

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

JUN.2017 Volume 42, Number 3 (Total No.193)

Main Content

The development trends and suggestions for swine nutrition and feed science in China.....	Wang Li, Hu Shenglan, et al(1)
Research progress of genetic variation and evolution of porcine circovirus type 2	Zou Weibin, Qi Dongmei(4)
Effect of astragalus polysaccharide on the disease resistance of chicken	Guang Zhixiang, Wang Lizhi, et al(8)
Wuxuan County “microbial technology +elevated net beds ” technology promotion and application of modern ecological farming	Wang Haiqiang, Li Shunfang, et al(12)
Present situation of dead animal carcass disposal and innocent disposal technology	Xu Mingming, Qu Xiangyong, et al(14)
Comparative experiment on laying performance and benefit of understory stocking Gushi hens and Caodan hens.....	Zhao Biqian, Pu Haiping, et al(18)
Immune procedure research of H7N9 subtype avian influenza vaccine.....	Zhang Jipei, Zhang Yishan, et al(21)
Epidemiological investigation and prevention and control of brucellosis in maoming area.....	Chen Shengxu, Wang Shuai, et al(28)
A preliminary report on the antibody of avian influenza H7 subtype in Guangchang	Bao Linbin, Yang Yonghua, et al(31)
SNP detection in BCO2 between yellow and white skin chicken	Gan Shiyi, Wang Yan, et al (32)
Effect of herbal additives on laying performance in layers under heat stress.....	Li Zhihua (36)
Improvement of detection method of solvent residues in Eprinomectin products	Pan Qiwen, Deng Bingzhao, et al(38)
The source of TNF alpha gene cloning and enzyme identification in the rat macrophage RAW264.7	Zhao Yilong, Huang Jinfeng, et al(42)
A brief history of duck plague vaccine research in Shijing	Feng Guangren, liang Zhiling (45)
Progress and assumption of animal quarantine information construction in Baiyun District of Guangzhou	Wu Yueling(48)
Off-season mode opens, pig price appears callback	Liu Guoxin(50)

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:135 Xianlie Dong Lu,Guangzhou P.R.China

Post Code:510500

Tel:(020)38319957 38319211

Fax:(020)38319211

E-mail:gdxmsykj@163.com

2017年生猪产业营养与饲料领域发展趋势与建议

王丽¹, 胡胜兰¹, 李平¹, 朱翠², 温晓鹿¹, 易宏波¹, 胡友军¹

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 农业部华南动物营养与饲料重点实验室, 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. 广东省农业科学院农业生物基因研究中心 广东 广州 510640)

摘要: 2016年生猪养殖回暖, 养猪业迎来春天, 养殖效益不断走高。但同时也存在诸多问题, 机遇与挑战并存。在国家畜牧业供给侧结构性改革稳步推进下, 稳生猪成为畜牧业结构调整的重点之一。本文主要综述了2016年度生猪产业营养与饲料领域特点、2017年度生猪产业营养与饲料领域发展趋势及相关建议。

关键词: 生猪; 营养与饲料; 发展趋势; 建议

中国分类号: F326.3 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567(2017)03-0001-03

1 2016年生猪产业营养与饲料领域特点

进入2016年, 生猪价格呈一路向上态势, 一直在高位波动, 全年生猪价格处于历史高位, 6月份初平均价格达21.05元/kg, 创历史最高峰, 主要原因是供给短缺; 之后6-10月份猪价出现回落, 主要原因是进口量加大; 从10月下旬开始, 生猪价格再次止跌反弹, 主要原因是临近年末, 消费需求上升。本年度饲料成本价格总体下降, 因此养殖户处于高盈利水平。由于国内生猪养殖相对落后导致成本较国外高出50-80%, 面对国外猪肉, 国内生猪缺乏竞争力。本年的生猪产业营养与饲料领域的特点为:

1.1 生猪产能稳步恢复, 收益仍保持较高水平

生猪存栏连续7个月环比上升, 猪源供应短缺问题逐渐缓解, 但市场仍呈现供不应求的局面。猪价持续在高位波动, 饲料原料价格又处于较低水平, 故全国养猪普遍处于高盈利状态, 6月初猪粮比为10.95:1, 达历史最高峰。但下半

年在市场导向作用下, 生猪产能逐步恢复, 同时进口量不断增大, 生猪价格稳中有降; 年末邻近, 需求明显上升, 猪价又逐步回升。

1.2 规模化比重稳步提高, 逐步成为保供给的主体

在政策支持和龙头企业的带动下, 规模化猪场的比重较去年又有提高。在疫病风险较高、环境和食品安全要求高的情况下, 养猪业规模经济特征越来越明显, 小规模 and 散养户成本不断上升, 并拉大与中大规模化的差距, 因此散养户和小养殖户大量退出市场。

1.3 猪肉产品的差异化、优质化和抗生素减量化突显

随着居民生活水平和对健康安全肉食品要求的提高, 品牌猪肉的热销代表了一部分消费者的消费趋势, 即对品质和风味及安全的追求; 同时, 无抗和抗生素减量化的呼声越来越高, 直接对生猪产业的抗生素替代技术提出了现实和更高

收稿日期: 2017-02-10

基金项目: 国家生猪产业技术体系建设专项(CARS-36), 广东省现代农业产业技术体系(2016LM1080), 广州市科技计划项目(201607020035)

作者简介: 王丽(1981-), 女, 博士, 副研究员, 研究方向仔猪营养。E-mail:wangli1@gdaas.cn

的要求。同时, 根据市场对动物产品, 如颜色、肉质、味道和保健功能等特殊要求, 也出现了功能性饲料产品研发与生产。

1.4 饲料行业布局养殖, 行业资源整合加快

2016 年饲料原料价格下行, 饲料行业迎来量利齐升的高景气格局, 养殖盈利进入暴利期、存栏量处在向上拐点期、原料成本处于低位震荡期, 饲料企业成本有所下降。随着行业竞争加剧与盈利周期性波动, 饲料行业梯队形成, 大企业规模呈现不断扩大趋势, 中大型企业寻求扩张, 小企业份额被挤出。生猪养殖大集团动辄上百万头的产能扩张, 千万头的企业发展目标。企业通过自身扩建或者并购方式积极布局生猪养殖产业, 并朝着上下游延伸。饲料行业向养殖渗透程度明显加深。

1.5 畜禽养殖污染治理力度不断加码, 环保压力增大

十八大以来, 中央对环保问题高度重视。今年 1 月份专门成立了中央环保督察组, 禁养和拆迁可能会对畜产品供应产生一定影响。国务院相继印发《畜禽规模养殖污染防治条例》和《水污染防治行动计划》, 对改善生态环境和人居环境的决心很大。各省相继出台畜禽养殖污染防治的政策法规性文件, 纷纷规划禁限养区域, 且定下拆猪场的时间表, 这必将影响养殖业结构, 并淘汰部分猪场。可以说, 资源环境约束趋紧, 退出易、进入难, 将成为畜牧业发展常态之一。

2 2017 年生猪产业营养与饲料领域发展趋势分析

2.1 营养更加精细化、精准化

随着我国“饲料营养价值与畜禽饲养标准研究与应用”项目的重新启动, 将对猪营养需要和饲料营养价值参数进行更加精细化和精准的研究。而猪营养研究的不断深入, 也逐渐使大家重新考虑了营养结构的概念和组成, 构建精准配方技术体系, 构建中国特色配方日粮, 采用自动设

备监测猪行为, 批次精准饲养将成为规模化养猪的必然趋势。

2.2 饲料资源开发备受重视

饲料原料尤其是蛋白质饲料原料日益紧缺仍将是生猪养殖面临的世界性问题。酒糟、醋糟、酱油糟、苹果渣、柑橘渣、甘薯渣、甜菜渣、薯类淀粉渣等糟渣类非常规饲料资源, 具有来源广、种类丰富、价格便宜、供应充足等优点, 将受到普遍关注, 针对质量安全控制、加工处理工艺、营养价值评价及其应用效果等方面研究预期得到进一步加强, 针对地方特色饲料资源的开发利用研究也将被重视。

2.3 新型安全饲料添加剂开发多元化发展

采用基因工程、蛋白质工程和代谢工程等现代生物技术研制对动物具有特定生物学活性和功能的新型安全添加剂已成为当前饲料添加剂技术发展的主要趋势, 各种生物技术手段的引入, 有望改善其品质、提高其利用效率。未来几年内, 饲料资源开发、新型饲料添加剂开发及其高效利用和配套应用技术将进一步受到关注, 并逐渐走向成熟。

2.4 营养调控手段将受到更多的关注

营养在调控猪遗传潜力的发挥、健康和肉品质方面的理论与实践进一步发展, 营养改善猪的免疫能力备受关注。营养水平、微量元素、功能性调控剂和日粮类型等对母仔猪性能效应和肉质调控研究仍将持续开展。以肠道微生物结构、肠道黏膜屏障、肠上皮细胞等为靶点的新型益生菌和植源性提取物的研发将继续成为研究重点, 并以仔猪上应用为主扩展到在中大猪上展开应用研究。天然植物活性成分在肉质调控方面作用将被更广泛关注, 尤其是对肌纤维发育、脂类代谢、抗氧化通路等深层机理探讨预期成为重点。在精准营养技术需求下, 针对优质猪肉形成的个性化营养需要(脂肪酸、微量元素、维生素、能量和蛋白)、日常保健程序及饲养环境条件参数等饲养管理技术研究预期将进一步得到加强。

2.5 生猪生态健康养殖将持续发展

围绕大力推进畜牧业绿色发展目标,开展减少粪便对环境污染的节能减排技术研究,减少重金属、氮磷排放,研究健康养殖、废弃物循环利用新技术,从而促进养殖循环经济发展。同时,合理搭配饲料原料,开发新饲料资源和生物饲料新产品,推动饲料加工工艺与动物营养技术的融合技术研究,减少养猪业粪尿排放污染,建立生猪高效健康养殖技术模式。

3 2017年生猪产业营养与饲料领域发展建议

根据生猪营养与饲料领域的特点、问题和发展趋势,建议在2017年重点围绕以下几方面予以关注。

3.1 提高饲料原料保障能力

稳定蛋白饲料原料供应,促进进口品种和来源地多元化,增加对国际贸易价格的影响力;稳定能量饲料原料成本,构建更贴近市场规律的玉米价格形成机制,加强利用其他能量饲料原料替代玉米的配方与加工技术储备;促进农副资源饲料化利用,支持对马铃薯、甘薯、木薯、甜菜、苕麻、桑叶等作物以及果蔬、糟渣、基料等农产品加工副产物等进行加工或生物发酵。

3.2 着力开发安全高效环保饲料产品

加快发展新型饲料添加剂,营养改良型酶制剂和特殊功能型酶制剂,不同功能特点的微生物制剂等;研发推广安全环保饲料产品,开发改善动物整体健康水平的新型饲料产品,促进药物饲料添加剂减量使用,推广低氮、低磷和无抗饲料产品,促进畜禽粪便中重金属和抗生素减量排放;构建精准配方技术体系,继续完善动物营养需要动态预测模型、饲料原料营养物质消化利用率动态预测模型;构建技术推广联合体,建设饲料行业大数据库,组织开展精准配方技术示范。

3.3 增大科研投入,提升产业科技水平

建议各级政府应进一步加大相关科研投入,并深入开展精细营养需要、饲料营养价值评定、母猪繁殖性能、仔猪肠道健康、无抗猪肉生产与肉质调控、功能性添加剂的开发等技术体系研究。科研单位进一步加大相关研究成果的集成组装,注意上下游的衔接,既要“顶天、立地”,又要“讲得通、推得开”,将科研成果真正融入产业链中,形成配套技术,并得以推广应用。科研单位和相关企业加强交流合作,创新产学研结合模式,加大成果转化力度,加强技术指导和人员培养,提高养猪生产科技贡献率。

关于《甘氨酸铁络合物对杜长大仔猪血常规指标的影响》的更正启事

《广东畜牧兽医科技》2017年2期第42卷(41-44页)发表了作者袁明贵的论文《甘氨酸铁络合物对杜长大仔猪血常规指标的影响》,其中第41页“作者简介”,因排版原因出现失误,更改为:“基金项目:广东省协同创新与平台环境建设专项资金中科技创新创业人才服务领域(2015A020224024)。作者简介:袁明贵,1975年生,助理研究员,河南固始县人,主要研究方向:新型饲料添加剂及中兽药的研发。E-mail:mingguiyuan2005@aliyun.com。”现作更正并向作者和读者致歉。

《广东畜牧兽医科技》编辑部

2017年6月8日

猪圆环病毒 2 型的遗传变异和进化研究进展

邹伟斌, 齐冬梅

(广东永顺生物制药股份有限公司, 广东 广州 511356)

摘要:猪圆环病毒 2 型 (PCV2) 是猪圆环病毒相关疾病的主要病原体, 给世界养猪业造成了巨大的经济损失。随着分子生物学的发展, PCV2 的研究取得了显著进展。本文综述了 PCV2 的遗传变异和病毒进化的研究进展, 旨在为业界更好地了解 PCV2 的分子流行病学、控制策略, 更能为新型疫苗的设计研发提供参考。

关键词:猪圆环病毒 2 型; 遗传变异; 进化; PCV2 疫苗; 控制

中国分类号: S852.65⁺9.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8567 (2017) 03-0004-04

Research Progress of Genetic Variation and Evolution of Porcine Circovirus Type 2

Zou Weibin, Qi Dongmei

(Guangdong Winsun Bio-pharmaceutical Co., Ltd., Guangzhou 511356, China)

Abstract: Porcine circovirus type 2 (PCV2) is considered the major etiological agent of porcine circovirus associated-diseases (PCVAD) that causes large economic losses for the swine industry in the world. With the development of molecular biology, the research of PCV2 has made significant progress in recent years. There is a review of the research progress of PCV2 genetic variation and evolution, and with aim of contributing to understanding the molecular epidemiology, control measures and the design and development of novel vaccines for PCV2.

Key words: Porcine circovirus type 2; Genetic variation; Evolution; PCV2 vaccines; Control

猪圆环病毒 2 型 (PCV2) 是断奶仔猪多系统衰竭综合症 (PMWS) 的主要病原体, 除 PMWS 外, PCV2 还能引起猪的一系列相关的临床病症, 包括猪皮炎肾炎综合症 (PDNS)、猪呼吸道疾病综合症 (PRDC)、母猪繁殖障碍综合征 (SRDS)、增生性坏死性肺炎 (PNP)、猪先天性震颤 (CT) 等, 这些疾病统称为圆环病毒相关疾病 (PCVAD), PCVAD 给世界养猪业造成了巨大的经济损失。

PCV2 自 1991 年在加拿大被发现以来, 已经成为家猪群体中最常见的猪病毒之一, 血清阳性率水平高的接近 100%^[1]。自 2006 年猪圆环病毒

苗商业化以来, 疫苗免疫已成为控制 PCV2 的重要策略。然而, 近期的新基因型 PCV2 的周期性出现和最近疫苗免疫失败有关报道, 令人产生疑问即当前的 PCV2 疫苗是否能够抵抗新出现的毒力更强的 PCV2 变异株的危害, 成为了业界备受关注的焦点。本文通过对 PCV2 的遗传变异和病毒进化的研究进展进行综述, 为 PCV2 的防控和新型疫苗的研发提供参考。

1 PCV2 的分子流行病学

1.1 PCV2 的命名

随着 PCV2 毒株数量报道的日益增多, 欧洲

收稿日期: 2017-03-22

作者简介: 邹伟斌 (1989-), 男, 硕士。E-mail: weibinzousysu@126.com

和北美洲的研究团队（又称欧盟猪圆环病毒病联盟）提出了一个 PCV2 统一命名法—用小写字母来表示 PCV2 的不同基因型，根据两个序列 ORF2 基因的核苷酸位点的比例差异（即 ρ 距离），并将 ρ 距离阈值确定为 0.035。当 2 个 PCV2 的 ORF2 序列之间的遗传距离大于等于阈值 0.035 时，认为这些毒株属于不同的基因型。根据该命名法，PCV2 毒株分为三个主要基因型：PCV2a、PCV2b 和 PCV2c^[2]。该命名法一直被世界各国研究者所认可，被称为欧盟 PCV2 基因型标准命名法。

1.2 PCV2 的分子流行病学

在 PCV2 出现后的整个历史中，主要流行的基因型是 PCV2a 和 PCV2b。PCV2c 基因型被报道只在丹麦出现过 3 株^[3]，已被证实是灭绝的基因型。在 PCV2 被发现后的很长一段时期内，PCV2a 是 PCV2 流行毒株的主导基因型。直到 2003 年，PCV2 的主要流行毒株的基因型发生了由 PCV2a 向 PCV2b 的转变^[1]，并伴随着更为严重的 PCVAD 暴发^[4]。2009 年，Wang 等^[5]将 2004–2008 年从中国不同地区分离的 40 株 PCV2 毒株序列与数据库中 56 株 PCV2 序列进行比对，发现了新的 PCV2 基因型——PCV2d 和 PCV2e。后来数据被重新分析，这些所谓的 PCV2d 和 PCV2e 基因型的 PCV2 毒株分别聚簇于 PCV2b 和 PCV2a 基因型^[6]。2010 年，Guo 等^[7]发现了一些独特的 PCV2 变异毒株，这些毒株与 PCV2b 的亲缘关系较近，它们的 ORF2 蛋白羧基端多编码了一个氨基酸，命名为 PCV2d 基因型。但在 2012 年，该研究团队又将这些 PCV2 重新命名为 PCV2 突变型（PCV2m）。类似的毒株分别于 2012 年在北美洲^[7]和 2014 年在南美洲^[10]被发现，且被称为 PCV2b 的突变型（mPCV2b）。2015 年，Xiao 等^[11]为了评估 PCV2 毒株的遗传进化关系，对 Genbank 中 1680 株 PCV2 的 ORF2 基因序列进行了比较和分析，发现了 4 个明显的分支，新的分支被命名为 PCV2d 基因型，且 PCV2d 和 PCV2b 之间的 ρ 距离为 0.055 ± 0.008 ，大于 PCV2 基因型定义的阈值 0.035，证明 PCV2d 可作为一个独立的基因型。但是 Chae 指出，根据欧盟 PCV2 基因型命名法的标准，PCV2 新基因型的命名必须满足两个条件：（1）成对序列比较（PASC）分析阈值

≥ 0.035 ；（2） ρ 距离阈值 ≥ 0.035 。PCV2b 和 PCV2d 之间的 ρ 距离为 0.057，但是两者的 PASC 值只有 0.020，故 PCV2d 并不满足被归为独立基因型的条件，因此建议将 PCV2d 重新命名为 mPCV2b^[12]。目前，mPCV2b 基因型毒株正在迅速流行，并危及到当前 PCV2b 基因型的主导地位，可能预示着另一个全球性的 PCV2 基因型转变的发生^[13]。

2 PCV2 的遗传变异和进化

虽然 PCV2 是基因组只有 1766–1768bp 的单链闭环状 DNA 的无囊膜病毒^[14]，但这个小病毒具有显著的遗传变异性和特殊的进化途径，这也与 PCV2 感染的临床表现随时间发生变化密切相关^[15]。目前许多研究报道 PCV2 的进化可能与多种因素有关。

2.1 共感染与 PCV2 的进化

共感染病原体如猪蓝耳病毒（PRRSV）、猪肺炎支原体（MHP）和猪流感病毒（SIV）能够增强 PCV2 病毒的致病性^[16–17]。大约 40% 的 PCVAD 案例中能够同时分离出 PCV2 和 PRRSV^[17]，共感染 PCV2 和 PRRSV 能够急剧地降低 IgG 对两种病原的免疫反应^[18]。研究发现，相比于单独感染 PRRSV，共感染 PRRSV 和 PCV2 时的 PRRSV 基因的突变率更高^[19]。病毒共感染改变宿主的免疫所产生的自然选择压力很可能对 PCV2 的进化有重要的影响^[13]。

2.2 突变和基因重组与 PCV2 的进化

基因突变和基因重组都是 PCV2 进化的常见重要机制。Firth 等^[20]通过研究证明，PCV2 的突变速率是目前所有单链 DNA 病毒中最高的，接近于单链 RNA 病毒的突变速率，这可能跟 PCV2 基因组的滚环复制机制有关。最近的一些报道证明新出现的 PCV2 变异株是由 PCV2a 和 PCV2b 两个主要基因型毒株的基因组片段形成的重组体，或者由它们通过突变产生的^[8]。基于系统进化的不协调，PCV2 不同基因型病毒之间发生基因重组是十分频繁的事件^[21]。许多报道证实，因不同基因型发生共感染而产生的 PCV2a/2b 嵌合病毒也十分常见^[22–24]。实验性模型证实 PCV2 基因组的任何位点都可以作为病毒之间遗传交换的位点^[25]。类似于基因重组是 PRRSV 遗传多样性的一个重要机制，基因重组和突变的结合很可能

导致了PCV2的适应性和表型特征的改变^[26],从而促进了PCV2的进化。

2.3 疫苗免疫与PCV2的进化

Franzo等^[15]研究发现,广泛的疫苗接种能够改变PCV2的进化模式,从而可能导致出现具有逃避疫苗免疫能力的PCV2变异株。关于疫苗免疫能够促进病毒进化的例子在动物和人类的多种疾病上均有报道,面对疫苗带来新的“挑战”环境,许多病毒(如乙型肝炎病毒^[27],禽偏肺病毒^[28])通过免疫逃逸来适应,一些病毒(如马立克氏病毒^[29])则通过增强毒力来适应,而传染性法氏囊病毒通过这两种方式以求得更好地生存^[29]。PCV2同样具有迫于疫苗而进化以及疫苗诱导的病原替换的能力,2003年主要流行毒株的基因型由PCV2a向PCV2b的转变,以及2010年新基因型mPCV2b的出现并迅速流行的一个可能的重要原因是疫苗免疫诱导的选择压力^[13]。

3 结语

PCV2在各种影响因素的作用下,正以一种惊人的速度不断进化着。mPCV2b的出现及迅速流行可能将对猪场疫病的防控产生强烈的影响。另外,由于PCV2各基因型之间存在交叉免疫性,现有的疫苗对新的变异毒株具有一定的保护效果。但由于现有疫苗与流行的新变异毒株不是最佳的匹配,保护效果不是十分理想,因此需寻求更加合适的疫苗。

PCV2的遗传变异多样性及其快速的进化速率,提示我们现有的疫苗已需要进行更新升级。研发出以PCV2新变异毒株为基础的新型疫苗,以及研发两种及以上基因型毒株的多价疫苗,将有利于更好地控制目前流行的PCV2毒株。另外,定期地对PCV2流行毒株的基因型进行监测,和配合疫苗和诊断程序的更新升级,这对于PCVAD的控制是至关重要的。

参考文献:

- [1] Segales J, Kekarainen T, Cortey M. The natural history of porcine circovirus type 2: from an inoffensive virus to a devastating swine disease?[J]. *Vet Microbiol*, 2013, 165(1-2):13-20.
- [2] Segales J, Olvera A, Grau-Roma L, et al. PCV-2 genotype definition and nomenclature[J]. *Vet Rec*, 2008, 162(26):867-868.
- [3] Dupont K, Nielsen E O, Baekbo P, et al. Genomic analysis of PCV2 isolates from Danish archives and a current PMWS case-control study supports a shift in genotypes with time[J]. *Vet Microbiol*, 2008, 128(1-2):56-64.
- [4] Constans M, Ssemadaali M, Kolyvushko O, et al. Antigenic Determinants of Possible Vaccine Escape by Porcine Circovirus Subtype 2b Viruses[J]. *Bioinform Biol Insights*, 2015, 9(Suppl 2):1-12.
- [5] Wang F, Guo X, Ge X, et al. Genetic variation analysis of Chinese strains of porcine circovirus type 2[J]. *Virus Res*, 2009, 145(1):151-156.
- [6] Cortey M, Olvera A, Grau-Roma L, et al. Further comments on porcine circovirus type 2 (PCV2) genotype definition and nomenclature[J]. *Vet Microbiol*, 2011, 149(3-4):522-523.
- [7] Guo L J, Lu Y H, Wei Y W, et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2): genetic variation and newly emerging genotypes in China[J]. *Virology*, 2010, 7:273.
- [8] Opriessnig T, Xiao C T, Gerber P F, et al. Emergence of a novel mutant PCV2b variant associated with clinical PCVAD in two vaccinated pig farms in the U.S. concurrently infected with PPV2[J]. *Vet Microbiol*, 2013, 163(1-2):177-183.
- [9] Xiao C T, Halbur P G, Opriessnig T. Complete genome sequence of a novel porcine circovirus type 2b variant present in cases of vaccine failures in the United States[J]. *J Virol*, 2012, 86(22):12469.
- [10] Salgado R L, Vidigal P M, de Souza L F, et al. Identification of an Emergent Porcine Circovirus-2 in Vaccinated Pigs from a Brazilian Farm during a Postweaning Multisystemic Wasting Syndrome Outbreak[J]. *Genome Announc*, 2014, 2(2).
- [11] Xiao C T, Halbur P G, Opriessnig T. Global molecular genetic analysis of porcine circovirus type 2 (PCV2) sequences confirms the presence of four main PCV2 genotypes and reveals a rapid increase of PCV2d[J]. *J Gen Virol*, 2015, 96(Pt 7):1830-1841.
- [12] Chae C. An emerging porcine circovirus type 2b mutant (mPCV2b) originally known as PCV2d[J]. *Vet J*, 2015, 203(1):6-9.
- [13] Ssemadaali M A, Ilha M, Ramamoorthy S. Genetic diversity of porcine circovirus type 2 and implications for detection and control[J]. *Res Vet Sci*, 2015, 103:179-186.
- [14] Lv Q Z, Guo K K, Zhang Y M. Current understanding of genomic DNA of porcine circovirus type 2[J]. *Virus Genes*, 2014, 49(1):1-10.
- [15] Franzo G, Tucciarone C M, Cecchinato M, et al. Porcine circovirus type 2 (PCV2) evolution before and after the vaccination introduction: A large scale epidemiological study[J]. *Sci Rep*, 2016, 6:39458.
- [16] Tico G, Segales J, Martinez J. The blurred border between porcine circovirus type 2-systemic disease and porcine respiratory disease complex[J]. *Vet Microbiol*, 2013, 163(3-4):242-247.
- [17] Ramamoorthy S, Opriessnig T, Pal N, et al. Effect of an interferon-stimulated response element (ISRE) mutant of porcine circovirus type 2 (PCV2)

on PCV2-induced pathological lesions in a porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) co-infection model[J]. *Vet Microbiol*, 2011,147(1-2):49-58.

[18] Park C, Seo H W, Park S J, et al. Comparison of porcine circovirus type 2 (PCV2)-associated lesions produced by co-infection between two genotypes of PCV2 and two genotypes of porcine reproductive and respiratory syndrome virus[J]. *J Gen Virol*, 2014,95(Pt 11):2486-2494.

[19] Yin S H, Xiao C T, Gerber P F, et al. Concurrent porcine circovirus type 2a (PCV2a) or PCV2b infection increases the rate of amino acid mutations of porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) during serial passages in pigs[J]. *Virus Res*, 2013,178(2):445-451.

[20] Firth C, Charleston M A, Duffy S, et al. Insights into the evolutionary history of an emerging livestock pathogen: porcine circovirus 2[J]. *J Virol*, 2009,83(24):12813-12821.

[21] Tribble B R, Rowland R R. Genetic variation of porcine circovirus type 2 (PCV2) and its relevance to vaccination, pathogenesis and diagnosis[J]. *Virus Res*, 2012,164(1-2):68-77.

[22] Hesse R, Kerrigan M, Rowland R R. Evidence for recombination between PCV2a and PCV2b in the field[J]. *Virus Res*, 2008,132(1-2):201-207.

[23] Cheung A K. Homologous recombination within the capsid gene of porcine circovirus type 2 subgroup viruses via natural co-infection[J]. *Arch Virol*, 2009,154(3):531-534.

[24] Lefebvre D J, Van Doorsselaere J, Delputte P L, et al. Recombination of two porcine circovirus type 2 strains[J]. *Arch Virol*, 2009,154(5):875-879.

