



范国强,张海,栗艳飞,等. 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肌肉脂肪酸组成与肠道菌群的影响[J]. 南京农业大学学报,2024,47(5):907-915.
FAN Guoqiang,ZHANG Hai,LI Yanfei,et al. Effects of dietary α -linolenic acid supplementation on muscle fatty acid composition and intestinal flora of fattening pigs[J]. Journal of Nanjing Agricultural University,2024,47(5):907-915.

日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肌肉脂肪酸组成与肠道菌群的影响

范国强¹,张海¹,栗艳飞¹,刘春雪²,杨晓静^{1*}

(1.南京农业大学动物医学院/农业农村部动物生理生化重点实验室,江苏 南京 210095;
2.安佑生物科技集团股份有限公司,江苏 太仓 215400)

摘要:[目的]本试验旨在研究日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肌肉脂肪酸组成与肠道菌群的影响。[方法]选取36头120日龄杜×长×大三元猪进行分栏饲养,根据体重相近原则随机分为2组,每组3个重复,每重复6头,分别为对照组(CON)和添加 α -亚麻酸组(ALA)。CON组饲喂基础日粮,ALA组饲喂含 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ α -亚麻酸的基础日粮。饲喂至162日龄时在每个重复中随机选取6头猪屠宰并采样分析。[结果]相较于CON组,ALA组猪平均终末重、日增重、日采食量及料重比均未见显著差异,但料重比降低7.7%,ALA组猪背最长肌肉色、滴水损失无显著变化。在血液生化指标中,ALA组总胆固醇和游离脂肪酸含量相较于CON组显著降低($P<0.05$)。对背最长肌脂肪酸组成分析结果显示,与CON组相比,ALA组中饱和脂肪酸(saturated fatty acid,SFA)含量和n-6多不饱和脂肪酸(omega-6 polyunsaturated fatty acid,PUFA)/n-3 PUFA的比值显著降低($P<0.05$),C18:3n-3(ALA)、C20:5n-3(DPA)含量显著升高($P<0.05$),n-3 PUFA总含量也显著升高($P<0.05$)。与CON组相比,ALA组结肠内容物中瘤胃球菌科、毛螺菌科、韦荣氏菌科、丁酸杆菌科的丰度均显著增加($P<0.05$),而氨基酸球菌科、产粪甾醇真细菌、脱硫弧菌、消化链球菌科、坦纳菌科、梭状芽胞杆菌科和克里斯滕森菌科的丰度均显著降低($P<0.05$)。[结论]日粮添加 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ α -亚麻酸改善了育肥猪肌肉脂肪酸组成,降低了肌肉中饱和脂肪酸(SFA)含量,提高了n-3 PUFA含量并降低了n-6 PUFA/n-3 PUFA的比值,显著促进了育肥猪肠道中瘤胃球菌科、毛螺菌科、韦荣氏菌科等常见的短链脂肪酸(SCFA)产生菌的增殖。

关键词:育肥猪; α -亚麻酸;背最长肌;脂肪酸组成;肠道菌群;生长性能

中图分类号:S816.79

文献标志码:A

文章编号:1000-2030(2024)05-0907-09

Effects of dietary α -linolenic acid supplementation on muscle fatty acid composition and intestinal flora of fattening pigs

FAN Guoqiang¹,ZHANG Hai¹,LI Yanfei¹,LIU Chunxue²,YANG Xiaojing^{1*}

(1.College of Veterinary Medicine/Key Laboratory of Animal Physiology and Biochemistry,Ministry of Agriculture and Rural Affairs,Nanjing Agricultural University,Nanjing 210095,China;
2.Anyou Biotechnology Group Co.,Ltd.,Taicang 215400,China)

Abstract:[Objectives]This study aimed to investigate the impact of dietary supplementation with α -linolenic acid (ALA) on muscle fatty acid composition and intestinal flora in fattening pigs. [Methods]A total of 36 Duroc×Landrace × Large White crossbred pigs, aged 120 days,were randomly assigned into two groups(CON and ALA)based on similar body weight,with three replicates per group and six pigs per replicate. The CON group was fed a basal diet,while the ALA group received a basal diet supplemented with $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ α -linolenic acid. Six pigs from each group were randomly selected for slaughter and sampling analysis at 162 days of age. [Results] Although there were no significant differences in average final weight,daily gain,daily feed intake,and feed-to-gain ratio between the ALA and CON groups,the feed-to-gain ratio was reduced by 7.7% in the ALA group compared to the CON group. No significant differences were observed between the two groups regarding flesh color and drip loss. In terms of blood biochemical indices,contents of total cholesterol and free fatty acids were significantly lower in the ALA group than in the CON group($P<0.05$). Regarding fatty acid composition in *longissimus dorsi* tissue,saturated fatty acid(SFA) content and omega-6 polyunsaturated fatty acid(n-6 PUFA)/n-3 PUFA ratio significantly decreased($P<0.05$)in the ALA group compared to the CON group;meanwhile C18:3n-3(ALA)and C20:5n-3(DPA)contents significantly increased($P<0.05$),leading to an overall increase in total n-3 PUFA content($P<0.05$). Furthermore, compared to the CON group,abundances of Ruminococcaceae,Lachnospiraceae,Veillonellaceae,and Butyrivibrionaceae were significantly higher($P<0.05$)in the ALA group. Acidaminococcaceae and Eubacterium coprostanoligenes,Desulfovibrionaceae,Peptostreptococcaceae,Tannerellaceae,Clostridiaceae,and Christensenellaceae had a significantly decreased abundance($P<0.05$).

收稿日期:2023-09-19

基金项目:江苏省种业振兴揭榜挂帅项目(JBGS[2021]024);江苏省自然科学基金-青年基金项目(BK20230997)

*通信作者:杨晓静,教授,博导,研究方向为动物生长调控,E-mail:yangxj@njau.edu.cn。

[Conclusions] Dietary supplementation of 5 g·kg⁻¹ α -linolenic acid enhanced muscle fatty acid composition, reduced muscle SFA content, increased muscle n-3 PUFA content, and decreased the n-6 PUFA/n-3 PUFA ratio in fattening pigs. Moreover, it significantly stimulated the proliferation of short chain fatty acid (SCFA)-producing bacteria such as Ruminococcaceae, Trichospirillaceae, and Veillonaceae in the intestinal tract of fattening pigs.

