

长期高谷物饲喂对山羊瘤胃酸中毒发生的影响

孙大明, 毛胜勇, 刘军花*

(南京农业大学动物科技学院, 消化道微生物研究室, 南京 210095)

摘要: 本试验旨在研究长期饲喂高谷物日粮对山羊瘤胃内环境, 静脉血中内毒素浓度及亚急性瘤胃酸中毒发生的影响。选用 10 头装有永久性瘤胃瘘管的去势公山羊, 随机分为饲喂全粗料的对照组(Hay; 0% 谷物; $n = 5$)和饲喂高谷物的处理组(HG; 65% 谷物; $n = 5$), 连续饲喂 7 周。每周晨饲后的 0、2、3、4、6、8 和 12 h 连续采集瘤胃腹囊部瘤胃液监测瘤胃 pH 的变化, 收集其中第 0、3、6 和 12 h 的瘤胃液待测挥发性脂肪酸, 收集其中第 6 h 的瘤胃液待测脂多糖。采集晨饲后 6 h 的颈静脉血待测外周血液中脂多糖浓度。瘤胃 pH 变化结果显示, 在第 1、2、3、6 和 7 周, 晨饲后 12 h 之内, HG 组山羊瘤胃 pH 小于 5.8 的时间大于 4 h, 可以初步推断在第 1、2、3、6 和 7 周, 高谷物饲喂成功诱导亚急性瘤胃酸中毒的发生。在整个饲喂周期内, 与对照组相比, 高谷物饲喂显著降低了瘤胃 pH、乙酸比例及乙丙比($P < 0.05$), 显著升高瘤胃内丙酸比例, 丁酸比例及游离脂多糖的浓度($P < 0.05$)。在整个饲喂周期内, 在全粗料饲喂的所有山羊外周血液中都未检测到游离脂多糖。在试验的第 1 和 2 周, 在高谷物饲喂山羊的外周血中也未检测到游离脂多糖, 但从试验的第 3 周开始, 在高谷物饲喂的部分山羊外周血液中检测到游离脂多糖, 从第 5 周开始, 在所有高谷物饲喂山羊的外周血中都检测到游离脂多糖。以上结果表明, 该试验中的高谷物饲喂成功诱导亚急性瘤胃酸中毒的发生, 同时在长期饲喂的过程中, 亚急性瘤胃酸中毒的发病有一个发生、适应、继续发生的过程。

关键词: 亚急性瘤胃酸中毒; 瘤胃 pH; 挥发性脂肪酸; 脂多糖; 山羊

中图分类号: S827; S815.4

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2016)12-2420-10

The Effect of Long-term High-grain Feeding on Occurrence of Ruminal Acidosis in Goats

SUN Da-ming, MAO Sheng-yong, LIU Jun-hua*

(Laboratory of Gastrointestinal Microorganisms, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The objective of this study was to investigate the effects of long-term high-grain (HG) feeding on rumen environment, lipopolysaccharide concentration in jugular vein blood, and the occurrence of subacute ruminal acidosis in goats. Ten castrated male goats with rumen fistula were randomly fed with either a hay diet (0% grain; $n = 5$) or HG diet (65% grain; $n = 5$) with continuous feeding of 7 weeks. Weekly 0, 2, 3, 4, 6, 8 and 12 h after morning feeding, rumen fluid was collected to monitor the changes of pH in rumen. The rumen fluid collected at 0, 3, 6 and 12 h after morning feeding was used to determine volatile fatty acid concentration. The rumen fluid collected at 6 h after morning feeding was used to determine lipopolysaccharide concentration. At 6 h after morning feeding, the jugular vein blood was collected to measure the free lipopolysaccharide levels in peripheral blood. The results showed that, at 1st, 2nd, 3rd, 6th and 7th weeks, the rumen pH below 5.8 lasted for more than 4 h within 12 h after morning feeding in HG-fed goats. The results suggested that, at 1st, 2nd, 3rd, 6th and 7th weeks, the experimental

收稿日期: 2016-05-09

基金项目: 中国博士后基金(2015M570462)

作者简介: 孙大明(1993-), 男, 山东聊城人, 硕士生, 主要从事反刍动物营养研究, E-mail: sundm128@163.com

* 通信作者: 刘军花, 讲师, E-mail: liujunhua0011@163.com

subacute ruminal acidosis had been successfully induced by HG. Across the whole period, compared with hay feeding, HG feeding significantly decreased ($P < 0.05$) the ruminal pH, acetate proportion, and acetate/propionate ratio, while significantly increased ($P < 0.05$) ruminal propionate proportion, butyrate proportion, and free lipopolysaccharide concentration in rumen. The free lipopolysaccharide in the peripheral blood was not detectable in all hay-fed goats across the whole period. At the 1st and 2nd weeks, the free lipopolysaccharide level in the peripheral blood of HG-fed goats was not detectable. At 3rd and 4th weeks, the free lipopolysaccharide in the peripheral blood was detectable in some HG-fed individuals. At 5th, 6th and 7th weeks, the free lipopolysaccharide in the peripheral blood were detectable in all HG-fed goats. These results indicate that experimental subacute ruminal acidosis has been successfully induced by long-term HG diet feeding, and the incidence of subacute ruminal acidosis experienced the process of occurrence, adaptation and repeated occurrence.

