

圈养小熊猫粪便微生物组成及其影响因子初探

袁耀华^① 张佰莲^{②*} 田秀华^③

① 上海动物园 上海 200335; ② 上海农林职业技术学院 上海 201699;

③ 东北林业大学野生动物资源学院 哈尔滨 150040

摘要: 小熊猫 (*Ailurus fulgens*) 经过长期的适应性进化, 食性依赖于高纤维含量的竹子, 同时保留了具有食肉动物特征的消化系统, 在分类学、系统进化及生态学领域都具有重要的研究价值。本研究旨在分析小熊猫粪便微生物结构组成, 探讨其食竹习性的生物学机制。采集上海动物园和杭州动物园两种日粮的小熊猫新鲜粪便, 开展基于 16S rRNA 基因的 HiSeq 高通量测序, 分析小熊猫粪便微生物的结构组成, 并探讨日粮组成和年龄 (幼龄组 2 只, 成年组 4 只, 老年组 3 只) 对小熊猫粪便微生物结构组成的影响。研究表明, 不同日粮组成会影响小熊猫粪便微生物多样性 ($P < 0.05$), 成年组小熊猫粪便微生物多样性显著高于幼龄组和老年组 ($P < 0.05$)。在微生物门水平上, 小熊猫粪便微生物以厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 为主, 在属水平上以埃希-志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*)、狭义梭菌属 (*Clostridium sensu stricto*) 和肠杆菌属 (*Enterobacter*) 为主。小熊猫粪便微生物中, 具有代谢碳水化合物和氨基酸功能的基因丰度最高, 其次为代谢能量和脂类的基因。与纤维素降解有关的酶中, 能够表达 6-磷酸- β -葡糖苷酶和 β -葡糖苷酶的基因丰度最高, 有助于小熊猫消化高纤维性食物。小熊猫的肠道微生物具有很强的代谢碳水化合物和氨基酸的功能, 并且能够产生高丰度消化纤维素的酶。

关键词: 小熊猫; 粪便微生物; 日粮组成; 年龄

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 05-614-10

Fecal Microbial Composition and Influencing Factors of Captive Red Panda *Ailurus fulgens*

YUAN Yao-Hua^① ZHANG Bai-Lian^{②*} TIAN Xiu-Hua^③

① Shanghai Zoo, Shanghai 200335; ② Shanghai Vocational College of Agriculture and Forestry, Shanghai 201699;

③ Northeast Forestry University, Harbin 150040, China

Abstract: Red Panda *Ailurus fulgens* which depends heavily on bamboo with high fiber content, like Giant

基金项目 上海市绿化和市容管理局资助项目 (No. G170420) ;

* 通讯作者, E-mail: zhangbl2020@126.com;

第一作者介绍 袁耀华, 男, 高级工程师; 研究方向: 野生动物疾病防控及生理学; E-mail: yuanyao-hua2020@qq.com。

收稿日期: 2020-03-11, 修回日期: 2020-07-27 DOI: 10.13859/j.cjz.202005010

Panda *Ailuropoda melanoleuca*, retains the similar digestive system with carnivore. The purpose of our research is to determine the microbial structure of the feces of Red panda, and explore the biological mechanism of the bamboo feeding habits. Feces of captive Red pandas from Hangzhou zoo and Shanghai zoo were collected, and Hiseq high-throughput sequencing based on 16S rRNA gene was conducted to determine the structure of fecal microbiota of Red panda. For the diversity of microbiota composition, Sobs, Shannon, simpson, ace and Chao1 index were calculated. Wilcoxon rank-sum test was used to evaluate the influence of diet composition and age on the microbiota structure. Tax4Fun was used to predict the function of microbiota. The results showed that the diet compositions influenced the microbiota diversity of Red pandas ($P < 0.05$), and the microbial diversity of adult Red pandas was significantly higher than that of cub and old groups ($P < 0.05$) (Table 2). The fecal microbiota of the Red panda was mainly composed of Firmicutes, Proteobacteria and Bacteroides at phylum level, and composed of *Eschericia-Shigella*, *Clostridium sensu stricto* and *Enterobacter* at genus level (Fig. 2). For the fecal microbiota of Red panda, the metabolic genes related to carbohydrates and amino acids were the richest, followed by the metabolic genes related to energy and lipid (Fig. 5). 6-phosphate- β -glucosidase and β -glucosidase might be helpful for the digestion of high fiber diets (Fig. 6). The microorganisms of Red panda can be helpful in metabolizing carbohydrates and amino acids, and producing enzymes to digest cellulose.

Key words: Red Panda, *Ailurus fulgens*; Fecal microbiota; Diet composition; Age

动物肠道微生物组被誉为动物的“第二套基因组”，其群落结构与功能受到了专家学者的广泛关注（魏辅文 2016）。食物组成、宿主的系统发育、环境因素等都可能对肠道微生物的进化产生影响（Hooper et al. 2002, Muegge et al. 2011, Phillips et al. 2012）。小熊猫（*Ailurus fulgens*）喜食竹的竹笋、嫩枝和竹叶，各种野果、树叶，以及捕食小型鸟类或其他小动物等（高耀亭 1987）。同大熊猫（*Ailuropoda melanoleuca*）相似，小熊猫依赖于高纤维含量的竹子为食，同时保留了具有食肉动物特征的消化系统（Wei et al. 1999），因此在分类学、系统进化及生态学领域都具有重要的研究价值（李明等 2002, 魏辅文等 2002）。已有的研究表明，小熊猫肠道微生物中部分菌类与纤维素的降解有关，可能在竹子的消化中发挥中重要作用（Kong et al. 2014）。然而，尽管小熊猫与大熊猫均喜好食竹，但聚类分析结果表明，大熊猫的肠道微生物与黑熊（*Ursus thibetanus*）更加相近（Li et al. 2015）。同其他哺乳动物相比，小熊猫肠道内菌群多样性较低（Kong et al.

