

不同益生菌对断奶山羊生长性能、血清生化指标以及粪便菌群的影响

卢佳伟¹ 王金刚² 高琴¹ 刘孜斐¹ 陈姿利¹ 黄群浩³ 张艳丽^{1,2*} 王锋^{1,2*}

(1.南京农业大学动物科技学院,南京 210095;2.南京农业大学海门山羊研发中心,海门 216121;

3.南通市海门区畜牧兽医站,南通 226100)

摘要: 本试验旨在研究枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌单独饲喂与联合饲喂对断奶山羊生长性能、腹泻率、血清生化指标以及粪便菌群的影响。选取 60 只 3 月龄海门山羊,随机分为 4 组,每组 3 个重复,每个重复 5 只羊。对照组(C 组)饲喂基础饲料;枯草芽孢杆菌组(BS 组)饲喂基础饲料+400 mg/kg 的枯草芽孢杆菌(有效活菌数为 1×10^{11} CFU/g);地衣芽孢杆菌组(BL 组)饲喂基础饲料+400 mg/kg 的地衣芽孢杆菌(有效活菌数为 1×10^{11} CFU/g);联合饲喂组(BS-BL 组)饲喂基础饲料+400 mg/kg 的枯草芽孢杆菌+400 mg/kg 的地衣芽孢杆菌(有效活菌数为 1×10^{11} CFU/g)。预试期 10 d,正试期 30 d。结果表明:1) 试验第 10 天,BS-BL 组断奶山羊的体重极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组($P < 0.01$);试验第 30 天,C 组、BS 组、BL 组与 BS-BL 组的断奶山羊的体重无显著差异($P > 0.05$);试验第 1~10 天,BS-BL 组的平均日增重(ADG)极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组($P < 0.01$);试验第 21~30 天,BL 组与 BS-BL 组的 ADG 极显著高于 C 组与 BS 组($P < 0.01$);试验第 1~30 天,试验组与 C 组的 ADG 无显著差异($P > 0.05$);试验第 21~30 天,BS-BL 组的平均日采食量(ADFI)极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组($P < 0.01$);试验第 1~30 天,BS-BL 组的 ADFI 显著高于 C 组、BS 组与 BL 组($P < 0.05$);试验第 1~30 天,试验组与 C 组的料重比(F/G)差异不显著($P > 0.05$)。2) 试验第 1~10 天、第 11~20 天,BS 组、BL 组与 BS-BL 组的腹泻率显著低于 C 组($P < 0.05$);第 1~30 天,BS-BL 组的腹泻率显著低于 C 组($P < 0.05$)。3) 试验第 30 天,BS 组的血清葡萄糖(GLU)含量、碱性磷酸酶(ALP)和乳酸脱氢酶(LDH)活性显著低于 C 组($P < 0.05$),血清谷草转氨酶(AST)活性和白蛋白(ALB)含量极显著低于 C 组($P < 0.01$);BL 组血清尿素氮(UN)含量显著高于 C 组($P < 0.05$),BS-BL 组血清 AST 活性和 GLU 含量显著低于 C 组($P < 0.05$)。4) 粪便进行 16S rDNA 测序发现,Chao1 和 observed-species 指数显示 BS-BL 组所含物种数目较多,Shannon 和 Simpson 指数显示 BS-BL 组多样性高。C 组细菌的优势菌门为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门;BS 组细菌的优势菌门为放线菌门、变形菌门、拟杆菌门;BL 组细菌的优势菌门为拟杆菌门、变形菌门、浮霉菌门;BS-BL 组细菌的优势菌门为拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门。C 组细菌的优势菌属为堆囊菌属、土地杆菌属、球孢菌属;BS 组细菌的优势菌属为野野村菌属、嗜红杆菌属、堆囊菌属;BL 组细菌的优势菌属为副足杆菌属、野野村菌属、扁平菌属;BS-BL 组细菌的优势菌属为 Marinilabiliaceae_unclassified、假单胞菌属、Clostridiales_vadinBB60_group_unclassified。综上所述,枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂能显著提高断奶山羊的生长性能,降低腹泻率,改善血清生化指标,改变粪便菌群的多样性以及丰富度。

收稿日期:2020-11-03

基金项目:国家重点研发计划项目(2018YFD0501901);江苏现代农业产业技术体系建设专项(JATS[2020]427)

作者简介:卢佳伟(1995—),男,河北张家口人,硕士研究生,研究方向为反刍动物营养。E-mail: 1841600240@qq.com

* 通信作者:张艳丽,教授,博士生导师,E-mail: zhangyanli@njau.edu.cn;王 锋,教授,博士生导师,E-mail: caeet@njau.edu.cn

关键词: 益生菌;断奶山羊;生长性能;血清生化指标;粪便菌群

中图分类号: S828

文献标识码: A

文章编号: 1006-267X(2021)05-2752-13

2020年7月1日我国饲料实行全面禁抗,如何减少禁抗所引发的各种问题,一方面需要我们为全面禁抗做好准备,另一方面要坚决遏制抗生素的滥用。过去人们使用了多种能够促进动物健康并且提高生长性能的饲料添加剂,尤其是抗生素被广泛使用,期望能够改善动物的消化道微生物,并提高生长性能和维持动物健康。但是,抗生素的长期使用将导致微生物的耐药性增强,对消费者的健康和环境构成威胁^[1]。因此,人们寻求了绿色和安全的饲料添加剂,枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌应用较为广泛,被认为是安全可靠的人类和动物益生菌,这些菌具有抗菌、抗癌、抗氧化剂等特性。此外,它有很大潜力被用作抗菌药物的替代品,这在动物生产中滥用抗生素的背景下具有重要意义^[2-3]。农业部在2013年12月30日发布的3045号公告《饲料添加剂品种目录(2013)》规定了可以作为添加剂添加到饲料中的地衣芽孢杆菌、枯草芽孢杆菌、两歧双歧杆菌等34种菌种,其中枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌能够提高动物的消化率以及生长性能^[4-5]。Kim等^[6]将枯草芽孢杆菌饲喂韩国本地小母牛能够提高小母牛的生长性能并且改善健康状况;Jia等^[7]在饲料中添加了枯草芽孢杆菌、酿酒酵母与蛋白酶的复合生物制剂,饲喂育肥羔羊后发现提高了育肥羔羊的生长性能,改善了抗氧化能力与免疫功能,并且提高了瘤胃微生物的多样性;丁浩等^[8]在饲料中添加枯草芽孢杆菌能够改善保育猪的血浆生化参数,降低腹泻率,进而提高生长性能。也有研究表明,饲喂生长育肥猪枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌的复合物显著增加了干物质的消化率,并且增加了粪便中乳酸菌的数量^[9]。枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂对断奶山羊生长性能影响的研究报道较少,因此,本研究将枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌单独饲喂以及联合饲喂断奶山羊,评估其对生长性能、腹泻率以及血清生化指标的影响,并且利用高通量测序技术检测其对粪便菌群的影响。探索枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂对生长性能与粪便菌群的影响是否优于单独饲喂,旨在为枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌在断奶山羊饲料中的应用提供理论与实践依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

枯草芽孢杆菌活菌数 $\geq 1 \times 10^{11}$ CFU/g,地衣芽孢杆菌活菌数 $\geq 1 \times 10^{11}$ CFU/g。

1.2 试验动物与试验设计

选取60只体重相近、健康状况良好的3月龄海门山羊,随机分为4组,每组3个重复,每个重复5只羊,每个重复单圈饲养。对照组(C组)饲喂基础饲料;枯草芽孢杆菌组(BS组)饲喂基础饲料+400 mg/kg的枯草芽孢杆菌;地衣芽孢杆菌组(BL组)饲喂基础饲料+400 mg/kg的地衣芽孢杆菌;联合饲喂组(BS_BL组)饲喂基础饲料+400 mg/kg的枯草芽孢杆菌+400 mg/kg的地衣芽孢杆菌。试验期间每天08:00与16:00分别饲喂1次,枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌每天随玉米粉混合后再饲喂给试验山羊。试验于2019年12月至2020年1月在海门山羊研发中心进行,预试期10 d,正试期30 d。

