

# 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能及肠道形态结构、挥发性脂肪酸含量和菌群结构的影响

钟晓霞<sup>1</sup> 黄健<sup>1,2</sup> 刘志云<sup>1,2</sup> 周晓容<sup>1,2</sup> 黄金秀<sup>1,2\*</sup>

(1.重庆市畜牧科学院,重庆 402460;2.农业部养猪科学重点实验室,重庆 402460)

**摘要:** 本试验旨在研究饲料中添加甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能及肠道形态结构、挥发性脂肪酸含量和菌群结构的影响。选择 144 头体重(8.50±0.11) kg、28~30 日龄的“杜×长×大”断奶仔猪,随机分成 4 组,每组 6 个重复,每个重复 6 头猪。I 组为对照组,饲喂基础饲料;II 组为甘露寡糖组,饲喂基础饲料+0.1%甘露寡糖;III 组为复合益生菌组,饲喂基础饲料+0.1%复合益生菌;IV 组为甘露寡糖和复合益生菌合用组,饲喂基础饲料+0.1%甘露寡糖+0.1%复合益生菌。预试期 5 d,正试期 28 d。结果表明:1)与 I 组相比,II 和 IV 组平均日采食量显著提高( $P<0.05$ ),IV 组腹泻率显著降低( $P<0.05$ )。2)与 I 组相比,II、III、IV 组空肠和回肠绒毛高度、隐窝深度和绒毛高度/隐窝深度无显著差异( $P>0.05$ )。3)与 I 组相比,III 和 IV 组的盲肠内容物中丁酸和总挥发性脂肪酸含量呈升高趋势( $P=0.10$ );III 和 IV 组的结肠内容物中丁酸含量分别提高了 59.67%和 60.84%( $P<0.05$ ),总挥发性脂肪酸含量呈升高趋势( $P=0.06$ )。4)与 I 组相比,II 组盲肠内容物的 Shannon 指数显著降低( $P<0.05$ ),Simpson 指数显著升高( $P<0.05$ )。在门水平上,盲肠和结肠内容物的主要优势菌群为厚壁菌门、变形杆菌门、拟杆菌门、软壁菌门。在属水平上,盲肠内容物的主要优势菌群为乳杆菌属、梭状芽孢杆菌属、罕见小球菌属、毛螺菌属和罗斯氏菌属;结肠内容物的主要优势菌群为乳杆菌属、不可培养拟杆菌目 S24-7 群、梭状芽孢杆菌属和罗斯氏菌属。综上所述,饲料中添加 0.1%甘露寡糖改善了断奶仔猪平均日采食量及后肠菌群结构;饲料中添加 0.1%复合益生菌对后肠内容物挥发性脂肪酸特别是丁酸的含量有正面影响;两者合用对提高断奶仔猪平均日采食量、降低腹泻率、提高挥发性脂肪酸含量、改善后肠菌群结构均有正面影响。

**关键词:** 甘露寡糖;复合益生菌;断奶仔猪;生长性能;菌群结构

中图分类号:S826

文献标识码:A

文章编号:1006-267X(2020)07-3099-10

仔猪早期断奶时极易出现仔猪断奶应激综合征<sup>[1]</sup>,主要表现为生长缓慢、免疫力低下、腹泻或绝食等<sup>[2]</sup>,成为严重影响现代养猪生产效率的一个难题。抗生素对减轻仔猪早期断奶应激综合征、促进断奶仔猪生长<sup>[3]</sup>具有正面效应,但抗生素

的大量应用伴随抗生素残留、细菌耐药性、环境污染等负面效应,我国已颁布了相应文件禁止在饲料中使用抗生素。因此,寻求安全、有效的抗生素替代品成为目前研究的热点。

甘露寡糖(mannan oligosaccharides, MOS)是

收稿日期:2020-01-13

基金项目:国家重点研发计划(02017YFD0500500);重庆市财政专项资金项目(19513);国家农用微生物数据观测监测任务(18501)

作者简介:钟晓霞(1991—),女,重庆荣昌人,助理研究员,硕士,从事非常规饲料的开发与应用研究。E-mail:zhongchuck@163.com

\*通信作者:黄金秀,研究员,E-mail:50856054@qq.com

一种典型的功能性寡糖<sup>[4-5]</sup>,能够改善断奶仔猪肠道微生态平衡,提高宿主肠黏膜免疫力,且有益于肠道健康和生产性能的提高<sup>[6]</sup>。Zhao等<sup>[7]</sup>在断奶仔猪饲料中添加0.1%的甘露寡糖,对断奶仔猪的生长性能和养分消化率有积极作用,并降低了腹泻评分。邵莲花等<sup>[8]</sup>在断奶仔猪饲料中分别添加0.05%和0.10%的甘露寡糖,均有效改善了仔猪生长性能,显著抑制了大肠杆菌增殖,促进了双歧杆菌增殖。研究发现,益生菌能通过影响肠道微生物平衡和挥发性脂肪酸含量,改善断奶仔猪肠道健康水平<sup>[9-10]</sup>,具有缓解断奶应激的潜力,并且复合的菌株或菌种比单一菌株更有效<sup>[11]</sup>。Wang等<sup>[12]</sup>在断奶仔猪饲料中添加 $6 \times 10^9$  CFU/kg 丁酸梭菌和 $1 \times 10^{10}$  CFU/kg 粪肠球菌,可促进断奶仔猪生长,保护肠绒毛形态,提高结肠内容物挥发性脂肪酸含量,并优化结肠内容物菌群结构。Rolfe<sup>[13]</sup>认为甘露寡糖和益生菌可以联合使用,甘露寡糖可以促进益生菌的生长。黄俊文等<sup>[14]</sup>在断奶仔猪饲料中添加0.10%的甘露寡糖和0.05%的纳豆芽孢杆菌,断奶仔猪粪便中细菌数量在不同时期有不同程度的降低,但细菌种类增多。Vente-Spreuwenberg等<sup>[15]</sup>认为甘露寡糖或益生菌可以影响肠道菌群。但目前却缺乏复合益生菌和甘露寡糖联合使用对断奶仔猪肠道菌群结构影响的相关报道。因此,本研究拟以甘露寡糖和复合益生菌为材料,研究两者对断奶仔猪生长性能及肠道形态结构、挥发性脂肪酸含量和菌群结构的影响,为两者在生产实践中的应用提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

