

高热应激模型下CLA对蛋鸡免疫功能的影响

II. 细胞因子、激素水平、抗氧化能力的变化*

高云英¹, 李浩波¹, 姜艳芬¹, 雷进民², 潘亚峰³, 黄建文¹, 马秋明¹

(1 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;

2 洛川县 兽医卫生监督检验所, 陕西 洛川 727400;

3 印台区 畜牧兽医站, 陕西 铜川 727000)

[摘要] 选用25周龄的海兰(褐)蛋鸡120只, 随机等分为试验、对照2组, 分置于2个人工气候室内二层阶梯式单笼饲养, 设定热应激模型为22 5 d(预试期)→30 5 d→32 5 d→35 5 d→22 5 d(恢复期), 试验组为基础日粮+2 g/kg 共轭亚油酸(CLA), 对照组为基础日粮, 进行为期25 d的CLA对高热应激蛋鸡细胞因子、激素水平和抗氧化能力的影响试验。结果表明, 在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复)时, 试验组与CK组相比, 其可明显抑制血清L-1 β L-6 TNF- α 皮质醇、前列腺素E₂和MDA的分泌($P < 0.01$), 促进血清甲状腺素T₃, T₄的合成, 增强机体总抗氧化能力($P < 0.01$), 从而减缓因高温环境导致的蛋鸡免疫水平下降, 降低了蛋鸡的热应激负效应。

[关键词] 共轭亚油酸; 蛋鸡; 热应激; 细胞因子; 激素水平; 抗氧化能力

[中图分类号] S831.4⁺3

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2006)10-0001-05

高密度的饲养方式所伴随的应激反应, 对现代家禽高效生产造成了许多负面影响。特别是在热应激环境下, 家禽的营养往往处于临界缺乏状态, 甚至营养不良, 继而导致家禽免疫功能下降。这种热应激负效应的发生, 可能是体内的炎性细胞因子L-1 β L-6和TNF- α 所致^[1]; 也可能是由于动物体内源糖皮质激素分泌增加而使其淋巴细胞组织中糖、蛋白等代谢受到抑制, 造成淋巴细胞增殖障碍和淋巴组织退化引起的^[2-3]; 另外, 这种热应激环境还能加速鸡体内不饱和脂肪酸共价键上发生的一系列反应而产生过多的自由基^[4]。

许多营养因素都能影响动物的免疫功能^[5-7], 共轭亚油酸(Conjugated linoleic acid, CLA)是一类天然的、具有生理活性的、含有共轭双键的亚油酸同分异构体混合物, 大量动物模型研究^[8-10]证实, 其具有明显降低免疫刺激诱导的降解效应、增强机体免疫能力和减轻应激反应等生物学功能, 但迄今尚未见其能否缓解或抑制热应激对家禽免疫功能影响的报道。

本试验以海兰蛋鸡为研究对象, 用人工气候室

建立高温应激模型, 研究CLA对高温环境下蛋鸡免疫力的影响, 在完成其对细胞免疫和体液免疫指标变化测定的基础上^[11], 拟进一步进行其对细胞因子、激素水平、抗氧化能力影响试验, 旨在探索降低蛋鸡生产热应激负效应的有效途径。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验动物与分组 选健康、体重符合品种要求的25周龄海兰(褐)蛋鸡120只, 随机等分为试验、对照2个组, 组间体重和生产性能无显著差异($P > 0.05$), 分别置于2个人工气候室二层阶梯式单笼饲养, 每组设3个重复, 每重复20只鸡。

1.1.2 人工气候室 自控式人工气候室由并列2室组成, 单室规格为3.7 m × 2.6 m × 1.8 m, 分别由自动控温、控光和自动换气系统构成自控装置, 具有良好的保温、密闭性和均匀分布的自动控制光、温、湿和换气的功能。

经测定, 室温20~41 时最大偏差为±0.6, 试验鸡的放置空间最大偏差±0.4, 相对湿度

* [收稿日期] 2006-03-15

[基金项目] 陕西省科技攻关项目(2004K02-G3-05)

