

不同剂量球虫卵囊对京海黄鸡抗性指标的影响

原新廷, 李尚民, 戴国俊*, 王金玉, 谢恺舟, 陆晋炎 (扬州大学动物科技学院, 江苏扬州 225009)

摘要 [目的] 为京海黄鸡的抗病育种奠定基础。[方法] 通过对京海黄鸡接种不同剂量的柔嫩艾美耳球虫卵母细胞, 观察接种鸡的病变特征, 研究不同剂量球虫对京海黄鸡的体增重、血浆 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 浓度和 β -胡萝卜素浓度等抗性指标的影响。[结果] 接种后 1~3 d 各组鸡症状无显著差异。第 5~7 天有血便排出, 第 7 天多数停止出血, 第 8 天开始康复。接种后 0~6 d 体增重、接种前血浆 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 浓度和 β -胡萝卜素浓度在 3 组间均无显著差异, 而接种后 6~9 d 均有显著差异。接种后 6~9 d 与 0~9 d 的体增重和血浆中 β -胡萝卜素浓度均随接种剂量的增加而减少, 而血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 的浓度随着接种剂量的增加而增加。[结论] 这 3 个指标可作为京海黄鸡抗病性的研究指标。

关键词 鸡球虫病; 体增重; β -胡萝卜素; $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$

中图分类号 S831 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2008)18-07642-02

Study on the Effects of Different Doses of *Coccidia* Oocysts on the Resistance Index of Jinghai Yellow Chicken

YUAN Xin-ting et al (College of Animal Science and Technology, Yangzhou University, Yangzhou, Jiangsu 225009)

Abstract [Objective] The aim of the research was to lay the foundation for the disease-resistance breeding of Jinghai Yellow Chicken. [Method] Jinghai Yellow Chicken were inoculated with different doses of *Eimeria tenella* oocytes to observe the pathological changes of the inoculated chicken. The effects of different doses of coccidium on the resistance indices of Jinghai Yellow Chicken including body weight gain, the concn. of plasma $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, β -carotene concn. of Jinghai Yellow Chicken were studied. [Result] The symptom of chicken in each group had no significant difference in the 1st~3rd d after inoculation. The bloody stool was discharged in the 5th~7th d, most of bleeding stopped on the 7th d and chicken began to recover on the 8th d. The body weight gain in the 0~6th d after inoculation and the concn. of $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, β -carotene before inoculation had no significant difference among 3 groups, while those indices in the 6th~9th d after inoculation all had the significant difference. The body weight gain and the concn. of plasma β -carotene in the 6th~9th d and in the 0~9th after inoculation were decreased with the increasing of inoculation dose, while the concn. of $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ in plasma was increased with the increasing of inoculation dose. [Conclusion] These three indices could be taken as the research index for the disease resistance of Jinghai Yellow Chicken.

Key words Chicken coccidiosis; Body weight gain; β -carotene; $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$

鸡球虫病是由一种或多种球虫寄生于鸡肠粘膜上皮细胞而引起的一种急性流行性原虫病。该病分布广泛, 发生普遍, 危害十分严重。15~50 日龄的鸡发病率最高, 死亡率可达 80% 以上; 早可在 7 日龄, 晚可至 150 日龄发生死亡^[1]; 耐过的病鸡长时间不能康复, 生长发育受到严重影响, 增重和产蛋能力降低。尽管球虫病治疗药物和疫苗研制等不断创新, 但要从根本上解决问题, 必须进行鸡球虫的抗性研究, 从而培育出抗病群体用于家禽生产。目前一些发达国家已将畜禽选种目标转向提高适应性、抗病性和繁殖力上, 抗病育种已成为减少疾病损失、提高畜禽产量的新研究热点^[2]。