甘露寡糖,含量 $\geq 35\%$ ;复合益生菌,含枯草芽孢杆菌( $\geq 1.0 \times 10^9$  CFU/g)、酿酒酵母( $\geq 5.0 \times 10^8$  CFU/g)、丁酸梭菌( $\geq 1.0 \times 10^9$  CFU/g)和解淀粉芽孢杆菌( $\geq 1.0 \times 10^8$  CFU/g)。

### 1.2 试验设计

选择144头体重( $8.50 \pm 0.11$ ) kg、28~30日龄的“杜×长×大”断奶仔猪,按体重基本一致原则随机分成4组,每组6个重复,每个重复6头猪。I组为对照组,饲喂基础饲料;II组为甘露寡糖组,饲喂基础饲料+0.1%甘露寡糖;III组为复合益生菌组,饲喂基础饲料+0.1%复合益生菌;IV组为甘露寡糖和复合益生菌合用组,饲喂基础饲料+0.1%甘

露寡糖+0.1%复合益生菌。试验在重庆市畜牧科学院营养工程试验基地进行。预试期5 d,正试期28 d。

### 1.3 饲养管理

试验严格按照猪场常规试验管理进行,并按要求进行预防接种、驱虫,分别在09:00和17:00对各组仔猪进行拌料饲喂。

### 1.4 检测指标

#### 1.4.1 生长性能测定

于正试验的第1天和第28天早晨空腹称重禁食12 h的仔猪,用于计算平均日增重。称重前计算饲料消耗,根据饲料投喂量计算平均日采食量。根据平均日增重和平均日采食量计算料重比。每天观察记录所有试验仔猪的腹泻情况。每头仔猪腹泻1天记为1个腹泻头次,试验结束后计算各组的腹泻率。

$$\text{腹泻率}(\%) = \left[ \frac{\text{腹泻头次总数}}{\text{仔猪总头数} \times \text{试验总天数}} \right] \times 100.$$

表1 基础饲料组成及营养水平(风干基础)

Table 1 Composition and nutrient levels of the basal diet (air-dry basis) %

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	48.50
膨化玉米 Extruded corn	15.00
豆粕 Soybean meal (46% CP)	11.00
膨化大豆 Extruded soybean	10.00
进口鱼粉 Imported fish meal	4.00
葡萄糖 Glucose	2.00
幼畜乳化油粉 Emulsified oil powder for young animals	2.00
大豆酶解蛋白 Soybean enzymolysis protein	2.00
豆油 Soybean oil	1.00
蔗糖 Sucrose	1.00
甲酸钙 $C_2H_2O_4Ca$	0.80
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.54
酸化剂 Acidifying agent	0.60
赖氨酸盐酸盐 Lys · HCl (98.5%)	0.44
食盐 NaCl	0.30
苏氨酸 Thr (98.5%)	0.16
DL-蛋氨酸 DL-Met (99.0%)	0.11
预混料 Premix <sup>1)</sup>	0.55
合计 Total	100.00

续表 1

项目 Items	含量 Content
营养水平 Nutrient levels <sup>2)</sup>	
粗蛋白质 CP	18.50
钙 Ca	0.67
总磷 TP	0.51
有效磷 AP	0.35
赖氨酸 Lys	1.35
蛋氨酸 Met	0.43
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.73
苏氨酸 Thr	0.82
色氨酸 Try	0.20
消化能 DE/(MJ/kg)	3.48

1) 预混料每千克饲料提供 Premix provided the following per kg of the diet: Cu 75 mg, Fe 125.8 mg, Zn 103 mg, Mn 38 mg, I 0.90 mg, Se 0.46 mg, Co 0.5 mg, Cr 0.20 mg, 乙氧基喹啉 ethoxyquin 0.66 mg, 麦饭石 maifanstone 37.1 mg, VA 14 000 IU, VD<sub>3</sub> 3 000 IU, VE 72 IU, VK<sub>3</sub> 2.4 mg, VB<sub>1</sub> 2.4 mg, VB<sub>2</sub> 8 mg, VB<sub>12</sub> 0.032 mg, VB<sub>6</sub> 3.2 mg, 烟酰胺 niacinamide 40 mg, 泛酸 pantothenate 21.6 mg, 生物素 biotin 0.4 mg, 叶酸 folic acid 3.2 mg,  $\beta$ -胡萝卜素  $\beta$ -carotene 0.26 mg, 防霉剂 antifungal agent 800 mg, 香味剂 flavouring agent 300 mg, 丁酸钠 sodium butyrate 300 mg, 抗氧化剂 antioxidant 200 mg, 甜味素 sweeteners 200 mg, 植酸酶 phytase 200 mg, 脂肪酶 lipase 200 mg, 葡萄糖氧化酶 glucose oxidase 100 mg, 甘露聚糖酶 mannase 4 000 U, 酸性蛋白酶 acid protease 2 400 U, 葡聚糖酶 dextranase 2 400 U, 木聚糖酶 xylanase 1 600 U, 果胶酶 pectinase 184 U, 半乳糖苷酶 galactosidase 80 U。

