

饲料添加地衣芽孢杆菌对 4~7 月龄黑毛驴生长性能、血清生化指标及直肠菌群多样性的影响

司华哲¹ 冯培祥² 王卓¹ 南韦肖¹ 金春爱¹ 姜桂苗²

赵付伟² 李光玉¹ 刘晗璐^{1*}

(1.中国农业科学院特产研究所,长春 130112;2.国家胶类中药工程技术研究中心,东阿阿胶股份有限公司,东阿 252201)

摘要: 本试验旨在研究饲料添加地衣芽孢杆菌对 4~7 月龄黑毛驴生长性能、血清生化指标及直肠菌群多样性的影响。选取 4~7 月龄体况良好的黑毛驴 10 只,随机分为 2 组,每组 5 个重复,每个重复 1 头。对照组饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中添加 1×10^9 CFU/g 地衣芽孢杆菌。预试期 7 d,正试期 60 d。结果表明:与对照组相比,1) 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴总增重、平均日增重、干物质采食量和料重比均无显著影响($P > 0.05$);2) 饲料添加地衣芽孢杆菌显著降低了血清白蛋白含量($P < 0.05$),显著提高了血清免疫球蛋白 G 含量($P < 0.05$),对其他各项血清生化指标没有显著影响($P > 0.05$);3) 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠内容物菌群 α 多样性无显著影响($P > 0.05$),提高了直肠内容物中拟杆菌门和螺旋体门相对丰度。主坐标分析和 Adonis 分析结果显示,饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠内容物细菌组成无显著影响($P > 0.05$)。由此可见,饲料添加地衣芽孢杆菌并未显著提高黑毛驴的生长性能和显著影响黑毛驴直肠细菌组成。

关键词: 黑毛驴;地衣芽孢杆菌;菌群多样性

中图分类号: S822

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2021)02-0999-09

我国的毛驴养殖历史悠久,存栏量曾长期居于世界首位^[1]。但随着农业机械化的程度不断提高,毛驴役用价值的丧失导致其存栏量不断下降,据国家统计局《2018 年中国统计年鉴》显示,从 1998 年到 2016 年,我国毛驴存栏量从 955.8 万头持续下降至 259.3 万头,以年均 6.5% 的速度在不断萎缩。近年来,随着全民保健意识的增强,毛驴的皮、肉和奶的商用化价值持续走高,供需矛盾进一步加剧^[2]。对比传统的养殖,规模化养殖可更好地满足原料品质的均一性,但同时也加大毛驴感染性或传染性疾病的发生风险^[3]。一个基于 49 个规模化驴场腹泻病的调查显示,驴驹腹泻的

发病率约为 23.1%^[4],而幼龄驴驹免疫系统发育不完善,常规的抗生素治疗对驴驹腹泻治疗效果甚微^[5]。目前,微生态制剂作为一种潜在的抗生素替代品受到愈来愈多的饲料企业和养殖户的关注,微生态制剂不仅可以提高动物的生长性能,且对维持动物肠道菌群平衡效果良好^[6-7]。目前研究以猪、鸡等单胃动物或牛、羊等反刍动物居多^[8-10],但在毛驴上的相关研究较少。我国已将地衣芽孢杆菌(*Bacillus licheniformis*)纳入《中国饲料添加剂品种目录(2013)》中,地衣芽孢杆菌可以分泌多种淀粉酶、蛋白酶和脂肪酶,这些酶可将宿主自身难以消化的饲料成分分解,再次被宿主吸

收稿日期:2020-07-15

基金项目:吉林省科技发展计划项目(20200301019RQ);中国农业科学院基本科研业务费(1610342020036);中国农业科学院创新工程(CAAS-ASTIP-2020-ISAPS)

作者简介:司华哲(1989—),男,吉林长春人,硕士研究生,从事反刍动物粗饲料加工调制研究。E-mail: sihuazhe1989@163.com

* 通信作者:刘晗璐,副研究员,硕士生导师,E-mail: liuhanlu2003@163.com

收利用,提高动物饲料利用率^[11-12]。地衣芽孢杆菌在猪、家禽及水产动物的养殖上已广泛应用。李宁等^[13]研究发现,饲料中添加 0.15% 的地衣芽孢杆菌可提高仔猪的抗氧化能力、免疫力和生长性能。袁慧坤^[14]在北京鸭上同样发现饲料添加 1×10^6 CFU/g 地衣芽孢杆菌可有效改善北京鸭的生长性能和免疫指标。杨帆^[15]和李晓斌^[16]研究发现,饲料中添加 1×10^9 CFU/g 枯草芽孢杆菌可显著提高马驹的体增重。因此,本试验旨在研究饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴生长性能、血清生化指标及直肠菌群多样性的影响,以期地为地衣芽孢杆菌在驴驹生产中的应用提供参考。

