

日粮中高糖高脂对团头鲂肝脏及肠道微生物菌群组成的影响

刘 寒 吴芸倩 李会峰 王卫民

华中农业大学水产学院/农业部淡水生物繁殖重点实验室, 武汉 430070

摘要 为探讨日粮中高糖高脂对团头鲂肝脏及肠道微生物菌群组成的影响, 分别采用组织学方法和 16S rRNA 宏基因组测序的方法对其进行研究。结果显示, 高糖高脂连续饲喂 8 周后, 团头鲂肝细胞呈不规则排列, 肝细胞空泡化及细胞核偏移。试验构建了 6 个测序文库, 获得了 175 820 条高质量序列和 588 个 OTUs。在门水平上, 试验组(高糖高脂)和对照组鱼肠道微生物菌群中, 相对丰度最高的前 4 种分别为梭杆菌门(*Fusobacteria*)、厚壁菌门(*Firmicutes*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和变形菌门(*Proteobacteria*), 其中试验组的梭杆菌门和变形菌门的相对丰度高于对照组, 而厚壁菌门和拟杆菌门低于对照组。在属水平上, 各组主要菌群相对丰度也有所不同, 其中试验组 *Clostridium*、*Romboutsia* 和 *Macellibacteroides* 的相对丰度高于对照组, 分别是对照组的 2、6 和 2 倍, 而 *Porphyromonadaceae* 和 *Aeromonas* 相对丰度低于试验组。核心菌群和特有菌群分析发现, 对照组和试验组共有 OTUs 为 82 个, 试验组特有 OTUs 为 26 个, 主要菌门为变形菌门(57.69%)、酸杆菌门(*Acidobacteria*)(11.54%)和厚壁菌门(11.54%)。这些研究结果表明, 高糖高脂饲料投喂团头鲂 8 周后, 对团头鲂肝脏组织产生明显损伤, 并对其肠道内容物微生物的菌群组成与结构产生影响, 引起肠道菌群失调, 进而可能对宿主的健康产生影响。

关键词 团头鲂; 高糖高脂日粮; 组织损伤; 高通量测序; 肠道微生物

中图分类号 S 917.1 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2018)04-0085-08

鱼饲料中高水平的糖脂类物质添加会影响鱼体脂肪在肝细胞内堆积, 引发肝脏病变。鱼类日粮中高糖高脂是许多疾病的影响因素, 其中营养性脂肪肝的发生在水产养殖中最为常见, 鱼体会表现出进饵料量下降、消瘦且腹部膨大及易感染疾病等症状; 解剖观察可发现, 鱼肝脏异常增大, 肝组织有瘀血, 外表有脂肪层覆盖, 肝脏颜色异常, 肝色苍白或土黄^[1]。Lie 等^[2]研究发现, 饲料中的脂肪可直接在大西洋鳕的肝脏中积累, 饲料中过量的糖类和蛋白质也可转化为脂肪在肝脏中堆积。用不同配比的饲料饲喂舌齿鲈, 结果显示配合饲料中脂肪过量, 营养组成失衡或缺少抗脂肪肝物质是肝脏病变的重要因素^[3]。高糖高脂饮食除了对鱼肝脏产生损伤引起脂肪肝外, 对鱼体肠道微生物的菌群组成也有影响。

脊椎动物肠道微生物群落是一个复杂的微生态

系统, 其数目庞大, 种类繁多, 包含了各种各样的细菌、真菌、古生菌及病毒。这些肠道微生物通常具有多种功能, 不仅能促进宿主的代谢能力, 有助于食物的消化与吸收, 还能提高机体免疫力, 有效保护机体免受病原菌的侵袭^[4]。近年来, 关于肠道微生物的研究越来越多, 其中很多与人类疾病和食物消化相关。探究动物胃肠道微生物结构组成、变化规律及宿主与肠道菌群的互作机制, 有助于监控疾病, 进而指导临床采取相关干预措施来防治某些疾病, 而宏基因组学是研究这些问题的有效方法。随着高通量测序技术的发展, 基于 16S rRNA 测序的方法被广泛应用到动物肠道微生物的研究^[5]中。为了探讨日粮中高糖高脂对团头鲂肝脏组织的影响及其肠道内容物中微生物菌群组成与丰度的影响, 本研究首先通过组织切片观察其对肝脏组织细胞结构的影响, 然后基于 16S rRNA 高通量测序的方法, 分别从

收稿日期: 2018-03-31

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31702315); 湖北省自然科学基金项目(2017CFB166); 博士后面基金项目(2016M600600)