2) 计算值 Calculated values。

#### 1.4.2 肠道组织和食糜样品采集和处理

在试验第 28 天,从每个重复中选取 1 头接近平均体重且健康状况良好的仔猪进行屠宰,剪取仔猪空肠、回肠中段各 3 cm 肠段,固定于 4% 甲醛溶液中,备用。

在无菌条件下,取盲肠和结肠内容物,一部分 -80 °C 冻存,用于肠道微生物多样性检测;一部分 -20 °C 冻存,用于挥发性脂肪酸含量检测。

#### 1.4.3 肠道黏膜形态结构测定

取出固定的肠道组织,常规石蜡切片制作,采用显微镜在线测量软件,测量空肠、回肠隐窝深度和绒毛高度,并计算绒毛高度/隐窝深度 (VH/CD)。

#### 1.4.4 盲肠和结肠菌群多样性分析

将样品送至北京百迈克生物技术公司,使用

高通量测序技术对结肠内容物进行 16S rRNA 基因测序,分析断奶仔猪盲肠和结肠菌群结构。

#### 1.4.5 挥发性脂肪酸含量测定

准确称取 1 g 肠道内容物,加入 1 mL 超纯水,混匀。15 000 r/min 离心 15min,取上清,按体积比 9:1 比例添加 25% 偏磷酸(上清液/偏磷酸),冰水浴 3 h。采用 GC-2010 气相色谱仪测定乙酸、丙酸、丁酸和戊酸含量。

### 1.5 数据处理及统计分析

试验数据经 Excel 2016 软件处理后,采用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 氏法多重比较检验, $P < 0.05$  为差异显著, $0.05 \leq P \leq 0.10$  为有趋势。

## 2 结果

### 2.1 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能的影响

由表 2 可知,与 I 组相比,II 组平均日采食量显著提高( $P < 0.05$ ),平均日增重提高,但差异不显著( $P > 0.05$ ),料重比有降低趋势( $P = 0.06$ );III 组平均日采食量显著降低( $P < 0.05$ ),平均日增重降低,但差异不显著( $P > 0.05$ );IV 组平均日采食量显著提高( $P < 0.05$ ),平均日增重增加,但差异不显著( $P > 0.05$ ),料重比有降低趋势( $P = 0.06$ ),腹泻率显著降低( $P < 0.05$ )。

### 2.2 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道形态结构的影响

由表 3 可知,与 I 组相比,II、III、IV 组空肠和回肠绒毛高度、隐窝深度和绒毛高度/隐窝深度均无显著差异( $P > 0.05$ )。

### 2.3 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道挥发性脂肪酸含量的影响

由表 4 可知,与 I 组相比,III 和 IV 组盲肠内容物中丁酸含量分别提高了 22.92% 和 75.69% ( $P = 0.10$ ),总挥发性脂肪酸含量分别提高了 13.28% 和 24.44%,呈升高趋势( $P = 0.10$ );各组盲肠内容物中乙酸、丙酸和戊酸含量无显著差异( $P > 0.05$ )。与 I 组相比,III 和 IV 组结肠内容物中丁酸含量分别显著提高了 59.67% 和 60.84% ( $P < 0.05$ );总挥发性脂肪酸含量分别提高了 44.27% 和 32.22%,呈升高趋势( $P = 0.06$ );各组结肠内容物中乙酸、丙酸和戊酸含量无显著差异( $P > 0.05$ )。

表 2 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能的影响

Table 2 Effects of MOS and compound probiotic on growth performance of weaned piglets

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value
	I	II	III	IV		
始重 Initial weight/kg	8.44	8.35	8.60	8.65	0.11	0.81
末重 Final weight/kg	13.85	14.17	13.29	14.64	0.28	0.37
平均日采食量 ADFI/(g/d)	425.30 <sup>b</sup>	447.48 <sup>c</sup>	393.47 <sup>a</sup>	453.27 <sup>c</sup>	6.94	<0.01
平均日增重 ADG/(g/d)	193.27	207.98	169.11	214.29	8.29	0.22
料重比 F/G	2.21	2.12	2.33	2.13	0.03	0.06
腹泻率 Diarrhea rate/%	17 <sup>b</sup>	13 <sup>b</sup>	14 <sup>b</sup>	6 <sup>a</sup>	1	<0.01

同行数据肩标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 ( $P > 0.05$ )。下表同。

In the same row, values with different small letter superscripts mean significant difference ( $P < 0.05$ ), while with the same or no letter superscripts mean no significant difference ( $P > 0.05$ ). The same as below.

