

移植不同饲料利用效率猪的粪便可定向改变 伪无菌小鼠的生长性能

李天天¹, 何贝贝¹, 李娜¹, 刘婷¹, 时梦¹, 肖英平², 杨华²
展德文³, 王军军^{1*}

(1. 北京食品营养与人类健康高精尖创新中心, 中国农业大学动物科技学院, 北京 100193;
2. 浙江省农业科学院农产品质量标准研究所, 杭州 310021; 3. 斯贝福(北京)生物技术有限公司, 北京 102101)

【摘要】 目的 通过将不同饲料利用效率猪的粪便移植至伪无菌小鼠, 探讨其对受体小鼠生长性能的影响规律, 并初步揭示其机制。**方法** 使用36头28 kg左右的杜×长×大阉公猪进行42 d单笼饲养(自由采食)并测算其饲料转化效率。实验结束时将36头猪根据饲料转化效率分为高、中、低3组, 采集三组猪的新鲜粪便, 通过灌胃移植到经广谱抗生素处理过的小鼠中, 监测粪便移植后小鼠的生长性能变化。采用全收粪法测定饲料利用效率高、中、低三组猪的营养物质消化率, 并采用16S rRNA V3-4可变区扩增测序对猪和小鼠的粪便微生物组成进行分析比较。**结果** 将不同饲料利用效率猪的粪便移植至广谱抗生素处理的伪无菌小鼠后, 小鼠重现了猪的生长性能表型; 在肠道微生物的组成结构方面, 高饲料转化效率猪及其高生长性能的受体鼠, 肠道微生物的物种丰富度和微生物多样性相对较高; 高饲料利用效率猪的总能消化率($P=0.01$)显著增加, 产气短杆菌的丰度显著提高, 且其粪便移植后受体小鼠的肠球菌和阿克曼氏菌丰度也显著高于低饲料利用效率的受体小鼠, 表明肠道微生物在能量的高效利用方面起着重要的作用。**结论** 移植不同饲料利用效率猪的粪便可定向改变伪无菌小鼠肠道微生物的物种丰富度、微生物多样性及其生长性能。高饲料利用效率猪的优势主要在于能量消化利用效率较高, 肠道中与能量高效利用相关微生物丰度相对较高。

【关键词】 饲料利用效率; 粪菌移植; 伪无菌小鼠; 肠道微生物结构; 能量消化率; 猪

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 02-0181-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.02.007

Fecal microbiota transplantation from growing pigs with different feed efficiency to pseudo-germ-free mice can result in reappearance of the original phenotype

LI Tiantian¹, HE Beibei¹, LI Na¹, LIU Ting¹, SHI Meng¹, XIAO Yingping², YANG Hua²,
ZHAN Dewen³, WANG Junjun^{1*}

(1. Beijing Advanced Innovation Center for Food Nutrition and Human Health, College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100193, China. 2. Institute of Quality and Standard for Agro-Products, Zhejiang Academy of Agricultural Sciences, Hangzhou 310021. 3. Sibeifu(Beijing) Biotechnology Co. Ltd, Beijing 102101)

Corresponding author: WANG Junjun. E-mail: jkywj@hotmail.com

【Abstract】 Objective The aim of this experiment was to explore the effect and mechanism of intestinal microbiota

【基金项目】 国家自然科学基金(No.31630074); 深圳市金新农科技股份有限公司-动科发展基金。

Funded by National Natural Science Foundation of China (No: 31630074) and Jinxinnong Animal Science Development Foundation.

