

不同水平乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能、小肠形态学和机体抗病能力的影响

安清聪[#], 徐娜娜[#], 张春勇, 潘洪彬, 李美荃, 陈克嶙, 郭荣富*

(云南农业大学动物科学技术学院, 云南省动物营养与饲料重点实验室, 昆明 650201)

摘要: 本试验旨在研究不同水平乳铁蛋白(LF)对滇撒配套系断奶仔猪生产性能、肠道保护和机体抗病能力的影响。选用日龄为(28±2)d, 平均体重为(6.56±0.75)kg的健康滇撒配套系断奶仔猪240头, 随机分为5个处理, 每个处理48头, 6个重复, 每个重复8头猪, 分别饲喂基础饲料(对照组), 基础饲料+125 mg·kg⁻¹乳铁蛋白, 基础饲料+250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白, 基础饲料+500 mg·kg⁻¹乳铁蛋白和抗生素组(50 mg·kg⁻¹土霉素), 试验期42 d。试验结束时, 每个处理中每个重复随机选4头, 每个处理共24头仔猪, 经前腔静脉采血, 分离血清, 检测血清免疫球蛋白G(IgG)、一氧化氮(NO)含量, 乳酸脱氢酶(LDH)、一氧化氮合酶(NOS)和溶菌酶(LSZ)活性及总铁结合力(TIBC)。每个处理中每个重复屠宰1头仔猪, 共6头, 收集心、肝、脾以检测铁调素(Hepcidin)、 β 防御素1(β BD-1)、 β 防御素2(β BD-2)和 β 防御素3(β BD-3)基因mRNA相对表达量。结果表明: 1) 250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组断奶仔猪的末重、日增重、日采食量显著高于对照组和抗生素组($P < 0.05$), 料重比和腹泻率则显著低于对照组和抗生素组($P < 0.05$); 2) 250 mg·kg⁻¹组的IgG和NO显著高于对照组($P < 0.05$), TIBC极显著高于抗生素组和对照组($P < 0.01$); 250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组十二指肠V/C, 空肠绒毛长度、V/C, 回肠绒毛长度、V/C极显著高于抗生素组和对照组($P < 0.01$), 250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组回肠隐窝深度极显著低于对照组($P < 0.01$); 腹泻率、IgG、NO、LSZ、十二指肠隐窝深度、十二指肠绒毛长度/隐窝深度、空肠绒毛长度、空肠隐窝深度和空肠绒毛长度/隐窝深度随乳铁蛋白添加水平呈二次曲线变化($P < 0.05$); 3) 250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组极显著高于对照组和抗生素组断奶仔猪心、肝中的Hepcidin mRNA的表达量($P < 0.01$), 125 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组显著高于对照组和抗生素组断奶仔猪肝中Hepcidin mRNA的表达量($P < 0.05$), 肝Hepcidin mRNA表达量极显著的高于心 and 脾($P < 0.01$); 250 mg·kg⁻¹乳铁蛋白组心、脾的 β BD-1 mRNA的表达量极显著高于其他组($P < 0.01$); 肝的 β BD-2 mRNA表达量显著或极显著的高于心或脾($P < 0.05$, $P < 0.01$); 添加量为250 mg·kg⁻¹时, 心和脾的 β BD-3 mRNA的表达量极显著高于其他组($P < 0.01$)。结果提示, 饲料中添加乳铁蛋白可明显改善滇撒配套系仔猪的生产性能; 改善血清免疫学参数和小肠形态学; 能够通过诱导滇撒配套系仔猪的心、肝和脾Hepcidin和 β BD-1, β BD-2, β BD-3基因表达上调方式增强仔猪抗病能力; 在本试验条件下, 综合生产性能、血清免疫学和小肠形态学参数二次曲线结果, 滇撒配套系仔猪日粮中乳铁蛋白的适宜添加量为250~300 mg·kg⁻¹。

关键词: 滇撒配套系仔猪; 乳铁蛋白; 免疫学参数; 小肠形态学; 铁调素; β 防御素

中图分类号: S828; S815.4

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2015)12-2206-12

The Effect of Different Levels of Lactoferrin on the Growth Performance, Small Intestinal Morphology and Body Resistance to Disease of Diansa Weaning Piglets

AN Qing-cong[#], XU Na-na[#], ZHANG Chun-yong, PAN Hong-bin,
LI Mei-quan, CHEN Ke-lin, GUO Rong-fu*

(Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed of Yunnan Province, College of Animal Science and Technology, Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

收稿日期: 2015-02-05

基金项目: 云南省重大科技专项(2012ZA018); 云南省现代农业生猪产业技术体系(云财教[2013]160号)

作者简介: 安清聪(1968-), 女, 甘肃靖远人, 博士, 副教授, 主要从事单胃动物营养与免疫分子基础研究, E-mail: naccynaccy@163.com; 徐娜娜(1990-), 女, 山东安丘人, 硕士, 主要从事猪的营养与免疫研究, E-mail: 738908970@qq.com。二者并列第一作者

* 通信作者: 郭荣富, 博士, 教授, 博士生导师, E-mail: rongfug@163.com

Abstract: This experiment was conducted to investigate the effects of different levels of lactoferrin (LF) on growth performance, intestinal protection and the body resistance to disease of Diansa weaning piglets. Two hundred and forty healthy Diansa weaning piglets, (28 ± 2) days of age with (6.56 ± 0.75) kg of average body weight, were allocated randomly to 5 groups, 48 for each group, and each had 6 replicates with 8 piglets per replicate. They were fed with basal diet (control group), basal diet + $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF, basal diet + $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF, basal diet + $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF and antibiotics positive group ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ terramycin), respectively. The trial period lasted 42 d. At the end, 24 piglets, with 4 piglets in each replicate per each group, were selected, and the test piglets were collected blood from precava, then serum were separated. The IgG and NO content, LDH, NOS and LSZ activity and TIBC of serum were detected. Six piglets, 1 piglet in each replicate per each group, were slaughtered. The heart, liver and spleen were collected to detect Hepcidin and β defense 1 ($pBD-1$), β defense 2 ($pBD-2$) and β defense 3 ($pBD-3$) genes mRNA expression. The results showed that; 1) The final weight, ADG and ADFI of $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were significantly higher than those of control group and terramycin group ($P < 0.05$), feed conversion and diarrhea rate were significantly lower than those of control group and terramycin group ($P < 0.05$). 2) IgG levels, NO content of $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were significantly higher than those of control group ($P < 0.05$), TIBC of $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were extremely significantly higher than those of control group and terramycin group ($P < 0.01$). V/C of duodenum, villus height and V/C of jejunum, villus height and V/C of ileum in $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were extremely significantly higher than those in control group and terramycin group ($P < 0.01$), crypt depth of ileum in $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were extremely significantly lower than those in control group ($P < 0.01$). Results showed that diarrhea rate, IgG, NO, LSZ, crypt depth of duodenum, V/C of duodenum, villus height of jejunum, crypt depth of jejunum, V/C of jejunum increased with a quadratic curve by the LF adding levels ($P < 0.05$); 3) *Hepcidin* mRNA expression in heart and liver of piglets in $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were extremely significantly higher than those of control group and terramycin group ($P < 0.01$). *Hepcidin* mRNA expression in liver in $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were significantly higher than those of control group and terramycin group ($P < 0.05$). The *Hepcidin* mRNA expression in liver was extremely significantly higher than that in the heart and spleen ($P < 0.01$). The *pBD-1* mRNA expression in the heart and spleen in $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ LF group were extremely significantly higher than those of the other groups ($P < 0.01$). The *pBD-2* mRNA expression in liver was significantly or extremely significant higher than those in heart and the spleen ($P < 0.05$, $P < 0.01$). When the adding level was $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, the *pBD-3* mRNA expression in heart and spleen were extremely significantly higher than the other groups ($P < 0.01$). Results suggest that adding LF in the diet can obviously improve the growth performance, serum immunological parameters and small intestinal morphology of Diansa weaning piglets, and enhance piglets disease resistance through inducing genes expression of *Hepcidin*, *pBD-1*, *pBD-2*, *pBD-3* in heart, liver and spleen of Diansa weaning piglets. In this experimental conditions, based on quadratic curve results of growth performance, serum immunological and small intestinal morphology parameters, the adequate amount of LF in Diansa weaning piglets diet was $250\text{-}300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Key words: Diansa weaning piglets; lactoferrin; immunological parameters; small intestinal morphology; Hepcidin; β defense

