

空间诱变后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道功能的影响

涂杜¹, 罗佳², 徐志宏^{1*}

(1. 广东省农业科学院动物卫生研究所, 广东省兽医公共卫生公共实验室, 广东省畜禽疫病防治研究重点实验室, 广东广州 510640; 2. 广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所, 农业部功能食品重点开放实验室, 广东广州 510610)

摘要 [目的]利用空间诱变技术处理嗜酸乳酸菌(*Lactobacillus acidophilus*),探讨空间诱变后菌株对小鼠肠道功能的影响。[方法]40只昆明小鼠适应性喂养7 d后随机分为4组:诱变前菌株组(SBM组)、诱变后菌株组(SAM组)、合生元益生菌组(BP组)和空白对照组(NC组),每组各10只。通过灌喂不同的菌悬液,探讨其对小鼠肠道菌群、小肠运动功能和排便的影响。[结果]SAM组小鼠粪便中的双歧杆菌和乳杆菌显著高于诱变前菌株组和空白对照组($P < 0.05$),肠球菌和肠杆菌显著低于诱变前菌株组和空白对照组($P < 0.05$),与合生元益生菌组无明显差异($P > 0.05$);诱变后菌株组小鼠的小肠运动功能和排便功能优于诱变前菌株组和空白对照组($P < 0.05$)。[结论]空间诱变后的嗜酸乳酸菌改善小鼠胃肠道功能的效果优于诱变前的乳酸菌,与市售合生元相当。

关键词 空间诱变;嗜酸乳酸菌;肠道菌群;小肠推进率

中图分类号 S865.1 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2016)24-102-04

Effects of *Lactobacillus acidophilus* after Space Mutation on Gastrointestinal Function in Mice

TU Du¹, LUO Jia², XU Zhi-hong^{1*} (1. Guangdong Key Laboratory of Animal Disease Prevention, Guangdong Open Laboratory of Veterinary Public Health, Institute of Animal Health, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510640; 2. Key Laboratory of Functional Food, Ministry of Agriculture, Sericultural and Agri-Food Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou, Guangdong 510610)

Abstract [Objective] To study the effect of *Lactobacillus acidophilus* after space mutation on gastroenteric function in mice. [Method] 40 Kunming male rats were equally divided into four groups randomly after 7 d, which were strain before mutagenesis group (SBM group), strain after mutagenesis group (SAM group), *BioStime* probiotic group (BP group) and normal control group (NC group). There were ten mice in each group. Through feeding different bacteria suspensions, we researched their effects on cacation, intestinal flora, and small intestine movement function of rats. [Result] The counts of bifidobacterium and lactobacillus in SAM group were significant higher than SBM group and NC group ($P < 0.05$), the intestine movement function and defecation function were better than SBM group and NC group ($P < 0.05$). [Conclusion] Compared with strain before mutagenesis, *Lactobacillus acidophilus* after space mutation can significantly improve the gastrointestinal function in mice. Its efficacy is equivalent with biostime.

Key words Space mutation; *Lactobacillus acidophilus*; Intestinal flora; Small intestine advance rate

空间诱变育种是近年来兴起的一种新型诱变技术。空间环境能够影响微生物的生物学形态和表型,是微生物诱变育种的有效方法^[1-2]。关于益生菌和益生元对人和动物健康的研究,尤其是调节机体肠道菌群、改善肠道环境以及提高免疫功能方面也已成为益生菌研究的核心和热点问题。乳酸菌是人和动物肠道内的正常菌群之一。大量研究表明,乳酸菌能够通过竞争黏附、抑制病原菌生长、刺激免疫防御等作用维持着肠道菌群平衡。外源乳酸菌进入肠道后,可以迅速黏附于肠道上皮的吸附位点,其代谢产生的乳酸、二氧化碳使肠内 pH 迅速降低,抑制了大肠杆菌、沙门菌、链球菌等病原菌及有害细菌的繁殖,从而起到预防感染和维持肠道内菌群平衡的作用^[3]。嗜酸乳酸菌(*Lactobacillus acidophilus*)具有良好的耐受胃酸及胆汁浓度的能力,并对致病性埃希氏大肠杆菌有抑制作用,因此成为乳酸菌家族中主要研发的菌株之一^[4-5]。近年来,利用空间搭载技术已对多种微生物进行了诱变处理,并取得了丰富的成果,但对嗜酸乳酸菌株的筛选还只限于传统的物理和化学方法诱变筛选,迄今为止利用空间诱变的研究报道较少。农业部功能食品重点开放实验室借助我国第 22 颗返回式科学与技术试验卫星,搭

