



CSSSC
第六届中国猪业科技大会



论文集

PROCEEDINGS

第六届猪业科技大会

CSSSC 2024

效率 · 质量 · 生态

2024年8月5-7日

目 录

遗传与繁育专题

口述报告

- 基于空间转录组和单核测序探究猪骨骼肌纤维空间分布与异质性.....伊旭东等 (3)
- 基于多组学数据解析安徽地方猪肉质性状遗传机制.....王自洋等 (4)
- 加性与显性效应对高产法国和荷兰大白猪产仔数 性状影响的遗传评估.....周 进等 (5)
- 去泛素化酶 UCHL1 通过稳定 CCNB1 促进猪颗粒细胞的增殖.....时胜洁等 (6)

壁报交流

- 猪卵泡液外泌体对颗粒细胞增殖影响的研究.....刘阳光等 (7)
- 关于地方种质资源定远猪的性能测定.....李飞艳等 (8)
- 全转录组分析卵泡液外泌体对颗粒细胞增殖的影响.....刘阳光等 (9)
- 圩猪卵泡期垂体、下丘脑、卵巢关键 miRNA 的筛选与功能分析.....叶海波等 (10)
- 皖岳黑猪与大白猪初情期卵巢组织的 SNP/Indel 筛选分析.....周涵宇等 (11)
- MitoQ 能有效提高冷冻解冻公猪精子的质量.....董莹莹 (12)
- 基于机器学习鉴定地方猪肉质性状候选基因.....周 忍等 (13)
- 发酵床养殖模式对猪肠道微生物结构的影响.....谢 帆等 (14)
- 基于输卵管转录组数据挖掘皖岳黑猪产仔数相关候选基因.....周涵宇等 (15)
- 基于 RNA-seq 技术挖掘调控皖南花猪毛色的候选基因.....孙一璠等 (16)
- 江泉黑猪不同发育阶段骨骼肌全长转录组分析.....宋 淇等 (17)
- 复合植物精油对断奶仔猪肠道健康的影响研究.....王倩倩等 (18)
- 基于 X、Y 精子蛋白差异的猪精子分选技术.....曹超越等 (19)
- 背膘厚对母猪子宫内膜容受性和胚胎附植的影响.....秦 雪等 (20)
- 固态和液态饲喂下猪脾脏免疫差异基因及代谢物研究.....谢 帆等 (21)
- 赖氨酸乳酸化修饰调控猪精子运动能力的机制探究.....杨梦豪等 (22)
- 托佩克大白和长白猪胴体性状及肌肉品质测定实验研究.....刘燕玲等 (23)
- 猪 MYH7 AS lncRNA 对骨骼肌纤维类型转化的作用与机制研究.....喻 赫等 (24)

松辽黑猪 LHX8 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析.....张 琪等 (25)

脂肪组织中交感神经对猪脂肪组织的调控作用研究.....闫文勇等 (26)

烟酰胺单核苷酸通过 SIRT3 激活 SOD2/ROS 信号轴 和氧化磷酸化改善公猪精子质量
.....张海泽等 (27)

CircSHOC2/miR-130b-5p/ASH1L 轴调控猪颗粒细胞类固醇激素合成.....张璐通等 (28)

浦市黑猪保种群体基于 SNP 芯片的遗传结构分析.....邓 缘等 (29)

基于深度学习的屠宰线胴体长度智能实时测量方法及系统.....贾析杭等 (30)

营养与饲料专题

口述报告

Circular RNAs 介导日粮色氨酸调控断奶仔猪的肌肉纤维类型转化.....何天乐等 (33)

猪源益生性乳酸菌的分离筛选与生物特性研究.....吴晓婷等 (34)

玉米赤霉烯酮通过氧化应激诱导猪肝细胞线粒体动力学失衡.....刘 恒等 (35)

褐藻多糖介导Nrf2/ARE通路缓解断奶仔猪肠道氧化应激损伤.....侯春洁等 (36)

融合细胞因子新制剂促进仔猪免疫和生长的试验研究.....高 荣 (37)

壁报交流

复合益生菌剂对断奶仔猪生长性能、肠道菌数及腹泻的影响.....尹琨伊等 (38)

猪源乳酸菌分离鉴定及体外益生性研究.....刘秋瑾等 (39)

真菌类饲料添加剂在猪生产中的应用研究进展.....刘秋瑾 (40)

Box-Behnken 优化超声提取刺五加多糖及对育肥猪生产性能、免疫功能及抗氧化功能的影响
.....薛沾枚等 (41)

集团规模化猪场经营管理系列之妊娠母猪营养篇.....迂 斌等 (42)

集约化猪场配种怀孕舍饲喂.....迂 斌等 (43)

非常规饲料在养猪生产上的应用研究进展.....刘 文 (44)

不同来源淀粉在养猪生产上的应用研究进展.....刘 文 (45)

复方中草药对母猪和仔猪生产性能影响的研究进展.....林秀蔚 (46)

仔猪腹泻中氨基酸的作用研究进展.....林秀蔚 (47)

N-氨甲酰谷氨酸对断奶仔猪十二指肠绒毛形态、抗氧化能力及氨基酸转运载体表达量的影响
.....高萌萌等 (48)

湿态饲料和液态发酵饲料对感染猪繁殖与呼吸综合症的断奶仔猪血液免疫和死亡率的影响
.....赵 然 (49)

响应面法优化仔猪玉米-豆粕日粮发酵工艺及分子结构特性研究.....	耿彦超等 (50)
菌酶协同发酵饲料对生长育肥猪生长性能、血液生化指标、粪便微生物菌群的影响	王 馨等 (51)
低蛋白日粮在养猪生产中的应用进展.....	姚美玲 (52)
蔬菜尾菜饲料化利用及对生猪机体影响的研究进展.....	姚美玲 (53)
低蛋白氨基酸平衡日粮优势及应用.....	包凤轩等 (54)
苜蓿草粉对猪生长性能的 Mate 分析	张启钧等 (55)
异丁酸对仔猪肠道屏障功能和肠道菌群的影响.....	王彬洁等 (56)
基于网络药理学和分子对接研究黄芪杜仲提取物(ALAE)调控猪 子宫内膜上皮细胞 (PEECs) 的 作用机制	赵林露等 (57)
蒲公英多糖对断奶仔猪生长和血清生化的影响.....	许万鑫等 (58)
非靶向代谢组学和 16S rRNA 分析揭示不同体重断奶仔猪血浆代谢物和肠道菌群的组成差异	耿彦超等 (59)
饲料添加黄芩苷对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响.....	高宇辉等 (60)
母猪妊娠后期和哺乳期饲料中添加水飞蓟素可提高母猪的 繁殖性能、免疫力和初乳质量	从光雷等 (61)
基于网络药理学和分子对接研究黄芪杜仲提取物(ALAE) 对母猪繁殖性能调节的作用机制	赵林露等 (62)
抗菌肽在畜禽饲料中的应用.....	冯引元等 (63)
无抗液体发酵饲料在生猪养殖中的应用.....	魏 姚等 (64)
日粮中添加牛磺酸对仔猪生产性能的影响.....	王 楠等 (65)
低蛋白质多元化日粮对生长猪生长性能、血液生化指标的影响.....	褚贇贇等 (66)
低蛋白质多元化日粮对肥育猪生长性能、屠宰性能、肉品质的影响研究.....	李章成等 (67)
不同纤维源对断奶仔猪生长性能、血清生化指标、肠道通透性和粪便微生物的影响	刘 宁等 (68)
饲料中添加植物精油、抗菌肽、微生态制剂对断奶仔猪生长性能及腹泻的影响	(69)
不同饲养方式里岔黑猪盲肠微生物群落结构 及与生产性能的相关性分析	王 薇等 (70)
不同油脂对后备母猪子宫及乳腺发育及肝脏 和卵巢中脂肪酸组成的影响	王逸飞等 (71)
低蛋白日粮下不同淀粉和蛋白质来源对仔猪生长性能、小肠消化酶和肠道菌群的影响	卢小斌等 (72)
乔松素通过 GPR120-ERK1/2 信号通路抑制猪皮下脂肪细胞分化.....	张孜怡等 (73)
发酵竹粉对猪生长性能、屠宰性能、肉品质、肉营养价值及血液生理生化指标的影响	徐川辉等 (74)
不同断奶体重对仔猪生长性能、血清生化指标、肠道健康的影响.....	李梦婷等 (75)
β -葡聚糖对断奶仔猪生长性能和血清抗氧化、免疫及生化指标的影响.....	曾 韬等 (76)

疫病与防治专题

口述报告

- 适应肠道细胞的猪德尔塔冠状病毒对仔猪的致病性分析 石 迎 (79)
- 非洲猪瘟病毒通过提高细胞内谷胱甘肽水平抑制应激颗粒的形成并促进病毒复制
..... 高 寒等 (80)
- PDCoV 通过上调 MHC- I 表达逃逸 NK 细胞免疫的分子机制 刘 翔等 (81)
- 猪圆环病毒 2 型、3 型和 4 型病原学调查及遗传进化分析 陈燕虹等 (82)
- 黄芪多糖调控 HP-PRRSV 致猪肺微血管内皮细胞功能障碍的糖萼机制研究 宋晓晓等 (83)
- 基于多组学数据鉴定对猪肺炎支原体感染发挥抗性作用的关键基因 汤晴晴等 (84)
- 解旋酶 DDX6 在 PRRSV 感染中的作用机制 熊 倩等 (85)
- APOBEC3F 在 PRRSV 感染中的作用机制 陆小玉等 (86)

壁报交流

- 食药同源真菌发酵复方中药对断奶仔猪生长性能、腹泻及粪便菌群的影响 白长胜等 (87)
- 产房哺乳仔猪腹泻的发病特点与治疗原则 迂 斌等 (88)
- 集约化猪场三级洗消体系的构成 迂 斌等 (89)
- 复养场消毒清洗及检测评估 迂 斌等 (90)
- 集约化猪场断奶母猪管理 迂 斌等 (91)
- 集约化猪场引进后备猪的隔离详解 迂 斌等 (92)
- 多来源后备新建场猪繁殖与呼吸综合征的控制与思考 张振东等 (93)
- 益生菌对仔猪肠道免疫调节的研究进展 林秀蔚 (94)
- 抗 PRRV N 蛋白纳米抗体抗病毒感染机制研究 陈 旭等 (95)
- PRRS 标记疫苗候选株的设计及其免疫效果的初步评估 赵加凯等 (96)
- 猪繁殖与呼吸综合征疫苗的研究进展 宋宇伦 (97)
- 针对 11 种猪腹泻病原同时、高效检测的高通量靶向测序方法的建立 高广娟等 (98)
- 猪腹泻病原共感染的免疫机制研究 程靖华等 (99)
- 猪流行性腹泻疫苗研究进展 张 洋等 (100)
- 高通量靶向测序实现 15 种猪病原的快速、精准检测 左 扬等 (101)
- 2023 年猪场临床疫病检测与分析 刘纪玉等 (102)
- 基于纳米抗体检测 PRRSV 抗体通用型竞争 ELISA 方法的建立 畅悦廷等 (103)
- 宿主蛋白 NUDT7 参与 PRRSV 感染的机制研究 闫玉超等 (104)
- 宿主因子 PDCD4 限制 PRRSV 复制的机制 魏瑞平等 (105)

PRRSV 感染中铁代谢调控及铁死亡机制的研究	李长艳等 (106)
猪繁殖与呼吸综合征病毒化学发光抗体检测试剂盒的研究	闫新博等 (107)
GP5 和 M 蛋白的分子间二硫键促进 PRRSV 病毒样颗粒的分泌和细胞结合	雷昕诺等 (108)
2022-2023 年黑龙江部分地区猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)流行与混合感染状况调查	姚 爽 (109)
PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法建立	张 备等 (110)
白芍及芍药苷对猪中性粒细胞 LFA-1、Mac-1 及 p65 NF- κ B 表达的影响	黄安琦等 (111)
猪流感病毒诊断与防控新策略	朱元芳等 (113)
烟台黑猪 <i>DQA</i> 和 <i>DRA</i> 基因遗传多态和蛋白质特征对仔猪腹泻的遗传效应分析	黄晓宇等 (114)
抗 ASFV p54 蛋白单价纳米抗体的制备及其中和病毒活性的初步鉴定	(115)
宿主因子 eEF1G 调控 PDCoV 的复制	殷唯佳等 (116)
猪流行性腹泻病毒中和单抗的制备及表位鉴定	罗瑞新等 (117)
猪 A 群轮状病毒病原学调查及分离鉴定	易光远等 (118)
表达非洲猪瘟病毒 p30 蛋白的重组杆状病毒构建与鉴定	陈晓雨等 (119)
某存栏 2400 头 GP 场 PRRSV 发病快速稳定与净化案例	颜运秋等 (120)
川乡黑猪主要病毒性疫病抗体消长规律研究	曾 凯等 (121)
浅谈非洲猪瘟对我国猪养殖业的影响和防控	张建胜 (122)
基因编辑技术在培育抗病种猪上的应用	朱元芳 (123)
宿主蛋白 VCP 调控非洲猪瘟病毒高效复制的分子机制	王 桦等 (124)
非洲猪瘟病毒在感染细胞中复制和转录位点的鉴定	翁文莲等 (125)
增强 PRRSV 特异性细胞免疫: 一种 Fc 融合的多 CTL 表位疫苗	雷昕诺等 (126)

其他相关专题

壁报交流

简述电解水在养猪生产中的应用研究进展	刘 文 (129)
改良清肺颗粒对临床呼吸道疾病育肥猪应用研究	张 艳等 (130)
转录组和靶向代谢组分析不同猪品种背最长肌脂质、营养成分和挥发性化合物	罗 振等 (131)
基于精准畜牧业技术在智慧猪养殖应用	张建胜 (132)
计算机视觉技术在猪性能测定中的应用	张梓鹏等 (133)

A decorative rectangular border with a dotted line and floral motifs at the corners and midpoints of the sides.

遗传与繁育专题

口述报告

基于空间转录组和单核测序探究猪骨骼肌肌纤维空间分布与异质性

伊旭东^{*}, 庞卫军^{**}

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西咸阳 712100)

引言

骨骼肌肌纤维类型是影响肉质,特别是猪肉嫩度的关键因素,不同肌纤维类型组成的猪肉其在肉质方面存在较大差异。骨骼肌中主要存在两种肌纤维类型,即慢肌纤维(红肌)和快肌纤维(白肌)。两种肌纤维亚型在能量代谢,兴奋收缩,肌纤维结构等生理生化方面存在巨大差异^[1]。探究猪骨骼肌肌纤维亚型异质性、肌纤维空间分布等对破解肌纤维类型转化规律,挖掘肌纤维类型转化调控基因具有重要意义。因此,本研究利用空间转录组和单核测序技术,深入探究肌纤维类型的异质性、肌纤维空间分布与肌纤维类型转化规律,解析优质肉质性状形成的分子机理与基因调控网络,为优化猪肉品质和脂肪代谢机制提供重要信息。

材料与方法

本研究采集来自猪不同肌纤维亚型组成的肌肉样本,包括不同 LD、EDL 和 SOL。首先通过处理样本以制备组织切片,并使用荧光染色等技术来区分慢肌纤维和快肌纤维,并利用空间转录组解析不同部位骨骼肌中各种肌纤维亚型的基因表达模式。此外,本研究还对 LD、EDL 和 SOL 样本进行提取细胞核进行单核转录组测序,结合空间转录组和单核测序,联合解析肌纤维类型转分子机理与基因调控网络,为优化猪肉品质和脂肪代谢机制提供重要信息。

结果与讨论

本研究对不同的骨骼肌进行了单核测序,本研究总共鉴定到肌肉细胞、肌纤维细胞核和免疫细胞等五大类细胞。本研究发现,LD 存在更高比例的肌肉卫星细胞和纤维成脂祖细胞,这暗示 LD 的肌肉生长速度和肌内脂肪沉积能力更强^[2]。其次,发现 EDL、LD 和 Sol 代表了三种不同的肌纤维空间分布规律,本研究将其命名为 Islet Pattern、Rosette Pattern 和 Ring Pattern,空间定量分析暗示骨骼肌的肌纤维类型转化是存在极强的空间规律,在肌纤维类型从氧化到酵解型转化过程中,总是氧化型肌纤维的最外层先开始发生转化。此外,本研究也根据其他细胞的空间分布分为空间聚类细胞和空间离散细胞,我们发现脂肪细胞、神经细胞会呈现聚类分布,而肌卫星细胞等细胞呈现离散分布,而免疫细胞在不同骨骼肌的空间分存在差异,这说明免疫细胞会响应骨骼肌的不同运动方式^[3]。接下来,本研究通过联合空转和单核测序,对肌纤维类型转化进行更深入解析。本研究还发现,骨骼肌中存在大量的中间型肌纤维,包括 1/2a、2a/x 和 2b/x 肌纤维,这说明在体内,肌纤维是处在动态转化过程中的。总之,本研究深入解析了骨骼肌转化过程中肌纤维转化的空间特征与细胞动力学,为肉质的改良提供了理论依据。

主要参考文献

- [1] Dos S M, Shah A M, Zhang Y, *et al.* Opposing gene regulatory programs governing myofiber development and maturation revealed at single nucleus resolution [J]. *Nat Commun.* 2023, 19, 4333.
- [2] Hu X, Sun M, Chen Q, *et al.* Skeletal muscle-secreted DLPC orchestrates systemic energy homeostasis by enhancing adipose browning. *Nat Commun.* 2023, 30, 7916.
- [3] Coullis G, Villalta SA. Muscle immune cells protect mitochondrial organelles during exercise. *Nature.* 2024, 625, 35-36.

* 作者简介: 伊旭东,在读博士研究生,研究方向为动物育种理论与技术, E-mail: yixudong@nwfau.deu.cn。

** 通讯作者: 庞卫军,教授,博士生导师,研究方向为猪遗传育种, E-mail: pwj1226@nwfau.deu.cn。

基于多组学数据解析安徽地方猪肉质性状遗传机制

王自洋^{*}, 时坤鹏, 郁辰龙, 马淑雅, 郑方圆, 郑先瑞, 殷宗俊^{**}

(安徽农业大学动物科学技术学院, 安徽合肥 230031)

引言

肉质性状的遗传改良一直是猪育种行业的重要工作^[1]。但肉质性状是复杂经济性状, 其表型收集难度大、测定成本高, 目前关于猪肉质性状的遗传调控机制仍需深入研究。安徽地方猪遗传资源丰富且肉质鲜美^[2], 但影响其优良肉质性状形成的分子标记和调控机制尚不明确。因此, 本研究基于霍寿黑猪和安庆六白猪群体基因组、转录组和代谢组数据, 利用统计遗传学、生物信息学及多元统计分析等方法, 对影响肉质性状的关键候选基因、变异位点、小分子代谢物及代谢通路进行了鉴定。

材料与方法

测定了 142 头霍寿黑猪和 191 头安庆六白猪背最长肌 45min 和 24h 肉色 (L^* 、 a^* 和 b^*)、24h 和 48h 滴水损失、IMF、45min 和 24h pH 的表型数据; 基于“中芯一号”芯片和 30×重测序数据, 进行单性状和多性状 GWAS; 利用 GBLUP 估计样本的 gEBV, 挑选极高、极低样本进行转录组测序与 DEGs 筛选, 基于芯片数据和 DEGs 用 eQTL 分析探索两者间的调控方式; 运用 LC-MS 非靶向代谢组学技术, 通过 OPLS-DA 法和随机森林机器学习算法筛选肉质性状潜在生物标志物, 并利用 mGWAS 筛选候选基因; GC×GC TOF MS 技术检测不同 IMF 猪背最长肌挥发性物质的差异, 并结合多元统计分析筛选关键差异风味物质。

结果与讨论

基于芯片数据对霍寿黑猪和安庆六白猪群体进行单性状和多性状 GWAS, 鉴定到 106 和 40 个 SNPs 至少与一种肉质指标显著关联, 基于填充数据的单性状 GWAS 发现 80 个 QTLs。经基因注释获得 321 个候选基因, 初步将 *MYH1*、*GRM8*、*FABP4* 和 *DOCK4* 等基因作为重要候选基因; 差异表达分析分别筛选到 4679 和 8293 个 DEGs。eQTL 分析共鉴定到 5920 个 cisSNP-Gene 和 77680 个 transSNP-Gene。整合结果发现 58 个基因满足“SNP-DEGs-Trait”的三角关系; OPLS-DA 分析共筛选到 242 个 DEMs, 利用随机森林模型筛选出 38 种潜在的生物标志物。结合标志代谢物丰度数据与基因型数据开展 mGWAS 鉴定到 83 个 SNPs 和 44 个候选基因; 联合分析显示, DEGs 和 DEMs 之间共有 48 条显著共富集通路, 包括不饱和脂肪酸的生物合成、脂肪细胞脂解等与肉质性状紧密联系的通路; 结合 ROAV 和 VIP 值筛选出 2-壬烯醛和 2-辛烯醛是安庆六白猪背最长肌关键差异风味物质。本研究为阐明地方猪肉质特性提供理论基础。

主要参考文献

[1]Shen Y, Wang H, Xie J, et al. Trait-specific Selection Signature Detection Reveals Novel Loci of Meat Quality in Large White Pigs. *Front Genet.* 2021 Nov 16;12:761252. doi: 10.3389/fgene.2021.761252. PMID: 34868241; PMCID: PMC8635012.

[2]褚晨晨,李康乐,胡洪,等.安徽地方猪肉质及其品种特点[J].当代畜牧,2023(06):23-25.

^{*} 作者简介: 王自洋, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种, E-mail: 18838250107@163.com。

^{**} 通讯作者: 殷宗俊, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: yinzongjun@ahau.edu.cn。

加性与显性效应对高产法国和荷兰大白猪产仔数性状影响的遗传评估

周进^{1,2*}, 蔡文武^{1,2}, 邱子健^{1,2}, 赵清波^{1,2}, 黄瑞华^{1,2**}, 李平华^{1,2***}

(1. 南京农业大学养猪研究所(农业农村部畜禽(猪)资源评价利用重点实验室(南京)), 江苏南京 210095;
2. 南京农业大学淮安研究院, 江苏淮安 223001)

引言

在现代养猪业中, 母猪的繁殖效率是衡量猪场经济价值和生产效率的关键指标之一。母猪产仔数, 包括总产仔数和产活仔数, 直接影响到猪场的经济效益和可持续发展。随着全球对肉类产品需求的不断增长, 提高母猪的繁殖性能, 尤其是产仔数, 已成为养猪业的重要课题。然而, 产仔数性状的遗传结构机理复杂, 涉及多个遗传效应, 包括但不限于加性效应和显性效应。尽管加性效应是遗传改良的主要目标, 但显性效应在某些情况下可能对性状表现有显著影响。目前, 用于遗传参数估计的动物模型多集中于加性效应, 而对显性效应的考量不足, 这可能限制了我们对性状遗传结构的全面理解。本研究旨在通过分析法国和荷兰大白母猪的产仔数性状, 估计仅考虑加性效应的遗传参数和同时考虑加性和显性的遗传参数。我们将采用 HIBLUP 软件和重复力动物模型, 以期获得更全面的遗传参数估计。研究结果将为母猪产仔数性状的遗传改良提供更加精确的遗传评估方法, 并为未来的育种实践和理论研究提供科学依据。

材料与方法

法国大白猪选自河南民望农牧股份有限公司的核心育种场, 共涉及 1298 头母猪的 3696 条繁殖记录。荷兰大白猪来源于江苏立华牧业股份有限公司常州礼嘉母猪场, 共收集了 1107 头母猪的 4268 条繁殖记录。所有试验猪只均采集了耳组织样本, 用于提取基因组 DNA。产仔数性状的记录严格遵循国家农业部发布的《种猪登记技术规范》(标准号: NY/T820-2004), 确保了数据的准确性和一致性。利用 Microsoft 2021 的 Excel 软件中的数据分析模块进行描述性统计分析。使用 PLINK 软件对芯片数据进行质量控制。使用 HIBLUP 软件的平均信息限制最大似然(AIREML)算法, 分别用加性模型和加性-显性模型估计遗传参数。

结果与讨论

法国大白猪群体的总产仔数和产活仔数的平均值分别为 16.35 头和 14.55 头, 而荷兰大白猪群体的平均值分别为 14.13 头和 12.92 头。这表明法国大白猪群体在产仔数性状上表现优于荷兰大白猪群体。两个群体的变异系数均较高, 分别为法国群体的 23.35%和 24.99%, 荷兰群体的 24.39%和 24.38%, 这反映出产仔数性状在两个群体中都存在较大的表型变异。

基于加性模型的遗传参数估计结果显示, 法国大白猪群体的总产仔数和产活仔数的遗传力较低, 分别为 0.074 和 0.067, 而荷兰大白猪群体的遗传力更低, 分别为 0.026 和 0.030。这表明在两个群体中, 环境因素和其他非遗传因素可能对产仔数性状的影响较大, 而遗传因素的贡献相对较小。进一步基于加性-显性模型的分析揭示了显性效应在两个群体中的不同表现。法国大白猪产仔数性状的显性遗传方差与加性遗传方差的比值在 0.56-1.49 之间, 而荷兰大白猪群体的比值在 0.75-1.20 之间, 这表明在荷兰大白猪群体中, 显性效应对产仔数性状有较大的影响。这一发现与现有文献中关于显性效应在数量性状中可能起重要作用的观点一致^[3]。本研究揭示了母猪产仔数性状的遗传结构复杂性, 强调了在遗传评估中同时考虑加性和显性效应的重要性, 未来研究需进一步探索显性效应的遗传机制及其在育种程序中的应用, 同时考虑遗传与环境互作对产仔数性状的影响, 以实现更有效的遗传改良和提高繁殖效率。

主要参考文献

略

* 作者简介: 周进, 在读博士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 2022805128@stu.njau.edu.cn。

** 通讯作者: 黄瑞华, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: rh Huang@njau.edu.cn。

*** 通讯作者: 李平华, 研究员, 博士生导师, 研究方向为猪育种与健康生产, E-mail: lipinghua718@njau.edu.cn。

去泛素化酶 UCHL1 通过稳定 CCNB1 促进猪颗粒细胞的增殖

时胜洁^{*}，袁欢，蔡传江，褚瑰燕^{**}

(西北农林科技大学动物科技学院，杨凌 712100)

引言

猪卵巢颗粒细胞的增殖对卵泡发育至关重要，卵泡发育状态会影响母猪的发情表现，而泛素-蛋白酶系统对于维持细胞周期稳态是必需的^[1]，研究候选基因调控颗粒细胞增殖的分子机制，对调控母猪卵泡发育具有重要意义。泛素 C 端水解酶 L1 (UCHL1)，是一种重要的去泛素蛋白酶，能够选择性地生殖细胞中表达。近年研究发现 UCHL1 是二花脸猪产仔数的关键候选基因^[2]。本团队发现 UCHL1 在大白×长白二元母猪高低产群体卵巢组织中的表达存在显著差异，并在发情母猪卵巢组织中高表达。因此，我们以猪卵巢颗粒细胞及猪有腔卵泡为研究对象，通过过表达及干扰 UCHL1 并筛选激活 UCHL1 酶活的上游小分子物质探究其对颗粒细胞增殖的作用及机制。

材料与方法

通过将 UCHL1 过表达载体及 siRNA 转染进颗粒细胞，流式细胞术、EdU 染色检测颗粒细胞增殖状态，RT-qPCR 及 Western blot 检测关键基因和蛋白的表达，明确 UCHL1 促进颗粒细胞增殖。通过分子对接、免疫荧光染色、半衰期试验、IP 试验、在过表达 UCHL1 的同时敲降 CCNB1，明确 CCNB1 是 UCHL1 促进细胞增殖的靶蛋白。通过分子对接筛选激活 UCHL1 酶活的上游小分子物质，并通过体外培养猪有腔卵泡明确 UCHL1 及异杜荆素对颗粒细胞及卵泡增殖的作用。

结果与讨论

过表达 UCHL1 促进颗粒细胞增殖 ($P < 0.05$)，上调 CCNB1、CCNE1、CDK1 的 mRNA 和蛋白水平的表达 ($P < 0.05$)，干扰 UCHL1 抑制颗粒细胞增殖 ($P < 0.01$)，下调 CCNB1、CCNE1、CDK1 的 mRNA 和蛋白水平的表达 ($P < 0.05$)。共聚焦免疫荧光表明 UCHL1 与 CCNB1 在颗粒细胞中共定位，蛋白-蛋白对接试验及 Co-IP 表明 UCHL1 与 CCNB1 稳定结合，干扰 UCHL1 后，CCNB1 的泛素化水平升高，过表达 UCHL1 后，CCNB1 的半衰期延长 ($P < 0.05$)。在过表达 UCHL1 的同时敲降 CCNB1，颗粒细胞增殖状态无变化。通过分子对接筛选到激活 UCHL1 的上游黄酮类化合物-异杜荆素，异杜荆素通过增强 UCHL1 酶活促进颗粒细胞及有腔卵泡的增殖。

参考文献

- [1]Am-In N, Suwimonteerabutr J, Kirkwood RN. Serum Anti-Mullerian Hormone and Estradiol Concentrations in Gilts and Their Age at Puberty. *Animals (Basel)*, 2020. 10(11):2189.
- [2]He L C, Li P H, Ma X, Sui S P, Gao S, Kim S W, Gu Y Q, Huang Y, Ding N S, Huang R H. Identification of new single nucleotide polymorphisms affecting total number born and candidate genes related to ovulation rate in Chinese Erhualian pigs. *Anim Genet*, 2017. 48(1):48-54.

^{*} 作者简介：时胜洁，在读博士研究生，研究方向为动物遗传育种与繁殖，E-mail: shisj@nwafu.edu.cn。

^{**} 通讯作者：褚瑰燕，副教授，博士生导师，从事动物繁殖生物技术研究，E-mail: guiyanchu@nwafu.edu.cn。

壁报交流

猪卵泡液外泌体对颗粒细胞增殖影响的研究

刘阳光^{*}, 谢帆, 叶海波, 孙一璠, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

外泌体和卵巢颗粒细胞在卵泡发育过程起着至关重要的作用^[1]。研究表明, 卵泡微环境中外泌体所携带 miRNA 是颗粒细胞通讯中重要工具。因此, 本研究以外泌体为研究对象, 研究外泌体 miRNA 对卵巢颗粒细胞影响机制, 为解析母猪生殖机理提供理论依据。

材料与方法

以 150 枚白猪卵巢为试验样本, 选取有腔卵泡使用抽提法获取猪卵泡液, 利用梯度离心分离猪卵泡液外泌体, 经鉴定后; 将分离的外泌体加入卵巢颗粒细胞中, 采用 CCK-8 实验检测细胞活力, 随后对颗粒细胞(GC)、外泌体和颗粒细胞共培养组(GCE)进行小 RNA 转录组测序。经生物信息分析, 筛选出调控颗粒细胞增殖的关键 miRNA, 通过转染, CCK-8、qRT-PCR 实验技术探究关键 miRNA 的功能, 并使用 SPSS 软件对实验结果进行显著性分析, 以 $P < 0.05$ 记为差异显著。

结果与讨论

加入外泌体后, GCE 组细胞活力相对于 GC 极显著增加($P < 0.01$)。经小 RNA 测序筛选, 我们发现 miR-200b 拥有较多的靶基因和较高的靶向结合能, 我们认为 miR-200b 可能是外泌体调控卵泡发育的关键基因。通过构建 miR-200b mimics 载体, 过表达 miR-200b 组相对于 NC 组细胞活力明显增强($P < 0.01$); 构建 miR-200b inhibitor 载体, 抑制 miR-200b 组表达相对于 NC 组细胞活力明显下降($P < 0.01$)。此外, qPCR 结果显示, 细胞周期相关基因 *CCND1* 的相对表达量相对于 NC 组显著上升($P < 0.01$); 类固醇激素合成相关基因 *HSD3B1*、*CYP11A1* 的相对表达量相对于 NC 组显著上升($P < 0.01$)。颗粒细胞是卵巢的重要组成部分, 卵泡闭锁和卵巢早衰和颗粒细胞凋亡有关。尽管卵巢生理学已取得重大进展, 但卵泡发育的某些特定分子调控机制仍不清楚。近期研究发现外泌体可以稳定地存在于卵泡液微环境中, 可以携带非编码 RNA, 并且可以被颗粒细胞和卵囊细胞吸收, 发挥生物学功能。本研究中, 在卵巢颗粒细胞的培养过程中, 我们添加了外泌体, 然后采用 CCK8 试剂盒测定, 发现添加外泌体确实能够提高颗粒细胞的活力, 这与周虚等人报道相一致。RNA 测序发现, miR-200b 可能与外泌体调控机制相关。在后续验证试验中发现, 过表达 miR-200b, 细胞的活力会增加, 而抑制 miR-200b 表达细胞的活力会下降。此外, 过表达 miR-200 后, 与细胞周期相关基因 *CCND1* 的相对表达量升高, 说明外泌体 miR-200b 可能影响细胞周期过程来促进细胞的增殖。因此, 这些发现为研究外泌体在生殖调控机制上奠定了理论基础。

主要参考文献

[1]Cao J, Huo P, Cui K, et al. Follicular fluid-derived exosomal miR-143-3p/miR-155-5p regulate follicular dysplasia by modulating glycolysis in granulosa cells in polycystic ovary syndrome[J]. Cell Commun Signal. 2022;20(1):61.

* 作者简介: 刘阳光, 在读博士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 22710033@stu.ahau.edu.cn。

** 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪分子育种, E-mail: xdzhang1983@ahau.edu.cn。

关于地方种质资源定远猪的性能测定

李飞艳^{*}, 王培欢, 熊运江, 郑先瑞^{**}

(安徽农业大学, 安徽合肥 230036)

引言

安徽省南北跨度大, 地形地貌复杂多样, 畜禽种质资源丰富。猪种主要可分为淮猪(定远猪、霍寿黑猪)、皖北猪、皖南花猪、皖南黑猪、安庆六白猪、圩猪, 其中定远猪是分布最广、数量最多、品质最好的品种^[1]。定远猪体型较大、耳大、下垂超过鼻端、嘴筒长直、背腰平直狭窄、臀部倾斜、四肢坚实有力、皮毛黑色、皮厚、毛粗而密。定远猪作为中国古老的地方猪种, 最早可以追溯到春秋战国时期, 具有体质健壮、耐粗饲、抗病力强、肉质好、生长较慢、肥育性能较差等特点^[2]。本文通过对定远猪胴体性能、屠宰性能和肉品质测定与分析, 旨在进一步了解定远猪的生产性能及肉品质, 为定远猪的保种、开发利用及资源利用提供参考。

材料与方 法

试验于 2024 年 5 月 10 日在安徽省滁州市定远县种畜保种场进行。选取 2023 年 7 月 1-10 日之间出生的生长发育正常、体重 90kg 左右、均已阉割的定远猪母猪 12 头, 作为试验材料。期间均饲养在同一栋猪舍内, 饲养管理水平和饲料均相同。

结果与讨论

定远猪胴体指标, 可知 10 月龄时, 定远猪平均体重达 89.69kg, 背膘厚 3.86mm, 屠宰率达 65%, 腿臀比为 30%, 瘦肉率 40%, 肉色评分为 3.33, 大理石纹评分 3.29, 眼肌面积为 25.36cm², 肌内脂肪含量为 3.26%, 拿破率为 86.5%。宰后 45minpH 均值为 6.35, 24h 时 pH 降为 5.56, 肌体胴体皮肤白, 6-7 肋处膘厚 30-40mm, 6-7 肋处皮厚 6-10mm, 贮存损失(24h)≤1.43%, 灰分≥2.49%, 粗脂肪≥13.38%。碘价≥33.56 毫克, 皂价≥201.61 毫克, 定远猪含氨基酸总量≥21.9%, 肌肉富含人体所需的 17 种氨基酸和微量元素。

主要参考文献

- [1]饶锡生. 浅析安徽省地方猪的保种及利用[J]. 安徽农业科学, 2008 (25): 11161-11162.
- [2]熊家东. 定远猪品种资源调查[J]. 猪业科学, 2015, 32 (6): 134-135.

^{*} 作者简介: 李飞艳, 安徽农业大学。
^{**} 通讯作者: 郑先瑞, 安徽农业大学副教授。

全转录组分析卵泡液外泌体对颗粒细胞增殖的影响

刘阳光^{*}, 谢帆, 文浩宇, 王倩倩, 殷宗俊^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

颗粒细胞 (GC) 的生理状态对于卵泡发育和卵母细胞成熟至关重要^[1]。猪卵泡液外泌体促进猪卵巢颗粒细胞 (POGCs) 的增殖和类固醇激素的合成^[2]。然而, 它们在调节 GCs 增殖过程中的作用尚不清楚。本研究通过对颗粒细胞 (GC), 外泌体与外泌体共培养 (GCE) 进行全转录组测序, 筛选与外泌体调控颗粒细胞增殖相关的关键非编码 RNA, 从非编码 RNA 的角度解析外泌体对颗粒细胞增殖的影响。

材料与方法

采集 50 头处于卵泡期的长白后备母猪 (平均月龄 12 月, 平均体重 150 kg) 的卵巢, 用一次性注射器穿刺具有粉红色颜色和血管壁在 3-5mm 之间的小而健康的卵泡, 通过离心获取卵泡液外泌体及卵巢颗粒细胞, 在体外进行孵育至细胞汇合达到 70%, 弃培养基, 将先前分离纯化的外泌体混合到细胞培养基中, 与 POGCs 一起孵育, 记为 GCE 组, 并将等体积的 PBS 加入对照组, 记为 GC 组, 每组重复三次。培养 12h 后, 使用 cck-8 对细胞活力进行检测, 随后提取 RNA 进行全转录组测序。

结果与讨论

Cck-8 结果表明, GCE 组的细胞活力显著高于 GC 组 ($P < 0.05$), 全转录结果显示, 在 GCE 组中, 695 个差异表达的 (Differential expression, DE) lncRNA、15 个 DE 环 RNA、41 个 DE miRNA 和 6229 个 DE mRNA 被上调, 而 229 个 DE lncRNA、20 个 DE 环 RNA、8 个 DE miRNA 和 3545 个 DE mRNA 被下调, GO 富集分析显示, DE lncRNAs 主要与碳水化合物生物合成过程、有机酸跨膜转运蛋白活性和 GO 条目中的 DNA 修复有关。DE miRNAs 靶基因的 GO 富集分析表明它们参与细胞跨膜转运、与分化相关的细胞形态发生和跨膜转运蛋白活性。DE circRNA 的富集分析表明它们在调节 Wnt 信号通路、GTP 结合和过渡金属离子结合方面的作用。此外, DE mRNA 的 GO 富集结果表明它们参与了细胞-细胞信号传导、细胞增殖调控和跨膜转运蛋白活性等生物学过程。KEGG 分析显示, 这些差异表达非编码 RNA 主要富集 GnRH 分泌、色氨酸代谢和 TNF 信号通路细胞周期如 MAPK 信号通路、PI3K-Akt 信号通路、Wnt 信号通路等条目中。此外, 通过 overlap 法, 我们共筛选到多个非编码 RNA, 如, miR-339-3p、miR-214-3p、miR-708-5p、ssc-circ-52011、ssc-circ-30716、ssc-circ-58954、LOC106504559、LOC102161921。但这些非编码 RNA 显著富集在细胞周期、Wnt 信号通路、FoxO 信号通路等通路上, 可能是外泌体调控颗粒细胞增殖的关键因子。本研究的这些发现, 从非编码 RNA 的角度解释了外泌体对颗粒细胞增殖的影响, 可为后续外泌体在生殖调控方面的研究提供理论帮助。

主要参考文献

[1] CHEN X, CAO M, YUAN C, et al. Follicular fluid exosomes inhibit expression of BTG2 and promote glucose uptake in granulosa cells by delivering miR-21-5p [J]. *Theriogenology*, 2024, 218: 45-55.

[2] HAN Y, ZHANG J, LIANG W, et al. Follicular fluid exosome-derived miR-339-5p enhances in vitro maturation of porcine oocytes via targeting SFPQ, a regulator of the ERK1/2 pathway [J]. *Theriogenology*, 2024.

* 作者简介: 刘阳光, 在读博士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 22710033@stu.ahau.edu.cn。

** 通讯作者: 殷宗俊, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪分子育种, E-mail: yinzongjun@ahau.edu.cn。

圩猪卵泡期垂体、下丘脑、卵巢关键 miRNA 的筛选与功能分析

叶海波^{*}，周涵宇，王倩倩，孙一璠，张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院，合肥 230026)

引言

圩猪是安徽省优秀的地方猪种，分布于芜湖和宣城一带^[1]。因其体型中等偏小，结构均匀而被称为“油葫芦猪”^[2]。本研究通过高通量测序技术分析卵泡期圩猪下丘脑，垂体，卵巢组织中的 miRNA 表达谱，对不同组织间差异基因进行分析。筛选了在卵泡期已知的 miRNA 和新型 miRNA 及其靶基因，并对靶基因进行差异分析。以期为进一步了解 miRNA 介导的靶基因调控圩猪性腺轴功能机制提供理论依据。

材料与方法

实验选取安徽某猪场提供的卵泡期圩猪 3 头作为实验猪。分别收集圩猪下丘脑、垂体和卵巢组织，利用 RNA-seq 技术对卵泡期圩猪的下丘脑、垂体和卵巢中差异表达的 mRNA，并对 RNA-seq 数据进行可变接剪切分析，使用 DEGseq 软件对差异基因进行分析，通过对差异基因进行 GO 和 KEGG 富集分析描述了基因的潜在功能。对样本中差异 miRNA 进行表达量统计和差异分析并对差异 miRNA 的靶基因进行富集分析。

结果与讨论

对 RNA-seq 数据进行可变接剪切分析，共统计出五种差异类型，15409 个差异事件。采用 DEGseq 软件对差异基因进行分析，垂体和下丘脑中各有 5338 个差异基因，垂体和卵巢中发现 2861 个差异基因，下丘脑和卵巢中有 4732 个差异基因被检测到。随后对差异基因进行 GO 富集分析，发现其主要与细胞凋亡、胚胎发育、激酶活性相关，在进行 KEGG 富集分析时发现，差异基因主要在轴突制导、神经细胞受体结合、细胞分裂等通路富集。对 miRNA 进行了高通量测序，发现了与母猪繁殖性能相关的 miR-124a、miR-7、miR-181a 等 miRNAs。对这些 miRNAs 的靶基因进行通路和基因本体富集分析，结果表明，这些 miRNAs 以及 mRNAs 分布在 FoxO 信号通路，细胞凋亡以及雌激素信号通路等，从而影响卵泡的储备和发育等生物过程。本研究为转录后调控层面分析圩猪卵泡发育、加快新品系的培育提供基础资料。

主要参考文献

[1]吴朝栋. 圩猪初情期前后睾丸组织 WGBS 和 RNA-seq 组学分析 [D]. 2019.

[2]YUAN X L, GAO N, XING Y, et al. Profiling the genome-wide DNA methylation pattern of porcine ovaries using reduced representation bisulfite sequencing [J]. Scientific Reports, 2016, 6: 22138.

^{*} 作者简介：叶海波，在读硕士研究生，研究方向为猪遗传育种，E-mail: YHB183264796560823@163.com。

^{**} 通讯作者：张晓东，教授，博士生导师，研究方向为猪遗传育种，E-mail: xdzhang1983@163.com。

皖岳黑猪与大白猪初情期卵巢组织的 SNP/Indel 筛选分析

周涵宇^{*}, 孙一璠, 叶海波, 王倩倩, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

皖岳黑猪是正在培育的新品种, 含有 37.5% 的淮猪和北京黑猪血统, 以及 25% 的杜洛克血统。目前, 其繁殖力研究尚未报道。本研究使用 RNA-seq 技术检测 SNP 和 Indel, 这种技术成本低、操作简便, 可直接反映基因转录水平和表达模式^[1]。SNP 是基因组中单个核苷酸的变异, Indel 则是基因组中脱氧核苷酸的插入或缺失引起的序列长度多态性。本研究着重关注了 SNP (单核苷酸多态性) 和 InDel (插入/缺失多态性) 与繁殖性能的关联, 通过对皖岳黑猪和大白猪初情期卵巢组织的 RNA-seq 测序, 筛选差异基因并进行生物信息学分析, 探索与皖岳黑猪繁殖性能相关的基因, 为其选育提供理论依据。

材料与方方法

本研究选取初情期皖岳黑猪和大白猪各 3 头作为实验猪。屠宰后立即采集每头猪的卵巢组织。使用 Trizol 试剂从样品中提取总 RNA。然后进行 RNA 测序。使用 samtools 和 picard-tool 对 RNA-seq 数据中的 SNP/Indel 部分进行对比处理, 得出分析结果。通过在线基因富集网站 DAVID 进行 Gene Ontology(GO) 富集分析和 Kyoto Encyclopedia of Gens and Genomes (KEGG) 通路富集分析, 在进行差异筛选时, 以 $P < 0.05$ 作为显著差异的阈值。

结果与讨论

本研究通过 RNA-seq 对 6 组样品进行了转录组分析, 获得了 43762128-45759246 条原始数据, RNA 序列的有效长度平均为 6.47G, 完整性值平均为 9.32, 各样本的 Q20 和 Q30 分别在 95% 和 90% 左右, GC 含量平均为 52%。结果分析显示, 一共检测到 2041324 个 SNP 和 476340 个 InDel 突变, 其中纯合型 SNP 为 674512 个, 纯合型 InDel 为 113143 个, 杂合型 SNP 为 1366812 个, 杂合型 InDel 为 363,197 个。SNP 突变类型中转换事件显著多于颠换事件, 皖岳黑猪的突变类型高于大白猪。SNP 主要集中在外显子区和 3'非编码区, 而 InDel 突变主要位于 3'UTR 和基因下游区。此外, 经统计发生 SNP 突变的差异基因共计 583 个, 发生 InDel 突变的差异基因共计 102 个, 二者存在 93 个相同基因。使用基因富集网站 DAVID 对上述基因进行富集分析, 功能富集结果显示, 突变基因显著富集在顶体结合、受体结合、肽类激素结合、Toll 样受体 4 信号通路、受体分解代谢过程、经典 Wnt 信号通路、PPAR 信号通路和松弛素信号通路等方面。本研究表明皖岳黑猪相比较与大白猪发生突变的基因更多, 这些基因可能作为皖岳黑猪高繁殖力选育的分子标记。

主要参考文献:

[1]Suárez-Vega A, Gutiérrez-Gil B, Klopp C, *et al.* Variant discovery in the sheep milk transcriptome using RNA sequencing[J]. BMC Genomics. 2017 Feb 15;18(1):170.

^{*} 作者简介: 周涵宇, 在读硕士研究生, 研究方向猪遗传育种与生产。E-mail:zhouhanyu27@163.com。

^{**} 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向猪遗传育种与生产。E-mail: xdzhang1983@163com。

MitoQ 能有效提高冷冻解冻公猪精子的质量

董莹莹^{*}

(黑龙江八一农垦大学动物科学技术学院, 黑龙江大庆 163000)

引言

公猪精液在体外保存过程中易受到活性氧(ROS)的攻击导致脂质过氧化(LPO),使精子结构发生改变,影响精液的品质。精子细胞中,ROS作为线粒体生成ATP的副产物,高浓度的ROS会导致线粒体膜电位发生变化,线粒体受损,降低ATP的水平,造成精子线性运动能力下降。目前有研究表明,在公羊的精液冷冻稀释液中添加MitoQ可减少ROS产量、增强线粒体活性,提高解冻后精子活力^[1]。因此本研究对线粒体靶向抗氧化剂MitoQ在精液中抗氧化能力进行分析,旨在探究MitoQ对冻融后公猪精液质量的影响。

材料与方法

试验精液来自黑龙江省大庆精育种公猪站的10头体质强健品种优良,2—3岁的长白系种公猪。将精液平均分成五份,添加不同浓度的MitoQ(0、50、100、150和200 nmol/L)。使用计算机辅助精子分析系统(CASA)评估解冻后精子活力并采用荧光染色法评估解冻后精子顶体、质膜完整性和线粒体活性。运用SPSS对猪精子相关指标执行单因素方差分析,并采用Duncan's方法进行各组间的多重比较。

结果与讨论

与对照组相比,150 nmol/L MitoQ组显著提高精子的活力、活率($P<0.05$)。在畸形率方面,150 nmol/L MitoQ组显著低于其他处理组($P<0.05$)。150 nmol/L MitoQ组组冻融后精子质膜完整性显著高于其他组($P<0.05$)。对冻融后精子顶体完整性评价时,同样发现了与质膜完整性相仿的趋势。与对照组相比,150 nmol/L和200 nmol/L MitoQ组处理的猪精子线粒体活性明显增加($P<0.05$),但二者差异不显著($P>0.05$)。MitoQ作为线粒体靶向抗氧化剂^[2],通过参与线粒体电子传递链中的氧化还原反应,促进电子交换,从而增加ATP的合成,并降低线粒体内膜LPO程度^[3],提高精子的活力。本研究表明,150 nmol/L MitoQ可显著提高精子活力且表现出良好的抗氧化能力和增强线粒体活性的潜力,为猪精液冷冻工作提供了重要的参考信息,将在猪精液冷冻和稀释液方面的研究发挥重要的作用。

主要参考文献

- [1]Javaheri Barfouroushi H, Asadzadeh N, Masoudi R. The mitochondria-targeted antioxidant "MitoQ" preserves quality and reproductive performance of ram spermatozoa cryopreserved in soybean lecithin-based extender[J]. Theriogenology,2023,208,71-76.
- [2]Alipour-Jenaghard P, Daghigh-Kia H, Masoudi R, *et al* . Mitochondria-targeted antioxidant "MitoQ" improves rooster's cooled sperm quality indicators and reproductive performance. Theriogenology,2023,197,26-30.
- [3]Ernster L, Forsmark P, Nordenbrand K. The mode of action of lipid-soluble antioxidants in biological membranes. Relationship between the effects of ubiquinol and vitamin E as inhibitors of lipid peroxidation in submitochondrial particles[J]. J Nutr Sci Vitaminol,1992,548-551.

^{*}作者简介:董莹莹,在读研究生,研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 2985168474@qq.com。

基于机器学习鉴定地方猪肉质性状候选基因

周 忍, 胡谢宗, 余 倩, 王倩倩, 郑先瑞, 殷宗俊^{***}

(安徽农业大学动物科学技术学院, 安徽合肥 230036)

引言

肉质性状是猪最为重要的经济性状之一。我国地方猪遗传资源丰富, 肉质鲜美, 但是影响地方猪肉质形成的关键基因和遗传机制尚未明确。近年来, 随着生物学与计算机科学的交叉融合, 机器学习作为一种强大的数据分析工具在基因数据挖掘与分析领域取得了巨大的突破^[1]。机器学习模型可以帮助我们更好地挖掘和解读高通量测序数据中的信息, 发现潜在的相关性和模式^[2]。因此, 本研究拟借助机器学习挖掘影响安徽地方猪肉质性状的关键基因。

材料与amp;方法

试验对象为安徽地方猪, 通过采集多头霍寿黑猪和安庆六白猪背最长肌样本, 测定肉色 a、b、L、pH 值、滴水损失及肌内脂肪含量等指标。根据样本肉质性状 EBV 排序, 最终选取 101 头霍寿黑猪和 99 头安庆六白猪背最长肌样本进行转录组数据分析。我们将霍寿黑猪数据作为训练集 (n=101), 安庆六白猪数据作为验证集 (n=99) 用来验证关键基因表达量。对十种机器学习模型进行超参数调优, 并使用嵌套交叉验证进行模型评估。最终基于三种机器学习模型, 分别筛选出了可能调控安徽地方猪肉质及 IMF 的关键候选基因。

结果与amp;讨论

本研究首先利用 ssGSEA 算法对子样本进行分组, 并通过 Wilcoxon 检验筛选出 1075 个与脂肪沉积相关的差异基因, 基于 WGCNA 获得 5 个共表达模块和 2257 个重要基因, 最终联合确定了 197 个候选基因。通过 10 种机器学习模型评估, 最终挑选三种表现优异且准确的模型 XGboost、Lasso、Random Forest, 综合三种模型的分析, 筛选出与地方猪肉质和肌内脂肪相关主效功能基因 12 个分别是: OGN、C1QTNF3、GHSR、SNX10、FADS3、PGAM1、B3GAT1、ADORA1、NOD2、ECM2、ASAH1、LDLR。这些基因大多数和脂质代谢、脂质过氧化、脂肪酸代谢、脂肪细胞分化密切相关。本研究基于三种机器学习模型分别筛选了安徽地方猪可能调控 IMF 含量的关键候选基因, 分别为 20 个、28 个和 30 个。在转录水平上, 鉴定了 CYSLTR1 和 LPCAT2 作为共调控的关键分子影响 IMF 含量的过程。本研究的发现为安徽地方猪肉质性状的改良提供了有力的科学依据, 也为进一步探索肉质性状调控的机制和方法提供了重要的参考。

主要参考文献

[1]Greener J G, Kandathil S M, Moffat L, et al. A guide to machine learning for biologists[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2022, 23(1): 40-55.

[2]Wang X, Shi S, Wang G, et al. Using machine learning to improve the accuracy of genomic prediction of reproduction traits in pigs[J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2022, 13(1): 60.

^{***} 通讯作者: 殷宗俊, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: yinzongjun@ahau.edu.cn.