【作者简介】 李天天(1990—), 男, 博士研究生, 专业: 动物营养与饲料科学。Email: caultt@hotmail.com

【通信作者】 王军军(1976—), 男, 教授, 研究方向: 猪肠道微生物组与碳水化合物高效利用。Email: jkywj@hotmail.com

on shaping the growth performance by fecal microbiota transplantation from pigs to pseudo-germ-free mice. **Methods** Thirty-six barrows with a similar initial body weight of 30 kg were raised for 42 days (ad libitum) within individual metabolic cages. Feed intake and body weight of each pig were recorded every week to calculate the feed conversion rate and average daily gain. At the end of the experiment, feed conversion ratio and average daily gain were integrated to divide the pigs into 3 groups, namely, high growth performance (HP), moderate growth performance (MP) and low growth performance (LP) groups. Feces were collected to calculate the total intestinal nutrient digestibility and prepare for fecal microbiota transplantation to pseudo-germ-free mice, which were induced with several antibiotics for four weeks. Fecal microbiome structure was assayed by profiling V3-V4 region of the 16S rRNA gene. **Results** Fecal microbiota transplantation from pigs to pseudo-germ-free mice resulted in reappearance of the original phenotype. Compared with the LP pigs, the microbial species richness and microbial diversity in feces were higher in the HP pigs. The HP pigs had improved digestibility of gross energy ($P = 0.01$) and higher abundance of *Methanobrevibacter*. *Enterococcus* and *Akkermansia* were also more abundant in the recipient pseudo-germ-free mice from the HP pigs which may be correlated with a high energy utilization. **Conclusions** Fecal microbiota transplantation from pigs to mice results in reappearance of the original phenotype and microbial species richness, microbial diversity, and their growth ability. Different nutritional metabolism is shown among pigs with different feed efficiency and the HP pigs have improved energy utilization ($P = 0.01$). At the same time, the bacteria correlated with high energy utilization are more abundant in feces of HP pigs than in LP pigs.

[Key words] feed efficiency; fecal microbiota transplantation; microbial composition; pseudo-germ-free mice; energy utilization; pigs

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

饲料利用效率关乎动物生产效益和节粮减排等重要问题,同时也是评价动物生产性能的常用指标,间接表明了动物对能量和蛋白质的利用效率。然而在生产中,即使是同一品种、同一批次的猪在饲料利用效率方面也有着很大的变异,这些变异主要源于个体遗传背景间的细微差异、妊娠期或新生期造成的表观遗传修饰以及肠道微生物菌群组成变异^[1]。其中,肠道微生物被认为既在宿主健康中发挥着重要作用,同时也影响着饲料的消化以及营养物质的吸收和能量供应^[2-3]。因此,肠道微生物组成结构与饲料利用效率间可能存在着特定的关联关系与影响规律。

然而,由于肠道菌群组成复杂、有成熟培养方法的微生物又不到 10%^[4],使得逐一研究这些微生物的功能变得不太可能。虽然通过交互共生培养法可以同时培养并研究多种肠道微生物^[5],但是这种体外培养方法又忽略了肠道菌群在动物体内对营养物质消化、吸收及其对机体代谢调控的作用。粪菌移植技术与无菌动物培育技术的逐渐成熟,为进行相关研究奠定了较好的技术基础^[6]。

因此,本实验拟通过构建不同饲料利用效率猪的模型,并将其粪菌移植到经混合抗生素处理的伪无菌小鼠体内,探讨不同饲料利用效率猪的粪便微生物对伪无菌小鼠生长表型的影响规律及其可能

机制,以期从肠道微生态调节的角度改善猪的饲料利用效率奠定一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

28 日龄断奶的无特定病原菌 (SPF) C57BL/6 J 小鼠 36 只来源于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司【SCXK (京) 2014 - 0006】。小鼠饲养在无菌隔离包内,自由采食无菌的标准颗粒鼠粮并 24 h 自由饮水。室内温度保持恒温 23℃,相对湿度为 63%,昼夜 12 h 循环灯光。实验小鼠饲养及组织取材均于斯贝福 (北京) 生物技术有限公司设备内进行【SYXK (京) 2014 - 0037】。本实验所有操作均符合中华人民共和国《实验动物管理条例》和中国农业大学实验动物福利和伦理相关规定。

选取 36 头 28 kg 左右的阉公猪 (杜 × 长 × 大) 为材料,在营养代谢室中进行 42 d 单笼饲养,自由采食饮水。本实验所有操作均符合中国农业大学实验动物福利和伦理相关规定。生长猪动物实验在国家饲料工程技术研究中心/农业部饲料工业中心丰宁动物实验基地进行。

1.2 方法

1.2.1 不同饲料利用效率生长猪模型的构建及样品采集

选取同一品种 (杜 × 长 × 大) 相近体重 (28.31

± 0.91 kg) 的阉公猪 36 头, 适应一周后进行 42 d 单笼饲养, 自由采食及饮水。每周以动物个体为单位分别记录每头猪的采食量与体重, 计算饲料转化率以及日增重; 实验结束前 1 周使用全收粪法测定不同饲料转化效率猪的营养物质表观消化率。5 d 收集期结束后, 将 5 d 的鲜粪样品以动物为单位集中在一起经充分混合后, 于 $60 \sim 65^{\circ}\text{C}$ 烘干至恒重。样品干燥后粉碎, 过 40 目筛, 装袋待测。根据饲料转化效率和日增重排序 (以饲料转化率为主因素并综合考虑日增重), 从 36 头猪中选出饲料利用效率高、中、低的生长猪各 6 头, 采集挑选出的 18 头生长猪新鲜粪便, 液氮速冻后放于 -80°C 冰箱中保存。

