

# 丁酸钠与丝兰对大肠杆菌 K99 攻毒哺乳犊牛生长性能及血清抗氧化指标的影响

刘文慧<sup>1</sup> 阿拉腾珠拉<sup>1</sup> 马露<sup>1,2</sup> 任丽娟<sup>1</sup> 高胜涛<sup>1</sup> 卜登攀<sup>1,2\*</sup>

(1.中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,动物营养学国家重点实验室,北京 100193;2.中国农业科学院与世界农用林业中心农用林业与可持续畜牧业联合实验室,北京 100193)

**摘要:** 本试验旨在研究丁酸钠与丝兰对大肠杆菌 K99 攻毒哺乳犊牛生长性能及血清抗氧化指标的影响。试验选用 40 头健康、体重[(40±5) kg]相近的 1 日龄荷斯坦公犊牛,随机分为 4 组,每组 10 头。对照组(C 组)饲喂基础饲料,丁酸钠组(SB 组)饲喂基础饲料+30 g/d 丁酸钠;丝兰组(Y 组)饲喂基础饲料+9 g/d 丝兰,丁酸钠+丝兰组(SB+Y 组)饲喂基础饲料+30 g/d 丁酸钠+9 g/d 丝兰。在犊牛 7 日龄时进行大肠杆菌 K99 攻毒,试验进行至 14 日龄结束。结果表明:1)1~7 日龄时,与 SB 组相比,SB+Y 组犊牛平均日采食量显著降低( $P<0.05$ )。2)11 日龄时,SB 组犊牛血清中过氧化氢酶(CAT)活性显著高于 C 组( $P<0.05$ );14 日龄时,SB 组和 Y 组犊牛血清中 CAT 活性显著高于 C 组和 SB+Y 组( $P<0.05$ )。11 日龄时,与 C 组相比,Y 组犊牛血清中谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性有升高的趋势( $P=0.088$ ),SB+Y 组犊牛血清中 GSH-Px 活性显著提高( $P<0.05$ )。7 日龄时,与 C 组相比,Y 组犊牛血清中丙二醛(MDA)含量有降低的趋势( $P=0.050$ );14 日龄时,与 C 组相比,SB+Y 组犊牛血清中 MDA 含量有降低的趋势( $P=0.089$ )。综上所述,哺乳犊牛处于大肠杆菌 K99 攻毒的应激模式下,丁酸钠与丝兰单独添加均可提高犊牛的抗氧化能力,但对犊牛的生长性能没有影响。丁酸钠与丝兰组合添加可提高犊牛的抗氧化能力,但降低了犊牛的平均日采食量。

**关键词:** 哺乳犊牛;丁酸钠;丝兰;生长性能;抗氧化

中图分类号:S823

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)09-4177-08

犊牛在刚出生时,肠道发育尚未完全,此阶段犊牛极易受到外界病原体的侵害,造成腹泻的发生,严重时导致死亡,给养殖业造成了巨大的损失<sup>[1]</sup>。大肠杆菌 K99 是造成新生犊牛腹泻的主要细菌之一<sup>[2-4]</sup>。在实际生产中,对于细菌导致的犊牛腹泻,养殖户通常使用抗生素来治疗,但因抗生素药品残留问题,对牧场用药治疗造成了巨大的局限性。因此,研究如何利用绿色有机的方法预防及治疗哺乳犊牛腹泻成为广大学者研究的焦点。

丁酸钠(sodium butyrate)以无耐药性、无残留和无污染等特点被作为一种饲料添加剂,在动物饲料行业以及促进动物健康方面受到越来越多的关注<sup>[5-6]</sup>。丁酸钠作为一种生物调节剂,其有效成分丁酸是一种短链挥发性脂肪酸,由厌氧细菌发酵未消化吸收的碳水化合物和纤维多糖产生<sup>[7]</sup>。已有研究表明,丁酸钠可促进犊牛生长,提高消化酶活性,促进小肠对营养物质的消化吸收<sup>[8-9]</sup>,可为肠上皮细胞提供能量<sup>[10]</sup>,调节炎症反

收稿日期:2020-03-21

基金项目:国家自然科学基金青年项目(31802092);国家重点研究发展计划(2017YFD0500502);中国农业科学院科技创新工程(ASTIP-IAS07);奶牛产业技术体系北京市创新团队(BAIC06-2020);中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(Y2020GH17)

作者简介:刘文慧(1994—),女,河南民权人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 949522086@qq.com

\*通信作者:卜登攀,研究员,博士生导师,E-mail: budengpan@126.com

应,提高机体抗氧化及免疫性能<sup>[11]</sup>,维持肠道屏障完整性<sup>[12]</sup>。Gálfi 等<sup>[13]</sup>研究表明,仔猪饲料中添加 0.17% 的丁酸钠可增加仔猪采食量、提高日增重以及降低仔猪回肠大肠杆菌数量。Hill 等<sup>[14]</sup>研究表明,犊牛饲料中添加 3% 的丁酸钠可显著提高犊牛的体重,并降低腹泻率。Xiong 等<sup>[15]</sup>研究表明,仔猪饲料中添加 0.2% 的丁酸钠可缓解大肠杆菌 O157:H7 引起的肠道炎症反应。

