

肠道气泡堆积对银鲳肠道菌群结构的影响

郑迪^{①②} 王倩^① 王磊^① 施兆鸿^① 彭士明^{①*}

① 中国水产科学研究院东海水产研究所 农业农村部东海渔业资源开发利用重点实验室 上海 200090;

② 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306

摘要: 为研究肠道气泡堆积对银鲳 (*Pampus argenteus*) 肠道菌群的影响, 2019年3月于东海水产研究所福鼎研究中心采集了15尾肠道气泡堆积的银鲳为病鱼组, 15尾健康银鲳为健康鱼组, 并通过16S rDNA 基因 DNA 高通量测序技术结合 LEfSe 分析方法, 对两组样品间菌群结构和多样性进行对比分析。结果显示, 病鱼组肠道菌群多样性与健康鱼组无显著差异 ($P > 0.05$), 但病鱼组肠道菌群的均匀度和相对丰度都显著低于健康鱼组 ($P < 0.05$)。两组样品的优势菌群均为变形菌门 (Proteobacteria), 且相对丰度都较大 (超过 97%)。此外, 利用 LEfSe 分析两组样品发现, 病鱼组中如根瘤菌 (*Rhizobium*)、栖热菌 (*Thermus*) 等好氧菌丰度显著高于健康鱼组, 而不动杆菌 (*Acinetobacter*)、微酸菌 (*Ilumatobacter*) 等显著低于健康鱼组, 蓝细菌 (*Cyanobacteria*) 相对丰度显著高于健康鱼组。由此可以表明, 肠道气泡堆积很可能会引发肠道菌群紊乱。

关键词: 银鲳; 气泡堆积; 高通量测序; 肠道菌群

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2020) 02-247-09

Effect of the Intestinal Gas Bubble Accumulation on Intestinal Bacterial Communities in Silver Pomfret

ZHENG Di^{①②} WANG Qian^① WANG Lei^① SHI Zhao-Hong^① PENG Shi-Ming^{①*}

① East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of Marine and Estuary, Ministry of Agriculture, Shanghai 200090;

② China College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Silvery pomfret (*Pampus argenteus*) is a kind of valuable economic fish species and the intestinal gas bubble accumulation is an important factor that hinders its popularization. In order to evaluate the changes of the bacterial communities in Silvery pomfret's intestine upon gas bubble accumulation occurrence, 15 diseased fish were chosen as the diseased group and 15 healthy fish as the healthy group. The method of high-throughput sequencing of 16S rDNA gene's V3-V4 region was used to determine diversity and composition of bacterial communities in each of these samples. The comparison results of the Alpha diversity

基金项目 现代农业(海水鱼)产业技术体系专项资金(No. CARS-47-G25), 中央级公益性科研院所基本科研业务费(No. 2420-2019);

* 通讯作者, E-mail: shiming.peng@163.com;

第一作者介绍 郑迪, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水产养殖; E-mail: 877164467@qq.com.

收稿日期: 2019-10-12, 修回日期: 2020-02-05 DOI: 10.13859/j.cjz.202002014

index showed that there was no significant difference in the Simpson index and the Shannon index between these two groups ($P > 0.05$), but the Chao1 estimator and the ACE estimator in the diseased group are significantly lower than those of the healthy group ($P < 0.05$) (Table 1). The analysis of the microbiota structure showed that the dominant bacterial groups were similar in the diseased and control groups, at the phylum level being Proteobacteria, and at the genus level being *Sphingobium*, *Sphingomonas*, *Cupriavidus*, *Novo sphingobium* and *Acinetobacter* (Table 2). From the above results, it can be concluded that the intestinal gas bubble accumulation reduces the richness and evenness of intestinal flora of Silvery pomfret, but does not affect its diversity. In addition, the two groups of samples were analyzed by LEfSe and the results showed that the relative abundance of aerobic bacteria such as agrobacterium bacteria, thermophilic bacteria, cyanobacteria, rhizobial bacteria in the diseased group was significantly higher than that of the healthy group, while the relative abundance of acinetobacter and microacidic bacteria was significantly lower than that of the healthy group (Fig. 3 and Fig. 4). From these results, it can be concluded that the intestinal gas bubble accumulation may cause intestinal flora disorder.

