

中草药添加剂对后备母猪生长性能、发情率、血清指标和肠道微生物的影响

李琳倩 张云龙 刘日亮 段文辉 郑卫江* 姚文

(南京农业大学动物科技学院,南京农业大学消化道微生物实验室,江苏省消化道营养与动物健康重点实验室,南京 210095)

摘要: 本试验旨在研究中草药添加剂对后备母猪生长性能、发情率、血清指标和肠道微生物的影响。试验选取体况相近的 185 日龄后备母猪 60 头,随机分为对照组和中草药组(基础饲料+0.1%中草药添加剂),均为单栏饲养,每组 30 个重复,进行为期 40 d 的试验。试验期间记录每头猪的体重、背膘厚及发情状况。预饲 5 d,饲喂基础饲料,于分组饲喂第 28~30 天采集粪样,测定表观消化率和微生物菌群结构;于分组饲喂第 31 天采集血清,测定血清生化指标和游离氨基酸含量。结果表明:1)与对照组相比,中草药添加剂显著提高了后备母猪的发情率,粗脂肪、粗灰分、粗蛋白质和总能的表现消化率,以及血清中葡萄糖、赖氨酸、蛋氨酸和甘氨酸的含量($P < 0.05$)。2)与对照组相比,中草药添加剂显著提高了粪球菌属 2 (*Coprococcus* 2)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和普雷沃氏菌科 UCG-004 (*Prevotellaceae* UCG-004) 等有益菌的相对丰度 ($P < 0.05$),显著降低了普雷沃氏菌属 2 (*Prevotella* 2) 和反刍真杆菌群 (*Eubacterium* ruminantium group) 等有害菌的相对丰度 ($P < 0.05$)。综上,中草药添加剂通过调节肠道菌群结构和代谢生成有利于后备母猪健康的活性物质,提高后备母猪的发情率,促进其对营养物质的消化吸收,对机体产生有利影响。

关键词: 中草药添加剂;后备母猪;肠道微生物;生长性能;发情率;血清指标

中图分类号:S828

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)06-2586-15

近年来,随着集约化养猪生产的发展,不少规模化猪场出现后备母猪发情率较低、淘汰率偏高的现象,给养殖场造成了巨大的经济损失^[1]。这主要是因为养殖场对后备母猪的饲养管理趋同于育肥猪,不能满足其特殊的营养需求,再加上集约化的养殖模式使母猪长期处于应激状态,最终加剧了母猪的繁殖障碍。针对这一问题,除了保证后备母猪个体所需的营养物质外,选择合理的饲料添加剂作为调控补充是必不可少的。

中草药添加剂是以天然中草药的药性、药味及物质间阴阳关系的传统理论^[2]为核心,以现代

动物营养与饲养学理论为指导,研制出的单一或复合型纯天然饲料添加剂。近年来,中草药作为一种新兴的绿色添加剂,因其天然性、毒副作用小、无抗药性和多功能性等优点受到越来越多的关注。已有研究表明,中草药制剂具有提高畜禽生长和繁殖性能^[3]、增强免疫力^[4]、促进肠道发育^[5-6]和调节肠道菌群结构^[7-8]等作用。其中,肠道菌群与中草药的相互作用可能在中草药的益生作用中发挥了重要作用^[9]。近期研究提示,中草药不仅可被肠道菌群代谢产生直接对机体有影响的活性物质^[10],还可通过调节肠道菌群的组成间

收稿日期:2019-12-15

基金项目:江苏现代农业(生猪)产业技术体系营养调控岗位项目(SXGC[2019]430);2018年度镇江市“1+1+N”新型农业技术推广项目-抗生素替代品(中草药制剂)对母猪繁殖性能的影响试验及推广(ZJNJ[2018]02)

作者简介:李琳倩(1993—),女,山西汾阳人,硕士研究生,研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 15895883006@163.com

*通信作者:郑卫江,副教授,E-mail: zhengweijiang@njau.edu.cn

接改善机体状况^[11]。目前,有关中草药的研究主要集中在人和小鼠身上,在畜禽生产尤其是后备母猪生产上的研究较少。因此,本试验拟研究中草药添加剂对后备母猪生长性能、发情率、血清指标和肠道微生物的影响,探讨其与肠道微生物的作用机制,为中草药在养猪生产上的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与设计

试验选取体重为(105.00±5.00) kg的(185±

5)日龄未发情后备母猪60头,按照体重相近原则分为对照组和试验组,均为单栏饲喂,每组30个重复。试验期40 d,其中预饲5 d,分组饲喂35 d。对照组饲喂基础饲料,试验组在基础饲料中按照产品推荐加入0.1%的中草药添加剂。中草药添加剂主要组成、含量及炮制方法见表1。该中草药添加剂为混合粉剂,其中的中药材经处理后,均需粉碎过24目筛[筛孔内径为(850±29) μm]。中草药添加剂中包含的药材均产自安徽省亳州市。

表1 中草药添加剂主要组成、含量及炮制方法

Table 1 Composition, content and processing methods of compound Chinese herbal medicine

组成 Composition	含量 Content/%	主要成分含量 Content of main ingredients	炮制方法 Processing methods
女贞子 <i>Ligustrum lucidum</i> Ait	90.00	特女贞苷(C ₃₁ H ₄₂ O ₁₇)>0.70%	取净女贞子,加黄酒拌匀,置适宜的容器内,密闭,隔水加热或用蒸汽加热至黄酒吸尽或蒸透,取出,干燥
甘草 <i>Glycyrrhiza uralensis</i> Fisch	7.50	甘草苷(C ₂₁ H ₂₂ O ₉)>0.50%, 甘草酸(C ₄₂ H ₆₂ O ₁₆)>2.00%	取原药材,除去杂质,洗净,润透,带皮或刮去皮,切厚片,干燥
益母草 <i>Leonurus ja ponicus</i> Houtt	1.00	盐酸水苏碱(C ₇ H ₁₃ NO ₂ ·HCl)>0.50%, 盐酸益母草碱(C ₁₄ H ₂₁ O ₅ N ₃ ·HCl)>0.05%	取原药材,除去杂质,迅速洗净,润透,切段,干燥
当归 <i>Angelica sinensis</i> (Oliv.) Diels	1.00	阿魏酸(C ₁₀ H ₁₀ O ₄)>0.05%	取当归片,加入定量黄酒拌匀,稍闷润,待酒被吸尽后,置炒制容器内,用文火加热,炒至深黄色,取出,晾凉
菟丝子 <i>Cuscuta chinensis</i> Lam	0.50	金丝桃苷(C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂)>0.10%	取净菟丝子,置炒制容器内,用文火加热,炒至微黄色,有爆裂声取出晾凉
合计 Total	100.00		

1.2 饲养管理

动物试验于2018年6月18日在江苏省连云港市立华下车种猪场开展,于2018年7月31日结束。基础饲料组成及营养水平见表2。对照组和试验组饲料氨基酸组成见表3。后备母猪饲料每日每头限饲3.0 kg(每天在07:00和15:30分别饲喂1.5 kg饲料),自由饮水。

1.3 样品采集

1.3.1 粪便和饲料采集

在分组饲喂第28~30天,连续3 d收集每头母猪的粪样,每天07:00和15:30母猪进食后收集母猪粪便进行混合,然后再将连续3 d收集的粪便进行混合,混合均匀后取300 g左右粪样放入自

封袋,然后每100 g粪样加10%的盐酸10 mL进行固氮。在分组饲喂第30天,采集每头母猪的未污染的新鲜粪便样品于高压灭菌的冻存管中,用于微生物菌群的测定。粪便样均保存于-20℃备用。采集的饲料样品,保存于-4℃备用。

1.3.2 血液采集

在分组饲喂第31天,采集每头后备母猪前腔静脉血10 mL,静置10 min,3 500 r/min离心10 min,分离血清,保存于-20℃备用。

1.4 指标测定

1.4.1 生产性能测定

在试验开始和试验结束时分别测量后备母猪的体重,并使用背膘仪(Lean meater-No. 31564,

Renco,美国)测定 P2 点背膘厚度。根据试验前后体重和背膘厚数据,计算平均日增重(ADG)和背膘厚差值。

表 2 基础饲料组成及营养水平(饲喂基础)