丝兰(*Yucca*)作为一种纯天然多功能植物添加剂,已在动物生产中得到广泛应用,为生产者带来了良好的经济效益,其主要活性成分有甾类皂苷、多酚及多糖<sup>[16]</sup>。丝兰的成分丝兰皂苷具有广谱抗菌的作用,对大肠杆菌、痢疾杆菌及伤寒杆菌等具有较强的抑制作用<sup>[17]</sup>。研究表明,多酚具有抗炎、抗氧化和提高机体免疫力等生理功能,并能够促进动物生长发育<sup>[18]</sup>。田丽新等<sup>[19]</sup>研究发现,饲料中添加丝兰提取物可显著提高奶牛免疫性能及抗氧化能力。De Sousa 等<sup>[20]</sup>研究表明,断奶犊牛饲料中添加 2 g/d 的丝兰提取物可提高犊牛的生长性能。Abdel-Raheem 等<sup>[21]</sup>在断奶犊牛饲料中添加 2 g/kg 的丝兰提取物,可改善犊牛的瘤胃发酵功能,提高生长性能。目前,丁酸钠在犊牛上的研究多集中在生长性能方面,对于犊牛的抗菌效果及抗氧化能力的影响研究较少,且丝兰对哺乳犊牛抗氧化功能的影响以及丁酸钠与丝兰的组合对犊牛的应用效果尚未见报道。因此,本研究利用大肠杆菌 K99 对哺乳犊牛进行攻毒,探究饲料中添加丁酸钠、丝兰及二者组合对哺乳犊牛生长性能及血清抗氧化指标的影响。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

丁酸钠,白色结晶粉末,纯度为 98.5%,易溶于水。丝兰,取自生长于美国西南部及墨西哥北部半沙漠地区的丝兰类植物鳞凤兰,纯植物粉末状,食品级。

### 1.2 试验动物管理

犊牛出生后 2 h 灌服初乳 4 L,出生后 6 h 灌服初乳 2 L。从 2 日龄开始饲喂常乳,每天饲喂 2 次(07:00 和 15:00)。饲喂量:2~7 日龄,2.5 L/次;8~14 日龄,4.5 L/次。犊牛开食料从 3 日龄时开始饲喂,自由采食。每头犊牛单独饲养于 1.5 m×3.0 m 犊牛笼内。初乳、常乳的密度及营

养水平见表 1,开食料的营养水平见表 2。

表 1 初乳、常乳的密度及营养水平  
Table 1 Density and nutrient levels of colostrum and milk

| 项目 Items           | 初乳 Colostrum | 常乳 Milk  |
|--------------------|--------------|----------|
| 密度 Density/(g/L)   | 1 048.59     | 1 031.44 |
| 乳蛋白 Milk protein/% | 14.44        | 3.51     |
| 乳脂肪 Milk fat/%     | 4.91         | 3.57     |
| 总固形物 Total solid/% | 19.11        | 12.91    |
| 干物质 DM/%           | 22.21        | 12.63    |
| 乳糖 Lactose/%       | 3.30         | 4.70     |
| 总能 GE/(MJ/kg)      | 5.88         | 2.99     |

$$\text{总能} = 0.057 \times \text{乳蛋白} + 0.092 \times \text{乳脂肪} + 0.039 \times 5 \times \text{乳糖} \\ \text{GE} = 0.057 \times \text{milk protein} + 0.092 \times \text{milk fat} + 0.039 \times 5 \times \text{lactose}$$

表 2 开食料的营养水平(干物质基础)

Table 2 Nutrient levels of starter (DM basis) %

| 项目 Items      | 开食料 Starter |
|---------------|-------------|
| 干物质 DM        | 97.34       |
| 粗蛋白质 CP       | 25.60       |
| 粗脂肪 EE        | 3.23        |
| 粗灰分 Ash       | 6.75        |
| 中性洗涤纤维 NDF    | 16.27       |
| 酸性洗涤纤维 ADF    | 7.41        |
| 碳水化合物 CHO     | 64.42       |
| 钙 Ca          | 0.97        |
| 磷 P           | 0.68        |
| 总能 GE/(MJ/kg) | 18.56       |

总能和碳水化合物参照 NRC(2001)<sup>[22]</sup>方法计算,碳水化合物=100-粗蛋白质-粗脂肪-粗灰分,总能=0.057×粗蛋白质+0.094×粗脂肪+0.041 5×碳水化合物,其他营养水平均为实测值。

GE and CHO were calculated according to NRC (2001)<sup>[22]</sup> method, CHO=100-CP-EE-Ash, GE=0.057×CP+0.094×EE+0.041 5×CHO, while the other nutrient levels were measured values.

