

文章编号: 1000-0615(2019)01-0143-13

DOI: 10.11964/jfc.20181011476

· 综述 ·

鱼类肠道菌群影响因子研究进展

孟晓林^{1,2}, 李文均^{1,3}, 聂国兴^{1,2*}

(1. 河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453007;

2. 河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南 新乡 453007;

3. 中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘要: 肠道菌群在维持肠道健康、促进肠道发育、抵抗病原入侵、调节机体能量吸收和脂质代谢过程中均发挥重要作用。在鱼类学研究中, 由于种类繁多、食性差异大、生存环境复杂多变, 导致鱼类肠道菌群方面的研究面临巨大挑战。本文在总结常见鱼类肠道微生物组成的基础上, 着重介绍了鱼类饵料组成、水环境因子、物种、基因型、发育阶段、养殖模式及投喂策略对鱼类肠道菌群影响的相关研究进展, 并对目前研究中存在的问题进行了剖析, 以期对鱼类肠道菌群研究提供一定的参考依据。

关键词: 鱼类; 肠道菌群; 饵料组分; 水环境因子

中图分类号: Q 938.8; S 917.4

文献标志码: A

肠道微生物被视为体内数量庞大且复杂的生态系统, 其与宿主共同组成了“超生物体 (superaorganism)”, 其组成变化与环境因子及宿主个体密切相关, 在维持肠道健康、促进肠道发育、抵抗病原入侵、调节机体能量吸收和脂质代谢过程中均发挥重要作用^[1-2]。对人类 (*Homo sapiens*) 及小鼠 (*Mus musculus*) 的研究表明, 食物组成^[3]、环境因素^[4]、生理状态^[5]和遗传因素^[6]等均可影响肠道菌群的结构和数量, 进而影响机体的营养代谢、免疫调控、神经内分泌等机能。相较于陆生哺乳动物, 在鱼类学研究中, 鱼类种类繁多、食性差异大、生存环境复杂多变, 这给鱼类肠道菌群的相关研究带来了较大挑战。但随着可培养技术及微生物组测序技术的不断发展, 鱼类肠道菌群研究已逐步成为水生动物学领域备受关注的热点研究。因此, 基于目前影响主要养殖鱼类肠道微生态环境的主要因素, 开展不同作用因子对鱼类肠道菌群的影响研究, 进而深入阐明肠道菌群与宿主的互作机制, 对理解鱼类肠道菌群的功能、促进水产养殖业健康发展有着重要意义。

1 鱼类肠道菌群组成结构

在脊椎动物的分类中, 鱼类占据最主要的分类地位, 拥有丰富的生态多样性。鱼类不同组织器官 (皮肤、鳃、肠道) 及其排泄物 (粪便) 的微生物组成结构存在明显的差异^[7] (图1)。此前, 对于肠道微生物的了解主要依赖于可培养技术, 所得到的纯培养菌群类型较为单一^[8], 导致学术界普遍认为鱼类肠道微生物组成结构较哺乳动物要简单。而随着分子测序技术的不断提高及完善, 发现鱼类肠道菌群组成结构同样复杂。与陆生动物相比, 好氧菌、兼性厌氧菌、专性厌氧菌是鱼类肠道中主要微生物类群, 每克肠道内容物含有约 $10^7 \sim 10^{11}$ 个细菌^[9], 包括变形菌门 (Proteobacteria)、梭杆菌门 (Fusobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes)、拟杆菌门 (Bacteroidetes)、放线菌门 (Actinobacteria) 及疣微菌门 (Verrucomicrobia)^[10-11]等。其中, 变形菌门、厚壁菌门和放线菌门是主要微生物类群。而鱼类又由于其食性、生活环境的多样性及不同的发育阶段, 使肠道菌群组成结构产生时空差异。目前, 在此

收稿日期: 2018-10-09 修回日期: 2018-11-28

资助项目: 河南省科技攻关计划项目 (182102110007); 河南师范大学国家基金培育项目 (2017PL18); 河南省创新型科技团队 (CXTD2016043); 有害生物控制与资源利用国家重点实验室开放基金 (SKLBC15KF03)

通信作者: 聂国兴, E-mail: niegx@htu.cn

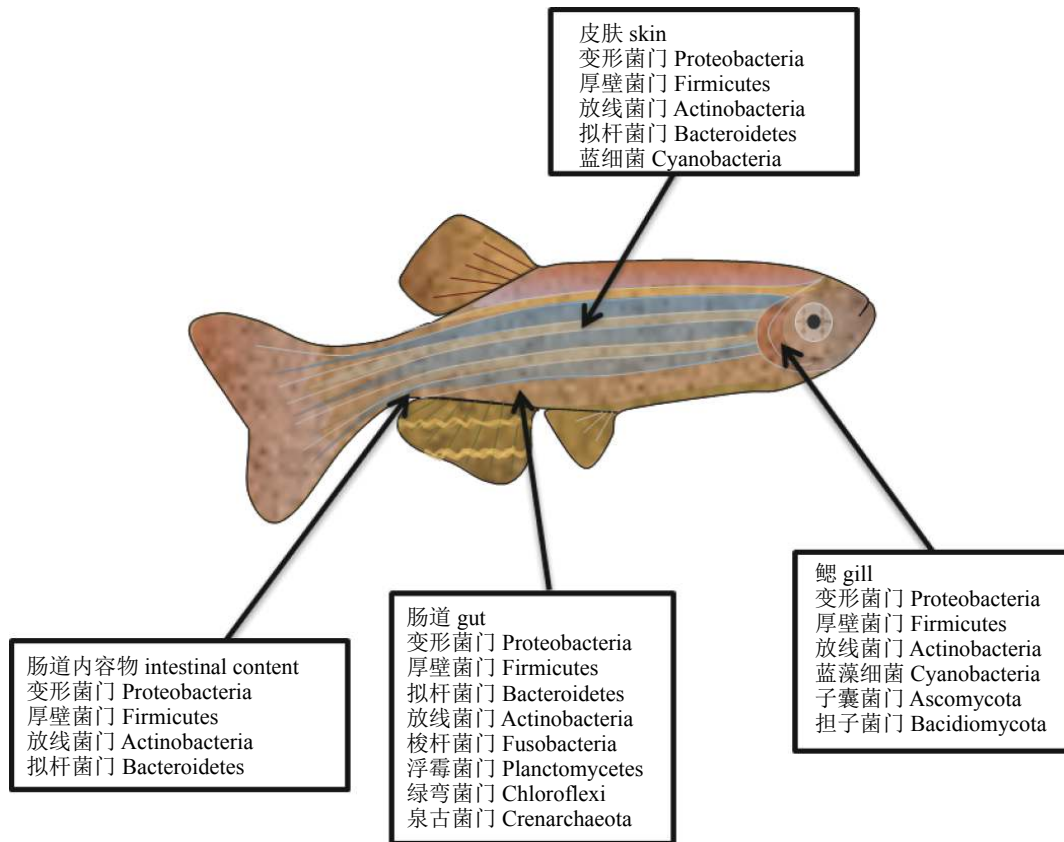


图 1 鱼类不同组织主要微生物类群(Llewellyn等^[7])

Fig. 1 The major microbiota in different tissues of fish(Llewellyn *et al.*^[7])

方面研究比较多的海水鱼类包括安大略鲑(*Salmo salar*)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)、北极红点鲑(*Salvelinus alpinus*)和大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)，淡水鱼类包括斑马鱼(*Danio rerio*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、斑点叉尾鲴(*Ictalurus punctatus*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)和鲤(*Cyprinus carpio*)等(表1)。

