

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2019.08.02

广西某健康鸡群 I 群禽腺病毒的 hexon 蛋白 loop 1 基因遗传进化分析

张民秀¹, 谢芝勋^{1*}, 谢志勤¹, 高 约², 谢丽基¹, 刘加波¹,
邓显文¹, 罗思思¹, 张艳芳¹, 曾婷婷¹

(1. 广西壮族自治区兽医研究所 广西兽医生物技术重点实验室, 南宁 530001; 2. 英国伦敦大学玛丽女王学院, 英国伦敦 E1 4NS)

[收稿日期] 2019-05-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2019) 08-0008-07 [中图分类号] S852.65

[摘 要] 为调查广西某规模化鸡场健康鸡群 I 群禽腺病毒 (FAvV - I) 的感染情况, 于 2017 年 11 月 - 2018 年 12 月采集不同日龄鸡群咽喉拭子和泄殖腔拭子样品 4700 份, 对样品进行 FAdV - I 检测和 hexon 蛋白 loop 1 基因扩增, 应用 LaserGene7.1 和 MEGA4.1 软件对 loop 1 基因序列进行核苷酸和遗传进化分析。结果显示, FAdV - I 的阳性检出率为 8.72%; 40 ~ 70 日龄和 71 ~ 99 日龄鸡群阳性 FAdV - I 的检出率分别为 28.17% 和 22.91%; 测序获得的 38 条 loop 1 基因序列分析表明该鸡场健康鸡群感染了 5 个不同种的 FAdV - I, 其中 26.32% 的序列为 A 种 (FAvV - A)、2.63% 为 B 种 (FAvV - B)、10.53% 为 C 种 (FAvV - C)、39.47% 为 D 种 (FAvV - D) 和 21.05% 为 E 种 (FAvV - E); 遗传进化分析表明该鸡场健康鸡群主要感染的种为 FAdV - D, 血清 2 型 (FAvV - 2) 为优势血清型, 其次为 A 种的血清 1 型 (FAvV - 1) 和 E 种的血清 8a 型 (FAvV - 8a) 和 8b 型 (FAvV - 8b)。结果表明, 40 ~ 70 日龄健康鸡群的 FAdV - I 的检出率最高, 在健康鸡群中感染的 FAdV - I 主要为 FAdV - D 种中的 FAdV - 2。

[关键词] I 群禽腺病毒; loop1 基因; 遗传进化

Genetic Evolution Analysis of Loop 1 Gene of hexon Protein Fowl Adenovirus Group I in Healthy Chicken in Guangxi

ZHANG Min - xiu¹, XIE Zhi - xun^{1*}, XIE Zhi - qin¹, GAO Yue², XIE Li - ji¹, LIU Jia - bo¹,
DENG Xian - wen¹, LUO Si - si¹, ZHANG Yan - fang¹, ZENG Ting - ting¹

(1. Guangxi Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Guangxi Veterinary Research Institute, Nanning 530001, China;

2. Queen Mary University of London, London E1 4NS, UK)

Corresponding author: XIE Zhi - xun, E - mail: xiezhixun@126.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2016YFE0124200); 广西科技重大专项 (桂科 AA17204057); 桂科 AD17195083; “广西八桂学者”专项 (2019.79)

