

宋品, 侯曼曼, 陈悦, 等. 日粮添加胆汁酸对亚急性瘤胃酸中毒山羊生长性能、瘤胃发酵和菌群结构的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2024, 56 (5): 51-57.

SONG P, HOU M M, CHEN Y, et al. Effects of dietary bile acids on growth performance, rumen fermentation and microbial community structure of goat under subacute ruminal acidosis [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2024, 56 (5): 51-57.

## 日粮添加胆汁酸对亚急性瘤胃酸中毒山羊生长性能、瘤胃发酵和菌群结构的影响

宋品, 侯曼曼, 陈悦, 胡丹, 郝燕青, 吴晨, 倪迎冬\*

(南京农业大学动物医学院/农业农村部动物生理生化重点实验室, 江苏 南京 210095)

**摘要:** 旨在探究胆汁酸 (BAs) 对亚急性瘤胃酸中毒 (subacute ruminal acidosis, SARA) 山羊瘤胃发酵和菌群结构的影响。试验选取 8 只生长期雄性波杂山羊安装永久性瘤胃瘘管, 康复后随机平均分为 SARA 组和 SARA+BAs 组, 预饲期为 2 周, 试验期 8 周, 预饲期内由精粗比 50 : 50 的日粮转为 70 : 30 的高精料日粮诱导 SARA, 每只添加胆汁酸 1.0 g/d, 于试验期第 1、14、28、42、56 天晨饲后 0、2、3、4 和 6 h 进行瘤胃液 pH 值的动态监测, 在第 56 天晨饲前采集瘤胃液, 检测乳酸、挥发性脂肪酸及菌群结构。结果显示: SARA 组山羊平均日增重显著升高 ( $P < 0.05$ ), 饲料转化率有降低的趋势 ( $P < 0.10$ ); SARA 组山羊瘤胃液 pH < 5.8 的持续时间大于 3 h, 处于 SARA 状态; 而 SARA+BAs 组瘤胃液 pH < 5.8 的时间均少于 3 h; 与 SARA 组相比, SARA+BAs 组瘤胃内乙酸浓度显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而乳酸浓度显著降低 ( $P < 0.05$ )。菌群分类学分析显示, SARA+BAs 组 Chao1 指数、Shannon 指数和菌门数量均显著高于 SARA 组 ( $P < 0.05$ ); 在门水平上, SARA+BAs 组脱硫菌门 (Desulfobacterota) 相对丰度显著升高 ( $P < 0.05$ ), 而疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ ); 在属水平上, SARA+BAs 组毛螺菌科\_NK3A20 群 (Lachnospiraceae\_NK3A20\_group)、互营球菌属 (*Syntrophococcus*) 相对丰度显著降低 ( $P < 0.05$ ), 而瘤胃球菌科\_NK4A214 (Ruminococcaceae\_NK4A214)、未分类的颤螺菌科 (Norank\_f\_Oscillospiraceae)、韦荣球菌科 UCG-001 (Veillonellaceae\_UCG-001) 的相对丰度显著升高 ( $P < 0.05$ )。研究表明, 日粮添加胆汁酸可提升山羊瘤胃菌群的丰富度和多样性, 改善瘤胃发酵, 从而缓解高精料日粮诱导的 SARA。

**关键词:** 胆汁酸; 亚急性瘤胃酸中毒; 瘤胃发酵; 菌群组成; 山羊

**中图分类号:** S852.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2024)05-0051-07

## Effects of dietary bile acids on growth performance, rumen fermentation and microbial community structure of goat under subacute ruminal acidosis

SONG Pin, HOU Manman, CHEN Yue, HU Dan, HAO Yanqing, WU Chen, NI Yingdong\*

(College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Nanjing 210095, China)

**Abstract:** The aim of this study was to evaluate the effect of feeding bile acids (BAs) on ruminal fermentation, and microbial community in goats under subacute ruminal acidosis (SARA) induced by high concentrate diets. Eight goats during growth stage fitted with permanent rumen fistula were randomly divided into two groups; the SARA group and the SARA+BAs group. A high-concentrate diet with a ratio of concentrate to forage of 70 : 30 was used to induce SARA, and the dose of BAs supplementation was 1 g/day. The pre-feeding period lasted for 2 weeks, followed by an 8 weeks experimental period. Ruminal pH in the goats was dynamically monitored at 0, 2, 3, 4, and 6 hours after morning feeding on experimental days 1, 14, 28, 42, and 56, respectively. The levels of lactate, volatile fatty acids, and microbial composition in the ruminal fluid of the animals were measured on D56. The results showed that the average daily gain was significantly higher in the SARA+BAs group than in the SARA group ( $P < 0.05$ ), but the feed conversion ratio tended to decrease ( $P < 0.10$ ). Their ruminal pH below 5.8 lasted more than 3 hours after morning feeding on days 1, 14, 28, 42, and 56 in the SARA group. However, the dietary supplementation with BAs obviously increased the ruminal pH in the goats, which showed a shorter duration (less than 3 h) of rumen pH < 5.8. Compared

收稿日期: 2023-09-20; 修回日期: 2024-03-06

基金项目: 国家自然科学基金项目 (A0202100737)