Keywords: fattening pig; alpha-linolenic acid; *longissimus dorsi*; fatty acid composition; intestinal flora; growth performance

猪肉是人们日常餐桌上的主要肉类之一。随着生活水平的提高,人们对高品质猪肉的需求随之增加。肌肉中脂肪酸组成是决定肉品质的重要因素之一^[1-3],因此通过调整肌肉脂肪酸组成来提升猪肉品质,对于猪肉的销量以及生猪养殖产业的经济效益具有重要意义。此外,饲料及其添加剂中的饱和脂肪酸、不饱和脂肪酸及胆固醇的含量对于改善猪肉脂质组成至关重要^[4]。以往的研究表明,饲料中添加短链脂肪酸、多不饱和脂肪酸对畜禽的肠道微生物生态、代谢、免疫和繁殖等方面有重要调节作用^[5-8]。在猪育肥阶段,肌肉中脂肪沉积速度加快,在这一阶段日粮中添加脂肪酸可能会对猪肉中的脂肪沉积和脂肪酸组成产生较大的影响。

α -亚麻酸作为一种多不饱和脂肪酸,因其在抗炎、预防心血管疾病等方面的功能已被广泛应用于营养保健、生物制药和畜禽饲料生产等方面^[9-10]。近几年,国内外关于以多不饱和脂肪酸作为饲料添加剂来改善畜禽生产性能的研究受到广泛关注。目前, α -亚麻酸在猪生产上主要有以下两方面应用:作为生长促进剂提高猪的饲料利用率,增加生长速度,降低饲养成本;作为一种抗氧化剂,提高机体抗氧化能力,减少自由基对猪的伤害,降低猪肉中的胆固醇含量,从而提高猪肉的营养价值^[11]。有试验显示,饲料中添加8%的 α -亚麻酸可显著提高围产期母猪的泌乳性能并提高新生仔猪的存活率和出生重,明显提高经济效益^[12]。也有试验显示,饲料中添加4%或6%的 α -亚麻酸可显著提高生长猪的日增重、胴体瘦肉率,显著提高了经济效益^[13]。蔡传江等^[14]试验显示,日粮添加亚麻油能够降低育肥猪日均采食量和料肉比。然而, α -亚麻酸对育肥猪肌肉脂肪酸组成和肠道菌群的影响尚不清楚。因此,本文通过在育肥猪日粮中添加 α -亚麻酸,探究其对育肥猪肌肉脂肪酸组成和肠道菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 试验猪的选择与分组处理

本试验于河南省三门峡市陕州区田园猪场进行。选取36头120日龄杜×长×大三元猪进行分栏饲养,根据体重相近原则随机分为2组,每组3个重复,每重复6头,分别为对照(control, CON)组和添加 α -亚麻酸(alpha-linolenic acid, ALA)组,CON组饲喂基础日粮,ALA组是在基础日粮的基础上添加5 g·kg⁻¹的 α -亚麻酸。基础日粮组成和营养组成水平见表1。试验周期为42 d。 α -亚麻酸为山东亿江生物科技有限公司提供的食品级 α -亚麻酸(含量98%)。试验期间,育肥猪分组后均饲养于同一圈舍的水泥地上,自由饮水和采食,每重复(6头)饲养于一栏。试验期间人工添料,试验猪自由采食和饮水。光照、温度、湿度和免疫程序按常规操作流程进行。

表1 基础日粮组成及营养组成水平

Table 1 Ingredients composition and nutrient composition level

%

日粮组成 Ingredients composition	水平 Level	营养组成 Nutrient composition	水平 Level
小麦 Wheat	25.19	净能 Net energy (NE)	9 739.4
玉米 Corn	38.49	粗纤维 Crude fiber	3.25
豆粕 Soybean meal	15.72	粗蛋白 Crude protein	16.05
次粉 Wheat bran	10.08	粗脂肪 Crude fat	3.50
全脂米糠 Full-fat rice bran	7.56	赖氨酸 Lys	0.941
石粉 Limestone	0.85	蛋氨酸 Met	0.594
豆油 Soybean oil	0.50	色氨酸 Trp	0.647
赖氨酸 Lysine	0.48	苏氨酸 Thr	0.190
蛋氨酸 Methionine	0.11		
色氨酸 Tryptophan	0.09		
苏氨酸 Threonine	0.16		
小苏打 Sodium bicarbonate	0.06		
碳酸氢钙 Calcium hydrogen carbonate	0.41		
氯化钠 Sodium chloride	0.30		

注:净能单位是 kJ·kg⁻¹。The unit of NE is kJ·kg⁻¹.

1.2 猪的屠宰及样品采集

在试验结束(试验第42天)时,分别从每组选择6头猪(每个重复随机选择2头),禁食12 h后屠宰,采集血液用于血液生化指标检测,采集部分背最长肌样本于液氮中保存,用于检测肌肉脂质代谢相关指标和脂肪酸组成。另取部分结肠内容物置于冻存管中,液氮速冻后置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰柜中储存,用于检测肠道菌群组成。

1.3 测定指标及方法

1.3.1 生产性能指标和肉质指标测定 分别于试验开始第1天以及第42天试验结束时进行称重,记录每周各栏育肥猪采食量,计算试验期间育肥猪平均初始重(average initial weight, AIW)、平均终末重(average final weight, AFW)、平均日增重(average daily gain, ADG)、平均日采食量(average daily feed intake, ADFI)及料重比(feed to gain ratio, F/G)。计算公式: $ADG=(\text{试验结束时平均体重}-\text{试验开始时平均体重})/\text{试验总天数}$; $ADFI=\text{试验期间总采食量}/\text{试验总天数}$; $F/G=\text{平均日采食量}/\text{日增重}$ 。

