

食物转化期的大熊猫幼仔肠道细菌结构衍变及其与纤维素酶活性的相关性*

王爱善¹ 詹明晔² 裴恩乐^{1**}

¹上海动物园 上海 200335

²同济大学环境科学与工程学院上海市污染控制与生态安全研究院 上海 200092

摘要 大熊猫是具有植食性转化阶段的特殊的食肉动物,但本身对纤维素的消化能力极低,主要依赖于肠道微生物的作用;处于食物转化阶段的大熊猫幼仔是敏感而脆弱的,对纤维素的适应消化能力也是保证其存活的关键。通过分析食物转化期大熊猫幼仔粪便中纤维素酶活性和肠道细菌多样性的变化,探讨大熊猫幼仔食物转化阶段肠道细菌性质和纤维素酶活性的相关性,以期优化食物转化期大熊猫的饲养技术提供一定的理论指导。结果显示,大熊猫幼仔食物转化阶段纤维素酶活性变化较大,特别是增加竹子的摄入量后,大熊猫个体纤维素酶活性普遍显著增加。大熊猫肠道细菌的结构和数量在食物转化阶段也存在较大变化,且与幼仔消化纤维素密切相关,如*Lactobacillus*、*Romboutsia*等典型的肉食动物肠道菌的丰度在大熊猫幼仔肠道中数量减少,而纤维素降解菌属*Cellulosilyticum*的丰度明显增加,特别是大熊猫肠道优势菌属*Streptococcus*也表现出与其纤维素消化的密切联系。总体而言,食物转化阶段的大熊猫幼仔对纤维素有一定的适应性消化能力,其和肠道细菌菌群的演变有较大的相关性。(图3 表6 参30)

关键词 大熊猫; 幼仔; 肠道细菌; 纤维素酶活性; 食物转化阶段

CLC Q939.99

Intestinal bacterial structure evolution of giant panda cubs during the food transformation stage and its correlation with cellulose digestion*

WANG Aishan¹, ZHAN Mingye² & PEI Enle^{1**}

¹ Shanghai Zoo, Shanghai 200335, China

² Institute of Pollution Control and Ecological Safety in Shanghai, College of Environmental Science and Engineering, Tongji University, Shanghai 200092, China

Abstract To adapt to their environment, giant pandas have gradually formed a habit of eating bamboo, i.e., they are a special type of carnivore with a herbivore transformation stage. However, the giant panda has a very low ability to digest cellulose, and it relies mainly on the function of intestinal microbes. Giant panda cubs are sensitive and fragile at the food conversion stage, and their ability to adapt to cellulose digestion is key to their survival. This study analyzed the changes in cellulase activity and intestinal bacterial diversity of giant panda pups during the food conversion period and investigated the correlation between bacterial properties and cellulase activities to provide a guide for optimizing the feeding of giant pandas during the food conversion stage. Cellulase activity in giant panda infants was found to change significantly during the food transformation stage, especially after they increased their intake of bamboo. The structure and quantity of giant panda gut bacteria also showed marked changes during the food conversion stage; these changes were closely related to the young cubs' ability to digest cellulose. The abundance of the typical carnivorous intestinal bacteria, *Lactobacillus* and *Romboutsia*, decreased, whereas the abundance of *Cellulosilyticum* significantly increased. In particular, *Streptococcus*, the dominant genus of the giant panda, showed a close association with cellulose digestion. In general, the adaptation of panda cubs for cellulose digestion in the food conversion stage was related to the evolution of their intestinal bacterial flora.

Keywords giant panda; cub; intestinal bacterium; cellulase activity; food conversion stage

收稿日期 Received: 2019-01-28 接受日期 Accepted: 2019-03-07

*上海市科学技术委员会重大科技攻关课题 (16dz1205903, 16dz1205904) 资助 Supported by the Key Scientific and Technological Research Projects of the Shanghai Science and Technology Commission (16dz1205903, 16dz1205904)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: peienle@126.com)

大熊猫是我国的国宝,是我国特有的珍稀野生动物。大熊猫属于食肉动物,然而在长期的进化过程中,为了适应生活环境,逐渐以竹子作为主要食物,食性也因此发生变化,从肉食性向植食性过渡。然而,大熊猫的消化器官和消化酶至今仍保留着食肉动物的特点,如消化道短、肠道内能够消化纤维素的酶和微生物很少^[1-5]。

大熊猫的脆弱性主要体现在繁殖存活率较低及对食物的消化能力较差^[6-7]。大熊猫幼仔的生长发育过程中必须经过一个食物转化阶段。在这个转化期,大熊猫不仅要完成食性的过渡变化,还要完成从肉食性动物的肠道环境向植食性动物肠道环境的演变,主要是肠道微生物结构的形成^[8-9],肠道微生物可通过母婴遗传,也可通过饮食获得,从而为大熊猫的消化吸收、免疫防御等多个方面提供保障^[10-13]。大熊猫本身并不具备编码纤维素酶的基因,其消化纤维素的能力主要依靠肠道微生物来完成^[2, 14]。

