

宏基因组在动物肠道微生物中的应用研究进展

余欢^{1,2}, 李辉^{1,2*}

(1. 贵州大学高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室, 贵州贵阳 550025; 2. 贵州大学动物科学学院, 贵州贵阳 550025)

摘要 肠道微生物与机体之间始终保持着一种动态平衡的关系, 它们不仅在机体的消化吸收方面发挥作用, 而且在机体免疫、营养物质代谢等方面起着重要调节作用。近年来, 随着宏基因组研究的快速发展, 人们利用宏基因组在动物肠道菌群上进行了广泛研究, 肠道微生物菌群结构及其在生理代谢途径中发挥的作用在此基础上得到了更全面的认识。综述宏基因组在肠道微生物方面的研究进展, 旨在为动物生产相关领域的研究提供参考。

关键词 宏基因组; 肠道微生物; 全基因组测序; 16S rRNA

中图分类号 S852.6 **文献标识码** A

文章编号 0517-6611(2022)01-0018-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2022.01.005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Research Progress in the Application of Metagenomics in Animal Gut Microbes

YU Huan^{1,2}, LI Hui^{1,2} (1. Key Laboratory of Plateau Mountain Animal Genetics, Breeding and Propagation, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025; 2. College of Animal Science, Guizhou University, Guiyang, Guizhou 550025)

Abstract There is always a dynamic balance between intestinal microorganisms and the body. They not only play a role in digestion and absorption, but also play an important regulatory role in immunity, nutrient metabolism and other aspects of the body. In recent years, with the rapid development of the research on metagenomes, people have conducted extensive researches on the intestinal flora of animals by using metagenomes, on the basis of which the structure of intestinal microflora and the role they play in physiological metabolic pathways have been more comprehensively understood. Review the research progress of metagenomics in intestinal microorganisms, aiming to provide reference for the research in the field of animal production.

Key words Metagenomics; Intestinal microorganisms; Whole genome sequencing; 16S rRNA

微生物广泛存在于自然界中, 肠道微生物在动物机体整个生长发育过程中发挥着重要作用, 其最重要的代谢功能就是对动物自身不能利用的碳水化合物进行酵解, 提高养分的利用率, 从而满足机体的生长及繁殖。机体对难以消化的糖类如麦芽糊精等的利用就是通过肠道微生物的作用实现的^[1]。除此之外, 肠道内的微生物菌群在机体的生理、免疫和营养状况等方面也发挥着作用^[2]。相较于传统的微生物分离培养技术, 用宏基因组学技术研究肠道微生物, 不仅大大提升了人们对肠道微生物的了解, 而且能够更快速、客观、全面地检测菌群种类与结构组成。因而, 越来越多的学者采用宏基因组的方法进行肠道微生物的研究。

肠道微生物有着数目庞大、种群繁多、分类复杂的显著特点。采用宏基因组的手段对肠道微生物进行研究能够更全面地认识动物微生物群的种类和结构功能, 探索饲料的变化与动物肠道微生物之间的关系, 能够更客观全面地认识动物的消化机理, 在预防与治疗肠道疾病或者与微生物菌群变化有关的疾病时提供相应的理论支持等。

1 宏基因组的概念

宏基因组学(metagenomics)是以特定环境里包含的所有微生物的基因为研究对象, 把微生物菌群的数量结构及功能和外部环境存在的关系作为研究目的的一种微生物研究手段。Handelsman 等^[3]在 1998 年把宏基因组解释为: 环境中