作者简介: 张民秀, 助理研究员, 从事动物传染病病原和分子免疫学研究。

通讯作者: 谢芝勋。E - mail: xiezhixun@126.com

Abstract: To investigate the infection of fowl adenovirus group I (FAdV - I) in healthy chicken flocks of a large - scale chicken farm in Guangxi, 4700 samples of throat swabs and cloacal swabs of different ages chickens were collected from November 2017 to December 2018; FAdV - I detection and loop1 genes of hexon protein amplification were carried out. LaserGene7.1 and MEGA4.1 software were used to analyze the nucleotide and genetic evolution of loop1 genes. The results showed that the positive detection rate of FAdV - I was 8.72%; the detection rate of FAdV - I in aged 40 ~ 70 days and aged 71 ~ 99 days were 28.17% and 22.91%, respectively. Genetic analysis of the 38 loop1 genes obtained by sequencing showed that healthy chickens of this farm were infected with different five species of FAdV - I, of which 26.32% were species group A (FAdV - A), 2.63% were species group B (FAdV - B), 10.53% were species group C (FAdV - C), 39.47% were species group D (FAdV - D), and 21.05% were species group E (FAdV - E), respectively. Genetic evolution analysis showed that the dominant species group was FAdV - D, serotype 2, followed by serotype 1 (FAdV - 1) of species group A and serotype 8a and 8b (FAdV - 8a and FAdV - 8b) of species group E. The results showed that the detection rate of FAdV - I in healthy chickens aged 40 ~ 70 days was the highest, and FAdV - 2 of FAdV - D was dominant serotype in healthy chickens infected with FAdV - I.

Key words: Fowl adenovirus group I; loop1 gene; genetic evolution

I 群禽腺病毒 (Fowl adenovirus group I, FAdV - I) 属于腺病毒科禽腺病毒属, 该病毒广泛存在于鸡、鸭、鹅等多种禽类的呼吸道和消化道中。根据 FAdV - I 的核酸序列特征和血清交叉中和试验结果, 将 FAdV - I 分为 5 个种群 (FAdV - A、FAdV - B、FAdV - C、FAdV - D 和 FAdV - E) 和 12 个血清型^[1], 根据研究学者的报道, 目前引起鸡群心包积水 - 肝炎综合征 (Hydropericardium hepatitis syndrome, HHS) 主要多见于 FAdV - C 的血清 4 型 (FAdV - 4), 而 FAdV - E 中的血清 8b 型 (FAdV - 8b) 和 FAdV - D 中的血清 11 型 (FAdV - 11) 主要引起鸡包涵体肝炎 (Avian Inclusion Body Hepatitis, IBH)^[2-3], 此外 FAdV - E 中的 FAdV - 8b 也可以引起肌胃糜烂症 ((Adenoviral gizzard erosion, AGH)^[3-4], 2006 年 Okuda 证实 FAdV - A 也能导致 AGH^[5]。

六邻体 (Hexon) 蛋白是 FAdV - I 的主要结构蛋白, 该蛋白呈三聚体形式, 三聚体的每个 hexon 分子包含两个保守的基座区 (P1 和 P2) 和四个高变环 (loop1、loop 2、loop 3 和 loop 4), 其中 loop 1 基因常常被研究者用于基因分析和血清分型^[6-7]。自 2014 年以来, 中国部分地区的鸡群爆发了大范

围 FAdV - 4 的感染, 造成鸡群大量死亡^[3,8]。本研究于 2017 年 11 月 - 2018 年 12 月采集了广西某规模化鸡场不同日龄健康鸡群的咽喉拭子和泄殖腔拭子 4700 份, 从 FAdV - I 阳性样品中扩增 FAdV - I 的 hexon 蛋白 loop 1 基因序列并进行测序和序列分析, 以期获得该规模化鸡场健康鸡群感染 FAdV - I 的情况, 为进一步丰富 FAdV - I 的分子流行病学和 FAdV - I 病的有效控制提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集及处理 2017 年 11 月 - 2018 年 12 月于广西某规模化鸡场采集不同日龄 (1 日龄 ~ 300 日龄以上) 健康蛋种鸡群 (品种: 花鸡) 的咽喉拭子和泄殖腔拭子 4700 份 (咽喉拭子和泄殖腔拭子均放置于同一个 EP 管, 该样品视为一份样品): 使用 2 mL PBS 缓冲溶液浸泡样品, 作用 2 h, 反复冻融 3 次, 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液并 -70 °C 保存备用, 每一次采样数为鸡舍内鸡群饲养量的 1%。