Key words: subacute ruminal acidosis; ruminal pH; volatile fatty acid; lipopolysaccharide; goat

亚急性瘤胃酸中毒(Subacute ruminal acidosis, SARA)是由于反刍动物长期采食过量的易发酵碳水化合物,导致瘤胃微生物区系紊乱,大量挥发性脂肪酸(Volatile fatty acid, VFA)在瘤胃中累积,使瘤胃 pH 在较长时间内维持在较低水平的一类营养代谢疾病^[1]。这类疾病影响反刍动物的采食量、奶产量、瘤胃微生物组成及瘤胃消化代谢,并且引发腹泻、瘤胃炎、蹄叶炎及肝脓肿等疾病^[2],已成为危害我国肉牛及高产奶牛健康的主要营养代谢病之一^[3]。

当前,国内外研究主要侧重于 SARA 的发病原因,相关的临床表现以及 SARA 对瘤胃微生物组成、瘤胃消化代谢、瘤胃上皮生理功能及结构的影响^[2],但对 SARA 的发病机理及其对瘤胃上皮屏障功能影响的研究较少。同时,对 SARA 的研究主要采用短期诱导方式,而这种诱导方式与实际生产中动物长期采食高精料的现状不太吻合。基于此,建立与实际生产实践相符的 SARA 动物模型,以用于研究 SARA 的发病机理及其后续危害显得尤为重要。

SARA 对动物机体的损害是一个缓慢的、逐渐加重的隐匿过程。瘤胃上皮属于复层扁平上皮,由 4 层不同的细胞层组成。与单层上皮相比,内毒素和细菌不易渗透过瘤胃上皮,除非其结构受到严重破坏。同时,G. B. Penner 等^[4]也证实单一轻度的 SARA 短期内并不会影响瘤胃屏障功能。笔者推测额外的刺激(比如角化不全和炎症)及增强的酸中毒强度可能会诱发瘤胃屏障功能紊乱^[4]。同时,在实际生产中,瘤胃上皮屏障功能的破坏也常发生在

长期饲喂高精料日粮或是循环发生酸中毒的高产反刍动物中。因此,为了更全面地模拟实际生产中高精料诱发的代谢紊乱,在本研究中,我们给山羊饲喂更长时间(50 d)的高谷物日粮以建立与生产实践相符的 SARA 模型,为后续研究 SARA 对瘤胃屏障功能的影响及相关机制建立基础。

1 材料与方法

1.1 试验设计与动物饲养

为了让动物适应低能量日粮,试验开始前 5 周所有动物自由采食全粗料日粮。试验开始,将 10 头装有瘤胃瘘管的 2~3 岁去势公山羊(波尔山羊 × 淮南羊杂交山羊)随机分为饲喂全粗料的对照组(Hay; 0% 谷物; $n=5$)和饲喂高谷物日粮的处理组(HG; 65% 谷物; $n=5$),自由饮水,单栏饲喂。试验开始前,两组山羊的体重没有显著差异($P > 0.05$)。依据山羊营养需要标准(NY/Y816-2004; 中国农业部, 2004)设计饲粮配方,对照组的代谢能略高于 30 kg 山羊的维持需要,处理组的代谢能满足 30 kg 山羊每天 200 g 的生长需要。对照组和处理组的日粮组成见表 1。日粮平均分成两份,于每天早晨 08:30 和下午 16:30 分别饲喂,饲喂量为每日每头山羊 750 g 干物质,连续饲喂 7 周。

1.2 样品采集

试验开始后于每周晨饲后的 0、2、3、4、6、8 和 12 h 连续采集瘤胃腹囊部瘤胃液监测瘤胃 pH 的变化,收集其中第 0、3、6 和 12 h 的瘤胃液并于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,待测挥发性脂肪酸和脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)浓度。测定完 pH 后的瘤胃液用 4 层纱

布过滤。取其中 5 mL 在 4 °C 13 000 r · min⁻¹ 离心 40 min, 取 2 mL 滤膜过滤后装在无热源的玻璃瓶中, 100 °C 加热 30 min 后于 -20 °C 保存待测瘤胃液游离 LPS 浓度。另外 5 mL 瘤胃液与 1 mL 巴豆酸混合后于 -20 °C 保存, 用于挥发性脂肪酸的测

定。用无热源的含有 40 单位肝素钠的采血管采集饲喂后第 6 小时的颈静脉血, 4 °C 1 000 r · min⁻¹ 离心 10 min, 收集血浆, 收集好的血浆装在无热源的玻璃瓶中, -20 °C 保存, 待测外周血中的 LPS。

表 1 试验日粮组成及营养水平

Table 1 Ingredient and nutrient levels of the experimental diets(DM)

项目 Item	日粮 Diet		%
	干草组 Hay	高谷物组 HG	
日粮组成 Diet ingredient			
羊草 Chinese wildrye	81.00	30.00	
苜蓿 Alfalfa	15.00	0.00	
玉米 Corn	0.00	45.00	
小麦 Wheat	0.00	20.00	
豆粕 Soybean meal	0.00	1.10	
石粉 Limestone	0.50	0.95	
食盐 Salt	0.80	0.65	
磷酸氢钙 Calcium monohydrogen phosphate	1.70	1.20	
预混料 Premix ¹	1.00	1.00	
碳酸氢钠 Sodium bicarbonate	0.00	0.10	
合计 Total	100	100	
营养水平 Nutrient level			
代谢能/(MJ · kg ⁻¹ DM) Metabolic energy ²	8.31	11.31	
粗蛋白 Crude protein	10.06	10.06	
粗脂肪 Crude fat	3.55	3.59	
粗纤维 Crude fiber	30.17	11.18	
中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	57.01	25.23	
酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber	35.72	13.55	
粗灰分 Crude ash	10.62	6.52	
淀粉 Starch	— ³	58.23	

¹. 预混料为每千克饲粮提供: Zn 102 g, Mn 47 g, Cu 26 g, I 1 140 mg, Se 500 mg, Co 340 mg, 维生素 A 17 167 380 IU, 维生素 D 858 370 IU, 维生素 E 23 605 IU。². 该数值是基于 NRC(2007)数据库的计算值。³. 未检测