2014），推测可能源于系统进化、食性特化等（Afrin et al. 2012）。相比于大熊猫的研究工作，有关小熊猫肠道微生物的研究十分匮乏，针对小熊猫肠道菌群对纤维素的消化机制的研究工作更是迫在眉睫。

本研究选取上海动物园和杭州动物园不同年龄段的圈养小熊猫个体，对其粪便样本开展基于 16S rRNA 基因的 Hiseq 高通量测序，旨在揭示小熊猫的粪便微生物结构，探讨年龄和饲料对小熊猫肠道菌群的影响，同时利用基于高通量测序结果对粪便微生物进行功能预测分析，推测小熊猫粪便微生物在消化高纤维食物过程中发挥的作用。本研究旨在进一步揭示小熊猫食竹习性的形成机制，将对小熊猫的饲养实践、饲料配比和疾病预防提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2018 年 5 月至 10 月，共采集 13 只小熊猫个体的新鲜粪便样本，杭州动物园 9 只、上海动物园 4 只。所有选取采样的小熊猫常规体检

均健康无疾病。采集的粪便样本放入无菌 EP 管, 并立即放入 -80 °C 冰箱保存, 需要运送的样本放入泡沫盒内置冰袋保温中完成运输。

1.2 实验分组

根据 Glatston 等 (2015) 对小熊猫生活史特性的描述, 将采集的样本划分为幼龄组 (0~2.5 岁)、成年组 (2.6~9.9 岁) 和老年组 (10.0 岁及以上)。按照日粮的不同划分为杭州动物园组和上海动物园组。杭州动物园组日粮组成 (每只成年个体): 红枣 80 g、苹果 200 g、窝头 150 g 和竹叶 1 500 g; 上海动物园日粮组成 (每只成年个体): 苹果 250 g、窝头 250 g、竹叶 500 g 和熟鸡蛋 25 g。为避免日粮组成和年龄分组对小熊猫粪便微生物产生交互影响, 在分析两种日粮的影响时, 选取杭州动物园 4 只成年个体 (2 雌 2 雄) 与上海动物园的 4 只成年个体 (2 雌 2 雄) 进行比较 (表 1)。在分析年龄分组的影响时, 选取杭州动物园的 9 只个体进行比较 (表 1), 幼龄组 2 只 (1 雌 1 雄)、成年组 4 只 (2 雌 2 雄) 及老年组 3 只 (1 雌 2 雄)。

表 1 实验小熊猫信息

年龄分组 Age group	编号 Number	性别 Sex	年龄 (年) Age (Year)	日粮分组 Group by diet
幼龄组 Cub	C1	♀	0.5	
	C2	♂	0.5	
成年组 Adult	A1	♀	6	杭州动物园日粮组 Hangzhou Zoo diet
	A2	♀	4	
	A3	♂	4	
	A4	♂	7	
	E1	♀	5	上海动物园日粮组 Shanghai Zoo diet
	E2	♂	5	
	E3	♀	8	
	E4	♂	5	
老年组 Old	O1	♂	12	
	O2	♀	12	
	O3	♂	15	

1.3 粪便 DNA 提取和 16S rRNA 基因测序

利用 Thermo NanoDrop 2000 紫外微量分光光度计和 1% 琼脂糖凝胶电泳进行总 DNA 质检。16S rRNA 扩增选择区域为 V3~V4 区, 使

用引物为在通用引物 341F 和 806R 的 5' 端加上适合 Illumina Hiseq PE250 测序的 index 序列和接头序列。完成特异性引物的设计, 最终引物分别为, 5'-CCT ACG GGR SGC AGC AG-3' (341F), 5'-GGA CTA CVV GGG TAT CTA ATC-3' (806R), 引物为兼并引物, 其中, R、S 和 V 是兼并碱基, R (A, G)、S (G, C)、V (G, A, C)。以稀释后的基因组 DNA 为模板, 使用 KAPA HiFi Hotstart ReadyMix PCR kit 高保真酶进行 PCR, 确保扩增的准确性和高效性。PCR 反应条件为: 95 °C 预变性 3 min; 98 °C 变性 20 s, 58 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 20 s, 执行 30 个循环; 最后 72 °C 维持 5 min。PCR 反应体系为 30 μl: 2 × KAPA Library Amplification ReadyMix 15 μl, 引物 (10 μmol/L) 各 1 μl, 模板 DNA 50 ng, 加 ddH₂O 补齐 30 μl。用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物, 并用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒切胶回收 PCR 产物。回收后, 利用 Thermo NanoDrop 2000 紫外微量分光光度计和 2% 琼脂糖凝胶电泳进行文库质检。文库质检合格后, 使用 Qubit 进行文库定量, 并根据每个样品的数据量要求, 进行相应比例的混合。使用 Illumina Hiseq PE250 上机测序。