第一作者: 宋品, 男, 博士研究生

\* 通信作者: 倪迎冬, 博士, 教授, 研究方向为反刍动物消化生理与消化道免疫, E-mail: niyingdong@njau.edu.cn.

with the SARA group, the ruminal acetate concentration in the SARA + BAs group was significantly increased, while their lactate concentration was markedly decreased by BAs treatment ( $P < 0.05$ ). The microbial community analysis revealed that the Chao1 index, Shannon index, and the number of bacterial phyla in the SARA+BAs group were significantly higher than those in the SARA group ( $P < 0.05$ ). At the phylum level, *Desulfobacterota* phylum abundance in the goats was significantly increased ( $P < 0.05$ ), while the *Verrucomicrobiota* and *Chloroflexi* phyla level were significantly decreased ( $P < 0.05$ ) by BAs. At the genus level, the relative abundances of *Lachnospiraceae*\_NK3A20\_group and *Syntrophococcus* were significantly decreased ( $P < 0.05$ ), while the relative abundances of *Ruminococcaceae*\_NK4A214\_group, *Norank\_f\_Oscillospiraceae*, and *Veillonellaceae*\_UCG-001 were significantly increased in the SARA+BAs group, compared with those of the SARA group ( $P < 0.05$ ). In conclusion, dietary BAs supplementation enhanced the richness and diversity of ruminal microbial community in SARA goats, and improved their ruminal fermentation, and thereby alleviated SARA disorders induced by high concentrate diets.

**Keywords:** bile acids; subacute ruminal acidosis; rumen fermentation; ruminal microbial composition; goat

在反刍动物规模化、集约化养殖中,通常会饲喂高精料日粮来满足其快速生长或高产奶量的能量需求。高精料日粮富含易发酵的淀粉生成乳酸和挥发性短链脂肪酸,过度摄入高精料日粮会导致瘤胃液 pH 值大幅降低<sup>[1]</sup>,导致亚急性瘤胃酸中毒(subacute ruminal acidosis, SARA)。瘤胃液 pH 值是诊断 SARA 的关键指标,若 pH 值低于 5.8 且每日持续 3 h 以上,则可定义为 SARA<sup>[2]</sup>。目前, SARA 是反刍动物常见的一种营养代谢病,常伴随瘤胃发酵障碍和上皮完整性受损,并诱发如真胃移位、腹泻、乳腺炎、肝脓肿、蹄叶炎和子宫内膜炎等相关疾病。SARA 严重影响了反刍动物的福利和生产性能,给养殖业带来巨大的经济损失<sup>[3]</sup>。

胆汁酸(bile acids, BAs)是胆汁的主要成分,是以胆固醇为前体在肝脏内合成。胆汁酸同时具有亲水和疏水基团,可作为乳化剂促进消化道内脂类物质的消化和吸收,也可促进食物中脂溶性维生素、类胡萝卜素及微量元素的吸收<sup>[4]</sup>。目前,胆汁酸被认为是一种可调节全身能量稳态的信号分子,通过与多个组织器官中的法尼醇核受体(FXR)和 G 蛋白偶联胆汁酸受体(TGR5)结合来调控胆固醇和葡萄糖代谢并促进脂解反应<sup>[5-6]</sup>。此外,胆汁酸还可调节肠道微生物与宿主之间的相互作用,包括宿主代谢和炎症反应等<sup>[7]</sup>。胆汁酸的代谢失调与多种疾病相关,包括脂肪肝、糖尿病、肥胖、胆汁淤积、胆结石、动脉粥样硬化等<sup>[8]</sup>。研究表明,胆汁酸能通过破坏细菌细胞膜或调节肠道 pH 值来抑制肠道内有害菌如大肠杆菌、链球菌和沙门菌的生长,从而维持肠道菌群的稳态<sup>[9]</sup>。吴明海等<sup>[10]</sup>研究发现在中产奶牛日粮中添加适量的胆汁酸盐可以提高奶牛的产奶量和饲料消化率。Immig 等<sup>[11]</sup>研究发现,体外瘤胃发酵过程中添加胆汁酸可以显著抑制瘤胃微生物发酵,减少甲烷的生成。近年来,胆汁酸被广泛用作动物饲料添加剂,特别是猪胆汁酸因其低成本、易提取、成分明确且性能稳定被认为是胆汁酸的潜在替代品。研究发现在肉鸡日粮中添加猪胆汁酸可提高肠道脂肪酶活性,从而

提升肉鸡的生产性能,且 600 mg/kg 的添加剂量被证明是安全的<sup>[12]</sup>。然而,目前胆汁酸在反刍动物营养生理上的研究相对较少,对高精料引起的 SARA 动物瘤胃消化代谢的影响尚未见报道。因此,本研究旨在探究饲喂猪胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃微生物组成和发酵功能的影响,为胆汁酸在反刍动物上的应用提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 胆汁酸的准备

猪胆汁酸由山东龙昌动物保健有限公司提供,通过皂化、脱色、酸化、纯化和干燥等过程从猪胆汁中提取。该产品胆汁酸纯度为 99.1%,含猪去氧胆酸(70.67%)、鹅去氧胆酸(19.61%)和猪胆酸(8%)<sup>[12]</sup>。