处于食物转化期的大熊猫幼仔需要逐渐形成食竹习惯^[15-16]。目前从食物转化角度出发,探讨肠道微生物结构的演变与大熊猫幼仔消化的相关性的研究较少。本研究以4只大熊猫幼仔为研究对象,聚焦食物转化期大熊猫肠道微生物菌群结构的变化和肠道纤维素酶活性,并进一步分析食物转化期的大熊猫幼仔的肠道微生物结构与其适应纤维素消化的内在联系,以期优化食物转化期大熊猫的饲养技术提供一定的理论指导。

1 材料与方法

1.1 研究对象

选取分别圈养在上海野生动物园和四川省中国大熊猫保护研究中心的4只处于食物转化阶段的大熊猫幼仔为研究对象。采样期间熊猫幼仔的体况较好,未出现生病或排黏等

异样。大熊猫的基本信息和熊猫幼仔食物转化期的主要食物配置的具体内容见表1和表2。

1.2 样品采集与预处理

采集4只圈养大熊猫幼仔的新鲜粪便(编号S1-S4)。粪便为隔天早上采集的圈内便,受环境干扰较小。连续采集5 d,每天采集150 g粪便冷藏保存,采集50 g粪便冷冻保存。大熊猫幼仔粪便样带回实验室,每只动物冷藏的粪便样(包含5 d)取核心无污染部分充分混合预处理记为一个粪便样(每期每只动物一个冷藏粪便样本)。混合好的样品放置4 ℃保存,用时取出(不能超过两周)进行纤维素酶活性检测。采样时间为2017年8月至2018年5月,共采集4次,分别在8月、11月、2月、5月。冷冻保存的粪便样品用时首先从冰箱取出,加冰袋化冻一段时间,将每只熊猫幼仔5 d的粪便样,用无菌勺勺各取核心无污染部分10 g,混匀备用记为一个样本(每期每只动物一个冷冻粪便样)并提取粪便中微生物总DNA进行多样性分析。

1.3 分析方法

1.3.1 大熊猫幼仔肠道纤维素酶活性分析 取5 g大熊猫冷藏粪便于50 mL三角瓶中,加入5 mL 1%羧甲基纤维素溶液和5 mL pH 5.5的醋酸盐缓冲液,滴加甲苯,37 ℃条件下,培养72 h并用DNS法在540 nm处显色测定酶活性,设置平行实验($N=3$)并做无基质对照(使用蒸馏水代替羧甲基纤维素溶液)。葡萄糖标准曲线为 $y=0.6099x-0.0059$, $R^2=0.9935$ 。1 h水解释放1 μg 葡萄糖定义为1个酶活单位(U),参考文献并对测定条件进行适当修改^[17-19]。

1.3.2 大熊猫幼仔肠道微生物多样性分析 处理好的冷冻样品用PowerSoil® DNA Isolation Kit (Mo Bio Laboratories Inc., Carlsbad, CA, USA)试剂盒处理,提取并纯化总DNA,并使用Nanodrop™ 2000 Spectrophotometer (Nanodrop, Wilmington, DE, USA)仪器检测DNA浓度,-20 ℃保存备用。细菌使用338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3')

表1 试验大熊猫基本信息表

Table 1 Basic information of the experimental giant panda

呼名 Name	谱系 Lineage	出生年月 Date of birth	性别 Sex	平均体重 Weight (m/kg)	圈养地 Location	健康状况 Health condition	样品编号 Sample number
月月 Yueyue	1052	2016.10	雄性 Male	33.6	上海野生动物园 Shanghai Animal Park	健康 Health	S1
半半 Banban	1053	2016.10	雌性 Female	32.4	上海野生动物园 Shanghai Animal Park	健康 Health	S2
初心 Chuxin	1020	2016.07	雌性 Female	29.9	四川卧龙基地 Wolong, Sichuan	健康 Health	S3
胖妞 Pangniu	1037	2016.08	雌性 Female	31.3	四川卧龙基地 Wolong, Sichuan	健康 Health	S4

表2 熊猫幼仔食物转化情况

Table 2 The food conversion stages of the panda cub

食物转化期 Food conversion stage	采样期间的发育阶段 Developmental stage during sampling	食物类型 Food type
-2017.08	10月龄 10 months	以奶粉为主要食物 Milk powder as the main food
2017.08-11	13月龄(一岁) 13 months	奶粉, 辅食窝头、少量竹笋、苹果、胡萝卜等, 少量啃食竹子 Milk powder, supplemented steamed corn bread, apples, carrots, a few bamboo shoots, and a few bamboo
2017.11-2018.02	16月龄 16 months	奶粉, 辅食窝头、竹笋、苹果、胡萝卜等, 增加竹子食用量 Milk powder, supplemented steamed corn bread, apples, carrots, bamboo shoots, and bamboo
2018.02-05	19月龄(一岁半) 19 months	奶粉, 辅食窝头、竹笋、苹果、胡萝卜等, 正常食用竹子 Milk powder, supplemented steamed corn bread, apples, carrots, bamboo shoots, and bamboo normally

和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 进行扩增, 反应体系20 μ L: 5 $\times$ Fastpfu Buffer 4 μ L、2.5 mmol/LdNTPs 2 μ L、FastPfu Polymerase 0.4 μ L、引物各0.8 μ L、BSA 0.2 μ L、模板10 ng, 并用ddH₂O补齐; 真菌使用ITS1F (5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3') 和ITS2 (2043R) (5'-GCTGCGTTCTTCATCGATGC-3') 进行扩增, 反应体系: 10 $\times$ Buffer 2 μ L、2.5 mmol/LdNTPs 2 μ L、rTaq Polymerase 0.2 μ L、引物各0.8 μ L、BSA 0.2 μ L、模板10 ng, 用ddH₂O补齐. 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s (细菌27个循环、真菌35个循环), 72 $^{\circ}$ C 10 min, 10 $^{\circ}$ C结束反应. 扩增产物使用2%琼脂糖凝胶进一步纯化、分离. 采用IlluminaMiseq测序仪测序. 本研究测序和生物信息服务由美吉生物公司完成.

