

# 长短日照下绍鸭性成熟时间，下丘脑 GnRH- I、POMC 和 NPY mRNA 表达的差异

倪迎冬，周玉传，王亚菊，卢立志，陈杰，赵茹茜\*

(南京农业大学 动物生理生化重点开放实验室，江苏 南京 210095)

**摘要：**利用长日照和短日照环境调控绍鸭的性成熟时间，并采用反转录多聚酶链式反应 (RT-PCR) 方法，检测两种日照组 ( $n=6$ ) 鸭性成熟过程中下丘脑促性腺激素释放激素 - I (GnRH- I) 阿片促黑激素皮质素原 (POMC) 和神经肽 Y (NPY) mRNA 表达的发育性变化及日龄间差异。结果表明，长日照组性成熟时间较短日照组提前 30 d。RT-PCR 结果显示，两组鸭下丘脑 GnRH- I mRNA 的发育性表达模式相似，从出雏至性成熟过程中，其表达水平呈逐渐增加趋势；长日照组下丘脑 GnRH- I mRNA 表达丰度均高于同日龄短日照组，并于 120 日龄时其差异达显著水平。两组 POMC mRNA 的表达丰度呈现先增加后降低趋势，于性成熟前后显著下降；日照长度对其基因表达具有显著影响。两组 NPY mRNA 表达水平分别于 60 和 90 日龄时显著升高，于性成熟时显著下降，但光照对其基因表达无显著影响。下丘脑 GnRH- I 基因表达的显著上调可能是禽类性成熟启动的关键因素，也是长日照条件下绍鸭性早熟的主要原因；GnRH- I 表达的上调与下丘脑 POMC 和 NPY mRNA 表达变化有关。

**关键词：**促性腺激素释放激素 - I；阿片促黑激素皮质素原；神经肽 Y；性成熟；光照；反转录多聚酶链式反应；绍鸭

中图分类号：S834；Q682；Q492 文献标识码：A 文章编号：0254–5853 (2005) 05–0539–06

## Difference in Sexual Maturation Ages and Levels of Hypothalamic GnRH- I , POMC and NPY mRNA in Shaoxing Ducks During Long- or Short-day Photoperiods

NI Ying-dong, ZHOU Yu-chuan, WANG Ya-ju, LU Li-zhi, CHEN Jie, ZHAO Ru-qian\*

(Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** Shaoxing ducks raised in long-day (LD) or short-day photoperiods (SD) matured at different ages. The aim of this study was to investigate the central mechanisms behind this difference. The results were as follows: Ducks raised in LD grew faster and matured earlier than those raised in SD. LD and SD ducks attained puberty at 120 and 150 days of age, respectively. Additionally, the hypothalamic gonadotropin-releasing hormone-I (GnRH- I) pro-opiomelanocortin (POMC) and neuropeptide Y (NPY) mRNA abundance were detected by semi-quantitative RT-PCR using  $\beta$ -actin or 18S rRNA as an internal standard. The results showed that, even though the profile of GnRH- I mRNA expression was similar between two groups, which increased progressively during sexual maturation, the level was higher in LD ducks than in SD ducks of corresponding ages, especially at 120 days of age ( $P < 0.05$ ). The levels of hypothalamic POMC and NPY gene expression showed different patterns compared with GnRH- I gene. POMC and NPY mRNA reached the highest level on D60 or D90, then decreased significantly till D150. Multi-factor ANOVA analysis showed that the LD photoperiod stimulated the expression of hypothalamic GnRH- I and POMC mRNA, but had no effect on NPY gene expression. These results suggest that the hypothalamic GnRH- I gene is the key factor for the onset of puberty and earlier maturation for ducks raised in the LD photoperiod. Additionally, right before or at the onset of laying, the coincidence of down-regulation of POMC and NPY mRNA and up-regulation in GnRH- I gene expression in hypothalamus indicates that GnRH- I, POMC and NPY gene work synergistically underlying the onset of puberty in Shaoxing ducks.

