

笼养鸳鸯肠道微生物组成及其 肠道疾病诱因的探讨

张佰莲^① 马珺^{②*} 刘群秀^②

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

摘要: 肠道微生物能够调节动物机体的物质与能量代谢, 参与免疫和疾病预防, 对于维持动物的正常生理活动至关重要。本研究基于 16S rRNA 高通量测序, 对患肠炎病和健康群组鸳鸯 (*Aix galericulata*) 的肠道微生物进行对比, 尝试揭示鸳鸯肠炎可能的致病菌。鸳鸯肠道微生物共鉴定出 2 020 个相似度 97% 的操作分类单元 (OTU)。健康组和肠炎组共同的 OTU 数量为 564 个。健康组鸳鸯的微生物 Alpha 多样性指数与肠炎组之间无显著差异 (Mann Whitney *U* test, $P > 0.05$)。在门水平, 鸳鸯的肠道微生物组成以厚壁菌门 (Firmicutes) (73.46%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) (11.15%) 和变形菌门 (Proteobacteria) (8.72%) 为主。在属水平, 丰度最高的类别主要包括狭义梭菌属 (*Clostridium sensu stricto* 1) (29.65%)、库特氏菌属 (*Kurthia*) (24.74%) 和乳杆菌属 (*Lactobacillus*) (12.40%)。健康组和肠炎组鸳鸯肠道微生物组成存在显著差异 (Adonis, $F = 3.6087$, $P < 0.05$)。在肠炎组中共筛选出 25 个相对丰度显著高于健康组的类别, 其中, 狭义梭菌属、埃希氏志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*) 和脱硫菌属 (*Desulfovibrio*) 的相对丰度最高 (线性判别分析 LDA 值 > 5 , $P < 0.05$), 这 3 个属的致病菌可能造成肠道微生物群落失衡, 机体免疫力下降, 是诱发鸳鸯肠炎的重要因素。

关键词: 肠道微生物; 多样性; 肠炎

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2021) 06-908-10

Gut Microbiota and Their Possible Correlation to Enteritis in Captive *Aix galericulata*

ZHANG Bai-Lian^① MA Jun^{②*} LIU Qun-Xiu^②

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

Abstract: Gut microbiota regulate the material and energy metabolism of organism and participate in immunity and disease prevention, which is helpful to maintain the normal physiological activities of animals. *Aix galericulata* was selected to explore the possible mechanism of microbiota- inducing enteritis in birds. Two scientific questions were concerned: 1) which (several) bacteria may induce enteritis in *A. galericulata*? What kind of pathogenic mechanism may cause enteritis in *A. galericulata*? High-throughput sequencing was

* 通讯作者, E-mail: 47809111@qq.com;

第一作者简介 张佰莲, 女, 讲师; 研究方向: 野生动物行为学及生理学; E-mail: zhangbl2020@126.com。

收稿日期: 2021-03-09, 修回日期: 2021-08-08 DOI: 10.13859/j.cjz.202106013

utilized to analyze the gut microbiota of both healthy animals and those with enteritis, and comparisons were carried out on the diversity and composition between the two groups. A total of 2020 97% operational taxon units (OTUs) were identified from the gut microbiota of *A. galericulata*. The number of common OTUs in healthy group and enteritis group was 564 (Fig. 2). The alpha diversity index of healthy group was higher than that of enteritis group, but without significance ($P > 0.05$). At phylum level, Firmicutes (73.46%), Bacteroidetes (11.15%) and Proteobacteria (8.72%) were the main compositions of the gut microbiota in *A. galericulata* (Fig. 3). At genus level, *Kurthia* (24.74%) and *Lactococcus* (8.47%) were the most abundant taxa in healthy group, and *Clostridium sensu stricto 1* (29.65%) and *Lactobacillus* (12.40%) were main components in enteritis group. There is significant difference in gut compositions between healthy group and enteritis group ($P < 0.05$). In the enteritis group, a total of 25 microbial classifications were found significantly higher than those of healthy group. Among them, *Clostridium_sensu_stricto_1*, *Escherichia-Shigella* and *Desulfovibrio bacteria* are the most abundant (liner discriminant analysis value > 5 , $P < 0.05$) (Fig. 6). Clostridiales, Desulfovibrionaceae and Bacillales play important function in the gut of *A. galericulata* (Fig. 7). The conclusion is that the high contents of *Clostridium_sensu_stricto_1*, *Escherichia-Shigella* and *Desulfovibrio* may destroy the balance of intestinal microbial community, cause the decline of immunity, and then serve as important factors inducing the enteritis of *A. galericulata*.

Key words: Microbiota; Diversity; Enteritis

动物的肠道内存在复杂多样的微生物群, 在宿主的生理、免疫和代谢等过程中均发挥着重要作用, 构成了宿主体内复杂多样的肠道微生物系统 (gut microbiota) (Ahern et al. 2014, Malmuthuge et al. 2015)。研究表明, 肠道微生物的稳态与宿主的胃肠道健康存在密切关系 (Peterson et al. 2015, Pickard et al. 2017)。通常情况下, 健康的肠道环境中微生物与宿主的免疫系统相互作用, 形成稳定的共生关系 (Barko et al. 2018, 吴田田等 2020)。然而, 一旦肠道微生物发生紊乱或成分改变, 共生关系遭到破坏, 宿主肠道大面积持续暴露, 会影响机体的免疫功能并诱发胃肠道疾病 (Morgan et al. 2012, 崔潇 2020), 如在溃疡性结肠炎患者的肠道菌群中, 拟杆菌科和毛螺菌科细菌的数量上升 (Schirmer et al 2019), 厚壁菌门减少、变形菌门增加 (Moen et al. 2018)。因此, 对动物肠道微生物的组成及功能开展深入研究, 能够更好地了解动物的食性及健康状况 (赵广红 2016), 同时有助于发现和了解致使动物患病的潜在致病源, 揭示其患病机制。

