

一株山羊源肠炎沙门氏菌对小鼠的致病性研究

谭烁¹, 冯帆¹, 陈极奎¹, 汤承^{1,2}, 岳华^{1,2*}

(1. 西南民族大学生命科学与技术学院, 四川成都 610041; 2. 国家民委青藏高原动物疫病防控创新团队, 四川成都 610041)

摘要 [目的] 探讨山羊源肠炎沙门氏菌(swun3816)对小鼠的致病性。[方法] 从四川省某山羊养殖场腹泻粪便中分离出 1 株肠炎沙门氏菌, 采用灌胃途径测定 swun3816 对 BALB/c 小鼠的半数致死量, 根据毒力测定结果选择合适的剂量, 建立 swun3816 感染小鼠模型, 并于感染后 6、12、24、48、72、96 h 随机选择 3 只小鼠进行剖检, 观察其大体病变, 同时采集心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏及肠道等器官, 制备石蜡切片, 观察其病理组织学变化。[结果] 经灌胃途径接种 $10^2 \sim 10^8$ CFU/mL 均可致小鼠的不同程度发病和死亡, LD_{50} 为 155.6 CFU/只; 用 5×10^3 CFU/只剂量给小鼠灌胃, 建立了 swun3816 小鼠模型, 感染小鼠最初出现精神沉郁、食欲减退和眼部浆液性渗出物等症状, 感染后 8.5 h 开始出现死亡, 第 6 天出现死亡高峰, 剖检可见肺脏淤血和出血斑, 脾脏淤血肿大, 肝脏表面有大小不一的不规则灰白色坏死灶; 肠液分泌增多呈黄色, 小肠黏膜出血, 肠壁变薄。病理组织学观察显示, 肝脏、肾脏、肺脏、脾脏、心脏出现变性、坏死和炎性细胞浸润等病变, 十二指肠、空肠和回肠绒毛断裂脱落; 盲肠、结肠、直肠在整个试验期间未见明显病变。[结论] 山羊源肠炎沙门氏菌 swun3816 能引起小鼠全身性感染, 具有很强的致病力。

关键词 肠炎沙门氏菌; 致病性; 病理组织学变化; 山羊

中图分类号 S852.61*2 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2018)13-0090-05

Study on the Pathogenicity of a Strain of *Salmonella enteritidis* from Goat to Mice

TAN Shuo, FENG Fan, CHEN Ji-kui et al (College of Life Science and Technology, Southwest University for Nationalities, Chengdu, Sichuan 610041)

Abstract [Objective] To investigate the pathogenicity of *Salmonella enteritidis* strain (swun3816) from goat to mice. [Method] A strain of *Salmonella enteritidis* was isolated from the faeces of diarrhea goats in a goat farm of Sichuan Province. The median lethal dose (LD_{50}) of swun3816 strain to BALB/c mice was determined by intragastric administration. The appropriate dose was selected according to the determination results of toxicity and the pathological model of swun3816 infected mice was established. Three mice were randomly chosen to make autopsy after infecting 6, 12, 24, 48, 72 and 96 h. And the general pathological changes were observed, and heart, liver, spleen, lung, kidney, intestinal tract and other organs were collected to make paraffin sections and observe histopathological changes. [Result] When mice was injected with $10^2 \sim 10^8$ CFU/mL swun3816 strain by intragastric administration, different levels of morbidity and death were caused, LD_{50} was 155.6 CFU/ind. When the intragastric dose was 5×10^3 CFU/ind., pathological model of swun3816 strain was established. At first, the infected mice performed the symptoms of depression, loss of appetite and serious exudate in the eyes, etc. The death appeared after infecting 8.5 h and the peak of the death appeared on the sixth day. From the autopsy results, blood spots in lungs, congestion in swollen spleens, and irregular grayish necroses on liver surface were found. Intestinal lesion included increased yellow secretion, bleeding intestinal mucosa and thinning intestinal wall. Histological and pathological examination showed degeneration, necrosis and inflammatory cell infiltration were seen in liver, kidney, lung, spleen and heart. The intestinal villi of duodenum, jejunum and ileum broke off and fell away, while cecum, colon and rectum remained normal in all experiments. [Conclusion] *Salmonella enteritidis* swun3816 strain from goat could cause systemic infection in mice with a strong pathogenicity.

Key words *Salmonella enteritidis*; Pathogenicity; Histopathological change; Goat

绝大多数沙门氏菌对人和动物都有致病性, 很容易在动物与动物、动物与人以及人与人之间传播^[1]。沙门氏菌在宿主肠道内生长繁殖, 通过肠上皮细胞进入体内, 并通过血液循环导致全身感染和菌血症, 引起发热及腹泻^[2]。畜禽携带的沙门氏菌很容易通过动物产品的食物链成为人类的重要来源^[3-4], 沙门氏菌引起的食物中毒约占细菌性食物中毒的 42.6%~60.0%, 在世界大多数国家沙门氏菌引起的食源性疾病占微生物性食源性疾病的首位^[5], 在我国, 沙门氏菌性食物中毒事件多年来也一直占据细菌性食物中毒事件的首位^[6], 世界卫生组织 (WHO) 将沙门氏菌列入具有严重危害和中等危害的食物传播性病原。据欧洲食品安全局 (EFSA) 报道, 匈牙利 2013 年零售的生鲜畜禽肉中沙门氏菌平均检出率为 18.6%^[7]; Mihaiu 等^[8]报道罗马尼亚生鲜鸡肉、猪肉中沙门氏菌的平均检出率为 22.9%; Thai 等^[9]报道越南鲜鸡、猪肉中沙门氏菌的平均检出率均为