载了嗜酸乳酸杆菌进行空间诱变育种。笔者对诱变后嗜酸乳酸菌的肠道功能进行了初步研究,探讨经过空间诱变后嗜酸乳酸菌菌株的变化。

1 材料与方法

1.1 菌株 利用我国第 22 颗返回式科学与技术试验卫星在酒泉卫星发射中心成功发射升空的搭载机会,广东省农业科学院生物技术研究所(现广东省农业科学院蚕业与农产品加工研究所)选送了嗜酸乳酸菌进行微生物菌种的空间诱变育种技术研究。按照发射中心的要求,实验室贮藏的嗜酸乳酸菌以 0.5 mL 离心管甘油的保存方式搭载,共搭载 2 个平行试管。诱变后的菌株命名为突变菌株嗜酸乳酸菌,简称 SAM(Strain after mutagenesis)菌株。对照菌株为选送空间诱变时同一条件下对照保存的原始菌株,简称 SBM(Strain before mutagenesis)菌株。

2 种菌株活化后,经 MRS 培养基扩大培养,离心收集菌体,菌体用无菌生理盐水洗涤 3 次后,用无菌生理盐水调整菌液浓度为 1×10^{10} CFU/mL 的菌悬液,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待用。

合生元儿童益生菌冲剂(广州市合生元生物制品有限公司),规格 1.5/袋,批号 1001038;使用前用无菌生理盐水调整菌液浓度为 1×10^{10} CFU/mL 的菌悬液,置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存待用。

1.2 实验动物 昆明 SPF 纯种小白鼠,体重 18~22 g,雄性,购于南方医科大学实验动物中心,动物合格证号为 2005A042/

基金项目 广东省科技计划项目(2015A020209080);广州市民生科技重大专项(201604020138)。

作者简介 涂杜(1990-),女,湖北黄冈人,硕士研究生,研究方向:肠道营养与免疫功能研究。*通讯作者,研究员,硕士生导师,从事功能食品及营养制剂的研制。

收稿日期 2016-07-11

2006b008,光照周期为 12 L:12 D,室温维持在 22~25 ℃。

1.3 主要仪器与试剂

1.3.1 主要仪器。 -80 ℃ 低温冰箱 (Thermo Electron, 美国);超净工作台 (BCM-1000, 苏州);721 型紫外分光光度计 (Shimadzu, 日本);高压蒸气灭菌锅 (YXQ-LS-SII, 上海);CO₂ 培养箱 (Thermo Electron, 美国);恒温生化培养箱 (Olympus, 日本);高速冷冻离心机 (Sigma, 德国);电热鼓风干燥箱 (山东淄博仪表厂)等。

1.3.2 主要试剂。 LBS 培养基、BBL 培养基、肠球菌琼脂(胆盐-七叶苷-叠氮钠琼脂)培养基、VRBDA 培养基、TSC (胰月示-亚硫酸盐-环丝氨酸琼脂基)(海博生物技术有限公司);复方地芬诺脂片(河源市康泰制药厂);印度墨汁(海博生物技术有限公司);其他常用生化试剂为国产分析纯。

1.4 方法

1.4.1 动物分组与处理。 40 只昆明小鼠适应性喂养 7 d 后随机分为 4 组:诱变前菌株组 (SBM group)、诱变后菌株组 (SAM group)、合生元益生菌组 (BP group) 和空白对照组 (NC group), 每组各 10 只。从分组第 1 天开始,诱变前菌株组和诱变后菌株组小鼠按 0.02 mL/g 体重分别灌胃诱变前嗜酸乳酸菌悬液和诱变后嗜酸乳酸菌悬液,合生元益生菌组灌胃按 0.02 mL/g 体重比灌胃合生元菌悬液,空白对照组灌胃等量的生理盐水,连续灌胃 14 d,采集标本。