1.2.2 伪无菌小鼠模型的构建

实验采取雌雄分养, 每个笼子 6 只小鼠, 参照 Wang 等^[7]的方法, 采用广谱抗生素处理小鼠以构建无菌小鼠模型。具体方法为: 在小鼠饮用水中加入 0.5 g/L 万古霉素、 1 g/L 硫酸新霉素、 1 g/L 甲硝唑和 1 g/L 氨苄西林, 自由口服 28 d。参照 Pang 等^[8]的方法, 制备移植供体猪的粪便微生物。具体方法为: 将猪的新鲜粪便迅速悬浮于预还原处理过的无菌生理盐水中 (每克粪便加入 4 mL 生理盐水, 即稀释 5 倍), 漩涡混匀 1 min , 静置 1 min , 快速吸取上清, 盛于 1.5 mL 灭菌处理过的离心管中于 -20°C 保存用于菌群移植。取上述抗生素处理的小鼠, 分成 3 组, 每组雌雄各 6 只, 采用灌胃针分别用不同饲料利用效率猪粪便菌悬液进行灌胃, 每次 0.2 mL , 连续灌注 7 d。接种后连续饲养 21 d, 实验结束前称取每组小鼠的体重及采食量, 用于计算饲料转化率, 并取小鼠粪便用于高通量测序分析。

1.2.3 DNA 提取和 16S rRNA 基因扩增

用 QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen 公司) 试剂盒抽提不同饲料利用效率生长猪和受体小鼠的粪便总基因组 DNA。采用引物: $3'\text{-TAC GGR AGG CAG CAG -5'}$ 和 $5'\text{-AGG GTA TCT AAT CCT -3'}$ 对猪粪便 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行扩增, 测序由北京计算中心完成。采用引物 $3'\text{-CCTACGGGAG GCAGCAG -5'}$ 和 $5'\text{-GGACTACVSGGGTATCTAAT -3'}$ 对小鼠粪便 16S rRNA 基因 V3-V4 区进行扩增, 测序由上海锐翌生物科技有限公司完成。16S rRNA 基因 V3-V4 区的测序均采用 Illumina Hiseq 高通量测序平台。

1.2.4 营养物质表观消化率的测定

总能测定按照国际标准 ISO9831: 1998 推荐方

法, 使用氧弹式测热仪 (Parr Instruments, Moline, IL) 测定; 使用 GB/T6435—1986 方法测定粪样的干物质含量; 粪样中粗蛋白的含量依照 AOAC (1990) 的相关标准测定; 中性洗涤纤维 (NDF) 依照 BG/T 20806—2006 的方法测定; 酸性洗涤纤维 (ADF) 依照 BG/T 20805—2006 的方法测定。某种营养物质的表观消化率 $= 100\% - \text{粪样中某养分含量} / \text{饲料中某养分含量} \times 100\%$ 。

1.3 统计学分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准误 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SAS 9.2.1 软件包进行统计分析。消化率结果分析采用 SAS 程序中的 ANOVA 程序, 将每一组猪作为一个实验单元, 均以 $P < 0.05$ 为差异显著的标准。采用 QIIME 1.7.0 默认参数计算各样品中微生物的 alpha 多样性指数和物种分布。

2 结果

2.1 不同饲料利用效率的生长猪模型建立

用全程饲料转化率 (feed conversion ratio, FCR) 排序, FCR 越低, 表示饲料利用效率越高, 反之亦然。以 FCR 为主, 剔除日增重过小的猪只, 分为高饲料利用效率猪 (HP)、中饲料利用效率猪 (MP) 和低饲料利用效率猪 (LP) 三组, 每组 6 只。分组后高、低饲料利用效率组的 FCR 差异有显著性 ($P < 0.05$)。

