

植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群、血浆代谢物及肉品质的影响

刘婷¹, 靳烨¹, 要铎¹, 张艳妮¹, 王宏迪¹,
苏琳¹, 田建军¹, 杜霞², 段艳^{1*}

(1. 内蒙古农业大学食品科学与工程学院, 呼和浩特 010018; 2. 内蒙古乌拉特中旗农牧和科技局, 乌拉特中旗 015300)

摘要: 为了研究植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群、血浆代谢物和肉品质的影响及其作用机理, 选取三月龄苏尼特羊为试验对象, 随机分为2组: 对照组(C组, 基础日粮)和植物乳杆菌组(R组, 基础日粮+活菌数为 3×10^{10} cfu/g植物乳杆菌), 进行为期90 d的饲喂试验。屠宰后取其肠道内容物及背最长肌, 利用高通量测序技术、代谢组学液相-色谱联用技术等对苏尼特羊肠道菌群、血浆代谢物及肉品质进行测定, 探究肠道菌群与血浆代谢物之间的关系。结果表明: 饲喂植物乳杆菌显著提高了肠道拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、克里斯滕森菌属(*Christensenellaceae_R-7_group*)、理研菌属RC9肠道群(*Rikenellaceae_RC9_gut_group*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcaceae_UCG-010*)的丰度($P<0.05$), 减少了厚壁菌门(*Firmicutes*)、变形菌门(*Proteobacteria*)、另枝菌属(*Alistipes*)和普雷沃氏菌UCG-003菌属(*Prevotellaceae_UCG-003*)的丰度($P<0.05$)。血浆代谢组分析结果显示植物乳杆菌显著增加了吲哚-3-丙酸、皮质醇、甘氨胆酸、L-精氨酸等含量($P<0.05$), 降低了3-羟基月桂酸含量($P<0.05$)。通过相关性分析发现, 肠道中*Bacteroidetes*、*Prevotellaceae_UCG-001*均与血浆代谢物甘氨胆酸呈显著正相关($P<0.05$)。此外, 在肉品质分析中植物乳杆菌显著提高了肉的亮度值(L^*)、黄度值(b^*)、pH_{24h}值($P<0.05$), 显著降低肉的蒸煮损失、剪切力($P<0.05$)。由此可见, 日粮添加植物乳杆菌能够通过改变苏尼特羊肠道菌群结构, 调节血浆代谢物参与机体脂肪代谢, 进而改善羊肉品质, 试验结果为今后提高蒙古羊肉品质提供理论参考。

关键词: 肉; 品质控制; 苏尼特羊; 植物乳杆菌; 肠道微生物菌群; 血浆代谢物

doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.03.033

中图分类号: TS251.5

文献标志码: A

文章编号: 1002-6819(2022)-03-0286-09

刘婷, 靳烨, 要铎, 等. 植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群、血浆代谢物及肉品质的影响[J]. 农业工程学报, 2022, 38(3): 286-294. doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.03.033 <http://www.tcsae.org>

Liu Ting, Jin Ye, Yao Duo, et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* on intestinal flora, plasma metabolites and meat quality of Sunit sheep[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2022, 38(3): 286-294. (in Chinese with English abstract) doi: 10.11975/j.issn.1002-6819.2022.03.033 <http://www.tcsae.org>

0 引言

近年来中国对于草场保护十分重视, 大多传统的放牧方式已被集中圈养所取代^[1]。饲养方式的转变不仅可以发展饲养规模, 又可减少环境污染和破坏。苏尼特羊是中国蒙古羊的优良品种, 因其具有适应能力强、营养价值高、膻味小、肉嫩味美等特点得到牧民及消费者的广泛认可, 具有极大的研究价值^[2]。为保障羊肉品质在圈养条件下不劣化, 提高圈养羊肉品质将成为待解决的首要问题。益生菌能替代抗生素添加到动物饲料中, 提高畜禽生产效益, 促进动物机体代谢进而改善肉品质^[3]。益生菌中乳酸菌可以提高机体的抗氧化能力, 减少PSE(Pale,

Soft, Exudative)肉的产生, 能够减少肠道中胺、硫化氢等有害代谢产物的生成, 从而改善肉品风味^[4]。植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)是乳酸菌的一种, 能与肠道中其他细菌协同作用, 争夺利于肠道病原菌生长的营养物质, 促进自身定殖并抑制部分致病菌繁殖^[5], 研究表明^[6], 植物乳杆菌能够应用于饲料及养殖生产中。研究表明, 益生菌能提高育肥猪的生长性能, 改善了肠道菌群多样性^[7]。程光民等^[8]研究发现饲喂植物乳杆菌有利于提高杜泊绵羊生长性能、屠宰性能和肌肉品质。李稳稳等^[9]基于高通量测序发现益生菌能够调节动物肠道菌群, 促进机体有益代谢。

代谢组学贯穿于肉品生产诸多环节当中(动物饲喂、屠宰、加工等), 利用高通量检测技术和多元数据处理方法研究物体受外部刺激所产生的所有代谢产物(如氨基酸、有机酸、肽类或酚类物质等), 检测动物的血浆、粪便、瘤胃、组织等代谢物生物标志物^[10]。代谢组学分析技术有核磁共振技术(Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy, NMR)、气相色谱-质谱联用技术(Gas Chromatography-Mass Spectroscopy, GC-MS)以及液相色谱-质谱联用技术(High Performance Liquid Chromatography-Mass Spectroscopy, LC-MS)。NMR检

收稿日期: 2021-09-27 修订日期: 2021-12-07

基金项目: 国家自然科学基金地区项目(31960514); 国家自然科学基金地区项目(32060519); 内蒙古自治区自然科学基金资助项目(2021MS03012); 内蒙古自治区成果转化专项项目(2019CG066); 内蒙古自治区自然科学基金重大专项项目(2020ZD11); 内蒙古自治区自然科学基金重大专项项目(2021MS03012)

作者简介: 刘婷, 博士生, 研究方向为益生菌调控胃肠道菌群改善肉品质。

Email: 1306760575@qq.com

※通信作者: 段艳, 博士, 副教授, 研究方向为畜产品加工及安全。

Email: duanyannmg@126.com

测灵敏度相对较低, 对痕量物质检测存在误差; GC-MS 则在分析难挥发的代谢组分需经过衍生化处理, 若衍生不当, 则会降低样品检测的灵敏度; 而 LC-MS 可直接对代谢产物进行定性和定量分析, 具有较高的分辨率、检测灵敏度和分析速度, 适合代谢组学代谢物的轮廓分析^[11]。Artegotia 等^[12]利用代谢组学技术筛选了 33 种肉牛代谢标志产物鉴定瘤胃生理功能。曹青青^[13]联合生物组学及代谢组学研究发现唾液乳杆菌 (*Lactobacillus salivarius* GZPH2) 能调节豹纹鳃棘鲈肠道菌群并促进功能性代谢物产生, 增强机体抗氧化能力。杜瑞等^[14]发现益生菌能影响苏尼特羊肠道菌群及其代谢产物, 提高苏尼特羊屠宰性能和胴体品质, 尤其是提升肉羊色泽及嫩度, 肠道菌群中 *Ruminococcaceae_UCG_002* 升高有利于羊肉剪切力值降低, *Saccharofermentans* 丰度增加可增加瘤胃中异戊酸和异丁酸的含量进而增加肌肉中 PUFA 的含量。基于以上研究证明饲喂益生菌能影响动物肠道菌群、机体代谢及圈养羊肉品质, 但通过饲喂植物乳杆菌建立苏尼特羊肠道菌群与血浆代谢物之间的关系进而改善肉品质的影响还未见系统研究。因此, 本试验基于高通量测序及 LC-MS 代谢组学技术分析添加植物乳杆菌对苏尼特羊肉品质的作用, 摸索肠道微生物及血浆代谢物的变化规律, 为今后通过组织靶标代谢产物改善羊肉品质提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