41.1%。畜禽感染沙门氏菌后可呈无症状带菌, 会降低动物的繁殖力, 或者可能加重病情或死亡率, 也引起致死性疾病, 造成巨大的经济损失。肠炎沙门氏菌主要引起人类的食物中毒和胃肠炎以及畜禽的肠炎。王晶晶等^[10]研究表明四川省部分集约化山羊养殖场沙门氏菌的健康带菌率为 54.59%。迄今为止, 国内对山羊源肠炎沙门氏菌致病性的研究资料甚少。笔者对一株山羊源肠炎沙门氏菌对小鼠的致病性进行了研究。

1 材料与方法

1.1 培养基及试剂 BPW 增菌液、TTB 增菌液、SS 培养基, 均购自杭州微生物试剂公司; 沙门氏菌 A-F 多价诊断血清购自宁波天润生物药业有限公司。

1.2 实验动物及临床样本 BALB/c 雌性小鼠 (SPF), 体质量为 (20 ± 2) g, 购自成都达硕实验动物有限公司; 腹泻粪便来自四川省某肉山羊养殖场。

1.3 沙门氏菌的分离与鉴定

1.3.1 增菌。取 1 g 左右粪便样接种于 BPW 增菌液中, $(36 \pm 1)^\circ\text{C}$ 下培养 24 h。移取 1 mL BPW 增菌液转种于 10 mL TTB 增菌液中 $(42 \pm 1)^\circ\text{C}$ 培养 24 h。

基金项目 国家重点研发计划项目 (2016YFD0500907)。**作者简介** 谭烁 (1993—), 男, 黑龙江黑河人, 硕士研究生, 研究方向: 动物传染病防治。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事动物传染病防治研究。**收稿日期** 2018-01-24

1.3.2 分离与纯化。培养后的 TTB 增菌液划线接种于 SS 培养基, (36 ± 1) °C 培养 24 h, 从每个培养基上挑取 3 ~ 5 个圆形、有光泽、隆起、光滑的疑似菌落接种于 SS 培养基, 进行纯培养。

1.3.3 沙门氏菌的鉴定。用 A ~ F 多价血清与分离菌株的纯培养进行玻板凝集试验, 阳性菌株送至四川省疾病预防控制中心进行鉴定。

1.4 LD₅₀ 的测定 将沙门氏菌分离株 (swun3816) 接种于 TSB 培养基, 37 °C 培养 18 h, 采用比浊法测定细菌浓度, 以西南民族大学动物医学实验室建立的回归方程计算各稀释度的菌落形成单位 (CFU), 用 TSB 将菌液进行 10 倍递增稀释, 使其终浓度为 10² ~ 10⁸ CFU/mL。将 35 只小鼠随机分为 7 组, 每组 5 只, 于灌胃前 3 h 停止喂食和饮水, 组① ~ ⑦分别灌胃接种不同浓度的沙门氏菌, 0.5 mL/只。灌胃后各组小鼠隔离饲养, 自由采食和饮水, 逐日观察并记录各组小鼠发病死亡情况, 采用 Bliss 法计算 LD₅₀。

1.5 感染模型的建立 根据 LD₅₀ 的测定结果选择感染剂量, 通过灌胃途径接种沙门氏菌分离株, 每次接种 5 只小鼠, 建立感染小鼠模型, 试验重复 3 次, 以确保模型的稳定性。

1.6 病理组织学观察 沙门氏菌分离株灌胃接种 18 只小

鼠, 用于建立感染模型, 分别于接种后 6、12、24、48、72、96 h 随机取出 3 只, 无痛处死, 分别摘取心脏、肝脏、脾脏、肺脏、肾脏、十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结肠、直肠等器官, 用 4% 多聚甲醛固定, 制备石蜡切片, HE 染色并镜检, 另选取 3 只小鼠灌胃等体积 TSB, 并于灌胃后 6 h, 采用与模型组相同的方法处死小鼠并采样制备石蜡切片, 作为健康对照组。

2 结果与分析

2.1 细菌分离鉴定结果 从山羊腹泻粪便样本中分离沙门氏菌疑似菌落, 纯培养物与沙门氏菌 A ~ F 多价血清的玻板凝集试验为阳性, 分离菌株 swun3816 经四川省疾病预防控制中心血清学鉴定为肠炎沙门氏菌。

2.2 swun3816 对小鼠的致病性

2.2.1 临床症状。7 个剂量的 swun3816 经灌胃途径接种小鼠, 均可引起不同程度发病和死亡。小鼠最早于感染后 3 h 开始出现临床症状, 表现为被毛粗乱、蜷缩弓背、精神不振、两侧眼睛流出浆液性眼泪、眼周被毛濡湿 (图 1a)、步履蹒跚、呼吸急促等症状, 并随着感染时间的延长而逐渐加重, 8.5 h 后开始出现死亡。

