



# 低温环境对民猪免疫应答的影响

彭福刚,孙金艳,李忠秋,王文涛,吴赛辉,汪 亮,刘 娣

(黑龙江省农业科学院 畜牧研究所,黑龙江 哈尔滨 150086)

**摘要:**为研究低温环境条件下免疫应答对民猪激素水平的影响,选择健康的仔猪(民猪及大白猪),达到 21 日龄时,接种猪瘟兔化弱毒疫苗,达到 48 日龄时,检测的猪瘟抗体,根据结果选择体重、抗体水平接近的仔猪 20 头,大白猪仔猪 20 头,随机分组,分别为低温环境两组(1 组、2 组)及适温环境两组(3 组、4 组),其中 1 组为 10 头民猪,2 组为 10 头大白猪,3 组为 10 头民猪,4 组为 10 头大白猪。试验期 14 d,以猪瘟疫苗接种作为免疫应答手段,用 ELISA 方法对血清中方法检测干扰素- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)、猪瘟抗体(CSF)含量进行测定。结果表明:2 组的 IFN- $\alpha$  含量在 14 d 时、IL-6 含量在 7 d 和 14 d 时、CSF 在 14 d 时显著低于其他 3 组( $P < 0.05$ )。说明低温环境对民猪免疫应答的影响程度低于大白猪,民猪的抗冷应激能力强于大白猪。

**关键词:**低温;民猪;猪瘟抗体;内分泌;免疫

作为一种致病因素的冷应激能够影响动物机体的免疫系统,能够降低分泌型免疫球蛋白 A(IgA),影响动物的细胞和粘膜免疫<sup>[1]</sup>。重度冷应激、急性冷应激会引起免疫抑制从而对机体免疫功能造成不利的影响,这个观点被以往的众多

研究结果所证明。以雏鸡为研究对象的研究结果显示,冷应激会影响淋巴细胞,使其总数呈现一直下降趋势,抑制细胞免疫反应<sup>[2]</sup>。

民猪具有较强的抵抗寒冷特性,故本研究以其为研究对象,大白猪作为对照,以猪瘟兔化弱毒疫苗接种为免疫应激手段,通过试验组和对照组分别在低温环境和适温环境下饲养,利用 ELISA 方法测定血清中利用 ELISA 方法检测干扰素- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)、猪瘟抗体(CSF)含量,通过与大白猪的比较分析,在免疫水平上验证民猪的抗冷应激特性,以便在猪抗冷应激育种工作中如何利用民猪提供理论基础。

收稿日期:2018-09-30

基金项目:黑龙江省农业科学院院级重点资助项目(2017 XQ15);现代农业(生猪)产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-35)。

第一作者简介:彭福刚(1974-),男,硕士,副研究员,从事猪动物营养研究。E-mail:pengfugang@163.com。

通讯作者:刘娣(1963-),女,博士,教授,从事猪遗传育种研究。E-mail:liudi1963@163.com。

## Study on the Effect of Urbanization on Greenhouse Gases in Animal Husbandry in Zunyi City

ZHANG Bao-cheng<sup>1,2</sup>, LI Xian-bi<sup>1</sup>, DING Kui-ting<sup>1</sup>, DENG Zhong-ju<sup>1</sup>, GONG Hong-fen<sup>1</sup>, HE Zhou<sup>1</sup>

(1. College of Agriculture & Life Science, Zunyi Normal University, Zunyi 563002, China; 2. Mountain Ecology Research Center, Zunyi 563002, China)

**Abstract:** Urbanization is an important stage of our country. After urbanization, there are more opportunities to enhance income. At the same time, increasing communication and cultural science knowledge among is popular. The increase in income and cultural knowledge affects the change in its consumption structure. The consumer market plays a vital role in production. The greenhouse gases produced in the livestock production are unified to different livestock and poultry structural indicators, which are beneficial to assess the environmental effects of animal husbandry. It will provide the basis for urban development and livestock production planning in the future. The results showed that the urbanization of Zunyi had developed rapidly, and the population had increased by 1.75 times in the past 16 years. During the study period, the output value of animal husbandry in Zunyi increased, but greenhouse gas emissions showed a trend of slowing down. As the urbanization of cultural health awareness increased, the composition of livestock consumption varies, and the emissions of aquaculture and greenhouse gases decrease with the increase of population. It indicates that urbanization has a reasonable trend for greenhouse gas emission in aquaculture industry.

