

广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊 1976年3月创刊

第45卷第4期(总第212期)

2020年8月18日出版

中国标准连续出版物号 $\frac{\text{ISSN } 1005-8567}{\text{CN } 44-1243/S}$

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省农业科学院畜牧研究所

广东省农业科学院动物卫生研究所

广东省畜牧兽医学会

编辑委员会

编委主任:廖明

编委副主任:蒋宗勇 陈卫东 徐志宏

卢受昇

编委(以姓氏笔画为序):

马现永 王贵平 王富华 王丽

王国霞 孙铭飞 孙永学 向华

吕殿红 刘振兴 刘清神 陈瑶生

吴珍芳 张名位 李伟锋 张桂红

李大刚 李春玲 张建峰 陈瑞爱

罗成龙 孟黎明 林德锐 曹俊明

黄运茂 黄淑坚 舒鼎铭 蒋守群

彭新宇 魏文康

编辑部

主编:蒋宗勇

副主编:王刚 郑春田

主任:黄琳

副主任:马新燕

责任编辑:康桦华 吕晓慧 张洁华 王片片
岑俏梅

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地址:广州市天河区五山大丰一街1号(510640)

电话:020-87576452

E-mail:gdmsyjkj@163.com

印刷单位:广州市德艺彩印有限公司

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

发行范围:国内外公开发行

定价:10.00元

广告发布登记通知书编号:440100190079

目 录

·行业动态·

2020年畜牧兽医科技新视点 马新燕,吕晓慧,等(1)

·专题综述·

植物精油在养猪生产中的应用 郑懿君,李克标,等(7)

养殖废水净化处理研究进展 员晓庆,李复坤,等(12)

·畜牧技术·

用于移动式行人消毒通道的消毒药剂效果评价 涂杜,张春红,等(15)

畜禽养殖中氨气的危害及防控措施 李复坤,员晓庆,等(20)

蓝孔雀养殖技术交流 陈政谕,王自豪,等(25)

下一代基因测序技术在肉类制品掺假检测中的应用研究 邹清童,杨璐芳(29)

动物性食品中兽药及违禁物质残留原因及应对措施 孙娅莉,常磊(34)

·兽医临床·

一例犬特发性癫痫的诊断与治疗 袁媛,龚晓佩,等(37)

·试验研究·

饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能,蛋品质及卵巢发育指标的影响
..... 王爽,张亚男,等(41)

不同光色LED灯对文昌鸡育雏阶段骨密度和血清钙、磷含量的影响 严霞,刘天飞,等(46)

YWHA蛋白在番鸭不同繁殖状态下卵巢组织中的表达情况分析 沈栩,江丹莉,等(49)

·信息之窗·

欢迎订阅本刊 (24)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

AUG.2020 Volume 45, Number 4 (Total No.212)

Main Content

- New perspectives on animal husbandry and veterinary science and technology in 2020 MA Xinyan, LV Xiaohui, et al(1)
- Application of essential oils in swine production ZHENG Yijun, LI Kebiao, et al(7)
- Research progress on purification and treatment of wastewater in animal husbandry and aquaculture
..... YUAN Xiaoqing, LI Fukun, et al(12)
- Efficacy evaluation of disinfectants used for mobile disinfection passage for pedestrian TU Du, ZHANG Chunhong, et al(15)
- Harm of ammonia in livestock and poultry feeding and its prevention and control measures
..... LI Fukun, Yuan Xiaoqing, et al(20)
- The breeding technology communication of the blue peacock CHEN Zhengyu, WANG Zihao, et al(25)
- Study on the application of Next Generation Sequencing(NGS) method in detection of meat products adulteration
..... ZOU Qingtong, Yang Lufang(29)
- Causes and countermeasures of veterinary drugs and prohibited substances residues in animal food ... SUN Yali, CHANG Lei(34)
- A case on diagnosis and treatment of Idiopathic Epilepsy in dog YUAN Yuan, GONG Xiaopei, et al(37)
- Effects of dietary biotin levels on laying performance, egg quality and ovarian development indices in the early laying stage of layer ducks WANG Shuang, ZHANG Yanan, et al(41)
- Effects of different LED light colors on bone mineral density, serum calcium and serum phosphorus concentration in Wenchang chickens during brooding stage YAN Xia, LIU Tianfei, et al(46)
- Expression of YWHA protein in ovary of Muscovite duck under different reproductive conditions
..... SHEN Xu, JIANG Danli, et al(49)
-

Sponsored by: Guangdong Association of Animal Husbandry
and Veterinary Medicine, Institute of Animal
Health, Guangdong Academy of Agricultural
Sciences.

Published by: Editor Office Guangdong Journal of Animal
and Veterinary Science.

Chief Editor: Jiang Zongyong

Editor Add: No. 1 Dafeng one Street, Guangzhou P.R. China

Post Code: 510640

Tel: (020)87576452

E-mail: gdxmsykj@163.com

本刊声明:凡向本刊所投稿件,一经刊用,稿件的复制权、发行权、信息网络传播权、汇编权等权利即转让给本刊。本刊一次性支付作者著作
权使用报酬(包括印刷版式、光盘版和网络版各种使用方式的报酬)。如作者不同意转让版权,请于来稿时声明。

目前本刊已加入的数据库有:中国学术期刊(光盘版)、中文科技期刊数据库、万方数据——数字化期刊群。

2020年畜牧兽医科技新视点

马新燕,吕晓慧,王刚*,廖明*

(广东省农业科学院动物科学研究所;畜禽育种国家重点实验室;农业部华南动物营养与饲料重点实验室;广东省畜禽育种与营养研究重点实验室;广东畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心,广东广州510640)

中图分类号:S8 文献标识码:D 文章编号:1005-8567(2020)04-0001-06

7月3~4日,第29届广东畜牧兽医科技大会在广州成功召开,是2020年广东省内首场线下畜牧兽医行业盛会。大会由广东省畜牧兽医学会主办,广东省农业科学院动物科学研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所等单位联合承办。大会由广东省畜牧兽医学会理事长、广东省农业科学院副院长廖明主持,邀请陈焕春院士、张改平院士等知名专家作报告交流,广东省农业农村厅副厅长郑惠典出席会议并介绍了当前该省畜牧生产情况。大会还吸引了来自省内外同行、企业技术高管等600余人到现场参会,以及17万余人线上观看直播,共同研讨生猪、家禽业健康、可持续发展大计。

会上,陈焕春院士做了“关于当前我国养殖业转型升级的思考与建议”的报告,为行业转型升级指出了发展方向;张改平院士针对科学防控非洲猪瘟做了具体的技术指导;其他专家们就畜禽养殖、繁殖育种、饲料营养、疾病防控等方面进行了学术报告。大会围绕“科技赋能、养殖智能、提升效能”的主题,针对市场需求,专家为企业“把脉”,运用最新研究成果指导企业发展;企业与会者向专家提出生产中技术难题,专家给予解疑释惑。会场交流热烈,专家和企业积极交流研讨,凝聚行业力量,共谋行业的稳健发展。本文收集了大会中生猪、家禽、饲料版块专家代表对行业发展的指导意

见,与大家共同分享专家的成果和智慧,以资参考。

华中农业大学陈焕春院士谈为我国养殖业转型升级提供科技支撑

1 我国养殖业转型升级必要性

畜禽养殖产业是我国农业的支柱产业。畜禽养殖安全关系食物供给与粮食安全、公共卫生与食品安全、环境与生态安全,针对我国养殖业面临的问题,唯一的解决方式是加快我国养殖业转型升级的步伐。

2 我国养殖业转型升级的探索

- (1)发展生猪健康养殖,实施产业转型升级;
- (2)建成人才培养、科技创新、学科发展、产业升级“四位一体”的协同创新中心;
- (3)实现科技创新与市场经济深度融合;
- (4)形成生猪健康养殖技术体系;
- (5)提升养猪业效益、保障食品安全、改善生态环境;
- (6)引领我国生猪产业的转型升级与可持续发展。

收稿日期:2020-07-31

作者简介:马新燕,女,硕士研究生,畜牧师,主要从事畜牧推广工作。E-mail:dk051maxy@163.com

*通讯作者:王刚,男,副研究员, E-mail:wgw92004@yahoo.com.cn;廖明,男,教授, E-mail:mliao@scau.edu.cn

3 我国养殖业转型升级的建议

3.1 畜禽品种培育与繁殖技术创新研究方向

①发掘动物优良种质资源,开展动物组学研究,重点解析畜禽生长、繁殖、泌乳、抗病、品质等经济性状的遗传基础;

②开展动物分子育种、干细胞育种、胚胎工程、克隆等高新技术研发;

③进行动物生产性能测定技术、大数据遗传评估、动物高效繁育新技术等关键技术研发;

④利用国内外优良品种资源,培育生长性能好、繁殖性能高、抗病力强、环境适应性强、品质风味好的畜禽新品种。

3.2 动物疫病防控技术创新研究方向

①开展畜禽的病毒、细菌、寄生虫等病原学与流行病学研究,解析病原与宿主互作及其网络调控机制;

②研究病原致病与免疫机制;

③发掘、筛选新药靶标;

④针对我国流行的病原,开发新型疫苗、诊断试剂、药物等防控产品;

⑤开展动物疫病的综合防控技术研究及重大疫病的净化与根除;

⑥通过技术和产品的集成与应用,实现“少打针、少用药、环境友好,绿色健康养殖”。

3.3 畜禽营养与饲料创新主要研究方向

①开展各种畜禽的营养代谢及其调控机制研究;

②开发新型饲料资源、无抗饲料生产技术、饲料高效转化与利用技术、饲料安全控制与快速检测关键技术;

③建立我国饲料资源的营养价值评价技术体系,研发新型饲料与饲料添加剂。

3.4 畜禽养殖废弃物资源化利用创新研究方向

①研究畜禽养殖废弃物降解、微生物发酵、环境修复等原理与规律;

②研发病死动物无害化处理、粪污资源化利用、废弃物中有害物质的检测与控制、生物有机肥生产、环境修复等关键技术;

③开发生物有机肥等产品;

④通过技术与产品的集成与应用,实现“种养结合、变废为宝、生态养殖、环境友好”。

3.5 养殖设施设备创新研究方向

①开展畜禽养殖、饲料加工、粪污处理与生物肥料等设施设备的理论与技术创新;

②研发设施、设备新工艺、新技术;

③开发新型设施、设备产品与装备;

④通过技术和产品的集成与应用,实现养殖的“自动化、智能化、信息化”。

3.6 食品加工研究方向

大力发展食品深加工技术:保鲜食品,冷藏食品,风味食品,功能性食品。

河南农业大学张改平院士谈科学防控非洲猪瘟的关键点

非洲猪瘟防控工作应紧密围绕生物安全,具体有:①成立生物安全管理团队;②建章立制;③查漏补缺;④完善防控措施;⑤一场一策。积极研制安全有效疫苗,消灭传染源,消除污染源,切断传播途径。猪场风险管控、如何复产具体措施如下。

1 猪场风险管控

1.1 猪场布局

①远离养猪密集区;②远离屠宰场、生猪无害化处理场、集贸市场等;③远离公共交通干道;④远离人口密集区;⑤猪场周围有天然的地理屏障;⑥猪场外围有一定的缓冲空间(1 km-3 km-10 km),联防联控;⑦猪场适度规模,硬件配置到位。

1.2 严格控制运输工具

车辆运输是传播疫情主要风险。①建立车辆洗消中心(远离猪场3公里以上);②建立严格的车辆清洗消毒程序;③清除杂物;④泡沫浸泡;⑤冲洗;⑥消毒;⑦干燥。

1.3 人流管控

减少人员流动数量和频率。①每月固定两天为正常进场时间;②优先招聘夫妻工、年龄稍大的员工;③对于自愿不休假的员工,加大奖励力度。

1.4 猪流管控

①闭群饲养、尽量不动猪;②如果引种,必须场外隔离:隔离舍离猪场1公里以上,隔离1个月,进行临床监测和血清学、病原学检测;③适度规模;④批次生产:3周批、4周批。

1.5 严格控制饲料、饮水

①泔水是传播非洲猪瘟病毒高风险因素,禁泔水饲喂猪。②严格控制饲料中生猪同源产品(污染的血浆蛋白粉、血粉);③高度关注可能掺入生猪同源产品的饲料(掺假渔粉);④通过ASF病死猪污染的水源;⑤高温制粒:85度3分钟。

1.6 严格处理病死猪和粪便

①禁止在猪场内剖检病死猪;②对病死猪进行无害化处理;③对粪污、污水、污物进行无害化处理。

1.7 严格监控有害生物

①评估周边是否有野猪存在;②建隔离带(围墙和栅栏);③禁止猪场人员靠近、猎杀和食用野猪;④控制场内鸟类、蚊蝇、老鼠等(机械传播);⑤评估场内是否存在钝缘软蜱并制订防控措施。

2 非洲猪瘟复产技术

2.1 复产条件评估

①猪场生物安全设施、制度、措施、方案已经完善;②足够的人力、财力和物力;③通过系统采样评估空场、空栏、消毒效果,确保复产前病毒检测阴性;④引进哨兵猪需进行临床监测和观察。

2.2 复产前的猪场彻底清洗及科学消毒

2.2.1 清洗与消毒

清理所有死猪点、猪粪归积处、污水处理场和各种车辆运输工具,对办公室、生活区、饲料房、药房、员工休息室等场所进行清理和消毒。

2.2.2 栏舍清洗和消灭方案(重中之重)

①烧碱浸润后清除粪便,栏舍第1次初洗;②3%烧碱再次浸润,第2次初洗;③打发泡剂第3次精洗,热水冲洗;④栏舍第1次消毒(格力特,干后),栏舍第2次消毒(卫可);⑤火焰喷枪对猪舍地表重点污染区域:1:1稀释10%漂白剂(10%次氯酸钠)大拖把全覆盖拖地;⑥重新安装设备,熏蒸消毒过夜;⑦圈舍白化(生石灰和2%烧碱)。

2.2.3 哨兵猪饲养与复产计划

①经过彻底的清洗消毒及无害化处理,猪场环境非洲猪瘟检测阴性后,引入哨兵猪;

②引入的哨兵猪以后备猪和断奶仔猪为主。哨兵猪5-10头/组,分别置于隔离舍、配怀舍、产房、保育舍、育肥舍等不同区域饲养;

③评估饲养期一般推荐不低于2个月(两个潜伏期以上);

④哨兵猪饲养期间,进行三次检测,分别是15天、30天、60天进行病原学检测;

⑤哨兵猪检测合格且无临床症状的猪场,才可以考虑进行复产,逐步引进猪只,恢复正常生产。

华南农业大学吴珍芳教授谈非瘟后种猪繁育工作方向

当前种源紧张的情况下,肉母猪是作为肉猪生产种源可行的选择;三系配套可作为杂交种猪的主要生产方式。吴珍芳教授提出非瘟后生猪育种和生产新模式。

非瘟后育种模式:种猪育种发展趋势呈现专业化、集团化、国际化。未来育种模式:专业育种单位提供遗传物质(精液),养猪公司购买精液,共同承担育种费用。

非瘟后生猪养殖模式:①高度生物安全管理,种猪自我循环配套;②引进纯繁/第一父本/终端公猪精液,不再引进活体种猪。

广东省农业科学院动物科学研究所蒋宗勇研究员谈生猪高效安全养殖技术

通过对全国8省16县(市)240个生猪养殖场(户)进行了调研,发现非瘟后生猪养殖业现状:①环保政策、非洲猪瘟疫情先后主导生猪存栏下降;②生猪养殖意愿稳步回升,未受非洲猪瘟影响的养殖场户推动生产恢复;③三元留种大幅增长,母猪存栏迅速回升;④受非洲猪瘟冲击,能繁母猪死亡率大幅上升,但管理精细化及养殖投入加大,有

效阻止了生产效率的下滑;⑤疫病防控、健康养殖技术均得到一定程度的普及,生物安全防疫得到普及且趋于专业化,同时健康养殖方式也得到普遍重视;⑥环境保护得到空前重视,粪污无害化处理率、资源化利用率均达到较高水平。

针对调查现状,提出非瘟防控关键控制点。

①排查、监测每日猪流,隔离、检测引种或购买猪只,关注育种体系发生变化。②车流:建立洗消烘干中心,高温消毒,72~75℃,15分钟;必须有中转出猪台,场内转运车,通过内部专用车转出,不要直接与外界车辆接触;设置多个车辆消毒点。③人流:严格限制人员进出猪场;减少外出、实行封场管理;所有员工回场衣物等一律不可进场;防止人员在场内交叉传播。④物流:进入猪场物品必须严格消毒熏蒸处理。⑤媒介:空气过滤等(主要防鸟、鼠、蝇、蚊子);⑥饲料和饮水:提高制粒温度,延长保存时间,使用料塔;防止水源污染、定期监测。

2020年7月1日,我国实行饲料禁止添加抗生素。对于无抗饲料,蒋宗勇研究员提出,断奶仔猪是禁抗最难的环节。仔猪无抗饲料技术策略在于:①助消化,饲料中添加益生菌、有机酸、酶制剂,或使用膨化豆粕;②肠道菌群平衡,采用发酵饲料,或饲料中添加益生元;③注重生物安全,饲料中添加植物精油、植物提取物、抗菌肽、高锌、高铜,或采用低蛋白饲料。

中山大学刘小红教授报道“特色地方猪高效安全养殖技术”研究成果

1 特色饲料在猪生产中开发应用

(1)玉米蛋白粉:在民猪杂交猪饲料中,添加15%玉米蛋白饲料对育肥猪的采食量和日增重有促进作用,能够改善育肥猪的营养物质表观消化率,过高比例则会影响猪的生长速度。

(2)发酵果渣:在杜花二元杂育肥猪添加发酵果渣,全期料重比降低0.28,饲料效率改善8.62%。

(3)复合益生菌制剂:在育肥猪日粮中,添加不同的复合益生菌制剂,能有效调节猪肠道菌群、改善肠道健康,以及对蛋白质和磷的表观消化

率。液态发酵液制剂和固态粉制剂,在促进猪群对饲料养分消化吸收方面,较半固态发酵制剂更优。

2 特色优质猪肉生产技术

添加0.6%的胍基乙酸饲喂2个月,显著增加快型肌纤维(腓肠肌、胫骨前肌)的肌纤维横截面积,显著减少慢型肌纤维(比目鱼肌及腰大肌)的横截面积,对于中间型肌肉背最长肌的影响不显著;显著减少内脏脂肪细胞的横截面积,同时对皮下脂肪影响不显著。体外细胞水平研究表明,胍基乙酸添加可以降低肌细胞特异性miRNA(miR-133a-3p和miR-1a-3p)的表达水平,进而通过上调靶基因(Insr和EIF4E)而激活Akt/mTOR/S6K通路,导致C2C12细胞肌管生长和肥大。

3 不同区域地方猪配套组合利用方式研究成果

(1)巴花、杜花猪配套组合性能:巴花组合繁殖力略低于小花猪纯繁,活仔数接近于11头/窝,日增重为666.6克/天,远高于纯繁;巴花杂交组合产肉效率低于杜花组合。

(2)巴梅配套组合性能:与杜花相比,巴梅配套组合宰前活重、瘦肉率、肉色以及肌肉脂肪均低。

(3)巴里配套组合性能:巴里配套体长、达100kg日龄、料肉比方面均比纯繁里岔黑猪好,略逊于杜洛克。

(4)撒坝猪配套组合性能:杜洛克×撒坝、长白×撒坝两个组合总产仔数、产活仔数初生窝重、21日龄窝重等主要繁殖性能指标均比撒坝猪有所提高,尤以杜撒(杜洛克×撒坝)较为明显;F1代毛色为纯黑色,长撒(长白×撒坝)主要为白色。

(5)迪庆藏猪配套组合性能:与迪庆藏猪相比,野藏×撒坝、杜撒×野藏、野藏×杜撒三个组合的日增重、屠宰率、瘦肉率明显提高,平均背膘厚变薄,肌肉保水性能提高。

(6)淮猪配套组合性能:开展了淮杜淮杂交组合,以此为基础培育新品种,其性能:产仔数12头,育肥期日增重550g,商品猪的饲料报酬3.3:

1, 瘦肉率51%~53%, 肌肉脂肪含量3.5%左右。

4 母猪高效繁殖技术

(1) 两广小花猪最佳配种体重为67.5~72.5 kg; 配种时理想最后肋膘厚为26~30 mm;

(2) 两广小花猪母猪使用年限分析: 4~10胎繁殖效率最佳, 理想使用年限为4~5年;

(3) 妊娠母猪饲喂管理: 步步高妊娠期饲喂法更适于两广小花猪繁殖效率的发挥(根据健仔数与初生个体重评价);

(4) 全期每头母猪头均日采食量相当, 约1.27 kg/头/天, 每头母猪共采食约143 kg。

5 不同饲养模式对母猪繁殖效率的影响

群养模式下, 母猪整体繁殖性能及利用率优于限位栏饲养模式; 群养模式下, 母猪初情和初配日龄均有所提前, 生产周期更短。

佛山科学技术学院张辉华教授报道“低蛋白低磷饲料对泌乳母猪的影响”研究进展

(1) 饲喂低蛋白低磷饲料对泌乳母猪和仔猪的生长繁殖性能无显著影响。

(2) 显著提高了泌乳母猪血清总蛋白含量, 极显著降低了尿素氮含量、游离脂肪酸和钙离子含量。

(3) 对母猪产奶量和乳品质无显著差异。

(4) 显著提高了泌乳母猪的氮、磷平均摄入量, 显著降低了泌乳母猪粪氮、粪磷、尿氮及总氮排放量。

(5) 泌乳母猪粪便优势菌群无显著影响。

(6) 有效提高了猪场经济效益。

广东省农业科学院动物科学研究所蒋守群研究员报道“黄羽肉鸡氧化应激与抗氧化营养调控技术”研究成果

1 诱导肉鸡产生氧化应激的因素

①品种选育; ②饲养管理; ③营养供给; ④饲料

抗营养因子及毒物; ⑤免疫接种、药物治疗; ⑥人为因素; ⑦环境因素。

2 氧化应激对肉鸡生长的不利影响研究

长期饲喂一定剂量的洛克沙肿, 血清中抗氧化酶活性(SOD、GSH-Px)均降低, 而自由基产物MDA含量升高, 显著降低了鸡的抗氧化功能。

(1) 霉菌源(黄曲霉毒素、T2毒素、赭曲霉毒素A、烟曲霉毒素)显著降低肠粘膜、血液、肝脏、肾脏等的抗氧化能力, 损伤肝脏和抗氧化系统, 导致细胞凋亡, 降低免疫功能和生长性能。

(2) 饲喂霉变40%以上饲料时, 鸡的生长发育会显著抑制或停滞。

(3) 2 mg/kg 赭曲霉毒素A(OTA)显著抑制黄羽肉鸡增重和采食。

(4) 饲料高铁造成的氧化应激, 显著降低肉鸡血液中GSH含量; 降低了空肠粘膜iNOS活性, 显著提高了MDA含量。

(5) 过量氟造成了肝脏氧化与抗氧化防御机制之间的失衡, 抑制抗氧化作用的GSH-Px、SOD等生物活性, 自由基在体内大量蓄积, 脂质过氧化作用增强, 增加膜性结构的脆性。

(6) 饲料过氧化值 $>1.01 \text{ meqO}_2/\text{kg}$ 时, 空肠IFN- γ 、TNF- α 及MLCK mRNA水平显著升高。饲料过氧化值 $>3.14 \text{ meqO}_2/\text{kg}$ 时, 导致1~21日龄肉鸡日增重显著降低; 脂肪酶的活性显著降低; 脂质过氧化产物MDA的含量显著增加, 总抗氧化能力显著降低; 空肠NF- κ B P65 mRNA水平显著升高; 空肠免疫指标SIgA水平显著下降。

(7) 氧化应激导致小肠上皮细胞TER降低, IF率升高, 连接蛋白Occludin和ZO-1减弱, 紧密连接功能受损。

3 缓解或消除氧化应激措施

(1) 饲料中添加大豆异黄酮, 最适添加量为10~20 mg/kg。

(2) 饲料中添加维生素。①添加10~40 mg/kg VE显著提高了肉鸡法氏囊指数和新城疫抗体滴度, 添加20 mg/kg VE显著提高血液淋巴细胞增殖率。②添加VA1500~12000 IU/kg显著提高了肉

鸡平均日增重。获得最佳抗氧化性能,VA适宜添加量:3000 IU/kg

(3) 饲料中添加矿物元素。饲料添加 120 mg/kg Mn(MnSO₄)显著降低了血清中MDA含量,提高了MnSOD活性。22-42日龄阶段和43-63日龄阶段饲料锰适宜添加水平均为60 mg/kg。

(4) 饲料中添加氨基酸。添加 Na₂SeO₃和 Se-Met显著提高了胸肌肉中硒和GSH含量,降低了巯基化合物含量,其中添加0.15、0.225 mg/kg Se-Met组胸肌肉中巯基化合物含量分别降低了33.33%和38.88%。

佛山科学技术学院黄淑坚教授报道“鸡霉菌毒素性腺肌胃炎发生特点及其预防控制”研究进展

1 霉菌毒素性腺肌胃炎发生特点

霉菌毒素性腺肌胃炎可发生于不品种、不同日龄、不同性别家禽,包括:鸡、鸭、鹅、鸽、鹌鹑、鸵鸟等家禽。家禽中,以鸡最为敏感,鸭鹅次之。该病主要发生在温暖、潮湿的季节,发病率可达20~90%,主要侵害4~60天龄鸡。该病一般不引起死亡或仅引起极少量死亡,主要导致残次鸡增多而被淘汰处理。

2 霉菌毒素性腺肌胃炎对鸡只危害

2.1 对雏鸡、肉鸡(或育成鸡)的影响

患鸡发病初期,精神沉郁,畏寒,呆立,采食量下降或不升,增重慢,拉饲料便,饲料报酬差,患鸡逐渐消瘦,弱小,冠小、苍白,脚苍白,软脚,鸡群均匀度差,残次鸡多而被淘汰处理。

2.2 对种鸡(或蛋鸡)的影响

种鸡死淘明显增多,死亡鸡冠和肉垂苍白,肝脏肿大、苍白、质脆,肝破裂,体腔有血块,若继发戊型肝炎,会加剧本病严重性和死亡。种鸡产蛋率下降,蛋大小不一,蛋壳变薄,破壳蛋和软壳蛋增多,血斑蛋或霉斑蛋增多。种蛋受精率下降,孵

化后期(18天龄)死胚增多,死亡胚肌胃溃疡,孵出弱雏增多,死亡增多。

3 霉菌毒素性腺肌胃炎预防控制

3.1 从饲料源头控制霉菌和蜡样芽胞杆菌的污染,是控制家禽腺肌胃炎的根本。

(1) 严把饲料原料选购关,选购优质饲料原料,饲料原料应尽可能新鲜、干燥。

(2) 控制饲料霉变和蜡样芽胞杆菌污染,具体做法:①控制好饲料温度、湿度和氧气三个条件之一,即可有效地防止饲料霉变;②饲料原料在收获和储运过程中,应尽量避免虫咬、鼠啃、磨压,避免玉米、稻谷等谷物表皮或外壳损伤;③破碎籽粒应通过过筛除去,因为这些籽粒往往被高度污染;④改善贮藏条件,如采用低温通风贮藏等;⑤饲料添加化学防霉剂如丙酸盐(丙酸钙);⑥防霉包装;⑦控制蜡样芽胞杆菌污染。

(3) 饲料加入脱霉剂和抗蜡样芽胞杆菌产品。

3.2 改变饲喂加料方式

进雏起就要按时分多次加料,杜绝一次性加料方式,事实证明,这种饲喂加料方式可有效减少腺肌胃炎的发病率。

3.3 加强水槽和水线管理

腺肌胃炎是消化道问题,平时应经常关注水箱和水线清洁问题,及时清洗污染的水槽,定期(1次/周)使用有机酸对水线进行清洗。若通过水线给鸡投喂药物、维生素等产品时,应在投喂后及时清理水线。

4 治疗改善措施

霉菌毒素中毒一旦发生,通过治疗,对患鸡有一定改善效果。主要措施:①找到霉菌毒素产生根源,切断毒源,使用脱霉剂吸附、降解毒素;②使用大蒜精油,有一定治疗效果;③修复胃角质层溃疡:鱼肝油、VC;④维护肝脏和肾脏生理机理,可使用保肝、护肾的中草药颗粒,排解毒素;⑤适当使用一些抗生素消除胃肠炎症,增加食欲。