[作者简介] 高云英(1954-), 女, 陕西韩城人, 副教授, 硕士生导师, 主要从事动物疫病防控研究。E-mail: gayuyi16@tom.com

[通讯作者] 李浩波(1954-), 男, 陕西绥德人, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事饲料新资源开发利用研究。E-mail: lhp522@tom.com

最大偏差为±5.7%。热应激模型设定的温度段为22 5 d(预试期)→30 5 d→32 5 d→35 5 d→22 5 d(恢复期)。转段升温或降温均在早7:00开始,1 h 内达到设定的温度要求。

1.1.3 试验日粮 CLA 产品由青岛澳海生物科技有限公司提供,纯度为68.05%。试验用基础日粮组成比例及营养水平见表1。试验组日粮由基础日粮+2 g/kg CLA 组成,对照组饲基础日粮。

表1 试验用基础日粮组成
Table 1 Composition of basal diets

日粮组成 Ingredients	配比/(g·kg ⁻¹) Cooperate with the proportion	营养指标 Nutrition index	营养水平 Nutrient concentrations
玉米 Maize	620	代谢能/(MJ·kg ⁻¹) ME	11.63
大豆粕 Soybean meal	203	粗蛋白/(g·kg ⁻¹) CP	167
棉籽粕 Cotton seed meal	30	钙/(g·kg ⁻¹) Ca	36.2
菜籽粕 Rape seed meal	46	有效磷/(g·kg ⁻¹) AP	4.7
磷酸氢钙 Dicalcium phosphate	18	蛋氨酸/(g·kg ⁻¹) Met	4.1
石粉 Limestone	40	赖氨酸/(g·kg ⁻¹) Lys	8.6
贝壳粉 Conch meal	33		
复合添加剂 Compound additive	10		

注:复合添加剂含多种维生素、微量元素和蛋氨酸、赖氨酸等,日粮设计符合NRC(1994)标准。
Note: The compound additive contains several vitamins, minerals, Met and Lys etc, the dietary designed accordance with NRC(1994).

1.2 饲养管理

试鸡的饲养管理按照高产期蛋鸡的饲养管理程序 and 操作规定进行,即每日定时(早7:00,上午11:30,下午5:30)定量喂料3次。自由采食,自动供水。每日早7:00~8:00 清粪打扫卫生1次,每5 d 舍内用消毒剂消毒1次。每日收集鸡蛋,观察鸡群生活状态2次,及时做好生产、鸡群状况和采料情况等的记录。进行ND, BD 常规免疫(120 日龄ND-I 肌注;130 日龄 BD 饮水;140 日龄ND+ BD 灭活苗注射)。经5 d 预试期后,进入20 d 正试期。

1.3 方法

1.3.1 血样采集 每组饲养空间均匀取21只鸡进行采血,共采5次。血样采集分别在每个温度段升温前1 h 时(早6:00,空腹)进行,每只鸡翅下静脉采血样5 mL,采血后将每份血样等分为2份,按常规作凝血和抗凝血处理并保存备用。

1.3.2 测定项目和方法 血清白细胞介素L-1β 采用鸡的ELISA 试剂盒(Biosource International Inc,美国)测定;肿瘤坏死因子α(TNF-α)、血清白细胞介素L-6 用鸡的ELISA 试剂盒(R & R System, 美国)测定;皮质醇、甲状腺素T₃和T₄、前列腺素E₂(PGE₂)均采用放射免疫分析方法(RIA)测定,试剂盒购自中国原子能科学研究院,测定仪器为FT609型γ 计数器;机体总抗氧化能力(T-AOC)、丙二醛(MDA)按照南京建成生物工程研究所提供的专用试剂盒及操作办法进行。

1.4 数据统计分析

所测得的数据均采用SAS(Ver. 6.12)软件进行

数值处理和比较分析。试验数据以“平均数值±标准差”表示,最小变异二乘法检验各组平均数间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 高热环境下CLA 对蛋鸡血清炎性细胞因子含量的影响

