

DOI: 10.20103/j.stxb.202406241463

马艳林,倪华,黄翔辉,王佳,杨林,王玉涛.不同季节帕米尔盘羊肠道微生物群落结构解析.生态学报,2025,45(12):6056-6066.

Ma Y L, Ni H, Huang X H, Wang J, Yang L, Wang Y T. Analysis of the gut microbiota community structure of *Ovis ammon polii* in different seasons. Acta Ecologica Sinica, 2025, 45(12): 6056-6066.

不同季节帕米尔盘羊肠道微生物群落结构解析

马艳林,倪华,黄翔辉,王佳,杨林,王玉涛*

喀什大学生命与地理科学学院,新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室,喀什 844000

摘要:帕米尔盘羊(*Ovis ammon polii*)作为濒危物种,目前的研究主要集中在其外部形态特征、地理分布、种群数量、栖息地选择、保护遗传学及其与绵羊的进化关系等方面,而对其肠道微生物生态的研究相对较少。肠道微生物群对动物的营养代谢和健康至关重要。肠道微生物群落是宿主与微生物之间长期共生和共同进化的产物,已成为宿主生理功能的重要组成部分。帕米尔高原位于欧亚大陆的中心,向东延伸至中国新疆西部,气候干旱少雨,冬季植被枯萎,生物量显著减少。研究不同季节条件下帕米尔盘羊肠道微生物群落结构的变化对其健康和营养代谢的作用具有重要意义。利用 16S rRNA 高通量测序技术,分析了不同季节帕米尔盘羊肠道微生物群落的结构。结果显示,不同季节的肠道微生物群落的多样性和组成存在显著差异($P < 0.05$)。帕米尔盘羊在春冬季的肠道微生物群落的 α 多样性指数显著高于夏季($P < 0.05$)。对肠道微生物类群的分析显示,在春季和冬季,厚壁菌门(Firmicutes)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)、UCG-005、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)、Christensenellaceae R-7 群、单球菌属(*Monoglobus*)和瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)的相对丰度显著高于夏季($P < 0.05$)。变形菌门(Proteobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)和杆杆菌属(*Arthrobacter*)的相对丰度在夏季显著高于春季和冬季($P < 0.05$)。从功能基因角度,春冬季组功能基因丰度显著高于夏季组($P < 0.05$),功能基因主要富集在碳水化合物代谢途径中。对不同季节糖苷水解酶的富集差异分析表明,帕米尔盘羊肠道微生物群落中与纤维素降解相关酶的丰度在夏季显著低于春冬季,与淀粉、半乳糖和麦芽糖分解相关酶的丰度在夏季显著高于春冬季。综上所述,帕米尔盘羊的肠道微生物群落的组成、结构和功能表现出显著的季节性变化,以适应冬季漫长的干旱期和食物短缺的压力。这一发现为理解季节因素如何影响帕米尔盘羊的健康和营养代谢提供了新的视角,并为其健康监测和肠道微生物群落特定生理功能的研究奠定了基础。

关键词:帕米尔盘羊;肠道微生物;季节因素;16S rRNA;高通量测序

Analysis of the gut microbiota community structure of *Ovis ammon polii* in different seasons

MA Yanlin, NI Hua, HUANG Xianghui, WANG Jia, YANG Lin, WANG Yutao*

Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, College of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China

Abstract: The *Ovis ammon polii*, an endangered species, has been mainly studied for its external morphological characteristics, geographical distribution, population size, habitat selection, conservation biology, and evolutionary relationship with sheep. However, research on its gut microbial remains relatively limited. The gut microbiota plays a critical role in animal nutrition metabolism and overall health. This microbial community, shaped by long-term symbiosis and co-evolution between the host and microorganisms, has become an essential component of the host's physiological functions. The Pamir Plateau, situated in the heart of the Eurasian continent and extending eastward to the western part of Xinjiang, China, is characterized by an arid climate due to the blocking of moist air currents from the west by high mountains ranges.

