

亚急性瘤胃酸中毒对绵羊瘤胃异常代谢产物、瘤胃菌群和血液相关指标的影响

韩郭皓¹ 高晓莎¹ 段晋伟¹ 张慧琴¹ 郑岩¹ 马林峰¹ 何金鑫¹
霍乃蕊¹ 裴彩霞² 古少鹏^{1*}

(1.山西农业大学动物医学学院,太谷 030801;2.山西农业大学动物科学学院,太谷 030801)

摘要: 本试验通过逐步递增饲料精粗比诱导绵羊发生亚急性瘤胃酸中毒(SARA),探究其对瘤胃异常代谢产物、瘤胃菌群、血气和血清生化指标的影响,为防治绵羊 SARA 提供理论依据。选取 50 只 2 月龄同期断奶健康的杜泊羊(♂)×湖羊(♀)F1 代,随机分为 2 组。对照组(CK 组, $n=15$) 饲喂精粗比为 50:50 的基础饲料;SARA 诱导组通过饲料精粗比递增诱导绵羊发生 SARA,饲料精粗比依次为 50:50、70:30、80:20、90:10 和 100:0,各精粗比饲料均饲喂 7 d,瘤胃液 pH 在 5.2~5.6 持续 3 h 以上的绵羊构成 SARA 模型组。分别于各精粗比饲料第 7 天晨饲后 1、2、3、4、5、6 和 8 h 采集瘤胃液,测定瘤胃异常代谢产物含量和瘤胃菌群结构。SARA 诱导成功后,采集 CK 组和 SARA 模型组颈静脉血液,测定血气和血清生化指标。结果显示:1) 在饲料精粗比为 100:0 时,SARA 诱导组中有 27 只绵羊瘤胃液 pH 在 5.2~5.6 持续 3 h 以上,部分羊腹泻,瘤胃液偏黄恶臭黏稠,符合 SARA 标准,构成 SARA 模型组。2) SARA 模型组 Chao1 指数显著低于 CK 组($P<0.05$),瘤胃菌群结构发生变化,乳酸产生菌相对丰度增加,瘤胃菌群碳水化合物代谢相关基因富集程度增加。3) SARA 模型组瘤胃液和血液中乳酸、组胺和内毒素含量均显著高于 CK 组($P<0.05$)。4) SARA 模型组血液二氧化碳总量、实际碳酸氢盐和全血碱剩余含量显著低于 CK 组($P<0.05$)。5) SARA 模型组血清谷丙转氨酶活性显著低于 CK 组($P<0.05$),血清生化指标处于正常范围。综上所述,绵羊 SARA 发生过程中,瘤胃菌群丰富度降低,菌群结构改变,乳酸产生菌相对丰度增加,血液和瘤胃液乳酸、内毒素和组胺含量升高,机体发生代谢性酸中毒。

关键词: 亚急性瘤胃酸中毒;绵羊;瘤胃菌群;代谢性酸中毒;炎症反应

中图分类号:S826

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2021)04-2158-10

亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA)是高产反刍动物群体中常见的营养代谢性疾病,绵羊育肥养殖过程中,为达最大生产性能常饲喂大量高精饲料,高精饲料发酵导致瘤胃内挥发性脂肪酸以及乳酸等有机酸积累,瘤胃 pH 长时间处于较低水平,绵羊发生 SARA^[1]。SARA 会导致瘤胃液 pH 下降、瘤胃微生物菌群紊乱、机体组

织器官产生炎症、生产性能降低、动物淘汰或死亡等情况发生^[2-4]。SARA 早期通常没有典型症状,诊断较为困难,瘤胃液 pH 5.2~5.6 持续 3 h 以上为 SARA 主要判定依据^[5]。SARA 发生机制包括乳酸中毒学说以及内毒素组胺中毒学说^[6]。研究报告,奶牛 SARA 可引起瘤胃液乳酸、组胺和内毒素含量显著增加,但血液乳酸、组胺和内毒素含量

收稿日期:2020-08-01

基金项目:山西省重点研发计划项目(201803D221026-3);山西省“1331 工程”重点创新团队建设计划;山西省现代农业产业体系羊体系

作者简介:韩郭皓(1997—),男,山西太原人,硕士研究生,从事兽医公共卫生与动物疾病防治研究。E-mail: hanguohao5@163.com

* 通信作者:古少鹏,教授,硕士生导师,E-mail: shpgu@163.com

变化不显著^[7-8];而曾光^[9]通过梯度增加精粗比诱导山羊 SARA,发现瘤胃液及血液乳酸、组胺和内毒素含量均显著升高。瘤胃内环境失衡通常会导致瘤胃菌群发生改变, Kim 等^[10]饲喂高谷物饲料诱导奶牛 SARA,显示瘤胃菌群多样性指数下降,普雷沃氏菌属的相对丰度降低。目前,关于 SARA 的发生及其机制研究多集中于奶牛^[11-13]和山羊^[14-16],模型多以短期高谷物饲料诱导,诱导过程与疾病发生发展不符,SARA 绵羊瘤胃异常代谢产物及菌群、血气和血清生化指标等如何变化鲜有报道,其发生机制尚不清楚。因此,本研究通过逐步提升饲料精粗比建立绵羊 SARA 模型,分析 SARA 对绵羊瘤胃异常代谢产物、瘤胃菌群、血气和血清生化指标的影响,探究绵羊 SARA 状态下瘤胃内环境和机体状况,为防治绵羊 SARA 提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验动物