抗性选育研究的关键是寻找并选择与抗性关系密切的指标。这些抗性指标并不象产蛋量、体增重等性状可在正常(不发病)状态下测定, 大多数抗病性状要通过攻毒试验才能表现。在进行攻毒试验时, 家禽球虫病的抗性, 就成活情况而言是阈性状。通过这种方法选种成本大, 危险性高, 一般通过对其后裔或同胞进行攻毒试验, 选留强抗性亲本进行扩群。此外, 可从细胞水平或分子水平上寻找与疾病抗性相关的基因或其产物, 进行标记辅助选择^[3]。笔者通过对京海黄鸡仔鸡接种不同剂量柔嫩艾美耳球虫卵母细胞, 研究其体增重、血浆 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 、胡萝卜素浓度等与鸡球虫抗性有关的指标, 为今后京海黄鸡的抗病育种奠定基础。

1 材料与方

1.1 试验动物及分组 随机选择 4 只健康未感染鸡球虫病的京海黄鸡母鸡, 收集种蛋进行孵化。每只母鸡选择 9 只体重相近的后代, 按随机单位组设计方法分成 3 组, 每组 12 只。

基金项目 江苏省农业高技术项目(BG2004316)。

作者简介 原新廷(1981-), 男, 山东烟台人, 硕士研究生, 研究方向: 分子标记与动物育种。* 通讯作者。

收稿日期 2008-03-28

于 4 周龄时, 分别接种 3 种不同剂量柔嫩艾美耳球虫卵囊。

1.2 饲养环境及饲料 试验在无球虫的环境中进行, 饲料自配, 不添加任何抗球虫药物。免疫程序由京海禽业集团提供, 按常规免疫程度进行, 并不注射抗球虫疫苗。0~4 周龄集中饲养, 4 周龄鸡球虫攻毒后单笼饲养, 整个试验期内自由饮水采食。

1.3 球虫卵囊接种 设 1 个对照组和 2 个试验组。试验组分别接种 1 ml 含有 5×10^3 和 5×10^4 个柔嫩艾美耳球虫卵囊的悬浮液。柔嫩艾美耳球虫卵囊由扬州大学兽医学院寄生虫教研室提供。

1.4 血浆采集 分别于接种前、接种后 6 d、接种后 9 d 采集 2 ml 左右的血液, 用 4% EDTA Na 抗凝, 通过离心分离血浆, 将这些血浆样本和滤出液储存在 -20 的冰箱中备用。

1.5 球虫抗性指标测定

1.5.1 体增重 接种前、接种后 6 d、接种后 9 d 分别称重, 计算 0~6 d、0~9 d、6~9 d 的体增重。

1.5.2 血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 浓度的测定 采用南京建成生物工程研究所提供的 NO 试剂盒和分光光度计测定血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 的浓度。由于 NO 化学性质活泼, 在体内代谢很快转为 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$, 而 NO_2^- 又很快地转化为 NO_3^- , 因此利用硝酸还原酶特异性将 NO_3^- 还原为 NO_2^- , 通过显色深浅来测定其浓度高低。

1.5.3 血浆中 β -胡萝卜素浓度的测定 血浆中的蛋白经乙醇沉淀后, 其中的胡萝卜素被提至石油醚中, 再与配制的 β -胡萝卜素溶液进行比色滴定, 可计算出样品中 β -胡萝卜素的含量。

1.6 数据统计 采用 SPSS11.0 统计软件进行方差分析, 模型为 $X_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + e_{ij}$ 。其中, 剂量 $i = 1, 2, 3$, 组内个体 j

$= 1, 2 \dots 12$, X_{ij} 为第 i 个剂量的第 j 个观测值, μ 为总体平均数, μ_i 为第 i 个剂量的反应值, μ_j 为第 j 个的反应值, e_{ij} 为随机误差。采用 LSD 法进行各组间多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 发病症状 接种后 1~3 d, 各组间鸡的症状无显著差异。感染后第 4 天末到第 5 天, 第 1 个剂量组中的鸡突然排泄鲜血便, 病鸡萎靡不振, 羽毛逆立, 缩头闭眼, 喜欢水, 无食欲, 排便便, 肛门周围羽毛污秽, 呈共济失调, 两翅下垂, 出现麻痹、痉挛等精神症状。感染后 5、6、7 d 有血便排出, 多数于第 7 天停止出血。感染后第 8 天, 即转向康复。与第 1 剂量组相比, 第 2 剂量组的鸡鲜血便更加严重, 呈稀状, 且精神状态更差, 病鸡不爱运动而呆立在笼内一角, 陷入昏睡状态。解剖发病后 1~2 d 的鸡, 可见盲肠肿胀且充血。解剖感染后 6~7 d 的鸡, 可见盲肠内有凝血且充满干酪样物质, 盲肠硬化并脆弱。