¹. The premix provide the following per kg diet: Zn 102 g, Mn 47 g, Cu 26 g, I 1 140 mg, Se 500 mg, Co 340 mg, vitamin A 17 167 380 IU, vitamin D 858 370 IU, vitamin E 23 605 IU. ². The values were analyzed based on database of the NRC (2007). ³. Not determined

1.3 瘤胃生理参数测定

用便携式 pH 计(HI 9024C; HANNA Instruments, 美国)测定瘤胃 pH。气相色谱(GC-14B, 岛津, 日本; 毛细管柱: 30 m × 0.32 mm × 0.25 μm film thickness)测定挥发性脂肪酸浓度, 参照秦为琳^[5]的方法(柱温为 110 °C, 汽化室温度为 180 °C, 检测器温度为 180 °C)。瘤胃液及血浆中游离 LPS

使用显色基质鲎试剂盒(厦门鲎试剂实验厂有限公司)进行测定, 试剂盒的最低检测浓度为每毫升 0.01 内毒素单位(EU)。预处理过的瘤胃液进行梯度稀释, 直到 LPS 的浓度达到 0.1 到 1 EU · mL⁻¹。血浆内毒素的检测参照 E. Khafipour 等^[6]的方法, 即将冻存的血浆样品在 37 °C 涡旋解冻, 取 100 μL 样品用鲎试剂检测, 用水进行 10 倍稀释, 因此用这种

方法测定的血液中内毒素的最低检测浓度为 $0.1 \text{ EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

1.4 数据处理

所有图中的结果以“平均值±标准误 (Means±SEM)”表示。采用 SPSS 18.0 中的混合模型 (Mixed model) 对表 2 中的瘤胃生理参数进行统计, 其中日粮 (Diet) 及饲喂周数 (Week) 作为固定效应 (Fixed effect), 山羊作为随机效应 (Random effect), 每天的采样时间点 (Time) 作为重复测量 (Repeated measurement)。采用 SPSS 18.0 中的单因素方差分析 (One-way ANOVA) 统计图 2 和图 3 中各组的差异性。 $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 生产性能及临床症状观察

所有山羊没有明显的临床症状发生。处理组和对照组山羊之间的体增重没有显著差异 (0.30 ± 0.26 vs. 1.02 ± 0.52) kg, $P = 0.248$)。屠宰前 1 周观察到处理组的山羊有轻微腹泻现象发生, 即出现粘稠腹泻样粪便。

2.2 瘤胃 pH 的连续监测

每周第 7 天, 连续监测晨饲后 12 h 瘤胃 pH 的变化, 结果如图 1 所示。在高谷物饲喂后的第 1 周, 瘤胃 pH 急剧下降, 12 h 内 pH 维持在 5.8 以下的

时间达到 6 h 以上, pH 在 5.6 以下的时间也达到 4 h 以上; 在高谷物饲喂的第 2、3、6、7 周, 12 h 内瘤胃 pH 在 5.8 以下的时间都达到 4 h 以上; 在高谷物饲喂的第 4、5 周, 12 h 内瘤胃 pH 在 5.8 以下的时间不到 3 h。以上结果表明, 在高谷物饲喂后的第 1、2、3、6、7 周发生 SARA; 在长期的高谷物饲喂过程中, SARA 的发病有一个发生、适应、再发生的循环过程。

2.3 长期饲喂高谷物日粮对瘤胃内环境的影响

如表 2 所示, 与全粗料组山羊相比, 高谷物饲喂组山羊瘤胃 pH ($P < 0.001$)、总 VFA 浓度 ($P < 0.001$)、乙酸比例 ($P < 0.001$) 及乙丙比 ($P < 0.001$) 显著下降; 高谷物饲喂组山羊瘤胃丙酸比例 ($P < 0.001$)、丁酸比例 ($P < 0.001$) 及游离 LPS ($P < 0.001$) 的浓度都显著升高。饲喂周数显著影响瘤胃 pH ($P < 0.001$)、总 VFA ($P < 0.001$)、乙酸比例 ($P < 0.001$)、丙酸比例 ($P = 0.001$)、丁酸比例 ($P < 0.001$)、乙丙比 ($P < 0.001$) 及游离 LPS 浓度 ($P < 0.001$)。

饲喂周与日粮对瘤胃 pH ($P < 0.001$)、总 VFA 浓度 ($P = 0.004$)、乙酸比例 ($P < 0.001$)、丙酸比例 ($P = 0.010$)、乙丙比 ($P < 0.001$) 及 LPS 浓度 ($P < 0.001$) 的影响存在显著交互作用。饲喂周与日粮对瘤胃丁酸比例 ($P = 0.176$) 的影响不存在显著的交互作用。

