

引用格式:

闫志强, 翟少钦, 张邑帆, 陈春林. 脾虚泄泻大鼠肠道菌群的组成和多样性[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2021, 47(5): 580–586.

YAN Z Q, ZHAI S Q, ZHANG Y F, CHEN C L. The composition and diversity of intestinal flora in rats with spleen deficiency diarrhea[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2021, 47(5): 580–586.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



## 脾虚泄泻大鼠肠道菌群的组成和多样性

闫志强, 翟少钦, 张邑帆, 陈春林\*

(重庆市畜牧科学院, 重庆 荣昌 402460)

**摘要:** 为考察脾虚泄泻大鼠肠道菌群的结构特征和多样性, 将 24 只健康大鼠随机分为对照组和模型组, 模型组采用饮食失节加苦寒泻下法进行人工复制脾虚泄泻模型, 对照组正常饲喂; 试验结束时, 采集大鼠肠道内容物, 提取微生物总 DNA, 采用通用引物对细菌 16S rDNA 基因的高可变 V3–V4 区进行 PCR 扩增, 运用 Hiseq2500 平台进行高通量测序, 并对测序序列进行生物信息学分析。结果表明:  $\alpha$  多样性指数表明脾虚泄泻大鼠与正常大鼠之间肠道微生物的多样性存在差异, 但差异均无统计学意义; 在门水平上, 2 组的优势菌门均为厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和变形菌门, 模型组较对照组厚壁菌门、放线菌门、变形菌门及螺旋体门的平均相对丰度均增加, 而拟杆菌门的平均相对丰度显著降低( $P < 0.05$ ); 在属水平上, 2 组的核心菌群均为产粪甾醇真细菌属, 模型组较对照组产粪甾醇真细菌属、*Jeotgalicoccus* 的平均相对丰度升高, 其中 *Jeotgalicoccus* 的显著升高( $P < 0.05$ ), 而罗姆布茨菌属、拟杆菌属、*Odoribacter* 的平均相对丰度降低, 其中 *Odoribacter* 的显著降低( $P < 0.05$ ); PICRUSt 基因功能预测表明, 大鼠肠道微生物以代谢功能为主, 主要包括糖代谢、氨基酸代谢、能量代谢及辅酶和维生素代谢等, 2 组间各类代谢功能存在差异, 但差异均无统计学意义。可见, 脾虚泄泻能引起大鼠肠道内菌群的多样性变化, 并显著降低肠道内拟杆菌门的平均相对丰度。

**关键词:** 大鼠; 16S rDNA; 脾虚泄泻; 肠道菌群; 多样性

中图分类号: S858.916.4 文献标志码: A 文章编号: 1007–1032(2021)05–0580–07

## The composition and diversity of intestinal flora in rats with spleen deficiency diarrhea

YAN Zhiqiang, ZHAI Shaoqin, ZHANG Yifan, CHEN Chunlin\*

(Chongqing Academy of Animal Sciences, Rongchang, Chongqing 402460, China)

**Abstract:** To investigate the structural characteristics and diversity of intestinal flora in rats with spleen deficiency diarrhea, twenty-four healthy rats were randomly divided into two groups, a control group and a model group. The model group was artificially replicated with a model of spleen deficiency diarrhea using the method of eating disorder and bitter cold. The highly variable V3–V4 region of the bacterial 16S rDNA gene of the rats intestinal contents was PCR-amplified using universal primers, and the amplicons were subjected to high-throughput sequencing using the Hiseq2500 platform. With bioinformatics analysis, the  $\alpha$  diversity index indicates that there were not statistically significant differences in the intestinal microbial diversity between spleen-deficiency and diarrhea rats and normal rats. At the phylum level, the dominant phyla of the two groups were Firmicutes, Bacteroidetes, Actinobacteria and Proteobacteria. Compared with the control group, the relative abundance of Firmicutes, Actinobacteria, Proteobacteria

收稿日期: 2020–03–19

修回日期: 2020–09–16

基金项目: 重庆市自然科学基金项目(cstc2019jcyj-msxmX0382); 重庆市畜牧科学院市级财政资金资助专项(19247)