1.2 主要试剂 DH5 α 感受态细胞, 分子克隆所需试剂盒 EasyPure Genomic DNA kit 和胶回收试剂盒购自北京全式金生物技术有限公司; TaKaRa *Ex Taq* 和 pMD18 - T 购自 Takara 公司; 1500 bp ladder

购自北京全式金生物技术有限公司。

1.3 引物 用于样品检测 FAdV - I 和扩增 hexon 蛋白 loop 1 基因的引物参考文献[9], FAdV - 1: 5' - GACATGGGGTCGACCTATTTTCGACAT - 3', FAdV - 2: 5' - AGTGATGACGGGACATCAT - 3', 目的片段大小为 728 bp, 引物由华大基因生物科技(深圳)有限公司合成。

1.4 样品 DNA 的提取 取样品上清液 200 μL 按照 EasyPure Genomic DNA kit 的操作说明书提取咽喉拭子和泄殖腔拭子样品中的 DNA, 于 -70 °C 保存备用。

1.5 FAdV - I hexon 蛋白 loop 1 基因的扩增及序列分析 按照 EasyPure Genomic DNA kit 的说明书提取 FAdV - I 阳性样品的 DNA。参照 TaKaRa Ex Taq 操作说明进行 loop 1 基因的扩增。PCR 产物进行电泳纯化后按照常规操作进行基因克隆, 挑取阳性克隆菌液送上海立菲生物技术公司进行测序。测序所得结果在 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 上的 Nucleotide Blast (Nucleotide Basic Local Alignment Search Tool) 工具进行鉴定, 并利用 LaserGene7.1 和 Molecular Evolutionary Genetics Analysis4.1 (MEGA4.1) 对 hexon 蛋白 loop 1 基因的核苷酸同源性进行分析, 从 GenBank 上获得 12 条 FAdV - I hexon 基因序列, 其中血清 1 型 (FAdV - 1) (JQ647514)、血清 2 型 (FAdV - 2) (KT862806) 和血清 3 型 (FAdV - 3) (KC750797) 各一条, FAdV - 8b (GU734104 和 KC750780)、血清 5 型 (FAdV - 5) (KC750798 和 KC750799) 和 FAdV - 4 (KT899325 和 HE608152) 各两条, 剩余三条为血清 8a 型 (FAdV - 8a) (KC750786、KC750801 和 KT862810), 本研究使用美国分类方法对 FAdV - I 的血清型进行分型, 参考牛登云等^[9]的研究构建 hexon 蛋白 loop 1 基因遗传进化树。

2 结果与分析

2.1 不同日龄健康鸡群 FAdV - I 的感染情况

采集 1 ~ 35 日龄鸡群的咽喉拭子和泄殖腔拭子 525 份, 40 ~ 70 日龄的鸡群样品 575 份, 71 ~ 99 日龄的鸡群样品为 550 份, 100 日龄至淘汰的鸡群样品为

3050 份, 健康鸡群阳性 FAdV - I 的总检出率为 8.72%。如图 1 所示, 40 ~ 70 日龄鸡群阳性 FAdV - I 的检出率为 28.17%, 71 ~ 99 日龄、1 ~ 35 日龄鸡群和 100 日龄至淘汰的鸡群 FAdV - I 的检出率分别为 22.91%、0.76% 和 3.90%。

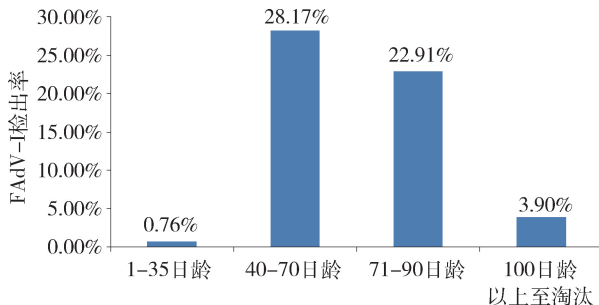
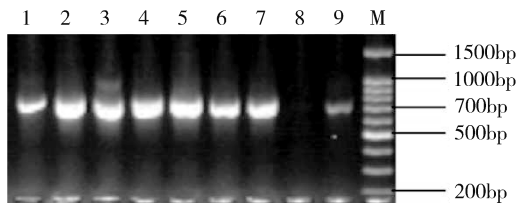


