



幼年大鼠和老年大鼠肠道菌群结构及多样性分析

孙亦阳¹, 顾超广¹, 华小庆¹, 王凯旋², 盛清¹, 聂作明¹, 王丹¹

(1. 浙江理工大学, a. 生命科学与医药学院 b. 浙江省家蚕生物反应器与生物医药重点实验室, 杭州 310018;
2. 上海市静安区闸北中心医院, 上海 200040)

摘要: 为研究幼年大鼠和老年大鼠肠道菌群的结构及多样性, 对 7 只幼年大鼠(1.5 月龄)和 5 只老年大鼠(24 月龄)肠道菌群的构成进行了比较。收集相同环境下饲养的幼年组和老年组大鼠的粪便, 对其进行 16S 核糖体 RNA 基因 V3+V4 区的测序以分析肠道菌群的构成。结果表明: 幼年组大鼠个体间肠道菌群结构差异较大, 而老年组大鼠相对较集中, 两组大鼠肠道菌群在门级水平上相对丰度相似; 幼年组大鼠乳杆菌科下的微生物所占丰度高于老年组大鼠($p < 0.05$), 而梭菌目瘤胃菌科下微生物丰度低于老年组大鼠($p < 0.05$); 老年组大鼠的肠道生物多样性高于幼年组大鼠, 老年组大鼠的肠道菌群多样性较高, 菌群种类丰富, 但其中有害菌比例显著升高。该结果填补了不同年龄大鼠肠道菌群结构研究的空白, 为改善实验用大鼠的健康状况以延长其寿命提供一定的理论基础。

关键词: 幼年大鼠; 老年大鼠; 肠道菌群结构; 多样性分析

中图分类号: Q93

文献标志码: A

文章编号: 1673-3851(2021)01-0076-08

Structure and diversity of intestinal flora in infant and aged rats

SUN Yiyang¹, GU Chaoguang¹, HUA Xiaoqing¹, WANG Kaixuan², SHENG Qing¹, NIE Zuoming¹, WANG Dan¹

(1a. College of Life Sciences and Medicine; 1b. Zhejiang Provincial Key Laboratory of Silkworm Bioreactor and Biomedicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou 310018, China;
2. Zhabei Central Hospital, Jing'an District, Shanghai 200040, China)

Abstract: In order to study the structure and diversity of intestinal flora between infant and aged rats, the composition of intestinal flora in 7 infant rats (1.5 months old) and 5 aged rats (24 months old) was compared. Feces of infant and aged rats fed under the same environment were collected. The V3 + V4 region of 16S ribosomal RNA gene was sequenced to analyze the composition of intestinal flora. The results showed that the intestinal flora structure of the infant group was significantly different, while that of the aged group was relatively concentrated. The relative abundance of intestinal flora in the two groups was similar at the phylum level. The abundance of microorganism under lactobacillus in infant rats was higher than that in aged rats ($p < 0.05$), while that of microorganism under clostridium rumen bacteria was lower than that in aged rats ($p < 0.05$). The intestinal biodiversity of the aged rat group was higher than that of the infant rat group. The intestinal flora diversity of the aged rat group was higher, and the species of intestinal flora were rich, but the proportion of harmful bacteria significantly increased. It makes up for the blank of the research on intestinal flora structure of rats at different age, and provides certain reference for improving the health conditions of experimental rats to extend their lives.

Key words: infant rat; aged rat; structure of intestinal flora; diversity analysis

收稿日期: 2020-07-16 网络出版日期: 2020-11-05

基金项目: 浙江省公益技术研究项目(LGF19H250002; LGF18H250004); 国家自然科学基金项目(31772677)

作者简介: 孙亦阳(1999-), 男, 浙江杭州人, 本科生, 主要从事动物营养学方面的研究。

通信作者: 王丹, E-mail: februarydan@zstu.edu.cn

0 引言

在实验动物中,啮齿类占总量的 74%,其中以小鼠和大鼠为主^[1]。目前,关于大鼠的肠道菌群结构与神经、消化和循环系统疾病相关性,以及通过其肠道菌群代谢产物来影响其多样性的研究已有大量报道^[2]。

宿主与微生物的相互作用主要发生在粘膜表面,其中最大的界面之一是肠道粘膜,在肠道中存在一个多样化的细菌群落,宿主和微生物菌群会相互影响^[3]。在人体肠道中常驻的微生物数量超过人体细胞数量的 10 倍之多^[4]。目前已证明肠道菌群对人体的新陈代谢、免疫及大脑发育等多种生理功能起着关键作用^[5]。在人类和其他模式动物的研究发现,胃肠道中与衰老相关的生理变化、炎症的发生和免疫均与肠道菌群的组成有关^[6-9]。在生命体的生命进程中,肠道微生物并非一成不变,而是会受到宿主年龄、饮食结构、生活习惯与生活环境等多种因素影响^[10]。衰老时,生命体的肠道微生态会发生变化,进而影响肠道菌群结构^[11]。因此,肠道菌群具有很大的可塑性,有可能为改善大鼠生理状况提供新的靶标。鉴于肠道菌群对生命体生理状况影响的重要性,老年大鼠其肠道菌群可能有其独特性。