作者简介: 闫志强(1989—), 男, 河南洛阳人, 硕士, 助理研究员, 主要从事中兽医医药研究, 18883359161@163.com; \*通信作者, 陈春林, 副研究员, 主要从事发酵中药研究与中兽药产品开发研究, ccl9981@126.com

and Spirochaetes in the model group increased, and the relative abundance of the Bacteroidetes was significantly reduced ( $P < 0.05$ ). At the genus level, the core flora of the two groups was *Eubacterium\_coprostanoligenes\_group*. Compared with the control group, the relative abundance of *Eubacterium\_coprostanoligenes\_group* and *Jeotgalicoccus* increased in the model group, and the increase of *Jeotgalicoccus* was significant ( $P < 0.05$ ); while the relative abundance of *Romboutsia*, *Bacteroides* and *Odoribacter* decreased, and *Odoribacter* decreased significantly ( $P < 0.05$ ). PICRUSt gene prediction showed that the intestinal microorganisms of rats were mainly metabolic functions, including sugar metabolism, amino acid metabolism, energy metabolism, cofactors and vitamin metabolism, but there were differences in various metabolic functions in the control group and model group. In conclusion, spleen deficiency diarrhea could cause changes of bacterial diversity in the intestine of rats, and significantly reduce the relative abundance of Bacteroidetes in the intestinal flora.

**Keywords:** rat; 16SrDNA; spleen deficiency diarrhea; intestinal flora; diversity

泄泻是畜禽生产中最为常见的消化道疾病之一。脾虚泄泻主要因饮食失调、劳逸失度或久病体虚所引起,临床上主要表现为大便稀溏、腹满、腹痛、精神状态不良等,不仅造成畜禽生长受阻,饲料利用率低,甚至导致畜禽死亡<sup>[1-3]</sup>。现代研究<sup>[4]</sup>表明,泄泻与肠道菌群有着密切的关系,肠道菌群的失调往往会导致泄泻的发生。肠道菌群的多样性及结构研究是复杂微生态系统分析的基础,通过分析脾虚泄泻大鼠肠道菌群的相对丰度与结构,可明确脾虚泄泻与肠道菌群之间的关系<sup>[5-6]</sup>,有助于脾虚泄泻发病机制的研究。

16S rDNA 可对特定环境中的微生物进行定性与定量鉴定,其结果可反映微生物的多样性、数量及丰度。该测定方法灵敏度高、检测分类水平高、简单、快捷,避免了传统细菌培养技术需要活菌、耗时较长(通常 3~4 d)、抗菌药物使用使细菌生长受抑、微生物生长条件特殊等缺点<sup>[7-8]</sup>。本研究中,采用饮食失节加苦寒泻下的方法,复制大鼠脾虚泄泻动物模型,并采用 16S rDNA 基因高通量测序来研究脾虚泄泻大鼠肠道细菌的多样性及菌群结构,探索脾虚泄泻大鼠肠道微生物的变化及特征,旨在为脾虚泄泻的发病机理研究及药物的作用机制研究提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

#### 1.1.1 试验动物

4 周龄 SPF 级 SD 大鼠 24 只,雌雄各半,购自重庆腾鑫生物技术有限公司(许可证编号为 SCXK(渝)2012-0008)。供试大鼠适应性饲喂 7 d,

自由采食、饮水。

#### 1.1.2 试验药物及其制备

番泻叶制剂制备:取番泻叶 100 g,加水适量,煮沸约 10 min,4 层纱布过滤,使用旋转蒸发器将过滤液减压浓缩成 1 mL 药液中含生药 1 g,灭菌后 4 °C 冰箱保存,备用。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 试验分组及处理

将 24 只大鼠随机分为对照组(DZ)和模型组(MX),每组 12 只,雌雄各半。按文献[9-10]的方法,将模型组的大鼠人工复制成脾虚泄泻模型,即大鼠在 6 d 内按饱食 1 d,再禁食 2 d 的方式饲喂,不禁水;6 d 后,自由采食和饮水,且按每 100 g 体质量 1.0 mL 的剂量灌喂番泻叶水煎剂,1 次/d,连续 14 d。对照组大鼠正常饲喂。试验期间观察大鼠的精神状态、采食、饮水、粪便等临床表现。试验结束时,每组随机选 5 只大鼠,使用乙醚麻醉、处死并解剖,无菌采集肠道内容物,立即放入冻存管内,并在液氮中速冻,-80 °C 超低温冰箱保存,备用。对照组样品分别记为 DZ1、DZ2、DZ3、DZ4、DZ5;模型组样品分别记为 MX1、MX2、MX3、MX4、MX5。