\* 收稿日期：2005–05–09；接受日期：2005–07–20

基金项目：国家自然科学基金农业倾斜项目 (39770540)

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: lapb@njau.edu.cn, Tel: 025–84395047

**Key words:** Gonadotrophin-releasing hormone- I (GnRH- I); Pro-opiomelanocortin (POMC); Neuropeptide Y (NPY); Sexual maturation; Photoperiod; Reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR); Shaoxing ducks

禽类的性成熟主要受基因型、营养和环境因素的影响,而在同样的基因型和营养条件下,光周期是影响禽类性成熟的主要环境因素(Lewis et al, 1996)。鸡性成熟日龄与育成期光照长度呈负相关,即性成熟日龄随光照长度的缩短而延长(Lewis et al, 1997)。近50年来的研究发现,下丘脑内的光受体是将光能转变为神经冲动的生物转换器,这些神经冲动进一步被内分泌系统逐级放大,并调节生殖器官的发育和生殖功能的启动。

禽类的繁殖性能主要受下丘脑—垂体—性腺轴(hypothalamus pituitary gonad axis, HPG)激素的调节。其中下丘脑促性腺激素释放激素-I(gonadotrophin-releasing hormone-I, GnRH-I)起关键作用,是哺乳动物性成熟启动的限速因子(Urbanski et al, 1989)。我们以往的研究显示,随绍鸭性成熟发育,下丘脑GnRH-I mRNA的表达丰度逐渐增加(Ni et al, 2002)。有学者认为,光信号传递到下丘脑分泌GnRH的神经元,调节垂体分泌卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)和黄体生成素(luteinizing hormone, LH),从而影响动物的生殖活动(Etches et al, 1996)。然而,迄今有关光照影响动物性成熟,启动与下丘脑GnRH基因表达的研究甚少。

下丘脑GnRH基因表达受多种内源性因素的影响,其中下丘脑阿片促黑激素皮质素原(pro-opiomelanocortin, POMC)神经元通过合成和释放内源性阿片肽(EOPs)。如 $\beta$ -内啡肽( $\beta$ -endorphin)调节下丘脑GnRH的分泌,是抑制GnRH基因表达和肽分泌的主要因子之一(Yang et al, 1998)。此外,下丘脑神经元合成和分泌的神经肽类激素——神经肽Y(neuropeptide Y, NPY)是调节动物性成熟启动的另一重要的内源性因子。由于NPY也是调节机体能量代谢的重要中枢信号肽,从而被认为是联系生殖和能量代谢状态的桥梁式信号分子(Pierroz et al, 1995)。对哺乳动物的研究表明,下丘脑NPY对性成熟启动具有双向调节作用,其作用的发挥依赖于动物体内性激素水平(Gruaz et al, 1993; Kalra et al, 1995)。然而,目前有关禽类下丘脑POMC和NPY在其生殖功能中的作用研究甚少,其

mRNA在禽类性成熟启动过程中的表达变化,以及与GnRH-I mRNA间的关系研究更未见报道。

为了进一步探索绍鸭(我国优良的地方种质资源)性成熟启动的中枢机制,在相同基因型和营养水平条件下,本研究利用自然环境日照长度的不同,比较研究生殖轴中枢关键激素GnRH-I基因表达的变化及差异,并初步揭示其与中枢POMC和NPY mRNA表达水平间的关系。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验动物及试验设计

春季出雏的绍鸭饲养时间为2001-04-02至2001-08-05,正处于日照长度逐渐延长期(以下称长日照组);夏季出雏组绍鸭饲养时间为自2002-07-05至2002-12-05,正处于日照长度逐渐缩短期(以下称短日照组)。两组鸭都在浙江省绍兴市绍鸭原种厂,按同一饲养标准饲养,自由采食、饮水,自然光照。两组鸭分别于出雏后30、60、90、120和150日龄时,取15羽绍鸭称重后断颈宰杀,迅速取下丘脑置液氮速冻,-70℃冷冻保存。