对淡水肉食性鱼类虹鳟及鳊(*Siniperca chuatsi*)的研究显示，变形菌门占绝对优势地位，其中肠杆菌科(Enterobacteriaceae)、气单胞菌科(Aeromonadaceae)和假单胞菌科(Pseudomonadaceae)是优势菌群^[12-14]。其中与肉食性鱼类消化密切相关的产生蛋白酶、脂肪酶的微生物，如盐单胞菌属(*Halomonas*)及鲸杆菌属(*Cetobacterium*)丰度较高。而对淡水草食性鱼类如草鱼的研究结果不尽一致，有的学者研究发现，变形菌门、厚壁菌门和放线菌门是主要优势类群，拟杆菌门丰度较低^[15-16]，而有研究发现厚壁菌门(27.1%)、梭杆菌门(26.5%)和变形菌门(13.9%)是主要优势类群^[17]，这可能与研究对象的摄食饲料组成及测序手段不同有关^[16]。而其中纤维素降解菌包括

Anoxybacillus、肠杆菌属(*Enterobacter*)、肠球菌属(*Enterococcus*)、克雷白氏杆菌属(*Klebsiella*)、短芽孢杆菌属(*Brevibacillus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、梭菌属(*Clostridium*)、放线菌属(*Actinomyces*)、柠檬酸杆菌属(*Citrobacter*)和气单胞菌属(*Aeromonas*)^[11, 14, 18]，这些微生物类群丰度在草鱼摄食植物纤维后会显著增加。对淡水杂食性鱼类鲤的研究显示，梭杆菌门、拟杆菌门、浮霉菌门(Planctomycetes)和 γ 变形菌门(γ -Proteobacteria)是主要微生物类群，而疣微菌纲(Verrucomicrobiae)、梭菌纲(Clostridia)、芽孢杆菌纲(Bacilli)所占比例较小^[19-20]。

在海水鱼类肠道菌群研究中，由于其生活环境与淡水鱼类完全不同，因此，肠道菌群组成同样存在明显差异。利用高通量测序技术对安大略鲑肠道菌群的研究结果显示，其肠道消化物中变形菌门、厚壁菌门、梭杆菌门、放线菌门是主要类群，且消化物的微生物类群丰度显著高于肠黏膜^[21]。Ringø等^[22]对大西洋鳕肠道可培养微生物研究显示，嗜冷杆菌属、环丝菌属和肉食杆菌属为主要类群。邢孟欣等^[23]对大菱

表 1 海淡水常见鱼类主要肠道菌群结构组成

Tab. 1 The intestinal microbiota of major aquatic fish in fresh water or seawater

物种 species	食性 feeding habit	主要门水平组成 dominant phyla	主要属水平组成 dominant genera	测定方法 methods	参考文献 references
虹鳟 <i>O. mykiss</i>	肉食性 carnivorous	厚壁菌门(Firmicutes)、 α -变形菌门(α - Proteobacteria)、 γ -变形菌门(γ - Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)	肉食杆菌属(<i>Carnobacterium</i>)、肠杆菌属(<i>Enterobacter</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)	cpn60 克隆文库构建(clone library constructon)、16S <i>rRNA</i> /454 焦磷酸测序(454 Pyrosequencing)	[24-25]
斑点叉尾鮰 <i>L. Punetaus</i>		拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、变形菌门(Proteobacteria)	鲸杆菌属(<i>Cetobacterium</i>)、气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)、梭菌属(<i>Clostridium</i>)、邻单胞菌属(<i>Pleisionomas</i>)、链球菌属(<i>Streptococcus</i>)、乳酸菌属(<i>Lactobacillus</i>)、慢生根瘤菌属(<i>Bradyrhizobium</i>)、副拟杆菌属(<i>parabacteroides</i>)	16S <i>rRNA</i> /Illumina Miseq	[26-27]
草鱼 <i>C. idella</i>	草食性 herbivorous	变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、放线菌门(Actinobacteria)	气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)、摩根氏菌属(<i>Morganella</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、弧菌属(<i>Vibrio</i>)、放线菌属(<i>Actinomyces</i>)、普罗维登斯菌属(<i>Providencia</i>)、耶尔森氏菌属(<i>Yersinia</i>)、韦荣球菌属(<i>Veillonella</i>)、罗氏菌属(<i>Rothia</i>)、明串珠菌属(<i>Leuconostoc</i>)、梭菌属(<i>Clostridium</i>)	16S <i>rRNA</i> /ABI 377 16S <i>rRNA</i> /454 焦磷酸测序(454 Pyrosequencing)	[16,18]
鲤 <i>C. carpio</i>	杂食性 omnivorous	变形菌门(Proteobacteria)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)、浮霉菌门(Planctomycetes)、蓝藻菌(Cyanobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)	不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)、鲸杆菌属(<i>Cetobacterium</i>)、肠杆菌属(<i>Enterobacter</i>)、柠檬酸杆菌属(<i>Citrobacter</i>)、邻单胞菌属(<i>Pleisionomas</i>)、弧菌属(<i>Vibrio</i>)、亚硝化单胞菌属(<i>Nitrosomonas</i>)、梭菌属(<i>Clostridium</i>)、芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)、气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)、弧菌属(<i>Vibrio</i>)、发光杆菌属(<i>Photobacterium</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、丛毛单胞菌属(<i>Comamonas</i>)、苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)、葡萄球菌属(<i>Staphylococcus</i>)、链球菌属(<i>Streptococcus</i>)、乳酸菌属(<i>Lactobacillus</i>)、食酸菌属(<i>Acidovorax</i>)、不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、埃希氏杆菌属(<i>Escherichia</i>)、棒状杆菌属(<i>Corynebacterium</i>)、农杆菌属(<i>Agrobacterium</i>)	16S <i>rRNA</i> /454 焦磷酸测序(454 Pyrosequencing)PCR-DGGE	[20,28-29]
斑马鱼 <i>D. rerio</i>		变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、绿弯菌门(<i>Chloroflexi</i>)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、放线菌门(Actinobacteria)、脱铁杆菌门(<i>Deferribacteres</i>)、酸杆菌门(<i>Acidobacteria</i>)	不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、丛毛单胞菌属(<i>Comamonas</i>)、苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)、葡萄球菌属(<i>Staphylococcus</i>)、链球菌属(<i>Streptococcus</i>)、乳酸菌属(<i>Lactobacillus</i>)、食酸菌属(<i>Acidovorax</i>)、不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、埃希氏杆菌属(<i>Escherichia</i>)、棒状杆菌属(<i>Corynebacterium</i>)、农杆菌属(<i>Agrobacterium</i>)	16S <i>rRNA</i> /Bigdye terminator 可培养(Culture dependent)/16S <i>rRNA</i> 测序 316 TM Chip	[30-32]
安大略鲑 <i>S. salar</i>	肉食性 carnivorous	变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、放线菌门(Actinobacteria)、	不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、弧菌属(<i>Vibrio</i>)、紫色杆菌属(<i>Janthinobacterium</i>)、丙酸菌属(<i>Propionibacterium</i>)、叶杆菌属(<i>Phyllobacterium</i>)、草螺菌属(<i>Herbaspirillum</i>)、伯克氏菌属(<i>Burkholderia</i>)、鞘氨醇单胞菌属(<i>Sphingomonas</i>)、苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)、贪噬菌属(<i>Variovorax</i>)、微杆菌属(<i>Microbacterium</i>)、红球菌属乳杆菌属(<i>Rhodococcus Lactobacillus</i>)、乳球菌属(<i>Lactococcus</i>)、芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)、发光杆菌属(<i>Photobacterium</i>)、嗜冷杆菌属(<i>Psychrobacter</i>)、环丝菌属(<i>Brochothrix</i>)、黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)、苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)、节杆菌属(<i>Arthrobacter</i>)、肉食杆菌属(<i>Carnobacterium</i>)、	PCR-DGGE 16S <i>rRNA</i> /318 Chip	[21,33]
大西洋鳕 <i>G. morhua</i>		变形菌门(Proteobacteria)、脱铁杆菌门(<i>Deferribacteres</i>)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、梭杆菌门(<i>Fusobacteria</i>)、软膜菌门(<i>Tenericutes</i>)、厚壁菌门(Firmicutes)	嗜冷杆菌属(<i>Psychrobacter</i>)、环丝菌属(<i>Brochothrix</i>)、黄杆菌属(<i>Flavobacterium</i>)、苍白杆菌属(<i>Ochrobactrum</i>)、节杆菌属(<i>Arthrobacter</i>)、肉食杆菌属(<i>Carnobacterium</i>)、	纯培养PCR-DGGE(culture dependent)	[22,34]