#### 1.2.2 测序方法

从肠道内容物样本中提取基因组 DNA 后,用带有 barcode 的特异引物扩增 16S rDNA 的 V3-V4 区。引物序列为 341F,5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3';06R,5'-GGACTACHVGGGTATCTAAT-3'。PCR 扩增产物切胶回收,用 QuantiFluor<sup>TM</sup> 荧光计进行定量。将纯化的扩增产物进行等量混

合,连接测序接头,构建测序文库,运用 Hiseq2500 PE250 上机测序。

### 1.2.3 信息分析

参照文献[11],根据得到的原始测序数据,对低质量测序数据(reads)过滤后进行组装和再过滤,以保证利用最有效数据聚类成操作分类单元(OTU);获得 OTUs 后,根据分析流程,依次进行物种注释、 $\alpha$ 多样性分析、PICRUST 群落功能预测;采用 Welch's  $t$  检验分析肠道菌群物种的差异。

## 2 结果与分析

### 2.1 试验大鼠的临床表现

试验期间,对照组大鼠精神状态良好,被毛整齐有光泽,采食、饮水正常,大便成型;模型组大鼠蜷缩畏寒,嗜卧,大量稀溏,粪便中有没消化的食物,被毛杂乱无光泽,采食量减少,消瘦。参照《中医内科病证诊断疗效标准》<sup>[12]</sup>和文献[13],表明脾虚泄泻模型复制成功。

### 2.2 OTUs 聚类及物种注释结果

所检测的肠道内容物得到 82 437 个 Tags,其中注释的 Tags 有 56 032 个,平均每个样品包含 1169 个 OTUs。由图 1 可知,所检测序列按照 97%

相似度水平划分,有 1387 个 OTUs,对照组和模型组的 OUTs 分别为 1097、1087 个,2 组共有的 OUTs 为 797 个,占总数的 57.46%,表明 OUT 相似性较高;对照组和模型组特异性 OTUs 分别为 300 和 290 个,占总数的 21.63%和 20.91%。

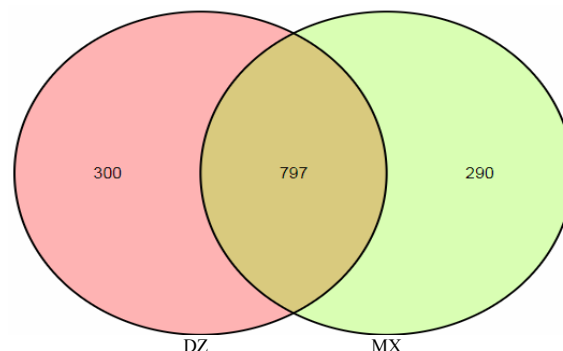


图 1 供试大鼠肠道菌群的 OTUs 韦恩图

Fig.1 Wayne diagram of OTUs of the intestinal flora of the tested rats

### 2.3 大鼠样本菌群的多样性

从表 1 可以看出,模型组和对照组的大鼠肠道内容物微生物的  $\alpha$ 多样性指数(Sobs、Shannon、Simpson、Ace、Goods\_coverage)间的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ),表明 2 组间群落丰富度、菌群多样性有一定的差异,但变化不显著。所检测的样品中 Good's\_coverage 指数均接近 1,表明检测深度足够,基本覆盖到样品中所有物种,数据合理。

表 1 供试大鼠肠道菌群的  $\alpha$ 多样性和丰富度指数

Table 1 The  $\alpha$  diversity and richness indices of the intestinal flora of the tested rats

分组	Sobs 指数	Shannon 指数	Simpson 指数	Ace 指数	Goods_coverage 指数
DZ	1175.00±59.38	6.08±0.35	0.86±0.01	1540.29±112.11	0.99±0.00
MX	1164.40±29.87	6.53±0.37	0.96±0.01	1554.33±86.56	0.99±0.00
$P$	0.73	0.85	0.70	0.83	0.94

### 2.4 不同分类水平上的大鼠肠道菌群的菌群结构

由表 2 可知,门水平上,对照组平均相对丰度排名前 5 的依次为厚壁菌门(Firmicutes)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteria)、螺旋体门(Spirochaetes);模型组平均相对丰度排名前 5 的依次为厚壁菌门、

