

高温环境日粮 Se 水平对蛋鸡免疫功能的影响^{*}

陈淑茗¹, 张 周¹

(杨凌职业技术学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘 要] 选经常规免疫 ND、BD 的 28 周龄尼克红蛋鸡 200 只, 按随机法等分为 5 组, 放置于人工气候室内, 5 组日粮 Se 水平分别为 0.1 (对照组), 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 mg/kg。供试温度为 33 °C, 试期共 28 d。供试鸡分别在 33 °C 166 h, 33 °C 334 h, 33 °C 502 h, 33 °C 670 h 空腹采血并测定有关指标。结果表明, 蛋鸡日粮 Se 水平为 0.20~0.25 mg/kg 的试验组, 经过 33 °C 502 h, 其血液淋巴细胞百分率, T、B 淋巴细胞转化率, ND、BD 抗体滴度均显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 地高于日粮 Se 水平 0.10 mg/kg 组的同类指标。日粮 Se 水平为 0.20~0.25 mg/kg 时, 蛋鸡血液免疫指标的改善程度不一。表明在较长高温环境下, 日粮 Se 水平为 0.20~0.25 mg/kg 时能明显改善蛋鸡的免疫功能。

[关键词] 热应激; 日粮 Se 水平; 蛋鸡; 免疫力

[中图分类号] S831.1

[文献标识码] A

[文章编号] 1000-2782(2002)05-0047-04

家禽生产受环境、营养、疾病等多种因素的影响, 只有在适宜的环境、营养条件下, 家禽才能发挥正常的生产水平。现代高密度集约化的家禽饲养方式和全球气候变暖、夏季高温期延长对家禽所产生的热应激负效应愈加明显, 热应激不仅影响家禽的正常生理功能, 而且对其免疫功能及所用疫苗的免疫作用产生影响^[1~3]。微量元素既是平衡动物体内环境的电解质, 亦为构成多种酶的重要成分与活性中心, 对动物抗热应激有重要作用。业已发现, 高温影响家禽体内氧自由基代谢, 是导致其免疫力下降的重要原因之一^[4,5], Se 是机体抗氧化酶的重要成分, 但国内尚未见高温环境下日粮 Se 水平与家禽免疫功能的关系报道。本研究以此为启迪, 探讨高温环境下不同日粮 Se 水平对蛋鸡免疫功能的影响, 以期今后抗热应激饲养管理提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理

对健康的尼克红蛋鸡进行常规免疫 (120 日龄: ND-1 注射; 130 日龄: BD 饮水; 140 日龄: ND + BD 灭活苗注射), 28 周龄时选健康、符合试验体重要求的个体 200 只, 按随机法等分为 5 组, 放置于自制人工气候室内, 双层阶梯式小群体笼养。试验采取组间日粮营养水平相等, 仅微量元素 Se 的水平不

同, 分别为 0.10 (对照组), 0.15, 0.20, 0.25, 0.30 mg/kg。日粮基本营养水平为: ME = 11.36 MJ/kg, CP = 17.07 g/kg; Ca = 3.57 g/kg; AP = 4.7 g/kg; Met = 4.1 g/kg; Lys = 8.6 g/kg, 其他矿物质含量均符合蛋鸡营养标准。

1.2 试验方法

供试鸡在 22 °C 环温下预试 1 周, 预试结束后, 次日早 8:00 升温, 1 h 内鸡舍环温升至 33 °C, 持续 28 d。

1.3 测定项目及方法

血样采集 试期内每组按饲养空间均匀取样 10 只, 早 6:30 (或空腹) 翅下静脉采血共 4 次, 即试期 166, 334, 502 和 670 h。

采血测定项目 全血淋巴细胞百分率, T、B 淋巴细胞转化率, 血清 ND、BD 抗体滴度, 血浆谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px), 超氧化物歧化酶 (SOD)。

