富硒菌 C5 对小鼠肠道菌群结构的影响

李 帆[1]，张 伟[1]，查 洁[1]，芙 荣[2]
（1. 安庆医药高等专科学校 基础医学院，安徽 安庆 246052；2. 安徽大学 生命科学学院，安徽 合肥 230039）

摘要：研究了富硒菌 C5 和双歧杆菌三联活菌胶囊、地衣芽孢杆菌活菌胶囊的益生菌制剂对小鼠肠道菌群的影响。将小鼠分为益生菌制剂组 A 组（三联活菌组）和 B 组（地衣芽孢杆菌+三联活菌组）、实验组 C 组（富硒菌 C5 组）和空白组 D 组，饲养 4 周后取小鼠粪便，PCR 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区，用 Illumina HiSeq 2500 进行高通量测序，利用 QIIME2 软件生成不同分类水平上的物种丰度表，对样品 Alpha 多样性指数进行评估和 Beta 多样性分析。富硒菌 C5 和地衣芽孢杆菌活菌胶囊、双歧杆菌三联活菌胶囊一样能调节小鼠肠道菌群丰度和多样性，Alpha 多样性的 ACE、Chao1 和 Shannon 均有所升高（$P<0.05$）；富硒菌 C5 能提高小鼠肠道菌群中 Firmicutes（厚壁菌门）和 *Lactobacillus*（乳杆菌属）的相对丰度；降低 *Staphylococcus*（葡萄球菌属）；提高 Lachnospiraceae（毛螺菌科）中的 *Agathobacter*（无杆菌属）的相对丰度（$P<0.05$）。富硒菌 C5 能够改善机体的肠道微生态，在微生物制剂改善肠道菌群健康方面具有一定的应用价值。

关键词：富硒菌；肠道菌群；高通量测序
中图分类号：R 37　**文章编号**：1673-1689(2023)02-0104-08　**DOI**：10.3969/j.issn. 1673-1689.2023.02.015

Effects of Selenium-Enriched Bacterium C5 on Intestinal Flora in Mice

LI Fan[1]，*ZHANG Wei*[1]，*ZHA Jie*[1]，*JIA Rong*[2]
(1. School of Basic Medical Sciences, Anqing Medical College, Anqing 246052, China; 2.College of Life Sciences, Anhui University, Hefei 230039, China)

Abstract: The effects of selenium-enriched bacterium C5, Live Combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* Capsules, and *Bacillus licheniformis* Capsule on intestinal flora in mice were investigated. The mice were divided into the probiotics group A (Live Combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* Capsules group), the probiotics group B (*Bacillus licheniformis* Capsule + Live Combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus* Capsules group), the experimental group C (selenium-enriched bacterium C5 group) and the blank group D. Mice feces were collected after 4 weeks of feeding. The V3-V4 region of 16S rDNA gene was amplified by PCR. Illumina Hiseq 2500 high-throughput sequencing was performed. The species abundance table at different taxonomic levels was generated by QIIME2 software, and the alpha-diversity index was evaluated and beta diversity was analyzed. Selenium-enriched bacterium C5 could regulate the abundance and diversity of intestinal flora in mice, which was comparable to the regulation produced by Live Combined *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* and *Enterococcus*

收稿日期：2021-05-20
基金项目：安徽省教育厅高校优秀青年骨干人才国内访学研修项目（gxgnfx2020139）；安徽省教育厅质量工程教学团队项目（2020jxtd158）；安徽省教育厅质量工程重大项目（2020jyxm1116）。
作者简介：李 帆（1983—），女，硕士，副教授，主要从事微生物学方面的研究。E-mail：fanerhao@163.com

Capsules as well as *Bacillus licheniformis* Capsule. The alpha-diversity of ACE, Chao1 and Shannon were all increased ($P<0.05$). Selenium-enriched bacterium C5 could increase the relative abundance of Firmicutes and *Lactobacillus* in the intestinal flora of mice, reduce the *Staphylococcus* and increase the relative abundance of Agathobacter in Lachnospiraceae ($P<0.05$). Selenium-enriched bacterium C5 could improve the intestinal microecology of body and therefore it has certain application value in microbial agents to improve the health of intestinal flora.