一切微生物的总和, 包括特定环境中可培养与不可培养的所有微生物基因, 主要为特定环境中真菌和细菌基因组的总和。

2 宏基因组技术

宏基因组技术流程主要有 4 个步骤: ①特定环境中样品基因的富集处理; ②提取样品中的 DNA; ③宏基因组文库的构建与筛选; ④目的克隆基因的检测。其中宏基因组文库的构建与筛选是技术流程的关键点。宏基因组文库的构建就是在分子克隆原理和技术的基础上, 通过原位裂解法或异位裂解法尽可能多地提取出样品中全部的 DNA, 为了获得完整的目的基因或者基因簇, 在对样品 DNA 进行提取时保持较大片段的完整性^[4]。文库的筛选包括: ①基于功能筛选, 就是根据克隆产生的新生物, 对其进行活性的筛选。Tyson 等^[5]在研究小鼠的肠道微生物时筛选出了一种新的非培养微生物基因, 基于此试验, β -葡聚糖酶的活性克隆被发现。②基于序列筛选, 是对已知功能的基因进行探针设计或者 PCR 引物设计, 然后对该基因进行杂交或者 PCR 扩增筛选阳性克隆。③化合物结构筛选, 是在宿主细胞进行转入以及未转入外源基因或发酵液、提取液的色谱图比较的基础上进行筛选。④底物诱导基因表达筛选, 是在底物诱导克隆子分解代谢基因的基础上进行筛选^[6]。

3 宏基因组测序方法

宏基因组样本测序方法包括全基因组测序(*de novo* 测序)和扩增子测序, 其中全基因组测序是基于由高通量测序技术提取环境样品微生物 DNA 片段的序列信息, 从而评估肠道菌群的组成以及功能^[7], 主要用于基因识别、基因代谢通路分析、环境分类分析等^[8], 它在研究微生物分子进化、基

基金项目 贵州省科技支撑计划项目(黔科合支撑[2019]2285号); 贵州省地方家禽产业联合攻关项目(黔财农[2020]175号)。

作者简介 余欢(1996—), 女, 四川自贡人, 硕士研究生, 研究方向: 动物遗传育种与繁殖。* 通信作者, 教授, 博士, 从事种质资源保护与利用研究。

收稿日期 2021-04-11

因组成、基因调控等方面有着重要意义。扩增子测序或称标签序列,是对一些在进化中有着高保守、短序列的基因序列进行微生物群落多样性的系统发育关系等方面的分析^[9]。扩增子测序主要采用的是 16S rRNA 基因序列^[10],选择 16S rRNA 一方面因为它在细菌 RNA 中占比 80%以上,另一方面因为与 16S rRNA 相比,5S rRNA 有较短的序列,23S rRNA 有较快的碱基突变率,其中 18S rRNA 是 16S rRNA 在真核生物中的同源体。

4 肠道微生物的功能

肠道微生物中的细菌数量超过 99%,严格厌氧菌高达 97%,只有 3%是需氧菌。肠道微生物参与维持胃肠道微生态动态平衡,调节宿主的能量储存与代谢^[11],激活肠道免疫系统与机体相互作用^[12],参与多个代谢途径的调控,它们不仅在消化、免疫、机体发育等方面起着重要作用,而且在肠道功能和屏障完整性的维持以及繁殖性状的表现等方面发挥着相应功能^[13],因而被称为动物的“第二基因组”。

肠道微生物在不同个体之间的群落组成不同,即使是同一个体,不同部位的组成也略有差异。饮食、环境、年龄、遗传等因素都对肠道微生物群落结构有着或多或少的影响。研究发现,人类肠道微生物菌群结构与饮食习惯有很大关系,饮食以碳水化合物为主发现含有较多的普氏杆菌属,而以高蛋白、高脂肪食物为主发现以拟杆菌属为主^[14-15]。机体通过自身的适应性应答或疾病等方式对环境的改变做出回应,与此同时,肠道内的微生物菌群也会做出相应的变化,用以完成机体对环境的适应性调节^[16]。研究表明,随着年龄的增长,肠道微生物的变化呈现出一定的规律,比如厌氧菌含量呈现出一定量的增加,而双歧杆菌、乳杆菌和拟杆菌等含量相对减少^[17-18]。由肠道微生物产生的短链脂肪酸(SCFAs)参与着机体的免疫调节和自身免疫炎症过程^[19],其途径主要是激活 G 蛋白偶联受体以及抑制组蛋白去乙酰化酶^[20];SCFAs 通过为肠黏膜细胞提供能量,促进细胞的生长以及代谢,通过降低肠道内环境的 pH 来减少有害菌,从而维持肠道功能的稳定^[21-22]。胆汁酸可以促进肠道对脂质和维生素的消化吸收,在机体免疫方面发挥作用,肠道微生物可以促进初级胆汁酸转变为次级胆汁酸,进而对体内胆汁酸含量进行调控^[23]。

