

冯 敏, 谭利强, 代曼曼, 等. 种禽场 A 亚群禽白血病病原学调查及分离株遗传进化分析[J]. 华南农业大学学报, 2014, 35(4): 11-15.

种禽场 A 亚群禽白血病病原学调查及 分离株遗传进化分析

冯 敏, 谭利强, 代曼曼, 郝建勇, 秦建如, 黄小容, 廖 明, 曹伟胜
(华南农业大学 兽医学院/农业部兽用疫苗创制重点实验室, 广东 广州 510642)

摘要:【目的】了解广东地区种禽场 A 亚群禽白血病病毒 (ALV-A) 流行情况. 【方法】从 A、B、C、D 4 个种禽场采集 1 561 份血浆样品, 接种 DF-1 细胞, 培养 7 d 后通过 ELISA 方法对细胞上清液进行 p27 抗原检测, 通过 PCR、间接免疫荧光试验 2 种方法对 p27 抗原阳性样品进行鉴定. 【结果和结论】从 4 个种禽场共检出 71 份阳性样品, 外源性禽白血病病毒分离阳性率为 4.6%. 其中, 仅从 C 种禽场分离到 2 株 ALV-A, 命名为 GD13-1 和 GD13-2, 前病毒全基因序列分别为 7 721 和 7 715 bp, 且 GD13-2 与 J 亚群禽白血病病毒混合感染. 与国内外其他 ALV-A 的 *LTR*、*gp85* 核苷酸序列进行分析比对, 发现该研究分离的 2 株 ALV-A 与国内 A 亚群分离株 SDAU09E2 相似度最高, 其中与 *LTR* 相似性分别为 96.9%、97.2%, 与 *gp85* 相似性分别为 98.4%、98.7%; 与广东地区 5 年前 ALV-A 分离株 GD08 的 *LTR* 核苷酸序列相似性分别为 88.9%、89.5%, 与 *gp85* 相似性分别为 98.5%、98.8%. 调查结果表明, 广东地区部分种禽场内仍然存在 ALV-A 感染, 但 ALV-A 已经不是流行毒株, 且变异程度不大.

关键词:种禽场; A 亚群禽白血病病毒; 前病毒全基因组序列
中图分类号:S855.3 **文献标志码:**A **文章编号:**1001-411X(2014)04-0011-05

Etiology surveys and phylogenetic analyses of avian leukosis virus subgroup A isolated from breeder chickens farms

FENG Min, TAN Liqiang, DAI Manman, HAO Jianyong, QIN Jianru,
HUANG Xiaorong, LIAO Ming, CAO Weisheng
(College of Veterinary Medicine, South China Agricultural University/Key Laboratory of Veterinary
Vaccine Development, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510642, China)

Abstract:【Objective】To investigate the prevalence of breeders infected by avian leukosis virus subgroup A (ALV-A) in Guangdong Province of China. 【Method】A total of 1 561 plasma samples of breeders collected from four different farms (A, B, C, D) were inoculated into DF-1 cell cultures for 7 days; the positive samples were detected by antigen p27 ELISA test and identified via PCR and IFA. 【Result and conclusion】Results showed that 71 positive samples were detected from four farms and the positive rate of exogenous ALV isolation was 4.6%. Two ALV-A viruses were isolated from antigen p27 ELISA positive samples of the breeder chickens farm C, which were designed as GD13-1 and GD13-2, and the GD13-2 was determined for mixed infection with ALV-J. The full length proviral genomes of two isolates were 7 721, 7 715 bp after PCR amplification and sequencing. In comparison to the *LTR* and *gp85* sequence

收稿日期:2013-11-19 优先出版时间:2014-06-03
优先出版网址:<http://www.cnki.net/kcms/doi/10.7671/j.issn.1001-411X.2014.04.003.html>
作者简介:冯 敏 (1988—), 男, 硕士研究生, E-mail: hunanfengmin@163.com; 通信作者: 曹伟胜 (1975—), 男, 副教授, E-mail: caoweish@scau.edu.cn
基金项目:农业部公益性行业科研专项 (201203055); 广东省自然科学基金 (S20110100001946); 国家肉鸡产业技术体系 (nycyt-x-42-G3-03); 广东省科技计划项目 (2012A020100001)

of the other ALV-A strains at home and abroad, the isolates had the highest similarity with that of subgroup A strain SDAU09E2. The nucleotide similarity of *LTR* and *gp85* were 96.9% , 97.2% and 98.4% , 98.7% respectively. In comparison to the *LTR* and *gp85* sequence of ALV-A GD08 isolated from Guangdong five years ago, the similarity of *LTR* and *gp85* were 88.9% , 89.5% and 98.5% , 98.8% respectively. The survey results show that ALV-A still exist in some breeder farms , but it is not prevalent any more.