[25] Cai L, Han X, Ni J, et al. Natural recombinants derived from different patterns of recombination between two PCV2b parental strains[J]. *Virus Res*, 2011,158(1-2):281-288.

[26] Franzo G, Cecchinato M, Martini M, et al. Observation of high recombination occurrence of Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus in field condition[J]. *Virus Res*, 2014,194:159-166.

[27] Fitzsimons D, Francois G, Hall A, et al. Long-term efficacy of hepatitis B vaccine, booster policy, and impact of hepatitis B virus mutants[J]. *Vaccine*, 2005,23(32):4158-4166.

[28] Cecchinato M, Catelli E, Lupini C, et al. Avian metapneumovirus (AMPV) attachment protein involvement in probable virus evolution concurrent with mass live vaccine introduction[J]. *Vet Microbiol*, 2010,146(1-2):24-34.

[29] Read A F, Mackinnon M J. Pathogen evolution in a vaccinated world[J]. 2008:139-152.

《广东畜牧兽医科技》(双月刊)

(1976年创刊,大16开本,正文52页)

ISSN 1005-8567

CN 44-1243/S

主管单位:广东省农业科学院
 主办单位:广东省畜牧兽医学会、广东省农业科学院动物科学研究所、广东省农业科学院动物卫生研究所
 订 价:每期定价10元,全年60.00元(含平寄邮费)。
 订阅方式:本刊实行自办发行。读者可通过邮局直接汇款至本刊编辑部。
 注意事项:汇款时请注明订阅份数、邮政编码、详细收刊地址、单位名称、收件人姓名、电话等相关资料,以免误投。
 地 址:广州市天河区五山大丰一街一号103室《广东畜牧兽医科技》编辑部(邮编:510640)
 电 话:020-61368881 E-mail:gdmsyjkj@163.com

欢迎订阅

欢迎投稿

欢迎刊登广告

黄芪多糖对鸡抗病能力的影响

邝智祥¹, 王俐智¹, 吴波良¹, 邓学龙¹, 陈智丰¹, 黄得纯², 张秋生¹, 李瑞清^{*}

(1. 广东爱健康生物科技有限公司, 广东 清远 511800;

2. 佛山科学技术学院, 广东 佛山 528231)

摘要: 黄芪多糖是一种从豆科类植物黄芪或膜荚黄芪的根茎中提取而来的水溶性多糖成分, 具有祛湿、抗病毒、抗氧化、抗辐射、增强免疫力等多种生物学作用, 也可以作为免疫增强剂和免疫佐剂, 在增强鸡的免疫力方面发挥了重要作用。本文综述了黄芪多糖对鸡抗病能力的影响及其作用效果的影响因素和今后的发展方向, 为黄芪多糖在鸡生产中的应用研究提供参考。

关键词: 黄芪多糖; 鸡; 抗病能力

中国分类号: S831.5 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567 (2017) 03-0008-04

Effect of astragalus polysaccharide on the disease resistance of chicken

Kuang Zhixiang¹, Wang Lizhi¹, Wu Boliang¹, Deng Xuelong, Chen Zhifeng¹, Huang Dechun², Zhang Qiusheng¹, Li Ruiqing^{*}
(1. Guangdong Aijiankang Biotechnology Co Ltd, Guangdong 511800; 2. Foshan University, Guangdong, 528231)

Abstract: Astragalus polysaccharide is a kind of water soluble polysaccharide extracted from the astragalus root. Astragalus polysaccharides have a wide variety of biological functions such as anti virus, anti oxidation, anti radiation, enhancing immunity and so on. It can be used as an immune enhancer and an immune adjuvant, which plays an important role in enhancing the immunity of chicken. This paper reviews the effect of astragalus polysaccharide on the disease resistance of chicken, factors of affecting the effect, future directions, and provide reference for the application of astragalus polysaccharide in production of chicken.

Key words: Astragalus polysaccharide; Chicken; Immune function

引言

抗生素的应用为畜牧业的发展做出了重要贡献, 同时也为养殖业带来了抗生素抗性基因、药物残留、耐药性细菌转移以及二重感染等众多问题。为了减轻畜牧业对抗生素的依赖, 推进无抗养殖的发展进程, 天然绿色添加剂的开发与应用成为了当下的研究热点。黄芪多糖(Astragalus polysaccharide, APS)是中草药黄芪的主要活

性成分之一, 由半乳糖醛酸、果糖、葡萄糖、己糖醛酸等成分组成, 是黄芪药理作用中起决定性因素的一类大分子化合物, 具有免疫调节、抗应激、抗氧化、抗肿瘤等作用, 并且毒副作用小、无残留、无耐药性, 在鸡疾病的防治方面有着广阔的应用前景^[1-2]。本文综述了黄芪多糖对鸡抗病能力的影响及影响其作用效果的因素和今后的发展方向, 旨在为黄芪多糖在鸡生产中的进一步

收稿日期: 2017-05-19

作者简介: 邝智祥, 男。E-mail: 88631608@qq.com

* 通讯作者: 李瑞清, E-mail: lrq13927637777@163.com

应用提供参考。

1 黄芪多糖对鸡抗病能力的影响

1.1 黄芪多糖的免疫增强作用

黄芪多糖是黄芪主要的生物活性成分之一, 可以增强鸡的免疫力。免疫器官指数一定程度上反映了机体免疫功能的强弱以及免疫器官的发育成熟的快慢^[3]。李成^[4]报道, 在肉仔鸡的日粮中添加0.05%和0.1%的黄芪多糖均可显著提高其法氏囊、脾脏及胸腺的指数, 有助于其免疫功能的改善, 且0.1%的添加量效果更佳。Shao等^[5]报道, 黄芪多糖可以促进B细胞和巨噬细胞增殖以及细胞因子的分泌, 但对T细胞没有显著的影响。吕晓静等^[6]报道, 黄芪多糖可以提高NK细胞的活性, 且与干扰素协同使用时NK细胞的活性能提高5-6倍。黄芪多糖的免疫调节作用可能是由于其组分中含有 β -葡聚糖, 而 β -葡聚糖可以激活白细胞, 增强吞噬作用并诱导淋巴细胞产生抗体^[7]。细胞因子具有多种生物学活性, 是一种免疫原, 在机体免疫应答调控过程中发挥了重要作用。黄芪多糖能够提高机体内白细胞介素、干扰素等细胞因子的水平, 如促进IL-2、IL-3以及IFN等的分泌^[8]。天章等^[9]在肉仔鸡的饲料中分别添加0.1%、0.5%、1.0%和2.0%的黄芪多糖发现, 添加不同水平的黄芪多糖均能提高血清中IL-1、IL-2和肿瘤坏死因子- α 的含量, 其中添加量为1.0%时IL-1含量最高, 添加量为0.5%时肿瘤坏死因子- α 含量最高。单春兰^[10]为海兰白雏鸡口服添加5 mg/mL的黄芪多糖后发现肠道黏膜IgA细胞数量显著提高, 空肠洗脱液中特异性IgA抗体含量增加, 肠道黏膜免疫功能增强, 局部免疫应答水平提高。相关研究表明, 黄芪多糖可以通过促进免疫器官发育, 提高免疫器官指数, 促进免疫细胞增殖, 增强免疫细胞作用以及诱导细胞因子的合成与分泌等多种方式来提高鸡的固有免疫和适应性免疫功能。

1.2 黄芪多糖的抗应激作用

随着鸡养殖集约化和规模化程度的提高, 在较大的养殖密度环境下, 鸡易受到各种应激因素的影响。应激会使外周血液中中性粒细胞和淋巴细胞的含量下降, 导致机体的细胞免疫和体液免疫作用下降。贾震虎^[11]报道, 免疫刺激会导

致雏鸡免疫机能紊乱, 体液免疫和细胞免疫作用下降, 肌肉注射5 mg/mL的黄芪多糖0.5 mL后有助于其免疫功能的恢复。魏炳栋^[29]等研究黄芪多糖对氢化可的松诱导的肉仔鸡氧化应激模型生长性能、脏器指数和抗氧化能力的影响, 结果显示黄芪多糖具有缓解氢化可的松产生的氧化应激, 促进动物生长、脏器指数和抗氧化能力的作用。王天元^[31]研究了维生素C和黄芪多糖对热应激蛋鸡品质及免疫力的影响, 结果显示黄芪多糖以及维生素C都具有增强蛋壳强度的作用, 黄芪多糖可以降低产蛋鸡的采食量, 维持产蛋率, 降低料蛋比, 且具有免疫佐剂的效果, 增加抗体效价。相比添加0.2g/kg维生素C, 添加0.5g/kg的黄芪多糖效果更好。刘磊^[12]等在1日龄爱拔益加肉鸡的饲料中添加3 g/kg黄芪多糖发现, 其可以通过抑制蛋白质从骨骼肌向免疫系统从新分配, 来缓解大肠杆菌脂多糖诱导的免疫应激对爱拔益加肉鸡的生长抑制。说明, 黄芪多糖对这些由应激引起的生理变化有一定的抑制或缓解作用, 临床上可用于多种应激的防治。

1.3 黄芪多糖的抗病毒和抗肿瘤作用

黄芪多糖具有抗病毒作用。张靖飞等^[13]报道, 黄芪多糖可以用于禽流感、马利克氏病等多种禽类疾病的防治。任宇皓等^[14]报道, 黄芪多糖具有一定的抗新城疫病毒的作用。王春华^[15]在对板蓝根多糖、当归多糖、牛膝多糖以及黄芪多糖等8种多糖类物质抗新城疫病毒活性的筛选中发现, 黄芪多糖的抗新城疫病毒效果最明显。其可能的作用机制是黄芪多糖可以增强机体的体液免疫作用, 提高血液中补体和免疫球蛋白水平, 通过对传染性法氏囊、禽流感等病毒的干扰、吞噬、结合等方式发挥抗病毒作用。黄芪多糖在抗肿瘤方面也有积极作用, 其可能的作用机制是: (1) 促进TNF- α 等肿瘤细胞杀伤因子的分泌。许杜鹃等^[16]报道, 黄芪多糖可以通过促进细胞因子TNF- α 和IFN- γ 的分泌来抑制小鼠肝癌Hep A移植瘤的生长。(2) 增强免疫系统机能, 促进抗癌细胞素的分泌。IL-2可以刺激NK细胞, 使机体效应细胞群增殖, 通过维持LAK细胞的活性发挥抗癌作用^[16]。陈红英^[8]和天章等^[9]的研究均表明黄芪多糖对于血清中IL-2的含量

有提升作用。(3) 调控Bcl-2 等与肿瘤细胞的细胞周期和细胞凋亡相关关键蛋白的端粒酶活性, 促进肿瘤细胞凋亡或将肿瘤的周期控制在G1期。相关研究表明, 黄芪多糖能通过调节IL, IFN- γ 以及CTL 细胞等与机体的抗病毒免疫密切相关的细胞因子的分泌来提高机体的抗病毒能力。

1.4 黄芪多糖的抗氧化作用

黄芪多糖是一种具有抗氧化作用的功能性多糖, 其可能的作用机制是:(1) 黄芪多糖分子可以结合低密度脂蛋白等物质过氧化产生的活性氧, 清除活性自由基。另外, 黄芪多糖可以促进一氧化氮合酶基因的表达, 提高机体内NO 的产量, NO 可以结合自由基, 减少自由基的危害^[17]。在众多自由基中, 羟基自由基的危害较大, 罗楠等^[18]报道黄芪多糖的抗氧化作用效果与黄芪多糖的质量浓度间有正相关性, 且对羟基自由基有较好的清除作用。(2) 黄芪多糖能提高谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶等过氧化物酶的活性。李宏全^[19]报道, 以点眼、滴鼻、皮下注射和肌肉注射等方式添加黄芪多糖后, 各组鸡血清中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px) 的活性均显著提高, MDA 的含量均显著降低。魏炳栋^[30]等报道, 在1-14 日龄肉仔鸡日粮中添加0.2%、0.4% 和0.6% 的黄芪多糖, 结果显示黄芪多糖可显著提高肉仔鸡血清和肝脏中T-SOD 和GSH-Px 活性, 降低MDA 含量, 说明黄芪多糖对1~14 日龄肉仔鸡具有较强的抗氧化作用。徐春燕^[20]等在肉仔鸡饲料中添加不同水平的黄芪多糖后发现, 其总抗氧化能力以及GSH-Px 和SOD 的活性均有所提高, MDA 的生成减少, 其抗氧化作用效果与剂量间存在正相关性。表明, 黄芪多糖能够通过清除体内自由基以及提高机体抗氧化相关酶的活性, 降低组织过氧化脂质水平等方式来发挥抗氧化作用。

1.5 黄芪多糖的抗菌作用

黄芪具有提高机体免疫力和广泛的抗菌作用, 黄芪多糖是黄芪主要的功能性组分之一, 能够抑制有害菌的生长, 促进有益菌的增殖。其可能的作用机制是:(1) 黄芪多糖能够直接作用

于有害菌, 抑制其生长并减弱其毒性产物的有害作用^[21]。李树鹏等^[22]的体外抑菌试验表明, 20 mg/L 和40 mg/L 的黄芪多糖对沙门氏菌、大肠杆菌以及金黄色葡萄球菌的生长有显著的抑制作用。许钦坤等^[23]报道, 黄芪多糖对大肠杆菌、沙门氏菌以及绿脓杆菌均有显著的抑制作用。

(2) 黄芪多糖能够通过增强机体的免疫力来发挥扶正祛邪、广泛抗菌的作用。孙波等^[24]在肉仔鸡的饲料中添加500 mg/kg 和1000 mg/kg 的黄芪多糖后发现其胸腺指数、脾脏指数以及法氏囊指数均显著提升, 肉仔鸡的免疫力得到提高, 同时沙门氏菌和大肠杆菌数量显著降低, 乳酸杆菌和双歧杆菌数量显著提升。说明, 黄芪多糖能够通过直接抑制有害菌的增殖和提高机体的免疫力间接强化抗菌能力等方式来发挥抗菌作用。

2 影响作用效果的因素

黄芪多糖的作用效果易受到鸡的性别、添加水平、剂型以及协同作用等多方面因素的影响。王俊丽^[25]等在AA 肉鸡饲料中添加不同水平的黄芪多糖后发现, 添加量为1000 mg/kg 时公鸡的胸腺指数显著提高, 添加量为2000 mg/kg 公鸡的脾脏指数和法氏囊指数显著提高, 相同添加水平条件下, 母鸡的胸腺指数、脾脏指数以及法氏囊指数均未出现显著差异。杨庆芳^[26]在1 日龄艾维茵肉仔鸡饲料中添加不同水平的黄芪多糖后发现, 黄芪多糖可以影响肉仔鸡的肝脏指数和脾脏指数, 且具有明显的量效关系, 对血清中SOD 的活性有提高作用, 对MDA 的含量有降低作用, 且也表现出量效关系。王学斌等^[27]报道黄芪多糖的粉剂和注射液均对固始鸡的法氏囊指数和脾脏指数有一定的提高作用, 且均能显著提高E- 玫瑰花环的形成率, 但总体效果上粉剂优于注射液。郭欣怡^[28]等在艾维茵肉鸡的基础饲料中添加不同水平的复合微生态制剂、黄芪多糖以及二者联用, 发现微生态制剂和黄芪多糖均能改善维茵肉鸡的免疫性能, 且二者联用的效果优于单独使用。因此在生产中应尽量注意不利因素的影响, 充分发挥黄芪多糖的效能。

3 小结

随着社会经济的不断发展和人们生活水平的不断提高, 对动物性产品的需求已经从数量型向

质量型不断转化,“少用抗生素、不用抗生素”已成为新的行业理念,对绿色环保、安全、高效的抗生素替代品需求日益增大。黄芪多糖作为纯天然的功能性多糖,具有明显的免疫调节作用,在提高鸡抗病能力方面有着广阔的应用前景。但是不同来源,不同提取工艺制备的黄芪多糖有效成分的含量和组成不尽相同,应用效果也存在一定的差异。因此,应加强标准化方面的研究,同时可以利用生物工程技术对黄芪多糖的提取、分离以及纯化的工艺进行优化,提高黄芪多糖的收率和含量,降低生产成本。在疫苗使用过程中,黄芪多糖目前主要还是作为免疫增强剂,无法替代疫苗单独使用,单用对非免疫动物的免疫保护效果差强人意。不同品种的鸡所需黄芪多糖的最适剂量也有所差异,使用效果与使用剂量之间的关系仍需开展系统研究。不同生长阶段,不同生产目的的鸡最佳使用量及使用方式仍需进一步的研究。随着对黄芪多糖生物学效应和免疫增强作用机理研究的不断深入,及其产业化开发利用,黄芪多糖将在提高鸡抗病力方面发挥更加重要的作用。

参考文献:

- [1] Xie J H, Jin M L, Morris G A, et al. Advances on Bioactive Polysaccharides from Medicinal Plants. [J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56(Supp 1):S60.
- [2] 胡文举, 宋艳画, 吴伶俐. 黄连素与黄芪多糖对AA肉鸡生长性能及免疫功能的影响 [J]. *江苏农业科学*, 2013, 41(4): 197-199.
- [3] 上官明军, 王芳, 张红岗, 等. 菊粉对蛋雏鸡生长性能、免疫器官指数和血清免疫球蛋白的影响 [J]. *动物营养学报*, 2009, 21(1):118-122.
- [4] 李成. 黄芪多糖对肉鸡免疫功能的影响 [J]. *中国畜牧兽医文摘*, 2016, 9: 55-55.
- [5] Shao B M, Xu W, Dai H, et al. A study on the immune receptors for polysaccharides from the roots of *Astragalus membranaceus*, a Chinese medicinal herb [J]. *Biochemical & Biophysical Research Communications*, 2004, 320(4):1103-1111.
- [6] 吕晓静, 孟小宾, 王小武, 等. 黄芪多糖的免疫作用机制研究进展 [J]. *中国兽药杂志*, 2014, 48(5): 66-69.
- [7] 柳序, 田科雄, 彭灿阳, 等. 黄芪多糖的免疫调节作用及其在动物生产中的应用 [J]. *中国饲料*, 2016, 22: 12-15.
- [8] 陈红英, 蒋银屏, 陈春明, 等. 黄芪多糖在增强家禽免疫功能和抗氧化功能方面的应用 [J]. *广东饲料*, 2014, 23(8): 34-36.
- [9] 天章, 李慧英, 王志刚, 等. 黄芪多糖对肉仔鸡血清免疫细胞因子含量及小肠诱导型一氧化氮合成酶 mRNA 表达的影响 [J]. *动物营养学报*, 2014, 26(4): 1011-1018.
- [10] 单春兰. 黄芪多糖对雏鸡小肠黏膜免疫机能影响的研究 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- [11] 贾震虎. 黄芪多糖调节免疫应激雏鸡免疫功能研究 [J]. *陕西农业科学*, 2011, 57(6): 28-30.
- [12] 刘磊, 苏满春, 雷耀庚, 等. 黄芪多糖对肉鸡免疫应激状态下蛋白质重分配的影响 [J]. *动物营养学报*, 2014, 26(12): 3799-3805.
- [13] 张靖飞, 李小丽, 李蜜蜡, 等. 复方黄芪多糖防治禽流感临床试验 [J]. *动物医学进展*, 2003, 24(3): 124-125.
- [14] 任宇皓, 胡元亮, 刘家国, 等. 黄芪多糖、淫羊藿多糖和淫羊藿总黄酮对新城疫病毒感染细胞的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2001, 24(2): 102-105.
- [15] 王春花. 抗新城疫病毒中药多糖的筛选 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2010.
- [16] 许杜鹃, 陈敏珠. 黄芪多糖的抑癌作用及其机制 [J]. *中国医院药学杂志*, 2005, 25(10): 923-925.
- [17] 姚建生. 黄芪多糖对家禽的生物作用及生产中的应用进展 [J]. *中国畜禽种业*, 2013, 9(10): 135-140.
- [18] 罗楠, 徐李燕, 阮欢欢, 等. 黄芪多糖抗氧化活性的研究 [J]. *求医问药: 学术版*, 2013, 4: 30-31.
- [19] 李全宏, 段县平, 马海利, 等. 黄芪多糖提高雏鸡抗氧化作用对免疫功能的影响 [J]. *山西农业大学学报*, 2002, 1: 78-81.
- [20] 徐春燕. 苜蓿多糖和黄芪多糖对肉仔鸡抗氧化性能影响的研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2010.
- [21] 刘瑞生. 黄芪多糖在肉鸡养殖业上的应用 [J]. *广东畜牧兽医科技*, 2014, 39(6): 15-18.
- [22] 李树鹏, 郝艳霜, 陈福星, 等. 黄芪多糖和 2 株益生菌体外抑菌作用研究 [J]. *河南农业科学*, 2007, 4: 88-90.
- [23] 许钦坤, 赵翠燕. 黄芪多糖对鸡腹泻主要致病菌的抑菌作用 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2013, 09(上): 98-99.
- [24] 孙波, 陈静, 刘江, 等. 饲料中添加黄芪多糖对肉鸡肠道菌群及免疫器官指数的影响 [J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2014, 13: 86-88.
- [25] 王俊丽, 章世元, 徐春燕, 等. 黄芪多糖对肉仔鸡生产性能和部分免疫指标的影响 [J]. *中国饲料*, 2010(7): 18-21.
- [26] 杨庆芳, 贺生中, 宁官保. 黄芪多糖对肉仔鸡生长性能及抗氧化作用的影响 [J]. *畜牧与兽医*, 2014, 46(4): 000040-42.
- [27] 王学斌, 陈功义, 魏战勇, 等. 黄芪多糖粉剂和注射剂对雏鸡免疫功能和生长的影响比较 [J]. *中国家禽*, 2007, 29(3): 21-23.
- [28] 郭欣怡, 张曼, 韩飞, 等. 复合微生态制剂与黄芪多糖对鸡免疫器官指数和新城疫-禽流感免疫效果的影响 [J]. *中国农学通报*, 2016, 32(32): 20-24.
- [29] 魏炳栋, 陶浩, 于维, 陈群, 李林. 黄芪多糖对氢化可的松氧化应激状态下肉仔鸡生长性能、脏器指数及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2012(10): 1939-1945.
- [30] 魏炳栋, 于维, 陶浩, 陈群. 黄芪多糖对 1~14 日龄肉仔鸡生长性能、脏器指数及抗氧化能力的影响 [J]. *动物营养学报*, 2011(03): 486-491.
- [31] 王天元. 维生素 C 和黄芪多糖对热应激蛋鸡品质及免疫力的影响 [D]. 山西农业大学, 2016.

武宣县“微生物+高架网床”生猪现代生态养殖技术推广和应用

王海强¹, 李顺芳², 李 剑², 樊姣梅², 潘会贤¹,
雷 琦¹, 蔡琳兰¹, 吴美芳¹, 覃逸泉¹, 廖慧玲²
(1. 广西武宣县动物疫病预防控制中心, 广西 武宣 545900;
2. 广西武宣县畜牧工作站, 广西 武宣 545900)

摘要: 为探讨现代畜牧业可持续发展模式, 配合建设广西现代生态养殖发展规划。武宣县主推“微生物+高架网床”生猪现代生态养殖技术, 通过创建生态养殖场建设, 转型升级养殖产业, 消除传统养殖模式对环境的污染影响。2016年全县生猪生态养殖出栏量0.13万头, 实现产值270万元, 新增加利润14.42万元。通过“微生物+高架网床”生猪现代生态养殖模式技术的应用, 可有效减少养猪业对环境造成的污染和抗生素过度使用现象, 提高肉品质, 增加养殖效益, 为畜牧业可持续发展提供一条新思路。

关键词: “微生物+高架网床”; 生猪现代生态养殖技术; 推广和应用

中国分类号: S815.4 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2017)03-0012-02

1 方法

1.1 技术要求

1.1.1 网床栏舍建设要求

猪舍为小二层的框架复式结构, 上层为栏舍层, 下层为粪便堆积发酵层, 上、下两层各安装抽风机2~3台, 上层安装调温水帘窗。上层分隔为多个20~25 m²小间栏舍, 栏舍用纽纹碳钢铺设成漏缝网床, 墙内侧安装凹墙式猪分流饮水装置和外排口, 猪饮用滴漏的水与猪粪尿的排放分离。猪舍相对密封, 屋顶隔热, 舍内温度与湿度可控。

1.1.2 饲料处理

1.1.2.1 菌种的激活

将200 g红糖加入20 kg水中, 煮沸后, 待温度降至40℃时, 将500 g北京伟嘉盛帮生物技术有限公司生产的伟嘉专利微生物专用菌种加入该糖水中, 搅拌密封厌氧激活2~4 h即可使用。

1.1.2.2 发酵料的处理

按比例混匀豆粕、麦皮、玉米粉等原料, 与

活化后的菌液和水混合拌匀, 常温密封厌氧发酵3~5 d, 待物料具有酸香味、发软时即可使用。此时发酵料含有40%的水份, 使用时不用作晾干处理, 可直接使用, 不影响使用效果。

1.1.2.3 饲料添加

将发酵料按6%~28%比例添加入不同阶段猪的日常饲料中饲喂, 其中妊娠期按6%、哺乳期按14%、保育期按10%、其他生长期按28%的比例添加。

1.1.3 粪便处理

将1 kg北京伟嘉专用菌种与5 kg的玉米粉拌匀, 再与5 m³木薯皮、木屑或谷壳等材料混合均匀, 铺垫在漏缝网床下方地面, 高度大约为50cm左右, 堆沤发酵5~7 d, 即进猪饲养。每隔7~10 d, 对垫料翻动一次, 确保垫料有氧发酵充分, 半年或一年后可清理垫料混合物, 将其作为有机肥用于种植或出售。

1.1.4 环境消毒

使用活化后的菌种液对栏舍内外环境喷雾消毒, 每隔7~10 d喷雾1次, 禁止在栏舍环境

收稿日期: 2017-04-13

作者简介: 王海强, 男, 1969年1月出生, 农学学士, 兽医师。E-mail: 18978223153@163.com

中使用化学消毒药液。

1.2 项目建设内容

建设生态养殖核心示范点4个,改建和新建栏舍10栋,建设面积为5420 m²,设计年出栏生猪1.7万头。

2 项目实施成果

2.1 产值情况

年内投入使用栏舍面积1221 m²,生猪出栏0.13万头,实现产值270万元,实现了料肉比降低和人工费、用药成本、用水量减少等目的,与传统养殖模式对比,每头生猪出栏可增加利润140元(见表1)。

2.2 发病情况

年内生态养殖饲养量为1325头,发病7头,发病率为0.53%,病死1头,病死率为14.29%,发病率和病死率均比传统饲养模式降低5.96%和1.93%(见表1)。

2.3 生态效益

生态养殖场每头生猪饲养周期内用水量为0.53 t,为饮用水,栏舍不冲水,生猪尿液基本被堆积发酵层吸收完全,养殖过程几乎无污水外排,猪舍内几乎闻不到氨氮腐败臭味。传统养殖场每头生猪饲养周期内饮水量和饮水滴漏为1.07 t,每头生猪饲养周期内至少产生冲洗用水和尿液排放等养殖污水1.52 t,猪舍的异味在200 m外就可闻到。

2.4 饲养密度和饲养周期

生态养殖场育肥猪养殖密度为0.8 m²/头,饲养周期为150 d/批次,而传统养殖场的养殖密度为1.0~1.4 m²/头,饲养周期为165 d/批次。生态养殖模式通过提高养殖密度,可达到提高土地利用率的目;饲养周期缩短10 d以上,经计算每头生猪可节约饲料成本56元。

表2 生态养殖场与传统养殖场疾病防治比较表

场类别	饲养量(头)	发病数(头)	发病率(%)	死亡数(头)	病死率(%)	疫苗和治疗保健药物(万元)
生态场	1325	7	0.53	1	14.29	1.61
传统场	1362	74	5.43	12	16.22	5.15

3 总结

3.1 生态养殖技术符合生态发展的要求

随着养殖规模的不断扩大,养殖废弃物排放不断增加,大大降低了环境的承载能力,养殖环境制约加大。“微生物+高架网床”生态养殖技术,养殖过程全程不冲水,实现污水减少量80%以上,几乎无污水外排现象;对粪便进行微生物处理,整个养殖环境没有异臭味,生态养殖全程几乎不对环境产生破坏和影响。

3.2 生态养殖技术符合动物食品安全要求

“微生物+高架网床”生态养殖技术,高架网床采光和通风性良好,栏舍内温、湿度可控,微生物添加可调节动物机体内有益菌群的平衡,提高动物机体抗病能力,对粪便和环境进行微生物处理,可降低舍内氨氮浓度,营造良好的养殖环境,全程不使用或少使用抗生素,符合食品安全的要求。

3.3 生态养殖技术符合经济效益要求

“微生物+高架网床”生态养殖技术,养殖过程生猪发病少,有效提高生猪成活率;使用微生物发酵饲料,可以提升饲料转化率,缩短饲养周期;粪便经微生物酵解变成有机肥后,可以提高猪粪的经济价值,拓宽养殖收入;养殖全程少用抗生素及非营养性添加剂,大大降低生猪的医药保健费,提升猪肉的品质优势、市场竞争力;粪便通过漏缝网床直接掉入集粪层,不需人工清

(下转第27页)

表1 生态养殖场与传统养殖场的产出比较

场类别	饲养数	出栏数	产值	饲料支出	疫苗药物支出	水费支出	电费支出	人工支出	菌种支出	单位:头、万元	
										总利润	每头利润
生态场	1325	1324	270.1	109.68	1.61	0.035	0.79	2.49	1.371	154.12	0.116
传统场	1362	1350	275.4	125.97	5.15	0.073	0.03	4.48	0.00	139.70	0.103
对比	-37	-26	-5.3	-16.29	-3.54	-0.038	0.76	-1.99	1.371	14.427	0.014

注:1、本统计为断奶期至出栏期的数据;2、本统计不包括仔猪成本及断奶前饲料成本(以下统计相同)。

病死畜禽处理的现状及其无害化处理技术

徐明明^{1,2}, 曲湘勇^{1,*}, 刘耀文^{1,2}, 康克浪^{1,2}

(1. 湖南农业大学动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128;

2. 湖南畜禽安全生产协同创新中心, 湖南 长沙 410128)

摘要:近年来出现的“黄浦江漂猪事件”和“江西高安病死猪事件”，引发了人们对病死畜禽无害化处理问题的担忧。病死畜禽的无害化处理还存在养殖者不受重视、政府部门监管不到位、补贴政策落实不到位和处理技术落后等问题。本文分析了当前病死畜禽处理的现状，阐述了五种病死畜禽的无害化处理技术，并提出了4点对策建议。

关键词:病死畜禽; 现状; 无害化处理技术

中国分类号: S851.2⁺3 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567(2017)03-0014-04

Present Situation of Dead Animal Carcass Disposal and Innocent Disposal Technology

Xu Mingming^{1,2}, Qu Xiangyong^{1,2*}, Liu Yaowen^{1,2}, Kang Kelang^{1,2}

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha, Hunan 410128;

2. Hunan Collaborative Innovation Center of Animal Production Safety, Changsha, Hunan 410128)

Abstract: In recent years, the incidences of dead pigs drift on the Huangpu River and dead pigs were traded in Gaoan Jiangxi province that was concerned about the issue of dead livestock and poultry harmless disposal. The harmless disposal of dead livestock and poultry have some obstacles, such as farmer's ignorance, government department lacking of monitor, the subsidy policy is not in place, back of disposal technology. This paper analyzes the present situation of dead livestock and poultry's treatment, and describes five kinds of the harmless disposal technology for dead livestock and poultry. In addition, four suggestions are followed.