从表2 可以看出,对照组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复)时,与22 119 h(预试)对照组相比,L-1β 分别提高了47.36%, 79.36%, 191.51%和29.01%;L-6 分别提高了132.83%, 172.98%, 299.24%和104.55%;TNF-α 分别提高了129.89%, 216.58%, 264.77%和57.82%。表明在较长高温应激环境下,蛋鸡血清炎性细胞因子L-1β L-6, TNF-α 含量均有大幅度提高,而且随着温度的进一步升高,其含量呈成倍增加的趋势。而试验组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时,与同温度段对照组相比,L-1β L-6 和 TNF-α 分别下降了18.13%, 21.10%, 16.44%, 26.67%; 33.18%, 27.66%, 22.04%, 40.49%; 16.18%, 25.26%, 15.54%, 40.07%。差异均达极显著水平(P<0.01)。

该结果表明,添加CLA 日粮,不仅对高温环境下蛋鸡的血清炎性细胞因子含量升高有极显著抑制作用,而且对解除热应激后蛋鸡的血清炎性细胞因子含量的回降速度亦有明显的促进作用。

表2 CLA 对热应激蛋鸡血清炎症细胞因子含量的影响

Table 2 Effects of CLA on content of serum inflammation gem cell factor of the hyperpyrexia layer

采样条件/ (/h) Sampling condition	有效血样数/份 Effective serum sample	L-1β/(pg·mL ⁻¹)		L-6/(pg·mL ⁻¹)		TNF-α/(pg·mL ⁻¹)	
		试验组 Experiment	对照组 CK	试验组 Experiment	对照组 CK	试验组 Experiment	对照组 CK
22/119	19	86 4±1 3 a	87 2±2 5 a	74 4±4 3 b	79 2±6 5 b	113 2±5 2 a	116 4±6 1 a
30/119	21	105 2±10 5 A	128 5±9 8 B	123 2±5 02 A	184 4±12 5 B	224 2±15 6 A	267 5±32 4 B
32/119	18	123 4±12 1 A	156 4±11 6 B	156 4±15 8 A	216 2±15 4 B	275 4±25 6 A	368 5±36 5 B
35/119	20	212 4±16 4 A	254 2±16 3 B	246 5±12 5 A	316 2±36 7 B	358 6±68 A	424 6±47 7 B
22/119*	21	82 5±8 7 A	112 5±11 9 B	96 4±15 8 A	162±24 5 B	128 4±26 4 A	183 7±22 76 B

注: 表中同一行数据后标注不同大写字母者表示差异极显著($P < 0.01$), 标相同小写字母者表示差异不显著($P > 0.05$); . 预试期; *. 恢复期. 下表同
Note: Data after the same line in this table with letters A and B for the same target indicate the difference is remarkable significance ($P < 0.01$); letters a and b indicate the difference is not remarkable significance ($P > 0.05$); is the pre-test period, * is the recovery period, the others (including the table 3- 5) is the same of this table

2 2 高热环境下CLA 对蛋鸡血清PGE₂ 皮质醇水平的影响

由表3 可知, 对照组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时, 与22 119 h(预试期)对照组相比, PGE₂ 皮质醇水平分别增加70 87%, 111 78%, 143 78%, 50 42%和97 93%, 146 21%, 173 10%, 28 28%, 表明高热环境可显著

促进PGE₂ 和皮质醇的分泌; 试验组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时与同温度段CK 组比, 血清PGE₂ 皮质醇水平分别降低22 80%, 28 41%, 21 50%, 22 23%和29 97%, 19 62%, 23 74%, 15 59%, 且均达到极显著($P < 0.01$)水平。说明添加CLA 日粮可显著降低由热应激导致的蛋鸡血清PGE₂ 和皮质醇水平的增加。

表3 CLA 对热应激蛋鸡血清PGE₂ 皮质醇水平的影响

Table 3 Effects of CLA on serum PGE₂ and cortisol of the hyperpyrexia layer

采样条件/(/h) Sampling condition	有效血样数/份 Effective serum sample	PGE ₂ /(pg·mL ⁻¹)		皮质醇/(ng·mL ⁻¹) Cortisol	
		试验组 Experiment	对照组 CK	试验组 Experiment	对照组 CK
22/119	19	20 22±1 54 a	21 56±2 01 a	1 42±0 38 a	1 45±0 46 a
30/119	21	28 44±2 54 A	36 84±3 16 B	2 01±0 59 A	2 87±0 16 B
32/119	18	32 69±3 52 A	45 66±3 92 B	2 87±0 76 A	3 57±0 22 B
35/119	20	41 26±3 75 A	52 56±4 25 B	3 02±0 25 A	3 96±0 32 B
22/119*	21	25 22±3 66 A	32 43±4 35 B	1 57±0 13 A	1 86±0 15 B

