

健康与腹泻仔猪粪样中挥发性脂肪酸和菌群区系的比较

苏勇, 谢飞, 朱伟云*

南京农业大学消化道微生物研究室, 南京 210095

摘要: 【目的】本试验通过对比健康与腹泻仔猪粪样挥发性脂肪酸(Volatile fatty acid, VFA)以及菌群的差异,初步探讨腹泻对仔猪后肠环境的影响。【方法】采集腹泻和健康仔猪粪样,气相色谱测定挥发性脂肪酸浓度;提取粪样总细菌核酸,利用变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE)和 Real-time PCR 技术定性、定量分析总细菌和梭菌 IV 菌群。【结果】与健康仔猪相比,腹泻仔猪粪样中乙酸含量有升高的趋势,支链脂肪酸(Branched chain fatty acid, BCFA)含量显著降低($p < 0.05$),总 VFA、丙酸和丁酸含量有降低的趋势,但差异均不显著;乙酸占总挥发酸比例显著升高($p < 0.05$),而丙酸及 BCFA 占总挥发酸比例则显著降低($p < 0.05$),丁酸占总挥发酸比例有降低趋势。PCR-DGGE 指纹技术分析表明:腹泻发生后,仔猪粪样中总细菌和梭菌 IV 菌群在 DGGE 图谱上并没有特异性的条带消失或出现,但相似性分析显示,腹泻仔猪样品趋于归类于同一簇。Real-time PCR 定量分析显示:仔猪腹泻后,粪样中的总细菌和梭菌 IV 菌群的数量显著下降($p < 0.05$);而大肠杆菌和乳酸杆菌的数量变化不显著。【结论】与健康仔猪相比,腹泻仔猪粪样挥发性脂肪酸组成发生改变,并且微生物区系中的一些菌群也发生变化。

关键词: 腹泻仔猪,挥发性脂肪酸,变性梯度凝胶电泳(Denaturing gradient gel electrophoresis, DGGE),梭菌 IV 菌群

中图分类号: S811.6 文献标识码: A 文章编号: 0001-6209 (2011) 12-1632-07

断奶仔猪腹泻是仔猪在断奶期间由多种因素引起的腹泻症状的总称,给仔猪的饲养管理、生长发育以及饲料转化率等带来很大的影响,目前已经成为世界性的研究课题。仔猪在幼龄断奶期间,由于其生理结构特点、肠道菌群、肠黏膜形态结构和功能易发生改变,同时受到应激因素、环境病原体、环境改变、理化因素等的影响,常常出现腹泻,并且造成菌群失调。一些研究表明,仔猪在发生腹泻时,消化道内的固有菌群优势地位会发生改变:如大肠杆菌由正常时的第六位上跃为第一位,乳酸杆菌、双歧杆菌和拟杆菌显著降低,而肠球菌、葡萄球菌、沙门氏菌、

酵母菌、需氧芽胞杆菌、真杆菌、消化球菌和小梭菌均无显著差异^[1-2]。这些研究主要是基于培养手段,然而,消化道中的大多数微生物是不可培养的,因此,基于免培养的分子技术可以为我们提供更多腹泻仔猪菌群变化的信息^[3]。

本研究通过分析健康与腹泻仔猪粪样中代谢产物,以及利用 DGGE 和 Real-time PCR 分子技术定性、定量比较健康与腹泻仔猪粪样中菌群差异,并且特别关注肠道主要丁酸产生菌群—梭菌 IV 群的差异,探讨腹泻对于仔猪肠道菌群的影响,为仔猪腹泻的防治及相关微生态制剂的应用提供科学依据,同

基金项目:国家自然科学基金青年科学基金资助项目(30901036)

