

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5期(总第213期)

2020年10月18日出版

ISSN 1005-8567
中国标准连续出版物号 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

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:gdxmsykj@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·

坚持自主选育、充分应用良种筑牢百年老店基石——温氏集团畜禽种业发展调研报告
..... 罗建民(1)

·专题综述·

浅谈畜牧类高校大型仪器共享平台建设和管理 江勇,白皓,等(4)
畜牧兽医领域的院地合作和院企合作模式探讨——以广东省农业科学院湛江分院为例
..... 黄元,吴彩艳,等(7)

·畜牧技术·

分析多层楼房养猪模式的优劣 胡斌,罗成龙,等(10)
我国非洲猪瘟现状及防控措施 杨浩财,王奥成,等(14)
浅谈牛运输应激的预防 熊连,张建超,等(18)

·兽医临床·

珠三角地区规模化养鸡场产气荚膜梭菌分子流行病学调查研究 陈祥杰,古红霞,等(21)
聊城市牛羊布鲁氏菌病监测与防控措施 王宝菊,王芸,等(25)
2016~2018年广西规模化种猪场口蹄疫O型和猪瘟免疫抗体检测及分析
..... 韩银华,孔子荣,等(29)
江门市种鸡场禽流感H5N1和H7N9抗体监测与分析 罗嘉轩,陆巧芬,等(32)

·试验研究·

中山麻鸭(F4)及其杂交后代肉品质评价研究 田志梅,崔艺燕,等(35)
豫东地区鸡球虫分离鉴定及致病性研究 郭全海,刘诗柱,等(39)
不同生产模式对苏威肉鸽生产性能的影响 穆春宇,汤青萍,等(44)
血清4型禽腺病毒TaqMan荧光定量PCR方法的建立及初步应用 招丽婵,王占新,等(48)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

OCT.2020 Volume 45, Number 5 (Total No.213)

Main Content

- Sustained independent breeding to build firm foundation for century old enterprise LUO Jianmin(1)
- Discussion on construction and management of large instrument sharing platform for animal science in universities
..... JIANG Yong, BAI Hao, et al(4)
- Exploring institute - government and institute - enterprise cooperation patterns in animal husbandry and veterinary field
..... HUANG Yuan, WU Caiyan, et al(7)
- Analysis of the advantages and disadvantages of pig productive mode in multi-floor buildings
..... Hu Bin, Luo Chenglong, et al(10)
- Current situation , prevention and control measures of African swine fever in China ... YANG Haocai, WANG Aocheng, et al(14)
- Prevention of transportation stress in cattle XIONG Lian, ZHANG Jianchao, et al(18)
- Molecular epidemiology of clostridium perfringens in large scale chicken farms in pearl river delta
..... CHEN Xiangjie, GU Hongxia, et al(21)
- Surveillance of brucellosis of cattle and sheep in Liaocheng city WANG Baoju, WANG Yun, et al(25)
- Detection and analysis of antibody against FMD O and classical swine fever in Guangxi large scale pig farms from 2016 to 2018
..... HAN Yinhu, KONG Zirong, et al(29)
- Surveillance and analysis on avian influenza H5N1 and H7N9 antibodies in breeding chicken farms in Jiangmen City, Guangdong
..... LUO Jiaxuan, LU Qiaofen, et al(32)
- Meat quality evaluation of Zhongshan duck (F4) and its hybrid offspring TIAN Zhimei, CUI Yiyan, et al(35)
- Study on isolation, identification and pathogenicity of chicken coccidia in eastern Henan province
..... GUO Quanhai, LIU Shizhu, et al(39)
- Effect of different breeding modes on performance in Suwei meat pigeons MU Chunyu, TANG Qingping, et al(44)
- Development and preliminary application of TaqMan fluorescent quantitative PCR method for serum type 4 avian adenovirus
..... ZHAO Lichan, WANG Zhanxin, et al(48)
-

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。

坚持自主选育、充分应用良种筑牢百年老店基石 ——温氏集团畜禽种业发展调研报告

罗建民

(广东省农业农村厅种业管理处, 广东 广州 510500)

摘要:报告认为温氏集团在养殖产业发展过程中, 始终将自主品种培育、良种繁育和应用作为企业的核心技术和关键环节抓实抓牢, 其发展畜禽种业有9大做法和特点, 同时指出了存在的主要问题, 提出相关建议。本报告对温氏畜禽种业的发展进行了深度调研, 为研究我国畜禽种业发展提供参考。

关键词:温氏集团; 畜禽种业; 调研报告

中图分类号:S8 **文献标识码:**D **文章编码:**1005-8567(2020)05-0001-03

1 起因和背景

随着中兴、华为被“卡脖子”事件的暴发, 如何发展和壮大我国的民族种业, 避免类似事件在种业领域发生, 已引起国家和高层领导越来越高的重视, 加强顶层设计, 采取系列措施, 成立18个部委组成的推进现代种业发展工作协调组, 农业农村部专门成立种业管理司, 统筹全国作物种业和畜禽种业管理, 各省(市、自治区)设立种业行政主管部门等等, 从种源上确保“猪粮安天下”的重要性和战略意义。笔者结合自身工作经历, 再次对温氏的畜禽种业发展进行深入的观察思考和调研, 形成此报告。

回顾温氏的发展历程, 温氏集团是一家高度重视技术创新和系统化管理, 以瘦肉型猪和优质黄鸡养殖为主业, 同时兼营水禽、奶牛、肉鸽、蛋鸡, 兽药、疫苗和食品加工的国家农业产业化重点龙头企业, 采用种业引领、“公司+家庭农场”模式发展养殖业。目前, 温氏集团已在全国23个省市建立有326家公司和5.5万余户合作家庭农场, 已发展为世界级的肉猪和优质黄鸡养殖企业。畜禽种业是现代畜牧业发展的基础和先导, 如果没有

畜禽种质资源这个物质基础, 没有畜禽良种的持续支撑, 没有优质种源的保障, 就无从谈起畜牧业的快速和高质量发展以及畜产品的保产保供。温氏集团在养殖产业发展过程中, 始终秉承种为基石、良种先行、强产业必须先强种业的理念, 这和习近平总书记要下决心把民族种业搞上去的重要指示精神相一致, 他们将自主品种培育、良种繁育和应用作为企业的核心技术和关键环节抓实抓牢, 作为名符其实的畜禽种业企业, 温氏为民族种业的振兴作出了重要贡献。

2 温氏集团发展畜禽种业的主要做法和特点

通过参观学习温氏文化馆、研究院、国家生猪种业工程技术研究中心等, 与公司高、中层管理者和相关技术人员的座谈交流, 作为种业集团, 总结温氏集团的主要做法和特点, 以期为畜牧行业企业发展提供参考。

2.1 育种工作起步早, 引领产业健康发展

温氏集团与华南农业大学合作, 1992年开始优质黄鸡选育种工作, 1994年4月成立“广东温氏南方家禽育种有限公司”, 专业从事黄羽肉鸡、番鸭和肉鸽的育种工作; 1997年开始发展养猪产业时

收稿日期: 2020-05-07

作者简介: 罗建民(1961-), 男, 广东梅州人, 畜牧专业本科, 省农业农村厅一级调研员。主要从事畜牧生产、饲料工业、兽药行业、屠宰行业、畜禽种业管理工作。E-mail: 1216286008@qq.com

即着手种猪的育种工作，肉鸭的育种工作也已开展了10年。

2.2 畜禽种质遗传资源的积累，奠定产业发展基础

长期以来，温氏坚持以市场为导向，充分了解和掌握消费需求，制订切实可行的育种方案，开展种猪种禽选育工作，力求选育出贴近市场需求、快速适应市场变化、具有不同特点的专门化品系。温氏经过多年的品种选育工作，选育了54个不同品系优质黄鸡育种，积累了矮脚黄鸡、青脚麻鸡、乌骨鸡等多种优质鸡品种(系)遗传资源。在种猪育种上，收集评鉴了杜洛克、皮特兰、长白和大白瘦肉型猪4个品种12个主要品系，也收集评价了国内二花脸、莱芜猪、小耳花猪、大花白猪、鲁莱黑猪、里岔黑猪、苏淮猪等优良地方猪种或培育品种等育种资源。在水禽育种上，选育了白番鸭等5个品系。

2.3 育种基地分布广，对畜禽种业起到带动和示范效应

温氏在华东、华南、华中、东北、西南和西北布局了8个种猪育种分公司，在全国生猪主产区均布局有原种猪育种和扩繁基地、父母代种猪制种基地，现有育种试验场3个，原种猪场14个，纯种扩繁场9个；在广东、湖北、江苏、四川成立了家禽育种子公司，在全国20多个省(市、自治区)布局了肉鸡祖代和父母代生产基地，现有原种鸡场4个，祖代鸡场6个，肉鸡性能测定场3个，建设有水禽育种场、祖代场、试验场各1个，育种个体笼5万个以上。拥有2个生猪原种场和2个肉鸡育种场，被农业农村部认定为国家核心育种场。每年为社会(含集团内部使用)提供纯种母猪30多万头、公猪4万头、二元杂母猪120多万头；优质黄鸡祖代鸡苗50万套、父母代鸡苗2500万套。温氏的做法为其它企、事业单位提供了良好的模板，起了较好的示范作用。

2.4 育种体系健全，具有强大的持续竞争力

温氏集团1994年4月成立广东温氏南方家禽育种有限公司后，2012年10月成立专业化种猪育种公司“广东温氏种猪科技有限公司”；2020年3月，随着水禽业务的发展壮大，成立了专业的水禽育种公司，开展各类型水禽品种的培育。家禽、种

猪和水禽等3个专业育种公司的成立，建立了与育种工作相适应的生产管理和技术体系，有专门的育种技术研发、技术推广指导与现场育种工作的组织体系。种猪育种搭建了“种猪公司育种部一分公司育种室一种猪场育种小组”三级育种管理组织架构，建成了层级清楚、职责分明、执行力强的育种管理体系。近年来，在温氏研究院院长、集团畜禽育种专业委员会主任吴珍芳教授的带领下，形成了畜禽种业独特的种质资源优势、育种人才优势、育种技术优势、技术研发平台优势、猪禽遗传性能优势、种猪种禽品牌优势，这六大畜禽种业优势，支撑了温氏强大的持续竞争力。

2.5 育种技术和管理队伍实力强，人才储备充足

温氏的3个专业育种公司共有员工1800余人，其中从事育种技术研发和技术指导人员110余人，博士15人，硕士50余人。优秀的企业文化、温氏精神“精诚合作，各尽所能；用科学，办实事，争进步，求效益；文明礼貌，胸怀广阔，磊落光明；同呼吸，共命运，齐创美满生活”，严谨的科技人员准则“尽心尽力，一丝不苟做好技术工作；把自己掌握的技术最大限度地生产实际中运用；巩固现有的生产成绩，及时解决生产中的技术问题，每年都有新成果应用与生产；提倡发表可公开的技术论文，刻苦钻研，不断提高业务水平”，培养了一批育种管理和技术人才，储备了一批年富力强的优秀科技人才。

2.6 育种技术研发创新平台先进，保证育种研究需求

2008年成立了“广东温氏集团研究院”，成为广东省第二家企业研究院，又陆续建立了博士后科研工作站、国家生猪种业工程技术研究中心、畜禽育种国家地方联合工程研究中心、国家现代农业(畜禽种业)产业园、岭南现代农业科学与技术广东省实验室云浮分中心、新兴县生猪产业园、新兴温氏优质鸡产业园等国家和省级技术研发平台。在这些平台的引领下，温氏的分子育种、育种大数据和信息化、体细胞克隆、精液冷冻、转基因和基因编辑育种等方面的技术，得到同行充分认可并达到国际领先或先进水平。

2.7 政产学研联系和合作紧密，受到行业认可

温氏从1992年开始就与华南农业大学签订长

期合作协议,在育种技术领域建立了紧密合作关系;并与中国农业大学、中国农科院家禽研究所等全国主要农业高校、院所开展技术专题合作,取得良好效果。2019年,国家启动的畜禽良种联合攻关,温氏集团牵头承担生猪联合攻关项目和全国首个现代农业畜禽种业产业园落户新兴,温氏作为主要的实施主体,就充分说明温氏畜禽种业在我国种业领域的地位和实力。长期以来,温氏模式、温氏经验得到国家农业农村部、发改委、科技部等相关部门和各业务所在省政府、农业农村厅等部门的高度认可和推广应用。获得国家科技进步二等奖的“高效瘦肉型种猪新配套系培育与应用”项目,充分说明温氏的瘦肉型种猪分子育种技术、遗传评估和性能测定技术、体细胞克隆等扩繁和养殖技术得到同行专家充分认可,创建的中国瘦肉型种猪四系配套育种新体系,培育的两个四元杂交高效瘦肉型猪配套系,打破了我国种猪长期依赖进口困境。高档优质肉鸡新品种的培育与应用、种猪体细胞克隆技术研发与应用、育种新技术在新兴矮脚黄鸡配套系选育中的应用与推广等项目也分别获得广东省科学技术奖一等奖或广东省农业技术推广奖一等奖。

2.8 优势品种的培育和推广,带动了全国良种畜禽的覆盖和应用

温氏在猪育种方面,先后培育了四元杂交体系的“华农温氏1号猪”和五元杂交体系的“温氏WS501猪”2个国家审定的瘦肉型种猪新配套系,先后选育了12个专门化品系。年推广应用良种猪苗超过2000万头,既支撑了温氏集团快速发展为大型养猪企业,更是带动了全国优良瘦肉型猪品种的覆盖和应用,提高了养猪生产水平;自行选育的品种,与直接进口的引进品种对比,更适应我国不同的市场需求,表现出更高的经济效益和生产效率,扭转了依赖进口种猪发展产业的局面。

温氏在家禽育种方面,培育7个国家审定的优质鸡新配套系,保障年上市近10亿只优质肉鸡的种源需求。新培育的番鸭新品种完成了中试和现场测定。

2.9 育种创新技术强,引领行业发展

温氏管理层思想超前,较早实现了数据的现场实时收集、储存,建立了大数据管理中心,加强

数据挖掘与分析,进行遗传评估。建立了畜禽自动测定技术规范,创新了体细胞克隆、全基因组选择、分子设计育种、基因编辑、基因工程育种等先进育种技术。在种猪全基因组选择、体细胞克隆研发与应用、动物分子设计育种、基因编辑培育种猪新材料等方面,处于行业领先或先进水平。采用自主创制的高密度基因芯片,全面开展种猪全基因组选择,累计检测评估6万余个体,取得良好的选育进展;创新研发的新一代全基因组选择技术和设备正中试应用;研发的节粮环保基因工程猪和抗蓝耳病基因编辑猪是重要的育种新材料,为未来的品种改良奠定了良好基础;自主研发的无纸化育种数据自动采集技术已全面应用,种猪电子耳牌、智能体型体貌测定等育种信息化技术正在中试应用。家禽育种上,在国内率先研制出基于RFID技术的散养模式下肉鸡采食量实时记录系统,为肉鸡饲料报酬的自动测定及准确选择奠定了基础;在繁殖性能选择方面,公司建立的两阶段产蛋选择体系有效地提高了选种的效率。

3 问题和建议

3.1 存在的问题

一直以来,温氏集团坚持“以育为主、引种为辅、自主创新”的种业发展方略,成为我国畜禽种业的领军企业。但在发展过程中,客观上也碰到种畜禽场被列入禁养区、申报新品种审定所需材料多、时间长、知识产权和商业秘密无法得到保障等,主观上对优质土猪研究和开发不足、只强调全产业链发展、没有强烈意识打出种业品牌等问题。

3.2 建议

种是整个产业链的基石,育成新品种和良种推广更是健全壮大产业链的最强大驱动力。因此,建议温氏集团,一要更加清晰种业的定位,将种业摆在更加重要和突出位置,唱响种业主旋律;二要根据国务院关于促进乡村产业振兴的指导意见(国发〔2019〕12号)“支持种业育繁推一体化,培育一批竞争力强的大型种业企业集团”决定,积极牵头组建畜禽种业集团,或拆分种业公司上市,进一步做强做大做优种业版块,为乡村振兴做出更大贡献;三要加大畜禽种业对温氏全产业链的引领、贡献的宣传力度;四要通过入股、购买服务等方式,与同行共享更多的育种技

浅谈畜牧类高校大型仪器共享平台建设和管理

江勇, 白皓, 陈国宏*

(扬州大学动物科学与技术学院, 江苏 扬州 225009)

摘要:我国是畜牧业大国, 而与之相匹配的畜牧人才不足。高校是培养畜牧人才的重要场所, 而大型仪器设备是培养畜牧人才的必要硬件条件之一。目前, 高校大型仪器使用过程中凸显各类问题。本文主要探讨了畜牧院校大型仪器设备使用现状、存在的问题, 并提出共享平台建设、管理等建议。旨在为实现畜牧院校优质科研设备资源高效运作提供参考。

关键词:仪器设备; 共享平台; 仪器管理; 畜牧学

中图分类号:S8 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0004-03

畜牧养殖业的发展需要畜牧基础研究提供支撑, 养殖生产中发现的问题为基础研究提供新的研究方向, 通过科学研究为畜牧生产解决生产问题。畜牧生产和研究均需要专业的畜牧人才, 我国有78所开设畜牧学科的高校, 为畜牧人才的培养做出了巨大贡献, 助推了畜牧业的发展。畜牧高校对人才的培养、科研工作者从事科研以及养殖生产都需要相关仪器设备的辅助检测, 尤其大型仪器设备为科研更深入的研究探索提供了可能。然而, 目前畜牧高大型设备存在重复购置、分布不合理、使用率低、缺乏维护等问题^[1]。如何管理好、使用好大型仪器设备, 最大程度发挥其科研和社会服务功能, 已成为高校大型仪器设备管理关注的焦点^[2, 3]。建设仪器共享平台是解决此类问题的关键。建立大型仪器共享平台不仅可以为广大畜牧专业科研人员提供便利, 而且还可以为畜牧养殖业生产中的样品成分检测、畜产品质量(药残)检测、疾病检测等提供支撑。本文主要针对畜牧高校大型科研仪器使用过程中存在的问题进行分析, 并提出了解决问题的建议。

1 大型仪器设备使用现状

近年来, 畜牧高校对科学研究工作非常重视, 加强硬件建设举措之一就是增加对大型仪器设备的购置投入, 但缺乏对大型仪器的科学管理, 导致在大型仪器使用过程中存在不合理现象。

1.1 分布不均、重复购置

大型仪器设备是开展科研工作、培养人才以及服务社会的重要条件。畜牧高校购置的大量大型仪器设备, 产权一般归学校所有, 执行学院二级管理制度, 或实验室分散管理。大多数实验室管理相对封闭, 即只允许实验室内部使用, 不对外开放使用, 直接导致不同课题组或学院重复购置一些功能相似或相同的大型仪器设备。另外, 有的课题组在购买大型设备前, 没有进行学院或者学校内部调查论证, 也会导致大型仪器设备重复购置。

1.2 共享率、使用率低

仪器设备的重复购置, 导致其有效使用率降低, 不能在其有效使用年限内充分发挥其作用。高校大型仪器设备的管理者缺乏共享意识, 或因个人不愿增加其工作量而将其“私有化”, 拒绝对外开放使用。有些实验室考虑到大型仪器设备的

收稿日期: 2020-07-10

基金项目: 教育部新农科研究与改革实践项目(4-102); 江苏省高校自然科学研究面上项目(19KJD230003); 扬州市“绿扬金凤计划”优秀博士人才资助计划项目。

作者简介: 江勇(1985-), 男, 河南正阳县人, 博士, 实验师, 主要从事水禽氨基酸营养研究。E-mail: jiangyong12126@163.com

*通讯作者: 陈国宏(1963-), 男, 博士, 教授, 主要从事家禽遗传育种与产业化研究。E-mail: ghchen@yzu.edu.cn

运行成本,或发生故障后的维修费用,而本课题组经费不足,则将设备闲置在实验室内,以图降低维护成本,导致该设备使用率降低,造成资源浪费。

1.3 管理人员不专业

高校重视理论科学研究工作,却忽视了实验室的管理。主要原因是实验技术人员少,且人员结构不合理^[4,5]。高校采购了大型仪器设备,没有专门实验技术人员管理,而是委托采购申请人或专任教师来管理。教师忙于教学和科研,疏于对大型仪器设备管理与维护,无暇关注仪器设备使用潜能的开发。有些高校有实验技术人员,但对实验技术岗的岗位职责定位不清晰,工作内容和工作目标不明确,实验技术人员仅进行常规上机测试操作或忙于教学实验室的管理、学院日常事务,而不是主要进行大型仪器的使用潜能开发^[6,7]。此外,实验技术人员多是专科或本科,缺乏高素质管理人才,也是管理维护的困难之一。

2 共享平台建设方向

建设开放的仪器共享平台是提高大型仪器设备使用效率的基础,完善的管理制度是平台有效运行的保障,组建一个专业知识扎实的管理团队是提高大型仪器使用效率的核心,合理的激励制度是提高实验技术人员工作效率的关键。因此,仪器共享平台建设不仅可以促进畜牧专业基础研究的发展,还可以提高大型仪器的社会服务能力。

2.1 建立仪器设备共享平台

高校建设大型仪器共享平台,平台开放,可避免重新购置,并提高大型仪器设备使用效率。然而,仪器共享平台的建立需要一定的条件支持:一是建立合理的激励政策或补贴机制,鼓励各实验室共享使用大型仪器;二是提供场所搭建共享平台,需要院领导和学校领导协调,制定政策引导协调腾出一些科研实验室,或合理安排教学实验课程,充分利用教学实验室,腾出部分教学实验室为建设大型仪器共享平台提供场所。

2.2 完善平台管理制度

完善的管理制度是提高共享平台大型仪器使用效率的关键。虽然近几年,高校对科研共享平台建设越来越重视,但是对于仪器设备后期运行疏于管理,这是大型仪器设备使用效率低的主要

原因^[9]。如何提高大型仪器设备的有效使用率、充分发挥其使用价值,是高校科研共享平台建设和管理中急需解决的难题^[10]。大型仪器设备的共享开放使用是高校改善科研水平和培养科研人才的重要措施^[11]。针对目前大型仪器设备共享中的问题,坚持“专管共用、资源共享、合理收费、有偿使用”的基本管理原则,旨在为学院或者学校师生提供更好的科研学习平台,从而提高仪器设备的使用效率和利用潜能。

2.3 加强人员队伍建设

共享科研平台的管理者是仪器共享开放使用的软实力,也是充分实现大型仪器设备的潜在功能的主要因素。建设仪器共享平台,添置先进、高端大型仪器的同时,需加强共享平台管理人才队伍建设。高水平的大型仪器共享平台,不能只满足基本的测试需要,还应胜任测试方法和测试技术的创新研究^[12]。实验技术人员不仅在实验平台的管理中发挥着重要作用,并且在大型仪器使用效率的提升、新功能开发等方面发挥重要作用^[13,14]。一个配备合理、技术业务能力强、队伍稳定的实验技术人员团队,是建设高水平科研平台的重要条件,是维持其可持续发展的重要保障^[15]。

2.4 强化考评激励制度

目前大多数高校将实验技术人员当作教辅人员,缺乏对仪器管理人员的绩效考核制度,导致其在仪器管理工作方面积极性不高,不利于仪器共享平台开放使用。完善实验管理人员的绩效考核制度,是提高仪器管理工作效率的必要措施。首先,要明确技术人员的工作职责。实验技术人员除了对实验室仪器设备的基本管理、操作、维护外,还要对学院或学校的相关学生进行仪器使用培训,以及相关指标测定方法的开发,以提高仪器设备的使用潜能。然后,根据实验技术人员的工作内容,建立合理的考评制度。建立完善的激励机制,对工作内容和工作成果进行考核,是提高实验技术人员工作积极性的主要方法。

3 大型仪器管理制度思考

如何建立并完善一套适合高校大型仪器的科学管理制度是提高大型仪器设备使用效率的难点和重点^[8]。针对以上大型仪器使用过程中存在的

问题, 提出以下建议。

3.1 多种管理方式相结合, 提高仪器使用效率

针对高校大量的大型仪器设备且实验技术人员数量少这一现状, 高校或者院可以采取三种管理方式对大型仪器进行管理: 平台专管, 协助管理和委托管理。①平台专管。这种管理方式需要学院或者学校引进专门的实验技术人员, 具备这样条件的学院可以通过这种管理方式对使用频率较高的大型设备进行专门化管理, 如荧光定量PCR仪、酶标仪、电镜等。②协助管理。有些使用范围不广仪器, 仅有少数课题组使用, 针对这种通用性不强的仪器, 由需求较大的实验室协助管理, 并进行相关技术培训及实验方法开发。这部分设备由实验共享平台负责故障仪器的申报维修、耗材购买等。每年对参加协助管理的实验室进行考核, 以保障共享性和有效使用时长。③委托管理。专用性较强仪器设备, 可以委托课题组管理。将这三种管理模式有效结合起来, 可缓解高校实验管理人员不足的矛盾, 有效实现仪器设备共享。此外, 由于科研工作的连续特性, 部分试验在节假日或者晚上进行, 而实验技术人员不可能24小时值班, 通过勤工助学的形式聘请研究生来协助管理, 可以有效解决周末、节假日或晚上仪器使用问题, 可极大地提高了仪器设备的使用效率^[16]。

3.2 做好设备维护, 延长仪器设备使用年限

大型仪器设备是否完好, 决定着其使用率。因此, 做好仪器设备的保养工作是提高其利用率的重要措施。首先, 制定仪器设备的测定范围和样品的种类, 根据样品的种类采用不同的前处理方法处理并上机测定, 提高仪器的运行效率; 其次, 建立严格的监督制度, 一方面监管仪器设备的运行情况, 另一方面监管平台管理人员是否尽职尽责。每台仪器设备都要建立检测制度和监督制度, 并要定期检查, 确保仪器设备有效运行时长。平台仪器的管理要遵循“养修并重, 预防为主”的原则^[17]。实验技术人员必须按照仪器厂家提供的指导性材料, 定期对仪器设备进行定期的检查和保养, 保证仪器设备高效运行, 延长仪器设备的使用寿命, 提高其使用潜能。

3.3 加强信息化建设, 提高平台仪器有效共享

加强仪器平台的信息化建设, 是保证平台仪

器开放程度以及高效运行的基础。搭建的平台管理系统要详细记录仪器设备的生产厂家、供应商、仪器设备型号、仪器的技术参数、仪器功能、存放地点、保管人、使用状态、预约情况以及收费情况^[18]。用户可以通过网页浏览仪器设备的预约情况、是否正常运行、收费标准等, 根据自己需要预约, 然后由管理人员授权使用。平台共享仪器的在线管理, 不仅可以提高仪器的使用效率, 详细记录仪器的使用情况, 还可为实验技术人员的绩效考核提供参考。

3.4 建立合理收费制度, 保障平台的稳定运行

平台中仪器设备维修或保养费需要费用, 因此可采用有偿使用进行平衡。平台建设初期, 由于各种仪器设备都是新的, 维修或保养费用很低。但是随着仪器使用时间的延长, 设备发生老化, 故障率增加, 维护费用增加, 因此要适当收费, 不能把平台当成营利的部门。同时, 采取收费措施一定程度上限制用户的随意预约和任意爽约。平台收入, 可用于平台的建设、维修、配件耗材购置等, 或购置新的仪器设备, 构成良好的平台内循环。虽然平台实行收费政策, 但也可能收支不平衡, 还需要学院或学校配套一定的维修或保养经费。

3.5 建立培训体系, 提升平台服务水平

通过建立培训体系, 提升大型仪器设备服务共享能力, 是促进平台服务水平提高的重要途径。共享不仅仅是仪器设备的共享, 也是技术、经验和人才的共享。每年定期开展培训课程, 新入学的同学必须参加培训, 考核合格才能独立使用平台上的仪器设备。同时建立仪器操作标准化流程, 减少或避免人为操作失误造成的仪器故障, 提高仪器的有效服务时长。

4 小结

随着我国畜牧业的发展, 对高端畜牧人才的需求逐渐增加, 高端畜牧业人才的培养以及社会服务离不开仪器设备。高校大型仪器设备的开放共享管理, 配套优质的实验技术人才队伍以及共享平台管理机制, 可提高其工作效率和社会服务能力。尤其要注重实验技术人才培养, 建立合理的培养、晋升、奖励渠道, 提高实验技术人员的工作积极性。仪器共享平台建设及高效运行, 能发挥大型仪器设备潜

畜牧兽医领域的院地合作和院企合作模式探讨 ——以广东省农业科学院湛江分院为例

黄元^{1#}, 吴彩艳^{1#}, 庞冰², 卢爵广³, 陈敏忠², 黄胜^{3*}, 邓铭光^{4*}

(1. 广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东省兽医公共卫生公共实验室, 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室, 农业部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站, 广东广州 510640;