Table 2 Composition and nutrient levels of the basal diet (as-fed basis) %

项目 Items	含量 Content
组成 Ingredients	
玉米 Corn	33.60
大麦 Barley	20.00
米糠粕 Rice bran meal	14.34
豆油 Soybean oil	1.80
豆皮 Soybean hull	11.00
豆粕 Soybean meal	15.00
花生粕 Peanut meal	0.70
石粉 Limestone	1.04
磷酸氢钙 CaHPO_4	1.19
氯化胆碱 Choline chloride	0.15
酶制剂 Enzyme preparation	0.05
食盐 NaCl	0.45
L-赖氨酸 L-Lys	0.08
防霉剂 Antimildew agent	0.05
预混料 Premix ¹⁾	0.55
合计 Total	100.00
营养成分 Nutrient levels ²⁾	
消化能 DE/(MJ/kg)	3.10
粗蛋白质 CP	15.50
粗脂肪 EE	3.95
粗纤维 CF	6.51
粗灰分 Ash	6.39
钙 Ca	0.70
总磷 TP	0.70

1) 预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following per kg of the diet: VA 16 000 IU, VD 4 000 IU, VE 10 IU, VK 2 mg, VB₁ 0.8 mg, VB₂ 6.4 mg, VB₆ 2.4 mg, VB₁₂ 0.012 mg, 烟酸 nicotinic acid 14 mg, 泛酸 pantothenic acid 10 mg, 叶酸 folacin 0.2 mg, Fe 162 mg, Cu 13.5 mg, Zn 162 mg, Mn 54 mg, Se 0.4 mg, I 0.55 mg。

2) 消化能为计算值,其余为实测值。DE was a calculated value, while the others were measured values.

1.4.2 发情率测定

每天早晚 2 次检查母猪发情状况,母猪外阴出现红肿,并有稀薄黏液流出记为发情第 1 天。试验结束后,持续跟踪试验猪群,记录后续发情状况至该批次未发情猪只全部淘汰(2018 年 10 月 30 日),计算发情率。

发情率(%) = 100 × 发情母猪头数 / 可繁母猪头数。

1.4.3 营养物质表观消化率测定

每组随机选取 6 头发情母猪,6 头未发情母猪,测定其表观消化率。将采集好的粪样于 65 ℃ 烘箱中烘干至恒重,将烘干样进行粉碎,过 40 目筛,保存于自封袋中备用。按照《饲料分析及饲料质量检测技术》(第 3 版)分别测定饲料和粪样中的粗蛋白质(CP)、粗灰分(Ash)、粗脂肪(EE)、粗纤维(CF)、钙(Ca)和总磷(TP)含量和总能(GE)。采用 4 mol/L 盐酸不溶灰分(AIA)作为内源指示剂测定表观消化率。AIA 含量按照 GB/T 23742—2009 中的灼烧法进行测定。根据上述测定的各项营养物质含量,计算其表观消化率。

某营养物质表观消化率(%) = 100 × [1 - (饲料中 AIA 含量 / 粪中 AIA 含量) × (粪中该营养物质含量 / 饲料中该营养物质含量)]。

1.4.4 血清生化指标测定

用全自动生化分析仪(Hitachi-7020, Hitachi, 日本)检测血清中总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、球蛋白(GLOB)、尿素氮(UN)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)和葡萄糖(GLU)含量,试剂盒均购自迈克生物股份有限公司。

1.4.5 血清游离氨基酸含量测定

各组随机选取 3 头发情母猪、3 头未发情母猪,每头猪采集 0.5 mL 血清,加入 1 mL 8% 的磺基水杨酸涡旋混匀 30 s,然后 4 ℃、12 000 r/min 离心 20 min,上清液用孔径为 0.22 μL 的过滤器过滤后,用全自动氨基酸分析仪(Hitachi L-8900, Hitachi, 日本)测定其中游离氨基酸含量。

1.4.6 粪样菌群结构分析

各组随机选取 10 头母猪的粪便样品进行 DNA 提取。每组有 5 头发情母猪和 5 头未发情母猪。粪便 DNA 提取具体操作如下:称取 0.3 g 左右后备母猪粪便样品, DNA 提取使用 QIAamp® fast DNA stool mini kit (Cat. No. 51604, Qiagen, 德国)。所有操作步骤均按照试剂盒说明书进行。

提取的 DNA 样品用分光光度计(Nano-drop-2000, Nano-Drop Technologies, 美国)测定浓度后,利用 PCR 仪(GeneAmp®-9700 型, ABI, 美国)扩增粪样微生物 16S rRNA 基因的 V4~V5 区域。扩增片段的测序工作由上海凌恩生物科技有限公司按照标准流程运用 Illumina MiSeq 平台完成。测序完成后根据 Li 等^[12]的方法,将不含样品信息的

序列、过短或过长的序列、含有过多 homologous 碱基及出现 ambiguous 碱基的序列去除。在 97% 的相似度水平上对非重复序列进行操作分类单元 (OTU) 归类操作。利用稀疏曲线评价样品的覆盖

率和取样深度;使用 alpha 多样性指数进行多样性分析;利用加权的主坐标分析 (PCoA), 分析样本间的差异性。

表 3 饲料氨基酸组成 (饲喂基础)

Table 3 Amino acid composition in diets (as-fed basis)

mg/kg

项目 Items	对照组 Control group	中草药组 Chinese herbal medicine group
必需氨基酸 EAA		
精氨酸 Arg	9 844.25	9 854.09
组氨酸 His	4 040.48	4 101.08
异亮氨酸 Ile	6 387.90	6 490.10
亮氨酸 Leu	12 421.23	12 557.86
赖氨酸 Lys	9 070.04	9 347.29
蛋氨酸 Met	1 984.52	2 046.12
苯丙氨酸 Phe	7 821.23	7 832.18
苏氨酸 Thr	6 042.46	6 121.01
缬氨酸 Val	7 359.33	7 368.16
总必需氨基酸 Total EAA	64 971.43	65 717.90
非必需氨基酸 NEAA		
丙氨酸 Ala	7 819.64	7 897.84
天冬氨酸 Asp	14 784.33	14 932.17
半胱氨酸 Cys	719.84	728.48
谷氨酸 Glu	27 684.13	28 044.02
甘氨酸 Gly	6 876.19	7 082.48
脯氨酸 Pro	8 245.44	8 327.89
丝氨酸 Ser	7 372.02	7 408.88
酪氨酸 Tyr	4 315.28	4 328.22
总非必需氨基酸 Total NEAA	77 816.87	78 749.98
总氨基酸 Total AA	142 788.29	144 467.88

1.5 数据处理

在分析前先分析数据是否符合正态分布,符合正态分布的数据再进行 t 检验或单因素方差分析,不符合正态分布的数据使用非参数检验中的 Mann-Whitney U 或 Kruskal-Wallis 检验。发情率使用卡方检验。微生物多样性分析使用双因素方差分析。表观消化率、血清指标、游离氨基酸含量和菌群结构的相关性运用 Karl-Pearson 做相关性分析。使用 Tukey 检验进行多重比较, $P < 0.05$ 认为存在显著差异。数据分析过程使用 SPSS 22.0 软件。PCoA 使用 Rversion 3.5.3 软件。

2 结果与分析

2.1 中草药添加剂对后备母猪生长性能和发情率的影响

由表 4 可知,对照组和中草药组的后备母猪初体重、末体重和平均日增重无显著差异 ($P > 0.05$)。对照组和中草药组的后备母猪初背膘厚、末背膘厚和背膘厚差值无显著差异 ($P > 0.05$)。中草药组的总发情率显著高于对照组 ($P < 0.05$)。

2.2 中草药添加剂对后备母猪营养物质表观消化率的影响

由表 5 可知,与对照组相比,中草药组总能、粗蛋白质、粗脂肪和粗灰分表观消化率均显著增加 ($P < 0.05$),粗纤维、钙和总磷表观消化率无显著变化 ($P > 0.05$)。

表 4 中草药添加剂对后备母猪生长性能和发情率的影响

Table 4 Effects of compound Chinese herbal medicine on growth performance and estrus rate of replacement gilts ($n=30$)

项目 Items	对照组 Control group	中草药组 Chinese herbal medicine group	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
初体重 IBW/kg	105.93±7.81	107.26±8.25	0.531
末体重 FBW/kg	137.53±10.53	138.24±9.59	0.789
平均日增重 ADG/(kg/d)	0.88±0.18	0.86±0.15	0.709
初背膘厚 Initial backfat thickness/mm	10.13±1.62	9.84±1.60	0.515
末背膘厚 Final backfat thickness/mm	12.71±2.43	12.48±2.47	0.722
背膘厚差值 Backfat thickness change/mm	2.59±1.47	2.64±1.52	0.903
总发情率 Total estrus rate/%	46.67 ^b	73.33 ^a	0.035

同行数据肩标不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下表同。

In the same row, values with different letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$). The same as below.