* 通信作者。Tel: +86-25-84395523; E-mail: zhuweiyun@njau.edu.cn

作者简介:苏勇(1979-)男,江苏海安人,副教授,主要从事消化道微生物研究。E-mail: yong.su@njau.edu.cn

收稿日期:2011-08-02;修回日期:2011-09-11

时也为进一步探究丁酸产生菌群在维持动物健康方面的潜在作用提供理论借鉴。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂和仪器: 偏磷酸巴豆酸混合液、Taq 酶、dNTP (申能博彩)、SYBR Green Supermix (东洋纺); 气相色谱仪 (GC-14 型, 岛津)、PCR 仪 (Biometra)、DCode 系统、GS-800 灰度扫描仪 (Bio-Rad)、ABI 7500 Real-time PCR 仪 (Applied Biosystem)。

1.1.2 实验动物与样品采集: 采样动物为江苏宜兴某猪场杜 × 长 × 大保育仔猪 (断奶后两周左右, 21 日龄断奶), 收集腹泻仔猪粪样, 同时以同窝健康仔

猪粪样作为对照, 腹泻与健康仔猪样品收集数各 20 个, 样品 -20℃ 冷冻保存, 仔猪饲喂同类型饲料。

1.2 粪样中 VFA 的测定

参照龙黎明等(2008)的方法^[4], 采用毛细管气相色谱 (GC) 测定仔猪粪样中 VFA 浓度, 因为样品中的 VFA 主要由乙酸、丙酸、丁酸、异丁酸、戊酸和异戊酸组成, 因此, 以六者之和作为总挥发性脂肪酸 (TVFA) 浓度, 异丁酸和异戊酸之和作为支链脂肪酸 (BCFA)。

1.3 粪样中总细菌 DNA 的提取

称取约 0.1 g 解冻后的粪样样品, 加到灭菌后的 eppendorf 管中, 后加入 1.5 mL 的 PBS 溶液 (pH = 7) 涡旋混合, 12000 × g 离心 5 min, 除去上清, 参照 Zoetendal 等的方法^[5], 先用珠磨机机械破碎样品, 而后用酚和氯仿/异戊醇提取其总 DNA。

表 1 本研究所用引物序列

Table 1 List of primers used in this study

Target group	Primer	Sequence(5'→ 3')	Reference
Total bacteria	U968 - GC	CGCCCGGGGCGGCCCGGGCGGGCGGGGCACGGGGGAA CGCGAAGAACCTTAC	Nübel et al. (1996)
	L1401	CGGTGTGTACAAGACCC	Nübel et al. (1996)
	Bact1369F	CGGTGAATACGTTTCYCGG	Suzuki et al. 2000
	Bact 1492R	GGWTACCTTGTACGACTT	Suzuki et al. 2000
Lactobacillus	Lab0677	CACCGCTACACATGGAG	Heilig et al. (2002)
	LAC1	AGCAGTAGGAATCTTCCA	Walter et al. (2000)
E. coli	EcoliFimH2F	GCCGGTGGCGCTTTATTT G	Khafipour et al. 2009
	EcoliFimH2R	TCATCCCTGTTATAGTTGYGGTCT	Khafipour et al. 2009
Clostridium cluster IV	Clept - F	GCAGAAGCACTGGAGT	Matsuki et al. 2004
	Clept - R	CTTCTCCGTTTGTCAA	Matsuki et al. 2004
	CleptGC - R	CGCCCGCCGCGCGCGGGCGGGCGGGGCACGGGGGGC TTCCTCCGTTTGTCAA	Shen et al. 2006

1.4 肠道总细菌及梭菌 IV 菌群 16S rRNA 基因片段的扩增

本次实验所用引物见表 1, 以粪样中总细菌 DNA 作为模板, 分别利用带有 GC 夹子的细菌通用引物 U968-GC 和 L1401^[6] 和梭菌 IV 群特异性引物 Clept-F 和 CleptGC-R^[7] 对细菌和梭菌 IV 菌群的 16S rRNA 基因片段进行 PCR 扩增, PCR 产物经 1.2% (w/v) 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.5 DGGE 及图谱分析

参照 Muyzer 等的方法^[8], 对 PCR 扩增产物进行 DGGE 分析, DGGE 采用 8% 聚丙烯酰胺凝胶 (含丙酰胺、二丙酰胺、尿素、甲酰胺和甘油), 总细菌及梭菌 IV 菌群分析尿素浓度梯度均为 35% - 53%。