### 1.2 方法

1.2.1 总RNA提取及电泳 样品匀浆后采用硫氰酸胍-酚-氯仿一步法提取总RNA,用紫外分光光度仪测定总RNA的浓度和纯度。

1.2.2 相对定量RT-PCR(semi-quantitative RT-PCR) 采用硫氰酸胍-酚-氯仿一步抽提法提取下丘脑组织样的总RNA。用OligoT<sub>(10)</sub>或随即引物反转录样品总RNA,获得各样品RNA的cDNA产物(RT product)。反转录酶AMV(avian myeloblastosis virus reverse transcriptase)及Taq酶为Promega产品,dNTP、oligoT<sub>(10)</sub>和随机引物为上海生物工程有限公司产品。由于NPY与 $\beta$ -actin PCR产物长度相近,电泳时条带难以分开,因此,用18S rRNA作为内参照基因,以校正实验过程中产生的误差。18S rRNA上、下游引物来自于试剂盒(QuantumRNA™ 18S Internal Standards, Ambion, USA)。鸡GnRH-I cDNA序列引自Dunn et al(1993),POMC、NPY和 $\beta$ -actin cDNA序列来自GenBank(序列号分

别为 AB019555、M87295、L08165)。引物用 Primer 5.0 软件自行设计, GnRH- I 上游引物: 5'-GCTTG-GCTCAACACTGGTCT-3'; 下游引物: 5'-CTG-GCTTCTCCTTCGATCAG-3', 产物长度为 202 bp。POMC 上游引物: 5'-GGGAAGCGCTCC-TACTCCATGG-3'; 下游引物: 5'-CTGACCCTTCTTG-TAGGCGC-3', 产物长度为 369 bp。NPY 上游引物: 5'-TCCCGGTTTGAAGACCCT-3'; 下游引物: 5'-CATCGTTTG-TTTTCCATTACT-3', 产物长度为 242 bp。 $\beta$ -actin 上游引物: 5'-ACGTCGCACTG-GATTTCCAG-3'; 下游引物: 5'-TGTCAGCAAT-GCCAGGGTAC-3', 产物长度为 282 bp。引物由大连

TaKaRa 公司合成。

1.2.3 RT-PCR RT 反应: 20  $\mu$ L 反应体积, 取 0.5 ng/ $\mu$ L 总 RNA 4  $\mu$ L, 加入 100 ng/ $\mu$ L oligoT<sub>(10)</sub> 或随机引物 2  $\mu$ L, 10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ L, 加 dd H<sub>2</sub>O 至 10  $\mu$ L, 80  $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 再加入 10  $\mu$ L 反转录混合液 (5  $\times$  RT-buffer 4  $\mu$ L, 50 U/ $\mu$ L RNA 抑制剂 0.1  $\mu$ L, 10 U/ $\mu$ L AMV 1  $\mu$ L, H<sub>2</sub>O 4.9  $\mu$ L), 42  $^{\circ}$ C 1 h, 95  $^{\circ}$ C 5 min 灭活反转录酶后置 4  $^{\circ}$ C 待 PCR 反应。

PCR 反应: 对各目的基因和内标基因同管 PCR 反应条件优化, 包括最佳 Mg<sup>2+</sup> 浓度和引物比例, 最佳退火温度与线性循环圈数, 具体条件见表 1。

表 1 目的基因 PCR 反应的最佳条件

Tab. 1 Optimal conditions for target gene PCR reaction

目的基因 Target genes	Mg <sup>2+</sup> 浓度 (mmol/L)	95 $^{\circ}$ C 变性 Denaturation (s)	55 $^{\circ}$ C 退火 Annealing (s)	72 $^{\circ}$ C 延伸 Extension (s)	循环数 Cycles
GnRH- I / $\beta$ -actin	1.0	30	30	30	28
POMC/ $\beta$ -actin	1.5	30	30	40	32
NPY/18S rRNA	1.5	30	40	30	28

