

冬春季层叠式蛋鸡舍乳头式饮水系统细菌含量检测 及其对生产性能的影响

万意¹ 季志远² 马瑞钰¹ 杜强³ 杨荣斌³ 詹凯^{1*}

(1.安徽省农业科学院 畜牧兽医研究所/畜禽产品安全工程安徽省重点实验室,合肥 230001;

2.安徽农业大学 动物科技学院,合肥 230001;

3.安徽圣迪乐村生态食品有限公司,安徽 铜陵 244100)

摘要 为研究冬季和春季规模化蛋鸡舍饮水系统中细菌微生物污染情况及其对生产性能的影响,利用实时荧光定量 PCR 法(Quantitative real-time PCR)测定了 8 层层叠式笼养蛋鸡舍内不同笼层水线水和 V 型槽水中细菌基因组 16S rDNA 总拷贝数,并与环境参数、产蛋率和蛋品质性状进行相关性分析。结果表明:1)各笼层间水线水细菌基因总拷贝数差异不显著,第 3 和 7 层 V 型槽水细菌基因总拷贝数略高于第 1 和 5 层($P>0.05$),冬季和春季 V 型槽水细菌数均远高于水线水($P<0.01$),高达 575.44~32 130.51 倍;2)冬、春季第 1 和 5 层产蛋率、蛋白高度和哈氏单位均高于第 3 和 7 层,其余蛋品质性状无显著差异;3)水线水细菌数与 V 型槽水细菌数在冬季和春季均呈弱正相关($r=0.223, r=0.225$),V 型槽水细菌数与温度和空气细菌数呈弱正相关,与湿度在冬季时呈显著正相关($r=0.325$);4)V 型槽水细菌数与产蛋率和蛋品质性状在冬季和春季均呈弱负相关,在春季时与蛋白高和哈氏单位呈显著负相关($r=-0.348, r=-0.479$)。冬季和春季层叠式蛋鸡舍内 V 型槽水细菌污染程度远高于水线水,与环境温湿度及空气质量的相关性更密切,对蛋鸡的产蛋率和蛋品质有负面影响,在生产过程中需加强对 V 型槽内污染情况的监测和卫生安全的控制。

关键词 层叠式蛋鸡舍; 乳头式饮水; V 型槽; 细菌含量; 生产性能

中图分类号 S81 文章编号 1007-4333(2021)05-0072-11 文献标志码 A

Detection of bacterial content in the nipple watering system of layer house with cascading cages in winter and spring and its influence on the production performance

WAN Yi¹, JI Zhiyuan², MA Ruiyu¹, DU Qiang³, YANG Rongbin³, ZHAN Kai^{1*}

(1. Anhui Key Laboratory of Livestock and Poultry Product Safety Engineering/Institute of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, Anhui Academy of Agriculture Science, Hefei 230001, China;

2. College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230001, China;

3. Anhui Sundaily Ecological Food Co. Ltd, Tongling 244100, China)

Abstract In order to understand the microbial pollution in the nipple watering system in the layer farms in winter and spring, the bacterial contents in the pipe water and the V-trough on different tiers of the layer house with 8 overlap tiers were continuously monitored to compare the bacterial contamination and its association with laying performance and egg quality traits. The total copy number of bacterial genome 16S rDNA was detected by quantitative real-time PCR. The results showed that there was no significant difference in the 16S rDNA copy number in pipe water among tiers, while

收稿日期: 2020-07-29

基金项目: 国家蛋鸡产业技术体系(CARS-40-K21);安徽省科技重大专项(18030701172);安徽省自然科学基金项目(1908085QC115)

第一作者: 万意,助理研究员,博士研究生,主要从事蛋鸡健康养殖方面研究,E-mail: eternalwan@163.com

通讯作者: 詹凯,研究员,主要从事蛋鸡生产与环境控制专业研究,E-mail: zhankai633@126.com

the 16S rDNA copy numbers in V-trough were slightly higher in the 3rd and 7th tier compared to the 1st and 5th tier ($P > 0.05$). The 16S rDNA copy number in the V-trough was 575.44 – 32 130.51 times higher than that in the pipe water ($P < 0.01$) on each tier throughout the experiment. The laying rate, albumen height, and Haugh unit of chickens were higher in the 1st and 5th tier compared to that in the 3rd and 7th tier, and there was no significant difference in other egg quality traits among tiers. The 16S rDNA copy number of bacteria in the pipe water was weakly and positively correlated with that in the V-trough on different tiers in both winter and spring (correlation coefficient, $r = 0.223$, $r = 0.225$). The bacterial content in V-trough was weakly and positively correlated with temperature and air bacterial content, and had significant positive correlation with humidity in winter ($r = 0.325$). The bacterial content in V-trough was weakly negatively correlated with laying rate and egg quality traits, and had significant negative correlation with Haugh unit and albumen height in spring ($r = -0.348$, $r = -0.479$). In conclusion, the bacteria content in the V-trough was much higher than that in the pipe water in both winter and spring, and had much higher correlation with environmental temperature, humidity and air quality, which indicated higher potential negative impacts on the laying performance and egg quality of laying hens. It is necessary to strengthen the monitoring of pollution and the control of safety inside V-trough during production.