Keywords: selenium-enriched bacterium, intestinal flora, high throughput sequencing

有研究表明,肠道菌群与人类癌症、心脏病等多种疾病有密切联系[1-6]。富硒菌可以调节肠道菌群[7-11],能使小鼠肠道中的双歧杆菌、酵母菌和乳杆菌数量增多,相应的葡萄球菌、肠球菌和肠杆菌数量明显减少。安徽省池州市石台大山村是继陕西紫阳、湖北恩施之后的第 3 个全国罕见的天然富硒村[12],土壤平均硒量是普通土壤的 20 倍,作者所在实验室从中分离得到的富硒菌 C5[13]为假真菌样芽孢杆菌,具有较高富硒能力,并且对温度和培养时间的要求不是非常苛刻,是一个较好的可研究的富硒菌株。

作者将地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌制剂以及从安徽省池州市大山村富硒土壤中分离的富硒菌 C5 分别饲喂小鼠,对比其肠道菌群的变化,通过高通量测序技术,研究富硒菌 C5 和双歧杆菌三联活菌胶囊、地衣芽孢杆菌活菌胶囊的益生菌制剂对小鼠肠道菌群的影响。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

富硒菌 C5:由作者所在实验室分离保存;双歧杆菌三联活菌胶囊:上海信谊药厂有限公司;地衣芽孢杆菌活菌胶囊:东北制药集团沈阳第一制药有限公司;动物饲料:南京盛名科研动物养殖场;电热恒温培养箱 SPX-150B-Z:上海博讯;高压蒸汽灭菌器 YM50CM:上海三申;紫外灯 2537A 型:江苏申星光电医疗器械有限公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物及分组 60 只 6 周龄雄性 Balb/c 小鼠,SPF 级,体质量 20~30 g,随机分为益生菌制剂组 A 组(三联活菌组)和 B 组(地衣芽孢杆菌+三联活菌组)、实验组 C 组(富硒菌 C5 组)和空白组 D 组,每组 15 只。于室温 20~25 ℃、相对湿度 50%~60%的环境中适应性饲养 1 周,期间自由进食进水。

A 组(三联活菌组):每只小鼠每日灌胃双歧杆菌三联活菌胶囊溶液 0.5 mL(长型双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和粪肠球菌不低于 5×10^6 CFU);B 组(地衣芽孢杆菌+三联活菌组):每只小鼠每日灌胃地衣芽孢杆菌 0.25 mL(活菌不低于 2×10^7 CFU)和双歧杆菌三联活菌胶囊溶液 0.25 mL(长型双歧杆菌、嗜酸乳杆菌和粪肠球菌不低于 2.5×10^6 CFU);C 组(富硒菌 C5 组):每只小鼠每日灌胃富硒菌 C5 溶液 0.5 mL(活菌不低于 2×10^6 CFU);D 组(空白组):每只小鼠每日灌胃 0.5 mL 生理盐水。各组用小鼠标准饲料喂养,连续灌胃 3 周。

1.2.2 粪便 DNA 提取和高通量测序 饲喂结束后称质量并收集小鼠粪便,-80 ℃保存,粪便 DNA 的提取及测序交由百迈客生物科技有限公司进行。PCR 扩增细菌 16SrRNA 基因的 V3-V4 可变区,采用引物 338F 5′-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3′和 806R 5′-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3′。PCR 产物进行纯化、定量和均一化形成测序文库,建好的文库先进行文库质检,质检合格的文库用 Illummina HiSeq 2500 进行测序,用 Trimmomatic v0.33、Usearh v10 和 UCHIME v4.2 软件对数据进行预处理。使用 lima(v1.7.0)软件,通过 barcode 序列识别不同样品的 CCS 序列并去除嵌合体,得到高质量的 CCS 序列。使用 USEARCH (version 10.0) 在相似性 97%的水平上对序列进行聚类,参考数据库 Silva (Release132,http://www.arb-silva.de)比对 16S rRNA,利用 QIIME2(https://qiime2.org/)软件生成不同分类水平上的物种丰度表,对样品 Alpha 多样性指数进行评估和 Beta 多样性分析。

1.2.3 统计学分析方法 采用 SPSS 24.0 分析数据,对多组独立样本进行比较,以 $\bar{x}\pm s$ 表示,$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 体质量变化

饲养 4 周后 4 组小鼠体质量均有增长,均值在 3.96~4.1 g,两组之间 P>0.05,其差异没有统计学意义,见表 1。说明饲喂地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌和富硒菌 C5 对小鼠体质量没有明显差异。

表 1 体质量变化

Table 1 Changes in body mass

组别	P
A vs B	0.761
A vs C	0.306
A vs D	0.447
B vs C	0.457
B vs D	0.630
C vs D	0.806