**Keywords:** greenhouse gases; livestock and poultry; emissions; urban residents' income; environment

1 材料与方法

1.1 材料

试验健康仔猪(民猪和大白猪),来源为黑龙江省农业科学院畜牧研究所猪实验猪场。

猪 IFN- $\alpha$  ELISA 诊断试剂盒、猪 CSF ELISA 诊断试剂盒、猪 IL-6 ELISA 诊断试剂盒,从安迪生物科技(上海)有限公司购入;猪瘟兔化弱毒疫苗,由上海海利生物制品有限公司生产;封板膜及 96 孔定量板,从瑞士 Roche 公司购入。

EnSpire 2300 型酶标仪,从铂金埃尔默仪器有限公司购入。1-14K 型号低温离心机,从德国 SIGMA 公司购入。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 健康仔猪(民猪及大白猪),达到 21 日龄时,接种猪瘟兔化弱毒疫苗,达到 48 日龄时,检测的猪瘟抗体,根据结果选择体重、抗体水平接近的仔猪 20 头,大白猪仔猪 20 头,随机分成 4 组,设为低温组(2~7℃)两组,常温组(20~25℃)两组,第 1 组 10 头民猪,在低温(2~7℃)条件下饲养;第 2 组 10 头大白猪,在低温(2~7℃)条件下饲养;第 3 组 10 头民猪,在适温(20~25℃)条件下饲养;第 4 组 10 头大白猪,在适温(20~25℃)条件下饲养。试验仔猪在试验期内采食、饮水均自由,环境湿度控制在相对湿度 55%~70%。试验期 14 d。试验中的免疫应答反应利用猪瘟疫苗接种方式。

1.2.2 测定项目及方法 适温环境饲养 7 d 后,把 1 组、2 组仔猪(民猪及大白猪)转移到低温环境,低温环境饲养;3 组、4 组仔猪(民猪及大白猪)原栏饲养。24 h 后,按每头仔猪 2 头份接种猪瘟弱毒苗。接种前、接种第 7 天、接种第 14 天上午,仔猪空腹时前腔静脉采血,每头仔猪 10 mL。所采血液分别用离心机分离血清,转速 4 000 r·min<sup>-1</sup>,离心时间 10 min,分离的血清-20℃冰冻保存。测定血清中干扰素- $\alpha$ (IFN- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)、猪瘟抗体(CSF)含量(按照 ELISA 诊断试剂盒中说明书介绍的方法)。

1.2.3 数据分析 利用 Excel 2007 软件整理试验数据,之后运用 JMP 7.0.1 软件包中的模型拟合方差分析对试验数据进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 血清中 IFN- $\alpha$  含量的测定

由表 1 可知,接种前和 7 d 时各处理组 IFN- $\alpha$  含量差异不显著( $P>0.05$ );14 d 时,2 组含量显著低于其他处理组( $P<0.05$ ),其他各处理组间差异均不显著( $P>0.05$ )。

2.2 血清中 IL-6 含量的测定

由表 2 可知,IL-6 含量在接种前 1 组和 2 组差异不显著( $P>0.05$ ),3 组和 4 组差异不显著( $P>0.05$ ),低温两组高于适温两组,差异显著( $P<0.05$ );7 d 和 14 d 时,2 组 IL-6 含量显著( $P<0.05$ )低于其他 3 组。

表 1 血清中 IFN- $\alpha$  含量测定结果

Table 1 Determination result of IFN- $\alpha$  concentration in serum

时间 Time	IFN- $\alpha$ 含量/(pg·mL <sup>-1</sup> ) IFN- $\alpha$ concentration			
	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
接种前	47.23±7.34	46.66±5.16	45.22±4.18	43.61±5.79
7 d	54.96±7.57	51.49±4.73	55.64±5.79	55.08±5.52
14 d	53.31±6.91 a	40.35±3.64 b	53.81±4.87 a	56.79±6.21 a

同行不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ )。下同。

Different lowercase letters in same line indicate significant difference at 0.05 level. The same below.

表 2 血清中 IL-6 含量测定结果

Table 2 Determination result of IL-6 concentration in serum

时间 Time	IL-6 含量/(ng·mL <sup>-1</sup> ) IL-6 concentration			
	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
接种前	139.96±15.41 a	140.63±12.25 a	110.08±6.59 b	111.12±5.06 b
7 d	380.14±24.01 a	277.26±22.55 b	370.84±27.54 a	344.92±26.27 a
14 d	306.68±11.69 a	265.52±13.56 b	314.97±14.59 a	310.50±16.52 a

2.3 血清中 CSF 含量的测定

由表 3 可知,猪瘟疫疫苗接种前,因试验设计要求所选择的各处理组仔猪的血清中的猪瘟抗体含

量差异不显著( $P>0.05$ );14 d 时,2 组瘟抗体含量显著( $P<0.05$ )低于其他试验组,其他各处理组间差异均不显著( $P>0.05$ )。

