



# 基于 16S rDNA 和 ITS 测序技术研究酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道微生物的影响

王燕<sup>1,2</sup>, 陈志龙<sup>3</sup>, 施安<sup>2</sup>, 李丹<sup>1</sup>, 李博<sup>1</sup>, 侯鹏霞<sup>1,2\*</sup>, 张恩平<sup>1\*</sup>

1 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100

2 宁夏农林科学院动物科学研究所, 宁夏 银川 750000

3 宁夏农林科学院固原分院, 宁夏 固原 756000

王燕, 陈志龙, 施安, 李丹, 李博, 侯鹏霞, 张恩平. 基于 16S rDNA 和 ITS 测序技术研究酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道微生物的影响[J]. 微生物学报, 2024, 64(8): 2844-2860.

WANG Yan, CHEN Zhilong, SHI An, LI Dan, LI Bo, HOU Pengxia, ZHANG Enping. 16S rDNA and ITS sequencing reveals the effects of cell walls of *Saccharomyces cerevisiae* on intestinal microbiota in finishing bulls[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2024, 64(8): 2844-2860.

**摘要:**【目的】本研究旨在通过 16S rDNA 和 ITS 测序技术探究酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道微生物的影响。【方法】选择体重 550 kg 左右西门塔尔杂交育肥牛 40 头, 随机分为 4 组, 每组 10 头牛, 对照组饲喂基础饲料, 试验 1、2、3 组每日每头分别在基础饲料中添加酿酒酵母细胞壁 5、10、15 g。试验预试期 10 d, 正试期 94 d, 试验结束前 7 天于晨饲前采集肠道粪便。【结果】16S rDNA 分析结果显示: (1) 试验 3 组 Chao 指数和 ACE 指数显著高于其他组( $P < 0.05$ )。 (2) 门水平上, 厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidota*)是主要优势菌门; 属水平上, 普雷沃氏菌属\_9 (*Prevotella\_9*)、栖粪杆菌属(*Faecalibacterium*)、琥珀酸弧菌属(*Succinivibrio*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)和双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)是主要优势菌属。 (3) 经过线性判别分析效应大小(linear discriminant analysis effect size, LEfSe), 共检测到 1 个差异物种(LDA $\geq$ 4.0,  $P < 0.05$ )在试验 2 组发挥重要作用。 ITS 分析结果显示: (1) 各组间  $\alpha$ 、 $\beta$  多样性无显著差异( $P > 0.05$ )。 (2) 门水平上, 子囊菌门(*Ascomycota*)占比 50.00%以上, 是主要优势菌门; 青霉属(*Penicillium*)、unidentified *Ascomycota* sp.、曲霉属(*Aspergillus*)、*Orpinomyces* 和散囊菌属(*Eurotium*)为主要优势菌属。 (3) 经过 LEfSe 分析, 共检测到 8 个差异物种(LDA $\geq$ 3.0,  $P < 0.05$ ), 分别有 3、3、2 个差

资助项目: 宁夏回族自治区农业科技自主创新项目(NGSB-2021-12-02); 陕西省农业关键核心技术攻关项目(2023NYGG005); 宁夏回族自治区优秀人才支持计划

This work was supported by the Agricultural Science and Technology Independent Innovation Project of Ningxia Hui Autonomous Region (NGSB-2021-12-02), the Key Agricultural Core Technology Project of Shaanxi Province (2023NYGG005), and the Excellent Talent Support Program of Ningxia Hui Autonomous Region.

\*Corresponding authors. E-mail: ZHANG Enping, zhanganping@nwfufu.edu.cn; HOU Pengxia, houpengxia@163.com

Received: 2024-01-18; Accepted: 2024-04-08; Published online: 2024-04-12

异物种在对照组、试验 2 组和试验 3 组发挥重要作用。【结论】本研究条件下, 饲料添加 10–15 g/d 酿酒酵母细胞壁提高了育肥牛肠道细菌群落的丰富度, 显著增加了有益菌属 *Prevotella\_9*、弯颈霉属 (*Tolypocladium*) 和 *Torulaspora* 的相对丰度, 有利于优化肠道微生态环境。

关键词: 酿酒酵母细胞壁; 育肥牛; 菌群结构; 16S rDNA; ITS

## 16S rDNA and ITS sequencing reveals the effects of cell walls of *Saccharomyces cerevisiae* on intestinal microbiota in finishing bulls

WANG Yan<sup>1,2</sup>, CHEN Zhilong<sup>3</sup>, SHI An<sup>2</sup>, LI Dan<sup>1</sup>, LI Bo<sup>1</sup>, HOU Pengxia<sup>1,2\*</sup>, ZHANG Enping<sup>1\*</sup>

1 College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi, China

2 Institute of Animal Science, NingXia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Yinchuan 750000, Ningxia, China

3 Guyuan Branch of NingXia Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Guyuan 756000, Ningxia, China

**Abstract: [Objective]** To explore the effects of cell walls of *Saccharomyces cerevisiae* on the intestinal microbiota in finishing bulls by 16S rDNA and ITS sequencing. **[Methods]** A total of 40 simmental crossbred finishing bulls weighing about 550 kg were randomized into 4 groups, with 10 bulls in each group. The control group was fed with a basic diet, and 5, 10, and 15 g cell walls of *S. cerevisiae* were added to the diet of each bull per day in trial 1, 2, and 3 groups, respectively. The preliminary trial and trial lasted for 10 days and 94 days, respectively. Intestinal feces were collected 7 days before the end of the trial. **[Results]** 16S rDNA: (1) The Chao and ACE indices in the trial 3 group were higher than those in other groups ( $P < 0.05$ ); (2) *Firmicutes* and *Bacteroidota* were the dominant phyla, and *Prevotella\_9*, *Faecalibacterium*, *Succinivibrio*, *Bacteroides*, and *Bifidobacterium* were the dominant genera; (3) The linear discriminant analysis effect size (LEfSe) revealed one differential species ( $LDA \geq 4.0$ ,  $P < 0.05$ ) playing an important role in the trial 2 group. ITS: (1) There was no significant difference in the alpha or beta diversity among groups ( $P > 0.05$ ); (2) *Ascomycota* with the relative abundance above 50.00% was the dominant phylum. *Penicillium*, unidentified *Ascomycota* sp., *Aspergillus*, *Orpinomyces*, and *Eurotium* were the dominant genera; (3) LEfSe revealed 8 differential species ( $LDA \geq 3.0$ ,  $P < 0.05$ ), which included 3, 3, and 2 differential species playing an important role in the control, trial 2, and trial 3 groups, respectively. **[Conclusion]** Under conditions of this study, adding 10–15 g/d cell walls of *S. cerevisiae* in the basic diet increased the richness of intestinal microbiota and the relative abundance of beneficial bacteria *Prevotella\_9*, *Tolypocladium*, and *Torulaspora*, which were conducive to improve intestinal microecological environment of finishing bulls.

**Keywords:** cell walls of *Saccharomyces cerevisiae*; finishing bulls; microbiota structure; 16S rDNA; ITS

肠道是重要的微生物消化场所<sup>[1]</sup>,是反刍动物体内仅次于瘤胃的发酵器官<sup>[2]</sup>。肠道菌群又称宿主的“外在器官”<sup>[3]</sup>,在宿主营养代谢、能量平衡、免疫调节、疾病预防、肠道发育等方面均发挥重要作用<sup>[4-11]</sup>,其能分泌乙酸、丙酸、丁酸等短链脂肪酸(short chain fatty acids, SCFAs)给肠道细胞提供营养<sup>[12]</sup>;保持和促进肠道上皮屏障的结构完整性,限制致病菌的生长和定殖<sup>[13]</sup>。粪便菌群与肠道菌群组成、相对丰度和功能相似,可一定程度反映肠道菌群变化<sup>[14]</sup>。王丽华<sup>[15]</sup>通过直肠取粪法采集粪便测定添加 25-羟基维生素 D<sub>3</sub> 对犊牛肠道微生物的影响;韩笑瑛<sup>[16]</sup>采集直肠粪便测定日粮精料水平对奶山羊粪便菌群结构的影响;金宇航<sup>[17]</sup>采集直肠内容物测定不同锌源对犊牛直肠微生物群落结构和多样性的影响。因此,可通过粪便研究反刍动物肠道菌群。

酿酒酵母细胞壁是从酿酒酵母中提取的功能性复合多糖(主要有效成分:甘露聚糖和  $\beta$ -葡聚糖<sup>[18]</sup>),通过影响微生物在肠道的黏附、定殖<sup>[19]</sup>及其代谢产物<sup>[20]</sup>来调节菌群结构。酿酒酵母细胞壁主要成分之一的甘露聚糖可通过竞争性吸附作用,阻碍肠道内有害菌(大肠杆菌、沙门氏菌)繁殖,促进肠道内有益菌(乳酸杆菌、双歧杆菌)生长和定殖<sup>[21]</sup>。因此,酿酒酵母细胞壁对肠道菌群的影响备受关注。饲料添加啤酒酵母壁多糖<sup>[22]</sup>、 $\beta$ -1,3-葡聚糖<sup>[23]</sup>、酵母多糖<sup>[24]</sup>等多糖可显著降低鸡、断奶仔猪等单胃动物肠道致病菌(沙门氏菌、大肠杆菌、梭状芽孢杆菌)相对丰度,显著提高有益菌(双歧杆菌、乳酸杆菌、瘤胃杆菌属、毛螺菌)数量。Heinrichs 等<sup>[25]</sup>研究表明,甘露寡糖可优化牛胃肠道微生态环境,促进双歧杆菌等有益菌增殖,抑制大

肠杆菌等致病菌;张洪伟等<sup>[26]</sup>研究表明,饲料添加不同剂量酵母培养物(0.1%、0.2%、0.3%)均可显著提高肉牛粪便中乳酸菌和双歧杆菌比例,显著降低大肠杆菌比例;周怿<sup>[27]</sup>研究表明,饲料添加 75 mg/kg 酵母  $\beta$ -葡聚糖显著抑制犊牛直肠内容物中大肠杆菌生长,显著促进乳酸杆菌生长。此外,本团队前期研究发现酿酒酵母细胞壁可显著提高育肥牛平均日增重,降低料重比,提高经济效益<sup>[28]</sup>,提高肌肉脂肪含量<sup>[29]</sup>。基于前期研究和酿酒酵母细胞壁在经过瘤胃后仍具有生物活性<sup>[30]</sup>的特点。本研究利用 16S rDNA 和内转录间隔区(internal transcribed spacer, ITS)测序技术分析酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道微生物的影响,探究酿酒酵母细胞壁调控育肥牛肠道菌群促进肉牛生长的机制,为酿酒酵母细胞壁的高效利用及育肥牛的营养调控提供理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验设计