刘 寒, 博士, 讲师。研究方向: 水产动物基因功能。E-mail: liuhan@mail.hzau.edu.cn

通信作者: 王卫民, 博士, 教授。研究方向: 鱼类遗传育种。E-mail: wangwm@mail.hzau.edu.cn

门水平和属水平探讨其对团头鲂肠道微生物群落结构的影响。

1 材料与方法

1.1 试验设计及样本采集

试验用团头鲂均采自湖北省团风县某养殖场的同一批次鱼苗,规格(48±0.3) g,运回实验室暂养 2 周。试验设计与 Prathomya 等^[6]相同。即试验分为 2 组,一组为对照组(C,饲料中脂肪含量 8%、糖含量 26.7%),另一组为高糖高脂组,即试验组(T,饲料中脂肪含量 10.4%、糖含量 30.9%),每组设置 3 个重复,连续正常饲喂 8 周。样本采集前,团头鲂用乌来糖进行麻醉,麻醉后体表用 75%乙醇消毒,在无菌工作台上,剖开鱼腹,记录肝脏组织表征,并取新鲜的肝组织固定于 4%的多聚甲醛中,用于组织切片的制作。另外收集团头鲂前、中、后肠道内容物,充分混合后,分装在 2 mL 冻存管中,迅速置于液氮中保存备用。对照组和试验组样本来源于 3 个重复试验,分别采集 3 份。

1.2 组织切片观察

为了观察对照组和试验组团头鲂肝脏组织的病变程度,试验采用 HE 染色的方法对其肝脏组织进行染色,在奥林巴斯显微镜下观察组织切片,并进行拍照记录。

1.3 基因组 DNA 的提取和扩增

团头鲂肠道内容物 DNA 的提取参照 QIAamp DNA Stool Minikit 试剂盒法说明书进行。提取的 DNA 浓度用 Nanodrop 2000 检测,DNA 质量采用琼脂糖凝胶电泳检测。

试验采用 16S rRNA V3+V4 区通用引物进行

扩增,338F:5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3'和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。PCR 反应体系(20 μL):dNTPs(2 μL),10×Buffer(2 μL),rTaq DNA 聚合酶(0.2 μL),上下游引物(0.8 μL),15 ng 模板 DNA 和 ddH₂O。PCR 反应条件:95℃预变性 5 min;30 个循环(5℃ 30 s,55℃ 30 s,72℃ 40 s);72℃延伸 10 min。PCR 扩增产物经过纯化和定量后,送至上海美吉生物医药科技有限公司进行高通量测序。

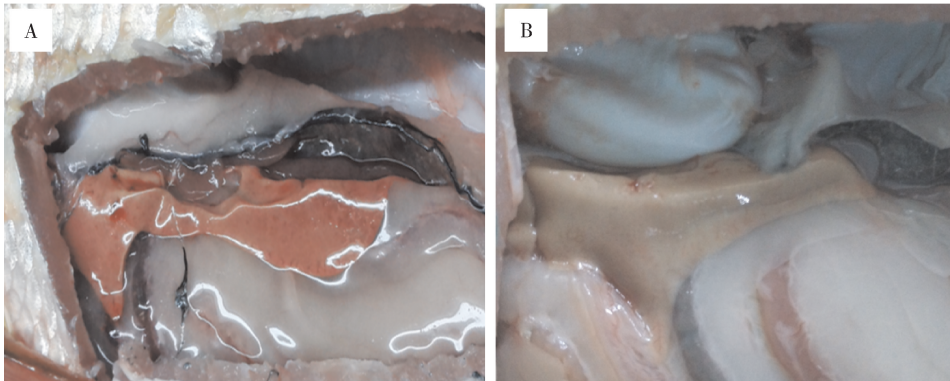
1.4 生物信息分析与数据统计

为了获得试验组和对照组鱼肠道内容物微生物的菌群组成和多样性信息,首先采用 Trimmomatic 对测序序列进行质控,数据经过滤和拼接后,采用 Uparse 软件(<http://drive5.com/uparse/>)对序列进行聚类分析。97%相似性的序列为一个操作分类单元(operational taxonomic unit, OTU)。对注释物种的相对丰度分别在门(phylum)和属(genus)水平上进行统计。分析样本肠道微生物菌群的 α 多样性(alpha diversity)指数,包括 Chao1 指数来评估物种丰富度,Shannon 指数来评估微生物群落多样性。用 QIIME 软件^[7]计算样本间 β 多样性(beta diversity)指数。R 语言工具统计和制作稀释性曲线图、Venn 图和群落结构图。