表 2 连续 7 周高谷物饲喂对山羊瘤胃发酵参数的影响

Table 2 Effects of HG feeding diet on rumen fermentation parameters for 7 weeks

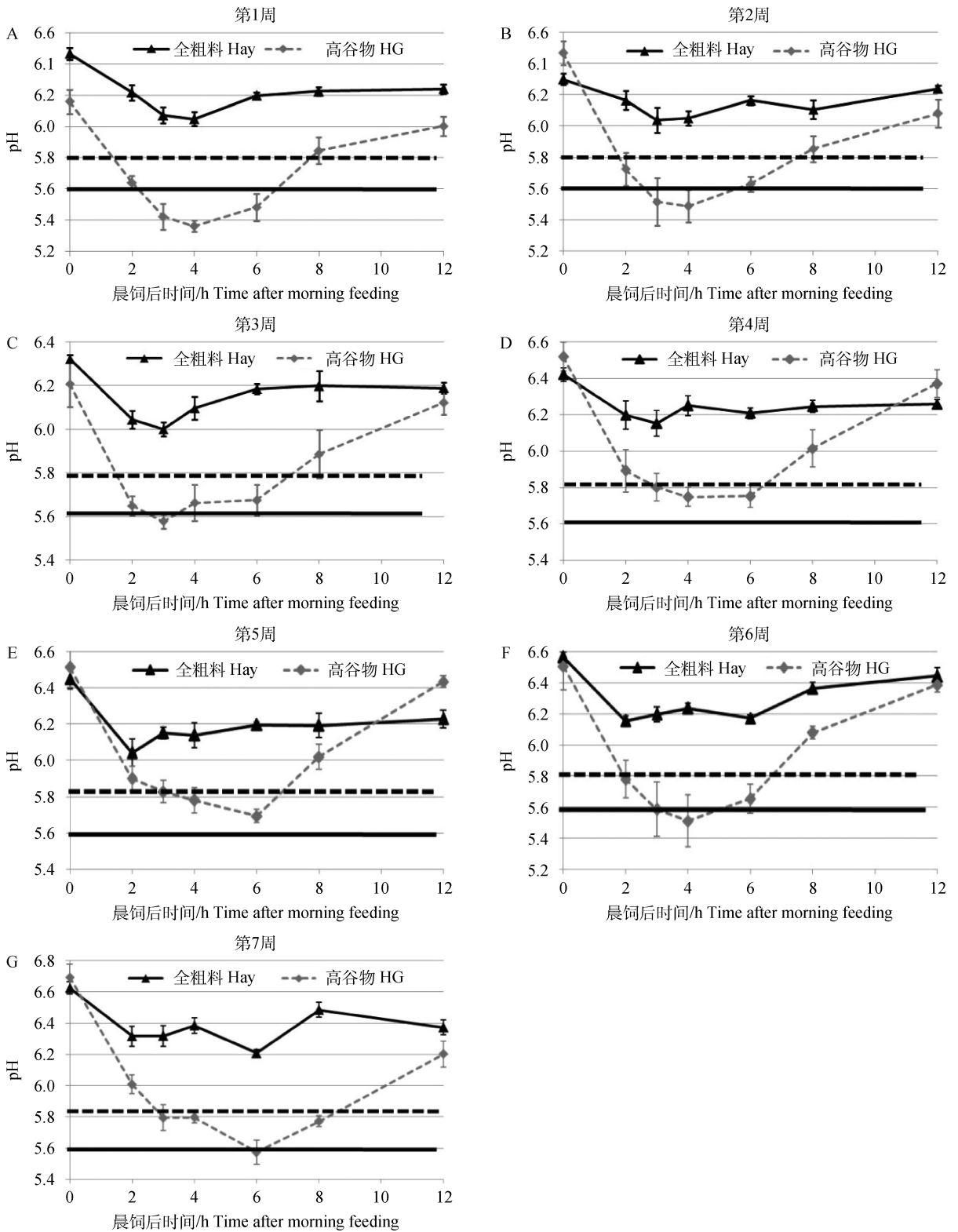
项目 Item	全粗料 Hay	高谷物 HG	SEM	P 值 P-value		
				饲喂周 Week	日粮 Diet	饲喂周×日粮 Week×Diet
pH	6.24	5.90	0.01	<0.001	<0.001	<0.001
总挥发性脂肪酸/(mmol·L ⁻¹) Total VFA	92.15	87.03	1.31	<0.001	<0.001	0.004
乙酸比例/(mol%) Acetate ratio	74.57	60.07	0.26	<0.001	<0.001	<0.001
丙酸比例/(mol%) Propionate ratio	16.32	21.96	0.28	0.001	<0.001	0.010
丁酸比例/(mol%) Butyrate ratio	6.28	13.41	0.18	<0.001	<0.001	0.176
乙丙比 Acetate: Propionate	4.62	2.95	0.05	<0.001	<0.001	<0.001
游离脂多糖/(EU·mL ⁻¹) Free LPS	18 217	61 629	235	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 不同日粮模式下瘤胃生理参数随时间变化的趋势

分析对照组山羊随饲喂时间的变化规律可发现 (图 2), 随饲喂周数延长, 晨饲后 6 h, 全粗料组山羊瘤胃 pH、LPS 及乙丙比并无显著变化 ($P > 0.05$)。分析高谷物组瘤胃参数随时间的变化规律可发现 (图 2), 高谷物饲喂组, 晨饲后 6 h 的瘤胃 pH (图