1.4 数据统计

统计不同分组的 Sobs、Shannon、Simpson、Ace 和 Chao1 多样性指数。依据分组对距离矩阵进行层级聚类 (hierarchical clustering), 距离算法采用 unweighted UniFrac (只考虑微生物序列是否在群落中出现) 和 weighted UniFrac (在前者基础上将序列的丰度纳入计算范围) 两种模型。不同日粮及不同年龄组间多样性指数差异性比较采用 Wilcoxon rank-sum test 检验。应用 Tax4Fun 预测小熊猫粪便微生物菌群的功能。基于 16S rRNA 基因序列数据与京都基因与基因组百科全书 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 代谢数据库进行对比, 在第一和第二通路水平上进行代谢功能的预测。组间差异应用 ANOSIM 进行检验。

2 结果

2.1 小熊猫粪便微生物结构组成

样品物种丰富度稀释曲线逐步趋于平缓，说明测序深度足够，能够覆盖粪便微生物的大部分菌种。在操作分类单元（operational taxonomic unit, OTU）水平，杭州动物园成年组 OTU 数量为 554 种，上海动物园成年组 OTU 为 357 种，两者共有 OTU 数量为 292 种。幼龄小熊猫粪便微生物 OTU 数量 181 种，老年个体 210 种。所有年龄组共有（核心）的 OTU 数量为 80 种（图 1）。

2.2 年龄和日粮组成对小熊猫粪便微生物结构的影响

Sobs、Ace 和 Chao1 多样性指数分析结果表明，杭州动物园组小熊猫粪便微生物多样性显著高于上海动物园组（ $P < 0.05$ ）；不同年龄段小熊猫的粪便微生物多样性，成年组最高，显著高于幼龄组和老年组（ $P < 0.05$ ）（表 2）。

在门水平上，小熊猫粪便微生物以厚壁菌门（Firmicutes）、变形菌门（Proteobacteria）和拟杆菌门（Bacteroidetes）为主，其中，上海动物园组小熊猫粪便中变形菌门含量显著高于杭州动物园组，拟杆菌门含量显著低于杭州动物园组（ $P < 0.05$ ），厚壁菌门在两个日粮分组间无显著差异（ $P > 0.05$ ）。幼龄和老年小熊猫

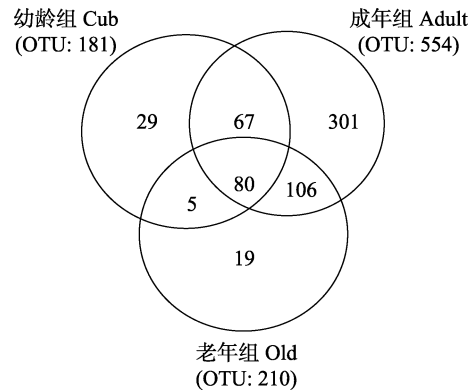


图 1 不同年龄段小熊猫肠道微生物组成文恩图（OTU 水平）

Fig. 1 Venn diagram of the microbiota composition of captive Red Pandas in different age categories (OTU level)

图中圆相交区域的数字代表不同组别间共有的 OTU 数量
Numbers in the intersect area of different circles represent the amount of OTUs shared by different groups

粪便中厚壁菌门含量显著高于成年组，拟杆菌门显著低于成年组（ $P < 0.05$ ）。在属水平上以埃希-志贺菌属（*Escherichia-Shigella*）、狭义梭菌属（*Clostridium sensu stricto*）和肠杆菌属（*Enterobacter*）为主，其中，肠杆菌属含量在两个不同日粮成年组间存在显著差异（ $P < 0.05$ ），狭义梭菌属含量在不同年龄段间存在显著差异（ $P < 0.05$ ）（图 2）。

表 2 不同日粮组成和年龄段间小熊猫粪便微生物 OTU 多样性指数差异性比较（平均值 ± 标准差）

Table 2 OTU diversity index of the fecal microbiota of Red Panda in different diet compositions and different age categories (Mean ± SD)

类别 Categories	内容 Contents	多样性指数 Diversity index			
		Sobs	Shannon	Ace	Chao1
日粮分组 Group by diet	杭州动物园组 Hangzhou Zoo ($n = 4$)	293.50 ± 47.70	3.02 ± 0.84	347.65 ± 52.55	349.04 ± 66.48
	上海动物园组 Shanghai Zoo ($n = 4$)	148.25 ± 53.21	1.88 ± 0.51	221.05 ± 64.68	206.54 ± 44.14
	<i>P</i> 值 <i>P</i> value	0.030	0.112	0.030	0.030
年龄段分组 Age categories	幼龄 Cub ($n = 2$)	138.50 ± 12.02	1.72 ± 0.22	157.16 ± 18.05	152.69 ± 19.29
	成体 Adult ($n = 4$)	293.50 ± 47.70	3.02 ± 0.84	357.58 ± 47.84	345.04 ± 60.35
	老年 Old ($n = 3$)	95.67 ± 47.37	1.85 ± 0.28	187.66 ± 76.97	139.10 ± 70.18
	<i>P</i> (幼-成) 值 <i>P</i> (Cub-Adult) value	0.064	0.064	0.064	0.064
	<i>P</i> (成-老) 值 <i>P</i> (Adult-Old) value	0.034	0.077	0.034	0.034