表 5 中草药添加剂对后备母猪营养物质表观消化率的影响

Table 5 Effects of compound Chinese herbal medicine on nutrient apparent digestibility of replacement gilts ($n=12$)

项目 Items	对照组 Control group	中草药组 Chinese herbal medicine group	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value	%
总能 GE	86.67±1.95 ^b	88.20±0.78 ^a	0.025	
粗蛋白质 CP	78.48±4.92 ^b	81.96±2.63 ^a	0.046	
粗脂肪 EE	80.02±3.38 ^b	83.61±2.53 ^a	0.007	
粗纤维 CF	44.23±8.39	47.98±5.71	0.214	
粗灰分 Ash	49.83±5.19 ^b	54.00±3.08 ^a	0.026	
钙 Ca	47.33±6.05	50.24±3.84	0.174	
磷 TP	44.53±7.25	46.41±3.89	0.439	

2.3 中草药添加剂对后备母猪血清生化指标的影响

清 GLU 含量显著提高 ($P<0.05$), 而 TP、ALB、GLOB、UN、TC 和 TG 含量无显著差异 ($P>0.05$)。

由表 6 可知, 与对照组相比, 中草药组的血

表 6 中草药添加剂对后备母猪血清生化指标的影响

Table 6 Effects of compound Chinese herbal medicine on serum biochemical indices of replacement gilts ($n=30$)

项目 Items	对照组 Control group	中草药组 Chinese herbal medicine group	<i>P</i> 值 <i>P</i> -value
总蛋白 TP/(g/L)	61.69±12.15	66.20±18.63	0.272
白蛋白 ALB/(g/L)	35.67±7.13	38.39±10.31	0.240
球蛋白 GLOB/(g/L)	27.16±9.89	29.26±10.24	0.421
尿素氮 UN/(mmol/L)	4.38±0.81	4.70±1.10	0.206
总胆固醇 TC/(mmol/L)	2.08±0.46	2.32±0.67	0.104
甘油三酯 TG/(mmol/L)	0.96±0.45	0.97±0.16	0.906
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	5.20±1.03 ^b	6.12±1.29 ^a	0.004

2.4 中草药添加剂对后备母猪血清游离氨基酸含量的影响

离氨基酸中的赖氨酸、蛋氨酸和甘氨酸含量均显著增加($P<0.05$),其他氨基酸含量未见显著差异($P>0.05$)。

由表7可知,与对照组相比,中草药组血清游

表7 中草药添加剂对后备母猪血清游离氨基酸含量的影响

Table 7 Effects of compound Chinese herbal medicine on serum free amino acid contents of replacement gilts ($n=6$)

项目 Items	contents of replacement gilts ($n=6$)		$\mu\text{mol/L}$ P 值 P -value
	对照组 Control group	中草药组 Chinese herbal medicine group	
必需氨基酸 EAA			
精氨酸 Arg	444.50±60.88	429.00±79.58	0.713
组氨酸 His	160.00±26.54	158.40±24.48	0.916
异亮氨酸 Ile	208.50±28.06	198.00±32.26	0.561
亮氨酸 Leu	353.50±49.31	333.60±53.81	0.519
赖氨酸 Lys	441.50±68.95 ^b	582.60±99.87 ^a	0.017
蛋氨酸 Met	56.50±9.93 ^b	72.60±13.60 ^a	0.041
苯丙氨酸 Phe	156.50±21.83	164.40±30.68	0.618
苏氨酸 Thr	810.50±51.52	839.40±111.71	0.578
缬氨酸 Val	551.00±62.80	600.60±88.50	0.289
总必需氨基酸 Total EAA	3 182.50±336.18	3 378.60±508.29	0.449
非必需氨基酸 NEAA			
丙氨酸 Ala	648.00±66.00	682.80±76.66	0.419
天冬氨酸 Asp	80.50±19.85	75.60±7.91	0.593
半胱氨酸 Cys	6.50±1.22	6.60±1.20	0.699
谷氨酸 Glu	477.50±84.37	444.00±65.70	0.461
甘氨酸 Gly	1 159.00±158.31 ^b	1 499.40±168.36 ^a	0.005
脯氨酸 Pro	483.00±80.12	489.00±61.04	0.887
丝氨酸 Ser	211.50±42.92	253.80±37.59	0.099
酪氨酸 Tyr	179.50±27.98	176.40±25.55	0.845
总非必需氨基酸 Total NEAA	3 245.50±402.22	3 627.60±338.11	0.105
总氨基酸 Total AA	6 428.00±726.04	7 006.20±830.76	0.228

2.5 中草药添加剂对后备母猪粪样微生物多样性的影响

稀释曲线可反映微生物的多样性,趋于平坦时表明测序深度已渐进合理,能反映样本微生物的多样性^[13]。由稀疏曲线结果可得各样品中的微生物的稀疏曲线趋于平缓,说明取样合理,测序深度足以反映检测样品的菌群多样性(图1-A)。PCoA结果显示,中草药组和对照组微生物群相对丰度的聚类无法明显区分开,但观察不同组内发情个体和未发情个体可发现,中草药组未发情个体(HN)分布尤为集中,可以和其他3组区分开来,尤其是和对照组未发情个体(CN)(图1-B)。

以中草药添加剂与发情与否进行双因素方差分析可得(表8),与对照组相比,中草药添加剂对

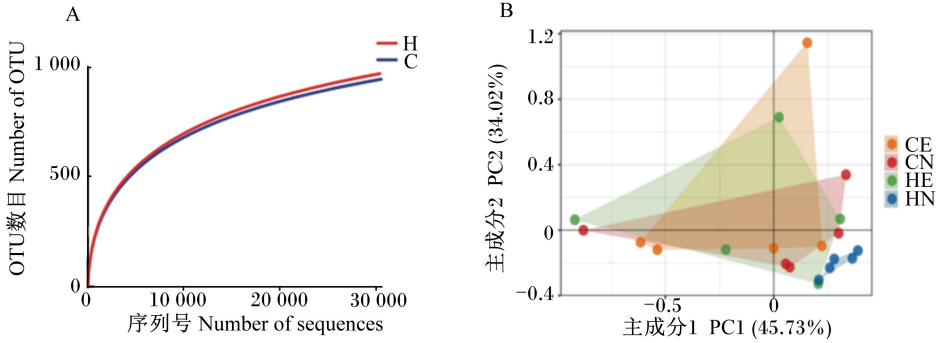
母猪粪便微生物的 OTU 数、ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数和 Simpson 指数均无显著影响($P>0.05$)。发情对 OTU 数、ACE 指数、Chao 指数和 Shannon 指数均无显著影响($P>0.05$),但对 Simpson 指数有提高的趋势($P=0.098$)。组别与发情与否之间在 OTU 数、ACE 指数、Chao 指数、Shannon 指数、Simpson 指数和 Chao 指数的交互作用均不显著($P>0.05$)。但在 Chao 指数上有一定趋势($P=0.067$)。

2.6 中草药添加剂对粪样微生物组成和结构的影响

图2表示后备母猪粪样门、科和属水平微生物菌群组成。在门水平上,拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)相对丰度较高,

螺旋菌门 (Spirochaetae)、变形菌门 (Proteobacteria) 次之(图 2-A)。拟杆菌门和厚壁菌门占据了后备母猪粪样微生物菌群的 80% 以上。在拟杆菌门中,有 9 个科和 14 个属相对丰度大于 1%,为优势菌群(图 2-B,图 2-D);在厚壁菌门中,有 5 个科和 14 个属的相对丰度大于 1%,为优势菌群(图 2-C,图 2-E)。与对照组相比,中草药对后备

母猪粪样菌群门水平的相对丰度无显著影响 ($P > 0.05$),但显著提高了拟杆菌门下拟杆菌科 (Bacteroidaceae) 的相对丰度 ($P < 0.05$),有提高拟杆菌门下理研菌科 (Rikenellaceae) 和 p-251-o5 相对丰度的趋势 ($P = 0.075$ 、 $P = 0.075$),对其他科无显著影响 ($P > 0.05$)。



A: H 表示中草药组, C 表示对照组, $n = 10$ 。B: HE 表示中草药组发情个体, HN 表示中草药组未发情个体, CE 表示对照组发情个体, CN 表示对照组未发情个体, $n = 5$ 。下图同。

A: H was Chinese herbal medicine group, C was control group, $n = 10$, respectively. B: HE was estrus individuals in the Chinese herbal medicine group, HN was unestrus individuals in the Chinese herbal medicine group, CE was estrus individuals in control group, and CN was unestrus individuals in control group, $n = 5$. The same as below.