2.2.2 swun3816 对小鼠的 LD₅₀。不同剂量 swun3816 对小鼠的致死情况见表 1。对表 1 中数据采用 Bliss 方法进行计算, 得出 swun3816 对小鼠的 LD₅₀ 为 155.6 CFU/只。

表 1 不同剂量 swun3816 对小鼠的致死情况

Table 1 The lethal situations of different doses of swun3816 on mice

组别 Group	接种量 Dose CFU/只	小鼠数量 Number of mice//只	死亡小鼠数量 Number of dead mice//只	致死率 Death rate %
①	5 × 10 ⁷	5	5	100
②	5 × 10 ⁶	5	5	100
③	5 × 10 ⁵	5	5	100
④	5 × 10 ⁴	5	5	100
⑤	5 × 10 ³	5	5	100
⑥	5 × 10 ²	5	4	80
⑦	5 × 10 ¹	5	1	20

2.3 swun3816 感染小鼠模型的建立 选择经灌胃途径给小鼠接种 swun3816, 接种量为 5 × 10³ CFU/只, 发现小鼠在 96 h 内全部死亡, 临床症状和大体病变与“2.2.1”相似, 3 次重复试验结果一致, 说明感染模型成功建立且稳定。

2.4 大体病变 小鼠肺脏严重淤血, 表面有大量出血斑 (图 1b); 脾脏淤血肿大, 边缘钝圆, 体积为正常小鼠的 2 ~ 3 倍 (图 1c); 肝脏淤血肿大, 表面可见大量不规则的灰白色坏死灶 (图 1d); 肠道充盈, 内容物多呈淡黄色黏液样。小肠淤血, 其余肠段未见明显病变。对照组小鼠未见病变。

2.5 swun3816 感染小鼠的病理组织学变化

2.5.1 肝脏。感染后 12 h, 肝细胞出现广泛性的空泡变性, 空泡较小 (图 2a); 感染后 24 h, 肝细胞空泡变性更加严重, 空泡变大变多 (图 2b); 感染后 48 h, 窦状隙充血 (图 2c), 肝细胞索出现核溶解、消失的无核细胞结构; 感染后 72 h, 出现少量散在、较小的、具有蓝染核碎片的凝固性坏死灶; 感染后 96 h, 窦状隙严重充血, 肝组织出现大面积岛状分布的凝固

性坏死灶 (图 2d)。

2.5.2 肾脏。感染后 12 ~ 96 h, 肾小管上皮细胞肿胀, 广泛空泡变性, 肾小管管腔变小甚至消失 (图 3a), 肾小管管腔内有均质浅红色染的管型, 间质部分血管扩张充血 (图 3b)。

2.5.3 肺脏。感染后 12 ~ 96 h, 肺泡隔广泛增厚 (图 4a), 扩张充血; 感染后 72 h, 支气管管腔中出现含有少量炎性细胞的淡染蛋白渗出液 (图 4b); 感染后 96 h, 支气管出血。

2.5.4 脾脏。感染后 12 h, 脾脏出现团块状均质、粉染结构 (图 5a); 感染后 72 h, 脾髓红细胞数量明显增加 (图 5b); 感染后 96 h, 出现凝固性坏死灶 (图 5c)。

2.5.5 肠管。感染后 24 h, 回肠绒毛开始出现断裂脱落 (图 6a); 感染后 72 h, 十二指肠和空肠绒毛开始出现断裂脱落 (图 6b、图 6c); 盲肠、结肠、直肠未见明显病变。