2. 湛江市农业技术推广中心, 广东湛江 524038;

3. 湛江市农业科学研究院, 广东湛江 524094;

4. 广东省农业科学院植物保护研究所, 广东广州 510640)

摘要: 本文结合广东省农业科学院湛江分院就畜牧兽医领域在湛江地区开展的科技推广工作, 探讨省级农业科研单位在新形势下开展院地合作和院企合作模式, 为加速科技成果转化、促进地区农业产业发展等做出积极贡献。

关键词: 畜牧兽医; 湛江; 院地合作; 院企合作

中图分类号: S8 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2020)05-0007-03

我国是农业大国, 农业是国民经济的基础, 在现代社会中仍占有重要地位。随着社会经济的发展, 农业和农业经济与非农业和国民经济发展速度不相适应的矛盾逐渐凸显, 农业的比较效益逐渐滑坡, 对农民增收的贡献率也逐渐下降, 导致农民从事农业生产的积极性不高, 因此, 农业发展已经成为制约经济社会发展的重要因素。农业科技有效推广对农业发展至关重要, 传统农业科技推广模式存在“最后一公里”的难题, 诸如农业科技推广培训体系不健全、农业科技推广经费不足、农业科技推广人员知识储备参差不齐等问题, 难以适应现代农业发展的要求, 因此创新农业科技推广模式迫在眉睫。目前, 黑龙江、江苏、广西、四川等省份农业类科研单位开展了以“院地合作”为主

要模式的农业推广服务体系改革探索, 取得了一定成效^[1, 2]。广东省农业科学院(以下简称“广东省农科院”)借鉴其他兄弟省份的成功经验, 在院地合作模式的基础上, 积极探索科技创新服务模式, 与湛江、佛山、茂名、江门、潮州等市地方政府合作共建 13 个分院(促进中心), 派驻工作人员到地方驻点开展科技推广服务工作, 取得了积极成效, 尤其在畜牧兽医领域, 为产业发展贡献良多。本文重点阐述在湛江分院的积极引领下广东省农科院就畜牧兽医领域在湛江地区开展的具体对接工作, 探讨湛江分院在新形势下院地合作和院企合作模式, 以为广东省农科院相关科技创新服务三农工作开展提供思路。

收稿日期: 2020-05-09

基金项目: 广东省农业科学院乡村振兴地方分院和专家工作站工作经费项目(项目编号: 12-19; 2019 驻点 02-09; 2020 驻点 46-17)

#表示共同第一作者

作者简介: 黄元与吴彩艳为同等贡献作者。黄元(1980-), 男, 广西桂林人, 硕士, 副研究员, 主要从事动物病毒性传染病研究。E-mail: huangyuan62@126.com; 吴彩艳(1978-), 女, 内蒙古赤峰人, 博士, 副研究员, 主要从事鸡球虫入侵机制的研究。E-mail: wucaiyang906@163.com

*通讯作者: 黄胜和邓铭光为共同通讯作者。黄胜(1965-), 男, 广东高州人, 硕士, 推广研究员, 研究方向: 园艺。E-mail: zjhuangsheng@126.com; 邓铭光(1964-), 男, 广东云浮人, 研究员, 研究方向: 植物保护, E-mail: dengmg@gdppri.com

1 广东省农科院湛江分院(简称“湛江分院”)概况

为贯彻落实中央关于“创新驱动发展战略与服务三农”会议精神,广东省农科院积极助力省内农业产业发展,目前已与湛江、佛山、河源、梅州、韶关、茂名、清远、汕尾、肇庆、惠州、江门、东源、潮州市、县地方政府签订合作协议,共建13个地方分院(促进中心)^[3-5]。其中湛江分院成立于2016年4月8日,主要工作是大力推动湛江本地农业科技项目创新,尤其在区域热带和亚热带农业项目上取得研究突破,并开展对水稻、甘薯、玉米、花生、蔬菜、果树、食用豆等作物新品种的推广试验,加大对果蔬新品种示范展示项目的宣传普及力度。通过建立新品种示范基地进行农业专技人才培养和管理队伍建设、提升新型农机应用水平、优化种植技术与方法,协助湛江市农业科学研究院加速科技成果转化,让农业新技术和新品种得以落户湛江,并对整个粤西地区形成辐射效应。

2 院地合作模式

2.1 院地合作基础

湛江分院以湛江市农业科学研究院为依托,联合湛江市果树蔬菜研究所和湛江市农业技术推广中心,以良种良法引进、试验、示范、推广为切入点,共建湛江市农业区域研发、综合试验站、实验室、农业信息服务等科技创新与服务平台,开展成果转化应用示范基地建设以及联合攻关、农技培训、科技服务、人才培养等方面的合作,将湛江分院建设成面向湛江、辐射粤西的广东(湛江)现代农业科技园。

2.2 院地合作实践

湛江分院自成立以来,广东省农科院现已累计派驻8批共18名驻点工作人员。参与申报、立项或院所落地湛江项目32项,完成地方委托项目10项;建立工作站2个、试验站5个;申报孵化器项目并获批1项;与广东省农产品流通协会组建“广东省农业高新技术企业培育联盟”1个;组织和牵线试验、示范、推广基地30家,其中挂牌基地6个;在湛江东盟农产品交易博览会上,举行广东省农科院与湛江市11家企业合作签约仪式1次;组织开展新品种田间示范展示会9次;参与组织开展新技术现

场示范展示会1次;组织开展一系列成果推介活动;组织和参与组织技术培训班、技术研讨会17场次;组织和受邀科技下乡现场指导服务活动70余次,有效扩大了湛江分院在基层的影响力。

2.3 院地合作在畜牧兽医领域的成效

湛江地区因其独特的热带气候条件,特色农业发展位居全省前列,除此之外,畜牧业的发展同样迅速,至2016年全市畜牧业总产值108亿元,同比增长5%,位居全省第三位;饲料业总产值153亿元,同比增长20%,位居全省第四位。随着经济社会的发展,湛江畜牧业进入了一个新的快速发展阶段。当前面对人们对动物性食品消费需求的不断增加,畜禽产品安全问题受到广泛关注,动物疫病已经成为阻碍畜牧业健康发展的重要因素。而广东省农科院动物卫生研究所因其良好的科研条件和技术储备,多年来一直致力于畜牧业的健康发展。在湛江分院的积极引领下,广东省农科院动物卫生研究所与湛江畜牧技术推广站等多家地方行政单位开展了积极合作,就动物疫病防控、畜牧养殖技术推广等方面展开深度合作。

2.4 院地合作在畜牧兽医领域推广模式探索

2.4.1 传统技术推广模式

目前有关畜牧兽医领域科研成果的传统推广模式为依托湛江分院由动物卫生研究所到各级兽医站或防疫站再到企业或农户。即利用防疫站/兽医站系统,通过推广会或现场示范等方式,自上而下地将畜牧兽医新技术进行推广。如成果“猪口蹄疫综合防控技术”在前期主要依靠传统模式推广,通过现场技术示范和防疫站系统推广,将该技术在广东省内多地实施,取得良好成效。虽然传统推广模式存在诸多优点,但也存在科技人员推广动力不足,推广强度达不到预期,推广落地中产生的技术难题不能及时反馈到研究所等问题。特别是随着供给侧结构性改革的深入和产业升级,传统的技术推广模式已经不能满足产业发展的快速需求。广东省农业科学院各分院的建立,为探索技术推广的新模式提供了新的途径。

2.4.2 加强与地方政府合作

技术推广过程中要加强与地方政府的沟通与合作,让技术推广获得有利的政策支持。湛江分院积极参与地方政府相关政策从调研、论证到决策

的过程,进一步扩大广东省农科院的影响力;积极配合与推动地方政府组织的科普、科技下乡、服务三农等活动,有力促进技术推广工作高效开展。例如,湛江分院积极参与湛江市畜牧局组织的有关畜禽养殖废弃物资源化利用现状等调研工作,到湛江市30余个养殖场实地了解粪污资源化利用情况,撰写调研报告,积极推动相关政策的制定。在非洲猪瘟疫情严重期间,湛江分院联合动物卫生研究所和动物科学研究所专家,积极配合有关防疫相关部门开展非洲猪瘟防疫相关科普、讲座和座谈,为非洲猪瘟防控作出了积极贡献,广受社会好评。

2.4.3 积极参与申报现代农业科技示范园区

农业科技示范园区是展示现代农业技术的窗口,对提高农业生产标准化水平具有直观形象的示范带动作用。湛江分院一直将现代农业科技示范园区的建设作为重点工作,近年来,湛江分院先后参与了湛江申报8个现代农业科技示范园区的调研、申报和建设过程,并获得累累硕果。在湛江分院积极促成养殖企业与我院相关研究所的技术对接。其中,通过湛江分院的牵线搭桥,“壹号食品”土猪养殖科技示范园区和三浪村种鸡养殖和鸡苗孵化产业示范园区与动物卫生研究所成功实现需求对接,动物卫生研究所先后为两个提供科技支撑并申报现代农业产业园项目,其中“壹号食品”土猪养殖科技示范园区成功获得立项。

2.4.4 积极参与畜牧产业技术扶贫

湛江分院积极为贫困村提供技术支持和服务^[6]。湛江分院充分了解贫困村民的养殖需求,联系动物科学研究所和动物卫生研究所专家进行技术对接,为湛江雷州市企水镇洪排村、雷州市客路镇东坑村、雷州市杨家镇下坎村和雷州市沈塘镇揖花村等贫困村,提供畜牧兽医技术支持,提高了村民的经济收入,使贫困村民成功脱贫,获得显著成效。

3 院企合作模式

随着我国供给侧结构性改革的深化和产业技术升级,企业愈加重视先进技术的研发和引进,并积极参与到技术活动中来。尤其在畜牧兽医领域,疫病风险倒逼养殖产业技术升级,在非洲猪瘟等疫病造成养殖行业洗牌的情况下,养殖技术水

平得到明显提高。在这样的新形势下,技术推广应迅速适应市场需求,有针对性地调整对不同类型的企业的合作模式和策略。

3.1 与畜牧业龙头企业开展合作

龙头企业具有深厚的经济实力,对地方经济发展至关重要,与龙头企业合作具有较强的示范作用。2018年,湛江分院了解企业生产需求后,促成动物卫生研究所与广东壹号食品(湛江)土猪产业园的科技对接,为其提供猪病防控技术,由此开展一系列合作,申报省市级项目2项,协助申报技术创新联盟2项;2019年,基于动物卫生研究所在非洲猪瘟防控方面的丰富经验,为湛江农垦畜牧有限公司进行非洲猪瘟检测及防控技术培训;另外湛江分院还促成了湛江地区水产行业龙头企业-广东恒星集团有限公司和动物卫生研究所就水产疾病控制方面的长期互补性技术合作。通过与龙头企业合作,产生良好的经济效益和社会效益,实现双赢。

3.2 充分利用疫苗厂家、饲料供应商及兽药经营企业的技术力量

疫苗生产企业、饲料生产企业和兽药经营企业在产品推广过程中培养了强有力的技术力量。通过与上述企业合作有力促进了新技术的推广使用。在“华南地区猪口蹄疫免疫方案的推广和应用”中,疫苗生产厂和兽药店发挥了非常重要的作用,通过以大型疫苗生产企业和饲料生产销售企业为纽带,联合广东省各地养殖企业,组织技术推广会,成功推广该方案,产生间接经济效益约20亿元,获得2017年度广东省农业技术推广奖。

3.3 注重企业联盟和产业协会等在科技推广中的作用

企业联盟和产业协会等目前在行业技术发展、标准制定、技术交流与合作方面,发挥了越来越重要的作用。在非洲猪瘟入侵之际,广东养猪协会积极组织养殖企业代表学习和交流非洲猪瘟防控技术,实施企业间的联防联控;与政府管理部门积极沟通和座谈,推动政府制定相关防控政策,发挥了巨大的作用。因此,企业联盟和产业协会等已经成为科技推广过程中的重要纽带。

3.4 重视中小企业的科技需求

中小企业因其最具有活力、最贴近基层等特

分析多层楼房养猪模式的优劣

胡斌¹, 罗成龙¹, 王刚¹, 胡旭进², 程蕾燕¹, 孟繁明¹, 杜宗亮³, 胡文锋⁴, 李剑豪¹

(1. 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;

2. 金华市农业科学研究院, 浙江金华 321000;

3. 清远市龙发种猪有限公司, 广东英德 513057;

4. 华南农业大学食品学院, 广东广州 510642)

摘要:随着养猪模式从散养向集约化的转变,加之城市化的进程导致土地资源变得紧缺,同时非洲猪瘟的流行使得防疫更加复杂,这些因素对生猪养殖技术提出了更高要求,对养殖模式提出新挑战。多层楼房猪舍具有用地少、效率高、易管理等特点,为养猪生产带来了新模式。实践证明,多层楼房猪舍能获得较好的疾病防控效果和优良的生产成绩。多层楼房养猪模式还是5G、大数据、物联网、智能化等新信息技术应用的优良载体,是未来养猪业发展的潜在方向之一。

关键词:楼房养猪模式; 生物安全; 规模化

中图分类号:S815 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0010-04

集约化养殖与土地资源紧缺的矛盾,已成为制约现代养殖业发展的重要因素。我国年出栏生猪数量占全球一半,养殖模式也已从千家万户养殖转变成规模化生产,同时由于土地资源的限制,要求在有限的养殖土地上,提高单位面积的出栏量。多层楼房养猪模式,能充分挖掘土地潜力,利用高层空间提高土地利用率,以提高单位面积生猪产量。此种养殖模式,为缓解养殖量与土地资源的矛盾提供了较好的解决方案。

上个世纪60年代东德,出现了多层式猪舍,可以容纳500头母猪,在荷兰也出现了两层的养猪场。上个世纪80年代,黑龙江的“北方高寒地区集约化养猪的研究与应用”课题研究,出现了我国最早的“楼房养猪”雏形^[1,2]。随后,湖北、安徽、湖南等地纷纷建设楼房猪场^[3]。由于楼房养殖模式可以减少用地等优点,近年来有了广泛的应用和发

展,四川天兆猪业股份有限公司、广西扬翔股份有限公司等公司楼房猪场已投入使用。2020年,温氏食品集团股份有限公司、北京首农食品集团有限公司12.5万、海南罗牛山畜牧有限公司10万头、江苏立华牧业股份有限公司5万头的年出栏楼房养殖项目也相继建立。由此可见,楼房养殖已获得了业内广泛的认可,但由于与传统猪舍的差别,以及技术经验积累的不足,这给楼房养殖发挥其优势带来了新的挑战。本文对楼房养猪的优缺点进行论叙,并在新养殖模式下探讨生物安全问题,为养殖模式的推广提供技术支持。

1 楼房养猪的特点

1.1 节约土地

我国是一个人口大国,人均土地较少,土地资

收稿日期:2020-05-08

基金项目:广东省重点领域研发计划资助(2018B020203003);广州市科技计划重点项目(201707020007);广东省科技计划项目(2017A010405039);清远市创新创业科研团队启航计划项目(2018002)

作者简介:胡斌(1982-),男,湖南益阳人,博士,研究方向为动物生产管理与繁殖育种。E-mail: husanbo@foxmail.com

通讯作者:李剑豪(1963-),男,推广研究员,研究方向为动物生产管理与繁殖育种。E-mail: jianhao63@sina.com

源稀缺。生猪,作为国内最大的肉类蛋白来源,年出栏约7亿头才能满足百姓的日常需求。我国猪场多采用平面单层设计,以年出栏一万头商品猪场为例(600头基本母猪群),以传统方式建造,需要70亩用地;以工业化养殖模式设计,需要30亩;而楼房养猪,按两栋4层猪舍,按建筑面积6000 m²,每层1500 m²计算,仅需10亩^[4]。随着向空间发展,如楼层和每层面积的增加,土地利用效率将会得到更大的提升。这就为土地资源稀缺的地方和公司,提供了扩大养殖规模的解决方案。

1.2 控制疫情

楼房养猪,由于其总体占地面积小,可以针对性的设计符合地形、风向等的防疫体系,减少内部与环境的接触面,控制被污染以及病原微生物传播的风险。同时,楼层的设计,有利于防疫制度和消毒流程的实施^[5]。

1.3 减少污染

传统猪舍在粪污处理设施投入大量资金,同时粪污处理的难度较大,环保成为了很多地区和企业养猪发展的瓶颈。楼房式养殖可以利用楼层的高度,快速、统一的收集粪污,为猪群提供优良的生长环境,并通过集中处理,减少环境污染^[6]。

1.4 加快转型

楼房式养殖模式能满足集约化、机械化、信息化等所有的发展趋势,最大程度上满足畜牧业发展的需求,进一步加快养猪业智能化发展。随着5G、机器人等信息技术的进步,楼房养猪可以作为优良载体,把新技术结合和运用到养猪业,促进整个行业转型生产^[7]。

1.5 提高效率

楼房养殖模式中喂料、冲洗、控温、通风、排污等实现自动化,节省人力资源成本,解决现在招人难的问题,使得猪场更加容易管理,能最大程度提高生产效率。

2 楼房养猪的不足

①设计缺乏标准模式。楼房养猪设计缺乏特定的标准,需要企业根据自己的实际情况设计,猪场设计且具有养猪技术的人才比较缺乏。目前,多数楼房养猪场请建筑专业背景的人设计,这样会导致没有充分考虑到重要的生产环节,以及猪

群的生长繁殖特点,从而影响生产成绩,不能发挥楼房养猪预期该有的优势。②造价成本高。楼房养猪的成本一般会高于传统的猪舍设计,虽然平摊了打地基的成本,但修建楼梯、斜坡通道、安装先进设备等,这些都会增加前期的投入。③防疫压力增大。高密度的养殖模式,使得疾病更容易传播,在疫病防控措施方面提出了更高的要求。④技术管理难。从设计理念上,采用楼房养猪对现代化技术配套要求更高,技术及生产管理人员需要适应新的猪场管理制度与操作规范。⑤用地审批和复垦问题。传统的“平房养猪”用地属于设施农用地,但是建设8层或10层楼房用于养猪,不同地区办理用地许可存在不同的问题。同时,“楼房养猪”退出之后,土地复垦以及用途变更可能存在障碍。

3 楼房养猪生物安全六大系统

在复杂的疫情环境之下,以及对未来变化不可控的前提下,生物安全成为了生猪养殖的立命之本。不管是散养还是集约化养殖,或者传统猪舍到楼房养殖,所有养殖模式都必须配备高精度的生物安全体系。同时,生物安全应作为生猪养殖企业战略发展的重点之一,在养殖模式选择、猪场设计规划、人员培训管理等方面也需围绕生物安全的落实展开。楼房养猪,作为新型的养殖模式,要发挥其各方面的优势,生物安全仍然是猪场长治久安的保障。

3.1 猪舍布局系统

由于楼房养猪,是高密度的集约化养殖,处理好每一层、每一个单元的生产管理至关重要。需要把每一个小的单元作为未来的“传播源”去处理,即如果其中一个小单位发生疫情,怎样才能最快、最小规模地进行阻隔,以减少损失、控制传播流通,而不影响其它单元的正常运作。所以在设计中,需要楼房各层互不交叉、互不关联,把每一层内部设计成独立封闭空间,以防止交叉污染和病原传播。

3.2 物料流通系统

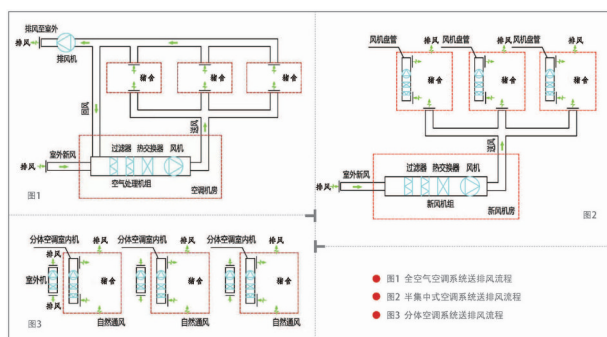
物料是病原传播源的重要途径之一,有效的防止物料带来的疾病风险是养殖成功的保障。其中包括:人员、饲料以及消耗用品三个方面。场内

人员的衣服、被套等生活用品, 都需经过严格消毒后使用, 不能带入场外私人物件; 饲料应采取高温加工等方式防止非洲猪瘟的传播; 消耗用品如疫苗、兽药等, 必须在场外进行臭氧等消毒后, 方能带入场内使用。

3.3 空气流通系统

进风口的空气过滤设施非常重要, 决定整个楼房内部空气质量, 能有效隔绝具有空气传播性的病原微生物。

通风系统, 应该避免各个栏舍和单元之间的交叉, 在此可以借鉴空调系统的结构。一般分为全空气空调系统、半集中式空调系统以及分散式空调系统。①全空气空调系统, 由机房内集中设置的空气处理机组, 统一对空气进行冷热处理, 然后送至建筑内各房间。此种通风模式, 会导致某一单元空间的空气来源, 夹杂着其它单元的气体, 以致各空间能形成空气的交换(如图1)。②半集中式空调系统, 每个空间独立处理, 可以杜绝不同空间之间空气掺混的问题(如图2)。③分散式空调系统, 通过对单个空间设置的分体式空调器进行冷热处理, 这样就不会造成交叉感染(如图3)^[8]。



根据成本和效果评估发现, 半集中式空调系统更适合楼房养猪的空调系统, 可以统一对进入的风进行消毒、降温等处理, 同时完成对单一单元的空间进行独立送风, 避免单元间的交叉污染。通过地沟排风, 能有效将内部空气排出, 解决地沟返味的问题, 达到实现立体猪舍内部空气的有效流通, 减少猪群呼吸道疾病, 提高猪场的生产成绩, 并增加养殖效益的目的。

3.4 猪只流通系统

母猪采用闭锁繁育模式, 实现后备母猪内部

供应, 一次引种之后不再需要外来引入活体, 可以减少外来病毒入侵概率。每层楼房包括配种舍、妊娠舍、保育舍、育肥舍、配种舍和妊娠舍位于楼层的一端, 保育舍、育肥舍则放置于相对的另一端。非特殊情况各楼层之间不进行猪只交换, 保持相互独立。上下层猪舍之间设有运猪电梯和赶猪通道, 运猪电梯为普通货梯, 赶猪通道为带有一定斜度的U形滑道或是螺旋滑道, 滑道两端分别连接到各层的横向通道, 相邻两个楼房之间可以通过横向通道和滑道连接, 运猪电梯安装在滑道内并与所述横向滑道相接。这样可提高通道利用率, 降低建筑成本, 减少电梯意外故障带来的损失。

3.5 废物流通系统

规模猪场环保压力大, 粪污处理费用成本高, 成为规模化养殖的难题。集约化养殖一般采用大量水源进行栏舍清洗, 使得猪舍变得潮湿, 空气质量下降等, 不利于猪的繁殖和生长, 加大了粪污后续的处理难度。楼房养殖模式, 利用其高度的优势, 为每层猪舍设计相对楼房地面有一定倾斜的排污沟道, 做到快速排污、干湿分离, 减少有害物质在场内的停留时间, 杜绝了由于粪污积累、发酵带来的环境控制和疾病防控的弊端。排出场外的粪污混合物可统一集中处理。通过预处理池、过滤池、发酵池和沉淀池处理后, 粪污中的固体物质可以用来作为有机肥回田利用, 保持生猪养殖生产的良性生态循环发展, 可以加快农业结构的优化, 液体部分可以用作发酵发电。

3.6 水源流通系统

水源是影响生物安全的重要因素之一, 却易被猪场忽略。多数猪场的水源来自附近的河流、地下水等, 多数情况下不能保证水质生物安全的达标。因此, 楼房养猪用水须采用集中消毒等措施处理, 并检测合格后方可使用。

4 小结

综上所述, 楼房养猪模式适于土地资源紧张、环保要求高、人力成本高的区域, 这些地方往往离城市近, 周边生猪需求量大, 如北上广深等中心城市。楼房养殖模式, 可有效解决这些区域的生猪供给问题。同时, 楼房养猪也适合旧猪场改造, 改造旧猪舍扩大产能, 解决因土地不足带来的发展制约问题。

任何一种养殖模式都不是万能的试金石,新模式为我们解决困难、走出困境,带来了新的曙光和机遇。面临土地稀缺、疫病防控、环境污染等问题,楼房养猪提供了新的应对方式,为养殖生产中诸多不可控因素提供了新的制胜机会。同时,新养殖模式需要新猪舍设计、生产管理、防疫制度等配套,在未来养殖业发展过程中,模式与技术要不断磨合、摸索和创新。现有的或计划开展楼房养猪项目的企业,应把生物安全防控放在第一位,设计符合疾病防控的猪场,以不交叉、小单元为设计原则和理念,做好消毒措施,控制流入管理,方能最大程度上发挥楼房养殖的优势,提高生产效益。

参考文献:

[1] 何葆祥,庄庆士,曹福池.关于楼房养猪的探讨[J].养猪,

1998(01):30.

- [2] 何葆祥,庄庆士,刘树祥,等.楼房养猪大有好处应予推广[J].黑龙江畜牧兽医,2001(10):911.
- [3] 徐子清,李国豪.湖北省规模化养猪与养猪产业化[J].湖北农业科学,1999(06):5962.
- [4] 王林云.节约资源和资源再利用是发展我国养猪业的长期战略[C].中国畜牧兽医学会,2005:6973.
- [5] 刘俊良,侯利利,覃锦华.楼房养猪模式成为解决疫病防控问题的新选择[J].国外畜牧学(猪与禽),2020,40(01):7475.
- [6] 广西杨翔股份有限公司.楼房养猪模式可有效阻断非洲猪瘟传播[J].中国猪业,2019,14(08):27.
- [7] 高顺,李英.楼房式猪舍建设与应用[J].现代畜牧兽医,2015(10):2324.
- [8] 本刊编辑部.“新冠”给未来中央空调系统及产品发展带来何种启示[J].机电信息,2020(10):1833.