基金项目:中国科学院“西部之光”人才培养计划项目(2018-XBQNXZ-A1-002);喀什大学科研创新团队培育计划资助项目

收稿日期:2024-06-24; **网络出版日期:**2025-04-15

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wangyts@163.com

This results in perennial drought and scarce rainfall, particularly in winter when vegetation withers and biomass significantly decreases. Understanding the role of gut microbiota structural changes under different seasonal conditions in the health and nutrition metabolism of *Ovis ammon polii* is therefore of significant importance. In this study, we used high-throughput sequencing of the 16S rRNA gene to analyze the microbial communities in fresh fecal samples of *Ovis ammon polii* collected in April (spring), July (summer), and January (winter) of the following year. The results revealed significant differences in the diversity and composition of gut microbiota among the different seasons ($P < 0.05$). Specifically, the alpha diversity index of the gut microbiota in *Ovis ammon polii* was significantly higher in spring and winter compared to summer ($P < 0.05$). Analysis of the gut microbial taxa showed that in spring and winter, the relative abundance of Firmicutes, Verrucomicrobiota, UCG-005, *Akkermansia*, Christensenellaceae R-7 group, *Monoglobus*, and *Ruminococcus* was significantly higher compared to summer ($P < 0.05$). Conversely, the relative abundance of Proteobacteria, Actinobacteriota, *Acinetobacter*, and *Arthrobacter* was significantly lower compared to summer ($P < 0.05$). Additionally, the functional abundance of gut microbiota in the spring-winter group was significantly higher than that in the summer group ($P < 0.05$), with functional genes primarily enriched in carbohydrate metabolism pathways. Differential analysis of glycoside hydrolase enrichment across seasons indicated that the abundance of enzymes related to plant cellulose degradation in the gut microbiota of *Ovis ammon polii* was significantly lower in summer compared to spring and winter, while the abundance of enzymes related to the degradation of starch, galactose, and maltose was significantly higher in summer compared to spring and winter. In conclusion, the composition, structure, and functional prediction of the gut microbiota in *Ovis ammon polii* vary with seasons to adapt to the long drought period in winter and the pressure of food shortage. These findings provide a novel perspective for understanding how seasonal factors influence the health and nutrition metabolism of *Ovis ammon polii* and lay the foundation for health monitoring of this species and the investigation of the specific physiological functions of its gut microbiota.

Key Words: *Ovis ammon polii*; gut microbiota; seasonal factors; 16S rRNA; high-throughput sequencing

动物胃肠道存在着复杂的微生物群落,称为肠道微生物群落(Gut microbial community)或肠道菌群(Gut microbiota),在动物营养代谢和健康中发挥着重要作用,这一微生物群落是宿主与微生物长期共生和协同演化的结果,已成为宿主生理机能不可或缺的一部分,对宿主的健康、生长和发育具有深远的影响^[1-3]。Levin Doron 等对 184 种动物,其中包含 121 只圈养动物和 285 只野生动物,共 406 个新鲜粪便样本进行宏基因组分析,发现肠道菌群组成与动物的种类、饮食适应性、活动节律、社会结构、寿命和体重相关联^[4]。近期野生哺乳动物肠道微生物组学相关研究表明,肠道微生物群在野生动物的健康、营养和生理方面起着至关重要的作用^[5],并且与宿主之间的相互作用是多维度且双向的^[6]。因此,对濒危野生动物肠道菌群结构动态性变化的解析,可能对阐明其在特殊环境适应性机制方面具有重要作用。

帕米尔盘羊(*Ovis ammon polii*)隶属于哺乳纲、真兽亚纲、偶蹄目、牛科、羊亚科、盘羊属、盘羊种、帕米尔亚种,也叫马可·波罗盘羊,分布于中国及周边 4 个国家(塔吉克斯坦、阿富汗、巴基斯坦、吉尔吉斯斯坦)接壤的帕米尔高原^[7-8],该物种被世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)列为濒危物种红色名录中的近危(Near Threatened)物种^[9],亦是帕米尔高原的旗舰物种。帕米尔高原位于欧亚大陆的中心地带,其东部延伸至中国新疆西部,由于高山阻挡了来自西方的湿润气流,该地区降水量较低,年均降雨量仅 70 mm^[10]。冬季呈现干旱少雨的特点;春季和秋季则短暂且多风,降水量较少,气候大致可分为冷季和暖季^[11-12]。在冷季,由于气候条件的变化,植被枯萎,生物量显著下降,对帕米尔盘羊生存构成了严峻挑战,而帕米尔盘羊对极端恶劣环境的适应性机制尚不清楚,尤其是在环境剧烈变化食物短缺的条件下,其肠道微生物生态结构变化尚未见报道。因此,深入理解不同季节帕米尔盘羊肠道菌群结构变化,对推进珍稀濒危野生动物种群保护具有重要意义。

