



饲养方式对藏猪结肠消化酶活性、菌群结构及短链脂肪酸含量的影响

王燕红¹, 张蓓宁¹, 刘锁珠^{1,2}, 谭占坤^{1,2}, 商鹏^{1,3}, 商振达^{1,2*}

- 1 西藏农牧学院动物科学学院, 西藏 林芝 860000
- 2 青藏高原饲料加工工程研究中心, 西藏 林芝 860000
- 3 西藏农牧学院藏猪协作研究中心, 西藏 林芝 860000

王燕红, 张蓓宁, 刘锁珠, 谭占坤, 商鹏, 商振达. 饲养方式对藏猪结肠消化酶活性、菌群结构及短链脂肪酸含量的影响[J]. 微生物学报, 2023, 63(12): 4659-4670.

WANG Yanhong, ZHANG Beining, LIU Suozhu, TAN Zhankun, SHANG Peng, SHANG Zhenda. Effects of different feeding methods on digestive enzyme activity, microflora structure, and short chain fatty acids in colon of Tibetan pigs[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(12): 4659-4670.

摘要: 【目的】为探究饲养方式对藏猪结肠消化酶活性、菌群结构和短链脂肪酸含量的影响。【方法】研究分别选取 5 头相同月龄的放养藏猪和舍饲藏猪。屠宰采集结肠粪便样品, 分别利用酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒、高通量测序技术和气相色谱仪测定放养藏猪和舍饲藏猪结肠消化酶活性、菌群结构和短链脂肪酸含量。【结果】同一月龄下, 放养藏猪的日增重显著低于舍饲藏猪($P<0.05$)。放养藏猪结肠中纤维素酶和半纤维素酶的活性均显著高于舍饲藏猪($P<0.05$); 2 种饲养方式藏猪结肠的 6 种 α 多样性指数均无显著差异($P>0.05$), 且主成分分析(principal component analysis, PCA)得到放养藏猪和舍饲藏猪结肠菌群存在一定的相似性。在门和科分类水平上, 相较于舍饲藏猪, 放养藏猪结肠中疣微菌门、黄杆菌科、月形单胞菌科、浮霉状菌科和伊格尔兹氏菌科的相对丰度显著升高, 而链球菌科、韦荣氏球菌科、假单胞菌科、红环菌科、红螺菌科、乳杆菌科、理研菌科和巴斯德氏菌科的相对丰度显著降低($P<0.05$); 在属和种分类水平上, 共有 7 个菌属和 4 个菌种在两种饲养方式藏猪结肠中存在显著差异, 依次为密螺旋菌属、瘤胃球菌属、伊格尔兹氏菌属、巨球型菌属、另枝菌属、假单胞菌属、链球菌属、普拉梭菌、埃氏巨球形菌、罗伊氏乳杆菌和普氏菌。短链脂肪酸研究表明, 放养藏猪结肠中乙酸

资助项目: 西藏自治区自然科学基金(XZ202101ZR0020G); 西藏自治区重点研发计划(XZ202001ZY0039N)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Xizang Autonomous Region (XZ202101ZR0020G) and the Xizang Autonomous Region Key Research and Development Program (XZ202001ZY0039N).

*Corresponding author. Tel/Fax: +86-894-5822924, E-mail: shangzhenda1988@163.com

Received: 2023-04-21; Accepted: 2023-07-17; Published online: 2023-07-25

的含量显著高于舍饲藏猪($P<0.05$)。【结论】在本试验条件下, 饲养方式对藏猪结肠纤维素酶和半纤维素酶活性、菌群结构及乙酸含量均有影响。与舍饲藏猪相比, 放养藏猪生长性能较差, 但其对纤维素的降解能力更强。

关键词: 饲养方式; 藏猪; 结肠; 消化酶; 菌群结构; 短链脂肪酸

Effects of different feeding methods on digestive enzyme activity, microflora structure, and short chain fatty acids in colon of Tibetan pigs

WANG Yanhong¹, ZHANG Beining¹, LIU Suozhu^{1,2}, TAN Zhankun^{1,2}, SHANG Peng^{1,3}, SHANG Zhenda^{1,2*}

1 College of Animal Science, Tibet Agricultural & Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, Xizang, China

2 Tibetan Plateau Feed Processing Research Center, Nyingchi 860000, Xizang, China

3 Tibet Agricultural & Animal Husbandry University, Tibetan Pig Collaborative Research Center, Nyingchi 860000, Xizang, China

Abstract: [Objective] To explore the effects of feeding methods on the digestive enzyme activity, microflora structure, and short chain fatty acids in the colon of Tibetan pigs. **[Methods]** Five free-ranging Tibetan pigs and 5 captive Tibetan pigs with the same age were randomly selected. The pigs were slaughtered for the collection of colonic feces samples. The digestive enzyme activity, microflora structure, and content of short chain fatty acids in the samples were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), high-throughput sequencing, and gas chromatography, respectively. **[Results]** The free-ranging Tibetan pigs had lower average daily gain and higher activities of cellulase and hemicellulase in the colon than the captive Tibetan pigs ($P<0.05$). The alpha diversity indexes of colon microflora had no significant difference ($P>0.05$) and the principal component analysis showed similarity in the microflora structure between the two groups of pigs. At the phylum and family levels, the colon of the free-ranging Tibetan pigs had higher relative abundance of *Verrucomicrobia*, *Flavobacteriaceae*, *Selenomonadaceae*, *Planctomycetaceae*, and *Eggerthellaceae* and lower relative abundance of *Streptococcaceae*, *Veillonellaceae*, *Pseudomonadaceae*, *Rhodocyclaceae*, *Rhodospirillaceae*, *Lactobacillaceae*, *Rikenellaceae*, and *Pasteurellaceae* than that of the captive Tibetan pigs ($P<0.05$). At the genus and species levels, 7 genera and 4 species showed significant differences in the relative abundance between the pigs fed with the two methods, including *Treponema*, *Ruminococcus*, *Eggerthella*, *Megasphaera*, *Alistipes*, *Pseudomonas*, *Streptococcus*, *Prevotella copri*, *Lactobacillus reuteri*, *Megasphaera elsdenii*, and *Faecalibacterium prausnitzii*. The content of acetic acid in the colon of free-ranging Tibetan pigs was higher in that in the colon of captive Tibetan pigs ($P<0.05$). **[Conclusion]** Feeding methods affect the activities of cellulase and hemicellulase, microflora structure, and

acetic acid content in the colon of Tibetan pigs. The free-ranging grazing Tibetan pigs showed poorer growth performance and stronger cellulose-degrading ability than the captive Tibetan pigs.