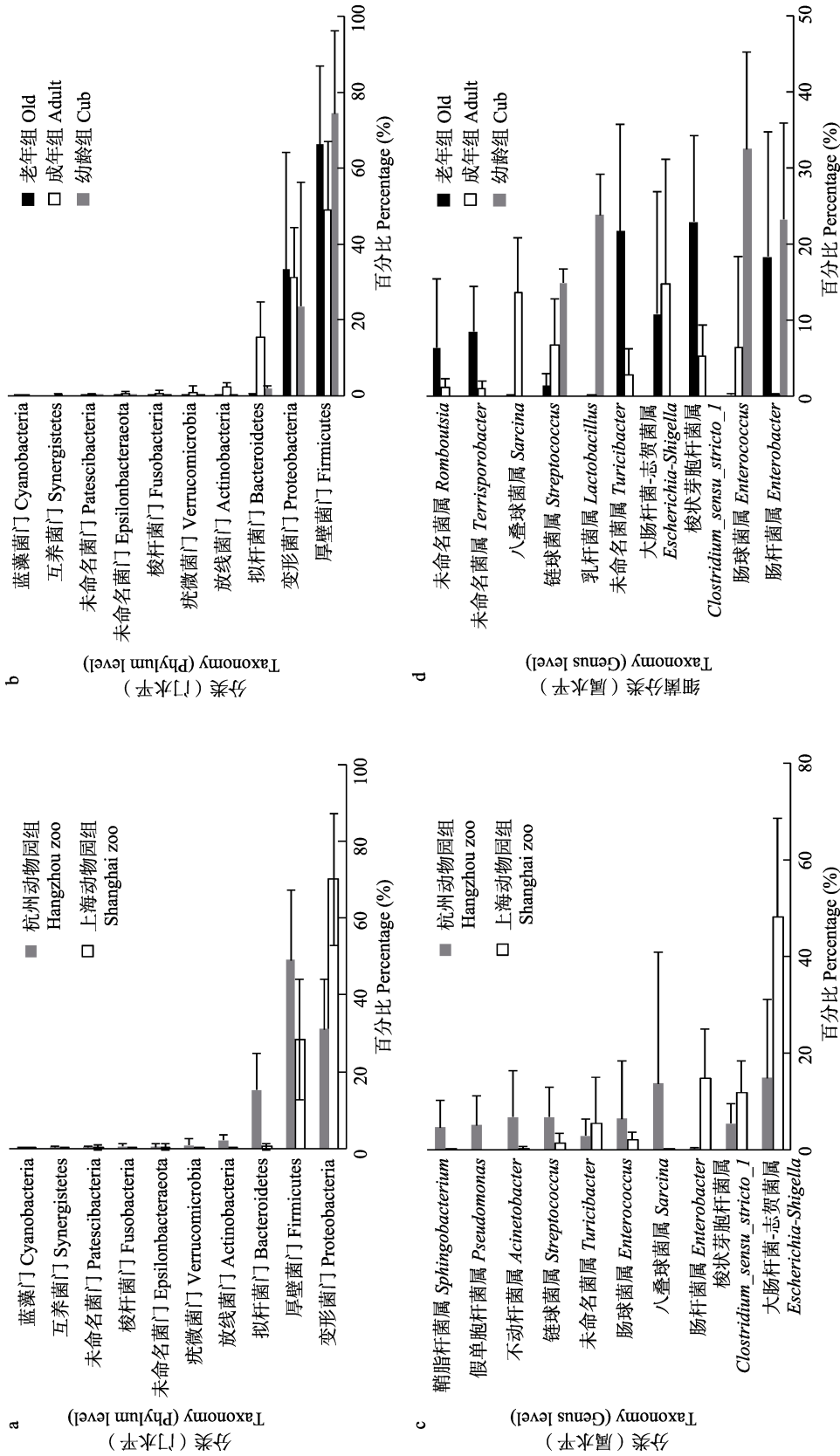


图 2 不同日粮组和不同年龄组小熊猫粪便微生物组成的差异性比较

a. 不同日粮组门水平; b. 不同年龄组门水平; c. 不同日粮组属水平; d. 不同年龄组属水平。
 a. Phylum level among different zoos; b. Phylum level among different age groups; c. Genus level among different zoos; d. Genus level among different age groups.