植物精油在养猪生产中的应用

郑懿君¹, 李克标², 刘世龙², 邱月琴³, 王丽³, 杨雪芬^{3*}

(1. 仲恺农业工程学院动物科技学院, 广东 广州 510225;

2. 佛山科学技术学院生命科学工程学院, 广东 佛山 528000;

3. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:植物精油是提取于草本植物的挥发性芳香油状物质, 具有抑菌、防腐、抗氧化等生物学特性和绿色安全无残留的特点。随着我国全面禁用饲用抗生素政策的颁布与实施, 以及人们对食品安全问题越来越重视, 植物精油在畜禽养殖中的应用受到业内广泛的关注。本文就植物精油在母猪、仔猪、生长育肥猪的应用上进行综述。

关键词:植物精油; 猪; 生产性能; 肉品质

中图分类号:S816.7 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)04-0007-05

随着我国经济的高速增长, 人民总体生活水平大幅度的提升, 越来越多的人关注的不再是能否有肉吃, 而是如何吃到健康优质的肉, 消费者对肉品质和安全性的要求更加严格。如何生产出绿色安全的肉产品是畜牧生产需要长期关注的问题。生产中, 添加抗生素用来促进动物生长和预防疾病, 但是滥用、乱用抗生素饲料添加剂导致病原体耐药性的产生和药物残留的问题严重影响环境及人类健康。随着我国饲料禁抗行动的启动, 抗生素作为饲料添加剂的时代将成为历史, 植物精油作为抑菌、抗氧化、天然安全的饲料添加剂, 有望能代替抗生素预防病菌促进动物健康生长。

1 植物精油的功能及生物学特性

1.1 植物精油的简介

植物精油是通过蒸馏、吸脂、浸渍、榨取或压缩

等方法从草本植物的花、叶、根、树皮、果实、种子、树脂等部位萃取获得的油状芳香物质。它是低分子量的次生代谢产物, 一般作为防疫系统来抵御环境、生理、食物链上端和病原体等应激压力, 让植物自身能在复杂的环境下生存^[1]。在常温下, 植物精油多呈具有挥发性的油状液体, 其溶于有机溶剂, 难溶于水。目前已被发掘的植物精油有三万多种, 其成分复杂, 其中主要有四大类成分: 萜烯类化合物、脂肪酸族化合物、芳香族化合物和含氮含硫类化合物^[2]。现阶段研究较多及在畜禽生产上常用的植物精油有牛至油、迷迭香油、百里香油、香薄荷油和肉桂油等^[3]。

1.2 植物精油的功效

1.2.1 抗菌防腐

大量研究表明, 植物精油对细菌和真菌的生长都有一定的抑制作用, 其低分子量、高亲脂性的

收稿日期: 2020-03-27

项目来源: 国家重点研发专项(2018YFD0500605), 广东省省级乡村振兴战略专项(饲料添加剂退出技术研究), 广州市科技计划项目(201906010021), 科技创新战略专项资金(高水平农科院建设, R2016PY-QF007)

作者简介: 郑懿君(1997-), 女, 广东珠海人, 本科生, 主要从事猪营养与饲料科学研究。E-mail: 739878334@qq.com

*通讯作者: 杨雪芬(1984-), 女, 博士, 副研究员, 研究室副主任, 研究方向: 猪营养与饲料科学。E-mail: yangxuefen@gdaas.cn

有效成分能通过有害微生物细胞膜, 改变细胞膜通透性, 破坏其质膜结构, 抑制细胞内酶活力, 干扰三羧酸循环来影响有害微生物的呼吸代谢, 从而抑制有害菌群的生长繁殖^[4]。汪中兴等研究表明, 肉桂油、牛至油和百里香油在体外试验中对猪源产肠毒素大肠杆菌和霍乱沙门菌均有显著的抑制效果^[5]。李国林等研究了八种植物精油对真菌的作用效果, 结果表明百里香、肉桂、丁香、当归和孜然精油对供试真菌均有抑制作用, 其中肉桂精油对粉红单端孢的抑菌率高达 95.56%; 而除花椒精油之外七种植物精油对金黄色葡萄球菌均有抑制作用^[6]。柴向华等在研究植物精油对食品常见有害微生物抗菌作用的试验中发现, 百里香精油和肉桂精油的空间体积浓度达到 300 $\mu\text{L/L}$ 时, 对细菌、霉菌和酵母均表现出较强抑制效果, 具有良好的天然防腐保鲜的能力^[7]。钱骅等的研究发现, 在牛奶中添加 0.3% 的大蒜精油, 常温放置 24 h 后, 牛奶为乳白色, 且无发臭凝固变质的现象; 经过大蒜精油和花椒精油处理的圣女果, 可在常温下保藏 20 天, 且果实无霉烂发软, 与对照组相比延长了 5 天保鲜期; 认为大蒜精油有较好的防腐作用^[8]。

1.2.2 抗氧化

植物精油的化学成分主要为酚、醛、醇、烯和酮等, 主要通过螯合催化氧化反应的金属离子, 提高抗氧化酶活性和抑制细胞膜脂质过氧化反应来清除自由基^[3, 9]。Alsaraf 等采用体外 DPPH 法测定百里香油对自由基的清除能力, 结果得出百里香油在 40 $\mu\text{g/mL}$ 浓度下能够清除 71.57% 的 DPPH 自由基^[10]。王兰等在肉鸡基础饲料中添加不同浓度的百里香酚、丁香酚和肉桂醛组成的复合植物精油, 发现植物精油添加量为 200 mg/kg 的饲料能显著提高肉鸡血清中总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性^[11]。张文静等研究结果显示, 与阴性对照组相比, 植物精油组肉鸡血清中超氧化物歧化酶(SOD)值和总抗氧化能力(T-AOC)含量显著升高, 丙二醛含量显著降低, 改善肉鸡健康^[12]。

1.2.3 促进动物生长

植物精油通过提高消化酶的活性, 改善肠道

粘膜形态, 提高肠道对营养物质的消化吸收, 维持肠道内环境的稳定, 促进动物生长^[13]。杜恩存等研究发现, 饲料添加百里香酚和香芹酚为主要成分的植物精油能够显著提高肉仔鸡的麦芽糖酶活力, 并且对 TLR2 介导的炎症反应有抑制作用, 减轻肠道损伤, 平衡肠道内的菌群, 保证了肠道正常的消化吸收功能^[14]。Maenner 等研究表明, 饲喂含有薄荷精油的饲料能明显提高断奶仔猪的饲料利用率, 且认为与薄荷精油能显著提高断奶仔猪的回肠蛋白质和氨基酸消化率有关^[15]。燕磊等研究表明在肉仔鸡饲料中添加 300 mg/kg 含 5% 香芹酚的植物精油能显著降低 22~31 日龄肉仔鸡料重比, 且十二指肠的绒毛高度/隐窝深度比值高于对照组, 提示香芹酚可通过改善肠黏膜发育促进营养物质的吸收^[16]。

2 植物精油在养猪生产中的应用

2.1 母猪

母猪的健康情况直接关系到胎儿及仔猪的生长发育。已有研究表明植物精油可以缓解母猪机体氧化损伤和炎症反应, 减少泌尿繁殖系统疾病患病几率, 保证母猪泌乳能力的稳定^[17]。Tan 等研究发现, 饲料中添加牛至油能显著降低妊娠期和哺乳期母猪血清中 8-羟基脱氧鸟苷浓度和脂质过氧化状态, 提高粪便乳酸菌数量, 降低大肠杆菌和肠球菌数量, 改善母猪的健康状况; 牛至油对母猪妊娠-泌乳期的体重、背膘损失、泌乳量及成分没有影响, 但显著提高后代仔猪平均日增重^[18]。周选武等在妊娠后期的母猪饲料中添加植物精油后死胎率和木乃伊率分别降低 71.43% 和 50%, 仔猪断奶存活率提高 1.17%, 母猪发情间隔缩短了 0.42 天^[19]。另有研究表明, 百里香酚对动物乳腺炎的致病菌有良好的抑制作用, 含有百里香酚成分的植物精油混合物或百里香酚纯品可能有助于预防和治疗家畜环境性乳腺炎, 降低家畜乳腺炎发病率, 或减少发病初期抗生素的应用, 从而避免母乳中的抗生素残留^[20]。

2.2 仔猪

断奶仔猪消化系统不健全, 分泌消化酶能力

差,失去母乳中抗体蛋白的保护,并伴有心理及环境应激,抵抗力低下,容易患病及死亡,给养猪生产带来经济损失。大量研究表明在饲料中添加植物精油可以提高断奶仔猪采食量、降低料重比、减少腹泻、促进生长^[21]。商业上广泛应用的牛至油对革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌均有抑制作用,其能维持肠道菌落平衡,抑制有害微生物增殖,维护肠道屏障功能完整性,从而改善养分消化吸收效率^[22]。张勇等研究结果表明,牛至油与三丁酸甘油酯联合使用能提高断奶仔猪的粗脂肪和粗蛋白质的表观消化率,降低粪便中大肠杆菌数量并提高双歧杆菌数量,同时腹泻率也有显著降低,有效预防了仔猪痢疾^[23]。在饲料中添加 50 mg/kg 肉桂油后,断奶仔猪平均日增重和采食量分别提高 12.47% 和 7.16%,料重比降低^[24]。杨晶晶认为植物精油的芳香气味可以改善饲料的适口性,断奶仔猪饲料中添加植物精油可以起到诱食效果,提高采食量,缓解仔猪换粮应激导致的不食,让仔猪能尽早适应保育料^[25]。但也有研究结果表明,仔猪颗粒料过渡期间,在饲料中添加低浓度的牛至油和百里香油对仔猪的采食量和体增重没有显著影响,仔猪对植物精油芳香气味的偏好存在较大的个体差异^[26]。在植物精油调控免疫功能方面,饲料中添加植物精油可显著提高断奶仔猪血清中总蛋白水平,有效改善仔猪蛋白质代谢状况,其中添加 150 mg/kg 植物精油对仔猪血液 IgA 和 IgG 水平的提高优于硫酸黏杆菌素;另外,植物精油组血清中的补体 C3 和 C4 水平都有明显提高,改善仔猪的免疫功能^[22]。

2.3 生长育肥猪

植物精油的芳香风味能够增进动物的食欲,提高采食量,促进营养物质的消化吸收,提高饲料利用率;植物精油的抑菌作用能改善肠道微生物稳态,增强动物免疫力,降低患病率;提高抗氧化活性,改善肉品质^[4]。邬本成等连续 14 天对患有呼吸道疾病的生长猪饲喂添加 150 g/t 祛痰止咳复方植物精油的饲料,发现精油对生长猪的日采食量、日增重和耗料增重比均无显著影响,但实验组痊愈率为 95.83%、有效率为 100%,血液中性粒细胞

百分比显著提高^[27]。王改琴等研究表明,饲喂含香芹酚和肉桂醛等的复方精油饲料可降低育肥猪的腹泻率和呼吸道疾病发生,并且添加量为 100~300 mg/kg 时,全期的日增重提高 4.50%~7.24%,尤以 200 mg/kg 添加量效果最佳^[28]。封飞飞等^[29]的试验结果表示在饲料中添加 200 mg/kg 的茶树油能显著增加育肥猪的平均日增重,提高育肥猪宰后背最长肌的 pH 值(宰后 24 h)、红度值、肌肉脂肪含量,降低肌肉剪切力,对肉品质有一定程度的改善。董国权等在育肥猪饲料中添加牛至油能显著提高猪肉嫩度,且母猪猪肉多汁性和香味显著高于公猪^[30]。Ranucci 等在肥育猪饲料添加 0.2% 的牛至油和甜栗木提取物,发现肌肉中谷胱甘肽过氧化物酶(GSHPx)和谷胱甘肽还原酶(GR)的活性较高,在-80℃贮藏下 2 周或 8 个月的植物精油组肌肉的脂肪氧化(TBARS 值)均显著低于对照组,表明牛至油和甜栗木提取物的联合使用可以增加育肥猪的抗氧化能力,防止脂质氧化,从而提高猪肉货架寿命;此外,与对照组相比,植物精油组生产的熟猪肉颜色更红、更深,但是未观察到对猪生产性能和生肉品质的显著影响^[31]。Zou 等连续 4 周用添加 25 mg/kg 牛至油的基础饲料饲喂育肥猪,发现猪只日增重显著提高,料重比降低;在其屠宰前经过 5 小时的运输后,与对照组相比,喂食牛至油的猪群在运输后育肥猪的活重损失降低,热胴体重量和屠宰率更高^[32]。此外,牛至油组的血清、肌肉和肝脏中 TBARS(硫代巴比妥酸活性物质)和 ROS(活性氧)含量降低,牛至油组血清和肝脏中 GSHPx 和 T-SOD 活性相比对照组均升高;可见牛至油能够减少运输诱导的氧化应激并改善肉品质。

3 影响植物精油作用效果的因素

3.1 提取工艺以及加工工艺

植物精油的质量和纯度很大程度取决于植物精油的提取工艺。传统的提取工艺如水蒸气蒸馏法,设备简单、操作简易、成本较低,但在提取过程中需要将植物原料长期置于高温,引起精油中热敏性成分热分解,而被广泛运用的有机溶剂萃

取法存在提取精油纯度较低和提取溶剂残留的问题^[33, 34]。另外, 植物精油易挥发性, 稳定性较差, 对高温和紫外线敏感, 在加工、贮存和运输过程中容易造成有效成分的损失。利用微胶囊技术将把气体、液体或固体材料包埋在成膜材料中, 能提高植物精油的氧化稳定性和耐热性, 保护植物精油天然的活性成分, 延长精油功效的释放, 并且能保持其抑菌活性的长期稳定^[35]。

3.2 植物精油的来源、活性成分与纯度

植物精油的种类、生长环境、采收时节、提取部位、提取方法的不同, 使得各种精油的活性成分及其含量呈现明显的差异, 而植物精油的作用效果与其活性化学成分密切相关^[36, 37]。有研究表明, 牛至油具有良好的抗氧化能力, 主要为多酚类化合物和萜类物质在发挥作用, 多酚类化合物中活跃的酚羟基能通过脱氢反应来清除烷氧自由基, 而萜类物质具有较强的还原性, 能与强氧化性物质发生反应来阻断细胞中不饱和脂肪酸的氧化^[38]。Ghabraie 等研究了 32 种植物精油对细菌的抑制能力, 结果表明红百里香、红佛手柑、夏香、肉桂和肉桂皮 5 种植物提取精油表现出较高的抑菌能力, 它们主要成分为香芹酚、百里香酚和肉桂醛, 是具有良好抗菌作用的化合物^[39]。李文茹等的研究显示, 大蒜精油具有高效的抗真菌能力, 主要与其区别于其他植物精油的特殊成分硫醚有关^[40]。

3.3 不同猪群对植物精油的响应

由于猪群的各个生长阶段的生理特性和所需要的营养物质不同, 植物精油在猪群各阶段表现出的效果也有所差异。仔猪的消化器官系统尚未健全, 免疫能力低下, 同时容易受到断奶、并窝等应激影响, 导致食欲下降, 引起大肠杆菌等细菌感染疾病。大量的研究表明在仔猪饲料中添植物精油, 可提高采食量, 减少肠道有害菌的产生, 促进营养吸收, 防止仔猪痢疾^[41]。生长育肥猪的消化机能和免疫系统已发育相对完善, 植物精油的作用一般表现在提高饲料转化率, 降低料肉比, 防止呼吸道和肠道疾病, 改善肉品质^[42]。母猪妊娠期和哺乳期的营养需要量较大, 其代谢快, 加之环境

的影响易使母猪产生氧化应激, 影响胚胎发育和自身免疫。有研究发现, 植物精油能缓解氧化应激对母猪机体的损伤^[20]。

4 小结

植物精油的广谱抗菌和良好的抗氧化性对动物肠道健康有一定程度的改善, 能缓解母猪妊娠期和哺乳期的氧化应激、提高仔猪的生产性能、增强猪群的免疫能力、改善育肥猪的肉品质, 植物精油的作用效果受到提取和加工工艺、精油活性成分、猪群生长阶段或健康状况的影响。由于其成分复杂, 目前植物精油作用机制、使用剂量、配伍技术的研究还有待进一步加强。

参考文献:

- [1] 金立志. 植物提取物添加剂在动物营养中的应用及其机制的研究进展[J]. 动物营养学报, 2010, 22(05):1154-1164.
- [2] 程彬, 李宁. 植物精油在畜禽生产中的应用研究[J]. 现代畜牧兽医, 2018(07):28-31.
- [3] 金立志. 植物提取物添加剂抗氧化特性及其在无抗饲料中的应用[C]. 中国畜牧兽医学会动物营养学分会. 中国畜牧兽医学会动物营养学分会第十届全国代表大会暨十二届学术研讨会论文集. 中国畜牧兽医学会动物营养学分会; 中国畜牧兽医学会, 2016:313-320.
- [4] CUI H Y, ZHENG C H, LI C Z, LIN L. Antibacterial mechanism of oregano essential oil [J]. Industrial Crops & Products, 2019, 139:1-9.
- [5] 汪中兴, 侯永清, 窦茂鑫, 等. 3 种饲用植物精油及其主要成分对猪源致病菌的抑菌作用研究[J]. 饲料研究, 2014(13):42-45.
- [6] 李国林, 张忠, 毕阳, 等. 八种植物精油体外抑菌效果的比较[J]. 食品工业科技, 2013, 34(07):130-133.
- [7] 柴向华, 董艳, 吴克刚, 等. 植物精油对食品中常见有害微生物的抑菌活性研究[J]. 现代食品科技, 2016, 32(08):123-127+114.
- [8] 钱骅, 赵伯涛, 夏劲, 等. 九种精油的抗菌活性及其防腐特性研究[J]. 中国调味品, 2010, 35(04):69-72.
- [9] 温鹏飞, 彭艳. 植物精油抗氧化作用机制研究进展[J]. 饲料工业, 2017, 38(02):40-45.
- [10] SHAHAD A, ZAINB H, WAFI M A, et al. Chemical composition, in vitro antibacterial and antioxidant potential of Omani Thyme Essential Oil along with in silico studies of its major constituent [J]. Journal of King Saud University-Science, 2019, 32(1):1021-1028.

- [11] 王兰, 陈代文, 余冰, 等. 植物精油对肉鸡生长性能、抗氧化能力和免疫机能的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(02): 831-838.
- [12] 张文静, 雷连成, 魏静元. 植物精油对肉仔鸡脏器指数、血清中激素含量和抗氧化指标的影响[J]. 饲料工业, 2016, 37(24):9-12.
- [13] 谢凤莲, 孙贵宾, 刘超齐, 等. 植物精油在动物生产中的应用研究进展[J]. 中国饲料, 2018(05):49-52.
- [14] 杜恩存. 百里香酚和香芹酚对肉仔鸡肠上皮屏障和免疫功能的调节作用[D]. 中国农业大学, 2016.
- [15] MAENNER K, VAHJEN W, SIMON O. Studies on the effects of essential-oil-based feed additives on performance, ileal nutrient digestibility, and selected bacterial groups in the gastrointestinal tract of piglets1 [J]. Journal of Animal Science, 2011, 89(7):06-12.
- [16] 燕磊, 朱正鹏, 吕尊周, 等. 饲料中添加不同植物精油对肉仔鸡生长性能、肠道发育、免疫器官指数及屠宰性能的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(04):1367-1375.
- [17] 王浩, 印遇龙, 邓百川, 等. 植物提取物的特性及其在母猪生产中的应用[J]. 动物营养学报, 2017, 29(11):3852-3862.
- [18] TAN C Q, WEI H K, SUN H Q, et al. Effects of Dietary Supplementation of Oregano Essential Oil to Sows on Oxidative Stress Status, Lactation Feed Intake of Sows, and Piglet Performance[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 1-9.
- [19] 周选武, 杨开云, 陈代文, 等. 饲料添加抗生素和植物精油对母猪生产性能、免疫功能和乳成分的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(03):995-1002.
- [20] FILIPPO F, SERGIO C, MICHELE L, et al. Antibacterial activity of essential oils, their blends and mixtures of their main constituents against some strains supporting livestock mastitis [J]. Fitoterapia, 2014, 96:1-7.
- [21] 吕海清. 植物精油在猪生产中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(04):18-22.
- [22] 邓奇凤, 刘志强, 范觉鑫, 等. 牛至油的研究进展及其在猪生产中的应用[J]. 中国猪业, 2018, 13(02):41-46.
- [23] 张勇, 王萌, 李方方, 等. 三丁酸甘油酯和牛至油对断奶仔猪生长性能、血清生化指标和营养物质表观消化率的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(09):2786-2794.
- [24] 方秋红, 侯永清, 赵迪, 等. 植物精油对断奶仔猪生长性能及血液生化指标的影响[J]. 饲料工业, 2014, 35(17):44-47.
- [25] 杨晶晶. 日粮营养调控对缓解猪应激的研究应用[J]. 猪业科学, 2016, 33(10):86-88.
- [26] CAROLINE C, MARIE C M, DAVID V. The effects of sensory functional ingredients on food preferences, intake and weight gain in juvenile pigs [J]. Applied Animal Behaviour Science, 2012, 138(1-2):36-46.
- [27] 邹本成, 王改琴, 耿文静, 等. 祛痰止咳复方植物精油对生长猪生长性能及呼吸道疾病的效果研究[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(04):116-119.
- [28] 王改琴, 邹本成, 承宇飞, 等. 植物精油对生长猪生产性能和健康水平的影响[J]. 家畜生态学报, 2014, 35(08):18-21.
- [29] 封飞飞, 方伟, 王淑楠, 等. 茶树油对育肥猪生长性能、器官指数、胴体性状和肉品质的影响[J]. 动物营养学报, 2017, 29(10):3620-3626.
- [30] 董国权, 郭琛琛, 王宝晴. 牛至油对育肥猪生长性能和肉品质的影响[J]. 中国饲料, 2019(12):34-38.
- [31] RANUCEI D, BEGHELLI D, TRABALZA M, et al. Dietary effects of a mix derived from oregano (Origanum vulgare L.) essential oil and sweet chestnut (Castanea sativa Mill.) wood extract on pig performance, oxidative status and pork quality traits[J]. Meat Science, 2015, 100:319-326.
- [32] ZOU Y, XIANG Q H, WANG J, et al. Effects of oregano essential oil or quercetin supplementation on body weight loss, carcass characteristics, meat quality and antioxidant status in finishing pigs under transport stress [J]. Livestock Science, 2016, 192:33-38.
- [33] 李川山, 陈晔. 植物精油提取工艺研究进展[J]. 大众科技, 2010(09):86-87.
- [34] 何凤平, 雷朝云, 范建新, 等. 植物精油提取方法、组成成分及功能特性研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(03):307-312+320.
- [35] 杨云燕, 林波. 植物精油包埋工艺及包埋植物精油的应用进展[J]. 饲料研究, 2018(03):32-36+43.
- [36] 权美平. 唇形科植物精油化学成分分析及提取工艺研究进展[J]. 食品工业, 2013, 34(10):193-196.
- [37] 李文茹, 施庆珊, 谢小保, 等. 植物精油化学成分及其抗菌活性的研究进展[J]. 微生物学通报, 2016, 43(06):1339-1344.
- [38] 戴冉, 马跃云, 高丽晓, 等. 牛至油的作用机理及其应用[J]. 饲料广角, 2016(08):44-47.
- [39] MINA G, KHANH V, LINA T, et al. Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat [J]. LWT - Food Science and Technology, 2016, 66:1-8.
- [40] 李文茹, 施庆珊, 莫翠云, 等. 几种典型植物精油的化学成分与其抗菌活性[J]. 微生物学通报, 2013, 40(11):2128-2137.
- [41] 李孟阁, 岳海星, 张正兴, 等. 植物精油的生理作用及在猪生产中的应用研究进展[J]. 饲料广角, 2016(05):39-42.
- [42] 刘虎, 徐荣, 方热军. 植物精油的功能及其在猪生产中的应用[J]. 湖南饲料, 2016(04):25-26.

养殖废水净化处理研究进展

员晓庆¹, 李复坤¹, 李家洲², 张浩吉^{1*}

(1. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528000;

2. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心, 广东 广州 510640)

摘要:养殖废水污染一直困扰养殖业, 尤其富含的氮、磷等大量养殖废弃物, 给环境造成很大的压力, 如何净化养殖废水污染是社会关注的热点。本文主要根据养殖废水的来源, 介绍常规理化或生物法处理养殖废水及水培蔬菜等非常规处理方式, 以期为养殖废水净化提供参考。

关键词:养殖废水; 水培植物; 净化处理

中图分类号:S821.4 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0012-03

改革开放以来, 我国养殖业进入了快速发展时期。随之而来的是大量的养殖废弃物, 如畜禽和水产养殖过程中产生的废水, 这些废水中含有较高化学需氧量(COD)、氨氮、磷、重金属等污染物^[1]。尽管现在有很多理化方法处理污水, 但在处理养殖业废水时尚凸显不足, 高效处理养殖废水的方法缺乏。除了常见的物理化学处理方法, 有研究报道, 采用水培蔬菜处理养殖废水。水培蔬菜光合作用吸收养殖水体中的大量的氮和磷等物质, 以此来净化养殖废水, 避免废水在常规处理过程中的二次污染, 是近年来环境保护领域研究的热点。本文主要介绍养殖废水处理方法, 尤其关注水培蔬菜净化养殖废水的研究, 以期为同行净化养殖废水提供参考借鉴。

1 养殖废水来源

集约化养殖是未来农村养殖发展的主要方向, 但是集约化养殖排放的粪污量大而集中, 且含有大量的氨氮、磷、重金属、抗生素等污染物, 如果不进行有效处理, 会对环境造成严重危害^[2]。

1.1 畜禽养殖废水

畜禽养殖废水是指在畜禽养殖过程中畜禽的尿液、粪便、清洗水等组成的废水。这种废水属于高浓度的有机废水, 较高化学需氧量(COD)、氨氮、磷、重金属等污染物, 随意排放会污染地下水源; 大量废水聚积会影响周边的土地, 影响农作物的生长, 给人们的健康带来隐患。目前畜禽养殖废水处理主要存在的处理技术的落后, 管理缺乏, 养殖场对废水处理意识不足等问题。

1.2 水产养殖废水

水产养殖废水主要为自体废水, 这些废水中包含了大量的氨氮、细菌、溶解性有机物、未消化的饲料等, 且排放量巨大。有些养殖户为了提升经济效益忽略管理工作, 导致养殖废水随意排放, 对环境造严重的影响, 同时也危害水产品。另外, 部分养殖户为控制成本和方便管理使用一些药物来净化水体, 这些药物中通常含有重金属元素, 被水生物吸收后会沉积在其体内, 人类食用此类水生物后将这些重金属元素吸收进人体, 导致人体出现慢性损伤, 严重时还会造成人体的急性重金属中毒。目前, 水产养殖废水绝大部分直接排放到环境中, 对自然水环境造成了巨大压力, 缺乏高效

收稿日期: 2020-07-08

作者简介: 员晓庆(1995-), 男, 河南三门峡人, 硕士研究生, 主要从事预防兽医研究。E-mail: yxq20190907@126.com

*通讯作者: 张浩吉(1963-), 男, 博士, 教授, 动物医学系主任, 研究方向: 兽医寄生虫病学研究。E-mail: zhanghaoji@yahoo.com.cn

的水体净化技术,因此亟需研发高效低成本的净化技术,以应对这种困局。

2 养殖废水处理方法

针对畜禽和水产养殖废水,常规的处理技术为物理、化学和生物法,其中生物处理技术有着效果好、污染小、成本低等优势。

2.1 物理法

物理法主要利用沉淀、过滤、吸附、曝气等方法,常见的是利用沉淀池、格栅进行分离去除处理养殖废水中的悬浮物质,或鱼残、未吸收的饵料。方圣琼等采用物理过滤技术处理,对大颗粒废弃物处理效果显著,同时处理成本较低^[3]。