1.3 试验饲料与饲养管理

试验前对羊舍进行全面消毒,试验期间定期对羊舍的地面、墙壁、栏杆、运动场地进行消毒与打扫,试验前对所有羊打耳标并注射驱虫药物。山羊饲喂的基础饲料购自江苏波杜农牧股份有限公司,其组成及营养水平见表1。

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	45.00
玉米胚芽粕 Corn germ meal	12.00
麦芽根 Malt root	6.00
杏鲍菇渣 <i>Pleurotus eryngii</i> residue	5.00
豆粕 Soybean meal	12.00
稻壳 Rice husk	5.00
大豆皮 Soybean hull	10.00
预混料 Premix ¹⁾	5.00
合计 Total	100.00

续表 1

项目 Items	含量 Content
营养水平 Nutrient levels ²⁾	
粗蛋白质 CP	14.87
粗脂肪 EE	3.51
粗灰分 Ash	7.28
钙 Ca	1.12
磷 P	0.42

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 3 000 IU, VD₃ 750 IU, VE 6 mg, 烟酰胺 nicotinamide 11 mg, Cu (as copper sulfate) 11 mg, Fe (as ferrous sulfate) 40 mg, Mn (as manganese sulfate) 50 mg, Zn (as zinc sulfate) 50 mg, Se (as sodium selenite) 0.25 mg, Co (as cobalt chloride) 0.5 mg, I (as calcium iodate) 0.4 mg。

2) 营养水平为实测值。Nutrient levels were measured values.

1.4 测定指标及方法

1.4.1 生长性能测定

分别于试验第 1、10、20、30 天对试验羊进行空腹称重, 计算第 1~10 天、第 11~20 天、第 21~30 天与第 1~30 天每只山羊的平均日增重 (ADG)。每日基础饲料的添加量减去剩余饲料量即为每日的日采食量, 分别计算第 1~10 天、第 11~20 天、第 21~30 天与第 1~30 天每组山羊的平均日采食量 (ADFI), 并计算料重比 (F/G)。

ADG = 试验羊个体总增重 / 试验天数;

ADFI = 每组试验羊总采食量 / 试验天数;

F/G = ADFI / ADG。

1.4.2 腹泻率测定

每天记录每组试验羊的腹泻情况, 并计算腹泻率。

$$\text{腹泻率}(\%) = \left[\frac{\text{腹泻羊只数} \times \text{腹泻天数}}{\text{总试验羊只数} \times \text{试验天数}} \right] \times 100。$$

1.4.3 血清生化指标测定

分别于试验第 1、10、20、30 天对试验羊空腹颈静脉采血 5 mL 于促凝管中, 静置 30 min, 3 000 r/min 离心 15 min, 吸取上清于 2 mL 离心管中, -20 °C 保存待测。测定血清谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、碱性磷酸酶 (ALP)、肌酸激酶 (CK) 和乳酸脱氢酶 (LDH) 的活性以及白蛋白 (ALB)、球蛋白 (GLB)、葡萄糖 (GLU)、总

蛋白 (TP)、甘油三酯 (TG)、总胆固醇 (TC)、肌酐 (Cr) 和尿素氮 (UN) 的含量, 所用试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.4.4 粪便菌群测定

试验最后 3 d 用肛门拭子收集各重复试验羊的粪便样品, 将各重复的粪便样品混合, 置于 -80 °C 冰箱保存待测。将粪便样品送至杭州联川生物技术股份有限公司, 16S rDNA V3~V4 区测序粪便样品中的微生物菌群。

1.5 数据统计与分析

试验数据先用 Excel 2010 进行初步整理, 再采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析, 采用 one-way ANOVA 进行单因素方差分析, 并用 Duncan 氏法进行多重比较检验, 试验数据用平均值 ± 标准差表示, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊生长性能的影响

由表 2 可知, 第 10 天, BS_BL 组断奶山羊的体重极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组 ($P < 0.01$), 第 20 天与第 30 天, C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组间断奶山羊的体重无显著差异 ($P > 0.05$); 第 1~10 天, BS_BL 组断奶山羊的 ADG 极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组 ($P < 0.01$), 第 11~20 天, C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组间断奶山羊的 ADG 无显著差异 ($P > 0.05$), 第 21~30 天, BL 组与 BS_BL 组断奶山羊的 ADG 极显著高于 C 组与 BS 组 ($P < 0.01$), 第 1~30 天, C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组断奶山羊的 ADG 无显著差异 ($P > 0.05$); 试验第 1~10 天与第 11~20 天, C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组断奶山羊的 ADFI 无显著差异 ($P > 0.05$), 第 21~30 天, BS_BL 组 ADFI 极显著高于 C 组、BS 组与 BL 组 ($P < 0.01$), 第 1~30 天, BS_BL 组 ADFI 显著高于 C 组、BS 组与 BL 组 ($P < 0.05$); 第 1~10 天, BS 组与 BL 组的 F/G 显著高于 C 组与 BS_BL 组 ($P < 0.05$), 第 11~20 天、第 21~30 天和第 1~30 天, C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组的 F/G 无显著差异 ($P > 0.05$)。这说明枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂能够显著增加断奶山羊的 ADFI, 单独饲喂无显著差异。因此, 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂能够提高断奶山羊的生长性能。

表 2 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊生长性能的影响

Table 2 Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance of weaned goats

项目 Items	时间 Time	组别 Groups				P 值 P-value
		C	BS	BL	BS_BL	
体重 Body weight/kg	第 1 天 Day 1	12.13±0.23	12.41±0.25	12.52±0.12	12.50±0.14	0.100
	第 10 天 Day 10	12.72±0.20 ^{Bb}	12.68±0.24 ^{Bb}	13.00±0.20 ^{Bb}	13.62±0.38 ^{Aa}	<0.001
	第 20 天 Day 20	13.83±0.77	14.60±0.61	14.43±0.41	14.67±0.80	0.370
	第 30 天 Day 30	14.98±0.83	15.54±0.88	15.82±0.59	16.58±1.01	0.093
平均 日增重	第 1~10 天 Days 1 to 10	64.81±31.59 ^{Bb}	29.37±6.96 ^{Cc}	53.70±25.66 ^{BcBc}	124.07±31.56 ^{Aa}	<0.001
	第 11~20 天 Days 11 to 20	111.67±59.23	192.14±73.53	143.33±23.63	105.00±51.48	0.087
ADG/ (g/d)	第 21~30 天 Days 21 to 30	115.00±20.00 ^{Bb}	94.29±43.92 ^{Bb}	138.33±40.10 ^{ABab}	190.83±44.54 ^{Aa}	0.006
	第 1~30 天 Days 1 to 30	98.28±30.31	107.88±35.99	113.79±19.20	140.52±31.20	0.223
平均日 采食量	第 1~10 天 Days 1 to 10	465.14±122.13	497.51±109.34	496.59±89.37	530.02±87.59	0.217
	第 11~20 天 Days 11 to 20	573.64±94.96	580.51±93.00	571.27±49.50	622.20±104.59	0.126
ADFI/ (g/d)	第 21~30 天 Days 21 to 30	652.51±122.89 ^{Bb}	659.94±67.63 ^{Bb}	628.83±94.32 ^{Bb}	888.34±95.39 ^{Aa}	0.001
	第 1~30 天 Days 1 to 30	560.70±134.31 ^b	570.71±134.20 ^b	563.13±128.55 ^b	671.46±176.14 ^a	0.038
料重比 F/G	第 1~10 天 Days 1 to 10	7.55±3.36 ^{Bb}	17.59±3.28 ^{Aa}	13.46±6.74 ^{Aa}	4.62±1.68 ^{Bb}	<0.001
	第 11~20 天 Days 11 to 20	6.00±2.45	3.58±1.83	4.23±0.62	7.32±3.76	0.087
	第 21~30 天 Days 21 to 30	5.79±1.02	8.57±4.30	4.81±1.40	4.86±1.05	0.120
	第 1~30 天 Days 1 to 30	6.04±1.63	5.81±1.88	5.05±0.90	4.98±1.10	0.658

同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$), 不同大写字母表示差异极显著 ($P<0.01$), 无字母或相同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 ($P<0.05$), and with different capital letter superscripts mean significant difference ($P<0.01$), while with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference ($P>0.05$). The same as below.