选择 50 只 2 月龄同期断奶、平均体重 (20.50±2.21) kg 杜泊羊(♂)×湖羊(♀)F1 代作为试验动物,公母各占 1/2。

1.2 动物设计

试验前绵羊分为 2 组,分别为 SARA 诱导组 ($n=35$)与对照组(CK 组, $n=15$)。预试期 30 d,饲喂精粗比为 50:50 的基础饲料。SARA 诱导组通过饲料精粗比递增诱导绵羊发生 SARA,饲料精粗比依次为 50:50、70:30、80:20、90:10 和 100:0,各精粗比饲料均饲喂 7 d,瘤胃液 pH 5.2~5.6 持续 3 h 以上的绵羊构成 SARA 模型组;CK 组饲喂精粗比为 50:50 的基础饲料。每日 06:00 和 17:00 饲喂,每只羊每日约采食 1.55 kg 饲料。饲料参照《肉羊饲养标准》(NY/T 816—2004)配制,各精粗比饲料组成及营养水平见表 1。

1.3 临床观察与样品采集测定

1.3.1 临床观察

每日观察绵羊精神和粪便状态,采集瘤胃液时观察其颜色、气味和黏稠度,并记录。

1.3.2 样品采集

于各饲喂期第 7 天晨饲后 1、2、3、4、5、6 和 8 h 使用瘤胃液口腔采样器(A1164K,武汉科立博牧业科技有限公司)抽取瘤胃液,每只 50 mL,4 层纱布过滤保存。模型构建成功后,于晨饲前用 BD PresetTM采血器和含促凝剂的采血管采集颈静脉血液。

表 1 各精粗比饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of each concentrate to forage ratio diets (air-dry basis)

%

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio				
	50:50	70:30	80:20	90:10	100:0
原料 Ingredients					
花生秧 Peanut vine	50.00	30.00	20.00	10.00	
玉米 Corn	30.00	50.00	60.00	70.00	80.00
麸皮 Wheat bran	5.50	5.50	5.50	5.50	5.50
豆粕 Soybean meal	7.50	7.50	7.50	7.50	7.50
豆饼 Soybean cake	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
预混料 Premix ¹⁾	2.50	2.50	2.50	2.50	2.50
碳酸氢钠 NaHCO ₃	0.50	0.50	0.50	0.50	0.50
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels ²⁾					
代谢能 ME/(MJ/kg)	10.10	10.91	11.29	11.81	12.15
干物质 DM	86.04	85.65	85.48	85.22	85.06
粗蛋白质 CP	13.41	12.67	12.32	11.95	11.56
非纤维性碳水化合物 NFC	40.35	46.25	49.86	54.22	59.18
中性洗涤纤维 NDF	39.63	25.32	20.85	16.13	13.32
酸性洗涤纤维 ADF	20.78	14.43	10.93	8.03	5.78

续表 1

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio				
	50 :50	70 :30	80 :20	90 :10	100 :0
钙 Ca	0.56	0.52	0.49	0.47	0.45
磷 P	0.23	0.24	0.26	0.25	0.26
钙磷比 Ca/P	2.43	2.17	1.88	1.88	1.65

1) 每千克预混料含有 One kilogram of premix contained the following: VA 200 000 IU, VD₃ 50 000 IU, VE 750 mg, Fe 1.5 g, Cu 250 mg, Zn 1.48 g, Mn 990 mg, I 15 mg, Se 15 mg, Co 10 mg。

2) 代谢能为计算值,其他均为实测值。ME was a calculated value, while the others were measured values.

1.3.3 样品测定

瘤胃液采集后,立即用便携 pH 计(AS-PH8, 武汉中测宏图测量仪器有限公司)测定。随机选取 3 只羊同一天的瘤胃液样品混匀后用于菌群测定,5 个混匀瘤胃液样本用于瘤胃异常代谢产物测定,5 个血液样本用于血气和血清生化指标测定。瘤胃液菌群 16S rRNA V3~V4 区测序由天津诺禾致源公司完成。乳酸、组胺和内毒素含量分别使用南京建成生物工程研究所、江苏酶免实业有限公司和厦门鲨试剂生物科技股份有限公司生产的试剂盒测定。血液 pH、二氧化碳分压(pCO₂)、氧分压(pO₂)、二氧化碳总量(tCO₂)以及乳酸、实际碳酸氢盐(HCO₃⁻)、阴离子间隙(AG)和全血碱剩余(BE-B)含量使用全自动血气分析仪(GEM Premier 4000,美国实验室仪器公司)检测。血清中谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)活性及尿素(UN)、总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、间接胆红素(IBIL)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLB)和葡萄糖(GLU)含量使用全自动生化分析仪(TBA-120 FR,日本)检测。

1.4 数据分析

测序数据使用 Qiime 1.9.1 软件进行处理分析。有效测序数据以 97% 的一致性聚类成为操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs),使用 SILVA 132 数据库进行物种注释。Alpha 分析使用 wilcox 秩和检验进行统计分析。数据使用 Excel 2019 整理,统计分析应用 SPSS 26.0 软件中独立样本 *t* 检验及单因素方差分析,多重比较采用 Duncan 氏法。数据以平均值±标准差(mean±SD)表示。