表 3 组血清中 CSF 含量测定结果

Table 3 Determination result of CSF concentration in serum

时间 Time	CSF 含量/(pg·mL <sup>-1</sup> ) CSF concentration			
	1 组 Group 1	2 组 Group 2	3 组 Group 3	4 组 Group 4
接种前	0.294±0.01	0.296±0.01	0.297±0.02	0.298±0.01
14 d	1.368±0.04 a	1.191±0.07 b	1.471±0.08 a	1.447±0.07 a

3 结论与讨论

冷应激能够影响动物机体的免疫能力。在冷应激对小白鼠免疫系统影响的研究中,结果显示是长期持续的冷应激能降低小白鼠的免疫应激反应<sup>[3]</sup>。李士泽等<sup>[4]</sup>发现急性冷应激能够造成雏鸡血液中淋巴细胞明显减少。机体在长期冷应激的刺激下,会有多种免疫抑制因子生成,从而对机体的免疫水平起到抑制作用<sup>[5]</sup>。机体在免疫应激的作用下,营养物质从用于生长转为用于维持免疫反应,从而改机体代谢<sup>[6]</sup>。免疫器官在免疫应激的作用下能够发生形态学上的变化,形态学的变化又促进免疫抑制、使免疫应激更加强烈<sup>[7-8]</sup>。

3.1 猪接种猪瘟疫疫苗的不同环境温度条件对血清中 IFN-α 含量的影响

作为细胞因子中的一种,干扰素-α(interferon-α)的主要作用表现为在同种的细胞上,能影响免疫激活、NK 细胞的杀伤病毒感染细胞能力、抗肿瘤细胞以及抗病毒(抑制病毒增殖),增强动物机体免疫水平<sup>[9-10]</sup>。研究表明猪瘟疫化弱毒疫苗能够在猪的淋巴组织内复制,疫苗病毒一直存在直到免疫 17 d 后<sup>[11]</sup>,因为猪瘟疫化弱毒疫苗病毒对猪体在免疫 14 d 时依然存在影响,所以本试验期间各处理组的免疫应激一直存在,结果表现 IFN-α 含量变化趋势各处理组基本一致,为 7 d 时升高,然后下降。

各处理组血清中 IFN-α 含量在接种前和接种后 7 d 时,差异不显著( $P>0.05$ );14 d 时,2 组 IFN-α 含量比 1 组、3 组及 4 组低( $P<0.05$ ),1 组、3 组和 4 组没有差异,说明低温应激对免疫时大白猪 IFN-α 的分泌有影响而对民猪没有影响。相对于大白猪,民猪能够更好的适应低温环境。

3.2 猪接种猪瘟疫疫苗的不同环境温度条件对血清中 IL-6 含量的影响

作为细胞因子中的一种,IL-6 具有介导 Th2 免疫应答的作用,可产生于多种细胞,IL-6 能够通过对 T 细胞、B 细胞的刺激作用,进而促进 B 细胞分泌抗体<sup>[12-13]</sup>。

试验中,免疫前,1 组和 2 组之间血清中含量差异不显著( $P>0.05$ ),3 组和 4 组的 IL-6 含量同样差异不显著( $P>0.05$ ),但低温两组高于适温两组( $P<0.05$ );结果与陈萍在 2009 年的研究结论相似<sup>[14]</sup>,即低温应激具有刺激猪发生机体免疫反应的作用。

7 d 和 14 d 时,血清中 IL-6 含量各试验组均升高,2 组 IL-6 含量显著低于其他 3 组( $P<0.05$ ),说明低温应激对大白猪的免疫反应有影响。1 组在 7d,IL-6 含量高于 3 组和 4 组,但差异不显著( $P>0.05$ ),这可能是因为低温应激的持续作用的原因。14 d,1 组、3 组和 4 组 IL-6 含量基本一致。从结果中可以看出,民猪相对于大白猪对更适应低温环境。

3.3 猪接种猪瘟疫疫苗的不同环境温度条件对血清中 CSF 含量的影响

接种猪瘟疫疫苗后的免疫效果能够通过疫苗接种后的抗体水平高低直接体现,14 d 时,2 组比 4 组的 CSF 含量低( $P<0.05$ ),同时 2 组的 CSF 含量也比 1 组低( $P<0.05$ ),而 1 组、3 组及 4 组的 CSF 含量差异不显著( $P>0.05$ ),对于大白猪的免疫效果,受到低温环境的影响;而对于民猪低温环境对的猪瘟疫疫苗免疫效果没有影响。各处理组的 CSF 含量结果与各处理组的干扰素-α、白介素-6 变化结果相一致,可以推断可能是低温应激影响了免疫细胞因子的分泌而对抗体水平产生了