2.2 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊腹泻率的影响

由表 3 可知, 第 1~10 天和第 11~20 天, 与对照组相比, BS 组、BL 组与 BS_BL 组断奶山羊的腹泻率显著降低 ($P<0.05$); 第 21~30 天, BS 组、

BL 组与 BS_BL 组间断奶山羊的腹泻率均无显著差异 ($P>0.05$); 第 1~30 天, 与对照组相比, BS、BL 组断奶山羊的腹泻率显著降低 ($P<0.05$)。这说明枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂能够显著降低断奶山羊的腹泻率。

表 3 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊腹泻率的影响

Table 3 Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on diarrhea rate of weaned goats

项目 Items	组别 Groups				P 值 P-value
	C	BS	BL	BS_BL	
第 1~10 天 Days 1 to 10	11.85±2.57 ^a	6.67±2.22 ^b	5.93±1.29 ^b	5.18±1.29 ^b	0.011
第 11~20 天 Days 11 to 20	10.36±2.57 ^a	5.18±1.29 ^b	5.18±1.29 ^b	2.96±2.56 ^b	0.012
第 21~30 天 Days 21 to 30	2.96±2.56	2.22±3.85	1.48±2.56	1.48±2.56	0.511
第 1~30 天 Days 1 to 30	8.39±2.48 ^a	4.69±2.01 ^{ab}	4.20±1.77 ^{ab}	3.21±1.94 ^b	0.048

2.3 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊血清生化指标的影响

由表 4 可知, 第 10 天, 与对照组相比, BS 组的血清 ALT 和 LDH 活性显著降低 ($P<0.05$), ALB 含量极显著降低 ($P<0.01$), UN 含量和尿素氮/肌

酐 (UN/Cr) 显著升高 ($P<0.05$), BS_BL 组血清 ALT 活性显著升高 ($P<0.05$); 第 20 天, 与对照组相比, BS 组血清 UN/Cr 和 AST/ALT 极显著升高 ($P<0.01$), BS 组血清 ALT、ALP 和 LDH 活性极显著降低 ($P<0.01$), ALB、TG 含量和 CK 活性显

著降低 ($P<0.05$), BL 组血清 GLU 和 UN 含量显著升高 ($P<0.05$), TG 含量显著降低 ($P<0.05$), BS_BL 组血清 ALT 活性和 Cr 含量极显著升高 ($P<0.01$); 第 30 天, 与对照组相比, BS 组血清

GLU 含量、ALP、LDH 活性显著降低 ($P<0.05$), AST 活性和 ALB 含量极显著降低 ($P<0.01$), BL 组血清 UN 含量显著升高 ($P<0.05$), BS_BL 组血清 AST 活性和 GLU 含量显著降低 ($P<0.05$)。

表 4 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊血清生化指标的影响

Table 4 Effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on serum biochemical indexes of weaned goats

项目 Items	时间 Time	组别 Groups				P 值 P-value
		C	BS	BL	BS_BL	
谷丙转氨酶 ALT/ (U/L)	第 1 天 Day 1	14.41±1.82 ^{Aa}	11.04±1.86 ^{Bb}	15.75±3.32 ^{Aa}	16.39±2.03 ^{Aa}	0.001
	第 10 天 Day 10	15.93±4.94 ^b	12.81±3.08 ^c	15.31±3.76 ^b	20.74±2.69 ^a	0.019
	第 20 天 Day 20	14.15±3.04 ^{Bb}	9.32±2.23 ^{Cc}	14.17±1.60 ^{Bb}	17.92±3.30 ^{Aa}	<0.001
	第 30 天 Day 30	14.07±3.89	12.06±2.57	13.92±3.60	15.85±1.25	0.186
谷草转氨酶 AST/ (U/L)	第 1 天 Day 1	69.23±12.59	63.85±7.27	63.41±6.48	63.63±7.11	0.547
	第 10 天 Day 10	82.65±12.67	74.01±29.45	73.37±9.25	77.74±8.67	0.749
	第 20 天 Day 20	70.66±12.55	60.11±6.15	67.56±7.98	73.70±12.56	0.105
	第 30 天 Day 30	78.29±12.05 ^{Aa}	60.89±6.19 ^{Bb}	71.44±8.16 ^{Aa}	67.11±3.91 ^{Bb}	0.009
谷草转氨酶/谷丙转氨酶 AST/ALT	第 1 天 Day 1	4.79±0.50 ^{Bb}	5.87±0.85 ^{Aa}	4.18±1.03 ^{BCbc}	3.91±0.49 ^{Cc}	<0.001
	第 10 天 Day 10	5.59±1.79	5.73±1.30	5.02±1.49	3.76±0.17	0.083
	第 20 天 Day 20	5.09±1.01 ^{Bb}	6.73±1.50 ^{Aa}	4.84±0.94 ^{Bb}	4.15±0.56 ^{Bb}	0.001
	第 30 天 Day 30	5.63±1.17	5.27±0.88	5.42±1.54	4.30±0.23	0.265
碱性磷酸酶 ALP/ (U/L)	第 1 天 Day 1	339.31±187.42 ^{Aa}	116.98±63.05 ^{Bb}	534.46±331.91 ^{Aa}	412.96±199.29 ^{Aa}	0.003
	第 10 天 Day 10	431.66±164.09	329.15±299.10	624.58±532.19	659.13±407.21	0.426
	第 20 天 Day 20	235.29±113.64 ^{Aa}	76.31±50.86 ^{Bb}	408.54±338.48 ^{Aa}	375.20±222.94 ^{Aa}	0.008
	第 30 天 Day 30	245.17±113.43 ^a	102.65±71.65 ^b	355.69±322.32 ^a	413.98±222.89 ^a	0.021
葡萄糖 GLU/ (mmol/L)	第 1 天 Day 1	3.67±0.60	3.45±0.80	3.60±0.36	3.44±0.39	0.842
	第 10 天 Day 10	3.77±0.29	3.70±0.61	4.10±0.46	3.95±0.29	0.410
	第 20 天 Day 20	3.79±0.37 ^b	3.58±0.57 ^b	4.55±0.78 ^a	3.46±0.28 ^b	0.012
	第 30 天 Day 30	3.83±0.36 ^a	3.41±0.34 ^b	3.97±0.31 ^a	3.49±0.32 ^b	0.012
总蛋白 TP/ (g/L)	第 1 天 Day 1	46.25±7.79 ^a	39.10±4.91 ^b	45.03±5.63 ^a	37.79±4.55 ^b	0.027
	第 10 天 Day 10	39.98±3.49 ^{ab}	37.34±5.53 ^b	45.81±3.58 ^a	40.57±6.59 ^{ab}	0.041
	第 20 天 Day 20	41.62±7.66	40.14±8.66	43.95±6.92	40.62±7.51	0.798
	第 30 天 Day 30	38.31±4.63	37.76±7.28	41.37±4.63	37.55±6.23	0.481
白蛋白 ALB/ (g/L)	第 1 天 Day 1	29.33±1.65 ^{Aa}	23.94±2.17 ^{Cc}	29.94±1.84 ^{Aa}	27.05±1.70 ^{Bb}	<0.001
	第 10 天 Day 10	28.36±2.52 ^{Aa}	22.99±2.96 ^{Bb}	27.00±2.74 ^{Aa}	29.37±2.02 ^{Aa}	0.003
	第 20 天 Day 20	28.53±2.40 ^a	23.54±3.30 ^b	27.73±1.82 ^a	27.62±3.11 ^a	0.012
	第 30 天 Day 30	26.73±2.40 ^{Aa}	22.10±2.86 ^{Bb}	26.34±2.51 ^{Aa}	27.56±1.92 ^{Aa}	0.002
球蛋白 GLB/ (g/L)	第 1 天 Day 1	16.92±7.61	15.17±4.22	15.08±5.22	10.74±4.04	0.210
	第 10 天 Day 10	11.53±1.97	14.35±6.18	18.80±5.78	11.21±5.48	0.069
	第 20 天 Day 20	13.09±5.63	16.60±6.26	16.22±6.30	13.01±5.52	0.530
	第 30 天 Day 30	11.57±2.42	14.66±5.74	15.03±4.29	9.99±4.93	0.135
白蛋白/球蛋白 ALB/ GLB	第 1 天 Day 1	2.01±0.77	1.69±0.47	2.22±0.83	2.80±0.93	0.076
	第 10 天 Day 10	2.51±0.40	2.02±1.35	1.58±0.60	4.13±4.12	0.274
	第 20 天 Day 20	2.62±1.47	1.71±1.00	1.99±0.90	2.41±0.86	0.412
	第 30 天 Day 30	2.37±0.37	1.69±0.61	1.86±0.49	3.91±3.01	0.056

