

陈曦, 李英英, 宋铁英. 单一益生菌(屎肠球菌)介导的断奶仔猪肠道菌群变化规律[J]. 福建农业学报, 2016, 31 (10): 1091—1097.
CHEN X, LU Y-Y, SONG T-Y. Changes Induced by Probiotic, *Enterococcus faecium*, in Gut Microbiota of Post-weaning Piglet [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2016, 31 (10): 1091—1097.

单一益生菌(屎肠球菌)介导的断奶仔猪肠道菌群变化规律

陈曦, 李英英^{*}

(福建省农业科学院生物技术研究所, 福建 福州 350003)

摘要: 通过细菌 16S rRNA 基因的高通量测序, 对断奶仔猪的肠道菌群结构和饲喂两株单一益生菌(屎肠球菌)后肠道菌群的变化情况和规律进行分析。结果显示, 断奶仔猪肠道微生态中拟杆菌门 *Bacteroidetes* 和厚壁菌门 *Firmicutes* 的细菌所占比例分别为 50.5% 和 42.2%, 为绝对优势菌群。饲喂屎肠球菌后, 肠道菌群的多样性和细菌丰度均增加; 厚壁菌门 *Firmicutes*, 变形菌门 *Proteobacteria*、无壁菌门 *Tenericutes*、酸杆菌门 *Actinobacteria*、芽单胞菌门 *Gemmatimonadetes*、放线菌门 *Actinobacteria* 细菌的丰度明显上升, 而拟杆菌门 *Bacteroidetes* 的细菌丰度则发生了明显下降。屎肠球菌所在的肠球菌属 *Enterococcus* 的比例虽由 0.07% (对照组) 上升至 0.12% (SF1 组) 和 0.14% (SF2 组), 但在肠道菌群中所占比例仍然很小, 说明屎肠球菌对仔猪肠道微生态的作用主要是影响其他细菌的丰度和多样性进而改变菌群结构。与对照组相比, SF1 组的上述菌群变化幅度高于 SF2 组, 通过与 3 组仔猪生长性能数据的对比, 上述菌群变化的幅度与仔猪生长性能提高的程度呈现正相关。

关键词: 断奶仔猪; 肠道微生态; 益生菌, 屎肠球菌

中图分类号: S 828

文献标识码: A

文章编号: 1008-0384 (2016) 10—1091—07

Changes Induced by Probiotic, *Enterococcus faecium*, in Gut Microbiota of Post-weaning Piglet

CHEN Xi, LI Ying-ying, SONG Tie-ying^{*}

(Biotechnology Institute, Fujian Academy of Agricultural Sciences, Fuzhou, Fujian 350003, China)

Abstract: Using the 16S rRNA gene high through-put sequencing technique, the microbial composition of the gut microbiota in post-weaning piglets was characterized. The compositional alterations induced by two strains of *Enterococcus faecium* were studied. The resulting dominant species in the guts were found to be of *Firmicutes* and *Bacteroidetes* phyla with contribution rates of 50.5% and 42.2%, respectively. The richness and diversity of the bacterial community increased after the *E. faecium* administration. The populations of 6 phyla (i. e., *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Tenericutes*, *Actinobacteria*, *Gemmatimonadetes*, and *Actinobacteria*) were increased, while that of *Bacteroidetes* significantly declined. A low abundance of *Enterococcus* spp. was detected in the piglet guts. However, the increase was merely 0.07% over control and 0.12 over the treatment group, SF1, and 0.14% over group SF2 after the feeding. Consequently, the primary effects induced by the probiotics, *E. faecium* strains, were contributed mainly to the changes on the richness and diversity, or the composition, of the gut microbes. It appeared that the positive results observed on the growth performances of the post-weaning piglets in the field experiment due to the introduction of the probiotics warned further attention.