电泳采用 Dcode DGGE 系统: 首先在 200V 电压下电泳 10 min, 随后在 85 V 的固定电压下电泳 12 h。电泳结束后, 聚丙烯酰胺凝胶进行硝酸银染色, 凝胶显色定影后采用 GS-800 灰度扫描仪扫描。利用 Molecular Analyst1.12 软件对 DGGE 图谱进行相似性分析和多样性分析。

1.6 Real-time PCR 定量分析

使用 ABI 7500 Real-time PCR 仪对粪样中总细菌、梭菌 IV 群、大肠杆菌和乳酸杆菌进行定量分析。PCR 总反应体系为 20 μL: 10.4 μL SYBR Green Supermix 0.4 μmol/L 的上、下游引物, 2 μL 样品 DNA 以及 6.8 μl 无菌水。分别以 *Faecalibacterium prausnitzii*、大肠杆菌和 *Lactobacillus sobrius* 的 16S

rRNA 基因作为模板制作相应定量的标准曲线。引物 Bact1369F 和 Bact1492R 用于测定粪样中总细菌 16S rRNA 基因的拷贝数^[9],PCR 反应程序为:95℃ 10 min,而后 95℃ 30 s,56℃ 1 min,40 个循环。引物 Clept-F 和 Clept-R 用于测定梭菌 IV 菌群 16S rRNA 基因拷贝数^[10]。PCR 反应条件为:94℃ 5 min,而后 94℃ 20 s,50℃ 20 s,72℃ 30 s,40 个循环。引物 EcoliFimH2F 和 EcoliFimH2R 用于测定粪样中大肠杆菌 16S rRNA 基因的拷贝数^[11],PCR 反应程序为:95℃ 10 min,而后 95℃ 30 s 及 60℃ 1 min 40 个循环。引物 Lab0677^[12]和 LAC1^[13]用于测定粪样中乳酸杆菌 16S rRNA 基因的拷贝数,PCR 反应程序为:95℃ 3 min,而后 95℃ 30 s,60℃ 下退火及延伸 1 min,40 个循环。

1.7 数据分析

试验取得的数据经 Excel 2003 初步统计处理后,采用 SPSS13.0 统计软件 *t* 检验对健康和腹泻仔猪间样品进行显著性分析。

2 结果和分析

2.1 粪样中挥发性脂肪酸的浓度变化

利用气相色谱对仔猪粪样中挥发性脂肪酸的浓度分析显示(图 1):粪样中 VFA 主要以乙酸、丙酸和丁酸为主,其中乙酸浓度最高,丙酸其次,丁酸最少。与健康仔猪相比,仔猪发生腹泻后,粪样中支链挥发酸浓度显著降低($p < 0.05$),而乙酸浓度有升高趋势,总 VFA、丙酸和丁酸浓度呈降低趋势,但差异均不显著($p > 0.05$)。

对主要挥发性脂肪酸的组成进一步分析发现(图 2):与健康仔猪相比,腹泻仔猪粪样中乙酸占总挥发酸的比例显著升高($p < 0.05$),而丙酸和支链挥发性脂肪酸占总挥发酸的比例则显著降低($p < 0.05$),丁酸占总挥发酸的比例也呈降低趋势。

2.2 仔猪粪样中细菌的 DGGE 分析

对健康与腹泻仔猪粪样细菌进行 DGGE 分析表明(图 3):不同仔猪个体间的 DGGE 图谱中存在很多共有条带,但未发现图谱上存在与仔猪健康或腹泻的特异条带。DGGE 图谱相似性分析显示(图 3):尽管 5 窝仔猪粪样菌群间存在较大的个体差异,腹泻后各窝仔猪间粪样菌群的相似性均呈现下降趋势,并且除第 5 窝腹泻仔猪外,其它各窝腹泻仔