表 3 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道形态结构的影响

Table 3 Effects of MOS and compound probiotic on intestinal morphology of weaned piglets

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value
	I	II	III	IV		
空肠 Jejunum						
绒毛高度 Villus height/ $\mu\text{m}$	250.21	267.24	275.06	252.14	5.77	0.39
隐窝深度 Crypt depth/ $\mu\text{m}$	108.61	112.59	103.72	104.98	1.69	0.26
绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	2.31	2.39	2.66	2.41	0.07	0.30
回肠 Ileum						
绒毛高度 Villus height/ $\mu\text{m}$	261.45	246.59	246.49	252.71	3.79	0.50
隐窝深度 Crypt depth/ $\mu\text{m}$	104.81	92.52	110.56	104.37	3.07	0.21
绒毛高度/隐窝深度 VH/CD	2.50	2.68	2.24	2.46	0.28	0.15

表 4 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道挥发性脂肪酸含量的影响(湿重基础)

Table 4 Effects of MOS and compound probiotic on intestinal VFA contents of weaned piglets (wet weight basis)

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value	mg/g
	I	II	III	IV			
盲肠 Cecum							
乙酸 Acetic acid	27.85	26.48	30.30	29.70	1.01	0.57	
丙酸 Propionic acid	8.57	10.91	10.20	11.66	0.59	0.31	
丁酸 Butyric acid	7.38	7.59	9.07	12.96	0.92	0.10	
戊酸 Pentanoic acid	1.14	0.98	1.33	1.60	0.12	0.36	
总挥发性脂肪酸 TVFA	44.93	45.96	50.89	55.91	1.78	0.10	
结肠 Colon							
乙酸 Acetic acid	17.37	22.29	26.47	22.73	1.64	0.29	
丙酸 Propionic acid	9.45	9.90	11.45	10.81	0.79	0.84	
丁酸 Butyric acid	7.68 <sup>a</sup>	8.00 <sup>a</sup>	12.26 <sup>b</sup>	12.35 <sup>b</sup>	0.83	0.04	
戊酸 Pentanoic acid	1.59	1.42	1.90	1.84	0.13	0.60	
总挥发性脂肪酸 TVFA	36.09	41.61	52.07	47.72	2.34	0.06	

## 2.4 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道菌群结构的影响

### 2.4.1 $\alpha$ 多样性分析

使用 QIIME 软件,对操作分类单元(OTUs)丰度矩阵中每个样本的序列按 97% 的相似度在不同深度下随机抽样,以每个深度下抽取的序列数及其对应的 OTUs 数量分别计算反映菌群丰富度的

Chao1、ACE 指数及兼顾菌群均匀性的 Shannon 和 Simpson 指数。由表 5 可知,与 I 组相比,II 组盲肠内容物的 Shannon 指数显著降低 ( $P < 0.05$ ), Simpson 指数显著升高 ( $P < 0.05$ ); III 和 IV 组盲肠内容物的 Shannon 和 Simpson 指数无显著差异 ( $P < 0.05$ )。各组间结肠内容物的  $\alpha$  多样性指数均无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

表 5 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪后肠  $\alpha$  多样性指数的影响

Table 5 Effects of MOS and compound probiotic on hindgut  $\alpha$  diversity indexes of weaned piglets

项目 Items	组别 Groups				SEM	P 值 P-value
	I	II	III	IV		
盲肠 Cecum						
Shannon 指数 Shannon index	3.55 <sup>b</sup>	2.78 <sup>a</sup>	3.92 <sup>b</sup>	3.56 <sup>b</sup>	0.16	0.03
Simpson 指数 Simpson index	0.08 <sup>a</sup>	0.19 <sup>b</sup>	0.05 <sup>a</sup>	0.09 <sup>a</sup>	0.02	0.01
Ace 指数 Ace index	496.40	444.80	539.28	535.78	18.34	0.24
Chao1 指数 Chao1 index	504.04	453.61	543.79	548.72	18.23	0.23
结肠 Colon						
Shannon 指数 Shannon index	4.73	4.41	4.77	4.87	0.08	0.28
Simpson 指数 Simpson index	0.03	0.05	0.02	0.02	0.01	0.25
Ace 指数 Ace index	601.12	602.05	579.45	601.49	5.67	0.47
Chao1 指数 Chao1 index	613.30	610.10	583.20	608.92	5.71	0.22

### 2.4.2 断奶仔猪盲肠菌群结构

根据物种注释结果,分别选取了在门水平相对丰度排名前 10 和在属水平相对丰度排名前 15 的物种进行分析。由图 1 可知,在门水平上,断奶仔猪盲肠的主要优势菌群包括厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、软壁菌门(Tenericutes)。在属水平上,主要优势菌群包括乳杆菌属(Lactobacillus)、梭状芽孢杆菌属(Clostridium\_sensu\_stricto\_1)、罕见小球菌属(Subdoligranulum)、毛螺菌属(Lachnospira)、罗斯氏菌属(Roseburia)。

### 2.4.3 断奶仔猪结肠菌群结构

根据物种注释结果,分别选取了在门水平相对丰度排名前 10 和在属水平相对丰度排名前 15 的物种进行分析。由图 2 可知,在门水平上,断奶仔猪结肠的主要优势菌群包括厚壁菌门、拟杆菌门、软壁菌门、变形菌门。在属水平上,主要优势菌群包括乳杆菌属、不可培养拟杆菌目 S24-7 群(uncultured\_bacterium\_f\_Bacteroidales\_S24-7\_group)、梭状芽孢杆菌属、罗斯氏菌属。

