

广东畜牧兽医科技

GUANGDONG XUMU SHOUYI KEJI

双月刊 1976年3月创刊

第45卷第6期(总第214期)

2020年12月18日出版

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

主管单位:广东省农业科学院

主办单位:广东省农业科学院畜牧研究所

广东省农业科学院动物卫生研究所

广东省畜牧兽医学会

编辑委员会

编委主任:廖明

编委副主任:蒋宗勇 陈卫东 徐志宏

卢受昇

编委(以姓氏笔画为序):

马现永 王贵平 王富华 王丽

王国霞 孙铭飞 孙永学 向华

吕殿红 刘振兴 刘清神 陈瑶生

吴珍芳 张名位 李伟锋 张桂红

李大刚 李春玲 张建峰 陈瑞爱

罗成龙 孟繁明 林德锐 曹俊明

黄运茂 黄淑坚 舒鼎铭 蒋守群

彭新宇 魏文康

编辑部

主编:蒋宗勇

副主编:王刚 郑春田

主任:黄琳

副主任:马新燕

责任编辑:康桦华 吕晓慧 张洁华 王片片

编辑出版:《广东畜牧兽医科技》编辑部

地址:广州市天河区五山大丰一街1号(510640)

电话:020-87576452

E-mail:gdmsyjkj@163.com

印刷单位:广州市德艺彩印有限公司

发行单位:《广东畜牧兽医科技》编辑部

发行范围:国内外公开发行

定价:10.00元

广告发布登记通知书编号:440100190079

目 录

·专题综述·

农业及农产品加工废弃物饲料化利用技术 崔艺燕,田志梅,等(1)

基于SWOT分析的广东丘陵山区生态水产业发展对策研究--以河源为例
..... 梅盈洁,马艳平,等(6)

经济昆虫和蚯蚓处理农业废弃物研究进展 容庭,张洁,等(11)

热应激对肉羊生理行为和血液生化指标的影响 童雄,李大刚,等(16)

·畜牧技术·

连州市稻鱼综合种养技术及效益初步探析 王超,王国霞,等(20)

浅谈惠州市惠城区村级动物防疫员管理的改革 钟庆华(24)

·兽医临床·

一例猪传染性胸膜肺炎的诊断及防治 姜林林,宋帅,等(26)

鸭大肠杆菌的分离鉴定及药敏试验 江耀伦,黄小建,等(30)

抗球虫药与鸡球虫病疫苗在黄羽肉鸡中的应用效果比较 刘苑青,蔡曼珊,等(33)

·试验研究·

一株番鸭细小病毒的分离鉴定及其对雏番鸭的致病性研究 曾凡桂,王占新,等(36)

猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与猪伪狂犬活疫苗混合后对其体外效价的影响
..... 胡美容,郑铁锁,等(40)

促生长剂一鱼虾宝在杂交醴饲料中的应用 莫文艳,李国立,等(45)

紫荃泽兰对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性研究 张小苗,周玉照,等(50)

GUANGDONG JOURNAL OF ANIMAL AND VETERINARY SCIENCE

Established in March 1976(Bimonthly)

DEC.2020 Volume 45, Number 6 (Total No.214)

Main Content

- Utilization technology of wastes produced by agriculture and agricultural processing industry as feed CUI Yiyang, TIAN Zhimei, et al(1)
- Study on development countermeasures of ecological aquaculture in hilly and mountainous areas in Guangdong based on SWOT analysis MEI Yingjie, MA Yanping, et al(6)
- Research progress on treatment of agricultural wastes by economic insects and earthworms ... RONG Ting, ZHANG Jie, et al(11)
- Effects of heat stress on physiological behavior and blood biochemical indexes in sheep and goats TONG Xiong, LI Dagang, et al(16)
- Preliminary analysis on the technology and benefit of integrated farming of rice and fish in Lianzhou WANG Chao, WANG Guoxia, et al(20)
- Discussion on the reform of animal epidemic prevention officer management at village level in Huicheng District of Huizhou City ZHONG Qinghua(24)
- A case on diagnosis and treatment of porcine contagious pleuropneumonia JIANG Linlin, SONG Shuai, et al(26)
- Isolation, identification and drug sensitivity test of Escherichia coli in duck JIANG Yaolun, HUANG Xiaojian, et al(30)
- Effect comparison of anticoccidial drugs and coccidiosis vaccine application in yellow-feathered broilers LIU Yuanqing, CAI Manshan, et al(33)
- Isolation and identification on a muscovy duck parvovirus and its pathogenicity to muscovy ducklings ZENG Fangui, WANG Zhanxin, et al(36)
- In vitro effect of mycoplasma hyopneumoniae live vaccine (Strain RM48) mixed with porcine pseudorabies live vaccine on their potency HU Meirong, ZHENG Tiesuo, et al(40)
- Application of Yuxiabao as the growth promoting agent in the feed of hybrid snakehead (Channa argus × C. maculata) MO Wenyan, LI Guoli, et al(45)
- Study on the antibacterial activity of eupatorium adenophorum against escherichia coli and staphylococcus aureus ZHANG Xiaomiao, ZHOU Yuzhao, et al(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: No. 1 Dafeng one Street, Guangzhou P.R. China

Post Code: 510640

Tel: (020)87576452

E-mail: gdxmsyjkj@163.com

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

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

农业及农产品加工废弃物饲料化利用技术

崔艺燕¹, 田志梅¹, 刘志昌¹, 李家洲¹, 李贞明¹, 马现永^{1,2*}, 陈卫东¹

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

2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心, 广东 茂名 525000)

摘要:大力推进废弃物饲料化利用, 解决饲料短缺, 是畜牧业健康可持续发展的重要途径之一。农业及农产品加工业废弃物主要有果蔬废弃物或残渣、糖蜜、甘蔗渣、酒糟、醋渣以及各种加工废水等。这些废弃物存在营养缺陷, 且适口性差。本文主要综述了农业及农产品加工业废弃物饲料化利用技术, 即物理法、化学法、生物法以及综合使用方法。物理法分为干制、切短与粉碎、浸泡、蒸煮、热喷与膨化、蒸汽爆破、制粒与压块、照射, 所得饲料适用于大部分动物。化学法主要是碱化和氨化, 所得饲料适用于反刍动物。生物法分为酶处理、微生物处理、水生生物处理和昆虫过腹技术, 生物法处理所得饲料适用于大部分动物。联合使用以上方法, 能更好地将农业及农产品加工业废弃物转变为动物饲料。

关键词:农业; 废弃物; 饲料化

中图分类号:S816 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)06-0001-05

农业及农产品加工业产生大量废弃物, 主要有水果和蔬菜残渣、糖蜜和甘蔗渣、酒糟、醋渣、乳清, 以及各种加工废水等^[1]。大力推进废弃物饲料化利用, 解决饲料短缺、减少环境污染是畜牧业健康可持续发展的重要途径之一。然而, 部分农业及农产品加工废弃物存在许多营养缺陷, 且适口性差, 甚至含有毒有害物质。在利用之前, 应该根据其不同特点, 选择适当的加工方法进行处理, 使得废弃物营养价值提高, 抗营养因子含量降低。目前, 饲料化加工利用技术主要为物理法、化学法、生物法以及综合使用方法。

1 物理法

物理处理方法是利用机械、水、热力等作用, 使废弃物破碎、软化、降解, 便于动物咀嚼消化, 同时还可消除混杂于废弃物中的泥土、沙石等有害物

质。物理法分为干制、切短与粉碎、浸泡、蒸煮、热喷与膨化、蒸汽爆破、制粒与压块、照射等。物理法处理废弃物简单常见, 所得废弃物饲料适用于大部分动物, 包括单胃动物和反刍动物。

1.1 干制

干制指利用热能使原料脱水, 并使其中可溶性物质浓度提高到微生物难以利用的加工方法, 使原料得以长期保存。干制是最常用的物理加工方法之一。在干制过程中或干制品贮藏中颜色易变成黄褐、深褐或黑色, 维生素易被破坏。

Zhang 等研究发现, 与对照组相比, 风干和热干甘薯渣组仔鸡血浆 α -生育酚浓度提高, 而丙二醛降低, 干热处理能改善甘薯渣(粉碎)的营养代谢^[2]。Klinger 等认为 15% 干甘薯蔓可以作为廉价的首蓿干草替代品, 用于饲喂兔子, 对生产性能无负面影响^[3]。Natalello 等试验结果表明, 20% 石榴

收稿日期: 2020-01-09

项目来源: 广东省农业科学院人才项目(201803), 广东省现代农业产业技术体系创新团队项目(2018LM1080, 2019KJ115); 广东省农业厅现代农业产业技术推广体系建设项目(2018LM2153)

作者简介: 崔艺燕(1987-), 女, 助理研究员, 硕士, 从事动物营养与饲料科学、生态养殖与环境控制的研究。E-mail: 958117076@qq.com

*通信作者: 马现永(1972-), 研究员, 硕士生导师。E-mail: 407986619@qq.com

废弃物的浓缩饲料喂养羔羊36天,可以改善肉脂肪酸组成,而不影响动物的生产性能^[4]。

1.2 切短与粉碎

切短与粉碎是加工废弃物最简单的方法,是其他加工的前处理。切短/粉碎的目的是利于咀嚼,减少浪费,便于拌料。Das等在饲料中添加蔬菜废弃物(晒干,1 cm),对公牛的干物质摄入量、消化率、生长性能和健康状况均无显著影响^[5]。Chikwanha等发现,葡萄渣(晒干,粉碎)饲料对羊的生长性能和肉质性状没有负面影响,12.2%的葡萄渣替代燕麦麸和小麦麸,提高了羊肉的产量^[6]。

1.3 浸泡

浸泡可软化废弃物,提高适口性,适用于饼粕、豆类、谷物以及秸秆等,可粉碎后用水浸泡。Duodu等研究发现,浸泡后棉籽粕和花生粕粗脂肪含量分别提高25%和13%,浸泡发酵可使棉籽粕中必需氨基酸含量增加31%,花生粕中必需氨基酸含量增加22%,均降低了棉籽粕、花生粕中植酸和棉酚的含量^[7]。这种方法在实际生产中已有应用很久,但缺乏相关数据的资料报道。

1.4 蒸煮

蒸煮可降低纤维素的结晶度,软化秸秆,提高适口性,提高消化率,还能消灭霉菌、寄生虫等。例如,把水生植物蒸煮后喂猪,既杀死了寄生虫,又能提高水生植物的适口性。

1.5 热喷与膨化

把切碎的废弃物装入喷放罐中,而后通入饱和蒸汽,经高压处理后,从罐中喷出,喷出的饲料称为热喷饲料。而高压处理后突然降压迅速排出,得到疏松、多孔的产品则为膨化。膨化处理与热喷的不同之处在于膨化最后有一个降压过程。

热喷蛋鸡饲料可提高5%以上产蛋率,热喷饼粕可以脱毒,只是文中未提及废弃物的合适使用比例^[8]。经膨化处理,玉米秸、豆秸、棉花秸粗纤维含量分别降低约8%、17.67%、27.54%,玉米秸、豆秸中ADF含量和无氮浸出物分别降低约3%和10%、9.20%和31.54%^[9]。

1.6 蒸汽爆破

蒸汽爆破将渗进植物组织内部的蒸汽分子瞬时释放,使蒸汽内能转化为机械能并作用于生物质组织细胞层间,促进半纤维素、纤维素和木质素

的降解,使废弃物更适合作为动物饲料。

Liu等研究发现,蒸汽爆破处理后,木薯酒精渣、酒糟、菜籽粕和马铃薯淀粉渣的营养价值和体外干物质消化率均有不同程度的提高^[10]。蒸汽爆破处理降低了NDF、ADF、有效细胞壁和缓慢降解蛋白质的含量,增加了总可消化养分、可消化能、代谢能、维持净能和增重净能、糖、非结构性碳水化合物等。

1.7 制粒与压块

将含水率为15%~17%的原料经初清粉碎后,按配方加入一定比例的原饲料和添加剂并充分混合,经调质处理,进入制粒机/压块机制成颗粒、块状饲料,经干燥、冷却处理后作为成品。

1.8 照射

采用远红外线、激光照射后可使秸秆的粗纤维含量减少,无氮浸出物的含量增加。这种操作简便,但设备价格高,在生产上难以推广应用。开发低廉高效的远红外设备是今后废弃物处理的一个方向。

2 化学法

化学处理主要有利用氢氧化钠、生石灰、或氢氧化钠与生石灰混合进行碱化的方法,以及液氨、尿素、碳酸氢铵和氨水等氨化方法。化学法处理所得废弃物饲料主要适用于反刍动物,对单胃动物不合适。

2.1 碱化

碱化能将木质素转变为易于溶解的羟基木质素,使细胞壁间的镶嵌物质与细胞壁松散,容易被纤维素酶和各种消化液所穿透,以提高废弃物的消化率。单独使用碱化处理后的废弃物易发霉变质,不易保存。

2.1.1 湿碱化法

湿碱化法是将废弃物浸泡在1.5%的氢氧化钠溶液中,浸泡24~48 h后,除去多余的碱液,再用清水反复清洗。在清水冲洗过程中,有机物及其他营养物质损失较多和污水量大,污染环境,因此较少应用。

2.1.2 干碱化法

用30%~40%的碱溶液喷洒在粉碎的废弃物上,堆积数日后不经冲洗,直接饲喂反刍动物。不

需清水冲洗,可减少营养损失,也便于机械化生产。但长期饲喂,会使土壤碱化。在实际生产中,此法国内外应用广泛。碱性物质残留较多易引起动物饮水与排尿增加,对环境有一定污染。

2.1.3 石灰水碱化

用石灰石澄清液浸泡切碎的废弃物,经24 h浸泡后,捞出并沥出多余水分,24~36 h后饲喂动物。但用水量大,优点是成本低廉,原料丰富。石灰水可重复利用,只是后续需要添加生石灰调整浓度。沥干过程收集多余水分,后续加酸中和。

郭望山等报道,氢氧化钙可有效降低甘蔗渣中NDF、ADF及木质素的含量,显著提高干物质和NDF消化率、96 h产气量和总挥发性脂肪酸含量^[11]。

2.2 氨化

废弃物中的有机物与氨发生氨解反应,破坏木质素与纤维素、半纤维素间的酯键结合,并形成盐,成为瘤胃微生物的氮源。同时,氨溶于水形成氢氧化铵,有碱化作用。氨化处理是通过氨化与碱化双重作用以提高废弃物的营养价值。常用的氨源主要有液氨、尿素、碳酸氢铵和氨水。氨化处理的缺点是对木质素分解效果差,氨损失多,贮存运输易挥发有毒的氨水或液氨需专用设备,投资大。

王彤佳等发现,尿素氨化处理的甘蔗尾干物质、NDF、ADF、纤维素、半纤维素和酸性洗涤木质素的体外消化率较高^[12]。芭蕉芋粉渣中粗纤维的含量随所采用的氨水浓度的增加而降低,随处理时间的增加而降低^[13]。用氨化甘蔗梢饲喂育肥肉牛,牛肉无异味,肉质细嫩,风味较好^[14]。

2.3 碱化与氨化复合处理

碱化与氨化复合处理废弃物,可较好地分解木质素,而且增加瘤胃微生物蛋白合成量,并克服了碱化导致粪便残留碱高和氨化对木质素软化作用差的缺点。碱化与氨化复合处理来源广、价格低、配制和使用方便。谢勇等采用尼龙袋法测定瘤胃降解率,用7%氢氧化钙、3%氢氧化钠和7%尿素处理甘蔗渣,破坏其纤维结构,降低纤维含量,提高纤维在瘤胃中降解率^[15]。

2.4 其他

Kumanda等用氢氧化钙或聚乙二醇干燥对叶

片进行处理,可降低单宁含量,且提高其消化率^[16]。焦亚硫酸钠可抑制酶催化和非酶促褐变反应。焦亚硫酸钠处理对保持果蔬废弃物的完整性和新鲜性、抑制微生物增殖、保存营养成分等方面具有较好的效果^[17]。

3 生物法

生物处理技术是指采用酶或采用能分泌有效酶类的微生物来降解废弃物中的纤维素,或利用生物体改变废弃物成分的技术。关键是在体外分解或破坏木质素及其与其他物质的紧密结合状态,使动物可以利用废弃物中可利用的营养物质。生物法应用广泛,生物法处理的废弃物适用于大部分动物,对单胃动物和反刍动物有益。

3.1 酶处理技术

利用纤维素酶制剂、木聚糖酶制剂或其复合制剂等酶制剂,消除或降解废弃物中的粗纤维与抗营养因子以提高消化利用率。酶处理反应产物的抑制效应,用单酶处理废弃物具有很大的局限性,多采用复合酶,而复合酶需考虑各单酶之间的协同性。酶处理后的废弃物不能长期保存,易腐败发臭。因此,酶处理技术多与其他技术配合使用。

3.2 微生物处理技术

微生物处理技术通过发酵过程中微生物分泌的酶降解废弃物中的粗纤维、抗营养因子,并将蛋白质降解为多肽,最终将废弃物发酵成易消化吸收的高活性生物饲料。微生物发酵降解剂主要由复合菌及其代谢产物,再加促进微生物发酵的制剂组成。微生物发酵技术降低了处理废弃物的生产成本,应用前景较好。微生物发酵方式有厌氧发酵与好氧发酵两种,现在的生产以厌氧与好氧组合固态发酵居多。固态发酵设备投资少,发酵产物富含酶类、菌体蛋白,处理简单,且无环境污染。

3.2.1 固态发酵技术

固态发酵主要是以菌种和废弃物按比例进行培养,改善废弃物适口性、营养价值的技术。固态发酵可增加农业饲料中蛋白质含量。真菌固态发酵可以通过酶的产生来提高纤维消化率。此外,木质纤维素材料的固态发酵可以提高瘤胃中膳食蛋白质的降解性,从而增加废弃物的价值。

Chebairi 等将白僵菌、平菇镰刀菌、木霉根霉菌和黑曲霉在橄榄饼上培养 15 d, 发现处理后橄榄饼蛋白质含量由 4.27% 可增加至 8.28%, 增幅达 94%, 酚类化合物含量显著下降, 总酚含量、总黄酮含量和总缩合单宁含量分别下降 43%、70% 和 42%^[18]。Mok 等研究表明, 用枯草芽孢杆菌 WX-17 发酵的豆渣, 总氨基酸含量由未发酵的 3.04±0.14 mg/g 增加到 5.41±1.21 mg/g, 总脂肪酸含量从 153.04±5.10 增加到 166.78±2.41 mg/g, 发酵后的抗氧化剂含量也提高了 6.4 倍^[19]。Liu 等研究报道, 与未发酵的废醋渣相比, 用嗜酸乳杆菌发酵的废醋渣含有较多的灰分、粗蛋白和真蛋白, 较少的粗脂肪, 类胡萝卜素显著增加 27 倍^[20]。

3.2.2 青贮技术

青贮是在厌氧环境中通过乳酸菌的大量繁殖, 将废弃物的淀粉和可溶性糖转化成乳酸, 一定浓度的乳酸便可抑制霉菌和酵母的生长, 达到长期保存的目的。但是, 传统青贮营养物质损失大, 开窖后易腐败。通过添加微生物青贮剂能够控制青贮饲料发酵模式, 减少青贮饲料损失, 改善青贮饲料适口性。青贮扩大饲料来源, 不受天气与季节的限制。

Xue 等研究表明, 香蕉副产物青贮混合料 pH 值较低, 有机酸含量较高, 香蕉副产品+玉米粉组干物质、粗蛋白、脂肪、钙含量显著升高, 灰分、NDF、ADF、ADL、缩合单宁含量显著降低, 对肉牛增重、采食量和饲料效率有显著影响^[21]。Yanti 等发现, 由稻草、玉米秸秆青贮、啤酒糟、豆腐渣、蒸玉米片和矿物混合物制成青贮料品质良好^[22]。Gholami-Yangije 等报道, 青贮能提高葵花渣中粗蛋白含量, 降低 NDF, 提高 ADF 含量, 饲料干物质摄入量、干物质和有机质消化率以及乳产量均随葵花籽渣青贮料水平的升高而降低^[23]。

3.2.3 单细胞蛋白技术

单细胞蛋白是以液体发酵为主, 通过菌种发酵废物后, 离心沉淀等取得的菌体蛋白。单细胞蛋白由酵母、细菌、真菌或微藻的微生物细胞组成。这些微生物可以利用各种废物作为营养和生长能量的来源, 生产富含蛋白质的生物量。农业废料可用于生产单细胞蛋白, 例如柠檬酸废料、菠萝罐头废水、山药皮、浓缩乳清、玉米秸秆、大豆糖

蜜等。细菌具有很高的蛋白质含量, 并且可在废弃物上快速生长, 对环境要求低。

Mahan 等用乳白僵菌菌株 DSM1069 和 PD630 以农业废弃物碳源(橘子浆、果汁和果皮; 柠檬浆、果汁和果皮; 玉米秸秆废水)为生长基质生产出富含蛋白质的细胞生物量^[24]。Ibarruri 等研究发现, 根霉菌对柑桔糖蜜的深层发酵使其生物量和蛋白质产量较高, 必需氨基酸和化学需氧量分别降低了 43.1% 和近 50%^[25]。

3.3 水生生物处理废水技术

水生生物(如藻类和浮萍)是生产富含蛋白质生物量和脂肪酸、色素、维生素等高价化合物的潜在来源。农业工业废弃物营养丰富, 是水生动物的潜在营养源。利用农业工业废物和废水进行种植, 循环利用宝贵的营养物质, 同时减少生产对淡水的需求。

斜生栅藻能够从不同的废水中去除营养物质, 可去除 95%~100% 氮、63%~99% 磷和 48%~70% 化学需氧量。利用废水的生物量生产力高于合成培养基, 以啤酒废水的冷冻干燥生物量最高, 产生的生物量都含有 31%~53% 蛋白质、12%~36% 糖和 8%~23% 脂质^[26]。

3.4 昆虫过腹技术

废弃物作为昆虫的饲养底物是一种可行方法, 以废弃物生产高蛋白质和能量的昆虫, 再将这些昆虫用作蛋白质饲料。豆渣、酿造啤酒花和玉米酒糟可用于昆虫饲养。昆虫商业饲养包括黑水虻、家蝇和黄粉虫。

Bava 等评估豆渣、玉米酒糟、啤酒糟作为黑水虻幼虫生长基质的应用, 粗蛋白和粗脂肪含量最高的是豆渣, 而啤酒糟的纤维含量最高^[27]。喂食母鸡饲料和玉米酒糟的幼虫的最终体重最高(分别为 2.29、1.97 g)。生长在豆渣上的幼虫表现出最高的废物减量和饲料转化率。蔬菜、水果废弃物和酒厂副产品可作为大规模生产黑水虻幼虫的饲养基质^[28]。

4 小结

综上所述, 将农业及农产品加工废弃物转化为动物饲料是可行的, 饲料化技术前景广阔。但是农业及农产品加工废弃物种类繁多, 部分饲料

化技术集中于对营养成分的改善的研究,对抗营养因子或适口性的研究不深入,动物试验方面研究较少,动物采食处理后的废弃物而累积的的污染物是否影响人体健康的探讨更是缺乏。这都会导致农业及农产品加工废弃物资源利用和处置的不足。废弃物饲料化技术应当从上述问题出发,结合工业化经验,将多种加工技术相互配合,更好地利用农业再生资源,充分发挥农业及农产品废弃物作为动物饲料成分的潜力。

参考文献:

- [1] NIKMARAM N, ROSENTRATER K A. Overview of Some Recent Advances in Improving Water and Energy Efficiencies in Food Processing Factories [J]. *Frontiers in nutrition*, 2019, 6: 20.
- [2] ZHANG X, ZHANG Y, IJIRI D et al. Evaluation of effects of the dry-heat-processed sweet potato waste as broiler feed [J]. *Animal Science Journal*, 2019, 90(11):1468-1474.
- [3] KLINGER A C K, PICOLLI DA SILVA L, de TOLEDO G S P, et al. Sweet potato vines in diets for growing rabbits on performance, carcass characteristics and meat quality [J]. *Animal Science Journal*, 2018, 89(11):1556-1560.
- [4] NATALELLO A, LUCIANO G, MORBIDINI L, et al. Effect of feeding pomegranate byproduct on fatty acid composition of ruminal digesta, liver, and muscle in lambs [J]. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2019, 67(16):4472-4482.
- [5] DAS N G, HUQUE K S, AMANULLAH S M, et al. Feeding of processed vegetable wastes to bulls and its potential environmental benefit [J]. *Animal Nutrition*, 2019, 5(1): 87-94.
- [6] CHIKWANHA O C, MUCHENJE V, NOLTE J E, et al. Grape pomace (*Vitis vinifera* L. cv. Pinotage) supplementation in lamb diets: Effects on growth performance, carcass and meat quality [J]. *Meat Science*, 2019, 147:6-12.
- [7] DUODU C P, ADJEI-BOATENG D, EDZIYIE R E, et al. Processing techniques of selected oilseed by-products of potential use in animal feed: Effects on proximate nutrient composition, amino acid profile and antinutrients [J]. *Animal Nutrition*, 2018, 4(4):442-451.
- [8] 刘晓华. 秸秆饲料加工处理的新途径——热喷[J]. *中国畜牧业*, 2014(23):59.
- [9] 杨建中, 张俊瑜. 膨化秸秆在动物饲料中的研究进展[J]. *草食家畜*, 2017(3):35-38.
- [10] LIU Y, REN X, WU H, et al. Steam Explosion Treatment of Byproduct Feedstuffs for Potential Use as Ruminant Feed [J]. *Animals*, 2019, 9(9):688.
- [11] 郭望山, 孟庆翔. 氢氧化钙处理对甘蔗渣化学成分及瘤胃发酵参数的影响[J]. *中国农业大学学报*, 2006(3):65-69.
- [12] 王彤佳, 刘园园, 黄忠勇, 等. 氨化、青贮秸秆饲料体外消化率比较[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2009(21):59-60.
- [13] 王永树, 江浩. 氨化处理芭蕉芋粉渣的营养成分分析[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2012(02):107.
- [14] 刘建勇, 黄必志, 王安奎, 等. 肉牛饲喂木薯渣及氨化甘蔗梢的育肥效果[J]. *中国牛业科学*, 2011, 37(5):13-16.
- [15] 谢勇, 邹霞青. 不同处理甘蔗渣纤维类物质的瘤胃降解特性[J]. *福建农林大学学报(自然科学版)*, 2002(2):238-243.
- [16] KUMANDA C, MLAMBO V, MNISI C M. Valorization of red grape pomace waste using polyethylene glycol and fibrolytic enzymes: Physiological and meat quality responses in broilers [J]. *Animals (Basel)*, 2019, 9(10):779.
- [17] AHMADI F, LEE Y H, LEE W H, et al. Preservation of fruit and vegetable discards with sodium metabisulfite [J]. *Journal of Environmental Management*, 2018, 224:113-121.
- [18] CHEBAIBI S, LERICHE GRANDCHAMP M, BURGÉ G, et al. Improvement of protein content and decrease of anti-nutritional factors in olive cake by solid-state fermentation: A way to valorize this industrial by-product in animal feed [J]. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 2019, 128(3):384-390.
- [19] MOK W K, TAN Y X, LEE J, et al. A metabolomic approach to understand the solid-state fermentation of okara using *Bacillus subtilis* WX-17 for enhanced nutritional profile [J]. *AMB Express*, 2019, 9(1):60.
- [20] LIU C, ZHANG L, YANG J, et al. Study on the nutritional value and ruminal degradation characteristics of fermented waste vinegar residue by *N. sitophila* [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2019, 51(6):1449-1454.
- [21] XUE Z, MU L, CAI M, et al. Effect of using banana by-products and other agricultural residues for beef cattle in southern China [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2019, 52:489-496.
- [22] YANTI Y, KAWAI S, YAYOTA M. Effect of total mixed ration silage containing agricultural by-products with the fermented juice of epiphytic lactic acid bacteria on rumen fermentation and nitrogen balance in ewes [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2019, 51(5):1141-1149.
- [23] GHOLAMI - YANGIJE A, PIRMOHAMMADI R, KHALILVANDI-BEHROOZYAR H. The potential of sunflower (*Helianthus annuus*) residues silage as a forage source in Mohabadi dairy goats [J]. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*, 2019, 10(1):59-65.
- [24] MAHAN K M, LE R K, WELLS T et al. Production of single cell protein from agro-waste using *Rhodococcus opacus* [J]. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 2018, 45(9):795-801.
- [25] IBARRURI J, HERNÁNDEZ I. Valorization of cheese whey and orange molasses for fungal biomass production by submerged

基于SWOT分析的广东 丘陵山区生态水产业发展对策研究 ——以河源为例

梅盈洁¹, 马艳平², 王硕文³, 李辉明³, 戴远棠⁴, 刘振兴^{2*}

(1.广东省农业科学院, 广东 广州 510640;

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

3.河源市水产技术推广站, 广东 河源 517000;

4.东源县水产技术推广站, 广东 河源 517500)

摘要:河源是广东典型的丘陵山区之一, 水库、河流、山区水塘等养殖水域丰富, 养殖品种以四大家鱼为主, 龟鳖、鳊鱼、鲟鱼等特色养殖为辅。渔业发展迅速, 取得了较好效益, 成为山区人民脱贫致富的重要产业, 但在发展中也存在产业链短、结构单一、科技支撑不足等问题。本文对河源丘陵山区生态渔业发展进行SWOT分析, 进一步提出加强山区渔业产业规划、引入培育龙头企业、加强品牌建设、加大科技支撑和渔业模式创新等对策。