近年来,肠道微生物与一些常见疾病之间的研究也在进行中。研究发现,肠道菌群结构紊乱与儿童孤独症有关^[24];帕金森病的发病^[25]伴随着肠道微生物群失调;肠道微生物的变化可以 IBD 的治疗起到反馈作用^[26];肠道微生物还与肥胖的治疗、II 型糖尿病的治疗、癌症的治疗等有着重要关系^[27-29]。这些研究表明,肠道微生物菌群的数量与结构对诊断和治疗疾病有重要作用。

肠道微生物在肠道甚至整个机体上都起着重要作用,因而了解其群落构成以及功能显得尤为重要。早期研究肠道微生物的方法是微生物培养,传统研究是对其进行体外培养,然后对其结构和功能进行研究。然而,只有 1%的微生物能够进行常规分离培养,局限性非常大,能够进行体外

培养的微生物只占微生物总量的很少一部分。在宏基因组手段的帮助下,避开对微生物菌种进行纯培养的障碍,直接从自然界获取遗传信息、活性物质和功能基因,技术上比用纯分离培养法有了很大的进步,大大缩短了时间,能够更清晰地认识微生物的结构和功能,拓宽了微生物资源的利用空间。

在肠道微生物基因集构建方面,从 2010 年起人、鼠和猪的肠道微生物参考基因集就已经被构建出来^[30-33]。近年关于鸡的肠道微生物基因集构建有了重大进展,张艳^[34]获得了鸡的十二指肠、空肠、回肠、盲肠、结直肠等的首个肠道微生物宏基因组,并对相关基因序列进行了功能注释。王恒超^[35]构建了第一个完善的鸡肠道微生物的基因集。人类及部分动物的肠道微生物基因集的构建,能够帮助人们定位微生物、监测人类及动物的健康状态,在疾病的治疗方面也可以发挥重要作用。

5 宏基因组在动物肠道微生物的应用研究

动物的品种、生长阶段、饲料、肠道段落等与肠道微生物多样性的变化都有关联。Yang 等^[36]研究发现,动物品种与肠道微生物区系组成有关,不同猪种的肠道微生物组成也不相同。Kim 等^[37]研究发现,动物不同生长阶段的肠道微生物组成也各不相同。张辉等^[38]通过对不同处理组中梅花鹿的瘤胃液样品进行宏基因组测序,结果显示,饲喂粗纤维较多的玉米秸叶,优势菌群为能降解纤维的瘤胃球菌属和纤维杆菌属;饲喂含碳水化合物较多的柞树叶时,普雷沃菌属等为优势菌群,表明饲喂柞树叶更能促进新陈代谢,更适合东北梅花鹿营养需求以及瘤胃微生物的繁殖和生长。温康等^[39]通过对朗德鹅的肠道微生物进行 16S rRNA 测序,发现填饲组朗德鹅的空肠和回肠中的厚壁菌门以及放线菌门的相对丰度明显增加,其中放线菌门数量的增加可能和鹅肥肝不发病变有关系。Danzeisen 等^[40]研究发现,在日粮中添加莫能霉素可减少鸡回肠中氏菌属(*Roseburia*)、乳酸菌属(*Lactobacillus*)、肠球菌属(*Enterococcus*),增加粪球菌属(*Coprococcus*)、还原菌属(*Anaerofilum*)以及硫酸盐,在同时添加威里霉素或泰乐菌素的对照组中,出现大量埃希氏菌属(*Escherichia coli*)。谭振^[41]证实在饲料效率存在差异的情况下,相同猪种的粪便及肠道各段微生物之间存在差异,回肠中的优势菌属是厌氧杆菌属(*Anaerobacter*)和 *Turicibacter*,而在结肠中普氏菌属(*Prevotalla*)、颤杆菌克(*Oscillibacter*)和琥珀酸弧菌属(*Succinivibrio*)则相对更加富集,表明高低饲料效率组在盲肠位置上差异的通路主要与丙酮酸相关代谢途径有关,结肠微生物差异与多个参与到辅酶因子和维生素代谢有关。