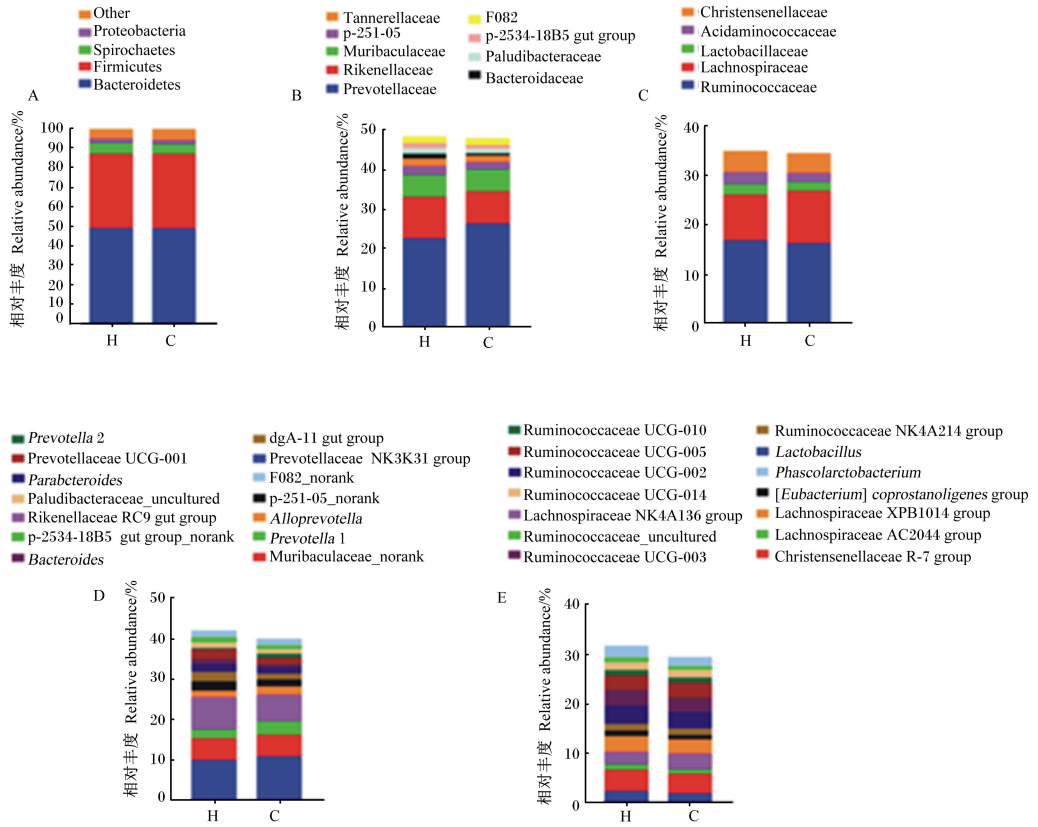
图 1 后备母猪粪便微生物菌群的稀疏曲线 (A) 和主坐标分析 (B) (基于 OUT 水平, 97% 相似水平)

Fig.1 Rarefaction curves (A) and principal co-ordinates analysis (PCoA) (B) of fecal microbiota of replacement gilts (based on OTU level, 97% similarity)

表 8 中草药添加剂和发情对后备母猪粪样微生物丰度和多样性的影响 (基于 OUT 水平, 97% 相似水平)

Table 8 Effects of compound Chinese herbal medicine and estrus on richness and diversity of fecal microbiota of replacement gilts (based on OTU level, 97% similarity)

项目 Items	对照组 Control group		中草药组 Chinese herbal medicine group		SEM	P 值 P-value		
	发情 Estrus	未发情 Unestrus	发情 Estrus	未发情 Unestrus		中草药 Chinese herbal medicine	发情 Estrus	中草药× 发情 Chinese herbal medicine× estrus
Reads	43 170.20	45 593.60	45 046.00	45 340.40	1 979.49	0.852	0.755	0.807
操作分类单位数 Number of OTUs	1 029.80	1 018.00	1 022.80	1 094.20	15.14	0.253	0.322	0.173
ACE 指数 ACE index	1 221.76	1 196.48	1 222.51	1 293.91	16.56	0.135	0.470	0.141
Chao 指数 Chao index	1 230.87	1 208.75	1 222.69	1 322.03	26.92	0.109	0.230	0.067
Shannon 指数 Shannon index	5.12	5.20	5.12	5.30	0.05	0.601	0.199	0.595
Simpson 指数 Simpson index	0.018	0.013	0.017	0.011	0.002	0.740	0.098	0.829

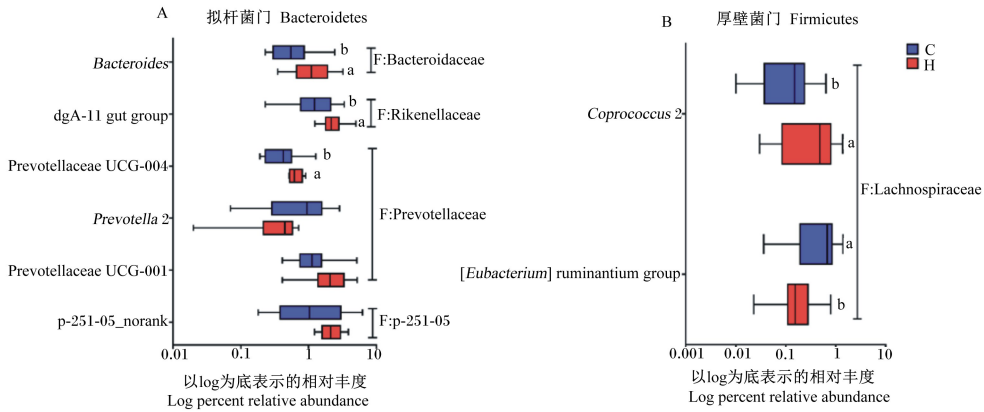


Other:其他; Bacteroidetes:拟杆菌门; Firmicutes:厚壁菌门; Spirochaetes:螺旋体菌门; Proteobacteria:变形杆菌门; p-2534-18B5 gut group:p-2534-18B5 肠道群; Prevotellaceae:普雷沃氏菌科; Rikenellaceae:理研菌科; Bacteroidaceae:拟杆菌科; Christensenellaceae:克里斯滕森菌科; Acidaminococcaceae:氨基酸球菌科; Lachnospiraceae:毛螺菌科; Lactobacillaceae:乳杆菌科; Ruminococcaceae:瘤胃菌科; Prevotella 2:普雷沃氏菌属 2; dgA-11 gut group:dgA-11 肠道群; Prevotellaceae UCG-001:普雷沃氏菌科 UCG-001; Prevotellaceae NK3B31 group:普雷沃氏菌科 NK3B31 群; Parabacteroides:副杆菌属; F082_norank:未知 F082 科; Paludibacteraceae_uncultured:未培养的 Paludibacteraceae; p-251-05_norank:未知的 p-251-05 科; Rikenellaceae RC9 gut group:理研菌科 RC9 肠道菌群; Alloprevotella:拟普雷沃氏菌属; p-2534-18B5 gut_group_norank:p-2534-18B5 未知肠道群; Prevotella 1:普雷沃氏菌属 1; Bacteroides:拟杆菌属; Muribaculaceae_norank:未知的 Muribaculaceae; Ruminococcaceae UCG-010:瘤胃球菌科 UCG-010; Ruminococcaceae NK4A214 group:瘤胃球菌科 NK4A214 群; Ruminococcaceae UCG-005:瘤胃球菌科 UCG-005; Lactobacillus:乳杆菌属; Ruminococcaceae UCG-002:瘤胃球菌科 UCG-002; Phascolarctobacterium:考拉杆菌属; Ruminococcaceae UCG-014:瘤胃球菌科 UCG-014; [Eubacterium] coprostanoligenes group:产粪甾醇优杆菌属群; Lachnospiraceae NK4A136 group:毛螺菌科 NK4A136 群; Lachnospiraceae XPB1014 group:毛螺菌科 XPB1014 群; Ruminococcaceae_uncultured:未培养的瘤胃球菌科; Lachnospiraceae AC2044 group:毛螺菌科 AC2044 群; Ruminococcaceae UCG-003:瘤胃球菌科 UCG-003; Christensenellaceae R-7 group:克里斯滕森菌科 R-7 群。