2A)、LPS (图 2B) 随饲喂周数的变化都有一个先适应后继续之前变化的趋势; 高谷物组山羊瘤胃乙丙比随着饲喂周数的延长逐渐下降 (图 2D)。

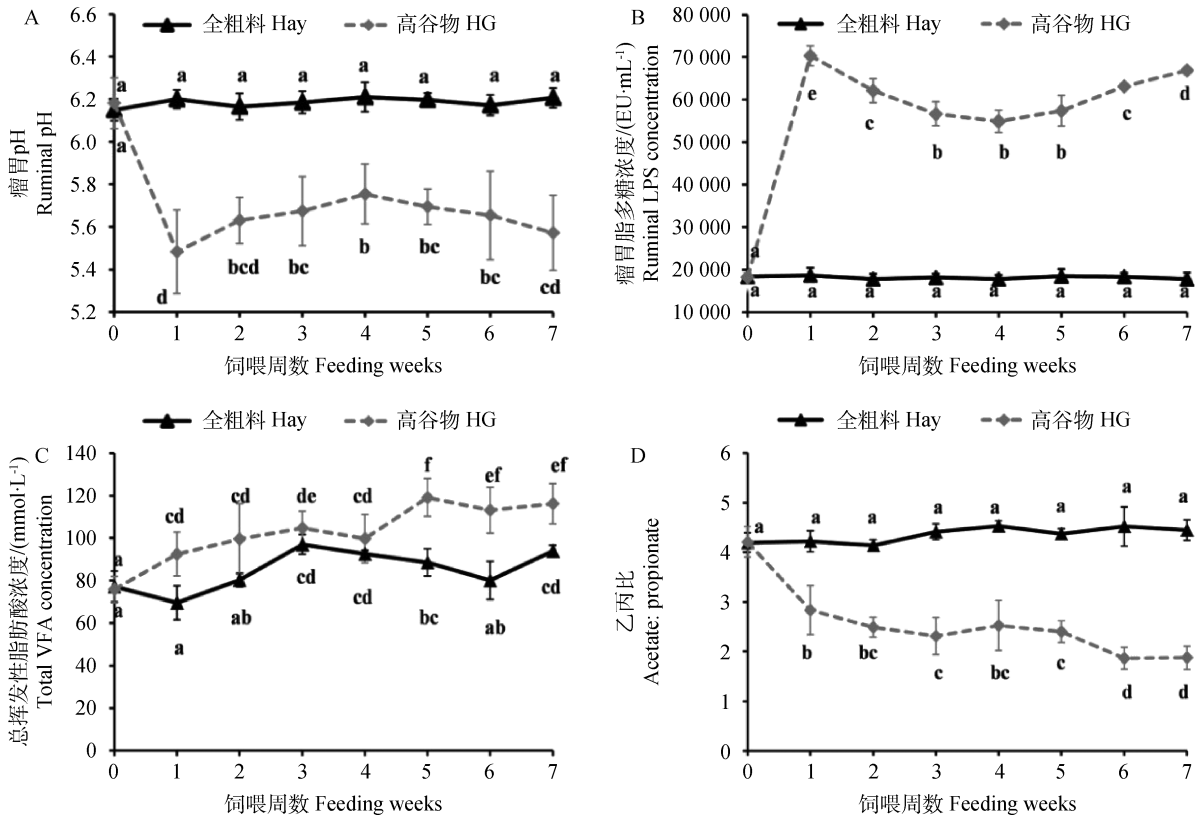
选取晨饲后 6 h 的瘤胃 VFA 进行进一步分析, 结果如图 3 所示, 在全粗料饲喂组, 山羊瘤胃内乙酸、丙酸和丁酸占总 VFA 的摩尔比随饲喂周数的



数值以“平均值±标准误”表示, $n=5$
 Means ± SEM, $n=5$

图1 晨饲后12 h内瘤胃 pH 随时间的变化

Fig. 1 Changes in the ruminal pH within 12 h after morning feeding



数值以“平均值±标准误”表示, $n=5$; 不同字母表示组间差异显著, $P<0.05$ 。下同

Means±SEM, $n=5$; Different letters means significant difference, $P<0.05$. The same as below

图2 瘤胃生理参数随饲喂周数的变化

Fig. 2 The changes in ruminal parameters with the feeding weeks

延长基本无显著变化($P>0.05$), 乙酸、丙酸和丁酸所占比例分别在 74%、17% 和 7% 左右。在高谷物饲喂组, 山羊瘤胃内乙酸所占摩尔比显著低于对照组($P<0.05$), 其在前 5 周随饲喂周数延长基本无变化($P>0.05$), 但到第 6 周有一个显著下降的过程($P<0.05$), 其所占摩尔比只有 54% (图 3A); 在高谷物饲喂组, 山羊瘤胃内丙酸所占摩尔比显著高于对照组($P<0.05$), 其在前 3 周逐渐升高, 第 4 周有一个下降的过程, 从第 5 周开始又逐渐升高(图 3B); 在高谷物饲喂组, 山羊瘤胃内丁酸所占摩尔比显著高于对照组($P<0.05$), 其在前 1 周的含量最高, 第 2 周较第 1 周显著下降, 之后 2、3、4、5 周处于较平稳状态, 无显著变化($P>0.05$)。从第 6 周开始又有一个升高的过程(图 3C)。

2.5 外周血中游离 LPS 含量随时间变化趋势

如图 4 所示, 在所有的全粗料组山羊的外周血液都没有检测到游离 LPS 的存在; 在刚开始饲喂的前两周, 高谷物饲喂组山羊的外周血液中也

检测到游离 LPS 的存在; 高谷物饲喂的第 3 周, 在 2 头山羊的外周血液中检测到游离 LPS 的存在; 第 4 周, 在 4 头山羊的外周血液中检测到游离 LPS 的存在; 第 5、6 和 7 周, 在所有高谷物饲喂山羊的外周血周都检测到游离 LPS 的存在(平均浓度分别为 (0.53 ± 0.13) 、 (0.78 ± 0.19) 和 (0.78 ± 0.20) $\text{EU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

3 讨论

临床上将轻度形式的酸中毒定义为 SARA, 表现为轻度短暂的食欲不振、间歇性腹泻、脱水、体况不佳及瘤胃动力不足, 同时导致蹄叶炎、肝脓肿以及奶产量下降等^[2,7-8]。由于 SARA 通常表现为非常复杂的临床症状, 并且症状不是特别明显, 所以很难通过临床症状来诊断 SARA。目前, 国内外研究者通常将不正常的瘤胃 pH 作为诊断 SARA 的决定性标准^[3,8-9], 并将 5.5、5.6 和 5.8 作为衡量 SARA 的临界 pH。K. Beauchemin 等^[10] 将瘤胃 pH 5.8