发酵床养殖模式对猪肠道微生物结构的影响

谢帆^{*}, 徐启隆, 刘阳光, 文浩宇, 王倩倩, 叶海波, 殷宗俊^{**}, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

发酵床和猪肠道内定殖着丰富多样的微生物群体,猪肠道微生物在宿主的代谢过程中发挥着重要的作用。伴随着猪对垫料的拱食,发酵床垫料内的微生物可能会进入猪肠道,影响猪肠道微生物的组成。本研究利用 16S rRNA 扩增子测序和宏基因组学技术,通过比较发酵床饲养与地面平养皖岳黑猪的肠道微生物组成以及功能差异,来阐释发酵床的促生长和抗病作用,为发酵床技术的应用提供理论基础。

材料与方法

试验选取 12 头遗传背景相近,进入育肥期前在相同的饲养管理条件下饲养的皖岳黑猪。选取 6 头作为对照组(A 组),育肥阶段饲养在水泥地面的圈舍里,试验组(B 组)育肥阶段在发酵床上饲养,饲养到 210±3 日龄直肠采集肠道内容物。另外,根据发酵床垫料厚度,采集上层(0-20cm),中层(20-50cm)和下层(50-80cm)。所有样品放入液氮中冷冻带回实验室,用于检测发微生物组成。

结果

16S rRNA 测序结果显示,发酵床优势菌门为拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和变形菌门(Proteobacteria)。发酵床不同深度发酵床垫料间微生物群落 α 多样性无显著差异;相比于下层垫料,中上层垫料微生物组成更为相似。此外,拟杆菌门随着垫料深度增加而增加,放线菌门和厚壁菌门随着垫料深度增加而减少。宏基因组结果显示,皖岳黑猪肠道微生物主要为厚壁菌门,相对丰度在 65%以上,然后是螺旋体门(Spirochaetes)和拟杆菌门。另外,发酵床饲养显著增加了皖岳黑猪厚壁菌门和放线菌门的丰度。肠道微生物功能分析显示,发酵床饲养的皖岳黑猪肠道微生物具有更强的代谢活性,其中碳水化合物代谢通路、辅因子和维生素代谢、脂代谢、氨基酸代谢、其他氨基酸代谢、核酸代谢等代谢通路以及参与膜转运通路丰度显著高于地面平养组。

讨论与结论

发酵床能够运行降解粪污及其对猪只的益生作用有赖于发酵床垫料内的微生物群落。发酵床的益生作用可能与垫料微生物和猪只肠道微生物的交流有关。随着大量的研究,肠道微生物也已被证明与宿主的生长发育、营养代谢以及免疫应答等生理活动密切相关。

本研究利用 16S rRNA 扩增子测序和宏基因组学技术,发现发酵床饲养显著增加了皖岳黑猪肠道微生物中厚壁菌门和放线菌门的丰度。尤其是罗伊氏乳杆菌、约翰逊氏乳杆菌、规则粪球菌等有益菌的丰度。同时发酵床饲养的皖岳黑猪肠道微生物具有更强的代谢活性。这些发现为发酵床技术的应用提供理论基础。

基金项目:国家重点研发计划(2021YFD1301200)、国家自然科学基金(31972531)、安徽省高校协同创新项目(GXXT-2021-055)、安徽省科技重大专项(202103a06020013)、安徽地方猪新品种(系)选育及创新利用联合攻关项目(2021-2025)。

^{*} 作者简介:谢帆,在读硕士研究生,研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: fanxie1999@163.com。

^{**} 通讯作者:殷宗俊,教授,博士生导师,研究方向为猪遗传育种, E-mail: yinzongjun@ahau.edu.cn。

通讯作者:张晓东,教授,博士生导师,研究方向为猪育种繁殖, E-mail: xdzhang1983@ahau.edu.cn。

基于输卵管转录组数据挖掘皖岳黑猪产仔数相关候选基因

周涵宇^{*}, 孙一璠, 叶海波, 王倩倩, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

产仔数是评价猪繁殖性能的重要指标之一, 对于提高养殖效益、促进畜牧业可持续发展具有至关重要的意义^[1]。然而, 目前对于影响皖岳黑猪产仔数的遗传因素了解仍然有限。输卵管作为猪体内受精卵输送和受精卵着床的关键器官, 其在猪繁殖过程中扮演着重要角色。因此, 对皖岳黑猪输卵管组织进行转录组测序, 分析其基因表达谱, 有望揭示与产仔数相关的候选基因。本研究利用高通量转录组测序技术, 对皖岳黑猪输卵管组织进行全面而深入的分析, 通过比较分析不同基因在不同条件下的表达水平, 筛选出与产仔数密切相关的候选基因。

材料与方法

本研究选取低胎次(1胎)和高胎次(9胎)的皖岳黑猪各3头作为实验猪。屠宰后立即采集每头猪的输卵管组织。使用 Trizol 试剂从样品中提取总 RNA。然后进行 RNA 测序, 并筛选出差异基因。对差异基因分别进行 Gene Ontology (GO) 富集分析和 Kyoto Encyclopedia of Gens and Genomes (KEGG) 通路富集分析, 筛选出与繁殖性能相关的功能基因和调控通路, 再对通路中的关键基因通过蛋白互作网络分析筛选出候选基因。

结果与讨论

RNA-seq 结果显示低胎次组和高胎次组的 Clean Reads 分别为 LU-1, 26730095; LU-2, 26624378; LU-3, 31096976; HU-1, 26911305; HU-2, 28050680; HU-3, 28528374。每个样品 Q20 和 Q30 评分均高于 96%。分析结果显示低/高胎次组共筛选到 12682 个差异基因, 其中上调的 2421 个, 下调的 1797 个。对这些差异基因进行富集分析, GO 富集结果显示差异基因显著富集在类固醇代谢过程、经典 Wnt 信号通路、精子细胞发育、雌激素信号通路、松弛素信号通路等方面。然后将这些与繁殖性能相关功能中富集的差异基因进行蛋白互作网络分析, 结果显示, *WNT6*、*FOS*、*MMP9*、*SOX9* 等基因在蛋白互作网络分析中关联性较强, 可能是影响皖岳黑猪产仔数的候选基因。

主要参考文献:

[1]Kobek-Kjeldager C, Moustsen VA, Theil PK, *et al.* Effect of litter size, milk replacer and housing on production results of hyper-prolific sows[J]. *Animal*. 2020 Apr; 14(4):824-833.

^{*} 作者简介: 周涵宇, 在读硕士研究生, 研究方向猪遗传育种与生产。E-mail:zhouhanyu27@163.com。

^{**} 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向猪遗传育种与生产。E-mail: xdzhang1983@163com。

基于 RNA-seq 技术挖掘调控皖南花猪毛色的候选基因

孙一璠^{*}, 周涵宇, 王倩倩, 叶海波, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

动物的毛色在动物的生命活动中发挥着重要作用, 例如躲避捕食者、捕食和求偶^[1]。毛色性状为质量性状, 主要受遗传因素的影响, 外界环境对毛色性状影响不大, 其在育种实践中也是非常直观方便的遗传标记。本研究对同一皖南花猪个体的黑色、白色和灰色皮肤毛囊组织进行转录组分析, 旨在深入研究皖南花猪毛色背后的主效基因以及挖掘新的相关基因, 更全面地揭示皖南花猪毛色多样性的遗传学基础, 为猪种改良和遗传育种提供科学依据。

材料与amp;方法

试验采集安徽黄山某猪场的全同胞 5 头皖南花猪的黑色、灰色、白色皮肤, 每个颜色各取颈部、背部、臀部毛色最分明处的三个位置进行混样, 提取皮肤毛囊组织 RNA, 构建 cDNA 文库。对文库进行高通量转录组测序, 获得不同毛囊组织的转录组图谱, 并筛选出差异基因。对差异基因分别进行 GO 功能注释和 KEGG Pathway 分析, 选出与毛色相关的功能基因和调控通路, 并获得影响猪毛色性状的功能候选基因。

结果与amp;讨论

RNA-seq 结果显示, 各样本的 GC 含量在 52.00%—53.00% 之间, 样本的 Q20 和 Q30 分别在 97% 和 95% 左右, 测序结果较好。以 $|\text{Log}_2\text{Fold change}| > 1$, $P < 0.05$ 为标准, 筛选到不同毛色共 1478 个差异表达基因。在黑色皮肤毛囊组织和白色皮肤毛囊组织中, 发现有 703 个基因表达存在差异。白色皮肤毛囊组织和灰色皮肤毛囊组织中发现有 252 个基因表达存在差异。在灰色皮肤毛囊组织和黑色皮肤毛囊组织中, 发现有 523 个基因表达存在差异。对各组筛选出的差异基因进行韦恩分析, 筛选到 413 个候选基因, 对这些候选基因进行功能富集分析, GO 富集结果显示, 候选基因主要富集在黑色素生物合成过程、酪氨酸黑色素生物合成过程、皮肤屏障的建立等。KEGG 富集结果显示, 候选基因显著富集在代谢途径、黑色素生成、Wnt 信号通路、Hippo 信号通路等通路。TAT、OGDHL、ME1、ACSS3、ECHDC1、HSD17B4、CYP19A1、LSS、PAH、DCT、PAX3、PMEL、TYRP1、TYR, 这 14 个基因在调节黑色素生成和酪氨酸代谢相关通路中被多次富集。通过 PPI 网络对这些基因进行分析, 结果发现这 14 个基因之间存在着互作关系。可能为皖南花猪毛色变化的关键基因。

主要参考文献:

[1]徐广鹤, 周明君, 时吉刚. 辽丹黑猪的毛色遗传分析 [J]. 猪业科学, 2023, 40(05): 104-5.

^{*} 作者简介: 孙一璠, 在读硕士研究生, 研究方向猪遗传育种与生产, E-mail: syyyyyfan@163.com。

^{**} 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向猪遗传育种与生产, E-mail: xdzhang1983@163com。

江泉黑猪不同发育阶段骨骼肌全长转录组分析

宋 淇, 李金宝, 李世印, 曹红珍, 靳昕琳, 曾勇庆, 陈 伟*

(山东农业大学动物科技学院, 山东泰安 271017)

引言

骨骼肌的生长和发育影响猪肉的质量, 阐明骨骼肌生长发育的分子调控机制对畜牧业具有重要意义。江泉黑猪是在沂蒙黑猪基础上导入杜洛克等瘦肉型猪血统, 经过横交建群和世代选育, 正在培育的优质肉猪新品种^[1]。本研究对江泉黑猪 3 个生长阶段骨骼肌进行全长转录组测序, 旨在从分子水平研究江泉黑猪不同发育阶段骨骼肌的发育变化, 筛选影响江泉黑猪骨骼肌生长的关键基因。

材料与方法

试验对象为 3 个胎龄 60 天的胎儿, 3 个胎龄 75 天的胎儿, 3 头 240 日龄的母猪。试验对 9 头猪的背最长肌进行 HE 染色以进行形态学观察, 提取 RNA 后进行全长转录组测序, 得到全长转录组数据, 使用 DESeq2 进行差异基因分析, 使用 DAVID 进行富集分析, 使用 CNCI, CPC2 和 pfam 这三种方法预测 LncRNA, 使用 STRING 构建蛋白质相互作用网络, 使用 SPSS 进行数据分析。

结果与讨论

对江泉黑猪三个发育阶段的背最长肌的进行形态观察, 发现肌纤维直径随年龄增长呈渐进性增大。测序得到了 9374 个新转录本, 其中 1192 个转录本能够在已知数据库中进行注释。694 个新转录本被注释到 NR 数据库, 其中有 360 个转录本被注释到 sus scrofa。共得到 234 个在三个阶段均差异表达的基因, 对这 234 个差异表达基因进行富集分析, GO 主要注释到的通路有肌原纤维组装、细胞成分形态发生、骨骼肌收缩、肌肉系统过程等; KEGG 主要注释到的通路有氨基酸生物合成、cGMP-PKG 信号通路、糖酵解和糖代谢等通路。共预测得到了 26 条 LncRNA, 并且预测得到了 109 个顺式作用靶基因和 5343 个反式作用靶基因, 其中 2 个顺式作用靶基因和 96 个反式作用靶基因在三组间差异表达。对 234 个差异表达基因构建了一个蛋白质相互作用网络, 可以快速直观地了解骨骼肌发育过程中复杂的基因调控网络。*TNNI2*、*MYH1*、*TNNC2*、*ACTA1* 和 *MYOZ1* 是该网络中关键的枢纽基因, 这些基因可能在江泉黑猪骨骼肌发育过程中起到关键作用。

结论

基于 GO 和 KEGG 富集分析和蛋白网络互作图, 推测 *TNNI2*、*MYOZ1*、*PDLIM3*、*TMOD4* 和 *ACTA1* 在江泉黑猪骨骼肌生长发育中起关键作用; 研究结果有助于了解江泉黑猪骨骼肌发育的分子机制, 这将有助于分子育种工作和猪种的改良与开发, 以满足畜牧生产的需要。

主要参考文献

[1]周士镇,杨壮,董立才,等.江泉黑猪生长发育规律及其生长曲线拟合研究[J].中国猪业,2023,18(04):13-17.DOI:10.16174/j.issn.1673-4645.2023.04.002.

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2021YFD1301200)。

* 通讯作者: 陈伟 (1983-), 男, 副教授, 硕士生导师, 主要从事猪遗传育种学研究, Email: wchen@sdau.edu.cn.

复合植物精油对断奶仔猪肠道健康的影响研究

王倩倩^{*}, 孙一璠, 周涵宇, 叶海波, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

在早期断奶时仔猪生理系统未发育完善, 往往在环境改变、营养变化、与母猪分离以及心理等因素作用下, 产生较强的应激反应, 主要表现为腹泻导致的生长缓慢, 肠道健康受到较大影响^[1]。有研究证明复合植物精油能显著改善早期断奶仔猪的生长性能, 提高机体免疫力, 缓解氧化应激, 促进肠道绒毛生长, 缓解仔猪肠道形态结构的损伤^[2]。因此植物精油对肠道结构和功能均具有改善作用。本试验研究目的是在断奶仔猪日粮中添加以百里香酚和香芹酚为主要成分的复合植物精油, 测定日粮添加不同含量的植物精油对仔猪腹泻以及肠道结构和功能的影响, 从而进一步研究植物精油对断奶仔猪肠道健康的影响。

材料与方法

试验选用 80 头初始体重为 7.90 ± 0.2 kg 的杜×长×大三元杂交断奶仔猪, 对照组饲喂基础饲料, 试验组分别在基础饲料中添加 30 mg/kg、60 mg/kg 和 120 mg/kg 复合植物精油。试验期 28 d。采集新鲜十二指肠乙状弯部位、空肠前段、回肠中段 1 cm 放入 4% 的多聚甲醛固定液中保存, 用于组织形态学观察。收集结肠内容物, -80°C 保存用于挥发性脂肪酸检验。在试验中记录每日腹泻情况。用气相色谱仪进行乙酸、丙酸、丁酸的测定。采用 EVOSFL Auto 细胞成像系统进行十二指肠、空肠及回肠 HE 染色切片拍照取图, 然后用 Image-Pro Plus 6.0 软件测量绒毛高度 (VH)、隐窝深度 (CD), 并计算绒毛高度/隐窝深度 (V/C)。采用 SAS 软件进行数据的统计分析, 数值用平均值和均值标准误表示, 采用单因素方差分析进行分析比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

结果与讨论

饲料中添加不同浓度复合植物精油对断奶仔猪的腹泻率和粪便评分没有显著影响; 饲料中添加复合植物精油使得结肠内容物总挥发性脂肪酸、乙酸、丙酸、丁酸的含量均显著增加 ($P < 0.05$); 120 mg/kg 组的总挥发性脂肪酸、乙酸、丙酸含量比其他组显著增高 ($P < 0.05$); 饲料中添加 60 mg/kg 复合植物精油的试验猪十二指肠的绒毛高度和绒毛高度/隐窝深度显著高于其他组 ($P < 0.05$)。因此断奶仔猪日粮添加复合植物精油可以提高结肠内容物中挥发性脂肪酸的含量, 增加十二指肠和空肠的绒毛长度, 提高空肠绒毛高度/隐窝深度, 对保护肠道结构、缓解断奶引起的肠道损伤。本研究表明 60 mg/kg 和 120 mg/kg 含量的植物精油对肠道健康均有积极影响。

主要参考文献

- [1] Pluske J R, Hampson D J, Williams I H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review[J]. *Livestock production science*, 1997, 51(1-3): 215-236.
- [2] Wang J, Zeng L, Tan B, et al. Developmental changes in intercellular junctions and Kv channels in the intestine of piglets during the suckling and post-weaning periods[J]. *Journal of animal science and biotechnology*, 2016, 7(1): 4.

^{*} 作者简介: 王倩倩, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 15656098967@163.com。

^{**} 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: xdzhang1983@163.com。

基于 X、Y 精子蛋白差异的猪精子分选技术

曹超越[※], 庞卫军^{※※}

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

继人工授精和胚胎移植后, 性别控制技术是家畜繁育改良的第三次重大成果, 是在动物生殖过程中进行人为干预, 并生产出预期性别后代的繁殖技术。研究表明, 家畜性别控制主要通过受精前将 X Y 精子分离来实现^[1], 因此, 解析 X Y 精子的差异是分选 X Y 精子的基础。由于成熟精子既不转录也不翻译, 因此其非常适合进行蛋白质组学测序探究 X Y 精子的特异或差异蛋白。通过利用 X Y 精子特异性或差异性蛋白, 可建立新型的 X Y 精子分选体系, 为生猪产业的性别控制技术提供参考依据。

材料与方 法

实验公猪选择年龄为 2-4 岁、体质健康、体况良好、性欲旺盛且性成熟的杜洛克公猪。实验所使用的公猪在相同温度、湿度和光照条件按照标准日粮饲喂, 手握法采集精液。采精时丢弃前后的稀精及凝胶部分, 收集中间段乳白色精液于 37℃ 预热过的无菌集精杯中, 快速运回至实验室检测精子活力。为满足实验需求, 精液稀释前使用计算机辅助分析系统 (CASA) 对采集的精液进行常规品质检查, 选取浓度 5×10^8 spz/mL 以上, 精子活率 80% 以上, 畸形率小于 20% 的精液样本用于后续实验。本研究采用流式细胞术分选高纯度 X Y 精子, 蛋白质组学测序由杭州景杰生物科技股份有限公司完成。

结果与讨论

用流式细胞仪对杜洛克公猪 X、Y 精子进行细胞分选, 对分选后的精子进行重分析, X、Y 精子纯度高达 97.4%、97.9%, 随后将 X Y 精子进行蛋白质组学测序。共筛选到 Y 精子特异性表达蛋白 15 个, X 精子特异性表达蛋白 42 个, 其中 X 精子特异性表达的甘油激酶 (GK) 可利用甘油作为能量底物为精子提供能量^[2]。此外 X 精子特异性蛋白 ADP/ATP 转位酶也是与精子能量代谢相关蛋白, 未来可利用其相关抑制剂分选 X Y 精子, 以期达到在生猪产业上的广泛应用。

主要参考文献

- [1] Xie Y, Xu Z, Wu Z, Hong L. Sex Manipulation Technologies Progress in Livestock: A Review. *Front Vet Sci.* 2020 Aug 14;7:481.
- [2] Jones AR, Chantrell LA, Cokinakis A. Metabolism of glycerol by mature boar spermatozoa. *J Reprod Fertil.* 1992 Jan;94(1):129-34.

※ 作者简介: 曹超越, 在读硕士研究生, 研究方向为猪性别控制技术研发, E-mail: ccy666@nwfufu.edu.cn。

※※ 通讯作者: 庞卫军, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪繁殖生物学与繁殖技术, E-mail: pwj1226@nwfufu.edu.cn。

背膘厚对母猪子宫内膜容受性和胚胎附植的影响

秦雪^{*}, 杨梦豪, 汪小林, 蔡瑞, 庞卫军^{**}

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

母猪背膘厚作为一个直观、易测量且较为稳定的指标,反映了母猪不同妊娠阶段体内脂肪的储备情况,与母猪繁殖性能息息相关^[1]。研究表明背膘过厚会降低母猪繁殖性能。胚胎附植期是胚胎死亡的高峰期,子宫内膜容受性指子宫内膜接受胚胎着床的能力,是胚胎附植成功的基础。因此,本研究旨在探索母猪背膘厚影响异常着床和早期妊娠丢失的原因,为进一步阐释肥胖影响母猪胚胎附植定位机制和母胎“对话”提供新的视角。

材料与方法

按照体况评分每组选取6头二胎长白母猪(肥胖和正常),输精13天后(妊娠前期)屠宰。测量背膘厚度,收集血液、子宫和宫腔液,并在-80°C下储存。通过转录组测序、HE、扫描电镜和Western blot等实验技术对两组子宫组织形态和容受性进行探究。此外,棕榈酸诱导猪子宫内膜上皮细胞构建脂质沉积模型,通过油红O、Bodipy、免疫荧光和细胞划痕等实验技术进一步探究肥胖对子宫内膜容受性的影响。

结果与讨论

(1)对照组背膘 32.5 ± 3.5 mm,肥胖组背膘 47.8 ± 2.5 mm;肥胖组母猪子宫重量显著升高($P < 0.05$);RNA-seq分析发现两组母猪子宫有2031个基因上调,2622个基因下调;KEGG和GO结果表明,差异表达基因主要富集在与胚胎植入相关的细胞粘附和迁移过程中,反映了子宫内膜中发生的细胞变化和生物活性,且肥胖母猪子宫成脂基因显著升高($P < 0.05$),容受性基因显著下调($P < 0.05$),说明母猪肥胖会导致子宫脂质积累,和子宫内膜容受性存在负相关。

(2)Western blot结果验证了肥胖母猪子宫成脂基因显著升高($P < 0.05$),脂解基因显著降低($P < 0.05$),子宫内膜标志性基因LIF、EGF和VEGF^[2]等也显著降低($P < 0.05$);HE结果发现肥胖母猪子宫厚度变薄,腺体数目降低;类似地,电镜结果表示对照组胞饮突结构整齐,圆滑完整且纤毛长而密,而肥胖母猪子宫胞饮突结构出现倒伏,凹陷且绒毛减少,说明肥胖母猪子宫功能受损以及子宫内膜容受性降低。因此母猪肥胖会导致子宫脂质沉积从而降低子宫内膜容受性。

(3)棕榈酸诱导猪子宫内膜上皮细胞后,成脂基因显著升高($P < 0.05$),同时子宫内膜容受性基因显著下调($P < 0.05$),且细胞迁移速率显著降低($P < 0.05$),以上结果验证了子宫内膜细胞脂质积累会降低子宫内膜容受性。

综上所述,母猪背膘厚会导致子宫内脂质沉积异常,降低子宫内膜容受性。

主要参考文献

[1]Kim, J.S.; Yang, X.; Pangeni, D.; Baidoo, S.K. Relationship between backfat thickness of sows during late gestation and reproductive efficiency at different parities. *Acta Agric. Scand. A Anim. Sci.* 2015, 65, 1–8

[2]Yang T, Zhao J, Liu F, Li Y. Lipid metabolism and endometrial receptivity. *Hum Reprod Update.* 2022 Nov 2;28(6):858-889. doi: 10.1093/humupd/dmac026. PMID: 35639910.

^{*} 作者简介: 秦雪,在读博士研究生,研究方向为繁殖生物学与技术研发, E-mail: qinxue@nwfau.edu.cn.

^{**} 通讯作者: 庞卫军,教授,博士生导师,繁殖生物学与技术研发, E-mail: pwj1226@nwfau.edu.cn.

固态和液态饲喂下猪脾脏免疫差异基因及代谢物研究

谢帆^{*}, 文浩宇, 刘阳光, 张晓东^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

生猪养殖占据我国养殖业的重要地位。目前由于无抗养殖的原因, 国外已开始使用液态饲料对猪只进行饲喂, 但液态饲喂方式是否适用我国养猪业, 犹未可知。因此本试验以体重相近的三元猪作为研究对象, 并通过分别饲喂固态和液态饲料, 研究其对猪只免疫及代谢的影响, 为后续液态饲料饲喂猪只提供参考依据。

材料与方法

本试验选取体重相近, 相同日龄的美系三元商品猪共 64 头, 随机分为两组, 每组 32 头, 进行饲养育肥, 其中饲喂液态料的 32 头为实验组。液态饲料为固态饲料与水按照 1:3 混合制成。饲喂 60 天后分别从两组中随机选取 6 头屠宰。猪屠宰后采集脾脏组织, 液氮速冻带回置于-80℃冰箱保存, 用于检测免疫因子含量、转录组学和代谢组学相关研究。

结果与讨论

在细胞因子含量检测中, 液态饲喂组中干扰素- γ , 白细胞介素-6, 肿瘤坏死因子 α 和补体 C3 的含量均高于固态饲喂组, 且两组之间存在显著差异($P < 0.01$)。通过转录组学测序发现液态饲喂可以通过改变脾脏免疫基因 A2M、FRMD1、SFN、KCNJ5、CD209、ENPEP 的表达量从而增强猪抵抗疾病的能力, RT-qPCR 验证结果与测序结果相符。通过代谢组学测序, 筛选到了与免疫相关的花生四烯酸 (Arachidonic Acid)、葡萄糖-6-磷酸 (Glucose-6-Phosphate)、Dpa、硬脂酸 (Stearic Acid)、Epa、PC(20:4(5Z,8Z,11Z,14Z)/0:0), 液态饲喂会使其表达量增加从而增强猪抵抗疾病的能力。通过联合分析发现筛选出的差异基因与差异代谢物之间具有一定的相关性。在差异基因中 A2M、FRMD1、DRD2、EGR2、ENPEP 和 GPR83 基因与细胞因子 IFN γ 、TNF- α 、IgA、C3、IL-6 具有显著负相关性; CD209、CXCL8、KCNJ5、SFN 基因与细胞因子呈显著正相关性。通过差异基因与差异代谢物关联分析发现部分基因与代谢物之间存在一定的关系。发现基因 DRD1、KCNJ5、SFN 与基因 DRD2、ENPEP、A2M、FRMD1、SSTR2、GPR83、RBP2 在同一差异代谢物上时, 前者呈正相关, 后者呈负相关。

随着养殖业的快速发展, 饲料的利用率问题日益突出。目前液态饲喂在我国猪场的环境养殖情况下会有怎样的变化, 能否改善猪只的免疫能力, 替代抗生素, 对此我们并不是很清楚。本研究通过转录学和代谢组发现液态饲喂能增加猪只的免疫力及代谢能力。

基金项目: 国家重点研发计划 (2021YFD1301200)、国家自然科学基金(31972531)、安徽省高校协同创新项目 (GXXT-2021-055)、安徽省科技重大专项 (202103a06020013)、安徽地方猪新品种(系)选育及创新利用联合攻关项目 (2021-2025)。

* 作者简介: 谢帆, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: fanxie1999@163.com。

** 通讯作者: 张晓东, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪育种繁殖, E-mail: xdzhang1983@ahau.edu.cn。

赖氨酸乳酸化修饰调控猪精子运动能力的机制探究

杨梦豪^{*}, 秦雪, 庞卫军^{**}

(陕西省西北农林科技大学动物科学技术学院, 陕西杨凌 712100)

引言

精子糖酵解途径对维持精子的获能具有重要作用。精子获能后呈现超活化运动, 精子运动方式是转圈或类转圈运动, 精子的糖酵解供能支持精子的圆圈运动方式。小鼠精子中编码特异性乳酸脱氢酶的 *Ldhc* 基因缺失会导致精子运动能力丧失, 进而导致小鼠不育。此外, 给精子提供乳酸, 能提高精子 ATP 产生, 提高其活力。这也预示着糖酵解对小鼠精子的功能具有重要作用, 所产生的乳酸有调控精子运动能力的潜在作用。

与其他体细胞不同, 精子是高度特化的细胞, 其中转录和翻译几乎被沉默。因此, 精子的获能, 超活化, 顶体反应等生理功能主要依赖于翻译后修饰 (PTM)。近年来, 许多新的蛋白质翻译后修饰不断被发现, 发现新发现的 PTM, 例如赖氨酸戊二酰化 (Kglu)、赖氨酸 2-羟基异丁酰化 (Khib) 和赖氨酸巴豆酰化 (Kcr) 参与调节精子进行性运动。赖氨酸乳酸化修饰也是一种新发现的翻译后修饰, 在精子中是否存在, 是否调控精子运动尚不清楚, 本研究旨在研究在猪成熟精子中赖氨酸乳酸化修饰的功能及对精子运动和获能的调控通路。

材料与方法

本研究以长白猪精液为研究对象, 取回原精后使用 BTS 稀释, 后期用于精子活力和精子穿粘液能力检测、精子胞内 ATP 实验、免疫共沉淀实验、Western-Blot 实验。

结果与讨论

本研究确定了猪精子中乳酸化修饰的存在, 并在精子的头尾中均有分布。同时发现添加 3mM 乳酸钠能显著提高精子的活力, 提高曲线运动比例和精子鞭毛鞭打频率。WB 试验表明, 3mM 乳酸钠能够提高精子酪氨酸磷酸化水平, 且提高精子中乳酸化修饰的水平。此外, 利用乳酸化修饰蛋白组与猪精子蛋白组数据库, 发现猪精子中有 212 个蛋白具有潜在的乳酸化修饰位点, 如 ALDOC、ENO3、GPI、LDHB、PKM、PGAM1/2、ATP5F1D、NDUFA12、COX、UQCRB、CYC、CPT2、HSD17B8、ACAA2 等, 这些蛋白主要与精子的糖酵解、氧化磷酸化和脂肪酸代谢过程相关。综上, 猪精子中存在乳酸化修饰, 并在精子头尾均有分布, 同时乳酸化修饰促进精子的运动能力, 并与精子的获能过程密切相关。

主要参考文献

- [1]Zhang D, Tang Z, Huang H, et al. Metabolic regulation of gene expression by histone lactylation. *Nature*. 2019. 574(7779):575-580.
- [2]Cheng YM, Hu XN, Peng Z, et al. Lysine glutarylation in human sperm is associated with progressive motility. *Hum Reprod*. 2019. 34(7):1186-1194.
- [3]Cheng YM, Peng Z, Chen HY, et al. Posttranslational lysine 2-hydroxyisobutyrylation of human sperm tail proteins affects motility. *Hum Reprod*. 2020. 35(3):494-503.

^{*} 作者简介: 杨梦豪, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, Email: ymh2018010636@nwafu.edu.cn。

^{**} 通讯作者: 庞卫军, 教授, 主要从事生猪遗传改良和繁殖技术研究, E-mail: pwj1226@nwafu.edu.cn。

托佩克大白和长白猪胴体性状及肌肉品质测定实验研究

刘燕玲¹, 曾凡林^{2,4}, 张宁^{2,3}, 李涛^{2,3*}, 姜东风^{2,3}, 杨丽玉^{2,3}, 车龙^{2,3}, 赵广伟^{2,3},
徐秋良^{2,3}, 邹全¹, 马福平¹, 丁向东^{1,2**}

(1. 中国农业大学动物科学技术学院, 畜禽育种国家工程实验室, 畜禽生物育种全国重点实验室, 农业农村部动物遗传育种与繁殖重点实验室, 北京 100193; 2. 河南生猪育种研究院 郑州 450046; 3. 河南牧业经济学院动物科技学院, 河南省畜禽遗传资源保护与利用工程技术研究中心, 郑州 450046; 4. 河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳 471023)

本研究旨在评价托佩克育种公司的长白猪和大白猪胴体和肉质性状, 选取 31 头体重范围为 130—165kg、日龄 208—233 天的托佩克长白和大白阉公猪, 测定体尺、胴体和肉质性状共 21 个指标, 并利用线性回归估计瘦肉率。实验结果表明, 大白和长白猪的屠宰率均在 0.71—0.76, 平均为 0.74, 且受体重影响较小。大白猪的腰荐结合处和倒数 3-4 肋间背膘厚显著大于长白猪 ($P<0.05$), M 点背膘厚显著小于长白猪 ($P<0.05$), 大白和长白猪平均背膘厚分别为 $29.91\pm 4.31\text{mm}$ 和 $25.46\pm 3.39\text{mm}$ 。长白猪 130~150kg 和 150~165kg 体重眼肌面积分别为 $83.48\pm 10.23\text{cm}^2$ 和 $93.53\pm 3.12\text{cm}^2$, 极显著大于大白猪的 $65.61\pm 3.84\text{cm}^2$ 和 $66.16\pm 8.14\text{cm}^2$ ($P<0.01$)。大白猪屠宰后 45 分钟 pH 值的平均值为 6.47 ± 0.18 , 长白猪为 6.51 ± 0.16 。130—150kg 和 150—165kg 体重大白猪的肌内脂肪含量 (IMF) 均值分别为 3.59% 和 2.93%, 长白猪分别为 3.16% 和 2.71%, 随着体重增加, IMF 降低。比较三种瘦肉率估计方法, 根据胴体重、腰荐结合处背膘厚和 M 点背膘厚建立的回归方程, 大白和长白估计瘦肉率 $55.99\pm 3.11\%$ 和 $62.78\pm 2.44\%$, 增加肩部最厚处背膘厚度后, 大白和长白估计瘦肉率 $56.09\pm 3.46\%$ 和 $62.87\pm 2.47\%$ 。两种方法估计结果无显著差异 ($P>0.05$), 尤其在体重 130-150kg 范围内, 两种方法估计瘦肉率几乎一致。以体长、体宽和正数 6—7 肋间背膘厚估计瘦肉率, 结果则偏离正常值, 不建议采用。

托佩克大白和长白猪胴体及肉质性状描述统计

品种	大白		长白	
	130~150	150~165	130~150	150~165
体重范围/kg	130~150	150~165	130~150	150~165
个体数	9	8	5	9
胴体重/kg	104.19 ± 5.81	116.37 ± 4.00	104.49 ± 3.25	120.83 ± 4.44
屠宰率	0.73 ± 0.01	0.74 ± 0.01	0.74 ± 0.01	0.74 ± 0.01
眼肌面积/ cm^2	65.61 ± 3.84^A	69.37 ± 6.36^A	87.63 ± 5.37^A	93.53 ± 3.12^A
背膘 A (肩部最厚处) /mm	39.08 ± 4.13	44.09 ± 2.96^a	33.87 ± 2.53	38.31 ± 5.32^a
背膘 B (胸腰椎结合处) /mm	25.95 ± 3.92	28.49 ± 3.66	21.31 ± 4.53	26.64 ± 3.82
背膘 C (腰荐结合处) /mm	20.74 ± 4.66^a	25.65 ± 3.46^A	13.69 ± 2.86^a	15.61 ± 3.11^A
平均背膘厚/mm	27.98 ± 4.67	32.17 ± 1.87^A	22.95 ± 2.61	26.85 ± 3.03^A
背膘 D (倒数 3-4 肋间) /mm	23.96 ± 5.27^a	25.56 ± 3.47^a	16.89 ± 1.73^a	22.25 ± 3.91^a
背膘 E (正数 6-7 肋间) /mm	27.94 ± 5.6^a	31.98 ± 4.51	20.31 ± 1.98^a	26.43 ± 6.36
背膘 F (M 点) /mm	74.09 ± 4.64^A	79.48 ± 4.99^A	81.96 ± 4.59^A	89.36 ± 5.96^A
pH(45min)	6.47 ± 0.18		6.51 ± 0.16	
IMF/%	3.28 ± 1.19		2.88 ± 0.97	
估计瘦肉率 1 (%)	22.37 ± 14.59	13.29 ± 11.89	43.31 ± 5.59	29.1 ± 17.42
估计瘦肉率 2 (%)	57.03 ± 3.31^A	54.81 ± 2.58^A	63.12 ± 2.00^A	61.87 ± 1.85^A
估计瘦肉率 3 (%)	57.02 ± 4.03^A	55.03 ± 2.54^A	63.41 ± 1.82^A	62.58 ± 2.82^A

注: a 表示品种间差异显著 ($P<0.05$), A 表示品种间差异极显著 ($P<0.01$)。估计瘦肉率 1, 2, 3 表示三种瘦肉率回归方法预测结果

猪 MYH7 AS lncRNA 对骨骼肌纤维类型转化的作用与机制研究

喻 赫[※], 张孜怡, 庞卫军^{※※}

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

肌纤维直径、类型与猪肉品质密切相关, 直接影响其多汁性、口感和色泽^[1]。研究发现肌纤维类型组成、肌纤维总数和肌纤维的横截面积等肌肉纤维特性影响肌肉 pH 值和系水力。肌球蛋白重链 (myosin-7), 是一种慢速 ATP 酶肌球蛋白, 由 MYH7 基因编码。肌球蛋白-7 在骨骼肌中主要位于慢/ I 型骨骼肌纤维中。研究表明提高氧化型肌纤维比例, 可以降低 pH 值的下降速率和幅度, 并能提高持水力^[2], 进而改善肉质。因此, 本研究鉴定了 MYH7 反义转录本 MYH7 AS lncRNA, 探究其对骨骼肌纤维类型转化的作用与机制, 旨在为猪骨骼肌纤维类型转化育种提供分子靶标。

材料与方法

本研究采用生物信息学预测方法, 预测定位氧化型肌纤维标志性基因 MYH7 反义转录本, 通过分子生物学实验方法, 从分子与细胞层面验证 MYH7 AS lncRNA 对骨骼肌纤维类型转化的作用与机制。此外, 通过构建 MYH7 AS lncRNA-AAV9 过表达小鼠模型, 从个体水平验证其对骨骼肌纤维类型转化的作用。

结果与讨论

本研究采用生物信息学方法鉴定了 MYH7 AS lncRNA, 并预测其不具备蛋白编码潜力; 分析了其在猪基因组上与 MYH7 基因存在互补配对区域。组织表达分析发现其在腿部比目鱼肌肌肉组织高表达, 并与 MYH7 表达趋势相似。进一步, 研究发现过表达 MYH7 AS lncRNA 能够提高慢肌纤维的比例, 降低快肌纤维比例。近期, 有研究发现长链非编码 RNA(lnc RNA)在骨骼肌发育过程中发挥作用^[3]。本研究鉴定的 MYH7 AS lncRNA 对猪骨骼肌具有类似的作用。综上, 研究表明 MYH7 AS lncRNA 在猪骨骼肌中表达丰度具有组织特异性, 其对 I 型肌纤维的生成具有促进作用, 将从肌纤维类型转化的角度为改良猪肉品种提供基础依据。

主要参考文献

- [1]Ryu Y C, Kim B C. Comparison of histochemical characteristics in various pork groups categorized by postmortem metabolic rate and pork quality[J]. Journal of Animal Science, 2006, 84, 894–901
- [2]Choi Y M, Ryu Y C, Kim B C. Influence of myosin heavy- and light chain isoforms on early postmortem glycolytic rate and pork quality[J]. Meat Science, 2007,76, 281–288.
- [3]Cai B, Ma M, Yuan R, *et al.*. MYH1G-AS is a chromatin-associated lncRNA that regulates skeletal muscle development in chicken[J]. Cellular & molecular biology letters, 2024, 29(1), 9.

※ 作者简介: 喻赫, 在读硕士研究生, 研究方向为动物肌肉发育调控机制, E-mail: yuhe@nwafu.edu.cn。

※※ 通讯作者: 庞卫军, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物脂肪沉积与肌肉发育调控机制, E-mail: pwj1226@nwafu.edu.cn。

松辽黑猪 LHX8 基因多态性及其与繁殖性状的关联分析

张琪^{1,2*}, 张方玮², 刘庆雨¹, 郝桐¹, 李娜^{1**}, 于永生^{1**}

(1.吉林省农业科学院畜牧兽医研究所, 吉林公主岭 136100; 2.吉林农业大学动物科学技术学院, 吉林长春 130118)

引言

松辽黑猪是以东北民猪、杜洛克、长白为亲本培育而成的瘦肉型培育品种, 具有生长快、抗逆性强、肉质风味好的特点, 但其繁殖性能有待提高。转录调节因子 LIM 同源盒蛋白 8 基因(LIM homebox protein 8, LHX8) 是同源盒基因家族成员之一, 定位在猪的 6 号染色体上, 存在 2 个保守结构域, 参与细胞分化、器官发育等生理过程。敲除 LHX8 后, 初生小鼠卵巢原始卵泡不生长和分化, 成年雌鼠卵巢中卵母细胞数量减少, 卵泡退化, 推测其功能与繁殖性能相关。目前该基因多态性与繁殖性能的相关性缺乏报道。本文采用直接测序法对 LHX8 基因的多态性进行检测, 并分析存在的多态性位点与繁殖性状间的相关性, 以期为松辽黑猪的持续选育和在生产中进行早期选种提供参考。

材料与方法

试验选择 120 头健康经产松辽黑猪母猪, 采用直接测序法检测 LHX8 基因的单核苷酸多态性(SNP) 位点, 利用 SPSS 26.0 软件分析 LHX8 基因 SNP 位点与松辽黑猪母猪繁殖性状的关联性。

结果与讨论

在 LHX8 基因第 5 内含子第 30 bp 处发现 T30C 突变, 所检测群体中存在 TT、TC、CC 3 种基因型 CC 和 C 分别为优势等位基因型和优势等位基因; 在第 8 外显子 231 bp 处发现 G231A 突变, 所检测群体存在 GG、GA、AA 3 种基因型, GA 和 G 分别为优势等位基因型和优势等位基因。2 个 SNP 位点的遗传杂合度皆高于遗传纯合度; 多态信息含量 (PIC) 显示 T30C、G231A 位点处于中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$) 多态信息含量 (PIC) 计算显示, T30C、G231A 位点为中度多态 ($0.25 < PIC < 0.5$)。关联分析结果表明, T30C 位点 CC、TC 基因型个体的初生重显著或极显著高于 TT 基因型个体 ($P < 0.05$; $P < 0.01$), CC 基因型个体的断奶仔猪数显著高于 TC 个体 ($P < 0.05$), 这说明 LHX8 除了与原始卵泡的激活有关外, 可能对胎儿的发育也具有一定的作用; 在第 8 外显子发现 G231A 突变位点的 G/A 突变与繁殖性状关联后未发现显著性, 但 AA 基因型个体的仔猪数相关性状优于 GG、GA 基因型个体, 该点是否为产仔数、断奶仔猪数的有利突变位点, 仍需扩大样本群体研究。

主要参考文献

[1] Pangas S A, Choi Y, Ballow D J, et al. Oogenesis requires germ cell-specific transcriptional regulators Sohlh1 and LHX8[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103(21): 8090-8095.

* 作者简介: 张琪, 在读博士研究生, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: 1007567116@qq.com.

** 通讯作者: 于永生, 副研究员, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: yuyongsheng2002@163.com; 李娜, 研究员, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: lina_0507@126.com.

脂肪组织中交感神经对猪脂肪组织的调控作用研究

闫文勇^{1*}, 贺昭昭¹, 赵甜甜¹, 庞卫军^{1**}

(1.西北农林科技大学动物科学技术学院, 陕西杨凌 712100)

引言

在畜牧业中, 脂肪含量是猪肉产量和瘦肉率的决定因素之一。在遗传育种角度, 减少背膘厚度, 提高瘦肉率, 也已成为各大猪场遗传育种的关键目标^[1], 而背膘厚与瘦肉率的重要参数之一即是皮下脂肪含量。猪皮下脂肪组织是一个异质性组织, 其中不仅包括脂肪细胞, 还有神经纤维、血管内皮细胞和免疫细胞^[2], 但目前尚不清楚脂肪组织中神经纤维是如何调控脂肪沉积的。因此, 本研究对交感神经纤维对脂肪细胞的调控作用进行了分析, 旨在探究交感神经对脂肪沉积的影响。

材料与方法

成年杜长大商品猪、八眉猪、汉江黑猪的皮下脂肪组织, 3 日龄杜长大小猪脂肪原代细胞。通过 TH 免疫荧光染色, 探究神经纤维与背膘的关系; 通过采集 3 日龄杜长大小猪脂肪, 对其进行神经细胞培养液处理以及脂肪细胞和神经细胞共培养, 探究神经对脂肪细胞成脂的影响。

结果与讨论

本研究通过对成年杜长大商品猪、八眉猪、汉江黑猪的皮下脂肪组织 TH 染色, 发现交感神经纤维在杜长大商品猪中最多, 而在八眉猪中最少。这表明交感神经纤维与背膘有密切关联。这与 Wu S 等^[3]在小鼠脂肪中神经免疫串扰研究一致, 但其中具体的研究机制并不清楚。因此, 本研究培养 3 日龄杜长大小猪脂肪原代细胞, 其进行神经细胞培养液处理以及脂肪细胞和神经细胞共培养, 发现神经培养液能显著降低脂肪细胞成脂, 脂肪细胞和神经细胞联合培养后, 与单独培养脂肪细胞相比, 成脂程度也明显降低, 这表明神经细胞可以分泌一些物质来促进脂肪细胞成脂。之后, 在小鼠中, 对脂肪组织进行 6-OHDA 处理, 发现脂肪组织中神经消融后, 小鼠产热代谢减少, 脂肪组织数量体积增大, 且出现炎症现象。此外, 小鼠脂肪组织神经消融后 PPAR α 、CEBP β 等成脂基因上调, 而 HSL、ATGL 等脂解基因下调。

近年来, 消费者对猪肉的数量需求和瘦肉率要求越来越高。而皮下脂肪的含量与背膘厚、瘦肉率等猪经济性状密切相关, 而背膘厚与瘦肉率都是目前国内外对猪遗传选育的重要指标。因此, 降低猪的背膘率提高猪的瘦肉率成为目前生产者和研究者的共同追求目标。神经是调控机体代谢的主要组织, 脂肪组织中的神经纤维与脂肪细胞的脂质沉积密切相关。目前有关神经调控脂肪沉积的研究逐渐成为人们研究的热点, 不但改良了染色^[4], 还发现一些感觉神经元^[5]也在其中发挥作用。而本研究发现脂肪组织中神经纤维影响不同猪种中的背膘厚, 且对于脂肪沉积有明显的负相关, 下一步将更深入探究其在脂质沉积中的功能, 以便于使之应用在猪肉品质改良中。

主要参考文献

- [1]Lu S, Xu Y, Song X, Li J, Jiang J, Qin C, Wu K, Cui K, Liu Y, Liu Q, Shen S, Li Z. Multi-omics reveal the effects and regulatory mechanism of dietary neutral detergent fiber supplementation on carcass characteristics, amino acid profiles, and meat quality of finishing pigs. *Food Chem.* 2024 Jul 1;445:138765. doi: 10.1016/j.foodchem.2024.138765.
- [2]Nahmgoong H, Jeon YG, Park ES, *et al.* Distinct properties of adipose stem cell subpopulations determine fat depot-specific characteristics. *Cell Metab.* 2022 Mar 1;34(3):458-472.e6.
- [3]Wu S, Qiu C, Ni J, *et al.* M2 macrophages independently promote beige adipogenesis via blocking adipocyte Ets1. *Nat Commun.* 2024 Feb 22;15(1):1646.
- [4]Willows JW, Blaszkiewicz M, Townsend KL, *et al.* A clearing-free protocol for imaging intact whole adipose tissue innervation in mice. *STAR Protoc.* 2022 Jan 19;3(1):101109.
- [5]Wang Y, Leung VH, Zhang Y, *et al.* The role of somatosensory innervation of adipose tissues. *Nature.* 2022 Sep;609(7927):569-574.

烟酰胺单核苷酸通过 SIRT3 激活 SOD2/ROS 信号轴和氧化磷酸化改善公猪精子质量

张海泽^{*}, 杨梦豪, 肖浩奇, 庞卫军^{**}
(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

精子质量对动物生殖至关重要, 但常因氧化应激而导致精子质量下降^[1]。保护猪精子在储存过程中免受氧化应激的影响, 可以维持精子的质量和功能, 提高人工授精(AI)的成功率。烟酰胺单核苷酸(NMN)是一种维生素 B 衍生物, 是体内 NAD⁺最直接的前体^[2], 具有强大的抗氧化作用。目前尚不清楚 NMN 是否可以作为潜在的抗氧化剂添加到精液稀释剂中。因此, 本研究对在公猪常温保存稀释液中添加 NMN, 旨在探究 NMN 对猪精液保存的影响以及 NMN 调节精子 ROS 水平的分子机制。

材料与方法

试验对象为陕西正能农牧有限公司种公猪站随机选取的 8 头健康成年杜洛克公猪(24—26 月龄), 在标准饲养条件下定期监测其精子质量, 以确保其满足后续实验的要求。每隔一周人工采集一次精液样本。每次射精的前半部分被丢弃, 精液中的胶体使用三层纱布过滤。过滤后的精液在 37℃、30 min 内运抵实验室。精子分析采用计算机辅助精子分析系统(CASA)。精子密度 $\geq 5.0 \times 10^8$ 个/mL、精子活力 $\geq 80\%$ 、正常形态精子 $\geq 80\%$ 的样本用于实验。所有合格的精子样本被合并, 以排除个体差异。所有数据均进行正态性检验。

结果与讨论

在本研究中, 我们发现在稀释剂中添加 NMN 通过增加精子中的 NAD⁺水平和降低活性氧(ROS)水平显著改善了猪精子在 17℃ 储存期间的质量。线粒体是成熟精子中仅存的细胞器, 是主要的能量来源, 也是主要的 ROS 产生位点^[3]。ROS 水平过高会损害线粒体功能, 表现为线粒体膜电位下降、空泡化和数量减少。线粒体的空泡化和数量减少会进一步影响精子的能量供应^[4]、活力和受精能力。我们的结果表明, 在体外液体储存期间, 补充 NMN 维持了精子线粒体的稳定性, 保护了线粒体的结构和功能。SIRT3 是线粒体中的一种去乙酰化酶, 调节线粒体功能和抗氧化反应^[5]。随后的分析表明, 当 NMN 在精子中转化为 NAD⁺时, 通过上调线粒体蛋白 sirtuin 3 (SIRT3) 的表达, 进而下调超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 的乙酰化水平来发挥抗氧化作用。NMN 还通过激活 SIRT3 增强精子氧化磷酸化(OXPHOS)以增加 ATP 水平, 改善精子能量代谢和精子的运动参数。母猪生产性能受公猪精子质量影响, AI 的广泛应用有助于提高优良公猪的利用率^[6], 通过对 400 余头经产母猪的人工授精试验发现, 在精液稀释液中添加 50 $\mu\text{g/mL}$ 的 NMN 可以提高健仔数和减少死产。综上所述, NMN 通过 sirt3 激活 SOD2/ROS 轴和氧化磷酸化来改善猪精子质量。

主要参考文献

略

^{*} 作者简介: 张海泽, 在读硕士研究生, 研究方向为公猪繁殖营养调控, E-mail: zhanghz@nwafu.edu.cn.

^{**} 通讯作者: 庞卫军, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种和繁殖技术, E-mail: pwj1226@nwafu.edu.cn.

CircSHOC2/miR-130b-5p/ASH1L 轴调控猪颗粒细胞类固醇激素合成

张璐通^{1*}, 宋湘容¹, 张腾^{1,2}, 杨公社¹, 褚瑰燕^{1**}

(1.西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100; 2.咸阳温氏畜牧有限公司, 陕西淳化 711200)

引言

后备母猪是否能正常发情对养猪业的经济效益有重要影响。研究表明, 初情期表现优良的后备母猪繁殖力更高^[1], 配种前不发情是后备母猪的主要淘汰原因^[2]。乏情母猪占淘汰母猪的 19.5%以上^[3]。卵巢颗粒细胞通过分泌雌二醇 (E_2) 和孕酮 (P_4) 等类固醇激素维持卵巢的正常生理功能, 调控母猪发情^[4]。本课题组通过选取相同遗传背景和饲养环境的后备大白母猪, 筛选出情期稳定的发情组母猪和未发情的乏情组母猪, 进行卵巢 circRNA 转录组学测序。筛选并鉴定出潜在关键 circRNA-circSHOC2, 利用生物信息学预测出其靶定 miR-130b-5p 和下游的靶基因 ASH1L。本研究旨在揭示 CircSHOC2/miR-130b-5p/ASH1L 对卵巢颗粒细胞类固醇激素合成的作用和机制。

材料与方法

转录组测序卵巢来自咸阳温氏畜牧有限公司种猪场, 细胞试验卵巢来自杨陵区本香生猪屠宰场。通过卵巢 circRNA 转录组学测序和生物信息学分析筛选关键 circRNA。培养卵巢颗粒细胞, 分别过表达和干扰 circSHOC2、miR-130b-5p 和 ASH1L, 利用 ELISA、qRT-PCR、Western Blot、双荧光素酶报告试验和生物信息学分析等方法阐明 circSHOC2 对猪卵巢颗粒细胞雌二醇和孕酮等类固醇激素合成的作用及机制。

结果与讨论

本研究通过高通量测序在发情与乏情母猪卵巢中鉴定出 67 个差异表达 circRNAs, 通过 RT-qPCR 验证发现 circSHOC2 差异表达倍数最高。猪卵巢颗粒细胞中过表达 circSHOC2 显著提高 E_2 和 P_4 合成, CYP19A1、 3β -HSD 和 StAR 蛋白表达显著提高。通过分析预测和双荧光素酶报告试验, 发现 circSHOC2 可结合 miR-130b-5p。共转染试验表明, miR-130b-5p 降低了 circSHOC2 对 E_2 和 P_4 合成的促进作用。干扰 miR-130b-5p 显著促进 E_2 和 P_4 的合成。通过数据库分析预测和双荧光素酶报告试验表明 ASH1L 为 miR-130b-5p 的靶基因。过表达 miR-130b-5p 显著抑制 ASH1L 的表达。共转染试验发现 ASH1L 会减弱 miR-130b-5p 对颗粒细胞 E_2 和 P_4 合成的抑制作用。本研究发现 circSHOC2 通过 miR-130b-5p/ASH1L 轴调控猪卵巢颗粒细胞中类固醇激素雌二醇和孕酮的合成, 为提高后备母猪发情利用率提供理论依据。

主要参考文献

- [1]周振民, 张彬彬, 等. 不同来源烯丙孕素对有无初情期后备母猪定时输精效果的影响[J]. 畜牧与兽医, 2024,56: 10-14.
- [2]Wijesena H R, Nonneman D J, Keel B N, *et al.* Gene expression in the amygdala and hippocampus of cyclic and acyclic gilts. *J Anim Sci* [J], 2022, 100(1):skab372.
- [3]周平. 生产母猪淘汰原因的调查分析[J]. 养猪, 2018, (06):47-48.
- [4]Xiao C, Wang J, *et al.* Synthesis, Regulatory Factors, and Signaling Pathways of Estrogen in the Ovary. *Reprod Sci* [J], 2023, 30: 350-360.

* 作者简介: 张璐通, 在读博士研究生, 研究方向为猪遗传育种与繁殖, E-mail: zhanglutong1011@foxmail.com.

** 通讯作者: 褚瑰燕, 副教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种与繁殖, E-mail: guiyanchu@nwfufu.edu.cn.

浦市黑猪保种群体基于 SNP 芯片的遗传结构分析

邓 缘^{1*}, 陈 晨^{1**}

(1.湖南省畜牧兽医研究所, 湖南长沙 410131; 2.湖南省泸溪县畜牧水产事务中心, 湖南泸溪 416100)

引言

通过 SNP 芯片技术分析浦市黑猪群体遗传多样性和家系结构, 为保护和利用浦市黑猪资源提供支撑。

材料与方法

利用“中芯一号”50K SNP 芯片, 对 79 头成年浦市黑猪(10 头公猪、69 头母猪)进行 SNP 测定, 采用多种分析软件(Plink、Gmatix 及 Mega X)对群体遗传多样性和亲缘关系开展分析, 进而构建群体家系结构。

结果与讨论

在 79 头浦市黑猪中共检出 57466 个 SNPs 位点, 平均基因型检出率为 99.15%。遗传多样性分析提示 SNP 位点具有多态性, 群体存在近交(有效群体含量 N_e 仅为 1.5, 且平均观察杂合度 < 平均期望杂合度)。群体平均状态同源(Identical by state, IBS)遗传距离为 0.2949 ± 0.0726 , 公猪为 0.2771 ± 0.0918 , 共检测到长纯合片段(Runs of homozygosity, ROH) 29.60 ± 16.12 个, 其中长度在 0—100 Mb 的占 40.5%, 且群体基于 ROH 的平均近交系数为 0.108。IBS 距离矩阵、G 矩阵结果以及群体 ROH 值的分析结果均反映出群体内个体之间存在较近的亲缘关系。根据群体进化树结果, 将群体划分成 2 个含公猪的家系, 以及 1 个不含公猪的家系。

浦市黑猪群体家系少, 各家系的个体数量差异大, 近交程度高。因此, 应注重引入或创建新的血统, 扩大有效群体含量, 降低近交系数。

主要参考文献:

略

基金项目: 湖南省自然科学基金项目(2021JJ30386); 湖南省创新平台与人才计划项目(2021NK1009); 湖南省重点研发计划项目(2020NK2024、2019NK2193); 湖南省重点实验室开放研究基金项目(2017TP1030)。

* 作者简介: 邓缘(1981-), 男, 硕士, 高级畜牧师, 主要从事猪遗传育种方向研究, E-mail: 369409457@qq.com。

** 通讯作者: 陈晨(1986-), 男, 博士, 副研究员, 主要从事猪遗传育种方向研究, E-mail: 2004chch@163.com。

基于深度学习的屠宰线胴体长度智能实时测量方法及系统

贾析杭^{*}，罗 涛，罗滋懿，王悦晗，时佩琦，王浩仰，文晓红，王静文，徐学文^{**}

(华中农业大学动物科学技术学院、动物医学院，湖北武汉 430070)

引言

随着全球农业与食品工业的快速发展，屠宰业正逐步向集约化、自动化和智能化转型。传统的人工测量方法操作繁琐，耗时费力且易出错，难以满足现代化屠宰生产的高效需求。在屠宰线上，快速、准确地测量胴体长度对于整合屠宰数据、开展全产业链育种和优化胴体分级具有重要意义。然而，目前市场上尚未出现专门针对屠宰线胴体长度测量的人工智能解决方案。为此，本研究提出了一种基于深度学习的屠宰线胴体长度智能实时测量方法及系统，通过利用 YOLOv8 模型进行关键点检测，实现胴体长度的精准测量，从而显著提高测量精度和效率，推动屠宰业的自动化和智能化进程。

材料与方法

本研究在屠宰线上采集了胴体图像，并通过数据增强技术处理后，开发了一个包含 2431 张图像的专有数据集。胴体直长的真实值由人工测量获得。使用 Labelme 工具对图像进行关键点标注，选择胴体直长的两个关键点作为标注对象。选择并应用 YOLOv8Pose 模型进行关键点检测，训练并输出优化后的结果。实时测量系统包括图像采集模块、数据处理模块和结果显示模块，通过欧氏距离计算胴体长度，并利用时间序列计数法记录和过滤数据。测量结果以表格和日志形式记录。

结果与讨论

本系统的胴体长关键点预测模型表现优异，混淆矩阵显示分类精度为 1.00，F1-Confidence 曲线表明系统在不同置信度下均能保持高效测量性能。系统预测的胴体长度与真实值高度相关，拟合线公式为 $y=0.8083x+21.3330$ ，决定系数为 0.8045，相关系数 $\gamma=0.8969$ ；排序相关分析的拟合线公式为 $y=0.9019x+2.9915$ ，决定系数为 0.8135，相关系数 $\gamma=0.9019$ 。系统能够实时监测猪胴体数据，及时发现异常情况，通过数据分析提供科学决策支持，优化生产流程。详细的测量记录和数据存储功能为胴体分级提供科学依据，提升产品附加值和市场认可度。系统在实际应用中展现出巨大潜力和价值，显著提升了生产效率和产品质量，以提供科学的育种决策支持和精确的胴体分级依据。

^{*} 作者简介：贾析杭，在读硕士研究生，研究方向为动物遗传育种，E-mail: jiaxihang199@163.com。

^{**} 通讯作者：徐学文，教授，博士生导师，研究方向为猪遗传育种，E-mail: xuwen_xu@mail.hzau.edu.cn。

A decorative rectangular border with a floral pattern surrounds the central text.