上接第3页

术和成果,如基因组测定数据库、基因芯片等,为种业强国的建设做出更大贡献;五要加快公司种公猪站的布局和建设,主动承担国家区域性种公猪站的建设;六要进一步协助政府做好地方优良畜禽遗传资源的保护与开发利用。

同时,对农业农村部种业管理司有如下建议:①进一步重视培育温氏等大型育种企业和激励产学研合作机制的创新,持续推进类似温氏这样的大企业自主育种,支持大企业内部育种体系建设,鼓励科研院所的专业技术人才向育种企业进驻,大力发展区域性联合育种。②针对存在问题,参照农作物新品种审定和登记的方法尽快改革畜禽新品种配套系审定,试行登记、备案、审定相结合的品种管理制度。一方面对于大型育繁推一体化企业、国家核心育种场、国家级保种场,对其新育成的新品种(配套系)由企业自身的推广试验结果替代“由省级畜牧行政部门出具中间试验证明”,企业自身的测定结果替代指定测定中心的检测,通过制订品种标准,报省登记和部备案;另一方面,对原审定品种(配套系)经世代选育、性能有所改变成为新品种(配套系)的,修订更新《品种标准》,报省登记和部备案即可。个别重要品种,

确需由国家审定的,另行界定。这也符合近年国家一再强调“放管服”精神。③尽快出台对“两场一基地”(畜禽遗传资源保种场、国家生猪、肉鸡核心育种场、国家肉鸡良种扩繁基地)保护政策,如禁止在国家生猪核心育种场,国家级、省级保育场3公里范围内新建、扩建肉猪养殖场,已有肉猪养殖场限期搬迁。对获得国家生猪、肉鸡核心育种场企业给予一次性奖补,并对通过审定的每个育成新品种配套系给予适当奖补;对禁养区内确需关停搬迁的“两场一基地”,地方政府要安排用地支持异地重建。

4 小结

综上,通过对温氏深度调研发现,对全产业链企业的发展,其管理理念、育种、平台、技术、人才等要素发挥非常重要的作用,尤其种业在其中扮演的基础性、战略性地位角色,所产生的作用至关重要。

致谢:非常感谢种业管理司领导周云龙同志的命题,给我调研学习的机会。调研过程中得到温志芬、罗旭芳、陈峰、叶京华、吴珍芳、陈赞谋、蔡更元、季从亮、张细权、陈丽等的大力支持和帮助,特此致谢。

我国非洲猪瘟现状及防控措施

杨浩财, 王奥成, 张泓, 詹然, 张杨, 谢舜仟, 王健*

(中山大学农学院, 广东广州 510275)

摘要:非洲猪瘟疫情以来,生猪产业损失严重,波及食品加工等相关行业受损,对国民经济产生了严重的负面影响。本文对非洲猪瘟疫情的背景、国内疫情现状和有关疫情的防控措施进行综述。通过将目前国内的主要预防措施与巴西、西班牙等国家的成功防控经验相结合,笔者提出了严禁非法走私和调运、加强养殖人员培训、对养猪企业加大政策鼓励等防控建议。

关键词:非洲猪瘟; 疫情防控; 疫情预防

中图分类号:S851 **文献标识码:**B **文章编号:**1005-8567(2020)05-0014-04

1 非洲猪瘟的背景

非洲猪瘟(African Swine Fever, ASF)是由非洲猪瘟病毒(African swine fever virus, ASFV)引起的一种致命性出血热猪疾病,通常其典型症状为高热、呕吐、体形消瘦、站立不稳、猪表面皮肤或局部皮肤出现红色、紫色或蓝色等。根据病症的进程速度可分为急性,亚急性和慢性^[1]。

最早的非洲猪瘟疫情在1921年的时候由肯尼亚报道出来,但早在1909~1915年期间,东非爆发了一场由病毒引起的致命性猪疾病,当时人们普遍认为疣猪是主要的传染源^[2],然而后来的研究则表明:在疣猪巢穴内生长的一种软蜱携带的非洲猪瘟病毒的持续传播是疾病传播的原因,同时也表明了非洲猪瘟病毒是一种以虫媒介为传播途径的致命性病毒^[3]。在上世纪,主要是非洲国家受到非洲猪瘟的侵扰。一般来讲非洲猪瘟病毒是通过动物间的接触来进行传播的,但是它也可以通过受到病毒污染的猪肉制品的流通以及交易在国家间长距离传播。病毒根据温度的不同存活数个月到数年之久。1957~1960年,病毒先后两次从西非传播到葡萄牙,随后到伊比利亚半岛,该病毒在该半岛持续存在了30多年,继续先后间断地传播

到加勒比、巴西和欧洲的其他国家^[4]。直至1995年,随着西班牙政府对疫情采取了简单、有效的防控措施,非洲猪瘟疫情得以在西班牙暂时被消灭^[5],欧洲的非洲猪瘟疫情暂时得到了控制。然而,野猪作为非洲猪瘟病毒的携带者一直在欧洲各国间生存甚至迁徙,并且野猪的活动难以得到有效控制^[4],导致非洲猪瘟病毒从未被消灭。2018年8月,我国发生了第一起非洲猪瘟疫情,直接或间接地造成了我国数十亿元的经济损失,国内大量生猪和病猪被捕杀,给我国生猪养殖业造成巨大威胁^[6]。

虽然非洲猪瘟的疫苗研究工作不断取得进展,人们对非洲猪瘟病毒功能结构、入侵方式及宿主对非洲猪瘟病毒的免疫应答等方面的研究取得不少成果,但暂时依然没有非洲猪瘟有效疫苗。据报道,弱毒活疫苗是开发疫苗的首选种类^[6]。

2 国内非洲猪瘟现状

2.1 非洲猪瘟在国内的发生概况

我国首例非洲猪瘟疫情是于2018年8月,发生在辽宁省沈阳市。随后,第二起疫情发生在由黑龙江调运至河南郑州的生猪中。接着,江苏省连云港市、浙江省温州市都相继出现非洲猪瘟疫情。截止2019

收稿日期:2020-04-27

作者简介:杨浩财(2001-),男,中山大学农学院本科生。E-mail:yanghc5@mail2.sysu.edu.cn

通信作者:王健(1994-),男,中山大学农学院博士生。E-mail:wangjiancau@163.com

年1月8日,我国非洲猪瘟疫情达到了一百起,其中98起发生于家猪,2起发生于野猪,共涉及了23个省份72个市(区、盟)。在这些疫情中,共有超过85万头生猪被扑杀处理。在这些已经发生疫情的23个省份中,7个省疫情较轻,只发生1~2起疫情,其余16省均有多市发生了多起疫情;已发疫情的72个市(区、盟)中,57个疫情较轻,均只发生1起,而其余6个市疫情在3起或3起以上^[7]。

2019年全年共报告63起非洲猪瘟疫情,共扑杀生猪39万头,除4月份之外,其他11个月的疫情发生数均保持在个位数^[8]。截止2020年3月19日,我国今年共报告4起非洲猪瘟疫情,扑杀生猪324头,去年同期发生13起疫情,扑杀生猪19.7万头^[9]。总体来看,非洲猪瘟疫情发展势头明显减缓,生猪生产秩序在逐步恢复。非洲猪瘟疫情不仅对我国的生猪产业形成巨大冲击,其生产波动还通过产业链,影响到食品加工等行业^[10],最终对国民经济产生很大的负面影响。

2.2 非洲猪瘟对国内生猪产量的影响

非洲猪瘟具有极强的传染性,其病毒具有高度接触性,传染的范围很广^[11]。针对病猪尚无特效药,因此主要通过扑杀病猪的方式控制疾病传染,造成了生猪存栏量与猪肉产量的明显下降。根据农业农村部数据显示,自从2018年非洲猪瘟疫情爆发以来,全国31个省市均感染非洲猪瘟,疫情发生近180起,生猪扑杀的数量高达120万头。扑杀生猪不仅使本年度产量下降,能繁殖的存栏母猪数的下降,还降低未来一段时间的生猪产量。据农业农村部统计数据显示,截止2019年10月,我国可繁殖的母猪存栏量约为2070万头,比2018年同期下降了37.92%,造成生猪存栏量与猪肉产量的明显下降,短时间内难以恢复到非洲猪瘟爆发前的规模。

2.3 非洲猪瘟对国内经济的影响

由于人民消费习惯难以在短时间内改变,猪肉是我国人民生活的刚需,猪肉需求量变化不大,而产量急剧下降,造成供需矛盾较大,猪肉价格大幅上涨。

猪肉价格上涨带动以猪肉为原料的加工品价格的上升,通过价格传导拉动农副产品整体价格上涨,最终导致农产品及食品价格水平上升^[10]。

国家统计局数据表明,2019年1月至9月,CPI同比变化率与猪肉价格指数同比变化率成正相关。CPI的持续上升将加速提升我国的通货膨胀水平,对我国经济的平稳运行产生负面影响。

3 国内对非洲猪瘟的防控措施

面对我国出现的非洲猪瘟疫情,中央和地方制定了多项防控政策,主要包含以下几点^[12-14]:

3.1 起草并发布相关法案

生物安全法草案于2019年10月21日首次提请最高立法机关审议,聚焦生物安全领域主要问题,重点保护我国生物资源安全,促进和保障生物技术发展,防范和禁止利用生物及生物技术侵害国家安全。

3.2 控制非洲猪瘟传染源

规范国内生猪产地的管理。①加强生猪检疫关键环节,实现检疫全覆盖,规范相关程序,做到及时发现、及时控制、及时解决,严格控制检疫证明的开出;②加强生猪进出口管理;③加强进口生猪以及其他动物的检验检疫,加大检验力度,完善应急处理;④加强边境巡警,严打走私;⑤强化对野猪的监察,严防野猪对病情起到传播作用。

3.3 切断非洲猪瘟传播途径

加强运输环节管理。使用标准化车辆运输,完善车辆消毒设施,规划统一通道进行运输,对养殖猪每隔一段时间进行检疫,严格控制进出人员,完善管理体制,完善养殖设施,明确科学养殖方法。加强饲料来源管理。禁止直接用餐厨废弃物喂猪,落实餐厨废弃物管理责任,对餐厨废弃物进行集中收集、集中无害化处理。

3.4 加强加工环节的监管

对猪肉屠宰和猪肉加工环节进行严管,严格遵循法律标准,不接受没有通过检疫资格的来源地的猪,检测到不合格的猪,及时进行溯源清查。

3.5 加强人员管理

加强区域化管理,明确所属,明确相关环节责任,稳定基层结构队伍,严肃处理工作不力的人员,加强人员培养,积极宣传相关常识和国家政策^[13]。

3.6 加强基础防疫工作以增强生猪免疫力

①各地切实加强基础免疫工作,以提高生猪抵御重大动物疫病的能力。全面做好春秋病毒高

发季的免疫工作,一线防疫人员要经常深入到饲养场户检查指导自免工作,确保免疫质量和密度,免疫效果应达到应免免疫率、挂标率、填卡率、建档率四个100%^[14]。②全面做好疫苗管理与使用工作,严格执行疫苗运输技术要求、严格按照贮藏温度和分类摆放原则贮存疫苗、严格做好疫苗使用工作,确保免疫质量。③认真进行流行病学调查,要做到不断拓展覆盖面,增加流调频率,达到全面覆盖这一目标,以便及时掌握动物疫情流行趋势和估算动物疫病潜在风险,为科学预警提供更加准确详细的数据。④认真进行疫情排查,一线防控人员要严格采取滚动性拉网式排查形式,达到无死角全覆盖排查,并将排查结果及时上报,关键节点每日上报,密切关注疫情动态。⑤强化消毒措施,加大宣传和普及消毒的重大意义,提高养猪场户的消毒意识,规范消毒技术,不断完善饲养场户的生物安全防护措施,达到消毒的制度化、全面化、彻底化,彻底消灭病毒,防止疫情的发生。

4 国外对非洲猪瘟的防控措施

从非洲猪瘟在世界范围内几十年的流行情况来看,如西班牙、巴西等国家对于疾病的控制取得了很大的成效,基本根除了非洲猪瘟在该国的肆虐。1987年,非洲猪瘟在西班牙的部分地区出现,政府部门积极采取了有效防控措施,加强了对受感染省份的管理,出台了西班牙-葡萄牙法案,逐步控制了非洲猪瘟疫情。自1994年来,西班牙任何未再出现疫情^[15]。1995年12月,西班牙正式宣布在本国根除了该种疾病。巴西于1978年首次出现非洲猪瘟,经过六年的控制,于1983年正式宣布境内无疫^[16]。总结西班牙和巴西的成功经验,可以归纳出以下几点^[15-17]:

4.1 从国家层面统筹规划,制定了积极有效的管理办法

西班牙成立了移动兽医野战小组,专门用于指导该国非洲猪瘟的防控;同时构建了一个疾病控制和诊断网络,全面的把握该国的病情。对养殖人员进行动物卫生培训,提高民众对于动物卫生活动及动物卫生安全的认识。

4.2 控制非洲猪瘟传染源

全国范围内的养猪场百分之百进行血清学检

测。加强非洲猪瘟病毒检测技术研发,建立简单、快速、准确的诊断技术。建立参考实验室。扑杀感染非洲猪瘟的生猪,控制传染源。

4.3 切断非洲猪瘟病毒的传播途径

改进动物饲养措施。病毒肆虐,仍有不少地区保持着传统的养猪模式,比如放养、散养,甚至用残羹剩饭喂猪。巴西和西班牙出台相关措施,禁止使用残羹喂养生猪,改善了猪场对于生猪的饲养环境,防止疾病传播。

4.4 构建疫情通报系统

巴西国内建立了疫情通报系统,一旦出现疫情,立即上报到相关管控部门。加强了从业人员的培训,提高了农业科技人员、养猪者、政府管理部门的认知和参与度。

2007年,非洲猪瘟由格鲁吉亚传入俄罗斯。如今已过去了十余年,非洲猪瘟仍然在俄罗斯境内流行并且向周边扩散。俄罗斯治理失败的原因主要有:猪肉制品的非法运输,使用未经处理的残羹喂养生猪,自由放养的饲养模式,农场主的配合度低,未出台国家层面的有效的管控措施等^[18]。

5 未来国内非洲猪瘟防控的建议

①防止野猪与家猪直接接触,也要防止有可能存在可以携带病毒的蚊虫使二者间接接触。加强对野猪生存区域的检测巡查,特别是生存区域变化较大和生活环境较为恶劣的野猪,同时定时对各地域野猪进行抽样检测,避免野猪可能造成的跨地域传播。

②加大对检疫人员和兽医队伍培养的投入,对养殖场所工作人员进行专业培训,同时完善检疫人员调运程序。

③加快规模化养殖建设进程,将散养户吸纳入大规模养殖场、给予补助完善设施配备等。

④加大执法力度,严打非法调运和走私,同时要加强对养殖户的宣传教育 and 普及患病猪的无害化处理,并对产业链下游的屠宰和加工行业的原料来源进行严格审查。如下游行业检验到的不符合规定的猪肉,要进行溯源清查,铲除源头。

⑤加强政府对生猪养殖户的帮扶,鼓励各大银行出台相关政策加大对养猪企业资金支持。

参考文献:

- [1] 忻悦. 非洲猪瘟的症状及鉴别诊断[J]. 上海农业科技, 2019, (01):68-69.
- [2] Eustace M E. On a form of swine fever occurring in British East Africa (Kenya Colony) [J]. Journal of Comparative Pathology and Therapeutics, 1921, 34: 159-191.
- [3] PLOWRIGHT W, PARKER J, PEIRCE M A. African swine fever virus in ticks (Ornithodoros moubata, Murray) collected from animal burrows in Tanzania [J]. Nature, 1969, 221(5185): 1071-1073.
- [4] DOLORES G, KARL S, LINDA D. No hasty solutions for African swine fever [J]. Science, 2020, 367:622-624.
- [5] 戈胜强, 孙成友, 吴晓东, 等. 西班牙非洲猪瘟根除计划的经验与借鉴[J]. 中国兽医学报, 2016, 36(7):1256-1258.
- [6] 何洋, 康桦华, 冯锈华, 等. 非洲猪瘟疫苗研究进展[J]. 传染病信息, 2019, 32(1):76-80.
- [7] 李冰心, 李秀岭, 王艳, 等. 非洲猪瘟国内外流行情况与传播途径[J]. 中国畜禽种业, 2019, 04.
- [8] 农业农村部. 农业农村部就2019年12月份生猪生产形势有关情况举行新闻发布会. 2020-01-08.
- [9] 农业农村部. 国务院联防联控机制新闻发布会. 2020-03-19.
- [10] 胡浩, 戈阳. 非洲猪瘟疫情对我国生猪生产与市场的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(01):168-172.
- [11] 张元林. 非洲猪瘟的流行传播特点及防控策略[J]. 国外畜牧学(猪与禽), 2020, 40(01):50-51.
- [12] 王萍. 生物安全法草案首次提请全国人大常委会审议[J]. 中国人大, 2019, (23):52-53.
- [13] 国务院办公厅关于加强非洲猪瘟防控工作的意见[J]. 湖北畜牧兽医, 2019, 40(08):45-47.
- [14] 奚鹏达, 徐国学. 检疫、免疫是防控非洲猪瘟的重要环节[J]. 畜牧兽医科技信息, 2019, (11):18.
- [15] 王涛, 孙元, 罗玉子, 等. 非洲猪瘟防控及疫苗研发: 挑战与对策[J]. 生物工程学报, 2018, 34(12):1931-1942.
- [16] 戈胜强, 吴晓东, 李金明, 等. 巴西非洲猪瘟根除计划的经验与借鉴[J]. 中国兽医学报, 2017, 37(05):961-964.
- [17] ARIAS M, SANCHEZ - VIZCAINO J, MORILLA A, et al. African swine fever eradication: the Spanish model [J]. USA: Iowa State University Press, 2002: 133-139.
- [18] 戈胜强, 李金明, 任炜杰, 等. 非洲猪瘟在俄罗斯的流行与研究现状[J]. 微生物学通报, 2017, 44(12):3067-3076.

上接第6页

在使用价值, 为畜牧人才培养、科学研究、畜牧学科建设和社会服务等方面提供硬件基础。

参考文献:

- [1] 周颖, 田在宁, 陈凌懿. 生命科学学院公共实验平台建设的探索与实践[J]. 实验技术与管理, 2016, 33(1):236-238, 246.
- [2] 张锐, 陈彦军, 郑楠, 等. 高校大型仪器共享平台运行问题探讨[J]. 实验室研究与探索, 2016, 35(2):277-279.
- [3] 程敬丽, 楼建晴. 美国大学大型仪器设备共享的管理与启示[J]. 实验室研究与探索, 2013, 32(2):176-178, 207.
- [4] 周晓平, 冯宗财. 地方院校大型仪器管理及共享平台建设的思考[J]. 广东化工, 2015, 42(11):263, 268.
- [5] 黄开胜, 江永亨, 刘宇宏, 等. 高校实验技术队伍规模的影响因素分析[J]. 实验技术与管理, 2018, 35(2):1-5.
- [6] 魏冬梅. 加强大型仪器设备管理、提高教学科研水平[J]. 高校实验室工作研究, 2005, 4:64-66.
- [7] 刘洪波, 潘雁红, 杨萍, 等. 地方农林高校大型仪器使用效益提升策略研究[J]. 高校实验室工作研究, 2016, 2:154-156.
- [8] 任艳军, 薛艳茹. 教学型大学大型仪器使用现状与利用率分析[J]. 现代交际, 2012, 10:206-207.
- [9] 赵阳. 浅谈科研仪器使用率与效益的提高[J]. 实验室研究与探索, 2017, 36(3):291-294.
- [10] 杨威. 高校大型仪器设备的使用与管理探讨[J]. 实验技术与管理, 2013, 30(2):220-222.
- [11] 孟昭霞. 高校实验室创新管理[J]. 实验室研究与探索, 2013, 32(6):202-205.
- [12] 宋玉厚, 朱榜芹, 乔威, 等. 基于ERP管理思想, 构建大型仪器设备开放共享体系[J]. 现代教育技术, 2011, 21(3):149-151.
- [13] 宋晓平, 贾申利, 杨帅. 强化岗位管理, 建设高素质实验技术队伍[J]. 实验技术与管理, 2009, 26(12):1-3.
- [14] 王忠辉, 余凌竹. 加强大型仪器实验技术队伍建设[J]. 实验技术与管理, 2018, 35(1):259-261.
- [15] 杨兵. 大型仪器设备开放共享平台建设误区及对策[J]. 实验室研究与探索, 2011, 30(9):407-409, 413.
- [16] 陈敬德, 温光浩, 周海涛. 贵重仪器设备共享激励机制的系统构建与实践[J]. 实验技术与管理, 2010, 27(10):12-15.
- [17] 彭绍春, 张继霞, 史天贵. 大型贵重仪器设备开放共享平台的建设与管理[J]. 实验技术与管理, 2014, 31(3):210-213.
- [18] 王嘉滨. 浅谈实验室大型仪器的开放与共享[J]. 现代测量与实验室管理, 2013, 21(2):44-46.

浅谈牛运输应激的预防

熊连¹, 张建超¹, 彭禄庭¹, 韩奇鹏^{2*}

(1. 浏阳市农业农村局动物疫病预防控制中心, 湖南 浏阳 410300;

2. 湖南农业大学动物科学技术学院畜禽遗传改良湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410128)

摘要: 本文主要针对牛运输应激发病因素、临床症状、病理变化、微生物学检测、诊断和预防等相关内容进行阐述, 为减轻长途运输应激给牧场带来危害提供理论参考。

关键词: 牛; 运输应激; 预防

中图分类号: S851 **文献标识码:** C **文章编号:** 1005-8567(2020)05-0018-03

加拿大病理生物学家 Hans Selye 早在 1936 年提出应激学说, 其后被广泛研究。动物在运输中涉及环境变化、温度等环境因子, 恐惧、紧张等心里因素, 拥挤、驱赶等载运行为等多种应急因素共同产生的阙刺激作用于动物机体, 引发下丘脑和神经中枢的兴奋, 增强肾上腺皮质激素分泌功能, 引起生理形态、内分泌代谢和神经代谢等方面的变化。主要症状有猝死、精神亢奋、高热、免疫力低下、生长性能下降和肠胃不适等^[1]。

1 运输应激成因

牛在运输过程中多种因素会产生应激, 笔者结合生产实际分析如下。

①禁食禁水。饥渴是长途运输应激的主要原因之一。通常为方便实际运输, 条件有限或管理不当, 一般采用长时间禁水、禁食, 导致机体处于长时间处于缺水状态, 消化液分泌减少, 酸碱平衡紊乱, 代谢产物无法顺畅排出, 营养物质摄入被抑制, 进而出现代谢性酸中毒、高渗性脱水等症状。如果车船内湿度、温度过高, 机体不断排汗, 易出现脱水现象。

②高密度装载。装在密度过高, 导致牛心理产生压抑感, 进而产生应激反应。一般表现为机体疲乏, 出现踩踏现象, 如果运输时间超过 12 h, 更易发生上述状况。随着运输时间的增加, 少数

牛只会出现腹围缩小或趴卧现象, 致使空间增大, 降低拥挤程度。但空间增大, 会导致牛只频繁移动和趴卧, 容易失去平衡, 若地板光滑, 有可能导致牛趴卧后再不能站立起来。

③不当的装卸方式。装卸中的坡道地板、角度、高度及狭窄坡道的拥挤会导致牛只产生恐惧心理, 进而出现复合应激反应。此外, 肉牛运输过程中, 一般采用鞭打、拉拽、轰赶等方法进行牛只转运, 无专用的坡道装置或上下坡道, 易产生应激反应^[2]。

④高温。由于牛瘤胃发酵会产生大量的热量, 可有效御寒, 但牛汗腺不发达, 高温较低温对牛只伤害更大。高密度运输, 相互拥挤, 导致环境温度升高, 牛只体内产生的热量无法散发。尤其, 夏季运输时, 中途停车会造成温度升高明显, 可导致全身血液循环衰竭、脱水、肺水肿、心力衰竭、肺淤血等症状, 如果未及时处理, 将致牛死亡。

2 运输应激临床症状

运输应激临床症状一般表现为精神兴奋或沉郁, 体温升高到 41~42℃, 皮肤表面有烫感, 鼻镜干裂, 鼻内有粘性或脓性液体流出; 呼吸困难, 呈现腹式呼吸, 频繁咳嗽, 严重者会窒息而死; 关节肿大, 行动迟缓、跛行, 严重者趴卧不起; 食欲不振或拒绝饮食, 胃肠道出现前胃迟缓、胃肠炎、瓣胃

收稿日期: 2020-08-07

作者简介: 熊连(1973-), 男, 湖南浏阳市人, 兽医师, 主要从事动物疫病防控、畜牧业生产发展、监督管理工作。E-mail: 895107082@qq.com

*通讯作者: 韩奇鹏(1988-), 男, 湖南长沙人, 硕士, 主要从事动物营养与疫病防控、畜牧业生产发展、监督管理工作。E-mail: 1724346931@qq.com

阻塞、瘤胃鼓气等相似症状;死亡表现为猝死,一般运输2~4h会出现晕厥现象,倒下全身发抖,不能站立,驱赶不动,10分钟内死去;胸膜摩擦音,肺部听诊有湿性罗音,胸部叩诊疼痛^[2-4]。

3 病理变化

腹部呈现暗红色,肝状硬化,切面干燥呈现颗粒状,小叶切面间质变宽、水中,入水下沉;脾脏肿大、质地变软呈现暗红色;气管粘膜充血肿大,气管内有泡沫状粘液,纵隔淋巴结和支气管肿大出血;肝脏、肾脏、心脏颜色变淡、肿胀。经过HE染色,镜下观察,脾脏淋巴组织坏死、出血;肺泡内充满浆液,肺泡壁充血,肺泡腔狭窄,肺泡内巨噬细胞、淋巴细胞浸润增生;肺支气管腔有黏液,大量的嗜中性粒白细胞、上皮细胞、红细胞脱落构成炎性物质;肝脏内出现脂肪变性和细胞空泡;心肌纤维颗粒变性;髓窦有许多嗜中性粒白细胞浸润,浆液渗出^[5]。

4 微生物学检测

经过无菌处理后,肝脏、脾脏、肺脏和肠系膜淋巴结等组织鉴定,发现脾脏、肝脏、肠系膜淋巴结中分离出大肠杆菌,而肺脏中分离出支原体。对大肠杆菌、支原体进行药敏试验发现,头孢噻肟、硫酸粘杆菌素比头孢噻唑钠、卡那霉素对大肠杆菌的抑制效果较好,多西环素、替米考星、氟苯尼考、氧氟沙星等药物可有效抑制支原体^[6]。

5 诊断

根据临床症状、体温和鼻液及发病史,解剖,采用病理检测和微生物检测技术进行运输应激疾病诊断。微生物检测发现,运输应激起初是支原体引起,大肠杆菌再激发引起运输综合症^[6]。

6 运输应激的预防

运输是动物交易、贸易的重要环节,如何减少运输途中动物染病或死亡率,是降低养殖成本,增加牧场经济效益的较为关注的问题。减少运输应激可有效缓解动物由于长途运输带来的身体、生理、精神等方面的不适,进而降低运输应激的病死率。

6.1 运输季节、时间的选择

牛只长途运输一般选择在气候温和、昼夜温差

不大、空气湿度和日照长度适中的春、秋两季。冬季北方比较寒冷,容易产生冰雪封路的情况,且路况复杂,运输途中危险性较大,且供热条件不充足,工作环境较为恶劣,不便长途运输。夏季温度较高,牛只在拥挤、闷热的环境下,易产生应激综合症。短途运输,最好选择在白天,夜间尽量保证牛只稳定睡眠。需在购买地逐步改变饲养习惯,以适应不同的饲养模式,一般适应饲养时间为15~20天。

6.2 消毒与免疫

采用氧化钙混合物、苯扎溴铵溴化二甲基苄基羟铵或三氯异氰尿酸(Trichloroisocyanuric acid)对饲料、器械、养殖场、运输车辆等进行消毒杀菌,再铺几层无水无菌处理过的秸秆防滑^[7]。牛只进行一周的适应饲养,再进行规范化程序免疫。一旦发现疫病,隔离治疗,经过30天左右的日常观察,及时淘汰没有继续饲养价值的牛只^[8,9]。

6.3 装车注意事项

运输车辆需提前进行消毒处理,铺上干净卫生的秸秆或稻草。牛只饲喂优质牧草达六成饱,保证充足饮水,水中可加入葡萄糖和盐,温水较好。长距离运输还需准备饲草或饲料、镇静剂及应急物品^[10]。

装车时极易产生应激综合症,需保持牛只镇定,切忌殴打、暴力捕捉,对焦躁的牛只需耐心引导,保证装车过程顺畅^[7]。控制装车数量,以牛大小的1.3倍密度为宜,限制牛活动范围的同时,避免过于拥挤,还应减轻车量震荡和颠簸,进而减少牛只之间的相互碰撞,尽量不用双层运输,为限制牛的活动,需用长度以不让牛卧下为标准的绳索系在车厢上^[8]。

6.4 运输途中护理

车辆不要提速过快,车速需控制再60 km/h左右,避免急刹、急停、急转弯,以免发生车辆侧翻。为保证车厢内风速控制在3 m/s之内,车辆需设置挡风篷,特别是前部^[1]。跟车人员需了解牛的习惯,最好有相关兽医工作人员陪同,操作适度,肢体语言温和,24 h轮班不间断看护,崎岖的山路和上下高速路口的螺旋道时注意牛只情况,每天至少7~8次停车检查,记录牛只身体机能各项指标。发现跌倒牛只,尽快扶起,避免踩踏^[9]。车辆行驶途中避免与其他车辆接触或屠宰交易,防止牛只受惊。

6.5 目的地入场注意事项

6.5.1 登记

到达目的地后,需要进行车辆和牛只彻底消毒入场。牛只卸载时不可暴力驱赶,工作人员操作温和,不可大声喊叫,禁止殴打、驱赶、拽拉等。对新到的牛只进行称重和打耳标,并记录存档。入场牛只需进行严格健康检查,发现患有急性或隐性疾病的病牛,登记,及时隔离治疗。牛入圈后,需对牛只、水槽、饲槽、圈舍进行彻底消毒处理;并对圈号、头数、耳号、产地、年龄、检疫证号、特征等相关信息进行登记存档。

6.5.2 饮水

牛只下车后,空腹1 h开始饮用添加300~400 g麸皮、10~20 g电解多维的引用水,水中还需添加维生素C或口服补液盐等抗应激的药物(葡萄糖和口服补液盐、电解质多维、维生素C等抗应激药物),有利于牛只恢复体能,为避免过量饮用,牛只喝半饱为宜。夏季一般提供饮用水两次,第二次饮水中需添加人工盐,这种给水方式一直连续3 d。3 d后,如果粪便变得稀软,需停止应用人工盐和麸皮水,电解多维等抗应激药物可以适当延长添加饮用^[9]。

6.5.3 饲喂

对刚入场的牛只进行合理饲养,长时间饥饿后,牛只容易暴饮暴食,需要控制饮水,也即是饲料,前期给一些割碎的干草,吃完后3~4 h再添加一次,根据牛只体重添加1.5~2.0 Kg精饲料,过渡一周后,可以慢慢恢复正常饮食。刚断奶的犊牛或体制较差的牛只需额外添加1Kg的犊牛颗粒料,帮助恢复体能,第二天开始加量,逐步增加到正常水平,采用少食多餐的饲养方式。牛只粪便不正常或精神状态不好,需要延长干草的饲喂时间,好转后再慢慢换料,切记突然换料。一周后干草等粗饲料可完全转换成当地牧场的饲料,有条件的牧场,可采用全混合日粮进行饲喂。牛只完全适应后,停止隔离。

6.5.4 驱虫

此外,需对牛只体表和肠胃驱虫。牛只入场1周后进行体表驱虫,采用皮下注射伊维菌素等驱疥螨体癣的药物,1个月后重复一次。牛只到场3 d进行肠胃驱虫,饲喂阿笨达唑和丁片等肠胃驱

虫药物粉状物和精饲料混合饲喂,最好是早晨空腹时撒料到槽中,对于散养的牛只需要逐头灌喂,1个月后,再驱虫1次^[8]。

6.5.5 疾病防治

牛只隔离观察半个月至一个月,饮水、采食恢复正常。携带隐性疾病的牛只需要着重观察,早发现早治疗,对环境湿度、空气质量和病毒指标进行定时检测,隔离期间心率、体温和呼吸率需要4 h监测一次,对睡眠情况、体液平衡等情况进行实时检测,检查胸腔心肺活动和关节是否出现积液。牛只健康,临床检测指标达标,可按牧场实际情况进行分栏饲养。

7 小结

运输应激一直是困扰养牛业的问题,减少运输应激的危害,不仅提高动物福利,提高牧场生产效率,还可间接促进南北牛只杂交优势及全国养牛技术交流,对我国养牛业可持续发展起到积极的作用。因此,预防运输应激是一项具有实际意义的研究。但运输应激病因复杂,临床症状较多,运输过程中每个环节都可能引起运输应激,需要进行系统性防控,继而降低运输应激带来的风险。

参考文献:

- [1] 张伟,胡莉萍,孙艳.家畜在转场运输的应激情况概述[J].畜牧兽医科技信息,2018,22(05):18-22.
- [2] 吴晓霞.肉牛运输应激综合症的发病因素、临床表现及其防治[J].现代畜牧科技,2019,14(05):117-118.
- [3] 许殿洪.肉牛运输应激的影响因素、临床症状和防治措施[J].现代畜牧科技,2017,23(03):127-129.
- [4] 李慧梅,蔡峰山,许奎.一起牛运输热的诊断与防治[J].中国牛业科学,2014,40(05):91-92.
- [5] 岳瑞超,程子龙,薛仲行.对一例疑似肉牛运输热的诊断[J].中国动物检疫,2014,31(11):60-62+68.
- [6] 张娜.肉牛运输应激综合症的诊治[J].兽医临床科学,2018,1(02):139.
- [7] 张方武.牛运输应激综合症的防控[J].疾病控制,2017,10(01):79-82.
- [8] 陈为峰.肉牛长途运输的饲养管理和预防技术要点分析[J].中国动物保健,2018,20(10):41-43.
- [9] 左秀丽,左秀峰.肉牛长途运输应激综合症的预防管理技术[J].山东畜牧兽医,2019,40(02):27-28.
- [10] 蔡有兰.牛长途运输应激的综合预防措施[J].贵州畜牧兽医,2014,38(02):53-54.