目前已对帕米尔盘羊的外貌特征、地理分布、种群数量、栖息地的选择与保护以及盘羊与绵羊的进化等方面有深入系统的研究,但对肠道微生物的认识仍然有限,肠道微生物群落的组成和差异可能为揭示盘羊的健康状态和营养需求提供重要线索^[13-18]。本研究收集不同季节的帕米尔盘羊粪便样本,运用高通量测序技术,分析盘羊肠道微生物的组成、多样性及其功能,探究不同季节肠道菌群的变化规律,揭示肠道菌群与季节性变化之间的关联性,以期为帕米尔盘羊的野外生态管理和保护提供理论支持和策略建议。

1 材料与方法

1.1 样本采集和处理

根据帕米尔高原不同季节植物物候特征情况,选择4月(春季)、7月(夏季)、次年1月(冬季)三个不同季节采集盘羊新鲜粪便。采样过程中,清晨先在山下使用望远镜观察盘羊群采食区域,然后步行上山到该区域,使用无菌手套将新鲜的盘羊粪装入50 mL无菌离心管,立即保存在便携冷藏箱中,到山下后立刻放在液氮中保存,带回实验室存于-80℃冰箱备用。各季节分别采集样本12份(春季)、12份(夏季)和13份(冬季)。

1.2 肠道微生物 16S rRNA 扩增子分析

按照 E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit 试剂盒操作说明,提取帕米尔盘羊粪便样本总 DNA,产物经检测质量符合后,进行 DNA 扩增实验。使用通用引物: Nobar-341F: CCTACGGGNGGCWGCAG, Nobar-805R: GACTACHVGGGTATCTAATCC,扩增 16S rRNA 的 V3—V4 高变区。PCR 产物由上海生工生物工程股份有限公司在 illumina 平台进行测序。将得到的 PE reads 按照 overlap 关系进行拼接,划分样本,对序列进行质控和筛选,将优化序列进行 OTU (operational taxonomic unit,操作单元分类)聚类分析和物种分类学分析。基于 OTU 聚类分析结果,对 OTU 进行多样性指数分析,及测序深度的检测;基于分类学信息,在不同分类水平上进行群落结构统计分析,利用 PICRUSt 2 软件比对数据库进行功能预测。

1.3 数据统计与分析方法

使用软件 R 的 VennDiagram、Upset R 包计算绘制 Venn 图,统计不同季节帕米尔盘羊肠道微生物共有的和独有的 OTU 的数目。利用 mothur 做 rarefaction 分析,绘制稀疏曲线,判断所获得的测序数据量是否充足,测序深度是否足以支持后续的生态学分析。所有数据采用 Excel 2016 进行整理,借助 IBM SPSS Statistics 19 软件计算不同季节帕米尔盘羊肠道微生物的 α 多样性指数,包括 Simpson 优势度指数、Chao1 指数、Shannon 均匀度指数。通过主坐标分析(Principal Coordinates Analysis,PCoA)观察帕米尔盘羊肠道微生物在不同季节下的聚类情况。进一步采用相似性分析(Anosim)检验不同季节盘羊肠道微生物的差异显著水平。使用 Origin 2022 软件绘制帕米尔盘羊肠道优势物种在门和属水平上相对丰度柱状图,并通过在线云平台(微科盟生科云 <https://www.bioincloud.tech/>)^[19]对不同季节帕米尔肠道微生物组成相对丰度进行线性判别分析(Linear Discriminant Analysis Effect Size,LEfSe)。借助 SPSS Statistics 19 软件和 Origin 2022 软件对不同季节帕米尔肠道微生物的 Biomarkers 进行单因素方差分析并绘图。最后,根据测序结果结合 PICRUSt2 进行菌群代谢功能预测,在京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes,KEGG)查找基因功能通路和酶 EC 编码对应酶的相关信息,使用 Origin 2022 软件和 SPSS Statistics 19 软件计算和绘制帕米尔盘羊肠道菌群在 KEGG 一级和二级通路的富集信息及不同季节帕米尔盘羊肠道微生物功能基因的丰度差异。