续表 4

项目 Items	时间 Time	组别 Groups				P 值 P-value
		C	BS	BL	BS_BL	
甘油三酯 TG/ (mmol/L)	第 1 天 Day 1	0.62±0.25	0.42±0.13	0.43±0.93	0.53±0.21	0.153
	第 10 天 Day 10	0.72±0.24	0.51±0.81	0.70±0.27	0.63±0.15	0.353
	第 20 天 Day 20	0.63±0.25 ^a	0.37±0.92 ^b	0.41±0.13 ^b	0.45±0.12 ^a	0.029
	第 30 天 Day 30	1.18±0.81	0.60±0.22	0.50±0.70	0.69±0.50	0.054
总胆固醇 TC/ (mmol/L)	第 1 天 Day 1	1.72±0.32 ^{BCbc}	1.44±0.34 ^{Cc}	2.25±0.37 ^{Aa}	1.89±0.18 ^{Bb}	0.001
	第 10 天 Day 10	2.38±0.50	1.82±0.39	2.13±0.61	1.92±0.28	0.280
	第 20 天 Day 20	1.80±0.36	1.86±0.51	2.20±0.27	2.01±0.26	0.221
	第 30 天 Day 30	2.33±1.04	1.70±0.32	2.17±0.53	1.81±0.18	0.205
尿素氮 UN/ (mg/dL)	第 1 天 Day 1	11.38±2.17 ^b	15.13±2.20 ^a	12.54±2.00 ^a	11.26±3.63 ^b	0.035
	第 10 天 Day 10	7.88±2.02 ^b	10.84±1.94 ^a	8.47±0.90 ^{ab}	8.76±2.22 ^{ab}	0.048
	第 20 天 Day 20	12.99±4.03 ^b	13.58±2.82 ^{ab}	15.58±1.96 ^a	14.77±2.97 ^{ab}	0.041
	第 30 天 Day 30	9.59±3.01 ^b	10.50±1.01 ^{ab}	12.12±2.19 ^a	10.20±2.33 ^{ab}	0.032
肌酐 Cr/ (umol/L)	第 1 天 Day 1	38.05±6.65 ^B	32.11±4.52 ^B	41.98±8.38 ^A	50.17±9.65 ^A	0.001
	第 10 天 Day 10	43.57±11.00	35.16±17.27	45.89±7.99	43.32±11.19	0.530
	第 20 天 Day 20	36.39±7.53 ^{BCbc}	25.92±7.66 ^{Cc}	45.16±10.07 ^{Bb}	66.40±17.78 ^{Aa}	<0.001
	第 30 天 Day 30	51.85±23.70	47.08±23.38	63.44±28.61	51.12±8.57	0.417
尿素氮/ 肌酐 UN/Cr	第 1 天 Day 1	0.30±0.05 ^{Bb}	0.47±0.05 ^{Aa}	0.31±0.09 ^{Bb}	0.24±0.10 ^{Bb}	<0.001
	第 10 天 Day 10	0.19±0.07 ^b	0.36±0.15 ^a	0.19±0.03 ^b	0.22±0.10 ^b	0.027
	第 20 天 Day 20	0.33±0.06 ^{Bb}	0.57±0.19 ^{Aa}	0.37±0.17 ^{Bb}	0.23±0.46 ^{Bb}	0.001
	第 30 天 Day 30	0.22±0.12	0.26±0.10	0.23±0.07	0.20±0.06	0.667
肌酸激酶 CK/ (U/L)	第 1 天 Day 1	248.25±51.10	205.09±33.14	262.35±101.29	198.73±59.11	0.218
	第 10 天 Day 10	267.84±68.45	193.86±32.06	225.58±58.22	323.82±251.25	0.470
	第 20 天 Day 20	238.69±52.41 ^a	180.55±42.06 ^b	238.69±50.77 ^a	203.84±27.60 ^{ab}	0.043
	第 30 天 Day 30	236.22±48.44	172.16±37.08	242.72±129.77	186.71±33.29	0.236
乳酸 脱氢酶 LDH/ (U/L)	第 1 天 Day 1	349.20±111.10 ^a	223.93±65.54 ^c	249.32±20.28 ^{bc}	328.91±64.08 ^{ab}	0.012
	第 10 天 Day 10	329.39±50.88 ^a	248.90±54.19 ^b	260.75±69.97 ^{ab}	331.31±55.46 ^a	0.012
	第 20 天 Day 20	283.27±56.08 ^{ACac}	203.78±52.01 ^{Bb}	238.31±22.91 ^{BCbc}	298.23±30.14 ^{Aa}	0.002
	第 30 天 Day 30	325.00±71.87 ^a	220.26±53.56 ^b	296.34±65.12 ^a	303.46±44.16 ^a	0.017

2.4 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊粪便菌群的影响

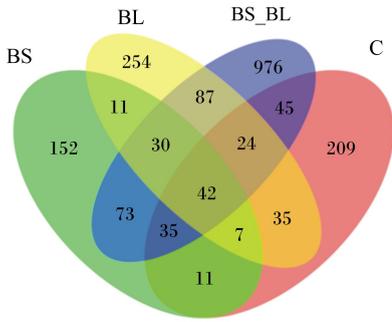
2.4.1 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊粪便菌群丰富度和多样性的影响

2.4.1.1 粪便菌群 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性是指一个特定环境或生态系统内的多样性,主要用来反映物种的丰富度和均匀度。主要通过细菌操作分类单元(OTUs)稀释曲线、feature 分布 Venn 图、Alpha 多样性指数进行分析。C 组、BS 组、BL 组与 BS_BL 组分别得到 84 297、84 327、83 267 和 86 188 个原始数据,经过双端拼接、质量控制、嵌合体过滤后得到 76 847、66 677、72 843 和 71 296 个有效数据,有效率分别达到 91.16%、79.07%、87.48% 和 82.72%。由图 1 可知,4 个组总共有 1 991 个 OTUs,共同有 42 个

OTUs,C 组有 209 个差异 OTUs,BS 组有 152 个差异 OTUs,BL 组有 254 个差异 OTUs,BS_BL 组有 976 个差异 OTUs。由图 2 可知,可观察到的 OTUs 数目中 BS_BL 组高于 C 组、BS 组与 BL 组。由图 3 可知,BS_BL 组的 Shannon 指数较大,多样性较高,说明枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂断奶山羊可以增加粪便菌群的多样性。

由图 4 可知,物种丰富度曲线显示与 C 组相比,BS 组、BL 组与 BS_BL 组都增加了物种的丰富度,并且 BS_BL 组增加数目最多。由图 5 可知,BS_BL 组的 Chao1 指数高于其他 3 组,反映了 BS_BL 组粪便菌群的丰富度较高,说明枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂断奶山羊可以提高粪便菌群的丰富度。