选择体重 550 kg 左右西门塔尔杂交育肥牛 40 头,随机分为 4 组,每组 10 头牛。对照组饲喂基础饲料,试验 1、2、3 组每日每头在基础饲料中分别添加 5、10 和 15 g 酿酒酵母细胞壁(Phileo by Lesaffre 公司,主要成分及含量:甘露聚糖 $\geq$ 20%, $\beta$ -葡聚糖 $\geq$ 20%)。预试期 10 d,正试期 94 d。试验牛分圈饲养,按试验设计饲喂对应全混合日粮(total mixed ration, TMR)饲料,每日 2 次(08:00 和 16:00),自由饮水。试验饲料根据国家农产品质量安全监督检验中心饲料标准(national research council, NRC) (2016) 结合养殖场生产实际配制,基础饲料组成及营养水平见表 1。

表 1 基础饲料组成及营养水平(干物质基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of basal diets (dry matter basis)

原料 Ingredients	含量 Content (%)	
	试验前期 50 d Pre-test period 50 d	试验后期 44 d Post-test period 44 d
玉米 Corn	32.77	38.47
豆粕 Soybean meal	7.25	3.85
棉籽粕 Cottonseed meal	5.26	5.58
菜籽粕 Rapeseed meal	1.79	4.94
麦麸 Wheat bran	2.85	1.51
预混料 Premix <sup>1)</sup>	2.97	2.80
碳酸氢钠 NaHCO <sub>3</sub>	1.19	1.12
食盐 NaCl	0.59	0.56
全株青贮玉米 Maize silage	37.84	34.36
小麦秸 Wheat straw	7.50	6.81
合计 Total	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>		
维持净能 NEm (mcal/kg)	1.68	1.71
增重净能 Neg (mcal/kg)	1.08	1.11
粗蛋白质 CP	13.35	13.14
钙 Ca	0.72	0.74
磷 P	0.35	0.36

<sup>1)</sup> The premix provided the following per kg of diets: VA 100 KIU, VD<sub>3</sub> 55 KIU, VE 400 IU, Mn 360 mg, Zn 580 mg, Fe 760 mg, Cu 200 mg, NaCl 10%–30%. <sup>2)</sup> Net energy of maintenance and weight gain were calculated value according to NRC (2016), while the others were measured values.

## 1.2 粪样采集

饲养试验结束前 7 天, 晨饲前, 每组各随机挑选试验牛 5 头采集肠道粪便 5 g 左右(直肠采粪法), 分装入 2 mL 冻存管, 立即投入液氮, 带回实验室-80 °C 保存, 用于肠道微生物 16S rDNA 和 ITS 扩增子测序。

## 1.3 高通量测序

利用 Illumina NovaSeq 测序平台对 17 个粪便样本(对照组、试验 1 组、试验 3 组各 1 个样品质检不合格, 剔除)微生物区系 DNA 片段进行 16S rDNA 和 ITS1 扩增子测序。主要实验流程: (1) 基因组 DNA 提取与样品检测; (2) 目标片段 PCR 扩增, 16S V3–V4 引物对 F (5'-CCTAYGGGRBGCASCAG-3') 和 R (5'-GGACTA CNNGGTATCTAAT-3'); ITS1-5F 引物对 F (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') 和 R (5'-

GCTGCGTTCATCGATGC-3')。扩增条件: 98 °C 1 min; 98 °C 10 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30 次循环; 72 °C 5 min; (3) PCR 产物的混样和磁珠纯化回收; (4) 使用 NEBNext<sup>®</sup> Ultra<sup>™</sup> II FS DNA PCR-free Library Prep Kit (New England Biolabs) 进行文库构建; (5) 使用 NovaSeq 6000 进行 PE250 上机测序; (6) 生物信息学分析。以上检测由北京诺禾致源科技股份有限公司完成。

## 1.4 数据统计及分析

利用 Uparse 算法<sup>[31]</sup>对样本进行 effective tags 聚类(97.00%相似性), 将序列聚类成操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU), 选择出现频数最高序列作为 OTUs 代表性序列; 对 OTUs 序列进行物种注释(16S rDNA: Silva 138.1 数据库, Mothur 算法; ITS: Unite 数据

库, blast 算法)。使用 QIIME 软件(version 1.9.1) 计算  $\beta$  多样性指数; R 软件(version 2.15.3)绘制稀释曲线、等级聚类曲线和物种累积曲线; SPSS 软件(version 26.0)分析  $\alpha$  多样性指数。

## 2 结果与分析

### 2.1 16S rDNA 测序结果

#### 2.1.1 测序深度分析

如图 1A 所示, 随着测序深度增加, 各组稀释曲线均趋于平坦, 说明测序数据量渐进合

理, 已基本覆盖样品中细菌物种, 满足后续分析要求。如图 1B 所示, 等级聚类曲线显示试验 3 组物种丰富度和均匀度高于其他组。

#### 2.1.2 OTUs 数目分析

如图 2A、2B 所示, 在 97.00%相似度水平下, 对照组, 试验 1、2、3 组各有 OTUs 1 130、1 098、1 085、1 985 个; 特有 OTUs 分别为 62、101、46、890 个。4 组间共享 OTUs 675 条, 试验组间共享 OTUs 715 个, 说明添加酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道细菌群落相似度较高。

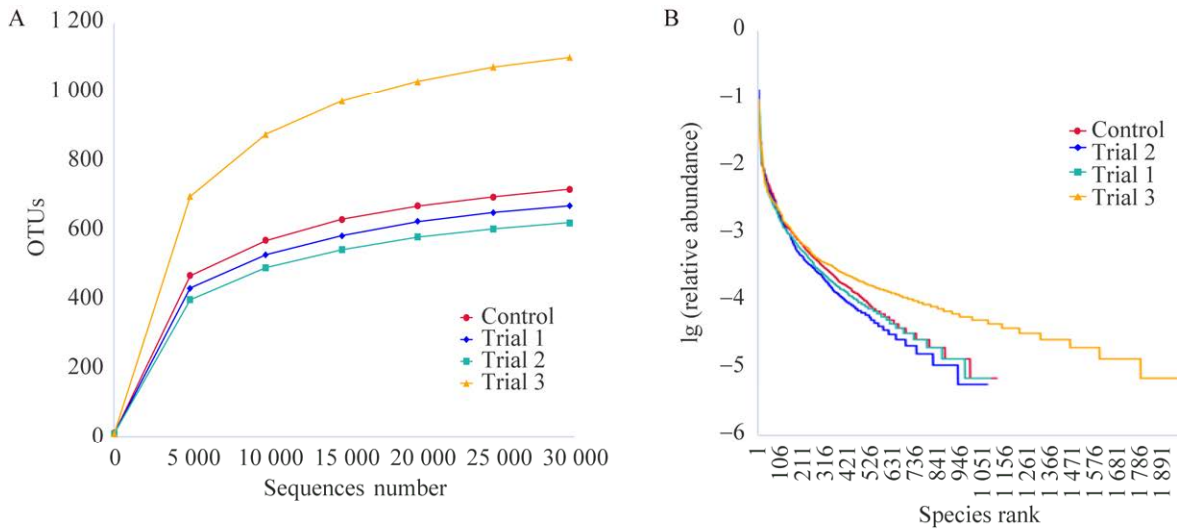


图 1 细菌的稀释曲线(A)和等级聚类曲线(B)

Figure 1 Dilution curves (A) and hierarchical clustering curves (B) of bacteria.

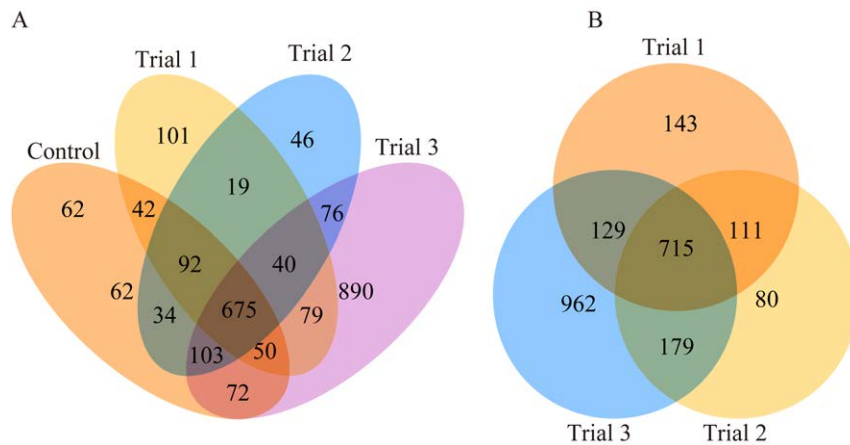


图 2 细菌的所有组(A)和试验组(B)韦恩图

Figure 2 Venn diagram for all groups (A) and Venn diagram for trial groups (B) of bacteria.