Key words: *Pampus argenteus*; Gas bubble accumulation; High-throughput sequencing; Intestinal microorganisms

肠道菌群是鱼类肠道的重要组成部分, 肠道菌群的结构和数量影响着机体的营养代谢、免疫调控、神经内分泌等机能 (孟晓林等 2019)。鱼类与肠道菌群属于共生关系, 共同维系着肠道微生态稳态, 然而这种稳态也不是一成不变的, 时常会因各种因素而改变, 如环境、病害、生长生理状况等 (Li et al. 2015, 孟晓林等 2019)。有研究表明, 患有腹水病的半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*) 肠道细菌多样性明显降低, 且有 60% 的细菌种类发生变化 (张正等 2014), 健康与患病的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 肠道菌群结构存在显著差异 (郁维娜等 2018)。

鱼类肠道气泡堆积是一种由未补偿的、高压溶解气体引起的, 起初在血液 (栓塞) 和组织 (肺气肿) 中产生初期病变, 随后引起一系列生理功能障碍的一种病理现象。气泡堆积对鱼类肠道影响很大, 将其解剖、镜检可以发现肠壁各层明显分离, 且出现被气泡占据的空间; 微绒毛因受损而脱落, 且随时间损伤越发显著 (彭天辉 2013)。有研究发现这些气泡的主要成分是氮气和氧气 (史为良 1987), 因此在部分程度上改变了肠道内环境, 而这种内环境的改变是否会对肠道菌群结构产生影响, 国内外

相关研究较少。

银鲳 (*Pampus argenteus*) 属鲈形目 (Perciformes) 鲳科 (Stromateidae) 鲳属, 在我国各大海域均有分布, 是我国主要的海产经济鱼类之一 (郑元甲等 2003)。肠道气泡堆积是银鲳养殖过程中的一种病理现象, 从仔鱼到高龄成鱼都有几率发生, 同时由于其难以发觉、难以控制的特点 (Bouck 1980), 在养殖过程中死亡率较高。目前国内外对于鱼类肠道气泡堆积方面的研究相对较少, 且主要集中在水环境和组织学方面。本文通过高通量测序技术, 对肠道气泡堆积的鱼体和健康鱼体肠道菌群进行了比较研究, 以期从肠道微生物组成与结构的角度对该病理现象的检测手段及防治措施提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 样品采集

本次实验用银鲳采自东海水产研究所福鼎研究中心工厂化养殖车间, 该车间拥有 4 个银鲳养殖池, 每个养殖池均采用相同的日常管理措施。于 2019 年 3 月参与日常管理, 同时在管理过程中注意观察鱼的游动行为, 对行为异常, 如游动速度加快 (Espmark et al. 2009)、垂直或

水平停于水面 (Kramer 1987)、躁动不安、对惊吓非常敏感甚至跳出水面 (Bouck 1980) 等疑似肠道气泡堆积的银鲳进行采集, 打捞起后于 25 mg/L 丁香酚中麻醉, 冰盘解剖, 观察其肠道内是否有明显的气泡堆积, 如有则可确认为所需要的病鱼样品。用 70% 的酒精擦拭整个肠外壁, 并将有气泡堆积的肠段剪下, 置于灭菌的离心管中, -80°C 保存。病鱼组 15 尾, 平均叉长 (鱼体由吻端到尾叉最深点的长度) 为 (11.7 ± 0.8) cm, 平均体重为 (42.8 ± 4.1) g。另选摄食、游动等行为正常, 有活力、游动有规律且解剖观察肠道无气泡堆积的健康鱼 15 尾为健康鱼组, 平均叉长为 (12.5 ± 0.7) cm, 平均体重为 (48.6 ± 5.6) g。两组样品取样方法一致, 取样肠段位置一致, 各组每 3 尾鱼的肠道内容物混合为一个样品, 即两组各有 5 个样品, 健康鱼组 5 个样品分别标记为 H1 ~ H5, 病鱼组 5 个样品分别标记为 D1 ~ D5。

1.2 DNA 提取、16S rDNA 测序

肠道微生物基因组 DNA 提取采用天根生化科技 (北京) 有限公司的海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒进行, 具体操作按说明书进行。提取完成后, 将样品送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行 16S rDNA 的 V3 和 V4 区测序。引物序列 (Dennis 2013) 为 338F ($5'\text{-ACT CCT ACG GGA GGC AGC A-3}'$) 和 806R ($5'\text{-GGA CTA CHV GGG TWT CTA AT-3}'$), 其中, W 表示 A 或 T, H 表示 A、C 或 T, V 表示 A、C 或 G。

1.3 数据分析

获得原始数据后, 运用 Qiime (quantitative insights into microbial ecology, version 1.7.0, <http://qiime.org/>) 程序 (Caporaso et al. 2010) 对测序结果进行序列过滤, 并调用 USEARCH (v5.2.236, <http://www.drive5.com/usearch/>) 检查并剔除嵌合体序列, 得到高质量序列。以相似性为 97% 为标准, 运用 UCLUST (Edgar 2010) 对所得的有效序列进行可操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 聚类, 并选