测定方法 T 淋巴细胞百分率用 ANAE 染色法, 分别以植物血凝素 (PHA)、细菌内毒素 (LPS) 作 T、B 淋巴细胞刺激源, 用微量全血培养³H-TdR 掺入法^[6]分别测定 T、B 淋巴细胞转化率, 刺激指数 $SI = \frac{\text{PHA 或 LPS 刺激管的 CPM 均值}}{\text{对照管的 CPM 均值}}$; 血清 ND、BD 抗体滴度用 ELISA 法; GSH-Px 用 DTNB

* [收稿日期] 2002-06-17

[基金项目] 陕西省科技厅资助项目 (2000K03-02)

[作者简介] 陈淑茗 (1961-), 女, 陕西乾县人, 讲师, 硕士, 主要从事临床医学与应用生物化学的研究。

法^[7]; SOD 用黄嘌呤氧化酶法^[8]。用 SAS 软件进行数据检验。

2 结果与分析

2.1 对蛋鸡免疫指标的影响

由表 1~3 可知, 高温环境下日粮不同 Se 水平对蛋鸡免疫指标均有显著影响。在 33 ℃高温环境下, 蛋鸡经过 334 h, 即使日粮 Se 水平由饲养标准的 0.10 mg/kg 加至 0.30 mg/kg, 也未见蛋鸡血液 T 淋巴细胞百分率和 T、B 淋巴细胞转化率有异常变化。随着高温期的延长(33 ℃ 502 h, 33 ℃ 670 h), 在日粮 Se 饲养水平为 0.10 mg/kg 的基础上, 增加

50% 的 Se 含量(即 0.15 mg/kg), 亦未见蛋鸡血液免疫指标有明显升高; 只有日粮 Se 水平在饲养标准基础上增加 100% 至 200% (即为 0.20~0.30 mg/kg) 时才能显著($P < 0.05$) 或极显著($P < 0.01$) 地升高蛋鸡血液免疫指标。在日粮 Se 水平为正常饲养标准的 200%, 250%, 300% 的 3 个试验组中, 200%, 250% 组对蛋鸡血液免疫指标升高幅度(与饲养标准 0.1 mg/kg 比较) 最大, 而 300% 试验组蛋鸡血液免疫指标升高幅度相对较小。说明高温环境下日粮 Se 水平与蛋鸡血液免疫指标不构成线性正相关关系。

表 1 高温环境日粮 Se 水平对蛋鸡全血淋巴细胞百分率的影响

Table 1 Effect of dietary Se levels on blood lymphocyte rate of layers in chamber temperature %				
日粮 Se 水平/ (mg · kg ⁻¹) Dietary Se levels	33 ℃ 166 h	33 ℃ 334 h	33 ℃ 502 h	33 ℃ 670 h
0.10	25.46±1.93	21.64±2.86	14.69±2.46 Aa	14.49±3.21 Aa
0.15	23.84±2.01	19.58±3.01	15.67±1.13 a	14.86±2.61 a
0.20	26.68±3.22	21.81±2.65	19.86±2.06 Bb	19.05±3.14 Bb
0.25	24.96±1.82	21.58±2.81	20.02±3.12 Bb	19.14±2.65 Bb
0.30	25.11±2.66	20.61±2.96	19.04±2.94 b	16.16±3.26 a

注: A, B 表示 0.01 显著水平; a, b 表示 0.05 显著水平, 下同。
Note: Within same column, A, B and a, b standing respectively for $P < 0.01$ and $P < 0.05$ remarkableness, it's the same in the following table

表 2 高温环境日粮 Se 水平对蛋鸡血液 T 细胞 SI(PHA) 的影响

Table 2 Effect of dietary Se levels on blood T-SI(PHA) of layers in chamber temperature %				
日粮 Se 水平/ (mg · kg ⁻¹) Dietary Se levels	33 ℃ 166 h	33 ℃ 334 h	33 ℃ 502 h	33 ℃ 670 h
0.10	156.42±18.31	128.64±19.96	73.39±18.21 Ab	66.28±2.01 A
0.15	158.69±20.33	121.55±26.51	76.52±21.52 a	68.71±16.51 Ab
0.20	160.54±22.64	129.58±18.31	89.54±19.77 b	81.66±22.77 Bb
0.25	159.36±24.31	119.71±24.11	103.51±3.91 Bc	84.68±19.16 Bc
0.30	148.32±19.22	130.32±30.16	86.57±22.47 b	72.49±21.69 b