层次聚类分析结果表明，在门水平上，杭州动物园组 A2、A3 和 A4 样本组成具有很高的相似性 (unweighted UniFrac)，在考虑样本中序列的丰度后 (weighted UniFrac)，上海动物园组的 E1、E3 和 E4 样本相似度较高。在属水平上，杭州动物园组 (unweighted UniFrac: A2、A3 和 A4; weighted UniFrac: E1、E3 和 E4) 和上海动物园组 (unweighted UniFrac: E1、E2 和 E3; weighted UniFrac: A2 和 A3) 的样本分别呈现聚类 (图 3)。处于不同年龄段的小熊猫，在粪便微生物组成上呈现各年龄段的聚类 (幼龄组: C1 和 C2; 成年组: A2、A3 和 A4; 老年组: O2 和 O3)，然而基于 weighted UniFrac 的聚类不明显 (图 4)。

2.3 小熊猫粪便微生物功能预测

基于 KEGG 的基因功能预测发现，小熊猫

粪便微生物在第一通路上代谢功能占比最高 (26.8%)。在 KEGG 第二通路的代谢功能中，碳水化合物和氨基酸的代谢功能最强，其次为能量和脂类的代谢 (图 5)。

基于 Tax4Fun 功能预测发现，与纤维素降解有关的酶中，能够帮助小熊猫消化竹中纤维素的酶包括内切葡聚糖酶、 β -葡糖苷酶、1,3- β -葡糖苷酶、1,6- α -葡糖苷酶和 6-磷酸- β -葡糖苷酶等 14 种，其中，6-磷酸- β -葡糖苷酶对应的基因相对丰度最高，其次是 β -葡糖苷酶对应的基因。在小熊猫粪便中还发现大量编码乳糖降解有关酶的基因，主要为 α -半乳糖苷酶和 β -半乳糖苷酶，以及一些基因能编码淀粉酶，包括 α -淀粉酶、葡糖淀粉酶和 1,4- α -葡聚糖分支酶 (图 6)。

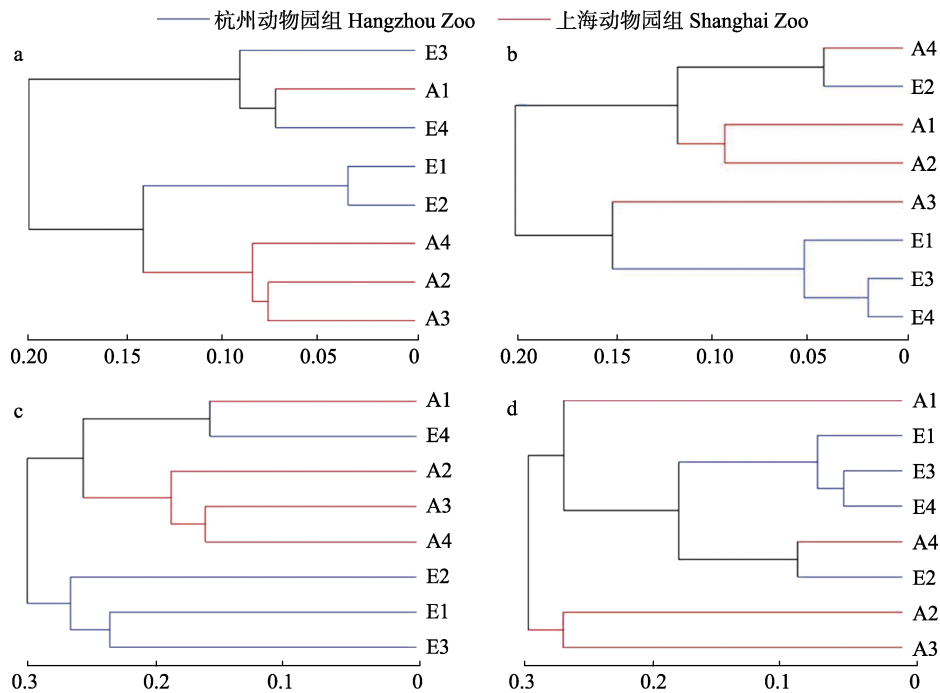


图 3 不同日粮小熊猫粪便微生物聚类分析图 (基于 unweighted UniFrac 和 weighted UniFrac 算法)

Fig. 3 Cluster analysis of the fecal microbiota of Red pandas in different diet groups (based on unweighted UniFrac and weighted UniFrac)

a. 门水平 unweighted UniFrac; b. 门水平 weighted UniFrac; c. 属水平 unweighted UniFrac; d. 属水平 weighted UniFrac.

a. Phylum level with unweighted UniFrac; b. Phylum level with weighted UniFrac; c. Genus level with unweighted UniFrac; d. Genus level with weighted UniFrac.