在内蒙古巴彦淖尔市乌拉特中旗, 选取 12 只平均活体质量为 (38.42±1.64) kg 的 3 月龄健康无病的纯种苏尼特羊羔随机分为对照组 (C 组) 和植物乳杆菌组 (R 组), 每组 6 只, 公母各半。C 组饲喂基础饲粮 (玉米 60%、干草 38%、矿物质 2%); R 组除饲喂基础饲粮之外, 补充添加植物乳杆菌粉 12g/d (山东宝来利来生物工程股份有限公司), 活菌数为 3×10^{10} cfu/g, 每日饲喂 1 次, 参照白艳萍等^[15]的研究将添加水平设为 2 g/只, 试验期间自由饮水、活动, 不添加抗生素, 进行 90 d 饲喂试验。

采血针静脉采血用于血液代谢物测定, 肉羊屠宰放血后采集背最长肌作为研究对象, 从盲肠中收集粪便样品置于 15 mL 无菌无酶离心管中用于肠道微生物分析^[16]。

乙腈 (Merck, 1499230-935)、乙酸铵 (Sigma, 70221); 核酸染料 (Gelview), 北京百泰克生物技术有限公司; 琼脂粉, 西安国安生物科技有限公司; Maker, 大连宝生物工程有限公司; 粪便 DNA 提取试剂盒, 北京天根生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

ZHJH-C1112C 型超净工作台, 上海智城分析仪器制造有限公司; Veriti96 Well Thermal Cycler PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司; Real-TimePCR 仪, 美国 Bio-rad 公司; 胴体直测型 pH 计、TC-P2A 全自动色差计, 北京奥依克光电仪器有限公司; CL-M 嫩度仪, 东北农业大学工程学院; Illumina MiSeq MISEQ 测序仪, Illumina 公司; AB Triple TOF 6600 质谱仪 (AB SCIEX); Agilent 1290

Infinity LC 超高压液相色谱仪, 安捷伦公司; ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱: 1.7 μm, 2.1 mm×100 mm column 沃特世科技 (上海) 有限公司。

1.3 方法

1.3.1 肠道微生物菌群测定与分析

参考杜瑞等^[17]的方法, 采用 QIAamp DNA Stool Mini Kit 试剂盒提取细菌总 DNA, 用核酸浓度测定仪测定总 DNA 浓度, 于 -20 ℃ 保存备用。

1.3.2 血浆代谢物测定

1) 色谱条件: 血浆代谢物测定参考 Zhang 等^[18]的方法。Agilent 1290 Infinity LC 超高效液相色谱系统, HILIC 色谱柱分离; 柱温 25 ℃; 流速 0.5 mL/min; 进样量 2 μL; 流动相 A: 水+25 mmol/L 乙酸铵+25 mmol/L 氨水, B: 乙腈; 梯度洗脱程序: 0~0.5 min, 95% B; 0.5~7 min, B 从 95% 线性变化至 65%; 7~8 min, B 从 65% 线性变化至 40%; 8~9 min, B 维持在 40%; 9.1 min, B 从 40% 线性变化至 95%; 9.1~12 min, B 维持在 95%; 过程中样品置于 4 ℃ 自动进样器, 随机顺序进行样本连续分析, 插入 QC 样品, 监测并评价系统稳定性及试验数据可靠性。

2) Q-TOF 质谱条件: ESI 源条件: 离子源气体 1:60、2:60, 气帘气: 30, 源温度: 600 ℃, 喷雾电压: ±5 500 V; TOF MS 扫描 m/z: 60~1 000 Da, 子离子扫描 m/z: 25~1 000 Da, TOF-MS 单张图谱扫描时间: 0.20 s, 样品离子单张图谱扫描积累时间: 0.05 s; 二级质谱: 去簇电压: ±60 V, 碰撞能量: 35±15 eV。

1.3.3 羊肉品质测定

肉品质测定参照王柏辉^[19]的方法, 包括肉色、pH 值、嫩度和熟肉率。

1) pH 值测定: 胴体直插式 pH 计分别测定宰后 45 min 和 24 h 背最长肌的 pH 值, 记作 pH_{45min} 和 pH_{24h}。

2) 色泽测定: 将肌肉切成 3 cm×3 cm×1 cm 的肉块, 屠宰 45 min 后用 TC-P2A 全自动色差计测定肌肉色差, 每个样品测定 3 次, 记录并取平均值。L* 值为亮度; a* 值为红度; b* 值为黄度。

3) 嫩度测定: 沿羊肉的肌纤维方向进行取样, 肉样排酸 24 h 后, 水浴锅 75 ℃ 蒸煮 45 min, 取出室温冷却后用滤纸擦干表面水分, 沿肌纤维方向将其切成 3 cm×1 cm×1 cm 形状的肉条, 用嫩度仪测定剪切力值。

4) 熟肉率测定: 取 50 g 左右的肉样记录煮前质量 (m_1 , g), 肉样中心插入温度计, 放入在水浴锅 85 ℃ 煮制 40 min, 待肉样中心温度达到 75 ℃ 后室温冷却, 擦干表面水分, 记录煮后质量 (m_2 , g), 下式计算熟肉率。

$$\text{熟肉率} (\%) = \frac{m_1}{m_2} \times 100$$

5) 屠宰性能测定: 所有试验羊宰前 24 h 禁食, 测量方法参考侯艳茹^[20]对其屠宰性能相关指标进行测定。

1.4 数据分析

两组数据每组 6 个平行 3 次重复, 采用 SPSS 26.0 软件 (IBM 公司) 单因素方差分析 student t 检验进行显著性分析及典型相关性分析。采用 Origin 8.0 和 Excel 2020 软件作图。

选取 16S rRNA 的 V4-V5 区序列进行高通量测序分析, 进一步对目的聚合酶链式反应产物进行文库构建, 由上海美吉生物医药科技有限公司在 Illumina MiSeq 平台上完成测序后使用 QIIME 分析平台开展序列的生物信息学分析。

血浆代谢物原始数据转换为 .mzXML 格式, 采用 XCMS 软件峰对齐、保留时间校正和提取峰面积。首先进行代谢物结构鉴定、数据预处理, 然后进行试验数据质量评价及数据分析。

2 结果与分析

2.1 饲喂植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群的影响

2.1.1 Alpha 多样性分析

Alpha 多样性是反映丰富度和均匀度的综合指标, 通过测序得到了盲肠样本的总计 321 324 条高质量序列, 共获得了 2 138 个 OTU (Operational Taxonomic Units) 操作分类单元, 两组覆盖率均达到 99%, 均满足后续肠道菌群组成分析要求。表 1 所示 R 组的 Shannon 指数、Chao1 指数和 Ace 指数显著高于 C 组 ($P<0.001$), 说明 R 组羊的肠道微生物群落多样性及丰富度高于 C 组羊。

表 1 植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群 α -多样性的影响

Table 1 Effect of *Lactobacillus plantarum* on the α -diversity of intestinal flora in Sunit sheep

指标 Index	对照组 (C 组) Control group	植物乳杆菌组 (R 组) Lactobacillus group
序列数	160 662	164 976
OTU 数	1589	1 832
Shannon	3.74±0.75 ^b	5.1±0.04 ^a
Ace	738.69±50.42 ^b	1 125.56±28.19 ^a
Chao	836.88±36.80 ^b	1 144.43±23.66 ^a
覆盖率/%	99	99

注: 同行不同小写字母代表差异显著 ($P<0.05$), 未标注字母代表差异不显著 ($P>0.05$), 下同。

Note: Different lowercase letters in the same row represent significant differences ($P<0.05$), and unmarked letters represent insignificant differences ($P>0.05$). The same below.