1.4 数据分析

大熊猫纤维素酶活数据使用SPSS软件进行处理和析, 所有数据均用平均值和标准误差表示 ($N = 3$), 显著差异表示为 $P < 0.05$, 并绘制表格和曲线. 大熊猫肠道细菌多样性及优势微生物OTU丰度的代表性数据由美吉生物公司进行生物信息学分析后提供. 通过SPSS数据处理软件对大熊猫食物转化期纤维素酶活性和表征肠道细菌多样性的变量之间进行Pearson相关性分析, 利用相关性系数, 反映两个变量之间的关联程度^[20-21].

2 结果与讨论

2.1 大熊猫幼仔食物转化阶段纤维素酶活性变化

分析了大熊猫幼仔处于食物转化期的肠道纤维素酶活性, 结果见表3和图1.

表3 大熊猫幼仔食物转化阶段肠道纤维素酶活性结果 (λ /U g^{-1})
Table 3 Cellulase activity results of the giant panda cub at food conversion stages (λ /U g^{-1})

样品编号 Sample number	10月 10 months (2017.08)	13月 13 months (2017.11)	16月 16 months (2018.02)	19月 19 months (2018.05)
S1	12.02 $\pm$ 1.52	9.77 $\pm$ 1.148	31.43 $\pm$ 1.037	5.53 $\pm$ 0.111
S2	15.08 $\pm$ 0.815	9.77 $\pm$ 1.148	34.67 $\pm$ 0.444	21.89 $\pm$ 0.889
S3	3.50 $\pm$ 0.463	0.76 $\pm$ 0.259	43.21 $\pm$ 1.259	0.63 $\pm$ 0.074
S4	9.21 $\pm$ 0.981	1.34 $\pm$ 0.852	5.71 $\pm$ 1.111	0.76 $\pm$ 0.185

大熊猫幼仔在食物转化阶段纤维素酶活性的波动较大. 起初10月龄的大熊猫幼仔的酶活性较低; 13月龄 (一岁) 的幼仔酶活性明显增加 (S4除外), 其中S3最高达43.21 U/g; 19月龄 (一岁半) 的熊猫幼仔的纤维素酶活性又明显降低. 分析了大熊猫幼仔的食物转化情况发现, 熊猫幼仔从2017年11月开始逐渐增加竹子的摄入, 这可能是幼仔肠道纤维素酶活性均显著上升的原因, 说明大熊猫幼仔对食物转化有一定的应激反应. 上海和四川大熊猫幼仔的肠道纤维素酶活性的变化趋势基本相似, 由此推测食物组成的变化可能是影响幼仔纤维素酶活性的重要原因.

16月龄的S4较其他个体, 特别是S3的纤维素酶活差异极显著 ($P < 0.01$), 然而S3的生长环境和喂食与S4相同, 所以两者间纤维素酶活性差异可能与幼仔对食物的择取及肠道生

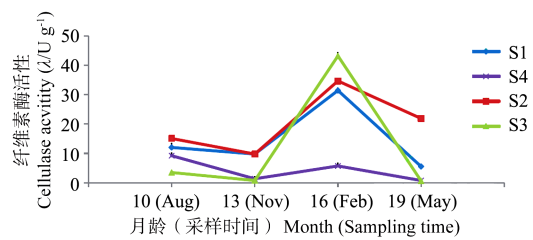


图1 大熊猫幼仔食物转化阶段肠道纤维素酶活性变化情况.
Fig. 1 Changes of cellulase activity in the giant panda cub at food conversion stages.

理情况不同所致. 19月龄的个体肠道纤维素酶活性下降, 可能与竹子在肠道中的停留时间短有关, 另外大熊猫幼仔养成食竹习惯后, 适应了竹子高纤维低营养和低能量的特性可能通过利用竹中的其他必须营养物质满足生长需要. 有研究发现大熊猫全基因组中富集纤毛组装、肢端发育、蛋白消化与吸收等通路与大熊猫食竹专性密切相关^[22].

2.2 食物转化阶段大熊猫幼仔肠道细菌结构的演变

分析了食物转化期大熊猫幼仔粪便中的细菌多样性, 结果见表4.