Key words: post-weaning piglet; gut microbiota; probiotics; *Enterococcus faecium*

收稿日期: 2016-03-03 初稿; 2016-05-12 修改稿

作者简介: 陈曦 (1982-), 男, 副研究员, 主要从事动物营养和免疫研究 (E-mail: kobeid@163.com)

* 通讯作者: 宋铁英 (1963-), 女, 研究员, 主要从事动物营养和免疫研究 (E-mail: tieyingsong@163.com)

基金项目: 福建省科技计划项目——省属公益类科研院所基本科研专项 (2014R1019-12、2014R1019-5、2015R1019-9); 福州市科技计划项目 (2014-N-106); 福建省农业科学院青年创新人才基金项目 (2014CX-11)

动物的肠道微生态，对于维持宿主的生长和发育有着十分重要的作用，这种作用依赖于微生物和宿主之间形成的共生的平衡关系^[1-2]。研究表明，该平衡一旦打破，将会形成生态失调(Dysbiosis)^[3]，从而严重威胁机体的健康状况。因此，如何保持动物胃肠道微生态平衡，促进其向正向发展进而提高动物健康状态正在成为国际研究热点^[4]。

益生菌作为内源性微生态制剂，被认为无污染、无副作用^[5]，能促进正常微生物群的生长繁殖并抑制病原菌的生长繁殖，成为解决调节肠道微生态环境和平衡的最有效途径之一^[6-7]。本研究以屎肠球菌作为微生态制剂饲喂断奶仔猪，通过高通量测序技术，分析饲喂后的断奶仔猪肠道的微生态系统变化，以期实现下述 3 个目标：(1) 界定断奶仔猪的肠道微生态，获得优势肠道菌群状况；(2) 探索微生态制剂对于断奶仔猪肠道微生态的变化规律和趋势；(3) 建立微生态制剂引起的菌群变化与仔猪生长性能间的对应关系。上述结果为评价断奶仔猪的肠道健康状况，探讨益生菌制剂对于提高仔猪生长性能作用机制提供基础数据支持和科学支撑。

1 材料与方法

1.1 供试菌株

试验所采用的乳酸菌制剂为屎肠球菌，属于养殖动物中允许添加的菌种（《饲料添加剂品种目录 2013》—中华人民共和国农业部公告第 2045 号），两组试验组所使用的菌株分别来源于本课题组自主分离的屎肠球菌和采购自北京昕地美饲料科技有限公司的屎肠球菌制剂（表 1）。

1.2 样品采集和 DNA 制备

试验样品采集地点位于福建省闽清县后洋猪场。试验用断奶仔猪品种为大三元（杜长大），平均日龄为 (21.0 ± 2.6) d，体重为 (7.1 ± 0.26) kg。所有仔猪均采取自由采食和饮水，且在饲养期间未进行任何抗生素预防或处理。饲喂饲料采购自福建省华龙饲料有限公司猪宝宝 100 K（表 2），本次试验所用饲料未添加任何抗生素成分，试验时间为 14 d。48 头断奶仔猪随机平均分为 3 组，其中两组为试验组，于饲料中添加屎肠球菌制剂至其终浓度为 $1.0 \times 10^5 \text{ CFU} \cdot \text{g}^{-1}$ ，第 3 组为空白对照组（表 1）。14 d 后，每头仔猪均通过消毒棉签从肛门处采集后肠粪便样品并置于灭菌离心管中。所有样品置干冰中运至实验室后置于 -80°C 中保存待测。

表 1 断奶仔猪分组状况

Table 1 Descriptions on piglet groups

组别	头数 /头	性别	均重 /kg	是否饲喂 屎肠球菌
SF1	16	雌	6.86 ± 0.23	是 *
SF2	16	雌	7.38 ± 0.31	是 **
SF3(CK)	16	雌	7.11 ± 0.28	否

注：* 本株屎肠球菌由本课题组在前期研究中分离，已在中国普通微生物保藏中心(CGMCC)鉴定并保存，编号 CGMCC 8296；** 本株屎肠球菌采购自北京昕地美饲料科技有限公司。

表 2 100 K 饲料基础日粮组成与营养水平

Table 2 Composition and nutrient contents of basal feed, 100K

日粮成分	含量 /%	营养水平	含量
玉米	55.0	消化能/(MJ·kg ⁻¹)	12.85
豆粕	24.1	粗蛋白/%	20.00
麦麸	8.6	钙/%	0.70
鱼粉	4.0	磷/%	0.50
预混料*	4.0	赖氨酸/%	1.20
血浆蛋白粉	2.0	蛋氨酸/%	0.75
植物油	2.3		

