张永红,朱 峰,唐芬芬,等. 家蚕  $\delta$  - 鸟氨酸转氨酶基因 *Bmoat* 转录分析及对免疫的响应[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):178 - 182. doi:10.15889/i.jssn.1002 - 1302.2018.17.046

# 家蚕 $\delta$ -鸟氨酸转氨酶基因Bmoat转录分析及对免疫的响应

张永红,朱峰,唐芬芬,邵榆岚,白兴荣 (云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所,云南蒙自661101)

摘要:分析家蚕  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶基因 Bmoat 序列信息,明确其组织转录规律,结合家蚕感染 BmNPV 对其表达的影响,初步探索该基因功能。克隆家蚕  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶基因 Bmoat ORF 序列,对该基因编码区的氨基酸序列、分子量、结构域等进行生物信息学分析;利用 GeneDoc 与 MEGA 5.0 软件对 BmOAT 与其他物种  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶进行多序列比对和系统进化分析;利用半定量 RT – PCR 对其组织和时期转录情况进行分析;实时荧光定量 PCR 检测家蚕添食 BmNPV 后 Bmoat 的表达情况。Bmoat 编码 407 个氨基酸,属非分泌型蛋白,预测分子量为 44.7 ku,等电点为 6.36。氨基酸序列同源性比较发现,BmOAT 与棉铃虫转氨酶同源性最高,为 84.3%。组织和时期转录特征分析表明,该基因在家蚕幼虫的各个组织均表达,且在家蚕整个幼虫时期持续性表达。Bmoat 在家蚕感染 BmNPV 3 h 表达量基因明显上调,而在 12.24 h 呈现下调,表明 Bmoat 的表达受到 BmNPV 感染的诱导。家蚕  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶 Bmoat 在家蚕感染 BmNPV 后发生响应,推测该基因参与家蚕免疫应答,进而形成一定的机体能量补偿机制。

关键词:家蚕;鸟氨酸氨基转移酶(Bmoat)基因;表达;BmNPV感染;转录分析

中图分类号: S881.2 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2018)17-0178-04

家蚕能量代谢过程中,精氨酸在精氨酸酶的作用下水解成鸟氨酸和尿素 $^{[1-2]}$ ,其中 $\delta$ -鸟氨酸转氨酶(ornithine  $-\delta$ -aminotransferase, $\delta$ -OAT)作为鸟氨酸代谢途径中的关键酶,对脯氨酸合成起着重要作用 $^{[3]}$ ,而脯氨酸参与机体的能量代谢 $^{[4]}$ ;家蚕感染 BmNPV 以后新陈代谢明显加快,家蚕体内能量代谢水平会高于或低于未感染家蚕 $^{[5]}$ ,因此研究 Bmoat 基因对了解其参与家蚕感染 BmNPV 后免疫应答功能和能量供应的一些补偿机制具有重要意义。

 $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶是 1 种线粒体基质酶,它主要在生物机体合成脯氨酸过程中发挥关键作用 $^{[6-7]}$ ,其 cDNAs 从酵母到人的多种物种中得到分离, $\delta$  – OAT 几乎在动物各种组织中表达,当外界生理刺激侵入机体时该酶能在特异组织产生应答 $^{[8]}$ 。果蝇 $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶基因与哺乳动物相比具有较高的同源性,其编码 47 ku 大小的蛋白,该基因在果蝇的脂肪体内高效表达 $^{[9]}$ 。在植物拟南芥体内, $\delta$  – OAT 蛋白氨基酸序列同样与酵母、哺乳动物等序列高度同源,在土壤盐分高浓度胁迫条件下, $\delta$  – OAT 蛋白活性和 oat 基因 mRNA 水平显著高于正常条件下培养的植株 $^{[10]}$ ,再者转基因烟草体内过量表达 $\delta$  – OAT 蛋白能够增加植株的抗逆性 $^{[11]}$ 。You 等研究发现通