鸟类的肠道微生物在组成和功能方面具有独特的特征 (Hird et al. 2014), 其核心菌种组成主要包括厚壁菌门 (Firmicutes)、变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria) 和拟杆菌门 (Bacteroidetes) 四个门 (Kohl 2012)。同时, 因鸟类因种类多, 数量大, 迁徙能力强, 所以其肠道微生物也具有多样性 (Wienemann et al. 2011, 沈佳斌等 2016)。有关鸟类肠道微生物的研究十分有限, 且主要集中于一些人工养殖的经济物种, 野生鸟类相对较少 (刘倩等 2020)。本研究选择上海动物园笼养的鸳鸯 (*Aix galericulata*) 为研究对象, 划分为肠炎组 (因患肠炎而死亡) 和健康组, 基于 16S rRNA 测序技术针对其肠道微生物区系开展分析, 将肠炎组与健康组鸳鸯肠道微生物组成进行对比。关注的科学问题为: 哪 (几) 种细菌可能诱发了笼养鸳鸯肠炎的发生? 尝试探讨笼养鸳鸯肠炎的可能致病菌。本研究有助于深入掌握鸳鸯的肠道微生物组成, 揭示与肠道疾病相关联的微生物类别, 同时为笼养鸳鸯胃肠道疾病的防控和健康管理提供理论指导和参考。

1 材料与方法

1.1 样本采集

2018年5至7月和2019年5至7月,采集上海动物园10只笼养成年鸳鸯的新鲜粪便样品,均为2或3岁的成年个体,5只健康(编号为:1、2、3、4和5),5只之后因肠炎致死(编号为:6、7、8、9和10),每只个体采样3份。采集样品过程中避免收集到与地面相接触的粪便,防止样品污染。将新鲜的粪便样品储存于-80℃冰箱备用。

1.2 DNA提取

样品解冻后取0.3g加入无菌离心管,加入1.2ml PBS溶液,涡旋震荡,12 000g离心5min,去除上清液。样品清洗后加入900μl CTAB缓冲液,充分震荡混匀,采用珠磨式组织研磨器(Beadbeater, Biospec, USA)破碎样品,而后用酚和氯仿/异戊醇提取DNA(Dai et al. 2010)。

1.3 PCR扩增与高通量测序

利用通用引物341F和806R扩增细菌16S rRNA基因的V3~V4区域。PCR扩增条件如下:95℃初始变性2min;95℃变性30s,55℃退火30s,72℃延伸30s,25个循环;最后72℃延伸5min。PCR扩增使用20μl混合体系:4.0μl 5×FastPfu缓冲液,2.0μl dNTPs(2.5mmol/L),上、下游引物各0.8μl(5μmol/L),0.4μl的FastPfu聚合酶,1.0μl DNA模板和11.0μl ddH₂O(Yue et al. 2015)。得到的PCR扩增产物利用2%琼脂糖凝胶电泳检测、AxyPrep DNA凝胶回收试剂盒(Axygen, USA)回收纯化、Tris-HCl洗脱后,在Illumina HiSeq平台进行测序分析。

1.4 测序数据处理及分析

测序得到的PE reads首先根据overlap关系进行拼接,同时对序列质量进行质控和过滤。运用QIIME(1.17)软件对原始数据进行整理过滤处理。删除长度小于150bp序列、碱基模糊或错配序列、单独碱基重复6个以上的序列。

以97%的序列相似度为阈值,基于群落组成,对筛选序列进行可操作分类单元(operational taxonomic units, OTU)层次聚类分析(UPGMA模型)。计算Chao、Ace、Shannon和Simpson指数,以评估鸳鸯肠道菌群的Alpha多样性,绘制稀释曲线。采用RDP classifier贝叶斯算法对97%相似水平的OTU代表序列在不同分类水平上进行分类学比对分析,对比的数据库包括Silva(Release132, <http://www.arb-silva.de>)和RDP(Release 11.5, <http://rdp.cme.msu.edu>),通过比对得到每个OTU代表序列在各个分类学水平的分类信息,然后在不同分类水平统计各样本的微生物群落组成。OTU分类学分析主要基于Qiime平台(V1.9.0 http://qiime.org/scripts/assign_taxonomy.html)和RDP Classifier(version 2.2 <http://sourceforge.net/projects/rdp-classifier/>)完成。基于不同样本OTU(97%相似性)的组成,应用3D主成分分析(3D principal component analysis principal, 3D PCA)和主坐标分析(principal coordinates analysis, PCoA)判定不同样本之间的差异性。3D PCA分析是基于欧氏距离,PCoA分析是基于除欧氏距离以外的其他距离,通过降维找出影响样本群落组成差异的潜在主成分。绘制Lefse线性判别分析(Linear Discriminant Analysis, LDA)图和进化分支图(cladogram),分析在微生物群落中发挥重要作用的细菌类别。基于R软件vegan包的Adonis检验比较健康组和肠炎组的组间差异性。

2 结果

2.1 笼养鸳鸯肠道微生物多样性

各样本的稀释性曲线趋于平缓,表明测序深度可以覆盖大多数样品,数据量合理(图1)。鸳鸯肠道微生物共鉴定出2 020个操作分类单元(OTU),其序列相似性水平为97%。健康组OTU数量为1 701个,患病组为876个,两组共同的OTU数量为564个(图2)。健康组鸳鸯的Chao和Shannon指数值高于肠炎组,