### 1.3 试验设计

试验采用完全随机试验设计,共选取 40 头出生健康、体重[(40±5) kg]相近的 1 日龄中国荷斯坦公犊牛,随机分为 4 组,每组 10 头。对照组(C 组)饲喂基础饲料,无添加剂;丁酸钠组(SB 组)饲喂基础饲料+30 g/d 丁酸钠;丝兰组(Y 组)饲喂基础饲料+9 g/d 丝兰;丁酸钠+丝兰组(SB+Y 组)饲喂基础饲料+30 g/d 丁酸钠+9 g/d 丝兰。于犊牛 2 日龄时将丁酸钠和丝兰混合在牛奶中进行饲喂。

试验进行至 14 日龄时结束。在犊牛 7 日龄晨饲前,给每头犊牛经口灌服大肠杆菌 K99(菌株号:CVCC 237;血清型:O101:K99),大肠杆菌 K99 由中国兽医药品监察所提供。参照 Pal 等<sup>[23]</sup>和 Bes-ser 等<sup>[24]</sup>的研究,本试验攻毒大肠杆菌的剂量是取 1 g 含量为  $1 \times 10^{11}$  CFU/g 的大肠杆菌 K99 冻干粉溶解于 10 mL 生理盐水中,每头犊牛灌服 10 mL。

#### 1.4 样品采集与指标测定

##### 1.4.1 初乳、常乳及开食料

给犊牛第 1 次饲喂初乳时采集初乳样品,每周采集常乳和开食料样品,于  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存。采用乳成分分析仪(FOSS FT120)测定初乳及常乳的干物质(DM)、乳蛋白、乳脂肪、乳糖、总固形物含量;并参照 AOAC(2000)<sup>[25]</sup>的方法测定开食料干物质、粗蛋白质(CP)、粗脂肪(EE)和粗灰分(Ash)含量;参照 Van Soest 等<sup>[26]</sup>的方法测定开食料中性洗涤纤维(NDF)和酸性洗涤纤维(ADF)含量,钙(Ca)和磷(P)含量采用电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES 9000, Shimadzu 公司,日本)测定。其中,CP 含量采用 K1100 全自动凯氏定氮仪测定,NDF 和 ADF 含量采用 Y078 自动纤维测定仪(A2000i)测定,EE 含量采用 Soxtec<sup>TM</sup> 2050 全自动脂肪分析仪测定。

##### 1.4.2 生长性能

于 7、11 及 14 日龄晨饲前使用精确度 0.5 kg、

量程 200 kg 的电子秤对每头犊牛进行称重。每天记录每头犊牛当日的开食料投喂量和次日同一时间投喂时剩料量,以此计算犊牛的平均日采食量及料重比,计算方法如下:

$$\begin{aligned} \text{平均日采食量 (g/d)} &= \frac{\text{初乳、常乳和开食料}}{\text{总采食量/试验天数}} \\ \text{料重比} &= \frac{\text{平均日采食量/}}{\text{平均日增重}} \times 100. \end{aligned}$$

##### 1.4.3 血清抗氧化指标

于 7、11 和 14 日龄午饲后 2 h,通过颈静脉法采集血液 20 mL,静置至分层(约 30 min),于  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $1\ 240 \times g$  离心 15 min,取上清液(血清)分装至 5 个 2 mL 离心管中, $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存待测。血清中超氧化物歧化酶(SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定,谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性采用比色法测定,丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥(TBA)法测定,过氧化氢酶(CAT)活性采用钼酸铵法测定,所采用的测定仪器为 Y040 多功能酶标仪(Tecan Infinite 200 Pro, Tecan 国际有限公司)。试剂盒均购自于南京建成生物工程研究所,并严格按照试剂盒说明书上的操作步骤进行操作。

##### 1.4.4 粪便评分

于每日 07:00 观察试验犊牛粪便进行评分,并记录。粪便评分标准按表 3 执行<sup>[14]</sup>,采用 4 分制粪便评分法,以评分  $\geq 3$  记为 1 次腹泻。

表 3 粪便评分标准

Table 3 Fecal consistency score standard

| 外形 Shape    | 流动性 Fluidity          | 评分 Score |
|-------------|-----------------------|----------|
| 正常 Normal   | 不坚硬但稳固,在地面一段时间后外形稍有变化 | 1        |
| 松软 Soft     | 外形难以保持,虽稍有松软但成堆       | 2        |
| 软膏 Ointment | 成薄饼状,极易扩散             | 3        |
| 水状 Watery   | 固液分离,如橙汁般液状           | 4        |

#### 1.5 数据统计分析

试验数据采用 SAS 9.4 软件 MIXED 模型进行统计分析,统计模型中包括试验犊牛的随机因素以及试验处理及交互作用的固定因素。采用最小二乘均值法(least squares means, LSMEANS)进行显著性比较, $P < 0.05$  为差异显著, $0.05 \leq P < 0.10$  为有差异的趋势。

## 2 结果

### 2.1 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛生长性能及粪便评分的影响

由表 4 可知,饲粮添加丁酸钠与丝兰对大肠杆菌 K99 攻毒前(1~7 日龄)、攻毒后(8~14 日龄)犊牛日增重、料重比及粪便评分无显著影响( $P > 0.05$ )。1~7 日龄时,SB+Y 组犊牛平均日采食量显著降低( $P < 0.05$ ),且 SB+Y 组犊牛粪便评分有增加的趋势( $P = 0.055$ )。