图 1 不同日龄健康鸡群 FAdV - I 的感染情况

Fig 1 Infections of FAdV - I in different ages of healthy chickens

2.2 hexon 蛋白 loop 1 基因的扩增结果和 FAdV - I 种的鉴定 随机选取 FAdV - I 阳性样品 38 份, 扩增 hexon 蛋白 loop 1 基因, 扩增产物大小约为 728 bp (图 2)。阳性克隆菌经测序并将测序结果通过 NCBI 上的 Nucleotide Blast 工具鉴定后发现, 38 条 hexon 蛋白 loop 1 基因序列包含 5 个种群 (图 3), 其中 26.32% (10/38) 的序列为 FAdV - A (血清 1 型)、2.63% (1/38) 为 FAdV - B (血清 5 型)、10.53% (4/38) 为 FAdV - C (血清 4 型)、39.47% (15/38) 为 FAdV - D (分别为血清 2 型和 3 型) 和 21.05% (8/38) 为 FAdV - E (分别为血清 8a 和 8b 型)。



M: 1500bp ladder; 1-7: loop 1 基因; 8: 阴性对照; 9: 阳性对照
M: 1500bp ladder; 1-7: loop 1 genes; 8: The negative control; 9: The positive control

图 2 Loop 1 基因扩增结果

Fig 2 The amplification result of loop 1 gene

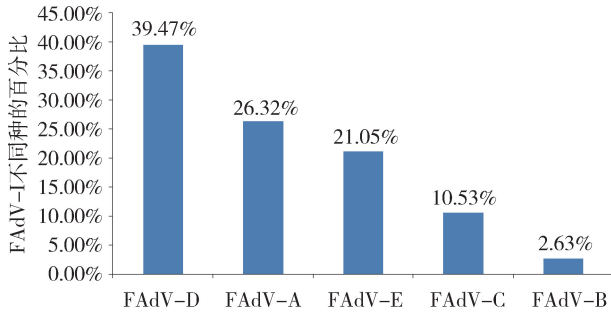


图3 FAdV - I 不同种的占比情况

Fig 3 The proportion of different species of FAdV - I

2.3 FAdV - I hexon 蛋白 loop 1 基因同源性和遗传进化分析 分别将不同种 loop 1 基因进行同源性和遗传进化分析,发现本研究中不同种 FAdV - I loop 1 基因之间同源性较低,FAdV - A 的 loop 1 基因核苷酸序列之间的同源性为 97.8% ~ 99.6%,FAdV - C 的核苷酸同源性为 93.2% ~ 98.2%;FAdV - D 的核苷酸同源性为 72.7% ~ 99.8%,其中血清 2 型的核苷酸同源性为 94.1% ~ 99.0%,血清 3 型核苷酸同源性为 95.9% ~ 99.8%;FAdV - E 的核苷酸同源性为 81.4% ~ 99.7%,其中血清 8a 型的核苷酸同源性为 98.8% ~ 99.7%,血清 8b 型的核苷酸同源性为 94.5% ~ 98.4%。将本研究获得的 38 条 FAdV - I loop 1 基因序列进行遗传进化分析,分析结果显示如表 1 和图 4 所示,本研究中的 FAdV - I 可分为 5 个种,分别是 FAdV - A、FAdV - B、FAdV - C、FAdV - D 和 FAdV - E,含有 7 个血清型,分别是 FAdV - 1、FAdV - 2、FAdV - 3、FAdV - 4、FAdV - 5、FAdV - 8a 和 FAdV - 8b,其中优势种为 FAdV - D,血清 2 型为优势血清型,FAdV - A(血清 1 型)和 FAdV - E(分别为血清 8a 和 8b)次之。