2 结果

2.1 SARA 绵羊模型建立

由表 2 可见,SARA 诱导组瘤胃液 pH 随饲料

精粗比提高而降低,精粗比为 100:0 时共有 27 只绵羊瘤胃液 pH 在 5.2~5.6 持续 3 h 以上。临床观察,CK 组绵羊未见明显异常,瘤胃液较稀薄,气味微臭,色泽偏绿(图 1-A),粪便为较硬颗粒状(图 1-C);SARA 诱导组在精粗比为 100:0 时部分绵羊瘤胃液较浓稠,气味恶臭,色泽偏黄(图 1-B),轻度腹泻,粪便稀软不成形(图 1-D),精神状态未见明显异常。综上判定,SARA 诱导组的 27 只绵羊在精粗比为 100:0 时发生 SARA,构成 SARA 模型组^[5]。

2.2 SARA 对绵羊瘤胃液乳酸、组胺和内毒素含量的影响

由表 3 可见,瘤胃液乳酸、组胺和内毒素含量随饲料精粗比提高而增加,SARA 模型组瘤胃液乳酸、组胺和内毒素含量均显著高于 CK 组($P < 0.05$)。

2.3 SARA 对绵羊瘤胃菌群的影响

2.3.1 Alpha 多样性分析

由表 4 可见,随饲料精粗比提高,瘤胃菌群丰富度指数(Chao1 指数)和多样性指数(Shannon 指数)下降。SARA 模型组 Chao1 指数显著低于 CK 组($P < 0.05$)。

2.3.2 Beta 多样性分析

非度量多维标度(non-metric multidimensional scaling, NMDS)分析基于 Weighted Unifrac 距离,SARA 模型组位于第 1 及第 4 象限,与 CK 组距离较远(图 2-A);主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)基于 Bray Curtis 距离,获得主坐标 1(PC1)的贡献率为 17.14%,SARA 模型组位于第 4 象限,样本较为集中,与 CK 组距离较远(图 2-B)。

表 2 SARA 对绵羊瘤胃液 pH 的影响

Table 2 Effects of SARA on rumen fluid pH of sheep

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio					对照组 CK group
	SARA 诱导组 SARA induction group					
	50 :50	70 :30	80 :20	90 :10	100 :0	
瘤胃液 pH Rumen fluid pH						
平均值 Average value	6.62±0.19 ^a	6.40±0.13 ^a	6.10±0.22 ^b	5.70±0.23 ^c	5.43±0.19 ^d	6.45±0.14 ^a
最大值 Maximum value	6.72±0.07 ^a	6.52±0.05 ^c	6.34±0.05 ^d	5.84±0.06 ^e	5.68±0.05 ^f	6.64±0.06 ^b
最小值 Minimum value	6.46±0.06 ^a	6.26±0.04 ^b	5.83±0.04 ^c	5.42±0.10 ^d	5.24±0.03 ^e	6.27±0.05 ^b
持续时间 Duration time/(h/d)						
pH <5.6	0	0	0	1.82±0.67 ^b	5.33±1.11 ^a	0
pH <5.2	0	0	0	0	0	0

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.



A: 健康绵羊瘤胃液 rumen fluid of healthy sheep; B: SARA 绵羊瘤胃液 rumen fluid of SARA sheep; C: 健康绵羊粪便 feces of healthy sheep; D: SARA 绵羊粪便 feces of SARA sheep。

图 1 SARA 对绵羊瘤胃液及粪便的影响

Fig.1 Effects of SARA on rumen fluid and feces of sheep

表 3 SARA 对绵羊瘤胃液乳酸、组胺和内毒素含量的影响

Table 3 Effects of SARA on contents of lactic acid, histamine and endotoxin in rumen fluid of sheep

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio					对照组 CK group
	SARA 诱导组 SARA induction group					
	50 :50	70 :30	80 :20	90 :10	100 :0	
乳酸 Lactic acid/(mmol/L)	0.99±0.30 ^b	1.18±0.22 ^b	1.29±0.31 ^b	2.06±0.69 ^a	2.09±0.20 ^a	0.93±0.30 ^b
组胺 Histamine/(ng/mL)	11.77±0.89 ^d	14.25±0.74 ^c	19.06±1.72 ^b	19.54±0.47 ^b	22.92±1.07 ^a	13.07±1.20 ^{cd}
内毒素 Endotoxin/[lg(EU/mL)]	5.28±0.08 ^d	5.55±0.06 ^c	5.68±0.02 ^b	5.78±0.03 ^{ab}	5.82±0.13 ^a	5.31±0.09 ^d

2.3.3 门水平与属水平下瘤胃菌群结构分析

门水平下, SARA 诱导组在精粗比为 90:10 时最优菌门为厚壁菌门 (Firmicutes), 其余各组最优菌门为拟杆菌门 (Bacteroidetes); 与 CK 组相比,

SARA 模型组厚壁菌门、放线菌门 (Actinobacteria) 和变形菌门 (Proteobacteria) 相对丰度增加, 拟杆菌门相对丰度降低 (图 3-A)。属水平下, SARA 诱导组在精粗比为 90:10 时最优菌属为 Pseudoscar-