## 3 讨论

### 3.1 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪生长性能的影响

在本试验中,饲料中添加 0.1% 甘露寡糖显著提高了断奶仔猪平均日采食量,提高了平均日增重;与 Zhao 等<sup>[7]</sup>在基础饲料中添加 0.1% 甘露寡糖改善断奶仔猪生长性能结果相似。甘露寡糖不能被胃和小肠消化吸收,能够为肠道中的乳酸杆菌和双歧杆菌等有益菌提供发酵底物,有利于益生菌的生长<sup>[16-17]</sup>,改善肠道微生态,提高自身免疫力,减轻腹泻对断奶仔猪的影响。而在本试验中,饲料中添加 0.1% 复合益生菌降低了断奶仔猪平均日采食量和平均日增重;与 Lu 等<sup>[18]</sup>在断奶仔猪中添加粪肠球菌、枯草芽孢杆菌、酿酒酵母(EBS)或者干酪乳杆菌(EBL)均显著提高断奶仔猪生长性能并降低腹泻率不同。可能与本试验断奶仔猪腹泻率较高有关,由于长时间运输过程中,保暖较差,断奶仔猪生长环境改变,产生应激,引起腹泻,而腹泻不利于益生菌在肠道中的快速定植和作用。饲料中同时添加 0.1% 甘露寡糖和 0.1% 复合

益生菌显著提高了断奶仔猪平均日采食量,显著降低了腹泻率。甘露寡糖可以促进益生菌的生长,加快外来添加菌的定植,提高益生菌在肠道中

的竞争优势和占位,有效抑制致病菌和条件致病菌的过度生长,改善肠道微生态,降低仔猪腹泻率。

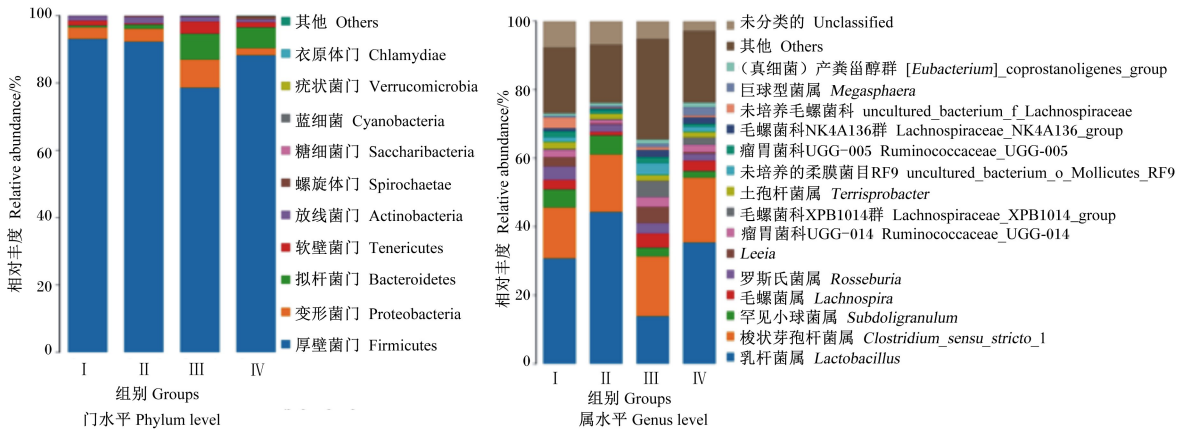


图1 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪盲肠菌群结构的影响

Fig.1 Effects of MOS and compound probiotics on cecal microbial structure of weaned piglets

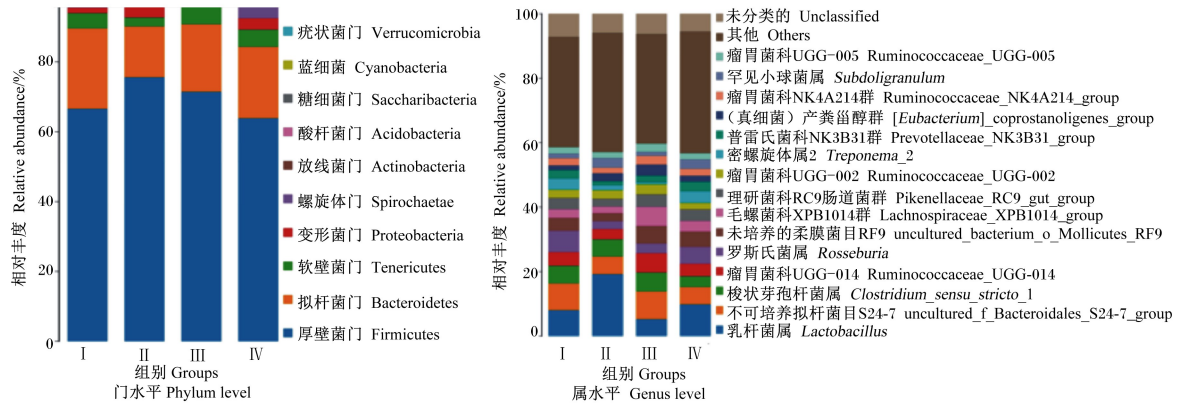


图2 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪结肠菌群结构的影响

Fig.2 Effects of MOS and compound probiotics on colonic microbial structure of weaned piglets

### 3.2 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道形态的影响

肠绒毛能极大地扩大营养物质的吸收面积,较高的绒毛高度/隐窝深度有利于营养物质的吸收<sup>[19]</sup>,而绒毛变短,腺窝变深会减少营养物质的吸收,降低动物的生长性能。在本研究中,饲料中添加0.1%的甘露寡糖对断奶仔猪肠道形态无显著影响,与李玉欣等<sup>[20]</sup>在断奶仔猪饲料中添加0.1%的甘露寡糖显著增加断奶仔猪空肠绒毛长度和绒毛高度/隐窝深度结果不同。可能是本试验所用甘露寡糖在0.1%的添加水平下,其有效浓度不够对肠道形态产生显著影响。王莹<sup>[21]</sup>认为甘露寡糖对肠道的影响必须有一定的浓度,如果添加水平不