### 2.1.3 $\alpha$ 多样性分析

如表 2 所示, Shannon 指数和 Simpson 指数各组间无显著差异( $P>0.05$ ); Chao 指数和 ACE 指数试验 3 组显著高于其他组( $P<0.05$ ), 说明添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁显著提高了育肥牛肠道细菌群落丰富度。

### 2.1.4 $\beta$ 多样性分析

如图 3 所示, 基于 Unweighted-UniFrac 距离进行主坐标(principal co-ordinates analysis, PCoA)分析, PC1 和 PC2 对组间差异贡献值分

别为 32.76%和 12.69%。试验 3 组与其他组别明显区分无交叉, 说明试验 3 组细菌群落结构与其他组别存在一定差异。

### 2.1.5 门和属水平微生物组成分析

四组共检出 31 个菌门, 如图 4A 所示, 优势菌门 *Firmicutes* 和 *Bacteroidota* 相对丰度之和占 70.00%以上; 四组共检出 399 个菌属, 如图 4B 所示, 优势菌属主要是 *Prevotella\_9*、*Faecalibacterium*、*Succinivibrio*、*Bacteroides* 和 *Bifidobacterium* 等。

表 2 细菌  $\alpha$  多样性指数分析

Table 2 Alpha diversity index analysis of bacteria

项目 Items	对照组 Control	试验 1 组 Trial 1	试验 2 组 Trial 2	试验 3 组 Trial 3	P 值 P-value
Shannon 指数 Shannon index	6.50±0.13	5.79±0.49	5.91±0.23	6.50±0.23	0.232
Simpson 指数 Simpson index	0.97±0.00	0.93±0.02	0.95±0.01	0.95±0.01	0.370
Chao 指数 Chao index	775.00±10.86b	721.93±49.08b	669.90±24.72b	1 172.47±79.24a	<0.001
ACE 指数 ACE index	788.50±13.14b	731.16±47.67b	681.81±24.31b	1 177.06±72.48a	<0.001

同行数据不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ), 相同或无字母表示差异不显著( $P>0.05$ ). 下同

In same row, values with different small letters meant significant differences ( $P<0.05$ ), while with no letter or same letters meant no significant differences ( $P>0.05$ ). The same below.

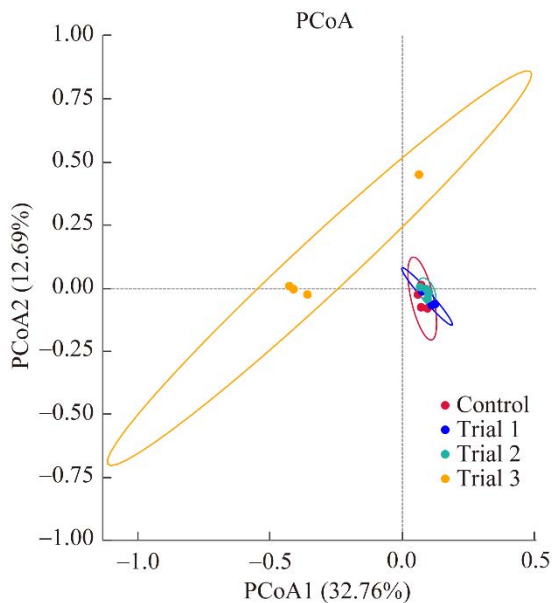


图 3 细菌基于 Unweighted-UniFrac 距离 PCoA 分析  
Figure 3 Analysis based on Unweighted-UniFrac distance of bacteria.

### 2.1.6 差异物种分析与标志物种

采用 LEfSe<sup>[32]</sup>分析探索组间差异微生物, 当 LDA 值 $\geq 4.0$  时, 认为该物种是生物标记物。如图 5A、5B 所示, 属水平上, 试验 2 组 *Prevotella\_9* 显著丰富(LDA $\geq 4.0$ ,  $P<0.05$ ), 可作为潜在生物标记物。

## 2.2 ITS 测序结果

### 2.2.1 测序深度分析

如图 6A 所示, 各组箱形图位置呈现逐渐上升的趋势, 随后逐渐趋于平稳, 说明样本中物种不再随样本量增加而显著增多, 抽样充分, 可进行后续数据分析。如图 6B 所示, 各组等级聚类曲线宽度和平滑度均较高, 说明各组样本物种丰富度和均匀度均较高且相似。

### 2.2.2 OTUs 数目分析

如图 7A、7B 所示, 在 97.00%相似度水平下得到每个样品的 OTUs 数目。对照组、试验 1、2、

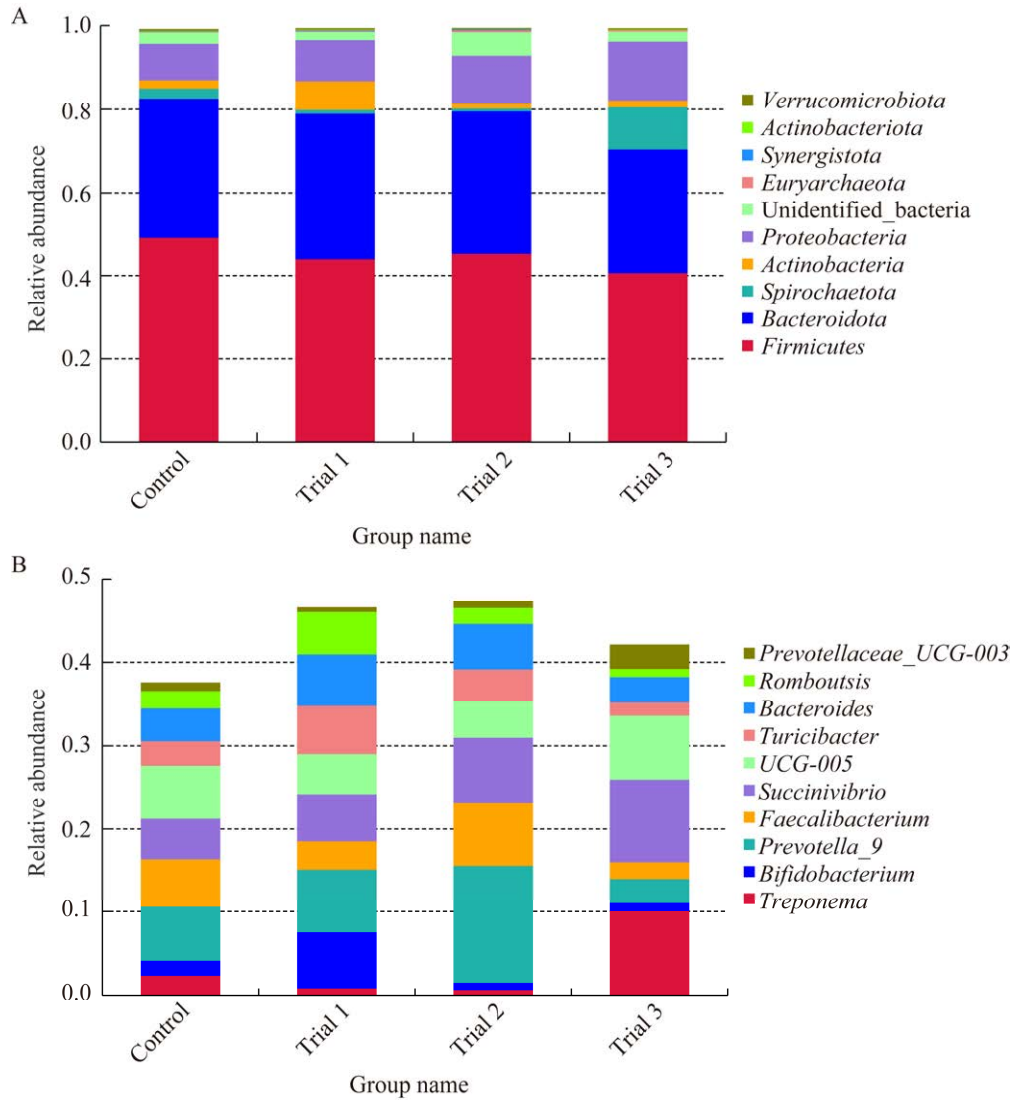


图 4 细菌门水平(A)和属水平(B)物种相对丰度柱状图  
 Figure 4 Bar chart of relative abundance of species at phylum (A) and genus (B) levels of bacteria.

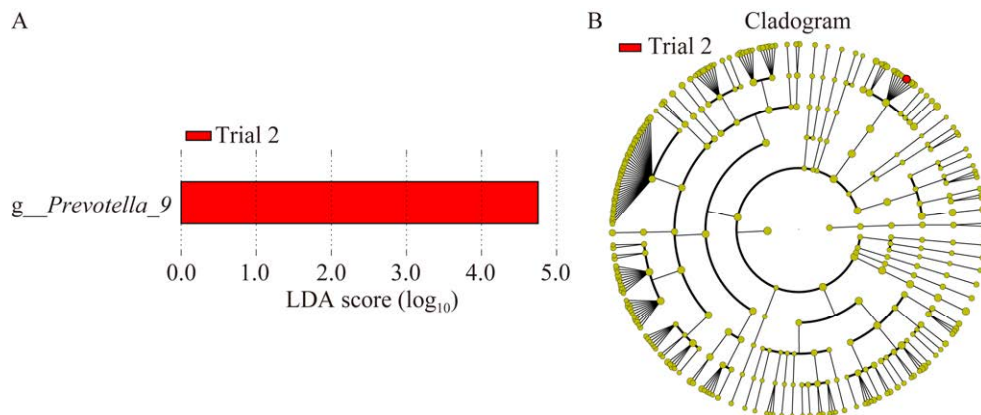


图 5 细菌 LDA 值分布柱状图(A)和进化分支图(B)  
 Figure 5 Histogram of LDA value distribution (A) and evolutionary branch diagram (B) of bacteria.