2.2 接受不同饲料利用效率猪粪便移植后受体小鼠的生长性能

实验结束前一周移植高饲料利用效率猪粪便菌群的小鼠日增重和饲料利用效率显著高于移植低饲料利用效率猪粪便菌群的小鼠, 表明粪菌移植导致了生长性能表型的再现, 即: 高饲料利用效率受体小鼠的周增重与料重比都显著优于低饲料利用效率的受体小鼠。见表 1

2.3 不同饲料利用效率猪的肠道微生物结构分析

通过对供体猪粪便微生物高通量测序结果进行 alpha 多样性分析, 发现高饲料利用率组代表丰度的 ACE 指数和 Chao 1 指数及代表多样性的辛普森指数和香农指数都显著高于低饲料利用效率组, 可知高饲料利用效率猪粪便中微生物的物种丰富度和多样性明显高于低饲料利用效率猪, 见表 2。对从不同饲料利用效率猪的粪便样品中获得的 OTU (操作分类单位, operational taxonomic units) 在属水平上进行物种注释, 如图 1 所示, 高饲料利用率组的生长猪粪便中拟杆菌属 (*Bacteroides*) 比例比低

饲料利用效率猪低 5.7% ($P < 0.05$), 拟普雷沃菌属 (*Alloprevotella*) 丰度比低饲料利用效率猪低 4.2% ($P < 0.05$), 密螺旋体属 (*Treponema*) 丰度比低饲料利用效率猪低 6.9% ($P < 0.05$), 而产气短杆菌 (*Methanobrevibacter*) 丰度则显著高于低饲料利用效率猪 ($P < 0.05$)。

2.4 接受不同饲料利用效率猪粪便移植后受体小鼠的粪便微生物结构分析

通过对受体小鼠粪便微生物高通量测序结果进行 alpha 多样性分析, 发现高饲料利用率组辛普森指数和香农指数显著高于低饲料利用效率组, 可见受体小鼠的微生物丰富度和多样性受到了供体猪的定向改变。而且, 移植高、低饲料利用效率粪便的两组小鼠肠道菌群差异明显。如图 2 所示, 高饲料利用效率受体小鼠的肠球菌 (*Enterococcus*) 和

阿克曼氏菌 (*Akkermansia*) 比例显著高于低饲料利用效率受体小鼠, 分别为 8.7% ($P < 0.001$) 和 6.5% ($P < 0.05$)。而 *Lactobacillus* 则为低饲料利用效率受体小鼠优势菌群, 占 61.6%, 远高于高饲料利用效率受体小鼠的 14.5% ($P < 0.001$)。

2.5 不同饲料利用效率猪的营养物质消化率

不同饲料利用效率猪营养物质表观消化率结果见表 3。由表 3 可以看出, HP 组总能表观消化率显著高于 LP 组 ($P = 0.01$), 而干物质和粗蛋白消化率统计学差异不显著 ($P > 0.05$)。与此同时, HP 组的中性洗涤纤维 (NDF) 和酸性洗涤纤维 (ADF) 的表观消化率也显著高于 LP 组 ($P < 0.05$), 表明 HP 组总能的提高与纤维的消化率提高呈正相关, 提示肠道微生物可能在纤维降解功能发挥了一定的作用。

表 1 不同饲料利用效率受体鼠的生长性能

Tab. 1 Growth performance of recipient mice with different feed efficiency

组别 Groups	周增重 (g) Week weight gain		周采食量 (g) Feed intake		料重比 Feed: Gain ratio	
	雄 Male	雌 Female	雄 Male	雌 Female	雄 Male	雌 Female
高饲料利用效率 粪便移植组 Recipient mice with high feed efficiency	11.1	11.3	138.1	135.3	12.4	12
低饲料利用效率 粪便移植组 Recipient mice with low feed efficiency	4.4	6.2	116.3	106.5	26.4	17.2

表 2 不同饲料利用效率猪粪便微生物的物种丰富度和微生物多样性

Tab. 2 Microbial species richness and diversity of pigs with different feed efficiency

样品 Samples	ACE 指数 ACE index	辛普森指数 Simpson index	香农指数 Shannon index	Chao 1 指数 Chao 1 index
HP1	4364.253	0.981	7.655	4057.879
HP2	5010.680	0.985	7.802	4544.007
HP3	4683.290	0.983	7.668	4353.258
LP1	4877.882	0.987	7.950	4600.499
LP2	4553.648	0.990	8.197	4146.657
LP3	4276.458	0.957	7.064	3983.121
MP1	4843.815	0.966	7.385	4433.167
MP2	4708.796	0.965	7.331	4524.086
MP3	4749.166	0.968	7.186	4429.288