取每个 OTU 中丰度最高的序列为该 OTU 的代表序列。将所得结果利用 RDP Classifier 贝叶斯算法 (<http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>) (Wang et al. 2007) 与 Green Gene 数据库 (<http://greengenes.lbl.gov/cgi-bin/nph-index.cgi>) (De Santis et al. 2006) 进行物种注释分析并绘制种水平分布图和属水平分布图。利用所得的 OTUs 进行 Alpha 多样性分析, 并绘制稀疏曲线和丰度等级曲线; 通过 Galaxy 分析平台 (<http://huttenhower.sph.harvard.edu/galaxy/>) 以 LEfSe 分析 (Segata et al. 2011) 组间差异菌种。

2 结果

2.1 样品测序质量分析

实验从两组共 10 个样品中得到 299 169 条有效序列, 病鱼组平均 $(29\ 801 \pm 874)$ 条序列, 健康鱼组平均 $(30\ 024 \pm 1\ 250)$ 条序列, 两组之间序列量无显著差异。使用 QIIME 软件共拼接得到 977 个 OUTs。同样使用 QIIME 软件对 OTU 丰度矩阵中每个样本的序列总数在不同深度下随机抽样, 以每个深度下抽取到的序列数及其对应观察到的物种数量绘制稀疏曲线 (图 1), 各样品曲线都趋于平缓, 证明测序深度已经足够。

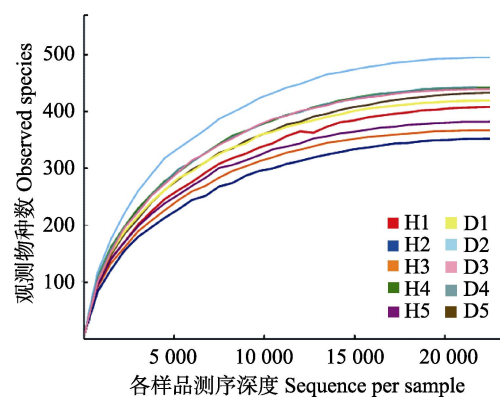


图 1 样品稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction analysis of the samples

2.2 微生物多样性分析

将每个样本的 OTU 按其丰度从大到小沿

横坐标依次排列后，将丰度值经以 2 为底的对数转换值作为纵坐标，在 R 软件中编写脚本绘制各样品的丰度等级曲线（图 2）。病鱼组在横轴上的长度小于健康鱼组，且折线比健康鱼组平缓。

比较两组样品的 Alpha 多样性指数(表 1)，病鱼组 Chao1 丰度估计指数 (the Chao1 estimator) 和 ACE 丰度估计指数 (the ACE estimator) 显著低于健康鱼组 ($P < 0.05$)，两组的辛普森指数 (the Simpson index) 和香农指数 (the Shannon index) 没有显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 菌群组成分析及优势菌群

在门水平上(表 2)，病鱼组和健康鱼组样品的绝对优势菌群都是变形菌门 (Proteobacteria)，相对丰度分别为 $97.54\% \pm 0.49\%$ 和 $97.42\% \pm 0.67\%$ ，且两组间无显著差异，另外，两组样

品中都检测到放线菌门 (Actinobacteria)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、硬壁菌门 (Firmicutes) 和蓝细菌门 (Cyanobacteria)，除上述菌门外，

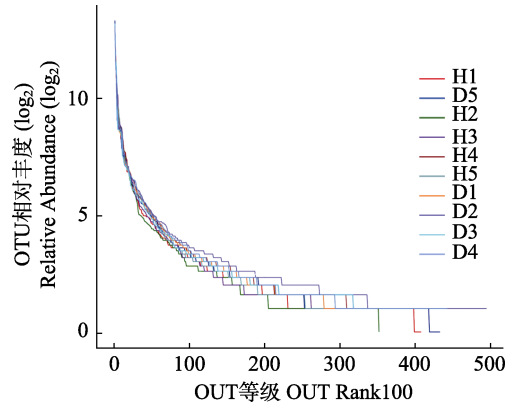


图 2 样品丰度等级曲线

Fig. 2 Rank abundance curve of the samples

表 1 样品的菌群多样性指数

Table 1 Alpha-diversity of samples

	辛普森指数 The Simpson index	香农指数 The Shannon index	Chao1 指数 The Chao1 estimator	ACE 指数 The ACE estimator
病鱼组 Diseased group	0.84 ± 0.01	4.23 ± 0.17	390.25 ± 35.62 ^a	391.11 ± 36.06 ^a
健康鱼组 Healthy group	0.82 ± 0.01	4.28 ± 0.23	445.93 ± 28.90 ^b	447.02 ± 28.41 ^b

每列数据标注不同字母，表示组间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

Different letters in each column indicate significant differences between groups ($P < 0.05$).