Keywords: feeding method; Tibetan pigs; colon; digestive enzymes; microflora structure; short chain fatty acid

藏猪是在青藏高原严酷的生态环境条件下自然选择而保存下来的独特品种,是高原型猪种的典型代表^[1],与其他猪种相比,藏猪具有肉品质好、抗病能力强以及食草性等优点^[2-3]。但由于粗放式的饲养管理,加之特色的高原性气候,使藏猪具有较慢的生长速度,生产性能差,经济效益低^[4]。西藏自治区正在强力推动藏猪产业发展,根据《藏猪产业发展规划》要求,藏猪养殖要形成养殖规模化、生产标准化、加工产业化和品牌区域化的特色亮点。因此,西藏藏猪产业的增产增收对开展藏猪研究具有迫切需求。

肠道是动物的主要消化器官,其对机体的免疫和生长具有重要的调节作用^[5],而肠道的消化酶和菌群结构是影响肠道功能的重要因素^[6]。肠道消化酶的活性可以影响动物对营养物质的消化,进而调控机体的代谢过程;而肠道微生物与肠道结构和功能的发育、宿主免疫系统的建立息息相关^[7]。肠道微生物尤其是结肠微生物对动物的消化功能十分重要^[8],其在动物体内可以参与饲料营养物质的降解与代谢。动物肠道中的短链脂肪酸主要是由大肠(盲肠和结肠)内细菌酵解碳水化合物所产生的主要产物^[9],其不仅具有促进肠道发育的作用,而且还能抑制肠道中沙门氏菌和大肠杆菌等病原菌的生长。肠道中短链脂肪酸的含量与动物的肠道菌群结构和机体的消化吸收能力息息相关^[10-11]。

饲养环境和饲养方式均会影响动物的消化吸收能力^[12-13]。本课题组前期开展了饲养方式对藏猪小肠消化酶活性和微生物多样性的影响研究^[14],但并没有对其结肠进行研究。因此,本

研究通过分析不同饲养方式对藏猪结肠消化酶活性、菌群结构及短链脂肪酸含量的影响,为藏猪的饲养管理提供理论参考。

1 材料与方 法

1.1 试验动物和试验饲料

本研究分别选取 19 头、体重为 0.95 kg 左右的、同一天分娩的放养藏仔猪(grazing Tibetan pigs, GTP 组)和 26 头、体重为 1.05 kg 左右的、同一天分娩的舍饲藏仔猪(captive Tibetan pigs, CTP 组)进行饲喂试验。试验期为 7 个月,2022 年 4 月开始到 2022 年 10 月结束。整个饲养过程中,舍饲藏猪均饲喂玉米-豆粕型基础饲料,预混料采购于福建傲农生物科技集团股份有限公司生产的小猪复合预混合饲料 S8312;放养藏猪主要采用放牧加补饲的方式进行饲养。放牧采食的牧草主要为紫花苜蓿和灰蓼头草,补饲主要为玉米(基础日粮的组成和营养水平如表 1 所示、紫花苜蓿、灰蓼头草和玉米的营养水平如表 2 所示)。分别称量放养藏猪和舍饲藏猪的出生重和试验末体重,计算藏猪的平均日增重。平均日增重=(藏猪的出生重-藏猪的试验末重)/试验天数。

1.2 样品处理

饲喂试验结束后,分别选取体重均匀、健康的、精神状态良好的 5 头放养藏猪和 5 头舍饲藏猪停食 24 h 后屠宰取样,取每只试验猪结肠样品,刮取结肠黏膜附着的粪便样品,使用液氮进行快速冷冻,并保存在-80 °C 冰箱中,用于测定结肠中纤维素酶、半纤维素酶的活性,以及结肠的菌群结构和短链脂肪酸含量。

表 1 舍饲藏猪饲料结构及营养物质含量(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of captive Tibetan pigs diets (air-dry basis)

Items	8–20 kg	20–40 kg	>40 kg
Ingredients (%)			
Corn	63.15	53.37	53.87
Bran	14.00	32.00	26.00
Soybean meal	20.00	12.00	8.00
Soybean hulls			10.00
CaCO ₃	0.95	1.10	0.80
CaHPO ₄	0.70	0.23	0.13
Lys-HCL	0.00	0.10	0.00
NaCl	0.30	0.30	0.30
Premix	0.10	0.10	0.10
Diatomite	0.80	0.80	0.80
Total	100.00	100.00	100.00
Nutrient levels			
DE (MJ/kg)	13.93	13.37	13.26
CP (%)	16.18	15.02	13.45
CF (%)	3.84	4.73	7.71
NDF (%)	14.59	19.01	22.52
ADF (%)	4.10	5.22	8.76

The premix provided the following per kg of diets: VA 132.5 KIU, VD3 38.75 KIU, VE₁≥150 mg, VK3 47.5 mg, VB1₁≥12.5 mg, VB2₁≥37.5 mg, VB6₁≥17.5 mg, VB12₁≥0.1 mg, nicotinamide₁≥237.5 mg, pantothenic acid₁≥140 mg, folic acid₁≥140 mg, biotin₁≥0.5 mg, choline chloride₁≥2 500 mg, Cu 906 mg, Fe 2 250 mg, Zn 1 000 mg, Mn 1 037.5 mg, I 26.9 mg, Se 3.9 mg, Ca 7.5%, Total P₁≥1.0%, NaCl 5.0%, lysine₁≥1.5%, phytase₁≥6 250%. CP: Crude protein; CF: Crude fiber; NDF: Neutral detergent fiber; ADF: Acid detergent fiber.

表 2 紫花苜蓿、灰藜头草和玉米营养成分

Table 2 The nutritional ingredient of Alfalfa, *Chenopodium glaucum* and maize

Materials	Alfalfa	<i>Chenopodium glaucum</i>	Maize
Dry matter (g/kg FW)	282.64	326.68	198.64
Crude fibre (g/kg DM)	285.50	251.20	288.10
Crude protein (g/kg DM)	204.59	144.14	86.10
Ether extract (g/kg DM)	53.74	63.28	75.24
Water soluble	48.74	38.23	240.60
Carbohydrates (g/kg DM)			
Crude ash (g/kg DM)	75.62	80.56	64.86

FW: Fresh weight; DW : Dry weight.