珠三角地区规模化养鸡场 产气荚膜梭菌分子流行病学调查研究

陈祥杰^{1,4#}, 古红霞^{2#}, 袁伟康¹, 廖申权¹, 吕敏娜¹, 吴彩艳¹, 秦俊杰³, 王秀敏³, 李娟¹,
蔡海明¹, 林栩慧¹, 胡俊菁¹, 于林增¹, 肖文婉¹, 张健骅¹, 戚南山^{1*}, 孙铭飞^{*}

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

2. 东莞市大朗镇农业技术服务中心, 广东 东莞 523780;

3. 北京生泰尔科技股份有限公司, 北京市中兽药工程技术研究中心, 北京 102600;

4. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528231)

摘要:鸡坏死性肠炎是由产气荚膜梭菌引起的一种严重危害养鸡业发展的肠道细菌病。为明确珠三角地区鸡群中产气荚膜梭菌的流行情况及其对当地养鸡业可能带来的危害, 本研究在珠三角地区10个规模化养鸡场100栋鸡舍, 共采集2500份粪便样品, 分别将每栋鸡舍25份粪样混为1份样品提取核酸, 针对产气荚膜梭菌 α 毒素(CP α)编码基因 cpa 及7种毒素型的特异性毒素基因分别进行荧光定量PCR(Real-time PCR)检测。结果显示: 在珠三角地区所采集的粪样中, 共检测出 α 毒素阳性样品35份, 占总样品的35%, 阳性检出率35%。对 α 毒素阳性样品进行其他毒素基因的Real-time PCR检测, 结果均为阴性, 说明所检测35份阳性样品均为A型产气荚膜梭菌。结果表明珠三角地区养鸡场广泛流行A型产气荚膜梭菌, 感染率为35%。本论文研究结果为珠三角地区鸡群中A型产气荚膜梭菌的流行规律研究及防控提供临床数据。

关键词:珠三角地区; 坏死性肠炎; 产气荚膜梭菌; 分子流行病学

中图分类号:S851.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0021-04

产气荚膜梭菌(*Clostridium perfringens*, CP)是一种有荚膜的革兰氏阳性、兼性厌氧菌^[1], 最佳生长温度为42~50℃。其芽孢位于菌体中央或近端, 抵抗力强, 可在外界环境中长期存活^[2]。该菌可产生 α 、 β 、 γ 、 δ 和 ϵ 等17种细胞毒素^[3], 并引起动物或人的发病, 甚至死亡。根据产生的毒素种类和致病性的不同, 将产气荚膜梭菌分为A、B、C、D、E、F、G七个型。

产气荚膜梭菌广泛分布于自然环境、人以及动物肠道, 属于条件性致病菌^[4]。该菌对健康的肠道黏膜不具有侵袭性和粘附性, 但由于大量使用抗生素、不合理的饲养管理等干扰因素, 打破动物肠道内正常菌群的平衡, 从而使产气荚膜梭菌在动物肠道中得以大量繁殖并产生不同组合的致病毒素, 从而导致动物发生出血性肠炎和梭菌性肠毒血症。随着集约化养鸡业的发展, 鸡坏死性肠炎

收稿日期:2020-07-06

基金项目:国家重点研发计划资助项目(2016YFD0501303);国家自然科学基金项目(31872460);省乡村振兴战略专项(201817SY0003);广东省重点领域研究计划项目(2019B020218004);广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金(2019KJ119);广州市科技计划项目(201807010060);佛山市科技创新项目(2020001000151);广东省农业科学院寄生物学团队建设项目(201623TD)

#表示共同第一作者

作者简介:陈祥杰(1997-), 男(汉族), 广东广州人, 学士, 主要从事预防兽医学研究。

古红霞(1972-), 女(汉族), 广东梅县人, 兽医师, 硕士, 主要研究方向为动物防疫检疫, 农产品质量安全监督等。

*通讯作者:戚南山, 副研究员, E-mail: nanshanqi@163.com;孙铭飞, 研究员, E-mail: smf7810@126.com

的发病率不断升高,严重影响国内养鸡业的发展。

在珠三角地区有关鸡产气荚膜梭菌的流行情况和毒力特性方面缺乏数据和系统研究。因此,本研究通过对珠三角地区规模化养鸡场进行产气荚膜梭菌分子流行病学调查,摸清该地区鸡产气荚膜梭菌的感染情况,对分离出来的产气荚膜梭菌进行毒素分型,进而为珠三角地区流行病学研究补充数据,为制定相应的预防措施奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试剂耗材

本试验所用试剂如表1所示。

表1 试剂耗材

试剂名称	生产厂家
D-环丝氨酸	广东环凯微生物科技有限公司
2.5 L厌氧产气袋	三菱日本株式会社生产
MagaBio Fecal pathogens DNA/RNA Purification Kit	杭州博日科技有限公司
无核酸酶水	广州展晨生物科技有限公司
酒精	广州化学试剂厂
TB GREEN Premix EX Taq (Tli RNaseH Plus)	宝生物工程(大连)有限公司
脱水牛肉粒	广东环凯微生物科技有限公司
D4015 Stool DNA Kit	OMEGA公司

1.2 试验所用引物序列

试验所用引物序列及预测目的片段大小如表2所示。*cpa*、*cpb*、*etx*、*itx*、*cpe*、*netB*和*tpeL*等基因的引

表2 引物序列

基因	上游引物	下游引物	目的片段大小
<i>cpa</i>	GATGGAAAAATTG ATGGAAC	CATGCATGTTCTCT TTTAAAAT	136 bp
<i>cpb</i>	TATTCCATAAAAAATA CAATTTCTCA	CTGTAAAATTTTGTA TCCCATGA	212 bp
<i>etx</i>	TTAGTTTATCGGAT ACAGTAAAT	ATAATCTTATTTTA TTCCTGGTG	242 bp
<i>itx</i>	CTAGCCCCAAATTCT ATATTTTGTGA	GTTGGTAAAAGAT GTGTTTTAATAG	222 bp
<i>cpe</i>	GATAGCTTAGGAA ATATTGATCAAG	GTAAATTAAGCTT TTGAGTCCA	217 bp
<i>netB</i>	TGAGACTAAGGAC GGTTATAATA	TTGATATTCAACTA TTATTACAGAT	214 bp
<i>tpeL</i>	GCGATTATGAAACT ATTATATGGTA	TAACCTCCATTCTT TCTCTATA	168 bp

物序列均由广东省农业科学院动物卫生研究所寄生生物学研究室设计提供。

1.3 培养基

本试验所用培养基如表3所示。

表3 试验所用培养基

培养基	生产公司
液体硫乙醇酸盐培养基(Fluid Thioglycollate Medium, FT)	广东环凯微生物科技有限公司
胰酪-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂培养基(Tryptose Sulfite Cycloserine Agar Base, TSC)	广东环凯微生物科技有限公司
熟肉培养基(Cooked meat medium)	广东环凯微生物科技有限公司

1.4 试验方法

1.4.1 样品采集和处理

在珠三角地区10个规模化养鸡场随机采集2500份粪便样品(记录采集粪样的基本信息,包括时间、肉鸡品种,日龄等),其中每场选择10栋鸡舍,每栋鸡舍随机采集25份新鲜粪样,每栋鸡舍内25份样品混为1个样品并保存至2~8℃冰箱,备用。

1.4.2 鸡粪便产气荚膜梭菌的分离鉴定

1.4.2.1 粪便核酸提取

参照MagaBio Fecal pathogens DNA/RNA Purification Kit试剂盒说明书,使用全自动核酸提取仪提取样品核酸。

1.4.2.2 Real-time PCR检测*cpa*基因

以1.4.2.1制备的粪便核酸为模板,采用表2所设计引物序列建立Real-time PCR反应体系,详见表4。

表4 Real-time PCR反应体系

试剂	体积(μL)
TB GREEN Premix EX Taq	10
PCR-F(终浓度:0.5 μM)	1
PCR-R(终浓度:0.5 μM)	1
模板	1
dd H ₂ O	7
总体系	20

将得到的Real-time PCR体系充分震荡混匀后,瞬时离心,放入实时荧光PCR仪中,进行*cpa*毒素基因的Real-time PCR检测。反应程序为:预热95℃30s;变性95℃15s;退火和延伸60℃

30 s; 熔解 95 °C 10 s, 65 °C 5 s, 35 个循环。根据 *cpa* 毒素基因 Real-time PCR 产物的参考熔解温度, 分析检测结果的扩增曲线和熔解曲线, 判断产物是否为阳性样品。

1.4.2.3 产气荚膜梭菌的分离培养

称取 0.25 ~ 0.3 g 脱水牛肉粒, 放入经高压灭菌的玻璃试管, 每管加入 6 ~ 8 mL 熟肉培养基, 进行高压灭菌处理; 在超净工作台中, 用接种环挑取 1.4.2.2 中结果为 *cpa* 阳性的粪样样品, 种于熟肉培养基, 在厌氧培养罐中 37 °C 培养 18 ~ 24 h; 在超净工作台中蘸取培养后的液体并接种于 TSC 培养基, 放置于厌氧培养罐中 35 °C 培养 24 h; 观察培养皿, 挑取 TSC 培养基上的黑色菌落, 至经高压灭菌处理后的 FT 液体培养基中, 放在台式全温振荡器中 42 °C、振荡频率 80 rpm 培养。

1.4.2.4 革兰氏染色

从 1.4.2.3 中每个长出黑色菌落的 TSC 培养基中挑选 1 个黑色的菌落用接种环把黑色菌落涂抹在载玻片上, 加一滴经过高压蒸汽灭菌后的水, 酒精灯下烤干, 进行革兰氏染色, 在油镜下观察细菌形态。

1.4.2.5 产气荚膜梭菌毒素基因型的检测

以 1.4.2.3 中的菌液作为模板进行菌液 Real-time PCR, 对所有 *cpa* 阳性样品进行 *cpb*、*etx*、*itx*、*cpe*、*netB* 和 *tpeL* 毒素基因检测。根据检测所得的熔解曲线以及表 5 中各毒素基因的熔解温度判断最终的定型结果。

表 5 各毒素基因 Real-time PCR 产物熔解温度

毒素基因类型	<i>cpa</i>	<i>cpb</i>	<i>cpe</i>	<i>etx</i>	<i>netB</i>	<i>tpeL</i>
T _m 值(°C)	77.5	77.5	74.5	76.5	73.5	74

2 结果

2.1 鸡粪便中产气荚膜梭菌 *cpa* 毒素基因的检测

对珠三角地区的 100 份粪便核酸样品进行 *cpa* 毒素基因的荧光定量 PCR 检测。所得扩增曲线和熔解曲线分别如图 1、2、3、4 所示。

结果显示, 100 份粪样样品中有 35 份 *cpa* 阳性样品, *cpa* 阳性率为 35%; 各养鸡场的产气荚膜梭菌 *cpa* 阳性检出率如表 6 所示。

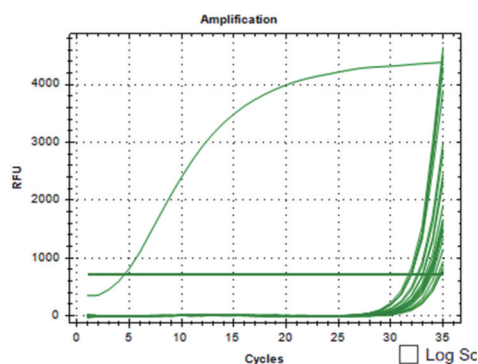


图 1 1~50 号样品的 Real-time PCR 扩增曲线

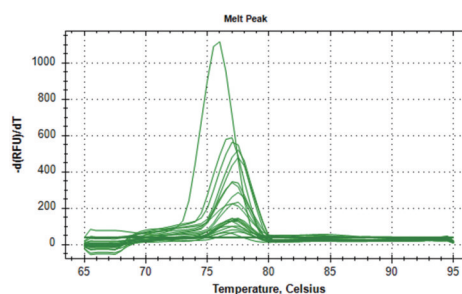


图 2 1~50 号样品的 Real-time PCR 熔解曲线

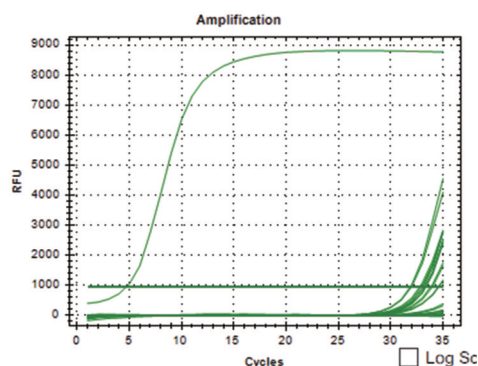


图 3 51-100 号样品的 Real-time PCR 扩增曲线

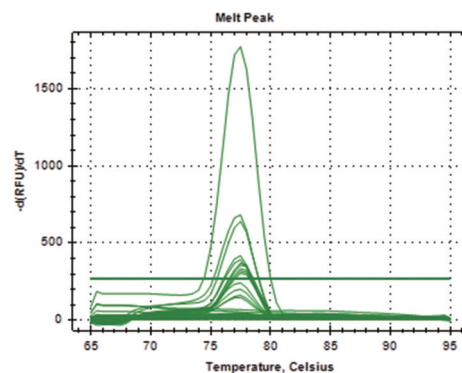


图 4 51-100 号样品的 Real-time PCR 熔解曲线

表6 珠三角地区各养鸡场产气荚膜梭菌 *cpa* 阳性检出率

鸡场序号	粪便数	核酸数	<i>cpa</i> 阳性数	<i>cpa</i> 阳性检出率(%)
1	250	10	3	30
2	250	10	2	20
3	250	10	4	40
4	250	10	3	30
5	250	10	6	60
6	250	10	6	60
7	250	10	2	20
8	250	10	2	20
9	250	10	4	40
10	250	10	3	30
总计	2500	100	35	35

2.2 产气荚膜梭菌的分离培养结果

TSC培养基含有的亚硫酸盐可与产气荚膜梭菌反应合成硫化物,而硫化物与铁形成的硫化铁使在培养基中形成鲜明且特异的黑色菌落。将35份 *cpa* 阳性样品的粪样经肉汤培养,接种在TSC培养基上划线厌氧培养后,35块TSC培养基上均出现黑色菌落。如图5所示。

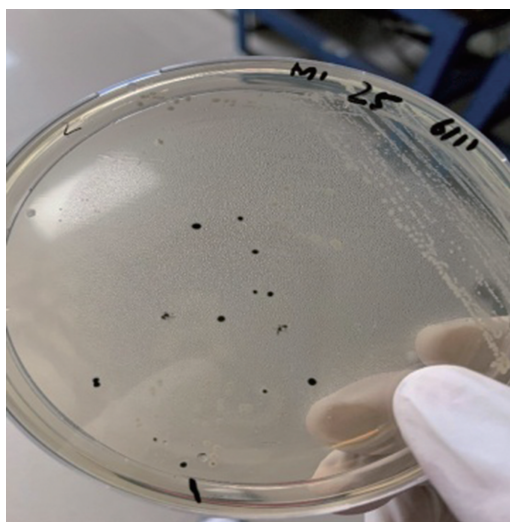


图5 产气荚膜梭菌分离培养

2.3 产气荚膜梭菌的革兰氏染色镜检结果

挑取2.2中35块TSC培养基上的黑色菌落,取部分样品进行革兰氏染色,结果显示所分菌形态为粗短、杆状、两端钝圆,染色后均呈紫色,提示35份样品所分离菌均为革兰氏阳性菌,见图6。

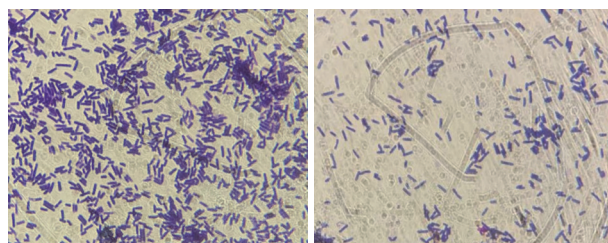


图6 产气荚膜梭菌革兰氏染色图(1000×)

2.4 产气荚膜梭菌毒素型鉴定结果

对珠三角地区的35份 *cpa* 阳性样品进行 *cpb*、*etx*、*itx*、*cpe*、*netB* 和 *tpeL* 毒素基因进行 Real-time PCR 检测,根据不同毒素基因型在 Real-time PCR 中熔解温度 T_m 值不同,分析得出最终定型结果。对35份 *cpa* 阳性样品进行 Real-time PCR 检测 *cpb*、*etx*、*itx*、*cpe*、*netB* 和 *tpeL* 毒素基因,结果均为阴性。

3 讨论

产气荚膜梭菌是引起各种动物坏死性肠炎、肠毒血症和人创伤性气性坏疽的主要病原菌之一。鸡感染该病原菌后,发生坏死性肠炎,危害鸡群健康,并给养鸡业带来严重经济损失。

多年来,α毒素被认为是产气荚膜梭菌引起鸡坏死性肠炎的主要致病因素。然而,Keyburn等利用基因敲除突变体证明,α毒素不是必不可少的致病因素^[5]。与此同时,他们还发现了一种新型毒素基因 *netB*,当携带有 *netB* 基因的产气荚膜梭菌被敲除该基因后就失去了致病能力,而补充野生型 *netB* 基因后又恢复了致病能力,因此推断产气荚膜梭菌分泌的毒素 *netB* 是鸡坏死性肠炎发病机制中的关键毒力因子结论。马壮研究了广州市冷鲜鸡产气荚膜梭菌的污染,结果表明从冷鲜鸡分离的产气荚膜梭菌均为A型,没有检测出 *netB* 阳性^[4]。吴彩艳等研究华南地区鸡坏死性肠炎中 *netB* 基因的流行率为33.33%,在健康鸡群中 *netB* 基因的流行率为12.5%^[6]。国内关于产气荚膜梭菌 *netB* 阳性基因菌株引起鸡的坏死性肠炎的研究报道不多, *netB* 阳性菌株是否能导致鸡的坏死性肠炎还有待进一步验证。本次试验对珠三角地区部分规模化养鸡场产气荚膜梭菌的流行病学调查发现,部分鸡场产气荚膜梭菌的感染率高达60%,最低20%,大部分鸡场受该菌的感染率为20%~40%。

聊城市牛羊布鲁氏菌病监测与防控措施

王宝菊¹, 王芸², 刘承军²

(1. 聊城市动物疫病预防与控制中心, 山东 聊城 252000;

2. 聊城市畜牧兽医技术服务中心, 山东 聊城 252000)

摘要:为了解山东省聊城市动物布鲁氏菌病的感染情况, 2014年至2019年采用琥红平板凝集试验和试管凝集试验对全市牛、羊抽样进行布鲁氏菌病抗体监测。检测牛羊场点共1238个, 93144份血清样品, 检出阳性145份, 个体阳性率0.15%, 群体阳性率0.24%, 检出阳性样品全部为羊。笔者针对调查发现的问题, 给养殖场提出布鲁氏菌病防控的措施。

关键词:布鲁氏菌病; 感染情况; 抗体监测; 防控措施

中图分类号:S851.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0025-04

布鲁氏菌病(brucellosis, 简称布病), 也称波状热, 是由布鲁氏菌引起的一种广泛分布于世界各地的人畜共患传染病, 给人类健康和畜牧业带来严重影响, 被世界动物卫生组织(OIE)定位为B类人畜共患和传染的疾病, 我国将其列为乙类传染病^[1]。动物患病后主要侵害生殖器官、淋巴系统, 导致母畜流产、久配不孕、子宫内膜炎, 公畜则发生睾丸炎, 造成无精症从而影响生殖能力; 奶牛感染后不仅影响繁殖, 而且产奶量也明显下降。人感染后主要表现为多汗、弛张热、关节痛、全身困倦、乏力、头晕, 病程较长, 并易复发, 同时可引起血液系统的改变, 对肝脏也有一定的损害, 严重者可使妇女无法怀孕或发生死胎及早产、流产等, 对男性则造成不育, 少精或无精, 性功能低下等症状, 严重影响工作及生活能力, 该病病情顽固且难治愈, 高达11%的患者转为慢性, 终身带病^[2-4]。

羊为主要传染源, 其次为牛和猪。这些家畜患病后, 早期往往导致流产或死胎, 其阴道分泌物特别具传染性, 其皮毛、各脏器、胎盘、羊水、胎畜、乳汁、尿液也常染菌。阴道分泌物、乳汁及感染的公畜精液染菌、排菌可达三年^[5-6]。

之前布病患者主要集中在与牛羊养殖、屠宰、加工密切联系的人群中, 具有明显的职业性, 感染

途径为养殖者徒手接羔、兽医接触患病动物、剥牛羊皮、剪打羊毛、挤乳、屠宰病畜等。近几年发现, 一些没有接触过牛羊人群患布病, 调查发现多与进食染菌的生乳、乳制品和未煮沸病畜肉类有关。

1952~1981年, 我国动物布病阳性检出率高达41.27%, 1982~1998年, 动物布病得到有效而显著的控制^[7]。但2000年以来, 全国兽医部门检测数据显示, 牲畜布病阳性数量逐年增加。2001~2004年, 每年有24~28个省份牲畜检出布病阳性, 平均阳性率0.4%, 局部地区阳性率甚至超过5%。2005年, 全国共报告畜间布病疫点351个, 发病牲畜共计7768头; 2006年全国共报告畜间布病疫点1178个, 发病动物共计7123只^[8]。2009年动物布病发病数比2008年增加了49.12%。奶牛、羊主产区布病疫情严重, 而且疫情呈现出从牧区、半牧区向农区甚至城市蔓延的趋势, 部分地区奶牛布病疫情上升较快, 有些无疫病地区也出现了疫情^[9]。

了解掌握聊城市动物布病流行情况, 为下一步布病防控提供可行有效措施。从2014~2019年笔者持续对聊城市牛羊采集血清进行布病检测, 并针对存在的问题提出加强防控的措施。

收稿日期: 2020-01-07

作者简介: 王宝菊(1987-), 女, 山东聊城人, 大学本科, 助理兽医师, 主要从事动物疫病监测与流行病学调查研究。E-mail: wangbaojuvet@163.com

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 器材

移液器, 吸头, 计时器, 平板, 玻璃试管, 试管架, 恒温箱。

1.1.2 试剂

布鲁氏菌琥红平板凝集试验抗原(哈尔滨兽医研究所201401、201501、201701、201712;青岛易邦生物科技有限公司160010601、170010601、170010801、180010601、190010601), 布鲁氏菌标准阳性血清(哈尔滨兽医研究所201402、201502;青岛易邦生物科技有限公司20160503、20170503、20180503、20190503), 阴性血清(哈尔滨兽医研究所201404、201504;青岛易邦生物科技有限公司20160604、20170604、20180604、20190604), 布鲁氏菌试管凝集试验抗原(哈尔滨兽医研究所201403、201503、201603、201703、201803、201903), 0.5%石碳酸的生理盐水。

1.1.3 样品

2014~2019年采集的牛羊血清93144份

1.2 方法

2018年9月1日之前检测按照GB/T18646—2002, 之后按照GB/T18646—2018规定的技术规范 and 程序、判定标准进行操作, 先用琥红平板凝集试验进行初筛, 初筛结果阳性的用试管凝集试验进行确诊。

2 结果

2014~2019年聊城市共对1201个牛羊养殖户的92545份血清样品进行布鲁氏菌病检测。检测出阳性样品145份, 个体阳性率0.16%, 群体阳

性数3, 群体阳性率0.25%。具体见表1所示。

3 讨论

1952~1981年, 我国动物布病阳性检出率高达41.27%, 1982~1998年, 动物布病得到有效而显著的控制^[7]。但2000年以来, 全国兽医部门检测数据显示, 牲畜布病阳性数量逐年增加。2001~2004年, 每年有24~28个省份牲畜检出布病阳性, 平均阳性率0.4%, 局部地区阳性率甚至超过5%。2005年, 全国共报告畜间布病疫点351个, 发病牲畜共计7768头; 2006年全国共报告畜间布病疫点1178个, 发病动物共计7123只^[8]。2009年动物布病发病数比2008年增加了49.12%。奶牛、羊主产区布病疫情严重, 而且疫情呈现出从牧区、半牧区向农区甚至城市蔓延的趋势, 部分地区奶牛布病疫情上升较快, 有些无疫病地区也出现了疫情^[9]。面对日益严重的布病疫情, 布病的防控工作要坚持“预防为主”, “加强领导、密切配合、依靠科学、群防群控、果断处置”的方针。只有控制和消灭畜间布病, 才能防止人间布病的发生, 最终达到控制和消灭布病的目的。

从近几年的监测结果来看, 聊城市牛无布病疫情发生, 羊零星散发, 不过仍存在布病传播的风险, 各级畜牧兽医部门和养殖场户仍需提高警惕。从现场调查的情况来看, 聊城市布病防控存在一些问题, 基于此, 笔者提出相应的解决措施。

3.1 存在的问题分析

(1)2017年布病基线调查发现养殖场户尤其是散养户对布病的传播途径、人畜感染布病的症状及造成的危害认识不到位, 对如何防控布病了解甚少, 这些知识的匮乏导致养殖户购入和饲养患有

表1 2014年-2019年聊城市布病检测统计表

	牛					羊				
	场户数	样品数	阳性数	阳性率(%)	群体阳性率(%)	场户数	样品数	阳性数	阳性率(%)	群体阳性率(%)
2014	12	360	0	0	0	18	540	0	0	0
2015	29	671	0	0	0	46	1930	2	0.1	2.2
2016	26	145	0	0	0	37	198	0	0	0
2017	198	8694	0	0	0	473	69470	132	0.19	0.21
2018	110	2523	0	0	0	176	4915	11	0.14	0.57
2019	22	675	0	0	0	54	2424	0	0	0
合计	397	13068	0	0	0	804	79477	145	0.18	0.37