表 2 两组样品肠道菌群物种相对丰度

Table 2 Different relative abundance of gut microorganisms in two groups of samples

门 Phylum	分类水平 Classification level		相对丰度 Relative abundance (%)	
	属 Genus		病鱼组 Diseased	健康鱼组 Healthy
变形菌门 Proteobacteria	鞘脂菌属 <i>Sphingobium</i>		38.8 ± 1.1	42.9 ± 3.6
	柄杆菌科未鉴定属 <i>Unclassified_Caulobacteraceae</i>		19.7 ± 1.4	18.7 ± 0.8
	丛毛单胞菌科未鉴定属 <i>Unclassified_Comamonadaceae</i>		12.4 ± 1.4	12.3 ± 1.8
	鞘脂单胞菌属 <i>Sphingomonas</i>		6.7 ± 0.6	4.3 ± 1.0
	贪铜菌属 <i>Cupriavidus</i>		5.5 ± 1.0	4.1 ± 1.2
	新鞘脂菌属 <i>Novosphingobium</i>		2.6 ± 0.4	3.3 ± 0.4
	根瘤菌目未鉴定属 <i>Unclassified_Rhizobiales</i>		1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1
	不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>		1.9 ± 0.1	2.2 ± 0.3
	苍白杆菌属 <i>Ochrotracrum</i>		0.9 ± 0.4	0.5 ± 0.13
栖热菌门 Deinococcus-Thermus	栖热菌属 <i>Thermus</i>		0.9 ± 0.2	0.68 ± 0.12
放线菌门 Actinobacteria	拟无枝酸菌属 <i>Amycolatopsis</i>		0.7 ± 0.2	0.58 ± 0.04

其余菌门相对丰度均在 1%以下。

2.4 LefSe 分析差异菌群

为了找出在肠道气泡堆积影响下存在显著差异的菌群，进行了 LefSe 分析（图 3），并以此为基础构建分类进化树（由门到属）（图 4）。病鱼组主要在蓝细菌门、 α -变形菌纲

（Alphaproteobacteria）中的根瘤菌目（Rhizobiales）、异常球菌纲（Deinococci）的栖热菌科（Thermaceae）栖热菌属（*Thermus*）丰度显著高于健康鱼组，而健康鱼组在 γ -变形菌纲（Gammaproteobacteria）、酸杆菌纲（Acidimicrobiia）丰度显著高于病鱼组。