图 2 后备母猪粪样中优势菌门 (A)、拟杆菌门下的菌科 (B)、厚壁菌门下的菌科 (C)、拟杆菌门下的菌属 (D)、厚壁菌门下的菌属 (E) 微生物组成 (相对丰度>1%)

Fig.2 Dominant phyla (A), families of Bacteroidetes (B) and Firmicutes (C) and genera of Bacteroidetes (D) and Firmicutes (E) of fecal microbiota of replacement gilts (relative abundance>1%)

图3表示中草药添加剂对后备母猪粪样属水平微生物相对丰度(相对丰度>0.5%)的影响。如图3-A所示,在拟杆菌门中,与对照组相比,中草药添加剂显著提高了拟杆菌属(*Bacteroides*)、dgA-11肠道群(dgA-11 gut group)和普雷沃氏菌科UCG-004(Prevotellaceae UCG-004)的相对丰度($P<0.05$),有提高普雷沃氏菌科UCG-001(Prevotellaceae UCG-001)和p-251-o5_norank相对丰度



A表示拟杆菌门中的差异菌属;B表示厚壁菌门中的差异菌属。同一菌属标注不同小写字母,表示组间差异显著($P<0.05$)。A indicated differential genera of Bacteroidetes, B indicated differential genera of Firmicutes. In the same bacterial genus, different letter mean significant difference between groups ($P<0.05$).

Prevotellaceae UCG-001;普雷沃氏菌科 UGG-001;Prevotellaceae UCG-004;普雷沃氏菌科 UGG-004;Prevotella 2;普雷沃氏菌属 2;dgA-11 gut group;dgA-11 肠道群;*Bacteroides*;拟杆菌属;[*Eubacterium*] ruminantium group;反刍真杆菌群;*Coprococcus* 2;粪球菌属 2。

图3 中草药添加剂对后备母猪粪样属水平微生物相对丰度的影响

Fig.3 Effects of compound Chinese herbal medicine on relative abundance of genera in replacement gilts

表9为中草药添加剂对后备母猪粪样 OTU 水平微生物相对丰度的影响(相对丰度>0.1%)。与对照组相比,中草药添加剂显著提高了拟杆菌属、Muribaculaceae、Paludibacteraceae、普雷沃氏菌科UCG-004、dgA-11肠道群、理研菌科RC9肠道菌群(Rikenellaceae RC9 gut group)、副拟杆菌属(*Parabacteroides*)、克里斯滕森菌科R-7群(*Christensenellaceae* R-7 group)、瘤胃梭菌属6(*Ruminiclostridium* 6)、瘤胃球菌科(Ruminococcaceae)、盐单孢菌属(*Halomonas*)和密螺旋体属2(*Treponema* 2)相关OUT的相对丰度($P<0.05$),降低了普雷沃氏菌属2和反刍真杆菌群相关OUT的相对丰度($P<0.05$)。

2.7 后备母猪粪样差异 OTU 与营养物质表观消化率、血清生化指标及游离氨基酸含量差异产物相关性分析

图4为后备母猪粪样中差异 OTU 相对丰度与

的趋势($P=0.052$ 、 0.075),有降低普雷沃氏菌属2(*Prevotella* 2)相对丰度的趋势($P=0.052$);在厚壁菌门(图3-B),与对照组相比,中草药添加剂显著提高了粪球菌属2(*Coprococcus* 2)的相对丰度($P<0.05$),显著降低了反刍真杆菌群([*Eubacterium*] ruminantium group)的相对丰度($P<0.05$)。其他门中未见优势菌属的差异($P>0.05$)。

营养物质表观消化率、血清生化指标及游离氨基酸含量差异产物相关性分析结果。如图所示,粗脂肪表观消化率与拟杆菌属(OTU30)、普雷沃氏菌科UCG-004(OTU51)、dgA-11肠道群(OTU10、OTU45)、理研菌科RC9肠道群(OTU19、OTU54)、*Parabacteroides*(OTU52)、克里斯滕森菌科R-7群(OTU180)、瘤胃球菌科(OTU216、OTU154)和密螺旋体属2(OTU190)相对丰度呈显著正相关($P<0.05$),与反刍真杆菌群(OTU119)的相对丰度呈显著负相关($P<0.05$);粗灰分表观消化率与拟杆菌属(OTU30)、dgA-11肠道群(OTU10、OTU45)、副拟杆菌属(OTU52)、克里斯滕森菌科R-7群(OTU180)和密螺旋体属2(OTU190)的相对丰度呈显著正相关($P<0.05$);粗蛋白质表观消化率与拟杆菌属(OTU30)、Muribaculaceae(OTU181)、理研菌科RC9肠道菌群

(OTU54)、副拟杆菌属(OTU52)、克里斯滕森菌科 R-7 群(OTU180)、瘤胃球菌科(OTU154)和密螺旋体属 2(OTU190)的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$),与普雷沃菌属 2(OTU43)的相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$);总能表观消化率与 Muribaculaceae (OTU181)、Paludibacteraceae (OTU111)、dgA-11 肠道群(OTU45)、理研菌科 RC9 肠道菌群(OTU54)、瘤胃球菌科(OTU216、OTU154)和密螺旋体属 2(OTU190)的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$);血清 GLU 含量与 Muribaculaceae (OUT181、OTU208)、Paludibacteraceae (OTU111)、dgA-11 肠道群(OTU10、OTU45)、理研菌科 RC9 肠道菌群(OTU79、OTU54)、拟杆菌属(OTU180)、瘤胃球菌科(OTU216)和密螺旋体属 2(OTU190)的相对丰度呈显著正相关($P <$

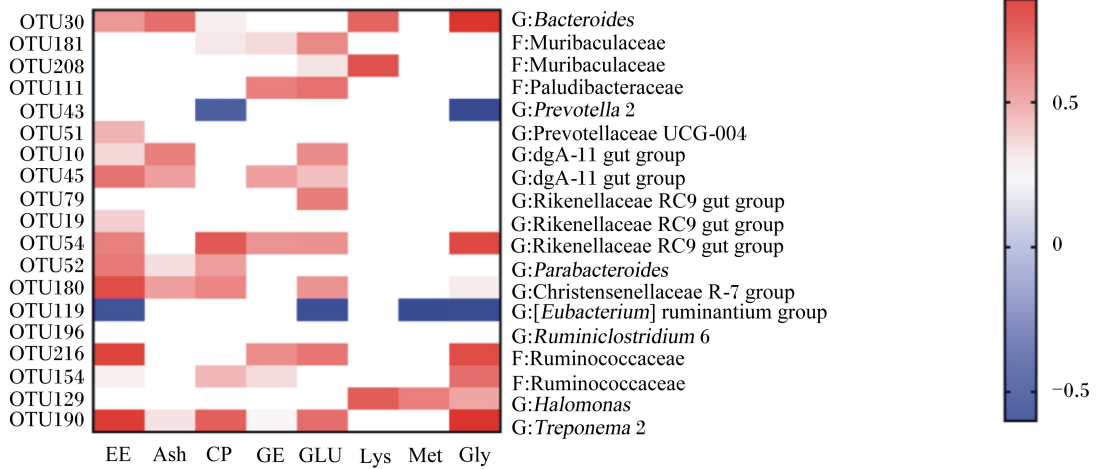
0.05),与反刍真杆菌群(OTU119)相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$);血清赖氨酸含量与拟杆菌属(OTU30)、Muribaculaceae (OTU208)和盐单孢菌属(OTU129)的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$);血清蛋氨酸含量与盐单孢菌属(OTU129)的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$),与反刍真杆菌群(OTU119)的相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$)。血清甘氨酸含量与拟杆菌属(OTU30)、理研菌科 RC9 肠道菌群(OTU54)、拟杆菌属(OTU180)、瘤胃球菌科(OTU216、OTU154)、盐单孢菌属(OTU129)和密螺旋体属 2(OTU190)的相对丰度呈显著正相关($P < 0.05$),与反刍真杆菌群(OTU119)和普雷沃菌属 2(OTU43)的相对丰度呈显著负相关($P < 0.05$)。

表 9 中草药添加剂对后备母猪粪样 OTU 水平微生物相对丰度的影响

Table 9 Effects of compound Chinese herbal medicine on relative abundance of OTUs in fecal microbiota of replacement gilts