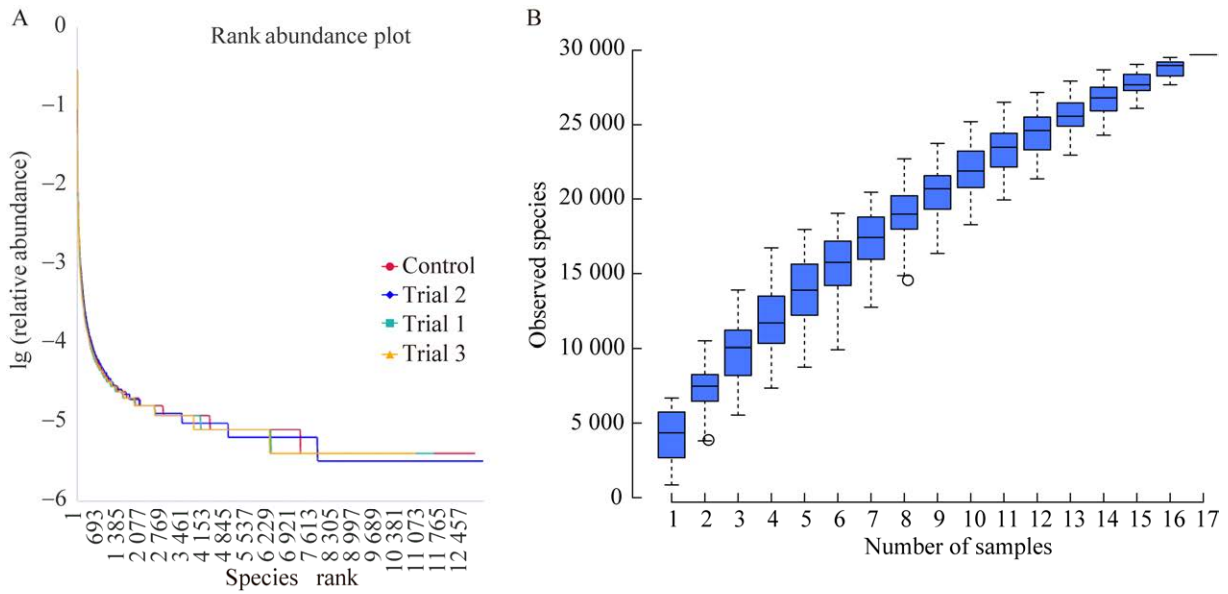


图 6 真菌等级聚类曲线(A)和物种累计箱形图(B)  
 Figure 6 Hierarchical clustering curves (A) and species cumulative box chart (B) of fungi.

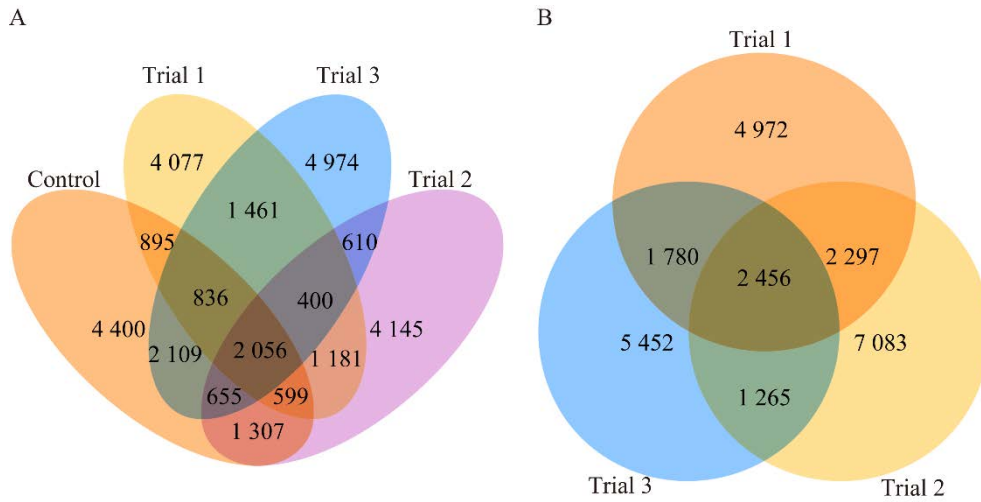


图 7 真菌的所有组(A)和试验组(B)韦恩图  
 Figure 7 Venn diagram for all groups (A) and Venn diagram for trial groups (B) of fungi.

3 组共获得 29 705 个 OTUs; 各组特有 OTUs 4 400、4 077、4 974、4 145 个; 共享 OTUs 2 056 个; 试验组共获得 25 305 个 OTUs, 共享 OTUs 2 456 个。试验组间共享 OTUs 比例(9.71%)高于 4 组间共享 OTUs 比例(6.92%)。

2.2.3  $\alpha$  多样性分析

如表 3 所示, 各组多样性指数 Shannon、Simpson 和丰富度指数 Chao、ACE 均无显著差

异( $P>0.05$ )。

2.2.4  $\beta$  多样性分析

如图 8 所示, 基于 Weighted-UniFrac 距离进行主坐标(PCoA)分析, PC1 和 PC2 对样本间变异贡献度分别为 38.75%和 18.23%, 能够充分解释样本间变异, 但对照组和试验组内样本没有聚集分布, 说明组间肠道真菌  $\beta$  多样性无显著差异。



表 3 真菌  $\alpha$  多样性分析

Table 3 Alpha diversity index analysis of fungi

项目 Items	对照组 Control	试验 1 组 Trial 1	试验 2 组 Trial 2	试验 3 组 Trial 3	P 值 P-value
Shannon 指数 Shannon index	6.21±0.70	5.88±0.56	6.21±0.60	5.41±0.93	0.839
Simpson 指数 Simpson index	0.88±0.03	0.88±0.02	0.89±0.03	0.84±0.04	0.688
Chao 指数 Chao index	6 869.83±1 700.04	7 421.90±1 523.75	6 281.12±755.55	5 748.69±1 831.79	0.866
ACE 指数 ACE index	7 523.60±1 791.34	7 442.85±1 082.96	6 934.56±752.42	6 233.09±1 968.32	0.917

### 2.2.5 门和属水平微生物组成分析

四组共检出 16 个菌门, 如图 9A 所示, *Ascomycota*、新毛孢菌门(*Neocallimastigomycota*)、担子菌门 (*Basidiomycota*) 和毛霉菌门 (*Mucoromycota*) 相对丰度大于 1.00%, 其中 *Ascomycota* 占比 50.00% 以上; 四组共检出 426 个菌属, 如图 9B 所示, 优势菌属主要有 *Penicillium*、*unidentified\_Ascomycota\_sp.*、*Aspergillus*、*Orpinomyces* 和 *Eurotium* 等。

### 2.2.6 物种差异分析与标志物种

利用 LEfSe 进行多级差异物种判别分析, 分析 LDA $\geq$ 3.0、 $P < 0.05$  具有显著作用的菌属。如图 10A、10B 所示, 对照组 *Eurotium* 显著丰

富; 试验 2 组 *Tolypocladium* 显著丰富; 试验 3 组 *Torulaspota* 显著丰富。

## 3 讨论与结论

### 3.1 酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道细菌群落结构的影响

本研究利用 16S rDNA 测序技术对育肥牛肠道细菌群落结构、组成和丰富度进行了全面分析。17 个样品的稀释曲线都趋于平缓, 说明所采集粪便样本能覆盖绝大多数微生物群落种类。肠道菌群多样性在机体营养、免疫调控、微生态平衡中发挥重要作用<sup>[33]</sup>。刘韶娜等研究报道高丰富度的微生物群落能使宿主更好地发挥肠道功能, 更高效地消化降解摄入的饲料<sup>[34]</sup>。本研究中, 添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道细菌群落丰富度显著提高。周悻<sup>[27]</sup>研究表明, 早期断奶犊牛日粮中添加 75 mg/kg 酵母  $\beta$ -葡聚糖显著增加直肠微生物区系的总体多样性, 与本研究结果相似, 这可能是由于酵母  $\beta$ -葡聚糖不仅可以抑菌杀菌, 还能促进肠道中有益微生物生长, 使得肠道微生物菌群达到一个新的平衡。贺琴等<sup>[35]</sup>研究表明, 饲料添加酵母壁多糖对断奶仔猪肠道菌群  $\alpha$  多样性无显著影响。这与本研究的结果不一致, 可能与试验动物、添加量及饲喂方式等不同有关。此外, 通过 PCoA 分析发现, 添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛样品与其他组别完全区分, 说明添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道细菌群落结构与其他组别差异显著。

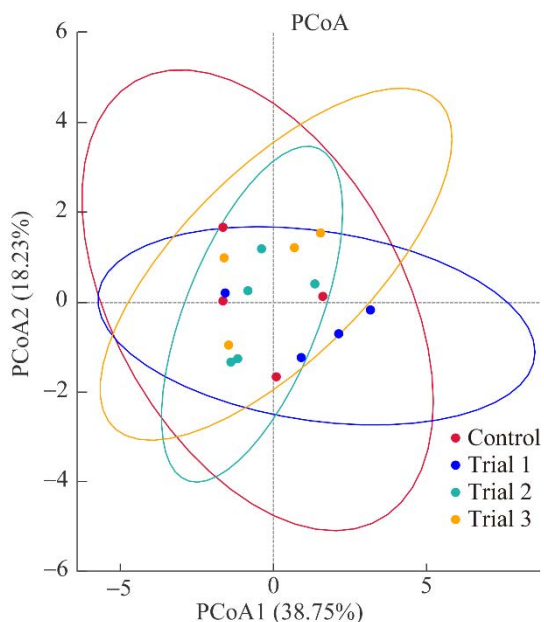


图 8 真菌基于 Weighted-UniFrac 距离 PCoA 分析  
Figure 8 Analysis based on Weighted-UniFrac distance PCoA of fungi.