Keywords layer house; nipple watering system; V-trough; bacteria content; laying performance

在现代化商品蛋鸡饲养过程中,饮水卫生安全逐渐得到生产者的重视。鸡群采食和饮水的同时各种有益和有害物质会被带入体内,从而对其健康产生危害^[1-2]。随着密闭式乳头饮水器的普遍使用,部分养殖场通常在水线下方安装 V 型接水槽,以防止乳头故障漏水和鸡群饮水外撒滴落至粪带^[3]。然而大多数生产者在关注水线水细菌微生物污染的同时,却忽略了 V 接水型槽的卫生情况及其对鸡群健康的威胁^[4]。

不良的采食和饮水环境会导致畜禽免疫系统任务加重,增重速度减慢,无法提高经济效益,甚至引发家禽疾病,造成重大的经济损失^[5]。水线下方敞开式的 V 型槽,由于长期暴露于养殖环境微生物气溶胶中,加上饮水器滴漏的水和鸡采食残渣以及空气粉尘,在适宜的环境条件下有害细菌会不断繁殖^[6],如大肠杆菌、沙门氏菌和葡萄球菌等,若不能及时和有效的控制,日积月累便会造成严重的槽内污染。通过对笼内鸡群采食习性的观察发现,鸡在采食后喜欢啄饮 V 型槽内水,这可能会对机体健康有着严重影响。因此,饮水系统中 V 型槽的配备对蛋鸡生产性能和企业效益产生的影响有待进一步研究。

为此,本课题组前期在夏季对鸡舍内水线水和 V 型槽水细菌数进行检测,发现 V 型槽内污染程度较高且对鸡群的产蛋性能和蛋品质有较大负面影响^[7]。为了更系统地探究规模化蛋鸡场内饮水系统的日常环境卫生,本研究拟以 8 层层叠式密闭笼养蛋鸡舍为研究对象,在冬季和春季测定了鸡舍内不

同笼层饮水装置中细菌微生物含量,比较水线水和 V 型槽水的污染情况及其对蛋鸡生产性能的影响,旨在为鸡舍内部环境控制和乳头式饮水系统的完善提供指导依据。

1 材料与amp;方法

1.1 试验鸡舍

选择安徽圣迪乐村生态食品有限公司的 8 层层叠式笼养密闭蛋鸡舍为对象,单栋存栏罗曼粉壳商品蛋鸡 5 万只。鸡舍中间用钢管管理走道隔为上、下楼各 4 层,长 73.0 m,宽 16.0 m,吊顶高 6.3 m,4 列 5 走道,单列单层笼位数量为 135 个,每笼饲养 6 只鸡,履带式清粪,自动喂料、饮水、环控和集蛋。

1.2 试验动物与分组

在鸡群 382 日龄时,选择舍内东边相邻 2 列鸡笼的前端(靠近湿帘端,第 13 号笼)、中端(第 73 号笼)、后端(靠近风机端,第 133 号),每端的第 1、3、5 和 7 层,共计 24 个监测点(监测点示意图见万意等^[7])。试验期内若有鸡只死亡,则选用体重相近的鸡只代替。

1.3 水样采集和环境参数测定

冬季分别在 2019-12-24,2020-01-07 和 01-21,春季分别在 2020-03-31 和 04-14,于每天上午 9:00 进行水样采集和环境参数测定。

采集各监测点对应鸡笼内水线水和 V 型槽水以测定细菌基因总拷贝数,水线水用无菌离心管直接接取 50 mL;V 型槽中积水用 2 mL 胶头滴管吸取,V 型槽内无水时使用灭菌棉拭子刮取,一同加入

离心管后加 DEPC 水稀释至 50 mL。所有采样材料均提前 1 天高压灭菌。

同时记录各监测点环境温度和湿度,并采用自然沉降法测定空气细菌数:在笼外放置营养琼脂糖培养基,于空气中暴露 5 min 后盖上皿盖并编号,然后将平皿于 37 °C 恒温箱中培养 24 h,按奥氏公式^[8]计算菌落总数:

$$C = 50\ 000N/AT$$

式中: C 为每立方米菌落总数, cfu/m^3 ; N 为每皿菌落数,个; A 为培养皿面积, cm^2 ; T 为采样时间, min。

1.4 水样细菌基因总拷贝数测定

1.4.1 引物设计

荧光定量 PCR 检测引物使用细菌 16S rDNA 通用引物,扩增区域为 V3~V4 区,序列如下: V3-F: CCT ACG GGN GGC WGC AG, V4-R: GGA CTA CHV GGG TAT CTA AT,扩增产物长度 466 bp。

1.4.2 样本总 DNA 提取

采集后的水样先进行预处理:使用真空泵抽吸,滤过孔径 0.22 μm 的滤膜,待检细菌截留在滤膜上,以 2 mL 灭菌水充分涮洗滤膜;洗脱液 12 000 rpm 离心 10 min,收集沉淀;然后使用通用型基因组 DNA 提取试剂盒 (Magnetic universal genomic DNA kit, DP705, 天根生化科技有限公司) 进行 DNA 提取,获得的基因组 DNA 以超微量核酸蛋白测定仪检测浓度及纯度 (Nanodrop 2000, Thermo Fisher Scientific USA)。