营养与饲料专题

口述报告

Circular RNAs 介导日粮色氨酸调控断奶仔猪的肌肉纤维类型转化

何天乐^{1*}, 袁志栋², 陈青云¹, 罗菊¹, 毛嘉妮¹, 唐志如¹, 赵轩¹, 杨震国^{1**}

(1.西南大学动物科技学院生物饲料与分子营养实验室, 重庆 400715; 2.赣南医科大学基础医学院教育部重点实验室, 江西赣州 341000)

引言

肌肉纤维是肌肉组织的基本组成部分, 对肌肉特性有重要贡献。仔猪出生后肌纤维类型的成熟过程主要涉及代谢特性和收缩特性的分化。日粮营养水平和非编码 RNA (尤其是 Circular RNAs, circRNAs) 在调节猪出生后肌纤维的成熟过程中起着重要作用。然而, 现有的关于 circRNAs 调控肌肉发育的研究并不包括膳食营养水平对肌肉纤维类型转变的影响。本研究旨在探讨日粮色氨酸 (Trp) 水平对断奶仔猪肌肉纤维类型转换的影响及其 circRNAs 的调控机制。本研究为了解 Trp 在断奶仔猪生长发育过程中的调控作用提供理论依据, 并有望为仔猪的科学营养策略发展提供信息。

材料与amp;方法

实验动物为 30 头平均体重 6.12 ± 0.26 kg 的断奶仔猪, 将其随机分为两组: Trp 浓度为 0.14% 的 CON 组和 Trp 浓度为 0.35% 的高 Trp (HT) 组, 各组仔猪性别比例相同。饲喂 28 天后收集血液并进行人道主义屠宰。随后采集仔猪背最长肌进行组织学分析和转录组分析, 转录组数据采用 RT-PCR 和 Western Blot 验证, circRNAs 与下游靶基因的关系通过双荧光素酶分析验证。采用 SPSS Statistics 22.0 进行单因子分析。使用 GraphPad Prism 9.0 软件对数据进行可视化和显著性标记, 显著性阈值设定为 $P < 0.05$ 。

结果与amp;讨论

与 CON 相比, HT 组显著增加了仔猪末重 (FBW)、平均日增重 (ADG)、平均日采食量 (ADFI)、饲料转化率 (FCR)、背最长肌重量 ($P < 0.01$), 但各组间背最长肌横截面积差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。同时, HT 组仔猪血清中 5-HT、IGF-I、T3、T4 和 GH 浓度显著升高 ($P < 0.01$), 且 HT 组断奶仔猪最长肌中 Trp 含量显著高于 CON 组 ($P = 0.047$)。HT 组背最长肌中蛋白浓度 ($P < 0.01$)、CaN、CK 和肌纤维密度显著升高 ($P < 0.05$)。转录组分析结果表明, 部分 circRNAs 可以与 miR-34c 和 miR-182 靶向结合, 并进一步调控相关下游肌纤维类型转化相关 mRNA 的表达。总之, 适度提高断奶仔猪日粮中的 Trp 浓度可改变其能量代谢和激素分泌, 进一步提高其生长性能, 并促进肌肉纤维类型从慢速型向快速型转变。同时, 背最长肌中差异表达 circRNAs 通过 ceRNA 和编码蛋白的途径调控相关基因的表达, 这些差异表达 circRNAs 也是 Trp 调节断奶仔猪肌肉发育和肌纤维类型转换的根本原因。

主要参考文献

- [1] Yu Q, Feng D, He X, *et al.* Effects of a traditional Chinese medicine formula and its extraction on muscle fiber characteristics in finishing pigs, porcine cell proliferation and isoforms of myosin heavy chain gene expression in myocytes [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 2017, 30 (11), 1620–1632.
- [2] Wang L, Xu Z, Ling D, *et al.* The regulatory role of dietary factors in skeletal muscle development, regeneration and function [J]. *Critical reviews in food science and nutrition* 2022, 62 (3), 764–782.

* 作者简介: 何天乐, 在读博士研究生, 研究方向为母体营养与繁殖生理, E-mail: hetianle2020@163.com。

** 通讯作者: 杨震国, 副教授, 研究方向为母体营养与繁殖生理, E-mail: guoguo00002@163.com。

猪源益生性乳酸菌的分离筛选与生物特性研究

吴晓婷^{*}，高宇辉，赵丽丽，靳建军，杨公社，史新娥^{**}

(西北农林科技大学动物科技学院，陕西杨凌 712100)

引言

我国作为猪肉生产和消费大国，抗生素滥用导致的耐药性问题已严重影响到养猪业的发展，直接或间接影响到公众健康，因此，抗生素替代品的开发备受关注。益生菌是一类对宿主有益的活性微生物，不存在耐药性或残留问题。在众多的益生菌产品中，最为常见的是乳酸菌，它能够利用碳水化合物发酵产生乳酸，是人体和哺乳动物肠道微生物的主要组成部分，对宿主的健康有着重要的促进作用，国家食品药品监督管理局将其评定为食品安全级的微生物。本研究旨在筛选出安全且具有良好特性的乳酸菌，为进一步应用于饲料添加剂等动物相关产品奠定基础。

材料与方法

采集猪只粪便样品，利用含碳酸钙的 MRS 培养基分离纯化出乳酸菌。对上述菌株进行产酸能力的测试，筛选出 10 株优秀乳酸菌，对分离菌株进行生理生化和 16S rRNA 鉴定，测定其生长曲线和产酸曲线，再测定并评价其抗生素敏感性、抑菌活性、溶血性、胃肠道耐受性、黏附能力和抗氧化能力，综合比较不同菌株之间的益生特性。

结果与讨论

从猪肠道中共分离出 35 株乳酸菌，通过产酸能力的测定，初步筛选出 10 株产酸能力比较强的菌株进行后续试验，10 株乳酸菌均为唾液乳杆菌，分别命名为 L2、L3、L4、L5、L7、L11、L13、L21、L22、L24。通过生长曲线可了解细菌的生长规律，对科研和生产具有重要的指导意义，本试验采用了光密度法测量生长曲线，分离菌株均在 2 h 进入对数生长期，培养到 11 h 时，开始进入平台期。乳酸菌 pH 会随着乳酸菌的增殖而不断下降，本试验中 10 株乳酸菌最终 pH 均低于 4.0，低 pH 可以抑制病原菌增殖。因为胃中的酸性条件和十二指肠的胆盐是益生菌在胃肠道生存的最大障碍，所以在胃肠道定植的首要条件是拥有对低 pH 和胆盐的抵抗力，不同菌株在酸性和胆盐条件下的存活率不同，可能是由于其对酸性和胆盐的耐受性机制不同所致，本试验中 L5 和 L11 表现出较高的耐酸性；L3 和 L5 具有较高胆盐耐受性。疏水性与自凝集试验反映了细菌的粘附能力，细菌黏附被认为是微生物定植的第一步，也是关键步骤，本试验中 L5 具有较强的疏水性且 L21 在 10 种菌株中表现出最强的自聚集能力。益生性乳酸菌筛选的另一个条件是其对病原微生物抑制性。乳酸菌可产生大量抗菌代谢物，可抑制多种病原菌的生长，本研究表明，10 株乳酸菌均可以抑制病原菌的生长，但抑菌效果没有显著性差异。溶血活性检测是乳酸菌体外安全性评价的一个重要指标。溶血有 α -溶血、 β -溶血和 γ -溶血三种类型。在溶血性试验，阳性对照 *S. aureus* 表现出 β -溶血活性，分离菌株均为 γ -溶血（无溶血），即没有引起绵羊红细胞溶解。益生菌耐药性检测是益生菌体外安全性检测的重要组成部分，对目前可用的大多数抗生素敏感是筛选乳酸菌的条件之一。本试验参考相关文献，基于市场上常用的兽医抗生素和抗生素的种类，选择了 14 种抗生素用于药敏试验。本试验中分离出的 10 株乳酸菌对大部分抗生素都表现出敏感性。综上，在本研究中所分离筛选的 L3 和 L5 号菌株具有良好的抗逆性及生物特性，可用于下一步试验。

^{*} 作者简介：吴晓婷，在读硕士研究生，畜牧专业，E-mail: 1176473652@qq.com。

^{**} 通讯作者：史新娥，教授，博士生导师，主要从事猪肉品质的遗传与营养调控机制研究，E-mail: xineshi@nwfufu.edu.cn。

玉米赤霉烯酮通过氧化应激诱导猪肝细胞线粒体动力学失衡

刘 恒^{*}, 杨维仁, 姜淑贞^{**}

(农业农村部非粮饲料资源高效利用重点实验室(部省共建), 山东农业大学动物科技学院, 山东 271018)

引言

玉米赤霉烯酮(ZEA)作为霉变饲料中最普遍的镰刀属真菌毒素,极易通过食物链进入动物和人体,过量摄入可对机体造成遗传毒性、肝毒性等危害^[1]。肝脏作为ZEA代谢的主要器官,在此过程中ZEA会进行广泛的I相代谢和II相代谢完成机体自我解毒,这期间需要消耗大量的ATP^[2]。然而,目前对于ZEA对猪肝能量代谢的影响机制尚不明确,基于此,本试验旨在利用猪肝细胞模型探究ZEA对猪肝细胞线粒体动力学的影响及机制。

材料与方法

永生化猪肝细胞(IPLs)^[3]分别被不同剂量ZEA(0、10、20、40、60和80 μmol/L)处理不同时间(12 h、24 h和36 h)后,通过cck-8法测定细胞活力及半受抑制浓度,并用于后续试验。IPLs分为对照组和ZEA(40 μmol/L, 24 h)组。细胞处理后,分别使用DCFH-DA探针法和流式细胞术检测细胞内活性氧(ROS)产量及细胞凋亡。使用Mitro-Tracker Red、J-aggregate和J-monomer进行线粒体染色和膜电位检测。收集细胞检测细胞过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)酶活、丙二醛(MDA)含量以及增殖相关基因(PCNA、CDK7和p27)、氧化应激相关基因(Nrf2、Keap1和Ho-1)、线粒体动力学相关基因(MFN2、Opa1和Drp1)和能量代谢相关基因(ERα、SIRT1和PGC-1α)的蛋白相对表达量。使用SAS软件的独立样本t检验对处理组间差异进行分析。

结果与讨论

IPLs的活力随ZEA处理时间和处理剂量的增加而显著下降($P<0.05$)。60 μM ZEA处理24 h后,IPLs凋亡率显著增加,增殖相关基因(PCNA和CDK7)蛋白相对表达量显著降低,p27表达显著增加($P<0.05$)。ZEA处理显著增加IPLs胞内ROS和MDA含量,降低CAT和SOD酶活($P<0.05$)。ZEA处理显著降低氧化应激相关基因(Nrf2和Ho-1)蛋白相对表达量,显著增加Keap1表达($P<0.05$)。ZEA处理导致IPLs线粒体数量和线粒体膜电位显著降低,抑制线粒体动力学相关基因(MFN2、Opa1和Drp1)和能量代谢相关基因(ERα、SIRT1和PGC-1α)的蛋白表达($P<0.05$)。本研究表明ZEA通过氧化应激诱导IPLs细胞凋亡,导致线粒体动力学失衡和能量代谢减缓,为ZEA的生物防治提供理论依据。

主要参考文献

- [1]Cheng Q, Jiang S Z, Huang L B, *et al.* Zearalenone induced oxidative stress in the jejunum in postweaning gilts through modulation of the Keap1–Nrf2 signaling pathway and relevant genes. [J]. Journal of Animal Science, 2019,97(4):1722-1733.
- [2]Li Z, Ru S, Li J, *et al.* Continuous exposure to bisphenol S increases the accumulation of endogenous metabolic toxicants by obstructing the glucuronic acid pathway. Environmental Pollution, 2023, 336, 122433
- [3]Zou Y L, Hao H Y, Li N, *et al.* Establishment and characterization of immortalized porcine neonatal hepatocytes without the use of viral components. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Animal, 2020, 56:75-84.

^{*} 作者简介:刘恒,在读硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: liuhengsdau@163.com。

^{**} 通讯作者:姜淑贞,副教授,硕士生导师,研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: shuzhen305@163.com。

褐藻多糖介导Nrf2/ARE 通路缓解断奶仔猪肠道氧化应激损伤

侯春洁^{*}, 余子柔, 黄 娅, 刘 虎^{**}

(中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193)

引言

断奶是仔猪生长发育的重要阶段, 在此过程中诸多因素会使断奶仔猪产生氧化应激综合征^[1], 给养殖业带来经济损失^[2]。近年来, 褐藻多糖因其具有保护人类和动物肠道健康的潜力而受到关注。研究表明, 褐藻多糖主要含有褐藻糖胶、海藻酸盐和层粘连蛋白, 这些活性物质可减轻小鼠氧化应激和炎症^[3]。然而, 目前关于褐藻多糖改善肠道健康的具体途径, 尤其是对增强仔猪抗氧化能力的信息有限。因此在这项研究中, 我们的目的是研究和阐明褐藻多糖提高猪的生长性能和抗氧化能力潜在机制。

材料与方法

试验对象为 24 头断奶阉公猪(杜×长×大)和 IPEC-J2 细胞, 试验仔猪饲养管理和免疫程序相同, 试验细胞在体积分数 5%CO₂、37℃培养箱中培养。体内外试验均分为三组: 对照组、氧化应激组、缓解组。记录仔猪采食量、体增重, 最后采血、屠宰、收集样品进行样品检测。采用敌草快构建氧化应激模型, 数据采用 SPSS 统计软件包中的单因素方差分析进行统计, 邓肯多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

结果与讨论

在体内试验中: 与对照组相比, 氧化应激组在 21-28 天的的终体重、日增重和日采食量, 以及 0—28 天的日增重和采食量显著降低; 空肠绒毛结构边缘不规则, 中枢乳糜管边界模糊, 绒毛长度和绒毛隐比显著降低; 血浆中 IL-1 β 、IL-6 和 DAO 水平显著升高; 丙二醛(MDA)水平和总抗氧化能力(T-AOC)降低。与氧化应激组相比, 缓解组仔猪的空肠组织保持了完整的肠道形态和清晰的中枢乳糜管, 绒毛长度和绒毛隐比增加; 血浆炎症因子 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 和 DAO 水平显著降低; MDA 水平降低, T-AOC 水平增加, CAT 酶水平显著升高。

在体外试验中: 与对照组相比, 氧化应激组 MDA 水平显著上升, 而 T-AOC、CAT、SOD 和 GSH-PX 酶水平显著降低; CAT 基因的表达水平显著降低; 同时肠道屏障 Claudin1 蛋白表达显著降低。此外, 与氧化应激组相比, 缓解组仔猪的 MDA 水平显著降低, T-AOC 显著增加, CAT、SOD 和 GSH-PX 酶水平显著升高; Keap1、CAT、SOD2 基因表达水平也显著上调; SOD1、HO-1、NOQ1 蛋白表达显著增加。

本研究在仔猪和细胞上成功构建了氧化应激模型, 阐明了褐藻多糖通过上调 Keap1、CAT、SOD2 的 mRNA 水平, 促进下游抗氧化酶的表达水平缓解仔猪氧化应激的效果和机制, 为降低断奶仔猪腹泻、提高仔猪成活率提供了重要研究依据。

主要参考文献

- [1]Ding S J, Cheng Y T, Azad M A K, *et al.* Development of small intestinal barrier function and underlying mechanism in Chinese indigenous and Duroc piglets during suckling and weaning periods [J]. *Animal Nutrition*, 2024,16,429-442.
- [2]Ribeiro D M, Leclercq C C, Charton S A B, *et al.* Enhanced ileum function in weaned piglets via *Laminaria digitata* and alginate lyase dietary inclusion: A combined proteomics and metabolomics analysis [J]. *Journal of Proteomics*, 2023,289,105013.
- [3]Lin Z, Wang F, Yan Y, *et al.* Fucoidan derived from *Sargassum pallidum* alleviates metabolism disorders associated with improvement of cardiac injury and oxidative stress in diabetic mice [J]. *Phytotherapy Research*, 2023,37,4210-4223.

^{*} 作者简介: 侯春洁, 在读硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: 18810842264@139.com。

^{**} 通讯作者: 刘虎, 讲师, 硕士生导师, 研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: liuhu0674@cau.edu.cn。

融合细胞因子新制剂促进仔猪免疫和生长的试验研究

高 荣

(四川大学生命科学学院, 四川成都 610207)

本实验构建和筛选获得猪 IL-7、22 基因和 29、IL-3、7 与 15 基因融合表达的重组酵母酵母菌, 其重组表达融合细胞因子体外均具有显著的促进免疫细胞增殖分裂的生物活性; 利用重组酵母菌制剂口服中试饲喂 10 kg 左右的断奶仔猪 1200 多头 35 天, 观察其生长发育和检测免疫应答机能变化, 试验结果表明: 发现饲喂表达融合细胞因子酵母制剂的仔猪平均采食量较对照仔猪减少 10-16%左右, 但其平均日增重较对照仔猪提高 10.42%至 24.54%; 在料肉比方面: 对照组为 1.89, 重组酵母制剂饲喂组组分别降低 20.11%至 29.10%; 并且饲喂重组酵母制剂的仔猪血液特异抗体含量、淋巴细胞、CD4+T、CD8+ T 细胞数量、IL-2、IL-4、IL-6、IL-15、IL-23、TLR-1、2、3、5、7、9 基因的表达水平均显著高于对照仔猪 ($P<0.05$); 综合以上各项结果可见: 融合细胞因子酵母制剂能显著提升断奶仔猪的生产性能, 促进和改善断奶仔猪的生长发育, 不仅明显提高其日增重和净增重, 而且显著增加营养吸收, 减少饲料消耗, 降低其料肉比。这些证明融合细胞因子酵母制剂能偶显著提高仔猪的生长发育和营养利用水平, 也能明显增强仔猪的先天免疫和获得性免疫应答能力, 具有潜在的广阔应用前景。

壁报交流

复合益生菌剂对断奶仔猪生长性能、肠道菌数及腹泻的影响

尹琚伊^{1,2*}, 高圣玥¹, 王岩^{1,2}, 白长胜^{1,2}, 张军^{1,2}, 刘秋瑾^{1,2},
王欢^{1,2}, 田秋丰^{1,2}

(1.黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005; 2.黑龙江省饲用中草药发酵工程技术研究中心, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

引言

复合益生菌剂是由两种或两种以上具有不同生物功能的益生菌制成的活菌制剂, 通过生物拮抗、生物夺氧及增强免疫等作用以维持胃肠道内环境平衡^[1]。益生菌在动物机体内生长代谢所产生的各种消化酶能明显加强机体对饲料中各种营养成分的消化吸收, 提高饲料的利用率。使用益生菌制剂饲喂仔猪可以提高仔猪的成活率, 预防仔猪发生腹泻和呼吸道疾病, 还可有效的降低断奶应激、饲料应激、环境应激等多重应激, 可有效的促进仔猪的生长发育。本文选用猪源乳酸杆菌、酪酸梭菌和枯草芽孢杆菌等益生菌株, 制备复合活菌制剂, 并通过仔猪饲喂试验来评估其临床使用效果, 为产业化生产提供了科学依据。

材料与方

筛选嗜酸乳杆菌、植物乳杆菌、酪酸梭菌、枯草芽孢杆菌各 1 株, 按 1:1:1:1 比例复配, 制备液体和粉状复合益生菌制剂。饲喂健康断奶仔猪, 考察其对生长性能、腹泻及肠道菌群的影响。饲喂腹泻仔猪, 考察其对仔猪腹泻的治疗效果。

结果与讨论

与未添加菌剂的对照组相比, 液体和粉状复合益生菌制剂组仔猪头均日增重分别升高 7.12% ($P < 0.05$) 和 11.3% ($P < 0.05$), 头均日耗料量分别升高 1.77% ($P > 0.05$) 和 8.08% ($P < 0.05$), 料重比分别降低了 5.67% ($P < 0.05$) 和 2.84% ($P < 0.05$), 液态制剂与粉状制剂应用效果基本相同; 腹泻发病率分别降低 63.8% ($P < 0.05$) 和 53.3% ($P < 0.05$), 液态制剂较粉状制剂预防仔猪腹泻效果更好; 肠道乳酸菌数量分别上升了 21.2% ($P < 0.05$) 和 25.7% ($P < 0.05$), 大肠杆菌数量分别减少 8.28% ($P < 0.05$) 和 9.19% ($P < 0.05$), 液态制剂较粉状制剂间差距不明显。腹泻仔猪治疗有效率均达到 70% 以上, 治愈率可达到 55% 以上, 液态制剂治疗效果好于粉状制剂。

微生态制剂作为养猪生产中的饲料添加剂能够调节肠道菌群平衡、增强营养物质消化吸收、提高生长性能、降低腹泻率、改善产品品质、改善血清生化指标、提高繁殖性能和哺乳性能、提高免疫功能、改善养殖环境^[2]。本试验将乳杆菌、酪酸梭菌和枯草芽孢杆菌复合制剂添加于断奶仔猪饲料中, 可提高仔猪生长性能, 并能防治仔猪腹泻, 在养猪生产中将具有更加广阔的开发利用前景, 促进我国绿色养猪业的快速发展。

主要参考文献,

[1]葛全兴.微生态制剂在养猪生产中的应用[J].现代畜牧科技, 2021,(03):46-47.

[2]祖立闯, 李娇, 李峰, 等.微生态制剂在养猪生产中的研究与应用进展 [J].养猪, 2018,(06):14-16.

猪源乳酸菌分离鉴定及体外益生性研究

刘秋瑾^{1,2*}, 白长胜^{1,2}, 尹琚伊^{1,2}, 田秋丰^{1,2}, 王欢^{1,2}, 张军^{1,2}, 王岩^{1,2}, 苗艳¹,
兰世捷¹, 薛沾枚¹, 江波涛^{1**}

(1.黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005; 2.黑龙江省饲用中草药发酵工程技术研究中心,
黑龙江齐齐哈尔 161005)

引言

自“禁抗令”实施以来, 益生菌作为抗生素替代品广泛应用于生猪养殖各阶段, 不仅能提高饲料利用效率、调节机体免疫力, 还可通过维持胃肠道健康防止病原菌感染^[1]。乳酸菌是绿色理想的生猪饲料添加剂, 可通过制造厌氧环境、调节发酵体系微生物菌落及改善饲料营养物质降解率从而提高饲料品质、增强猪只饲喂效果^[2]。因此, 分离鉴定的猪源乳酸菌作为饲料添加剂在应用之前进行益生性评价十分有必要, 应确保其可在消化道中存活, 耐胃酸、胆盐, 具有益生性和安全性。鉴于此, 本研究对从健康猪粪便中分离出的乳酸菌株生长特性、抑菌能力、抗生素敏感性、抗氧化能力、产胞外多糖能力和体外安全性进行测定, 以期筛选出优质菌种, 为开发具有良好应用前景的益生菌制剂、发酵功能性饲料或中药制剂提供基础数据。

材料与方 法

采集健康猪粪便, 通过 MRS 选择性培养基培养、形态学观察、细菌生化鉴定及 16S rDNA 鉴定, 探究菌株生长曲线及产酸曲线、pH 和胆盐耐受性, 进行药敏试验和抑菌试验, 测定菌株自由基清除能力及胞外多糖产量, 而后进行体外安全性试验。

结果与讨论

从猪粪便中分离出 10 株疑似乳酸菌, 经 16S rDNA 鉴定和生物学特性分析筛选出 1 株植物乳杆菌, 命名为 P1M1。P1M1 具有糖酵解能力, 不产生有害酶(色氨酸酶、硝酸盐还原酶、明胶酶); 2—10 h 为对数生长期, 18 h 后 pH 稳定在 3.8—3.9; 具有良好的低 pH 和胆盐耐受性; 对临床常用抗生素敏感; 对金黄色葡萄球菌表现出明显抑制作用; 菌株发酵上清液对 DPPH 自自由基、羟自由基、ABTS 自由基清除率分别为(91.65±1.44)%、(87.32±0.22)%、(89.79±0.59)%, 均显著高于完整细胞菌悬液($P<0.05$); 胞外多糖产量为 796.73±2.43 mg/L; 小鼠连续灌胃植物乳杆菌 P1M1 两周后, 未见死亡及器官病变。

综上所述, 植物乳杆菌 P1M1 可抑制金黄色葡萄球菌生长、抗氧化能力强、高产胞外多糖、具有安全性, 可作为益生菌制剂的候选菌株, 有潜力应用于功能性饲料或发酵中药制剂的开发。

主要参考文献

- [1]刘秋瑾. 益生菌在猪不同生产阶段中的应用[J]. 江西畜牧兽医杂志, 2023, (1): 21-25.
- [2]李杨, 杨燕, 王振南, 等. 乳酸菌在畜禽营养与饲料中的应用[J/OL]. 饲料工业, 1-9.

基金项目: 黑龙江省重点研发计划项目(GA21B006); 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZ-KYF2023-1-C005)。

* 作者简介: 刘秋瑾, 研究实习生, 研究方向为菌种选育及微生物产品制备。Email: liuqiuji321@163.com。

** 通讯作者: 江波涛, 研究员, 研究方向为畜禽健康养殖, E-mail: jbt999@126.com。

真菌类饲料添加剂在猪生产中的应用研究进展

刘秋瑾[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

近年来抗生素的滥用导致许多微生物产生抗药性, 因此减少饮食中的抗生素变得越来越重要。自2020年“禁抗令”实施以来, 能够代替抗生素的益生菌类饲料添加剂成为研究热点。真菌作为一种古老的真核生物, 历史悠久, 是重要的一类益生菌。根据用途不同, 真菌可分为食用菌和发酵菌。食用菌包括杏鲍菇、金针菇、木耳、银耳和糙皮侧耳等, 发酵菌包括米曲霉、酿酒酵母等。在真菌培养阶段, 多种酶协同真菌降解和利用培养基中的营养物质, 在此过程中会产生许多真菌代谢产物、次级代谢产物和合成物, 这些物质包括三萜类化合物、酚类化合物、麦角甾醇、腺苷和多糖类化合物。上述功能性物质除了具有抗炎、抗菌等作用外, 还可以保护肺和肝脏, 增强机体免疫力和抗氧化能力。益生性真菌对畜禽生产养殖有积极促进作用, 作为饲料添加剂具有广泛应用前景。目前, 在猪生产中应用的真菌饲料添加剂有酿酒酵母、米曲霉、虫草类真菌、灵芝类真菌、杏鲍菇、金针菇等。真菌类添加剂多以纯益生菌粉、发酵产物或栽培副产物(菌糠、菇脚)添加于饲料中, 可提猪只高生长性能, 如增加平均日采食量和平均日增重, 降低料重比; 可通过提高猪只抗氧化能力和调节炎症因子增强机体免疫功能, 增加血液中免疫蛋白浓度、抗氧化物质含量, 免疫器官指数升高以及降低炎症因子的表达; 促进肠道发育, 增强营养物质表观消化率, 调节肠道内菌群数量、结构, 从而维持肠道微生态系统平衡; 可提升屠宰性能, 改善肉品质, 提升风味物质和营养物质的含量。目前, 研究主要围绕在不同种类真菌饲料添加剂在生产中的应用效果, 在作用机制上的研究较少, 并且益生菌的研究热点主要集中在细菌微生物, 而益生性真菌作为饲料添加剂在畜禽生产应用中具有巨大潜力, 其研究不够深入完善, 仍有部分活性物质待研究鉴定。真菌类饲料添加剂绿色、环保、符合健康养殖的发展要求, 后续可加强作用机理、安全性及质量标准研究, 建立健全相关质量检测方法和技术规范, 最终形成规模化、产业化应用流程。本文对真菌饲料添加剂的功能成分、在应用过程中对猪只生产性能、免疫性能及抗氧化功能、肠道发育及消化能力、屠宰性能及其产品质量的影响进行了综述, 以为生猪健康、绿色养殖提供参考。

主要参考文献

- [1]刘秋瑾, 尹珺伊, 张军, 等. 真菌饲料添加剂的活性物质及其在畜禽生产中的应用[J]. 饲料工业, 2023, 44(11): 14-20.
- [2]张大城, 洪玲玲, 刘碧凡, 等. 日粮添加白酒糟酿酒酵母培养物对断奶仔猪生长和肠道结构及功能的影响[J]. 湖南农业大学学报: 自然科学版, 2022, 48(04): 474-482.
- [3]王少英. 蛹虫草饲料添加剂对育肥猪生长性能和肉品质的影响[D]. 硕士学位论文. 咸阳: 西北农林科技大学, 2021.
- [4]沈城, 陈斌, 马升, 等. 发酵金针菇菌糠对育肥猪生产性能、免疫性能和抗氧化性能的影响[J]. 猪业科学, 2022, 39(04): 84-85.

基金项目: 黑龙江省省属科研院所科研业务费项目(CZ-KYF2023-1-C005)。

※ 作者简介: 刘秋瑾, 研究实习员, 研究方向为菌种选育及微生物产品制备。Email: liuqiuji321@163.com。

¹Box-Behnken 优化超声提取刺五加多糖及对育肥猪生产性能、免疫功能及抗氧化功能的影响

薛沾枚^{*}, 张 备, 张 艳, 孟维姍, 刘秋瑾, 张国华, 沈思思, 苗 艳,
李 莉, 史同瑞^{**}

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

引言

刺五加 (Araliaceae) 又称刺拐棒、五加参、一百针、坎拐棒子, 是多年生落叶灌木, 根、茎、叶、皮和果实均可入药, 性温、微辛, 入脾肾经、扶正固本、益智安神, 富含多糖、黄酮、皂苷等活性成分^[1]。刺五加多糖具有调节免疫、抗氧化、抗肿瘤、降血糖等作用。应用到在育肥猪生产中能够起到促进生产性能、增强免疫力、提高抗氧化力和调节肠胃菌群的作用^[2]。本试验采用响应面法优化超声波提取刺五加多糖, 为刺五加多糖在育肥猪养殖生产中提供科学依据。

材料与方 法

试验对象为黑龙江省大庆市肇源县饲养场 48 头体重相近的“杜×长×大”三元杂交育肥猪, 饲养育肥猪饲养管理和免疫水平相同, 对照组饲喂育肥猪基础日粮; 试验 1 组在育肥猪基础日粮中添加刺五加多糖 250 mg/kg; 试验 2 组在育肥猪基础日粮中添加刺五加多糖 300 mg/kg。试验期为 42 d。试验开始与结束前 1 d 禁食 12 h 后, 称重。

结果与讨论

多糖提取常采用水提法、酶解法、酸碱提取法等, 但存在因水解、电离和氧化等导致丧失活性, 提取时间较长、能量消化高、经济费用高与环境污染等问题^[3]。超声波法提取技术是一种具有提取率高、耗时短、温度低、性质稳定和绿色环保的提取技术, 适用于工业化生产^[4]。近年来, 响应面分析被广泛应用在中药提取工艺中, 通过试验设计方法得到的数据结果, 建立拟合因素与响应值之间的多元二次回归方程的函数关系, 并进行响应面与等高线分析, 能够准确分析各因素与相应值得关系, 获得最佳优化工艺, 缩短提取周期, 增加提取率。在育肥猪基础日粮中添加刺五加多糖能够显著提高血清 GSH-Px、T-SOD 和 T-AOC 活性 ($P < 0.05$), 试验 1 组、试验 2 组与对照组血清 MDA 活性显著降低 27.25%、35.58% ($P < 0.05$), 表明在基础日粮中刺五加多糖能够提高育肥猪抗氧化性, 添加剂量越大, 作用效果更好。育肥猪基础日粮中添加刺五加多糖能够对猪血清免疫指标 IgG、IgA、IgM 含量显著提高, 猪血清 IL-1 与 NF- κ B 含量下降但差异不显著 ($P > 0.05$), 表明刺五加多糖能够提高育肥猪免疫, 提高机体抗病力。本研究采用 Box-Behnken 优化超声提取刺五加多糖, 得出最佳工艺为料液比 1 : 30、提取时间 51 min、提取温度 55℃, 刺五加多糖平均提取率可达到为 8.23%与预测值相近, 模型成功有效。在育肥猪基础饲料中添加适量刺五加多糖能够提高生长性能、抗氧化性能和免疫性能, 建议添加量为 300 mg/kg。

主要参考文献

- [1]潘景芝, 金莎, 崔文玉, 等.刺五加的化学成分及药理活性研究进展[J].食品工业科技, 2019, 40(23):353-360.
- [2]陈芬芳, 于红梅, 王瑞, 等.刺五加多糖的提取工艺研究[J].中国饲料, 2015(01): 22-24.
- [3]秦枫,朱善元,李金贵,等.响应面法优化壳聚糖对三七茎叶皂苷提取液除杂工艺的影响[J].河南农业科学, 2019, 48(07):155-160.
- [4]张文, 张丽芬, 陈复生, 等.超声波提取多糖技术的研究进展[J].粮食与油脂, 2018, 31(09):10-13.

^{*} 作者简介: 薛沾枚, 助理研究员, 研究方向为兽药与饲料添加剂研发, E-mail: 13998017492@163.com。

^{**} 通讯作者: 史同瑞, 研究员, 研究方向为兽药与饲料添加剂研发, E-mail: systtr@sina.com。

集团规模化猪场经营管理系列之妊娠母猪营养篇

迂斌[※], 李慧, 张玲玲

(浙江惠嘉生物科技股份有限公司, 浙江湖州 313000)

引言

妊娠母猪的饲喂目的是使其有合适的体况并在分娩时不能过肥。每头母猪是不同的个体, 会对所给的饲喂量产生不同的反应, 尽管他们的体重相差不大。确定妊娠母猪合适的饲喂量是十分重要的。采食必需一方面足以保证胎儿的发育和较佳初生重, 另一方面也能达到母猪理想的体增重和体况。初产母猪和个体小的母猪需较高的体重增长需要, 而体型大的母猪则需较高的维持需要, 因此这个推荐量可适合不初产母猪和个体小的母猪需较高的体重增长需要, 而体型大的母猪则需较高的维持需要, 因此这个推荐量可适合不同品系母猪的标准。

材料和方法

虽然怀孕母猪需要营养浓度低于其他猪, 但是仍然需要各种营养素, 营养要平衡, 更要注意劣质原料可能带有的霉菌毒素会严重影响胎儿发育;

保持母猪适当的体况, 各胎次母猪分娩时的 P2 背膘厚都应为 18-22mm;

仔猪初生重不低于 1.35kg;

北美系模式 (国内常用模式)

怀孕早期每天 1.8-2kg 左右, 关注胚胎成活率 (0-5 周);

怀孕中期关注母猪体况 (36-84d), 喂料量: 2.2kg/天左右;

怀孕后期关注胎儿生长和调整身体状况, 为随后的泌乳做准备, 提高采食量到 3 公斤左右, 具体量根据体况。

丹麦系模式

怀孕早期 0-28 天提供母猪高采食量(>3.0kg/天);

怀孕中期 28-90 天根据母猪体况, 每天供食 1.8-2.4kg;

怀孕后期 90-110 天, 每天喂食 3.0-3.5kg;

二者之间喂食模式显著不同, 在怀孕早期和中期的建议喂食量完全相反。丹麦系模式是否适合北美系目前无结论。

不管用哪个模式, 怀孕阶段饲喂程序的基本目标是保持母猪体况适中而不过肥。

结果与讨论

全程采用步步高方案是比较符合生长规律的, 但是要注意怀孕母猪的饲喂必须根据母猪的体况控制给料量;

在怀孕后期 (85 天起) 使用哺乳料饲喂, 以促进胎儿的生长和乳腺的发育, 为防止胎儿过大导致初产母猪难产增多, 要慎重控制;

尤其注意在产前不能太早开始控料, 一般到 112 天才开始控制 1.8-2kg, 并要避免停料;

建议在产前 5-6h 停料 (当怀孕母猪的最前面一对奶头也能挤出奶水说明 5-6h 就要生产了, 就开始停料)。

胎次越高需要的维持消耗越高, 营养需要增加。

※ 作者简介: 迂斌, (1982-)黑龙江龙江人, 大学本科, 兽医师, 惠嘉大动保技术服务总监, 研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测, E-mail: 13936628769@163.com

集约化猪场配种怀孕舍饲喂

迂斌^{*}, 李慧, 张玲玲

(浙江惠嘉生物科技股份有限公司, 浙江湖州 313000)

引言

母猪的饲喂几乎影响母猪生产的每一个方面,从受胎率、窝产活仔、仔猪初生重到母猪的淘汰率和使用年限,因此我们应该明确饲喂量只是一个引导,饲喂过程中饲喂与饲喂量改变的关系才是最重要的。妊娠期母猪的饲喂应该在保证母猪分娩时体况良好、饲喂充足的条件下,同时也要保证不影响母猪的生产性能;一般经产母猪在第4—5胎以前,平均每次怀孕体重增重15kg(不包括胎儿),第一胎母猪平均增重35—45kg,之后体重保持,不在生长;母猪哺乳期的损失体重在下一个生产阶段必须得到恢复;母猪的饲喂与猪舍温度、湿度与母猪的饲喂都有直接关系;

材料和方法

断奶母猪的膘情至关重要,要做好哺乳后期的饲养管理,使其断奶时保持较好的膘情母猪的饲喂要合适,这样才能在一定的饲料成本下获得最佳产出;始终保持母猪的良好体况,延长母猪的使用年限,进而使猪场有更多的产出、更大效益;对母猪进行体况评分(BCS)能够帮助我们对整个猪群的采食量进行精确地调整;母猪在体况3分时,哺乳期采食量能力最佳;在母猪体况3分时断奶,可以使母猪的繁殖性能最大化。及时的对每一头母猪饲料量进行及时的调整,才能使母猪体况达评分达到3分.对母猪个体进行体况评分,能够帮助我们对整个猪群的采食量进行精确地调整。持续的体况评分并进行料量的调整,能减轻母猪的应激程度。

结果与讨论

影响母猪乳腺的发育;抑制泌乳期母猪采食量;增加母猪分娩时难产几率;降低仔猪出生均匀度;妊娠母猪过度采食会影响泌乳期采食量,因此为保证泌乳期采食量和母猪性能最佳,妊娠母猪必须限制性饲喂(根据体况进行饲喂)。

影响母猪在下次断奶时的发情;受孕率降低;影响后续每胎的产仔数;增加母猪的瘫痪的几率;水的供给量和水质是猪只生长的基本条件;缺水可引起采食量、泌乳量降低;长时间饮水不足猪只会变得迟钝、严重会导致猪只的死亡;如果饲料中蛋白过高,就需要增加饮水,通过肾脏将多余蛋白质以尿酸的形式排出体外。

母猪断奶意味着下一个生产周期就要开始。然而,下一个生产周期什么时候开始,结果将怎样,很大程度上决定于母猪的体况和饲喂管理,因此不合理的饲喂策略对母猪的生产性能主要有以下的影响。

降低断奶母猪的7天发情率;增加断奶到配种时间间隔;降低母猪受胎率;减少下一胎窝产仔数;减少母猪利用年限。后备母猪和经产母猪饲喂的目的是使猪群在其整个生产期内,让尽可能多的母猪维持在合理的体况范围内(3—3.25分)。促进断奶母猪排出更多的的卵子。

促进断奶母猪快速、集中的发情;母猪断奶后进行自由采食,可使母猪快速停止泌乳。

^{*} 作者简介:迂斌,(1982-)黑龙江龙江人,大学本科,兽医师,惠嘉大动保技术服务总监,研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测, E-mail: 13936628769@163.com.

非常规饲料在养猪生产上的应用研究进展

刘 文^{*}

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

近年来,我国畜禽产业蓬勃发展,对饲料的需求也不断增大,使得我国出现“人畜争粮”问题。我国非常规饲料资源的种类和数量十分丰富,响应国家提倡实行饲料粮的减量化替代,非常规饲料资源的开发和利用逐渐成为大家研究的热点。非常规饲料原料是一个相对的概念,是指在人们对其营养成分了解较少或者传统饲料生产中未被做为主要饲料原料的饲料。常用非常规饲料原料大体可分为饼粕、糟渣、秸秆以及非常规植物4类,我国每年会生产2000多万吨非常规饲料饼粕,可替代猪饲料中的部分常规蛋白质饲料,饼粕类非常规饲料不能直接饲喂,需要通过发酵、膨化或脱壳等方法进一步加工。有研究发现,使用8%发酵花生粕替代豆粕用于生长猪(30—70 kg)饲料中,猪的日增重显著提高,且对健康无任何不良影响;还显著提高了日粮蛋白质、钙和磷的消化率。倪海球等^[1]研究发现,在生长猪饲料中添加膨化棉籽粕,结果表明,猪的生长性能、肉品质和抗氧化能力显著提高。糟渣类饲料主要来源是农副产品加工的废弃物及其副产物。邬苏晓等^[2]研究发现,添加40%的发酵啤酒糟在梅花猪饲料中,结果表明,猪的增重显著提高,减少了饲料成本。秸秆类大多含有丰富的粗纤维,较低的蛋白质含量,可以通过青贮、膨化或者发酵等方式进行处理。有研究发现,添加20%的膨化玉米秸秆在松野杂交黑猪育肥后期饲料中,结果表明,肥育猪生长性能无显著差异,但增重饲料成本降低了0.048元/kg。非常规植物饲料包括桑叶、辣木、海藻及林业副产物等。有研究发现,在育肥猪日粮添加6%的辣木粉可提高其日增重,添加9%的辣木粉可显著提高肌肉抗氧化能力。综上所述,目前在养猪生产中的非常规饲料原料已开展应用,但应用中仍存在较多问题,如原料营养物质成分存在差异,原料本身含多种抗营养因子,需要一定加工处理,其作用机理有待深入探讨等,需要学者进一步探究解决。深入研究非常规饲料在养猪生产中的应用可有效节约粮食资源,解决“人畜争粮”问题,具有重要的战略价值及应用前景。

主要参考文献

- [1]倪海球,孙杰,杨玉娟,等.棉籽粕膨化前后品质变化及对生长育肥猪生长性能、血清生化指标及营养物质表观消化率的影响[J].动物营养学报,2018,30(5):1936-1949.
- [2]邬苏晓,王亚斌,黄春梅,等.啤酒糟发酵饲料对梅花猪的饲喂效果分析[J].饲料工业,2018,39(2):43—45.

^{*} 作者简介:刘文,硕士,助理研究员,研究方向为动物营养,E-mail: 271493580@163.com

不同来源淀粉在养猪生产上的应用研究进展

刘 文[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

淀粉是动物日粮中主要的能量来源,对满足动物体能量需求和营养摄入起到至关重要的影响。与此同时碳水化合物还影响动物机体的生长发育和胃肠道的消化吸收功能。随着不断对淀粉源的深入研究,人们已对其结构、营养功能及动物在实际生产中的应用取得较为成功的进展。淀粉的种类繁多并且物理和化学结构复杂,所以淀粉的分类标准和方法也存在着差异。根据其来源的不同可以分为谷类淀粉、豆类淀粉、薯类淀粉和其他类淀粉;根据动物胃肠道内消化程度不同,可分为快速消化淀粉、慢速消化淀粉和抗性淀粉;根据淀粉分子结构以及葡萄糖聚合方式不同,可将淀粉结构分为直链淀粉和支链淀粉。淀粉的消化率受到很多内部和外部条件的影响,淀粉本身的颗粒粒径、颗粒表面积以及结晶程度,这些条件均会影响淀粉的消化率。淀粉是单胃动物重要的能量来源,动物机体消化吸收淀粉的主要部位在小肠,但有少部分发生在口腔中。有研究发现育肥猪饲喂玉米淀粉平均日增重显著高于土豆和糯米淀粉组,其生长性能最佳。土豆淀粉组显著提高了瘦肉率,并可以改善动物体肉品质。也有研究报道,对 21 日龄断奶仔猪分别饲喂含玉米、木薯、小麦淀粉和豌豆四种淀粉日粮结果表明四个试验组生长性能无显著差异。这可能是与试验时间长短及仔猪幼龄动物肠道没有发育完全有关。有研究认为,与玉米和糯米淀粉相比,土豆淀粉促进育肥猪肠道有益菌群的活跃,形成乙酸、丁酸等挥发性脂肪酸,降低了肠道 pH 值,进而减少育肥猪肠道内的致病菌。有研究报道,饲喂糯米淀粉组的猪血清甘油三酯、总胆固醇和脂肪酶活性及其变化幅度均显著高于玉米淀粉组和抗性淀粉组。综上所述,不同来源淀粉的结构不同,理化特性、加工方法以及所含的直支链的比例也存在差异,对猪的生长性能、营养物质利用率以消化速率等具有很大的影响。未来应该加大对淀粉中直链淀粉与支链淀粉比例的进一步研究,以找出最佳比例。

※ 作者简介:刘文,硕士,助理研究员,研究方向为动物营养, E-mail: 271493580@163.com

复方中草药对母猪和仔猪生产性能影响的研究进展

林秀蔚^{*}

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 163005)

复方中草药可以改善猪的生产性能, 常常代替传统饲料添加剂使用。首先, 复方中草药可以提高母猪的生产性能。多项研究表明, 添加适量的复方中草药能够提高母猪的受精率、受胎率和产仔数。牡蛎粉、蒲公英、枸杞、黄芪、女贞子、干山楂组成的复方制剂具有补中益气、清热消毒、改善母乳质量和母猪生殖健康水平的作用, 能够在一定程度上能够增加母猪采食量, 提高产仔数和仔猪成活率。于母猪饲料中添加 1.0% 中草药复合饲料添加剂 (主要成分为枯草芽孢杆菌、粪肠球菌、酿酒酵母、有机酸、蛋白酶、木聚糖酶、甘露聚糖酶、黄芪、甘草、板蓝根、黄芩、杜仲、刺五加、山楂等) 后, 母猪窝产总仔数、28 d 断奶个体重与 28 d 断奶成活率分别提高 6.23%、7.44% 和 1.76% ($P>0.05$) 提高了母猪繁殖性能, 并在一定程度上降低了仔猪死胎数, 提高了仔猪活仔率和育成率。

复方中草药含有丰富的植物化学成分, 具有促进内分泌平衡和调节生殖激素的作用, 从而改善母猪的繁殖能力。其次, 复方中草药对仔猪的生长性能也有积极的影响。多项研究表明, 添加适量的复方中草药可以提高仔猪的生长速度、饲料利用率和免疫能力。

于母猪饲料中添加中草药制剂 (母元, 农大二号) 由益母草 (24%)、川芎 (24%)、当归 (10%)、蒲公英 (32%)、甘草 (10%) 多种天然植物组成, 仔猪 21 日龄断奶窝重和平均日增重提高了 3.26% 和 4.92% ($P>0.05$), 腹泻率、腹泻频率、腹泻指数上分别降低 14.77%、14.15%、11.11% ($P>0.05$)。葛根素具有抗炎和抗病毒作用, 其在体外和体内均能抑制猪流行性腹泻病毒的复制, 缓解仔猪生长性能的下降。中草药含有丰富的抗氧化物质、抗炎物质和生物活性成分, 可以促进仔猪的消化吸收功能, 增强其免疫系统功能, 降低疾病的发生概率。

总体上说, 复方中草药对母猪和仔猪的生产性能有积极的影响。然而, 需要注意的是, 中草药的配方和添加剂量需要科学合理, 以避免过量使用或不当使用造成的负面影响。此外, 不同品种和环境条件下的研究结果可能存在差异, 需要进一步的研究来验证其效果。

主要参考文献

- [1] 王晓燕, 仲崇岳, 李克义. 复方中草药对哺乳母猪和仔猪生产性能影响研究[J]. 中国动物保健, 2024, 26(04): 61-62.
- [2] 郭吉利, 宋承磊, 李卫华, 等. 猪用中草药复合饲料添加剂对母猪繁殖性能及哺乳仔猪生长性能的影响[J]. 养猪, 2022(04): 25-28.
- [3] 马硕, 饶素娟, 崔志娟, 等. 泌乳期添加复合中草药制剂对母仔猪性能的影响及其可能机制[J]. 中国饲料, 2023(21): 81-89.
- [4] Wu M, Zhang Q, Yi D, et al. Quantitative proteomic analysis reveals antiviral and anti-inflammatory effects of puerarin in piglets infected with porcine epidemic diarrhea virus[J]. *Frontiers in immunology*, 2020, 11: 169.

基金项目: 黑龙江省农业科技创新跨越工程农业关键技术科技创新重点攻关项目 (CX23GG07); 国家肉牛牦牛产业技术体系 (CARS-37)。

^{*} 作者简介: 林秀蔚 (1996-), 女, 黑龙江佳木斯人, 硕士, 研究实习员, 主要从事肉牛饲养管理与繁育的研究, E-mail: lxw960521@163.com。

仔猪腹泻中氨基酸的作用研究进展

林秀蔚[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 163005)

腹泻对于仔猪的健康来说是一个严重的问题,也给养猪业带来了巨大的损失。仔猪断奶后发生腹泻的原因有很多,包括生理和环境等多个方面的影响。腹泻通常会导致仔猪体内电解质紊乱,进而影响肠道对营养物质的吸收。最常见的仔猪腹泻病因是病原体感染,其中主要分为两类,即大肠杆菌和沙门氏菌。此外,仔猪由于营养吸收不良也容易引发腹泻。当仔猪从饲喂易于消化的液态奶转换为较难消化的固态饲料时,刚刚断奶的仔猪容易发生肠道炎症,从而导致腹泻的发生。

氨基酸是仔猪饲料中不可或缺的成分,具有多种有益作用。在仔猪断奶早期,肠道结构容易受损且功能较弱,这会严重影响肠道发育和消化吸收能力。氨基酸对仔猪的肠道健康非常重要,它能维持肠道的完整性和正常蠕动,减轻由于损伤引起的炎症反应,并改善肠道内微生物的组成。氨基酸参与机体的代谢和蛋白质合成,通过促进肠上皮细胞的增殖和分化,促进肠道发育和受损部位的修复。功能性氨基酸参与调节基因表达、翻译修饰和信号传导,进一步改善炎症和氧化反应,提高免疫功能。肠道微生物在维持断奶仔猪肠道健康方面起着关键作用。厌氧细菌与肠上皮相互作用,在肠道中形成一个抵御病原体侵入的屏障,而腹泻通常与肠道微生物失调有关。多项研究报道了氨基酸,包括蛋氨酸、色氨酸、甘氨酸、苏氨酸和赖氨酸,对肠道内微生物的生长和组成产生影响。此外,一些研究显示,基于氨基酸的饮食可以通过增加水的摄入量来缓解腹泻。

尽管许多研究评估了膳食氨基酸对肠道健康的影响,但在仔猪腹泻的研究中,大多数研究并未记录腹泻的发生率。因此,未来的研究需要更加重视功能性氨基酸的联合补充,并考虑其在仔猪日粮中的平衡,以具体探讨其预防腹泻的作用。此外,还需要深入研究氨基酸与肠道微生物之间的相互作用机制,以及氨基酸对肠道屏障功能的影响方式,为仔猪腹泻的预防和治疗提供更科学、有效的方法。

主要参考文献

- [1]BENECH, Nicolas, Nathalie ROLHION, HARRY Sokol. Tryptophan metabolites get the gut moving. *Cell host & microbe*,2002, 29(2), 145-147.
- [2]BAI, M, WANG, L, LIU, H, et al. (2020). Imbalanced dietary methionine-to-sulfur amino acid ratio can affect amino acid profiles, antioxidant capacity, and intestinal morphology of piglets. *Animal nutrition*, 2020, 6(4), 447-456.
- [3]黄小强.仔猪腹泻的病因与防控措施[J].*现代农村科技*,2024,(04):89-90.

