

何金庆, 王欢, 杜陶然, 等. 日粮纤维水平对育肥期苏淮猪空肠黏膜微生物的影响 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (2): 22-31.

HE J Q, WANG H, DU T R, et al. Effects of increasing levels of defatted rice bran on jejunal mucosal bacterial composition in finishing pigs [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (2): 22-31.

日粮纤维水平对育肥期苏淮猪空肠黏膜微生物的影响

何金庆^{1,2}, 王欢^{1,2}, 杜陶然^{1,2}, 王文强², 吴承武², 蒲广^{1,2},
赵清波^{1,2}, 黄瑞华^{1,2*}, 李平华^{1,2*}

(1. 南京农业大学养猪研究所/农业农村部畜禽资源(猪)评价利用重点实验室(南京), 江苏南京 210095;

2. 南京农业大学淮安研究院, 江苏淮安 223005)

摘要: 旨在研究日粮添加脱脂米糠 (DFRB) 对育肥期苏淮猪空肠黏膜微生物区系的影响。选取 33 头体重 (62.90±0.78) kg 健康育肥期苏淮阉割公猪, 随机分为 5 组, 对照组饲喂基础日粮, 试验组分别用 7%、14%、21% 和 28% DFRB 替代等比例玉米的日粮, 每组 7 个重复 (除 7% DFRB 试验组 5 个重复), 试验猪于奥饲本猪性能测定系统中饲养, 预试期 10 d, 正试期 28 d, 之后所有试验猪进行屠宰并采集空肠黏膜样品。结果: 随着日粮中 DFRB 水平的增加, 属水平上益生菌和致病微生物的组成均发生了显著变化; 基于非加权距离算法 (unweighted UniFrac) 的主坐标分析 (PCoA) 显示 PC1 水平 7% DFRB 组和对照组明显分离 ($P<0.05$); 7% DFRB 组微生物丰度的丰富度指数 (Sobs)、修正丰富度指数 (Chao) 和覆盖估计值指数 (ACE) 均低于对照组 ($P<0.05$); 7% DFRB 组条件致病菌肠杆菌科志贺菌 (*Escherichia_Shigella*) 的相对丰度低于基础日粮组 ($P<0.05$), 与抗氧化相关的假单胞菌 (*Pseudomonas*) 和红球菌 (*Rhodococcus*) 的相对丰度显著高于其他组 ($P<0.05$)。结论: 用 7% DFRB 替代基础日粮, 有助于降低苏淮猪空肠中的潜在有害细菌, 减少氧化应激, 提升抗氧化微生物的数量, 从而增进肠道健康。

关键词: 脱脂米糠; 苏淮猪; 日粮纤维; 微生物

中图分类号: S826 文献标志码: A 文章编号: 0529-5130(2025)02-0022-10

Effects of increasing levels of defatted rice bran on jejunal mucosal bacterial composition in finishing pigs

HE Jinqing^{1,2}, WANG Huan^{1,2}, DU Taoran^{1,2}, WANG Wenqiang², WU Chengwu², PU Guang^{1,2},
ZHAO Qingbo^{1,2}, HUANG Ruihua^{1,2*}, LI Pinghua^{1,2*}

(1. Institute of Swine Science, Nanjing Agricultural University/Key Laboratory of Evaluation and Utilization of Live Stock and Poultry (PIG) Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs (Nanjing), Nanjing 210095, China;

2. Huai'an Academy, Nanjing Agricultural University, Huai'an 223005, China)

Abstract: This study sought to examine the influence of escalating defatted rice bran intake on the jejunal mucosal microbiota in pigs at the finishing stage. 33 healthy Suhuai castrated boars weighing (62.90±0.78) kg at the fattening stage were selected and randomly assigned into five groups, with seven replicates in each group, except one group with five replicates, using 7% DFRB feed. The tested pigs were reared in the Osborne pig performance measurement system. The control group consumed a regular diet, but the experimental groups were given diets where maize was progressively replaced by 7% to 28% DFRB in four separate stages. All the experimental pigs were raised in the Aosiben pig performance measurement system. At the end of the 28-day study phase, the experimental pigs were euthanized, and jejunal mucosa samples were collected from the pigs for the subsequent analysis of the bacterial community. As a result, the composition of both probiotic and pathogenic microorganisms at the genus level changed significantly with increasing levels of DFRB in the diet. The Principal Coordinate Analysis (PCoA) based on the unweighted UniFrac distance algorithm showed a significant distinction between the 7% DFRB group and the control group at the PC1 level ($P<0.05$). At the genus level, the microbial abundance (Sobs, ACE, Chao) of the 7% DFRB group was lower than

收稿日期: 2024-03-28; 修回日期: 2024-12-22

基金项目: 江苏省农业科技自主创新资金项目 [CX (20) 1003]; 江苏省农业重大新品种创制项目 (PZCZ201732); 江苏现代农业产业技术体系建设专项资金项目 (JATS [2023] 410, JATS [2023] 186)

第一作者: 何金庆, 男, 硕士研究生

* 通信作者: 黄瑞华, 教授, 研究方向为猪健康生产学与遗传育种, E-mail: rhuang@njau.edu.cn; 李平华, 研究员, 研究方向为猪健康生产学与遗传育种, E-mail: lipinghua718@njau.edu.cn。

that of the control group ($P < 0.05$). The 7% DFRB group exhibited a lower concentration of *Escherichia_Shigella*, which is pathogenic in nature, than the basal diet group ($P < 0.05$). The group with 7% DFRB supplementation exhibited a markedly higher level of *Pseudomonas* and *Rhodococcus*, which are linked to antioxidant properties, as compared with the other experimental groups ($P < 0.05$). The present results indicated that 7% DFRB was beneficial for pigs in reducing conditional pathogens in them, alleviating their jejunal oxidative stress, increasing their antioxidant-associated microbial abundance, and promoting their gut health.

