



高、低剩余采食量滩羊瘤胃微生物的差异

和东迁 陶金忠

Differences of rumen microorganisms between high and low residual feed intake of Tan sheep

HE Dongqian, TAO Jinzhong

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0618>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

饲料油菜不同添加比例对滩羊瘤胃体外发酵的影响

Effects of mixed silage containing corn straw and rape on the *in vitro* fermentation characteristics of rumen fluid from Tan sheep
草业科学. 2020, 37(11): 2343 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0242>

桑枝叶粉对云南云岭牛瘤胃微生物区系的影响

Effects of mulberry branch and leaf powder on rumen microflora of Yunnan Yunling cattle
草业科学. 2020, 37(10): 2069 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0586>

茴香秸秆替代玉米秸秆对湖羊瘤胃液挥发性脂肪酸、微生物区系和肌肉脂肪酸组成的影响

Effect of fennel straw replacing corn stover on rumen fermentation parameters and intramuscular fatty acid composition of *Hu* sheep
草业科学. 2020, 37(8): 1588 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0431>

荒漠草原放牧与舍饲对滩羊屠宰性能与肉品质的影响

Effect of desert steppe grazing on slaughtering performance and meat quality of Tan sheep
草业科学. 2021, 38(3): 554 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0393>

粗饲料来源对育肥湖羊瘤胃微生物区系及肌肉脂肪酸组成的影响

Effects of dietary roughage sources on the rumen microflora and muscle fatty acids in finishing *Hu* lambs
草业科学. 2019, 36(11): 2926 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2019-0092>

纤维素酶处理荞麦秸秆对舍饲滩羊生产性能及经济效益的影响

Effects of cellulase treatment of buckwheat straw on production performance of barn feeding Tan sheep and its economic benefit
草业科学. 2020, 37(12): 2541 <https://doi.org/10.11829/j.issn.1001-0629.2020-0299>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

DOI: 10.11829/j.issn.1001-0629.2021-0618

和东迁, 陶金忠. 高、低剩余采食量滩羊瘤胃微生物的差异. 草业科学, 2022, 39(9): 1931-1941.

HE D Q, TAO J Z. Differences of rumen microorganisms between high and low residual feed intake of Tan sheep. Pratacultural Science, 2022, 39(9): 1931-1941.

高、低剩余采食量滩羊瘤胃微生物的差异

和东迁, 陶金忠

(宁夏大学农学院, 宁夏 银川 750021)

摘要: 剩余采食量(RFI)通过实际采食量与预期采食量之差来评估饲料效率。瘤胃微生物相对丰度和活性决定着反刍动物的饲料效率。本研究选取 345 只 6 月龄左右体重相近的滩羊, 采用多元回归模型计算每只羊的 RFI, 按数值极值大小分为极高组和极低组, 分别采集其瘤胃液, 利用测序技术对滩羊瘤胃液样本中细菌 16S rRNA 基因扩增子进行测序, 分析其瘤胃微生物菌群。结果表明, 极高和极低组公母羊瘤胃微生物多样性和丰富度均无显著变化 ($P > 0.05$), PCoA 主坐标分析未发现瘤胃内微生物群落明显分离。极高组中, 公羊的拟杆菌门和变形菌门丰度显著高于母羊, 母羊的放线菌门丰度显著高于公羊 ($P < 0.05$)。极高组中, 母羊的 *Olsenella* 菌属丰度显著高于公羊, 公羊的 *Prevotella* 菌属和 *Erysipelotrichaceae*_UCG-002 丰度显著高于母羊 ($P < 0.05$)。极低组中, 公羊的 *Selenomonas* 菌属丰度显著高于母羊 ($P < 0.05$)。公羊不同 RFI 表型中, 低 RFI 组的广古菌门中的 *Methanobrevibacter* 菌属丰度显著高于高 RFI 组, 高 RFI 组的变形菌门丰度显著高于低 RFI 组羊 ($P < 0.05$)。综上, 性别是影响瘤胃微生物差异的重要因素, 瘤胃内的 *Methanobrevibacter* 菌群与低 RFI 滩羊有关。

关键词: 滩羊; 剩余采食量; 饲料效率; 瘤胃; 菌群; 公羊; 母羊; 16S rRNA

文献标志码: A 文章编号: 1001-0629(2022)09-1931-11

Differences of rumen microorganisms between high and low residual feed intake of Tan sheep

HE Dongqian, TAO Jinzhong

(College of Agriculture, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China)

Abstract: Residual feed intake is a measure of feed efficiency by the difference between actual and expected feed intake. The relative abundance and activity of rumen microorganisms determine the feed efficiency of ruminants. In this study, rumen microflora of Tan sheep with high and low residual feed intake was analyzed. After the experiment, rumen fluid was collected from 7 male and female Tan sheep with extremely low RFI and 8 male and female Tan sheep with extremely high RFI. The amplicon of bacterial 16S rRNA gene in the rumen fluid samples of Tan sheep was sequenced by sequencing technology. The results showed that rumen microbial diversity and richness had no significant changes in male and female sheep ($P > 0.05$), and principal coordinate analysis (PCoA) showed no significant separation of rumen microbial community. However, in the extremely high group, the abundance of Bacteroidetes in male sheep was significantly higher than that in female sheep, the abundance of actinomycetes in female sheep was significantly higher than that in male sheep, and the abundance of proteobacteria in male sheep was significantly higher than that in female sheep ($P < 0.05$). In the extremely high group, the abundance of *Olsenella* was significantly higher in female sheep than in male sheep, the abundance of *Prevotella* was significantly higher in male sheep than in female sheep, and the abundance of *Erysipelotrichaceae*_UCG-002 was significantly

收稿日期: 2021-10-11 接受日期: 2022-03-17

基金项目: 宁夏自然科学基金 (2022AAC03059); 国家自然科学基金 (U21A201210)

第一作者: 和东迁 (1995-), 男, 甘肃天水人, 硕士, 动物分子遗传育种与标记。E-mail: 18119415529@163.com

通信作者: 陶金忠 (1977-), 男, 甘肃兰州人, 教授, 博士, 研究方向为组学技术与分子遗传育种。E-mail: tao_jz@nxu.edu.cn

higher in male sheep than in female sheep ($P < 0.05$). *Selenomonas* bacteria was significantly higher in male sheep than in female sheep in the extremely low group ($P < 0.05$). Among the different RFI phenotypes of RAMS, *Methanobrevibacter* in euryarchaea in low RFI group was significantly higher than that in high RFI group, and Proteobacteria in low RFI group was significantly lower than that in high RFI group ($P < 0.05$). In conclusion, gender is an important factor affecting rumen microbial differences, and *Methanobrevibacter* flora in rumen is associated with low RFI tan sheep.