OUT 序号 OUT ID	中草药组 Chinese herbal medicine group	对照组 Control group	SEM	P 值 P-value	属或科 Genera or families
OTU30	0.90 ^a	0.45 ^b	0.13	0.029	G; <i>Bacteroides</i>
OTU181	0.15 ^a	0.06 ^b	0.02	0.001	F; Muribaculaceae
OTU208	0.13 ^a	0.04 ^b	0.02	0.019	F; Muribaculaceae
OTU111	0.31 ^a	0.15 ^b	0.03	0.035	F; Paludibacteraceae
OTU43	0.33 ^b	0.87 ^a	0.13	0.035	G; <i>Prevotella</i> 2
OTU51	0.57 ^a	0.39 ^b	0.06	0.015	G; Prevotellaceae UCG-004
OTU10	1.72 ^a	1.06 ^b	0.18	0.035	G; dgA-11 gut group
OTU45	0.64 ^a	0.40 ^b	0.06	0.035	G; dgA-11 gut group
OTU79	0.37 ^a	0.23 ^b	0.03	0.019	G; Rikenellaceae RC9 gut group
OTU19	1.24 ^a	0.70 ^b	0.12	0.029	G; Rikenellaceae RC9 gut group
OTU54	0.61 ^a	0.29 ^b	0.10	0.043	G; Rikenellaceae RC9 gut group
OTU52	0.61 ^a	0.34 ^b	0.07	0.015	G; <i>Parabacteroides</i>
OTU180	0.14 ^a	0.06 ^b	0.02	0.005	G; Christensenellaceae R-7 group
OTU119	0.09 ^b	0.35 ^a	0.05	0.019	G; [<i>Eubacterium</i>] ruminantium group
OTU196	0.11 ^a	0.07 ^b	0.02	0.043	G; <i>Ruminiclostridium</i> 6
OTU216	0.14 ^a	0.00 ^b	0.05	0.019	F; Ruminococcaceae
OTU154	0.16 ^a	0.10 ^b	0.01	0.043	F; Ruminococcaceae
OTU129	0.30 ^a	0.00 ^b	0.14	0.011	G; <i>Halomonas</i>
OTU190	0.16 ^a	0.02 ^b	0.04	0.019	G; <i>Treponema</i> 2

Bacteroides:拟杆菌属;Prevotellaceae UCG-004:普雷沃氏菌科 UCG-001;dgA-11 gut group:dgA-11 肠道群;Rikenellaceae RC9 gut group:理研菌科 RC9 肠道菌群;*Parabacteroides*:副拟杆菌属;Christensenellaceae R-7 group:克里斯滕森菌科 R-7 群;*Ruminiclostridium* 6:瘤胃梭菌属 6;Ruminococcaceae:瘤胃球菌科;*Halomonas*:盐单孢菌属;*Treponema* 2:密螺旋体属 2;*Prevotella* 2:普雷沃菌属 2;[*Eubacterium*] ruminantium group:反刍真杆菌群。下图同 The same as below。



EE:粗脂肪表观消化率 ether extract apparent digestibility ;Ash: 粗灰分表观消化率 ash apparent digestibility; CP:粗蛋白质表观消化率 crude protein apparent digestibility; GE:总能表观消化率 gross energy apparent digestibility; GLU:葡萄糖含量 glucose content; Lys:赖氨酸含量 Lys content; Met:蛋氨酸含量 Met content; Gly:甘氨酸含量 Gly content。

颜色根据皮尔逊系数而定,红色代表显著正相关 ($P<0.05$),蓝色代表显著负相关 ($P<0.05$),白色代表无显著性相关 ($P>0.05$)。The color was according to the Pearson coefficient distribution, the red represented a positive correlation ($P<0.05$), the blue represented a negative correlation ($P<0.05$), and the white showed that the correlation was not significant ($P>0.05$)。The color was according to the Pearson coefficient distribution, the red represented a positive correlation ($P<0.05$), the blue represented a negative correlation ($P<0.05$), and the white showed that the correlation was not significant ($P>0.05$)。

图4 粪样微生物相对丰度(基于OTU水平)与表观消化率、血清生化指标及游离氨基酸含量差异产物相关性

Fig.4 Correlation analysis of relative abundance of fecal microbiota (based on OTU level) and nutrient apparent digestibility, serum biochemical indices and serum free amino acid contents

3 讨论

目前,不少规模化猪场存在后备母猪正常启动发情的比率较低,进入配种环节的淘汰率偏高的现象,这给猪场造成了很大的经济损失。由于后备母猪处在性成熟发育的关键阶段,对营养物质的要求也较为特殊,而高密度的集约化养殖,使得饲养管理相对粗放,后备母猪得不到有效的营养补充,造成中医上常讲的“气血双亏、脾肾阳虚”^[14]。本研究中的中草药添加剂是以源自《正体类要》的中药名方“八珍汤”为基础改良而成,含有当归、甘草、女贞子等中药。八珍汤是中医临床“气血双补”的代表方剂,其中的当归能补血活血、甘草能益气复脉,在造血、提高免疫力的方面都有较好的效果^[15]。本试验在八珍汤古方基础上改良添加的女贞子、益母草、菟丝子等也是我国传统的扶正固本药物。女贞子养阴平肝、除热补精,菟丝子补肾壮阳、固精安胎,益母草活血调经、清热解毒,均对后备母猪体况具有改善作用。

在为期40d的试验中,对照组和中草药组的后备母猪平均日增重和背膘厚差值均无显著差

异,表明中草药添加剂对后备母猪的体重和背膘厚无负面影响。虽然部分中草药适口性较差,但如甘草、当归等草药含有挥发油、多糖、单糖和脂多糖等物质,可以改善风味,加之本研究中所有母猪均限饲,所以中草药添加剂并没有对后备母猪的生长发育产生负面影响^[16],这与Liang等^[17]的研究结果一致。在本研究中,中草药添加剂还显著提高了后备母猪粗脂肪、粗蛋白质、粗灰分和总能表观消化率。这可能与中草药添加剂的当归、甘草等中药具有补脾和胃的功效有关。中草药中所含的生物碱、有机酸和脂肪酶等活性成分^[18]在一定程度上可以增加动物胃肠道消化液的分泌,并促进营养物质的消化吸收^[19]。李美发等^[20]研究结果也表明,在饲料中添加650 mg/kg的复方中草药(黄芪、黄连、大黄等)可显著提高育肥猪粗蛋白质表观消化率。虽然中草药添加剂显著提高了后备母猪对多种营养物质的消化率,但由于严格的限饲和后备母猪特殊的发育阶段,使得中草药组的体增重等生长性能没有显著提高,但也未造成负面影响。

在本研究中,中草药添加剂还显著提高了后

备母猪的发情率。沈小弘等^[21]研究发现,使用富含当归的中草药添加剂可以有效提高乏情母猪的发情率。这可能与八珍汤的补气补血作用相关。有研究发现,含有当归、甘草等改良后的八珍汤可以显著提高大鼠血清血管内皮生长因子含量,改善卵巢血供,促进卵巢发育^[22]。此外,本研究中中草药添加剂中的当归、女贞子等含有黄酮类成分,该成分具有类雌激素样作用。陈厚爱等^[23]研究发现,使用女贞子等补肾阴的中药可在小白鼠阴道黏膜上产生雌激素样作用,增多卵巢的大卵泡数,从而提高体内雌激素的水平。

中草药中还富含多种氨基酸,如女贞子中至少含有赖氨酸、蛋氨酸、甘氨酸等17种氨基酸^[24]。本试验中,中草药组的饲料中有多种氨基酸含量都高于对照组。研究发现,当饲料某种氨基酸含量增加,血清中相应的游离氨基酸含量也会显著上升^[25],这解释了中草药组血清游离赖氨酸、蛋氨酸和甘氨酸含量显著上升的原因。赖氨酸是猪玉米-豆粕型饲料的第一限制性氨基酸,对猪生长速度和饲料利用率有较大影响^[26]。而蛋氨酸是猪的第二限制性氨基酸,也是畜禽必需氨基酸中唯一的含硫氨基酸,在猪的生长性能、免疫功能、抗氧化等方面发挥着重要作用^[27]。甘氨酸虽然是非必需氨基酸,但有研究发现有时候动物体内甘氨酸的合成并不能满足机体需求^[28],其不足虽不会威胁到动物的生命,但长期的短缺可能会产生生长缓慢、免疫力下降等负面影响^[29-30]。