Keywords: defatted rice bran; Suhuai pig; dietary fiber; microorganism

肠道菌群被认为是一种新的“功能器官”，它调节着宿主的多种生理功能^[1]，如消化^[2]、代谢^[3-4]、免疫^[5-6]等。肠道中的微生物群体对于机体的营养物质消化、肠道上皮的保护以及免疫系统的调控具有关键性的作用。

小肠，特别是空肠，是消化吸收的关键部位。空肠的屏障机制及其与微生物的相互作用有助于维持肠道健康。有研究表明，空肠免疫性能与肠道菌群之间存在密切关系，乳杆菌 (*Lactobacillus*) 可以增强猪空肠免疫，而寡养单胞菌 (*Stenotrophomonas*) 则会对猪肠道免疫产生负面影响^[1]。研究表明空肠微生物还与黏膜表型相关^[7]。在空肠中，肠杆菌 (*Enterobacteriaceae*) 与许多黏膜参数呈负相关，韦荣氏球菌 (*Veillonellaceae*) 则与隐窝深度和 Toll 样受体 3 (TLR3) 的 mRNA 表达呈负相关。此外，梭杆菌门 (*Fusobacteria phylum*) 与黏膜参数呈正相关，纤毛菌科 (*Leptotrichiaceae*) 的丰度与屏障功能和隐窝形态 (隐窝深度、隐窝中的杯状细胞密度) 呈正相关，而毛螺菌科 (*Lachnospiraceae*) 的丰度与隐窝深度呈正相关。空肠微生物还可以减轻炎症，改善生长性能^[8]；而一些病原性微生物如产肠毒素性大肠杆菌 (*Enterotoxigenic Escherichia coli*) 感染则会影响肠道菌群，引起猪腹泻^[1]。

空肠微生物也像远端肠道的微生物一样受饮食在内的多种因素影响，如日粮中的膳食纤维。研究发现，纤维处理对仔猪的生长性能和短链脂肪酸 (SC-FAs) 代谢有积极影响，与对照组相比，纤维处理组空肠微生物群的香农 (Shannon) 指数升高，在属水平上芽胞杆菌属 (*Bacillus*)、海洋杆菌属 (*Oceanobacillus*)、类芽胞杆菌属 (*Paenibacillus*)、乳球菌属 (*Lactococcus*)、肠球菌属 (*Enterococcus*) 和微小杆菌属 (*Exiguobacterium*) 的相对丰度升高，而支原体的相对丰度降低，且纤维处理组还降低了仔猪腹泻率^[9]。膳食纤维还可以通过促进有益微生物的生长和帮助抵御致病微生物来促进肠道健康状况^[10-12]。但是膳食纤维在不同肠段也会产生不同的作用，增加育肥猪空肠内容物中细菌网络的复杂性的同时也会降低盲肠内容物样品中细菌网络的复杂性^[13]。此外高纤维日粮还可以降低空肠丙二醛水平，降低氧化应激^[14]。我们

在前期的研究中也发现，空肠组织中已被证明是保护生物体免受氧化剂伤害的关键转录因子核因子- κ 红细 胞 2 相关因子 2 (Nrf2) 的表达与脱脂米糠 (DFRB) 水平呈二次响应^[15-16]。

米糠是饲料原料替代的理想选择。而 DFRB 去除了米糠中影响风味的脂氧合酶，是很好的饲料纤维来源^[17]。DFRB 含有多种生物活性成分，如果胶、阿拉伯木聚糖、木质素、纤维素、半纤维素、 β -葡聚糖和树胶^[18-19]，被认为是具有免疫调节特性的功能性多糖^[20]。据报道，多糖具有显著的自由基清除和抗氧化特性，对于防御生物体免受氧化应激损伤具有重要作用^[21]。由于团队前期已经研究了不同纤维水平对苏淮猪生长性能、肠道发育^[22]和肠道屏障^[16]等指标的影响。因此本研究主要关注 DFRB 水平对空肠黏膜微生物的影响。

苏淮猪作为新培育的品种，具有耐粗饲特性，能够充分利用日粮纤维，纤维对其盲肠和结肠的影响已有研究^[23]，但纤维对苏淮猪空肠的影响尤其是对空肠黏膜微生物的影响还鲜见报道。因此，推测 DFRB 水平的增加会对苏淮猪空肠黏膜微生物组成产生不同的影响。

1 材料与方法

1.1 试验设计

本试验选取了 33 头体重 (62.90 ± 0.78) kg 健康的育肥期苏淮阉割公猪，随机分配为 5 组，对照组 (CON) 以基础日粮喂养，而其他试验组则分别以含有 7%、14%、21% 和 28% DFRB 等比例替代玉米的基础日粮进行喂养。除 7% DFRB 试验组有 5 个重复外，其他均为 7 个重复。猪饲养在南京农业大学淮安研究院的试验猪场。猪舍内的温度被严格控制在 $15.5 \sim 19.6$ °C 之间。采用奥阔本全自动生产性能测定系统饲养，精确测量每只猪的日常摄食量和日增重数据。自由采食和饮水。预试期 10 d，饲喂基础饲料。随后进入为期 28 d 的正式试验阶段，试验方案和程序由南京农业大学动物护理和使用委员会批准 (伦理批准代码: SYXK (Su))。

1.2 试验日粮

饲料由淮安市正昌饲料有限公司根据 NY/T 65—

2004《猪饲养标准》生产。在试验中,不同比例的DFRB替代玉米试验组对应修改了其他原料配比以保持组间能量和氨基酸平衡。玉米和DFRB的营养成分见表1。日粮配方和营养水平总结见表2。

表1 玉米和DFRB的营养成分水平 %

成分	DFRB	玉米
粗脂肪	2.90	5.49
粗蛋白	18.54	10.62
粗纤维	10.88	2.42
中性洗涤纤维	30.09	11.12
酸性洗涤纤维	11.39	3.24

注:营养水平均为测量值。

表2 日粮配方及营养水平

项目	组别					
	CON	7% DFRB	14% DFRB	21% DFRB	28% DFRB	
原料/%	玉米	68.61	62.00	55.00	48.00	41.00
	DFRB	0	7.00	14.00	21.00	28.00
	麸皮	15.40	15.80	16.15	16.67	17.21
	大豆油	0	0.84	1.83	2.78	3.74
	豆粕	13.30	11.70	10.40	8.95	7.50
	磷酸氢钙	0.75	0.68	0.65	0.63	0.58
	预混料	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
营养水平 ¹⁾	干物质/%	88.56	88.68	88.93	89.16	88.46
	粗脂肪/%	5.19	5.08	5.32	5.27	5.38
	粗蛋白/%	15.60	16.67	16.13	15.73	16.40
	粗纤维/%	8.89	11.80	12.93	14.35	17.94
	总日粮纤维/%	16.70	17.75	19.10	20.05	24.11
	可溶性日粮纤维/%	0.52	0.56	0.68	0.73	0.82
	不可溶性日粮纤维/%	16.14	17.19	18.42	19.32	23.37
消化能/(MJ·kg ⁻¹)	13.13	13.13	13.13	13.13	13.13	

注:¹⁾消化能和总日粮纤维为计算值,其余为测量值。

1.3.3 16S rRNA 测序序列分析

使用 Fast Length Adjustment of Short reads (FLASH)^[24]合并双端序列。利用 QIIME 软件^[25]去除低质量序列(N碱基序列、单碱基重复序列大于8个和长度小于200 bp的序列),使用 UCHIME (v.2.4.2)删除嵌合序列^[26]。通过 UPARSE^[27]根据97%的相似度进行操作性分类单元(OTU)聚类。使用 UCHIME 选择代表序列后通过 RDP classifier 与 Greengenes 数据库比对注释。使用 Mothur (v.1.30.2)计算 Alpha 多样性,以 Shannon、覆盖度