· 续表1 ·

物种 species	食性 feeding habit	主要门水平组成 dominant phyla	主要属水平组成 dominant genera	测定方法 methods	参考文献 references
北极红点鲑 <i>Salvelinus alpinus</i>	肉食性 carnivorous	厚壁菌门(Firmicutes)、变形菌门(Proteobacteria)	链球菌属(<i>Streptococcus</i>)、明串珠菌属(<i>Leuconostoc</i>)、肉食杆菌属(<i>Carnobacterium</i>)、乳酸菌属(<i>Lactobacillus</i>)	纯培养(Culture dependent) 16S rRNA/ Illumina Miseq	[35]
大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i>		变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、软膜菌门(Tenericutes)、放线菌门蓝藻细菌(Actinobacteria)、蓝藻菌门(Cyanobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteria)	弧菌属(<i>Vibrio</i>)、假单胞菌属(<i>Pseudomonas</i>)、鞘氨醇单胞菌属(<i>Sphingomonas</i>)、罗尔斯通菌属(<i>Ralstonia</i>)、芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)、不动杆菌属(<i>Acinetobacter</i>)、乳杆菌属(<i>Lactobacillus</i>)、发光杆菌属(<i>Photobacterium</i>)	16S rRNA/RFLP	[23,36]

鲆肠道微生物研究显示, 变形菌门为优势类群, 其中弧菌属所占比例最高。与淡水鱼类对比发现, 一些微生物类群如弧菌属、肉食杆菌属、可变单胞菌属(*Alteromonas*)、黄杆菌属和苍白杆菌属等在海水鱼类肠道微生物中占比较高, 部分类群或为海水鱼类独有。

2 饵料因子对鱼类肠道菌群的影响

有研究表明, 不同食物成分可以显著改变人类、小鼠及畜禽动物的肠道微生物组成结构, 进而对机体营养代谢、免疫功能、生长发育, 甚至神经传导等产生影响。而目前关于不同饵料组分对鱼类肠道菌群组成结构影响的研究报道还相对较少。随着高通量测序技术的不断发展, 饵料组分对养殖鱼类肠道菌群组成结果的影响会更清晰, 对深入了解肠道菌群与鱼体的生理功能互作至关重要。

2.1 脂肪、蛋白质、碳水化合物对鱼类肠道菌群的影响

由于动物性蛋白源尤其是鱼粉资源的短缺, 行业中普遍通过提高饲料中脂肪含量以发挥“蛋白质节约效应”, 同时以植物油替代鱼油来降低成本, 进而达到促进鱼类快速生长的目地。但与此同时, 给鱼类带来了脂肪过度蓄积、免疫损伤等问题^[37], 且对肠道菌群的组成结构也产生了影响。有研究发现, 以高脂日粮饲喂斑马鱼会导致其肠道菌群多样性显著降低, 紫色杆菌属、假单胞菌属、鲸杆菌属显著性富集, 而 α 变形菌门, 尤其是根瘤菌属(*Rhizobiales*)显著性下降, 斑马鱼体长与对照组相比显著性降低^[38-39]。Lésel等^[40]以不同脂肪含量的饲料饲喂虹鳟, 发现高脂水平饲喂的虹鳟肠道菌群结构更为丰富, 相对低水平脂肪组, 气单胞菌属、

黄杆菌属、假单胞菌属和棒杆菌属(*Coryneforms*)丰度更高^[40]。Semova等^[41]以无菌斑马鱼为模型, 证实了肠道菌群可以促进脂肪在肠上皮及肝脏组织的吸收并促进脂滴的形成, 其中厚壁菌门发挥了关键作用, 而拟杆菌门和变形菌门的细菌并不能够使脂滴数量增加。此外, 不同类型脂肪源同样会引起鱼类肠道菌群组成及丰度的变化。在饲料中添加多不饱和脂肪酸(亚油酸、亚麻酸)或高不饱和脂肪酸(HUFA)饲喂安大略鲑, 发现亚麻酸和HUFA组肠道内容物及粪便中的乳杆菌群数量显著性增加^[35, 42]; 以大豆油为脂肪源饲喂北极红点鲑, 在实验组所有重复中均分离到了不动杆菌属、肉食杆菌属、棒杆菌属、库特氏菌属微生物类群, 而在对照组中未发现^[43]。以葵花籽油、亚麻籽油、菜籽油、海洋动物油及商品饲料饲喂虹鳟60 d, 结果发现, 菜籽油组中没有肠球菌属, 但却分离到了该组特有的类耐冷海滑杆菌(*Marinilactibacillus psychrotolerans*-like), 而在海洋动物油组中特异性的分离到了腐败希瓦氏菌属(*Shewanella putrefaciens*)和沙雷氏菌属(*Serratia*)^[42]。上述研究表明, 鱼类肠道中不同类型的肠道菌群在脂质代谢过程中发挥了不同的生理作用, 日粮脂肪含量及类型可以改变肠道黏膜的组成、功能及流动性, 改变肠黏菌群结合位点, 进而影响机体脂质代谢。关于高脂饮食对人类肠道菌群的影响研究已非常深入, 但对于水产养殖鱼类, 由于无菌模式动物的普及度受限, 具体是哪类微生物在脂肪代谢过程中发挥关键作用尚不清楚, 其具体又通过何种代谢通路影响到机体脂质代谢过程同样有待进一步研究。

水产饲料蛋白源替代问题, 尤其以植物、动物副产品或新型动物蛋白为蛋白源替代鱼粉早已成为国内外科学家研究的热点, 而鱼粉替

代是否会影响鱼类的肠道健康, 尤其是肠道微生物平衡, 这个问题值得关注。植物蛋白源替代方面, 以30%大豆蛋白替代鱼粉, 借助纯培养手段研究发现, 对异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)、安大略鲑及虹鳟的肠道菌群组成并无显著性影响, 但相比于鱼粉组, 菌群数量总体增加, 变形菌门丰度显著性降低, 而厚壁菌门数量显著增加, 棒状杆菌科、乳杆菌科、弧菌科、链球菌科丰度都有不同程度的变化^[44-46]。其中, 鞘氨醇单胞菌属、克吕沃尔菌属(*Kluyvera*)和消化链球菌属(*Peptostreptococcus*)丰度变化明显, 鞘氨醇单胞菌属丰度与肠道总菌群数量呈显著负相关, 而消化链球菌恰恰相反。分析原因可能与肠道中的氧气含量和氧化还原电位密切相关, 在鱼粉组中, 肠道中总菌数较少, 氧气含量较为充足, 鞘氨醇单胞菌属这一好氧菌为优势菌群, 而当大豆蛋白替代鱼粉后, 植物蛋白在肠中发酵耗氧, 肠道处于厌氧状态, 此时厌氧菌为优势菌群。综上所述, 目前基于纯培养技术的研究结果显示, 大豆蛋白替代鱼粉后未显著改变鱼类肠道的微生态平衡, 并且在一定程度上导致肠道内厌氧状态的形成, 可抵抗病原菌的入侵, 因此可以作为一种很好的鱼粉替代蛋白源。此外, 以黑麦草为蛋白源饲喂草鱼, 结果发现, 肠道菌群组成显著不同于商品饲料组, 并且碳水化合物、氨基酸和脂质合成与代谢通路显著改变, 表明肠道菌群在草鱼对非消化多糖的利用及维持营养与生理稳态方面发挥了重要作用^[17]。在新型动物蛋白源替代鱼粉方面, 近期, 国内外学者对蚕蛹(*Bombyx mori*)^[47]、黑水虻(*Hermetia illucens*)^[48]等替代鱼粉对养殖鱼类营养素消化吸收、生长、肉质、免疫等开展了大量研究, 但目前对鱼类肠道菌群的影响还未见报道。此外, 对于饲料中添加南极大磷虾(*Euphausia superba*)粉(含几丁质)、酒糟蛋白饲料(DDGS)、浓缩豌豆、羽毛粉、鸡肉粉等传统蛋白原料是否会对鱼类肠道微生态的平衡造成影响也应引起注意。