表1 不同剂量组的体增重

Table 1 Body weight gain with different inoculation doses

组别 Group	剂量 Dose $10^3/\text{ml}$	体增重 Bdy weight gain g		
		0~6 d	0~9 d	6~9 d
1	0	55.89 ±7.76	135.00 ±10.26 Aa	80.00 ±10.62 Aa
2	5	53.14 ±9.89	98.67 ±35.62 Bb	20.25 ±17.85 Bb
3	10	52.40 ±9.18	75.91 ±50.26 Bc	15.41 ±24.66 Bc

注: 同列数据后大小写字母分别表示在 0.01 和 0.05 水平上的差异显著性。下表同。

Note: The capital letters and lowercases after the data mean significant differences at 0.01 and 0.05 levels, respectively. The same as follows.

2.2 体增重 由表 1 可以看出, 发病后 0~6 d, 虽然体增重随着接种剂量的增加而减少, 但是由于刚发病不久, 体增重的变化并不显著; 发病后 0~9 d, 球虫病严重爆发, 导致脱水, 随着接种剂量的增加, 对照组中鸡的体增重与接种组差异极显著 ($P < 0.01$), 而 2 个接种组间也有显著差异 ($P <$

0.05); 发病后 6~9 d, 由于正处于发病的严重期, 各组间差异与发病后 0~9 d 相似。

2.3 血浆中 NO 含量 由于 NO 是一种自由基气体分子, 具有很高的化学反应性, 其在机体中的半衰期很短, 只有几秒, 其一旦生成, 能迅速与分子氧、超氧阴离子以及过渡金属(如铜、铁等)反应, 生成 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 。因此, 血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 水平可以间接反映机体 NO 的生成情况^[4]。

表2 不同剂量组血浆中 NO 含量

Table 2 NO content in plasma with different inoculation doses

组别 Groups	剂量 Dose $10^3/\text{ml}$	NO 含量 Content of NO $\mu\text{mol/L}$		
		接种前 Before inoculation	接种后 6 d 6 d after inoculation	接种后 9 d 9 d after inoculation
1	0	5.49 ±2.56	7.51 ±5.99 Aa	6.85 ±2.14 Aa
2	5	5.94 ±2.46	13.76 ±7.43 Bb	8.85 ±3.48 Ab
3	10	5.19 ±3.02	17.60 ±9.84 Bc	27.17 ±22.95 Bc

由表 2 可以看出, 接种前 3 个组血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 浓度没有显著差异, 非常接近; 但接种后 6 d, 球虫病的发作导致血浆中 $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ 浓度随着接种剂量的增加而增加, 对照组血浆中 NO 含量远远低于接种的 2 个剂量组 ($P < 0.01$), 剂量小的接种组中 NO 含量也比剂量大的接种组中 NO 含量要低, 差异显著 ($P < 0.05$)。第 9 天时, 前 2 组与第 3 组之间差异极显著 ($P < 0.01$)。

2.4 血浆中 -胡萝卜素含量 由表 3 可以看出, 接种前 3 个组血浆中 -胡萝卜素含量没有显著差异, 非常接近; 但接种后 6 d、9 d, 球虫病的发作导致血浆中 -胡萝卜素含量随着接种剂量的增加而减少, 对照组血浆中 -胡萝卜素含量远远高于接种的 2 个组 ($P < 0.01$)。而接种的 2 个剂量组中, 接种剂量小的组中 -胡萝卜素含量也比剂量大的组要高, 接种后第 6 天差异显著 ($P < 0.05$), 至接种后第 9 天差异不显著。