肉色:用WSC-S型色差仪测定背最长肌肌肉面亮度值(L^*)、红度值(a^*)和黄度值(b^*)。

滴水损失:将背最长肌裁剪为 $3\text{ cm}\times 3\text{ cm}\times 1\text{ cm}$ 的肉块,称重记为 W_1 ;用铁丝悬吊于一次性纸杯中,迅速置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱,24 h后取出肉样,用洁净滤纸轻轻擦干肉块表面水分后称重,记为 W_2 ;计算24 h滴水损失率(S)。 $S=(W_1-W_2)/W_1\times 100\%$ 。

1.3.2 血液生化指标测定 采用全自动生化分析仪(7020, Hitachi High-Tech Crop, Japan)测定血浆中的葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、游离脂肪酸、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、总蛋白和胆汁酸的含量。

1.3.3 背最长肌脂肪酸组成测定 取2 g肌肉样品于试管中,加入氯仿-甲醇混合溶液2 mL,再加入 $8.3\text{ mol}\cdot\text{mL}^{-1}$ 盐酸1 mL,混匀后于 $70\sim 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴中水解40 min。每隔10 min振荡1次试管,水解完成后再次振荡试管,使管壁上黏附的颗粒物脱落。取出试管冷却至室温,在装有水解提取物的试管中加入 $20\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 氢氧化钠溶液1 mL,在 $65\sim 80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min;迅速冷却后加入 $140\sim 150\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 三氯化硼甲醇溶液2 mL, $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴30 min;迅速冷却至室温后加饱和氯化钠溶液2 mL,然后加入正己烷2 mL,振荡2 min,静置分层;吸取上层正己烷提取液经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 滤膜过滤,滤液为脂肪酸甲酯,于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存供气相色谱分析。吸取滤液495 μL ,再加入5 μL $1\text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的内标溶液装入进样瓶备用,最后进行气相色谱分析。

1.3.4 背最长肌脂肪和胆固醇含量测定 为了测定样品中的粗脂肪含量,需要进行如下步骤:首先,将滤纸切成正方形并称重(称重值为 a),再取一定量的肌肉样品,放入滤纸中,将其封口后在 $70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥至恒重(称重值为 b)。将装有样品的滤纸包放入萃取筒中,加入无水乙醚,恒温 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 浸泡抽取约2 h。待乙醚点滴检查无油迹后取出滤纸包,回收乙醚。然后,将滤纸包放入 $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 的烘箱中干燥至恒重(称重值为 c)。最后,根据公式 $(b-c)/(b-a)\times 100\%$ 计算样品的粗脂肪含量。该方法基于脂肪易溶于乙醚的原理,通过测量提取前后滤纸包的质量差,确定样品中的粗脂肪含量。背最长肌胆固醇含量测定按照试剂盒(总胆固醇检测试剂盒, A111-1-1, 南京建成生物工程研究所)说明书操作。

1.3.5 脂代谢基因表达水平检测 1)总RNA的提取:称取50 mg背最长肌样本于无菌2 mL EP管中,加入1 mL TRIzol试剂。匀浆3 min后,室温下静置15 min。加入200 μL 氯仿,振荡60 s,室温下静置10 min。 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,吸取约500 μL 上层无色水相于无菌1.5 mL EP管中,向上述离心管加入等量的预冷异丙醇,充分混匀后于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜。 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、 $12\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20 min,弃上清液,保留EP管底部白色乳胶状沉淀,使用含75%乙醇的DEPC水洗涤3次,每次7 000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,洗涤5 min。最后一次洗涤后尽量将乙醇吸出,RNA沉淀干燥约5~10 min,加入适量的DEPC水,置于 $55\sim 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min,使RNA溶解,即可得到RNA原液。使用Nanodrop ND-1000测定总RNA浓度后,将RNA浓度统一至 $500\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$,将其保存在 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中以备检测。2)反转录:第一步,取2 μL $500\text{ ng}\cdot\mu\text{L}^{-1}$ RNA,加入1 μL $20\times$ gDNA Remover MIX和13 μL 无RNA酶的 H_2O 混匀, $42\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应2 min,去除RNA样品中的gDNA污染;第二步,将第一步的反应产物中加入4 μL $5\times$ ABScript III RT MIX试剂,混匀,在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应2 min; $55\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应15 min; $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ 反应5 min,得到反转录产物cDNA。将cDNA用DEPC处理过的水稀释10~20倍待测。3)引物设计:通过在NCBI网站上的GenBank数据库找到相关基因的mRNA序列,用Primer Premier 5.0软件设计引物。引物序列如表2所示。4)实时荧光相对定量PCR(qPCR)反应体系(10 μL):1 μL 模板cDNA,上、下游引物各0.2 μL ,5 μL $2\times$ Universal SYBR Green Fast qPCR Mix(ABclonal RK21203),用3.6 μL

的高压三蒸水补齐体系。混匀后于 QuantStudio Real-time PCR 仪中进行反应。反应程序:95 ℃, 5 min 预变性;95 ℃, 10 s 变性;60 ℃, 30 s 变性退火延伸, 循环 30~40 次。使用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算基因 mRNA 表达水平。

表 2 目的基因的引物对序列

Table 2 Primer pairs sequences of the target genes

基因 Gene	基因序列号 GenBank ID	引物对序列 Primer pairs sequences(5'→3')
FADS1	NM_001113041.1	GTCAGCTGCCTGGCTCATTCT/AGGTGGTTCCACGTAGAGGT
FADS2	NM_001171750.1	TGCAGGGAAGATGCTACGG/AGTTCCTGGTGCCATCCTGG
FASN	NM_001099930.1	CTGCTGGACTCGCTCTTTGA/CTTTGCCTATGTGCTTGCCC
ACC	AF175308.1	CGGAATATCCAGAAGGCCGA/CCAGTCCGATTCTTGCTCCA
SCD	NM_213781.1	TTCCCAAAGCCTGTCGTC/GTGAAGCCCTCACCCACAG

注:FADS1:脂肪酸去饱和酶1基因 Fatty acid desaturase 1 gene;FADS2:脂肪酸去饱和酶2基因 Fatty acid desaturase 2 gene;FASN:脂肪酸合酶基因 Fatty acid synthase gene;ACC:乙酰辅酶a 羧化酶基因 Acetyl-CoA carboxylase gene;SCD:硬脂酰辅酶a 去饱和酶基因 Stearoyl-CoA desaturase gene.

