

陈晓玉,谭奕舟,莫智杰,等. 广西规模水禽养殖场鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与耐药性分析[J]. 江苏农业科学,2024,52(9):213-219.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.09.029

广西规模水禽养殖场鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与耐药性分析

陈晓玉¹, 谭奕舟¹, 莫智杰¹, 胡 静¹, 李 军^{2,3}, 李常挺^{2,3}, 白慧丽^{2,3}, 王乐平^{1,3}, 马春霞^{1,3},
尹杨燕^{1,3}, 彭 昊^{2,3}, 廖玉英^{2,3}

[1. 广西大学动物科学技术学院, 广西南宁 530004; 2. 广西壮族自治区兽医研究所/广西兽医生物技术重点实验室, 广西南宁 530001;
3. 农业农村部中国(广西)东盟跨境动物疫病防控重点实验室, 广西南宁 530001]

摘要: 为了解广西地区规模化水禽养殖场鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*, RA)的流行血清型、耐药情况及遗传关系,从广西南宁、贵港等地规模化水禽养殖场中临床上疑似感染 RA 的病死鸭、鹅体内得到 5 株分离菌,对分离菌进行鉴定,检测其毒力基因,通过多重 PCR 检测方法鉴定血清型,并对其进行耐药性分析。经试验得到鉴定结果,RA 分离菌株在血琼脂培养基上呈平滑圆润、露滴样,圆形隆起的灰白色菌落;革兰氏染色呈阴性短杆菌;5 株分离菌经 16S rRNA 鉴定均为 RA,将其命名为 2022NNRA01~2022NNRA05;其中,血清鉴定 2022NNRA01 为血清 1 型,其余均为血清 2 型。药敏试验结果显示,5 株 RA 对青霉素、氨苄西林、阿莫西林、头孢氨苄、头孢噻唑、大观霉素、氟苯尼考、磺氨甲噁唑敏感,对其他抗菌药物呈不同程度的耐药。其中,对安普霉素、庆大霉素、卡那霉素氨基糖苷类药物,四环素类药物多西环素和利福霉素类药物利福平的耐药率为 100%。本试验经分离鉴定成功得到 5 株 RA,且其耐药性分析结果可为广西地区 RA 疾病的疫苗免疫预防选择以及药物治疗提供依据。

关键词: 鸭疫里默氏杆菌;分离鉴定;血清型;毒力因子;耐药性;广西

中图分类号: S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2024)09-0213-06

鸭疫里默氏杆菌病又称鸭传染性浆膜炎,是一种由鸭疫里默氏杆菌(*Riemerella anatipestifer*, RA)引起的败血症急性病,病鸭易患纤维性心包炎、脑膜炎、肝周炎和肺泡炎^[1]。该病在世界范围内广泛流行,主要侵害 1~8 周龄的雏鸭,除此之外还可感染鹅、火鸡等家禽,且感染后发病率和死亡率极高,是一种对水禽业造成严重危害的细菌传染病^[2]。

目前,RA 病菌主要研究集中于鸭源,但近年来随着养鹅业的发展,RA 的流行情况在鹅群中也有上升趋势^[2-4]。水禽养殖业在广西养殖业中所占比例不可忽视,广西地区常见的水禽病有 RA、大肠杆菌病、禽流感、病毒性肝炎等,其中 RA 的发病率在逐渐上升,影响了广西地区的鸭鹅养殖业乃至整个水禽业的经济效益,且大部分的调查研究均停留在临床病例报告,未系统地进行分子流行病学研究^[5],目前广西地区鸭疫里默氏杆菌病例的流行情况报道甚少,特别是鹅源 RA 病株;为填补该地区 RA 病流行病学数据的欠缺,完善我国 RA 病整体防控方案,本研究对广西地区部分水禽养殖场流行的 RA 分离菌进行分离鉴定,并采用血清 1 型、2 型和 11 型 RA 多重 PCR 鉴定方法^[6]鉴定分离菌的血清型,对其耐药性及遗传关系进行研究,为当地开展针对性的疫苗免疫及临床用药选择提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料样本 病料样品来源于 2021—2022 年广西壮族自治区南宁市、贵港市规模化水禽养殖

收稿日期:2023-07-11

基金项目:广西重点研发计划(编号:AB21238003、AB21220005-4);
国家水禽产业技术体系建设专项(编号:CARS-42);广西兽医研究所基本科研业务费(编号:桂科专项 22-6、桂科专项 23-5);广西农业农村厅科技项目(编号:Z202218、Z202219);广西南宁市良庆区重大科技专项(编号:202118);广西防城港市重点研发计划(编号:AB21014016、AB20014028);广西桂林市重点研发计划(编号:20220136-5);广西南宁市武鸣区重点研发计划(编号:20210102);广西南宁市江南区重点研发计划(编号:20220620-2);广西南宁市青秀区重点研发计划(编号:2022004)。