2.1.2 Beta 多样性分析

1) 菌群组分分析:

通过 16S rRNA 基因测序分析 Beta 多样性, 表 2 所示两组样品间的差异。在门水平上, 两组细菌种类的相对丰度主要以厚壁菌门 (Firmicutes) 以及拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主, 两者相对丰度之和超过了 90%。与 C 组相比, R 组的 Bacteroidetes、疣微菌门 (Verrucomicrobia) 和放线菌门 (Actinobacteria) 丰度显著提高 ($P<0.05$), 而 Firmicutes 变形菌门 (Proteobacteria) 的丰度显著降低 ($P<0.05$)。在属水平上, R 组拟杆菌属 (*Bacteroides*)、瘤胃球菌属 _UCG-010 (*Ruminococcaceae*_UCG-010)、瘤胃球菌属 _UCG-005 (*Ruminococcaceae*_UCG-005)、克里斯滕森菌_R-7 组 (*Christensenellaceae*_R-7_group) 和理研菌_RC9_肠道群 (*Rikenellaceae*_RC9_gut_group) 丰度显著提高 ($P<0.05$), 而另枝菌属 (*Alistipes*)、普雷沃氏菌_UCG-003 (*Prevotellaceae*_UCG-003) 丰度显著低于 C 组 ($P<0.05$)。可见, 饲喂植物乳杆菌能够改变盲肠微生物群落优势菌

群的组成与结构。

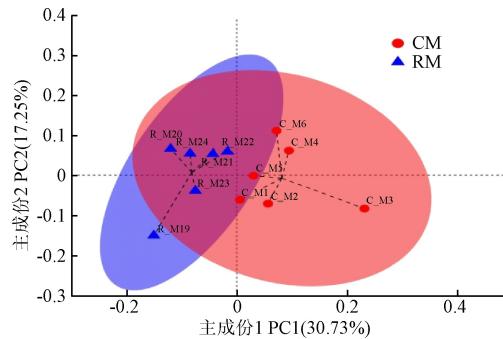
表 2 植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群相对丰度的影响

Table 2 Effect of *Lactobacillus plantarum* on the relative abundance of intestinal microflora of Sunit sheep

类别 Systematics	名称 Name	对照组 (C 组) Control group	植物乳杆菌组 (R 组) Lactobacillus group	%
门水平	厚壁菌门 Firmicutes	60.10±0.57 ^a	43.45±2.23 ^b	
	拟杆菌门 Bacteroidetes	35.86±2.24 ^b	51.32±2.63 ^a	
	螺旋体门 Spirochaetes	0.92±0.38	0.91±0.68	
	变形菌门 Proteobacteria	1.45±0.35 ^a	0.67±0.34 ^b	
	疣微菌门 Verrucomicrobia	0.13±0.08 ^b	0.61±0.12 ^a	
	纤维杆菌门 Fibrobacteres	0.31±0.47	0.32±0.26	
	放线菌门 Actinobacteria	0.07±0.03 ^b	0.36±0.12 ^a	
属水平	拟杆菌属 <i>Bacteroides</i>	2.27±0.34 ^b	6.09±0.15 ^a	
	瘤胃球菌属 _UCG-010	5.75±0.94 ^b	10.20±1.41 ^a	
	<i>Ruminococcaceae</i> _UCG-010			
	瘤胃球菌属 _UCG-005	2.98±0.6 ^b	8.78±0.44 ^a	
	<i>Ruminococcaceae</i> _UCG-005			
	克里斯滕森菌_R-7 组	6.39±0.56 ^b	11.36±1.97 ^a	
	<i>Christensenellaceae</i> _R-7_group			
	理研菌_RC9_肠道群	2.64±0.09 ^b	8.67±0.31 ^a	
	<i>Rikenellaceae</i> _RC9_gut_group			
	另枝菌属 <i>Alistipes</i>	7.17±1.65 ^a	2.78±1.79 ^b	
	普雷沃氏菌_UCG-001	6.12±5.43	9.10±8.12	
	<i>Prevotellaceae</i> _UCG-001			
	普雷沃氏菌_UCG-003	7.20±1.54 ^a	2.13±0.64 ^b	
	<i>Prevotellaceae</i> _UCG-003			

2) 主成分分析 (PCoA)

利用主成分分析 (Principal Coordinates Analysis, PCoA) 降维排序方法观察分析群体间的差异, 鉴别饲喂植物乳杆菌后两组肠道菌群的差异。由图 1 可知, R 组和 C 组每组样本点分散区域比较密集, 组内微生物群落结构相似。两组主成分图略有重叠, 但两组肠道菌群差异总体区分不显著, 说明苏尼特羊肠道菌群组成具有基因同源性。而从第一主成分能分析出饲喂植物乳杆菌对苏尼特羊的盲肠微生物群落产生一定影响。



注: CM 代表 C 组盲肠样本, RM 代表 R 组盲肠样本。

Note: CM represents the cecum sample of group C, and RM represents the cecal sample of group R.

图 1 主成分分析散点图两组样本分析

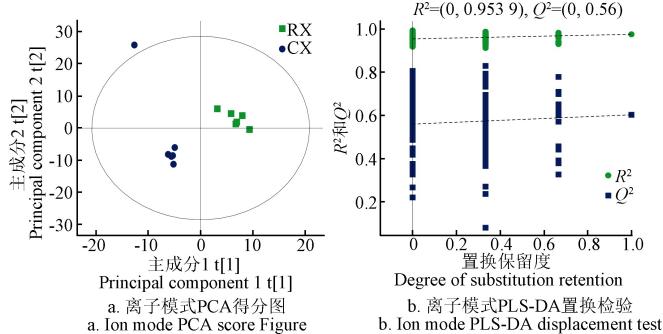
Fig.1 Principal Coordinates Analysis (PCoA) scatter plot analysis of two groups of samples

2.2 饲喂植物乳杆菌对苏尼特羊肠道菌群的影响

2.2.1 OPLS-DA 分析

R 组和 C 组的得分不同代表代谢组成不同。采用

Permutation test 对模型进行检验, R^2 和 Q^2 表示置换保留度等于 1, 即原模型的 R^2 和 Q^2 值。图 2 中随机模型的 R^2 和 Q^2 均逐渐下降, 说明原模型不存在过拟合现象。 Q^2 大于 0.5, 表明两组模型稳定可靠, 满足后续苏尼特羊血浆代谢物分析。



注: 图 2a CX 代表 C 组血浆样本, RX 代表 R 组血浆样本; 图 2b R^2 和 Q^2 表示模型评价参数的值。

Note: In Figure 2a, CX represents group C plasma samples, RX represents group R plasma samples. In Figure 2b, and the values of R^2 and Q^2 represents the model evaluation parameters.