Keywords: Tan sheep; residual feed intake; feed efficiency; rumen; flora; male sheep; female sheep; 16S rRNA

Corresponding author: TAO Jinzhong E-mail: tao_jz@nxu.edu.cn

饲料成本占养殖总成本的 65%~70%，增加养殖经济效益，提高饲料效率是关键。剩余采食量(residual feed intake, RFI)为基于动物体况和生产性能的实际饲料摄入量及其预期饲料摄入量之间的差异^[1]，被广泛应用于评估各种家畜动物饲料效率，RFI 较低的个体饲料效率更高。然而 RFI 表型受许多因素影响，如日粮、喂养方式(如喂养的持续时间和次数)、瘤胃发酵、体况状况(脂肪和蛋白质)、代谢过程、运动和饲喂时所产生的热增耗^[2]。目前鲜有研究报道性别与饲料效率间的差异关系，仅 Ahmed 等^[3]发现性别影响不同 RFI 肉牛瘤胃上皮基因差异表达，对生长性能和瘤胃细菌没有显著影响。

瘤胃是瘤胃微生物的主要发酵场所，短链脂肪酸是瘤胃发酵的最终产物，是反刍动物能量的主要供应来源。因此，瘤胃功能与饲料效率密切相关。瘤胃发酵中会产生一些不必要的能量损失。甲烷是造成温室效应的主要气体之一，反刍动物瘤胃产生的 CH_4 约 7.7×10^7 t，绝大部分 CH_4 气体来源于反刍动物。据报道，反刍动物胃肠道 CH_4 消耗占总能量摄入的 5%~10%^[4]。肉牛甲烷的日产率与 RFI 正相关，低 RFI 个体甲烷排放量少。因此，低 RFI 动物个体的选育不仅可以降低动物的养殖成本，还可以减小养殖对环境的污染。Guan 等^[5]报道了瘤胃微生物群及其发酵参数与牛的饲料效率之间的潜在联系，低 RFI 较高 RFI 个体拥有特异性菌群。Deborah 等^[6]通过 16S rRNA 测序技术评价内洛尔肉牛瘤胃微生物群与饲料效率的关系发现，低 RFI 和高 RFI 牛的细菌组成差异主要与 Lachnospiraceae、Ruminococcaceae、Christensenellaceae 以及 *Prevotella* 的成员有关。对不同 RFI 绵羊的 16s RNA 测序发现，低 RFI 绵羊表现出更丰富和更多样化的微生物菌群^[7]。瘤胃微生物代谢网络异常也与饲料效率密切相关^[8]。对不同

RFI 肉牛瘤胃微生物 18s rRNA 测序发现，原虫群落的未分配类群和系统发育多样性的差异可能是造成肉牛饲料效率表型差异的原因^[9]。Liang 等^[10]发现，低 RFI 动物拥有更低的 pH，并且低 RFI 瘤胃环境比高 RFI 更稳定，有利于饲料发酵。目前研究表明瘤胃菌群与饲料效率密切相关。因此，本研究选择大群体公母滩羊，对其进行不限定运动饲养，探究不同 RFI 公母滩羊瘤胃微生物差异，确定影响饲料效率的关键微生物，为滩羊选育实践提供理论支持。

1 材料与方法

1.1 试验羊饲喂与管理

试验在宁夏盐池滩羊育种选育场进行。分别选择 6 月龄健康和具有良好系谱的滩羊公羊 163 只，母羊 182 只。试验采用单栏颈夹饲喂，在采食期间采用颈夹固定羔羊，采食完成后松开颈夹，让其自由运动^[11]。试验饲粮配方和加工饲粮营养水平参考肉羊饲养标准^[12]，试验饲粮按配方加工为颗粒饲料。日粮组成及营养水平与陈丽尧等^[13]所报道一致(表 1)。试验过渡期 15 d，正试期 50 d，试验期间饲喂同一种饲料。在试验开始前记录绵羊初始体重，并且每 10 d 称重一次至试验结束。

1.2 RFI 表型计算

RFI 通过回归模型计算，所用模型^[13]如下：

$$Y_i = \beta_0 + \beta_1 \text{Mid-BW}_i^{0.75} + \beta_2 \text{ADG}_i + e_i$$

式中： Y_i 为第 i 只动物的 DMI(干物质采食量)； β_0 为回归截距； β_1 为 $\text{Mid-BW}_i^{0.75}$ 对应的回归系数； β_2 为 ADG(日增重)对应的回归系数； e_i 为第 i 只动物的随机误差， $\text{Mid-BW}_i^{0.75}$ 为第 i 只动物的中期代谢体重， ADG_i 为第 i 只动物的平均日增重。

公、母滩羊的回归方程依次为：

表 1 基础日粮组成及营养水平
Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets

项目 Item	含量 Content
原料 Ingredient/%	
玉米秸秆 Corn straw	20.0
玉米 Corn	32.0
糖蜜 Molasses	4.0
豆粕 Soybean meal	6.0
棉粕 Cotton meal	8.0
玉米皮 Corn bran	15.3
玉米胚芽粕 Corn germ meal	11.0
石粉 Limestone	1.2
食盐 NaCl	0.5
预混料 Premix	2.0
合计 Total	100.0
营养水平(干物质基础) Nutrient level (Dry matter basis) ¹⁾	
代谢能 Metabolic energy/(MJ·kg ⁻¹)	9.93
粗蛋白质 Crude protein/%	13.74
粗脂肪 Ether extract/%	2.74
中性洗涤纤维 Neutral detergent fibers/%	35.99
酸性洗涤纤维 Acid detergent fibers/%	20.34
钙 Calcium/%	0.71
磷 Phosphorus/%	0.31

¹⁾预混料为每千克饲料提供: 铁69.63 mg, 铜7.41 mg, 锰23.7 mg, 锌55 mg, 碘0.67 mg, 钴0.3 mg, 维生素A 2 500 IU, 维生素E 23 IU。
²⁾代谢能为计算值, 其他营养水平为测定值。
¹⁾Premix provided the following per kilogram of the diet: Fe 69.63 mg, Cu 7.41 mg, Mn 23.7 mg, Zn 55 mg, I 0.67 mg, Co 0.3 mg, VA 2 500 IU, and VE 23 IU. ²⁾Metabolic energy calculated value, nutrient levels were measured values.

$$DMI_{\text{预测}} = -0.244 + 1.669Mid-BW^{0.75} + 0.079ADG。$$
$$DMI_{\text{预测}} = 0.103 + 2.126 \times Mid-BW^{0.75} + 0.051ADG。$$
$$RFI = RFI_{\text{实际}} - RFI_{\text{预测}}。$$

当个体 $RFI \geq RFI \text{ 平均值} + 0.5$ 时, 划分为高 RFI 组; 当个体 $RFI \leq RFI \text{ 平均值} - 0.5$ 时, 划分为低 RFI 组。

1.3 瘤胃液采集

饲养试验结束后选取极高 RFI 母羊和公羊各 7 只, 极低 RFI 母羊和公羊各 8 只。在第 66 天晨饲前采用绵羊瘤胃导管体外抽取瘤胃液, 并将瘤胃液

分管装入 50 mL 冻存管, 置于-20 ℃ 条件下保存, 用于瘤胃微生物 DNA 的提取。

1.4 瘤胃液 DNA 提取

采用 CTAB 法^[9] 提取样本基因组 DNA, 然后利用琼脂糖凝胶电泳和 NanoDrop 2000 分光光度计检测 DNA 纯度和浓度, 取适量样品于离心管中, 使用无菌水稀释样品至 1 ng·μL⁻¹。

1.5 16S rDNA V4 区 PCR 扩增子测序

根据测序区域选择, 使用带 Barcode 的特异引物。16S V4 区域引物为 515F-806R, 上游引物 F: CCTAYGGGRBGCASCAG/下游引物 R: GGACTACN NGGGTATCTAAT。使用 New England Biolabs 公司的 Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix with GC Buffer。对高效和高保真的酶进行 PCR, 确保扩增效率和准确性。PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测。根据 PCR 产物浓度进行等浓度混样, 充分混匀后使用 1 × TAE 浓度 2% 的琼脂糖胶电泳纯化 PCR 产物, 选择主带 400~450 bp 的序列, 割胶回收目标条带。使用 Illumina 公司 TruSeq DNA PCR-Free Library Preparation Kit 建库试剂盒进行文库的构建, 构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测, 合格后, 使用 NovaSeq 6000 进行上机测序。