1.2.4 PCR 产物质量鉴定 GnRH- I 与 NPY cDNA PCR 扩增产物经纯化后进行序列测定 (生物工程公司, 上海)。结果显示: 绍鸭下丘脑 GnRH- I cDNA 序列与 Genbank 上登录的鸡 GnRH- I cDNA 序列具有 98% 的同源性, 而 NPY cDNA 序列则与鸡相应序列具有 99% 的同源性。此外, 用 Real-time PCR 方法检测绍鸭下丘脑 NPY PCR 扩增反应产物组成, 结果显示, 产物溶解曲线 (melting curve) 只有一个峰值, 说明无非特异性产物生成。

1.2.5 产物定量检测 取 15  $\mu$ L GnRH- I、POMC 和 NPY PCR 产物在 EB 染色的 2.0% 琼脂糖凝胶电泳。灰度分析在 Kodak 1D 120 System 上进行。根据 GnRH- I / $\beta$ -actin、POMC/ $\beta$ -actin 和 NPY/18S rRNA 的比值测定绍鸭下丘脑 GnRH- I、POMC 和 NPY mRNA 相对表达量, 并从反转录和 PCR 扩增水平各

做两次重复 (图 1)。

1.2.6 数据统计与分析 数据以平均数  $\pm$  标准误 (Mean  $\pm$  SE) 表示。采用 SPSS10 统计软件中 One-way ANOVA 分析同组鸭不同日龄点之间的差异显著性, *t*-test 分析两组之间同一日龄点的差异显著性; 采用同软件中 MANOVA 方差分析法分析光照时间对基因表达影响的显著性。P < 0.05 表示差异显著, P < 0.01 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

### 2.1 绍鸭两种日照组的性成熟日龄与体重

长日照组于 120 日龄时性成熟, 150 日龄时达产蛋高峰; 短日照组于 150 日龄时性成熟, 较长日照组延迟 30 d。

由表 2 可知, 30—120 日龄, 两组体重均呈逐渐

表 2 绍鸭两种日照组的体重变化

Tab. 2 Body weight changes of Shaoying ducks in long-day or short-day photoperiod (kg)

	日龄 (d)				
	D30	D60	D90	D120	D150
长日照组 Long-day photoperiod	0.553 $\pm$ 0.016 <sup>a</sup>	0.941 $\pm$ 0.021 <sup>b</sup>	1.284 $\pm$ 0.057 <sup>c</sup>	1.536 $\pm$ 0.049 <sup>d</sup>	1.460 $\pm$ 0.039 <sup>d</sup>
短日照组 Short-day photoperiod	0.445 $\pm$ 0.024 <sup>A*</sup>	0.723 $\pm$ 0.035 <sup>B*</sup>	1.051 $\pm$ 0.043 <sup>C*</sup>	1.260 $\pm$ 0.047 <sup>D*</sup>	1.418 $\pm$ 0.035 <sup>E</sup>

*n* = 15, 上标不同字母表示同一组内不同日龄点的差异显著, 小写字母指长日照组, 大写字母指短日照组 (One-way ANOVA, P < 0.05)。\* P < 0.05, 表示同一日龄点两组间差异显著 (*t*-test)。

*n* = 15, Different letters above the bar indicate significant difference between different age in the same group (small letters for long-day photoperiod and capital letters for short-day photoperiod groups) (One-way ANOVA, P < 0.05). \* P < 0.05, indicating a significant difference between two groups at the same age (*t*-test)。

增加趋势,日龄间和组间差异极显著 ( $P < 0.01$ , One-way ANOVA 和  $t$ -test); 150 日龄时,长日照组体重稍下降,而同日龄短日照组体重仍极显著增加 ( $P < 0.01$ ,  $t$ -test)。

## 2.2 绍鸭两种日照组下丘脑 GnRH- I、POMC 和 NPY 的 mRNA 发育性表达 (图 2)

两组下丘脑 GnRH- I mRNA 含量的发育性变化模式相似,均随日龄呈逐渐增加趋势。光照和日龄对下丘脑 GnRH- I mRNA 表达具显著影响 ( $P < 0.01$ , MANOVA)。在 30—120 日龄时,长日照组下丘脑 GnRH- I mRNA 基础表达水平均高于短日照组,并在 120 日龄时达显著水平 ( $P < 0.05$ ,  $t$ -test)。