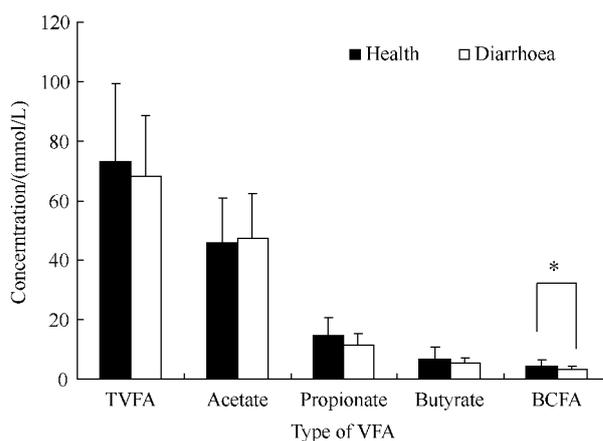


图 1 健康和腹泻仔猪粪样中 VFA 的含量

Fig.1 The concentrations of VFA in the fecal samples of healthy and diarrhoeal piglets. TVFA, total volatile fatty acid, BCFA, branched chain fatty acid. * , $p < 0.05$, the same as follows.

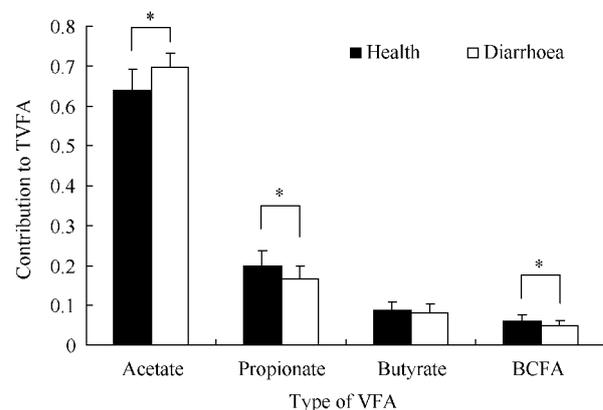


图 2 仔猪粪样中乙酸、丙酸、丁酸和支链脂肪酸占总 VFA 的比例

Fig.2 The contribution of acetate, propionate, butyrate and branched chain fatty acid to TVFA (total volatile fatty acid) in the fecal samples of healthy and diarrhoeal piglets. BCFA, branched chain fatty acid.

猪样品归于同一簇,其菌群间有较高的相似性,指数高于 85%。根据 DGGE 图谱计算多样性指数,结果显示健康和腹泻仔猪粪样菌群多样性指数分别是 1.33 和 1.38,没有显著差异。

2.3 仔猪粪样中总细菌、梭菌 IV 群、大肠杆菌和乳酸杆菌的 Real-time PCR 定量分析

对仔猪粪样中总细菌、梭菌 IV 群、大肠杆菌和乳酸杆菌的定量分析表明(表 2):与健康仔猪相比,腹泻仔猪粪样中总细菌和梭菌 IV 菌群的数量显著下降($p < 0.05$),而大肠杆菌和乳酸杆菌的数量没有显著的差异。