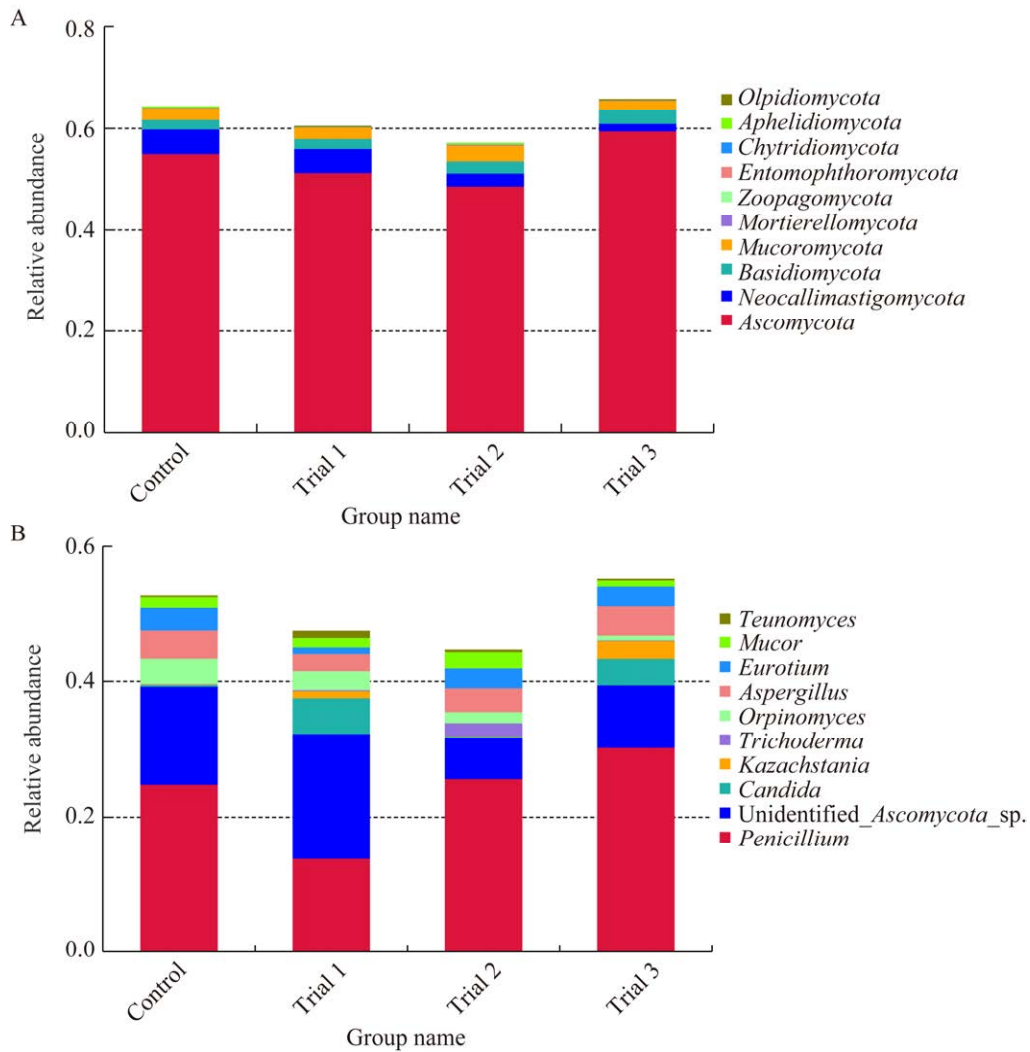


图 9 真菌门水平(A)和属水平(B)物种相对丰度柱状图

Figure 9 Bar chart of relative abundance of species at phylum (A) and genus (B) levels of fungi.

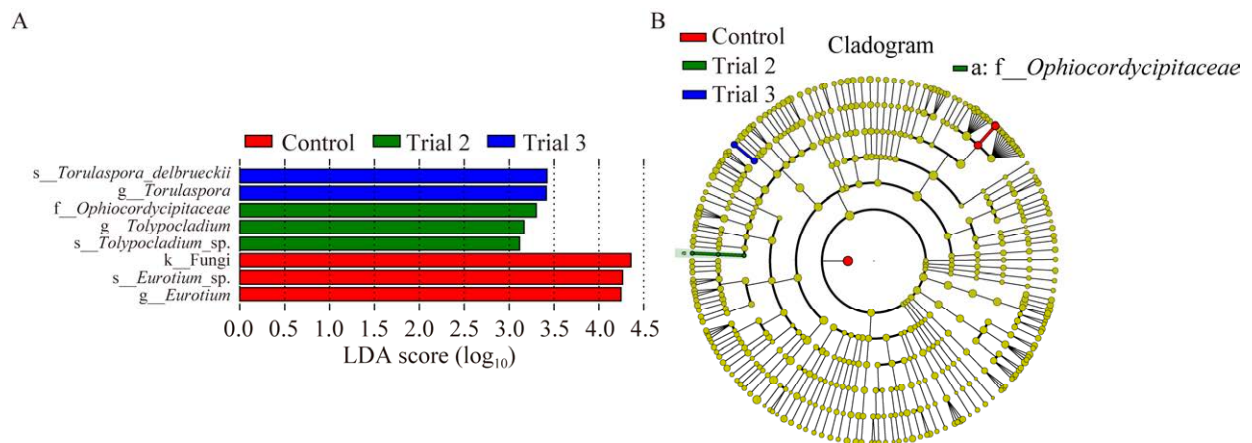


图 10 真菌 LDA 值分布柱状图(A)和进化分支图(B)

Figure 10 Histogram of LDA value distribution (A) and evolutionary branch diagram (B) of fungi.

本研究侧重分析细菌门和属水平结构组成。*Firmicutes* 许多成员是有益菌, 例如乳酸杆菌、粪杆菌等, 这些菌种中含有大量纤维分解菌属<sup>[36]</sup>, 降解纤维类物质产生 SCFAs, 参与胃肠道内营养物质发酵和能量物质代谢, 提高饲料利用率<sup>[37]</sup>; *Bacteroidota* 细菌基因组中富含大量碳水化合物活性酶基因<sup>[38]</sup>, 降解饲料中非纤维类碳水化合物, 例如分解利用多种膳食可溶性多糖, 代谢产物以乙酸盐和丙酸盐为主<sup>[39]</sup>。本研究结果显示, 门水平上, *Firmicutes* 和 *Bacteroidota* 是主要优势菌群(两者之和占比 70.00%以上), 与前人研究结果一致<sup>[40]</sup>。二者均参与宿主碳水化合物代谢、氨基酸代谢和 SCFAs 生成等生理过程, 在能量生成和肠道健康维持中发挥重要作用<sup>[41]</sup>。

属水平上, *Prevotella\_9*、*Faecalibacterium*、*Succinivibrio*、*Bacteroides* 和 *Bifidobacterium* 是主要的优势菌属。Mizrahi 等研究报道普雷沃氏菌属是高效降解半纤维素细菌<sup>[42]</sup>; *Bacteroides* 在维持肠道菌群平衡方面发挥重要作用<sup>[43]</sup>; *Faecalibacterium* 属于 *Firmicutes*, 是肠道中丁酸盐的生产者, 丁酸盐可增强肠道上皮屏障的完整性, 降低动物机体炎症反应<sup>[44]</sup>; *Succinivibrio* 能发酵多种糖类产生乙酸、琥珀酸及少量甲酸和乳酸; *Bifidobacterium* 具有调节和维护肠道微生态平衡的功能。刘孟健等<sup>[45]</sup>研究表明, 饲料添加 0.3%–0.5% 布拉氏酵母壁多糖显著提高了早期断奶羔羊盲肠中双歧杆菌和乳酸杆菌等益生菌数量, 显著降低了沙门氏菌和大肠杆菌数量, 与本研究结果不一致, 可能是因为幼龄羔羊菌群发育不完善, 酵母多糖能更好地发挥调节作用, 而育肥中后期的牛菌群结构已基本趋于稳定。

利用 LEfSe 分析组间特异性差异物种发现, 添加 10 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道

*Prevotella\_9* 显著丰富。普雷沃氏菌属肠型有利于纤维的消化降解, 促进机体吸收营养物质<sup>[46]</sup>, 有益于肠道健康<sup>[47]</sup>。普雷沃氏菌属是降解碳水化合物产生 SCFAs<sup>[48]</sup>和调节免疫关键菌群<sup>[49]</sup>。其中 *Prevotella\_9* 是产乙酸和乳酸的一种有益菌, 在发酵过程中有可能分泌  $\beta$ -葡萄糖苷酶和  $\beta$ -甘露糖苷酶降解葡甘露聚糖,  $\beta$ -葡聚糖可增加 *Prevotella\_9* 的相对丰度<sup>[50]</sup>, 与本研究结果一致; 此外, 艰难梭菌感染患者肠道中 *Prevotella\_9* 丰度显著降低<sup>[51]</sup>, 在多发性硬化症患者肠道中发现乳酸和乙酸含量与 *Prevotella\_9* 丰度呈正相关<sup>[52]</sup>。说明酿酒酵母细胞壁通过增加肠道有益菌属 *Prevotella\_9* 相对丰度提高育肥牛对碳水化合物的降解能力, 促进 SCFAs 产生, 抑制致病菌, 改善肠道健康, 进而有利于营养物质的吸收和利用, 促进育肥牛增重高达 2.02 kg/d<sup>[28]</sup>。

真菌与细菌通过互利共生、协同、拮抗等相互作用, 来支持和保护彼此的生长发育, 维持肠道黏膜屏障功能<sup>[53]</sup>, 直接参与宿主的食物消化、营养吸收、能量代谢、免疫应答等生理过程<sup>[54]</sup>。与细菌相比, 肠道内真菌数量和种类较少, 但在肠道微生态平衡的维持中发挥不可替代的作用。因此, 本研究进一步利用 ITS 测序方法分析育肥牛肠道真菌群落结构组成, 初步揭示酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道真菌群落结构的影响, 为更深入了解酿酒酵母细胞壁在育肥牛生长和肠道中的作用奠定基础。

### 3.2 酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道真菌群落结构的影响

真菌是摄食植物性饲料动物肠道首要定殖微生物, 能产生纤维素酶、木质素酶和半纤维素酶等多种降解植物细胞壁酶类, 粗纤维降解能力强, 对提高草食动物粗饲料利用率具有重要意义<sup>[55]</sup>。厌氧真菌仅占肠道微生物数量 7%–9%, 但其能从动物摄入的植物性饲料中释放出超过

50%的可发酵糖类物质<sup>[56]</sup>。本研究 17 个测序样本覆盖率均达到 99%以上, 说明测序结果代表了样本真菌群落的真实情况。添加 10 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道真菌总的、特有 OTUs 数目均最多, 说明酿酒酵母细胞壁会影响育肥牛肠道真菌数目, 并且在本研究条件下添加 10 g/d 相对其他添加水平最有益。 $\alpha$  和  $\beta$  多样性分析发现, 各组间真菌群落物种组成相似度较高, 说明酿酒酵母细胞壁对育肥牛肠道真菌组成和多样性方面无不良影响。罗世乾<sup>[57]</sup>研究表明, 酿酒活性干酵母细胞壁上的甘露聚糖对致病菌具有吸附能力, 可减少致病菌对肠上皮细胞的黏附。本研究中添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道真菌  $\alpha$  多样性指数均低于其他组, 可能是因为酿酒酵母细胞壁有效抑制了部分肠道致病菌(沙门氏菌、大肠杆菌等)。