C: C组 C group; BS: BS组 BS group; BL: BL组 BL group; BS_BL: BS_BL组 BS_BL group。

图1 Venn图

Fig.1 Venn diagram

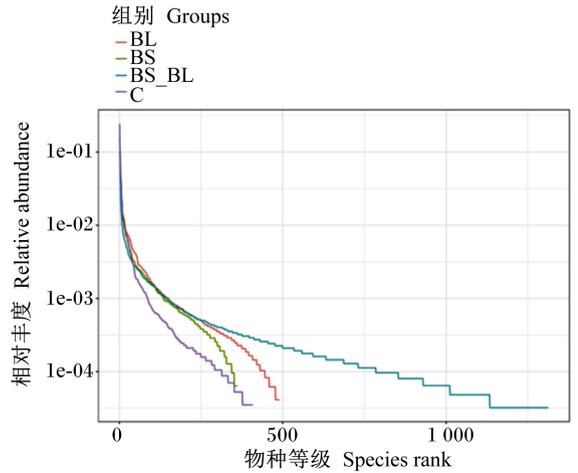


图4 物种丰富度曲线

Fig.4 Species abundance curve

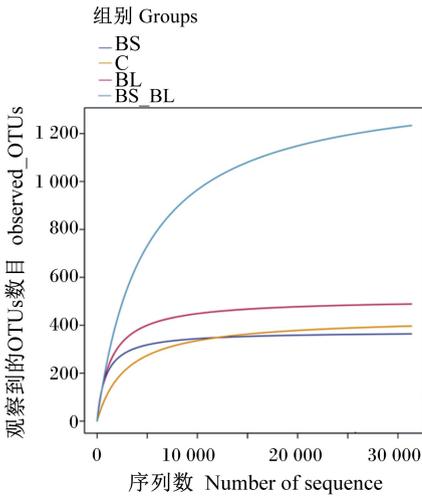


图2 稀释曲线

Fig.2 Rarefaction curve

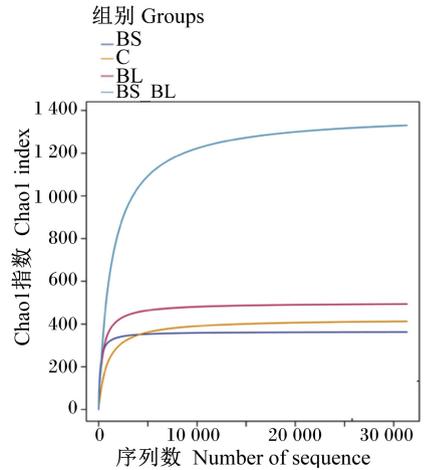


图5 Chao1 指数

Fig.5 Chao1 index

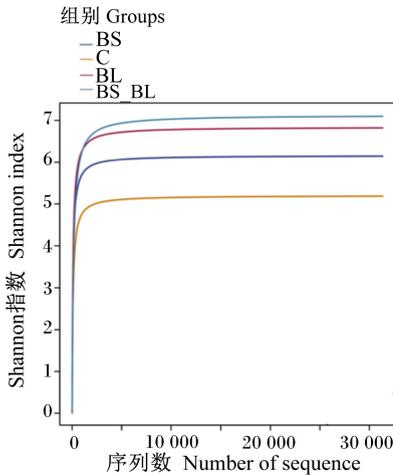


图3 Shannon 指数

Fig.3 Shannon index

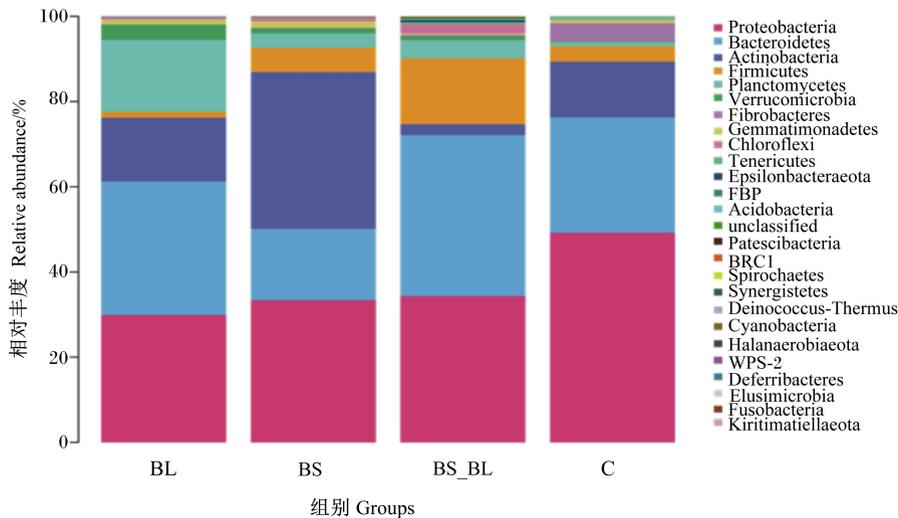
2.4.1.2 粪便菌群 Beta 多样性分析

Beta 多样性是指不同环境群落之间的物种差异性, Beta 多样性与 Alpha 多样性一起构成了总体多样性或一定环境群落的生物异质性。Beta 多样性通常计算环境样品间的距离矩阵, 该矩阵包含 2 个任意样品间的距离, 通过非加权距离主坐标分析 (PCoA) 可知总贡献率为 74.48%, 主坐标 1 (PCo1) 的贡献率为 46.87%, 主坐标 2 (PCo2) 的贡献率为 27.61%, 所有样本都已分开, 说明不同处理对粪便菌群的影响不同, 不同组间的距离较远, 说明 4 个组间的微生物组成结构差异较大。

2.4.2 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊粪便菌群组成的影响

本次测序结果共得到 2 个界、12 个门、22 个

纲、44 个目、66 个科、88 个属和 89 个种。由图 7 可知,山羊粪便菌群中的优势菌门为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、厚壁菌门、扁平菌门等。C 组优势菌门为变形菌门、拟杆菌门、放线菌门(前 3 位);BS 组优势菌门为放线菌门、变形菌门、拟杆菌门(前 3 位);BL 组优势菌门为拟杆菌门、变形菌门、浮霉菌门(前 3 位);BS_BL 组优势菌门为拟杆菌门、变形菌门、厚壁菌门(前 3 位),由此看出各组的优势菌门略有不同。C 组的优势菌属为堆囊菌属、土地杆菌属、球孢菌属(前 3 位);BS 组的优势菌属为野野村菌属、嗜红杆菌属、堆囊菌属(前 3 位);BL 组的优势菌属为副足杆菌属、野野村菌属、扁平菌属(前 3 位);BS_BL 组的优势菌属为 *Marinilabiliaceae_unclassified*、假单胞菌属、*Clostridiales_vadinBB60_group_unclassified*(前 3 位)(图 8)。



Proteobacteria:变形菌门;Bacteroidetes:拟杆菌门;Actinobacteria:放线菌门;Firmicutes:厚壁菌门;Planctomycetes:扁平菌门;Verrucomicrobia:疣微菌门;Fibrobacteres:纤维杆菌门;Gemmatimonadetes:芽单胞菌门;Chloroflexi:绿弯菌门;Tenericutes:无壁菌门;Acidobacteria:酸杆菌门;Spirochaetes:螺旋体门;Synergistetes:互养菌门;Deinococcus-Thermus:异常球菌-栖热菌门;Cyanobacteria:蓝藻菌门;Halanaerobiaeota:嗜盐菌门;Deferribacteres:脱铁杆菌门;Elusimicrobia:迷踪菌门;Fusobacteria:梭杆菌门。

图 7 不同组的微生物结构(门水平)

Fig.7 Microbial structure in different groups (phylum level)