虽然已经有针对老年人肠道菌群的研究数据,而由于物种差异,对于人类进行的研究结果不能简单套用在大鼠上。目前关于 24 月龄老年 SD 大鼠肠道菌群结构的研究未见报道。本文通过对两组在相同环境下饲养的 1.5 月龄和 24 月龄的 SD 大鼠进行肠道菌群测序,以探究老年大鼠肠道菌群多样性和构成情况,以期通过改善肠道菌群结构改善实验用大鼠的健康状况以延长其寿命提供一定的理论基础。

1 材料与方法

1.1 动物

7 只幼年(1.5 月龄)和 5 只老年(24 月龄)的雄性 SD 型大鼠购于杭州师范大学动物实验中心。大鼠在清洁级环境下饲养,自由饮食和饮水。饲养环境的温度控制在 $(20 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,相对湿度为 $60\% \pm 10\%$,光照/黑暗周期控制在 12 h。

1.2 粪便收集、测序及 DNA 提取

抓取大鼠,待其自然排便,并迅速用无菌的冻存管收集新鲜粪便,随后置于液氮中,送至杭州联川生物技术股份有限公司进行 DNA 提取,合格的 DNA 样品将进一步进行高通量测序。

1.3 统计分析

采用 Vsearch 算法,将序列相似性大于 97% 的 clean tags 定为一个操作分类单元 (Operational taxonomic unit, OTU),挑选最佳的 centroids 序列作为该操作分类单元 OTU 的代表序列,用于后续物种分类注释。通过 *t* 检验分析评估两组大鼠的肠道菌群门类和属类水平的相对丰度差异, $p < 0.05$ 认为有统计学意义。通过 LEfSe 方法分析来发现不同组间在丰度上有显著性差异的物种^[12]。先采用 Kruskal-Wallis 秩和检验检测所有的特征物种,以获得显著性差异物种,再利用 Wilcoxon 秩和检验检测上步获得的显著性差异物种的所有亚种最终是否都趋近于同一个分类级别,最后用线性判别分析 (Linear discriminant analysis, LDA),得到最终的差异物种。筛选条件:秩和检验 $p < 0.05$, $\text{LDA} > 3.0$ 。

2 结果与分析

2.1 幼年组大鼠和老年组大鼠测序数据分析

通过测序 12 个样本共获得 445002 条 Raw tags,平均各样本 37083 条 Tags,经过优化后共得到 340263 条 Valid tags,比较两组样本优化后所得的 Tags 数目发现无显著差别,本研究 12 个样本共获得 340263 条高质量序列,占全部序列总数 96.86% 的序列的长度分布在 300~500 bp 之间(结果未显示)。大鼠样品测序和数据分析的结果如表 1 所示。由表 1 可知,每个样本所获得的平均优化序列为 28355 条,两组样本所获得的优化序列数无统计学差异($p > 0.05$)。

表 1 去接头数据和序列统计

分组	Raw tags	Valid tags	Valid tags	Q30 碱基百分比/%		
	均数	均数	百分比/%	均值	最大	最小
幼年	32273±3632	23718±2689	73.51±2.57	85.20±0.24	85.58	84.92
老年	43818±6000	34848±5025	79.51±5.72	85.71±0.20	85.99	85.45

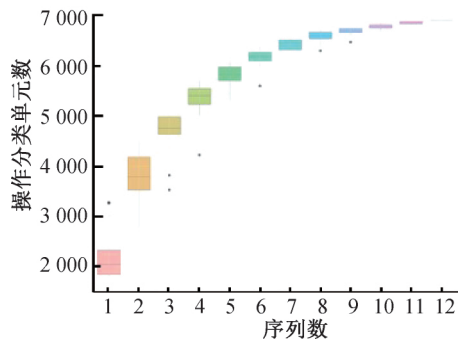
注:Q30 碱基即高质量碱基。

2.2 幼年组大鼠和老年组大鼠肠道菌群多样性分析

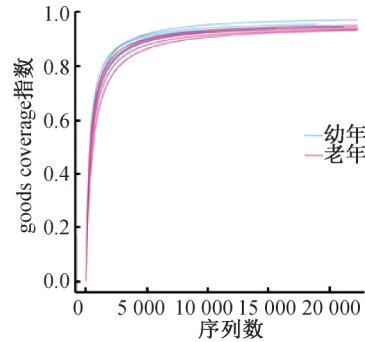
两组大鼠肠道菌群的物种累积曲线是描述样本物种组成和物种丰富度的有效工具^[13]。幼年组和老年组大鼠肠道菌群多样性分析结果如图 1 所示。由图 1(a)两组大鼠肠道菌群的物种累积曲线可知,曲线在急剧上升后,趋于平缓,表明样本的抽样量充足,可以进行后续数据分析。图 1(b)反映两组大鼠肠道菌群的 goods coverag 指数,通过多样性指数对测序的饱和度进行评估时,发现样本的物种稀疏性曲线最终趋于水平,goods coverage 指数接近 1,表明当前的测序量饱和度已经足够,测序深度已经基