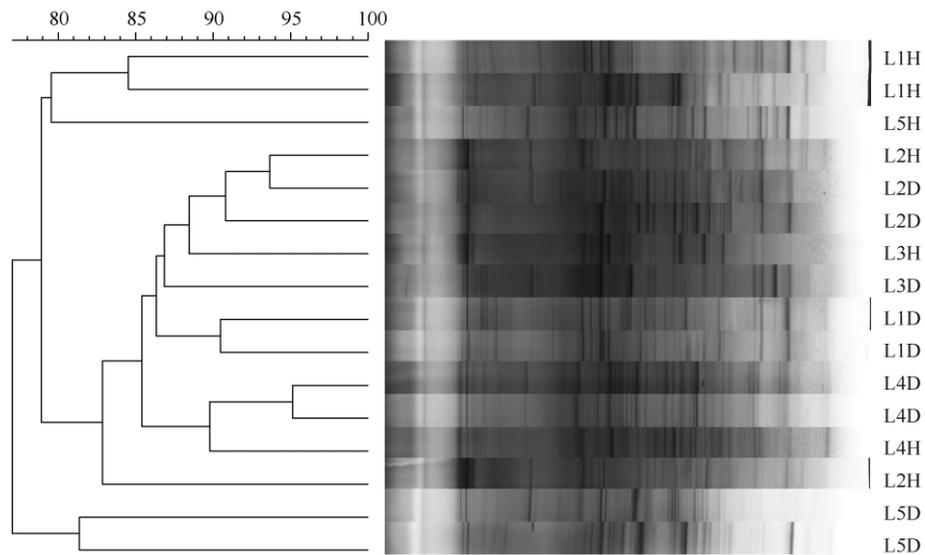


图3 健康与腹泻仔猪粪样总细菌菌群 DGGE 图谱相似性分析

Fig.3 Similarity analysis of DGGE profiles of bacterial community from the fecal samples of healthy (H) and diarrhoeal (D) piglets. L1-L5, the number of litters, the same as follows.

表2 健康与腹泻仔猪粪样中总细菌、梭菌IV群、大肠杆菌和乳酸杆菌 Real-time PCR 分析

Table 2 Quantitative real-time PCR analysis of total bacteria, Clostridium cluster IV, E. coli and Lactobacilli in the fecal samples of healthy and diarrhoeal piglets [Log₁₀ (16S rRNA gene copies/g wet weight)]

Species	Piglets		P value
	Health	Diarrhoea	
Total bacteria	10.21 ± 0.35	9.63 ± 0.82	0.038
Clostridium cluster IV	9.00 ± 0.33	8.00 ± 1.27	0.019
E. coli	7.75 ± 0.87	8.25 ± 0.99	0.237
Lactobacillus	9.01 ± 1.11	8.81 ± 1.56	0.783

2.4 仔猪粪样中梭菌IV菌群的 DGGE 分析

采用特异引物对健康与腹泻仔猪粪样梭菌IV菌群进行DGGE分析,由图4可见,不同仔猪粪样图谱中出现一些共有优势条带,但未发现DGGE图谱中出现健康或腹泻仔猪的特异条带。对DGGE图谱相似性分析显示(图4):和总细菌菌群类似,5窝仔猪粪样梭菌IV菌群间也存在较大的个体差异,并且腹泻后各窝仔猪间粪样梭菌IV菌群的相似性均呈现下降趋势。

3 讨论

一般认为,断奶仔猪发生腹泻并非病原菌的侵袭,主要原因是断奶后仔猪自身生理、营养、环

境等因素综合变化,使得肠道运动机能降低、黏膜损伤,肠壁通透性改变,同时养分吸收能力下降造成后肠发酵底物增多,最终导致腹泻的发生。本研究显示,腹泻仔猪粪样中VFA的变化主要表现为乙酸浓度及在总VFA比例的升高趋势,而丙酸、丁酸和支链挥发酸浓度和占总VFA比例的下降趋势。腹泻导致粪样中乙酸、丙酸和丁酸浓度的改变,可能原因是尽管乙酸在肠道VFA中的浓度最高,但仔猪肠道中也存在大量乙酸利用菌,当肠道菌群变化时,可能导致乙酸的利用受阻,乙酸的积累增多,而乙酸转变为丙酸和丁酸的量降低^[14]。支链挥发酸是肠道细菌降解支链氨基酸的产物,腹泻仔猪粪样中支链脂肪酸浓度的降低可能是因为仔猪摄入蛋白质质量的减少造成小肠未降解进入后肠的蛋白质质量的降低。

自Simpson等率先采用分子技术研究仔猪菌群以来^[15],仔猪断奶前、后的菌群变化已经得到系统研究,主要表现为肠道总菌数量降低,乳酸杆菌比例下降,潜在病原菌比例上升等^[16-17]。但是关于断奶后腹泻仔猪肠道菌群区系变化的系统研究并不多,基于培养手段的多数研究发现,仔猪腹泻后粪样中总细菌、乳酸杆菌的数量显著减少,而肠杆菌数量上升^[1-2]。本研究首先利用DGGE技术比较了腹泻与健康仔猪粪样菌群,相似性分析显示出两者菌群整体上的差异,这和姚文等的研究