注：每 kg 日粮中含磷酸氢钙 11 g、抗氧化剂 0.2 g、罗氏多维 0.4 g、防霉剂 1.0 g、食盐 3 g、甜味剂 0.6 g、蛋氨酸 0.5 g、赖氨酸 2.3 g、苏氨酸 0.5 g、硫酸亚铁 500 mg、硫酸铜 100 mg、硫酸锌 450 mg、硫酸锰 20 mg、1% 亚硒酸钠 5 mg、1% 碘化钾 2.75 mg。

1.3 样品的 DNA 提取

样品总 DNA 采用粪便 DNA 提取试剂盒（北京天根生物试剂公司），参照说明书进行提取。获得的总 DNA 通过琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计（NanoDrop® ND-1000，NanoDrop Technologies，Wilmington，DE）进行完整性和浓度分析后，用于后续的 DNA 扩增和高通量测序。

1.4 样品 DNA 扩增及高通量测序

用于高通量测序的 DNA 样品采用以组为单位的基因池混样分析。混合后的样品参考 Caporaso^[8] 的方法，以引物 515f/806r 扩增 16S rDNA 基因的 V4^[9]，并加入单一 barcode。每一样品扩增体系为 30 μL，反应液中包括 15 μL of Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biolabs)，0.2 μmol·L⁻¹ 引物，及 10 ng 模板 DNA。PCR 产物经过电泳后，选取 400~450 bp 的片段进行回收和纯化。

以 NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep

Kit 构建序列文库，并采用 the Qubit @ 2.0 Fluorometer (Thermo Scientific) and Agilent Bioanalyzer 2100 system 系统进行检验。随后样品采用北京诺和资源有限公司的 Illumina MiSeq 平台进行测序。

1.5 数据采集和分析

采用 FLASH^[10] 系统对序列进行读取分析。采用 UPARSE-OTU 和 UPARSE-OTUref 算法^[11]，同源率 $\geq 97\%$ 的序列被归入同一 OTU (Operation Taxonomy Units, 即分类单元)。随后采用 RDP classifier^[12] 进行分类注释。OTU 归类的对比数据库为 Greengenes database。注释的分类单元包括从门到属级别，同时采用 Observed Species、Chao1、and Shannon index 3 个参数分析 Alpha 多样性指数情况。

1.6 仔猪生长性能测定

所有仔猪的采食量和腹泻率均以天为单位进行统计。为避过多的应激影响试验，仔猪称重在第 1 d 和第 14 d 进行。所有仔猪的平均日采食量、日增重、饲料转化率、腹泻率等均以组为单位进行平均值计算。

2 结果与分析

2.1 断奶仔猪肠道菌群多样性测定结果

Kim 等的研究^[13] 指出，同日龄同圈的仔猪之间肠道菌群状况高度相似，因此本研究中，DNA 样品采用以组为单位的基因池混样分析。将对照组 SF3 仔猪的后肠粪便 DNA 混合样品进行多样性检测，结果显示，断奶仔猪肠道菌群共获得 27 146 个序列。完整的序列已经被上传 NCBI 的 Sequence Read Archive 库 (编号 SRR2729847, SRR2738775, SRR2739058)。以 97% 的同源率对比归类获得 1 133 个 OTU 单元，这些单元属于 24 个门、56 个纲、111 个目、185 个科和 269 个属。以门的分类水平分析，位于相对丰度前 5 位的分别是拟杆菌门 *Bacteroidetes*、厚壁菌门 *Firmicutes*、变形菌门 *Proteobacteria*、无壁菌门 *Tenericutes* 和酸杆菌门 *Acidobacteria*。其余各门细菌所占比例均在 0.5% 以下。其中拟杆菌门和厚壁菌门为绝对优势菌群，其相对丰度比例分别为 50.5% 和 42.2%。更深的分类水平 (纲目科属) 的结果显示，拟杆菌门 *Bacteroidetes* 细菌相对集中于普氏菌属 *Prevotella* (35.7%)，而厚壁菌门 *Firmicutes* 的细菌菌群相对较为分散 (图 1)。