糖代谢方面, 鱼类被视为是天生的“糖尿病”患者, 其对高糖具有不耐受性, 科学家们试图从进化^[49]和分子生物学^[50]角度进行解释。产业应用方面也尝试在鱼类饲料中通过提高糖含量或添加不同糖源以降低饲料成本。然而, 不同糖源在鱼类肠道中与肠道菌群发生了怎样的互

作, 对鱼类糖代谢过程产生怎样的影响还不得而知。仅有的参考资料显示, 以羽扇豆粉(非淀粉多糖)、玉米淀粉(直链淀粉多糖)为糖源替代纤维素饲喂挪威舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*), 与对照和玉米淀粉组相比, 羽扇豆粉组海鲈肠道内条件性致病菌被显著抑制, 弧菌属丰度显著下降, 而梭菌属丰度显著提升^[51]。Geurden等^[52]以不同葡萄糖含量的饲料饲喂虹鳟, 虽然肠道菌群多样性发生了改变, 但并无显著性差异。目前, 饲料中常见的其他糖源还包括木薯粉、马铃薯、糊精、麦麸等, 但鱼类肠道菌群是否能够利用不同的糖源进行能量代谢, 是哪些关键类群发挥作用, 或者是由于某些类群的缺失而导致鱼类对糖利用能力低下, 这些问题还不清楚, 相关研究有待深入开展。

2.2 添加剂对鱼类肠道菌群及宿主营养代谢的影响

氨基酸、维生素、矿物质对鱼类肠道菌群的影响 氨基酸、维生素和矿物质作为机体新陈代谢的重要营养成分, 在硬骨鱼类中多数不能自身合成, 需要依靠外源性添加来满足机体生长、发育、代谢所需。对建鲤(*C. carpio* var. Jian)的研究结果显示, 饲料中添加适量的甲硫氨酸(Met)、异亮氨酸(Ile)、泛酸(V_{B5})、生物素(V_{B7})、抗坏血酸(V_C)和磷, 能够有效抑制大肠杆菌(*E. coli*)、气单胞菌的生长, 促进乳酸菌和芽孢杆菌的增殖, 提高肠道消化酶的活性^[53-58]。适量添加铜(载铜蒙脱石)离子可降低尼罗口孵非鲫(*Oreochromis niloticus niloticus*)肠道好氧菌数量, 抑制气单胞菌属、弧菌属、假单胞菌属、黄杆菌属、不动杆菌属和肠杆菌科微生物的生长^[59]。而也有研究表明, 斑马鱼饲料中添加纳米铜显著抑制了肠道中有益菌群的生长, 但没有造成肠上皮损伤和炎症发生^[60]。因此, 饲料中矿物元素的添加剂类型和剂量可能对鱼类肠道菌群的组成结构及肠道稳态至关重要。

益生菌、益生元对鱼类肠道菌群的影响 近年来, 水产养殖发展方向已由量的增加转变到质的提升。随之而来的是相关益生菌、益生元科学研究及产业的迅速发展。目前, 水产饲料中主要应用的益生菌包括乳酸菌、芽孢杆菌、丁酸梭菌(*C. bifermentans*)和酵母菌, 常见的益生元包括低聚果糖、低聚半乳糖、葡聚糖、

甘露聚糖、低聚木糖等。Ringø等^[42]和Merrifield等^[61]分别于2014和2016年对相关研究进行了综述,本部分仅对2016年至今开展的研究进行分析阐述。乳酸菌和酵母是目前水产养殖中应用最为广泛的益生菌^[62-66],Giorgia等^[67]以一种新的微生态制剂鼠李糖乳杆菌13(*L. rhamnosus*)饲喂尼罗口孵非鲫幼体,其肠道乳酸菌的丰度显著增加,与肌肉生长及食欲相关的基因表达显著上调,内分泌系统被有效激活,而潜在的病原菌如微杆菌科(Microbacteriaceae)、军团菌科(Legionellaceae)和Weeksellaceae科丰度显著降低。在斑马鱼研究中,鼠李糖乳杆菌的添加可以抑制促食基因,上调厌食基因的表达,同时与胆固醇和甘油三酯合成代谢相关的基因表达得到抑制^[38]。同样,饲喂酵母菌后,北极红点鲑和虹鳟肠道中乳酸菌丰度增加,对病原菌抵抗能力显著提升^[66, 68]。Liu等^[69]进一步证明了当杂交口孵非鲫停食植物乳杆菌JCM1149后,其肠道菌群 α 多样性显著降低,厚壁菌门丰度显著下降,而放线菌门显著增加,同时杂交口孵非鲫易感嗜水气单胞菌,肠道胆汁酸、氨基酸和葡萄糖代谢发生紊乱。上述研究提示我们,水产养殖过程中益生菌的使用对于机体营养代谢和免疫调控具有显著性作用,但其不能被作为药物使用,而应基于长期稳定动物肠道微生态平衡、提高动物机体健康水平角度出发。此外,益生元作为肠道益生菌有效增殖的碳氮源,其单独使用或与益生菌联合使用研究也是目前的主流研究。研究结果显示,饲料中添加短链低聚果糖、低聚木糖虽未改变挪威舌齿鲈肠道微生物多样性,但乳酸菌的丰度显著升高^[70];将低聚半乳糖和乳酸片球菌(*Pediococcus acidilactici*)联合使用,虹鳟幼鱼肠道乳酸菌丰度及短链脂肪酸尤其是丁酸含量显著增加^[71]。综合来看,上述研究中所使用的益生菌多为鱼类异源性菌株,而分离自鱼类本身的土著益生菌菌株几乎没有。Alonso等^[72]近期从13种海洋鱼类肠道中分离到9株具有广谱抗菌活性的乳酸菌,并证明其可以作为潜在的水产用益生菌。因此,从不同食性、环境的鱼类肠道中分离鱼源性益生菌并开展相关分类学、基础生物学研究对水产养殖业具有重要意义。

中草药或植物提取物添加剂对鱼类肠道菌群的影响 在人类、小鼠中的研究已表明,中草药可通过影响肠道菌群,进而通过其代谢

产物影响机体营养代谢和免疫,在缓解肥胖及二型糖尿病方面具有重要作用^[73-74]。基本的作用机制包括:肠道菌群在转化植物化学物质过程中产生的代谢产物具有生物活性;植物化学物质改变了肠道菌群的组成结构,缓解了机体在病理状态下的生物紊乱;肠道菌群调控复杂植物化学物质的互作(协同或拮抗)^[73]。然而,目前在水产动物研究领域,国内外相关研究还非常少。利用可培养方法测定5种不同中草药对鲤肠道菌群的影响,结果显示,肠内细菌数增加,芽孢杆菌属、不动杆菌属明显增加,而气单胞菌属、邻单胞菌属、假单胞菌属、弧菌属显著下降^[75]。对异育银鲫的研究结果同样显示,中草药饲喂后,肠内菌群丰富度和多样性均显著性增加,从属水平上看,与病原菌相关的气单胞菌属、希瓦氏菌属明显下降,而乳杆菌属、乳球菌属、芽孢杆菌属则有明显上升^[76]。对于植物提取物,其活性成分多为苷、酸、多酚、多糖、萜类、黄酮、生物碱等,对虹鳟的研究显示,饲料中添加香芹酚或麝香草酚,肠道中厌氧菌数量降低,麝香草酚组中乳酸菌数量下降^[77]。然而上述研究多是基于可培养法开展的,随着高通量测序技术尤其是三代测序技术的发展,结合免培养手段开展宏基因组、宏转录组及宏代谢组方面的研究将能够帮助我们更加深入的了解中草药、植物提取物复杂的作用通路。