作者简介:陈晓玉(2000—),女,黑龙江宾县人,硕士研究生,主要从事兽医病理病理研究。E-mail:cxyl3766902977@163.com。

通信作者:彭 昊,博士,高级兽医师,主要从事动物疫病防控与病原分子生物学研究,E-mail:hpeng2006@163.com;廖玉英,研究员,主要从事畜禽生态养殖研究,E-mail:315951610@qq.com。

场。病禽咳嗽、体型瘦小、精神状态差、不愿走动、毛色无光泽,解剖病死鸭鹅有较严重的包肝、包心;采集病死鸭鹅的脑、肝和心等组织,收集的组织样本共 28 份(表 1),于 -80 ℃ 冰箱保存备用。

表 1 样品信息		
样品来源	病死样品数 (份)	分离出菌株数 (株)
南宁市	12	2
贵港市	10	2
南宁市(鹅源)	6	1

1.1.2 主要试剂与仪器 本试验所用试剂与仪器的主要信息见表 2、表 3。

1.1.3 引物合成 多重 PCR 鉴定鸭疫里默氏杆菌血清型引物参考专利^[6]合成,引物信息见表 4;鸭疫里默氏杆菌毒力基因鉴定引物信息见表 5,均由金唯智生物科技有限公司合成。

表 2 仪器信息	
仪器	来源
电热恒温培养箱	上海浦东荣丰科学仪器有限公司
BIO - RAD T100 PCR 仪	美国 Bio - bard 公司
光学显微镜	尼康映像仪器销售(中国)有限公司
凝胶成像系统	美国 Alpha Inno - tech 公司

表 3 试剂信息	
名称	来源
胰蛋白胨大豆肉汤(TSB)	北京陆桥科技有限公司
革兰氏染色试剂盒	珠海贝索生物技术有限公司
鲜血琼脂培养基	北京康为世纪生物科技有限公司
细菌基因组 DNA 提取试剂盒	北京康为世纪生物科技有限公司
2 × Taq PCR MasterMix	北京康为世纪生物科技有限公司
DNA marker 100 bp leader	北京康为世纪生物科技有限公司
DL 2000 试验药敏纸片	北京康为世纪生物科技有限公司 杭州滨和微生物试剂有限公司

表 4 血清型鉴定引物信息			
引物	引物序列(5'→3')	产物大小 (bp)	退火温度 (℃)
16S rRNA	F:AGAGTTTGATCCTGGCTCAG;R:TACGGCTACCTTGTACGACTT	1 450	52.0
血清 1 型引物	P1 - F:CTTGGAGTGCAGAGTCCGAA;P2 - R:AACTCCCATTTCCTCAGCGA	269	57.9
血清 2 型引物	P3 - F:GCACCTCTTGTTCGCGATT;P4 - R:ACTGCCTCCTGCCACTTATC	671	
血清 11 型引物	P5 - F:GGGATGCGATTAGTGGGGAG;P6 - R:CACATGCGTAGACCACCCTT	510	
特异性鉴定引物	P7 - F:ATGCCCCAAGCGAAACTCGTA;P8 - R:CGCCTGTTTTAGCTTCGTGG	1 114	

表 5 毒力基因检测引物信息			
引物名称	引物序列(5'→3')	产物大小 (bp)	退火温度 (℃)
<i>OmpA</i>	F:AGCCAACTATTTGAGACACG R:ATACCCTTTAATGCTCCTG	663	52
<i>CAMP</i>	F:ATGAAACAATCTATTATCTTAGGTA;R:TTACTTTGCATTTAACTCATATC	1 026	55
<i>wza</i>	F:AGTCTTTAGACAAGTAGATGCC;R:TTACTTTGCATTTAACTCATATC	939	50
<i>AS87_04050</i>	F:AGGCCGCTTTAGGTTCTGTTTC;R:CTTCGCCTATTTTCTCATCGTATTT	585	55
<i>Fur</i>	F:ATGGAACATCAAGAGAAAAGATATAG;R:TTATGCTTTTTTATGACCGTAGA	468	49
<i>SIP</i>	F:ATGCCTAAGACACCGAAATGGATG;R:TTACAAACCTTGTTTCCTTCCACC	729	55
<i>TbdRI</i>	F:TCGTGGGGCAATCTAAACTAAGC;R:AGCCCTGCCCAAACATCATAA	427	55
<i>luxE</i>	F:ATGCCTTCTATTTTTGATATTAACAC;R:CTAAGAAACCAAAAGGCTACAACC	999	55

1.2 方法

1.2.1 病原菌分离与培养 无菌环境中,采集病死鸭鹅的脑、内脏组织,将其接种于鲜血琼脂培养基,再将其放置于厌氧罐中,37 ℃ 恒温培养 24 ~36 h,观察培养病原菌的形态特征,挑取符合要求的单菌落进行培养。