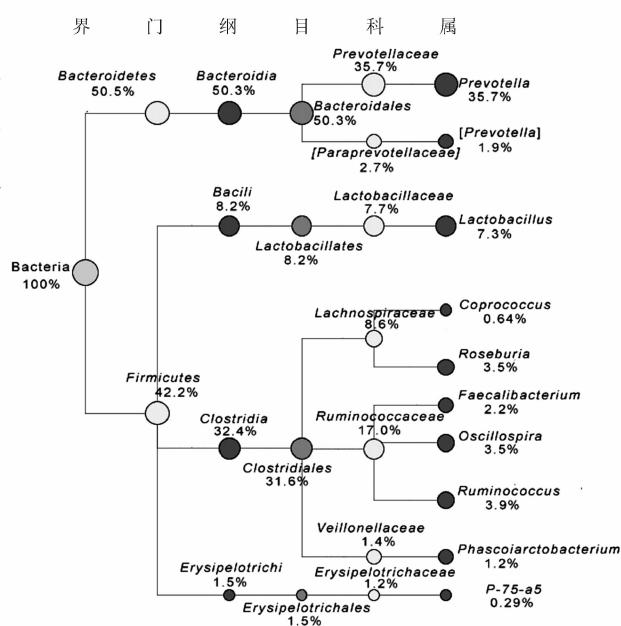


图 1 基于相对丰度值的菌群断奶仔猪肠道菌群分类树

Fig. 1 Taxon tree of microbial groups in gut microbiota of post-weaning piglets based on their relative abundances

注：各菌的相对丰度值根据圆圈大小和菌名下的数值表示。

2.2 饲喂屎肠球菌后断奶仔猪肠道菌群的变化情况

2.2.1 不同组间菌群多样性分析 SF1 组和 SF2 组的断奶仔猪分别饲喂来自本课题组自主分离的屎肠球菌菌株和市售的屎肠球菌菌株 (表 1)。结果显示，两组分别获得 45 533 和 47 548 条序列片段，分别代表 1 361 和 1 223 个 OTU 分类单元，两组的序列数目和 OTU 数量均高于对照组 (SF3 组) 的 27 146 个序列和 1 133 个 OTU，说明肠道菌群无论从丰度还是多样性上在饲喂屎肠球菌后均有提高。

Alpha 多样性用于反映样品的菌群丰度和多样性情况，其 3 个经典的代表值 observed species、Chao1、and Shannon-Weaver 可以看出，试验组 SF1 和 SF2 的 Alpha 多样性均高于对照组 SF3 (表 3)。

表 3 3 组仔猪肠道微生物 Alpha 多样性值

Table 3 Alpha indices on 3 groups of gut microbiota in post-weaning piglets

组别	表观分 类数	Chao1 指数	Shannon 指数
SF1	1196	1463.259	7.631
SF2	1133	1349.505	7.33
SF3	1062	1336.809	7.028

2.2.2 不同组间肠道菌群丰度变化特征 在门水平上, 饲喂屎肠球菌后 7 个门的菌群出现了显著的丰度变化, 其中 6 个出现了丰度上升, 分别为厚壁菌门 *Firmicutes*、变形菌门 *Proteobacteria*、无壁菌门 *Tenericutes*、酸杆菌门 *Acidobacteria*、芽单胞菌门 *Gemmatimonadetes*、放线菌门 *Actinobacteria*; 仅有拟杆菌门 *Bacteroidetes* 出现了显著下降。作为优势菌群的拟杆菌门 *Bacteroidetes* 和厚壁菌门 *Firmicutes*, 其丰度变化尤为明显(表 4)。厚壁菌门 *Firmicutes* 中的丰度变化主要发生在乳酸菌属 *Lactobacillus* 和梭菌目 *Clostridiales* 的 7 个属, 而拟杆菌门的变化主要发生在普氏菌属 *Prevotella* (表 5)。