2 结果与分析

2.1 团头鲂肝脏组织表征及切片观察

如图 1 所示,对照组团头鲂肝脏组织色泽鲜艳,呈鲜红色,体表形态规则。而高糖高脂饲喂后的团头鲂肝脏颜色暗淡,呈土黄色。



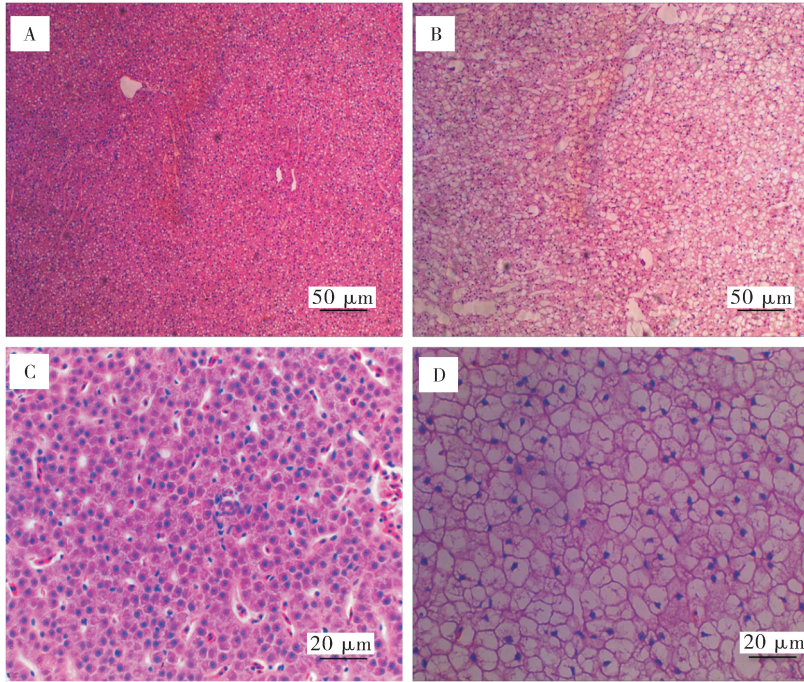
A:对照组 Control group; B:试验组 Experimental group.

图 1 团头鲂肝脏组织表征观察

Fig.1 Characterization observation of liver tissue in blunt snout bream

为了进一步观察不同饲喂状态下团头鲂肝脏组织的变化,试验进一步进行了病理组织学检查。结果(图 2)发现,对照组肝细胞形态正常,排列规则,

未见细胞内有大量空泡,细胞核及边界清晰可见;而试验组肝细胞呈现不规则排列,肝细胞核偏移,肝细胞出现空泡化。



A,C:对照组 Control group; B,D:试验组 Experimental group.

图 2 团头鲂肝脏组织 HE 染色观察

Fig.2 Histological section (HE-staining) observation of liver tissue in blunt snout bream

2.2 肠道内容物 DNA 的高通量测序数据统计

试验共构建了 6 个测序文库,对照组 3 个(C-1、C-2、C-3),试验组 3 个(T-1、T-2、T-3)。6 个文库共获得了 175 820 条高质量序列,平均每个样本的测序量达到 3 万条序列,每条序列长度在 430 bp 左右(表 1)。OTUs 统计分析发现,6 个样本总共获得了

588 个 OTUs,每个测序文库的 OTUs 有所差异,即使属于同一组内的鱼,其 OTUs 数目也存在差别。对照组和试验组的多样性指数,包括 ACE、Chao1 及 Shannon 指数均存在差异,这种差异包括组内和组间差异。

表 1 16S rRNA 测序数据及多样性信息统计

Table 1 Statistics of 16S rRNA sequenced data and index of diversity

分组 Group	样本 Sample	序列 Sequence	碱基/bp Base	平均长度/bp Average length	多样性 Diversity		
					OTU	ACE	Shannon
对照组 Control group	C-1	36 687	15 927 261	434.14	87	106	1.83
	C-2	22 533	9 741 187	432.31	67	88	1.43
	C-3	23 420	10 095 757	431.07	102	123	1.94
试验组 Experimental group	T-1	20 983	9 145 149	435.84	88	110	2.04
	T-2	36 378	15 925 737	437.78	142	157	2.59
	T-3	35 819	15 579 883	434.96	102	117	1.80