1.6 信息分析与数据统计

剔除 DNA 降解或不合格样本后, 获得极高组 RFI 母羊 6 只和公羊 5 只、极低组 RFI 母羊 6 只和公羊 7 只的原始数据。测序得到的原始数据, 存在一定比例的干扰数据, 为了使信息分析的结果更加准确可靠, 对原始数据进行拼接过滤, 得到有效数据。基于有效数据进行 OTUs (operational taxonomic units) 聚类 and 物种分类分析, 根据 OTUs 聚类结果, 对每个 OTUs 的代表序列做物种注释, 得到对应的物种信息和基于物种的丰度分布情况。同时, 对 OTUs 进行丰度、Alpha 多样性计算、Venn 图, 以得到样品内物种丰富度和均匀度信息、不同样品或分组间的共有和特有 OTUs 信息。对 OTUs 进行多序列比对并构建系统发生树, 进一步得到不同样品和分组的群落结构差异, 通过主坐标分析 (PCoA) 和样品聚类树进行展示。为进一步挖掘分组样品间的落结构差异, 选用 T-test 和 LEfSe 统计分析方法对分组样品的物种组成和群落结果进行差异显

著性检。

利用 Uparse 软件 (Uparse v7.0.1001, <http://www.drive5.com/uparse/>) 对所有样本的全部 Effective Tags 进行聚类, 默认以 97% 的一致性将序列聚类成为 OTUs。对 OTUs 序列进行物种注释, 用 Mothur 方法与 SILVA138 (<http://www.arb-silva.de/>) 的 SSUrRNA 数据库进行物种注释分析 (设定阈值为 0.8~1)。使用 MUSCLE (Version 3.8.31, <http://www.drive5.com/muscle/>) 软件进行快速多序列比对, 得到所有 OTUs 代表序列的系统发生关系。使用 Qiime 软件 (Version 1.9.1) 计算 Observed-OTUs, Chao1, Shannon, Simpson, ace, Goods-coverage, PD_whole_tree 指数, 使用 R 软件 (Version 2.15.3) 绘制稀释曲线、rank abundance 曲线、物种累积曲线, 并使用 R 软件进行 α 多样性指数组间差异分析; α 多样性指数组间差异分析进行非参数检验, 选用 agricolae 包的 wilcox 检验。试验数据使用 Excel 2010 进行整理, 应用 SPSS 17.0 进行独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 时认为差异显著, 结果均以平均值 $\pm$ 标准误 (means $\pm$ SEM) 形式列出。PCoA 基于 unweighted unifracs 距离来分析。

2 试验结果

2.1 菌群测序量及序列长度分布

对瘤胃液样本的肠道菌群 DNA 片段进行双端测序, 筛选过滤后共产生 2 063 628 条原始读段, 平均每个样本 85 970 条原始读段。经质控筛选过滤后共产生 2 028 835 条有效读段, 平均每个样本 84 535 条有效读段。其中 Q20 和 Q30 (碱基质量值 ≥ 20 或 30 所占的比例) 平均值分别为 98% 和 94% (附表 1)。

2.2 OUT 聚类分析

OTUs 是人为设置的微生物分类单元, 按照序列相似度 $\geq 97\%$ 归为同一个 OTU, 即同一微生物物种的标准进行聚类, 经测序后, 基于 97% 物种相似性, 将 24 组瘤胃液样品中获得的序列进行 OTU 聚类, 对样品进行 OTU 的统计, 剔除稀有 OTU 后, Venn 图显示 (图 1), 极低组公羊发现 1 812 个 OTUs, 极高组公羊发现 1 610 个 OTUs, 极低组母羊发现 1 677 个 OTUs, 极高组母羊发现 1 698 个 OTUs。极高组公羊和极低组公羊两组共有 1 274 个 OTUs。极高组母羊和极低组母羊共有 1 327 个 OTUs, 极高组

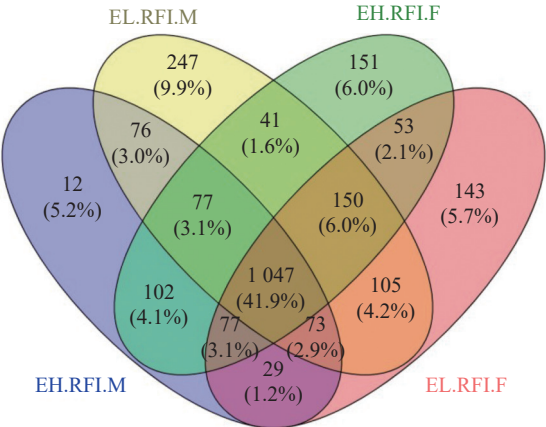


图 1 不同 RFI 组 OTUs Venn 图

Figure 1 OTUs Venn diagram of different RFI groups

EHF、EHM、ELF 和 ELM 分别表示极高组母羊、极高组公羊、极低组母羊、极低组公羊; 下同。
EHF, EHM, ELF, and ELM indicate extremely high groups of females and males, and low groups of females and males, respectively. This is applicable for the following tables and figures as well.

公羊和母羊共有 1 303 个 OTUs, 极低组公羊和母羊共有 1 377 个 OTUs。

2.3 微生物群落 Alpha 多样性分析

所有组观测到的物种数、Shannon-Wiener 指数、Simpson 指数、Chao1 指数、ACE 指数和基因文库覆盖率均无显著差异 ($P > 0.1$), EHM 与 ELM 的 PD_whole_tree 差异显著 ($P < 0.1$) (表 2)。但是极高组公羊的 PD_whole_tree 明显高于其他组别。表明极高低组 RFI 公羊和极高低组母羊之间菌群多样性差异较小, 菌群趋于一致性。

2.4 微生物群落多样性曲线

当测序量达到 3 500 时, 不同 RFI 组物种曲线趋向平坦, 说明测序数据量渐合理。等级聚类曲线可直观地反映样本中物种的丰富度和均匀度。在水平方向上, 物种的丰富度逐渐变宽, 物种的丰富度升高, 曲线在横轴上的跨度越大; 在垂直方向上, 曲线逐渐变平缓, 物种分布均匀性良好 (图 2)。

2.5 微生物群落 β 多样性分析

β 多样性组间差异分析的箱型图 (图 3) 表明, 公羊极高组与极低组之间存在极显著差异 ($P < 0.01$), 母羊极高组与极低组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。极低组公羊和母羊之间差异极显著 ($P < 0.01$), 极高组公羊和母羊之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 2 不同剩余采食量对滩羊瘤胃微生物多样性影响
Table 2 Different residual feed intake on rumen microbial diversity of Tan sheep

项目 Item	组别 Group				P
	EHM	ELM	EHF	ELF	
观测到的物种数 No. of observed species	860.00 ± 27.37	838.00 ± 41.78	857.00 ± 68.35	837.00 ± 55.81	0.983
Shannon-Wiener	5.79 ± 0.35	6.33 ± 0.14	6.02 ± 0.49	6.01 ± 0.32	0.724
Simpson	0.91 ± 0.22	0.96 ± 0.01	0.94 ± 0.21	0.94 ± 0.14	0.265
Chao1	961.04 ± 30.71	926.89 ± 39.40	961.99 ± 65.24	937.14 ± 58.35	0.947
ACE	975.04 ± 29.93	947.22 ± 39.42	984.36 ± 67.55	962.56 ± 56.61	0.956
覆盖率 Good's_coverage	0.996 0 ± 0.000 4	0.996 0 ± 0.000 1	0.996 0 ± 0.000 3	0.996 0 ± 0.000 2	0.573
PD_whole_tree	71.87 ± 2.33b	102.23 ± 11.78a	74.92 ± 7.73b	74.44 ± 6.86	0.058b

同行不同大小写字母分别表示在0.05和0.1水平上差异显著。下表同。
Different capital and lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 and 0.1 levels, respectively. this is appicable for the following tables as well.