1.3 样品采集及指标测定

1.3.1 样品采集

28 d 试验后,所有猪通过电击被处死,迅速进行肠道分离。取一段空肠组织,用无菌玻璃板刮取黏膜。将黏膜刮片保存在无菌管中并储存在-80℃以分析细菌群落。

1.3.2 空肠黏膜微生物 16S rRNA 测序

采用 FastDNA[®] Spin Kit (MP Biomedicals, 美国)提取样本微生物总 DNA。针对 16S rRNA 基因 V3-V4 区段进行了 PCR 扩增,引物为 343F (5'-GTGC-CAGCMGCCGCGG-3')和 806R (5'-CCGTCAATTC-MTTTRAGTTT-3')。扩增过程采用 TransStart[®] Fastpfu DNA 聚合酶 (TransGen, 北京),通过 GeneAmp PCR System 9700 (ABI, 美国)执行。最终,在采 Illumina HiSeq 测序平台上完成测序。

(Coverage)、辛普森 (Simpson) 和丰富度 (Sobs) 等指数展示。利用 QIIME 分析 Beta 多样性。基于 unweighted UniFrac 距离度量进行主坐标分析 (PCoA)^[28]。

1.4 统计分析

利用 Kruskal-Wallis H 检验评估不同试验处理条件下特定细菌属的相对丰度是否存在显著差异。通过 SPSS 26.0 中的单因素方差分析检验不同处理对 Alpha 多样性指数以及不同细菌属的线性和二次效应的影响。显著性的标准设定在 $P=0.05$ 水平。

2 结果

2.1 样本 16S rRNA 测序序列信息

本次试验共得到 1 857 154 个有效序列，平均每个样本有 56 277 个，序列长度为 421~460 bp，平均

为 442 bp，测序结果准确。如图 1 所示，随着测序线数的增加，Alpha 多样性的稀释曲线逐渐趋于稳定，这表明在本次研究中所采用的测序深度和覆盖度足以较为精确地描绘空肠黏膜上的微生物多样性状况，适合进行下一步分析。

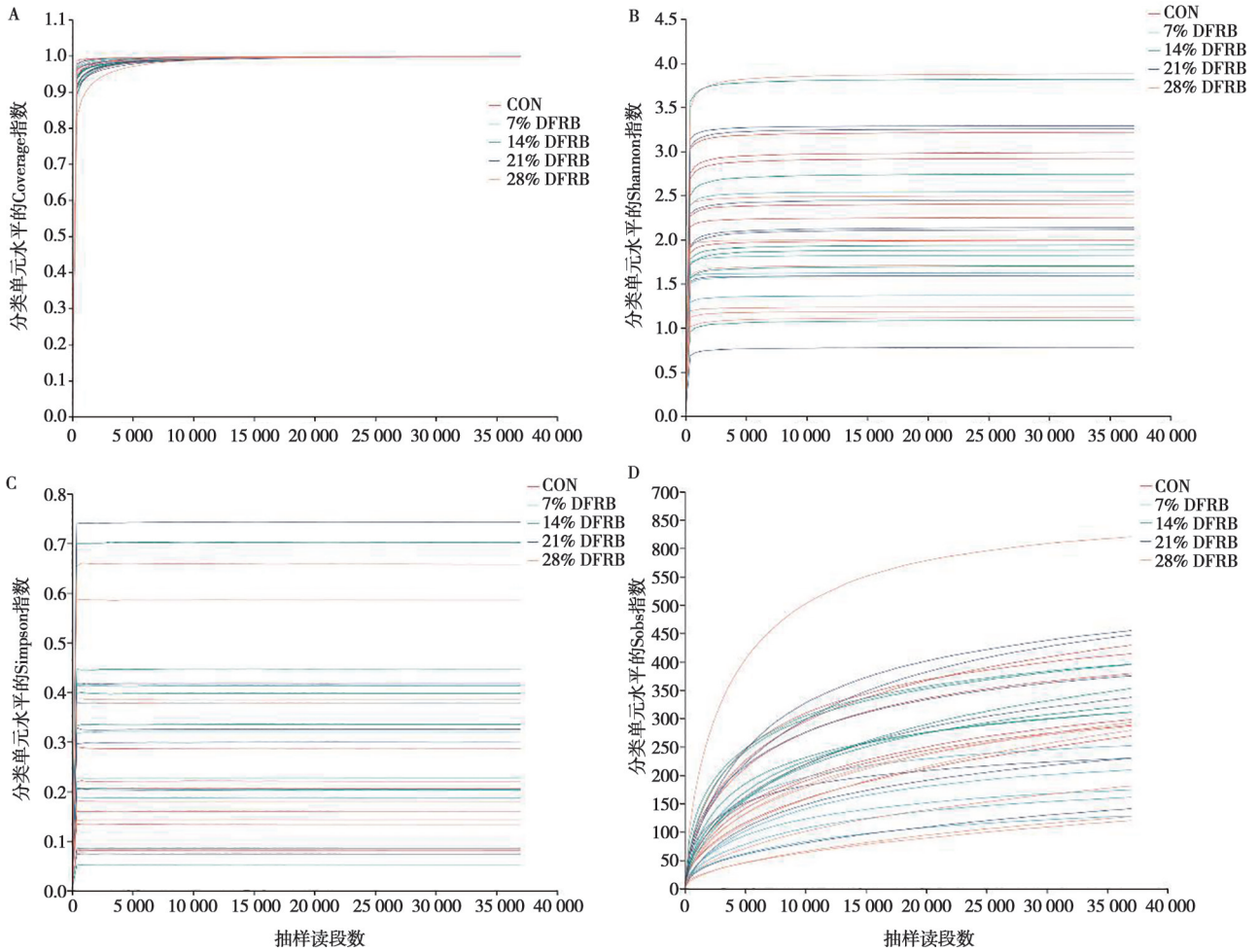


图 1 空肠黏膜微生物 OUT 水平 Coverage (A)、Shannon (B)、Simpson (C) 和 Sobs (D) 指数曲线

2.2 空肠黏膜微生物 Alpha 多样性分析

根据图 2 的数据，空肠黏膜微生物群落 Alpha 多样性指数，包括 Sobs、Shannon、Simpson、ACE 和 Chao 等，不受饲料中 DFRB 含量变化的影响。

表 3 7% DFRB 组空肠黏膜微生物 Alpha 多样性指数单因素方差分析结果

项目	指数			
	Sobs	Simpson	ACE	Chao
CON 组	346.17	0.18	413.21	420.72
7% DFRB 组	184.80	0.31	205.90	203.85
标准误	24.81	0.04	22.49	24.05
P 值	0.002	0.037	0.001	0.001

