

热应激环境蛋鸡免疫力变化机理研究

II 免疫力、氧自由基代谢、耐热力间的关系*

高玉鹏, 郭久荣, 刘斌峰

(西北农林科技大学 畜牧兽医学院, 陕西 杨陵 712100)

[摘要] 选经常免疫ND, BD的30周龄健康罗曼蛋鸡96只,按随机法等分为2组,分置于人工气候室内,对照组环境温度22℃不变,试验组环境温度为22℃,166h→30℃,166h→35℃,166h→40℃,4h→21.3℃,22h(15只40℃致死试验)温度。定期采血或剖检测定有关指标。结果显示: 血浆SOD, GSH-Px在30℃~166h显著升高,35℃~166h,40℃显著下降,21.3℃~22h下降。40℃高温致死后肝组织MDA、自由基水平显著增加。高温致死肝组织氧自由基代谢指标MDA、自由基水平与不同温段免疫力指标HSST均呈显著或不显著负相关;血浆GSH-Px, SOD, MDA在35℃~166h,40℃~4h环温下与HSST呈显著或不显著正相关。较长高温应激蛋鸡免疫力指标下降愈大的个体,其机体氧自由基代谢抑制程度愈强,耐热力愈差,反之亦然。

[关键词] 热应激; 蛋鸡; 免疫力; 氧自由基代谢; 耐热力

[中图分类号] S831.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2001)05-033-04

现代医学证明,生物体许多疫病的发生大多是机体内不饱和脂肪酸共价键上一系列自由基的反应诱导所致^[1]。因此,自由基代谢机理与损伤作用及其保护是近几年来国内外研究的热点之一^[2]。业已发现,氧自由基可使生物蛋白质聚合,核酸主键断裂、碱基修饰和氢键破坏,从而成为许多疾病发生发展的重要体液因子^[3]。高温环境能否影响家禽体内自由基代谢,又是否与其免疫力下降、耐热力强弱有关,目前尚未见报道。本研究探讨了在较长持续高温环境下蛋鸡氧自由基代谢指标的变化,并分析这些变化与其免疫力指标、耐热力(HSST)的相关程度,为今后抗热应激管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理

选健康30周龄罗曼蛋鸡96只,按随机法等分为2组,分置于2个自制人工气候室内,双层阶梯式单笼常规饲养。

1.2 试验方法

两组鸡在22℃温度下预试1周,对照组持续22℃不变。试验组升温至30℃,35℃分别持续7d(升温均在早上8:00,1h内达到设定温度)。升至40℃4h采血后,留15只鸡进行致死试验(含10只采血

个体),其余移至常温舍(平均温度为21.3℃)进行个体单笼饲养观测恢复试验。

1.3 试验方法

试验期内每组按饲养空间均匀取鸡样20只,恢复期10只,早6:00(空腹)翅下静脉采血共5次,即试验组为:22℃~166h(预试结束前2h),30℃~166h,35℃~166h,40℃~4h,21.3℃~22h。对照组同期采血。40℃高温期对试验组留的15只鸡中10只采血个体致死后即进行剖检,并按等时等量随机的原则在对照组(22℃环温)亦剖检10只鸡,采集肝样于-24℃冰柜中保存,供测定用。

血浆中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的测定采用DTNB法^[4],超氧化物歧化酶(SOD)用黄嘌呤氧化酶法^[5],丙二醛(MDA)用硫代巴比妥纳比色法^[6],自由基用低温ESR测定^[7],以单位重量内自由基自旋数表示($\times 10^5/\text{mg}$)。

用SA S软件进行比较分析。

2 试验结果

2.1 蛋鸡血浆GSH-Px, SOD, MDA水平

从表1知,在22℃,166h→30℃,166h→35℃,166h→40℃,4h→21.3℃~22h试温变化中,蛋鸡血浆SOD, GSH-Px的活性经过“正常-升高

* [收稿日期] 2000-09-25

[基金项目] 陕西省科委资助项目(96K01-G1-02)

[作者简介] 高玉鹏(1956-),男,陕西白水人,副研究员。主要从事家禽科学研究。

- 下降- 恢复”过程, 即 30 166 h 显著升高, 35 h 上升但未恢复正常;MDA 水平在 30 166 h 及 166 h, 40 4 h 显著或极显著下降, 21 3 22 其延续高温显著或极显著上升, 21 3 22 h 下降。