PCoA结果显示,2组间的微生物菌群存在一定的相似性,但是2个组别的未发情个体呈现出一定的差异,这表明中草药添加剂可能在未发情后备母猪上的作用更为明显。肠道微生物菌落重要特征是其丰度和多样性。Simpson指数和Chao指数可用于微生物菌群多样性和丰度的估计^[31]。发情对Simpson指数有提高的趋势,说明发情有降低后备母猪微生物菌群多样性的趋势。组别与发情与否之间的交互作用在Chao指数上有一定趋势。上述结果表明,该中草药添加剂有提高未发情后备母猪微生物菌群丰度的趋势。

肠道菌群结构的变化可通过多种途径影响宿主的健康^[32-33]。本研究的后备母猪与其他哺乳动物一样,肠道菌群主要由严格厌氧的厚壁菌门和拟杆菌门细菌组成^[34]。普雷沃菌属2的相对丰度与粗蛋白质表观消化率、血清游离甘氨酸含量,反

刍真杆菌群相对丰度与粗脂肪表观消化率、血清GLU、蛋氨酸、甘氨酸含量存在显著负相关。中草药添加剂显著降低了普雷沃菌属2和反刍真杆菌群相关OUT的相对丰度,显著增加了其他菌属OUT的相对丰度。这初步表明了肠道菌群结构与机体代谢之间的相互影响。有研究发现,在饲料中添加黄芪多糖等中草药提取物可有效降低仔猪肠道内的大肠杆菌数量,降低仔猪发病率^[35]。此外,普雷沃菌属也是临床上常见的一种条件致病菌,其含量的升高会破坏肠道黏膜,导致维持肠道微生态平衡的有益菌减少,进而引发炎症等病症。Scher等^[36]研究发现,断奶前腹泻仔猪粪便菌群普雷沃菌属的相对丰度显著高于断奶前健康仔猪。中草药添加剂可降低普雷沃菌属2和反刍真杆菌群的相对丰度,表明其可通过减少有害菌数量,进而促进后备母猪的消化吸收与肠道健康。

毛螺菌科是厚壁菌门下梭菌目中最重要优势菌群之一,其科内包括一个产丁酸的核心菌群,例如丁酸弧菌属和粪球菌属^[37]。本试验中,中草药添加剂显著提高了后备母猪粪样毛螺菌科中粪球菌属2的相对丰度。在OUT水平上,中草药添加剂也显著提高了梭菌目下的瘤胃球菌属和拟杆菌属等多个属的相对丰度。这些菌群可以将复杂多糖分解成乙酸、丁酸和丙酸等挥发性脂肪酸。这些产物可以调节肠腔pH,缓解由病原菌引起的肠道感染和炎症,对维持肠道健康有重要作用^[38]。这表明中草药添加剂可以提高产丁酸菌丰度,对肠道产生有益影响^[39]。

中草药中存在许多亲脂性差的极性化合物,生物利用度很低,如三萜糖苷和类黄酮糖苷^[40]。除糖苷水解酶外,肠道菌群还包含许多其他类型的酶(氧化酶、还原酶、酯酶等),可进行氧化、还原、酯水解、酯化和缩合等多种催化反应,在分解中草药中的三萜糖苷、类黄酮、生物碱和单宁酸等物质时具有重要的作用^[41]。拟杆菌属和普雷沃氏菌科下的菌属是拟杆菌门中重要的糖化菌,可以产生丰富的糖苷水解酶,将三萜糖苷等转化为极性较小且亲脂性更高的小分子,从而更好地被肠道吸收^[11]。普雷沃氏菌科和拟杆菌属还可代谢植物中的多糖产生琥珀酸盐,进而被考拉杆菌属所利用,间接代谢产生丁酸^[42]。除此之外,Hooper等^[43]研究发现,拟杆菌属等拟杆菌可促进与回肠脂类物质吸收有关的酶类mRNA表达。而普雷沃

氏菌科下的菌属还具有降解黏蛋白的能力^[44],对蛋白质的吸收有促进作用。中草药添加剂显著提高了拟杆菌属和普雷沃氏菌科 UCG-004 的相对丰度,有提高普雷沃氏菌科 UCG-001 相对丰度的趋势。这从一定程度上解释了这些菌属相对丰度与粗脂肪、粗蛋白质和总能表现消化率呈显著正相关性的原因。Backhed 等^[45]研究发现,对无菌鼠接种单一拟杆菌,可显著增加无菌鼠的体脂含量。王津^[46]也发现,消化吸收更多蛋白质的试验组母猪的普雷沃氏菌科相对丰度显著高于对照组。这也体现了中草药添加剂对猪肠道内有益菌的促进作用。于明等^[47]也在研究中证实了在断奶仔猪中添加 1.5% 的复方中药添加剂可调节其肠道微生物区系,使有益菌保持稳定状态,促进猪生长。

4 结论

综上,中草药添加剂有效促进了后备母猪对营养物质的消化吸收,显著提高其发情率,并抑制了肠道有害菌的相对丰度、促进了有益菌的相对丰度,调节了肠道菌群区系,从而改善了后备母猪体况。中草药添加剂也可能直接产生或间接通过肠道菌群代谢,生成有利机体健康的活性物质,对机体产生有利影响,但具体机制还需进一步研究。

参考文献:

[1] TUMMARUK P, TANTASUPARUK W, TECHAKUMPHU M, et al. Age, body weight and backfat thickness at first observed oestrus in crossbred Landrace×Yorkshire gilts, seasonal variations and their influence on subsequent reproductive performance[J]. *Animal Reproduction Science*, 2007, 99(1/2): 167-181.

[2] WANG R F, YUAN M, YANG X B, et al. Intestinal bacterial transformation—a nonnegligible part of Chinese medicine research[J]. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2013, 15(5): 532-549.

[3] 苗旭, 史兆国, 张玺, 等. 中草药饲料添加剂对畜禽繁殖性能影响的研究进展[J]. *中国草食动物科学*, 2020, 40(1): 42-48, 63.

[4] LIEN T F, HORNG Y M, WU C P. Feasibility of replacing antibiotic feed promoters with the Chinese traditional herbal medicine *Bazhen* in weaned piglets[J]. *Livestock Science*, 2007, 107(2/3): 97-102.

[5] COCKBURN D W, KOROPATKIN N M. Polysaccharide degradation by the intestinal microbiota and its in-

fluence on human health and disease[J]. *Journal of Molecular Biology*, 2016, 428(16): 3230-3252.

[6] SUN H, NI X Q, SONG X, et al. Fermented *Yuping-feng* polysaccharides enhance immunity by improving the foregut microflora and intestinal barrier in weaning rex rabbits[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2016, 100(18): 8105-8120.

[7] CHEN L, TAI W C S, BRAR M S, et al. Tumor grafting induces changes of gut microbiota in athymic nude mice in the presence and absence of medicinal *Gynostemma saponins* [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0126807.

[8] WANG J H, YE F Q, CHENG X R, et al. The effects of LW-AFC on intestinal microbiome in senescence-accelerated mouse prone 8 strain, a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Journal of Alzheimer's Disease*, 2016, 53(3): 907-919.

[9] CHEN F, WEN Q, JIANG J, et al. Could the gut microbiota reconcile the oral bioavailability conundrum of traditional herbs? [J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2016, 179: 253-264.

[10] EL KAOUTARI A, ARMOUGOM F, GORDON J I, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(7): 497-504.

[11] MARCIAL G, SENDKER J, BRANDT S, et al. Gastroprotection as an example: antiadhesion against *Helicobacter pylori*, anti-inflammatory and antioxidant activities of aqueous extracts from the aerial parts of *Lippia integrifolia* hieron[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2014, 155(2): 1125-1133.

[12] LI M R, JIN W, LI Y F, et al. Spatial dynamics of the bacterial community structure in the gastrointestinal tract of red kangaroo (*Macropus rufus*) [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 32(6): 98.

[13] CHEN H B, BOUTROS P C. Venn diagram: a package for the generation of highly-customizable Venn and Euler diagrams in R[J]. *BMC Bioinformatics*, 2011, 12: 35.

[14] 程观宝. “八珍汤”加减治疗经产母猪不发情[J]. *中兽医医药杂志*, 2000, 19(2): 30.

[15] 潘洪平. 八珍汤的药理研究和临床应用[J]. *中成药*, 2003, 25(11): 90-92.