表4 大熊猫幼仔肠道细菌Alpha多样性分析结果
Table 4 Analysis of alpha diversity of intestinal bacteria in the panda cub

年龄 Months	指标 Index	S1	S2	S3	S4
10 (Aug)	OTU	93	113	98	102
	Shannon	1.95	2.55	1.79	1.91
	Simpson	0.236	0.133	0.289	0.251
	Chao	112.1	138.7	135.8	138.3
	合计 Coverage	99.90%	99.90%	99.90%	99.90%
13 (Nov)	OTU	179		143	127
	Shannon		2.16	1.94	0.94
	Simpson		0.242	0.268	0.621
	Chao		242	200	205.4
	合计 Coverage		99%	99.90%	99.90%
16 (Feb)	OTU	188	163	202	199
	Shannon	1.86	1.77	1.98	1.57
	Simpson	0.268	0.273	0.237	0.318
	Chao	256.6	218.6	332	331.9
	合计 Coverage	99.90%	99.90%	99.90%	99.90%
19 (May)	OTU	170	216	191	167
	Shannon	2.72	2.07	2.29	2.03
	Simpson	0.122	0.235	0.162	0.249
	Chao	266.3	293.3	241.5	249.5
	合计 Coverage	99.90%	99.90%	99.90%	99.90%

2017年11月份上海两只熊猫S1 (月月) 和S2 (半半) 的粪便不能区分, 采集样品的实验数据为两个体共同结果.

In November, 2017, the stool of two pandas S1 (Yueyue) and S2 (Banban) in Shanghai could not be distinguished. The experimental data of the collected samples was both of them.

文库的覆盖率均在99.9%, 覆盖度较好, 结果可靠. 根据大熊猫肠道细菌OTU水平的香农指数 (Shannon index)、Chao指数 (Chao index) 可知, 大熊猫幼仔处于食物转化阶段时, 其肠道细菌的多样性和细菌丰富度变化较大. 大熊猫幼仔肠道细菌丰富度随着幼仔添食窝头、竹笋等其他食物而增加, 如10月龄幼仔个体平均Chao指数为131.2, 生长至16月龄幼仔个体平均Chao指数为284.8, 这反映了大熊猫幼仔的细菌结构更加复杂, 而肠道细菌的辛普森指数增加表明优势

细菌的优势度增加。

通过对大熊猫幼仔肠道微生物结构的分析,得到大熊猫幼仔食物转化阶段(2017年8月至2018年5月)的肠道细菌属水平的组成,具体结果见图2。处于食物转化期的大熊猫幼仔肠道细菌结构变化明显,如*Lactobacillus*、*Romboutsia*,这两种菌主要存在于肉食动物体内^[23-24],随着大熊猫添食窝头、竹笋、竹子等其他食物的变化,其丰度显著降低。此外,随着

大熊猫食物组成的复杂化,其肠道优势细菌的丰度有所增加(见肠道细菌热图中由左至右红色区块变多且颜色逐渐加深,图2)。

大熊猫幼仔增食竹子后,其竹叶便量明显增加。在19月龄的大熊猫个体S3和S4肠道中检测到纤维素降解菌属*Cellulosilyticum*的丰度明显增加,有研究发现从牛瘤胃中分离得到的*Cellulosilyticum*属的菌能够降解纤维素^[25-26]。由此推