图 2 OPLS-DA 得分及置换检验图
Fig.2 OPLS-DA score and permutation test

2.2.2 血浆差异代谢物分析

以 OPLS-DA VIP>1 和 $P<0.05$ 作为筛选标准, 通过对苏尼特羊血浆显著性差异代谢物的分析, 结果如表 3 所示, 通过 Fisher 精确检验分析计算出两组血浆样品中鉴定的化合物主要与胆汁分泌和胆固醇代谢有关, 主要鉴定了 6 种化合物, 3 种通路富集均可归类于脂肪代谢。如 3-羟基月桂酸、皮质醇、雷米普利、吲哚-3-丙酸等代谢产物均对胆固醇代谢有所影响, 能够影响机体糖脂代谢。3-羟基月桂酸属于 β -羟基脂肪酸的一种, 通过自由脂肪酸受体 (FFA1-FFA4) 和羟基羧酸受体 (HCA1-HCA3) 的 G 蛋白偶联受体发挥细胞效应, 由细胞线粒体 β -氧化产生, 与脂肪酸代谢性疾病有关^[21]。皮质醇介导抗炎作用和肝脏疾病中的程序性细胞死亡, 能刺激肝细胞增殖并被肝脏循环吸收^[22]。雷米普利能调节昼夜节律基因的表达, 抑制血管紧张素转换酶并维持机体葡萄糖稳态与胰岛素水平^[23]。吲哚-3-丙酸是一种色氨酸衍生的细菌代谢物, 能够引起小鼠体质量的增加变化^[24]。表 3 可见 6 种代谢物在两组中差异明显, 均与胆汁分泌与胆固醇代谢有关。R 组中 3-羟基月桂酸含量显著低于 C 组 ($P<0.05$), 其余代谢物均显著高于 C 组 ($P<0.05$), 结果表明饲喂植物乳杆菌能够调节机体脂肪代谢。

表 3 血浆显著性差异代谢物
Table 3 Significant differences in plasma metabolites

色谱保留时间 Chromatographic retention time/min	差异代谢物名称 Differential metabolite names	变量权重值 VIP	质荷比 Mass-to-charge ratio (m/z)	加合离子 Adduct ion	化学方程式 Chemical equation	C/R 趋势 Trends in C/R	代谢通路 Metabolic pathway
0.84	3-羟基月桂酸	1.41	199.17	(M+H-H ₂ O)+	C ₁₂ H ₂₄ O ₃	↑*	
1.24	皮质醇	1.78	363.22	(M+H)+	C ₂₁ H ₃₀ O ₅	↓*	
1.00	雷米普利	2.40	415.22	(M-H)-	C ₂₃ H ₃₂ N ₂ O ₅	↓*	胆固醇代谢
2.91	吲哚-3-丙酸	4.63	188.07	(M-H)-	C ₁₁ H ₁₁ NO ₂	↓*	
8.57	甘氨胆酸	10.46	466.32	(M+H)+	C ₂₆ H ₄₃ NO ₆	↓*	胆汁分泌
15.58	L-精氨酸	1.46	173.10	(M-H)-	C ₆ H ₁₄ N ₄ O ₂	↓*	氨基酸代谢

注: VIP 变量是投影重要度, C/R 值是对照组与试验组比较, ↑, 上调; ↓, 下调, * $P<0.05$, ** $P<0.01$ 。

Note: The VIP variable is the projected importance, the C/R value is the comparison between the control group and the experimental group, ↑, up-regulated; ↓, down-regulated, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

2.3 苏尼特羊肠道微生物和血浆代谢物的相关性研究

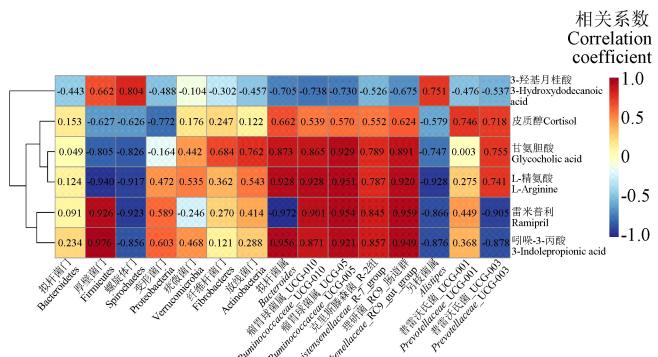
在分析肠道菌群与血浆代谢产物的相关性中发现(图 3), 大部分肠道菌群与血浆代谢产物都与糖脂代谢相关。如在胆汁分泌及胆固醇代谢中, 两组具有显著差异的肠道菌群除 Firmicutes、Alistipes 以外, 其余肠道菌群 Bacteroidetes、Verrucomicrobia、Actinobacteria、Ruminococcaceae_UCG-010、Christensenellaceae_R-7_group 及 Rikenellaceae_RC9_gut_group 的丰度均与血浆代谢物 L-精氨酸、甘氨胆酸的含量呈正相关, 与 3-羟基月桂酸的含量呈负相关。雷米普利与吲哚-3-丙酸的含量与 Firmicutes、Ruminococcaceae、Christensenellaceae_R-7_group、Rikenellaceae_RC9_gut_group 呈正相关, 与 Spirochaetes、Alistipes 呈负相关。皮质醇与 Bacteroides 呈正相关, 而与 Firmicutes 呈负相关。其中, Bacteroidetes、Prevotellaceae_UCG-001 均与甘氨胆酸呈显著正相关 ($P<0.05$)。此外, 图 3 还显示了其他肠道微生物与胆固醇代谢和胆汁酸生物合成之间的关系, 说明饲喂植物乳

杆菌能够利用肠道菌群与血浆代谢物之间的相关关系来调控苏尼特羊机体代谢水平。

2.4 植物乳杆菌对苏尼特羊肉品质的影响

由表 4 可知, R 组亮度值 (L^*)、黄度值 (b^*)、pH_{24h} 值均显著高于 C 组 ($P<0.05$), 而蒸煮损失、剪切力则显著低于 C 组 ($P<0.05$), R 组的苏尼特羊产业价值更高。pH 值指标能够很好的反映肉品质, 宰后 45min 时测得的 pH_{45min} ≥ 6.0 为肉质好的肉, 而 pH_{24h} > 6.0 的肉为肉质差的肉, 说明试验羊 pH_{45min} 和 pH_{24h} 均在正常范围内^[20]。本试验两组羊肉初始 pH_{45min} 值无显著差异, pH_{24h} 值有显著差异, 饲喂植物乳杆菌能够显著减缓宰后肌肉细胞糖酵解进程中 pH 值的降低速率。通过亮度值、黄度值也可看出 R 组肉色可能由肌内脂肪沉积所致, 与血浆代谢物影响脂代谢有关。剪切力与肉的嫩度密切相关, 肉的嫩度是反映肉制品食用物理特性的重要指标, R 组的剪切力较低嫩度较高, 蒸煮损失显著低于 C 组, 说明饲料添加植物乳杆菌能够提高肉的系水力能够提升肉质口感进而

改善羊肉品质，杜瑞等^[17]添加植物乳杆菌和干酪乳杆菌后同样发现益生菌组羊肉的剪切力值显著低于对照组，能够很好地改善羊肉嫩度。



注：横坐标代表肠道中肠道菌群组成，纵坐标代表血浆中代谢产物组成，红色表示正相关，蓝色表示负相关。

Note: The abscissa represents the composition of intestinal flora in the gut, the ordinate represents the composition of metabolites in the plasma, red represents a positive correlation, and blue represents a negative correlation.