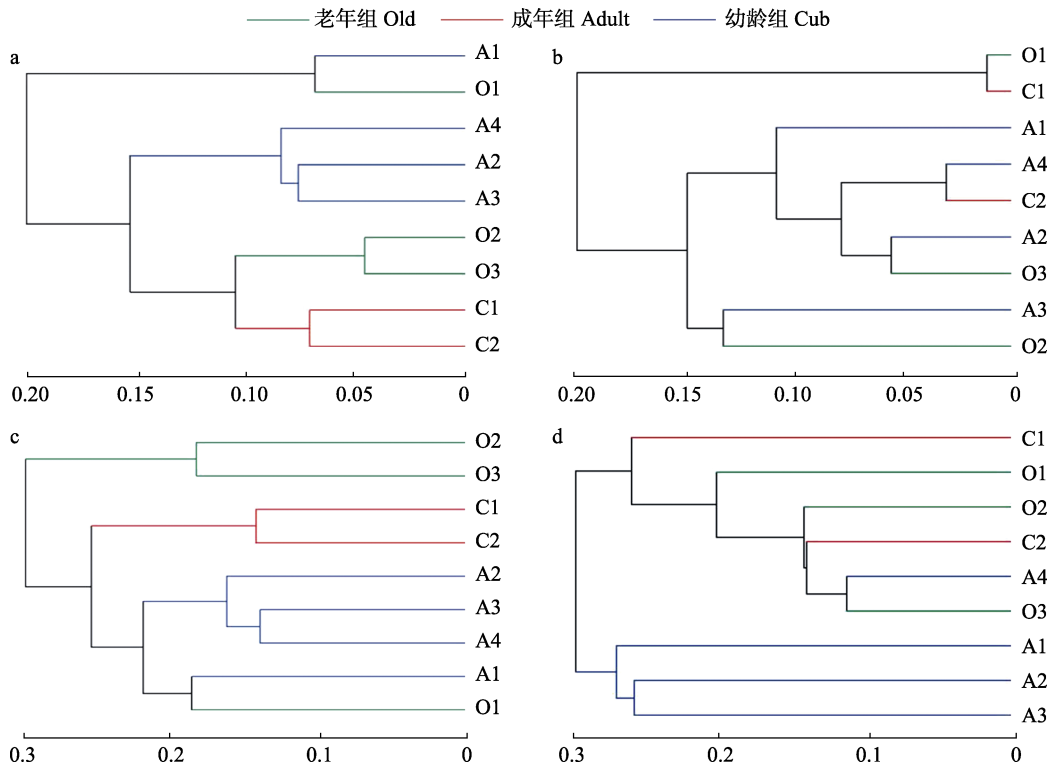


图 4 不同年龄组小熊猫粪便微生物聚类分析图 (基于 unweighted UniFrac 和 weighted UniFrac 算法)

Fig. 4 Cluster analysis of the fecal microbiota of Red Pandas in different age groups (based on unweighted UniFrac and weighted UniFrac)

a. 门水平 unweighted UniFrac; b. 门水平 weighted UniFrac; c. 属水平 unweighted UniFrac; d. 属水平 weighted UniFrac.
a. Phylum level with unweighted UniFrac; b. Phylum level with weighted UniFrac; c. Genus level with unweighted UniFrac; d. Genus level with weighted UniFrac.

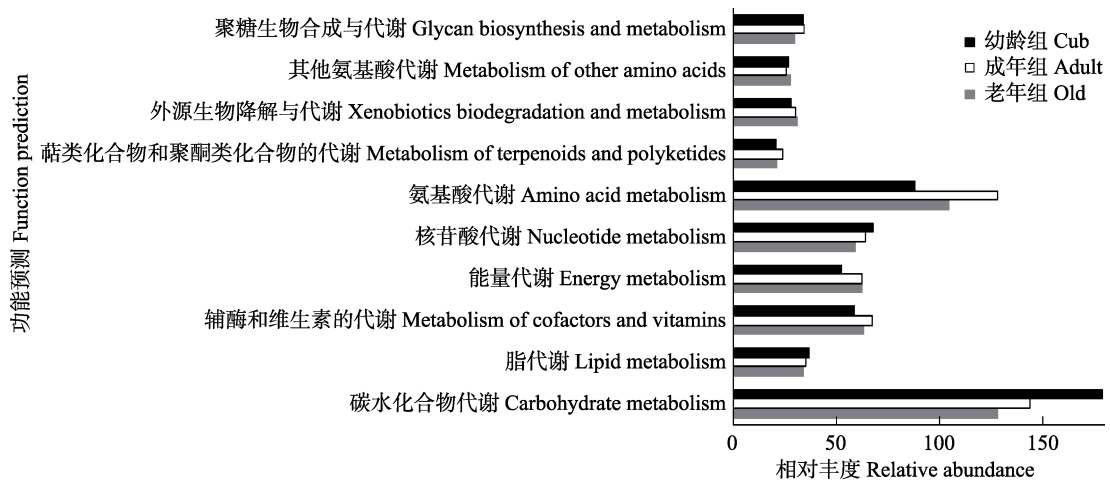


图 5 Tax4Fun 注释基因的第二通路水平代谢功能预测

Fig. 5 Relative abundance of annotated genes for metabolism function predicted by Tax4Fun in Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes level 2