拟杆菌门、放线菌门、变形菌门、螺旋体门。与对照组相比,模型组厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、螺旋体门、Kiritimatiellaeota、软壁菌门(Tenericutes)的平均相对丰度均升高,而拟杆菌门、Patescibacteria、Epsilonbacteraeota、脱铁杆菌门(Deferribacteres)的平均相对丰度均有不同程度的降低,且拟杆菌门的相对丰度显著降低( $P<0.05$ )。

表 2  供试大鼠肠道菌群门水平上物种的相对丰度

Table 2  The relative abundance of species at the phylum level of the intestinal flora of the tested rats					
样品	相对丰度/%				
	Firmicutes	Bacteroidetes	Actinobacteria	Proteobacteria	Spirochaetes
DZ1	64.51	18.03	6.24	6.93	3.37
DZ2	49.74	43.34	1.05	3.47	0.15
DZ3	66.56	28.49	1.96	1.25	0.67
DZ4	72.13	21.01	2.44	2.80	0.52
DZ5	69.17	26.18	0.99	1.46	0.92
MX1	70.42	19.67	4.73	4.28	0.06
MX2	74.37	12.01	4.86	4.22	3.73
MX3	70.05	12.87	7.01	3.03	5.94
MX4	59.93	18.21	7.56	10.26	2.93
MX5	79.98	15.00	2.36	1.21	0.32
DZ 均值	64.42	27.41	2.54	3.18	1.13
MX 均值	70.95	15.55*	5.30	4.60	2.60

样品	相对丰度/%				
	Patescibacteria	Kiritimatiellaeota	Epsilonbacteraeota	Deferribacteres	Tenericutes
DZ1	0.44	0.07	0.11	0.04	0.11
DZ2	0.08	0.09	1.09	0.69	0.02
DZ3	0.23	0.23	0.15	0.04	0.09
DZ4	0.54	0.18	0.08	0.02	0.06
DZ5	0.52	0.41	0.14	0.03	0.03
MX1	0.49	0.08	0.09	0.04	0.04
MX2	0.47	0.06	0.08	0.03	0.07
MX3	0.24	0.26	0.04	0.01	0.43
MX4	0.23	0.58	0.09	0.03	0.07
MX5	0.15	0.44	0.32	0.05	0.02
DZ 均值	0.36	0.20	0.31	0.16	0.06
MX 均值	0.32	0.28	0.12	0.03	0.13

“\*”示模型组和对照组间的差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

由表 3 可知，属水平上，对照组平均相对丰度排名前 5 的依次为产粪甾醇真细菌属(*Eubacterium\_coprostanoligenes\_group*)、罗姆布茨菌属(*Romboutsia*)、拟普雷沃菌属(*Alloprevotella*)、奎因氏菌属(*Quinella*)、毛螺菌科 NK4A136 属(*Lachnospiraceae\_NK4A136\_group*)；模型组平均相对丰度排名前 5 的依次为产粪甾醇真细菌属、毛螺菌科 NK4A136 属、罗姆布茨菌属、棒状杆菌 1 属(*Corynebacterium\_1*)、普氏菌科\_UCG-003 属(*Prevotellaceae\_UCG-003*)。与对照组相比，模型

组中产粪甾醇真细菌属、毛螺菌科 NK4A136 属、棒状杆菌 1 属、瘤胃球菌科 NK4A214 属(*Ruminococcaceae\_NK4A214\_group*)、*Jeotgalicoccus* 的平均相对丰度升高，其中 *Jeotgalicoccus* 的显著升高( $P<0.05$ )，而罗姆布茨菌属、普氏菌科\_UCG-003 属、奎因氏菌属、拟杆菌属(*Bacteroides*)、拟普雷沃菌属、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、*Odoribacter* 的平均相对丰度降低，其中 *Odoribacter* 的显著降低( $P<0.05$ )。

表 3 供试大鼠肠道菌群属水平上物种的相对丰度

Table 3 The relative abundance of species at the genus level of the intestinal flora of the tested rats