布病的牛羊而不自知,这些牛羊成为人畜感染布病的重要传染源。

(2)产羔、产犊高峰时期,母畜流产及日常采样防疫时,养殖户、技术员或基层防疫人员自我防护意识薄弱,徒手接羔、挤奶等情,未及时妥善处理胎衣、胎儿,基层防疫人员采样防疫时不按要求穿戴防护衣、手套、帽子等,使得布病得以通过媒介传染给易感动物和人,使人畜发病。

(3)牛羊流通过程中,落地报告制度执行不到位,对牛羊布病的检疫没有强制要求,容易造成患病动物进入养殖场或流通环节。

(4)布病检测工作中,存在个别养殖场户拒检的情况。养殖场户主要从经济损失角度考虑,检测出布病阳性需要进行扑杀,政府扑杀补偿款与实际价格相差较大,给养殖场造成明显的经济损失。所以,有的养殖场发现牛羊出现临床症状后,马上将其卖出或屠宰后卖出,使传染源进一步扩散,造成新的疫点。

3.2 解决措施

3.2.1 加强养殖场日常管理

首先,养殖场要制定完善的消毒和防疫制度,并严格按照制度执行。如:场区入口要有消毒池,生产区入口要有人员消毒设备,人员进入生产区严格执行更衣、换鞋、冲洗、消毒制度,定期对畜舍进行消毒,尤其是流产的胎儿及其它物质都要进行消毒和无害化处理。对布病血清学检测阴性家畜进行免疫接种,布病净化阶段应禁止免疫,免疫接种后用血清学方法进行效果监测,免疫不合格的及时进行补免。其次,为防止病原的入侵,应坚持自繁自养,如需引种或购买精液,严禁从疫区购买,所购牛羊等必须具备当地动物防疫监督机构出具的检疫合格证明,购买后要隔离至少一个月,检疫合格后再混群饲养。再次,发现疑似病畜后,畜主应立即将其隔离并限制其移动,立即向当地动物防疫监督机构报告,积极配合相关部门的调查,对布病阳性畜一律扑杀,严防疫情的扩散和蔓延。最后,养殖场每年都要进行至少两次的布病检测,对检测出的阳性畜进行扑杀。另外,对每只家畜都要进行编号,建立相应的防疫、疫病监测信息档案,对信息进行联网,方便相关人员查询每只家畜的信息。

3.2.2 搞好地区联防联控

相关部门要认真履行各自职责,密切协作,搞好地区联防联控。动物卫生监督部门要加强监督执法。一是要规范产地检疫,对牛羊进行检疫时,应查验布病检测报告,坚决禁止布病病畜及其产品流通、上市,严防疫情传播扩散。二是要加强对调运牲畜的检疫监管。异地调运的动物必须来自非疫区,对未经检疫的牛、羊及其产品坚决禁止入境,对引入的牛、羊实行严格的审批备案制度。三是加强对牛羊交易市场和牛羊贩运户、经纪人的监管,积极争取工商等部门的支持,严禁未经检疫的动物及其产品进入市场。屠宰场驻厂检疫员要严格查验耳标和检疫证明,对无耳标和无检疫证明的畜主,要坚决依法予以处理。财政部门应将布病专项防治经费列入年初财政预算,加大专项防治经费投入,保证基层防疫人员工资和检测经费及时到位。提高扑杀阳性畜的补贴标准,简化补贴程序,确保防治工作的正常开展。兽医部门应严格按照农业部要求开展布病监测工作,加强对牛羊等易感动物的监测和净化,提高监测覆盖面和监测率。食品药品监察部门要做好食品安全检查工作,严防带有布病的食品流入市场,从而保证消费者安全。一旦发生疫情,按照《中华人民共和国动物防疫法》和《动物疫情报告管理办法》及有关规定的及时上报并采取隔离、扑杀、无害化处理和严格的消毒等措施,及时扑灭疫情,并开展流行病学调查和疫源追踪,对同群动物进行检测。

3.2.3 保护易感人群

人群布病的发病具有职业特性,因此密切接触牛羊等动物的人群在工作时应做好个人的防护,工作时佩戴口罩、眼镜和手套,穿防护衣,皮肤有损伤者应暂时避免接触家畜,防护设备要经常消毒。与牛羊等动物密切接触的人群每年都要进行布病检查,发现阳性患者要及时治疗,并做好布病患者的善后工作。

4 小结

近几年,城市布病患者逐年增加,究其原因主要是食用了带有布鲁氏菌的牛羊肉及奶制品,因此消费者在购买牛羊肉及奶制品时一定要选择正规企业生产的符合国家检疫的产品,牛羊肉及鲜奶一定要

煮熟之后再食用,生熟肉案板一定要分开使用。

参考文献:

- [1] 马淑强,杨世英,马伟林,等.布鲁菌病的研究进展[J].西北民族大学学报(自然科学版),2014,35(2):57-64.
- [2] 钟志军,陈泽良,黄克和.布氏杆菌病致病因子及防控研究进展[J].畜牧与兽医,2008,40(12):96-100.
- [3] 王弘学.动物布氏杆菌病及其防控[J].甘肃畜牧兽医,2009,(3):27-28.
- [4] 杨丽,毕振旺,寇增强,等.山东2005-2012年布鲁氏菌病流行病学特征[J].中国公共卫生,2015,31(1):14-17.

- [5] 陈溥言.兽医传染病学[M].5版.北京:中国农业出版社,2006:135-140.
- [6] 白媛媛,姚江华,白颖,等.布鲁氏菌病[J].畜牧兽医杂志,2013,32(3):34-36.
- [7] 任洪林,卢士英,周玉,等.布鲁氏杆菌病的研究与防控进展[J].中国畜牧兽医,2009,36(9):139-143.
- [8] 卫疾控发[2007]286号.卫生部、农业部关于加强布鲁氏菌病防治工作的通知[J].卫生部公报,2008,1:33-34.
- [9] 王传清,李星.布鲁氏杆菌病的流行和研究现状及防控策略[J].中国动物检疫,2009,26(6):63-65.

上接第9页

点,是产业调研和科技推广的主要对象。在实践中,要重视对中小企业的调研工作,发掘中小企业的科技需求,在科技推广中注重与中小企业对接。两年来,湛江分院通过实地考察和调研,为家庭农场、中小养殖场提供技术服务。对乐于采用新技术和新型种养模式的绿色农庄、生态综合种养基地等,湛江分院积极促成其与广东省农科院相关学科团队对接,建立科技合作示范基地,取得积极成效。

3.5 探索多层次的网状推广机制

在“畜禽源细菌耐药性监测及综合控制技术的推广应用”中,在湛江分院的积极推动下,分别与动物疫病预防控制中心、技术推广站、养殖协会、养殖公司等联系,采用:科普+宣传+参观+示范+现场培训+技术讲座+观摩+现场指导的方式,形成“地方疾控部门+专家指导+企业参与+示范基地搭建+技术员跟进+多途径培训”的推广机制,获得良好的推广效果。

3.6 利用网络新媒体宣传手段

湛江分院坚持利用微信公众号对我院在湛江的科技推广工作进行连续性的实时宣传报道。“华南地区猪口蹄疫免疫方案的推广和应用”项目在网络和微信平台进行技术推广和科普宣传,获得了很好的宣传效果。

4 小结

实践证明,在湛江的畜牧兽医领域的技术推广中,湛江分院很好的充当了桥头堡的作用。湛江分院将继续坚持“科技创新、服务三农”的理念,立足当地生产实际情况,通过实地调研制定和推广符合湛江市情和农情的农业技术项目并有针对性地进行实施,不断优化院地合作和院企合作模式,充当湛江农业科研领域的排头兵和主力军,为推动粤西农业崛起与腾飞发挥领头羊的作用。

参考文献:

- [1] 范阳,王秀艳.浅析农业支持与保护之农业科技推广——以黑龙江省农科院为例谈“院县农业科技合作共建模式”[J].行政与法,2010(09):38-41.
- [2] 刘春光,于文全,王蕊.加强科技创新能力建设引领区域农业可持续发展[J].黑龙江农业科学,2012(2):100-103.
- [3] 王芬,曹阳,马力.广东省农科院院地合作模式分析——以韶关分院为例[J].热带农业工程,2019,43(04):128-131.
- [4] 王佳友,梁镜财,李湘妮,等.院地合作:践行农业科技创新与成果转化的有效途径——广东省农业科学院佛山分院院地合作的探索、实践与思考[J].广东农业科学,2018,45(11):150-158.
- [5] 于深浩,梁镜财,邱俊荣,等.院地农业科技合作共建的实践、创新与对策——以广东省农科院与茂名市人民政府“合作共建”为例[J].广东农业科学,2013(8):231-233.
- [6] 袁明贵,向蓉,彭新宇,等.广东省产业扶贫中的问题与对策[J].合作经济与科技,2019(10):182-185.

2016~2018年广西规模化种猪场 口蹄疫O型和猪瘟免疫抗体检测及分析

韩银华¹, 孔子荣², 黄胜斌¹, 周庆安¹, 何奇松¹, 莫胜兰¹, 胡丽萍^{1*}

(1. 广西壮族自治区动物疫病预防控制中心, 广西南宁 530001;

2. 广西大学动物科学技术学院, 广西南宁 530004)

摘要:为了解广西地区规模种猪场接种口蹄疫O型和猪瘟疫苗的免疫情况以及更好地指导规模种猪场的生产实践工作, 广西壮族自治区动物疫病预防控制中心在2016~2018年期间运用ELISA抗体检测试剂盒检测方法, 对4200份广西地区各规模种猪场送检的免疫猪只血清样品进行口蹄疫O型和猪瘟免疫抗体水平检测。结果显示: 广西规模场口蹄疫O型免疫抗体合格率分别为84.07%, 86.00%, 92.37%; 猪瘟免疫抗体合格率分别为97.36%, 99.08%, 95.38%, 免疫抗体平均合格率均达到农业农村部对猪群的群体抗体免疫效价70%以上的要求。广西规模种猪场口蹄疫O型免疫抗体水平在2016~2018年呈持续上升趋势, 这说明通过抗体水平持续跟踪监测、不断优化免疫程序、调整疫苗种类, 广西规模种猪场的口蹄疫得到了良好的控制。而广西规模种猪场猪瘟免疫抗体合格率在2017年后有明显下降, 这可能与2017年猪瘟退出强制免疫接种有关, 但在各年份免疫抗体平均合格率均保持在95%以上, 说明广西规模种猪场对猪群的猪瘟免疫管控到位。

关键词:口蹄疫O型; 猪瘟; 免疫抗体; 检测

中图分类号:S851.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0029-03

口蹄疫(Foot and Mouth Disease, FMD)是由口蹄疫病毒(FMDV)引起的一种高度接触性、热性、急性传染病, 主要感染猪、牛、羊等主要家畜和其它家养、野生偶蹄动物^[1]。临床表现主要有发热、头痛, 其临床特征为口腔粘膜、蹄部和乳房皮肤发生水疱。猪是FMD排毒量最大的动物, 并且可经由呼吸道、消化道以及皮肤粘膜等传播途径传播病毒, 全年均有可能发病。FMDV共有7个血清型, 仅有O、A、亚洲I型血清型的口蹄疫在我国报道, 在这三种血清型中以O型感染最为广泛。猪瘟(Hog Cholera, HC)是由猪瘟病毒(HCV)引起的一种具有高度接触性的传染病。猪瘟病毒只感染猪, HC分为急性和慢性两种类型, 不同品种、不同

年龄阶段、不同性别的猪都会感染猪瘟病毒^[2]。强毒株引发急性猪瘟可导致猪只死亡, 弱毒株感染则主要表现为隐性感染, HC可引起败血症、妊娠母猪流产、胎儿畸形以及其他免疫抑制病等, 对种猪危害极大。FMD和HC对我国的养猪业危害极大, 一旦爆发极易产生巨大的经济损失, 因而对猪场特别是规模种猪场免疫抗体水平的监控具有重要的指导意义。

1 材料与方法

1.1 样品来源

2016~2018年广西地区各规模种猪场送检血清样品共4200份, 包括种公猪、经产母猪以及后备

收稿日期:2020-06-21

作者简介:韩银华(1986-), 女, 广西北海市合浦县人, 硕士研究生, 兽医师, 主要从事动物疫病诊断研究。

*通讯作者:胡丽萍(1982-), 女, 广西南宁, 硕士研究生, 高级兽医师, 主要从事动物疫病诊断研究。E-mail:19865758@qq.com

母猪。

1.2 试剂与仪器

试剂:口蹄疫O型抗体液相阻断ELISA检测试剂盒由兰州兽医研究所提供,猪瘟抗体检测试剂盒购自西班牙海博莱公司。

仪器:微量振荡器;酶标仪(TECAN SUNRISE);单道微量移液枪(ependorf公司);8道微量移液枪(ependorf公司);恒温培养箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

1.3 方法

执行OIE抗体检测国际参考标准进行试验,使用ELISA试剂盒检测免疫抗体的具体步骤按附带说明书进行。

2 结果与分析

2016年共检测血清1400份,采样血清包括种公猪280份,经产母猪560份,其中妊娠母猪353份,哺乳母猪174份,空怀母猪33份,后备母猪560份。口蹄疫O型免疫抗体阴性血清数量为223份,阳性血清数量1177份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为280份,经产母猪为452份,其中妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为291份、131份和30份,后备母猪为445份。猪瘟免疫抗体阴性血清数量为37份,阳性为1363份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为280份,经产母猪为544份,妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为341份、170份和33份,后备母猪为539份,结果见表1。

2017年共检测血清1200份,其中种公猪240份,经产母猪480份(包括妊娠母猪320份,哺乳母猪149份,空怀母猪11份),后备母猪480份。口蹄疫O型免疫抗体阴性血清数量为168份,阳性为1032份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为

240份,经产母猪为389份(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为263份、115份和11份),后备母猪为403份。猪瘟免疫抗体阴性血清数量为11份,阳性为1189份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为240份,经产母猪为476份(其中妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为317份、148份和11份),后备母猪为473份,结果见表1。

2018年共检测血清1600份,其中种公猪320份,经产母猪640份(包括妊娠母猪415份,哺乳母猪207份,空怀母猪18份),后备母猪640份。口蹄疫O型免疫抗体阴性血清数量为122份,阳性为1478份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为320份,经产母猪为582份(其中妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为370份、194份和18份),后备母猪为576份。猪瘟免疫抗体阴性血清数量为74份,阳性为1526份,免疫抗体阳性血清中种公猪血清数量为320份,经产母猪阳性血清数量为597份(其中妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪分别为379份、200份和18份),后备母猪为609份,结果见表1。

根据监测结果可知,广西地区规模种猪场2016年口蹄疫O型血清免疫抗体平均合格率(自此称阳性率为合格率)为84.07%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为80.71%(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪的百分比分别为51.96%、23.39%和5.36%),后备母猪免疫抗体合格率为79.46%;2017年为86%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为81.04%(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪的百分比分别为54.79%、23.96%和2.29%),后备母猪免疫抗体合格率为83.96%;2018年为92.38%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为90.94%(妊娠母猪、哺乳

表1 口蹄疫O型和猪瘟免疫抗体检测结果

种类	2016年			2017年			2018年		
	采样数	FMD O型免疫 抗体阳性数	HC免疫抗体阳 性数	采样数	FMD O型免疫 抗体阳性数	HC免疫抗体阳 性数	采样数	FMD O型免疫 抗体阳性数	HC免疫抗体阳 性数
种公猪	280	280	280	240	240	240	320	320	320
妊娠母猪	353	291	341	320	263	317	415	370	379
哺乳母猪	174	131	170	149	115	148	207	194	200
空怀母猪	33	30	33	11	11	11	18	18	18
后备母猪	560	445	539	480	403	473	640	576	609

母猪和空怀母猪的百分占比分别为57.81%、30.31%和2.81%),后备母猪免疫抗体合格率为90%。广西地区规模种猪场口蹄疫O型血清免疫抗体检出率呈逐年增高趋势,结果如图1(图A)所示。

2016年猪瘟疫血清免疫抗体平均合格率为97.36%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为97.14%(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪的百分占比分别为60.89%、30.36%和5.89%),后备母猪免疫抗体合格率为96.25%;2017年免疫抗体平均合格率为99.08%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为99.17%(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪的百分占比分别为66.04%、30.83%和2.29%),后备母猪免疫抗体合格率为98.54%;2018年为95.38%,其中种公猪免疫抗体合格率为100%,经产母猪免疫抗体合格率为93.28%(妊娠母猪、哺乳母猪和空怀母猪的百分占比分别为59.22%、31.25%和2.81%),后备母猪免疫抗体合格率为95.16%。免疫抗体检出率自2017年平均合格率上升后,2018年后呈明显下降趋势,结果如图1(图B)所示。

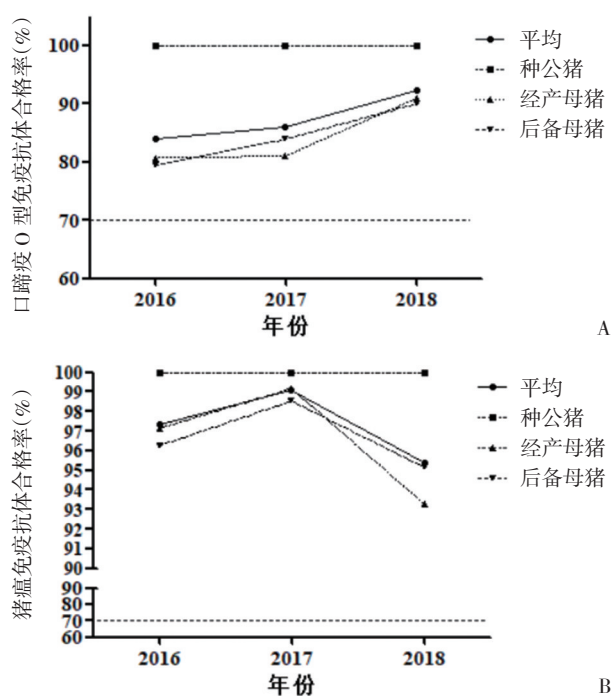


图1 不同年份免疫抗体检测合格率以及变化趋势

3 讨论

综上所述,广西地区规模种猪场对口蹄疫O型以及猪瘟疫的免疫管控到位,各规模种猪场免疫猪只的口蹄疫O型抗体水平和猪瘟疫抗体检测结果均符合农业部对猪群的群体免疫抗体合格率70%以上的要求,表明广西规模种猪场的猪群处于良好的口蹄疫和猪瘟疫抗体保护状态。广西规模种猪场口蹄疫O型免疫抗体合格率在2016~2018年呈持续上升趋势,这说明通过抗体水平持续跟踪监测、不断优化免疫程序、调整疫苗种类,广西规模猪场的口蹄疫得到了良好的控制。但猪瘟疫病毒免疫抗体合格率从2017年到2018年呈下降趋势,这可能与2017年猪瘟疫退出强制免疫接种有关,猪瘟疫退出强制免疫后,部分规模种猪场为了节省成本和劳力,减少猪群猪瘟疫免疫次数,造成猪瘟疫免疫抗体水平集体下降,也可能是猪瘟疫免疫失败所导致。因此,需严格把控猪瘟疫免疫过程中的各个流程以及其它因素的影响,分析猪瘟疫免疫失败的原因或者使用免疫效果更好的猪瘟疫疫苗等,找出解决问题的措施,保证猪瘟疫病毒免疫抗体合格率^[3,4]。

4 结论

2016~2018年,广西地区各规模种猪场的种公猪、经产母猪以及后备母猪群体的口蹄疫O型以及猪瘟疫免疫抗体检测结果均符合农业农村部对猪群的群体抗体免疫合格率达70%以上的要求。种公猪群体对两种病原的免疫合格率均为100%,经产母猪以及后备母猪群体的口蹄疫O型免疫抗体合格率呈稳定上升趋势,但猪瘟疫免疫抗体合格率在2016~2017年得到提高后,2018年合格率呈明显下降趋势且低于2016年。因此,笔者建议密切注意免疫抗体水平持续跟踪监测以及适当调整猪瘟疫免疫计划。

参考文献:

- [1] 刘庆军,张永光.口蹄疫病毒基因组结构及其功能[J].动物医学进展,2005,26(5):1-2.
- [2] 葛兆宏.动物传染病[M].北京:中国农业出版社,2007.114-117.
- [3] 王美君,侯艳红,倪娇,等.猪瘟疫免疫失败的原因及其防控对策[J].中国畜牧兽医,2011,38(02):217-219.
- [4] 邹伟斌,林梓栋,齐冬梅.猪瘟疫疫苗的研究进展[J].广东畜牧兽医科技,2018,43(01):11-14,1.

江门市种鸡场禽流感H5N1和H7N9抗体监测与分析

罗嘉轩, 陆巧芬, 曹建伟, 冯开容
(江门市动物疫病预防控制中心, 广东 江门 529000)

摘要:为了解种鸡场高致病性禽流感强制免疫效果, 科学评估种鸡群疫病流行风险, 笔者于2018年在广东省江门市内持有种畜禽生产经营许可证的9个种鸡场中随机采样, 采用血凝抑制试验(HI)进行禽流感H5N1(Re-8株)亚型和H7N9(H7-Re1株)亚型抗体监测。结果显示, H5N1(Re-8株)亚型禽流感抗体总体合格率为96.5%, 95%CI(95.993%, 96.007%), 几何平均滴度为7.98 log₂, 各场合格率均在80%以上; H7N9(H7-Re1株)亚型禽流感抗体总体合格率为96.7%, 95% CI(96.995%, 97.005%), 几何平均滴度为8.37 log₂, 各场合格率均高于85%, 均明显高于农业农村部流感免疫合格群体标准(70%)。结果表明, 2018年江门市种鸡群高致病性禽流感整体免疫效果良好, 疫病流行风险低, 但尚有个别场的部分鸡群存在抗体滴度和整齐度低的现象, 应引起警惕, 加强免疫接种和定期抗体检测。

关键词:江门市; 种鸡; 禽流感; H5N1亚型; H7N9亚型

中图分类号:S851.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0032-03

高致病性禽流感为人兽共患病, 可引起人和禽类发病, 造成严重的经济损失, 对其的研究具有极大的公共卫生意义^[1]。2017年为控制H7N9亚型禽流感疫情, 我国启用了包含H5N1(Re-8株)亚型和H7N9(H7-Re1株)亚型的重组禽流感病毒(H5+H7)二价灭活疫苗, 取得了显著的效果^[2]。

根据农业农村部印发的《2018年国家动物疫病监测与流行病学调查计划》(农医发[2018]17号), H5和H7亚型禽流感为强制免疫疫病。种鸡场为当地及周边地区提供鸡苗, 对种鸡群进行抗体水平监测, 可有效反映禽流感强制免疫效果, 评估江门地区禽流感流行风险, 开展疫病监测预警^[3]。

1 材料和方法

1.1 样本来源

持有江门市种畜禽生产经营许可证的种禽场共有18家, 其中6家为水禽和珍禽, 不纳入本次研究范围; 根据广东省农业厅印发的《关于公布通

过省级动物疫病净化验收的种畜禽场名单的通知》(粤农函[2017]1056号), 2家为广东省家禽H7N9流感净化场, 1家为广东省禽白血病净化创建场, 其监测工作由广东省疫控中心牵头完成, 不纳入本次研究范围; 将余下9家种鸡场纳入本次研究, 并以A~I场表示。

根据农业农村部《2018年国家动物疫病监测与流行病学调查计划》(农医发[2018]17号)文件, 每个场(点)至少采集样品30份, 按照预期抗体合格率90%、95%置信水平和10%的可接受误差条件下, 最大抽样数量为34份。

本次研究中每个种鸡场采集血清的数量均不低于35份, 符合农业农村部的要求。各场每年至少进行1次采样, 县级动物疫病预防控制中心可根据当地疫病流行情况进行加强监测, 各场全年共进行1~2次监测。由于人力、财力资源有限, 全场视为同一群体, 未考虑场内各鸡群异质性; 每月安排1~2个场进行送样监测, 未考虑各抽样时间上的异质性, 将同场的检测结果合并分析, 全

收稿日期: 2019-12-20

作者简介: 罗嘉轩(1993-), 男, 广东佛山人, 本科, 助理兽医师, 主要从事动物疫病防控及技术推广。E-mail: 970375086@qq.com

年各场共采集540份种鸡血清。

抽样在县级动物疫病预防控制中心的现场监督下,由种鸡场的工作人员进行,具体方法为根据抽样总数和各鸡舍经免疫后的鸡群数量,确定每栋鸡舍要抽的样本数量,并在鸡舍中进行随机抽样。在抽样时由县级动物疫病预防控制中心进行样本信息采集,并在抽样后分离血清,冷藏送至笔者单位进行检测。

1.2 检测方法

禽流感H5N1 Re-8株抗原、阳性血清和禽流感H7N9 H7-Re1株抗原、阳性血清购自哈尔滨维科生物技术开发公司。1%红细胞悬液由笔者实验室自行配备,公鸡血清来源于笔者单位自养的试验专用青年公鸡,公鸡未经禽流感免疫,在定期监测中未检出公鸡群中有禽流感抗体阳性。每次检测所用红细胞悬液均来自于3只或以上公鸡,减少公鸡个体因素带来的影响^[4]。

检测方法根据国标高致病性禽流感诊断技术(GB/18936-2003)中的血凝抑制试验(HI)进行,抗体水平用滴度表示,数值表示形式为log₂。根据《2018年国家动物疫病监测与流行病学调查计划》中的动物流感监测计划部分进行结果判定,免疫21天后HI抗体效价≥4 log₂为免疫合格个体,免疫合格个体占群体总数的70%以上为免疫合格群体。

1.3 数据分析方法

使用Excel对检测数据进行统计和整理,使用SPSS23.0进行统计学分析。

2 监测结果及分析

2.1 禽流感H5N1(Re-8株)亚型抗体监测

禽流感H5N1(Re-8株)亚型监测结果见表1,可见抗体平均合格率为96.5%,几何平均滴度为7.98 log₂,最低合格率为80.0%,最低平均滴度为6.16 log₂。总体合格率的95%置信区间为(95.993%, 96.007%),由于大部分场(7/9)的合格率大于98%,接近100%,故未统计各场合格率的95%置信区间,而统计了平均滴度的95%置信区间,均在5 log₂以上。各种鸡场的抗体率均达到农业农村部的免疫合格群体要求,可见种鸡群的免疫效果好,种鸡群有足够的免疫保护力,禽流感流行风险较低。

但同时可发现G场有10份样品抗体滴度不超过1 log₂,占比为16.7%。同时可发现D场和G场的抗体滴度标准差较大,说明其抗体水平整齐度相对较差。

2.2 禽流感H7N9(H7-Re1株)亚型抗体监测

禽流感H7N9(H7-Re1株)亚型监测结果见表2,可见抗体平均合格率为96.7%,几何平均滴度为8.37 log₂,最低合格率为86.5%,最低平均滴度为5.44 log₂。总体合格率的95%置信区间为(96.995%, 97.005%),由于大部分场(6/9)的合格率为100%,故未统计各场合格率的95%置信区间,而统计了平均滴度的95%置信区间,均在4.5 log₂以上。各种鸡场的抗体率均达到农业农村部的免疫合格群体要求,可见种鸡群的免疫效果较好,种鸡群有足够的免疫保护力,禽流感流行风

表1 禽流感H5N1(Re-8株)亚型抗体检测结果

场别	抗体滴度(单位:log ₂)											总数	合格数	合格率	平均滴度	标准差	平均滴度95%置信区间	
	<1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	≥10							
A									1	16	19	36	36	100.00%	9.5	0.56	9.32~9.68	
B							9	26	32	20	13	100	100	100.00%	8.02	1.16	7.79~8.25	
C				1	2	6	13	20	8	4	2	56	55	98.20%	6.77	1.41	6.40~7.14	
D	1	1	1	2	4	9	13	15	5	6	1	58	53	91.40%	6.16	1.98	5.65~6.66	
E				1	1	1	4	6	8	15	16	52	51	98.10%	8.4	1.67	7.95~8.86	
F						2	6	13	9	4	3	37	37	100.00%	7.43	1.28	7.02~7.85	
G	6	4		2	3				1		1	43	60	48	80.00%	7.8	3.79	6.84~8.76
H						2	5	18	15	11	8	59	59	100.00%	7.88	1.3	7.55~8.21	
I								4	2	22	54	82	82	100.00%	9.54	0.77	9.37~9.70	
总计	7	5	1	6	10	20	50	103	80	99	159	540	521	96.50%	7.98	2.05	7.80~8.15	

表2 禽流感 H7N9(H7-Re1 株)亚型抗体检测结果

场别	抗体滴度(单位:log ₂)											总数	合格数	合格率	平均滴度	标准差	95%置信区间
	<1	1	2	3	4	5	6	7	8	9	≥10						
A								1	13	1	21	36	36	100.00%	9.17	1.03	8.83~9.50
B					1	1	5	24	35	17	17	100	100	100.00%	8.1	1.24	7.86~8.34
C							1	1	12	14	28	56	56	100.00%	9.2	0.96	8.94~9.45
D							3	1	2	18	34	58	58	100.00%	9.36	1.02	9.10~9.62
E	1		1	5	8	5	22	7	1		2	52	45	86.50%	5.44	1.78	4.96~5.92
F							1		7	8	21	37	37	100.00%	9.3	0.97	8.99~9.61
G	3	2		3	1	1	1	3	1	2	43	60	52	86.70%	8.38	3.09	7.60~9.16
H	2			1	7	7	16	12	5	6	3	59	56	94.90%	6.27	2.06	5.75~6.80
I												82	82	100.00%	10	0	-
总计	6	2	1	9	17	14	49	49	76	66	251	540	522	96.70%	8.37	2.1	8.19~5.54

险较低。

但同时可发现E场的几何平均抗体滴度仅为5.44 log₂, 有20份样品的抗体不足6 log₂, 占比为38.5%。同时可发现E场、G场和H场抗体滴度标准差较大, 说明其抗体水平整齐度相对差。

3 讨论

江门市内种鸡群的禽流感强制免疫水平较好, 疫病流行风险低, 全部达到国家要求标准, 但部分场存在免疫薄弱环节, 具体为D场、G场的H5N1(Re-8株)的亚型抗体和E场、G场和H场的H7N9(H7-Re1株)亚型抗体标准差较大, 抗体整齐度较差, 可能部分鸡群存在免疫效果不佳的情况。

由于各场的抗体合格率均高于国家规定的70%的免疫合格群体标准, 监测样品未记录唯一性溯源号, 故未能明确哪些个体免疫效果较差, 相关的场应根据实际情况重点从饲养管理和免疫接种方面开展原因排查, 科学地制定免疫程序及选用合适的疫苗对全场加强免疫接种, 在有条件的情况下进行精准化监测, 尽量把禽流感流行风险降到最低^[5]。

4 小结

种鸡群的免疫抗体水平直接影响幼禽的母

源抗体, 对抗体水平进行监测和评估预警, 可为场内禽流感疫病的净化和地区禽流感的防控提供依据, 同时也能降低高致病性禽流感传染人的风险, 降低鸡苗在饲养、运输、销售等环节的疫病传播风险, 切断疫病传染途径, 具有重要的公共卫生意义^[6]。

参考文献:

- [1] 段新华, 廖治锋, 黄秀裕. 深圳南山家禽批发市场冬季禽流感和新城疫抗体监测[J]. 广东畜牧兽医科技, 2017, 42(06):47-49.
- [2] 颜克旭, 杨辉, 奉佳, 等. 重组禽流感病毒二价灭活疫苗(H5N1 Re-8株和H7N9 H7-Re1株)对雏免疫效果的研究[J]. 中国动物检疫, 2019, 36(08):76-79.
- [3] 朱爱军, 郁星星, 周光胜, 等. 2014—2016年上海浦东临港地区散养禽高致病性禽流感和新城疫免疫效果分析及防控措施[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(06):99-101.
- [4] 吴姣姣, 曾显营, 陈晓涵, 等. 重组禽流感病毒(H5+H7)二价灭活疫苗(H5N1 Re-8株+H7N9 H7-Re1株)对商品肉鸡的免疫效力研究[J]. 中国预防兽医学报, 2019, 41(06):611-615.
- [5] 赵双成, 柳金雄, 陈普成, 等. 不同类型H5亚型禽流感疫苗的免疫保护效力比较研究[J]. 中国农业科技导报, 2014, 16(01):46-51.
- [6] 陈修邓, 陆巧芬, 冯开容, 等. 江门部分活禽批发市场休市前中后的禽流感病毒核酸监测与分析[J]. 广东畜牧兽医科技, 2017, 42(02):30-31+36.