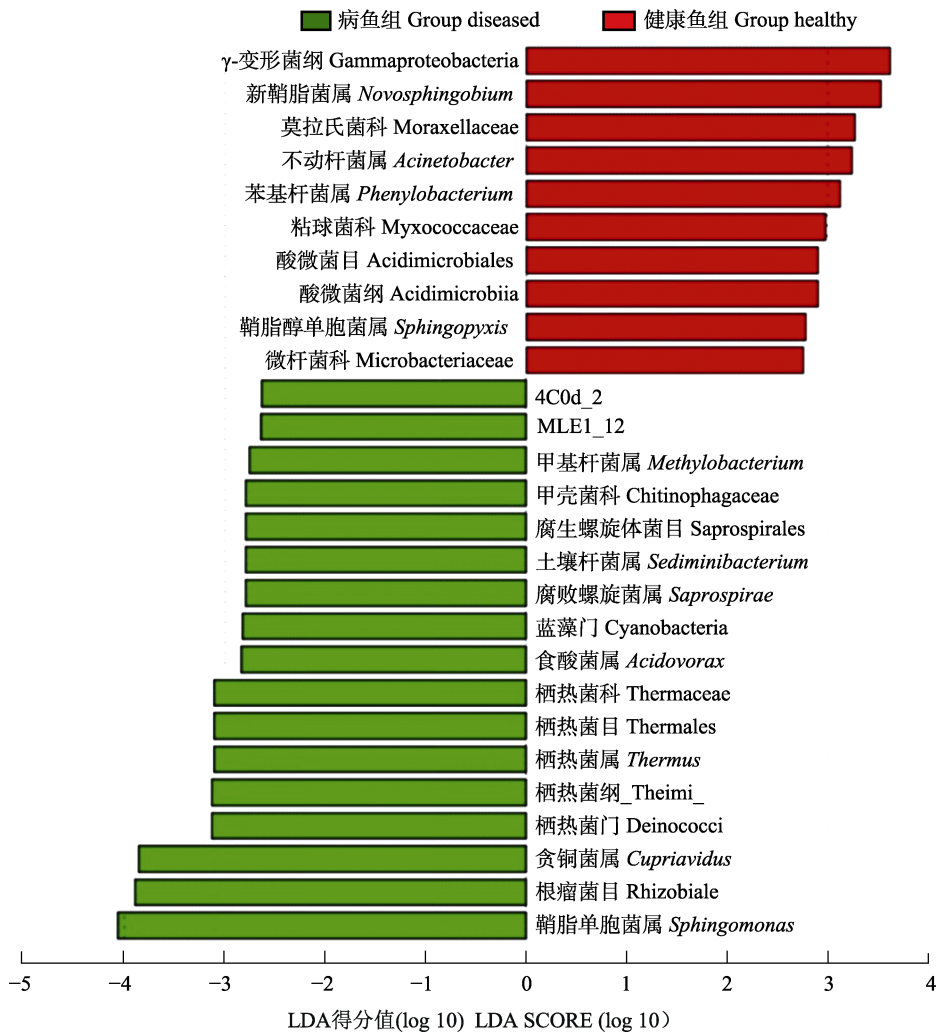


图 3 线性判别分析 (LDA) 值分布柱状图

Fig. 3 The distribution histogram in linear discriminant analysis (LDA) value

病鱼组和健康鱼组在各物种水平下 LDA 结果取 LDA 得分 2 为阈值筛选差异结果，按 LDA 得分由大到小排列。LDA 得分 > 0 说明在病鱼组中含量较高，而 LDA 得分 < 0 说明在健康鱼组中含量较高。

In the diseased group and healthy group, LDA score = 2 is the threshold screening result of LDA at each species level, and the LDA score is ranked from large to small. The LDA score > 0 indicates a higher content in the diseased group, while the LDA score < 0 indicates a higher content in the healthy group.