仔猪断奶后,无论是心理还是机体都会产生强烈应激,免疫力下降,最终影响养猪生产效益。近年来,应用抗生素改善仔猪健康和生产性能所引起的抗生素耐药性和动物体内的药物残留已引起了人们的高度重视。研发和应用具有安全绿色特点的抗生素替代品,不仅能够提高动物免疫力,而且可以避免抗生素引起的弊端。乳铁蛋白是一种多功能糖蛋白,具有防止微生物感染,调节免疫力,促进细胞生长等作用^[1]。王燕等在日粮中添加 0.125% 和 0.25% 的乳铁蛋白能显著或极显著提高杜长大断奶仔猪抗菌肽 *PMAP-37* 基因的表达^[2]。Y. Wang 等发现,仔猪日粮中添加乳铁蛋白可以极显著提高内源性抗微生物多肽 *PR-39* 基因的表达^[3]。先天免疫和适应性免疫是宿主防御的两个基本要素。先天免疫机制之一是广谱抗菌性的分泌物,如 cathelicidins 和小阳离子多肽,命名为 defensins,其中 β -defensin 构成一组新发现的富含胱氨酸的抗菌肽,有 3 个分子内的二硫键,许多的 β -defensin 已经在哺乳动物和鸟类的上皮组织和白细胞中发现^[4-5]。Hepcidin 是一种具有广谱杀菌抑菌作用的抗菌肽,具有 25 个氨基酸,主要在肝细胞合成^[6],在体内和其他抗菌肽一样参与宿主的先天防御。目前国内外关于乳铁蛋白对断奶仔猪的生长性能和肠道健康虽有研究,但是关于乳铁蛋白对滇撒猪配套系仔猪生产性能和抗病能力的研究鲜见报道。滇撒猪是云南省地方优良品种资源,形成历史悠久,品种特征突出,具有抗病力强、耐粗饲、繁殖率高、肉质好等特点,已被列入国家级畜禽资源保护名录。

本试验旨在探究不同水平乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生长性能,血清免疫学参数,心、肝、脾组织 *Hepcidin* 与 β -defensin mRNA 表达量的影响,旨在为乳铁蛋白作为早期断奶仔猪抗生素替代品的研究和应用提供思路和科学依据。

1 材料与方 法

1.1 试验设计

选用日龄为 (28 ± 2) d, 平均体重为 (6.56 ± 0.75) kg 的健康滇撒配套系断奶仔猪 240 头, 试验随机分为 5 个处理, 每个处理 48 头, 6 个重复, 每个重复 8 头, 断奶后分别饲喂基础饲料(对照组), 基础饲料 + 125 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白, 基础饲料 + 250 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白, 基础饲料 + 500 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白和抗生素阳性组 (50 mg · kg⁻¹ 土霉素), 试验

期为 42 d。

1.2 饲料配制和饲养管理

参照 NRC(2012) 猪营养需要推荐量配制基础饲料。LF 来源: 进口 LF(DMV international Co.), 以乳牛初乳为原料, 利用超滤法从牛乳中分离纯化乳铁蛋白。乳铁蛋白参数: 纯度为 95%。其乳铁蛋白水平的添加量分别为 125、250 和 500 mg · kg⁻¹。基础饲料组成和营养水平见表 1。

表 1 基础饲料及营养水平(风干基础)

Table1 Composition and nutrient levels of basal diets(air-dry basis)		%
项目 Item	含量 Content	
日粮组成 Composition		
膨化玉米 Extruded corn	56.90	
膨化大豆 Extruded soybean	20.00	
大豆粕 Soybean meal	12.00	
乳清粉 Dried whey	2.00	
小麦麸 Wheat bran	5.00	
L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys · HCl	0.10	
预混料 Premix ¹⁾	4.00	
合计 Total	100.00	
营养水平 Nutrient level		
消化能/(MJ · kg ⁻¹) DE ²⁾	14.78	
粗蛋白质 CP	18.30	
赖氨酸 Lys	1.31	
蛋氨酸 Met	0.62	
苏氨酸 Thr	0.70	
色氨酸 Trp	0.21	
异亮氨酸 Ile	0.69	
钙 Ca	0.84	
总磷 TP	0.55	
有效磷 AP	0.34	

¹⁾ 预混料为每千克饲料提供: VA 18 000 IU, VD₃ 3 400 IU, VE 32 mg, VK 4 mg, 生物素 0.32 mg, 叶酸 1.6 mg, VC 304 mg, 胆碱 0.5 mg, Cu 7 mg, Fe 102 mg, Zn 103.5 mg, Mn 6.36 mg, I 0.144 mg, Co 0.32 mg, Se 0.32 mg。²⁾ DE 为计算值, 其余均为实测值

¹⁾ The premix provided the following per kg of diets: VA 18 000 IU, VD₃ 3 400 IU, VE 32 mg, VK 4 mg, biotin 0.32 mg, folic acid 1.6 mg, VC 304 mg, choline 0.5 mg, Cu 7 mg, Fe 102 mg, Zn 103.5 mg, Mn 6.36 mg, I 0.144 mg, Co 0.32 mg, Se 0.32 mg。²⁾ DE was a calculated value and others were measured values

1.3 测定指标与方法

1.3.1 生长性能的测定 试验结束时,对试验仔猪空腹称重,计算仔猪的平均日增重、平均日采食量、料重比和腹泻率。

1.3.2 血清免疫参数的测定 试验结束时,仔猪空腹称重,每个处理中每个重复随机取 4 头,每个处理共 24 头仔猪,经前腔静脉采血 10 mL,制备血清备用。测定免疫球蛋白 G、NO 含量、乳酸脱氢酶(LDH)、一氧化氮合酶、溶菌酶(LZM)活性和总铁结合力(TIBC)。免疫球蛋白 G 含量采用免疫浊度法测定,一氧化氮含量、一氧化氮合酶活性、LDH 活性和 TIBC。采用比色法测定,LZM 活性使用试管比浊法,试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供,参照说明书进行测定。