3 水环境因子对鱼类肠道菌群及宿主代谢的影响

影响水生动物肠道菌群的因素除食物组分外,水环境因子也是重要的影响因素,如温度、盐度、pH、氨氮、亚硝酸盐、水体重金属离子、纳米粒子及有机污染物等。当水环境因子发生变化,鱼类的肠道微生态环境也会随之波动,进而影响到机体免疫力及基础代谢能力。同时,由于水环境因子波动而造成的某些显著变化的肠道微生物类群也可以作为生物标志物来侦测水环境的变化。对大鳃盖巨脂鲤(*Colossoma macropomum*)的研究发现,低pH(pH4.0)的养殖水体显著降低肠道中黄杆菌属的丰度,粪便中厚壁菌门与拟杆菌门比例显著升高,总体上表现出有益的作用,但养殖2周后肠道菌群又趋于对照水平^[78]。以不同浓度的铜离子对鲤进行

暴露, 结果显示, 肠道菌群 α 多样性和 β 多样性均发生明显变化, 一些短链脂肪酸产生菌如*Allobaculum*、*Blautia*等丰度显著下降, 同时肠道上皮紧密连接蛋白ZO-1、Occludin对应基因表达量下降, 机体脂代谢合成相关基因表达量下降, 而分解相关基因表达量上升^[20]。同样当以纳米铜饲喂斑马鱼后, 其肠道中有益菌明显被抑制, 消化系统受到损伤^[60]。而当大西洋鳕暴露于海洋原油污染物时, 其肠道菌群多样性同样显著性降低, 高浓度暴露组中, 脱铁杆菌目(Deferribacterales)丰度显著升高, 而梭杆菌目(Fusobacteriales)、交替单胞菌目(Alteromonadales)丰度下降, 推测脱铁杆菌目可作为海洋污染的标志性生物^[34]。不同鱼类对水体环境的适应性、耐受性均不同, 改变水环境因子给鱼类肠道微生物生态位带来的影响也不尽一致。总而言之, 水体污染物可破坏鱼类肠道微生态环境, 降低免疫力, 干扰机体正常代谢, 而适度的pH、盐度等理化因子的改变反而会有益于肠道益生菌的生长, 给鱼类带来正向效应。但目前在该领域的研究还相对薄弱, 有待进一步深入开展分析。

4 其他因子对鱼类肠道菌群的影响

4.1 物种、基因型、发育阶段对鱼类肠道菌群的影响

除了饲料、水环境等外源性因素可影响鱼类肠道菌群外, 不同的鱼类物种、同一物种的不同基因型、同一个体的不同发育阶段等内源性因素同样可对鱼类肠道菌群的组成结构产生影响。对养殖于同一水体的银鲫、草鱼、花鲢、团头鲂的肠道菌群进行分析, 发现不同物种间的肠道中原核微生物类群存在显著性差异, 而真核类群基本相同^[79]。将具有快速生长特性的转基因鲤与野生型比较, 其肠道主要微生物类群为变形菌门、梭杆菌门、拟杆菌门和厚壁菌门, 与野生型鲤存在明显不同, 且拟杆菌门与厚壁菌门比例显著下降, 能量获取增加, 生长速率加快^[28]。而对斑点叉尾鲷^[26]及斑马鱼^[80]不同发育阶段肠道菌群的研究结果证实, 鱼类胚胎孵化后各个生理发育阶段的肠道微生物类群均不相同, 而且这种变化并不依赖于养殖环境和饵料的变化。在发育阶段的初期, 肠道菌

群的组成与养殖环境较为一致, 而随着年龄的增加, 肠道菌群结构更为复杂, 个体之间的差异也逐渐增大。目前, 国内外在开展鱼类肠道菌群的研究过程中对于内源性的影响因素考虑较少, 如遗传背景是否一致, 取样的时间阶段是否具有代表性, 有无考虑不同鱼类的不同性别比例, 而这些因素均有可能干扰到最后的实验结论, 因此需要引起高度重视。

4.2 养殖模式及投喂策略对鱼类肠道菌群的影响

随着水产养殖业的不断发展, 新的养殖模式及养殖技术正在不断创新, 而这些模式及养殖技术的改变是否会影响养殖鱼类的肠道微生态平衡值得关注。工厂化高密度养殖是未来水产养殖发展的方向, Wong等^[81]对高密度养殖条件下的虹鳟肠道菌群进行了分析, 结果显示, 肠道微生物类群并无明显改变, 且对饲料转化率、增重率、肉质均无影响。Ingerslev等^[82]用不同的开口饵料饲喂虹鳟, 发现养殖水产动物开口饵料对其肠道微生物的定植非常关键, 将影响到鱼类后续整个发育阶段的肠道微生态平衡。而在养殖阶段, 如果对亚洲海鲈采取饥饿处理, 其肠道中拟杆菌门显著性富集, 而 β -变形菌门丰度显著性下降, 微生物组中与抗菌活性相关的功能基因显著富集, 同时宿主与免疫相关的功能基因表达也明显上调^[83]。上述研究结果提示我们, 在鱼类的人工养殖过程中, 采用适当的养殖模式及投喂策略, 可以有效改善鱼类的肠道微生态环境, 提高鱼体健康水平。

5 鱼类肠道菌群研究方法及策略

鱼类肠道菌群组成结构的研究在下一代测序技术(NGS)的帮助下已经可以轻松实现, 然而更深层次的关于鱼类肠道菌群与宿主在营养代谢、免疫刺激、内分泌调控等方面的分子机制研究亟需深入展开。国内外学者结合NGS技术(宏基因组、宏转录组、宏代谢组)、微生物纯培养技术^[84-85]、无菌斑马鱼模型^[41, 86-87]、粪菌移植^[88]技术和电镜技术^[87]等已进行了相关工作的开展, 主要研究方法及策略见图2。选择何种微生物样品、采取何种DNA提取方法、测序平台分析需要依据不同的实验设计及目的而定。

