

日粮蛋白水平对育肥藏羊瘤胃细菌多样性的影响

李蒋伟, 周力, 马博研, 高占红, 姚有莉, 王志有, 侯生珍, 桂林生*

(青海大学农牧学院, 西宁 810016)

摘要: 为了研究不同蛋白水平对育肥藏羊瘤胃细菌多样性的影响, 选取健康且体况相近的 3 月龄早期断奶藏羊公羔 15 只, 平均体重为 (22.05 ± 2.06) kg, 随机分为 3 组, 日粮粗蛋白水平分别为 10.08% (I 组), 12.84% (II 组) 和 14.97% (III 组)。预试期 7 d, 正试期 112 d。饲养实验结束后对试验羊进行屠宰并于不同位点采集瘤胃液样品, 测定瘤胃细菌的相对丰度。结果表明: (1) Shannon 指数和 Simpson 指数各组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), ACE 指数和 Chao 1 指数 I 组显著高于 II 组和 III 组 ($P < 0.05$)。 (2) 门水平下, 拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes) 为瘤胃细菌的优势菌门, 且均随日粮蛋白水平提高而显著增加 ($P < 0.05$); 变形菌门 (Proteobacteria) 和放线菌门 (Actinobacteria) 相对丰度 II 组显著较高 ($P > 0.05$)。 (3) 科水平下, 毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 相对丰度较高, 但各组之间差异不显著 ($P > 0.05$); 瘤胃球菌科 (*Ruminococcaceae*) 相对丰度 II 组和 III 组显著高于 I 组 ($P < 0.05$); 韦荣氏菌科 (*Veillonellaceae*) 相对丰度 III 组显著高于 I 组 ($P < 0.05$)。 (4) 属水平下, *Prevotella* (普雷沃氏菌属) 的相对丰度 III 组显著高于 I 组和 II 组 ($P < 0.05$), 瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) II 组相对丰度显著较高 ($P < 0.05$)。 (5) PCA 分析显示各组间瘤胃细菌结构差异不明显, 但采食低蛋白水平日粮的藏羊瘤胃细菌相似度更高, 能更好聚类在一起。综上所述, 不同蛋白水平对育肥藏羊瘤胃细菌多样性无显著影响, 但可影响其丰富度; 同时随着日粮蛋白水平的提高, 厚壁菌门 (Firmicutes) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 相对丰度显著增加, 普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 在日粮蛋白水平为 14.97% 时更适宜生长, 瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*) 则在日粮蛋白水平为 12.84% 时活性更高。

关键词: 蛋白水平; 藏羊; 16S rDNA; 瘤胃微生物

中图分类号: S826.83

文献标识码: A

文章编号: 1672-352X (2022)01-0098-05

Effect of dietary protein level on rumen microbial diversity of fattening Tibetan Sheep

LI Jiangwei, ZHOU Li, MA Boyan, GAO Zhanhong, YAO Youli, WANG Zhiyou, HOU Shengzhen, GUI Linsheng
(College of Agriculture and Animal Husbandry, Qinghai University, Xining 810016)

Abstract: In order to study the effects of different protein levels on rumen bacterial diversity of fattening Tibetan sheep, fifteen healthy 3-month-old Tibetan lambs with an average weight of (22.05 ± 2.06) kg were randomly divided into three groups. The lambs in the treatment groups were fed diets with crude protein levels at 10.08% (group I), 12.84% (group II) and 14.97% (group III), respectively. The pre-experimental period lasted for 7 days, and the experimental period lasted for 112 days. At the end of the experiment, all individuals were slaughtered and then the rumen fluid samples were collected from different sites for determining the relative abundance of rumen bacteria. The results showed that: (1) There was no significant difference in Shannon index and Simpson index among groups ($P > 0.05$). Ace index and Chao 1 index in group I were significantly higher than those in group II and group III ($P < 0.05$). (2) At the phylum level, the relative abundance of Proteobacteria and Actinobacteria in group II was significantly higher than that in group II ($P > 0.05$). (3) At the family level, the relative abundance of *Lachnospiraceae* was higher, but there was no significant difference among groups ($P > 0.05$). The relative abundance of *Ruminococcaceae* in group II and group III was significantly higher than that in group I ($P < 0.05$). The relative abundance of *Veillonellaceae* in group III was significantly higher than that in group I ($P < 0.05$). (4) At genus level, the relative abundance of *Prevotella* in group III was significantly higher than that in groups I and II ($P < 0.05$), and which of *Ruminococcus* in group II was significantly higher ($P < 0.05$). (5) PCA analysis showed that there was no significant