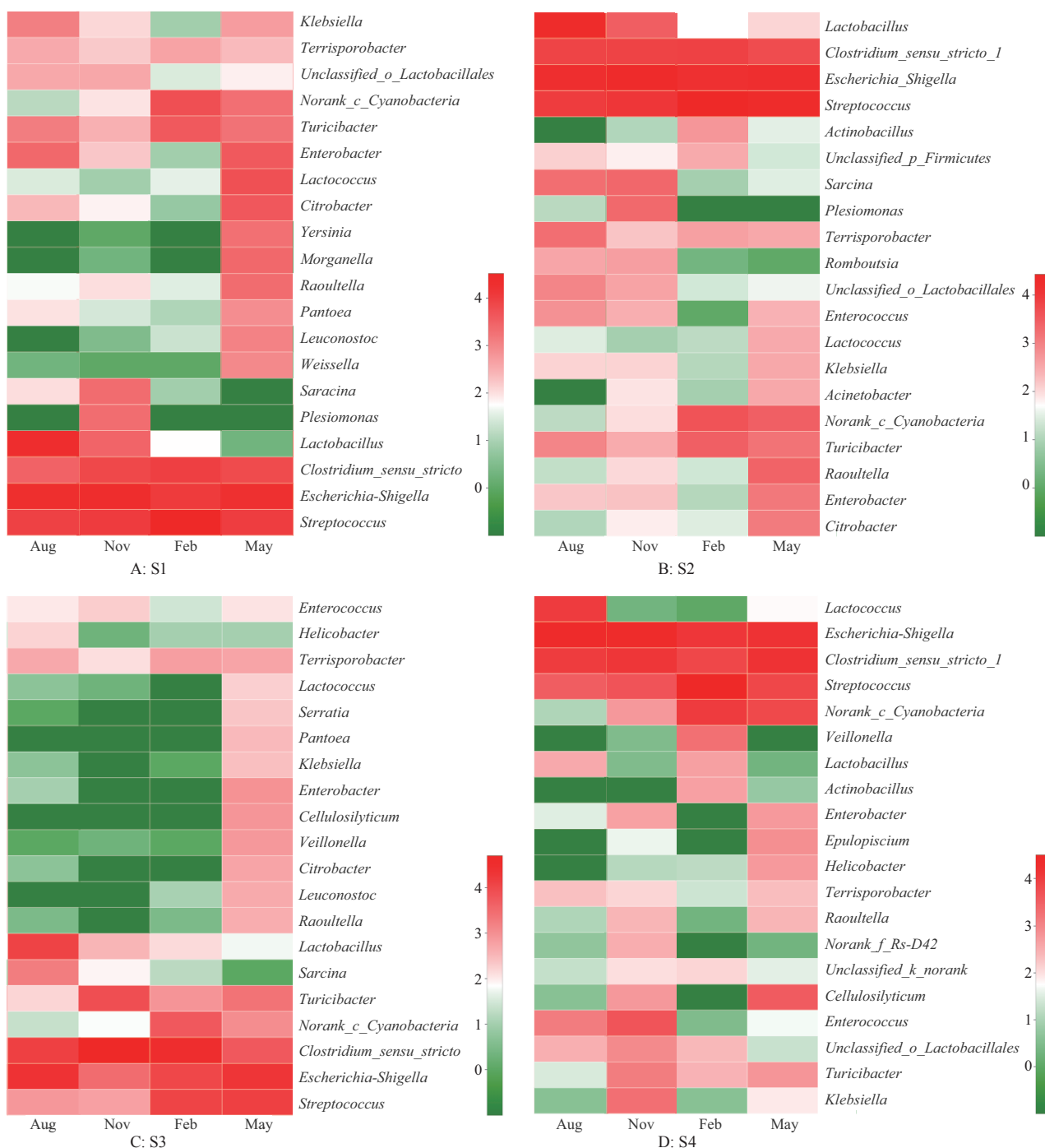


图2 大熊猫幼仔食物转化阶段属水平肠道细菌结构。颜色深浅代表属水平物种的丰度,红色越深丰度越高,绿色越深丰度越低。

Fig. 2 Intestinal bacterial structure of the giant panda cub at food conversion stages at genus level. The color degree represents the species abundance in genus. Red means high abundance, and green means low abundance.

测熊猫幼仔食性的变化能够影响其肠道菌群的结构,且大熊猫肠道细菌确实与其消化纤维素密切相关.19月龄的大熊猫幼仔肠道中的菌群结构与13月龄(及之前)差异显著,可见大熊猫幼仔发育至19月龄基本养成食竹习惯后,其肠道细菌群落结构会随之发生显著变化,对纤维素等营养的消化能力也会发生改变.丁赞研究发现17月龄的大熊猫肠道细菌的Shannon index多样性指数已基本接近成体大熊猫^[8],然而大熊猫幼仔发育至该阶段是否形成了较稳定的纤维素降解菌群结构仍需进一步探索.

我们初步探究大熊猫与食草动物肠道菌群结构发现,两者菌群结构差异显著(具体数据未在文中列出),食草动物的瘤胃结构能够辅助其高效降解纤维素,比较之下大熊猫不具备瘤胃结构所以对纤维素的消化能力较差.此外,大熊猫肠道结构的发育可能也会影响其肠道菌群的组成,有研究显示肠道生理结构的发育与肠道菌群关系密切^[27],肠道不同区段定殖的肠道菌群组成和功能也会存在较大差异^[28].大熊猫通过肉食动物特征的肠道消化竹子,其肠道生理结构与肠道菌群的相互作用一定具备特殊性.然而,由于大熊猫本身的稀有性,其肠道生理结构的相关研究难以开展,因此其肠道生理结构的发育机理尚不清晰,有待进一步探索.

大熊猫幼仔的肠道优势菌主要是*Streptococcus*、*Escherichia-Shigella*、*Clostridium sensu stricto* 1、*Lactobacillus*,并始终在大熊猫的肠道中占据较高的比重(表5),与彭广能等(1999)研究亚成体大熊猫的肠道菌群结构^[29]具有相似性,但在食物转化期3个细菌菌属占总细菌量的比重也存在一定波动性,其中*Streptococcus*与纤维素酶活性的变化具有较高的相似度(图3),16月龄S3肠道中*Streptococcus*的丰度显著高于S4,与两者的纤维素酶活差异具有一致性,*Streptococcus*可能与大熊猫肠道中营养和能量的代谢密切相关.很多研究表明大熊猫肠道中的梭菌属(*Clostridium*)是其消化纤维素的重要参与者^[22].大熊猫肠道中*Clostridium*属菌群丰度也有所增加,并在其肠道中占据较优地位.具体的大熊猫幼仔肠道优势细菌与纤维素消化能力的关系需进一步的相关性分析.

2.3 幼仔食物转化阶段的纤维素消化能力与肠道优势菌群的相关性

通过SPSS对大熊猫幼仔食物转化阶段肠道优势细菌丰

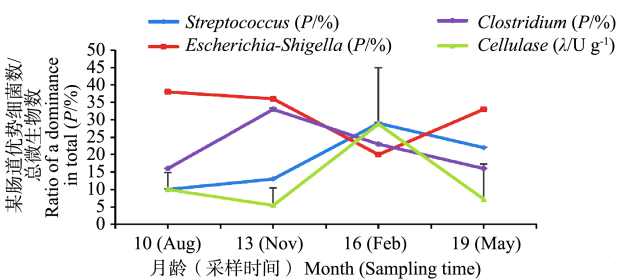


图3 大熊猫幼仔食物转化阶段肠道优势细菌丰富度及纤维素酶活性的变化情况。
Fig. 3 Changes of intestinal dominant bacterial richness and cellulase activity of the giant panda cub at food conversion stages.