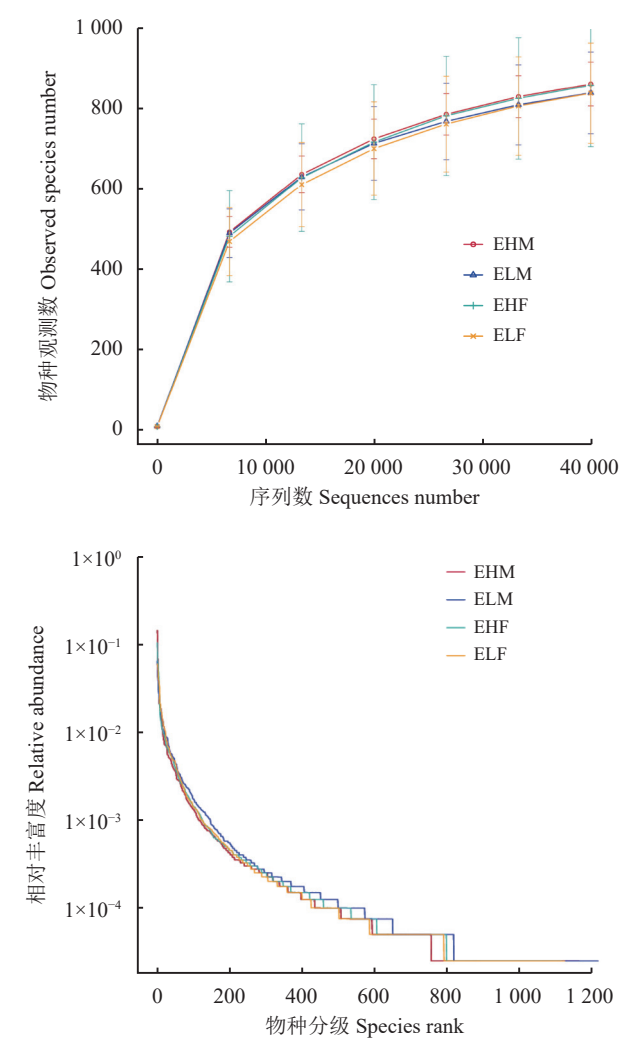


图 2 不同 RFI 瘤胃微生物群落多样性曲线
Figure 2 Rumen microbial community diversity curve of Tan sheep with different residual feed intake

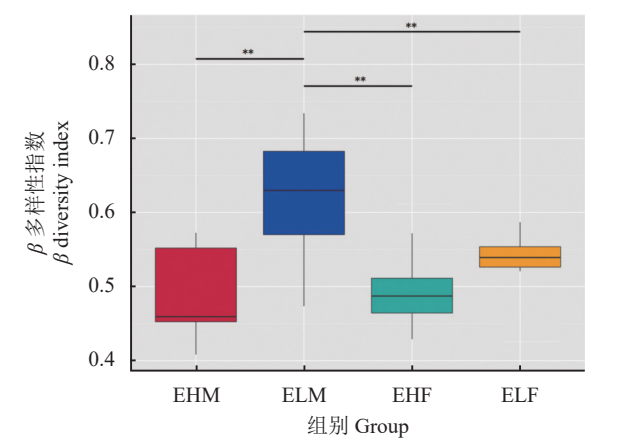


图 3 不同 RFI 公母羊组间微生物群落 β 多样性指数
Figure 3 Box diagram of microbial community β diversity index between male and female sheep groups with different RFI
**, $P < 0.01$.

2.6 主坐标分析

滩羊不同 RFI 组间样本具有部分重叠, 但没有明显的分离, 表明样本组间和组内微生物群落差异性较小 (图 4)。

2.7 UPGMA 聚类

极高 RFI 组公羊 4 个样本聚集在一起, 聚类效果较好, 其他 RFI 组样本聚类效果不明显 (图 4)。从整体结构来看, 不同 RFI 组微生物结构相似。

2.8 滩羊瘤胃微生物组成

滩羊瘤胃微生物在门和属水平上公母羊优势菌

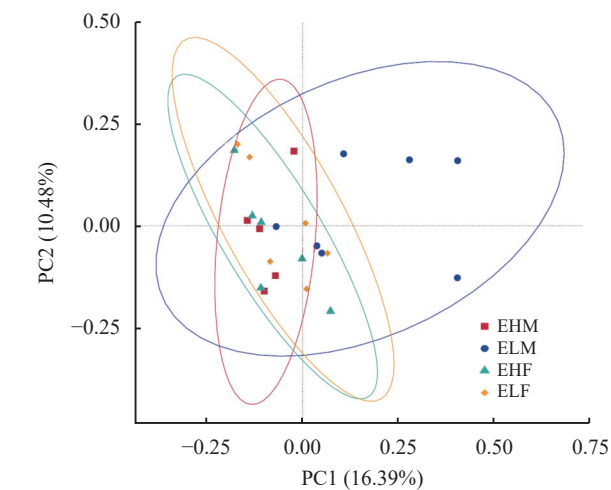


图 4 不同 RFI 组微生物群落 PCoA 得分图

Figure 4 PCoA score of microbial communities in different RFI Tan sheep groups

属不同,但是整体结构相似。在门水平上,公羊优势菌门是拟杆菌门和厚壁菌门,母羊优势菌门是厚壁菌门和拟杆菌门(表 3)。在属水平上,公羊优势菌属为普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、韦荣球菌 UCG-002 (*Erysipelotrichaceae*_UCG_002),母羊优势菌属是 *Olsenella* 和普雷沃氏菌属(表 4)。

在门水平上(表 3),拟杆菌门公羊极高组与极低组之间差异显著($P < 0.05$),极高组公羊显著高于母羊。放线菌门公羊极低组明显高于极高组,极高组母羊明显高于公羊。广古菌门公羊极高组显著低于极低组($P < 0.05$)。变形菌门极高组公羊显著高于其他组($P < 0.05$)。在属水平上(表 4),*Olsenella* 菌属极高组母羊明显高于公羊,极低组公羊明显高于母

羊。韦荣球菌科 UCG-002 极高组公羊显著高于其他组别($P < 0.05$)。甲烷短杆菌极高组公羊与极低组公羊明显高于其他组别。

2.9 差异微生物的 LEfSe 及功能富集分析

LEfSe 可以在各个水平上比较微生物丰度差异,以线性判别分析(LDA)得分 > 4 为符合生物标记物的菌落。极高组公羊与极低组公羊比较发现梭菌纲、古菌域、广古菌门、甲烷杆菌科、甲烷杆菌纲、甲烷杆菌目和甲烷短杆菌属(*Methanobrevibacter*)在极低组公羊中高表达,Prevotella_DJF_cp65、Bacteria、普雷沃氏菌科、韦荣球菌科 UCG-002 和韦荣球菌科 SG0102 在极高组公羊中高表达(图 5)。极高组母羊和极高组公羊比较发现, Bacteroidia、Bacteroidales、Bacteroidota、Prevotellaceae、Prevotella、Succinivibrionaceae_UGG_001、 Aeromonadales、Succinivibrionaceae 在极高组公羊中高表达,双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、双歧杆菌目、双歧杆菌科、放线菌纲、*Olsenella.umbonata*、*Olsenella*、*Atopobiaceae*、*Coriobacteriales*、*Coriobacteriia* 和 *Actinobacteriota* 在极高组母羊中高表达(图 5)。比较发现,月形单胞菌属(*Selenomonas*)在极低组公羊中高表达,梭状芽胞杆菌 UGG.014 (*Clostridia*_UGG_014)、*Olsenella_umbonata* 在极低组母羊中高表达(图 6)。