影响。1 组、3 组及 4 组的 CSF 含量差异均不显著( $P>0.05$ )也说明了低温环境对民猪的影响较小,民猪相对于大白猪对低温环境应激的影响具有更好的适应性。本课题在低温环境对猪血清中皮质醇(Cort)、胰岛素(INS)、甲状腺素( $T_4$ )、三碘甲状腺原氨( $T_3$ )含量的影响研究中,得到了相似结果,既民猪对低温环境的适应性优于大白猪<sup>[15]</sup>。

#### 参考文献:

- [1] Sun J R, Ma Y C, Xu Z H, et al. Changes of characteristics of preoptic neurons and NA metabolism in hypothalamus of ground squirrel indifferent seasons and hibernating phases[J]. Science in China (Series Q), 1998, 41 (5): 488-497.
- [2] 袁学军,牛静华,吴海燕.冷应激对伊褐红公雏鸡外周血淋巴细胞数目变化的影响[J].黑龙江八一农垦大学学报, 2002(1):61-63.
- [3] Mariusz C, Magdalena C, Ksiazek A, et al. Delayed effects of cold stress on immune response in laboratory mice[J]. Proceeding of the Royal Society B: Biological Sciences, 2002, 269(1499):1493-1497.
- [4] 李士泽,袁学军,杨玉英.冷暴露对健康雏鸡某些血液生化指标及胃肠道黏充血的影响[J].中国应用生理学杂志, 2002,18(2):148-158.
- [5] 吕彩霞,王永杰,李瑞刚.冷应激反应的神经机制及对免疫

系统的影响[J].兽医导刊,2008(3):27.

- [6] Klasing K C, Barnes D M. Decreased aminoacid requirements of growing chicks due to immunologic stress [J]. The Journal of Nutrition, 1988, 118(9):1158-1164.
- [7] Johnson R W. Inhibition of growth by pro-inflammatory cytokines: An integrated view[J]. Journal of Animal Science, 1997, 75(5):1244-1255.
- [8] 贾震虎.免疫应激鸡免疫器官病理组织学研究[J].畜禽业, 2005(1):50-61.
- [9] Meager A. Biological assays for interferons[J]. Journal of Immunological Methods, 2002, 261(1/2):21-36.
- [10] Johnson H M, Bazer F W, Szent E B, et al. How interferons fight disease[J]. Scientific American, 1994, 270 (5): 68-75.
- [11] 谢庆阁,翟中和.畜禽重大疫病免疫防控研究进展[M].北京:中国农业科技出版社,1996:64-92.
- [12] Taga T, Kishimoto T. Gp130 and the interleukin-6 family of cytokines [J]. Annual Review of Immunology, 2003, 15(21):797-819.
- [13] Dienz O, Rincon M. The effect of IL-6 on CD4 T cell responses[J]. Clinical Immunology, 2009, 130(1):27-33.
- [14] 陈萍,杨焕民.急性冷暴露对仔猪血浆中 IL-2、IL-6、ACTH 和皮质醇水平的影响[J].应用与环境生物学报, 2009, 15(1):91-94.
- [15] 彭福刚,孙金艳,李忠秋.低温环境下免疫应答对民猪血清激素水平的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2018(10):50-52.

## Effect of Immunity in Min Pigs Under Low Temperature Environment

PENG Fu-gang, SUN Jin-yan, LI Zhong-qiu, WANG Wen-tao, WU Sai-hui, WANG Liang, LIU Di

(Animal Husbandry Research Institute of Heilongjiang Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150086, China)

**Abstract:** In order to study the effect of immune response on the level of Min pig hormone in low temperature environment, clinical healthy Min piglets and Large White piglets were selected, were vaccinated with the swine plague vaccine at 21 days of age, blood samples were collected for detection of swine plague antibody levels at 48 days of age, 20 Min piglets and 20 White piglets with similar antibody levels and similar body weight were used and were divided into four groups randomly: low and normal group, normal temperature group in the two groups, the first group of 10 Min pigs were raised at low temperature, the second group of 10 White pigs were feeding at low temperature, the third group of 10 Min pigs were raising in normal temperature, the fourth group of 10 white pigs were feeding in normal temperature. To declare ELISA result, Interferon- $\alpha$  (IFN- $\alpha$ ), Interleukin-6 (IL-6) and Swine plague antibody (CSF) were determined. The results showed that 14 days of immunization, IFN- $\alpha$  concentrations of 2 group reduced than the other three groups respectively ( $P<0.05$ ). IL-6 concentration significantly reduced in 7 days and 14 days immunization, CSF concentrations of 2 group was significantly reduced than the other three groups ( $P<0.05$ ). The results showed that the immune response in low temperature environment had less influence on min pigs than the large white pigs, and the min pigs were more resistant to cold stress than the large white pigs.

**Keywords:** low temperature; Min pigs; swine fever antibody; internal secretion; immune