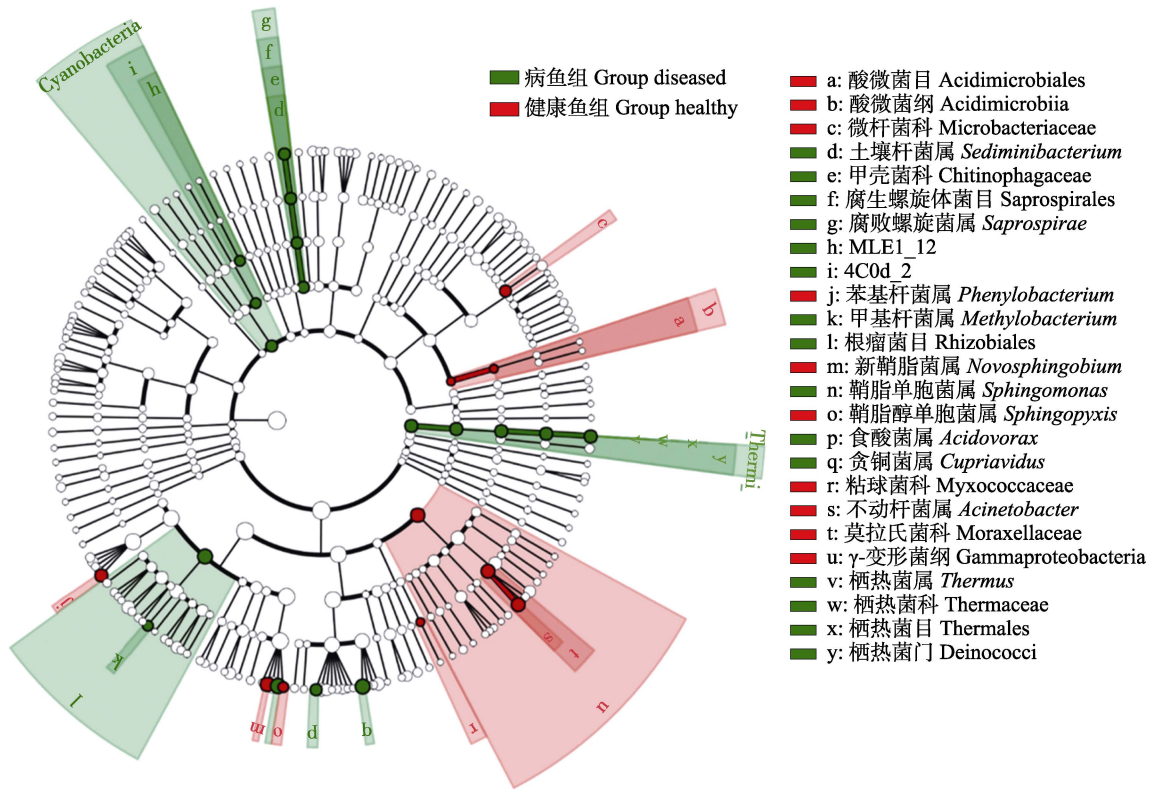


图 4 进化分支图

Fig. 4 The phylogenetic tree

根据 LDA 结果构建的进化树（门到属水平）。其中绿色节点代表该水平的细菌在病鱼组中含量较高，而红色节点代表该水平的细菌在健康鱼组中含量较高。

The evolutionary tree (Phylum level to genus level) constructed from LDA results. Among them, the green node represents that the level of bacteria in the diseased group is higher, and the red node represents the level of bacteria in the healthy group is higher.

3 讨论

鱼类肠道中定植着种类丰富、数量庞大的菌群 (Roeselers et al. 2011)。在正常情况下，肠道菌群之间、菌群与宿主之间处于动态平衡，从而维持着鱼类肠道正常生理功能 (Nayak 2010)。当受到内外界因素，如环境变化、刺激等影响时，这种平衡很有可能会被破坏，从而影响宿主的生长发育和健康水平 (尹军霞等 2004, 米海峰等 2015)。发生气泡堆积鱼体通常可以在显微镜下看到微气泡的移动和汇集 (彭天辉 2013)，而肠道则是微气泡汇聚成大气泡最多的地方。气泡堆积的主要成分为氧气

和氮气 (史为良 1987)，而 90% 以上的肠道微生物区系为厌氧菌 (贾慧茹等 2014)，肠道也是相对厌氧环境，这些气泡是否会影响肠道生态的平衡，对肠道菌群有何影响尚未有人研究。

3.1 肠道气泡堆积对银鲟肠道菌群 Alpha 多样性的影响

丰度等级曲线中折线的长度反应了样品的丰富度，折线的平缓程度反应了样品的均匀度，从上文图中可以看出，健康鱼组折线长度较长，平缓程度较平缓，这说明病鱼组样品比健康鱼组丰富度略低，均匀度略低。关于 Alpha 多样性，通常用 ACE 指数和 Chao1 指数来度量菌群丰度，Shannon 指数和 Simpson 指数来度量

菌群多样性。本实验 Alpha 多样性的对比结果显示, 病鱼组 Chao1 指数和 ACE 指数显著低于健康鱼组 ($P < 0.05$), Shannon 指数和 Simpson 指数两组间没有显著差异 ($P > 0.05$), 说明气泡堆积可能降低了肠道菌群的丰富度和均匀度, 但不影响其多样性, 这与丰度等级曲线结果相类似。推测其原因可能与气泡堆积引起的肠道组织损伤有关。在正常情况下, 肠道正常菌群牢固地附着于肠黏膜和肠上皮细胞表面, 而气泡堆积占据肠道空间, 导致微绒毛(上皮细胞)因受损而脱落, 部分菌群因失去附着位点而极易随排泄物排出体外(朱文根等 2019), 从而影响到菌群的丰度和均匀度。此外, 患病的银鲳鱼经常身体失衡, 摄食减弱, 导致肠道正常菌群赖以生存的资源减少, 这也可能是肠道菌群丰度减少的原因之一(Hughes et al. 2017)。

3.2 肠道气泡堆积对银鲳肠道菌群结构的影响

本研究使用高通量测序, 检测结果显示共检测到变形菌门、放线菌门、硬壁菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、酸杆菌门(Acidobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)等 15 个门(其余相对丰度小于 0.1%), 患病组和健康组样品中都以变形菌门为主, 这与凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)(何远法等 2017)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)仔稚幼鱼(刘增新等 2017)肠道的优势菌门检测结果一致, 说明变形菌门可能是水产动物肠道中常见的菌门(Wang et al. 2018)。另外, 对比两组样品无论是在门水平上还是属水平上, 可以发现样品间肠道菌群结构高度相似, 尽管气泡堆积的发生一定程度上改变了部分菌种组成, 但优势菌群依然是变形菌门中的鞘脂菌属和鞘脂单胞菌属。由此可以推测, 在工厂化养殖模式下, 银鲳鱼肠道菌群结构可能是相对保守的, 受内外因素影响较小。有学者在对半滑舌鳎(张正等 2014)、大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)(Dhanasiri et al. 2011)肠道菌群研究中也类似发现。相比较于工厂化车间, 气泡堆积更易发生在夏季养殖土池、