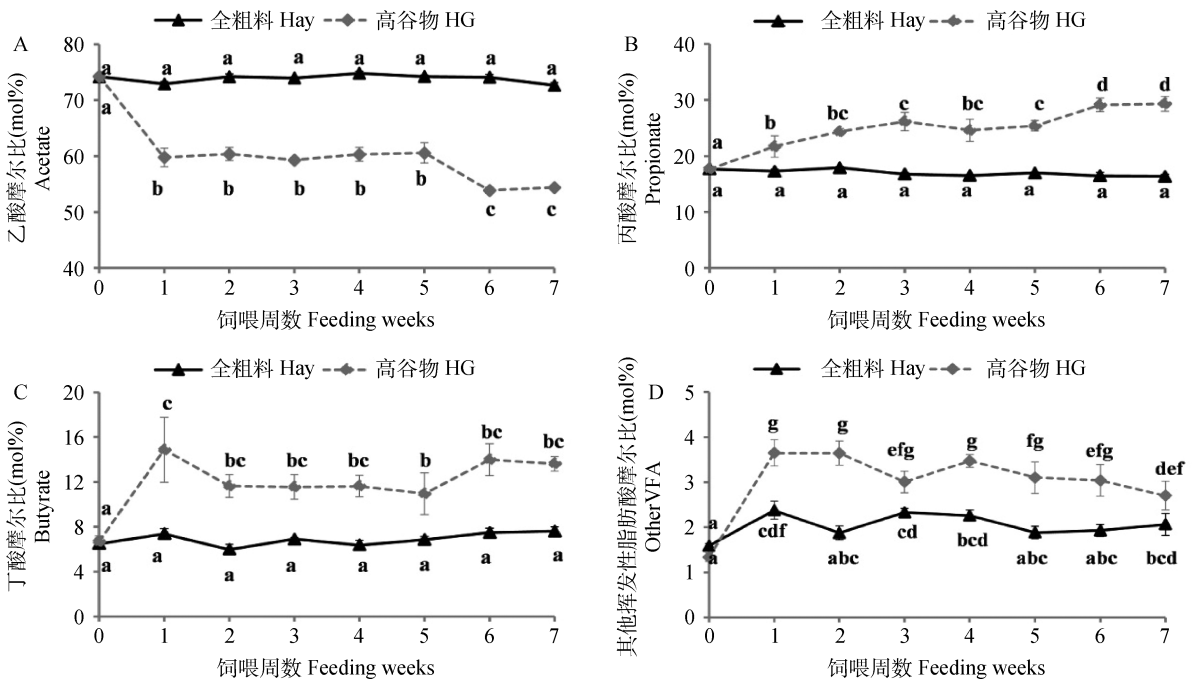


图 3 瘤胃挥发性脂肪酸随饲喂周数的变化
Fig. 3 The changes of VFA with the feeding weeks

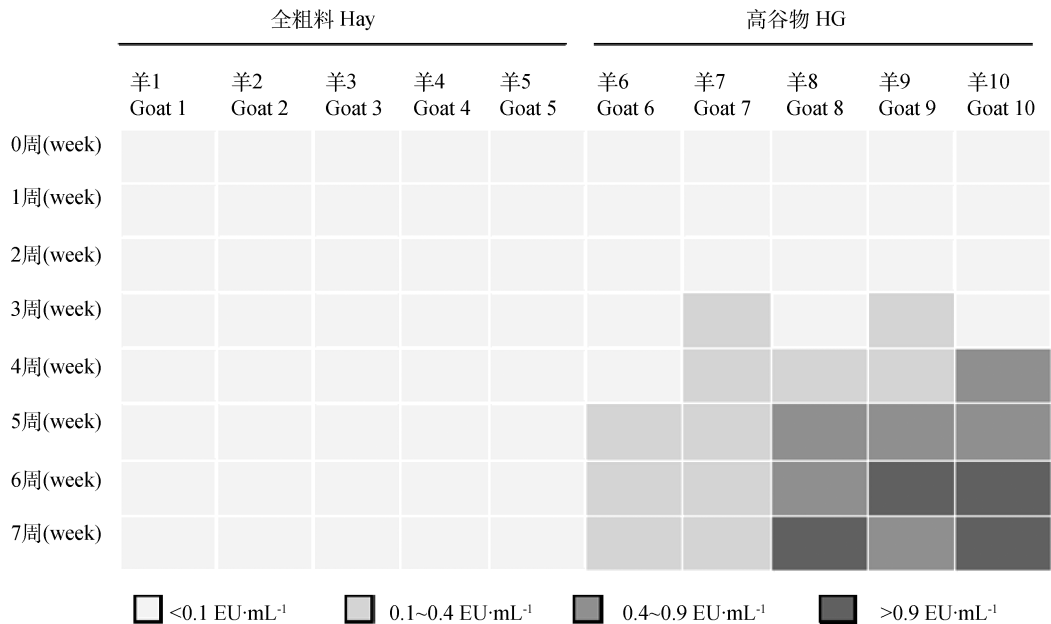


图 4 不同日粮条件下外周血液中游离脂多糖浓度随时间的变化
Fig. 4 The changes in free LPS concentration in peripheral blood during variable diet with feeding time

作为定义 SARA 的临界值。最近, Q. Zebeli 和 B. Metzler-Zebeli 将 SARA 定义为, 一天之内通过瘤胃瘘管采集的瘤胃液的 pH 维持在 5.8 以下的时间在 6 h 以上^[11]。根据这一定义标准, 在本试验中, 高谷物饲喂后的第 1、2、3、6 和 7 周, 山羊发生了

SARA。

本研究发现, 在高谷物饲喂后的第 1 周, 酸中毒程度最严重, 之后 2~5 周有一个适应和恢复的过程, 这与之前大部分研究结果类似^[1,12]。这一过程主要是通过增加瘤胃上皮对 VFA 的吸收和转运来

实现的^[1]。但是,本研究比较有趣的现象是,在适应过后,从第 6 周开始,SARA 再次发生,但是较第 1、2 周程度要轻。当然,这样一个循环过程在其他瘤胃生理指标上也有体现。这一现象可以通过医学上超出“适应负荷”的理论来解释。该理论认为,应激诱发的行为、植物神经及内分泌等方面的改变在早期是机体适应环境的一种表现。在正常情况下,这些适应机制能在短时间内修复机体稳态。但是,当这种应激的严重性和持续时间超过机体的适应能力时,也叫超出“适应负荷”,就会导致疾病的发生^[13-14]。本研究中,在长期高精料饲喂过程中,机体在前期有一个适应过程,但是之后当持续的酸和毒性物质刺激超出机体的“适应负荷”时,引起酸中毒再次发生,这样不断循环的酸中毒会诱发反刍动物腹泻及瘤胃炎等疾病的发生^[15]。而我们的临床观察结果也显示,长期高谷物饲喂导致山羊出现粘稠腹泻样粪便。