图 3 肠道微生物和血浆代谢物相关性分析

Fig.3 Correlation analysis between intestinal microbe and plasma metabolites

表 4 植物乳杆菌对苏尼特羊肉品质的影响

Table 4 Effects of *Lactobacillus plantarum* on the meat quality of Sunite sheep

指标 Index	对照组 (C 组) Control group	植物乳杆菌组 (R 组) Lactobacillus plantarum
总增质量/kg	12.63±1.61	15.23±2.80
胴体质量/kg	14.57±1.96	16.24±3.00
胴体高/cm	72.33±3.52	72.83±5.08
胴体深/cm	18.50±0.90	19.17±0.75
背膘厚/mm	4.40±0.99	5.53±2.52
蒸煮损失/%	33.73±2.54 ^a	29.11±1.63 ^b
剪切力/(kg·cm ⁻²)	55.2±15.08 ^a	39.43±5.87 ^b
色差	亮度值 (<i>L</i> *)	33.28±2.06 ^b
	红度值 (<i>a</i> *)	19.18±0.89
	黄度值 (<i>b</i> *)	3.25±1.02 ^b
pH 值	pH _{45 min}	6.43±0.28
	pH _{24 h}	5.31±0.07 ^b

3 讨 论

本试验饲喂植物乳杆菌后使肠道菌群物种丰度增加、粪便及血浆代谢发生变化，可能是肠腔中优势菌（如拟杆菌门、厚壁菌门、变形菌门、疣微菌门等）通过菌群互作利用碳水化合物、脂肪、蛋白质等大分子营养物质为底物，在发酵、酶解后得到的小分子代谢产物与肠上皮细胞各种转运载体吸收作用后进入血液继而影响机体代谢水平^[25]。Zhou 等^[26]研究发现，由于植物乳杆菌 NCU116 代谢产生的胞外多糖促进了转录因子 c-Jun 的表达、磷酸化以及 c-Jun 与 MUC2 启动子的结合，进而提高分泌黏蛋白 MUC2 基因的表达水平，保证了营养物质运输，增强了动物的肠道屏障功能，进而改善了机体代谢。任婧等^[27]研究表明植物乳杆菌 ST-III 主要通过菌体自身吸收胆固醇的同化作用以及与胆盐结合作用后的共沉淀作用调控胆固醇代谢水平。Ottosson 等^[28]研究发现肠道微生物能够参与机体代谢，代谢产物的相关变化可用于

探索肥胖等疾病的发生机制研究。本试验饲喂植物乳杆菌后肠道微生物 *Ruminococcus*、*Christensenellaceae*、*Prevotellaceae*、*Rikenellaceae* 以及 *Bacteroides* 等菌属丰度均有显著差异 ($P<0.05$)，研究表明以 *Ruminococcus* 为主的肠型中细菌主要靠吸收单糖和降解黏蛋白来获取能量影响机体的能量代谢^[29]。*Christensenellaceae* 在人类和动物肠道及黏膜中广泛存在，与脂肪沉积和代谢综合征密切相关^[30]。*Prevotellaceae* 与肠道短链脂肪酸的合成相关，具有复杂多糖降解及利用所必需的酶和基因簇，与琥珀酸高水平循环致使机体糖代谢受损有关^[31]。*Rikenellaceae* 与肠道细菌类 clpb 基因呈正相关关系，可长期增加饱腹感减少脂肪量调控脂代谢^[32]，*Bacteroides* 等细菌中普遍存在着胆汁酸水解酶，可以促进胆汁酸被水解次级胆汁酸^[33]。因此，饲喂乳酸菌能够通过肠道菌群影响酶、蛋白及基因表达继而影响机体能量代谢。

肠道菌群对机体的调控依赖于腺苷酸活化蛋白激酶（Adenosine Monophosphate activated Protein Kinase，AMPK）通路、胆汁酸及短链脂肪酸代谢等。胆汁酸被肠道菌群的酶代谢，维持着肠道微生态平衡，最终影响着脂代谢^[34]。胆汁酸及衍生物可能作为信号分子结合与肠道上皮细胞G蛋白偶联胆汁酸受体（G protein bile acid receptor-1，TGR5）和肠L细胞的法尼酯衍生物X受体（nuclearreceptor Farnesoid X Receptor，FXR）信号通路来调节机体脂代谢^[35]。FXR信号通路不仅控制胆汁酸合成，还可以通过调控胆固醇调节元件结合蛋白1c（Sterol-Regulatory Element Binding Proteins 1c，SREBP-1c）的表达来影响乙酰辅酶A羧化酶（Acetyl CoA Carboxylase，ACC）等脂代谢基因。通过激活FXR可引起小鼠脂肪变性、脂肪沉积及体重增加进而影响动物脂肪代谢^[36]。甘氨胆酸是具有抗肿瘤活性的胆汁酸，可靶向作用于耐药泵和非耐药泵通路。L-精氨酸能够与小肠中功能性基因的表达呈一定相关性，潜在影响着机体脂代谢，加速动物肠道微生物区系的演替和益生菌定植，并改变机体的初级胆汁酸和脂质代谢，促使动物肠道快速发育^[37]。周笑犁等发现精氨酸能够下调动物肝脏中ACC mRNA的表达，上调肝脏中过氧化物酶体增殖物激活受体 γ （Peroxisome Proliferator-Activated Receptor, PPAR γ ）mRNA的表达，从而促进脂代谢脂类转运与代谢^[38]。甘氨胆酸、L-精氨酸含量显著高于C组($P<0.05$)，表明植物乳杆菌对血浆代谢产物具有调控作用，影响着机体胆汁酸和脂质代谢。同样，血浆皮质醇主要来自肾上腺皮质，是糖皮质激素的一种，对糖类代谢具有很强作用的肾上腺皮质激素，能够通过羟固醇（Oxysterols）转化为胆汁酸后激活FXR信号通路影响胆固醇合成及胆汁酸代谢中关键基因胆固醇7 α 羟化酶CYP7A1的表达，调控着胆固醇代谢水平^[39]。肠道菌群作为胆汁酸代谢重要的调节因子，影响机体产生脱羧作用中相关酶系的微生物如厚壁菌门中梭状芽孢杆菌，生成包括脱氧胆酸和胆石酸等次生胆汁酸。此外，变形菌门（Proteobacteria）包括许多病原菌，可以作为鉴定哺乳动物肠道健康的关