冰下越冬池等溶解气体不易调控的养殖条件下(彭天辉 2013), 而在这些情况下鱼类肠道菌群的变化是否还会相对保守, 则需要进一步研究。

LEfSe 分析是近年来出现的一种基于线性判别分析(linear discriminant analysis, LDA)效应量(effect size)的分析方法, 其特点是不仅局限于对组间群落组成差异进行分析, 更可以深入到挑取在不同子分组中表现一致的关键微生物类群(Segata et al. 2011)。本实验使用 LEfSe 分析发现, 由于肠道气泡堆积的发生, 蓝细菌门、 α -变形菌纲中的根瘤菌目、异常球菌纲中的栖热菌属相对丰度显著升高, γ -变形菌纲相对丰度显著降低。蓝细菌是一种能够通过产氧性光合作用生长的微生物, 少量存在有助于鱼类生长(Jia et al. 2016), 但其光合作用释放氧气不利于肠道内的厌氧环境, 且丰度较大时会释放对鱼体有害的微囊藻毒素(Kang et al. 2012)。检测到蓝细菌门的出现可能由于银鲳摄食了水体中的蓝藻(Suo et al. 2017)。根瘤菌目属于 α -变形菌纲, 目前为止已发现有 63 个属, 代谢类型各异, 但多数如根瘤菌属、慢生根瘤菌属等都是异养好氧菌(单辉辉等 2013), 在本实验种检测到病鱼组显著高于健康鱼组的根瘤菌目属为甲基杆菌属(*Methylobacterium*), 这是一种严格好氧菌(田丹丹等 2011); 栖热菌属是好氧菌(洪伟 2010), 其相对丰度的增加可能与肠道内的气泡堆积(氧气、氮气)有关。 γ -变形菌纲所含的细菌种类非常多, 有超过 250 个属(舒青龙等 2015), 在本实验中检测到的病鱼组显著低于健康鱼组的有 γ -变形菌纲中莫拉氏菌科的不动杆菌属, 不动杆菌属是专性需氧菌(谢水祥 2014), 但同时也是一种条件致病菌(尹有宽等 1999), 其相对丰度的降低可能是因为刺激了鱼体相关免疫防御机制, 而酸微菌是厌氧菌, 是故受肠道气泡堆积影响而降低的肠道微生物代谢类型不能一概而论。

综上所述, 肠道气泡堆积会导致银鲳鱼部

分肠道菌群结构发生改变, 并且不难预见随着病情的加深情况会进一步恶化, 最终导致肠道菌群紊乱。患有肠道气泡堆积的鱼肠道好氧菌相对丰度增加, 这一特点或许可以利用于鱼类肠道气泡堆积的检测, 但仍需要进一步研究。本实验从银鲟鱼肠道菌群入手, 为肠道气泡堆积的深化研究以及检测提供依据和参考。

