洪如,等. 发酵床早养对樱桃谷种鸭生产性能的影响[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10):284-285.
- [3] 张昌莲,王阳铭,王德蓉,等. 维生素 C 对高温期樱桃谷肉种鸭产蛋性能的影响[J]. 中国家禽, 2015, 37(9):58-59.

- [4] 刘红云,张才乔. 禽类下丘脑-垂体-性腺轴的内分泌调节[J]. 中国兽医杂志, 2006, 42(9):41-43.
- [5] LOVELL T M, KNIGHT P G, GROOME N P, et al. Measurement of dimeric inhibins and effects of active immunization against inhibin alpha-subunit on plasma hormones and testis morphology in the developing cockerel [J]. *Biology of Reproduction*, 2000, 63(1):213-221.
- [6] LOVELL T M, KNIGHT P G, GROOME N P, et al. Changes in plasma inhibin A levels during sexual maturation in the female chicken and the effects of active immunization against inhibin alpha-subunit on reproductive hormone profiles and ovarian function [J]. *Biology of Reproduction*, 2001, 64(1):188-196.
- [7] TSUTSUI K, SAIGOH E, UKENA K, et al. A novel avian hypothalamic peptide inhibiting gonadotropin release [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, 275(2):661-667.
- [8] SMITH L B, WALKER W H. The regulation of spermatogenesis by androgens [J]. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 2014, 30:2-13.
- [9] SCHANBACHER B D. Pituitary and testicular responses of beef bulls to active immunization against inhibin-alpha [J]. *Journal of Animal Science*, 1991, 69(1):252-257.
- [10] RACINE C, REY R, FOREST M G, et al. Receptors for anti-mullerian hormone on Leydig cells are responsible for its effects on steroidogenesis and cell differentiation [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998, 95(2):594-599.
- [11] WU X, WAN X P, LAN J J, et al. Cloning, expression, and polymorphism at the 5'-flanking region of the *GnRH* gene and their association with laying traits in Muscovy duck (*Cairina moschata*) [J]. *British Poultry Science*, 2015, 56(5):531-542.
- [12] WU X, YAN M J, WAN X P, et al. Cloning and tissue expression profiling of the *GnRHR* gene of the Muscovy duck (*Cairina moschata*): polymorphism and association with egg-laying performance [J]. *British Poultry Science*, 2015, 56(2):164-174.
- [13] ZHU H, CHEN Z, SHAO X, et al. Reproductive axis gene regulation during photostimulation and photorefractoriness in Yangzhou goose ganders [J]. *Frontiers in Zoology*, 2017, 14(1):11.
- [14] QIN Q, SUN A, GUO R, et al. The characteristics of oviposition and hormonal and gene regulation of ovarian follicle development in Magang geese [J]. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 2013, 11(1):65.
- [15] 潘建秋. *GnIH* 对母鹅繁殖性能和公鸡生殖发育的影响[D]. 广州:仲恺农业工程学院, 2015.
- [16] ZHU H X, LIU X Q, CAI L P, et al. Cellular and molecular mechanisms of low dose prolactin potentiation of testicular development in cockerels [J]. *Domestic Animal Endocrinology*, 2019, 69:51-61.
- [17] GARREL G, RACINE C, L'HOTE D, et al. Anti-Mullerian hormone: a new actor of sexual dimorphism in pituitary gonadotrope activity before puberty [J]. *Scientific Reports*, 2016, 6:23790.
- [18] KEREILWE O, PANDEY K, BORROMEO V, et al. Anti-Mullerian hormone receptor type 2 is expressed in gonadotrophs of post-pubertal heifers to control gonadotrophin secretion [J]. *Reproduction Fertility and Development*, 2018, 30(9):1192-1203.
- [19] 姚 远,伍冠锁,郝正林,等. 去霉益生菌对肉鸭生长、屠宰、抗氧化性能及免疫功能的影响[J]. *江苏农业科学*, 2020, 48(11):176-180.
- [20] 姚 远,匡 伟,郝正林,等. 连城白鸭睾丸胚胎后生长发育的初步研究[J]. *中国家禽*, 2018, 40(2):50-54.
- [21] 朱云芬,苏一军,汤顺斌,等. 不同周龄文昌鸡性腺组织发育和血清 LH 水平研究[J]. *中国家禽*, 2015, 37(21):12-15.

(责任编辑:陈海霞)