2.2 化学法

现在常用的是臭氧处理技术和电化学处理技术。臭氧具有极强的氧化能力,对水中的溶解性物质或者固体颗粒都有较好的氧化能力,对水体的浊度、色度以及藻类都有很好的处理效果。朱云庆制备的臭氧-膜耦合工艺不仅可以提高污染物的去除效率,同时起到消毒灭菌的效果,而且可以有效改善膜面污染,是具有良好应用前景的催化陶瓷膜产品^[4]。电化学处理技术在运行操作,设备尺寸,运行效率方面的远高于其他的方法,目前广泛应用于重金属回收、纺织、制药等领域废水处理^[5]。James通过水溶性的阴离子聚丙烯酰胺(PAM)处理养殖废水,取得了良好的结果^[6]。Cho等研究了电压和氯化钠浓度对畜禽废水中污染物的去除影响,结果表明在7V和0.05% NaCl水平下,氮和磷的去除率分别为99%和59%^[7]。

2.3 生物法

生物法是处理养殖废水最常用的方法,利用微生物对有机物质的分解转化作用,达到水质净化的目的。现阶段有厌氧与好氧发酵两种方式,二者的原理都是利用微生物快速分解代谢废水中的有机物,达到处理废水的目的。四川大学研究报告,通过结合好氧和厌氧流化床进行处理,开发出高效的新型厌氧-好氧一体化反应器,降低了废水中有机物含量^[8]。但由于畜禽养殖废水中污染物浓度高,成分复杂,生产中需采用多种方法综合处理才能达到较好的处理效果。利用这些方法,虽然可以净化废水,但是成本比较高,一些畜禽养

殖场无法承受。

2.4 水培蔬菜处理方法

常规的物理、化学、生物法处理养殖废水,生产中时有发现不足之处,因此行业迫切需求更高效的处理方式。近年来,研究报道水培蔬菜是一种绿色环保的废水处理方式。

2.4.1 水培蔬菜现状

我国现阶段蔬菜水培模式主要有营养液膜技术、深液流技术、动态浮根栽培技术、立管悬杯静止技术、浮板水培技术等^[9]。随着水培技术的不断发展,几乎所有的蔬菜都可以进行水培。现实生产中,水培蔬菜技术主要在以下两个方面:城市农业方面。这主要是由于水培蔬菜结合立体栽培的方式,可以小范围内达到高产量的周年生产,具有生产与观光价值,适宜城市推广。有研究表明,如果全球城市总面积三分之一来推动都市农业,可满足城市蔬菜消费需求^[10-11]。水培蔬菜生长过程中,光合作用吸收水体中大量的氮和磷等其他物质,转化为自身的营养成分,不仅避免了废水在常规处理过程中的二次污染,而且有效地进行了资源再利用,具有较好的环境效益和经济效益。

2.4.2 水培蔬菜处理畜禽养殖废水

水培蔬菜主要通过降低水体氮、磷的含量,吸收、分解有机污染物等来净化水体。余俊任等采用凤眼莲、水蕹菜、生菜对以CODcr为参照,将厌氧发酵水原水进行2个浓度梯度稀释,170~230 mg/L、400~450 mg/L。结果表明在170~230 mg/L的梯度下3种植物均表现出了良好的生长能力及高降解率,其中水蕹菜对总磷降解率为91%,对氨氮降解率为98%^[12]。中科院水生生物研究所在湖北黄石完成了具有污水净化和污水资源化双重功能的新型稳定塘设计,试验结果表明,即使在气温较低的冬季,植物对磷、氮的去除率也较高^[13]。赵丽娜等研究植物对污水中有机污染物总氮、总磷、重铬酸盐的去除效果,研究发现,芦苇、菖蒲、香蒲3种植物对这些有机污染物均有良好的去除效果^[14]。曹雷鹏建立的养猪废水水肥一体化模式培养空心菜,利用废水水培空心菜20d后,废水中的总氮(TN)、总磷(TP)、铜(Cu)、锌(Zn)的去除率分别为87.91%、92.38%、64.29%、49.53%,达到国家畜禽废水排放的标准^[15]。陈玉红等利用漂浮板栽培方式

种植空心菜的方式去除不同的生长期不同的猪场厌氧废水,结果发现猪场厌氧废水理化性质发生较大的变化,对化学需氧量(COD)的去除率达到了85%以上,对总氮(TN)、总磷(TP)、铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)都有较好的去除效果,实现了猪场厌氧废水的资源化利用^[16]。综上,水培蔬菜在对畜禽养殖废水处理方面具有较好应用前景,是一种绿色环保技术。

2.4.3 水培植物处理水产养殖废水

我国自古就有桑基鱼塘案例,近年来在这方面的研究也颇多。陈华等采用空心菜、薄荷两种植物处理高密度水产养殖循环水中氮和磷以及生化需氧量(BOD),结果表明,两种植物均可在循环废水中正常生长,空心菜对养殖水中的总氮、总磷和生化需氧量(BOD)的去除率达到77.89%、93.43%、95.55%和薄荷对总氮、总磷和生化需氧量(BOD)的去除率分别达到77.56%、83.94%、91.94%,10 d后蔬菜对总氮的去除效果较好,随着蔬菜生物量的增加去除能力不断提高^[17]。王茂元采用人工浮床栽培水培空心菜,研究其对养殖池塘水的影响,在没有外来营养盐输入的条件下,在20%水面面积种植空心菜,其养殖的罗非鱼成活率高于其他试验组,且提高了水体的透明度,降低了水体的铵态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、硝态氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、正磷酸盐($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$)、总氮(TN)、总磷(TP)、高锰酸盐指数(CODMn)等主要的水质指标含量,达到水体净化效果^[18]。周胜杰等以睡莲、水芹、美人蕉和空心菜四种水培植物为研究对象,比较在富营养化养殖水体的净化作用,在168 h之后检测水体发现,中度富营养化养殖水中除总氮(TN)率为56%~83%,除总磷(TP)率为80%~81%,高度富营养化养殖水中除总氮(TN)率为60%~83%,除TP率为80%~85%;研究还发现不同根系对高浓度污染水的抗逆性能不同^[19]。由文辉等通过轮种蔬菜和芹菜等两种经济作物,1 m²水面可以每年从废水中吸收20480 g总氮和2462 g总磷,收获蔬菜50 kg/m²,具有显著的环境效益和经济效益^[20]。通过结合池塘养殖与水培蔬菜、花卉、牧草等陆生经济植物结合,既能够收获农产品,美化环境的同时达到净化水质的目的。

3 小结与展望

畜禽养殖废水属于高浓度有机废水,氨氮含量很高。其中的生化需氧量(BOD)、固体悬浮物(SS)浓度严重超出农田、鱼塘排放水标准^[21]。水培蔬菜不能直接利用其中的营养成分,需要配合其他的综合处理系统或者沼气池等对畜禽养殖废水进行预处理才能够利用,最终达到净化环境的目的,目前这方面尚有较大的研究空间。除了常规的理化、生物法,水培植物净化养殖废水是绿色环保之举。近年来,我国大力推进养殖业,渔业和种植业三产融合发展,帮助贫困地区发展养殖业,抓好资源保护等环保战略^[22]。水培植物净化养殖废水具有一定的前景。现在水培蔬菜存在投资大,效益低,以及技术要求复杂等问题,未来改进的方向可以考虑以下几个方面:①推进高度设施化建设,构建全自动化水培栽培基地,同时建立水培与养殖配套体系,解决人力资源的成本,降低环境污染;②推行简易栽培技术,为在农业养殖中水培蔬菜的广泛推行提供支持;③建立植物工厂,在规模化处理养殖废水的同时保障城市蔬菜供给需求。随着技术的发展,科研工作者的不断创新,养殖废水净化将取得更大成绩。

参考文献:

- [1] 雷慧宁.规模化猪场废水处理工艺中抗生素和重金属残留及其生态风险[D].硕士学位论文.上海:华东师范大学,2016.
- [2] 张树清,张夫道,刘秀梅,等.规模化养殖畜禽粪主要有毒成分测定分析研究[J].植物营养与肥料学报,2005(06):116-123.^[3]方圣琼,胡雪峰,巫和昕.水产养殖废水处理技术及应用[J].环境污染治理技术与设备,2004(09):51-55.
- [4] 朱云庆.臭氧催化功能陶瓷分离膜的制备及其水处理性能[D].硕士学位论文.大连:大连理工大学,2013.
- [5] 方芳,张一凡,刘静.论电化学法在重金属废水处理中的实际应用[J].化工管理,2014(26):128-128.
- [6] Entry J A, Sojka R E, Watwood M et al. Polyacrylamide preparations for protection of water quality threatened by agricultural runoff contaminants[J]. Environmental Pollution, 2002, 120:191-200.
- [7] Cho J H, Lee J E, Ra C S. Effects of electric voltage and odium chloride level on electrolysis of swine wastewater[J]. Journal of hazardous materials, 2010, 180(1-3).
- [8] 肖鸿.厌氧-好氧一体化反应器处理高浓度有机废水的实验研究[D].硕士学位论文.成都:四川大学,2005.

用于移动式行人消毒通道的消毒药剂效果评价

涂杜, 张春红, 霍玮, 杨冬霞, 唐兴刚, 罗胜军, 吕殿红*

(广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室,
农业农村部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站, 广东 广州 510640)

摘要:为有效防控疫情研制出移动式行人消毒通道, 评价选用的消毒药剂对有害微生物的消杀作用, 本试验采用培养方法等对过硫酸氢钾复合物、过氧乙酸等消毒药剂对大肠杆菌等病原菌、猪流行性腹泻病毒等常见猪禽病原进行消杀效果试验, 采用急性经口毒性试验、急性眼刺激试验、皮肤刺激试验来评价消毒药的安全性。结果显示几种消毒药对供试病原有较好的杀灭效果, 过硫酸氢钾制剂、过氧乙酸分别1:100、1:2000稀释后, 5分钟即可杀灭所有试验病菌;过氧乙酸1:10⁴、过硫酸氢钾1:10⁵稀释能杀死病毒载体 Vero 细胞;过氧乙酸1:250 经过1 min 即能杀死猪流行性腹泻病毒(PEDV);1:2000 可以有效杀灭新城疫病毒(NDV)和传染性支气管炎病毒(IBV);结果还显示对人具有良好的安全性。本试验提示设立移动式行人消毒通道对降低传播性感染风险具有重要意义。

关键词:消毒通道; 病原; 消杀; 评价

中图分类号:S821.4 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0015-05

新型冠状病毒感染自2019年12月在湖北省武汉市被发现以来, 至2020年1月发展到多个地区, WHO将其正式命名COVID-19^[1-3]。随后疫情在短短2个月时间里蔓延至我国31个省区, 目前仍在全球大流行。新型冠状病毒传播之快、感染范围之广令人措手不及、防不胜防。此外, 该病潜伏期长, 且在潜伏期无明显症状时即可传播病毒, 造成疫情难于及时早发现、早治疗。面对如此传染性强、感染途径多、及时诊断难的新发疫病, 开展严格的消毒灭源、阻止传播等工作相当重要。

“疫情就是命令, 防控就是责任”, 选择安全有效的消毒剂是做好消毒工作的关键。华中科技大学附属同济医院专家组2020年1月《新型冠状病毒肺炎诊疗快速指南》和国家卫健委2020年2月5日发布《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第五版)》及其解读内容谈到, 常用的所有消毒剂对新冠病毒均有效, 推荐含乙醇类、含氯类、过氧化物类等消毒剂。项目组研制的移动式消毒

通道设施主要由通道整体框架、脚垫消毒水槽、人员感应装置、总控制装置、雾化装置组成, 施工安装方便快捷, 实用高效, 行人进入通道后, 自动开启雾化消毒装置, 行人离开后(且检测不到人进入后)雾化消毒装置定时停止工作, 可实现自动喷雾无人值守消毒功能, 系统喷雾工作电流AC4.3A, 额定输入电压AC160V~260V 50Hz, 外形尺寸: 3000 mm (4500 mm、6000 mm) × 1500 mm × 2100 mm, 功率800 w, 耗水量(六个喷头)7.2 L/h, 成雾98%, 雾滴大小为5~15 μm。

由于氯制剂对人的呼吸道刺激性较大, 而过硫酸氢钾复合物、过氧乙酸等这两种消毒剂适合于环境消毒, 对人呼吸道的刺激性较小, 可作为消毒通道消毒的候选药剂。项目组针对移动式消毒通道消毒用的过硫酸氢钾和过氧乙酸制剂等进行了相关的试验, 试验对象选取常见的病原菌及猪禽源冠状病毒等, 以期移动用消毒通道装置的应用、冠状病毒的防控提供试验依据。现将试验结果

收稿日期:2020-05-07

作者简介:涂杜(1990-), 女, 助理研究员, 硕士, 研究方向:肠道免疫及微生态制剂研究。E-mail:tudu@gdaas.cn

*通讯作者:吕殿红, 研究员, 博士, 从事动物疫病诊断和细菌耐药性研究。E-mail:lvdianhong@gdaas.cn

报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株、毒株

标准菌株大肠杆菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC29213)为本项目组保存;供试菌株大肠杆菌、副猪嗜血杆菌等菌株,动物源冠状病毒猪流行性腹泻病毒(PEDV)和鸡传染性支气管炎病毒(IBV)、禽流感病毒(AIV-H9N2)等毒株均由本项目组分离鉴定并保存。

1.1.2 消毒剂

过硫酸氢钾、过氧化酸、季胺盐及复方消毒药(组分过氧化酸、过氧化氢)等均由广东前沿动物保健品有限公司提供。

1.1.3 实验动物

ICR小鼠,SPF级,雌性18~22g,雄性19~22g,购自北京维通利华实验动物技术公司;健康日本大耳白兔,普通级,体重2.16~2.24kg,购自天津裕达实验动物养殖有限公司。

1.2 方法

1.2.1 对常见病原的消杀效果评价

1.2.1.1 对细菌的消杀效果评价试验

采用肉汤稀释法,针对大肠杆菌(ATCC25922)、金黄色葡萄球菌(ATCC29213)测定不同种消毒制剂的最小抑菌浓度。选用兽医临床分离到的大肠杆菌、副猪嗜血杆菌等为受试菌株,采用菌落计数,模拟消毒步骤的方法,建立消毒剂使用消杀模型,进行杀菌效果评价。

1.2.1.2 喷雾消毒装置灭菌能力的评估

内径为9cm的营养琼脂平板在开阔地区利用自然沉降法空气沉降3小时,此即为待测平板;待测平板未经消毒剂处理,培养24小时后约形成90个细菌菌落,设为阳性对照。喷雾设备设对角线内、中、外3个点,即中心一点,内、外两点为距墙壁1m处。采样时,在地面和距离地面高120cm处放6只待测平板,打开皿盖,让喷雾自然沉降到平板上,采样时间为1min。采样后盖上皿盖37℃培养24h。

1.2.1.3 消毒剂对病毒消杀效果评价

(1)对猪流行性腹泻病毒(PEDV)的消杀效果

评价

①病毒载体的消杀评估。取生长良好的Vero细胞,消化计数至96孔细胞板,每板细胞数 5×10^6 ,37℃CO₂培养箱培养至细胞长成单层。将各消毒剂分别按照1:100、1:250、1:1000进行稀释。取各稀释倍数的消毒剂0.5mL与PEDV 0.5mL混合,分别于室温静置1min、5min、10min。取混合物0.2mL加入到0.8mL细胞维持液中,随后再用细胞维持液作10倍连续稀释,分至96孔细胞板,CO₂培养箱连续观察5天,记录CPE数,计算混合作用后的PEDV的TCID₅₀。

②PEDV对常用的安全消毒药定性评估。将100μL的待测消毒剂和100μL的病毒(PEDV,TCID₅₀ 8×10^6)加入800μL体积的PBS中充分混合,混合时间分别为1min、10min、30min。反应后,立即连续10倍倍比稀释,做8个稀释度,接种Vero细胞,观察细胞病变。

(2)对鸡源禽流感病毒(AIV-H9N2)、新城疫病毒(NDV)、传染性支气管炎病毒(IBV)的消杀效果评价

将消毒剂用灭菌蒸馏水按1:500、1:1000、1:2000进行稀释,分别与EID₅₀为 2×10^5 的AIV-H9N2、NDV、IBV进行混合作用5min、10min、15min。各取0.2mL接种于9日龄鸡胚尿囊腔,每个稀释度接5枚,同时做病毒对照。观察鸡胚死亡情况及进行HA测定。

1.2.2 喷雾消杀方式评价

将配制好的1g/L消毒剂溶液装入雾化装置,静置,分别在1、2、4小时取消毒剂试样,同时收集雾化后的消毒剂溶液,进行含量测定,同时测其pH值。

1.2.3 消毒剂的安全性试验

由中检科健(天津)检验检测有限责任公司进行消毒剂安全试验。依据卫生部《消毒技术规范》(2002版)进行相关试验。依据2.3.1急性经口毒性试验,采用该消毒药应用浓度中最高值(2g/L)的5倍溶液(10g/L),雌雄各10只一组,每组动物隔夜禁食后灌胃给药,观察14天后小鼠毒性表现;根据动物死亡情况确定试验小鼠急性经口半数致死量(LD₅₀),并评价药物的毒性分级;依据2.3.3皮肤刺激试验,采用应用浓度中最高值(2g/L)的5倍溶液

(10 g/L)溶液 0.5 mL, 涂抹背部去毛皮肤, 观察皮肤红斑现象; 依据 2.3.4 急性眼刺激试验, 选取健康大耳白兔, 用应用浓度中最高值(2 g/L)的 5 倍溶液(10 g/L)溶液 0.1 ml 滴入眼结膜囊中, 观察角膜、虹膜变化。

2 结果

2.1 对常见病原的消杀效果评价

2.1.1 对常见细菌性病原的消杀效果

过硫酸氢钾、过氧乙酸对大肠杆菌(ATCC25922)的最小抑菌浓度分别是 0.25 μg/μL、0.156 μg/μL, 对金黄色葡萄球菌(ATCC29213)的最小抑菌浓度分别是 0.125 μg/μL 和 0.156 μg/μL。对临床菌株的杀菌试验结果显示过硫酸氢钾制剂 1:100 稀释后, 5 分钟即可杀灭所有试验病菌(见表 1); 过氧乙酸 1:2000 稀释后使用, 5 分钟完全杀灭病菌(见表 2)。

2.1.2 对畜禽源病毒的消杀效果

2.1.2.1 病毒载体的消杀效果

过氧乙酸 1:10⁴ 能杀死 Vero 细胞, 过硫酸氢钾 1:10⁵ 稀释能杀死 Vero 细胞, 10⁶ 稀释对细胞生长有一定抑制作用; 复方消毒药 1:10⁴ 对 Vero 细胞具有杀灭作用。

2.1.2.2 对常见病毒的杀灭作用

表 1 过硫酸氢钾对临床菌株的杀菌试验

微生物数	稀释浓度	接触时间		
		5 分钟	15 分钟	30 分钟
副猪嗜血杆菌(G-) 4.3×10 ⁴ cfu/mL	1:100	100%杀灭	100%杀灭	100%杀灭
	1:1000	83%杀灭	100%杀灭	100%杀灭
	1:2000	0%杀灭	94.4%杀灭	100%杀灭
	1:3000	0%杀灭	0%杀灭	95.8%杀灭
	1:4000	0%杀灭	0%杀灭	0%杀灭
大肠杆菌(G-) 3.8×10 ⁴ cfu/mL	1:100	100%杀灭	100%杀灭	100%杀灭
	1:1000	0%杀灭	0%杀灭	0%杀灭
	1:2000	0%杀灭	0%杀灭	0%杀灭
	1:3000	0%杀灭	0%杀灭	0%杀灭
	1:4000	0%杀灭	0%杀灭	0%杀灭

过硫酸氢钾复合物、过氧乙酸可有效杀灭猪禽源冠状病毒(猪流行性腹泻病毒、传染性支气管炎病毒)等畜禽常见病毒, 过氧乙酸、过氧化氢复合物 1:250 经过 1 min 即能杀死 PEDV, 过氧乙酸、过氧化氢复合物 1:1000 在 1 min、5 min、10 min 均能杀死部分 PEDV。季胺盐 1:2000 稀释后使用, 5 分钟完全杀死 PEDV。表 3 表示过氧乙酸制剂按照使用浓度可以有效杀灭 NDV 和 IBV。

2.2 喷雾消毒装置灭菌能力的评估

结果显示二氧化氯喷雾杀菌效果不佳, 过硫酸氢钾复合物喷雾灭杀细菌有一定效果。

表 2 过氧乙酸对不同细菌的杀灭效果试验

作用时间	消毒液稀释浓度									消毒前大肠杆菌			消毒前金黄色葡萄球菌			消毒前铜绿假单胞菌		
	1:500			1:1000			1:2000											
5 min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
10 min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
15 min	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

注: +: 表示菌落数约为 2×10⁶-10⁷cfu/mL; -: 表示未检测到菌落

表 3 过氧乙酸消毒剂对 AIV-H9N2、NDV 和 IBV 杀灭效果试验结果(以 HA 阳性数表示)

作用时间	与 AIV-H9N2(NDV)作用后接种鸡胚 ⁽¹⁾				与 IBV 作用后接种鸡胚			
	消毒药稀释倍数			/	消毒药稀释倍数			/
	1:500	1:1000	1:2000	病毒对照	1:500	1:1000	1:2000	病毒对照
5 min	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5
10 min	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5
15 min	0/5	0/5	0/5	5/5	0/5	0/5	0/5	5/5

注: (1) 表示过氧乙酸对 AIV-H9N2 和 NDV 杀灭效果一致

2.3 喷雾消杀方式评价

表4显示,测试消毒药物过氧乙酸在配制后4小时内有效成分含量保持稳定,雾化后有效成分含量无显著变化,具有良好的稳定性。

表4 过氧乙酸的稳定性试验结果

放置时间	消毒剂溶液		收集雾化消毒剂溶液	
	含量%	pH	含量%	pH
0 h	9.24	4.18	9.28	4.16
1 h	9.19	4.15	9.23	4.15
2 h	9.2	4.13	9.23	4.14
4 h	9.19	4.12	9.22	4.12

2.4 消毒剂的安全性试验结果

表5表明急性经口毒性试验,未观察到明显中毒体征、无死亡,对ICR小鼠急性进口半数致死量LD₅₀,雌性、雄性均>5000 g/Kg体重,毒性级别判定为实际无毒。表6显示实验兔经皮肤刺激试验,未见皮肤红斑,1只有轻微红斑也在48 h恢复正常;一次完整皮肤刺激试验最高刺激指数为0.33,刺激强度判定为无刺激性。显示过硫酸氢钾按规定浓度使用,对皮肤、粘膜几乎无刺激性,实际无毒,安全性良好。表7显示健康大耳白兔经急性眼刺激试验,只出现结膜充血现象,均于24~48 h恢

复正常,表明眼刺激试验结果为无刺激性。

3 讨论

在当前防控“COVID-19”严峻形势下,做好疫情防控工作,直接关系到人民生命安全和身体健康、经济发展、社会大局稳定,也事关我国对外开放等各项政策。项目组应防控需求研制出移动式行人消毒通道,为防控疫情提供装置和技术支持。由于实验条件限制,本试验中采用常见的病原菌/病毒作为供试微生物,其中猪流行性腹泻病毒(PEDV)、传染性支气管炎病毒(IBV)均属于冠状病毒,试验结果显示选用的过硫酸氢钾制剂、过氧乙酸等消毒药剂对冠状病毒杀灭作用良好,因此可以推测在移动行人消毒使用过硫酸氢钾制剂等对新冠病毒也具有一定杀灭效果。所以该装置适用于各单位、小区入口及其他公共场所。

过硫酸氢钾制剂,是一种安全有效的第五代消毒剂,是美国环保局批准注册、美国农业部批准的常用消毒剂。该制剂溶于水后经由链式反应释放出活性氧并进而形成羟基自由基、过氧化氢自由基、次氯酸等多种活性成分,氧化和氯化病原体,使菌体蛋白质变性凝固,干扰病原体DNA和RNA的合成,能够杀灭多种病原微生物^[4-9]。过氧乙酸制剂,亦称过醋酸,是一种广谱高效消毒剂,对多

表5 消毒药对小鼠急性经口毒性试验结果

性别	剂量(mg/kg.bw)	死亡情况/观察时间(日)														累计死亡	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
雌性	5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10
雄性	5000	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0/10

表6 皮肤刺激试验评分结果

动物编号	反应	1 h		24 h		48 h	
		样品	对照	样品	对照	样品	对照
F1	红斑	0	0	1	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0
F2	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0
F3	红斑	0	0	0	0	0	0
	水肿	0	0	0	0	0	0
刺激指数(积分均值)		0	0	0.33	0	0	0

表7 急性眼刺激试验-眼损伤评分结果

动物编号	部位	24 h		48 h		72 h		平均评分
		样品	对照	样品	对照	样品	对照	
F1	角膜	0	0	0	0	0	0	0
	虹膜	0	0	0	0	0	0	0
	结膜充血	0	0	0	0	0	0	0
	结膜水肿	0	0	0	0	0	0	0
F2	角膜	0	0	0	0	0	0	0
	虹膜	0	0	0	0	0	0	0
	结膜充血	0	0	0	0	0	0	0
	结膜水肿	0	0	0	0	0	0	0
F3	角膜	0	0	0	0	0	0	0
	虹膜	0	0	0	0	0	0	0
	结膜充血	1	0	0	0	0	0	0.33
	结膜水肿	0	0	0	0	0	0	0

种病原杀灭效果理想^[10-12],分解后一般生成醋酸、氧和水分子,依靠释放初生态氧来抑菌灭毒、抑制酶活性起消毒灭菌作用,无毒副作用^[13]。早在2003年非典发生时,过氧乙酸就作为常用消毒剂被医院大量使用^[14]。宋江勤等证实,在本次疫情中新冠肺炎患者标本检测的分子生物学实验室使用含过氧乙酸与过氧化氢的复方过氧乙酸消毒剂雾化消毒剂,消毒效果良好,能够保证实验室工作人员的安全^[15]。本试验也证明过硫酸氢钾与过氧乙酸安全性良好,可以在行人消毒通道内等使用。喷雾消毒装置灭菌效果显示过硫酸氢钾复合物喷雾灭杀细菌有一定效果,但测试数据间离散度高,推测与该装置结构有一定关系,该装置容积较大,喷雾口少且在中部;也可能是装置外部环境存在污染,提示该装置需要进一步改善。

当前正值春季流感高发季节,又是春节后城乡人员返程高峰,回城人员密集,人流物流量都很大,做好人员疾病防控、携带物品外表消毒,防止病菌扩散显得更加重要。全面消毒是疾病防控中的一个重要环节,消毒工作极其重要;采用雾化消毒药对进入社区的行人及快递等物品表面进行消毒成为重要手段,雾化消毒的优势在于其可以360°无死角的将待消毒对象的潜在病原微生物杀灭,不仅可以灭源,而且有效切断传播途径、阻止疫情蔓延。因此在人员密集流动场所加强消毒,

设立移动式行人消毒通道,对于杀灭体表携带病毒细菌,防止病菌的传播和进一步扩散,降低传播性感染风险,消除不必要的恐慌,助力确保人员身体健康,具有重要意义。

参考文献:

- [1] 宋铁,何剑锋.新型冠状病毒感染防护.2020,广东科技出版社.
- [2] 中华预防医学会新型冠状病毒肺炎防控专家组.新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识[J].中华流行病学杂志2020,41(2):139-144. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.002
- [3] Special Expert Group for Control of the Epidemic of Novel Coronavirus Pneumonia of the Chinese Preventive Medicine Association. An update on the epidemiological characteristics of Novel Coronavirus Pneumonia (COVID-19)[J]. Chinese Journal of Epidemiology, 2020, 41(2): 139-144. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2020.02.002.
- [3] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室.新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第五版修正版)[EB/OL].(2020-02-08).
- [4] 王娟,袁建丰,王贵平.过硫酸氢钾复合盐对禽类常见细菌病原微生物杀灭效果观察[J].中国消毒学杂志,2019,36(03):167-169.
- [5] 王娟,卞国志,袁建丰,等.过硫酸氢钾复合盐对鸡新城疫病毒杀灭效果观察[J].中国消毒学杂志,2018,35(08):563-565.
- [6] 秦涛,汪川韦,石宝兰,等.4种常用消毒剂对H7N9亚型流感病毒灭活效果研究[J].畜牧与兽医,2018,50(08):64-68.