Simpson 指数低于肠炎组, 但均无显著差异 (Mann Whitney U test, $P > 0.05$, 表 1)。

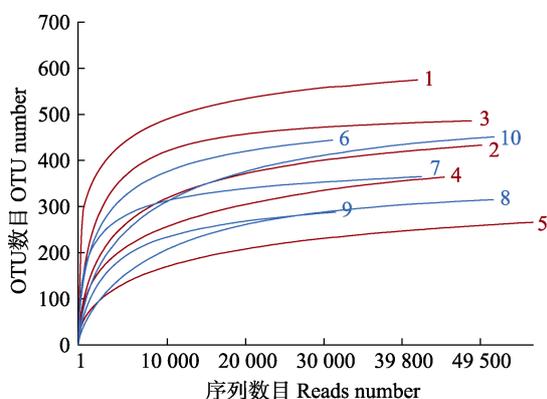


图 1 鸳鸯粪便样本的稀释曲线

Fig. 1 Rarefaction curve of fecal samples of *Aix galericulata*

健康组 (红色数字) 样本编号为 1~5; 肠炎组 (蓝色数字) 样本编号为 6~10。

The sample numbers of healthy group (red) contain 1 to 5; the sample numbers of enteritis group (blue) contain 6 to 10.

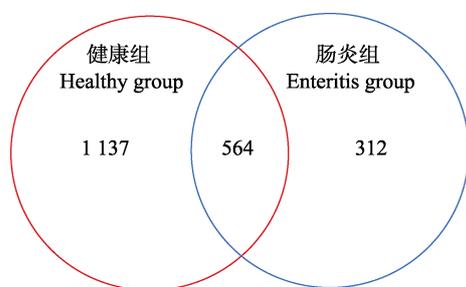


图 2 健康组与患病组鸳鸯的肠道微生物 OTU 韦恩图

Fig. 2 Venn illustration on the microbiota OTU composition of *Aix galericulata*

表 1 健康组和肠炎组鸳鸯肠道微生物丰富度和多样性指数比较

Table 1 Microbiota abundance and diversity of healthy and enteritis *Aix galericulata*

	序列数目 Reads numbers	Chao 指数 Chao index	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	覆盖度 Coverage
健康组 Healthy group	49 602.40 ± 5 316.17	575.80 ± 340.09	3.75 ± 1.53	0.13 ± 0.09	0.999 0 ± 0.000 4
肠炎组 Enteritis group	42 797.40 ± 9 868.79	409.60 ± 79.07	3.06 ± 1.36	0.17 ± 0.14	0.998 8 ± 0.000 4
Z 值 Z value	- 0.731	- 0.731	- 1.149	- 0.940	- 0.940
P 值 P value	0.548	0.548	0.310	0.421	0.421

2.2 笼养鸳鸯肠道微生物组成

在门水平, 鸳鸯的肠道微生物组成以厚壁菌门 (Firmicutes) (73.46%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) (11.15%) 和变形菌门 (Proteobacteria) (8.72%) 为主, 其次为放线菌门 (Actinobacteria) (4.69%) 和异常球菌-栖热菌门 (Deinococcus-Thermus) (0.65%) (图 3)。聚类分析显示, 健康组和肠炎组分别聚集到了不同的分支 (图 3)。

健康组鸳鸯的肠道中, 优势细菌属主要包括隶属于厚壁菌门的库特氏菌属 (*Kurthia*) (24.74%)、乳球菌属 (*Lactococcus*) (8.47%) 和巨型球菌属 (*Macroccoccus*) (10.68%)。肠炎组的优势细菌属主要包括隶属于厚壁菌门的狭义梭菌属 (*Clostridium sensu_stricto_1*) (29.65%) 和乳杆菌属 (*Lactobacillus*) (12.40%), 以及隶属于变形菌门的埃希氏-志贺菌属 (*Escherichia-Shigella*) (4.97%) 和隶属于拟杆菌门的拟杆菌属 (*Bacteroides*) (7.21%) 等 (图 4)。

2.3 笼养鸳鸯肠道微生物结构比较

主成分分析和主坐标分析, 前三个主成分的贡献率超过了 85%。3D 主成分分析 (3D PCA) 和主坐标分析 (PCoA) 结果显示, 健康组鸳鸯的肠道微生物结构与肠炎组完全分开, 两组之间表现差异性 (图 5)。Adonis 检验表明, 健康组和肠炎组鸳鸯的肠道微生物组成间存在显著差异 (Adonis, $F = 3.608 7$, $P < 0.05$)。