收稿日期: 2021-05-21

基金项目: 青海大学校地合作项目 (2020GN118) 和青海省农牧科技创新羊产业科技研发平台 (QNKP20170601) 共同资助。

作者简介: 李蒋伟, 硕士研究生。E-mail: jiangwei960607@163.com

* 通信作者: 桂林生, 博士, 副教授。E-mail: guilinsheng1234@163.com

difference in rumen bacterial community structure among the groups, but there was a trend of separation between the groups. The bacteria of Tibetan sheep fed with low protein diet had higher similarity and better clustering. In conclusion, different protein levels had no significant effect on rumen bacterial diversity of fattening Tibetan sheep, but which could affect its richness; meanwhile, with the increase of dietary protein level, the relative abundance of Firmicutes and Bacteroidetes increased significantly, *Prevotella* was more suitable for the growth when the dietary protein level was 14.97%, while *Ruminococcus* was more active when the dietary protein level was 12.84%.

Key words: protein level; Tibetan sheep; 16S rDNA; rumen microbiota

随着近年来藏羊饲养模式从放牧到集中舍饲的转变, 其各生长阶段的日粮配比及营养水平成为藏羊舍饲生产迫切待解决的问题^[1]。从藏羊早期断奶分栏饲喂直至出栏, 在此阶段日粮的营养水平尤为重要; 其中蛋白水平是影响反刍动物育肥效果最重要因素之一, 过低的蛋白水平会降低育肥藏羊消化率和生产性能, 而过高的蛋白水平又会引起相关代谢病^[2], 因此适宜的日粮蛋白水平对育肥藏羊尤为重要。瘤胃作为反刍动物日粮消化的一站, 其内数以亿计的微生物将日粮营养成分转化为能被宿主吸收利用的蛋白质或者挥发酸^[3]; 细菌占瘤胃众多微生物的 50% 以上, 对反刍动物机体健康和生产性能起主导作用^[4]。王尧悦^[5]对 5~6 月龄滩羊饲以不同营养水平日粮, 发现栖瘤胃普雷沃氏菌、黄色瘤胃球菌、溶糊精琥珀酸弧菌、溶纤维丁酸弧菌和产甲烷菌的数量随日粮营养水平的提高而显著增加。Chanthakho 等^[6]研究给水牛日粮补充豆科植物, 通过实时定量 PCR 和 PCR-DGGE 现代分子技术发现瘤胃内纤维分解菌(黄色瘤胃球菌和白色瘤胃球菌)数量显著增加。目前, 放牧和“放牧+补饲”模式下育肥藏羊瘤胃微生物区系受许多学者关注, 但有关舍饲育肥藏羊瘤胃细菌菌群多样性的研究较少, 日粮蛋白水平对藏羊瘤胃细菌群影响的研究尚未形成定论。本试验应用 16S rDNA 高通量测序技术探究日粮蛋白水平对育肥藏羊瘤胃细菌菌群多样性的影响, 以期为进一步了解藏羊瘤胃微生物和合理配制育肥期藏羊日粮奠定理论基础, 为舍饲藏羊健康高效的养殖模式探索提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验动物及试验设计

在青海省海北州高原现代畜牧示范园区选取 15 只体况良好的 3 月龄健康藏羊公羔, 平均体重为 (22.05±2.06) kg; 完全随机平均分为 3 个处理组 (I、II 和 III), 预饲期 7 d 后开始饲喂试验, 育肥期 112 d。试验期内每天 9:00 和 18:00 饲喂 2 次, 自由采食、饮水。

1.2 试验动物日粮及饲养管理

参考 NY/T 816—2004 中国肉羊饲养标准^[7]进行育肥藏羊日粮配制。各处理组分别饲以蛋白水平为 10.08%、12.84% 和 14.97% 的日粮, 其他营养水平保持一致。饲料组成及营养水平见表 1。试验羔羊全舍饲分栏饲养, 每天定时清扫圈舍, 按时对羊舍和运动场进行消毒杀菌, 并对羔羊进行常规疫苗的免疫注射和寄生虫防治。