1 材料与方 法

1.1 试验菌种

试验用地衣芽孢杆菌是本实验室前期从健康成年驴盲肠中分离鉴定保藏的。经冻干后,复苏并使用 MRS 培养基计数,按 1×10^9 CFU/g 添加量(参考杨帆^[15]和李晓斌^[16]在马驹上的试验结果)

逐级稀释到精料补充料中。

1.2 试验设计及饲养管理

选取 4~7 月龄体况良好的雌性驴驹 10 头,平均体重 (111.80 ± 15.69) kg,随机分为 2 组,每组 5 个重复,每个重复 1 头。对照组饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中添加 1×10^9 CFU/g 地衣芽孢杆菌。预试期 7 d,正试期 60 d。

本研究动物饲养试验于 2018 年 10 月 10 日至 2018 年 12 月 10 日山东省聊城市东阿县黑毛驴繁育中心进行。每头每天 10:00 和 16:30 各饲喂 1 次,先精后粗,精料补充料添加量固定为初始体重的 1.3%,粗饲料自由采食,自由饮水。精料补充料组成及营养水平见表 1。粗饲料为豆秸,其营养水平为:粗蛋白质(CP) 8.75%,粗脂肪(EE) 1.17%,有机物(OM) 90.03%,中性洗涤纤维(NDF) 72.75%,酸性洗涤纤维(ADF) 54.63%,钙(Ca) 1.26%,磷(P) 0.17%,消化能 7.61 MJ/kg[消化能计算参照 NRC(2007)^[17]马营养需要]。

表 1 精料补充料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the concentrate supplement (air-dry basis)

%

| 原料 Ingredients | 含量 Content | 营养水平 Nutrient levels ²⁾ | 含量 Content |
|--------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------|
| 玉米 Corn | 46 | 干物质 DM | 92.57 |
| 豆粕 Soybean meal | 10 | 有机物 OM | 83.84 |
| 棉籽粕 Cottonseed meal | 10 | 粗蛋白质 CP | 21.54 |
| 花生仁粕 Peanut meal | 11 | 粗脂肪 EE | 1.72 |
| 玉米胚芽 Corn germ | 4 | 中性洗涤纤维 NDF | 45.98 |
| 干酒糟及其可溶物 DDGS | 10 | 酸性洗涤纤维 ADF | 8.28 |
| 石粉 Limestone | 4 | 钙 Ca | 1.12 |
| 预混料 Premix ¹⁾ | 5 | 总磷 TP | 0.67 |
| 合计 Total | 100 | 消化能 DE/(MJ/kg) | 12.90 |

1) 每千克预混料含有 One kilogram of premix contained the following: MgO 0.076 g, ZnSO₄ · H₂O 0.036 g, MnSO₄ · H₂O 0.043 g, FeSO₄ · H₂O 0.053 g, NaSeO₃ 0.031 g, VA 484 IU, VD₃ 496.8 IU, VE 0.828 IU, VK₃ 0.23 mg, VB₁ 0.092 mg, VB₂ 0.69 mg, VB₁₂ 0.001 38 mg, 叶酸 folic acid 0.023 mg, 烟酸 niacin 1.62 mg, 泛酸 calcium pantothenate 1.15 mg, CaHPO₄ 5.17 g, CaCO₃ 4.57 g。

2) 消化能为计算值,其余为实测值。DE was a calculated value, while the others were measured values.

1.3 样品采集

试验第 45 天,晨饲前麻醉动物,颈静脉采血 10 mL, 3 500 × g、4 °C 离心 10 min, 收集血清, -20 °C 保存,用于后续血清相关指标的测定。试验第 50 天,通过直肠采集内容物 5 g 用于微生物总 DNA 的提取。试验样品的检测在吉林省长春

市中国农业科学院特产研究所进行

1.4 指标的测定及方法

1.4.1 生长性能的测定

试验第 1、15、30、45、60 天晨饲前称量动物体重,计算平均日增重(average daily gain, ADG)和总增重(total weight gain, TWG)。每隔 3 d 对每头

驴精饲料补充料和粗饲料的投食量和剩食量进行记录,用于精确计算试验期间每头驴的干物质采食量(dry matter intake, DMI)和料重比(feed/gain, F/G)。

1.4.2 饲料营养成分测定

饲料的干物质(DM)含量采用 GB/T 6435—2014 方法测定;粗蛋白质含量参照 GB/T 6432—2018 采用凯氏定氮法测定;粗脂肪含量参照 GB/T 6433—2006 采用索氏抽提法测定;中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维含量参照 GB/T 20806—2006 采用范氏(Van Soest)纤维分析法测定;钙含量参照 GB/T 6436—2018 采用乙二胺四乙酸(EDTA)络合滴定法测定;磷含量参照 GB/T 6437—2018 采用钒钼酸铵比色法测定。