2.2 菌群多样性分析

采用 Alpha 多样性分析物种丰度,评价菌群结构。SPSS 统计学分析表明,与 D 组(空白组)相比,A、B、C 组的衡量菌种丰度的 ACE、Chao1 和多样性的 Shannon 均有所升高(P<0.05),说明菌群整体结构发生了变化,表明地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌和富硒菌 C5 对小鼠肠道菌群丰度和多样性均有一定的调节作用;C 组的 Simpson 和 Shannon 指标明显低于 A 组和 B 组(P<0.05),说明富硒菌 C5 较地衣芽孢杆菌和双歧杆菌三联活菌在调节小鼠肠道多样性方面效果不明显;A 组和 B 组的 ACE、Chao1、Simpson 和 Shannon 指标没有差异。可见与双歧杆菌三联活菌饲养方式相比,地衣芽孢杆菌加双歧杆菌三联活菌混合饲养方式对小鼠肠道菌群丰度和多样性影响不大,见表 2~3。

表 2 α-多样性指数菌群丰度统计分析($\bar{x}\pm s$,n=3)

Table 2 Statistical analysis in the species abundance of Alpha ($\bar{x}\pm s$,n=3)

组别	ACE	Chao1	Simpson	Shannon
A	366.50±1.06	374.40±6.69	0.96±0.01	5.71±0.22
B	348.66±12.53	350.73±19.56	0.95±0.01	5.65±0.04
C	338.83±22.16	340.82±20.91	0.85±0.04	4.78±0.26
D	287.31±5.99	281.67±6.02	0.83±0.03	3.93±0.08

表 3 α-多样性指数显著性检测(P 值)

Table 3 Significance test results of Alpha(P)

组别	ACE	Chao1	Simpson	Shannon
A vs B	0.070	0.118	0.316	0.619
A vs C	0.097	0.570	0.011	0.009
A vs D	0.000	0.000	0.001	0.000
B vs C	0.540	0.581	0.018	0.005
B vs D	0.020	0.040	0.002	0.000
C vs D	0.018	0.009	0.564	0.006

2.3 PCoA 分析

图 1 中样品距离越近,表示这两个样品的相似性越大。4 个组组内聚集性良好,同组样本内部菌群结构相似。PCoA 主坐标分析结果中第一主坐标(PC1)的贡献率是 37.96 %,第二主坐标(PC2)是 21.52%。从 PC1 轴可以看出,A、B、C 组均与 D 组(空白组)具有明显差异,说明饲喂地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌和富硒菌 C5 对小鼠肠道菌群结构均有影响。由 PC2 轴可见,A、B、C 组差异不显著。

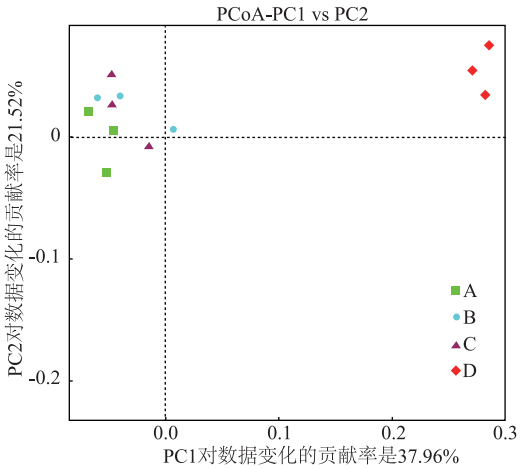


图 1 PCoA 分析图

Fig. 1 Analysis diagram of PCoA

2.4 门水平菌群结构组成情况

主体间效应检验结果说明各组 (A、B、C、D)之间在 Acidobacteria(酸杆菌门)、Actinobacteria(放线菌门)、Bacteroidetes(拟杆菌门)、Firmicutes(厚壁菌门)、Fusobacteria(梭杆菌门)和 Proteobacteria(变形菌门)的菌群结构上差异显著(P<0.05)。由图 2 可

知,小鼠肠道菌群门水平主要构成相似,Firmicutes 占主要比例,Actinobacteria 和 Bacteroidetes 次之;C 组较其他组的 Firmicutes 的相对丰度升高。各组间门水平菌群结构组成统计学分析表明,与其他组相比,C 组的 Fusobacteria 和 Proteobacteria 的相对丰度有显著性差异(P<0.05),但是占比很低,分别为 0.33 %和 1.07 %;A 组与 B 组之间的 Acidobacteria、Actinobacteria、Firmicutes、Fusobacteria 和 Proteobacteria 相对丰度均差异显著(P<0.05),见表 4。