1.4.2 小鼠肠道菌群分析。 分别于试验第 1 天和第 14 天无菌采集小鼠粪便约 0.1 g,置于已称重的试管内,4 h 内样品进行 10 倍稀释处理,取合适的稀释度,分别倾注于各培养基(培养条件及方法见表 1)中培养,测定肠道主要菌群。培养后,通过菌落形态、革兰氏染色镜检、生化反应等鉴定计数菌落,计算出每克湿便中主要肠道菌群的数量,取对数后进行统计分析。

表 1 肠道主要菌群的培养计数方法

Table 1 Count methods of major intestinal flora

肠道菌 Intestinal bacteria	培养基 Culture medium	培养条件 Culture condition	计数 Counting
双歧杆菌 Bifidobacterium	BBL 培养基	厌氧,37 ℃,48 h	白色或乳白色菌落
乳杆菌 Lactobacillus	LBS 培养基	厌氧,37 ℃,48 h	白色或乳白色菌落
肠球菌 Enterococcus	肠球菌培养基	好氧,37 ℃,48 h	明显黑色晕圈
肠杆菌 Enterobacter	VRBDA 培养基	好氧,37 ℃,48 h	红色菌落

1.4.3 小鼠排便时间、粪便粒数和粪便重量的测定。 小鼠排便时间、粪便粒数和粪便重量的测定参考文献[6]。在第 7 天灌胃后禁食不禁水 16 h,各组小鼠按 10 mg/kgBW 给予复方地芬诺脂灌胃,30 min 后各组小鼠按 0.01 mL/gBW 给予墨汁灌胃,立即将小鼠放入铺有滤纸的鼠笼内,正常饮水进食。从灌墨汁开始准确及时,观察记录每只小鼠首粒排便时间,连续观察 6 h,记录 6 h 内小鼠排黑便粒数,同时记录粪便性状。

1.4.4 小肠运动试验。 小肠运动试验参考文献[7]。在 13 d 灌胃后禁食不禁水,在第 14 天灌胃 30 min 后,各组小鼠按 10 mg/kgBW 灌胃复方地芬诺脂,再 30 min 后各组小鼠按 0.01 mL/gBW 给予墨汁灌胃。25 min 后脱颈椎处死小鼠,打开腹腔分离肠系膜,剪去上端自幽门,下端至回盲部的肠管,置于托盘上,轻轻将小肠拉成直线,测定肠管长度为“小肠总长度”,从幽门至墨汁前沿的距离为“墨汁推进长度”,按下列公式计算小肠推进率(%): $\text{小肠推进率}(\%) = \frac{\text{墨汁推进长度}(\text{cm})}{\text{小肠总长度}(\text{cm})} \times 100\%$ 。

1.4.5 数据处理。 对试验数据进行两独立样本 *t* 检验;多组间比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA),两两比较采用 Duncan 法。试验结果以平均值 ± 标准差表示, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道菌群的影响

2.1.1 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道双歧杆菌的影响。 由表 2 可知,与正常小鼠 (NC group) 相比,灌胃不同的益生菌后小鼠粪便中的双歧杆菌数量均显著提高 ($P < 0.05$)。除空白对照组外,各试验组灌胃 14 d 后,其粪便中的双歧杆菌数均显著高于第 1 天,其中诱变后菌株组小鼠双歧杆菌数量增加显著高于诱变前菌株组 ($P < 0.05$),且与合生元益生菌组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表 2 各试验组小鼠粪便中双歧杆菌数量的比较 ($n=10$)

Table 2 Bifidobacterium count of mice fecal in different experiment groups

组别 Group	双歧杆菌数量 Bifidobacterium count//lgCFU/g	
	第 1 天 The 1 st day	第 14 天 The 14 th day
诱变前菌株组 SBM group	8.61 ± 0.16a	9.06 ± 0.22b
诱变后菌株组 SAM group	8.66 ± 0.12a	9.41 ± 0.14c *
合生元益生菌组 BP group	8.70 ± 0.12a	9.49 ± 0.15c *
空白对照组 NC group	8.60 ± 0.17a	8.62 ± 0.11a

注:同列不同小写字母表示同一时间不同组别在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$); * 表示与同一组别第 1 天测定结果差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences among different groups at the same time at 0.05 level ($P < 0.05$); * indicated significant differences with the determined results on the first day in the same group at 0.05 level ($P < 0.05$).