1.4.3 血清生化指标测定 PHam

血清甘油三酯(triglyceride, TG)、总胆固醇(total cholesterol, TC)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、葡萄糖(glucose, GLU)、尿素(urea, UREA)、总蛋白(total proteins, TP)、白蛋白(albumin, ALB)含量及丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)活性均使用 Beckman AU 480 全自动生化分析仪测定,试剂盒采购于中生北控生物科技有限公司。球蛋白(globulin, GLOB)含量采用 TP 与 ALB 含量的差值表示。血清免疫球蛋白 A(immunoglobulin A, IgA)、免疫球蛋白 G(immu-

noglobulin G, IgG)和免疫球蛋白 M(immunoglobulin M, IgM)含量均使用酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)测定。

1.4.4 微生物总 DNA 的提取

直肠内容物使用 Fast DNA spin kit for feces 试剂盒[安诺伦(北京)生物科技有限公司]进行微生物总 DNA 提取。提取后的 DNA 送到北京诺禾致源公司使用 MiSeq 测序平台对细菌基因组的 16S rRNA V3~V4 区进行测序。

1.5 数据分析

试验数据使用 Excel 2013 整理后采用 SPSS 22.0 软件中独立样本 *t* 检验(independent-samples *t* test)进行均值的差异性检验,以 $P < 0.05$ 为差异显著。微生物测序结果通过 Flash v1.3.0 软件融合双末端序列。采用 Prinseq-lite 0.19.5 软件截掉质量低的数据,按照 97% 相似性将序列聚类操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)。OTU 聚类采用的软件为 Uclust v1.1.579,采用 RDP classifier 软件进行物种分类。使用 QIIME 1.9.0 软件对菌群进行 α 多样性分析、主坐标分析(PCoA)和 Adonis 分析^[18]。

2 结果与分析

2.1 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴生长性能影响

如表 2 所示,对照组和试验组第 15、30、45 和 60 天体重均无显著差异($P > 0.05$),对照组和试验组的总增重、平均日增重、干物质采食量和料重比也无显著差异($P > 0.05$)。

表 2 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴生长性能影响

Table 2 Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance of black donkeys

| 项目 Items | 对照组 Control group | 试验组 Experimental group | SEM | <i>P</i> 值 <i>P</i> -value |
|-----------------------------------|----------------------|---------------------------|-------|-------------------------------|
| 初重 Initial body weight/kg | 113.40 | 110.20 | 10.46 | 0.76 |
| 第 15 天体重 Body weight on day 15/kg | 113.70 | 111.20 | 10.35 | 0.81 |
| 第 30 天体重 Body weight on day 30/kg | 119.80 | 117.90 | 10.38 | 0.85 |
| 第 45 天体重 Body weight on day 45/kg | 124.70 | 120.60 | 10.84 | 0.71 |
| 第 60 天体重 Body weight on day 60/kg | 130.20 | 124.30 | 12.82 | 0.65 |
| 总增重 TWG/kg | 16.80 | 14.10 | 4.36 | 0.55 |
| 平均日增重 ADG/(g/d) | 270.96 | 227.42 | 70.35 | 0.55 |
| 干物质采食量 DMI/(kg/d) | 2.82 | 2.59 | 0.12 | 0.11 |
| 料重比 F/G | 10.83 | 13.27 | 2.67 | 0.38 |

2.2 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴血清生化指标的影响

如表 3 所示,对照组的血清 ALB 含量显著高于试验组 ($P < 0.05$),对照组和试验组的血清 TP 和 GLOB 含量无显著差异 ($P > 0.05$)。对照组和试验组的肝功相关指标(血清 ALP、ALT、AST、

LDH 活性)和脂肪代谢相关指标(血清 TG、HDL-C、LDL-C、TC 含量)均无显著差异 ($P > 0.05$)。试验组的血清 GLU 和 UREA 含量较对照组有所降低,但无显著差异 ($P > 0.05$)。试验组的血清 IgG 含量显著高于对照组 ($P < 0.05$),对照组和试验组的血清 IgA 和 IgM 含量无显著差异 ($P > 0.05$)。

表 3 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴血清生化指标影响

Table 4 Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on serum biochemical indexes of black donkeys