两组下丘脑 POMC mRNA 含量的发育性变化模式基本一致,且光照对下丘脑 POMC mRNA 表达具显著影响 ( $P < 0.01$ , MANOVA)。在 60 日龄时,略有增加但无显著差异 ( $P > 0.05$ , One-way ANOVA),而在 120 日龄时显著下降 ( $P < 0.05$ , One-way ANOVA)。

两组下丘脑 NPY mRNA 含量的发育性变化模式基本相似。光照对其表达无显著影响 ( $P > 0.05$ , MANOVA),而日龄对其具显著影响 ( $P = 0.011$ ,

MANOVA)。长日照组 60 日龄时的下丘脑 NPY mRNA 含量显著高于 30 日龄 ( $P < 0.05$ , One-way ANOVA),而 90 日龄时显著降低 ( $P < 0.05$ , One-way ANOVA),并维持在此低水平至性成熟;短日照组下丘脑 NPY mRNA 含量于 90 日龄时达峰值,120 日龄时显著下降 ( $P < 0.05$ , One-way ANOVA)。

## 3 讨论

禽类性成熟启动与生殖性能的维持与光照制度密切相关。冬季日长为 8 h 出雏的小母鸡,比夏季日长为 16 h 时出雏的小母鸡开产日龄提前 42 d (Morris & Fox, 1960)。由此提出了小母鸡开产日龄依赖于培育期光周期变化的假说。本研究结果表明,春季出雏鸭(长日照组)性成熟日龄较夏季出雏鸭(短日照组)提前 30 d,且雏鸭生长速度较快,但性成熟时的体重两者无显著差异。此结果与“一旦达到关键体重,青春期即出现”的理论 (Foster et al, 1999) 相符。

一般认为,光照对禽类生殖性能的影响是通过改变生殖轴的激素水平来实现的。禽类下丘脑存在两种 GnRH: cGnRH- I 和 cGnRH- II,其中 cLHRH- I

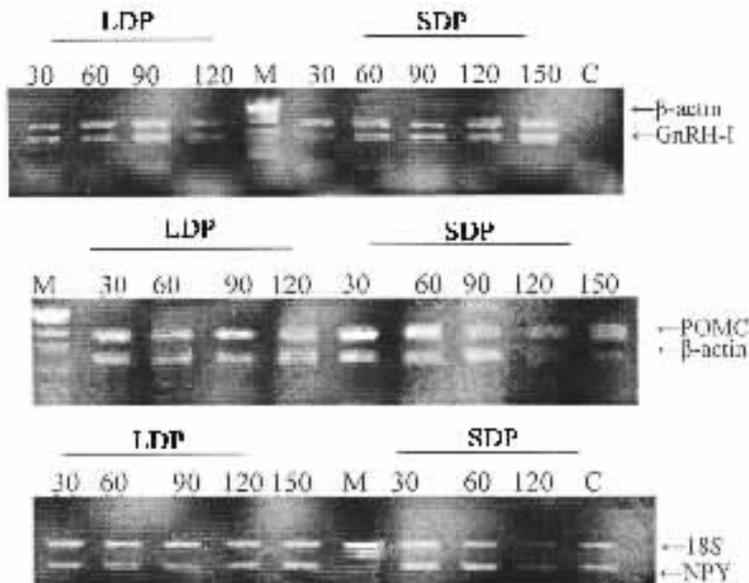


图 1 绍鸭两种日照组下丘脑 GnRH- I、POMC 和 NPY mRNA 的 cDNA RT-PCR 产物电泳图

Fig. 1 Representative agarose gel electrophoreses photo of RT-PCR products for hypothalamic GnRH- I,

POMC and NPY mRNA in Shaoxing ducks during long-day and short-day photoperiod

30—150 表示 30—150 日龄; C: RNA 阳性对照; M: DNA marker PUC19.

30—150 represent 30—150-day-old; C: represent RNA (no RT) control; M: DNA marker PUC19.