在健康组中, 共筛选出芽孢杆菌目 (Bacillales)、动球菌科 (Planococcaceae) 等

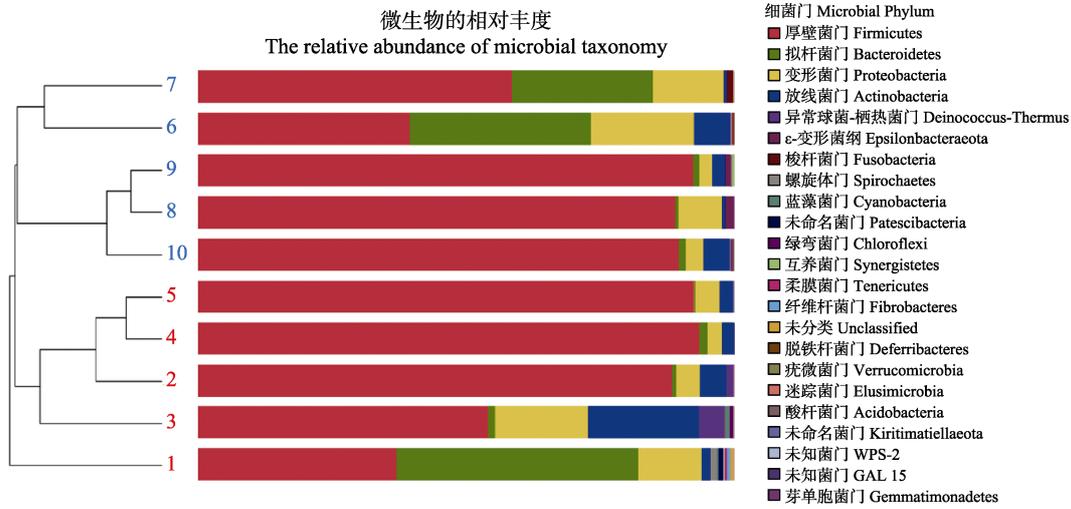


图 3 笼养鸳鸯肠道微生物细菌门的相对丰度

Fig. 3 The relative abundance of gut microbial phylum of captive *Aix galericulata*

健康组（红色数字）样本编号 1~5；肠炎组（蓝色数字）样本编号 6~10。

The sample numbers of healthy group (red) contain 1 to 5; the sample numbers of enteritis group (blue) contain 6 to 10.

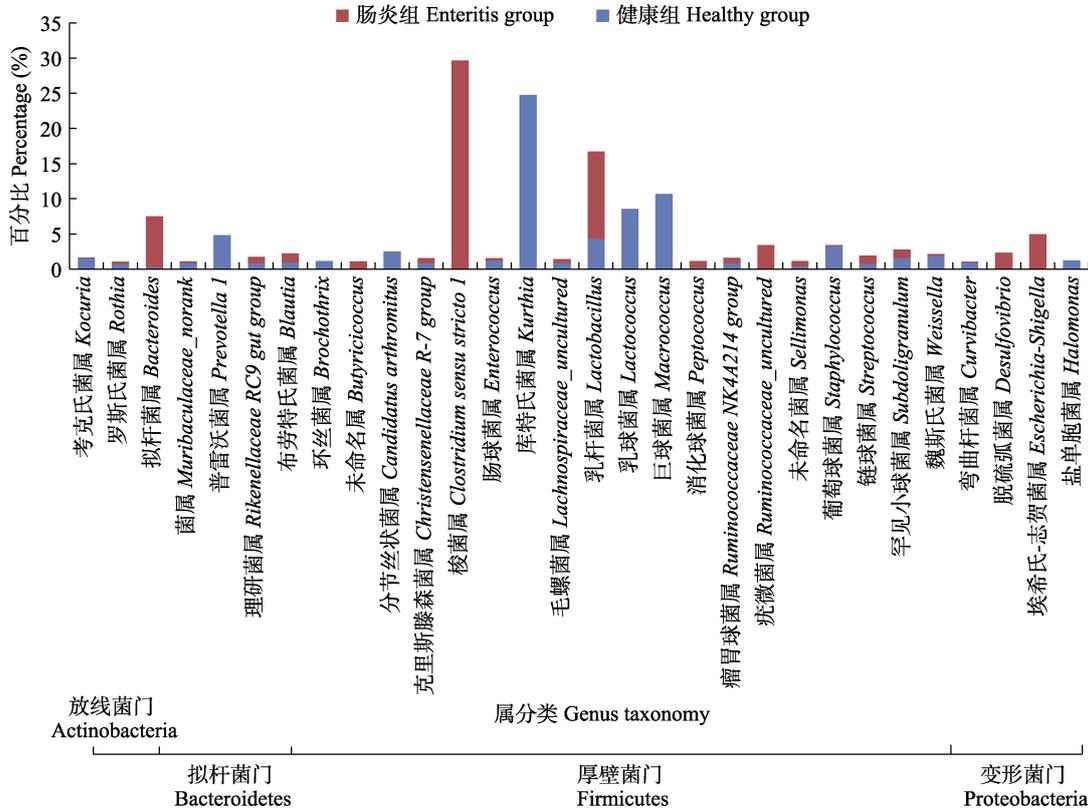


图 4 笼养鸳鸯肠道细菌属在不同分组中的百分比（相对丰度最高的 30 个菌属）

Fig. 4 The percentage of gut microbial genus (The top 30 microbial genus with highest relative abundance) of captive *Aix galericulata* in different groups