样品	相对丰度/%					
	<i>Eubacterium_coprostanoligenes_group</i>	<i>Romboutsia</i>	<i>Lachnospiraceae_NK4A136_group</i>	<i>Prevotellaceae_UCG-003</i>	<i>Corynebacterium_1</i>	<i>Quinella</i>
DZ1	7.94	6.60	8.90	1.47	4.41	1.33
DZ2	19.95	0.71	2.11	7.08	0.70	6.99
DZ3	20.23	3.10	4.34	2.66	1.09	3.66
DZ4	15.44	7.55	1.23	3.37	1.45	3.65
DZ5	12.84	9.66	1.70	2.83	0.06	2.76
MX1	28.70	8.47	2.06	1.94	3.17	0.38
MX2	16.41	4.50	12.09	2.01	3.93	0.33
MX3	11.43	3.40	3.95	5.56	5.26	1.46
MX4	13.89	2.97	4.54	5.94	4.94	1.84
MX5	14.51	4.32	8.80	0.95	1.47	1.87
DZ 均值	15.28	5.52	3.66	3.48	1.54	3.68
MX 均值	16.99	4.73	6.29	3.28	3.75	1.18

样品	相对丰度/%					
	<i>Bacteroides</i>	<i>Ruminococcaceae_NK4A214_group</i>	<i>Alloprevotella</i>	<i>Lactobacillus</i>	<i>Odoribacter</i>	<i>Jeotgalicoccus</i>
DZ1	0.64	1.89	0.54	2.86	0.16	0.14
DZ2	7.99	0.72	12.13	0.28	0.64	0.05
DZ3	2.62	1.02	3.53	7.74	0.30	0.04
DZ4	2.18	2.27	0.70	1.35	0.29	0.03
DZ5	2.49	3.69	2.74	2.54	0.19	0.01
MX1	1.42	1.39	0.38	3.11	0.01	0.27
MX2	0.63	2.30	0.12	0.36	0.07	0.48
MX3	0.49	0.54	0.23	0.67	0.09	0.45
MX4	1.98	3.89	0.19	0.75	0.01	0.22
MX5	3.71	4.56	0.44	0.83	0.08	0.04
DZ 均值	3.18	1.92	3.93	2.95	0.32	0.05
MX 均值	1.65	2.54	0.27	1.14	0.05*	0.29*

“\*”示模型组和对照组间的差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 2.5 PICRUST 基因功能预测结果

通过 PICRUST 对肠道微生物的基因进行功能预测(表 4), 对照组和模型组相对丰度从高到低的基因其功能依次均为糖代谢、氨基酸代谢、能量代谢、辅酶和维生素的代谢、核苷酸代谢等; 模

型组的糖代谢、氨基酸代谢、辅酶和维生素代谢、核苷酸代谢、脂质代谢水平均高于对照组的, 而模型组的能量代谢、聚糖生物合成与代谢、萜类化合物和聚酮类化合物的代谢水平均低于对照组, 但差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

表 4 供试大鼠肠道菌群代谢功能基因的相对丰度

Table 4 The relative abundance of functional genes of the intestinal flora of the tested rats

分组	功能基因相对丰度/%						
	糖代谢	氨基酸代谢	能量代谢	辅酶和维生素代谢	核苷酸代谢	脂质代谢	聚糖生物合成和代谢 萜类化合物和聚酮化合物代谢
DZ	26.25	23.52	14.06	10.28	10.04	6.81	5.15
MX	27.12	23.99	12.87	10.29	10.05	7.08	4.72

### 3 结论与讨论

本研究中,运用 Hiseq2500 平台进行测序,Good's\_coverage 指数显示此次测序结果比较全面的覆盖了大鼠肠道微生物群落。 $\alpha$  多样性指数分析表明,脾虚泄泻大鼠与正常大鼠之间肠道微生物的多样性存在一定的差异,但变化不显著。

本研究中,从门、属水平上对供试大鼠的肠道菌群进行检测发现,在门水平上,2 组中平均相对丰度排名前 5 的菌门均为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门、放线菌门、螺旋体门,但模型组中厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、螺旋体门的平均相对丰度升高,而拟杆菌门的相对丰度显著降低( $P<0.05$ );在属水平上,2 组中核心菌群均为产粪甾醇真细菌属,与对照组相比,模型组中产粪甾醇真细菌属、*Jeotgalicoccus* 等的平均相对丰度升高,其中 *Jeotgalicoccus* 的显著升高( $P<0.05$ ),而罗姆布茨菌属、*Odoribacter*、拟杆菌属等的相对丰度降低,其中 *Odoribacter* 的显著降低( $P<0.05$ )。推测可能是苦寒中药番泻叶可干扰肠道某些酶的活性,进而影响与其相关的肠道微生物<sup>[14]</sup>。研究<sup>[15-16]</sup>发现,*Odoribacter* 为肠道健康有益菌属,相对丰度降低可能引起肠道疾病,而 *Jeotgalicoccus* 是与炎症相关的菌属,丰度升高不利于肠道健康。拟杆菌为中性菌,是肠道微生物中较为重要的菌群之一,对环境变化较为敏感,代谢主要以脂肪和糖类为底物,为肠道细胞提供能量,在维护肠黏膜完整、减少炎症反应、调节胃肠运功等方面有着重要作用<sup>[17-18]</sup>。推测脾虚泄泻可能与拟杆菌门和欧氏杆菌属平均相对丰度的降低和 *Jeotgalicoccus* 平均相对丰度的升高有着密切关系<sup>[19]</sup>。