基金项目:黑龙江省农业科技创新跨越工程农业关键技术科技创新重点攻关项目(CX23GG07);国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-37)。

※ 作者简介:林秀蔚(1996-),女,黑龙江佳木斯人,硕士,研究实习员,主要从事肉牛饲养管理与繁育的研究,E-mail:lxw960521@163.com。

N-氨甲酰谷氨酸对断奶仔猪十二指肠绒毛形态、抗氧化能力及氨基酸转载体表达量的影响

高萌萌^{2*}, 胡乃志¹, 谢治江¹, 宋成生², 马文锋^{1**}

(1.河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳 471000; 2.河南省春天农牧科技有限公司, 河南洛阳 471800)

引言

肠道作为机体内环境直接接触面积最大的器官之一, 易受外界环境变化的影响。仔猪肠道尚未发育完善, 断奶带来的应激可以造成仔猪肠道功能的严重损伤。精氨酸作为仔猪体内的条件性必需氨基酸, 具有营养、代谢和免疫调节等多种功能。N-氨甲酰谷氨酸是 N-乙酰谷氨酸的结构类似物, 能够促进肠内源性精氨酸的合成, 进而在维持肠道健康方面发挥重要作用。本试验旨在探讨添加适宜剂量 N-氨甲酰谷氨酸对断奶仔猪十二指肠形态、抗氧化指标和氨基酸转载体表达量的影响, 为 NCG 在断奶仔猪生产上的应用提供参考。

材料与方法

本试验选取 36 头 (5.69 ± 0.50 kg) 24 日龄三元杂交 (杜×长×大) 断奶仔猪, 随机分为对照组和试验组, 对照组饲喂基础饲料 (CON 组), 试验组饲喂基础饲料+500 mg/kg N-氨甲酰谷氨酸 (NCG 组), 每个处理组设置 6 个重复, 每个重复 3 头仔猪, 试验期 28 d, 仔猪屠宰后采集十二指肠和黏膜用于分析。

结果与讨论

结果表明: 与 CON 组相比, 添加 NCG 对断奶仔猪十二指肠绒毛高度、隐窝深度和肠壁厚度均无显著影响, 但绒毛高度相较 CON 组有所增加。与对照组相比, NCG 组十二指肠 *ECCA1*、*SLC3A1* 和 *SLC3A2* 的 mRNA 相对表达量显著上调 ($P < 0.05$), 而对 *SNAT2* 的 mRNA 相对表达无显著影响 ($P > 0.05$); NCG 组十二指肠 *Claudin-1*、*ZO-1* 的 mRNA 相对表达量显著上调 ($P < 0.05$), 对 *Occludin* 的 mRNA 相对表达量无显著影响 ($P > 0.05$)。此外, NCG 组十二指肠 T-AOC 含量显著提高 ($P < 0.05$), 而 MDA 含量下降, 同时显著上调了断奶仔猪十二指肠 *Nrf2*、*MafK* 和 *HO-1* 基因表达 ($P < 0.05$), 而对 *Keap1* 无显著影响 ($P > 0.05$); NCG 组十二指肠 *CAT*、*NQO1*、*GPX1* 的 mRNA 相对表达量显著提高 ($P < 0.05$), 并且 *SOD1*、*SOD2*、*GPX4*、*GCLC*、*GCLM* 的 mRNA 相对表达量均有增加, 但差异均不显著 ($P > 0.05$)。在本实验条件下, 饲料中添加 500mg/kg NCG 提高了十二指肠抗氧化能力, 改善了紧密连接蛋白 *Claudin-1*、*ZO-1* 和氨基酸转载体的 mRNA 相对表达量。

主要参考文献

略

* 作者简介: 高萌萌, 在读硕士研究生, 研究方向为单胃动物营养与饲料研究, E-mail: 13383955897@163.com。

** 通讯作者: 马文锋, 副教授, 研究生导师, 研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: a113boy@163.com。

湿态饲料和液态发酵饲料对感染猪繁殖与呼吸综合症的断奶仔猪血液免疫和死亡率的影响

赵 然[※]

(黑龙江八一农垦大学, 大庆 163000)

引言

猪繁殖与呼吸综合症(Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS), 通常称之为“猪蓝耳病”。这是一种以猪的繁殖障碍、高热以及呼吸道症状为主的高度接触性传染病, 该病在世界范围内流行, 给养猪业造成巨大的经济损失, 严重威胁养猪业的健康发展。但是当前并未研究出对“猪蓝耳病”预防和治疗效果较为显著的方案, 因此对于该病来说, 提高仔猪免疫水平, 降低患病仔猪死亡率, 改善仔猪生产性能, 进而保证养猪业的经济效益尤为重要。目前越来越多的研究表明湿态饲料和液态发酵饲料可以改善断奶仔猪免疫能力和生产性能, 但这两种饲料对感染猪繁殖与呼吸综合症的断奶仔猪的影响尚不明确。因此, 本研究旨在评价湿态饲料和液态发酵饲料对感染猪繁殖与呼吸综合症的断奶仔猪血液免疫、死亡率和生产性能的影响。

材料与方法

本研究将 744 头 21 日龄断奶仔猪 ($5.43 \pm 0.14\text{kg}$) 随机分配到对照组 (干饲料 (CON))、湿态饲料组 (基础饲料加水搅拌饲喂 (LF)) 和液态发酵饲料组 (基础饲料发酵饲喂 (FLF)) 生产饲养 35 天, 每个处理 4 次重复, 每次重复 62 头断奶仔猪。

结果与讨论

35 天时仔猪血清中, 发酵组 IFN- γ 水平显著高于湿料组和干料组 ($P > 0.05$), 发酵组 IL-8 水平显著高于干料组, 湿料组和发酵组 IFN- α 水平显著高于干料组 ($P > 0.05$), 发酵组 TNF- α 水平显著高于湿料组 ($P > 0.05$), 湿料组 IgA 水平显著高于干料组 ($P > 0.05$), 干料组 IL-6 水平、IL-1 β 水平、IL-10 水平和 IgM 水平显著高于湿料组和发酵组 ($P > 0.05$), 干料组 IgG 水平显著高于湿料组 ($P > 0.05$)。在 0-7 天时, 干料组仔猪死亡率显著高于湿料组 ($P > 0.05$); 在 7-14 天时, 干料组仔猪死亡率显著高于湿料组和发酵组 ($P > 0.05$); 在 14-21 天时, 湿料组仔猪死亡率显著高于发酵组 ($P > 0.05$); 在 21-28 天时, 湿料组、发酵组和干料组之间仔猪死亡率无显著差异 ($P < 0.05$); 在 28-35 天时, 干料组仔猪死亡率显著高于湿料组 ($P > 0.05$)。湿态饲料和液态发酵饲料可以增强断奶仔猪免疫能力, 减少死亡率, 从而提高仔猪生产性能。

主要参考文献

略

※ 作者简介: 赵然 (1999-), 女, 黑龙江省齐齐哈尔市, 硕士研究生在读, 主要从事动物生产研究, E-mail: 2417937713@qq.com。

响应面法优化仔猪玉米-豆粕日粮发酵工艺及分子结构特性研究

耿彦超^{1,2*}, 原雪峰², 王馨¹, 包鑫禹¹, 李梦婷¹, 高宇萌¹, 杨华¹,
洪亮¹, 蒲蕾¹, 张建斌^{1**}

(1.天津农学院动物科学与动物医学学院,天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室,天津 300392;

2.天津市绿色生态饲料重点实验室,天津现代天骄农业科技股份有限公司,天津 300392)

本试验旨在利用响应面法优化仔猪玉米-豆粕日粮的菌酶协同发酵工艺,同时进行分子结构特性的研究,为发酵技术在畜禽饲料生产中的应用提供参考和借鉴。试验首先采用单因素试验筛选影响因素,而后利用响应面法优化发酵工艺,确定最佳发酵工艺。最后将饲料分为四组,基础饲料组(CK组),乳酸菌组(B组),酶组(E组),菌酶协同组(BE组),并使用傅里叶变换红外光谱技术对发酵前后玉米-豆粕日粮的分子结构进行分析。结果表明:1)玉米-豆粕日粮的最佳发酵工艺为:菌液接种量6.0%,复合酶制剂0.032%,发酵温度33.0℃,发酵时间45.0h,料水比1:1,蔗糖添加量2%。2)在此条件下进行发酵,发现B组、E组和BE组的粗蛋白含量相较于发酵前分别提高了12.91%,13.42%和17.28%。B组、E组和BE组的酸溶蛋白含量从1.97%提升到3.28%,3.39%,3.83%。3)发现其分子结构与发酵前存在明显差异,其中,BE组酰胺I区峰面积显著高于其余三组($P<0.01$)。BE组酰胺I区峰面积/酰胺II区峰面积以及酰胺I区峰高/酰胺II区峰高显著高于其余三组($P<0.01$)。BE组 α -螺旋峰面积显著高于其余三组,且 β -折叠峰面积/ α -螺旋峰面积显著低于其余三组($P<0.01$)。综上所述,菌酶协同发酵饲料提高了饲料的营养价值,并且菌酶协同发酵饲料后蛋白质更容易被畜禽消化利用并且优于单独菌株发酵或单独酶制剂酶解饲料。本试验为从分子结构评价菌酶协同发酵饲料营养价值丰富了理论依据。

基金项目:天津市科技计划项目(22ZYCGSN00620);天津市生猪产业技术体系创新团队(ITTPRS2022006);青海省重点研发与转化计划—科技援青合作专项(2021-QY-204);天津市自然科学基金(20JCQNJC00650);天津市自然科学基金重点项目(项目编号:20JCZDJC00170)。

* 作者简介:耿彦超(2001-),男,河北石家庄人,硕士研究生,动物营养与饲料科学专业,E-mail:15130180736@163.com

** 通讯作者:张建斌,副教授,研究生导师,E-mail:zjbzww@126.com。

菌酶协同发酵饲料对生长育肥猪生长性能、血液生化指标、粪便微生物菌群的影响

王馨^{1,2}, 秦顺义¹, 杨华¹, 蒲蕾¹, 洪亮¹, 耿彦超¹, 包鑫禹¹, 李梦婷¹,
高宇萌¹, 张建斌^{1*}

(1.天津农学院动物科学与动物医学学院, 天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室, 天津 300392)

本试验旨在研究复合菌酶协同发酵饲料分子结构特性的变化以及对生猪育肥时期不同阶段的生长性能、表观消化率、血液生化指标以及最后阶段粪便微生物的影响。进而为畜禽饲料生产中的应用提供参考和借鉴。试验选取 48 头体重在 $16.55 \pm 3.88\text{kg}$ (杜洛克×长白×大白三元杂交) 公母各半猪, 随机分成 3 组, 每组 4 个重复, 每个重复 4 只猪。对照组 (CON) 饲喂基础饲料, 发酵饲料组 (T1) 饲喂 6% 接种量的乳酸片球菌 (*Pediococcus acidilactici*, PA); 罗伊氏乳杆菌 (*Lactobacillus reuteir*, LR); 贝莱斯芽孢杆菌 (*Bacillus velezensis*, BS) 的复合发酵饲料 (比例 1:1:1), 菌酶协同发酵饲料组饲喂 6% 接种量的 PA; LR; BS 以及 0.2% 复合酶制剂, T1、T2 组添加 45% 水、在温度 33 °C 条件下发酵 48 h。预饲期 7 d, 试验期 84 d。实验结果表明, 菌酶协同发酵显著提高饲料中的粗蛋白、钙、磷含量, 并提高了酰胺 I 区面积, 提高 NDF、P 的表观消化率, 并在育肥生长后期显著提高 ADG、降低 F/G。在整个试验期中显著提高了血清中 TP、IgA 的浓度并降低了 SOD 和 GLU 浓度, 提高了粪便微生物的多样性和丰富度。研究表明, 菌酶协同发酵饲料能够通过提高酰胺 I 区面积进而提高饲料中粗蛋白含量, 提高营养物质的表观消化率, 提高健康水平。

低蛋白日粮在养猪生产中的应用进展

姚美玲

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

我国是养猪大国, 养猪业是畜牧业的重点行业, 其饲料成本占据养猪总成本的很大比例。在养猪生产中, 蛋白质是猪只生长所需的重要营养物质, 但过高的蛋白质水平会导致饲料成本增加, 也可能对环境造成负面影响。随着我国养猪业的迅速发展, 人畜争粮矛盾的日益凸显, 尤其是蛋白质资源短缺对我国养猪产业的发展造成了严重的影响。因此, 研究低蛋白日粮在养猪生产中的应用具有重要意义, 对猪的生长发育和养殖经济效益具有重要影响。文章主要探讨了低蛋白日粮在养猪生产中的应用进展。随着环保意识的提高和蛋白质原料资源的紧缺, 低蛋白日粮在养猪业中的应用逐渐受到重视。低蛋白日粮是通过添加工业合成氨基酸, 将日粮蛋白质水平适当降低, 以精准满足动物对氨基酸的需求, 从而在不降低动物生产性能和健康状况的同时, 减少蛋白原料的添加量, 提高动物对蛋白原料的利用率, 降低生产成本和动物代谢负担, 减少粪污排放。低蛋白日粮在养猪生产中的应用对环境具有深远的影响, 猪生产中氮的排放是重要的污染源, 低蛋白日粮的应用可以降低日粮中的氮含量, 进而减少猪排泄物中氮的排放, 降低栏舍氨气浓度, 从而减轻对环境的污染。此外, 低蛋白日粮还有助于节约蛋白质资源, 对于缓解我国蛋白质原料的紧缺具有重要的理论意义和实践价值。低蛋白日粮根据“理想蛋白”理论提出, 即在满足动物对氨基酸的需要量的前提下, 通过添加工业合成氨基酸来平衡日粮中的氨基酸。研究发现, 使用低蛋白日粮的猪只生长性能与健康状况与传统高蛋白日粮具有明显差异, 甚至在某些方面表现出优势。同时, 低蛋白日粮的使用显著降低了饲料成本, 提高了经济效益。未来, 随着合成氨基酸生产规模的扩大和成本的不断降低, 低蛋白日粮在养猪业中的应用将更加广泛。未来研究应进一步关注低蛋白日粮对猪只健康、生产性能及肉品质的影响, 以及优化低蛋白日粮的配制技术, 提高其在实际生产中的应用效果。因此, 低蛋白日粮在养猪生产中的应用具有重要的理论和实践价值, 对于缓解资源压力、保护环境、提高经济效益具有重要意义。随着相关研究的深入和技术的不断进步, 低蛋白日粮将在养猪业中发挥更加重要的作用。

蔬菜尾菜饲料化利用及对生猪机体影响的研究进展

姚美玲

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

近年来,随着经济的发展,人们生活水平的提高,逐渐对健康饮食需求不断提升,对蔬菜精品化程度要求也越来越高,进而蔬菜产业蓬勃兴起,备受关注。蔬菜产业是促进农民增收、农业增效的重要产业之一,在脱贫攻坚中发挥重要作用,具有良好的社会效益和经济效益。蔬菜在蓬勃发展的同时,产生大量被废弃的蔬菜叶子、根茎、果实等尾菜,这些尾菜中不仅含有许多营养成分,包括蛋白质、脂肪、纤维等,也含有一些有害物质,大部分的尾菜因水分含量高、贮存难度大、易腐烂、季节性生产等因素被大量丢弃在田间地头、随意堆放掩埋,浪费了大量的尾菜资源。所以,对尾菜进行合理化利用意义重大,若处理不当,对周边农业生产、农民生活、农村生态以及蔬菜生产带来诸多不利影响,造成资源浪费,生态环境破坏,更是严重影响着蔬菜产业的健康可持续发展。目前,通过物理、化学和生物方法,将尾菜资源转化为富含营养的饲料,不仅解决了尾菜处理难题,还为畜牧业提供了更为丰富的饲料来源。尾菜资源作为一种天然、绿色的饲料来源,将在养猪生产中发挥越来越重要的作用,对于猪的生长发育具有积极的影响。研究发现,补充饲喂尾菜青贮饲料,不仅可以降低饲料成本,还能增加养殖收益。同时,能够显著降低猪肉中胆固醇的含量,改善肉中脂肪酸的组成,从而提高猪肉的品质。在提高猪免疫性能和降低腹泻率,改善肠道组织形态及吸收功能方面都具有积极作用,能够促进猪肠道发育,提高猪肠道微生物菌落物种的丰富度和多样性,从而提高了猪的生产性能。尾菜在养猪生产中具有广泛的应用前景,了解并利用好尾菜资源,对于提高养猪生产效率和优化环境-经济-社会效益具有重要意义。本文结合各地生猪养殖工作实践经验,旨在增强环保意识和提高尾菜资源利用效率,以期探求新技术新方法,实现资源的循环利用和环境保护的双赢形势,为尾菜充分利用和合理化处理提供理论参考,同时也为畜牧业发展提供新的饲料来源和更高的经济效益。

低蛋白氨基酸平衡日粮优势及应用

包凤轩, 陈宁, 王楠, 赵辉祥, 杨伟光*

(黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 大庆 163319)

近年来, 低蛋白氨基酸均衡饲料成为近年来动物精准营养领域的一个重要课题。低蛋白氨基酸平衡日粮可以有效地解决目前我国蛋白质来源的不足的问题, 也是饲料企业应对新时期市场需求的必要手段之一。低蛋白氨基酸平衡日粮是在饲养标准营养需要的基础上, 降低饲料中的蛋白质含量, 并加入其他氨基酸保障氨基酸平衡, 用此来满足不同生长时期的畜禽对氨基酸的需求配制成的日粮。低蛋白氨基酸平衡日粮饲料还可以降低肠道中的有毒物质, 改善肠道健康, 降低氮的排放, 改善养殖环境。本文主要阐述了低蛋白日粮的优势, 功能性氨基酸的作用, 以及该种类日粮对猪的影响。

苜蓿草粉对猪生长性能的 Meta 分析

张启钧^{*}, 刘 晴

(黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江大庆 163199)

引言

我国是世界上养猪大国, 猪肉是我们国家食用最广的肉类, 且对猪肉的需求远远高于牛肉和羊肉。我国苜蓿种植地区分布广泛, 且因苜蓿自身富含蛋白质、粗纤维、矿物质等多种营养成分, 具有一定的抗氧化和免疫功能。目前有关苜蓿草粉对猪的生长性能方面的研究结果很多, 但不同学者得到的研究结果却不尽相同。本文采用 Meta 分析的方法, 研究在猪日粮中添加苜蓿草粉对猪的生长性能的影响, 用来在畜牧生产中苜蓿草粉对猪生长性能的影响提供科学依据。

材料与方法

在万方、知网、维普、Web of Science、Science Direct 以及 Pub Med 等数据库检索文献共 285 篇, 共纳入 18 篇。通过 Comprehensive Meta-Analysis V3 软件进行数据分析, 选择随机效应模型计算平均日增重 (ADG)、平均日采食量 (ADFI)、料重比 (F/G) 和屠宰率进行标准化均数差 (SMD) 和 95% 置信区间的估计值。利用 Egger 检验来评估发表偏移, 采用亚组分析和 Meta 回归分析寻找影响异质性的主要因素。根据剂量效应曲线来分析出最优添加水平。

结果与讨论

Egger 检验结果显示, 除 ADFI 外, ADG、F/G 和屠宰率均有极显著的发表偏倚, 可能是由于纳入的文献中研究数量过少或发表年份差异过大。Meta 分析结果表明, 日粮中添加苜蓿草粉可显著提高猪的 ADG (SMD=0.531, $P=0.010$)。亚组分析结果阐明试验周期在 2—7 周时能显著提高猪 ADG (SMD=0.702, $P=0.036$)。Meta 回归分析结果表明发表年份和生长周期均不是解释异质性的主要影响因素, 剂量效应表明添加量在 10% 和 20% 之间对猪的影响效果较好。在猪日粮中添加苜蓿草粉对猪的 ADFI 影响不显著, 但可以极显著降低猪的 F/G (SMD=-0.781, $P<0.001$), 且对 >8 周的猪 F/G 影响显著 (SMD=-0.621, $P=0.020$); 剂量-效应曲线表明, 草粉剂量在 15% 时影响最为显著, 超过或小于 15% 时 F/G 会增加, 表明苜蓿草粉添加过多或过少都会导致饲料报酬降低, 使饲养的成本增加^[1]。苜蓿草粉能够极显著增加猪的屠宰率 (SMD=2.784, $P=0.003$), 且对 2-7 周猪的屠宰率有显著的提高 (SMD=2.810, $P=0.017$)。综上所述, 日粮中苜蓿草粉含量在 15%-20% 时, 对猪生长性能有较好的影响, 且试验周期在 2-7 周时作用效果更为明显。

参考文献

[1] Pietrzak E, Grela E R. The effects of adding lucerne protein concentrate to diets on the reproductive traits and blood metabolic profiles of sows and piglets[J]. Journal of Animal and Feed Sciences, 2015, 24(3): 216-225

^{*} 作者简介: 张启钧, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种, E-mail: zqj459820814@163.com。

异丁酸对仔猪肠道屏障功能和肠道菌群的影响

王彬洁^{1*}, 侯俊杰¹, 孙康乐¹, 文凤云^{1,2***}

(1.河南科技大学动物科技学院, 河南洛阳 471023; 2.洛阳市优质畜禽种质资源与遗传繁育重点实验室, 河南洛阳 471023)

引言

断奶后仔猪胃肠道功能尚未发育完全, 易发生应激等肠道疾病, 对养猪业发展造成危害。有机酸化剂, 一种无污染, 不残留的饲料添加剂, 作为抗生素替代物用于预防断奶仔猪肠道应激。研究表明, 在饲料中添加酸化剂, 可以降低仔猪腹泻率, 改善仔猪肠道形态, 提高仔猪免疫性能^[1]。本研究以断奶期的大白猪为研究对象, 饲喂 0.5% 异丁酸日粮, 屠宰, 取十二指肠、空肠和回肠进行组织学染色和 QPCR, 取盲肠内容物进行微生物多样性分析, 旨在探究饲料中添加异丁酸对断奶仔猪肠道形态、屏障功能和微生物组成的影响。

材料与方法

试验对象为河南省洛阳市河南科技大学饲养场 30 头大白猪。试验仔猪均为阉公猪, 体况良好, 体重为 10 ± 2 kg。随机分为对照组和 0.5% 异丁酸添加组, 对照组饲喂基础日粮, 异丁酸组饲喂混合 0.5% 异丁酸的日粮, 自由饮水, 饲喂期 21d。结束后禁食 24h 屠宰, 取出十二指肠、空肠、回肠、盲肠, 放入液氮罐中保存。采用 HE 染色对十二指肠、空肠、回肠进行组织学分析, 采用 QPCR 分析十二指肠、空肠和回肠中肠道屏障基因相对表达量, 采用 Illumina PE250 测序分析盲肠内容物多样性。

结果与讨论

HE 染色结果显示, 异丁酸组空肠和回肠的隐窝深度显著降低 ($P < 0.05$), 十二指肠 ($P < 0.05$)、空肠和回肠 ($P < 0.01$) 的绒毛比显著提高。QPCR 结果显示, 异丁酸组十二指肠中 Claudin-1、Occludin、ZO-1 相对表达量显著上调 ($P < 0.01$), 空肠中 Claudin-1、Occludin 的相对表达量显著上调, 十二指肠、空肠 ($P < 0.05$)、回肠 ($P < 0.01$) 中 Mucin-2 的表达量均显著上调。微生物多样性结果显示, 对照组和异丁酸组间有 176 个属和 284 个种重叠。群落组成分析显示盲肠内容物在门水平上主要有厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门等。属水平上, 异丁酸组中真杆菌属的相对丰度显著增加。LEFSe 图显示厚壁菌门在两组间均占优势地位。KEGG 结果分析表明, 脂质代谢、核苷酸代谢和转录通路受到显著影响。相关性分析结果显示 Erysipelotrichaceae、Oribacterium 等与 Claudin-1、Occludin、ZO-1、Mucin-2 等基因的表达显著正相关。本研究表明日粮中添加异丁酸可改善仔猪小肠形态, 促进紧密连接蛋白和黏蛋白表达, 重塑盲肠微生物群落结构, 为研究如何缓解断奶仔猪肠道应激提供了重要的理论参考。

主要参考文献

[1] Liu P, Wang Y, Yang G, et al. The role of short-chain fatty acids in intestinal barrier function, inflammation, oxidative stress, and colonic carcinogenesis. *Pharmacol Res.* 2021 Mar;165:105420.

* 作者简介: 王彬洁, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: yl13939918228@126.com.

*** 通讯作者: 文凤云, 教授, 硕士生导师, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: newwfyun@haust.edu.cn.

基于网络药理学和分子对接研究黄芪杜仲提取物(ALAE)调控猪子宫内膜上皮细胞(PEECs)的作用机制

赵林露^{*}, 刘晓曦^{**}

(广东海洋大学滨海农业学院, 广东湛江 524000)

引言

现阶段母猪繁殖面临着严峻的挑战,通过研发饲料添加剂可以提高母猪的繁殖。本研究旨在应用网络药理学和分子对接技术研究当归、甘草、黄芪、杜仲按照 1:1:1:1 组成的黄芪杜仲提取物(ALAE)调控猪子宫内膜上皮细胞(PEECs)的机制,进而探讨对母猪繁殖性能的影响。

材料与方法

通过 TCMSP 和 BANTMAN-TCM 数据库与 UPLC-MS/MS 鉴定的 ALAE 中的实际存在的活性成分取交集,利用 SwissADME 平台检索出具有高亲药性且易于胃肠道吸收的成分,并通过 SwissTargetPrediction 预测出成分对应的靶点;通过 OMIM、Genecards 和 DisGeNET 数据库获取子宫内膜炎、子宫内膜异位症、宫腔粘连、宫内发育迟缓和先兆子痫的相关靶点;通过 STRING 数据库和 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络确定核心靶点;利用 DAVID 数据库进行 GO 和 KEGG 分析;利用 AutoDock 1.5.6 和 PyMOL 3.8 软件进行分子对接确定提高母猪繁殖性能的具有较高结合能的关键活性成分和靶点蛋白。

制备浓度分别为 0-1280 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 ALAE 溶液分别处理 12h 和 24h,使用 CCK-8 试剂评估其对 PEECs 活力的影响。提取 PEECs 中的 RNA,反转录为 cDNA 后用实时荧光定量 PCR 扩增,特异性引物见附件表 1,通过 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法计算 mRNA 的相对表达量,并与 β -肌动蛋白(β -actin)的内部对照进行比较。提取 PEECs 中的蛋白,用于 SDS - PAGE,检测 Claudin-1、Occludin、EGFR、Akt、P-Akt(Ser 473)、PI3K、P-PI3K(p85a/ β /p55 γ)蛋白表达,抗 β -actin 作为内参,采用 Tanon 红外荧光成像系统(Tanon-5200)扫描 Western blot 图像,并用 Image J 软件进行定量,计算蛋白的归一化表达水平。数据以均数 \pm 标准差(SD)表示,并使用 SPSS 25 软件进行分析。图表使用 Graph Pad Prism 8.0 软件绘制。

结果与讨论

网络药理学共筛选出 ALAE 中的活性成分 62 种(甘草 41 种,黄芪 5 种,杜仲 11 种,当归 5 种),确定了疾病相关靶点有 8054 个;得到活性成分与疾病交集靶点 563 个,通过 PPI 网络图发现 ALB、Caspase-3 等核心靶点;KEGG 通路主要涉及到 EGFR、PI3K-AKT 信号通路等。分子对接确定了 Glabridin、Medicarpin 等、G1/S-特异性周期蛋白-D1(CCND1)、表皮生长因子受体(EGFR)等改善繁殖的关键成分和靶点。

CCK-8 实验结果表明 160、320 和 640 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ALAE 处理 12h 可以极显著增加 PEECs 活力,因此将其作为低、中、高剂量进行后续实验。与对照组相比,ALAE 降低了 PEECs 中 IL-6 和 IL-1 β 水平,提高 IL-10 水平;降低 EGFR 水平,EGFR 激活下游的 PI3K 和 AKT 蛋白发生磷酸化,促进胎盘的增殖、分化和代谢;提高了 MMP9、PIGF、PPAR γ 水平和 IgG 含量,促进血管生成;提高 CTNBN1 水平,增加了 occludin 和 claudin1 蛋白表达,提高子宫内膜容受性;降低 ESR1 和 caspase-3 水平,增加 CCND1 水平,减少了流产的发生。

ALAE 可能是通过改善连接、减轻炎症、调节胎盘血管生成和生长因子受体来等调控 PEECs,进而影响母猪繁殖,可能与 EGFR-PI3K-AKT1 通路的激活有关。此外,ALAE 还可能参与调节雌激素受体、凋亡因子和细胞周期蛋白。

^{*} 作者简介:赵林露,在读硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料, E-mail: 1214892215@qq.com。

^{**} 通讯作者:刘晓曦,讲师,硕士生导师,研究方向为中兽医, E-mail: liuxiaoxi_06@163.com。

蒲公英多糖对断奶仔猪生长和血清生化的影响

许万鑫^{*}, 时言超, 张爱忠, 赵磊, 李沐阳^{**}

(黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江大庆 163319)

引言

集约化养殖中, 仔猪断奶后容易出现抗氧化和免疫功能降低, 进而增加多种疾病的易感性, 严重影响仔猪生产性能^[1]。研究表明, 饲料中添加蒲公英多糖能够促进肉仔鸡免疫功能, 改善血清生化指标, 提高生长性能^[2], 因此, 饲料添加蒲公英多糖具有缓解仔猪应激的潜质, 然而相关报道缺乏。本试验旨在研究蒲公英多糖对仔猪生长性能、血清生化的影响, 为其在生产中合理使用提供一定的参考。

材料与方法

蒲公英多糖(含量 $\geq 82\%$)购自南京泽朗生物科技有限公司。参照 NRC (2012) 猪营养需要制作试验饲料。采用单因素随机分组试验设计, 将 48 头平均体重为 8.5 ± 0.3 kg 的 21 日龄的杜长大三元杂交仔猪随机分为 4 组, 每组 4 个重复, 每个重复 3 头。对照组饲喂未添加蒲公英多糖的基础饲料, 试验组分别在基础饲料中添加 0.5、1 和 2 g/kg 的蒲公英多糖, 预试期为 7 天, 试验期 30 天。试验采用单笼饲养, 每日自由饮水, 饱食投喂 3 次。

结果与讨论

仔猪日粮中添加 2 g/kg 蒲公英多糖显著提高仔猪平均日增重和平均日采食量 ($P < 0.05$)。日粮中添加 0.5 g/kg 蒲公英多糖组显著提高了 AKP 和 T-AOC 活性 ($P < 0.05$), 显著降低了 COR、MDA、PC 含量 ($P < 0.05$); 1 g/kg 蒲公英多糖添加组显著提高了 INS、AKP、T-AOC、GSH-Px、SOD 含量或活性 ($P < 0.05$), 显著降低了 COR、GPT、MDA、PC 含量 ($P < 0.05$)。2 g/kg 蒲公英多糖组显著提高了 IGF-1、AKP、T-AOC、GSH-Px、SOD 含量或活性 ($P < 0.05$), 显著降低了 COR、MDA、PC 含量 ($P < 0.05$)。日粮中添加 1 和 2 g/kg 蒲公英多糖组显著提高了 LZM、IgA、IgG 含量 ($P < 0.05$)。在本试验条件下, 饲料中添加 1~2 g/kg 蒲公英多糖在一定程度上可以改善仔猪应激, 提高生产性能、抗氧化能力和免疫功能, 相关作用机制等仍需进一步试验来深入研究。

主要参考文献

- [1] 王晓佳, 刘荣立. 缓解仔猪断奶应激的饲喂措施[J]. 广东饲料, 2023, 32(01): 46-48. 单舒萱, 于洋, 李敬双等. 蒲公英多糖对肉仔鸡免疫功能、血清生化指标和生长性能的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(03): 30-35.
- [2] 单舒萱, 于洋, 李敬双等. 蒲公英多糖对肉仔鸡免疫功能、血清生化指标和生长性能的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(03): 30-35.

^{*} 作者简介: 许万鑫, 在读博士研究生, 硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: 1741562244@qq.com。

^{**} 通讯作者: 李沐阳, 博士, 教授, E-mail: muyangli_hbau@163.com。

非靶向代谢组学和 16S rRNA 分析揭示不同体重断奶仔猪血浆代谢物和肠道菌群的组成差异

耿彦超^{1,2,3,4}, 杨华^{1,2,3,4}, 洪亮^{1,2,3,4}, 蒲蕾^{1,2,3,4}, 郭亮^{1,2,3,4}, 张建斌^{1,2,3,4*}

(1.中国农技协科技小院“天津宝坻饲料科技小院”; 2.天津市生猪产业技术体系创新团队功能性饲料岗位; 3.天津农学院功能饲料研发与营养调控科研创新团队; 4.天津农学院动物科学与动物医学学院,天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室,天津 300392)

引言

不同断奶体重仔猪的生长性能有所不同。本研究旨在探究不同断奶体重仔猪血浆差异代谢物与肠道菌群之间的关系,揭示其代谢调控和微生物组成的差异,为优化断奶仔猪饲养管理提供理论依据。

材料与方法

从不同体重断奶仔猪中收集血浆和结肠内容物,通过非靶向代谢组学和 16S rRNA 技术对样品进行分析,采用多元统计学和生物信息学方法等方法鉴定和比较代谢物。

结果与讨论

(1) 在断奶仔猪血浆中共鉴定出 23 种差异代谢物,包括 3 种上调代谢物和 20 种下调代谢物。其中,15 种差异代谢物为脂质和脂质样分子类。(2) 代谢通路富集分析表明,不同断奶体重仔猪血浆中鞘脂类信号通路、HIF-1 信号通路、鞘磷脂代谢、抗坏血酸和醛酸代谢、甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢影响最显著。(3) 低体重断奶仔猪 α 多样性降低。(4) 乳酸菌在高体重仔猪中的丰度远高于低体重仔猪。(5) LEfSe 分析显示, *Faecalibacterium* 和 *Oscillospira* 分别是低体重仔猪和高体重仔猪的生物标志物。(6) Spearman 相关性分析表明, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Ruminococcus*, and *Oscillospira* 与血浆中的差异代谢物呈负相关。不同体重仔猪的血浆代谢物和结肠菌群不同。与脂质和脂质样分子相关的血浆差异代谢物被确定为断奶仔猪体重变化的主要因素。这些代谢物在较重仔猪的血浆中浓度较低。结肠微生物群可以影响血浆代谢物, *Oscillospira* 和 *Roseburia* 显著影响差异代谢物。

饲粮添加黄芩苷对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响

高宇辉^{*}, 梁 城, 吴晓婷, 靳建军, 杨公社, 史新娥^{**}

(西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

断奶是仔猪生长发育阶段中最为关键的时期, 由于饲料结构和环境的突然变化, 仔猪在断奶时很容易发生腹泻; “禁抗令”规定饲料中禁止添加抗生素; 诸多研究表明, 植物提取物具有良好的缓解断奶仔猪腹泻的功效, 黄芩苷(Baicalin, BAI)是一种黄酮类化合物, 具有抗氧化、抗炎及对免疫、消化、神经等系统的保护作用。尽管黄芩苷已被证实可以缓解病理条件下的肠道损伤, 但其对正常条件下仔猪的肠道保护功能的确切机制尚未完全明了。本研究将揭示黄芩苷在保护正常仔猪肠道功能和改善仔猪断奶应激方面的潜在能力, 并阐述其内在机制。

材料与方

选取 240 头体重为 6.75 ± 0.45 kg 的(杜×长×大)猪(公母各半), 随机分为 4 组, 每组 6 个重复, 每重复 10 头猪。分别为对照组(基础饲粮)、0.05% BAI 组(基础饲粮添加 500 mg/kg 黄芩苷)、0.10% BAI 组(基础饲粮添加 1000 mg/kg 黄芩苷)、0.15% BAI 组(基础饲粮添加 1500 mg/kg 黄芩苷)。试验期 28 d, 试验结束时挑选 24 头仔猪, 对猪只进行采血并且屠宰取样。

结果与讨论

1) 与对照组相比, 0.15% BAI 组可显著提高仔猪平均日增重($P < 0.05$), 且显著提高末重($P < 0.05$); 在 14-28d 时, 与对照组相比, 0.10% BAI 组料肉比显著降低($P < 0.05$); 与对照组相比, 饲粮中添加 BAI 显著提高血清中总蛋白、白蛋白、免疫球蛋白 A 的活性($P < 0.05$); 此外, 与对照组相比, 饲粮中添加 BAI 还可显著降低仔猪腹泻率($P < 0.05$)。

2) 饲粮中添加 BAI 显著增加断奶仔猪肠道绒毛高度($P < 0.05$), 同时显著提高结肠紧密连接蛋白 mRNA 的表达水平($P < 0.05$)和物理屏障相关蛋白的表达水平($P < 0.05$); 与对照组相比, 0.10% BAI 组可显著提高肠道抗氧化酶 CAT、SOD1、SOD2 的 mRNA 以及蛋白表达水平($P < 0.05$); 饲粮中添加 0.15% BAI 激活了 P-Nrf2 信号通路($P < 0.05$), 且 Keap1 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$); 0.10% BAI 组肠道上皮杯状细胞数量高于对照组($P < 0.05$), 同时通过 IHC 染色检测到黏液蛋白 MUC-2 的表达显著上调($P < 0.05$)。

3) 与对照组相比, 饲粮中添加 BAI 可抑制结肠 P-NF- κ B 的蛋白表达水平($P < 0.05$), 降低 TLR4、MyD88 的 mRNA 和蛋白表达水平($P < 0.05$); 此外, 饲粮中添加 BAI 显著抑制了促炎因子 TNF- α 、IL-6 的 mRNA 和蛋白表达水平($P < 0.05$)。

4) 16S rRNA 测序结果显示, 饲粮中添加 BAI 增加了厚壁菌门的相对丰度($P < 0.05$), 在属水平上增加了普雷沃氏菌和乳杆菌的相对丰度($P < 0.05$)。

综上所述, 在断奶仔猪饲粮中添加 BAI 能够提高生长性能, 降低腹泻率, 改善断奶仔猪肠道形态和屏障功能, 并通过抑制 PI3K/AKT/NF- κ B 信号通路来调节免疫反应。因此, 饲粮中添加 BAI 可为生猪饲养策略提供新思路和新方案。

^{*} 作者简介: 高宇辉, 在读硕士研究生, 研究方向为环保养猪关键技术研发, E-mail: yuhuihao@nwafu.edu.cn.

^{**} 通讯作者: 史新娥, 教授, 博士生导师, 猪肉品质的遗传与营养调控以及环保养猪关键技术研发, E-mail: xineshi@nwafu.edu.cn.

母猪妊娠后期和哺乳期饲料中添加水飞蓟素可提高母猪的繁殖性能、免疫力和初乳质量

从光雷^{*}, 刘春雪, 洪翊葵, 夏双双
(安佑生物科技集团股份有限公司, 江苏苏州 215400)

引言

近年来, 生猪育种技术的进步使母猪产仔数迅速增加。产仔数的增加, 加上初乳摄入量不足, 已成为断奶前死亡率上升的重要原因之一。而水飞蓟素是一种类雌激素提取物(主要包含水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟素和水飞蓟素), 其能够刺激乳腺细胞增殖, 上调 β -酪蛋白基因的表达^[1]。目前研究其对母猪泌乳性能的结果并不一致^[2, 3], 且未对初乳免疫球蛋白水平和氨基酸水平进行研究。因此, 本研究首次探究水飞蓟素对母猪脐带血一氧化氮合酶和一氧化氮水平的影响, 以及其对母猪繁殖性能、产奶量、初乳常规、初乳氨基酸、初乳免疫球蛋白和脐带血常规的影响。

材料与方法

试验共选用 20 头母猪(长白×约克郡, 胎次 4 次)。从妊娠第 85 天至断奶, 每胎半数母猪分别饲喂对照饲料(基础饲料, $n = 10$)和水飞蓟素组(基础饲料+ 0.2 g/kg SIL, $n = 10$)。根据 Baxter 等方法^[4]在仔猪出生后立即进行仔猪活力的目视评估。出生后还对仔猪进行宫内生长迟缓(IUGR)评分(1 分表示发育正常; 2 分表示轻度 IUGR; 3 分表示仔猪严重 IUGR)。采集母猪的脐带血和初乳, 使用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒检测一氧化氮合酶、IL-6、IL-10、IgG、IgA 和 IgM 水平; 使用 NO 试剂盒测定脐带血中 NO 水平; 使用采用日立全自动生化分析仪 3100 测定脐带血中葡萄糖(GLU)、钙(CA)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)和低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)水平; 使用 MilkoScan™ FT3 牛奶分析仪评估母猪初乳中脂肪、蛋白质、固形物和乳糖含量; 使用 1260 Infinity II Prime LC 系统分析初乳中的氨基酸水平。

结果与讨论

饲料中添加水飞蓟素可显著降低母猪的死胎数和死胎率($P < 0.05$)。此外, 饲料中添加水飞蓟素可提高新生仔猪平均体重和健仔猪平均体重的趋势($P = 0.107$; $P = 0.082$), 并具有提高仔猪 IUGR 评分的趋势($P = 0.069$)。另外, 水飞蓟素可提高母猪初乳中的蛋白含量($P < 0.05$), 并有提高初乳中总固形物和乳糖含量的趋势($P = 0.052$; $P = 0.086$)。水飞蓟素还可提高母猪初乳中 IgG、IgA 和 IgM 水平($P < 0.05$), 以及具有提高初乳中脯氨酸含量的趋势($P = 0.104$)。饲料中添加水飞蓟素可显著提高母猪脐带血中内皮型一氧化氮合酶和 IL-10 水平($P < 0.05$), 降低 IL-6 水平($P < 0.05$)。综上所述, 妊娠后期母猪饲料中添加水飞蓟素对母猪和仔猪健康无不良影响, 其可促进胎盘脉管系统的发育, 减轻炎症, 从而减少母猪产死胎数和 IUGR 的发生率, 同时提高活仔和健仔的平均出生体重。此外, 水飞蓟素还能提高母猪初乳中常规成分、免疫球蛋白和氨基酸的水平, 促进后代仔猪的生长发育。

主要参考文献

- [1] STARVAGGI CUCUZZA L, MOTTA M, MIRETTI S, *et al.* Positive effect of silymarin on cell growth and differentiation in bovine and murine mammary cells [J]. *Journal of animal physiology and animal nutrition*, 2010, 94(1): 111-117.
- [2] FARMER C, LAPOINTE J, PALIN M-F. Effects of the plant extract silymarin on prolactin concentrations, mammary gland development, and oxidative stress in gestating gilts [J]. *Journal of animal science*, 2014, 92(7): 2922-2930.
- [3] LOISEL F, QUESNEL H, FARMER C. Effect of silymarin (*Silybum marianum*) treatment on prolactin concentrations in cyclic sows [J]. *Canadian Journal of Animal Science*, 2013, 93(2): 227-230.
- [4] BAXTER E M, JARVIS S, PALAREA-ALBALADEJO J, *et al.* The weaker sex? The propensity for male-biased piglet mortality [J]. *PLoS one*, 2012, 7(1): 1-9.

^{*} 作者简介: 从光雷, 畜牧兽医师, 研究方向为猪营养与生产, E-mail: congguanglei@anschina.cn.

基于网络药理学和分子对接研究黄芪杜仲提取物(ALAE) 对母猪繁殖性能调节的作用机制

赵林露^{*}, 刘晓曦^{**}

(广东海洋大学滨海农业学院, 广东湛江 524000)

引言

现阶段母猪繁殖面临着严峻的挑战,通过研发饲料添加剂可以提高母猪的繁殖。本研究旨在应用网络药理学和分子对接技术研究当归、甘草、黄芪、杜仲按照 1:1:1:1 组成的黄芪杜仲提取物(ALAE)提高母猪繁殖性能的机制,并通过临床试验进行验证。

材料与方法

通过 TCMSP 和 BANTMAN-TCM 数据库与 UPLC-MS/MS 鉴定的 ALAE 中的实际存在的活性成分取交集,利用 SwissADME 平台检索出具有高亲药性且易于胃肠道吸收的成分,并通过 SwissTargetPrediction 预测出成分对应的靶点;通过 OMIM、Genecards 和 DisGeNET 数据库获取子宫内膜炎、子宫内膜异位症、宫腔粘连、宫内发育迟缓和先兆子痫的相关靶点;通过 STRING 数据库和 Cytoscape 3.9.1 软件构建 PPI 网络确定核心靶点;利用 DAVID 数据库进行 GO 和 KEGG 分析;利用 AutoDock 1.5.6 和 PyMOL 3.8 软件进行分子对接确定提高母猪繁殖性能的具有较高结合能的关键活性成分和靶点蛋白。

临床实验采用单因子实验设计,随机选择 196 头繁殖状态相近的母猪,将其随机分为 2 组,每组 2 个重复,每个重复 49 头,试验时间为妊娠第 74d-114d,试验组饲添加 20g/d ALAE。分娩 24h 内,记录母猪的窝总产仔、活仔、健仔、弱仔、死胎、木乃伊数、仔猪初生窝重;21 天时记录断奶头数和体重,作为母猪繁殖性能的评价指标;于分娩 24h 内,采集母猪胎盘,通过 qPCR 试验检测网络药理学富集关键靶点 mRNA 水平变化;采用 SPSS23.0 软件进行独立样本 T 检验,试验结果用平均数±标准差(X±SD)表示。

结果与讨论

网络药理学共筛选出 ALAE 中的活性成分 62 种(甘草 41 种,黄芪 5 种,杜仲 11 种,当归 5 种),确定了疾病相关靶点有 8054 个;得到活性成分与疾病交集靶点 563 个,通过 PPI 网络图发现 ALB、Caspase-3 等核心靶点;KEGG 通路主要涉及到 EGFR、PI3K-AKT 信号通路等。分子对接确定了 Glabridin、Medicarpin 等、G1/S-特异性周期蛋白-D1 (CCND1)、表皮生长因子受体 (EGFR) 等改善繁殖的关键成分和靶点。

临床试验结果表明 ALAE 极显著增加了妊娠母猪产仔总数、活健仔数、断奶仔猪头数和断奶仔猪重 ($P<0.01$),并减少了低产母猪占比。显著降低了胎盘组织中 caspase-3、IL-1 β 、IL-6 及其激活趋化因子 STAT3 水平,增加了 IL-10 水平,减少细胞凋亡和子宫炎症发生;增加了血管生成相关因子 MMP9 和 PPAR γ 水平,表明 ALAE 可以增强胎盘血管生成,有利于子宫胎盘和血管重塑,促进胎儿生长;显著增加了胎盘连接相关因子 CTNBN1、occludin、claudin1 等水平,增强胎盘结构,提高子宫内膜容受性;显著增加了 CCND1 的表达,降低了 EGFR、雌激素受体 1 (ESR1) 的表达,减少了流产的发生。

本研究推测 ALAE 可能通过减轻炎症反应、调节胎盘血管生成、改善母猪的胎盘结构等来增加初生仔猪数等,此外还可能参与调节 ESR1、Caspase-3 和 CCND1,为 ALAE 的进一步应用提供了理论依据。

^{*} 作者简介:赵林露,在读硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料, E-mail: 1214892215@qq.com。

^{**} 通讯作者:刘晓曦,讲师,硕士生导师,研究方向为中兽医, E-mail: liuxiaoxi_06@163.com

抗菌肽在畜禽饲料中的应用

冯引元[※], 王雪洋, 李雁冰^{※※}

(1.黑龙江八一农垦大学, 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江省寒区饲料资源高效利用与营养调控重点实验室, 黑龙江大庆 163319)

引言

畜禽饲料中添加抗生素,可以抑制病原微生物的生长、促进畜禽生长繁殖,但长期大量滥用抗生素导致畜产品安全问题频发,甚至阻碍了我国畜牧业的发展。畜产品中抗生素残留问题导致我国活猪出口量急剧下降,因而寻找一种绿色、安全、无污染的抗生素替代品显得尤为重要。从植物、动物、昆虫、细菌以及病毒中提取的抗菌肽以无毒副作用、难以产生耐药性、无残留与无污染而闻名,可替代抗生素作为饲料添加剂广泛应用于畜禽生产,符合21世纪的绿色、无污染、可持续发展之路。

材料与方方法

抗菌肽具有抗菌活性,对细菌有较强的杀伤性。从拟穴青蟹精浆中可以分离得到能够杀灭金黄色葡萄球菌的抗菌肽,观察发现15—30 $\mu\text{mol/L}$ 是其最小抑菌浓度。抗拒肽的抗病毒活性抗菌肽有3种抗病毒原理:(1)与病毒直接接触;(2)抑制病毒分裂;(3)利用病毒的侵入而起作用。抗菌肽通过破坏寄生虫的细胞膜,干扰细胞的正常代谢来达到抗寄生虫的目的。从牛骨髓中提取的BMAP-18抗菌肽,对锥体虫和利什曼原虫具有较强的杀灭作用。将抗菌肽添加到仔猪饲料中,可提高仔猪的生产性能、增强健康水平。肖发沂等研究表明,添加抗菌肽组的试验组仔猪比空白对照组仔猪平均日增重增加11.31%,料重比降低9.55%,腹泻率降低69.28%,饲料中添加抗菌肽能够提高仔猪的生长性能与免疫器官指数。

结果与讨论

抗菌肽作为替代抗生素大军中的一员,为解决抗生素滥用问题提供了新思路、新方法。抗菌肽的抑菌、调节免疫、组织修复等众多优点表明抗菌肽作为饲料添加剂具有广阔的发展前景。

主要参考文献

[1]王雪洋,韩淑敏,李金库,张帆,李井春,魏国生,李雁冰.抗菌肽在畜禽生产中的应用进展[J].畜牧与饲料科学,2019,40(08):35-37.

※ 作者简介:冯引元,在读硕士生,研究方向为牧草加工与青贮技术, E-mail: fw191213@163.com。

※※ 通讯作者:李雁冰,硕士研究生导师, E-mail: liyanbin929@163.com。

无抗液体发酵饲料在生猪养殖中的应用

魏姚¹※, 李金库², 李雁冰³※※

- (1. 黑龙江八一农垦大学动物科技学院, 黑龙江大庆 163319; 2. 吉林省安图县畜牧兽医局, 吉林安图 133600;
3. 榆树市动物疾病预防控制中心, 吉林榆树 130400)

液体发酵饲料作为发酵饲料中的一种新型饲料, 以独特的优势在现代集约化养殖中逐渐得到重视, 目前液体发酵饲料在欧洲已经得到广泛运用。液体发酵饲料不但可以显著提高饲料利用率和消化率, 还可以明显改善猪的生长性能等, 在生猪养殖中渐渐扮演重要角色。本研究将从影响液体发酵饲料品质的因素以及在生猪养殖中的应用进行综述, 以为液体发酵饲料生产及应用提供借鉴。

影响液体发酵饲料品质的主要因素有两大方面: 添加剂与发酵环境。微生物菌种的种类和剂量液体发酵饲料中微生物的种类和剂量直接影响发酵饲料的品质。丙酸、乙酸、甲酸等添加剂是目前在饲料中常用的化学添加剂, 一些微量元素也在发酵饲料中扮演着重要的角色。适宜的温度对发酵至关重要, 温度在 30—37℃ 最适合乳酸菌和芽孢杆菌的生长, 而酵母菌的生长温度则在 24—32℃ 最佳。

液体发酵饲料近似流体, 可有效减少仔猪在断奶时的应激并维持肠道菌群微生态平衡, 促进消化道健康。在减少仔猪腹泻方面, 饲喂液体发酵饲料仔猪腹泻率较添加抗生素饲料低 50%, 较传统饲料低 75%。

乳酸菌发酵液体饲料的 pH 值为 3.8—4.0, 发酵所产生的大量乳酸会使饲料产生酸香气味, 饲料的适口性会得到极大地提高, 能够有效刺激育肥猪进食, 增加采食量, 并明显改善生长育肥猪的生产性能, 起到良好的促进作用, 使生长育肥猪粪便中乳酸菌的数量提高, 大肠杆菌数量降低, 在提高日增重和降低料重比方面有显著效果。

随着我国畜牧业的稳定发展, 生产绿色安全畜产品成为目前人们的追求, 生物发酵饲料也成为我国饲料工业的重要组成部分。随着越来越多专业技术型人才的加入, 液体发酵饲料也会更好地应用于生产实践中, 被更多养殖户接受, 从而创造更大的生产效益。

主要参考文献

- [1]李金库,韩淑敏,李松哲,等.无抗液体发酵饲料在生猪养殖中的应用[J].黑龙江畜牧兽医,2019(14):99-102.

※ 作者简介: 魏姚, 在读硕士生, 研究方向为牧草加工与青贮技术, E-mail: 18992322134@163.com。

※※ 通讯作者: 李雁冰, 硕士研究生导师, E-mail: liyanbin929@163.com。

日粮中添加牛磺酸对仔猪生产性能的影响

王楠, 杨伟光

(黑龙江八一农垦大学, 黑龙江大庆 163000)

引言

牛磺酸可以通过减少炎症反应和恢复组织学形态来减轻肝损伤, 通过恢复线粒体微形态、抑制蛋白质降解和降低骨骼肌细胞凋亡百分比来减轻肌肉损伤。牛磺酸还可以作为一种氧化应激标志物, 通过促进蛋白质的合成和胰岛素分泌, 可以提高营养利用率和食欲, 从而使得仔猪生长速度更快、体重增加更显著。本实验旨在研究牛磺酸对仔猪生产性能的影响, 为仔猪生产中牛磺酸的应用提供借鉴。

材料与方法

试验对象为某规模化猪场 320 头仔猪, 随机分为四个组分别为对照组、牛磺酸一组、牛磺酸二组以及牛磺酸三组, 对照组饲喂基础日粮, 牛磺酸一组、牛磺酸二组以及牛磺酸三组在基础日粮里分别添加 0.1%、0.2%、0.3% 的牛磺酸实验期为 30 天。对生长性能、肌肉品质、肌肉抗氧化能力进行检测。

结果与讨论

结果发现牛磺酸二组以及牛磺酸三组均日采食量显著高于对照组 ($P<0.05$), 牛磺酸三组平均日增重显著高于对照组 ($P<0.05$), 牛磺酸三组料重比显著低于对照组 ($P<0.05$); 牛磺酸三组 pH 显著高于对照组 ($P<0.05$), 牛磺酸二组以及牛磺酸三组滴水损失显著低于对照组 ($P<0.05$); 牛磺酸二组以及牛磺酸三组 SOD 活力显著高于对照组 ($P<0.05$), 牛磺酸三组 MDA 含量显著低于对照组 ($P<0.05$)。以上数据表明 0.3% 牛磺酸在提高仔猪生产性能中具有十分重要的作用, 研究为猪场仔猪牛磺酸的使用提供参考。

主要参考文献

[1]李雪,张红梅,翟伟,等.日粮中添加牛磺酸对断奶仔猪生长性能、血清生化指标和免疫功能的影响[J].今日畜牧兽医,2023,39(05):11-13.

低蛋白质多元化日粮对生长猪生长性能、血液生化指标的影响

褚贇贇^{*}, 李章成, 胡志进, 陈琛, 冯复, 邱义彬, 唐志如^{**}

(西南大学动物科学技术学院, 重庆北碚 400700)

引言

豆粕是动物日粮配制中应用最广泛的植物性蛋白质原料,而近年来,我国大豆进口依存度居高不下、饲料原料价格上涨、供应不足,导致养猪成本进一步增加。适当降低日粮粗蛋白和豆粕含量可提高畜禽饲料蛋白质利用率,降低蛋白质饲料原料使用量,缓解国内大豆进口依存度,并且降低生产成本及养殖过程中氮排放对环境造成的污染^[1]。传统养殖业的饲料配方一直以玉米-豆粕型为主,为了减少玉米豆粕使用量,本试验旨在采用不同比例的碎米、小麦、豌豆替代玉米,菜籽粕和 DDGS 替代豆粕,研究低蛋白质多元化日粮对生长猪生长性能、血液生化指标的影响,探究杂粮杂粕替代玉米豆粕的可行性,为生长猪日粮配方的节本增效提供新思路。

材料与方 法

本试验选购 84 头健康状况良好、体重约 21kg 的杜长大三元猪,随机分为 4 个组,(1)低蛋白玉米豆粕型日粮;(2)低蛋白快速消化型多元化日粮;(3)低蛋白中速消化型多元化日粮;(4)低蛋白慢速消化型多元化日粮。每组 21 头,每个重复 1 头猪。试验期间准确记录动物的饲喂量和剩余量以及初重和末重,计算平均日增重、平均日采食量及料肉比;试验结束时(体重达 50kg),每组选取 5 头猪空腹采血,测定血清尿素氮、血清高密度脂蛋白、胆固醇含量、总胆固醇含量、血清总蛋白含量、总抗氧化能力等指标。

结果与讨论

玉米豆粕组的初重、末重、平均日采食量、平均日增重、料重比与快速消化型、中速消化型、慢速消化型三个组相比差异均不显著 ($P>0.05$)。快速消化型组的料重比显著高于中速消化型组 ($P<0.05$);玉米豆粕组血清尿素氮含量显著高于慢速消化型组 ($P<0.05$),与快、中速消化型组差异不显著 ($P>0.05$);玉米豆粕组血清葡萄糖含量显著低于快、中、慢速消化性组 ($P<0.05$);快速消化型、中速消化型、慢速消化型三个组差异不显著 ($P>0.05$);玉米豆粕组血清低密度脂蛋白胆固醇含量与其余三组差异不显著 ($P>0.05$),快消化型组则显著低于慢速消化型组 ($P<0.05$);血清高密度脂蛋白、胆固醇含量、总胆固醇含量、血清总蛋白含量、总抗氧化能力四个试验组间差异均不显著 ($P>0.05$)。综上,生长猪饲喂低蛋白质多元化日粮不影响生长猪的生长性能,暗示低蛋白质多元化日粮可以替代的低蛋白质玉米豆粕型日粮,本试验研究结果为低蛋白多元化日粮配制与应用提供参考。

主要参考文献

[1] 赵志扬,黄世猛,邱凯,等.低蛋白日粮在蛋鸡生产中的应用及对氮排放的影响[J].黑龙江畜牧兽医,2023,(17):22-28.