3 讨论

3.1 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊生长性能与腹泻率的影响

提高动物的生长性能并且降低 F/G 被认为是益生菌的特征之一^[10]。陈凤梅等^[11]研究发现,饲

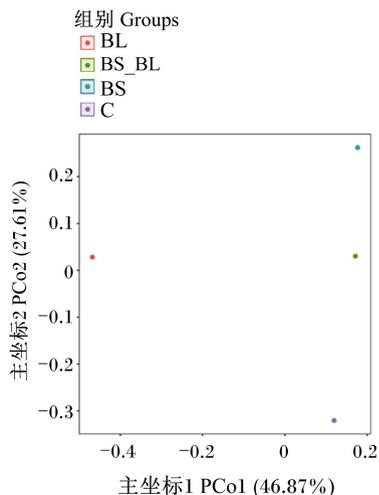


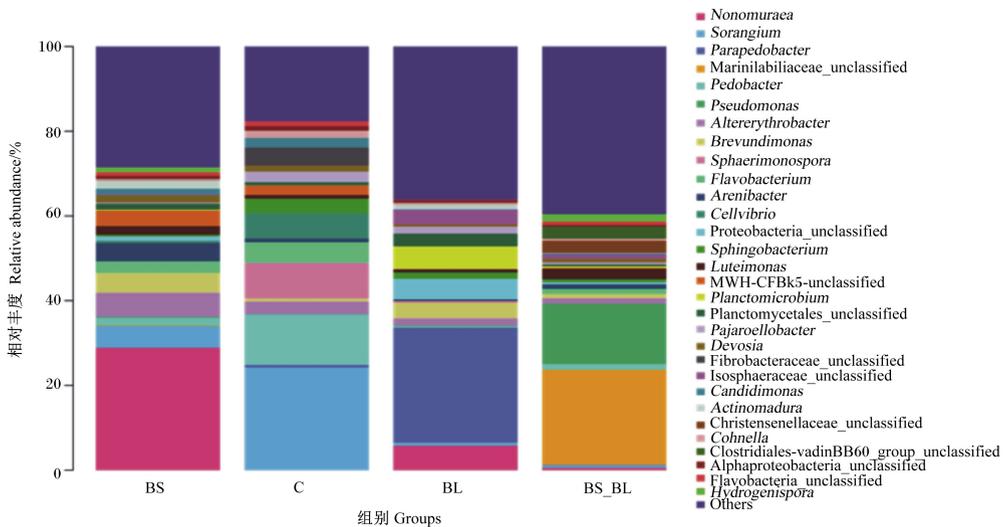
图 6 基于非加权距离的 PCoA

Fig.6 PCoA based on unweighted unifrac distance

粮中添加植物乳酸杆菌与地衣芽孢杆菌能够显著降低哺乳期犊牛的腹泻率,但对生长性能无显著变化。仲伟光等^[12]研究发现,饲料中添加复合微生物制剂(酿酒酵母、枯草芽孢杆菌、地衣芽孢杆菌)后,育肥牛的干物质采食量与 ADG 分别提高 2.74% 和 28.95%,F/G 降低 23.27%。也有研究表

明,给断奶仔猪补充枯草芽孢杆菌能够显著增加最终体重和 ADG,并且显著降低试验期内的 F/G 以及腹泻率^[13-14]。本试验中枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂显著提高了断奶山羊的 ADFI 以及降低腹泻率,与 C 组相比,BS 组、BL 组、BS_BL 组的 F/G 与 ADG 没有显著变化,说明枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂效果优于单独饲喂。采食量和日增重的提升可能是由于所添加的复合微生物制剂对瘤胃发酵起到了一定的调控作用。试验组 F/G 的降低说明复合微生物制剂不只是通过采食量的增加促使 ADG 的提升,而且对饲

粮的消化吸收也具有调控作用。饲料转化率的提高可能来源于 2 方面因素:一是复合微生物制剂提高了瘤胃对营养物质的消化能力;二是其促进了机体对营养物质的吸收转运以及储备能力^[12]。栾嘉明等^[15]认为芽孢杆菌可能通过抑制有害菌群生长、改善瘤胃发酵环境及模式、增强营养物质消化、提高饲料能量利用率及提高动物免疫力等一系列作用,提高动物的生产性能。郑建婷等^[16]报道枯草芽孢杆菌可使动物后肠道微生物生存环境得到改善,促进它们对营养成分的吸收,使动物机体抗疾病能力增强,从而提高生产性能。



Nonomuraea:野野村菌属;*Sorangium*:堆囊菌属;*Parapedobacter*:副足杆菌属;*Pedobacter*:土地杆菌属;*Pseudomonas*:假单胞菌属;*Altererythrobacter*:嗜红杆菌属;*Brevundimonas*:单胞菌属;*Sphaerimonospora*:球孢菌属;*Flavobacterium*:黄杆菌属;*Cellvibrio*:纤维弧菌属;*Proteobacteria_unclassified*:未分类变形菌;*Sphingobacterium*:鞘氨醇杆菌属;*Luteimonas*:膝黄单胞属;*Planctomicrobium*:假单胞菌属;*Planctomycetales_unclassified*:未分类浮霉菌;*Devosia*:戴沃斯菌属;*Fibrobacteraceae_unclassified*:未分类纤维杆菌属;*Candidimonas*:白色单胞菌属;*Actinomadura*:马杜拉放线菌属;*Christensenellaceae_unclassified*:未分类克里斯滕森菌属;*Alphaproteobacteria_unclassified*:未分类 α -变形菌;*Flavobacteria_unclassified*:未分类黄杆菌属;*Hydrogenispora*:氢孢菌属;*Others*:其他。

图 8 不同组的微生物结构(属水平)

Fig.8 Microbial structure in different groups (genus level)

3.2 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊血清生化指标的影响

机体血清中 ALB 含量的高低反映了肝脏合成蛋白质能力的强弱,UN 含量的高低反映了机体蛋白质代谢水平^[17]。ALB 是血液中最重要蛋白质,在转运代谢物、营养物质和维持胶体渗透压方面起着至关重要的作用^[10]。本研究中,试验第 30 天 BS 组血清中 ALB 含量显著降低,可能是因为断奶山羊饲喂枯草芽孢杆菌后肝脏合成蛋白质

的能力减弱,导致血清中 ALB 含量的降低。BL 组与 BS_BL 组中血清 UN 的含量与 C 组相比显著提高,说明断奶山羊体内的氨基酸代谢旺盛,单独饲喂地衣芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌联合饲喂后氮在断奶山羊的体内积累,不能及时排出体外,这与 Czech 等^[18]研究报道的结果基本一致。

GLU 和 LDH 是衡量机体糖代谢的主要指标^[8]。第 30 天 BL 组血清 GLU 含量显著升高,说

明饲料中添加地衣芽孢杆菌能够增强断奶山羊对葡萄糖的消化吸收,提高机体对糖的利用能力。这与王晓丹等^[19]研究报道的结果一致,其主要原因可能是由于地衣芽孢杆菌减少了断奶山羊的应激反应。本研究中,试验第30天BS组血清LDH活性显著降低,张俊瑜等^[20]研究指出,基础饲料中添加纳豆芽孢杆菌与枯草芽孢杆菌后绵羊的血清LDH活性呈下降趋势,可能是因为枯草芽孢杆菌在肠道内增殖可产生枯草菌素、多黏菌素、制霉菌素和短杆菌等生物活性物质,促进肠道内有益菌的增殖,抑制病原菌或条件致病菌的生长,进而提高饲料的能量利用效率^[8]。

畜禽血清中ALP与AST的活性是反映机体肝脏生理机能状况的重要指标^[20]。血清ALT活性升高通常意味着肝脏功能障碍,ALP活性增加通常反映出心脏或肌肉组织功能障碍^[21]。添加枯草芽孢杆菌后能够显著降低断奶山羊血清中ALP活性,说明饲喂枯草芽孢杆菌后断奶山羊的心脏和肌肉组织功能代谢正常,体况正常,能够维持机体肝脏的正常生理机能,这与贺长青等^[17]研究报道的结果一致。基础饲料中添加枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌后断奶山羊的血清生化指标会发生显著影响,具体影响不尽相同,联合饲喂并不能增强影响效果。