2 3 高热环境下CLA 对蛋鸡血清甲状腺素T₃, T₄含量的影响

由表4 可知, 对照组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时, 与22 119 h(预试期)对照组相比, 血清甲状腺素T₃, T₄ 水平分别下降28 21%, 44 87%, 46 15%, 5 13%和6 34%, 25 18%, 30 99%, 7 39%, 表明高热环境可明

显抑制T₃, T₄ 的分泌; 试验组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时与同温度段CK 组比, 血清T₃, T₄ 水平分别提高了19 64%, 34 88%, 23 81%, 1 35%和0 19%, 14 59%, 18 62%, 1 90%, 表明添加CLA 日粮能极显著($P < 0.01$)抑制高温应激导致的蛋鸡血清甲状腺素T₃, T₄ 水平的下降。

表4 CLA 对热应激蛋鸡血清T₃, T₄ 含量的影响

Table 4 Effects of CLA on serum T₃ and T₄ of the hyperpyrexia layer

采样条件/(/h) Sampling condition	有效血样数/份 Effective serum sample	T ₃ /(nmol·L ⁻¹)		T ₄ /(nmol·L ⁻¹)	
		试验组 Experiment	对照组 CK	试验组 Experiment	对照组 CK
22/119	19	0 76±0 23 a	0 78±0 15 a	5 57±0 87 a	5 68±0 76 a
30/119	21	0 67±0 19 A	0 56±0 21 B	5 33±0 76 a	5 32±0 86 a
32/119	18	0 58±0 21 A	0 43±0 17 B	4 87±0 29 A	4 25±0 94 B
35/119	20	0 52±0 17 A	0 42±0 19 B	4 65±0 24 A	3 92±0 86 B
22/119*	21	0 75±0 20 a	0 74±0 11 a	5 36±1 27 a	5 26±1 22 a

2.4 高热环境下CLA对蛋鸡血清T-AOC,MDA水平的影响

由表5可知,对照组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时,与22 119 h(预试期)对照组相比,血清T-AOC含量分别下降33.26%, 39.68%, 53.54%和18.90%,血清MDA水平分别上升43.64%, 69.09%, 77.09%和

14.55%;试验组在30 119 h, 32 119 h, 35 119 h, 22 119 h(恢复期)时与同温度段CK组相比,蛋鸡血清中T-AOC含量分别升高35.35%, 22.49%, 38.51%和9.96%,血清MDA水平分别下降20.25%, 21.08%, 20.12%和7.30%,表明CLA对高温应激蛋鸡血清T-AOC水平下降和MDA水平上升的速度有明显的抑制作用。

表5 CLA对热应激蛋鸡血清T-AOC,MDA水平的影响

Table 5 Effects of CLA on serum T-AOC and MDA of the hyperpyrexia layer

采样条件/(h)	有效血样数/份	T-AOC/(U·mL ⁻¹)		MDA/(nmol·mL ⁻¹)	
		试验组 Experiment	对照组 CK	试验组 Experiment	对照组 CK
22/119	19	14.02±2.56 a	13.86±3.24 a	2.84±0.17 a	2.75±0.16 a
30/119	21	12.52±1.69 A	9.25±2.65 B	3.15±0.24 A	3.95±0.62 B
32/119	18	10.24±2.54 A	8.36±3.12 B	3.67±0.36 A	4.65±0.87 B
35/119	20	8.92±1.53 A	6.44±2.26 B	3.89±0.62 A	4.87±0.56 B
22/119*	21	12.36±2.22 a	11.24±1.65 b	2.92±0.54 a	3.15±0.24 b