Key words: Dead livestock and poultry; Present situation; Harmless disposal technology

1 病死畜禽处理的现状

中国是一个畜禽养殖大国，但养殖的集约化、规模化程度远低于欧美等发达国家。据统计，2016年全年产猪肉5299万吨、牛肉717万吨、羊肉459万吨、禽肉1888万吨、禽蛋3095万吨、牛奶3602万吨，畜禽产品产量丰富，而规模化养殖的占比仍不足30%。目前，小规模投资的散养户仍然较多。众多的传染性疫病（如禽流感、猪瘟等）给畜禽养殖带来较大的隐

患。但是，政府对养殖业的投资力度却是有增无减。所以，投资养殖行业收益仍然可观。以湖南省岳阳县为例，年出栏生猪156万头、家禽1000万羽^[1]。若死亡率按5%计算，则年需处理死禽80万羽，死猪7.8万头。这些病死畜禽很难全部得到有效的处理。2013年“黄浦江漂猪事件”，引起人们对病死畜污染水源等环境问题的担忧，同样揭示了病死畜禽的无害化处理能力滞后与畜禽生产发展力需要两者之间的

收稿日期: 2017-05-24

作者简介: 徐明明(1992-), 男, 江西高安人, 硕士研究生, 研究方向为家禽健康养殖与育种。

E-mail: 2437592523@qq.com

*通讯作者: 曲湘勇(1962-), 男, 教授, 博士, 博士生导师。E-mail: quxy99@126.com

矛盾关系。2014年曝光的“江西高安病死猪事件”，证明一些病死畜被养殖者或收购者非法卖给屠宰加工者，最终流入百姓餐桌。导致该事件发生的原因主要有：散养户的意识淡薄，随意丢弃甚至交易病死畜禽；肉品加工者法制观念不强；动物监督执法部门监管不严。上述事件反映出我国病死畜禽的无害化处理已面临严峻的挑战。

1.1 污染环境，威胁公共安全

个别养殖场距水源地、学校、居住区较近，且对畜禽排泄物以及病死畜禽缺乏有效的处理。运输过程中的病死畜禽被随意丢弃路边、河沟。病死畜禽尸体携带大量的病原微生物，易造成水源和环境的污染，对公共安全造成威胁，同时这也是养殖场传染病发生的重要诱因。病死畜禽的地下交易，极易产生重大的食品安全问题，冲击市场经济秩序，不利于畜牧业的良性发展。

1.2 追求效益，忽视无害化处理

近年来，国家出台了一系列畜牧业扶持政策。优惠的政策吸引了大批的外行投资者及跨国资金投入 to 畜禽养殖业中来。产业化、集约化、规模化、专业化是国内畜牧业发展的趋势。养殖场的户数依然较多，养殖规模层次不齐。有些小养殖场盲目追求经济效益，缺乏无害化处理的意识，为节约成本，不愿意投入于养殖环境控制环节。大多数养殖场无害化设施缺乏或者不配套，无害化处理效果与生产力发展水平不匹配。

1.3 补贴政策落实不到位

广大农村小养殖户病死的畜禽无法享受补偿政策，除非是发生重大传染病全部扑杀，平时零星发病死亡的畜禽并未纳入补贴范围。补贴标准过低而不能满足养殖者的要求；广大农村地区农民收入偏低，缺乏无害化处理意识，政府对于补贴政策宣传力度不够，很多补贴流程不够透明公开；许多地区的惠农补贴政策只是在当地的官方网站以及一些缺乏影响力的媒体上刊登。较少有人关注地方网站，养猪的农户更是较少上网，他们更无法了解到相关的补贴政策。此外，还有很多地方并未落实关于无

害化处理病死猪每头补贴80元的政策，或者补贴款不能及时发放到位。

1.4 无害化处理技术仍需进一步提升

当前，我国许多无害化处理设施和处理技术还比较落后，推动工厂化、机械化处理工作进展缓慢。传统的无害化处理技术：深埋法、化尸窖法和焚烧法均存在诸多问题。机械化、工厂化的处理技术，如生物好氧发酵技术、高温灭菌脱水处理技术等，虽然相对于传统技术而言，明显增强了处理效果，提升了处理的安全性，但投入成本较高。未来畜禽的无害化处理技术将朝着高效化、资源化方向发展，同时要着手降低处理成本。

2 病死畜禽无害化处理技术

对病死畜禽进行无害化处理要遵循防止有害病原微生物扩散与传播的基本原则。

2.1 深埋法

深埋法适合我国的基本国情，我国大部分地区处理病死畜禽多采用此法。

深埋地址一般选在远离养殖场、交通要道、水源地、居住区、屠宰场、肉品加工厂的地方。深埋地点一般在主风向下方。在深埋前对病死畜禽的尸体、垫料进行焚烧处理，用具进行消毒处理。根据需要处理病死畜禽的数量，确定尸坑大小。要求坑壁和坑底平整、垂直，坑深超过2米，同时病死畜禽尸体上层距地表1.5米以上，坑底超出地下水水位1米以上，坑底平铺2 cm 厚生石灰，在病死畜禽体表喷洒10%漂白液，2 h后将尸体投入坑中，覆盖泥土后再撒上一层生石灰，完全掩埋，将土夯实，使掩埋地略高于周围地面^[2]。处理完后在原地设置无害化处理警示牌，定期检查，防止野生动物扒食尸体。

深埋法操作简单、成本低，为我国大部分地区所采用。国家也针对性地制定了《病害动物和病害动物产品生物安全处理规程》^[3]。但是，深埋法占地面积大，尤其在经济发达的东部沿海地区，人地矛盾尖锐，相对付出的地价成本也高；西部地区土地广袤，适宜用此法。而且深埋法只对病死畜禽做了简单消毒处理，病原微生物没有完全被杀死，易对土壤和

地下水造成污染。南方地区水网密布、地下水位较低、降雨量充沛,雨水将病死畜禽尸体冲刷出地表,使病原微生物暴露于空气中。尤其在春季,温度、湿度等环境适宜于病原微生物的繁殖,这对畜禽养殖场的疫病防控工作提出了巨大挑战,也威胁到人类的身心健康。

2.2 焚烧法

焚烧法是指将病死畜禽置于焚烧炉中浇上足够的燃料或直接放在易燃物上点燃,使畜禽尸体烧成灰烬,达到无害化处理的目的。焚烧法处理最彻底,安全性也高。畜禽尸体经过700~1100℃的高温燃烧后化成灰烬,同时病原微生物也被完全杀灭,最终实现了病死畜禽处理的减量化和无害化^[4]。焚烧法的工艺流程:进料→焚烧畜禽尸体→烟气处理后排放→灰烬掩埋。畜禽尸体在燃烧的过程中会产生二噁英、一氧化碳、二氧化碳、氮氧化物、酸性气体等污染物,这些废气必需经烟气净化系统处理达标后方可排放。焚烧处理厂一般设在远离加油站、居民区、学校、养殖场、屠宰场、食品加工厂的地方,周围设有有一定距离的防火隔离带。目前,一般采用简易式焚烧炉焚烧、火床焚烧、节能环保焚烧炉焚烧、生物自动化焚烧炉焚烧等方法。集中焚烧是目前主推的焚烧法之一。几个大中型养殖场联合建立一个大型病死畜禽焚烧处理厂,同时在各个小区域设置若干个冷库,暂存从养殖场收集来的病死畜禽,最后由专门化的无害化处理车将其转运至焚烧厂集中处理。杨军香^[5]调研了我国北京、广西、新疆等10个省市病死畜禽的无害化处理情况,发现各省市均采用焚烧法作为无害化处理的主要方法。焚烧法需要耗费大量的燃料,成本较高。采用沼气作燃料能够降本节耗。但是,焚烧产生的烟气还无法做到零污染排放,对于这方面的技术还有待进一步革新。同时,焚烧所产生的灰烬仍需要集中深埋处理。

2.3 化尸窖法

化尸窖也称为密闭沉尸井,是指按照《畜禽养殖业污染防治技术规范》要求,在地面挖圆柱形深坑后,采用砖混结构施工建造的密闭池。通过投入病死畜禽尸体使其自然腐烂降解

而达到无害化处理的目的。化尸窖可以多点布局,尽量缩短病死畜禽的运输线路,减少疾病传播的风险。为降低生物安全隐患,化尸窖常建在地势高燥的下风口方向,远离水源、屠宰场、交通干线。化尸窖建设成本和运行成本较低,操作简便。往化尸窖内定期投入适量的化尸菌剂可以加速畜禽尸体的分解,提高化尸的效率。每口化尸窖约1/4的容积不能利用,而且化尸窖不能循环使用。化尸窖化尸效率受季节、区域、温度等因素的影响较大。我国南方地区夏季高温时,畜禽尸体软组织60天左右即可完全降解,但冬季寒冷低温时期,降解过程很漫长,病死畜禽的无害化处理受到制约。为安全起见,化尸窖顶部投掷口应加密封盖并上锁,周围设围栏和警示牌,并派专人值守。运输病死畜禽的工具和人员进行消毒之后方可离开。

2.4 生物好氧发酵技术

目前,在国外,生物好氧发酵技术已广泛应用于病死畜禽的无害化处理^[6-7],而我国对于该项技术尚处于研究和示范阶段,还未完全推广应用。

病死畜禽的生物好氧发酵是一种利用微生物在适宜的湿度、温度和pH条件下,使有机物氧化成无机产物,同时放热杀死病原微生物的过程。生物好氧发酵技术在病死畜禽处理方面的研究始于上世纪80年代,最早应用于病死家禽的处理。生物好氧发酵可以制备高效的有机复合肥^[8],实现病死畜禽的资源化利用。生物发酵处理技术使用的原料有锯末、稻壳、米糠、微生物菌种和病死畜禽。生物发酵池应建在地面以上,池壁四周留有通气孔,池顶搭有遮雨棚。生物发酵池的建造工艺参数:池深1.5米,长宽之比2:1,墙宽24 cm。在围墙30 cm和60 cm高度处,每隔50~100 cm留一个孔径为13 cm左右的通气孔。要求棚檐超出池口50~100 cm,防止雨水溅入发酵池。发酵层垫料厚度约为60 cm,覆盖层原料厚度为40 cm,中间层病死畜禽的质量与发酵池垫料总质量相当^[9]。家畜的死胎、胎盘、胎衣,家禽等可直接投入发酵池,大型家畜则需要分解成小块投入发酵。若病死畜禽

尸体体积过大, 则发酵时易产生臭体和温室气体^[10]。稻壳、锯末、秸秆等作碳源, 病死畜禽作氮源, 发酵菌在丰富的有机质条件下, 持续发酵升温而杀死病原微生物, 最终形成无害的有机肥。好氧发酵成本主要由垫料、鼓风能耗和设备折旧三部分所组成。鼓风能耗的成本约为30元/吨·病死畜禽; 垫料(秸秆、锯末)的价格约为300元/吨; 设备折旧以及占地费折算成本约为260元/吨·病死畜禽^[11]。发酵成本总计590元/吨·病死畜禽, 发酵有机肥的市售价格在600~700元/吨, 每处理一吨病死畜禽的利润在10~110元。龚寒春^[12]等利用广西地区木材加工厂和甘蔗厂的副产品木糠和甘蔗渣作畜禽尸体好氧发酵的原料, 使资源得到了循环利用。这是从原料角度考虑如何有效利用当地资源来降低畜禽尸体好氧发酵成本的一个成功探索。

2.5 高温灭菌脱水处理技术

高温灭菌脱水处理技术是指将破碎的畜禽尸体置于卧式反应釜, 在高温高压蒸汽条件下同时使物料灭菌和脱水, 随后压榨提油, 残渣用来制作肉骨粉。要求釜内处理物的中心温度在140℃以上, 压力超过0.5 MPa, 处理时间不短于4小时(若物料大, 时间应更长), 这样病原微生物都被彻底杀灭, 安全性高。但这也耗费大量的蒸汽和能量, 增加无害化处理的成本。高温灭菌脱水处理工艺流程主要分为三个阶段: 前处理—主处理—废物处理阶段。前处理阶段主要包括尸体的冷藏、进料、破碎和输送。要求破碎的粒径不超过50 mm, 日处理能力达360~480吨, 进料口安装摄像机, 防止非畜禽尸体进入破碎机。主处理阶段选用大型灭菌脱水反应釜, 处理5小时。物料脱水在抽真空负压条件下进行, 脱水后进1# 缓存仓预过滤, 油脂入加热罐, 渣输入榨油机; 压榨后, 油脂再入加热罐, 渣入2# 缓存仓, 之后将渣送入粉碎机粉碎, 制得肉骨粉。废物处理阶段将反应釜内污浊的热蒸汽冷凝成污水。臭气也要经过一定的处理后再排放。高温灭菌脱水技术提取的油脂不能流入餐桌, 但可以广泛应用到化工领

域, 制备生物燃料、肥皂等产品; 残渣用于制作肉骨粉, 能为动物提供优质的蛋白。

3 病死畜禽无害化处理的对策建议

3.1 根据地域情况、经济发展水平、养殖业发展规模程度和不同处理方式的优缺点等因素选择适宜的无害化处理技术。

3.2 借鉴国外先进经验, 开发更加安全、可靠、高效和经济节约的无害化处理技术, 并逐步推广应用。

3.3 鼓励和吸引更多的资金投入畜禽的无害化处理中来。政府为畜禽无害化处理企业提供更多的优惠政策。

3.4 完善和落实散养户病死畜禽的补贴政策, 实现病死畜禽补贴全覆盖。

参考文献

- [1] 郑文成, 邓云波, 王晓春, 等. 湖南省岳阳县病死畜禽无害化处理长效机制建设实践 [J]. 中国动物检疫, 2017, 34(1): 61-64.
- [2] 薛瑞芳. 病死畜禽无害化处理的公共卫生学意义 [J]. 畜牧业, 2012, (11): 54-55.
- [3] 徐百万, 李秀峰, 陈国胜, 等. GB16548—2006 病害动物和病害动物产品生物安全处理规程 [S]. 北京: 中国标准出版社, 2006.
- [4] 刘铁男, 任守爱, 贾武桐, 等. 大型病害动物焚烧炉的研制与开发 [J]. 中国动物检疫, 2007, 23(11): 16-18.
- [5] 杨军香. 病死畜禽尸体无害化处理现状与资源化利用展望 [J]. 饲料工业, 2016, 37(13): 1-5.
- [6] Cartwright G. Composting dead poultry [A]. In: Proceedings of the NZ poultry industry conference [C]. The NZ Poultry Industry Conference, 2006, 141-146.
- [7] Mukhtar S, Kalbasi A, Ahmed A. Composting [M]. Kansas: Kansas State University, 2004.
- [8] 张焕忠, 魏祥法, 成建国. 病死畜禽无害化处理新技术 [J]. 家禽科学, 2016(08): 21-24.
- [9] Keener H M, Elwell D L, Monnin M J. Procedures and equations for sizing of structures and windrows for composting animal mortalities [J]. Appl Engin Agric, 2000, 16(6): 681-692.
- [10] Kube J. Composting dead cattle: an alternative to rendering [A]. In: American Association of Bovine R actioners 35th Annual Conference [C]. Madison, 2002.
- [11] Turner C. The thermal inactivation of E. coli in straw and pig manure [J]. Bioresour Technol, 2002, 84: 57-61.
- [12] 龚寒春, 黄世娟, 翟成兵, 等. 规模猪场动物尸体生物降解无害化处理技术 [J]. 广西畜牧兽医, 2015, 31(1): 24-26.

林下放养固始鸡和草蛋鸡产蛋期生产性能和养殖效益对比试验

赵必迁¹，蒲海平¹，覃东军²，冯付²，曾东³

(1. 四川省雅安市农业局畜牧发展中心，四川 雅安 625000；

2. 雅安凤茗谷禽类养殖专业合作社，四川 雅安 625000；

3. 四川农业大学动物医学院，四川 成都 611130)

摘要：为了考察林下放养模式下固始鸡和草蛋鸡两种肉蛋兼用地方鸡产蛋性能和养殖效益情况，本试验选取125日龄开产的两个鸡种分为两个处理组，一个圈舍一个处理组，试验期125日龄-300日龄25周，饲粮分为预产期和产蛋高峰期两个养殖阶段配制玉米-豆粕型粉料。产蛋试验期记录日采食量、死亡数、产蛋率，试验结束计算平均采食量、平均成活率、平均产蛋率。根据饲料耗用量、死淘鸡折价、蛋鸡销售价、试验鸡销售价，概算养殖效益。试验结果表明，产蛋试验期(125-300日龄)平均产蛋率，固始鸡达到41.35%，高于草蛋鸡6.92个百分点；试验期校正的平均日采食量，固始鸡为92.65g/只，低于草蛋鸡9.05g/只。本试验产蛋期25周的平均周产蛋率20个周固始鸡高于草蛋鸡，其中产蛋期17-22周连续6周固始鸡平均周产蛋率高于草蛋鸡17-30个百分点范围。概算的产蛋期养殖效益(鸡蛋售价+卖鸡收入-概算养殖成本-死淘鸡折价)则以固始鸡最好，固始鸡收益为78.91元/只，而草蛋鸡为68.02元/只，高于草蛋鸡10.9元/只。试验结果表明，在林下放养模式下，本试验产蛋期固始鸡产蛋性能和养殖效益都优于草蛋鸡。

关键词：林下放养；固始鸡；草蛋鸡；生产性能；养殖效益

中国分类号：S815.2 **文献标识码：**A **文章编码：**1005-8567(2017)03-0018-03

川西山地拥有大量的林(果、茶)地，为发展林下养鸡产业提供了良好的资源。生产上一般选取地方鸡种进行林下养殖，但是地方鸡因遗传血缘不同，使得生产性能和养殖效益存在优劣。本试验选择固始鸡和草蛋鸡两个肉蛋兼用型地方鸡，在林下放养模式下考察产蛋试验期生产性能指标和养殖效益并进行比较，为林下养殖模式选择适宜鸡种提供一些素材。

1 材料与方法

1.1 试验动物

选取均匀度好、健康的125日龄开产的固始鸡和草蛋鸡母鸡，固始鸡群446只，草蛋鸡群598只，共计1044只，由雅安凤茗谷禽类养殖专业合作社提供。

1.2 试验设计

试验采用单因子试验设计，按鸡品种分为两

个处理组。

1.3 饲粮

参照NRC(1994)中的蛋鸡饲养标准和中国NY/T33-2004中的蛋鸡产蛋期饲养标准并结合生产实际情况，配制预产期(125日龄—产蛋率5%)、产蛋高峰期(产蛋率5%以上—300日龄)2个阶段玉米-豆粕型饲粮(粉料)，饲粮组成及营养水平见表1。

1.4 饲养管理

试验在雅安凤茗谷禽类养殖专业合作社的雅安市雨城区凤鸣乡千亩海棠树林下养殖基地进行，试验为2016年7月12日至2016年12月31日(125日龄—300日龄)，共计175天(25周)。试验鸡群在发酵床圈舍、消毒免疫程序、放养轮牧、饲料营养、管理程序等条件相同的情况下进行产蛋期饲养。

表1 试验鸡只饲料组成及营养水平

饲料原料 (%)	预产期 (%)	产蛋高峰期 (%)
玉米	61	55
豆粕	28.5	24
玉米蛋白粉		5
豆油	1.5	3
钙粒 ¹	3	6
钙粉	1	2
预混料 ²	5	5
合计	100	100
营养水平 ³	营养指标 (%)	
粗蛋白	17	16.5
赖氨酸 (%)	0.88	0.85
蛋氨酸 (%)	0.35	0.36
代谢能 (兆焦/千克)	2.75	2.65
钙	2.1	3.6
磷	0.6	0.52

注: 1、钙粒粒径 2-3mm, 利于蛋壳质量维持。钙粉和钙粒主要成为碳酸钙, 钙含量 >37%。

2、预混料为正规厂家生产的产蛋期预混合饲料, 提供蛋鸡产蛋期微量矿物元素 (铁、铜、锰、锌、硒)、维生素 (VA、VD3、VE、VK3、VB1、VB2、VB6、VB12、叶酸、烟酸、泛酸钙)、蛋氨酸、胆碱、盐、磷酸氢钙。

3、营养水平根据大料配方推测的数值, 蛋氨酸等必需氨基酸、磷等营养指标主要由预混料提供, 满足蛋鸡产蛋期营养需求。

1.5 指标的测定

生产性能指标测定: 试验期间记录每天采食量、死亡数、产蛋率, 试验结束计算平均采食量、平均成活率、平均产蛋率。

经济效益指标: 根据饲料原料和预混料价格, 产蛋期 (预产期和产蛋高峰期) 饲料单价为 2.7 元/千克, 产蛋鸡死淘折价 40 元/只, 鸡蛋销售单价 1 元/枚, 试验结束后鸡的销售为 40 元/kg。在适度养殖的人工、药物保健、疫苗、水电等投入基本一致的情况下, 饲料费用占养殖成本约 70%, 概算养殖成本以饲料费用除以 70% 进行估算, 死淘鸡折价作为养殖成本扣除, 试验期结束后销售鸡, 卖鸡收入和产蛋试验期的鸡蛋售

表2 试验鸡产蛋期生产性能对比

	固始鸡	草蛋鸡
125 日龄鸡存栏 (只)	446	598
死淘鸡数 (只)	31	42
成活率 (%)	93.05	92.97
饲料用量 (kg)	6980	10270
日平均采食量 (g/只)	92.65	101.7
产蛋数 (枚)	31152	34766
平均产蛋率 (%)	41.35	34.43

价作为产蛋试验期养殖产出。产蛋试验期养殖总利润 = 鸡蛋售价 + 卖鸡收入 - 概算养殖成本 (饲料费用/70%) - 死淘鸡折价, 产蛋试验期养殖平均效益 (元/只) = 产蛋试验期养殖总利润 / 试验结束不同处理组鸡存栏数。

1.6 数据统计处理

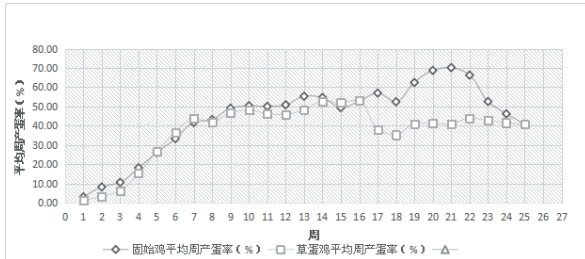
试验数据用 Excel2003 进行整理并进行比较。

2 试验结果

试验鸡产蛋期 (125 ~ 300 日龄) 生产性能对比具体见表 2。草蛋鸡和固始鸡开产日龄都在 125 日龄, 本试验产蛋性能记录到 300 日龄开始销售鸡截止。产蛋试验期 (125-300 日龄) 成活率, 固始鸡和草蛋鸡基本一致; 平均产蛋率, 固始鸡达到 41.35%, 高于草蛋鸡 6.92 个百分点; 试验期采食量, 扣除死淘鸡估测消耗饲料量后校正的平均日采食量, 固始鸡为 92.65g/只, 低于草蛋鸡 9.05g/只。

本试验产蛋期 25 周的平均周产蛋率对比见下图所示。开产 1-5 周, 固始鸡平均周产蛋率都高于草蛋鸡; 6-8 周平均周产蛋率草蛋鸡略高于固始鸡; 9 周-14 周平均周产蛋率固始鸡都高于草蛋鸡; 15-16 周平均周产蛋率固始鸡产蛋率略低于草蛋鸡; 17-25 周周产蛋率固始鸡产蛋率都高于草蛋鸡, 其中 17-22 周连续 6 周固始鸡平均周产蛋率高于草蛋鸡 17-30 个百分点范围内。从整个产蛋试验期而言, 20 个周的固始鸡周平均产蛋率高于草蛋鸡。

图1 固始鸡和草蛋鸡平均周产蛋率对比图



固始鸡和草蛋鸡产蛋试验期生产性能指标分析可知, 产蛋期固始鸡的平均产蛋率、饲料转化率(不考虑蛋重)都优于草蛋鸡。试验鸡开产(125日龄)7月12日开始到9月底(约为产蛋期1周-11周)都处于高温高湿的热应激环境下, 热应激都影响了试验鸡的产蛋性能及后续产蛋性能的发挥, 草蛋鸡的后续产蛋性能影响更大, 固始鸡的产蛋性能在产蛋期17-23周产蛋率出现了一个小高峰阶段, 周产蛋率都高于50%, 最高点是21周平均产蛋率70.23%。