1.2.2 形态鉴定 挑取纯化后的单个待检菌落,按革兰氏染色操作说明书进行染色,于光学显微镜下

观察,鉴定其形态特征。

1.2.3 16S rRNA 分子生物学鉴定 取纯化的细菌培养液 12 000 r/min 离心 1 min,去上清液后提取 RA 病菌的基因组 DNA。通用引物序列(表 4)进行 PCR 扩增,PCR 反应体系 50 μL(表 6),PCR 反应条件:95 ℃ 5 min;95 ℃ 30 s,52 ℃ 30 s 退火,72 ℃ 30 s,34 个循环;72 ℃ 延伸 10 min,扩增结果大小为 1 450 bp。将阳性产物送至生工生物工程(上海)有

限公司进行测序后得到测序结果,在 NCBI[BLAST: Basic Local Alignment Search Tool (nih. gov)]上进行比对分析,根据序列间同源性差异,采用 MEGAX 软件构建遗传进化树,分析并确定分离菌株的类别。

1.2.4 血清型鉴定 参照文献[6],通过多重 PCR 检测方法鉴定血清型,特异性扩增 RA 血清 1 型、2 型和 11 型引物,所用引物信息见表 4,实现对 RA 血清 1 型、2 型和 11 型的鉴定。PCR 反应体系见表 6。PCR 反应条件:95 ℃ 5min;95 ℃ 30 s,57.9 ℃ 30 s 退火,72 ℃ 60 s,35 个循环;72 ℃ 延伸 10 min^[6]。

表 6 Multiplex PCR 反应混合液

成分	加样量(μL)
2 × Taq PCR MasterMix	4. 125
P1/P2	各 0. 100
P3/P4	各 0. 250
P5/P6	各 1. 000
P7/P8	各 0. 500
DNA 模板	2. 000
ddH ₂ O	15. 175

1.2.5 毒力基因检测 参照试剂盒说明书提取 RA 病菌的基因组 DNA,PCR 扩增 RA 毒力基因 *OmpA*、*CAMP*、*wza*、*AS87_04050*、*Fur*、*SIP*、*TbdR1* 和 *luxE*,所用引物信息见表 5。

1.2.6 细菌药敏试验 采用 K - B 纸片法对 5 株菌株进行抗生素药物的敏感试验。无菌操作下,将 RA 均匀涂布于血琼脂平板上,贴上药敏纸片;置于厌氧罐中,37 ℃ 培养 24 h 后,测量抑菌圈直径。根据抑菌圈直径判断 RA 对各种药物的敏感度,参照美国临床实验室标准化委员会抗微生物药物敏感试验标准。

2 结果与分析

2.1 病原菌分离培养

由图 1 可知,从多个规模水禽养殖场病死鸭、鹅组织样本上分离得到 5 株菌株;5 株菌株均在鲜血琼脂平板上形成平滑圆润、露滴样的圆形隆起灰白色菌落。

2.2 鉴定结果

2.2.1 形态鉴定 由图 2 可知,对 5 株分离的 RA 进行革兰氏染色,镜检为阴性,单个或成双排列,形态多为短杆状,少数呈椭圆形状。

2.2.2 16S rRNA 分子生物学鉴定 由图 3 可知,5 株分离的 RA 菌株 PCR 扩增后,获得大小约 1 450 bp

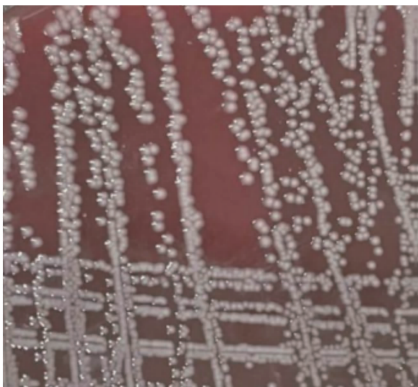


图1 鲜血琼脂培养基上分离菌菌落形态

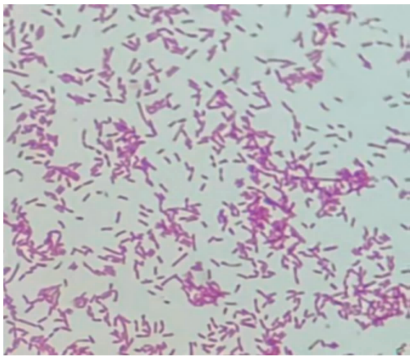
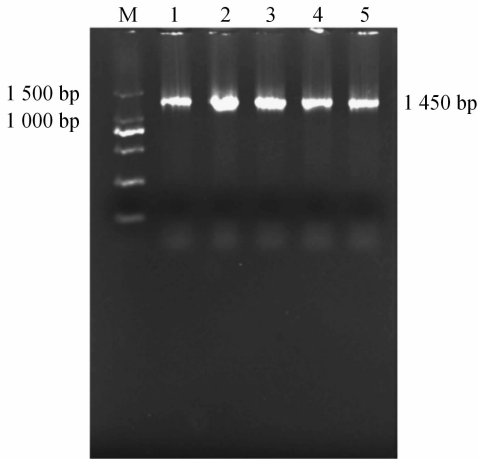