通过对肠道微生物菌群的变化进行测定,可以探究不同饲料对动物生长发育的影响。张孟阳等^[42]用 16S rRNA 测序手段对海兰褐蛋仔鸡进行分析,得出结论如下:发酵饲料可使仔鸡肠道脱硫菌属的相对丰度降低,在肠道疾病方面起到预防的作用;厚壁菌门的相对丰度增加可促进仔鸡生长发育。

同种动物在不同环境中长大,其肠道微生物菌群也不相

同;相同环境下,对动物采取不一样的处理其肠道微生物菌群也不一样。在宏基因组的帮助下,可以对菌群的变化进行直观分析,判断这些改变是否对动物有益、能否在生产实践上进行利用。在常规环境下长大的新西兰兔肠道微生物多样性显著高于同一批成长于 SPF (specific pathogen free) 环境下的新西兰兔,其中常规环境组的厚壁菌门显著高于 SPF 组,由厚壁菌门产生的 SCFAs 会对其免疫力起到增强作用^[43]。对新西兰白兔采取禁食软粪的措施,会影响到其肠道发育以及肠道微生物的多样性,这可能与拟杆菌属的增加以及瘤胃球菌属减少有关,此外还发现了颤杆菌克 (*Oscillibacter*) 与 *Akkermansia* 菌属可能对新西兰兔的体重和脂质代谢有调节作用^[44]。通过对不同饲养环境下的黑叶猴肠道菌群进行研究,发现厚壁菌门和拟杆菌门能够在纤维物质消化方面起作用,梭菌属、普雷沃氏菌属在分解纤维素以及碳水化合物的降解方面起到重要作用^[45]。这些研究表明了肠道微生物的变化受到多种因素的影响,对肠道微生物的菌群进行调节不仅可以预防疾病的发生还可以对动物的生长发育进行有效调节,以此满足生产生活的需求。

6 小结

动物肠道内栖居着丰富的微生物菌群,它们和肠道环境保持着动态平衡,形成一个相对稳定的肠道微生态系统,肠道微生物对宿主的生长和发育发挥着重要作用,影响着机体的健康。目前,肠道微生物菌群的调控已经逐渐应用于人类疾病的预防和治疗。但是,关于通过调控肠道微生物来影响动物生产方面的研究鲜有报道,在今后的研究中可以把肠道微生物菌群的结构和功能与动物的生产实践相联系,以期开发出新的畜禽饲料,预防畜禽的疾病,促进畜禽的健康养殖,减少因疾病引起的损失等。因此,用宏基因组的方法研究这些菌群有着非常重要的实践意义。