产蛋期试验鸡养殖效益对比具体见表3, 虽然试验结束后的草蛋鸡平均体重高固始鸡0.25kg/只, 两个品种的鸡售价都是40元/kg计, 卖鸡收入以草蛋鸡高, 但是固始鸡的平均产蛋率较大地高于草蛋鸡, 本试验鸡蛋价格以1元/枚计, 不考虑蛋重情况下, 计算出的产蛋期养殖效益(鸡蛋售价+卖鸡收入-概算养殖成本-死淘鸡折价)则以固始鸡最好, 125-300日龄产蛋试验期固始鸡收益为78.91元/只, 而草蛋鸡为68.02元/只, 固始鸡收益高于草蛋鸡10.9元/只。本产蛋期试验期固始鸡养殖效益优于草蛋鸡。

3 讨论

在生产性能方面, 本试验结果表明产蛋试验期固始鸡产蛋率优于草蛋鸡, 推测原因是固始鸡含地方鸡血缘比例相对高于草蛋鸡, 在本试验受到较为严重的夏季高温高湿的热应激和林下放养野外应激情况下, 抗应激能力高于草蛋鸡, 而草蛋鸡体重和体型相对较大, 机体抗热应激能力相对较差。所以本试验产蛋期固始鸡平均产蛋率更

表3 试验鸡产蛋期养殖效益对比

	固始鸡	草蛋鸡
(125天)鸡存栏	446	598
饲料用量(125-300日龄)	6980	10270
饲料单价(元/kg)	2.7	2.7
饲料费用(元)	18846	27729
概算养殖成本(饲料费用/70%)	26923	39613
产蛋数((125-300日龄)(175天))	31152	34766
鸡蛋单价(元/枚)	1	1
鸡蛋售价(元)	31152	34766
125-300日龄死淘数(只)	31	42
死淘鸡折价(元/只)	40	40
死淘鸡费用(元)	1240	1680
鸡销售平均体重(kg/只)	1.75	2
鸡平均售价(元/kg)	40	40
销售鸡收入	29050	44480
产蛋期养殖总利润(鸡蛋售价+销售鸡收入-概算养殖成本-死淘鸡折价)	32039	37953
产蛋期养殖每只鸡收益	78.91	68.02

高, 不考虑蛋重情况下, 饲料转化率更佳, 综合产蛋性能优于草蛋鸡。

在养殖效益方面, 由于饲料费用占养殖成本70%, 本试验以饲料费用除以70%概算养殖成本, 而产蛋期的死淘鸡统一按40元/只的养殖成本扣除, 鸡蛋按1元/枚优质土鸡蛋价位进行折算, 试验结束后的鸡按40元/kg优质林下生态鸡销售价格位计算, 饲料价格按2.7元/kg价格进行概算。虽然试验结束后的草蛋鸡平均体重高于固始鸡, 但是产蛋试验期固始鸡平均产蛋率较大地高于固始鸡, 而采食量则较低, 本试验概算的产蛋试验期单位养殖效益固始鸡高于草蛋鸡。

4 结论

试验结果表明, 在林下放养模式下, 本试验产蛋期固始鸡产蛋性能和养殖效益都优于草蛋鸡。

H7N9 亚型禽流感免疫程序研究初报

张济培¹, 张溢珊¹, 牛森¹, 亓文宝², 陈济铛¹, 廖明², 陈建红^{1*}

(1. 佛山科学技术学院禽病研究所, 广东 佛山 528231;

2. 华南农业大学兽医学院, 广东 广州 510642)

摘要: 研究采用 H7N9 亚型禽流感油乳剂灭活疫苗, 对番鸭、鸭、麻鸭、水鸭、鹅等 5 种小水禽和小鸡开展首日龄、免疫时间、免疫次数等免疫程序主要要素的研究, 以 HI 抗体水平、CD4/CD8 细胞变化情况, 以及白细胞介素 1、白细胞介素 2、白细胞介素 4、白细胞介素 6 及肿瘤坏死因子变化情况的检测数值作为评价指标。研究表明, 所用疫苗和程序能够诱导番鸭、鸭、麻鸭、水鸭、鹅等水禽和鸡产生明显的免疫应答反应, 试验家禽在 2 周龄左右作首次接种, 剂量为 0.3 mL/只, 3 周龄加强免疫一次, 剂量为 0.6 mL/只, 二次免疫 1-2 周后, 相应 HI 抗体可以达到 4-5 log₂ 以上, 其他免疫指标也可达到较为理想的水平。现将研究基本情况初步报告如下, 谨供参考。

关键词: 水禽; 鸡; H7N9 油乳灭活疫苗; 免疫

中国分类号: S852.4 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567 (2017) 03-0021-07

Immune Procedure Research of H7N9 Subtype Avian Influenza vaccine

ZhangJipei¹, ZhangYishan¹, NiuSen¹, QiWenbao², ChenJidang¹, LiaoMing², ChenJianhong^{1*}

(1.College of Life Science and Engeneering, Foshan University, Foshan, Guangdong, 528231;2.College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University, Guangzhou, Guangdong, 510642)

Abstract: In this study, the main factors of H7N9 oil-emulsion inactivated vaccine immune procedure, such as the date of initial immunity, immune lasted period, immunity on chicken and five kinds of waterfowl, muscovy duck, white duck, sheldrake, teal and goose, were evaluated. The heamagglutinin inhibition (HI) antibody titer, the amount changes of CD4/CD8 cells, IL-1, IL-2, IL-4, IL-6 and TNF were chosen as the indexes of the evaluation. Results of this study indicated that the immune procedure researched in this study can induce significant immune response of the chicken and all five kind of water fowl. The initial immunity was given at 2 week-age with a dose of 0.3ml per animal, and one boost will follow up at 3 week-age with a dose of 0.6ml per animal. 1 to 2 weeks after the boost, HI antibody titer can reach up to 5log₂ with other idexes in an ideal level.

Key words: Waterfowl; Chicken; H7N9 oil-emulsion inactivated vaccine; immune

2013 年以来, 我国部分地区时有人感染 H7N9 亚型流感病毒的病例出现, 并时有从禽群或市场活禽及环境检出对家禽低毒或无毒 H7N9 亚型流感病毒情况^[1-3]。2016 年底至 2017 年初, H7N9 亚型流感病毒感染人的情况有所增加, 同时, 从活禽市场分离到对禽类有明显致病力的

H7N9 亚型流感病毒毒株, 对基因分析和推导氨基酸序列发现, 该毒株 HA 蛋白断裂位点附近氨基酸出现了变异, 具有流感病毒强度的特征, 提示 H7N9 亚型流感病毒对家禽健康的危害趋于明显化, 且可能有逐步扩散, 出现持续流行的趋势, 使研究禽群 H7N9 亚型流感免疫防控的工

收稿日期: 2017-04-18

基金项目: 广东省农业厅 H7N9 流感联合攻关项目(粤农函[2014]1046 号), 佛山市动物性食品安全监控研究平台项目(2014AG10022)

作者简介: 张济培, 男, 兽医高级实验师, 硕士, 从事家禽疫病防控研究。E-mail:fszh128@163.com

* 通讯作者: 陈建红, 男, 教授, 硕士, 从事家禽疫病防控研究。E-mail:chenjianhong2012@126.com

作更为迫切^[4-5]。我省在2013年起就高度重视对H7N9亚型流感的诊断与防控研究,并制订和贯彻一系列防控制度、措施。2015年,广东省农业厅设立了“H7N9亚型流感防控联合攻关项目”,本课题组参与了其中的家禽H7N9亚型流感免疫程序研究内容,采用由华南农业大学兽医学院研制的H7N9亚型流感油乳剂灭活疫苗,对番鸭、鸭、麻鸭、水鸭、鹅等5种小水禽及小鸡,开展首免日龄、免疫时间、免疫次数等免疫程序主要要素的研究,以HI抗体水平、CD4/CD8细胞变化数值,以及白细胞介素1(IL-1)、白细胞介素2(IL-2)、白细胞介素4(IL-4)、白细胞介素6(IL-6)及肿瘤坏死因子(TNF)变化数值作为评价指标,初步了解了上述几种家禽在H7N9油乳剂灭活疫苗免疫接种程序上的关键技术要点。现将研究基本情况初报如下,谨望可起到一定的参考作用。

1 主要材料

1日龄雏番鸭、雏白鸭、雏麻鸭、雏水鸭、雏鹅及雏鸡,购自本地健康种禽场,未经H7N9等疫苗接种;H7N9亚型流感油乳剂灭活疫苗,H7N9亚型流感抗原,由华南农业大学禽病研究室提供;IL-1、IL-2、IL-4、IL-6及TNF检测试剂盒,购自上海科兴商贸有限公司。

2 试验方法

2.1 实验动物分组处理与样品采集

2.1.1 小番鸭分组处理与样品采集

将饲养至2周龄(14日龄)的小番鸭分为DF1、DF2、DF3、DF4组共4组。DF1组2周龄接种0.3 mL疫苗(H7N9油乳剂灭活疫苗,下同)/只,为“0.3 mL一次免疫组”;DF2组2周龄接种0.5 mL/只,为“0.5 mL一次免疫组”;DF3组2周龄接种0.3 mL/只、3周龄接种0.6 mL/只,为“二次免疫组”;DF4组不作免疫接种,为“非免疫对照组”。各组小番鸭隔离饲养,于2周龄首免前、3周龄二免前及以后每间隔一周经颈静脉采血,直至第10周龄。每周每只禽采集的血液分别分离血清,标记,冻结保存,最后统一作HI抗体检测,同时对2周龄、3周龄、4周龄和7周龄血清作CD4、CD8、IL-1、IL-2、

IL-4、IL-6及TNF的酶联免疫吸附试验。

2.1.2 小鸡的分组处理与样品采集

将饲养至2周龄的小鸡分为C1、C2、C3、C4组共4组。C1组2周龄接种0.3 mL疫苗/只,为“0.3 mL一次免疫组”;C2组2周龄接种0.5 mL/只,为“0.5 mL一次免疫组”;C3组2周龄接种0.3 mL/只、3周龄接种0.6 mL/只,为“二次免疫组”;C4组不作免疫接种,为“非免疫对照组”。各组小鸡隔离饲养,于2周龄首免前、3周龄二免前及以后每间隔一周经颈静脉采血,直至第10周龄。每周每只小鸡采集的血液分别分离血清,标记,冻结保存,最后统一作HI抗体检测,同时对2周龄、3周龄、4周龄和7周龄血清作CD4、CD8的酶联免疫吸附试验。

将饲养至1周龄的小鸡分为C5、C6、C7、C8组共4组。C5组于1周龄接种0.5 mL疫苗/只,为“一周龄首免组”;C6组于2周龄接种0.5 mL/只,为“二周龄首免组”;C7组3周龄接种0.5 mL/只,为“三周龄首免组”;C4组不作免疫接种,为“非免疫对照组”。各组小鸡隔离饲养,于1周龄首免前及以后每间隔一周经颈静脉采血,直至第9周龄。每周每只小鸡采集的血液分别分离血清,标记,冻结保存,最后统一作HI抗体检测。

2.1.3 小白鸭分组处理与样品采集

将饲养至2周龄的小白鸭分为DB1、DB2、DB3、DB4组共4组。DB1组2周龄接种0.3 mL疫苗/只,为“0.3 mL一次免疫组”;DB2组2周龄接种0.5 mL/只,为“0.5 mL一次免疫组”;DB3组2周龄接种0.3 mL/只、3周龄接种0.6 mL/只,为“二次免疫组”;DB4组不作免疫接种,为“非免疫对照组”。各组小白鸭隔离饲养,在免疫前当天、及免疫后每间隔1W(7天)经静脉采血,直至第10周龄。每周每只小白鸭采集的血液分别分离血清,标记,冻结保存,最后统一作HI抗体检测。同时对2周龄、3周龄、4周龄和7周龄小白鸭血清作CD4、CD8检测试验。

2.1.4 小麻鸭、小水鸭、小鹅分组处理与样品采集

小麻鸭(DM)、小水鸭(DS)、小鹅(G)分组处

理与样品采集的基本方法参照小白鸭的方法。

2.2 样品的检测方法

HI 试验方法按常规进行^[6]。水禽血清样品检测时, 采用成年公番鸭红细胞制备红细胞悬浮液; 小鸡血清样品检测时, 采用成年公鸡红细胞制备红细胞悬浮液。试验禽血清的CD4、CD8 和 IL-1、IL-2、IL-4、IL-6 及TNF 的酶联免疫吸附试验, 按试剂盒说明操作。

3 试验结果

试验完成明确了H7N9 流感灭活疫苗不同剂量、不同免疫次数乃至不同首免时间诱导小鸡、小鸭、小鹅免疫反应产生相应HI 抗体的效果, 和CD4、CD8 等免疫细胞、免疫分子变化情况, 阐述了H7N9 疫苗诱导肉禽免疫反应的基本规律, 具体结果如下。

3.1 免疫接种小番鸭产生免疫应答情况

3.1.1 免疫剂量对小番鸭产生 HI 抗体影响

试验表明, DF1 组(14 日龄接种疫苗0.3 mL / 只), DF2 组(14 日龄接种疫苗0.5 mL / 只), 在免疫后14 天, DF1 组的抗体效价与DF2 组的相近, 均达到4 log₂。但DF1 组在免疫后4-8 周抗体效价仅维持在5-6 log₂ 之间, 未能达到6 log₂ 以上。而DF2 组在免后第3 周抗体效价已能达到6.2 log₂, 免疫后第8 周抗体效价能达到8.3 log₂ 的峰值。

3.1.2 免疫次数对小番鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, DF1 组(14 日龄首免接种疫苗0.3 mL / 只)、DF3 组(14 日龄首免接种疫苗0.3 mL / 只, 21 日龄二免接种疫苗0.6 mL / 只) 在初次免疫后第2 周抗体效价均能达到4 log₂。但在免疫后第3 周, DF3 组的抗体效价已达到7 log₂, 初次免疫后第4-8 周, 抗体水平平均维持在7 log₂ 左右; 而DF1 抗体水平则变化平缓, 一直停留在5-6 log₂ 之间。

3.1.3 免疫接种诱导小番鸭 CD4 变化情况

小番鸭经H7N9 油苗免疫接种后, CD4 值均有上升, 但上升值和曲线峰谷距离均未高于非免组。从CD4 值变化曲线形状看, 各试验组均成波浪形起伏, 而非免对照组只呈现单一的抛物线状, 提示小番鸭受到疫苗的刺激已经反映在CD4

值的消长上。

3.1.4 免疫接种诱导小番鸭 CD8 变化情况

小番鸭经H7N9 油苗免疫接种后, CD8 值均有上升, 各组上升点数都等于或多于非免组。提示该疫苗以DF1 组、DF2 组或DF3 组的方式接种均可以诱导小番鸭CD8 的产生, 尤以DF1 组方式作用最明显。

3.1.5 免疫接种诱导小番鸭 IL-1 变化情况

小番鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DF1 组、DF2 组IL-1 各有1 个上升点, 而非免组所有2 个点均为降值, 表明H7N9 油苗接种可以刺激小番鸭产生IL-1 的过程, 且接种2 次试验组比接种1 次试验组反应强。

3.1.6 免疫接种诱导小番鸭 IL-2 变化情况

小番鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DF1 组、DF2 组IL-2 值在免后2 周出现升值, 非免组相应点为降值; DF3 组IL-2 值在免后5 周出现升值为1.51, 而非免组相应点亦为升值, 但低于DF3 组。可见H7N9 油苗接种可以刺激小番鸭产生IL-2 的过程, 且接种2 次试验组比接种1 次试验组反应强, 与IL-1 检测结果相似。

3.1.7 免疫接种诱导小番鸭 IL-4 变化情况

小番鸭非免组2 个检测点IL-4 均比背景值下降; 经H7N9 油苗免疫接种后, DF1 组和非免组类似, 2 个检测点亦低于背景值, 提示2 周龄接种0.3 mL / 只, 未能见到小番鸭产生IL-4 的反应; 但DF2、DF3 组则不一样, 在免后第2 周和第5 周出现升值, 可见DF2、DF3 两种免疫方式接种H7N9 油苗均可以刺激小番鸭产生IL-4, 但反应强度与接种次数关系不明显。

3.1.8 免疫接种诱导小番鸭 IL-6 变化情况

小番鸭经H7N9 油苗免疫接种后, 各试验组与非免组对比, 其IL-6 未能发现明显的差异。

3.1.9 免疫接种诱导小番鸭 TNF-α 变化情况

小番鸭经DF3 方式接种H7N9 油苗后, 可见第2 周、第5 周检测点TNF-α 数值均高于背景值, 最高值高于背景值1.22, 而非免组相应检测点数值1 个高于背景值1.42, 1 个低于背景值0.28。提示采用DF3 方式接种H7N9 油苗, 可以一定程度激发小番鸭产生TNF-α。另外, 采取DF1、DF2 方式

接种H7N9 油苗, 可见小番鸭TNF- α 所有检测点数值均出现明显下降情况, 最大跌幅较背景值低2.69, 远远大于对照组跌幅(0.28), 未知是本疫苗对小番鸭诱导产生的有益或是有害反应, 需要进一步探讨。

3.2 免疫接种小鸡产生免疫应答的情况

3.2.1 免疫剂量对小鸡产生 HI 抗体的影响

试验表明, 接种了0.3 mL/ 只的14 日龄C1 组小鸡在免疫后21 天抗体水平达到了4.64 log₂, 至免疫后7 周抗体水平都维持在4log₂ 以上, 第6 周达到峰值4.82 log₂, 第8 周抗体水平下降到3.2 log₂。而接种了剂量为0.5 mL/ 只的C2 组小鸡在免疫后21 天便达到峰值5.55 log₂, 在免疫后7 周抗体水平仍维持在4 log₂ 以上, 在免疫后第8 周抗体水平下降到3.91 log₂。

3.2.2 免疫次数对小鸡产生 HI 抗体的影响

试验表明, 在14 日龄和21 日龄分别进行剂量为0.3 mL/ 只和0.6 mL/ 只接种的C3 小组, 在首免以后的第2 周抗体水平便达到4 log₂, 至免疫后第9 周抗体水平仍维持在4 log₂ 以上, 且在首免后的第3-7 周抗体水平维持在5 log₂ 以上, 对比发现, 经二次免疫的C3 组各周抗体水平明显高于只进行一次免疫的C1 组。

3.2.3 首免时间对小鸡产生 HI 抗体的影响

试验表明, C5 组小鸡在1 周龄作剂量为0.5 mL/ 只接种, 在免疫接种2 周后抗体水平达到6.43 log₂, 以后逐步上升, 在接种后6 周达到峰值8.29 log₂, 接种后8 周依然保持5.14 log₂。C6 组小鸡在2 周龄进行剂量为0.5 mL/ 只接种, 接种后1 周抗体水平便达到2.43 log₂, 接种后4 周达到峰值8.43 log₂, 至免疫后第7 周抗体水平仍维持在6.14 log₂。C7 组小鸡在3 周龄进行剂量为0.5 mL/ 只接种, 接种后1 周抗体水平便达到2.00 log₂, 接种后3 周达到峰值8.83 log₂, 至免疫后第7 周抗体水平仍维持在6.50 log₂。可见首免日龄越大, 抗体产生速度越快, 高滴度抗体维持时间越长。

3.2.4 免疫接种诱导小鸡 CD4 变化情况

小鸡经H7N9 油苗免疫接种后, 无论从CD4 值上升点数量或上升数值高度考察, 均未见到CD4

值的产生有优于非免组的情况。

3.2.5 免疫接种诱导小鸡CD8 变化情况

小鸡经H7N9 油苗免疫接种后, C1 组CD8 值增长未见优于非免组, 而C2、C3 组CD8 值增长则可见优于非免组(试验组CD8 上升点数量及上升数值几乎均高于非免组)提示该疫苗以C2 组或C3 组的方式接种均可以诱导小鸡CD8 的产生。但接种次数多少未见有明显差异。

3.3 免疫接种小白鸭产生免疫应答的情况

3.3.1 免疫剂量对小白鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, 小白鸭于2 周龄作一次免疫接种的DB1 组(14 日龄一免、0.3 mL/ 只)和DB2 组(14 日龄一免、0.5 mL/ 只)比较, 两组免疫接种2 周后抗体均已超过4 log₂, 以后仍有上升, 在免疫接种7 周后分别达到峰值5.46 log₂ 和6.91 log₂。但是, 免疫接种2 周后, DB1 组抗体水平偏低且不稳定, 两种免疫剂量诱导产生抗体均值相差1.27 log₂-1.90 log₂。

3.3.2 免疫次数对小白鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, 小白鸭在接种H7N9 禽流感油乳灭活苗时, 一次免疫的DB1 组(14 日龄一免、0.3 mL/ 只)和2 次免疫的DB3 组(14 日龄一免、0.3 mL/ 只; 21 日龄二免、0.6 mL/ 只)于初免后2 周抗体均已达到4 log₂。但是此后, DB3 组均值明显高于DB1 组, 各周龄检测点高2~3 log₂; 初免4 周后DB3 组抗体效价均值达到7 log₂ 甚至接近8 log₂, 而DB1 组的抗体一直未达到6 log₂, 且标准偏差显示, DB3 组的抗体水平较DB1 组各阶段波动较小, 更为稳定。

3.3.3 免疫接种诱导小白鸭 CD4 变化情况

小白鸭经H7N9 油苗免疫接种后, CD4 值均有上升, 上升值和曲线峰谷距离均高于非免组。另外, 从上升点数观察, 二次接种较一次接种的上升点数要多。

3.3.4 免疫接种诱导小白鸭 CD8 变化情况

小白鸭经H7N9 油苗免疫接种后, 各免疫组CD8 值增长点数及增长值均未超过非免组。但是应注意到, DB1、DB3 组CD8 数值波幅均明显大于非免组, 这是否属于本疫苗对小白鸭诱导的一种有益的免疫反应现象, 需要进一步探讨。

3.4 免疫接种小麻鸭产生免疫应答的情况

3.4.1 免疫剂量对小麻鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, DM1 组小麻鸭于14 日龄接种灭活疫苗0.3 mL/ 只, DM2 组小麻鸭于14 日龄接种灭活疫苗0.5 mL/ 只, 免后2 周抗体水平分别达到5.0 log₂ 和5.73 log₂。以后直至免后第8 周, DM1 组抗体水平处在7.23-8.55 log₂ 之间, DM2 组同段时间抗体在5.64-6.82 log₂ 之间。提示在麻鸭首日龄相同的情况下, 接种禽流感灭活疫苗的剂量为0.3 mL/ 只的免疫效果比接种剂量为0.5 mL/ 只的免疫效果要好。一般认为, 接种剂量在一定范围内, 其数值越大, 诱导免疫反应越强^[7-9], 这一规律在本次研究的其他禽类(包括鸡、番鸭、水鸭、鹅)中, 都得到印证和肯定, 但在麻鸭却出现异常, 原因如何, 值得进一步研究。

3.4.2 免疫次数影响小麻鸭产生 HI 抗体的效果与规律

试验表明, DM1 组小麻鸭于14 日龄接种疫苗0.3 mL/ 只, DM3 组小麻鸭于14 日龄第一次接种0.3 mL, 21 日龄第二次接种0.6 mL/ 只, 免后第2 周抗体水平分别为2.91 log₂ 和3.00 log₂, 免后第3-9 周, DM1 组抗体上升并维持在5.73-8.55 log₂ 之间, DM3 组抗体上升并维持在7.36-9.40 log₂ 之间。各个检查点的抗体水平相比较, 相差约1 log₂。

3.4.3 免疫接种诱导小麻鸭 CD4 变化情况

小麻鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DM1、DM2 组CD4 值均有上升, 其中, DM1 组上升点3 个, 比非免组少1 个, 上升绝对值也未超过非免组; DM2 组上升点4 个, 与非免组持平, 最高值出现在免后第2 周, 且上升最高值超过了非免组(1.05:0.83)。值得注意的是, DM4 组免后各检测点均无上升(4 个点对照背景值均为负值, 曲线最低谷值为0.66), 何故需要进一步探讨。

3.4.4 免疫接种诱导小麻鸭 CD8 变化情况

小麻鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DM1、DM3 组CD8 值在增长峰值超过非免组; DM 组则在CD8 值的生长点数与增长值高度上都明显优于非免组, 提示以本疫苗按DM1、DM2、DM3 组方式接种

小麻鸭, 均可使之较明显的产生CD8。

3.5 免疫接种小水鸭产生免疫应答的情况

3.5.1 免疫剂量对小水鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, DS1 组小水鸭于14 日龄接种疫苗0.3 mL/ 只, DS2 组小水鸭于14 日龄接种疫苗0.5 mL/ 只, 免疫后2 周, 抗体分别达到5.27 log₂ 和6.27 log₂。免后第3 周至第8 周, DS1 组抗体在4.54-6.27 log₂ 之间波动, DS2 组抗体在5.54-8.00 log₂ 之间波动, 各检测点两组抗体水平相差1-2 log₂ 左右, 接种疫苗剂量为0.5 mL/ 只的试验组抗体水平优于接种疫苗为0.3 mL/ 只的试验组。

3.5.2 免疫次数对小水鸭产生 HI 抗体的影响

试验表明, DS1 组(14 日龄0.3 mL/ 只, 一次免疫)和DS3 组(14 日龄0.3 mL/ 只, 21 日龄0.6 mL/ 只, 二次免疫), 免疫后2 周, 抗体分别达到5.27 log₂ 和7.09 log₂。免后第3 周至第8 周, DS1 组抗体在4.54-6.27 log₂ 之间波动, DS3 组抗体在7.00-8.72 log₂ 之间波动, 各检测点两组抗体水平相差1.5-2.5 log₂ 左右, 可见小水鸭二次免疫的试验组抗体水平优于一次免疫的试验组。

3.5.3 免疫接种诱导小白鸭 CD4 变化情况

小水鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DS1 组CD4 值上升点数量与非免组相当, 且各检测点CD4 峰值几乎都高于非免组。提示DS3 组接种方式可明显诱导小水鸭产生CD4 细胞。其余两组接种方式导致CD4 数值变化波幅也较大(0.86, 1.03), 已超过非免组波幅(0.78), 而上升点数及上升值均未超过非免组, 效果需要进一步探讨。

3.5.4 免疫接种诱导小白鸭 CD8 变化情况

小水鸭经H7N9 油苗免疫接种后, DS1、DS2 组CD8 值上升点数量和CD8 值曲线的峰值都超过非免组, 提示以本疫苗按DS1、DS2 方式接种小水鸭, 均可使之较明显的产生CD8。而DS3 组无论是CD8 值上升点数、CD8 值曲线的峰值抑或升降值距离均未超过非免组, 提示DS3 接种方式未能有效诱导小水鸭CD8 增长。

3.6 免疫接种小鹅产生免疫应答的情况

3.6.1 免疫剂量对小鹅产生 HI 抗体的影响

试验表明, 小鹅 G2 组 (14 日龄一次免疫、0.5 mL/ 只), 抗体于免后 3 周达到 3.91 log₂, 以后抗体水平逐步上升到 7.18 log₂; G1 组 (14 日龄一次免疫、0.3 mL/ 只), 抗体于免疫接种后 3 达到 3.80 log₂, 以后抗体水平逐步上升到 7.00 log₂; 两种免疫剂量诱导小鹅在同一时段各检测点的抗体水平均值相差在 0.6 log₂-1.2 log₂ 左右, 提示 0.5 mL/ 只免疫接种剂量诱导小鹅免疫反应优于 0.3 mL/ 只的免疫接种剂量。

3.6.2 免疫次数对小鹅产生 HI 抗体的影响

试验表明, 小鹅 G1 组 (14 日龄一次免疫、0.3 mL/ 只), 抗体于免疫接种后 3 达到 3.80 log₂, 以后抗体水平逐步上升到 7.00 log₂; G3 组 (14 日龄首次免疫、0.3 mL/ 只, 21 日龄二免、0.5 mL/ 只), 抗体于免后 3 周达到 4.55 log₂, 以后抗体水平逐步上升到 8.36 log₂; 两种免疫剂量诱导小鹅在同一时段各检测点的抗体水平均值相差在 0.7 log₂-2 log₂ 左右, 提示二次免疫接种诱导小鹅免疫反应优于一次免疫接种。