过转基因使小鼠过量表达  $\delta$  – OAT 蛋白,小鼠在干旱和高渗透压环境下抗逆性增强<sup>[12]</sup>。与哺乳动物相比,关于昆虫  $\delta$  – OAT 基因相关研究较少; $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶参与了家蚕能量代谢,至今鲜有相关 *Bmoat* 基因在免疫应答机理方面的报道。本研究克隆  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶编码基因,对该基因进行生物信息学及转录情况分析,并结合 *BmNPV* 侵染明确其表达规律对防御 *BmNPV* 的免疫应答机制,为探索基因在家蚕免疫方面的功能和防御应答模式提供理论依据。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料及主要试剂

家蚕品种 P50 和 BmNPV,均由云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所保存。本试验使用病毒浓度为  $5.27 \times 10^6/\text{mL}_{\odot}$ 

MiniBEST Universal RNA Extraction Kit、M-MLV 反转录试剂盒、PCR 相关试剂、荧光定量 SYBR Primix Ex  $Taq^{TM}$  II (Tli RNaseH Plus)试剂盒,均为宝生物工程(大连)有限公司产品;引物、凝胶回收试剂盒及其他化学试剂,均为生工生物工程(上海)股份有限公司产品。

#### 1.2 试验方法

1.2.1 家蚕样品的采集 家蚕正常条件饲养至5龄3d,收集家蚕幼虫头部、血液、中肠、脂肪体、马氏管、丝腺、精巢和卵巢组织样品;在家蚕饲养过程中,收集家蚕蚁蚕至上蔟不同发育时期个体;在BmNPV处理的试验中,家蚕按常规方法饲养至5龄起蚕后分为2组,其中试验组每头蚕添食10  $\mu$ LBmNPV多角体悬浮液(5.27×10 $^6$ /mL),对照组添食等量的ddH<sub>2</sub>O。添食后在相同条件下饲养。采集添食BmNPV或dH<sub>2</sub>O后3、 $^6$ 、 $^1$ 2、 $^2$ 24h家蚕的中肠组织,采集的样品进行3次生物学重复,每个重复至少取5头蚕,采集的样品置于

收稿日期:2018-01-12

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260583);云南省现代农业蚕 桑产业技术体系(编号:2013KJTX006);现代农业产业技术体系建 设专项(编号:CARS-22)。

作者简介:张永红(1985—),男,云南师宗人,硕士,助理研究员,主要 从事家蚕病理学研究。Tel:(0873)3860117;E-mail:zhang200503 @126.com。

通信作者:白兴荣,硕士,研究员,主要从事家蚕病理与品种改良选育研究工作。Tel:(0873)3860117;E-mail:bxrong3@163.com。

-80 ℃ 保存备用。

1.2.2 家蚕总 RNA 提取及 cDNA 合成 家蚕中肠组织用液氮充分研磨,根据 MiniBEST Universal RNA Extraction Kit 总 RNA 提取试剂盒抽提 RNA。在紫外分光光度计上测定组织 RNA 样品浓度和纯度,保留  $D_{260\,\text{nm}}/D_{280\,\text{nm}}$ 比值在  $1.8\sim2.0$  之间的样品,按照 M – MLV 反转录酶使用说明书将抽提的 RNA 反转录成 cDNA。

1.2.3 BmOAT 序列分析 参照家蚕基因组数据库(http:// silkworm. genomics. org. cn/)设计 Bmoat 的引物(表1)。将提 取的家蚕5龄3d各组织总RNA反转成cDNA。以家蚕脂肪 体组织 cDNA 为模板,进行 PCR 扩增,扩增条件:95 ℃ 预变性 4 min;95 ℃变性30 s,60 ℃退火30 s,72 ℃延伸90 s,35 个循 环:最后 72 ℃终延伸 10 min。胶回收试剂盒回收 PCR 产物, 纯化后的 PCR 产物连接至 pMD18 - T 载体并转化大肠杆菌 Top10,利用 M13 引物扩增验证阳性克降,阳性荫液送生工生 物工程(上海)股份有限公司测序。对 BmOAT 蛋白的分子 量、等电点(http://web. expasy. org/compute\_pi/)、信号肽 (http://www.cbs.dtu.dk/services/SignalP/)、功能结构域 (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi) 蛋白质二级结构(http://bioinf.cs. ucl. ac. uk/psipred/)和三 级结构(https://swissmodel.expasy.org/)进行在线预测;用 GeneDoc 软件对 BmOAT 与其他物种 δ - 鸟氨酸转氨酶进行 多序列比对,用 MEGA 5.0 软件<sup>[13]</sup>中的邻接法(neighbor joining) 构建系统发生树(Bootstrap 1 000 次重复检验进化树 的可靠性)。