足,则起不到改善效果。Xu等<sup>[22]</sup>发现在基础饲料中添加不同浓度的壳聚糖,随着壳聚糖添加浓度升高,断奶仔猪肠道形态的改善效果呈先升高后降低的趋势。饲料中添加0.1%复合益生菌对断奶仔猪肠道形态也无显著影响,可能与饲料中有益菌的活菌数不够有关,在本试验中,每千克饲料中各有益菌的有效浓度在 $1 \times 10^8$  CFU左右,而前人<sup>[12]</sup>在每千克饲料中有益菌的添加浓度达到了 $1 \times 10^9$  CFU/g。Wang等<sup>[12]</sup>在断奶仔猪每千克饲料中添加 $6 \times 10^9$  CFU丁酸梭菌和 $1 \times 10^{10}$  CFU粪肠球菌显著增加了空肠绒毛长度、绒毛高度/隐窝深度,降低了隐窝深度。在本试验中,甘露寡糖和复合益生菌合用也未对断奶仔猪肠道形态有改善作用。

### 3.3 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道微生物群结构的影响

正常情况下,断奶仔猪肠道内各菌群相互依存、相互拮抗,以维持肠道的动态平衡。但断奶等外界环境应激容易破坏肠道动态平衡,导致肠道微生物菌群之间比例失调,极易造成腹泻等情况。在本研究中,饲料中添加0.1%甘露寡糖提高了盲肠内容物菌群多样性,改善了菌群的均匀度,但对结肠内容物的菌群 $\alpha$ 多样性指数无显著影响。盲肠作为单胃动物的主要微生物发酵场所,甘露寡糖促进了双歧杆菌、乳酸杆菌和粪杆菌等肠道有益菌增殖,抑制了有害菌增殖,加快盲肠菌群结构的稳定。而复合益生菌与甘露寡糖合用对盲肠和结肠内容物的菌群 $\alpha$ 多样性指数无显著影响,可能是由于胃肠道的复杂性,使得动物个体面对饲料改变时,出现了个别不同的应答<sup>[23]</sup>。

在本试验中,在门水平上,盲肠和结肠内容物的主要优势菌群包括厚壁菌门、变形杆菌门、拟杆菌门、软壁菌门;与对照组相比,饲料中添加0.1%复合益生菌使盲肠变形菌门和拟杆菌门相对丰度呈升高趋势。厚壁菌门和拟杆菌门具有降解多糖和促进机体能量吸收的作用<sup>[24]</sup>,在断奶仔猪肠道中起着至关重要的作用;而变形菌门是一种条件致病菌,能够反映微生态失调或不稳定的肠道微生物菌群结构,数量较少时,表现为良性,但在某些肠道环境下,它们会成为可引发炎症的肠道微生物<sup>[25]</sup>。在属水平上,盲肠内容物的主要优势菌群为乳杆菌属、梭状芽胞杆菌属、罕见小球菌属、毛螺菌属等;结肠内容物的主要优势菌群为乳酸菌属、不可培养拟杆菌目S24-7群、梭状芽胞杆菌属等。饲料中添加0.1%甘露寡糖提高了断奶仔猪盲肠和结肠内容物中乳杆菌属的相对丰度;饲料中添加0.1%复合益生菌提高了盲肠内容物中毛螺菌属的相对丰度;饲料中同时添加0.1%甘露寡糖和0.1%复合益生菌提高了盲肠内容物中乳杆菌属的相对丰度。乳酸菌可通过自身及生长代谢产生抗菌物质,抑制腐败、致病菌等有害菌的繁殖,对于改善肠道微生物菌群结构具有重要作用<sup>[26]</sup>。毛螺菌属可以发酵多种碳水化合物,影响肠道碳水化合物的消化代谢,对于肠道挥发性脂肪酸的产生有重要作用。

### 3.4 甘露寡糖和复合益生菌对断奶仔猪肠道挥发性脂肪酸含量的影响

猪的微生物发酵主要发生在盲肠、结肠,产生多种挥发性脂肪酸,主要包括甲酸、乙酸、丙酸和丁酸<sup>[27]</sup>,可以发挥抑菌效应,增强肠道营养物质的吸收<sup>[28]</sup>,对猪的肠道健康有重要作用。在本试验中,与对照组相比,饲料中添加0.1%的甘露寡糖后盲肠和结肠挥发性脂肪酸含量略有升高,与贺琴<sup>[29]</sup>在断奶仔猪基础饲料中添加酵母壁多糖显著提高仔猪结肠挥发性脂肪酸含量的结果相似。挥发性脂肪酸的产生与碳水化合物代谢菌株有密切关系,而在本试验中,饲料中添加0.1%甘露寡糖的断奶仔猪的盲肠和结肠内容物中,与碳水化合物发酵代谢相关的菌株如毛螺菌科的相对丰度虽略有提高,但并未对挥发性脂肪酸含量产生显著影响。饲料中添加0.1%复合益生菌显著提高了盲肠和结肠内容物丁酸含量,提高了总挥发性脂肪酸含量,与Wang等<sup>[12]</sup>在断奶仔猪每千克饲料中添加 $6 \times 10^9$  CFU 丁酸梭菌和 $1 \times 10^{10}$  CFU 粪肠球菌显著增加仔猪结肠中挥发性脂肪酸含量的结果相似。这可能与本试验中使用的是含丁酸梭菌的复合益生菌有关,丁酸梭菌在畜禽肠道内能够产生乙酸、丁酸及乳酸等小分子代谢物<sup>[30-31]</sup>,并且添加复合益生菌后,断奶仔猪盲肠和结肠中毛螺菌科的相对丰度大幅度提高,促进了肠道中碳水化合物的代谢。甘露寡糖和复合益生菌的合用也表现出与添加益生菌相似的效果。