3.3 枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌对断奶山羊粪便菌群的影响

BS组提高了放线菌门的丰富度,BL组与BS₋BL组拟杆菌门的丰富度有所提高,有利于促进脂质的吸收,维持山羊的肠道屏障。肠道中拟杆菌门与厚壁菌门的比例会影响营养物质的吸收能力,枯草芽孢杆菌能够调控肠道的微生物群落^[22]。与对照组相比,3个试验组变形菌门的丰富度下降,Sheng等^[23]研究发现给猪补充纳豆枯草芽孢杆菌后显著改变了粪便中的细菌组成。曲湘勇等^[24]研究发现饲料添加枯草芽孢杆菌后,产蛋鸡盲肠菌群中拟杆菌门与变形菌门的相对丰度略有升高,但差异不显著,结果不尽相同可能是因为试验动物的种类、枯草芽孢杆菌菌株不同。据报道,几种拟杆菌门在蛋白质水解和肽类生成丙酸的过程中起主要作用^[25]。Li等^[26]研究发现饲喂小鼠枯草芽孢杆菌18,变形菌门的丰富度下降,厚壁菌门的丰富升高。王汉星等^[27]通过KEGG功能预测与Cazy纤维素代谢发现饲料中单独添加枯草

芽孢杆菌会明显提高空肠中微生物的免疫系统、碳水化合物代谢、纤维素代谢。这可能是由于枯草芽孢杆菌的添加消耗了肠道内的大量游离氧,制造了厌氧环境进而促进了乳酸菌的丰度。枯草芽孢杆菌DSM32315通过抑制有害微生物并且促进有益微生物的生长来改善肠道平衡,肠腔内芽孢杆菌数量的增加突显了枯草芽孢杆菌DSM32315在小猪肠道内定植的能力,补充枯草芽孢杆菌DSM32315能够改善肠道微生物的结构,从而促进断奶仔猪生长性能的提高^[28]。试验结果表明饲喂断奶山羊枯草芽孢杆菌与地衣芽孢杆菌能够改变粪便菌群的结构。

4 结论

① 饲料中枯草芽孢杆菌(有效活菌数为 1×10^{11} CFU/g)与地衣芽孢杆菌(有效活菌数为 1×10^{11} CFU/g)联合饲喂能够显著提高断奶山羊的ADFI,显著降低腹泻率,联合饲喂的效果要优于单独饲喂。

② 饲料中添加枯草芽孢杆菌或地衣芽孢杆菌后断奶山羊的血清生化指标会发生显著影响,具体影响不尽相同,联合饲喂并不能加剧影响效果。

③ 饲料中添加枯草芽孢杆菌或地衣芽孢杆菌会改变断奶山羊粪便菌群的优势菌门,减少变形菌门的丰富度。

参考文献:

- [1] MARKOWIAK P, ŚLI ŻEWSKA K. The role of probiotics, prebiotics and synbiotics in animal nutrition [J]. *Gut Pathogens*, 2018, 10: 21.
- [2] DU Y P, XU Z C, YU G L, et al. A newly isolated *Bacillus subtilis* strain named WS-1 inhibited diarrhea and death caused by pathogenic *Escherichia coli* in newborn piglets [J]. *Frontiers Microbiology*, 2019, 10: 1248.
- [3] LEE N K, KIM W S, PAIK H D. *Bacillus* strains as human probiotics: characterization, safety, microbiome, and probiotic carrier [J]. *Food Science and Biotechnology*, 2019, 28(5): 1297-1305.
- [4] MA Z Z, CHENG Y Y, WANG S Q, et al. Positive effects of dietary supplementation of three probiotics on milk yield, milk composition and intestinal flora in *Sannan* dairy goats varied in kind of probiotics [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*,

- 2020, 104(1):44-55.
- [5] HE Y, KIM K, KOVANDA L, et al. *Bacillus subtilis*: a potential growth promoter in weaned pigs in comparison to carbadox [J]. *Journal of Animal Science*, 2020, 98(9):skaa290.
- [6] KIM T I, LIM D H, JANG S S, et al. Effects of supplementing Barodon, *Bacillus subtilis*, and Ampbio on growth performance, biochemical metabolites, and hormone levels in Korean native heifers [J]. *Tropical Animal Health and Production*, 2018, 50(7):1637-1643.
- [7] JIA P, CUI K, MA T, et al. Influence of dietary supplementation with *Bacillus licheniformis* and *Saccharomyces cerevisiae* as alternatives to monensin on growth performance, antioxidant, immunity, ruminal fermentation and microbial diversity of fattening lambs [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8:16712.
- [8] 丁浩, 黄攀, 章文明, 等. 饲料添加枯草芽孢杆菌对保育猪生长性能和血浆生化参数的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(2):605-612.
- DING H, HUANG P, ZHANG W M, et al. Effects of dietary *Bacillus subtilis* on growth performance of nursery piglets [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(2):605-612. (in Chinese)
- [9] LAN R X, KIM I H. Effects of *Bacillus licheniformis* and *Bacillus subtilis* complex on growth performance and faecal noxious gas emissions in growing-finishing pigs [J]. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2019, 99(4):1554-1560.
- [10] LI A Y, WANG Y P, LI Z X, et al. Probiotics isolated from yaks improves the growth performance, antioxidant activity, and cytokines related to immunity and inflammation in mice [J]. *Microbial Cell Factories*, 2019, 18:112.
- [11] 陈凤梅, 程光民, 顾甜甜, 等. 复合微生态制剂联合低聚果糖对哺乳期犊牛生长性能、腹污率及肠道微生物区系的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(8):3896-3905.
- CHEN F M, CHENG G M, GU T T, et al. Effects of compound microecologies on growth performance and rumen microbiota of calves in lactation period [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(8):3896-3905. (in Chinese)
- [12] 仲伟光, 于维, 祁宏伟, 等. 复合微生物制剂对育肥牛生长性能、养分表观消化率、瘤胃酶活性和糖脂代谢的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(9):4456-4461.
- ZHONG W G, YU W, QI H W, et al. Effects of compound microbial preparation on growth performance, nutrient apparent digestibilities, rumen enzyme activities and glycolipid metabolism of fattening cattle [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(9):4456-4461. (in Chinese)
- [13] HE Y J, KIM K, KOVANDA L, et al. *Bacillus subtilis*: a potential growth promoter in weaned pigs in comparison to carbadox [J]. *Journal of Animal Science*, 2020, 98(9):skaa290.
- [14] XU J, ZHONG F, ZHANG Y H, et al. Construction of *Bacillus subtilis* strain engineered for expression of porcine β -defensin-2/cecropin P1 fusion antimicrobial peptides and its growth-promoting effect and antimicrobial activity [J]. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 2017, 30(4):576-584.
- [15] 栾嘉明, 李月明, 张敏, 等. 芽孢杆菌在反刍动物生产中的研究进展 [J]. *饲料研究*, 2019, 42(3):108-112.
- LUAN J M, LI Y M, ZHANG M, et al. Research advance of *Bacillus* in ruminant production [J]. *Feed Research*, 2019, 42(3):108-112. (in Chinese)
- [16] 郑建婷, 冯国亮, 曹亮, 等. 枯草芽孢杆菌和复合酶制剂对獭兔生长性能、养分表观消化率、屠宰性能、免疫器官指数及毛皮质量的影响 [J]. *动物营养学报*, 2020, 32(6):2808-2815.
- ZHENG J T, FENG G L, CAO L, et al. Effects of *Bacillus subtilis* and complex enzyme preparation on growth performance, nutrient apparent digestibilities, slaughter performance, immune organ and fur quality of rex rabbits [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6):2808-2815. (in Chinese)
- [17] 贺长青, 朱瑾, 匡佑华, 等. 枯草芽孢杆菌对保育猪血浆生化 and 免疫指标及粪便菌群的影响 [J]. *动物营养学报*, 2019, 31(7):3260-3267.
- HE C Q, ZHU J, KUANG Y H, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on plasma biochemical and immune indices and fecal microflora of finishing pigs [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(7):3260-3267. (in Chinese)
- [18] CZECH A, SMOLCZYK A, GRELA E R, et al. Effect of dietary supplementation with *Yarrowia lipolytica* or *Saccharomyces cerevisiae* yeast and probiotic additives on growth performance, basic nutrients digestibility and biochemical blood profile in piglets [J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(6):1720-1730.
- [19] 王晓丹, 孔祥峰, 赵越, 等. 枯草芽孢杆菌对断奶仔猪