LDP: 长日照组 (Long-day photoperiod); SDP: 短日照组 (Short-day photoperiod)。

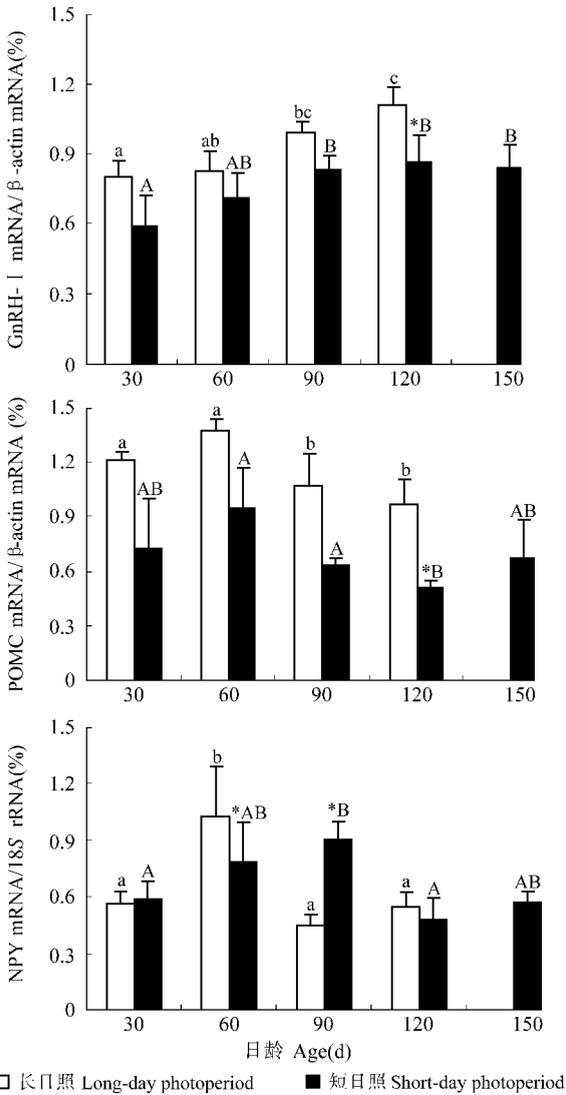


图 2 绍鸭两种日照组下丘脑 GnRH- I、POMC 和 NPY mRNA 的含量变化

Fig. 2 Developmental changes in hypothalamic GnRH- I, POMC and NPY mRNA expression of Shaoxing ducks during long-day or short-day photoperiod  $n = 6$ , 上标不同字母表示同一组内不同日龄点的差异显著, 小写字母指长日照组, 大写字母指短日照组 (one-way ANOVA,  $P < 0.05$ ).

\* $P < 0.05$ , 表示同一日龄点两组间差异显著 ( $t$ -test)

$n = 6$ , Different letters above the bar indicate significant difference between different age in the same group (small letters for long-day photoperiod and capital letters for short-day photoperiod groups) (one-way ANOVA,  $P < 0.05$ ).

\* $P < 0.05$ , indicating a significant difference between two groups at the same age ( $t$ -test).

直接控制促性腺激素的释放 (Etches et al, 1996)。研究表明, 光照刺激青年公鸡血浆 LH 水平升高的同时, 下丘脑 GnRH- I mRNA 表达丰度也增加 (Dunn & Sharp, 1999)。然而, 光照刺激日本鹌鹑和八哥鸟垂体 LH 分泌增加, 但下丘脑 GnRH 含量

无变化, 说明 LH 分泌的增加并不是由下丘脑 GnRH- I 基因转录增加引起的 (Meddle et al, 1997)。以上结果不一致可能是由模型动物和/或实验方法不同造成的。本研究结果表明, 春季出雏鸭下丘脑 GnRH- I mRNA 的表达量均高于同日龄夏季出雏鸭, 并于性成熟时其差异达显著水平。从而提示: 下丘脑 GnRH- I mRNA 合成和/或稳定性的增加可能是光照刺激促性腺激素增加的早期步骤, 同时也是春季出雏鸭性成熟早的主要原因。