1.4.3 标准品质粒制备

绝对定量检测标准品质粒构建:以大肠杆菌标准株 (*E. coli* ATCC 25922) 16S rRNA 序列为参考序列,将其 16S rRNA 第 332~797 位共 466 bp 的序列构建至 T 载体 pMD-18T 中,重组质粒标记为 pMD-18T-16S rDNA,长度 3 158 bp。提取重组质粒并调整浓度至 100 $\text{ng}/\mu\text{L}$,算得其质粒拷贝数为 2.89×10^{10} $\text{copies}/\mu\text{L}$ 。用 ddH_2O 将标准品质粒进行 10 倍比稀释,使其浓度为 $2.89 \times 10^9 \sim 2.89 \times 10^3$ $\text{copies}/\mu\text{L}$,获得 7 个浓度梯度的标准品模板,用于荧光定量 PCR 检测建立标准曲线。

1.4.4 qRT-PCR 反应体系及步骤

采用 SYBR Green I 法实时荧光定量 PCR 进行细菌 16S rDNA 总拷贝数绝对定量检测;荧光定量 PCR 试剂盒为 TB Green[®] Premix Ex Taq[™] II

(RR820, Takara Japan)。荧光定量 PCR 反应体系如下: $2 \times \text{TB Green Premix Ex Taq II}$ 10 μL , V3-F 0.5 μL , V4-R 0.5 μL , DNA 1 μL , ddH_2O 8 μL , 总体积为 20 μL 。扩增条件:预变性 95 °C 30 s;扩增循环 95 °C 变性 5 s, 61 °C 退火延伸 60 s, 进行 40 个循环。熔解曲线条件如下: 98 °C 1 s, 68 °C 60 s, 98 °C 1 s;其中从 68~98 °C 机器持续性采集荧光信号 (5 readings/°C),熔解曲线生成温度区间。

1.5 生长性能和蛋品质测定

各监测点以 3 个相邻笼位鸡群为 1 组,每天上午 8:00 记录各组产蛋率、鸡蛋质量和畸形蛋率。每 2 周 1 次测定各组蛋品质性状:鸡蛋质量、蛋壳强度、蛋壳厚度、蛋壳颜色、蛋黄颜色、蛋白高度和哈氏单位。

1.6 数据处理

试验数据采用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析,使用 Turkey 法进行多重比较,不同笼层的试验结果为前、中和后三段测定的平均值,结果以“平均数士标准差”表示;各指标间相关系数使用 Pearson 法进行相关性分析; $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。每 1 mL 样本水中细菌基因总拷贝数以 10 为底取对数表示。

2 结果与分析

2.1 不同笼层的温度、湿度和空气细菌数

不同时间测定第 1、3、5 和 7 层的温度、湿度和空气细菌数见表 1。各笼层温、湿度和空气细菌数存在差异。由平均值来看,冬季和春季时舍内温度从第 1 层至第 7 层均呈现逐渐升高趋势,相对湿度呈降低趋势;冬季和春季时第 3 和 7 层空气细菌数均高于第 1 和 5 层,但差异不显著 ($P > 0.05$)。

2.2 不同笼层水线水和 V 型槽水细菌基因总拷贝数

不同时间测定第 1、3、5 和 7 层水线水和 V 型槽水中细菌含量见表 2。由平均值来看,水线水和 V 型槽水中细菌基因总拷贝数从 2019 年冬季至 2020 年春季随着时间推移逐渐增多,分别增涨 194.98 倍 (4.76~7.05 个单位) 和 4.08 倍 (9.26~9.87 个单位);不同阶段水线水中细菌基因总拷贝数在各笼层间差异不大,在冬季时第 5 层平均值最大,第 3 层最小,在春季时第 7 层平均值最大,第 1 层最小;不同阶段 V 型槽水中细菌基因总拷贝数在各笼层间差异较大,在冬季和春季第 3 和 7 层的平

均值均高于第 1 和 5 层。比较水线水和 V 型槽水中细菌含量,发现在各阶段 V 型槽水中细菌数均远

高于水线水中($P < 0.01$),高达 575.44~32 130.51 倍,在冬季时差异更明显。

表 1 冬春季鸡舍内不同笼层温湿度和空气细菌数

Table 1 Temperature, humidity and air bacterial count in different tiers of layer house during winter and spring