1.3 消化酶活性的测定

分别采用江苏酶免实业有限公司生产的猪纤维素酶酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(产品货号: MM-7778801)和半纤维素酶 ELISA 试剂盒(产品货号: MM-92686401)测定各试验藏猪结肠粪便匀浆上清液中的纤维素酶和半纤维素酶活性,严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 菌群结构测定

利用天根生化科技(北京)有限公司生产的基因组提取试剂盒提取藏猪结肠粪便细菌的总DNA。检测基因组 DNA 的提取质量,并进行定量。以提取的 DNA 为模板,使用上游引物 (AGAGTTTGATCMTGGCTCAG) 和下游引物 (ACCTTGTTACGACTT)对细菌 16S rDNA 全长 (PB_16s_Bac)序列进行聚合酶链式反应 (polymerase chain reaction, PCR)扩增,利用琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物,使用胶回收试剂盒回收目标片段,并对回收产物进行荧光定量,按照每个样本的测序量需求,对各样本按相应比例进行混合;制备、修复、富集和纯化测序文库,将纯化后的、合格的文库使用 PacBio Sequel II测序仪进行测序(上海派森诺生物科技股份有限公司)。

1.5 短链脂肪酸含量测定

分别称取放养藏猪和舍饲藏猪结肠粪便 0.1 g 左右装入 2 mL 的 EP 管中,加入 0.5 mL 的低温提取液(三氯甲烷:甲醇:水, 1:1:1, 体积比),研磨、超声、离心处理后,移取 0.3 mL 上清液装入新的 EP 管中;在获取的上清液中加入 0.5 mL 超纯水,涡旋、超声、离心处理后,移取 0.5 mL 上清液装入新的 EP 管中;在最终获得的上清液中加入 0.5 mL 内标溶液(2-甲基戊酸, 25 mg/L, 甲基叔丁基醚)和 0.1 mL 50% H₂SO₄, 涡旋、离心后,静置 30 min,取上清液,使用 0.22 μm 滤膜过滤,注入气相色谱仪中,检测结肠粪便中短链脂肪酸的含量。

1.6 数据分析

参照 QIIME2 dada2 分析流程和 Vsearch 软件的分析流程对 16S rDNA 的原始数据进行序列去噪和分类操作单元 (operational taxonomic unit, OTUs) 聚类, 对获得的序列按 97% 的相似度进行 OTU 归并划分, 并与 Greengenes 数据库的模板序列相比进行分类鉴定, 获取分类学信息; 对每个样本中所能观测到的 OTUs 抽平; 利用 6 种度量指数 (Chao1、Observed species、Shannon、Simpson、Faith's PD 和 Pielou's evenness) 来计算细菌菌群的丰富度和均匀度; 通过主成分分析 (principal component analysis, PCA) 考察不同样本之间群落结构的相似性; 使用 R 语言 ggplot2 包, 对各样本所获细菌进行分类学组成分析; 采用线性判别分析 [line discriminant analysis (LDA) effect size, LefSe] 对各样品细菌群落进行组间差异分析, 使用 IBM SPSS Statistics 软件对试验数据进行 *t* 检验分析。

2 结果与分析

2.1 放养藏猪与舍饲藏猪平均日增重分析

整个饲养过程中, 放养藏猪的平均日增重为 175.93 g, 而舍饲藏猪的平均日增重为 270.19 g。与舍饲藏猪相比, 放养藏猪的平均日增重显著降低 ($P < 0.05$)。

2.2 放养藏猪和舍饲藏猪结肠消化酶活性分析

比较放养藏猪和舍饲藏猪结肠粪便中纤维素酶和半纤维素酶活性可知, 放牧藏猪结肠的纤

维素酶和半纤维素酶的活性显著高于舍饲藏猪 ($P < 0.05$) (表 3)。

2.3 放养藏猪和舍饲藏猪结肠菌群结构分析

放养藏猪和舍饲藏猪结肠细菌菌群 α 多样性指数见表 4, 由表 4 可知, 饲养方式对藏猪结肠菌群的 Chao1、Observed species、Simpson、Shannon、Pielou's evenness 和 Faith's PD 指数均没有显著影响 ($P > 0.05$), 说明饲养方式并没有影响藏猪结肠细菌菌群进化的多样性和表征均匀度。

通过主成分分析比较不同样本之间菌群结构的相似性时 (图 1), 发现放养藏猪和舍饲藏猪结肠中微生物群落聚集的区域有部分重合, 由此推断放养藏猪和舍饲藏猪的结肠细菌菌群存在一定的相似性。

2.4 放养藏猪和舍饲藏猪结肠细菌群落组成分析

在门分类水平上 (图 2A), 10 个藏猪结肠样品中共鉴定出 13 个细菌菌门, 其中有 6 个菌门的相对丰度大于 1.00%, 依次为厚壁菌门 (*Firmicutes*)、拟杆菌门 (*Bacteroidetes*)、螺旋菌门 (*Spirochaetes*)、变形菌门 (*Proteobacteria*)、疣微菌门 (*Verrucomicrobia*) 和浮霉菌门 (*Planctomycetes*); 其

表 3 放养和舍饲藏猪结肠消化酶活性的测定结果
Table 3 The measurement result of colon digestive enzymes activities between grazing and captive Tibetan pigs

Digestive enzyme	GTP	CTP	<i>P</i> value
Cellulase (IU/L)	45.67±4.96	24.87±5.77	0.009
Hemicellulase ($\mu\text{g/mL}$)	287.29±39.84	218.59±20.05	0.027

表 4 放养和舍饲藏猪结肠细菌 α 多样性指数表

Table 4 Number of alpha diversity indices of colon bacterial in grazing and captive Tibetan pigs

Groups	Chao1	Observed species	Simpson	Shannon	Pielou's evenness	Faith's PD
GTP	888.62±102.67	614.00±60.09	0.99±0.01	7.88±0.24	0.85±0.01	34.46±0.94
CTP	924.17±84.67	648.28±41.39	0.99±0.01	7.94±0.22	0.85±0.01	35.58±1.04
<i>P</i> value	0.283	0.162	0.281	0.344	0.470	0.057

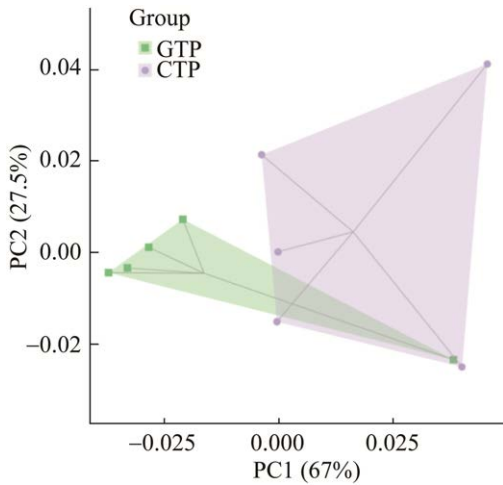


图 1 放养和舍饲藏猪结肠细菌群落 PCA 图
Figure 1 PCA of colon bacterial population structures in grazing and captive Tibetan pigs.