图2 分离菌染色镜检结果(1 000 ×)

目的条带,得到 5 株 RA 的基因序列,与 NCBI 上 20 株 RA 参考株进行比对,相似性 ≥ 98%。由图 4 可知,2022NNRA01、2022NNRA02、2022NNRA04、2022NNRA05 处于同一分支,亲缘性较高,而 2022NNRA03 和云南分离株 RA - 1 亲缘关系较近。



M—DL 2000; 1~5—2022NNRA01~2022NNRA05

图3 分离菌 16S rRNA 基因 PCR 扩增结果

2.3 血清型鉴定

经特异性多重 PCR 方法鉴定 5 株鸭疫里默氏杆菌分离株得到结果,由图 5 可知,电泳图样本中有 1 114 bp 特异性鉴定条带和 269 bp 条带,则为血清

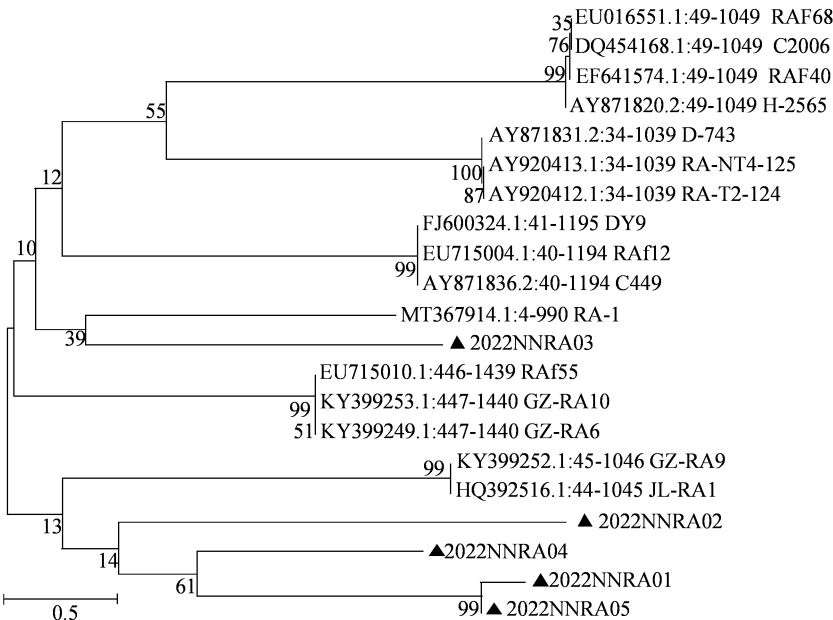
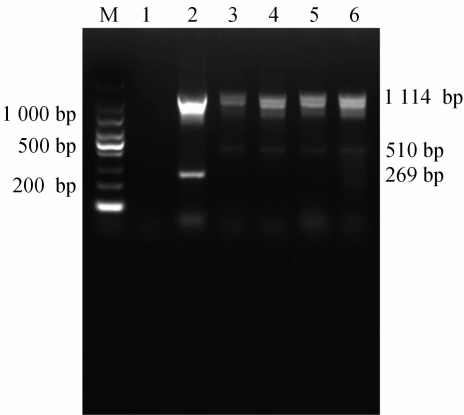


图4 分离菌 16S rRNA 基因系统进化树分析结果



M—100 bp leader DNA marker; 1—阴性;
2~6—2022NNRA01~2022NNRA05

图5 多重 PCR 检测法鉴定血清型

1 型 RA;有 1 114 bp 特异性鉴定条带和 671 bp 条带,则为血清 2 型 RA;有 1 114 bp 特异性鉴定条带和 510 bp 条带,则为血清 11 型 RA^[6]。

血清鉴定结果表明,2022NNRA01 为血清 1 型,2022NNRA02、2022NNRA03、2022NNRA04、2022NNRA05 为血清 11 型。其中,血清 1 型占比 20%,血清 11 型占比 80%。

2.4 毒力基因检测

由图 6 可知,5 株分离菌经过 PCR 扩增毒力基因特异性片段,2022NNRA01~2022NNRA05 均含毒力基因 *OmpA* (663 bp)、*wza* (939 bp)、*luxE* (999 bp),5 株分离菌均未扩增出 AS87_04050 毒力基因条带,2022NNRA02、2022NNRA03、2022NNRA04

未扩增出 *CAMP*、*Fur*、*SIP*、*TbdR1* 毒力基因条带。

2.5 药敏试验

由表 7 可知,本试验分离得到的 5 株 RA 对青霉素、氨苄西林、阿莫西林、头孢氨苄、头孢噻唑、大观霉素、氟苯尼考和磺氨甲噁唑 8 种抗菌药物敏感,对其他 7 种抗菌药物呈不同程度的耐药。其中,对安普霉素、庆大霉素、卡那霉素氨基糖苷类药物,环丙沙星、恩诺沙星喹诺酮类药物,四环素类药物多西环素和利福霉素类药物利福平平均表现出高度耐药。