| 项目 Items | 对照组 Control group | 试验组 Experimental group | SEM | P 值 P-value |
|--------------------------|----------------------|---------------------------|-------|----------------|
| 葡萄糖 GLU/(mmol/L) | 2.90 | 2.36 | 0.54 | 0.34 |
| 尿素 UREA/(mmol/L) | 8.29 | 7.83 | 1.02 | 0.66 |
| 碱性磷酸酶 ALP/(U/L) | 288.16 | 235.47 | 51.27 | 0.33 |
| 丙氨酸氨基转移酶 ALT/(U/L) | 7.15 | 5.21 | 1.21 | 0.14 |
| 天门冬氨酸氨基转移酶 AST/(U/L) | 262.48 | 226.88 | 32.17 | 0.30 |
| 乳酸脱氢酶 LDH/(U/L) | 376.12 | 303.46 | 47.61 | 0.16 |
| 甘油三酯 TG/(mmol/L) | 0.39 | 0.34 | 0.09 | 0.60 |
| 高密度脂蛋白胆固醇 HDL-C/(mmol/L) | 0.72 | 0.74 | 0.04 | 0.66 |
| 低密度脂蛋白胆固醇 LDL-C/(mmol/L) | 0.23 | 0.21 | 0.02 | 0.39 |
| 总胆固醇 TC/(mmol/L) | 1.63 | 1.61 | 0.09 | 0.83 |
| 总蛋白 TP/(g/L) | 57.66 | 53.95 | 3.06 | 0.26 |
| 白蛋白 ALB/(g/L) | 22.61 | 19.91 | 1.01 | 0.02 |
| 球蛋白 GLOB/(g/L) | 35.05 | 34.05 | 3.15 | 0.75 |
| 免疫球蛋白 A IgA/(mg/mL) | 5.24 | 6.06 | 2.05 | 0.70 |
| 免疫球蛋白 G IgG/(mg/mL) | 7.78 | 11.08 | 0.52 | 0.01 |
| 免疫球蛋白 M IgM/(mg/mL) | 0.71 | 0.96 | 0.29 | 0.42 |

2.3 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠菌群多样性的影响

如表 4 所示,对照组和试验组的覆盖度指数均高于 0.995,说明测序深度足够,结果可呈现 99.5% 以上的菌群组成。试验组的香农(Shannon)

和辛普森(Simpson)指数均高于对照组,但差异不显著 ($P > 0.05$)。对照组的 Chao1 和 ACE 指数均高于试验组,但差异不显著 ($P > 0.05$)。这表明饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠内容物菌群 α 多样性无显著影响。

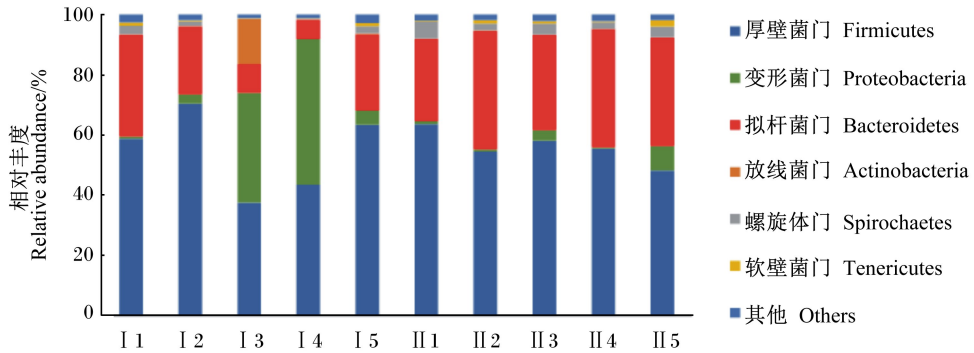
表 4 饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠内容物菌群 α 多样性的影响

Table 4 Effects of dietary *Bacillus licheniformis* on bacteria α diversity in rectum contents of black donkeys

| 项目 Items | 对照组 Control group | 试验组 Experimental group | SEM | P 值 P-value |
|----------------------|----------------------|---------------------------|--------|----------------|
| 覆盖度指数 Coverage index | 0.995 | 0.995 | 0.01 | 0.67 |
| 香农指数 Shannon index | 6.62 | 7.56 | 0.87 | 0.33 |
| 辛普森指数 Simpson index | 0.91 | 0.97 | 0.04 | 0.23 |
| Chao1 指数 Chao1 index | 1 318.33 | 1 293.23 | 109.11 | 0.82 |
| ACE 指数 ACE index | 1 353.46 | 1 311.71 | 109.45 | 0.71 |

饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠微生物组成门水平相对丰度的影响如图 1 所示,2 组中相对丰度较高的前 3 种细菌门分别为厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门。其中,试验组的拟杆菌门和螺旋体门相对丰度明显高于对照组,而对照组中 2

个重复的变形菌门相对丰度高达 36.46%~48.45%,这表明饲料添加地衣芽孢杆菌会提高黑毛驴的拟杆菌门和螺旋体门相对丰度,可能会抑制变形菌门相对丰度。



I 1、I 2、I 3、I 4、I 5 为对照组的 5 个重复,II 1、II 2、II 3、II 4、II 5 为试验组的 5 个重复。图 2 同。

I 1, I 2, I 3, I 4 and I 5 were 5 replicates in the control group, II 1, II 2, II 3, II 4 and II 5 were 5 replicates in the experimental group. The same as Fig.2.