3.6.3 免疫接种诱导小白鸭 CD4 变化情况

小鹅经 H7N9 油苗免疫接种后, 各免疫组 CD4 值均有上升, 但上升点数量与非免组相当, 且 CD4 峰值高于非免组的只有 G3 组。提示只有 G3 组接种方式可明显诱导小鹅产生 CD4 细胞。其余两组接种方式可导致 CD4 数值变化波幅也较大 (3.37-4.19), 但未超过非免组波幅, 效果尚需进一步试验。

3.6.4 免疫接种诱导小白鸭 CD8 变化情况

小鹅经 H7N9 油苗免疫接种后, G1 有 1 个检测点 (1.22)、G2 有 2 个检测点 (2.90, 1.10) CD8 值超过非免组峰值 (0.85), 提示以本疫苗按 G1、G2 方式接种小鹅, 均可使之较明显的产生 CD8。另外, G3 组 CD8 峰值接近非免组 (0.75, 0.86), G3 组升降值距离为 2.69, 非免组为 0.9, 可能提示本疫苗以 G3 组方式接种较明显影响 CD8 细胞的消长。

4 小结与讨论

4.1 关于几种免疫接种因素对雏禽产生 HI 抗体的影响

4.1.1 关于首免时间对雏禽产生 HI 抗体的影响

试验结果显示, 不同首免时间试验组小鸡对免疫接种应答的速度会表现一定的差异: 1 周龄首免, 1 周后抗体依然为 0; 而 2 周龄或 3 周龄首免, 则 1 周后即可检出 2 log₂ 以上的抗体; 另外, 1 周龄首免, 免疫后 6 周抗体才达到峰值 8.29 log₂, 2 周龄首免, 免疫后 4 周时间, 抗体就达到峰值 8.43 log₂, 3 周龄首免, 免疫后 2 周抗体就达到峰值 8.83 log₂。表明首免周龄越大, 小鸡对 H7N9 油乳灭活疫苗的免疫应答反应能力就越强。但是, 值得注意的是, 1 周龄首免, 小鸡在 3 周龄时已具备 6 log₂ 水平的抗体, 而 2 周龄首免, 小鸡需到 4 周龄时抗体才具备 5.86 log₂ 水平, 3 周龄首免, 则小鸡更要迟到 5 周龄时抗体才达到 7.17 log₂ (第 4 周龄为 2 log₂), 这与生产实际需要存在一定差距。

4.1.2 关于免疫剂量对雏禽产生 HI 抗体的影响

从 5 种小水禽和小鸡作 H7N9 禽流感灭活油乳剂疫苗接种剂量 (0.3 mL/ 只或 0.5 mL/ 只) 的比较结果可见, 采用 0.3 或 0.5 mL/ 只接种都可在接种后 2-3 周产生 4-5 log₂ 的抗体水平, 但就有效抗体水平维持高度及维持时间长短而言, 则以 0.5 mL/ 只的接种剂量更佳。因此, 如果是采取一次性免疫接种, 建议采用 0.5 mL/ 只的接种剂量为好。

4.1.3 关于免疫次数对雏禽产生 HI 抗体的影响

在 5 种小水禽和小鸡, 作 H7N9 禽流感灭活油乳剂疫苗免疫接种次数 (一次或二次接种) 比较, 结果可见, 采用一次性或二次性接种, 在接种后 2-3 周, 抗体水平都可达到 4-5 log₂, 但是, 一次性免疫接种, 诱导抗体产生速度较慢, 维持水平较低, 高水平抗体滴度维持时间较短, 二次性免疫接种情况正好相反, 此现象与免疫次数增多时, 其免疫回忆反应更快更强的基本理论相一致^[12-13]。

4.2 关于几种免疫接种因素对雏禽 CD4 等免疫细胞和免疫因子数值的影响

本实验过程, 同时探讨了免疫剂量、免疫次数对 5 种水禽及小鸡 CD4、CD8 数值变化的影响, 以及免疫剂量、免疫次数对雏番鸭白细胞介

素1、白细胞介素2、白细胞介素4、白细胞介素6及肿瘤坏死因子数值的影响。总体情况而言,所用H7N9油乳灭活疫苗可以诱导雏禽机体免疫细胞或免疫因子产生积极的反应,反应具有一定的规律,与HI抗体的产生规律相关,在经费与时间许可的条件下,适当增加检测点密度,应可获得更多有价值的科学信息。

4.3 关于 H7N9 对水禽及小鸡的免疫程序建议

4.3.1 依据本次实验结果,建议在必要的地区,50-60日龄出栏肉禽,如需实施H7N9油乳剂灭活疫苗的免疫接种,可以参考下述程序:10-14日龄,首免,皮下注射H7N9禽流感油乳剂灭活疫苗,0.3-0.5 mL/只;18-22日龄,二免,皮下注射H7N9禽流感油乳剂灭活疫苗,0.6-0.8 mL/只;

4.3.2 对于90-120日龄出栏肉禽,则建议在50-60日龄三免,肌肉注射H7N9禽流感灭活疫苗,0.6-0.8 mL/只;

4.3.3 对于后备种禽,其前期接种方法可参考90-120日龄出栏肉禽的接种方法,其后,还应于开产前20天左右,肌注0.8-1.0mL/只,以后每年在中秋与初春各补注一次,肌注1.0-1.5mL/只。

参考文献:

[1] 秦彦珉,梅树江,谢旭,孔东锋,唐秀娟,程聪. 深圳市19例人感染H7N9禽流感确诊病例流行病学分析[J]. 中国公共卫生,2015,(01):11-13.
[2] 曾寒飞. 四川省鸡场禽流感免疫程序调查及抗体水平监测[D]. 四川农业大学,2014.
[3]. 农业部进一步部署重大动物疫病防控工作[J]. 吉林畜牧兽医,2013,(10):68.
[4] 胡锦涛,王双英,金涛,叶俊杰. 杭州市上城区8例人感染H7N9禽流感确诊病例流行病学分析[J]. 疾病监测,2013,(09):717-719.
[5]. 2013年下半年动物H7N9禽流感监测方案[J]. 吉林畜牧兽医,2013,(09):7-8.
[6] 中华人民共和国国家标准.GB/T18936-2003. 高致病性禽流感诊断技术[S].
[7] 王梅. 四川省养鸭场鸭流感免疫程序调查及抗体水平监测[D]. 四川农业大学,2013.
[8] 陈恩富,柴程良,孙继民,吕华坤,刘社兰,余昭,龚震宇,丛黎明. 浙江省人感染H7N9禽流感流行特征与防控对策[J]. 中国公共卫生,2013,(05):625-627.
[9] 张元来,袁得光,王兴俊,王吉成. 不同免疫剂量禽流感疫苗对蛋鸡产生的抗体效价影响[J]. 国外畜牧学(猪与禽),2012,(01):62-63.
[10] 王文昆,沙德先,余琼,谢英琼. 禽流感疫苗不同免疫剂量对免疫鸡产生的抗体效价影响[J]. 现代农业科技,2009,(11):214.
[11] 温志芬,陈瑞爱,唐满华,赵明秋. 禽流感H9亚型灭活油乳剂疫苗不同剂量的免疫效果比较[J]. 中国兽医科技,2003,(12):64-65.
[12] 曾寒飞. 四川省鸡场禽流感免疫程序调查及抗体水平监测[D]. 四川农业大学,2014.
[13] 王梅. 四川省养鸭场鸭流感免疫程序调查及抗体水平监测[D]. 四川农业大学,2013.

(上接13页)

扫,也不需要用水清洗,可以减少人工费用。

3.4 生态养殖技术符合动物疫病防控要求

“微生物+高架网床”生态养殖技术,粪便在集粪层经微生物酵解,杀灭了粪便中的有害菌、虫,消除了苍蝇滋生的环境条件,有效降低氨氮气味产生,为生猪营造舒适的生长环境,动物机体体内有益微生物菌群平衡,动物机体抗病能力得到有效提高,发病率和病亡率明显下降。

3.5 生态养殖技术可以有效提高土地利用率

“微生物+高架网床”生态养殖技术,饲养

一头猪只需0.8~1.0m²,比传统养殖模式节约0.4m²以上,不再配套建设沼气池、污水处理池和暴氧池,猪粪便在网床下直接使用微生物发酵,不用另建集粪房,节约了很多养殖用地,为缓解不断加剧的养殖用地紧张提供解决方向。

总之,“微生物+高架网床”的现代生猪生态养殖技术,是现代生态养殖的理想模式,是畜牧业可持续发展的方向,推广“微生物+高架网床”生猪生态养殖技术为发展现代生态农业提供了一条有效路径。

茂名市布病流行调查及防控对策探讨

陈盛絮¹, 王帅¹, 苏金权²

(1. 茂名市动物疫病预防控制中心, 广东 茂名 525000;

2. 茂南区动物疫病预防控制中心, 广东 茂名 525000)

摘要: 布病是一种人畜共患病。茂名地区近几年家畜布病病例数从无到有逐年增多, 对该地区家畜养殖业和公共卫生构成严重威胁, 为了净化布病, 通过对疫点进行流行病学调查, 找出防控的关键环节, 提出从政府监管到养殖场综合防控等一系列防控策略。

关键词: 布病; 调查; 防控

中图分类号: S851.3

文献标识码: A

文章编码: 1005-8567 (2017) 03-0028-03

布鲁氏杆菌病(简称:布病)是一种人畜共患病,严重危害畜牧业生产和人类健康。本文通过对茂名地区近几年布病的监测数据进行分析,发现家畜布病病例数逐年增多,布病疫情存在抬头趋势。为更好防控布病在畜群中传播,达到净化布病的目的,笔者结合本地布病疫点的流行病学调查,找出布病防控存在的问题,并提出防控对策,以供探讨。

1 监测与调查

1.1 监测数据

2011年至2013年,检测家畜血清4862份,布病阳性率为0%,2014年检测3343份,检出6份布病阳性,阳性率为0.2%,2015年检测2780份,检出18份布病阳性,阳性率为0.7%,2016年检测3971份,检出56份布病阳性,阳性率为1.4%。(文章数据来源:茂名市动物疫病预防控制中心兽医实验室,检测方法为平板凝集试验)详细情况如下表:

表1 2011-2013年茂名市布病监测数据

年份	养殖场(个)		猪血清(份)		牛羊血清(份)	
	监测数	阳性数	检测数	阳性数	检测数	阳性数
2011-2013年	217	0	4286	0	576	0
2014	115	3	3177	4	166	2
2015	147	2	2630	16	150	2
2016	109	5	3744	55	227	1

1.2 病例调查

1.2.1 2014年 共监测到3个阳性疫点,都来源于日常监测。病例一:化州市,一个非常老旧的养猪场,管理混乱,饲养环境差,鼠患比较严重,母猪时有流产,日常监测检出3份阳性样品,感染途径不明。病例二:电白区,牛屠宰场,牛来源于外省,日常监测检出2份阳性样品,感染途径不明。病例三:茂南区,一个大型猪场,依山而建,防疫条件良好,空间密闭,自繁自养,日常监测检出1份阳性样品,感染途径是附近村民饲养山羊,并赶到猪场所在的山上放养,由于羊粪污染猪场门口,导致猪场母猪被感染。

1.2.2 2015年 共监测到2个阳性疫点,都源于人间布病暴露。病例一:化州市,农户想发展山羊养殖,于是从外省购进8头种山羊试养,结果引进的种羊带有布病出现流产,羊死亡4头,人被感染布病,案件监测采样,检出2份阳性样品。病例二:茂南区,某猪场养有20多头母猪,畜主为了增加母猪营养,购回奶山羊1只,自己挤奶喂给母猪,结果引进的奶山羊带有布病,母猪被感染,人被感染,案件监测采样,检出16份阳性样品。

1.2.3 2016年 共监测到5个阳性疫点,2个疫点是日常监测到,1个疫点是老疫点复查监测

收稿日期: 2017-03-30

作者简介: 陈盛絮(1977-),男,硕士,高级兽医师。E-mail:16027377@qq.com

到, 另外2个疫点是发病场送样监测到。病例一: 化州市, 某山羊养殖场, 种羊为外省引进, 自繁自养, 采用放养模式, 日常监测检出1份阳性样品, 感染途径不明。病例二: 茂南区, 某猪场养有50头种猪, 只饲养了1头公猪, 采用人工授精办法配种, 某个时期由于公猪精液质量不好, 向外购进猪精进行配种, 结果出现10多头母猪流产, 诊断检测布病阳性, 最后普查检出42头母猪布病阳性。病例三: 茂南区与2014年病例三是同一个场, 又检出2份阳性样品。病例四: 化州市, 某规模猪场, 防疫条件良好, 空间密闭, 自繁自养, 日常监测检出2份阳性样品, 感染途径不明。病例五: 茂南区, 某规模猪场, 防疫条件良好, 空间密闭, 自繁自养, 母猪出现流产, 诊断检测布病阳性, 最后普查检出8头母猪1头公猪布病阳性, 原因是在外省引进了4头公猪。

以上布病阳性场点由其所在辖区县级动物卫生机构按规定处理, 本文不作论述。

1.3 数据分析

1.3.1 茂名地区布病在家畜中确实存在。在检测样品中的阳性率: 2014年0.2%; 2015年0.7%; 2016年1.4%。被检样品的阳性比例的确是在逐年增大, 但并没有具备较强的代表性, 主要由于样品来源是非概率抽样, 阳性率只是被检样品的阳性性与总检测数的比值, 其并不能代表茂名地区布病的流行率或风险率, 只能客观证明茂名地区的确存在布病病例。

从以上的调查中可以看出, 茂名的布病病例基本上都是输入性的, 也就是说与引种或外来动物有一定的关联。

1.3.2 茂名地区 2014-2016年布病疫点的分布表

表2 茂名地区2014-2016年布病疫点的分布表

县别	茂南区	电白区	高州市	信宜市	化州市	高新区	滨海新区
疫点数	4	1	0	0	4	0	0

从上表可以看出, 病例主要集中在茂南区和化州市, 结合病例调查分析, 这两地的布病病例都是在养殖场中检出, 只有电白区的1例是在屠宰场的外省调运来的待宰牛采集的血清样品中检出。

2 防控分析

2.1 茂名市布病流行现状

从监测数据看, 2013年之前是没有监测到布病阳性病例, 从2014年开始, 病例数逐年上升, 阳性场点也在逐年增加, 布病疫情扩散风险正在增大。这也是与我市羊养殖量大增有关, 近年来随着我市饮食的多元化发展, 牛、羊肉火锅的兴起, 推动了我市羊的养殖, 但由于养殖从业人员防疫意识薄弱, 缺少政府部门引导, 在引种上容易出现问題, 布病疫情也是在此种情况下开始抬头。

2.2 疫点存在问题

2.2.1 防范布病意识薄弱 以上病例都是在不经意间被感染, 包括防疫条件好的大型养猪场。

2.2.2 检验检疫存在漏洞 在引种或调运牲畜时缺少抽样检测、隔离饲养等环节, 以上病例中就有4例是与引种和调运有关。

2.2.3 多种动物混养 布病是多种动物都非常易感的一种传染病, 血清型就多达19个, 即羊种(3个血清型)、牛种(8个血清型)、猪种(5个血清型)、森林鼠种、绵羊附睾和犬种各1个血清型。致病性是羊种菌>牛种菌>猪种菌>犬种菌。因此, 羊极易感染此菌, 同时羊患布病也很多容易传染给其它动物, 本文提到的病例中有4例与羊有直接关系。

2.2.3 对该病的危害认识不足 列举的病例中, 有2例是感染到人, 最后是全场扑杀清栏。有4例是母猪群流产, 最后普查后淘汰阳性猪。毫无疑问, 这些猪场都造成了巨大经济损失。

2.3 防控现状

2.3.1 现有措施 根据广东省农业厅《关于印发广东省布鲁氏菌病检测净化方案的通知》(粤农函(2014)267号), 茂名市畜牧兽医局在2014年印发了《茂名市布鲁氏菌病检测净化方案》(茂牧通(2014)72号)、2017年印发了《茂名市2017年布鲁氏菌病防控工作方案》(茂牧通(2017)号)进行防控。落实了监测工作和阳性家畜的处理工作, 但没有强调家畜引种、调运和屠宰检疫等相关措施。

2.3.2 疫病防控方面 茂名市布病疫情防控与当前机构改革工作及兽医队伍建设情况有关, 乡镇机构撤消、人员裁减、村级防疫网络不健全、以及“人、财、物”的流失等削弱了对布病的防

控工作力度。特别是近年取消检疫费和检验费之后, 当前养殖业的引种在检疫、监督等方面有所松懈, 早在2003年以前, 通讯和网络没还那么发达的时候, 养殖场引种大多数是通过畜牧相关部门协助完成, 检疫流程也非常严格。但随着时代的发展, 养殖群众多是通过广告网络等途径直接联络种畜禽场直接引种, 缺少了检验检疫环节, 特别是近年取消检疫费和检验费之后, 养殖户大多误认为引种不是牲畜上市不用检疫, 自购种畜禽与检疫部门没有“半毛钱关系”, 造成了极大的防疫漏洞, 使一些疫病出现了扩散和传播。茂名市在布病的防控中就是遇到了类似的情况。

2.3.3 检疫监督方面 茂名市布病病例多与外地调入家畜有关。由于养殖业的繁荣, 动物及其产品交易频繁, 外地调运进来的猪牛羊数量大, 特别是冬春季, 市民喜欢羊肉火锅, 肉羊调入我市的数量大增, 但没有把好检疫监督关, 也是我市布病防控的隐患。

2.3.4 技术推广方面 人工授精工作的推广力度削减和没有开展免疫工作等综合因素造成布病的防控工作存在漏洞。我市在人工授精推广方面, 猪的推广比较好, 牛羊的推广比较落后。我省是严禁布病免疫的省份, 主要以净化为主, 因此要加强监测弥补漏洞。

3 对策探讨

茂名市要对布病形成有效的综合防控机制, 仅简单依靠加大行政或加大技术方面的防控措施来对布病进行防控, 是难以适应当前畜牧业发展的需要的^[1]。必须行政主体与养殖主体联动, 从行政和技术两方面结合防控, 才能取得更好成效。

3.1 加强政府监管

3.1.1 加大宣传力度 借新修订的《广东省动物防疫条例》的宣传东风, 把人畜共患病的布病结合宣传, 做到养殖户了解布病, 重视布病, 同时让养殖户知道引种或调运家畜时要申请检验检疫, 防止布病的散播。

3.1.2 建立布病疫情报告体系 严格执行疫情报告制度, 加强部门间的配合, 布病作为人畜共患病, 动物疫控中心应当多与人疾控中心相互沟通。

3.1.3 落实监测制度, 加大监测力度 根据《茂

名市2017年布鲁氏菌病防控工作方案》要求, 落实全面普查, 凡接收或采集到家畜(包括猪、牛、羊)血清样品一律做布病检测, 凡是检测到可疑阳性样品一律对该采样点进行全场采样普查, 发现疑似阳性一律在确诊后做扑杀及无害化处理。

3.1.4 加强家畜屠宰、调运检疫监督 出台地方性家畜准入检验检疫制度, 出台家畜引种指导意见, 引导养殖群众群防群控。

3.2 加强养殖场综合防控

3.2.1 加强生物安全管理 一是管理者应多组织工作人员学习相关的防疫知识, 提高工作人员整体的防疫意识, 这不单是对预防布病有效, 对预防养殖场的其它疫病也有很大的效果。二是养殖场采取封闭式管理, 外来人员或车辆一律严禁进入生产区、进入生产区的人员一律更衣消毒^[2]。

3.2.2 加强饲养管理 一是严禁与其他动物混养。二是不同的畜群之间分栏或分区饲养。三是加强消毒灭源, 不论有无疫情, 都应执行消毒制度。四是加强灭鼠, 老鼠会携带很多种病菌, 包括布鲁氏杆菌, 最后污染饲料, 感染畜群。五是不在饲料中添加来源不明的骨肉粉等营养品。六是坚持自繁自养, 执行全进全出制度。七是推行人工授精, 减少畜间布病传播。

3.2.3 加强引种管理 在引种上一定要严格把关, 凡是引种都必须做好几种疫病的检测, 严防麻痹大意思想, 防止下意识或习惯性忽略检验检疫工作。很多养殖场就是在引种上出的问题, 认为在大型的养殖场引种就一定能保证质量, 缺少了疫病检测环节, 最后受损的是自己^[2]。

3.2.4 加强监测 配合畜牧部门做好养殖场的监测工作, 因为有很多病的确是不能凭肉眼或症状做出正确的诊断, 更不能讳疾忌医, 但很多养殖场都是无法配备自己的实验室, 所以配合地方畜牧部门做好疫病监测工作, 对养殖场来说就显得尤为重要, 如果能及时发现疫病问题, 最后获益的肯定是养殖场^[2]。

参考文献:

- [1] 邓海云. 柳州市布鲁氏杆菌病调查及综合防控对策探讨[J]. 南京农业大学, 2007. 硕士学位论文.
- [2] 张伟清, 陈盛絮, 王帅. 猪场在防控布病中存在的问题及对策[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2017, 226(4): 118.

广昌县鸡群禽流感 H7 亚型血清抗体初步调查报告

包淋斌, 杨永华, 姚利平, 王红金, 曾兰华
(江西省抚州市广昌县畜牧兽医局, 江西 广昌 344900)

摘要: 为掌握广昌县范围内家禽养殖场(户)禽流感疫情情况, 为科学防控动物 H7N9 流感提供依, 保障公共卫生安全和人民群众身体健康, 进行全县来源鸡血清的 H7 亚型的抗体监测, 以调查全县鸡群是否存在感染。结果显示, 广昌县各家禽养殖场(户), 未发现动物 H7N9 流感病毒。

关键词: 禽流感; 广昌; 抗原

中国分类号: S852.4 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2017)03-0031-01

禽流感(Avian Influenza, AI)是由A型流感病毒引起的家禽一种疾病和感染, 该病毒亚型众多, 宿主范围广, 甚至感染人, 易发生变异和重组^[1]。近年来, 禽流感频繁爆发, 不仅给养殖业造成了重大的经济损失, 而且对人类的健康也构成了巨大的威胁^[2]。禽流感血凝和血凝抑制试验是禽流感疫病监测和免疫抗体检测中最为常用最广泛、最便捷的一种^[3], 具有简便、快速、灵敏、准确等特点^[4], 为当前基层动物疫病预防控制中心实验室检测禽流感最常用的方法。其原理为禽流感病毒能够与鸡红细胞发生凝集现象, 凝集现象可被特异性免疫血清所抑制, 即红细胞凝集抑制实验(HI)^[5], 可用来鉴定禽流感病毒的血凝素的亚型、血清中抗体水平的监测、判断未使用疫苗群体的感染状态。为掌握广昌县范围内家禽养殖场(户)禽流感疫情情况, 为科学防控动物H7N9 流感提供依。

1 试验材料

1.1 抗原: 禽流感病毒H7亚型血凝抑制试验抗原由哈尔滨维科生物科技开发公司提供, 用2 mL生理盐水溶解, 再按1:63生理盐水稀释, 放于4℃条件下保存备用。

1.2 血清: 用采血管采集全县各养鸡场(户)鸡血样180份, 用2000 r/min离心5分钟, 倒出上

清血清, 装于1.5mlPE试管中, 放于冰箱冷冻, 保存备用。

1.3 1%的鸡红细胞悬液制备: 采集鸡血, 2000 r/min离心5分钟, 倒掉上清, 加入生理盐水, 摇晃混匀, 再次2000 r/min离心5分钟, 去掉上清, 重复3次, 最后倒除上清液, 留下下沉血细胞, 用生理盐水配置成1%溶液, 置于4℃条件下保存备用(可保存七天)。

1.4 试验器材: 准备好96孔血凝反应板, 1 mL、100 uL移液枪及枪头, 普通离心机、高压灭菌器、微型振荡器、烧杯等试验用器材, 并做好灭菌消毒工作。

2 试验步骤

96孔培养板每孔加入25 uL生理盐水, 在第1~11列第一孔加入25 uL被检血清, 混匀, 在依次同行从前一孔取25 uL加入下一孔, 依次至最后一孔(第8孔), 最后一孔混匀后弃除25 uL。设第11孔为病毒对照, 第12孔为红细胞对照。在第1~11列每孔加入25 uL稀释抗原, 震荡器轻微震荡3分钟, 室温下静置40分钟。摇匀1%的鸡红细胞悬液, 每孔加入25 uL1%的鸡红细胞悬液, 震荡器轻微震荡3分钟, 室温下静置40分钟后观察试验结果。

3 试验结果

(下转第37页)

收稿日期: 2017-04-08

作者简介: 包淋斌, (1990-), 助理畜牧兽医师。E-mail:691076811@qq.com

BCO2 在黄色和白色皮肤鸡种中突变位点筛选

甘师仪, 王艳, 罗成龙, 舒鼎铭*

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

摘要: 鸡皮肤表现出黄色主要是由于表皮层类胡萝卜素沉积的结果, 类胡萝卜素被降解, 鸡皮肤呈现白色。在鸡皮肤中主要由 BCO2 基因编码的 β -胡萝卜素加氧酶 2 (beta-carotene oxygenase 2, BCO2) 发挥其降解类胡萝卜素的作用。为了探究 BCO2 基因与鸡皮肤颜色的相关性, 本研究选取黄皮肤鸡种-广西黄鸡、胡须鸡及白皮肤鸡种-青脚麻鸡、丝羽乌骨鸡通过分子克隆测序的方法对该基因进行单核苷酸多态性 (Single Nucleotide Polymorphisms, SNP) 扫描, 发现在黄皮肤鸡种中的 5' 非编码区存在 C/G 突变, 并通过 PCR 测序在各个鸡种中进行了检测, 发现检测的黄皮肤鸡种中均存在该突变, 证明 BCO2 基因的 SNP 与黄皮肤性状有相关性。

关键词: BCO2; 鸡皮肤; SNP; 类胡萝卜素

中国分类号: S811.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8567 (2017) 03-0032-04

SNP Detection in BCO2 between Yellow and White Skin Chicken

Gan Shiyi, Wang Yan, Luo Chenlong, Shu Dingming*

(State Key Laboratory of Livestock and Poultry Breeding; Guangdong Key Laboratory of Animal Breeding and Nutrition; Guangdong Public Laboratory of Animal Breeding and Nutrition; Institute of Animal Science, Guangdong Academy of Agricultural Sciences; Guangzhou 510640)

Abstract: Chicken show yellow skin because of the deposition of carotenoids in skin. When carotenoids in the epidermis are degraded, the skin of chicken show white. Some researches have found out that carotenoids are mainly degraded by BCO2(beta-carotene oxygenase 2 in skin, BCO2), BCO2 gene encode this enzyme is an important candidate gene for regulating the deposition of carotenoids. In order to study the relevant between BCO2 and the colour of chicken skin, we choose GuangXi huang chicken and Bearded Chicken as yellow skin chicken, Partridge Shank Chicken and silky fowl as white skin chicken. we scanned SNP(Single Nucleotide Polymorphisms) in our chicken, we found a C/G mutation in 5'UTR(untranslated regions) in yellow skin chicken. We also detected the mutation between other chicken breeds, result shows that all of yellow skin chicken we detected also have this mutation, suggested that SNP in BCO2 is related to yellow skin trait.