3 讨论与结论

FAdV - I 广泛存在于鸡群中,FAdV - I 中的 FAdV - 4、FAdV - 8a、FAdV - 8b 和 FAdV - 11 可以导致鸡出现包涵体肝炎和心包积水 - 肝炎综合征^[3, 10],近几年来我国部分地区的鸡群陆续出现以肝脏坏死和心包积液为特征的鸡包涵体肝炎和心包积水 - 肝炎综合征,死亡率可高达 30%,对鸡的养殖业造成了巨大的经济损失^[1, 3, 9]。目前国内关

表 1 FAdV - I hexon 蛋白 loop 1 基因序列信息

Tab 1 The information about the loop 1 genes of

hexon protein of FAdV - I

序列名称 Name of the sequences	禽腺病毒种 Species group of FAdV - I	血清型 Serotype	日龄 Ages
GX0619	A	1	251
GX0205 - 1	A	1	117
GX0205 - 2	A	1	100
GX0202 - 1	A	1	97
GX0330	A	1	67
GX0202 - 3	A	1	97
GX0329 - 2	A	1	40
GX0329 - 3	A	1	40
GX0928	A	1	92
GX1014	A	1	108
GX0329 - 1	B	5	40
GX0326 - 1	C	4	63
GX0625	C	4	154
GX0706 - 1	C	4	268
GX0202 - 4	C	4	114
GX0202 - 2	D	2	97
GX0312 - 1	D	2	135
GX0326 - 2	D	2	63
GX0413	D	2	81
GX0329 - 4	D	2	40
GX0309	D	2	149
GX0709	D	2	271
GX0803 - 1	D	2	40
GX0803 - 2	D	2	40
GX0805 - 1	D	2	43
GX0805 - 2	D	2	43
GX0514 - 1	D	3	215
GX0514 - 2	D	3	230
GX1127	D	3	151
GX0706 - 2	D	3	268
GX1026	E	8a	29
GX0803 - 4	E	8a	40
GX0803 - 5	E	8a	40
GX0805 - 3	E	8a	43
GX0805 - 4	E	8b	43
GX0109	E	8b	70
GX0803 - 3	E	8b	40
GX0419	E	8b	121

于对健康鸡群感染 FAdV - I 的研究较少,本研究对广西某健康鸡群 FAdV - I 的感染情况进行调查,鉴别当前鸡群感染 FAdV - I 的血清型,这对及时应对 FAdV - I 的发生和控制具有重要意义。