下丘脑 GnRH mRNA 表达水平受体内多种因素的影响, 其中来源于 POMC 的  $\beta$ -内啡肽是主要的抑制因子之一。有资料表明, 醋酸酮诱导家兔排卵前 LH 峰出现时, 下丘脑  $\beta$ -内啡肽释放减少及其  $\mu$ -受体密度显著降低 (Yang et al, 1997)。因此, 有学者认为, 中枢  $\beta$ -内啡肽对 GnRH 合成和/或释放抑制作用的解除是 LH 水平增加的重要原因。本研究结果也表明, 在临近性成熟时, 两组鸭下丘脑 GnRH- I mRNA 表达水平显著上调的同时, POMC mRNA 表达量显著降低, 与以上研究结果相符。从而提示, POMC 基因对禽类生殖功能也起主要的抑制作用。此外, NPY 是调节生殖和保持能量平衡的内分泌系统中一个不可缺少的桥梁式的信息分子。对禽类胚胎学的研究发现, 下丘脑 NPY 肽与 GnRH 共表达并与 GnRH 神经元一起迁移入脑, 提示其对下丘脑 GnRH 神经元活动有重要影响 (Hilal et al, 1996)。目前的观点认为, NPY 对哺乳动物生殖功能的调节作用具有性腺激素依赖性, 即正常或高性激素环境下, 下丘脑 NPY 促进 GnRH 分泌; 低雌激素水平时, 则抑制 GnRH 分泌 (Gruaz et al, 1993)。本研究结果显示, 在绍鸭性成熟启动前后, 雌激素水平显著上升时, 下丘脑 NPY mRNA 表达水平显著下降; 但是, 此时血清 NPY 浓度却显著升高 (Ni et al, 2005), 提示 NPY 肽翻译速度加快可能是造成 mRNA 水平降低的原因。有关下丘脑 NPY 对禽类性成熟启动的调节以及对中枢 GnRH- I 基因表达的影响仍有待深入研究。

禽类性成熟启动是一个非常复杂的生物学过程, 而环境因素的影响主要是通过改变内分泌系统实现的。本实验结果提示, 春季出雏绍鸭性早熟主要是由下丘脑 GnRH- I 基因表达的显著上调引起的, 同时与下丘脑 POMC 和 NPY 合成和/或分泌水平的改变有关, 但其确切机制仍有待深入研