表 3 高温环境日粮 Se 水平对蛋鸡血液 B 细胞 SI(LPS) 的影响

Table 3 Effect of dietary Se levels on blood B-SI(LPS) of layers in chamber temperature %				
日粮 Se 水平/ (mg · kg ⁻¹) Dietary Se levels	33 ℃ 166 h	33 ℃ 334 h	33 ℃ 502 h	33 ℃ 670 h
0.10	80.36±14.11	71.32±16.79	56.46±19.21 a	41.55±18.49 a
0.15	81.52±15.67	73.24±15.68	55.44±18.74 a	43.36±16.35 a
0.20	79.32±13.22	68.56±17.29	61.37±16.75 ab	53.21±19.33 b
0.25	76.53±18.79	67.43±16.33	62.68±17.49 b	55.26±16.97 b
0.30	78.76±19.22	69.26±18.14	53.46±19.81 a	50.24±19.35 ab

2.2 对蛋鸡血清 ND、BD 抗体滴度的影响

已有研究^[9]表明, 高温环境加速蛋鸡 ND、BD 抗体滴度的消减。但试验结果(表 4)表明, 高温环境日粮增加 Se 水平可缓解蛋鸡血液 ND、BD 抗体滴度的消减, 与标准日粮 Se 水平(0.1 mg/kg) 组比

较, 0.15 mg/kg 日粮 Se 水平组未见有明显缓解作用, 0.20, 0.25, 0.30 mg/kg 3 个日粮 Se 水平试验组有显著($P < 0.05$) 或极显著($P < 0.01$) 的缓解作用, 且这种缓解作用在较长热应激的环境下(如 33 ℃ 502 h, 33 ℃ 670 h) 能够表现出来。3 个日粮

组比较, 0.30 mg/kg 日粮 Se 水平组相对较次。

表 4 高温环境日粮 Se 水平对蛋血清 ND、BD 抗体滴度的影响

Table 4 Effect of dietary Se levels on serum ND、BD antibody titer of layers in chamber temperature

日粮 Se 水平/ (mg · kg ⁻¹) Dietary Se levels	33 °C 166 h		33 °C 334 h		33 °C 502 h		33 °C 670 h	
	ND	BD	ND	BD	ND	BD	ND	BD
0.10	3 532±203	2 824±187	2 826±193	2 336±129	1 932±231 a	1 532±173 A a	1 322±263 A a	1 042±187 A a
0.15	3 486±199	2 925±169	2 929±215	2 457±186	2 038±188 a	1 603±191 a	1 452±179 a	1 126±142 a
0.20	3 394±211	2 966±184	2 756±158	2 485±188	2 355±203 b	1 835±194 b	1 626±197 b	1 357±131 Bb
0.25	3 568±241	2 824±135	2 928±206	2 526±145	2 387±217 b	1 952±166 Bb	1 752±226 Bb	1 412±129 Bb
0.30	3 457±195	2 816±128	2 873±231	2 552±117	2 052±178 a	1 662±107 a	1 544±208 b	1 211±137 a

2.3 对蛋鸡血浆 GSH-Px、SOD 活性的影响

微量元素 Se 是 GSH-Px、SOD 酶的重要成分, 高温环境增加 Se 水平可明显提高蛋鸡血浆 GSH-Px、SOD 酶的活性。从表 5 可以看出, 随着日粮 Se

水平的提高, 蛋鸡血浆 GSH-Px、SOD 酶的活性均有不同程度的增加, 其中以日粮 Se 水平为 0.20, 0.25 mg/kg 试验组的增幅效果最佳。

表 5 高温环境日粮 Se 水平对蛋鸡血浆 GSH-Px、SOD 的影响

Table 5 Effect of dietary Se levels on plasma GSH-Px、SOD activity of layers in chamber temperature