Key words: breeder farm; subgroup A avian leukosis virus; proviral genome sequence

禽白血病(Avian leukosis, AL)是由禽白血病病毒(Avian leukosis virus, ALV)引起的以造血细胞恶性增生为主的一类肿瘤性疾病^[1]. 依据病毒的宿主范围和交叉中和反应等将禽白血病病毒分为 A ~ J 10 个亚群,其中 ALV-A、B、J 为常见的外源性病毒; ALV-E 为内源性病毒,无致病能力. 最近,有报道称从我国芦花鸡中发现一个疑似新的亚群,初步命名为 K 亚群^[2]. 目前,禽白血病在我国已经呈流行趋势,几乎蔓延到了每个省份^[3]. 鸡群中禽白血病病毒感染情况复杂,A/B 亚群、J 亚群禽白血病病毒均有存在,并先后感染肉鸡、蛋鸡以及各种地方品系鸡^[4]. 上世纪七八十年代,ALV-A 在世界上普遍流行,给养禽业造成巨大的经济损失,各大种禽公司花费数年时间才得以净化. 虽然从近年的流行病学调查结果显示,我国的禽白血病病原主要为 J 亚群,少量存在 A、B、C 亚群^[4-5],但 ALV-A 的存在,必须引起我们足够重视. ALV-A 以引发淋巴瘤为主,但也能像 ALV-J 一样引发血管瘤^[6-7]. 国内多位研究者分别在不同时间段,不同地区,不同品种鸡群中分离到 ALV-A,并且测定其全基因序列^[3, 7-10],最近有从我国东北地区野生鸟类分离到 ALV-A 的报道^[11]. 广东地区 5 年前从肉种鸡场分离到 1 株 ALV-A^[12]. 本研究拟针对广东地区部分种禽场,通过采取病毒分离的方式,了解 A 亚群禽白血病病毒在该地区种禽场的感染情况,以及毒株的变异情况,以期为广东地区禽白血病的综合防控以及净化工作提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 病料的来源与处理 被检样品来自 2012 年 9 月—2013 年 9 月广东 4 个种禽场(A、B、C、D)的核心种鸡群,无菌采集翅静脉抗凝血 1 561 份. 2 000 r/min 4 ℃ 条件离心 12 min,无菌分离血浆, -80 ℃ 条件保存备用.

1.1.2 主要试剂 禽白血病病毒抗原检测试剂盒(ALV Ag Test Kit)为美国 IDEXX 公司产品;pMD18-T 载体、*Taq* DNA 聚合酶为 TaKaRa 公司产品;DNA

提取试剂盒, DNA Gel Extraction Kit, Plasmid Mini-prep Kit 为 OMEGA 公司产品. ALV-A 单抗由美国 ADOL 实验室惠赠;ALV-J 单抗 JE9 由扬州大学兽医学院秦爱建教授惠赠. FITC 标记的羊抗鼠 IgG 购自 Sigma 公司. FBS 和 Trypsin 均为 Gibico 公司产品. DF-1 细胞,感受态细胞 DH5α 为农业部兽用疫苗创制重点实验室保存.

1.2 方法

1.2.1 病毒的分离培养 将“1.1.1”中制备的血浆接种于 24 孔板的 DF-1 细胞悬液中(1.7×10^5 mL⁻¹),每孔接种 50 μL 血浆,同时设 DMEM 阴性对照和接种已知病毒阳性对照各 2 孔. 37 ℃ CO₂ 培养箱中培养,待细胞长至单层,换为体积分数 1% 的 FBS 细胞维持液连续培养 7 d 后收获,冻融 3 次, 5 000 r/min 离心 5 min,离心后的细胞上清液进行 p27 抗原 ELISA 检测,细胞沉淀用于提取禽白血病前病毒基因组 DNA.