一些研究报告, *Ascomycota*、*Neocallimastigomycota*、*Basidiomycota* 和 *Mucoromycota* 在牛<sup>[58]</sup>、绵阳<sup>[59]</sup>、山羊<sup>[60]</sup>等草食动物肠道中为优势菌门, 与本研究结果一致。*Ascomycota* 是真菌中最大的一类菌群<sup>[61]</sup>, 以腐生菌为主, 可降解纤维素和木质素<sup>[62]</sup>。马秀花等<sup>[63]</sup>研究表明, 在荞麦秸秆饲料中添加 1%和 3%甘露聚糖滩羊瘤胃 *Ascomycota* 相对丰度高于对照组。本研究中, 添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道中 *Ascomycota* 相对丰度最高, 间接说明酿酒酵母细胞壁有利于饲料中纤维的降解, 与上述结果类似。

进一步分析真菌属水平结构发现, 各组主要优势菌属为 *Penicillium*、*unidentified\_Ascomycota\_sp.*、*Aspergillus*、*Orpinomyces* 和 *Eurotium* 等。其中 *Penicillium* 是有益菌: (1) 能产生抗菌、抗肿瘤和抗病毒功能的活性次生代谢产物; (2) 分泌多种高活性的多糖、蛋白质、脂肪和木质素等

多聚物的水解酶类; (3) 降解多种单环和多环芳香类环境污染物<sup>[64]</sup>。*Aspergillus* 对致病菌有一定抑制作用<sup>[65]</sup>。*Orpinomyces* 可生物氢化植物饲料的主要脂肪酸亚麻酸<sup>[66]</sup>。目前研究较多的 *Eurotium* 是在茯砖茶发酵过程中的优势真菌, 其具有提高机体免疫力、调节肠道菌群等功能。衣喆等<sup>[67]</sup>研究表明, *Eurotium* 发酵液通过拮抗肠道病原微生物定殖及集群生长以调节小鼠肠道菌群。本研究中 *Aspergillus* 和 *Eurotium* 均为优势菌属, 这可能与饲养环境、饲料等因素有关。此外, 发现的优势菌属 *unidentified\_Ascomycota\_sp.* 暂未分类, 需进一步探究。

通过 LEfSe 分析组间特异性差异物种。本研究中, 添加 10 g/d 和 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道中 *Tolypocladium* 和 *Torulaspora* 分别显著丰富, 对照组 *Eurotium* 显著丰富。关于反刍动物源 *Eurotium* 相关研究较少, 尚不清楚其具体作用。*Tolypocladium* 能产生多种杀虫和抗菌的有效成分(如环孢菌素、大团囊素、线肽素、四聚胺酸素等)<sup>[68]</sup>。本研究中, 添加 15 g/d 酿酒酵母细胞壁育肥牛肠道中德尔布有孢圆酵母(*Torulaspora delbrueckii*)显著丰富。*Torulaspora* 属对志贺氏菌、白色念珠球菌、大肠杆菌、沙门氏菌、枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌具有稳定、优异的抑菌效果, 是一种广谱抑菌酵母菌<sup>[69]</sup>。董亚文<sup>[70]</sup>研究表明, 静脉注射给药灭活 *Torulaspora delbrueckii* 可提高单核-巨噬细胞吞噬功能, 提高正常小鼠非特异性免疫功能。综上, 添加 10 g/d 和 15 g/d 酿酒酵母细胞壁可提高育肥牛肠道有益真菌的相对丰度。

综上所述, 本研究条件下, 添加 10–15 g/d 酿酒酵母细胞壁提高了育肥牛肠道细菌群落的丰富度, 显著增加了有益菌属 *Provetella\_9*、*Tolypocladium* 和 *Torulaspora* 的相对丰度, 有利于优化肠道微生态环境。

## 参考文献

- [1] FAN PX, NELSON CD, DRIVER JD, ELZO MA, JEONG KC. Animal breed composition is associated with the hindgut microbiota structure and  $\beta$ -lactam resistance in the multibreed angus-brahman herd[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1846.
- [2] 孔祥浩, 贾志海, 郭金双. 反刍动物后肠道对碳水化合物的消化吸收研究进展[J]. *中国畜牧杂志*, 2005, 41(2): 36-38.  
KONG XH, JIA ZH, GUO JS. Advance in carbohydrate digestion and absorption in hindgut of ruminants[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2005, 41(2): 36-38 (in Chinese).
- [3] 蒙琦, 张述斌, 冯玲霞. 消化道微生物与动物机体关系(动物营养)研究进展[J]. *畜牧兽医杂志*, 2019, 38(1): 35-40.  
MENG Q, ZHANG SB, FENG LX. Research progress of relationship between digestive tract microorganism and animal body (animal nutrition direction)[J]. *Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2019, 38(1): 35-40 (in Chinese).
- [4] RUSSELL JB, RYCHLIK JL. Factors that alter rumen microbial ecology[J]. *Science*, 2001, 292(5519): 1119-1122.
- [5] 张丽鸿. 牦牛胃肠道细菌群落组成及乳酸杆菌益生特性研究[D]. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 2021.  
ZHANG LH. Characterization of gastrointestinal bacterial community and the probiotic properties of *Lactobacillus* in yaks[D]. Wuhan: Doctoral Dissertation of Huazhong Agricultural University, 2021 (in Chinese).
- [6] WU GD, CHEN J, HOFFMANN C, BITTINGER K, CHEN YY, KEILBAUGH SA, BEWTRA M, KNIGHTS D, WALTERS WA, KNIGHT R, SINHA R, GILROY E, GUPTA K, BALDASSANO R, NESSEL L, LI HZ, BUSHMAN FD, LEWIS JD. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. *Science*, 2011, 334(6052): 105-108.
- [7] GOYAL S, TSANG DK, MAISONNEUVE C, GIRARDIN SE. Sending signals: the microbiota's contribution to intestinal epithelial homeostasis[J]. *Microbes and Infection*, 2021, 23(6/7): 104774.
- [8] STEELMAN SM, CHOWDHARY BP, DOWD S, SUCHODOLSKI J, JANEČKA JE. Pyrosequencing of 16S rRNA genes in fecal samples reveals high diversity of hindgut microflora in horses and potential links to chronic laminitis[J]. *BMC Veterinary Research*, 2012, 8: 231.
- [9] YATSUNENKO T, REY FE, MANARY MJ, TREHAN I, DOMINGUEZ-BELLO MG, CONTRERAS M, MAGRIS M, HIDALGO G, BALDASSANO RN, ANOKHIN AP, HEATH AC, WARNER B, REEDER J, KUCZYNSKI J, CAPORASO JG, LOZUPONE CA, LAUBER C, CLEMENTE JC, KNIGHTS D, KNIGHT R, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486: 222-227.
- [10] LOOFT T, JOHNSON TA, ALLEN HK, BAYLES DO, ALT DP, STEDTFELD RD, SUL WJ, STEDTFELD TM, CHAI BL, COLE JR, HASHSHAM SA, TIEDJE JM, STANTON TB. In-feed antibiotic effects on the swine intestinal microbiome[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2012, 109(5): 1691-1696.
- [11] 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.
- [12] MA YH, DENG XT, YANG X, WANG JK, LI T, HUA GY, HAN DP, DA L, LI R, RONG WH, DENG XM. Characteristics of bacterial microbiota in different intestinal segments of Aohan fine-wool sheep[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2022, 13: 874536.
- [13] 董宁. 腹泻羔羊的肠道微生物检测分析及抗生素治疗的影响研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学硕士学位论文, 2022.  
DONG N. Detection and analysis of gut microbiome and the effect of antibiotic treatment on diarrhea lambs[D]. Yangling: Master's Thesis of Northwest A&F University, 2022 (in Chinese).
- [14] ZHAO WJ, WANG YP, LIU SY, HUANG JJ, ZHAI ZX, HE C, DING JM, WANG J, WANG HJ, FAN WB, ZHAO JG, MENG H. The dynamic distribution of porcine microbiota across different ages and gastrointestinal tract segments[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0117441.
- [15] 王丽华. 不同剂量 25-羟基维生素 D<sub>3</sub> 对断奶前期犊牛生长性能、血浆指标及肠道微生物的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学硕士学位论文, 2022.  
WANG LH. Effects of different doses of 25-hydroxyvitamin D<sub>3</sub> on growth performance, plasma indices and intestinal microflora of pre-weaning