3 讨论

本研究分离得到的 5 株 RA 中,1 株分离自病死鹅,RA 是当前危害养鹅业的重要传染病之一,雏鹅感染后发病率极高,病死率在 10%~40%,最高可达 90%^[7],10 周龄时仍能感染发病,种鹅和成年鹅不易感染。本研究收集不同水禽养殖场发病鸭、鹅的病料,发病雏鹅生活环境较差,雏鹅群在舍内平地圈养,保温设施少、通风差、氨气重,雏鹅群于约 15 日龄出现发病死亡的严重情况,养鹅场应当密切关注并重视 RA 病菌的预防,改善鹅场的饲养条件,加强鹅场通风和保湿,在鹅的免疫计划中也应考虑到对 RA 病菌的免疫。

5 株菌均从病样的脑部分离得到,有研究发现病禽感染鸭疫里默氏杆菌后,脑组织神经细胞变大,这与脑部神经细胞受损有关^[8]。通过分析分离菌的遗传进化关系发现,分离自南宁地区的 4 株鸭

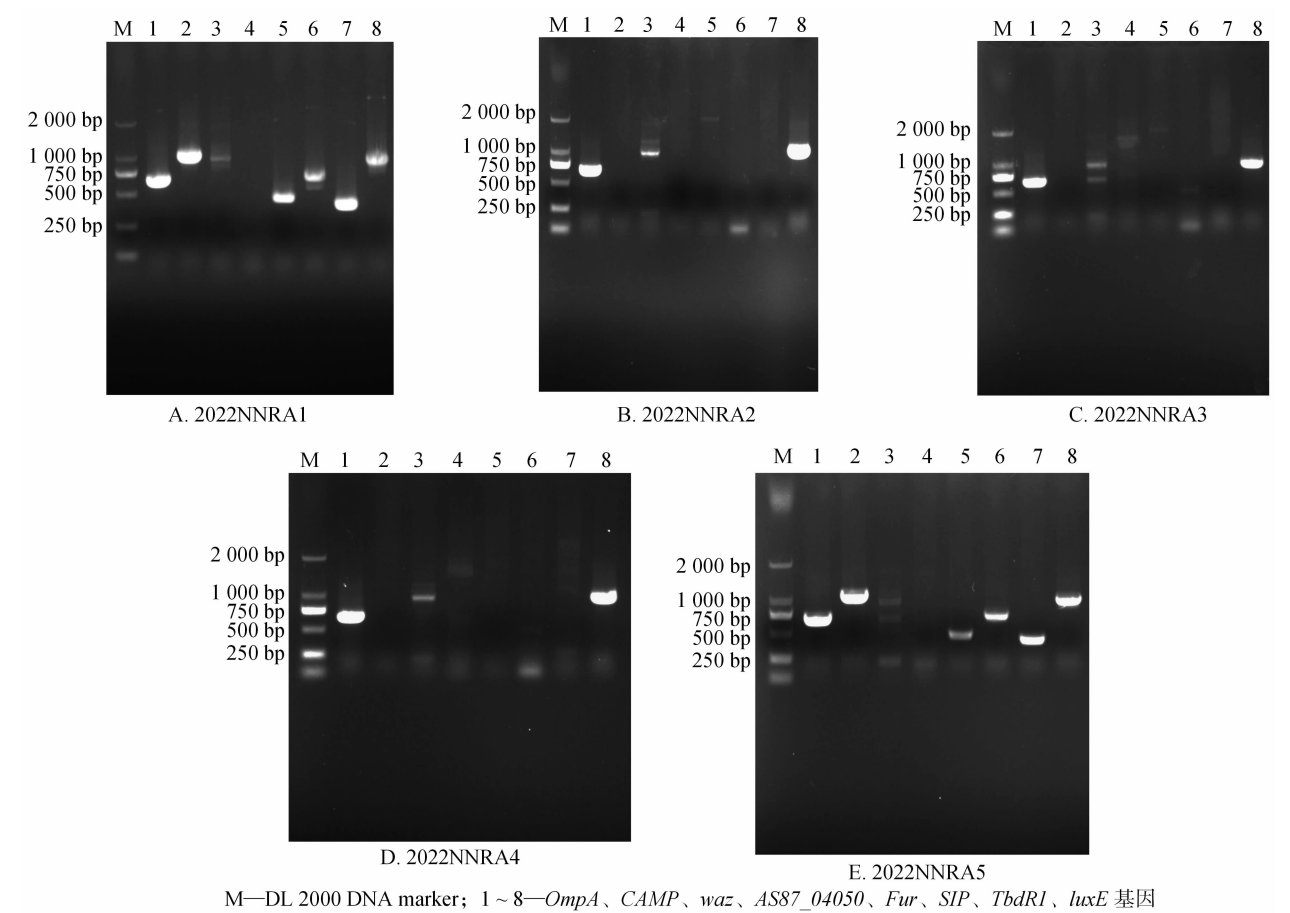


图6 分离菌主要毒力基因 PCR 扩增结果

表 7 分离菌药敏试验结果				
抗菌药物类别	抗菌药物名称	占比(%)		
		耐药株	中介株	敏感株
青霉素类	青霉素	0	0	100
	氨苄西林	40	0	60
	阿莫西林	0	20	80
头孢菌素类	头孢氨苄	20	0	80
	头孢噻唑	0	0	100
氨基糖苷类	安普霉素	100	0	0
	庆大霉素	100	0	0
	卡那霉素	100	0	0
	大观霉素	20	0	80
酰氨醇类	氟苯尼考	20	0	80
喹诺酮类	环丙沙星	80	0	20
	恩诺沙星	60	0	40
磺酰胺类	磺胺甲噁唑	40	0	60
四环素类	多西环素	100	0	0
利福霉素	利福平	100	0	0

疫里默氏杆菌之间的亲缘关系最近,贵港分离株 2022NNRA03 和同处于西南地区的云南分离株

RA-1 亲缘关系较近,说明病菌的流行可能和种鸭种鹅的贸易、运输有关,因此该病的检疫工作应引起重视;2022NNRA01 与 2022NNRA05 亲缘关系较近,但分别来自于鸭源和鹅源,可能存在鸭、鹅混合感染的情况,因此鹅养殖地要远离鸭舍、鸡舍,避免鸡、鸭、鹅混养。长期以来在养殖生产中,针对 RA 病菌是采用疫苗免疫预防、药物治疗相结合的方法进行防控,而效果并不理想。一方面,RA 病菌在自然界血清型众多,至少拥有 21 个血清型,且不同血清型间无交叉免疫保护作用^[9];另一方面,当前市面上销售的灭活疫苗并未覆盖所有血清型,这使得疫苗的免疫作用受到限制。