表 1 本研究所用引物

引物名称	引物序列(5′-3′)	扩增片段长度 (bp)
Bmoat - F	ATGGCTGAACAAAATTTGTCATC	1 226
Bmoat - R	CGTTATTTTTGAAAGCTTTGGAAG	
BmoatRT - F	CCAGGCACTCACGGATCAAC	236
BmoatRT - R	CGGAGACACAACTCCGATGC	230
BmoatqPCR - F	AGCATTCCAGCATCGGAGTTGTG	121
BmoatqPCR - R	CTCGTATCTGTGCCTCTGTGATGAC	
Bmactin3 - F	CCGTATGCGAAAGGAAATCA	127
Bmactin3 - R	TTGGAAGGTAGAGAGGGAGG	

1.2.4 Bmoat 基因时空转录情况分析 根据 Bmoat 基因序 列设计RT-PCR 半定量与qRT-PCR 荧光定量引物,由表1 可知, Bmactin3 为内参基因, 以家蚕5龄3d幼虫各组织器官 及蚁蚕5龄7d幼虫组织器官cDNA为模板进行PCR扩增, RT - PCR 扩增条件:94 ℃ 4 min:94 ℃ 30,72 ℃ 30 s,共 31 个循环;72 ℃ 10 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶检测。 qRT - PCR 反应仪器为 StepOnePlus Real - Time system (Life technologies),参照 SYBR Primix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)试剂盒操作说明配制荧光定量反应体系,反应体系为 20 μL(SYBR 预混液 10 μL, ROX Reference Dye 0.4 μL, 10 μmol/L 上下游引物各 0.4 μL,模板 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 7.8 μL),反应程序:95 ℃预变性 30 s;95 ℃ 30s,60 ℃ 30 s, 40个循环。每个样品进行3次重复,收集试验组和对照组目 的基因与内参基因的 Ct 值进行数据分析。采用 2 -ΔΔCι 计算目 的基因的相对表达量,其中  $\Delta\Delta C_{\iota} = (C_{\iota_{max}} - C_{\iota_{max}})_{\psi_{\overline{m}}} - (C_{\iota_{max}} - C_{\iota_{max}})$  $(C_{t_{-1}})_{\text{对照}}$ 。同样以 BmActin3 为内参基因,家蚕蚁蚕 5 龄 7 d 幼 虫各组织器官的 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,对家蚕整个幼虫时期目的基因转录情况进行分析。

1.2.5 BmNPV 感染家蚕 5 龄幼虫后 Bmoat 的转录分析 设计 Bmoat 的荧光定量 PCR 引物,由表 1 可知,在 BmNPV 处理的试验中,以不同时间段的 2 组家蚕中肠组织 cDNA 为模板, Bmactin3 为内参基因进行实时荧光定量 PCR 检测,反应条件及目的基因相对表达量的计算方法同"1.2.4"节。

## 2 结果与分析

#### 2.1 Bmoat 克隆与序列分析

根据家蚕基因组数据库设计 Bmoat 特异性引物,以家蚕 5 龄 3 d 中肠组织 cDNA 为模板进行 PCR 扩增,目的基因片段经过克隆并测序。结果显示,Bmoat ORF 全长为 1 224 bp,编码 407 个氨基酸,信号肽预测为非分泌型蛋白;通过 NCBI Conserved Domain Search 在线工具发现, $8 \sim 402$  位氨基酸为磷酸吡啶依赖酶(pyridoxal phosphate, PLP)的转氨酶结构域(Trysin - like serine protease domain)。预测分子量为44.7 ku,理论等电点为6.36。利用 PSIPRED Server 在线软件预测 BmOAT 蛋白质的二级结构(图 1-A),预测结果发现,BmOAT 蛋白由 12 个 $\alpha$  螺旋、14 个 $\beta$  折叠和一些无规则卷曲构成;通过 SWISS - MODEL 同源建模预测 BmOAT 蛋白质三级结构,构建三维结构图(图 1-B),与其二级结构特征一致。