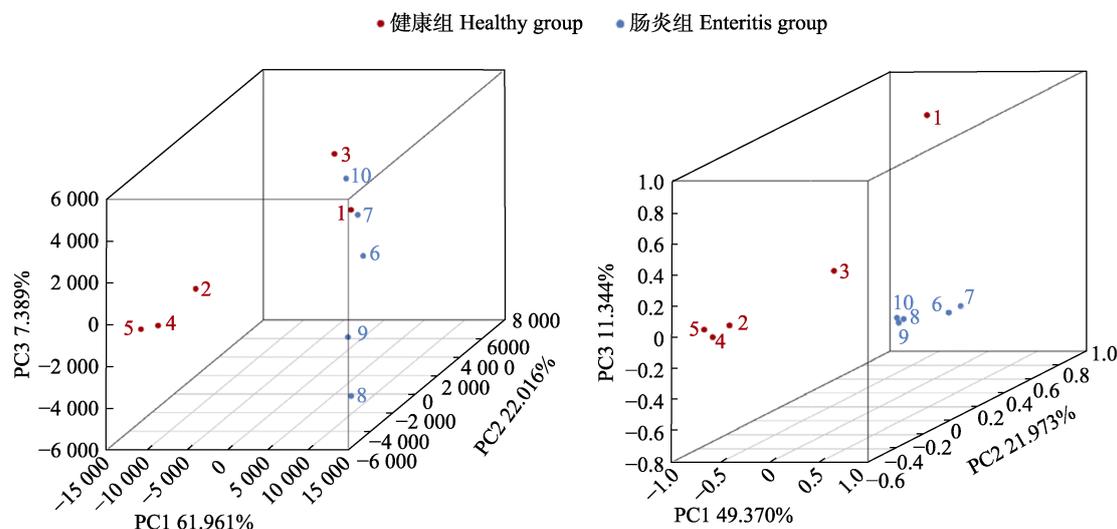


图5 基于3D主成分(3D PCA, 左)分析和主坐标(PCoA, 右)分析的健康组和肠炎组鸳鸯肠道微生物群落比较

Fig. 5 Comparison of the gut microbial communities between healthy and enteritis groups based on 3D principal component analysis (left) and 3D principal coordinates analyses (right)

42 个类别显著高于肠炎组(线性判别分析值为 5.34, $P < 0.05$), 其中, 芽孢杆菌目(Bacillales)丰度最高。在肠炎组中共筛选出 25 个相对丰度显著高于健康组的类别, 其中, 狭义梭菌属的丰度最高(线性判别分析值大于 5, $P < 0.05$), 其次为埃希氏志贺菌属(线性判别分析值 4.33, $P < 0.05$)和脱硫菌属(*Desulfovibrio*) (图 6)。Lefse LDA 进化分支图(cladogram)分析表明, 肠炎组鸳鸯肠道微生物中梭菌目(Clostridiales)和脱硫菌科(Desulfovibrionaceae), 以及健康组中的芽孢杆菌目(Bacillales)在肠道区系中发挥着重要作用(图 7)。

3 讨论

肠道微生物菌群结构是肠道微生物与宿主及环境协同进化的结果(高泽中 2020), 研究发现, 鸟类与其他动物肠道微生物存在显著的区别(Hird et al. 2014), 更接近于爬行动物的微生物群落(Waite et al. 2015), 深入了解鸟类肠道微生物的组成及动态, 有助于揭示鸟类的肠道发育机制, 及其与肠道微生物的共存模式。

鸟类肠道微生物主要由厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门组成, 宿主的栖息生境、消化道区域和食性会对鸟类肠道微生物产生影响(Hird et al. 2014, 杨预展 2016)。本研究中, 鸳鸯的肠道微生物在门分类水平上主要为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门和放线菌门, 与很多鸟类肠道微生物组成的研究结果相似。厚壁菌门是肠道中的重要代谢菌门, 能够分解食物中的复合糖、多糖和脂肪酸等, 有利于机体高效吸收食物中的能量与营养。厚壁菌门在哺乳动物和鸟类的肠道中具有类似的作用, 其丰度和宿主免疫功能之间存在正相关(Claesson et al. 2011)。拟杆菌门常作为哺乳动物肠道微生物的优势类别, 能够降解多糖和生物聚合物。拟杆菌门在草食性鸟类的肠道微生物群落中占有绝对优势。本研究中, 鸳鸯肠道中拟杆菌门含量较高(11.15%), 可能与拟杆菌门在分解纤维素和其他植物材料中的特殊作用有关。研究表明, 提高厚壁菌门和拟杆菌门的比值可以有效抑制肠道病原菌(He et al. 2019)。变形菌门是细菌中最大的一个门, 功能十分复杂, 具