Key words: BCO2 ;Chicken skin;SNP;Carotenoids

在目前国内的鸡肉销售市场, 冰鲜鸡已经成为主要的销售形式, 屠体美观直接影响家鸡的销售, 而不同区域消费者对鸡皮肤颜色的喜好也不一样, 南方消费者更倾向于购买黄皮肤鸡种。而

鸡皮肤呈现出黄色, 主要与表皮层的类胡萝卜素沉积有关, 其中黄色主要是由玉米黄素和叶黄素等黄色素沉积的结果^[1-2], 而白色主要是由于类胡萝卜素被降解而形成^[3]。研究表明在生物体内

收稿日期: 2017-04-25

基金项目: 广州市科技计划项目 (201504010017)、国家肉鸡产业技术体系专项 (nycytx-42)、“广东特支计划”科技创新青年拔尖人才项目 (2015TQ01N843)。

作者简介: 甘师仪 (1989-), 女, 研究实习员。E-mail: gan_shiyi@163.com

* 通讯作者: 舒鼎铭 (1968-), 男, 研究员, 主要从事家禽遗传育种与生产工作。E-mail: shudm@263.net

参与类胡萝卜素降解的酶有两种, 一种是BCM01 (beta-carotene 15, 15'-monooxygenase 1) 基因编码的 β -胡萝卜素单加氧酶^[4-5], 另一种是BCO2 基因编码的 β -胡萝卜素加氧酶^[3, 6-7], 这两种酶分别对不同组织中的类胡萝卜素发挥其氧化分解的作用。在肠道、肝脏组织中BCM01 和BCO2 共同发挥作用, 而在其它组织中主要是BCO2 发挥其对类胡萝卜素的氧化分解作用^[8]。研究发现BCO2 基因位于鸡24 号染色体上, 基因上一个G/A 突变位点 (chr24:6, 268, 434 bp) 与鸡黄色皮肤性状存在着连锁关系^[3]; 在挪威羊群中发现的呈隐性遗传的黄色脂肪羊 (正常为白色脂肪) 也与BCO2 基因上的点突变 (c. 196C>T) 有关^[9]; 牛的BCO2 基因上的单碱基突变, 导致牛血清及牛奶中类胡萝卜素的含量增加^[2, 10]。BCO2 基因上的点突变可以造成它介导类胡萝卜素降解的功能发生改变。本研究对BCO2 基因启动子区和编码区进行了SNP (single Nucleotide Polymorphisms) 扫描来探究BCO2 点突变与鸡皮肤颜色的关联, 为鸡皮肤颜色的分子遗传育种提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

青脚麻鸡、胡须鸡、丝羽乌骨鸡、广西黄鸡 10 周龄背皮样品。其中胡须鸡、丝羽乌骨鸡、广西黄鸡采自广东省农业科学院动物科学研究所原种鸡场, 青脚麻鸡采自四川农业大学。北京油鸡、A03、Ross308、红色原鸡、隐性白、杏花鸡和白来航的 DNA 由广东省农业科学院动物科学研究所提供。

KOD 酶购自东洋纺公司, Axygen Gel Extraction Kit 购自Axygen 公司, A-tailing 试剂盒、pMD19-T 载体、感受态DH5 α 购自TAKARA 公司, PCR Taq 酶、DS2000 Marker 购自东盛公司; 其他试剂均为分析纯; 引物合成及DNA 测序由上海生工完成。

测序结果分析由软件DNA star 中MagAlign 模块完成。

表1 引物序列

名称	序列 (5'-3')	退火温度 (°C)	目的片段 (bp)
F1	GTGAAGTTGAATAAAAGCAG	52	1458
R1	TGAGGCAGATACCTAAAGA		
F2	CTGGAAGGTCAGTTGGGTG	55	1353
R2	AGATGGTGC GG GAGAGA		
F3	ATGTGCTCCCTTTGCTCC	56	1880
R3	CTCGTTCCTACTAGCCAGGAGATTC		
F4	TTTGCTGTCTTTGCTTCA	52	1570
R4	ATCAGACAGGTA CTGTAGAGAC		
F5	GGTTGTGTCTTGGTGCATT	58	1644
R5	AACCACCAACATCCTCTTCC		
F6	GGGCACTAATGTTGGGA	52	1269
R6	AAAGGAAAGAAAGGAGAGA		
F7	TGCTCTTCATGCTTCACT	55	1580
R7	TTCTAATACTAACTCCACCCCTG		
F8	GATACCAGGGTGGAGTTA	55	981
R8	GTAGTGAGCCATTTAGGG		
F9	GCAGACTGTGGAGGAGAC	52	1757
R9	CAGGAAGGGAAGGATTAG		
F10	CACTTGGTCCCAGTTTGT	52	1733
R10	CCTTCTCCATTTGCCTA		
F11	CCCCTGTAGTAGGCAAAT	55	649
R11	GAAGGTTAGGACTGATG		
F12	TCTCGGTTCACTGTCTTG	52	1432
R12	ACCTGGGAAATCTGTTGT		
F13	TGGCAAATCTGATTAGTTC	52	1153
R13	GCTGTGATAGTAGGAGGGT		
F14	GTCGAACTGCAATGAGACC	55	1173
R14	AAATAACTCAGCCAGCATG		
F15	TGAGGAAGAGTGGAGCAG	52	1876
R15	AAGCCGTTAGCACATACC		
F16	GGAAGAATCTGAACCCTC	55	1163
R16	TTATCACCACCACCACTC		
F17	GCCCTTGAGTGGTGGTGGT	55	1961
R17	GCCTTGGCATAATGTAAGTTGTA		
F18	AGTGCTTCTCGCTTGTC	52	513
R18	TCCCTCCTTGCTTTAC		

1.2 背皮样品 DNA 抽提

取50 mg 背皮样品, 手持研磨器充分研磨, 通过传统萃取和酒精沉淀法提取皮肤的DNA。

1.3 TA 克隆

针对BC02 基因5' UTR 区及编码区设计16 对引物(引物见表1)。每个鸡种选取5 个个体, 以皮肤DNA 为模板进行PCR 扩增。PCR 体系为: 2xKOD buffer 25 uL, dNTP 10 uL, 引物F/R 1.5 uL, KOD 酶 1 uL, DNA 模板 200 ng, ddH2O 补充至50 uL。PCR 程序为: 94℃ 2 min, (98℃ 10s, 退火 30s, 68℃ 1 min./kb) 35 个循环, 68℃ 10 min, 4℃ 保持。PCR 产物进行凝胶电泳, 用胶回收试剂盒进行回收目的产物DNA。胶回收产物DNA 进行加A 尾操作, 与PMD19T 连接, 转化感受态DH5 α, 放入37℃培养箱进行培养。12 个小时后, 挑取单菌落进行菌落PCR, PCR 体系为2xMixbuffer 10 uL, Taq 酶 0.5 uL, 通用引物 0.5uL x2, 模板1 uL, ddH2O 7.5uL。PCR 程序为: 95℃ 5 min, (95℃ 30s, 55℃ 30s, 72℃ 1 min./kb) 35 个循环, 72℃ 10 min, 4℃ 保持。将带有目的序列的菌液送交测序公司测序。

1.4 序列比对

使用DNA star 内的MegaAlign 软件进行序列

比对, 比对方方法为Clustal W。

2 结果

2.1 DNA 抽提

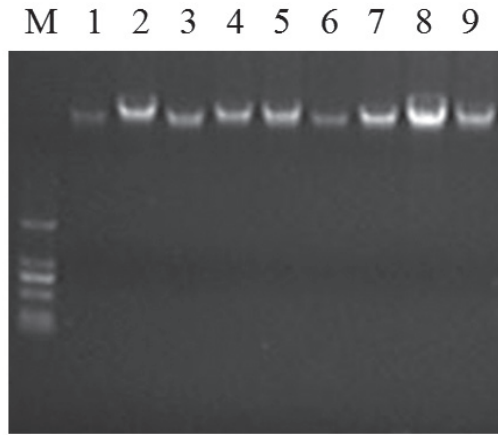


图1 DNA 样品 1% 琼脂糖凝胶电泳结果 Marker: DS2000

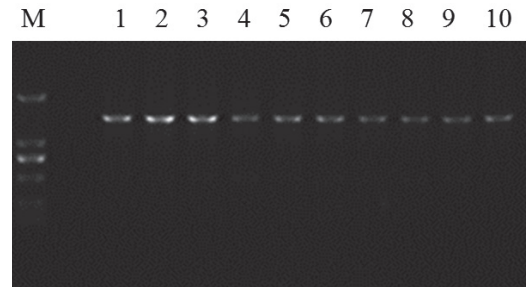


图2 胡须鸡 F1/R1 PCR 产物 1% 琼脂糖凝胶电泳结果
Marker: DS2000

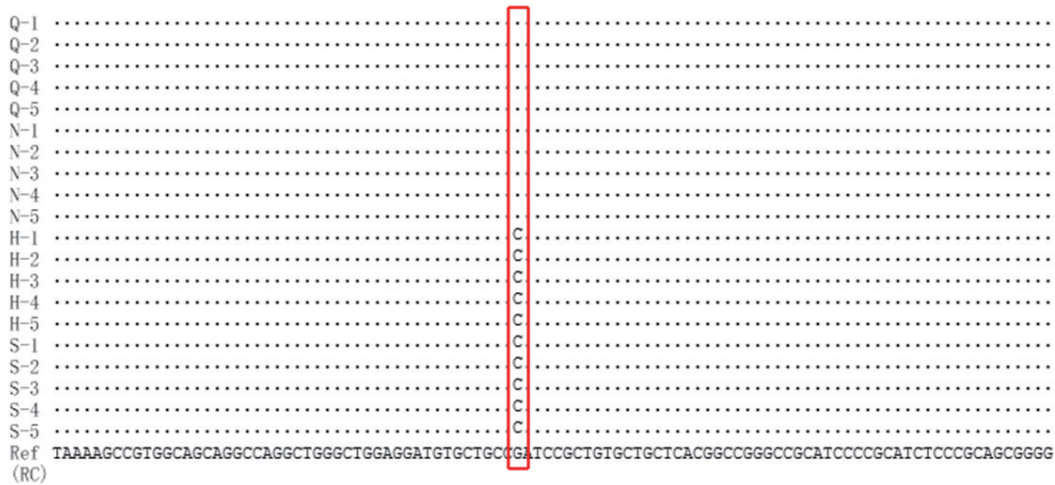


图3 序列比对结果

. 代表相同碱基 H: 胡须鸡 S: 广西黄鸡 Q: 青脚麻鸡 N: 丝羽乌骨鸡

将传统方法抽提的皮肤DNA, 进行1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA纯度, 结果如图1。可见清晰的DNA条带, 且其纯度亮度均很高及无明显拖尾现象。可判断基因组DNA没有降解, 没有被蛋白和苯污染。因此, 所提取的皮肤基因组DNA可用于后续试验。

2.2 PCR 结果

引物F1/R1 胡须鸡样品PCR后, 进行1%琼脂糖凝胶电泳, 可见1500 bp左右的特异性条带(图2), 与预期大小相符。表一中的每一对引物均可扩增出目的序列。

2.3 测序结果分析

利用MagAlign的Clustal W方法分析不同颜色鸡种测序结果, 与BCO2基因参考序列的模板链进行比对, 发现在黄皮肤鸡种——胡须鸡和广西黄鸡中存在突变位点G.-146C>G(NC_006111)(图3)。

2.4 G.-146C>G 在不同鸡种中的检测

在本课题组保存群体资源基因组中检测该突变位点, 结果表明, 黄皮肤鸡种中均存在此突变

表2 G.-146C>G 突变在其他鸡种中的验证

鸡种	G.-146C>G 突变	样本量
北京油鸡(黄皮肤)	有	30
A03(黄皮肤)	有	30
Ross308(黄皮肤)	有	30
隐性白(黄皮肤)	有	30
红色原鸡(白皮肤)	无	8
杏花鸡(黄皮肤)	有	30
白来航(黄皮肤)	有	19

位点(表2)。其中红色原鸡为白皮肤鸡种, 北京油鸡、A03、ROSS308、隐性白、杏花鸡、白来航鸡种皮肤均呈现黄色或浅黄色。

3 讨论

随着冰鲜鸡的上市, 鸡的屠体美观越来越重要, 鸡皮肤颜色的定向育种变得十分重要。本研

究在BCO2基因5'非编码区发现新的SNP, 该突变位点只存在于黄皮肤鸡种中, 证明了BCO2基因SNP与黄皮肤性状相关联, 为后续的遗传育种提供了重要的理论依据。同时, 该突变位点存在于BCO2基因的启动子区, 可能会影响启动子区转录因子的结合, 从而影响BCO2基因在两种皮肤颜色鸡种皮肤中表达, 影响其对类胡萝卜素降解的功能, 造成鸡皮肤颜色的差异。因此, 可构建BCO2基因在两种皮肤颜色鸡种不同组织中的表达谱, 探究BCO2基因在两种鸡种皮肤中的表达是否有差异, 进一步探讨BCO2基因调控鸡皮肤颜色的分子机制。

参考文献

- [1] 高玉云, 等, 类胡萝卜素的吸收代谢及其功能的研究进展. 动物营养学报, 2010. 22(4): p. 823-829.
- [2] 王艳, 舒鼎铭, 家禽及哺乳动物类胡萝卜素氧化酶 BCMO1 及 BCO2 研究进展. 中国家禽, 2015. 37(20): p. 43-47.
- [3] Eriksson, J., et al., Identification of the yellow skin gene reveals a hybrid origin of the domestic chicken. Plos Genetics, 2008. 4(2): p. e1000010.
- [4] von Lintig, J. and K. Vogt, Filling the Gap in Vitamin A Research MOLECULAR IDENTIFICATION OF AN ENZYME CLEAVING β -CAROTENE TO RETINAL. Journal of Biological Chemistry, 2000. 275(16): p. 11915-11920.
- [5] Von, L.J. and K. Vogt, Filling the gap in vitamin A research. Molecular identification of an enzyme cleaving beta-carotene to retinal. Journal of Biological Chemistry, 2000. 275(16): p. 11915.
- [6] Kiefer, C., et al., Identification and characterization of a mammalian enzyme catalyzing the asymmetric oxidative cleavage of provitamin A. Journal of Biological Chemistry, 2001. 276(17): p. 14110.
- [7] von Lintig, J., Colors with functions: elucidating the biochemical and molecular basis of carotenoid metabolism. Annu Rev Nutr, 2010. 30: p. 35-56.
- [8] Borel, P., Genetic variations involved in interindividual variability in carotenoid status. Molecular Nutrition & Food Research, 2012. 56(2): p. 228-240.
- [9] Våge, D.I. and I.A. Boman, A nonsense mutation in the beta-carotene oxygenase 2 (BCO2) gene is tightly associated with accumulation of carotenoids in adipose tissue in sheep (Ovis aries). BMC Genetics, 2010. 11(1): p. 10.
- [10] Berry, S.D., et al., Mutation in Bovine β -Carotene Oxygenase 2 Affects Milk Color. Genetics, 2009. 182(3): p. 923-6.

中药添加剂对热应激状态下蛋鸡生产性能的影响

李志华

(新乡市动物卫生监督所 河南 新乡 453000)

摘要: 为降低蛋鸡在夏季因热应激带来的损失,在饲料中按1.5%添加一定中药成分,与正常对照组相比添加药物的蛋鸡抗热应激的能力显著提高,蛋鸡产蛋率增加,相应提高蛋鸡的生产能力,增加养殖利润。

关键词: 热应激; 产蛋率

中国分类号: S831.5 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567 (2017) 03-0036-02

Effect of herbal additives on laying performance in layers under heat stress

Li Zhihua

(Xinxiang Animal Health Supervision Institute of Henan Province,453000)

Abstract: The addition agent from traditional Chinese medicine was feed to the layer chicken,which could improve the laying rate and the cultivate profit and reduce the loss caused by heat stress.

Key words: Heat stress;Laying rate

夏季气温较高,即使北方7、8、9月份日平均气温也通常在30℃以上,蛋鸡具有体温高、无汗腺、羽毛丰富和新陈代谢快的特点,伴随着规模化和集约化的高密度养殖方式,很容易发生热应激,影响蛋鸡的生产性能,使蛋鸡高峰产蛋期缩短,淘汰率增加,给蛋鸡养殖产业带来较大的经济损失。本试验通过在饲料中添加中药成分研究降低蛋鸡热应激的影响,提高蛋鸡生产性能和经济效益的途径。

1 材料与方法

1.1 试验药物 石膏、黄连、白术、麦芽等按《兽药规范》粉碎混匀备用。

1.2 试验动物 正常饲养条件下同栋鸡舍64周龄健康罗曼蛋鸡3077只,常规免疫程序免疫。

1.3 饲养管理 舍内三层阶梯式鸡笼饲养,每笼3只,每天定时投料三次,自由饮水,拣蛋两次,清理粪便一次,试验期间鸡舍内平均温度30.3℃,最高温度34.7℃,湿度50%—55%。

1.4 试验方法 随机分为中药试验1组鸡1035只、中药试验2组1019只和正常饲养对照组鸡

1023只。在试验1组蛋鸡饲料中按1.5%添加中药7天,停药7天后继续添加中药7天,持续49天后停止添加中药;在试验2组蛋鸡饲料中连续添加中药30天。分别记录各组鸡产蛋数、蛋重及畸形蛋数至60天,畸形蛋主要包括软壳蛋、异形蛋、沙皮蛋、血壳蛋及双黄蛋等异常鸡蛋。

1.5 试验数据采用 SPASS10.0 分析处理

2. 试验结果

2.1 对蛋鸡生产性能的作用 通过表1可见,试验1组和试验2组总产蛋数和产蛋总质量均显著高于正常对照组 ($P < 0.05$),在平均蛋重差异不显著 ($P > 0.05$) 时,试验1组和2组产蛋率显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

2.2 对不良蛋率和蛋鸡健康状况的作用 夏天气温较高情况下,蛋鸡很容易产生热应激反应,蛋鸡生理机能紊乱,畸形蛋增加,影响经济利益,严重者会引起蛋鸡死亡。表2可见,试验1组和试验2组畸形蛋显著少于对照组 ($P < 0.05$),死淘鸡数量也显著少于对照组 ($P < 0.05$)。

收稿日期: 2017-03-07

作者简介: 李志华,新乡市动物卫生监督所,硕士,兽医师。

2.3 对经济效益的作用

根据2016年上半年河南省新乡市鸡蛋平均价格3.6元计算试验各组平均每只鸡创造的利润。通过表3可见试验1组和试验2组每只鸡创造的利润比对照组有显著提高 ($P<0.05$)。

3. 讨论

由于蛋鸡的生理特点，高温尤其是30℃以上持续高温会引起蛋鸡生理机能紊乱，食欲下降，产蛋率降低，畸形蛋增加，严重者会引起蛋鸡死亡。常见的抗应激措施是在饮水中添加维生素和抗生素，但在炎热环境下容易分解变质。试验中，饲料中混有的中药在夏季7、8月份高温环境下，能显著提高蛋鸡抗热应激能力，增加蛋鸡生产性能 ($P<0.05$)，提高养殖效益 ($P<0.05$)。

我国蛋鸡养殖以万只以下规模为主，“小规

模，大群体”的产业特征突出，养殖水平不高，抗风险能力较弱，养殖中技术含量较低，存在着严重的过度用药情况，既增加了药物残留，危害食品和社会公共卫生安全，也增加了养殖成本，降低了养殖效益。中医药在中医理论的指导下逐渐应用于蛋鸡养殖中，在一定程度上解决了药物残留问题，降低了养殖成本，提高经济效益。

表2 对不良蛋率和蛋鸡健康状况的作用

组别	软壳蛋(枚)	其他畸形蛋(枚)	畸形蛋率	死淘鸡(只)	死亡率
正常对照组	83	51	0.31%	7	0.68%
试验1组	64	38	0.21%	2	0.19%
试验2组	59	46	0.22%	3	0.29%

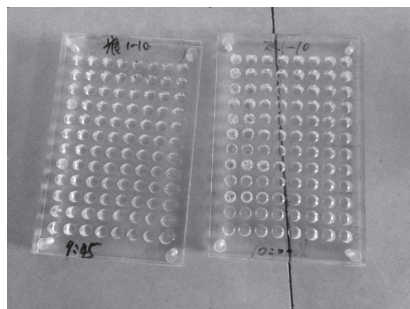
表1 对蛋鸡生产性能的作用

组别	鸡数(只)	总蛋数(枚)	总蛋重(kg)	产蛋率%	平均蛋重(g)
正常对照组	1023	43224	2538.11	70.42	58.72
试验1组	1035	48053	2801.97	77.38	58.31
试验2组	1019	47720	2808.32	78.05	58.85

表3 对收入的作用

组别	平均产蛋量(kg/只)	价值(元)	药费	饲料费用	利润	提高率(%)
正常对照组	2.48	17.86	0	15.52	2.34	0
试验1组	2.71	19.51	0.34	16.64	2.53	8.12
试验2组	2.76	19.87	0.35	17.03	2.49	6.41

(上接31页)



将上图板作45°倾斜，观察发现红细胞不呈泪滴状流淌，检测180份血清H7血凝素抗体均为阴性，阴阳性对照成立。

4 讨论

H7N9是近年才出现的流感病毒，养鸡场目前都未接种疫苗，通过血清抗体监测，只要发现

阳性血清，就能说明存在病毒感染。初步监测表明，监测的各家禽养殖场(户)尚未发现H7N9流感病毒感染。目前检测样本量太少，为了全面掌握全县的疫情情况，下一步需要扩大检测范围和加大样本数量。

参考文献:

[1] 胡祖余, 王举勇, 栗新. 用鸡红细胞进行禽流感血凝抑制试验的比较[J]. 中国兽医杂志, 2013(3):35-36.
 [2] 徐静. H5、H7和H9亚型禽流感病毒快速检测方法的建立[D]. 扬州大学, 2015.
 [3] 丰春燕. 影响禽流感血凝和血凝抑制试验的因素分析[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2016(12):55+168.
 [4] 帅刚, 张贵云. 禽流感血凝抑制试验的影响因素分析[J]. 中国畜禽种业, 2012(4):124-125.
 [5] 陈康木, 卢运战. 影响禽流感血凝和血凝抑制试验的因素及对策[J]. 畜牧与饲料科学, 2011(4):109-110.

乙酰氨基阿维菌素产品中残留溶剂检测方法的改进

潘绮雯¹, 邓秉钊¹, 陈志虹²

(1. 广东省兽药饲料质量检验所, 广东 广州 510230;

2. 广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东 广州 510640)

摘要: 建立乙酰氨基阿维菌素中残留溶剂的测定方法。采用气相色谱法, 以二乙烯基-乙基苯型高分子多孔小球作为固定相的毛细管柱为色谱柱, 试验以程序升温的方式直接进样, 使乙醇、乙腈和丙酮完全分离。经试验, 各残留溶剂的线性关系、精密度、回收率、稳定性、耐用性等试验均达到检测要求。本方法具有操作简便、准确可靠等特点, 适用于该药品生产的质量控制。

关键词: 气相色谱法; 残留溶剂; 检测法

中国分类号: S855.9

文献标识码: B

文章编码: 1005-8567 (2017) 03-0038-04

乙酰氨基阿维菌素是一种疗效高、广谱的大环内酯类抗寄生虫药。主要用于治疗畜类的寄生虫、虱、蛾、蝇等各种内外寄生虫, 用于奶牛和肉牛时不需要休药期。由于此药对家畜的体内外各种寄生虫的活性很高, 在乳制品中很低的分配系数, 使此药成为第一个用于各种家畜在任何生长期中的杀虫剂, 是防治家畜体内外各种寄生虫的首选药物。此药物在合成过程中要用到乙醇、乙腈和丙酮等多种溶剂, 但工艺如果不符合要求, 会导致残留量大, 影响产品的质量。以前的残留溶剂检测方法是采用气相色谱法的顶空进样, 但此顶空装置购买费用贵, 大多企业和省所没有购买, 且方法检测不稳定, 即使几个省所的检测数据差别都很大, 无法准确控制残留溶剂的含量。根据中国兽药典委员会办公室“药典办[2013]13号”文件要求, 我所负责本方法的修改、起草工作, 经各项试验, 将原来的顶空进样, 修改成直接进样, 经方法验证, 适合相应的检测要求, 且具操作简便, 结果可靠的优点, 可用于生产和临床应用中的质量控制。

1 仪器与试剂

安捷伦气相色谱仪HP-7890, 氢火焰离子化检测器, 载气为氮气; 乙醇 (SHBD7521V)、乙腈 (20111008) 和丙酮 (20120611) 对照品均由广州市产品质量检验技术开发公司生产, 二甲基

甲酰胺试剂为分析纯; 样品由河北威远动物药业有限公司、浙江海正药业股份有限公司和华北制药集团爱诺有限公司提供。

2 专属性试验

精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1 mL中分别含乙醇5 mg、乙腈0.41 mg、丙酮5 mg的溶液; 另取二甲基甲酰胺试液作为空白溶液, 精密吸取2 μl注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测试^[1], 结果表明, 空白溶液的色谱中在与各对照品色谱峰相应保留时间处未出现相同的峰, 不影响乙醇、乙腈与丙酮峰的测定。(图1-5)

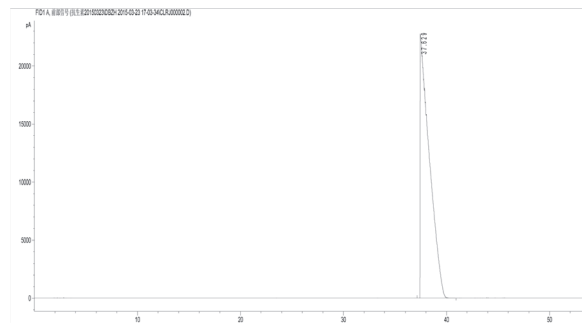


图1 二甲基甲酰胺溶液空白基线色谱图

收稿日期: 2017-05-31

作者简介: 潘绮雯 (1970-), 女, 主要从事兽药分析。E-mail: 845846629@qq.com

通讯作者: 陈志虹, E-mail: chenzhong@gdaas.cn

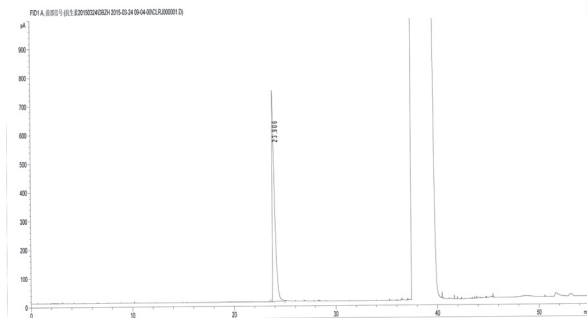


图2 乙醇对照品溶液色谱图

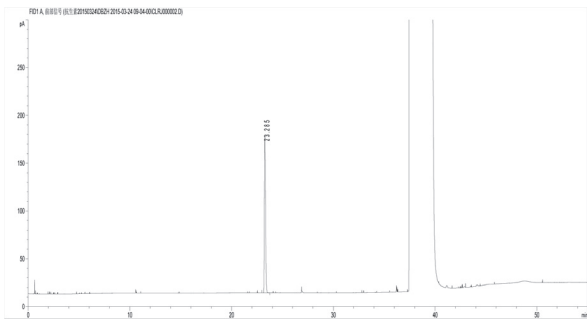


图3 乙腈对照品溶液色谱图

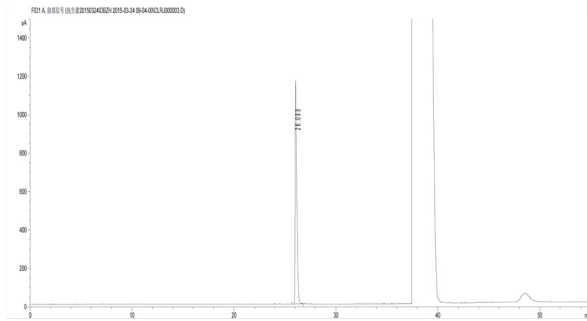


图4 丙酮对照品溶液色谱图

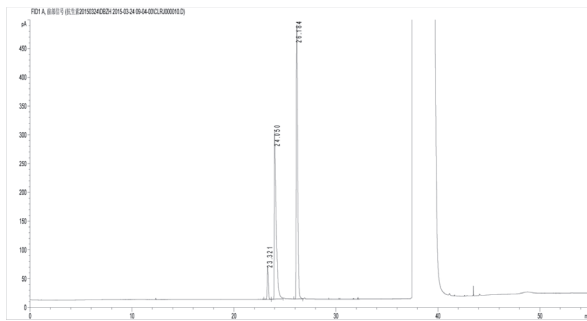


图5 乙腈、乙醇、丙酮对照品混合溶液色谱图

3 线性关系

精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1 mL 中分别含乙腈0.492 mg、0.123 mg、24.6 μg、4.92 μg、0.984 μg、乙醇与丙酮6 mg、1.5 mg、0.3 mg、60 μg、12 μg 的三组溶液, 精密吸取2 μl 注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测试, 记录色谱图, 以对照品溶液浓度值与相应的峰面积值计算线性回归方程。结果表明, 乙腈在0.984 μg/mL ~0.492 mg/mL 的范围内, 乙醇与丙酮在12 μg/mL ~6mg/mL 的范围内, 峰面积与进样量浓度呈良好的线性关系。标准曲线如下图, 回归方程: 乙腈 $y=2940.5x-1.0299$, $R^2=1.0000$ 、乙醇 $y=2285.6x-44.367$, $R^2=0.9999$ 、丙酮 $y=2440.6x-12.228$, $R^2=1.0000$ 。(图6-8)