键^[40], *Proteobacteria* 与皮质醇呈负相关, 降低变形菌门的丰度有益于皮质醇参与胆固醇代谢。本研究甘氨胆酸与 *Bacteroidetes*、*Prevotellaceae*_UCG-001 呈显著正相关 ($P<0.05$)。L-精氨酸与 *Bacteroidetes*、*Verrucomicrobia*、*Actinobacteria* 等肠道菌群呈正相关, 与 *Firmicutes*、*Spirochaetes*、*Alistipes* 呈负相关。本试验证明植物乳杆菌能够依次对肠道菌群、血浆代谢产物产生作用, 两者之间也具有一定相关性, 其相关分子机制尚未明确, 有待下一步试验研究。

在肉品质分析中, 饲喂植物乳杆菌能从不同方面改善苏尼特羊羊肉品质。本试验与之前饲喂的其他复合微生态制剂相比, 饲喂此株植物乳杆菌除了能够影响苏尼特羊 pH 值、嫩度及色泽的变化以外, 还能够显著降低羊肉的蒸煮损失^[41]。李宗凯等^[7]研究也发现益生菌能显著提高育肥猪生长期平均日增质量。Chen 等^[42]发现饲料中添加粪肠球菌具有更高的屠宰率及肌内脂肪含量、pH 值适宜且无 PSE 肉产生。Rybarczyk 等^[43]研究发现添加益生菌能够改变肉的色差值进而改善肉品的感官品质。梁荣蓉等^[44]总结了利用组学方法找到与肉色相关的差异蛋白、代谢酶类物质, 为后期肉色指标变化机制的研究提供靶标方向。本团队前期已对不同饲养方式下的苏尼特羊进行了大量研究, 如罗玉龙等^[45]发现放牧的饲养条件更有利于营养物质的积累, 食用品质较高。王柏辉等^[19]进一步发现放牧能够促进肌肉组织中有益脂肪酸(如 α -亚麻酸、CLA、EPA 和 DHA 的沉积), 但舍饲羊的活体、胴体、净肉质量均显著高于放牧羊; 苏尼特羊胃肠道菌群主要以拟杆菌门和厚壁菌门为主, 放牧组瘤胃菌群中厚壁菌门的相对丰度高于舍饲组, 而瘤胃中 RC9_gut_group 属和丁酸弧菌属更有利于肌肉中 n-3 PUFA 的沉积。侯艳茹^[20]证实饲喂益生菌会改善圈养羊肉品质, 比单纯模拟放牧方式增加运动量的效果更好。杜瑞^[14]再次证实了益生菌对肉品质的有利作用。综上, 本试验更进一步探寻了肠道菌群与靶标血浆代谢产物的关系, 肠道菌群可能是影响血浆代谢产物的主要影响因素之一。苏尼特羊血浆代谢产物主要集中于胆固醇代谢和胆汁酸分泌与合成, 后期能够通过饲喂植物乳杆菌对肠道菌群的进行调控, 找到靶标代谢产物继而调整机体脂代谢, 最终达到改善羊肉品质的目的。

4 结 论

1) 与对照组相比, 植物乳杆菌组参与能量代谢的肠道有益菌群显著提高了肠道拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、克里斯滕森菌属(*Christensenellaceae*_R-7_group)、理研菌属 RC9 肠道群(*Rikenellaceae*_RC9_gut_group)和瘤胃球菌属(*Ruminococcaceae*_UCG-010)的丰度 ($P<0.05$)。

2) 植物乳杆菌组血浆代谢物功能富集在胆固醇代谢及胆汁分泌通路, 如甘氨胆酸、吲哚-3-丙酸、皮质醇、L-精氨酸等含量均显著 ($P<0.05$) 高于对照组。

3) 在相关性分析中, 调控肠道菌群的组成能够关联

影响到靶标血浆代谢物的增多或减少。

3) 在肉品质分析中, 植物乳杆菌组嫩度、色泽都有所改善, 如亮度值 (L^*)、黄度值 (b^*)、 pH_{24h} 值均显著 ($P<0.05$) 高于对照组, 而蒸煮损失、剪切力均显著 ($P<0.05$) 低于对照组。

因此, 通过饲喂益生菌调控动物肠道菌群影响机体生理代谢水平改善肉品质是能够实现的, 可以为后期改善羊肉品质重点研究方向, 应用前景广泛, 对微生物基础动物饲料的开发也提供了一定的理论依据。

[参 考 文 献]

- [1] 李胜连, 张丽颖, 王宪明. 退牧还草“完善政策”效应评价与西部地区畜牧业转型发展的政策探析[J]. 家畜生态学报, 2020, 41(6): 69-73.
Li Shenglian, Zhang Liying, Wang Xianming. Evaluation on the effects of improving policies on returning grazing land to grassland and policy analysis on strengthening the transformation and development of modern animal husbandry in western China[J]. Acta Ecologiae Animalis Domestici, 2020, 41(6): 69-73. (in Chinese with English abstract)
- [2] 楼灿, 姜成钢, 马涛, 等. 饲养水平对肉用绵羊空怀期和泌乳期营养 物质消化代谢的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2015, 46(3): 407-415.
Lou Can, Jiang Chenggang, Ma Tao, et al. Effects of different feeding levels on digestion and metabolism of meat ewes during non-pregnancy and lactation[J]. Acta Veterinaria et Zootechnica Sinica, 2015, 46(3): 407-415. (in Chinese with English abstract)
- [3] 李艳, 马青山. 复合益生菌发酵液的功能特性及对对虾诱食效果[J]. 农业工程学报, 2019, 35(16): 242-248.
Li Yan, Ma Qingshan. Functional properties of mixed probiotics fermentation broth and its feeding attractant effects[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2019, 35(16): 242-248. (in Chinese with English abstract)
- [4] Chang S Y, Belal S A, Kang D R, et al. Erratum to: Influence of probiotics-friendly pig production on meat quality and physicochemical characteristics.[J]. Food Science of Animal Resources, 2019, 39(1): 177-178.
- [5] 蔡红英. 植物乳杆菌对小鼠肝脏脂代谢的调控与作用机制[D]. 北京: 中国农业科学院, 2020.
Cai Hongying. Effects and Mechanisms of Hepatic Lipid Regulation in Mice by *Lactobacillus plantarum*[D]. Beijing: Chinese Academy of Agricultural Sciences, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [6] 农业部. 农业部修订《饲料添加剂安全使用规范》中华人民共和国农业部公告第 2625 号[J]. 四川畜牧兽医, 2018, 45(1): 1.
- [7] 李宗凯, 陆扬, 刘家俊, 等. 益生菌对生长育肥猪生长性能、肉品质和结肠菌群的影响[J]. 南京农业大学学报,