1.2.2 细胞培养物抗原 ELISA 检测 p27 抗原 ELISA 检测按照禽白血病病毒抗原检测试剂盒(IDEXX)使用说明书进行.

1.2.3 前病毒 DNA 的制备和病毒核酸 PCR 的检测 根据 p27 抗原检测的结果,对应收集“1.2.1”中样品细胞上清液为阳性的细胞沉淀,按照 SQ Tissue 组织 DNA 试剂盒说明书制备禽白血病前病毒基因组 DNA, -20 ℃ 条件保存备用. 分别参照 Fenton 等^[13], Silva 等^[14], Smith 等^[15]的方法,合成 A-F/A-R; B-F/B-R; H5/H7 引物用于检测 ALV-A, ALV-B, ALV-J,其扩增产物预计大小分别为 690、1 100、545 bp.

1.2.4 间接免疫荧光试验(IFA) 将 p27 抗原 ELISA 检测为阳性、PCR 检测为 ALV-A 阳性的样品细胞上清液接种于铺满单层 DF-1 细胞的 24 孔板内,培养 7 d 后,底层细胞用 PBS 洗 3 次,用体积分数为 4% 多聚甲醛固定 20 min. 再用 PBS 洗涤 3 次,加入 1:200 稀释的 ALV-A 单抗,4 ℃ 条件下孵育过夜. 然后 PBS 洗涤 3 次,加上 1:200 稀释的羊抗鼠 IgG-FITC 荧光抗体,37 ℃ 作用 1 h,再用 PBS 洗涤 3 次后,加 1 滴体积分数 50% 甘油覆盖细胞,在荧光显微

镜下观察试验结果. 设立一个 DMEM 阴性对照. 按照同样方法用 ALV-J 单抗 JE9 对 PCR 同时扩增出 ALV-A/J 目的片段的样品进行间接免疫荧光试验.

1.2.5 ALV-A 分离株前病毒全基因扩增和测序
参考张小桃等^[12] GD08 全基因核苷酸序列扩增引物,采用分段扩增的方法,分别扩增分离株基因组核苷酸序列 A、B、C 段. 阳性菌液送英潍捷基(上海)贸易有限公司测序.

1.2.6 基因组核苷酸序列分析比较 利用 DNA-Star7.1 基因分析软件对测序结果进行核苷酸序列的剪辑和拼接. 将分离株的 *LTR*、*gp85* 基因核苷酸序列与国内外各参考毒株相同区域核苷酸序列进行相似性分析,并用 MEGA5.0 绘制分离株与各参考毒株的 *gp85* 基因序列的系统进化图谱. 各亚群参考毒株分别为: ALV-A: RSA (M37980), RAV-1 (M19113), MAV-1 (L10922.1), GD08 (HM775328), SDAU09E1 (HM452341), SDAU09E2 (HM452342), SDAU09C1 (HM452339), SDAU09C3 (HM452340), MQNCSU (DQ365814); ALV-B: RAV-2 (M14902), SDAU09C2 (HM446005); ALV-C: PragueC (J02342); ALV-J: HPRS103 (Z46390), NX0101 (DQ115805), HN06 (HQ900844); ALV-E: RAV-0 (M12172), SD0501 (EF467236). 以上参考株序列均来自 GenBank 数据库,括号内为登录号.

2 结果与分析

2.1 细胞培养物抗原 ELISA 检测

依据 IDEXX 公司禽白血病病毒抗原检测试剂盒说明书,对冻融后的接种血浆试验组和对照组细胞上清液进行禽白血病病毒 p27 抗原检测,结果显示,总计 1 561 份血浆样品中,有 71 份样品呈阳性反应(表 1),其中 A、B、C 种禽场的外源性 ALV 阳性率均超过种鸡群健康标准 1%.