参考文献

- [1] UKHANOVA M, CULPEPPER T, BAER D, et al. Gut microbiota correlates with energy gain from dietary fibre and appears to be associated with acute and chronic intestinal diseases[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2012, 18: 62–66.
- [2] HOOPER L V, BRY L, FALK P G, et al. Host-microbial symbiosis in the mammalian intestine: Exploring an internal ecosystem[J]. *BioEssays*, 1998, 20(4): 336–343.
- [3] HANDELSMAN J, RONDON M R, BRADY S F, et al. Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: A new frontier for natural products[J]. *Chem Biol*, 1998, 5(10): R245–R249.
- [4] 张辉, 崔焕忠. 宏基因组学及其研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2010, 37(3): 87–90.
- [5] TYSON G W, CHAPMAN J, HUGENHOLTZ P, et al. Community structure and metabolism through reconstruction of microbial genomes from the environment[J]. *Nature*, 2004, 428(6978): 37–43.
- [6] UCHIYAMA T, ABE T, IKEMURA T, et al. Substrate-induced gene-expression screening of environmental metagenome libraries for isolation of catabolic genes[J]. *Nat Biotechnol*, 2005, 23(1): 88–93.
- [7] 刘冲. 基于主动学习的肠道微生物组数据分析方法研究[D]. 武汉: 华中师范大学, 2020: 1–21.
- [8] 罗幸. 宏基因组分类分析方法和应用[D]. 南京: 东南大学, 2015: 3–6.
- [9] CHANG Q, LUAN Y H, CHEN T, et al. Computational methods for the analysis of tag sequences in metagenomics studies[J]. *Front Biosci Scholar Ed*, 2012, 4: 1333–1343.
- [10] 叶丹丹, 樊萌萌, 关琼, 等. 宏基因组研究的生物信息学平台现状[J]. *动物学研究*, 2012, 33(6): 574–585.
- [11] VRIEZE A, HOLLEMAN F, ZOETENDAL E G, et al. The environment within: How gut microbiota may influence metabolism and body composition[J]. *Diabetologia*, 2010, 53(4): 606–613.
- [12] GARCÍA-LÓPEZ R, PÉREZ-BROCAL V, DIEZ-DOMINGO J, et al. Gut microbiota in children vaccinated with Rotavirus vaccine[J]. *Pediatr Infect Dis J*, 2012, 31(12): 1300–1302.
- [13] QIAO Y, SUN J, XIA S F, et al. Effects of resveratrol on gut microbiota and fat storage in a mouse model with high-fat-induced obesity[J]. *Food Funct*, 2014, 5(6): 1241–1249.
- [14] WU G D, CHEN J, HOFFMANN C, et al. Linking long-term dietary patterns with gut microbial enterotypes[J]. *Science*, 2011, 334(6052): 105–108.
- [15] KHAN T J, AHMED Y M, ZAMZAMI M A, et al. Effect of atorvastatin on the gut microbiota of high fat diet-induced hypercholesterolemic rats[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 1129–1137.
- [16] PHILLIPS M L. Gut reaction: Environmental effects on the human microbiota[J]. *Environ Heal Perspect*, 2009, 117(5): A198–A205.
- [17] 郭士. 应用焦磷酸测序技术对不人群肠道微生物群落结构的研究[D]. 无锡: 江南大学, 2013: 12–32.
- [18] PALMER C, BIK E M, DIGIULIO D B, et al. Development of the human infant intestinal microbiota[J]. *PLoS Biol*, 2007, 5(7): 1556–1573.
- [19] YAMAMURA R, NAKAMURA K, KITADA N, et al. Associations of gut microbiota, dietary intake, and serum short-chain fatty acids with fecal short-chain fatty acids[J]. *Biosci Microbiota Food Heal*, 2020, 39(1): 11–17.
- [20] 王佳, 张升校, 郝育飞, 等. 短链脂肪酸在免疫调节和免疫相关性疾病中的作用[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2019, 13(1): 81–85.
- [21] ZHENG N, GAO Y N, ZHU W S, et al. Short chain fatty acids produced by colonizing intestinal commensal bacterial interaction with expressed breast milk are anti-inflammatory in human immature enterocytes[J]. *PLoS One*, 2020, 15(2): 1–15.
- [22] ZHOU J, TANG L L, WANG J C, et al. Aflatoxin B1 disrupts gut-microbial metabolisms of short-chain fatty acids, long-chain fatty acids, and bile acids in male F344 rats[J]. *Toxicol Sci*, 2018, 164(2): 453–464.
- [23] NIE Y F, HU J, YAN X H. Cross-talk between bile acids and intestinal microbiota in host metabolism and health[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2015, 16(6): 436–446.
- [24] KANG D W, PARK G P, ILHAN Z E, et al. Reduced incidence of *Prevotella* and other fermenters in intestinal microflora of autistic children[J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): 1–14.
- [25] HILL-BURNS E M, DEBELIUS J W, MORTON J T, et al. Parkinson's disease and Parkinson's disease medications have distinct signatures of the gut microbiome[J]. *Mov Disord*, 2017, 32(5): 739–749.
- [26] ANANTHAKRISHNAN A N, LUO C W, YAJNIK V, et al. Gut microbiome function predicts response to anti-integrin biologic therapy in inflammatory bowel diseases[J]. *Cell Host Microbe*, 2017, 21(5): 603–610.
- [27] CASTANER O, GODAY A, PARK Y M, et al. The gut microbiome profile in obesity: A systematic review[J]. *Int J Endocrinol*, 2018, 2018: 1–9.
- [28] ZHANG Q, YU H Y, XIAO X H, et al. Inulin-type fructan improves diathetic phenotype and gut microbiota profiles in rats[J]. *Peer J*, 2018, 6: 1–24.
- [29] GOPALAKRISHNAN V, HELMINK B A, SPENCER C N, et al. The influence of the gut microbiome on cancer, immunity, and cancer immunotherapy[J]. *Cancer Cell*, 2018, 33(4): 570–580.
- [30] QIN J J, LI R Q, RAES J, et al. A human gut microbial gene catalogue established by metagenomic sequencing[J]. *Nature*, 2010, 464(7285): 59–65.
- [31] XIAO L, ESTELLÉ J, KIILERICH P, et al. A reference gene catalogue of the pig gut microbiome[J]. *J Microbiol*, 2016, 1(12): 179–184.
- [32] XIAO L, FENG Q, LIANG S S, et al. A catalog of the mouse gut metagenome[J]. *Nat Biotechnol*, 2015, 33(10): 1103–1108.
- [33] LI J H, JIA H J, CAI X H, et al. An integrated catalog of reference genes in the human gut microbiome[J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(8): 834–841.
- [34] 张艳. 鸡肠道微生物的群落结构和功能基因与鸡的健康养殖[D]. 北京: 中国农业科学院, 2018: 45–46.
- [35] 王恒超. 宏基因组基因集构建方法及其应用研究[D]. 北京: 中国农业科学院, 2019: 7–42.
- [36] YANG L N, BIAN G R, SU Y, et al. Comparison of faecal microbial community of Lantang, Bama, Erhualian, Meishan, Xiaomeishan, Duroc, Landrace, and Yorkshire sows[J]. *Asian Australas J Anim Sci*, 2014, 27(6): 898–906.