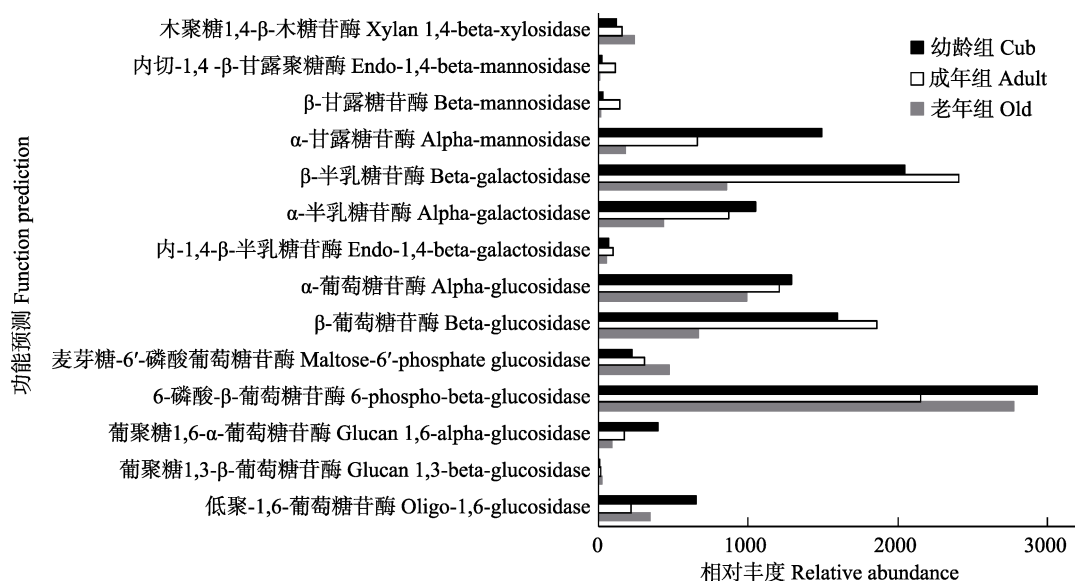


图 6 Tax4Fun 功能预测关于碳水化合物降解酶注释基因的相对丰度

Fig. 6 Relative abundance of Tax4Fun-predicted reads annotated to genes for carbohydrate-active enzymes

3 讨论

动物的生长发育与其胃肠道的微生物密切相关 (Leulier et al. 2017)。有关幼龄大熊猫肠道菌群的研究表明, 1 岁龄以内的大熊猫幼崽肠道菌群多样性逐渐上升, 在 17 月龄时基本接近成年个体 (丁赞 2017)。对不同年龄段大熊猫肠道菌群多样性比较发现, 成年大熊猫最高, 其次分别是亚成体和老年 (崔明全等 2013)。本研究中小熊猫粪便微生物多样性呈现相似的结果, 即成年组显著高于幼龄组和老年组 ($P < 0.05$)。本研究选取的幼龄小熊猫尚未断奶, 粪便微生物中存在很高比例的乳酸菌属 (*Lactobacillus*)。研究表明, 哺乳动物母乳中的乳酸菌属等重要菌群, 能够通过哺乳的方式传递给幼龄个体 (Jost et al. 2014), 因此在很多哺乳动物的肠道菌群中都发现了高丰度的乳酸菌属 (Schloss et al. 2012, Jami et al. 2013)。圈养老年组小熊猫因体质原因, 通常只能取食少量竹子, 更加依赖于精饲料和水果, 因此食物来源相对单一, 从而降低了肠道微生物多样性。

对小熊猫肠道菌群的研究发现, 小熊猫肠道菌群主要为厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门 (Kong et al. 2014), 本研究得到相似的结论。

食物被看作是哺乳动物肠道菌群结构的重要驱动因素 (Muegge et al. 2011)。李杨等 (2017) 对圈养小熊猫的肠道菌群研究发现, 优势菌群包括厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和疣微菌门 (*Verrucomicrobia*), 但本研究中小熊猫的粪便中疣微菌门的含量非常低, 推测源于研究对象的日粮存在差异。研究发现, 野生小熊猫肠道菌群的多样性 (diversity)、丰度 (richness) 和均匀度 (evenness) 均显著高于圈养个体, 并推测成因在于圈养小熊猫食物受限, 而野生小熊猫的食物高度多样化 (Kong et al. 2014)。本研究发现, 杭州动物园小熊猫粪便微生物多样性显著高于上海动物园。在圈养条件下, 小熊猫会优先选择适口性好的精饲料, 上海动物园与杭州动物园日粮相似, 但上海动物园的精饲料饲喂量 (275 g) 约是杭州动物园 (150 g) 的 2 倍, 因此竹子的取食量相对少, 可能进而导致肠道菌群多样性的降低。在

动物园中,为满足小熊猫的营养需求,可以添加少量的精饲料,但饲喂量过大会造成小熊猫不适应,引发拉稀等症状(王荣蛟等 2017),因此在圈养条件下应给小熊猫提供尽可能多的竹叶,以满足其营养和能量需求。研究表明,圈养小熊猫每昼夜有 $50.67\% \pm 13.76\%$ 的时间处于活动状态(韩宗先等 2005),在野生状态下,小熊猫的活动频率为 $44.7\% \sim 59.0\%$ (韩宗先等 2006),因此认为,圈养条件下小熊猫的活动规律与野外相似,对饲料的需求量也相似。然而同野生环境相比,圈养条件下的食物多样性相对较低,因此建议小熊猫的饲养展区应种植多样性较高的植被,有利于满足小熊猫的取食及营养需求(Glatston 1989)。