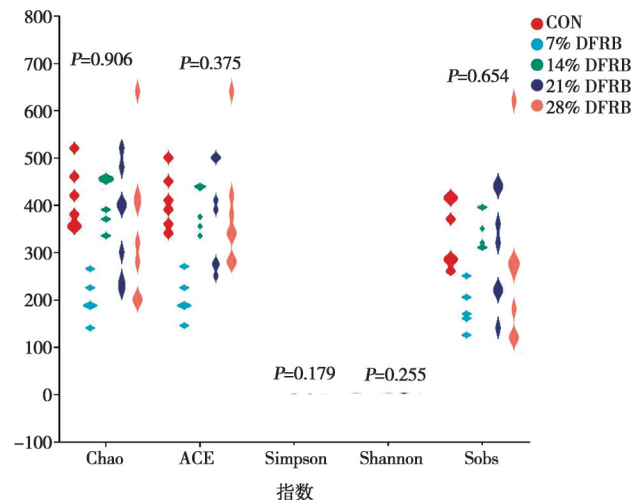


图 2 空肠黏膜微生物群的 Alpha 多样性指数

2.3 空肠黏膜微生物物种组成

所有空肠黏膜样本中共鉴定出 1 653 个 OTU。在不同 DFRB 含量的日粮处理组中, 包括对照组在内, 共有 261 个 OTU 是共有的。此外, 对照组及 7%、14%、21% 和 28% DFRB 处理组各自独有的 OTU 数量依次为 89、102、151、147 和 151, 见图 3A。基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析 (PCoA) 显示, PC1 水平上 7% DFRB 组和对照组明显分离 ($P < 0.05$), 而其他组和对照组之间没有观察到分离 (图

3B)。在门水平上, 所有样品中共检测到 19 个门。厚壁菌门 (Firmicutes) 和软壁菌门 (Tenericutes) 是空肠黏膜中的两个优势门, 其次是变形菌门 (Proteobacteria)、弯曲菌门 (Epsilonbacteraeota), 放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) (图 3C)。在属水平上, *Lactobacillus* 和霉菌 (*Mycoplama*) 是空肠黏膜中的两个优势属, 其次是链球菌 (*Streptococcus*) 和肠杆菌科志贺菌 (*Escherichia_Shigella*) (图 3D)。

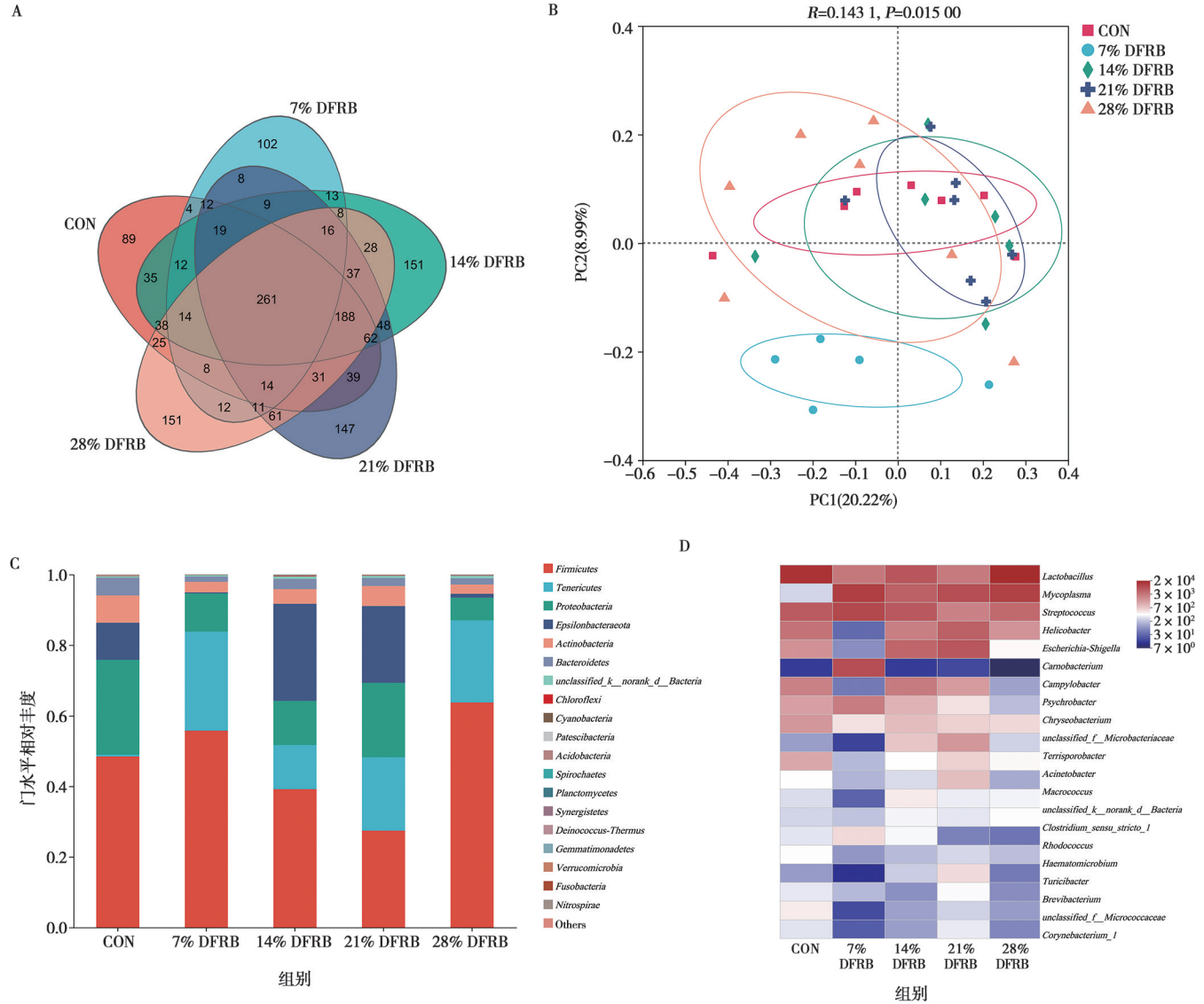


图 3 空肠黏膜微生物 OUT 水平的韦恩图 (A)、PCoA 分析 (B) 与门水平 (C)、属水平 (D) 物种组成分析

2.4 空肠黏膜菌群属水平差异

如表 4 所示, 与对照组相比, 7% DFRB 组厌氧球菌 (*Anaerococcus*)、*Escherichia_Shigella*、厌氧绳菌 (*norank_f_A4b*)、土地杆菌 (*Pedobacter*)、罕见小球菌 (*Subdoligranulum*) 和土生孢杆菌 (*Terrisporobacter*) 的相对丰度显著降低 ($P < 0.05$), 而假单胞菌 (*Pseudomonas*)、鞘氨醇单胞菌 (*Sphingomonas*)、