表 1 饲料组成及营养水平

Table 1 Composition and nutrient levels of experimental diets (DM basis)

项目	配比		
原料/%	I	II	III
玉米	45.50	42.00	42.00
豆粕	0.00	2.10	9.80
麸皮	16.45	12.25	4.55
菜籽粕	4.90	10.50	10.50
燕麦干草	30.00	30.00	30.00
碳酸氢钙	0.70	0.70	0.70
小苏打	0.35	0.35	0.35
食盐	0.70	0.70	0.70
预混料 ⁽¹⁾	1.40	1.40	1.40
合计	100.00	100.00	100.00
营养水平			
粗蛋白/%	10.08	12.84	14.97
代谢能/(MJ·kg ⁻¹) ⁽²⁾	10.04	10.02	10.09
赖氨酸/%	0.23	0.23	0.23
蛋氨酸/%	0.10	0.10	0.10
钙/%	0.25	0.25	0.25
磷/%	0.23	0.23	0.23
酸性洗涤纤维/%	22.18	22.35	22.81
中性洗涤纤维/%	13.06	13.22	13.62

注: (1) 预混料为每千克饲粮提供: Cu 18 mg, Fe 66 mg, Zn 30 mg, Mn 48 mg, Se 0.36 mg, I 0.6 mg, Co 0.24 mg, VA 24 000 IU, VD 4 800 IU, VE 48 IU。(2) 代谢能和非纤维性碳水化合物为计算值, 其余均为实测值。

1.3 样品采集和处理

饲养试验结束后, 试验藏羔羊于清晨空腹屠宰, 在不同位点取瘤胃内容物, 经 4 层纱布过滤后取瘤胃液于 50 mL 离心管中, 混匀、过滤后将滤液进行 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min, 投入液氮, 并于实验室-80 °C 冷冻保存。

1.4 瘤胃液细菌分析方法

本试验中瘤胃细菌 16S rDNA 高通量测序工作委托广州赛哲生物科技股份有限公司完成。使用 DNA 提取试剂盒 (Invitrogen™, USA) 提取瘤胃微生物基因组 DNA, 根据保守区设计得到引物, 其中通用引物正向: 5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3'; 反向: 5'-GGACTACHVGGGTATCTAAT-3'。扩增条件: 98 °C 左右持续 2 min, 轮回 30 次循环, 依次经过 98 °C × 30 s、50 °C × 30 s、72 °C × 1 min, 最后于 72 °C 下延长 7 min。根据 Barode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样品数据, 截去 Barcode 序列和引物序列, 对样品的 reads 进行拼接、过滤低质量的 tag 以及嵌合体, 得到高质量的 Tags 数据 (Clean Tags)。然后基于 CleanTags 进行 OTUs (Operational Taxonomic Units) 聚类 (OTU 分析)。根据 OTUs 聚类结果, 对每个 OTU 的代表序列做物种注释, 得到对应的物种注释信息和基于物种的丰度分布情况。II 组中一个样品测序质量评估不合格, 对其剔除。

1.5 数据处理

采用 Excel 整理初始数据, 群落分布的差异显著性检验采用 R 语言 (Version 4.1) 中的 Wilcox 非

参数检验, 检测结果用平均值±标准误 (Mean ± SE) 的形式表示。差异显著的判断标准为 $P < 0.05$ 。Alpha 多样性指数分析软件为: Mothur version v.1.30, 通过 PCA 分析中, 计算距离矩阵, 利用各样品序列间的进化信息来计算样品间距离。

2 结果与分析

2.1 不同蛋白水平下育肥藏羊瘤胃细菌 OTU 基础分析

2.1.1 测序质量评估 参与测序样品共产生 371 200 条 Clean tags, 每个样品至少产生 41 241 条 Clean tags, 平均产生 49 356 条 Clean tags, 质控有效数据量达 48 322。所有样品测序覆盖率均在 99% 以上, 本试验测序深度能够准确反映瘤胃细菌的组成。

2.1.2 瘤胃微生物多样性 对不同蛋白水平下藏羊瘤胃细菌 Alpha 多样性指数分析如表 2: Shannon 指数和 Simpson 指数反映了瘤胃细菌群落多样性, ACE 指数和 Chao 1 指数则决定了瘤胃细菌 OUT 数目和丰富度。其中, Shannon 指数和 Simpson 指数各组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 表明各组间群落多样性相似; ACE 指数和 Chao 1 指数 I 组显著高于 II 组和 III 组 ($P < 0.05$), 表明 I 组相较 II 组和 III 组有较高的群落丰富度。