表 3 不同饲料利用效率猪的营养物质表观消化率

Tab. 3 Apparent nutrient digestibility of pigs with different feed efficiency

组别 Groups	干物质 Dry matter	总能 Gross energy	粗蛋白 Crude protein	中性洗涤纤维 Neutral detergent fiber	酸性洗涤纤维 Acid detergent fiber	粗纤维 Crude fiber
低饲料利用效率猪 LP	84.95	83.43	77.64	47.95	56.95	78.42
中饲料利用效率猪 MP	85.33	84.52	78.45	50.94	57.63	78.05
高饲料利用效率猪 HP	86.02	86.15	79.60	54.06	60.98	79.60
均值标准误 SEM	0.55	0.61	1.83	1.91	1.67	2.14
P 值 P-value	0.22	0.01	0.34	<0.05	<0.05	0.71

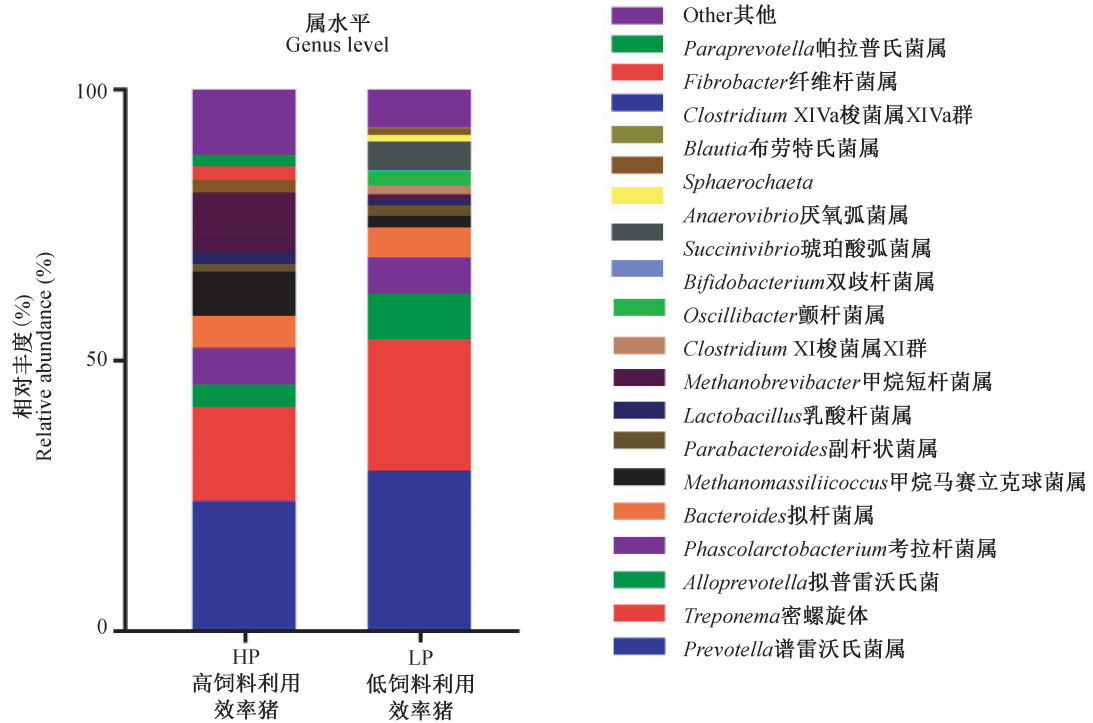


图 1 高低饲料利用效率生长猪的粪便微生物组成差异

Fig. 1 Fecal microbiota composition of pigs with different feed efficiency at genus level