目前,鸭疫里氏杆菌在全国范围内流行,其中广东地区 RA 以 1 型为优势血清型,2、3、4、8、10、15 也均有流行^[10-12];贵州省养鸭业的重点养殖基地三穗地区以 2 型为主要流行血清型,11 型也有流行^[13-14];福建省血清型为 2 型和 11 型所占比例最高^[15]。血清 1、2、10、11 型在广西桂林地区均有流行,以 1 型最为多发,百色市分离菌株血清型全为 1

型^[16-17]。本研究采用血清 1 型、2 型和 11 型 RA 病菌多重 PCR 鉴定^[6], 5 株分离株以血清 11 型所占比例最高。该方法实现对 RA 病菌血清 1 型、2 型和 11 型的精确、简便、稳定、高特异和高灵敏性检测, 和常规鉴定方法不同, 此检测方法降低了劳动成本, 成本相对较低, 前景好。分析以往广西地区所报道的 RA 病菌的流行情况, 血清型 11 型可能在南宁的流行趋势相较往年有所上升, 该调查有助于了解该地区 RA 的优势血清型, 为进一步选择相应的疫苗提供依据。

RA 病菌的致病机理研究发展十分缓慢, 本试验中的 5 株分离菌均含毒力基因 *OmpA*、*wza*、*luxE*, 但均不含 *AS87_04050*。膜蛋白是革兰氏阴性菌外膜的重要组成部分, 参与物质跨膜运输、传导信号、合成能量物质等生命过程^[18]。本试验证明, 5 株基因的表达情况影响 RA 的感染能力, 从而影响宿主对入侵细菌的免疫情况。*OmpA* 为外膜蛋白的主要蛋白, Hu 等通过试验评价 RA 病菌 *OmpA* 缺失株 Th4Δ*OmpA* 的毒力, 结果显示, Th4Δ*OmpA* 的黏附、侵袭能力及对雏禽的致病性明显减弱, 证明 *OmpA* 参与 RA 的黏附过程, *OmpA* 基因缺失株 Th4Δ*OmpA* 对 10 日龄樱桃谷鸭致病力大幅度减少, 是一种重要的毒力因子^[19]。袁彪研究发现, *wza* 基因与荚膜的形成有关, *wza* 基因的缺失导致鸭疫里默氏杆菌生物膜形成能力增加以及表面疏水性升高, RA CH-1Δ*wza* 毒力约下降 421 倍^[20]。岳嘉蘋研究发现, *luxE* 基因缺失株 Yb2Δ*luxE* 对 Vero 细胞的黏附侵袭能力均较亲本株显著降低, 进而导致细菌的入侵力减弱, 该基因缺失后导致鸭疫里默氏杆菌脂蛋白酰化缺陷, 致病力相较野生株 Yb2 显著下降^[21]。在本试验 5 株分离株的检测中, 均未出现 *AS87_04050* 基因的目的条带; *AS87_04050* 基因与细菌脂多糖的合成和致病性有关, 王小兰通过转座子插入诱变技术构建 *AS87_04050* 基因缺失株 RA2640, 研究发现基因缺失株 RA2640 合成细菌脂多糖受阻, 进而感染过程受阻, 且毒力下降 10 万倍以上^[22]。