日粮 Se 水平/ (mg · kg ⁻¹) Dietary Se levels	33 °C 166 h		33 °C 334 h		33 °C 502 h		33 °C 670 h	
	GSH-Px	SOD	GSH-Px	SOD	GSH-Px	SOD	GSH-Px	SOD
0.10	0.726±0.147	63.25±10.55	0.683±0.179	52.88±11.77	0.535±0.189 a	43.22±12.59 a	0.339±0.197 A a	33.21±13.37 A a
	0.695±0.186	60.57±14.22	0.572±0.114	51.33±10.61	0.527±0.196 a	44.21±11.61 a	0.318±0.114 A a	35.33±14.11 A a
0.20	0.704±0.158	62.42±12.61	0.695±0.188	55.31±13.54	0.669±0.201 b	51.44±13.39 b	0.488±0.205 Bb	45.28±16.61 B
	0.664±0.199	64.33±18.77	0.635±0.231	56.87±12.66	0.624±0.115 b	53.47±18.99 b	0.503±0.197 Bb	46.28±11.51 B
0.30	0.705±0.158	62.59±13.47	0.614±0.208	54.39±15.57	0.613±0.227 b	50.58±17.39 b	0.515±0.12 Bb	47.09±18.77 B

注: 表中 GSH-Px 和 SOD 的单位分别为“μmol/(L · min)”和“μmol/(mL · min)”。

Note: The unit for GSH-Px and SOD is “μmol/(L · min)” and “μmol/(mL · min)” respectively.

3 讨论与结论

Se 是人、畜、禽生长发育、健康成长和生产性能发挥所必需的主要微量元素之一。在 20 世纪后半叶, 已经确认 Se 是构成动物体内谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)的活性成分之一。GSH-Px 是一种重要的催化过氧化物分解的酶类, 它可将 H₂O₂ 还原为 H₂O。SOD 的主要作用是催化超氧阴离子(O₂⁻) 自由基的歧化反应。这两种酶的共同作用是清除动物体内的自由基, 保护细胞免受自由基的毒性损伤。正常情况下, 动物机体自由基的产生、利用和清除之间处于动态平衡状态。高温环境降低了机体 GSH-Px、SOD 的活性, 导致体内自由基的产生、利用和清除的平衡被打破^[10], 这样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 O₂⁻ 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^[11~13]。同时 O₂⁻、H₂O₂ 还能使还原型谷胱甘肽(GSH) 氧化成氧化型谷胱甘肽(GSSG), 反

过来又抑制 GSH-Px 的活性, 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^[7]。本试验在正常日粮水平上较大幅度地增加 Se 水平, 通过 33 °C 502 h 测定可知, 家禽全血淋巴细胞百分率, T、B 淋巴细胞转化率等免疫指标均得到显著改善, ND、BD 抗体滴度的下降得到明显缓解。其可能机制主要是因为日粮补 Se 减少了机体因高温环境抑制 GSH-Px、SOD 活性而导致的代谢负效应, 使家禽免疫力下降得以缓解。

众所周知, 在机体免疫应答过程中, T 淋巴细胞主要参与细胞免疫, 而 B 淋巴细胞主要参与体液免疫, 血清抗体效价是反应体液免疫的主要指标。本试验分析了蛋鸡在 33 °C 高温环境下 166, 334, 502, 670 h 全血淋巴细胞百分率, T、B 淋巴细胞转化率, ND、BD 抗体滴度 5 个免疫指标, 结果表明, 33 °C 高温环境下, 蛋鸡经 334 h, 即使日粮 Se 水平由 0.10 增至 0.30 mg/kg, 也未见上述 5 项免疫指标有明显改善。说明在此温度段机体可动用体贮 Se 以弥补代

谢之不足,表现为机体免疫力指标下降与日粮 Se 水平不呈线性关系。那么,此温段机体免疫力下降的致因,可能与机体整体内分泌代谢失调有关,即高温引起动物内源糖皮质激素增加,进而整合到淋巴组织胞浆和胞核中而产生细胞毒性作用^[14,15],同时又可与胞浆的特异受体结合而形成激素受体复合体进入胞核而改变特异酶的活性,从而抑制自然杀伤细胞