1.3.6 结肠内容物微生物高通量测序 使用 MN NucleoSpin 96 Soil 试剂盒提取结肠内容物细菌总 DNA, 然后进行扩增和纯化, 再取样进行上机测序(百迈客生物科技有限公司负责测序)。将原始数据拼接后得到的序列进行质量过滤, 移除嵌合体, 得到高质量的 Tags 序列。对 Tags 序列进行聚类。在相似性 97% 的水平上过滤操作分类单元(OTU), 使用 RDP Classifier 对 OTU 进行物种注释。最后, 使用数据库对物种注释结果进行分类分析, 包括界(kingdom)、门(phylum)、纲(class)、目(order)、科(family)、属(genus)和种(species)等分类水平, 并统计各样本的群落组成。

1.4 数据处理与统计分析

本试验数据结果均以平均值±标准误($\bar{x}\pm SE$)表示, 数据分析及绘图分别使用 SPSS 26.0 和 GraphPad Prism 9.0 软件。组间差异显著性使用单因素方差分析(one-way analysis of variance, one-way ANOVA)和 *t* 检验(Student's *t*-test)进行 0.05 水平上的分析($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪生长性能的影响

从表 3 可看出, 相较于 CON 组, ALA 组猪平均终末重、日增重、日采食量均未见显著差异。ALA 组料重比降低 7.7%, 无显著差异($P>0.05$)。

表 3 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪生长性能的影响

Table 3 The effect of α -linolenic acid(ALA) supplementation on the growth performance of fattening pigs

指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group	指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group
平均初始重/kg Average initial weight	72.0±3.3	70.1±2.2	平均日采食量/(kg·d ⁻¹) Average daily feed intake	3.11±0.07	3.28±0.05
平均终末重/kg Average final weight	107.3±1.9	111.9±2.1	料重比/% Feed-to-gain ratio	3.62±0.39	3.34±0.15
平均日增重/(kg·d ⁻¹) Average daily gain	0.86±0.11	1.02±0.04			

Note: CON; Control; ALA; α -linolenic acid. The same below.

2.2 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪血液生化指标的影响

从表 4 可看出, 与 CON 组相比, ALA 显著降低了血液中总胆固醇和游离脂肪酸含量($P<0.05$), 但对血液葡萄糖、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、总蛋白和胆汁酸含量无显著影响($P>0.05$)。

表 4 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪血液生化指标的影响

Table 4 The effect of α -linolenic acid supplementation on the blood biochemical index of fattening pigs

指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group	指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group
葡萄糖含量/(mmol·L ⁻¹) Glucose content	6.93±0.30	6.32±0.20	高密度脂蛋白胆固醇含量/(mmol·L ⁻¹) HDL-C content	1.26±0.05	1.12±0.17
总胆固醇含量/(mmol·L ⁻¹) Total cholesterol content	2.09±0.18	1.43±0.16*	低密度脂蛋白胆固醇含量/(mmol·L ⁻¹) LDL-C content	1.43±0.05	1.50±0.11
甘油三酯含量/(mmol·L ⁻¹) Triglyceride content	0.63±0.03	0.63±0.06	总蛋白含量/(g·L ⁻¹) Total protein content	74.75±2.39	82.70±2.90
游离脂肪酸含量/(mmol·L ⁻¹) Free fatty acid content	1.10±0.07	0.83±0.06*	胆汁酸含量/(μ mol·L ⁻¹) Bile acid content	15.26±3.89	15.74±2.90

Note: HDL-C; High-density lipoprotein cholesterol; LDL-C; Low-density lipoprotein cholesterol. * $P<0.05$. The same as follows.

2.3 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肉品质的影响

从表 5 可见,肉色亮度值、红度值、黄度值、24 h 滴水损失在 CON 组和 ALA 组间无显著差异($P>0.05$)。

表 5 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肉品质的影响

Table 5 The effect of α -linolenic acid supplementation on the meat quality of fattening pigs

指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group	指标 Index	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group
亮度值(L^*) Lightness value	41.63±0.65	40.62±1.61	黄度值(b^*) Yellowness value	5.49±0.59	5.52±0.48
红度值(a^*) Redness value	6.49±0.77	6.49±0.58	滴水损失(24 h) Drip loss(24 h)	7.22±0.78	7.43±0.89

2.4 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪背最长肌脂肪酸组成的影响

从表 6 可看出,与 CON 组相比,ALA 组猪背最长肌中 C11:0、C14:0 含量显著降低($P<0.05$),C18:3n-3 (ALA)、C20:5n-3(DPA)含量显著升高($P<0.05$),n-3 PUFA 总含量也显著升高($P<0.05$),同时总饱和脂肪酸(TSFA)含量和 n-6 PUFA/n-3 PUFA 的比值显著降低($P<0.05$)。

表 6 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪背最长肌脂肪酸组成和含量的影响

Table 6 The effect of α -linolenic acid supplementation on the fatty acid composition and content of the *longissimus dorsi* muscle of fattening pigs

脂肪酸 Fatty acids	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group	脂肪酸 Fatty acids	对照组 CON group	α -亚麻酸组 ALA group
C10:0	0.12±0.013	0.10±0.012	C20:0	0.12±0.007	0.15±0.012
C11:0	0.72±0.150	0.22±0.036*	C18:3n-6	0.33±0.058	0.43±0.070
C12:0	0.17±0.012	0.10±0.006*	C20:1	0.24±0.027	0.14±0.024*
C14:0	0.02±0.002	0.01±0.002*	C20:4n-6	9.35±0.640	7.93±0.170
C16:0	25.68±0.890	24.64±0.680	C18:3n-3	2.64±0.510	4.96±0.420*
C16:1n-7	1.39±0.082	1.16±0.110	C20:5n-3	1.38±0.110	3.69±0.290*
C17:0	0.20±0.014	0.20±0.013	C22:6n-3	0.28±0.052	0.31±0.029
C17:1n-7	1.40±0.041	1.47±0.086	n-3 PUFA	4.29±0.520	8.96±0.680*
C18:0	15.46±0.490	13.01±0.230	n-6 PUFA	32.24±1.610	34.76±1.480
C18:1n-9	15.32±1.120	13.17±0.880	n-6/n-3	8.58±1.930	4.01±0.370*
C18:2n-6	22.56±1.160	26.40±1.430	TSFA	44.04±0.940	39.15±0.750*

注:PUFA:多不饱和脂肪酸 Polyunsaturated fatty acid;TSFA:总饱和脂肪酸 Total saturated fatty acid.