2 结果

2.1 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物测序质量及多样性分析

经 illumina 平台测序,帕米尔盘羊粪便 37 个样品共获得 4491260 条 Raw Data,原始序列经过滤后获得 Clean Data 4151040 条,平均每个样品含有 112190 条,每条序列平均长度为 413 bp。在 OTU 水平上,春、夏、冬 3 组的 Shannon 多样性指数稀疏曲线均已趋于平缓,表明所获得的测序数据量充足,测序深度足以支持后续

的生态学分析(图 1)。基于 97% 的序列相似性阈值,共得到 28301 个 OTU,其中 4758 个共享 OTU,春季特异 OTU 4436 个,夏季特异 OTU 有 3814 个,冬季特异 OTU 11105 个,不同季节帕米尔盘羊肠道微生物特异的 OTU 数目均大于不同季节间共有的 OTU 数目,且冬季独有的 OTU 数目占比最大(图 1)。

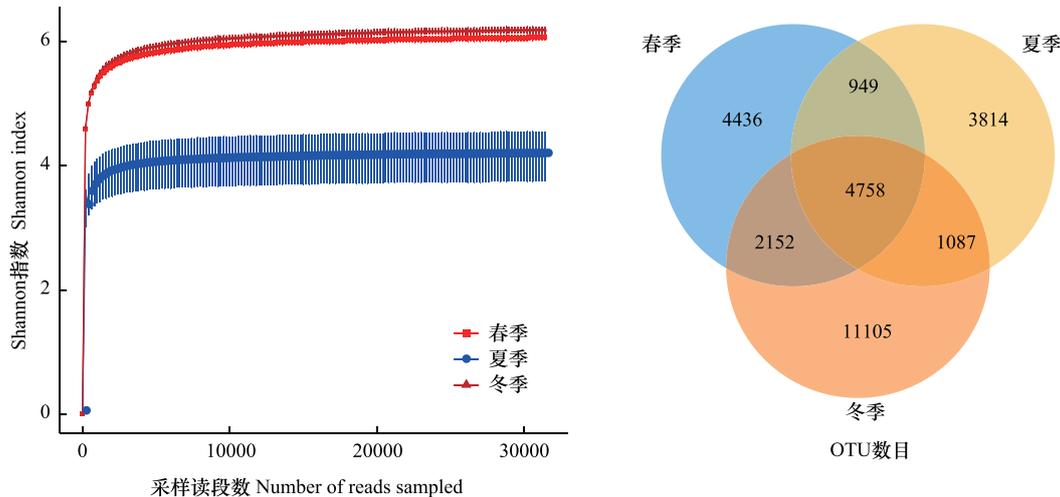


图 1 帕米尔盘羊肠道微生物 Shannon 指数的稀释曲线和 OTU 数的韦恩图

Fig.1 Rarefaction curve of Shannon index and venn diagram of OTU of gut microbiota of *Ovis ammon polii*
OTU:操作单元分类

通过不同季节盘羊肠道微生物 α 多样性指数单因素方差分析显示,春冬季 Simpson 优势度指数显著低于夏季($P < 0.05$),春冬季 Shannon 均匀度指数极显著高于夏季($P < 0.01$),春冬季 Chao1 指数极显著高于夏季($P < 0.01$)。由以上多样性指数比较可知,春冬组盘羊的肠道微生物多样性、丰富度和均一度均比夏季组高。在 OTU 水平上,基于非加权 unifrac 算法分析,PCoA 显示肠道微生物群落整体结构明显分离,结合相似性分析检验,表明在春、夏、冬季帕米尔盘羊肠道微生物组成存在极显著差异(图 2)。

2.2 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物组成与结构分析

基于 16S rRNA 测序结果显示,春季帕米尔盘羊肠道菌群中优势菌门(丰度 $> 1\%$)为:厚壁菌门(Firmicutes)(72.83%)、拟杆菌门(Bacteroidota)(14.41%)、疣微菌门(Verrucomicrobiota)(9.56%)、放线菌门(Actinobacteriota)(1.33%)。夏季帕米尔盘羊粪便菌群中优势菌门为:厚壁菌门(39.29%)、变形菌门(Proteobacteria)(22.03%)、拟杆菌门(18.70%)、放线菌门(16.60%)、疣微菌门(2.01%)。冬季帕米尔盘羊粪便菌群中优势菌门为:厚壁菌门(60.56%)、拟杆菌门(25.81%)、疣微菌门(7.53%)、变形菌门(2.02%)、放线菌门(1.03%)(图 3)。