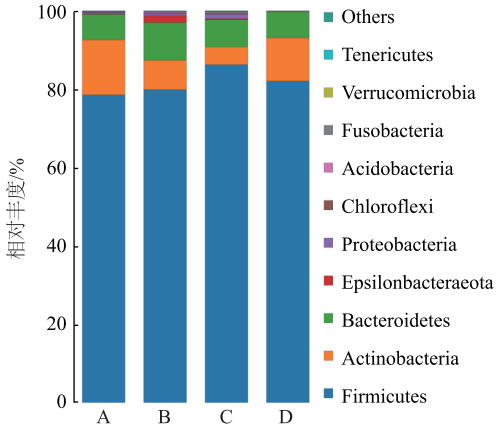


图 2 门水平菌群结构组成

Fig. 2 Structural composition of microbial community at phylum level

2.5 属水平群落组成情况

主体间效应检验结果说明各组(A、B、C 和 D)之间在 *Bifidobacterium*(双歧杆菌属)、*Bacteroides*(拟杆菌属)、*Prevotella_9*(普雷沃氏菌)、*Staphylococcus*(葡萄球菌)、*Lactobacillus*(乳杆菌属)、*Agathobacter*(无杆菌属)、*Blautia*(布劳特氏菌属)、*Candidatus_Stoquefichus*、*Dubosiella* 和 *Faecalibaculum* 的菌群结构上差异显著(P<0.05)。由图 3 可知,A、B、C 组较 D 组(空白组)的 *Staphylococcus* 相对丰度显著降低,而 *Agathobacter* 相对丰度显著升高;A 组较其他组的 *Lactobacillus* 相对丰度降低;C 组较其他组的 *Lactobacillus* 相对丰度显著升高,而 *Bifidobacterium* 相对丰度降低,但是两种菌的总和为 45.9%,分别高于 A、B、D 组 17.9%、31%、26.2%。各组间门水平菌群结构组成统计学分析表明,C 组较 D 组(空白组)的 *Bifidobacterium* 差异不明显(P>0.05);A 组与其他组相比,*Staphylococcus*、*Prevotella_9*、*Agathobacter*、*Candidatus_Stoquefichus*、*Dubosiella* 和 *Faecalibaculum* 的相对丰度有显著性差异(P<0.05),A 组的 *Candidatus_Stoquefichus* 为 4.38%,B、C、D 组分别为 1.95%、0.66%、0.29%;A 组与 B 组、A 组与 C 组在 *Bifidobacterium*、*Prevotella_9*、*Staphylococcus*、*Lactobacillus*、*Agathobacter*、*Candidatus_Stoquefichus*、*Dubosiella* 和 *Faecalibaculum* 的相对丰度均有显著性差异(P<0.05);B 组与其他组相比,*Prevotella_9* 和 *Candidatus_Stoquefichus* 的相对丰度有显著性差异(P<0.05);C组与 D 组相比,*Staphylococcus* 的相对丰度有显著性差异(P<0.05);相比于 D 组(空白组),A 组和 B 组的 *Blautia* 的相对丰度有显著性差异(P<0.05),见表 5。

表 4 门水平菌群结构组成显著性检测(P 值)

Table 4 Significance test results of Phylum(P)

菌群	A vs B	A vs C	A vs D	B vs C	B vs D	C vs D
Acidobacteria	0.006	0.027	0.090	0.081	0.316	0.195
Actinobacteria	0.000	0.000	0.014	0.064	0.508	0.085
Bacteroidetes	0.080	0.363	0.316	0.036	0.169	0.539
Firmicutes	0.007	0.004	0.063	0.231	0.315	0.897
Fusobacteria	0.004	0.000	0.130	0.000	0.078	0.014
Proteobacteria	0.001	0.005	0.019	0.037	0.239	0.046

3 结 语

地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌和富硒菌 C5 对小鼠体质量的影响没有明显差异,说明实验菌株不影响小鼠体质量正常增长。地衣芽孢杆菌胶囊和双歧杆菌三联活菌胶囊是我国应用广泛的微生态制剂,具有调节肠道菌群结构的作用。高通量测序结果表明,相较于正常机体,α-多样性的 ACE、Chao1 和 Shannon 均有所升高(P<0.05),可见富硒菌 C5 与地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌相比,对