中，厚壁菌门(放养藏猪结肠中的相对丰度为 41.33%、舍饲藏猪结肠中的相对丰度为 44.80%)和拟杆菌门(两个试验组藏猪中的相对丰度分别为 35.97%和 35.82%)为藏猪结肠中的主要细菌菌门；在科分类水平上，共鉴定出 84 个细菌菌科(图 2B)，其中相对丰度最高的 10 个菌科依次为普雷沃氏菌科(*Prevotellaceae*)、毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)、螺旋体菌科(*Spirochaetaceae*)、鞘脂杆菌科(*Sphingobacteriaceae*)、拟杆菌科(*Bacteroidaceae*)、梭菌科(*Clostridiaceae*)、月形单胞菌科(*Selenomonadaceae*)、坦纳菌科(*Tannerellaceae*)和链球菌科(*Streptococcaceae*)。

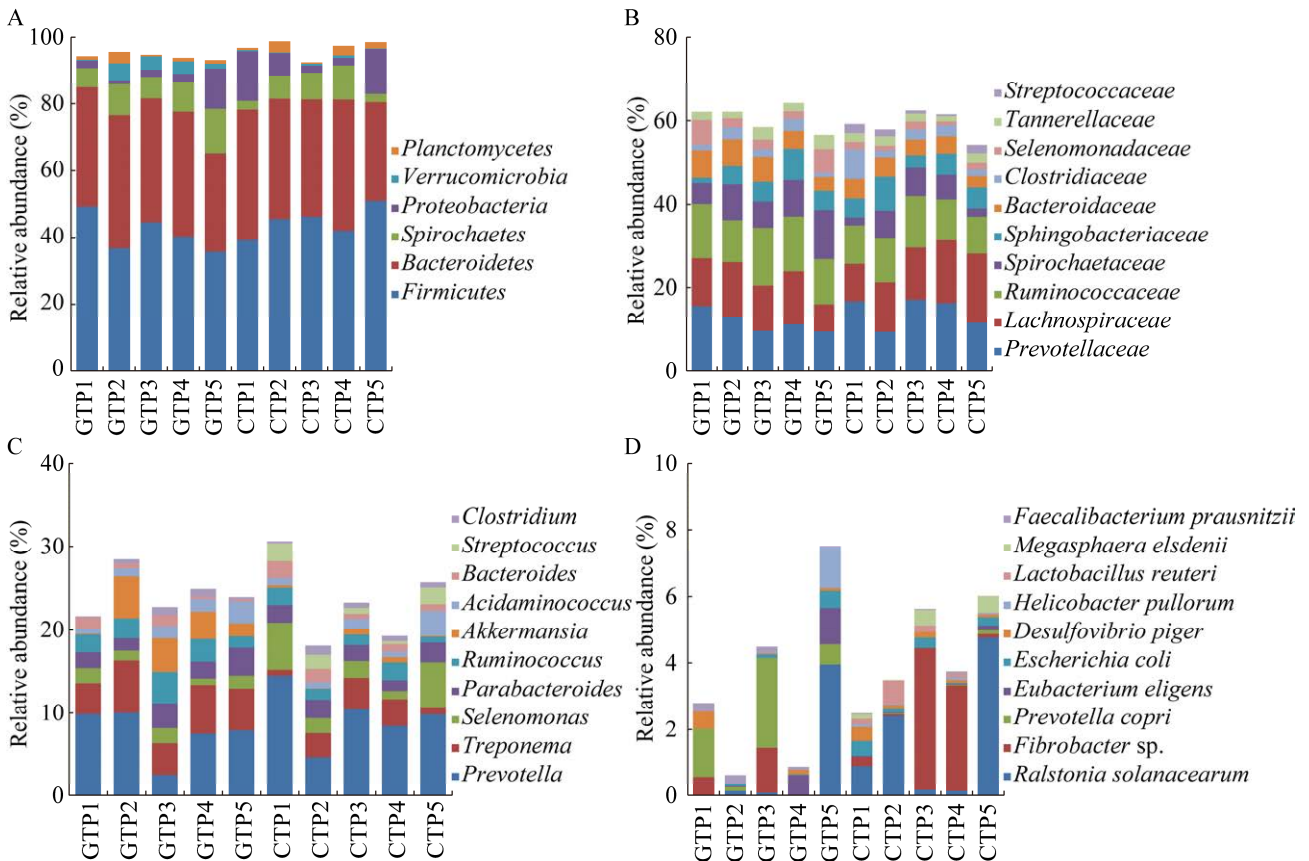


图 2 放养和舍饲藏猪结肠细菌各分类水平物种组成

Figure 2 Colon bacterial compositions at different levels in grazing and captive Tibetan pigs. A: Phylum level. B: Family level. C: Genus level. D: Species level.

在属分类水平上(图 2C), 放养藏猪结肠中的优势菌属依次为普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、密螺旋菌属(*Treponema*)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcus*); 舍饲藏猪结肠中的优势菌属为普雷沃氏菌属、月形单胞菌属(*Selenomonas*)、密螺旋菌属和副拟杆菌属(*Parabacteroides*); 在种水平上, 10个藏猪结肠样品中共鉴定出29个菌种(图2D), 其中包括青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)、纤维杆菌(*Fibrobacter sp.*)、普氏菌(*Prevotella copri*)、挑剔真杆菌(*Eubacterium eligens*)、大肠埃希氏菌

(*Escherichia coli*)、脱硫弧菌(*Desulfovibrio piger*)、白痢螺杆菌(*Helicobacter pullorum*)、罗伊氏乳杆菌(*Lactobacillus reuteri*)、埃氏巨球形菌(*Megasphaera elsdenii*)和普拉梭菌(*Faecalibacterium prausnitzii*)等。

2.5 放养藏猪和舍饲猪猪结肠细菌群落组间差异分析

对放养藏猪和舍饲藏猪结肠优势细菌的相对丰度进行差异性分析。结果得到(图3), 在门水平上, 疣微菌门在放养藏猪和舍饲藏猪之间存在显著差异, 且放养藏猪结肠中疣微菌门的相对