畜禽养殖中氨气的危害及防控措施

李复坤¹, 员晓庆¹, 张浩吉¹, 李家洲², 马新燕^{2*}

(1. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528225;

2. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心, 广东 广州 510640)

摘要:随着畜禽养殖研究的不断深入, 各种影响畜禽生长繁殖的因素被逐步发现, 氨是其中一个重要因素。高浓度的氨对畜禽业造成一定的威胁, 同时还危害生态环境和人类健康。因此, 减少氨气的产生和排放具有重要的现实意义。文章综述了畜禽养殖中氨气的来源及危害, 总结分析了氨气的防控措施, 以期为畜禽养殖的健康、可持续发展提供参考。

关键词:氨; 来源; 危害; 防控措施

中图分类号:S821.4 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0020-05

氨(NH₃)是一种无色、具有强烈刺激性气味的气体, 极易溶于水, 1 L水在常温常压下可以溶解700 L氨^[1]。美国环保署(Environmental Protection Agency, EPA)和欧洲环境署(European Environment Agency, EEA)早些年曾推测大约有80%的NH₃来源于畜牧业^[2]; 程龙等通过排放因子法建立京津冀地区农业氨的排放清单, 估算出2014年京津冀地区农业氨的排放总量为1750695 t, 畜禽养殖业产生的量为1065182 t, 占农业源氨总排放量的60.84%。其中, 猪养殖业氨排放量占31.29%, 蛋鸡养殖业占26.07%^[3]。随着畜牧业的发展, 氨气污染对畜禽养殖的影响已成为研究人员关注的重点。研究发现在动物胃肠道内, 尿素可以被胃肠道微生物产生的脲酶分解为氨^[4]。在反刍动物中, 当饲喂大量含尿素的饲料时, 瘤胃中的脲酶活性过高可能导致尿素或氨中毒; 而对于非反刍动物, 胃肠道内容物和环境中的氨浓度可能会导致能量和蛋白质消耗, 降低营养物质的吸收, 损伤胃肠道屏障, 从而造成机体免疫性能下降。氨气溶于呼吸道黏膜或眼结膜会产生碱性刺激, 增加畜禽对疾病的易感性, 对生猪主要引起萎缩性鼻炎、肺炎等呼吸道疾病^[5]; 对家禽可

引发结膜炎、支气管炎等疾病。研究表明, 环境中高浓度的氨气会导致生猪和肉鸡的日增重和饲料转化率显著降低^[6-7]。

高浓度的NH₃不仅损害畜禽健康, 更给养殖业带来损失。因此, 为了减少氨的排放, 预防氨导致的畜禽疾病, 首先需要了解畜禽养殖中氨的来源, 并根据养殖过程中氨气的产生来源, 有针对性地进行综合防控。本文对当前畜禽业养殖过程中氨气的来源、危害及防控措施进行了综述, 为该方面的研究提供参考。

1 畜禽养殖业中氨气的来源

1.1 生猪养殖中氨的来源

猪舍中氨的首要来源是猪排泄物的分解。在猪的排泄物中, 尿液中的氮有97%以尿素的形式存在, 粪便中的氮80%以有机氮的形式存在^[8]。排泄物中产生的氨主要来自于尿液中尿素的分解, 少量是粪便中有机物的分解。猪体内75%~80%的尿素随尿液排出体外, 纯尿液中无脲酶, 但与粪便混合后很快被粪便中的脲酶分解为二氧化碳和氨释放到周围环境^[9]。尿素转化为氨的速率主要

收稿日期:2020-07-08

作者简介:李复坤(1997-), 男, 河南信阳人, 硕士研究生, 主要从事预防兽医研究。E-mail:31535418686@qq.com

*通讯作者:马新燕, 女, 主要从事畜牧技术推广。E-mail:dk051maxy@163.com

取决于脲酶的活性^[10]。脲酶又称尿素酰胺水解酶,在其催化作用下,尿素的水解速度是一般情况下的 10^{14} 倍^[11]。在最适条件下,每毫克脲酶在一小时内可分解 $2.0 \sim 4.0$ mmol的尿素^[12]。

其次,猪舍中的氨来源于舍内饲料残渣和垫料等含氮有机物,它们在堆积过程中腐败分解产生氨。猪舍内产生的氨气约占生猪养殖业产生氨气总量的70%,另外工作人员在清理猪排泄物的过程中,粪尿继续分解,产生约30%的氨气^[13]。研究发现,氨的排放量主要与舍内温度和空气流通有关,据报道,温度每升高 $1\text{ }^{\circ}\text{C}$,氨气挥发量将增加 $6\% \sim 7\%$ ^[14];而当舍内通风率从2次/h增加到7次/h,漏缝地板下的粪尿氨排放量增加2倍^[15]。

1.2 家禽养殖中氨的来源

禽舍内氨的主要来源于未消化完全的饲料和粪便中的尿酸。由于禽类肠道短,肠道吸收率不高,70%的饲料尚未消化完全就被排出体外,随后饲料中的有机氮经微生物降解产生氨^[16]。家禽体内氨基酸代谢在肝脏中生成尿酸,经消化道排出体外,成为家禽粪便中主要的含氮物质,尿酸在尿酸酶的作用下水解为尿囊素(allantoin),尿囊素进一步被降解成氨^[2]。禽类粪尿不分的排泄方式使排泄物中的氮化合物更易被微生物分解,李裕荣等对比不同畜禽粪便发酵的产气特点,发现鸡粪发酵液中的 NH_4^+ 含量是牛粪中的15倍,是猪粪中的4倍^[17]。张晓迪利用呼吸舱测定肉鸡的氨气排放量,发现肉鸡平均每日 NH_3 排放量约为 66.14 mg/只,1只肉鸡在42天的生长周期内可产氨 2777.78 mg^[18]。陈峰对蛋鸡在不同生长阶段的 NH_3 排放浓度进行检测分析,发现育成鸡的代谢快,粪便湿度大,比蛋鸡更易释放氨气。鸡舍的温度、湿度、通风情况、日常管理和鸡群的生长周期都会影响舍内 NH_3 的浓度^[19]。

2 氨的危害

2.1 对生猪养殖的危害

高浓度的氨会影响猪的生长发育,进而有损经济效益。空气中高浓度的氨可通过肺泡毛细血管壁弥散到血液中,提高血氨浓度。芦惟本提出血氨的升高对猪的生长造成了严重阻碍^[6]。一方面,正常畜禽体内血氨含量极微,当血氨浓度过高

时需要肝脏解毒,给猪体造成损耗。据推算,每解毒 1 mol的氨需消耗 20 g葡萄糖氧化产生的ATP。同时体内氨浓度异常会导致机体的解毒功能长期处于活跃状态,可能对解毒器官如肝、肾造成损害。另一方面,血氨的升高会引起体内大量的谷氨酸和精氨酸的消耗,造成肠黏膜供血减少、黏膜上皮脱落更新加快、营养吸收减少等,从而导致猪只生长缓慢、腹泻、感染其他疾病。同时血氨会干扰脑组织葡萄糖的生物氧化,导致猪只食欲减损、抵抗力下降等。

当氨气浓度达到 $7.7 \sim 11.6$ mg/ m^3 时,氨与血红蛋白结合,使血红素变为正铁血黄素,导致组织缺氧,出现贫血症状。当氨气浓度达 25 mg/ m^3 时,小猪的日增重下降 5% ;当猪舍内 NH_3 达 35 mg/ m^3 时,猪群开始出现萎缩性鼻炎;当氨气浓度达 38 mg/ m^3 时,可使猪呼吸道黏膜受损,中枢神经麻痹,诱发流行性疾病,且发病率与 NH_3 的浓度呈正相关^[5, 20]。

2.2 对家禽养殖的危害

禽类呼吸除了依靠肺部以外还有气囊,单位体重的呼吸量相对较大,因而对氨较为敏感^[21]。试验证明,氨浓度为 5 mg/L时,鸡健康会受到影响;达到 20 mg/L时,就会引起角膜、结膜发炎和上呼吸道黏膜充血、水肿,新城疫的发病率提高^[22]。魏凤仙等研究发现高氨(70 mg/kg)水平降低了饲料转化效率(FCR)、平均日采食量(ADFI)及日增重量(ADG)($P < 0.05$),对血液及肌肉中总抗氧化力和肉质有显著影响^[23]。过量 NH_3 会导致鸡胸腺免疫抑制、代谢紊乱和细胞凋亡^[24]。宋弋等采用环控舱,研究不同浓度氨气对肉鸡生产性能、血氨和尿酸的影响,发现在 $0 \sim 3$ 周龄, 52 mg/kg氨气显著降低饲料转化率($P < 0.05$);在 $4 \sim 6$ 周龄, 80 mg/kg氨气显著降低肉鸡的日增重量和平均日采食量($P < 0.05$)^[7]。

高浓度的氨损坏呼吸道黏膜,导致家禽机体对点眼、滴鼻等途径进行免疫接种的疫苗免疫应答能力降低,从而降低免疫效果^[20]。据报道,在氨气浓度为 20 mg/ m^3 的环境中,肉鸡接种新城疫疫苗产生的抗体水平显著低于无氨环境中的肉鸡抗体水平^[21]。

2.3 对畜禽养殖工作人员的影响

人对 NH_3 的最低可感浓度为 4 mg/kg,当环境

中 NH_3 的浓度达到 25 mg/kg 时,会对眼睛和皮肤产生刺激作用甚至引起化学灼伤,导致流泪、畏光、眼结膜充血等^[25]。对畜禽养殖业的工作人员来说,长期工作在 NH_3 浓度为 12 mg/kg 的环境中,人的呼吸机能减弱,出现咳嗽、胸闷、哮喘等症状^[2]。美国环境保护部明文规定,人类在浓度为 25 ppm 的氨气环境中工作不能超过 8 h ,不能在氨浓度为 35 ppm 的环境下工作超过 15 min ^[26],否则会威胁生命健康。

3 防控措施

3.1 监测畜禽舍氨气

我国大多数的畜禽圈舍是自然通风的开放舍,要控制舍内氨气的排放量,必须对舍内氨气的排放量进行准确的测量,从而采取有针对性的措施。通过对氨的浓度或含量进行监测,一方面,可以及时控制舍内氨浓度,降低氨导致疾病的发生率;同时又可以保证舍内氨的排放符合国家标准^[27]。另一方面,研究规模化养殖场在不同季节、地区、畜禽生长阶段的氨气浓度情况,分析氨气排放因子基础数据,可以为评价环境调控效果、科学估算舍内氨气排放量及其环境影响提供科学依据^[28]。李勋等对猪舍内常用的氨气检测方法进行了分析,当前较为简便、高效的检测方法主要有氨气敏电极法、傅里叶变换红外光谱法、可调谐半导体激光吸收光谱法、红外光声谱法和电子鼻定量识别法等^[29]。通过现代工程技术与通信技术相结合,无需耗费过多人力物力,即可实现对畜禽养殖舍中氨浓度进行精确的实时监测,为有效控制舍内氨浓度提供数据支撑。

3.2 改善养殖环境

猪舍选址要地势高、干燥、通风、向阳、排水排污方便。Kempen报道称,使用 4% 坡度的斜坡地面与漏缝地板相结合,使粪尿分开,每天清粪一次,可减少 $65\% \sim 80\%$ 的氨排放量^[30]。猪舍中常铺设锯末、稻草等垫料,既能保湿、除臭,又能减少氨的排放。Groenestein发现锯末垫草生态系统可以使氨气的排放量减少 50% 以上^[31]。

家禽养殖尽量采用高床饲养与传送带清粪系统相结合,以减少舍内氨气浓度。申李琰等测定了有传送带的层叠式立体笼养鸡舍中的 NH_3 浓

度,发现 $3 \sim 6$ 周龄肉鸡舍中,秋季氨浓度平均为 0.66 mg/m^3 ,冬季平均为 0.75 mg/m^3 ,符合畜禽场环境质量标准^[32]。家禽垫料中添加酸化碳,可以有效降低禽舍中总 NH_3 的排放,并且不影响鸡的生产性能^[33]。肉鸡可使用发酵床养殖技术,即铺设 20 cm 厚的锯末、秸秆等垫料,并加之发酵菌液如光合菌、乳酸菌、醋酸杆菌、酵母菌等,可有效降低氨的产生^[16]。

3.3 调节饲料成分

畜禽舍中 NH_3 主要是由排泄物中的含氮物质降解产生,这些含氮物质有 99% 来自于饲料^[34],因此可以调节饲料成分以减少氨气排放。研究表明,降低饲料中粗蛋白水平,添加与动物机体相适应的合成氨基酸是降低畜禽舍内氨气排放的有效措施。经研究发现,育肥猪饲料中粗蛋白从 15% 降至 12% ,虽不能改善猪粪气味的浓度与强度,但每降低 1% 的饲料粗蛋白可减少 9.5% 的氨排放^[35]。

饲料中添加酶制剂、益生菌、植物提取物等添加剂,提高肠道酶活性,加快机体对蛋白质的消化吸收,进而减少排泄物中的含氮物质来降低舍内氨排放^[2]。由于猪舍中的氨氮主要来源于尿液中尿素的降解,因此可以在饲料中添加硫酸钙、氯化钙或苯甲酸钙来降低尿液的 pH ,减少氨的产生。研究发现,用苯甲酸钙代替生长肥育猪饲料中的碳酸钙使粪尿中氨的含量减少了 37% ^[9]。脲酶是催化尿素产生 NH_3 的重要物质,因此可以在饲料和粪便中添加脲酶抑制剂来降低脲酶的活性,以减少氨的产生^[11]。

3.4 处理排泄物

考虑到氨的排放主要来源于畜禽的排泄物,因此可以直接在粪便中添加多聚甲醛、沸石、过磷酸盐、膨润土等物质,抑制微生物生长或中和、吸附排泄物中的氨气^[2]。或者,通过对排泄物进行生物处理来降低氨的排放。研究发现将硝化细菌、枯草芽孢杆菌和地衣芽孢杆菌等接种到鸡粪中,可有效降低氨的排放^[36]。由于鸡粪中有大量未消化的含氮营养物质,因此也可以通过加工处理使其变为饲料,喂猪、养鱼,既能提高养殖效益,又能减少污染^[16]。

3.5 加强日常管理

加强畜禽养殖日常管理,主要有以下3方面建

议。①养殖人员要按时清扫畜禽舍,及时清理排泄物和料槽周围洒出的饲料,减少舍内有机物发酵产氨。②封闭潮湿的环境,温度的升高会导致氨气产生速度加快,因此饲养过程中要注意舍内温度、湿度和通风情况,保持舍内的环境干爽整洁。③控制适宜的饲养密度,密度过高会导致舍内氨气浓度升高,根据不同的生长阶段,保育猪建议0.5 m²/头,育肥猪建议1~1.5 m²/头^[37]。笼养鸡的养殖密度要根据生长阶段和季节变化进行适当调整,通常笼养育成鸡建议0.05 m²/只^[38]。规模化的养殖场可以合理运用新型氨氮检测技术,对舍内氨的浓度进行实时监测,以便有针对性的进行防控。

4 小结

随着养殖环境问题的日益凸显,降低畜禽舍内NH₃的浓度将不是简单的将NH₃排出舍外,而是思考如何从根源上切断氨的产生,如何减少排泄物中含氮物质的量。根据畜禽养殖过程中氨气产生的来源,降低畜禽养殖过程中氨的排放,可考虑从4个方面着手:①减少粪尿中含氮物质的排放;②减少粪尿的接触;③调节粪尿和垫料的pH;④降低微生物脲酶活性。针对这些方面,可通过调整饲料的成分,如降低粗蛋白含量,增加与生长相适应的合成氨基酸来促进畜禽对含氮物质的消化、吸收;使用传送带或漏缝地板使粪尿分开;畜禽饲料中添加酸性物质如苯甲酸钙,或者直接在粪尿和垫料中加入酸性物质降低其pH;使用脲酶抑制剂阻止尿素的分解等措施来实现氨的减排。相信随着畜牧科研人员的不断创新,结合先进的畜禽舍内氨浓度监测设备,我国畜禽养殖业的发展将更加绿色环保、健康。

参考文献:

[1] 张长友,李蕾,张善超.养殖业生产中氨气的危害[J].中国猪业,2010,5(04):59.
 [2] 彭焕伟,沈亚欧.畜禽生产中氨的危害及防治措施[J].饲料工业,2005,26(13),54-59.
 [3] 程龙,郭秀锐,程水源,王晓琦.京津冀农业源氨排放对PM(2.5)的影响[J].中国环境科学,2018,38(04):1579-1588.
 [4] PATRA A K, ASCHENBACH J R, et al. Ureases in the gastrointestinal tracts of ruminant and

monogastric animals and their implication in urea-N/ammonia metabolism: A review [J]. Journal of Advanced Research, 2018, 13:39-50.
 [5] 曹进,张峥.封闭猪场内氨气对猪群生产性能的影响及控制试验[J].养猪,2003(04):42-44.
 [6] 芦惟本,黄川.重视氨危害重视猪群血氧水平[J],养猪,2009(02):70-72+3.
 [7] 宋弋,王忠,姚中磊,等.氨气对肉鸡生产性能、血氨和尿酸的影响研究[J].中国家禽,2008,30(13):10-12+16.
 [8] AARNINK A, VERSTEGEN M, et al. Nutrition, key factor to reduce environmental load from pig production[J]. Livestock Science, 2007, 109(1):194-207.
 [9] 史清河.通过日粮调控减少猪排泄物中氨与硫化氢的产生与散发量[J].家畜生态,2001(01):34-39.
 [10] MONTENY G J, ERISMAN J W, et al. Ammonia emission from dairy cow buildings: A review of measurement techniques, influencing factors and possibilities for reduction [J]. Netherlands Journal of Agricultural ence(Netherlands). 1998, 46(3):225-247.
 [11] 汪善锋,陈安国,洪奇华.脲酶抑制剂在养猪生产中的研究进展[J].中国畜牧杂志,2004,40(11):36-38.
 [12] 白云峰,李杰.脲酶抑制剂(Ureaseinhibitor)的作用机制[J].饲料博览,2001(09):39-42.
 [13] 朱丽媛,卢庆萍,张宏福,等.猪舍中氨气的产生、危害和减排措施[J].动物营养学报,2015,27(08):2328-2334.
 [14] AARNINK A J A, ELZING A, et al. Dynamic model for ammonia volatilization in housing with partially slatted floors for fattening pigs [J]. Livestock Production Science. 1998, 53(2):153-169.
 [15] HARTUNG J, PHILLIPS V R, et al. Control of gaseous emissions from livestock buildings and manure stores [J]. Agricultural Engineering Research. 1994, 57(3):173-189.
 [16] 姬长燕.肉鸡生产中降低氨气排放的措施[J].畜牧兽医科技信息,2014(04):88.
 [17] 李裕荣,刘永霞,赵泽英,等.畜禽粪便厌氧发酵的产气特点及其发酵物养分的变化动态[J].西南农业学报,2012,25(06):2305-2310.
 [18] 张晓迪,卢庆萍,张宏福,等.利用呼吸舱测定肉鸡氨气排放的研究[J].畜牧兽医学报,2014,45(02):249-254.
 [19] 陈峰,何玉书.禽舍中氨气浓度影响因素分析[J].中国家禽,2013,35(22):31-34.
 [20] 阳艳林,薛国聪.畜舍内氨的产生、危害及调控措施[J].养猪,2009(02):46-48+3.
 [21] 王秀茹.禽舍中有害气体、灰尘及微生物的危害和防控措施[J].养禽与禽病防治,2019(02):33-35.
 [22] 马玉胜.冬季饲养肉鸡如何降低舍内氨气的危害[J].养禽与禽病防治,2010(05):28.
 [23] 魏凤仙,徐彬,萨仁娜,等.不同湿度和氨水平对肉仔鸡抗氨

- 化性能及肉品质的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2012, 43(10): 1573-1581.
- [24] CHEN D, HU G, ZHANG S, et al. Ammonia - triggered apoptosis via immune function and metabolic process in the thymuses of chickens by proteomics analysis [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety. 2020, 198:110619.
- [25] 孙燕, 张玮. 氨的职业危害与预防[J]. 安全, 2010, 31(06): 48-50.
- [26] 韩枫. 鸡舍内氨气水平对种鸡产蛋性能和人类健康的影响[J]. 家禽科学, 2006(01):19-20.
- [27] 中华人民共和国农业部. 畜禽场环境质量标准: NY/T 388-1999. 中华人民共和国农业行业标准, 1999.
- [28] 刘杨, 尚斌, 董红敏, 等. 规模猪场机械通风育肥舍氨气产生及排放研究[J]. 农业环境科学学报: 1-12[2020-07-13]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1347.S.20200609.1213.004.html>.
- [29] 李勋, 时建忠, 唐湘方. 猪舍氨气排放量及其检测技术的研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(02):258-263.
- [30] KEMEMPEN T. Towards zero waste swine production Building Blocks for the Future. [C] London Swine Conference. 2004, 73-84.
- [31] GROENESTEIN C M, VAN FAASSEN H, et al. Volatilization of ammonia, nitrous oxide and nitric oxide in deep - litter systems for fattening pigs. [J]. Agricultural Engineering Research. 1996, 65(4):269-274.
- [32] 申李琰, 萨仁娜, 牛晋国, 等. 层叠式立体笼养肉鸡舍秋冬季环境参数研究[J]. 中国畜牧兽医, 2017, 44(5): 1565-1570.
- [33] 吕玲. 添加酸化碳可有效降低家禽垫料中氨气释放水平[J]. 中国家禽, 2011, 33(02):75.
- [34] MITRAN L, HARTERDENNIS J M, MMISINGER J J. Determining the nitrogen budget and total ammoniacal nitrogen emissions from commercial broilers grown in environmental chambers [J]. Journal of Applied Poultry Research, 2008, 17(01):34-46.
- [35] Le P D, AARNINK A J A, JONGBIOED A W. Odour and ammonia emission from pig manure as affected by dietary crude protein level [J]. Livestock Science, 2008, 121(02):267-274.
- [36] 刘志云, 刘国华, 蔡辉益, 等. 鸡粪中氨氮降解菌的分离鉴定及除氨适宜条件研究[J]. 中国农业科学, 2016, 49(06): 1187-1195.
- [37] 崔玉华. 猪舍内氨气的危害及其控制措施[J]. 现代畜牧科技, 2017(02):39-01.
- [38] 李占臻, 贾红勋. 笼养蛋鸡的饲养管理[J]. 养禽与禽病防治, 2016(10):39-42.

《广东畜牧兽医科技》(双月刊) ISSN 1005-8567
(1976年创刊, 大16开本, 正文52页) CN 44-1243/S

主管单位: 广东省农业科学院

主办单位: 广东省农业科学院畜牧研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所、广东省畜牧兽医学会

定 价: 每期定价 10.00 元, 全年 60.00 元(含平寄邮费)

订阅方式: 本刊实行自办发行。读者可通过邮局直接汇款至本刊编辑部。

注意事项: 汇款时请注明订阅份数、邮政编码、详细收刊地址、单位名称、收件人姓名、电话等相关资料, 以免误投。

地 址: 广州市天河区五山大丰一街 1 号 103 室《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编: 510640)

电 话: 020-87576452

传 真: 020-87576452

投稿邮箱: gdxmsykj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

蓝孔雀养殖技术交流

陈政谕, 王自豪, 甘露, 刘克俊*, 黄春花, 杨启晟, 邓红英

(广西壮族自治区畜牧研究所, 广西南宁 530001)

摘要:根据蓝孔雀的生活习性, 不同生长阶段饲养管理要求, 笔者在生产中不断探索蓝孔雀养殖技术。本文主要从蓝孔雀疾病防控、繁殖期和育雏期饲养管理等方面介绍蓝孔雀养殖技术, 以期为同行养殖者提供参考。

关键词:蓝孔雀; 养殖; 技术

中图分类号:S839 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0025-04

蓝孔雀外形华丽, 目前蓝孔雀的养殖已有一定规模, 但出栏率和鸡鸭鹅等传统家禽相比差距很大, 养殖效率不高。主要是蓝孔雀的养殖技术落后, 缺乏科学系统养殖技术和饲养标准。蓝孔雀极易受饲养条件影响, 一旦发生疫情, 病死率极高, 而且蓝孔雀具有周期性繁殖期, 产蛋数量少。因此, 保证蓝孔雀养殖经济效益的前提是掌握蓝孔雀高效养殖的关键技术。

1 蓝孔雀的特性

蓝孔雀是一种集群性强, 喜欢安静, 能短途飞行, 有栖息习惯的杂食性动物, 喜欢群居生活但野性足, 敏感易受应激, 在繁殖期或抢食时易发生互相殴斗的情况。蓝孔雀成长周期长, 但养殖到8月龄时, 体重可达到3.5~4 kg。22月龄开始性成熟, 达到2年龄的蓝孔雀才能作为种用开始繁殖。蓝孔雀的繁殖期为6~8月份, 具有很强的季节性, 产蛋量不高, 年产蛋20~35枚/只, 抱性不强烈, 人工养殖蓝孔雀孵化的一般选用借孵或者人工孵化的方式。与鸡鸭鹅等家禽相比, 蓝孔雀的受精率、产蛋率、孵化率均较低。

蓝孔雀对环境比较敏感, 对饲养管理要求很高。相对其它禽类品种, 蓝孔雀的抗病能力比较强, 一般情况下不会生病, 但日常饲喂需以草料和精料按一定比例混合搭配饲喂才能满足日常生长营养需求。蓝孔雀喜在阴凉干燥的环境条件生活, 阴暗潮湿的饲养环境会使其免疫力下降, 极易生病, 冬春梅雨季节蓝孔雀发病率、病死率最高。根据蓝孔雀的品种特性做好蓝孔雀的疾病防控和繁殖期的饲养管理是蓝孔雀高效养殖技术的关键。

2 蓝孔雀疾病防控方法

广西某蓝孔雀养殖场原来的养殖条件简陋, 蓝孔雀饲养过程参照养鸡的疫苗免疫, 也没有做过蓝孔雀免疫抗体检测, 蓝孔雀养殖, 病死率高, 经济效益不明显。笔者根据蓝孔雀的生长习性, 改造该养殖场设施, 定期检测免疫抗体, 不断完善免疫程序, 经调整后该场蓝孔雀的生长增重加快, 成活率显著提高。

2.1 改善饲养环境

该场场地基础设施简陋, 需按照蓝孔雀的养殖条件要求在自身场地条件基础上加以改造。首

收稿日期: 2020-05-06

项目来源: 桂牧研自选2018-12, 蓝孔雀高效养殖关键技术集成与应用

作者简介: 陈政谕(1990-), 女, 广西玉林市人, 本科学历, 助理畜牧师。从事特种动物研究与技术推广工作。E-mail: 2425438085@qq.com

*通讯作者: 刘克俊(1962-), 男, 广西贺州市人, 大学学历, 高级畜牧师。从事特种动物研究与技术推广工作。E-mail: 472128498@QQ.com

先根据蓝孔雀不同的生长阶段合理划分生产区域: 育雏区、育肥区、种孔雀繁殖区等, 按区域管理; 根据蓝孔雀喜欢阴凉干燥的地方习性, 在孔雀栏舍孔雀休息处顶部加隔热层, 底部按坡度铺设黄泥后再铺设沙土, 改造排水沟, 在栏舍内增加足够的栖息架, 满足蓝孔雀栖息的生活习性; 蓝孔雀善飞行, 要提供较大的活动空间满足其需求, 调整合适的栏舍饲养密度, 如: 育肥孔雀栏舍按每 100 m² 饲养 100 只蓝孔雀的密度分栏、种孔雀栏舍饲养密度按 50 m²/栏, 饲养一只雄孔雀, 3~5 只雌孔雀等; 最后要做好卫生管理, 每天清扫栏舍粪便, 保持通风干燥, 检查排水防止积水和潮湿, 定期消毒等。

2.2 制定合理的免疫程序

蓝孔雀抗病力比鸡、鸭等普通家禽的抗病能力稍强, 但养殖过程中育雏期和育肥期的发病率、病死率并不比普通家禽低。主要是因为蓝孔雀养殖的技术不成熟, 技术推广力度不如家禽高, 且养殖人员技术高低不一, 大部分蓝孔雀养殖场没有做免疫或者没有制定合理的免疫程序。免疫程序要根据养殖场的带毒情况, 做好蓝孔雀疾病监测, 蓝孔雀群易发疾病的具体情况来制定。经了解, 该养殖场最常出现的疾病有大肠杆菌病、新城疫、禽流感、传染性支气管炎, 偶尔会有传染性法氏囊炎。其中育雏期和育肥期的蓝孔雀最易感染, 病死率较高, 且每次都是成群发病, 造成较大经济损失。针对该场情况制定了免疫程序, 对不同日龄的蓝孔雀进行免疫并对免疫效果进行跟踪检测。目前没有蓝孔雀专用的疫苗, 一般采用鸡的疫苗进行免疫。此次采用鸡的疫苗对蓝孔雀进行免疫, 疫苗免疫程序见表 1。从三组免疫的育肥期蓝孔雀中, 每组抽取五十头份血清检测禽流感和新城疫免疫效果。新城疫和禽流感的抗原为哈兽厂家, 以 7 滴度为合格, 平抗以 8 为合格。免疫结果如表 2 所示, 检测结果显示, 免疫合格率不高, 重复免疫, 直到检测免疫合格。