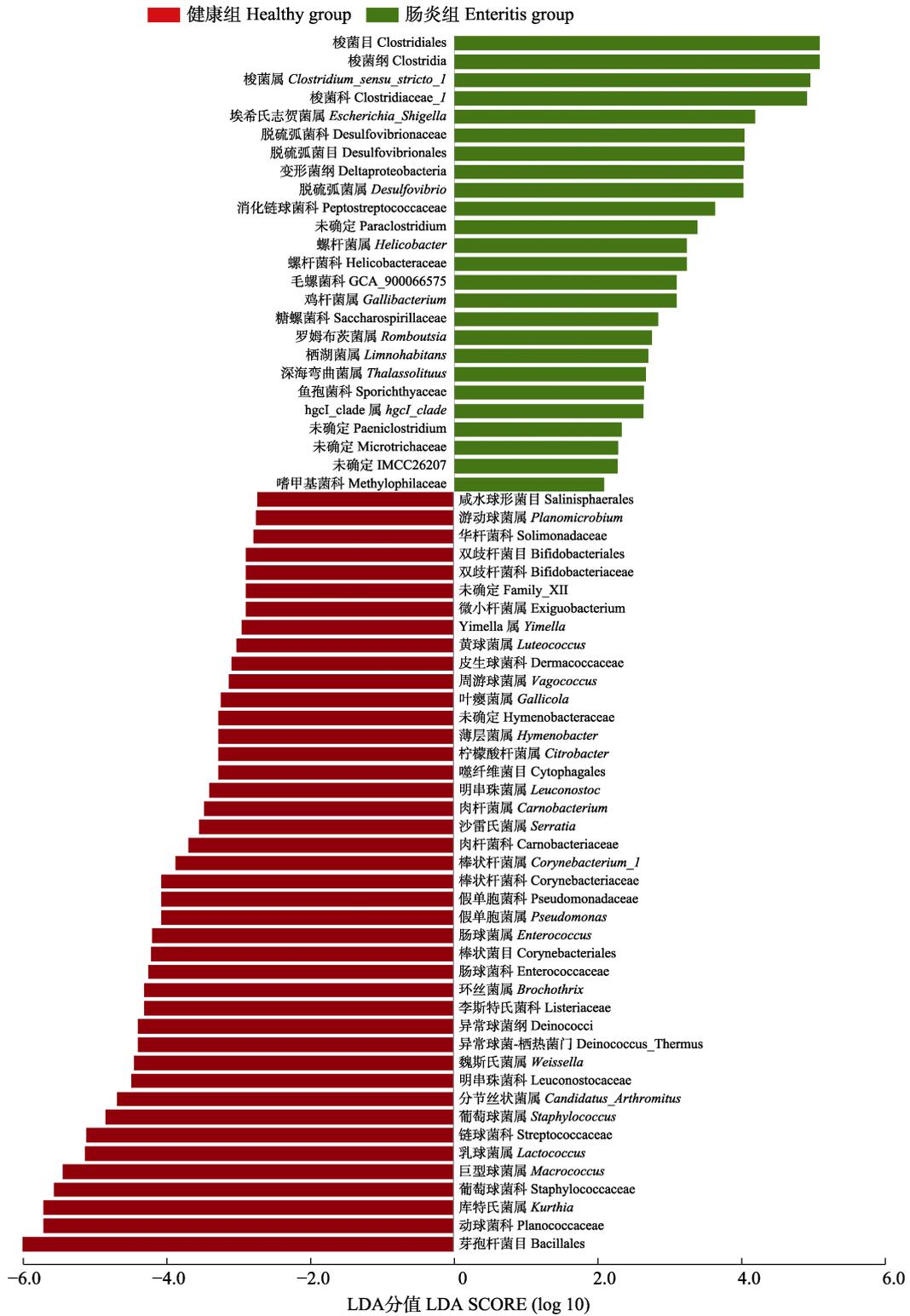


图 6 基于 Lefse 线性判别分析 (LDA) 的健康组和肠炎组鸳鸯肠道微生物组成的比较分析
 Fig. 6 Comparison of the gut microbial communities between healthy and enteritis groups based on Lefse liner discriminant analysis (LDA) analysis

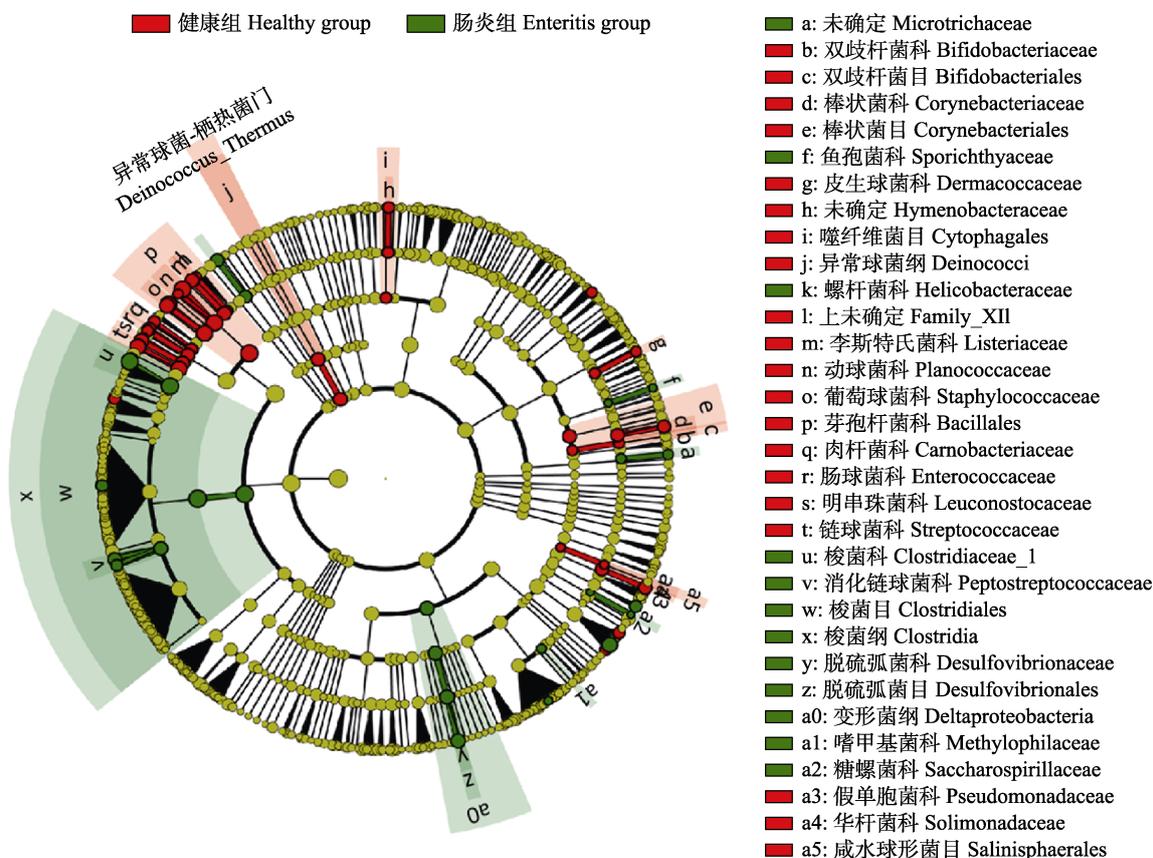


图7 基于 Lefse 线性判别分析进化分支图 (LDA cladogram) 的健康组和肠炎组鸳鸯肠道微生物组成的比较分析

Fig. 7 Comparison of the gut microbial communities between healthy and enteritis groups based on Lefse LDA cladogram analysis