1.3.3 小肠形态学的观察 仔猪屠宰后,在十二指肠、空肠和回肠中段剪取约 1 cm 组织样,然后将样品按照常规组织切片要求进行处理,制作完成后,然后在 100 倍光镜下用测微尺测量 20 根最长绒毛

的高度和相应的隐窝深度,参照陈恒灿等^[7]的方法进行处理和观察小肠形态学变化。

1.3.4 仔猪组织 *Hepcidin*、*pBD-1*、*pBD-2*、*pBD-3* mRNA 相对表达量检测 每个处理中每个重复屠宰 1 头仔猪,每个处理共 6 头,迅速采集心、肝、脾 3 种组织,−80 °C 速冻,用于检测 *Hepcidin*、*pBD-1*、*pBD-2*、*pBD-3* mRNA 的相对表达量。

1.3.5 实时荧光定量 PCR 本试验 Real-Time qPCR 采用 Eva Green I 染料法,反应在 Bio-Rad CFX96™ Real-Time PCR Systems 上进行。按照预先筛选好的 qRT-PCR 反应条件和体系将上述标准品进行扩增。qRT-PCR 反应体系为 20 μL: Sso-Fast™ EvaGreen® Supermix 10 μL,上下游引物(10 μmol · L⁻¹)各 1 μL,cDNA 模板 2 μL,加灭菌去离子水至 20 μL。

基因引物设计采用 Primer Express Software (PE Applied Biosystems, CA)。各引物序列见表 2。

表 2 实时荧光定量 PCR 引物

Table 2 Primers for real-time PCR

目的基因 Target gene	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物大小/bp Product size	退火温度/°C Annealing temperature
肌动蛋白 <i>βactin</i>	F: TCTGGCACACACCTTCT R: TGATCTGGGTCATCTTCTCAC	114	57
铁调素 <i>Hepcidin</i>	F: TCCGTTCTCCCATCCCAGAC R: GCAGCACATCCCACAGATTG	171	54
猪 β-防御素 1 <i>pBD-1</i>	F: ACCGCCTCCTCCTTGTAT R: GGTGCCGATCTGTTTCAT	146	54
猪 β-防御素 2 <i>pBD-2</i>	F: CCTGCTTACGGGTCTTG R: TCTGCTGTGGCTTCTGG	166	59
猪 β-防御素 3 <i>pBD-3</i>	F: GAAGTCTACAGAAGCCAAAT R: GGTAACAAATAGCACCATAA	102	55

1.4 数据处理与分析

所有组织的 *Hepcidin*、*pBD-1*、*pBD-2*、*pBD-3* mRNA 表达量均是以 *βactin* 为内参基因,最终设 *pBD-3* 在肝中对照组的相对表达量为 1,相对荧光定量计算方法采用 M. W. Pfaffl^[8] 的方法计算。所有数据均采用 Excel 进行整理,采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计处理,单因子方差分析检验组间显著性,然后进行邓肯氏多重比较,结果用“平均数±标准差”表示。对生产性能、血液参数、小肠形态学参数与日粮中乳铁蛋白的添加量进行二次回归分

析。

2 结果

2.1 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能的影响

乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能影响的试验结果见表 3。由表 3 可见,抗生素组和乳铁蛋白组仔猪末重高于对照组,其中 250 mg · kg⁻¹ 组的末重最高,显著高于其他组 ($P < 0.05$); 日增重 250 mg · kg⁻¹ 组的显著高于其他组 ($P < 0.05$); 乳铁蛋白组的日采食量均高于抗生素组和对照组,其中

250 mg · kg⁻¹组的最高;250 mg · kg⁻¹组的料重比显著低于其他组($P < 0.05$);250 mg · kg⁻¹组的腹泻率最低,差异显著($P < 0.05$)。

2.2 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪血清免疫参数和生化指标的影响

由表4可以看出,乳铁蛋白组的断奶仔猪血清中IgG含量、NO含量、LZM活性和TIBC均高于对照组,其中乳铁蛋白组的LZM活性和TIBC均极显著高于对照组($P < 0.01$),250和500 mg · kg⁻¹

组血清中IgG含量显著高于对照组($P < 0.05$),其中250 mg · kg⁻¹组的IgG含量最高,而125和250 mg · kg⁻¹组的NO含量均极显著高于对照组($P < 0.01$)。乳铁蛋白组、对照组与抗生素组的血清LDH无显著差异($P > 0.05$),其中125与500 mg · kg⁻¹乳铁蛋白组都高于对照组,而250 mg · kg⁻¹乳铁蛋白组和抗生素组的血清LDH都低于对照组。乳铁蛋白组、对照组和抗生素组之间的NOS均无显著性差异($P > 0.05$)。

表3 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能的影响

Table 3 Effects of LF on growth performance of Diansa weaning piglets

项目 Item	对照组 Control group	乳铁蛋白添加水平/(mg · kg ⁻¹) LF supplemental level			土霉素/(mg · kg ⁻¹) Terramycin
		125	250	500	50
		初重/kg Initial weight	6.43 ± 0.75 ^a	6.45 ± 0.80 ^a	6.82 ± 0.69 ^a
末重/kg Final weight	19.65 ± 1.11 ^c	19.98 ± 0.97 ^{bc}	22.42 ± 0.95 ^a	20.83 ± 1.19 ^b	20.47 ± 0.92 ^b
日增重/(g · d ⁻¹) ADG	314.76 ± 17.18 ^c	322.14 ± 14.28 ^{bc}	371.42 ± 21.26 ^a	337.85 ± 22.14 ^b	330.10 ± 19.85 ^b
日采食量/(g · d ⁻¹) ADFI	569.72 ± 26.41 ^c	576.63 ± 25.32 ^{bc}	623.98 ± 19.26 ^a	591.24 ± 27.15 ^{ab}	574.37 ± 13.14 ^b
料重比 G : F	1.81 ± 0.06 ^c	1.79 ± 0.02 ^{bc}	1.68 ± 0.03 ^a	1.75 ± 0.02 ^b	1.74 ± 0.04 ^b
腹泻率/% Diarrhea rate	8.02 ± 0.97 ^a	5.41 ± 1.02 ^b	3.65 ± 0.61 ^c	5.18 ± 0.64 ^b	5.18 ± 0.64 ^b

同行数据不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著($P < 0.01$)。下表同

In the same raw, values with different small letters mean significant difference($P < 0.05$), and with different capital letters mean extremely significant difference($P < 0.01$). The same as below

表4 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪血清免疫参数和血清生化指标的影响

Table 4 Effects of LF on serum immunological parameters and biochemical indice of Diansa weaning piglets