关键词:SWOT分析; 丘陵山区; 生态渔业; 发展对策; 河源

中图分类号:S93 **文献标识码:**C **文章编码:**1005-8567(2020)06-0006-05

广东是山区面积较大, 其中丘陵山地面积占全省土地面积的62.43%^[1], 而河源市“八山一水分田”的自然条件是广东丘陵山区的典型代表^[2]。河源多年来逐步形成了以水库、池塘养殖“四大家鱼”为主, 龟鳖、鳊鱼、鲟鱼等特色水产养殖为辅的养殖结构, 渔业发展迅速, 取得较好效益, 发展形势较好。但仍存在生态渔业产业科技创新支撑缺乏、产业规划和经费投入不足、基础设施和人才培养等投入不足、渔业企业规模偏小和实力偏弱、养殖品种单一、产业链低端和产业链短等问题^[3, 4]。本文以河源作为广东丘陵山区代表, 对所辖东源、龙川、连平、和平、紫金县渔业推广部门和11家渔业企业进行调研, 进行SWOT分析并提出对策建

议。

1 河源丘陵山区渔业发展的现状分析

河源地处粤东北, 是农业大市。2018年河源市水产品总产量41827吨, 渔业总产值48186万元, 只占全市总产值的0.5%, 其中龙川县13262吨, 养殖产量居河源各区县首位。草鱼是全市养殖量最多的养殖品种, 2018年养殖产量为16563吨, 其次是鳊鱼、鲢鱼、罗非鱼, 经济价值高的养殖品种占比少^[5]。而珠三角渔业强市佛山市水产品总产值为675086吨, 相比之下, 河源市渔业产值还不到佛山市渔业产值的1/10, 全省渔业总产值833.54万吨, 河源市渔业产值占全省渔业产值的

收稿日期:2020-08-13

基金项目:广东省农业科学院分院推广项目(2019推广01-02);广东省农业科学院河源分院共建项目(2018共建12-02);广东省农业科学院河源分院共建项目(2019共建01-02)

作者简介:梅盈洁(1980-), 女, 博士, 研究方向为畜牧兽医和科技管理研究。E-mail:meiyingjie@gdaas.cn

*通讯作者:刘振兴(1981-), 男, 副研究员, 研究方向为水产病害防控。E-mail:liuzhenxing@gdaas.cn

0.5%。丘陵山区渔业发展受自然条件的限制大,但也有着平原地区不可比拟的有利因素和特色,河源山区渔业正逐步成为农民脱贫致富和当地经济发展的重要产业之一。近几年来,山区政府和农民对于山区渔业发展高度重视,河源山区渔业的产量稳步上升,规模发展迅速,养殖水平逐步提高,鳊鱼、龟鳖、鲟鱼、莫瑞斯鳕鱼等名特优品种养殖比重逐步加大,养殖模式基本上实现了单纯的水产养殖业与二、三产业嫁接,向垂钓、观赏、烧烤、休闲渔业发展。在国家乡村振兴、精准扶贫等政策和山区地方党委政府重视引导下,水产养殖积极性得到有效地激发,发展态势良好。

表1 河源市渔业基本情况表(2019)*

县区	产量(吨)	渔业产值(万元)	主要品种
东源县	8866	10915	四大家鱼、罗非鱼
龙川县	13182	13574	四大家鱼
连平县	5406	6463	四大家鱼
和平县	3880	4513	四大家鱼
紫金县	9317	11379	四大家鱼
源城区	1176	1341	四大家鱼
合计	41827	48186	

注:*数据来源,根据2019年河源市统计年鉴

2 河源丘陵山区渔业发展的SWOT分析

SWOT分析法又称为态势分析法,是由旧金山大学的管理学教授于20世纪80年代初提出来的,作为微观层面战略分析的有力工具,SWOT法通过将与研究对象密切相关的优势(Strength)、劣势(Weakness)、机会(Opportunity)、威胁(Threat)系统剖析,进行内外部资源与环境分析,进行要素有效配置,从而服务于研究对象决策和发展。

2.1 优势分析(strength)

河源丘陵山区具有“人无我有,人有我优”的水资源优势,尤其山泉水等高质量冷水资源丰富,具有山区生态环境优势、“成本洼地”和区位互补优势。

河源是广东重要的生态屏障和重要饮用水源地,拥有三大江(东江、新丰江、韩江)、两大库(新丰江水库、枫树坝水库),其中新丰江水库为华南

地区最大水库,水环境质量全省第一,新丰江水库、枫树坝水库一级水源保护区水质稳定保持地表水Ⅰ类标准^[6],同时河源山区地表水温度与珠三角相比偏低3℃左右,高质量山泉水冷水资源丰富。河源森林覆盖率达到73%,空气质量优良天数比例不低于97%^[7],无污染的生态环境对高端品种养殖和育苗孵化非常有利。且河源位于粤东西北地区,土地资源价格和劳动力成本相对低,毗邻粤港澳大湾区的大湾区优质农产品供给地的区位优势明显。

2.2 劣势分析(weakness)

丘陵山地交通不便、养殖设施落后、抗风险能力差,产业链短、品种类型少,水产品加工滞后,渔业科技支撑薄弱、健康养殖技术缺乏。

山区渔业养殖企业因交通等条件限制多呈散点分布,在走访的11家养殖企业中:除了1家养殖面积200多亩外,其他养殖面积均不超过100亩;养殖区域以土塘或庭院式养殖模式为主,和平、连平和龙川各有1个养殖场具有高标准养殖设施;养殖企业普遍缺乏水质、饲料、病害等监测诊断设备,养殖场池塘设计也不够科学;11家企业以养殖四大家鱼为主,龟鳖特色养殖增长较快,走访仅发现鳕鱼、鲟鱼两个高端养殖品种;养殖企业集中在养殖环节,在鱼苗繁育、流通、加工等环节企业数量少,只有2个鱼苗企业也以鱼苗标粗为主,繁育技术缺乏;5个龟鳖特色养殖场中仅3家有育苗孵化车间。在加工环节除少数有龟苓膏等副产品加工外基本无加工产品;11家水产养殖企业除少数以饲料、动保企业为技术依托外,在养殖技术、病害检验与防控和市场营销等方面缺乏专业人员和检测监测,养殖风险高;养殖人员文化素质普遍不高,85%以上的养殖户在高中以下文化程度;缺乏产供销一条龙、加工贸一体化的渔业龙头企业,养殖品种中“三品一标”少,未能形成品牌化。

2.3 机遇分析(opportunity)

创新驱动战略和乡村振兴战略实施为丘陵山区渔业发展带来强大的政策机遇,粤港澳大湾区规划上升为国家战略,为河源生态渔业发展带来了巨大的市场机遇,广东渔业整体优势为河源山区渔业发展带来了难得的转型机遇。

广东省高度重视乡村振兴战略实施,2018年

习近平总书记视察广东讲话也强调“要把握粤北生态发展区的功能定位,全力筑牢粤北生态屏障,把绿水青山变成金山银山”。省委省政府也明确了河源要走出生态河源、现代河源相得益彰的发展新路,并将“健康水产”列入河源“八大特色产业”发展规划。河源市毗邻粤港澳大湾区,市场区位优势为高标准、优质健康农产品的重要供给地建设注入强大动力,也有利于河源加快引进珠三角地区以及国内国际先进养殖技术品种和资本资金。根据《2020中国渔业统计年鉴》2019年广东水产品总量866.40万吨,首次跃居全国第一,在多个养殖品种产量、苗种产量、流通、渔用饲料产值等方面,斩获了多个第一,其中广东淡水鱼类养殖和池塘养殖产量位居全国第一。此外,广东因地理环境优越,水域资源丰富,形成了众多优势养殖品种,渔业流通和服务业产值全国第一^[8],广东渔业产业强势发展为河源山区渔业实现转型和产业提升带来了重要转型机遇。

2.4 挑战分析(threaten)

规模化、产业化渔业发展必然带来环保压力,作为粤北欠发达地区发展高效生态渔业面临巨大的资金压力,健康养殖技术研发和推广也面临本地科技资源不足和外部科技力量吸引力不足的双重挑战。

尽管河源在养殖场废弃物污染治理和环保设施投入上多年来持续发力,但城市化建设和养殖产业快速发展造成部分污水尚未得到有效处理利用,因此发展健康水产不仅防止外部污染进入养殖场,也要做好内部污水处理防止外排入水域,“内外”双重环保压力大,对养殖的环保配套设施、养殖投入品等都有更高要求。调研中也发现水产养殖企业普遍面临现金流短缺、难上规模、条件设施和人员力量不足和效益不佳等问题。同时本地基层水产技术人才队伍力量薄弱,人员年龄偏高,知识老化,队伍“青黄不接”,制约了健康养殖技术和水产新品种推广转化^[9]。在吸引外部科技力量方面,近年来尽管河源与国家省市科研机构不断加强科技合作,但最后没有基层农技培训力量的参与和跟进,没有形成能够快速反应的研发和推广体系,也在一定程度上制约了巨大生态优势转化为发展优势的步伐。

3 河源丘陵山区高效生态渔业发展对策

丘陵山区渔业要走上资源产业化和持续健康发展之路,关键在于创新,在于走好特色化、优质化、品牌化的道路,提升发展新理念,创新发展新模式,合理规划、科学布局,优化体制机制,激活政策、资本、技术的动能,走出一条高质量发展新道路。

3.1 科学规划渔业发展定位、发展路径和区域布局

要紧紧围绕乡村振兴战略和粤港澳大湾区战略实施,面向优质健康水产品的巨大市场需求,立足发挥河源水资源和山区生态环境优势,尤其是河源山区冷泉水独特资源优势,进一步提升高端养殖品种比重,加快发展鱼苗繁育产业。我国淡水养殖水面面积的40%左右分布在山区^[9],地处南海之滨的广东是全国光、热、水资源最理想,海岸线最长的省区之一,水生生物资源丰富,水产种苗繁育和研发水平领军全国,也成为中国最重要的水产种苗生产和交易基地。据统计2019年广东淡水鱼苗产量7774亿尾、海水鱼苗产量45.23亿尾、虾苗产量4968亿尾,均为全国第一位^[8]。在高端水产品养殖方面应以适合高质量山泉水养殖的高端品种为主、其他四大家鱼和龟鳖等为辅。发展路径以种苗繁育为重点,以渔业加工、流通销售企业为龙头,科学布局发展育苗销售、水产饲料、养殖、加工和贸易的全产业链,提高渔业产品附加值和单位效益。在传统养殖优势品种养殖技术水平和效益提升的同时,加快补足高端养殖和种苗繁育技术人才短板。围绕“高效、生态”建立与休闲产业、农旅结合以及循环生态种养结合等综合养殖方式。

同时要强化“重点突出、错位发展”的区域布局,如新丰江、枫树坝水库所在的主体县—东源县和龙川县作为水产养殖重点区域,把大水面的环境保护与开发经营有机融合,积极探索大水面的养殖利用,例如开展鲢鳙等滤食性鱼类的网箱天然放养,充分发挥水库的生态效益与经济效益^[10]。对于和平、连平、紫金等山区县在发展高端品种和种苗繁育等环节进行引导和布局,针对养殖规模小、环保压力大的现状,借鉴麦溪鲤的发展

思路,打造地标品牌。利用灯塔盆地相对平坦和居于五县之间的独特优势,可以在工厂化智慧渔业发展方面独辟蹊径,并集中建设高端水产品和种苗集散中心。同时争取建设1~2个省市级渔业现代农业产业园,集中布局水产品加工产业。

3.2 大力扶持河源渔业产业化发展和品牌化建设

针对环保压力、资金压力和科技资源压力等挑战,丘陵山区渔业发展要加强渔业产业化发展和品牌化建设,扶持水产龙头企业发展壮大,政府积极培育发展水产行业协会等行业平台中介组织,积极发挥行业协会在推动产业提升发展中的助推器作用。2019年河源市已发布“万绿河源”作为河源市农产品区域公用品牌,坚持“政府推动、市场拉动、企业带动、养殖户实施”的工作方针,大力推行渔业标准生产,实施产品牌渔业战略。扎实推进建立健全水产品质量标准体系,渔业标准化示范体系及服务体系,农产品检测体系等渔业标准化工作体系,建立一批渔业标准化基地以示范促进标准化生产的普及。政府要引导企业进行“三品一标”水产品品牌申报、商标注册工作,培育一批区域水产品品牌,打造万绿河源水产品品牌,好山好水养好鱼,讲好河源水故事,塑造高端水产品牌。

要围绕种苗、饲料、养殖设施、病害防控、加工、物流等环节,加大综合投入,重视引进和培育渔业龙头企业,尤其在渔业种业企业发展方面。支持渔业龙头企业优先发展,并形成龙头效应;充分挖掘上级主管部门的政策利好,加强与大专院校、科研院所的联系,积极联系河源籍企业家,主动拜访珠三角农业龙头企业与高新技术企业,介绍河源的水资源与环境优势,吸引资金、技术,加快河源水产养殖业发展。通过扶持山区水产企业、渔业庄园、水产养殖大户的培育和发展对推动山区渔业的快速发展,重点扶持科技含量高、经济效益好、生态模式优的水产养殖项目。同时,加大在山区道路、环保等渔业设施改造方面的资金扶持。

3.3 打造“科技+生态”的高效生态模式六大支撑体系

以“优化结构、提高效益”为中心,突出山区特色,以特色赢市场,以特色求效益,必须全力打造“科技+生态”的高效生态模式支撑体系,包括:种苗生产体系、病害监控防治体系、技术推广体系、水

质及水产品质量检测体系、市场服务体系、渔业法制体系。(1)种苗生产体系:种苗是水产业中科技含量最高、附加值最高的产业环节^[11],要合理布局、高标准、高质量建设1~2个种苗繁育核心场,从技术能力、基础设施方面支持并加大支持力度,提高新品种开发和育种能力,并将其建设达到承接国家省市水产良种推广示范任务的水平,并辐射带动一批扩繁场,承接县区水产种苗需求,健全的种苗生产体系是河源山区渔业核心竞争力提升的关键,同时优质种苗对外销售也可提高种苗生产效益。(2)病害监控防治体系:2018年,我国水产养殖因病害造成的测算经济损失约450亿元,约占渔业产值的3.5%^[12]。要推进水产养殖业树立疫病防控整体化和系统化思维,建设群防群治的病害防控体系,实现从因病施治到全程防控,从指导服务到技术赋能,不断提升水产养殖病害防控的手段和能力。同时针对丘陵山区特点要加强养殖区域管理模式,建立以相对封闭的水产养殖小区为载体的养殖组织管理,在统一水源处理、养殖生态养护、优良种苗和饲料提供、疫苗接种、疫病监测等养殖全过程的系列技术服务,带动养殖企业和农户改变养殖模式、推行标准化生产、确保产品质量。(3)技术推广体系:继续稳定发展水产技术推广机构,切实保障科技推广机构的公益性服务职能不出现缺失。强化河源渔业科技政科企联合攻关和协作机制,充分发挥研究机构、高校和技术推广部门的技术培训、技术咨询和技术服务的人才资源和职能作用,全面提升养殖者的绿色生产意识和技能。(4)水质及水产品质量检测体系:政府和行业协会加大宣传和监督,引导养殖户牢固树立质量安全意识,利用国家加强畜禽水产品质量检测能力建设的契机,完善水产品质量检测实验室配套和水产品质量监督监测网络建设,完善水产品质量安全标准体系和市场准入制度落实,完善定期抽检制度和产品质量安全可追溯制度。引导水产企业开展绿色、有机等产品认证,并对通过认证的给予奖补和扶持。(5)市场服务体系:引导和完善行业协会、产业联盟等产业化中介组织。建立健全水产学会和各类水产养殖协会,彰显其社会化服务职能,加强行业自我约束,自我规范,自我发展的能力。(6)渔业法制体系:目前渔政执法的重点是在自

然资源的管理方面, 现有的水产养殖执法队伍和管理水平还无法适应新形势下对水产养殖业规范管理的要求。政府部门应从加强渔业环境监测、鱼药鱼饲料的检验监督、水产品质量安全检测等方面的执法队伍建设, 有力支撑渔业健康发展。

4 小结

基于SWOT分析, 从挖掘优势、克服劣势、寻找机会和消除威胁的理念出发, 河源丘陵山区渔业发展应立足特色、优质和品牌, 实施四大传略: 一是SO战略(发挥优势, 利用机会), 科学规划定位高端养殖品种和苗种繁育产业, 加强万绿河源水产品品牌建设, 完善科技+生态六大支撑体系。二是WO战略(利用机会, 克服劣势), 加大政府主导、企业参与的山区渔业发展基础设施和质量安全体系建设, 引入和培育渔业龙头企业, 争取建设产业园1-2个, 发挥国家省市科研机构等力量, 加强科技推广和培训。三是ST战略(利用优势, 应对挑战), 加强渔业疫病监测防治体系和水产品质量安全体系建设; 支持行业协会和产业联盟等中介组织壮大, 引导行业自我发展; 利用国家乡村振兴和精准扶贫等政策引导科技资源下沉的机遇, 科学布局规划产业发展路径和重点, 贯彻落实。四是WT战略(减少劣势, 回避挑战)明确山区渔业发展定位、重点和布局, 分布完善基础设施条件; 以龙头企业带动, 加强苗种繁育产业和加工环节, 延

长产业链; 强化“科技+生态”的山区高效生态渔业发展模式, 科技引领, 政策引导科技资源向本地聚集。

参考文献:

- [1] 廖一玲. 粤丘陵山区农机社会化服务研究--以龙川县为例[D]. 硕士学位论文. 广州: 华南农业大学. 2016.
- [2] 饶佳宁. 绿色崛起视野下粤北山区发展幸福导向型产业的几点思考[J]. 绿色科技, 2016, 8: 217-219.
- [3] 钟天喜. 河源市渔业发展现状及对策[J]. 现代农业科技, 2018, 8: 270-271.
- [4] 金亚平. 水产养殖绿色发展要建好疫病防控体系[J]. 海洋与渔业, 2019, 4: 63-65.
- [5] 河源 2019 统计年鉴[EB/OL]. 河源市人民政府网站 <http://www.heyuan.gov.cn/>. 2019.
- [6] 李可见, 黄芳芳, 张卫强, 等. 新丰江水库及库区地表水水质分析与评价[J]. 林业与环境科学, 2018, 34(3): 6-13.
- [7] 肖小爱. 粤港澳大湾区背景下推动粤北地区工业产业发展的思考--以河源为例[J]. 广东开放大学学报, 2019, 1: 23-27.
- [8] 农业农村部渔业渔政管理局等. 2020 中国渔业统计年鉴[M]. 中国农业出版社. 2020.
- [9] 曾宪斌. 对山区渔业发展的几点理性思考[J]. 渔业致富指南, 2005, 19: 13-16.
- [10] 孙建富, 胡亚东, 张剑波, 等. 调水调沙的小浪底水库中大规格鳊网箱生态养殖[J]. 水产学杂志, 2017, 30(05): 43-46.
- [11] 石凤翔. 关于进一步加强湖北省水产苗种生产和技术推广体系建设的思考[J]. 渔业致富指南, 2011, 24: 19-22.
- [12] 崔利锋. 2019 中国水生动物卫生状况报告[M]. 中国农业出版社. 2019.

上接第5页

- fermentation with *Rhizopus* sp. [J]. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 2019, 42(8): 1285-1300.
- [26] FERREIRA A, MARQUES P, RIBEIRO B, et al. Combining biotechnology with circular bioeconomy: From poultry, swine, cattle, brewery, dairy and urban wastewaters to biohydrogen [J]. *Environmental Research*, 2018, 164: 32-38.
 - [27] BAVA L, JUCKER C, GISLON G, et al. Rearing of *Hermetia illucens* on Different Organic By - Products: Influence on Growth, Waste Reduction, and Environmental Impact [J]. *Animals*, 2019, 9(6): 289.
 - [28] MENEGUZ M, SCHIAVONE A, GAI F, et al. Effect of rearing substrate on growth performance, waste reduction efficiency and chemical composition of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2018, 98(15): 5776-5784.

经济昆虫和蚯蚓处理农业废弃物研究进展

容庭¹, 张洁², 刘志昌¹, 余苗¹, 李贞明^{1,2},
崔艺燕¹, 邓盾¹, 杜宗亮^{1,2}, 马现永¹, 李家洲^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所; 畜禽育种国家重点实验室; 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室; 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室; 广东畜禽肉品质量安全控制与评定工程技术研究中心, 广东广州 510640;
2. 岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心, 广东 茂名 525000)

摘要: 农业废弃物的资源化利用是我国当前面临科技攻关的重要问题。农业废弃物处理的方式手段一般采用微生物处理技术, 但达不到资源高效利用的目的。经济昆虫和蚯蚓在农业废弃物处理方面, 呈现出强劲的生物处理与转化能力。常见的经济昆虫有黑水虻、家蝇及蟑螂, 在养殖废弃物和餐厨垃圾方面, 具有很强的处理能力; 蚯蚓在养殖废弃物重金属、农药聚集等处理方面, 呈现出强劲的生物转化能力。因此, 笔者就经济昆虫和蚯蚓处理农业废弃物方面进行阐述, 为农业废弃物高效利用和无害化处理方面提供参考。

关键词: 经济昆虫; 蚯蚓; 农业废弃物; 资源化利用; 可行性分析

中图分类号: S89 **文献标识码:** B **文章编码:** 1005-8567(2020)06-0011-05

农业废弃物的循环高效利用是世界各农业大国共同面临的问题。我国农业废弃物种类多, 数量庞大, 导致环境污染十分严重。据悉, 当前我国农业废弃物数量惊人达60亿吨, 畜禽粪污每年产量约38亿吨, 养殖粪污资源约占农业废弃物资源的60%, 但资源综合利用率不足40%。如能将这些农业废弃物变为发酵饲料和有机肥, 将产生巨大的经济、社会和生态效益。

昆虫和蚯蚓在处理农业废弃物及环境保护中起到举足轻重的作用。昆虫主要有弹尾目、双翅目、鞘翅目中的拟步甲科和金龟甲科等昆虫。农业废弃物、餐厨垃圾等废弃物经昆虫和蚯蚓过腹后, 在生物体内的微生物、酶等特殊环境的消化和降解作用下, 转化成高附加值产品用到农业生产中, 实现废弃物高效循环利用。在农业废弃物和餐厨垃

圾处理应用方面, 常见的有蚯蚓及经济昆虫有黑水虻、家蝇及蟑螂。

1 蚯蚓

1.1 品种特性

蚯蚓有12个科, 181个属, 6000多种^[1]。蚯蚓品种按用途划分为五大类: 林用蚯蚓, 如威廉环毛蚓; 肉或粪用蚯蚓, 如爱胜属类; 饵料用蚯蚓, 如湖北环毛蚓; 农田用产粪肥蚯蚓, 如白茎环毛蚓; 药材用蚯蚓, 如参环毛蚓; 按生活习性及功能作用可分3大类, 分别为表栖类、内栖类和深栖类, 不同类别的品种其习性和功能作用存在差异。其中, 表栖类品种适用于农业等废弃物处理。

表栖类品种环境适应能力、生长繁殖力较强, 喜采食含有机质的废弃物, 是转化处理废弃物的

收稿日期: 2020-08-24

基金项目: 英德市科技计划项目(JHXM2019024); 广州市民生科技攻关计划项目(201903010083, 202002020077); 2018年英德市科技计划项目(JHXM2018053), 院人才培养项目(201803)

作者简介: 容庭(1983-), 男, 硕士, 高级畜牧师, 主要从事生态养殖与环境控制研究。E-mail: 155320782@qq.com

*通讯作者: 李家洲(1976-), 男, 博士, 教授, 从事生态养殖与环境互作研究。E-mail: 17213201@qq.com

最适品种^[2]。据报道,表栖类品种较其它品种在分解处理秸秆、牛粪、厨余垃圾等混合物料方面有明显的优势^[3]。目前,爱胜蚓属类品种是国内外研究者探索最多、应用最广的品种,其生命力顽强、生长繁殖能力及适应环境能力较强,尤其在农业废弃物转化方面有优势^[4]。廖新倬等人比较了3个品种蚯蚓在生长繁殖、处理腐熟的猪粪和牛粪方面,发现3种蚯蚓均能适应复杂的基质,本地品种的适应能力明显优于其它2种,而大平2号品种的生长繁殖能力优于澳洲1号^[5]。此外,研究证实,蚯蚓在养殖废弃物重金属、农药聚集等处理方面,呈现出强劲的生物转化能力。

1.2 蚯蚓处理农业废弃物可行性分析

1.2.1 国外研究现状

发达国家蚯蚓养殖发展迅猛,养殖规模基本实现“工厂化”和“规模化”,如美国、日本、加拿大、英国、德国、澳大利亚等国家养殖蚯蚓基本实现“商品化”生产。在蚯蚓转化废弃物方面,发达国家将蚯蚓处理奶牛粪污作为一项新型产业来发展。

国外养殖蚯蚓,一般采用纯牛粪养殖,但需要严格控制湿度。牛粪湿度在75%~90%,蚯蚓生长性能较好^[6-8]。用发酵新鲜牛粪饲喂蚯蚓,显著提高蚯蚓生长及繁殖性能^[9, 10]。也有研究发现,利用纯牛粪养殖蚯蚓效果明显好于污泥养殖,蚯蚓能高效降解堆肥粪污^[11, 12]。以上资料充分说明了利用养殖蚯蚓降解牛粪污的可行性。

1.2.2 国内研究现状

我国蚯蚓养殖始于80年代初期,发展步伐相对滞后。据统计全世界约有27000多种蚯蚓,而我国约有160多种。我国主要以日本大平2号蚯蚓品种为主^[13]。最先引进“太平2号”养殖的城市是上海市。1977~2004年期间,蚯蚓养殖呈现“高-低-高”的变化趋势。

2004年天津贾立明蚯蚓养殖有限公司成立了天津市宁河县蚯蚓养殖协会,旗下共有15个养殖基地,总面积达3500亩。在国内利用奶牛粪污养殖蚯蚓也较普遍。新鲜猪粪、鸡粪、牛粪、果渣等基料均不适于直接作为蚯蚓的饵料,新鲜基料水分含量过高、不透气、易产生有害物质和气体,导致蚯蚓大批量死亡^[14, 15],因此,要充分发挥蚯蚓生长繁殖性能,通过发酵和科学配比蚯蚓饵料,控制

饵料湿度(65%~75%),才能达到预期的养殖目的^[16]。国内有报道,用发酵粪便如牛粪、猪粪及鸡粪饲养养殖蚯蚓是可行的^[14, 15, 17]。以上资料说明了利用养殖蚯蚓降解牛粪污、猪粪及鸡粪的可行性。

2 黑水虻

2.1 品种特性

黑水虻,腐生性的水虻科昆虫,原产于美洲,近来引入我国,目前广泛分布于我国贵州、广西、广东、云南、湖南、湖北等地。黑水虻从卵到成虫,共经历四个时期,交配产卵期、幼虫期、蛹化期及羽化成虫期,生长周期约40~49天,幼虫期分为6个龄期;生长适宜温度为20~30℃。黑水虻以餐厨垃圾、动物粪便、动植物尸体等腐烂的有机物为食。目前,利用农业废弃物养殖黑水虻的技术已成为广大科技工作者的研究焦点。

黑水虻幼虫可以将丰富多样的有机废弃物中转化为稳定的生物肥料和生物质,包括动物粪便、餐厨垃圾、市政污泥、酒糟、秸秆、甚至是填埋产生的有机渗滤液^[18-25]。同时,黑水虻可将禽畜粪便和餐厨垃圾中的营养物质转化为自身的粗蛋白和脂肪,也可以作为畜禽和鱼类的优质活体饲料^[26-31]。此外,黑水虻处理不同的废弃物,可产生不同抑菌活性的广谱抗菌肽,可杀灭或减少多种病原体^[32]。

2.2 黑水虻处理农业废弃物可行性分析

2.2.1 黑水虻处理粪便的研究现状

利用黑水虻处理禽畜粪便简单来讲,就是将禽畜粪便作为黑水虻的食物,经黑水虻过腹转化禽畜粪便,转化成高质量的昆虫蛋白饲料或易被植物吸收的有机肥,实现废弃物的无害化、减量化和资源化利用。

黑水虻取食粪便有机物发生在其幼虫阶段。国外,早在1983年Sheppard等采用黑水虻处理猪粪,获得预蛹可作为动物饲料^[33]。随后陆续有研究发现,用黑水虻处理牛粪、猪粪和鸡粪,均转化获得高附加值产品^[34, 35]。Moula等人研究也得出相同的结论,黑水虻能够高效转化猪粪、鸡粪、马粪及牛粪^[36-38]。

国内,有诸多研究表明,用黑水虻处理发酵猪

粪、新鲜猪粪、鸭粪等动物粪便,转化后除了获得优质蛋白饲料资源外,还获得高品质的有机肥,并且转化后粪便的臭味明显消除^[39-41]。

2.2.2 黑水虻处理餐厨垃圾的研究现状

据报道,我国规模化城市每天产生餐厨垃圾的数量惊人,每年数量超过6000万吨^[42]。国内餐厨垃圾处理技术主要有物理法、化学法、生物法等,具体处理技术有填埋、焚烧、堆肥、发酵等方式,其资源化再利用呈现多样化的趋势。然而,填埋、焚烧、堆肥等技术均存在不足,导致环境生态破坏和餐厨垃圾转化价值的利用不足。

餐厨垃圾是多种生活废弃物的混合体,含大量有机质、纤维、水分、油脂、盐等,具有较高的生物转化利用价值。鉴于此,联合国粮食及农业组织(FAO)2013年发布《可食用昆虫粮食和饲料安全的未来前景》(第171号林业文件)报告中极力推荐采用黑水虻转化处理餐厨垃圾,且关于这方面的应用研究也逐年受重视,呈现出良好的发展前景。然而近几年关于黑水虻处理餐厨垃圾的报道较少,但报道显示,黑水虻幼虫处理餐厨垃圾的技术是可行的^[30, 42-44]。