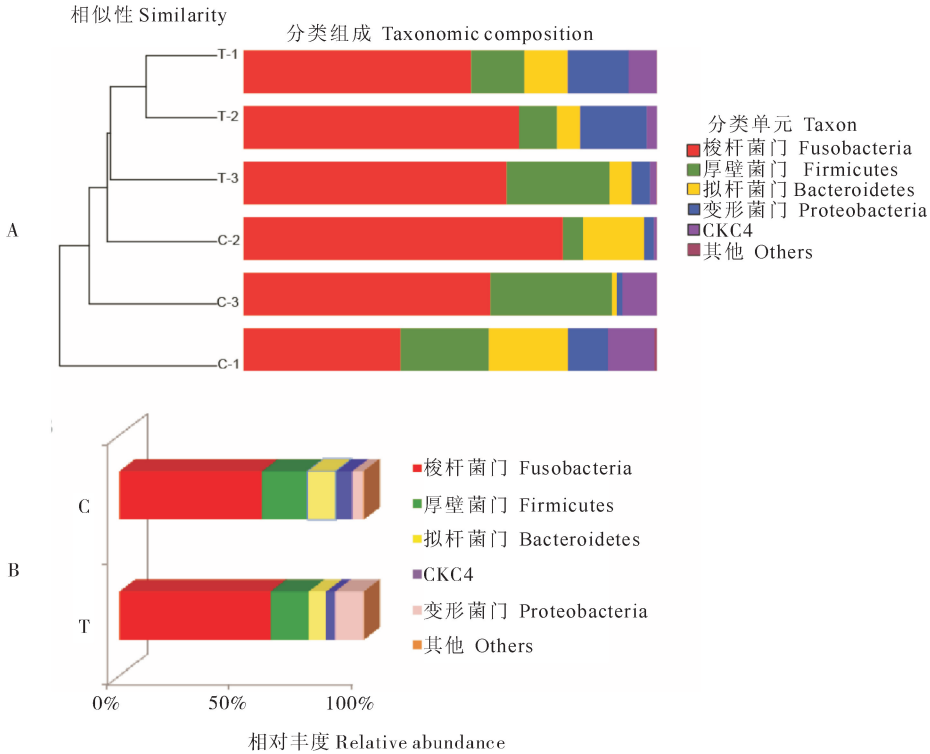
注 Note:OTUs 在序列相似性为 97%的水平下分类 OTUs are defined at 97% sequence similarity.

对照组和试验组共计 6 个样本,其微生物归属于 17 个门、28 个纲、59 个目、91 个科、135 个属。其中 11 个门为对照组和试验组所共有,已明确分类的

有 8 种,分别为:拟杆菌门(Bacteroidetes)、放线菌门(Actinobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、蓝藻细菌(Cyanobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、梭杆菌

门(Fusobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、疣微菌门(Verrucomicrobia)。如图 3 所示,在对照组和试验组鱼肠道微生物菌群中,丰度最高的菌群为梭杆菌门,其中对照组为 58%,试验组为 62%。除了梭杆菌门外,厚壁菌门的相对丰度在对照组和试验

组的比例差异不大,分别为 19%、16%。相对丰度排在第 3 位的是拟杆菌门,对照组为 12%,试验组为 7%。相反的,相对丰度排在第 4 位的变形菌门在对照组和试验组的相对丰度差异较大,对照组只有 4%,而试验组为 12%。



A: 6 个样本的微生物菌群组成及样本间的相似度 Composition and similarity of gut microbiota in six samples; B: 均一化处理后不同组(C: 对照组; T: 试验组)的肠道微生物菌群组成 Average relative abundance of each bacterial taxon within a group (C: Control; T: Experimental group) at phylum level.

图 3 不同组在门水平上团头鲂肠道微生物组成与相对丰度比较

Fig.3 Composition and relative abundance of gut microbiota in blunt snout bream in different groups at phylum level

在属水平上,样本中主要菌群的相对丰度也有所不同(图 4)。对照组和试验组中相对丰度最高的前 8 种菌分别为: *Cetobacterium*、*Dielma*、*Porphyromonadaceae*、*Aeromonas*、*Clostridium*、*Romboutsia*、*Macellibacteroides* 和 *Shewanella*。*Cetobacterium* 的相对丰度最高,其中对照组样本 C-2 为 61.6%,C-1 和 C-3 较为接近,分别为 50%、50.2%。对照组 3 个样本 *Cetobacterium* 的平均丰度为 53.48%,而试验组为 44.05%。其次为 *Dielma*,对照组为 3.90%,而试验组为对照组的 3 倍。此外,*Clostridium*、*Romboutsia* 和 *Macellibacteroides* 在试验组中的相对丰度也均高于对照组,分别是对照组的 2、6 和 2 倍。*Porphyromonadaceae* 和 *Aeromonas* 在对照组中的比例高于试验组,分别为