表3 不同剂量组血浆中 -胡萝卜素含量

Table 3 -carotene content in plasma with different inoculation doses

组别 Group	剂量 Dose $10^3/\text{ml}$	-胡萝卜素含量 Content of -carotene $\mu\text{g/L}$		
		接种前 Before inoculation	接种后 6 d 6 d after inoculation	接种后 9 d 9 d after inoculation
1	0	1 226.24 ±135.77	1 076.60 ±108.00 Aa	1 169.62 ±156.52 Aa
2	5	1 235.92 ±168.17	546.37 ±185.16 Bb	680.23 ±228.55 Bb
3	10	1 269.18 ±209.27	476.90 ±127.31 Bc	657.27 ±198.11 Bb

3 讨论

3.1 接种球虫的剂量对京海黄鸡体增重的影响 京海黄鸡体增重随着接种球虫剂量的增加而减少。导致鸡体增重下降的原因有: 球虫在小肠内繁殖时, 会破坏肠上皮细胞, 影响肠粘膜的完整性, 失去屏障作用, 从而引起消化机能紊乱, 营养物质不能吸收, 导致体增重下降; 严重腹泻导致脱水, 致使体重下降。该试验结果表明, 球虫病对京海黄鸡的体增重具有较大的影响。

3.2 接种球虫的剂量对血浆中 NO 含量的影响 接种前 3 组的血浆中 NO 平均含量基本相似; 接种后 3 组血浆中 NO 含量随着接种剂量的升高而依次升高。NO 作为一种新型生物

信使分子, 对寄生虫特别是原虫具有直接的抑制或杀灭作用^[5]。江燕等报道外源性 NO 对球虫卵囊孢子化过程具有明显的抑制作用^[6]。Allen 研究表明机体在病理条件下能大量产生 NO, 可以直接或间接抑制和杀灭多种寄生虫等病原体^[7]。该试验结果表明, 球虫病对京海黄鸡的血浆中 NO 含量具有较大的影响。雏鸡在感染球虫过程中, 体内 NO 含量的升高可能是机体发挥防御作用的一种表现。

3.3 接种球虫的剂量对血浆中 -胡萝卜素含量的影响 接种前 3 个组的血浆中 -胡萝卜素平均含量相似; 接种后 3 个组的血浆中 -胡萝卜素含量随着接种剂量的增加而依次降

(下转第 7820 页)

供期刊、基金、作者单位、内容分类、出版社、会议主办单位、博硕士授予单位等多种数据库导航服务,还提供全文、标题、作者、关键字、摘要等多位置搜索,使用户很容易得到数据。

3.2 加强对数据库质量的控制 质量是数据库的生命。当前,我国农业数据库的数量不少,但质量不高。主要表现在:数据库容量小,数据库更新周期长,标准化程度不高,数据标

引不规范^[10]。这严重制约了我国农业数据库的发展。

3.3 提高建库人员的专业素质 建库人员的素质要求体现在既要具备图书情报和计算机知识,又要具备相应的专业知识。高素质的建库人员能够对资源进行很好的遴选、甄别、评价,有效保证入库资源的质量。此外,建库人员组成要相对稳定,频繁变换人员不利于建库工作的连续性^[11]。



图2 河北太行山区土地资源数据库界面

Fig.2 Database interface of land resources in Hebei Taihang Mountain Area

3.4 加强数据库系统的运行管理 数据库系统在长期运行过程中,需要经常检查和维护,及时发现存在的问题,保证系统安全稳定地运行。此外,还要做好数据的备份和恢复工作,以免由于系统故障和其他非人为原因造成数据库数据丢失。

4 结论

随着计算机网络和数据库技术的不断发展,农业领域数据库的建设将是我国农业走上信息化的必然道路。相信随着我国农业的发展,数据库技术在我国农业现代化的进程中将会发挥更大的作用,农业领域数据库在实现信息科学化管理和科学化利用方面将会有更加广阔的前景。

参考文献

[1] 向海华. 数据库技术发展综述[J]. 现代情报,2003(12):31-33.