活力,抑制抗体、淋巴细胞激活因子和 T 细胞生产因子的产生^[9,16]。在 33℃ 高温环境下,蛋鸡经过 502 h,日粮 Se 水平由 0.1 mg/kg 增至 0.20~0.30 mg/kg,上述 5 项免疫指标则得到明显改善,说明在此温度此期内,日粮 Se 缺乏已成为影响家禽免疫力的重要因素之一。

[参考文献]

- [1] Blalock A. molecular basis for bidirectional communication between the immune and neuroendocrine systems[J]. *Physiol Rev*, 1989, 69: 1-33
- [2] 刘会君. N-79lasota 系疫苗对雏鸡的免疫试验[J]. *中国兽医杂志*, 1989, 15(7): 22-29
- [3] Blecha. Immunomodulation in domestic food animals[M]. California: Academic Press, International Nutrition Committee, 1990. 283-299
- [4] Kinnula V L, V rapo J D, Raivio K O. Generation and disposal of reactive oxygen metabolites in Lung[J]. *Lab Invest*, 1995, 73(1): 3-9
- [5] 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
- [6] Lassia O, Eskola J. A micromethod for simulation of chicken Lymphocytes in vitro using wholeblood[J]. *Clin Exp Immunol*, 1976, 26(4): 641-646
- [7] 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[J]. *卫生研究*, 1987, 16(4): 29-33
- [8] 唐兆新, 李培类, 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
- [9] 高玉鹏, 郭久荣, 刘斌峰, 等. 热应激环境蛋鸡免疫力变化机理研究[J]. *西北农林科技大学(自然科学版)*, 2001, 29(4): 17-20
- [10] Beyer R E. The role of ascorbate in antioxidant protection of biomembranes: interaction with vitamin E and coenzyme[J]. *Biochem*, 1997, 26: 349-355
- [11] 本上译吉. 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
- [12] 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, 3: 267-268
- [13] Sato K, Akaike T. Hydroxyl radical production by H₂O₂ plus Cu, Zn-superoxide dismutase reflects the activity of free copper released from the oxidatively damaged enzyme[J]. *Biol Chem*, 1992, 3: 287
- [14] Siegel H S, Gorld N R. Corticosteroid binding to lymphocytes of various tissues in growth birds subjected to high temperature in young chickens[J]. *Proceedings of World Poultry Congress*, 1982, 14: 453-463
- [15] Munk A, Guyre P, Holbrook N. Physiological function of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions[J]. *Endocrinol Rev*, 1984, 5: 25-44
- [16] Khansari D N, Murgu A J, Farth R E. Effect of stress on the immune system[J]. *Immunol Today*, 1990, 11: 170-175

The effect of dietary selenium levels on the immune function of layers in chamber temperature

CHEN Shu-ming¹, ZHANG Zhou¹

(Yangling Vocational and Technical College, Yangling, Shanxi 712100, China)

Abstract: Two hundred 28-week old hens which via routine immune ND and BD were divided into five groups randomly, then they were laid up in man-made climate room. In five groups the dietary Se levels were 0.10 (control group), 0.15, 0.20, 0.25 and 0.30 mg/kg respectively. The test was at 33℃ and within 28 days. Taking blood on an empty stomach and determining relevant index of testing layers were at 33℃ 166 h, 33℃ 334 h, 33℃ 502 h and 33℃ 670 h separately. The results showed that: the dietary Se level between 0.20 and 0.25 mg/kg at 33℃ 502 h, the percentage of blood lymphocyte, the changeable rate of T and B lymphocyte as well as ND and BD antibody titer were all significantly higher than the similar index of 0.10 mg/kg ($P < 0.05$) or ($P < 0.01$). As the level of dietary Se was 0.30 mg/kg, the degree of improving immune index of blood was different. It showed that the level of dietary Se between 0.20 and 0.25 mg/kg could obviously improve the immune function of layers at high temperature for a long time.

Key words: heat stress; dietary Se levels; layers; immunity