究。

## 参考文献：

- Dunn IC, Chen Y, Hook C, Sharp PJ. 1993. Characterization of the chicken preprogonadotrophin-releasing hormone- I gene [ J ]. *J Mol Endocrinol*, **11** : 19 - 29.
- Dunn IC, Sharp PJ. 1999. Photo-induction of hypothalamic gonadotrophin releasing hormone- I mRNA in the domestic chicken : A role for oestrogen [ J ]. *J Neuroendocrinol*, **11** : 371 - 375.
- Etches RJ. 1996a. Reproduction in poultry [ M ]. UK, Cambridge : Cambridge University Press, 93 - 99.
- Etches RJ. 1996b. Reproduction in poultry [ M ]. UK, Cambridge : Cambridge University Press, 263 - 270.
- Foster DL, Nagatani S. 1999. Physiological rerspectives on leptin as a regulator of reproduction : Role in timing ruberty [ J ]. *Biol Reprod*, **60** : 205 - 215.
- Gruaz NM, Pierroz DD, Rohner-Jeanrenaud F, Sizonenko PC, Aubert ML. 1993. Evidence that neuropeptide Y could represent a neuroendocrine inhibitor of sexual maturation in unfavorable metabolic condition in the rat [ J ]. *Endocrinology*, **133** : 1891 - 1894.
- Hilal EM, Chen JH, Silverman AJ. 1996. Joint migration of gonadotropin-releasing hormone ( GnRH ) and neuropeptide Y ( NPY ) neurons from olfactory placode to central nervous system [ J ]. *J Neurobiol*, **31** ( 4 ) : 487 - 502.
- Kalra PS, Bonavera JJ, Kalra SP. 1995. Central administration of antisense oligodeoxynucleotides to neuropeptide Y ( NPY ) mRNA reveals the critical role of newly synthesized NPY in regulation of LHRH release [ J ]. *Regul Pept*, **59** ( 2 ) : 215 - 220.
- Lewis PD, Perry GC, Morris TR. 1996. Effect of constant and of changing photoperiods on age at first egg and related traits in pullets [ J ]. *Br Poult Sci*, **37** ( 5 ) : 885 - 894.
- Lewis PD, Perry GC, Morris TR. 1997. Effect of size and timing of photoperiod increase on age at first egg and subsequent performance of 2 breeds of laying hen [ J ]. *Br Poult Sci*, **38** : 142 - 150.
- Meddle SL, Follett BK. 1997. Photoperiodically driven changes in Fos expression within the basal tuberal hypothalamus and median eminence of *Japanese quail* [ J ]. *J Neurosci*, **17** ( 22 ) : 8909 - 8918.
- Morris TR, Fox S. 1960. The use of lights to delay sexual maturity in bullets [ J ]. *Br Poult Sci*, **1** : 25 - 36.
- Pierroz DD, Gruaz NM, Dalleve V, Aubert ML. 1995. Chronic administration of neuropeptide Y into the lateral ventricle starting at 30 days of life delays sexual maturation in the female rat [ J ]. *Neuroendocrinology*, **61** : 293 - 300.
- Urbanski HF, Ojeda SR. 1987. Activation of luteinizing hormone-releasing hormone release advances the female puberty onset [ J ]. *Neuroendocrinology*, **46** : 273 - 276.
- Ni YD, Zhou YC, Lu LZ, Chen J, Zhao RQ. 2002. Changes of GnRH- I and POMC mRNA levels in hypothalamus of the female Shaoxing ducks from 1 to 120 day-old from hatching [ J ]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, **25** ( 2 ) : 85 - 88. [ 倪迎冬, 周玉传, 卢立志, 陈杰, 赵茹茜. 2002. 孵出至产蛋前绍兴鸭下丘脑 GnRH- I 与 POMC mRNA 表达的变化. 南京农业大学学报, **25** ( 2 ) : 85 - 88. ]
- Ni YD, Zhou YC, Lu LZ, Chen J, Zhao RQ. 2005. Developmental changes of hypothalamic GnRH- I mRNA and serum E<sub>2</sub> and NPY levels in Shaoxing and Gaoyou ducks [ J ]. *Chinese Journal of Veterinary Science*, ( accepted ) [ 倪迎冬, 周玉传, 卢立志, 陈杰, 赵茹茜. 2005. 绍鸭和高邮鸭下丘脑 GnRH- I、血清 E<sub>2</sub> 和 NPY 的发育性变化及差异. 中国兽医学报, ( 已接受 ) ]
- Yang SP, He LF, Yu J. 1998. Levels of hypothalamic proopiome-lanocortin mRNA and estrogen binding sites during preovulatory GnRH surge in rat [ J ]. *Acta Zoologica Sinica*, **44** ( 1 ) : 67 - 73. [ 杨淑萍, 何莲芳, 俞瑾. 1998. 大鼠排卵前促性腺激素释放激素释放过程中下丘脑前阿黑皮素基因表达和雌激素受体的水平. 动物学报, **44** ( 1 ) : 67 - 73. ]
- Yang SP, He LF, Yu J. 1997. Changes in densities of hypothalamic  $\mu$  opioid receptor during cupric acetate-induced preovulatory LH surge in rabbit [ J ]. *Acta Physiologica Sinica*, **49** ( 3 ) : 354 - 358. [ 杨淑萍, 何莲芳, 俞瑾. 1997. 醋酸铜诱导家兔排卵前 LH 峰过程中下丘脑  $\mu$  - 受体密度的变化. 生理学报, **49** ( 3 ) : 354 - 358. ]