此外, 相较对照组 (SF3 组) 来说, SF1 组的大部分菌群在变化幅度上均高于 SF2 组 (表 4、5), 说明不同来源的两组屎肠球菌, 对于断奶仔猪的肠道菌群的影响程度存在差异。

表 4 不同组间门水平相对丰度值比较

Table 4 Relative microbe abundances at phylum level in 3 groups

门	组别		
	SF1/%	SF2/%	SF3/%
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	62.1	48.7	42.2
拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	27.6	41.7	50.5
变形菌 <i>Proteobacteria</i>	4.5	4.9	2.9
无壁菌门 <i>Tenericutes</i>	2.8	1.9	1.7
酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	1.5	1.1	1.0
放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	0.58	0.42	0.31
芽单胞菌门 <i>Gemmatimonadetes</i>	0.38	0.33	0.26
其他	0.49	0.92	1.02

表 5 不同组间属水平相对丰度值比较

Table 5 Relative microbe abundances at genus level in 3 groups

门	目	科	属	组别		
				SF1/%	SF2/%	SF3/%
厚壁菌门 <i>Bacteroidetes</i>	拟杆菌目 <i>Bacteroidales</i>	普氏菌科 <i>Prevotellaceae</i>	普氏菌属 <i>Prevotella</i>	14.0	28.1	35.7
		S24-7	S24-7 科中未命名属	7.5	8.0	9.1
拟杆菌门 <i>Firmicutes</i>	乳杆菌目 <i>Lactobacillales</i>	乳杆菌科 <i>Lactobacillaceae</i>	乳杆菌属 <i>Lactobacillus</i>	13.6	11.0	7.3
		瘤胃菌科 <i>Ruminococcaceae</i>	瘤胃菌属 <i>Ruminococcus</i>	6.3	4.5	3.9
	梭菌目 <i>Clostridiales</i>		瘤胃菌科 <i>Ruminococcaceae</i> 中未命名属	6.0	3.4	4.3
			瘤胃菌科 <i>Ruminococcaceae</i> 中第 2 个未命名属	5.0	3.4	3.1
			颤螺菌属 <i>Oscillospira</i>	5.5	4.4	3.5
		毛螺菌科 <i>Lachnospiraceae</i>	毛螺菌科 <i>Lachnospiraceae</i> 中未命名属	3.1	2.0	1.8
			罗斯氏菌属 <i>Roseburia</i>	3.0	3.1	3.5
		梭菌科 <i>Clostridiaceae</i>	梭菌科 <i>Clostridiaceae</i> 中未命名属	2.9	2.2	3.0
其他	其他	其他	其他	33.0	29.9	24.8

注: 数值代表各属的相对丰度值。

其他 5 个变化较为明显的门, 其变化趋势各有不同。其中无壁菌门 *Tenericutes*、酸杆菌门 *Acidobacteria*、放线菌门 *Actinobacteria* 均有特定的属能表征其丰度变化的显著水平(表 6), 而变形菌门 *Proteobacteria* 和芽单胞菌门 *Gemmatimonadetes* 在纲以下的水平上未发现有分类单元出现明显变化。而值得注意的是, 饲喂后的屎肠球菌本身在肠道菌群的相对丰度依然很低, 其

所在的肠球菌属 *Enterococcus* 所占比例仅略高于对照组 (SF3 组) (表 7)。

2.3 仔猪生长性能变化

饲喂屎肠球菌的两组仔猪, 在日增重方面均有提高, 饲料转化率和腹泻率均有下降。同样, 与上述 SF1 组的菌群在变化幅度上均高于 SF2 组的规律相对应的是 SF1 组的仔猪在生长性能方面也表现更佳(表 8)。

表 6 无壁菌门 *Tenericutes*、酸杆菌门 *Acidobacteria* 和放线菌门 *Actinobacteria* 在属水平的相对丰度值比较
Table 6 Relative abundances of OTUs showing distributions at genus level of *Tenericutes*, *Acidobacteria* and *Actinobacteria*