图 1 门水平相对丰度

Fig.1 Relative abundance at phylum level

饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠微生物组成属水平相对丰度的影响如图 2 所示,对照组中的变形菌门相对丰度较高的 2 个重复,其不动

杆菌属相对丰度亦较高,达 34.35%~48.12%。2 组中其他相对丰度较高的细菌分别为土壤芽孢杆菌属、链球菌属、未鉴定梭菌目、未鉴定瘤胃球菌科。

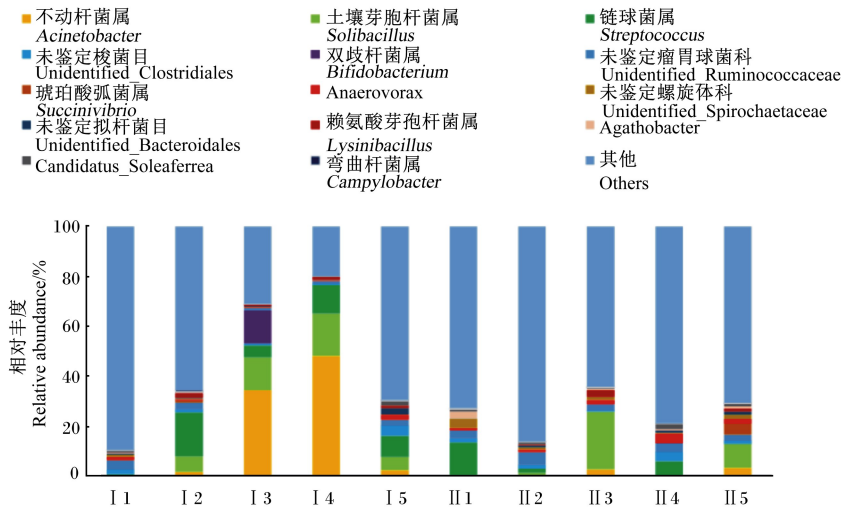


图 2 属水平相对丰度

Fig.2 Relative abundance at genus level

如图 3 所示,PCoA 显示,2 个坐标轴相加已解释 77.75% 的变量组成。结合图中所示和 Adonis

分析结果 ($P=0.078$), 均表明饲料添加地衣芽孢杆菌对黑毛驴直肠内容物细菌组成无显著影响。

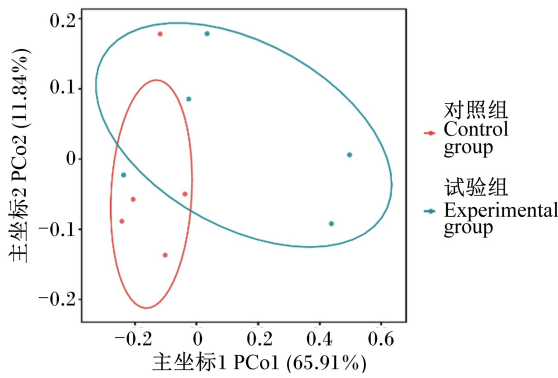


图3 主坐标分析图

Fig.3 PCoA figure

3 讨论

本试验中, 饲料添加 1×10^9 CFU/g 地衣芽孢杆菌对黑毛驴生长性能并无显著影响, 这与杨帆^[15]、李晓斌^[16]在马驹上的研究结果并不一致, 原因可能是本试验养殖试验处于冬季, 黑毛驴饲养于室外, 温度较低。研究发现, 冷应激会导致动物营养物质消化率的降低^[19], 且低温环境下动物采食的饲料优先用于产热维持体温, 这对动物的生长性能影响较大^[20]。综合前人和本试验研究结果, 低温环境饲养下的黑毛驴, 益生菌的添加水平需要增高, 才可获得与常温条件相似的促生长性能, 但这一推测仍需进一步的试验验证。

本试验中, 试验组的血清 IgG 含量显著高于对照组, 这与郭军蕊^[21]、Elzey 等^[22]在其他动物上的试验结果一致。IgG 约占血清免疫球蛋白总含量的 75%, 是机体最主要的抗感染球蛋白, 其含量可以表示免疫功能的强弱^[14], 这一指标的升高可为地衣芽孢杆菌对驴驹腹泻的预防起到重要作用。

已有大量研究证明添加益生菌可以改善动物肠道菌群组成及促进肠道健康^[23-25]。本试验中, 黑毛驴直肠内容物门水平下优势细菌组成与 Liu 等^[26]在驴粪便中的研究结果类似。但 Liu 等^[26]研究发现, 细菌属水平上优势微生物分别是艾克曼菌属、*Sporobacter* 和密螺旋体属, 这与本试验结果并不一致。原因可能是 Liu 等^[26]试验采集的是排出的粪便, 与本试验直肠采集的内容物环境有一定差异, 此外, 动物的饲料和养殖环境均会对直肠微生物组成造成影响^[27]。本试验中, 优势的微生物菌属有土壤芽孢杆菌和链球菌属, 这些细菌