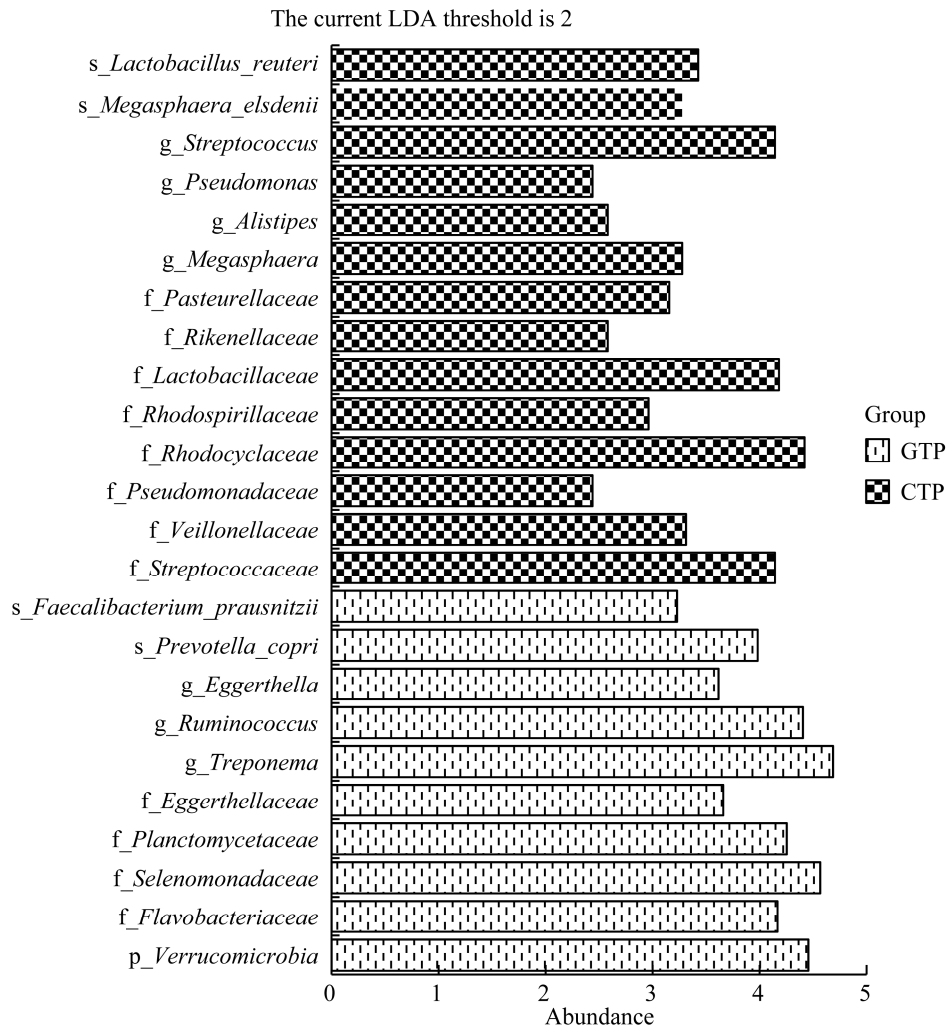


图3 放养和舍饲藏猪结肠细菌各分类水平下的差异检验

Figure 3 Statistical comparison of colon bacteria at different levels among grazing and captive Tibetan pigs.

丰度显著高于舍饲藏猪($P<0.05$); 在科水平上, 放养藏猪和舍饲藏猪结肠中共有 12 个菌科存在显著差异, 其中放养藏猪的黄杆菌科 (*Flavobacteriaceae*)、月形单胞菌科、浮霉状菌科 (*Planctomycetaceae*) 和伊格尔兹氏菌科 (*Eggerthellaceae*) 显著高于舍饲藏猪, 而链球菌科、韦荣氏球菌科 (*Veillonellaceae*)、假单胞菌科 (*Pseudomonadaceae*)、红环菌科 (*Rhodocyclaceae*)、红螺菌科 (*Rhodospirillaceae*)、乳杆菌科 (*Lactobacillaceae*)、理研菌科 (*Rikenellaceae*) 和巴斯德氏菌科 (*Pasteurellaceae*) 显著低于舍饲藏猪($P<0.05$); 在属水平上, 放养藏猪的密螺旋菌属、瘤胃球菌属和伊格尔兹氏菌属 (*Eggerthella*) 显著高于舍饲藏猪, 而巨球形菌属 (*Megasphaera*)、另枝菌属 (*Alistipes*)、假单胞菌属 (*Pseudomonas*) 和链球菌属 (*Streptococcus*)

显著低于舍饲藏猪($P<0.05$); 在种水平上, 共鉴定到 4 个菌种在放养藏猪和舍饲藏猪结肠中存在显著差异, 依次为普拉梭菌、埃氏巨球形菌、罗伊氏乳杆菌和普氏菌, 其中放养藏猪结肠中普拉梭菌和普氏菌显著高于舍饲藏猪, 而埃氏巨球形菌和罗伊氏乳杆菌显著低于舍饲藏猪 ($P<0.05$)。

2.6 放养藏猪和舍饲藏猪结肠短链脂肪酸含量差异分析

饲养方式对藏猪结肠短链脂肪酸的影响如图 4 所示。由图 4 可知, 不同饲养方式对藏猪结肠各种短链脂肪酸含量的影响不同, 其中舍饲藏猪和放养藏猪结肠中丙酸、异丁酸、丁酸、异戊酸和戊酸含量没有显著差异($P>0.05$), 但舍饲藏猪结肠中乙酸的含量显著低于放养藏猪 ($P<0.05$)。

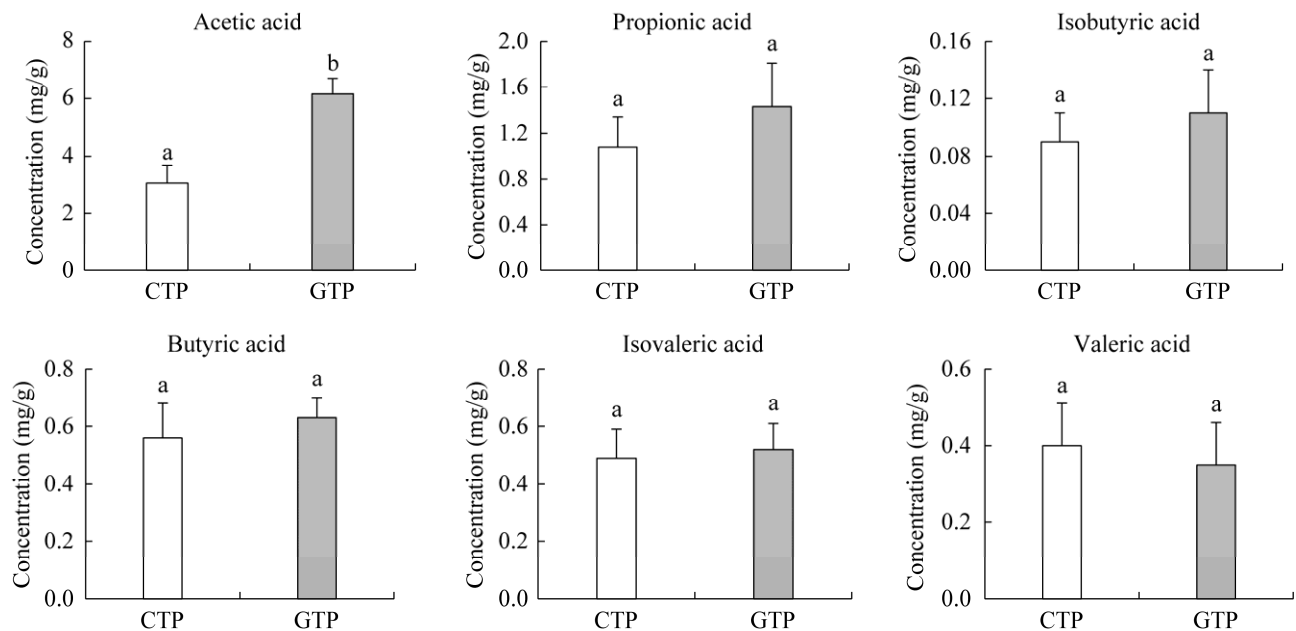


图 4 饲养方式对藏猪结肠短链脂肪酸含量的影响

Figure 4 Effects of feeding pattern on short-chain fatty acid content in colon of Tibetan pigs. Values with same little letters indicating had no significant differences ($P>0.05$) and values with different little letters indicating had significant differences among different groups ($P<0.05$).