门	属	组别		
		SF1/%	SF2/%	SF3/%
无壁菌门 <i>Tenericutes</i>	RF39 科中未命名属	2.7	1.8	1.7
	其他无壁菌门细菌	0.034	0.011	0.011
酸杆菌门 <i>Acidobacteria</i>	<i>Candidatus Koribacter</i> 属	0.17	0.16	0.07
	<i>Candidatus Solibacter</i> 属	0.22	0.12	0.06
放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	其他酸杆菌门细菌*	1.12	0.84	0.92
	OCS155 科中未命名属	0.11	0.03	0.045
	放线菌科 <i>Actinomycetaceae</i> 中未命名属	0.18	0.23	0.079
	<i>Micrococcaceae</i> 中未命名属	0.045	0.06	0.023
	<i>Gaiellaceae</i> 科中未命名属	0.034	0.023	0.079
	其他放线菌门细菌*	0.204	0.079	0.079

注: * 代表酸杆菌门和放线菌门中低于 0.01% 的属未被列出。

表 7 3 组间肠球菌属 *Enterococcus* 的丰度值比较

Table 7 Relative abundances of *Enterococcus* spp. In 3 groups

属	组别		
	SF1/%	SF2/%	SF3/%
肠球菌属 <i>Enterococcus</i>	0.12	0.14	0.07

表 8 14 d 内仔猪生长性能状况

Table 8 Growth performance of piglets during 14-day experiment

	屎肠球菌组		SF3 (CK)
	SF1	SF2	
头数	16	16	16
采食量/(g·p ⁻¹ ·d ⁻¹)	347.1±18.6	299.1±20.1	328.1±23.1
日增重/(g·p ⁻¹ ·d ⁻¹)	231.0±20.7	205.4±19.0	197.5±21.2
饲料转化率/%	1.50±0.12	1.46±0.11	1.66±0.15
腹泻数/次	2	7	9

3 讨 论

3.1 断奶仔猪肠道微生态基础数据的针对性

肠道微生态对于断奶仔猪的能量代谢和营养吸收具有非常重要的作用, 在很大程度上决定了仔猪的身体健康和生长性能^[14]。因此, 建立断奶仔猪本身的肠道微生态基础数据显得十分必要和关键。本课题组通过 SF3 组(对照组)的断奶仔猪基线数据, 发现在肠道菌群中, 拟杆菌门 *Bacteroidetes* 和厚壁菌门 *Firmicutes* 占绝对优势比例, 这与之前报道的很多哺乳动物, 包括人的肠道菌群的状况

一致^[15~18]。而在亚优势菌的丰度, 种类和多样性方面, 本研究结果和近年来的许多报道, 包括同一对象(猪)的数据结果存在一些差异。造成这些差异的原因除了猪品种的因素外, 也与选择的实验环境^[19~20]和机体所处的生长发育阶段^[16,21]等有关。因此, 本研究所建立的肠道微生态基础数据, 其针对范围为商业化养殖条件下的处于断奶后初期阶段的大三元仔猪。

3.2 单一益生菌(屎肠球菌)对于仔猪肠道微生态的作用

本研究组间比较的结果初步揭示了单一益生菌(屎肠球菌)对于仔猪肠道微生态的影响和变化规律。结果显示, 屎肠球菌在饲喂以后, 在肠道中的数目虽有所上升, 但在全菌中所占比例依然十分微小(表 7)。然而, 微生态菌群的结构和多样性却发生了明显的改变(表 4~6), 由此推断, 屎肠球菌对于肠道微生态的影响除通过自身定殖外, 更主要的是通过改变肠道中其他细菌的丰度和多样性, 从而间接作用于宿主。从本研究结果可以看出这种作用的两个特征, 其一, 该作用主要涉及 7 个门的细菌, 尤以占绝对优势的厚壁菌门 *Firmicutes* 和拟杆菌门 *Bacteroidetes* 的细菌变化最为显著(图 2)。其中, 6 个门的细菌发生了增长, 拟杆菌门 *Bacteroidetes* 的细菌出现了显著下降(图 2)。5 个门的细菌均有特定的属发生了明显的丰度变化(表 5、6)。第二, 试验组 SF1 的上述变化幅度高于试验组 SF2, 意味着两株屎肠球菌对于肠道菌群的影响幅度不同。而与仔猪生长性能的对照(表 8)显示, 这种变化幅度与生长性能的增长程度呈现正相