- 2020, 43(3): 523-528.
- Li Zongkai, Lu Yang, Liu Jiajun, et al. Effects of probiotics on the growth performance, meat quality and colonic microflora of growing and finishing pigs[J]. Journal of Nanjing Agricultural University, 2020, 43(3): 523-528. (in Chinese with English abstract)
- [8] 程光民, 陈凤梅, 刘公言, 等. 全株玉米青贮中植物乳杆菌及其与尿素混合添加对杜泊绵羊生长性能、屠宰性能及肉品质的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(12): 5857-5865.
- Cheng Guangmin, Chen Fengmei, Liu Gongyan, et al. Effects of lactobacillus plantarum and it mixed with urea added in whole corn silage on growth performance, slaughter performance and muscle quality of dorper sheep[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2019, 31(12): 5857-5865. (in Chinese with English abstract)
- [9] 李稳稳. 益生菌对断奶羔羊生长性能、消化吸收能力、免疫功能和肠道微生态的影响[D]. 合肥: 安徽农业大学, 2020.
- Li Wenwen. Effects of Probiotics on Growth Performance, Digestion and Absorption Ability, Immune Function and Intestinal Microecology of Weaned Lambs[D]. Hefei: Anhui Agricultural University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [10] Carioca A A F, Steluti J, Carvalho A M, et al. Plasma metabolomics are associated with metabolic syndrome: A targeted approach[J]. Nutrition, 2021, 83: 111082.
- [11] 陈雪, 罗欣, 梁荣蓉, 等. 代谢组学在肉及肉制品品质监测中的应用[J]. 农业工程学报, 2020, 36(17): 291-300.
- Chen Xue, Luo Xin, Liang Rongrong, et al. Application of metabolomics in monitoring the qualities of meat and meat products[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(17): 291-300. (in Chinese with English abstract)
- [12] Artegoitia V M, Foote A P, Lewis R M, et al. Rumen fluid metabolomics analysis associated with feed efficiency on crossbred steers[J]. Scientific Reports, 2017, 7(1): 2856-2864.
- [13] 曹青青. 唾液乳杆菌 (*Lactobacillus salivarius* GZPH2) 影响豹纹鮟鱇鲈 (*Plectropomus leopardus*) 肠道菌群的微生物组学及代谢组学研究[D]. 广州: 华南理工大学, 2020.
- Cao Qingqing. Effect of *Lactobacillus salivarius* GZPH2 on Gut Microbiota and Metabolome of Leopard Coral Grouper (*Plectropomus leopardus*)[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [14] 杜瑞. 益生菌对苏尼特羊胃肠道菌群、脂肪酸代谢及肉品质的影响[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2020.
- Du Rui. Effects of Probiotics on Gastrointestinal Microbiota, Fatty Acid Metabolism and Meat Quality of Sunite Sheep[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2020. (in Chinese with English abstract)
- [15] 白艳萍, 侯艳茹, 苏琳, 等. 乳酸菌诱导线粒体生物发生对绵羊肌纤维特性和肉品质的影响[J]. 农业工程学报,
- 2021, 37(10): 269-276.
- Bai Yanping, Hou Yanru, Su Lin, et al. Effects of lactobacillus induced mitochondrial biogenesis on muscle fiber properties and meat quality of sheep[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2021, 37(10): 269-276. (in Chinese with English abstract)
- [16] 闫月阳. 山羊盲肠宏基因组特征分析及机器学习模型的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2021.
- Yan Yueyang. The Establishment of Ruminant Cecum Metagenomics and the Development of Machine Learning Microbial Prediction Model[D]. Yangling: Northwest A&F University, 2021. (in Chinese with English abstract)
- [17] 杜瑞, 靳烨, 王柏辉, 等. 益生菌对苏尼特羊胃肠道菌群、代谢物及肉品质的影响[J]. 食品科学, 2020, 41(11): 14-21.
- Du Rui, Jin Ye, Wang Bohui, et al. Dietary probiotics affect gastrointestinal microbiota and metabolites and consequently improves meat quality in sunite lambs[J]. Food Science, 2020, 41(11): 14-21. (in Chinese with English abstract)
- [18] Zhang X J, Liu X L, H M, et al. Pharmacological inhibition of arachidonate 12-lipoxygenase ameliorates myocardial ischemia-reperfusion injury in multiple species[J]. Cell Metabolism, 2021, 33(10): 2059-2075.
- [19] 王柏辉. 饲养方式对苏尼特羊胃肠道菌群、脂肪酸代谢和羊肉品质的影响及机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
- Wang Bohui. Effects of Feeding Regimens on Gastrointestinal Microbiota, Fatty Acid Metabolism and Meat Quality of Sunite Sheep and Its Underlying Mechanism[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019. (in Chinese with English abstract)
- [20] 侯艳茹. 饲养方式对苏尼特羊肌纤维特性和肉品质的影响及其机理研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2021.
- Hou Yanru. Effects of Feeding Regimens on Muscle Fiber Characteristic and Meat Quality of Sunite Sheep and its Underlying Mechanism[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2021. (in Chinese with English abstract)
- [21] Bourboula A, Limnios D, Kokotou M G, et al. Enantioselective organocatalysis-based synthesis of 3-hydroxy fatty acids and fatty γ -lactones[J]. Molecules, 2019, 24(11): 2081-2094.
- [22] Cornide-Petronio M E, Bujaldon E, Mendes-Braz M, et al. The impact of cortisol in steatotic and non-steatotic liver surgery[J]. Journal of Cellular and Molecular Medicine, 2017, 21(10): 2344-2358.
- [23] Sauermann R, Schmidt W M, Krebs M, et al. Ramipril modulates circadian gene expression in skeletal muscle[J]. Pharmacogenetics and Genomics, 2011, 21(11): 751-759.
- [24] Piotr K, Marek K, Marta G K, et al. Indole-3-propionic acid, a tryptophan-derived bacterial metabolite, reduces weight gain in rats[J]. Nutrients, 2019, 11(3): 591-604.