综上所述,黑水虻处理粪便和餐厨垃圾的技术值得深入研究与应用。

3 家蝇

3.1 品种特性

家蝇(*Muscadomestica*)属于双翅目,蝇科昆虫,是一种世界性的卫生害虫,其分布广、生活周期短、适应性和繁殖力强,但同时也是自然生态系统腐食食物链中的重要分解者。蝇蛆为苍蝇的幼虫,蝇蛆生长快速,嗜食畜禽粪便,幼虫含有丰富的营养成分,饲用营养价值极高。家蝇具有强大的生态转化功能和作用。家蝇可将猪粪、鸡粪、牛粪、人粪、生活垃圾、酒糟、麦麸、谷糠、发酵的作物秸秆等快速转化为蛋白质。

3.2 家蝇处理农业废弃物可行性分析

据报道,小规模试验发现,经实验室饲养的家蝇转化后,猪粪的总氮、总磷和总钾含量分别为2.03%、2.9%、0.55%;鸡粪的分别为1.85%、1.78%、0.19%^[45]。而规模化饲养的家蝇转化效果远优于小规模,其转化后的猪粪的总氮、总磷和总钾的

含量分别为3.36%、4.66%和2.7%,肥效好于膨松剂^[46]。家蝇能够高效转化猪粪、鸡粪、牛粪,蝇蛆转化畜禽粪便获得较好的产蛆率^[45, 47]。龙坤等报道,用鲜猪粪饲喂蝇蛆效果要好于鲜鸡粪^[45],而Cai等用鲜家禽粪能获得高的产鲜蛆量^[48],分析其可能的原因在于产蛆的生物量可能与粪便批次及蝇类种群有关。也有报道发现,家蝇对牛粪的选择偏好超过了马粪、驴粪、鸡粪和人工饲料^[49]。畜禽粪污经家蝇幼虫处理转化后,粪污结构和理化性质发生显著的改变,粪污的重量分别下降约44%和27%,且粪便经过降解后臭味物质明显减少、质地由团状变为松散^[45]。

规模化、集约化饲养家蝇,利用其生态功能高效转化畜禽粪便等有机废物,获得蝇蛆优质动物蛋白,有效地将环境治理和资源开发有机结合起来,推进畜禽粪便资源化利用。

4 蟑螂

4.1 品种特性

蟑螂,泛指属于“蜚蠊目”(学名)的昆虫,属于节肢动物门、昆虫纲、蜚蠊目(Blattaria),俗称蟑螂。全世界蟑螂品种约3500种,其中我国已发现168种。我国最常见且有饲养利用价值的有美洲大蠊、澳洲大蠊和德国小蠊^[50]。

4.2 蟑螂处理农业废弃物可行性分析

近年来,蟑螂的研究主要集中在蟑螂药用价值的开发方面,其药用价值较高。随着蟑螂应用价值的深入研究和挖掘,势必带动蟑螂的商业价值。利用蟑螂处理粪便或餐厨垃圾的报道很少,据网上报道,济南市章丘区宁家埠街道明家村的餐厨垃圾生物处理中心,2017年利用养殖美洲大蠊来处理餐厨垃圾,养殖蟑螂养殖量达300多吨,日处理餐厨垃圾15吨;2019年扩建蟑螂养殖基地,规模可达4000吨,蟑螂约40亿只,日处理餐厨垃圾200吨。因此,利用蟑螂处理餐厨垃圾技术已实现产业化发展,充分肯定了利用美洲大蠊可高效、快速、无污染转化餐厨垃圾,实现餐厨垃圾高效循环利用,同时推动蟑螂产业的规模化发展。

5 小结与展望

随着我国农业快速发展,农业废弃物排放量

也日益呈现出增长态势。党中央、国务院高度重视,农业农村部、发改委、财政部、环境保护部等六部门联合发布《关于推进农业废弃物资源化利用试点的方案》(2016年),有必要彻底实现农业废弃物处理与高效利用,促进畜牧业绿色发展。

目前,农业废弃物处理与利用模式方面,主要集中在固体粪便堆肥利用、沼气、发酵饲料、基料生产,每种模式均有优缺点,未能够全面解决好源头污染大的问题。农业废弃物资源化利用和经济昆虫饲养技术的结合有望成为高效、低污染处理农业废弃物的主要模式。因此,要彻底实现农业废弃物处理与高效循环利用,须大力发展与培育创新型企业,加大技术投入力度,提高国外市场竞争力。

参考文献:

- [1] 郑百龙, 郑慧芬, 许标文. 蚯蚓转化利用畜禽废弃物研究进展综述[J]. 福建农业科技, 2014, 9:66-68.
- [2] 王玉洁, 朱维琴, 金俊, 等. 农业固体有机废弃物蚯蚓堆制处理及粪粪应用研究进展[J]. 湖北农业科学, 2010, 49(3): 722-725.
- [3] TRIPATHI G, BHARDWAJ P. Comparative studies on biomass production, life cycles and composting efficiency of *Eiseniafetida* (Savigny) and *Lampitomaureitii* (Kinberg) [J]. *Bioresource Technology*, 2004, 92(3):275-283.
- [4] AIRA M, MONROY F, DOMINGUEZ J. Changes in bacterial numbers and microbial activity of pig slurry during gut transit of epigeic earthworms [J]. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, 162(2-3):1404-1407.
- [5] 廖新伟, 吴银宝, 谢贺清, 等. 不同蚯蚓对猪粪、牛粪利用特性及生长繁殖比较[J]. 福建畜牧兽医, 1999, (04):8-9.
- [6] LYNETTE H, VIJJOEN S A, REINECKE A J. Moisture requirements in the life cycle of *Perionyxexcavatus* (Oligochaeta) [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 1992, 24(12): 1333-1340.
- [7] REINECKE A J, VENTER J M. Moisture preferences, growth and reproduction of the compost worm *Eiseniafetida* (Oligochaeta) [J]. *Biological and Fertility of Soils*, 1987, 3(1): 135-141.
- [8] GUNADI B, EDWARDS C A. The effects of multiple applications of different organic wastes on the growth, fecundity and survival of *Eiseniafetida* (Savigny) (Lumbricidae) [J]. *Pedobiologia*, 2003, 47(4):321-329.
- [9] GUPTA R, MUTIYAR P K, RAWAT N K, et al. Development of a water hyacinth based vermireactor using an epigeic earthworm *Eiseniafetida* [J]. *Bioresource Technology*, 2007, 98(13): 2605-2610.
- [10] FUQIANG LONG, GEN XIAN SHEN, HAO TANG, et al. Preparation method of decomposed cow dung culture medium for breeding earthworm. CN101791068.[P].2010. 03. 09.
- [11] ANNA KOUBOVÁ, ALICA VÁCLAVPIŽL MLGUEL, ANGEL SÁNCHEZ - MONEDERO, et al. The effects of earthworms *Eiseniaspp.* on microbial community are habitat dependent [J]. *European Journal of Soil Biology*, 2015, 68.
- [12] ELVIRA C, SAMPEDRO L, BENITEZ E, et al. Vermicomposting of sludges from paper mill and dairy industries with *Eiseniaandrei*: A pilot - scale study [J]. *Bioresource Technology*, 1998, 63(3): 205-211.
- [13] 檀晓萌. 无土养殖蚯蚓饲料、基料配方的筛选[D]. 硕士学位论文. 保定:河北农业大学, 2015.
- [14] 孟现成. 蚯蚓规模化高效养殖技术[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2018, 34(6):152.
- [15] 廖威, 唐思, 钟梅清, 等. 蚯蚓规模化高效养殖关键技术[J]. 南方农业, 2017, 11(12):88-89.
- [16] 仓龙, 李辉信, 胡锋, 等. 赤子爱胜蚯蚓处理畜禽粪的最适湿度和接种密度研究[J]. 农村生态环境. 2002(03):38-42.
- [17] 冯春燕, 赵瑞廷, 栾冬梅. 牛粪好氧发酵程度对蚯蚓生长和繁殖性能的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2012, (5):71-73.
- [18] LALANDER C H, FIDJELAND J, DIENER S, et al. High waste-to-biomass conversion and efficient *Salmonella spp.* reduction using black soldier fly for waste recycling [J]. *Agronomy for Sustainable Development*, 2015, 35:261-271.
- [19] NEWTON L, SHEPPARD C, WATSON D W, et al. Using the black soldier fly, *Hermetiaillucens*, as a value-added tool for the management of swine manure [J]. *Animal and Poultry Waste Management Center*. North Carolina State University. Raleigh. NC. 2005, 17.
- [20] BYRD J H, ALLEN J C. The development of the black blow fly, *Phormiargin*. (Meigen) [J]. *Forensic Science International*. 2001, 120(1):79-88.
- [21] WANG H, SANGWAN N, LI H Y, et al. The antibiotic resistance of swine manure is significantly altered by association with the *Muscadomestica* larvae gut microbiome [J]. *IsmeJournal*, 2017a, 11:100-111.
- [22] NGUYEN T T X, TOMBERLIN J K, VANLAERHOVEN S. Ability of Black Soldier Fly (Diptera: Stratiomyidae) Larvae to Recycle Food Waste [J]. *Environmental Entomology*, 2015, 44: 406-410.
- [23] WEBSTER C D, RAWLES S D, KOCH J F, et al. Bio-Agreutilization of distiller's dried grains with solubles (DDGS) as a substrate for black soldier fly larvae, *Hermetiaillucens*, along with poultry by-product meal and soybean meal, as total replacement of fish meal in diets for Nile tilapia, *Oreochromismiloticus* [J]. *Aquaculture Nutrition*. 2016, 22:976-988.
- [24] ZHENG H, POWELL J E, STEELE M I, et al. Honeybee gut

- microbiota promotes host weight gain via bacterial metabolism and hormonal signaling [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* [J]. 2017, 114:4775-4780.
- [25] POPA R. GREEN T R. Using Black Soldier Fly Larvae for Processing Organic Leachates [J]. *Journal of Economic Entomology*. 2012, 105:374-378.
- [26] 张杰, 温逸婷, 高正辉, 等. 黑水虻的资源化利用研究现状 [J]. *应用昆虫学报*. 2019. 56(5): 997-1006.
- [27] CUTRIGNELLI MI. MESSINA M. TULLI F. RANDAZZOB, et al. Evaluation of an insect meal of the black soldier fly (*Hermetia illucens*, a soybean substitute: Intestinal morphology, enzymatic activity, and microbiota in laying hens [J]. *Research in Veterinary Science*, 2018, 117: 209-215.
- [28] 张放, 朱建平, 张政, 等. 黑水虻虫粉对育肥猪生长性能、血清指标和养分消化率的影响 [J]. *河南农业科学*. 2017, 46(6): 130-133, 146.
- [29] 张放, 杨伟丽, 杨树义, 等. 黑水虻虫粉对生长猪生长性能和血清生化指标的影响 [J]. *动物营养学报*. 2018, 30(6): 2346-2351.
- [30] 胡俊茹, 王国霞, 黄燕华, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、体组成和血清生化指标的影响 [C]. 中国畜牧兽医学动物营养学会第七届中国饲料营养学术研讨会. 中国, 河南, 郑州. 2014.
- [31] 刘世胜. 黑水虻幼虫替代鱼粉在鲤鱼饲料中的应用研究 [D]. 硕士学位论文. 杨凌: 西北农林科技大学. 2016.
- [32] VOGEL H. MULLER A. HECKEL D G. et al. Nutritional immunology: Diversification and diet-dependent expression of antimicrobial peptides in the black soldier fly & *Hermetia illucens* & *IT* [J]. *Developmental and comparative immunology*, 2018, 78: 141-148.
- [33] SHEPPARD C. Housefly and lesser fly control utilizing the black soldier fly in manure management-systems for caged laying hens [J]. *Environmental Entomology*, 1983, 12: 1439-1442.
- [34] LI Z G. TAN L H. LAI J X, et al. Application prospects of the tropical agricultural waste biotransformation using black soldier fly [J]. *Journal of Tropical Organisms*. 2011. 2(3): 287-290.
- [35] REHMAN K U. REHMAN A. CAI M. et al. Conversion of mixtures of dairy manure and soybean curd residue by black soldier fly larvae (*Hermetia illucens* L.) [J]. *Journal of Cleaner Production*. 2017, 154: 366-373.
- [36] MOULA N. SCIPPO M-L. DOUNY C, et al. Performances of local poultry breed fed black soldier fly larvae reared on horse manure [J]. *Animal Nutrition*. 2018. 4: 73-78.
- [37] XIAO X. MAZZA L. YU Y, et al. Efficient co-conversion process of chicken manure into protein feed and organic fertilizer by *Hermetia illucens* L. (Diptera: Stratiomyidae) larvae and functional bacteria [J]. *Journal of Environmental Management*. 2018. 217: 668-676.
- [38] OONINCX DGAB. VAN HUIS A. VAN LOON JJA. Nutrient utilisation by black soldier flies fed with chicken, pig, or cow manure [J]. *Journal of Insects as Food and Feed*. 2015. 1: 131-139.
- [39] 陈海洪, 张磊, 张国生, 等. 黑水虻处理新鲜猪粪效果初探 [J]. *江西畜牧兽医杂志*, 2018, (4): 25-28.
- [40] 杨树义, 李卫娟, 刘春雪, 等. 发酵猪粪对黑水虻转化率的影响及黑水虻幼虫和虫沙营养成分测定 [J]. *安徽农业科学*, 2016, 44(21): 69-73.
- [41] 余峰, 夏宗群, 管业坤, 等. 黑水虻处理鸭粪效果初探 [J]. *江西畜牧兽医杂志*, 2018, (2): 15-17.
- [42] 安新城. 黑水虻生物处置餐厨废弃物的技术可行性分析 [J]. *环境与可持续发展*. 2016. (3): 92-93.
- [43] 代发文, 葛远凯, 梁伟才, 等. 黑水虻处理餐厨垃圾浆料的生产性能及其幼虫生长发育规律研究 [J]. *养猪*, 2017. (6): 72-75.
- [44] 柴志强, 朱彦光. 黑水虻在餐厨垃圾处理中的应用 [J]. *科技展望*, 2016, 26(22): 321.
- [45] 龙坤, 朱芬, 雷朝亮. 蝇蛆转化畜禽粪便的生态效应和低碳效应研究 [C]. 第二届食用昆虫与微生物转化废弃物及资源化利用研讨会论文集, 2014.
- [46] ZHU FX. YAO YL. WANG SJ. et al. Housefly maggot-treated composting as sustainable option for pig manure management [J]. *Waste Management*. 2015. 35: 62-67.
- [47] HUSSEIN M. PILLAI VV. GODDARD JM. et al. Sustainable production of housefly (*Musca domestica* larva) as a protein-rich feed ingredient by utilizing cattle manure [J]. *Plos One*. 2017. 12(2): e0171708.
- [48] CAI Z Z. YANG D P. WU S Q. et al. Conversion of poultry manure to biodiesel: a practical method of producing fatty acid methyl ester via housefly (*Musca domestica* L.) larval lipid [J]. *Fuel*. 2017. 210: 463-471.
- [49] SHAH R M. AZHAR F. SHAD S A. et al. Effects of different animal manures on attraction and reproductive behaviors of common house fly, *Musca domestica* [J]. *Parasitology Research*, 2016. 115: 3585-3598.
- [50] 谢兵, 吕跃军, 颜敏. 蟑螂的价值与利用研究 [J]. *时珍国医国药*, 2018, 29(7): 1687-1689.

热应激对肉羊生理行为和血液生化指标的影响

童雄, 李大刚, 闵力, 孙浩, 胡斌, 孟繁明, 王刚*

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

摘要: 高温高湿的气候环境对肉羊产生严重的热应激作用, 影响肉羊的健康和经济性能。本文主要对肉羊热应激程度的判定方法与标准, 热应激对肉羊生理行为(呼吸频率、表皮温度和直肠温度)、机体血液免疫(血液蛋白质、白细胞和红细胞)、电解质平衡(Ca^{2+} 、 K^+ 、 Na^+ 、 PO_4^{3-} 和 Cl^-)、激素水平(皮质醇、三碘甲状腺氨酸T3和甲状腺素T4)、酶类含量(天冬氨酸转氨酶AST、谷丙转氨酶ALT、肌酸磷酸激酶CPK、乳酸脱氢酶LDH和碱性磷酸酶ALP)、抗氧化性能(抗氧化酶和非酶类抗氧化剂)等方面的影响进行系统论述, 以期为解析肉羊热应激损伤机制, 筛选热应激敏感指标, 选育耐热型高产羊新品系等方面的研究提供理论参考。

关键词: 肉羊; 热应激; 生理指标; 血液生化指标

中图分类号: S826 **文献标识码:** A **文章编码:** 1005-8567(2020)06-0016-04

在全球变暖的趋势下, 高温高湿的气候环境已成为阻碍羊业发展的主要因素之一。当环境温度湿度超出动物热中性舒适区临界值时, 会打破机体热量平衡, 增添额外的热负荷, 进而引发机体的应激反应^[1]。热应激会严重影响肉羊的主要经济性能, 如繁殖效率、肉产量及品质等, 同时, 也会降低肉羊的自然免疫力, 使其更易患病甚至死亡^[2, 3]。

热应激对家畜经济性能的不利影响在不同物种、品种或个体之间存在明显差异^[3-5], 因此, 如何有效判定肉羊的热应激程度以及检测羊热应激标志物, 对于筛选耐热型高产羊新品系, 具有重要的研究指导意义。目前, 相比其他家畜, 有关肉羊的热应激研究相对较少且缺乏系统归纳。本文将主要从肉羊热应激程度的判定方法, 热应激对肉羊生理生化指标的影响等方面进行系统整理和论述。

1 肉羊热应激程度的判定方法与标准

环境温度、相对湿度、太阳辐射和风速等环境因素均会导致动物产生热应激, 进而影响动物的生产性能。随着科学检测技术的进步, 研究人员提出多种评判动物处于舒适或应激状态的方法, 比如: 湿度指数(THI)、热负荷指数(HLI)、黑球湿度指数、等效温度指数和呼吸速率预测因子等^[4]。LPHSI等人应用湿度指数(THI): $\text{THI} = \text{dry bulb temperature } ^\circ\text{F} - \{ (0.55 - 0.55 \text{ relative humidity}) (\text{dry bulb temperature } ^\circ\text{F} - 58) \}$, 专项判定羊(绵羊和山羊)的热应激程度, 不同热应激程度的判定标准: $\text{THI} < 82$ 为无应激, $82 < \text{THI} < 84$ 为轻度应激, $84 < \text{THI} < 86$ 为中度应激, $\text{THI} \geq 86$ 为重度热应激^[6]。此后, Marai等人在LPHSI方法的基础上将华氏温度($^\circ\text{F}$)调整为摄氏度($^\circ\text{C}$)后, 提出: $\text{THI} = \text{dry bulb temperature } ^\circ\text{C} - \{ (0.31 - 0.31 \text{ relative humidity}) (\text{dry bulb temperature } ^\circ\text{C} - 14.4) \}$ 方法, 该方法判定应激程度的标准为: $\text{THI} < 22.2$ 为无应

收稿日期: 2020-11-13

基金项目: 广东省农业科学院院长基金项目(201809); 云浮市云安区畜牧科技工作站建设项目(2020工作站20-13); 阳江市科技计划项目(1707, 1713)

作者简介: 童雄(1986-), 男, 助理研究员。E-mail: tongxiong@gdaas.cn

*通信作者: 王刚(1968-), 男, 研究员。E-mail: wgw2004@aliyun.com

激, $22.2 < \text{THI} < 23.3$ 为轻度应激, $23.3 < \text{THI} < 25.6$ 为中度应激, $\text{THI} \geq 25.6$ 为重度热应激^[7]。

2 热应激对肉羊生理行为指标的影响

当环境温湿度过高引发热应激时, 动物将通过增强呼吸频率和出汗率来散发额外的热负荷^[8]。前期的研究表明, 羊(绵羊和山羊)在非应激状态下, 其呼吸频率为10~30次/分钟, 而在热应激作用下, 其呼吸频率可提高到200次/分钟, 这说明热应激对羊呼吸频率的影响较大^[9, 10]。Singh 等人在研究三个绵羊品种(Chokla、Magra、Marwari)热适应性时, 发现夏季热应激期($\text{THI}=84$)的呼吸频率显著高于冬季非热应激期($\text{THI}=65$)^[11]。呼吸频率的增加是一种短期内散热的有效方式, 而当增加的呼吸频率维持几个小时后, 则会给动物带来严重的健康问题。由于反刍动物的汗腺发育不良, 因此, 通过增加表皮的出汗率来散发热量的能力有限。热应激环境下, 反刍动物的皮肤是体内与环境进行热交换的重要介质。皮肤的血流量是可变的, 可根据机体代谢需要进行调整, 进而调节表皮温度, 以实现其与环境的热交换。在非热应激条件下, 表皮温度要比机体核心温度低5~6℃, 而在热应激条件下, 表皮温度升高, 其温度可接近于核心温度^[12]。当动物无法利用呼吸道和表皮驱散额外热量时, 其机体核心温度会升高, 动物再利用形态学、血液学和生化机制来维持核心温度^[13]。在实际应用中, 直肠温度常被用作动物核心温度的代表性测量值。在非应激状态下, 羊(绵羊和山羊)的直肠温度通常处于38.3-39.9℃之间, 而在遭受热应激时, 直肠温度增加, 当直肠温度达到42℃以上时, 则被认为是危险的信号^[14]。李隐侠等通过监测夏季高温环境下湖羊的直肠温度变化, 发现夏季直肠温度在全天不同时段存在波动, 在11:00~15:00的高温时段直肠温度最高, 而在晚上03:00时直肠温度最低^[15]。

3 热应激对肉羊血液生化指标的影响

3.1 血常规指标

动物血常规参数对环境温湿度的变化非常敏感, 是应激性生理反应的重要指标^[16]。血液总蛋白、白蛋白和球蛋白含量的变化反映机体蛋白质合

成和代谢的情况, 也是肝肾功能健康状况的标志物。有研究指出, 当动物受到热应激作用时, 血液总蛋白、白蛋白和球蛋白的含量增加^[17, 18]。与此相反, Helal 等在研究热应激对埃及 Balady 山羊生理生化功能影响时, 发现它们的含量均下降, 这反映出热应激可能抑制了山羊机体内蛋白质合成进而引发氮失衡^[19]。长期热应激会促进糖皮质激素的分泌, 进而损伤免疫器官, 抑制热异性细胞免疫和体液免疫, 诱导释放炎症因子, 激活白细胞的聚集与黏附, 最终引发炎症反应^[20]。血液白细胞中, 嗜中性粒细胞和淋巴细胞均有吞噬和杀菌作用的免疫细胞。在热应激作用下, 嗜中性粒细胞会加速凋亡, 抑制机体的免疫功能, 进而打破机体第一道免疫屏障, 导致机体炎症反应^[21]。此外, 热应激会降低白细胞和淋巴细胞数量, 导致机体免疫力下降, 同样会引发炎症。与常规结论不一致的是, Alam 等发现山羊遭受热应激后, 其白细胞、嗜中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞数量会显著增加, 这说明山羊可能通过免疫调节提高抗感染能力, 并维持正常的生理功能^[22]。在长期热应激影响下, 动物会出现营养不良现象, 进而引发血液中红细胞数量和血红蛋白水平的降低。随着环境温度的升高, 动物通过呼吸和出汗失去大量水分, 使血浆容积降低, 红细胞压积增加, 如果该过程持续时间过长, 会引发动物机体脱水^[13]。在热应激期间, 由于动物大量饮水导致血液稀释, 红细胞压积也可能发生显著的降低。研究发现, 热应激会降低山羊和绵羊的红细胞压积、血红蛋白和红细胞含量^[16, 23]。与此相反, 还有研究发现热应激作用下, 山羊和绵羊的红细胞压积和血红蛋白均有所增加^[24, 25]。以上不一致的结论反映出: 在不同环境和管理条件下饲养的动物, 其红细胞成分和含量会存在差异, 因此, 在开展相同时间点不同动物之间或相同动物不同时间点之间的红细胞成分差异性分析时, 需要进行实时测定比较。

3.2 电解质指标

机体中电解质离子对于维持体内酸碱平衡和渗透压稳定, 起着重要的调节作用。热应激会破坏动物维持体内电解质平衡的能力。高温环境下, 动物在排汗的过程中会流失一部分 K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 等离子, 在热应激早期, 肾脏排出血 K^+ 和 Na^+ 来

降低血液PH和血浆渗透压,在持续的热应激作用下,肾脏启动排钾保钠的调节功能,导致血 Na^+ 升高,而血 K^+ 持续降低^[26]。Al-Haidary等发现Naimey羊在高温影响下,其血清 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 等离子浓度出现明显的下降^[27]。此外,热应激还会引发动物体分泌大量有机酸,进而 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 等离子与有机酸结合,导致血液中 Ca^{2+} 和 PO_4^{3-} 浓度降低,该调节机制在波尔山羊及其与奶山羊杂交的F1代羊中得到了很好的印证^[28]。

3.3 激素水平

在热应激条件下,动物肾上腺和甲状腺产生的激素在其体温调节和代谢调节中起着重要作用。下丘脑(H)-垂体(P)-肾上腺轴(A),也被称为HPA轴,是应激反应的主要内分泌调节因子之一。动物体内HPA轴调控应激通路的产物分别是:促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质醇。皮质醇的主要功能是促进蛋白质代谢,将蛋白质转化为氨基酸,支持葡萄糖异生。肾上腺皮质合成的皮质醇刺激肝脏、肌肉和脂肪组织中的葡萄糖、氨基酸和脂肪的降解和释放。热应激对HPA轴的激活,往往引起皮质醇的释放增强,因此,皮质醇是反刍动物的主要应激激素^[29]。Shilja等报道Osmanabadi山羊在热应激或双重应激(热应激+营养应激)条件下,其皮质醇浓度显著提高^[30]。同时,动物在应对热应激时,也通过减少机体代谢产热以实现代谢适应。下丘脑(H)-垂体(P)-甲状腺轴(T),即是HPT轴,是动物调节机体代谢的重要功能系统,热应激可直接作用于该系统,减少促甲状腺激素的产生,进而限制机体基础代谢来调节体温^[31]。甲状腺激素,即三碘甲状腺氨酸(T3)和甲状腺素(T4),在动物的代谢适应和生长性能中起重要作用,也被认为是评估家畜耐热性的重要指标^[32]。研究发现,在绵羊和山羊中证实热应激引发T3和T4的降低,以降低代谢速率^[32, 33]。甲状腺的激素水平因生理生长阶段、品种、年龄、环境温度和性别的差异而不同,在利用该激素水平指标评价不同羊品种之间的耐热性差异时,同样需要保证这些影响因素的一致性。

3.4 血清酶类含量

酶是动物机体新陈代谢的催化剂,在不同组

织器官中的功能具有时空特异性。机体在正常状态下,基于细胞膜的保护,胞内酶在胞内行使特定功能,而不会外流至胞外,但环境剧烈变化会损伤细胞,细胞膜的通透性会发生改变,进而引发胞内酶外流,导致血液中酶的含量增加。在热应激条件下,绵羊和山羊中两种重要代谢酶:天冬氨酸转氨酶(AST)和谷丙转氨酶(ALT)含量显著升高,这类酶的含量增加反映出动物应对热应激时,具有较高的代谢适应能力^[34, 35]。热应激影响动物采食量,机体糖原含量降低,进而引发肌肉供能不足和肌营养不良症。肌酸磷酸激酶(CPK)在骨骼肌内大量富集,当骨骼肌功能障碍或营养不良时,肌肉中的CPK会大量外溢到血液,导致血液中CPK含量显著升高^[36],因此,CPK也是反应动物遭受热应激影响的敏感指标。与此相反,由于热应激对甲状腺的影响,进而导致乳酸脱氢酶(LDH)和碱性磷酸酶(ALP)的含量降低^[19],因此,这两类酶同样被认为是动物应激性的生化指标。

3.5 抗氧化酶活性

活性氧(超氧阴离子自由基、羟基自由基、过氧化氢和单线态氧)在正常的有氧代谢过程中不断产生,是吞噬细胞发挥吞噬和杀伤作用中的主要介质。在正常代谢环境下,机体内活性氧的产生和清除会保持平衡状态,但在热应激环境下,会激发机体活性氧自由基的过量产生,如果不予以清除,就会损伤健康细胞。动物机体为应对应激环境,正常细胞能够利用抗氧化酶(超氧化物歧化酶SOD、谷胱甘肽过氧化物酶GSH-Px、谷胱甘肽还原酶GS-SG和过氧化氢酶CAT)以及非酶类抗氧化剂(维生素C、A、E和谷胱甘肽等)清除细胞内外的过氧化物,抑制细胞膜脂质过氧化,进而保护细胞免受超氧化物自由基的氧化损伤。Kumar等报道,热应激损伤后的山羊,体内维生素C和E显著下降,而SOD活性显著增加^[37]。丙二醛(MDA)是细胞膜脂质过氧化最重要的产物之一,其含量可以反映出机体脂质氧化的程度,进而指示细胞损伤的程度。魏立民等在研究海南地区热应激对海南黑山羊与努比亚黑山羊杂交后代血液生化指标影响时,观察到耐热性好的海南黑山羊的MDA含量显著低于海南黑山羊与努比亚黑山羊杂交F1和F2代^[38]。

4 小结与展望

近年来,全球气候变暖的趋势日渐明晰,世界各地的高温高湿天气会对肉羊产生热应激,进而制约肉羊的生产表现,因此有效评价肉羊的热应激程度,理清热应激对肉羊生理生化指标的影响,将有助于生产中调整管理策略来调控环境温湿度,提高肉羊的生产性能,或是系统选育出耐热型高产羊新品系。现有肉羊的热应激生理生化标志物,除受到环境温湿度的影响外,也受到品种、生理阶段、年龄等因素的影响,这就造成了前期不同研究之间的结论差异性,因此,在评价不同羊品种或个体之间的耐热性差异时,需要保障这些干扰因素的一致性,以期筛选到可靠的热应激标志物。

参考文献:

- [1] KOVATS R S, HAJAT S. Heat stress and public health: a critical review[J]. *Annu. Rev. Public Health*, 2008, 29: 41-55.
- [2] SALAMA A, HAMZAOU S, CAJA G (2012). Responses of dairy goats to heat stress and strategies to alleviate its effects. *Proc. XI International Conference on Goats*, Gran Canaria, Spain.
- [3] 施力光, 彭维祺, 胡海超, 等. 持续性环境热应激对公羊血液生化指标、生殖激素及精液品质的影响[J]. *家畜生态学*, 2018.
- [4] SEJIAN V, BHATTA R, GAUGHAN J B, et al. Review: Adaptation of animals to heat stress[J]. *Animal*, 2018: 1-14.
- [5] MIN L, LI D, TONG X, et al. Nutritional strategies for alleviating the detrimental effects of heat stress in dairy cows: a review[J]. *International Journal of Biometeorology*, 2019: 1-20.
- [6] INDEX L P H S. *Livestock and Poultry Heat Stress Indices* [J]. The Heat Stress Indices for Poultry, Cattle, Sheep and Goats. The Agriculture Engineering Technology Guide, Clemson University, Clemson, SC, USA, 1990, .
- [7] MARAI I F M, AYYAT M S, EL-MONEM U M A. Growth Performance and Reproductive Traits at First Parity of New Zealand White Female Rabbits as Affected by Heat Stress and Its Alleviation under Egyptian Conditions [J]. *tropical animal health and production*, 2001, 33(6): 451-462.
- [8] MARAI I F M, EL-DARAWANY A A, FADIEL A, et al. Physiological traits as affected by heat stress in sheep—A review [J]. *Small Ruminant Research*, 2007, 71(1-3): 1-12.
- [9] 王宝理, 张江平, 陈正生. 高气温环境对罗姆尼羊及湖羊生理常数的影响(1989年)[J]. *江西农业大学学报*, 1991, (06): 356-363.
- [10] OLSSON K, JOS TER-HERMELIN M, HOSSAINI-HILALI J, et al. Heat stress causes excessive drinking in fed and food deprived pregnant goats [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A Physiology*, 1995, 110(4): 309-317.
- [11] SINGH K M, SINGH S, GANGULY I, et al. Evaluation of Indian sheep breeds of arid zone under heat stress condition[J]. *Small Ruminant Research*, 2016, 141: 113-117.
- [12] CAMPBELL I. Body temperature and its regulation [J]. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 2008, 12(6): 240-244.
- [13] RIBEIRO M N, RIBEIRO N L, BOZZI R, et al. Physiological and biochemical blood variables of goats subjected to heat stress - a review[J]. *Journal of Applied Animal Research*, 2018, 46(1): 1036-1041.
- [14] MARAI I, SHALABY T, BAHGAT L (1997). Fattening of lambs on concentrates mixture diet alone without roughages or with addition of natural clay under sub-tropical conditions of Egypt. 2. - physiological reactions. *International Conference on Animal, Poultry, Rabbit Production and Health*, Cairo (Egypt).
- [15] 李隐侠, 王慧利, 邓维, 等. 高温环境下湖羊直肠温度和血液生化指标的监测[J]. *中国畜牧兽医*, 2018, 45(01): 271-277.
- [16] OKORUWA M. Effect of heat stress on thermoregulatory, live bodyweight and physiological responses of dwarf goats in southern Nigeria [J]. *European Scientific Journal*, 2014, 10(27).
- [17] AL-EISSA M, ALKAHTANI S, AL-FARRAJ S, et al. Seasonal variation effects on the composition of blood in Nubian ibex (*Capra nubiana*) in Saudi Arabia [J]. *African Journal of Biotechnology*, 2012, 11(5): 1283-1286.
- [18] RIBEIRO N L, GERMANO COSTA R, PIMENTA FILHO E C, et al. Effects of the dry and the rainy season on endocrine and physiologic profiles of goats in the Brazilian semi-arid region [J]. *Italian Journal of Animal Science*, 2018, 17(2): 454-461.
- [19] HELAL A, HASHEM A, ABDEL-FATTAH M, et al. Effect of heat stress on coat characteristics and physiological responses of Balady and Damascus goats in Sinai, Egypt [J]. *American - Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science*, 2010, 7(1): 60-69.
- [20] 刘宇宸, 王向明, 万平民, 等. 热应激引起动物炎症反应的研究进展[J]. *中国兽医杂志*, 2019, 055(003): 57-60, 中插 54.
- [21] INBARAJ S, SEJIAN V, BAGATH M, et al. Impact of Heat Stress on Immune Responses of Livestock: A Review [J]. *Pertanika Journal of Tropical Agricultural Science*, 2016, 39(4).
- [22] ALAM M, HASHEM M, RAHMAN M, et al. Effect of heat stress on behavior, physiological and blood parameters of goat [J]. *Progressive Agriculture*, 2011, 22(1-2): 37-45.
- [23] SANUSI A, PETERS S, SONIBARE A, et al. Effect of coat colour on heat stress among West African Dwarf sheep [J]. *Nigerian Journal of Animal Production*, 2011, 38(1): 28-36.
- [24] SIVAKUMAR A V N, SINGH G, VARSHNEY V P.

连州市稻鱼综合种养技术及效益初步探析

王超¹, 王国霞², 罗远芬¹, 孙育平², 张厂², 陈晓瑛^{2*}

(1. 清远市农业科技推广服务中心, 广东 清远 511500;

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

摘要:稻渔综合种养技术已发展成为一种生态循环农业模式, 对促进稳粮增收和丰富水产品具有重要作用。本团队依托连南瑶族自治县稻鱼茶产业园, 按照产学研结合方式在连州市西岸镇青草洞村开展稻鱼综合种养技术及效益初步探析。选取7亩稻田, 进行田埂、环沟、进排水口、拦鱼栅等稻田田间工程设计, 投放35-50 g禾花鲤607尾/亩。种养周期约半年。期间使用有机肥80元/亩。在未计算人工成本下, 投入成本1650元/亩。结果, 收获505斤/亩稻谷, 281斤/亩禾花鲤, 合计产值8035元/亩, 折算可获利润6385元/亩, 提高了农田的经济效益。本试验结果将为连州市稻渔综合种养技术推广提供参考数据。

关键词:连州市; 稻鱼综合种养; 效益; 禾花鲤

中图分类号:S964.2 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)06-0020-04

“蛙鸣蒲叶下, 鱼入稻花中”描述了稻田养鱼的美景, 也代表我国的稻鱼养殖历史悠久。原始的稻渔综合种养技术为一种粗放的水产养殖模式, 即利用稻渔共生原理, 将鱼放入稻田中养殖, 既获得鱼产品, 又可利用鱼吃掉稻田中的害虫和杂草, 鱼排泄的粪便能为水稻提供有机肥料, 最终达到稻鱼双丰收生产的效果。目前, 稻渔综合种养技术已发展成为一种生态循环农业模式, 对促进稳粮增收和丰富水产品供给具有重要作用, 是农业绿色发展的有效途径。

《中国稻渔综合养殖产业发展报告(2020)》显示, 2019年, 全国稻渔综合种养面积3476.23万亩, 同比增长14.26%, 广东省稻渔综合种养面积5.53万亩, 增幅仅有1.29%。习近平总书记在宁夏考察时的重要指示精神:坚持稳粮增收、不与粮争地的根本原则, 发挥好提质增效方面的优势, 处理

好“稻”和“渔”、“粮”和“钱”、“土”和“水”、“一产”和“三产”、产业发展和科技支撑、积极推动和农民意愿等方面的关系, 推进稻渔综合种养产业规范高质量发展^[1]。广东省地处热带亚热带, 气候温暖湿润, 很多地方水稻一年两熟或者三熟, 具有发展稻田养鱼得天独厚的优势。目前, 广东稻田种植面积1300万亩, 开展稻渔综合种养技术的面积5.53万亩, 其中约90%在清远和韶关^[2]。广东水产养殖技术在全国处于领先地位, 将先进的水产技术应用到稻田养鱼中, 可以大幅度提升稻田养鱼的产值和效益。

近年来, 清远市稻田养鱼发展特色较为鲜明, 其发展模式和效益受到人们关注。2018年8月连南瑶族自治县稻鱼茶产业园(下称“产业园”)入选省级现代农业产业园的建设名单, 连南“稻、鱼、茶”这个传承千年的立体农业模式开始注入现代元

收稿日期:2020-09-09

基金项目:清远市现代化高效稻渔综合种养试验示范推广项目(2019A038)

作者简介:王超(1987-), 男, 重庆市垫江县人, 硕士, 工程师, 研究方向为水产健康养殖。E-mail:cheeterwang@163.com

*通讯作者:陈晓瑛(1987-), 女, 助理研究员, 研究方向为水产动物营养与饲料科学、水产健康养殖。E-mail:524852502@qq.com

素。2020年,广东省农业农村厅将稻渔综合种养技术作为主推渔业新技术之一。“连南稻田鱼文化节”(2017年获授“国家级示范性渔业文化节庆(会展)”称号),成为当地“特色农业休闲旅游”品牌,有利带动当地经济和社会发展。然而,由于社会经济迅速发展,稻田养鱼效益日趋下降,如何将稻渔综合种养技术中稻田设施改造、投苗前准备工作、投苗技术、管理技术等集成,使稻渔效益更大化。为此,连州市组织科研院所,通过产学研结合方式对稻田养殖禾花鲤综合种养技术进行总结和效益分析,以期清远市稻渔综合种养技术推广提供参考数据。

1 连州市的基本情况

连州市地处粤北山区,属中亚热带季风气候区,一年四季受季风影响。其气候温暖,日照充足、四季分明、年降水量适中;溪水丰足、无污染;稻田保水力强、排灌方便,拥有非常适合稻田养鱼的气候、地理和水源等自然条件。2019年连州市拥有稻田面积12.77万亩,其中稻田养鱼面积1050亩。

2 技术实施情况

2.1 稻田选择

地址、条件(地理、气候、水源等):在西岸镇青草洞村选择形状类似长方形的2块稻田作为试验用田,每块田面积约3.5亩,均为试验田。试验田水源充足、水质清新无污染、保水力强。

2.2 稻田田间工程设计

稻田养鱼的田间工程主要包括田埂、环沟、进排水口、拦鱼栅。①田埂,对试验的田埂经过捶打使得坚实牢固加高至0.8米,加宽至0.6米;②环沟,示范田采用“十”设计,只挖渔沟,渔沟宽0.5~0.6米,深0.8~1.2米,面积占稻田面积的8%~10%;③进排水口,在田块的对角开挖进、排水口,使田内水流均匀流转;④拦鱼栅:用竹箔编制网目为0.4厘米的拦鱼栅,宽度为排水口宽度1.6倍,呈“∩”。在进水口处,其凸面朝外;在出水口处,其凸面向里。入泥深度20~35厘米,超过田埂40厘米,在进排水口将栅桩夯打牢固。

2.3 苗种放养前准备工作

在稻田移栽秧苗前10~15天进水前施加

500~800千克/亩有机肥作为基肥。进水后2天,亩施30~40千克生石灰消毒,消除地害。水稻品种选用杂交稻适宜当地种植的优质、高产、抗病力强、高秆的优质稻良种广8优188品种。

2.4 苗种及投苗

鱼种来源于本地禾花鲤(Rice flower carp),是清远市北部山区稻田养殖的一种土著鲤鱼,体短、背高、肚圆且大、头小、出肉率高。因放养在稻田中,以采食田间杂草和落水稻花为主食,而得名禾花鲤,又称“禾花鱼”。本文采用禾花鲤规格35~50克/尾,每亩投放607尾。插秧后一周,用水车拖运,全程充氧运输鱼种。到试验田,先让鱼种适应田地水温和环境,减少应激。入田前,用3%的盐水浸泡3~5分钟后投放。

2.5 日常管理

每天巡田,检查有无病虫害发生,有无田埂坍塌漏水、进排水口拦鱼栅是否完好、及时清除堵塞拦鱼栅的杂物,保证排水畅通。根据鱼体情况,调整水位,保持适宜的生活环境。及时清理病鱼和受伤的鱼,清除杂草。每天投喂米糠、菜饼等,投喂量占鱼体重的3%~5%,定时、定点投喂,一般上午8~9点,下午5~6点。如遇天气闷热,少投或不投饲料,具体情况要看鱼体情况、水温情况和天气情况而定。

2.6 捕捞与水稻收割

稻谷收割前2周,将水位降低至水稻根部约5厘米,疏通鱼沟,清除淤泥,缓慢放水,将鱼集中在鱼沟中,便于捕捞。11月中旬进行捕鱼称重。11月底稻谷收割、称重、晒干、装袋。

3 综合效益分析投入

3.1 试验期费用支出

如表1所示,选用的广8优188稻稻谷种子10斤。该稻种为村民自留种,售价2元/斤,稻谷种子成本约20元/亩。禾花鲤鱼约46斤/亩,单价16元/斤(含运费),合计700元/亩。基建费用是1500元/

表1 稻渔综合种养平均投入情况(元/亩)

广8优188	禾花鲤鱼种	基建	饲料	有机肥	成本统计
20	700	300	550	80	1650

注:人工成本未计入

亩,正常1次基建可维持5年,按一年基建成本300元/亩计算。饲养期间投喂适当的饲料,开支550元/亩。种养期间施加一次有机肥80元/亩,尚未使用农药,无农药成本开支。在未计算人工成本下,每亩的成本投入为1650元。

3.2 试验期收入

如表2所示,本试验收货稻谷产量505斤/亩,禾花鲤产量281斤/亩。稻谷按照2元/斤,禾花鲤按照25元/斤计算,亩产产值为8035元。每亩稻渔综合种养稻田投入成本1650元,产出8035元,利润6385元。按照6.83亩计算,利润43610元。

表2 稻渔综合种养平均产出情况(亩产)

稻谷产量 (斤)	禾花鲤 (斤)	稻谷价格 (元/斤)	禾花鲤价格 (元/斤)	产值 (元)
505	281	2	25	8035

本试验中稻谷产量较低,原因可能是:①稻田养鱼工程设计存在一定问题,环沟略宽略浅,水稻种植面积相应减少,未能充分利用稻田纵深空间,导致水稻产量略低于当地平均水平;②该水稻品种抗倒伏能力较差,在种植过程中出现了部分倒伏,影响了水稻产量;③水稻分蘖期未采取晒田措施,影响了水稻产量。

3.3 效益讨论与分析

稻渔综合种养是一种生态循环农业模式,经济效益明显。根据清远市农业科技推广服务中心在连州市调研结果可知,连州市的山区的稻田的稻谷产量约为700斤/亩,按照2元/斤稻谷,收益1400元/亩,每亩投入稻谷种20元,还需投入农药、肥料等约400元/亩,利润约为1000元/亩。虽然本试验田中的稻田产量仅有505斤/亩,低于清远山区的稻谷的产量,但试验田的利润为6385元,大大提高了农田的经济效益。

4 思考与建议

4.1 政府重视,加强技术创新

稻渔综合种养技术作为一种绿色生态的农渔发展模式,是渔业产业扶贫和助力乡村振兴的重要抓手。2020年中央一号文件明确“将推进水产绿

色健康养殖”,2020年是全面建成小康社会目标实现之年,是全面打赢脱贫攻坚战收官之年,全面小康“三农”领域突出短板必须补上”。为此,农业农村部办公厅和广东省农业农村厅都制定了将稻渔综合种养技术模式为主推技术模式之一。这些政策为生态高效农业指明了发展方向,稻田综合种养是体现稳定粮食增收、农民增收、生态增益的效果手段之一。截止2020年5月底,全国稻渔综合种养面积达到3800多万亩,预计稻米产量将达到1900吨,水产品产量超过300万吨,带动农民增收超过650亿元。因此,稻渔综合种养发展潜力巨大。

当前,广东省的稻渔模式整体技术水平还较为粗放,其组织化和规划化程度不高。稻渔的实施推广涉及面广、部门多。通过优惠政策引导,在水稻种植、水产养殖、生态物质循环等科研和推广等部门开展产-学-研深度合作对稻渔综合种养技术优化和适宜广东省新模式的探索及技术提升,共同推动稻渔综合种养技术推广与示范的质量和效果的提高,加速技术新成果的转化,促进产业升级。

4.2 加强品牌建设,促进产业融合

全国各省都在打造具有地方特色的稻渔区域性的品牌。如获得国家农产品地理标志认证的湖南省郴州高山禾花鱼、湘西辰溪稻花鱼;浙江省累计创建稻米品牌60多个;江苏省的盱眙龙虾、洪泽湖大闸蟹;湖北省的潜江龙虾;安徽省的合肥龙虾;湖南省的南县小龙虾;江西省的清水小龙虾;辽宁省的盘锦河蟹;浙江省的德清甲鱼、鲤鱼^[1]。湖北省以“潜江龙虾”为引领,集中发展稻虾种养,一二三产同步融合发展。2019年小龙虾产业总产值达913亿元,其中二三产产值分别为162亿元、498亿元,全产业链就业人数近70万人^[1]。很多都归功于产品品牌建设和产业融合。广东省拥有1300多万亩稻田,在清远市、韶关市、梅州市和河源市等8市开展稻渔综合种养,面积达5.2万亩,产量2349吨,已建成国家级稻渔综合种养示范区1个,打造国家级示范性渔业文化节庆1个,注册稻鱼品牌4个,其中获得有机认证1个,无公害产品1个^[3]。全国国家级稻渔综合种养示范区67个。可见,广东省的稻渔的品牌建设尚处于起步阶段。十三五

期间,广东省把稻渔综合种养作为扶贫攻坚、乡村振兴的重要产业,出台了相应的政策大力扶持稻渔综合种养产业,通过技术引领、产业链延伸,结合“稻渔+文化”“稻渔+旅游”等业态和稻米、水产品的品牌建设、农产品地理标志认证等方式推动广东省的稻渔品牌建设,助力产业发展,激活乡村振兴新动能。

参考文献:

- [1] 曾诗淇.综合种养 稻田生金——解析中国稻渔综合种养产业发展 报告(2020)[J].农产品市场, 2020(20):12-15.
- [2] 廖静. 稻渔综合种养在粤有数十倍增长空间[J]. 海洋与渔业, 2019(08):24-25.
- [3] 高晓霞. 广东稻渔产业重焕生机促乡村振兴[J]. 海洋与渔业, 2020(06):34-36.
-
- 上接第19页
- Antioxidants Supplementation on Acid Base Balance during Heat Stress in Goats [J]. Asian - Australasian Journal of Animal Sciences, 2010, 23(11): 1462-1468.
- [25] OKOURWA M I. Effect of Coat Characteristics on Physiological Traits and Heat Tolerance of West African Dwarf Sheep in Southern Nigeria [J]. Open Journal of Animal Sciences, 2015, 05(4): 351-357.
- [26] 彭孝坤, 胡建宏, 张恩平. 热应激对肉牛和肉羊生理生化指标及外周血 miRNA 表达水平的影响[J]. 家畜生态学报, 2018, 39(03): 1-7.
- [27] AL-HAIDARY A A. Physiological responses of Naimey sheep to heat stress challenge under semi - arid environments [J]. International Journal of Agriculture and Biology, 2004, 2: 307-309.
- [28] 李金朋, 王国军, 赵天, 等. 温度和相对湿度对山羊生长性能和血液指标的影响[J]. 中国农业科学, 2018, 51(23): 4556-4574.
- [29] BINSIYA T, SEJIAN V, BAGATH M, et al. Significance of hypothalamic-pituitary-adrenal axis to adapt to climate change in livestock [J]. Int Res J Agric Food Sci, 2017, 2(1): 1-20.
- [30] SHILJA S, SEJIAN V, BAGATH M, et al. Adaptive capability as indicated by behavioral and physiological responses, plasma HSP70 level, and PBMC HSP70 mRNA expression in Osmanabadi goats subjected to combined (heat and nutritional) stressors [J]. International journal of biometeorology, 2016, 60(9): 1311-1323.
- [31] PRAGNA P, SEJIAN V, SOREN N, et al. Summer season induced rhythmic alterations in metabolic activities to adapt to heat stress in three indigenous (Osmanabadi, Malabari and Salem Black) goat breeds [J]. Biological Rhythm Research, 2018, 49(4): 551-565.
- [32] TODINI L. Thyroid hormones in small ruminants: effects of endogenous, environmental and nutritional factors [J]. Animal, 2007, 1(7): 997-1008.
- [33] INDU S, SEJIAN V, KUMAR D, et al. Ideal proportion of roughage and concentrate for Malpura ewes to adapt and reproduce in a semi - arid tropical environment [J]. Tropical animal health and production, 2015, 47(8): 1487-1495.
- [34] NAZIFI S, SAEB M, ROWGHANI E, et al. The influences of thermal stress on serum biochemical parameters of Iranian fat-tailed sheep and their correlation with triiodothyronine (T3), thyroxine (T4) and cortisol concentrations [J]. comparative haematology international, 2003, 12(3): 135-139.
- [35] GUPTA M, KUMAR S, DANGI S S, et al. Physiological, Biochemical and Molecular Responses to Thermal Stress in Goats [J]. international journal of livestock research, 2013, 3(2): 27-38.
- [36] 李俊杰, 桑润滋, 田树军, 等. 热应激与牛血液成分的变化 [J]. 家畜生态, 2001, 22(004): 56-59.
- [37] KUMAR M, JINDAL R, NAYYAR S. Influence of heat stress on antioxidant status in Beetal goats [J]. Indian Journal of Small Ruminants, 2011.
- [38] 魏立民, 孙瑞萍, 刘圈炜, 等. 海南黑山羊与努比亚黑山羊杂交后代血液生理生化及免疫指标测定 [J]. 黑龙江畜牧兽医 (下半月), 2019, 000(005): 61-63.

浅谈惠州市惠城区村级动物防疫员管理的改革

钟庆华

(广东省惠州市惠城区横沥畜牧兽医与渔业站, 广东 惠州 516253)

摘要:村级动物防疫员是基层兽医站重要的辅助力量,是做好基层动物防疫工作特别是散养户免疫注射的主力军,是巡查畜禽养殖场、协助动物产地检疫等工作的得力助手。现行的《惠城区村级动物防疫员管理办法》从开始实施到现在,已过去6年,畜禽养殖情况已发生巨大变化,对村级动物防疫员管理做出改革,是形势发展的需要,应与时俱进、因材施教、因地制宜地做出调整,有利于提高管理效能,发挥村级动物防疫员的最大作用,最终推动兽医社会化。

关键词:村级动物防疫员; 管理; 改革; 兽医社会化

中图分类号:S851 **文献标识码:**C **文章编号:**1005-8567(2020)06-0024-02

现行的《惠城区村级动物防疫员管理办法》(以下简称《办法》)是根据2013年《惠州市村级动物防疫员管理办法》制定的,按照《办法》规定,村级动物防疫员由所在地乡镇人民政府(街道)聘用,在所在地乡村直接从事动物防疫或强制免疫工作的工作人员。村级动物防疫员实行县(区)畜牧兽医行政主管部门和乡镇人民政府(街道)双重领导,以乡镇(街道)为主的管理体制。村级动物防疫员纳入村干部管理,原则上辖区内所属每一行政村应配备村级动物防疫员1名以上。《办法》从2014年开始实施,到现在已经过去整整6年时间,惠城区在社会经济发展、环保要求、畜禽养殖数量及养殖模式等各方面都发生了巨大的变化,因此,必须对村级动物防疫员管理办法做出调整,才能适应形势发展的变化。

1 改革惠城区村级动物防疫员管理的必要性

1.1 顺应顶层设计的需要

按照《国务院办公厅关于政府向社会力量购买服务的指导意见》的改革要求,2017年,原农业部印发了《关于推进兽医社会化服务发展的指导意见》;2018年,农业农村部办公厅印发了《关于做好2018年兽医社会化服务推进工作的通知》,对推进兽医社会化服务发展提出了更加明确具体的

方向和措施要求,兽医社会化服务发展正在加速推进。然而现行的《惠城区村级动物防疫员管理办法》没有体现“兽医社会化”这个方向。

1.2 畜禽养殖区域发生较大变化

由于社会经济的发展及环保的压力,惠城区政府关于划定惠城区畜禽禁养区已经做出了多次调整,对畜禽养殖行为加大规范整治力度,2020年的畜禽养殖区域比2013年大幅度减少;原来有畜禽养殖的河南岸、桥东、龙丰、江南等街道办事处,经过历次清理整治,基本上没有了畜禽养殖。小金口、水口街道办及三栋镇、马安镇等街畜禽养殖数量也大量减少。由于这些街道办已经没有畜禽养殖,村级动物防疫员也失去了存在的意义,没有必要再保留下来;小金口、水口等街道办和三栋、马安等镇,由于经济建设的需要,有不少村委会的土地被征用,这些村也基本上没有畜禽养殖,即使有养殖,数量也是非常少。

1.3 畜禽养殖模式发生转变

2018年8月,我国北方发生非洲猪瘟,仅仅9个月时间,疫情传遍整个中国。2018年12月,惠州博罗排查出一宗非洲猪瘟疫情;2019年初开始,惠城区也受到非洲猪瘟疫病影响,在疫情的影响下,大量散养户由于动物防疫意识淡薄,防疫设备设施也不完善,迫于疫情的压力,纷纷退出养殖行

收稿日期:2020-06-24

作者简介:钟庆华(1971-),男,广东惠州市人,助理畜牧兽医师,主要从事基层动物防疫管理工作。E-mail:1824919068@qq.com

业。畜禽养殖加速向专业化、规模化转变。以散养户为主要服务对象的防疫员,工作量随之也大量减少。

1.4 政府政策调整

2016年下半年开始,政府采购的强制性免疫疫苗项目取消了猪瘟、猪高致病性蓝耳病、鸡新城疫等疫苗,村级动物防疫员的免疫注射项目只剩下口蹄疫、高致病性禽流感、狂犬病疫苗,在免疫注射方面的工作量大大减少。

政府对农业、农村的农机补贴等扶持政策,使农业机械化程度不断提高,机械代替传统的耕牛、人力耕作、收割等,节省了大量的人力,富余的人员洗脚上田,进城经商、务工,使农村的畜禽养殖也进一步减少。

在各种因素影响下,村级动物防疫员与2013年相比较,工作量大幅度减少,不少行政村由于没有畜禽养殖行为,村级动物防疫员已经无事可干了,更多的行政村即使有畜禽养殖,数量也非常少,有必要将这些没有畜禽养殖或者少量养殖的村防疫员进行撤并整合。

2 改进村级动物防疫员管理原则

2.1 循序渐进,确保平稳过渡

从原来的管理办法到实行兽医社会化,是一个较大的转变,因此,要采取循序渐进、稳妥推进的方法,才能确保平稳过渡,从现有的村级动物防疫员队伍中,选取一部分工作责任心强、业务熟练、有一定的专业知识的防疫员,保留下来,以老带新,做到人地不生疏、工作不脱节。

2.2 因地制宜,因镇(街道办)施策,因村施策

由于惠城区各镇(街道办)的地理位置差别,各镇(街道办)的经济发展水平差异较大,北部的横沥镇、芦洲镇是农业大镇,畜禽养殖量大,横沥镇规模化畜禽养殖场和散养户均较多,芦洲镇则以家庭散养为主;中部的马安镇、水口街道办虽然规模化畜禽养殖场较少,但仍有不少的畜禽散养户;位于市区的桥东、桥西、河南岸、江北、江南、龙丰等街道办事处基本上没有畜禽养殖;小金口街道办和三栋有少量散养户;汝湖仍有不少规模化畜禽养殖场和散养户。在各镇、街道办畜禽养殖差异较大的情况下,原来的《办法》规定的“原则上辖区内

所属每一行政村应配备村级动物防疫员1名以上”,已经不再适应现状。因此,应该因地制宜、因村施策,对于那些没有畜禽养殖的街道办事处,或者政府划定为畜禽禁养区的(包括整个村委会在畜禽禁养区范围内的),不再配备村级动物防疫员;对那些畜禽养殖数量不多的村委会,可以减掉部分村级动物防疫员。

2.3 完善管理模式,实行垂直管理

原《办法》规定,村级动物防疫员由所在地乡镇人民政府(街道)聘用,村级动物防疫员实行县(区)畜牧兽医行政主管部门和乡镇人民政府(街道)双重领导,以乡镇(街道)为主的管理体制。村级动物防疫员纳入村干部管理,这种多头管理的模式,最终的结果是没有人管,或者管不好。要管好村级动物防疫员这支队伍,必须按照专业的机构管专业的队伍、专业的人做专业的事情的原则,把村级动物防疫员作为基层兽医站的重要补充力量、重要组成部分,由区农业农村(畜牧兽医部门)管理、使用、考核。

2.4 改变聘用方式

由原来的镇府(街道办)聘用改为劳务派遣的用工方式,有效解决人员进出难、去留难的问题,对考核不合格的人员及时退出,也更加有利于各方面管理,减少社保、医保、工伤、退休等问题引起的纠纷。

2.5 提高待遇水平

按照不低于当地最低平均工资水平,采取基本工资加绩效工资,按劳分配,按绩奖惩,建立科学的绩效考核机制,不断提高村级动物防疫员的工作积极性,扭转干多干少都一样,有干没干也一样的局面。

3 小结

村级动物防疫员管理,是一项新的工作,只有结合实际,大胆创新,不断总结经验,及时加以修正,逐步完善好管理过程中的各种问题,使动物防疫、畜牧兽医的服务效率、社会化服务水平不断得到提升,夯实基层的动物防疫基础,构建更加有力的、有效的动物防疫基层队伍,才能为我国的动物疫病防控做出更大的贡献。

一例猪传染性胸膜肺炎的诊断及防治

姜林林^{1,2}, 宋帅[#], 蔡汝健¹, 蒋智勇¹, 李艳¹, 勾红潮¹, 楚品品¹, 李春玲¹, 李冰^{3*}

(1.广东省农业科学院动物卫生研究所/广东省畜禽疫病防治研究重点实验室/农业部兽用药物与诊断技术广东科学观测实验站/岭南现代农业科学与技术广东省实验室茂名分中心, 广东 广州 510640;