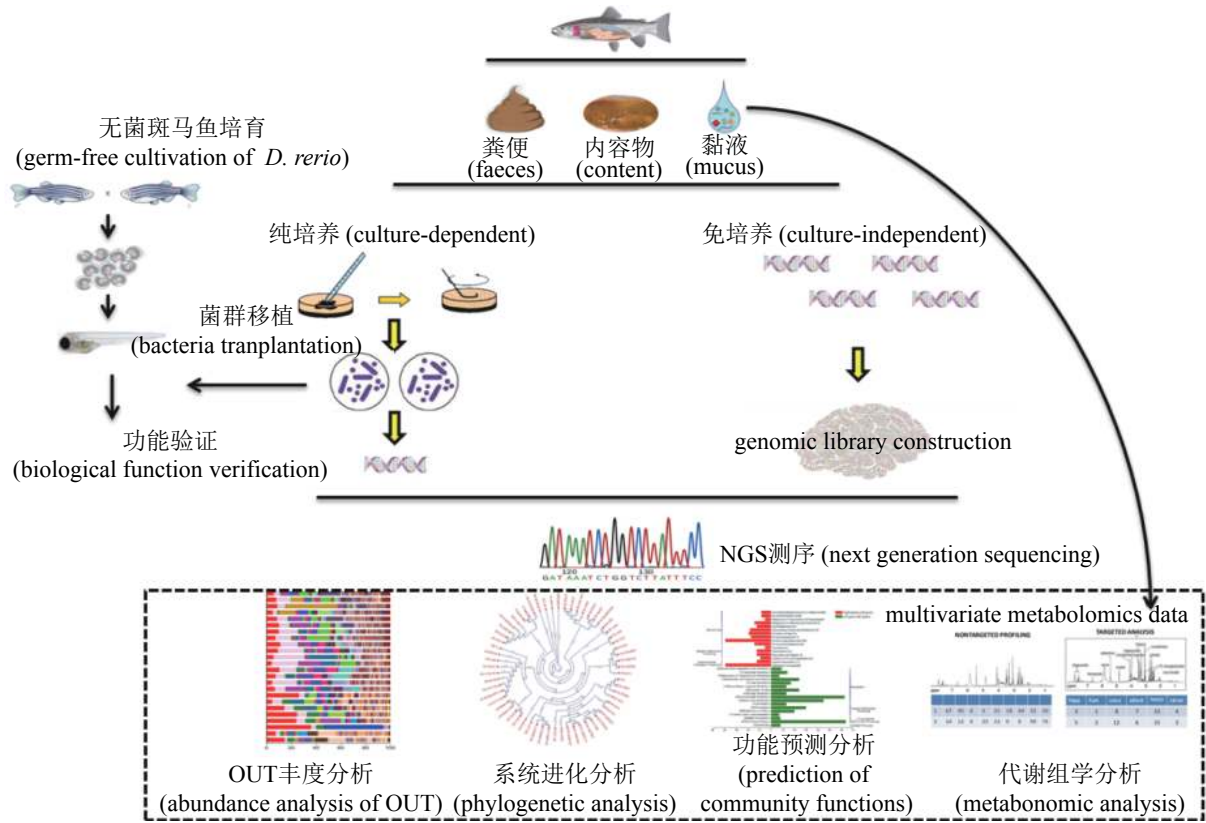


图 2 鱼类肠道菌群研究方法策略

Fig. 2 The research methods and strategies of fish intestinal microbiota

6 未来鱼类肠道菌群研究方向

随着肠道菌群研究水平的不断深入，科学家们已经意识到肠道微生物对于机体健康的重要性。在未来鱼类肠道菌群研究过程中，有几点值得关注：(1)随着三代测序技术的快速发展，鱼类肠道菌群的研究应逐步由目前的属水平的定性研究拓展到种水平的定性、定量及功能研究；(2)可培养技术是微生物研究的基石，应加大对可培养技术的研究，定向获取更多的鱼类肠道土著纯培养物，尤其是益生菌；(3)在研究方法策略上，应注重区分不同鱼类性别、遗传背景、肠道不同取样部位、样品类型(肠道黏液、内容物或粪便)给实验结果带来的误差；(4)肠道菌群对机体健康的影响除基础代谢外，对鱼类行为学、神经内分泌等方面的研究也亟待加强。

参考文献：

[1] Bondia-Pons I, Hyötyläinen T, Orešič M. Role of microbiota in regulating host lipid metabolism and

disease risk[M]//Kochhar S, Martin F P. Metabonomics and Gut Microbiota in Nutrition and Disease. London: Springer, 2015: 235-260.

[2] El Aidy S, Derrien M, Merrifield C A, et al. Gut bacteria-host metabolic interplay during conventionalisation of the mouse germfree colon[J]. *The ISME Journal*, 2012, 7(4): 743-755.

[3] Sonnenburg J L, Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism[J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 56-64.

[4] Candela M, Biagi E, Maccaferri S, et al. Intestinal microbiota is a plastic factor responding to environmental changes[J]. *Trends in Microbiology*, 2012, 20(8): 385-391.

[5] Karl J P, Margolis L M, Madslie E H, et al. Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress[J]. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 2017, 312(6): G559-G571.

[6] Benson A K, Kelly S A, Legge R, et al. Individuality in

- gut microbiota composition is a complex polygenic trait shaped by multiple environmental and host genetic factors[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(44): 18933-18938.
- [7] Llewellyn M S, Boutin S, Hoseinifar S H, *et al.* Teleost microbiomes: the state of the art in their characterization, manipulation and importance in aquaculture and fisheries[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2014, 5: 207.
- [8] Burr G, Gatlin III D, Ricke S. Microbial ecology of the gastrointestinal tract of fish and the potential application of prebiotics and probiotics in finfish aquaculture[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2005, 36(4): 425-436.
- [9] Nayak S K. Role of gastrointestinal microbiota in fish[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(11): 1553-1573.
- [10] Wang A R, Ran C, Ringø E, *et al.* Progress in fish gastrointestinal microbiota research[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(3): 626-640.
- [11] Talwar C, Nagar S, Lal R, *et al.* Fish gut microbiome: current approaches and future perspectives[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2018, 58(4): 397-414.
- [12] Kim D H, Brunt J, Austin B. Microbial diversity of intestinal contents and mucus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2007, 102(6): 1654-1664.
- [13] Merrifield D L, Burnard D, Bradley G, *et al.* Microbial community diversity associated with the intestinal mucosa of farmed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum)[J]. *Aquaculture Research*, 2009, 40(9): 1064-1072.
- [14] Liu H, Guo X W, Gooneratne R, *et al.* The gut microbiome and degradation enzyme activity of wild freshwater fishes influenced by their trophic levels[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 24340.
- [15] Han S F, Liu Y C, Zhou Z G, *et al.* Analysis of bacterial diversity in the intestine of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) based on 16S *rDNA* gene sequences[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 42(1): 47-56.
- [16] Wu S G, Wang G T, Angert E R, *et al.* Composition, diversity, and origin of the bacterial community in grass carp intestine[J]. *PLoS One*, 2012, 7(2): e30440.
- [17] Ni J J, Yan Q Y, Yu Y H, *et al.* Factors influencing the grass carp gut microbiome and its effect on metabolism[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2014, 87(3): 704-714.
- [18] Jiang Y, Xie C X, Yang G M, *et al.* Cellulase-producing bacteria of *Aeromonas* are dominant and indigenous in the gut of *Ctenopharyngodon idellus* (Valenciennes)[J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(4): 499-505.
- [19] Van Kessel M A H J, Dutilh B E, Neveling K, *et al.* Pyrosequencing of 16S *rRNA* gene amplicons to study the microbiota in the gastrointestinal tract of carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *AMB Express*, 2011, 1: 41.
- [20] Meng X L, Li S, Qin C B, *et al.* Intestinal microbiota and lipid metabolism responses in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) following copper exposure[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2018, 160: 257-264.
- [21] Gajardo K, Rodiles A, Kortner T M, *et al.* A high-resolution map of the gut microbiota in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a basis for comparative gut microbial research[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 30893.
- [22] Ringø E, Sperstad S, Myklebust R, *et al.* Characterisation of the microbiota associated with intestine of Atlantic cod (*Gadus morhua* L.): the effect of fish meal, standard soybean meal and a bioprocessed soybean meal[J]. *Aquaculture*, 2006, 261(3): 829-841.
- [23] 邢孟欣, 李贵阳, 侯战辉, 等. 不同大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)个体肠道菌群结构差异研究[J]. *现代生物医学进展*, 2014, 14(20): 3801-3805.
- Xing M X, Li G Y, Hou Z H, *et al.* Different taxonomic distribution of gastrointestinal tract microbiome of turbot (*Scophthalmus maximus*) individuals[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2014, 14(20): 3801-3805(in Chinese).
- [24] Mansfield G S, Desai A R, Nilson S A, *et al.* Characterization of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) intestinal microbiota and inflammatory marker gene expression in a recirculating aquaculture system[J]. *Aquaculture*, 2010, 307(1-2): 95-104.
- [25] Ceppa F, Faccenda F, De Filippo C, *et al.* Influence of essential oils in diet and life-stage on gut microbiota and fillet quality of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 2018, 69(3): 318-333.
- [26] Bledsoe J W, Peterson B C, Swanson K S, *et al.* Ontogenetic characterization of the intestinal microbiota