表 4 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛生长性能及粪便评分的影响

Table 4 Effects of sodium butyrate and *Yucca* on growth performance and fecal score of sucking calves

| 项目<br>Items                 | 组别 Groups          |                    |                    |                    | 均值<br>标准误<br>SEM | P 值 P-value               |                    |  |
|-----------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------------------------|--------------------|--|
|                             | C                  | SB                 | Y                  | SB+Y               |                  | 丁酸钠<br>Sodium<br>butyrate | 丝兰<br><i>Yucca</i> | 丁酸钠+丝兰<br>Sodium butyrate+<br><i>Yucca</i> |
| 平均日增重 ADG/(kg/d)            |                    |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 1~7 日龄 1 to 7 days of age   | 0.67               | 0.58               | 0.95               | 0.65               | 0.081            | 0.337                     | 0.304              | 0.566                                      |
| 8~14 日龄 8 to 14 days of age | 0.67               | 0.73               | 0.73               | 0.69               | 0.031            | 0.867                     | 0.806              | 0.314                                      |
| 平均日采食量 ADFI/(g/d)           |                    |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 1~7 日龄 1 to 7 days of age   | 777.5 <sup>a</sup> | 778.5 <sup>a</sup> | 779.2 <sup>a</sup> | 752.1 <sup>b</sup> | 6.584            | 0.241                     | 0.215              | 0.034                                      |
| 8~14 日龄 8 to 14 days of age | 1 206.6            | 1 188.6            | 1 191.0            | 1 176.5            | 12.393           | 0.380                     | 0.305              | 0.911                                      |
| 料重比 F/G                     |                    |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 1~7 日龄 1 to 7 days of age   | 1.17               | 1.37               | 0.84               | 1.21               | 0.111            | 0.648                     | 0.605              | 0.399                                      |
| 8~14 日龄 8 to 14 days of age | 1.88               | 1.65               | 1.69               | 1.82               | 0.108            | 0.978                     | 0.729              | 0.197                                      |
| 粪便评分 Fecal score            |                    |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 1~7 日龄 1 to 7 days of age   | 2.12               | 2.05               | 2.10               | 2.27               | 0.047            | 0.408                     | 0.101              | 0.055                                      |
| 8~14 日龄 8 to 14 days of age | 2.43               | 2.34               | 2.40               | 2.50               | 0.033            | 0.956                     | 0.618              | 0.472                                      |

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著 ( $P>0.05$ )。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P<0.05$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P>0.05$ ). The same as below.

## 2.2 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛血清抗氧化指标的影响

由表 5 可知, 7 日龄时, 与 C 组相比, Y 组犊牛血清中 CAT 活性有升高的趋势 ( $P=0.062$ ); 11 日龄时, SB 组犊牛血清中 CAT 活性显著高于 C 组 ( $P<0.05$ ); 14 日龄时, SB 组和 Y 组犊牛血清中 CAT 活性显著高于 C 组和 SB+Y 组 ( $P<0.05$ )。

11 日龄时, 与 C 组相比, Y 组犊牛血清中 GSH-Px 活性有升高的趋势 ( $P=0.088$ ), SB+Y 组犊牛血清中 GSH-Px 活性显著提高 ( $P<0.05$ )。7 日龄时, 与 C 组相比, Y 组犊牛血清中 MDA 含量有降低的趋势 ( $P=0.050$ ); 14 日龄时, 与 C 组相比, SB+Y 组犊牛血清中 MDA 含量有降低的趋势 ( $P=0.089$ )。

表 5 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛血清抗氧化指标的影响

Table 5 Effects of sodium butyrate and *Yucca* on serum antioxidant indices of sucking calves

| 项目<br>Items             | 组别 Groups           |                    |                    |                    | 均值<br>标准误<br>SEM | P 值 P-value               |                    |  |
|-------------------------|---------------------|--------------------|--------------------|--------------------|------------------|---------------------------|--------------------|--|
|                         | C                   | SB                 | Y                  | SB+Y               |                  | 丁酸钠<br>Sodium<br>butyrate | 丝兰<br><i>Yucca</i> | 丁酸钠+丝兰<br>Sodium butyrate+<br><i>Yucca</i> |
| 过氧化氢酶 CAT/(U/mL)        |                     |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 7 日龄 7 days of age      | 5.08                | 8.42               | 9.91               | 8.87               | 1.042            | 0.498                     | 0.062              | 0.127                                      |
| 11 日龄 11 days of age    | 3.93 <sup>b</sup>   | 8.54 <sup>a</sup>  | 4.26 <sup>b</sup>  | 4.21 <sup>b</sup>  | 1.341            | 0.001                     | 0.002              | 0.001                                      |
| 14 日龄 14 days of age    | 4.88 <sup>b</sup>   | 6.97 <sup>a</sup>  | 7.78 <sup>a</sup>  | 4.80 <sup>b</sup>  | 0.848            | 0.542                     | 0.624              | 0.001                                      |
| 谷胱甘肽过氧化物酶 GSH-Px/(U/mL) |                     |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 7 日龄 7 days of age      | 136.04              | 119.64             | 100.87             | 113.73             | 7.298            | 0.355                     | 0.874              | 0.272                                      |
| 11 日龄 11 days of age    | 67.14 <sup>ab</sup> | 53.33 <sup>b</sup> | 63.65 <sup>b</sup> | 86.53 <sup>a</sup> | 6.937            | 0.631                     | 0.088              | 0.037                                      |
| 14 日龄 14 days of age    | 124.72              | 138.31             | 124.51             | 122.73             | 3.601            | 0.627                     | 0.517              | 0.528                                      |
| 超氧化物歧化酶 SOD/(U/mL)      |                     |                    |                    |                    |                  |                           |                    |  |
| 7 日龄 7 days of age      | 12.25               | 11.92              | 10.81              | 11.78              | 0.314            | 0.615                     | 0.224              | 0.313                                      |
| 11 日龄 11 days of age    | 12.24               | 12.07              | 12.16              | 12.11              | 0.039            | 0.770                     | 0.959              | 0.877                                      |