都被大量的发现于土壤与环境^[28], 直肠位于消化道末端, 这为外界细菌在直肠内的定植带来了机会^[29]。对照组 2 个重复的直肠内不动杆菌属相对丰度较高, 且不动杆菌属可引起动物胃肠炎的发生^[30], 试验组并未发现这样的个体, 这也从侧面证明了地衣芽孢杆菌可在一定程度上维持肠道稳态。对照组动物直肠微生物组成中, 链球菌属和不动杆菌属相对丰度较高, 这类条件致病菌的存在提示我们, 驴驹的规模化饲养所面临的腹泻疾病与动物肠道健康息息相关。饲料添加地衣芽孢杆菌提高了拟杆菌门相对丰度, 拟杆菌门的细菌主要对类固醇、胆汁酸及多糖起代谢作用, 从而促进多糖的吸收以及蛋白质的合成^[31]。饲料添加地衣芽孢杆菌并未显著改变黑毛驴直肠微生物组成, Zhou 等^[32]和 Wang 等^[33]在獭兔上研究均发现, 益生菌的添加对其小肠菌群结构组成的影响效果优于大肠。这可能与单胃草食类动物发达的盲肠和结肠结构与丰富的微生物组成有关。

4 结论

饲料添加地衣芽孢杆菌并未显著提高黑毛驴的生长性能和显著影响黑毛驴直肠细菌组成, 但提高了黑毛驴血清 IgG 的含量, 同时降低其直肠内容物中不动杆菌属相对丰度, 对动物的肠道健康有积极作用。

参考文献:

- [1] 李杰, 王玉斌. 我国驴业发展现状、问题及对策[J]. 中国畜牧杂志, 2019, 55(5): 159-162.
LI J, WANG Y B. Donkey industry development status, problems and countermeasures in China[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2019, 55(5): 159-162. (in Chinese)
- [2] 孙亚宁. 山东省驴业产业化经营组织模式研究[D]. 硕士学位论文. 烟台: 烟台大学, 2019.
SUN Y N. Study on the organization pattern of donkey industrialization in Shandong province[D]. Master's Thesis. Yantai: Yantai University, 2019. (in Chinese)
- [3] 王仁虎, 夏楠, 裴兰英, 等. 聊城地区规模化驴场皮肤病发病情况及病原调查[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2019(5): 75-78, 180-181.
WANG R H, XIA N, PEI L Y, et al. The incidence and pathogens of donkey dermatoses in large scale donkey farms of Liaocheng district donkey[J]. Hei-

- longjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2019(5):75-78,180-181. (in Chinese)
- [4] 王仁虎.引起驴驹腹泻的致病性大肠杆菌分离鉴定及复合疫苗研制[D].硕士学位论文.聊城:聊城大学,2018.
- WANG R H.Isolation and identification of pathogenic *Escherichia coli* causing diarrhea of donkey foals and development of a compound vaccine [D].Master's Thesis. Liaocheng: Liaocheng University, 2018. (in Chinese)
- [5] 王仁虎,夏楠,姜桂苗,等.规模化驴场几种重要传染病的调查研究[J].动物医学进展,2018,39(4):128-132.
- WANG R H, XIA N, JIANG G M, et al. Investigation of several important pathogens of infectious diseases in scaled donkey farms[J].Progress in Veterinary Medicine, 2018,39(4):128-132. (in Chinese)
- [6] 辛娜,张乃锋,刁其玉,等.芽孢杆菌制剂对断奶仔猪生长性能、胃肠道发育的影响[J].畜牧兽医学报,2012,43(6):901-908.
- XIN N, ZHANG N F, DIAO Q Y, et al. Effect of bacillus preparation on growth performance and gastrointestinal development of weaned piglet [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 2012,43(6):901-908. (in Chinese)
- [7] KABIR S M L, RAHMAN M M, RAHMAN M B, et al. The dynamics of probiotics on growth performance and immune response in broilers [J]. International Journal of Poultry Science, 2004,3(5):361-364.
- [8] MENG Q W, YAN L, AO X, et al. Influence of probiotics in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, meat quality, and blood characteristics in growing-finishing pigs [J]. Journal of Animal Science, 2010,88(10):3320-3326.
- [9] ZHANG Z F, KIM I H. Effects of multistrain probiotics on growth performance, apparent ileal nutrient digestibility, blood characteristics, cecal microbial shedding, and excreta odor contents in broilers[J]. Poultry Science, 2014,93(2):364-370.
- [10] ALIAKBARPOUR H R, CHAMANI M, RAHIMI G, et al. The *Bacillus subtilis* and lactic acid bacteria probiotics influences intestinal mucin gene expression, histomorphology and growth performance in broilers [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2012,25(9):1285-1293.
- [11] 王苑,陈宝江,于会民,等.甘露聚糖酶、 α -半乳糖苷酶、木聚糖酶及地衣芽孢杆菌不同配伍对猪生长性能的影响[J].饲料研究,2014(21):1-3,10.
- WANG Y, CHEN B J, YU H M, et al. Effects of different combination of mannase, α -galactosidase and xylanase with *Bacillus licheniformis* on growth performance in pig[J]. Feed Research, 2014(21):1-3,10. (in Chinese)
- [12] 徐小明,白建勇,宦海琳,等.地衣芽孢杆菌对发酵床饲养仔猪生长性能、消化酶活性及肠道主要菌群数量的影响[J].中国畜牧兽医,2015,42(4):923-928.
- XU X M, BAI J Y, HUAN H L, et al. Effect of *Bacillus licheniformis* on growth performance, digestive enzymes and the number of intestina main microbial flora of piglets raised in fermentation bed[J]. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2015,42(4):923-928. (in Chinese)
- [13] 李宁,穆淑琴,闫峻,等.地衣芽孢杆菌替代抗生素对仔猪健康的影响[J].粮食与饲料工业,2018(12):52-56.
- LI N, MU S Q, YAN J, et al. Effect of *Bacillus licheniformis* replacing of antibiotics on the health of piglets [J]. Cereal & Feed Industry, 2018(12):52-56. (in Chinese)
- [14] 袁慧坤.日粮中添加芽孢杆菌对北京鸭生长性能、肠道菌群的影响[D].硕士学位论文.哈尔滨:东北农业大学,2019.
- YUAN H K. Effects of dietary supplementation of *Bacillus* on growth performance and intestinal flora in Beijing duck [D]. Master's Thesis. Harbin: Dongbei Agricultural University, 2019. (in Chinese)
- [15] 杨帆.微生物制剂对哺乳马驹生长性能、血液指标及粪便中菌群总数的影响[D].硕士学位论文.乌鲁木齐:新疆农业大学,2015.
- YANG F. The effect of microbiological preparation on growth performance and blood indicators and total number of bacteria in feces of suckling foals [D]. Master's Thesis. Wulumuqi: Xinjiang Agricultural University, 2015. (in Chinese)
- [16] 李晓斌.3~6月龄伊犁马肠道菌群多样性及补喂益生菌调控作用的研究[D].硕士学位论文.乌鲁木齐:新疆农业大学,2017.
- LI X B. Study on intestinal flora diversity and regulation of supplementation feeding probiotics of 3 to 6-month-old Yili horse [D]. Master's Thesis. Wulumuqi: Xinjiang Agricultural University, 2017. (in Chinese)