- [28] 符勇. 高分辨率星载 SAR 在高原山地烟草产量估测中的应用研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2015.
- [29] 刘国顺, 李向阳, 刘大双, 等. 利用冠层光谱估测烟草叶面积指数和地上生物量[J]. 生态学报, 2007, 27(5): 1763-1771.
- [30] 黄智. 不同种质资源烟草高光谱特征与色素含量关系研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2015.
- [31] 邢雪霞, 刘国顺, 贾方方, 等. 烤烟叶片色素含量的高光谱预测模型研究[J]. 中国烟草学报, 2014, 20(1): 54-60.
- [32] 杨艳东, 贾方方, 刘国顺, 等. 基于多时相和多角度的烤烟烟碱密度遥感监测[J]. 中国烟草学报, 2019, 25(2): 40-47.
- [33] 窦玉青. 基于高光谱技术的烟草含氮化合物估测模型研究[D]. 泰安: 山东农业大学, 2016.
- [34] 赵文, 刘国顺, 贾方方, 等. 烤烟烟碱含量的高光谱预测模型[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 275-279.
- [35] 李俊丽. 不同氮素水平对烤烟高光谱特性及其生理生化指标的影响[D]. 郑州: 河南农业大学, 2013.
- [36] 李富欣, 张利红, 徐敏. 基于 GIS 的河南省烤烟移栽面积遥感监测及产量估算[J]. 江西农业学报, 2014, 26(7): 76-79, 83.
- [37] 郭婷. 不同钾水平和成熟度烟草高光谱特征及其品质估测模型研究[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2019.
- [38] 梁寅. 基于高光谱遥感的云烟 87 采收成熟度识别研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2013.
- [39] 胡九超. 基于高分辨率合成孔径雷达(SAR)的高原山区烟草识别方法研究[D]. 贵阳: 贵州师范大学, 2015.
- [40] 黄健熙, 黄海, 马鸿元, 等. 遥感与作物生长模型数据同化应用综述[J]. 农业工程学报, 2018, 34(21): 144-156.
- [41] JIN M, LIU X N, WU L, et al. An improved assimilation method with stress factors incorporated in the WOFOST model for the efficient assessment of heavy metal stress levels in rice[J]. International journal of applied earth observations and geoinformation, 2015, 41: 118-129.
- [42] DENTE L, SATALINO G, MATTIA F, et al. Assimilation of leaf area index derived from ASAR and MERIS data into CERES-Wheat model to map wheat yield[J]. Remote sensing of environment, 2008, 112(4): 1395-1407.
- [43] 陈劲松, 黄健熙, 林琛, 等. 基于遥感信息和作物生长模型同化的水稻估产方法研究[J]. 中国科学: 信息科学, 2010, 40(S1): 173-183.
- [44] JIN H A, LI A N, WANG J D, et al. Improvement of spatially and temporally continuous crop leaf area index by integration of CERES-Maize model and MODIS data[J]. European journal of agronomy, 2016, 78: 1-12.
- [45] 朱元勋, 朱艳, 黄彦, 等. 应用粒子群算法的遥感信息与水稻生长模型同化技术[J]. 遥感学报, 2010, 14(6): 1226-1240.
- [46] LIU F, LIU X N, DING C, et al. The dynamic simulation of rice growth parameters under cadmium stress with the assimilation of multi-period spectral indices and crop model[J]. Field crops research, 2015, 183: 225-234.
- [47] VAZIFEDOUST M, VAN DAM J C, BASTIAANSEN W G M, et al. Assimilation of satellite data into agrohydrological models to improve crop yield forecasts[J]. International journal of remote sensing, 2009, 30(10): 2523-2545.
- [48] 陈浩, 樊风雷. 基于集合卡尔曼滤波的南雄烟草 LAI 数据同化研究[J]. 生态学报, 2017, 37(9): 3046-3054.
- [49] 张树誉, 孙辉涛, 王鹏新, 等. 基于同化叶面积指数和条件植被温度指数的冬小麦单产估测[J]. 干旱地区农业研究, 2017, 35(6): 266-271, 293.
- [50] 徐光耀, 熊淑萍, 张慧, 等. 烤烟地上部器官形态建成模拟模型[J]. 河南农业大学学报, 2011, 45(4): 395-401.
- [51] 招启柏, 廖文程, 孔光辉, 等. 移栽期对烤烟叶片生长动态的影响及其模型的建立[J]. 中国烟草学报, 2013, 19(4): 41-47, 54.