- calves[D]. Harbin: Master's Thesis of Northeast Agricultural University, 2022 (in Chinese).
- [16] 韩笑琪. 日粮瘤胃可降解淀粉调控奶山羊肠道微生物的机制[D]. 杨凌: 西北农林科技大学博士学位论文, 2021.
- HAN XY. Effects of dietary rumen degradable starch on intestinal microbiota in dairy goats[D]. Yangling: Doctoral Dissertation of Northwest A&F University, 2021 (in Chinese).
- [17] 金宇航. 新生早期补充锌源对 4 周龄犊牛生长性能、血液指标及肠道微生物的影响[D]. 北京: 中国农业科学院硕士学位论文, 2021.
- JIN YH. Effects of neonatal supplementation with zinc sources on growth performance, blood index and intestinal microorganism of 4-week-old calves[D]. Beijing: Master's Thesis of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2021 (in Chinese).
- [18] 刘佳, 何书海, 朱忠珂, 王俊锋, 赵云焕. 酵母多糖对仔猪生长性能、免疫力、抗氧化及肠道健康的影响[J]. 饲料研究, 2021, 44(14): 38-41.
- LIU J, HE SH, ZHU ZK, WANG JF, ZHAO YH. Effect of zymosan on growth performance, immunity, antioxidant and intestinal health of piglets[J]. Feed Research, 2021, 44(14): 38-41 (in Chinese).
- [19] 黄婧溪, 夏超笃, 罗龙军, 冯定远, 叶慧, 曹庆云, 战晓燕, 左建军. 酵母细胞壁多糖对黄羽肉鸡生长性能、免疫及抗氧化能力的影响[J]. 饲料工业, 2018, 39(1): 27-31.
- HUANG JX, XIA CD, LUO LJ, FENG DY, YE H, CAO QY, ZHAN XY, ZUO JJ. Effects of yeast polysaccharides on growth performance, immune function and antioxidant capacity of yellow feather broilers[J]. Feed Industry, 2018, 39(1): 27-31 (in Chinese).
- [20] 刘孟健, 张文举, 姚峻, 牛俊丽. 酵母壁多糖的生物学功能及其对反刍动物的影响[J]. 饲料工业, 2020, 41(5): 17-22.
- LIU MJ, ZHANG WJ, YAO J, NIU JL. Biological function of yeast cell wall polysaccharide and its effect on ruminant[J]. Feed Industry, 2020, 41(5): 17-22 (in Chinese).
- [21] 王明武, 梁晓晓, 王全亮, 高天增. 酵母多糖对肉鸡的生长性能和屠宰性能的影响[J]. 现代牧业, 2020, 4(2): 34-36, 39.
- WANG MW, LIANG XX, WANG QL, GAO TZ. Effects of yeast polysaccharide on the growth and carcass traits in Ross 308 broiler[J]. Modern Animal Husbandry, 2020, 4(2): 34-36, 39 (in Chinese).
- [22] 阎桂玲, 袁建敏, 冯于明, 王忠, 刘丹. 啤酒酵母甘露寡糖对肉鸡肠道微生物及免疫机能的影响[J]. 中国农业大学学报, 2008, 13(6): 85-90.
- YAN GL, YUAN JM, GUO YM, WANG Z, LIU D. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* mannan oligosaccharides on intestinal microflora and immunity in broilers[J]. Journal of China Agricultural University, 2008, 13(6): 85-90 (in Chinese).
- [23] 陈庆菊, 刘金艳, 卢昌文, 马娅君, 唐志如. 饲料添加  $\beta$ -葡聚糖对断奶仔猪生长性能和肠道微生物区系的影响[J]. 动物营养学报, 2018, 30(11): 4712-4720.
- CHEN QJ, LIU JY, LU CW, MA YJ, TANG ZR. Effects of dietary  $\beta$ -glucan on growth performance and intestinal microflora of weaned piglets[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(11): 4712-4720 (in Chinese).
- [24] 贺琴. 酵母壁多糖对断奶仔猪生长性能、肠道微生物和机体免疫的影响[D]. 南昌: 江西农业大学硕士学位论文, 2017.
- HE Q. Effect of yeast cell wall polysaccharides on growth, performance, gut microbes and immune function of weaned piglets[D]. Nanchang: Master's Thesis of Jiangxi Agricultural University, 2017 (in Chinese).
- [25] HEINRICHS AJ, JONES CM, HEINRICHS BS. Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves[J]. Journal of Dairy Science, 2003, 86(12): 4064-4069.
- [26] 张洪伟, 周英昊, 张磊, 胡玉莹, 张召兴, 王亚男, 郭建军, 陈锋. 酵母培养物、枯草芽孢杆菌对育肥牛生产性能、生化指标、肠道菌群及经济效益的影响[J]. 饲料研究, 2022, 45(18): 10-13.
- ZHANG HW, ZHOU YH, ZHANG L, HU YY, ZHANG ZX, WANG YN, GUO JJ, CHEN F. Effects of yeast culture and *Bacillus subtilis* on production performance, biochemical indexes, intestinal flora and economic benefits of fattening cattle[J]. Feed Research, 2022, 45(18): 10-13 (in Chinese).
- [27] 周怿. 酵母  $\beta$ -葡聚糖对早期断奶犊牛生长性能及胃肠道发育的影响[D]. 北京: 中国农业科学院博士学位论文, 2010.
- ZHOU Y. Effects of dietary yeast  $\beta$ -glucan on growth performance and gastrointestinal development in pre-ruminant calves[D]. Beijing: Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2010 (in Chinese).
- [28] 王燕, 陈志龙, 施安, 李博, 孙文阳, 李丹, 梁小军, 侯鹏霞, 张恩平. 酵母多糖对育肥牛生长性能、血

- 清免疫和抗氧化指标以及代谢物的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(10): 6438-6451.
- WANG Y, CHEN ZL, SHI A, LI B, SUN WY, LI D, LIANG XJ, HOU PX, ZHANG EP. Effects of yeast polysaccharide on growth performance, serum immune and antioxidant indices and metabolites of finishing cattle[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(10): 6438-6451 (in Chinese).
- [29] 王燕, 侯鹏霞, 李丹, 李博, 施安, 陈志龙, 孙文阳, 黄晓瑜, 张恩平, 梁小军. 酵母多糖对育肥牛屠宰性能和肉质风味的影响[J]. 动物营养学报, 2023, 35(10): 6452-6461.
- WANG Y, HOU PX, LI D, LI B, SHI A, CHEN ZL, SUN WY, HUANG XY, ZHANG EP, LIANG XJ. Effects of yeast polysaccharide on slaughter performance and meat flavor of finishing cattle[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2023, 35(10): 6452-6461 (in Chinese).
- [30] 弓芑, 张蕾. 酵母多糖的生物学功能及其在动物养殖中的应用[J]. 饲料研究, 2021, 44(16): 128-131.
- GONG P, ZHANG L. The biological function of yeast polysaccharide and its application in animal breeding[J]. *Feed Research*, 2021, 44(16): 128-131 (in Chinese).
- [31] EDGAR RC. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. *Nature Methods*, 2013, 10: 996-998.
- [32] SEGATA N, IZARD J, WALDRON L, GEVERS D, MIROPOLSKY L, GARRETT WS, HUTTENHOWER C. Metagenomic biomarker discovery and explanation[J]. *Genome Biology*, 2011, 12(6): R60.
- [33] DICKS LMT, GELDENHUYS J, MIKKELSEN LS, BRANDSBORG E, MARCOTTE H. Our gut microbiota: a long walk to homeostasis[J]. *Beneficial Microbes*, 2018, 9(1): 3-20.
- [34] 刘韶娜, 郭飞, 张斌, 相德才, 赵智勇, 赵素梅, 赵彦光. 复合益生菌对超早期断奶杜藏乳仔猪肠道微生物群落结构的影响[J]. 南方农业学报, 2021, 52(3): 547-558.
- LIU SN, GUO F, ZHANG B, XIANG DC, ZHAO ZY, ZHAO SM, ZHAO YG. Effects of the probiotic combinations on intestinal microbiota in ultra-early weaned piglets of Duroc×Diqing Tibetan pig[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(3): 547-558 (in Chinese).
- [35] 贺琴, 王自蕊, 游金明, 陈丽玲, 卢亚飞, 李兰海. 基于 MiSeq 高通量测序方法研究酵母壁多糖对断奶仔猪盲肠菌群结构的影响[J]. 中国畜牧杂志, 2017, 53(9): 125-131.
- HE Q, WANG ZR, YOU JM, CHEN LL, LU YF, LI LH. Effect of yeast cell wall polysaccharides on cecum bacteria structure of weaned piglets by MiSeq sequencing technology[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2017, 53(9): 125-131 (in Chinese).
- [36] BRULC JM, ANTONOPOULOS DA, MILLER ME, WILSON MK, YANNARELL AC, DINSDALE EA, EDWARDS RE, FRANK ED, EMERSON JB, WACKLIN P, COUTINHO PM, HENRISSAT B, NELSON KE, WHITE BA. Gene-centric metagenomics of the fiber-adherent bovine rumen microbiome reveals forage specific glycoside hydrolases[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2009, 106(6): 1948-1953.
- [37] 孙美杰, 姜君, 徐诣轩, 李志鹏, 申军士, 朱伟云. 不同尿素添加水平对育肥湖羊瘤胃发酵及微生物菌群结构的影响[J]. 南京农业大学学报, 2022, 45(2): 323-332.
- SUN MJ, JIANG J, XU YX, LI ZP, SHEN JS, ZHU WY. Effects of incremental urea supplementation in diet on rumen fermentation and microbial communities in fattening Hu lambs[J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2022, 45(2): 323-332 (in Chinese).
- [38] THOMAS F, HEHEMANN JH, REBUFFET E, CZJZEK M, MICHEL G. Environmental and gut bacteroidetes: the food connection[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2011, 2: 93.
- [39] YUE YN, WANG JY, WU XY, ZHANG JF, CHEN ZB, KANG XJ, LV ZP. The fate of anaerobic syntrophy in anaerobic digestion facing propionate and acetate accumulation[J]. *Waste Management*, 2021, 124: 128-135.
- [40] LOPES DRG, La REAU AJ, DUARTE MS, DETMANN E, BENTO CBP, MERCADANTE MEZ, BONILHA SFM, SUEN G, MANTOVANI HC. The bacterial and fungal microbiota of Nelore steers is dynamic across the gastrointestinal tract and its fecal-associated microbiota is correlated to feed efficiency[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1263.
- [41] 张君胜, 徐盼, 倪黎纲, 陶勇. 芽孢杆菌制剂对苏姜猪弱仔猪生长性能及粪便菌群的影响[J]. 饲料研究, 2023, 46(1): 23-28.
- ZHANG JS, XU P, NI LG, TAO Y. Effect of *Bacillus* preparation on growth performance and fecal