- of channel catfish through 16S *rRNA* gene sequencing reveals insights on temporal shifts and the influence of environmental microbes[J]. *PLoS One*, 2016, 11(11): e0166379.
- [27] Larsen A M, Mohammed H H, Arias C R. Characterization of the gut microbiota of three commercially valuable warmwater fish species[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2014, 116(6): 1396-1404.
- [28] Li X M, Yan Q Y, Xie S Q, *et al.* Gut microbiota contributes to the growth of fast-growing transgenic common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. *PLoS One*, 2013, 8(5): e64577.
- [29] Liu W S, Yang Y O, Zhang J L, *et al.* Effects of dietary microencapsulated sodium butyrate on growth, intestinal mucosal morphology, immune response and adhesive bacteria in juvenile common carp (*Cyprinus carpio*) pre-fed with or without oxidised oil[J]. *British Journal of Nutrition*, 2014, 112(1): 15-29.
- [30] Roeselers G, Mittge E K, Stephens W Z, *et al.* Evidence for a core gut microbiota in the zebrafish[J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(10): 1595-1608.
- [31] Cantas L, Sørby J R T, Aleström P, *et al.* Culturable gut microbiota diversity in zebrafish[J]. *Zebrafish*, 2012, 9(1): 26-37.
- [32] Falcinelli S, Picchietti S, Rodiles A, *et al.* *Lactobacillus rhamnosus* lowers zebrafish lipid content by changing gut microbiota and host transcription of genes involved in lipid metabolism[J]. *Scientific Reports*, 2015, 5: 9336.
- [33] Hovda M B, Lunestad B T, Fontanillas R, *et al.* Molecular characterisation of the intestinal microbiota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquaculture*, 2007, 272(1-4): 581-588.
- [34] Bagi A, Riiser E S, Molland H S, *et al.* Gastrointestinal microbial community changes in Atlantic cod (*Gadus morhua*) exposed to crude oil[J]. *BMC Microbiology*, 2018, 18(1): 25.
- [35] Ringø E, Bendiksen H R, Gausen S J, *et al.* The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.)[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 1988, 85(5): 855-864.
- [36] Xing M X, Hou Z H, Yuan J B, *et al.* Taxonomic and functional metagenomic profiling of gastrointestinal tract microbiome of the farmed adult turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2013, 86(3): 432-443.
- [37] 杜震宇. 养殖鱼类脂肪肝成因及相关思考[J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 1628-1638.
- Du Z Y. Causes of fatty liver in farmed fish: a review and new perspectives[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1628-1638(in Chinese).
- [38] Falcinelli S, Rodiles A, Hatef A, *et al.* Dietary lipid content reorganizes gut microbiota and probiotic *L. rhamnosus* attenuates obesity and enhances catabolic hormonal milieu in zebrafish[J]. *Scientific Reports*, 2017, 7(1): 5512.
- [39] Wong S, Stephens W Z, Burns A R, *et al.* Ontogenetic differences in dietary fat influence microbiota assembly in the zebrafish gut[J]. *Microbiology*, 2015, 6(5): e00687-15.
- [40] Lésel R, De La Noüe J, Choubert G. Fecal bacterial flora of rainbow trout under antibiotic treatment: effect of the number of pyloric caeca and the lipid content of food[M]//De Pauw N E, Jaspers E, Ackefords H, *et al.* *Aquaculture: A Biotechnology in Progress*. Bredene, Belgium: European Aquaculture Society, 1989: 897-903.
- [41] Semova I, Carten J D, Stombaugh J, *et al.* Microbiota regulate intestinal absorption and metabolism of fatty acids in the zebrafish[J]. *Cell Host & Microbe*, 2012, 12(3): 277-288.
- [42] Ringø E, Zhou Z, Vecino J L G, *et al.* Effect of dietary components on the gut microbiota of aquatic animals. A never - ending story?[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2016, 22(2): 219-282.
- [43] Ringø E, Lødemel J B, Myklebust R, *et al.* The effects of soybean, linseed and marine oils on aerobic gut microbiota of Arctic charr *Salvelinus alpinus* L. before and after challenge with *Aeromonas salmonicida* ssp. *salmonicida*[J]. *Aquaculture Research*, 2002, 33(8): 591-606.
- [44] Hartviksen M, Vecino J L G, Ringø E, *et al.* Alternative dietary protein sources for Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) effect on intestinal microbiota, intestinal and liver histology and growth[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2014, 20(4): 381-398.
- [45] Desai A R, Links M G, Collins S A, *et al.* Effects of plant-based diets on the distal gut microbiome of

- rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2012, 350-353: 134-142.
- [46] Cai C F, Wang W J, Ye Y T, *et al.* Effect of soybean meal, raffinose and stachyose on the growth, body composition, intestinal morphology and intestinal microflora of juvenile allogynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*♀×*Cyprinus carpio*♂)[J]. *Aquaculture Research*, 2012, 43(1): 128-138.
- [47] 姜雪姣, 梁丹妮, 刘文斌, 等. 团头鲂对8种非常规饲料原料中营养物质的表观消化率[J]. *水产学报*, 2011, 35(6): 932-939.
- Jiang X J, Liang D N, Liu W B, *et al.* Apparent digestibility of eight unconventional feed ingredients for *Megalobrama amblycephala*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(6): 932-939(in Chinese).
- [48] Magalhães R, Sánchez-López A, Leal R S, *et al.* Black soldier fly (*Hermetia illucens*) pre-pupae meal as a fish meal replacement in diets for European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Aquaculture*, 2017, 476: 79-85.
- [49] Zhang Y R, Qin C B, Yang L P, *et al.* A comparative genomics study of carbohydrate/glucose metabolic genes: from fish to mammals[J]. *BMC Genomics*, 2018, 19(1): 246.
- [50] Mojsov S. Glucagon-like peptide-1(GLP-1) and the control of glucose metabolism in mammals and teleost fish[J]. *American Zoologist*, 2000, 40(2): 246-258.
- [51] Gatesoupe F J, Huelvan C, Le Bayon N, *et al.* The effects of dietary carbohydrate sources and forms on metabolic response and intestinal microbiota in sea bass juveniles, *Dicentrarchus labrax*[J]. *Aquaculture*, 2014, 422: 47-53.
- [52] Geurden I, Mennigen J, Plagnes-Juan E, *et al.* High or low dietary carbohydrate: protein ratios during first-feeding affect glucose metabolism and intestinal microbiota in juvenile rainbow trout[J]. *The Journal of Experimental Biology*, 2014, 217(19): 3396-3406.
- [53] Liu Y, Chi L, Feng L, *et al.* Effects of graded levels of dietary vitamin C on the growth, digestive capacity and intestinal microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Research*, 2011, 42(4): 534-548.
- [54] Wen Z P, Feng L, Jiang J, *et al.* Immune response, disease resistance and intestinal microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of pantothenic acid[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2010, 16(4): 430-436.
- [55] Zhao J, Feng L, Liu Y, *et al.* Effect of dietary isoleucine on the immunity, antioxidant status, tight junctions and microflora in the intestine of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2014, 41(2): 663-673.
- [56] Zhao S, Feng L, Liu Y, *et al.* Effects of dietary biotin supplement on growth, body composition, intestinal enzyme activities and microbiota of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2012, 18(4): 400-410.
- [57] Tang L, Wang G X, Jiang J J, *et al.* Effect of methionine on intestinal enzymes activities, microflora and humoral immune of juvenile Jian carp (*cyprinus carpio* var. Jian)[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2009, 15(5): 477-483.
- [58] Xie N B, Feng L, Liu Y, *et al.* Growth, body composition, intestinal enzyme activities and microflora of juvenile Jian carp (*Cyprinus carpio* var. Jian) fed graded levels of dietary phosphorus[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2011, 17(6): 645-656.
- [59] Hu C H, Xu Y, Xia M S, *et al.* Effects of Cu²⁺-exchanged montmorillonite on growth performance, microbial ecology and intestinal morphology of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1-4): 200-206.
- [60] Merrifield D L, Shaw B J, Harper G M, *et al.* Ingestion of metal-nanoparticle contaminated food disrupts endogenous microbiota in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Environmental Pollution*, 2013, 174: 157-163.
- [61] Merrifield D L, Carnevali O. Probiotic modulation of the gut microbiota of fish[M]//Merrifield D, Ringø E. *Aquaculture Nutrition: Gut Health, Probiotics and Prebiotics*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, 2014: 185-222.
- [62] Ahire J J, Mokashe N U, Chaudhari B L. Effect of dietary probiotic *Lactobacillus helveticus* on growth performance, antioxidant levels, and absorption of essential trace elements in goldfish (*Carassius auratus*)[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2018.
- [63] Adel M, El-Sayed A F M, Yeganeh S, *et al.* Effect of potential probiotic *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* on growth performance, intestinal microbiota, digestive