- [52] 孙延国, 梁晓芳, 许倩, 等. 移栽期对 NC55 叶片发生进程模拟模型建立[J]. 中国烟草科学, 2016, 37(2): 47-53.
- [53] 王发勇. 优质烟叶生育进程与形态指标研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2016.
- [54] ZHANG Y H, TANG L, LIU X J, et al. Modeling dynamics of leaf color based on RGB value in rice[J]. Journal of integrative agriculture, 2014, 13(4): 749-759.
- [55] WU J, YANG S X, TIAN F C. A novel intelligent control system for flue-curing barns based on real-time image features[J]. Biosystems engineering, 2014, 123: 77-90.
- [56] WANG L T, CHENG B, LI Z Z, et al. Intelligent tobacco flue-curing method based on leaf texture feature analysis[J]. Optik, 2017, 150: 117-130.
- [57] 王芸芸, 温维亮, 郭新宇, 等. 烟草花几何建模研究[J]. 农业机械学报, 2011, 42(4): 163-167, 173.
- [58] 王芸芸, 温维亮, 郭新宇, 等. 基于分形系统的烟草花序可视化仿真研究[J]. 农机化研究, 2011, 33(8): 51-54, 58.
- [59] 马新明, 杨娟, 熊淑萍, 等. 烟草根系形态发育模拟模型[J]. 中国农业科学, 2005, 38(12): 2421-2427.
- [60] 杨娟. 烟草根系生长发育动态模拟模型及其可视化研究[D]. 郑州: 河南农业大学, 2004.
- [61] 席磊, 冀亚丽, 汪强, 等. 烟草根系生长的三维模拟仿真[J]. 微电子学与计算机, 2010, 27(4): 106-110.
- [62] LI T, RAJAGOPLAN U M, KADONO H. Fractal based complexity analysis of wheat root system under different heavy metals[J]. Plant biotechnology, 2019, 36(2): 77-84.
- [63] 张吴平, 郭焱, 李保国. 小麦苗期根系三维生长动态模型的建立与应用[J]. 中国农业科学, 2006, 39(11): 2261-2269.
- [64] 康孟珍. 植物功能结构模型研究的回顾与展望[J]. 系统仿真学报, 2012, 24(10): 2039-2048.
- [65] SHI T X, MA Y T, WU J, et al. Quantification of light absorption and photosynthesis of tobacco canopy using 3-D modeling[C]//Proceedings of 2012 IEEE 4th International symposium on Plant Modeling, Simulation, Visualization and Applications [PMA 2012]. Beijing: Institute of Electrical and Electronics Engineers, Inc, 2012.
- [66] 徐照丽, 孙艳, 吴茜, 等. 烟草功能-结构模型 GreenLab-Tobacco 的构建[J]. 中国烟草学报, 2016, 22(3): 52-59.
- [67] 孟天瑶, 葛佳琳, 张徐彬, 等. 甬优中熟粳籼杂交稻栽后植株磷素积累特征与模型分析[J]. 中国水稻科学, 2020, 34(3): 256-265.
- [68] 张超. 基于高光谱数据与 SAFY-FAO 作物模型同化的冬小麦生长监测与模拟研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2018.
- [69] 邢会敏, 相诗尧, 徐新刚, 等. 基于 EFASST 方法的 AquaCrop 作物模型参数全局敏感性分析[J]. 中国农业科学, 2017, 50(1): 64-76.
- [70] JABLON M, LI X X, ZHANG X Y, et al. Sensitivity of simulated crop yield and nitrate leaching of the wheat-maize cropping system in the North China Plain to model parameters[J]. Agricultural and forest meteorology, 2018, 263: 25-40.
- [71] TAN J W, DUAN Q Y. Parameter estimation and uncertainty analysis of ORYZA_V3 model using the GLUE method[J]. Transactions of the ASABE, 2019, 62(4): 941-949.
- [72] PAULUS S, SCHUMANN H, KUHLMANN H, et al. High-precision laser scanning system for capturing 3D plant architecture and analysing growth of cereal plants[J]. Biosystems engineering, 2014, 121: 1-11.
- [73] 张加楠, 张雪芬, 简萌, 等. 先验阈值优化卷积神经网络的作物覆盖度提取算法[J]. 信号处理, 2017, 33(9): 1230-1238.