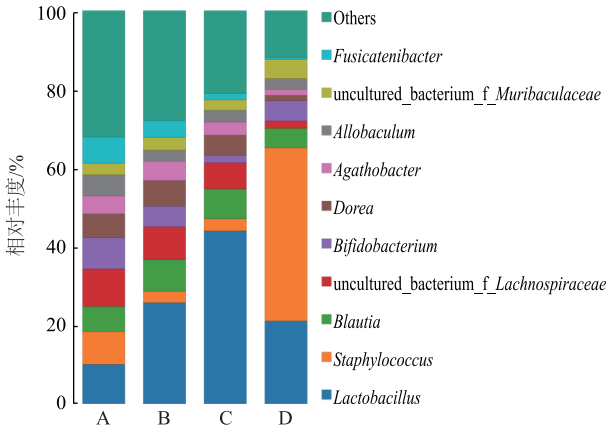


图 3 属水平菌群结构组成

Fig. 3 Structural composition of microbial community at genus level

小鼠肠道菌群丰度和多样性同样有一定的调节作用。α-多样性是反映生态系统状态的指标[14],与菌群的稳定性和生产力相关,多样性的降低可能导致多种慢性病的发生[15-19],但也有研究表明,菌群多样性不是越高越好,还需要分析肠道菌群的结构变化[20]。

在本研究中,富硒菌 C5 组相较于其他组能提高 Firmicutes(厚壁菌门)的相对丰度。有研究指出,厚壁菌门具有免疫系统调节作用[21],能够抑制肠道的氧化应激与炎症反应,有效阻止胃肠疾病的发生与发展[22]。虽然富硒菌 C5 组与其他组的 Fusobacteria(梭杆菌门)和 Proteobacteria(变形菌门)的相对丰度有显著性差异($P<0.05$),但是占比很低,因此对肠道菌群整体水平影响很小。

表 5 属水平菌群结构组成显著性检测(P 值)

Table 5 Significance test results of Genus (P)

菌种名称	A vs B	A vs C	A vs D	B vs C	B vs D	C vs D
Bifidobacterium	0.004	0.000	0.048	0.001	0.177	0.053
Bacteroides	0.165	0.226	0.095	0.025	0.031	0.144
Prevotella_9	0.013	0.010	0.019	0.003	0.037	0.080
Staphylococcus	0.000	0.000	0.006	0.484	0.000	0.001
Lactobacillus	0.000	0.004	0.058	0.111	0.018	0.155
Agathobacter	0.006	0.001	0.034	0.010	0.074	0.069
Blautia	0.217	0.114	0.029	0.015	0.002	0.052
Candidatus_Stoquefichus	0.001	0.000	0.020	0.000	0.006	0.075
Dubosiella	0.001	0.001	0.047	0.047	0.444	0.277
Faecalibaculum	0.001	0.000	0.030	0.886	0.667	0.551

与正常机体相比,富硒菌 C5 和地衣芽孢杆菌、双歧杆菌三联活菌均可以降低小鼠肠道菌群中 *Staphylococcus*(葡萄球菌属)、提高 Lachnospiraceae(毛螺菌科)中的 *Agathobacter*(无杆菌属)的相对丰度。有研究证明,*Staphylococcus*(葡萄球菌属)等肠球菌的降低[23-26]和 *Agathobacter*(无杆菌属)的增加[27-30]能降低疾病的风险,对机体健康有利。

富硒菌 C5 组较其他组的 *Lactobacillus*(乳杆菌属)相对丰度显著升高,并且 *Lactobacillus*(乳杆菌属)和 *Bifidobacterium*(双歧杆菌属)在小鼠肠道菌群中的占比总和显著提高。而富硒菌 C5 组相较于 D 组(空白组)的 *Bifidobacterium* 差异不明显($P>0.05$),说明富硒菌 C5 对小鼠肠道中 *Lactobacillus* 的数量影响更大。*Lactobacillus*(乳杆菌属)和 *Bifidobacterium*(双歧杆菌属)是肠道重要的有益菌,其中 *Lactobacillus*(乳杆菌属)对致病菌有直接竞争性抑制作用[31],可以调节免疫系统[32],参与营养物质的转化,在一定程度上抑制肠道菌群紊乱,对肠道健康有积极作用[33]。

地衣芽孢杆菌和双歧杆菌三联活菌的使用使 *Blautia*(布劳特氏菌属)的相对丰度增加,与其他组的差异具有统计学意义($P<0.05$)。有研究表明,*Blautia* 是一类具有益生特性的厌氧菌,有生物转化及调节肠道菌群健康的能力[34-35],同时也有报道 *Blautia* 的增加可能诱导机体的炎症及某些疾病的发生[7,36-37]。双歧杆菌三联活菌对小鼠肠道菌群中的 *Prevotella_9* 和 *Erysipelotrichaceae*(丹毒菌科)的 *Candidatus_Stoquefichus*、*Dubosiella*、*Faecalibaculum*