2.5.6 心脏。心肌轻微淤血, 心肌纤维间隙内可见少量的红细胞。

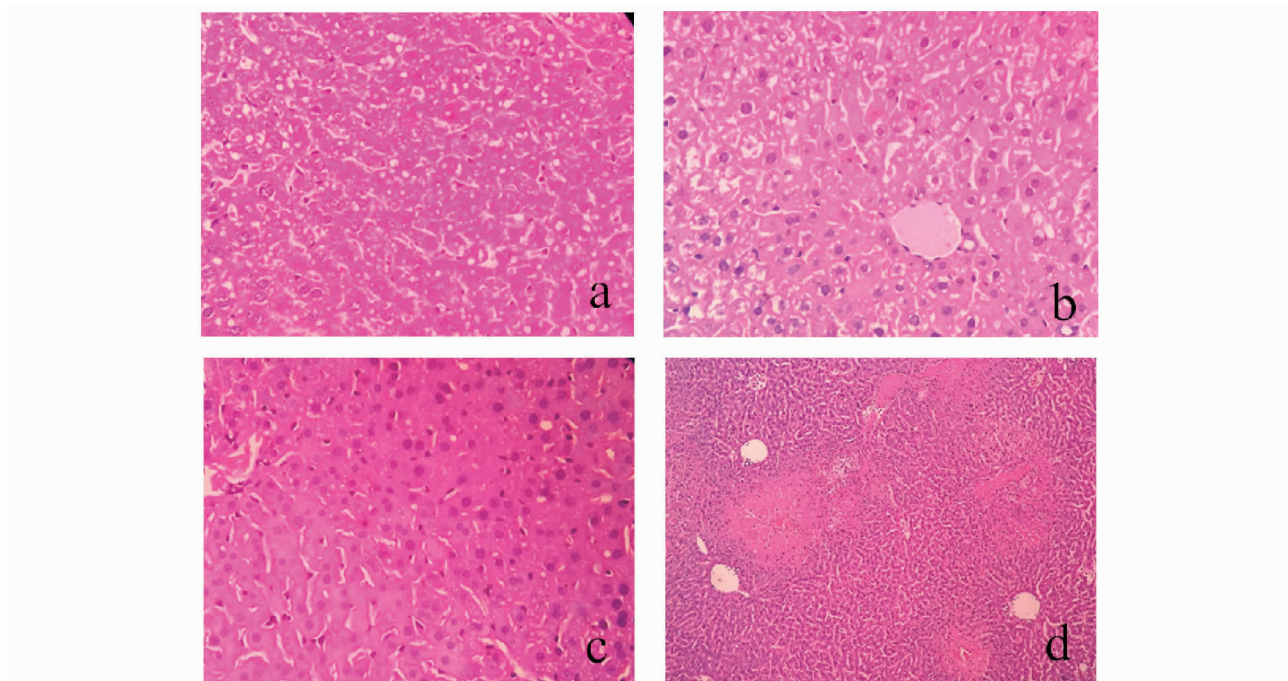


注:a.小鼠精神沉郁,浆液性眼泪;b.肺脏淤血、出血;c.脾脏肿大;d.肝脏肿大,表面密布大小不一的不规则坏死灶

Note:a. Spiritual depression and serous exudate from mice eyes; b. Lung congestion and hemorrhage; c. Swollen spleen; d. Irregular grayish necroses on the surface of swollen liver

图1 swun3816 感染小鼠的临床症状和大体病变

Fig.1 The clinical changes and general pathological changes of infected mice with swun3816

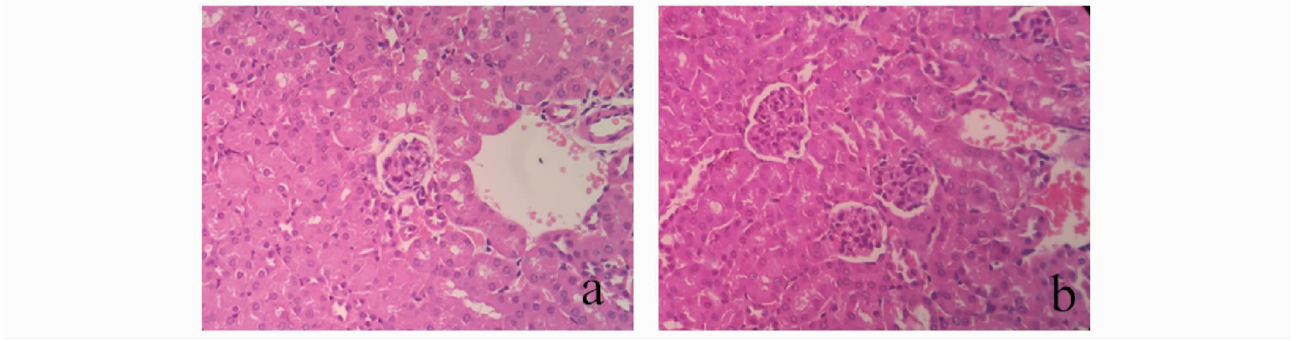


注:a.感染12 h,肝细胞广泛的空泡变性(HE染色,10×40);b.感染24 h,肝细胞空泡变化加重(HE染色,10×40);c.感染48 h,窦状隙充血(HE染色,10×40);d.感染96 h,肝组织出现岛状凝固性坏死灶(HE染色,10×10)

Note:a. Vacuolar degeneration of liver cells after infecting 12 h (HE staining, 10×40); b. Exacerbated vacuolar degeneration of liver cells after infecting 24 h (HE staining, 10×40); c. Sinusoid hyperaemia after infecting 48 h (HE staining, 10×40); d. Coagulative necrosis of liver tissue appeared after infecting 96 h (HE staining, 10×10)