资助项目:国家重点研发计划 2022 年度“畜禽低蛋白低豆粕多元化日粮配制与节粮技术”项目(SQ2022YFD1300007);国家自然科学基金(32372894);重庆市教委科学技术研究计划项目(KJZD-K202300209);西南大学创新研究 2035 先导计划发展培育项目(SWU-XDPY22005)和四川省科技计划(2023YFQ0031 和 2023ZHYZ0007)。

* 作者简介:褚贇贇,硕士研究生,研究方向为动物营养与免疫,E-mail: 15234885526@163.com。

** 通讯作者:唐志如,研究员,博士生导师,研究方向为营养与免疫、应用微生物与健康养殖,E-mail: tangzhiru2326@sina.com。

低蛋白质多元化日粮对肥育猪生长性能、屠宰性能、肉品质的影响研究

李章成^{*}, 褚赟赟, 胡志进, 陈琛, 冯 复, 邱义彬, 唐志如^{**}

(西南大学动物科学技术学院, 重庆 400715)

引言

2023年,我国玉米、豆粕进口量分别为0.27亿吨和0.99亿吨,进口依赖度高。已有研究发现在满足必需氨基酸需求的基础上,适当降低日粮粗蛋白质(CP)水平对猪生长性能、健康状况、肉品质无不良影响且能减轻氮磷排放^[1]。本试验采用杂粮杂粕进行减量替代玉米和豆粕,设计低蛋白质多元化日粮,旨在探究不同消化速率低蛋白质多元化日粮对肥育猪生长性能、屠宰性能、肉品质的影响。

材料与方法

选取84头145日龄的杜×长×大杂交育肥猪(76.43±5.31 kg),采用单因素试验设计随机分为4组:(1)11%CP玉米豆粕型日粮(CON), (2)11%CP快速消化型杂粮杂粕型日粮(Q),支链淀粉:直链淀粉值为4.73, (3)11%CP中速消化型杂粮杂粕型日粮(M),支链淀粉:直链淀粉值为4.65, (4)11%CP慢速消化型杂粮杂粕型日粮(S)支链淀粉:直链淀粉值为4.62。每组21个重复,每个重复1头猪。Q、M、S组玉米替代量分别为23.79%、22.94%、20.59%,豆粕替代量均为4.02%。试验期25天,试验期结束时,从每组随机挑选5头猪屠宰进行屠宰性能、肉品质测定。

结果与讨论

生长性能方面,与CON组相比,S组末重增加($P<0.05$),Q组、M组差异不显著($P>0.05$);M组平均日采食量(ADFI)显著高于CON组($P<0.05$),Q组、S组的ADFI与CON组相比差异不显著($P>0.05$);各组间平均日增重(ADG)、料肉比以及饲料利用率差异均不显著($P>0.05$)。屠宰性能方面,与CON组相比,Q组的屠宰率显著提高($P<0.01$),M组与其他组间无显著差异($P>0.05$);各组间胴体直长、胴体斜长、膘厚、皮厚和眼肌面积均无显著差异($P>0.05$)。肉品质方面,与CON相比,Q组、M组、S组的滴水损失和蒸煮损失均无显著差异($P>0.05$)。肉色结果显示:45 min、24 h时各组L*、a*、b*值无显著差异($P>0.05$);剪切力结果显示:与CON组相比,Q、M、S组均无显著差异($P>0.05$)。

综上,与低蛋白质玉米豆粕型日粮相比,慢速消化型日粮能显著增加猪的末重,中速消化型日粮的平均日采食量显著增加,快速消化型日粮组的屠宰率显著提高且对肥育猪肉品质无不良影响。

主要参考文献

[1]WANG Y, ZHOU J, WANG G, et al. Advances in low-protein diets for swine [J]. Journal of Animal Science and Biotechnology, 2018, 9(1): 60.

基金项目:国家重点研发计划2022年度“畜禽低蛋白低豆粕多元化日粮配制与节粮技术”项目(SQ2022YFD1300007);国家自然科学基金(32372894);重庆市教委科学技术研究计划项目(KJZD-K202300209);西南大学创新研究2035先导计划发展培育项目(SWU-XDPY22005)和四川省科技计划(2023YFQ0031和2023ZHYZ0007)。

* 作者简介:李章成,在读硕士研究生,研究方向为单胃动物营养,E-mail:lzhangcheng@163.com。

** 通讯作者:唐志如,研究员,博士生导师,研究方向为营养与免疫、应用微生物与健康养殖,E-mail:tangzhiru2326@sina.com。

不同纤维源对断奶仔猪生长性能、血清生化指标、肠道通透性和粪便微生物的影响

刘宁^{1*}, 刘攀¹, 郎育杰¹, 卢小斌¹, 褚瑰燕¹, 曾祥芳², 譙仕彦², 蔡传江^{1**}

(1.西北农林科技大学动物科技学院, 杨凌 712100; 2.中国农业大学动物科技学院, 北京 100193)

本试验旨在研究麦麸(WB)和甜菜粕(SBP)对断奶仔猪生长性能、血清生化指标、肠道通透性和粪便微生物的影响。选取75头28日龄平均体重为(8.25±0.83)kg、健康的三元(杜×长×大)杂交断奶仔猪,随机分为5个组,每组5个重复,每个重复3头猪。5个组分别饲喂基础饲料(CON组)、4%和8%WB替代基础饲料的饲料(WB4组和WB8组)以及4%和8%SBP替代基础饲料的饲料(SBP4组和SBP8组)。试验期28d,分为第1~14天和第15~28天2个阶段。测定每头猪初始体重、第14天和第28天体重及试验期间耗料量,在试验结束时采集血液样本进行血清指标的测定,试验第14天和第28天采集直肠粪便样品进行16SrRNA测序。结果表明:1)试验第1~14天,与WB4组相比,SBP8组断奶仔猪平均日增重显著提高($P<0.05$),料重比显著降低($P<0.05$)。2)SBP8组血清总胆固醇含量显著低于WB8组($P<0.05$)。3)SBP4组血清二胺氧化酶活性极显著低于WB4组和WB8组($P<0.01$);与CON组和WB8组相比,SBP4组和SBP8组血清内毒素含量极显著降低($P<0.01$);与CON组和SBP4组相比,SBP8组血清D-乳酸含量显著降低($P<0.05$)。4)SBP4组和SBP8组血清白细胞介素-1 β (IL.1 β)含量极显著低于CON组($P<0.01$);SBP8组血清白细胞介素-10含量极显著高于CON组和WB4组($P<0.01$);SBP8组血清肿瘤坏死因子- α 含量极显著低于WB4组、WB8组和SBP4组($P<0.01$);与CON组和WB4组相比,SBP4和SBP8组血清免疫球蛋白G含量极显著提高($P<0.01$)。5)试验第14天,SBP4组和SBP8组粪便微生物群落Simpson指数显著低于CON组($P<0.05$)。线性判别分析效应大小(LefSe)分析结果发现,试验第14天,粪球菌属(Coprococcus)在SBP8组中显著富集($P<0.05$);试验第28天,毛螺菌科NK4A136群(Lachnospiraceae_NK4A136_group)在SBP8组中显著富集($P<0.05$)。相关性分析表明,粪便未分类毛螺菌科(unclassified_f_Lachnospiraceae)相对丰度与血清IL.1 β 含量呈显著负相关($P<0.05$)。综上所述,8%SBP替代基础饲料可以提高断奶仔猪生长性能,增强机体免疫功能和肠道屏障功能,并通过调节肠道菌群结构,提高有益菌丰度,促进肠道健康。

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD1300501)。

* 作者简介:刘宁(1998—),女,山东泰安人,硕士研究生,从事动物营养与饲料科学研究, E-mail: ln12751907@163.com

** 通讯作者:蔡传江,副教授,博士生导师, E-mail: sdcaicj@163.com

饲料中添加植物精油、抗菌肽、微生态制剂对断奶仔猪生长性能及腹泻的影响

姚爽

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161000)

养猪场的一大难题是仔猪腹泻问题, 在禁抗之后, 饲料中不允许添加抗生素, 尤其是对于断奶仔猪更是一大考验, 试验旨在研究断奶仔猪饲料中加入植物精油、抗菌肽、微生态制剂这三种添加剂对其生长性能及腹泻的影响, 从而为教保料升级的研究提供理论依据, 通过对比为能更好的选出适合仔猪饲料的替抗添加剂作出参考。试验选取 300 头同批次且体重相近的断奶仔猪, 随机分为 5 个处理组, 每个处理组 3 个重复, 每个重复 20 头仔猪, 其中两个对照组为: 一个是含抗生素不含植物精油、抗菌肽、微生态制剂的商品日粮, 一个是不含抗生素不含植物精油、抗菌肽、微生态制剂的商品日粮, 另外三个试验组是在对照组饲料中分别添加植物精油、抗菌肽、微生态制剂的不含抗生素的商品日粮, 试验周期为 32 d。结果显示: 含抗生素的对照组显著降低断奶仔猪的料肉比 ($P<0.05$), 植物精油排第二, 抗菌肽第三, 微生态制剂第四 (降低料肉比方面: 抗生素组<植物精油<抗菌肽<微生态制剂<无任何添加商品粮)。另外, 依然是含抗生素日粮的腹泻率显著降低 ($P<0.01$), 抗菌肽第二, 植物精油第三, 微生态制剂第四 (腹泻率方面: 抗生素组<抗菌肽<植物精油<微生态制剂<无任何添加商品粮)。综上所述, 在不添加抗生素的情况下, 断奶仔猪饲料中添加植物精油能显著改善断奶仔猪的生产性能, 添加抗菌肽能显著改善断奶仔猪的腹泻率。

不同饲养方式里岔黑猪盲肠微生物群落结构 及与生产性能的相关性分析

王 薇^{1*}, 王煜琦^{1,2}, 肖发沂^{1**}

(1.山东畜牧兽医职业学院动物科技学院, 山东潍坊 261061; 2.青岛农业大学动物科技学院, 山东青岛 266109)

引言

宿主基因型与生长环境可以对肠道微生物群的组成产生极大影响^[1], 从而提示不同的饲养环境与不同的猪品种之间肠道微生物也许有所不同。目前, 里岔黑猪保种场主要采取水泥地面与发酵床两种饲养方式, 本试验使用 16S rRNA 扩增测序, 通过 100%相似性水平得到样本中真实的扩增序列变体(ASVs), 比较了在目前两种主要的饲养条件下里岔黑猪的肠道菌群结构, 寻找里岔黑猪的核心微生物群, 并与生产性能性状进行相关性分析, 旨在为里岔黑猪选择更优质的饲养方式与针对性的保种提供帮助。

材料与方法

试验于里岔黑猪国家级保种场青岛里岔黑猪繁育基地进行, 选择体重(25.42±2.78) kg 里岔黑猪 60 头。结合实际情况选取 2 栋不同猪舍, 每栋猪舍由 5 个 13.5 m² (4.5 m×3 m) 圈组成。发酵床组(DL)地面采用舍内发酵床模式, 圈舍包括 4.5 m² (1.5 m×3 m) 的采料台区域和 9 m² (3 m×3 m) 的发酵床区域; 混凝土地面组(CF)采用传统实体水泥混凝土地面。试验期 175 天。试验结束后每组随机选择 5 头进行屠宰测定, 并收集盲肠内容物进行细菌 16S rRNA 扩增测序, 使用 Venny 2.1.0 确定里岔黑猪的核心微生物群; 使用 LEfSe 软件在多个分类学水平鉴定里岔黑猪在不同环境下的特异性生物标记; 使用 Spearman 相关性方法对生产性能和丰度前 50 的菌属进行相关性分析。

结果与讨论

发酵床饲养可提高里岔黑猪平均日增重, 降低料重比, 使胴体长与肌肉脂肪显著提高($P<0.05$)。通过 16S rRNA 测序, 最终获得 475306 条优化序列, 平均长度 413.35 bp。降噪后, 获得了 204 499 条序列, 并对其去重获得 2 658 个 ASV, DL 与 CF 组获得 ASV 数量平均分别为 278 和 253 个, 平均覆盖率为 99.96%。两组优势菌门均为厚壁菌门与拟杆菌门, 占有个体细菌总序列的 97.47%~99.19%; 纲水平以梭菌纲与芽孢杆菌纲为主。里岔黑猪盲肠核心微生物组由 *Clostridium sensu stricto* 1、土生孢杆菌属、链球菌属、乳杆菌属等 11 个菌属组成。在不同饲养方式下里岔黑猪肠道中乳杆菌属、粪球菌属、*Clostridium sensu stricto* 1、苏黎世杆菌属显著富集($P<0.05$)。料重比对微生物群落组成的解释程度最高, 乳杆菌属与粪球菌属等与生产性能呈显著正相关($R>0.70$, $P<0.05$)。综上所述, 不同饲养方式下的里岔黑猪优势菌结构类似, 在核心微生物群中具有 4 个差异性菌属可以作为用来区分两种饲养环境的潜在生物标记, 同时乳杆菌属与粪球菌属可做作为一种改善肠道环境、重塑微生物群结构的益生菌用于动物生产。

主要参考文献

[1]Pandit R J, Hinsu A T, Patel N V, et al. Microbial diversity and community composition of caecal microbiota in commercial and indigenous Indian chickens determined using 16s rDNA amplicon sequencing[J]. Microbiome, 2018, 6: 1-13.

* 作者简介: 王薇, 方向为动物营养与饲料, E-mail: 1799327484@qq.com。

** 通讯作者: 肖发沂, 教授, 方向为动物营养与饲料科学, E-mail: xiaofayi@sdmy.edu.cn。

不同油脂对后备母猪子宫及乳腺发育及肝脏和卵巢中脂肪酸组成的影响

王逸飞^{*}, 张璐通, 王津洁, 刘攀, 褚瑰燕^{**}, 蔡传江^{**}

(西北农林大学动物科学技术学院, 陕西杨凌 712100)

引言

后备母猪繁殖器官的发育对于母猪在生产中的选择以及整个繁殖周期内的生殖潜力的发挥至关重要, 此外, 脂肪酸在调节动物繁殖潜力方面的作用在近年来受到了更多关注。有研究表明, Ω -3 多不饱和脂肪酸 (PUFA) 及代谢产物通过增强生产激素 (如类固醇激素和前列腺素) 的能量供应和前体合成, 改善卵泡发育、卵母细胞成熟和胚胎发育; 妊娠母猪在围产期补充 Ω -3PUFA 可以显著缩短发情间隔, 减少发情后配种等待时间。因此, 本研究通过观察后备母猪组织切片及检测肝脏及卵巢脂肪酸组分, 旨在探究饲喂含有 Ω -3PUFA 的日粮对后备母猪繁殖器官发育及肝脏和卵巢中脂肪酸组成的影响。

材料与方 法

试验对象为 16 头 150 日龄, 体重在 66 ± 15 kg 健康后备母猪, 分为 4 个处理组, 每组 4 个重复, 每头母猪为一个重复。对照组 (CON) 饲喂基础饲料, 试验组分别饲喂添加 1% 富含 Ω -6PUFA 的大豆油 (SO 组)、1% 富含 Ω -3PUFA 的亚麻油 (LO 组) 和 1% 两油混合 (MO 组) 的试验饲料。基础饲料营养水平均满足 (NRC (2012)) 推荐水平。饲喂至第三次情期发情时屠宰, 采集器官样品。试验期共 132 天。采用 SPSS 软件统计日粮配方与子宫及乳腺发育和肝脏及卵巢脂肪酸组成的相关性。

结果与讨论

(1) 除子宫血管丰度在添加亚麻油的组别相较于对照组及混合组显著增加外 ($P < 0.05$), 不同油脂的添加对后备母猪子宫的发育没有显著性影响。

(2) 混合油组的母猪乳腺切片中, 乳腺腺泡结构较为丰富, 腺泡面积较大, 乳腺实质部分的生长较为明显。对于不同油脂对乳腺脂肪占比的影响, 统计结果显示各组之间无显著性差异 ($P > 0.05$)。

(3) 添加油脂的三个试验组的后备母猪肝脏相较于对照组, 肝小叶出现了不同程度的空泡现象, 亚麻油组中肝脏脂肪沉积相较于大豆油组与混合油组相对较少。

(4) 添加亚麻油组后备母猪肝脏及卵巢中 Ω -3 PUFA 的总含量极显著高于对照组和大豆油组 ($P < 0.01$), 显著高于混合油组 ($P < 0.05$); 混合油组卵巢中 Ω -3 PUFA 的总含量显著高于对照组和大豆油组 ($P < 0.01$); 且添加亚麻油的两组后备母猪肝脏及卵巢 Ω -6 与 Ω -3 PUFA 的比值显著低于其他两组 ($P < 0.05$)。

综上所述, 日粮中添加 Ω -3 PUFA 可以增加子宫血管丰度, 提高子宫血流量, 降低肝脏脂肪沉积; 提高肝脏与卵巢中 Ω -3 PUFA 的含量, 降低 Ω -6 与 Ω -3 PUFA 的比值, 有利于机体脂肪代谢及提高母猪繁殖性能。

主要参考文献

略

^{*} 作者简介: 王逸飞, 在读硕士研究生, 研究方向为动物营养与饲料, E-mail: wangyifeinwafu@163.com。

^{**} 通讯作者: 褚瑰燕, 副教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: guiyanchu@nwfufu.edu.cn。

通讯作者: 蔡传江, 副教授, 博士生导师, 研究方向为猪营养与饲料, E-mail: sdcaicj@163.com。

低蛋白日粮下不同淀粉和蛋白质来源对仔猪生长性能、 小肠消化酶和肠道菌群的影响

卢小斌¹, 李鹏飞¹, 郎育杰¹, 周铭朔¹, 褚瑰燕¹, 蔡传江^{1*}

(1.西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100; 2.中国农业大学动物科学技术学院, 北京 100193)

引言

研究发现降低日粮蛋白水平会降低仔猪的生长性能^[1]。因此提高低蛋白日粮下仔猪的生长性能对低蛋白日粮的推广应用和畜牧业的可持续发展至关重要。能量的及时供应可以降低肠道中氨基酸的氧化损失, 从而提高体内蛋白质沉积的效率^[2]。目前越来越多的研究关注于碳水化合物和蛋白质营养改善动物的生长性能。因此本研究旨在探究在低蛋白日粮下不同淀粉和蛋白质来源对仔猪的生长性能、小肠消化酶和肠道菌群的影响。

材料与方法

试验选用 32 头体重为 13.12 ± 0.65 kg 的“杜×长×大”仔猪, 采用 2×2 析因试验设计, 2 个淀粉来源为木薯淀粉 (cassava starch, CS) 和豌豆淀粉 (pea starch, PS), 2 个蛋白来源为玉米蛋白粉 (corn gluten meal, CM) 和大豆浓缩蛋白 (soy protein concentrate, SC)。试验共分为 4 个处理组, 每个处理组 8 个重复, 每个重复 1 头仔猪, 试验共 22 天。根据消化速率, 木薯淀粉为快速消化淀粉, 豌豆淀粉为慢速淀粉, 玉米蛋白粉为快速蛋白, 大豆浓缩蛋白为慢速蛋白。在试验的第 1 天和第 21 天, 记录仔猪的生长性能。在试验第 22 天在仔猪采食 1.5 h 后对所有仔猪进行腹腔注射戊巴比妥钠安乐死, 然后立即解剖和取样, 用于后续小肠消化酶和肠道微生物菌群测序分析。统计程序使用 IBM® SPSS® Statistics 24 程序的一般线性模型中单变量程序进行, 将蛋白质水平和碳水化合物来源设置为固定因子, 当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

结果与讨论

能量和氨基酸在机体中的同步释放能够促进蛋白质的利用效率^[3]。在本试验中, 仔猪的 ADG ($P = 0.052$) 和 FCR ($P < 0.05$) 以及空肠和回肠中的 α -淀粉酶 ($P < 0.05$) 在淀粉和蛋白质来源上存在显著交互作用。具体来说, 在蛋白来源为玉米蛋白粉时, 木薯淀粉的 ADG 以及空肠和回肠中的 α -淀粉酶显著高于豌豆淀粉, FCR 则显著低于豌豆淀粉, 而蛋白来源为大豆浓缩蛋白时, 豌豆淀粉的 ADG 以及空肠和回肠中的 α -淀粉酶显著高于木薯淀粉, 而 FCR 则显著低于木薯淀粉。同时, 我们发现结肠门水平中 Firmicutes、Bacteroidota 和 *Prevotellaceae_NK3B31_group* 的相对丰度交互作用差异显著 ($P < 0.05$), 具体来说, 在蛋白来源为玉米蛋白粉时, 木薯淀粉的 Firmicutes 显著高于豌豆淀粉, Bacteroidota 和 *Prevotellaceae_NK3B31_group* 则显著低于豌豆淀粉, 而蛋白来源为大豆浓缩蛋白时, 豌豆淀粉的 Firmicutes 显著高于木薯淀粉, 而 Bacteroidota 和 *Prevotellaceae_NK3B31_group* 则显著低于木薯淀粉。在结肠的短链脂肪酸中, 异丁酸 ($P = 0.044$) 和异戊酸 ($P = 0.068$) 之间存在显著的交互作用, 具体来说, 在蛋白来源为玉米蛋白粉时, 木薯淀粉的异丁酸和异戊酸显著高于豌豆淀粉, 而蛋白来源为大豆浓缩蛋白时, 豌豆淀粉的异丁酸和异戊酸显著高于木薯淀粉。

综上所述, 淀粉和蛋白质消化速率同步时 (木薯+玉米蛋白粉组和豌豆淀粉+大豆浓缩蛋白组) 能够提高仔猪的生长性能、消化酶水平以及结肠 Bacteroidota、*Prevotellaceae_NK3B31_group* 的相对丰度。

主要参考文献

- [1]Limbach JR, Espinosa CD, Perez-Calvo E and Stein HH 2021. Effect of dietary crude protein level on growth performance, blood characteristics, and indicators of intestinal health in weanling pigs. *Journal of Animal Science* 99, skab166.
- [2]王贵富 和 孙泽威. 淀粉来源对仔猪营养调控的研究进展[J]. *饲料研究*, 2015, 59 (05) 16–19.
- [3]Geiger E 1950. The Role of the Time Factor in Protein Synger. *Science* 111, 594–599.

乔松素通过 GPR120-ERK1/2 信号通路抑制猪皮下脂肪细胞分化

张孜怡^{*}, 贺昭昭, 张宛容, 庞卫军^{**}

(西北农林科技大学动物科技学院, 陕西杨凌 712100)

引言

脂肪组织是一个动态的储能和内分泌器官, 在肉用动物和人类疾病中发挥着重要的作用。脂肪组织的组成和功能随着饮食组成而变化, 精准调控猪皮下脂肪沉积可以提高胴体瘦肉率^[1]。目前, 人们在鉴定调节脂肪组织活性的小分子方面取得了大量的进展, 乔松素是一种天然来源黄酮类小分子化合物, 具有抗菌、抗炎及抗氧化生物活性^[2]。本研究探索添加乔松素在小鼠活体和猪皮下脂肪细胞中的不同作用, 发现乔松素可以预防高脂饮食诱导的小鼠肥胖, 同时可能通过 GPR120-ERK1/2 信号通路抑制猪皮下前体脂肪细胞分化, 为生猪生产中的肉质改良和开发新型饲料添加剂提供思路和理论依据。

材料与方法

应用 DESeq2 包 GEO 数据库 GSE112999 数据集对 iWAT 样本数据进行组间和组内的标准化、差异基因的差异分析。登录 CMap 网站 (www.clue.to), 将差异表达基因列表上传。通过使用基于非参数秩序 Kolmogorov-Smirnov 统计量的模式匹配算法来确定连通性得分, 并与 CMap 数据库现在药物的基因表达特征进行比较; 以高脂小鼠为模型, 将小鼠分为两组, 其中一组利用乔松素进行为期 10 周的灌胃处理, 记录小鼠灌胃期间采食量及体重变化, 利用 GTT、ITT、HE 染色、免疫荧光染色、WB 及 RT-qPCR 技术检测相关指标变化; 选取来自西北农林科技大学试验猪场的 3-5 日龄大白仔猪的背最长肌, 经过消化和差速贴壁得到猪皮下前体脂肪细胞, 并在体外诱导分化成熟的皮下脂肪细胞。利用乔松素 (CAS: 480-39-7, 源叶) 分别处理增殖期及分化期猪皮下脂肪细胞, EDU、CCK8、免疫荧光染色、WB 及 RT-qPCR 技术检测相关指标; 利用分子对接技术探究乔松素调控脂质沉积的分子机制。

结果与讨论

猪是一种脂肪沉积能力强的家畜, 然而猪脂肪沉积到皮下或内脏直接导致肉品质下降, 料肉比升高^[1]。近年来, 因安全、易用性等优势, 天然产物衍生的小分子化合物在畜牧生产上具有广泛的应用前景^[3]。CMap 鉴定乔松素有潜在调控脂肪沉积作用, 乔松素属于二氢黄酮类化合物, 已有研究表明其具有良好的抗炎、抗肿瘤、抗氧化、降低血脂和神经保护作用^[2]。但由于小分子具有多靶点的特性, 乔松素对脂肪组织的作用及其机制仍需探索。小鼠活体试验中, 乔松素改善高脂饮食引起的葡萄糖不耐受和胰岛素抵抗, 预防高脂饮食诱导的脂肪组织重量的增加, 同时抑制脂肪组织成脂标志基因表达, 促进脂肪水解基因表达; 油红 O 染色、AdipoRed 和 Bodipy 染色表明乔松素抑制猪皮下前体脂肪细胞分化, 抑制 FASN、FABP4 和 CEBP α 等成脂基因 ($P < 0.05$), 促进 HSL 表达 ($P < 0.05$)。分子对接及 WB 试验表明 GPR120-ERK1/2 可能是乔松素调控脂质沉积的重要信号通路。综上, 本研究中利用乔松素对猪皮下脂肪细胞进行处理, 结果表明乔松素可通过 GPR120-ERK1/2 信号可以通过抑制成脂基因表达和促进脂解基因的表达来抑制猪皮下脂肪细胞分化, 然而这一工作还应进一步在猪活体进行验证, 即通过饲喂乔松素探究乔松素对于猪皮下脂肪组织的调控作用, 以使之运用于实际的育种工作之中。

主要参考文献

- [1]Feng H, Yousuf S, Liu T, et al. The comprehensive detection of miRNA and circRNA in the regulation of intramuscular and subcutaneous adipose tissue of Laiwu pig. *Sci Rep*, 2022, 12(1):16542.
- [2]Sakai T, Ohhata M, Fujii M, Oda S, et al. Brazilian Green Propolis Promotes Weight Loss and Reduces Fat Accumulation in C57BL/6 Mice Fed A High-Fat Diet. *Biol Pharm Bull*, 2017, 40(4): 391.
- [3]Guo Z, Chen X, Chen D, et al. Dihydromyricetin alters myosin heavy chain expression via AMPK signaling pathway in porcine myotubes. *Food Funct*, 2022, 13(20):10525-10534.

^{*} 作者简介: 张孜怡, 在读硕士研究生, 研究方向为动物生物技术, E-mail: zhangziyi0203@126.com。

^{**} 通讯作者: 庞卫军, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物脂肪沉积与肌肉发育调控机制, E-mail: pwj1226@nwfau.edu.cn。

发酵竹粉对猪生长性能、屠宰性能、肉质、肉营养价值及血液生理生化指标的影响

徐川辉^{1*}, 陈娇², 陈小连¹, 邹志恒^{1**}

(1.江西省农业科学院畜牧兽医研究所畜禽绿色健康养殖江西省重点实验室, 江西南昌 330200;

2.江西农业大学动物科学技术学院, 江西南昌 330045)

引言

日粮纤维长期缺乏容易引发肠道健康问题, 影响动物健康生长^[1,2]。当前, 我国饲料工业生产中使用的日粮纤维主要来源于农副产品, 受种植季节、产地和天气的影响, 存在供应不稳定、霉菌毒素污染等问题, 且受饲料加工工艺的影响, 可用作大宗纤维原料的种类较少。竹子是多年生禾本科植物, 含有丰富的纤维成分, 且富含黄酮和多酚类化合物, 几乎不含黄曲霉素、赤霉烯酮和呕吐毒素, 是一种优质、丰富的天然纤维资源。发酵竹粉(FBP)是竹粉经现代生物发酵技术发酵制成。目前, 关于猪日粮中应用 FBP 对猪生长及生产性能影响的研究有限。本研究旨在评估 FBP 作为猪饲料纤维原料的应用价值, 通过在猪日粮中补充不同比例 FBP, 探究其对猪只生长性能、屠宰性能、肉质及营养价值、血液生理生化指标的影响。

材料与方法

选取 288 头遗传背景一致、体重相近的健康长×大断奶仔猪, 随机分为 4 组, 每组 4 个重复, 每个重复 18 头。对照组饲喂基础日粮, 试验组分别饲喂含 0.5%、1%和 2%FBP 的试验日粮。所有猪只在相同饲养管理和免疫程序下自由采食和饮水, 为期 19 周。试验期间, 以重复为单位, 称量并记录各重复的日采食量和初、末期体重。试验末期, 各重复挑选 2 头接近平均体重的猪只在采集空腹血液后进行屠宰性能测定, 测定血清生理生化指标和背最长肌肉品质及营养成分。

结果与讨论

与对照组相比, 日粮补充不同比例的 FBP 具有提高猪只日均采食量的趋势, 并在 2%补充比例下, 猪只末期体重增加 3.88 kg/头, 尽管该差异不具统计学显著性。各处理组间屠宰性能相关指标无显著差异, 但补充 1%和 2%FBP 显著降低了肉的剪切力, 补充 2%FBP 显著提高了熟肉率。此外, 补充不同比例的 FBP 极显著提高了肌肉中肌苷酸水平。在氨基酸组成上, 补充 0.5%FBP 显著提高了肉中 Asp、Thr、Cys、Val、Met 以及总 AA 含量, 补充 1%FBP 显著提高了 Val 含量, 补充 2%FBP 组显著提高了 Asp 和 Met 含量。在脂肪酸组成上, 补充 1%和 2%FBP 极显著降低了肉中饱和脂肪酸的比例, 而提高了总不饱和脂肪酸比例, 这可能与脂肪酸转运与代谢相关基因表达上调有关。各试验组间蛋白质及脂质代谢相关血清指标无显著差异, 但补充 1%和 2%FBP 显著提高了猪只血清 IgA 水平。以上结果表明, 日粮中适量补充 FBP 具有提高生猪生长性能的潜力, 一定程度改善了猪肉品质和营养价值, 提示 FBP 具有作为猪饲料纤维原料的潜在价值。

主要参考文献

[1]Desai M S, Seekatz A M, Koropatkin N M, Kamada N, Hickey C A, Wolter M, Pudlo N A, Kitamoto S, Terrapon N, Muller A. *et al.* A Dietary Fiber-Deprived Gut Microbiota Degrades the Colonic Mucus Barrier and Enhances Pathogen Susceptibility. *Cell*, 2016, 167, 1339-1353.e1321.

[2]Wang Z, Bai Y, Pi Y, Gerrits W J J, de Vries S, Shang L, Tao S, Zhang S, Han D, Zhu Z, *et al.* Xylan alleviates dietary fiber deprivation-induced dysbiosis by selectively promoting *Bifidobacterium pseudocatenulatum* in pigs. *Microbiome*, 2021, 9, 227.

* 作者简介: 徐川辉, 博士, 研究方向为动物营养与饲料科学, E-mail: xuchuanhui0620@163.com。

** 通讯作者: 邹志恒, 研究员, 研究方向为猪营养, E-mail: zouzh@jxaas.cn。

不同断奶体重对仔猪生长性能、血清生化指标、肠道健康的影响

李梦婷^{*}，郭亮，洪亮，蒲蕾，杨华，张建斌^{**}

(天津农学院动物科学与动物医学学院天津市农业动物繁育与健康养殖重点实验室，天津 300380)

本试验旨在研究不同断奶体重对仔猪断奶后 21d 生长性能、营养物质表观消化率、血清生化指标、肠道形态结构和肠道菌群结构的影响。选取 40 头健康、体况良好的相同胎次、相同出生日龄的断奶日龄为 21 天的(Landrace×Yorkshire) binary crossbred pigs 作为试验对象，设置 L (5.0-5.5 kg) 和 H (6.5-7.0 kg) 两个不同的处理组，每组设 5 个重复，每个重复 4 头。两组饲喂相同饲料，试验期为 21d。结果表明：高体重断奶仔猪断奶后 21 天内平均日增重显著高于低体重断奶仔猪 ($P<0.05$)，高体重断奶仔猪断奶后 21 天后 EE 和 CP 的营养物质表观消化率显著高于低体重断奶仔猪 ($P<0.05$)；高体重和低体重断奶仔猪断奶 21d 后 TP、ALP、ALT、CHO、GLU、IgM、TG、ALB、AST 和 UREA 含量均无显著差异 ($P>0.05$)；高体重和低体重断奶仔猪断奶 21d 后绒毛高度、隐窝深度和绒隐比均无显著差异 ($P>0.05$)；高体重和低体重断奶仔猪断奶 21d 后 Shannon 指数和 Simpson 指数均无显著差异 ($P>0.05$)，肠道菌群在门和属水平相对丰度均无显著差异 ($P>0.05$)。由此可见，断奶后 21d 内仔猪的生长性能与断奶体重的高低有关。

基金项目：天津市科技计划项目 (24ZYCGSN00620)；天津生猪产业技术体系创新团队 (ITPRS2023006)；天津市自然科学基金 (20JCQNJC00650)。

※ 作者简介：李梦婷 (2000—)，女，河北唐山人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学，E-mail: limengting0403@163.com。

※※ 通讯作者：张建斌，副教授，研究生导师，E-mail: zjbzwz@126.com。

β-葡聚糖对断奶仔猪生长性能和血清抗氧化、免疫及生化指标的影响

曾 韬^{1,2*}, 陈迎祥^{1,3}, 何金庆^{1,2}, 蔡文武^{1,2}, 杜陶然^{1,2}, 李平华^{1,2**}, 黄瑞华^{1,2***}

(1.南京农业大学动物科技学院, 江苏南京 210095; 2.南京农业大学淮安研究院, 江苏淮安 223322;

3.江苏美育畜牧科技有限公司, 江苏淮安 223001)

引言

生猪养殖模式逐步向现代化、集约化和规模化发展,断奶仔猪的生产性能对经济效益至关重要。然而,断奶应激引发的一系列问题,如采食量下降、营养不良、生长缓慢,以及肠道结构改变和免疫力降低,严重威胁仔猪健康^[1]。自2006年欧盟禁止在饲料中添加抗生素后^[2],我国也于2020年出台“禁抗”规定,推动无抗健康养殖。在此背景下,开发安全有效的抗生素替代品,如益生菌、中草药、天然多糖等,对缓解仔猪应激、提高养殖效益具有重要意义^[3]。β-葡聚糖作为一种具有免疫调节和抗感染活性的天然多糖,被认为在无抗饲料添加剂中具有潜力,但其最佳添加水平尚需确定。本研究旨在通过添加不同水平的β-葡聚糖,评估其对仔猪生长性能、血清抗氧化、免疫及生化指标的影响,为无抗健康养殖提供理论基础。

材料与方法

本研究选取了21日龄的杜×长×大三元杂交猪200头,随机分为4个处理组,每组5个重复,每个重复10头猪。日粮中β-葡聚糖添加水平分别为0、0.1%、0.2%、0.4%,由江苏美育畜牧科技有限公司提供。预试期3天,试验期38天。试验仔猪饲养管理严格按程序执行。试验期间,记录每日采食量及体重,用于生长性能指标测定。血清样品分别在第0天和第28天采集,用于生化、抗氧化和免疫指标测定。采用南京建成生物和武汉华美生物的试剂盒进行抗氧化和免疫指标测定,血清生化指标由淮安市生态新城福地路社区卫生服务中心检测。试验数据采用SPSS 23.0统计软件进行单因素方差分析,试验结果采用平均值±标准误(Mean±SEM)来表示, $P<0.05$ 表示差异显著。

结果与讨论

饲料中添加不同水平的β-葡聚糖对断奶仔猪的平均日增重、平均日采食量及料重比等生长性能没有显著影响。在抗氧化能力方面,试验第28天,血清中SOD活性和MDA浓度均随着β-葡聚糖添加水平的升高,呈显著线性升高($P<0.01$);血清中GSH-Px活性随着β-葡聚糖添加水平的升高,呈显著线性降低($P<0.01$)。当β-葡聚糖添加量为0.1%时,GSH-Px活性与对照组处于相同水平,但当β-葡聚糖添加量继续升高,GSH-Px活性下降。在免疫指标方面,饲料中添加不同水平的β-葡聚糖对断奶仔猪血清中IgA、IgG、IgM的浓度没有显著影响。血清生化指标也未受β-葡聚糖添加的影响。因此,在断奶仔猪饲料中添加0、0.1%、0.2%、0.4%的β-葡聚糖均可显著提高断奶仔猪血清中SOD活力,当β-葡聚糖添加量为0.1%时,GSH-Px活性与对照组处于相同水平,且当β-葡聚糖添加量继续升高,GSH-Px活性下降。综上,在饲料中添加0.1%β-葡聚糖可有效提高断奶仔猪抗氧化能力。本研究为β-葡聚糖在无抗养殖中的应用提供了初步数据,但最佳添加量和作用机制仍待明确。这些发现为进一步优化断奶仔猪日粮配方和提高养殖效益提供了初步依据。

主要参考文献

- [1]Pluske J R, Hampson D J, Williams I H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review[J]. *Livestock Production Science*, 1997, 51(1-3):215-236.
- [2]Baurhoo B, Phillip L, Ruiz-Feria C A. Effects of purified lignin and mannan oligosaccharides on intestinal integrity and microbial populations in the ceca and litter of broiler chickens.[J]. *Poultry Science*, 2007, 86(6):1070-8.
- [3]Seidavi A, Tavakoli M, Asroosh F, et al. Antioxidant and antimicrobial activities of phytonutrients as antibiotic substitutes in poultry feed[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2021, 29(4):5006-5031.

* 作者简介:曾韬,在读硕士研究生,研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 2022105015@stu.njau.edu.cn.

** 通讯作者:李平华,研究员,博士生导师,研究方向为猪育种与健康生产, E-mail: lipinghua718@njau.edu.cn.

*** 通讯作者:黄瑞华,教授,博士生导师,研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: rhhuang@njau.edu.cn.

A decorative rectangular border with a dashed line and floral motifs at the corners and midpoints of the sides.

疫病与防治专题

口述报告

适应肠道细胞的猪德尔塔冠状病毒对仔猪的致病性分析

石 迎^{1,2}

(1.上海市农业科学院畜牧兽医研究所/上海市农业遗传育种重点实验室, 上海 201106;

2.上海市种猪工程技术中心, 上海 201106)

引言

猪病毒性腹泻病是目前规模化养殖场普遍存在的群发性传染病, 对养猪业造成了巨大的经济损失。猪德尔塔冠状病毒(Porcine deltacoronavirus, PDCoV)是近年来新发现的引起猪腹泻的肠道病毒, 临床中常与其他腹泻类病毒混合感染, 且症状相似, 主要表现为腹泻、呕吐、脱水甚至死亡^[1]。复杂的病原构成及病毒的变异特性是导致腹泻频发且无法根治的一个重要原因^[2]。目前尚无有效疫苗可以使用, 此外, PDCoV 具有感染禽类、哺乳动物甚至人类的能力^[3, 4]。冠状病毒具有高度变异性, 其他同属的冠状病毒近年来引起的人类感染大流行也为研究者敲响了警钟。因此研究其致病性及致病机理不仅对猪养殖业至关重要, 还可为公共卫生安全提出预警, 保障人类健康。

材料与方法

试验毒株为适应 IPEC-J2 细胞的 PDCoV, 实验动物为 5 日龄仔猪, 健康状况良好, 使用实验室建立的 ELISA 方法检测 PDCoV 抗体阴性。首先用 ST 细胞分离培养的 PDCoV 感染 IPEC-J2 细胞进行适应性试验, 通过间接免疫荧光试验(IFA)检测 PDCoV 抗原, 然后绘制病毒生长曲线, 最后对适应 IPEC-J2 细胞的 PDCoV 对仔猪的致病性进行分析。

结果与讨论

本研究结果表明: 1) 经 ST 细胞分离培养的 PDCoV 可以感染 IPEC-J2 细胞, 可在细胞内检测到 PDCoV 抗原荧光信号, PDCoV 在感染 IPEC-J2 细胞后 48 h 达到增殖高峰。2) 适应 IPEC-J2 的 PDCoV 对仔猪具有肠致病性, 仔猪出现明显腹泻症状, 甚至出现死亡; 剖检可见明显的肠道病变, 病理组织学显示肠上皮细胞及肠绒毛病变, 并通过免疫组化对抗原进行定位, 发现 PDCoV 广泛分布于肠道上皮细胞。3) 肠道免疫细胞因子分析发现 PDCoV 感染仔猪后肠道 I 型干扰素表达上调, 同时激活体内 Th1 和 Th2 型肠道细胞免疫反应, 诱导感染仔猪产生免疫细胞因子发挥抗病毒作用。综上, 经 ST 细胞分离培养的 PDCoV 对 IPEC-J2 细胞具有较强的适应性, 并对仔猪产生较强的致病性。本研究为 PDCoV 致病机制及抗病毒免疫进一步研究奠定基础。

主要参考文献

- [1]Jung K, Hu H, Saif L J. Porcine deltacoronavirus infection: Etiology, cell culture for virus isolation and propagation, molecular epidemiology and pathogenesis[J]. Virus Research, 2016, 226: 50-59.
- [2]Koonpaew S, Teeravechyan S, Frantz P N, Chailangkarn T, Jongkaewwattana A. PEDV and PDCoV Pathogenesis: The interplay between host innate immune responses and porcine enteric coronaviruses[J]. Frontiers in Veterinary Science, 2019, 6: 34.
- [3]Boley P A, Alhamo M A, Lossie G, Yadav K K, Vasquez-Lee M, Saif L J, Kenney S P. Porcine deltacoronavirus infection and transmission in poultry, United States1[J]. Emerging Infectious Diseases, 2020, 26(2): 255-265.
- [4]Lednicky J A, Tagliamonte M S, White S K, Elbadry M A, Alam M M, Stephenson C J, Bonny T S, Loeb J C, Telisma T, Chavannes S, Ostrov D A, Mavian C, Beau De Rochars V M, Salemi M, Morris J G. Independent infections of porcine deltacoronavirus among Haitian children[J]. Nature, 2021, 600(7887): 133-137.

非洲猪瘟病毒通过提高细胞内谷胱甘肽水平抑制应激颗粒的形成并促进病毒复制

高寒^{*}, 孙彦阔, 张桂红^{**}

(华南农业大学兽医学院, 广东广州 510642.)

引言

非洲猪瘟病毒 (ASFV) 是一种 DNA 病毒, 已导致全球猪业遭受巨大的经济损失。迄今为止, 仍未有安全、有效的药物或疫苗可供临床应用。细胞内应激颗粒 (SGs) 是一种无膜复合物, 通常被认为具有抗病毒活性。根据此前的研究表明, ASFV 感染可以诱导细胞的 ROS, 而同时可以拮抗亚砷酸钠诱导产生的胞内 SGs^[1]。而 ASFV 如何调节 SGs 的确切机制仍不清楚。本研究阐明了 ASFV 能拮抗 SGs 的形成, 并升高细胞内还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平, 而被 ASFV 感染所上调的胞内 GSH 水平可以辅助中和 ASFV 感染产生的 ROS, 从而抑制胞内 SGs 的形成。此外, 我们通过使用 GSH 的抑制剂 BSO 和激活剂 NAC, 进一步地验证了 ASFV 介导的细胞内 GSH 上调能帮助病毒抑制 SGs 的形成并调控病毒复制。本研究还确认了 ASFV 对 GSH 的上调源于抗氧化转录因子 NRF2、GSH 合成和再生途径中的关键因子和 GSH 相关的铁死亡途径因子等的上调。此外, 本研究还发现 ASFV 能通过激活线粒体蛋白 AIFM1 来操控细胞内 GSH 的水平, 而这一调控也使得 ASFV 能够抑制细胞内 SGs 的形成, 从而为病毒复制编程优化的环境, 这些发现为我们深入了解 ASFV 提供了新的见解。

材料与方

本研究实验所用毒株为广东省早期分离的基因 II 型高毒力代表毒株 ASFV GZ201801_2 (GenBank Accession Number ON263123) 所使用细胞为猪肺巨噬细胞 (PAMs), 病毒感染相关试验均于生物安全三级实验室 (ABSL-3) 内进行。通过激光共聚焦、Western Blot 等试验方法探究 ASFV 感染对 SGs 的调控、对 ROS 以及胞内 GSH 水平的调控, 并利用 GSH 的激活剂 NAC、抑制剂 BSO 以及 si-AIFM1 等试剂探究 ASFV 感染、胞内 GSH 水平、胞内 SGs 的产生情况以及病毒复制本身几者之间的关系。

结果与讨论

作者前期的研究显示, ASFV 具有其编码基因 DP71L 非依赖的 eIF2 α 去磷酸化的能力, 这帮助 ASFV 感染维持细胞内 eIF2 α 介导的蛋白质翻译效率, 并且免于在感染细胞内产生 SGs, 从而帮助维持病毒复制效率^[1]。为进一步探究 ASFV 感染拮抗 SGs 产生的机制, 利用激光共聚焦和 Western Blot 等试验分析发现, ASFV 感染可下调宿主的 SGs 核心组分中具有抗病毒活性的 G3BP1 的表达。此外, 代谢组学结果显示 ASFV 感染上调胞内 GSH 的水平, 这恰好与我们的猜想相对应: ASFV 感染是否通过改变了细胞的氧化还原平衡从而中和了其诱导的 ROS? 进一步地, 抑制剂和激活剂的使用说明 GSH 的上调有助于 ASFV 对 SGs 生成的抑制并促进病毒复制。同时, 通过 Western Blot 等试验证明, ASFV 可以通过对 GSH 合成与再生途径的上调、GSH 介导的铁死亡通路因子以及对线粒体蛋白 AIFM1 的上调等分子机制调控胞内 GSH 的水平, 协助 ASFV 对 SGs 的拮抗, 从而为自身复制创造优化的环境^[2]。

主要参考文献

- [1]Gao H, et al. 2024. African swine fever virus maintains de novo global cellular protein synthesis and inhibits stress granules formation via dephosphorylating eIF2 α . *Veterinary Microbiology*. doi: 10.1016/j.vetmic.2024.109988
- [2]Gao H, et al. 2024. African swine fever virus inhibits stress granules formation and benefit viral replication via elevating intracellular GSH levels. (*Unpublished*)

^{*} 作者简介: 高寒, 博士, 研究方向为非洲猪瘟病毒调控应激颗粒的机制研究, E-mail: gh1@stu.scau.edu.cn.

^{**} 通讯作者: 张桂红, 教授, 博士生导师, 研究领域主要为猪主要病毒性疫病流行演化规律以及控制、净化与诊断技术的相关研究, E-mail: guihongzh@scau.edu.cn.

PDCoV 通过上调 MHC- I 表达逃逸 NK 细胞免疫的分子机制

刘翔^{*}, 尹灵丹, 刘平黄^{**}
(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

引言

猪德尔塔冠状病毒 (PDCoV) 是引起仔猪病毒性腹泻的主要病原之一, 对仔猪危害较大, 病死率在 40%—80%。此前已有研究表明 PDCoV 不仅能感染猪, 还可感染小鼠、禽类和牛及人。因此, PDCoV 致病性和免疫保护机制研究不仅对养猪业尽快发展而且对公共健康都非常重要。自然杀伤 (NK) 细胞是先天细胞免疫重要组成部分, 在抗病毒感染, 特别是急性病毒感染中发挥重要作用。然而, 关于 NK 细胞在猪肠道冠状病毒感染过程中的作用及病毒是如何逃逸 NK 细胞杀伤作用还知之甚少。因此, 本研究对 PDCoV 感染与 NK 细胞免疫的相互作用关系进行探索, 并进一步分析 PDCoV 感染调控 NK 细胞免疫的具体分子机制, 为抗病毒药物及疫苗研发提供一定理论基础。

材料与方法

本探究通过杀伤实验检测 PDCoV 感染与 NK 细胞免疫之间的相互作用关系。并进一步通过转录组测序、qPCR、流式细胞术、双荧光素酶报告实验和免疫组化等实验探究了 PDCoV 调控 MHC- I 基因表达的变化。使用 GraphPad Prism 7 分析数据并绘制图像。所有数据均进行至少三次独立的重复试验, 采用非配对 *t* 检验进行比较分析, $P < 0.05$ 表示存在统计学差异。

结果与讨论

NK 细胞免疫在病毒感染中发挥作用作用, 为探究 NK 细胞免疫在 PDCoV 感染中的相互作用及病毒如何拮抗其杀伤作用, 通过 NK 细胞杀伤实验发现, PDCoV 感染的靶细胞能够逃逸 NK 细胞的杀伤, 并且这一过程主要通过上调 SLA- I 所介导。我们发现 PDCoV 感染能够在体外及体内上调 SLA- I 的表达。其分子机制研究发现过表达和敲低实验发现 NLRC5 在 PDCoV 感染上调 SLA- I 分子表达的过程中发挥关键作用。我们进一步证明 RIG-I 诱导的 I 型 IFN 信号通路在 PDCoV 感染促进 NLRC5 及 SLA- I 类分子表达过程中发挥关键作用。同时, 我们证明 PDCoV 感染也能通过促进 IRF1 的表达来上调 NLRC5 及 SLA- I 类分子的表达。总之, 本研究发现 PDCoV 感染可以通过 RIG-I 介导的 I 型干扰素信号通路以及 IRF1 来促进 NLRC5 的表达, 进而上调膜表面 SLA- I 类分子的表达来逃逸了 NK 细胞的免疫反应。本研究首次揭示猪冠状病毒 PDCoV 通过上调 MHC- I 逃逸 NK 细胞免疫及其分子机制, 为后续抗病毒药物的开发以及 PDCoV 的防治提供新思路。

主要参考文献

[1]Liu X, Yin L, Xue M, Liu, P, *et al.* 2022. Coronavirus Porcine Deltacoronavirus Upregulates MHC Class I Expression through RIG-I/IRF1-Mediated NLRC5 Induction[J]. *Journal of Virology*, 96(7), e0015822.