- [2] 赵莉莉,王引斌. 浅谈数据库系统的发展[J]. 科技情报开发与经济,2005,15(14):221-223.
- [3] 周力柱. 数据库技术发展的分水岭[J]. 软件科学,2003(7):86-87.
- [4] 罗晓沛. 数据库技术及其发展[J]. 电子科技导报,1999(3):2-5.
- [5] 李伟方,刘海启. 农业资源数据库建设的基本思路[J]. 中国农业资源与区划,2003,24(1):4-7.
- [6] 李念庆,龙梅. 国内外常用农业信息数据库[J]. 农业图书情报学刊,2005,17(6):136-139.
- [7] 孙玲,杨天水. 江苏省农业资源数据库的建立[J]. 计算机农业应用,1994(3):24-28.
- [8] 马友华,李梅,李邵山,等. 安徽省国土资源数据库应用系统的设计与建立[J]. 安徽农业大学学报,2003,30(3):259-264.
- [9] 高振良,周圣军,吴泽新,等. 德州市农业气象数据库及其管理系统[J]. 山东气象,1999,19(1):42-44.
- [10] 高景昌,苏华,曹鹏. 对我国农业数据库建设的思考与建议[J]. 农业图书情报学刊,1996(4):123-125.
- [11] 叶勤. 浅谈农业专题数据库[J]. 安徽农业科学,2005,33(9):1764-1765.

(上接第7643页)

低。-胡萝卜素的免疫调节作用主要与其抗氧化功能有关。在生物体内发生的生物化学反应不断地产生过氧化自由基和单线态的氧以及脂质过氧化物,它们破坏了细胞膜的功能并导致DNA单链断裂,而-胡萝卜素能清除过氧化物和自由基以及单线态氧,保护免疫细胞不受过氧化损伤。马爱国等利用单细胞凝胶电泳(SCGE)对淋巴细胞氧化损伤程度和机体内维生素E、维生素C和-胡萝卜素的营养状况进行检测和分析,发现通过补充维生素E、维生素C和-胡萝卜素可以有效地降低H₂O₂所致的DNA损伤^[8]。Chew B P研究表明,在干奶期或围产期奶牛日粮中添加维生素A的前体-胡萝卜素,能提高中性白细胞的吞噬能力,降低乳腺炎的发病率。奶牛乳腺感染程度越重,其血浆中的维生素A和-胡萝卜素含量越低^[9]。该试验结果表明,球虫病对京海黄鸡血浆

中-胡萝卜素含量有着较大的影响。

参考文献

- [1] 索勋,李国清. 鸡球虫病学[M]. 北京:中国农业大学出版社,1997.
- [2] 刘博,黄炎坤,杜垒. 家禽的抗病育种研究[J]. 畜牧与兽医,2005(10):47-19.
- [3] 黄国成,施远国,张远新. 家禽的抗病育种[J]. 家禽与禽病防治,2003(1):16-17.
- [4] 覃琥云.NO的生理意义及临床作用[J]. 四川科学生理杂志,2000,22(2):11-14.
- [5] 李金贵,朱蓓蕾,蒋金书. 内源性NO在雏鸡球虫感染中的作用[J]. 中国兽医学报,2002,22(6):602-604.
- [6] 江燕,张宏学,李金贵,等. 外源性NO对鸡柔嫩艾美耳球虫的作用[J]. 畜牧与兽医,2005,34(4):6-8.
- [7] ALLEN P C. Production of free radical species during Eimeria maxima infections in chickens[J]. Poul Sci,1997,76:814-821.
- [8] 马爱国,SUSAN J D, MARION A R, et al. 维生素E、C和-胡萝卜素对DNA损伤的影响[J]. 中华预防医学杂志,1999(1):16-17.
- [9] CHEW B P. Role of carotenoids in the immune response. J. Dang Sci,1993,76:2804-2811.