| 季节 Season | 日期 Date | 指标 Index | 笼层 Tier | | | |
|--------------|-------------|--|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | | 第 1 层 1 st tier | 第 3 层 3 rd tier | 第 5 层 5 th tier | 第 7 层 7 th tier |
| 冬季 Winter | 2019-12-24 | 温度/°C Temperature | 19.40±0.98 | 19.02±1.32 | 20.98±2.10 | 21.32±1.36 |
| | | 湿度/% Humidity | 58.52±4.66 | 58.45±5.65 | 55.43±3.49 | 55.90±5.22 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 12.99±4.45 | 13.80±5.12 | 11.20±2.72 | 14.36±2.51 |
| | 2020-01-07 | 温度/°C Temperature | 18.65±1.82 | 18.90±1.10 | 19.17±1.21 | 19.65±1.29 |
| | | 湿度/% Humidity | 58.98±3.16 | 59.77±3.65 | 56.15±4.45 | 57.80±5.52 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 10.38±2.55 | 15.72±3.41 | 10.88±1.62 | 12.83±2.89 |
| | 2020-01-21 | 温度/°C Temperature | 18.68±1.12 | 18.33±1.46 | 19.73±1.87 | 20.05±1.96 |
| | | 湿度/% Humidity | 59.10±3.17 | 60.56±4.55 | 56.39±4.98 | 55.48±4.97 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 18.84±4.24 | 24.20±2.27 | 14.80±3.26 | 16.83±2.86 |
| | 平均值 Mean | 温度/°C Temperature | 18.91±1.87 | 18.75±1.46 | 19.96±1.99 | 20.34±1.84 |
| | | 湿度/% Humidity | 58.87±4.50 | 59.59±4.89 | 55.99±4.98 | 56.39±5.27 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 14.00±4.92 | 17.54±5.08 | 12.30±3.67 | 14.67±3.10 |
| 春季 Spring | 2020-03-31 | 温度/°C Temperature | 23.40±1.98 | 23.86±1.27 | 24.11±1.61 | 24.78±1.48 |
| | | 湿度/% Humidity | 55.21±2.99 | 55.65±3.15 | 53.64±4.72 | 52.21±3.53 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 14.39±3.83 | 18.46±3.12 | 16.20±3.19 | 17.70±3.15 |
| | 2020-04-14 | 温度/°C Temperature | 23.67±0.94 | 24.12±1.21 | 24.89±1.26 | 25.12±1.76 |
| | | 湿度/% Humidity | 52.05±3.02 | 52.65±3.48 | 49.63±3.06 | 50.81±3.42 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 16.46±3.13 | 14.04±3.09 | 10.75±2.52 | 14.70±2.46 |
| | 平均值 Mean | 温度/°C Temperature | 23.54±1.87 | 23.99±1.62 | 24.50±1.96 | 24.95±1.71 |
| | | 湿度/% Humidity | 53.63±3.17 | 54.15±3.28 | 51.64±4.11 | 51.51±3.22 |
| | | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | 15.51±3.99 | 15.52±3.59 | 13.48±3.18 | 16.20±3.62 |

表2 冬季鸡舍内不同笼层水线和V型槽水细菌16S rDNA总拷贝数

Table 2 The 16S rDNA copy number of bacteria in the pipe water and the V-trough on different tiers in layer house during winter and spring

| 位置 Position | 笼层 Tier | 冬季 Winter | | | 春季 Spring | | | 平均值 平均值 |
|--|--------------------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-----------|------------|
| | | 2019-12-24 | 2020-01-07 | 2020-01-21 | 2020-03-31 | 2020-04-14 | | |
| 水线 Pipe water | 第1层 1 st tier | 4.70±0.09 | 6.15±0.17 | 6.56±0.20 | 5.80±0.83 | 6.88±0.27 | 7.02±0.41 | 6.93±0.39 |
| | 第3层 3 rd tier | 4.76±0.15 | 6.16±0.17 | 6.43±0.12 | 5.78±0.76 | 6.98±0.20 | 7.03±0.42 | 7.01±0.37 |
| | 第5层 5 th tier | 4.76±0.14 | 6.19±0.32 | 6.56±0.14 | 5.84±0.83 | 6.82±0.48 | 7.05±0.44 | 6.94±0.49 |
| | 第7层 7 th tier | 4.80±0.13 | 6.20±0.19 | 6.48±0.12 | 5.83±0.77 | 7.04±0.33 | 7.11±0.48 | 7.07±0.41 |
| | 平均值 Mean | 4.76±0.13a | 6.17±0.21 a | 6.51±0.15 a | 6.93±0.52 a | 7.05±0.36 a | | |
| V型槽 V-trough | 第1层 1 st tier | 9.20±0.28 | 9.26±0.32 | 9.46±0.18 | 9.31±0.40 | 9.75±0.44 | 9.85±0.18 | 9.81±0.39 |
| | 第3层 3 rd tier | 9.45±0.41 | 9.44±0.33 | 9.60±0.22 | 9.50±0.32 | 9.88±0.65 | 9.83±0.47 | 9.85±0.58 |
| | 第5层 5 th tier | 9.16±0.29 | 9.15±0.24 | 9.41±0.28 | 9.24±0.28 | 9.83±0.50 | 9.79±0.27 | 9.81±0.41 |
| | 第7层 7 th tier | 9.25±0.33 | 9.26±0.33 | 9.56±0.27 | 9.35±0.33 | 9.94±0.48 | 9.97±0.25 | 9.96±0.36 |
| | 平均值 Mean | 9.26±0.33 b | 9.27±0.31 b | 9.51±0.24 b | 9.85±0.50 b | 9.87±0.33 b | | |
| V型槽细菌基因拷贝数与 水线水细菌基因拷贝数比值 Ratio of the copy number of bacteria in pipe water and in V-trough | | 32 130.51 | 1 261.80 | 994.53 | 645.67 | 575.44 | | |

注:同列不同小写字母表示差异显著($P<0.01$)。下同。Notes: The different lowercase in a column indicate significant differences at $P<0.01$. The same as below.