的相对丰度有影响,与其他组相比,差异具有统计学意义($P<0.05$)。Zeng 等报道在多发性硬化症患者的肠道中 *Prevotella*_9 数量降低[38];柯舒恬研究发现在某些疾病如痛风发作时肠道菌群中 *Prevotella*_9 相对丰度升高[39];Ding 等研究表明,高脂饮食小鼠的肠道菌群中 *Prevotella*_9 相对丰度也会升高[40]。Tremlett 等发现儿童多发性硬化症患者肠道中 *Candidatus_Stoquefichus* 数量显著升高[41];Yang 等发现 β-胡萝卜素能提高小鼠肠道中 *Candidatus_Stoquefichus* 相对丰度[42],有利于产后恢复。在对放射性肠炎小鼠[43]、高盐饮食诱导小鼠[44]和饮食诱导肥胖小鼠实验[45]研究中,实验对象的肠道菌群中 *Dubosiella* 相对丰度均有升高。Zagato 等报道在肿瘤小鼠模型试验中,*Faecalibaculum* 的相对丰度降低[46];Han 等发现 *Faecalibaculum* 有改善高血压大鼠的炎症和降压作用[47]。由此可见,*Blautia*、*Prevotella*_9、*Candidatus_Stoquefichus*、*Dubosiella* 和 *Faecalibaculum* 在不同机体中对健康造成的影响尚不确定。这些菌在富硒菌 C5 组中与正常机体的相对丰度差异不明显,在一定程度上降低了这些菌群影响的不确定性。

综上所述,富硒菌 C5 给机体补充硒元素的同时,和传统的益生菌制剂一样能调控小鼠肠道菌群,从而改善机体的肠道微生态。秦顺义等研究发现,富硒菌能使小鼠肠道中的双歧杆菌和乳杆菌数量增多,相应的葡萄球菌数量明显减少[8],本研究结果与其一致。陈冬梅等研究发现,适量补充无机硒可改善大鼠肠道菌群结构、丰富其多样性[48]。然而无机硒本身是有毒性的,大量研究表明,微生物能富集无机硒,将其转化成为毒性极低有机硒和单质硒[49]。从有机或无机来源摄取的膳食硒在胃肠道被吸收后输送到肝脏,然后被代谢并用于生产硒蛋白,再分配到身体的其他组织[50],较高浓度的硒能改变肠道的生理环境。有研究表明,湖北恩施州居民肠道菌群的丰度与硒浓度相关[51]。本研究中的富硒菌 C5 来源于安徽省池州市石台大山村,其土壤中硒水平与湖北恩施相似,均属于富硒环境[12]。

因此,富硒菌 C5 在微生物制剂改善肠道菌群健康方面具有一定的应用价值,本研究为富硒菌与肠道菌群关系的研究与应用提供参考。

参考文献:

[1] 杨仁国,徐开菊,周巧灵,等. 乙肝相关慢加急性肝衰竭继发感染益生菌干预前后的肠道菌群及免疫状态分析[J]. 第三军医大学学报,2019,41(8):794-798.

[2] FAN Y,PEDERSEN O. Gut microbiota in human metabolic health and disease[J]. **Nature Reviews Microbiology**,2021,19(1):55-71.

[3] 杨俊,王健宇,陈茏,等. 肠道菌群对糖脂代谢影响的研究进展[J]. 微生物学通报,2019,46(5):1146-1154.

[4] 王原飞,李亚雄,张雅永,等. 肠道菌群与心脏疾病相关性的研究进展[J]. 昆明医科大学学报,2018,39(11):131-134.

[5] MAO K,BAPTISTA A P,TAMOUTOUNOUR S,et al. Innate and adaptive lymphocytes sequentially shape the gut microbiota and lipid metabolism[J]. **Natures**,2018,554(7691):255-259.

[6] MEGO M,MAJEK J,KONCEKOVA R,et al. Intramucosal bacteria in colon cancer and their elimination by probiotic strain *Enterococcus faecium* M-74 with organic selenium[J]. **Folia Microbiologica(Praha)**,2005,50(5):443-447.

[7] 林夏,黄友,杨莎莎,等. 高通量测序技术研究附子理中丸对脾阳虚 IBS-D 大鼠肠道菌群的影响[J]. 南京中医药大学学报,2021,37(3):388-395.

[8] 秦顺义,唐小娟,杨泽琳,等. 富硒益生菌对小鼠血液硒含量、总抗氧化水平、免疫能力及肠道菌群的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医,2016,510(18):176-178.