2.5 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪背最长肌脂代谢的影响

从图 1 可以看出:与 CON 组相比,ALA 组猪背最长肌中脂肪含量无显著差异($P>0.05$);胆固醇含量有下降趋势($0.05<P<0.1$)。相较于 CON 组,ALA 组猪背最长肌中脂肪酸合成相关基因 *FADS1* 和 *FADS2* mRNA 表达水平均显著增加(图 1-C, $P<0.05$)。

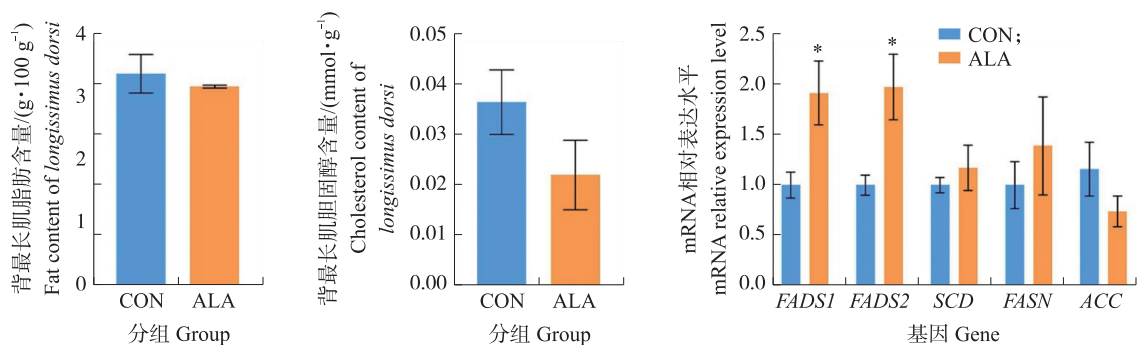


图 1 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪背最长肌脂代谢的影响

Fig. 1 Effects of dietary α -linolenic acid supplementation on the lipid metabolism of the *longissimus dorsi* in fattening pigs

2.6 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肠道菌群丰富度和多样性的影响

如图 2-A 所示,与 CON 组相比,ALA 组猪结肠内容物菌群的 Chao1 和 ACE 指数均显著降低($P<0.05$),而 Shannon 和 Simpson 指数没有显著差异。主成分分析结果(图 2-B)显示,CON 组和 ALA 组间样本差异显著。

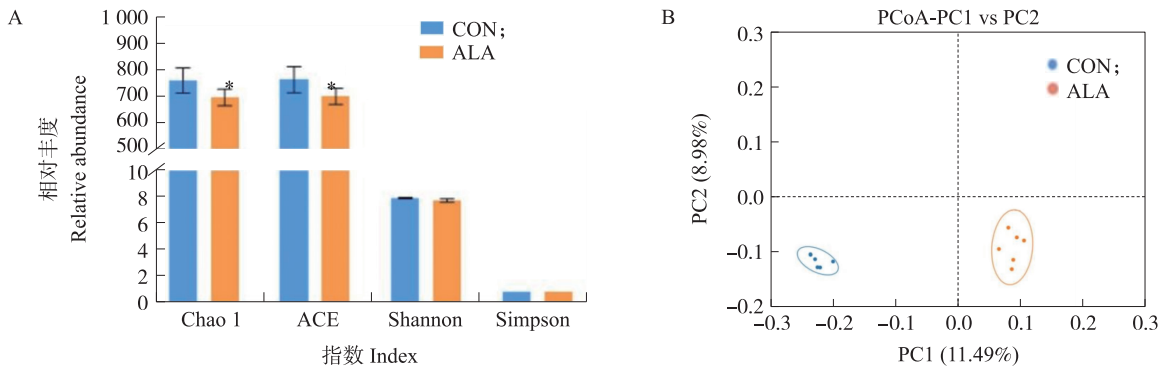


图 2 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肠道菌群 α 多样性(A) 和主成分分析(B) 的影响

Fig. 2 Effects of dietary α -linolenic acid supplementation on the alpha diversity(A) and PCoA(B) of intestinal microbiota in fattening pigs

2.7 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肠道菌群组成及其相对丰度的影响

由 Venn 图(图 3-A)可知:CON 组和 ALA 组共有 OTU 778 个,CON 组特有 OTU 1 594 个,ALA 组特有 OTU 1 269 个。将结肠内容物中相对丰度大于 1% 的门定义为优势菌门,2 组的优势菌门为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidota)、脱硫菌门(Desulfobacterota)、变形菌门(Proteobacteria)。如图 3-B 所示:在门水平上,与 CON 组相比,ALA 组肠道菌群中厚壁菌门(Firmicutes)丰度显著升高($P < 0.05$),而拟杆菌门(Bacteroidota)、脱硫菌门(Desulfobacterota)的丰度显著降低($P < 0.05$)。