项目 Item	对照组 Control group	乳铁蛋白添加水平/(mg · kg ⁻¹) LF supplemental level			土霉素/(mg · kg ⁻¹) Terramycin
		125	250	500	50
		免疫球蛋白 G/(g · L ⁻¹) IgG	13.51 ± 0.49 ^{Ab}	13.69 ± 0.17 ^{Aab}	14.17 ± 0.19 ^{Aa}
溶菌酶/(U · mL ⁻¹) LZM	386.67 ± 16.26 ^{Bb}	592.00 ± 10.95 ^{Aa}	620.00 ± 26.51 ^{Aa}	600.00 ± 20.91 ^{Aa}	665.00 ± 27.25 ^{Aa}
乳酸脱氢酶/(U · L ⁻¹) LDH	8 151.29 ± 70.33 ^{Aa}	8 156.83 ± 67.20 ^{Aa}	8 096.12 ± 62.09 ^{Aa}	8 289.97 ± 80.51 ^{Aa}	8 117.16 ± 89.56 ^{Aa}
一氧化氮/(μmol · L ⁻¹) NO	33.50 ± 2.59 ^{Cc}	47.05 ± 2.55 ^{Aa}	46.20 ± 3.00 ^{ABa}	40.00 ± 1.00 ^{BCb}	44.09 ± 1.13 ^{ABab}
一氧化氮合酶/(U · mL ⁻¹) NOS	36.95 ± 2.58 ^{Aa}	35.18 ± 1.60 ^{Aa}	36.38 ± 2.47 ^{Aa}	34.97 ± 3.36 ^{Aa}	37.09 ± 2.49 ^{Aa}
总铁结合力/(μmol · L ⁻¹) TIBC	100.66 ± 0.58 ^{Cc}	115.67 ± 3.21 ^{Bb}	124.59 ± 1.56 ^{Aa}	126.57 ± 1.40 ^{Aa}	99.50 ± 1.29 ^{Cc}

2.3 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪小肠形态学的影响

由表 5 可知,十二指肠的绒毛长度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组最高,而隐窝深度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的最低,且绒毛长度/隐窝深度极显著高于其他组 ($P < 0.01$);空肠的绒毛长度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组极显著高于其他组 ($P < 0.01$),各组之间的隐窝深度无显著性差异,且

$250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组最低,绒毛长度/隐窝深度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组极显著高于其他组 ($P < 0.01$);回肠的绒毛长度 250 和 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组极显著高于其他组 ($P < 0.01$),隐窝深度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组最低,绒毛长度/隐窝深度 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组极显著高于其他组 ($P < 0.01$)。

表 5 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪小肠形态学的影响

Table 5 Effects of LF on small intestinal morphology of Diansa weaning piglets

项目 Item	对照组 Control group	乳铁蛋白添加水平/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) LF supplemental level			土霉素/($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) Terramycin	
		125	250	500	50	
十二指肠 Duodenum	绒毛长度/ μm Villus height	223.33 ± 26.03	230.33 ± 24.13	253.00 ± 22.06	227.00 ± 28.21	235.60 ± 23.81
	隐窝深度/ μm Crypt depth	118.33 ± 13.65	109.33 ± 18.72	102.25 ± 16.34	107.25 ± 11.27	106.20 ± 12.40
	绒毛长度/隐窝 深度 V/C	$1.89 \pm 0.14^{\text{Cc}}$	$2.09 \pm 0.16^{\text{BbC}}$	$2.47 \pm 0.10^{\text{Aa}}$	$2.11 \pm 0.09^{\text{BbC}}$	$2.22 \pm 0.07^{\text{Bb}}$
空肠 Jejunum	绒毛长度/ μm Villus height	$172.67 \pm 2.31^{\text{Cd}}$	$202.80 \pm 6.22^{\text{Bb}}$	$230.00 \pm 2.00^{\text{Aa}}$	$180.67 \pm 4.62^{\text{Cd}}$	$192.67 \pm 5.03^{\text{Bc}}$
	隐窝深度/ μm Crypt depth	138.67 ± 14.05	133.00 ± 10.89	127.33 ± 10.07	145.55 ± 6.25	127.33 ± 3.06
	绒毛长度/隐窝 深度 V/C	$1.21 \pm 0.03^{\text{Cd}}$	$1.54 \pm 0.02^{\text{Bb}}$	$1.85 \pm 0.05^{\text{Aa}}$	$1.27 \pm 0.03^{\text{Cc}}$	$1.49 \pm 0.02^{\text{Bb}}$
回肠 Ileum	绒毛长度/ μm Villus height	$185.33 \pm 10.07^{\text{Bb}}$	$184.00 \pm 17.78^{\text{Bb}}$	$223.33 \pm 7.57^{\text{Aa}}$	$208.80 \pm 5.76^{\text{Aa}}$	$180.00 \pm 4.32^{\text{Bb}}$
	隐窝深度/ μm Crypt depth	$122.67 \pm 11.02^{\text{Aa}}$	$120.50 \pm 7.00^{\text{ABab}}$	$104.67 \pm 4.16^{\text{Bc}}$	$108.80 \pm 4.82^{\text{ABbc}}$	$112.00 \pm 8.7^{\text{ABabc}}$
	绒毛长度/隐窝 深度 V/C	$1.49 \pm 0.02^{\text{Cd}}$	$1.51 \pm 0.03^{\text{Cd}}$	$2.16 \pm 0.05^{\text{Aa}}$	$1.87 \pm 0.07^{\text{Bb}}$	$1.59 \pm 0.01^{\text{Cc}}$

2.4 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能、血清免疫参数、小肠形态学的二次方程与求解结果

由表 6 可知,断奶仔猪腹泻率、血清中免疫球蛋白 G、一氧化氮含量,LZM 活性、TIBC、十二指肠隐窝深度、十二指肠绒毛长度/隐窝深度、空肠绒毛长度、空肠隐窝深度和空肠绒毛长度/隐窝深度随 LF 添加水平的提高呈二次曲线变化 ($P < 0.05$)。

2.5 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 *Hepcidin* mRNA 表达量的影响

乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪心、肝和脾的 *Hepcidin* mRNA 表达的影响结果见图 1。在心中,添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时表达量最高,差异极显著

($P < 0.01$),125 和 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组表达量极显著低于对照组 ($P < 0.01$)。在肝中,3 个添加水平的表达量均极显著高于对照组和抗生素组 ($P < 0.01$),随乳铁蛋白添加量的增加,*Hepcidin* 表达呈上升趋势,当添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,*Hepcidin* 表达量最高,差异极显著 ($P < 0.01$),随后降低。在脾中,随乳铁蛋白添加量的增加,*Hepcidin* 表达呈上升趋势,当添加量为 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时,*Hepcidin* 的表达量最高,差异极显著 ($P < 0.01$),随后降低,抗生素组高于对照组,差异不显著 ($P > 0.05$)。