2.3 免疫的注意事项

每次免疫的前两天在饮水里添加电解多维,

表 1 蓝孔雀养殖的主要传染性疾病预防程序

日龄	疫苗	方式	剂量
12 日龄	传染性法氏囊疫苗	饮水	两倍量
30 日龄	鸡新城疫、传染性支气管炎、禽流感病毒三联灭活苗	皮下或肌肉注射	1 ml
80 日龄	鸡新城疫、传染性支气管炎、禽流感病毒三联灭活苗	皮下或肌肉注射	1 ml
110 日龄	鸡新城疫、传染性支气管炎、禽流感病毒三联灭活苗	皮下或肌肉注射	1 ml

表 2 蓝孔雀免疫效果

组别	新城疫		禽流感	
	平抗	合格率	平抗	合格率
第一组	7.5	81%	6.8	77%
第二组	7.9	86%	7.7	89%
第三组	6.8	76%	7.66	88%

降低蓝孔雀的应激。免疫前确认蓝孔雀是健康的, 至少一周内没有使用过抗生素等药物才能进行免疫。如果条件允许, 免疫后 21~28 天后采血检测抗体, 根据检测结果看是否需要补免。

3 蓝孔雀繁殖期的饲养管理

蓝孔雀繁殖期的特征很明显, 具有季节性、周期性、时间短的特点。每年 6~8 月份产蛋。做好繁殖期的饲养管理是提高蓝孔雀养殖效率的关键, 笔者主要采取选育、调整种孔雀比例、优化产蛋期饲料、延长光照时长等方法提高产蛋率。

3.1 种用蓝孔雀的选育和公母比例

选择个体强壮, 羽毛丰满艳丽, 繁殖能力强的优秀个体作为种孔雀, 种蓝孔雀要编号, 做族谱登记, 进行杂交组合, 避免近亲繁殖, 不能选择近亲繁殖的后代蓝孔雀做种用蓝孔雀。种蓝孔雀栏舍要保证合适的密度, 并且公母比例要适当, 种蓝孔雀栏舍饲养密度按 50 m²/栏, 每栏饲养一只雄蓝孔雀, 4~6 只雌蓝孔雀, 一雄多雌, 保证受精率。种蓝孔雀合群时间要适宜, 经产母蓝孔雀合群宜在 4 月中旬, 初产母蓝孔雀合群宜在 4 月下旬。栏舍铺

设一层5~8厘米的泥土砂石,便于收集种蛋。

3.2 优化产蛋期饲料,满足产蛋期蓝孔雀营养需求

一般养殖场直接使用蛋鸡的全价饲料饲喂产蛋期蓝孔雀,但鸡饲料不能满足产蛋期蓝孔雀的生产需求,与鸡相比,蓝孔雀需要补充更多的蛋白质。根据笔者经验,蓝孔雀产蛋期饲料需按生产阶段增加蛋白质水平比例,6月份达到产蛋高峰期,蛋白质水平提高到23~24%,可在产蛋鸡全价饲料基础上额外增加10%的豆粕、10%的小麦、10%的薏米。把添加的粗粮打成稍碎的颗粒状拌入原饲料中混合均匀后饲喂。豆粕含有大豆异黄酮,适量的大豆异黄酮能延长禽类产蛋期,提高产蛋量,小麦、薏米蛋白质含量高,富含各种氨基酸和微量元素,在饲料中添加适当的五谷杂粮主要是为了提高饲料的蛋白质水平,满足产期蓝孔雀的营养需求提高产蛋率。以饲喂蛋鸡全价饲料为对照,三组均饲喂混合豆粕、小麦、薏米粗粮与蛋鸡全价料比例为3:7的优化饲料进行对比,发现饲喂改良饲料的三组蓝孔雀平均年产蛋30.8枚/只,产蛋率提高10%左右,试验相关数据见表3。

表3 饲喂优化饲料试验结果

组别	蓝孔雀数量(只)	平均产蛋(枚/只)	产蛋率提高%
对照组	50	28	0
试验组1	50	30.7	9.60%
试验组2	50	31.6	12.80%
试验组3	50	30.1	7.50%

3.3 延长光照对提高产蛋率有一定作用

在禽类日常生产中,常常使用增加光照的方式提前或延长禽类的产蛋期,提高禽类的产蛋率,此方法对蓝孔雀同样适用。在产蛋期蓝孔雀栏舍安装照明灯,从18:00开灯至21:00关灯,为了使光照法作用达到最大。在相同饲养条件下,只改变光照时长,以50只蓝孔雀为一组,分成1组对照组、3组试验组,每组光照时间相差1h。试验结果

如表4,光照时间延长至0:00时效果较好,产蛋率提高5%。从试验结果可以看出延长产蛋栏舍的光照时长,对提高蓝孔雀的产蛋率是具有一定的好处。

表4 光照对比试验

组别	光照时长	蓝孔雀数量(只)	平均产蛋(枚/只)	产蛋率提高%
对照组	18:00-21:00	50	28	0
试验1组	18:00-22:00	50	28.1	0.40%
试验2组	18:00-23:00	50	28.5	1.80%
试验3组	18:00-0:00	50	29.4	5%

4 加强对种蛋的孵化管理,提高种蛋孵化率

产蛋后,及时收集种蛋,种蛋存放不能超过14天。孵化前做好选蛋工作,选择蛋壳厚薄均匀,大小适中,颜色鲜艳的种蛋。蓝孔雀蛋的孵化期为26~30天,入孵前种蛋需消毒、预热,孵化的温度前期高,中期平,后期低,出雏高,温度保持在37.5~39℃。孵化前期的湿度为60%~65%,中期为55%~60%,后期应提高到65%~70%。为使种蛋受热均匀,胚胎发育正常,从入孵第二天开始,每隔2~4小时翻蛋一次,第22天停止翻蛋。种蛋温度超过38.8℃时,需要晾蛋。在孵化22~26天内每天喷水一次,水温在35℃左右,水干后继续孵化,重复此程序可以使蛋壳变松脆,有利于雏鸟破壳,是提高孵化率的关键。

5 育雏管理

5.1 改造育雏栏舍

提高育雏期蓝孔雀成活率须做好育雏栏舍的消毒、保温、定时驱虫、防蚊鼠等工作。目前的蓝孔雀养殖场基本采用平地育雏栏舍,平地育雏传统栏舍存在粪便清理困难、不易消毒、氨气较重、湿度大等问题,蓝孔雀雏鸟成活率较低。笔者生产中发现,小格架床栏舍能有效隔离粪便,粪便、溅出的饮用水等污物可以通过小格架床直接掉落地面或托盘,清理粪便、栏舍消毒更方便快捷,栏舍氨

气浓度低,通风效果好较干燥,能改善蓝孔雀饲养环境。小格架床有两种,一种是自制,用木头或铁做好四周支撑框架后,用较硬的塑料或者铁丝材质的方格镂空网围起来的栏舍,离地45 cm左右;另一种是市场购买的可多层叠加的方格铁丝的育雏笼,每层育雏笼下方有托盘。在其它饲养条件一样的情况下,笔者将育雏栏舍部分改造为小格架床栏舍进行对比试验,试验共分5组,对照组采用平地育雏栏舍育雏,1、2组使用单层自制小格架床育雏,3、4组使用多层格架育雏。根据表5结果可见,采用小格架床的育雏成活率提高了26%左右,可见小格架床更适合蓝孔雀育雏。两种小格架床育雏成活率差别不大,使用多层小格架床空间利用率更高,自制小格架床成本更低些,可根据情况灵活使用。

表5 小格架床栏舍育雏对比试验

组别	蓝孔雀数量 (只)	死亡数(只)	成活率%	成活率 提高%
对照组	50	17	66%	0
小格架床1组	50	1	98%	32%
小格架床2组	50	6	88%	22%
小格架床3组	50	3	94%	28%
小格架床4组	50	1	98%	32%

5.2 做好育雏期栏舍的消毒工作

在育雏前用水彻底清洗干净水槽、饮水器,消毒,晾干,栏舍熏蒸消毒后通风1~2天后再进雏。在初次饮水时可在水中添加0.01%的高锰酸钾水,有助于胎粪排出,也可以在水中添加葡萄糖和诺氟沙星,水温控制在18℃对提高蓝孔雀的免疫力有较好的效果^[1]。育雏期蓝孔雀新陈代谢旺盛,排粪多,氨气重,要及时清理粪便并消毒,保证栏舍通风干燥。

5.3 保持栏舍的温湿度平衡

每天不定时观察栏舍的温湿度,1~10日龄育雏温度为34~28℃,11~20日龄育雏温度为28~26℃,21~30日龄育雏温度为26~24℃,30日龄以后每星期降1℃,直至与室温相同。除阴雨天气外,正常天气白天不需额外加温,夜间室内适当加温。在保证温度的同时,必须注意通风换气,但应避免冷风直吹^[2]。湿度保持在60%~70%之间,前期湿度大,后期逐渐减小湿度。温湿度的调节不能只靠观察温湿度计,要根据雏鸟实际情况进行调整,例如雏鸟出现聚集,表示温度低,需要加温,避免雏鸟扎堆压死;雏鸟分散,远离光源,出现张口喘气,频频饮水,表示温度过高,要适当降温。

6 小结

蓝孔雀高效养殖技术的关键是在充分了解蓝孔雀生理特性和营养需求基础上,加强各个生长不同时期的精细化管理,做好蓝孔雀的疾病防控,才能有效提高蓝孔雀的产蛋率、孵化率、成活率。蓝孔雀接种疫苗免疫合格率仍有待于提高,养殖过程在做好正常的程序免疫的同时,需要定期检测免疫效果,根据免疫检测结果及时进行补免。如遇到养殖过程出现病情,死亡增加,应及时做好相关抗体检测,避免大批死亡,减少损失。目前市面上没有专供蓝孔雀使用的疫苗,在蓝孔雀专用疫苗开发之前,使用鸡用疫苗虽然能起到一定的免疫效果,但从经济、技术的角度,开发蓝孔雀专用疫苗非常有必要。

参考文献:

- [1] 杨仕桥. 孔雀饲养需要注意的问题[J]. 中国禽种业, 2019(3):119-120.
- [2] 黄海娇, 杨阳. 育雏期蓝孔雀饲养管理的要点[J]. 现代畜牧科技, 2012(9):214-215.

下一代基因测序技术在肉类制品掺假检测中的应用研究

邹清童¹, 杨潞芳^{2*}

(1. 华南师范大学附属中学国际部, 广东 广州 510630;

2. 通标标准技术服务有限公司广州分公司, 广东 广州 510663)

摘要:经济利益驱动的食品掺假一直是世界关注的热点, 其中肉制品掺假是政府监管、企业产品监控及消费者关注的重心。本研究采用下一代基因测序技术(Next Generation Sequencing, NGS)鉴别肉制品的成分, 经过样品DNA提取、通用引物设计、测序、生物信息学序列分析, 得到样品中涉及到的物种组成信息。同时采用常规PCR方法对NGS检测数据进行确证。结果表明, NGS可以用于肉类制品的成分鉴别, 同时其相对定量结果可以用于肉类制品标签配料标识的合规性辅助判别。

关键词:下一代基因测序NGS; 聚合酶链式反应PCR; 肉制品掺假

中图分类号:S879.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0029-05

自2015年10月1日开始施行新修订的《中华人民共和国食品安全法》以来, 在政府、生产企业、食品协会和消费者的共同努力下, 中国食品安全整体呈现稳定良好发展态势。但食品掺假问题依然存在, 如欧洲的马肉事件和中国频发的假劣牛肉假羊肉事件^[1]。掺假事件频发, 倒逼政府立法监管, 也对更先进的检测技术提出要求^[2]。目前, 肉制品掺假检测常用聚合酶链式反应法(Polymerase Chain Reaction, PCR), 有相应的国家或行业标准^[3-7]。然而, PCR方法存在一定局限与不足, 如现有的PCR检测标准是通过扩增物种特异性基因序列以确证这一物种是否存在, 或者通过多重PCR的扩增技术, 确证两至三种物种是否存在, 试验的前提是对已经预设存在的物种进行验证, 但对未提前预设但实际产品中可能混入的物种错过验证, 从而导致食品安全检测的漏洞或误判。因此为了弥补现行PCR检测方法的不足, 研究更有效的肉制品掺假检测方法具有重要意义。

NGS即下一代测序(Next Generation

Sequencing), 又称为高通量测序(High-Throughput Sequencing)。相对于传统的桑格测序(Sanger Sequencing), NGS一次可测定几十万到几百万条DNA分子序列, 测序效率明显提升。目前这一技术已被广泛应用在临床医学、生物研究以及公共卫生领域, 如微生物组测试、宏基因组菌群分析、菌株的分型鉴定和耐药分析、基因临床诊断、农业分子育种等^[12-16]。NGS的检测流程包括设计通用引物, 通过PCR得到扩增片段, 之后进行文库制备和模板扩增, 再将模板加载芯片, 进行高能量测序, 采用生物信息化技术进行序列的分析, 最终通过同数据库进行比对而得到食品中所涉及的物种。将NGS应用在食品掺假领域, 可以对食品中所有可能涉及的物种进行验证, 同时可以得到不同物种的序列相对比例。从风险防控的角度看, NGS可以实现对掺假问题的提前监控。因此, 近年来, 作为PCR方法的一种有效补充检测方法, NGS逐步应用在检测食品掺假领域^[13-16]。

本研究采用NGS分析肉制品掺假, 通过对

收稿日期:2020-04-01

作者简介:邹清童(2003-), 女。E-mail:zouqt.christine2018@gdhfi.com

*通信作者: 杨潞芳(1974-), 女, 博士, 研究方向为应用及分子微生物。E-mail:Carina.Yang@sgs.com

NGS检测数据的分析,比较NGS检测数据和PCR测试数据,探索NGS技术在食品检测领域的运用。此外,将得到的不同物种的相对定量结果,尝试用于辅助判断产品配料表标识是否符合国家标准要求。

1 材料与方法

1.1 试验样品

试验于2019年1月至7月在通标标准技术服务有限公司广州分公司PCR&NGS实验室进行。样品为从广州、深圳的几个超市随机购买的13款牛肉丸,具体信息见表1。其中样品1~11为预包装产品,样品12、13为散装产品。

1.2 设备与试剂

1.2.1 设备

核酸自动提取仪、普通PCR仪、电泳仪及凝胶板、凝胶成像系统、磁力离心管架(ThermoFisher)、Qubit™ 3 荧光计、Ion CHEF 模板制备仪(ThermoFisher)、Ion S5 测序仪(ThermoFisher)、实时荧光PCR仪等。

1.2.2 试剂

琼脂糖凝胶(1.5%);DNA 纯化试剂(Beckman);PCR 反应试剂(包括2×Master Mix, Barcode solution, positive control, negative control);TE 溶液;Qubit™ 3 配

套试剂;测序芯片(Ion 520™ chips, ThermoFisher);配套试剂(Ion 520™ Kit, ThermoFisher)等。

1.3 试验方法

NGS 试验步骤:样品均质化处理后,取适量样品,按核酸自动提取仪的操作指引进行DNA提取,DNA 的浓度用 Qubit™ 3 荧光计进行测定。PCR 扩增使用 ALL SPECIES ID 试剂盒(SGS)进行,试剂盒中的通用引物为专利引物(SGS),扩增片段大小为 150 bp。基于凝胶电泳条带的亮度比例,PCR 产物按等摩尔浓度进行混合,得到的文库用 Qubit™ 3 荧光计进行定量。模板制备及测序使用 Ion 520™ 芯片,分别按照 Ion CHEF 和 Ion S5 仪器操作流程进行,测序结束后生成相应的 Fast Q 序列文件。将测序文件导入 SGS 公司研发的 ALL SPECIES ID 序列分析软件,不同物种的序列同数据库进行比对,得到每个物种的序列数量,同时每个物种的序列数量同总的序列数量的比值即是每个物种的相对比例。

NGS 结果同时用实时荧光 PCR 方法进行验证,试验过程按照《食品、化妆品和饲料中牛羊猪源性成分检测方法实时 PCR 法 SN/T 2051-2008》和《饲料中禽源性成分检测方法 SN/T 2727-2010》进行。SN/T 2051-2008 中使用宝生物工程(大连)有限公司猪源性成分实时荧光 PCR 检测试剂盒(货号

表1 市售牛肉丸样品配料信息

样品编号	样品配料
1	牛肉,饮用水,食用盐,食用淀粉,蒜头,谷氨酸钠
2	牛肉,猪肉,水,淀粉,食用盐,白砂糖,味精,三聚磷酸钠,焦磷酸钠,六偏磷酸钠,葱,蒜,植物油,香辛料
3	牛肉,水,洋葱,大豆分离蛋白,酿造酱油(焦糖色),白砂糖,食用盐,味精,食品添加剂(三聚磷酸钠、六偏磷酸钠、焦磷酸钠),食用香精
4	牛肉,水,腌料(食用盐、白砂糖、香辛料、牛肉粉调味料),玉米淀粉,大豆分离蛋白(致敏物质),食用香精,香辛料,食品添加剂(谷氨酸钠、三聚磷酸钠、六偏磷酸钠、焦磷酸钠)
5	牛肉,猪肉,食用淀粉,蒜头,食用盐,味精,酱油,香辛料,食品添加剂(三聚磷酸钠、焦磷酸钠、六偏磷酸钠)
6	牛肉,饮用水,淀粉,食用盐,白砂糖,味精,香辛料,食品添加剂(三聚磷酸钠、六偏磷酸钠、焦磷酸钠)
7	牛肉,饮用水,淀粉,油炸蒜酥,食用盐,海藻糖,鱼露,食品添加剂(三聚磷酸钠、六偏磷酸钠、焦磷酸钠)
8	牛肉,猪肉,鸡肉,淀粉,水,蒜酥,大豆蛋白,香辛料,食用盐,白砂糖,味精,食品添加剂(三聚磷酸钠、六偏磷酸钠、焦磷酸钠)
9	牛肉,猪肉,水,食用盐,白砂糖,马铃薯淀粉,玉米淀粉,味精,洋葱,大豆分离蛋白,胡椒粉,酵母抽提物,食用香精,水分保持剂,增稠剂,增味剂,植物油
10	牛肉,猪肉,饮用水,淀粉,食用盐,白砂糖,味精,香辛料,大豆分离蛋白,食品添加剂
11	牛肉,食用盐,食用淀粉
12	散装食品,无配料表
13	散装食品,无配料表

D320)和牛源性成分实时荧光PCR检测试剂盒(货号D318)。SN/T 2727-2010中鸡源性成分的引物信息为:上游引物5'-CCC TCC TCC TTT CAT CCT CAT-3',下游引物5'-GTC ATA GCG GAA CCG TGG ATA-3,探针引物5'-FAM-CTA TGA ATC CGG GCC TC-TAMRA-3'。

2 结果与分析

目前我国针对研究中牛肉丸类产品仅有贸易行业标准SB/T 10610-2011肉丸,其中产品定义为以畜肉、禽肉、动物性水产品等为主要原料,添加水、淀粉等食品辅料,经过适当工艺制成的产品^[17]。此外,广东省地方标准《汕头牛肉丸DBS44/005-2016》,标准要求牛肉含量大于90%^[18]。除了参考以上两个标准的要求,产品标签需要同时符合《预包装食品标签通则GB7718-2011》的要求^[19]。其中,与本研究直接相关要求包括标签标识真实准确(GB7718, 3.4),各种配料应按照制造或加工食品时加入量的递减顺序一一排列(GB7718, 4.1.3.1.2)。

2.1 NGS检测结果

试验共对13个牛肉丸样品进行了NGS检测,结果见表2。从检测结果看,有9个样品的检测结果与样品标签中配料表信息一致,4个样品的检测数据与样品标签中配料表信息不一致,分别是样品1、样品2、样品5、样品11。其中,样品1和样品11配料表中仅标识牛肉,但NGS结果中不仅检测出了牛肉成分,还检测出了猪肉成分;样品2和样品5配料表标识牛肉和猪肉,NGS结果中同时检测出了牛肉、猪肉和鸡肉成分。

2.2 PCR检测结果

针对NGS中出现的4个检测结果与配料表信息不一致的样品,我们同时采用常规PCR方法对检出的猪肉成分和鸡肉成分采用相应方法进行确证,采用《食品、化妆品和饲料中牛羊猪源性成分检测方法实时PCR法SN/T 2051-2008》用于样品1和样品11中的猪肉成分检测,采用《饲料中禽源性成分检测方法实时荧光PCR方法SN/T 2727-2010》用于样品2和样品5中的鸡肉成分检测。4个样品的PCR图谱见图1~图4(图见第52页),其中蓝色条带为阳性样品,每个样品进行2个平行样品测

表2 13款牛肉丸样品的NGS检测结果与配料信息一致性比较

样品编号	配料	NGS检测结果	NGS检测结果与配料一致性
1	牛肉	猪96.9%	NO
		黄牛2.4%	
		水牛0.7%	
2	牛肉,猪肉	猪78.8%	NO
		水牛11.3%	
		黄牛8.8%	
3	牛肉	鸡1.1%	YES
		黄牛100%	
4	牛肉	黄牛100%	YES
		猪69.5%	
5	牛肉,猪肉	鸡15.8%	NO
		黄牛12.3%	
		水牛2.4%	
6	牛肉	黄牛100%	YES
		黄牛95.8%	
7	牛肉	水牛4.2%	YES
		猪67.7%	
		鸡27%	
8	牛肉,猪肉,鸡肉	黄牛5.3%	YES
		黄牛51.7%	
		猪48.3%	
9	牛肉,猪肉	猪93.7%	YES
		黄牛6.3%	
		猪49.2%	
10	牛肉,猪肉	黄牛30.1%	NO
		牦牛17.8%	
		北美野牛2.9%	
11	牛肉	黄牛100%	YES
		黄牛100%	
12	散装食品,无配料表	黄牛100%	YES
		黄牛100%	
13	散装食品,无配料表	黄牛100%	YES
		黄牛100%	

试。从PCR结果看,样品1的猪肉成分Ct值为15.3,样品11的猪肉成分Ct值为15.6,表明这两个样品中存在猪肉成分;样品2中的鸡肉成分Ct值为23.1,样品5中的鸡肉成分Ct值为20.6,表明这两个样品中存在鸡肉成分。

采用常规PCR方法对其它9个样品分别进行牛源性成分、猪源性成分及鸡源性成分的定性检测,其结果与NGS结果一致(表3)。

2.3 NGS和PCR两种方法的实验结果比较

PCR和NGS两种方法都能检测出产品标签上

表3 13款牛肉丸样品的NGS检测结果与常规PCR方法的
确证结果比较

样品编号	配料	NGS检测结果	PCR检测结果
1	牛肉	猪96.9%	检出牛基因
		黄牛2.4%	检出猪基因
		水牛0.7%	未检出鸡基因
2	牛肉,猪肉	猪78.8%	检出牛基因
		水牛11.3%	检出猪基因
		黄牛8.8%	检出鸡基因
		鸡1.1%	检出牛基因
3	牛肉	黄牛100%	未检出猪基因 未检出鸡基因
4	牛肉	黄牛100%	检出牛基因 未检出猪基因 未检出鸡基因
5	牛肉,猪肉	猪69.5%	检出牛基因
		鸡15.8%	检出猪基因
		黄牛12.3%	检出鸡基因
		水牛2.4%	检出牛基因
6	牛肉	黄牛100%	未检出猪基因 未检出鸡基因
7	牛肉	黄牛95.8%	检出牛基因
		水牛4.2%	未检出猪基因 未检出鸡基因
		猪67.7%	检出牛基因
8	牛肉,猪肉,鸡肉	鸡27%	检出猪基因
		黄牛5.3%	检出鸡基因
		黄牛51.7%	检出牛基因
9	牛肉,猪肉	猪48.3%	检出猪基因 未检出鸡基因
		猪93.7%	检出牛基因
10	牛肉,猪肉	黄牛6.3%	检出猪基因 未检出鸡基因
		猪49.2%	检出牛基因
		黄牛30.1%	检出猪基因
11	牛肉	牦牛17.8%	未检出鸡基因
		北美野牛2.9%	检出牛基因
12	散装食品,无配料表	黄牛100%	未检出猪基因 未检出鸡基因 检出牛基因
13	散装食品,无配料表	黄牛100%	未检出猪基因 未检出鸡基因

已标识的牛肉,猪肉和鸡肉成分以及未标识的猪肉和鸡肉成分,检测结果一致。

从方法的操作过程看,PCR方法每次测试仅能给出某一具体要求检测的物种信息,检测时需要有每一目标物种的扩增引物,如本试验中,PCR方法仅能检测猪源性成分或鸡源性成分。如果想要测试牛源性成分,需要用牛源性的扩增引物再次进行测试。目前国标中能用PCR进行鉴定的物种仅限于常见物种,而且很难进行样品中相近物种的辨别,如黄牛、水牛、牦牛等的区分。而NGS检测方法可通过引物扩增测序,一次测试得到样品中所有动物源性成分信息,而且可以对相近物种进行辨别,如表3结果中的黄牛、水牛、牦牛、美洲牛的结果。除此之外,PCR检测仅能给出定性结果,NGS方法则可以给出不同物种的相对定量结果。因此,相较于PCR方法,NGS方法具备明显的检测优势。

3 讨论与结论

3.1 产品标签配料合规性的定性判定

《中华人民共和国食品安全法》中第三十四条明确规定禁止生产经营掺假掺杂的食品,第七十一条中要求食品的标签不得含有虚假内容,生产者对其提供的标签、说明书的内容负责。食品与其标签的内容不符的,不得上市销售^[20]。政府监管机构、商超门店、电商平台以及生产企业应采用相应的检测方法对食品掺假进行判定。

从13款产品的NGS结果看,可能存在虚假标识和欺诈消费者的样品共有4个,不合格率为31%。13个样品的结果经过了PCR方法的再次确证,说明NGS方法可以用于肉类产品成分测试,其准确度同常规PCR方法达到了一致性。

3.2 产品标签配料合规性的定量判定

在NGS检测结果中,除了有动物源性成分信息的定性结果外,还提供了每个物种的相对定量信息。与实际产品加工中每种肉类成分添加的含量定义不同,NGS提供的相对定量信息为每个物种检测到的特征DNA序列数量同所有检测到的动物物种的特征序列数量的比值。

从样品8、样品9、样品10的NGS相对含量结果(表3)来看,尽管NGS检测结果同样品标签配料表

中显示的添加肉类种类一致,但按照国家食品标签强制标准 GB7718 要求,各种配料应按制造或加工食品时的加入量的递减顺序排列,样品 8 和样品 10 有非常大的机率是不符合标签要求的,样品 9 因为数据接近,无法判断是否符合递减排列要求。

综上,NGS 的相对定量结果可以用于辅助判断产品配料表标识是否符合国家要求。与目前的检测技术 PCR 相比,PCR 结果无法给出物种相对定量结果,且目前国际国内尚无能真正用于检测不同肉类成分配料实际添加量的方法。

3.3 结论

本研究结果表明,NGS 可以应用于肉类制品的成分鉴别,其相对定量结果可用于肉类制品标签配料标识的合规性辅助判别。本研究为 NGS 技术运用在食品检测领域提供了科学的检测方法及初步的试验数据,为政府监管食品掺假、食品欺诈问题及企业内部监控产品质量提供了新的模式和思路,同时也为 NGS 检测方法的标准化工作积累了试验比对数据,为 NGS 的进一步推动奠定了基础。未来针对 NGS 的相对定量检测数据同实际产品的偏差范围还需要更深入的研究。

参考文献:

- [1] 凌莉,李志勇,高东微,等.从肉类掺假案例反思我国进出口食品安全监管[J].安徽农业科学,2013,41(20):8711-8713,8715.
- [2] 2013/99/EU commission recommendation of 19 February 2013 on a coordinated control plan with a view to establish the prevalence of fraudulent practices in the marketing of certain foods[J]. Official Journal of the European Union, 2013, 2: 28-32.
- [3] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局,中国国家标准化管理委员会. GB/T 25165-2010 明胶中牛、羊、猪源性成分的定性检测方法实时荧光 PCR 法[S]. 2010.
- [4] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2051-2008 食品、化妆品和饲料中牛羊猪源性成分检测方法实时 PCR 法[S]. 2008.
- [5] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2557-2010 畜肉食品中牛成分定性检测方法实时荧光 PCR 法[S]. 2010.
- [6] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 2978-2011 动物源性产品中鸡源性成分 PCR 检测方法[S]. 2011.
- [7] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. SN/T 4397-2015 出口食品中牦牛源性成分的检测方法实时荧光 PCR 法[S]. 2015.
- [8] METZKER M L. Sequencing technologies—the next generation [J]. Nature Reviews Genetics, 2010, 11:31-46.
- [9] NAGARAJAN N, POP M. Sequencing and genome assembly using next - generation technologies [J]. Methods Molecular Biology, 2010, 673:1-17.
- [10] SHOKRALLA S, SPALL J L, GIBSON J F, et al. Next - generation sequencing technologies for environmental DNA research[J]. Molecular Ecology, 2012, 21:1794-1805.
- [11] BERNARDO A, WANG S, PAUL S A, et al. Using Next Generation Sequencing for Multiplexed Trait-Linked Markers in Wheat[J]. PLOS ONE, 2015, 12:1-18.
- [12] TONG Y G, SHI W F, LIU D, et al. Genetic diversity and evolutionary dynamics of Ebola virus in Sierra Leone [J]. Nature, 2015, 524:93-96.
- [13] FRANCESCA B, MARCO C G, ENRICO D A, et al. A Next Generation Semiconductor Based Sequencing Approach for the Identification of Meat Species in DNA Mixtures[J]. PLOS ONE, 2015, 4:1-16.
- [14] ANISA R, GIUSEPPINA S, VALERIO J U, et al. Application of next generation semiconductor based sequencing for species identification in dairy products[J]. Food chemistry, 2018, 246: 90-98.
- [15] DANIEL C C, RAFAEL M P, MARCELA G D, et al. Food metagenomics: Next generation sequencing identifies species mixtures and mislabeling within highly processed cod products [J]. Food control, 2017, 80:183-186.
- [16] ALICE G, ANDREA A, CARMEN G. Advances in the analysis of complex food matrices: Species identification in surimi based products using Next Generation Sequencing technologies [J]. PLOS ONE, 2017, 10:1-18.
- [17] 中华人民共和国商务部. SB/T 10610-2011 肉丸[S]. 2011.
- [18] 广东省卫生和计划生育委员会. DBS 44/ 005-2016 食品安全地方标准 汕头牛肉丸[S]. 2016.
- [19] 中华人民共和国卫生部. GB 7718-2011 食品安全国家标准预包装食品标签通则[S]. 2011.
- [20] 中华人民共和国主席令 第二十一号.《中华人民共和国食品安全法》[EB]. 2018 年修正版.