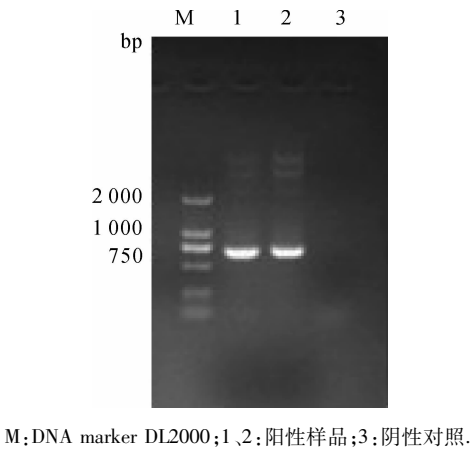
2.2 病毒基因 PCR 检测

以“1.2.3”制备的阳性样品前病毒 DNA 作为模板进行分型 PCR 检测. 凝胶电泳结果显示,其中来自 C 种禽场 2 份样品扩增出约 690 bp 的片段,与 ALV-A

预计的目的片段大小相符(图 1). 这 2 份样品其中 1 份还扩增出 J 亚群 ALV 545 bp 目的片段,显示为 ALV-A/J 共感染. 阴性对照组 DF-1 细胞 DNA 中未扩出相应大小的目的片段. 其余 p27 抗原检测阳性样品 PCR 检测均显示为 ALV-J 感染.

表 1 4 个种禽场外源性禽白血病病毒检出情况
Tab. 1 Exogenous avian leucosis virus detection of four breeder farms

种禽场	总样品/份	阳性率/%
A	437	2.5
B	78	5.1
C	788	7.0
D	258	0.3
合计	1 561	4.6



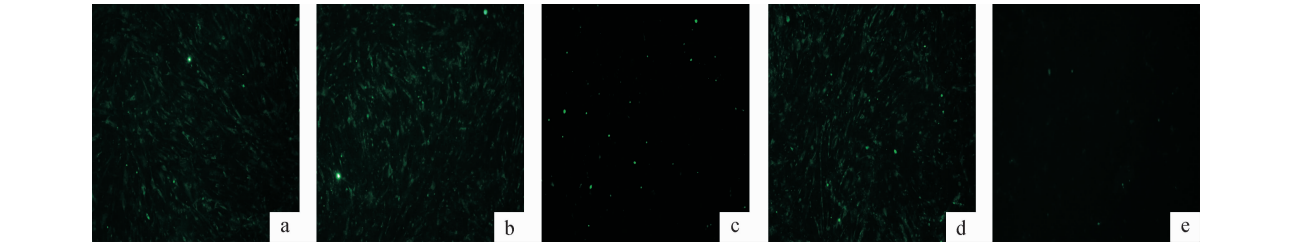
M: DNA marker DL2000; 1、2: 阳性样品; 3: 阴性对照.

图 1 ALV-A PCR 检测

Fig. 1 ALV-A PCR detection

2.3 间接免疫荧光检测

用 ALV-A 单抗做间接免疫荧光试验呈阳性反应(图 2a、图 2b),细胞表面及胞浆呈现明显绿色荧光,对照组细胞(图 2c)没有绿色荧光. 间接免疫荧光试验结果进一步证明了分离到的 2 株病毒为 ALV-A,分别命名为 GD13-1、GD13-2. 其中 GD13-2 PCR 能扩增出 ALV-J 的目的片段,用 ALV-J 单抗 JE9 做间接免疫荧光试验呈阳性反应(图 2d),对照成立(图 2e),结果提示 GD13-2 为 ALV-A 和 ALV-J 共感染.



a、b: ALV-A 单抗间接免疫荧光试验 GD13-1 和 GD13-2 分离株反应结果; c: ALV-A 单抗间接免疫荧光试验阴性对照; d: JE9 单抗间接免疫荧光试验 GD13-2 分离株反应结果; e: JE9 单抗间接免疫荧光试验阴性对照.

图 2 间接免疫荧光试验结果(100 ×)

Fig. 2 The result of IFA detection (100 ×)