- enzyme activities, and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2017, 9(2): 150-156.
- [64] Zhai Q X, Yu L L, Li T Q, *et al.* Effect of dietary probiotic supplementation on intestinal microbiota and physiological conditions of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) under waterborne cadmium exposure[J]. *Antonie van Leeuwenhoek*, 2017, 110(4): 501-513.
- [65] Dawood M A O, Koshio S, Ishikawa M, *et al.* Effects of dietary supplementation of *Lactobacillus rhamnosus* or/and *Lactococcus lactis* on the growth, gut microbiota and immune responses of red sea bream, *Pagrus major*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2016, 49: 275-285.
- [66] Nyman A, Huyben D, Lundh T, *et al.* Effects of microbe- and mussel-based diets on the gut microbiota in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2017, 5: 34-40.
- [67] Giorgia G, Elia C, Andrea P, *et al.* Effects of lactogen 13, a new probiotic preparation, on gut microbiota and endocrine signals controlling growth and appetite of *Oreochromis niloticus* juveniles[J]. *Microbial Ecology*, 2018, 76(4): 1063-1074.
- [68] Adel M, Lazado C C, Safari R, *et al.* Aqualase®, a yeast-based in-feed probiotic, modulates intestinal microbiota, immunity and growth of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(4): 1815-1826.
- [69] Liu Z, Liu W S, Ran C, *et al.* Abrupt suspension of probiotics administration may increase host pathogen susceptibility by inducing gut dysbiosis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 23214.
- [70] Guerreiro I, Serra C R, Oliva-Teles A, *et al.* Short communication: gut microbiota of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) is modulated by short-chain fructooligosaccharides and xylooligosaccharides[J]. *Aquaculture International*, 2018, 26(1): 279-288.
- [71] Hoseinifar S H, Mirvaghefi A, Amoozegar M A, *et al.* *In vitro* selection of a synbiotic and *in vivo* evaluation on intestinal microbiota, performance and physiological response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings[J]. *Aquaculture Nutrition*, 2017, 23(1): 111-118.
- [72] Alonso S, Gastro M C, Berdasco M, *et al.* Isolation and partial characterization of lactic acid bacteria from the gut microbiota of marine fishes for potential application as probiotics in aquaculture [J]. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 2018, 1-11
- [73] Xu J, Chen H B, Li S L. Understanding the molecular mechanisms of the interplay between herbal medicines and gut microbiota[J]. *Medicinal Research Reviews*, 2017, 37(5): 1140-1185.
- [74] Xu J, Lian F M, Zhao L H, *et al.* Structural modulation of gut microbiota during alleviation of type 2 diabetes with a Chinese herbal formula[J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(3): 552-562.
- [75] 刘红柏, 张颖, 杨雨辉, 等. 5种中草药作为饲料添加剂对鲤肠内细菌及生长的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2004, 19(1): 16-20.
- Liu H B, Zhang Y, Yang Y H, *et al.* Effects of five Chinese herb medicines as additive in feed on the growth and intestinal microflora in common carp (*Cyprinus carpio*)[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, 19(1): 16-20(in Chinese).
- [76] Wu Z B, Gatesoupe F J, Li T T, *et al.* Significant improvement of intestinal microbiota of gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) after traditional Chinese medicine feeding[J]. *Journal of Applied Microbiology*, 2018, 124(3): 829-841.
- [77] Giannenas I, Triantafillou E, Stavrakakis S, *et al.* Assessment of dietary supplementation with carvacrol or thymol containing feed additives on performance, intestinal microbiota and antioxidant status of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Aquaculture*, 2012, 350-353: 26-32.
- [78] Sylvain F É, Cheaib B, Llewellyn M, *et al.* pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*)[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 32032.
- [79] Li X M, Yu Y H, Feng W S, *et al.* Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae[J]. *The Journal of Microbiology*, 2012, 50(1): 29-37.
- [80] Stephens W Z, Burns A R, Stagaman K, *et al.* The composition of the zebrafish intestinal microbial community varies across development[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(3): 644-654.
- [81] Wong S, Waldrop T, Summerfelt S, *et al.* Aquacultured rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) possess a large core intestinal microbiota that is resistant to variation in

- diet and rearing density[J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2013, 79(16): 4974-4984.
- [82] Ingerslev H C, Von Gersdorff Jørgensen L V, Strube M L, *et al.* The development of the gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is affected by first feeding and diet type[J]. *Aquaculture*, 2014, 424-425: 24-34.
- [83] Xia J H, Lin G, Fu G H, *et al.* The intestinal microbiome of fish under starvation[J]. *BMC Genomics*, 2014, 15: 266.
- [84] Sha Y J, Liu M, Wang B J, *et al.* Bacterial population in intestines of *Litopenaeus vannamei* fed different probiotics or probiotic supernatant[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2016, 26(10): 1736-1745.
- [85] Sha Y J, Wang L, Liu M, *et al.* Effects of lactic acid bacteria and the corresponding supernatant on the survival, growth performance, immune response and disease resistance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2016, 452: 28-36.
- [86] Rawls J F, Samuel B S, Gordon J I. Gnotobiotic zebrafish reveal evolutionarily conserved responses to the gut microbiota[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2004, 101(13): 4596-4601.
- [87] Sheng Y, Ren H, Limbu S M, *et al.* The presence or absence of intestinal microbiota affects lipid deposition and related genes expression in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2018, 9: 1124.
- [88] Rawls J F, Mahowald M A, Ley R E, *et al.* Reciprocal gut microbiota transplants from zebrafish and mice to germ-free recipients reveal host habitat selection[J]. *Cell*, 2006, 127(2): 423-433.

Effect of different factors on the fish intestinal microbiota

MENG Xiaolin^{1,2}, LI Wenjun^{1,3}, NIE Guoxing^{1,2*}

(1. College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

3. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The microbiota plays a major role in the health and disease in animals, including maintaining health of the gut, promoting development of epithelium cells, resisting the intrusion of pathogenic bacteria, regulating the absorption harvest of energy and metabolism of lipid. It is a great challenge to the fish gut microbiota research due to the complicated factors, such as differences of fish species, feeding habits or survival environment. Based on the previous related researches, the present article first reviewed the gut microbiota composition of different fishes. Also, the effects of different factors on the gut microbiota of fish were reviewed, such as feed component, water chemical factors, fish species, genotype, developmental stages, aquaculture models and strategies of feeding. Finally, some present issues and future research directions about the fish microbiota were presented.

Key words: fish; intestinal microbiota; diet composition; factors in water

Corresponding author: NIE Guoxing. E-mail: niegx@htu.cn

Funding projects: Key Scientific and Technological Project of Henan Province (182102110007); Training Program of Henan Normal University (2017PL18); Innovation Scientists and Technicians Troop Construction Projects of Henan Province (CXTD2016043); State Key Laboratory of Biocontrol (Sun Yat-sen University) Open Project Fund (SKLBC15KF03)