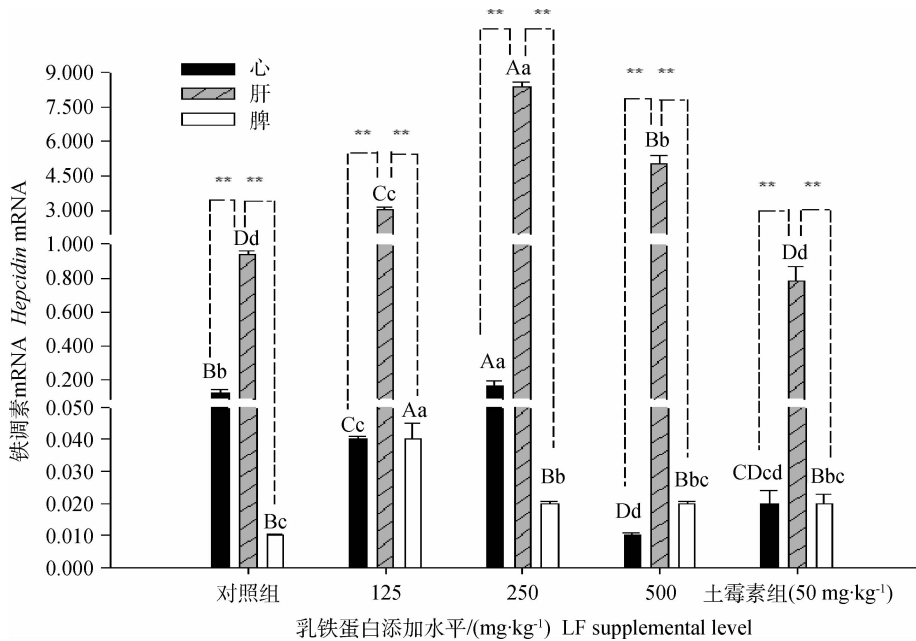
抗生素组心组织的表达量极显著低于对照组 ($P < 0.01$),而在肝和脾中无显著性差异 ($P >$

0.05)。所有组的肝组织的表达量极显著的高于心
和脾($P < 0.01$),而心组织的表达量与脾均无显著
性差异($P > 0.05$)。

表 6 乳铁蛋白水平与仔猪生产性能、血清免疫学参数和小肠形态学的二次方程与求解结果

Table 6 Quadratic equations and results of LF on growth performance, serum immunological parameters and small intestinal morphology of piglets

项目 Item	二次方程 Quadratic equation	乳铁蛋白/(mg·kg ⁻¹) LF
腹泻率 Diarrhea rate	$y = 0.00004x^2 - 0.0283x + 8.0841 (R^2 = 0.9950, r = 0.9975)$	353.75
免疫球蛋白 IgG	$y = -0.000005x^2 + 0.0037x + 13.455 (R^2 = 0.8622, r = 0.9285)$	370.00
溶菌酶 LSZ	$y = -0.0024x^2 + 1.5726x + 399.11 (R^2 = 0.9473, r = 0.9732)$	327.63
一氧化氮 NO	$y = -0.0002x^2 + 0.0999x + 34.555 (R^2 = 0.8856, r = 0.9411)$	249.75
十二指肠隐窝深度 Duodenum crypt depth	$y = 0.0002x^2 - 0.1026x + 118.7 (R^2 = 0.9879, r = 0.9939)$	256.50
十二指肠绒毛长度/隐窝深度 Duodenum V/C	$y = -0.000006x^2 + 0.0037x + 1.8447 (R^2 = 0.8567, r = 0.9256)$	308.33
空肠绒毛长度 Jejunum villus height	$y = -0.0008x^2 + 0.415x + 170.08 (R^2 = 0.9586, r = 0.9790)$	259.38
空肠隐窝深度 Jejunum crypt depth	$y = 0.0002x^2 - 0.0959x + 139.48 (R^2 = 0.9565, r = 0.9780)$	239.75
空肠绒毛长度/隐窝深度 Jejunum V/C	$y = -0.00001x^2 + 0.0073x + 0.83 (R^2 = 0.9999, r = 0.9999)$	365.00



不同小、大写字母表示同一组织不同处理的差异显著或极显著 ($P < 0.05, P < 0.01$)。* * . 表示同一处理组织间差异极显著 ($P < 0.01$); * . 表示同一处理组织间差异显著 ($P < 0.05$)。下图同

The different upper and lower case letters indicate significant differences or highly significant difference between different groups in the same tissue ($P < 0.01, P < 0.05$). * * . Indicate extremely significant difference between different tissues in the same group ($P < 0.01$); * . Indicate significant difference between different tissues in the same group ($P < 0.05$). The same as below

图 1 滇撒配套系仔猪组织中 *Hepcidin* 基因表达趋势

Fig. 1 Expression trend of *Hepcidin* in Diansa weaning piglets

2.6 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 $pBD-1$ 、 $pBD-2$ 、 $pBD-3$ mRNA 表达量的影响

2.6.1 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 $pBD-1$ mRNA 表达量的影响 由图 2 可以看出,在心脏中,添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时 $pBD-1$ 的表达量最高,差异极显著 ($P < 0.01$),抗生素组的表达量最低。在肝中,3 个乳铁蛋白组均极显著地高于对照组与抗生素组 ($P < 0.01$),当添加量为 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

时, $pBD-1$ 的表达量最高,抗生素组的表达量最低,与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$)。在脾中,添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, $pBD-1$ 的表达量最高,差异极显著 ($P < 0.01$)。

组织之间,心的表达量最高,其中抗生素组和 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组组织的表达量极显著的高于肝和脾 ($P < 0.01$),其余的组均差异显著 ($P < 0.05$),脾的表达量高于肝。

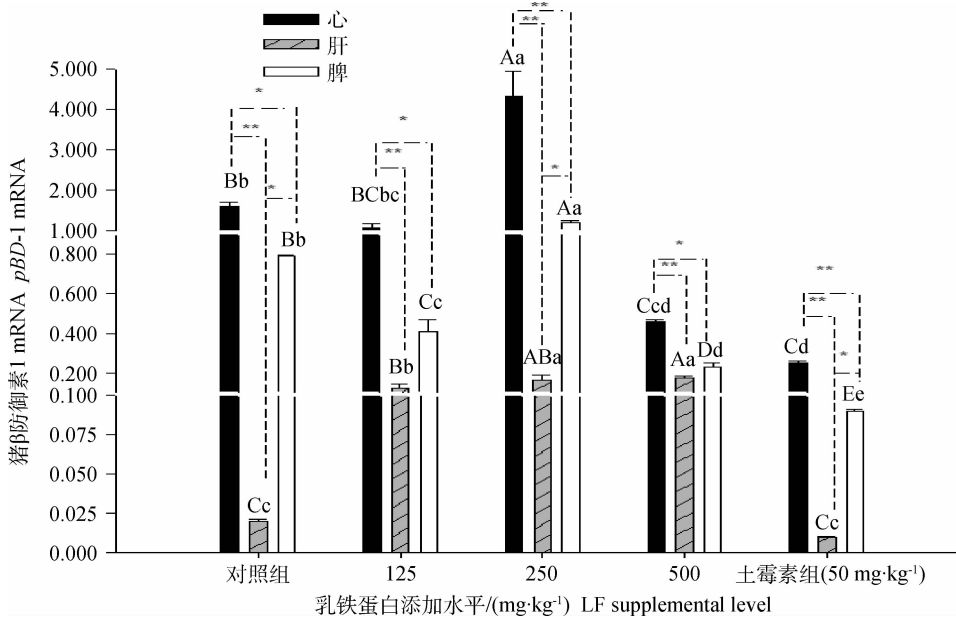


图 2 滇撒配套系仔猪组织中 $pBD-1$ 基因表达趋势
Fig. 2 Expression trend of $pBD-1$ in Diansa weaning piglets