^{*} 作者简介: 刘翔, 在读博士研究生, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学, E-mail: liuxiang941109@163.com。

^{**} 通讯作者: 刘平黄, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学, E-mail: liupinghuang@cau.edu.cn。

猪圆环病毒 2 型、3 型和 4 型病原学调查及遗传进化分析

陈燕虹^{1,2,3*}, 于学祥^{1,2,3}, 董翎^{1,2,3}, 何启盖^{1,2,3**}

(1.华中农业大学 动物医学院, 湖北武汉 430070; 2.华中农业大学 农业微生物资源发掘与利用全国重点实验室, 湖北武汉 430070; 3.华中农业大学 动物疫病诊断中心检测实验室, 湖北武汉 430070)

引言

猪圆环病毒 (PCV) 是已知的最小的 DNA 病毒, 已发现其四种基因型 PCV1~PCV4。目前已鉴定出 PCV2 和 PCV3 具有致病性, 其中 PCV2 可引起猪呼吸道疾病综合征 (PRDC)、猪皮炎与肾病综合征 (PDNS)、断奶仔猪多系统衰竭综合征 (PMWS) 等疾病^[1]。有研究表明感染 PCV3 发病猪主要表现出精神沉郁、厌食、腹泻、呼吸困难、消瘦和皮炎等症状^[2]。目前 PCV2 已进化出 8 种基因亚型 (PCV2a~PCV2h), PCV3 分为 3 种基因亚型 (PCV3a~PCV3c)^[3], 当前关于 PCV4 的报道还较少, 对其临床症状的了解还很有限。因此有必要持续监测猪圆环病毒 2 型、3 型和 4 型的流行情况及主流基因型分布, 本研究通过收集临床样品进行猪圆环病毒病原学检测, 对检测阳性样品进一步进行遗传进化分析, 为临床防控猪圆环病毒提供技术支持和有益数据。

材料与方 法

收集我国 2021 年 1 月—2023 年 12 月 384 个场地的 4764 份样品, 将临床样品研磨离心取上清液置于 -80℃ 保存。按照核酸提取试剂盒步骤提取病料核酸, 采用荧光定量 PCR 方法分别进行 PCV2、PCV3 和 PCV4 进行病原检测。进一步通过对阳性样品的 ORF2 基因序列进行测序, 利用 MEGA6.0 生物软件与参考毒株进行比对, 分析毒株基因亚型。

结果与讨论

目前的样品数据显示如下结果。PCV2 在各地区样品中均有检出, 场核酸检出率为 53.19% (208/391), 样品核酸检出率为 23.17% (856/3693); PCV3 主要在西北地区检出率最高, 场核酸检出率为 45.05% (41/91), 样品核酸检出率为 17.98% (246/1368), 且发现样品阳性率逐年增加。本次调查还检出 PCV4 阳性样品 22 份, 场核酸检出率为 5.65% (20/354), 样品核酸检出率为 4.40% (22/500)。

本次从时间分布分析发现, PCV2 各个月份均有检出, PCV2 和 PCV3 在第三季度的检出率均为最高分别为 25.15% 和 22.86%。本次调查在 2021 年、2022 年和 2023 年 PCV4 的检出率分别为 0.40%、1.8% 和 2.2%。

不同养殖阶段检出情况分析发现, 在养殖场中各阶段猪只均可检出猪圆环病毒, 其中 PCV2 在育肥猪中检出率最高为 41.30% (121/293), PCV3 在公猪中检测率最高为 37.50% (6/16)。PCV4 各个阶段检出率显著低于 PCV2、PCV3, 其中保育猪的 PCV4 检出率最高, 为 8.06% (5/62)。

对各类样品统计分析, 可见猪组织样品中 PCV2 检出率最高为 39.12% (248/634), 其次为猪全血样品, 提示猪的组织样品和全血样品可作为较好的样品检测; 对于 PCV3 检测发现猪精液样品阳性率最高为 21.05% (4/19), 提示 PCV3 可能通过精液传播给母猪, 引起母猪繁殖障碍, 需加强对 PCV3 的监测。而 PCV4 阳性样品均来自猪组织样品。

检测中还发现存在混合感染情况, 混合感染率为 17.6%。其中 PCV2 和 PCV3 的混合感染最高为 13.6%, 并未检测到 PCV3 和 PCV4 混合感染的样品。临床上 PCV3、PCV4 多与 PCV2 混合感染, 且存在 PCV2/3/4 混合感染现象, 其感染率为 0.80%。

本研究共获得的 89 条 PCV2 ORF2 基因序列和 76 条 PCV3 ORF2 基因序列, 使用 MEGA6.0 生物软件与 PCV2 和 PCV3 参考毒株进行遗传进化分析。结果显示 89 株 PCV2 测序毒株包含 PCV2a、PCV2b、PCV2d、PCV2e 四种基因亚型, 其中 PCV2a 型 9 株 (9/89, 10.11%)、PCV2b 型 3 株 (3/89, 3.37%)、PCV2d 型 68 株 (68/89, 76.40%)、PCV2e 型 9 株 (9/89, 10.11%)。76 株 PCV3 测序毒株包含 PCV3a 和 PCV3c 两种基因亚型, 无 PCV3b 型。其中 PCV3a 型 40 株 (40/76, 52.63%)、PCV3c 型 36 株 (36/76, 47.37%)。本次调查结果显示, PCV2d 与 PCV3a 为本研究的主要流行毒株。

主要参考文献

略

* 作者简介: 陈燕虹, 在读博士研究生, 研究方向为预防兽医, E-mail: chenyanhong@webmail.hzau.edu.cn。

** 通讯作者: 何启盖, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物传染病, E-mail: he628@mail.hzau.edu.cn。

黄芪多糖调控 HP-PRRSV 致猪肺微血管内皮细胞功能障碍的糖萼机制研究

宋晓晓^{*}, 张倩, 胡格, 穆祥, 张涛^{**}

(北京农学院动物科学技术学院, 北京 1022062)

引言

微血管内皮细胞 (MVECs) 表面的糖萼不仅参与其大多生物学功能, 其受损也是病原体致 MVECs 功能障碍的起点, 这在流感病毒^[1]、新型冠状病毒^[2]等众多呼吸道病毒的致病机制已得到证明。已有研究表明, 高致病性猪呼吸与繁殖综合征病毒 (HP-PRRSV) 感染猪肺 MVECs 会破坏其糖萼^[3]; 中药多糖与糖萼在结构和功能上存在广泛共性, 黄芪多糖 (APS) 对受损糖萼有保护和改善作用^[4]。为了解 APS 对 HP-PRRSV 感染致猪肺 MVECs 功能障碍的调控作用, 及糖萼在其中发挥的功能, 本研究以 HP-PRRSV 感染体外培养猪肺 MVECs 模型, 分析了 APS 干预和肝素酶 III 降解糖萼时, MVECs 屏障功能和炎症反应功能的变化。

材料与方法

取 10 日龄仔猪肺组织, 采用胶原酶 II 型溶液消化和 CD31 免疫磁珠分选, 分离培养猪肺 MVECs; 采取猪颈静脉血, 分离外周血中性粒细胞。在 Transwell 板中建立 MVECs 单层模型, 以 HP-PRRSV JXA1 株感染, 及 100 μg/mL APS 和 50 mU/mL 肝素酶分别处理, 使用上皮细胞电阻仪测定跨内皮单层电阻, 采用 HRP 标记链霉亲和素法检测内皮单层渗透性, 及检测中性粒细胞跨内皮单层的迁移率及迁移后对大肠杆菌 K99 株的杀菌能力; 采用 Western blot、流式细胞术方法, 检测猪肺 MVECs 蛋白聚糖和糖链组分、PRRSV N 蛋白、VCAM-1 和 ICAM-1 的表达。

结果与讨论

HP-PRRSV 感染猪肺 MVECs 时, 细胞表达蛋白聚糖 HSPG-2、GPC-1、SDC-1 显著下降, 表达凝集素 LCA、DSA、PHA-E 配体糖链显著下降, 跨 MVEC 单层电阻显著降低, HRP 标记链霉亲和素通过 MVECs 单层的渗透率升高, 黏附分子 VCAM-1 和 ICAM-1 表达增加, 中性粒细胞跨 MVECs 单层的迁移率显著性增加, 跨 MVECs 迁移中性粒细胞的杀菌能力; APS 处理后, MVECs 内 PRRSV N 蛋白表达显著下降, HP-PRRSV 诱导 MVECs 屏障功能和炎症反应变化均被显著性减弱 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); HPA III 预先降解糖萼后再给予 APS 处理时, APS 的干预作用均被显著性降低 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。本研究表明, APS 对 HP-PRRSV 感染致猪肺 MVECs 屏障功能和炎症反应功能的障碍有显著性调控作用, 而其调控作用的发挥需要糖萼的存在。

主要参考文献

- [1]Kwok HH, Poon PY, Fok SP, et al. Anti-inflammatory effects of indirubin derivatives on influenza A virus-infected human pulmonary microvascular endothelial cells. *Sci Rep.* 2016, 6: 18941.
- [2]Zekri-Nechar K, Zamorano-León JJ, Reche C, et al. Spike Protein subunits of SARS-CoV-2 alter mitochondrial metabolism in human pulmonary microvascular endothelial cells: involvement of factor Xa. *dis markers.* 2022, 2022: 1118195.
- [3]Song X, Wu Y, Wu X, et al. Effects of highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome virus infection on the surface glycoprofiling of porcine pulmonary microvascular endothelial cells. *Viruses.* 2022, 14(11): 2569.
- [4]张志欢, 孙雄, 王兆丽, 等. 内皮糖萼损伤对黄芪多糖调控微血管内皮细胞分泌生物活性物质的影响[J]. *北京农学院学报*, 2021, 36(2): 78-82.

^{*} 作者简介: 宋晓晓, 硕士研究生, 研究方向为猪呼吸道病毒病的中兽医防治。

^{**} 通讯作者: 张涛, 教授, 硕士生导师, 研究方向为畜禽疾病的中兽医防治, E-mail: zhangtao@bua.edu.cn。

基于多组学数据鉴定对猪肺炎支原体感染发挥抗性作用的关键基因

汤晴晴^{*}, 李文玺, 布宇, 刘莹, 胡谢宗, 王培欢, 郑先瑞, 殷宗俊^{**}

(安徽农业大学动物科技学院, 安徽合肥 230036)

引言

猪支原体肺炎 (mycoplasmal pneumonia of swine, MPS) 是存在于世界各地的严重危害养猪业的一种常见的慢性呼吸道传染病。目前, 病理诊断、疫苗与抗生素药物研发等方面的研究往往难以根除肺炎支原体 (Mhp) 的感染, 亟待从分子水平上解释其遗传机制, 进而利用遗传规律进行抗病育种。本研究首先建立 Mhp 感染猪肺泡巨噬细胞 (3D4/21) 模型, 整合 RNA-seq、ATAC-seq 及 CUT&Tag 数据筛选可能在 Mhp 感染中发挥抗性作用的关键基因转录因子, 进一步通过分子生物学试验初步验证了关键基因及关键转录因子在 Mhp 感染中的作用, 为今后对该炎症临床治疗、炎症反应控制提供新的思路和手段。

材料与方

本试验首先探究了 Mhp 感染 3D4/21 的最佳浓度和时间, 然后利用 ATAC-seq、转录组测序以及 CUT&Tag 筛选对照组 (n=6) 及 Mhp 感染组 (n=6) 3D4/21 细胞中差异表达基因。对于筛选出的差异表达基因进行 GO、KEGG 分析, 并构建转录因子-靶基因调控网络图, 以寻找抗 Mhp 关键基因和转录因子。在细胞层面上, 通过构建关键基因过表达慢病毒载体, 慢病毒攻毒 3D4/21 后进行嘌呤药筛构建稳转细胞株, 并对细胞进行 Mhp 攻毒, 通过 RT-qPCR 和流式细胞术检测不同时间段的凋亡情况, 使用 CCK8 检测细胞的增殖情况, 通过 RT-qPCR 检测不同时间段的炎症相关基因的表达情况。

结果与讨论

(1) 本试验鉴定了可能在 Mhp 感染中发挥抗性作用的重要基因和途径包括: 膜联蛋白 A1 (annexin A1, *ANXA1*, lipocortin I) 和 *CD2AP* 与适应性免疫反应相关, *NRAS*、*EIF3E* 介导免疫调节细胞因子产生免疫抑制, *SNX2* 参与细胞内吞作用, 可对 Mhp 进行吞噬, 从而消灭部分侵入的 Mhp。*ADGRL1*、*ASB1* 参与细胞内信号转导, 与免疫失调有关, 能对 Mhp 做出及时的免疫反应。*TSC2* 激活 mTOR 和抑制自噬, 可用于 Mhp 感染的治疗。GO 富集分析发现, 感染组和对照组的差异基因大多富集在免疫蛋白调控相关的功能上。KEGG 富集分析发现, 差异基因多数富集在抗原递呈加工、细胞因子-细胞因子受体作用、趋化因子等信号通路上。进行转录因子-靶基因调控网络分析, 发现具有潜在调控作用的转录因子是 *BACH2*, *Jun*。*BACH2* 是属于 BTB/POZ 和 bZIP 家族的一种转录因子。它在调控免疫系统、细胞凋亡、细胞周期等生物学过程中发挥重要作用。

(2) 过表达猪 *ANXA1* 基因对 Mhp 诱导 3D4/21 细胞的增殖情况于 24-72h 显著升高, 抗凋亡相关基因 *BCL-2* 表达水平显著升高, 促凋亡 *Bax*、*caspase-9* 表达水平显著下降, 过表达猪 *ANXA1* 对 Mhp 诱导 3D4/21 细胞促炎相关基因 *IL-1 β* 、*TNF α* 表达水平显著下降, 而抗炎 *IL-10* 表达水平显著升高, 外源性抗原递呈功能相关基因 *CD86*, *TLR2* 表达水平也显著下降, 表明猪 *ANXA1* 基因可能在 Mhp 感染过程中能够起到抗炎和抗凋亡的作用, 有文献表明, *ANXA1-FPR2* 信号轴被认为具有抗炎, 扩展肺泡巨噬细胞的作用, 限制病毒复制, 并减弱发病机制的作用。本研究筛选出抗 Mhp 的关键基因并揭示了其作用机制, 为猪气喘病抗病性研究提供参考, 为猪的抗病育种工作提供了重要信息。

主要参考文献

略

^{*} 作者简介: 汤晴晴, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖, E-mail: 1761376460@qq.com。

^{**} 通讯作者: 殷宗俊, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种与繁殖, E-mail: yinzongjun@ahau.edu.cn。

解旋酶 DDX6 在 PRRSV 感染中的作用机制

熊倩^{*}, 赵静, 胡璇, 梁康丽, 陆小玉, 温贵兰^{**}

(贵州省贵州大学动物科学学院, 贵州贵阳 550025)

引言

猪繁殖与呼吸综合征 (Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS) 可引起怀孕母猪流产、死胎、呼吸衰竭以及高死亡率, 给养猪业带来巨大经济损失。研究表明, DEAD-box 家族蛋白通过充当病毒核酸传感器或调节下游信号转导参与抗病毒先天免疫调控。目前, 关于 DDX6 调控 PRRSV 复制及其机制的相关研究报道较少。因此, 本研究以 DDX6、PRRSV 为研究对象, 旨在探究在 PRRSV 在复制过程中, DDX6 与 PRRSV 相互作用机制。

材料与方法

试验材料为非洲绿猴胚胎肾细胞 (Marc145 细胞)、PAM-CD163 传代细胞系、PRRSV-BJ3 毒株、DH5 α 感受态细胞、真核表达载体 pCMV-Myc、真核表达载体 pCMV-HA 等。采用 T 克隆技术获得从江香猪和 Marc145 细胞源 DDX6 基因编码区, 构建 pCMV-Myc-pDDX6 和 pCMV-HA-N 真核表达载体, 采用实时荧光定量 PCR、Western blot、过表达和敲低技术等方法分析从江香猪不同组织中 DDX6 的表达情况与 PRRSV 感染后 DDX6 转录与翻译水平的变化, DDX6 对 PRRSV N 基因转录与翻译水平影响、过表达 PRRSV 病毒蛋白对 DDX6 mRNA 水平的影响。采用激光共聚焦、免疫共沉淀-质谱技术、明确与 DDX6 相互作用的病毒蛋白。

结果与讨论

本研究获得了从江香猪和 Marc145 细胞源 DDX6 编码区序列, DDX6 的 CDS 序列保守性较高; DDX6 在从江香猪不同组织 (骨骼肌、心、肾、脑、肠、肺、脾、血液、肝脏、淋巴结) 中广泛表达, 其中 DDX6 在淋巴结中的 mRNA 水平较高, 在骨骼肌的 mRNA 水平较低。本研究发现 PRRSV 感染 Marc145 与 PAM-CD163 细胞后, 细胞内 DDX6 的转录与翻译水平均明显降低。在 Marc145 或 PAM-CD163 细胞中过表达 DDX6, 均显著抑制 PRRSV 的增殖; 而敲低 Marc145 与 PAM-CD163 细胞内 DDX6 的表达, PRRSV 核衣壳蛋白 N 基因的转录与翻译水平则显著上调; 且这种对 PRRSV 复制的影响呈现剂量的依赖性, 研究结果表明 DDX6 与 PRRSV 有相互调节作用。通过 Co-IP 结合 LC-MS/MS 技术, 发现 PRRSV 核衣壳蛋白 N 可能与 DDX6 存在相互作用关系; 为进一步证实其互作关系, 本研究构建了 pCMV-Myc-pDDX6 和 pCMV-HA-N 真核表达载体, 共转染至 HEK293 细胞, 采用 Co-IP 与荧光共聚焦试验发现 DDX6 与 PRRSV 的 N 蛋白之间存在直接的相互作用。本研究表明 PRRSV 与感染细胞内 DDX6 存在相互作用, PRRSV 的核壳蛋白与感染细胞内 DDX6 存在直接作用关系, 研究结果为探明 PRRSV 致病机理与免疫逃逸机制提供新的思路。

主要参考文献

- [1] 李佳. 解旋酶 DDX21 和 DDX10 对 PRRSV 增殖的影响及其作用机制[D]. 华中农业大学, 2022.
- [2] Choksupmanee O, Tangkijthavorn W, Hodge K, Trisakulwattana K, Phornsiricharoenphant W, Narkthong V, Tulakarnwong S, Ngamphiw C, Tongsimma S, Chimnaronk S. Specific Interaction of DDX6 with an RNA hairpin in the 3'UTR of the dengue virus genome mediates G(1) phase arrest [J]. Journal of virology, 2021, 95(17): e0051021.

^{*} 作者简介: 熊倩, 在读硕士研究生, 研究方向兽医微生物学与免疫学, E-mail: 2847076295@qq.com。

^{**} 通讯作者: 温贵兰, 教授, 博士生导师, 研究方向为兽医微生物学与免疫学, E-mail: 524340732@qq.com。

APOBEC3F 在 PRRSV 感染中的作用机制

陆小玉^{*}, 胡璇, 田浪, 赵静, 熊倩, 温贵兰^{**}

(贵州大学 动物科学学院, 贵州贵阳 550025)

引言

PRRSV 给全球养猪业造成巨大经济损失。APOBEC3F 属于载脂蛋白 B mRNA 编辑酶催化多肽样蛋白 (apolipoprotein B mRNA editing enzyme catalytic polypeptide, APOBECs) 家族成员, 是 P-body 关键组分。APOBEC3F 与 PRRSV 之间的相互作用关系和具体作用机制尚待深入阐明。本研究聚焦于 APOBEC3F 与 PRRSV 相互用关系, 分析 APOBEC3F 在不同猪组织中的表达情况, 并探究在 PAM-CD163 细胞与 Marc145 细胞中 APOBEC3F 与 PRRSV 相互作用关系, 明确 APOBEC3F 抗 PRRSV 功能结构。旨在探明 APOBEC3F 与 PRRSV 病毒蛋白的互作机制。

材料与方法

试验材料为非洲绿猴胚胎肾细胞 (Marc145 细胞)、PAM-CD163 传代细胞系、PRRSV-BJ3 毒株、DH5 α 感受态细胞、真核表达载体 pCMV-Myc、真核表达载体 pcDNA3.1-5'flag-pAPOBEC3F、pcDNA3.1-5'flag-pAPOBEC3F 质粒等, 采用相对定量 qPCR 方法检测不同猪组织中 APOBEC3F 分子 mRNA 表达水平, 构建 APOBEC3F 不同结构域与 PRRSV 病毒蛋白的真核表达质粒, 采用 qPCR、Western blot、IFA、过表达与敲低技术, 分析 PRRSV 感染 PAM-CD163 和 Marc-145 细胞内 APOBEC3F 转录与翻译水平的变化, 过表达和抑制 APOBEC3F 表达对 PRRSV 增殖的影响、明确抑制 PRRSV 复制的 APOBEC3F 功能结构域, 通过激光共聚焦, 免疫沉淀-质谱联用 (IP-MS) 技术分析可能与 APOBEC3F 相互作用的 PRRSV 病毒蛋白。

结果与讨论

本试验研究结果发现 APOBEC3F 在猪组织中广泛表达, 在淋巴结和脾脏中表达量最高。本试验成功构建了 11 个 15 kDa 以上的 PRRSV 非结构蛋白真核表达载体 pCMV-HA-NSP1 α 、pCMV-HA-NSP1 β 、pCMV-HA-NSP2、pCMV-HA-NSP3、pCMV-HA-NSP4、pCMV-HA-NSP5、pCMV-HA-NSP7、pCMV-HA-NSP9、pCMV-HA-NSP10、pCMV-HA-NSP11、pCMV-HA-NSP12。本试验在 PAM-CD163 和 Marc-145 细胞中过表达 APOBEC3F 功能结构域, 感染 PRRSV, 分析 APOBEC3F 对 PRRSV 复制的影响, 结果发现 APOBEC3F 全长与 APOBEC3F 的 CD2 结构域可明显下调 PRRSV 的核衣壳 N 蛋白的转录与翻译水平。NSP1 α 、NSP1 β 、NSP5、NSP7、GP4、GP5、N 蛋白在 PAM-CD163 和 Marc-145 细胞中可下调细胞内 APOBEC3F mRNA 水平, 且上述病毒蛋白与 APOBEC3F 共定位于细胞质中。免疫沉淀-质谱联用技术分析结果表明 APOBEC3F 可能与 DDX6、MOV10、COX2、ATP5P0 分子存在直接相互作用关系, 推测 APOBEC3F 协同上述分子发挥抗 PRRSV 作用。研究结果表明 PAM-CD163、Marc145 细胞中 APOBEC3F 均具有抗 PRRSV 作用, 且 APOBEC3F C 端的 CD2 结构域是抑制 PRRSV 增殖的主要功能区, 研究结果为解析 APOBEC3F 抗 PRRSV 的作用机制研究提供了新的思路。

主要参考文献

[1]Cai H, Zhang H, Cheng H, Liu M, Wen S, Ren J. Progress in PRRSV Infection and Adaptive Immune Response Mechanisms[J]. Viruses. 2023;15(7):1442.

^{*} 作者简介: 陆小玉, 在读硕士研究生, 研究方向为兽医微生物与免疫学, E-mail: 3115159941@qq.com.

^{**} 通讯作者: 温贵兰, 教授, 研究生导师, 研究方向为兽医微生物与免疫学, E-mail: 52430732@qq.com.

壁报交流

食药同源真菌发酵复方中药对断奶仔猪生长性能、 腹泻及粪便菌群的影响

白长胜^{1,2*}, 田秋丰^{1,2}, 金振华², 刘秋瑾^{1,2}, 王欢^{1,2}, 王佳辉², 史同瑞^{2**}

(1.黑龙江省饲用中草药发酵工程技术研究中心, 黑龙江齐齐哈尔 161005; 2.黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

引言

现代化生猪养殖场常采用仔猪早期断奶技术, 由于断奶仔猪的消化系统和免疫系统发育不完全, 容易出现仔猪腹泻, 造成仔猪生长性能下降, 严重者可导致其死亡, 给养猪业带来较大的经济损失^[1]。生产中常添加抗生素对仔猪腹泻进行防治, 但是长期使用抗生素会增加病原菌的耐药性和药物残留, 也会损伤仔猪肝肾健康。因此, 寻找安全、高效、低残留的抗生素替代药物具有重要意义。中药具有多靶点、多功效等作用特点, 是较为理想的抗生素替代品之一。微生物代谢产生的各种酶类具有强大的生物转化能力, 利用其发酵中药可提高药效、降低毒副作用。食药同源真菌具有强大的降解木质素和纤维素的能力, 并且其主要活性成分多糖具有提高动物生长性能和饲料利用率、降低腹泻率、调节肠道菌群和机体免疫力等功能, 利用食药同源真菌发酵用药会更具理想效果^[2]。本研究以断奶仔猪为研究对象, 分析日粮中添加食药同源真菌发酵复方中药对断奶仔猪生长性能、腹泻率以及粪便菌群的影响。本研究结果有助于明确食药同源真菌发酵复方中药在断奶仔猪生产中的应用效果, 为进一步完善仔猪高效健康养殖提供参考依据。

材料与方

选用 54 头初始体重为 8.13 ± 0.43 kg、健康状况良好的 28 日龄三元(杜×长×大)断奶仔猪, 随机分为 3 组, 每组 3 个重复, 每个重复 6 头仔猪。对照组饲喂不含抗生素的基础饲料, 试验 I 组饲喂基础日粮+0.5% 不发酵复方中药, 试验 II 组饲喂基础日粮+0.5% 食药同源真菌发酵复方中药。预试期 5 d, 正式试验期 28 d。

结果与讨论

试验 II 组断奶仔猪的平均日增重极显著高于试验 I 组和对照组 ($P < 0.01$), 料重比极显著低于 $P < 0.01$; 试验 II 组断奶仔猪腹泻率和腹泻指数均极显著低于试验 I 组和对照组 ($P < 0.01$); 试验 I 组和试验 II 组断奶仔猪粪便中大肠杆菌数量均显著低于对照组 ($P < 0.05$), 乳酸菌数量均极显著高于对照组 ($P < 0.01$), 试验 II 组断奶仔猪粪便中乳酸菌数量显著高于试验 I 组 ($P < 0.05$)。本研究表明, 饲料中添加食药同源真菌发酵中药能够提高断奶仔猪的生长性能、降低腹泻率、改善肠道微生态环境, 其效果优于未发酵中药。

主要参考文献

[1] Bonetti A, Tugnoli B, Piva A, *et al.* Towards zero zinc oxide: feeding strategies to manage post-weaning diarrhea in piglets[J]. *Animals*, 2021, 11(3): 642.

[2] Gong L L, Meng F J, Hou Y C, *et al.* Purification, characterization, and bioactivity of two new polysaccharide fractions from *Thelephora ganbajun* mushroom[J]. *Journal of food biochemistry*, 2020, 44(1): e13092.

* 作者简介: 白长胜, 助理研究员, 硕士, 研究方向为菌种选育及微生物产品制备, E-mail: ninganren@163.com.

** 通讯作者: 史同瑞, 研究员, 研究方向为动物疾病防治, E-mail: systr@sina.com.

产房哺乳仔猪腹泻的发病特点与治疗原则

迂斌^{1*}, 颜运秋², 张玲玲¹

(1.浙江惠嘉生物科技股份有限公司, 浙江湖州 313000; 2.湖南农业大学动物医学院, 湖南长沙 410128)

2018年年初在广东、广西规模化猪场(2000头基础母猪以上)服务过程中,遇到不同日龄哺乳仔猪出现持续、反复的以呕吐、水样腹泻、脱水为主的症候的情况,结合以前在猪场实践经验,在严格按照治疗方案执行后猪群症状得以控制。总结案例解决情况,分享效果确切的治疗原则和步骤,供大家参考。

易感猪的日龄范围扩大,2日龄—20周猪均发病(包括哺乳母猪)哺乳仔猪的发病率和死亡率可高达100%。临床表现,呕吐,水样腹泻,其他症状不明显。疫苗免疫、反饲(强毒免疫)效果不好。复发间隔二十天后再次发生,有的猪场反复4次以上。持续时间长、可长达数月,最长可达半年。温度很高的情况下依然发生,7-8月份依然发生。母猪也会有轻微的腹泻症状和食欲减退。给养猪业造成巨大的经济损失。7日龄仔猪的高死亡率可高达100%,每头仔猪的直接饲料成本约260—300元;育肥猪推迟出栏(推迟出栏10—15天左右,育肥后期每天需要3kg饲料,1.5元/kg,每头损失45—68元),药费增加。

治疗原则:

实验室抗原检测和临床治疗并进,发病初期以流行病学调查、分析临床症状与病理剖检为第一要务,保温与消毒相辅相成,精心护理达到最大的治愈率。完善的生物安全体系的建立是最为重要的,建议参考惠嘉大动保绿色研究院母猪管理体系,通过“净养调治检”指导体系建设。

步骤:

发病单元首先要做好生物安全,以达到减少新的病例发生和减缓传播速度;尽最大可能确保无发病单元免受感染,加强无发病单元补料教槽和卫生工作;清洗母猪臀部要集中在母猪采食后一个小时,这时集中操作湿度大的工作,如洗母猪臀部、洗栏面;同时仔猪在吮吸一次奶水后,关到保温箱。发病栏位,母猪在采食后用固定器具集中收集剩料;联系有资质的实验室检测机构,马上进行检测抗原的工作;对有腹泻仔猪的病栏,暂时停止补料教槽;集中在料槽添加补液盐(温水稀释)。注:要做好料槽的清洗卫生和水温调控工作。视频:脱水严重,喂饮补液盐的仔猪。控制继发感染,左右两侧肌注:一次量恩诺沙星0.1mL/kg(规格10mL:0.5g)和维生素C注射液0.2—0.5g(规格10mL:1g),每天两次,连用2—3天,会起到很好的控制继发感染效果。对出现流脓、乳房炎、便秘的情况的母猪及时进行清宫+抗生素输液消炎+补充肠道营养综合处理。

对有蓝耳病原感染处于活跃期的猪场,紧急进行母猪保健;具体方案在母猪饲料添加泰万菌素(泰洛欣)150ppm和a-单月桂酸甘油酯(蓝可消)1000ppm,连加14天。起到遏制和净化母猪体内病原含量的作用。泰万菌素的味道对母猪的采食量会有一定的影响,停止添加后采食量马上恢复。

* 作者简介:迂斌,(1982-)黑龙江龙江人,大学本科,兽医师,惠嘉大动保技术服务总监,研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测,E-mail:13936628769@163.com。

集约化猪场三级洗消体系的构成

迂斌^{*}，李慧，张玲玲

(1.浙江惠嘉生物科技股份有限公司，浙江湖州 313000)

猪场生物安全体系建设是为了阻止或降低病原进入猪场以及传播的风险，保持并改善猪群健康。当前非洲猪瘟疫情形势严峻，非瘟野毒、非法疫苗毒与田间变异毒株并行，截止目前没有研发出任何安全有效的疫苗，猪场只有通过构建完善的生物安全体系、彻底消灭传染源、切断传播途径，才能实现非瘟等烈性传染病有效防控。接下来重点谈猪场洗消体系建设相关问题。

三级点检测预洗消→检测阴性(阳性则隔离 24 h)→中转→二级点→采样检测→泡澡消毒洗澡换衣→隔离 24 h)→采样检测→检测阴性→中转→一级点→洗澡换衣→隔离 24 h)→进入生活区；

三级点检测→三级 360°熏蒸消毒→检测阴性→中转→二级点→采样送检→二级物资消毒间→消毒→采样送检→检测阴性→中转→一级点→一级物资消毒间→消毒→入库；

三级食堂→二级消毒间→消毒→一级消毒间→消毒→办公区生活区→消毒间→消毒→生产区；

三级点检测→检测阴性→泡沫浸泡→清洗→消毒→开具洗消证明→洗消烘点泡沫浸泡→清洗→消毒→沥干→烘干→中转猪只；

三级点检测→检测阴性→泡沫浸泡→清洗→消毒→开具洗消确认单→二级污区外洗消→打料→消毒；

单元收集→分场收集→生产区铲车中转→环保区中转铲车对接→环保区中转铲车中转→化粪池(场内消纳此流程结束)→后二级铲车运转对接→后二级堆肥棚→后二级铲车运转→场外对接收运车；

单元收集→分场收集→生产区铲车中转→环保区中转铲车对接→环保区中转铲车中转→发酵床/堆肥棚(场内消纳此流程结束)→后二级铲车运转对接→后二级堆肥棚→后二级铲车运转→场外对接收运车辆。

严禁携带猪肉、牛羊肉、火腿肠、牛奶等违禁品，吃住全部在隔离宿舍内进行，严禁外出，随身衣服消毒水清洗晾晒，所吃食物以素食为主，禁止食用肉类食物。猪场二级点隔离宿舍隔离，彻底排空，并指定专人对隔离宿舍定期消毒，人员隔离期间做好记录以便备检。

所有人员检测必须按照检测标准执行，采样包含但不限于以下内容：头皮、手、衣服、鞋底、随身行李等，ASFV 检测为阴性后方可入场隔离，休班返场人员随携带物品均拆除外包装后，统一放到二级消毒熏蒸房内熏蒸 24 h 以上才可带入场内。

一级消毒点门卫人员必须彻底检查休班返场人员所带手机、钱包、钥匙等小物品，必须彻底的消毒(紫外线)，进场隔离前必须采样检测合格后方可进入隔离室。返场人员隔离时全部更换隔离服装由内至外全部更换。

^{*} 作者简介：迂斌，(1982-)黑龙江龙江人，大学本科，兽医师，惠嘉大动保技术服务总监，研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测，E-mail: 13936628769@163.com。

复养场消毒清洗及检测评估

迂斌^{*}，李慧，张玲玲

(浙江惠嘉生物科技股份有限公司，浙江湖州 313000)

对于复养场来说，猪舍及设施携带的病毒很多，如按正常洗消程序 清洗—消毒—干燥的流程，很容易造成栏舍中检不到病毒，但复养很难成功的事实。因为在清洗过程中，病毒就随水流进入并残存于排污管道，而排污管道不可能做到全管道高浓度消毒水浸泡。

所以对复养场必须进行消洗而不是洗消。实践证明，3次消洗法（消毒—清洗—干燥—再消毒—再清洗—再干燥—第3次消毒—第3次清洗—第3次干燥）非常实用，可有效避免了栏舍环境中病毒进入污道等造成再次污染。

在消洗顺序方面，应遵循水往低处流的原则，先消洗料线，水线，再栏舍，最后污道。最大程度避免了栏舍环境被病毒二次污染的风险。

料线水线：拆卸所有料线，清洁后放置于 2%烧碱中浸泡消毒 24h。拆卸所有饮水器和接头等，放置于 2%烧碱中浸泡消毒 24h。蓄水池或水塔维修、清洗、消毒。水线组装好后，在蓄水池中添加敏感消毒剂，进行在管道中浸泡，用水循环冲 24h。清空所有饲料库存，用于喂鱼、家禽，严禁复产再用。深度清洗料仓、料塔，之后用烟雾熏蒸产品进行第一次处理，再拆除能拆卸的绞龙、管线等零件消毒清理。间隔 2 周进行第 2 次消毒处理。

水道：用敏感消毒剂对所有水线、饮水器消毒 24h，然后放清水清洗。

通风系统：风机、水帘、控制器、传感器等进行消毒、洗刷干燥。猪场无害化清理完，必须对猪场内外、猪舍内外的残留垃圾及剩余物资清理、清场。彻底清理、清场后，对整个猪场进行全面、系统、不留死角的多种方式的清洗、消毒处理。场内剩余原料、饲料、药品、木制品、橡胶垫、工具、垃圾等进行深埋或焚烧处理。然后再进行猪舍内外的消毒清洗。

猪栏：3 次消洗法。程序：使用 2%烧碱水充分泼洒，软化硬块，24h 后清洗；使用高压水枪将猪舍彻底洗干净。用白色纸巾擦拭，无污渍为合格，充分干燥后，用戊二醛溶液等彻底消毒，充分作用后冲洗干净。干燥。使用生石灰+烧碱混合成 20%的生石灰乳，彻底覆盖栏舍、墙面和地面，高锰酸钾和甲醛或商品化的烟熏剂熏蒸后，密闭 48h。自然干燥，或者加热干燥。空栏空舍，最大限度地接受自然阳光、空气。

猪舍内设备、器具：清洁和消毒所有设备。猪栏等铁制品等，进行火焰消毒。对可浸泡的器具采用戊二醛等浸泡 24h 消毒。将所有能拆卸的设备，如：猪栏、漏缝地板、产床隔离板、保温箱、手推车、柜子、架子、门窗、灯具移至室外消毒清洗后置于室外晾晒。

猪舍内外墙及通道、地面：先喷洒复合戊二醛后大扫除后涂抹上石灰浆，复产前重复两次。干燥后将所有小设备、门窗、地板、挡板、漏缝板移走，在地面喷撒 300 克/平米的生石灰，(可用专门的粉末喷撒设备提高喷撒均匀度)，也可以换成烧碱。

粪污及其管道也是重中之重：猪舍内外粪沟和舍内漏粪板下的粪尿都要进行消毒处理后清理，清空粪水池后进行消毒清洗。并对粪便等进行无害化处理。

^{*} 作者简介：迂斌，(1982-)黑龙江龙江人，大学本科，兽医师，惠嘉大动保技术服务总监，研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测，E-mail: 13936628769@163.com。

集约化猪场断奶母猪管理

迂斌^{*}，李慧，张玲玲

(浙江惠嘉生物科技股份有限公司，浙江湖州 313000)

饲喂哺乳期饲料，做到短期优饲，促进排卵的作用。少喂勤添原则，做到自由采食。(根据母猪的采食量添加相应的饲喂量，关注个体差异性，杜绝一次性饲喂过量的饲料)。

温度适宜，定期通风换气，为母猪创造良好的环境。夏季炎热时母猪散热困，母猪体温上升，主题物质代谢发生障碍，猪体明显失重，促排卵素减少，不利于母猪发情所以，一定要抓好防暑降温，加强通风，以营造好的凉爽环境。在冬季寒冷时，除了做好保温工作的同时，还要定期通风，以防猪舍内氨味过大。养产生了众多的应激因素，这些应激导致对猪繁殖力损失占到整个繁殖力损失的 30%以上，这也就说明，加强现代化养猪企业的科学化管理，减少各种应激因素，对于提高猪群繁殖力水平有着重要意义。保证充足的饮水。这在夏季尤为重要，母猪的饮水器应经常检查是否出水，现不出水，要及时修复坏的饮水器及水管，以免把栏舍弄湿，要节约用水，不可长流水。水管坏后应立即检修。卫生清洁干燥。卫生是保证猪只良好体况的重要环节，如果母猪圈舍内粪便较多，要及时清理干净。喂料前清扫走道、清扫内圈。冲圈时要避免将水冲到猪只身上，特别是在冬季，要保持圈舍的干燥，尽量减少冲圈次数。母猪粪便一天清理 3-4 次，以降低猪舍内氨气的含量，减少母猪呼吸道疾病的发生和肢体病的发生。勤观察，早治疗。要经常对所饲养的猪只做详细的检查，观察猪群的总体情况。清洁卫生时注意观察猪群排粪情况；喂料时观察食欲情况；休息时检查呼吸情况。发现病猪，特别是喂料的时候，个别猪只食欲降低、精神不振乃疾病的表现，要及时采取对症治疗措施。加强饲养人员的责任心，培养良好的职业道德。随着集约化、规模化猪场饲养的发展，单圈饲养量增加，饲养人员的劳动强度相应加大。因此，加强责任心、建立良好的人畜关系已成为现代化企业的要求。催情：催情是断奶母猪必不可少的工作之一，对于母猪的发情起着至关重要的作用。一般催情公猪要求健康、10 月龄以上、性欲旺盛、无恶习。每次公猪催情时人为辅助催情，进行五点刺激催情。

发情鉴定：发情鉴定最佳方法是当母猪喂料后半小时表现平静时进行。用人工查情与公猪试情相结合的方法。母猪的发情表现有：阴门红肿，阴道内有粘液性分泌物。食欲不振，日采食量下降、饮水增加。人为用手压背时静立不动、两耳竖起出现静立反应。用公猪试情时接受公猪爬跨。用手触摸阴户时有柔软感、温度高于其他部位，并有粘性。配种时机：母猪出现以上发情表现则可立即进行配种。经产母猪 PCAI 要在查情完毕后 1h 后进行配种。一般配种次数为 2.2—2.4 次。准备好断奶母猪区域栏位，进行彻底清洗。下床当天母猪进入配种舍前在料槽中添加 2 kg 饲料。下床完毕后，对断奶母猪进行整体健康监测，包括腿疼、流脓、不食、发烧等，并根据相应的症状进行治疗。每天对断奶区域进行至少两次的清洁，早上饲喂完毕后进行清洁一次，下午上班饲喂完毕后进行第二次清洁。清洁区域包括料槽、排料沟、过道以及粪道。

^{*} 作者简介：迂斌，(1982-)黑龙江龙江人，大学本科，兽医师，惠嘉大动保技术服务总监，研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测，E-mail: 13936628769@163.com。

集约化猪场引进后备猪的隔离详解

迂斌^{*}，李慧，张玲玲

(浙江惠嘉生物科技股份有限公司，浙江湖州 313000)

引言

隔离是指为了保证猪场原有猪群的安全，将新引进的后备猪在远离原有猪群的单独圈舍饲养，直至被确定没有携带疾病。这个阶段包括采血检测和临床症状的观察。是防止把新病原引进到易感猪群，隔离时间应该不少于 14 d，与生产猪群分开管理，采用全进全出的生产方式，让引进的种猪适应引进场的生产流程和生产管理。降低引进种猪和原有猪群的死亡风险。

材料和方法

每个猪群，无论健康状况如何，都是病毒和细菌的携带体，在应激情况下，这些病原即可致病。病原的种类和数量，因猪群不同而不同。机体的免疫状态或抗体水平，也因猪群及所接触病原的强度的不同而不同。

为了维持原有猪群的稳定生产，引种计划要周全，并考虑以下因素：从具有相同或较高健康水平的猪场引种（如同源引种）。采取措施，减少应激。应激会降低机体的抗病力。隔离所有引进的种猪，以减少引进未知病原的机会。隔离期，要密切注意临床表现。对任何有发病症状的猪要立即进行适当治疗，治疗时间不少于 3 d。若怀疑为传染病，应通知种猪场，并让本场兽医作进一步诊断。隔离期，要密切注意临床表现。对任何有发病症状的猪要立即进行适当治疗，治疗时间不少于 3 天。若怀疑为传染病，应通知种猪场，并让本场兽医作进一步诊断。

结果与讨论

隔离舍与其他猪舍的距离要尽量远，不少于 50 米。这主要取决于管理制度、检测方案、生物安全预警、在每一批检测群中更新的数目、要预防的疾病，和你的兽医根据实际情况确定隔离舍的距离；隔离舍应该防止与其他猪只、圈养牲畜和野生动物的直接接触，尽可能在隔离舍周围建栅栏；隔离舍应该在整个猪场的下风向，有独立的水源和料线；粪便储存及排水带来的疾病传播风险应该被消除，隔离舍应该有自己独立的粪便处理设施；隔离舍应该为所有猪只提供清洁、干燥、舒适的休息空间；应为猪只提供新鲜、干净、易获得的饮水；

隔离舍应该有适当的保定设施，以方便采血检测和治疗；隔离舍应该有专用的设备及储存空间，这些设备包括靴子、衣服、刮刀、铁锹、水桶等；清除舍内所有的工具、粪便和饲料。这些东西的污染程度较高，对有效的清洗消毒造成干扰。彻底清洗所有设备的下表面。尽量将可移动的设备移到舍外，进行单独清洗。当清洗完料槽的内表面后，把它们翻转，料槽中就不会残存液体，以便地板更好地被清洗、消毒。用热的肥皂水进行彻底的清洗，最好用泡沫清洗剂高压清洗。然后用清水冲去所有残留物。用合格的消毒剂彻底消毒，包括设备的下表面。合适的空舍干燥期，这个要咨询兽医，根据实际情况确定。10 日龄引入后备猪，140 日龄转出；隔离舍应采用全进全出的饲养方式；确保隔离舍的生物安全制度至少和生产猪群的一样好；隔离舍最好有单独的饲养人员和设备，如果没有单独的人员负责隔离舍，那么隔离舍应该是每天工作的最后一站。

^{*} 作者简介：迂斌，(1982-)黑龙江龙江人，大学本科，兽医师，惠嘉大动保技术服务总监，研究方向为母猪健康管理、疫病监测与检测，E-mail: 13936628769@163.com。

多来源后备新建场猪繁殖与呼吸综合征的控制与思考

张振东^{1,2**}, 李铎^{2*}, 李超斯³, 闫才杰², 韩峰², 刘兆喜³, 周庆新³, 王尊民³,
黄律³, 方树河³, 胡玉龙³, 陈锴³, 樊爱华³, 李向东¹

(1.扬州大学兽医学院, 江苏扬州 225009; 2.江苏科技大学生物技术学院, 江苏镇江 212018;

3.勃林格殷格翰(中国)动物保健, 北京 100004)

安徽省某 2600 头规模化母猪场为达到快速满产状态, 连续从 6 个供种场引进大日龄后备猪, 混群饲养三个月后猪群表现出明显的咳嗽、采食量下降等临床症状, 分娩母猪所产木乃伊胎、死胎及弱仔的比例居高不下, 产房仔猪成活率低、断奶苗猪死淘率明显升高。通过生产数据及实验室检测综合诊断, 确诊导致该场出现异常的原因为猪繁殖与呼吸综合征病毒感染, 实验室 NSP2 及 ORF5 测序显示为 NADC30-like 毒株。为了迅速控制该疫情, 猪场快速组织成立了疫情控制项目组, 并制定生产、营养、兽医等多项综合管理措施, 同时采用定期复盘会议的方法以监督方案的实施与优化, 确保各项措施得到有效执行。经过两个月的持续追踪和实验室检测评估, 疫情得到了有效控制, 配种分娩率、窝均断奶数及窝均体重等生产成绩均大幅提升。本案例证明了以项目制进行多部门协同与综合管理的有效性, 为猪群健康管理及疫病现场防控提供了借鉴与经验。

※ 作者简介: 李铎 (1997-), 男, 硕士研究生, 研究方向为动物分子病毒学, E-mail, li15831216053@126.com; 李超斯 (1987), 男, 博士, 研究方向为猪疫病净化及田间流行病学, E-mail, lichaosi14@163.com. 李铎, 李超斯具有同等贡献。

※※ 通讯作者: 张振东 (1990-), 男, 博士, 副教授, 研究方向为动物分子病毒学, E-mail: zhangzhend90@126.com。

益生菌对仔猪肠道免疫调节的研究进展

林秀蔚^{*}

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 163005)

仔猪在断奶后容易发生肠道炎症,其中一部分原因是由于有益微生物菌群与肠道细菌病原体之间的平衡失调。仔猪容易受到大肠杆菌、沙门氏菌和产气荚膜菌等有害微生物的侵害。同时,抗生素的滥用导致耐药细菌逐渐出现,增加了仔猪肠道疾病的风险。

益生菌可以增强仔猪的肠道屏障功能,防止病原微生物的侵袭。研究表明,益生菌可以增加肠道黏膜的黏液分泌,增强肠道上皮细胞的紧密连接,减少致病菌的侵入。例如,双歧杆菌可以合成机体所需的一些维生素,促进矿物质的吸收,并在一定程度上增加肠道蠕动,促进排便,净化肠道环境。这些过程有助于增强免疫系统的功能,提高抗病力。

益生菌还可以调节仔猪肠道中的免疫细胞,提高免疫应答能力。一些具有免疫调节作用的益生菌可以影响肠上皮细胞(IEC)和免疫细胞的活性,从而调节肠道的免疫反应。例如,乳酸杆菌可以减少仔猪肠道中大肠杆菌和厌氧菌的数量,从而减少腹泻的发生。研究表明,仔猪补充双歧杆菌(AH1206)后,回肠中IL-10细胞因子表达增加,进一步增强了仔猪的肠道免疫力。

此外,益生菌还可以抑制一些病原微生物的生长,减少肠道内有害菌的数量。研究发现,益生菌可以产生抗菌物质,如抑菌肽和有机酸,具有抗菌作用,并且可以竞争营养物质和附着位点,从而抑制病原微生物的生长。例如,植物乳杆菌(CJLP243)通过减轻肠毒性大肠埃希杆菌(ETEC)引起的腹泻,改善仔猪的健康状况和生长性能。研究还发现,添加更高浓度的植物乳杆菌与添加抗生素具有类似的效果,即在仔猪受到大肠杆菌感染后,下调促炎细胞因子的产生。

综上所述,益生菌通过改善肠道微生态平衡,增强肠道屏障功能,调节免疫细胞,抑制病原微生物的生长以及调节免疫相关基因的表达等方式,对仔猪肠道免疫功能起到积极的调节作用。随着研究的深入,我们还需要进一步探索不同情况下益生菌对仔猪肠道免疫调节的作用机制和效果。

主要参考文献

- [1]Mahapatro, M, Erkert, L, Becker, C Cytokine-mediated crosstalk between immune cells and epithelial cells in the gut. *Cells*,2021, 10(1), 111.
- [2]李海珍.双歧杆菌对哺乳仔猪生长性能的影响[J].*国外畜牧学(猪与禽)*,2021,41(03):25-26.
- [3]张娟,李福泉,陈张华等.植物乳杆菌对感染产肠毒素大肠杆菌断奶仔猪生长性能和细胞因子反应的影响[J].*中国饲料*,2020,No.648(04):41-45.DOI:10.15906/j.cnki.cn11-2975/s.20200410.

基金项目:黑龙江省农业科技创新跨越工程农业关键技术科技创新重点攻关项目(CX23GG07);财政部和农业农村部:国家肉牛牦牛产业技术体系(CARS-37)。

^{*} 作者简介:林秀蔚(1996-),女,黑龙江佳木斯人,硕士,研究实习员,主要从事肉牛饲养管理与繁育的研究,黑龙江省齐齐哈尔市龙沙区合意大街2号,E-mail:lxw960521@163.com。

抗 PRRV N 蛋白纳米抗体抗病毒感染机制研究

陈旭, 段红, 赵加凯, 畅悦廷, 牛荟, 孙亚妮, 赵钦

(1.西北农林科技大学, 陕西 712100; 2.农业部兽用药物与诊断技术陕西科学观测站, 陕西 712100)

引言

猪繁殖与呼吸综合征(PRRS)严重危害全球养猪业的健康发展。弱毒疫苗免疫是该病防控的主要措施之一。然后由于病毒的持续变异, 导致现有的商品化弱毒疫苗并不能提供完全保护。因此, 仍需要开发 PRRS 新型的防控策略, 抗病毒药物的研发一直是该病防控研究的热点。目前主要集中在单克隆抗体、小分子药物、中草药及其提取物, 该类药物大多数能在体外抑制 PRRSV 复制, 然而在体内抗病毒验证疗效不佳。近年来, 纳米抗体被认为是一种很有前景的抗病毒药物, 尤其是针对呼吸道病毒。本研究基于前期筛选的抗 PRRSV 的纳米抗体, 将其与猪 IgG Fc 融合表达, 分析了其体内和体外的抗病毒效果。

材料与方法

本研究首先通过慢病毒转导试验构建胞内稳定表达抗 PRRSV N 蛋白的纳米抗体 Nb1 和 Nb2 的重组 MARC-145 细胞, 然后利用病毒感染试验, 分析能够抑制 PRRSV 复制的纳米抗体; 将具有抑制病毒复制活性的纳米抗体与猪 IgG Fc 融合表达, 动物感染试验验证融合蛋白体内抑制 PRRSV 复制的活性; 最后通过生物信息软件预测、点突变等技术鉴定纳米抗体识别 PRRSV N 蛋白的关键氨基酸位点, 并利用 N 蛋白结构预测以及阻断 ELISA 解析纳米抗体胞内抑制 PRRSV 复制的分子机制。

结果与讨论

免疫荧光检测显示成功构建了稳定表达 Nb1 和 Nb2 的重组 MARC-145 细胞系, PRRSV 感染重组细胞后, Western blot 和荧光定量 RT-PCR 结果显示, Nb1 可显著抑制病毒复制, 抑制效率达 100%。然后, 将猪 IgG Fc 与 Nb1 融合表达制备嵌合抗体 Nb1-pFc, PRRSV 感染 PAM 细胞后加入 Nb1-pFc, 结果显示其可显著抑制 PRRSV 的复制, 抑制率达 90%。随后, 动物试验证明, Nb1-pFc 在体内抑制 PRRSV 的复制, 仔猪被病毒感染后的成活率达 50%。对 Nb1 识别表位的精确鉴定后发现, PRRSV N 蛋白的第 105 位丝氨酸(S105)是与 Nb1 结合的关键氨基酸位点。N 蛋白二聚体结构预测发现, 该位点 S105 通过与 N 蛋白的第 97 位精氨酸(R97)结合形成二聚体。随后, 利用阻断 ELISA 检测发现, Nb1 可以阻断 N 蛋白二聚体的形成。因此, 基于上述发现, 我们认为 Nb1 通过与 N 蛋白的 S105 位氨基酸的结合阻断了其二聚体的形成, 进而阻断 PRRSV 的复制。本研究为 PRRSV N 蛋白在病毒复制中的作用提供了新的见解, 并为开发抗 PRRSV 药物提供了新的靶点。

PRRS 标记疫苗候选株的设计及其免疫效果的初步评估

赵加凯^{*}, 牛 荟, 刘思雨, 王 磊, 孙亚妮^{**}, 赵 钦^{**}

(西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨陵 712100)

引言

猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS) 是由 PRRSV 引起猪的一种繁殖障碍与呼吸系统的传染病, 是严重危害养猪业健康发展的重要疫病之一, 给全球养猪业造成严重的经济损失。目前, 弱毒疫苗免疫是针对 PRRSV 感染的主要防控措施, 但由于病原的持续演化, 导致其并不能提供高效的保护^[1]。因此, PRRS 一直是我国猪场需要重点净化的猪病之一, 然而现有的商品化 PRRSV 弱毒疫苗无法区分自然感染和疫苗免疫, 导致该病的净化举步维艰。本研究以前期鉴定的 PRRSV N 蛋白的抗原表位为基础, 利用反向遗传技术构建并成功拯救了该表位缺失的 HP-PRRSV SX-HD 株, 然后评价了其安全性和免疫保护性, 并且分析了其与前期建立的检测抗该表位抗体的竞争 ELISA 方法的鉴别检测效果。本研究将为 PRRSV 标记疫苗的创制提供材料基础及猪群中 PRRS 的净化提供技术支撑。

材料与方法

首先利用反向遗传技术构建了 PRRSV-2 SX-HD 感染性克隆, 并利用定点突变技术将 PRRSV-2 SX-HD N 基因 S105 突变为 PRRSV-1 N 基因的 M105, 转染至 MARC145 细胞进行拯救。采用传统连续传代致弱的方法, 将突变的病毒在 MARC-145 细胞上连续传代并分析其增殖和遗传稳定性, 测定子代病毒的滴度。制备标记疫苗, 评估疫苗的安全性和保护性。

结果与讨论

测序结果显示成功构建了 PRRSV-2 SX-HD 感染性克隆, 并且将 SX-HD N 基因 S105 突变成 PRRSV-1 N 基因 M105, 转染 MARC-145 细胞, CPE 观察和 IFA 检测后显示, 突变病毒被成功拯救。然后, 在 MARC-145 细胞上连续传至 120 代, 二代全基因组测序显示突变病毒无基因插入和缺失现象, 突变的位点仍存在。动物实验表明, 标记疫苗具有较高的安全性和免疫保护性。免疫攻毒和未攻毒组猪全部存活, 剖检猪未见明显病变, 肺组织病理学检测也未见异常。而仅攻毒组猪死亡 4 只, 剖检可见肺脏出血、淤血, 肺组织病理学检测出现渗出性肺炎和间质性肺炎。并且利用前期开发的能够检测 S105 表位的抗体的 cELISA 检测突变病毒免疫猪的抗体, 未检测到抗 PRRSV 抗体, 但是能够检测到仅攻毒组猪的抗 PRRSV 抗体。综上所述, SX-HD S105M-P120 毒株有望成为 PRRSV 标记疫苗研发的候选毒株, 与建立的配套的 cELISA 方法, 可较好的对疫苗免疫与自然感染进行鉴别诊断, 进而为 PRRSV 感染的净化提供材料和技术支撑。

主要参考文献

[1] Lu W H, Wei Z Y, Zhang G Q, et al. Complete genome sequence of a novel variant porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) strain: evidence for recombination between vaccine and wild-type PRRSV strains [J]. Journal of Virology, 2012, 86(17): 9543.