2.仲恺农业工程学院, 广东 广州 510225;

3.茂名市动物疫病预防控制中心, 广东 茂名 525099)

摘要:广东省某规模化猪场育肥猪出现喘气症状, 病理解剖显示肺脏肿大出血。采集发病猪只的肺脏、肝脏等病变组织进行实验室检测和鉴定, 病毒性病原为阴性, 经细菌分离培养获得了分离菌株。经TSA平板鉴别培养、染色镜检和病原菌特异性引物的PCR鉴定, 鉴定出分离菌株为胸膜肺炎放线杆菌, 并对分离菌株进行药敏试验, 结果显示:分离的猪传染性胸膜肺炎放线杆菌菌株对氟苯尼考、阿莫西林等临床常用抗生素产生耐药性, 对泰万菌素、头孢唑啉和头孢拉定表现出较高的敏感性。用敏感性药物进行临床防治后, 猪群中没有新增病例出现, 且发病的猪只逐渐恢复健康。

关键词:胸膜肺炎放线杆菌; 分离鉴定; 药敏试验; 防治措施

中图分类号:S852.61 **文献标识码:**C **文章编码:**1005-8567(2020)06-0026-04

猪传染性胸膜肺炎 (porcine contagious pleuropneumonia, PCP) 是由胸膜肺炎放线杆菌 (*Actinobacillus pleuropneumoniae*, APP) 引起的一种猪接触性呼吸道传染病, 临床上以急性出血性纤维素性肺炎、慢性纤维素性坏死性胸膜肺炎为主要特征^[1], 其主要在大猪阶段爆发和流行, 存在较高的发病率和死亡率, 严重阻碍了我国生猪养殖业稳定健康发展。APP是存在于猪呼吸道粘膜上的兼性致病菌, 属于革兰氏阴性菌, 呈线状或多形性, 有荚膜或不完全荚膜, 不形成芽孢, 无运动性, 有鞭毛及菌毛^[2]。根据对烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD) 的依赖性, 可将 APP 分为生物 I 型 (NAD 依赖株) 和生物

II 型 (NAD 非依赖性株), 根据 APP 表面可溶性荚膜多糖 (CPS) 和脂多糖 (LPS) 抗原, 分为 18 种血清型^[3-8], 其中 5 型又分为 a, b 两个亚型。各地方流行的血清型有所差异, 且不同的血清型之间的交叉保护性不强。近年来伴随着养猪业集约化生产规模的不断扩大以及猪群中耐药菌株的产生, 猪传染性胸膜肺炎呈现地方性的爆发和流行, 给该病的防治增加了难度。

广东省某规模化猪场出现了个别育肥猪只体温升高、呼吸困难、用常规药物治疗并没有好转, 死亡猪只口鼻有血色泡沫渗出等症状。对发病猪只进行剖检发现心包内有大量积液, 肺脏肿大、出血, 气管和喉头有泡沫性渗出物, 肝脏肿大、淤血、

收稿日期:2020-07-23

基金项目:广东省重点研发项目(2019B020217002), 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项(2019KJ119), 广东省科技计划项目(2014A010107020), 广东省农业科学院农业科技推广服务网络建设项目(2018分院2-02)

#表示共同第一作者

作者简介:姜林林(1993-), 女, 硕士研究生, 主要从事猪病防控技术研究;宋帅(1982-), 男, 副研究员, 主要从事猪病防控技术研究。E-mail:songshuai0602@126.com。姜林林与宋帅并列第一作者。

*通讯作者:李冰(1962-), 男, 高级兽医师, 主要从事畜禽疫病防控技术研究。E-mail:707409493@qq.com

且表面覆有纤维素性渗出物。采集了发病猪只的胸腔积液、肺脏和肝脏等病料,进行实验室相关病原的检测和鉴定,并对分离的病原菌株进行了药物敏感性实验,为本次临床病例防治提供了指导性用药,现报告如下。

1 材料与方 法

1.1 材 料

1.1.1 菌 种

胸膜肺炎放线杆菌阳性对照菌株由笔者单位提供。

1.1.2 病 料

广东省某规模化猪场送检疑似感染胸膜肺炎放线杆菌猪只的心包积液、肺脏、肝脏等病变组织器官。

1.1.3 主要试剂及培养基

Premix rTaq (TaKaRaTaqVersion2.0 plus dye) 基因扩增酶、DNA Marker 2000 购自 TaKaRa 公司, 抗生素药敏片购自杭州天和生物试剂公司。TSA (胰蛋白大豆琼脂培养基) 培养基、TSB(胰蛋白大豆肉汤培养基)培养基、普通绵羊血平板购自广东环凯微生物科技有限公司, 配置时加 10% 的小牛血清和 15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ NAD(烟酰胺腺嘌呤二核苷酸), 病原总核酸快速抽提试剂盒购自广州美基生物科技有限公司。

1.1.4 引物合成

参考相关文献,合成用于鉴定胸膜肺炎放线杆菌的特异性引物,引物由上海生工生物工程技术有限公司合成,引物序列为:APP-F:5'-TTATCCGAACCTTTGGTTTAGCC-3', APP-R:5'-CATATTTGATAAAACCATCCGTC-3', 扩增特异性的基因片段长度为 412 bp^[9]。

1.2 方 法

1.2.1 猪病毒性病原及弓形体的检测

将采集的肺脏和脾脏进行研磨处理后,用病原总核酸抽提试剂盒进行核酸的提取,以提取的核酸为模板,分别用本科室设计合成的猪病毒性病原以及弓形体特异性引物进行 PCR 扩增鉴定。

1.2.2 细菌的分离培养

无菌环境下,将疑似感染胸膜肺炎放线杆菌猪只的病料(胸腔积液、肝脏、肺脏)接种于含有 NAD 的 TSA 平板上和普通绵羊鲜血培养板上,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养过夜,挑取平板上可疑的单菌落接种于含有 NAD 的 TSB 培养基中进行纯培养和鉴定。

1.2.3 分离菌株的镜检鉴定

在无菌条件下,将培养的分 离菌液制作细菌涂片,进行革兰氏染色,显微镜下观察菌体形态及染色特性。

1.2.4 菌株的 PCR 鉴定

鉴定分离菌株的 PCR 鉴定以挑取单菌落培养的 TSB 菌液为模板,以合成的特异性引物进行 PCR 鉴定。PCR 反应体系为:Premix rTaq 12.5 μL , 10 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 上、下游引物各 0.5 μL , 菌液 1.0 μL , 双蒸水补至 25 μL 。PCR 反应程序为:95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min;94 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共 35 个循环;72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 10 min。扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳观察。

1.2.5 药敏试验

将 0.1 mL 分离菌株的 TSB 培养物均匀涂布接种于含有 NAD 的 TSA 平板表面,在室温下干燥 5 min,用无菌镊子将各种药敏纸片分别平贴于培养基表面,药敏片之间的距离应保持在 20 mm 左右,药敏片与培养皿边缘的距离应保持在 15 mm 左右,放置 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 20~24 h 后观察细菌的生长情况,测量抑菌环直径,筛选敏感性药物进行临床应用。

2 结 果

2.1 临床症状及病理变化

广东省某规模化猪场 150~180 斤育肥猪群中个别猪只突然出现咳嗽、喘气和犬坐式张口呼吸(见图 1A),发病猪只体温在 40~41 $^{\circ}\text{C}$,注射氟苯尼考等抗生素治愈率较低,发病猪只死亡率在 20% 左右。对发病猪只剖检发现:发病猪只的气管和喉头附着有大量粘稠分泌物(见图 1B),肺脏肿大出血呈紫红色(见图 1C),心包积液增多,肝脏

淤血肿大且表面附有淡黄色网状纤维素性样渗出物(见图1D)。图见第52页。

2.2 猪病毒性病原的检测

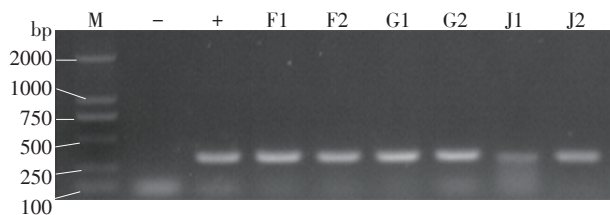
从送检的肺脏和脾脏中提取的核酸为模板, 利用相关病原的特异性引物进行PCR鉴定结果显示: 该病料中非洲猪瘟、经典猪瘟、伪狂犬、蓝耳、猪圆环2型和猪流感均为阴性, 弓形体病原也为阴性。

2.3 细菌的分离培养及染色镜检

接种胸腔积液、肝脏和肺脏病料的TSA平板(含NAD)过夜培养后均有菌落生长, 该菌落呈针尖大小、半透明状、圆形、光滑、边缘整齐; 在接种病料的普通绵羊血平板上过夜培养后没有菌落生长, 表明该菌株具有很强的NAD依赖性。将挑取的单菌落接种于含NAD的TSB培养基中进行增菌培养后, 涂片, 然后进行革兰氏染色, 镜检, 可在显微镜下观察到单个、成双或链状的革兰氏阴性球杆菌。

2.4 分离菌株的PCR鉴定

从每份组织病料(胸腔积液、肺脏、肝脏)接种的TSA平板上挑取2个单菌落共6个菌落分别接种到含NAD的TSB培养基中进行增菌培养, 过夜培养后, 以菌液作为模板, 用胸膜肺炎放线杆菌的特异性引物进行PCR扩增(见图2), 结果显示从胸腔积液、肺脏和肝脏的分离菌落培养物中均扩增出412 bp的特异性条带, 与胸膜肺炎放线杆菌阳性对照扩增条带大小相符, 表明造成此次猪只发病及猪只各脏器严重病变的病原菌为胸膜肺炎放线杆菌。



注: M: DL-2000 DNA Marker; F1、F2: 从肺脏中分离的菌株; G1、G2: 从肝脏中分离的菌株; J1、J2: 从胸腔积液中分离的菌株; -: 阴性对照; +: 阳性对照

图2 分离菌株PCR鉴定结果

2.5 分离菌株的药敏试验

从每份组织病料中选取一个菌株的TSB培养物(F1、G1、J1)进行药敏试验, 结果见表1, 分离的三株细菌(F1、G1、J1)均对泰万菌素、头孢唑啉和头孢拉定敏感; 对临床上常用的药物以及本场用于前期治疗的药物阿莫西林、替米考星、氟苯尼考、氧氟沙星、诺氟沙星、青霉素、复方磺胺存在相应的耐药性, 表明此次病原菌很容易产生相应的耐药性, 在进行临床防控和治疗过程中应避免长时间超大剂量使用一种抗生素。

表1 分离菌株的药物敏感性结果(抑菌圈直径mm)

药敏片	菌株			抗生素敏感性判定标准
	F1	G1	J1	
头孢唑啉	24(S)	25(S)	24(S)	R: ≤14, I: 15-17, S: ≥18
头孢拉定	19(S)	19(S)	20(S)	R: ≤14, I: 15-17, S: ≥18
头孢噻肟	16(I)	16(I)	16(I)	R: ≤14, I: 15-17, S: ≥18
头孢呋辛	15(I)	15(I)	17(I)	R: ≤14, I: 15-17, S: ≥18
泰万菌素	23(S)	23(S)	24(S)	R: ≤17, I: 18-20, S: ≥21
替米考星	21(R)	21(R)	20(R)	R: ≤25, I: 26-28, S: ≥29
阿莫西林	14(R)	12(R)	13(R)	R: --, I: --, S: ≥18
氟苯尼考	23(R)	21(R)	24(R)	R: ≤25, I: 26-28, S: ≥29
青霉素	17(R)	19(R)	20(R)	R: ≤28, I: --, S: ≥29
诺氟沙星	12(R)	11(R)	13(I)	R: ≤12, I: 13-16, S: ≥17
氧氟沙星	10(R)	11(R)	11(R)	R: ≤12, I: 13-15, S: ≥16
复方磺胺	10(R)	11(R)	10(R)	R: ≤12, I: 13-16, S: ≥17
强力霉素	13(I)	13(I)	14(I)	R: ≤12, I: 13-15, S: ≥16
林可霉素	24(I)	24(I)	25(I)	R: ≤23, I: 24-26, S: ≥27

注: R: 耐药; I: 中介; S: 敏感

2.6 临床防控效果

根据药敏试验结果, 选取泰万菌素对育肥猪群进行拌料防控, 同时用炎热清(主要成分黄芩苷、连翘苷)进行饮水; 对于发病的猪只用头孢唑啉+地塞米松+Vc进行早晚各肌肉注射一次, 连续进行防控治疗5天, 该猪群慢慢趋于稳定, 没有新发病例出现, 且发病的猪只已康复。

3 讨论

胸膜肺炎放线杆菌主要引起猪的传染性胸膜

肺炎,临床发病形式多样,急性死亡病例与非洲猪瘟非常相似,进行实验室诊断是确诊该病例的重要方法。该病原目前在规模化和集约化生猪养殖过程中时有发生和流行,特别是在非洲猪瘟流行区域给生猪养殖业造成了叠加性的危害,因此,对猪传染性胸膜肺炎的防控显得尤其重要。该病的重要防控手段是对猪群进行敏感性药物的保健和治疗。该病原菌临床敏感药物有头孢唑啉、头孢拉定、泰万菌素和泰妙菌素等,但是,近年来由于抗生素乱用和滥用,使得该病原菌出现了严重的耐药性,进行药物治疗时不但没有获得良好的治疗效果还加重了发病猪只的肝肾功能。针对这一状况,建议当猪场爆发细菌性病例时进行实验室细菌的分离、鉴定以及药敏试验,筛选高敏药物,进行合理交替用药,提高本病的治愈率和减少病原菌的耐药性。

一般情况下,传染性胸膜肺炎放线杆菌在外界的存活能力较弱,对常规消毒剂较为敏感;但在气温较低、湿度较大、细菌表面有黏液性物质时,细菌的存活能力就会增强,在春、秋换季时空气湿度变化较大,此时该病容易流行性爆发^[10]。该病的防控除了敏感药物的保健和治疗外,也要加强猪场管理,保持良好的温度,注意通风换气,保持空气流通,养殖密度要适宜;对猪舍进行定期消毒,以减少病原微生物。针对发病频率较高的猪场可采取疫苗防控,但由于该病原菌血清型众多,各血清型之间很难产生较强的交叉保护作用,在进行疫苗防控时,需要对临床流行的病原菌进行血清型鉴定,根据鉴定的血清型选择合适的疫苗^[11]。此外感染本病后容易出现继发感染,增加了防控的难度,而且感染过本病且耐过的猪将成为潜在的传染源^[12]。因此,进行实验室病原菌的分离、鉴定以及菌株的药物敏感试验,有利于更好的防控猪传染性胸膜肺炎。

参考文献:

- [1] 唐文山,李昕.猪传染性胸膜肺炎研究进展[J].动物医学进展,2008,29(2):98-102.
- [2] 贺英,赵萍,储岳峰,等.复合PCR鉴定胸膜肺炎放线杆菌和副猪嗜血杆菌方法的建立及初步应用[J].江西农业大学学报,2009,30(1):13-17.
- [3] NIELSEN R. Serology of *Haemophilus* (*Actinobacillus*) *pleuropneumoniae* serotype 5 strains: establishment of subtypes A and B. *Acta veterinaria Scandinavica*, 1986, 27(1): 49-58.
- [4] NIELSEN R. Serological characterization of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains and proposal of a new serotype: serotype 12. *Acta veterinaria Scandinavica*, 1986, 27(3):453-455.
- [5] BLACKALL P J, KLAASEN H L B M, BOSCH H V D, et al. Proposal of a new serovar of *Actinobacillus pleuropneumoniae*: serovar 15[J]. *Veterinary Microbiology*, 2002, 84(1):47-52.
- [6] FODOR L, VARGA J, MOLNÁR É, et al. Biochemical and serological properties of *Actinobacillus pleuropneumoniae* biotype 2 strains isolated from swine [J]. *Veterinary microbiology*, 1989, 20(2):173-180.
- [7] BOSSÉ J T, LI Y, SÁRKÖZI R, et al. Proposal of serovars 17 and 18 of *Actinobacillus pleuropneumoniae* based on serological and genotypic analyses [J]. *Veterinary microbiology*, 2018, 217, :1-6.
- [8] SARKÓZI R, MAKRAI L, FODOR L. Identification of a proposed new serovar of *Actinobacillus Pleuropneumoniae*: Serovar 16[J]. *Acta Vet Hung*, 2015, 63(4): 444-450.
- [9] JANINE T BOSSÉA, YANEN LIA, ROBERTO FERNANDEZ CRESPO. Comparative sequence analysis of the capsular polysaccharide loci of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serovars 1-18, and development of two multiplex PCRs for comprehensive capsule typing[J]. *Veterinary Microbiology*, 2018, 220:83-89.
- [10] 樊祜卿,储岳峰,贺英,等.四川省部分地区猪传染性胸膜肺炎的流行病学调查[J].中国动物检疫,2009,26(5):49-50.
- [11] 李海利,徐引弟,宋毓民,等.猪接触传染性胸膜肺炎放线杆菌血清3型分子鉴定及药敏试验[J].中国畜牧兽医,2016,1:280-284.
- [12] 李海利,朱文豪,张青娟,等.猪接触传染性胸膜肺炎放线杆菌血清1型分离鉴定及药敏试验[J].现代畜牧兽医,2016,6:7-13.

鸭大肠杆菌的分离鉴定及药敏试验

江耀伦¹, 黄小建^{2*}, 李美娣¹, 刘汉清³, 武力^{1*}

(1. 广东华农高科生物药业有限公司, 广东广州 510642;

2. 广东省农产品质量安全中心, 广东广州 510520;

3. 华南农业大学兽医学院, 广东广州 510642)

摘要:本研究主要对从福建地区某养鸭场采集的病料中分离得出两株菌株进行研究, 经过分离纯化, 得到纯化菌株; 根据细菌培养特性试验与分子生物学的鉴定, 确定这两菌株为鸭源性大肠杆菌并命名为 ECFJ0401 与 ECFJ0402 株; 对分离鉴定所得菌株进行氨苄西林、阿莫西林、先锋霉素、庆大霉素、大观霉素、恩诺沙星、林可霉素与四环素的药敏试验, 结果显示: 2 株鸭源大肠杆菌临床菌株对庆大霉素和大观霉素敏感外, 其余抗生素全部耐药。该养殖场为控制此病, 应选用敏感性较高的庆大霉素和大观霉素。

关键词:鸭致病性大肠杆菌; 分离鉴定; 耐药性; 药敏试验

中图分类号:S852.61 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)06-0030-03

大肠杆菌学名为大肠埃希菌, 是一种革兰氏阴性短杆菌, 大小 0.5~1.5 μm, 无芽孢, 菌体周围生有鞭毛。它是人和动物肠道中的正常栖居菌, 在自然界中分布广泛。

近年来, 大肠杆菌成为养鸭业中的主要疾病之一, 耐药性菌株的产生, 用药成本的增加, 给养殖生产带来严重的经济损失^[1]。鸭大肠杆菌是致病性大肠杆菌引起鸭的一种急性败血传染病, 在养鸭生产中属于比较常见的细菌病, 各种日龄鸭均可能感染, 其中以 2~4 周龄雏鸭最易感, 发病多在于秋末、春初^[2]。

由于大肠杆菌的血清型复杂, 难以依靠疫苗对其控制, 近些年抗生素使用越发频繁^[3]。抗菌药物长期使用, 耐药菌株不断增多, 耐药谱不断扩大, 有效药物日渐减少, 导致此病在发病后难以控制, 给养殖业造成巨大的损失。本研究主要通过福建地区鸭养殖场致病性大肠杆菌分离纯化并鉴定, 筛选出两株临床鸭大肠杆菌进行药敏试验, 寻找鸭致病性大肠杆菌敏感的药物, 为实际生产

中鸭大肠杆菌引起的疾病诊治提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验病料

样品采集于福建福州闽侯县地区某鸭养殖场的病死鸭, 采样时间为 2019 年 4 月, 样品具体背景信息如表 1。

表 1 样品信息

地区	年份	品种	日龄(d)
闽侯场	2019	番鸭	25

1.1.2 主要试验试剂

麦康凯琼脂培养基、MH 琼脂培养基、LB 肉汤培养基均购自广东环凯微生物科技有限公司; 10 μg/片氨苄西林、10 μg/片阿莫西林、30 μg/片先锋霉素、10±2.5 μg/片庆大霉素、100 μg/片大观霉素、5 μg/片恩诺沙星、2 μg/片林可霉素与 30 μg/片四环素药敏片; 均

收稿日期: 2020-07-17

作者简介: 江耀伦(1995-), 男, 广东广州人, 本科。E-mail: 522645585@qq.com

*通讯作者: 武力(1970-), 男, 博士, 高级兽医师。E-mail: 1187131629@qq.com; 黄小建(1962-), 男, 高级兽医师。E-mail: 1157782871@qq.com

购自杭州滨河微生物试剂有限公司。

1.1.3 仪器设备

超净工作台(苏州精华设备有限公司)、摇床(上海博迅医疗生物仪器股份有限公司)、双目显微镜(广州粤显光学仪器有限责任公司)、生化培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、PCR扩增仪(杭州博日基因扩增仪)、电泳仪和凝胶成像系统(上海天能科技有限公司)。

1.2 大肠杆菌的分离纯化

1.2.1 分离培养

酒精棉球擦拭鸭头消毒,采用无菌钢剪和镊子将鸭的脑壳打开,用无菌接种针过火伸入脑部采集菌种,划线接种于麦康凯琼脂培养基中,于 36 ± 1 °C培养18~24 h,根据大肠杆菌在麦康凯上的生长特性,挑取单个粉红色可疑单菌落继续划线于麦康凯琼脂培养基中纯化培养。

1.2.2 染色镜检

将疑似的菌株进行染色镜检:取洁净的玻片火焰上反复拖拉几次,用接种环挑取一环蒸馏水,用接种棒挑取菌落边缘少许细菌,与玻片上的水混匀涂抹开,自然干燥,火焰固定;滴加结晶紫染色液作用1 min后水洗;滴加革兰氏碘液作用1 min后水洗;滴加脱色酒精,作用约30 s后水洗;滴加沙黄复染液,复染1 min后水洗晾干,然后于显微镜下观察细菌的形态。

1.3 分子生物学鉴定

1.3.1 引物设计与合成

参考毛福超等^[4]设计大肠杆菌他异性扩增引物进行合成,其上游引物序列为:EC370-F:5'-GATAAGCCCGCAGTCACCT-3',下游引物序列为:EC370-R:5'-TCCCGTAACTCATCACCATCA-3',扩增片段大小为370 bp。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

1.3.2 菌株DNA提取

挑取经镜检的可疑菌落,接种于LB肉汤中,于 36 ± 1 °C震荡培养18~24 h得出新鲜菌体培养物,以大肠杆菌44102株做阳性对照,无菌水作阴性对照,进行DNA提取。提取步骤:吸取1 mL菌液于1.5 mL无菌离心管中,以12000 r/min离心1 min,弃去上清液,用无菌去离子水反复洗涤2次,后100 μ L无菌水重悬,置于沸水浴中煮沸20 min,

于12000 r/min离心1 min,取上清液做DNA模板。

1.3.3 PCR扩增

参照TaKaRa Premix Taq Version2.0使用说明书,将Premix Taq 12.5 μ L、DNA模板1 μ L、上游引物1 μ L、下游引物1 μ L、无菌蒸馏水9.5 μ L准确量取加入到PCR管中,吹打混匀。各组分充分混匀后,设置PCR扩增反应为:95 °C预变性5 min、95 °C变性30 s、61 °C复性30 s、72 °C延伸55 s和72 °C后延伸10 min,其中95 °C变性、61 °C复性和72 °C延伸设定30个循环,待PCR扩增完成后,取出样品10 μ L立刻进行琼脂糖凝胶电泳。

1.3.4 琼脂糖凝胶电泳

琼脂糖凝胶点样:取10 μ L PCR扩增产物加入各加样孔中,并加入对应的阴性对照与阳性对照,同时设定标准分子量Maker做分子质量大小对照(电泳条件:电压150 V,电泳时间30 min)。

结果观察和判断:电泳结束后,关闭电源,把凝胶从电泳液中取出来,放入天能凝胶成像系统中,UV紫外灯下观察核酸条带并读取结果。PCR产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司驻广州测序服务网点进行测序。

1.4 药敏试验

参照常規K-B药敏纸片扩散法对分离的菌株进行氨苄西林、阿莫西林、先锋霉素、庆大霉素、大观霉素、恩诺沙星、林可霉素与四环素的药敏试验,对照菌株为大肠标准菌株44102。取大肠杆菌新鲜培养肉汤,调整菌液浓度为 1.0×10^6 cfu/mL,采用无菌棉签拭子蘸取菌液,在管壁挤压几次去除过多菌液后,在整个MH平板上反复多次均匀涂抹,每次涂抹将平板旋转60°,最后沿平板周边绕转两圈,保证涂抹均匀;待平板水分被完全吸收后,使用镊子取一张药敏纸片,贴于平板表面,轻轻按压使其贴平,重复2个平行,置于37 °C培养18~24 h,观察结果,使用游标卡尺测量抑菌圈大小,并做好记录^[5]。结果判断参照SN/T 1944-2016《动物及其制品中细菌耐药性的测定—纸片扩散法》。

2 结果

2.1 细菌分离培养及镜检结果

分离菌株在麦康凯上呈粉红或者浅红色,菌

落中心显桃红色, 圆形湿润, 表面光滑, 边缘整齐, 菌落周围麦康凯培养基变成粉红色(图1、2); 在显微镜下为革兰氏阴性菌, 呈红色短杆菌, 中等大小、两头钝圆, 未见荚膜和芽孢(图3、4)。初步分离得到2株大肠杆菌分离株, 并命名为ECFJ0401与ECFJ0402株。

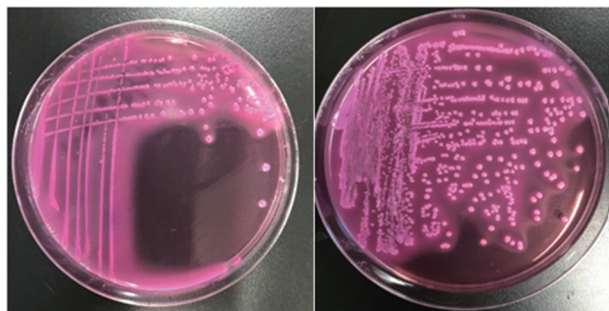


图1 菌株ECFJ0401(左)和菌株ECFJ0402(右)在麦康凯上的菌落特征

2.2 分离菌株分子生物学鉴定结果

从平板挑取菌落接入肉汤培养基中, 经提取菌株DNA作为模板, 用大肠杆菌引物进行PCR扩增, 扩增产物经1.0%琼脂糖凝胶电泳分析后, 与DL2000 DNA Maker作比较, 发现扩增片段在400-500 bp之内, 与阳性对照所处位置一致, 和预期目的片段长度相符, 条带单一光亮(图2)。经测序后比对结果, 显示ECFJ0401与ECFJ0402与大肠杆菌的同源性为99.0%和98.0%(图3、图4)。

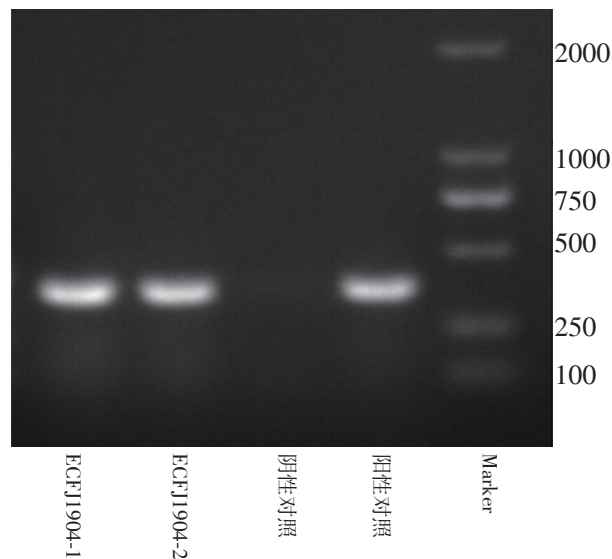


图2 琼脂糖凝胶电泳图

Escherichia coli strain ECF16 chromosome, complete genome

Sequence ID: [CP054224.1](#) Length: 4721932 Number of Matches: 1

Range 1: 3475001 to 3475338 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
601 bits(325)	9e-168	335/339(99%)	4/339(1%)	Plus/Minus
Query 1	CGT-ATGACAGCGTACCACCTGGCGCAGATGACTGATAAAGCCATTGAATTTGAGT	59		
Sbjct 3475338	CGTAATGACAGCGTACCACCTGGCGCAGATGACTGATAAAGCCATTGAATTTGAGT	3475279		
Query 60	AAAAATGAGAAAGGCTTTTCTGCAAGTTGAAGGTGCATCAATCGATAAAGAGGATC	119		
Sbjct 3475278	AAAAATGAGAAAGGCTTTTCTGCAAGTTGAAGGTGCATCAATCGATAAAGAGGATC	3475219		
Query 120	GCTGCGAATCCTGTGGCAAAATGGCGAGACGGTGCATCTCGACGAAGCCGTACAACGG	179		
Sbjct 3475218	GCTGCGAATCCTGTGGCAAAATGGCGAGACGGTGCATCTCGACGAAGCCGTACAACGG	3475159		
Query 180	GGCTGGAAATTCGCTAAAAGGATGGCAACACCGTGCATAGTCAACCGCTGATCACGCC	239		
Sbjct 3475158	GGCTGGAAATTCGCTAAAAGGATGGCAACACCGTGCATAGTCAACCGCTGATCACGCC	3475099		
Query 240	CACGCCAGCAGATTGCTGCGCCGACCAAAAGCCCGCCGCTCACCAGCCGCTAAAT	299		
Sbjct 3475098	CACGCCAGCAGATTGCTGCGCCGACCAAAAGCCCGCCGCTCACCAGCCGCTAAAT	3475039		
Query 300	ACCAAAGATGGCCAGTGGTG-T-AGTTACGGGAA 336			
Sbjct 3475038	ACCAAAGATGGCCAGTGGTGATGAGTT-ACGGGAA 3475001			