9.07%、9.44%。

2.4 核心菌群和特有菌群分析

核心菌群和特有菌群的研究对了解肠道微生物的稳定性和复杂程度极为重要。如图 5 所示,对照组 3 个样本一共有 87 个 OTUs(图 5A),而试验组一共有 108 个 OTUs(图 5B)。其中对照组 3 个样本共有的 OTUs 39 个,而试验组共有的为 55 个。对试验组和对照组的所有 OTUs 进行分析发现,对照组和试验组的共有 OTUs 为 82 个,而试验组特有的 OTUs 为 26 个(图 5C)。进一步分析发现,试验组特有的 26 个 OTUs 中,主要菌门为变形菌门(Proteobacteria) (57.69%)、酸杆菌门(Acidobacteria) (11.54%)和厚壁菌门(Firmicutes)(11.54%)(图 5D)。

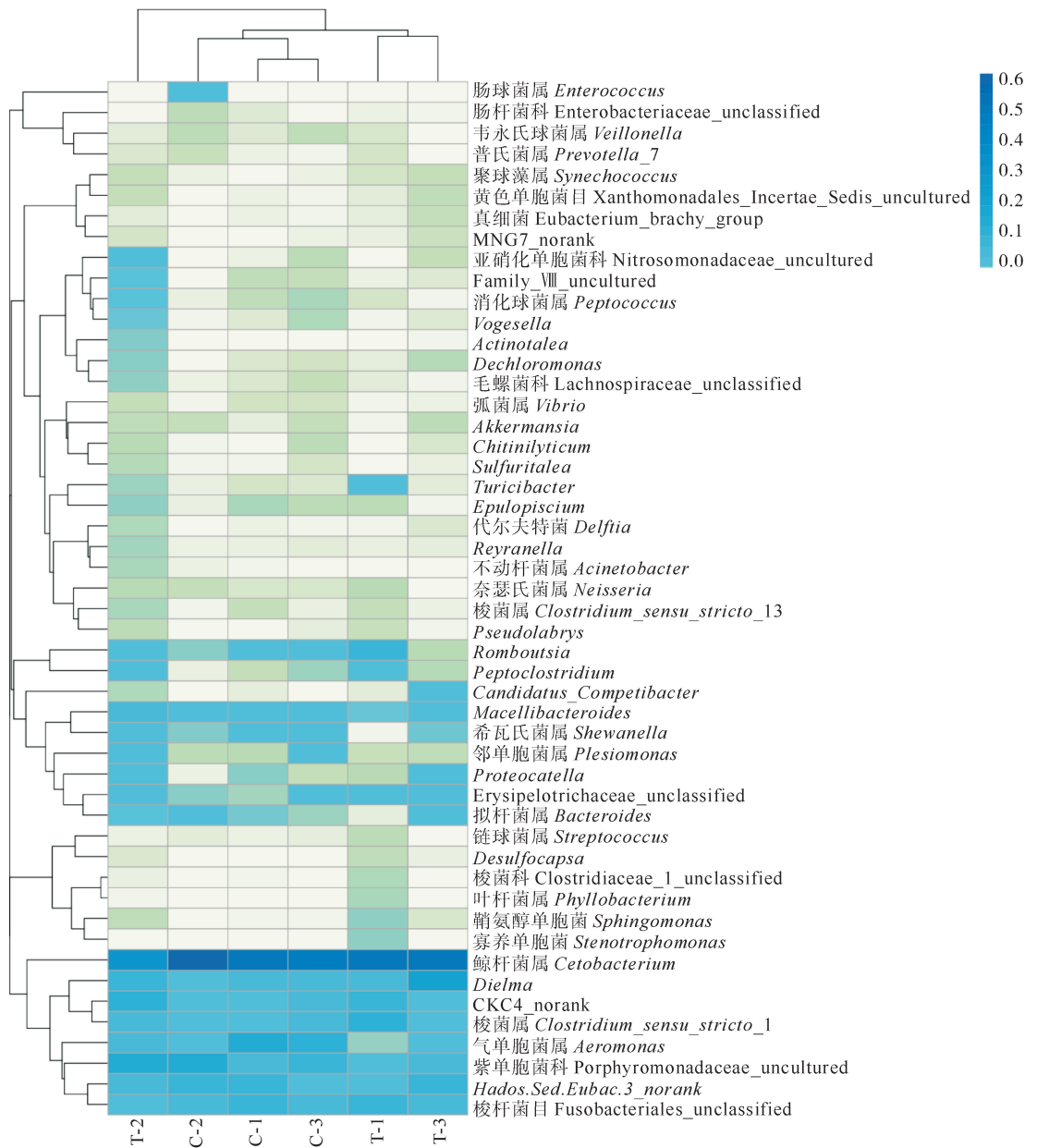


图 4 不同组在属水平上团头鲂肠道微生物组成与相对丰度(相对丰度最高的前 50 个属)