索丝菌 (*Brochothrix*)、嘉利翁氏菌 (*norank_f_Gallionellaceae*) 和耶尔森氏菌 (*Yersinia*) 的相对丰度显著增加 ($P < 0.05$)。14% DFRB 组瘤胃球菌属 (*Ruminococcaceae_UCG-008*) 相对丰度显著增加 ($P < 0.05$)。21% DFRB 组 *Pedobacter* 相对丰度显著降低 ($P < 0.05$), 新鞘氨醇菌 (*Novosphingobium*)、巴斯德氏菌 (*Pasteurella*)、巨单胞菌 (*Megamonas*) 和微枝

形杆菌 (*Microvirga*) 相对丰度显著增加 ($P < 0.05$)。28% DFRB 组 *norank_f_A4b*、*Pedobacter* 和嗜冷杆菌属 (*Psychrobacter*) 相对丰度显著降低 ($P < 0.05$)。

综上, 随着日粮中 DFRB 水平的增加, *Pedobacter*、

Psychrobacter、*Pseudomonas* 和 *Sphingomonas* 的相对丰度呈线性降低 ($P < 0.05$)。 *Lactobacillus* 和 *Novosphingobium* 的相对丰度对日粮中 DFRB 水平的增加呈二次响应 ($P < 0.05$)。

表 4 空肠黏膜微生物属水平相对丰度的比较

菌属	组别					标准误	P 值	
	CON	7% DFRB	14% DFRB	21% DFRB	28% DFRB		线性	二次
<i>Lactobacillus</i>	30.29 ^{ab}	8.76 ^b	14.97 ^b	8.47 ^b	49.89 ^a	5.04	0.225	0.005
<i>Escherichia_Shigella</i>	21.19 ^a	0.09 ^b	6.76 ^a	14.39 ^a	4.31 ^{ab}	3.49	0.430	0.428
<i>Helicobacter</i>	4.41 ^{ab}	0.18 ^b	20.27 ^a	17.50 ^a	0.86 ^b	3.40	0.658	0.087
<i>Psychrobacter</i>	3.33 ^{ab}	8.05 ^a	2.82 ^{ab}	1.31 ^{bc}	0.34 ^c	0.72	0.006	0.138
<i>Pseudomonas</i>	0.07 ^b	1.03 ^a	0.09 ^b	0.03 ^b	0.10 ^b	0.09	0.047	0.097
<i>Rhodococcus</i>	0.57 ^{ab}	1.46 ^a	0.71 ^{ab}	0.14 ^b	0.11 ^b	0.12	0.058	0.222
<i>Terrisporobacter</i>	0.20 ^a	0.04 ^b	1.75 ^a	4.65 ^a	0.45 ^a	0.68	0.272	0.209
<i>Sphingomonas</i>	0.04 ^b	0.53 ^a	0.03 ^b	0.02 ^b	0.02 ^b	0.04	0.001	0.010
<i>Subdoligranulum</i>	0.04 ^a	0.00 ^b	0.04 ^a	0.03 ^a	0.05 ^a	0.01	0.687	0.506
<i>Anaerococcus</i>	0.03 ^{ab}	0.00 ^c	0.01 ^{abc}	0.04 ^a	0.00 ^{bc}	0.01	0.718	0.915
<i>norank_f_A4b</i>	0.03 ^a	0.00 ^b	0.04 ^a	0.03 ^a	0.00 ^b	0.01	0.503	0.610
[<i>Ruminococcus</i>] <i>_gawreaii_group</i>	0.02 ^{ab}	0.00 ^b	0.04 ^a	0.01 ^{ab}	0.01 ^{ab}	0.00	0.762	0.249
<i>Yersinia</i>	0.01 ^b	0.03 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00	0.121	0.404
<i>Ruminococcaceae_UCG-008</i>	0.01 ^b	0.00 ^b	0.04 ^a	0.02 ^{ab}	0.01 ^b	0.00	0.753	0.298
<i>Pedobacter</i>	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00 ^{ab}	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00	0.019	0.105
<i>Brochothrix</i>	0.00 ^b	0.72 ^a	0.00 ^b	0.01 ^b	0.00 ^b	0.07	0.116	0.179
<i>Novosphingobium</i>	0.00 ^b	0.00 ^b	0.01 ^{ab}	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00	0.319	0.048
<i>Pasteurella</i>	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00	0.237	0.246
<i>Megamonas</i>	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^{ab}	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00	0.343	0.241
<i>Microvirga</i>	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^{ab}	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00	0.262	0.081
<i>norank_f_Gallionellaceae</i>	0.00 ^b	0.01 ^a	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00 ^b	0.00	0.129	0.194

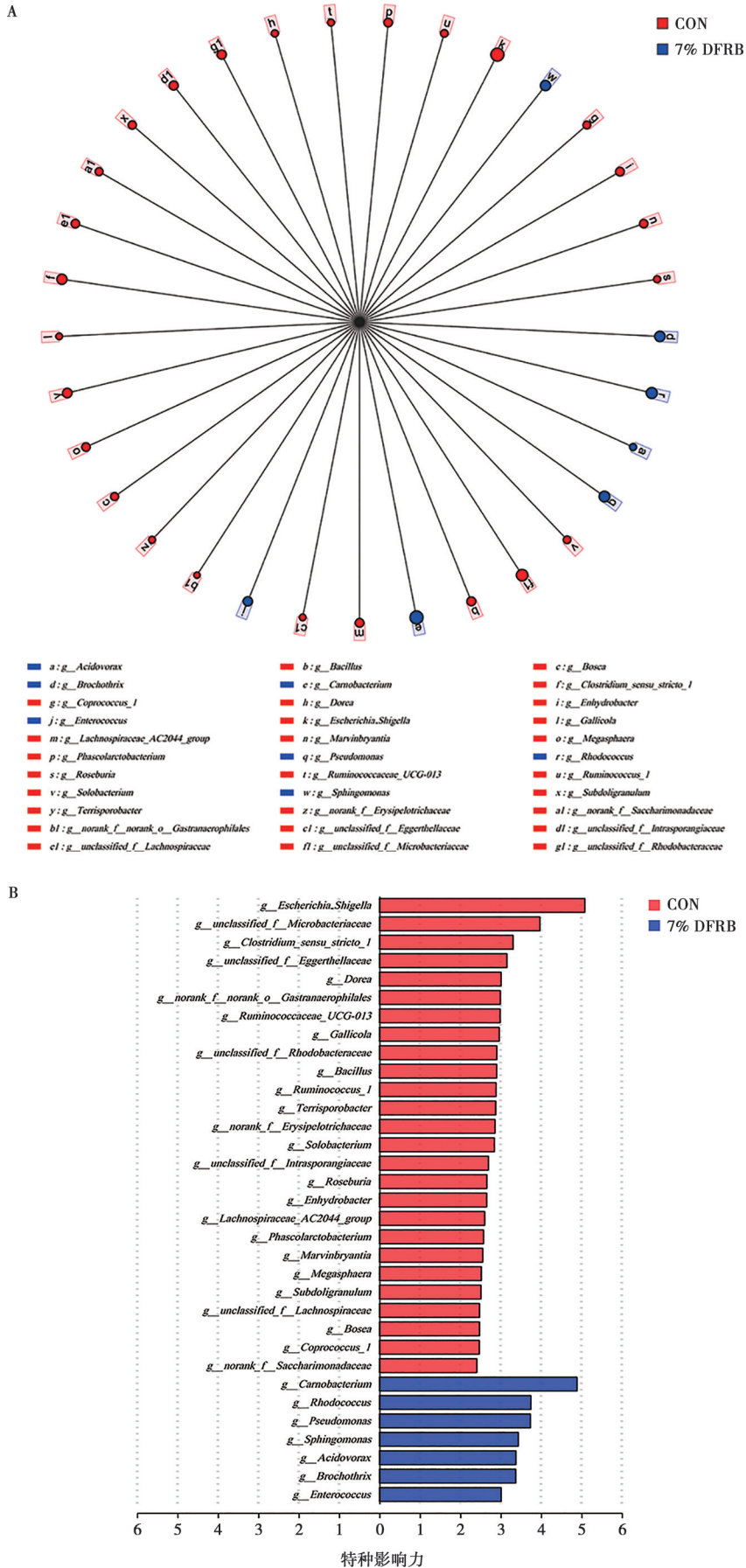
注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.5 7% DFRB 组空肠黏膜微生物组成差异分析