3 讨论

本研究选择较大的滩羊群体,具有较高的生物学重复性,并且选择公母羊两类群体作为研究对

表 3 微生物相对丰度在门分类水平上排名前十的物种

Table 3 Top 10 species at phylum taxonomic level in relative abundance of microorganisms

门 Phylum	组别 Group				P
	EHM	ELM	EHF	ELF	
拟杆菌门 Bacteroidota	49.58 ± 5.56A	36.66 ± 3.38B	27.48 ± 4.42B	33.67 ± 4.57B	0.022
放线菌门 Actinobacteriota	3.51 ± 0.81c	7.05 ± 3.30b	27.10 ± 8.90a	16.15 ± 7.12ab	0.057
厚壁菌门 Firmicutes	38.08 ± 6.35	41.47 ± 4.16	36.11 ± 5.05	42.27 ± 5.41	0.811
广古菌门 Euryarchaeota	2.81 ± 1.01B	7.95 ± 1.62A	5.55 ± 0.73A	4.88 ± 0.95A	0.050
变形菌门 Proteobacteria	2.80 ± 1.07A	0.99 ± 0.26B	0.70 ± 0.18B	0.54 ± 0.13B	0.019
未分类 Unidentified_Bacteria	0.88 ± 0.13	1.65 ± 0.33	1.27 ± 0.37	0.73 ± 0.12	0.115
螺旋菌门 Spirochaetota	0.15 ± 0.05	0.43 ± 0.14	0.14 ± 0.05	0.17 ± 0.08	0.115
蓝藻门 Cyanobacteria	0.15 ± 0.06	0.24 ± 0.10	0.18 ± 0.08	0.19 ± 0.06	0.592
纤维杆菌门 Fibrobacterota	0.11 ± 0.07	0.11 ± 0.03	0.08 ± 0.05	0.04 ± 0.02	0.631
酸杆菌门 Acidobacteriota	0.06 ± 0.02	0.05 ± 0.02	0.09 ± 0.03	0.08 ± 0.04	0.426

表 4 微生物相对丰度在属分类水平上排名前十的物种

Table 4 Top ten species at genus taxonomic level in relative abundance of microorganisms

属 Genus	组别 Group				P
	EHM	ELM	EHF	ELF	
<i>Olsenella</i>	2.89 ± 0.80b	4.66 ± 2.06b	23.66 ± 8.84a	13.84 ± 6.80a	0.069
普雷沃氏菌属 <i>Prevotella</i>	32.66 ± 5.05a	20.44 ± 4.09ab	16.00 ± 4.00b	16.83 ± 9.23b	0.057
韦荣球菌属 UCG_002 <i>Erysipelotrichaceae_UCG_002</i>	14.22 ± 7.41A	0.26 ± 0.05B	3.37 ± 2.40B	0.10 ± 0.02B	0.028
<i>Quinella</i>	0.02 ± 0.00	1.73 ± 1.65	0.42 ± 0.10	5.10 ± 4.76	0.522
月形单胞菌属 <i>Selenomonas</i>	3.91 ± 1.79ab	8.21 ± 2.80a	1.73 ± 0.43b	2.68 ± 1.27b	0.094
甲烷短杆菌 <i>Methanobrevibacter</i>	2.77 ± 0.10b	7.82 ± 1.62a	5.51 ± 0.72b	4.81 ± 0.95b	0.055
双歧杆菌属 <i>Bifidobacterium</i>	0.34 ± 0.05	2.06 ± 1.50	2.84 ± 1.31	1.73 ± 0.52	0.531
<i>Acetitomaculum</i>	1.58 ± 0.25	2.96 ± 1.38	2.93 ± 1.09	3.79 ± 1.12	0.634
瘤胃球菌属 <i>Ruminococcus</i>	2.13 ± 0.77	4.12 ± 1.29	1.69 ± 0.43	2.14 ± 0.82	0.216
毛螺菌 NK3A20 <i>Lachnospiraceae_NK3A20_group</i>	1.85 ± 1.24	3.90 ± 1.01	3.28 ± 0.68	3.36 ± 0.66	0.420

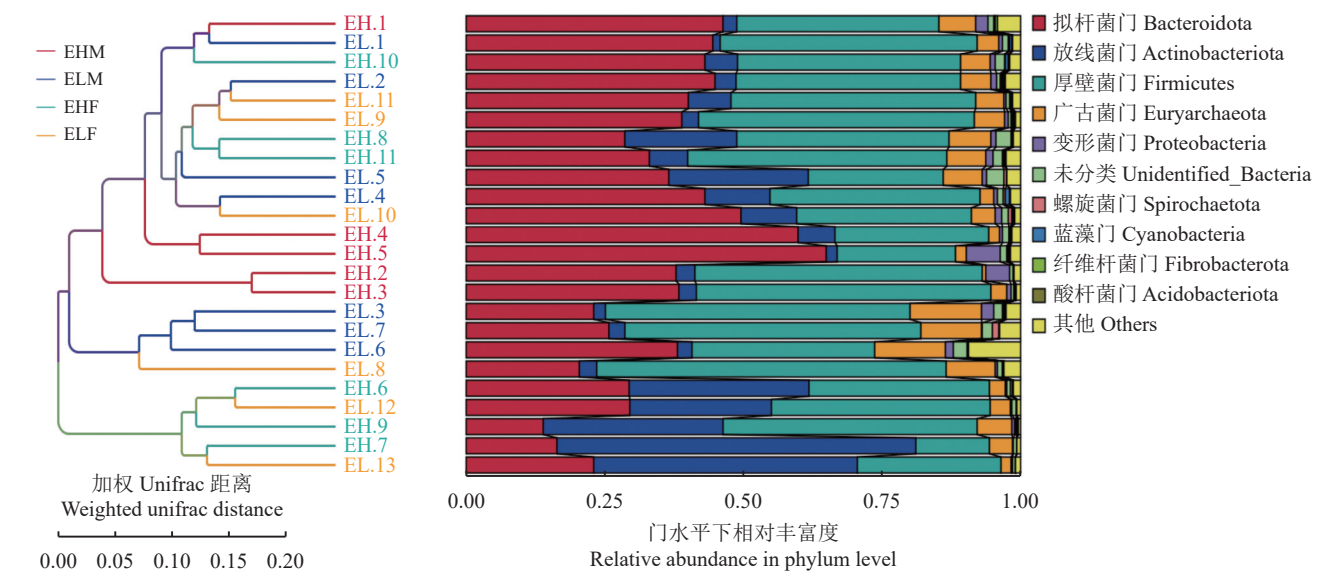


图 5 不同 RFI 组微生物群落 UPGMA 图

Figure 5 UPGMA of microbial communities in different RFI Tan sheep groups

象,探究性别差异对瘤胃微生物的影响。Zhang 等^[14]在湖羊饲料效率的研究中采用单栏饲喂的方式,而这无疑忽略了动物运动对机体造成的影响。研究发现,肉牛身体活动量与 RFI 表型相关系数高达 0.32,其中 10% 的 RFI 变异由身体活动所导致,这些活动包括采食、反刍以及物理性运动^[15]。在动物不同生长阶段,性别对生物发育速度具有较大的影响,动物生长初期雌性动物的生长发育速度较快,而在生物生长发育后期,雄性动物的生长发育速度则较快^[16-17],因此动物性别也可能会对饲料效