图2 小鼠肝脏的病理组织学变化

Fig.2 The histopathological changes of mice liver

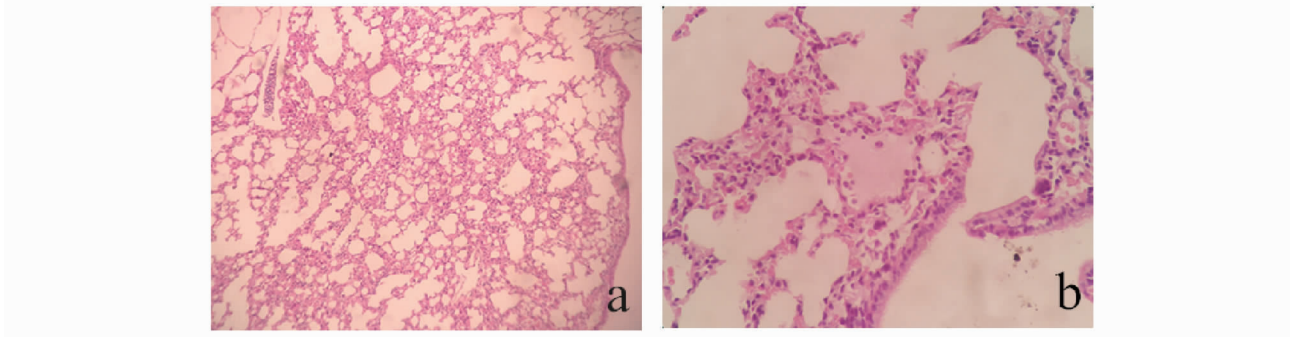


注:a:感染后 12 h,肾小管上皮细胞肿胀,空泡变性,肾小管管腔变小甚至消失(HE 染色,10 × 40);b:感染 24 h,血管扩张充血(HE 染色,10 × 40)

Note:a. Swelling epithelial cells of renal tubules in kidney, vacuolar degeneration, tubular stenosis or disappearance after infecting 12 h (HE staining, 10 × 40); b. Angiectasis and congestion of blood vessels after infecting 24 h (HE staining, 10 × 40)

图 3 小鼠肾脏的病理组织学变化

Fig. 3 The histopathological changes of mice kidney

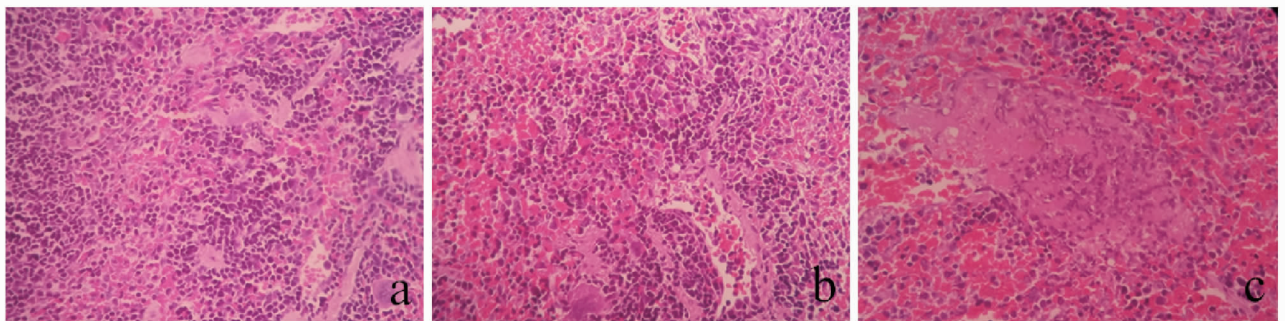


注:a:感染 12 h,肺泡隔增厚(HE 染色,10 × 10); b:感染 72 h,支气管管腔内存在少量炎性细胞的蛋白渗出液(HE 染色,10 × 40)

Note:a. Thickening alveolar septa after infecting 12 h (HE staining, 10 × 10); b. Protein transudation of inflammatory cell in the bronchial lumen after infecting 72 h (HE staining, 10 × 40)

图 4 小鼠肺脏的病理组织学变化

Fig. 4 The histopathological changes of mice lung



注:a:感染 12 h,脾髓间隙出现团块状均质结构(HE 染色,10 × 40); b:感染 72 h,脾髓间隙红细胞数量增多(HE 染色,10 × 40); c:感染 96 h,出现凝固性坏死灶(HE 染色,10 × 40)

Note:a. Homogenous conglomerate in splenic pulp after infecting 12 h (HE staining, 10 × 40); b. Increase of red blood cells in splenic pulp after infecting 72 h (HE staining, 10 × 40); c. Areas of coagulative necrosis of spleen after infecting 96 h (HE staining, 10 × 40)

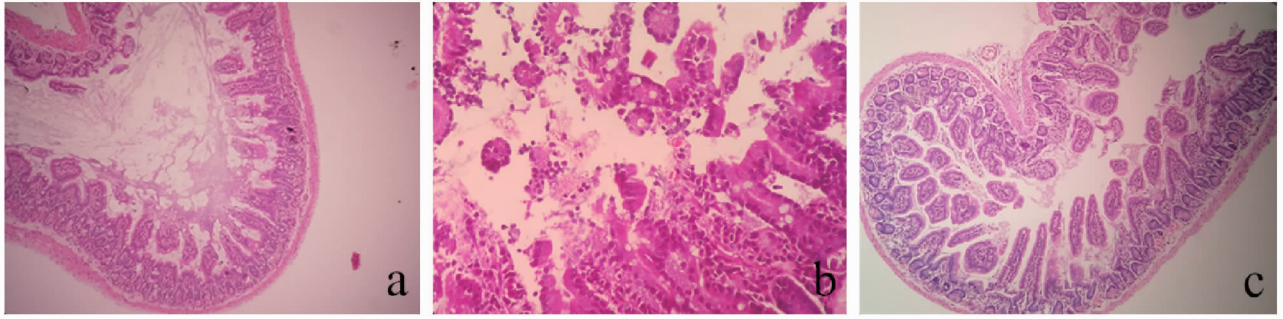
图 5 小鼠脾脏的病理组织学变化

Fig. 5 The histopathological changes of mice spleen

3 讨论

沙门氏菌血清型众多,不同血清型以及不同菌株的毒力差异很大。Swearingen 等^[11]采用口服方法感染 BALB/c 小鼠,测定了不同宿主源的 6 个亚种 17 个血清型共计 32 株沙门氏菌对小鼠的致病性,结果仅有 2 株沙门氏菌可致死小