图3 菌株ECFJ0401同源性比对结果

Escherichia coli strain SCU-171 chromosome, complete genome

Sequence ID: [CP054363.1](#) Length: 5200581 Number of Matches: 1

Range 1: 4228567 to 4228913 [GenBank](#) [Graphics](#) [Next Match](#) [Previous Match](#)

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
606 bits(328)	2e-169	343/349(98%)	6/349(1%)	Plus/Plus
Query 5	AAT-CGC-ACGT-ATGACAGTGTACCGACCTGGCGCAGATGACCCAAAGCCATTGAA	61		
Sbjct 4228567	AATCCGCAACGTAATGACAGTGTACCGACCTGGCGCAGATGACCCAAAGCCATTGAA	4228626		
Query 62	TTGTTGAGTAAAAATGAGAAGGCTTTTCTGCAAGTTGAAGGTGCATCAATCGATAAA	121		
Sbjct 4228627	TTGTTGAGTAAAAATGAGAAGGCTTTTCTGCAAGTTGAAGGTGCATCAATCGATAAA	4228686		
Query 122	CAGGATCACCGTGGAAATCCTGTGGCAAAATGGCGAGACGGTGCATCTCGATGAAGCC	181		
Sbjct 4228687	CAGGATCACCGTGGAAATCCTGTGGCAAAATGGCGAGACGGTGCATCTCGATGAAGCC	4228746		
Query 182	GTACAACGTCGCGTGGAAATTCGCTAAAAGGATGGCAACACCGTGCATAGTCAACCGCT	241		
Sbjct 4228747	GTACAACGTCGCGTGGAAATTCGCTAAAAGGATGGCAACACCGTGCATAGTCAACCGCT	4228806		
Query 242	GATCACGCCACCGCCAGATTGTCGCGCCGACCAAAAGCCCGCCGCTCACCAG	301		
Sbjct 4228807	GATCACGCCACCGCCAGATTGTCGCGCCGACCAAAAGCCCGCCGCTCACCAG	4228866		
Query 302	GCCTAAATACCAAGATGGCCAGTGGTG-TGAGTTTACGGGAA 349			
Sbjct 4228867	GCCTAAATACCAAGATGGCCAGTGGTGATGAGTT-ACGGGAA 4228913			

图4 菌株ECFJ0402同源性比对结果

2.3 药敏试验结果

经药敏纸片扩散法结果得知, 筛选出来的两株临床鸭源大肠菌株对氨苄西林、阿莫西林、头孢唑林、恩诺沙星、林可霉素和四环素均表现为耐药(R), ECFJ0401对庆大霉素和大观霉素表现敏感(S), 抑菌圈直径为20 mm, ECFJ0402对庆大霉素表现敏感(S), 抑菌圈直径为20 mm, 对大观霉素表现为中度敏感(I), 抑菌圈直径为14 mm。

3 结论

随着科学的不断进步, 分子生物学应用在各种微生物病原分离鉴定当中的案例越来越常见, 相比于传统细菌鉴定方法简单快速, 结合基因序列同源性比较, 能更好地将不同种的细菌区分开来, 使得细菌鉴定更加准确。此次在鸭的病料中分离所得的两株菌株在麦康凯琼脂培养基上培养18~24 h后, 可以看到粉红色或者浅粉色圆形菌

抗球虫药与鸡球虫病疫苗在黄羽肉鸡中的应用效果比较

刘苑青², 蔡曼珊¹, 瞿浩¹, 吴荣彪², 陈鹏², 王劼^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物科学研究所, 畜禽育种国家重点实验室, 广东省动物育种与营养公共实验室, 广东省畜禽育种与营养研究重点实验室, 广东 广州 510640;
2. 广东智威农业科技股份有限公司, 农业农村部家禽遗传育种重点实验室, 广东 广州 510640)

摘要:本试验旨在比较鸡球虫病疫苗和抗球虫药在中速型黄羽肉鸡养殖生产中的应用效果和经济效益。选择进苗时间相隔2周内的8家饲养麻黄母鸡的养户, 随机分为鸡球虫病疫苗和抗球虫药两个组, 每组4户, 每户养殖量5000只以上。鸡球虫病疫苗组按照正常的球虫病疫苗免疫程序进行免疫, 饲喂不加抗球虫药的饲料; 抗球虫药组饲料中添加抗球虫药(50 mg/kg 尼卡巴嗪+40 mg/kg 甲基盐霉素)。通过比较生产性能、鸡球虫病防控效果、肠道健康以及成本投入等, 发现两组的60 d体重和日均采食量无显著差异, 鸡球虫病疫苗组料重比略低于抗球虫药组; 鸡球虫病疫苗组8~60 d的死淘率极显著低于抗球虫药组($P<0.01$), 而且鸡球虫病疫苗组的球虫发生批次率、球虫临床用药成本和斤增重成本均低于抗球虫药组。由此可见, 针对60 d上市的黄羽肉鸡应用鸡球虫病疫苗防治球虫效果更佳, 且更有利于降低生产成本。

关键词:黄羽肉鸡; 鸡球虫病疫苗; 抗球虫药; 生产性能; 经济效益

中图分类号:S815.5 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)06-0033-03

鸡球虫病是鸡养殖业中最常见的寄生虫病。以地面平养和散养方式为主的黄羽肉鸡生产中, 鸡球虫病频发。球虫感染使大量的肠粘膜上皮细胞破坏, 导致产气荚膜梭菌繁殖和毒素的产生, 从而引发坏死性肠炎, 致使肉鸡生产性能下降, 生产成本增加^[1]。目前, 饲料添加抗球虫药和鸡球虫病疫苗免疫是黄羽肉鸡生产中防控鸡球虫病的两种主要途径, 但各有利弊。其中, 鸡球虫耐药性和抗球虫药的残留等问题越来越突出, 使用抗球虫药物防治鸡球虫病的策略受到严峻挑战。鸡球虫病的免疫预防通过带虫免疫和轻度循环感染刺激鸡体产生免疫力, 但常常在早中期出现疫苗反应导致肠炎, 影响生产效率^[2]。本试验旨在比较评价鸡球虫病疫苗和抗球虫药在黄羽肉鸡生产中的应用

效果, 为黄羽肉鸡生产提供技术支撑。

1 材料与方法

1.1 试验设计

选择开平金鸡王禽业有限公司麻黄母鸡(中速型)。进苗时间相隔2周内的14个批次麻黄母鸡, 随机分为鸡球虫病疫苗和球虫药两个处理组, 每组7个批次, 每批次养殖量6000只以上。试验周期为60天。

鸡球虫病疫苗组: 使用佛山市正典生物技术有限公司鸡球虫病四价活疫苗, 按照正常的鸡球虫病疫苗免疫程序进行免疫, 饲喂不加抗球虫药的饲料;

抗球虫药组: 不进行鸡球虫病疫苗免疫, 饲喂

收稿日期: 2020-09-28

作者简介: 刘苑青(1983-), 女, 山西人, 硕士研究生, 畜牧师, 主要从事家禽饲料与营养。E-mail: liuyuanqing1983@163.com

*通讯作者: 王劼(1980-), 女, 湖北人, 博士, 研究员, 研究方向: 家禽营养与生产。E-mail: wangjie030@126.com

添加了抗球虫药(50 mg/kg 尼卡巴嗪+40 mg/kg 甲基盐霉素)的饲料。

1.2 试验饲料

鸡球虫病疫苗组使用基础饲料(见表1), 抗球虫药组在基础饲料中添加10%的甲基盐霉素400

表1 基础饲料组成及营养水平¹(88%干物质基础)

原料名称(%)	小鸡料 (0-21 d)	中鸡料 (22-42 d)	大鸡料 (35-50 d)	空肥料 (>50 d)
玉米	58.865	61.375	61.73	64.45
次粉	2	3	4	4
猪油	1.2	3.7	5.3	5.3
豆粕(45%)	33.2	27.6	25.2	22.5
石粉	1.5	1.3	1.4	1.4
磷酸氢钙	1.6	1.2	0.8	0.8
防霉剂	0.05	0.05	0.05	0.05
氯化胆碱(50%液体)	0.225	0.175	0.15	0.15
L-赖氨酸硫酸盐(70%)	0.18	0.28	0.23	0.3
DL-蛋氨酸(98%)	0.16	0.26	0.27	0.19
苏氨酸(99%)	0	0.04	0.05	0.04
食盐	0.2	0.2	0.2	0.2
小苏打	0.22	0.22	0.22	0.22
肉鸡微量元素预混料	0.2	0.2	0.2	0.2
小鸡维生素预混料 ²	0.4			
中鸡维生素预混料		0.4		
大/肥鸡维生素预混料 ³			0.2	0.2
合计	100	100	100	100
配方成本(元/吨)	2604	2595	2587	2576
营养水平				
代谢能 kcal/kg	2860	3040	3150	3180
粗蛋白 %	20	18	17	16
钙 %	1	0.9	0.85	0.8
总磷 %	0.64	0.56	0.48	0.46
有效磷 %	0.4	0.33	0.28	0.25
可消化赖氨酸 %	1.05	0.97	0.9	0.85
可消化含硫氨基酸 %	0.7	0.76	0.7	0.64
可消化苏氨酸 %	0.66	0.63	0.6	0.56

注:1.1:营养成分为计算值;2:小、中鸡预混料为每千克日粮中含9000 IU VA, 4600 IU VD3, 63 IU VE, 4.0 mg VB1, 9.0 mg VB2, 6.0 mg VB6, 4.0 mg VK3, 0.04 mg VB12, 20 mg 泛酸钙, 77 mg 烟酸, 2.4 mg 叶酸, 0.35 mg 生物素, 120 mg Fe, 12 mg Cu, 110 mg Mn, 100 mg Zn, 2.0 mg I, 0.4 mg Se, 1.0 mg 钴;3:大、肥鸡预混料为每千克日粮中含10500 IU VA, 5000 IU VD3, 55 IU VE, 3.5 mg VB1, 8.5 mg VB2, 5.5 mg VB6, 3.5 mg VK3, 0.035 mg VB12, 18 mg 泛酸钙, 72 mg 烟酸, 2.2 mg 叶酸, 0.3mg 生物素, 120 mg Fe, 12 mg Cu, 110 mg Mn, 100 mg Zn, 2.0 mg I, 0.4 mg Se, 1.0 mg 钴

mg/kg, 25%的尼卡巴嗪200 mg/kg, 主要添加的阶段为0~50 d。

1.3 试验指标

1.3.1 生产性能指标

选取每个养户1%~2%的肉鸡称取60日龄体重, 记录0~60 d全期喂料量, 死淘数, 计算料重比、死淘率等指标。

料重比=60 d均重×60 d存栏数/累计耗料量

7 d死淘率(%)=(7 d死淘数-减苗数)/1 d实际存栏数*100

8~60 d死淘率(%)=8~60 d死淘数/8 d实际存栏数*100

1.3.2 临床球虫病治疗药费

饲养过程中发现球虫典型症状, 主要使用30%磺胺氯吡嗪钠可溶性粉(保定冀中)和0.5%地克珠利溶液(山东迅达康)进行治疗, 依据开平金鸡王禽业有系公司提供的药品单价与用量计算治疗球虫的费用。

1.4 数据分析

本试验利用 SAS 9.0 软件进行相关数据的处理, 试验结果采用平均值±标准差表示, 体重、采食量、料肉比采用 t 检验进行比较, 死淘率则采用卡方检验。

2 结果与分析

2.1 抗球虫药和鸡球虫病疫苗对麻黄肉鸡生产性能的影响

由表2可知, 本试验生产性能数据显示, 鸡球虫病疫苗组和抗球虫药组试验结束(60 d)体重、0~60 d日均采食量均无显著性差异; 鸡球虫病疫苗组料重比比抗球虫药组低0.08, 但未达到显著水平。

表2 抗球虫药和鸡球虫病疫苗分别对黄羽肉鸡生长性能的影响

性能指标	鸡球虫病疫苗组	抗球虫药组
60 d均重(斤)	3.36±0.14	3.31±0.09
耗料量(斤)	8.07±0.29	8.46±0.44
料重比	2.46±0.08	2.54±0.10

表3死淘率数据显示, 鸡球虫病疫苗组和抗球虫药组全期死淘率没有显著差异。鸡球虫病疫苗组0~7 d死淘率显著高于抗球虫药组, 但由于鸡

球虫病疫苗于第5 d才开始免疫,0~7 d死淘率受鸡苗质量或养户育雏管理影响为主。抗球虫药组8~60 d死淘率极显著高于鸡球虫病疫苗组($P<0.01$)。

表3 抗球虫药和鸡球虫病疫苗分别对黄羽肉鸡死淘率的影响

性能指标	鸡球虫病疫苗组	抗球虫药组
0-7 d死淘率(%)	1.95±0.84 ^A	1.61±1.13 ^B
8-60 d死淘率(%)	1.22±0.68 ^B	1.47±0.64 ^A
全期死淘率(%)	3.15±0.85 ^B	3.71±2.41 ^A

注:肩标字母表示统计学上显著性差异,大写字母表示 $P<0.01$,小写字母表示 $P<0.05$ 。下同

2.2 抗球虫药和鸡球虫病疫苗对黄羽肉鸡球虫病防控的效果

本试验中鸡球虫病疫苗组和抗球虫药组均有批次发生零星的球虫病,其中抗球虫药组发生球虫病的批次比例为85%(如表4所示),高于鸡球虫病疫苗组发生批次比例(占28.5%)。

表4 鸡群发生球虫病情况

指标	鸡球虫病疫苗组	抗球虫药组
试验批次数	7	7
发病批次数	2	6
发病批次率(%)	28.5	85.70%

2.3 抗球虫药和鸡球虫病疫苗应用成本效益差异

本试验基础日粮饲料成本为1.3元/斤,抗球虫药成本25元/吨饲料,鸡球虫病疫苗成本0.08元/只。表5结果显示,无论是临床用药成本,还是每斤鸡肉饲料成本,鸡球虫病疫苗组均低于抗球虫药组。鸡球虫病疫苗组临床用药成本比抗球虫药组低0.038元/只,饲料成本低0.104元/斤,两部分成本合计低0.142元/斤。

3 讨论

肉鸡养殖生产中饲料添加抗球虫药和球虫活疫苗免疫是预防鸡球虫病发生最常用的方法。

国内外学者调查发现抗球虫药的长期使用会导致球虫对药物产生严重的耐药性^[3,4],而且抗球虫药物防治效果逐渐降低甚至失败,集约化养殖场表现

表5 抗球虫药和鸡球虫病疫苗应用对生产成本的影响

成本项目	鸡球虫病疫苗组	抗球虫药组
球虫临床用药成本(元/只)	0.012	0.04
鸡球虫病疫苗成本(元/只)	0.08	-
抗球虫药添加成本(元/只)	-	0.104
每只鸡球虫防治总成本(元/只)	0.084	0.122
每斤增重饲料成本 ¹ (元/斤)	3.198	3.302

注:¹每斤增重饲料成本为基础日粮单斤配方成本×料比

尤为严重^[5]。本试验中抗球虫药组即使在饲料中添加了足量的抗球虫药,但大多数的批次仍然出现球虫感染,这可能与球虫的耐药性较强有关。

球虫免疫预防不存在耐药性和药物残留的问题,被越来越多养殖企业推广使用。应用鸡球虫病疫苗免疫肉鸡,活球虫侵入机体诱导免疫应答过程中,会产生不同程度的过敏反应和肠道病理损伤。不论采用哪一种免疫方式(饮水、拌料或喷雾),均会发生不同程度的肠道病变^[6,7],可能会降低生产效率。因此,养殖生产者十分关注鸡球虫病疫苗对肉鸡生产性能的影响。本试验在60 d上市的黄羽肉鸡中比较了鸡球虫病疫苗和抗球虫药对球虫防治效果、生长性能、死淘率和生产成本的影响,结果显示使用鸡球虫病疫苗和抗球虫药对肉鸡生长性能没有明显差异,但鸡球虫病疫苗组球虫感染的批次率、8~60 d的死淘率以及生产成本均低于抗球虫药组,表明鸡球虫病疫苗对肉鸡生产性能没有不利影响,而且鸡球虫病疫苗防治效果和经济效益均优于抗球虫药。黎卫东等^[8]评估鸡球虫病疫苗对不同上市天龄(70~100 d)黄羽肉鸡生产成绩时发现应用鸡球虫病疫苗的试验鸡群其成活率、均重和养户毛利等生产成绩均高于对照组,进一步证明使用鸡球虫病疫苗有利于肉鸡生产成绩的提高。本试验结果与前人报道结果相似。但也有研究发现,在快大型白羽商品肉鸡中,使用鸡球虫病疫苗免疫组防治球虫感染效果优于抗球虫药组,但肉鸡的增重、料肉比和欧洲指数等生产性能指标鸡球虫病疫苗组均低于抗球虫药组^[7],推测主要是由于快大型白羽肉鸡上市天龄较短,抗球虫免疫力建立后补偿性生长时间不足所导致。

4 小结

黄羽肉鸡生产中,应用鸡球虫病疫苗防治鸡

一株番鸭细小病毒的分离鉴定 及其对雏番鸭的致病性研究

曾凡桂, 王占新, 严专强, 覃健萍, 周庆丰, 申翰钦, 鲁俊鹏*

(温氏食品集团股份有限公司, 广东省畜禽健康养殖与环境控制企业重点实验室,
广东 新兴 527439)

摘要:某番鸭养殖场2周龄肉鸭发生以腹泻、呼吸困难及软脚为主要症状的疾病, 鸭群整体精神沉郁, 耗料量下降, 结合流行病学调查、剖检病理变化等初步诊断为番鸭细小病毒(MDPV)感染。为进一步探明病因, 本研究将采集的死亡鸭肝脏和胰脏组织处理后, 用番鸭细小病毒、小鹅瘟等8种番鸭常见病毒特异性引物进行PCR/RT-PCR检测, 结果仅番鸭细小病毒为阳性。用鸭胚从阳性样品中分离到一株病毒, 命名为MDPV-GD201901株。为了解分离毒株的致病性, 用分离株病毒对1、7日龄健康雏番鸭进行了致病性试验。结果显示, MDPV-GD201901株对雏番鸭具有致病性, 可引发鸭只死亡和生长发育缓慢, 1日龄攻毒组有20%的鸭只死亡, 7日龄攻毒组有30%鸭只表现为发育迟缓。本研究为番鸭细小病毒的防控提供了一定参考依据。

关键词:番鸭细小病毒; 分离鉴定; 雏番鸭; 致病性

中图分类号:S852.65*7 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8567(2020)06-0036-04

番鸭细小病毒病俗称“三周病”, 是由番鸭细小病毒(Muscovy duck parvovirus, MDPV)引起的高发病率和高死亡率的一种急性败血性传染病^[1], 主要危害1~3周龄的雏番鸭, 以腹泻、气喘及胰坏死和出血为主要特征, 其发病率与死亡率可高达40%~50%, 是番鸭饲养业中危害较严重的传染病之一。由于番鸭细小病毒与鹅细小病毒(GPV)非常相似, 该病毒最初被认为是GPV, 1980年我国研究发现属于细小病毒科、细小病毒属的一个新成员, 1988年国际首次明确了MDPV并非GPV^[2, 3]。

番鸭细小病毒均属于细小病毒科、细小病毒属, 是目前动物病毒中较小的一类单链DNA病毒。病毒粒子直径20~22 nm, 为圆形或六角形, 无囊膜, 呈二十面体对称结构^[4], 基因组大小5 kb左右, 基因组中含有两个开放阅读框架(ORF), 左侧ORF编码非结构蛋白(NS), 右侧ORF编码结构蛋白, 结构蛋白VP1、VP2和VP3基因的起始密码子

的位置不同, 但共用同一终止密码子, 即VP1基因含有组成VP2和VP3的全部氨基酸序列^[5]。

目前养殖场通过接种种鸭或雏鸭免疫番鸭细小病毒疫苗来防控该病, 取得了较好的防控效果, 但临床上仍时有鸭群感染MDPV发病, 因而对发病鸭群进行诊断并分离病原开展相关研究对于该病的防控效果具有实际意义。本研究从广东某番鸭养殖场发病鸭群成功分离到一株番鸭细小病毒, 并开展了对雏番鸭的致病性研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂

EXTaq DNA聚合酶、DL2000 DNA marker、琼脂糖(电泳纯)为大连宝生物工程有限公司(TaKaRa)产品; 体液病毒DNA/RNA小量试剂盒为广州美基生物科技有限公司; PCR检测引物均为本实验室设

收稿日期:2020-03-06

作者简介:曾凡桂(1984-), 男, 湖南人, 硕士, 主要从事禽病防控。E-mail: fgxj_z@163.com.

*通讯作者:鲁俊鹏(1980-), 男, 山东人, 博士, 主要从事禽病防控。E-mail: junpenglu@126.com

设计的检测引物由上海生工生物工程技术有限公司合成。

1.1.2 样品采集与处理

样品来源于广东省某番鸭养殖场,鸭群8日龄开始发病,主要表现为腹泻、呼吸困难及软脚。采集发病鸭的胰腺、肝脏、脾脏、肾脏等组织样品,按1:5的比例加入2000 U/ml的双抗液,经研磨匀浆后反复冻融3次,取上清液经0.22 μm孔径滤器过滤后保存备用。

1.1.3 试验动物及疫苗

鸭胚及1日龄雏番鸭均购自温氏水禽公司某种鸭场;番鸭细小病毒弱毒活疫苗购置广东温氏大华农生物科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 组织样品PCR检测

将1.1.2中处理好的病料上清,用美基公司的体液病毒DNA/RNA小量试剂盒按步骤提取核酸。分别用禽流感病毒、鸭副粘病毒、鸭肝炎病毒、鸭3型腺病毒、鸭呼肠孤病毒、鸭坦布苏病毒、番鸭细小病毒、鹅细小病毒特异性引物进行PCR/RT-PCR检测。

1.2.2 病毒分离

将1.1.2中处理好的病料上清,接种到10日龄番鸭胚尿囊腔中,0.2 ml/枚,接种的鸭胚置37℃孵化箱中孵化,每日照胚,弃去24 h内死亡的鸭胚,无菌收获24 h后死亡及接种后第5天仍存活鸭胚的尿囊液,盲传2代,收集F1、F2代尿囊液放-80℃冰箱冻存备用。

1.2.3 分离株对雏番鸭的致病性试验

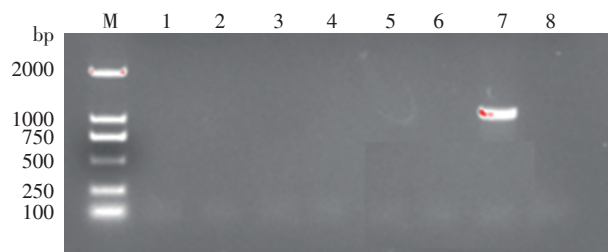
将40只1日龄健康雏番鸭随机分为A~D 4个试验组,每组10只,其中A、B组分别于1、7 d通过肌注方式用番鸭细小病毒分离株F2代尿囊液进行攻毒,病毒原液0.2 ml/只;C组鸭只于1 d通过颈部皮下免疫大华农鸭小威疫苗1羽份,7 d通过肌注方式用番鸭细小病毒分离株F2代尿囊液进行攻毒,病毒原液0.2 ml/只;D组为空白对照组,攻毒后观察记录各试验组鸭只发病情况,并于第28 d称取各试验组鸭只体重后剖杀观察病变。

2 结果

2.1 组织样品PCR检测结果

养殖场发病鸭群样品采用PCR/RT-PCR检测

结果,只有番鸭细小病毒引物为阳性,其它各种病原引物均未能扩增出相应的条带(图1)。

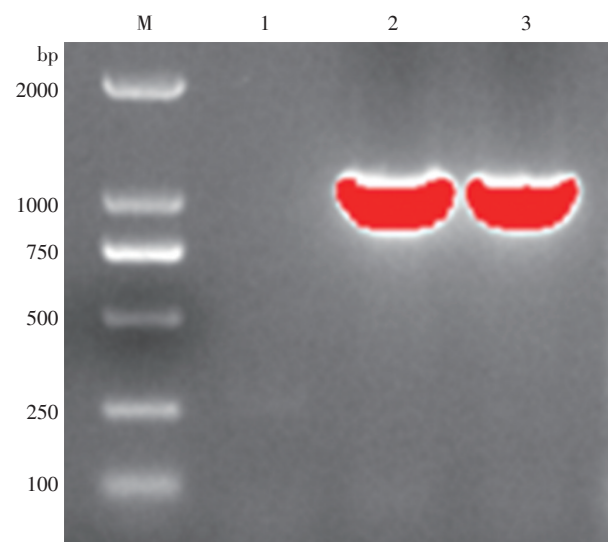


注:M:DL2000 DNA Marker;1:禽流感病毒鹅细小病毒;2:鸭副粘病毒;3:鸭肝炎病毒;4:鸭3型腺病毒;5:鸭呼肠孤病毒;6:鸭坦布苏病毒;7:番鸭细小病毒;8:鹅细小病毒

图1 病料样品病毒PCR检测结果

2.2 病毒分离结果

将采集的病料处理后接种鸭胚,盲传2代均无死胚现象,F1、F2代尿囊液使用美基公司的体液病毒DNA/RNA小量试剂盒抽提核酸后,用番鸭细小病毒特异性引物进行PCR检测,结果显示F1、F2代尿囊液均为MDPV阳性(图2),成功分离到了一株番鸭细小病毒毒株,命名为MDPV-GD201901株。



注:M:DL2000 DNA Marker;1:阴性对照;2:F1代尿囊液;3:F2代尿囊液

图2 病毒分离尿囊液PCR检测结果

表1 各种中草药对鼠伤寒沙门氏菌的抑菌作用

试验组	死亡比例	存活鸭僵鸭比例	存活鸭腹水比例	发病率	28日龄体重均值(g)	28日龄体重均匀度 ¹
A	2/10	0/8	0/8	20%	1131.3	50%
B	0/10	3/10	2/10	30%	1014.6	20%
C	0/10	1/10	0/10	10%	1136.4	70%
D	0/10	0/10	0/10	0%	1183.9	70%

注:¹体重均匀度指平均体重上下百分之10范围内的鸭只数占改试验组总鸭只数的百分比

2.3 分离株对雏番鸭的致病性结果

各试验组攻毒后观察记录各试验组鸭只发病情况,第28日龄称取各试验组每只鸭体重,再剖杀各试验组鸭只观察病变。攻毒后A组有2只鸭死亡,其余组鸭只无死亡,各攻毒组鸭只攻毒后未表现出明显的呼吸道临床症状;B、C试验组有部分僵鸭,体重称量结果显示各组体重均值及体重均匀度间存在差异;剖检结果显示B组剖检有2只鸭腹腔有大量腹水,其它组鸭只无明显剖检病变,具体结果见表1及图3~5(图5见第52页)。

3 讨论

水禽细小病毒引发的番鸭细小病毒型“白点病”、番鸭“三周病”及番鸭小鹅瘟病,在临床中表



注:A:腹水鸭;B:正常鸭

图4 腹水鸭与正常鸭剖检对比



注:A:僵鸭;B:正常鸭

图3 僵鸭与正常鸭对比

现的外在症状很相似,单纯从临床表现症状和发病特点难以区分,且临床上常有2种或多种病原混合感染发生,因而在病原诊断时,有必要对常见易感病原进行全面检测^[6,8]。本研究从广东某番鸭养殖场发病鸭群采集病料,通过接种鸭胚成功分离到一株番鸭细小病毒,经PCR鉴定该场发病鸭群感染的病毒为番鸭细小病毒,无其它常见病原的混合感染。

番鸭细小病毒病是由番鸭细小病毒引起幼龄番鸭的一种主要的番鸭疫病,该病于1980年在中国首次报道^[9],其后逐步在福建、广东、浙江等番鸭主要养殖省份传播流行,给番鸭养殖带来较大的经济损失。陈少莺等研制出了番鸭细小病毒和鹅细小病毒二联弱毒细胞苗,保护力测定结果显示,疫苗对番鸭细小及鹅细小病毒均有良好的保护效果^[10]。近年随着商品疫苗的广泛应用,临床上番鸭细小病有所减少,但在部分地区仍有流行。本

研究中采样鸭群已在1日龄免疫过番鸭细小病毒弱毒活疫苗,但8日龄时仍感染了番鸭细小病毒发病,为了解病毒毒力是否发生改变以及疫苗能否有效保护,因此将新分离的MDPV-GD201901株对雏番鸭开展致病性相关试验。

试验结果可知,新分离的MDPV-GD201901株病毒对1、7日龄雏番鸭具有一定的致病性,A组发病率为20%,发病鸭全部死亡,B组发病率为30%,发病鸭无死亡,表明番鸭感染番鸭细小病毒日龄越早,病毒对感染鸭只的危害越大,后期感染主要影响鸭的生长发育;A组发病率低于B组,可能与雏鸭1日龄母源抗体水平高于7日龄有关;C组发病率低于B组,说明疫苗对新分离株仍具有较好的保护效果。生产上鸭群免疫疫苗后仍然发病,有可能是疫苗免疫失败导致的,建议生产中要加强疫苗的运输、储存及免疫接种质量,确保鸭群能获得有效的保护力,进而减少疾病的发生。

4 结论

分离到的MDPV-GD201901株病毒对雏番鸭有明显的致病性,该病毒可感染雏番鸭,引起鸭子发病死亡和生长发育缓慢。

参考文献:

- [1] 侯学新. 番鸭细小病毒生物学特性的研究进展[J]. 中国家禽, 2003(04):40-41.
- [2] 赵明军, 谌南辉. 番鸭细小病毒分子生物学研究进展[J]. 山东家禽, 2003(08):43-44.
- [3] 叶伟成. 番鸭细小病毒生物学特性的研究进展[J]. 浙江畜牧兽医, 2000(03):12-13.
- [4] 张云, 胡奇林, 童光志, 等. 鹅和番鸭细小病毒全基因克隆与序列分析: 中国畜牧兽医学会兽医公共卫生学分会成立大会暨第一次学术研讨会, 上海, 2008[C].
- [5] 娄华, 白挨泉, 顾万军, 等. 番鸭细小病毒免疫原蛋白基因的序列测定与分析[J]. 中国免疫学杂志, 2001(07):393-395.
- [6] 季艳菊, 王林川. 番鸭三种细小病毒野毒株试验感染雏鸭的临床症状及解剖病理变化差异研究[J]. 福建畜牧兽医, 2016, 38(02):4-7.
- [7] WAN C, CHEN C, CHENG L, et al. Specific detection of Muscovy duck parvovirus infection by TaqMan-based real-time PCR assay[J]. BMC Veterinary Research, 2018, 14(1):267.
- [8] WAN C, SHI S, CHEN C, et al. Development of a PCR assay for detection and differentiation of Muscovy duck and goose parvoviruses based on NS gene characterization [J]. Journal of Veterinary Medical Science, 2018, 80(12):1861-1866.
- [9] 娄高明, 杜伟贤, 陈建红. 雏番鸭细小病毒病研究进展[J]. 广东畜牧兽医科技, 1999(02):3-8.
- [10] 陈少莺, 胡奇林, 程晓霞, 等. 番鸭细小病毒和鹅细小病毒二联弱毒细胞苗的研究[J]. 中国兽医学报, 2003(03):226-228.