2.6.2 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 $pBD-2$ mRNA 表达量的影响 由图 3 可以看出,在心脏中,随着乳铁蛋白的添加, $pBD-2$ 的表达量呈上升趋势,当添加量为 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时 $pBD-2$ 的表达量最高,随后降低, $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组的表达量最低。在肝中,随着乳铁蛋白的添加, $pBD-2$ 的表达量呈上升趋势,当添加量为 $125 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, $pBD-2$ 的表达量最高,3 个添加量的表达量均高于对照组,其中当添加量为 125 和 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。在脾中,添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时的表达量最高,差异极显著 ($P < 0.01$),抗生素组的表达量最低,差异极显著 ($P < 0.01$)。

组织之间,除了对照组和抗生素组中肝组织的表达量显著高于心和脾外 ($P < 0.05$),其余的均极显著高于心和脾 ($P < 0.01$)。抗生素组的心组织的

表达量显著高于脾 ($P < 0.05$),其余的组中二者均无显著性差异 ($P > 0.05$)。

2.6.3 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 $pBD-3$ mRNA 表达量的影响 由图 4 可以看出,在心脏中,随着乳铁蛋白的添加, $pBD-3$ 的表达量呈上升趋势,添加量为 $250 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 时, $pBD-3$ 的表达量最高。肝组织中,乳铁蛋白组均极显著高于对照组 ($P < 0.01$)。在脾中,抗生素组的表达量最低,与对照组差异不显著 ($P > 0.05$)。

组织之间, $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组中,脾组织 $pBD-3$ 的表达量分别显著或极显著高于心和肝 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),而心的表达量极显著高于肝组织 ($P < 0.01$)。除了 $500 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组外,均是心组织的表达量极显著高于肝和脾 ($P < 0.01$),且肝和脾无显著性差异 ($P > 0.05$)。

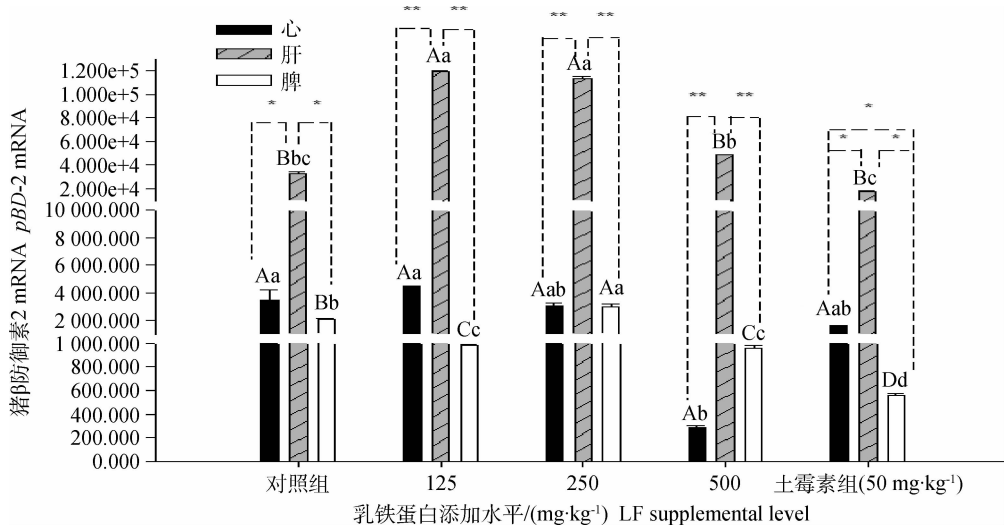


图3 滇撒配套系仔猪组织中 *pBD-2* 基因表达趋势
Fig. 3 Expression trend of *pBD-2* in Diansa weaning piglets

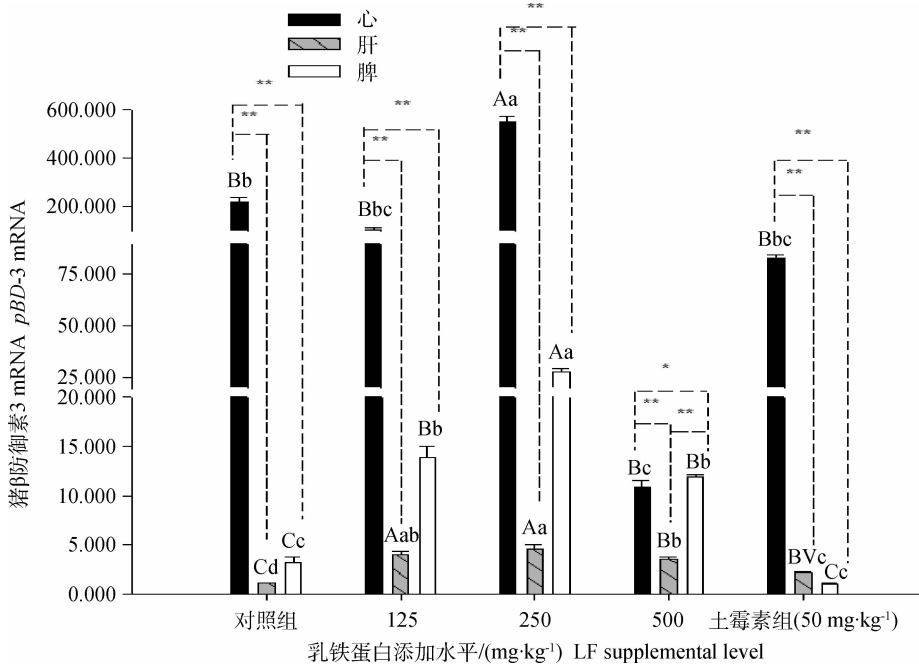


图4 滇撒配套系仔猪组织中 *pBD-3* 基因表达趋势
Fig. 4 Expression trend of *pBD-3* in Diansa weaning piglets

3 讨论

3.1 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪生产性能的影响

Y. Wang 等发现,日粮中添加乳铁蛋白能够改善断奶仔猪的日增重和料重比^[3];张凯等发现添加乳铁蛋白能够降低断奶仔猪的腹泻率^[9]。Z. Tang 等在早期断奶仔猪日粮中添加牛乳铁蛋白衍生肽 lactoferampin 与 lactoferricin,日增重比对照组提高

21%,且能够促进仔猪腹泻恢复^[10]。本试验中,添加 250 和 500 mg·kg⁻¹ 的乳铁蛋白能够提高仔猪的日增重,并且能够降低这两个组的腹泻率,这与以上研究结果基本一致。