2.1.2 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道乳杆菌的影响。 由表 3 可知,除空白对照组外,各试验组灌胃 14 d 后,其粪便中的乳杆菌数量均显著高于第 1 天,其中诱变后菌株组小鼠双歧杆菌数增加显著高于诱变前菌株组 ($P < 0.05$),与合生元益生菌组无显著差异 ($P > 0.05$)。这说明空间诱变后的嗜酸乳酸菌对小鼠肠道微生物具有调节作用,且效果优于诱变前的菌株。

2.1.3 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道肠杆菌的影响。 由表 4 可知,与正常小鼠 (NC group) 相比,灌胃不同的益生菌后小鼠粪便中的肠球菌数量均显著降低 ($P < 0.05$),说明益生菌对肠道致病菌肠球菌有明显的抑制作用,除空白对照组外,各试验组灌胃 14 d 后,其粪便中的肠球菌数均显著低于第 1 天,其中

诱变后菌株组小鼠粪便中肠球菌数要显著低于诱变前菌株组 ($P < 0.05$), 与合生元益生菌组无显著性差异 ($P > 0.05$)。

表3 各试验组小鼠粪便中乳杆菌数量的比较 ($n = 10$)

Table 3 Lactobacillus counts of mice fecal in different experiment groups

组别 Group	乳杆菌数量 Lactobacillus counts//lgCFU/g	
	第1天	第14天
	The 1 st day	The 14 th day
诱变前菌株组 SBM group	7.86 ± 0.18a	8.74 ± 0.26b *
诱变后菌株组 SAM group	7.92 ± 0.16a	9.33 ± 0.16c *
合生元益生菌组 BP group	8.25 ± 0.26a	9.41 ± 0.20c *
空白对照组 NC group	7.94 ± 0.17a	8.13 ± 0.20a

注: 同列不同小写字母表示同一时间不同组别在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$); * 表示与同一组别第 1 天测定结果差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences among different groups at the same time at 0.05 level ($P < 0.05$); * indicated significant differences with the determined results on the first day in the same group at 0.05 level ($P < 0.05$).

表4 各试验组小鼠粪便中肠球菌数量的比较 ($n = 10$)

Table 4 Enterococcus counts of mice fecal in different experiment groups

组别 Group	肠球菌数量 Enterococcus counts//lgCFU/g	
	第1天	第14天
	The 1 st day	The 14 th day
诱变前菌株组 SBM group	7.27 ± 0.25a	6.47 ± 0.16b *
诱变后菌株组 SAM group	7.20 ± 0.20a	5.22 ± 0.15a *
合生元益生菌组 BP group	7.26 ± 0.18a	5.13 ± 0.18a *
空白对照组 NC group	7.22 ± 0.24a	7.09 ± 0.16c

注: 同列不同小写字母表示同一时间不同组别在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$); * 表示与同一组别第 1 天测定结果差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences among different groups at the same time at 0.05 level ($P < 0.05$); * indicated significant differences with the determined results on the first day in the same group at 0.05 level ($P < 0.05$).

表6 各试验组小鼠排便时间、粪便粒数和粪便重量的比较 ($n = 10$)

Table 6 The first defecation time and the amounts and weight of feces of mice in different groups

组别 Group	首粒黑便时间 The first defecation time//min	排便总重量 Weight of feces//g	黑便粒数 Amount of feces//粒/6 h	粪便形状 Feces shape
诱变前菌株组 SBM group	87.00 ± 10.05b	0.49 ± 0.02b	17.60 ± 1.95b	正常
诱变后菌株组 SAM group	62.48 ± 5.61a	0.58 ± 0.01b	24.70 ± 1.25c	正常
合生元益生菌组 BP group	65.40 ± 7.25a	0.58 ± 0.01b	28.00 ± 2.70c	湿润
空白对照组 NC group	158.90 ± 15.39c	0.28 ± 0.01a	9.00 ± 1.41a	硬, 结块

注: 同列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases indicated significant differences at 0.05 level ($P < 0.05$).