### 1.2 试验设计与饲养管理

于 2021 年 10 月至 2022 年 1 月在南京农业大学动物实验中心进行。试验期间保持圈舍清洁、定期消毒,确保羊舍环境卫生。

选取 8 只体况相似、健康的生长期雄性波杂山羊(17.46±0.73) kg,均安装永久性瘤胃瘘管。随后将山羊随机分为 2 组, SARA 组( $n=4$ )和 SARA+BAs 组( $n=4$ ),预饲期 2 周,试验期 8 周。预饲期内由精粗比 50:50 的日粮转为 70:30 的高精料日粮诱导 SARA,胆汁酸添加量为每只 1.0 g/d。采用单栏饲喂方式,每天 8:00 和 18:00 进行饲喂,试验期间山羊自由饮水。日粮配方和营养水平如表 1 所示。试验期间,每日的剩料量控制在采食量的 10% 左右,每日记录采食量。试验开始和结束时,对 2 组山羊分别进行称重。

### 1.3 瘤胃液样品采集

正式试验开始后于第 1、14、28、42、56 天晨饲后的 0、2、3、4 和 6 h 通过瘤胃瘘管连续采集山羊瘤胃内容物以监测瘤胃液 pH 值的变化。在试验第 56 天晨饲前通过瘤胃瘘管取瘤胃内容物 20 mL,经四层纱布过滤,取其中 5 mL 在 4 °C、13 000 r/min 条件

下离心 40 min。-20 ℃ 冰箱保存，备测挥发性脂肪酸浓度、乳酸浓度。

表 1 高精料日粮组成成分及营养水平（绝干基础）

原料	含量/%	营养指标 <sup>2)</sup>	水平
苜蓿草	30.00	代谢能/ (MJ · kg <sup>-1</sup> )	11.72
玉米	58.90	粗蛋白质/%	10.79
豆粕	8.45	中性洗涤纤维/%	26.71
磷酸氢钙	0.53	酸性洗涤纤维/%	13.27
石粉	1.12	淀粉/%	48.38
食盐	0.50	钙/%	0.78
预混料 <sup>1)</sup>	0.50	磷/%	0.42

注：<sup>1)</sup>预混料为每千克饲料提供：MnSO<sub>4</sub> 153 mg, ZnSO<sub>4</sub> 186 mg, FeSO<sub>4</sub> 125 mg, CoCl<sub>2</sub> 8.25 mg, KIO<sub>3</sub> 25 mg, CuSO<sub>4</sub> 33 mg, NaSeO<sub>3</sub> 4 mg, VA 15.28 mg, VE 0.47 mg。<sup>2)</sup>营养水平均为计算值。

#### 1.4 瘤胃液内发酵参数的测定

采用便携式 pH 计（雷磁，PHS-3C）测定瘤胃液 pH 值；参照 Wang 等<sup>[13]</sup>以巴豆酸为内标，采用岛津 GC-14B 型气相色谱仪（柱温 130 ℃，气化室温度 180 ℃，检测器温度 180 ℃）测定瘤胃液挥发性脂肪酸（乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸）浓度。瘤胃液乳酸的测定采用乳酸测定试剂盒（A109-21，南京建成生物工程研究所）于 530 nm 处测定其 OD 值。

#### 1.5 瘤胃菌群 16S rRNA 测序

首先参照 Denman<sup>[14]</sup>等的 CTAB 方法对瘤胃液样品总 DNA 进行提取，质检合格后，针对细菌 16S rRNA 基因的 V4 区，采用细菌通用引物 515F：5'-GTGCCAGCMGCCGCGG-3'，806R：5'-GGACTACH-VGGGTWTCTAAT-3'进行 PCR 扩增。对 PCR 产物进行纯化、建库、测序，测序平台为 Novaseq 6000（上海美吉生物医药科技有限公司）。测序数据经过严格过滤，与数据库进行比对后获得高质量有效数据用于后续分析。使用 Uparse 软件（v7.0.1001）将序列聚类成为不同分类操作单元（OTU），用 Mothur 方法与 SILVA138 的 SSUrRNA 数据库对 OTU 进行物质注释分析，获得分类学信息并在界、门、纲、目、科、属、种水平统计微生物丰度。样本的数据经过均一化处理用于 α 多样性分析（Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数、门数量和属数量）和主坐标分析

(PCoA)，多组间差异分析使用 Turkey 检验和 Wilcoxon 检验。

#### 1.6 数据统计与分析

采用 SPSS 26.0 软件进行单因素方差分析（One-way ANOVA）。 $P < 0.01$  表示差异极显著， $P < 0.05$  表示差异显著， $0.05 \leq P \leq 0.10$  表示有变化趋势。数据以“平均值±标准误”表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 胆汁酸对 SARA 山羊生长性能的影响

如表 2 所示，与 SARA 组相比，日粮中添加胆汁酸显著提高了 SARA 山羊的平均日增重（ $P < 0.05$ ），料重比有下降的趋势（ $P < 0.10$ ）。