3.2 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪血清免疫参数的影响

IgG 是机体内重要的免疫球蛋白之一,参与体液免疫反应。X. S. Tang 等在仔猪日粮中添加乳铁蛋白的重组多肽能够提高仔猪体内的 IgG 含量^[11],

本试验中 250 和 500 mg · kg⁻¹ 组的 IgG 含量显著高于对照组,这与上述研究结果一致,抗生素组与 3 个乳铁蛋白组均无显著差异,说明乳铁蛋白可改善断奶仔猪的免疫力。溶菌酶具有溶菌的作用,是体内吞噬细胞活化的指示因子,本试验中乳铁蛋白组极显著的高于对照组,结果提示,乳铁蛋白可提高机体的免疫能力。据报道,日粮中添加乳铁蛋白能够提高亚洲鲶鱼的溶菌酶的活力^[12]。本试验中,抗生素组的溶菌酶活力虽然高于 3 个乳铁蛋白组,但差异不显著,这提示,乳铁蛋白在提高血清溶菌酶活力方面具有类似抗生素的效果。LDH 在国际上是用来评价细胞整体损伤的检测指标,它存在于各个组织器官中,由于细胞损伤时发生肠溶作用将其释放,存在于细胞外。本试验中几个组之间的 LDH 无显著性差异,结果显示,乳铁蛋白的添加并没有影响断奶仔猪的正常细胞功能。NO 是 L-Arg 在一氧化氮合酶的作用下合成的内皮细胞衍生舒张因子^[13], NO 参与调节机体的特异性体液免疫反应。本试验中,3 个乳铁蛋白组 NO 极显著或显著的高于对照组,本结果提示,乳铁蛋白可提高机体的免疫力,效果可能优于抗生素的效果。NOS 有 3 种类型,包括神经型(nNOS)、诱导型(iNOS)和内皮型(eNOS),其中 iNOS 催化生成的 NO 较多,且时间长,在正常情况下,iNOS 基因并不表达,但在受到炎症因子和细菌毒素诱导下则高度表达^[14-16]。本试验结果表明,NOS 无显著性差异,可能是由于乳铁蛋白未诱导 iNOS 表达。TIBC 表明测定血清中的转铁蛋白结合铁的最大能力,间接反映血清转铁蛋白的含量。在日粮中添加不同水平乳铁蛋白均能够提高亚洲鲶鱼的总铁结合力,其中 800 mg · kg⁻¹ 的添加水平显著高于对照组^[12]。本试验中,乳铁蛋白组 TIBC 极显著高于对照组和抗生素组,这与以上结果基本一致。

3.3 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪小肠形态学的影响

肠道是猪最重要的消化器官,猪消化道内环境在促进养分吸收及防止饲料或环境中的病原菌侵入等方面具有重要作用。仔猪小肠绒毛长度和隐窝深度的改变反映小肠形态学及其功能的重要变化。大量试验证明,乳铁蛋白能增加小肠绒毛高度,降低隐窝深度。Y. Wang 等发现,在断奶仔猪的日粮中添加乳铁蛋白能够显著提高小肠中段的绒毛长度和显著降低其隐窝深度(15.30%,9.60%, $P < 0.05$)^[3];

A. Blais 等发现,添加乳铁蛋白能够提高小鼠的空肠绒毛长度^[17]。本试验中,250 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白组能够提高十二指肠、空肠、回肠的绒毛长度,并且降低隐窝深度,提高了绒毛长度与隐窝深度的比值。这与以上研究是一致的。

3.4 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪组织 *Hepcidin* 基因表达的影响

2000 年分别从人的血浆和尿液分离获得 *Hepcidin*。*Hepcidin* 是一种主要在肝高效特异表达的富含半胱氨酸的新型抗菌肽,属抗菌肽中防御素(Defensin)蛋白家族,与许多富含半胱氨酸的抗菌肽类似,*Hepcidin* 同样具有抗多种真菌和细菌等活性。

T. Ganz 研究表明,*Hepcidin* 主要在肝中合成,这与本试验结果中肝的表达量极显著高于心与脾是一致的^[18]。*Hepcidin* 受血清和肝中铁的浓度和红细胞生成中对铁的需求调控,G. Nicolas 等发现 *Hepcidin* 抑制小肠对铁的吸收和促进铁在网状内皮细胞的滞留,当铁超过需求时,*Hepcidin* 被诱导表达升高进而抑制铁的吸收^[19],后来又发现 *Hepcidin* 组成性表达能抑制铁的超负荷^[20]。在本试验中,乳铁蛋白的添加提高了肝和脾中 *Hepcidin* 的表达,说明乳铁蛋白作为铁源诱导了抗菌肽 *Hepcidin* 的表达。本试验中,250 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白组断奶仔猪的血清中 IgG 和溶菌酶均较高,说明在适宜水平的乳铁蛋白的调节下,断奶仔猪的免疫力得到了提高,在肝中 250 mg · kg⁻¹ 组的表达水平最高,这与血清免疫参数的趋势是一致的。

3.5 乳铁蛋白对滇撒配套系仔猪 β -defensin 基因表达的影响

Defensin 家族的抗菌肽广泛分布在许多哺乳动物、昆虫和植物体内。Defensins 可进一步分为组成型和诱导型,组成型的防御素在炎症和感染期间的表达量保持不变,而诱导型在炎症或者感染期间表达量会增加^[21],pBD-1、pBD-3 属于组成型^[22],而 pBD-2 是诱导型^[23]。pBD-1 广泛地分布在猪组织中,特别是舌黏膜^[24]。pBD-1 基因在炎症和感染期间是被组成性的表达,不受诱导,尽管其与很多诱导性上皮 β -defensins 的氨基酸序列、基因组结构、表达和位点相似^[25]。本试验中,在心和脾中 250 mg · kg⁻¹ 乳铁蛋白组的 pBD-1 表达量极显著高于其他组,在肝中乳铁蛋白组的表达量均极显著的高于对照组和抗生素组,表明乳铁蛋白的添加促进了

pBD-1 基因的表达,而在心、肝和脾中不同的表达趋势可能与 *pBD-1* 组成型表达有关。信号途径诱导 β -防御素 2 的表达,其中 AP-1 和 NF- κ B 的作用较为突出,该基因的转录起始点近端的 2 个 NF- κ B 位点是转录表达所必需的^[26]。在肝中,3 个乳铁蛋白组的表达量均高于或显著高于对照组,说明乳铁蛋白的添加能够诱导肝中 *pBD-2* 基因的表达,心中 125 mg \cdot kg⁻¹ 添加水平组和脾中 250 mg \cdot kg⁻¹ 添加水平组均表达最高,心和脾中的表达量可能并不直接受乳铁蛋白的诱导。这种表达趋势可能是由于乳铁蛋白中的某种成分活化了 NF- κ B 因子,NF- κ B 因子作为多个基因的起始近端的调控子能够控制基因的表达,从而诱导 *pBD-2* 基因的表达。本试验中,除 500 mg \cdot kg⁻¹ 组外,*pBD-3* 均是心的表达量高于肝和脾。3 个添加水平均能极显著提高肝和脾中 *pBD-3* 基因的表达,说明乳铁蛋白的添加诱导了肝和脾中 *pBD-3* 基因的表达,而在心中 250 mg \cdot kg⁻¹ 添加水平极显著高于对照组的表达量,诱导了基因的表达。

4 结 论

4.1 在饲料中添加适宜水平乳铁蛋白可明显改善滇撒配套系仔猪生产性能,显著降低仔猪腹泻率。综合生产性能、血液参数和小肠形态学二次曲线结果,在本试验条件下乳铁蛋白的适宜添加量为 250~300 mg \cdot kg⁻¹。

4.2 饲料中添加乳铁蛋白可提高血清中 IgG、NO 含量,LZM 活性和 TIBC,在一定程度上改善 LDH 活性;乳铁蛋白能够改善仔猪小肠黏膜形态和生物功能。

4.3 饲料中添加乳铁蛋白诱导了滇撒配套系仔猪的心、肝和脾中 *Hepcidin* 和 *pBD-1*、*pBD-2*、*pBD-3* 基因的表达,从而改善其抗病能力。

参考文献(References):

[1] WANG Y Z, SHAN T Z, XU Z R, et al. Effects of the lactoferrin(LF) on the growth performance, intestinal microflora and morphology of weanling pigs[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2007, 135(3): 263-272.