动物性食品中兽药及违禁物质残留原因及应对措施

孙娅莉¹, 常磊^{2*}

(1.郑州市动物卫生监督所, 河南 郑州 450052;

2.郑州市兽药饲料质量安全检验中心, 河南 郑州 450052)

摘要:动物性食品是重要的食物来源之一, 随着需求量的增加, 推动了畜牧业的发展, 动物性食品产量明显增加, 但与此同时, 兽药残留、违禁物质的添加等这些影响动物性食品安全的因素也在增加。本文就兽药残留、添加违禁物质的原因、危害及应对措施等进行总结。

关键词:动物性食品; 兽药残留; 违禁物质; 措施

中图分类号:S851.34 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0034-03

1 动物性食品中兽药残留及添加违禁物质的原因

1.1 非法添加违禁物质

养殖中为提高经济效益而使用非法物质的现象是影响畜产品质量安全的一大因素。比如《饲料药物添加剂使用规范》明确指出, 除《饲料药物添加剂使用规范》记载品种及农业农村部批准可使用的饲料药物添加剂外, 其它兽药产品不得添加到饲料中使用。现实生产过程中, 不仅会有部分养殖场户违规添加兽药, 更有甚者违规添加“瘦肉精”“三聚氰胺”“苏丹红”等非兽药类、非饲料添加剂类物质, 性质极其恶劣。

“瘦肉精”, 曾作为药物用于治疗支气管哮喘, 后由于其毒副作用太大而遭禁用。有的养殖场户铤而走险, 只在意一定量的“瘦肉精”促进动物体蛋白质沉积、脂肪分解, 提高胴体的瘦肉率和饲料转化率, 而完全不顾肉产品中“瘦肉精”给人体带来的毒副作用。目前, 使用“瘦肉精”已涉嫌违法, 但在检测过程中依然发现有违法使用“瘦肉精”现象, 其仍未完全杜绝。

“苏丹红”是一种化学染色剂, 对人体的肝、肾

器官具有明显的毒性作用, 主要用于石油、机油和其它工业溶剂中, 目的是增色, 也用于鞋、地板等增光。苏丹红染色后的食品颜色鲜艳且不易褪色, 一些不法饲料生产厂(商)或部分养殖场(户)竟然违规把它添加到饲料中, 目的是使蛋黄颜色鲜艳, 提高卖相。

1.2 不规范使用兽药

有的养殖户为促进养殖效益, 兽药使用不遵守规定, 长期、大剂量、滥用兽药, 导致动物性食品中药物残留超标。如用于猪密螺旋体性痢疾和禽组织滴虫病的地美硝唑预混剂, 明确规定蛋鸡产蛋期禁用, 鸡连续用药不得超过10天, 休药期猪3天、鸡3天; 每1000 kg饲料添加量: 猪1000~2500 g, 鸡400~2500 g。然而, 有的养殖场户并不注重规定要求, 造成了在检测中发现部分动物性食品药物残留超标。

1.3 对新法律法规关注不够

随着食品安全关注度的提高, 对于养殖业也提出了更高要求, 一些饲料药物添加剂正在被逐步取代。如用于猪促生长的喹乙醇、洛克沙胍、氨苯砷酸等, 按照农业农村部第2638号公告已于2019年5月1日起全面停止经营和使用, 2020年1

收稿日期: 2020-01-17

作者简介: 孙娅莉(1983-), 女, 河南郑州人, 硕士研究生, 兽医师, 主要从事动物卫生检疫及畜牧兽医执法工作。E-mail: changchang168@163.com

*通讯作者: 常磊(1983-), 男, 兽医师, 硕士研究生, 研究方向: 动物生理生化。

月饲用抗生素全面禁用,但在检测过程中仍发现有部分动物性食品中残留超标,这可能与部分养殖场户只顾养殖,不及时了解最新的法律法规要求有关。

1.4 为节约成本,使用不合格的饲料及养殖业外源性污染

饲料作为畜牧业投入品,在保障动物性食品安全中占据着重要的地位,部分养殖场户为节约成本使用不合格的饲料产品也有可能造成药物残留超标。自配料以及成品料因存放不当而导致霉变等也可影响动物性食品品质。

另外,随着环境污染的加剧,养殖用水、饲草等也有可能造成动物性食品药物残留超标或重金属超标等现象。

2 兽药及违禁物质残留危害的表现

2.1 引起中毒反应

部分药物或非法添加物的蓄积不仅会对动物产生毒副作用,还会引起人的中毒反应。如人一次性摄入过多“瘦肉精”残留动物性食品,可能会引起中毒反应,特别是对一些身体素质较差人群。

2.2 引起过敏反应

一些抗菌类药物,如青霉素、磺胺类、四环素等会引起部分人群发生过敏反应,当这些易过敏人群使用含有此类抗菌药残留超标的动物性食品时则有可能会出现过敏症状。过敏症状有多种多样,也有轻重之分,易感人群中可能会因个体差异给人体造成不同程度的伤害。

2.3 致癌、致畸、致突变作用

兽药中的某些化学成分可引起人类基因突变或者出现染色体变异等现象,对人体造成极大的危害。如兽药中四环素、磺胺类药物、卡那霉素、呋喃类等对人体有致癌作用^[1]。另外,2019年禁止使用的喹乙醇,也是由于具有中度至明显的蓄积毒性而遭禁。

2.4 细菌耐药性增强

随着养殖业的规模化发展,抗生素被广泛应用于养殖生产。养殖场户在饲料中添加或直接使用抗生素,不仅可能会造成动物机体产生耐药性,而且有可能导致肉品中药物部分残留,人们长期食用这些肉制品,也可能产生耐药性。另外,人

体肠道中有丰富且稳定的菌群,这些菌群相互制约,形成稳定平衡的菌群环境,但若被畜产品中残留的兽药影响,可能破坏菌群平衡,导致菌群失调,诱发疾病^[2]。

3 动物性食品中兽药及违禁物质残留的检测方法与限量标准

随着检测技术的发展,兽药及违禁物质残留的检测手段日益完善,通常可分为快检和上机检测。比如动物性食品中违禁物质“瘦肉精”的检测,可使用快速检测卡进行初筛,一般灵敏度会达到3 ng/ml(3 ng/g)、5 ng/ml(5 ng/g)等;疑似含有“瘦肉精”肉品可采用上机检测,依据《动物源性食品中 β -受体激动剂残留检测方法液相色谱-质谱/质谱法》(GB/T 21313-2007)或农业部发布的相关公告利用液质联用仪等设备进行精密检测,很微量的“瘦肉精”残留即能检测出来。

另外,于2020年4月1日起正式实施的《食品安全国家标准 食品中兽药最大残留限量》(GB 31650-2019),对于食品中各类兽药的最大残留限量做出了明确的规定。

4 动物性食品中兽药及违禁物质残留问题的解决方法

4.1 加强宣传和培训

一方面,加大法律法规的宣传力度,提高从业人员的素质,进一步增强生产企业安全生产、合理用药的自觉性,自觉承担动物性食品安全的责任和义务,从源头上控制食品安全。另一方面,加强中间环节管控,在宣传教育下,使经营环节依法依规销售,杜绝二次加工。

畜禽养殖中使用兽药,必须严格按照适用动物、用法用量、注意事项及最高残留限量要求使用。关于违禁物质非法添加问题,农业农村部193号公告明确规定了动物禁用的兽药及其它化合物,176号公告明确指出了禁止在饲料和动物饮用水中使用的兽药品种目录,规定中的这些兽药和其它化合物均属于违禁物质。这就要求在生产中,主管部门加大宣传和培训力度,提高从业人员的业务知识和法律法规意识。

4.2 建立健全监控体系

建立健全动物性食品质量安全追溯体系,从各个环节控制食品质量。如规模化养殖企业安装实时监控系统,建立健全兽药购买、使用制度,详细记录兽药来源、名称、用药以及休药期等各类信息。使用的兽药或饲料必须是正规途径、正规厂家的产品,禁止使用假冒伪劣产品和没有标准文号

4.3 加大抽检力度,加强畜牧业有关方面的监督

加强兽药、饲料等畜牧业投入品的质量安全监管,确保用于动物养殖的投入品安全可靠。另外,加大养殖和销售环节的抽查力度,强化检测机构和执法机关间的检打联动,发现不合格样品,在异议处理完之后,尽快进入执法程序,打击威慑销售或生产药残超标动物性食品。动物性食品质量安全监管是一项长期而艰巨的任务,只靠养殖场户或销售商自觉不够,需要政府部门不断加大监管力度。

4.4 大力倡导绿色畜牧业。

随着社会的不断进步,绿色高效畜牧业已是大势所趋。一方面,兽药生产企业可加大研发力度,研制高效、低毒、无公害的绿色环保兽药。另一方面,养殖场户要转变观念,合理做到防治结合,日常饲养中把重点放在科学饲养上,为畜禽提供营养丰富、搭配合理的全价料,保证畜禽各阶段营养需求,做到饮用水、饲料及其他食材的卫生、无污染,合理控制温度、湿度和光照,保持通风换气,避免嘈杂等等,有必要用药时,要严格按照兽药说明使用,注意剂量、适用动物,休药期等等。

参考文献:

- [1] 刘明团,檀学进,王学梅. 兽药残留的潜在危害[J]. 山东畜牧兽医, 2019,40(11):52.
- [2] 田梅,张梦雪,高红梅,等. 畜产品中常用兽药残留危害及检测方法[J]. 今日畜牧兽医, 2019, 3(05):1-2.

上转第14页

- [9] 马乐乐. 设施袋培番茄有机肥水耦合效应研究[D]. 硕士学位论文. 杨凌:西北农林科技大学, 2019.
- [10] Martellozzo F, Landry J S, Plouffe D, et al. Urban agriculture: a global analysis of the space constraint to meet urban vegetable demand [J]. Environmental research Letters. 2014, 9(6):064025.
- [11] Khadija B, Paulo F. Commercial farming within the urban built environment - Taking stock of an evolving field in northern countries [J]. Global Food Security, 2018, 17.
- [12] 余俊任,林聪,张新平,等. 水生植物在猪场废水净化中的耐污性研究[J]. 猪业科学, 2006(12):64-66.
- [13] 陈金霞,徐璿,张小莉. 生物修复技术在污染治理中的应用[J]. 上海化工, 2000(09):4-7+20.
- [14] 赵丽娜. 人工湿地植物去除生活污水中污染物效果的研究[D]. 硕士学位论文. 南京:南京农业大学, 2007.
- [15] 曹雷鹏. 养猪废水中氮磷回收铜锌去除技术及水培空心菜食品安全性的研究[D]. 硕士学位论文. 南昌:南昌大学, 2019.
- [16] 陈玉红,刘忠良. 猪场厌氧废水用于空心菜水培试验研究[J]. 农业环境与发展, 2011, 28(03):87-90.
- [17] 陈华,卫坚强,尹梅,等. 水培蔬菜对循环养殖水水质净化效果研究[J]. 西南农业学报, 2018, 31(03):619-622.
- [18] 王茂元. 水培空心菜对养殖池塘水质的影响[J]. 福建农业学报, 2015, 30(03):307-311.
- [19] 周胜杰,路斌,贾婷婷,等. 4种水培植物对富营养化水体中总氮、总磷去除率影响的研究[J]. 天津农学院学报, 2017, 24(01):44-47.
- [20] 由文辉,刘淑媛,钱晓燕. 水生经济植物净化受污染水体研究[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2000(01):99-102.
- [21] Torres L G, Jaimes J, Mijaylova P, et al. Coagulation-flocculation pretreatment of high-load chemical pharmaceutical industry wastewater: mixing aspects [J]. Water Science and Technology, 1997, 36: 255-262.
- [22] 李亮. 畜牧业三产融合需要政策催化[N]. 山东科技报, 2017-04-17(007).

一例犬特发性癫痫的诊断与治疗

袁媛¹, 龚晓佩¹, 王钰², 鲁浩坤¹, 胡莲美¹, 吴玄光^{1*}

(1. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510000;

(2. 广州泰洋动物医院, 广东 广州 510660)

摘要:犬癫痫发作的原因是大脑皮质的脑电活动发生异常, 提示大脑存在病变, 临床上需与其它疾病鉴别诊断。本文主要分析一例犬特发性癫痫临床诊断和治疗, 旨在为以后临床医生遇到类似病例提供参考。

关键词:犬; 癫痫; 鉴别诊断; 治疗

中图分类号:S858.292 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)04-0037-04

犬癫痫(Epilepsy)是指发生在犬上的一种不明原因的疾病, 主要特征为急性发作、阵发性痉挛、运动感觉异常、反射机能减弱或消失、呈周期性发作^[1]。据初步估计, 患病率为0.62%~0.82%^[2]。癫痫是一种复杂的脑部疾病, 一般定义是发作至少两次且间隔超过24 h的无缘由发作的疾病^[3]。国际兽医癫痫特别工作组(The International Veterinary Epilepsy Task Force, IVETF)将癫痫发作的原因分为4种:1)由于全身性疾病或中毒引起的反应性癫痫;2)由于结构性前脑疾病引起的结构性癫痫(SE);3)特发性癫痫(IE);4)未知原因的癫痫^[4]。每种原因导致的癫痫都需要不同的临床管理和治疗选择, 对病犬、临床医生以及主人也会产生不同的影响。

特发性癫痫不存在结构性脑部病理问题, 多数情况涉及遗传因素, 常见发病的犬种包括比利时牧羊犬、德国牧羊犬、拉布拉多犬、腊肠犬、苏格兰牧羊犬等, 发病年龄多在1~3岁之间^[5]。IE的诊断没有特异性, 主要是运用三个等级排除法^[6]。等级一:与IE一致的病史, 神经系统检查无异常, 血液检查和尿液分析正常;等级二:胆汁酸刺激实验, 脑脊液(CSF)分析和脑部MRI^[7];等级三:基于

等级一、等级二识别癫痫发作时的特征性脑电图表现。犬癫痫的治疗主要是安静环境, 减少应激, 对因施治, 预防为主。宠物临床上常用的抗癫痫药物主要有: 癸安舒、溴化钾、左乙拉西坦、唑尼沙胺等, 不同的药物对不同类型的癫痫疗效大不相同, 随意改变用药剂量、停药、换药等都有可能适得其反, 并诱发全身性、持续性癫痫发作^[8], 因此临床上一定要根据不同的病因合理用药。

本文主要对一例犬特发性癫痫病例临床诊断和治疗过程进行分析。

1 发病情况

白色贵宾犬1只, 雌性, 2岁8个月, 正常免疫, 体重2.2 kg。主诉就诊前一晚突然呕吐白沫、身体不断抽搐、四肢僵硬, 抽搐后恢复正常与平时无异, 随后又出现呕吐一次白沫, 但是未见抽搐。第二天下午主人带病犬至笔者医院进行诊治。

2 诊断过程

2.1 一般临床症状

未发病时精神良好, 体温38.2℃, 呼吸、心率均正常, 黏膜红润, 皮肤检查正常, 双眼瞳孔反射

收稿日期:2020-04-28

作者简介:袁媛(1995-), 女, 江苏泰州人, 硕士研究生, 研究方向:中兽医学。E-mail:1539919869@qq.com

*通讯作者:吴玄光(1962-), 男, 农学硕士, 副教授, 研究方向:兽医临床诊疗技术。E-mail:Wuxg62@scau.edu.cn

正常, 神经学检查正常。就诊期间该犬发病一次, 四肢发生震颤, 空嚼, 口腔内分泌大量的白色泡沫。

2.2 血液学检查

2.2.1 血常规检查结果

血常规检查结果由表1可见, 无任何异常。

表1 血常规检查结果与参考范围

参数	结果值	单位	参考值
白细胞数目	15.19	L	17-6 10 ⁹
中性粒细胞数目	10.34	L	12.3-3.62 10 ⁹
淋巴细胞数目	3.28	L	4.91-0.83 10 ⁹
单核细胞数目	0.59	L	1.97-0.14 10 ⁹
嗜酸性粒细胞数目	0.91	L	1.62-0.04 10 ⁹
嗜碱性粒细胞数目	0.07	L	0.12-0 10 ⁹
中性粒细胞百分比	68.1	%	81-52
淋巴细胞百分比	21.6	%	33-12
单核细胞百分比	3.9	%	13-2
嗜酸性粒细胞百分比	6	%	10-0.5
嗜碱性粒细胞百分比	0.4	%	1.3-0
红细胞数目	6.38	L	8.5-5.1 10 ¹²
血红蛋白	96	L	190-110
红细胞压积	29.9	%	56-33
平均红细胞体积	46.9	fL	76-60
平均红细胞血红蛋白含量	15	Pg	27-20
平均红细胞血红蛋白浓度	320	g/L	380-300
红细胞分布宽度CV	21.5	%	17.2-12.5
红细胞分布宽度SD	42.2	fL	46.3-33.2
血小板数目	169	L	490-117 10 ⁹
平均血小板体积	13.9	fL	14.1-8
血小板分布宽度	15.3	fL	17.5-12
血小板压积	0.236	%	0.58-0.09

2.2.2 血液生化检查结果

血液生化检查结果如表2所示, 血液生化结果未见明显异常。

2.2.3 C反应蛋白检验

C反应蛋白检查结果如表3所示。C反应蛋白升高, 提示该病犬体内有急性炎症。

2.2.4 血氨检验

血氨检验结果如表4所示, 血氨检查结果正常。

表2 血液生化分析仪检验报告

参数	结果值	单位	参考值
GLU 血糖	5.48	mmol/L	4.11-7.95
CREA 肌酐	39	mmol/L	44-159
UREA 尿素	7.3	μmol/L	2.5-9.6
BUN/CREA 血尿素氮/肌酐比	47	-	-
PHOS 磷离子	0.95	mmol/L	0.81-2.2
CA 钙离子	2.23	mmol/L	1.98-3
TP 总蛋白	60	g/L	52-82
ALB 白蛋白	28	g/L	23-40
GLOB 球蛋白	31	g/L	25-45
ALB/GLOB 白蛋白/球蛋白比	0.9	-	-
ALT 丙氨酸转氨酶	87	U/L	10-125
ALKP 碱性磷酸酶	47	U/L	23-212
GGT 谷氨酰转氨酶	0	U/L	0-11
TBIL 总胆红素	2	μmol/L	0-15
CHOL 胆固醇	2.6	mmol/L	2.84-8.26
AMYL 淀粉酶	372	U/L	500-1500
LIPA 脂肪酶	865	U/L	200-1800

表3 C反应蛋白检验报告

参数	结果值	单位	参考值
CRP C反应蛋白	16.37	mg/L	0~10

表4 血氨检验报告

参数	结果值	单位	参考值
NH3 血氨	6	μmol/L	0~98

2.3 影像学检查

2.3.1 B超检查

B超结果见图1。看到不规则的子宫边缘, 子宫腔内为无回声暗区, 内壁不光滑, 直径约为0.85, 提示有液体。其他腹部脏器肝脏、肾脏、胰腺等未见回声异常。

2.3.2 MRI 检查结果^[7]

MRI影像学检查结果(见图2~8): 大脑额叶、顶叶、颞叶、枕叶均未见明显的病变或结构异常, 各处脑白质、脑灰质均无异常, 小脑大小与形态未见异常。

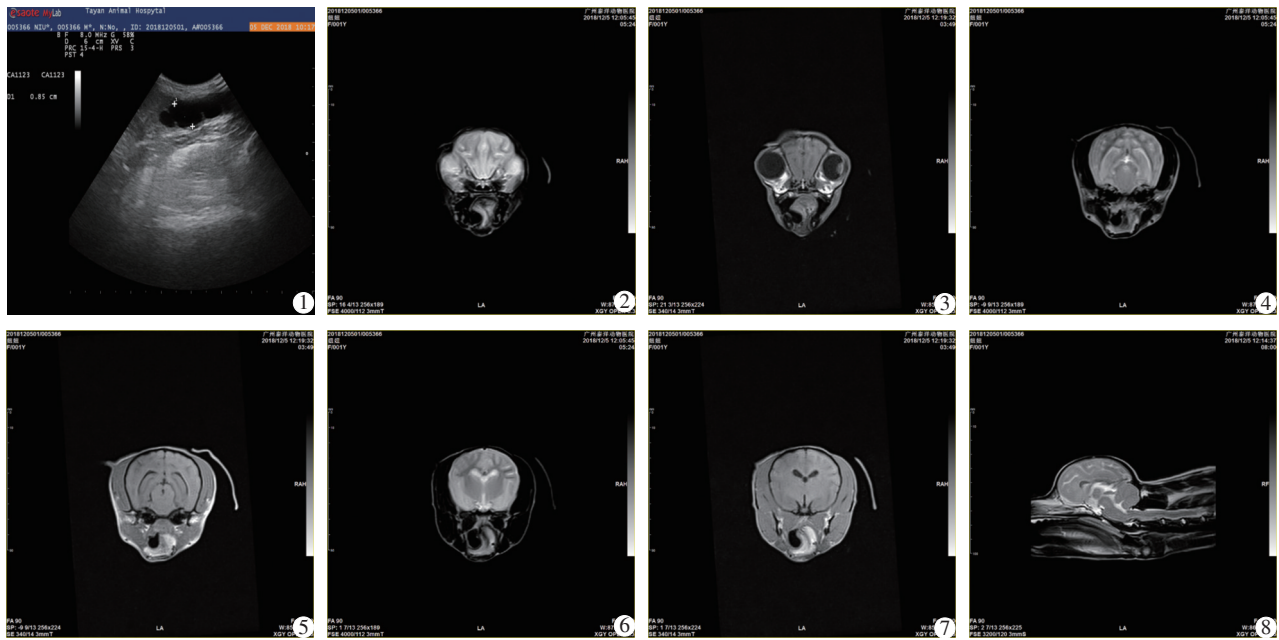


图1 犬子宫积液 图2 大脑额叶横断位T2加权影像 图3 大脑额叶横断位T1加权影像 图4 大脑枕叶横断位T2加权影像 图5 大脑枕叶横断位T1加权影像 图6 大脑顶叶与颞叶横断位T2加权影像 图7 大脑顶叶与颞叶横断位T1加权影像 图8 大脑正中矢状位T2加权影像

3 诊断结果

根据血液学、B超和MRI检查结果,判断该病犬患有轻微子宫积液和特发性癫痫病,经过与主人协商确定先用药控制癫痫,待情况稳定后考虑子宫摘除。

3.1 治疗方案

治疗原则:药物控制,减少应激,抗菌消炎,对症治疗。

当天静脉滴注0.9%氯化钠注射液250 mL;口服癫痫安舒每次5 mg,每天2次,连用15天;口服甲钴胺每次0.25 mg,每天1次,连用16天;口服莫比新每次25 mg,每天2次,连用14天。两周之后复诊。

3.2 预后

第二次复查,主诉两周内复发癫痫2次,近5天未见再次发病,精神状况良好,饮食排便均正常。B超检查子宫积液情况有好转,未见明显回声异常。按之前用药方案继续服用癫痫安舒和甲钴胺,停用莫比新,每半个月复诊一次。一个月后在原有的用药基础上,增加口服癫痫静每次50 mg,一天2次。至今未见该犬癫痫复发。

4 讨论

目前国内尚未见宠物犬癫痫发病学调查的报道,所以无法获得国内的相关数据。在德国,IE的发病率占神经系统疾病的1%~2%^[9],在日本的犬专科医院中发病率为11.9%,且占整体数量的5%左右^[10];某些特定的品种具有遗传学,发病率会更高^[11],所以癫痫是转诊至神经科医师的最常见的原因之一。癫痫发作通常与颅内疾病有关,例如肿瘤形成或者炎症(结构性癫痫)^[12-13],也可能是中毒或其他颅外代谢性疾病的反应(反应性癫痫)^[14]。在更多情况下,癫痫的发生机制可能是遗传或者未知因素,此时需要用前文介绍的三个等级排除法进行诊断治疗^[6]。从普通病例来看最初48小时内癫痫复发的风险因素知之甚少,在进行入院评估时癫痫发作的病犬通常不会发现任何风险因素^[15]。癫痫的发作对犬有害,目前治疗该病最重要的是要尽早治疗或尽可能地预防。

本病例在首次发病后,立即被带来医院看诊,这对后期的诊断和治疗,以及动物的预后都有非常大的益处。在进行一般检查时发现该犬精神状

态良好, 正常免疫驱虫, 未外出过, 也未误食毒物等, 可以排除传染病和中毒因素^[16]。该犬的一般神经学检查未发现异常, 血液学检查提示有急性炎症, B超检查证实是子宫积液引起。血氨测量值在正常范围内可以排除由血氨升高引起的肝性脑病。MRI影像未见明显异常。综合以上表现诊断为特异性癫痫。人医中大量研究表明, 越早开始抗癫痫药物治疗(AED), 对于抽搐控制的结果可能更好; 癫痫反复发作可能会增加癫痫的发生和耐药性, 长期和急性的反复发作会增加患者的发病率并且需要长期住院治疗^[17-18]。在犬中尚没有类似的研究成果, 但是可以借鉴这样的治疗方案。癧安舒的主要成分为苯巴比妥, 是兽医中应用较早的抗癫痫药物, 并且相对便宜、耐受性好, 通常是临床上的首选药物^[19]。犬癫痫的成功治疗不仅在于控制癫痫的发生, 还在于维持患犬高生活质量, 这就需要主人定期带患犬复查, 以便兽医准确把控患犬血液苯巴比妥的浓度, 及时更换药物或其他治疗措施等。