(上接第 20 页)

- [37] KIM J, NGUYEN S G, GUEVARRA R B, et al. Analysis of swine fecal microbiota at various growth stages[J]. Arch Microbiol, 2015, 197(6): 753-759.
- [38] 张辉, 从立新, 魏国, 等. 不同纤维源日粮下东北梅花鹿瘤胃微生物功能基因的宏基因组分析[J]. 中国兽医学报, 2020, 40(7): 1391-1396.
- [39] 温康. 鹅肠道菌群的宏基因组学分析及其与肥肝形成关系的研究[D]. 扬州: 扬州大学, 2019: 50-71.
- [40] DANZEISEN J L, KIM H B, ISAACSON R E, et al. Modulations of the chicken cecal microbiome and metagenome in response to anticoccidial and growth promoter treatment[J]. PLoS One, 2011, 6(11): 1-14.
- [41] 谭振. 不同饲料利用效率的长白猪肠道微生物宏基因组学和肠黏膜转录组学研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2018: 25-62.
- [42] 张孟阳, 毕付提, 李洁, 等. 发酵饲料对仔鸡肠道微生物群落多样性影响[J]. 中国家禽, 2019, 41(13): 30-36.
- [43] 赵玉晓. 新西兰兔在 SPF 与常规饲养环境下盲肠转录组与代谢组以及微生物菌群的比较[D]. 泰安: 山东农业大学, 2020: 25-41.
- [44] 许会芬, 黄涛, 王亚东, 等. 禁食软粪对新西兰白兔肠道指标及盲肠微生物的影响[C]//中国畜牧兽医学学会养兔学分会. 中国畜牧兽医学学会养兔学分会第二届学术交流会论文集. 北京: 中国畜牧兽医学学会, 2018.
- [45] 段春慧, 王兴金, 李婉萍, 等. 基于宏基因组学研究分析黑叶猴肠道微生物的多样性[J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(7): 1-4, 134.