3 讨论与结论

饲养方式和饲料组成可以影响动物的生长性能。惠铄智等^[15]研究得到,不同饲养方式对松辽黑猪的生长性能具有显著影响,放牧组黑猪的日增重低于舍饲组;马桂琳等^[16]研究发现,1到6月龄舍饲饲养合作猪的体重、体高和体长均显著高于放牧饲养;周广驰等^[17]研究表明,270日龄时,圈养鲁莱黑猪的体重、胴体重和背膘厚均显著高于放养鲁莱黑猪。本研究得到,同一月龄下,舍饲藏猪的平均日增重显著高于放养藏猪,这与其他人的研究结果相一致。

猪等单胃动物肠道中缺乏可以降解纤维素、抗性淀粉等多糖的酶类,未被降解的多糖主要通过结肠微生物的发酵而降解为单糖,被机体吸收^[18]。研究中检测的纤维素酶和半纤维素酶主要来自藏猪结肠微生物分泌的。本研究发现,放牧藏猪结肠中纤维素酶和半纤维素酶的活性显著高于舍饲藏猪,由此表明,放牧藏猪结肠中聚集了更多的可以分泌纤维素酶和半纤维素酶的微生物。

肠道微生物作为肠道的关键物质,具有调节肠道营养代谢和免疫反应等多种重要的生理功能。Ban-Tokuda等^[19]对猪粪便菌群结构的研究发现,随着猪采食量和体重的增加,其粪便中厚壁菌门的丰度增加,拟杆菌门的丰度降低,控制肠道微生物群可能有助于改善猪的生产性能;Cui等^[20]对猪盲肠细菌的研究发现,拟杆菌门和厚壁菌门在猪肠道中的比例会影响其吸收养分的能力,且枯草芽孢杆菌可以降低拟杆菌门的丰度,增加厚壁菌门的丰度,进而提高猪的生长性能和脂质代谢。以上研究均说明动物的肠道功能与微生物息息相关。本研究得到,厚壁菌门、拟杆菌门、螺旋菌门、变形菌门、疣微菌门和浮霉菌门是藏猪结肠中的优势菌

门,这与之前对藏猪小肠菌群结构的研究结果不同^[14];杨慧^[21]研究得到,莱芜猪的肠道部位不同其微生物群落不同,其中盲肠的微生物多样性显著高于小肠,且梭菌属显著富集于小肠,而普氏菌属和密螺旋体属等在盲肠中有更高的丰度,这表明动物的肠道部位会影响其肠道的菌群结构。Bárcena等^[22]研究发现肠道菌群失调会导致疣微菌门的丰度下降,而移植疣微菌门可以发挥有益作用;疣微菌门主要存在于土壤和淡水中。本研究中,放养藏猪结肠中疣微菌门显著高于舍饲藏猪,可能与放养藏猪的养殖方式有关。

研究得到,普雷沃氏菌属、密螺旋菌属、月形单胞菌属、副拟杆菌属和瘤胃球菌属是藏猪的优势菌属,这与张君胜等对苏姜猪肠道菌群结构的研究结果^[23]和任敏敏等对金华猪肠道菌群结构的研究结果^[24]不同,这也从属分类水平上印证了动物品种、饲养环境及饲料组成等因素均可能影响其肠道的菌群结构。月形单胞菌是参与反刍动物瘤胃发酵的重要微生物,其能在不同日粮条件下生长,发酵不同的碳水化合物^[25];密螺旋菌作为肠道的有益菌,具有降解碳水化合物的作用,其丰度的降低会导致肠道细胞对碳水化合物的消化代谢能力下降,导致肠道渗透性紊乱^[26];瘤胃球菌是分解碳水化合物和抗性淀粉的关键菌,其可以分解宿主消化系统的纤维素、也能够发酵葡萄糖和木糖^[27];研究发现,放牧藏猪结肠中月形单胞菌科、密螺旋菌属和瘤胃球菌属的相对丰度显著高于舍饲藏猪,由此表明,饲养方式会改变藏猪肠道菌群的结构,放牧藏猪结肠中可以降解碳水化合物的菌群的相对丰度更高。研究还得到,舍饲藏猪结肠中另枝菌属、假单胞菌属和链球菌属显著高于放牧藏猪。另枝菌属是一种相对新的菌属,属于条件致病菌^[28];假单胞菌属是一种引起急性和慢性感染的条件

致病菌，具有高度的耐药性^[29]；链球菌属是导致猪链球菌病的病原菌，可以引起猪的关节炎、败血症等疫病^[30]。三种致病菌在放牧藏猪和舍饲藏猪结肠中的变化，说明放牧饲养更有利于提高藏猪的肠道健康水平。研究还在藏猪结肠中鉴定到 43 个菌种，但在放牧藏猪和舍饲藏猪结肠中存在差异的菌种只有 4 个，依次为普拉梭菌、普氏菌、埃氏巨球形菌和罗伊氏乳杆菌。普拉梭菌是一种重要的功能性细菌，具有免疫调节和抗炎的作用^[31]；普氏菌具有降解淀粉、植物多糖和分解黏蛋白质的能力，普氏菌的富集可以增强反刍动物的抗氧化能力，促进瘤胃发酵效率^[32]；罗伊氏乳杆菌具有免疫调节和抗病菌感染的作用，可以通过竞争肠道上的定殖位点抑制病原菌^[33]，埃氏巨球形菌是一种具有重要生态学意义的瘤胃细菌，可代谢乳酸并缓解由高谷物日粮引起的瘤胃酸中毒^[34]。放牧藏猪普拉梭菌和普氏菌的相对丰度高于舍饲藏猪，而罗伊氏乳杆菌和埃氏巨球形菌低于舍饲藏猪，可能与两种饲养方式藏猪饲料的组成不同有关。