本覆盖样本中的所有物种,即使继续增加测序深度也无法发现大量的新 OUT。图 1(c)显示两组大鼠肠道菌群的重叠 OTU 数据,除了有大量的共有 OTU 外,幼年组的特有 OTU 数高于老年组,两组大鼠共有 6898 条 OUT。从图 1(d)的丰度曲线可知相对于老年组大鼠,幼年组大鼠的曲线斜率较大,说明幼年组大鼠肠道菌群的均匀程度较低而老年组大鼠较高,同时老年组大鼠的曲线宽度大多高于幼年组大鼠,这表明老年组大鼠肠道菌群的物种丰富度较高。 α 多样性可以用来描绘样本内部的生物多样性情况,香农(Shannon)和辛普森(Simpson)这两个指数被用来衡量群落多样性,其值越大表明样本中的物种多样性越高^[14]。图 1(e)显示两组样本的香农指数接近且进行 t 检验后无统计学意义($p > 0.05$)。图 1(f)显示幼年组样本的辛普森指数高于老年组,且进行 t 检验具有统计学意义($p < 0.05$),

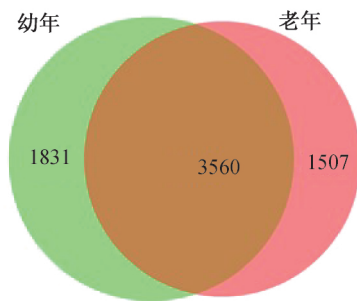
表明幼年组大鼠肠道菌群的生物多样性较高。Chao1 指数可以用来衡量群落丰富度,其值越高说明群落的丰度越高^[15]。由图 1(g)可知,老年组大鼠的 Chao1 指数高于幼年组大鼠,且具有统计学意义($p < 0.05$),表明老年组大鼠肠道微生物群落丰富度更高。 β 多样性通过分析各样本间的物种组成成分和丰度信息来反映样本间的关系^[16],在主坐标分析和非度量多维标度中,肠道菌群结构相近的样本有聚在一起的趋势。图 1(h)为两组大鼠样本的 PCoA 分析,其 p 值为 0.002,结果具有显著性。图 1(i)为两组大鼠样本的 NMDS 分析,其 stress 值小于 0.1,可认为是一个好的排序,分析结果具有较好的代表性。从图 1(h)—(i)中可看到:幼年组和老年组大鼠肠道菌群之间存在较显著的差异性;而且幼年组大鼠组内各样本间较为分散,老年组较为集中,表明老年组各大鼠肠道菌群结构差异性小于幼年组大鼠。