表 2 不同蛋白水平日粮对育肥藏羊瘤胃微生物多样性指数的影响

Table 2 Effects of different protein levels on rumen microbial diversity index of fattening Tibetan Sheep

组别	Shannon 指数	Simpson 指数	ACE	Chao 1
I	7.74 ± 0.51	0.976 ± 0.01	2 813.10 ± 114.67 ^a	2 824.68 ± 106.95 ^a
II	8.04 ± 0.27	0.975 ± 0.01	2 207.43 ± 155.40 ^b	2 262.05 ± 173.71 ^b
III	7.79 ± 0.41	0.984 ± 0.00	2 181.93 ± 45.64 ^b	2 242.32 ± 57.26 ^b
P 值	0.724	0.915	0.028	0.016

注: 同列数据肩注不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。

表 3 门水平下细菌相对含量

Table 3 Relative bacterial content at phylum level %

项目	组别			P 值
	I	II	III	
拟杆菌门	43.47±0.84 ^b	50.62±0.88 ^a	50.21±2.20 ^a	0.008
厚壁菌门	37.83±1.37 ^b	40.84±0.88 ^b	45.66±1.35 ^a	0.001
变形菌门	2.24±0.33 ^b	3.69±0.21 ^a	2.80±0.30 ^{ab}	0.025
放线菌门	1.48±0.39 ^b	2.97±0.16 ^a	1.31±0.50 ^b	0.031

2.2 不同蛋白水平下育肥藏羊瘤胃细菌分类学分析

2.2.1 门水平下瘤胃细菌分布分析 在本试验中藏羊瘤胃存在 4 种主要菌门, 其中 Bacteroidetes (拟杆菌门) 和 Firmicutes (厚壁菌门) 是优势菌门。对 4 种菌门相对丰度进行显著性分析如表 3 所示: Bacteroidetes (拟杆菌门) 和 Firmicutes (厚壁菌门) 相对丰度分别超过 43% 和 37%, 且均随日粮蛋白水平提高而显著增加 ($P < 0.05$); Proteobacteria (变形菌门)

和 Actinobacteria (放线菌门) 相对丰度较小, 分别低于 4% 和 3%, 且相对丰度 II 组显著较高 ($P > 0.05$)。

2.2.2 科水平下瘤胃细菌分布分析 本试验中藏羊瘤胃存在 11 种主要菌科, 其中 Lachnospiraceae (毛螺菌科)、Prevotellaceae (普雷沃氏菌科) 和 Ruminococcaceae (瘤胃球菌科) 是主要已知菌科。对其相对丰度进行显著性分析如表 4 所示: Lachnospiraceae (毛螺菌科) 相对丰度 6.04% ~ 11.42%, 各组之间差异不显著 ($P > 0.05$); Ruminococcaceae (瘤胃球菌科) 相对丰度 8.19% ~ 15.07%, 且 II 组和 III 组显著高于 I 组 ($P < 0.05$); Veillonellaceae (韦荣氏菌科) 相对丰度 2.78% ~ 9.64%, 且 III 组显著高于 I 组 ($P < 0.05$)。Paraprevotellaceae (帕拉普氏菌科)、Christensenellaceae (克里斯滕森菌科) 和 Succinivibrionaceae (琥珀酸弧菌科) 的相对丰度不受日粮蛋白水平影响 ($P > 0.05$)。

表 4 科水平下细菌相对含量

细菌种类	组别			P 值
	I	II	III	
帕拉普氏菌科	3.70±0.41 ^a	2.25±0.11 ^b	3.85±0.13 ^a	0.016
BS11	7.48±0.33 ^b	10.05±0.93 ^a	0.52±0.16 ^c	0.004
克里斯滕森菌科	0.79±0.14 ^b	1.21±0.09 ^b	2.03±0.25 ^a	0.033
丹毒丝菌科	0.80±0.16 ^b	0.95±0.32 ^b	2.02±0.13 ^a	0.010
F16	1.68±0.15	1.47±0.13	1.31±0.73	0.254
毛螺菌科	6.04±0.96 ^b	11.29±0.59 ^a	11.42±0.51 ^a	0.018
普雷沃氏菌科	15.32±1.47	16.77±1.90	19.37±0.68	0.353
RF16	2.56±0.31	2.25±0.40	1.64±0.40	0.092
瘤胃球菌科	8.19±0.71 ^b	13.23±0.98 ^a	15.07±1.95 ^a	0.021
琥珀酸弧菌科	1.07±0.30	1.01±0.58	3.44±2.07	0.146
韦荣氏菌科	2.78±0.90 ^b	5.66±0.82 ^{ab}	9.64±2.97 ^a	0.023