本研究中,采用 PICRUST 对供试大鼠肠道微生物的基因进行功能预测,结果表明肠道微生物最主要的基因功能为代谢功能。2 组中,相对丰度从高到低的基因其功能依次均为糖代谢、氨基酸代谢、能量代谢、辅酶和维生素的代谢、核苷酸代谢等,但某些代谢之间存在差异。推测大鼠的肠道菌群对机体营养物质的消化吸收起着重要作用,泄泻可造成大鼠肠道某些代谢紊乱。

可见,大鼠脾虚泄泻可引起肠道菌群多样性变化,肠道菌群失调可能是脾虚泄泻的致病机制

之一,其中肠道拟杆菌门相对丰度显著降低可能是脾虚泄泻的主要原因。

### 参考文献:

- [1] 徐俊. 参苓白术散对脾虚泄泻大鼠消化吸收功能的影响[J]. 中医学报, 2020, 35(2): 366-369.  
XU J. Effect of Shenling Baizhu powder on digestive and absorptive function of rats with diarrhea due to spleen deficiency[J]. Acta Chinese Medicine, 2020, 35(2): 366-369.
- [2] 刘凯文. 基于高通量测序探讨参苓白术散对脾气亏虚型泄泻肠道菌群的影响[D]. 北京: 北京中医药大学, 2019.  
LIU K W. Based on high-throughput sequencing to explore the effect of Shenling Baizhu powder on intestinal flora of diarrhea with deficiency of spleen[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2019.
- [3] 徐珊, 康安, 彭琳秀, 等. 基于 GC-MS 的温运合剂及其君药麸炒苍术水提物对小鼠脾虚泄泻的作用研究[J]. 南京中医药大学学报, 2018, 34(2): 181-184.  
XU S, KANG A, PENG L X, et al. Effect of Wenyun mixture and bran stir-baked atractylodis water extract on spleen-deficiency diarrhea in mice based on GC-MS[J]. Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 2018, 34(2): 181-184.
- [4] 张卫平, 冯晟楠. 二术止泻汤对脾虚泄泻小鼠肠道菌群数量的影响[J]. 中医学报, 2015, 30(11): 1639-1641.  
ZHANG W P, FENG C N. Influence of the numbers of intestinal flora in mice with diarrhoea by Erzhu Zhixie decoction[J]. China Journal of Chinese Medicine, 2015, 30(11): 1639-1641.
- [5] 吴国琳, 余国友, 卢雯雯. 肠道微生态的中医本质探讨[J]. 中华中医药学刊, 2015, 33(11): 2586-2588.  
WU G L, YU G Y, LU W W. Discussion on TCM essence of intestinal microecology[J]. Chinese Archives of Traditional Chinese Medicine, 2015, 33(11): 2586-2588.
- [6] 刘峰, 严晶, 卢冬雪. 肠道微生态研究与中医本质探索[J]. 中医学报, 2019, 34(9): 1859-1863.  
LIU F, YAN J, LU D X. Study on intestinal microecology and exploration of the essence of Chinese medicine[J]. Acta Chinese Medicine, 2019, 34(9): 1859-1863.
- [7] LANGILLE M G, ZANEVELD J, CAPORASO J G, et al. Predictive functional profiling of microbial communities using 16S rRNA marker gene sequences[J]. Nature Biotechnology, 2013, 31(9): 814-821.
- [8] 李晓慧. 基于 16SrDNA 分析的大鼠腹泻病因探究[D].