春季帕米尔盘羊肠道菌群中优势菌属为:UCG-005(11.85%)、阿克曼氏菌属(*Akkermansia*)(8.41%)、Christensenellaceae R-7 group(8.28%)、单球菌属(*Monoglobus*)(5.72%)、Rikenellaceae RC-9 gut group(4.96%)、拟杆菌属(*Bacteroides*)(4.44%)。夏季帕米尔盘羊粪便菌群中优势菌属为:UCG-005(7.76%)、阿克曼氏菌属(1.97%)、Christensenellaceae R-7 group(2.21%)、单球菌属(2.45%)、Rikenellaceae RC-9 gut group(6.66%)、拟杆菌属(4.24%)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)(20.39%)、节杆菌属(*Arthrobacter*)(16.11%)。冬季帕米尔盘羊粪便菌群中优势菌属为:UCG-005(13.53%)、阿克曼氏菌属(6.38%)、Christensenellaceae R-7 group(6.19%)、单球菌属(4.17%)、Rikenellaceae RC-9 gut group(7.81%)、拟杆菌属(5.80%)(图 4)。

2.3 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物差异分析

通过在线云平台进行线性判别分析(LEfSe, LDA score > 4)输出 Marker LDA 条形图显示,不同季节帕米尔盘羊肠道微生物的优势菌门中厚壁菌门、变形菌门、放线菌门、疣微菌门可以作为 Biomarkers 菌门。在优势菌

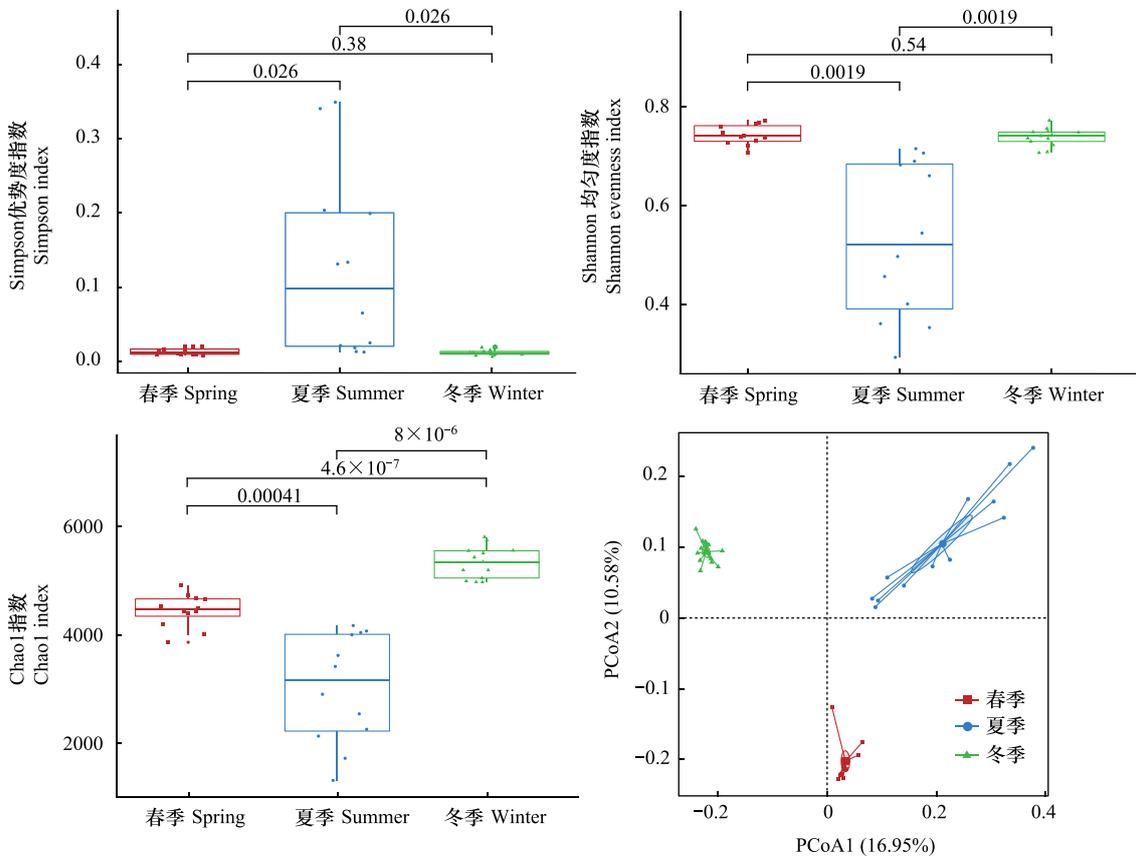


图 2 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物 Alpha 多样性和 Beta 多样性分析

Fig.2 Analysis of Alpha and Beta diversity of gut microbiota in *Ovis ammon polii* in different seasons