[2] 王 燕,汪以真,姚国佳,等.牛乳铁蛋白对断奶仔猪抗菌肽 PMAP-37mRNA 表达的影响[J].农业生物技术学报,2007,15(5):757-761.

WANG Y, WANG Y Z, YAO G J, et al. Effect of bo-

vine lactoferrin on gene expression of antimicrobial peptide PMAP-37 in weaning piglets[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2007, 15(5): 757-761. (in Chinese)

- [3] WANG Y, SHAN T, XU Z, et al. Effect of lactoferrin on the growth performance, intestinal morphology, and expression of PR-39 and protegrin-1 genes in weaned piglets[J]. *J Anim Sci*, 2006, 84(10): 2636-2641.
- [4] 杨国明,赵彦光,薛玉波,等.饲料能量水平对滇陆初产母猪繁殖性能的影响[J].养猪,2008(1):3-5.
- YANG G M, ZHAO Y G, XUE Y B, et al. Effect of energy levels on reproductive performance of Yunnan complete set of series first farrowing sows[J]. *Swine Production*, 2008(1):3-5. (in Chinese)
- [5] ZHANG G, WUA H, SHI J, et al. Molecular cloning and tissue expression of porcine beta-defensin-1[J]. *FEBS Lett*, 1998, 424(1-2): 37-40.
- [6] GANZ T. Molecular control of iron transport[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2007, 18(2): 394-400.
- [7] 陈恒灿,马 黎,郭荣富,等.丙氨酰谷氨酰胺二肽对早期断奶仔猪抗氧化能力及肠道保护的研究[J].畜牧兽医学报,2011,42(2):251-259.
- CHEN H C, MA L, GUO R F, et al. Studies on alanylglutamine on antioxidant ability and protects of small intestine for early weaning piglets[J]. *Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica*, 2011, 42(2): 251-259. (in Chinese)
- [8] PFAFFL M W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR[J]. *Nucleic Acids Res*, 2001, 29(9): e45.
- [9] 张 凯,方成堃,李美君,等.乳铁蛋白对早期断奶仔猪血清和粪便中金属元素含量及抗氧化性能的影响[J].湖南农业大学学报,2012,38(1):69-72.
- ZHANG K, FANG C K, LI M J, et al. Influence of lactoferrin on metal element contents in serum and excrement and antioxidant capacity of early weaned piglets[J]. *Journey of Hunan Agricultural University*, 2012, 38(1): 69-72. (in Chinese)
- [10] TANG Z, YIN Y, ZHANG Y, et al. Effects of dietary supplementation with an expressed fusion peptide bovine lactoferricin-lactoferrampin on performance, immune function and intestinal mucosal morphology in piglets weaned at age 21 d[J]. *Br J Nutr*, 2009, 101(7): 998-1005.
- [11] TANG X S, FATUFE A A, YIN Y L, et al. Dietary supplementation with recombinant lactoferrampin-

- lactoferricin improves growth performance and affects serum parameters in piglets[J]. *J Anim Vet Adv*, 2012, 11(14):2548-2555.
- [12] ESLAMLOO K, FALAHATKAR B, YOKOYAMA S. Effects of dietary bovine lactoferrin on growth, physiological performance, iron metabolism and non-specific immune responses of Siberian sturgeon *Acipenser baeri* [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2012, 32(6):976-985.
- [13] HIBBS J B, TAINTOR R R, VAVRIN Z. Macrophage cytotoxicity; role for L-arginine deiminase and imino nitrogen oxidation to nitrite [J]. *Science*, 1987, 235(4787):473-476.
- [14] ALDERTON W K, COOPER C E, KNOWLES R G. Nitric oxide synthases; structure, function and inhibition[J]. *Biochem J*, 2001, 357(Pt3):593-615.
- [15] MORRIS S M. Enzymes of Arginine Metabolism[J]. *J Nutr*, 2004, 134(10 Suppl):2743S-2747S.
- [16] 骆雪, 张春勇, 安清聪, 等. L-精氨酸对猪胎儿皮肤成纤维细胞免疫应激参数和 β 防御素基因 mRNA 表达的影响[J]. *动物营养学报*, 2013, 25(5):1037-1044. LUO X, ZHANG C Y, AN Q C, et al. L-arginine affects immune stressed parameters and mRNA expression of β -defensins genes in porcine fetal skin fibroblasts [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2013, 25(5):1037-1044. (in Chinese)
- [17] BLAIS A, FAN C, VOISIN T, et al. Effects of lactoferrin on intestinal epithelial cell growth and differentiation; an *in vivo* and *in vitro* study [J]. *Biometals*, 2014, 27(5):857-874.
- [18] GANZ T. Heparin and iron regulation, 10 years later [J]. *Blood*, 2011, 117(17):4425-4433.
- [19] NICOLAS G, BENNOUN M, DEVAUX I, et al. Lack of hepcidin gene expression and severe tissue iron overload in upstream stimulatory factor 2 (USF2) knockout mice [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(15):8780-8785.
- [20] NICOLAS G, VIATTE L, LOU D Q, et al. Constitutive hepcidin expression prevents iron overload in a mouse model of hemochromatosis [J]. *Nat Genet*, 2003, 34(1):97-101.
- [21] HO S, POTHOUKAKIS C, KOON H W. Antimicrobial peptides and colitis [J]. *Curr Pharm Des*, 2013, 19(1):40-47.
- [22] SANG Y, PATIL A A, ZHANG G, et al. Bioinformatic and expression analysis of novel porcine beta-defensins [J]. *Mamm Genome*, 2006, 17(4):332-339.
- [23] VELDHUIZEN E J, HENDRIKS H G, HOGENKAMP A, et al. Differential regulation of porcine beta-defensins 1 and 2 upon *Salmonella* infection in the intestinal epithelial cell line IPI-21 [J]. *Vet Immunol Immunopathol*, 2006, 114(1-2):94-102.
- [24] SU J, ZHANG Z W, HAN Y H, et al. Expression and identification of porcine β -defensin 1 in *Escherichia coli* and up-regulation by streptococcus infection in porcine tongue *in vivo* [J]. *Int J Pept Res Ther*, 2012, 18(2):145-152.
- [25] ZHANG G, HIRAIWA H, YASUE H, et al. Cloning and characterization of the gene for a new epithelial beta-defensin, genomic structure, chromosomal localization, and evidence for its constitutive expression [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(34):24031-24037.
- [26] TSUTSUMI-ISHII Y, NAGAOKA I. NF-kappa B-mediated transcriptional regulation of human beta-defensin-2 gene following lipopolysaccharide stimulation [J]. *J Leukocyte Biol*, 2002, 71(1):154-162.

(编辑 郭云雁)