## 4 结 论

① 饲料中添加0.1%甘露寡糖改善了断奶仔猪平均日采食量及后肠菌群结构;饲料中添加0.1%复合益生菌对后肠挥发性脂肪酸特别是丁酸含量的提高有正面影响。

② 饲料中同时添加0.1%甘露寡糖和0.1%复合益生菌对提高断奶仔猪平均日采食量、降低腹泻率、提高后肠挥发性脂肪酸含量、改善后肠菌群结构均有正面影响。

### 参考文献:

- [1] WIJTEN P J A, VAN DER MEULEN J, VERSTEGEN M W A. Intestinal barrier function and absorption in pigs after weaning: a review [J]. British Journal of Nutrition, 2011, 105(7): 967-981.

- [ 2 ] 伍淳操, 王建华. 乳酸菌和甘露寡糖对断奶仔猪生长及血清生化指标的影响[ J ]. 江苏农业学报, 2011, 27(1): 94-99.
- [ 3 ] 萨仁娜, 张琪, 谷春涛, 等. 微生物饲料添加剂对肉仔鸡大肠杆菌抑制及血液生化指标的影响[ J ]. 饲料研究, 2006(3): 4-8.
- [ 4 ] PATEL S, GOYAL A. Functional oligosaccharides: production, properties and applications [ J ]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2011, 27(5): 1119-1128.
- [ 5 ] SONG S K, BECK B R, KIM D, et al. Prebiotics as immunostimulants in aquaculture: a review[ J ]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 40(1): 40-48.
- [ 6 ] SAEED M, AHMAD F, ARAIN M A, et al. Use of mannan-oligosaccharides (MOS) as a feed additive in poultry nutrition[ J ]. Journal of World's Poultry Research, 2017, 7(3): 94-103.
- [ 7 ] ZHAO P Y, JUNG J H, KIM I H. Effect of mannan oligosaccharides and fructan on growth performance, nutrient digestibility, blood profile, and diarrhea score in weaning pigs[ J ]. Journal of Animal Science, 2012, 90(3): 833-839.
- [ 8 ] 邵莲花, 刘桂林. 甘露寡糖在猪饲料中的应用[ J ]. 山西农业, 2005(7): 47-48.
- [ 9 ] GAGGIÀ F, MATTARELLI P, BIAVATI B. Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production[ J ]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 141(Suppl.1): S15-S28.
- [ 10 ] HU S L, WANG L, JIANG Z Y. Dietary Additive probiotics modulation of the intestinal microbiota[ J ]. Protein & Peptide Letters, 2017, 24(5): 382-387.
- [ 11 ] SANDERS M E, VELD J H I. Bringing a probiotic-containing functional food to the market: microbiological, product, regulatory and labeling issues [ J ]. Antonie Van Leeuwenhoek, 1999, 76(1/2/3/4): 293-315.
- [ 12 ] WANG K L, CAO G T, ZHANG H R, 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 & Function, 2019, 10(12): 7844-7854.
- [ 13 ] ROLFE R D. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health[ J ]. Journal of Nutrition, 2000, 130(Suppl.): 396S-402S.
- [ 14 ] 黄俊文, 冯定远, 林映才. DGGE法研究甘露寡糖、益生菌与抗生素对仔猪肠道微生态的影响[ C ]//中国畜牧兽医学动物营养学分会——第九届学术研讨会论文集. 中国畜牧兽医学动物营养学分会: 中国畜牧兽医学动物营养分会, 2004: 110.
- [ 15 ] VENTE-SPREEUWENBERG M A M, BEYNEN A C. Diet-mediated modulation of small Intestinal integrity in weaned piglets [ C ]//PLUSKE J R, LE DIVIDICH J, VERSTEGEN M W A. Weaning the pig—concepts and consequences. The Netherlands: Wageningen Academic Publishers, 2003: 145-198.
- [ 16 ] JAHANIAN R, ASHNAGAR M. Effect of dietary supplementation of mannan-oligosaccharides on performance, blood metabolites, ileal nutrient digestibility, and gut microflora in *Escherichia coli*-challenged laying hens[ J ]. Poultry Science, 2015, 94(9): 2165-2172.
- [ 17 ] FLICKINGER E A, WOLF B W, GARLEB K A, et al. Glucose-based oligosaccharides exhibit different in vitro fermentation patterns and affect *in vivo* apparent nutrient digestibility and microbial populations in dogs [ J ]. The Journal of Nutrition, 2000, 130(5): 1267-1273.
- [ 18 ] LU X H, ZHANG M, ZHAO L, et al. Growth performance and post-weaning diarrhea in piglets fed a diet supplemented with probiotic complexes[ J ]. J Microbiol Biotechnol, 2018, 28(11): 1791-1799.
- [ 19 ] PLUSKE J R, HAMPSON D J, WILLIAMS I H. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review [ J ]. Livestock Production Science, 1997, 51(1/2/3): 215-236.
- [ 20 ] 李玉欣, 张立梅, 韩丹丹, 等. 毕赤酵母甘露寡糖对断奶仔猪生产性能肠道绒毛和细胞因子的影响[ J ]. 中国兽医杂志, 2015, 51(11): 33-35.
- [ 21 ] 王莹. 甘露寡糖在仔猪体内的生理功能及其应用[ J ]. 广东畜牧兽医科技, 2006, 31(5): 25-27.
- [ 22 ] XU Y Q, SHI B L, YAN S M, et al. Effects of chitosan on body weight gain, growth hormone and intestinal morphology in weaned pigs[ J ]. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences, 2013, 26(10): 1484-1489.
- [ 23 ] IGE B A. Probiotics use in intensive fish farming[ J ]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7(22): 2701-2711.
- [ 24 ] 姬玉娇, 祝倩, 耿梅梅, 等. 高、低营养水平饲料对环江香猪结肠菌群结构及代谢物的影响[ J ]. 微生物学通报, 2016, 43(7): 1650-1659.
- [ 25 ] SHIN N R, WHON T W, BAE J. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota [ J ]. Trends in Biotechnology, 2015, 33(9): 496-503.