2.3 不同笼层蛋鸡生产性能和蛋品质性状

舍内不同笼层产蛋率、畸形蛋率及蛋品质性状分别见表3、表4和表5。从生产性能看,冬季和春季时第1和5层产蛋率均高于第3和7层;冬季和春季时不同笼层畸形蛋率无显著差异;随着蛋鸡日龄增加,次年春季产蛋率低于冬季,畸形蛋率高于冬季。从蛋品质性状看,冬季时第5

层蛋白高度显著高于其余各层($P < 0.01$),且第1和5层蛋白高度和哈氏单位均高于第3和7层,其余各性状指标在不同笼层间无显著差异;春季时第1和5层蛋黄颜色和蛋白高度显著高于其余各层($P < 0.01$),第1和5层哈氏单位均高于第3和7层,其余各性状指标在不同笼层间无显著差异。

表3 鸡舍内不同笼层产蛋率和畸形蛋率

Table 3 The laying rate and abnormal egg rate of layers on different tiers in layer house %

| 笼层 Tier | 冬季 Winter | | 春季 Spring | |
|--------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|----------------------------|
| | 产蛋率 Laying rate | 畸形蛋率 Abnormal eggs rate | 产蛋率 Laying rate | 畸形蛋率 Abnormal eggs rate |
| 第1层 1 st tier | 80.90±6.29 | 0.57±0.17 | 79.36±6.55 b | 1.15±0.44 |
| 第3层 3 rd tier | 78.43±7.31 | 0.46±0.15 | 77.51±6.41 a | 0.97±0.73 |
| 第5层 5 th tier | 78.82±8.30 | 0.81±0.22 | 78.31±5.88 ab | 1.46±0.89 |
| 第7层 7 th tier | 77.97±6.08 | 0.62±0.18 | 77.19±7.67 a | 1.62±0.93 |
| P值 P value | 0.061 | 0.432 | 0.006 | 0.015 |

2.4 细菌基因总拷贝数与环境参数的相关性

水线水和V型槽水中细菌基因总拷贝数与环境参数的相关性见表6。水线水细菌数和V型槽水细菌数在冬季和春季均呈弱正相关(相关系数 $r = 0.223, r = 0.225$),环境温度与湿度在冬季和春季均呈极显著负相关($r = -0.597, r = -0.921$);水线水细菌数在冬季和春季时,与温度、湿度和空气细菌数均呈不同程度弱相关;V型槽细菌数在冬季和春季时,与温度、湿度和空气细菌数均呈弱正相关,其中在冬季时与湿度呈显著正相关($r = 0.325$);温度和湿度与空气细菌数在冬季和春季时均呈弱相关。

2.5 细菌基因总拷贝数和环境参数与产蛋率和蛋品质的相关性

水线水和V型槽水细菌基因总拷贝数、温度、湿度和空气细菌数与产蛋率和蛋品质性状的相关性见表7。水线水细菌数与产蛋率和蛋品质性状在冬、春季均呈不同程度弱负相关;V型槽水细菌数与产蛋率和蛋品质性状在冬季和春季均呈不同程度负相关,其中春季时与蛋白高和哈氏单位呈显著负相关($r = -0.348, r = -0.479$);空气细菌数与产蛋率和蛋品质性状在冬、春季均呈不同程度弱负相关;环境温度与产蛋率和蛋重在冬、春季均呈不同程度正相关,与蛋白高度和哈氏单位均呈不同程度弱负相

关,其中冬季时与产蛋率呈显著正相关($r = 0.215$);环境湿度与产蛋率和蛋品质性状在冬季和春季均呈不同程度弱相关。

3 讨论

本课题组前期利用16S rDNA细菌通用引物扩增,通过实时荧光定量PCR法成功检测了夏季鸡舍内水线水和V型槽水中细菌含量,发现不同阶段所测V型槽水细菌基因总拷贝数显著高于水线水中^[7]。本试验中,冬、春季各阶段所测V型槽水细菌基因总拷贝数在各笼层均远远高于水线水中,最高可达32 130.51倍,这与夏季所测情况基本一致。水线水中细菌含量远低于V型槽中,可能是由于水管密闭仅有饮水乳头露置在外,加上鸡群日常频繁啄饮有冲洗作用,同时舍内水线水也会提前消毒和定期冲洗,而敞开的V型槽内积水和内容物从未被清洗处理过,日积月累污染严重。次年春季水线水和V型槽水中细菌基因总拷贝数均高于冬季,表明随着时间推移和温度回升,水线和V型槽内细菌微生物会不断滋生增加。

舍内温湿度是影响蛋鸡饮食卫生和生产性能的重要因素^[9]。李俊营等^[10]对6层层叠式笼养密闭式鸡舍冬季环境参数进行测定,发现上层平均温度

表4 冬季鸡舍内不同笼层的蛋品质

Table 4 Egg quality traits of layers on different tiers in layer house during winter

| 笼层 Tier | 鸡蛋质量/g Egg weight | 蛋壳强度/ (kg/cm ²) Shell strength | 蛋壳厚度/mm Shell thickness | 蛋壳颜色 Shell color | 蛋黄颜色 Yolk color | 蛋白高度/mm Albumen height | 哈氏单位 Haugh unit |
|--------------|----------------------|--|----------------------------|---------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| 第1层 1st tier | 61.59±5.04 | 4.29±0.75 | 0.36±0.04 | 61.58±5.92 | 9.67±1.12 | 5.76±1.23 a | 73.50±10.30 |
| 第3层 3rd tier | 61.35±4.40 | 4.22±0.86 | 0.38±0.02 | 61.24±5.07 | 9.50±0.89 | 5.63±1.33 a | 72.70±11.01 |
| 第5层 5th tier | 61.85±5.57 | 4.18±0.83 | 0.35±0.04 | 61.89±4.70 | 9.53±0.94 | 5.80±1.37 b | 74.04±9.32 |
| 第7层 7th tier | 62.71±5.08 | 4.48±0.64 | 0.36±0.03 | 60.35±5.10 | 9.47±0.85 | 5.64±1.23 a | 71.93±10.81 |
| P值 P value | 0.155 | 0.040 | 0.132 | 0.102 | 0.263 | 0.002 | 0.316 |