表 1 较长高温环境下蛋鸡血浆 SOD, GSH-Px,MDA 的变化

Table 1 Effects of the chamber temperature on plasma SOD, GSH-Px,MDA of L layers

环境条件 Enviroment condition		组别 Group s	SOD		GSH-Px		MDA	
温度/ Temperature	时间/h Time		含量/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) Content	显著性 Signi- fican- ce	含量/ ($\mu\text{mol}\cdot\text{mL}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$) Content	显著性 Signi- fican- ce	含量/ ($\text{nmol}\cdot\text{mL}^{-1}$) Content	显著性 Signi- fican- ce
22	166	CK	213.39±31.46		468.39±21.45		2.69±0.181	
22	166	Test	208.16±21.39	ns	452.34±17.18	ns	2.843±0.176	ns
22	332	CK	206.28±27.27		448.38±28.69		2.273±0.204	
30	166	Test	246.47±23.28	P<0.05	566.37±26.19	P<0.01	3.674±0.326	P<0.05
22	498	CK	207.19±30.36		452.37±31.26		2.746±0.218	
35	166	Test	143.32±31.68	P<0.05	394.24±36.17	P<0.05	5.234±0.692	P<0.01
22	502	CK	210.22±24.86		452.81±29.97		2.595±0.446	
40	4	Test	126.21±44.39	P<0.01	386.28±39.24	P<0.01	5.467±0.821	P<0.01
22	524	CK	203.11±32.57		462.24±31.65		2.638±0.415	
21.3	22	Test	150.24±28.16	P<0.05	423.26±33.71	ns	4.054±0.591	P<0.01

2.2 蛋鸡肝组织氧自由基代谢指标 MDA、自由基水平显著增加。说明热应激导致机体从表 2 知, 蛋鸡经 40 高温致死后, 其肝组织 组织过氧化。

表 2 高温致死蛋鸡肝组织氧自由基代谢指标变化

Table 2 Effect of the chamber temperature on MDA, free radicals in L iver of L ayers

组别 Groups	MDA/ ($\text{nmol}\cdot\text{mg}^{-1}$)	自由基/($\times 10^5/\text{mg}$) Free radicals
试验 Test	1.734 $\pm$ 0.396	1.437 $\pm$ 0.278
对照 CK	1.289 $\pm$ 0.134	0.967 $\pm$ 0.162
显著性 Significance	$P<0.01$	$P<0.01$

2.3 蛋鸡氧自由基代谢指标与免疫力、HSST 呈显著或不显著正相关。血浆MDA 和肝组织结果(表 3, 表 4)表明, 血浆 GSH-Px 在 22 , MDA、自由基水平与 HSST 呈显著负相关。肝组织 30 166 h 环温下与其免疫力指标、HSST 无规律 MDA、自由基水平与 35 166 h, 40 4 h 血液免性相关, 但在 35 166 h, 40 4 h 下与上述指标 疫力指标呈显著或极显著负相关。

表 3 不同环境下蛋鸡 HSST 与血浆 GSH-Px、自由基代谢指标的相关分析

Table 3 The relationship among HSST, GSH-Px in Plasma, and indexs of free radicals in ambient temperature

环境条件 Environment condition		血浆 In plasma			肝脏 In liver	
温度/ Temperature	时间/h Time	GSH-Px	SOD	MDA	MDA	自由基 Free radicals
22	166	- 0.036	0.059	- 0.136		
30	166	0.148	0.267	- 0.281		
35	166	0.369	0.427*	- 0.49*		
40	4	0.386	0.371	- 0.695**		
40	致死				- 0.417*	- 0.592*

表 4 不同环境下蛋鸡肝脏MDA、自由基水平与免疫指标相关分析

Table 4 The relationship between MDA, free radicals in L iver and immune indexs in ambient temperature