中山麻鸭(F4)及其杂交后代肉品质评价研究

田志梅, 崔艺燕, 李贞明, 鲁慧杰, 王刚, 吴咏梅, 殷颖珊, 马现永*

- (1. 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;
2. 中山市农业科技推广中心, 广东中山 528400)

摘要:本试验旨在研究中山麻鸭(F4)及其与白鹇鸭杂交后代的生长及肉鸭胸肌肉品质的差异, 以此评价中山麻鸭(F4)及白鹇鸭♀×中山麻鸭(F4)♂杂交后代肉鸭的品质优势。试验选用中山麻鸭F4代及白鹇鸭♀×麻鸭(F4)♂杂交后代各144羽, 随机分为两组, 每组9个重复, 每个重复16羽, 试验饲料及养殖环境等条件一致。结果表明:中山麻鸭(F4)的体重、平均日增重、胸肌剪切力显著高于其杂交后代肉鸭($P < 0.05$)。胸肌pH_{45 min}无显著差异($P > 0.05$), 而pH_{24 h}及pH_{48 h}显著低于其杂交后代肉鸭($P < 0.05$)。与中山麻鸭比, 其杂交后代肉鸭胸肌a_{45 min}显著增加($P < 0.05$), 但L_{45 min}、L_{24 h}及L_{48 h}无显著差异($P > 0.05$); 胸肌b_{45 min}及24 h的滴水损失有增加趋势($0.05 < P < 0.10$); 胸肌48 h的滴水损失显著增加($P < 0.05$)。由此可见, 与中山麻鸭(F4)相比, 白鹇鸭♀×中山麻鸭(F4)♂杂交后代肉鸭虽然生长速度较慢, 然而, 其杂交后代鸭肉的嫩度、pH及肉色等肉品质得到明显改善。因此, 该杂交品系较中山麻鸭肉质得到改善, 此配套技术可在肉鸭生产业进行应用推广。

关键词:中山麻鸭; 白鹇鸭; 杂交后代; 生长; 肉品质

中图分类号:S813 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0035-04

我国是肉鸭生产及消费大国, 不同地区鸭肉消费方式差异较大, 广东主要以烧鸭为主。中山麻鸭是广东特有优质肉鸭, 据记载已有600多年历史, 主要产于广东省中山市, 属蛋肉兼用型品种^[1, 2]。由于广东人对肉类的优质鲜味尤其讲究, 麻鸭需求量极高。然而由于生态环境及养殖方式的改变, 中山麻鸭生产数量及质量下降, 影响其产量及市场占有率, 且已濒临灭绝。因此, 需要采用

适当的选育方法保持优质品质资源, 并通过杂交优势, 培育优质肉鸭。

白鹇鸭是闽西名鸭, 主产福建连城县, 迄今为止已有700多年历史^[3]。鸭肉不仅营养丰富, 风味独特、鲜美, 还具有补髓生精、开胃健脾、滋阴补肾, 治疗止咳、失眠, 缓解疲劳等药用价值, 是集药理、膳食、保健的滋补佳品及稀有珍禽, 被誉为我国唯一药用鸭^[4, 5]。然而其体型小, 生长速度相

收稿日期:2020-05-20

基金项目:广东省农业科学院人才项目(201803;R2017YJ-YB3007;R2018QD-071);广东省畜禽育种与营养研究重点实验室开放运行项目(2017B030314044);动物健康养殖国际科技合作示范基地(2019A050505007)

作者简介:田志梅(1985-), 女, 黑龙江哈尔滨人, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事动物营养与饲料研究、生态养殖与环境控制研究。E-mail:382874346@qq.com

*通讯作者:马现永(1972-), 女, 山东日照人, 博士研究生, 研究员, 主要从事动物营养与饲料研究、生态养殖与环境控制研究。E-mail:407986619@qq.com

对较慢。因此,本研究通过两个优质品种肉鸭杂交,通过比较其生长速度,评价鸭肉品质优势,以期获得优良的杂交品系及配套技术。

1 材料与方法

1.1 试验动物及设计

试验在中山市农业科技推广中心肉鸭养殖基地进行。试验分为中山麻鸭(F4)组及白鹮鸭♀×麻鸭♂杂交后代组。采用自然交配,中山麻鸭(F4)及白鹮鸭♀×麻鸭(F4)♂种蛋同批孵化,每组9个重复舍,每个重复16羽。采用放牧补饲的方式进行半舍水上饲养,每天15:00~16:00赶回鸭舍,并按照0.1~0.15 kg/只进行补料。两个品种肉鸭分别于265日龄及275日龄后称重(由于杂交后代体型较小,根据上市体重需求,故饲养时间延长10天),每栏中选择1只健康、体况良好的接近平均体重的肉鸭,进行后续肉品质评价。

饲料购于中山市福大生物科技有限公司,产蛋前饲喂Y129肉鸭料,产蛋后饲喂Y138蛋鸭料。饲料原料包括玉米、麸皮、豆粕、鱼粉、磷酸氢钙、碳酸钙、氯化钠、赖氨酸、蛋氨酸、维生素A、维生素B1、维生素B2、维生素B6、维生素D3、维生素E、硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌、硫酸锰。饲料营养水平见表1。

表1 基础日粮营养水平(干物质基础,%)

营养成分(%)	Y129鸭料	Y138鸭料
粗蛋白	15	19
粗纤维	10	8
粗灰分	12	16
钙	1.05	3.5
总磷	0.4	0.4
氯化钠	0.5	0.5
赖氨酸	0.55	0.9
蛋氨酸	0.3	0.72
苏氨酸	0.44	0.64
色氨酸	0.16	0.26

1.2 肉品质测定方法

试验结束时每个重复选取接近平均体重鸭子1只,将两侧无皮无骨的鸭胸肌完整剥离并除胸肌

周围的脂肪组织等,测定胸肌肉色、嫩度、滴水损失及pH值等肉品质。

肉色:右侧胸肌在屠宰后45 min,4℃冷藏24 h及48 h后,用色差仪(CR-410型,Minolta,日本)测定胸肌肉色的L*(亮度)、a*(红度)和b*(黄度),每个样品测定3次并计算平均值。

pH值:右侧胸肌在屠宰后45 min,4℃冷藏24 h及48 h后,用pH计(testo-205, testo, 德国)测定pH,对每个样品检测3次并计算平均值。

滴水损失率:左侧胸肌样品取4条胸肌(每条约4.0 g),分别称重后,悬挂吊在吹气袋中并系紧袋口,4℃冷藏24 h、48 h后,用滤纸吸去胸肌表面水分并称重,计算滴水损失率。

滴水损失率(%)=(滴水前重量-滴水后重量)/滴水前重量*100。

嫩度:将左侧胸肌放于塑料封口袋中,4℃冷藏24 h后,置于85℃水浴中,待肌肉中间温度达到80℃时取出,并放于流水下冷却至室温,用取样器取横截面积为1 cm×1 cm肌肉条,通过质构仪(Instron 4411型, Instron, 美国)测定胸肌的沃-布氏剪切力,并计算平均值。

1.3 数据分析

中山麻鸭及其后代肉鸭检测指标增长率计算按照公式:增长率=(平均值_{中山麻鸭}-平均值_{杂交后代})/平均值_{中山麻鸭}*100。试验数据采用Spss 17.0软件的进行方差分析,各组试验数据均以平均值±平均标准误(means±SEM)表示,统计显著性水平为P<0.05。

2 试验结果

2.1 中山麻鸭(F4)及其杂交后代肉鸭的体重

中山麻鸭(F4)以及白鹮鸭♀×麻鸭(F4)♂杂交后代(下文称其为杂交后代)试验结束后体重及日增重见表2。杂交后代肉鸭体重及平均日增重均显著低于中山麻鸭(F4, P<0.0001),分别减少23.1%及25.9%。

表2 中山麻鸭(F4)及其杂交后代肉鸭的体重及日增重的影响

项目	中山麻鸭(F4)	白鹮鸭♀×麻鸭(F4)♂	P值
体重(kg)	2.64±0.07 ^a	2.03±0.06 ^b	<0.0001
平均日增重(g)	9.95±0.25 ^a	7.37±0.23 ^b	<0.0001

2.2 肉品质评价

两个品种肉鸭屠宰后肉品质如表3所示。与中山麻鸭相比,其杂交后代肉鸭宰后45 min,胸肌pH_{45min}及L_{45min}分别增加1.82%、4.06%,但均无显著性差异($P > 0.05$);a_{45min}增加8.55%,显著高于中山麻鸭($P < 0.05$),而b_{45min}有增加趋势($0.05 < P < 0.10$)。与中山麻鸭相比,杂交后代肉鸭宰后24 h,胸肌pH_{24h}显著增加2.52%($P < 0.05$);肉色L_{24h}、a_{24h}、b_{24h}分别增加4.54%、3.00%及1.28%,但差异不显著($P > 0.05$);滴水损失具有增加趋势($0.05 < P < 0.10$),增加15.93%;胸肌剪切力显著降低12.12%($P < 0.05$)。与中山麻鸭相比,杂交后代肉鸭宰后48 h的胸肌pH_{48h}及滴水损失显著高于中山麻鸭($P < 0.05$),分别增加2.17%及34.08%;a_{48h}及b_{48h}分别增加4.29%及7.75%,L_{48h}降低0.63%,但差异不显著($P > 0.05$)。

表3 中山麻鸭(F4)及其杂交后代肉鸭的肉品质

项目	中山麻鸭(F4)	白鹮鸭♀×麻鸭(F4)♂	P 值
pH _{45 min}	6.06±0.05	6.17±0.04	0.11
pH _{24 h}	5.96±0.03 ^b	6.11±0.06 ^a	0.01
pH _{48 h}	5.98±0.04 ^b	6.11±0.06 ^a	0.02
L _{45 min}	29.82±1.34	31.03±1.20	0.26
a _{45 min}	15.67±0.23 ^b	17.01±0.54 ^a	0.02
b _{45 min}	1.49±0.20	1.95±0.24	0.08
L _{24 h}	32.79±1.17	34.28±1.11	0.18
a _{24 h}	19.67±0.52	19.08±0.38	0.18
b _{24 h}	5.49±0.40	5.56±0.45	0.46
L _{48 h}	34.72±0.59	34.50±1.13	0.43
a _{48 h}	19.12±0.58	19.94±0.42	0.14
b _{48 h}	5.29±0.39	5.70±0.36	0.22
滴水损失 _{24h} (%)	2.26±0.11	2.62±0.21	0.07
滴水损失 _{48h} (%)	2.67±0.06 ^b	3.58±0.34 ^a	0.01
剪切力(N)	50.57±2.65 ^a	44.43±2.47 ^b	0.04

3 讨论

中国水禽生产及消费位于世界前列,水禽饲养量占世界总量的75%^[6]。2018年我国肉鸭出栏量达32亿羽,是中国畜牧业的支柱产业之一。由于鸭肉风味独特,营养丰富,含有多种氨基酸及不饱和脂肪酸,深受消费者喜爱。由于非洲猪瘟疫

情的影响,禽肉的消费量持续增加,鸭肉占中国肉类总产量的8%以上,且在禽肉中达34.2%。因此,肉鸭品质研究具有广阔的市场前景及重要的推广意义。

然而,麻羽鸭作为优质的肉鸭,市场占有率相对较小,出栏量不足7亿羽。广东水禽养殖历史悠久,中山麻鸭作为地方品种,具有生长速度快的特征。中山麻鸭体躯深长,公鸭头、鸭喙稍大,喙橙黄色、虹彩褐色,颈下有白色颈圈,头羽、副翼羽、镜羽翠绿色,颈、背羽黑褐麻色,胸羽浅褐色,腹羽灰麻色^[2]。中山麻鸭具有羽色、喙色、蹼色等外观优势,然而由于饲养的生态环境、选育及繁育体系的影响,其生产数量下降,其质量下降问题尤为突出,且濒临灭绝^[7],其产量及品质不能满足市场需求。因此,通过品系杂交选育优势品系,是提高产量及鸭肉品质,促进肉鸭产业经济收益及健康发展的重要方向和关键举措。白鹮鸭体型小、体躯狭长、形如楔状,头小、喙、眼球黑色,胫、蹼灰黑色、黑红色或褐色,颈细长,前胸浅,腹部略下垂,全身羽毛呈洁白色^[5]。白鹮鸭鸭肉含极低的胆固醇,且富含18种氨基酸及10余种微量元素,其中铁、锌含量是其他肉鸭的1.5倍。民间及中医学认为其肉具有清热解毒、健胃消食、缓解烦躁失眠等功效,是药食两用的优质名鸭^[5, 8]。然而,白鹮鸭体型相对较小,胸肉率偏低,难以满足市场需求。

因此,本研究利用两个品种肉鸭的优势,进行杂交育种,以期选育优质肉鸭品系。研究结果发现,在饲料、环境等饲养条件相同情况下,265日龄的中山麻鸭与275日龄的白鹮鸭相比,体重及平均日增重更大。白鹮鸭成年鸭体重一般在1.3~1.5 kg^[5],白鹮鸭与中山麻鸭杂交后,其后代体型较白鹮鸭体型增大,体重达2.03 kg,但与中山麻鸭相比,其生长速度较慢。然而,也有研究报道,麻鸭与白鸭杂交后其体重无显著差异^[9]。因此,杂交品系的选择对其杂交后代的生长性能的影响差异较大^[10]。

白鹮鸭、中山麻鸭分别作为母本、父本杂交,其后代与中山麻鸭相比,屠宰后45 min的肉色显著改善,而肉色不仅直接影响消费者购买意愿,还影响肉类感官品质及品尝品质^[11, 12]。4℃冷藏

24 h后, 杂交后代肉鸭胸肌的剪切力较中山麻鸭明显降低, 说明通过两个品系杂交可改善鸭肉嫩度。嫩度不仅影响肉的感官品质, 还影响品尝品质以及人们对肉的可接受性^[13]。4℃冷藏48 h后, 杂交后代肉鸭鸭肉的pH明显高于中山麻鸭, 说明通过不同品系杂交后, 有效缓解鸭肉pH降低, 从而有效增加鸭肉的多汁性及肉色等品质^[14, 15]。然而, 冷藏48 h后, 白鹇鸭与中山麻鸭杂交后代鸭肉的系水力明显下降, 说明保存温度与感官评分值变化有密切的相关性。王道营等也指出在冷藏过程中, 不同品种鸭肉的营养物质及滴水损失等品质变化存在差异^[16]。由于冷藏过程中, 鸭肉表面滋生的微生物影响鸭肉系水力等品质, 而不同品种鸭肉本身的物质可能影响微生物生长速度及多样性, 导致系水力的变化差异^[17]。然而, 也有研究指出, 冷藏影响鸭肉pH和肉色等品质, 但不影响鸭肉的系水力^[18]。

4 小结

白鹇鸭♀与中山麻鸭♂的杂交后, 其杂交后代较白鹇鸭体型明显增大, 后代肉鸭胸肌嫩度、pH、肉色等肉品质较中山麻鸭显著改善。因此, 通过白鹇鸭♀与中山麻鸭♂杂交选育的肉鸭品系较中山麻鸭肉品质更优, 该配套技术可在肉鸭生产中推广应用。

参考文献:

- [1] 沈晓昆, 戴网成, 王永昌. 对我国水禽品种史现有文献的探讨[J]. 中国家禽, 2010, 32(13):56-58.
- [2] 雷秋霞. 介绍三个蛋肉兼用型地方鸡良种[J]. 农村百事通, 2009(13):41-42.
- [3] 刘行. 鸭中国粹—白鹇鸭[J]. 农村实用科技信息, 2002(05):27.
- [4] 香醇药膳白鹇鸭[J]. 现代农业, 2004(03):10.
- [5] 吴咏梅, 殷颖珊, 莫学辉. 我国唯一药用鸭—白鹇鸭的特点及饲养管理要点[J]. 广东畜牧兽医科技, 2011, 36(05):22-33.
- [6] 吴显华, 包世增. 广东省家禽品种资源开发利用的几个问题[J]. 养禽与禽病防治, 1985(02):2-4.
- [7] 广东水禽产业现状与思考[J]. 广东饲料, 2012, 21(07):11-13.
- [8] 王双全, 金雪. 白鹇鸭的养殖前景分析[J]. 吉林农业, 2004(03):25.
- [9] 林如龙, 陈红萍, 朱志明. 山麻鸭品系配套杂交效果研究[J]. 中国家禽, 2012, 34(21):15-19.
- [10] 王兆山. 不同鸭品种杂交组合生产性能与肉品质比较[D]. 硕士学位论文, 扬州:扬州大学, 2018.
- [11] SUMAN S P, JOSEPH P. Myoglobin chemistry and meat color [J]. Annual Review of Food Science Technology, 2013, 4:79-99.
- [12] MANCINI R A, HUNT M C. Current research in meat color[J]. Meat Science, 2005, 71(1):100-121.
- [13] HE F Y, KIM H W, HWANG K E, et al. Effect of Ginger Extract and Citric Acid on the Tenderness of Duck Breast Muscles [J]. Korean Journal for Food Science of Animal Resources, 2015, 35(6):721-730.
- [14] MIAR Y, PLASTOW G, BRUCE H, et al. Genetic and phenotypic correlations between performance traits with meat quality and carcass characteristics in commercial crossbred pigs [J]. PLoS One, 2014, 9(10):e110105.
- [15] KOKOSZYNSKI D, PIWCZYNSKI D, ARPASOVA H, et al. A comparative study of carcass characteristics and meat quality in genetic resources Pekin ducks and commercial crossbreds [J]. Asian - Australasian Journal of Animal Sciences, 2019: 1753-1762.
- [16] 王道营, 诸永志, 徐为民. 不同品种冰鲜鸭肉加工特性和游离脂肪酸组成的比较分析[J]. 安徽农业科学, 2008(18):7900-7901.
- [17] 杨万根, 朱鹏霄, 李红, 等. 冷藏过程中冰鲜鸭肉的微生物及品质变化[J]. 肉类工业, 2013(03):21-25.
- [18] ALI M S, YANG H S, JEONG J Y, et al. Effect of chilling temperature of carcass on breast meat quality of duck [J]. Poultry Science, 2008, 87(9):1860-1867.

豫东地区鸡球虫分离鉴定及致病性研究

郭全海¹, 刘诗柱¹, 王留¹, 刘中原², 王中华¹

(1. 商丘职业技术学院, 河南 商丘 476000;

2. 商丘市农业农村局, 河南 商丘 476000)

摘要:为了调查河南省豫东地区鸡球虫的种类以及不同混合球虫对雏鸡致病强弱, 采集了豫东9个乡镇27个粪便及肠内容物样本进行球虫卵囊分离。根据鸡球虫的形态学、病鸡临床病理等进行综合判定, 发现6种鸡球虫卵囊, 其中柔嫩艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫及巨型艾美耳球虫为3种优势虫种。分别选择2、3、4种混合球虫的分离株对雏鸡致病试验。结果表明, 不同混合鸡球虫对雏鸡的致病性与混合球虫的种类及种类数有关系, 混感致病强的优势虫种多, 发病更严重。这一调查结果及致病试验数据为豫东地区防控鸡球虫病奠定了基础。

关键词:鸡球虫; 分类鉴定; 雏鸡; 致病性; 比较

中图分类号:S855.9 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)05-0039-05

鸡球虫病是对养鸡业危害非常严重的寄生虫病, 尤其对雏鸡的危害更大。目前全世界发现的鸡球虫种类多达13种, 在我国发现9种, 其中有7种比较普遍^[1-2]: 巨型艾美耳球虫(*E.maxima*)、堆型艾美耳球虫(*E.acervulina*)、毒害艾美耳球虫(*E.necatrix*)、柔嫩艾美耳球虫(*E.tenella*)、早熟艾美耳球虫(*E.praecox*)、和缓艾美耳球虫(*E.mitis*)及布氏艾美耳球虫(*E.brunetti*)。

鸡球虫的感染与气候、养殖环境、管理条件等多方面因素有关^[3]。我国版图广, 地理环境差别大, 不同地区优势虫种不同, 不同球虫种类之间无交叉免疫^[4], 因此, 在临床上常出现多球虫混合感染的情况。不同品种鸡对球虫的易感性有差异, 总体是肉用品种较肉蛋兼用型高^[5]。每一种球虫对鸡的危害部位及危害程度也是不同的, 熟悉当地球虫的分布种类, 做到针对性的防控鸡球虫病, 可节省财力、物力, 也能高效遏制其发展和蔓延。为使调查试验数据能客观反应实际, 本研究随机采集了豫东地区三个市9个乡镇的27个样本, 采

集对象有规模化场也有散养户, 有笼养鸡也有地面饲养鸡。对采集样本分别进行有无球虫卵囊筛查及鉴定, 部分分离株球虫卵囊分别接种试验雏鸡, 进而掌握不同混合球虫株对雏鸡的致病性。为预防豫东地区鸡场球虫病, 有必要了解球虫种类及对雏鸡的致病性。

1 材料与方法

1.1 试剂及仪器

2.5%重铬酸钾($K_2Cr_2O_7$)溶液、饱和食盐水、电冰箱(青岛海尔)、光学显微镜(上海光学仪器厂生产)、数字摄像显微系统、离心机(上海通用分析仪器厂生产)、电热恒温培养箱(购自上海森信实验仪器有限公司)、普通天平、40目铜筛、260目尼龙筛、烧杯、胶头吸管等。

1.2 试验动物

从河南省华美禽业有限公司购买1日龄海兰褐蛋鸡, 饲养于经严格消毒无球虫污染的笼舍中, 饲喂自配无添加抗球虫药的全价饲料, 鸡只自由

收稿日期: 2020-04-13

基金项目: 河南省科技攻关项目(162102110055); 河南省高等学校青年骨干教师培养计划项目(2018GGJS222)

作者简介: 郭全海(1980-), 男, 河南淮阳人, 硕士, 副教授, 主要从事动物分子生物学、免疫学及疫病防治等方面的研究。E-mail: guohan611@163.com

采食、饮水。

1.3 样本采集与标记

从商丘的利民镇、路河镇、尚屯镇,周口的逍遥镇、五里口乡、白楼乡,开封的朱仙镇、邢口镇、葡萄架乡,随机选择了27个养鸡场及散养户收集新鲜粪便及发病鸡剖检肠内容物,每个采样点的粪便都从多位置多角度采集,标记,也对病鸡的消化道病变做好记录。

1.4 卵囊分离及培养^[1]

称取混匀的新鲜粪便样本5 g,放入烧杯中,加入4倍体积的饱和食盐水,用玻璃棒充分搅匀后静置10 min,取上清涂片在显微镜下镜检,一次未检出的需重复5次,最终判断样本是否含有球虫,并对样本再一次做阴、阳标记。对阳性样本分别进行球虫卵囊分离:(1)取粪便样本10 g,放入100 mL烧杯中,加入4倍体积蒸馏水,均匀搅拌,经40目铜筛网、260目尼龙筛网过滤;(2)将滤液2500 r/min离心5 min,弃上清液,在沉淀中再加入蒸馏水,如此重复4次,弃上清液;(3)在沉淀中加入4倍沉淀体积的饱和食盐水,充分混匀,2500 r/min离心10 min,择取上层悬浮物至新洁净烧杯;(4)加4倍沉淀体积的蒸馏水洗涤、3000 r/min离心、取沉淀,重复4次;(5)取沉淀,加入12倍沉淀体积的2.5%重铬酸钾溶液,在29℃电热恒温箱里孢子化60 h,做好标记,置4℃保存备用。一次粪便中分离球虫卵囊少时,可用同样的方式进一步制备获取足量的球虫卵囊。

1.5 种类鉴定

1.5.1 卵囊的外部特征

通过显微摄像,依据卵囊的形状、大小、颜色等特点做出种类初步判断,具体做法参照文献[2,6]:卵囊最大,24.50 μm×32.53 μm左右,卵圆呈黄褐色,可判定巨型艾美耳球虫;卵囊近于圆形、淡黄绿色,大小为17.31 μm×14.21 μm左右,在所有球虫中体积最小,为和缓艾美耳球虫;柔嫩艾美耳球虫23.45 μm×19.23 μm左右,卵圆,囊壁呈淡绿色;堆型艾美耳球虫卵囊为20.12 μm×15.13 μm左右,卵圆无色;早熟艾美耳球虫22.4 μm×18.1 μm左右;毒害艾美耳球虫卵囊无色呈卵圆形,16.12 μm×15.42 μm左右;布什艾美耳球虫,卵圆呈淡黄色,大小26.9 μm×22.3 μm左右。不过,后5种的鉴定还需结合其它方面做进一

步判断。

1.5.2 球虫寄生部位及病变

不同种类鸡球虫寄生的部位不同,对鸡造成的病理伤害也有区别,结合剖检病鸡的消化道病变,也可以对部分球虫做出判断,参照文献进行^[7-9]。根据剖检鸡盲肠出血、肿胀,可对该部位球虫初步判断为柔嫩艾美耳球虫。十二指肠部位出血、肿胀,可初步判断堆型艾美耳球虫;布氏艾美耳球虫感染时,病变集中于小肠后段和直肠;毒害艾美耳球虫,主要危害小肠中段浆膜表面。