表 5 属水平下细菌相对含量

细菌种类	组别			P 值
	I	II	III	
丁酸弧菌属	1.49±0.18	1.65±0.52	1.19±0.17	0.122
CF231	1.48±0.63	1.23±0.24	2.23±0.42	0.169
普雷沃氏菌属	13.32±1.30 ^b	13.57±1.15 ^b	18.87±0.75 ^a	0.008
RFN20	0.48±0.10	0.75±0.31	1.45±0.58	0.058
瘤胃球菌属	4.06±0.09 ^b	6.30±0.63 ^a	2.99±0.10 ^b	0.020
月形单胞菌属	0.65±0.25	0.20±0.07	0.83±0.30	0.093
解琥珀酸菌属	1.30±0.09	1.24±0.27	1.69±0.64	0.085

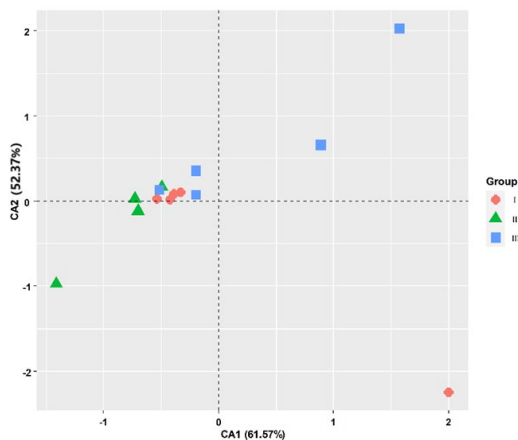


图 1 瘤胃细菌主成分分析

Figure 1 The PCA of rumen bacteria

2.2.3 属水平下瘤胃细菌分布分析 本试验中藏羊瘤胃主要存在 7 种主要菌属, 对其相对丰度进行显著性分析如表 5 所示: *Prevotella* (普雷沃氏菌属) 的相对丰度较高 (13.32% ~ 18.87%), 且 III 组显著高于 I 组和 II 组 ($P < 0.05$); *Ruminococcus* (瘤胃球菌属) 是次优菌属, II 组相对丰度显著较高 ($P < 0.05$); 其余菌属相对丰度均较小 ($< 3\%$)。其中 *Butyrivibrio* (丁酸弧菌属)、*CF231*、*RFN20*、

Selenomonas (月形单胞菌属) 和 *Succinivibrionaceae* (解琥珀酸菌属) 均不受蛋白水平影响 ($P > 0.05$)。

2.3 不同蛋白水平下育肥藏羊瘤胃细菌主成分分析

利用 UniFrac PCA 对不同蛋白水平下育肥藏羊瘤胃细菌群落差异进行研究, 通过系统进化距离来衡量样品间的距离并显示于二维 PCA 图上 (图 1)。基于 UniFrac 加权主坐标分析其第一主成分和第二主成分贡献率分别为 61.57% 和 52.37%, 各组间瘤胃液细菌群落结构差异不明显, 但有彼此分隔的趋势, 其中采食低蛋白水平日粮的藏羊细菌相似度更高, 更好聚类在一起。

3 讨论与结论

3.1 不同蛋白水平对瘤胃细菌多样性的影响

刚出生的藏羔羊瘤胃中即有部分微生物定植, 藏羔羊早期断奶后随着粗饲料采食的增加和瘤胃逐渐发育, 瘤胃微生物群落迅速发展^[8-9]; 且新生或幼龄反刍动物瘤胃微生物与成年阶段相比更易受饲料等因素的影响, 影响作用持续时间也更长久^[10]。郭凯等^[11]用 19% 和 22% 蛋白水平饲料饲喂犊牛, 发现 19% 组 Chao1 指数比 22% 组显著提高 20.7%, PD whole tree 指数提高了 17.4%, 其余多样性指数无显著差异。在本试验条件下, 不同蛋白水平对瘤胃细菌香浓指数和辛普森指数均无显著性影响, 而低蛋白水平下藏羊瘤胃细菌 ACE 指数和 Chao1 指数均显著高于高蛋白组。说明在育肥藏羔羊建立了较为稳定的微生物群落体系, 而不同蛋白水平对细菌多样性并无较大影响, 只作用于 OTU 种类和数量, 从而影响细菌丰度; 当蛋白水平为 10.08% 时可促进瘤胃细菌定植, 与前人研究相一致。