表5 春季鸡舍内不同笼层的蛋品质

Table 5 Egg quality traits of layers on different tiers in layer house during spring

| 笼层 Tier | 鸡蛋质量/g Egg weight | 蛋壳强度/ (kg/cm ²) Shell strength | 蛋壳厚度/mm Shell thickness | 蛋壳颜色 Shell color | 蛋黄颜色 Yolk color | 蛋白高度/mm Albumen height | 哈氏单位 Haugh unit |
|--------------|----------------------|--|----------------------------|---------------------|--------------------|---------------------------|--------------------|
| 第1层 1st tier | 64.97±4.34 | 4.48±0.57 | 0.36±0.03 | 60.32±4.50 | 9.69±0.79 b | 6.07±0.95 b | 73.27±7.45 |
| 第3层 3rd tier | 64.75±4.42 | 4.37±0.72 | 0.36±0.04 | 61.26±6.53 | 9.44±0.79 ab | 5.87±1.13 a | 70.81±9.46 |
| 第5层 5th tier | 63.22±3.54 | 4.15±1.08 | 0.36±0.05 | 60.76±6.13 | 9.63±1.01 b | 6.11±0.98 b | 74.24±8.56 |
| 第7层 7th tier | 63.16±5.40 | 4.30±0.89 | 0.36±0.04 | 60.93±5.29 | 9.12±1.05 a | 5.80±0.93 a | 72.91±8.06 |
| P值 P value | 0.172 | 0.194 | 0.552 | 0.651 | 0.006 | 0.005 | 0.07 |

表 6 水线水和 V 型槽水细菌基因总拷贝数与温湿度和空气细菌数相关分析

Table 6 Correlation analysis of 16S rDNA copy number of bacteria in pipe water and V-trough between temperature and humidity as well as bacterial content in air

| 季节 Season | 指标 Index | 水线水细菌 总拷贝数 Copy number of bacteria in pipe water | V 型槽水细菌 总拷贝数 Copy number of bacteria in V-trough | 温度/°C Temperature | 湿度/% Humidity | 空气细菌数/ (cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air |
|--------------|--|--|--|----------------------|------------------|---|
| 冬季 Winter | 水线水细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in pipe water | | 0.223 | -0.061 | 0.124 | 0.090 |
| | V 型槽细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in V-trough | | | 0.180 | 0.325* | 0.178 |
| | 温度/°C Temperature | | | | -0.597** | 0.031 |
| | 湿度/% Humidity | | | | | 0.095 |
| | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | | | | | |
| 春季 Spring | 水线水细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in pipe water | | 0.225 | 0.081 | 0.158 | -0.116 |
| | V 型槽细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in V-trough | | | 0.279 | 0.252 | 0.231 |
| | 温度/°C Temperature | | | | -0.921** | 0.167 |
| | 湿度/% Humidity | | | | | 0.200 |
| | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | | | | | |

注：* $P < 0.05$ ；** $P < 0.01$ ，表 7 同。Notes: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, The same as Table 7.

显著高于下层，平均湿度显著低于下层，这与本研究结果一致。舍内环境中微生物形成的气溶胶不仅污染环境，还可能危害畜禽的健康^[11]。魏磊等^[12]发现季节变化对舍内气溶胶的变化会产生一定的影响，冬季气载金黄色葡萄球菌浓度高于夏季和秋季；牛晋国等^[13]测定了鸡舍内不同位置细菌气溶胶浓度，

发现细菌气溶胶浓度与采样位置无关，但从湿帘端到风机端有升高的趋势。本试验中舍内第 3 和 7 层空气细菌数在冬、春季均高于第 1 和 5 层，这可能与第 3 和 7 层分别处于舍内 2 个楼层的上部，空气流动速度较大和湿度较低有关。

卢元鹏等^[14]发现在 4 层层叠式笼养蛋鸡舍内

表7 水线水和V型槽水中细菌基因总拷贝数与产蛋率和蛋品质的相关性

Table 7 Correlation analysis of 16S rDNA copy number of bacteria in pipe water and V-trough between laying rate and egg quality traits

| 季节 Season | 指标 Index | 产蛋率/% Laying rate | 鸡蛋质量/g Egg weight | 蛋白高度/mm Albumen height | 哈氏单位 Haugh unit |
|--------------|--|----------------------|----------------------|---------------------------|--------------------|
| | 水线水细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in pipe water | -0.085 | -0.024 | -0.006 | -0.069 |
| | V型槽细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in V-trough | -0.127 | -0.129 | -0.171 | -0.159 |
| 冬季 Winter | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | -0.049 | -0.131 | -0.120 | -0.074 |
| | 温度/℃ Temperature | 0.215* | 0.148 | -0.072 | -0.035 |
| | 湿度/% Humidity | 0.125 | -0.092 | 0.016 | 0.016 |
| | 水线水细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in pipe water | -0.082 | -0.121 | -0.132 | -0.047 |
| | V型槽细菌基因总拷贝数 Copy number of bacteria in V-trough | -0.170 | -0.190 | -0.348* | -0.479* |
| 春季 Spring | 空气细菌数/(cfu×10 ³ /m ³) Bacterial content in air | -0.095 | -0.129 | -0.162 | -0.034 |
| | 温度/℃ Temperature | 0.181 | 0.199 | -0.106 | -0.113 |
| | 湿度/% Humidity | -0.107 | 0.103 | 0.131 | 0.082 |