环境条件 Environment condition		MDA			自由基 Free radicals		
温度/ Temperature	时间/h Time	T 细胞转化率 T-ST (PHA)	B 细胞转化率 B-SI(LPS)	T 细胞率 T lymphocyte	T 细胞转化率 T-ST (PHA)	B 细胞转化率 B-SI(LPS)	T 细胞率 T lymphocyte
22	166	- 0.093	- 0.126	- 0.149	- 0.121	- 0.193	- 0.204
30	166	- 0.279	- 0.318	- 0.334	- 0.267	- 0.341	- 0.368
35	166	- 0.459*	- 0.441*	- 0.469*	- 0.512*	- 0.569*	- 0.557*
40	4	- 0.524*	- 0.556*	- 0.537*	- 0.596*	- 0.578*	- 0.591*

3 讨 论

高温环境导致蛋鸡免疫力下降的原因是否与其本身自由基代谢功能改变有关, 自由基代谢功能改变又是否与其本身的耐热力有关, 是本试验探讨的主要问题。在正常情况下, 生物体内自由基产生、利用和清除保持着动态平衡。自由基清除主要依靠体内各类抗氧化酶, 主要包括 SOD, GSH-Px 等, 这些酶不但协同地防止氧自由基的堆积, 而且相互间还起着保护作用^[1]。检测血液或组织 SOD, GSH-Px 的活性和脂质过氧化产物 MDA、自由基水平, 是研究机体脂质过氧化功能变化的有效方法。本试验表明, 30~166 h 环境下蛋鸡血浆 SOD, GSH-Px 活性及 MDA 显著或极显著上升, 说明机体对高温造成的过氧化反应具有较强的适应调节能力, 其结果使蛋鸡在该温段细胞免疫及体液免疫功能尚未明显下降。35~166 h, 40~4 h 蛋鸡血浆 SOD, GSH-Px 活性显著下降, MDA 显著或极显著上升, 40 致死肝组织 MDA、自由基水平亦显著增加。说明此温段蛋鸡体已不能通过代谢调节增加 SOD, GSH-Px 等的活性, 而有效地消除体内 MDA、自由基堆积, 其结果是细胞与体液免疫指标明显下降。其原因可能是当机体细胞膜富含的脂质和蛋白质受到自由

基攻击时, 则会产生脂质过氧化反应, 导致脂质过氧化物 O_2^- , H_2O_2 积累^[8]。超量 O_2^- 能使脱铁硫中心释放 Fe^{2+} , 攻击生物膜及脂质 DNA 键并使其进一步羟化, 破坏其结构和功能^[9]。还能使 NO (内皮细胞释放的肌肉松弛因子) 氧化生成过氧化硝酸盐, 攻击生物膜并使其功能丧失^[10]。超量 H_2O_2 使某些二价金属离子 A^{2+} 形成 AO 和 $A(OH)_2$, 攻击酶邻近特定氨基酸残基, 使许多酶失活^[11]。过量的 O_2^- , H_2O_2 还能使还原型谷胱甘肽 (GSH) 氧化成氧化型谷胱甘肽 (GSSG), 进而反馈抑制 GSH-Px 活性, 形成机体抗氧化功能减弱的恶性循环, 最终引起动物免疫力下降, 成为诱发多种疫病发生、发展的根源^[4]。可见, 高温环境导致蛋鸡免疫力下降的致因与机体氧自由基代谢抑制有关。同时氧自由基代谢抑制, 导致动物机体维持正常耐热力功能的酶蛋白分子产生酶性自由基或加成为酶分子聚合物, 使其失去或减弱正常的功能, 降低动物耐热力^[1,2]。本试验表明, 高温环境下蛋鸡免疫力与其氧自由基代谢指标、氧自由基代谢指标与其 HSST 均呈负相关, 亦说明了这一点。

综上所述, 较长高温应激显著抑制蛋鸡氧自由基代谢, 并造成该环境下蛋鸡免疫力下降的原因之一。氧自由基代谢抑制愈强的个体, 其耐热力愈差。

[参考文献]