上接第35页

球虫效果优于抗球虫药;上市天龄在60 d以上的肉鸡,使用鸡球虫病疫苗对肉鸡生产性能没有不利影响,且生产成本更低,可以广泛推广使用。

参考文献:

- [1] 辜新贵, 欧阳艳, 郑露. 鸡球虫病与坏死性肠炎的关系[J]. 广东畜牧兽医科技, 2011, 36(1):3-7.
- [2] 廖申权, 孙铭飞. 鸡球虫病的防控现状与发展趋势[J]. 广东饲料, 2020, 07:17-20.
- [3] 黄兵, 赵其平, 吴薛忠, 等. 上海地区鸡球虫对6种抗球虫药的抗药程度研究[J]. 中国兽医寄生虫病, 2001, 02:1-7.

- [4] PEEK H W, LANDMAN W J. Resistance to anticoccidial drugs of Dutch avian Eimeria spp. field isolates originating from 1996, 1999 and 2001 [J]. Avian Pathology: Journal of the WVPA, 2003, 32(4):391-401.
- [5] 索勋, 汪明, 吴文学等. 强效艾美耳牌鸡球虫苗 I 型的田间试验[J]. 畜牧兽医学报, 2001, 32(3):265-269.
- [6] 沈国聪. 鸡球虫病疫苗不同接种方法的免疫效果比较[D]. 硕士学位论文. 广州:华南农业大学, 2017.
- [7] 刘国辉. 不同球虫疫苗商品肉鸡免疫效果研究[D]. 硕士学位论文. 青岛:青岛农业大学, 2019.
- [8] 黎卫东, 陈运庆. 肉鸡使用球虫疫苗对生产成绩影响观察[J]. 养禽与禽病防治, 2012, 07:7-9.

猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与猪伪狂犬活疫苗混合后对其体外效价的影响

胡美容, 郑铁锁, 张东霞, 欧阳淳, 赖月辉, 穆光慧, 黄秋雪*

(广东永顺生物制药股份有限公司, 广东广州 511356)

摘要:为了解猪支原体肺炎活疫苗与猪伪狂犬活疫苗混合对其效价的影响,本研究从市面上采购了15家公司的19批猪伪狂犬活疫苗,分别用广东永顺生物制药股份有限公司的猪用活疫苗稀释液和不同厂家的猪伪狂犬活疫苗专用稀释液同时稀释永顺公司的RM48支原体和相应厂家的猪伪狂犬活疫苗,探究这两种疫苗混合后在25℃放置2小时对RM48支原体效价和伪狂犬效价的影响。结果表明:(1)永顺公司RM48支原体疫苗与不同厂家的伪狂犬疫苗混合后, RM48支原体效价有差异,与其中5个厂家的伪狂犬疫苗混合后,无论是用永顺公司的稀释液还是用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释,对RM48支原体的效价均无明显影响;与其中4个厂家的伪狂犬疫苗混合后,用永顺公司的稀释液稀释效价优于伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液;与其中5个厂家的伪狂犬疫苗混合后,用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释效价优于永顺公司的稀释液;与公司7的伪狂犬疫苗混合只能用永顺公司的稀释液稀释,若用公司7的伪狂犬疫苗对应的稀释液稀释对永顺公司RM48支原体影响非常大,支原体的活菌数将降低1000倍。(2)永顺公司RM48支原体疫苗与14批不同厂家的伪狂犬疫苗混合后,无论是用永顺公司的稀释液还是用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释,对伪狂犬疫苗的效价均无明显影响。因此, RM48支原体疫苗与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后,体外效价结果显示主要对RM48支原体的效价有影响,故需谨慎选择猪伪狂犬活疫苗及稀释液。

关键词:猪肺炎支原体活疫苗; 猪伪狂犬活疫苗; 效价

中图分类号:S852.4 **文献标识码:**B **文章编码:**1005-8567(2020)06-0040-05

广东永顺生物制药股份有限公司(简称永顺公司)猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)已上市5个月,客户使用效果理想,均表示安全稳定。非洲猪瘟疫情下,简化免疫程序,方便养猪生产,是众多养猪人的需求,2017年李相钊研究表明猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与猪伪狂犬活疫苗可以混合喷鼻使用^[1]。几年来猪场越来越多的临床数据也证实了猪支原体肺炎活疫苗与伪狂犬活疫苗联合喷鼻省时省力,安全有效^[2]。但联合使用中遇到了一些问题,如大型集团客户往往很难使用同一个疫苗厂家的多个疫苗,想使用永顺公司猪支原体

肺炎活疫苗(RM48株),但不想更换正在使用伪狂犬活疫苗,所以迫切想了解永顺公司猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与其他公司的猪伪狂犬活疫苗混合后是否影响效价,影响多大等实际问题。为了方便市场推广,也为了给客户采购时提供足够的数据库,笔者进行了如下试验。

1 材料

1.1 疫苗

猪伪狂犬活疫苗 为保护生物制品厂家利益,以下仅称为公司1、公司2、公司3等,疫苗的具体

收稿日期:2020-04-30

作者简介:胡美容(1985-),女,广东广州人,硕士研究生,兽医师,主要从事猪用疫苗研究。E-mail:humeirong0907@126.com

*通讯作者:黄秋雪(1987-),女,硕士研究生,兽医师,研究方向:猪用疫苗研发。E-mail:hqxealing@163.com

表1 不同公司猪伪狂犬活疫苗信息统计表

编号	生产企业	规格	批号	生产日期	有效期至
1	公司1	10头份/瓶	2020002	20200122	20210721
2		20头份/瓶	2019006	20191125	20210524
3		10头份/瓶	2020002(公司留样)	20200122	20210721
4		20头份/瓶	2019006(公司留样)	20191125	20210524
5	公司2	10头份/瓶	20180502	/	20200505
6	公司3	10头份/瓶	201912015	20191201	20201130
7	公司4	10头份/瓶	1911015-1	/	2021.05.10
8	公司5	10头份/瓶	8c16	/	2021/3/6
9	公司6	10头份/瓶	190911	/	2021.03.25B
10	公司7	20头份/瓶	18252021	/	20200701
11	公司8	10头份/瓶	1910010	/	20211026
12	公司9	10头份/瓶	1951163B	52018	52021
13	公司10	25头份/瓶	374601	2019.08	2021.08
14	公司11	10头份/瓶	190131801	20191028	20210427
15	公司12	10头份/瓶	20191221	20191202	20211201
16		10头份/瓶	20191198	20191107	20201126
17	公司13	10头份/瓶	2019021	20191127	20210526
18	公司14	20头份/瓶	13CW1902005B	2019.02.22	2020.08.21
19	公司15	10头份/瓶	201922	20190914	/

注：“/”表示无相应信息

信息见表1,其中公司5、公司9、公司10为进口公司;猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)由永顺公司生产,2020001批。

1.2 稀释液

不同厂家猪伪狂犬活疫苗专用稀释液及永顺公司猪用活疫苗稀释液。

1.3 培养基

LPS培养基,永顺公司自制。

1.4 细胞

ST细胞,永顺公司提供。

2 方法

2.1 评估猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对RM48支原体的影响

2.1.1 用永顺公司猪用稀释液稀释永顺RM48支原体活疫苗和不同厂家伪狂犬活疫苗,测定两种疫苗混合后在25℃放置2小时对RM48支原体繁殖能力及效价的影响(混合标准:1头份RM48+0.5

头份伪狂犬)。测定RM48支原体繁殖能力的影响即将两种疫苗按要求混合后25℃放置2小时,以10%的比例接种LPS培养基,培养体积10ml,混合均匀后置37℃培养,每天观察培养基颜色变化;测定RM48支原体效价即将两种疫苗按要求混合后25℃放置2小时取样进行活菌滴度(CCU)测定。

2.1.2 用不同厂家的猪伪狂犬稀释液稀释永顺公司RM48支原体活疫苗和对应厂家的伪狂犬活疫苗,测定两种疫苗混合后在25℃放置2小时对RM48繁殖能力及效价的影响(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬)。测定方法同上。

2.1.3 为了验证永顺公司RM48支原体活疫苗和猪伪狂犬活疫苗混合后25℃放置不同时间对RM48效价的影响,在上述试验的基础上选取有代表性的6家公司(公司1(2020002批公司留样)、公司3、公司5、公司7、公司10、公司11)的猪伪狂犬活疫苗,分别用上述两种不同的稀释液稀释RM48支原体活疫苗和猪伪狂犬活疫苗,两种疫苗混合后25℃放置0分钟、30分钟、1小时和2小时,分别取

样进行活菌滴度(CCU)测定(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬)。

2.2 评估猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对伪狂犬效价的影响

2.2.1 永顺公司猪用稀释液稀释猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)和不同厂家的猪伪狂犬活疫苗,两种疫苗混合后在25℃放置2小时取样进行伪狂犬病毒的TCID₅₀测定,同时设永顺公司猪用稀释液单独稀释不同厂家的伪狂犬疫苗作对照,混合后在25℃放置2小时取样进行伪狂犬病毒的TCID₅₀测定(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬)。

2.2.2 不同厂家的伪狂犬稀释液稀释猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)和不同厂家的猪伪狂犬疫苗,两种疫苗混合后在25℃放置2小时取样进行伪狂犬病毒的TCID₅₀测定,同时设不同厂家稀释液单独稀释相应厂家的伪狂犬疫苗作对照,混合后在25℃放置2小时取样进行伪狂犬病毒的TCID₅₀测定(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬)。

2.2.3 为了验证支原体对伪狂犬疫苗效价测定的影响,选取2家公司的猪伪狂犬疫苗用对应厂家的稀释液稀释与不同剂量的RM48支原体混合后在25℃放置2小时取样测TCID₅₀,即0.5头份伪狂犬+1头份RM48、0.5头份伪狂犬+2头份RM48、0.5头份伪狂犬+5头份RM48。

3 结果

3.1 评估猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对RM48支原体的影响结果

3.1.1 分别用我司猪用稀释液和不同厂家的猪伪狂犬稀释液稀释猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)和不同厂家猪伪狂犬活疫苗,测定两种疫苗25℃混合2小时后对RM48支原体繁殖能力及效价的影响(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬)。结果见表2。

表2结果表明:(1)永顺公司RM48支原体活疫

表2 用不同稀释液稀释我司RM48支原体活疫苗和不同公司伪狂犬活疫苗混合后对支原体的影响

编号	生产企业	用我司稀释液		用相应公司稀释液	
		培养结果(完全变色时间)	CCU(第11天读数结果)	培养结果(完全变色时间)	CCU(第11天读数结果)
1	公司1	4 d	5*10 ⁷	/	/
2		4 d	1*10 ⁸	/	/
3		4 d	1*10 ⁷	/	/
4		4 d	1*10 ⁸	/	/
5	公司2	4 d	1*10 ⁸	5 d	5*10 ⁷
6	公司3	5 d	1*10 ⁷	5 d	5*10 ⁷
7	公司4	4 d	5*10 ⁷	4 d	1*10 ⁸
8	公司5	7 d	5*10 ⁷	8 d	1*10 ⁷
9	公司6	4 d	1*10 ⁸	4 d	1*10 ⁸
10	公司7	4 d	5*10 ⁷	11 d(不变色)	1*10 ⁵
11	公司8	4 d	1*10 ⁸	4 d	5*10 ⁷
12	公司9	4 d	5*10 ⁷	4 d	1*10 ⁸
13	公司10	4 d	5*10 ⁷	4 d	1*10 ⁸
14	公司11	4 d	5*10 ⁷	4 d	5*10 ⁷
15	公司12	4 d	5*10 ⁷	4 d	5*10 ⁷
16		4 d	5*10 ⁷	4 d	5*10 ⁷
17		4 d	5*10 ⁷	4 d	5*10 ⁷
18	公司14	4 d	5*10 ⁷	4 d	5*10 ⁷
19	公司15	4 d	5*10 ⁷	4 d	1*10 ⁸
20	广东永顺	4 d	1*10 ⁸	/	/

注:“/”表示未测定

苗与这5个厂家(公司6、公司11、公司12、公司13、公司14)的伪狂犬疫苗混合后,无论是用永顺公司的稀释液还是用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释,对RM48支原体的效价无明显影响;(2)永顺公司RM48支原体活疫苗与这4个厂家(公司1、公司2、公司5、公司8)的伪狂犬疫苗混合后,用永顺公司的稀释液稀释效价优于伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液;(3)永顺公司RM48支原体活疫苗与这5个厂家(公司3、公司4、公司9、公司10、公司15)的伪狂犬疫苗混合后,用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释效价优于永顺公司的稀释液;(4)公司7的伪狂犬疫苗与永顺公司RM48支原体混合后只能用永顺公司的稀释液进行稀释,若用公司7的伪狂犬疫苗对应的稀释液稀释对永顺公司RM48支原体影响非常大,支原体的活菌数将降低1000倍。

3.1.2 RM48支原体活疫苗与6家不同公司的猪伪狂犬活疫苗分别用永顺公司猪用稀释液和相应厂家的猪伪狂犬稀释液稀释,混合后25℃放置0分钟、30分钟、1小时和2小时分别取样进行活菌滴度(CCU)测定,结果见表3。

表3结果表明, RM48支原体活疫苗用永顺公司猪用稀释液稀释25℃单独放置2小时,活菌滴度基本稳定;RM48支原体活疫苗与猪伪狂犬活疫苗分别用两种不同的稀释液稀释,混合后放置不同时间,整体分析,25℃放置30分钟比放置1小时或2小时对RM48支原体的活菌滴度影响小,放置1小时和2小时对RM48支原体的活菌滴度基本无明显差别。

3.2 评估猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对伪狂犬效价的影响结果

3.2.1 伪狂犬疫苗与不同剂量的RM48支原体25℃混合2小时后取样测TCID₅₀,即0.5头份伪狂+1头份RM48、0.5头份伪狂+2头份RM48、0.5头份伪狂+5头份RM48,结果见表4。

表4 不同含量RM48支原体对伪狂犬疫苗效价的影响(TCID₅₀)

生产企业	0.5头份伪狂单独测	0.5头份伪狂+1头份RM48	0.5头份伪狂+2头份RM48	0.5头份伪狂+5头份RM48
公司1	10 ^{6.6}	10 ^{6.85}	10 ^{6.5}	10 ^{6.5}
公司5	10 ⁶	10 ^{6.15}	10 ^{5.75}	10 ^{5.75}

表4结果表明,不同含量支原体与伪狂犬疫苗混合后对伪狂犬效价测定的影响不大。

3.2.2 分别用永顺公司猪用稀释液和不同厂家的猪伪狂犬稀释液稀释永顺RM48支原体活疫苗和不同厂家伪狂犬活疫苗,两种疫苗25℃混合2小时后取样进行伪狂犬的TCID₅₀测定(混合标准:1头份RM48+0.5头份伪狂犬),结果见表5。

表5结果表明,永顺公司RM48支原体活疫苗与上述厂家的伪狂犬活疫苗混合后,无论是用永顺公司的稀释液还是用伪狂犬疫苗相应厂家的稀释液稀释,对伪狂犬疫苗的效价无明显影响。

4 讨论

永顺公司RM48支原体活疫苗与不同厂家的

表3 用不同稀释液稀释我司RM48支原体活疫苗和不同公司伪狂犬活疫苗混合后不同时间对支原体的影响

编号	生产企业	用我司稀释液				用相应公司稀释液			
		CCU(第11天读数结果)				CCU(第11天读数结果)			
		0 min	30 min	1 h	2 h	0 min	30 min	1 h	2 h
3	公司1	1*10 ⁸	5*10 ⁷	1*10 ⁷	1*10 ⁷	/	/	/	/
6	公司3	1*10 ⁸	5*10 ⁷	1*10 ⁷	1*10 ⁷	1*10 ⁸	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷
8	公司5	1*10 ⁸	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷	1*10 ⁸	5*10 ⁷	1*10 ⁷	1*10 ⁷
10	公司7	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷	5*10 ⁷	1*10 ⁷	5*10 ⁶	5*10 ⁵	1*10 ⁵
13	公司10	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷	5*10 ⁷	1*10 ⁸	1*10 ⁸	1*10 ⁸	1*10 ⁸
14	公司11	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷	5*10 ⁷	1*10 ⁸	5*10 ⁷	5*10 ⁷	5*10 ⁷
20	广东永顺	1*10 ⁸	1*10 ⁸	1*10 ⁸	1*10 ⁸	/	/	/	/

注:“/”表示未测定

表5 用不同稀释液稀释我司RM48支原体活疫苗和不同厂家伪狂犬疫苗混合后对伪狂犬效价的影响

编号	生产企业	用我司稀释液		用相应厂家稀释液	
		单独 TCID ₅₀	混合后 TCID ₅₀	单独 TCID ₅₀	混合后 TCID ₅₀
1		10 ^{6.64}	10 ^{6.4}	/	/
2	公司1	10 ^{6.4}	10 ^{6.6}	/	/
3		10 ^{6.64}	10 ^{6.64}	/	/
4		10 ^{6.5}	10 ^{6.6}	/	/
5	公司2	10 ^{5.5}	10 ^{5.5}	10 ^{5.36}	10 ^{5.4}
6	公司3	10 ^{5.75}	10 ⁶	10 ^{5.75}	10 ⁶
7	公司4	10 ^{6.64}	10 ^{6.75}	10 ^{6.85}	10 ^{6.6}
8	公司5	10 ^{5.5}	10 ^{5.6}	10 ^{5.25}	10 ^{5.6}
10	公司7	10 ^{4.4}	10 ^{4.6}	10 ^{3.6}	10 ^{3.6}
11	公司8	10 ⁶	10 ^{6.25}	10 ^{5.7}	10 ⁶
12	公司9	10 ^{5.4}	10 ^{5.5}	/	/
13	公司10	10 ^{5.75}	10 ⁶	/	/
14	公司11	10 ^{6.75}	10 ^{6.6}	/	/
17	公司13	10 ^{4.7}	10 ^{4.64}	/	/

注：“/”表示未测定

伪狂犬活疫苗混合后, 稀释液、伪狂犬疫苗、混合时间对RM48支原体的效价均有影响。稀释液或伪狂犬活疫苗含有的抗生素浓度(尤其是链霉素)、渗透压、pH不同时, 会影响支原体的活菌计数^[3]。稀释液或伪狂犬活疫苗是否含有免疫增强剂(辅酶、多糖、脂类)等因素也会影响支原体的活菌计数^[4]。另外, 支原体与上述不同伪狂犬疫苗或稀释液混合时, 不同的混合时间也会影响支原体的活菌计数。

不同含量支原体与伪狂犬疫苗混合后对伪狂犬效价测定的影响不大。可能原因如下: 一是RM48支原体不同于一般支原体, 其对营养要求特别高, 且已适应培养基环境生长, 突然改变生长环境(ST细胞上生长)支原体较难适应, 故对细胞未造成明

显影响; 二是伪狂犬测毒价时, 一般取10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶、10⁻⁷的稀释度进行测定, 那么RM48支原体也会得到相应的稀释, 即每孔细胞中含有的RM48支原体很少。总的来说, RM48支原体对营养要求高, 且仅在细胞上生长一代, 还未适应细胞, 加上接种量很少, 故RM48支原体对伪狂犬效价的测定未造成明显影响。

猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对效价的影响结果表明猪场在简化免疫程序, 将这两种疫苗联合使用时一定要考虑猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与伪狂犬的疫苗的兼容性以及稀释液的选择, 若盲目联合使用这两种疫苗, 很可能导致猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)失去免疫效力。

5 结论

猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与不同厂家猪伪狂犬活疫苗混合后对效价的影响结果表明猪场在简化免疫程序, 将这两种疫苗联合使用时一定要考虑猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)与伪狂犬的疫苗的兼容性以及稀释液的选择, 若盲目联合使用这两种疫苗, 很可能导致猪支原体肺炎活疫苗(RM48株)失去免疫效力。

参考文献:

- [1] 李相钊. 猪支原体肺炎活疫苗与猪伪狂犬活疫苗混合喷鼻试验[J]. 猪业科学, 2017, 34(12):80-83.
- [2] 赵明礼, 郑蕊蕊. 猪伪狂犬病疫苗喷鼻免疫的重要性[J]. 当代畜牧, 2019(12):44-45.
- [3] 候凤, 李新苹, 王钢, 等. 3种支原体培养基对猪肺炎支原体CJ株培养效果的比较分析[J]. 中国兽药杂志, 2016, 50(03):21-23.
- [4] 如何选择猪用疫苗[J]. 农家之友, 2019(05):54-55.

促生长剂—鱼虾宝在杂交鲮饲料中的应用

莫文艳¹, 李国立², 黄文庆², 韦真海², 王国霞^{1*}

(1.广东省农业科学院动物科学研究所, 农业农村部华南动物营养与饲料重点实验室,

广东省动物育种与营养公共实验室, 广东 广州 510640;

2.广州飞禧特生物科技有限公司, 广东 广州 510640)

摘要:通过研究在饲料中添加鱼虾宝对杂交鲮生长性能、形体指标、肌肉营养成分和血清指标的影响, 评价鱼虾宝在杂交鲮饲料中促生长作用效果。试验选用120尾初始均重为(83.20±0.07)g的杂交鲮, 随机分为2个组, 每组3个重复, 每个重复20尾, 分别饲喂基础饲料和在基础饲料中添加鱼虾宝(促生长剂)的饲料, 两组饲料等氮等能, 饲养70天。结果表明:与对照组相比, 促生长剂鱼虾宝组杂交鲮末均重、增重率和特定增长率均增加, 饵料系数下降, 但差异均不显著($P>0.05$); 杂交鲮摄食量以及形体指标肥满度、脏体比、肝体比和肠体比差异均不显著($P>0.05$); 两组杂交鲮背肌的常规营养组成均无显著差异($P>0.05$), 但鱼虾宝组背肌粗脂肪含量稍有增加。两组杂交鲮血清生化指标总蛋白、白蛋白、球蛋白、胆固醇、甘油三酯、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、碱性磷酸酶、血糖含量和免疫抗氧化指标谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、丙二醛均无显著差异($P>0.05$)。两组杂交鲮血清中肠道屏障功能指标二胺氧化酶、内毒素和D-乳酸含量无显著差异($P>0.05$)。综上可得:鱼虾宝可以用于杂交鲮饲料中作为促生长物质使用。

关键词:促生长剂; 鱼虾宝; 杂交鲮; 应用效果

中图分类号:S816.73 **文献标识码:**B **文章编号:**1005-8567(2020)06-0045-05

杂交鲮(乌鲮(*Channa argus*)♂×斑鲮(*C. maculata*)♀), 俗称生鱼, 也称黑鱼, 是乌鲮和斑鲮的远缘杂交后代, 隶鲈形目、攀鲈亚目、鲮科、鲮属, 是南方地区重要的经济淡水鱼养殖品种^[1]。肉质细嫩、富含多不饱和脂肪酸DHA和EPA, 还具有补血益气等功效, 营养、药用价值高^[2]。广东是杂交鲮的主要产区, 杂交鲮养殖产量高于全国产量的一半。但杂交鲮对饲料蛋白质量要求较高^[3], 在满足杂交鲮营养需求的条件下, 如何有效提高杂交鲮摄食量、提高生长速度, 成为了研究者的关注点^[4]。

促生长剂现已大量用于水产配合饲料中, 并取得了较多的研究成果^[5]。促生长剂主要通过刺激内分泌系统, 调节新陈代谢作用, 从而促进鱼类

对饲料的消化吸收, 促进生长发育, 防治疾病^[5]。

中草药饲料添加剂是以中草药为原料, 按照中医理论和饲料营养科学配制的饲料添加剂, 已经在水产动物饲料中取得了一定的成果^[6, 7]。已开发的中草药中通常含有甙类、多糖类、黄酮类等有效成分, 能够提高水产动物机体的抗病能力、提高其生产性能^[8]。鱼虾宝以天然中草药为原料, 采用科学、独特的配伍方法, 经现代制药工艺提取、浓缩而成的新型绿色水产动物促生长饲料添加剂, 在杂交鲮饲料中的研究尚未见报道。本文以杂交鲮为研究对象, 将鱼虾宝添加到杂交鲮饲料中, 考察其对杂交鲮生长性能、形体指标、肌肉营养成分和血清指标的影响, 为杂交鲮实用饲料配方的优化提供科学数据。

收稿日期:2020-11-12

基金项目:2020年省级农业科技创新及推广体系建设项目(2020KJ115);乡村振兴战略专项资金(农业科技能力提升)子课题(TS-1-6-17)

作者简介:莫文艳(1984-), 女, 湖南邵阳人, 硕士研究生, 助理研究员, 主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail:wenyanmo@163.com

*通讯作者:王国霞(1978), 硕士, 副研究员, 硕士生导师, 研究方向:水产动物营养与饲料。E-mail:wanggx78@126.com

1 材料与方

1.1 试验饲料

试验用鱼虾宝由广州飞禧特生物科技有限公司提供。杂交醴试验饲料配方及营养水平如表1所示。试验饲料是以基础料为对照组, 添加0.1%促生长剂(鱼虾宝)为试验组, 配制成两组等氮等能试验饲料。饲料原料经粉碎后过60目筛, 维生素和矿物质等为微量成分按逐级扩大法混合, 所有原料混合均匀后加适量水混匀, 用Valva-60-I型膨化机(广州市维拉维机械设备有限公司)将其制成直径为3.0 mm的膨化颗粒饲料, 55℃烘干, 自然冷却后装入密封袋中, 置-20℃冰箱中保存备用。

表1 试验饲料配方及营养水平(风干基础, %)¹

原料	对照组	鱼虾宝组
鱼粉	25	25
豆粕	30	31.67
花生粕	5	5
发酵豆粕	5	5
高筋面粉	24.6	24.5
大豆卵磷脂	1.5	1.5
鱼油	3	3
其它 ²	2.9	2.9
乌贼膏	3	3
鱼虾宝 ³	0	0.1
合计	100	100
营养水平		
粗蛋白质	43.1	42.48
粗脂肪	7.61	7.41
水分	7.09	8.19
灰分	7.94	8.2
钙	1.22	1.15
总磷	1.28	1.23

注: 1: 营养水平为实测值。2: 其它指L-赖氨酸0.5、L-蛋氨酸0.1、维生素C磷酸酯(35%)0.1、氯化胆碱0.5、维生素预混料0.2、矿物预混料0.5、磷酸二氢钙1.0。维生素预混料及微量元素预混料均由广州飞禧特生物科技有限公司提供, 每千克维生素预混料含有: VA 3 000 000 IU、VD3 1 200 000 IU、VE15 g、VK3 10 g、VB1 10 g、VB2 15 g、VB6 15 g、烟酸40 g、泛酸钙40 g、叶酸1.8 g、肌醇70 g、VB12 0.06 g、生物素0.1 g、水分≤10%; 每千克矿物质预混料含有: Mg 28 g、Fe 6.0 g、Zn 20 g、Mn 2.0 g、Cu 1.0 g、Co 0.1 g、I 0.5 g、Se 0.040 g、水分≤10%; 3: 鱼虾宝: 有效成分为低聚木糖, 含量≥10%

1.2 试验鱼及饲养管理

试验用杂交醴苗购自中山市三角镇霍华方水产种苗孵化场, 鱼苗购回后暂养于网箱中至适宜的规格。养殖试验在广东广州国家农业科技园区的水产养殖试验基地1.5 m×1.5 m网箱中进行。挑选120尾活力好、规格整齐、体质量为(83.30±0.13)g的杂交醴, 随机分为2组, 每组3个重复, 每个重复20尾。分别投喂对照组和试验组(鱼虾宝)2种饲料。每天表观饱食投喂2次(8:30-9:00, 17:30-18:00)。试验期间自然光照, 水温19~34℃, pH 8.0~8.5, 溶氧浓度>5 mg/L, 亚硝酸盐浓度≤0.05 mg/L, 氨氮浓度≤0.1 mg/L。饲养70天。