鼠,其 LD₅₀ 分别为 1.6 × 10⁵ 和 4.5 × 10⁵ CFU/只,而另外 30 株均未引起小鼠产生明显的临床症状。因此,在经肠道感染小鼠建立沙门氏菌的感染模型时,通常要给试验小鼠长时间大剂量口服的抗生素,以破坏肠道正常菌群,从而提高口服感染模型的成功率^[12-13]。该研究中羊源肠炎沙门氏菌



注:a:感染48 h,回肠绒毛断裂脱落(HE染色,10×10);b:感染72 h,十二指肠绒毛断裂脱落(HE染色,10×40);c:感染72 h,空肠绒毛断裂脱落(HE染色,10×10)

Note:a. Shedding of ileal villus after infecting 48 h (HE staining,10×10);b. Shedding of duodenal villus after infecting 72 h (HE staining,10×40);c. Shedding of jejunal villus after infecting 72 h (HE staining,10×10)

图6 小鼠小肠段的病理组织学变化

Fig.6 The histopathological changes of mice small intestine

swun3816经口服途径感染,可致死未经抗菌素处理小鼠,其 LD_{50} 为155.6 CFU/只,可见该菌株具有很强的毒力,说明该菌株具有很强的侵袭力,能迅速突破肠道菌群的屏障,在宿主体内繁殖并向全身扩散蔓延,进而引起致死性疾病。该菌株是否存在较为独特的突破肠道防御屏障的侵袭性因子或毒力因子,有待进一步研究。

沙门氏菌可自然感染各种年龄段的人和动物,出现多种不同的临床症状,主要表现为伤寒、副伤寒、胃肠炎、腹泻和败血症,也可引起全身性感染,导致严重的综合征^[2,14-15]。swun3816经消化道感染引起小鼠出现精神沉郁、呼吸困难、流泪和死亡,感染导致小鼠主要组织器官出现肿大、坏死、细胞空泡变性、炎性细胞浸润等病变,说明该菌株经消化道感染可引起小鼠的全身性感染,其主要症状与病理变化与国内的相关研究结果一致^[16-20]。swun3816经口服途径感染致小鼠出现眼炎,研究显示沙门氏菌感染可引起家禽结膜炎或者失明^[21-23],但未见肠炎沙门氏菌引起小鼠眼炎的报道,其原因有待进一步研究。

肉眼或镜下观察出现病理变化的组织器官,通常是细菌的定植和入侵门户^[16-17,24-27]。沙门氏菌黏附到肠道黏膜后的内化途径有2条:一条是通过巨胞饮的作用,侵袭动物肠黏膜淋巴集结的淋巴上皮中的特殊抗原捕获细胞——M细胞,通过M细胞进入黏膜下层组织;另一条是直接侵袭M细胞周围的肠上皮细胞,通过上皮细胞进入黏膜下层组织^[1]。肠炎沙门氏菌、鼠伤寒沙门氏菌和猪霍乱沙门氏菌在进入消化道后,会在小肠和结肠繁殖并侵入黏膜下层组织^[28-29],牦牛源御成门沙门氏菌的入侵门户为回肠^[20]。该研究中羊源肠炎沙门氏菌经口进入消化道,能引起小肠黏膜淤血,十二指肠、空肠和回肠上皮细胞坏死,崩解,肠绒毛断裂,因此这些部位可能就是其内化并向全身其他器官扩散蔓延的入侵门户。