BmOAT 的氨基酸序列(BGIBMGA003564 – TA)与 NCBI 上登录的其他昆虫  $\delta$  – 鸟氨酸转氨酶进行多序列比对。结果显示,序列中均含有磷酸吡啶依赖酶的转氨酶结构域(图 2);其中 BmOAT 与棉 铃虫 OAT (GenBank 登录号: XM \_ 021337832)序列同源性最高,为 84.3%。利用 MEGA 5.0 软件,采用邻接法对上述鸟氨酸转氨酶构建系统进化树(图 3),进化分析结果显示,不同物种鸟氨酸转氨酶聚为 2 支(Clade I 和 Clade II),BmOAT 与棉铃虫和小菜蛾氨基转移酶在亲缘关系上较近。

#### 2.2 Bmoat 时空转录情况分析

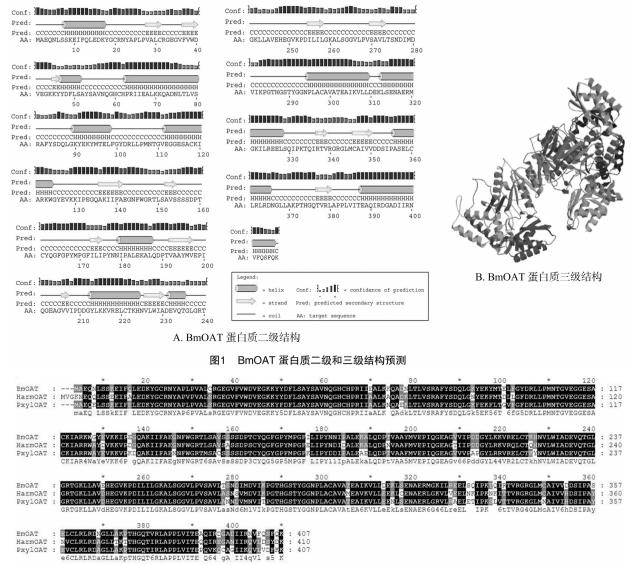
通过半定量 RT - PCR 对 Bmoat 在 5 龄 3 d 各组织的表达进行检测。组织转录情况分析发现, Bmoat 在家蚕各个组织均有转录(图 4 - A1), 以精巢相对表达量最高(图 4 - A2)。对家蚕蚁蚕整个幼虫时期进行表达谱分析发现, Bmoat基因在家蚕整个幼虫时期持续性表达(图 4 - B)。

## 2.3 BmNPV 感染家蚕后 Bmoat 的转录分析

为了检测 Bmoat 是否参与家蚕的免疫应答,以添食ddH<sub>2</sub>O的5龄起蚕作为试验组,BmNPV处理的起蚕为试验组,利用实时荧光定量 qRT-PCR(图4)对 Bmoat 在中肠的转录水平进行分析。结果显示,与对照组相比,试验组家蚕感染 BmNPV 3 h后 Bmoat mRNA 转录水平开始升高,而感染6h时无明显变化,至感染12、24h时开始下调表达,这说明Bmoat 的表达受病原微生物 BmNPV 入侵的影响,BmNPV 侵染家蚕的第一道屏障是中肠,再结合其在正常家蚕中 Bmoat 基因表达水平,认为它在防御 BmNPV 方面发挥着重要的作用。

# 3 结论与讨论

 $\delta$  - 鸟氨酸转氨酶是一种线粒体基质酶,它主要参与生物



BmOAT—家蚕 OAT;HarmOAT—棉铃虫 OAT;PxylOAT—小菜蛾 OAT 图2 BmOAT 与其同源氨基酸序列比对分析

机体能量代谢。本研究成功克隆获得 Bmoat 基因 (BGIBMGA003564 – TA),其基因序列由 9 个外显子和 8 内含子组成,编码区全长 1 224 bp,编码 407 个氨基酸,属非分泌性蛋白,预测分子量为 44.7 ku,等电点为 6.36。氨基酸多重序列比对分析结果表明,BmOAT 与棉铃虫 OAT 序列同源性最高(84.3%);而系统发育进化树显示,家蚕与鳞翅目昆虫棉铃虫和小菜蛾转氨酶同聚在 Clade I 一个分支上。微生物、昆虫、植物和动物  $\delta$  – OAT 中均含有磷酸吡啶依赖酶 PLP 的保守结构域 [14],BmOAT 与鳞翅目昆虫棉铃虫和小菜蛾 OAT 序列具有高度保守的底物特异性位点,因此可利用底物类似物、基因定点突变等方式来预防农林害虫。