表 2 添加胆汁酸对 SARA 山羊生长性能的影响

项目	SARA 组	SARA+BAs 组	P 值
始重/kg	17.15±1.13	17.72±1.38	0.758
末重/kg	22.70±2.23	25.63±1.94	0.359
平均日增重/g	72.54±23.88	141.21±10.78	0.040
平均日采食量/g	741.54±161.91	992.52±49.56	0.189
料重比	11.44±2.16	7.10±0.39	0.095

### 2.2 胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃液 pH 值的影响

由图 1A 可知，2 周预饲后饲喂精粗比 70 : 30 高精料日粮第 1 天，山羊瘤胃液 pH 值下降，6 h 内 pH 值均低于 5.8，且 2 组间无明显差异。试验第 14（图 1B）、28（图 1C）、42（图 1D）、56（图 1E）天时 SARA 组山羊晨饲后 6 h 内瘤胃液 pH 值低于 5.8 的持续时间均高于 3 h；而 SARA+BAs 组第 14、28 天晨饲后 6 h 内瘤胃液 pH 值均高于 5.8，第 42 和 56 天晨饲后 6 h 内瘤胃液 pH 值低于 5.8 的持续时间均少于 3 h。由图 1F 可知，第 14、28、42、56 天时 SARA+BAs 组山羊 0 h 瘤胃液 pH 值均高于 SARA 组。

### 2.3 胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃发酵的影响

由表 3 可知，与 SARA 组相比，SARA+BAs 组山羊瘤胃液中乙酸浓度显著升高（ $P < 0.05$ ），乳酸浓度显著降低（ $P < 0.05$ ），总挥发性脂肪酸（TVFA）、丙酸、戊酸、异戊酸、丁酸和异丁酸浓度无显著差异（ $P > 0.05$ ）。

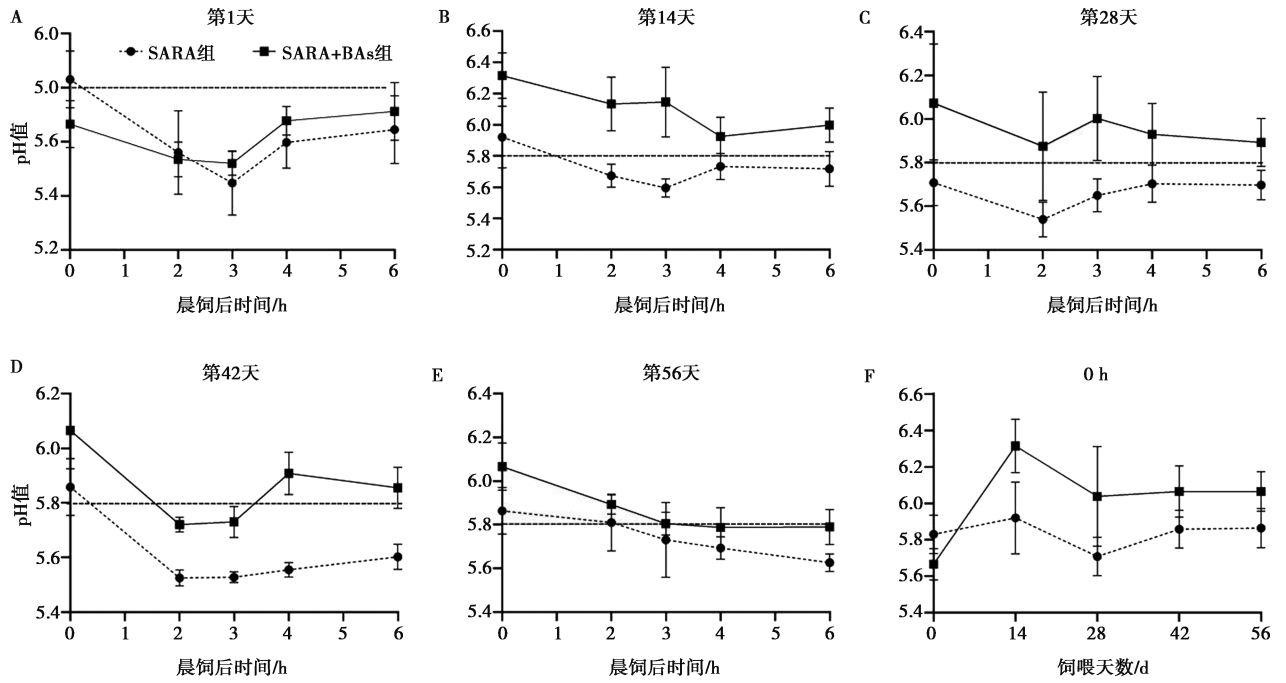


图1 添加胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃液 pH 值的影响

表3 添加胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃发酵参数的影响

项目	SARA 组	SARA+BA <sub>s</sub> 组	P 值
TVFA/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	56.06±6.16	62.29±1.60	0.365
乙酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	23.95±3.09	35.84±1.24	0.012
丙酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	10.59±2.60	12.50±1.60	0.556
丁酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	11.75±1.16	10.61±0.65	0.425
异丁酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	2.74±2.09	0.74±0.50	0.379
戊酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	3.93±2.17	1.43±0.21	0.294
异戊酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	3.09±2.17	1.18±0.26	0.388
乙酸/丙酸	2.75±0.75	3.10±0.59	0.733
乳酸/ (mmol · L <sup>-1</sup> )	1.99±0.11	1.32±0.16	0.024