基于上述 PCoA 分析发现在 PC1 水平上, 7% DFRB 组和对照组明显分离, 而其他组和对照组之间没有观察到分离 (图 3B)。采用 LEfSe 分析对照组和 7% DFRB 组之间微生物组成差异性并展示了对照组和 7% DFRB 组属水平上最丰富的微生物群体 (图 4A), 共发现 33 个差异项, 对照组 26 个, 7% DFRB 组 7 个。LDA 分析结果 (图 4B) 显示, 对照组包括 *Escherichia_Shigella* 和微杆菌科 (*unclassified_f_Microbacteriaceae*) 等特异菌属。7% DFRB 组包括肉杆菌 (*Carnobacterium*) 和 *Pseudomonas* 等特异菌属。

2.6 7% DFRB 组空肠黏膜微生物与免疫球蛋白水平相关性分析

空肠黏膜免疫球蛋白水平和微生物丰度的相关性分析如图 5 所示。棒杆菌 (*Corynebacterium*)、克雷伯氏菌 (*Klebsiella*)、*Brochothrix*、不动杆菌 (*Acinetobacter*)、*Rhodococcus*、*Escherichia_Shigella* 等微生物与空肠黏膜免疫球蛋白 M (IgM) 水平显著相关, 而鞘氨醇杆菌 (*Sphingobacterium*)、*Psychrobacter* 等微生物则与分泌型免疫球蛋白 A (SIgA) 水平显著相关。



A. LEfSe 分析分支图; B. LDA 判别图。

图 4 对照组和 7% DFRB 组空肠微生物组成差异

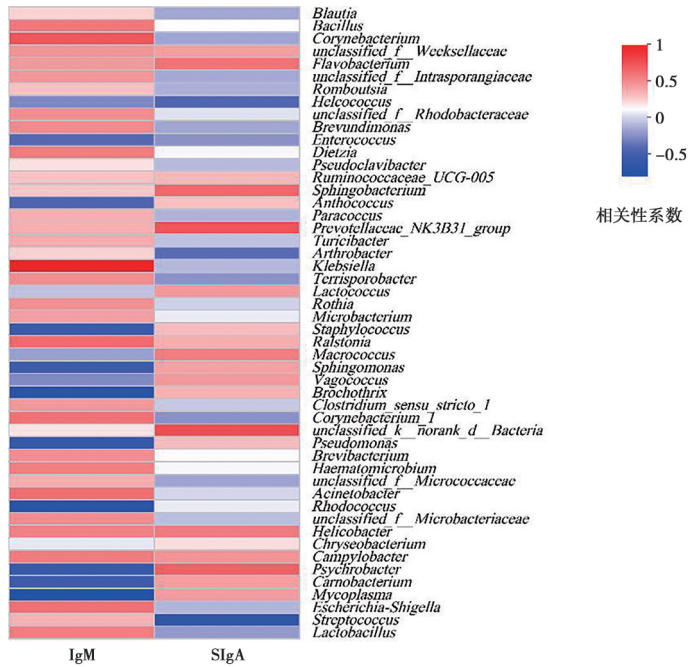


图5 7% DFRB 组空肠黏膜微生物与免疫球蛋白水平相关性分析

3 讨论

3.1 DFRB 水平影响苏淮猪空肠黏膜微生物多样性

黏膜上的细菌对于维持宿主的代谢功能和免疫系统的平衡具有显著影响。通常，微生物群落的多样性水平越高，其肠道菌群的稳定性也越强。高水平的细菌多样性可以提供“功能冗余”，使生态系统保持稳定和对环境压力的弹性^[29-30]。膳食纤维可以提供碳水化合物作为多种肠道微生物消耗的底物，是影响肠道微生物群组成的一个重要因素^[31]。然而不同纤维类型对肠道微生物多样性的影响也不同。Chen 等^[32]的研究表明，可溶性膳食纤维可以显著增加肠道微生物 Alpha 多样性指数，但不可溶性膳食纤维对肠道微生物 Alpha 多样性指数没有显著影响。在本项研究中，我们观察到空肠黏膜的微生物 Alpha 多样性指数不受 DFRB 水平的影响。这一结果可能与本试验使用的纤维源为 DFRB 有关，DFRB 作为一种不可溶性纤维含量较高的物质，可能对微生物多样性的影响有限。

3.2 7% DFRB 有利于改善苏淮猪空肠肠道菌群

Wu 等^[33-34]的研究表明，日粮中的膳食纤维可以显著降低回肠黏膜微生物区系和回肠内容物微生物区系 Chao 指数。微生物群落的增加通常与宿主炎症风险的提高和肠道通透性增强有关，而本试验发现，与对照组相比，7% DFRB 组的 Sobs、ACE 和 Chao 指数显著降低，表明 7% DFRB 水平可能抑制了空肠黏膜中的微生物。基于 unweighted UniFrac 的主坐标分析

(PCoA) 也发现，在 PC1 水平上，7% DFRB 组和对对照组明显分离。通过对空肠微生物相对丰度的进一步研究发现与对照组相比，7% DFRB 组螺杆菌 (*Helicobacter*) 相对丰度降低，而 Sanders 等^[35]和 Wu 等^[36]都认为，*Helicobacter* 丰度的增加可作为肠道疾病的潜在指标。7% DFRB 组条件致病菌 *Escherichia-Shigella* 的相对丰度也显著降低，这与 Wu 等^[33]在回肠黏膜中的发现一致。