续表 5

| 项目<br>Items          | 组别 Groups |       |       |       | 均值<br>标准误<br>SEM | P 值 P-value               |             |                                     |
|----------------------|-----------|-------|-------|-------|------------------|---------------------------|-------------|-------------------------------------|
|                      | C         | SB    | Y     | SB+Y  |                  | 丁酸钠<br>Sodium<br>butyrate | 丝兰<br>Yucca | 丁酸钠+丝兰<br>Sodium butyrate+<br>Yucca |
| 14 日龄 14 days of age | 11.34     | 12.24 | 12.76 | 12.30 | 0.301            | 0.877                     | 0.129       | 0.160                               |
| 丙二醛 MDA/(nmol/mL)    |           |       |       |       |                  |                           |             |                                     |
| 7 日龄 7 days of age   | 5.41      | 4.58  | 4.15  | 4.45  | 0.543            | 0.448                     | 0.050       | 0.108                               |
| 11 日龄 11 days of age | 4.50      | 4.60  | 4.61  | 4.29  | 0.150            | 0.836                     | 0.828       | 0.678                               |
| 14 日龄 14 days of age | 3.82      | 3.65  | 3.52  | 4.24  | 0.471            | 0.204                     | 0.369       | 0.089                               |

### 3 讨论

#### 3.1 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛生长性能及健康状况的影响

犊牛幼龄时期的生长状况与其后期的生产水平直接相关,可通过营养性添加剂改善犊牛的生长状况,提高其成年时期的生产性能<sup>[27]</sup>。已有研究表明,丁酸钠对犊牛的生长性能具有积极的影响<sup>[28-30]</sup>,而本研究结果表明,丁酸钠对攻毒前、攻毒后犊牛的平均日增重、平均日采食量及料重比没有显著影响,这与 Gorka 等<sup>[31]</sup>和 Koch 等<sup>[32]</sup>的研究结果一致;丝兰对攻毒前、攻毒后犊牛的生长性能也没有显著影响。这可能由于试验期较短,犊牛哺乳时期主要的营养来源是牛奶,此阶段给犊牛提供的牛奶是定量的,且开食料采食量较低,因此,短时间内饲喂丁酸钠与丝兰并不能影响犊牛的采食量及犊牛的生长。然而丁酸钠与丝兰的组合显著影响了攻毒前犊牛的平均日采食量,这可能是由于丁酸钠与丝兰的组合使犊牛腹泻增加,导致犊牛食欲不振,进而降低犊牛采食量。

腹泻是犊牛时期最常见的健康问题之一,不仅影响其生长性能,严重时将造成死亡。肠道分泌增加或液体和电解质的损失可被视为腹泻产生的最终途径,并且许多因素在腹泻的发展中以微妙的方式相互作用<sup>[33]</sup>。本试验中粪便评分结果显示,攻毒大肠杆菌 K99 后犊牛腹泻率从 30% 增加到 70%,且其他组的腹泻率也有增加的现象,这表明利用大肠杆菌 K99 攻毒使哺乳犊牛腹泻是有效的,这与前人的研究结果<sup>[34]</sup>相似。本试验结果表明,丁酸钠与丝兰的单独添加并没有显著降低犊牛粪便评分,但有缓解的作用。这可能是由于丁酸根阴离子能抑制肠道巨噬细胞组蛋白去乙酰化

酶活性,上调巨噬细胞内源性抗菌肽的活性表达,增强巨噬细胞对大肠杆菌的杀菌能力<sup>[35]</sup>。有研究表明,在仔猪饲料中添加丁酸可明显降低回肠大肠菌群的数量,同时提高乳酸杆菌的数量,提高乳酸杆菌与大肠杆菌数量的比值<sup>[13]</sup>。丝兰的活性成分皂苷对大肠杆菌具有抑制作用<sup>[36]</sup>,因此,丁酸钠与丝兰的单独添加可降低腹泻的发生。而丁酸钠与丝兰的组合添加增加了犊牛腹泻的发生,这可能是由于丁酸钠与丝兰组合后产生某种物质致使腹泻增加,具体机制需要进一步的研究。