2.3 诱变前后嗜酸乳杆菌对小鼠小肠推进功能的影响 从图 1 可以看出, 诱变后菌株组、诱变前菌株组和合生元益生菌组的小肠推进率显著高于空白对照组 ($P < 0.05$), 其中诱变后菌株组小鼠的小肠推进率显著高于诱变前菌株组 ($P < 0.05$), 且与合生元益生菌无显著差异 ($P > 0.05$), 说明诱变后嗜酸乳杆菌对小鼠小肠的推进功能要优于诱变前嗜酸乳杆菌。

3 讨论与结论

与常规的诱变技术相比, 空间诱变是微重力、空间辐射、粒子撞击、高真空等因素综合作用的结果^[3]。空间诱变效率

2.1.4 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠肠道肠杆菌的影响。由表 5 可知, 与正常小鼠 (NC group) 相比, 灌胃不同的益生菌后小鼠粪便中的肠杆菌数量均显著降低 ($P < 0.05$), 除空白对照组外, 各试验组灌胃 14 d 后粪便中的肠杆菌数量均显著低于第 1 天, 其中诱变后菌株组小鼠粪便中肠杆菌数量显著低于诱变前菌株组 ($P < 0.05$), 与合生元益生菌组无显著差异 ($P > 0.05$)。

表5 各试验组小鼠粪便中肠杆菌数量的比较 ($n = 10$)

Table 5 Enterobacter counts of mice fecal in different experiment groups

组别 Group	肠杆菌数量 Enterobacter counts//lgCFU/g	
	第1天	第14天
	The 1 st day	The 14 th day
诱变前菌株组 SBM group	8.56 ± 0.18a	7.88 ± 0.19b *
诱变后菌株组 SAM group	8.47 ± 0.16a	6.55 ± 0.13a *
合生元益生菌组 BP group	8.54 ± 0.22a	6.49 ± 0.15a *
空白对照组 NC group	8.57 ± 0.21a	8.48 ± 0.18c

注: 同列不同小写字母表示同一时间不同组别在 0.05 水平上差异显著 ($P < 0.05$); * 表示与同一组别第 1 天测定结果差异显著 ($P < 0.05$)。

Note: Different lowercases in the same column indicated significant differences among different groups at the same time at 0.05 level ($P < 0.05$); * indicated significant differences with the determined results on the first day in the same group at 0.05 level ($P < 0.05$).

2.2 诱变前后嗜酸乳杆菌对小鼠排便时间、粪便粒数和粪便重量的影响 从表 6 可以看出, 造模后的小鼠排便有明显障碍, 说明模型成功建立。与空白对照组相比, 几种菌液均有改善小鼠肠道便秘的功能, 在改善肠道便秘状况的能力从大到小依次为: 合生元益生菌、诱变后嗜酸乳酸菌、诱变前嗜酸乳酸菌。合生元益生菌组小鼠粪便湿润, 粒数较多, 基本达到正常小鼠正常粪便状态, 诱变后菌株组略差于合生元益生菌组, 但无明显差异 ($P > 0.05$), 且与诱变前菌株组和空白对照组有显著差异 ($P < 0.05$)。

高, 变异幅度大, 已成为一种新的诱变方式, 被应用于植物、微生物及动物细胞的诱变研究。人和动物肠道内存在着大量细菌, 它们由需氧菌、厌氧菌以及兼性厌氧菌共同组成了一个复杂的微生态系统。每克粪便 (湿重) 中约有 $10^{11} \sim 10^{12}$ 个细菌, 约占粪便重量的 1/3。肠道菌群可分为对机体健康有益和有害 2 大类, 双歧杆菌和乳杆菌是有益菌的典型代表, 这类菌可以抑制病原菌的生长繁殖, 激活巨噬细胞的吞噬作用, 增强机体免疫力, 提高抗病能力; 肠球菌和肠杆菌等是有害菌的代表菌, 它们可将食物中的一些成分变为多种有

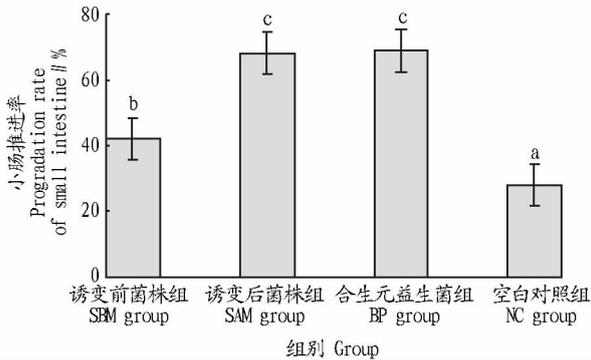


图1 诱变前后嗜酸乳酸菌对小鼠小肠推进率的影响 (n=10)