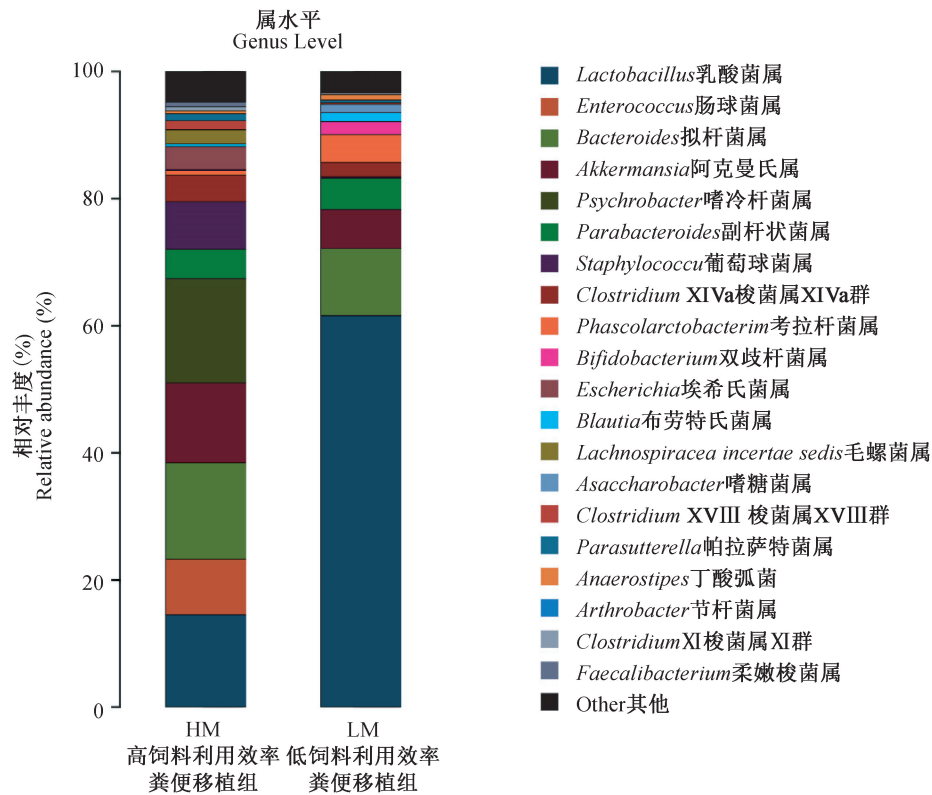


图 2 高低饲料利用效率受体小鼠的粪便微生物组成差异

Fig. 2 Fecal microbiota composition of recipient mice at genus level

3 讨论

本研究通过构建不同饲料利用效率猪的模型,挑选出不同饲料利用效率猪的粪便进行粪菌移植,受体伪无菌小鼠在移植后三周重现了其对供体猪的生长性能和饲料利用效率表型。并初步从猪和小鼠的肠道微生物组成结构、不同饲料利用效率猪养分消化率及其与肠道微生物关系的角度对其可能机制进行了探讨。

之前的研究表明:不同品种猪粪便微生物的差异特性,可经粪菌移植向无菌小鼠部分转移,特别是肠道形态和酶活,都和供体猪一致^[9]。如 Yan 等^[10]发现与瘦肉型猪(约克夏)和其对应受体无菌小鼠相比,地方猪种(荣昌猪)和其对应的受体无菌小鼠有着较高的体脂、慢肌纤维比例并增强了腓肠肌的脂肪生成作用。而这些差异都被认为是肠道微生物发挥了主要作用。本实验中,受体小鼠定向重现了供体猪的生长表型,即接受高饲料利用效率猪粪便秘植的受体小鼠在采食量、日增重及饲料利用率方面都高于接受低饲料利用效率猪粪便秘植的受体小鼠。这与前期大量的人-鼠粪菌移植实验结果相吻合,即肠道微生物移植具有表型重现的介导作用^[11-12]。

移植不同饲料利用效率猪的粪便在定向改变受体小鼠生长性能的同时,也定向改变了受体小鼠的微生物丰富度和多样性。香农指数和辛普森指数用来解释微生物菌种的多样性,其值越高表明肠道微生物组成越复杂,菌种之间的相互依赖和制衡能力越强,表示菌群在有外界环境波动或遭受应激刺激时能更好的应对不良因素对机体造成的负面影响,从而起到缓解机体应激的作用^[13-15]。本研究中,高饲料利用效率猪及其受体小鼠的微生物丰富度和多样性都显著高于低饲料利用效率的猪及其受体小鼠,表明其在养殖环境下抗应激和不良因素的能力较强,对于其提高饲料利用效率有促进作用。此外,在鸡的研究也表明不同饲料转化率鸡空肠和盲肠的菌群存在差异,饲料转化率高的鸡盲肠菌群丰富度和多样性较高,并且推断可能会影响动物的生长性能^[1]。