#### 3.2 丁酸钠与丝兰对哺乳犊牛血清抗氧化指标的影响

抗氧化酶是动物抗氧化防御系统中必不可少 的关键因子,主要的抗氧化酶包括 SOD、GSH-Px 及 CAT 等<sup>[37]</sup>。本试验结果表明,丁酸钠的添加显著提高了血清中 CAT 活性,CAT 可参与过氧化氢 ( $H_2O_2$ ) 的降解,最终转化为水<sup>[38]</sup>。因此,这可能是由于丁酸钠降低  $H_2O_2$  诱导的 DNA 损伤,增加 CAT 基因的表达<sup>[39]</sup>,进而提高了 CAT 活性。GSH-Px 可防止磷脂膜、酶和自由基的损伤<sup>[40]</sup>。MDA 是脂质过氧化产物,其含量可间接反映氧自由基对细胞的损伤程度,氧自由基和 CAT 的稳态水平对于机体的健康至关重要<sup>[41]</sup>。Cigerici 等<sup>[42]</sup>在模拟瘤胃发酵液中添加丝兰提取物降低了小鼠血清 MDA 含量,同时增加了血清 GSH-Px 活性,提高了小鼠的抗氧化能力,与本研究结果相似。这可能是丝兰的主要活性成分中多酚的作用,多酚的结构特点使其具有较强的抗氧化及清除自由基的能力<sup>[18]</sup>。丁酸钠与丝兰的组合显著影响了 11 日龄犊牛血清中 GSH-Px 活性,表明丁酸钠与丝兰的组合对哺乳犊牛抗氧化能力具有积极的作用。本试验中,与 7 和 14 日龄相比,11 日龄时犊

牛血清中 GSH-Px 活性均下降,这可能由于攻毒大肠杆菌 K99 后,11 日龄犊牛腹泻增加,腹泻导致动物机体血清中 GSH-Px 活性显著降低<sup>[43-44]</sup>。

## 4 结 论

哺乳犊牛处于大肠杆菌 K99 攻毒的应激模式下,丁酸钠与丝兰单独添加均可提高犊牛的抗氧化能力,降低腹泻,但对生长性能没有影响;丁酸钠与丝兰的组合添加可提高犊牛的抗氧化能力,但降低了平均日采食量,增加了犊牛腹泻。

## 参考文献:

- [ 1 ] BALDWIN R L, MCLEOD K R, KLOTZ J L, et al. Rumen development, intestinal growth and hepatic metabolism in the pre-and postweaning ruminant [ J ]. Journal of Dairy Science, 2004, 87 ( Suppl. 1 ) : E55 - E65.
- [ 2 ] SHAMS Z, TAHAMTAN Y, POURBAKHS H A, et al. Detection of enterotoxigenic K99 ( F5 ) and F41 from fecal sample of calves by molecular and serological methods [ J ]. Comparative Clinical Pathology, 2012, 21 ( 4 ) : 475 - 478.
- [ 3 ] KOLENDA R, BURDUKIEWICZ M, SCHIERACK P. A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli* [ J ]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2015, 5 : 23.
- [ 4 ] OK M, GULER L, TURGUT K, et al. The studies on the aetiology of diarrhoea in neonatal calves and determination of virulence gene markers of *Escherichia coli* strains by multiplex PCR [ J ]. Zoonoses and Public Health, 2009, 56 ( 2 ) : 94 - 101.
- [ 5 ] 左丽君,姜宁,张爱忠.丁酸钠对畜禽机体营养及免疫调控作用的研究进展 [ J ]. 中国畜牧杂志, 2019, 55 ( 4 ) : 25 - 28.
- [ 6 ] WU Y N, ZHOU Y M, LU C H, et al. Influence of butyrate loaded clinoptilolite dietary supplementation on growth performance, development of intestine and antioxidant capacity in broiler chickens [ J ]. PLoS One, 2016, 11 ( 4 ) : e0154410.
- [ 7 ] SCHEPPACH W, BARTRAM P, RICHTER A, et al. Effect of short-chain fatty acids on the human colonic mucosa *in vitro* [ J ]. Journal of Parenteral and Enteral Nutrition, 1992, 16 ( 1 ) : 43 - 48.
- [ 8 ] GUILLOTEAU P, ZABIELSKI R, DAVID J C, et al. Sodium-butyrate as a growth promoter in milk replacer formula for young calves [ J ]. Journal of Dairy Science, 2009, 92 ( 3 ) : 1038 - 1049.
- [ 9 ] GUILLOTEAU P, ZABIELSKI R, BLUM J W. Gastrointestinal tract and digestion in the young ruminant; ontogenesis, adaptations, consequences and manipulations [ J ]. Journal of Physiology and Pharmacology, 2009, 60 ( Suppl 3 ) : 37 - 46.
- [ 10 ] PENNER G B, ASCHENBACH J R, GÄBEL G, et al. Epithelial capacity for apical uptake of short chain fatty acids is a key determinant for intraruminal pH and the susceptibility to subacute ruminal acidosis in sheep [ J ]. The Journal of Nutrition, 2009, 139 ( 9 ) : 1714 - 1720.
- [ 11 ] 赵会利,高艳霞,李建国,等.丁酸钠对断奶犊牛生长、血液生化指标及胃肠道发育的影响 [ J ]. 畜牧兽医学报, 2013, 44 ( 10 ) : 1600 - 1608.
- [ 12 ] BEIRANVAND H, GHORBANI G R, KHORVASH M, et al. Interactions of alfalfa hay and sodium propionate on dairy calf performance and rumen development [ J ]. Journal of Dairy Science, 2014, 97 ( 4 ) : 2270 - 2280.
- [ 13 ] GÁLFI P, BOKORI J. Feeding trial in pigs with a diet containing sodium n-butyrate [ J ]. Acta Veterinaria Hungarica, 1990, 38 ( 1/2 ) : 3 - 17.
- [ 14 ] HILL T M, ALDRICH J M, SCHLOTTERBECK R L, et al. Effects of changing the fat and fatty acid composition of milk replacers fed to neonatal calves [ J ]. The Professional Animal Scientist, 2007, 23 ( 2 ) : 135 - 143.
- [ 15 ] XIONG H T, GUO B X, GAN Z S, et al. Butyrate up-regulates endogenous host defense peptides to enhance disease resistance in piglets via histone deacetylase inhibition [ J ]. Scientific Reports, 2016, 6 : 27070.
- [ 16 ] CHEEKE P R. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition [ C ] // OLESZEK W, MARSTON A. Saponins in food, feedstuffs and medicinal plants. Netherlands: Springer, 2000, 77 : 241 - 254.
- [ 17 ] 龚红,邹胜龙.丝兰提取物的研究与应用 [ J ]. 饲料研究, 2015 ( 1 ) : 14 - 17, 39.
- [ 18 ] PERRON N R, BRUMAGHIM J L. A review of the antioxidant mechanisms of polyphenol compounds related to iron binding [ J ]. Cell Biochemistry and Biophysics, 2009, 53 ( 2 ) : 75 - 100.
- [ 19 ] 田丽新,史彬林,李偶宇,等.丝兰提取物对奶牛免疫