3.2 不同蛋白水平下瘤胃细菌分类学分析结果

厚壁菌门、变形菌门和拟杆菌门是广泛存在于反刍动物瘤胃中的优势细菌, 其优势程度受宿主年龄、性别、饲料组成、养殖方式以及遗传条件等多重因素制约^[12-13], 蛋白水平作为反刍动物日粮配制的主要因素, 对瘤胃细菌优势菌群有较大影响^[14]。高蛋白日粮能为微生物提供更多的营养, 从而导致部分优势菌群增多, 提高对营养物质分解消化效率。本研究得到的结果与前人相似, 厚壁菌门和拟杆菌门在瘤胃细菌种占据优势地位, 拟杆菌门与非纤维类营养物质降解直接相关, 而厚壁菌门则主要降解纤维类物质^[15]。在本研究中, 高蛋白日粮下拟杆菌门和厚壁菌门更易增殖, 可能是高蛋白日粮可为拟杆菌门类细菌提供更多发酵底物和能量, 微生物数量增加又提高部分营养物质降解效率^[16]。放线菌门

能产生大量抗生素和蛋白酶等有益宿主消化道健康和营养物质消化代谢的物质^[11], 本研究发现在蛋白水平为 12.84% 时丰度较高。李海琴等^[17]研究发现提高饲料蛋白质水平有助于小尾寒羊瘤胃内有关纤维降解菌的增殖, 当蛋白质水平达到 14% 时, 瘤胃对日粮蛋白的降解能力最强, 与本试验结果一致。

普雷沃氏菌属拟杆菌门, 是瘤胃中最主要的蛋白降解菌, 可分解淀粉和部分细胞壁多糖^[18], 同时也可促进对半纤维素的降解^[19]。Ellison 等^[20]发现日粮中粗蛋白质水平、中性洗涤纤维和酸性洗涤纤维的差异均会引起反刍动物瘤胃内普雷沃氏菌物种和丰度的差异。在本研究中, 当日粮蛋白水平达到 14.97% 时, 普雷沃氏菌属相对丰度显著增加, 并且占据瘤胃细菌优势地位, 表明高蛋白日粮促进了普雷沃氏菌属增殖。瘤胃球菌属是瘤胃内降解木质纤维素的优势菌种, 目前可分离的多数菌株都可利用纤维素、木聚糖和纤维二糖, 并能够产生 β -葡萄糖苷酶、 β -木糖苷酶和纤维素酶等多种木质纤维素降解酶^[21]。本研究表明当日粮蛋白水平为 12.84% 时, 更适宜瘤胃球菌生长定植。丁酸弧菌属功能同普雷沃氏菌属相似, 也是一种可发酵淀粉、非纤维多糖以及单糖的多功能菌属, 兼具淀粉酶和蛋白酶活性, 也影响部分挥发性脂肪酸的含量^[22], 但在本研究中不同蛋白日粮的影响下未对其丰度造成影响。

在本试验条件下, 不同蛋白水平对育肥藏羊瘤胃细菌多样性无显著影响, 但可影响其丰富度; 同时随着日粮蛋白水平的提高, Firmicutes (厚壁菌门) 和 Bacteroidetes (拟杆菌门) 相对丰度显著增加, Prevotella (普雷沃氏菌属) 在日粮蛋白水平为 14.97% 时更适宜生长, Ruminococcus (瘤胃球菌属) 则在日粮水平为 12.84% 时活性更高。

参考文献:

- [1] 李蒋伟, 桂林生, 王志有, 等. 饲料精粗比对早期断奶藏羔羊生长性能及肠道组织形态的影响[J]. 饲料研究, 2020, 43(11): 6-9.
- [2] IRWIN L N, MITCHELL G E Jr, TUCKER R E, et al. Histamine, tyramine, tryptamine and electrolytes during glucose induced lactic acidosis[J]. J Anim Sci, 1979, 48(2): 367-374.
- [3] 韩璐璐. 体外模拟环境下日粮粗蛋白水平对绵羊瘤胃发酵和养分降解的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2016.
- [4] WELKIE D G, STEVENSON D M, WEIMER P J, ARISA analysis of ruminal bacterial community dynamics in lactating dairy cows during the feeding cycle[J]. Anaerobe, 2010, 16(2): 94-100.
- [5] 王尧悦. 日粮营养水平对滩羊瘤胃细菌区系及 pH 和 VFA 的影响[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.
- [6] CHANTHAKHO V, WANAPAT M. Effect of legume (*Phaseolus calcaratus*) hay supplementation on rumen cellulolytic bacterial populations in swamp buffaloes investigated by the real-time PCR technique[J]. J Animal Vet Adv, 2010, 9(11): 1654-1659.
- [7] 中华人民共和国农业行业标准: 肉羊饲养标准 (NY/T816-2004)[J]. 湖南饲料, 2006(6): 9-15.
- [8] HOLMAN D B, GZYL K E. A meta-analysis of the bovine gastrointestinal tract microbiota[J]. FEMS Microbiol Ecol, 2019, 95(6): fiz072.
- [9] MIZRAHI I, JAMI E. Review: The compositional variation of the rumen microbiome and its effect on host performance and methane emission[J]. Animal, 2018, 12(s2): s220-s232.
- [10] YÁÑEZ-RUIZ D R, ABECIA L, NEWBOLD C J. Manipulating rumen microbiome and fermentation through interventions during early life: a review[J]. Front Microbiol, 2015, 6: 1133.
- [11] 郭凯, 唐梦琪, 霍倩倩, 等. 不同蛋白水平饲料对犊牛瘤胃微生物区系多样性及组成的影响[J]. 家畜生态学报, 2019, 40(11): 22-28.
- [12] QIN J J, LI R Q, RAES J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. Nature, 2010, 464(7285): 59-65.
- [13] LEY R E, LOZUPONE C A, HAMADY M, et al. Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota[J]. Nat Rev Microbiol, 2008, 6(10): 776-788.
- [14] CUI K, QI M L, WANG S Q, et al. Dietary energy and protein levels influenced the growth performance, ruminal morphology and fermentation and microbial diversity of lambs[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 16612.
- [15] EVANS N J, BROWN J M, MURRAY R D, et al. Characterization of novel bovine gastrointestinal tract *Treponema* isolates and comparison with bovine digital dermatitis treponemes[J]. Appl Environ Microbiol, 2011, 77(1): 138-147.
- [16] SINGH K M, AHIR V B, TRIPATHI A K, et al. Metagenomic analysis of Surti buffalo (*Bubalus bubalis*) rumen: a preliminary study[J]. Mol Biol Rep, 2012, 39(4): 4841-4848.
- [17] 李海琴, 贾建磊, 陈倩, 等. 饲料蛋白质水平对断奶羔羊瘤胃组织形态及微生物群落结构与功能的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(11): 5331-5340.
- [18] FERNANDO S C, PURVIS H T 2nd, NAJAR F Z, et al. Rumen microbial population dynamics during adaptation to a high-grain diet[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(22): 7482-7490.
- [19] BEKELE A Z, KOIKE S, KOBAYASHI Y. Genetic diversity and diet specificity of ruminal *Prevotella* revealed by 16S rRNA gene-based analysis[J]. FEMS Microbiol Lett, 2010, 305(1): 49-57.
- [20] ELLISON M J, CONANT G C, LAMBERSON W R, et al. Diet and feed efficiency status affect rumen microbial profiles of sheep[J]. Small Rumin Res, 2017, 156: 12-19.
- [21] ARNTZEN M Ø, VÁRNAI A, MACKIE R I, et al. Outer membrane vesicles from *Fibrobacter succinogenes* S85 contain an array of carbohydrate-active enzymes with versatile polysaccharide-degrading capacity[J]. Environ Microbiol, 2017, 19(7): 2701-2714.
- [22] 张林. 日粮 NFC/NDF 比例对奶牛生产性能、体外瘤胃发酵和细菌微生物区系的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2018.