高谷物日粮导致的瘤胃发酵模式的改变是诱发 SARA 的主要原因^[16]。有研究表明,高谷物饲喂使瘤胃发酵从乙酸型发酵转化为丙酸和丁酸型发酵^[17-18]。本研究中,高谷物饲喂导致乙酸比例持续下降,并且丙酸占总 VFA 的比例接近 30%,暗示本试验中高谷物饲喂诱导了丙酸型 SARA 的发生。该研究结果也与之前许多饲喂诱导 SARA 的结果类似^[18-20],即高淀粉日粮更易诱发丙酸型 SARA 的发生。而丙酸型 SARA 在高产奶牛中最易发和常见^[18-20]。

大量研究结果表明,高谷物饲喂尤其是试验诱导的 SARA 导致瘤胃内游离 LPS 的浓度显著升高^[21-22]。本研究中,长期饲喂高谷物日粮导致瘤胃内游离 LPS 的浓度显著升高(浓度平均为 61 629 EU·mL⁻¹),其含量是对照组的 3 倍,该研究结果与大部分其他研究类似,即 SARA 导致山羊瘤胃内游离 LPS 浓度显著升高,但是含量低于以高谷物饲喂的奶牛^[6,19,23-24],而高于以较高谷物饲喂的肉牛^[25-27]。这些结果说明,饲粮组成、动物种类及生理状态等都有可能影响瘤胃内游离 LPS 的含量。

瘤胃酸中毒情况下,在外周血液中检测到的 LPS 并不稳定。曾有文献报道,在高精料饲喂的奶牛和山羊外周血中检测到游离 LPS 的存在^[6,23,28]。然而,大部分研究未在试验诱导 SARA 的反刍动物外周血中检测到游离 LPS 的存在^[19,22,24]。有研究通过给肉牛瘤胃添加⁵¹Cr 标记的大肠杆菌内毒素来

研究瘤胃上皮对内毒素的吸收^[29-30],结果表明,在所有肉牛(包括青贮饲喂,92%高精料饲喂以及酸中毒的肉牛)的胸导管和门静脉中都没有检测到标记的内毒素,表明内毒素并没有吸收进入淋巴和血液。近期的一项研究表明,瘤胃内 LPS 的浓度并不与 SARA 及炎症反应的严重程度相关^[31]。以上研究结果提示我们,在正常生理状态下,LPS 并不能通过瘤胃上皮易位进入血液,除非瘤胃上皮结构及屏障功能遭到破坏,并且足以导致 LPS 等毒性物质易位。所以,消化道屏障是否被破坏以及破坏的程度可能是决定 LPS 等毒性物质是否能够易位进入血液的关键因素。本研究中,在刚开始饲喂高谷物日粮的前 3 周,并未在高谷物饲喂山羊的外周血液中检测到游离 LPS 的存在,原因可能是消化道屏障还未被破坏或是破坏的程度不足以导致瘤胃 LPS 易位进入血液,但是,在饲喂第 5、6 和 7 周的所有山羊外周血液中都检测到游离 LPS 的存在,这可能与长期高谷物饲喂导致瘤胃或是其他消化道屏障发生损伤有关^[32-33]。

4 结 论

以上结果表明,该试验中的高谷物饲喂成功诱导了 SARA 的发生,同时在长期饲喂的过程中,SARA 的发病有一个发生、适应、继续发生的过程。研究结果对深入认识 SARA 的发生过程及危害具有重要意义。

参考文献(References):

- [1] PENNER G B, STEELE M A, ASCHENBACH J R, et al. Ruminant nutrition symposium: molecular adaptation of ruminal epithelia to highly fermentable diets[J]. *J Anim Sci*, 2011, 89 (4): 1108-1119.
 - [2] PLAIZIER J C, KRAUSE D O, GOZHO G N, et al. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences[J]. *Vet J*, 2008, 176 (1): 21-31.
 - [3] 郭勇庆, 邹 杨, 徐晓锋, 等. 细粉碎小麦诱导亚急性瘤胃酸中毒对奶牛乳脂合成和肝脂肪合成关键酶基因表达量的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2014, 45(7): 1120-1128.
- GUO Y Q, ZOU Y, XU X F, et al. Effect of finely ground wheat induced subacute ruminal acidosis on milk fat synthesis and expression of key lipogenic enzyme genes in liver tissue in dairy cows[J]. *Acta Vet-*