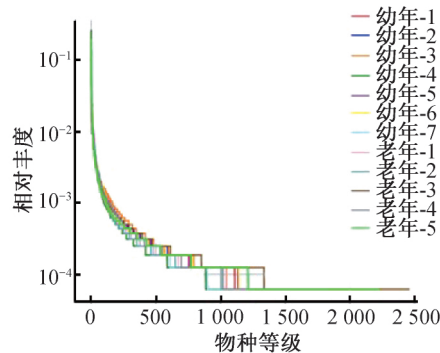
(a) 肠道微生物的物种累积曲线



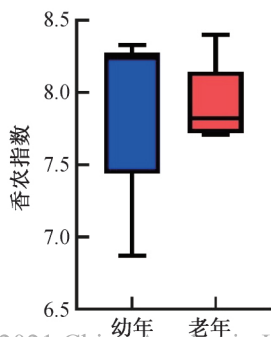
(b) 肠道微生物的goods coverage稀释曲线



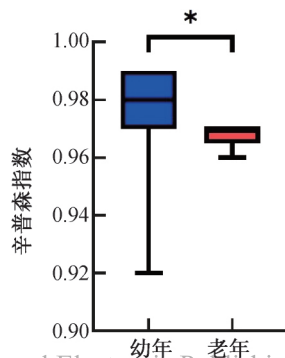
(c) OTUs的维恩图



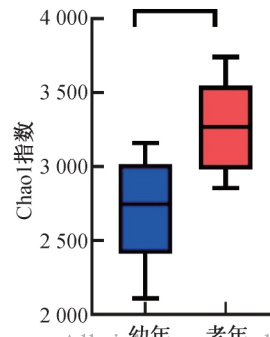
(d) 肠道微生物的丰度曲线



(e) 香农指数



(f) 辛普森指数



(g) Chao1指数

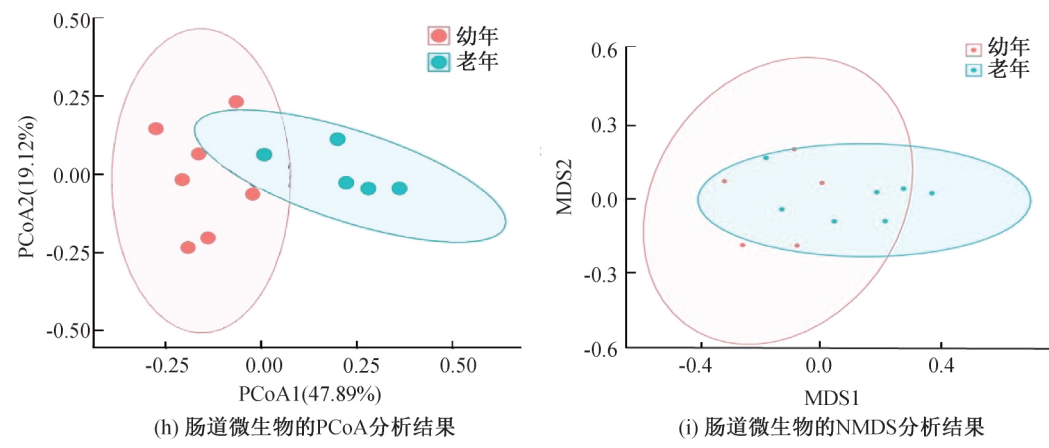


图 1 幼年组和老年组大鼠肠道菌群多样性分析结果

2.3 幼年组大鼠和老年组大鼠肠道菌群差异分析

通过物种分析研究了幼年组和老年组大鼠肠道菌群的组成,确定两组大鼠肠道菌群相对丰度较高的前 12 个门(见表 2)。由表 2 可知,在 12 个门类中,有 9 个门在两组大鼠样本中均出现,经过 *t* test 分析后发现,在两组大鼠样本中绝大多数门的差异不具有统计学意义,仅在暂定螺旋体门(*Candidatus Saccharibacteria*)上两组样本的丰度差异具有显著性;柔膜菌门(*Tenericutes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)和螺旋体门(*Spirochaetes*)是老年组大鼠独有的,其平均相对丰度分别为 0.010% ± 0.013%, 0.010% ± 0.014%, 0.010% ± 0.005%。

表 2 两组大鼠肠道菌群组成中主要门的相对丰度

门	幼年组/%	老年组/%	<i>p</i> 值 (<i>t</i> 检验)
厚壁菌门 <i>Firmicutes</i>	76.307±8.287	83.446±6.237	0.13
拟杆菌门 <i>Bacteroidetes</i>	21.991±8.417	13.967±6.456	0.11
变形菌门 <i>Proteobacteria</i>	0.986±1.391	1.261±0.663	0.69
放线菌门 <i>Actinobacteria</i>	0.175±0.067	0.362±0.406	0.25
暂定螺旋体门 <i>Candidatus Saccharibacteria</i>	0.012±0.020	0.133±0.134	0.04
迷踪菌门 <i>Elusimicrobia</i>	0.080±0.141	0.024±0.018	0.40
脱铁杆菌门 <i>Deferribacteres</i>	0.013±0.016	0.030±0.048	0.39
蓝细菌门 <i>Cyanobacteria</i>	0.020±0.022	0.004±0.001	0.14
梭杆菌门 <i>Fusobacteria</i>	0.003±0.004	0.003±0.004	0.90

图 2(a)为幼年组和老年组大鼠肠道微生物在门水平的相对丰度组成,由图 2(a)可知,在门级水

平上,两组大鼠肠道菌群相对丰度最高的三个门为厚壁菌门(*Firmicutes*),拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和变形菌门(*Proteobacteria*),其中前两个门占主导地位,在幼年组大鼠中相对丰度达到了 76.307% ± 8.287%和 21.991% ± 8.417%,在老年组大鼠中达到了 83.446% ± 6.237%和 13.967% ± 6.456%。图 2(b)为幼年组和老年组大鼠肠道微生物在属水平的相对丰度组成,由图 2(b)可知,在幼年组大鼠中丰度较高的前十种属分类水平的优势菌分别是:*毛螺菌科(**Lachnospiraceae*)(23.57% ± 12.62%)*紫单孢菌科(**Porphyromonadaceae*)(18.61% ± 7.93%)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)(12.73% ± 4.44%)、*瘤胃菌科(**Ruminococcaceae*)(12.21% ± 6.07%)、*乳杆菌科(**lactobacillaceae*)(10.44% ± 8.17%)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)(5.58% ± 2.10%)、普雷沃菌属(*Prevotella*)(3.54% ± 2.17%)、*Anaerotaenia*(3.30% ± 1.78%)、醋弧菌属(*Acetivibrio*)(2.76% ± 1.87%)和丁酸杆菌属(*Anaerostipes*)(2.38% ± 0.70%)。而在老年组大鼠中丰度较高的前十种属分类水平的优势菌则是*瘤胃菌科(25.21% ± 6.24%)、*毛螺菌科(10.75% ± 5.88%)、*紫单孢菌科(9.10% ± 3.97%)、优杆菌属(*Eubacterium*)(7.38% ± 4.68%)、乳杆菌属(6.58% ± 5.18%)、布劳特氏菌属(*Blautia*)(5.42% ± 3.70%)、醋弧菌属(4.27% ± 2.51%)、瘤胃球菌属(2.46% ± 0.95%)、普雷沃菌属(1.84% ± 1.36%)和梭菌属(*Clostridium*)(1.76% ± 0.40%)(有些细菌在 Greengene 数据库中在属水平上还无确定的分类名称,故在其科水平名前加“*”表示)。可以看到在属水平上,两组大鼠的肠道菌群相对丰度差异显著,老年大鼠的*瘤胃菌科相对丰度远高于幼年大鼠,而*毛螺菌科则相反。