1.5.3 子孢子形成时间

每种鸡球虫卵囊都有形成子孢子的时间,记录卵囊孢子化用时,也可对相应球虫种类做出初步判断。根据文献资料显示,和缓艾美耳球虫的孢子化时间为25 h左右,巨型艾美耳球虫一般需48 h^[7]。

1.5.4 卵囊增值再鉴定

由于卵囊数量、形态及致病部位等因素不能非常准确鉴定出球虫种类的阳性样本,把1.4中分离到的卵囊重新接种无球虫感染鸡,进一步做鉴定及致病备用。

1.6 致病试验

1.6.1 分组及接种处理

雏鸡饲喂至14日龄,用盐水漂浮法鉴定无球虫感染后,选择体重相近的健康鸡只进行随机分组,每组15只。从采集样本中选择优势球虫混合株、优势与非优势球虫混合株进行雏鸡接种致病试验,2种、3种、4种混合球虫株分别为2株。样本序号分别为:2(堆型、柔嫩),6(堆型、巨型),16(巨型、柔嫩、和缓),20(堆型、巨型、毒害),10(堆型、巨型、柔嫩、早熟),22(堆型、柔嫩,早熟,毒害)。试验组分别记作1、2、3、4、5、6,每组接种的孢子化卵囊数量为 8×10^4 个,堆型:柔嫩=4:6,堆型:巨型=4:6,巨型:柔嫩:和缓=3:5:2,堆型:巨型:毒害=4:4:2,堆型:巨型:柔嫩:早熟=2:3:4:1,堆型:柔嫩:早熟:毒害=3:4:2:1。另设一个空白对照组,作为第7组。接种球虫后每天称重,观察和记录各组鸡的精神状态、粪便颜色及发病情况。第8天时剖检所有试验鸡,统计增重率、肠道病变与虫体寄生部位病变值、发病率及死亡率。剖检时着重观察鸡

的肠道变化,进一步核实球虫种类的鉴定。

1.6.2 判定标准

①相对增重率

相对增重率(%)=(感染组的平均增重/对照组的平均增重)×100%

②平均增重率

平均增重=(试验末重-试验初重)/鸡只数

③存活率

存活率(%)=存活鸡数÷起初试验鸡数×100%

④死亡率

死亡率=(球虫致病死亡鸡只数/试验组内总鸡数)×100%

⑤血便记分

0分,100%粪便不带血;1分,1%~25%粪便带血;2分,26%~50%粪便带血;3分,51%~75%粪便带血;4分,76%~100%粪便带血。

⑥肠道病变记分

0分,眼观肠道未见异常;1分,肠道充血或增厚;2分,肠道增厚,有微量出血和渗出;3分,肠道弥漫性出血;4分,肠道严重出血、甚至出现肠芯。

2 结果与分析

2.1 球虫种类及分析

综合各种判断方法,前期球虫种类的判断与

表1 样本信息及鉴定鸡球虫种类

辖区	采集地及编号	饲养方式	日龄	鸡品种	鸡球虫种类						种类合计	
					巨型	堆型	柔嫩	早熟	毒害	和缓		
商丘市	利民镇	1	地面平养	18	肉鸡	+	-	+	-	-	+	3
		2	地面平养	17	肉鸡	-	+	+	-	-	-	2
		3	网床平养	12	肉鸡	-	-	+	-	+	-	2
	路河镇	4	地面平养	35	肉鸡	-	+	+	-	-	+	3
		5	网床平养	52	肉鸡	-	-	-	-	-	-	0
		6	笼养	110	蛋鸡	+	+	-	-	-	-	2
	尚屯镇	7	笼养	95	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0
		8	地面平养	36	肉鸡	+	+	+	-	-	-	3
		9	地面平养	42	肉鸡	-	+	-	+	+	-	3
逍遥镇	10	地面平养	25	柴鸡	+	+	+	+	-	-	4	
	11	地面平养	60	肉鸡	+	+	+	-	-	-	3	
	12	地面平养	38	肉鸡	-	-	+	+	-	-	2	
周口市	五里口	11	笼养	180	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0
		14	地面平养	45	肉鸡	-	-	+	-	-	+	2
		15	地面平养	29	肉鸡		+	+	+	-	-	3
	白楼乡	16	地面平养	19	肉鸡	+	-	+	-	-	+	3
		17	地面平养	22	柴鸡	-	+	+	+	+	-	4
		18	笼养	201	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0
朱仙镇	19	笼养	240	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0	
	20	网床平养	75	肉鸡	+	+	-	-	+	-	3	
	21	网床平养	86	肉鸡	-	-	-	-	-	-	0	
开封市	邢口镇	22	地面平养	35	肉鸡	-	-	+	+	-	-	2
		23	地面平养	63	柴鸡	-	-	+	-	+	-	2
		24	笼养	153	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0
	葡萄架	25	笼养	120	蛋鸡	+	-	-	-	+	-	2
		26	笼养	106	蛋鸡	-	-	-	-	-	-	0
		27	地面平养	68	柴鸡	+	+	+	-	-	+	4
阳性合计	--	--	--	--	9	11	15	6	6	5	--	

后期致病复核一致,采集样本中发现6种鸡球虫:巨型艾美耳球虫(*E.maxima*)、堆型艾美耳球虫(*E.acervulina*)、柔嫩艾美耳球虫(*E.tenella*)、毒害艾美耳球虫(*E.necatrix*)、早熟艾美耳球虫(*E.praecox*)及缓艾美耳球虫(*E.mitis*),未见布什艾美耳球虫(*E.brunetti*)。前3种球虫检出几率较高,分别为33.3%、40.7%、55.6%。阳性样本中均为混合感染,有2种、3种及4种球虫感染的,分别占44.4%、44.4%、15.9%。结果表明,豫东地区主要以2种及3种球虫混感为主。27个样本中,检出阳性19个,阳性检出率为70.4%,可见豫东地区球虫感染率非常之高。(见表1)

2.2 感染卵囊对雏鸡的增重影响

雏鸡感染鸡混合球虫卵囊后,出现明显的生长障碍,试验3组与4组感染3种混合球虫卵囊雏鸡相对增重率(46.1%、59.0%),明显优于试验5、6组感染4种混合球虫卵囊的雏鸡(41.4%、43.3%),而又明显低于感染两种混合球虫卵囊的试验1组和2组雏鸡增重率(64.8%、70.4%)。(见表2)

表2 接种混合卵囊对雏鸡增重影响

编号(组)	初重(g)	终末重(g)	平均增重(g)	相对增重率(%)
1	135.44	195.21	59.77	64.8
2	136.25	201.2	64.95	70.4
3	134.26	176.72	42.46	46.1
4	134.88	189.32	54.44	59
5	135.16	173.31	38.15	41.4
6	135.23	175.12	39.89	43.3
7	136.65	228.85	92.2	—

2.3 接种混合球虫卵囊对雏鸡发病影响

在接种混合球虫卵囊第4天上午,所有感染试验组的部分雏鸡开始出现精神异常,而对照组精神饱满、饮食正常。其中,1、3、5、6四组部分鸡排出水样稀粪并带血液。第5天和第6天,感染试验组鸡只均表现出精神状况差、嗜睡、畏寒扎堆、翅膀下垂、采食量减少等症状,排出血便,有的死亡,试验2组较其它感染组精神状况好。

接种混合球虫卵囊第4天,1、3、5、6组鸡只开始排出血便,但粪便中血液较少,血便记分为1,而2、4两组未出现血便。感染至第5天,第2组和

第4组鸡只也开始出现血便,血便记分为1;第1、3、5组试验雏鸡血便加重,整体血便程度达到50%,计2分。发病至第6天时,1、3、5、6组试验雏鸡血便又进一步明显,计3分,2、4组、轻微血便,计1分。第7天,试验2组雏鸡血便不明显,计0分;4组仍有轻微血便,计1分;1、3组血便程度70%左右,计3分;5组粪便带血程度可达90%,计4分;6组血便70%,计3分。整个试验过程,对照组(第7组)未见异常和死亡。(见表3)

表3 各试验组雏鸡血便计分

编号(组)	感染时间及血便计分				血便平均分
	4天	5天	6天	7天	
1	1	2	3	3	2.25
2	0	1	1	0	0.5
3	1	2	3	3	2.25
4	0	1	1	1	0.75
5	1	2	3	4	2.5
6	1	3	3	3	2.5
7	0	0	0	0	0

2.4 感染卵囊对鸡的死亡率及肠道病变影响

结果详见表4。感染卵囊后的8天内,各试验组均有雏鸡自然病死,而对照组未见异常,健康成长。试验1、3、5组在感染后第5天开始出现死亡病例,第6天各组死亡数量达到高峰,至第7天各组死亡数量有所缓解,第8天未出现自然死亡,死亡呈尖峰曲线式。6组感染鸡中,第5、6组死亡数量均达9只,死亡率为60%,而第2组和第4组死亡率较低,均为20%。剖检各组鸡发现:第1组鸡盲肠及十二指肠出血严重且盲肠肿大;第2组小肠出血明显;第3组鸡盲肠肿大出血、十二指肠出血显著;第4组小肠及十二指肠出血明显;第5组盲肠肿大出血、十二指肠及小肠出血严重;第6组盲肠、十二指肠及小肠均出血显著,而对照组第7组未见死亡和肠道病变。

3 讨论

为了便于种类的鉴定以及鉴定的完善和准确性,在样本采集时选择地理位置及养殖量均是豫东区有代表性的乡镇采集点。样本采集尽量多方

表4 感染雏鸡死亡及肠道病变情况

编号(组)	感染卵囊时间及死亡数量					死亡率 (%)	肠道病变分
	4天	5天	6天	7天	8天		
1	0	1	3	1	0	33.3	2
2	0	0	2	1	0	20	1
3	0	1	3	2	0	40	2
4	0	0	2	1	0	20	1
5	0	2	4	3	0	60	3
6	0	3	3	3	0	60	3
7	0	0	0	0	0	0	0

位、多角度进行,采集疑似发病鸡消化道特殊部位内容物,对于部分含卵囊量少的样本进行了扩再增鉴定,并且在致病试验后进行致病样本的核实鉴定,确保使鉴定结果精准。

在我国流行的7种鸡球虫中,在不同地区发病情况不同,每个地区流行的优势虫种也不一样。何良军等对新疆阿克苏地区鸡球虫病流行调查发现主要有堆型艾美耳球虫、柔嫩艾美耳球虫、巨型艾美耳球虫3种,感染病例均为混合感染,堆型艾美耳球虫感染率高达81%^[3]。王开胜等对新疆北疆部分地区鸡球虫病感染调查发现鸡球虫的感染率达到100%,检出了6种球虫,包括在我国出现相对较少的哈氏艾美耳球虫、布氏艾美耳球虫,而柔嫩艾美耳球虫、巨型艾美耳球虫和堆型艾美耳球虫占比非常大,为当地优势虫种^[6]。周春炎等对江苏省如皋市鸡球虫感染状况进行调查发现了柔嫩艾美耳球虫、毒害艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫、巨型艾美耳球虫、和缓艾美耳球虫和早熟艾美耳球虫等6种球虫,优势虫种有柔嫩艾美耳球虫、堆型艾美耳球虫和巨型艾美耳球虫^[10]。各研究结果不同,可能与不同地区的湿度、温度、养殖环境与防控等方面有关系。

本试验结果表明,不同混合鸡球虫对雏鸡的致病性与混合球虫的种类、混合球虫的种类数有关系。多个种类的球虫混合感染雏鸡,对鸡的伤害程度不一,如试验中堆型、巨型、毒害三种混合球

虫感染雏鸡,致死率仅为20%,低于堆型、柔内两种混合球虫感染雏鸡的致死率33.3%,而同样是感染巨型、柔嫩、和缓三种球虫的雏鸡死亡率达到40%。能够感染多种球虫,可能与各球虫间无交叉免疫保护有关,雏鸡的高死亡率可能与雏鸡致病性高的柔嫩艾美耳球虫可能有关,其主要危害免疫器官盲肠,也进一步为其他球虫的侵害提供了可乘之机。因此,豫东地区饲喂雏鸡要把防控鸡柔嫩艾美耳球虫作为重中之重。多个种类的球虫感染雏鸡,对雏鸡伤害性不一定高,可能与虫种之间的竞争发育有关,有些种类的球虫对雏鸡的感染性较低,不是雏鸡感染的优势虫种。

通过调查及雏鸡致病试验,发现了豫东地区的优势鸡球虫种类及混合感染的致病情况。由于不同球种对不同药物的敏感性不一样^[12],因此本次调查及试验结果可以为豫东地区防控鸡球虫病用药奠定基础。

参考文献:

[1] 索勋,李国清. 鸡球虫病学[M]. 北京:中国农业大学出版社, 1998.

[2] 杨光友. 动物寄生虫病学[M]. 北京:中国农业出版社, 2017.

[3] 何良军,王时伟,李玲真. 阿克苏地区鸡球虫病流行情况调查[J]. 中国家禽, 2007, 29(9):42-44.

[4] CHAPMAN H D. Milestones in avian coccidiosis research: Areview[J]. Poultry Science, 2014, 93(3):501-511.

[5] 李建梅,刘梅,沈欣悦,等. 我国不同地方品种鸡(Gallus gallus domesticus)对柔嫩艾美耳球虫的易感性[J]. 畜牧兽医学报, 2016, 4(10):2098-2107.

[6] 王开胜,刘继荣. 新疆北疆部分地区鸡球虫病病原调查及分类鉴定[J]. 新疆农业科学, 2016, 53(5):955-960.

[7] 蒋金书. 动物原虫病[M]. 北京:中国农业大学出版社, 2000.

[8] 张西臣,李建华. 动物寄生虫病学[M]. 北京:版社, 2007.

[9] 王时伟,岳城,段嘉树. 33个小型鸡场球虫流行病学调查[J]. 中国兽医寄生虫病, 2004, 12(3):14-18.

[10] 周春炎,刘丹丹,许金俊,等. 江苏省如皋市鸡球虫感染情况的调查分析[J]. 中国家禽, 2018, 40(17):69-72.

[11] 黄仪娟,王新秋,林瑞庆,等. 四川部分地区鸡球虫分离株对11种抗球虫药物的耐药性调查[J]. 动物医学进展, 2019, 40(3):133-139.

不同生产模式对苏威肉鸽生产性能的影响

穆春宇¹, 汤青萍, 卜柱^{1*}, 李复煌³, 常玲玲¹, 付胜勇¹, 张蕊¹, 陈卫彬², 王梁³

(1. 江苏省家禽科学研究所, 江苏 扬州 225125;

2. 江苏威特凯鸽业有限公司, 江苏 江阴 214400;

3. 北京市畜牧总站, 北京 100107)

摘要:本试验以苏威肉鸽为研究对象, 采用自然孵化自然哺育传统生产模式与人工孵化联合“2+3”(两只亲鸽哺喂三只乳鸽)现代生产模式, 研究生产性能的差异。结果表明:现代模式与传统模式相比, 受精蛋孵化率提高了13.9%, 乳鸽28日龄成活率降低了3.56%, 2周龄、3周龄和4周龄体重分别降低了7.82%、7.68%和12.7%。每对种鸽平均每月提供上市乳鸽数增加0.36只; 体尺和屠宰性能指标普遍较低, 体重上现代模式♀(母)(521 g)与传统模式♂(公)(617 g)、♀(605 g)存在显著性差异($P < 0.05$)。体斜长、胸深和胫围上现代模式(♂、♀)与传统模式(♂、♀)存在显著性差异($P < 0.05$)。胸宽只有现代模式♀(66.1 mm)和传统模式♂(70.8 mm)存在极显著差异($P < 0.01$)。胫长上传统模式♂(43.0 mm)与现代模式♂(40.8 mm)、♀(42.0 mm)存在极显著性差异($P < 0.05$)。屠宰率传统模式♂(86.5%)极显著高于现代模式♂(90.2%)($P < 0.01$)。因此, 留种建议使用传统模式。综合考虑经济收益, 采用人工孵化联合“2+3”现代生产模式, 一对种鸽一年可多增收89元, 经济效益得到提高。

关键词:苏威肉鸽; 自然孵化; 人工孵化; “2+3”生产模式; 生产性能

中图分类号:S815.5 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)05-0044-04

乳鸽依靠吸吮亲鸽嗉囊产生的鸽乳生长, 其肉含有高蛋白低脂肪, 药用价值高的特点, 素有“动物人参”之称, 是理想的高级滋补营养品, 深受消费者的喜爱, 具有很好的开发前景和利用价值^[1]。近年来肉鸽养殖发展迅速, 提高生产效率成为肉鸽养殖业的迫切需求。

种鸽完整的自然繁殖周期, 一般为43天左右, 包含求偶、筑巢、交配、产蛋、孵化和哺育6个阶段。MEDWAY研究发现给予孵化期的种鸽仿真蛋, 可以维持其孵化行为, 因此人工孵化技术在鸽养殖中应用是可行的^[2]。此外Lehrman早期研究发现, 一对鸽产蛋被取走后, 其会重新产一窝蛋, 因

此抽蛋及“2+3”生产模式在鸽养殖中得到推广^[3]。但也有很多养殖户坚持采用自然孵化亲鸽哺育的传统生产模式, 认为这种生产模式生产出的乳鸽体重更大, 有利于维持亲鸽的繁殖水平。

苏威肉鸽为江苏省家禽科学研究所和江苏威特凯鸽业有限公司联合选育的三系配套肉鸽, 已经过六个世代的选育, 正在申请国家新品种(配套系)审定。本研究以苏威肉鸽为试验对象, 比较研究两种生产模式下种鸽和乳鸽生产性能上的差异, 为肉鸽现代生产模式的推广应用提供理论指导和数据支撑。

收稿日期:2019-12-22

基金项目:江苏省重点研发项目(现代农业)(BE2017348);江苏省属公益类科研院所自主科研经费(BM2018026);2019年北京市农业科技项目(20190115)

作者简介:穆春宇(1990-), 男, 山东临沂人, 硕士, 研究方向:主要从事家禽遗传资源及育种研究。E-mail: muchunyu_521@126.com

*通讯作者:卜柱, 研究员, 研究方向:主要从事家禽遗传资源及育种研究。E-mail: jsbuzhu@163.com

1 材料方法

1.1 试验动物

以江苏威特凯鸽业有限公司饲养条件相同的苏威肉鸽父母代, 选取传统生产模式(自然孵化、自然哺育)256对, 现代生产模式(人工孵化、并仔2+3)2350对。试验期2018年8月10日~2019年2月10日。详细记录每对种鸽生产数据和群体饲料消耗。

1.2 成年鸽繁殖性能和乳鸽各周龄体重测定

根据生产记录统计2018年8月10日~2019年2月10日繁殖性能: 产蛋数、受精率、受精蛋孵化率、乳鸽28日龄成活率和月产乳鸽数。同期选取两种模式下2 W、3 W和4 W各100只乳鸽进行称重。

1.3 体重、体尺和屠宰性能测定

在试验期间选取两种模式下28日龄乳鸽各30只, 空腹12 h, 编号, 测量体重和体尺, 体尺包括体斜长、龙骨长、胫长、胫围、胸宽、胸深。测定方法参照NY/T823-2004进行^[4]。

体重、体尺测量后, 立即进行屠宰试验, 采用颈外放血、湿拔毛法。屠宰性能指标包括: 屠体重、全净膛重、半净膛重、胸肌重、腿肌重、腹脂重, 然后进行屠宰率、全净膛率、半净膛率、胸肌率、腿肌率和腹脂率的计算分析。测定方法参照NY/T823-2004进行。

1.4 试验饲料及饲养管理

试验饲料参照江苏威特凯鸽业有限公司的饲养规程, 使用玉米、小麦为主要原料制成。饲养试验地点为江苏省威特凯鸽业有限公司。鸽子自由采食和饮水。饲料消耗是统计全群每月的消耗量。

1.5 数据分析

应用 Excel 软件进行数据整理, 使用 SPSS22.0 进行统计分析。亲鸽的繁殖性能和乳鸽体重、体尺、屠宰性能比较采用单因子方差分析。

2 试验结果

2.1 繁殖性能

现代模式和传统模式种鸽生产性能见于表1, 现代模式和传统模式乳鸽各周龄体重见于表2。现代模式和传统模式相比, 受精率相近, 受精蛋孵化率提高了13.9%, 乳鸽28日龄成活率降低了3.56%, 月产乳鸽数提高了0.36只。由表2可知, 现代模式和传统模式相比, 2周龄、3周龄和4周龄体重分别降低了7.82%、7.68%和12.7%。

表1 两种模式苏威种鸽生产性能

分组	月产蛋数 (个、对)	受精率 (%)	受精蛋孵 化率(%)	乳鸽28日龄 成活率(%)	月产乳鸽 数(只、对)
现代模式	2.24	91.7	93	87.5	1.78
传统模式	2.1	91.4	79.1	91.2	1.42

表2 两种模式乳鸽各周龄体重(单位:g)

分组	2 w	3 w	4 w
现代模式	374±59.2	497±56.0	530±67.9
传统模式	406±69.1	538±83.1	608±60.9

2.2 体尺指标

现代模式和传统模式苏威肉鸽乳鸽体尺数据见表3, 由表3可知, 除了龙骨长无显著性差异外, 体重上现代模式♀(母)(521 g)与传统模式♂(公)(617 g)、♀(605 g)存在显著性差异($P < 0.05$)。体斜长、胸深和胫围上现代模式(♂、♀)与传统模式(♂、♀)存在显著性差异($P < 0.05$)。胸宽只有现代模式♀(66.1 mm)和传统模式♂(70.8 mm)存在极显著差异($P < 0.01$)。胫长上传统模式♂(43.0 mm)与现代模式(♂(40.8 mm)、♀(42.0 mm))存在极显著性差异($P < 0.05$)。

表3 两种模式乳鸽体尺数据

指标	传统模式♂	传统模式♀	现代模式♀	现代模式♂
体重/g	617±84.5 ^{bb}	605±63.7 ^{bb}	521±52.0 ^{aa}	571±51.8 ^{ab}
体斜长/cm	13.6±0.64 ^{bb}	13.6±0.76 ^{ab}	13.0±0.40 ^{aba}	12.9±0.46 ^{aa}
龙骨长/cm	9.18±0.56	9.11±0.65	8.80±0.46	8.92±0.70
胸深/mm	74.7±4.70 ^{bb}	74.4±4.94 ^{bb}	69.9±2.90 ^{aa}	70.9±3.82 ^{aba}
胸宽/mm	70.8±5.47 ^b	69.0±3.49 ^{ab}	66.1±2.33 ^a	67.7±4.15 ^{ab}
胫长/mm	43.0±1.75 ^{bc}	42.0±1.97 ^{abbc}	40.3±1.91 ^{aa}	40.8±1.48 ^{ab}
胫围/cm	2.91±0.08 ^{aa}	2.88±0.11 ^{aa}	3.02±0.17 ^{ab}	3.07±0.15 ^{bb}

注: 同行不标注或肩注相同字母者表示差异不显著($P > 0.05$), 小写字母不同者表示差异显著($P < 0.05$), 大写字母不同者表示差异极显著($P < 0.01$)。下同

2.3 屠宰性能指标

现代模式和传统模式乳鸽体尺屠宰数据见于表4, 由表4可知, 屠体重现代模式♀和现代模式♂、传统模式♂、♀存在极显著性差异($P < 0.01$), 传统模式♂屠宰率(90.16%)极显著高于现代模式♂(86.54%)($P < 0.01$)。

表4 两种模式乳鸽屠宰数据

指标	传统模式♂	传统模式♀	现代模式♀	现代模式♂
屠体重/g	532±64.2 ^B	533±59.8 ^B	459±39.0 ^A	515±45.9 ^B
屠宰率/%	86.5±2.98 ^A	88.2±1.61 ^{AB}	88.4±5.03 ^{AB}	90.2±1.72 ^B
半净膛率/%	78.2±3.41	78.4±3.22	78.7±5.25	75.6±3.96
全净膛率/%	71.2±3.24	71.0±3.28	72.8±5.09	72.4±2.77
胸肌率/%	25.0±2.13	27.7±5.80	26.0±1.90	25.1±1.73
腿肌率/%	7.99±0.83	7.74±0.51	6.90±1.02	7.80±3.77
腹脂率/%	0.56±0.44	0.83±0.67	0.83±0.43	0.61±0.35

2.4 经济效益分析

现代模式和传统模式饲料成本和经济效益分析见于表5, 由表5可知, 每对种鸽月产乳鸽数现代模式(1.78)要比传统模式(1.42)提高了32.4%, 饲料消耗增加了5.00%。一般情况, 市场乳鸽是以只为单位进行销售, 两种模式乳鸽销售价格没有差异, 因此净利润增加了62.0%。

表5 两种模式下一对种鸽一月饲料成本和经济效益分析

分组	月产乳鸽数(只, 对)	饲料消耗(kg/对)	饲料成本(元)	乳鸽收益(元)	净利润(元)
现代模式	1.78	4.83	12.07	30	18
传统模式	1.42	4.53	11.32	21.9	10.5

注: 每千克饲料按2.5元计算, 出售乳鸽按19元/只计算, 净利润是乳鸽收益减去饲料成本

3 讨论

与传统模式相比, 现代生产模式下, 窝仔数增加。因为两种模式的乳鸽获得的营养成分和食物量明显不同, 导致乳鸽体型发育上的差异。在体尺和屠宰性能上, 公母鸽之间呈现了性别两异性。

3.1 繁殖性能

种鸽的繁殖性能主要受遗传和环境的影响, 种鸽对外界的敏感性很高, 繁殖性能易受环境的干扰。周莲英曾用美国白王鸽进行不同孵化方式的研究, 发现孵化机孵化比自然孵化死胚率减少17.6%, 受精蛋孵化率提高17.6%, 平均每对种鸽年产乳鸽多3只^[5]。此外Darwati研究了印度尼西亚当地鸽的自然孵化方式下受精蛋孵化率为77.0%^[6], 与本研究传统模式受精蛋孵化率(79.1%)相近。研究显示现代模式受精蛋孵化率为93.0%。鸽蛋的孵化受外界环境温湿度影响较大, 孵化机可以对孵化过程的温湿度进行严格的控

制, 因此孵化率得到了提升。

由于现代模式下窝仔数增加, 每只乳鸽营养以及免疫因子的分配可能减少, 免疫活力降低, 死亡率提高, 该结论与Charlotte研究斑胸草雀的结果一致^[3]。本试验显示现代模式比传统模式乳鸽28日龄成活率降低了8.18%, 该结果与Oksanen的研究结果一致, 提高繁殖力, 会降低后代的存活率^[7]。前期研究显示2周龄是乳鸽生长的拐点, 拐点体重体现了亲鸽哺喂能力^[8]。南方地区乳鸽的上市时间为3周龄, 其他地区上市的乳鸽为四周龄。试验结果显示, 现代模式在2周龄、3周龄和4周龄时体重均低于传统模式, 该结果与王莹等的研究结果一致^[9]。

3.2 体重体尺指标

体尺和屠宰性状是衡量禽类机体发育状况和产肉性能的重要指标, 与遗传育种有着密切的关系, 也是衡量禽体健康状况的标志, 可直接反映出动物体组成及可食部分的比例^[10]。试验结果显示传统模式的体重体尺指标普遍高于现代模式, 该结果与蒋晓云等的研究结果一致^[11]。体尺遗传研究已较多, Christie和Wriedt在1937年对不同品种杂交鸽龙骨长进行了数据分析, 大小范围在6.46~8.73^[12]。本试验所测两种模式下乳鸽龙骨长之间没有显著性差异, 数据在此范围内波动。体尺指标表明, 传统模式生产的乳鸽体格发育的更好, 体重也更大。如果留种建议使用传统模式。

3.3 屠宰性能指标

屠宰性能是对家禽品种优劣、饲养管理水平及屠宰加工效益等进行评价的重要依据, 也是肉品科学需要的基础资料, 在鸽子方面, 白羽王鸽、卡奴鸽和欧洲肉鸽的屠宰性能也有相关报道。

在屠宰性状中屠宰率和全净膛率是衡量禽类产肉性能的主要指标, 一般认为屠宰率80.0%以上, 全净膛率60.0%以上, 肉用性能较好, 苏威肉鸽屠宰率和全净膛率均达到上述水平, 说明苏威肉鸽肉用性能较好。

3.4 经济效益分析

汪承相等对保姆鸽研究发现, 使用人工孵化, 保姆鸽带乳鸽, 每对种鸽年平均可增产乳鸽4.60只, 可增加效益83.0元(以当年乳鸽每只18.0~20.0元计算)^[13]。金耀忠等研究显示, 现代模式下平均每对种鸽每年能提供的上市乳鸽数增加4.90

只^[14]。本研究显示现代模式每对每月可多产0.36只乳鸽,年平均可增产乳鸽4.32只,与汪承相和金耀忠的研究结果相近。虽然现代模式下种鸽的饲料消耗增加,但总体来算净利润增加了62.0%。

4 结论

人工孵化结合“2+3”现代生产模式提高了产蛋数、受精蛋孵化率和乳鸽产量,乳鸽28日龄成活率和体重略有降低。现代模式乳鸽身体的发育程度较低,体尺和屠宰性能指标较低。乳鸽产出获得的经济收益,减去饲料消耗的成本,现代模式下一对种鸽一年可多增收89.0元,经济效益得到了很大的提高。但传统模式生产的乳鸽体格发育的更好,体重也更大,留种建议使用传统模式。

参考文献:

- [1] 龙菊,何映霞,叶静. 鸽肉的营养成分分析及其评价[J]. 食品工业科技, 2011, 32(12):447-448.
- [2] MEDWA L. Domestic pigeons: the stimulus provided by the egg in the nest[J]. Journal of Endocrinology, 1961, 23(1):9-18.
- [3] LEHRMAN D S. THE REPRODUCTIVE BEHAVIOR OF RING DOVES[J]. Scientific American, 1964, 211(5):48-54.
- [4] 陈宽维,高玉时,王志跃,等. 中华人民共和国农业行业标准家禽生产性能名词术语和度量统计方法[J]. 中国禽业导刊,

2006, (15):25-29.