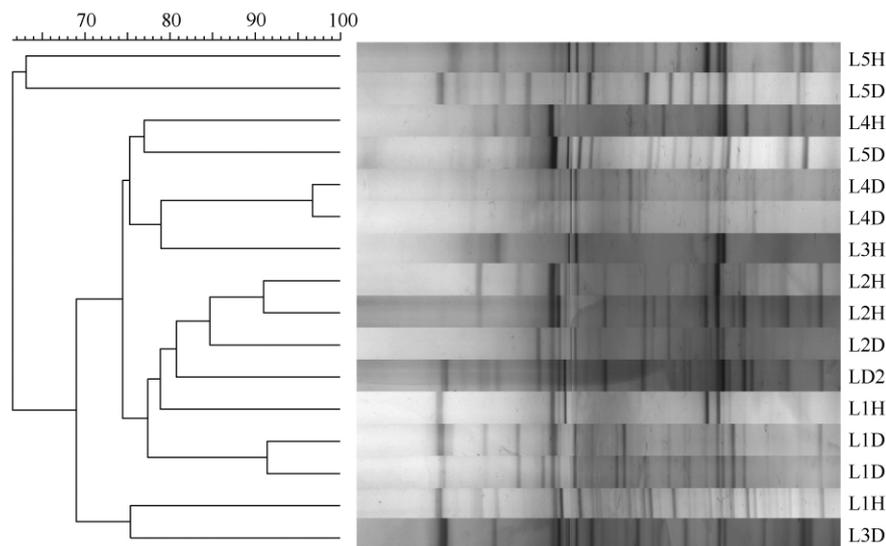


图4 正常与腹泻仔猪粪样梭菌IV菌群DGGE图谱相似性分析

Fig.4 Similarity analysis of DGGE profiles of *Clostridium* cluter IV bacterial community from fecal samples between healthy (H) piglet and diarrhoeal (D) piglet.

结果一致^[18]。但从菌群多样性指数看,腹泻与健康仔猪并没有显著差异,这和一些研究所报道的仔猪腹泻后肠道菌群多样性下降不一致^[18-19],其原因可能是不同研究中腹泻仔猪的日龄不同,并且腹泻的原因也不一致。本研究中,断奶后仔猪发生腹泻可能主要是肠壁通透性,大肠发酵底物等变化引起,这些因素均能影响菌群的变化。由此可见,肠道菌群并不是腹泻的直接原因,但是通过了解腹泻仔猪菌群的变化有助于我们通过对菌群调控来防治腹泻。