- 生长性能和血浆生化参数的影响[J].动物营养学报,2019,31(2):605-611.
- WANG X D, KONG X F, ZHAO Y, et al. Effects of *Bacillus subtilis* on growth performance and plasma biochemical parameters of weaned pigs [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(2): 605-611. (in Chinese)
- [20] 张俊瑜, 丛少波, 臧长江, 等. 纳豆芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌对绵羊生长性能、消化性能和血清生化指标的影响[J]. 中国饲料, 2019(19): 34-38.
- ZHANG J Y, CONG S B, ZANG C J, et al. Effects of *Bacillus natto* and *Bacillus subtilis* on growth performance, digestive performance and serum biochemical parameters of sheep [J]. China Feed, 2019(19): 34-38. (in Chinese)
- [21] GU X L, SONG Z H, LI H, et al. Effects of dietary isomaltooligosaccharide and *Bacillus* spp. supplementation during perinatal period on lactational performance, blood metabolites, and milk composition of sows [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2019, 99(13): 5646-5653.
- [22] CUI C, SHEN C J, JIA G, et al. Effect of dietary *Bacillus subtilis* on proportion of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* in swine intestine and lipid metabolism [J]. Genetics and Molecular Research, 2013, 12(2): 1766-1776.
- [23] SHENG Q K, ZHOU K F, HU H M, et al. Effect of *Bacillus subtilis* Natto on meat quality and skatole content in TOPIGS pigs [J]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2016, 29(5): 716-721.
- [24] 曲湘勇, 陈继发, 匡佑华, 等. 饲料添加蒙脱石和枯草芽孢杆菌对产蛋鸡盲肠菌群和肠道通透性的影响 [J]. 动物营养学报, 2019, 31(4): 1887-1896.
- QU X Y, CHEN J F, KUANG Y H, et al. Effects of dietary montmorillonite *Bacillus subtilis* on cecal microflora and intestinal permeability of laying hens [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(4): 1887-1896. (in Chinese)
- [25] 赵怀宝, 任玉龙. 结肠微生物菌群代谢产物的研究进展 [J]. 饲料研究, 2019, 42(5): 93-97.
- ZHAO H B, REN T L. Research progress on metabolites of colonic microflora [J]. Feed Research, 2019, 42(5): 93-97. (in Chinese)
- [26] LI A Y, JIANG X, WANG Y P, et al. The impact of *Bacillus subtilis* 18 isolated from Tibetan yaks on growth performance and gut microbial community in mice [J]. Microbial Pathogenesis, 2019, 128: 153-161.
- [27] 王汉星, 虎千力, 杨建涛, 等. 饲料中添加粪链球菌与枯草芽孢杆菌对断奶仔猪生长性能和肠道健康的影响 [J]. 动物营养学报, 2020, 32(5): 2074-2086.
- WANG H X, HU Q L, YANG J T, et al. Effects of dietary *Streptococcus faecalis* and *Bacillus subtilis* on growth performance and intestinal health of weaned piglets [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2020, 32(5): 2074-2086. (in Chinese)
- [28] TANG W J, QIAN Y, YU B, et al. Effects of *Bacillus subtilis* DSM32315 supplementation and dietary crude protein level on performance, gut barrier function and microbiota profile in weaned piglets [J]. Journal of Animal Science, 2019, 97(5): 2125-2138.

Effects of Different Probiotics on Growth Performance, Serum Biochemical Indexes and Fecal Microflora of Weaned Goats

LU Jiawei¹ WANG Jingang² GAO Qin¹ LIU Zifei¹ CHEN Zili¹ HUANG Qunhao³
ZHANG Yanli^{1,2*} WANG Feng^{1,2*}

(1. College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China; 2. Research of Haimen Goats, Nanjing Agricultural University, Haimen 216121, China; 3. Animal Husbandry and Veterinary Station of Haimen District, Nantong City, Nantong 226100, China)

Abstract: This experiment aimed at exploring the effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* feeding alone and combined on the growth performance, diarrhea rate, serum biochemical indexes and fecal microflora

of weaned goats. Sixty 3-month-old *Haimen* goats were selected and randomly divided into 4 groups with 3 replicates in each group and 5 goats in each replicate. Control group (C group) was fed a basal diet; *Bacillus subtilis* group (BS group) was fed the basal diet + 400 mg/kg of *Bacillus subtilis* (effective bacteria number was 1×10^{11} CFU/g); *Bacillus licheniformis* group (BL group) was fed the basal diet + 400 mg/kg of *Bacillus licheniformis* (effective bacteria count was 1×10^{11} CFU/g); BS_BL group (combined group) was fed the basic diet + 400 mg/kg of *Bacillus subtilis* + 400 mg/kg of *Bacillus licheniformis* (effective bacteria number was 1×10^{11} CFU/g). The pre-feeding period lasted for 10 d and the experimental period lasted for 30 d. The results showed as follows: 1) on day 10 of the experiment, the weight of weaned goats in the BS_BL group was significantly higher than that in the C, BS and BL groups ($P < 0.01$); on day 30, there was no significant difference in the weight of weaned goats among the C, BS, BL and BS_BL groups ($P > 0.05$); on days 1 to 30, the average daily gain (ADG) in the BS_BL group was significantly higher than that in the C, BS and BL groups ($P < 0.01$); on days 21 to 30 of the experiment, the ADG in the BL and the BS_BL groups was significantly higher than that in the C and BS groups ($P < 0.01$); on days 1 to 30, there were no significant difference in ADG between experimental groups and C group ($P > 0.05$); the average daily feed intake (ADFI) in the BS_BL group was significantly higher than that in the C, BS and BL groups on days 21 to 30 of the experiment ($P < 0.01$); the ADFI in the BS_BL group was significantly higher than that in the C, BS and BL groups on days 1 to 30 of the experiment ($P < 0.05$); on days 1 to 30 of the experiment, the feed to gain ratio (F/G) had no significant difference among groups ($P > 0.05$). 2) Compared with C group, the diarrhea rate in BS, BL and BS_BL groups was significantly reduced on days 1 to 10 and days 11 to 20 of the experiment ($P < 0.05$), and the diarrhea rate in BS_BL group was significantly reduced on days 1 to 30 of the experiment ($P < 0.05$). 3) Compared with C group, on day 30 of the experiment, the activities of alkaline phosphatase (ALP) and lactate dehydrogenase (LDH) and the content of glucose (GLU) in serum in the BS group were significantly reduced ($P < 0.05$), the activity of aspartate aminotransferase (AST) and the content of albumin (ALB) in serum were extremely significantly reduced ($P < 0.01$), the content of urea nitrogen (UN) in serum in the BL group was significantly increased ($P < 0.05$), and the activity of AST and the content of GLU in serum in the BS_BL group were significantly reduced ($P < 0.05$). 4) The 16S rDNA sequencing of feces found that Chao 1 and observed-species indexes showed that the BS_BL group contained more species, and the Shannon and Simpson indexes showed that the BS_BL group had higher diversity. The dominant phyla of bacteria in C group were Proteobacteria, Bacteroidetes and Actinobacteria; the dominant phyla of bacteria in BS group were Actinobacteria, Proteobacteria and Bacteroidetes; the dominant phyla of bacteria in BL group were Bacteroidetes, Proteobacteria and Planctomycetes; the dominant phyla of bacteria in BS_BL group were Bacteroidetes, Proteobacteria and Firmicutes. The dominant genus of bacteria in C group were *Sorangium*, *Pe-dobacter* and *Sphaerimonospora*; the dominant genus of bacteria in BS group were *Nonomuraea*, *Altererythro-bacte* and *Sorangium*; the dominant genus in the BL group belonged to *Parapedobacter*, *Nonomuraea* and *Planctomicrobium*; the dominant genus of bacteria in BS_BL group were *Marinelabiliaceae_unclassified*, *Pseudomonas*, *Clostridiales_vadinBB60_group_unclassified*. In summary, the combined feeding of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* can significantly improve the growth performance of weaned goats, reduce the rate of diarrhea, improve serum biochemical indexes, and change the diversity and abundance of fecal microflora. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(5):2752-2764]

Key words: probiotics; weaned goats; growth performance; serum biochemical indexes; fecal microflora