度变化及细菌多样性变化情况与纤维素酶活性变化情况进行相关性分析,结果见表6.大熊猫幼仔的纤维素酶活性在食物转化阶段波动较大,且纤维素酶活性与大熊猫的肠道优势细菌的关系密切,特别与*Streptococcus*的相关性较高,相关性系数为0.709.这表示*Streptococcus*属的菌可能具备纤维素降解能力,并且是辅助大熊猫幼仔完成食性转化的主要菌属,王卫云等的研究^[30]与本实验结果具有一致性.此外,熊猫幼仔的纤维素酶活性与其纤维素摄入量存在一定正相关关系,这表明大熊猫幼仔对纤维素有一定的适应性,且大熊猫的肠道优势菌对其营养消化和能量代谢具有较大的帮助.然而,食物转化阶段幼仔对纤维素的适应能力,主要依赖的肠道菌群来源于食物还是母婴遗传值得进一步研究.

3 结论

(1) 大熊猫幼仔的纤维素酶活性一定程度上受食物组成的影响.一岁(13月龄)后大熊猫幼仔增加竹子的摄入量,其纤维素酶活性也明显上升,表明食物转化阶段熊猫幼仔对纤维素有一定的应激反应.但是,总体而言,大熊猫对纤维素的消化利用能力是比较弱的,一方面由于其保留着肉食动物的肠道系统;另一方面大熊猫虽然取食大量竹子,但竹子在其肠道的滞留时间短.

(2) 大熊猫幼仔食物转化阶段的肠道细菌结构变化较大,肠道细菌的丰富度逐渐升高,优势细菌的优势度也

表5 大熊猫幼仔食物转化阶段的肠道优势细菌占比情况
Table 5 The proportion of intestinal dominant bacteria in the giant panda cub at food conversion stages

编号 Sample No.	<i>Streptococcus</i>				<i>Escherichia-Shigella</i>				<i>Clostridium</i>			
	10月龄 10 months (Aug)	13月龄 13 months (Nov)	16月龄 16 months (Feb)	19月龄 19 months (May)	10月龄 10 months (Aug)	13月龄 13 months (Nov)	16月龄 16 months (Feb)	19月龄 19 months (May)	10月龄 10 months (Aug)	13月龄 13 months (Nov)	16月龄 16 months (Feb)	19月龄 19 months (May)
S1	15%		51%	16%	33%		18%	30%	5%		15%	10%
S2	15%	22%	46%	40%	27%	46%	26%	30%	11%	15%	13%	10%
S3	6%	9%	48%	14%	49%	47%	19%	30%	20%	24%	11%	30%
S4	2%	1%	19%	28%	44%	5%	17%	42%	26%	79%	51%	12%

表6 大熊猫幼仔食物转化阶段肠道细菌性质与纤维素酶活性的Pearson相关性分析
Table 6 Pearson correlation analysis of intestinal bacterial properties and cellulase activity of the giant panda cubs at food conversion stages

指标 Index	<i>Streptococcus</i>	<i>Escherichia-Shigella</i>	<i>Clostridium sensu stricto</i> 1	细菌香农指数 Bacterial Shannon	细菌Chao指数 Bacterial Chao	纤维素摄入量 Cellulose intake
纤维素酶活性 Cellulase activity	0.709	-0.562	0.113	-0.803	-0.349	0.681

逐渐上升. 肠道中*Lactobacillus*、*Romboutsia*属丰度降低, 而纤维素降解菌属*Cellulosilyticum*的丰度明显增加, 优势细菌属*Streptococcus*、*Escherichia-Shigella*、*Clostridium_sensu_stricto_1*的优势度始终较高. 大熊猫肠道菌群结构除了受食物结构的影响, 此外可能也与其发育过程中肠道生理结构的变化有关. 大熊猫利用肉食动物特征的肠道系统消化竹子, 其肠道结构与肠道菌群的相互作用一定具备其特殊性. 然而由于大熊猫的特殊性, 目前关于其肠道结构的发育机理研究较少, 仍有待进一步探究.

(3) 处于食物转化期的大熊猫幼仔对纤维素的适应消化能力与肠道菌关系紧密. 特别是其优势菌属*Streptococcus*和*Clostridium_sensu_stricto_1*可能是帮助大熊猫幼仔消化纤维素的重要菌属. 然而, 大熊猫在幼仔发育阶段是否形成了稳定的纤维素降解菌群目前尚不清晰, 此外这些优势菌属的来源是通过食物还是母婴遗传, 值得进一步研究.