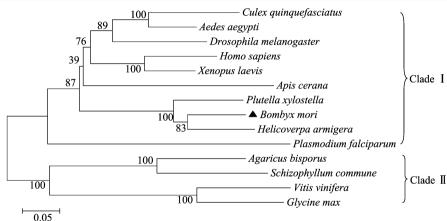
在对 BmOAT 蛋白进行酶活测定时发现<sup>[15]</sup>,该蛋白在家蚕 5 龄期间、羽化后乃至蛹期仍具有较高活力,加之 Bmoat 基因在家蚕各个组织中均有表达且整个幼虫时期呈持续性表达,说明该基因在家蚕整个生理周期都表达;脂肪体作为昆虫氨基酸代谢的重要场所,oat 基因在双翅目昆虫果蝇脂肪体高丰度表达<sup>[9]</sup>,而 Bmoat 基因在家蚕的性腺组织高量表达

(图 4 - A2),这可能与基因转录的剪切方式和氨基酸代谢有 关,有待近一步验证。

中肠是家蚕防御 BmNPV 等病源微生物的重要免疫场所,本研究以家蚕中肠作为探索 Bmoat 基因是否参与免疫响应的对象,家蚕添食 BmNPV 病毒粒子后,感染组和对照组目的基因荧光定量结果表明,Bmoat 基因转录水平在家蚕感染BmNPV 后发生明显变化,在感染 3 h 时呈上调趋势,在家蚕感染 BmNPV 病毒粒子早期,宿主体内病毒数量较少,BmNPV作为免疫刺激因子诱导了 Bmoat 基因的表达,家蚕为防御病毒人侵而新陈代谢加快,产生更多能量;而在感染 6 h 时基因表达量无明显变化,感染至 12、24 h 时均表现出明显下调,此时随着 BmNPV 感染时间的延长,病毒在宿主体内大量繁殖,吸收和消耗了大量蚕的养分,使蚕缺乏营养,抑制了目的基因的表达,进而产生上述的试验结果。

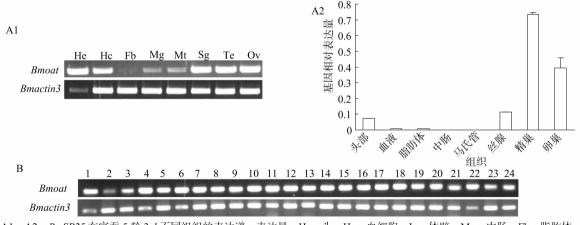
#### 参考文献:

[1] Atkinson D E. Functional roles of urea synthesis in vertebrates [J].



Bombyx mori—家蚕, BGIBMGA003564-PA; Culex quinquefasciatus—致乏库蚊, XM\_001845934; Aedes aegypti—埃及伊蚊, XM\_021848490; Drosophila melanogaster—黑腹果蝇, NM\_140882.3; Homo sapiens—智人, M14963; Xenopus laevis—爪蟾, NM\_001172193; Apis cerana—中华蜜蜂, XM\_017061397; Plutella xylostella—小菜蛾, XM\_011563197; Helicoverpa armigera—棉铃虫, XM\_021337832; Plasmodium falciparum—恶性疟原虫, L15426; Agaricus bisporus—双包蘑菇, AJ864862; Schizophyllum commune—裂褶菌, XM\_003036455; Vitis vinifera—葡萄, NM\_001281140; Glycine max—大豆, NM\_001250221.2

图3 BmOAT 与其同源氨基酸序列进化分析



A1、A2—BmSP25 在家蚕 5 龄 3 d 不同组织的表达谱、表达量。He—头;Hc—血细胞;In—体壁;Mg—中肠;Fb—脂肪体;Sg—丝腺;Mt—马氏管;Tr—气管;Te—精巢;Ov—卵巢。B—Bmoat 在家蚕幼虫期的表达谱。1—蚁蚕;2~4—1 龄 1~3 d;5—1龄眠:6~7—2 龄 1~2 d;8—2 龄眠;9~11—3 龄 1~3 d;12—3 龄眠;13~16—4 龄1~4 d;17—4 眠;18~24—5 龄 1~7 d 图4 Bmoat 组织和时期转录分析