## 2.4 胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃菌群结构的影响

### 2.4.1 胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃细菌丰富度和多样性的影响

如图2所示,随着样本测序深度的增加,稀释曲线趋于平缓,说明测序数据量合理,满足后续菌群多样性分析。如图3所示,SARA+BA<sub>s</sub>组的组内个体聚集度相对高于SARA组,表明SARA+BA<sub>s</sub>组的菌群组成相似性高于SARA组。如表4所示,与SARA组相比,SARA+BA<sub>s</sub>组山羊瘤胃菌群的Chao1指数、Shannon指数和门数量显著升高( $P<0.05$ ),Simpson指数降低但无显著差异( $P>0.05$ )。

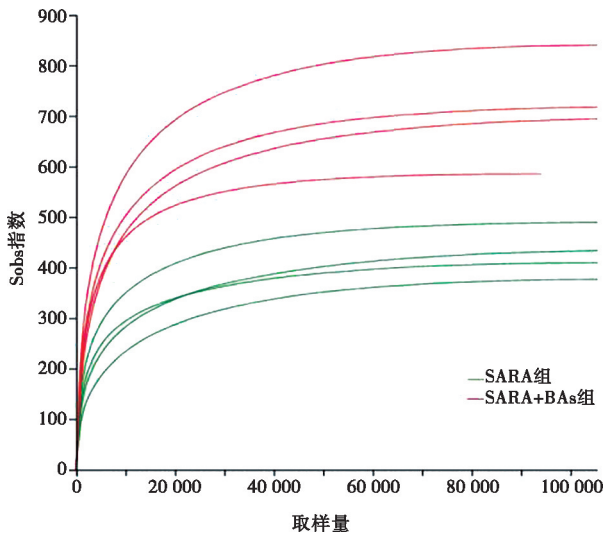


图2 样品稀释曲线

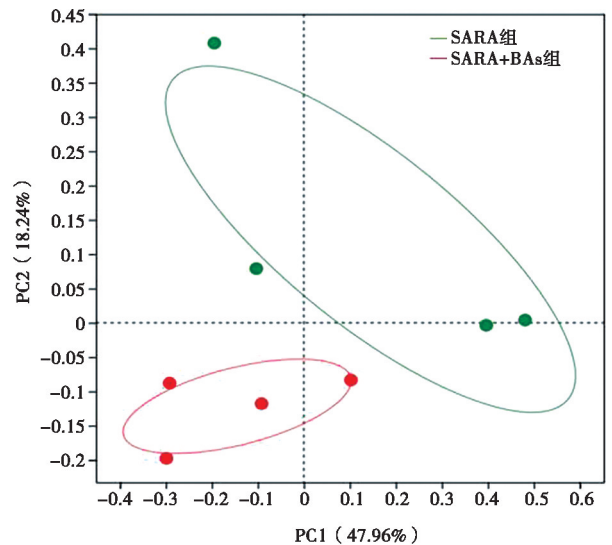


图3 瘤胃细菌菌群结构的主坐标成分分析

表 4 添加胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃菌群 α 多样性的影响

项目	SARA 组	SARA+BA <sub>s</sub> 组	P 值
Chao1 指数	428.50±23.86	710.50±52.47	0.003
Shannon 指数	4.00±0.14	4.58±0.15	0.029
Simpson 指数	0.046±0.007	0.033±0.005	0.174
门数量	15.00±0.00	18.75±0.75	0.002
属数量	145.50±1.44	150.00±3.11	0.216

### 2.4.2 山羊瘤胃微生物菌群组间差异分析

如表 5 显示,在门水平上,SARA 组和 SARA+BA<sub>s</sub> 组瘤胃液中的优势菌门均为厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes)。与 SARA

组相比,SARA+BA<sub>s</sub> 组瘤胃拟杆菌门的丰度增加,而厚壁菌门的丰度降低,但无显著差异。SARA+BA<sub>s</sub> 组脱硫菌门 (Desulfobacterota) 菌群丰度显著下降 ( $P<0.05$ ),而疣微菌门 (Verrucomicrobiota)、绿弯菌门 (Chloroflexi) 相对丰度显著升高 ( $P<0.05$ )。在属水平上,与 SARA 组相比,SARA+BA<sub>s</sub> 组瘤胃中毛螺菌科\_NK3A20 群 (Lachnospiraceae\_NK3A20\_group)、互营球菌属 (Syntrophococcus) 相对丰度显著降低 ( $P<0.05$ ),而瘤胃球菌科\_NK4A214 (Ruminococcaceae\_NK4A214)、未分类的颤螺菌科 (Norank\_f\_Oscillospiraceae、韦荣球菌科 UCG-001 (Veillonellaceae\_UCG-001) 的相对丰度显著升高 ( $P<0.05$ )。