1.3 样品采集

养殖试验结束后, 禁食24 h, 每个网箱试验鱼分别称重并计数, 用于计算增重率、特定生长率和饲料系数、成活率。每个重复随机取4尾鱼, 以1 mL无菌注射器于鱼尾静脉取血, 混合后于4℃静置2 h, 冷冻离心(4℃, 5000 r/min, 15 min), 取血清, 分装, 于-80℃冰箱保存备用, 用于生化指标的测定。另取4尾鱼, 称量体质量及量测体长(吻端到脊椎骨末端), 并解剖分离出内脏团、肝脏和全肠, 称重, 记录, 用于计算形体指标。随机取4尾鱼, 采集鱼体背部肌肉, 用于常规营养指标测定。

1.4 测定指标与方法

1.4.1 常规营养成分分析

饲料和背肌样品中水分含量采用105℃常压干燥法(GB/T 6435-2014), 粗蛋白质含量采用凯氏定氮法(GB/T 6432-2018)、粗脂肪含量采用乙醚抽提法(GB/T 6433-2006)、灰分含量采用550℃灼烧法(GB/T 6438-2007)、钙含量采用乙二胺四乙酸二钠络合滴定法(GB/T 6436-2018)、总磷含量采用钼黄比色法(GB/T 6437-2018)进行测定。

1.4.2 血清指标测定

血清白蛋白、总胆固醇、甘油三酯、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、尿素氮、球蛋白、血糖、总蛋白含量采用日立7600全自动生化分析仪检测。二胺氧化酶、内毒素、D-乳酸、谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、丙二醛、碱性磷酸酶采用南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定, 所有试验操作严

格遵循说明书进行。

1.5 计算公式

增重率(%)=100×(末均质量-初均质量)/初均质量

特定增长率(%/d)=100×[Ln(末均质量)-Ln(初均质量)]/饲养天数

饵料系数=摄入饲料量/(终末鱼体质量+死亡鱼体质量-初始鱼体质量)

摄食量(g/尾)=摄入饲料量/[(初始尾数+终末尾数)/2]

存活率(%)=终末尾数/初始尾数×100

肥满度(g/cm³)=100×体质量(g)/体长³(cm)³

脏体比(%)=100×内脏质量/体质量

肝体比(%)=100×肝脏质量/体质量

肠体比(%)=100×肠道质量/体质量

1.6 数据统计分析

采用SPSS 23.0软件对数据进行单因素方差分析(one-way ANOVA),并进行方差齐性检验,若组间差异显著,再作‘邓肯氏多重比较法检验,数据采用平均值±标准误(M±SE)表示,P<0.05表示差异显著,P>0.05表示差异不显著。

2 结果与分析

2.1 促生长剂鱼虾宝对杂交醴生长性能的影响

两个试验组杂交醴的成活率均为100%。由表2可知,促生长剂鱼虾宝组杂交醴末均重、增重率和特定增长率均较对照组增加,但无显著差异(P>0.05);促生长剂鱼虾宝组的饵料系数下降,但与对照组差异不显著(P>0.05)。两组形体指标肥满度、脏体比、肝体比和肠体比差异均不显著(P>0.05)。

表2 促生长剂鱼虾宝杂交醴生长性能的影响

项目	对照组	鱼虾宝组
末均重,g	177.50±5.59	188.83±2.68
增重率,%	113.08±6.64	127.19±3.26
特定增长率,%	1.06±0.04	1.16±0.02
摄食量,g/尾	304.66±0.47	303.94±0.21
饵料系数,%	3.26±0.19	2.88±0.08
肥满度,g/cm ³	1.46±0.17	1.53±0.20
脏体比,%	7.60±1.00	8.73±1.25
肝体比,%	1.73±0.49	1.84±0.51
肠体比,%	0.71±0.23	0.71±0.29

注:同行肩标小写字母不同表示差异显著(P<0.05),下同

2.2 促生长剂鱼虾宝对杂交醴背肌营养组成的影响

由表3可见,跟对照组比较,促生长剂鱼虾宝组杂交醴背肌的干物质、粗蛋白质、粗脂肪、灰分、钙及总磷含量差异均不显著(P>0.05),但粗脂肪含量较对照组增加。

表3 促生长剂鱼虾宝对杂交醴背肌营养组成的影响(湿重基础)

项目	对照组	鱼虾宝组
干物质,%	23.92±0.52	24.11±0.37
粗蛋白质,%	19.96±0.13	19.68±0.20
粗脂肪,%	1.00±0.23	1.46±0.29
灰分,%	1.14±0.02	1.17±0.02
钙,%	0.03±0.01	0.03±0.01
总磷,%	0.20±0.00	0.21±0.00

2.3 促生长剂鱼虾宝对杂交醴血清生化指标的影响

由表4可知,促生长剂鱼虾宝组血清胆固醇、谷丙转氨酶、谷草转氨酶、总蛋白及球蛋白含量低于对照组,但差异不显著(P<0.05),鱼虾宝组血清中甘油三酯、血糖及白蛋白含量高于对照组,但差异不显著(P>0.05)。

表4 促生长剂鱼虾宝对杂交醴血清生化指标的影响

项目	对照组	鱼虾宝组
胆固醇,mmol/L	3.64±0.07	3.50±0.12
甘油三酯,mmol/L	1.08±0.85	1.20±0.15
尿素氮,mmol/L	1.80±0.12	1.80±0.00
血糖,mmol/L	2.04±0.51	2.76±0.55
谷丙转氨酶,U/L	3.00±0.58	2.33±0.57
谷草转氨酶,U/L	38.50±0.29	39.00±1.15
总蛋白,g/L	37.53±2.31	36.87±1.03
白蛋白,g/L	15.07±0.67	15.53±0.83
球蛋白,g/L	22.47±1.89	21.33±0.81

2.4 促生长剂鱼虾宝对杂交醴血清抗氧化和肠道屏障功能指标的影响

由表5可知,各组间血清免疫抗氧化指标谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶、丙二醛含量差异不显著(P>0.05),血清中肠道屏障功能指标二胺氧化酶、内毒素和D-乳酸含量差异不显著(P>0.05)。

表5 促生长剂鱼虾宝对杂交鲢血清抗氧化和肠道屏障功能指标的影响

项目	对照组	鱼虾宝组
血清抗氧化指标		
谷胱甘肽过氧化物酶, U/mL	257.92±44.93	319.47±34.09
超氧化物歧化酶, U/ml	62.33±1.72	63.87±0.78
丙二醛, nmol/ml	6.37±1.24	7.95±0.61
肠道屏障功能指标		
二胺氧化酶, U/L	10.01±0.98	9.24±0.77
内毒素, pg/ml	882.33±75.48	729.50±27.34
D-乳酸, μmol/L	5.00±0.47	4.41±0.16

3 讨论

3.1 促生长剂鱼虾宝对杂交鲢生长性能的影响

该试验结果表明,添加鱼虾宝组与对照组比较,增重率提高了12.48%,特定生长率提高了9.43%,饵料系数降低了11.66%,表明鱼虾宝能促进杂交鲢的生长、降低饵料系数。肥满度是指示鱼类营养状态是否良好的一项指标,是鱼类收购时需要测定的重要经济性性状指标,肥满度大表示鱼类比较肥胖出肉率高,反之则表示鱼比较瘦小而出肉率低。收购商一般追求高的出肉率,往往要求收购的成品鱼具有一定的肥满度^[9]。鱼虾宝组杂交鲢肥满度比对照组提高了4.80%,具有较好的肥满度,具有较高的经济价值。

形体指标也是评价鱼体健康程度的一个重要指标^[10]。该研究结果表明,各组杂交鲢的肝体比、脏体比和肠体比差异不显著,说明在饲料中添加鱼虾宝对杂交鲢的肝功能调节能力无不良影响。

3.2 促生长剂鱼虾宝对杂交鲢背肌营养组成的影响

该试验中两组杂交鲢背肌营养成分含量差异均不显著,但该试验结果中鱼虾宝组杂交鲢肌肉粗脂肪含量比对照组稍高,这可能是鱼虾宝中有效成分有促进杂交鲢肌肉脂肪沉积的作用。有研究表明,在动物成长过程中,肌内脂肪的增加能提高肉质品质和风味^[11],可以推测鱼虾宝组杂交鲢肌肉品质和风味可能会优于对照组,但有待进一步验证。

3.3 促生长剂鱼虾宝对杂交鲢血清指标的影响

促生长剂鱼虾宝组各项血清指标与对照组相

比,没有显著性差异,说明添加鱼虾宝对杂交鲢的健康无不良影响。血清甘油三脂含量可反应脂肪组织发育和脂肪沉积能力,本试验中鱼虾宝组血清中的甘油三脂含量与对照组比较有增加,说明其脂肪沉积能力增强^[12],鱼虾宝组背肌粗脂肪含量的增加也验证了这一点。

3.4 促生长剂鱼虾宝对杂交鲢血清抗氧化和肠道屏障功能指标的影响

机体在生长发育过程产生的大量自由基若不能及时被自身防御系统清理掉,过多的自由基便可诱发氧化应激反应而导致机体的氧化损伤^[13]。谷胱甘肽过氧化物酶和超氧化物歧化酶活性的高低直接影响机体的抗氧化能力;丙二醛含量也与机体氧化应激呈正相关性^[14]。研究发现,添加鱼虾宝提高了杂交鲢血清中谷胱甘肽过氧化物酶、超氧化物歧化酶活性。结果表明,鱼虾宝一定程度上能提高杂交鲢的抗氧化能力,这可能与鱼虾宝主成分中含有的抗应激因子有关。

肠道不仅是养殖动物重要的内分泌器官,也是重要的免疫器官,是阻止外界有害物质进入体内的重要屏障^[15]。二胺氧化酶是在肠粘膜受损细胞坏死的情况下才能被释放进入血液中^[16],内毒素是细菌死亡溶解后释放出的毒性物质,血液中的D-乳酸基本上来源于肠道。因此,测定动物血清中二胺氧化酶活性、内毒素及D-乳酸含量可以综合评估其肠道屏障功能的强弱。该试验结果表明,与对照组相比,鱼虾宝组杂交鲢血清二胺氧化酶活性、内毒素和D-乳酸含量没有显著差异,但含量均有所下降,说明鱼虾宝组杂交鲢肠道屏障功能好于对照组。

4 结论

综合比较促生长剂鱼虾宝在杂交鲢饲料中的应用效果,可以得出:鱼虾宝有促进水产动物的消化吸收、促进饲料营养物质的转化、降低饵料系数、提高生长率的趋势,并在一定程度上增强机体的抗应激能力和肠道屏障功能。因此,可以考虑在杂交鲢饲养中添加鱼虾宝。

参考文献:

[1] 原居林,郭建林,刘梅,等.不同饲料类型和放养密度对乌鳢

- 生长特性及营养品质的影[J]. 大连海洋大学学报, 2017, 32(5):534-543.
- [2] 翁如柏, 蓝启洪. 常见淡水鱼类的食疗保健功效[J]. 海洋与渔业, 2017(1):67-68.
- [3] 徐倩. 广东省生鱼养殖概况及趋势分析[J]. 广东饲料, 2017, 26(4):16-18.
- [4] 王国霞, 莫文艳, 范怡杰, 等. 黑水虻对杂交鳢生长、肌肉组成和血清指标的影响[J]. 水产科学, 2019(05):603-609.
- [5] 聂国兴, 王俊丽. 鱼用非营养性添加剂的研究与应用[J]. 科学养鱼, 2000(07):40-41.
- [6] 段慧然. 中草药饲料添加剂作用与发展措施[J]. 畜牧兽医学(电子版), 2020, (10):172-173.
- [7] 敬昭, 陈惠琴, 冼健安, 等. 中草药添加剂在凡纳滨对虾养殖中的应用[J]. 饲料研究, 2020, 43(06):135-137.
- [8] 周疆, 郑凯妮, 朱斐. 中草药在水产动物免疫上的应用[J]. 浙江农林大学学报. 2019, 36(02):406-414.
- [9] 黄沧海, 李春辉, 张冬冬. 抗菌肽与常用抗菌素对罗非鱼生长性能影响的比较研究[J]. 中国畜牧杂志, 2011, 47(17):52-55.
- [10] 胡俊茹, 王国霞, 莫文艳, 等. 黑水虻幼虫粉替代鱼粉对鲈鱼幼鱼生长性能、体组成、血浆生化指标和组织结构的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(2):1-11.
- [11] 杨翠, 李秀良, 廖晓光, 等. 肌肉脂肪与猪肉品质关系研究[J]. 农业科学与技术:英文版, 2017, 18(01):142-146.
- [12] 祝倩, 孔祥峰, 姬玉娇, 等. 高、低营养水平饲料对妊娠江香猪繁殖性能、体成分和血浆生化参数的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(5):1534-1540.
- [13] 鲍伟光, 王占彬, 顾宪红, 等. 氧化应激对动物肠道损伤及硫辛酸干预作用的研究进展[J]. 饲料工业, 2015, 36(15):32-37.
- [14] 刘瑞丽, 徐建雄. 自由基与水产动物营养的研究进展[J]. 饲料工业, 2009, 30(02):58-60.
- [15] 王小英, 程爱国. 肠道黏膜屏障功能及其检测方法研究进展[J]. 华北煤炭医学院学报, 2009, 11(05):653-654.
- [16] 侯玥, 官平, 杨羽, 等. 血清二胺氧化酶测定的临床应用进展[J]. 中国实验诊断学, 2015, 19(11):1985-1987.

上接第32页

落,表面光滑,直径在1~3 mm,符合大肠杆菌在麦康凯琼脂培养基上的菌落特征;进一步做革兰氏染色镜检鉴定,结果显示为革兰氏阴性菌,呈红色短杆菌,符合大肠杆菌的革兰氏染色特征。裂解抽提细菌的DNA后进行PCR扩增,扩增产物经过凝胶电泳成像得到单一清晰透亮的条带,扩增出的片段长度在250~500 bps之间,与毛福超所做的琼脂糖凝胶电泳成像结果相同。PCR扩增产物测序,在NCBI基因库上经过同源性比对显示ECFJ0401与ECFJ0402与大肠杆菌的同源性为99.0%和98.0%,确定所分离出的两株菌株均为鸭源性大肠杆菌。

大肠杆菌一直是生产中重要的细菌性致病原^[6],在本次药敏试验中,结果显示两株大肠杆菌对庆大霉素均表现敏感(S),ECFJ0401对大观霉素表现敏感(S),ECFJ0402对大观霉素表现为中度敏感(I),对氨苄西林、阿莫西林、头孢唑林、恩诺沙星、林可霉素和四环素均表现为耐药(R),无抑菌圈出现,具有较高的耐药能力。由此可知,临床上的这两株大肠杆菌有较大的耐药谱,说明该养殖场在治疗临床大肠杆菌病不能用上述出现耐药性的抗生素,应该选用敏感性较高的庆大霉素。

抗生素滥用导致的药物选择是导致细菌耐药性产生的直接原因之一^[1]。对于大肠杆菌病,防大于治,规模化养殖场在日常养殖管理中,一方面,加强饲养管理,保持饲养环境的洁净卫生,增强群体集体抵抗力;另一方面,当疾病发生时,选取敏感药物,要以联合用药,交叉用药的方式给药,切忌长期使用同一抗生素,避免细菌耐药性的产生,这样既能达到治疗的目的,提高了治疗效率,又能预防细菌产生耐药性。

参考文献:

- [1] 张水晶. 章丘地区鸡源大肠杆菌的分离鉴定及耐药性分析[D]. 硕士学位论文. 青岛, 山东农业大学, 2016.
- [2] 陈玲先. 鸭大肠杆菌病的流行病学、临床表现、诊断及其防控[J]. 现代畜牧科技, 2018(02):71.
- [3] 来时明. 0157:H7大肠杆菌感染的流行病学研究综述[C]. 华东地区第十次流行病学学术会议暨华东地区流行病学学术会议20周年庆典, 合肥, 2010.
- [4] 毛福超, 郁川, 韩璐, 等. 豫西地区禽源大肠杆菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 河南农业科学, 2016, 45(01):127-130.
- [5] 陈靖宇. 大肠杆菌的药敏试验[J]. 畜牧兽医学科技信息, 2019(03):22.
- [6] 卞红春, 杨凌, 韩昆鹏, 等. 盐城地区蛋鸡源大肠杆菌的分离与耐药性分析[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2019(02):46-47.

紫茎泽兰对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性研究

张小苗¹, 周玉照^{1*}, 张以芳²

(1.大理农林职业技术学院, 云南 大理 671003;

2.云南农业大学动物医学院, 云南 昆明 650201)

摘要:为了解紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌效果。试验通过75%乙醇索氏提取法提取紫茎泽兰得到提取液, 分别制备成浓度为0.025 g/mL、0.050 g/mL、0.075 g/mL、0.100 g/mL、0.200 g/mL的紫茎泽兰提取液琼脂平板和紫茎泽兰提取液药敏片, 用大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌液进行药敏试验。结果显示, 紫茎泽兰提取液琼脂平板和药敏片对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度分别为0.075 g/mL和0.050 g/mL。试验说明0.075 g/mL和0.050 g/mL紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌具有很好的抑制作用。

关键词:紫茎泽兰; 提取液; 抑菌活性; 最低抑菌浓度

中图分类号:S852.6 **文献标识码:**A **文章编码:**1005-8567(2020)06-0050-03

紫茎泽兰是菊科泽兰属丛生型半灌木多年生草本植物, 紫茎泽兰具有较强的竞争替代本地植物的能力, 在入侵中国后, 广泛定植于广西、云南、贵州等地, 造成了不可小觑的生态破坏, 严重危害当地的农、林、畜牧业的生产^[1]。从近些年对紫茎泽兰抑菌性的研究可以看出, 紫茎泽兰提取液以及所含的化学成分具有一定的抑菌活性^[2]。所以紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有无抑菌效果的研究很有临床意义。前人的研究表明, 紫茎泽兰叶、嫩茎中含有丰富的绿原酸, 绿原酸不仅在细胞免疫和体液免疫两方面增强机体免疫功能^[3], 而且绿原酸还有广谱抗微生物作用, 对细菌(革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌)、真菌及部分病毒均具有一定的抑制作用^[4]。目前, 紫茎泽兰提取物抑制动物病原菌的报道很少, 本试验提取紫茎泽兰成分浸提物, 并分别对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌进行体外抑菌活性研究。试验初步探讨紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌效果, 以期为充分、合理利用紫茎泽兰资源, 使之变害为利提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

紫茎泽兰全草采自公路边; 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌由云南农业大学实验室保存; 普通肉汤培养基、普通琼脂培养基(直径为90 mm)均购自天根生化科技(北京)有限公司。

1.2 方法

1.2.1 紫茎泽兰提取液的制备

取20 g新鲜紫茎泽兰的根、茎、叶剪碎, 研磨, 加入75%乙醇后用索氏提取器提取2 h。对提取剂进行回收, 蒸去多余水分和乙醇, 直到提取物变成膏状, 用无菌水定容到20 ml备用, 此时的紫茎泽兰提取物浓度为1 g/mL。

1.2.2 紫茎泽兰提取液血清琼脂平板和药敏片的制备

取5个血清琼脂培养基, 分别加入终浓度分别为: C₁=0.025 g/mL、C₂=0.050 g/mL、C₃=0.075 g/mL、C₄=0.100 g/mL、C₅=0.200 g/mL的紫茎泽兰提取物。取10片备用的药敏试纸各2片分别放入上述5种浓度的紫茎泽兰提取液中, 待提取液完全吸收后置于37~40℃恒温箱中干燥, 密封后4℃保存。

收稿日期:2020-07-23

作者简介:张小苗(1989-), 女, 云南保山人, 硕士, 研究方向:动物传染病及其流行病学分析。E-mail:980459415@qq.com

*通讯作者:周玉照(1988-), 男, 云南宣威人, 硕士, 高校讲师, 研究方向:动物微生物与免疫学。E-mail:806377756@qq.com

1.2.3 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌悬液的制备

将大肠杆菌、金黄色葡萄球菌接种于营养肉汤培养基中, 37℃恒温培养18~24 h后, 按10倍稀释制备的 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 悬液, 分别吸取0.1 mL分别滴入固体培养基中, 均匀涂布后于37℃培养18~24 h, 根据平板计数结果, 取最佳细菌浓度, 大肠杆菌为 10^{-3} 个/mL, 金黄色葡萄球菌为 10^{-4} 个/mL^[5]。

1.2.4 紫茎泽兰提取液平板药敏试验

分别取大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌液0.1 ml均匀涂布于不同浓度的紫茎泽兰提取液平板中, 37℃培养18~24 h, 观察细菌生长情况。有细菌生长判为阴性, 记为“-”;无细菌生长判为阳性, 记为“+”。

1.2.5 紫茎泽兰提取液药敏片抑菌效果测定

分别取大肠杆菌和金黄色葡萄球菌菌液0.1 ml均匀涂布于血清琼脂培养基中, 然后用无菌镊子将不同梯度的药敏片, 分别贴于培养基表面, 各片距离相等, 37℃培养18~24 h后, 测量药敏片抑菌圈大小。

2 试验结果

2.1 紫茎泽兰提取液平板药敏试验结果

如表1所示, 空白和 $C_1=0.025$ g/mL浓度的平板对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌没有抑制作用; $C_2=0.050$ g/mL对金黄色葡萄球菌有抑制作用, $C_3=0.075$ g/mL、 $C_4=0.100$ g/mL、 $C_5=0.200$ g/mL浓度的平

表1 紫茎泽兰提取液平板药敏试验结果

试验组	大肠杆菌	金黄色葡萄球菌
空白	-	-
$C_1=0.025$ g/mL	-	-
$C_2=0.050$ g/mL	-	+
$C_3=0.075$ g/mL	+	+
$C_4=0.100$ g/mL	+	+
$C_5=0.200$ g/mL	+	+

注:“-”有细菌生长;“+”无细菌生长

板均对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有明显的抑菌作用。

2.2 紫茎泽兰提取液药敏片抑菌效果

如表2所示, 含0.075 g/mL的紫茎泽兰提取液药敏片对大肠杆菌有抑制作用, 含0.050 g/mL的紫茎泽兰提取液药敏片对金黄色葡萄球菌有抑制作用。紫茎泽兰的提取物对2种细菌的生长均具有一定的抑制作用, 其对金黄色葡萄球菌抑菌效果大于大肠杆菌。

3 讨论

关于紫茎泽兰的研究, 目前的研究主要集中在其生物学特征、危害及其控制措施等方面。数据表明, 紫茎泽兰汁液对多种植物致病菌均有较高的抑制效果^[2]。有报道表明, 紫茎泽兰有抑制动物寄生虫虫体或虫卵活性的效果。紫茎泽兰须根液对猪蛔虫虫体有一定的麻痹作用^[6]。紫茎泽兰提取液可致弱鸡球虫卵囊活性^[7]。刘松鑫等^[8]研究表明, 紫茎泽兰挥发油对金黄色葡萄球菌有抗菌作用。陈豪等^[1]研究表明紫茎泽兰乙酸乙酯部位具有良好的抗肝癌活性, 能引起凋亡相关蛋白Caspase-3与PARP的活化, 从而诱导肝癌细胞凋亡, 但对正常肝细胞影响较小。在野外遇到外伤出血, 将紫茎泽兰洗净捣烂外敷患处, 即可止血;采取紫茎泽兰根, 洗净后煎煮, 日服, 每次服用, 连用5天, 咳嗽症状消除^[9]。紫茎泽兰提取液是否抑制动物病原菌鲜有报道, 因此笔者进行了紫茎泽兰提取液对动物源性大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的抑菌活性研究。试验结果显示, 紫茎泽兰提取液血清琼脂平板和药敏片对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌的最低抑菌浓度分别为0.075 g/mL和0.050 g/mL;紫茎泽兰的提取物对2种细菌的生长均具有一定的抑制作用, 其对金黄色葡萄球菌抑菌效果大于大肠杆菌。通过比较, 紫茎泽兰提取液能抑制动物

表2 紫茎泽兰提取液药敏片抑菌效果

实验组/g/mL	细菌	抑菌圈直径(mm)	判定结果	实验组/g/mL	细菌	抑菌圈直径(mm)	判定结果
$C_1=0.025$	大肠杆菌	0	无	$C_1=0.025$	金黄色葡萄球菌	0	无
$C_2=0.050$	大肠杆菌	0	无	$C_2=0.050$	金黄色葡萄球菌	14.2	中度敏感
$C_3=0.075$	大肠杆菌	13.3	中度敏感	$C_3=0.075$	金黄色葡萄球菌	17.5	高度敏感
$C_4=0.100$	大肠杆菌	16.2	高度敏感	$C_4=0.100$	金黄色葡萄球菌	19.8	高度敏感
$C_5=0.200$	大肠杆菌	19.4	高度敏感	$C_5=0.200$	金黄色葡萄球菌	21.3	高度敏感

注:抑菌圈直径<10 mm为低度敏感, 10 mm<抑菌圈直径<15 mm为中度敏感, 抑菌圈直径>15 mm为高度敏感

寄生虫虫体或虫卵活性、具有良好的抗肝癌活性、可止血、可治疗咳嗽,对动物源性大肠杆菌和金黄色葡萄球菌有抑菌作用。这为大肠杆菌病和金黄色葡萄球菌病困扰养猪产业的疾病的治疗提供了一种新的可能的治疗药物,也为云南省紫茎泽兰的进一步研究与开发应用提供一定的科学依据。

4 结论

紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌都具有很好的抑制作用,且 0.075 g/mL 和 0.050 g/mL 紫茎泽兰提取液对大肠杆菌和金黄色葡萄球菌抑菌效果最好。

参考文献:

[1] 陈豪,杨洁,杨新洲,等.紫茎泽兰抗肝癌活性研究[J].中药材,2018,41(5):1210-1213.

[2] 姚秉富,李明霞,孙雨晴,等.紫茎泽兰对植物病原菌的抑制作用研究进展[J].安徽农学通报,2019,25(11):87-89.

[3] 张永红,官佳懿,崔德凤,等.绿原酸对小鼠不同组织巨噬细胞增殖、分泌及吞噬功能的影响[J].动物医学进展,2014,9:46-51.

[4] 刘伯言.入侵植物紫茎泽兰的资源化利用研究[D].北京:中国科学院大学,2017.

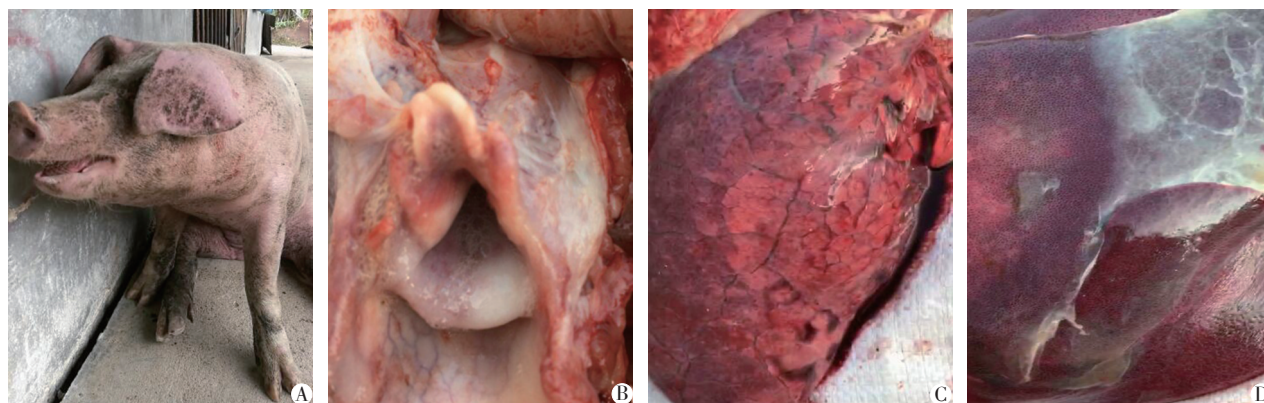
[5] 李秀敏,钱景富,冯艳秋.简述药物敏感性试验的方法[J].吉林畜牧兽医,2005,5:20-21.

[6] 张琼芬,李树荣.紫茎泽兰须根液对猪蛔虫的离体杀灭试验[J].中兽医学杂志,2007(1):3-4.

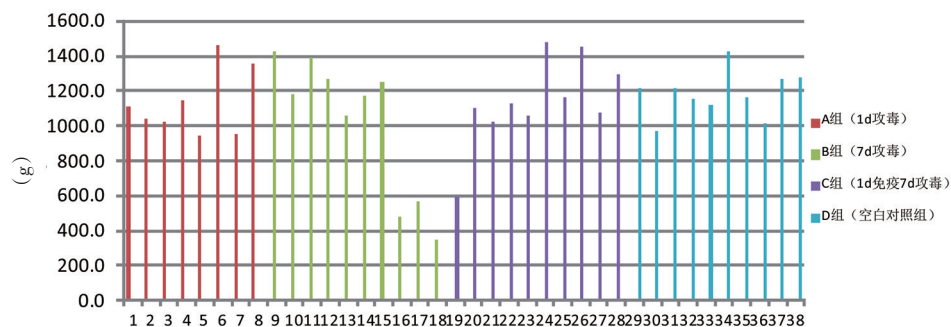
[7] 晏云涛,吕瑞青,项勋,等.紫茎泽兰处理鸡球虫卵囊的免疫效果评[J].江苏农业科学,2019,47(16):171-174.

[8] 刘松鑫,韦会平,程君,等.紫茎泽兰挥发油对金黄色葡萄球菌的抗菌机制[J].中国医院药学杂志,2012,33(21):1742-1745.

[9] 李丽萍.紫茎泽兰提取物对细菌的抑制作用及抑菌机理的研究[D].北京:北京林业大学,2010.



姜林林等 图1 发病猪只的临床症状及病理变化



曾凡桂等 图5 各试验组鸭只28日龄体重