5 小结

目前犬癫痫的发病机理尚未清楚, 诊断手法是在现有技术基础之上做出相关的鉴别, 早发现、早治疗, 减少应激、药物控制。

参考文献:

- [1] THOMAS W B. Idiopathic epilepsy in dogs and cats [J]. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 2010, 40(1): 161-179.
- [2] ERLÉN A, POTSCHEKA H, VOLK H A, et al. Seizure occurrence in dogs under primary veterinary care in the UK: prevalence and risk factors [J]. *Journal of veterinary internal medicine*, 2018, 32(5):1665-1676.
- [3] 陆冠亚. 拉布拉多犬血清生化指标的测定及EPM2癫痫致病基因Epm2b的检测[D]. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学, 2006.
- [4] BERENDT M, FARQUHAR R G, MANDIGERS P J, et al. International veterinary epilepsy task force consensus report on epilepsy definition, classification and terminology in companion animals[J]. *BMC veterinary research*, 2015, 11(1):182.
- [5] JAGGY A, FAISSLER D, GAILLARD C, et al. Genetic aspects of idiopathic epilepsy in Labrador retrievers[J]. *Journal of Small Animal Practice*, 1998, 39(6):275-280.
- [6] DE RISIO L, BHATTI S, MUÑANA K, et al. International veterinary epilepsy task force consensus proposal: diagnostic approach to epilepsy in dogs [J]. *BMC veterinary research*, 2015, 11(1):148.
- [7] 郭洁. 犬颅脑MRI参考图谱的创建及癫痫诊断的研究[D]. 硕士学位论文. 河南: 河南农业大学, 2019.
- [8] THOMAS W B. Idiopathic Epilepsy in Dogs [J]. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 2000, 30(1): 183-206.
- [9] KWIATKOWSKA M, TIPOLD A, HUENERFAUTH E, et al. Clinical Risk Factors for Early Seizure Recurrence in Dogs Hospitalized for Seizure Evaluation [J]. *Journal of veterinary internal medicine*, 2018, 32(2):757-763.
- [10] HAMAMOTO Y, HASEGAWA D, MIZOGUCHI S, et al. Retrospective epidemiological study of canine epilepsy in Japan using the International Veterinary Epilepsy Task Force classification 2015 (2003-2013): etiological distribution, risk factors, survival time, and lifespan[Z]. 2016:12, 248.
- [11] BERENDT M, GREDAL H, PEDERSEN L G, et al. A cross-sectional study of epilepsy in Danish Labrador Retrievers: prevalence and selected risk factors [J]. *Journal of veterinary internal medicine*, 2002, 16(3):262-268.
- [12] SCHWARTZ M, LAMB C R, BRODBELT D C, et al. Canine intracranial neoplasia: clinical risk factors for development of epileptic seizures [J]. *Journal of Small Animal Practice*, 2011, 52(12):632-637.
- [13] COATES J R, BARONE G, DEWEY C W, et al. Procarbazine as adjunctive therapy for treatment of dogs with presumptive antemortem diagnosis of granulomatous meningoencephalomyelitis: 21 cases (1998-2004)[J]. *Journal of Veterinary internal medicine*, 2007, 21(1):100-106.
- [14] BRAUER C, JAMBROSZYK M, TIPOLD A. Metabolic and toxic causes of canine seizure disorders: a retrospective study of 96 cases[J]. *The Veterinary Journal*. 2011, 187(2):272-275.
- [15] FORSGÅRD J A, METSÄHONKALA L, KIVIRANTA A, et al. Seizure - precipitating factors in dogs with idiopathic epilepsy [Z]. 019:33, 701-707.
- [16] 吴杰. 宠物犬癫痫的鉴别诊断及治疗[J]. *北方牧业*. 2010(01):26.
- [17] BRODIE M J, BARRY S, BAMAGOUS G A, et al. Patterns of treatment response in newly diagnosed epilepsy [J]. *Neurology*. 2012, 78(20):1548-1554.
- [18] KWAN P, ARZIMANOGLU A, BERG A T, et al. Definition of drug resistant epilepsy: consensus proposal by the ad hoc Task Force of the ILAE Commission on Therapeutic Strategies [J]. *Epilepsia*, 2010, 51(6):1069-1077.
- [19] RAVIS W R, PEDERSOLI W M, WIKE J S. Pharmacokinetics of phenobarbital in dogs given multiple doses [J]. *American journal of veterinary research*, 1989, 50(8):1343-1347.

饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能, 蛋品质及 卵巢发育指标的影响

王爽, 张亚男, 阮栋, 夏伟光, 陈伟, 郑春田*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东广州 510640)

摘要:为了确定蛋鸭产蛋初期生物素适宜添加水平, 本试验研究了饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能, 蛋品质及卵巢发育指标的影响。试验采用单因子完全随机设计, 将504羽健康、刚开产的福建龙岩麻鸭随机分为6个处理, 每个处理6个重复, 每个重复14羽。饲料采用小麦-豆粕饲料, 基础饲料中可利用生物素含量为0.055 mg/kg。饲料生物素添加水平为:0、0.05、0.1、0.15、0.2、0.25 mg/kg, 试验期为21天。记录产蛋性能, 采集蛋样测定蛋品质。试验结果表明:生物素添加水平对产蛋初期产蛋性能及蛋品质影响不显著($P>0.05$)。但在生物素添加水平为0.15 mg/kg时, 与未添加生物素组相比, 产蛋率提高4.55%, 日产蛋重增加1.98 g, 料蛋比降低0.19。生物素添加水平为0.15 mg/kg时, 蛋白高度及哈氏单位相比生物素未添加组有所下降, 但未见显著差异($P>0.05$)。随饲料生物素水平升高, 蛋黄中甘油三酯含量有降低趋势($P=0.11$)。生物素添加水平对产蛋初期蛋鸭卵巢发育指标无显著影响($P>0.05$)。生物素的添加一定程度上改善蛋鸭产蛋性能及蛋品质, 并对对蛋禽脂类代谢有一定的调控作用。以生产性能为参考指标, 产蛋初期蛋鸭生物素建议添加量为0.15 mg/kg。

关键词:生物素; 蛋鸭; 产蛋性能; 蛋品质; 卵巢发育

中图分类号:S816.7 文献标识码:A 文章编码:1005-8567(2020)04-0041-05

Effects of dietary biotin levels on laying performance, egg quality and ovarian development indices in the early laying stage of layer ducks

WANG Shuang, ZHANG Ya-nan, RUAN Dong, XIA Wei-guang, CHEN Wei, ZHENG Chun-tian *

(Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding, Key Laboratory of Animal Nutrition and Feed Science in South China, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Key Laboratory of Poultry Genetics and Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition, Guangzhou 510640, China)

收稿日期:2019-02-17

项目来源:国家重点研发项目(2018YFD0501504);国家水禽产业技术体系(CARS-42-13);广东省科技计划项目(2016A020210043);广州市科技计划重点项目(No.201804020091);广东省科技计划项目(2019A050505007);广东省农业科学院院长基金(201907)

作者简介:王爽(1985-),女,黑龙江鸡西人,硕士,从事蛋鸭维生素营养研究。E-mail:wangshuang_730@163.com

*通讯作者:郑春田(1972-),男,博士,研究员,硕士生导师,从事水禽营养方向研究。E-mail:zhengcht@163.com

Abstract: An experiment was conducted to study the effect of dietary biotin on production performance, egg quality, and ovarian development indices of laying ducks in the early laying stage. 504 female ducks, in long-yan of Fujian province, with similar body weight were randomly allotted into 6 treatments with 6 replicates of 14 ducks. Ducks were fed experimental diets with six supplemental levels of biotin (0, 0.05, 0.1, 0.15, 0.2, 0.25 mg/kg) by completely randomized design. After 3 weeks, record egg production performance, determine egg quality and ovarian development condition. The results showed that: the adding biotin had no effect on egg production performance and egg quality ($P>0.05$). Compared to the group with no biotin, the egg production rate increased by 4.55%, the daily egg weight increased by 1.98 g, and the feed/eggs decreased by 0.19. When the biotin addition level was 0.15 mg/kg, the protein height and the Harbin unit decreased compared with the biotin unadded group, but there was no significant difference ($P>0.05$). With the increase of dietary biotin, the triglyceride content in egg yolk had a tend to decrease ($P=0.11$). The biotin level had no significant effect on the ovarian development index of laying ducks during 16~19 week old ($P>0.05$). According to the production performance, the biotin requirement was 0.15 mg/kg for laying ducks during 16~19 week old.

Keywords: biotin; laying duck; production performance; egg quality; ovarian development

生物素(Biotin)是动物生长所必需的一种水溶性含硫维生素,又称维生素H或辅酶R。天然生物素以游离态或结合蛋白两种形式存在,结合态的生物素在肠道中需经生物素降解酶作用才能被吸收,主要在小肠上段被吸收,结肠也可吸收一部分^[1,2]。生物素是机体代谢中羧化和脱羧反应酶系的辅助因子,生物素作为乙酰-CoA 羧化酶(ACC),丙酮酸羧化酶(PC),丙酰辅酶A 羧化酶(PCC)和3-甲基丁烯酰辅酶A 羧化酶(MCC)的辅助因子^[3]。生物素依赖性羧化酶催化葡萄糖、氨基酸和脂肪酸代谢等关键反应,参与营养物质代谢与调控^[4]。家畜生物素缺乏会造成生长缓慢、采食量下降、母畜繁殖性能降低、肉质及胴体品质下降、皮炎等症状,家禽缺乏生物素会引起鸡嘴角炎、趾间出血、胫骨短粗、肝肾综合征(FLKS),猝死综合征(ADS)等。NRC标准中,雏鸡及种鸡对生物素的需要量均为0.15 mg/kg。白壳蛋鸡产蛋期推荐量为0.1 mg/kg,褐壳蛋鸡产蛋期推荐量为0.09 mg/kg。我国肉鸭饲养标准中(NY/T 2122-2012)肉蛋兼用地方品种产蛋期生物素需要量为0.2 mg/kg。由于现代育种和畜禽饲养方式的变化,各种营养素需要量均有所提高。而且畜禽饲养舍的底部普遍采用网格或板条,蛋鸭也日渐趋于笼养,畜禽通过食粪来补充生物素,慢慢变得不能实现。目前,对于蛋鸭生物素需要量的研究较少。本试验以龙岩麻鸭为研究对象,采用笼养方式,以产蛋性能、蛋品质和卵巢发育为评价指标,研究蛋鸭

生物素需要量为合理配制蛋鸭饲料提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验采用单因子完全随机试验设计。将504只健康的120日龄福建龙岩山麻鸭分为6个组,每组6个重复,每个重复14只,单笼饲养。每组鸭随机饲喂不同试验饲料。平均产蛋率达到50%开始试验,达到90%结束试验。试验期为21天。育雏期和育成期按常规饲养,并按免疫程序免疫接种。试验期间每天记录7:00、14:00和20:00的温度、湿度,天气情况、最高、最低温度。

1.2 试验饲料

采用小麦-豆粕型基础饲料。参照本课题组研究结果,代谢能、粗蛋白、氨基酸及钙水平保持一致。基础饲料中生物素0.15 mg/kg,配方中可利用生物素为0.06 mg/kg。各试验组预混料中添加生物素0、0.05、0.10、0.15、0.20、0.25 mg/kg。基础饲料组成及营养成分见表1。

1.3 测定项目

1.3.1 产蛋性能测定

试验期间,根据采食状况调整饲料饲喂量,保证各试验组鸭采食量一致。准确记录试鸭每日产蛋数量及总重。统计产蛋率、平均蛋重、日采食量、料蛋比及日产蛋重。

1.3.2 蛋品质指标

试验结束时,每个重复栏采集4枚蛋,用于测

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)(%)

项目 Items	含量 content
小麦 Wheat	67.7
小麦麸(15.7%)	6.1
豆粕 Soybean meal	14.44
石粉 Limestone	8.8
食盐 NaCl	0.3
磷酸氢钙 CaHPO ₄	1.23
DL-蛋氨酸 DL-Met	0.135
L-赖氨酸盐酸盐 L-Lys·HCl	0.295
预混料 Premix*	1
合计 Total	100
营养水平	
代谢能 MJ/kg	10.46
粗蛋白%	17
赖氨酸%	0.85
蛋氨酸%	0.4
钙%	3.6
总磷%	0.64
可利用磷%	0.35
生物素含量**(mg/kg)	0.144
可利用生物素**(mg/kg)	0.052

注: *通过预混料向每 kg 饲料中提供: VA 12000 IU, VD 200IU, VE 26 mg, VK3 1.0 mg, VB₁ 3.0 mg, VB₂ 9.6 mg, VB₆ 6.0 mg, VB₁₂ 0.03 mg, 氯化胆碱 500 mg, 泛酸钙 28.5 mg, 叶酸 0.6 mg, 生物素 biotin 0.15 mg, Fe 50 mg, Cu 10 mg, Mn 90 mg, Zn 90 mg, I 0.50 mg, Se 0.40 mg。 **生物素含量为计算值

定蛋形指数、蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋黄颜色、哈氏单位。蛋形指数用数显游标卡尺(111-101)量出其纵径和横径,测算蛋形指数(蛋形指数=纵径/横径);蛋壳强度、哈氏单位、蛋白高度和蛋黄色泽用以色列进口 ORKA 全自动蛋品分析仪(EA-01)和强度仪(EFR-01)测定,测定在 48 h 内完成。分离蛋黄并称量,计算蛋黄比例。测定蛋黄中甘油三酯及胆

固醇含量,试剂盒由南京建成生物工程研究所提供。

1.3.3 卵巢发育指标的测定

采血后的试鸭称重,放血致死剪断卵巢系膜,取下输卵管及卵巢称重,记录优势卵泡(成熟卵泡,充满卵黄,直径大于 10 mm)的数量,计算优势卵泡总重与卵巢重的比值。

1.4 数据分析

试验数据采用国际通用的 SAS 9.12 统计软件进行方差分析和 Duncan 氏多重比较,各组试验数据均以平均值±标准误(means±SEM)表示。显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能的影响

生物素添加水平对产蛋初期产蛋性能影响不显著($P > 0.05$)(见表 2)。生物素添加水平升高,数值上产蛋率日产蛋重均有升高。与未添加生物素处理组相比,生物素添加水平为 0.15 mg/kg 时,产蛋率提高 4.55%,日产蛋重增加 1.98 g,料蛋比降低 0.19。

2.2 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭蛋品质的影响

生物素添加水平对产蛋初期蛋品质影响不显著($P > 0.05$)(见表 3)。生物素添加水平为 0.15 mg/kg 时,蛋白高度及哈氏单位相比生物素未添加组有所下降,但未见显著差异($P > 0.05$)。随饲料生物素水平升高,蛋黄中甘油三酯含量有降低趋势,但统计差异不显著($P = 0.11$)。与生物素未添加组相比,生物素添加水平为 0.15 mg/kg 和 2.5 mg/kg 时,蛋黄中甘油三酯含量分别下降 8.81% 和 8.73%;生物素添加水平为 0.1 mg/kg 和 2.5 mg/kg 时,蛋黄中胆固醇含

表2 饲料生物素水平对蛋鸭产蛋初期产蛋性能的影响

项目	生物素含量(mg/kg)						SEM
	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25	
产蛋率(%)	81.11	81.75	82.47	85.66	82.14	81.11	2.36
平均蛋重(g)	54.85	53.91	54.56	54.14	54.48	53.78	0.43
日采食量(g/d)	142.73	142.12	142.56	143.74	142.99	142.72	0.39
日产蛋重(g/d)	44.77	43.55	45.21	46.72	45.16	43.95	1.36
料蛋比 FCR	3.49	3.54	3.3	3.3	3.43	3.46	0.15

表3 饲料生物素水平对蛋鸭产蛋初期蛋品质的影响

项目	生物素含量(mg/kg)						SEM	P
	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25		
蛋形指数 Eggshell Index	1.35	1.36	1.34	1.39	1.36	1.35	0.02	0.55
蛋壳强度 Eggshell Strength/(kg)	4.3	4.21	3.95	4.59	3.91	4.27	0.26	0.45
蛋壳厚度 Eggshell Thickness/(mm)	0.35	0.35	0.33	0.34	0.34	0.34	0.01	0.66
蛋白高度 Albumen height/(mm)	6.62	6.52	5.98	5.91	6.55	6.78	0.26	0.13
哈氏单位 Haugh Unit	82.23	81.69	78.32	77.99	82.43	83.84	1.77	0.14
蛋黄重 Yolk Weight/(g)	15.06	14.68	14.38	14.88	14.5	14.5	0.5	0.92
甘油三酯 TG(mg/g)	286.65	273.14	263.95	261.39	266.24	261.63	8.67	0.11
蛋黄 CHO(mg/g)	31.64	35.28	36.17	33.66	32.08	36.17	2.46	0.85

表4 饲料生物素水平对蛋鸭产蛋初期卵巢发育指标的影响

项目	生物素含量(mg/kg)						SEM	P
	0	0.05	0.1	0.15	0.2	0.25		
卵巢重(g)	44.91	41.85	41.64	49.02	39.9	46.03	3.24	0.39
输卵管重量(g)	40.37	39.46	40.56	39.47	37.17	37.71	2.08	0.81
优势卵泡重(g)	37.51	34.89	34.33	40.67	31.98	39.53	2.98	0.31
优势卵泡/卵巢	0.83	0.83	0.82	0.83	0.8	0.86	0.02	0.33
优势卵泡个数(个)	5.5	5.5	5.17	5.6	5	5.5	0.34	0.78

量分别升高 14.33%和 14.34%。

2.3 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭卵巢发育指标的影响

生物素添加水平对产蛋初期蛋鸭卵巢发育指标无显著影响($P>0.05$)(见表4)。但生物素添加水平为 0.15 mg/kg 时,卵巢重量、优势卵泡重量、优势卵泡个数均达到最大,虽未达到显著性差异,但数据优势较明显。

3 讨论

3.1 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭产蛋性能的影响

本试验中饲料生物素水平虽然未对产蛋初期蛋鸭生产性能产生影响,但生物素添加水平为 0.15 mg/kg 时,生产性能数值上高于其他各组。在小鸭和肉鸡上也得了出相同的研究结果。朱勇文等研究中基础饲料为小麦-鸭肝粉型饲料,饲料中生物素含量的增加可显著提高 0~21 日龄北京鸭采食量和日增重,以日增重为衡量指标,确

定生物素适宜添加水平为 0.186 mg/kg^[5-6]。文风云等研究中推荐肉仔鸡生物素添加以 0.10~0.20 mg/kg 为宜,可提高增重,降低料肉比,提高饲料转化效率,添加 0.15 mg/kg 效果最佳;同时添加 0.10~0.15 mg/kg 时可明显提高产蛋鸡各个阶段的产蛋率^[7]。Quarantelli 等对肉仔鸡的研究中,添加 0.2~0.4 mg/kg,可以显著提高日增重^[8]。但在蛋鸡及种鸡上的试验结果与本试验不尽相同。Whitehead 的研究中以小麦为基础饲料,添加不同水平生物素对蛋鸡生长阶段及产蛋阶段生产性能均无显著影响,但血液中及蛋黄中生物素水平随添加量增加而显著升高^[9]。刘汉林在产蛋高峰期蛋鸡饲料中添加生物素,随生物素水平升高,产蛋率和蛋重有升高的趋势,但差异不显著^[10]。武英等研究在采用玉米豆粕型基础饲料分别添加 0、0.05、0.1、0.15 mg/kg 生物素,随生物素水平升高,产蛋率有升高的趋势,添加 0.1 mg/kg 时效果最好,蛋重差异不显著^[11]。以上研究表明生物素对不同种家禽在生产性能上均

存在一定影响,但品种不同生物素的效果存在一定差异,这种生物素的营养作用可能是因为生物素促进了营养物质的代谢作用。

3.2 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭蛋品质的影响

生物素对蛋品质的研究较少。刘汉林在产蛋高峰期蛋鸡的研究中,生物素的增加显著提高蛋壳强度和蛋壳厚度^[10]。本研究生物素添加水平为0.15 mg/kg 蛋壳强度数值上高于其他各组,但差异不显著。随饲料生物素水平升高,蛋黄中甘油三酯含量有降低趋势。而生物素添加水平2.5 mg/kg时,与生物素未添加组相比,蛋黄中甘油三酯含量和胆固醇含量分别下8.73%和14.34%。郭小权等研究中生物素对长期饲喂高能低蛋白饲料导致的肝细胞脂肪变性具有一定的预防作用,生物素添加使得肝细胞内脂肪滴明显变小^[12]。与本试验对蛋品中甘油三酯等的研究结果类似。生物素依赖性羧化酶可以催化葡萄糖、氨基酸和脂肪酸代谢等关键反应,参与营养物质的代谢与调控^[4]。因此,生物素对蛋禽脂类代谢有一定的调控作用。

3.3 饲料生物素水平对产蛋初期蛋鸭卵巢发育指标的影响

田梦香的研究中补饲生物素,种蛋合格率、种蛋受精率分别比对照组提高2.12%和3.12%,出雏率比对照组提高了5.1个百分点,差异极显著^[13]。目前生物素水平对家禽卵巢发育的影响研究很少,而在小鼠上的研究发现,孕鼠生物素缺乏可能导致吸收胎、死胎几率增高,胎鼠的骨骼和内脏发育畸形率增加^[14]。若是孕前处于生物素严重缺乏状态,则有可能导致雌鼠不孕甚至死胎。本试验中生物素添加水平为0.15 mg/kg时,卵巢重量、优势卵泡重量、优势卵泡个数均达到最大,虽未达到显著性差异,但数据优势较明显,可能与试验规模及样品量有关。生物素在生物体内参与脂肪和蛋白质代谢,促进不饱和脂肪酸的合成,促进胚胎的发育。并且本试验为产蛋初期,对卵巢发育的影响有待于进一步研究。

4 结论

生物素的添加一定程度上改善蛋鸭产蛋性能及蛋品质,并对蛋禽脂类代谢有一定的调控作用。以生产性能为参考指标,产蛋初期蛋鸭生物素建议添加量为0.15 mg/kg。

参考文献:

- [1] 李滔,贺建华. 生物素对畜禽营养生理作用及免疫机理的研究进展[J]. 湖南饲料, 2011(2): 25-26.
- [2] 李美君,方热军,李运虎. 生物素在动物生产中的应用研究进展[J]. 饲料与畜牧, 2010(3): 21-24.
- [3] ROYA G, NARANG M. Molecular genetics of biotin metabolism: old vitamin, new science[J]. Journal of Nutritional Biochemistry, 2005(16): 428-431.
- [4] 张旭晖,王恬. 生物素营养生理作用及其应用研究进展[J]. 中国饲料, 2010(8): 5-8.
- [5] 朱勇文,侯水生,杨琳,等. 生长前期北京鸭生物素需要量及脚裂症的初步探究[J]. 动物营养学报, 2012(2): 252-258.
- [6] 朱勇文,侯水生,杨琳,等. 不同生物素水平对北京鸭前期生长性能影响及后期缺乏症观察[J]. 饲料工业, 2012(1): 18-21.
- [7] 文风云,戴攀峰,董淑丽,等. 不同水平生物素对鸡生产性能的影响[J]. 吉林畜牧兽医, 2004(9): 6-7, 10.
- [8] QUARANTELLI A, CACCHIOLI A, ROMANELLI S, et al. Effects of different levels of dietary biotin on the performance and bone structure of broilers[J]. Italian Journal of Animal Science, 2010, 6(1): 5-17.
- [9] WHITEHEAD B C. Performance of laying HENS FED on practical diets containing different levels biotin of supplemental biotin during the rearing and laying stages[J]. British Journal of Nutrition, 1980 (44): 151-159.
- [10] 刘汉林. 蛋鸡生物素添加效果试验[J]. 广东畜牧兽医科技, 1996 (2): 4-6.
- [11] 武英,王敬华,赵燕,等. 生物素对产蛋鸡生产性能的影响[J]. 中国饲料, 1995(21): 19-20.
- [12] 郭小权,曹华斌,胡国良,等. 高能量低蛋白质饲料中添加生物素对蛋鸡脂类代谢的影响[J]. 中国兽医学报, 2012, 32(5): 754-758.
- [13] 田梦香. 生物素在蛋种鸡饲料中的应用[J]. 中国家禽, 1999(10): 40.
- [14] 向雪松. 生物素缺乏对孕鼠及胎鼠发育影响的研究[A] 中国营养学会第十三届全国营养科学大会暨全球华人营养科学家大会论文集汇编[C]. 2017: 1.