另外, 由于在饲养和临床治疗中长期连续使用或不规范使用抗生素, 导致 RA 的耐药谱越来越广。研究表明, 不同地区分离的 RA 病菌对抗生素的敏感程度不同^[23]。本研究调查采样的养殖场常使用安普霉素、庆大霉素、卡那霉素、四环素、磺胺嘧啶等药物, 药敏试验结果显示, 5 株 RA 分离菌多重耐药, 对临床常见抗菌素均呈不同程度的耐药性, 其

中, 对上述常见抗生素的耐药率为 100%。因此, 在临床上选择药物治疗时, 应当先检测病菌对抗生素敏感性, 为广西药物 RA 疾病治疗提供试验依据, 合理使用抗生素, 尽最大可能避免药物的不当使用, 控制鸭疫里默氏杆菌出现多重耐药性的发展态势。

4 结论

本研究从广西壮族自治区部分地区的几个规模水禽养殖场中多羽具有典型临床症状的病死鸭、鹅脑组织上分离得到 5 株鸭疫里默氏杆菌, 经分离纯化后通过菌落形态鉴定及分子生物学鉴定, 确定 5 株分离菌均为鸭疫里默氏杆菌, 说明该菌在广西地区鸭群、鹅群中有流行的趋势。其中, 4 株为血清 11 型, 1 株为血清 1 型。药敏试验结果表明, 5 株鸭疫里默氏杆菌均出现多重耐药性, 但对青霉素类药物青霉素、氨苄西林、阿莫西林, 头孢菌素类药物头孢氨苄、头孢噻唑和酰氨醇类药物氟苯尼考及氨基糖苷类药物大观霉素敏感。本研究结果可为广西地区 RA 疾病的疫苗免疫预防的选择、药物治疗提供依据。

参考文献:

- [1] 王书峰, 邱伟. 鹅鸭疫里默氏杆菌病的流行病学、临床特点、实验室诊断与防控[J]. 现代畜牧科技, 2019(12): 125-126.
- [2] 董洪燕, 张燕, 王彦红, 等. 江苏地区 10 株鹅源鸭疫里默氏杆菌的耐药性及致病性特征分析[J]. 微生物学通报, 2021, 48(12): 4756-4764.
- [3] 杨永胜, 陈研, 薛亚飞, 等. 4 株鹅源鸭疫里默氏杆菌生物学特性分析[J]. 中国动物传染病学报, 2020, 28(5): 62-66.
- [4] 彭凌, 杨旭夫, 朱必凤, 等. 粤西地区两株鹅源鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定[J]. 中国兽医科学, 2015, 45(5): 463-468.
- [5] 周英宁, 郝洁, 韦英益, 等. 广西地区鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与药敏试验分析[J]. 当代畜牧, 2018(33): 35-39.
- [6] 朱德康, 杨志双, 程安春, 等. 血清 1 型、2 型和 11 型鸭疫里默氏杆菌的 PCR 鉴定引物、试剂盒及多重 PCR 鉴定方法: CN110846425A[P]. 2020-02-28.
- [7] 胡晓苗, 戴银, 沈学怀, 等. 鹅源鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与药敏试验[J]. 中国兽医杂志, 2015, 51(12): 48-49.
- [8] Zhu T F, Chen F F, Li J C. A strain of pathogenic *Bacillus subtilis* results in brain damage in ducklings when co-infected with *Riemerella anatipestifer* [J]. Polish Journal of Veterinary Sciences, 2017, 20(4): 803-809.
- [9] Pathanasophon P, Phuektes P, Tanticharoenyos T, et al. A potential new serotype of *Riemerella anatipestifer* isolated from ducks in Thailand [J]. Avian Pathology, 2002, 31(3): 267-270.
- [10] 张济培, 张小峰, 陈建红, 等. 珠三角及邻地鸭疫里默氏杆菌主要生物学特性的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2012, 34(2): 100-103.