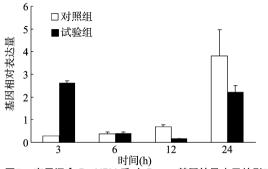


图5 家蚕添食 BmNPV 后对 Bmoat 基因转录水平的影响

Physiological Zoology, 1992, 65(2):243 - 267.

- [2] 陈亚军,齐玉梅. 精氨酸免疫营养作用的研究进展[J]. 中华临床营养杂志,2007,15(5):310-314.
- [3] Delauney A J, Hu C A, Kishor P B, et al. Cloning of ornithine delta -

- aminotransferase cDNA from *Vigna aconitifolia* by trans complementation in *Escherichia coli* and regulation of proline biosynthesis[J]. Journal of Biological Chemistry, 1993, 268 (25): 18673 18678.
- [4] Sacktor B, Childress C C. Metabolism of proline in insect flight muscle and its significance in stimulating the oxidation of pyruvate [J]. Archives of Biochemistry & Biophysics, 1967, 120(3):583-588.
- [5] Etebari K, Matindoost L, Mirhoseini S Z, et al. The effect of BmNPV infection on protein metabolism in silkworm(Bombyx mori) larva[J]. Invertebrate Survival Journal, 2007, 4(1):13-17.
- [6] Ip M M, Chee P Y, Swick R W. Turnover of hepatic mitochondrial ornithine aminotransferase and cytochrome oxidase using (<sup>14</sup> C) carbonate as tracer [J]. Biochimica et Biophysica Acta – General Subjects, 1974, 354(1):29 – 38.
- [7] Shih V E. Regulation of ornithine metabolism [J]. Enzyme, 1981, 26
  (5):254-258.

李 龙,刘锁珠,王宏辉,等. 红景天提取物对西藏高海拔地区肉鸡生产性能和腹水敏感性的影响[J]. 江苏农业科学,2018,46(17):182-185. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302. 2018. 17.047

# 红景天提取物对西藏高海拔地区肉鸡 生产性能和腹水敏感性的影响

李 龙1,2, 刘锁珠2, 王宏辉2, 张振仓1

(1. 杨凌职业技术学院动物工程分院,陕西杨凌712100; 2. 西藏农牧学院动物科学学院,西藏林芝860000)

摘要:通过日粮中添加不同比例的红景天提取物,研究红景天提取物对西藏高海拔地区肉鸡生产性能和腹水敏感性的影响。试验选用900 羽1 日龄雄性 AA 肉仔鸡,随机分为5 个处理组,每组重复6 个,每个重复30 羽,分别在基础日粮(对照组)中添加0.10%、0.15%、0.20%、0.40% 红景天水提物干粉,试验期42 d。研究表明,相比于对照组,0.20%、0.40% 红景天提取物处理组明显提高了肉鸡的平均日增质量和平均日采食量,但对饲料转化率无显著影响。添加0.20%、0.40% 红景天提取物显著降低了肉鸡腹水死亡率,而添加0.15%、0.20%、0.40% 红景天提取物显著降低了肉鸡腹水死亡率,而添加0.15%、0.20%、0.40% 红景天提取物显著降低了肉鸡非腹水死亡率。添加0.20%、0.40% 红景天提取物显者降低了肉鸡非腹水死亡率。添加0.20%、0.40% 红景天提取物显者提高了肉鸡红细胞数量、血红蛋白浓度和红细胞压积,而添加0.10%、0.15% 红景天提取物显著提高了42 d时肉鸡红细胞数量、血红蛋白浓度和红细胞压积。结果提示,日粮中添加红景天提取物能够提高高原缺氧环境下肉鸡的生产性能,减低死亡率和腹水敏感性,但存在剂量依赖性,以0.20% 添加效果最佳。

关键词:缺氧;肉鸡;腹水症;高原;红景天提取物;生产性能;死亡率;心脏指数;血液指标中图分类号: S858.31 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2018)17-0182-04