3 讨论

炎症细胞因子L-1 β 、L-6和TNF- α 是由活化的巨噬细胞分泌产生的活性物质,这些细胞因子会激活下丘脑-垂体-肾上腺轴,调节炎症反应以及应激激素等的释放^[12]。Webel等^[13]的研究表明,应激可使仔猪血浆L-6和TNF- α 含量显著提高。Yuy-correll等^[14]研究发现,CLA可降低小白鼠巨噬细胞产生TNF- α 的含量。Johnson等^[15]研究认为,应激引起动物代谢及内分泌异常,最终导致其生产性能和免疫力降低,均是由L-1 β 、L-6和TNF- α 等炎症细胞因子的阻止作用引起的。赖长华等^[16]研究发现,CLA可显著降低免疫应激条件下猪血浆L-1 β 、L-6和TNF- α 的水平。本试验结果表明,在较长时间高热应激环境下,鸡血清L-1 β 、L-6和TNF- α 水平显著升高,对其生产及免疫功能有较强的抑制效应。日粮添加CLA后,蛋鸡血清炎症细胞因子上升水平得到了极显著($P < 0.01$)抑制。这可能与CLA能调节巨噬细胞增殖及其活性,增强机体细胞免疫与体液免疫的功能有关^[17-18]。

PGE₂是一种很强的致炎物质和免疫抑制剂,可以增强辅助性T细胞(Th细胞)生成对免疫力具有抑制作用的细胞因子L-1 β 、L-6和TNF- α ,进而影响动物的免疫反应及其对疾病的抵抗能力^[19]。糖皮质激素被认为是重要的应激激素。应激引起动物中枢神经系统儿茶酚胺和兴奋性氨基酸的大量释放,二者通过海马或海马以外部位促使下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)功能亢进,皮质醇分泌过

多^[20],而皮质醇与动物淋巴细胞数量呈线性负相关^[21]。本试验表明,CLA不仅可明显抑制由于热应激导致的蛋鸡血清PGE₂和皮质醇水平的升高,而且可显著加快热应激解除后PGE₂、皮质醇水平的回降速度。这与Hiraishi等^[22]报道的CLA在免疫应激条件下能抑制PGE₂、皮质醇生成的结果一致。CLA的这种功效也可能与CLA可促进甲状腺激素T₃、T₄的合成有关。

热应激能破坏动物体内正常的抗氧化体系的平衡,降低机体抗氧化能力,导致体内脂质过氧化反应异常。MDA则是自由基攻击生物膜而引发的脂质过氧化作用的最终分解产物,其含量的多少可反映组织细胞的脂质过氧化速率或强度。MDA含量异常高,则说明体内氧化反应活跃。过多的氧自由基积聚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^[23-24]。本试验结果表明,CLA具有在高温环境下提高家禽机体抗氧化能力的功效。这与赖长华等^[16]对猪的试验结果相同,其机制可能是CLA作为一个强氧化剂,通过结合或活化过氧化物酶体增生因子激活受体r(PPAR α),从而达到调节机体抗氧化体系代谢的功能^[25-26]。

4 结论

热应激条件下,在蛋鸡日粮中添加CLA,可明显抑制血清炎症细胞因子(L-1 β 、L-6和TNF- α)的分泌,显著降低血清PGE₂和皮质醇水平,并且加快热应激解除后的回降速度;能明显促进甲状腺素

T₃, T₄的合成与分泌,抑制血清T-AOC水平下降和禽机体抗氧化能力等功效,从而可以有效缓解热应激对蛋鸡产生的负效应。

[参考文献]