Fig. 1 The comparison of progradation rate of small intestine in different groups

害物质,如吡啶和胺类物质,从而引起某些肠道疾病^[8]。一旦肠道中有益菌和有害菌数量平衡失调,有害菌增加,会引起机体各种疾病。研究表明,乳酸菌可以抑制肠道致病菌如肠球菌和肠杆菌的生长,改善肠道益生菌群,对保持肠道菌群的平衡具有调节作用,从而减少肠道内疾病的发生,促进宿主的健康^[9-10]。

Vukanti 等^[11]观察大肠杆菌和金色葡萄球菌在模拟失重条件下的代谢速度发现,与正常重力条件下培养的细菌相比,其代谢更加旺盛。笔者通过给小鼠灌喂不同的菌悬液,发现诱变后的嗜酸乳酸菌可以明显促进小鼠肠道菌群中的双歧杆菌和乳杆菌的增殖,而且肠球菌和肠杆菌也明显减少,效果显著优于诱变前,与市售合生元相当。

试验前期对诱变前后菌株进行生理生化测定,结果发现诱变后的菌株对乳糖的利用能力有正突变效应,因此这可能一方面是由于诱变后的菌株产乳酸和乙酸的能力增强,进入肠道后产生大量乳酸,肠道内 pH 降低,有利于双歧杆菌和乳杆菌的生长,同时可以抑制腐败菌的生长繁殖;另一方面,嗜

酸乳杆菌代谢水平发生变化,分泌抗生物素类物质(嗜酸乳杆菌素(Acidolin)、嗜酸杆菌素(Acidophilin)、乳酸菌素(Laetocidon)增多,而这些细菌素对肠道致病菌具有拮抗作用^[12]。嗜酸乳酸菌进入肠道后产生的乳酸,可使蛋白质发生水解,增加可溶性钙、磷及某些 B 族维生素的数量,进而促进食物在宿主体内的消化吸收和肠道的蠕动;肠道内 pH 降低,还可以提高胃蛋白酶活性,增强胃肠道消化功能。空间诱变育种是一个有效的育种新途径。但是,对其诱变机理方面的研究尚未透彻,且诱变后嗜酸乳酸菌发生变化的分子机制(如基因组变化、代谢水平的变化等)尚不清楚,有待进一步研究。