- erinaria et Zootechnica Sinica*, 2014, 45 (7): 1120-1128. (in Chinese)
- [4] PENNER G B, OBA M, GÄBEL G, et al. A single mild episode of subacute ruminal acidosis does not affect ruminal barrier function in the short term[J]. *J Dairy Sci*, 2010, 93 (10): 4838-4845.
- [5] 秦为琳. 应用气相色谱测定瘤胃挥发性脂肪酸方法的研究改进[J]. 南京农学院学报, 1982(4): 110-116.
QIN W L. Determination of rumen volatile fatty acids by means of gas chromatography[J]. *Journal of Nanjing Agricultural College*, 1982(4): 110-116. (in Chinese)
- [6] KHAFIPOUR E, KRAUSE D O, PLAIZIER J C. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation[J]. *J Dairy Sci*, 2009, 92 (3): 1060-1070.
- [7] DIRKSEN G U, LIEBICH H G, MAYER E. Adaptive changes of the ruminal mucosa and functional and clinical significance[J]. *Bovine Practitioner*, 1985, 20: 116-120.
- [8] KRAUSE K M, OETZEL G R. Inducing subacute ruminal acidosis in lactating dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88 (10): 3633-3639.
- [9] ASCHENBACH J R, PENNER G B, STUMPF F, et al. Ruminant nutrition symposium: Role of fermentation acid absorption in the regulation of ruminal pH[J]. *J Anim Sci*, 2011, 89 (4): 1092-1107.
- [10] BEAUCHEMIN K A, YANG W Z, RODE L M. Effects of particle size of alfalfa-based dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production[J]. *J Dairy Sci*, 2003, 86 (2): 630-643.
- [11] ZEBELI Q, METZLER-ZEBELI B U. Interplay between rumen digestive disorders and diet-induced inflammation in dairy cattle[J]. *Res Vet Sci*, 2012, 93 (3): 1099-1108.
- [12] STEELE M A, CROOM J, KAHLER M, et al. Bovine rumen epithelium undergoes rapid structural adaptations during grain-induced subacute ruminal acidosis[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2011, 300 (6): R1515-1523.
- [13] GAREAU M G, SILVA M A, PERDUE M H. Pathophysiological mechanisms of stress-induced intestinal damage[J]. *Curr Mol Med*, 2008, 8 (4): 274-281.
- [14] MCEWEN B S. Protective and damaging effects of stress mediators; Central role of the brain[J]. *Dia-*
logues Clin Neurosci, 2006, 8 (4): 367-381.
- [15] DOHME F, DEVRIES T J, BEAUCHEMIN K A. Repeated ruminal acidosis challenges in lactating dairy cows at high and low risk for developing acidosis: ruminal pH[J]. *J Dairy Sci*, 2008, 91 (9): 3554-3567.
- [16] BERGMAN E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species[J]. *Physio Rev*, 1990, 70 (2): 567-590.
- [17] LETTAT A, NOZÈRE P, SILBERBERG M, et al. Experimental feed induction of ruminal lactic, propionic, or butyric acidosis in sheep[J]. *J Anim Sci*, 2010, 88 (9): 3041-3046.
- [18] MARTIN C, BROSSARD L, DOREAU M. Mechanisms of appearance of ruminal acidosis and consequences on physiopathology and performances[J]. *Prod Anim*, 2006, 19(2): 93-107.
- [19] GOZHO G N, KRAUSE D O, PLAIZIER J C. Ruminal lipopolysaccharide concentration and inflammatory response during grain-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90 (2): 856-866.
- [20] HRISTOV A N, IVAN M, RODE L M, et al. Fermentation characteristics and ruminal ciliate protozoal populations in cattle fed medium- or high-concentrate barley-based diets[J]. *J Anim Sci*, 2001, 79 (2): 515-524.
- [21] DONG G, LIU S, WU Y, et al. Diet-induced bacterial immunogens in the gastrointestinal tract of dairy cows; Impacts on immunity and metabolism[J]. *Acta Vet Scand*, 2011, 53:48.
- [22] PLAIZIER J C, KHAFIPOUR E, LI S, et al. Subacute ruminal acidosis (SARA), endotoxins and health consequences[J]. *Anim Feed Sci Tech*, 2012, 172 (1-2): 9-21.
- [23] LI S, KHAFIPOUR E, KRAUSE D O, et al. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and endotoxins in the rumen and hindgut of dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2012, 95 (1): 294-303.
- [24] EMMANUEL D G, DUNN S M, AMETAJ B N. Feeding high proportions of barley grain stimulates an inflammatory response in dairy cows[J]. *J Dairy Sci*, 2008, 91 (2): 606-614.
- [25] GOZHO G N, KRAUSE D O, PLAIZIER J C. Ruminal lipopolysaccharide and inflammation during grain adaptation and subacute ruminal acidosis in steers[J]. *J Dairy Sci*, 2006, 89 (11): 4404-4413.

- [26] GOZHO G N, PLAIZIER J C, KRAUSE D O, et al. Subacute ruminal acidosis induces ruminal lipopolysaccharide endotoxin release and triggers an inflammatory response[J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88 (4): 1399-1403.
- [27] GOZHO G N, PLAIZIER J C, KRAUSE D O. Effects of graded levels of wheat-barley concentrate on subacute ruminal acidosis (sara), lipopolysaccharide endotoxins (lps) and acute phase proteins in steers[J]. *J Dairy Sci*, 2005, 88: 251.
- [28] KLEVENHUSEN F, HOLLMANN M, PODSTATZKY-LICHTENSTEIN L, et al. Feeding barley grain-rich diets altered electrophysiological properties and permeability of the ruminal wall in a goat model[J]. *J Dairy Sci*, 2013, 96(4): 2293-2302.
- [29] LASSMAN B A. Release of endotoxin from rumen bacteria and endotoxin absorption from the rumen [M]. Kansas: Kansas State University, 1980.
- [30] ANDERSON S D. Endotoxic and anaphylactic-type shock in steers from intravenous injection of escherichia coli endotoxin and ruminal absorption of endotoxin[M]. Kansas: Kansas State University, 1984.
- [31] KHAFIPOUR E, LI S C, PLAIZIER J C, et al. Rumen microbiome composition determined using two nutritional models of subacute ruminal acidosis[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2009, 75 (22): 7115-7124.
- [32] EMMANUEL D G, MADSEN K L, CHURCHILL T A, et al. Acidosis and lipopolysaccharide from *Escherichia coli* b : 055 cause hyperpermeability of rumen and colon tissues[J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90 (12): 5552-5557.
- [33] LIU J H, XU T T, LIU Y J, et al. A high-grain diet causes massive disruption of ruminal epithelial tight junctions in goats[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2013, 305 (3): R232-241.

(编辑 郭云雁)