根据每组中 OTU 注释及丰度情况,选取丰度排名前 30 的科绘制方差分析柱状图。如图 3-C 所示:与

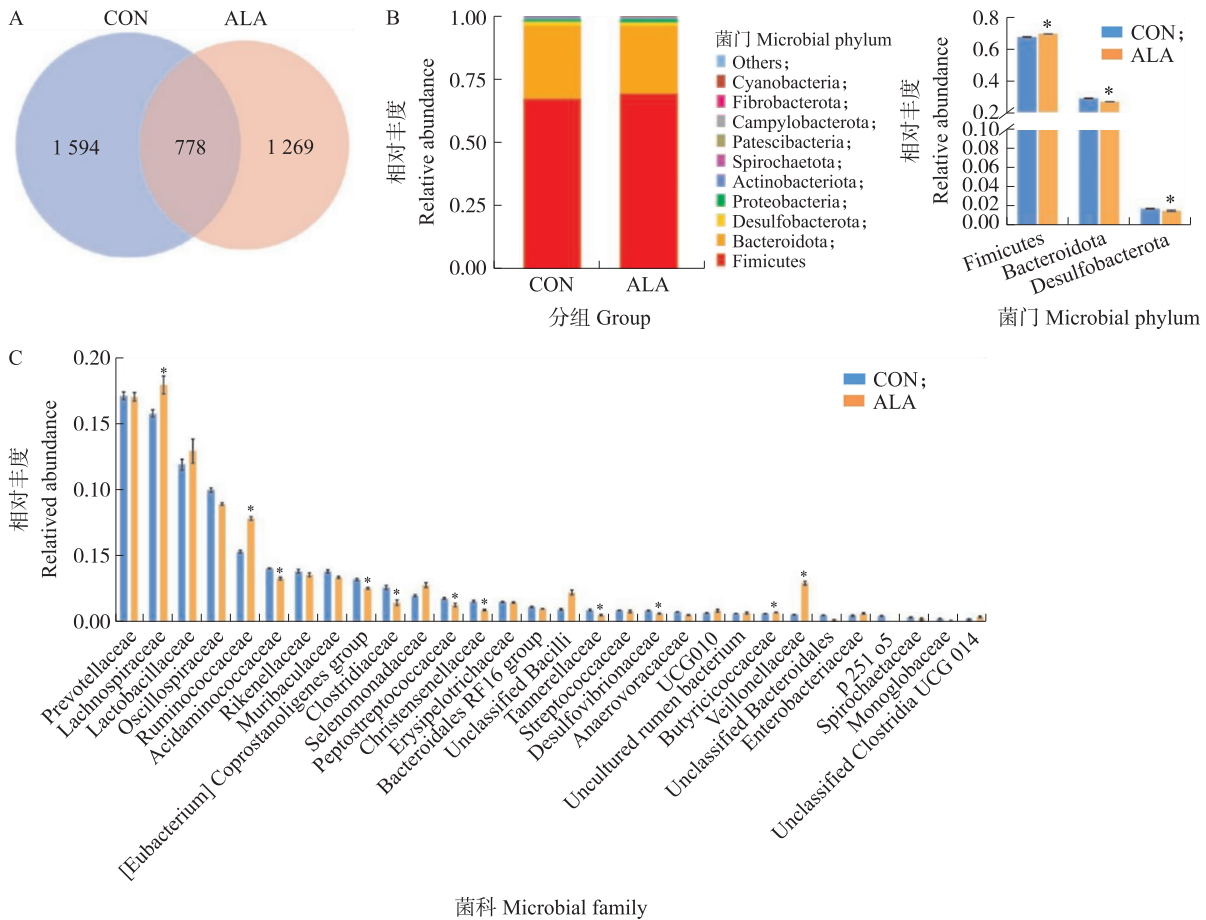


图 3 日粮添加 α -亚麻酸对育肥猪肠道菌群组成及其相对丰度的影响

Fig. 3 Effects of α -linolenic acid supplementation in the diet on the composition and relative abundance of intestinal microbiota in fattening pigs

A. 基于 OTU 的韦恩图 Venn graph based on OUT; B. 门水平微生物组成柱形图 Microbial composition bar chart of the phylum level; C. 科水平微生物组成柱形图 Microbial composition bar chart of the family level.

CON组相比,ALA组中瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)、毛螺菌科(Lachnospiraceae)、韦荣氏菌科(Veillonellaceae)、丁酸球菌科(Butyricocccaceae)的丰度均显著增加($P < 0.05$),而氨基酸球菌科(Acidaminococcaceae)、产粪甾醇真细菌科(Eubacterium coprostanoligenes)、脱硫弧菌(Desulfovibrionaceae)、消化链球菌科(Peptostreptococcaceae)、坦纳菌科(Tannerellaceae)、梭状芽胞杆菌科(Clostridiaceae)和克里斯滕森菌科(Christensenellaceae)的丰度均显著降低($P < 0.05$)。

3 讨论

随着多不饱和脂肪酸越来越受到人们的关注,在畜牧行业中富含多不饱和脂肪酸的饲料添加剂也逐渐被应用。但是多不饱和脂肪酸对猪的生长性能和肉质等的研究目前还相对较少。有研究显示 α -亚麻酸有改善育肥猪生长性能的作用;Nguyen等^[15]试验发现,日粮添加 α -亚麻酸显著提高了生长猪的日增重,也一定程度上改善了其他生长性能指标;添加 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的多不饱和脂肪酸能提高断奶仔猪的生产水平,包括提高仔猪的日均采食量和日均增重、降低料肉比^[16]。因此,本试验采用 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的 α -亚麻酸探究其对育肥猪生长性能和肉质等的影响。在本试验中,相较于CON组,ALA组虽然在平均终末重、日增重、日采食量以及料重比上均未见显著差异,但料重比降低7.7%,具有一定经济效益。本试验结果表明,相较于CON组,ALA组在肉色、滴水损失上均未见显著差异。