2.4 分离株前病毒全基因组 PCR 扩增结果

按照“1.2.3”方法制备前病毒 DNA,采用分段扩增的方法,分别扩增出大小为 3.7、2.5、2.9 kb 的 3 个目的片段,与预计片段大小相符(图 3)。

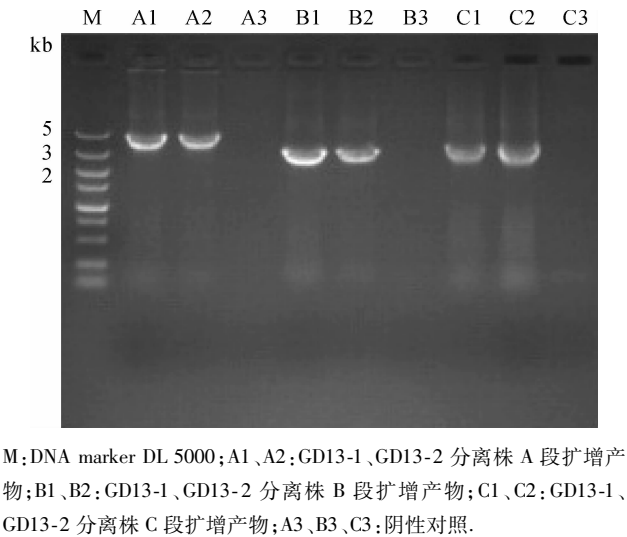


Fig. 3 PCR amplification results of whole proviral genome

2.5 分离株前病毒核苷酸序列分析

据报道 ALV-A 前病毒 DNA 全长约 7.8 kb^[16],利用 DNA-Star 软件分别对 ALV-A 分离株 GD13-1 和 GD13-2 的 3 个扩增片段的基因序列进行剪辑和拼接分析后,发现 GD13-1 和 GD13-2 均具有典型的复制完全型反转录病毒基因组结构^[17];前病毒 DNA 全长分别为 7 721、7 715 bp;*gp85* 核苷酸序列长度均为 1 017 bp;长末端重复序列(LTR)长度均为 324 bp,相似性达到 99.1%。

GD13-1、GD13-2 与不同 ALV-A 分离株间 *LTR* 相似性比较发现,与 SDAU09E2 的 *LTR* 相似性最高,分别为 96.9% 和 97.2%;与 SDAU09E1 的 *LTR* 相似性最低,分别为 51.6% 和 52.3%,主要在 U3 区存在多处变异;与 ALV-A 美国株 MQNCSU 的 *LTR* 相似性分别为 87.6% 和 87.2%;与广东分离株 GD08 的 *LTR* 相似性分别为 88.9% 和 89.5%。

GD13-1、GD13-2 与国内外不同禽白血病分离株 *gp85* 核苷酸序列进行相似性比较发现,这 2 个分离株的 *gp85* 与 ALV-A 的 *gp85* 相似性达 81.6% ~ 98.8%,而与 ALV-B、C、D、E、J 亚群的 *gp85* 相似性只有 47.5% ~ 85.4%。其中,这 2 个分离株与国外 ALV-A 分离株 MAV-1 相似性达 89.3%;与国内分离株 GD08 的相似性分别达到了 98.5% 和 98.8%,与 SDAU09E2 的相似性分别达到了 98.4% 和 98.7%。各亚群的 *gp85* 系统进化树显示,这 2 个分离株与 GD08、SDAU09E2 位于同一个进化分支上,而与其他 A 亚群毒株位于同一个大的进化分支上(图 4)。

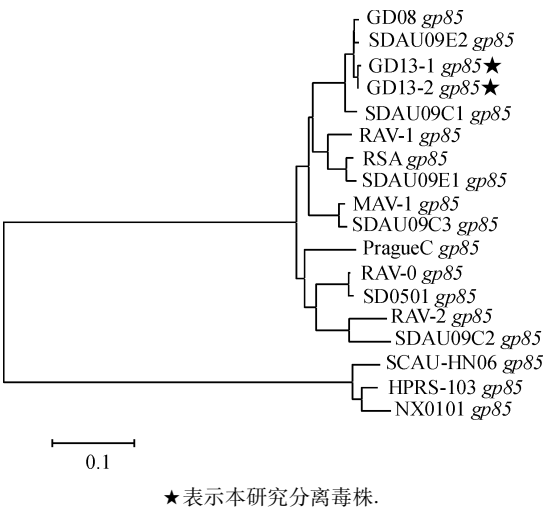


图 4 GD13-1 和 GD13-2 与不同亚群禽白血病病毒参考株间 *gp85* 基因遗传进化树关系

Fig. 4 Phylogenetic tree based on *gp85* gene for GD13-1, GD13-2 and other avian leucosis virus reference strains of different subgroups