- [1] Cook M E, Miller C C, Park Y, et al. Immune modulation by altered nutrient metabolism: nutritional control of immune-induced growth depression[J]. Poultry Sci, 1993, 72: 1301-1305
- [2] Lillebo J H S, Kaspers B, Jenkins M C, et al. Avian interferon and interleukin-2 A macrophages as result of tumbling stress[J]. American Journal of Pathology, 1992, 78: 57-62
- [3] Gillis S, Grabtree G R, Smith K A. Glucocorticoid-induced inhibition of cell growth factor production: the effect of nitro-induced lymphocyte proliferation [J]. Journal of Immunology, 1979, 123: 1624-1631
- [4] Cantwell H, Devery R. The effect of conjugated linoleic acid anti-oxidant enzyme defense system in rat hepatocytes[J]. Lipids, 1999, 34(8): 833-839
- [5] Fritsche K L, Nancy A, Cassity. Dietary n-3 fatty acids reduce antibody-dependent cell cytotoxicity and alter eicosanoid release by chicken immune cells[J]. Poultry Sci 1992, 71: 1646-1657.
- [6] Fernandes G, Venkatraman J T. Role of omega-3 fatty acids in health and disease[J]. Nutr Res, 1993, 13: 19-54
- [7] Calder P C. Immunomodulatory and anti-inflammatory effects of n-3 fatty acids[J]. Proc Nutr Society, 1996, 55: 737-774
- [8] 伍喜林, 杨 凤. 共轭亚油酸(CLA)对动物营养效应研究进展[J]. 动物营养学报, 2003, 15(1): 7-10
- [9] 张锦江, 葛长荣, 杨林楠, 等. 共轭亚油酸在动物营养中的应用前景[J]. 动物科学与动物医学, 2003, 20(12): 46-48
- [10] Chamrusspollert M, Sell J L. Transfer of dietary conjugated linoleic acid to egg yolks of chickens[J]. Poultry Sci, 1999, 78: 1138-1150
- [11] 高云英, 李浩波, 姜艳芬, 等. 高热应激模型下CLA对蛋鸡免疫功能的影响 I. 细胞免疫和体液免疫指标的变化[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(9): 21-26
- [12] Gaetke L M, McClain C J, Talwalkar R T, et al. Effects of endotoxin on zinc metabolism in human volunteers[J]. Am J Physiol, 1997, 272(35): 52-56
- [13] Webel D M, Finck B N, Baker D H, et al. Time course of increased plasma cytokines, cortisol and urea nitrogen in pigs following intraperitoneal injection of lipopolysaccharide[J]. J Anim Sci, 1997, 75: 1514-1520
- [14] Yuycorrell P H, vanden H J P. Conjugated linoleic acid decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR gamma-dependent mechanism [J]. Biochim Biophys Acta, 2002, 1581(3): 89-99
- [15] Johnson R W. Inhibition of growth by pro-inflammation cytokines: an integrated view [J]. J Anim Sci, 1997, 75: 1244-1255
- [16] 赖长华, 尹靖东, 李德发, 等. 共轭亚油酸对免疫应激仔猪生长抑制的缓解作用[J]. 中国畜牧杂志, 2005, 41(3): 6-9
- [17] Wong M W, Chew B P, Wong T S, et al. Effects of dietary conjugated linoleic acid on lymphocyte function and growth of mammary tumors in mice[J]. Anticancer Res, 1997, 17: 987-994
- [18] Masao Yamasaki, Hitomi Chujo, Akira Hirao, et al. Immunoglobulin and cytokine production from spleen lymphocytes is modulated in C57BL/6J mice by dietary Cis-9, Trans-11 and Trans-10, Cis-12 conjugated linoleic acid[J]. The Journal of Nutrition, 2003, 133(3): 784-789
- [19] Likoff R O, Guptill D R, Lawrence L M, et al. Vitamin E and aspirin depress prostaglandins in protection of chickens against *Escherichia coli* protection[J]. Am J Clin Nutr, 1981, 34: 245-251
- [20] Sijben J W C, Groot H De, Nieuwland M G, et al. Dietary linoleic acid divergently affects immune responsiveness of growing layer hens [J]. Poultry Sci, 2000, 79: 1106-1115
- [21] Gross W B. Effect of a range of social stress severity on *Escherichia coli* challenge infection[J]. Avian Vet Res, 1984, 45: 2074-2078
- [22] Hiraishi H, Tarano A. Role of cellular superoxide dismutase against reactive oxygen metabolite injury in cultured bovine aortic endothelial cells[J]. Biol Chem, 1993, 268: 267-268
- [23] Wu G, Flynn N E, Flynn S P, et al. Dietary protein or arginine deficiency impair constitutive and inducible nitric oxide synthesis by young rats[J]. J Nutr, 1999, 129: 1347-1357
- [24] Ricote M, Li A C, Willson T M, et al. The peroxisome proliferator activated receptor gamma is a negative regulator of macrophage activation [J]. Nature [London], 1998, 391: 79-82
- [25] Su C G, Wen X, Bailey S T, et al. A novel therapy for colitis utilizing PPAR-gamma ligands to inhibit inflammatory response[J]. J Clin Invest, 1999, 104: 383-389
- [26] Lai C H, Yin J D, Li D F, et al. Conjugated linoleic acid attenuates the production and gene expression of proinflammatory cytokines in weaned pigs challenged with lipopolysaccharide[J]. J Nutr, 2005, 135: 239-244