4 结论

山羊源肠炎沙门氏菌 swun3816 致病性强,经口服途径接种可引起小鼠全身性感染,小肠是 swun3816 的入侵门户。

参考文献

- [1] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 5版. 北京:中国农业出版社,2013:103-105.
- [2] RAGHUNATHAN A, REED J, SHIN S, et al. Constraint-based analysis of metabolic capacity of *Salmonella typhimurium* during host-pathogen interaction[J]. BMC Systems Biology, 2009, 3:38.
- [3] MEAD P S, SLUTSKER L, DIETZ V, et al. Food-related illness and death in the United States[J]. Emerging Infect Dis, 1999, 5(5):607-625.
- [4] TAUXE R V. *Salmonella*: A postmodern pathogen[J]. Journal of food protection, 1991, 54(7):563-568.
- [5] LYNCH M F, TAUXE R V, HEDBERG C W. The growing burden of food-borne outbreaks due to contaminated fresh produce: Ricks and opportunities[J]. Epidemiology and infection, 2009, 137(3):307-315.
- [6] 邹惠英, 刘丽红, 陈日炳, 等. 深圳市龙岗区沙门菌感染状况研究[J]. 现代预防医学, 2014, 41(7):1293-1294, 1303.
- [7] European Food Safety Authority. European centre for disease prevention and control. The European union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne out-breaks in 2013 [J]. EFSA Journal, 2015, 13(1):3991.
- [8] MIHAIU L, LAPUSAN A, TANASUICA R, et al. First study of *Salmonella* in meat in Romania[J]. Journal of infection in developing countries, 2014, 8(1):50-58.
- [9] THAI T H, HIRAI T, LAN N T, et al. Antibiotic resistance profiles of *Salmonella serovars* isolated from retail pork and chicken meat in North Vietnam[J]. International journal of food microbiology, 2012, 156(2):147-151.
- [10] 王晶晶, 夏宾雁, 岳华, 等. 四川省部分地区山羊沙门氏菌健康带菌率及耐药性调查[J]. 中国畜牧兽医, 2015, 42(2):472-477.
- [11] SWEARINGEN M C, PORWOLLIK S, DESAI P T, et al. Virulence of 32 *Salmonella* strains in mice [J]. PLoS One, 2012, 7(4):1-5.
- [12] PESCIAROLI M, ALOISIO F, AMMENDOLA S, et al. An attenuated *Salmonella enterica* serovar Typhimurium strain lacking the ZnuABC transporter induces protection in a mouse intestinal model of *Salmonella* infection [J]. Vaccine, 2011, 29(9):1783-1790.
- [13] SUAR M, JANTSCH J, HAPFELMEIER S, et al. Virulence of broad-and narrow-host-range *Salmonella enterica* serovars in the streptomycin-pretreated mouse model[J]. Infection and immunity, 2006, 74(1):632-644.
- [14] OHL M E, MILLER S I. *Salmonella*: A model for bacterial pathogenesis [J]. Annu Rev Med, 2001, 52(1):259-274.
- [15] 曹恬雪, 蒋文灿, 何文成, 等. 沙门氏菌毒力因子的研究进展[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(4):331-334.
- [16] 孙衍庆, 周捷, 赵亚力, 等. 小鼠群暴发沙门氏菌病的病原学及病理学研究[J]. 中国生物制品学杂志, 2002, 15(1):55-57.
- [17] 朱晓霞. 牦牛沙门氏菌分离鉴定方法及流行病学研究[D]. 成都:西南民族大学, 2012.
- [18] 吕靖. 肠炎沙门氏菌 SEF21 和 SEF14 菌毛致病作用分析[D]. 扬州:扬州大学, 2012.

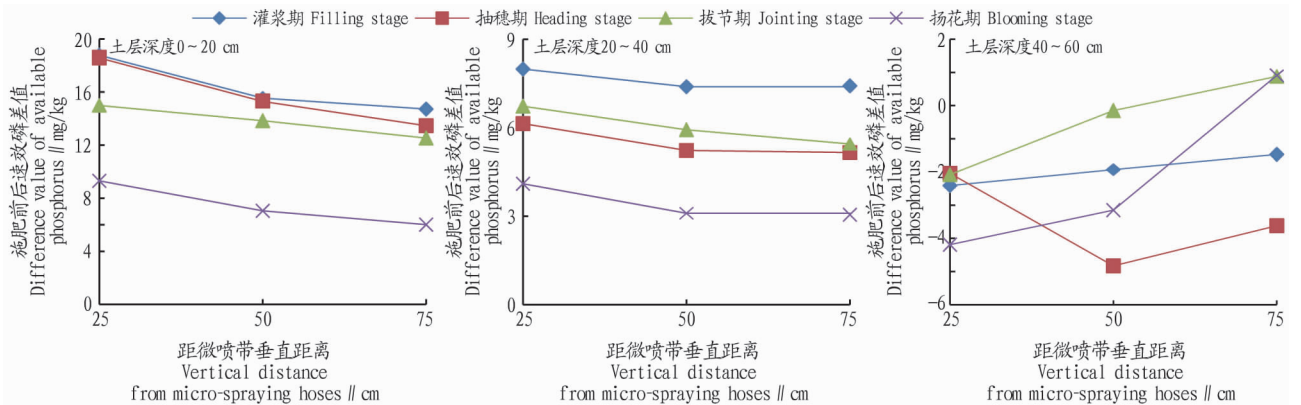


图3 不同土壤深度灌溉施肥后速效磷运移规律

Fig. 3 The translation rule of available phosphorus after fertigation in different soil depths

3 结论与讨论

微喷带灌溉条件下速效养分运移规律与灌溉水运移规律基本一致,0~20 cm 土层微喷带远近不同土壤含水量和速效养分含量不同,随着小麦生长造成的遮挡,变化较为明显,造成遮挡原因可能与作物品种、种植密度有一定关系^[8];20~40 cm 土层距离微喷带远近不同土壤含水率和速效养分变化趋势与0~20 cm 土层一致,但变化幅度趋于平缓;40~60 cm 土层土壤含水率和速效养分变幅最小。综上所述,微喷带田间布局间距在1.8 m 条件下,带间喷射交叉30 cm 的情况下,总体灌水均匀度较好,是一种可行的布局方式。