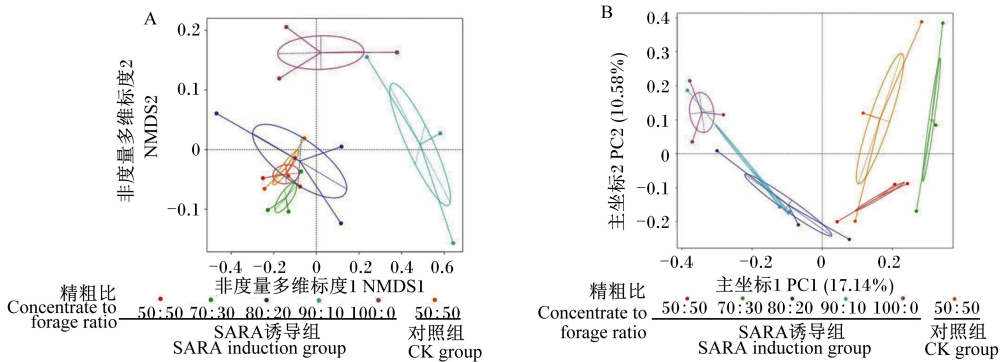
dovia,其余各组最优菌属为普雷沃氏菌科未确定菌属(unidentified Prevotellaceae);与CK组相比,SARA模型组普雷沃氏菌科未确定菌属、罗氏菌属(*Roseburia*)和*Pseudoscardovia*相对丰度增加

(图3-B)。SARA模型组在属水平下,双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)和*Pseudoscardovia*为具有生物学及统计学意义的差异物种(图3-C)。

表4 SARA对绵羊瘤胃菌群Alpha多样性的影响

Table 4 Effects of SARA on Alpha diversity of rumen bacterial flora of sheep

项目 Items	精粗比 Concentrate to forage ratio					
	SARA 诱导组 SARA induction group					对照组 CK group
	50 :50	70 :30	80 :20	90 :10	100 :0	50 :50
Chao1 指数 Chao1 index	489.04±72.03 ^a	411.08±42.85 ^a	418.60±63.25 ^a	361.05±52.79 ^{ab}	294.97±3.36 ^b	441.79±51.11 ^a
Shannon 指数 Shannon index	4.15±2.00	4.06±1.16	4.12±1.73	3.48±0.73	3.24±0.24	4.05±1.13



A:非度量多维标度分析 NMSD analysis;B:主坐标分析 PCoA。

图2 SARA对绵羊瘤胃菌群Beta多样性的影响

Fig.2 Effects of SARA on Beta diversity of rumen bacterial flora of sheep

2.3.4 Tax4Fun 功能预测

由图4可见,SARA模型组瘤胃菌群代谢相关二级功能层基因富集存在差异,与CK组相比,主要体现在碳水化合物代谢相关基因的相对丰度升高,辅助因子和维生素的代谢、脂质代谢、其他次生代谢产物的生物合成和其他氨基酸的代谢相关基因的相对丰度降低。

2.4 SARA对绵羊血气分析的影响

由表5可见,血气分析结果显示,SARA模型组血液乳酸含量显著高于CK组($P<0.05$),SARA模型组血液二氧化碳总量、实际碳酸氢盐及全血碱剩余含量均显著低于CK组($P<0.05$)。