图中各圆点代表各微生物类别。圆点的直径代表该微生物类别相对丰度的大小。黄色圆点为两组间没有显著差异的微生物类别, 红色圆点表示健康组中起重要作用的微生物类别, 绿色圆点表示肠炎组中起重要作用的微生物类别。具体微生物类别见图例说明。

Each dot represents microbial taxa. The diameter of each dot indicates the relative abundance of the microbial taxa. The yellow dots showed no significant difference between two groups. The red dots indicated the important microbial taxa in the healthy group, and the green dots indicated the important microbial taxa in the enteritis group. The scientific names of microbial categories are displayed in the legend.

有多种生理学功能, 能够利用大量的碳源。放线菌门是鸟类消化道中第4丰富的类群(Grond et al. 2018), 但有关放线菌门的作用尚没有相关报道, 有待于进一步研究。

本研究中, 健康组鸳鸯肠道微生物的 Chao 和 Shannon 指数平均值均高于患病组 ($P > 0.05$), 因此推测肠道微生物失衡可能是导致鸳鸯肠炎的诱因之一。其中, 健康组鸳鸯的 Chao 指数范围 (305.49 ~ 1 168.07) 较大, 患病组为 (320.62 ~ 490.48), 可能源于个体的取食喜好

等因素的影响。患病组鸳鸯肠道微生物中梭菌属 (29.65%)、脱硫弧菌属 (2.25%) 和螺杆菌属 (0.55%) 的丰度显著高于健康组。梭菌能够引起肌肉和软组织感染、肠道疾病和神经中毒性疾病。炎症性肠炎 (inflammatory bowel disease, IBD) 通常与梭菌属的相对丰度有关 (Dominianni et al. 2015)。因此, 梭菌属常被认为是潜在的致病菌, 被认为是造成牲畜死亡的重要原因之一 (董元秋 2019)。在野生和养殖鸿雁 (*Anser cygnoides*) 肠道微生物比较中

发现, 养殖鸿雁梭菌丰度明显低于野生鸿雁 (Wang et al. 2016)。研究表明, 梭菌 (*Clostridium*) 通过改变 Foxp 3 和 CD4 表达, 调节 T 细胞的数量和功能, 从而影响个体免疫力 (Nagano et al. 2012)。在野生赤麻鸭 (*Tadorna ferruginea*) 的研究中, 梭菌属的比例不足 0.1% (杜菲等 2021), 越冬期白头鹤 (*Grus monacha*) 肠道中梭菌属比例为 7.09% (董元秋 2019)。推测本研究中肠炎组鸳鸯肠道中的高丰度梭菌是机体调节免疫力的自主反应。螺杆菌属在很多鸟类肠道微生物研究中都有报道 (Manichanh et al. 2006)。研究表明, 人类肠道脱硫弧菌数量的增多是息肉和胃溃疡结肠炎疾病的重要特征。脱硫菌属的代谢产物是慢性胃肠道疾病的潜在致病因素 (Gibson et al. 1993), 能够促进部分血清白细胞介素 (IL-6 和 IL-8) 的分泌 (Bisson-Boutelliez et al. 2010), 溃疡性结肠炎患者肠道内的脱硫弧菌数量明显高于健康人群, 在急性溃疡性结肠炎中尤为明显 (Rowan et al. 2010)。综上, 推测狭义梭菌属、埃希氏志贺菌属和脱硫菌属可能为诱发鸳鸯肠炎的主要因素。条件致病菌的大量增生, 导致肠道微生物失衡, 产生病理性组合, 破坏了肠道的微生态屏障, 机体免疫力下降, 从而诱发鸳鸯肠炎的发生。本研究对笼养条件下健康和患病鸳鸯的肠道微生物进行了测定和比较, 从微生物水平初步探讨了与肠炎有关的微生物类别, 由于实验条件有限, 未能结合代谢产物进行综合分析, 希望在后续研究中得以完善。