尽管本研究中DGGE分析并没有发现健康与腹泻仔猪之间梭菌IV菌群结构上的显著差异,但real-time PCR定量分析显示仔猪腹泻后该类菌群在粪样中的数量显著减少。研究表明,梭菌IV群是猪肠道中的优势菌,其中大多数菌株能够代谢产生丁酸,丁酸的产生除了产丁酸菌通过丙酮酸途径经过丁酰CoA生成途径外,利用肠道中微生物的代谢产物乙酸和乳酸生成也是丁酸产生的重要途径^[14-20]。因此,腹泻仔猪粪样中的梭菌IV菌群数量的降低与VFA中乙酸浓度及比例的升高,丙酸和丁酸浓度和比例的降低趋势相吻合。当前,梭菌IV群中的一些菌株成为益生菌研究的新方向,如*F. prausnitzii*在人的肠道健康上的作用正被广泛关注^[21],而在仔猪方面这些菌的开发及对仔猪腹泻的防治作用还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 赵桂英,段纲,杨亮宇,郑碧聪. 仔猪消化道菌群变化与仔猪腹泻的关系. 家畜生态(*Ecology of Domestic Animal*), 2004, 25: 44-47.
- [2] Gutzwiller A, Jost M. Piglet diarrhea and oedema disease, prevention is better. *Agrarforschung*, 1998, 5: 459-462.
- [3] 朱伟云,姚文,毛胜勇. 变性梯度凝胶电泳法研究断奶仔猪粪样细菌区系变化. 微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*) 2003, 43: 503-507.
- [4] 龙黎明,毛胜勇,苏勇,朱伟云. 一株瘤胃源乳酸利用菌的分离鉴定及其体外代谢特性. 微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*), 2008, 48: 1571-1577.
- [5] Zoetendal EG, Akkermans ADL, de Vos WM. Temperature gradient gel electrophoresis analysis from human fecal samples reveals stable and host specific communities of active bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 64: 3854-3859.
- [6] Nübel U, Engelen B, Felske A, Snaidr J, Wieshuber A, Amann RI. Sequence heterogeneities of genes encoding 16S rRNAs in *Paenibacillus polymyxa* detected by temperature gradient gel electrophoresis. *Journal of Bacteriology*, 1996, 178: 5636-5643.
- [7] Shen J, Zhang B, Wei G, Pang X, Wei H, Li M, Zhang Y, Jia W, Zhao LP. Molecular profiling of the *Clostridium leptum* subgroup in human fecal microflora by

- PCR-denaturing gradient gel electrophoresis and clone library analysis. *Applied and Environmental Microbiology*, 2006, 72: 5232-5238.
- [8] Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction amplified genes encoding for 16S rRNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 1993, 59: 695-700.
- [9] Suzuki MT, Taylor LT, DeLong EF. Quantitative analysis of small-subunit rRNA genes in mixed microbial populations via 5'-nuclease assays. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66: 4605-4614.
- [10] Matsuki T, Watanabe K, Fujimoto J, Takada T, Tanaka R. Use of 16S rRNA gene-targeted group-specific primers for real-time PCR analysis of predominant bacteria in human feces. *Applied and Environmental Microbiology*, 2004, 70: 7220-7228.
- [11] Khafipour E, Krause DO, Plaizier JC. A grain-based subacute ruminal acidosis challenge causes translocation of lipopolysaccharide and triggers inflammation. *Journal of Dairy Science*, 2008, 92: 1060-1070.
- [12] Heilig HG, Zoetendal EG, Vaughan EE, Marteau P, Akkermans ADL, de Vos WM. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Applied and Environmental Microbiology*, 2002, 68: 114-123.
- [13] Walter J, Tannock GW, Tilsala-Timisjarvi A, Rodtong S, Loach DM, Munro K. Detection and identification of gastrointestinal *Lactobacillus* species by using denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific PCR primers. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66: 297-303.
- [14] Duncan SH, Holtrop G, Lobley GE, Calder AG, Stewart CS, Flint HJ. Contribution of acetate to butyrate formation by human faecal bacteria. *British Journal of Nutrition*, 2004, 91: 915-923.
- [15] Simpson JM, McCracken VJ, White BA, Gaskins H. R, Mackie RI. Application of denaturant gradient gel electrophoresis for the analysis of the porcine gastrointestinal microbiota. *Journal of Microbiology Method*, 1999, 36: 167-179.
- [16] Su Y, Yao W, Perez, Smidt H, Zhu WY. Increased abundance of *Lactobacillus* spp. and *Streptococcus suis* in stomach, jejunum and ileum of piglets after weaning. *FEMS Microbiology Ecology*, 2008, 66: 546-555.
- [17] Su Y, Yao W, Perez O, Smidt H, Zhu WY. 16S ribosomal RNA-based methods to monitor changes in hindgut bacterial community of piglets after oral administration of *Lactobacillus sobrius* S1. *Anaerobe*, 2008, 14: 78-86.
- [18] 姚文,朱伟云,毛胜勇. 16S rDNA 技术跟踪分析新生腹泻仔猪粪样细菌区系的变化. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)*, 2006, 45: 150-154.
- [19] 苏勇,姚文,朱伟云. 益生菌 *Lactobacillus amylovorus* S1 对仔猪后肠菌群的影响. *微生物学报 (Acta Microbiologica Sinica)* 2006, 46: 961-966.
- [20] Barcenilla A, Pryde SE, Martin JC, Duncan SH, Stewart CS, Henderson C, Flint HJ. Phylogenetic relationships of butyrate-producing bacteria from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology*, 2000, 66: 1654-1661.
- [21] Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermudez-Humaran LG, Gratadoux JJ, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottiere HM, Dore J, Marteau P, Seksik P, Langella P. *Faecalibacterium prausnitzii* is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2008, 105: 16731-16736.