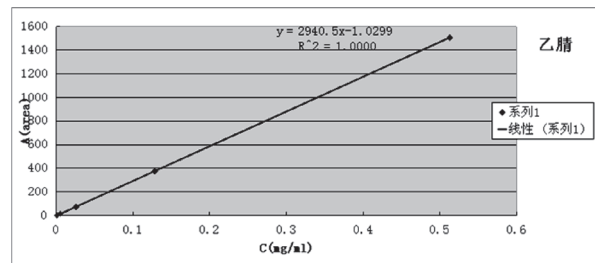


图6 乙腈对照品溶液标准曲线

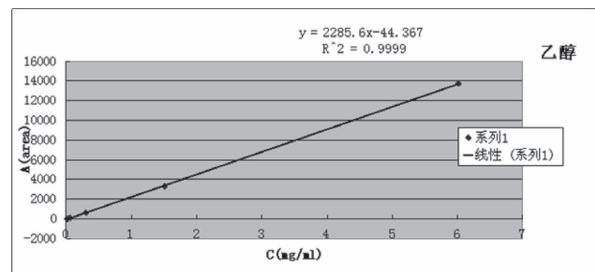


图7 乙醇对照品溶液标准曲线

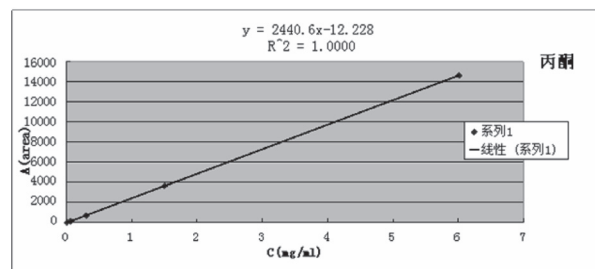


图8 丙酮对照品溶液标准曲线

4 精密度试验

精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1 mL中分别含乙醇5mg、乙腈0.41 mg、丙酮5 mg的溶液, 精密吸取2 μ l注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测试, 连续进样6针, 测定峰面积。乙腈相对标准偏差RSD为0.81%、乙醇相对标准偏差RSD为0.76%、丙酮相对标准偏差RSD为1.43%, 表明本法的精密度良好。(表1)

表1 三种溶剂的精密度试验检测结果表

	峰面积			相对标准偏差 (RSD) (%)		
	乙腈	乙醇	丙酮	乙腈	乙醇	丙酮
1273	11657	13164				
1255	11464	13096				
1248	11431	12926				
1253	11444	12957	0.81	0.76	1.43	
1250	11436	12767				
1244	11447	12683				

5 重复性试验

取浙江海正药业股份有限公司的原料样品批次131007适量(由于样品中三种检测的残留物均未检出, 故作限值的浓度添加), 并精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1mL中分别含乙醇5 mg+ 样品1.0g、乙腈0.41 mg+ 样品1.0g、丙酮5 mg+ 样品1.0g的溶液, 三组溶液分别制备6份, 各测定一次, 精密吸取2 μ l注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测定含量。乙腈相对标准偏差RSD为0.80%、乙醇相对标准偏差RSD为1.46%、丙酮相对标准偏差RSD为1.47%, 表明本法的重复性良好。(表2)

6 回收率试验

取浙江海正药业股份有限公司的原料样品批次131007适量(由于样品中三种检测的残留物均未检出, 故设限值为100%浓度添加量), 并精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1 mL中分别含乙醇4 mg+ 乙腈0.328 mg+ 丙酮4 mg+ 样品1.0g的混合溶液、乙醇5mg+ 乙腈0.41 mg+ 丙酮5 mg+ 样品1.0g的混合溶

液、乙醇6 mg+ 乙腈0.492 mg+ 丙酮 6mg+ 样品1.0g的混合溶液, 三组溶液分别各制备3份进行测定, 精密吸取2 μ l注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测定含量。结果如下:(表3-5)

表2 三种溶剂的重复性试验检测结果表

生产企业 及批号	含量 (%)			相对标准偏差 (RSD) (%)		
	乙腈	乙醇	丙酮	乙腈	乙醇	丙酮
浙江海正 药业股份 有限公司 131007	103.98	95.91	102.86	0.80	1.46	1.47
	102.24	99.38	98.99			
	102.24	99.30	100.24			
	102.24	99.41	99.76			
	101.49	98.93	98.72			
	102.48	99.85	100.17			

表3 乙腈回收率试验检测结果表

	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	相对标准偏差 (RSD) (%)
	100.25		
限值的 80% 添加量	101.52	100.58	0.82
	99.96		
	100.18		
限值的 100% 添加量	100.05	99.53	1.01
	98.37		
	98.61		
限值的 120% 添加量	98.16	98.61	0.45
	99.05		

表4 乙醇回收率试验检测结果表

	回收率 (%)	平均回 收率 (%)	相对标准偏差 (RSD) (%)
	101.84		
限值的 80% 添加量	100.38	101.03	0.74
	100.86		
	99.82		
限值的 100% 添加量	99.80	98.58	0.10
	99.99		
	98.06		
限值的 120% 添加量	98.93	98.58	0.47
	98.75		

表5 丙酮回收率试验检测结果表

	回收率 (%)	平均回收率 (%)	相对标准偏差 (RSD) (%)
	101.41		
限值的 80% 添加量	100.83	100.87	0.52
	100.36		
	99.14		
限值的 100% 添加量	98.41	98.38	0.79
	97.59		
	95.22		
限值的 120% 添加量	96.79	96.27	0.95
	96.81		

7 稳定性试验

精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1 mL 中分别含乙醇5 mg、乙腈0.41 mg、丙酮 5mg 的溶液, 精密吸取2 μ l 注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测试, 分别在0、6、10、13、16、19h 进样, 测定峰面积, 考察样品稳定性。结果显示, 乙腈在16 h 内稳定、乙醇在19 h 内稳定、丙酮在13 h 内稳定。(表6-表8)

8 检测限及定量限

按信噪比S/N=3 时, 乙腈的检测限为1 μ g/mL、乙醇的检测限为0.2 μ g/mL、丙酮的检测限为0.05 mg/mL; 按信噪比S/N=10 时, 乙腈的定量限为0.01 mg/mL、乙醇的定量限为0.02 mg/mL、丙酮的定量限为0.2 mg/mL。

9 耐用性试验

本法分别采用了“Agilent 19095P-Q04 HP-PL0T 270 $^{\circ}$ C 30m \times 530 μ m \times 40 μ m”和“Agilent HP-5-5%-Phenyl-Methyl-Siloxane 19091J-413 325 $^{\circ}$ C 30m \times 320 μ m \times 0.25 μ m”两种色谱柱进行测试^[2], 只有前者能检测出相对应的峰型, 故采用前者的柱进行试验。另外, 色谱条件的设置, 以“程序升温, 初始温度50 $^{\circ}$ C, 以每分钟15 $^{\circ}$ C 的速率升温至80 $^{\circ}$ C, 再以每分钟30 $^{\circ}$ C 的速率升温至220 $^{\circ}$ C”为基准, 但由于乙腈和乙醇的出峰时间比较接近, 受升温速率较快的影响, 需要对每段升温速率进行调整试验, 以使二者的分离度达到要求, 故最终的条件设置为“程序升温, 初始温

表6 乙腈稳定性试验检测结果表

时间 (h)	峰面积	平均值	与0小时比较相对标准偏差(RSD)(%)
0	1273		/
6	1255		1.01
10	1248		1.40
13	1253		1.12
16	1250		1.29
19	1244		1.63

表7 乙醇稳定性试验检测结果表

时间 (h)	峰面积	平均值	与0小时比较相对标准偏差(RSD)(%)
0	11657		/
6	11464		1.18
10	11431		1.38
13	11444		1.30
16	11436		1.35
19	11447		1.29

表8 丙酮稳定性试验检测结果表

时间 (h)	峰面积	平均值	与0小时比较相对标准偏差(RSD)(%)
0	13164		/
6	13096		0.37
10	12926		1.29
13	12957		1.12
16	12767		2.17
19	12683		2.63

度50 $^{\circ}$ C, 以每分钟2 $^{\circ}$ C 的速率升温至80 $^{\circ}$ C, 再以每分钟5 $^{\circ}$ C 的速率升温至220 $^{\circ}$ C”。

10 乙醇、乙腈、丙酮残留溶剂量测定试验

精密称取乙醇、乙腈与丙酮对照品, 加二甲基甲酰胺分别定量稀释制成每1mL 中分别含乙醇5mg、乙腈0.41 mg、丙酮5 mg 的溶液, 精密吸取2 μ l 注入气液相色谱仪, 按残留溶剂项下的色谱条件测定峰面积。三批次样品中残留的溶剂(乙醇、乙腈、丙酮)检出值如下。(表9)

(下转第47页)

鼠源巨噬细胞 RAW264.7 中 TNF-α 基因的克隆及酶切鉴定

赵义龙¹, 黄金凤^{2*}, 赵金香³, 矫继峰^{3*}

(1. 新疆农业职业技术学院 新疆 昌吉 831100; 2. 新疆五家渠鑫宝农业科技开发有限公司 新疆 五家渠 831300; 3. 营口理工学院 辽宁 营口 115014)

摘要: TNF-α 能诱导单核巨噬细胞系统的前体细胞分化, 是机体非特异性免疫检测中指示性细胞因子。本研究根据 Genbank NM-013693 上登录的小鼠肿瘤坏死因子-α (TNF-α) 序列对经过氨基多糖纳米微粒处理过的小鼠 RAW264.7 细胞进行 RNA 的提取, 且 RT-PCR 扩增 TNF-α 基因。将此片段克隆到 PUCm-T 载体中, 经菌落 PCR 鉴定和 DNA 序列测定、酶切鉴定分析验证, 证实所克隆序列为 TNF-α 基因。序列分析表明, 该基因与 Genbank 中发表序列的同源性达到 100%。

关键词: RAW264.7; TNF-α; PCR; 克隆; 酶切鉴定; 序列分析

中国分类号: Q78 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567 (2017) 03-0042-03

The source of the TNF alpha gene cloning and enzyme identification in the rat macrophage RAW264.7

Zhao Yilong¹, Huang Jin-feng^{2*}, Zhao Jin-xiang³, Jiao Ji Feng^{3*}

(1. xinjiang agricultural vocational and technical college xinjiang changji 831100; 2. xinjiang wujiaqu xin bao agricultural science and technology development company xinjiang wujiaqu 831100; 3. YingKou institute liaoning yingkou 115014)

Abstract: the TNF alpha can induce progenitor cell differentiation of mononuclear macrophage system, is the body's nonspecific immune detection indicative of cytokines. This study based on Genbank NM - 013693 logged in mice tumor necrosis factor alpha (TNF alpha) sequence of mice that had not been treated with amino polysaccharide nanoparticles RAW264.7 cell to the extraction of RNA, and RT-PCR amplification TNF alpha gene. This fragment cloned in PUCm - T carrier, DNA sequencing, enzyme by colony PCR identification and appraisal analysis, confirm the sequence of TNF alpha gene cloning. Sequence analysis showed that the gene in Genbank published sequence homology of 100%.

Key words: RAW264.7; TNF alpha; PCR; Cloning; enzyme identification; Sequence analysis

肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor; TNF) 是一种糖蛋白, 以两种形式存在, 即 TNF-α 和 TNF-β。TNF-α 主要由单核细胞和巨噬细胞产生, 但也可以由 T 细胞、B 细胞、NK 细胞和成纤维细胞产生, 其包括可溶性的 TNF-α 和膜相

关的 TNF-α 两种形式^[1]。TNF-α 以一种细胞与细胞接触的方式发挥细胞免疫作用, TNF-α 可促使某些细胞表达 MHC I 类分子、细胞间黏附分子, 协同 IFN-γ 诱导 MHC II 类分子的表达。启动 T 细胞介导的细胞免疫, 增强 T 细胞 (尤其

收稿日期: 2017-04-06

基金项目: 2016 年度新疆农业职业技术学院资助项目 (XJNZYKJ2016030)

作者简介: 赵义龙 (1981-), 男, 在读博士, 副教授。研究方向: 动物生物技术。E-mail: ylzhaos@sina.cn

* 通讯作者: 黄金凤 (1983-), 女, 硕士, 兽医师。研究方向: 动物疾病诊疗技术。E-mail: 1498181381@qq.com

矫继峰 (1977-), 男, 博士, 副教授。主要研究方向: 蛋白质组与动物疾病及产品品质相关基因表达调控。

E-mail: zjxdky@126.com

CTL)、NK 细胞、淋巴因子激活性杀伤细胞(LAK)的细胞毒活性^[2-3]。TNF- α 能诱导B 淋巴细胞分泌细胞因子激活巨噬细胞、自然杀伤细胞、树突状细胞, 并协同刺激T 细胞增殖从而参与免疫调节^[4]。

本文为探究氨基多糖纳米微粒对小鼠 RAW264.7 细胞非特异性免疫作用的效应, 后续测定氨基多糖对细胞因子的表达丰度的影响, 从而扩增RAW264.7 细胞中的TNF- α 基因, 并进行的克隆测序分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药物和试剂

RPMI1640 购自美国Gibco 公司; Trizol 购自上海英骏生物技术有限公司; 引物均由上海生工生物工程技术有限公司合成; 限制性内切酶EcoR V、Xho I、Taq DNA 聚合酶以及RNA 酶、T4 DNA 连接酶、RT-PCR 试剂盒RNA LA PCR Kit(AMV)、dNTP、M-MULV 反转录酶购自宝生物(大连)有限公司。

1.1.2 菌株和克隆载体

受体菌E. coli DH5 α , 克隆载体为pUCm-T 克隆载体系统, 均购自大连TaKaRa 公司。

1.1.3 试验细胞

RAW264.7 细胞株, 购自中国科学院上海生化细胞所干细胞库。

1.2 基因组总 RNA 提取

用Trizol 试剂按说明书提取用氨基多糖纳米微粒处理的各时间段总RNA, -80 $^{\circ}$ C 备用。

1.3 引物设计与合成

根据Genbank NM-013693 上登录的裸鼠肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 序列设计并合成了1 对 TNF- α 基因特异引物, P1: 5' -CAG GGG CCA CCA CGC TCT TC-3' ; P2: 5' -CTT GGG GCA GGG GCT CTT GAC-3' , 扩增长度: 419bp。

1.4 RT-PCR 及产物纯化

按照RT-PCR 试剂盒(一步法)说明书将RNA 反转录成cDNA。

TNF- α 基因PCR 反应体系如下: cDNA 1 μ L, 10 \times PCR 扩增缓冲液 5 μ L, MgCl₂ (25mM) 3 μ L, dNTP(dATP, dCTP, dGTP and dTTP 各10mM) 1 μ L, 上游引物(20mM) 1 μ L, 下游引物(20mM) 1 μ L, Taq 酶 0.5 μ L, 加无酶水至总体积为50 μ L。将上述试剂加入0.2mL PCR 管, 4 $^{\circ}$ C 8 000r/min 稍离心, 将PCR 管置于gene

amp 9600 PCR 仪上。

TNF- α 基因按以下条件反应: 94 $^{\circ}$ C 预变性 2min, 94 $^{\circ}$ C 变性 50s, 57 $^{\circ}$ C 退火 50s, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1min, 30 个循环, 72 $^{\circ}$ C 延伸 10min, 4 $^{\circ}$ C 保存。

PCR 产物用1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测结果, 按大连宝生物公司凝胶回收试剂盒操作手册标准纯化步骤对含有目的片段的凝胶进行回收纯化^[5]。

1.5 目的基因的克隆与酶切鉴定

选择PUCm-T 载体, 将PCR 产物、PUCm-T 载体、T4DNA 连接酶, 4 $^{\circ}$ C 反应 14-16h。将连接产物加入DH5 α 感受态细胞中, 经冰浴30min, 42 $^{\circ}$ C 热激90s 后, 立即冰浴10 min。取转化菌液涂布于含有一定量的X-Gal (50 mg/mL) 和IPTG (200mg/mL) 的LB (含25 μ g/mL Kana 或50 μ g/mL Amp+) 琼脂板, 均匀涂布后, 待菌液吸干后, 置于37 $^{\circ}$ C 培养过夜。挑选的白斑于LB 培养基中37 $^{\circ}$ C 摇床过夜, 以碱裂解法提取质粒经EcoR V 和Xho I 双酶切后, 进行琼脂糖凝胶电泳鉴定^[6]。

1.6 目的基因的测序及分析

将TNF- α 基因克隆产物送交大连宝生物公司进行序列测定; 同源性比较: 采用DNA Tools 5.0 软件将所得到的基因序列与Genebank 中登录的TNF- α 基因序列进行序列同源性比较^[7]。

2 结果

2.1 PCR 扩增结果

TNF- α 基因经RT-PCR 扩增后呈现419bp 的特异性条带, RT-PCR 扩增结果见如图1。

2.2 TNF- α 质粒 DNA PCR 检测结果

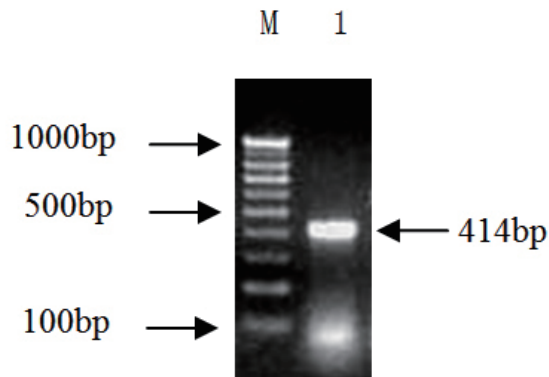
以质粒DNA 为模板进行PCR 对重组质粒进行鉴定, 产物进行琼脂糖凝胶电泳, 结果显示出清晰的目的条带, 表明目的基因已成功传入大肠杆菌内。结果见图2。

2.3 TNF- α 重组 DNA 质粒的酶切鉴定

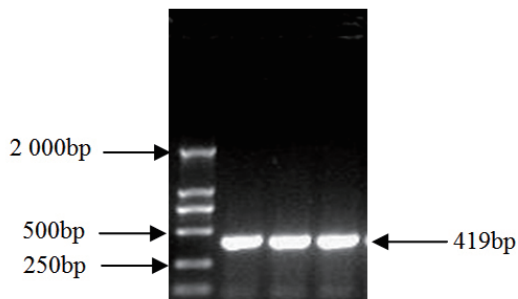
用EcoR V 和Xho I 对TNF- α 重组DNA 质粒进行双酶切, 然后经琼脂糖凝胶电泳, 所得的结果与理论值相符(见图3), 表明回收的DNA 片段已连接到pUCm-T Easy 载体上。

2.4 TNF- α 基因测序结果

TNF- α 基因阳性克隆子测定后得到419bp 的核苷酸序列, 与Genebank 中登录号为NM-013693 的裸鼠基因序列经行同源性分析发现, 相应片段之间的序列同源性分别为100%。

图1 TNF- α PCR 电泳图谱

M: Marker 100bp DNA Ladder

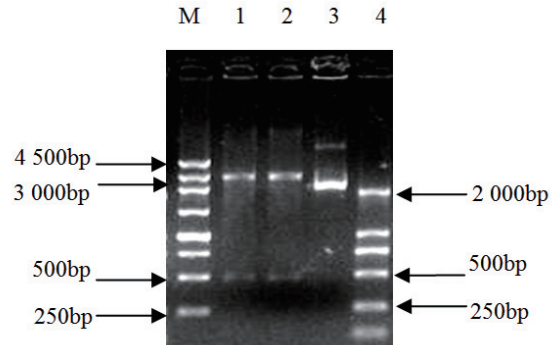
1. TNF- α PCR 产物图2 TNF- α 质粒DNAPCR 产物电泳图

M. Marker DL 2 000

1-3. TNF- α 质粒 PCR 产物

3 讨论

3.1 辅助性T细胞(helper Tlymphocyte, Th)是能辅助T、B淋巴细胞应答的功能亚群,依据应答方式,可将其分为Th1和Th2。其中Th1细胞参与细胞免疫及迟发型超敏炎症反应,生理状态下,体内的Th1可产生Th1型细胞因子。Th1细胞能合成TNF- α 等细胞因子,主要刺激并激活嗜酸性粒细胞、巨噬细胞等淋巴细胞,介导细胞免疫。因此,TNF- α 具有提高机体免疫力的作用^[8-9]。本文从分子层面对巨噬细胞株RAW264.7中产生的细胞因子TNF- α 基因进行研究,旨在

图3 TNF- α 重组DNA 质粒的酶切、质粒电泳图

M. Marker 250bp DNA Ladder

4. Marker DL 2 000

1-2. TNF- α 重组 DNA质粒的酶切产物 3. TNF- α 重组 DNA质粒

为进一步揭示其免疫作用的效果。

3.2 本研究以RAW264.7细胞总RNA为模板,设计引物,应用RT-PCR的方法对TNF- α 基因进行基因扩增、克隆及酶切鉴定得到了TNF- α 基因片段,长度为419bp,并已于GenBank核酸数据库(NM-013693)所存序列进行比对。通过对该基因的序列进行对比分析,初步了解该基因的结构性质,这项工作为进一步开展TNF- α 基因mRNA表达水平的测定等相关研究奠定了基础。

参考文献

- [1] 付艳云,张艳秋,马书梅,等. 纳米二氧化钛对大鼠NK细胞活性和相关细胞因子的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2014, 26(3):161-164.
- [2] 朱喜玲. 抗TNF α 和IL-1 β IgY抗体治疗豚鼠过敏性鼻炎实验研究[D]. 南昌: 南昌大学细胞生物学专业. 2014, 5.
- [3] 魏经建,刘彩玉,王奕鹏,等. 免增灵对小鼠红细胞免疫功能和NK细胞活性的影响[J]. 癌变·畸变·突变, 2004, 17(6):363-366.
- [4] 刘季芳,刘枫,祁岩超,等. 免疫编辑前后细胞因子诱导的杀伤细胞分泌细胞因子水平及细胞毒活性的比较[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(8):854-855. 162-164.
- [5] 刘永斌,荣威恒,王峰,等. 蒙古羊BMP15全长DNA序列的克隆与分析[J]. 华北农学报. 2009, 24(1):55-59.
- [6] 李强,李学伟,朱砾,等. 猪TOLL样受体7 cDNA的克隆及序列分析[J]. 畜牧兽医学报. 2008, 39(5):531-535.
- [7] 李利,张红平,吴登俊. 南江黄羊LH β 基因序列测定及分析[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(11):1130-1134.
- [8] 刘太华,刘德芳,王骏,等. 苦参碱、氧化苦参碱、槐定碱对巨噬细胞活性及分泌肿瘤坏死因子- α 的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2010, 17(3):31-33.
- [9] 文秀芳,陈霞,鄂海桥. 姜黄素通过抑制TLR4信号通路下调脂多糖诱导的肺巨噬细胞分泌TNF- α 、IL6、IL8[J]. 云南中医学院学报. 2013, 36(6):22-25.

石井系鸭瘟疫苗研究简史

冯广仁, 梁志凌*

(广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东 广州 510640)

中国分类号: S851.3

文献标识码: E

文章编号: 1005-8567(2017)03-0045-03

1964年大约11月份,省科委下达省农科院增设鸭瘟疫苗研究的任务,由于当时广东省鸭瘟流行严重,农村鸭子一群一群的死亡,不仅影响市场供应、出口,也带来水稻的减产(鸭群在水稻田活动有耕除草除虫的作用)。农科院将此任务下达畜牧兽医系,时任领导的罗发同志经过研究接受了此任务,随即成立鸭瘟疫苗研究组,抽调林广寿、李兰桂、吴垂平三人参加,并委托本人任组长。当时本人是国家重点课题“猪喘气病”研究组的组长,由于任务紧急,我的时间都用在鸭瘟疫苗研究上,猪喘气病课题即委托林克义负责。省科委拨来一笔专题经费,在大丰办公楼后面建了两间工作室,大约在1965年1月正式开始投入鸭瘟疫苗的研究工作。据知华农大兽医系已经研究鸭瘟疫苗多年,有丰富的经验,我们即派林广寿同志到华农大跟班学习取经,经过一个月,林广寿回来反映,说那里的老师有点保守的倾向,学不到什么经验,我们只好把林调回来。

当时我们的主攻方向是弱毒苗,以一个毒株(顺丰山)通过多种小动物(小白鼠、豚鼠、乳兔、鸡胚、鸭胚)传代,多者通20多代、少者通6-7代(5-6天为一代)。鸭瘟的毒力有些大大减轻,有些仍然很强,可以使健康鸭死亡。当时我的心情有点急躁,急生产之急,希望早日完成任务,于是选择其中一个已经不能致鸭于死的鸡胚化弱毒株进行田间试验,在市郊一个鸭场注射了500只幼鸭(6天龄),结果反映很强,死了100多只幼鸭,表现很不安全,毒力仍可致鸭于死。鸭场蒙受损失,当然由我负责,我私自赔给鸭场100元给鸭场,买回200只幼鸭,鸭场没

有意见,我将情况向系领导罗发同志汇报,罗发同志没有说什么,只轻轻地说了句:“科学研究是允许失败的。”反而林广寿批评我说:“你太不慎重了!”林的批评我是乐意接受的。工作出了问题,领导不责备,给我很大的信心和鼓舞,我应该认真总结经验教训,细细思考问题,不断向自己发问:“你的主攻方向是什么?”“去毒性重要还是保持免疫性重要?”最后弄明白了,既要去其毒性又要保存其免疫性;认识到去毒性容易保存其免疫性难;不同毒株既有其共性也有其特性,不是铁板一块的;如果独沽一味,只选一个毒株进行减毒(即去其毒性),便有走进死胡同的微险(即减了毒同时失去免疫性),如果所选的毒株其免疫性随毒性消失而消失,我们的工作便白做了。我们有了这个认识,便作出决定,由原来只选一个毒株在多种小动物及胚胎减毒改变为选多种毒株在一种小动物或胚胎减毒,这种改变是基于我们对毒株的免疫性有更深一步的了解的前提下的。

我们从1965年3月份开始便从不同鸭瘟疫场收集毒株,那时便有“顺丰山”、“大岑”、“虎门”、“陆丰”、“中山”和“石井”(我们是以疫区的地名来命名毒株的名称)。“石井”毒株的来源是广州石井公社送来的一只死鸭。当日是星期天,林广寿同志值班,他把死鸭解剖了,鸭瘟病变十分明显,他留下一块有坏死病灶的肝脏组织,次日即纳入我们的工作。在鸭胚中传代,想不到我们就如此选中了一株良好的毒株。这个毒株在鸭胚中传代很快便消失了致病毒力又能牢固地保存了其免疫性,具体说“石井”毒株在鸭胚中传代传至第10代(每6天为一代)便失

收稿日期: 2017-02-09

* 通讯作者: 梁志凌(1970-),女,兽医师。E-mail: snailt@126.com

去毒力,不能致鸭于死。每传2-3代便在成年健康鸭测其毒力。我们有八个毒株在鸭胚中传代,工作量是很大的。那时林广寿抽调去农村搞社教,研究组只剩下三个人,即冯广仁、李兰桂、吴垂平。特别困难的是健康的试验鸭供应不能保证,那时鸭瘟流行严重,在市场购买的所谓健康鸭,大都在健康观察期期间便死于鸭瘟,在这方面后勤人员帮助很大,他们千方百计保证健康试验鸭的供应,到粤北山区(连山、连县)采购试验鸭,因此我们工作还是能比较正常在八个毒株中进行传代。有些传到30多代,有些传到20多代,结果出现三种情况:①毒力一直很强,没有减弱的趋势,五只成年健康鸭测毒,全部死于鸭瘟,病变很典型;②毒力有不同程度减弱,五只成年健康鸭测毒,有些高温耐过,有些死亡;③毒力消失,攻毒五只健康鸭,无任何症状,对照组鸭则全部死于鸭瘟。出现这种情况只有“石井系”一个毒株。我们生怕是偶然因素造成的,于是重复进行了一次安全效力试验,结果相同,我们才相信这个结果。那天正好汕头畜牧局来了人(高级兽医师吕渭伦),我将“石井”毒株的试验结果告诉了他,并给他一瓶10毫升的“石井”毒株第10代的鸭胚液带回汕头,让他做一小群鸭试验。他回去却做了一群300多只的成年鸭野外试验和一群正在感染鸭瘟的鸭群,经过20多天的观察,前者一直正常,后者三天后便停止死亡,他们看到这个结果便放心扩大试验,把10毫升的鸭胚全部用完,共注射了900多只鸭(1毫升稀释至100毫升,每只鸭注射1毫升,10毫升可注射1000只鸭)。随后他们在每群试验鸭中抽5只到室内攻鸭瘟强毒,全部得到保护,而对照组鸭全部死于鸭瘟。他们将试验结果告诉我们并自行在鸭胚中生产疫苗,在汕头农村全面推广。据食品公司的经理告诉我,他的公司一年多来出口香港的商品鸭没有一批成功的,都在收购期间死于仓库或运输过程死于船上,损失惨重。后来收购的商品鸭都先注射石井系疫苗,此后每批出口都成功。

本人即前往汕头现场调查,情况属实,即向所领导罗发同志和张大炜院长汇报,宣布鸭瘟疫苗研究成功,院领导向省科委汇报,省科委即成立一个成果鉴定小组,组长由华农大教授欧守

杼担任,组员有农业厅畜牧局高级兽医师钟荣俸和汕头畜牧局高级兽医师吕渭伦,本人则随组备询,随即前往汕头进行现场调查和室内试验,经过一个多月的室内外鉴定,认为试验资料确实,疫苗安全性好,效力确切,可以在生产中推广使用。省科委根据鉴定组的结论,即召开成果鉴定报告会,由组长欧教授在会上作鉴定报告,有关方面的专家参加,一致拍手通过。

据说这是一次最严格的科研成果鉴定,成果上报国家科委,国家科委通报全国,并发来一笔奖金,我也没问过奖金有多少,委托林广寿同志负责分配,我特别提出必须分给后勤人员一份,他们保证了试验条件,功劳很大。我一直认为这一成果是集体创造的,绝不可能是某一个人的成果,但组长指挥作战,如果10年不出成果,难道组长不需要问责吗?