结肠短链脂肪酸主要是由饲料纤维在大肠微生物发酵后的主要产物，饲料类型和肠道菌群对短链脂肪酸的产生都有重要影响^[35]。Pu 等^[36]研究表明，饲喂高纤维饲料会促进苏淮猪盲肠中短链脂肪酸的代谢，使其盲肠中乙酸浓度升高。本研究得到，放养藏猪结肠中乙酸含量显著高于舍饲藏猪，这与放养藏猪饲料粗纤维含量高，结肠中可降解纤维素的菌更多有关。

综上所述，饲养方式对藏猪的生长性能、结肠纤维素酶和半纤维素酶活性、菌群结构和乙酸含量均有影响。与舍饲养殖相比，放牧养殖使藏猪的生长性能下降，但能够提高藏猪对纤维的降解能力。本研究的成果将为藏猪的科学喂养提供基础数据支持。

参考文献

- [1] ZHOU SS, LUO RB, GONG G, WANG YF, GESANG ZM, WANG K, XU ZF, SUOLANG SZ. Characterization of metagenome-assembled genomes and carbohydrate-degrading genes in the gut microbiota of Tibetan pig[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 595066.
- [2] 李江凌, 陈晓晖, 刘锐, 王秋实, 曾凯, 廖党金, 高荣, 吕学斌. 藏猪耐粗饲特性及其生化机理研究[J]. *中国猪业*, 2015, 10(2): 70-72.
LI JL, CHEN XH, LIU R, WANG QS, ZENG K, LIAO DJ, GAO R, LV XB. Study on coarse feeding tolerance characteristics and biochemical mechanism of Tibetan pigs[J]. *China Swine Industry*, 2015, 10(2): 70-72 (in Chinese).
- [3] 贺寒冰, 尹洛蓉, 杨肖, 李江凌, 白光明, 刘瑞, 曾凯, 吕学斌, 高荣. 藏猪和长白猪对口蹄疫疫苗的免疫应答特性比较研究[J]. *四川动物*, 2011, 30(4): 517-521.
HE HB, YIN LR, YANG X, LI JL, BAI GM, LIU R, ZENG K, LV XB, GAO R. Comparative studies on the immune responses of Tibet and Landrace piglets to FMD vaccine[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2011, 30(4): 517-521 (in Chinese).
- [4] 商振达, 张颖, 刘锁珠, 董冰. 营养素改善藏母猪繁殖性能的可能性分析[J]. *动物营养学报*, 2021, 33(3): 1249-1256.
SHANG ZD, ZHANG Y, LIU SZ, DONG B. Probability of improving reproductive performance of Tibetan sows by nutrients[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, 33(3): 1249-1256 (in Chinese).
- [5] KIM HB, BOREWICZ K, WHITE BA, SINGER RS, SREEVATSAN S, TU ZJ, ISAACSON RE. Microbial shifts in the swine distal gut in response to the treatment with antimicrobial growth promoter, tylosin[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(38): 15485-15490.
- [6] CHEN YM, HELM ET, GABLER N, HOSTETTER JM, BURROUGH ER. Alterations in intestinal innate mucosal immunity of weaned pigs during porcine epidemic diarrhea virus infection[J]. *Veterinary Pathology*, 2020, 57(5): 642-652.
- [7] YOUNES H, COUDRAY C, BELLANGER J, DEMIGNÉ C, RAYSSIGUIER Y, RÉMÉSY C. Effects of two fermentable carbohydrates (inulin and resistant starch) and their combination on calcium and

- magnesium balance in rats[J]. *British Journal of Nutrition*, 2001, 86(4): 479-485.
- [8] YANG WP, XIN HY, CAO FJ, HOU JX, MA L, BAO LJ, WANG FY, YU ZT, CAO BY. The significance of the diversity and composition of the cecal microbiota of the Tibetan swine[J]. *Annals of Microbiology*, 2018, 68(4): 185-194.
- [9] 刘松珍, 张雁, 张名位, 孙远明, 魏振承. 肠道短链脂肪酸产生机制及生理功能的研究进展[J]. *广东农业科学*, 2013, 40(11): 99-103.
LIU SZ, ZHANG Y, ZHANG MW, SUN YM, WEI ZC. Research progress on producing mechanism and physiological functions of intestinal short chain fatty acids[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2013, 40(11): 99-103 (in Chinese).
- [10] CONG J, ZHOU P, ZHANG RY. Intestinal microbiota-derived short chain fatty acids in host health and disease[J]. *Nutrients*, 2022, 14(9): 1977.
- [11] MA JY, PIAO XS, MAHFUZ S, LONG SF, WANG J. The interaction among gut microbes, the intestinal barrier and short chain fatty acids[J]. *Animal Nutrition*, 2022, 9: 159-174.
- [12] XIANG ZG, ZHU H, YANG BC, FAN H, GUO JG, LIU JN, KONG Q, TENG QF, SHANG HQ, SU L, QIN C. A glance at the gut microbiota of five experimental animal species through fecal samples[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10: 16628.
- [13] DING SJ, CHENG YT, ABUL KALAM AZAD M, DONG HB, HE J, HUANG P, KONG XF. Dietary fiber alters immunity and intestinal barrier function of different breeds of growing pigs[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1104837.
- [14] 商振达, 商鹏, 刘锁珠, 谭占坤, 王宏辉, 孔庆辉. 藏猪小肠形态、消化酶及微生物多样性研究[J]. *微生物学报*, 2021, 61(3): 655-666.
SHANG ZD, SHANG P, LIU SZ, TAN ZK, WANG HH, KONG QH. Intestinal morphology, digestive enzymes and bacterial diversity of Tibetan pigs[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, 61(3): 655-666 (in Chinese).
- [15] 惠铄智, 蒙洪娇, 蔡维北, 孔祥杰, 杨一, 姜海龙. 不同饲养方式对松辽黑猪生长性能及肠道消化酶活性的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医(下半月)*, 2017(4): 67-69.
HUI SZ, MENG HJ, CAI WB, KONG XJ, YANG Y, JIANG HL. Effects of different feeding methods on growth performance and intestinal digestive enzyme activities of Songliao black pigs[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine (last half month)*, 2017(4): 67-69 (in Chinese).
- [16] 马桂琳, 刘汉丽, 张红霞, 杨江海, 张潭瑛, 毛红霞, 丁考仁青. 不同饲养方式下合作猪的生长性能[J]. *畜牧与兽医*, 2013, 45(3): 37-38.
MA GL, LIU HL, ZHANG HX, YANG JH, ZHANG TY, MAO HX, DING KRQ. Growth performance of cooperative pigs under different feeding methods [J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2013, 45(3): 37-38 (in Chinese).
- [17] 周广驰, 魏艳华, 李莹, 王素红. 不同饲养方式对鲁莱黑猪生产性能及肌红蛋白含量影响的研究[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2022(16): 60-65, 135.
ZHOU GC, WEI YH, LI Y, WANG SH. Effects of different feeding methods on production performance and myoglobin content in Lulai black pigs[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2022(16): 60-65, 135 (in Chinese).
- [18] PU G, HOU LM, DU TR, ZHOU WD, LIU CX, NIU PP, WU CW, BAO WB, HUANG RH, LI PH. Increased proportion of fiber-degrading microbes and enhanced cecum development jointly promote host to digest appropriate high-fiber diets[J]. *mSystems*, 2023, 8(1): e0093722.
- [19] BAN-TOKUDA T, MAEKAWA S, MIWA T, OHKAWARA S, MATSUI H. Changes in faecal bacteria during fattening in finishing swine[J]. *Anaerobe*, 2017, 47: 188-193.
- [20] CUI C, SHEN CJ, JIA G, WANG KN. Effect of dietary *Bacillus subtilis* on proportion of *Bacteroidetes* and *Firmicutes* in swine intestine and lipid metabolism[J]. *Genetics and Molecular Research: GMR*, 2013, 12(2): 1766-1776.
- [21] 杨慧. 猪肠道微生物组对脂肪沉积和饲料利用率的影响[D]. 南昌: 江西农业大学博士学位论文, 2016.
YANG H. The effects of porcine gut microbiome on fat deposition and feed efficiency[D]. Nanchang: Doctoral Dissertation of Jiangxi Agricultural University, 2016 (in Chinese).
- [22] BÁRCENA C, VALDÉS-MAS R, MAYORAL P, GARABAYA C, DURAND S, RODRÍGUEZ F, TERESA FERNÁNDEZ-GARCÍA M, SALAZAR N, NOGACKA AM, GARATACHEA N, BOSSUT N, APRAHAMIAN F, LUCIA A, KROEMER G, FREIJE JMP, QUIRÓS PM, LÓPEZ-OTÍN C. Healthspan and lifespan extension by fecal microbiota transplantation into progeroid mice[J]. *Nature Medicine*, 2019, 25(8): 1234-1242.