表 5 添加胆汁酸对瘤胃中门水平和属水平菌群分布的影响

项目		SARA 组	SARA+BA <sub>s</sub> 组	P 值
门水平	厚壁菌门 (Firmicutes)	54.41±9.07	41.56±4.65	0.312
	拟杆菌门 (Bacteroidetes)	31.40±7.88	43.43±4.01	0.312
	螺旋体门 (Spirochaetes)	3.15±1.81	7.64±2.67	0.193
	放线菌门 (Actinobacteria)	4.29±1.45	1.44±0.50	0.112
	广古菌门 (Euryarchaeota)	2.95±1.00	2.69±0.82	0.885
	纤维杆菌门 (Fibrobacteres)	1.72±0.85	1.24±0.39	0.885
	脱硫菌门 (Desulfobacterota)	0.84±0.17	0.19±0.04	0.030
	变形菌门 (Proteobacteria)	0.56±0.28	0.50±0.09	0.665
	蓝藻菌门 (Cyanobacteria)	0.41±0.20	0.18±0.05	0.471
	浮霉菌门 (Planctomycetota)	0.18±0.18	0.47±0.23	0.191
	疣微菌门 (Verrucomicrobiota)	0.004±0.003	0.200±0.060	0.027
	绿弯菌门 (Chloroflexi)	0.006±0.005	0.170±0.060	0.029
属水平	普雷沃菌属_1 (Prevotella_1)	9.65±2.64	8.06±2.62	0.885
	理研菌科_RC9 肠群菌属 (Rikenellaceae_RC9_gut_group)	3.45±2.11	8.77±1.29	0.112
	Norank_f_F082	2.11±1.21	8.90±3.76	0.194
	瘤胃球菌属 (Ruminococcus)	7.22±5.35	3.77±0.59	0.885
	Norank_f_Muribaculaceae	10.64±5.35	4.60±2.33	0.665
	密螺旋体属 (Treponema)	3.14±1.81	7.63±2.67	0.194
	未分类的毛螺菌科 (Unclassified_f_Lachnospiraceae)	5.70±3.74	2.70±1.60	0.194
	毛螺菌科_NK3A20 群 (Lachnospiraceae_NK3A20_group)	5.24±1.47	1.24±0.69	0.030
	克里斯滕森菌科_R-7_群 (Christensenellaceae_R-7_group)	1.26±0.66	3.99±1.01	0.061
	普雷沃菌科 UCG-001 菌属 (Prevotellaceae_UCG-001)	1.66±1.55	2.36±0.78	0.312
	瘤胃球菌科_NK4A214 (Ruminococcaceae_NK4A214)	0.43±0.29	1.89±0.50	0.030
	互营球菌属 (Syntrophococcus)	1.51±0.60	0.12±0.04	0.030
	未分类的普雷沃氏菌科 (Unclassified_f_Prevotellaceae)	1.03±0.42	2.78±1.80	0.885
	韦荣氏菌科 UCG-001 (Veillonellaceae_UCG-001)	0.01±0.01	0.62±0.25	0.027
	未分类的颤螺旋菌科 (Norank_f_Oscillospiraceae)	0.03±0.02	0.23±0.09	0.030
	欧鲁森氏菌属 (Olsenella)	3.41±1.47	1.17±0.46	0.312

### 3 讨论

#### 3.1 胆汁酸对 SARA 山羊生长性能和瘤胃发酵的影响

胆汁酸作为一种饲料添加剂,已在水产动物和家禽生产中得到广泛应用<sup>[15]</sup>。研究发现,日粮中添加适宜水平的胆汁酸可促进畜禽的生长。本试验日粮添加胆汁酸可显著提高 SARA 山羊的平均日增重,提示胆汁酸有助于提高 SARA 山羊的生长性能。

高精料日粮快速发酵的特性容易导致有机酸在瘤胃中累积,引起瘤胃液 pH 值下降,从而增加 SARA 的发生率。SARA 会改变反刍动物的瘤胃微生物菌群的结构和功能,从而影响瘤胃发酵模式。瘤胃液 pH 值是评估反刍动物瘤胃发酵的重要指标之一,其正常范围是 6.0~7.5。若瘤胃液 pH 值持续低于 5.8 且每天持续 3 h 以上,则可判定为 SARA<sup>[2]</sup>。本研究结果表明,2 周内将精粗比 50 : 50 日粮转换成 70 : 30 的高精料日粮,导致生长期山羊晨饲后 6 h 内瘤胃液 pH 值低于 5.8 且持续 3 h 以上,提示其处于 SARA 状态,这与 Wang 等<sup>[13]</sup>的研究结果一致。饲喂胆汁酸组山羊瘤胃液 pH 均高于 SARA 组,且晨饲后 6 h 内瘤胃液 pH 值低于 5.8 的时间少于 3 h,表明饲喂胆汁酸可改善瘤胃发酵功能,缓解高精料日粮诱导的 SARA 状态。