2.5 SARA对绵羊血清生化指标的影响

由表6可见,SARA模型组血清组胺和内毒素含量显著高于CK组($P<0.05$),血清谷丙转氨酶活性显著低于CK组($P<0.05$),其余血清生化指

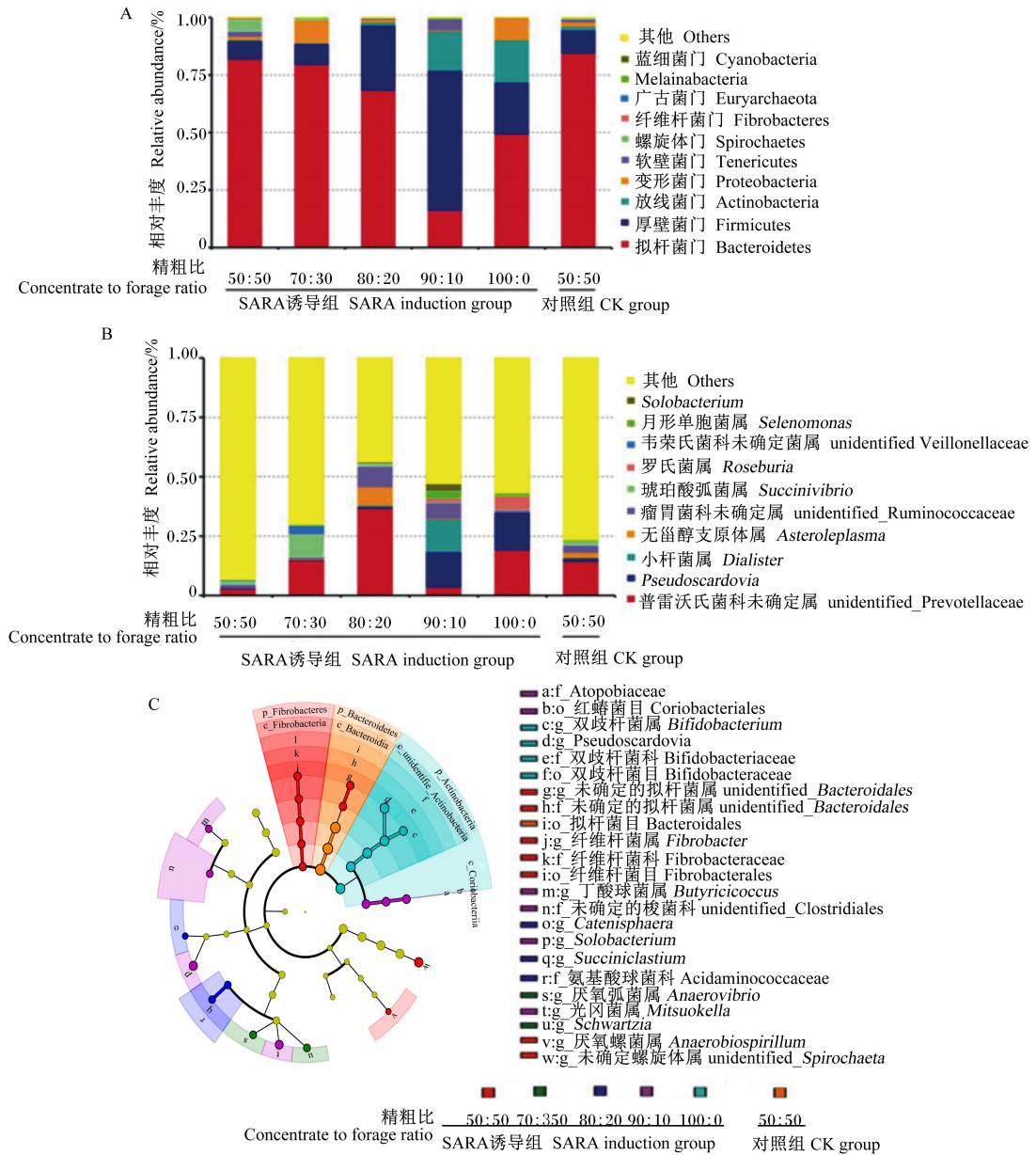
标与CK组差异不显著($P>0.05$)。

3 讨论

瘤胃pH受饲料影响,一般情况下,反刍动物瘤胃pH维持在6.5~7.5^[17]。瘤胃菌群变化与饲料组成、饲养环境和管理模式等相关^[18-19]。动物长期采食高精料饲料,瘤胃异常发酵,导致瘤胃pH下降,瘤胃菌群改变^[20]。Plaizier等^[21]诱导奶牛SARA,发现瘤胃微生物区系丰富度和多样性降低。众多研究发现,反刍动物瘤胃最优菌门为拟杆菌门,最优菌属为普雷沃氏菌属^[22-27]。李小玉等^[27]研究急性瘤胃酸中毒山羊,发现瘤胃厚壁菌门相对丰度增加,拟杆菌门相对丰度降低。研究表明,SARA奶牛普雷沃氏菌属相对丰度提升^[28],瘤胃壁菌群碳水化合物代谢相关基因高表达^[29]。本研究与上述结果相似,瘤胃内酸性环境导致瘤

胃菌群发生变化,大量瘤胃细菌因不适酸性环境而死亡,进而菌群丰富度和多样性降低,造成瘤胃健康破坏和生产效能降低^[30]。SARA 模型组瘤胃厚壁菌门相对丰度增加,主要为降解纤维类物质和碳水化合物的菌种,进而引起菌群碳水化合物相关代谢基因富集,有助于反刍动物瘤胃代谢^[24]。

绵羊发生 SARA 后,瘤胃内毒素含量显著升高,因拟杆菌门内革兰氏阴性细菌大量死亡,拟杆菌门相对丰度降低,细菌裂解释放内毒素^[25]。罗氏菌属相对丰度提升,瘤胃液乳酸含量显著增加,表明 SARA 会增加瘤胃乳酸产生菌,导致瘤胃乳酸积累,pH 下降。



A: 门水平菌群结构堆积柱状图 stacking histogram of bacterial community structure at phylum level; B: 属水平菌群结构堆积柱状图 stacking histogram of bacterial community structure at genus level; C: 线性判别分析分枝进化图 LfSe analysis branching evolution diagram。