- [5] 周莲英. 不同孵化方式对肉用种鸽孵化效果及养殖效益的影响[J]. 中国家禽, 2014, 36(13):56-57.
- [6] DARWATI S, MARTOJO H, SUMANTRI C, et al. PRODUCTIVITY, REPEATABILITY OF PRODUCTIVE AND REPRODUCTIVE TRAITS OF LOCAL PIGEON [J]. Public Administration Quarterly, 2010, 70(1):268-274.
- [7] OKSANEN T. Cost of reproduction and offspring quality in the evolution of reproductive effort [M]. Finland: University of Jyväskylä, 2002.
- [8] 穆春宇,汤青萍,卜柱,等. 三个肉鸽品种生长曲线的分析与拟合研究[J]. 中国农学通报, 2018, 34(11):128-133.
- [9] 王莹,路璐,丁家桐,等. 仿真蛋置换时间和育雏数量对肉鸽生长性能的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2013, 49(17):82-84.
- [10] 汤青萍,唐修君,章双杰,等. 太湖鹅体尺测量及屠宰性能测定[J]. 水禽世界, 2009, (3):36-39.
- [11] XIE P, JIANG X Y, BU Z, et al. Free choice feeding of whole grains in meat-type pigeons: 1. effect on performance, carcass traits and organ development[J]. British Poultry Science, 2016, 57(5):699-706.
- [12] WEXELSEN H. Size inheritance in pigeons [J]. Journal of Experimental Zoology, 2005, 76(2):161-186.
- [13] 刘晓明 汪承相,汪顺勤,等. 保姆鸽合理利用的效益评价[J]. 湖北畜牧兽医, 2008, 1(10):31-31.
- [14] 叶承荣 金耀忠,何随彬,等. 肉鸽人工孵化联合“2+3”生产模式的比较试验[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2015, 6:26-28.

上接第24页

各个养鸡场的阳性检出率有所差异,但产气荚膜梭菌的感染普遍存在。

4 结论

通过对珠三角地区10个规模化养鸡场进行鸡产气荚膜梭菌分子流行病学调查,发现珠三角地区规模化养鸡场的A型产气荚膜梭菌感染普遍存在。认为珠三角地区养鸡业主要受A型产气荚膜梭菌的影响,是危害珠三角地区养鸡业的重要病原。本调研结果较好地代表珠三角地区鸡产气荚膜梭菌的流行情况,为珠三角地区的鸡产气荚膜梭菌的防治提供数据支撑。

参考文献:

- [1] 黄广明,宝立群,牟和鑫,等. 我国部分地区牧场产气荚膜梭

菌感染状况的调查分析[J]. 中国乳业, 2019, (12):47-49.

- [2] 张彤宇. 华东部分地区羊源、水禽源产气荚膜梭菌的流行病学调查与毒力特性研究[D]. 硕士学位论文. 扬州:扬州大学, 2019.
- [3] 司南,祝令伟,景洁,等. 迁徙候鸟产气荚膜梭菌的分离鉴定与特性分析[J]. 中国兽医学报, 2020, 40(01):129-134.
- [4] 马壮. 广州市冷鲜鸡产气荚膜梭菌的污染分析及netB菌株的致病性研究[D]. 硕士学位论文. 兰州:甘肃农业大学, 2016.
- [5] KEYBURN A L, SHEEDY S A, FORD M E, et al. Alpha-toxin of Clostridium perfringens is not an essential virulence factor in necrotic enteritis in chickens[J]. Infection and Immunity, 2006, 74(11):6496-6500.
- [6] WU C Y, LIAO S Q, QI N S, et al. Moleccular Typing, Prevalence of netB and Antimicrobial Susceptibility among Clinical Isolates of Clostridium perfringens from Chickens in Southern China[C]. 2012, 11(8):1183-1187.

血清4型禽腺病毒TaqMan 荧光定量PCR方法的建立及初步应用

招丽婵, 王占新, 罗洋洋, 林欣, 鲁俊鹏*

(广东温氏食品集团股份有限公司, 广东省畜禽健康养殖与环境控制企业重点实验室, 广东温氏食品集团股份有限公司研究院, 广东 云浮 527400)

摘要:根据多个GenBank登录的血清4型禽腺病毒株hexon基因序列,经多序列比对分析选取高度保守区域设计特异性引物探针,建立了检测FADV-4的TaqMan荧光定量PCR方法。该方法扩增产物长度为71 bp,在 $10^1 \sim 10^7$ copies/ μ L范围内具有良好的线性关系,其扩增相关系数为0.995,初始模板最低检测下限为 7.3×10^1 copies/ μ L质粒DNA,与常规PCR相比灵敏度高约1000倍。以H9亚型流感病毒、新城疫病毒、传染性支气管炎病毒、传染性法氏囊病毒、网状内皮增生病毒、白血病毒、减蛋综合征病毒、传染性贫血病毒核酸为模板时,均检测不到荧光信号,批内和批间重复性试验变异系数均不超过2%,具有良好的特异性和重复性。本文建立的方法可为FADV-4的早期感染诊断及定量分析提供有效技术手段。

关键词:血清4型禽腺病毒; TaqMan荧光定量PCR

中图分类号:S852.65*7 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8567(2020)05-0048-05

禽腺病毒(Fowl adenovirus, FAdV)为属于腺病毒科、禽腺病毒属的双链DNA病毒。禽腺病毒根据其特异性抗原的不同禽腺病毒可分为I、II和III群^[1]。I亚群腺病毒依据限制性内切酶图谱和核酸序列等分子标准目前已经鉴定了5个禽腺病毒毒种,按照血清交叉中

和实验目前鉴定了鸡的12种血清型(FAdV 1~12)、火鸡2个血清型(TAdv 1~2)、鹅3个血清型(GAdv 1~3)、鸭2个血清型(DAdv 1-2)、鸽1个血清型(PiAdv)^[2]。其中基因C型包括血清4型和10型(FADV-4、FADV-10)病毒,其主要临床症状表现为心包积液综合征(Hydropericardium syndrome, HPS)、包涵体肝炎(Inclusion body hepatitis, IBH)。该病于1987年在巴基斯坦卡拉奇的安卡拉地区首先报道,故也称为安卡拉病,之后在亚洲的印度、韩国、日本,中东的伊朗、科威特,美洲的墨西哥、秘鲁、智利都有该病的报道^[1, 3-4]。2015年6月开始,我国华北、华东以及南方多地区的鸡群也相继

暴发了以心包积液、包涵体肝炎为主要临床特征的安卡拉 ADDIN NE.Ref. {62CAD3A4-E6CE-4634-B9FC-A1178D213F6C}[3, 60天龄左右肉鸡,白羽肉鸡、普通黄羽土鸡等品种均可感染发病,自然发病的死亡率一般在20%~60%不等。当与传染性法氏囊(IBDV)、传染性贫血(CAV)等免疫抑制病或免疫抑制因子混合感染时,发病与死亡率均大幅增加,这种差异主要是由感染的日龄、感染滴度及毒株本身的差异导致的^[7]。

目前对FADV-4的实验室诊断方法有病毒分离、免疫荧光法、限制性内切酶分析(REA)、琼脂扩散试验、酶联免疫吸附试验(ELISA),聚合酶链式反应(PCR)、实时荧光定量PCR、高分辨率融解曲线分析(HRM)等^[8-10]。其中以ELISA和PCR较为常用,传统的病原分离、琼脂扩散试验等血清学方法存在耗时长、灵敏度不够高等问题,在疾病的快速诊断上存在一定的局限性。近年来发展迅速的荧光定量PCR技术以其灵敏度高、速度快、特异性

收稿日期:2020-04-22

作者简介:招丽婵(1982-),女,广东佛山人,硕士研究生,兽医师,主要从事家禽传染病防控技术研究。E-mail:zlc0425@163.com

*通讯作者:鲁俊鹏(1981-),男,博士,研究室主任,研究方向:家禽传染病。E-mail:junpenglu@126.com

强等优点在早期的病原诊断方面得到了广泛应用。文章通过建立 Taqman 荧光定量 PCR 方法, 为该疾病的早期诊断提供有力工具, 同时也为该疾病的流行病学的研究提供参考。

1 材料与amp;方法

1.1 试剂

ABI7500Fast 型荧光定量 PCR 仪购自美国应用生物系统公司 (ABI); 核酸蛋白分析仪 Nano Drop ND-2000 购自 Thermo Fisher 科技公司; PCR 试剂盒、限制性内切酶、Ex-Taq DNA 聚合酶、pMD 19-T simple 载体、感受态细胞 DH-5 α 等购自宝生物工程 (大连) 有限公司 (TaKaRa); RaPure Viral RNA/DNA 提取试剂盒购自 AXYGEN 公司, 质粒小提试剂盒购自 OMEGA 公司。荧光定量 PCR 试剂盒购自英潍捷基 (上海) 贸易有限公司。

1.2 病毒

血清4型禽腺病毒 GD 株为广东某鸡场疑似心包积液-包涵体肝炎病例的发病鸡肝脏中分离鉴定所得, 由本实验室保存备用。

1.3 引物的设计

根据 NCBI 数据库公布的 FADV-4 hexon 基因序列的保守区域, 利用 DNASTar 软件进行序列比对, 找出保守序列, 以本实验室分离的 FADV-4 GD 株为模板, 利用探针设计软件 Primer Express 3.0 设计出一对 TaqMan 荧光定量 PCR 引物和探针, 序列信息及见表 1。

表1 FADV-4 hexon 基因实时荧光定量 PCR 引物探针

名称	序列	位置
TaqMan F	CATCGACCAGATGGACAACGT	1545 ~ 1565
TaqMan R	AGCTGGGAGCGGTATTTTCAG	1597 ~ 1616
TaqMan Probe	CY5-5'AACCCCTTCAACCACCA CAGAAACTGG3'-BHQ	1567 ~ 1593

1.4 病毒核酸提取

根据 AXYGEN 公司病毒 RNA/DNA 提取试剂盒详细操作见产品说明书对血清4型禽腺病毒 GD 株细胞培养病毒液进行 RNA/DNA 抽提。

1.5 阳性标准品的制备

按照 AXYGEN 公司的 RaPure Viral RNA/DNA

Kits 提取病毒的总核酸, 运用普通 PCR 引物扩增 hexon 基因保守区目的片段。通过胶回收纯化, 克隆目的片段到 pMD 19-T simple 载体上, 经内切酶进行酶切验证及测序确证, 命名此阳性质粒为 pMD-FADV4-hexon。利用质粒提取试剂盒提取质粒, 纯化后进行质粒浓度和纯度检测, 计算拷贝数, 然后进行 10 倍比稀释作为标准品。

1.6 荧光定量 PCR 反应条件的优化及建立

为了防止反应混合物中引物、探针之间非特异性分子竞争抑制, 选择最佳的浓度比例, 以获得最低的 CT 值和最高的荧光吸收值。选用 FADV-4 DNA 为荧光定量 PCR 反应模板, 在 ABI7500Fast 荧光定量 PCR 仪上进行反应, 在先固定引物或探针浓度的情况下, 采用矩阵法优化引物探针浓度, 其中引物浓度梯度设置为 0.10 $\mu\text{mol/L}$ 、0.20 $\mu\text{mol/L}$ 、0.30 $\mu\text{mol/L}$ 、0.40 $\mu\text{mol/L}$, 探针浓度梯度设置为 0.06 $\mu\text{mol/L}$ 、0.08 $\mu\text{mol/L}$ 、0.10 $\mu\text{mol/L}$ 、0.12 $\mu\text{mol/L}$ 。软件分析荧光检测数据每个优化梯度做三个重复, 计算其变异系数 (CV) 值。

1.7 荧光定量 PCR 标准曲线的建立

将阳性质粒标准品经核酸蛋白检测仪测定其浓度后, 利用公式: $6.02 \times 10^{23} \text{ copies/mol} \times (\text{浓度 } g/mL) / (MW \text{ } g/mol) = \text{copies/mL}$, 计算出其拷贝数, 依次做 10 倍梯度稀释, 以 $10^3 \sim 10^7 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 的质粒为模板, 利用建立并优化的反应条件进行荧光定量 PCR, 利用软件进行数据分析, 建立标准曲线。

1.8 敏感性试验

取上述计算出拷贝数的质粒同样做 10 倍梯度稀释, 取 $10^1 \sim 10^9 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 梯度的质粒为模板, 设立阴阳性对照, 进行荧光定量 PCR 反应, 从而确定检测的最低极限。相应样品同时进行普通 PCR 反应, 比对灵敏度差异。

1.9 特异性试验

利用试剂盒抽提病毒 H9、ND、IBV、IBDV、REV、ALV、EDSV、CAV 核酸, 分别取等量模板进行实时荧光定量 PCR 反应, 同时设立阴阳性对照, 以此检验本实验建立的方法是否具有好的特异性。

1.10 重复性试验

选取标准品中 $7.3 \times 10^8 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 、 $7.3 \times 10^7 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 、

7.3×10⁶ copies/ul、7.3×10⁵ copies/ul、7.3×10⁴ copies/ul共5个梯度的样品作为模板,每个样品做3个重复检测,并分别以上述5个稀释梯度的标准品为模板,分3次进行荧光定量PCR检测,根据Ct值计算批内和批间的变异系数,评价该方法的重复性。

1.11 FADV-4 TaqMan 荧光定量PCR的临床应用

利用本实验建立的荧光定量PCR方法,从江苏、山东及广东周边多个不同地区采集疑似血清4型禽腺病毒感染病例48份病料进行FADV-4实时定量PCR方法检测,同时设立阴阳性对照及普通PCR对照检测。

2 结果

2.1 阳性标准品的制备

经1%琼脂糖凝胶电泳分析显示PCR扩增出一条497 bp的特异性片段,经胶回收纯化连接到pMD 19-T simple载体中,利用酶切进行验证,测序结果与模板序列比对可见其同源率为100%。提取阳性质粒并纯化,核酸蛋白检测仪测知其浓度为335 ng/μL、纯度(OD₂₆₀/OD₂₈₀)为1.85,均符合要求,利用公式计算出其拷贝数为7.3×10¹⁰ copies/μL, -70℃冻存备用。

2.2 引物、探针浓度的优化及反应条件的建立

通过矩阵法优化引物探针浓度得出,引物浓度为0.20 μmol/L,探针浓度为0.10 μmol/L时检测效果较好,统计学分析,其CT值变异系数CV%较低,不超过1%(表2、3),表明该引物探针浓度批内重复性较好。本试验建立的反应条件为:Platinum[®] Quantitative PCR SuperMix-UDG 10 μL,上下游引物各0.20 μL,探针0.10 μL,模板2 μL,水7.50 μL,总反应体系为20 ul,50℃ 2 min,95℃ 2 min;95℃ 3 s,60℃ 30 s,40个循环。

表2 FADV-4 hexon基因荧光定量PCR引物浓度优化结果

引物浓度(μmol/L)	0.1	0.2	0.3	0.4
Mean CT±S.D	14.0±0.12	13.9±0.12	14.6±0.32	14.1±0.17
变异系数CV(%)	0.93	0.79	2.13	1.27

表3 FADV-4 hexon基因荧光定量PCR探针浓度优化结果

探针浓度(μmol/L)	0.06	0.08	0.1	0.12
Mean CT±S.D	14.7±0.19	13.9±0.16	13.9±0.08	14.0±0.10
变异系数CV%	1.29	0.52	0.45	0.71

2.3 标准曲线的建立

通过优化好的反应条件,将制备的重组质粒标准品进行10倍梯度稀释,以10³~10⁷ copies/μL的质粒为模板进行扩增得到标准曲线(图1,图见第52页)。以各标准品拷贝数的对数为X轴,Ct值为Y轴构建,线性关系良好,标准曲线方程式为:Ct=-3.68 lgX+42.9,相关系数R²=0.995。

2.4 敏感性试验

以10倍梯度稀释的标准阳性质粒(10¹~10⁷ copies/μL)为模板进行定量PCR扩增,得出动力学曲线(图2,图见第52页),同时进行普通PCR扩增作对照。当模板为7.30×10¹ copies/μL时,其CT值仍可在检测范围之内(CT<40),表明其最低检测下限为7.30×10¹ copies/μL。再以相同梯度的标准品进行普通PCR检测,结果显示可检出的最小梯度为7.30×10⁴ copies/μL。表明本研究构建的TaqMan荧光定量PCR方法敏感度提高了近1000倍。

2.5 特异性试验

利用构建的TaqMan荧光定量PCR方法对FADV-4、H9、ND、IBV、IBDV、REV、ALV、EDSV、CAV病毒的DNA或cDNA进行荧光定量PCR检测。结果显示:只有FADV-4有明显的扩增曲线,荧光信号值高,判为阳性;而其它8种病毒无明显的荧光信号,判为阴性。表明该方法特异性良好,同上述其它病毒无交叉反应。(图见第52页)

2.6 重复性试验

对同一批次稀释的5个标准品分别进行批内和批间重复性试验,测定其Ct值及其标准差、变异系数见表4和5。结果显示批内和批间试验的标准差均小于0.50,变异系数均小于2.0%,证明本研究构建的TaqMan荧光定量PCR方法具有良好的重复性。

2.7 临床样品检测

利用本实验建立的荧光定量PCR方法,对江苏、山东及广东周边多个不同地区采集的48份疑似血清4型禽腺病毒感染病例,其中肝脏组织样品27份、粪便拭子21份进行定量PCR方法及普通PCR检测。结果显示,在48份待检病料中,荧光定量PCR检测阳性46份,阳性率为95.8%,而普通PCR经琼脂糖凝胶电泳检测为36份阳性,阳性率为75.0%(表6)。可见荧光定量PCR检测方法的灵敏度明显高于常规普通PCR检测方法,尤其对

表4 FAdV-4 荧光定量PCR方法批内重复试验

标准质粒浓度 (copies/ μ L)	Ct 值			Ct 值平均数(Mean)	Ct 值标准差(SD)	Ct 值变异系数 (CV)/%
	重复1	重复2	重复3			
7.3×10^8	10.5	10.4	10.8	10.6	0.21	1.96
7.3×10^7	14.2	14.3	14.6	14.4	0.18	1.25
7.3×10^6	17.8	17.9	18	17.9	0.12	0.67
7.3×10^5	22.5	21.8	21.9	22	0.39	1.79
7.3×10^4	25.5	25.2	25.6	25.4	0.2	0.8

表5 FAdV-4 荧光定量PCR方法批间重复试验

标准质粒浓度 (copies/ μ L)	Ct 值			Ct 值平均数(Mean)	Ct 值标准差(SD)	Ct 值变异系数 (CV)
	重复1	重复2	重复3			
7.3×10^8	10.7	10.8	11.1	10.9	0.19	1.75
7.3×10^7	14.8	15.1	14.9	14.9	0.15	1.01
7.3×10^6	18.1	17.9	18.4	18.1	0.22	1.19
7.3×10^5	22.9	22.5	22.4	22.6	0.24	1.08
7.3×10^4	26.5	25.9	25.7	26.7	0.45	1.71

表6 FADV-4 荧光定量PCR 与普通PCR 检测临床样品结果对比

样品	数量	荧光定量PCR检测		普通PCR检测	
		阳性数	阳性率	阳性数	阳性率
肝脏组织	27	27	100%	25	92.60%
泄殖腔拭子	21	19	90.50%	11	52.40%

于泄殖腔拭子等病毒含量相对较低的临床检测样本, 荧光定量PCR 具有较好的灵敏度优越性。

3 讨论

血清4型禽腺病毒主要引起以心包积液, 包涵体肝炎为典型病变的一种急性传染病, 该病传播速度快, 死亡率高。近年来, 在我国河北、山东、安徽、辽宁、吉林、江西和湖北等省份相继出现了大面积爆发, 且易与传染性法氏囊、大肠杆菌等混合感染, 给我国养鸡业造成了严重的经济损失。PCR 方法是快速诊断 FAdV-4 的最常用的方法之一。Hexon 蛋白作为禽腺病毒主要的结构蛋白, 对病毒中和、血清型研究起着重要作用, 鸡感染禽腺病毒后可产生型特异性、群特异性、亚群特异性抗体, 常被研究人员用来设计引物, 用于区分鉴别不同血清型禽腺病毒^[11]。白元斌等建立了一种 FAdV-4 的 LAMP 检测方法, 能快速准确地对 FAdV-4 进行

临床检测诊断^[12]。张曼等建立了一种可用于临床鉴别禽流感病毒、新城疫病毒和安卡拉病毒的多重 PCR 检测方法, 简便快捷, 具有良好的使用价值^[13]。宋玲玲等建立了 FAdV-4 SYBR Green I 荧光定量 PCR 方法^[14]。以上方法虽然与传统的病毒分离或普通 PCR 相比在操作便利性、灵敏度等方面有了较大提高, 但容易产生假阳性信号、不能精准定量。TaqMan 探针法荧光定量 PCR 具有很好的特异性, 对引物探针的设计要求十分严格。目前, 该技术以其特异性强、灵敏度高、重复性好、方便快捷、准确定量等优点在食品安全、农业科学研究、疫病诊断等领域得到广泛应用, 尤其在动物性疫病的早期快速诊断及流行病学调查上发挥着重要作用。

本试验采用矩阵法对引物探针的浓度进行了最佳配比筛选, 经过反应条件的优化, 建立了 FADV-4 的快速荧光定量检测方法。该方法敏感度可达 7.3×10^1 copies/ μ L, 检测灵敏度约高于普通 PCR 1000 倍, 具有良好的特异性和重复性, 同时保证了应用本实验方法在临床上进行疑似病例检测的数据灵敏度。与张云丹等建立的 I 亚群血清 4 型荧光定量 PCR 方法相比, 具有同等的检测灵敏度和特异性^[9]。同时, 本研究运用建立的方法对 48 份临床疑似病例样本进行检测, 发现荧光定量

PCR 检测阳性率为 95.8%, 而普通 PCR 检测阳性率为 75.0%, 可见普通 PCR 检测可能存在漏检的情况, 对于泄殖腔拭子等病毒含量相对低的检测样本, 荧光定量 PCR 方法具有更优的应用前景, 给低丰度样本的检测提供了重要的参考数据。

4 结论

本试验建立了一种特异性强、灵敏度高、重复性好的荧光定量 PCR 方法, 用于检测 FADV-4 病原。

参考文献

[1] KIM M S, LIM T H, LEE D H, et al. An inactivated oil-emulsion fowl Adenovirus serotype 4 vaccine provides broad cross-protection against various serotypes of fowl Adenovirus[J]. Vaccine, 2014, 32(28):3564-3568.

[2] 罗洋洋, 招丽婵, 李群辉, 等. I 群禽腺病毒血清 4 型广东株的分离鉴定及分子特性[J]. 华南农业大学学报, 2017, 38(06):27-33.

[3] ZHANG T, JIN Q, DING P, et al. Molecular epidemiology of hydropericardium syndrome outbreak-associated serotype 4 fowl adenovirus isolates in central China[J]. Virology Journal, 2016, 13(1):188.

[4] REN G, WANG H, YAN Y, et al. Pathogenicity of a fowl adenovirus serotype 4 isolated from chickens associated with hydropericardium - hepatitis syndrome in China [J]. Poultry Science, 2019, 98(7):2765-2771.

[5] PAN Q, WANG J, GAO Y, et al. The Natural Large Genomic Deletion Is Unrelated to the Increased Virulence of the Novel Genotype Fowl Adenovirus 4 Recently Emerged in China [J]. Viruses, 2018, 10(9):494.

[6] 朱庆贺, 王爽, 张莎, 等. 黑龙江省 I 群 4 型禽腺病毒分离鉴定及致病性试验[J]. 动物医学进展, 2019, 40(10):39-43.

[7] CHOI K S, KYE S J, KIM J Y, et al. Epidemiological investigation of outbreaks of fowl adenovirus infection in commercial chickens in Korea[J]. Poultry Science, 2012, 91(10):2502-2506.

[8] 朱小甫, 吴旭锦, 高睿, 等. I 群禽腺病毒套式 PCR 检测方法的建立与应用[J]. 中国动物传染病学报, 2019, 27(03):74-77.

[9] 张云丹, 杨源, 王军, 等. I 群禽腺病毒血清 4 型 TaqMan 探针实时荧光定量 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 西北农业学报, 2019, 28(06):868-876.

[10] 王利丽, 郑丽, 李富强, 等. 禽腺病毒血清 4 型纳米 PCR 检测方法的建立与初步应用[J]. 中国预防兽医学报, 2019, 41(07):701-704.

[11] 牛晓宇. I 群禽腺病毒的分离鉴定与三价油乳剂灭活疫苗的制备[D]. 山东农业大学, 2018.

[12] 白元斌. 禽腺病毒血清 4 型的分离鉴定及环介导等温扩增技术诊断方法的建立[D]. 西北农林科技大学, 2017.

[13] 张曼, 韩飞. AIV、NDV 和安卡拉病毒多重 PCR 检测方法的建立及应用[J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2018, 46(02):1-6.

[14] 宋玲玲, 于可响, 王友令, 等. 禽腺病毒 4 型 SYBR Green I 实时荧光定量 PCR 检测方法的建立[J]. 畜牧与兽医, 2019, 51(08):118-122.

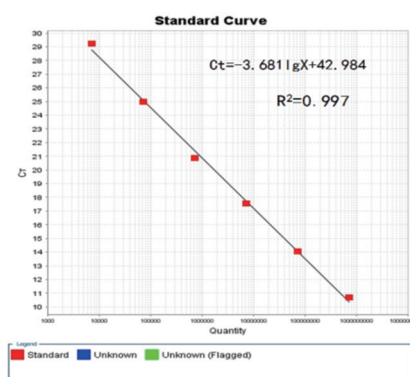
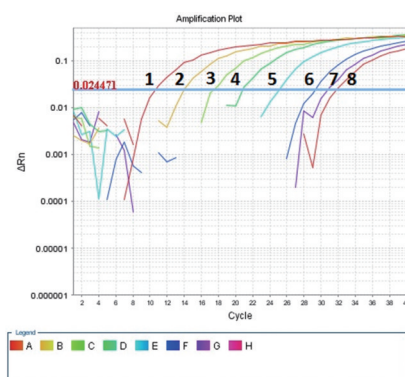
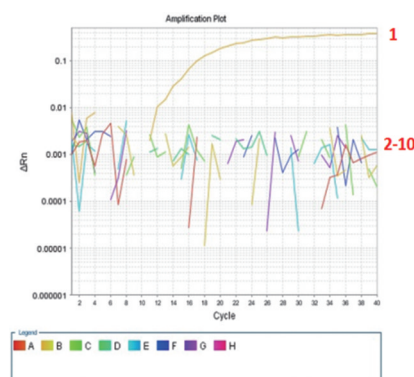


图1 FADV-4 荧光定量 PCR 标准曲线



注: 1: 阴性对照; 2~8: $7.3 \times 10^1 \sim 7.3 \times 10^7$ copies/ μ L

图2 荧光定量 PCR 检测 FADV-4 敏感性试验结果



注: 1: FADV-4; 2-10: 分别为 H9AIV、ND、IBV、IBDV、REV、ALV、EDSV、CAV 和阴性对照

图3 FADV-4 荧光定量特异性试验