^{*} 作者简介: 赵加凯, 在读博士研究生, 研究方向为预防兽医学, E-mail: jiakaizhao3111@163.com。

^{**} 通讯作者: 赵钦, 教授, 博士生导师, 研究方向为预防兽医学, E-mail: qinzhaoy_2004@nwsuaf.edu.cn。

^{**} 通讯作者: 孙亚妮, 副教授, 博士生导师, 研究方向为预防兽医学, E-mail: sunyani@nwsuaf.edu.cn。

猪繁殖与呼吸综合征疫苗的研究进展

宋宇伦[※]

(黑龙江八一农垦大学动物科学技术学院, 黑龙江大庆 163319)

引言

猪繁殖与呼吸综合征, 俗称蓝耳病, 该病由猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRS) 引起, 可导致母猪出现繁殖障碍及仔猪出现严重呼吸道疾病。猪繁殖与呼吸综合征的主要感染途径为呼吸道, 空气传播、接触传播、精液传播和垂直传播为主要的传播方式, 病猪、带毒猪和患病母猪所产的仔猪以及被污染的环境、用具都是重要的传染源。目前主要依靠疫苗来预防和控制猪感染 PRRS。目前 PRRS 疫苗种类有灭活疫苗、弱毒疫苗、核酸疫苗等。本文针对这三种疫苗进行阐述。

1 灭活疫苗

灭活疫苗是指先对病毒或细菌进行培养, 然后用物理或化学方法将其灭活。PRRS 灭活疫苗的优点在于安全性好、无毒且容易储存运输, 但疫苗免疫时间长、接种剂量大、对仔猪免疫效果差等问题在一定程度上限制了 PRRS 灭活疫苗在实际生产中的应用, 因此研发新型疫苗成为行业重点。

2 弱毒疫苗

弱毒疫苗是指一种病原致病力减弱但仍具有活力的完整病原疫苗。弱毒疫苗接种后, 其病原微生物要在体内复制、增殖进而刺激机体产生抗体。PRRS 弱毒疫苗具有诸多优点, 例如相免疫力强、免疫效果好、产生毒性小、接种剂量小、在体内可以复制且保持长久免疫、抗体产生快等, 但同样也存在短板, 免疫后出现毒力返强、返祖、散毒等现象。

3 核酸疫苗

核酸疫苗属于一种新型疫苗, 是将编码某种抗原蛋白的外源基因直接导入动物体细胞内, 并通过宿主细胞的表达系统合成抗原蛋白, 诱导宿主产生对该抗原蛋白的免疫应答, 以达到预防和治疗疾病的目的。核酸疫苗成本低、制作简单、可以使机体产生全面的免疫反应, 但核酸基因对于机体而言属于外来物质, 可能会对机体本身的细胞造成损伤。

总结

随着生猪养殖行业飞速发展, 规模化、集约化的生猪养殖模式已成为必然, 因此对于猪场来说疫病的防控是重中之重。目前对于 PRRS 的预防主要以灭活疫苗和弱毒疫苗为主, 但由于两种疫苗存在各种短板, 因此针对灭活疫苗和弱毒疫苗的短板或将成为科研研究重点, 同时对新型疫苗的研制也迫在眉睫。

※ 作者简介: 宋宇伦, 在读硕士研究生, 研究方向为动物遗传育种与繁殖技术, E-mail: 1469443547@qq.com。

针对 11 种猪腹泻病原同时、高效检测的高通量靶向测序方法的建立

高广娟^{1,2*}, 王祎菲², 刘平黄², 沈张奇^{1,2}, 王少林^{1,2**}

(1. 中国农业大学三亚研究院, 三亚 572025; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

引言

当前我国猪场疾病频发, 其中腹泻病更是波及各个年龄段的猪, 而引起猪腹泻的病原复杂繁多, 难以防控, 包括细菌、病毒和螺旋体等, 且一般都不是单一病原感染, 而是多种病原混合或继发感染。当前兽医领域较为常用的检测方法有病原学和血清学检测, 但这类技术在具备操作简单的同时仍存在通量低, 检测结果停留在表层等短板, 无法对复杂混合感染及病原变异进行精确诊断。因此本研究的目的是在高通量靶向测序技术的基础上建立一种对猪腹泻病原的检测方法, 从而实现 11 种猪腹泻病原检测的广度和深度。

材料与方法

通过统计和分析选出能引起不同年龄猪腹泻, 且危害性大、经济损失较严重的 11 种病原(猪痢疾短螺旋体、艰难梭菌、产气荚膜梭菌、致病性大肠杆菌、胞内劳森菌、猪德尔塔冠状病毒、猪流行性腹泻病毒、猪轮状病毒、沙门菌、猪急性腹泻综合征冠状病毒、猪传染性胃肠炎病毒)。对每种病原选取的两个以上靶标基因设计 1-5 对扩增引物, 力求基因的全覆盖, 之后使用深圳华大智造公司特定的引物接头序列, 最终设计针对 48 个靶标基因的 97 对特异性引物组合。基于 MGISEQ-200 平台, 利用设计和制备的 panel, 对猪场样本如肠道组织和粪便等进行测序文库构建、DNB 制备与上机测序。

结果与讨论

构建的肠道组织和粪便样本测序文库浓度均符合质检要求, 制备的 DNB 浓度也符合 $\geq 8\text{ng}/\mu\text{L}$ 的质检要求。上机后的测序报告结果表明, 不同样本的标签均能被正确识别, 测序数据 $Q30 \geq 90\%$ 。阴性对照不满足扩增要求, 引物组特异性好; 阳性对照检测灵敏度可达 10—100 拷贝数。对样本测序数据进行深度分析处理, 结果发现多数猪腹泻病原靶标均有检出, 且引起猪腹泻的病原混合感染率高达 100%, 不同的样本感染情况具有一定差异。本研究成功设计检测 11 种猪腹泻病原的高通量靶向测序 panel, 并利用该 panel 对采集样本进行了测序文库构建、DNB 制备及上机测序, 实现检测样品中多种猪腹泻病原的同时检出, 为快速、精准诊断猪腹泻病原提供技术支持, 从而保障动物健康, 促进养殖业发展。

主要参考文献

[1] Wilkes RP. Next-Generation diagnostics for pathogens [J]. *Vet Clin North Am Food Anim Pract*, 2023, 39(1), 165-173.

* 作者简介: 高广娟, 在读博士研究生, 研究方向为兽医公共卫生, E-mail: g13803846005@163.com。

** 通讯作者: 王少林, 教授, 博士生导师, 研究方向为兽医公共卫生, E-mail: shaolinwang@cau.edu.cn。

猪腹泻病原共感染的免疫机制研究

程靖华^{*}, 陶洁, 李本强, 石 迎, 唐 攀, 焦嘉杰, 刘惠莉^{**}
(上海市农业科学院畜牧兽医研究所, 上海 201106)

引言

病毒性腹泻导致猪的高发病率和死亡率, 给养猪业造成巨大的经济损失^[1]。流行病学调查显示, 仔猪腹泻多由混合感染引起, 在仔猪腹泻样本中还能检测到 PEDV 与一种引起牛腹泻的病原体 BVDV 的混合感染^[1]。本研究建立了 PEDV 和 BVDV 共感染的细胞模型, 利用 TMT 标记联合 LC-MS/MS 方法, 并结合免疫学技术, 开展了猪腹泻病原共感染宿主研究。

材料与方法

本研究建立了 PEDV/BVDV 共感染的细胞模型, 利用 TMT 标记结合 LC-MS /MS 方法解析 PEDV/BVDV 单独感染和共同感染细胞的蛋白质组学特征, 对差异蛋白进行了 GO 注释和 KEGG 富集通路分析。进一步利用 western blot 和免疫荧光对共感染引起的免疫炎症通路 NF- κ B 信号通路进行深入研究。

结果与讨论

本研究在 PK15 细胞上建立了 PEDV 和 BVDV 共感染模型, western blot 和免疫荧光结果均显示两种病毒可以在 PK15 细胞中稳定生长。通过蛋白组学检测, 在 PEDV 和 BVDV 共感染细胞中鉴定出 1482 个差异表达蛋白 ($P < 0.01$)。根据与这些蛋白相关的通路的富集分析, PEDV 和 BVDV 同时感染诱导了胃肠炎通路极显著富集 ($P < 0.01$)。此外, PEDV 和 BVDV 共同感染显著激活免疫炎症相关的 NF- κ B 信号通路, 进而诱导炎性细胞因子的产生, IL-6、IL-8、IL-18、TNF- α 表达上调, 差异极显著 ($P < 0.01$)。本研究对引起仔猪腹泻病原共同感染的发病机制和调节机体免疫反应机制具有参考意义。

主要参考文献

[1] Bai QY, Xu L, Fu GH, et al. Establishment and monitoring analysis of fluorescence RT-PCR for detection of bovine viral diarrhea virus in swine[J]. Fujian Journal of Agricultural Sciences, 2017, 32(8): 828-832。

^{*} 作者简介: 程靖华, 副研究员, 研究方向为动物疫病的致病机制, E-mail: zero5cheng@163.com。

^{**} 通讯作者: 刘惠莉, 硕士生导师, 研究员, 研究方向为动物疫病的诊断和防控, E-mail: huilil@163.com。

猪流行性腹泻疫苗研究进展

张洋^{1*}, 欧云文^{1,2,3**}, 马春霞⁴, 任绍科¹, 潘琴¹, 邓书明¹, 翟佳佳¹, 杨山山¹
(1.开江县动物疫病预防控制中心, 达州 636250; 2.中国农业科学院兰州兽医研究所, 动物疫病防控全国重点实验室, 兰州 730046; 3.兰州大学动物医学与生物安全学院, 兰州 730000; 4.达州中医药职业学院, 达州 635000)

近几年,随着中国养猪事业高速发展,猪流行性腹泻(PED)已成为引起猪群腹泻的重要传染病,PED是由猪流行性腹泻病毒(PEDV)引起的,以腹泻、呕吐、脱水为特征的急性病毒性传染病。PED主要通过呼吸道和消化道传播,哺乳仔猪最易感,死亡率可高达100%,给养猪业造成了巨大的经济损失。PEDV是单股正链RNA病毒,具有4个主要结构蛋白、16个非结构蛋白、和1个辅助蛋白ORF3。自2010年以后,该病毒变异株传播范围不断扩大,流行趋势日益复杂,经典毒株(CV777)相关疫苗已无法提供有效保护。因此,开发更加安全、有效的疫苗已迫在眉睫。灭活疫苗安全性高,但需多次接种且保护效果不佳;弱毒疫苗免疫原性良好,但存在毒力返祖风险;亚单位疫苗不携带病毒其他蛋白结构,使用安全、价格便宜,但其免疫原性差;重组病毒活载体疫苗可诱导产生特异性免疫反应,但安全性不足;重组细菌活载体疫苗能够口服刺激机体黏膜免疫,并且载体具有佐剂作用,但其免疫效率不高;转基因植物疫苗安全稳定,但表达量低且研发周期长;核酸疫苗研发周期短、灵活性高,但安全性不高、外源基因易与宿主基因重组。随着相关研究的深入,各类疫苗研究已取得重要研究成果。笔者就PED灭活疫苗、弱毒疫苗、亚单位疫苗、重组病毒活载体疫苗、重组细菌活载体疫苗、转基因植物疫苗、核酸疫苗进行综述,以期对猪流行性腹泻病的防治和新型疫苗研发提供参考。

基金项目:四川省自然科学基金(24NSFSC3002);四川省科技计划资助项目(2023JDRC0126);达州市科技计划资助项目(22CYRC0016)。

* 作者简介:张洋, E-mail: ZY1763081692@163.com。

** 通讯作者:欧云文, E-mail: oyuw813@163.com。

高通量靶向测序实现 15 种猪病原的快速、精准检测

左扬^{*}, 刘园园, 韩军, 周磊, 王少林^{**}

(兽医公共卫生安全全国重点实验室, 中国农业大学动物医学院, 北京)

引言

多种病毒、细菌和其他病原单独或混合感染能引起猪产生多种临床症状, 甚至死亡, 给猪养殖业造成巨大经济损失。而病原的诊断方法通常为核酸检测、抗原检测等, 一般来说每种检测手段大多都是单一地针对某种病原, 尚不能实现多种病原同时快速、精准诊断, 并且大多数只是进行简单的病原基因诊断, 而不能在疾病诊断的基础上进一步检测出病原基因突变, 从而发现新的变异病原。因此, 本研究建立了一种能快速、精准检测 15 种猪病原的高通量测序方法, 并将其应用于患病猪的多种样本检测, 旨在为猪养殖场病原诊断提供新方法。

材料与方法

本试验基于 MGISEQ-200 平台设计了针对 15 种猪病原的高通量扩增子靶向测序 panel, 包括非洲猪瘟病毒、猪呼吸道与繁殖综合征病毒(北美型、欧洲型)、猪伪狂犬病毒、猪圆环病毒(2 型、3 型)、经典猪瘟病毒、口蹄疫病毒和猪流感病毒、副猪嗜血杆菌、猪多杀性巴氏杆菌、猪胸膜肺炎放线杆菌、猪链球菌、猪附红细胞体、猪弓形虫、猪鼻支原体和猪肺炎支原体等。每种病原包括 2—8 个靶标基因, 每个靶标基因设计 3—4 对扩增子。Panel 包含 151 对扩增子组成的特异性引物池, 通过 PCR 反应以及产物纯化, 再进一步构建扩增子测序文库, 最终通过高通量测序将该 panel 成功应用于患病猪的全血、血清、鼻拭子、咽拭子以及肺组织等样本的病原检测, 实现了 15 种猪病原的快速、精准检测。

结果与讨论

测序完成后生成一份总结报告, 报告显示测序质量高, $\geq Q30$ 的数据结果在 90% 以上, Barcode 能被正常识别, 所有样品均被正确区分。经生物信息学分析, 所有样本均检出 panel 的靶标基因, 颜色越深, 病原载量越大。靶标基因检出即对应病原检出, 混合感染率高达 96%。研究采用靶向扩增技术富集宏基因组中的靶标基因, 旨在实现快速、大量的对患病猪进行 15 种常见病原的同时检测。我们相信, 靶向测序将在猪的病原筛查中发挥重要作用, 并且该方法已成功应用于患病猪的血液、血清、肺组织、鼻拭子和咽拭子等样品, 同时也可以扩展到其他样本类型, 如唾液、痰液或其他宏基因组样本。为临床诊断、猪场疫病防控和生物安全提供有力支持。

主要参考文献

[1]Gołębiewski M, Tretyn A. Generating amplicon reads for microbial community assessment with next-generation sequencing. J Appl Microbiol. 2020, 128(2):330-354.

^{*} 作者简介: 左扬, 在读博士研究生, 研究方向为猪病原检测方法, E-mail: zy15901128739@163.com。

^{**} 通讯作者: 王少林, 教授, 博士生导师, 研究方向为药理与毒理学, E-mail: Shaolin.Wang@cau.edu.cn。

2023 年猪场临床疫病检测与分析

刘纪玉^{1*}，白东宁²，王 聪³，李相钊^{4**}

(1.山东环山农业有限公司，山东 青岛 266000；2.陕西省西安市动物疫病预防控制中心，陕西 西安 716100；
3.中牧实业股份有限公司，北京 100070；4.齐鲁动物保健品有限公司，山东 济南 250100)

为了了解 2023 年度猪场主要疫病流行情况，针对来自 2515 个猪场送检的 253510 份样品进行相关的抗原或抗体检测。其中检测抗原的猪场 1679 个，占比 66.8%，检测抗体的猪场 836 个，占比 33.2%。共涉及了 40 种病原，其中 33 种疫病有检出，涉及了 19 种病毒病，9 种细菌病，5 种寄生虫病，然后针对检测结果从猪场阳性率与样品阳性率、抗原和抗体水平等不同的维度进行相关的分析。

结合抗体与抗原检测结果分析看，猪口蹄疫 (FMDV)、猪瘟 (CSFV)、猪传染性胃肠炎 (TGEV) 等疾病防控相对较好，但需要重点关注以下几种疾病。

猪圆环病毒 3 型 (PCV-3) 与猪圆环病毒 2 型 (PCV-2)

PCV-3 临床检出率一直居高不下，但从临床症状上，PCV-2、PCV-3 比较相似，而且很多时候，这 2 种疾病很容易混合感染发生，因此当猪场发生类似猪圆环病毒 2 型 (PCV-2) 疾病，而 PCV-2 疫苗免疫程序相对合理的情况下，需要鉴别诊断是否为 PCV-3？而 PCV-2 在免疫商品化疫苗的大背景下，依然有较高的检出率，说明 PCV-2 是非常严重的，主要因为 PCV-2 污染面积大、猪群载毒量高的问题所致，很多猪场存在 120~140 d 转阳的情况，因此 PCV-2 疫苗在育肥猪强化二次免疫非常必要。

猪蓝耳病 (PRRSV)

自 2018 年 8 月非洲猪瘟暴发以来，猪蓝耳病 (PRRSV) 就一直就非常不稳定，导致猪场生产成绩相对较差，无论是母猪繁殖成绩，还是商品猪的成活率等指标均呈现大幅度下滑表现，这主要与猪场大规模引种、扩群等生产活动密切相关所致。而 2023 年猪蓝耳病类 NADC30 毒株 (PRRSV-NADC30 株) 的大量检出，加上猪蓝耳病类 NADC34 毒株 (PRRSV-NADC34 株)、高致病性猪蓝耳病毒株 (HP-PRRSV) 以及猪蓝耳病类 LV 毒株 (PRRSV-LV 株) 的流行，再加上美国流行的 1-4-4 毒株，随时有传入国内的风险，而且猪蓝耳病可以通过气溶胶传播，有易变异、易重组的特性，推测 2024 年猪蓝耳病的防控压力依然巨大，需要高度关注，全力防控，提高到与非洲猪瘟同等重要角度对待。

猪轮状病毒 (RV)

与猪场引种、扩群等活动密切相关，说明了该病污染面比较广，处于病毒快速扩散的阶段；从病原角度分析，因为轮状病毒血清型较多，加上商品化疫苗仅覆盖 G5 血清型，不能够全覆盖流行血清型，加上猪场免疫率并不高，因此防控的较差。依据轮状病毒 VP7 蛋白可分为 27 个不同的 G 型，按照轮状病毒 VP4 蛋白可分为 37 个不同的 P 型，而且不同区域，血清型也不一样，甚至同一区域，血清型也有很大不同，血清型分布复杂。而根据行业权威专家数据，以 G9 最多，G5、G4、G8 检出率也是相对较多，而商品化疫苗均是 G5 血清型，因此开发与流行毒株匹配的毒株商品化疫苗迫在眉睫，而包含 G9-G5-G4 等多价疫苗是不错的选择。

猪流行性腹泻 (PEDV)

2023 年，猪流行性腹泻 (PEDV) 临床检出率较高，从另一个角度也说明了大量存在带毒猪场，甚至潜伏感染猪场，如果管理跟不上，免疫不到位，随时可能引爆该病，作为腹泻类疾病危害性最大的一种病毒，因此防控工作坚决不能放松警惕，选择毒株匹配与有效抗原含量高的商品化疫苗，保证合适的免疫次数，充分发挥出疫苗的潜能，是做好 PEDV 防控的重要举措。

临床细菌性疾病大幅飙升

自国家开始推广限抗、减抗、无抗政策以来，细菌性疾病检出率大幅提高；33 种病原检出，其中 9 种细菌病；而且细菌病检出率排名前十的有 6 种，排名前十至前二十有 3 种 (见表 8)。

临床寄生虫类疾病需要特别关注

寄生虫类疾病检出率很高，排名前十有 3 种疾病，排名前十至前二十有 1 种；目前针对驱虫方面的防控方案相对不精细，导致寄生虫病检出率高 (见表 9)。

基金项目：山东省生猪产业技术体系 (SDAIT-08-18)。

* 作者简介：刘纪玉，男，硕士，高级兽医师；白东宁，女，硕士，兽医师，#为共同第一作者。

** 通讯作者：李相钊，高级兽医师，猪传染病预防与控制，E-mail: 491800961@qq.com。

基于纳米抗体检测 PRRSV 抗体通用型竞争 ELISA 方法的建立

畅悦廷^{1,2*}, 陈旭^{1,2}, 赵加凯^{1,2}, 牛荟^{1,2}, 孙亚妮^{1,2}, 赵钦^{1,2**}

(1.西北农林科技大学动物医学院, 陕西杨凌 712100; 2.农业部兽用药物与诊断技术陕西科学观测站.

陕西杨凌 712100)

引言

猪繁殖与呼吸综合征 (Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome, PRRS) 是由 PRRS 病毒 (PRRS virus, PRRSV) 感染引起繁殖障碍和呼吸道疾病的猪传染病, 给全球养猪业带来巨大的经济损失。目前检测 PRRSV 的国外 IDEXX ELISA 试剂盒在国内处于垄断地位, 价格昂贵, 并且国内检测 PRRSV 试剂盒的敏感性和特异性均没有 IDEXX ELISA 试剂盒好。因此, 基于识别 PRRSV N 蛋白共有抗原表位的纳米抗体自主研发通用型竞争 ELISA 试剂盒, 有助于该病的精确诊断。

材料与方法

选择识别 PRRSV N 蛋白共有抗原表位的纳米抗体, 将其进行串联, 构建二价抗 PRRSV N 纳米抗体与辣根过氧化物酶融合蛋白; 真核表达二价纳米抗体-HRP 融合蛋白和单价纳米抗体-HRP 融合蛋白, 以此作为竞争试剂进行比较, 筛选最佳竞争试剂; 原核表达 PRRSV-N 蛋白和蔗糖梯度纯化 PRRSV 病毒颗粒作为包被抗原, 进行比较, 筛选出最优包被抗原; 将最优抗原抗体进行组合, 优化反应条件, 确定 Cut-off 值, 评估通用型竞争 ELISA 方法。

结果与讨论

通用型二价纳米抗体-HRP 作为竞争试剂与纯化 PRRSV-1 (GZ11-G1) 病毒颗粒作为包被抗原, 建立通用型竞争 ELISA 方法, 敏感性达 1:320, 特异性好, 显著优于单价纳米抗体作为竞争试剂建立的 cELISA。二价纳米抗体与 HRP 融合表达作为竞争试剂, 提高了其敏感性和特异性。据相关报道, 生物素和亲和素具有高度亲和力, 结合迅速、专一、稳定和多级放大效应。纳米抗体标记生物素与辣根过氧化物酶标记链霉亲和素能够特异性结合, 放大检测信号。因此, 本研究将纯化 GZ11-G1 全病毒颗粒作为包被抗原, 将生物素和纳米抗体进行串联作为竞争试剂, 辣根过氧化物酶标记链霉亲和素 (SA-HRP) 作为二抗, 构建通用型竞争 ELISA 检测试剂盒。

宿主蛋白 NUDT7 参与 PRRSV 感染的机制研究

闫玉超^{*}, 黄金海^{**}

(天津大学生命科学学院, 天津 300072)

引言

猪繁殖与呼吸综合征(PRRSV)是一种典型的免疫抑制性病毒, 对全球养猪业造成严重危害^[1]。过氧化物酶体(Peroxisome)是一种在脂质和活性氧代谢中起重要作用的细胞器, 同时也是介导先天免疫机制的信号转导平台^[2]。过氧化物酶体基质蛋白 NUDT7 是一种辅酶 A(CoA)二磷酸酶, 能够介导 CoA 的断裂, 参与长链脂肪酸的 β 氧化、醚脂合成和胆汁酸代谢^[3]。因此, 本研究对 NUDT7 如何调控 PRRSV 复制进行了分析, 旨在探究 PRRSV 与宿主的互作关系, 为 PRRSV 的防控提供了新的见解。

材料与方法

本研究以猪肺泡巨噬细胞(3D4/21)为模型, 结合转录组测序确定 NUDT7 为后续研究对象。通过 qRT-PCR、Western blot 和免疫荧光等方法探究 NUDT7 对 PRRSV 增殖的影响。利用油红 O 和 BODIPY 染色明确 NUDT7 在 PRRSV 感染期间对宿主脂滴生成的影响。通过双荧光素酶和 Western blot 探究 NUDT7 在先天免疫方面的作用。

结果与讨论

本研究发现, PRRSV 感染导致 NUDT7 在 3D4/21 细胞中的表达量升高, 提示 NUDT7 在 PRRSV 感染过程中可能起到非常重要的作用。过表达 NUDT7 促进 PRRSV 增殖, 证明 NUDT7 正调控 PRRSV 复制。机制研究发现, NUDT7 显著抑制 VSV 诱导的 IFN- β 和 IFN 刺激反应元件(ISRE)报告基因的激活。过表达 NUDT7 显著抑制了 IRF3 磷酸化和抗病毒基因的转录, 包括 IFN- β , ISG15 和 ISG56。梯度过表达 NUDT7 后, GFP-VSV 病毒载量显著增加。与此同时, 在 PRRSV 感染的 Marc-145 细胞中也观察到类似现象。因此, NUDT7 抑制 IFN- β 和 ISGs 的产生, 负调控 I 型干扰素通路。此外, BODIPY 脂滴染色实验表明, 与对照组相比, PRRSV 感染显著促进脂滴的生成, 这与之前的研究结果一致。且过表达 NUDT7 能够显著促进脂滴数量。qRT-PCR 和 Western blot 检测脂代谢相关基因结果发现, NUDT7 显著促进了 PGC1A 和 PPAR γ 的表达。因此, NUDT7 通过促进脂滴生成, 从而促进 PRRSV 的复制。本研究揭示了 NUDT7 调控 PRRSV 复制的机制, 为 PRRSV 的防控策略提供了理论依据。

主要参考文献

- [1] LUNNEY J K, FANG Y, LADINIG A, *et al.* Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System [J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2016, 4: 129-54.
- [2] COOK K C, MORENO J A, JEAN BELTRAN P M, CRISTEA I M. Peroxisome Plasticity at the Virus-Host Interface [J]. *Trends Microbiol*, 2019, 27(11): 906-14.
- [3] VICKERS S D, SHUMAR S A, SAPORITO D C, *et al.* NUDT7 regulates total hepatic CoA levels and the composition of the intestinal bile acid pool in male mice fed a Western diet [J]. *J Biol Chem*, 2023, 299(1): 102745.

^{*} 作者简介: 闫玉超, 在读博士研究生, 研究方向为病毒与免疫, E-mail: 550674657@qq.com.

^{**} 通讯作者: 黄金海, 教授, 博士生导师, 研究方向为病毒与免疫, E-mail: jinhaih@tju.edu.cn.

宿主因子 PDCD4 限制 PRRSV 复制的机制

魏瑞平¹, 郭春和²※※

(1.中山大学生命科学学院, 广东广州 510006; 2.华南农业大学兽医学院, 广东广州 510640)

病毒作为专性寄生物, 进化出多种逃避宿主免疫防御的策略。操纵宿主蛋白酶体系统来降解特定的有害因子是一种常见的病毒对策。为了鉴定猪繁殖与呼吸综合征病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV) 劫持泛素-蛋白酶体系统降解的重要宿主蛋白, 我们利用蛋白酶体抑制剂 MG132 处理 PRRSV 感染的 Marc-145 细胞, 并进行定量蛋白质组学筛选鉴定。结果显示, 程序性细胞死亡因子 4 (Programmed cell death 4, PDCD4) 的表达水平被 PRRSV 强烈下调, 而 MG132 处理显著拯救了 PDCD4 的表达水平。进一步研究证实, PRRSV 感染诱导 PDCD4 从细胞核向细胞质易位, 病毒非结构蛋白 9 (Non-structural protein 9, Nsp9) 通过激活 Akt-mTOR-S6K1 通路促进细胞质中 PDCD4 的蛋白酶体降解。Nsp9 的 C 端结构域介导 PDCD4 的降解。至于 PDCD4 在 PRRSV 感染过程中的作用, 我们证明了 PDCD4 敲低有利于 PRRSV 复制, 而其过表达显著减弱 PRRSV 复制, 这表明 PDCD4 是 PRRSV 的宿主限制因子。在机制上, 我们发现 PRRSV 复制需要真核翻译起始因子 4A (Eukaryotic translation initiation factor 4A, eIF4A)。PDCD4 通过其两个 MA3 结构域内的 4 个位点 (E249、D253、D414 和 D418) 与 eIF4A 相互作用, 破坏 eIF4A 介导的 PRRSV 5'-非翻译区翻译起始, 从而抑制 PRRSV 感染。总之, 我们的研究揭示了 PDCD4 的抗病毒功能和病毒对抗 PDCD4 的策略。这些结果将有助于我们了解 PRRSV 采用的免疫逃避策略, 并为开发新的抗病毒靶点提供有价值的见解。

※※ 通讯作者: 郭春和, 教授, 博士生导师, 研究方向为 PRRSV 致病机理、病毒-宿主相互作用, E-mail: guochunh@mail.sysu.edu.cn。

PRRSV 感染中铁代谢调控及铁死亡机制的研究

李长艳^{*}, 黄金海^{**}

(天津大学生命科学学院, 天津 300110)

引言

猪繁殖与呼吸综合征病毒 (Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV) 的传播速度快, 发病率高, 致死率高, 是一种极易变异的免疫抑制型病毒, 严重威胁全球养猪业的发展^[1]。机体铁代谢稳态易在病原感染和炎症疾病期间被破坏, 而且铁代谢紊乱与细胞铁死亡的发生密切相关^[2]。病原体可诱导宿主细胞发生铁死亡, 影响宿主免疫应答水平, 促进其增殖或逃避宿主免疫监视^[3]。现有关铁代谢、铁死亡与病原感染之间的相互作用仍有待完全阐明。本研究探究了 PRRSV 感染后引起宿主细胞铁代谢异常, 并导致细胞发生铁死亡的新机制, 为 PRRSV 的防治提供新角度。

材料与方法

PRRSV 感染细胞的转录组测序分析发现铁代谢基因 STEAP3 表达显著上调, 并且部分与铁死亡发生相关的驱动基因、抑制基因和标志基因也存在显著变化。通过 qRT-PCR、Western Blot 等实验进一步验证基因变化程度, 利用 FerroOrange 对活细胞内的 Fe^{2+} 进行荧光成像, 并使用荧光探针 DCFH-DA 和 BDP 581/591 C11 检测宿主细胞 ROS 和脂质过氧化, 以表征宿主细胞铁死亡水平。通过柠檬酸铁胺和去铁胺以及铁死亡抑制剂、诱导剂的添加探究 PRRSV 感染导致的铁死亡对其增殖的影响。通过构建 STEAP3 的双荧光素酶报告基因质粒, 探究了 PRRSV 对 STEAP3 的转录调控机制, 并通过过表达 STEAP3、敲低 STEAP3、质谱、免疫荧光等实验方法探究了其在宿主细胞铁死亡发生中的作用和途径。

结果与讨论

转录组数据分析发现铁还原酶 STEAP3 在 PRRSV 感染后显著上调, 并伴随着胞内 Fe^{2+} 水平升高, 细胞出现铁死亡现象, PRRSV 的增殖受到抑制。通过柠檬酸铁胺和去铁胺的添加进一步说明胞内 Fe^{2+} 增多导致铁死亡, 并且抑制 PRRSV 增殖。质谱数据分析显示 STEAP3 与 STING 蛋白存在互作关系, PRRSV 感染后两者互作域的共定位增强, 且增加了 STEAP3 的内质网定位, 影响了 STEAP3 的多聚化, STEAP3 蛋白的铁还原活性加强, 胞内 Fe^{2+} 增加, 直接影响了宿主铁死亡水平。本研究阐明了 STEAP3 在 PRRSV 感染后造成的宿主细胞铁代谢失衡和铁死亡中的重要作用和途径, 从铁死亡角度为 PRRSV 的防御与治疗提供新思路。

主要参考文献

- [1] LUNNEY J K, FANG Y, LADINIG A, et al. Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System [J]. *Annu Rev Anim Biosci*, 2016, 4: 129-54.
- [2] HASCHKA D, HOFFMANN A, WEISS G. Iron in immune cell function and host defense [J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2021, 115: 27-36.
- [3] GAO J, WANG Q, TANG Y D, et al. When ferroptosis meets pathogenic infections [J]. *Trends Microbiol*, 2023, 31(5): 468-79.

^{*} 作者简介: 李长艳, 在读硕士研究生, 研究方向为病毒与免疫, E-mail: lichangyanlcy@163.com。

^{**} 通讯作者: 黄金海, 教授, 博士生导师, 研究方向为病毒与免疫, E-mail: jinhaih@tju.edu.cn。

猪繁殖与呼吸综合征病毒化学发光抗体检测试剂盒的研究

闫新博^{*}, 王新杰, 孙晓明, 王 琴^{**}

(北京亿森宝生物科技有限公司, 北京 100176)

引言

猪繁殖与呼吸综合征病毒 (*Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV*) 是引起母猪的繁殖障碍、流产、死产弱仔和仔猪高热、呼吸困难为临床症状的一种高致死性传染病病原, 严重危害了我国养猪业的经济。PRRSV 因其基因组缺乏复制矫正能力, 导致其突变率极高, 加之频繁发生的重组, 使得国内呈现多种毒株共同流行的复杂局面, 给我国猪繁殖与呼吸综合征的净化和防控带来了巨大的挑战^[1], 也对猪繁殖与呼吸综合征病毒的检测技术提出了更高的要求。本研究应用重组表达的猪繁殖与呼吸综合征病毒 N 蛋白和单克隆抗体, 优化反应条件, 研制了猪繁殖与呼吸综合征病毒的化学发光抗体检测试剂盒, 该试剂盒具有高敏感性和特异性, 临床检测更加准确。

材料与方

原核表达的猪繁殖与呼吸综合征病毒 N 蛋白, N 蛋白单克隆抗体, 利用 SDS-PAGE 和 Western-blot 检验重组 N 蛋白及单克隆抗体的反应性和特异性, 利用戊二醛法对单克隆抗体进行 HRP 标记, 将重组 N 蛋白作为包被抗原, HRP 标记的单克隆抗体作为酶结合物, 通过优化各反应条件和试验组分, 进行敏感性、特异性、重复性和稳定性验证, 研制猪繁殖与呼吸综合征病毒化学发光抗体检测试剂盒。

结果与讨论

利用原核表达技术制备的重组 N 蛋白, 通过 SDS-PAGE 和 Western-blot 验证其反应性和特异性, 该蛋白与猪繁殖与呼吸综合征病毒阳性血清有反应, 与猪圆环病毒 2 型、猪瘟病毒、猪伪狂犬病病毒和猪流行性腹泻病毒阳性血清均无反应。将重组 N 蛋白与佐剂混合后免疫 Balb/c 小鼠, 获得免疫细胞, 经过细胞融合和筛选, 获得可稳定分泌的抗 N 蛋白单克隆抗体, 该单抗与猪圆环病毒 2 型、猪瘟病毒、猪伪狂犬病病毒和猪流行性腹泻病毒抗原均无反应。利用重组 N 蛋白、酶标单克隆抗体和化学发光液建立的抗体检测技术, 通过优化各试剂组分, 研制了化学发光抗体检测试剂盒, 该试剂盒对猪圆环病毒 2 型、猪瘟病毒、猪伪狂犬病病毒和猪流行性腹泻病毒阳性血清均无反应, 对猪繁殖与呼吸综合征病毒标准阳性血清及其 1:1024 倍稀释液检测结果均为阳性, 证明该检测技术具有优秀的敏感性和特异性, 试剂盒批间、批内差异率均小于 5%, 重复性良好。本研究研制的化学发光抗体检测试剂盒, 应用发光液和化学发光分析仪, 放大检测信号, 使检测结果更加灵敏和准确, 符合养殖场对猪繁殖与呼吸综合征病毒抗体的检测需求。

主要参考文献

[1]焦守德, 张婧, 李平花, 等.2020—2023 甘肃猪繁殖与呼吸综合征病毒的基因遗传变异分析[J/OL]. 中国兽医科学.

*作者简介: 闫新博, 兽医师, 研究方向为兽医诊断制品, E-mail: yisenbao15@126.com。

**通讯作者: 王琴, 研究员, 研究方向为预防兽医学, E-mail: biohy@126.com。

GP5 和 M 蛋白的分子间二硫键促进 PRRSV 病毒样颗粒的分泌和细胞结合

雷昕诺^{1,2}, 蒋一凡¹, 余婉婷³, 陈修月¹, 秦艺文¹, 王乃东¹, 杨毅^{1**}

(1.湖南农业大学, 湖南长沙 410128; 2.江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300;

3.江西农业大学, 江西南昌 330045)

引言

猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 是导致猪繁殖与呼吸综合征 (PRRS) 的病原体, 严重危害全球生猪养殖业已超过三十年。GP5 和 M 是 PRRSV 的两个主要结构蛋白, 在病毒的附着、进入、组装和出芽过程中发挥关键作用。此外, 仅是 GP5 和 M 的共表达便可形成病毒样颗粒 (VLPs)。然而, 其中的机制尚未完全阐明。本研究以 VLPs 为工具, 旨在揭示 GP5 和 M 的互作在 PRRSV 病毒粒子分泌和细胞结合过程中的重要作用。

材料与方法

首先, 利用昆虫杆状病毒表达载体系统 (BEVS) 单独或共同表达 GP5 和 M, 通过密度梯度离心纯化分泌到培养基中的 VLPs, 并通过透射电子显微镜对 VLPs 进行观察。其次, 通过调整 GP5 和 M 的表达比例, 探究了 VLPs 的分泌特性。此外, 利用 BirA 技术验证 GP5 和 M 的互作, 并破坏两者氨基端的分子间二硫键探究其对 VLPs 组装和分泌的影响。最后, 通过间接免疫荧光分析 VLPs 与 MARC-145 细胞的结合。

结果与讨论

GP5 和 M 在 Sf9 昆虫细胞中共表达, 可成功组装形成 VLPs 并分泌到培养基中。免疫电镜证实了 VLPs 由 GP5 和 M 构成。VLPs 的分泌效率受到 GP5 和 M 表达水平的调控, 在等摩尔量表达时分泌效率最高。BirA 实验证实了在 Sf9 细胞中 GP5 和 M 之间存在相互作用。破坏 GP5 和 M 分子间二硫键的形成, 减弱了两种蛋白的相互作用, 也导致了 VLPs 分泌的减少。重要的是, 缺乏分子间二硫键导致 VLPs 失去了与 MARC-145 细胞结合的能力。总之, 本研究揭示了分子间二硫键是 GP5 和 M 的重要互作位点, 起到促进 VLPs 的分泌和细胞结合的关键作用; 此外, 还为 GP5 和 M 之间潜在互作位点的存在提供了有力证据。

主要参考文献

- [1]Lunney JK, Fang Y, Ladinig A, Chen N, Li Y, Rowland B, Renukaradhya GJ (2016) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System. Annual review of animal biosciences 4:129-154.
- [2]Mardassi H, Massie B, Dea S (1996) Intracellular synthesis, processing, and transport of proteins encoded by ORFs 5 to 7 of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Virology 221:98-112.
- [3]Snijder EJ, Dobbe JC, Spaan WJM (2003) Heterodimerization of the Two Major Envelope Proteins Is Essential for Arterivirus Infectivity. Journal of Virology 77:97-104.
- [4]Wissink EIJ, Kroese MV, van Wijk HAR, Rijsewijk FAM, Meulenberg JJM, Rottier PJM (2005) Envelope protein requirements for the assembly of infectious virions of porcine reproductive and respiratory syndrome virus. Journal of virology 79:12495-12506.
- [5]Wissink EIJ, Kroese MV, Maneschijn-Bonsing JG, Meulenberg JJM, van Rijn PA, Rijsewijk FAM, Rottier PJM (2004) Significance of the oligosaccharides of the porcine reproductive and respiratory syndrome virus glycoproteins GP2a and GP5 for infectious virus production. J Gen Virol 85:3715-3723.

2022-2023 年黑龙江部分地区猪繁殖与呼吸综合征病毒(PRRSV)流行与混合感染状况调查

姚 爽

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江 161000)

猪繁殖与呼吸综合征(Porcine reproductive and respiratory syndrome, PRRS)是猪繁殖与呼吸综合征病毒(Porcine reproductive and respiratory syndrome virus, PRRSV)引起的一种病毒性传染病,是猪病中最重要的传染病之一,其流行性复杂多样并常伴有混合感染情况。为了探索 PRRSV 在黑龙江地区的流行情况和混合感染情况,于 2022 年 5 月份至 2023 年 4 月份,在黑龙江哈尔滨、大庆、齐齐哈尔三个地区采集 929 份临床疑似 PRRSV 样品,采用 RT-PCR 扩增方法进行鉴定和混合感染检测分析。RT-PCR 检测结果显示 929 份样品中,有 298 份样品为 PRRSV 阳性,阳性率为 32.07%,二重、三重和四重混合感染率分别为 50.17%、19.48% 和 3.29%;不同生长阶段猪群的 PRRSV 感染程度差异较大,新生仔猪感染最严重 感染率为 34.96%;其次是妊娠母猪感染率为 28.33%。相对于育肥场和散养户,种猪场的感染程度较轻,三者的感染率分别为 35.63%、39.25% 和 18.96%。对不同毒株类型分析发现:高致病性毒株和经典毒株仍是主要的流行毒株,分别占毒株数的 65.59% 和 27.61%。研究揭示了黑龙江部分地区流行的 PRRSV 的流行性和感染情况,需要继续加强 PRRSV 监测,及时掌握 PRRSV 流行情况和遗传变异状况,以便为 PRRS 防控提供参考。

PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法建立

张 备^{*}, 薛沾枚, 金振华^{**}, 张国华, 王丽坤, 张艳, 李 焯, 张建胜, 刘秋瑾
(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

引言

长期以来, PRV 与 PRRS 在全球范围内广泛流行, 对养猪业造成了巨大的经济损失, PRV 与 PRRS 感染猪群后均可引发高热、母猪流产及呼吸困难等明显的临床症状^[1-3]。由于 PRRSV 病毒感染后会引引起患病猪只耳朵发绀呈蓝紫色的典型临床症状, 故 PRRS 又被称为“猪蓝耳病”^[1], 而 PRV 感染新生仔猪, 可出现典型的神经系统症状, 如尖叫、共济失调和角弓反张等, 若猪群中流行的 PRV/PRRS 无典型性症状出现, 临床诊断很难确诊^[2]。现有实验室诊断方法中最常见的是 PCR 方法, 针对 PRV 与 PRRS 单独的 PCR 诊断方法均有建立。由于两种病毒分别进行实验室诊断操作繁琐、费时且成本变高。因此, 本研究建立 1 种能够同时完成 PRV 与 PRRS 鉴别诊断 PCR 方法, 旨在为 PRV 与 PRRS 的鉴别诊断提供一种更加便捷、高效且低成本的检测方法。

材料与方方法

猪伪狂犬病活疫苗-维克伪 (TP 株)、猪流行性腹泻+猪传染性胃肠炎+猪轮状病毒 (G5 型) 三联活疫苗 (弱毒 CV 777 株+弱毒华毒株+NX 株) 均购买自哈尔滨维科生物技术有限公司; 猪乙型脑炎活疫苗(SA14-14-2 株), PRRS+CSFV 二联活疫苗 (TJM-92 株+C 株) 均购买自中牧实业股份有限公司产品; 样品采集自黑龙江省猪场, 共计 98 份。本研究分别以 PRVgB 基因序列(登录号 AF257079.1)与 PRRSV ORF2 基因序列(登录号 ASS36113.1)相应保守区为模板, 利用 Primer Premier 5.0 软件进行引物设计, 筛选退火温度接近且评分较高引物进行基因片段扩增及退火温度与时间优化, 而后进行敏感性、特异性和临床样品检测等试验。

结果与讨论

敏感性试验表明建立的 PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法敏感度较高; 特异性试验结果显示建立的 PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法仅对以上两种病毒有效, 对其他属病原无交叉反应; 临床试验表明 PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法高效可靠。以上结果表明本研究建立的 PRV 与 PRRSV 双重 RT-PCR 检测方法具有快速、准确、稳定等优点, 可为 PRV 与 PRRSV 鉴别诊断、快速检测以及实验研究等提供有效的技术方法。

主要参考文献

- [1]焦守德, 张婧, 李平花, 等. 2020—2023 甘肃猪繁殖与呼吸综合征病毒的基因遗传变异分析[J/OL]. 中国兽医科学, 1-10.
- [2]何松, 汤德元, 毛茵茗, 等. 猪伪狂犬病诊断方法与疫苗研究进展[J]. 动物医学进展, 2024, 45 (02): 95-100.
- [3]马国祥, 曹丽艳, 张娟, 等. 猪伪狂犬病病毒 gB 蛋白单克隆抗体的制备及鉴定[J/OL]. 中国兽医科学, 1-9.

^{*} 作者简介: 张备, 硕士研究生, 研究方向为动物疾病诊疗, E-mail: 525279616@qq.com。

^{**} 通讯作者: 金振华, 硕士研究生, 研究方向为动物临床疾病诊断, E-mail: 18714317913@163.com。

白芍及芍药苷对猪中性粒细胞 LFA-1、Mac-1 及 p65 NF- κ B 表达的影响

黄安琦^{*}, 张旭日, 张溪园, 王恩慈, 郭雨楠, 李 姣, 姜代勋^{**}
(北京农学院动物科学技术学院/兽医学(中医药)北京市重点实验室, 北京 102206)

引言

临床猪的常见病如猪丹毒、猪肺疫、猪蓝耳病、猪链球菌病、猪支原体肺炎等均伴有炎症反应,表现出体温升高、呼吸困难、皮肤病变等症状,严重影响猪的生产性能。中性粒细胞是最重要的发挥了关键作用,但过度的炎症反应又会危害机体,因此,必须在炎症早期对其干预,才能取得较为理想的抗炎效果。近年来,白芍的抗炎作用受到广泛关注,前期研究表明,白芍和芍药苷可通过抑制 cAMP-磷酸二酯酶(PDE)活性发挥抗炎活性,但其进一步机制有待阐明。本研究旨在探讨白芍和芍药苷对猪中性粒细胞 LFA-1、Mac-1 表达的影响及有关的 p65 核因子 κ B (NF- κ B) 信号机制,为 cAMP-PDE 选择性中药抗炎药的使用提供参考。

材料与方

白芍提取物制备采用水提醇沉技术,猪中性粒细胞分离采用密度梯度分离法,LFA-1 和 Mac-1 表达检测采用流式细胞术,p65 NF- κ B mRNA 表达和磷酸化检测分别采用 Real-time qPCR 和 Western blot 技术。

结果与讨论

10、30、50 mg/mL 白芍提取物可抑制 A23187 诱导的中性粒细胞 LFA-1 表达和 PMA 诱导的中性粒细胞 Mac-1 表达 ($P<0.05$)。3、10 μ mol/L 芍药苷可显著抑制 A23187 诱导的 LFA-1 的表达和 PMA 诱导的中性粒细胞 Mac-1 的表达 ($P<0.05$)。30、50 mg/mL 白芍提取物可显著抑制 A23187 或 PMA 诱导的中性粒细胞 p65 NF- κ B 的 mRNA 表达 ($P<0.05$)。10 和 30 μ mol/L 芍药苷可显著抑制 A23187 或 PMA 诱导的 p65 NF- κ B 的 mRNA 表达 ($P<0.05$)。10、30 和 50mg/mL 白芍提取物可显著抑制 A23187 和 PMA 诱导的 p65 NF- κ B 磷酸化 ($P<0.01$)。3、10 μ mol/l 芍药苷可显著抑制 A23187 或 PMA 诱导的 p65 NF- κ B 的磷酸化 ($P<0.01$)。总之,cAMP-PDE 选择性中药白芍及芍药苷的抗炎机制与阻遏中性粒细胞 p65 NF- κ B mRNA 表达及磷酸化,进而抑制黏附分子 LFA-1 和 Mac-1 表达有关。

主要参考文献

[1]HUO Gui-Tao, HUO Yan-Ying, LI Jia, et al. Traditional Chinese Medicines Regulate Inflammation Through Signals Mediated by cAMP-phosphodiesterases[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics,2020,47(08):659-674.

基金项目:北京市基金-市教委联合资助项目(KZ202010020030)。

^{*} 作者简介:黄安琦(1999-),女,硕士研究生,研究方向中药抗炎机理,E-mail: 1002680628@qq.com。

^{**} 通讯作者:姜代勋,男,副教授,E-mail: dx_tcvn@126.com。

The research on the minimum immune dosage of the recombinant genetically engineered live vector vaccine against CSF and PRRS (rPRRSV-E2 strain) against CSFV

Fei Gao, Yifeng Jiang, Wu Tong, Guoxin Li, Liwei Li, Yanjun Zhou, Guangzhi Tong*

(1.Department of Swine Infectious Diseases, Shanghai Veterinary Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Shanghai, China, 2. Jiangsu Co-Innovation Center for the Prevention and Control of Important Animal Infectious Disease and Zoonosis, Yangzhou University, Yangzhou, China)

Background:

rPRRSV-E2 strain, the recombinant genetically engineered live vector vaccine against CSF and PRRS is beneficial to the effective control, eradication of CSF and PRRS, and can reduce the immune frequency, stress response of pigs, production and labor costs, and prevent two infectious diseases with one shot.

Objective:

This research aimed to determine the minimum immunity dosage of the rPRRSV-E2 strain against CSFV for pigs.

Materials and Methods:

30 healthy piglets with PRRS antigen and antibody negative were selected at around 4 weeks of age. These piglets were immunized with four different dosages of $10^{2.0}$ TCID₅₀ to $10^{5.0}$ TCID₅₀, with five piglets in each group. After 28 days of immunization, the immunized pigs and control pigs were challenged with CSFV. The results showed that all the positive control group pigs became sick, with 4 piglets dying, showing a morbidity rate of 100% and a mortality rate of 80%. In the immunization groups with $10^{2.0}$ TCID₅₀ and $10^{3.0}$ TCID₅₀, one pig developed the disease and died, while there was no morbidity or mortality in the immunization groups with dosages of $10^{4.0}$ TCID₅₀ to $10^{5.0}$ TCID₅₀, and the protective rate was 100%.

Conclusion:

Therefore, we determined that the minimum immunity dosage of rPRRSV-E2 against CSFV was $10^{4.0}$ TCID₅₀. Taking into account the time to produce antibodies, the production level, and the duration of viremia after challenge, the immunization groups with dosages of $10^{4.0}$ TCID₅₀ to $10^{5.0}$ TCID₅₀ were significantly better than the group with a dosage of $10^{2.0}$ TCID₅₀ and $10^{3.0}$ TCID₅₀. Therefore, the recommended dosage of rPRRSV-E2 used is $10^{5.0}$ TCID₅₀.

猪流感病毒诊断与防控新策略

朱元芳^{*}，张建胜，李 伟，王艳菲，姚美玲，林秀蔚，李青莹，王 蕊

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院，黑龙江 161005)

猪流感是由甲型流感病毒感染引起的一种高度传染性呼吸道疾病。猪流感是生猪生产中最常见的疾病之一。猪流感的病原体是猪流感甲型病毒，属于正粘病毒科。它有三种不同的基因型（H1N1、H2N1和H3N2），猪流感甲型病毒的基因组由8个负义RNA片段组成，并根据两种主要表面糖蛋白进一步分类为亚型：血凝素（HA）和神经氨酸酶（NA）。猪流感甲型病毒在猪养殖中很常见。生猪生产的集约化以及全球贸易加剧了甲型猪流感病毒的传播和人畜共患风险。猪流感发病一般表现为咳嗽、呼吸困难以及发热可能表现出精神萎靡、食欲不振、乏力的等临床症状。猪流感病毒对猪养殖行业产生了重大影响。猪流感甲型病毒感染的传播是通过接触患病动物发生的，特别是咳嗽、打喷嚏和鼻涕产生的气溶胶中含有病毒颗粒的分泌物。血凝抑制（HI）和神经氨酸酶抑制（NA）试验、逆转录聚合酶链反应（RT-PCR）和ELISA是检测SwIAV的最广泛使用的方法之一。由于猪流感具有高度传染性，一旦发现猪只出现上述症状，应立即采取隔离措施，防止疫情扩散。预防猪流感甲型病毒最有效的方法是接种疫苗。本文首先阐述了猪流感病毒的生物学特性、传播机制和致病机理；其次，详细介绍了猪流感病毒的多种诊断方法，包括病毒分离、血清学检测以及分子生物学技术；最后，探讨了猪流感病毒的防控新策略，包括加强饲养管理、疫苗研发与应用以及生物安全措施的实施并提出了针对猪流感甲型病毒引起的流感的防治建议。旨在提高人们对猪流感病毒的认识，促进猪流感的科学防控防控意识为猪流感甲型病毒防控提供借鉴和参考。

^{*} 作者简介：朱元芳，硕士研究生，研究方向为动物营养与繁育，E-mail: 1716227340@qq.com。

烟台黑猪 *DQA* 和 *DRA* 基因遗传多态和蛋白质特征 对仔猪腹泻的遗传效应分析

黄晓宇^{1*}, 杨巧丽¹, 刘丽霞², 滚双宝^{1**}

(1.甘肃省农业大学动物科学技术学院, 甘肃兰州 730070; 2.西北民族大学生命科学与工程学院, 甘肃兰州 730000)

引言

仔猪腹泻易造成仔猪脱水死亡, 严重危害养猪业的经济效益。目前有研究表明, 具有猪白细胞抗原 *SLA II* 类基因不同基因型的个体表现出对疾病抵抗能力的遗传差异^[1], 这种遗传差异是研究猪遗传育种和抗病性方面的基础。由于许多疾病往往受到多基因之间连锁遗传的影响。因此, 本研究对烟台黑猪 *SLA-DQA* 和 *DRA* 基因编码区遗传多态性和单倍型进行了分析, 旨在探究 *SLA-DQA* 和 *DRA* 基因的遗传变异及其基因型和单倍型对仔猪腹泻的影响。

材料与方 法

试验对象为甘肃省红古区饲养场 290 头烟台黑猪, 试验仔猪饲养管理和免疫水平相同, 按腹泻评分 0—3 级标准记录仔猪腹泻情况。采用 PCR-SSCP 和克隆测序分析 *SLA-DQA* 和 *DRA* 外显子多态性, 采用 PHASE 构建基因单倍型, 采用 SPSS 软件统计基因型和单倍型与仔猪腹泻的相关性, 利用 ExPasy 预测和分析蛋白质的理化性质。

结果与讨论

DQA 基因 exon 2 (20 SNPs)、exon 3 (9 SNPs) 和 exon 4 (3 SNPs) 分别检测到了 4、6 和 4 种等位基因, 5、8 和 7 种基因型。*DRA* 基因 exon 1 (2 SNPs)、exon 2 (2 SNPs)、exon 4 (7 SNPs) 分别检测 2、3 和 5 种等位基因, 3、4 和 8 种基因型。统计分析显示, 基因型极显著影响腹泻 ($P<0.01$)。*DQA* exon 2 基因型 AB、AC 和 AD, exon 3 基因型 BC 和 DD 和 exon 4 基因型 BC, *DRA* exon 2 基因型 AC 和 exon 4 基因型 CC、DD 和 AE 为腹泻易感性基因型, *DQA* exon 2 基因型 BB, exon 3 基因型 AB, exon 4 基因型 BB, *DRA* exon 2 基因型 AA 和 exon 4 基因型 BC 为抗性基因型。*DQA* 和 *DRA* 基因分别构建了 20 和 14 种主要单倍型 (频率>2%), 单倍型极显著影响腹泻 ($P<0.01$)。*DQA* 基因 Hap3、Hap18、Hap20 和 *DRA* 基因 Hap3、Hap11 为腹泻易感性单倍型, *DQA* 基因 Hap4、Hap15 和 *DRA* 基因 Hap14 则为抗性单倍型。本研究表明 *SLA-DQA* 和 *DRA* 基因的单倍型间核苷酸的连锁遗传显著影响仔猪腹泻, 为猪的抗病育种工作提供了重要信息, 将在猪抗病机制和多基因遗传病研究发挥重要的作用。

主要参考文献

[1]Liu L X, Zhao S G, Lu H N, *et al.* Association between polymorphisms of the swine MHC-DQA gene and diarrhea in three Chinese native piglets [J]. International Journal of Immunogenetics, 2015,42,208-215.

* 作者简介: 黄晓宇, 在读博士研究生, 研究方向为动物育种理论与技术, E-mail: huanghxy100@163.com.