图 3 SARA 对绵羊瘤胃菌群结构的影响

Fig.3 Effects of SARA on rumen bacterial flora structure of sheep

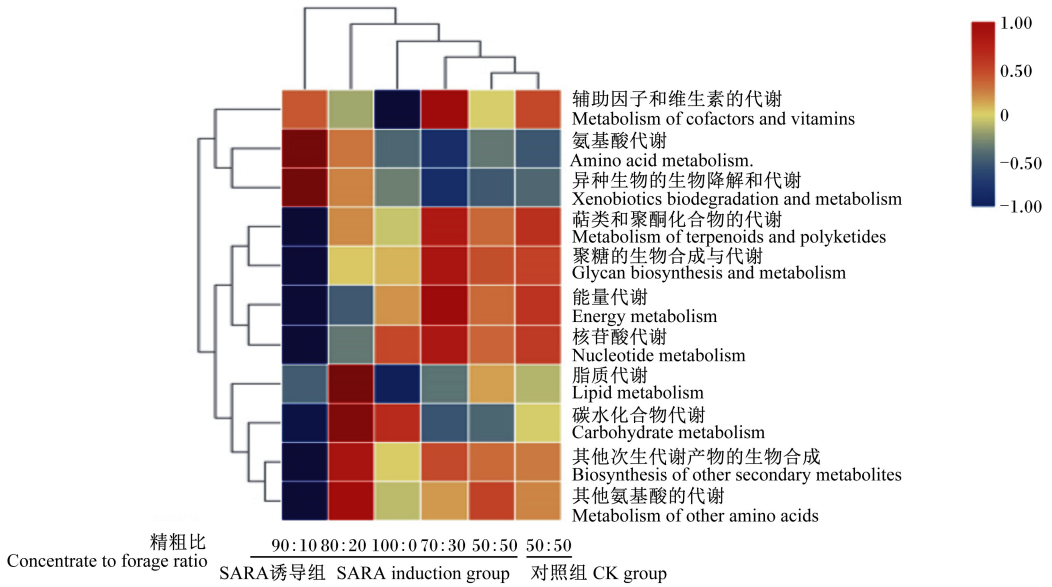


图 4 代谢相关功能基因预测热图

Fig.4 Heatmap of metabolism-related functional gene prediction

表 5 SARA 对绵羊血气分析的影响

Table 5 Effects of SARA on blood gas analysis of sheep

项目 Items	SARA 模型组 SARA model group	对照组 CK group
pH	7.31±0.07	7.37±0.07
乳酸 Lactic acid/(mmol/L)	10.37±0.88 ^a	8.46±1.51 ^b
二氧化碳分压 pCO ₂ /mmHg	47.20±7.22	52.00±10.53
氧分压 pO ₂ /mmHg	42.20±2.71	38.80±5.74
二氧化碳总量 tCO ₂ /(mmol/L)	25.06±2.63 ^b	30.98±3.46 ^a
实际碳酸氢盐 HCO ₃ ⁻ /(mmol/L)	23.62±2.62 ^b	29.14±3.43 ^a
阴离子间隙 AG/(mmol/L)	19.00±5.22	13.40±4.36
全血碱剩余 BE-B/(mmol/L)	-2.94±3.37 ^b	3.04±3.20 ^a

表 6 SARA 对绵羊血清生化指标的影响

Table 6 Effects of SARA on serum biochemical indexes of sheep

项目 Items	SARA 模型组 SARA model group	对照组 CK group
组胺 HIS/(ng/mL)	17.51±0.17 ^a	13.95±2.10 ^b
内毒素 LPS/(×10 ⁻² EU/mL)	3.26±0.73 ^a	1.56±0.67 ^b
谷草转氨酶 AST/(U/L)	132.00±12.21	126.18±14.90
谷丙转氨酶 ALT/(U/L)	13.40±1.96 ^b	20.08±4.36 ^a
尿素 UN/(mmol/L)	6.94±2.44	5.67±0.88
总胆红素 TBIL/(μmol/L)	0.44±0.12	0.48±0.12
直接胆红素 DBIL/(μmol/L)	0.14±0.05	0.14±0.05
间接胆红素 IBIL/(μmol/L)	0.30±0.09	0.34±0.08
总蛋白 TP/(g/L)	61.16±2.26	59.14±3.66
白蛋白 ALB/(g/L)	31.06±0.69	30.16±0.81
球蛋白 GLB/(g/L)	30.10±2.08	28.98±4.22
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	6.78±1.87	6.57±0.94

SARA 模型组血气分析结果与胡红莲^[14]和苑学^[31]研究结果一致,血液 pH、二氧化碳分压、实际碳酸氢盐和全血碱剩余含量降低,氧分压含量升高。SARA 绵羊血液乳酸含量显著升高,表明瘤胃液乳酸吸收超过肝脏处理能力,导致血液 pH 下降,血液过多的氢离子(H⁺)由血液实际碳酸氢盐缓冲,进而降低机体碱储,发生代谢性酸中毒。SARA 模型组瘤胃内毒素积累,促进炎症介质组胺的产生,二者同时进入血液循环,血液与瘤胃液内毒素和组胺含量显著升高,可能会引发一系列炎症反应^[32]。血清生化指标可以反映机体营养代谢状况以及肝肾功能状况。孙燕勇等^[33]研究发现,SARA 山羊有一定程度的肝功能损伤,本研究未发现肝脏损害,各项血清生化指标均处于正常范围,可能与 SARA 持续时间有关。

4 结 论

本研究通过逐步递增饲料精粗比成功构建绵羊 SARA 模型。绵羊发生 SARA 时,瘤胃内环境改变,瘤胃菌群丰富度降低,厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、普雷沃氏菌科未确定菌属、罗氏菌属和 *Pseudoscardovia* 相对丰度增加,拟杆菌门相对丰度下降,血液和瘤胃液乳酸、内毒素和组胺含量升高,机体碱储降低,发生代谢性酸中毒。

致谢:

感谢山西保森畜牧有限公司提供的试验场地。

参考文献:

- [1] KLEEN J L, HOOIJER G A, REHAGE J, et al. Subacute ruminal acidosis (SARA): a review [J]. *Journal of Veterinary Medicine A*, 2003, 50(8): 406-414.
- [2] GIGER-REVERDIN S. Recent advances in the understanding of subacute ruminal acidosis (SARA) in goats, with focus on the link to feeding behaviour [J]. *Small Ruminant Research*, 2018, 163: 24-28.
- [3] JIN D, CHANG G J, ZHANG K, et al. Rumen-derived lipopolysaccharide enhances the expression of lingual antimicrobial peptide in mammary glands of dairy cows fed a high-concentrate diet [J]. *BMC Veterinary Research*, 2016, 12: 128.
- [4] STEFAŃSKA B, NOWAK W, KOMISAREK J, et al. Prevalence and consequence of subacute ruminal acidosis in Polish dairy herds [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2017, 101(4): 694-702.
- [5] ABDELA N. Sub-acute ruminal acidosis (SARA) and its consequence in dairy cattle: a review of past and recent research at global prospective [J]. *Achievements in the Life Sciences*, 2016, 10(2): 187-196.
- [6] NAGARAJA T G, TITGEMEYER E C. Ruminal acidosis in beef cattle: the current microbiological and nutritional outlook [J]. *Journal of Dairy Science*, 2007, 90(Suppl.1): E17-E38.
- [7] GOLDER H M, LEAN I J, RABIEE A R, et al. Effects of grain, fructose, and histidine feeding on endotoxin and oxidative stress measures in dairy heifers [J]. *Journal of Dairy Science*, 2013, 96(12): 7881-7891.
- [8] KHAFIPOU E, KRAUSE D O, PLAIZIER J C. Alfalfa pellet-induced subacute ruminal acidosis in dairy cows increases bacterial endotoxin in the rumen without causing inflammation [J]. *Journal of Dairy Science*, 2009, 92(4): 1712-1724.
- [9] 曾光. 酵母复合微生态制剂对 SARA 山羊模型的调控作用 [D]. 硕士学位论文. 长春: 吉林大学, 2016: 16-31.
ZENG G. Regulatory effect of the yeast complex micro ecological agents on the model of SARA goats [D]. Master's Thesis. Changchun: Jilin University, 2016: 16-31. (in Chinese)
- [10] KIM Y H, NAGATA R, OHKUBO A, et al. Changes in ruminal and reticular pH and bacterial communities in Holstein cattle fed a high-grain diet [J]. *BMC Veterinary Research*, 2018, 14: 310.
- [11] TSUCHIYA Y, CHIBA E, SUGINO T, et al. Changes in rumen fermentation, bacterial community, and predicted functional pathway in Holstein cows with and without subacute ruminal acidosis during the periparturient period [J]. *Journal of Dairy Science*, 2020, 103(5): 4702-4716.
- [12] 杜春梅, 孙福昱, 蒋林树, 等. 饲料中添加硫胺素缓解奶牛亚急性瘤胃酸中毒的研究进展 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(2): 530-535.
DU C M, SUN F Y, JIANG L S, et al. Research progress on thiamine supplementation alleviates subacute ruminal acidosis in dairy cows [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(2): 530-535. (in Chinese)
- [13] ZEITZ J O, GUERTLER P, PFAFFL M W, et al. Effect of non-starch-polysaccharide-degrading enzymes as feed additive on the rumen bacterial population in non-lactating cows quantified by real-time PCR [J]. *Journal of Animal Physiology & Animal Nutrition*, 2013, 97(6): 1104-1113.
- [14] 胡红莲. 奶山羊亚急性瘤胃酸中毒营养生理机制的研究 [D]. 博士学位论文. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2008: 40-45.
HU H L. Study on the nutritional and physiological

- mechanism of subacute ruminal acidosis in dairy goats [D]. Ph.D. Thesis. Huhhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2008: 40–45. (in Chinese)
- [15] 赵晨旭. 人工诱导 SARA 山羊瘤胃微生物区系的变化及微生态制剂的调控作用[D]. 硕士学位论文. 长春: 吉林大学, 2013: 18–40.
ZHAO C X. Regulation of microecologic preparation on ruminal microbial flora in artificial induced SARA goat[D]. Master's Thesis. Changchun: Jilin University, 2013: 18–40. (in Chinese)
- [16] SUN Y Y, CHENG M, XU M, et al. The effects of subacute ruminal acidosis on rumen epithelium barrier function in dairy goats[J]. *Small Ruminant Research*, 2018, 169: 1–7.
- [17] FANIYI T O, ADEGBEYE M J, ELGHANDOUR M M M Y, et al. Role of diverse fermentative factors towards microbial community shift in ruminants [J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2019, 127 (1) : 2–11.
- [18] 郭威, 郭晓军, 周贤, 等. 复合菌剂发酵玉米秸秆对绵羊瘤胃液细菌多样性的影响[J]. *畜牧兽医学报*, 2018, 49(4): 736–745.
GUO W, GUO X J, ZHOU X, et al. Effect of corn stalk fermented by complex bacterial on rumen bacteria diversity in sheep[J]. *Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences*, 2018, 49(4): 736–745. (in Chinese)
- [19] 李永洙, 韩照清, 金太花, 等. 代乳粉对沂蒙黑山羊羔羊早期生长性能及其瘤胃微生物区系的影响[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(8): 3600–3611.
LI Y Z, HAN Z Q, JIN T H, et al. Effects of milk replacer on growth performance and rumen microflora in early weaning yimeng black lambs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(8): 3600–3611. (in Chinese)
- [20] NORDLUND K V, COOK N B, OETZEL G R. Investigation strategies for laminitis problem herds[J]. *Journal of Dairy Science*, 2004, 87 (Suppl.1) : E27–E35.
- [21] PLAIZIER J C, LI S C, DANSCHER A M, et al. Changes in microbiota in rumen digesta and feces due to a grain-based subacute ruminal acidosis (SARA) challenge[J]. *Microbial Ecology*, 2017, 74(2): 485–495.
- [22] LIU K Z, XU Q, WANG L Z, et al. The impact of diet on the composition and relative abundance of rumen microbes in goat [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(4): 531–537.
- [23] WANNG L Z, XU Q, KONG F L, et al. Exploring the goat rumen microbiome from seven days to two years [J]. *PLoS One*, 2016, 11(5): e0154354.
- [24] 金磊, 王立志, 王之盛, 等. 基于高通量测序技术对山羊盲肠细菌多样性的分析[J]. *微生物学通报*, 2019, 46(6): 1423–1433.
- JIN L, WANG L Z, WANG Z S, et al. Analysis of cecum bacterial diversity of goat based on Illumina MiSeq sequencing [J]. *Microbiology China*, 2019, 46(6): 1423–1433. (in Chinese)
- [25] MAO S Y, ZHANG R Y, WANG D S, et al. Impact of subacute ruminal acidosis (SARA) adaptation on rumen microbiota in dairy cattle using pyrosequencing [J]. *Anaerobe*, 2013, 24: 12–19.
- [26] JAMI E, MIZRAHI I. Composition and similarity of bovine rumen microbiota across individual animals [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e33306.
- [27] 李小玉, 苏思毅, 钟富超, 等. 山羊急性瘤胃酸中毒前后瘤胃菌群结构与组成变化分析[J]. *动物营养学报*, 2019, 31(11): 5367–5377.
LI X Y, SU S Y, ZHONG F C, et al. Analysis on structure and composition of rumen bacterial flora before and after acute rumen acidosis in goats[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(11): 5367–5377. (in Chinese)
- [28] MCCANN J C, LUAN S Y, CARDOSO F C, et al. Induction of subacute ruminal acidosis affects the ruminal microbiome and epithelium[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 701.
- [29] MANN E, WETZELS S U, WAGNER M, et al. Metatranscriptome sequencing reveals insights into the gene expression and functional potential of rumen wall bacteria[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 43.
- [30] ZHANG R Y, YE H M, LIU J H, et al. High-grain diets altered rumen fermentation and epithelial bacterial community and resulted in rumen epithelial injuries of goats [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(1): 6981–6992.
- [31] 苑学. 肉牛亚急性瘤胃酸中毒微生态制剂的研制及其效果评价[D]. 博士学位论文. 长春: 吉林大学, 2011: 59–66.
YUAN X. Development of microecologic preparation for subacute ruminal acidosis of beef cattle and its effects[D]. Ph.D. Thesis. Changchun: Jilin University, 2011: 59–66. (in Chinese)
- [32] OETZEL G R. Diagnosis and management of subacute ruminal acidosis in dairy herds [J]. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 2017, 33(3): 463–480.
- [33] 孙燕勇, 徐明, 高民, 等. 不同 NFC/NDF 比日粮对奶山羊血浆代谢产物及生化指标的影响[C]//中国畜牧兽医学动物营养学会第十二次动物营养学术研讨会论文集. 武汉: 中国农业大学出版社, 2016: 537.
SUN Y Y, XU M, GAO M, et al. Effects of different NFC/NDF ration on plasma metabolites and biochemical indexes of dairy goats [C]//Proceedings of the