自从国家科委下达文件,同意石井系鸭瘟弱毒疫苗在全国推广(该疫苗的全称应为“石井系鸭胚化鸭瘟弱毒疫苗”),特别在华南鸭瘟流行比较严重的五个省推广,大大抑制了鸭瘟的流行,乃至消灭鸭瘟。此疫苗亦为江苏省所引用,是江苏省家禽研究所所长方垓亲自来广州取种毒的,据他说石井系疫苗安全、效力可靠,对雏鸡没有毒性,他说江苏曾使用某市的鸭瘟疫苗,结果死了一群雏鸡。

华农大畜牧兽医系系主任邝荣禄教授曾告诉我,在短短一年多的时间研究成功一种疫苗在历史上是少见的,他说日本兽医专家中村氏在朝鲜釜山兽医研究所研究兔化牛瘟弱毒苗便花了十五年时间。

此外,陈天杰同志曾在深圳进行了一次外种鸭(台湾花鸭、澳洲狄高鸭)的安全效力试验,所取得的结果同国内鸭没有任何差异,试验结果发表于本所的成果文集。

经此课题的研究,我们得出如下一些认识,可供参考:

1. 一种传染性病毒,其性质不是铁板一块的,既有其共性,也有其特性;
2. 其共性是能使动物致死,其特性是有的毒力很强,不易减弱或消失,有的则毒力容易减弱或消失,但减弱或失去毒力后同时也失去免疫性,有的毒力减弱或消失后尚能保存其免疫性,

其特性是多种多样的；

3. 因此，我们的工作是在广泛的毒株中筛选毒力消失后尚能保存其免疫性的毒株，这是研究弱毒疫苗成功的关键。据说中村牛瘟兔化弱疫苗是从十多株牛瘟病毒中筛选出来的，如果我们当初坚持在“顺丰山”一个毒株工作，便走入一个死胡同，永无成功之日了。同时，也体会到疫苗在对付家禽家畜传染病的巨大作用。遗害百年的牛瘟，解放后引入中村牛瘟兔化疫苗后，连续多年在农村牛只进行广泛的疫苗注射，大部分牛群获得牛瘟免疫力，1955年前后中国各省份先后宣布消灭了牛瘟，这是共产党和新中国人民政府的巨大功劳，到现在已经过去60多年了，农村从未发生过牛瘟，证明牛瘟已经被消灭了。鸭瘟的情况也是如此。

其实，鸭瘟疫苗的研究，并不需高深的技术，也无需高级的设备，只要有一个保温箱、一个无菌罩便可以进行，工作也简单易为，每天的工作只不过是接种鸭胚、检查鸭胚的死活、收获鸭胚液、检查胚体病变，在成年鸭中进行安全性和效力试验，检查试验鸭的体温反应和症状，解剖死亡试验鸭等等的婆婆妈妈的工作，公社兽医站的干部也可以干得来。

说明：

1. 第一作者冯广仁撰写本文初稿时间是1970年10月，2015年5月定稿，定稿时年届96岁高龄，由于年代久远，有些事情发生的时间可能有误，应以档案为准，加以更正；
2. 本文是作者亲身经历的历史回顾，内容主要是石井系鸭瘟疫苗研究的历史过程，也涉及广东兽医科研历史中消灭牛瘟的历史，内容见冯广仁，梁志凌. 广东消灭牛瘟的历程及兽医科研的历史概况 [J]. 广东畜牧兽医科技, 2013, 38(3): 42-46.



图1 冯广仁在当时的白石岗兽医所（即现在的广东省农业科学院动物卫生研究所）实验室工作

（上接第41页）

表9 残留溶剂试验检测结果表

生产企业	批号	乙醇 (%) (限度为: 0.5%)	乙腈 (%) (限度为: 0.041%)	丙酮 (%) (限度为: 0.5%)
河北威远 动物药业 有限公司	201411001	未检出	0.08	1.19
浙江海正 药业股份 有限公司	131007	未检出	未检出	未检出
华北制药 集团爱诺 有限公司	H17-5-2	未检出	未检出	未检出

河北威远动物药业有限公司送检的样品未能完全达到拟定标准的全部要求，但不影响标准对

样品的质量控制及可行性试验。

11 小结

11.1 通过试验，将原来用气相色谱法测定乙酰氨基阿维菌素中的残留溶剂（乙醇、乙腈、丙酮）的顶空进样改为直接进样法，减少了购买装置成本，方法更简便、准确，且有线性好、回收率高、稳定性好的优点。

11.2 由于乙酰氨基阿维菌素具有热敏感性，其制剂均以滤膜过滤除菌为宜，不采用高温进行灭菌。

11.3 本测定方法得到中国兽药典委员会的一致肯定。

参考文献：

- [1] 《中华人民共和国兽药典》二〇一〇年版一部。
- [2] 《美国药典》USP34.

广州市白云区动物检疫信息化建设进展与设想

吴乐铃

(广州市白云区农林局 广东 广州 510405)

中国分类号: S851.34

文献标识码: B

文章编号: 1005-8567(2017)03-0048-02

近年来,广东省大力推进动物卫生监督信息化建设,努力提高管理能力和水平。目前广东省正建设全省兽医行政管理系统、动物防疫监督信息管理系统和省级溯源数据中心。广州市建设了动物卫生监督管理系统,对全市所有监管对象的基本情况 & 监管情况实行信息化管理,建成犬类免疫管理系统并与公安犬类管理系统实现对接。深圳市建设了检疫管理、犬类免疫、无害化处理三个信息化管理系统。东莞市建设了动物卫生监督信息系统,有效整合并充分利用监督巡查、检疫申报、屠宰检疫、电子出证、“瘦肉精”抽检和肉品安全追溯等信息。省里要求各地要继续推进动物标识及动物产品追溯体系建设,逐步推行检疫证明的电子出证,构建动物卫生监督信息管理平台,强化信息资讯服务。同时创新管理手段,加快推进信息化技术在动物卫生监督、动物标识及动物产品追溯管理、疫病防控、疫情监测、实验室管理等方面的应用。

围绕这一工作要求,白云区加快了动物检疫信息化管理进程,已在定点屠宰场全面实行了动物检疫网络出证,产地和动物批发市场的动物检疫网络出证,正在有序推进。以下以动物检疫网络出证为例,探讨我区近年来的动物检疫信息化建设取得的成绩和建议。

1 白云区动物检疫信息化建设进展

1.1 强化宣传教育,提高了对动物检疫信息化建设重要意义的认识

动物卫生监督信息化就是运用现代网络信息技术改变传统手写出证、手工统计登记等形式,促进思想观念由传统模式向现代模式转变,促进检疫监督管理的科学化、队伍建设的专业化、人员管理制度化。基于这一理性认识,我区加快了动物检疫网络出证推进,增强了动物卫生监督机构做好这项工作的积极性和主动性。

1.2 强化政策扶持,争取资金和技术保障

广东省政府一直重视动物检疫信息化工作,市一级的动物卫生监督机构很多已经具备一套动物检疫网络管理系统,包括了中心机房、软件维护大厅和演示大厅的动物检疫数据库。同时配备了适用的硬件设备,由软件公司开发的检疫信息数据库、动物检疫网络出证软件,聘用了专业技术人员,负责检疫数据中心网站的运行和管理。我区也积极争取政策、资金和技术扶持,在上级单位的业务指导下,所有定点屠宰厂(场)和动物防疫责任区都配备了出证电脑和打印机;基本形成了较为健全的动物检疫网络出证管理系统。

1.3 开展内部业务培训,确保了出证工作的规范运行

要做好动物检疫信息化工作,是一项庞大的系统工程,特别是对网络技术水平要求较高。为了确保动物检疫网络出证工作的规范性,我们结合现有人员队伍的实际情况,进一步加大了技术培训工作力度。一是加强了业务技能培

训。针对动物检疫出证工作运用电脑和打印机等设备,大部分基层工作人员不熟练的实际情况,我们首先从各镇选出比较熟悉网络的技术负责人进行1次系统培训;其次,又分别进行现场操作培训,现场同步操作。经过培训,基层工作人员都能够熟练地掌握动物检疫网络出证的相关专业知识和实用技术,保证了出证工作的顺利开展。二是抓试点,以点带面好。为实现动物检疫网络出证,全面改变手写出证方式,建立地市级检疫信息数据库,实现市、区、镇三级检疫出证网络化管理,我们积极组织相关人员深入到基层深入调研,全面摸清全区出证站点分布现状和数量。首先选择了嘉禾肉联厂和良田肉联厂这两处比较有代表性的站点进行测试。通过抓试点,培养了一批业务骨干和技术能手,同时也积累了一些经验,起到了示范作用,推动了全区检疫出证工作的顺利开展。三是规范了出证行为。主要是做到了“四统一”。即统一标准、统一采购、统一要求、统一验收。统一标准就是在试点的基础上,对全区的检疫出证工作制定了统一的标准,对检疫证明的录入、出证、保存、传输和维护都制定了统一的标准和要求;统一采购就是对检疫出证所需的一切设备都实行政府统一采购,这样既保持了一致性,又节省了资金;统一要求就是对全区的检疫出证工作制定统一的计划,集中时间和人力开展出证工作,对每个阶段都有具体的要求;统一验收就是全区试运行后,由上级相关科室联合现场验收,及时发现问题、解决问题、积累经验,并对检疫出证完成情况进行评比。

1.4 注重成果应用,加快了行业信息化进程

抓好检疫出证工作,是有效提高动物卫生监督工作管理水平和效能的关键环节,也是促进畜牧兽医信息化的重要手段。一是缩减出证时间,提高工作效率。通过网络出证,极大地缩减了出证的时间,避免了录入错误,保证了上市动物产品的及时供应。二是提高了违法成本,有效防范伪造检疫证明和检疫结果的现象。机打检疫票据采用科技防伪。三是统一规定录入方式,检疫证明填写更加规范。机打检疫票据采用一次录入、

集中打印,并且系统对信息进行了规范,既整洁规范,又便于进行统计和查询。四是检疫数据及时传输,便于监督管理。机打检疫票据的数据是实时上传中心数据库的,我们通过系统的管理端就能够及时掌握每个站点的出证时间、出证数量、出证质量等相关情况,大大提高了我们的监管力度,而且节约了我们的人力和财力。五是电子存储代替纸制存根,方便统计和查询。机打检疫票据取消了存根,检疫票据信息全部保存在数据库,它的好处是保存时间长、占用空间少、信息内容更完整、查询方便、统计准确。六是检疫证明可追溯,保障畜产品质量安全。每张检疫票据都有唯一编码,消费者在购买动物产品时可以查看检疫票据编码,并且能扫描二维码对检疫票据的信息和真伪进行查询和辨别。

2 设想与建议

目前,我区动物检疫信息化建设尚处于起步阶段,应该大力学习同行先进经验,甚至大力借鉴其他行业先进科技成果。目前江门市建设全市屠宰场检疫信息管理系统,远程实时掌控全市屠宰场检疫、药残检测、瘦肉精自检、无害化处理等信息。而我区禾利牛羊肉类加工厂等单位已经自筹资金建成屠宰场视频监控系统,但主要用于场方生产和安全监管。这套系统还可以专门应用到动物批发市场的入场检疫、栏间巡查等工作中,将大大提高工作效率。今后,我们的工作中还可以多尝试全程视频监控等银行、港口等单位的管理手段,将大力节省人力资源。当然,这些都需要物力财力作为基础。但随着科技发展带来的成本降低,该愿景是可期的。我们已经享受到了信息化带来的成果,可以说,随着信息化技术在畜牧业工作中的不断深入应用,必将给我们未来工作带来一场大的革命。

综上,虽然近年来我区在动物检疫信息化建设方面做了一些工作,但按照发展现代化畜牧业的要求还存在着一定的差距。今后,我们要充分利用好各项信息化成果,总结试点经验,发挥辐射带动作用,为加快我区畜牧业信息化和养殖业提质增效进程,作出积极的贡献!

淡季模式开启, 猪价出现回调

刘国信

山西省阳城县畜牧局 山西 阳城 048100

中国分类号: S326.3 文献标识码: B 文章编号: 1005-8567(2017)03-0050-03

4月份以来,随着进入传统消费淡季,市场需求不佳,生猪价格不断回调,而“五一”之后,不仅节前的小幅反弹态势未能得以延续,相反跌幅再次加大,惹得养猪人心慌意乱。据了解,目前北方猪价整体下跌,南方局部下跌,全国生猪均价已回落至14.5元/公斤左右,处于一年半以来的阶段性低点,且短期仍以稳中偏弱运行为主。不过,由于当前玉米等饲料原料价格没有发生明显变化,依然处于较低水平,今年生猪养殖业仍有较好收益。

1 近期猪价逐渐回落,行业利润依然可观

近两年多来,由于多重因素影响,生猪产能大幅下降,市场供应出现紧缺,导致猪价高烧不退,在去年6月份生猪均价曾经达到21元/公斤、猪肉价格达到31.29元/公斤的历史高点,此后一直在高位徘徊,直到今年春节以后才逐渐回落。特别是4月份以来,回落幅度明显加大;而“五一”之后,不仅节前的小幅反弹态势未能得以延续,相反跌幅再次加大,目前全国大部分地区猪价跌至14元/公斤区域,仅有少数省市勉强维持在15元/公斤以上。

相关监测数据显示,截至5月5日,全国瘦肉型猪出栏均价为14.6元/公斤,较去年同期20.46元/公斤下跌5.86元/公斤,跌幅28%;同日全国27省、直辖市范围内21省份猪价下跌,其中,黑龙江、吉林、辽宁、河北、天津平均为14.2元,河南、陕西、安徽、湖北14.4元,北京、山西14.6元,山东14.8元,四川、江西15.0元,江苏、云南15.2元,上海、广东15.6元、福建15.8元。当前北方生猪价格明显下滑,南方地区下跌;整体来看,华北、华东地

区跌幅较大,已处于一年半以来的低点。

随着猪价下跌,猪肉消费进一步下降,肉价也持续下调。据商务部监测,4月份第4周白条猪肉批发价为21.8元/公斤,环比下跌1.67%;据农业部监测,4月25日,全国农产品市场猪肉批发均价下降至21.66元/公斤,显著低于一季度的28.24元/公斤。

业内人士分析认为,虽然近期猪价累计跌幅不小,但作为主要饲料原料的玉米、豆粕价格低位运行,共同拉低了养殖成本,养殖收益仍然较高。相关信息显示,今年以来,虽然玉米价格有所上涨,但整体低于去年同期水平。如2月25日—4月14日,玉米价格为1.73元/公斤,而去年同期为1.89元/公斤,下降8.47%;去年后期以来,豆粕价格出现上涨,导致今年整体价格高于去年同期水平。如2月25日—4月14日,豆粕平均价格为3.26元/公斤,而去年同期为2.59元/公斤,上涨25.87%。不过,今年以来豆粕价格整体处于小幅下降态势,如1月份豆粕价格3200元/吨,到3月份下调至3050元/吨。

一般而言,猪肉与主要饲料玉米的比价为6:1时,养殖保持盈亏平衡状态。一季度受生猪价格保持较高价位和玉米价格下跌影响,全国猪粮比价高达9.41:1,养猪户利润依然丰厚。3、4月份以来,玉米价格有所上涨,豆粕价格走势较弱,生猪价格震荡下跌,2月25日—4月14日,猪粮比价回落至9.16:1,与去年同期10.53:1相比下降了13.01%;到5月5日,随着猪价跌幅扩大,猪粮比价又降至8.56:1,尽管如此,本周自繁自养生猪每头盈利达413.16元/头,利润依然可观。

据了解，由于养猪获利可期，今年以来养殖场户补栏积极性高涨，导致仔猪价格逆市上涨。截至3月份，全国仔猪价格已从1月份41.01元/公斤，上涨到3月份的43.64元/公斤，连续3个月上涨，累计涨幅达到6.41%；到了4月第3周，受猪价持续下跌拖累，三元仔猪价格小幅下跌至42.98元/公斤。

2 需求不佳出栏增加，市场受到多重挤压

业内人士分析认为，当前活猪和猪肉价格掉头下跌，虽然惊起了哀声一片，惹得养猪人心慌意乱，但其基本符合正常年份的季节性变化规律。即目前处于猪肉消费淡季，需求端缺乏利好支撑，收购屠宰量相应下降；而今年有点不同的是，供给端进口猪肉数量与去年同比大幅增加，而开春环保督查力度加大，多地政府相继设立禁养限养区，短时间内生猪集中抛售，造成供大于求的局面。受需求不佳、进口增加、牛猪集中出栏等多重挤压，促使近期猪价下滑速度不断加快。

根据往常规律，一般“五一”节前后，猪价有一波上涨预期，但今年五一小长假并未带来热闹的交易，相反，由于气温回升较快，春季价格便宜的蔬菜瓜果等大量上市，加之膳食消费逐渐多元，节日对猪肉的拉动效应减弱，居民对猪肉的消费需求下降，猪肉阶段性淡季提前开启，导致全国猪价普跌，进而使以往的“逢节必涨”成为“逢节必坑”。

另一方面，从市场调研来看，由于今年开春猪价高位维稳，养殖户追涨情绪高昂，前期为了追涨“五一”利好行情，该到出栏时期的生猪，在3、4月份没有如期出栏，导致压栏猪偏多。据了解，4月中下旬以来，猪价不仅没有回暖态势，反而跌幅不断加大，此时猪场压栏猪体重也在与日见增，加之天气渐热不好继续饲养，眼看“五一”行情希望落空，养殖者怕猪价继续下跌，导致对体重在280斤以上的压栏大猪、“牛猪”，不得不“杀跌”而集中抛售，使得猪源供应出现阶段性增加；而此时消费疲软，屠宰量有所下降，屠宰企业采购压力较小，对最不抗价的“牛猪”再次试探性压价，使失去市场竞争力的“牛猪”也卖不到标猪价格。

同时，进口猪肉增加也是引起猪价降幅较快的又一重要因素。海关总署公布的数据显示，沉寂多月之后，今年1-3月份猪肉进口重新抬头。

其中1-2月全国累计进口生猪产品44.75万吨，与去年同相比增加34.4%；3月份进口猪肉量达到12.4万吨，环比2月增加12.42%，同比去年增加8.14%。进口猪肉再度抬头，不得不让人心生警惕。

此外，影响目前生猪价格下降的因素还有环保因素。今年开春以来，由于中央环保督查力度加大，多地政府相继设立禁养限养区，区域内有些生猪养殖企业和散养户只能以低价快速处理存栏生猪，导致短期内生猪集中上市，从而造成阶段性供求失衡的局面，拉低了猪价。不过，环保是个双刃剑，受禁养拆迁的影响，虽然现阶段供应增多，而对应的结果就是后市供应的减少。事实上，禁养和限养只是表象，其目的是推动产业转型升级，促进生态健康养殖，因此，对猪业长远健康发展来说，无疑是利好多多。

综合分析，短期来看，由于消费需求难有明显好转，猪价缺乏利好提振，将继续以消耗利空和震荡为主。但由于目前猪价已跌至阶段性低点，触及养殖户心理防线，在供需双方博弈下，猪价持续大幅下跌的可能性较小，预计短期内仍将稳中偏弱运行。另外，近来玉米价格出现上涨势头，已经影响到养殖成本和收益，建议养殖户保持理性，切勿再追涨杀跌，既不要恐慌性抛售，也不要过度的压栏，以适时适重出栏为宜。

3 产能呈现回升势头，后市或将稳中震荡

对于后市行情，业内人士指出，当前猪价已整体回落至近两年低位，虽然供给方面产能出现恢复性上升趋势，但4月份能繁母猪存栏刚止跌持平，生猪存栏量依然低于去年同期水平，短期内产能不会明显回升，生猪价格已没有继续探底动力；加之，下半年陆续进入消费旺季，在供需双方持续博弈下，后市猪价大幅上涨和大幅下跌的空间都不大，预计将呈现稳中震荡走势，但整体利润水平较上年的金猪年将下移。

从生猪供给端来看，生猪供应短期内增幅有限。据农业部最新监测数据，3月份全国生猪存栏量为35305万头，比上月环比上升1.0%，逆转前期连续四个月下降的局面，但仍比上年同期下降1.2%；能繁母猪存栏量为3633万头，与上年同期相比下降1.6%，但环比上月止跌回稳；估算，4月份生猪存栏和能繁母猪存栏将继续回稳，2017年度生猪存栏量将小幅回升。不过，在环保政策趋严的影响下，虽然中长期产能必然

会恢复性增长，但很难回升至2012年及2013年水平。但需要注意的是，去年以来生猪出栏增幅显著大于存栏增幅，直接反映出生猪出栏天数下降，也反映了我国生猪养殖水平在逐年提升，不能再单纯以存栏增幅来计算市场供应量增减了。

从国际市场影响看，预计未来进口猪肉可能还会增加。据悉，今年仅1月份就新增运行进口肉类指定口岸4个，截至目前我国已有61个进口肉类指定口岸，较2015年增长50%左右。预计，后期还会有不少进口肉类指定口岸建设完毕、通过验收并投入使用，多渠道、多方来源的肉类进口，必然对国内市场带来冲击。因此，在补栏积极性较高、猪肉进口保持高位的状态下，今年生猪整体市场供应不可能出现去年的偏紧局面。

同时，在经历了漫长的下跌后，能繁母猪存栏量止跌也是一个非常积极的信号，说明开始构建行情回落基础，这给后期市场也带来了较大程度的利空。据分析，当前母猪存栏止跌主要有以下原因：一是环保压力逐渐减小，多地猪场大量拆迁工作基本完成，行政禁养政策对行业产能造成的影响和波动已经逐渐减弱；其次，宏观因素加周期性见顶决定了存栏必将回升；另外，持续了近两年的养猪牛市也为产业扩张提供了充足的资本，养猪业巨头温氏集团、牧原股份、新希望六和、双汇集团等都赚的盆满钵满。

据了解，2016年，新希望六和共销售种猪、仔猪、肥猪计117万头，同比增长34%，实现营业收入18亿元，同比增加95%，毛利6.5亿元，增幅达到330%；而2017年一季度公司业绩则保持了两位数的增长，收入146亿元，同比增长19%；双汇集团2016年的营收超过500亿。2017年1-3月份，温氏股份累计销售商品猪高达427.51万头，牧原股份同期销售商品猪124.1万头，目前几大养殖集团仍在跑马圈地上项目扩充规模。比如，温氏集团今年在山西省阳城县的40万头生猪养殖项目，在当地政府的一路绿灯下已经顺利启动；新希望则称，2016年在完成对杨凌本香的收购后，已经开始了在鲁南、苏北、环渤海、广西、川渝、湖北等地年出栏900万头产能的投资布局，预计将在2-3年内形成产能，2020年实现出栏1000万头。

从消费需求端来看，整体变化依旧较小。一是国内实体经济依然面临下行压力，不利于提振消费，且据数据显示我国居民消费支出中食品支

出的比重不断下降；二是现在市场上的鸡蛋、禽肉、牛羊肉和蔬菜价位较低，也在一定程度上影响着猪肉需求的增长。因此需求端无论是偏软期还是旺盛期，都不能从根本上撼动整体需求的平稳局面，后市猪价能否上行、上行到何种程度仍要看供应端的情况。

业内人士表示，供给方面虽然产能开始出现回升势头，但能繁母猪回升传导到商品猪供应需要10个月左右的时间，在这期间市场猪源供应量依然有限，并不会达到过剩的地步，今年后市尽管上涨阻力较大，但综合来看，供需波动小，生猪价格不会暴跌，高位微降仍是主流趋势，养猪人还是有利可图。况且，前期猪价持续下跌，市场抛售较为集中，目前存栏大猪已经减少，育肥猪体重也开始下降，端午节前后至夏季洪灾和疾病高发期某个时段，市场或将再现阶段性供应紧张状况，推动猪价出现反弹。此外，从第四季度起，中秋、国庆等节日相继来临和“贴秋膘”行情，加之，陆续进入冬季传统消费旺季以及元旦、春节都有望推动猪肉需求增加，促使猪价迎来利好。因此，今年的猪价虽然没去年那么好，但也不至于跌到很惨，整体利润水平将低于上年。

综合分析，由于目前处于猪肉消费淡季，市场需求疲软，屠宰企业必然会保持小幅压价的态势，所以今后一定时间内微跌波动也将延续。不过，因为市场猪源供应量有限，远未达到过剩的地步，所以养殖者对压价将产生抵触情绪，在猪市供需两低情形下，供需双方将持续博弈，近期猪价仍将延续平稳震荡的格局。

而真正让养猪人尤其是农村小型养殖户注意的是，大型养猪集团养殖量的扩充，到2018年将开始显现出威力，届时生猪供应量充足，价格必然受到冲击；同时由于环保投入增加，养殖总成本也将上升。因此，养殖者对未来利好期待不可过高，要摆正心态，保持理性，加强生产管理和疫情防控，合理安排生产和出栏节奏，以期把利益做到最大化。特别是今年后期和明年初要谨慎补栏，以利于保护卖方市场的优势，尽量规避“今年购买仔猪贵，明年出栏价格低”而造成亏损的风险。