杨又兵,钱凯凤,卢小宁,等.甘草多糖对鸡肉品质及其相关候选基因表达的影响[J].江苏农业科学,2024,52(9):219-225.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2024.09.030

甘草多糖对鸡肉品质及其相关候选基因表达的影响

杨又兵,钱凯凤,卢小宁,姜然,刘永建,任旭鸽,游祥宾,李淦,徐志谦,雷莹,白俊艳
(河南科技大学动物科技学院动物医学院,河南洛阳 471023)

摘要:为探究甘草多糖对鸡肉品质的影响,设计不同水平的甘草多糖添加至日粮中,测定爱拔益加肉鸡的肉质性状和相关基因在肉质中的含量,以此来研究日粮中添加不同水平甘草多糖对其肉质的影响情况;并利用转录组测序技术(RNA-SEQ)分析了日粮中添加不同水平甘草多糖饲喂的肉鸡胸肌组织样品的转录组,从而筛选出能够调控肉质性状的关键基因,并利用实时荧光定量PCR技术进行验证。结果表明,在日粮中添加300、600、900 mg/kg甘草多糖的试验组鸡的胸肌的肉质指标肉色、pH₁、pH₂₄、蒸煮损失和滴定损失与对照组均无显著差异($P>0.05$),但发现随着日粮甘草多糖的增加,鸡的肉质指标有着不同程度的改善。在日粮中添加300、600 mg/kg甘草多糖均增加了鸡胸肌中LPL基因、PPAR γ 基因、FABP3基因、CAST基因的相对表达量,在日粮中添加300、600 mg/kg甘草多糖降低了鸡胸肌中CAPN2基因的相对表达量;在日粮中添加900 mg/kg甘草多糖降低了LPL基因、PPAR γ 基因、FABP3基因、CAST基因的相对表达量。

关键词:甘草多糖;肉质性状;LPL基因;PPAR γ 基因;CAST基因

中图分类号:S831.5 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2024)09-0219-07

近年来,甘草多糖这种活性成分受到许多学者

的关注。甘草多糖具有多种生物学功能,如可增强机体免疫力、促进生长发育、抗病毒等,在畜牧业上有广阔的应用前景。然而,目前国内外有关甘草多糖在鸡上的研究寥寥可数,且饲料中合适的添加量没有明确标准,作为饲料添加剂还不能广泛应用^[1]。

肉质性能是影响养肉鸡生产经济效益的关键因素,但鸡肉的肉质性能很低,现阶段对肉鸡肉品质的研究主要还是在常规的肉品质上。目前,氨基酸和核苷酸是影响肉类及肉制品鲜味的2种重要因

收稿日期:2023-05-09

基金项目:河南省科技攻关项目(编号:222102110477);河南省高校国家级大学生创新创业训练计划重点支持领域项目(编号:202210464064)。

作者简介:杨又兵(1977—),男,湖北黄冈人,博士,副教授,研究方向为动物遗传育种和动物遗传资源保护与开发利用。E-mail: yangyoubing@sina.com。

通信作者:白俊艳,博士,教授,研究方向为动物分子育种。E-mail: junyanbai@163.com。

[11]任晓梅,王小兰,韩文龙,等.鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定与生物学特性研究[J].中国动物传染病学报,2018,26(4):47-51.

[12]吴彩艳,廖申权,戚南山,等.广东省鸭疫里默氏杆菌流行病学监测及遗传进化关系[J].华南农业大学学报,2022,43(2):1-10.

[13]陈国权,吴征卓,姚碧琼,等.鸭疫里默氏杆菌贵州流行株的分离鉴定及耐药性分析[J].中国兽医科学,2020,50(6):731-739.

[14]吴征卓,陈国权,姚碧琼,等.贵州省三穗县鸭疫里默氏杆菌的分离鉴定、毒力基因检测及耐药性分析[J].中国畜牧兽医,2021,48(11):4274-4283.

[15]程龙飞,陈红梅,施少华,等.鸭疫里默氏菌的血清型及药物敏感性分析[J].中国动物传染病学报,2013,21(4):23-28.

[16]阳艳洁,蒋福信,王星,等.桂林市鸭疫里默氏杆菌的血清型鉴定及耐药性研究[J].养禽与禽病防治,2011(11):2-4.

[17]言天久,潘懿,韦平,等.鸭疫里默氏杆菌病原分离、血清

型鉴定及病例防治报告[J].中国畜牧兽医,2007,34(12):99-100.

[18]Samsudin F, Ortiz-Suarez M L, Piggot T J, et al. OmpA: a flexible clamp for bacterial cell wall attachment[J]. Structure, 2016, 24(12):2227-2235.

[19]Hu Q H, Zhu Y Y, Tu J, et al. Identification of the genes involved in *Riemerella anatipestifer* biofilm formation by random transposon mutagenesis[J]. PLoS One, 2012, 7(6):e39805.

[20]袁彪.鸭疫里默氏菌荚膜多糖输出外膜蛋白wza基因缺失株的构建及功能研究[D].成都:四川农业大学,2015:36.

[21]岳嘉颖.鸭疫里默氏杆菌毒力相关基因突变株的构建及其生物学特性研究[D].北京:中国农业科学院,2014.

[22]王小兰.鸭疫里默氏杆菌毒力基因的鉴定及功能分析[D].北京:中国农业科学院,2015:66.

[23]朱元军,杨德鸿,麦凯杰,等.浙、闽、粤地区鸭疫里默氏杆菌分离鉴定与药敏实验[J].江西畜牧兽医杂志,2019(2):45-47.