- microflora of weak Sujiang piglets[J]. *Feed Research*, 2023, 46(1): 23-28 (in Chinese).
- [42] MIZRAHI I, WALLACE RJ, MORAIS S. The rumen microbiome: balancing food security and environmental impacts[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2021, 19: 553-566.
- [43] IIDA N, DZUTSEV A, STEWART CA, SMITH L, BOULADOUX N, WEINGARTEN RA, MOLINA DA, SALCEDO R, BACK T, CRAMER S, DAI RM, KIU H, CARDONE M, NAIK S, PATRI AK, WANG EN, MARINCOLA FM, FRANK KM, BELKAID Y, TRINCHIERI G, et al. Commensal bacteria control cancer response to therapy by modulating the tumor microenvironment[J]. *Science*, 2013, 342(6161): 967-970.
- [44] 周超, 唐含林, 徐鹏, 邱远, 孙力华, 杨桦. 丁酸盐在小鼠结肠炎损伤中的缓解作用及机制研究[J]. *免疫学杂志*, 2020, 36(1): 28-33.  
ZHOU C, TANG HL, XU P, QIU Y, SUN LH, YANG H. Therapeutic effects of butyrate on mouse colitis and its mechanism[J]. *Immunological Journal*, 2020, 36(1): 28-33 (in Chinese).
- [45] 刘孟健, 刘武军, 臧长江, 姚峻, 董玲, 张文举. 布拉氏酵母壁多糖发酵条件的优化及其对早期断奶羔羊盲肠中微生物的影响[J]. *饲料工业*, 2022, 43(9): 47-55.  
LIU MJ, LIU WJ, ZANG CJ, YAO J, DONG L, ZHANG WJ. Optimization of the fermentation conditions for *Saccharomyces boulardii* cell wall polysaccharides and its effect on microorganism in cecum of early weaned lambs[J]. *Feed Industry*, 2022, 43(9): 47-55 (in Chinese).
- [46] 王宏迪, 窦露, 王柏辉, 刘婷, 段艳, 孙立娜, 张琳璐, 乌兰花, 靳焯. 乳酸菌对苏尼特羊生长性能、肉品质及肠道微生物的影响[J]. *西南农业学报*, 2022, 35(12): 2887-2895.  
WANG HD, DOU L, WANG BH, LIU T, DUAN Y, SUN LN, ZHANG LL, WU LH, JIN Y. Effect of *Lactobacillus* on growth performance, meat quality and gut microbiota in Sunit sheep[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 35(12): 2887-2895 (in Chinese).
- [47] REN W, YAN HL, YU B, WALSH MC, YU J, ZHENG P, HUANG ZQ, LUO JQ, MAO XB, HE J, YAN H, CHEN DW, LUO YH. *Prevotella*-rich enterotype may benefit gut health in finishing pigs fed diet with a high amylose-to-amylopectin ratio[J]. *Animal Nutrition*, 2021, 7(2): 400-411.
- [48] KRAUSE DO, DENMAN SE, MACKIE RI, MORRISON M, RAE AL, ATTWOOD GT, McSWEENEY CS. Opportunities to improve fiber degradation in the rumen: microbiology, ecology, and genomics[J]. *FEMS Microbiology Reviews*, 2003, 27(5): 663-693.
- [49] YU M, LI ZM, CHEN WD, RONG T, WANG G, MA XY. Microbiome-metabolomics analysis investigating the impacts of dietary starch types on the composition and metabolism of colonic microbiota in finishing pigs[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 1143.
- [50] BAI Y, ZHOU XJ, LI N, ZHAO JB, YE H, ZHANG SY, YANG HJ, PI Y, TAO SY, HAN DD, ZHANG S, WANG JJ. *In vitro* fermentation characteristics and fiber-degrading enzyme kinetics of cellulose, arabinoxylan,  $\beta$ -glucan and glucomannan by pig fecal microbiota[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 1071.
- [51] WANG DS, DONG DF, WANG C, CUI YC, JIANG C, NI Q, SU TX, WANG GZ, MAO EQ, PENG YB. Risk factors and intestinal microbiota: *Clostridioides difficile* infection in patients receiving enteral nutrition at intensive care units[J]. *Critical Care*, 2020, 24(1): 426.
- [52] ZENG Q, GONG JL, LIU XY, CHEN C, SUN XB, LI HJ, ZHOU YF, CUI CP, WANG YG, YANG Y, WU AM, SHU YQ, HU XQ, LU ZQ, ZHENG SG, QIU W, LU YJ. Gut dysbiosis and lack of short chain fatty acids in a Chinese cohort of patients with multiple sclerosis[J]. *Neurochemistry International*, 2019, 129: 104468.
- [53] 华彦, 郎鹏飞, 王洪堂, 王姣, 曹和琴, 姜广顺. 基于高通量测序技术对野生和圈养华北豹肠道真菌多样性的分析[J]. *野生动物学报*, 2020, 41(1): 5-14.  
HUA Y, LANG PF, WANG HT, WANG J, CAO HQ, JIANG GS. Analysis of intestinal fungus diversity of wild and captive North-Chinese leopard (*Panthera pardus japonensis*) based on high-throughput sequencing[J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2020, 41(1): 5-14 (in Chinese).
- [54] LEY RE, PETERSON DA, GORDON JI. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [55] 冶文兴, 张洁, 李娜, 张力莉, 徐晓锋. 基于 ITS 高通量测序技术研究果寡糖对奶牛瘤胃真菌菌群的影响[J]. *云南农业大学学报(自然科学)*, 2019, 34(6): 965-970.  
YE WX, ZHANG J, LI N, ZHANG LL, XU XF. Effect of fructooligosaccharide on the rumen fungi flora of



- dairy cows by ITS high-throughput sequencing technology[J]. *Journal of Yunnan Agricultural University (Natural Science)*, 2019, 34(6): 965-970 (in Chinese).
- [56] SOLOMON KV, HAITJEMA CH, HENSKE JK, GILMORE SP, BORGES-RIVERA D, LIPZEN A, BREWER HM, PURVINE SO, WRIGHT AT, THEODOROU MK, GRIGORIEV IV, REGEV A, THOMPSON DA, O'MALLEY MA. Early-branching gut fungi possess a large, comprehensive array of biomass-degrading enzymes[J]. *Science*, 2016, 351(6278): 1192-1195.
- [57] 罗世乾. 活性干酵母无抗生素饲料对断奶仔猪生产性能/营养成分消化率/血清理化参数的影响[D]. 南宁: 广西大学硕士学位论文, 2015.
- LUO SQ. The effect of activity dry yeast diet without antibiotics on production performance, digestibility of nutrients and serum physicochemical parameters of weaned piglets[D]. Nanning: Master's Thesis of Guangxi University, 2015 (in Chinese).
- [58] RICHARDSON MJ. Diversity and occurrence of coprophilous fungi[J]. *Mycological Research*, 2001, 105(4): 387-402.
- [59] KITTELMANN S, NAYLOR GE, KOOLAARD JP, JANSSEN PH. A proposed taxonomy of anaerobic fungi (class *Neocallimastigomycetes*) suitable for large-scale sequence-based community structure analysis[J]. *PLoS One*, 2012, 7(5): e36866.
- [60] ELSHAFIE A. *Coprophilous* mycobiota of Oman[J]. *Mycotaxon*, 2005, 93: 355-357.
- [61] 戚如鑫. 稻草与白菜尾菜混贮品质、微生物区系和体外发酵性能的研究[D]. 扬州: 扬州大学硕士学位论文, 2020.
- QI RX. Study on the quality, microflora and *in vitro* fermentation performance of mixed silage of rice straw and Chinese cabbage waste[D]. Yangzhou: Master's Thesis of Yangzhou University, 2020 (in Chinese).
- [62] 马欣, 罗珠珠, 张耀全, 牛伊宁, 李玲玲, 蔡立群, 蔡雪梅, 刘家鹤. 黄土高原雨养区不同种植年限紫花苜蓿土壤真菌群落的分布特征[J]. *干旱地区农业研究*, 2021, 39(3): 162-170.
- MA X, LUO ZZ, ZHANG YQ, NIU YN, LI LL, CAI LQ, CAI XM, LIU JH. Distribution characteristics of soil fungal community in alfalfa field with different standing ages on the rain-fed Loess Plateau[J]. *Agricultural Research in the Arid Areas*, 2021, 39(3): 162-170 (in Chinese).
- [63] 马秀花, 温红瑞, 马步仓, 杨万宗, 周玉香. 甘露寡糖对饲喂荞麦秸秆饲料滩羊瘤胃真菌菌群的影响[J]. *动物营养学报*, 2022, 34(4): 2514-2523.
- MA XH, WEN HR, MA BC, YANG WZ, ZHOU YX. Effects of mannose-oligosaccharides on rumen fungal flora of Tan sheep fed buckwheat straw diet[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2022, 34(4): 2514-2523 (in Chinese).
- [64] 罗清, 彭程, 叶波平. 青霉属真菌研究新进展[J]. *药物生物技术*, 2016, 23(5): 452-456.
- LUO Q, PENG C, YE BP. New advances in research of the genus *Penicillium*[J]. *Pharmaceutical Biotechnology*, 2016, 23(5): 452-456 (in Chinese).
- [65] BAO ZH, MATSUSHITA Y, MORIMOTO S, HOSHINO YT, SUZUKI C, NAGAOKA K, TAKENAKA M, MURAKAMI H, KUROYANAGI Y, URASHIMA Y, SEKIGUCHI H, KUSHIDA A, TOYOTA K, SAITO M, TSUSHIMA S. Decrease in fungal biodiversity along an available phosphorous gradient in arable Andosol soils in Japan[J]. *Canadian Journal of Microbiology*, 2013, 59(6): 368-373.
- [66] NAM IS, GARNSWORTHY PC. Biohydrogenation of linoleic acid by rumen fungi compared with rumen bacteria[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 103(3): 551-556.
- [67] 衣喆, 刘婷, 陈然, 郝彬秀, 孟庆佳, 李颂, 董志忠, 王春玲. 金花黑茶对 BALB/c 小鼠通便和调节肠道菌群的作用[J]. *食品科技*, 2016, 41(6): 61-66.
- YI Z, LIU T, CHEN R, HAO BX, MENG QJ, LI S, DONG ZZ, WANG CL. Effect of *Eurotium cristatum* fermented dark tea on defecation and gut microbiota in BALB/c mice[J]. *Food Science and Technology*, 2016, 41(6): 61-66 (in Chinese).
- [68] 汪家春, 张阵阵, 李兆兰, 王玥. 线虫草科弯颈霉属研究进展[J]. *菌物研究*, 2020, 18(1): 54-62.
- WANG JC, ZHANG ZZ, LI ZL, WANG Y. Research progress of *Tolyposcladium* in *Ophiocordycipitaceae*[J]. *Journal of Fungal Research*, 2020, 18(1): 54-62 (in Chinese).
- [69] 孟利, 刘峰, 韩德权, 史玲玲, 李鹏飞. 一种广谱抑菌酵母菌: CN104152362B[P]. 2017-03-29.
- MENG L, LIU F, HAN DQ, SHI LL, LI PF. Broad-spectrum antibacterial *Saccharomycete*: CN104152362B[P]. 2017-03-29 (in Chinese).
- [70] 董亚文. 多种灭活益生菌静脉注射对小鼠免疫功能影响研究[D]. 泰安: 山东农业大学硕士学位论文, 2018.
- DONG YW. Effects of different inactive probiotic injections on immune functions in mice[D]. Tai'an: Master's Thesis of Shandong Agricultural University, 2018 (in Chinese).