Comparison of concentration of volatile fatty acid and microbiota in faeces between healthy and diarrhoeal piglets

Yong Su , Fei Xie , Weiyun Zhu *

Laboratory of Gastrointestinal Microbiology , Nanjing Agricultural University , Nanjing 210095 , China

Abstract: [Objective] To compare volatile fatty acid (VFA) concentration and microbiota in faeces between healthy and diarrhoeal piglets. [Methods] Fecal samples from healthy and diarrhoeal piglets were collected. VFA concentration was determined by GC analysis. Total bacterial DNA was extracted and used for molecular analysis of microbiota. [Results] As compared to healthy piglets , the concentration of acetate in feces of diarrhoeal piglets tended to increase , while branched chain fatty acid (BCFA) decreased significantly ($p < 0.05$) , total VFA (TVFA) , propionate and butyrate tended to decrease. The ratio of acetate to TVFA in faeces of diarrhoeal piglets was significantly higher than that in healthy piglets ($p < 0.05$) , while the ratio of propionate and BFVA to TVFA decreased significantly after diarrhoea ($p < 0.05$) . DGGE analysis of total bacterial community and *Clostridium* cluster IV group showed no significant changes in both bacterial community were found in faeces of piglets after diarrhoea. Similarity analysis of DGGE profiles revealed that faecal samples of diarrhoeal piglets tended to gather in the same cluster. Real-time PCR results showed that as compared to healthy piglets , the 16S rRNA gene copies of total bacteria and *Clostridium* cluster IV decreased significantly in faeces of piglets after Diarrhea ($p < 0.05$) , while there was no significant change in the numbers of *E coli* and Lactobacilli. [Conclusion] VFA composition in faeces of diarrhoeal piglets changed accompanying with the shift of microbiota as compared to healthy piglets.

Keywords: Diarrhoeal piglets , volatile fatty acid , Denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) , *Clostridium* cluster IV
(本文编辑: 张晓丽)

Supported by the National Natural Science Foundation of China(30901036)

* Corresponding author. Tel: +86-25-84395523; E-mail: zhuweiyun@njau.edu.cn

Received: 2 August 2011 / Revised: 11 September 2011

1953 年创刊以来所有文章全文上网

从 2008 年 1 月开始 《微生物学报》的所有文章开始全文上网了。欢迎广大读者登陆本刊主页 (<http://journals.im.ac.cn/actamicrocn>) 浏览、查询、免费下载全文! 由于《微生物学报》历史久远, 为方便读者查阅, 将刊期变化作以下统计。

《微生物学报》刊、期统计表

2011 年 12 月统计

时间	刊期	卷号	期号
1953 - 1956	半年刊	1 - 4	1 - 2
1957 - 1958	季刊	5 - 6	1 - 4
1959	季刊	7	1 - 2
1959 - 1962	停刊 3 年		
1962	季刊	8	3 - 4
1963 - 1965	季刊	9 - 11	1 - 4
1966	季刊	12	1 - 2
1966 - 1972	停刊 6 年半		
1973 - 1988	季刊	13 - 28	1 - 4
1989 - 2007	双月刊	29 - 47	1 - 6
2008	月刊	48	1 - 12
2009	月刊	49	1 - 12
2010	月刊	50	1 - 12
2011	月刊	51	1 - 12