参 考 文 献

- Bouck G R. 1980. Etiology of gas bubble disease. *Transactions of the American Fisheries Society*, 109(6): 703–707.
- Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature Methods*, 7(5): 335–336.
- De Santis T Z, Hugenholtz P, Larsen N, et al. 2006. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(7): 5069–5072.
- Dennis K L, Wang Y, Blatner N R, et al. 2013. Adenomatous polyps are driven by microbe-instigated local inflammation and are controlled by IL-10-producing T cells. *Cancer Research*, 73(19): 5905–5913.
- Dhanasiri A K S, Brunvold L, Brinchmann M F, et al. 2011. Changes in the intestinal microbiota of wild Atlantic cod *Gadus morhua* L. Upon Captive Rearing. *Microbial Ecology*, 61(1): 20–30.
- Edgar R C. 2010. Search and clustering orders of magnitude faster than blast. *Bioinformatics*, 26(19): 2460.
- Espmark Å M, Baevefjord G. 2009. Effects of hyperoxia on behavioural and physiological variables in farmed Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr. *Aquaculture International*, 17(4): 341–353.
- Hughes E R, Winter M G, Duerkop B A, et al. 2017. Microbial respiration and formate oxidation as metabolic signatures of inflammation-associated dysbiosis. *Cell Host & Microbe*, 21(2): 208–219.
- Jia J, Chen Q, Lauridsen T. 2016. A systematic investigation into the environmental fate of microcystins and the potential risk: study in Lake Taihu. *Toxins*, 8(6): 170.
- Kang H S, Sturdy M, Kronic A, et al. 2012. Minutissamides E-L, antiproliferative cyclic lipodecapeptides from the cultured freshwater cyanobacterium cf. *Anabaena* sp. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 20(20): 6134–6143.
- Kramer D L. 1987. Dissolved-oxygen and fish behavior. *Environmental Biology of Fishes*, 18(2): 81–92.
- Li T, Long M, Gatesoupe F J, et al. 2015. Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing. *Microbial Ecology*, 69(1): 25–36.
- Nayak S K. 2010. Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41(11): 1553–1573.
- Roeselers G, Mittge E K, Stephens W Z, et al. 2011. Evidence for a core gut microbiota in the zebrafish. *The ISME Journal*, 5(10): 1595–1608.
- Segata N, Izard J, Waldron L, et al. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6): 1–18.
- Suo Y, Li E, Li T, et al. 2017. Response of gut health and microbiota to sulfide exposure in Pacific whiteshrimp *Litopenaeus vannamei*. *Fish and Shellfish Immunology*, 63(4): 87–96.
- Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, et al. 2007. Naïve bayesian classifier for rapid assignment of r RNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(16): 5261–5267.
- Wang Y, Wang B, Liu M, et al. 2018. Aflatoxin B1 (AFB1) induced dysregulation of intestinal microbiota and damage of antioxidant system in pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *Aquaculture*, 495(15): 940–947.
- 何远法, 迟淑艳, 谭北平, 等. 2017. 酵母培养物对凡纳滨对虾肠道菌群结构的影响. *广东海洋大学学报*, 37(4): 21–27.
- 洪伟. 2010. 腾冲热海栖热菌噬菌体分离及其特征研究. 昆明: 昆明理工大学硕士学位论文, 4–7.
- 贾慧茹, 王星, 周婷. 2014. 蜜蜂肠道微生物研究概况. *动物医学进展*, 35(4): 116–121.
- 刘增新, 柳学周, 史宝, 等. 2017. 牙鲆仔稚幼鱼肠道菌群结构比较分析. *渔业科学进展*, 38(1): 111–119.
- 孟晓林, 李文均, 聂国兴, 等. 2019. 鱼类肠道菌群影响因子研究进展. *水产学报*, 43(1): 143–155.
- 米海峰, 孙瑞健, 张璐, 等. 2015. 鱼类肠道健康研究进展. *中国饲料*, (15): 19–22.
- 彭天辉. 2013. 自然及人工条件下大口黑鲈慢性气泡病的病因及病理研究. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 3–14.
- 单辉辉, 李正, 韩素贞. 2013. 两株藏南地区土壤根瘤菌分类地位的确定. *生物技术通报*, 25(4): 158–166.
- 史为良. 1987. 冰下溶氧过高引起亲鱼气泡病一例. *淡水渔业*, 17(6): 41–42.
- 舒青龙, 封勇, 左爱仁, 等. 2015. 梯度稀释及微量点样法在环境

- γ -变形菌分离中的应用. 生物技术, 25(3): 281–300.
- 田丹丹, 宋修鹏, 蒋承健, 等. 2011. 1 株甲基杆菌 *Methylobacterium* sp.WGM16 的鉴定及降解甲醇的最佳培养条件. 微生物学杂志, 31(1): 28–33.
- 谢水祥. 2014. 医学微生物学. 北京: 中国医药科技出版社, 120–121.
- 尹军霞, 林德荣. 2004. 肠道菌群与疾病. 生物学通报, 39(3): 26–28.
- 尹有宽, 翁心华. 1999. 不动杆菌属细菌感染的临床表现. 中国实用内科杂志, 19(02): 7–8.
- 郁维娜, 戴文芳, 陶震, 等. 2018. 健康与患病凡纳滨对虾肠道菌群结构及功能差异研究. 水产学报, 42(3): 399–409.
- 张正, 廖梅杰, 李彬, 等. 2014. 两种疾病发生对养殖半滑舌鳎肠道菌群结构的影响分析. 水产学报, 38(9): 1565–1572.
- 郑元甲, 陈雪忠, 程家骅, 等. 2003. 东海大陆架生物资源与环境. 上海: 上海科学技术出版社, 379–388.
- 朱文根, 李星浩, 饶刘瑜, 等. 2019. 感染草鱼呼肠孤病毒对肠道菌群多样性的影响. 水生生物学报, 43(1): 113–120.