采用 unweighted UniFrac 和 weighted UniFrac 两种方法对不同食物组成和年龄段小熊猫进行粪便微生物的聚类分析,发现在 unweighted UniFrac 基础上考虑序列丰度时,聚类发生了很大变化,并且在 OTU 水平 α 多样性分析时 Chao1 等指数存在显著差异 ($P < 0.05$),因此建议在探讨小熊猫粪便微生物组成时,应将菌群的丰度考虑在内。本研究中,小熊猫粪便菌群的功能预测结果显示,代谢碳水化合物和氨基酸的分类丰度最高,关于大熊猫肠道微生物的研究有相似的报道,即大熊猫肠道菌群的功能基因中,碳水化合物代谢能力远高于其他功能分组(王岚 2019)。本研究中,小熊猫粪便微生物中,编码纤维素降解酶的基因丰度最高,主要表现为 6-磷酸- β -葡糖苷酶、 α -葡糖苷酶和 β -葡糖苷酶,此外还有 α -半乳糖苷酶和 β -半乳糖苷酶等,这几类酶可通过水解低聚半乳糖提高饲料营养素的利用率(关荣发等 2002)。本研究基于高通量测序对圈养小熊猫肠道微生物的功能进行了初步预测,但并未结合动物的营养需求以及代谢等进行论证,亦没有和野生个体进行比较,后续研究工作可以将具体的菌群变化结合宿主的生理功能和生存环境开展更深入研究,为小熊猫的科学饲养和保护提供参考。

致谢 本项目在样本收集过程中得到了杭州动物园江志副园长的支持,在此表示感谢。

参 考 文 献

- Afrin T, Tsuzuki T, Kanwar R K, et al. 2012. The origin of the antibacterial property of bamboo. *Journal of Textile Institute*, 103(8): 844–849.
- Glatston A R. 1989. *Red panda biology*. Hague: SPB Academic Publishing.
- Glatston A, Wei F, Than Zaw, et al. 2015. *Ailurus fulgens* (errata version published in 2017) // IUCN. The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T714A110023718. [DB/OL]. [2020-07-20]. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T714A45195924.en>.
- Hooper L V, Midtvedt T, Gordon J I. 2002. How host-microbial interactions shape the nutrient environment of the mammalian intestine. *Annuals Reviews of Nutrition*, 22(1): 283–307.
- Jami E, Israel A, Kotser A. 2013. Exploring the bovine rumen bacterial community from birth to adulthood. *ISME Journal*, 7(6): 1069–1079.
- Jost T, Lacroix C, Braegger C P, et al. 2014. Vertical mother-neonate transfer of maternal gut bacteria via breastfeeding. *Environmental Microbiology*, 16(9): 2891–2904.
- Kong F L, Zhao J C, Han S S, et al. 2014. Characterization of the gut microbiota in the Red panda (*Ailurus fulgens*). *PLoS One*, 9(2): e87885.
- Leulier F, Macneil L T, Lee W J. 2017. Integrative physiology: at the crossroads of nutrition, microbiota, animal physiology, and human health. *Cell Metabolism*, 25(3): 522–534.
- Li Y, Guo W, Han S S, et al. 2015. The evolution of the gut microbiota in the giant and the red pandas. *Scientific Report*, 5: 10185.
- Muegge B D, Kuczynski J, Knights D, et al. 2011. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. *Science*, 332(6032): 970–974.
- Phillips C D, Phelan G, Dowd S E, et al. 2012. Microbiome analysis among bats describes influences of host phylogeny, life history, physiology and geography. *Molecular Ecology*, 21(11): 2617–2627.

- Schloss P D, Schubert A M, Zackular J P, et al. 2012. Stabilization of the murine gut microbiome following weaning. *Gut Microbes*, 3(4): 383–393.
- Wei F W, Feng Z J, Wang Z W, et al. 1999. Use of the nutrients in bamboo by the red panda (*Ailurus fulgens*). *Journal of Zoology*, 248(4): 535–541.
- 崔明全, 何廷美, 钟志军. 2013. 大熊猫粪便菌群 ERIC-PCR 指纹图谱的分析及优势菌群的鉴定. *畜牧与兽医*, 45(9): 6–11.
- 丁赞. 2017. 探究圈养大熊猫肠道菌群的发育动态. 南昌: 南昌大学硕士学位论文.
- 高耀亭. 1987. 中国动物志: 兽纲: 第八卷. 北京: 科学出版社.
- 关荣发, 许梓荣. 2002. β -半乳糖苷酶在动物营养中的应用. *饲料博览*, (7): 10–11.
- 韩宗先, 胡锦涛, 杨建东. 2006. 小熊猫夏秋季的昼夜活动节律. *四川动物*, 25(3): 597–602.
- 韩宗先, 魏辅文, 李明, 等. 2005. 圈养小熊猫的昼夜活动节律. *兽类学报*, 25(1): 97–101.
- 李明, 饶刚, 魏辅文. 2002. 小熊猫种群遗传结构和地理分化. *动物学报*, 48(4): 480–486.
- 李杨, 邓家波, 牛李丽, 等. 2017. 采用聚合酶链式反应-变性梯度凝胶电泳技术分析小熊猫胃肠道菌群的多样性. *动物营养学报*, 29(9): 3167–3174.
- 王岚. 2019. 不同年龄段圈养大熊猫肠道微生物群落多样性的研究. 南充: 西华师范大学硕士学位论文.
- 王荣蛟, 黄丹, 韦雷飞, 等. 2017. 精饲料对圈养小熊猫健康情况的影响. *四川农业科技*, (11): 36–38.
- 魏辅文. 2016. 动物适应性进化研究的新视角: 动物肠道微生物组. *中国科学: 生命科学*, 46(11): 1338–1340.
- 魏辅文, 饶刚, 李明, 等. 2002. 邛崃和相岭山系小熊猫种群的遗传结构. *兽类学报*, 22(4): 241–247.