- 长春：吉林大学，2018 .
- LI X H . Study on the etiology of diarrhea in rats based on 16S rDNA analysis[D] . Changchun : Jilin University , 2018 .
- [9] 刘海涛，施家希，黄娟，等 . 补中益气汤对脾虚泄泻大鼠小肠黏膜修复及葡萄糖吸收相关转运体的影响[J]. 中药材，2017，40(5)：1178-1183 .
- LIU H T , SHI J X , HUANG J , et al . Effect of buzhang yiqi decoction on small intestinal mucosal repair and glucose absorption transporters in rats with spleen deficiency diarrhea[J] . Journal of Chinese Medicinal Materials , 2017 , 40(5) : 1178-1183 .
- [10] 肖新云，邓艳玲，刘又嘉，等 . 番泻叶所致脾虚泄泻小鼠血常规的研究[J]. 湖北中医药大学学报，2016，18(6)：49-51 .
- XIAO X Y , DENG Y L , LIU Y J , et al . Effects of folium sennae on blood routine in rats with diarrhea of splenic deficiency type[J] . Journal of Hubei University of Chinese Medicine , 2016 , 18(6) : 49-51 .
- [11] 张飞燕，金洁，马玉华，等 . 野生树鼩实验动物化过程中粪便菌群的多样性及组成[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版)，2020，46(4)：449-455 .
- ZHANG F Y , JIN J , MA Y H , et al . Microbial community and diversity in the feces of wild tree shrew as laboratory animal[J] . Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences) , 2020 , 46(4) : 449-455 .
- [12] ZY/T 001.1—1994 中医内科病证诊断疗效标准[S] . ZY/T 001.1—1994 Criteria for diagnosis and curative effect of TCM internal diseases and syndromes[S] .
- [13] 马潇，康安，徐珊，等 . 麸炒苍术不同提取物对小鼠脾虚泄泻的影响[J]. 南京中医药大学学报，2018，34(3)：292-297 .
- MA X , KANG A , XU S , et al . Effect of bran stir-baked atracylodes rhizoma water extract , ethanol extract and CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> active parts on spleen-deficiency diarrhea in mice[J] . Journal of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine , 2018 , 34(3) : 292-297 .
- [14] 胡洁，彭买蛟，罗怀浩，等 . 番泻叶造模对小鼠肠道微生物及酶活性的影响[J]. 中国微生态学杂志，2018，30(2)：155-157 .
- HU J , PENG M J , LUO H H , et al . Effects of Senna on the intestinal microbiota and enzyme activity in mice with spleen-deficiency[J] . Chinese Journal of Microecology , 2018 , 30(2) : 155-157 .
- [15] 臧凯丽，江岩，孙勇，等 . 益生菌剂调整肠道疾病人群菌群结构丰度水平的研究[J]. 食品科学，2018，39(13)：133-143 .
- ZANG K L , JIANG Y , SUN Y , et al . Probiotics modulate the structure and abundance of gut microbiota in populations with intestinal diseases[J] . Food Science , 2018 , 39(13) : 133-143 .
- [16] TIAN S C , XUE Q , SONG H . Regulatory effects of traditional Chinese medicine on intestinal flora[J]. Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences , 2020 , 29(3) : 161-175 .
- [17] 张丽萍，伍荷洁，舒青龙 . 基于“碳源”研究参苓白术散中药多糖对二株肠道拟杆菌体外生长的影响[J]. 天然产物研究与开发，2018，30(1)：73-78 .
- ZHANG L P , WU H J , SHU Q L . Study on the in vitro growths of two typical intestinal *Bacteroides* under influence of Shenlingbaizhu powder polysaccharide as “carbon source”[J] . Natural Product Research and Development , 2018 , 30(1) : 73-78 .
- [18] 伍荷洁，张丽萍，舒青龙 . 不同浓度理中汤多糖作为碳源对肠道拟杆菌及厚壁菌体外生长的影响[J]. 山东医药，2018，58(23)：29-32 .
- WU H J , ZHANG L P , SHU Q L . Effects of different concentrations of Lizhong decoction polysaccharide as carbon source on in vitro growth of intestinal *Bacteroides* and *Firmicutes*[J] . Shandong Medical Journal , 2018 , 58(23) : 29-32 .
- [19] 陈祥胜 . 焦苍术长于“健脾止泻”物质基础及其作用机理的研究[D] . 武汉：湖北中医药大学，2019 .
- CHEN X S . Study on material basis and mechanism of coked *Atractylodes* rhizome non-volatile invigorating spleen and stopping diarrhea[D] . Wuhan : Hubei University of Chinese Medicine , 2019 .

责任编辑：邹慧玲  
英文编辑：柳 正