猪肉中脂肪酸组成直接影响猪肉品质,对猪肉的风味、营养价值也有着重要影响^[17]。研究显示日粮中的脂肪可直接在猪脂肪组织中沉积,因此可以通过调整饲料中的脂肪酸组成来改善猪肉中的脂肪酸组成。多不饱和脂肪酸尤其是n-6和n-3 PUFA是动物机体必需脂肪酸,在促进畜禽健康生长等方面起重要作用。有研究显示n-3 PUFA和n-6 PUFA的比值在一定程度上能提高黄河鲤幼鱼的增重率^[18]。在本试验中, α -亚麻酸显著降低了肌肉中SFA含量,且增加了ALA、DHA等n-3 PUFA含量,肌肉中n-6 PUFA和n-3 PUFA的比值也显著降低。这与先前的报道一致,先前的研究表明饲料中添加亚麻酸可显著提高猪肉中ALA、EPA以及n-3 PUFA的含量,并显著降低猪肉中n-6 PUFA/n-3 PUFA比值,给猪喂食亚麻籽油也可显著增加肌肉、背最长肌和心脏脂质中亚麻酸和长链n-3脂肪酸的相对含量,花生四烯酸含量则显著减少^[19]。此外,由于n-6 PUFA和n-3 PUFA在合成过程所需的酶是相同的,故n-6 PUFA和n-3 PUFA之间存在竞争性关系^[20]。而饲喂 α -亚麻酸可使肌肉中ALA更有效与亚麻酸(LA)竞争,从而产生更多的n-3 PUFA。本试验结果表明,ALA显著促进了背最长肌脂肪酸合成基因FADS1和FADS2的表达,这也进一步提示ALA可能通过影响脂代谢调控肌肉中脂肪酸的合成。

肠道菌群是动物体内最复杂、庞大的微生态系统,在膳食和宿主之间起到了重要的桥梁作用。动物机体表型与肠道微生物组成息息相关,猪肠道微生物与猪在育肥期的脂肪沉积密切相关^[21-22]。厚壁菌门和拟杆菌门是育肥猪肠道中最主要的2个细菌门。在猪的研究中发现,脂肪沉积较多的地方品种猪的肠道菌群多样性更丰富^[23],且厚壁菌门的相对丰度较高^[24]。在人和小鼠的试验中也发现,肥胖增加了厚壁菌门的丰度^[25],说明厚壁菌门的丰度可能与动物机体脂质代谢相关。本试验通过16S rRNA测序检测饲喂 α -亚麻酸后育肥猪结肠菌群的变化,探究 α -亚麻酸对育肥猪肠道菌群组成的影响。结果表明,相较于CON组,ALA组肠道菌群结构发生了显著的变化。在门水平上,ALA组厚壁菌门丰度显著升高,而拟杆菌门、脱硫菌门的丰度显著降低。而在科水平上,ALA组中瘤胃球菌科、毛螺菌科、韦荣氏菌科、丁酸球菌科的丰度均显著增加,而氨基酸球菌科、产粪甾醇真细菌科、脱硫弧菌、消化链球菌科、坦纳菌科、梭状芽胞杆菌科和克里斯滕森菌科的丰度均显著降低。肠道菌群对碳水化合物的代谢是向宿主提供营养和能量的关键过程。在厚壁菌门中,毛螺菌科有水解淀粉和其他糖以产生丁酸盐和其他短链脂肪酸的能力^[26]。瘤胃球菌也能通过分解宿主消化系统的纤维素来获取营养,也能够发酵葡萄糖和木糖^[27-28]。韦荣氏菌科和丁酸球菌科同样是动物肠道中较为常见的短链脂肪酸产生菌。短链脂肪酸主要生成部位在结肠,健康机体中SCFA浓度最高的部位是近端结肠,肠道内的SCFA除了作为结肠细胞的主要能量来源外,还有促进电解质和营养物质的摄取和吸收、改善肠道健康等功能^[29-30]。本试验中,ALA组是否通过改善肠道菌群改变肌肉中脂肪酸组成有待进一步研究。

综上,日粮添加 $5\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ α -亚麻酸可在一定程度上降低育肥猪料重比,增加猪肉中n-3 PUFA含量,显著降低肌肉中n-6 PUFA/n-3 PUFA比值。同时, α -亚麻酸促进育肥猪肠道微生物的多样性,增加厚壁菌门的丰度,促进了短链脂肪酸产生菌的增殖。

参考文献 References:

- [1] Teye G A, Sheard P R, Whittington F M, et al. Influence of dietary oils and protein level on pork quality. 1. Effects on muscle fatty acid composition, carcass, meat and eating quality[J]. *Meat Science*, 2006, 73(1): 157-165.
- [2] Zhang Y F, Zhang J J, Gong H F, et al. Genetic correlation of fatty acid composition with growth, carcass, fat deposition and meat quality traits based on GWAS data in six pig populations[J]. *Meat Science*, 2019, 150: 47-55.
- [3] Yi W Z, Huang Q X, Wang Y Z, et al. Lipo-nutritional quality of pork: the lipid composition, regulation, and molecular mechanisms of fatty acid deposition[J]. *Animal Nutrition*, 2023, 13: 373-385.
- [4] Ma X Y, Jiang Z Y, Lai C Q. Significance of increasing n-3 PUFA content in pork on human health[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2016, 56(5): 858-870.
- [5] Melaku M, Zhong R Q, Han H, et al. Butyric and citric acids and their salts in poultry nutrition: effects on gut health and intestinal microbiota[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2021, 22(19): 10392.
- [6] Yosi F, Sharma S, Sener-Aydemir A, et al. Short-chain fatty acids promote jejunal barrier function and caecal muscle contractility in laying hens *ex vivo*[J]. *British Poultry Science*, 2022, 63(3): 406-413.
- [7] Chen W, Jiang Y Y, Wang J P, et al. Effect of flaxseed on the fatty acid profile of egg yolk and antioxidant status of their neonatal offspring in Huoyan geese[J]. *Animal*, 2015, 9(11): 1749-1755.
- [8] Koppenol A, Delezie E, Aerts J, et al. Effect of the ratio of dietary n-3 fatty acids eicosapentaenoic acid and docosahexaenoic acid on broiler breeder performance, egg quality, and yolk fatty acid composition at different breeder ages[J]. *Poultry Science*, 2014, 93(3): 564-573.
- [9] Kim J, Ahn M, Choi Y, et al. Alpha-linolenic acid alleviates dextran sulfate sodium-induced ulcerative colitis in mice[J]. *Inflammation*, 2020, 43(5): 1876-1883.
- [10] Pan A, Chen M, Chowdhury R, et al. α -linolenic acid and risk of cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2012, 96(6): 1262-1273.
- [11] Sun W, Sun J, Li M, et al. The effects of dietary sodium butyrate supplementation on the growth performance, carcass traits and intestinal microbiota of growing-finishing pigs[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2020, 128(6): 1613-1623.
- [12] 梁丽丽, 代小, 双金. α -亚麻酸对围生期母猪生产性能的影响[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2018(20): 159-161.
Liang L L, Dai X, Shuang J. Effect of α -linolenic acid on performance of perinatal sows[J]. *Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine*, 2018(20): 159-161 (in Chinese).
- [13] 杨柠蔚. 亚麻籽对生长育肥猪抗氧化性能及肉品质的影响[J]. *中国饲料*, 2022(4): 49-52.
Yang N W. Effects of flaxseed on anti-oxidation capacity and meat quality of growing-finishing pigs[J]. *China Feed*, 2022(4): 49-52 (in Chinese).
- [14] 蔡传江, 车向荣, 赵克斌, 等. 亚麻油对育肥猪生产性能及猪肉脂肪酸组成的影响[J]. *中国畜牧杂志*, 2010, 46(9): 46-48.
Cai C J, Che X R, Zhao K B, et al. Effects of linseed oil on performance and fatty acid composition of finishing pigs[J]. *Chinese Journal of Animal Science*, 2010, 46(9): 46-48 (in Chinese).
- [15] Nguyen L Q, Everts H, Beynen A C. Influence of dietary linseed, fish and coconut oil on growth performance of growing pigs kept on small holdings in central Vietnam[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2004, 88(5/6): 204-210.
- [16] 李凤梅, 黄海澄, 覃军. 日粮中添加多不饱和脂肪酸对断奶仔猪生长性能及免疫力的影响[J]. *当代畜牧*, 2017(15): 21-23.
Li F M, Huang H C, Qin J. Effects of dietary polyunsaturated fatty acids on growth performance and immunity of weaned piglets[J]. *Contemporary Animal Husbandry*, 2017(15): 21-23 (in Chinese).
- [17] 辛建增, 唐婷, 刘盛. PGC- α 调控畜禽肌肉脂肪生长代谢及其与肉品质研究进展[J]. *畜牧与兽医*, 2024, 56(5): 138-145.
Xin J Z, Tang T, Liu S. Progress in research on relationship between regulation of peroxisome proliferator-activated receptor γ -coactivator-1 α on growth and metabolism of muscle and fat and meat quality in livestock and poultry[J]. *Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2024, 56(5): 138-145 (in Chinese with English abstract).
- [18] 庞小磊, 田雪, 王良炎, 等. 饲料中 n-3/n-6 多不饱和脂肪酸水平对黄河鲤鱼生长性能及生长相关基因 mRNA 表达的影响[J]. *水产学报*, 2019, 43(2): 492-504.
Pang X L, Tian X, Wang L Y, et al. Effects of dietary n-3/n-6 polyunsaturated fatty acids ratio on growth performance and growth-related genes mRNA expression in common carp (*Cyprinus carpio haematopterus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(2): 492-504 (in Chinese with English abstract).
- [19] Haak L, De Smet S, Fremaut D, et al. Fatty acid profile and oxidative stability of pork as influenced by duration and time of dietary linseed or fish oil supplementation[J]. *Journal of Animal Science*, 2008, 86(6): 1418-1425.
- [20] Ahn D U, Lutz S, Sim J S. Effects of dietary α -linolenic acid on the fatty acid composition, storage stability and sensory characteristics of pork loin[J]. *Meat Science*, 1996, 43(3/4): 291-299.
- [21] 李宗凯, 陆扬, 刘家俊, 等. 益生菌对生长育肥猪生长性能、肉品质和结肠菌群的影响[J]. *南京农业大学学报*, 2020, 43(3): 523-528. DOI:10.7685/jnau.201906052.
Li Z K, Lu Y, Liu J J, et al. Effects of probiotics on the growth performance, meat quality and colonic microflora of growing and finishing pigs[J].

- Journal of Nanjing Agricultural University, 2020, 43(3): 523-528 (in Chinese with English abstract).
- [22] 吕存, 孙玉亭, 胡传炯, 等. 合生元对保育猪生长性能、粪样菌群结构和短链脂肪酸含量的影响[J]. 南京农业大学学报, 2019, 42(4): 721-728. DOI: 10.7685/jnau.201809007.
- Lü C, Sun Y T, Hu C J, et al. Effects of synbiotics on the growth performance, microbial community and concentrations of short chain fatty acids in feces of nursery pigs[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2019, 42(4): 721-728 (in Chinese with English abstract).
- [23] Bergamaschi M, Tiezzi F, Howard J, et al. Gut microbiome composition differences among breeds impact feed efficiency in swine [J]. Microbiome, 2020, 8(1): 110.
- [24] Guo X, Xia X, Tang R, et al. Development of a real-time PCR method for Firmicutes and Bacteroidetes in faeces and its application to quantify intestinal population of obese and lean pigs[J]. Letters in Applied Microbiology, 2008, 47(5): 367-373.
- [25] Gérard P. Gut microbiota and obesity[J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 2016, 73(1): 147-162.
- [26] MacFarlane S, MacFarlane G T. Regulation of short-chain fatty acid production[J]. The Proceedings of the Nutrition Society, 2003, 62(1): 67-72.
- [27] Louis P, Flint H J. Formation of propionate and butyrate by the human colonic microbiota[J]. Environmental Microbiology, 2017, 19(1): 29-41.
- [28] Crost E H, Coletto E, Bell A, et al. *Ruminococcus gnavus*: friend or foe for human health[J]. FEMS Microbiology Reviews, 2023, 47(2): fuad014.
- [29] O'Riordan K J, Collins M K, Moloney G M, et al. Short chain fatty acids: microbial metabolites for gut-brain axis signalling[J]. Molecular and Cellular Endocrinology, 2022, 546: 111572.
- [30] Markowiak-Kopeć P, Śliżewska K. The effect of probiotics on the production of short-chain fatty acids by human intestinal microbiome[J]. Nutrients, 2020, 12(4): 1107.

责任编辑: 周广礼