关的关系。上述变化是否与细菌的驯化程度、细菌的活力、有效的菌数有关需要进一步的研究。

3.3 肠道功能菌群的初步推测

目前，益生菌对于肠道的作用机理尚未完全明确^[22]。但有研究表明，某些益生菌的作用机制，可能与对特定的其他菌群具有选择性的影响效果有关^[23]。由此，我们可以推断，上述的 7 个门的仔猪肠道细菌类群极有可能属于与屎肠球菌的选择性影响相关的菌群。在这些菌群中，某些菌群因分类未命名等原因难以推断功能菌群的信息。然而，对于厚壁菌门 *Firmicutes*、拟杆菌门 *Bacteroidetes* 和酸杆菌门 *Acidobacteria*，因其分类信息明确且有特定的属代表丰度变化趋势，故可进行功能细菌的初步推断。如对于厚壁菌门 *Firmicutes*，其变化主要发生在乳酸菌属 *Lactobacillus* 和梭菌目 *Clostridiales*。前者由于产乳酸而被认为与营养吸收和提高机体抵抗力密切相关^[24–26]，后者囊括许多产丁酸的菌种，与小肠上皮的修复和保护有关^[27]。因此，厚壁菌门丰度的增加被认为是对机体增重和健康有益的^[28]。相反，拟杆菌门 *Bacteroidetes* 中的普氏菌属 *Prevotella* 的细菌菌种绝大部分为与感染和炎症有关的病原菌^[29–31]。因此其丰度的降低可能代表机体感染病原的风险得到了减少。同样，酸杆菌门 *Acidobacteria* 中发生主要变化的 *Candidatus Koribacter* 和 *Candidatus Solibacter* 可能与反硝化和糖代谢有关^[31–32]，从而可能促进机体的氨基酸代谢和糖代谢，因此也可能对于机体是有利的。当然，上述推论均需要进一步的细菌学和功能基因组学的分析加以验证。尽管如此，本研究结果依然有助于仔猪肠道中功能性细菌的深入分析和可能的细菌特征标记的建立。

参考文献：

- [1] GASKINS H R. Swine nutrition [M]. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 2001: 121–124.
- [2] KELLY D, KING T. Gut environment of pigs [M]. Nottingham University Press, Nottingham, UK, 2001: 456–458.
- [3] 李德发. 猪的营养：第 2 版 [M]. 北京：中国农业科学技术出版社，2003：112–114.
- [4] 柳尧波, 凌泽春. 猪胃肠道微生物菌群的研究现状浅析 [J]. 山东农业科学, 2011, (10): 90–94.
- [5] 华均超, 张邦辉. 微生态制剂对仔猪肠道微生态调控的研究与应用进展 [J]. 中国饲料, 2011, (3): 19–22.
- [6] OHASHI Y, USHIDA K. Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action [J]. Animal Science Journal, 2009, 80: 361–371.
- [7] GAGGIA F, MATTARELLI P, BIAVAT I B, et al. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe foods production [J]. Int J Food Microbiol, 2010, 141 (1): 15–28.
- [8] CAPORASO J G, LAUBER C L, WALTERS W A, et al. Global patterns of 16S rRNA diversity at a depth of millions of sequences per sample [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences 108 (S1), 2011: 4516–4522.
- [9] PEIFFER J A, SPOR A, KOREN O, et al. Diversity and heritability of the maize rhizosphere microbiome under field conditions [J]. Proc Natl Acad Sci, 2013, 110 (16): 6548–6553.
- [10] EDGAR R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. Nature methods, 2013, 10: 996–998.
- [11] WANG Q, GARRITY G M, TIEDJE J M, et al. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2007, 73: 5261–5267.
- [12] ONDOV B D, BERGMAN N H, PHILLIPPY A M. Interactive metagenomic visualization in a Web browser [J]. BMC Bioinformatics, 2011, 12: 385–385.
- [13] KIM H B, BOREWICZ K, WHITE B A, et al. Longitudinal investigation of the age-related bacterial diversity in the feces of commercial pigs [J]. Veterinary Microbiology, 2011, 153: 24–133.
- [14] YEN J T. Oxygen consumption and energy flux of porcine splanchnic tissues [M]. St Malo, France, 1997.
- [15] ECKBURG P B, BIK E M, BERNSTEIN C N, et al. Diversity of the human intestinal microbial flora [J]. Science, 2005, 308: 1635–1638.
- [16] LAMENDELLA R, DOMINGO J W S, GHOSH S, et al. Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine gut [J]. BMC microbiology, 2011, (11): 103.
- [17] LESER T D, AMENUVOR J Z, JENSEN T K, et al. Culture-independent analysis of gut bacteria: The pig gastrointestinal tract microbiota revisited [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2002, 68: 673–690.
- [18] QU A, BRULC J M, WILSON M K, et al. Comparative Metagenomics Reveals Host Specific Metavirulomes and Horizontal Gene Transfer Elements in the Chicken Cecum Microbiome [J]. PloS one, 2008, 3: 19–19.
- [19] COLLIER C T, SMIRICKY-TJARDES M R, ALBIN D M, et al. Molecular ecological analysis of porcine ileal microbiota responses to antimicrobial growth promoters [J]. Journal of Animal Science, 2003, 81: 3035–3045.
- [20] RETTEDAL E, VILAIN S, LINDBLOM S, et al. Alteration of the ileal microbiota of weanling piglets by the growth-promoting antibiotic chlortetracycline [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75: 5489–5495.
- [21] PARK S J, KIM J, LEE J S, et al. Characterization of the fecal microbiome in different swine groups by high-throughput sequencing [J]. Anaerobe, 2014, 28: 157–162.