率有影响。

3.1 性别差异对微生物菌群的影响

近年来发现性别是影响机体代谢的重要因素。Verschuren 等^[18]报道了性别是影响不同饲料效率猪肠道微生物的重要影响因素。Ahmed 等^[3]报道了安格斯牛性别差异对饲料效率的影响,研究发现性别对不同 RFI 动物生长性能和瘤胃微生物无显著影响,但对瘤胃上皮基因表达差异显著。在本研究中,极低组母羊和公羊 PD_whole_tree 差异明显,而其他公母滩羊性别对不同 RFI 瘤胃微生物菌群 α 多样性

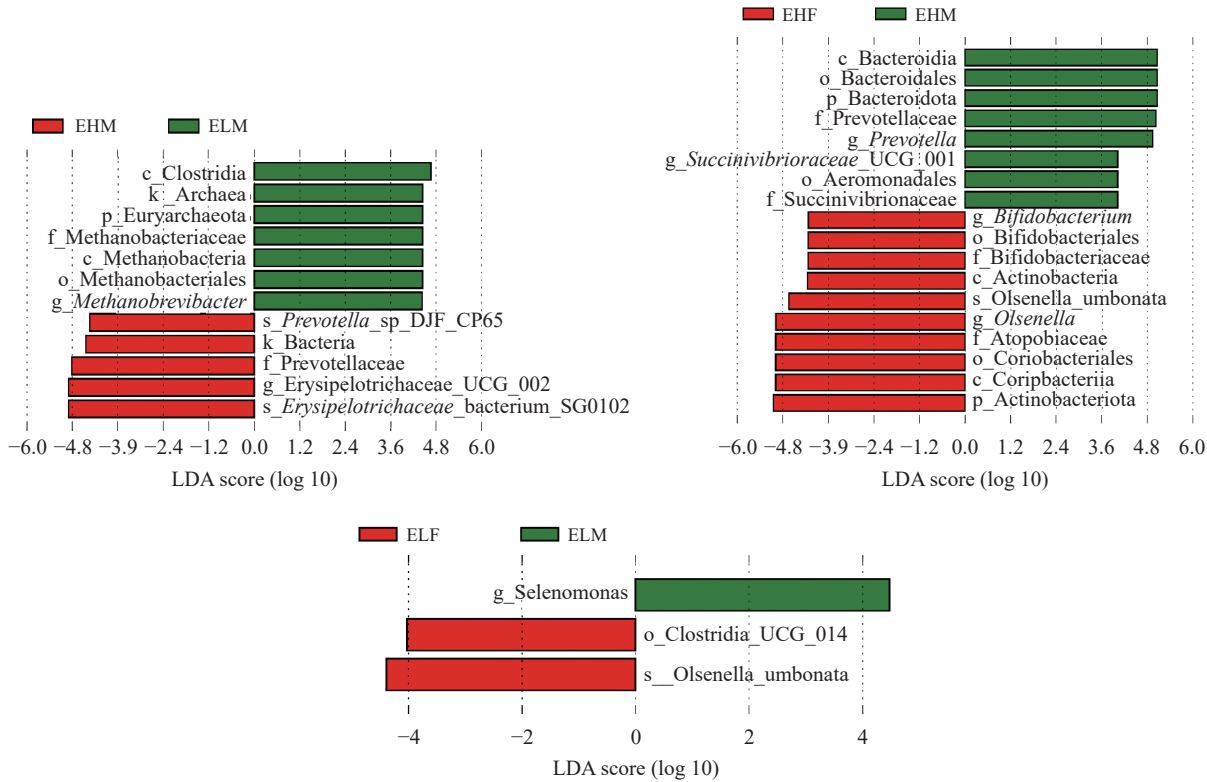


图 6 不同 RFI 组滩羊 LefSe 功能富集分析

Figure 6 LefSe function enrichment analysis of Tidal sheep in different RFI groups

k: 界; p: 门; c: 纲; o: 目; f: 科; g: 属; s: 种。
k: kingdom; p: phylum; c: phylum; o: order; f: family; g: genus; s: species.

无显著影响。通过不同性别 RFI 滩羊 PCoA 和 NMDS 图分析发现, 各组别差异较小, β 多样性差异不显著。 α 和 β 多样性指数是反映样本微生物丰富度和均匀度的两个重要指标。这表明性别对微生物生长影响较小。从微生物组成来看, 在门水平上, 不同性别组别间优势菌群种类一致, 极高组公母羊拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、放线菌门 (*Actinobacteria*) 和变形菌门 (*Proteobacteria*) 差异显著。在属水平上, 公母羊间第 1 优势菌属发生变化, *Olsenella* 菌属为母羊第 1 菌属, 普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 为公羊第 1 优势菌属。极高组公母羊 *Olsenella*、普雷沃氏菌属和韦荣球菌属 UGG-002 (*Erysipelotrichaceae*_UCG_002) 差异显著。极低组公母羊单胞菌属 (*selenomonas*) 差异显著。韩学平等^[19] 研究了不同性别间牦牛瘤胃微生物多样性, 发现公母牦牛间微生物组成在种属间组成一致, 而在本研究中发现, 不同 RFI 母滩羊在属水平下优势种属发生了变化。因此 *Olsenella* 菌属可能与母羊 RFI 有关, 不同 RFI 公母羊具有不同的优势, 可能影响瘤胃微生物的不同发酵方式。

3.2 不同 RFI 微生物菌群差异

瘤胃是反刍动物的主要消化器官, 栖居大量的微生物, 并具有复杂的微生物生态系统。研究发现, 微生物菌群的变化直接影响动物瘤胃发酵和营养物质的吸收, 进而导致不同饲料效率的差异^[20-21]。为此, 对不同 RFI 滩羊瘤胃微生物进行了研究。本研究选择 16S V3-V4, 341F-806R 区域, 分析瘤胃内微生物多样性。

本研究中, 序列有效读取率为 98%, 数据具有较高的完整性。其中极低 RFI 公羊具有较高的 OTUs 数目, 公羊极高组 (1 812) 极低组 (1 610) OTUs 数目相差较大, 极低组高于极高组, 而母羊极高极低组 OTUs 数目差异不显著, 极高组高于极低组。马万浩等^[22] 报道发现, 不同 RFI 湖羊公羊中 OTUs 数目高 RFI 组 (394) 高于低 RFI 组 (353)。造成这种差异的因素有很多, 例如精粗比, 随着精料上升, 菌群数量下降, 也可能是动物品种和饲喂环境的原因。 α 和 β 多样性指数是研究微生物多样性的两个重要参数。本研究发现, α 多样性中物种数、Chao1、

ACE 值、Shannon 指数、Simpson 指数和覆盖率等参数在 4 个群体间没有差异,其中只有 PD_whole_tree 在极高和极低 RFI 公羊中差异显著,通过柱状图、PCoA 图和 UPGMA 等没有聚类 and 分离。这与马万浩等^[22]研究结果一致,同样与 Myer 等^[23]通过肉牛平均日采食量和动物体重来评估饲料效率研究结果一致,所有样本和类群发现观察到的 OTUs、丰富度 (Chao1) 或多样性没有差异。这表明每个类群内微生物群落之间的相似性。