- [25] 章娜, 张海波, 黎力之, 等. 肠道菌群代谢物调控糖脂代谢及其在动物生产中的应用研究进展[J]. 中国畜牧杂志, 2020, 56(11): 38-43.
Zhang Na, Zhang Haibo, Li Lizhi, et al. Research progress on the regulation of glycolipid metabolism by intestinal microflora metabolites and its application in animal production[J]. Chinese Journal of Animal Science, 2020, 56(11): 38-43. (in Chinese with English abstract)
- [26] Zhou X T, Zhang K, Qi W C, et al. Exopolysaccharides from *Lactobacillus plantarum* NCU116 enhances colonic mucosal homeostasis by controlling epithelial cell differentiation and c-Jun/Muc2 signaling[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2019, 67(35): 9831-9839.
- [27] 任婧, 姚晶. 植物乳杆菌 ST-III胆盐水解酶的表达及其酶活力分析[J]. 食品科学, 2012, 33(17): 165-168.
Ren Jing, Yao Jing. Expression and activity analysis of bile salt hydrolases from *Lactobacillus plantarum* ST-III[J]. Food Science, 2012, 33(17): 165-168. (in Chinese with English abstract)
- [28] Ottosson F, Brunkwall L, Ericson U, et al. Connection between BMI-Related plasma metabolite profile and gut microbiota[J]. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism, 2018, 103(4): 1491-1501.
- [29] Xie M G, Fei Y Q, Wang Y, et al. Chlorogenic acid alleviates colon mucosal damage induced by a high-fat diet via gut microflora adjustment to increase short-chain fatty acid accumulation in rats[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2021, 2021(4): 1-18.
- [30] Waters J L, Ley R E. The human gut bacteria Christensenellaceae are widespread, heritable, and associated with health[J]. BMC Biology, 2019, 17(1): 83-94.
- [31] Paola León-Mimila, Hugo Villamil-Ramírez, Blanca E. López-Contreras, et al. Low salivary amylase gene (AMY1) copy number is associated with obesity and gut prevotella abundance in mexican children and adults[J]. Nutrients 2018, 10(11): 1607-1619.
- [32] Arnoriga-Rodríguez M, Mayneris-Perxachs J, Burokas A, et al. Gut bacterial ClpB-like gene function is associated with decreased body weight and a characteristic microbiota profile[J]. Microbiome, 2020, 8(1): 59-69.
- [33] Prouty A M, Brodsky I E, Falkow S, et al. Bile-salt-mediated induction of antimicrobial and bile resistance in *Salmonella typhimurium*[J]. Microbiology, 2004, 150(4): 775-783.
- [34] Jia W, Xie G, Jia W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis[J]. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 2018, 15(2): 111-128.
- [35] Pathak P, Xie C, Nichols R G, et al. Intestine farnesoid X receptor agonist and the gut microbiota activate G-protein bile acid receptor-1 signaling to improve metabolism[J]. Hepatology, 2018, 68(4): 1574-1588.
- [36] Du P, Kibbe W A, Lin S M. lumi: a pipeline for processing Illumina microarray[J]. Bioinformatics, 2008, 24(13): 1547-1548.
- [37] Golonka R, Chakraborty S, Mell B, et al. Metabolomics reveal dynamic host responses in lipid, amino acid, and energy metabolism after acute exposure of gut microbiota in germ-free rats[J]. The FASEB Journal, 2021, 35(1): 4820-4823.
- [38] 周笑犁, 刘俊锋, 吴琛, 等. 精氨酸和N-氨基酰谷氨酰胺对环江香猪脂质代谢的影响[J]. 动物营养学报, 2014, 26(4): 1055-1060.
Zhou Xiaoli, Liu Junfeng, Wu Chen, et al. Effects of arginine and N-carbamylglutamate on lipid metabolism of *Huanjiang* mini-pigs[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(4): 1055-1060.
- [39] Zhou J, Li T, Cai K, et al. Molecular regulation mechanism of Farnesyl X receptor in bile acid and cholesterol metabolism in hyperlipidemic rats[J]. Journal of Biological Regulators and Homeostatic Agents, 2019, 33(1): 205-211.
- [40] 刘婷, 王柏辉, 刘畅, 等. 乳酸菌对苏尼特羊肠道菌群组成及肉品质的影响[J/OL]. 中国食品学报: 1-9[2022-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4528.TS.20220121.1908.006.html>. Liu Ting, Wang Bohui, Liu Chang, et al. Effects of *Lactobacillus* on intestinal flora composition and meat quality of sunite sheep[J/OL]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology: 1-9[2022-01-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.4528.TS.20220121.1908.006.html>. (in Chinese with English abstract on line)
- [41] Litvak Y, Byndloss M X, Tsolis R M, et al. Dysbiotic *Proteobacteria* expansion: A microbial signature of epithelial dysfunction[J]. Current Opinion in Microbiology, 2017, 39: 1-6.
- [42] Chen F, Gao S S, Zhu L Q, et al. Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* CF supplementation on growth, meat quality, and microenvironment in specific pathogen-free chickens[J]. Poultry Science, 2018, 97(1): 118-123.
- [43] Rybarczyk Artur, Bogusławska Wąs Elżbieta, Łukowska Aleksandra. Effect of EM probiotic on gut microbiota, growth performance, carcass and meat quality of pigs[J]. Livestock Science, 2020, 241(2020): 104206-104214.
- [44] 梁荣蓉, 许宝琛, 张一敏, 等. 蛋白质组学在生鲜肉肉色变化机制研究中的应用[J]. 农业工程学报, 2020, 36(16): 283-292.
Liang Rongrong, Xu Baochen, Zhang Yimin, et al. Application of proteomics in mechanism research of fresh meat color changes[J]. Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering (Transactions of the CSAE), 2020, 36(16): 283-292. (in Chinese with English abstract)
- [45] 罗玉龙. 放牧与舍饲条件下苏尼特羊肉风味差异及形成机制研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2019.
Luo Yulong. Difference of Meat Flavor in Sunite Lamb (Concentrated vs Grazing) and Primary Formation Mechanism[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2019. (in Chinese with English abstract)

Effects of *Lactobacillus plantarum* on intestinal flora, plasma metabolites and meat quality of Sunit sheep

Liu Ting¹, Jin Ye¹, Yao Duo¹, Zhang Yanni¹, Wang Hongdi¹, Su Lin¹, Tian Jianjun¹, Du Xia², Duan Yan^{1*}

(1. College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China;

2. Bureau of Agriculture, Animal Husbandry and Science and Technology of Wulate Zhongqi, Wulate Middle Banner 015300, China)

Abstract: The present study aims to investigate the effect of dietary supplementation with *Lactobacillus plantarum* on intestinal flora, plasma metabolites, and meat quality in the Sunite sheep. Three-month-old Sunite sheep (12 sheep) with good health and the same genetic background were selected as the test objects, and then randomly divided into two groups: The control group was fed a basal diet (C group, a typical corn-soybean diet) without any antibiotics, drugs, or growth promoters, and the *Lactobacillus plantarum* group was supplemented with *Lactobacillus plantarum* at 3×10^{10} cfu/g using the diet of the control group (R group, a typical corn-soybean diet, the number of viable bacteria was 3×10^{10} cfu/g *Lactobacillus plantarum*), where the feeding period lasted for 90 days. After slaughtering, the intestinal contents and the longissimus dorsi muscle were determined using high-throughput sequencing technology, and liquid-chromatography metabolomics, in order to analyze the gut microbiota, plasma metabolites, and meat quality of Sunite sheep. The results showed that the feeding *Lactobacillus plantarum* significantly increased the abundance of Bacteroidetes, Verrucomicrobia, *Bacteroides*, *Christensenellaceae* R-7 group, *Rikenbacteriaceae* RC9_gut_group, *Ruminococcaceae*_UCG-010, and *Ruminococcaceae*_UCG-005 ($P < 0.05$), whereas, significantly decreased the abundance of Firmicutes, Proteobacteria, *Alistipes*, and *Prevotellaceae*_UCG-003 ($P < 0.05$). The plasma metabolite results showed that the *Lactobacillus plantarum* significantly increased the content of Indole-3-propionic acid, Cortisol, Glycocholic acid, L-arginine and Ramipril ($P < 0.05$), but decreased the content of 3-hydroxylauric acid ($P < 0.05$). A correlation analysis showed that the Bacteroidetes and *Prevotellaceae*_UCG-001 were significantly positively correlated with the plasma metabolite Glycocholic acid ($P < 0.05$). In addition, the *Lactobacillus plantarum* had significantly improved the values of meat brightness (L^*), the yellowness (b^*), and the pH_{24h} ($P < 0.05$), but reduced the meat cooking loss, and the shear force (lower cooking loss and shear force values for better tenderness) ($P < 0.05$). Consequently, the addition of *Lactobacillus plantarum* to the diet can be widely expected to ameliorate the quality of meat via changing the composition and structure of the intestinal flora in the Sunite sheep. The gut bacteria was used to regulate the participation of plasma metabolites in the metabolism of body fat, thus affecting cholesterol, bile acid secretion, and synthesis pathway. The finding can provide a theoretical reference to determine the relationship between intestinal flora and plasma metabolites by feeding probiotics, there by tailoring the lipid metabolism pathway of ruminants for the better quality of Mongolian sheep.

Keywords: meat; quality control; Sunit sheep; *Lactobacillus plantarum*; intestinal microflora; plasma metabolites