[9] 杨家军,黄克和,赵治平,等. 富硒益生菌对小鼠生长、抗氧化力和肠道菌群的影响[J]. 食品科学,2009,30(1):244-247.

[10] ZHU H,ZHOU Y,QI Y,et al. Preparation and characterization of selenium enriched *Bifidobacterium longum* DD98,and its repairing effects on antibiotic-induced intestinal dysbacteriosis in mice[J]. **Food & Function**,2019,10(8):4975-4984.

[11] LV C H,WANG T,REGMI N,et al. Effects of dietary supplementation of selenium-enriched probiotics on production performance and intestinal microbiota of weanling piglets raised under high ambient temperature[J]. **Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition**,2015,99(6):1161-1171.

[12] 余芳,彭常安,冯志成. 安徽石台大山村天然富硒绿茶功能成分分析及其提取工艺优化[J]. 安徽农业科学,2010,38(2):750-751,775.
[13] 李帆,张伟,胡梅梅,等. 富硒菌株 C5 的分离鉴定及其耐硒能力的实验研究[J]. 德州学院学报,2021,37(4):11-13.
[14] DUFFY J E,GODWIN C M,CARDINALE B J. Biodiversity effects in the wild are common and as strong as key drivers of productivity[J]. **Nature**,2017,549:261-264.
[15] MCINTYRE R S,SUBRAMANIAPILLAI M,SHEKOTIKHINA M,et al. Characterizing the gut microbiota in adults with bipolar disorder:a pilot study[J]. **Nutritional Neuroscience**,2019,20(8):1-8.
[16] 杨俊,王健宇,陈茏,等. 肠道菌群对糖脂代谢影响的研究进展[J]. 微生物学通报,2019,46(5):1146-1154.
[17] TREMAROLI V,BACKHED F. Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism[J]. **Nature**,2012,489(7415):242-249.
[18] GOLDBERG M R,MOR H,MAGID N D. Microbial signature in IgE-mediated food allergies[J]. **Genome Medicine**,2020,12(1):92-109.
[19] MELLI L C,CARMO-R M,ARAUJO-F H,et al. Intestinal microbiota and allergic diseases:a systematic review[J]. **Allergologia et Immunopathologia**,2016,44(2):177-188.
[20] REESE A T,DUNN R R. Drivers of microbiome biodiversity:a review of general rules,feces,and ignorance[J]. **mBio**,2018,9(4):01294-01307.
[21] NAGANO Y,ITOH K,HONDA K. The induction of Treg cells by gut-indigenous *Clostridium*[J]. **Current Opinion in Immunology**,2012,24(4):392-397.
[22] RANGEL I,SUNDIN J,FUENTES S,et al. The relationship between faecal-associated and mucosal-associated microbiota in irritable bowel syndrome patients and healthy subjects[J]. **Alimentary Pharmacology Therapeutics**,2015,42(10):1211-1221.
[23] 蒋丰岭,郭佳汶,程如越,等. 益生菌益生元复合制剂对头孢曲松引起的肠道菌群及免疫异常改善效果的研究[J]. 中国抗生素杂志,2021,46(9):884-890.
[24] BAI C,LIU T G,XU J N,et al. Effect of high calorie diet on intestinal flora in LPS-induced pneumonia rats[J]. **Scientific Reports**,2020,10(1):1701.
[25] CUI L,GUAN X N,DING W B. Scutellaria baicalensis Georgi polysaccharide ameliorates DSS-induced ulcerative colitis by improving intestinal barrier function and modulating gut microbiota[J]. **International Journal of Biological Macromolecules**,2021,166:1035-1045.
[26] SUI X K,CHEN Y,LIU B J,et al. The relationship between KRAS gene mutation and intestinal flora in tumor tissues of colorectal cancer patients[J]. **Annals of Translational Medicine**,2020,8(17):1085.
[27] WANG T Q,LI L R,TAN C X,et al. Effect of electroacupuncture on gut microbiota in participants with knee osteoarthritis[J]. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**,2021,11:597431.
[28] HUA X Y,ZHU J,YANG T,et al. The gut microbiota and associated metabolites are altered in sleep disorder of children with autism spectrum disorders[J]. **Frontiers in Psychiatry**,2020,11:855.
[29] MOON J,CHOI S H,YOON C H,et al. Gut dysbiosis is prevailing in Sjogren's syndrome and is related to dry eye severity[J]. **PLoS One**,2020,15(2):0229029.
[30] TANG S L,ZHANG S F,ZHONG R Q,et al. Time-course alterations of gut microbiota and short-chain fatty acids after short-term lincomycin exposure in young swine[J]. **Applied Microbiology and Biotechnology**,2021,105(21-22):8441-8456.
[31] 黄永平,魏学强,马煜辉,等. 乳杆菌属在抗细菌生物膜相关感染中的研究进展[J]. 重庆医学,2020,49(10):1697-1701.
[32] ZHOU B L,YUAN Y T,ZHANG S S,et al. Intestinal flora and disease mutually shape the regional immune system in the intestinal tract[J]. **Frontiers in Immunology**,2020,11:575.
[33] 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.
[34] LIU X M,MAO B Y,GU J Y. Blautia-a new functional genus with potential probiotic properties[J]. **Gut Microbes**,2021,13(1):21.
[35] WANG J,ZHANG C L,GUO C M. Chitosan ameliorates DSS-induced ulcerative colitis mice by enhancing intestinal barrier function and improving microflora[J]. **International Journal of Molecular Sciences**,2020,20(22):5751.