- 和抗氧化功能的影响[J].饲料研究,2016(3):33-35,57.
- [20] DE SOUSA O A, COOKE R F, BRANDÃO A P, et al. Productive and physiological responses of feeder cattle supplemented with *Yucca schidigera* extract during feedlot receiving[J]. Journal of Animal Science, 2019, 97(1):208-219.
- [21] ABDEL-RAHEEM S M, FARGHALY M M, HAS-SAN E H. Effect of dietary supplementation with *Yucca schidigera* powder on nutrient digestibility, rumen fermentation, ruminal enzyme activities and growth performance of buffalo calves[J]. Biological Rhythm Research, 2019, doi: 10. 1080/09291016. 2019. 1691832.
- [22] NRC. Nutrient requirements of dairy cattle[S]. 7th ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 2001.
- [23] PAL B, PACHAURI S. Effect of oral rehydration in neonatal calves treated for diarrhoea induced with *Escherichia coli* (O101:K99) infection[J]. The Indian Journal of Veterinary Research, 2008, 17(1):19-26.
- [24] BESSER T E, RICHARDS B L, RICE D H, et al. *Escherichia coli* O157:H7 infection of calves; infectious dose and direct contact transmission[J]. Epidemiology & Infection, 2001, 127(3):555-560.
- [25] AOAC. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists[S]. 17th ed. Washington D.C.: AOAC, 2000.
- [26] VAN SOEST P J, ROBERTSON J B, LEWIS B A. Symposium: carbohydrate methodology, metabolism, and nutritional implications in dairy cattle[J]. Journal of Dairy Science, 1991, 74(10):3583-3597.
- [27] GLOVER A D, PUSCHNER B, ROSSOW H A, et al. A double-blind block randomized clinical trial on the effect of zinc as a treatment for diarrhea in neonatal Holstein calves under natural challenge conditions[J]. Preventive Veterinary Medicine, 2013, 112(3/4):338-347.
- [28] SLUSARCZYK K, STRZETELSKI J, FURGAŁ-DI-ERŻ UK I. The effect of sodium butyrate on calf growth and serum level of  $\beta$ -hydroxybutyric acid[J]. Journal of Animal and Feed Sciences, 2010, 19(3):348-357.
- [29] FRIETEN D, GERBERT C, KOCH C, et al. Ad libitum milk replacer feeding, but not butyrate supplementation, affects growth performance as well as metabolic and endocrine traits in Holstein calves[J]. Journal of Dairy Science, 2017, 100(8):6648-6661.
- [30] GORKA P, KOWALSKI Z M, PIETRZAK P, et al. Effect of sodium butyrate supplementation in milk replacer and starter diet on rumen development in calves[J]. Journal of Physiology and Pharmacology, 2009, 60(Suppl.3):47-53.
- [31] GORKA P, KOWALSKI Z M, PIETRZAK P, et al. Effect of method of delivery of sodium butyrate on rumen development in newborn calves[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(11):5578-5588.
- [32] KOCH C, GERBERT C, FRIETEN D, et al. Effects of ad libitum milk replacer feeding and butyrate supplementation on the epithelial growth and development of the gastrointestinal tract in Holstein calves[J]. Journal of Dairy Science, 2019, 102(9):8513-8526.
- [33] O' LOUGHLIN E V, SCOTT R B, GALL D G. Pathophysiology of infectious diarrhea: changes in intestinal structure and function[J]. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition, 1991, 12(1):5-20.
- [34] BI Y L, YANG C T, DIAO Q Y, et al. Effects of dietary supplementation with two alternatives to antibiotics on intestinal microbiota of preweaned calves challenged with *Escherichia coli* K99[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1):5439.
- [35] GUILLOTEAU P, MARTIN L, EECKHAUT V, et al. From the gut to the peripheral tissues; the multiple effects of butyrate[J]. Nutrition Research Reviews, 2010, 23(2):366-384.
- [36] PATRA A K, STIVERSON J, YU Z. Effects of *Quil-laja* and *Yucca* saponins on communities and select populations of rumen bacteria and archaea, and fermentation *in vitro*[J]. Journal of Applied Microbiology, 2012, 113(6):1329-1340.
- [37] CADENAS E, DAVIES K J A. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2000, 29(3/4):222-230.
- [38] MOORE J W, BABIDGE W, MILLARD S, et al. Effect of sulphide on short chain acyl-CoA metabolism in rat colonocytes[J]. Gut, 1997, 41(1):77-81.
- [39] SAUER J, RICHTER K K, POOL-ZOBEL B L. Physiological concentrations of butyrate favorably modulate genes of oxidative and metabolic stress in primary human colon cells[J]. The Journal of Nutritional Biochemistry, 2007, 18(11):736-745.
- [40] MRUK D D, SILVESTRINI B, MO M Y, et al. Antioxidant superoxide dismutase—a review: its function, regulation in the testis, and role in male fertility[J]. Contraception, 2002, 65(4):305-311.
- [41] BOWLER C, SLOOTEN L, VANDENBRANDEN S, et al. Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants[J]. The Embo Journal, 1991, 10(7):1723-1732.
- [42] CIGERCI I H, FIDAN A F, KONUK M, et al. The protective potential of *Yucca schidigera* (Sarsaponin 30<sup>®</sup>) against nitrite-induced oxidative stress in rats