- [17] NRC. Nutrient requirements of horses; sixth revised edition [S]. Washington, D.C.: The National Academies Press, 2007.
- [18] 司华哲. 不同乳酸菌对紫花苜蓿青贮发酵品质及菌群动态变化的影响研究 [D]. 硕士学位论文. 长春: 吉林农业大学, 2016.
- SI H Z. Effect of different lactic acid bacteria on fermentation characteristics and bacteria diversity of alfalfa silage [D]. Master's Thesis. Changchun: Jilin Agricultural University, 2016. (in Chinese)
- [19] 徐凯, 刘玥含, 黄大鹏. 持续低温对断奶仔猪生长性能、饲料养分表观消化率及血液生化指标的影响 [J]. 饲料工业, 2019, 40(13): 25-28.
- XU K, LIU Y H, HUANG D P, et al. Effects of continuous hypothermia on growth performance, nutrient apparent digestibility and blood biochemical indexes of weaned piglets [J]. Feed Industry, 2019, 40(13): 25-28. (in Chinese)
- [20] 孙培新, 唐静, 申仲健, 等. 环境温度对 14~35 日龄北京鸭生长性能和血液指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(11): 5046-5052.
- SUN P X, TANG J, SHEN Z J, et al. Effects of ambient temperature on growth performance and blood parameters of pekin ducks during 14 to 35 days of age [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(11): 5046-5052. (in Chinese)
- [21] 郭军蕊. 枯草芽孢杆菌对蛋鸡益生作用机制的研究 [D]. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院, 2017.
- GUO J R. The probiotic mechanism of *Bacillus subtilis* on laying hens [D]. Ph.D. Thesis. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2017. (in Chinese)
- [22] ELZEY B D, TIAN J, JENSEN R J, et al. Platelet-mediated modulation of adaptive immunity: a communication link between innate and adaptive immune compartments [J]. Immunity, 2003, 19(1): 9-19.
- [23] PARVEZ S, MALIK K A, AHKANG S, et al. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health [J]. Journal of Applied Microbiology, 2006, 100(6): 1171-1185.
- [24] ALEXOPOULOS C, GEORGIOULAKIS I E, TZIVARA A, et al. Field evaluation of the efficacy of a probiotic containing *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* spores, on the health status and performance of sows and their litters [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2004, 88(11/12): 381-392.
- [25] 唐志刚, 温超, 王恬, 等. 在不同营养水平日粮中添加益生菌对肉鸡抗氧化功能、黏膜免疫及回肠菌群的影响 [J]. 中国粮油学报, 2013, 28(1): 70-75.
- TANG Z G, WEN C, WANG T, et al. Effects of probiotics on antioxidant function, mucosal immunity and ileum microflora in broilers fed with different nutrient levels [J]. Journal of the Chinese Cereals and Oils Association, 2013, 28(1): 70-75. (in Chinese)
- [26] LIU X F, FAN H L, DING X B, et al. Analysis of the gut microbiota by high-throughput sequencing of the V5-V6 regions of the 16S rRNA gene in donkey [J]. Current Microbiology, 2014, 68(5): 657-662.
- [27] DOMINGO J W S, KAUFMAN M G, KLUG M J, et al. Influence of diet on the structure and function of the bacterial hindgut community of crickets [J]. Molecular Ecology, 1998, 7(6): 761-767.
- [28] SEUYLEMEZIAN A, SINGH N K, VAISHAMPAYAN P, et al. Draft genome sequence of *Solibacillus kalamii*, isolated from an air filter aboard the International Space Station [J]. Genome Announcements, 2017, 5(35): e00696-17.
- [29] LI Z P, SI H Z, NAN W X, et al. Bacterial community and metabolome shifts in the cecum and colon of captive sika deer (*Cervus nippon*) from birth to post weaning [J]. FEMS Microbiology Letters, 2019, 366(4): fnz010.
- [30] REGALADO N G, MARTIN G, ANTONY S J. *Acinetobacter lwoffii*: bacteremia associated with acute gastroenteritis [J]. Travel Medicine and Infectious Disease, 2009, 7(5): 316-317.
- [31] 陈双双, 司华哲, 李光玉, 等. 动物肠道菌群与营养物质代谢的研究进展 [J]. 饲料工业, 2018, 39(2): 33-36.
- CHEN S S, SI H Z, LI G Y, et al. Research progress of animal gut microbiota and nutrient metabolism [J]. Feed Industry, 2018, 39(2): 33-36. (in Chinese)
- [32] ZHOU Y, NI X, WEN B, et al. Appropriate dose of *Lactobacillus buchneri* supplement improves intestinal microbiota and prevents diarrhoea in weaning Rex rabbits [J]. Beneficial Microbes, 2018, 9(3): 401-416.
- [33] WANG C, ZHU Y, LI F, et al. The effect of *Lactobacillus* isolates on growth performance, immune response, intestinal bacterial community composition of growing Rex rabbits [J]. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition, 2017, 101(5): e1-e13.