微喷带灌溉条件下施肥后0~20 cm 土层土壤碱解氮含量增加最大,随着土壤深度增加碱解氮含量增加幅度减少,土层深度对碱解氮分布具有较大影响。碱解氮进入土壤后会以一种较为均匀的方式分布,并在分布之后其浓度具有一个较为均匀的降低过程^[9]。微喷带灌溉条件下施肥后速效磷增加主要在0~40 cm 土层,可能是作物吸收和水溶性磷与土壤中的铁、铝离子相结合形成难溶性的磷酸铁、磷酸铝

等沉淀,在土壤中移动性较弱^[10],增施磷肥土壤速效磷含量增加,但主要集中在0~40 cm 土层。

参考文献

- [1] 张其鲁,姜官恒,魏秀华,等.微喷技术在小麦生产上的应用研究[J].安徽农学通报,2012,18(9):190-191,178.
- [2] 贾秀领,马瑞昆,张全国,等.近20年冬小麦供水量与产量关系变化分析[J].华北农学报,2009,24(S1):214-217.
- [3] 张喜英.提高农田水分利用效率的调控机制[J].中国生态农业学报,2013,21(1):80-87.
- [4] 郭进考,史占良,何明琦,等.发展节水小麦 缓解北方水资源短缺:以河北省冬小麦为例[J].中国生态农业报,2010,18(4):876-879.
- [5] 满建国,王东,于振文,等.不同带长微喷带灌溉对土壤水分分布与冬小麦耗水特性及产量的影响[J].应用生态学报,2013,24(8):2186-2196.
- [6] 李贵宝.不同土壤施用钾肥对小麦生长和土壤钾含量的影响[J].土壤肥料,1996(1):34-37.
- [7] 张西群,檀海斌,梁建青,等.低成本小麦微喷灌溉技术与效果试验[J].河北农业科学,2014,18(6):45-51.
- [8] 程裕伟,马富裕,王光全,等.不同水分处理对滴灌春小麦水分利用效率及产量的影响[J].新疆农业大学学报,2013,36(4):322-328.
- [9] 史晓楠,王全九,黄国琴.施肥方式对土壤水肥分布特征影响[J].水土保持学报,2010,24(1):191-196.
- [10] 赵靛,侯振安,李水仙,等.磷肥用量对土壤速效磷及玉米产量和养分吸收的影响[J].玉米科学,2014,22(2):123-128.
- [11] 焦库华,庄国宏.大白鼠肠炎沙门氏菌病的诊断[J].中国兽医科技,1996,26(2):37-38.
- [12] 雷占东,张斌,岳华,等.一株耗牛源御成门沙门菌对小鼠的致病性[J].畜牧兽医学报,2015,46(2):339-343.
- [13] 田志国,李志俊.鸡副伤寒的诊断与防治[J].畜牧与饲料科学,2009,30(11/12):38-40.
- [14] 纪福.鸡副伤寒的防治措施[N].河南科技报,2014-05-13(B05).
- [15] 陈俊,蒋文灿,程平,等.四川和重庆地区鸭源沙门氏菌分离鉴定及血清型分析[J].中国预防兽医学报,2015,37(4):262-265.
- [16] 汪敏.肠炎沙门氏菌实验性感染雏鸡的研究[D].重庆:西南大学,2009.
- [17] 关红,赵俊利,赵红霞,等.内蒙古地区奶牛源沙门氏菌的分离、鉴定及其对小鼠的致病性研究[J].中国畜牧兽医,2014,41(6):224-229.
- [18] 曾静静.鸭沙门氏菌在人工感染雏鸭体内的动态研究[D].雅安:四川农业大学,2013.
- [19] 朱春红,孟霞,姚丰华,等.肠炎沙门氏菌 SEF14 菌亚单位 *sefA* 和 *sefD* 基因缺失株的致病性研究[J].中国预防兽医学报,2012,34(10):786-789.
- [20] THRELFALL E J. Antimicrobial drug resistance in *Salmonella*: Problems and perspective in food-and water borne infections[J]. FEMS Microbiology, 2002,26(2):141-148.
- [21] PIRES S M, HALD T. Assessing the differences in public health impact of *Salmonella* subtypes using a bayesian microbial subtyping approach for source attribution[J]. Foodborne Pathog Dis, 2010,7(2):143-151.

本刊提示 参考文献只列主要的、公开发表的文献,序号按文中出现先后编排。著录格式(含标点)如下:(1)期刊——作者(不超过3人者全部写出,超过者只写前3位,后加“等”)。文章题名[J]。期刊名,年份,卷(期):起止页码。(2)图书——编著者.书名[M]。版次(第一版不写)。出版地:出版者,出版年:起止页码。(3)论文集——析出文献作者.题名[C]//.主编.论文集名.出版地:出版者,出版年:起止页码。

文稿题名下写清作者及其工作单位名称、邮政编码;第一页地脚注明第一作者简介,格式如下:“作者简介:姓名(出生年—),性别,籍贯,学历,职称或职务,研究方向”。