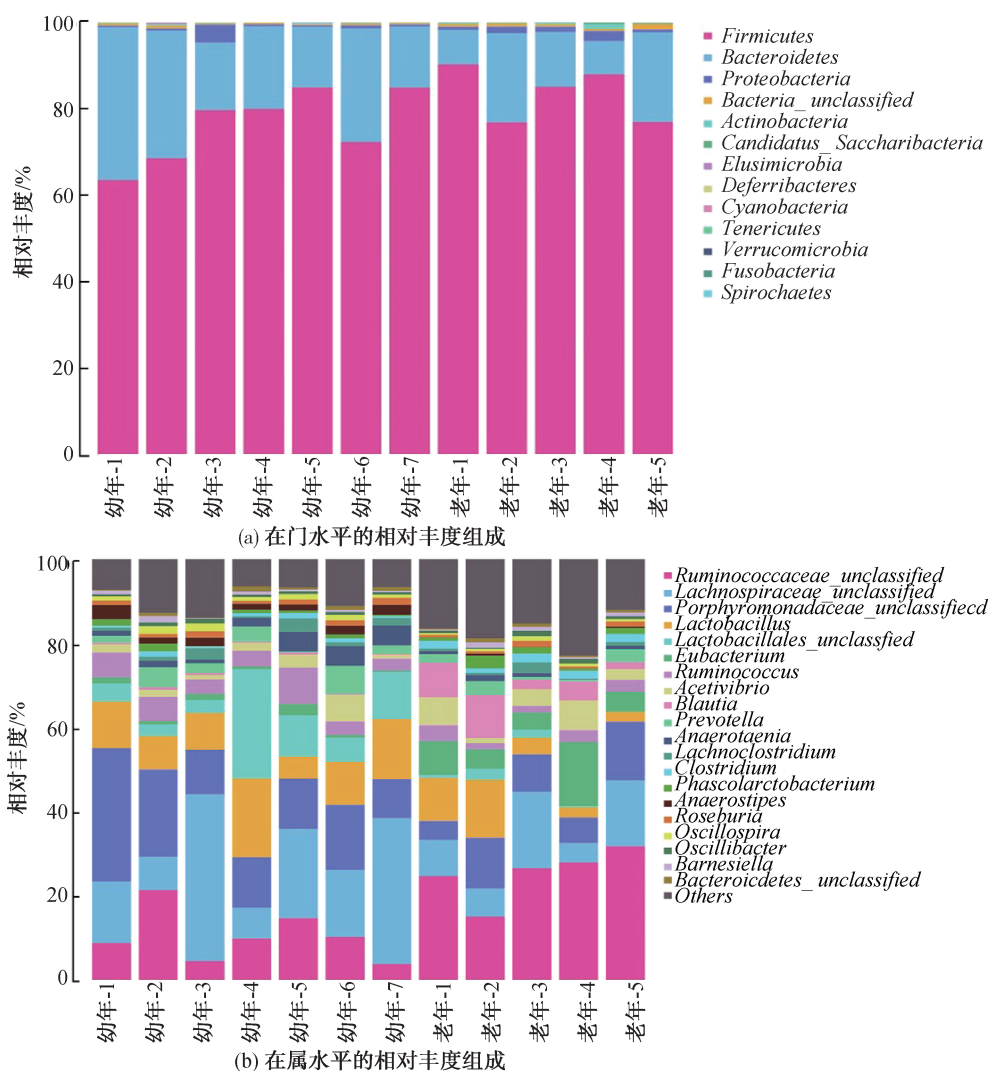
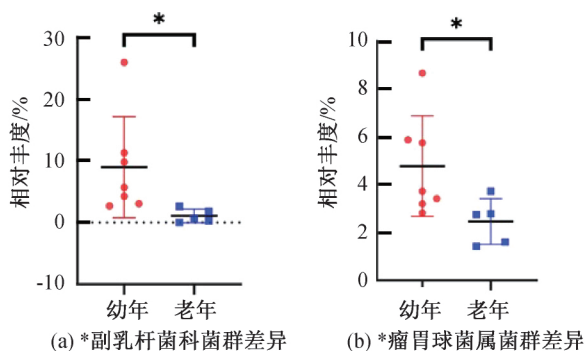


图2 幼年组和老年组大鼠肠道微生物的相对丰度组成

通过采用 t 检验法比较了两组大鼠在属分类水平上相对丰度较高菌群的丰度差异,两组大鼠中均具有一些显著差异的菌属(见图3)。由图3(a)——(c)、(g)可知,幼年大鼠肠道菌群中的*副乳杆菌科菌群、*瘤胃球菌属菌群、*Anaerotaenia* 菌群及颤螺

旋菌属菌群的丰度高于老年组大鼠,且有显著差异;由图3(d)——(f)、(h)可知,老年组大鼠肠道菌群中的优杆菌属菌群、布劳特式菌属菌群、梭菌属菌群及埃希氏菌属菌群相对丰度高于幼年组大鼠,且同样存在显著性差异。