不同光色LED灯对文昌鸡育雏阶段骨密度和血清钙、磷含量的影响

严霞, 刘天飞, 计坚, 王劫, 罗成龙*

(广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:本试验将630只体重相近的1日龄文昌鸡母鸡, 随机分配到白、暖白、红、黄、绿、蓝和紫7个不同光色处理组, 每组3个重复, 每个重复30只母鸡, 层叠式育雏笼饲养、自由采食和饮水, 24 h光照。在28、56日龄时, 分别从每个重复组随机选取接近各组平均体重的3只鸡检测胫骨骨密度、血清钙和磷。试验结果表明, 本试验条件下, 光色对文昌鸡的胫骨骨密度和血清钙、磷浓度无显著影响。

关键词:光色; LED灯; 文昌鸡; 骨密度; 血清钙; 血清磷

中图分类号:S815.4 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)04-0046-03

LED具有能耗低、光电转化效率高、使用寿命长、光照参数可调控、环境效益好等突出优点, 近年已成为家禽规模养殖人工照明最具潜力的新光源。因此, 传统的白炽灯照明逐渐被LED照明所取代。鸡的大脑拥有活跃的视网膜外感光体, 这些感光体能穿过头骨和组织接收光能^[1]。家禽眼睛视网膜上有视杆细胞和视锥细胞, 其中视锥细胞能够分辨不同颜色。禽类的眼睛不仅能感受到450 nm(蓝光)、550 nm(绿光)和700 nm(红光), 还能够感知到人类感受不到的400 nm以下的光^[2]。因此, 重要的是要确定哪种光色能提高肉鸡的生产性能。

众多学者对快大白羽肉鸡进行了多种深入的试验, 而对我国特色的黄羽肉鸡的研究相对甚少。Rozenboim等^[3]证明绿光在早期能刺激肉鸡生长, 在10或20日龄时转移到不同的光照环境中能进一步刺激生长。Karakaya等^[4]和曹静等^[5]均提出用绿光→蓝光和蓝绿混合光可改善机体和肌肉的生长以及肉品质。Hassan等^[6]发现12 h红光+12 h绿光可提高肉鸡的生长和骨密度; 并证实与单色绿

光或蓝光灯相比, 绿×蓝混合光能提高生长性能, 并具有相似的骨密度、血液特性和免疫力^[7]; 2016年进一步试验表明红→绿光和红→蓝→绿光处理, 胫骨的骨矿物质密度显著性高于其他处理组^[8]。然而, 关于光色是否通过影响血液中的钙、磷而影响肉鸡骨骼生长未见相关研究报道。因此, 本项研究旨在阐明LED不同单色光对黄羽肉鸡的骨骼、血清钙磷含量的影响, 为黄羽肉鸡生产中选择不同的光色提高生长性能和福利水平提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与试验设计

本试验在笔者单位试验鸡场进行, 试验鸡选用笔者单位自主培育的文昌鸡母鸡, 将630只体重相近的1日龄母鸡, 随机分配到7个处理组, 设3个重复, 每个重复30只。对照组为白光, 试验组暖白、红、黄、蓝、绿、紫光色, LED灯, 功率为5瓦。LED灯安装在同一栋鸡舍的四层叠层式育雏笼里, 育雏笼间用遮光网遮挡。24 h光照, 试验周

收稿日期: 2020-04-30

基金项目: 广东省科技计划项目(2017B020206003, 2017B020232003); 国家肉鸡产业技术体系项目(CARS-41)

作者简介: 严霞(1976-), 女, 硕士, 高级畜牧师, 研究方向为家禽育种与生产。E-mail: xiayan1@163.com

*通讯作者: 罗成龙(1981-), 男, 博士, 研究员, 研究方向为家禽育种与生产。E-mail: chenglongluo1981@163.com

期8周。全期选用广东正大康地有限公司生产的531N小鸡料,自由采食和饮水。

1.2 测定指标与方法

1.2.1 胫骨骨密度(Bone Mineral Density, BMD)测定

在28、56日龄,从每个重复组选取接近各重复组平均体重的3只鸡,截取左腿胫骨,4℃暂时保存,委托暨南大学华侨医院用美国通用电气公司的GE Lunar iDXA 双能X射线骨密度仪检测。

1.2.2 血清钙、血清磷测定

在4、8周龄,从每个重复组选取接近各重复组平均体重的3只鸡,静脉翅下采血真空管装血4 ml以上,静置析出血清,-80℃保存,用深圳雷杜生命科学股份有限公司的chemray240全自动生化分析仪检测。

2 数据统计

SPSS 20.0 软件对试验数据统计,进行单因子方差分析和邓肯氏法多重比较,数据以“平均值±标准误”表示,以 $P<0.05$ 表示差异显著。

3 结果与分析

3.1 不同光色的LED灯对胫骨BMD的影响

由表1可见,在28和56日龄,不同光色条件下,鸡的胫骨骨密度无显著差异($P>0.05$)。

表1 不同光色LED灯对优质鸡的骨密度的影响

光色	28 days		56 days	
	BMD(g/cm ²)	C.V	BMD(g/cm ²)	C.V
白光	0.100±0.002	0.06	0.109±0.005	0.13
暖白光	0.100±0.002	0.05	0.114±0.006	0.16
红光	0.095±0.002	0.06	0.111±0.006	0.17
黄光	0.104±0.002	0.07	0.119±0.004	0.09
蓝光	0.101±0.003	0.08	0.113±0.004	0.11
绿光	0.101±0.003	0.08	0.113±0.004	0.1
紫光	0.101±0.007	0.07	0.107±0.006	0.16

注:同列数据肩标小写英文字母不同者表示差异显著。下表同

3.2 不同光色的LED灯对血清钙、血清磷含量的影响

由表2可见,在28和56日龄,不同光色条件

下,鸡的血清钙和磷的浓度无显著差异($P>0.05$)。

表2 不同光色LED灯对优质鸡的血清钙、血清磷含量的影响

光色	Ca(mmol/L)		P(mmol/L)	
	28 days	56 days	28 days	56 days
白光	2.77±0.03	2.27±0.02 ^a	2.30±0.07	1.86±0.04 ^{ab}
暖白光	2.74±0.04	2.24±0.03 ^a	2.33±0.08	1.87±0.03 ^{ab}
红光	2.74±0.05	2.15±0.01 ^b	2.31±0.10	1.89±0.03 ^a
黄光	2.74±0.04	2.15±0.01 ^b	2.22±0.04	1.83±0.03 ^{ab}
蓝光	2.72±0.03	2.26±0.01 ^a	2.29±0.03	1.79±0.02 ^b
绿光	2.77±0.05	2.15±0.02 ^b	2.31±0.10	1.80±0.03 ^b
紫光	2.67±0.03	2.16±0.02 ^b	2.38±0.06	1.80±0.03 ^{ab}

4 讨论

动物体内总钙量的99%以上和总磷量的80%~85%存在于骨骼和牙齿中,以维持骨骼和牙齿的正常硬度^[9]。BMD值反映了胫骨的发育健康状况及钙、磷等矿物质元素在骨骼的储备和沉积状况,低BMD值是骨折的危险因素。Siddiqui^[10]试验证明间歇光照可降低腿病的发生,显著低于连续光照。邢瑞虎^[11]测定岭南黄羽肉鸡3、6、9周龄的胫骨干重、灰分及百分含量没有差别的结果说明,不同光照周期对肉鸡胫骨发育没有影响,不影响矿物质在骨骼上的沉积。Hassan等^[7,8]试验显示在肉鸡生长前期黄光对BMD的效果显著高于红光。Hassan等^[8]饲养罗斯308肉鸡5周,试验表明12 h红→12 h绿光和8 h红→8 h蓝→8 h绿光处理组的胫骨BMD值显著高于红光、绿光、蓝光、12 h红→12 h蓝光、8 h红→8 h绿→8 h蓝光和荧光白处理组。光色的变化可能会刺激影响鸡的BMD,且生长前期影响更明显。红→绿和红→蓝→绿光组可能是由于刺激鸡体活动的增加,生长激素增强钙在小肠吸收,从而增加骨骼组织发育和BMD值。

血液中的钙几乎全部存在于血浆中,在机体多种因素的调节和控制下,血钙浓度比较稳定。血磷主要指血中的无机磷,它以无机磷酸盐的形式存在。徐彬等^[12]光照强度对0~21日龄的血液生化指标未出现显著性的影响。25 lx高光照强度组显著降低了AA肉鸡22~42日龄的血磷值。本试验结果表明,光色对文昌鸡的胫骨骨密度和血清钙、磷浓度无显著影响。有关光色与光照强度对

黄羽肉鸡胫骨、血清钙、血清磷指标的研究报道较少,还有待于进一步试验研究验证。

5 结论

本试验条件下,光色对文昌鸡的胫骨骨密度和血清钙、血清磷含量无显著影响。

参考文献:

[1] BOWMAKER J K, KNOWLES A. The visual pigments and oil droplets of the chicken retina [J]. *Vision Research*, 1977, 17: 755-764.

[2] LEWIS P D, MORRIS T R. Poultry and coloured light [J]. *Worlds Poultry Science Journal*, 2000, 56(3): 189-207.

[3] ROZENBOIM I, BIRAN I, CHAISEHA Y, et al. The effect of a green and blue monochromatic light combination on broiler growth and development [J]. *Poultry Science*, 2004, 83: 842-845.

[4] KARAKAYA M, PARLAT S S, YILMAZ M T, et al. Growth performance and quality properties of meat from broiler chickens reared under different monochromatic light sources [J]. *British Poultry Science*, 2009, 50: 76-82.

[5] CAO J, WANG Z, DONG Y, et al. Effect of combinations of monochromatic lights on growth and productive performance of broiler [J]. *Poultry Science*, 2012, 91(12): 3013-3018.

[6] HASSAN M R and RYU K S. Effect of various LED light colors on the performance, bone mineral density and meat quality of broiler chicks [J]. *World's Poultry Science Journal*, 2012, 68 (Suppl 1): 1509-1512.

[7] HASSAN M R, SULTANA S, CHO E H S, et al. A Comparison of Monochromatic and Mixed LED Light Color on Performance, Bone Mineral Density, Meat and Blood Properties, and Immunity of Broiler Chicks [J]. *Japan Poultry Science*, 2014, 51: 195-201.

[8] HASSAN M R, SULTANA S, KIM S H, et al. Effect of monochromatic and combined LED light colours on performance, blood characteristics, meat fatty acid composition and immunity of broiler chicks [J]. *European Poultry Science*, 2016, 80: 1-17.

[9] 周顺伍主编, 动物生物化学(第三版)[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000.

[10] Siddiqui M B A, Auradkar S K, Siddiqui M F, et al. Effects of intermittent light on leg abnormalities, breast blisters and mortality in broilers [J]. *Indian Journal of Poultry Science*, 2003, 38 (2): 178-180.

[11] 邢瑞虎. 不同光照周期对黄羽肉鸡生长、代谢、免疫和屠宰性能的影响 [D]. 甘肃农业大学硕士学位论文, 2014.

[12] 徐彬, 魏凤仙, 孙全友, 李绍钰. 光照强度对白羽肉鸡生产性能和血液生化指标的影响 [C]. 中国畜牧兽医学动物营养学会第七届中国饲料营养学术研讨会论文集. 2014: 428.

上接第19页

[7] 秦涛, 汪川韦, 石宝兰, 等. 四种常用消毒剂对H5N6亚型禽流感病毒灭活效果的研究 [J]. *中国兽医科学*, 2018, 48(09): 1139-1145.

[8] 张玉霞, 蔡李萌, 孟凯, 等. 两种过硫酸氢钾复合物对禽流感病毒和新城疫病毒的灭活效果观察 [J]. *中国消毒学杂志*, 2019, 36(07): 484-486.

[9] 刘元元, 蒋天泽, 陈玲, 等. 过硫酸氢钾复合盐颗粒对特定细菌的表面消毒效果现场评价试验 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2019, 23: 111-113, 119.

[10] 刘梅, 沈欣悦, 李建梅, 等. 二氯异氰尿酸钠和过氧乙酸消毒剂对新城疫病毒灭活效果研究 [J]. *中国家禽*, 2019, 41(4): 64-66.

[11] 王欢欢, 王家新, 郑鹏, 等. 过氧乙酸和来苏尔对大肠杆菌杀灭效果的比较研究 [J]. *上海畜牧兽医通讯*, 2019, 5: 42-43, 45.

[12] 张杰, 陈昭斌. 过氧乙酸杀灭微生物的机制与效果 [J]. *中国*

消毒学杂志, 2017, 34(10): 963-966

[13] 杜宏举, 马玲, 郑珊, 等. 过氧乙酸消毒剂的毒性试验 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 10: 12-17.

[14] 杨明生. 预防“非典”的重要消毒剂—过氧乙酸 [J]. *化学教学*, 2003, Z2: 51-52.

[15] 宋江勤, 陈玫君, 曹伟伟, 等. 复方过氧乙酸在新型冠状病毒核酸检测实验室消毒中的应用 [J]. *中国消毒学杂志*, 2020, 37(3): 184-186.

致谢: 广东省农业农村厅、广东省现代农业装备有限公司、广东省农业科学院动物卫生研究所、华南农业大学的有关研究团队进行试验及提供试验结果。感谢广东省现代农业产业体系创新团队项目(2019KJ119)、广东省农业农村厅防控新型冠状病毒肺炎疫情应急专项的支持。感谢提供消毒剂试验样品的生产企业。

YWHA 蛋白在番鸭不同繁殖状态下卵巢组织中的表达情况分析

沈栩[#], 江丹莉[#], 黄雪菲, 徐杨龙, 杨晨, 张贝贝, 范迪, 欧阳宏佳, 黄运茂*
(仲恺农业工程学院动物科技学院, 广东省水禽健康养殖重点实验室, 广东广州 510225)

摘要:本试验旨在探讨 YWHA 蛋白家族成员 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 在番鸭卵巢组织的表达特征, 以期明确 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 与卵巢组织细胞生长、发育的关系; 本试验利用免疫组织化学的方法检测 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 基因在产蛋和就巢状态下卵巢组织的阳性细胞率和 H-Score 的变化情况, 试验结果发现 80% 以上的细胞均表达 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 蛋白, 就巢状态下和产蛋状态下细胞阳性率没有显著差异; 在就巢状态下卵巢组织的 H-Score 均显著或极显著高于产蛋状态下的卵巢组织, 表明该蛋白家族可能参与就巢状态下卵巢细胞的发育调控。

关键词: YWHA 蛋白家族; 卵巢组织; 蛋白表达; 产蛋; 就巢

中图分类号: S813 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567(2020)04-0049-03

YWHA 蛋白家族又称为 14-3-3 蛋白家族, 在哺乳动物中至少有七种亚型, 分别是 14-3-3 ϵ (YWHAE)、14-3-3 β (YWHAB)、14-3-3 γ (YWHAG)、14-3-3 ζ (YWHAZ)、14-3-3 η (YWHAH)、14-3-3 τ (YWHAQ) 和 14-3-3 σ (SFN)^[1]。YWHA 蛋白家族具有高度的保守性, 普遍存在于真核生物细胞中。YWHA/14-3-3 是一类广泛表达的调控信号通路的蛋白家族, 其主要的生物学功能是可以通过与目标蛋白特定的磷酸化位点结合, 改变目标蛋白的亚细胞分布、磷酸化状态和活化状态等, 起到蛋白-蛋白连接的作用^[2];

YWHA 蛋白是决定细胞命运的关键调节因素, YWHA 蛋白家族几乎参与所有重要的生理、病理过程, 尤其是在生殖细胞的生长和发育具有重要的作用, 参与细胞的自噬, 因而受到广泛的研究。YWHA 蛋白家族在卵母细胞成熟和调节减数分裂恢复方面具有遗传效应^[3]。YWHA 蛋白的另一个核心作用是参与卵母细胞减数分裂, 与细胞

周期相关基因 CDC25B 结合, 调节细胞周期。在小鼠卵发生中, 14-3-3 蛋白起维持减数分裂停止的作用, 且与卵泡发生和卵母细胞成熟密切相关^[4], 其在未成熟卵母细胞中浓度高于成熟卵母细胞^[5]。

YWHA 蛋白在禽类中的功能目前尚不清楚。本课题组前期的研究表明 YWHA 蛋白在就巢状态下的禽血清中表达量显著高于产蛋状态, 根据 YWHAB、YWHAE、YWHAG 的生物学功能及其可能参与的信号通路分析, 我们推测血清中差异蛋白的主要靶器官是卵巢组织, YWHA 蛋白可能在就巢状态与产蛋状态下卵巢组织存在表达差异, 可能与就巢状态下卵巢发生萎缩相关。因而, 本研究通过免疫组织化学方法研究 YWHA 蛋白家族成员 YWHAE、YWHAB 和 YWHAG 在就巢状态下和产蛋状态下番鸭卵巢中的表达水平差异, 为进一步从分子水平研究和探讨 YWHA 蛋白与就巢性状的相关性及其在卵巢组织中的生物学功能提供研究基础。

收稿日期: 2020-06-29

项目来源: 广东省教育厅青年创新人才项目(2016KQNCX070)资助项目

#表示并列第一作者

作者简介: 沈栩(1982-), 女, 广东饶平人, 博士研究生, 讲师, 主要从事家禽繁殖调控研究。E-mail: Shenxuxu3@gmail.com; 江丹莉(1985-), 女, 广东潮州人, 助理研究员, 主要从事水禽繁殖调控研究。E-mail: 305260675@qq.com

*通信作者: 黄运茂(1976-), 男, 博士研究生, 教授, 研究方向: 动物繁殖生理。E-mail: huangyunmao@zhku.edu.cn

1 材料与方法

1.1 样本采集

本研究选取的实验动物由广东温氏食品集团提供。选择 280 日龄的番鸭, 产蛋组 (6 只)、就巢组 (6 只), 分别采集卵巢组织, 产蛋时期的鸭只去除等级卵泡后, 置于 4% 多聚甲醛通用组织固定液 (BL539A, Biosharp) 中固定, 进行下一步免疫组织化学分析。

1.2 主要试剂

免疫组化所用的抗体均购自基因公司; 一抗 YWHAG (14-3-3gamma, 货号 SC-398423, Santa cruz Biotechnology), YWHAE (14-3-3 epsilon, 货号 SC-393177, Santa cruz Biotechnology), YWHAB (14-3-3beta, 货号 SC-25276, Santa cruz Biotechnology); 二抗: HRP 标记山羊抗兔鼠通用 (DAKO, K5007), 二氨基联苯胺 (DAB) 显色剂 (DAKO, K5007); 4% 多聚甲醛固定液 (Biosharp, BL539A)。

1.3 免疫组织化学染色及分析

所有样品在 4% 多聚甲醛溶液中固定过夜后, 石蜡包埋, 连续切片, 切片厚度为 4 μm 左右, 采用常规方法制作产蛋时期和就巢时期的卵巢石蜡切片, 二甲苯脱蜡, 依次用无水乙醇、85% 乙醇、75% 的乙醇脱水后, 进行抗原修复, 加入 3% 过氧化氢溶液室温避光孵育, 以消除内源性过氧化物酶活性, PBS 洗涤 3 次后用 BSA 封闭 30 min; 一抗抗体的稀释比例为 1:300, 4 $^{\circ}\text{C}$ 湿盒内孵育过夜, 将玻片置于 PBS 中洗涤 3 次, 加入二抗孵育; PBS 洗涤后加 DAB 显色、自来水冲洗切片终止显色。Harris 苏木素复染 3 min、盐酸酒精分化、氨水返蓝、脱水透明后, 封片。

1.4 数据统计与分析

细胞阳性率分析是通过 HALO 分析软件 (武汉

塞维尔生物科技有限公司提供), 设置好切片中测量的目的区域, 应用 IHC 模块设置 Stain 1 为蓝色阴性细胞, Stain 2 为以核为中心识别棕黄色阳性细胞, 分析 YWHA 家族蛋白阳性细胞数占同类型细胞总数的比率。设置完成后软件自动识别组织切片上测量区域内所有的阴性细胞以及阳性细胞数。并求出阳性细胞百分比 (阳性细胞数/总细胞数*100) 即为阳性率 (%)。

H-SCORE 即组织化学评分, 将每张切片内 YWHA 家族蛋白阳性的细胞数量及其染色强度转化为相应的数值, 达到对组织染色半定量的目的; $H-SCORE = \sum (PI \times I) = (\text{percentage of cells of weak intensity} \times 1) + (\text{percentage of cells of moderate intensity} \times 2) + \text{percentage of cells of strong intensity} \times 3$, 式中 p_i 表示阳性细胞数量占切片中所有细胞数量的百分数; i 代表着色强度。结果用平均值 \pm 标准误 ($\bar{X} \pm SE$) 表示, 运用 t 检验统计显著性, * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$), ns 表示差异不显著 ($P > 0.05$)。

2 结果

2.1 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 蛋白在番鸭产蛋时期和就巢时期阳性率细胞的数目

由表 1 可知, YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 三个蛋白在番鸭产蛋时期和就巢时期的卵巢细胞中的阳性率并无显著差异 ($P > 0.05$); 表明 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 在产蛋时期及就巢时期的卵巢组织中均有表达。其中, YWHAB 蛋白在就巢组的卵巢组织阳性率为 89.86 ± 4.09 , 略高于在产蛋组的阳性率, 差异不显著; YWHAE 蛋白在就巢组的卵巢组织阳性率为 87.44 ± 6.56 , 略高于在产蛋组的阳性率, 差异不显

表 1 YWHAB、YWHAE 和 YWHAG 蛋白在产蛋组和就巢组卵巢组织的细胞阳性率

蛋白	组别	阳性细胞数	总细胞数	阳性细胞率 (%)
YWHAE	产蛋组	431583 \pm 40129	505991 \pm 77390	85.96 \pm 6.51
	就巢组	402940 \pm 146424	468939 \pm 196642	87.44 \pm 6.56
YWHAB	产蛋组	359367 \pm 72562	419691 \pm 62839	85.5 \pm 11.05
	就巢组	377601 \pm 127171	423431 \pm 153814	89.86 \pm 4.09
YWHAG	产蛋组	333214 \pm 44411	393372 \pm 30441	84.57 \pm 7.21
	就巢组	345274 \pm 132975	416055 \pm 165816	84.06 \pm 8.65

注: * 表示差异显著 ($P < 0.05$), ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$), ns 表示差异不显著 ($P > 0.05$)

著。结果表明 YWHAB、YWHA E、YWHAG 蛋白在卵巢组织中的等级前卵泡中广泛表达。

2.2 YWHAB、YWHA E 和 YWHAG 蛋白在番鸭产蛋时期和就巢时期卵巢组织表达量分析

结果见图 1 所示。通过 H-Score 分析 YWHAB、YWHA E 和 YWHAG 蛋白在产蛋组和就巢组卵巢表达强度, 三个蛋白在就巢组的表达量均显著高于产蛋组 ($P < 0.05$), 其中, YWHAB 蛋白在产蛋期的平均 H-Score (127.86 ± 9.82) 显著低于就巢组的平均 H-Score (136.38 ± 10.47 , $P < 0.05$); YWHA E 蛋白在产蛋组的平均 H-Score (128.03 ± 6.97) 显著低于就巢组的平均 H-Score (136.60 ± 6.15 , $P < 0.05$); YWHAG 蛋白在产蛋期的平均 H-Score (119.71 ± 7.96) 极显著低于就巢组的平均 H-Score (135.83 ± 6.68 , $P < 0.01$)。

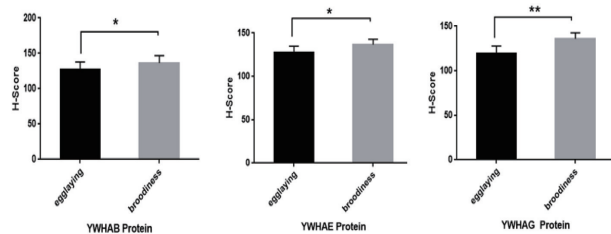


图 1 YWHAB、YWHA E 和 YWHAG 蛋白在番鸭产蛋期和就巢期卵巢组织的表达量分析

3 讨论

禽类的卵巢组织在产蛋状态下和就巢状态下体积变化明显, 就巢状态下, 禽类卵巢上无功能卵泡存在, 生长及成熟卵泡发生闭锁, 颗粒细胞层收缩, 各级卵泡出现萎缩^[6]; 禽类就巢期卵泡闭锁与颗粒细胞的自噬密切相关^[7]。新近的一项研究表明, YWHAB 和 YWHAG 可以通过与调控自噬溶酶体途径的重要转录因子 TFEB 结合, 影响细胞的自噬水平^[8];

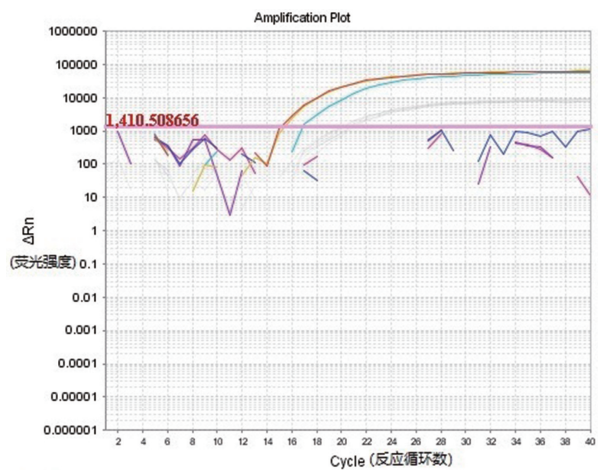
YWHA 蛋白家族对禽类卵巢细胞和卵泡发育的调控作用尚不明确, 但越来越多的研究表明, YWHA 蛋白在动物卵泡发育调控中起到重要的作用; YWHA H 参与鸡颗粒细胞发育过程中的多个信号通路, 如细胞增殖、细胞生长、细胞周期等过程。YWHA E 能促进牛卵母细胞的成熟从而增加体外受精的成功率^[10], 参与孕酮介导的启动卵母

细胞成熟的过程; YWHAG 基因在母猪的各级卵泡中均有表达, 在高繁殖能力的梅山猪与低繁殖力的杜洛克猪的卵泡表达量存在差异, 推测 YWHAG 可能参与猪卵泡发育中的凋亡过程, 从而引起梅山与杜洛克猪在排卵数方面存在差异^[11]。

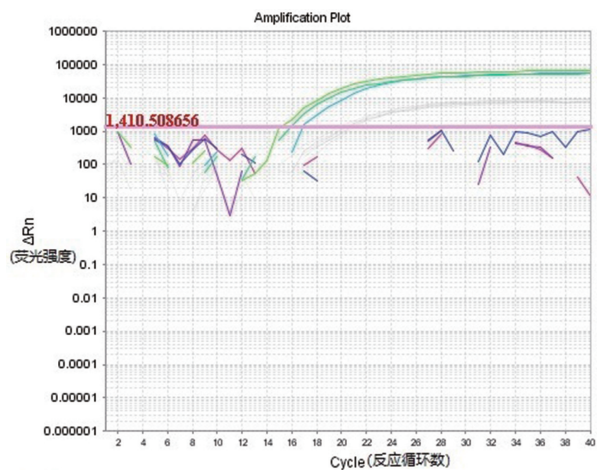
本研究结果表明 YWHA E、YWHAB、YWHAG 蛋白在就巢组的卵巢组织中的 H-Score 均显著或极显著高于产蛋组, 表明 YWHA 蛋白家族成员在卵巢组织中的表达模式具有一致性, 可能与就巢状态下卵泡的发育状态相关, 推测其可能参与就巢状态下卵泡的闭锁、自噬调控, 具体机制有待进一步研究。

参考文献:

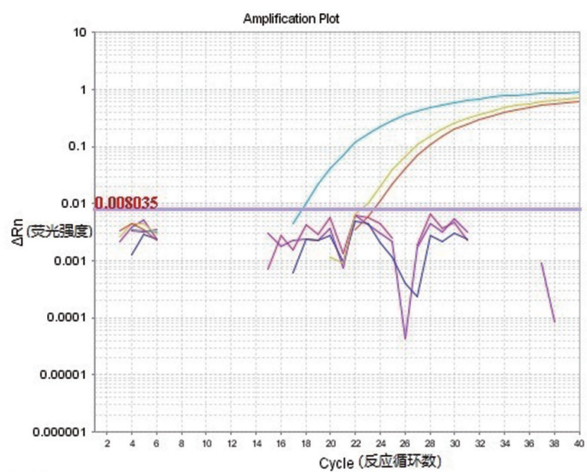
- [1] AITKEN A. 14-3-3 proteins: a historic overview [J]. *Semin Cancer Biol.* 2006, 16(3):162-72.
- [2] DOUGHERTY M K. Unlocking the code of 14-3-3 [J]. *J Cell Sci.* 2004, 17(10):1875-84.
- [3] MENG J C, CUI Y C, LIU M L, et al. The Role of 14-3-3ε Interaction with Phosphorylated Cdc25B at Its Ser321 in the Release of the Mouse Oocyte from Prophase I Arrest [J]. *PLoS One.* 2013, 8(1):e53633.
- [4] EISA A A, DE S, DETWILER A, et al. YWHA (14-3-3) protein isoforms and their interactions with CDC25B phosphatase in mouse oogenesis and oocyte maturation [J]. *BMC Dev Biol.* 2019, 19(1):20.
- [5] DE S, MARCINKIEWICZ J L, VIJAYARAGHAVAN S, et al. Expression of 14-3-3 protein isoforms in mouse oocytes, eggs and ovarian follicular development [J]. *BMC Res Notes.* 2012, 5:57.
- [6] 程元, 赵晓钰, 李园园, 等. 新疆伊犁鹅繁殖周期生殖激素变化及卵巢卵泡发育规律的研究 [J]. *中国畜牧兽医*, 2017, 44(11):3264-3269.
- [7] 娄亚萍. 鹅卵泡闭锁过程中氧化应激诱导颗粒细胞自噬的研究 [D]. 硕士学位论文. 杭州: 浙江农林大学, 2015.
- [8] XU Y, REN J Q, XIE X L, et al. WHA/14-3-3 Proteins recognize Phosphorylated TFEB by a Noncanonical Mode for Controlling TFEB Cytoplasmic localization [J]. *Autophagy.* 2019, 15(6):1017-1030.
- [9] 沈曼曼. 鸡卵泡发育过程中 circRNA 和 mRNA 表达和功能预测分析 [D]. 博士学位论文. 扬州: 扬州大学, 2019.
- [10] BERENDT F J, FRÖHLICH T, BOLBRINKER P, et al. Highly sensitive saturation labeling reveals changes in abundance of cell cycle-associated proteins and redox enzyme variants during oocyte maturation invitro [J]. *Proteomics.* 2009, 9(3):550-564.
- [11] 刘丽娟, 鲁慧文, 杨飞, 等. YWHAG 基因 CDS 的克隆及其在梅山与杜洛克猪卵泡发育中的差异表达研究 [J]. *畜牧兽医学报*, 2014, 45(3):489-493.



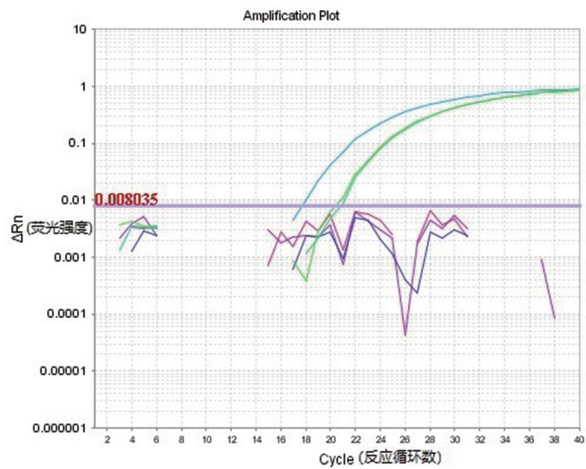
邹清童等 图1 样品1的猪肉成分PCR图谱



邹清童等 图2 样品11的猪肉成分PCR图谱



邹清童等 图3 样品2的鸡肉成分PCR图谱



邹清童等 图4 样品5的鸡肉成分PCR图谱