3 讨论

外源性禽白血病病毒不仅能引发肿瘤和死亡,还会引起鸡群免疫抑制和生长抑制等亚临床症状,给养禽业造成巨大损失.直到现在,依然没有有效的药物和疫苗来应对禽白血病的发生.西方国家防控该病的策略主要是通过不断剔除鸡群中的阳性鸡,达到净化种群的目的^[18].我国对禽白血病的研究起步较晚,有些养禽公司对该种病的重视不够,防控意识不强,一直没对种鸡群采取有力的净化措施.最近几年,主管部门和养禽行业开始意识到控制禽白血病的重要性,尤其是《国家中长期动物疫病防治规划(2012—2020 年)》^[19]和《全国蛋鸡遗传改良计划(2012—2020 年)》出台之后^[20],对禽白血病的防控起到推动作用.虽然现在我国 J 亚群禽白血病普遍流行,但依然存在 ALV-A/B,且造成的影响不容忽视,并且有研究表明,禽白血病病毒不同亚群混合感染的现象也时有发生^[5,21].西方国家在上世纪 80 年代已经基本消除了经典的外源性 ALV-A/B,但从我国进口的肉鸡祖代鸡中依然分离到了禽白血病病毒^[22].美国曾经报道过从马立克氏病疫苗中分离到了 ALV-A^[23],我国生产的活疫苗不能保证没有存在类似的问题.鉴于以上情况,在积极推进种禽场白血病净化工作的进程中,开展不同亚群禽白血病病毒流行情况的调查,以及监测毒株的变异情况是非常有必要的。

本研究从广东 4 个种禽场共采集 1 561 份血浆样品,接种 DF-1 细胞,培养 7 d 后取上清液进行禽白血病病毒 p27 抗原检测,发现 p27 抗原阳性率为 4.6% (71/1 561),结果提示所调查的 4 个种禽场均有外源性禽白血病病毒感染.病毒基因检测引物 PCR 扩增和

间接免疫荧光试验结果表明,只有来自C场的2份阳性样品扩增出ALV-A约690 bp目的片段,用ALV-A单抗做间接免疫荧光试验均呈阳性反应;其中有1份阳性样品前病毒DNA中还能检出ALV-J的特异性片段,用ALV-J单抗做间接免疫荧光试验也呈阳性反应;其余69份阳性样品均扩增出ALV-J 545 bp目的片段。调查结果表明广东地区种禽场内仍然存在A亚群禽白血病毒病感染,但ALV-A已经不是流行毒株。

分离株前病毒核苷酸序列分析结果表明,2株分离株GD13-1、GD13-2 *gp85* 基因编码的氨基酸残基中有3个氨基酸的差异,GD13-2的 *gag* 基因在1 040~1 049位点连续有9个碱基缺失;*LTR* 变异区主要集中在其中U3区,64位缺失1个碱基,多个位点存在点突变,但典型反转录病毒调控元件Y box、TATA box、CAAT box、CArG box、PRE box未见任何变化。与A亚群原型株RAV-1 *gp85* 核苷酸序列比对发现,2株分离株GD13-1、GD13-2存在多个地方的碱基缺失、插入突变和点突变;与早期广东分离株GD08 *gp85* 基因编码的氨基酸序列进行比较,在58、119、125、134、222、243、332位氨基酸有差异;与SDAU09E2 *gp85* 基因编码的氨基酸序列比较,119、125、164、222位氨基酸有差异。遗传演化分析表明GD13-1、GD13-2与SDAU09E2、GD08均有很高的相似性,提示这些毒株可能有共同的祖先。这些分离株不同位置出现的碱基突变、缺失和插入对分离株的生物学特性的影响有待进一步研究。同时,GD13-2与ALV-J混合感染的现象,说明部分种禽场禽白血病毒病感染情况相对复杂,为不同亚群禽白血病毒重组创造了有利条件。本研究对广东地区部分种禽场进行了1次ALV-A感染的摸底调查,为下一步种鸡群白血病净化及有效防控提供了科学依据。

参考文献:

- [1] PAYNE L N, BROWN S R, BUMSTEAD N, et al. A novel subgroup of exogenous avian leukosis virus in chickens [J]. J Gen Virol, 1991, 72 (4): 801-807.
- [2] 王鑫,赵鹏,崔治中. 我国地方品种鸡分离到的一个禽白血病毒新亚群的鉴定[J]. 病毒学报, 2012, 28 (6): 609-614.
- [3] 王洪进,张青禅,赵冬敏,等. 我国近10年鸡白血病毒流行病学报道与研究分析[J]. 中国兽医学报, 2011, 31 (2): 292-296.
- [4] 崔治中. 鸡白血病及其鉴别诊断和预防控制[J]. 中国家禽, 2010, 32(8): 1-12.
- [5] 常维山,郭慧君,孙淑红. 近年来我国禽白血病毒流行现状及发展趋势分析[J]. 中国家禽, 2010, 32(1): 8-10.
- [6] BURSTEIN H, GILEAD M, BENDHEIM U, et al. Viral aetiology of haemangiosarcoma outbreaks among layer hens [J]. Avian Pathol, 1984, 13(4): 715-726.
- [7] 何爱飞,徐春志,雷云华,等. 蛋鸡血管瘤型禽白血病的诊断[J]. 动物医学进展, 2009, 30(1): 112-115.
- [8] 乔彦华,王永强,庞平,等. A亚群禽白血病毒QC6281株的分离与*gp85*基因序列分析[J]. 中国兽医杂志, 2008, 44(12): 9-12.
- [9] 朱美真,吴玉宝,崔治中. 地方品系鸡中一株A亚群鸡白血病毒病的分离和鉴定[J]. 中国动物传染病学报, 2009, 17(4): 31-35.
- [10] 钱琨,朱钰峰,沈海玉,等. 地方蛋鸡群中A亚群禽白血病毒病的分离与全基因组序列分析[J]. 中国兽医科学, 2011, 41(10): 1005-1010.
- [11] 杨波,高玉龙,高宏雷,等. 我国东北地区野生鸟类A亚群禽白血病毒分子流行病学调查及*env*基因序列分析[J]. 中国预防兽医学报, 2013, 35(3): 245-247.
- [12] 张小桃,辛欢欢,张贺楠,等. A亚群禽白血病毒GD08株的分离与全基因组序列测定[J]. 中国兽医学报, 2010, 30(10): 1291-1295.
- [13] FENTON S P, REDDY M R, BAGUSTT J. Single and concurrent avian leukosis virus infections with avian leukosis virus-J and avian leukosis virus-A in Australian meat-type chickens [J]. Avian Pathol, 2005, 34(1): 48-54.
- [14] SILVA R F, FADLY A M, TAYLOR S P. Development of a polymerase chain reaction to differentiate avian leukosis virus (ALV) subgroups: Detection of an ALV contaminant in commercial Marek's disease vaccines [J]. Avian Dis, 2007, 51(3): 663-667.
- [15] SMITH L M, BROWN S R, HOWES K, et al. Development and application of polymerase chain reaction (PCR) tests for the detection of subgroup J avian leukosis virus [J]. Virus Res, 1998, 54(1): 87-98.
- [16] 赵振华. 禽白血病[M]. 北京:中国农业出版社, 2006: 20.
- [17] BIETH E D J L. Complete nucleotide sequence of a highly infectious avian leukosis virus [J]. Nucleic Acids Res, 1991, 20(2): 367.
- [18] 张小桃,赖汉漳,曹伟胜. 禽白血病毒检测方法研究进展[J]. 养禽与禽病防治, 2009(4): 4-6.
- [19] 国务院. 国家中长期动物疫病防治规划: 2012—2020年[J]. 吉林畜牧兽医, 2012(7): 7-12.
- [20] 农业部. 全国蛋鸡遗传改良计划: 2012—2020年[J]. 吉林畜牧兽医, 2013(1): 7-10.
- [21] CUI Zhizhong, DU Yan, ZHANG Zhi, et al. Comparison of Chinese field strains of avian leukosis subgroup J viruses with prototype strain HPRS-103 and United States strains [J]. Avian Dis, 2003, 47(4): 1321-1330.
- [22] ZHANG Qinchan, ZHAO Dongmin, GUO Huijun, et al. Isolation and identification of a subgroup A avian leukosis virus from imported meat-type grand-parent chickens [J]. Virol Sin, 2010, 25(2): 130-136.
- [23] BARBOSA T, ZAVALA G, CHENG Sunny. Molecular characterization of three recombinant isolates of avian leukosis virus obtained from contaminated Marek's disease vaccines [J]. Avian Dis, 2008, 52(2): 245-252.

【责任编辑 柴 焰】

<http://xuebao.scau.edu.cn>