参考文献 [References]

- 何东阳. 大熊猫取食竹选择、消化率及营养和能量对策的研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2010 [He DY. Study on bamboo selection, digestibility, nutrition and energy countermeasures for giant pandas [D]. Beijing: Beijing Forestry University, 2010]
- Zhang W, Liu W, Hou R, Zhang L, Stephan Schmitz-Esser, Sun HB, Xie JJ, Zhang YF, Wang CD, Li LF, Yue BS, Huang H, Wang HR, Shen FJ & Zhan ZH. Age-associated microbiome shows the giant panda lives on hemicelluloses, not on cellulose [J]. *ISME J*, 2018 (12): 1319-1328
- Wei F, Wang X, Wu Q. The giant panda gut microbiome [J]. *Trends Microbiol*, 2015, **23** (8): 450-452
- 房伟, 方泽民, 张学成, 肖亚中. 肠道微生物协助大熊猫转化降解木质素的证据[R]. 全国微生物资源学术暨国家微生物资源平台运行服务研讨会, 成都, 2012 [Fang W, Fang ZM, Zhang XC, Xiao YZ. Intestinal microorganisms assisting giant pandas in transforming and degrading lignin [R]. National Microbial Resources Academic and National Microbial Resource Platform Operation Service Seminar, Chengdu, 2012]
- Guo W, Mishra S, Zhao J, Tang JS, Zeng B, Kong FL, Ning RH, Li M, Zhang HZ, Zeng YT, Tian YLZ, Zhong YH, Luo HD, Liu YH, Yang JD, Yang MY, Zhang MW, Li Y, Ni QY, Li CW, Wang CD, Li DS, Zhang HM, Zuo ZL, Li Y. Metagenomic study suggests that the gut microbiota of the giant panda (*Ailuropodamelanoleuca*) may not be specialized for fiber fermentation. [J]. *Front Microbiol*, 2018, **9**: 229
- 邹兴淮, 曾鲁军, 孙中武, 闫文, 何光昕, 吴孔菊, 陈玉村, 翁妮娜. 大熊猫疾病死亡因素分析及其保护对策[J]. 东北林业大学学报, 1998 (1): 54-57 [Zou XH, Zeng LJ, Sun ZW, Yan W, He GB, Wu KJ, Chen YC, Weng NN. Analysis of death factors of giant panda diseases and their protection strategies [J]. *J NE For Univ*, 1998 (1): 54-57]
- 刘定震, 张贵权, 魏荣平, 陈林强, 张和民. 圈养繁育大熊猫幼仔生长发育规律的研究[J]. 北京师范大学学报(自然科学版), 2001 (3): 396-401 [Liu DZ, Zhang GQ, Wei RP, Chen LQ, Zhang HM. Study on the growth and development regularity of giant panda cubs in captivity [J]. *J Beij Norm Univ (Nat Sci)*, 2001 (3): 396-401]
- 丁赞. 探究圈养大熊猫肠道菌群的发育动态[D]. 南昌: 南昌大学, 2017 [Ding B. Exploring the developmental dynamics of the intestinal flora of captive giant pandas [D]. Nanchang: Nanchang University, 2017]
- 罗永久, 钟志军, 彭广能, 唐天亮, 解冰冰, 王承东, 吴江兰, 刘俊卿, 孙鸿雁. 不同食性动物肠道菌群的ERIC-PCR指纹图谱分析[J]. 中国兽医学报, 2014, **34** (11): 1764-1769 [Luo YJ, Zhong ZJ, Peng GN, Tang TL, Xie BB, Wang CD, Wu JL, Liu JQ, Sun YN. Characterization of intestind bacterial diversity for different feeding habit animals by ERIC-PCR fingerprinting [J]. *Chin J Vet Sci*, 2014, **34** (11): 1764-1769]
- Williams CL, Dill-Mcfarland KA, Sparks DL, Kouba AJ, Willard ST, Suen G, Brown AE. Dietary changes during weaning shape the gut microbiota of red pandas (*Ailurusfulgens*) [J]. *ConservPhysiol*, 2018, **6** (1): 10.1093/conphys/cox075
- Shao Y. Symbiont-derived antimicrobials contribute to the control of the Lepidopteran gut microbiota [J]. *Cell Chem Biol*, 2017, **24** (1): 66
- Hesla HM. Impact of lifestyle on the gut microbiota of healthy infants and their mothers—the ALADDIN birth cohort [J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2015, **90** (3): 791-801
- Zhu L, Wu Q, Dai J, Zhang SN, Wei FW. Evidence of cellulose metabolism by the giant panda gut microbiome [J]. *PNAS*, 2011, **108** (43): 17714-17719
- 张文平, 张志和. 大熊猫肠道宏基因组发育分析[R]. 第十三届全国野生动物生态与资源保护学术研讨会暨第六届中国西部动物学学术研讨会, 成都, 2017 [Zhang WP, Zhang ZH. Macro genome development analysis of giant panda's intestine [R]. The 13th National Symposium on Wildlife Conservation and the 6th Western China Zoological Symposium, Chengdu, 2017]
- 蒋婵, 李青青, 刘莉莉, 周杰珑, 陈粉粉, 杨亚晋, 张璇, 郭爱伟. 大熊猫10种潜在食竹营养成分的季节变化[J]. 南京林业大学学报(自然科学版), 2018, **42** (5): 148-154 [JiangC, Li QQ, Liu LL, Zhou JL, ChenFF, Yang YJ, ZhangX, Guo AW. Seasonal variation of nutrient composition of 10 potential bamboo species of giant pandas [J]. *J Nanjing For Univ (Nat Sci Ed)*, 2018, **42** (5): 148-154]
- 赵志琛, 林达, 孙雪, 张贵权, 贾竞波. 大熊猫弃食竹秆皮的化学原因[J]. 四川动物, 2016, **35** (2): 161-166 [Zhao ZC, Lin D, Sun X, Zhang GQ, Jia JB. Chemical reasons for giant pandas to abandon bamboo stalks [J]. *Sichuan Anim*, 2016, **35** (2): 161-166]
- 徐昶, 龙敏南, 邬小兵, 徐惠娟, 陈重安, 张凤章, 许良树. 高产纤维素酶菌株的筛选及产酶条件研究[J]. 厦门大学学报 (自然版), 2005, **44** (1): 107-111 [Xu C, Long MN, Wu XB, Xu HJ, Chen CA, Zhang FZ, Xu LS. Screening and characterization of a high cellulase producing strain *Aspergillus glaucus* XC9 [J]. *J Xiamen Univ (Nat Sci)*, 2005, **44** (1): 107-111]
- 袁楠, 亢宗静, 卢圣鄂, 王莹燕, 张小平, 辜运富. 富集培养下的若尔盖高原湿地低温纤维素降解细菌群落结构[J]. 应用与环境生物学报, 2016, **22** (3): 402-408 [Yuan N, Kang ZJ, Lu SE, Wang YY, Zhang XP, Gu YF. Community structures of the cold-adapted cellulose-degrading bacteria in the Zoige plateau wetland under enrichment culture conditions [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2016, **22** (3): 402-408]
- 曾文慧, 钟俊鸿, 李秋健, 刘炳荣. 反应温度对台湾乳白蚁内外源纤维素酶活力的差异影响[J]. 江苏农业科学, 2017, **45** (8): 91-94 [Zeng WH, Zhong JH, Li QJ, Liu BR. Effects of reaction temperature on endogenous and exogenous cellulase activities of *C. formosanus* in Taiwan [J]. *Jiangsu Agric Sci*, 2017, **45** (8): 91-94]
- Dutilleul P. The Mantel test versus Pearson's correlation analysis:

- assessment of the differences for biological and environmental studies [J]. *J Agric Biol Environ Stat*, 2000, **5** (2): 131-150
- 21 Huang L, Gao X, Liu M. Correlation among soil microorganisms, soil enzyme activities, and removal rates of pollutants in three constructed wetlands purifying micro-polluted river water [J]. *Ecol Eng*, 2012, **46**: 98-106
 - 22 魏辅文. 大熊猫演化保护生物学研究[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, **48** (10): 1048-1053 [Wei FW. Giant panda evolutionary conservation biology [J]. *Sci Sin Vitae*, 2018, **48** (10): 1048-1053
 - 23 Gerritsen J, Hornung B, Renckens B. Genomic and functional analysis of *Romboutsia ilealis* CRIBT reveals adaptation to the small intestine [J]. *Peer J*, 2017, **5**: e3698; 10.7717/peerj.3698
 - 24 Kaila M, Isolauri E, Soppi E, Du G, Guo JS, Theoneste N. Enhancement of the circulating antibody secreting cell response in human diarrhea by a human lactobacillus strain [J]. *Ped Res*, 1992, **32** (2): 141-144
 - 25 王璨, 东秀珠. 居瘤胃解纤维素菌细胞密度与纤维素酶的合成[J]. 微生物学报, 2012, **52** (9): 1069-1074 [Wang C, Dong XZ. Study on cell density and cellulase synthesis of rumen cellulolytic bacteria [J]. *Acta Microbiol Sin*, 2012, **52** (9): 1069-1074]
 - 26 Shichun C, Jiabao L, Fen Ze H, Zhang KG, Luo YM, Benjamin J, Robert B, Garth E, Dong XZ. *Cellulosilyticum rumenicola*, a newly described rumen bacterium that possesses redundant fibrolytic-protein-encoding genes and degrades lignocellulose with multiple carbohydrate-borne fibrolytic enzymes [J]. *Appl Environ Microbiol*, 2010, **76** (12): 3818-3824
 - 27 Chu H. Gene-microbiota interactions contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Science*, 2016, **352** (6289): 1116
 - 28 秦伟, 王维平. 白蚁消化道及肠道微生物研究简述[J]. 生物灾害科学, 2007, **30** (2): 68-69 [Qin W, Wang WP. Brief introduction of termite digestive tract and intestinal microbe research [J]. *Biol Dis Sci*, 2007, **30** (2): 68-69]
 - 29 彭广能, 熊焰, 李德生, 张和民, 何廷美. 亚成体大熊猫肠道正常菌群变化的初步研究[J]. 四川畜牧兽医, 1999 (5): 23 [Peng GN, Xiong Y, Li DS, Zhang HM, He TM. A preliminary study on the changes of normal intestinal flora in sub-adult giant panda [J]. *Sichuan Anim Husb Vet Med*, 1999 (5): 23]
 - 30 王卫云, 李大彪, 于永强, 邢媛媛, 李子健. 瘤胃4株纤维降解细菌的分离鉴定及其纤维降解特性[J]. 畜牧兽医学报, 2016, **47** (11): 2294-2300 [Wang WY, Li DB, Yu YQ, Xing YY, Li ZJ. Isolation and identification of four fiber degrading bacteria from rumen and their fiber degradation characteristics [J]. *J Anim Husb Vet Med*, 2016, **47** (11): 2294-2300]