(下转第10页)

from mRNA secondary structure and codon usage: a hypothesis[J]. *J Theor Biol*, 1993, 162(2): 243-252

- [26] Thanaraj T A, Argos P. Protein secondary structural types are differentially coded on messenger RNA [J]. *Protein Science*, 1996, 5(10): 1973-1983
- [27] 李晓琴, 罗辽复, 刘次全. 同义密码子的反常蛋白质二级结构偏好性[J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2003, 19(4): 441-444

Expression of grass carp *MyoD* in *Escherichia coli*

WANG Li-xin^{1,2}, BAI Jun-jie¹, YE Xin¹, LUO Jian-ren¹, CHEN Hong^{2,3}, JIAN Qing¹, LAO Hai-hua¹

(1 Pearl River Fisheries Research Institute, Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fish Breeding & Cultivation,

Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, Guangdong 510380, China;

2 Fishery science department of Animal Science and Technology College, Northwest A & F University,

Shaanxi Key Laboratory of Agricultural Molecular Biology, Yangling, Shaanxi 712100, China;

3 Xuzhou Normal University, Institute of Bio-Cellular and Molecular, Xuzhou, Jiangsu 221116, China)

Abstract: PCR was used to reconstruct the open reading frame of grass carp *MyoD*, and the expression vector pBV 220-*MyoD* was constructed to research the expression of *MyoD* in *E. coli* on this basis. The results showed that: The pBV 220-*MyoD* was constructed successfully, and there was a proper band at the 34 ku, after the expression vector was induced at 42 °C, but the level of expression was not so high, only 10.8% of the total proteins of *Escherichia coli*.

Key words: grass carp; *MyoD* gene; expression in *E. coli*

(上接第5页)

Abstract ID: 1671-9387(2006)10-0001-CA

Effects of CLA on layer immunity function under heat stress models

II. change of cell factor, hormone level, anti-oxidized ability

GAO Yun-ying¹, LI Hao-bo¹, JIANG Yan-fen¹, LEI Jin-min²,

PAN Ya-feng³, HUANG Jian-wen¹, MA Qiu-ming¹

(1 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Luochuan County Veterinarian Sanitary Supervision Examination Center, Luochuan, Shaanxi 727400, China;

3 Yintai Area Animal Husbandry and Veterinary Station, Tongchuan, Shaanxi 727000, China)

Abstract: 120 25-week old Hailan (brown) layers were divided into two groups according to factorial design, the birds were put into two artificial climate rooms and caged with two steps and ladders type respectively, and the hot stress model was established for 22 °C for 5 d → 30 °C (pre-test) for 5 d → 32 °C for 5 d → 35 °C for 5 d → 22 °C for 5 d (recovery). Experiment group were fed with basal diet added with 2 g/kg conjugate linoleic acid (CLA), and control group were fed with basis dietary. The test lasted for 25 d to study the effect of hot stress on cell factor, hormone level, anti-oxidized ability of the laying hen. The result indicated that, at 30 °C 119 h, 32 °C 119 h, 35 °C 119 h, 22 °C 119 h (restores), the hot stress suppressed the blood serum obviously $L-I\beta$, $L-6$, $TNF-\alpha$, the cortisol, prostaglandin E_2 and the MDA secretion ($P < 0.01$), promoted blood serum thyroxin T_3 , the T_4 secretion and strengthened anti-oxidized ability ($P < 0.01$), thus slowed down the decline of the layer immunity level resulted from the high temperature environment, and reduced the negative effects.

Key words: conjugate linoleic acid; layer; heat stress; cell factor; hormone level; anti-oxidized ability