目前西藏养禽业发展迅速,尽管西藏本地的藏鸡能很好地适应高海拔缺氧环境<sup>[1]</sup>,但其生长仍缓慢,很难满足当地日益增长的禽肉需求量。因此,当地养殖户开始引进内地生长速度更快的肉鸡品种,但是这些引入品种不能很好地适应高海拔地区的缺氧环境,使肉鸡在缺氧条件下表现出生产性能降低和死亡率高(特别是腹水死亡率)的特点<sup>[2]</sup>。如何有

收稿日期:2017-12-19

- 基金项目:国家自然科学基金(编号:31560651);西藏自治区自然重点科学项目(编号:2016XZ01G29);陕西省教育厅专项研究计划(编号:17,JK0881)。
- 作者简介:李 龙(1981—),男,陕西杨凌人,博士,副教授,主要从事 动物营养与饲料科学方面的研究和教学工作。E-mail:lilong1101 @ 126,com。
- 通信作者: 张振仓, 硕士, 副教授, 主要从事动物营养与疫病发防治方面的研究和教学工作。 E-mail: 54736347@qq. com。

- [8] Childs B. The metabolic basis of inherited disease [J]. American Journal of Human Genetics, 1990, 46(4):848-851.
- [9] Yoshida K M, Juni N, Hori S H. Molecular cloning and characterization of Drosophila ornithine aminotransferase gene [J]. Genes & Genetic Systems, 1997, 72(1):9-17.
- [10] Roosens N J, Thu T T, Iskandar H M, et al. Isolation of the ornithine delta aminotransferase cDNA and effect of salt stress on its expression in *Arabidopsis thaliana* [J]. Plant Physiology, 1998, 117 (1):263-271.
- [11] Roosens N H, Al Bitar F, Loenders K, et al. Overexpression of ornithine – delta – aminotransferase increases proline biosynthesis and confers osmotolerance in transgenic plants [ J ]. Molecular Breeding, 2002, 9(2):73 – 80.

效地缓解缺氧对肉鸡饲养的负面影响已成为当地养殖户重点 关心的问题。

红景天主要分布于欧亚的高海拔地区,在我国青藏高原广泛分布。红景天根茎中含有大量活性成分,如酚酸类、三萜类、黄酮类、类苯脂类和苯丙脂类,其中红景天苷、罗塞维和酪醇被认为是红景天中3种主要的活性成分<sup>[3-4]</sup>。红景天因其抗缺氧<sup>[5]</sup>、抗氧化<sup>[6]</sup>、抗抑郁<sup>[7]</sup>、调节机体免疫机能<sup>[8]</sup>和增强机体适应性<sup>[9]</sup>等生理功能已在人类医药中广泛应用。笔者所在课题组前期研究发现饲料中添加红景天对缺氧条件下肉鸡生产性能无影响,但低剂量的红景天粉(0.5%)能够降低肉鸡非腹水死亡率、提高肉鸡的抗氧化能力和免疫力,而高剂量红景天粉会减少肉鸡的采食量从而降低肉鸡的生产性能,并且红景天粉对肉鸡的腹水敏感性无显著影响<sup>[1,10-11]</sup>,但结果并不能说明添加红景天对肉鸡腹水症就没有影响,因为中草药成分复杂,药效相对比较慢,且试验中所添加红景天粉的

- [12] You J, Hu H H, Xiong L Z. An ornithine delta aminotransferase gene OsOAT confers drought and oxidative stress tolerance in rice [J]. Plant Science, 2012, 197(2):59 69.
- [13] Tamura K, Peterson D, Peterson N, et al. MEGA 5; molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods [J]. Molecular Biology and Evolution, 2011, 28(10):2731-2739.
- [14] Stranska J, Kopeana D, Tylichova M, et al. Ornithine delta aminotransferase; an enzyme implicated in salt tolerance in higher plants[J]. Plant Signaling & Behavior, 2008, 3(11):929 – 935.
- [15] 许廷森,朱菊红,林 浩,等. 蚕氨基酸代谢的研究:精氨酸酶, 鸟氨酸  $-\delta$  转氨酶和支链氨基酸转氨酶[J]. 昆虫学报,1980,23 (1):1-8.