- [26] 廖波,王薇薇,王永伟,等.饲用乳酸菌在畜禽养殖上的应用研究进展[J].中国饲料,2019(19):13-18.
- [27] 苏勇,姚文,黄瑞华,等.芽孢乳杆菌 S1 对断奶前后仔猪肠道乳酸菌、大肠杆菌和挥发性脂肪酸含量变化的影响[J].福建农林大学学报(自然科学版),2006,35(1):73-76.
- [28] HÖGBERG A, LINDBERG J E. The effect of level and type of cereal non-starch polysaccharides on the performance, nutrient utilization and gut environment of pigs around weaning[J]. Animal Feed Science and Technology, 2006, 127(3/4):200-219.
- [29] 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].硕士学位论文.南昌:江西农业大学,2017:19-21.
- [30] KANAUCHI O, MITSUYAMA K, ARAKI Y, et al. Modification of intestinal flora in the treatment of inflammatory bowel disease[J]. Current Pharmaceutical Design, 2003, 9(4):333-346.
- [31] PECK M W. Biology and genomic analysis of *Clostridium botulinum*[J]. Advances in Microbial Physiology, 2009, 55:183-265, 320.

# Effects of Mannan Oligosaccharides and Complex Probiotics on Growth Performance and Intestinal Morphology, Volatile Fatty Acid Contents and Microbial Structure of Weaned Piglets

ZHONG Xiaoxia<sup>1</sup> HUANG Jian<sup>1,2</sup> LIU Zhiyun<sup>1,2</sup> ZHOU Xiaorong<sup>1,2</sup> HUANG Jinxiu<sup>1,2\*</sup>

(1. Chongqing Academy of Animal Sciences, Chongqing 402460, China; 2. Key Laboratory of Pig Industry Sciences, Ministry of Agriculture, Chongqing 402460, China)

**Abstract:** This experiment was conducted to study the effects of dietary mannan oligosaccharides (MOS) and complex probiotics on growth performance and intestinal morphology, volatile fatty acid contents and microbial structure of weaned piglets. A total of 144 Duroc×Landrace×Yorkshire weaned piglets aged from 28 to 30 days with body weight of (8.50±0.11) kg were selected and randomly divided into 4 groups with 6 replicates in each group and 6 pigs in each replicate. Group I was the control group, fed a basal diet; group II was a MOS group, fed the basal diet+0.1% MOS; group III was a complex probiotics group, fed the basal diet+0.1% complex probiotics; group IV was a MOS and complex probiotics combined group, fed the basal diet+0.1% MOS+0.1% compound probiotic. The pre-experimental period lasted for 5 days, and the experimental period lasted for 28 days. The results showed as follows: 1) compared with group I, the average daily feed intake of groups II and IV was significantly increased ( $P<0.05$ ), and the diarrhea rate of group IV was significantly decreased ( $P<0.05$ ). 2) Compared with group I, the villus height, crypt depth and villus height/crypt depth in jejunum and ileum of groups II, III and IV had no significant difference ( $P>0.05$ ). 3) Compared with group I, the contents of butyric acid and total volatile fatty acid in cecum contents of groups III and IV showed an increasing trend ( $P=0.10$ ); the colon butyric acid content of groups III and IV increased by 59.67% and 60.84% ( $P<0.05$ ), respectively, and the total volatile fatty acid content showed an increasing trend ( $P=0.06$ ). 4) Compared with group I, the Shannon index in cecum contents of group II was significantly decreased ( $P<0.05$ ), and the Simpson index was significantly increased ( $P<0.05$ ). At the phylum level, the main dominant floras in cecum and colon contents were Firmicutes, Proteobacteria, Bacteroidetes and Tenericutes. At the genus level, the main dominant floras in cecum contents were *Lactobacillus*, *Clostridium\_sensu\_stricto\_1*, *Subdoligranulum*, *Lachnospira* and *Roseburia*, and the main dominant floras in colon contents were *Lactobacillus*, uncultured\_bacterium\_f\_Bacteroidales\_S24-7\_group, *Clostridium\_sensu\_stricto\_1* and *Roseburia*. In summary, dietary 0.1% MOS improve the average daily feed intake and hindgut microbial structure of weaned piglets; dietary 0.1% complex probiotics have a positive effect on the hindgut volatile fatty acid contents, especially butyric acid; MOS and complex probiotics combined use have a positive effect on improve the average daily feed intake, reduce diarrhea rate, improve volatile fatty acid contents and improve hindgut microbial structure of weaned piglets. [*Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2020, 32 (7): 3099-3108]

**Key words:** mannan oligosaccharides; complex probiotics; weaned piglets; growth performance; microbial structure