致谢 本研究开展过程中得到了上海动物园饲养科和兽医院的大力支持, 在此表示感谢。

参 考 文 献

- Ahern P P, Faith J J, Gordon J I. 2014. Mining the human gut microbiota for effector strains that shape the immune system. *Immunity*, 40(6): 815–823.
- Barko P C, McMichael M A, Swanson K S, et al. 2018. The gastrointestinal microbiome: A review. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(1): 9–25.
- Bisson-Boutelliez C, Massin F, Dumas D, et al. 2010. *Desulfovibrio* spp. survive within KB cells and modulate inflammatory responses. *Molecular Oral Microbiology*, 25(3): 226–235.
- Claesson M, Cusack S, O’Sullivan O, et al. 2011. Composition, variability, and temporal stability of the intestinal microbiota of the elderly. *Proceedings of the National Academy of Sciences the United States of America*, 108(Suppl 1): 4586–4591.
- Dai Z L, Jing Z, Wu G Y, et al. 2010. Utilization of amino acids by bacteria from the pig small intestine. *Amino Acids*, 39(5): 1201–1215.
- Dominianni C, Sinha R, Goedert J J, et al. 2015. Sex, body mass index, and dietary fiber intake influence the human gut microbiome. *PLoS One*, 10(4): e0124599.
- Gibson G, Macfarlane G, Cummings J H. 1993. Sulphate reducing bacteria and hydrogen metabolism in the human large intestine. *Gut*, 34(4): 437–439.
- Grond K, Sandercock B K, Jumpponen A, et al. 2018. The avian gut microbiota: community, physiology and function in wild birds. *Journal of Avian Biology*, 49(11): e01788.
- He S D, Zhang Z Y, Sun H J, et al. 2019. Potential effects of rapeseed peptide maillard reaction products on aging-related disorder attenuation and gut microbiota modulation in dgalactose induced aging mice. *Food & Function*, 10(7): 4291–4303.
- Hird S M, Carstens B C, Cardiff S W, et al. 2014. Sampling locality is more detectable than taxonomy or ecology in the gut microbiota of the brood-parasitic Brown-headed Cowbird (*Molothrus ater*). *PeerJ*, 2(10): e321.
- Kohl K D. 2012. Diversity and function of the avian gut microbiota. *Journal of Comparative Physiology B*, 182(5): 591–602.
- Malmuthuge N, Griebel P J, Guan L L. 2015. The gut microbiome and its potential role in the development and function of newborn calf gastrointestinal tract. *Frontiers in Veterinary Science*, 2: 36.
- Manichanh C, Rigottier-Gois L, Bonnaud E, et al. 2006. Reduced diversity of faecal microbiota in Crohn’s disease revealed by a metagenomics approach. *Digest of the World Core Medical Journals*, 55(2): 205–211.
- Moen A E F, Lindstrom J C, Tannaes T M, et al. 2018. The prevalence and transcriptional activity of the mucosal microbiota of ulcerative

- colitis patients. *Scientific Report*, 8(1): 17278.
- Morgan X C, Tickle T L, Sokol H, et al. 2012. Dysfunction of the intestinal microbiome in inflammatory bowel disease and treatment. *Genome Biology*, 13(9): R 79.
- Nagano Y, Itoh K, Honda K. 2012. The induction of Treg cells by gut-indigenous *Clostridium*. *Current Opinion in Immunology*, 24(4): 392–397.
- Peterson C T, Sharma V, Elmen L. 2015. Immune homeostasis dysbiosis and therapeutic modulation of the gut microbiota. *Clinical and Experimental Immunology*, 179(3): 363–377.
- Pickard J M, Zeng M Y, Caruso R, et al. 2017. Gut microbiota: Role in pathogen colonization, immune responses and inflammatory disease. *Immunology Review*, 279(1): 70–89.
- Rowan F, Docherty N G, Murphy M, et al. 2010. Desulfovibrio bacterial species are increased in ulcerative colitis. *Diseases of the Colon & Rectum*, 53(11): 1530–1536.
- Schirmer M, Garner A, Vlamakis H, et al. 2019. Microbial genes and pathways in inflammatory bowel disease. *Nature Reviews Microbiology*, 17: 497–511.
- Waite D W, Taylor M. 2015. Exploring the avian gut microbiota: current trends and future directions. *Frontiers in Microbiology*, 6:1–12.
- Wang W, Zheng S, Sharshov K, et al. 2016. Distinctive gut microbial community structure in both the wild and farmed Swan goose (*Anser cygnoides*). *Journal of Basic Microbiology*, 56: 1–9.
- Wienemann T, Schmitt-Wagner D, Meuser K, et al. 2011. The bacterial microbiota in the ceca of Capercaillie (*Tetraoergallus*) differs between wild and captive birds. *Systematic & Applied Microbiology*, 34(7): 542–551.
- Yue S, Liping Z, Lingdong F, et al. 2015. Responses in colonic microbial community and gene expression of pigs to a long-term high resistant starch diet. *Frontiers in Microbiology*, 6: 877.
- 崔潇. 2020. 炎症性肠病肠道菌群 16S-rRNA 基因测序分析及益生菌对不同时期肠炎的影响. 济南: 山东大学硕士学位论文.
- 董元秋. 2019. 越冬白头鹤肠道微生物群落结构组成的时空变化及其影响因素的研究. 合肥: 安徽大学博士学位论文.
- 杜菲, 王瑞红, 曹健, 等. 2021. 新疆不同栖息地赤麻鸭肠道菌群多样性研究. *微生物学报*, 网络首发: [J/OL]. [2021-07-15]. <https://doi.org/10.13343/j.cnki.wsb.20200635>.
- 高泽中. 2020. 不同季节杂色山雀肠道微生物组成及与免疫关系的研究. 沈阳: 辽宁大学硕士学位论文.
- 刘倩, 宋文涛, 樊国印, 等. 2020. 高通量测序在鸟类肠道微生物中的研究进展. *中国人兽共患病学报*, 36(12): 1025–1043.
- 沈佳斌, 张雪敬, 吴蔚, 等. 2016. 雉科鸟类肠道微生物的多样性与功能及其对食性的适应. *南京师大学报: 自然科学版*, 39(2): 90–95.
- 吴田田, 宋光. 2020. 溃疡性结肠炎与肠道微生物群关系进展. *现代消化及介入诊疗*, 25(12): 1695–1698.
- 杨预展. 2016. 长江中下流域草食性雁食性及肠道微生物研究. 合肥: 中国科学技术大学硕士学位论文.
- 赵广红. 2016. 升金湖越冬白头鹤 (*Grus monacha*) 肠道微生物菌群结构及其时间变化. 合肥: 安徽大学硕士学位论文.