在门分类学水平上,4 个组别具有相同的优势菌门,分别是拟杆菌门 (Bacteroidetes) 和厚壁菌门 (Firmicutes),拟杆菌门差异显著,这与众多研究结果一致^[24-26],其优势菌门差异的变化主要发生在厚壁菌门 (*Ruminococcus*、*Lachnospira*、*Lachnospira*_NK3A20、*Erysipelotrichaceae*_UCG-002、*Quinella*、*Selenomonas* 菌属中),Myer 等^[23]恰好证明厚壁菌门的增加与 ADFI 较高的动物有关,这可能与饲料效率有关。*Erysipelotrichaceae*_UCG-002 和 *Selenomonas* 主要参与发酵代谢类型,参与丙酮酸、乳酸发酵和葡萄糖发酵主要产生乙酸和丙酸,为机体供能。在本研究结果中极高和极低母羊组中具有较高的放线菌门中的菌属 (*Olsenella*、*Bifidobacterium*),*Bifidobacterium* 可以对葡萄糖进行异型乳酸发酵,生成 L (+) 乳酸和乙酸 (摩尔比为 3 : 2),不产 CO₂,经常作为益生菌的调节剂^[27]。Perea 等^[28]的研究表明,不同 RFI 的阉羊在瘤胃内纤维杆菌、瘤胃球菌、糖酵母菌、双歧杆菌、变形杆菌存在显著差异。占今舜等^[29]报道,随着精料比例增加瘤胃中放线菌门数量增加。研究报道,拟杆菌门丰度的高低可能与高纤维饲料有关,拟杆菌门又是降解碳水化合物的重要微生物群^[30]。本研究中,极高组公羊与极高组母羊拟杆菌门差异显著,高 RFI 公羊具有较高的拟杆菌门,因此高 RFI 公羊具有较高消化纤维类饲料能

力。在公羊不同 RFI 表型中广古菌门 (Euryarchaeota) 中的甲烷短杆菌 (*Methanobrevibacter*) 和变形菌门差异显著。广古菌门在动物胃肠道中主要以产甲烷菌的形式存在,*Methanobrevibacter* 通常将无机或有机化合物厌氧发酵转化成甲烷和二氧化碳排放,造成巨大的能量损失和环境污染。众多研究发现,甲烷排放与饲料效率有关^[31-33],Ellison 等^[34]发现采用青贮料饲喂羔羊时,*Methanobrevibacter* 在低 RFI 羊瘤胃中丰度更高,这与本研究结果一致。然而,也有研究报道,瘤胃内产甲烷菌的丰度在高 RFI 动物中更高,这似乎更符合理论事实^[35]。造成这种原因的结果可能与其他菌群相互作用有关,董利锋等^[36]报道,*Geobacterspp* 的存在能够直接通过电子转移与产甲烷菌形成协同作用,减少有机物发酵产物的积累而促进产甲烷菌的定植。*Geobacterspp* 是属于变形菌门 Geobacteraceae 科的微生物,恰好在本研究结果中发现,两种变形菌门菌属 *Olsenella*、*Bifidobacterium*,并且 *Olsenella* 和 *Bifidobacterium* 在极高 RFI 母羊中的丰度均高于极低 RFI 母羊,因此 *Olsenella* 和 *Bifidobacterium* 具有与 *Geobacterspp* 类似的作用。

4 结论

性别对极高或极低 RFI 个体瘤胃微生物有显著影响,*Olsenella* 菌属为母羊第 1 菌属,普雷沃氏菌属 (*Prevotella*) 为公羊第 1 优势菌属,但不同 RFI 滩羊群体间瘤胃菌群多样化和丰富度相似,瘤胃微生态环境相对稳定。优势菌群的种类和丰度在不同 RFI 组滩羊瘤胃微生物区系中基本一致,厚壁菌门菌群数量的增加可能与 RFI 有关;不同 RFI 公羊组广古菌门中的 *Methanobrevibacter* 菌群在低 RFI 羊瘤胃中丰度更高,不同 RFI 母羊组微生物多样性差异不显著。

参考文献 References:

- [1] KOCH R M, SWIGER L A, CHAMBERS D, GREGORY K E. Efficiency of feed use in beef cattle. *Journal of Animal Science*, 1963, 22(2): 486-494.
- [2] HERD R M, ARTHUR P F. Physiological basis for residual feed intake. *Journal of Animal Science*, 2009, 87 (14 Suppl): 64-71.
- [3] AHMED A, ELOLIMY, MOHAMED K, ABDELMEGEI D, JOSHUA C, MCCANN, DANIL W, SHIKE, JUAN J L. Residual feed intake in beef cattle and its association with carcass traits, ruminal solid-fraction bacteria, and epithelium gene expression. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2018(9): 67.

- [4] PACHECO D, WAGHORN G, JANSSEN P H. Decreasing methane emissions from ruminants grazing forages: A fit with productive and financial realities. *Animal Production Science*, 2014, 54(9): 1141-1154.
- [5] GUAN L L, NRUMAH J D, BASARAB J A, MOORE S S. Linkage of microbial ecology to phenotype: Correlation of rumen microbial ecology to cattle's feed efficiency. *FEMS Microbiology Letters*, 2008, 288(1): 85-91.
- [6] DÉBORAH R G L, MÁRCIO D S D, ALEX J L R. Assessing the relationship between the rumen microbiota and feed efficiency in Nellore steers. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2021, 12(4): 1645-1661.
- [7] ZHANG Y K, ZHANG X X, LI F D, LI C, ZHANG D Y, SONG Q Z, LI X L, ZHAO Y, WANG W M. Characterization of the rumen microbiota and its relationship with residual feed intake in sheep. *Animal*, 2021, 15(3): 100161.
- [8] ELLISON M J, CONANT G C, LAMBERSON W R, COCKRUM R R, AUSTIN K J, RULE D C, CAMMACK K M. Diet and feed efficiency status affect rumen microbial profiles of sheep. *Small Ruminant Research*, 2017, 156(11): 12-19.
- [9] CLEMONS B A, SHIN S B, SMITH T P L, EMBREE M M, VOY B H, SCHNEIDER L G, DONOHUE D R, MCLEAN Kyle J, MYER P R. Ruminal protozoal populations of angus steers differing in feed efficiency. *Animals*, 2021, 11(6): 1561.
- [10] LIANG Y, LI G, LI X, LU J, LI F, TANG D. Growth performance, rumen fermentation, bacteria composition, and gene expressions involved in intracellular pH regulation of rumen epithelium in finishing Hu lambs differing in residual feed intake phenotype. *Journal of Animal Science*, 2017, 95(4): 1727-1738.
- [11] 陶金忠, 和东迁, 王俊奎, 陈丽尧, 罗芳, 张倩, 卢童童, 吴少飞. 一种滩羊单栏饲喂设备: ZL 213603732U, 2021-07-06.
TAO J Z, HE D Q, WANG J K, CHEN L Y, LUO F, ZHANG Q, LU T T, WU S F. The utility model relates to a single stall feeding device for Tan sheep: ZL 213603732U, 2021-07-06.
- [12] 中华人民共和国农业部. NY/T816—2004 肉羊饲养标准. 北京: 中国标准出版社, 2004.
Ministry of Agriculture of the People's Republic of China. NY/T816—2004 Feeding Standard of Meat-Producing Sheep and Goats. Beijing: China Standard Press, 2004.
- [13] 陈丽尧, 和东迁, 卢童童, 张倩, 吴少飞, 罗芳, 王俊奎, 张瑞雪, 陶金忠. 在不限定运动的情况下滩羊 RFI 的测定及与其他生长性能之间的关系. *中国兽医学报*, 2022, 42(1): 2056-2061.
CHEN L Y, HE D Q, LU T T, ZHANG Q, WU S F, LUO F, WANG J K, ZHANG R, TAO J Z. Measurement of RFI traits of Tan sheep and the relationship with other growth performance without restricting exercise. *Chinese Journal Veterinary Science*, 2022, 42(1): 2056-2061.
- [14] ZHANG X X, LI G Z, LI F D, ZHANG D Y, YUAN L F, ZHAO Y, ZHANG Y K, LI X L, SONG Q Z, WANG W M. Effect of feed efficiency on growth performance, body composition, and fat deposition in growing Hu lambs. *Animal Biotechnology*, 2021(11): 1-16.
- [15] CHEN L Y, HE D Q, LU T T, ZHANG Q, WU S F, LUO F, WANG J K, ZHANG R X, TAO J Z. Measurement of RFI of Tan sheep without restricted exercise and its relationship with other growth performance. *Chinese*, 2022, 42(1): 6.
- [16] LI F, LE L G. Metatranscriptomic profiling reveals linkages between the active rumen microbiome and feed efficiency in beef cattle. *Applied and Environmental Microbiology*, 2017, 83(9): e00061-17.
- [17] 石婧, 姚勤, 陈克平. 性别对生物生长发育速率影响的研究. *安徽农业科学*, 2011, 39(22): 13301-13302, 13305.
SHI J, YAO Q, CHEN K P. Effects of sex on biological growth and development rate. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2011, 39(22): 13301-13302, 13305.
- [18] VERSCHUREN L M G, CALUS M P L, JANSMAN A J M, BERGSMAN R, KNOL E F, GILBERT H, ZEMM O. Fecal microbial composition associated with variation in feed efficiency in pigs depends on diet and sex. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(9): 1405-1418.
- [19] 韩学平, 刘宏金, 胡林勇, 徐世晓, 艾德强, 付弘贇, 陈永伟, 赵建忠. 环湖牦牛瘤胃微生物区系特征及性别之间的差异. *动物营养学报*, 2020, 32(1): 234-243.
HAN X P, LIU H J, HU L Y, XU S X, AI D Q, FU H Y, CHEN Y W, ZHAO J Z. Characteristics and gender differences of rumen microflora in yaks around lake. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(1): 234-243.
- [20] ELIE J, WHITE B A, ITZHAK M, HEIMESAAT M M. Potential role of the bovine rumen microbiome in modulating milk composition and feed efficiency. *PLoS One*, 2014, 9(1): e85423.
- [21] PATIL R D, ELLISON M J, WOLFF S M, SHEARER, COURTNEY, WRIGHT A, COCKRUM R, AUSTIN K, LAMBERSON