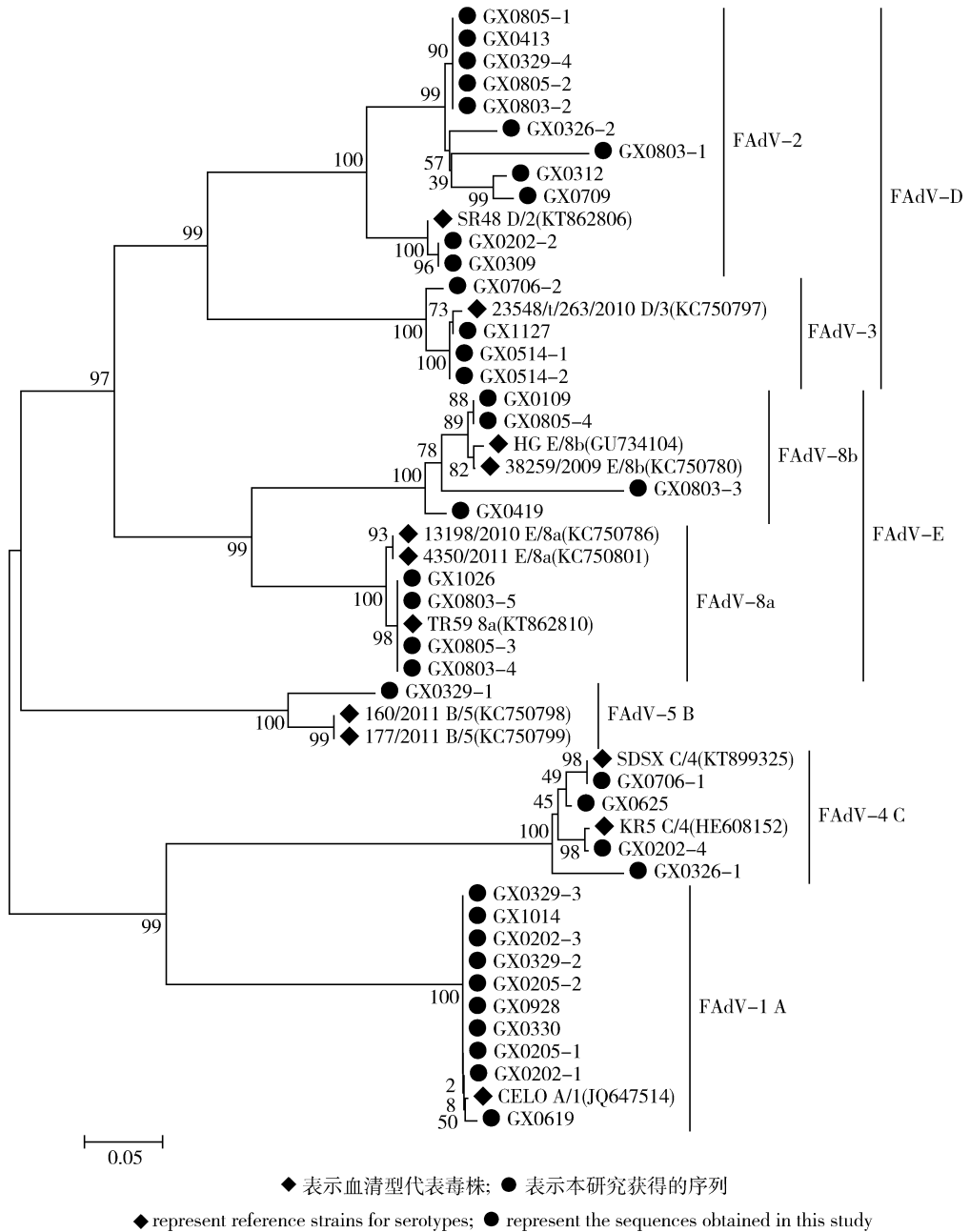


图 4 FAdV - I hexon 蛋白 loop 1 基因遗传进化树

Fig 4 The phylogenetic tree of loop 1 gene of hexon protein of FAdV - I

Yates 等^[11] 研究表明, 鸡在感染腺病毒后第 3 周会排毒, 后备母鸡在感染腺病毒后第 5 ~ 9 周排毒量达到高峰, 14 周后仍有 70% 的阳性鸡群在排毒。本研究对不同日龄蛋种鸡群采集的 4700 份样品的咽喉拭子和泄殖腔拭子进行 FAdV - I 的检测, 发现 40 ~ 70 日龄和 71 ~ 99 日龄鸡群 FAdV - I 的检出率均高于 1 ~ 35 日龄和 100 日龄

以上的鸡群, 分别达 28.17% 和 22.91%, FAdV - I 在 40 ~ 70 日龄高检出率也说明这个阶段日龄是 FAdV - I 排毒高峰, 这与 Yates 等人的研究相符。此外, 本研究中 71 ~ 99 日龄的 FAdV - I 的检出率仍然很高, 因此推测 FAdV - I 的排毒高峰期可能更长, 但这需要通过动物试验进一步证实; 本研究中 40 ~ 99 日龄鸡群 FAdV - I 的高感染率也再次