瘤胃发酵生成的挥发性脂肪酸是反刍动物生长、生产和繁殖的主要能量来源,为机体提供 70%~80% 的总能量。有研究表明,饲喂高精料日粮可改变瘤胃的发酵模式,从乙酸发酵型转变为丙酸和丁酸发酵型<sup>[16]</sup>。SARA 发生时瘤胃乙酸浓度显著降低,而丙酸和丁酸浓度显著升高<sup>[17]</sup>。本研究表明,与 SARA 组相比,SARA+BA 组山羊的瘤胃液中乙酸浓度显著升高。从而提示胆汁酸改变了 SARA 山羊瘤胃中发酵模式。此外,瘤胃内乳酸的积累对瘤胃液 pH 有很大影响,是诱发 SARA 的关键原因<sup>[18]</sup>。本研究显示胆汁酸添加组山羊瘤胃液中乳酸浓度显著降低。以上结果提示,饲喂胆汁酸可能通过改变瘤胃菌群的组成和结构,从而调整发酵功能,进而缓解高精料日粮诱导的 SARA 状态。

#### 3.2 胆汁酸对 SARA 山羊瘤胃微生物组成的影响

SARA 动物通常伴随着瘤胃内菌群组成和微生物的紊乱。基于 16S rRNA 核酸序列保守区域的高通量测序技术可用于快速、高效了解瘤胃微生物群落结构、种类与丰度。Chao1 指数通常用来表示菌群的丰富度指标,其值越大表示菌群的丰富度越大;Shannon 指数和 Simpson 指数是衡量菌群多样性的指标,Shannon 指数值越大和 Simpson 指数值越小表明

其菌群的多样性越高。李小玉等<sup>[19]</sup>研究表明,高精料日粮诱发山羊 SARA 后,瘤胃菌群丰度指数(Chao1 指数、Ace 指数)降低,多样性指数(Shannon 指数)显著降低。本研究显示,与 SARA 组相比,SARA+BA 组 Chao1 指数、Shannon 指数、细菌门数量均显著升高,Simpson 指数下降。这表明瘤胃中细菌的丰富度和多样性升高。PCoA 分析结果显示,SARA 组样本间菌群相似性较低,而 SARA+BA 组样本间菌群相似性明显升高。此结果表明,SARA 组与 SARA+BA 组菌群的组成存在较大差异,添加胆汁酸后菌群相似性升高。

拟杆菌门和厚壁菌门是反刍动物的优势菌门,在瘤胃发酵过程中起着至关重要的作用。反刍动物瘤胃中拟杆菌门主要负责碳水化合物的降解,而厚壁菌门主要参与纤维物质的分解<sup>[20]</sup>。Zened 等<sup>[21]</sup>发现奶牛瘤胃中的优势菌不会随着日粮的变化而变化。本研究结果表明,添加胆汁酸不改变山羊瘤胃内的优势菌门,但与 SARA 组相比,SARA+BA 组瘤胃拟杆菌门的丰度增加,而厚壁菌门的丰度降低。从而提示胆汁酸可促进瘤胃中非纤维碳水化合物的降解,从而对微生物群落具有积极影响。Wang 等<sup>[22]</sup>研究发现,饲粮添加发酵剂导致犊牛瘤胃脱硫杆菌门丰度降低。本研究发现,添加胆汁酸后瘤胃内脱硫杆菌门的丰度显著降低,其功能仍需进一步研究。

在属水平上,互营球菌属和欧鲁森氏菌属都是淀粉利用菌,高精料中淀粉的增加通常会为淀粉分解细菌提供足够的底物以促进其生长<sup>[23]</sup>。本研究中发现添加胆汁酸后瘤胃内互营球菌属丰度显著降低,欧普森氏菌属的丰度也降低。淀粉利用菌的减少可能会延迟挥发性脂肪酸积累,从而防止淀粉的快速发酵和缩短瘤胃低 pH 值的持续时间。毛螺菌科\_NK3A20 群能够降解纤维产生丁酸<sup>[24]</sup>。与 SARA 组相比,SARA+BA 组瘤胃丁酸浓度降低,可能与胆汁酸显著抑制毛螺菌科\_NK3A20 群的数量有关。在代谢综合征绵羊模型中瘤胃球菌科\_NK4A214 相对丰度降低,且与胆汁酸和维生素 A 的水平显著相关<sup>[25]</sup>。本研究结果显示,相对于 SARA 组,在属水平上 SARA+BA 组山羊瘤胃细菌的瘤胃球菌科\_NK4A214 菌群丰度显著增加。该试验结果表明日粮添加胆汁酸显著提高了瘤胃中瘤胃球菌科\_NK4A214 菌群丰度。此外,瘤胃球菌科\_NK4A214 可以产生乙酸<sup>[24]</sup>,与 SARA 组相比,SARA+BA 组乙酸浓度显著升高,可能与瘤胃球菌科\_NK4A214 显著升高有关。

### 4 结论

本研究结果显示,日粮添加胆汁酸能够提高

SARA 山羊的生长性能, 提高瘤胃液 pH 值, 提高乙酸浓度, 降低乳酸浓度, 增加细菌丰富度和多样性, 并改善菌群结构的组成, 从而缓解山羊亚急性瘤胃酸中毒。