- [1] Kinnula V L, Crapo J D, Raivio K O. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in lung[J]. Lab Invest, 1995, 73(1): 3- 19
- [2] Freeman B A, Crapo J D. Free radicals and tissue injury[J]. Lab Invest, 1982, 47(5): 412- 426
- [3] Duthie G G. Increased indices of lipid peroxidation in stress susceptible pigs and effects of vitamin E[J]. Res Vet Sci, 1989, 46: 226- 230
- [4] 夏奕明, 朱莲珍. 血和组织中谷胱甘肽过氧化物酶活力的测定方法[J]. 卫生研究, 1987, 16(4): 29- 33
- [5] 唐兆新, 李培英, 王炫英, 等. 山羊内毒素休克诱发脂质过氧化作用研究[J]. 畜牧兽医学报, 1998, 29(2): 179- 185
- [6] Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxide in animal tissues by thiobarbituric acid reaction[J]. Anal Biochem, 1979, 95: 351- 358
- [7] 张世珍, 王兴亚, 齐忠明, 等. 硒和维生素 E 在硒缺乏动物自由基代谢中作用机制的研究[J]. 畜牧兽医学报, 1997, 28(4): 311- 317
- [8] 木上泽吉. 自由基介导的组织损伤机制[J]. 国外医学卫生分册, 1992, (2): 79- 83
- [9] Hiraishi H, Tarano A. Role of cellular superoxide dismutase against reactive oxygen metabolite injury in cultured bovine aortic endothelial cells[J]. J Biol Chem, 1993, 267: 267- 268
- [10] Palmer R M J, Ferrige A G. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor[J]. Nature, 1987, 27: 524- 526
- [11] Sato K, Akaike T. Hydroxyl radical production by H_2O_2 Plus Cu, Zn-Superoxide dismutase reflects the activity of free copper released from the oxidatively damaged enzyme[J]. Biol Chem, 1992, 3: 287.

The study of layers on the immune feature and relation with HSST

II Relationship among immunity, oxygen radical metabolites, HSST

GAO Yu-peng, GUO Jin-rong, LIU Bin-feng

(College of Animal Sciences and Veterinary Medicine, Northwest Sci-Tech University of Agriculture and Forestry, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The effect of environmental temperature (22 °C, 30 °C, 33 °C, 40 °C, part: 40 °C, 1-43 h) 21.3 °C, 22 h on plasma SOD, GSH-Px, MDA, Liver MDA, index of oxygen radical, and relation of immune indexes with plasma SOD, GSH-Px, MDA, Liver MDA and index of oxygen radical were analyzed. The results showed that: (1) Plasma SOD, GSH-Px were increased at 30 °C, 166 h, and decreased at 35 °C, 166 h, 40 °C, 4 h, and no significant increase at 21.3 °C, 22 h. Plasma MDA at 30 °C, 166 h, 35 °C, 166 h, 40 °C, 4 h and Liver MDA, Oxygen radical at 40 °C CT were significantly higher than those of control groups. (2) MDA, oxygen radical of liver at 40 °C heat stress were negatively related to indexes of immunity and HSST. Plasma GSH-Px, SOD, MDA at 35 °C, 166 h, 40 °C, 4 h CT were positively related to HSST.

Key words: heat stress; layers; immunity; oxygen radical; HSST

欢迎订阅 2002 年《西北植物学报》

《西北植物学报》主要刊登植物学研究取得的创新成果,介绍本学科国内外发展动态和有关植物学领域的创新理论,讨论植物资源利用和保护的理论及实践,以促进本学科基础理论和应用创新技术的发展,为经济建设服务。

《西北植物学报》立足西北,面向全国。侧重于刊载秦岭、黄土高原、青藏高原等区域植物多样性研究、分子生物学和植物化学研究、药用植物成分分析鉴定、提取及其组织培养、栽培的研究,干旱、半干旱地区植物抗旱性的内部机理调控和生态学等研究,作物遗传育种基础理论研究及植物学与其它学科、特别是与应用学科的结合、交叉性的研究论文。

《西北植物学报》为从事植物学、农林、医药、环境科学等学科研究的科研人员和大专院校师生提供最新创新成果信息,将使您的研究视野更加开阔,事业更上一层楼。

本刊为双月刊,逢单月 15 日出版,每期 214 个印刷页码,信息量大,论文涉及学科范围广,应用理论性强。每期定价 10.00 元,国内外公开发行,邮发代号为 52—73,漏订或补订本刊的单位或个人,可直接向编辑部来函汇款订阅。编辑部地址:陕西杨凌农业高新技术产业示范区《西北植物学报》编辑部,邮政编码:712100,电话:(029)7012025,传真:(029)5244651。

来稿请挂号寄:西安市小寨东路 3 号中国科学院西安分院、陕西省科学院 505 室;陕西省杨凌农业高新技术产业示范区《西北植物学报》编辑部