[36] GURUNG M,LI Z,YOU H,et al. Role of gut microbiota in type 2 diabetes pathophysiology[J]. **EBio Medicine**,2020,51:102590.
[37] ZAHRA A B,ANGELA R S,WENDY A H,et al. Altered composition of gut microbiota in depression:a systematic review[J]. **Frontiers in Psychiatry**,2020,11:541.
[38] ZENG Q,GONG J L,LIU X Y,et al. Gut dysbiosis and lack of short chain fatty acids in a Chinese cohort of patients with multiple sclerosis[J]. **Neurochemistry International**,2019,129:104468.
[39] 柯舒恬. 痛风急性发作患者证素分布特点及与肠道菌群分布的相关性研究[D]. 福州:福建中医药大学,2020.
[40] DING N,ZHANG X,ZHANG X D,et al. Impairment of spermatogenesis and sperm motility by the high-fat diet-induced dysbiosis of gut microbes[J]. **Gut**,2020,69(9):1608-1619.
[41] TREMLETT H,ZHU F,ARNOLD D,et al. The gut microbiota in pediatric multiple sclerosis and demyelinating syndromes[J]. **Annals of Clinical Translational Neurology**,2021,8(12):2252-2269.
[42] YANG X Z,HE Z Y,HU R Z. Dietary β-carotene on postpartum uterine recovery in mice:crosstalk between gut microbiota and inflammation[J]. **Frontiers in Immunology**,2021,12:744425.
[43] LI Y Y,YAN H M,ZHANG Y W,et al. Alterations of the gut microbiome composition and lipid metabolic profile in radiation enteritis[J]. **Frontiers in Cellular Infection Microbiology**,2020,10:541178.
[44] LIU T H,TAO W C,LIANG Q E,et al. Gut microbiota-related evidence provides new insights into the association between activating transcription factor 4 and development of salt-induced hypertension in mice[J]. **Frontiers in Cell and Develope-mental Biology**,2020,8:585995.
[45] QIU X X,MACCHIETTO M G,LIU X T,et al. Identification of gut microbiota and microbial metabolites regulated by an antimicrobial peptide lipocalin 2 in high fat diet-induced obesity[J]. **International Journal of Obesity**,2021,45(1):143-154.
[46] ZAGATO E,POZZI C,BERTOCCHI A,et al. Endogenous murine microbiota member *Faecalibaculum rodentium* and its human homologue protect from intestinal tumour growth[J]. **Nature Microbiology**,2020,5(3):511-524.
[47] HAN C,JIANG Y H,LI W,et al. Study on the antihypertensive mechanism of astragalus membranaceus and salvia miltiorrhiza based on intestinal flora-host metabolism[J]. **Evidence-Based Complementary Alternative Medicine**,2019:5418796.
[48] 陈冬梅,吴博,杨文庆. 硒营养状态对大鼠肠道菌群结构及炎症的影响[J]. 中国微生态学杂志,2019,31(3):291-296.
[49] 朱寒剑,李雷兵,钟晓凌,等. 富硒益生菌及其发酵食品的研究进展[J]. 中国酿造,2018,37(11):7-12.
[50] FERREIRA R L,SENA E K,AZEVEDO E P,et al. Selenium in human health and gut microflora:bioavailability of selenocompounds and relationship with diseases[J]. **Frontiers in Nutrition**,2021,8:685317.
[51] ZHANG Z X,XIANG H,SUN G G,et al. Effect of dietary selenium intake on gut microbiota in older population in Enshi region [J]. **Genes and Environment**,2021,43(1):56.