Fig.4 Composition and relative abundance of gut microbiota in blunt snout bream in different groups at genus level (top 50 taxa)

3 讨 论

在集约化养殖状态下, 饵料能量过高、营养失衡且饲料投喂过度, 若机体再缺乏必要的抗营养性脂肪肝的因子, 容易引发鱼类营养性脂肪肝的发生^[8-9]。对病鱼进行解剖发现, 肝、脾、胰及肠等器官被脂肪粘连在一起, 肝脏颜色异常呈黄褐色, 肝脏表层有脂肪覆盖, 肝组织脆弱且弹性差^[9], 病理切片出现肝细胞排列不规则、空泡化及核偏移等^[8]。本研究结果显示高糖高脂饲喂团头鲂 8 周后, 团头鲂肝

脏颜色暗淡, 呈土黄色。而对照组团头鲂肝脏色泽鲜艳, 呈鲜红色, 体表形态规则。组织学检查发现对照组团头鲂肝细胞排列规则, 细胞核及细胞边界清晰可见, 未见细胞内有大量空泡, 而试验组团头鲂肝细胞呈不规则排列, 肝细胞核偏移, 大量肝细胞呈空泡化。这说明高糖高脂饲喂后对鱼肝脏组织产生明显的损伤, 极有可能诱发鱼类营养性脂肪肝的发生。也有研究发现, 高动物蛋白和高油脂饲喂会诱发团头鲂肝细胞脂肪浸润^[10]。对红姑鱼的研究中也发现, 脂肪肝病变的直接诱因是日粮中的脂肪比例过

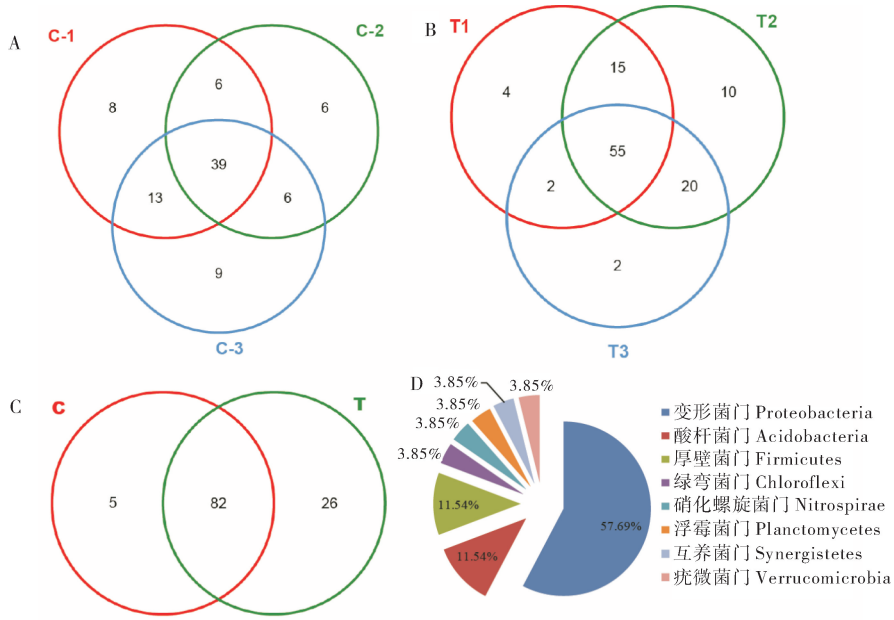


图 5 不同处理组特有和共有 OTUs 分析

Fig.5 Unique and shared OTUs in different groups

大,脂肪含量与肝脏脂肪病变程度成正相关^[11]。

在过去几十年里,关于肠道微生物的研究更多的是采用传统的方法在实验室分离培养,这些方法通常费时费力且得到的微生物群落也有限。随着高通量技术的发展,基于 16S rRNA 高通量测序的方法被广泛应用到肠道微生物的研究中。这种技术不依赖实验室对微生物的培养,为全面探索肠道微生物菌群结构及群落差异指明了新的方向。通常情况下,脊椎动物的肠道内共生附着有大量的微生物,这些微生物与宿主的营养、代谢及免疫等生理生化过程密切相关^[4,12]。近年来,关于肠道微生物的研究越来越多,基于 16S rRNA 测序的方法表明,人类的胃肠道微生物参与多糖、氨基酸和外源性化学物质的代谢^[13]。在对其他哺乳动物,如猪、牛、羊、熊猫等动物胃肠道宏基因组的研究中发现,这些动物胃肠道中栖息着大量的微生物,这些微生物能分泌各种消化酶等,在动物食物消化过程中起着积极的作用。