第1层产蛋率最低,第3层产蛋率最高。Sahin^[15]发现不同笼层蛋白指数、蛋黄指数和哈氏单位等均无显著差异。本试验中,在冬、春季节舍内第1和5层产蛋率、蛋白高度、哈氏单位均高于第3和7层,除了与各笼层间温度、湿度和通风量等环境差异有关^[16],还可能与第1和5层V型槽水细菌基因总拷贝数和空气细菌含量较低有关。推测蛋鸡产蛋率和蛋品质与空气质量和V型槽内微生物环境有关,气溶胶中细菌可能会对鸡呼吸道产生危害,槽内污物等有机物中含有大量的病原微生物,鸡群采食后可能会致肠道和输卵管慢性疾病的发生。因此,在生产中控制好舍内水线卫生和空气质量的同时,还需要提高对V型槽内污染情况的关注。

本研究中,舍内温度和湿度在不同季节均呈显

著负相关,这与李俊营等^[10]研究结果一致。水线水细菌数和V型槽水细菌数在冬、春季节均呈弱正相关,与万意等^[7]夏季的研究结果一致,因为当鸡啄饮乳头时会造成饮水器漏水或外洒至V型槽内,所以水线中微生物滋生也会增加V型槽中的细菌数量。水线水细菌基因总拷贝数与温、湿度及空气细菌数呈弱相关,可能是由于水线管密闭且饮水乳头经常被鸡群啄饮,从而温、湿度及空气质量对水线水影响较小。V型槽水细菌基因总拷贝数与温、湿度和空气细菌数均呈正相关,且在冬季时与湿度呈显著正相关,表明适宜的温度和较高的湿度可致使槽内细菌微生物迅速繁殖^[17]。因此,控制好合理的舍内温湿度不仅有利于鸡群的生长健康,还可以抑制V型槽内有害微生物的滋生。

温度与产蛋率、蛋重均呈正相关,其中在冬季与产蛋率呈显著正相关,提醒在冬季生产中更应重视舍内保暖措施。水线水细菌基因总拷贝数和空气细菌数与产蛋率和蛋品质性状等均呈弱相关,表明水线水污染和空气质量对鸡群生产性能影响相对较小;V型槽水细菌基因总拷贝数与产蛋率和蛋品质性状均呈负相关,其中在春季与蛋白高度和哈氏单位呈显著负相关,表明V型槽内细菌微生物污染有致使蛋鸡生产性能和鸡蛋品质下降的趋势,舍内鸡群长期啄饮V型槽水可能会危害机体健康和生产性能,对企业经济效益产生负面影响。结合前期夏季的研究结果,建议鸡舍内饮水系统配备有V型槽的养殖场,无论在夏季还是冬春季都应增强对V型槽卫生安全的关注,需定期采集槽内水样进行污染情况监测,同时依照自身条件制定并执行一套实用的V型槽清洁消毒技术规程。