[16] DU Z M, RISU N, GENTU G, et al. Growth performance, apparent digestibility, and N balance in Mongolian lambs and hogs fed diets supplemented with a

- Chinese traditional herbal medicine complex[J]. *Journal of Animal Science*, 2018, 89(10): 1451–1458.
- [17] LIANG X, JIN J, BI X, et al. Effects of Chinese herbal medicine and cold exposure on plasma glucose, leucine and energy metabolism in sheep[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2018, 102(2): e534–e541.
- [18] LIU C Y, WEN W, SHAO J, et al. Fast and comprehensive characterization of chemical ingredients in traditional Chinese herbal medicines by extractive atmospheric pressure photoionization (EAPPI) mass spectrometry[J]. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 2017, 31(18): 1491–1498.
- [19] QIAO G H, ZHOU X H, LI Y, et al. Effect of several supplemental Chinese herbs additives on rumen fermentation, antioxidant function and nutrient digestibility in sheep[J]. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 2012, 96(5): 930–938.
- [20] 李美发, 陈作栋, 梁欢, 等. 添加复方中草药对育肥猪生长性能、营养物质表观消化率和血液指标的影响[J]. *中国畜牧兽医*, 2019, 46(6): 1636–1643.
- [21] 沈小弘, 庄政, 陈茂. 中草药制剂对乏情母猪催情效果的观察[J]. *福建畜牧兽医*, 2002, 24(3): 51–52.
- [22] 刘琛, 杨玉彬, 李琼. 加味八珍汤颗粒对卵巢早衰大鼠的影响[J]. *中药材*, 2013, 36(9): 1508–1510.
- [23] 陈厚爱, 赵诗云, 李冶武, 等. 雷公藤多苷与女贞子配伍对大鼠生化指标的影响[J]. *四川中医*, 2010, 28(12): 60–62.
- [24] 张晓斌, 郜平光, 张笑瑞, 等. 女贞子营养成分分析[J]. *扬州大学学报(农业与生命科学版)*, 2011, 32(2): 86–88.
- [25] CORZO A, MCDANIEL C D, KIDD M T, et al. Impact of dietary amino acid concentration on growth, carcass yield, and uniformity of broilers[J]. *Australian Journal of Agricultural Research*, 2004, 55(11): 1133–1138.
- [26] YIN J, HAN H, LI Y, et al. Lysine restriction affects feed intake and amino acid metabolism via gut microbiome in piglets[J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 44(5): 1749–1761.
- [27] SHOVELLER A K, STOLL B, BALL R O, et al. Nutritional and functional importance of intestinal sulfur amino acid metabolism[J]. *The Journal of Nutrition*, 2005, 135(7): 1609–1612.
- [28] REZAEI R, WANG W W, WU Z L, et al. Biochemical and physiological bases for utilization of dietary amino acids by young pigs[J]. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 2013, 4: 7.
- [29] WU G Y. Functional amino acids in growth, reproduction, and health[J]. *Advances in Nutrition*, 2010, 1(1): 31–37.
- [30] ZHONG Z, WHEELER M D, LI X L, et al. *L*-glycine: a novel antiinflammatory, immunomodulatory, and cytoprotective agent[J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 2003, 6(2): 229–240.
- [31] CHAO A, MA M C, YANG M C K. Stopping rules and estimation for recapture debugging with unequal failure rates[J]. *Biometrika*, 1993, 80(1): 193–201.
- [32] KLÄRING K, JUST S, LAGKOUVARDOS I, et al. *Murimonas intestini* gen. nov., sp. nov., an acetate-producing bacterium of the family *Lachnospiraceae* isolated from the mouse gut[J]. *International Journal of Systematic And Evolutionary Microbiology*, 2015, 65(3): 870–878.
- [33] DANIEL H, GHOLAMI A M, BERRY D, et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice[J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(2): 295–308.
- [34] LI P H, NIU Q, WEI Q T, et al. Microbial shifts in the porcine distal gut in response to diets supplemented with *Enterococcus faecalis* as alternatives to antibiotics[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7: 41395.
- [35] 谢红兵, 邹云, 刘丽莉, 等. 植物多糖对断奶仔猪生长性能及肠道内环境的影响[J]. *动物营养学报*, 2018, 30(7): 2662–2671.
- [36] SCHER J U, SCZESNAK A, LONGMAN R S, et al. Expansion of intestinal *Prevotella copri* correlates with enhanced susceptibility to arthritis[J]. *Elife*, 2013, 2: e01202.
- [37] DUCK L W, WALTER M R, NOVAK J, et al. Isolation of flagellated bacteria implicated in Crohn's disease[J]. *Inflammatory Bowel Diseases*, 2007, 13(10): 1191–1201.
- [38] TAN J, MCKENZIE C, VUILLERMIN P J, et al. Dietary fiber and bacterial scfa enhance oral tolerance and protect against food allergy through diverse cellular pathways[J]. *Cell Reporter*, 2016, 15(12): 2809–2824.
- [39] ZHANG X, ZHAO Y F, ZHANG M H, et al. Structural changes of gut microbiota during berberine-mediated prevention of obesity and insulin resistance in high-fat diet-fed rats[J]. *PLoS One*, 2012, 7(8): e42529.
- [40] LIU J Y, LEE K F, SZE C W, et al. Intestinal absorption and bioavailability of traditional Chinese medicines: a review of recent experimental progress and implication for quality control[J]. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2013, 65(5): 621–633.
- [41] XU J, CHEN H B, LI S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2017, 37(5): 1140–1185.
- [42] MOROTOMI M, NAGAI F, SAKON H, et al. *Paraprevotella clara* gen. nov., sp. nov. and *Paraprevotella*

- xylaniphila* sp.nov., members of the family 'Prevotellaceae' isolated from human faeces [J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2009, 59(8):1895-1900.
- [43] HOOPER L V, WONG M H, THELIN A, et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine [J]. Science, 2001, 291(5505):881-884.
- [44] LIU H Y, IVARSSON E, DICKSVED J, et al. Inclusion of chicory (*Cichorium intybus* L.) in pigs' diets affects the intestinal microenvironment and the gut microbiota [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(12):4102-4109.
- [45] BACKHED F, LEY R E, SONNENBURG J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine [J]. Science, 2005, 307(5717):1915-1920.
- [46] 王津.宏基因组技术研究羊、鸡和猪胃肠道微生物菌群多样性[D].博士学位论文.天津:天津大学,2017.
- [47] 于明,程波,王景春,等.中草药复方制剂对断奶仔猪生长性能和肠道菌群的影响[J].养猪,2008(6):14-15.

Effects of Compound Chinese Herbal Medicine on Growth Performance, Estrus Rate, Serum Indices and Intestinal Microflora of Replacement Gilts

LI Linqian ZHANG Yunlong LIU Riliang DUAN Wenhui ZHENG Weijiang* YAO Wen
(Laboratory of Gastrointestinal Microbiology, Jiangsu Key Laboratory of Gastrointestinal Nutrition and Animal Health, College of Animal Science and Technology, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: The present study was aimed to evaluate the effects of compound Chinese herbal medicine on the growth performance, estrus rate, serum indices and intestinal microflora of replacement gilts. Sixty 185-day-old replacement gilts were randomly divided into two groups: control group and Chinese herbal medicine group (the basal diet with the addition of 0.1% compound Chinese herbal medicine), and the experimental period lasted for 40 days. All pigs were pre-fed for 5 days and fed basic diets. Body weight, backfat thickness and estrus were recorded; blood samples were collected from each pig on 31th day to detect serum biochemical indices and free amino acids contents; fecal samples were collected on the 28th to 30th day for nutrient apparent digestibility determination and analysis of microbial community. The results showed as follows: 1) compared with the control group, the Chinese herbal medicine significantly increased the estrus rate of the gilts ($P < 0.05$); significantly increased the apparent digestibility of ether extract, ash, crude protein and gross energy ($P < 0.05$); significantly increased the serum glucose, lysine, methionine and glycine contents ($P < 0.05$). 2) Compared with the control group, Chinese herbal medicine significantly increased the relative abundance of beneficial bacteria such as *Coprococcus* 2, *Ruminococcus*, *Bacteroides* and Prevotellaceae ($P < 0.05$), but significantly reduced the relative abundance of *Prevotella* 2 and [*Eubacterium*] ruminantium group ($P < 0.05$). In conclusion, the supplementation of compound Chinese herbal medicine can improve the estrus rate of replacement gilts and promote their digestion of nutrients by producing directly active substances or regulating the structure and metabolism of the intestinal gut microbiota. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32(6):2586-2600]

Key words: compound Chinese herbal medicine; replacement gilts; intestinal microflora; growth performance; estrus rate; serum indices