已有研究表明鱼类肠道微生物的菌群结构与菌群多样性受多种因素的影响,包括自身遗传结构、生存的水域环境、食物组成、鱼体大小及采样时间等,其中最主要的因素是宿主的食物组成^[14-15]和所处的环境状态^[16-17]。膳食营养通常是影响机体肠道微生物

菌群结构最重要的因素之一,饮食结构对其影响作用往往强于宿主本身的遗传结构。在膳食营养中,高脂和高糖饮食对机体肠道微生物菌群组成的影响最为明显。本研究发现,长期的高糖高脂饮食会使团头鲂肠道微生物菌群的多样性发生变化,另外对肠道微生物菌群组成和相对丰度也产生影响。试验组和对照组团头鲂肠道微生物菌群中,相对丰度最高的前 4 种分别为梭杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和变形菌门,但高糖高脂组的梭杆菌门和变形菌门的相对丰度高于对照组,而厚壁菌门和拟杆菌门低于对照组。这一研究结果与在哺乳动物中的研究结果相似^[18],对大鼠连续饲喂不同脂肪含量的饲料 12 周后,发现其肠道微生物菌群结构在门水平上发生了明显变化,与对照组相比,长时间高脂饮食使肠道中拟杆菌门相对丰度显著降低,而变形菌门的相对丰度明显增加。也有研究发现高脂饮食能显著影响小鼠肠道主要微生物菌群的多样性及相对丰度,比如降低了疣微菌科的相对丰度,使理研菌科的相对丰度有所增加^[19]。

除了在门水平上有影响外,本研究发现试验组和对照组在属水平上的主要菌群组成与相对丰度也有所不同。与对照组相比,试验组团头鲂肠道中梭杆菌属的相对丰度升高,而紫单胞菌科和气单胞菌属

的相对丰度有所降低。然而这一结果与 Lecomte 等^[20]的研究结果有所不同,他们发现与对照组相比,高脂饮食饲喂大鼠一段时间后,大鼠肠道菌群中的肠乳杆菌的相对丰度明显降低,而使能产生丙酸和乙酸的考拉杆菌属和奇异变形杆菌的相对丰度增加。这一差异可能与宿主的遗传结构、饲喂的时间及饲料中脂肪含量不同有关。另外,鱼类的核心菌群和特有菌群对维持宿主肠道微生物的稳定和维持机体健康起到了主要作用^[21]。在高等动物中,核心菌群的组成与丰度主要受宿主本身遗传结构的影响,而特有菌群主要受外界环境和食物组成的影响。本研究发现对照组和高糖高脂试验组鱼肠道共有的 OTUs(核心菌群)数目较大,占到了总数的 72.5%,这可能与其自身遗传结构有关。尽管对照组和试验组的核心菌群所占比例较大,但试验组的核心菌群数量是对照组的 5 倍多,其中丰度最高的为变形菌门,这一结果与 Zhu 等^[22]的研究结果相似。目前,有关高糖、高脂对鱼类肠道微生物菌群影响的研究较少,本研究结果补充了这方面研究的不足,但是高糖高脂是如何影响鱼类肠道菌群结构及其代谢产物的还有待在后续试验中完成。