LEfSe 分析对比了对照组和 7% DFRB 处理组，发现两组之间共有 33 个显著不同的微生物特征。在这 33 个差异特征中，对照组 26 个，而 7% DFRB 组则有 7 个。特别是，*Escherichia-Shigella*、梭状芽胞杆菌属_1 (*Clostridium_sensu_stricto_1*) 和嗜胃菌 (*Gastranaerophilales*) 等菌属在对照组中呈现出显著的富集现象，而 7% DFRB 组包括 *Enterococcus*、*Carnobacterium*、*Pseudomonas* 和 *Rhodococcus* 等特异菌属。对照组显著富集的 *Clostridium_sensu_stricto_1* 据报道与肠道屏障功能障碍有关^[37]，*Gastranaerophilales* 则与多种自身免疫疾病存在相关性^[38]。7% DFRB 组显著富集的 *Enterococcus* 属的细菌在提升断奶仔猪的生长表现、维护肠道绒毛结构、增强免疫力以及调节肠道微生物群落方面发挥着积极作用^[39]；*Carnobacterium* 也被报道为潜在的益生菌^[40]。说明适当水平的 DFRB 可能可以促进有益细菌的增殖，抑制致病菌从而改善肠道菌群。

3.3 7% DFRB 有利于降低苏淮猪空肠氧化应激水平

7%水平的 DFRB 还可能通过影响肠道微生物改

善空肠氧化应激水平。团队前期的研究发现, 在空肠组织层面, 7%的DFRB含量对Nrf2的表达没有影响, 但能显著降低NQO1及HO-1的表达水平。表明7%纤维日粮可能具有抗氧化应激的作用, 与之前的研究结果一致^[14]。

空肠黏膜免疫球蛋白水平和微生物丰度的相关性分析发现, 与空肠黏膜免疫球蛋白水平相关的微生物中, *Brochothrix*、*Rhodococcus* 都为7%DFRB组特异菌属, 且都与IgM水平负相关, 有研究表明脂多糖诱导造成肠道屏障损伤和氧化应激的同时会降低*Rhodococcus*的丰度^[41], 这也与前期研究7%DFRB组IgM水平降低结果吻合^[16]。*Psychrobacter*虽然与SIgA水平正相关但丰度与对照组不存在显著差异。相关微生物*Escherichia_Shigella*则为对照组特异菌属, 且与IgM水平呈正相关, 可能与*Escherichia_Shigella*被报道为条件性致病菌有关。前期研究也发现对照组空肠黏膜IgM水平高于其他组^[16]。

此外7%DFRB组空肠氧化应激相关指标的降低还可能与富集的*Carnobacterium*和*Pseudomonas*等微生物有关。研究表明添加膳食补充剂在提高家畜空肠抗氧化和抗炎能力的同时都伴随着*Carnobacterium*丰度的上升^[42-43], 而在育肥猪空肠中*Pseudomonas*与具有抗氧化作用的髓过氧化物酶存在正相关性^[44]。显然, 7%的DFRB降低了空肠的氧化应激, 并且这种作用可能是通过改善肠道微生物组成^[45], 促进相关微生物丰度增加的方式来实现。

综上所述, 随着日粮中DFRB水平的增加, *Pe-dobacte*、*Psychrobacte*、*Pseudomonas*和*Sphingomonas*的相对丰度呈线性降低。*Lactobacillus*和*Novosphin-gobium*的丰度随DFRB日粮水平增加而呈二次变化。DFRB水平从0增加到7%, 降低了*Escherichia_Shigella*的相对丰度, 而*Enterococcu*和*Carnobacterium*等增多, 表明7%DFRB组日粮具有益生效果, 可以促进有益菌增殖, 抑制潜在致病菌增殖。而当日粮DFRB水平从7%增加到21%时*Escherichia_Shigella*增多, 表明过高的日粮纤维水平可能会破坏肠道生物屏障功能。7%的DFRB水平还可以增加与抗氧化应激有关的*Carnobacterium*、*Pseudomonas*和*Rhodococcus*的相对丰度, 降低空肠氧化应激, 促进肠道健康。

参考文献:

- [1] BIN P, TANG Z, LIU S, et al. Intestinal microbiota mediates enterotoxigenic *Escherichia coli*-induced diarrhea in piglets [J]. BMC Vet Res, 2018, 14 (1): 385.
- [2] TOJO R, SUAREZ A, CLEMENTE M G, et al. Intestinal microbiota in health and disease: role of bifidobacteria in gut homeostasis [J]. World J Gastroenterol, 2014, 20 (41): 15163-15176.
- [3] NIE Y F, HU J, YAN X H. Cross-talk between bile acids and intestinal microbiota in host metabolism and health [J]. J Zhejiang Univ Sci B, 2015, 16 (6): 436-446.
- [4] TUDDENHAM S, SEARS C L. The intestinal microbiome and health [J]. Curr Opin Infect Dis, 2015, 28 (5): 464-470.
- [5] BROWN K, DECOFFE D, MOLCAN E, et al. Diet-induced dysbiosis of the intestinal microbiota and the effects on immunity and disease [J]. Nutrients, 2012, 4 (8): 1095-1119.
- [6] SJOGREN Y M, TOMICIC S, LUNDBERG A, et al. Influence of early gut microbiota on the maturation of childhood mucosal and systemic immune responses [J]. Clin Exp Allergy, 2009, 39 (12): 1842-1851.
- [7] ARNAUD A P, ROME V, RICHARD M, et al. Post-natal co-development of the microbiota and gut barrier function follows different paths in the small and large intestine in piglets [J]. FASEB J, 2020, 34 (1): 1430-1446.
- [8] ZHANG X, AKHTAR M, CHEN Y, et al. Chicken jejunal microbiota improves growth performance by mitigating intestinal inflammation [J]. Microbiome, 2022, 10 (1): 107.
- [9] LIU B, WANG W, ZHU X, et al. Response of gut microbiota to dietary fiber and metabolic interaction with SCFAS in piglets [J]. Front Microbiol, 2018 (9): 2344.
- [10] VAN DER MEULEN J, PANNEMAN H, JANSMAN A J M. Effect of pea, pea hulls, faba beans and faba bean hulls on the ileal microbial composition in weaned piglets [J]. Livest Sci, 2010, 133: 135-137.
- [11] MOLIST F, VAN OOSTRUM M, PÉREZ J F, et al. Relevance of functional properties of dietary fibre in diets for weanling pigs [J]. Anim Feed Sci Technol, 2014 (189): 1-10.
- [12] AWATI A, WILLIAMS B A, BOSCH M W, et al. Use of the *in vitro* cumulative gas production technique for pigs: an examination of alterations in fermentation products and substrate losses at various time points [J]. J Anim Sci, 2006, 84 (5): 1110-1118.
- [13] TANG X, ZHANG L, FAN C, et al. Dietary fiber influences bacterial community assembly processes in the gut microbiota of Durco × Bamei crossbred pig [J]. Front Microbiol, 2021 (12): 688554.
- [14] JIN S, WIJERATHNE C, AU-YEUNG K, et al. Effects of high- and low-fiber diets on intestinal oxidative stress in growing-finishing pigs [J]. J Anim Sci, 2022, 100 (11): 306.
- [15] BAIRD L, DINKOVA-KOSTOVA A T. The cytoprotective role of the Keap1-Nrf2 pathway [J]. Arch Toxicol, 2011, 85 (4): 241-272.
- [16] FAN L, HUANG R, WU C, et al. Defatted rice bran supplementation in diets of finishing pigs: effects on physiological, intestinal barrier, and oxidative stress parameters [J]. Animals (Basel), 2020, 10 (3): 449.
- [17] LAW B, WAYE M, SO W, et al. Hypotheses on the potential of rice bran intake to prevent gastrointestinal cancer through the modulation of oxidative stress [J]. Int J Mol Sci, 2017, 18 (7): 1352.
- [18] RYAN E P. Bioactive food components and health properties of rice bran [J]. J Am Vet Med Assoc, 2011, 238 (5): 593-600.
- [19] WIBOONSIRIKUL J, KIMURA Y, KANAYA Y, et al. Production and characterization of functional substances from a by-product of rice bran oil and protein production by a compressed hot water treat-