参考文献

- [1] ADAMCHUK N. Ultrastructural and functional changes of photosynthetic apparatus of *Arabidopsis thaliana*(L) Heynh induced by clinorotation [J]. *Adv Space Res*, 1998, 21(8/9): 1131-1134.
- [2] 田兴山,张玲华,郭勇,等. 空间诱变在微生物菌种选育上的研究进展[J]. *生物技术通讯*, 2005, 16(1): 105-108.
- [3] CROSS M L. Microbes versus microbes: Immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens [J]. *FEMS immunology & medical microbiology*, 2002, 34(4): 245-253.
- [4] 肖仔君,陈惠音,杨汝德. 嗜酸乳杆菌及其应用研究进展[J]. *广州食品工业科技*, 2003, 19(S1): 90-92.
- [5] 潘奇峰,宋俊梅,曲静然. 嗜酸乳杆菌乳及其保健功能特性[J]. *食品工业*, 2006, 1: 20-22.
- [6] 陈亚非,葛亚中,罗琦珊. 复合膳食纤维通便作用的研究[J]. *现代食品科技*, 2005, 21(2): 43-46.
- [7] 陈奇. *中药药理学实验*[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2001.
- [8] 尹军霞,林德荣. 肠道菌群与疾病[J]. *微生物学通报*, 2004, 39(3): 26-28.
- [9] VAN WINSEN R L, KEUZENKAMP D, URLINGS B A P, et al. Effect of fermented feed on shedding of Enterobacteriaceae by fattening pigs [J]. *Vet Microbiol*, 2002, 87(3): 267-276.
- [10] WANG C Y, WU S J. Cardiovascular and intestinal protection of cereal pastes fermented with lactic acid bacteria in hyperlipidemic hamsters [J]. *Food research international*, 2012, 48(2): 428-434.
- [11] VUKANTI R, MODEL M A, LEFIF L G. Effect of modeled reduced gravity conditions on bacterial morphology and physiology [J]. *BMC microbiology*, 2012, 12: 4.
- [12] 任大勇. 益生乳酸杆菌的黏附及免疫调节作用研究[D]. 长春:吉林大学, 2013.
- [13] 戴纪琴,倪晋仁. 底栖动物在水生生态系统健康评价中的作用分析[J]. *生态环境*, 2008, 17(6): 2107-2111.
- [14] 李婉,牛志春,王霞,等. 溱湖底栖动物群落结构与多样性及其与水环境变量的相关性分析[J]. *安徽农业科学*, 2014, 42(20): 6613-6614.
- [15] 吴东浩,张勇,于海燕,等. 影响浙江西苕溪底栖动物分布的关键环境变量指示种的筛选[J]. *湖泊科学*, 2010, 22(5): 693-699.
- [16] 彭建华,郑志伟,邹曦,等. 汉丰湖底栖动物与环境因子间相关性初步研究[J]. *环境影响评价*, 2015, 37(5): 63-68.
- [17] 龚志军,谢平,唐汇涓,等. 水体富营养化对大型底栖动物群落结构及多样性的影响[J]. *水生生物学报*, 2001, 25(3): 210-216.
- [18] GONG Z J, XIE P. Impact of eutrophication on biodiversity of the macrozoobenthos community in a Chinese shallow lake [J]. *Journal of freshwater ecology*, 2001, 16(2): 171-178.
- [19] 熊金林,梅兴国,胡传林. 不同污染程度湖泊底栖动物群落结构及多样性比较[J]. *湖泊科学*, 2003, 15(2): 160-168.
- [20] 朱江,任淑智,德兴铜矿废水对乐安江底栖动物群落的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 1996, 2(2): 162-168.
- [21] 陈泮,秦樊鑫,林陶,等. 乌江主要支流夏季底栖动物群落组成及其与汞污染的相关性[J]. *环境科学研究*, 2010, 23(8): 999-1006.
- [22] 杨丽,蔡立哲,童玉贵,等. 深圳湾福田滩涂重金属含量及对大型底栖动物的影响[J]. *台湾海峡*, 2005, 24(2): 157-164.
- [23] 李丽娜,陈振楼,张亚雷,等. 长江口滨岸滩涂底栖动物泥螺受镉污染的急性毒理试验研究[J]. *生命科学研究*, 2008, 12(4): 373-376.
- [24] 李丽娜,陈振楼,许世远,等. 长江口滨岸滩涂底栖动物泥螺受铜污染的毒理学研究[J]. *海洋环境科学*, 2004, 23(3): 24-26.

(上接第 60 页)

- [4] YAN Y J, LIANG Y L, WANG H Z. Annual production of five species of Chironomidae (Diptera) in Houhu Lake, a typical algal lake (Wuhan, China) [J]. *Chinese journal of oceanology and limnology*, 1999, 17(2): 112-118.
- [5] DAUVIN J C, RUELLET T. The estuarine quality paradox: Is it possible to define an ecological quality status for specific modified and naturally stressed estuarine ecosystems? [J]. *Marine pollution bulletin*, 2009, 59(1): 38-47.
- [6] 郑建平,徐惠强,姚志刚,等. 江苏省太湖流域湿地保护与修复研究[J]. *污染防治技术*, 2012, 25(3): 79-82.
- [7] 胡开明,李冰,王水,等. 太湖流域(江苏省)水质污染空间特征[J]. *湖泊科学*, 2014, 26(2): 200-206.
- [8] 国家环境保护总局《水和废水监测分析方法》编委会. *水和废水监测分析方法*[M]. 4版. 北京:中国环境科学出版社, 2002.
- [9] 张又,刘凌,蔡永久,等. 太湖流域河流及溪流大型底栖动物群落结构及影响因素[J]. *中国环境科学*, 2015, 35(5): 1535-1546.
- [10] MORSE J C, YANG L F, TIAN L X. *Aquatic insects of China useful for monitoring water quality*[M]. Nanjing: Hohai University Press, 1994.
- [11] 黄琪,高俊峰,张艳会,等. 长江中下游四大淡水湖水生态系统完整性评价[J]. *生态学报*, 2016, 36(1): 118-126.
- [12] 段学花,王兆印,徐梦珍. 底栖动物与河流生态评价[M]. 北京:清华大学出版社, 2010.
- [13] 戴纪琴,倪晋仁. 底栖动物在水生生态系统健康评价中的作用分析