参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] LIE O, LIED E, LAMBERTSEN G. Feed optimization in Atlantic cod (*Gadus morhua*): fat versus protein content in the feed [J]. Aquaculture, 1988, 69(3/4):333-341.
- [3] DEPLANO M, CONNES R, DIAZ J P, et al. Intestinal steatosis in the farm-reared sea bass *Dicentrarchus labrax* [J]. Dis Aquat Organ, 1989, 6(2):121-130.
- [4] DAVID L A, MAURICE C F, CARMODY R N, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome [J]. Nature, 2014, 505(7484):559-563.
- [5] 石焱, 马徐发, 吴志新, 等. 水雍菜浮床养殖模式下黄颡鱼肠道菌群结构分析[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(2):69-76.
- [6] PRATHOMYA P, PRISINGKORN W, JAKOVLCI I, et al. ¹H NMR-based metabolomics approach reveals metabolic alterations in response to dietary imbalances in *Megalobrama amblycephala* [J]. Metabolomics, 2017, 13(2):17. Doi: 10.1007/s11306-016-1158-7.
- [7] CAPORASO J G, KUCZYNSKI J, STOMBAUGH J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. Nat Methods, 2010, 7(5):335-336.
- [8] 徐奇友, 许治冲, 王常安, 等. 不同温度下饲料脂肪水平对松浦镜鲤幼鱼肝脏游离脂肪酸、血清生化及肝脏组织结构的影响 [J]. 东北农业大学学报, 2012, 43(9):118-126.
- [9] 李丹, 刘龙腾. 养殖鱼类脂肪肝的诊断和防治研究概况 [J]. 动物医学进展, 2016, 37(1):114-117.
- [10] 朱雅珠, 杨国华, 刘玉良. 团头鲂的脂肪肝及防治研究 [J]. 水产科技情报, 1992, 19(1):1-5.
- [11] 冯健, 贾刚. 饵料中不同脂肪水平诱导红姑鱼脂肪肝的研究 [J]. 水生生物学报, 2005, 29(1):61-64.
- [12] VIAUD S, SACCHERI F, MIGNOT G, et al. The intestinal microbiota modulates the anticancer immune effects of cyclophosphamide [J]. Science, 2013, 342(6161):971-976.
- [13] GILL S R, POP M, DEBOY R T, et al. Metagenomic analysis of the human distal gut microbiome [J]. Science, 2006, 312(5778):1355-1359.
- [14] BOLNICK D I, SNOWBERG L K, HIRSCH P E, et al. Individuals' diet diversity influences gut microbial diversity in two freshwater fish (threespine stickleback and Eurasian perch) [J]. Ecol Lett, 2014, 17(8):979-987.
- [15] MIYAKE S, NGUGI D K, STINGL U. Diet strongly influences the gut microbiota of surgeonfishes [J]. Mol Ecol, 2015, 24(3):656-672.
- [16] WONG S, RAWLS J F. Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and environment [J]. Mol Ecol, 2012, 21(13):3100-3102.
- [17] SULLAM K E, ESSINGER S D, LOZUPONE C A, et al. Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis [J]. Mol Ecol, 2012, 21(13):3363-3378.
- [18] ZHANG C, ZHANG M, PANG X, et al. Structural resilience of the gut microbiota in adult mice under high-fat dietary perturbations [J]. ISME J, 2012, 6(10):1848-1857.
- [19] DANIEL H, GHOLAMI A M, BERRY D, et al. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice [J]. ISME J, 2014, 8(2):295-308.
- [20] LECOMTE V, KAAKOUSH N O, MALONEY C A, et al. Changes in gut microbiota in rats fed a high fat diet correlate with obesity-associated metabolic parameters [J]. PLoS One, 2015, 10(5):e0126931.
- [21] SHADE A, HANDELSMAN J. Beyond the Venn diagram: the hunt for a core microbiome [J]. Environ Microbiol, 2012, 14(1):4-12.
- [22] ZHU L, BAKER S S, GILL C, et al. Characterization of gut microbiomes in nonalcoholic steatohepatitis (NASH) patients: a connection between endogenous alcohol and NASH [J]. Hepatology, 2013, 57(2):601-609.

Effects of high-fat-high-carbohydrate diet on liver and composition of gut microbiota in blunt snout bream

LIU Han WU Yunqian LI Huifeng WANG Weimin

College of Fisheries/Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract To explore the effects of high-fat-high-carbohydrate diet on the liver and composition of gut microbiota in blunt snout bream, the histology method and meta-analysis of 16S rRNA gene sequencing was conducted in this study. The blunt snout bream hepatocytes appeared to be disordered in orientation, nuclear migration and vacuolization after feeding with high-fat-high-carbohydrate diet for eight weeks. A total of 175 820 quality-filtered sequences and 588 OTUs (operational taxonomic units) from six 16S rRNA libraries were obtained. The most abundant taxa (top 4) of bacteria at phylum level in both the control and experimental group (high-fat-high-carbohydrate diet) were Fusobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes and Proteobacteria. Among these bacteria, the relative abundance of Fusobacteria and Proteobacteria were higher, while the relative abundance of Firmicutes and Bacteroidetes were lower in the experimental group than that in control group. At the genus level, the relative abundance of the main microbiome in the two groups was different. The *Clostridium*, *Romboutsia* and *Macellibacteroides* in the experimental group were two, six and two-fold of the control group, respectively, while the *Porphyromonadaceae* and *Aeromonas* were lower in the experimental group. Analysis of unique and shared bacterial flora showed that the control and experimental group shared 82 OTUs. Twenty six OTUs were unique in the experimental group and the most abundant phyla of the unique OTUs were Proteobacteria (57.69%), Acidobacteria (11.54%) and Firmicutes (11.54%). Collectively, these results indicated that high-fat-high-carbohydrate diet fed for certain days could induce serious injury in the liver tissue of blunt snout bream, influence the composition of gut microbiota, and cause imbalance of intestinal flora, which would be bad for the health of their host.

Keywords blunt snout bream; high-fat-high-carbohydrate diet; tissue injury; high-throughput sequencing; gut microbiome

(责任编辑:边书京)