## 参考文献:

- [1] ZHANG H, PENG A L, ZHAO F F, et al. Thiamine ameliorates inflammation of the ruminal epithelium of saanen goats suffering from subacute ruminal acidosis [J]. *J Dairy Sci*, 2020, 103 (2): 1931-1943.
- [2] BEAUCHEMIN K A, YANG W Z, RODE L M. Effects of particle size of alfalfa based-dairy cow diets on chewing activity, ruminal fermentation, and milk production [J]. *J Dairy Sci*, 2003, 86 (2): 630-643.
- [3] HUMER E, PETRI R M, ASCHENBACH J R, et al. Invited review: practical feeding management recommendations to mitigate the risk of subacute ruminal acidosis in dairy cattle [J]. *J Dairy Sci*, 2018, 101 (2): 872-888.
- [4] LEFEBVRE P, CARIOU B, LIEN F, et al. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation [J]. *Physiol Rev*, 2009, 89 (1): 147-191.
- [5] THOMAS C, GIOIELLO A, NORIEGA L, et al. Tgr5-mediated bile acid sensing controls glucose homeostasis [J]. *Cell Metab*, 2009, 10: 167-177.
- [6] MA K, SAHA P K, CHAN L, et al. Farnesoid X receptor is essential for normal glucose homeostasis [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116: 1102-1109.
- [7] WAHLSTRÖM A, SAYIN S I, MARSCHALL H U, et al. Intestinal crosstalk between bile acids and microbiota and its impact on host metabolism [J]. *Cell Metab*, 2016, 24: 41-50.
- [8] POLS T W, NOMURA M, HARACH T, et al. TGR5 activation inhibits atherosclerosis by reducing macrophage inflammation and lipid loading [J]. *Cell Metab*, 2011, 14: 747-757.
- [9] RIDLON J M, HARRIS S C, BHOWMIK S, et al. Consequences of bile salt biotransformations by intestinal bacteria [J]. *Gut Microbes*, 2016, 7 (1): 22-39.
- [10] 吴明海, 何琳娟, 孙国君. 饲喂胆汁酸盐对奶牛血清生化指标的影响 [J]. *新疆农垦科技*, 2019, 42 (2): 22-24.
- [11] IMMIG I. The effect of porcine bile acids on methane production by rumen contents *in vitro* [J]. *Archives of Animal Nutrition*, 1998, 51: 21-26.
- [12] LAI W, HUANG W, DONG B, et al. Effects of dietary supplemental bile acids on performance, carcass characteristics, serum lipid metabolites and intestinal enzyme activities of broiler chickens [J]. *Poult Sci*, 2018, 97 (1): 196-202.
- [13] WANG D S, ZHANG R Y, ZHU W Y, et al. Effects of subacute ruminal acidosis challenges on fermentation and biogenic amines in the rumen of dairy cows [J]. *Livest Sci*, 2013, 155 (2): 262-272.
- [14] DENMAN S E, MCSWEENEY C S. Development of a real-time PCR assay for monitoring anaerobic fungal and cellulolytic bacterial populations within the rumen [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2006, 58 (3): 572-582.
- [15] 胡丹, 郝燕青, 陈渠, 等. 饲料中添加复合胆汁酸对皮质酮诱导的肉鸡脂肪肝综合征的缓解作用研究 [J]. *南京农业大学学报*, 2024, 47 (1): 44-51.
- [16] LETTAT A, NOZIERE P, SILBERBERG M, et al. Experimental feed induction of ruminal lactic, propionic, or butyric acidosis in sheep [J]. *J Anim Sci*, 2010, 88 (9): 3041-3046.
- [17] BROSSARD L, MARTIN C, DURAND F C, et al. Protoza involved in butyric rather than lactic fermentative pattern during latent acidosis in sheep [J]. *Reprod Nutr Dev*, 2004, 44 (3): 195-206.
- [18] PLAIZIER J C, KRAUSE D O, GOZHO G N, et al. Subacute ruminal acidosis in dairy cows: the physiological causes, incidence and consequences [J]. *Vet J*, 2008, 176 (1): 21-31.
- [19] 李小明, 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.
- [20] 占今舜, 杨群, 胡耀, 等. 日粮精粗比对湖羊瘤胃发酵和菌群结构的影响 [J]. *草业学报*, 2020, 29 (7): 122-130.
- [21] ZENED A, COMBES S, CAUQUIL L, et al. Microbial ecology of the rumen evaluated by 454 GS FLX pyrosequencing is affected by starch and oil supplementation of diets [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2013, 83 (2): 504-514.
- [22] WANG Y, XIA H, YANG Q, et al. Evaluating starter feeding on ruminal function in yak calves: combined 16S rRNA sequencing and metabolomics [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 821613.
- [23] CALSAMIGLIA S, BUSQUET M, CARDOZO P W, et al. Ferret invited review: essential oils as modifiers of rumen microbial fermentation [J]. *J Dairy Sci*, 2007, 90 (6): 2580-2595.
- [24] XIA G, SUN J, FAN Y, et al.  $\beta$ -sitosterol attenuates high grain diet-induced inflammatory stress and modifies rumen fermentation and microbiota in sheep [J]. *Animals*, 2020, 10 (1): 171-187.
- [25] ZHANG T, SUN P, GENG Q, et al. Disrupted spermatogenesis in a metabolic syndrome model: the role of vitamin A metabolism in the gut-testis axis [J]. *Gut*, 2022, 71 (1): 78-87.