Effects of Dietary *Bacillus licheniformis* on Growth Performance, Serum Biochemical Indexes and Rectum Content Bacteria Diversity of Black Donkeys Aged from 4 to 7 Months

SI Huazhe¹ FENG Peixiang² WANG Zhuo¹ NAN Weixiao¹ JIN Chunai¹ JIANG Guimiao²
ZHAO Fuwei² LI Guangyu¹ LIU Hanlu^{1*}

(1. Institute of Special Animal and Plant Sciences, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Changchun 130112, China;

2. National Engineering Research Center for Gelatin-Based Traditional Chinese Medicine, Dong-E-E-Jiao Co., Ltd., Dong'e 252201, China)

Abstract: The aim of this study was to investigate the effects of dietary *Bacillus licheniformis* on growth performance, serum biochemical indexes and rectum content bacteria diversity of black donkeys aged from 4 to 7 months. Ten healthy black donkeys aged from 4 to 7 months were selected and randomly divided into 2 groups with 5 replicates per group and 1 donkey per replicate. Donkeys in the control group were fed a basal diet, and others in the experimental group were fed the basal diet supplemented with 1×10^9 CFU/g *Bacillus licheniformis*. The pre-experimental period lasted for 7 days, and the experimental period lasted for 60 days. The results showed as follows: compared to the control group, 1) dietary *Bacillus licheniformis* had no significant effects on the total weight gain, average daily gain, dry matter intake and feed to gain ratio of black donkeys ($P > 0.05$); 2) dietary *Bacillus licheniformis* significantly increased the serum albumin content ($P < 0.05$), significantly increased the serum immunoglobulin G content ($P < 0.05$), but had no significant effects on other serum biochemical indexes ($P > 0.05$); 3) dietary *Bacillus licheniformis* had no significant effects on the bacteria α diversity in rectum contents of black donkeys ($P > 0.05$), and increased the relative abundance of Bacteroidetes and Spirochaetes in rectum contents ($P < 0.05$). Principal coordinate analysis and Adonis analysis results showed that dietary *Bacillus licheniformis* had no significant effects on the bacteria composition in rectum contents of black donkeys. In conclusion, dietary *Bacillus licheniformis* do not significantly improve the growth performance of black donkeys, and also do not affect the rectal bacterial composition of black donkeys. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(2):999-1007]

Key words: black donkeys; *Bacillus licheniformis*; bacteria diversity