- W, CAMMACK K, CONANT G. Poor feed efficiency in sheep is associated with several structural abnormalities in the community metabolic network of their ruminal microbes. *Journal of Animal Science*, 2018, 96(6): 2113-2124.
- [22] 马万浩, 梁玉生, 张智安, 董春晓, 李飞, 李发弟, 翁秀秀. 不同剩余采食量的湖羊生长性能和消化道微生物多样性差异的研究. *动物营养学报*, 2019, 31(9): 4080-4091.
- MA W H, LIANG Y S, ZHANG Z A, DONG C X, LI F, LI F D, WENG X X. Difference of grobial diversity of Hu sheep with different residual feed intake. *Chinese Journal of Animal Ntrition*, 2019, 31(9): 4080-4091.
- [23] MYER P R, SMITH T, WELLS J E, KUEHN L A, FREETLY H C, FORSTER R J. Rumen microbiome from steers differing in feed efficiency. *PLoS One*, 2015, 10(6): e0129174.
- [24] WANG W, LI C, LI F, WANG X, ZHANG X, LIU T. Effects of early feeding on the host rumen transcriptome and bacterial diversity in lambs. *Scientific Reports*, 2016, 6(8): 32479.
- [25] LI F, LI C, CHEN Y, MALLORY M E, BRYNN H V, LIESEL G S, DALLAS R D, KYLE J M, PHILIIP R M. Host genetics influence the rumen microbiota and heritable rumen microbial features associate with feed efficiency in cattle. *Microbiome*, 2019, 7(1): 92.
- [26] 张小雪. 不同剩余采食量羔羊生产性能和瘤胃微生物区系及肝脏转录组研究. 兰州: 兰州大学博士学位论文, 2019.
- ZHANG X X. Study on performance, rumen microflora and liver transcriptome of lambs with different residual feed intake. PhD Thesis. Lanzhou: Lanzhou University, 2019.
- [27] 孙纪录, 贾英民, 高小芹, 田洪涛, 张伟. 菊芋在体内对双歧杆菌生长的影响研究. *食品科技*, 2007, 32(1): 212-214.
- SUN J L, JIA Y M, GAO X Q, TIAN H S, ZHANG W. Effects of Jerusalem artichos on the growth of bifidobacteria in vivo. *Food Science and Technology*, 2007, 32(1): 212-214.
- [28] PEREA K, PERZ K, OLIVO S K, WILLIAMS A, YEOMAN C J. Feed efficiency phenotypes involve changes in ruminal, colonic, and small intestine-located microbiota. *Journal of Animal Science*, 2017, 95(6): 2585-2592.
- [29] 占今舜, 杨群, 胡耀, 武艳平, 霍俊宏. 日粮精粗比对湖羊瘤胃发酵和菌群结构的影响. *草业学报*, 2020, 29(7): 122-130.
- ZHAN J S, YANG Q, HU Y, WU Y P, HUO J H. Effects of concentrate to forage ratio on rumen fermentation and microbial community structure of Hu sheep. *Acta Prataculturae Sinica*, 2020, 29(7): 122-130.
- [30] SPENCE C, WELLS W G, SMITH C J. Characterization of the primary starch utilization operon in the obligate anaerobe *Bacteroides fragilis*: Regulation by carbon source and oxygen. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(13): 4663-4672.
- [31] MURO-REYES A, GUTIERREZ-BANUELOS H, DI-AZ-GARCI L H, GUTIERREZ F J, LUNA A C. Potential environmental benefits of residual feed intake as strategy to mitigate methaneemissions in sheep. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2011, 10(12): 1551-1556.
- [32] NEGUSSIE E, MNTYSAARI, E A, LIADUER M H. Animal wise variation in enteric methane output traits and its relationship with feed efficiency in dairy cattle: A longitudinal model analysis. //10th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production. Moscow: Pleiades Publishing, 2014: 85-91.
- [33] 和东迁, 陶金忠. 反刍动物剩余采食量在瘤胃功能上的差异和相关分子生物学机制. *动物营养学报*, 2021, 33(6): 3125-3131.
- HE D Q, TAO J Z. Differences in ruminant residual feed intake in rumen function and related molecular biological mechanisms. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(6): 3125-3131.
- [34] ELLISON M J, CONANT G C, LAMBERSON W R, COCKRUM R R. AUSTINA K J, RULE C, CAMMACK K M. Diet and feed efficiency status affect rumen microbial profiles of sheep. *Small Ruminant Re-search*, 2017, 156: 12-19.
- [35] ZHOU M, HERNANDESANABRIA E, GUAN L L. Characterization of variation in rumen methanogenic communities under different dietary and host feed efficiency conditions, as determined by PCR-denaturing gradient gel electrophoresis analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2010, 76(12): 3776-3786.
- [36] 董利锋, 付敏, 陈天宝, 刁其玉. 反刍动物瘤胃优势产甲烷菌菌群结构及多样性研究进展. *动物营养学报*, 2019, 31(9): 3927-3935.
- DONG L F, FU M, CHEN T B, DIAO Q Y. Advances in the structure and diversity of dominant methanogens in rumen of ruminants. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, 31(9): 3927-3935.

(责任编辑 苟燕妮)