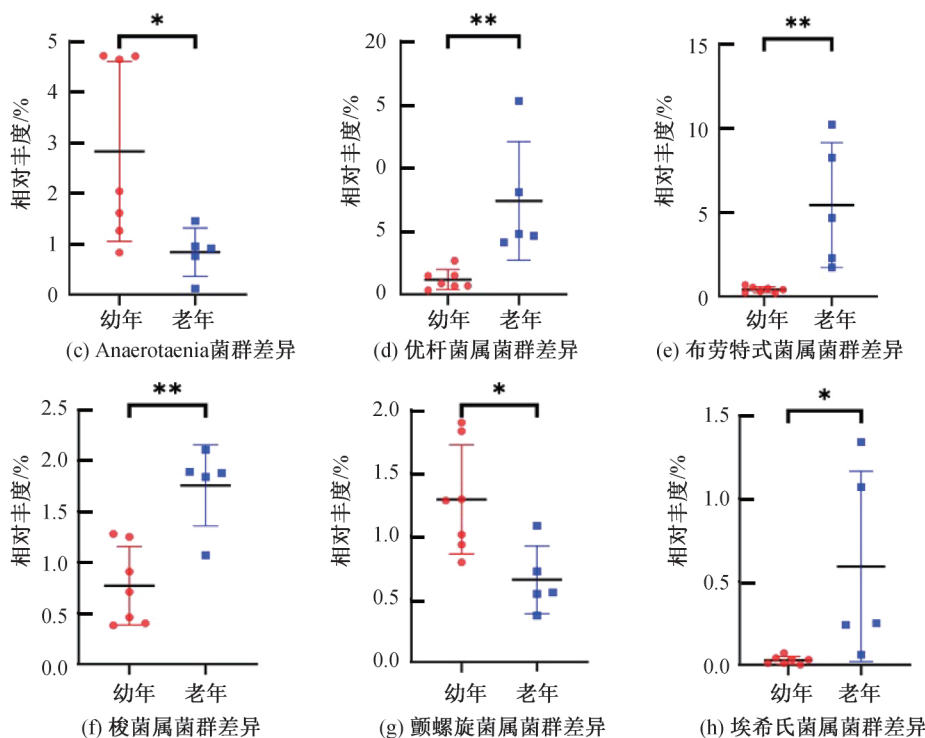


图 3 幼年组和老年组大鼠肠道菌群在属分类水平上的主要差异

2.4 幼年组大鼠和老年组大鼠肠道菌群 LEfSe 差异分析

LEfSe 是近几年出现的一种基于 LDA 效应量的分析方法,将 LDA 与非参数的 Kruskal-Wallis 以及 Wilcoxon 秩和检验相结合,从而筛选关键的生物标记物(关键群落成员)^[17]。两组大鼠的肠道菌群 LEfSe 树级结构如图 4 所示,由图 4 可知,两组大鼠特异性菌属主要分布在厚壁菌门、变形杆菌门和柔膜菌门。在厚壁菌门中幼年组大鼠样本发现乳杆菌属、*Acetatifactor*、*Anaerocolumna*、*Anaerostipes*、*Anaerotaenia*、颤螺旋菌属、瘤胃球菌属具有显著差异;而在老年组大鼠中 *Christensenella*、梭菌属、优杆菌属、布劳特氏菌属等 15 个菌属存在显著性差异。而在变形菌门两组大鼠分别有一个显著差异菌属,分别为幼年组的 *Desulfovibrio* 和老年组的埃希氏菌属。在柔膜菌门中仅有老年组的 *Acholeplasma* 具有显著差异。总体来看,在老年组大鼠中发现更多差异显著的菌种,与之前韦恩图所显示的老年组大鼠比幼年组大鼠包含更多独有的 OTU 相符合,反映出老年组大鼠的肠道微生物多样性比幼年组大鼠高。

3 讨论

近几年来,大量有关肠道菌群的研究证明,影响肠道菌群平衡的一个重要因素是宿主的年龄^[18],伴

随着年龄的增长肠道菌群种类及含量会出现波动性变化^[19-20],同时发现宿主的机体机能老化与肠道菌群之间也有一定的相关性^[21-22]。幼年的肠道菌群主要是由双歧杆菌主导的生态系统,成年后厚壁菌门和拟杆菌门则占了绝对优势;老年肠道菌群中双歧杆菌数量明显减少,而肠杆菌及肠球菌的数量则明显增加^[23],与本文结果基本相一致。在小于 3 岁的儿童中,肠道菌群多样性随年龄逐渐增长;但超过 3 岁后,菌群结构则日趋稳定并且接近于成年人^[24-25]。在大部分人类研究中,随年龄增长肠道生物多样性更高的趋势已经被证实^[26]。本文发现,老年组大鼠的独特 OTU 相较于幼年组更多,总体来看老年组 α 多样性指数更高,表明老年组大鼠肠道微生物具有更高的多样性。