- [J]. *Journal of Natural Medicines*, 2009, 63(3):311–317.
- [43] ZHU L H, ZHAO K L, CHEN X L, et al. Impact of weaning and an antioxidant blend on intestinal barrier function and antioxidant status in pigs [J]. *Journal of Animal Science*, 2012, 90(8):2581–2589.
- [44] SEBAI H, JABRI M A, SOULI A, et al. Antidiarrheal and antioxidant activities of chamomile (*Matricaria recutita* L.) decoction extract in rats [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 152(2):327–333.

## Effects of Sodium Butyrate and *Yucca* on Growth Performance and Serum Antioxidant Indices of Sucking Calves Challenged with *Escherichia coli* K99

LIU Wenhui<sup>1</sup> Alatengzhula<sup>1</sup> MA Lu<sup>1,2</sup> REN Lijuan<sup>1</sup> GAO Shengtao<sup>1</sup> BU Dengpan<sup>1,2\*</sup>

(1. *Institute of Animal Science, State Key Laboratory of Animal Nutrition, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China*; 2. *Chinese Academy of Agricultural Sciences and World Agroforestry Center Joint Lab on Agroforestry and Sustainable Animal Husbandry, Beijing 100193, China*)

**Abstract:** This experiment was conducted to evaluate effects of sodium butyrate and *Yucca* on growth performance and serum antioxidant indices of sucking calves challenged with *Escherichia coli* K99. A total of 40 healthy Holstein calves with similar body weight of (40±5) kg were randomly allocated to 4 groups with 10 calves per group. The control group (C group) was fed a basic diet, the sodium butyrate group (SB group) was fed the basic diet+30 g/d sodium butyrate, the *Yucca* group (Y group) was fed the basic diet+9 g/d *Yucca*, and the sodium butyrate+*Yucca* group (SB+Y group) was fed the basic diet+30 g/d sodium butyrate+9 g/d *Yucca*. The calves were challenged with *Escherichia coli* K99 at 7 days of age, and the experiment ended at 14 days of age. The results showed as follows: 1) during 1 to 7 days of age, compared with the SB group, the average daily feed intake of calves of SB+Y group was significantly decreased ( $P<0.05$ ). 2) At 11 days of age, the serum catalase (CAT) activity of calves of SB group was significantly higher than that of C group ( $P<0.05$ ); at 14 days of age, the serum CAT activity of calves of SB group and Y group was significantly higher than that of C group and SB+Y group ( $P<0.05$ ). At 11 days of age, compared with C group, the serum glutathione peroxidase (GSH-Px) activity of calves of Y group had a tendency to increase ( $P=0.088$ ), and the serum GSH-Px activity of calves of SB+Y group was significantly increased ( $P<0.05$ ). At 7 days of age, compared with C group, the serum malondialdehyde (MDA) content of calves of Y group had a tendency to decrease ( $P=0.050$ ); at 7 days of age, compared with C group, the serum MDA content of calves of SB+Y group had a tendency to decrease ( $P=0.089$ ). In conclusion, when sucking calves are under stress condition challenged with *Escherichia coli* K99, the separately supplementation of sodium butyrate and *Yucca* can improve the antioxidant capacity of calves, but it has no effect on the growth performance of calves. The combined supplementation of sodium butyrate and *Yucca* can improve the antioxidant capacity of calves, but reduce the average daily feed intake of calves. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(9):4177–4184]

**Key words:** sucking calves; sodium butyrate; *Yucca*; growth performance; antioxidant