twelfth symposium on animal nutrition of the animal
nutrition branch of the Chinese Society of Animal

Husbandry and Veterinary Medicine. Wuhan: China
Agricultural University Press, 2016:537. (in Chinese)

Effects of Subacute Ruminal Acidosis on Rumen Abnormal Metabolites, Rumen Bacterial Flora and Blood Related Indexes of Sheep

HAN Guohao¹ GAO Xiaosha¹ DUAN Jinwei¹ ZHANG Huiqin¹ ZHENG Yan¹ MA Linfeng¹
HE Jinxing¹ HUO Nairui¹ PEI Caixia² GU Shaopeng^{1*}

(1. College of Veterinary Medicine, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China; 2. College of Animal Science, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: In order to provide a theoretical basis for prevention and cure of sheep subacute ruminal acidosis (SARA), the effects of rumen abnormal metabolites, rumen bacterial flora, blood gas and serum biochemical indexes were explored after sheep SARA-induced by gradually increasing the concentrate to forage ratio. Fifty 2-month-old weaned Dorper sheep (♂) × Hu sheep (♀) F1 generations were randomly divided into two groups. The control group (CK group, $n=15$) was fed a basal diet with concentrate to forage ratio of 50:50, while the SARA induction groups ($n=35$) were fed diets with gradually increased the concentrate to forage ratios of 50:50, 70:30, 80:20, 90:10 and 100:0 for 7 d at each ratio. Sheep in the SARA induction groups whose rumen fluid pH was between 5.2 and 5.6 for more than 3 h constituted the SARA model group. The rumen fluid was collected at 1, 2, 3, 4, 5, 6 and 8 h after morning feeding on the 7th day of each ratio, and the rumen abnormal metabolites contents and bacterial flora structure were measured. Then, the jugular vein blood was collected from the CK group and the SARA model group, and the blood gas and serum biochemical indexes were measured. The results showed as follows: 1) when the concentrate to forage ratio was 100:0, rumen pH of 27 sheep in SARA induction group was 5.2 to 5.6 and lasted for more than 3 h, which were made into the SARA model group. Furthermore, some sheep had diarrhoea, and the rumen fluid was yellowish, smelly and sticky. 2) The Chao1 index of SARA model group was significantly lower than that of CK group ($P<0.05$), the rumen bacterial flora structure changed, the relative abundance of lactic acid-producing bacteria increased, and the genes related to carbohydrate metabolism in the rumen bacterial flora increased. 3) The contents of lactic acid, histamine and endotoxin in the rumen fluid and blood of SARA model group were significantly higher than those of CK group ($P<0.05$). 4) The contents of total amount of carbon dioxide, actual bicarbonate and total blood alkali in blood of SARA model group were significantly lower than those of CK group ($P<0.05$). 5) The serum alanine aminotransferase activity of SARA model group was significantly lower than that of CK group ($P<0.05$), and both serum biochemical indexes were in the normal range. In summary, the richness of rumen bacterial flora decreases, the bacterial flora structure changes and the lactic acid-producing bacteria relative abundance increases in SARA sheep, the contents of lactic acid, endotoxin and histamine in blood and rumen fluid increase, and metabolic acidosis occurs. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(4):2158-2167]

Key words: subacute ruminal acidosis; sheep; rumen bacterial flora; metabolic acidosis; inflammatory response