高饲料利用效率猪的总能消化率显著高于低饲料利用效率猪($P < 0.05$),且总能消化率的提升主要来源于纤维(NDF 和 ADF)的消化率提升与供能。由于纤维类物质不被小肠消化,进入大肠后主

要由大肠微生物发酵产生短链脂肪酸,可提供机体 10%~15% 的维持净能^[2],所以肠道微生物对纤维消化率的贡献至关重要。通过分析不同饲料利用效率猪的肠道微生物结构发现:产气短杆菌,作为一种利用乙酸的甲烷菌,其在高饲料利用效率猪肠道中的丰度显著高于低饲料利用效率的猪,前期研究发现在瘦肉型猪中产甲烷菌的数量较高,且与较高的纤维消化率直接相关^[16-18],表明其提高了高饲料利用效率猪的纤维利用率。而当粪菌移植到受体伪无菌小鼠后,移植了高饲料利用效率猪粪菌的受体鼠其肠球菌丰度显著高于低饲料利用效率的受体鼠,这与之前的研究相符,即在日粮中添加肠球菌有助于提高生长性能,并降低腹泻发生率^[19-20]。同时,高饲料利用效率受体鼠的阿克曼氏菌含量显著高于低饲料利用效率受体鼠,研究发现阿克曼氏菌有助于代谢健康,葡萄糖代谢稳态以及预防肠道炎症,并发现在肥胖人群中含量低于正常人群,提示其调节脂肪代谢的作用^[21-23];这表明高饲料利用效率受体鼠的肠道健康和代谢状况较好,且较少转化能量为脂肪,从而提高了能量的利用效率。值得注意的是,低饲料利用效率受体鼠的乳酸菌含量远超高饲料利用效率的受体鼠,但是其过高的含量大大降低了其微生物多样性,不利于动物的生产性能,虽然大量研究表明乳酸菌可以促进免疫系统成熟和肠道健康^[24],进而促进动物的生产性能^[25-26];但是双盲实验中发现在健康人群中添加乳酸菌基本没有效果^[27],表明在洁净环境中乳酸菌对生产性能可能没有帮助。

总之,本研究在构建不同饲料利用效率猪模型的基础上,通过粪菌移植在伪无菌小鼠中成功重现了供体猪的微生物组成结构、生长性能表型,验证了肠道微生物在营养物质利用和机体代谢中起重要调节作用的科学假设,并初步揭示了肠道微生物组成与能量消化率、生长性能间的关联关系,为生产实践中从肠道微生态调节的角度改善猪群的整体饲料利用效率奠定了一定的理论基础。

参 考 文 献(References)

- [1] Stanley D, Denman SE, Hughes RJ, et al. Intestinal microbiota associated with differential feed conversion efficiency in chickens [J]. Appl Microbiol Biot, 2012, 96(5): 1361-1369.
- [2] 朱伟云,余凯凡,慕春龙,等. 猪的肠道微生物与宿主营养代谢 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(10): 3046-3051.
- Zhu WY, Yu KF, Mu CL, et al. Gut microbiota and host nutrition metabolism in pigs [J]. Chin J Animal Nutrit, 2014,