- ment [J]. *Biosci Biotechnol Biochem*, 2008, 72 (2): 384–392.
- [20] PARK H Y, LEE K W, CHOI H D. Rice bran constituents: immunomodulatory and therapeutic activities [J]. *Food Funct*, 2017, 8 (3): 935–943.
- [21] WANG J, HU S, NIE S, et al. Reviews on mechanisms of *in vitro* antioxidant activity of polysaccharides [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016 (1): 5692852.
- [22] 蒲广, 黄瑞华, 牛清, 等. 日粮脱脂米糠替代玉米水平对苏淮猪生长性能、肠道发育及养分消化率的影响 [J]. *畜牧兽医学报*, 2019, 50 (4): 758–770.
- [23] PU G, LI P, Du T, et al. 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]. *Front Microbiol*, 2020 (11): 533.
- [24] MAGOC T, SALZBERG S L. Flash: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (21): 2957–2963.
- [25] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. Qiime allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nat Methods*, 2010, 7 (5): 335–336.
- [26] EDGAR R C, HAAS B J, CLEMENTE J C, et al. Uchiime improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27 (16): 2194–2200.
- [27] EDGAR R C. Uparse: highly accurate otu sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nat Methods*, 2013, 10 (10): 996–998.
- [28] LOZUPONE C, KNIGHT R. Unifrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2006, 71 (12): 8228–8235.
- [29] LOUCA S, PARFREY L W, DOEBELI M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome [J]. *Science*, 2016, 353 (6305): 1272–1277.
- [30] LOUCA S, JACQUES S, PIRES A, et al. High taxonomic variability despite stable functional structure across microbial communities [J]. *Nat Ecol Evol*, 2016, 1 (1): 15.
- [31] SAWICKI C M, LIVINGSTON K A, OBIN M, et al. Dietary fiber and the human gut microbiota: application of evidence mapping methodology [J]. *Nutrients*, 2017, 9 (2): 125.
- [32] CHEN T, CHEN D, TIAN G, et al. Soluble fiber and insoluble fiber regulate colonic microbiota and barrier function in a piglet model [J]. *BioMed Res International*, 2019, 2019 (1): 1–12.
- [33] WU W, ZHANG L, XIA B, et al. Modulation of pectin on mucosal innate immune function in pigs mediated by gut microbiota [J]. *Microorganisms*, 2020, 8 (4): 535.
- [34] WU W, ZHANG L, XIA B, et al. Bioregional alterations in gut microbiome contribute to the plasma metabolomic changes in pigs fed with inulin [J]. *Microorganisms*, 2020, 8 (1): 111.
- [35] SANDERS M E, MERENSTEIN D J, REID G, et al. Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: from biology to the clinic [J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2019, 16 (10): 605–616.
- [36] WU G D, CHEN J, HOFFMANN C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes [J]. *Science*, 2011, 334 (6052): 105–108.
- [37] LEIBOVITZH H, LEE S H, XUE M, et al. Altered gut microbiome composition and function are associated with gut barrier dysfunction in healthy relatives of patients with Crohn’s disease [J]. *Gastroenterology*, 2022, 163 (5): 1364–1376.
- [38] CAO R R, HE P, LEI S F. Novel microbiota-related gene set enrichment analysis identified osteoporosis associated gut microbiota from autoimmune diseases [J]. *J Bone Miner Metab*, 2021, 39 (6): 984–996.
- [39] WANG K, CAO G, ZHANG H, et al. Effects of *Clostridium butyricum* and *Enterococcus faecalis* on growth performance, immune function, intestinal morphology, volatile fatty acids, and intestinal flora in a piglet model [J]. *Food Funct*, 2019, 10 (12): 7844–7854.
- [40] EVANGELISTA A G, DANIELSKI G M, CORREA J, et al. *Carnobacterium* as a bioprotective and potential probiotic culture to improve food quality, food safety, and human health – a scoping review [J]. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 2023, 63 (24): 6946–6959.
- [41] CHEN X, KONG Q, ZHAO X, et al. Sodium acetate/sodium butyrate alleviates lipopolysaccharide-induced diarrhea in mice via regulating the gut microbiota, inflammatory cytokines, antioxidant levels, and NLRP3/Caspase-1 signaling [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13 (3): 1036042.
- [42] GUI J, AZAD M, LIN W, et al. Dietary supplementation with chinese herb ultrafine powder improves intestinal morphology and physical barrier function by altering jejunal microbiota in laying hens [J]. *Front Microbiol*, 2023, 14 (16): 1185806.
- [43] REN G, XU L, ZHAO J, et al. Supplementation of dietary crude lentinan improves the intestinal microbiota and immune barrier in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected by infectious hematopoietic necrosis virus [J]. *Front Immunol*, 2022, 13 (22): 920065.
- [44] LI Y, ZHANG R, LI X, et al. Exposure to the environmental pollutant ammonia causes changes in gut microbiota and inflammatory markers in fattening pigs [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2021 (208): 111564.
- [45] ZOLKIEWICZ J, MARZEC A, RUSZCZYNSKI M, et al. Postbiotics – a step beyond pre- and probiotics [J]. *Nutrients*, 2020, 12 (8): 2189.