4 结 论

1)冬季和春季层叠式蛋鸡舍内V型槽水中细菌微生物含量远高于水线水中,污染程度更大,次年春季时水线水和V型槽水中细菌微生物含量均高于冬季时。

2)冬季和春季舍内水线水细菌数与V型槽水细菌数均呈弱正相关,V型槽水细菌数与温度、湿度和空气细菌数间正相关程度更高,更易受环境质量影响。

3)水线水和V型槽水细菌含量与产蛋率、蛋重、蛋白高度和哈氏单位均呈不同程度负相关,V型槽水细菌污染对蛋鸡生产性能和蛋品质有更大的潜在负面影响。

参考文献 References

- [1] 吴艳平,姚学军,贾亚雄,秦玉成,陈余,朱法江,徐阳,蒲兴,秦秀慧,张国中.北京地区规模化鸡场鸡饮用水细菌污染情况的调查与分析[J].中国兽医杂志,2013,49(10):71-74,78
Wu Y P, Yao X J, Jia Y X, Qin Y C, Chen Y, Zhu F J, Xu Y, Pu X, Qin X H, Zhang G Z. Investigation and analysis of bacterial contamination of chicken's drinking water in intensive chicken farms of Beijing[J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2013, 49(10): 71-74, 78 (in Chinese)
- [2] 王阳,张家发,胡喜军,李保明.规模化鸡场饮水系统添加微酸性电解水杀菌效果试验[J].农业工程学报,2017,33(18):230-236
Wang Y, Zhang J F, Hu X J, Li B M. Experiment on bactericidal efficacy in drinking system using slightly acidic electrolyzed water in large-scale poultry houses [J]. *Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering*, 2017, 33(18): 230-236 (in Chinese)
- [3] 郝建平.笼养鸡舍乳头式饮水器漏水治理的设想[J].上海畜牧兽医通讯,1997(6):7-9
Hao J P. The idea of water leakage control of nipple water fountain in cage chicken house [J]. *Shanghai Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 1997(6): 7-9 (in Chinese)
- [4] 刘浩民.鸡舍水线水质污染情况及控制措施[J].畜牧兽医学报;电子版,2020(12):30-31
Liu H M. Water pollution of chicken house waterline and its control measures[J]. *Graziery Veterinary Sciences: Electronic Version*, 2020(12): 30-31 (in Chinese)
- [5] 杨金霞.浅析家禽饮水管理与卫生防疫[J].中国畜禽种业,2020,16(7):186
Yang J X. Analysis of the drinking water management and sanitary epidemic prevention in poultry [J]. *The Chinese Livestock and Poultry Breeding*, 2020, 16(7): 186 (in Chinese)
- [6] 杜燕,沈艳艳,袁东芳,李丛丛,李舫.肉鸡养殖周期内固体饲料容器细菌污染分析[J].中国家禽,2019,41(24):56-58
Du Y, Shen M Y, Yuan D F, Li C C, Li F. Analysis of bacterial contamination in solid feed containers during broiler breeding [J]. *China Poultry*, 2019, 41(24): 56-58 (in Chinese)
- [7] 万意,盛环宇,马瑞钰,杜强,杨荣斌,詹凯.夏季层叠式蛋鸡舍乳头式饮水工艺细菌含量检测[J].中国农业大学学报,2020,25(7):128-136
Wan Y, Sheng H Y, Ma R Y, Du Q, Yang R B, Zhan K. Detection of bacterial content in the nipple watering system of layer house with cascading cages in summer [J]. *Journal of China Agricultural University*, 2020, 25(7): 128-136 (in Chinese)
- [8] 李燕.撞击法和沉降法监测室内空气微生物结果比较[J].广西预防医学,2000,6(5):298-300
Li Y. Study of natural precipitation method and impacting method for measurement of airborne microorganisms in room [J]. *Guangxi Journal of Preventive Medicine*, 2000, 6(5): 298-300 (in Chinese)
- [9] 李福伟,刘玮,高金波,韩海霞,周艳,曹顶国,杨景晔,仲菊,刘立民,雷秋霞.层叠式笼养蛋鸡舍内环境参数的监测与分析[J].黑龙江畜牧兽医,2018(10):53-55,244
Li F W, Liu W, Gao J B, Han H X, Zhou Y, Cao D G, Yang J C, Zhong J, Liu L M, Lei Q X. Monitoring and analysis of environmental parameters of cascade cage for laying hen [J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(10): 53-55, 244 (in Chinese)
- [10] 李俊营,詹凯,唐建宏,李玲,刘伟,马瑞钰,李岩.冬季六层层叠式笼养密闭式鸡舍环境质量测定与分析[J].中国家禽,2016,

- 38(13): 31-35
- Li J Y, Zhan K, Tang J H, Li L, Liu W, Ma R Y, Li Y. Determination and analysis of environmental quality of enclosed layer house with six overlap tiers cages in winter[J]. *China Poultry*, 2016, 38(13): 31-35 (in Chinese)
- [11] Masclaux F G, Sakwinska O, Charrière N, Semaani E, Oppliger A. Concentration of airborne staphylococcus aureus (MRSA and MSSA), total bacteria, and endotoxins in pig farms[J]. *The Annals of Occupational Hygiene*, 2013, 57(5): 550-557
- [12] 魏磊, 崔金生. 不同季节鸡舍环境中细菌气溶胶含量的变化分析[J]. *中国家禽*, 2012, 34(4): 59-60, 63
- Wei L, Cui J S. Analysis of changes of air bacterial content in chicken house in different season[J]. *China Poultry*, 2012, 34(4): 59-60, 63 (in Chinese)
- [13] 牛晋国, 申李琰, 任彬琳, 薛华伟. 夏季立体养殖肉鸡舍细菌气溶胶分布规律研究[J]. *中国家禽*, 2018, 40(15): 35-38
- Niu J G, Shen L Y, Ren B L, Xue H W. Study on distribution characteristics of bacterial aerosols inside broiler house with overlap cages in summer[J]. *China Poultry*, 2018, 40(15): 35-38 (in Chinese)
- [14] 卢元鹏, 朱树平, 闫鑫鹏, 刘国平, 王千军, 王平, 张建平. 笼养蛋鸡舍不同笼层的环境以及产蛋性能分析[J]. *中国家禽*, 2018, 40(1): 62-65
- Lu Y P, Zhu S P, Yan X P, Liu G P, Wang Q J, Wang P, Zhang J P. Analysis on the environment of different tiers and egg-laying performance of chickens in the poultry cage house [J]. *China Poultry*, 2018, 40(1): 62-65 (in Chinese)
- [15] Sahin S. Effects of cage location and tier level on performance and egg quality traits of laying hens[J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11(14): 2380-2383
- [16] 施正香, 俞宏军, 李保明, 温树香. 华北地区商品蛋鸡舍冬季环境管理[J]. *中国农业大学学报*, 1997, 2(6): 71-75
- Shi Z X, Yu H J, Li B M, Wen S X. Environmental management on commercial layer housing during winter in North China[J]. *Journal of China Agricultural University*, 1997, 2(6): 71-75 (in Chinese)
- [17] 孙玉彬, 朱虹, 潘秀桃. 冬季蛋鸡的饲养与环境控制[J]. *农牧产品开发*, 2001(4): 37-39
- Sun Y B, Zhu H, Pan X T. Raising and environmental control of laying hens in winter[J]. *Agriculture Products Development*, 2001(4): 37-39 (in Chinese)

责任编辑: 秦梅