厚壁菌门和拟杆菌门在肠道中协同促进宿主能量吸收或储存,在肥胖人群中,拟杆菌门相对丰度降低而厚壁菌门相对丰度增加^[27-28]。本文发现老年大鼠的拟杆菌门相对丰度相较幼年大鼠降低而厚壁菌门相对丰度增高,其原因可能是老年大鼠肥胖率更高的因素之一。变形菌门包含众多潜在致病菌^[29],埃希氏菌属是一种条件致病菌,一般情况下不致病,但在一些特殊情况下会导致动物出现腹痛与腹泻等疾病^[30]。本文中老年组大鼠埃希氏菌属丰度高于幼年组,其原因可能导致老年组大鼠肠道菌群失调而引起健康状况恶化。颤螺旋菌属的含量与健康成

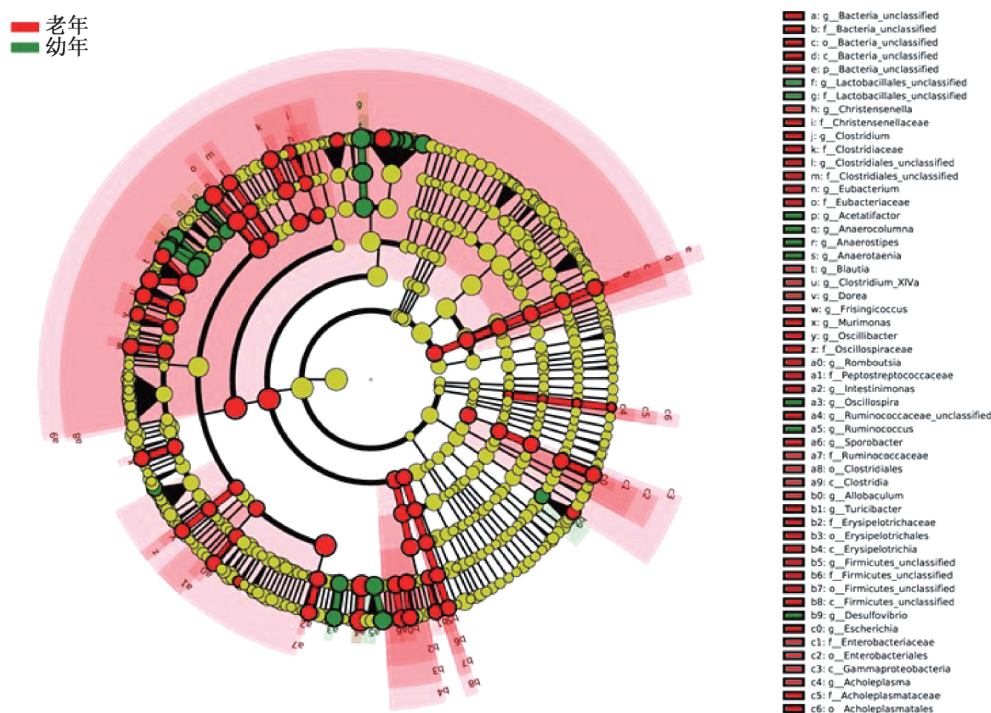


图4 幼年组和老年组大鼠肠道菌群的 LEfSe 多级物种层级树图

正比^[31],乳杆菌属有益于宿主健康,能发酵糖类产生乳酸,能维护宿主健康和调节免疫功能^[32],颤螺菌属和乳杆菌属的相对丰度在幼年大鼠中均高于老年大鼠。老年大鼠肠道微生物多样性虽然高于幼年组大鼠,但其中有害菌增多,正常的菌落结构受到破坏,可能会对大鼠的健康状况造成不利影响,可通过在饲料中加入益生菌等方法,维持大鼠正常肠道菌群结构,改善大鼠健康状况延长其寿命,使其更有利于作为应用于疾病与肠道菌群关系研究的模式生物。

4 结 论

为了探究幼年大鼠与老年大鼠肠道菌群结构的差异,本文通过对两组不同年龄段大鼠的粪便进行16S核糖体RNA基因V3+V4区的测序以分析肠道菌群结构,获得以下主要结论:

a)幼年组大鼠和老年组大鼠肠道菌群结构在门级水平上结构类似,厚壁菌门和拟杆菌门均为两组大鼠肠道菌群中丰度最高的门。

b)在属级水平上老年组大鼠肠道菌群结构中有害菌丰度较幼年组大鼠高。

c)老年组大鼠肠道微生物多样性高于幼年组大鼠,但其中有害菌增多,正常的菌落结构受到破坏,且其组内差异较小。

参考文献:

- [1] 黄树武, 闵凡贵, 王静, 等. 常见 SPF 级小鼠和大鼠肠道菌群多样性研究[J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(2): 229-235.
- [2] 林璋, 祖先鹏, 谢海胜, 等. 肠道菌群与人体疾病发病机制的研究进展[J]. 药学报, 2016, 51(6): 843-852.
- [3] 王丽娜, 周旭春. 肠道菌群与肠黏膜免疫及相关肠道疾病的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2017, 29(4): 494-496.
- [4] Fergus S. The host-microbe interface within the gut[J]. Best Pract Res Clin Gastroenterol, 2002, 16(6): 915-931.
- [5] O'haraa M, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ[J]. EMBO Reports, 2006, 7(7): 688-693.
- [6] Franceschi C, Bonafè M, Valensin S, et al. Inflamm-aging. An evolutionary perspective on immunosenescence [J]. Annals of the New York Academy of Sciences, 2010, 908(1): 244-254.
- [7] Kleessen B, Sykura B, Zunft H J, et al. Effects of inulin and lactose on fecal microflora, microbial activity, and bowel habit in elderly constipated persons [J]. American Journal of Clinical Nutrition, 1997, 65(5): 1397-1402.
- [8] Salminen A, Huuskonen J, Ojala J, Kauppinen A, et al. Activation of innate immunity system during aging: NF-κB signaling is the molecular culprit of inflamm-aging[J]. Aging Research Review, 2008, 7(2): 83-105.

- [9] Guigoz Y, Doré J, Schiffrin E J. The inflammatory status of old age can be nurtured from the intestinal environment [J]. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care*, 2008, 11(1): 13-20.
- [10] 鲜凌瑾, 张瑞强. 影响人肠道微生物菌群结构的因素[J]. *微生物学通报*, 2015, 42(4): 768-773.
- [11] 刘爱玲, 吕红, 钱家鸣. 衰老及衰老相关疾病与肠道菌群的关系研究进展[J]. *现代消化及介入诊疗*, 2019, 24(4): 7-11.
- [12] Segata N, Izard J, Waldron L, et al. Metagenomic biomarker discovery and explanation [J]. *Genome biology*, 2011, 12(6): 1-18.
- [13] 李巧. 物种累积曲线及其应用[J]. *应用昆虫学报*, 2011, 48(6): 1882-1888.
- [14] 宋旭红, 王钰, 李隆云, 等. 石柱黄连根腐病根际土壤细菌微生态研究[J]. *中国中药杂志*, 2017, 42(7): 1304-1311.
- [15] 陈力力, 杨伊磊, 青文哲, 等. 鸡蛋壳表面细菌数量及种群多样性分析[J]. *现代食品科技*, 2015, 31(10): 74-79.
- [16] Marti J, Thomas O, Jonathan M, et al. Navigating the multiple meanings of β diversity: a roadmap for the practicing ecologist[J]. *Ecol Lett*, 2011, 14(1): 19-28.
- [17] 刘波, 王阶平, 陈倩倩, 等. 养猪发酵床微生物宏基因组基本分析方法[J]. *福建农业学报*, 2016, 31(6): 630-648.
- [18] Rinninella E, Mele M C, Merendino N, et al. The Role of diet, micronutrients and the gut microbiota in age-related macular degeneration: New perspectives from the gut(-)retina Axis[J]. *Nutrients*, 2018, 10(11): 1-26.
- [19] Hollister E B, Riehle K, Luna R A, et al. Structure and function of the healthy pre-adolescent pediatric gut microbiome[J]. *Microbiome*, 2015, 3(1): 1-13.
- [20] Nash A K, Auchtung T A, Wong M C, et al. The gut mycobiome of the Human Microbiome Project healthy cohort[J]. *Microbiome*, 2017, 5(1): 1-13.
- [21] Arbolea S, Binetti A, Salazar N, et al. Establishment and development of intestinal microbiota in preterm neonates[J]. *FEMS microbiology ecology*, 2012, 79(3): 763-772.
- [22] Salminen S, Gibson G R, McCartney A L, et al. Influence of mode of delivery on gut microbiota composition in seven year old children[J]. *Gut*, 2004, 53(9): 1388-1389.
- [23] Claesson M J, Cusack S, O'Sullivan O, et al. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108(Suppl 1): 4586-4591.
- [24] Yatsunenko T, Rey F E, Manary M J, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography[J]. *Nature*, 2012, 486(7402): 222-227.
- [25] Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, et al. Dynamics and stabilization of the human gut microbiome during the first year of life[J]. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(5): 690-703.
- [26] Noora O, Hauke S, Willem M, et al. The function of our microbiota: Who is out there and what do they do? [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2012, 2(5): 1-11.
- [27] Ley R E, Turnbaugh P J, Klein S, et al. Microbial ecology: Human gut microbes associated with obesity [J]. *Nature*, 2006, 444(7122): 1022-1023.
- [28] 李子靖. 肠道菌群与肥胖发生和治疗的关系研究进展[J]. *现代商贸工业*, 2019, 40(8): 84-87.
- [29] Shin N R, Whon T W, Bae J W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [30] 山珊, 赖卫华, 陈明慧, 等. 农产品中大肠杆菌 O157: H7 的来源及分布研究进展[J]. *食品科学*, 2014, 35(1): 289-293.
- [31] Konikoff T, Gophna U. Oscillospira: A central, enigmatic component of the human gut microbiota[J]. *Trends in Microbiology*, 2016, 24(7): 523-524.
- [32] 唐京, 陈明, 柯文灿, 等. 乳酸菌在疾病防治和人体保健中的应用研究进展[J]. *微生物学杂志*, 2017, 37(4): 98-107.

(责任编辑:唐志荣)