** 通讯作者: 滚双宝, 教授, 博士生导师, 研究方向为猪遗传育种, E-mail: gunsb@gsau.edu.cn.

抗 ASFV p54 蛋白单价纳米抗体的制备及其中和病毒活性的初步鉴定

张润宇, 赵 钦

(西北农林科技大学, 陕西 712100)

非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 是由非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV) 感染引起的一种高度致死性猪传染病, 死亡率高达 100%, 严重危害全球养猪业的发展。然而, 目前仍没有防治该病的商品化疫苗和药物。ASFV 编码 170 多个蛋白, 仍有约 60% 病毒蛋白的功能未知。抗体是蛋白功能研究的重要工具材料。纳米抗体作为第三代基因工程抗体, 具有生产成本低、易于基因工程改造、细胞穿透性强和给药途径简单等优点, 已成为病毒生物学功能研究的总要工具之一。

ASFV p54 蛋白是病毒重要的结构蛋白且具有良好的抗原性, 是 ASFV 诊断技术和疫苗设计的主要靶标。前期实验室通过噬菌体展示技术筛选获得 16 株抗 ASFV p54 特异性纳米抗体, 但其能否中和病毒尚未研究。基于此, 本研究首先利用原核表达系统表达 16 株抗 ASFV p54 的单价纳米抗体, 经 SDS-PAGE 与 Western blot 分析结果显示, 16 株纳米抗体均以包涵体的形式表达; 进一步 ELISA 检测结果显示, 原核表达制备 16 株纳米抗体仍与 p54 蛋白特异性结合。然后, 利用 ASFV 感染 PAM 细胞分析上述纳米抗体的中和活性。将 0.1 MOI ASFV 与 25 μg 单价纳米抗体孵育后感染 PAM 细胞, 感染 36 h 后收集样品通过 Western blot 和 qRCP 检测病毒的量, 结果显示与无关单价纳米抗体对比, 8 株单价纳米抗体 Nb2-1、3-18、2-24、2-84、G-12、G-24、G-54 和 G-84 均具有显著的中和 ASFV 感染 PAM 细胞的活性, 且抑制病毒复制的效率均达 50% 以上, 其中 Nb2-1、G-54 中和效果最好, 可达 90%。综上, 本研究初步筛选鉴定了 8 株体外具有中和 ASFV 感染 PAM 细胞的单价纳米抗体, 为 ASFV p54 蛋白的深入研究奠定了基础以及为后续抗 ASFV 感染药物提供了一种新的策略。

宿主因子 eEF1G 调控 PDCoV 的复制

殷唯佳^{*}, 张永宁, 周 磊, 盖新娜, 韩 军, 杨汉春^{**}

(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

引言

近年来, 冠状病毒持续对动物和人类健康构成严重威胁。猪丁型冠状病毒 (PDCoV) 是近年来新发现的一种冠状病毒, 可导致新生仔猪腹泻甚至死亡, 严重危害养猪业的经济效益^[1]。PDCoV 的宿主范围广泛, 目前已证实鸡、犊牛等均可被感染^[2], 更重要的是, 在人类血浆样本中也鉴定到 PDCoV 毒株的存在^[3], 提示 PDCoV 的跨宿主传播风险不容忽视。对 PDCoV 与宿主之间相互调控作用的研究能够为 PDCoV 的跨宿主传播提供新的见解, 分析限制 PDCoV 复制的宿主因子将有助于开发新的抗病毒靶标, 为 PDCoV 及其他冠状病毒的控制提供新思路。本研究筛选并鉴定了与 PDCoV 关键复制酶非结构蛋白 12 (Nsp12) 相互作用的宿主因子 eEF1G, 并初步解析了 eEF1G 调控 PDCoV 复制的分子机制。

材料与方法

运用 IP-MS 筛选了与 PDCoV Nsp12 相互作用的宿主蛋白, 通过 Co-IP、pull down 验证了宿主蛋白 eEF1G 与 PDCoV Nsp12 的相互作用。利用 siRNA 干扰分析了宿主蛋白 eEF1G 对 PDCoV 复制的影响, 并利用 RT-qPCR 分析了 eEF1G 影响 PDCoV 复制的阶段。

结果与讨论

用表达 PDCoV Nsp12 的真核质粒转染 IPEC-J2 细胞, 经 IP-MS 共筛选出 94 个与 PDCoV Nsp12 相互作用的宿主蛋白, 对这些蛋白进行功能注释, 发现其主要与细胞凋亡、自噬、能量代谢、先天免疫等有关。随机选取 5 个宿主蛋白 LGALS1、eEF1G、HSPA6、LGALS3 和 MX2, 利用 Co-IP 试验分别验证其与 PDCoV Nsp12 的相互作用, 结果显示 eEF1G、LGALS1、HSPA6 与 PDCoV Nsp12 存在互作, 而 LGALS3、MX2 不与 Nsp12 互作。已有的研究表明, eEF1G 对 HIV-1、IAV、TBSV 等的复制存在调控作用, 因此进一步分析了 eEF1G 是否影响 PDCoV 的复制。以 eEF1G siRNA 转染 IPEC-J2 细胞, 利用 TCID₅₀ 测定、Western blot、免疫荧光检测 PDCoV 感染水平, 结果显示 siRNA 组的 PDCoV M 蛋白水平及病毒滴度与对照组相比在 12、24、36 hpi 时显著升高, 提示 eEF1G 抑制 PDCoV 复制。进一步利用 siRNA 干扰和病毒粒子的吸附、内化试验分析 eEF1G 影响 PDCoV 复制的阶段, 结果显示 siRNA 组的 PDCoV 吸附或内化水平与对照组相比无显著差异, 提示 eEF1G 不影响 PDCoV 的吸附和内化。最后, 利用 siRNA 干扰和 RT-qPCR 分析了 eEF1G 对 PDCoV 基因组 RNA 和亚基因组 mRNA 合成的影响, 结果表明, siRNA 组的负链 RNA 合成水平与对照组相比在 9、12、15 hpi 时显著升高; 正链 RNA 水平在 9、15 hpi 时显著升高, 而在 12 hpi 时无显著差异; 亚基因组 mRNA 水平在 15 hpi 时显著升高, 而在 9、12 hpi 时没有显著差异, 提示 eEF1G 影响 PDCoV RNA 的合成, 且主要抑制基因组负链 RNA 的合成。研究结果表明宿主蛋白 eEF1G 主要通过抑制 PDCoV 基因组负链 RNA 的合成, 从而负调控 PDCoV 的复制, 为宿主调控 PDCoV 感染的研究提供了新的视角。

主要参考文献

- [1]Woo, P.C.Y., et al., Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of and Avian Coronaviruses as the Gene Source of and. *Journal of Virology*, 2012. 86(7): p. 3995-4008.
- [2]Kong, F.Z., et al., Porcine Deltacoronaviruses: Origin, Evolution, Cross-Species Transmission and Zoonotic Potential. *Pathogens*, 2022. 11(1).
- [3]Lednicky, J.A., et al., Independent infections of porcine deltacoronavirus among Haitian children. *Nature*, 2021. 600(7887).

^{*} 作者简介: 殷唯佳, 在读博士研究生, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学, E-mail: bs20213050470@cau.edu.cn.

^{**} 通讯作者: 杨汉春, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学, E-mail: yanghanchun1@cau.edu.cn.

猪流行性腹泻病毒中和单抗的制备及表位鉴定

罗瑞新, 张永宁, 郭鑫, 周磊, 韩军, 杨汉春, 盖新娜
(农业农村部动物流行病学重点实验室, 中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

引言

猪流行性腹泻 (PED) 是由猪流行性腹泻病毒 (PEDV) 引起的高度接触性肠道传染病, 对哺乳仔猪有极高的致死率。2010 年之前鉴定的 PEDV 中和表位主要集中在其 S 蛋白中和抗原表位区 (COE) 内^[1]。但近期的研究显示 PEDV G II 亚群诱导猪体产生的抗体所识别的中和表位仅有少量分布于其 COE 区内, 提示 PEDV 变异株的中和表位发生了改变^[2]。目前尚未有研究揭示 PEDV S 蛋白变异与其中和表位改变间的具体联系。另一方面, 目前已鉴定出的 PEDV 中和表位多以原核表达的重组 S 蛋白为免疫原制备单抗获得, 其表位特征并不能真实地反映田间感染时猪体内的优势中和活性表位, 且多为线性表位。本研究以 PEDV 纯化病毒为免疫原制备鼠源中和单抗, 并鉴定其关键识别残基和交叉中和活性, 旨在探究 PEDV 流行毒株中和表位在选择压力下的变异特征。

材料与方法

PEDV G I a 亚群毒株 CHM2013、G II b 亚群毒株 BJ2011C 和 G II c 亚群毒株 SD2020、JX2020、SDLY2020 等均由中国农业大学农业农村部动物流行病学重点实验室 (以下简称本实验室) 分离保存; Vero CCL81、PK1 和 SP2/0 骨髓瘤细胞为本实验室保存。

以 BJ2011C 为免疫原, 利用 IFA 和中和试验筛选分泌中和活性单抗的杂交瘤细胞株; 并分析单抗与各毒株间的交叉反应性; 构建重组 S 蛋白截短体, 利用点突变扫描技术鉴定单抗识别的抗原表位区及其关键残基。

结果与讨论

筛选获得 2 株分泌中和活性单克隆抗体的细胞株, 命名为 1D1 与 2D10。单抗在 Vero CCL81 上对 BJ2011C 的 IC₅₀ 分别为 3.78 μg/mL (1D1) 和 6.51 μg/mL (2D10)。IFA 结果显示, 2D10 可识别本实验室所有 G II 亚群分离毒株及 CHM2013 株, 但 1D1 仅识别 G II 亚群毒株。2 株单抗对 CHM2013 和 G II c 亚群毒株均不具有或仅有极低的中和活性。它们识别的抗原表位均为构象型表位, 均位于 S 蛋白 CTD 区域 (480-645aa)。单抗 1D1 识别的关键残基为 S597, 单抗 2D10 识别的关键残基为 F521、F564 和 K614, 均位于 S 蛋白 COE 区。

以上研究结果表明, PEDV G II c 亚群毒株较 G II b 亚群毒株 COE 区的抗原性已发生较大变化, 考虑到 S1 片段的高突变率, 在未来的研究中, 避开 S1 上的优势表位区, 从非优势表位中寻找广谱性中和活性表位可能是更好的选择。

主要参考文献

- [1]CHANG S H, BAE J L, KANG T J, et al. Identification of the epitope region capable of inducing neutralizing antibodies against the porcine epidemic diarrhea virus [J]. Mol Cells, 2002, 14(2): 295-9.
- [2]KIRCHDOERFER R N, BHANDARI M, MARTINI O, et al. Structure and immune recognition of the porcine epidemic diarrhea virus spike protein [J]. Structure, 2021, 29(4): 385-392.

猪 A 群轮状病毒病原学调查及分离鉴定

易光远^{1*}, 雷铭楷¹, 谢东启¹, 李 鸿¹, 石青爱¹, 何启盖^{1,2,3**}

(1.华中农业大学动物医学院, 湖北武汉 430070; 2.生猪健康养殖协同创新中心, 湖北武汉 430070;

3.华中农业大学 动物疫病诊断中心, 湖北武汉 430070)

引言

猪轮状病毒 (Porcine rotavirus, PoRV) 属呼肠孤病毒科, 轮状病毒属, 是导致仔猪腹泻的主要病原, 引起的主要临床症状为黄色水样腹泻以及呕吐, 病猪常发育不良、增重受阻, 严重者会死亡, 给养殖业造成重大经济损失。

轮状病毒血清群和基因型复杂且彼此之间缺乏交叉保护力, 作为分节段 RNA 病毒又容易发生重组导致抗原漂变^[1], 因此, 进行轮状病毒相关的流行率调查以及分离鉴定研究, 对掌握病毒流行情况、为病毒学研究和疫苗研究提供病毒样本具有重要意义。

材料与方 法

本研究收集 2022 年 9 月至 2023 年 3 月来自 23 个省份 136 个猪场的各阶段腹泻病料共 195 份, 使用国标腹泻三联 RT-PCR 方法 (GB/T36871-2018)^[2] 检测病原核酸; 随后用阳性样品匀浆液接种 MA104 细胞分离病毒, 并对分离毒株进行传代, 稳定后通过蚀斑试验纯化病毒。得到纯化病毒后, 通过间接免疫荧光试验证明分离到病毒; 通过对其 VP4、VP7 基因测序并与标准毒株比对确定其基因型; 通过细胞实验测定病毒 TCID₅₀ (半数组织培养感染剂量), 检测其增殖能力; 通过一步法生长曲线测定其生长特性。

结果与讨论

来自 23 个省份的 195 份样品中共检出 17 份为轮状病毒阳性, 阳性检出率 8.72%, 在其中 6 个省份监测到轮状病毒阳性样品, 表明猪 A 群轮状病毒在我国多地存在流行。随后将 17 份轮状病毒阳性样品上清接种 MA104 细胞, 有 2 份样品在盲传第 3 代出现明显细胞病变 (CPE), 在光学显微镜下可观察到细胞聚集、肿胀、拉丝, 最后崩解脱落, 间接免疫荧光试验证明分离到了轮状病毒 (图 1)。对分离出的两株病毒进行 VP4、VP7 基因序列扩增后测序得到其核苷酸序列, 与标准毒株比对并构建遗传进化树, 根据进化树分型结果得出两株病毒基因型均为 G9P[23] (图 2, 图 3)。两株病毒分别来自 2 个省, 表明该基因型毒株在不同地区均有流行。将两株病毒传至第 6 代后测定病毒滴度, 并进行两轮空斑纯化, 纯化后两株病毒滴度均有提升, 分别达到 6.03logTCID₅₀/mL、6.29logTCID₅₀/mL。随后在 MA104 细胞上测定并绘制了病毒一步法生长曲线, 两株病毒均在感染后第 28h 达到最高滴度 (图 4)。本研究对我国 A 群轮状病毒流行率进行监测, 成功分离并鉴定两株病毒, 为猪轮状病毒的研究和防控提供了参考依据。

主要参考文献

- [1] Vlasova AN, Amimo JO, Saif LJ. Porcine Rotaviruses: Epidemiology, Immune Responses and Control Strategies[J]. Viruses, 2017;9(3):48.
- [2] 全国动物卫生标准化技术委员会. GB/T 36871-2018 猪传染性胃肠炎病毒、猪流行性腹泻病毒和猪轮状病毒多重 RT-PCR 检测方法. 北京: 中国标准出版社, 2018

基金项目: 国家生猪产业技术体系 (CARS-35) 为本研究提供资金支持。

* 作者简介: 易光远, 在读硕士研究生, E-mail: 997319436@qq.com。

** 通讯作者: 何启盖, 教授, 博士生导师, 研究方向为预防兽医学, E-mail: he628@mail.hzau.edu.cn。

表达非洲猪瘟病毒 p30 蛋白的重组杆状病毒构建与鉴定

陈晓雨^{1*}, 张晓玲¹, 于学祥², 何启盖^{1**}

(1. 华中农业大学动物医学院, 湖北武汉 430070; 2. 华中农业大学生猪健康养殖协同创新中心, 湖北武汉 430070;
3. 华中农业大学动物疫病诊断中心检测实验室, 湖北武汉 430070)

引言

非洲猪瘟 (African swine fever, ASF) 是由非洲猪瘟病毒 (African swine fever virus, ASFV) 引起的一种以高热、出血、血凝不良及脾脏肿大等临床症状为特征动物疫病^[1], 自 2018 年以来给我国养猪业造成了巨大的经济损失, 目前尚无有效的 ASF 疫苗, 受威胁地区主要通过流行病学监测、划定疫区扑杀受感染动物等措施进行防控。P30 蛋白在病毒感染早期出现, 是参与病毒内化到宿主细胞的必需蛋白, 可触发感染动物产生中和抗体, 是 ASFV 中抗原性最强的蛋白之一, 可作为开发 ASFV 诊断或疫苗的靶蛋白^[2]。因此, 本研究利用杆状病毒 Bac-to-Bac 系统获得了重组病毒 rBac-p30, 感染 Sf9 细胞可稳定表达具有良好活性的 p30 重组蛋白, 该蛋白与 ASF IgG 阳性血清和 IgM 阳性血清均能发生特异性反应。该蛋白的表达为 ASFV 疾病诊断制品的研制提供了原材料^[3]。

材料与方法

设计特异性引物将 ASFV p30 基因 CP204L 扩增并克隆至 pFastBac1 载体获得杆状病毒供体质粒 pFastBac-p30, 转化入 E. coli DH10Bac 感受态获得重组菌, 经蓝白斑筛选获得重组杆状病毒 rBac-p30。将 rBac-p30 转染到 Sf9 细胞中盲传 3 代, 直至细胞出现变大、变圆、死亡、脱落等典型病变, 收集细胞样品进行 SDS-PAGE、IFA 和 Western Blot 验证和蛋白纯化。

结果与讨论

本研究构建了表达 p30 蛋白的重组杆状病毒 rBac-p30, 感染 Sf9 细胞后出现了细胞直径增大、细胞核增大、细胞内出现颗粒体、细胞停止生长和细胞破碎脱落等典型病变, 以 p30 单克隆抗体为一抗进行间接免疫荧光分析可见特异性荧光, 以 His-tag 单抗、ASF IgG 阳性血清、ASF IgM 阳性血清为一抗进行 Western Blot 验证可见特异性条带, 离心收集感染 rBac-p30 的 Sf9 细胞上清, 纯化后经 SDS-PAGE 验证获得了大小为 35KDa 的 p30 分泌型重组蛋白。

基金项目: 国家十四五重点研发计划-ASFV 病原生态学及遗传演化规律非洲猪瘟 (2021YFD1800101-2)。

* 作者简介: 陈晓雨, 在读博士研究生, 研究方向为动物传染病的研究与防控, E-mail: chenxiaoyv@webmail.hzau.edu.cn。

** 通讯作者: 何启盖, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物传染病的研究与防控等, E-mail: he628@mail.hzau.edu.cn。

某存栏 2400 头 GP 场 PRRSV 发病快速稳定与净化案例

颜运秋¹, 汪镇南², 魏效祺²

(1.湖南农业大学, 湖南 410125; 2.湖南科赛安生物科技有限公司, 湖南 410125)

引言

猪繁殖与呼吸综合征(简称“蓝耳病”)是养猪业的“百病之源”,对养猪健康、效益和食品安全均产生巨大的影响。PRRSV 净化场的猪群健康水平高,能显著减少养殖过程中抗生素的使用,既可减少细菌耐药性的发生、又可保障猪肉食品安全。目前 PRRSV 的防控措施主要是免疫接种和药物保健等综合方案,但在应对当前主要流行的 PRRSV 类 NADC30、类 NADC34 毒株感染防控效果差,本案例旨在研究与应用《科赛安 4 招 8 步 PRRSV 净化方案,以下简称:科赛安净蓝 4 招 8 步》快速稳定、净化规模化种猪场 PRRSV 类 NADC30 毒株感染。

科赛安净蓝 4 招 8 步方案实施过程

存栏 2400 头 GP 场位于湖南省株洲市(以下简称为项目场),项目场配套分娩舍、配怀舍、后备舍、保育舍,采用连续生产模式,仔猪断奶后转入保育舍饲养一周左右时间进行售出。项目场为 PRRSV 阳性不稳定场,在《科赛安净蓝 4 招 8 步》方案实施前,猪场主要通过免疫 PRRSV 弱毒疫苗,同时每月使用泰万菌素或替米考星+月桂酸对猪群进行保健方式来防控蓝耳病,但未达预期效果,通过实验室监测仔猪睾丸阉割液、断奶仔猪尾根血式子等 PRRSV 核酸阳性率为 23%,所感染的 PRRSV 经基因测序为类 NADC30 毒株与 RespPRRS 毒株混合感染。项目场于 2024 年 1 月开始实施《科赛安净蓝 4 招 8 步方案》,关键措施如下,第 1 招:监测评估,通过 PRRSV 核酸检测以及抗体检测评估猪群感染情况;第 2 招:控制感染,种猪群每月添加科赛安 1 号 15 天,快速清除群体 PRRSV 病毒血症及组织带毒问题,同时猪群停止使用 PRRSV 疫苗免疫、泰万菌素、替米考星及月桂酸等保健药物;第 3 招:闭群管理,猪群、人员及工具等分区、分栋管理,减少流动与交叉;第 4 招:生物安全及消毒,完善生物安全管理体系,防止输入性感染问题,同时应用科赛安·洗消灭(低温泡沫消毒剂)对栋舍内外环境进行“消-洗-消”流程消毒,减少 PRRSV 因扬尘及气溶胶传播问题,动态清除环境中的 PRRSV。

结果与讨论

项目场通过实施《科赛安净蓝 4 招 8 步》方案 2 个月就实现 PRRSV 净化,在 2024 年 3 月 1 日至 6 月 12 日之间,每日采集种猪血液、唾液、死胎肺、脐带血、断尾液式子、睾丸阉割液、病弱仔猪肺、临断奶仔猪尾根血、环境人员等样品检测 PRRSV 核酸,共计检测样品数(混样后)约 2000 份,检测 PRRSV 核酸结果均为阴性。方案实施后各项生产指标均得到快速提升:

1、方案实施 1 月后与方案实施前情况对比母猪流产情况显著减少,由方案实施前的 8 头下降至 2 头。

2、方案实施 2 月后与方案实施前情况对比后备母猪利用率显著提升,由方案实施前的 50%/批提升至 85%/批、断奶重由 6kg/头提升至 7kg/头、分娩率由 79%上升至 92%。

3、方案实施 3 月后与方案实施前情况对比哺乳仔猪死淘率大幅降低,由方案实施前的 8.9%降至 3.8%、窝均产健仔数由 10.47 头/窝提升至 11 头/窝、7 天断配率由 84%提升至 90%、保育饲养期死淘率由 18%降至 1.4%。

项目场原来使用的 PRRSV 弱毒疫苗免疫+药物保健等方案实施 1 年后,猪群 PRRSV 感染仍处于阳性不稳定状态。项目场在实施《科赛安净蓝 4 招 8 步》仅 2 个月,便完成了 PRRSV 的净化,且各项关键生产指标均取得了稳步提升和维持。总之,本项目场在 PRRSV 类 NADC30 毒株感染不稳定状态下,通过使用《科赛安净蓝 4 招 8 步》方案快速实现 PRRSV 稳定及净化,取得了显著成果,为规模猪场应对 PRRSV 感染快速稳定与净化提供了宝贵的经验和参考。

川乡黑猪主要病毒性疫病抗体消长规律研究

曾 凯^{*}, 康润敏, 杨跃奎, 陈晓晖, 杨雪梅, 雷云峰, 杨 坤, 安 瑞, 李新玉,
吴学婧, 毛从剑, 肖 璐, 于吉锋^{**}
(四川省畜牧科学研究院, 四川成都 610066)

本研究利用 ELISA 抗体检测试剂盒对川乡黑猪免疫 CSF、PCV-2、FMD、PR、PED 疫苗和未免疫 PRRS 疫苗的母猪、仔猪其血清抗体的消长变化情况进行检测, 结果显示: 母猪免疫几种疫苗后仔猪均能检测出相应的母源抗体, 母猪空怀期免疫 CSF 疫苗保持 100% 抗体阳性率, 21 日龄, 仔猪母源抗体下降至最低点 77.7%, 一免后升高, 62 日龄再次下降至 83.3%; 母猪免疫 PCV-2 疫苗保持 100% 抗体阳性率, 仔猪抗体 14-28 日龄下降至 83.3%; 母猪免疫 FMD 疫苗保持 80% 以上的阳性率, 仔猪抗体 28 日龄降至最低 66.6%, 免疫后 49 日龄达 100%, 二次免疫后 100% 抗体阳性率保持至 210 日龄; 母猪免疫 PED 疫苗保持 100% 抗体阳性率, 仔猪抗体 21 日龄后快速下降至 28-35 日龄的 5.5%, 免疫后抗体水平上升缓慢, 62 日龄后至 210 日龄保持 61.1-83.3% 的阳性率; 母猪免疫 PR 疫苗后 gB 抗体保持 100% 抗体阳性率, 仔猪 56 日龄达到最低点 66.6%, 二次免疫后 62 日龄抗体阳性率恢复到 100% 并保持至 175 日龄; gE 阴性母猪保持 100% 阴性率, 阴性母猪所产仔猪均为阴性, 可疑母猪所产仔猪均为可疑, 可疑仔猪 1 日龄滴鼻免疫, 14 日龄抗体阴性率 100%, 可疑仔猪转阴, 56 日龄二免, 100% 抗体阴性率保持至 175 日龄。PRRS 非免疫母猪抗体阴性率保持 60-83.3% 之间, 仔猪 28-62 日龄升高至 100%, 160-210 日龄下降至 0-16.6%。

主要参考文献

- [1] 蔺俐仲, 徐春志, 张海, 景书灏, 杨源, 刘艳, 刘霞, 李照伟. 规模化种猪场几种病毒性疫病抗体水平及病原检测分析[J]. 养猪, 2020, (4): 124-126.
- [2] 王洪光, 田芬, 汤德元, 等. 某规模化猪场几种病毒性疫病抗体水平及病原检测研究[J]. 猪业科学, 2014, 31 (9): 76-77.
- [3] 刘健, 汤德元, 王毅, 等. 规模化猪场主要病毒性疫病的诊断技术进展[J]. 中国动物保健, 2012, 14 (1): 18-20.
- [4] 王礼伟, 周刚, 柏传茂, 等. 猪场猪瘟、猪繁殖与呼吸综合征、猪伪狂犬的血清学检测结果及分析[J]. 养猪, 2022, (5): 99-101.
- [5] 于吉锋, 王文贵, 李江凌, 魏甬, 罗丹丹, 曾凯, 张先慧, 叶健强, 戴卓健, 廖党金. 四川黑猪仔猪猪瘟母源抗体及免疫抗体消长规律研究[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015, (07): 157-159.

基金项目: 国家重点研发项目 (2021YFD1301101); 国家现代农业产业技术体系 (CARS-35); 四川省重点研发项目 (2021YFYZ0030); 现代农业产业技术体系四川生猪创新团队 (sccxttd-2024-08); 四川省财政专项 (SASA2024CZYX001); 四川省科技成果转化 (2023JDZH0003); 四川省农业农村领域重点研发 (2023YFN0002)。

^{*} 作者简介: 曾凯 (1968-), 男, 研究员, 养猪生产猪病防控, E-mail: 947543684@qq.com。

^{**} 通讯作者: 于吉锋 (1982-), 男, 副研究员, 硕士, 动物疫病防控, E-mail: 1652662593@qq.com。

浅谈非洲猪瘟对我国猪养殖业的影响和防控

张建胜[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江 161005)

随着国内畜牧业的蓬勃发展,猪产业作为畜牧业的重要组成部分,其健康与稳定直接关系到国家食品安全和经济发展。然而,非洲猪瘟(ASF)这一恶性传染病的出现和快速传播给我国猪养殖业带来了前所未有的挑战。ASF是由非洲猪瘟病毒(ASFV)引发的急性、热性、高度接触性传染病,这种病毒引起的疾病可以以多种形式表现出来,包括过急性、急性、亚急性或慢性。该病的急性形式表现为出血热,受影响的动物表现出发烧、拥挤倾向、食欲不振、不活动和冷漠等症状具有极高的致死率,严重威胁着猪群的安全和畜牧业的稳定。ASFV具有极强的传染性和致病性,其传播途径多样,包括直接接触、间接接触、空气传播等,使得疫情一旦爆发便能在短时间内迅速蔓延。这不仅给养殖户带来巨大的经济损失,也对国家食品安全和公共卫生安全构成严重威胁。面对ASF的严峻挑战,我国畜牧业在防治方面进行了大量探索和实践。目前,主要的防治策略包括加强疫情监测、提高生物安全措施、推广疫苗接种等。这些措施在一定程度上有效地控制了ASF的传播,但仍存在诸多问题和挑战。本文全面综述了非洲猪瘟在我国的现状,包括疫情的传播、流行特点、诊断方法、预防和治疗措施等。同时,对近年来的防治策略进行了深入分析和评价,指出了存在的问题和不足,并提出了针对性的改进建议。以期为提高养殖户的防疫意识,加强疫苗研发和应用,推动畜牧业转型升级,实现非洲猪瘟的有效控制和猪养殖业的可持续发展提供参考。

主要参考文献

- [1]张朋朋,黄月茹,牛佳,等.基于 LAMP 建立非洲猪瘟病毒的快速高灵敏度检测方法[J/OL].信阳师范学院学报(自然科学版),1-6[2024-06-14].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/41.1107.n.20240522.1657.004.html>.
- [2]Juszkiewicz M, Walczak M, Woźniakowski G, et al. African Swine Fever: Transmission, Spread, and Control through Biosecurity and Disinfection, Including Polish Trends[J]. *Viruses*, 2023, 15(11): 2275.
- [3]Shi Z, Hu X. African Swine Fever Shock: China's Hog Industry's Resilience and Its Influencing Factors[J]. *Animals*, 2023, 13(18): 2817.

※ 作者简介: 张建胜, 硕士, 研究方向为动物营养, E-mail: 252996616@qq.com。

基因编辑技术在培育抗病种猪上的应用

朱元芳[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江 161005)

基因组编辑技术是操纵基因组的强大工具, 它使科学家能够对生物体(包括植物、细菌和动物)的 DNA 序列进行高度特异性的更改。使用可编程核酸酶靶向特定的 DNA 序列进行基因编辑, 如 DNA 插入、移除或修饰。基因编辑技术已成为一种革命性的工具, 特别是在家猪遗传育种方面。通过精准地修改猪的基因组, 科研人员能够培育出具有独特和优越性状的新品种, 从而满足日益增长的食品需求和提高农业生产效率。基因编辑技术, 如 CRISPR/Cas9 系统, 为科研人员提供了一种前所未有的方式来精确操控生物的遗传信息。通过这一技术, 研究者可以定位到特定的基因, 并对其进行敲除、修复或替换。在家猪育种中, 基因编辑技术可以消除不良基因, 提高猪的健康和生产力, 甚至创造出具有特殊功能的猪种。例如, 科研人员已经成功利用基因编辑技术敲除了猪体内的某些病毒受体基因, 从而使其对某些病毒具有天然的抵抗力。这样的猪种在养殖过程中可以减少对疫苗和药物的依赖, 降低养殖成本, 同时也为消费者提供了更加安全、健康的猪肉及其肉制品。基因编辑技术还可以用于改善猪肉的品质和口感。通过编辑与肌肉生长、脂肪沉积等相关的基因可以培育出肌肉更发达、脂肪含量更适中的猪种, 从而满足消费者对高品质猪肉的需求。基因编辑技术在家猪遗传育种中的应用具有巨大的潜力和价值。本文首先介绍了基因编辑的原理, 再者讨论了不同编辑技术的优缺点; 最后讨论了基于基因组编辑技术在培育抗病种猪应用研究进展进行总结、并展望了基因编辑技术在抗病育种中的应用前景。

主要参考文献

[4]曹慧,韩博,孙东晓.基因编辑技术及其在畜禽遗传育种中的应用研究进展[J/OL].中国畜牧杂志,1-13[2024-06-14].

[5]张萌萌,蒋颖,李宁.全球基因编辑技术产业化发展分析及其在农业动物育种中的应用[J].农业生物技术学报,2024,32(03):691-700.

※ 作者简介: 张建胜, 硕士, 研究方向为动物营养, E-mail: 252996616@qq.com。

宿主蛋白 VCP 调控非洲猪瘟病毒高效复制的分子机制

王 桦, 高 鹏, 张永宁, 周 磊, 盖新娜, 郭 鑫, 杨汉春, 韩 军*

(中国农业大学动物医学院国家生猪产业技术体系疾病防控研究室, 北京 100193)

引言

非洲猪瘟是非洲猪瘟病毒(ASFV)感染家猪或野猪引起的一种急性、出血性、高度接触性传染病,其特征是病程短、高热和出血性病变,急性感染死亡率高达 100%,严重威胁全球养猪业,但目前尚未开发出有效的疫苗和治疗方法。ASFV 作为一种专性细胞内病原体,它的复制依赖于宿主蛋白和细胞代谢等过程。目前,人们对非洲猪瘟病毒与宿主细胞相互作用了解仍然非常有限。本研究旨在筛选鉴定调控 ASFV 复制的关键宿主因子,并且解析其作用机制,为进一步揭示 ASFV 高效复制的机制提供新见解,也为病毒致弱和抗病毒药物研发提供新靶点。

含缬氨酸蛋白(VCP/p97),属于 II 型 AAA+ATP 酶家族,定位于细胞质与细胞核。VCP 参与调控 ER 相关降解(ERAD)、泛素蛋白酶体系统、DNA 复制、内体的膜融合和自噬等。此外,VCP 也参与病毒复制周期的多个阶段。但是,VCP 在 ASFV 复制中的作用尚不清楚。

材料与方法

通过高通量测序技术对 ASFV 感染的野猪细胞进行蛋白质组学和转录组学测序,筛选表达量或亚细胞定位发生变化的蛋白,对其进行功能聚类,初步锁定候选因子。此外,通过文献检索汇总已报道的宿主因子,进一步扩大筛选范围。针对上述候选基因,通过 siRNA 干扰技术筛选参与调控 ASFV 复制的关键分子;以 ASFV-GFP 感染 WSL 细胞后的荧光强度作为量化指标衡量其对病毒增殖的影响,从而鉴定出与 ASFV 复制相关的关键宿主因子。

结果与讨论

针对 227 个候选因子进行 siRNA 靶向沉默,以荧光强度下降 $\leq 50\%$,或荧光强度增加 $\geq 30\%$ 为标准,共筛选到 ASFV 高效增殖必须的宿主因子 13 个,限制病毒复制的宿主因子 16 个。随后,通过毒价分析发现,干扰 VCP 可显著抑制 ASFV 增殖,病毒滴度下降大于 0.5;VCP 特异性抑制剂处理同样可抑制 ASFV 复制,约下降 1 个滴度,表明 VCP 是 ASFV 高效复制的支持因子。同时,ASFV 也可以调控 VCP 的表达。随着病毒的感染,VCP 的表达丰度在单细胞水平或蛋白水平上调,且与未感染细胞不同的是,感染细胞中的 VCP 主要滞留于细胞质。为了筛选导致 VCP 在胞质滞留的病毒蛋白,本研究在野猪细胞上过表达(143 个)或干扰(102 个)病毒蛋白后,在单细胞水平检测 VCP 丰度与定位的变化情况,结果显示,ASFV B602L 蛋白是引起 VCP 滞留于细胞质的关键病毒蛋白。尽管如此,VCP 并不能影响 ASFV 复制周期的每一阶段,在感染早期,干扰 VCP 可能影响 ASFV 基因的转录,而不是吸附与内化过程。本研究鉴定出一个 ASFV 复制支持因子 VCP,并阐明其作用机制,为病毒的致弱或抗病毒药物靶点的发现提供重要的理论依据。

主要参考文献

[1]Sehrawat S, Khasa R, Deb A, et al. Valosin-Containing Protein/p97 Plays Critical Roles in the Japanese Encephalitis Virus Life Cycle[J]. Journal of Virology, 2021, 95(11):-DOI:10.1128/JVI.02336-20.

[2]Ramanathan, Harish N et al. "A Sensitive Yellow Fever Virus Entry Reporter Identifies Valosin-Containing Protein (VCP/p97) as an Essential Host Factor for Flavivirus Uncoating." mBio vol. 11,2 e00467-20. 14 Apr. 2020, doi:10.1128/mBio.00467-20.

非洲猪瘟病毒在感染细胞中复制和转录位点的鉴定

翁文莲[※], 高鹏^{※※}, 韩军^{※※}

(中国农业大学动物医学院, 北京 100193)

引言

非洲猪瘟是制约世界养猪业健康发展的首要因素。目前有研究表明, 病毒基因组在感染早期部分基因组位于细胞核, 并在细胞核内合成小片段 DNA, 在细胞质合成较大的 DNA 片段, 而在感染晚期病毒基因组全部位于细胞质^[1,2]; 也有文章表明, 感染早期病毒基因组在细胞核复制, 晚期在细胞质复制^[3]。尽管如此, 目前对 ASFV 基因组是否存在细胞核复制阶段仍不能确定, 因此, 本研究进一步确定 ASFV 在感染细胞中的复制和转录位点。

材料与方法

ASFV-HN09 感染猪肺泡巨噬细胞 (PAMs) 和野猪肺细胞 (WSL-R4), 在感染不同时间点进行收取样品, 利用 RNAscope 试验、EdU 标记试验和吖啶橙染色分析病毒基因组复制的时间点, 并通过激光共聚焦荧光显微镜的连续光学切片和 3D 重塑分析病毒基因组的亚细胞定位; 通过 RNAscope 试验和 qPCR 鉴定病毒转录的时间点和亚细胞定位。

结果与讨论

我们针对病毒基因组负链 DNA (-vDNA) 设计合成探针, 对 ASFV 感染 PAMs 不同时间点的样品进行 RNAscope 试验, 通过激光共聚焦荧光显微镜的连续光学切片和 3D 重塑分析, 发现病毒基因组 vDNA 弥漫性地在细胞质中复制, 且主要定位在一个较大的病毒工厂中; 此外, 通过在感染的细胞中掺入核苷类似物 EdU 检测新生的 DNA, 观察到细胞质不同的复制室中 vDNA 合成, 并且 vDNA 与定位于细胞质病毒工厂的 p54 存在共定位, 进一步说明病毒在细胞质发生复制。另一方面, 我们通过 RNAscope 检测病毒+vDNA/RAN 以及 qPCR 检测早期基因的 mRNA, 结果显示, 早期基因的转录发生在基因组复制之前, 且病毒 RNA 弥散分布在细胞质中。此外, 我们对感染细胞进行吖啶橙染色, 进一步指示了病毒基因组主要定位于病毒工厂, 而病毒 RNA 则弥散性地定位在细胞质中。综上, 我们认为 ASFV 复制和转录发生在细胞质, 而不是在细胞核。本研究为 ASFV 复制周期提供了重要信息, 可为 ASFV 疫苗设计提供思路。

主要参考文献

- [1]García-Beato R, Salas ML, Viñuela E, *et al.* Role of the host cell nucleus in the replication of African swine fever virus DNA [J]. *Virology*, 1992,188(2), 637-649.
- [2]Rojo G, García-Beato R, Viñuela E, *et al.* Replication of African swine fever virus DNA in infected cells [J]. *Virology*, 1999,257(2),524-536.
- [3]Simões M, Martins C, Ferreira F. Early intranuclear replication of African swine fever virus genome modifies the landscape of the host cell nucleus [J]. *Virusres*, 2015,210,1-7.

※ 作者简介: 翁文莲, 在读博士研究生, 研究方向为动物分子病毒学与免疫学, E-mail: 2084845499@qq.com。

※※ 通讯作者: 高鹏, 副教授, 硕士生导师, 研究方向为动物病毒学, E-mail: penggao@cau.edu.cn。

※※ 通讯作者: 韩军, 教授, 博士生导师, 研究方向为动物病毒学, E-mail: hanx0158@cau.edu.cn。

增强 PRRSV 特异性细胞免疫：一种 Fc 融合的多 CTL 表位疫苗

雷昕诺¹, 班今朝^{1,2}, 吴植¹, 曹世诺¹, 周末¹, 朱睿¹, 卢会鹏¹, 朱善元^{1*}

(1.江苏农牧科技职业学院, 江苏 225300; 2.南京农业大学, 江苏 210095)

引言

不断变异的猪繁殖与呼吸综合征病毒 (PRRSV) 一直在全球的猪场肆虐超过 30 年, 传统疫苗因保护不足和生物安全风险而备受诟病。为了应对这些挑战, 我们旨在开发一种 Fc 融合的 CTL 表位多肽疫苗, 以增强针对 PRRSV 的细胞免疫。

材料与方法

我们收集了 22 个已报道的 PRRSV 特异性 CTL 表位, 并预测了它们与多个 SLA 等位基因的结合亲和力和, 通过 IFN- γ ELISPOT 评估了它们的免疫刺激活性。基于筛选出的 10 个 CTL 表位构建了一种重组蛋白 pFc-PTE, 并与改造后的猪 Fc 分子融合。利用生物信息学软件对 pFc-PTE 进行了 T 细胞表位预测, 以及抗原性、免疫原性和毒性预测。原核表达和纯化后的 pFc-PTE, 通过刺激 PRRSV 特异性脾淋巴细胞和免疫小鼠来评估 pFc-PTE 的免疫原性。

结果与讨论

筛选出 10 个 CTL 表位可显著刺激 PRRSV 挑战的猪的 PBMCs 释放 IFN- γ 。pFc-PTE 诱导了一种强烈的细胞免疫反应, 其特征是高水平的 IFN- γ 分泌。与 Fc 的融合延长了免疫反应的持续时间, 至少在免疫后 10 周, 并诱导了 Th1 偏向的免疫反应。pFc-PTE 作为一种新型、安全、有效的候选疫苗, 有望增强 PRRSV 特异性细胞免疫, 也可能为其他病毒疾病的疫苗设计提供新视角。下一步的研究将集中在猪的体内实验和评估对不同 PRRSV 变体的交叉保护能力。

主要参考文献

- [1]Lunney JK, Fang Y, Ladinig A, Chen N, Li Y, Rowland B, Renukaradhya GJ (2016) Porcine Reproductive and Respiratory Syndrome Virus (PRRSV): Pathogenesis and Interaction with the Immune System. Annual review of animal biosciences 4:129-154.
- [2]High reversion potential of a cell-adapted vaccine candidate against highly pathogenic porcine reproductive and respiratory syndrome. Vet. Microbiol. 2018, 227, 133–142
- [3]Renukaradhya, G.J.; Meng, X.J.; Calvert, J.G.; Roof, M.; Lager, K.M. Live porcine reproductive and respiratory syndrome virus vaccines: Current status and future direction. Vaccine 2015, 33, 4069–4080.
- [4]Renukaradhya, G.J.; Meng, X.J.; Calvert, J.G.; Roof, M.; Lager, K.M. Inactivated and subunit vaccines against porcine reproductive and respiratory syndrome: Current status and future direction. Vaccine 2015, 33, 3065–3072.
- [5]Malonis, R.J.; Lai, J.R.; Vergnolle, O. Peptide-Based Vaccines: Current Progress and Future Challenges. Chem. Rev. 2020, 120, 3210–3229.

A decorative rectangular border with a dotted line and floral motifs at the corners and midpoints of the sides.

其他相关专题

壁报交流

简述电解水在养猪生产中的应用研究进展

刘 文^{*}

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

近年来,随着畜禽生产的集约化以及规模化程度越来越高,部分从业者盲目追求经济效益,容易忽视消毒防疫的实施。使得畜禽疫病繁多,复杂程度高,且传播速度快,这些问题严重制约着畜牧业的健康发展。对畜禽场内生产环境的消毒已成为日常工作中的不容忽视的重要问题。随着消费者对畜禽产品品质要求越来越高,因此在畜禽生产中开发一种快速、价廉、高效以及绿色环保的杀菌剂是十分必要的。电解水又称电解离子水,是一种具广谱抗菌性、无环境危害、无毒、低成本和易于现场生产特性的新型消毒剂。可以替代传统的消毒剂对畜禽场环境进行杀菌消毒,不仅可以起到防疫防病的目的,还可以保护人畜安全。另外,有研究报道电解水可作为畜禽饮用水,不仅可以预防胃肠道疾病,还可以提高机体抗病能力。

刘文等研究报道,在猪舍内使用微酸性电解水(有效氯浓度 90 mg/L)喷雾消毒,较对照组,显著降低了空气中金黄色葡萄球菌的数量。有研究表面,在断奶仔猪饮水中使用有效氯浓度分别为 10、20、30 mg/L 的微酸性电解水,较对照组,盲肠中拟杆菌门的相对丰度显著提高,放线菌门相对丰显著降低,提高了仔猪健康水平。有研究发现,对猪舍进行喷雾消毒时分别使用消毒灵粉、聚维酮碘以及微酸性电解水(有效氯浓度 300 mg/L),结果表明,微酸性电解水的杀菌效果更好。石志芳等研究发现,分别使用 0.2%消毒灵溶液、0.2%聚维酮碘溶液以及微酸性电解水(pH=6.09±0.28、有效氯浓度 100 mg/L)通过喷雾消毒方式对猪舍进行消毒,结果表明,微酸性电解水组对猪舍内微生物杀灭效果最好。综上所述,电解水具有安全无残留、广谱抗菌性和价格低等优点,但制造电解水工艺添加水平并未完善,生物安全剂量还有待探索。在未来的研究中,可以进一步研究各类电解水适宜适用标准,以期为助力电解水在猪生产中的应用提供有利参考。

主要参考文献

- [1]刘文,蒲施桦,林保忠,等.微酸性电解水对规模化猪场空气消毒效果的研究[J].猪业科学,2015,32(2):89-90.
- [2]石志芳,席磊,程璞,等.微酸性电解水猪场消毒效果研究[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2020,48(05):22-30+41.

^{*} 作者简介:刘文,硕士,助理研究员,研究方向为动物营养,E-mail:271493580@163.com。

改良清肺颗粒对临床呼吸道疾病育肥猪应用研究

张艳^{1,2*}, 刘雪松^{1,2}, 薛沾枚^{1,2}, 郝敬友³, 宋雪莹¹, 江波涛^{1,2}, 尹琚伊¹,
刘秋瑾¹, 张备^{1,2}, 史同瑞^{2**}

(1.黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005; 2.黑龙江省兽用药物重点实验室,
黑龙江齐齐哈尔 161005; 3.哈尔滨绿达生动物药业有限公司, 黑龙江哈尔滨 150039)

引言

清肺颗粒组方来源于《中国兽药典(2020年版)》,具有清肺平喘、化痰止咳的功效。医药治病,各有所主。主要成分为君,辅佐成分为臣,缓解或克制君药毒性的成分为佐,引导药方中各种药物到达病处的成分为使。组方中君药为板蓝根,臣药为葶苈子、浙贝母,佐药为甘草,使药是桔梗。项目组前期研究表明采用可产生多种生物酶的解淀粉芽孢杆菌固态发酵提取法可显著提高清肺颗粒组方的药物有效成分提取率,制备的改良清肺颗粒药效优于传统清肺颗粒。本文比对传统清肺颗粒和改良清肺颗粒的临床应用效果,为改良清肺颗粒的临床应用提供依据。

材料与方法

选择4月龄的黑龙江某规模化养猪场的育肥猪40头。临床表现为发热重,耳鼻俱温,体温升高、鼻流黄白色黏稠涕,咳嗽,咳声不爽等外感风热证,实验室检查排除猪流行性感胃,猪肺疫,猪气喘病等疫病,仅表现为外感风热证的育肥猪。病猪随机平均分为4组,分别为改良清肺颗粒治疗组、传统清肺颗粒治疗组、替米考星治疗组 and 对照组。改良清肺颗粒治疗组给予改良清肺颗粒,40 g/头,每日2次,连续服用5 d;传统清肺颗粒治疗组,给予传统清肺颗粒,40 g/头,每日2次,连续服用5 d;替米考星阳性治疗组给予替米考星粉,0.15 g/kg 体重,每日2次,连续服用5 d;对照组与治疗组饲养、饮食、饮水情况相同,但不进行治疗。测定生长性能、咳嗽指数、猪呼吸道疾病改善效果和血液指标。

结果与讨论

无论是传统清肺颗粒还是改良清肺颗粒与替米考星治疗组和阴性对照组相比对生长猪的ADG、ADFI和料重比均无显著影响($P>0.05$)。各治疗组患病猪只咳嗽指数逐渐下降,病猪咳嗽和气喘的症状明显减轻($P<0.05$),可以看出改良清肺颗粒止咳和平喘效果更好。3个治疗组的猪呼吸道疾病改善有效率均为100%;改良清肺颗粒组和替米考星治疗组的痊愈率最高,为93.33%;传统清肺颗粒组痊愈率为86.67%;而阴性对照组的痊愈率和有效率和治疗组相比均差异极显著($P<0.05$);可以说明相较于传统清肺颗粒,改良工艺的清肺颗粒对猪呼吸道疾病具有更好的改善效果。各组育肥猪的血液指标均无显著影响($P>0.05$)。

主要参考文献

- [1]魏晓楠,郝铁成.中药提取新技术研究进展[J].中国野生植物资源,2020,39(9):47-50.
- [2]薛峰,黄剑宇,吴浩,等.现代中药加工技术研究进展[J].南京中医药大学学报,2020,36(5):727-735.
- [3]魏远,杨劫,焦宁.中药制剂工艺中新技术应用进展[J].临床合理用药杂志,2019,12(7):180-181.
- [4]王婉莹,瞿海斌,龚行楚.中药渗漉提取工艺研究进展[J].中国中药杂志,2020,45(5):1039-1046.
- [5]张艳,郝敬友,薛沾枚,等.响应面法优化畜禽清肺颗粒制备工艺[J].河南农业科学,2022,51(03):162-172.
- [6]张艳,薛沾枚,刘雪松,等.清肺颗粒固态发酵培养基成分研究[J].中国畜牧兽医,2022,49(03):1162-1171.

* 作者简介:张艳,副研究员,硕士,主要从事兽用药物研发, E-mail: zhangyanyan008@163.com.

** 通讯作者:史同瑞,研究员,硕士,研究方向为兽用药物开发与预防兽医学, E-mail: systr@sina.com.

转录组和靶向代谢组分析不同猪品种背最长肌脂质、营养成分和挥发性化合物

罗振, 赖婷, 范益佳, 于成宾, 雷胜辉, 张京, 徐维娜, 王哲, 徐建雄
(上海交通大学, 上海 200240)

提高猪肉品质对商业化生产和指导育种具有重要意义。肌内脂肪 (IMF) 沉积的分子机制和肉质特性还有待进一步研究。本试验旨在通过比较上海白猪 (SW)、杜洛克 (DLY) 和莱芜猪 (LW), 研究背最长肌中 IMF 沉积的分子机理及肌肉氧化还原状态、营养成分和挥发性化合物等。结果表明, SW 猪背最长肌 IMF、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、GSH/GSSG、NAD⁺/NADH 含量和 SOD 活性显著低于 LW 猪 ($P < 0.05$), MDA 含量和乳酸脱氢酶 (LDH) 活性显著高于 LW 猪 ($P < 0.05$)。SW 猪和 DLY 在这些参数上均无显著差异 ($P > 0.05$)。SW 猪背最长肌总 SFA、TFA、PUFA 和 γ -氨基丁酸 (GABA) 含量显著高于 LW 猪, Asp 含量显著低于 LW 猪 ($P < 0.05$)。挥发性化合物结果表明, 与 LW 猪相比, SW 猪肌肉组织中 6 种酮类、4 种烯烃、11 种烷烃、2 种醛类、1 种醇类增加, 胆固醇降低。转录组结果显示, SW 猪和 LW 猪背最长肌中参与脂质合成、代谢和转运的基因表达差异 (DEGs), 通过 qPCR 进一步验证。Spearman 相关分析表明, HSL 和 Nedd4 的表达与 TG、IMF、GSH/GSSG 含量和 SOD 活性呈正相关, 与挥发性化合物 (2h-吡喃-2-1、四氢-6-甲基、2-辛酮) 和脂肪酸 (SFA、TFA 和 PUFA) 呈负相关 ($P < 0.05$)。Plin3 和 Mgl1 的表达与 TG、IMF、GSH/GSSG、胆固醇和 Asp 含量呈负相关 ($P < 0.05$), 与 MDA、LDH 和挥发性化合物 (2-辛酮、壬烷、4,5-二甲基-) 含量呈正相关 ($P < 0.05$)。PPARA 的表达与 TC、IMF 含量及 SOD 活性呈负相关 ($P < 0.05$), 与挥发性化合物的表达呈正相关 ($P < 0.05$)。本研究为 SW 猪的肉质特性和营养成分提供了基础数据, 并对 IMF 沉积和风味的潜在机制有了新的认识。

基于精准畜牧业技术在智慧猪养殖应用

张建胜[※]

(黑龙江省农业科学院畜牧兽医分院, 黑龙江齐齐哈尔 161005)

畜牧业是农业经济的基础,是动物源性产品消费的主要来源。对这些产品的需求不断增长,导致畜牧业规模显著扩大。养猪业是畜牧业的重要组成部分。目前,养猪业模式正在发生前所未有的巨变。然而,仅依靠饲养员的观察、判断和经验的传统管理方式可能无法满足现代大规模养猪业的要求。精准畜牧业在信息技术的支持下,已成为推进现代养猪业的必然趋势。在现代猪养殖中,精准畜牧业的应用显著提高了养殖效率、降低了生产成本,并促进了生猪产业的可持续发展。精准畜牧业利用信息技术对畜牧业进行持续实时监测和管理,从而改善畜牧业对环境的影响,促进畜牧业的经济、社会和环境可持续性。精准畜牧业已成为一个具有多学科兴趣的关键领域。精准畜牧业技术能够利用人工智能和物联网等技术对畜群进行管理。人工智能与养猪相结合,可以实现智能感知,准确了解猪的行为(如发情、喂食、行走和站立),通过声音信号准确监测猪的生理状况,进行精细化、个性化的饲养管理,使养猪过程更加科学、智能、现代化。精准畜牧业技术将传感器和设备与智能软件相结合,以提取关键的农业信息,然后提供管理策略,使饲养员能够自动监测猪,以改善猪的健康,福利,产量以及环境影响。精准畜牧业框架在智能养猪业中占据重要地位,传感器监测动物外观原型,通过工程技术识别行为与生长情况,辅助畜牧业决策。在现代养猪业背景下,有助于实现集约化农业和个性化动物护理。人工智能的应用提升了传感器和电子设备的效率,极大地推动了养猪业及其他驯畜养殖业的发展。本文首先介绍了精准畜牧业的内涵及特点,包括数据收集与分析、猪智能化养殖设备的应用以及猪精准营养与饲料管理等方面。然后,总结了精准畜牧业在现代猪养殖中的实际应用情况,包括精准饲喂、环境监控、疾病防控以及生产管理等方面并展望了未来发展趋势。以期精准畜牧业将在现代猪养殖中的作用提供参考,进一步推动生猪产业实现更加高效、绿色、可持续的发展。

主要参考文献

- [6]Jiang B, Tang W, Cui L, *et al.* Precision Livestock Farming Research: A Global Scientometric Review[J]. *Animals*, 2023, 13(13): 2096.
- [7]Zhang M, Wang X, Feng H, *et al.* Wearable Internet of Things enabled precision livestock farming in smart farms: A review of technical solutions for precise perception, biocompatibility, and sustainability monitoring[J]. *Journal of Cleaner Production*, 2021, 312: 127712.

※ 作者简介: 张建胜, 硕士, 研究方向为动物营养, E-mail: 252996616@qq.com

计算机视觉技术在猪性能测定中的应用

张梓鹏^{1#}, 李谦君^{1#}, 唐黄益¹, 徐秋良^{2,3}, 米阳⁴, 席磊^{2,5*}, 丁向东^{1,3*}

(1.中国农业大学动物科学技术学院, 畜禽育种国家工程实验室, 全国畜禽生物育种重点实验室, 农业农村部动物遗传育种与繁殖重点实验室, 北京 100193; 2.河南牧业经济学院动物科技学院, 河南郑州 450046; 3.河南生猪育种研究院, 河南郑州 450046; 4.中国农业大学信息与电气工程学院, 中国农业大学农业农村部农业信息获取技术重点实验室, 北京 100193; 5.河南畜禽健康养殖与智能装备工程技术研究中心, 河南郑州 450046)

在养猪业中, 体尺、体重、体况评分、背膘厚和眼肌面积是评估猪只生长发育、健康状况和生产性能的重要指标, 也是育种性能测定的一项重要性状。个体准确的表型测定可以帮助养殖者制定科学的饲养管理策略, 优化营养配方, 提高牲畜的产肉、产奶能力, 从而提高养殖效益。然而, 目前的人工测量方法费时费力、易受人为因素影响和接触式测量易造成猪只应激反应等, 容易造成不能大规模测定、测定不准确、测定性状种类少等问题, 与我国养猪业规模化、智能化发展趋势不相适应。因此发展新的测定技术十分必要, 计算机视觉技术是一种非接触、高效、自动化和准确性高的测定方法, 在猪性能测定中具有广阔的前景。目前计算机视觉技术在猪体尺、体重、体况评分、背膘厚和眼肌面积智能测定中的应用已有大量研究。在体尺测定上, 早期研究主要是基于 RGB 图像的 2D 体尺测定, 如体长、体宽、体高等。随着消费级深度传感器的出现, 也出现了大量基于深度图像的 3D 体尺测定研究, 如胸围、腹围等。此外, 还有学者聚焦行走状态猪只体尺测定, 更符合实际生产需求。在体重测定上, 主要经历了两个阶段, 第一个阶段是基于自主提取关键特征进行体重预测, 该阶段前期主要利用线性回归算法进行体重预测, 后期随着机器学习的兴起, 大量学者开始应用机器学习算法进行体重预测。在猪智能测定中最常用的是监督学习算法, 如支持向量机回归、随机森林、弹性网络等。第二个阶段是基于深度学习回归算法, 以图像作为直接输入, 通过大量数据让模型自动提取关键特征来进行体重预测。体况评分发展历程与体重相似, 但其采用的是分类算法; 在第二个研究阶段, 除了分类算法外, 有学者也应用改进的图像检测算法进行体况评分预测。背膘厚和眼肌面积研究起步较晚, 相关研究较少, 现有的研究表明深度学习算法具有更高的预测精度, 但仍难以满足实际生产需求。本文综述了计算机视觉技术在猪体尺、体重、体况评分、背膘厚和眼肌面积测定的研究进展, 皆在为家畜智能化发展提供借鉴。



CSSC

第六届中国猪业科技大会