证实了健康鸡群 FAdV - I 感染的普遍性。

FAdV - I 分为 5 个种共有 12 个血清型: FAdV - A(FAdV - 1)、FAdV - B(FAdV - 5)、FAdV - C(FAdV - 4 和 FAdV - 10)、FAdV - D(FAdV - 2、FAdV - 3、FAdV - 9 和 FAdV - 11)、FAdV - E(FAdV - 6、FAdV - 7、FAdV - 8a 和 FAdV - 8b)^[1]。王小辉等^[12-13]2008 年对湖南、新疆等地的活禽市场和养殖场的健康鸡群的 FAdV - I 进行检测和分离,发现 FAdV - I 的阳性率高达 51.4%,所有分离株均属于血清 1 型。罗思思等^[14]于 2008 - 2010 年对从广西活禽市场上采集的样品进行 FAdV - I 的检测,FAdV - I 阳性率达 35.5%,分离株 *hexon* 基因遗传进化分析发现优势血清型均为 1 型。本研究对获得的 38 条 *hexon* 蛋白 loop 1 基因进行基因分析,发现该鸡场的健康鸡群感染了 5 个种的 FAdV - I,其中 39.47% 的序列为 FAdV - D(主要为 FAdV - 2 和 FAdV - 3)并且遗传进化分析也表明该鸡场健康鸡群感染的优势种群为 FAdV - D, FAdV - 2 为优势血清型, FAdV - A(FAdV - 1) 次之,因此推测目前健康鸡群感染的 FAdV - I 的优势血清型和种可能发生了变化,随着 FAdV - D(FAdV - 2) 感染的病例增多,主导种群可能由 FAdV - A(FAdV - 1) 转变成 FAdV - D(FAdV - 2), 但本研究数据只展示了某个规模化鸡场的的数据,还需要收集更多的来源不同的 FAdV - I *hexon* 基因序列进行下一步研究。机体感染病毒的表现和结局由病毒、机体和环境相互作用所决定,其中病毒的致病性和毒力是感染结局的主要决定因素^[15]。本研究在健康鸡群中监测到 FAdV - I 中的 FAdV - 2、FAdV - 4 和 FAdV - 8b 的感染。有研究表明 FAdV - 2 和 FAdV - 8b 型可以引起包涵体肝炎, FAdV - 4 可以引起心包积水 - 肝炎综合征^[1], 但在本研究中感染了这些血清型的鸡群外表均呈现健康的状态,并未表现出明显的临床症状,这可能是由于该健康鸡群所感染的 FAdV - I 的致病力和毒力较弱因而不能引起鸡群发病,因此有必要下一步对病毒进行分离并通过后续的动物试验进行证实。有研究表明禽类以自然感染或直接传播的

方式感染 FAdV - I 时,均未导致机体发生疾病,但将这些 FAdV - I 毒株以非肠道途径注射感染时,机体会出现明显的临床症状,研究还发现当 FAdV - I 与鸡传染性贫血和传染性法氏囊病毒混合感染时,某些 FAdV - I 的分离株致病力会增强,直接导致机体发生肝炎或致死^[1, 16-17],这也揭示了 FAdV - I 致病机制的复杂性。

本研究于 2017 年 11 月 - 2018 年 12 月对广西某规模化鸡场健康蛋种鸡群 FAdV - I 的感染进行了分子流行病学调查,为了解健康鸡群感染 FAdV - I 的情况,丰富 FAdV - I 的分子流行病学和 FAdV - I 病的有效控制提供了参考依据。

参考文献:

- [1] Saif Y M. 禽病学 12 版[M]. 北京:中国农业出版社, 2005: 290 - 307.
Saif Y M. Diseases of poultry 12th edition[M]. Beijing: China agricultural Press, 2005: 290 - 307.
- [2] Mittal D, Jindal N, Tiwari A K, *et al.* Characterization of fowl adenoviruses associated with hydropericardium syndrome and inclusion body hepatitis in broiler chickens [J]. *Virus Disease*, 2014, 25(1): 114 - 119.
- [3] 尹燕博. 我国 I 群禽腺病毒主要流行血清型及其防控 [J]. *中国家禽*, 2018, 40(3): 1 - 5.
Yin Y B. Prevalent serotypes, prevention and control of FAdV - I in China [J]. *China Poultry*, 2018, 40(3): 1 - 5.
- [4] Okuda Y, Ono M, Shibata I, *et al.* Pathogenicity of serotype 8 fowl adenovirus isolated from gizzard erosions of slaughtered broiler chickens [J]. *J Vet Med Sci*, 2004, 66 (12): 1561 - 1566.
- [5] Okuda Y, Ono M, Shibata I, *et al.* Comparison of the polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism pattern of the fiber gene and pathogenicity of serotype - 1 fowl adenovirus isolates from gizzard erosions and from feces of clinically healthy chickens in Japan [J]. *J Vet Diagn Invest*, 2006, 18 (2): 162 - 167.
- [6] 扈荣良. 现代动物病毒学 [M]. 北京:中国农业出版社, 2014: 681 - 683.
Hu R L. Modern Animal Virology [M]. Beijing: China agricultural Press, 2014: 681 - 683.
- [7] Xia J, Yao K C, Liu Y Y, *et al.* Isolation and molecular characterization of prevalent Fowl adenovirus strains in Southwestern China during 2015 - 2016 for the development of a control strategy

- [J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2017, 6(11):e103.
- [8] Niu Y, Sun Q, Zhang G, *et al.* Epidemiological investigation of outbreaks of fowl adenovirus infections in commercial chickens in China [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2017, 65(1): e121 – e126.
- [9] 牛登云, 沈元, 王蕊, 等. 2015 年我国 I 群禽腺病毒分子流行病学调查[J]. *中国家禽*, 2016, 38(9):65 – 68.
- Niu D Y, Shen Y, Wang R, *et al.* Molecular epidemiological survey of FAdV – I in China in 2015 [J]. *China Poultry*, 2016, 38(9): 65 – 68.
- [10] Changjing L, Haiying L, Dongdong W, *et al.* Characterization of fowl adenoviruses isolated between 2007 and 2014 in China [J]. *Vet Microbiol*, 2016, 197: 62 – 67.
- [11] Yates V J, Fry D E. Observation on a chicken embryo lethal orphan (CELO) virus [J]. *J Vet Res*, 1957, 18: 657 – 660.
- [12] 王小辉. I 群禽腺病毒的分离鉴定及其生物学特性研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2008.
- Wang X H. Isolation, identification and biological characterization of fowl adenovirus group I [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2008.
- [13] 张明明. I 群禽腺病毒的分离鉴定和生物学特性研究及重组禽腺病毒的构建 [D]. 扬州: 扬州大学, 2008.
- Zhang M M. Isolation, identification and biological characterization of fowl adenovirus group I and the construction of recombinant fowl adenovirus [D]. Yangzhou: Yangzhou University, 2008.
- [14] 罗思思, 谢芝勋, 邓显文, 等. I 群禽腺病毒分离鉴定及 *hexon* 基因的序列分析 [J]. *畜牧与兽医*, 2012, 44(1): 52 – 56.
- Luo S S, Xie Z X, Deng X W, *et al.* Isolation, identification of FAdV – I and sequence analysis of *hexon* genes [J]. *Animal Husbandry and Veterinary Medicine*, 2012, 44(1): 52 – 56.
- [15] 沈萍, 陈向东. 微生物学第 8 版 [M]. 北京: 高等教育出版社, 2009: 180 – 181.
- Shen P, Chen X D. *Microbiology 8th Edition* [M]. Beijing: Higher Education Press, 2009: 180 – 181.
- [16] Bülow V V, Rudolph R, Fuchs B. Folgen der Doppelinfektion von Küken mit Adenovirus oder Reovirus und dem Erreger der aviren infektiösen Anmie (CAA) [J]. *J Vet Med B*, 1986, 33(1 – 10):717 – 726.
- [17] Rosenberger J K, Klopp S, Eckroade R J, *et al.* The roles of the infectious bursal agent and several avian adenoviruses in the hemorrhagic – aplastic – anemia syndrome and gangrenous dermatitis [J]. *Avian Diseases*, 1975, 19(4):717 – 729.

(编辑:李文平)