- [22] OELSCHLAEGER T A. Mechanisms of probiotic actions-A review [J]. International Journal of Medical Microbiology, 2010, 300: 57–62.
- [23] STARKE I C, ZENTEK J, VAHJEN W. Effects of the probiotic Enterococcus faecium NCIMB 10415 on selected lactic acid bacteria and enterobacteria in co-culture [J]. Beneficial microbes, 2015, 6: 345–352.
- [24] ANGELAKIS E, RAOULT D. The increase of Lactobacillus species in the gut flora of newborn broiler chicks and ducks is associated with weight gain [J]. PloS one, 2010, 5:e10463–e10463.
- [25] MILLION M, ANGELAKIS E, PAUL M, et al. Comparative meta-analysis of the effect of Lactobacillus species on weight gain in humans and animals [J]. Microbial Pathogenesis, 2012, 53: 100–108.
- [26] ZHANG L, XU Y Q, LIU H Y, et al. Evaluation of Lactobacillus rhamnosus GG using an Escherichia coli K88 model of piglet diarrhoea: Effects on diarrhoea incidence, faecal microflora and immune responses [J]. Veterinary Microbiology, 2010, 141: 142–148.
- [27] PRYDE S E, DUNCAN S H, HOLD G L, et al. The microbiology of butyrate formation in the human colon [J]. FEMS Microbiology Letters, 2002, 217: 133–139.
- [28] TURNBAUGH P J, LEY R E, MAHOWALD M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest [J]. Nature, 2006, 444: 1027–1031.
- [29] FALAGAS M E, SIAKAVELLAS E. *Bacteroides*, *Prevotella*, and *Porphyromonas* species: A review of antibiotic resistance and therapeutic options [J]. International Journal of Antimicrobial Agents, 2000, (15): 1–9.
- [30] FINEGOLD S M. Overview of clinically important anaerobes [J]. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 1995, 20 (S2): 205–207.
- [31] LIU Y, WANG L H, HAO C B, et al. Microbial diversity and ammonia-oxidizing microorganism of a soil sample near an acid mine drainage lake [J]. Huan jing ke xue, 2014, 35: 2305–2313.
- [32] RAWAT S R, MÄNNISTÖ M K, BROMBERG Y, et al. Comparative genomic and physiological analysis provides insights into the role of Acidobacteria in organic carbon utilization in Arctic tundra soils [J]. FEMS Microbiology Ecology, 2012, 82: 341–355.

(责任编辑：林海清)