- 26(10): 3046–3051.
- [3] Shanahan F. The host-microbe interface within the gut [J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002, 16(6): 915–931.
- [4] Alain K, Querellou J. Cultivating the uncultured: limits, advances and future challenges [J]. Extremophiles, 2009, 13(4): 583–594.
- [5] Egan M, Motherway MOC, Kilcoyne M, et al. Cross-feeding by *Bifidobacterium breve* UCC2003 during co-cultivation with *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 in a mucin-based medium [J]. BMC Microbiol, 2014, 14(1): 282.
- [6] Aroniadis OC, Brandt LJ. Fecal microbiota transplantation: past, present and future [J]. Curr Opin Gastroen, 2013, 29(1): 79–84.
- [7] Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, et al. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease [J]. Nature, 2011, 472(7341): 57.
- [8] Pang X, Hua X, Yang Q, et al. Inter-species transplantation of gut microbiota from human to pigs [J]. ISME J, 2007, 1(2): 156.
- [9] Diao H, Yan H, Xiao Y, et al. Intestinal microbiota could transfer host gut characteristics from pigs to mice [J]. BMC Microbiol, 2016, 16(1): 238.
- [10] Yan H, Diao H, Xiao Y, et al. Gut microbiota can transfer fiber characteristics and lipid metabolic profiles of skeletal muscle from pigs to germ-free mice [J]. Sci Rep, 2016, 6: 31786.
- [11] Walker AW, Parkhill J. Fighting obesity with bacteria [J]. Science, 2013, 341(6150): 1069–1070.
- [12] Ridaura VK, Faith JJ, Rey FE, et al. Gut microbiota from twins discordant for obesity modulate metabolism in mice [J]. Science. 2013, 341(6150): 1241214.
- [13] Shanahan F. Probiotics in perspective [J]. Gastroenterology, 2010, 139(6): 1808–1812.
- [14] Hooper LV, Macpherson AJ. Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota [J]. Nat Rev Immunol, 2010, 10(3): 159.
- [15] 何贝贝, 李天天, 朱玉华, 等. 不同生长性能猪肠道菌群差异分析 [J]. 动物营养学报, 2014, 26(8): 2327–2334.
He BB, Li TT, Zhu YH, et al. Differential analysis of intestinal microflora in pigs with different growth performance [J]. Chin J Animal Nutrit, 2014, 26(8): 2327–2334.
- [16] Guevarra RB, Kim J, Nguyen SG, et al. Comparison of fecal microbial communities between white and black pigs [J]. J Appl Biol Chem, 2015, 58(4): 369–375.
- [17] Luo Y, Chen H, Yu B, et al. Dietary pea fiber increases diversity of colonic methanogens of pigs with a shift from *Methanobrevibacter* to *Methanomassiliicoccus*-like genus and change in numbers of three hydrogenotrophs [J]. BMC Microbiol, 2017, 17(1): 17.
- [18] Luo Y, Su Y, Wright AG, et al. Lean breed Landrace pigs harbor fecal methanogens at higher diversity and density than obese breed Erhualian pigs [J]. Archaea, 2012, 2012(5): 605289.
- [19] Hu Y, Dun Y, Li S, et al. Dietary *Enterococcus faecalis* LAB31 improves growth performance, reduces diarrhea, and increases fecal *Lactobacillus* number of weaned piglets [J]. PLoS One, 2015, 10(1): e0116635.
- [20] Li P, Niu Q, Wei Q, et al. Microbial shifts in the porcine distal gut in response to diets supplemented with *Enterococcus Faecalis* as alternatives to antibiotics [J]. Sci Reports, 2017, 7: 41395.
- [21] Anhê FF, Roy D, Pilon G, et al. A polyphenol-rich cranberry extract protects from diet-induced obesity, insulin resistance and intestinal inflammation in association with increased *Akkermansia* spp. population in the gut microbiota of mice [J]. Gut, 2015, 64(6): 872–883.
- [22] Dao MC, Everard A, Aron-Wisnewsky J, et al. *Akkermansia* muciniphila and improved metabolic health during a dietary intervention in obesity: relationship with gut microbiome richness and ecology [J]. Gut, 2016, 65: 426–436.
- [23] Shin NR, Lee JC, Lee HY, et al. An increase in the *Akkermansia* spp. population induced by metformin treatment improves glucose homeostasis in diet-induced obese mice [J]. Gut, 2014, 63(5): 727–735.
- [24] Kumar A, Vlasova AN, Liu Z, et al. In vivo gut transcriptome responses to *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Lactobacillus acidophilus* in neonatal gnotobiotic piglets [J]. Gut Microbes, 2014, 5(2): 152–164.
- [25] Lan R, Tran H, Kim I. Effects of probiotics supplementation in different nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, blood profiles, fecal microflora and noxious gas emission in weaning pigs [J]. J Sci Food Agric, 2017, 97(4): 1335–1341.
- [26] Lan RX, Koo JM, Kim IH. Effects of *Lactobacillus acidophilus* supplementation in different energy and nutrient density diets on growth performance, nutrient digestibility, blood characteristics, fecal microbiota shedding, and fecal noxious gas emission in weaning pigs [J]. Animal Feed Sci Technol, 2016, 219: 181–188.
- [27] West NP, Pyne DB, Cripps A, et al. Gut balance, a synbiotic supplement, increases fecal *Lactobacillus paracasei* but has little effect on immunity in healthy physically active individuals [J]. Gut Microbes, 2012, 3(3): 221–227.