- [23] 张君胜, 徐盼, 陶勇, 倪黎纲, 周春宝, 蔡佳炜, 朱淑斌. 不同生长性能苏姜猪保育猪肠道菌群差异分析[J]. 微生物学通报, 2020, 47(12): 4240-4249.
ZHANG JS, XU P, TAO Y, NI LG, ZHOU CB, CAI JW, ZHU SB. Analysis on the difference of intestinal microflora of Sujiang piglets with different growth performance[J]. *Microbiology China*, 2020, 47(12): 4240-4249 (in Chinese).
- [24] 任敏敏, 杨华, 项云, 章啸君, 徐娥, 申露露, 肖英平. 饲料纤维水平对金华猪生长性能、盲肠菌群结构和短链脂肪酸含量的影响[J]. 动物营养学报, 2020, 32(6): 2575-2585.
REN MM, YANG H, XIANG Y, ZHANG XJ, XU E, SHEN LL, XIAO YP. Effects of dietary fiber levels on growth performance, microbial community structure and short-chain fatty acid content in cecum of Jinhua pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6): 2575-2585 (in Chinese).
- [25] FAN YT, XIA GL, JIN YQ, WANG HR. Ambient pH regulates lactate catabolism pathway of the ruminal *Megasphaera elsdenii* BE2-2083 and *Selenomonas ruminantium* HD4[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2022, 132(4): 2661-2672.
- [26] LAMENDELLA R, DOMINGO JW, GHOSH S, MARTINSON J, OERTHER DB. Comparative fecal metagenomics unveils unique functional capacity of the swine gut[J]. *BMC Microbiology*, 2011, 11: 103.
- [27] CHRISTOPHERSON MR, DAWSON JA, STEVENSON DM, CUNNINGHAM AC, BRAMHACHARYA S, WEIMER PJ, KENDZIORSKI C, SUEN G. Unique aspects of fiber degradation by the ruminal ethanologen *Ruminococcus albus* 7 revealed by physiological and transcriptomic analysis[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15(1): 1-13.
- [28] PARKER BJ, WEARSCH PA, VELOO ACM, RODRIGUEZ-PALACIOS A. The genus *Alistipes*: gut bacteria with emerging implications to inflammation, cancer, and mental health[J]. *Frontiers in Immunology*, 2020, 11: 906.
- [29] WOOD SJ, KUZEL TM, SHAFIKHANI SH. *Pseudomonas aeruginosa*: infections, animal modeling, and therapeutics[J]. *Cells*, 2023, 12(1): 199.
- [30] 宦海霞, 黄莉莉, 张科. 猪链球菌多样性及其致病因子研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2014, 41(2): 218-223.
HUAN HX, HUANG LL, ZHANG K. Advance on diversity and virulent factors of *Streptococcus suis*[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2014, 41(2): 218-223 (in Chinese).
- [31] FENG J, TANG H, LI M, PANG XY, WANG LH, ZHANG MH, ZHAO YF, ZHANG XJ, SHEN J. The abundance of fecal *Faecalibacterium prausnitzii* in relation to obesity and gender in Chinese adults[J]. *Archives of Microbiology*, 2014, 196(1): 73-77.
- [32] LINARES-PASTÉN JA, HERO JS, PISA JH, TEIXEIRA C, NYMAN M, ADLERCREUTZ P, ALEJANDRA MARTINEZ M, KARLSSON EN. Novel xylan-degrading enzymes from polysaccharide utilizing loci of *Prevotella copri* DSM 18205[J]. *Glycobiology*, 2021, 31(10): 1330-1349.
- [33] NAKPHAICHIT M, THANOMWONGWATTANA S, PHRAEPHAISARN C, SAKAMOTO N, KEAWSOMPONG S, NAKAYAMA J, NITISINPRASERT S. The effect of including *Lactobacillus reuteri* KUB-AC5 during post-hatch feeding on the growth and ileum microbiota of broiler chickens[J]. *Poultry Science*, 2011, 90(12): 2753-2765.
- [34] CHEN LM, SHEN YZ, WANG C, DING LY, ZHAO FF, WANG MZ, FU JY, WANG HR. *Megasphaera elsdenii* lactate degradation pattern shifts in rumen acidosis models[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 162.
- [35] WILLIAMS BA, VERSTEGEN MWA, TAMMINGA S. Fermentation in the large intestine of single-stomached animals and its relationship to animal health[J]. *Nutrition Research Reviews*, 2001, 14(2): 207.
- [36] PU G, LI PH, DU TR, NIU Q, FAN LJ, WANG H, LIU H, LI KJ, NIU PP, WU CW, ZHOU WD, HUANG RH. Adding appropriate fiber in diet increases diversity and metabolic capacity of distal gut microbiota without altering fiber digestibility and growth rate of finishing pig[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 533.