PCoA: 主坐标分析 Principal coordinates analysis

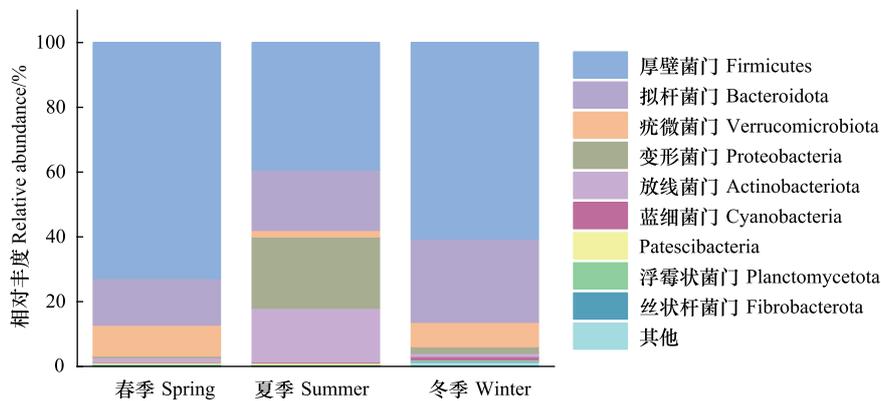


图 3 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物门水平相对丰度

Fig.3 Relative abundance of gut microbiota at the phylum level in *Ovis ammon polii* in different seasons

属中不动杆菌属、节杆菌属、UCG-005、Christensenellaceac R-7 group、阿克曼氏菌属、单球菌属、瘤胃球菌属可以作为生物标识菌属(图 5)。

对不同季节帕米尔肠道微生物的生物标识菌群进行单因素方差分析,结果显示:帕米尔盘羊肠道微生物中厚壁菌门及其门内的单球菌属、瘤胃球菌属、Christensenellaceae R-7 group、UCG-005 在春、夏、冬三个季节存在显著差异(P<0.05)。土壤芽孢杆菌属

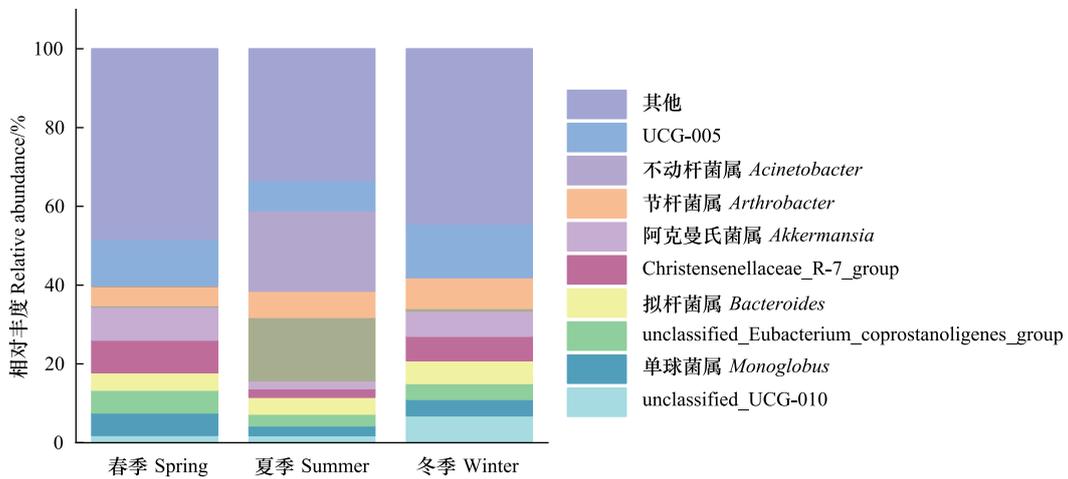


图 4 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物属水平相对丰度

Fig.4 Relative abundance of gut microbiota at the genus level in *Ovis ammon polii* in different seasons

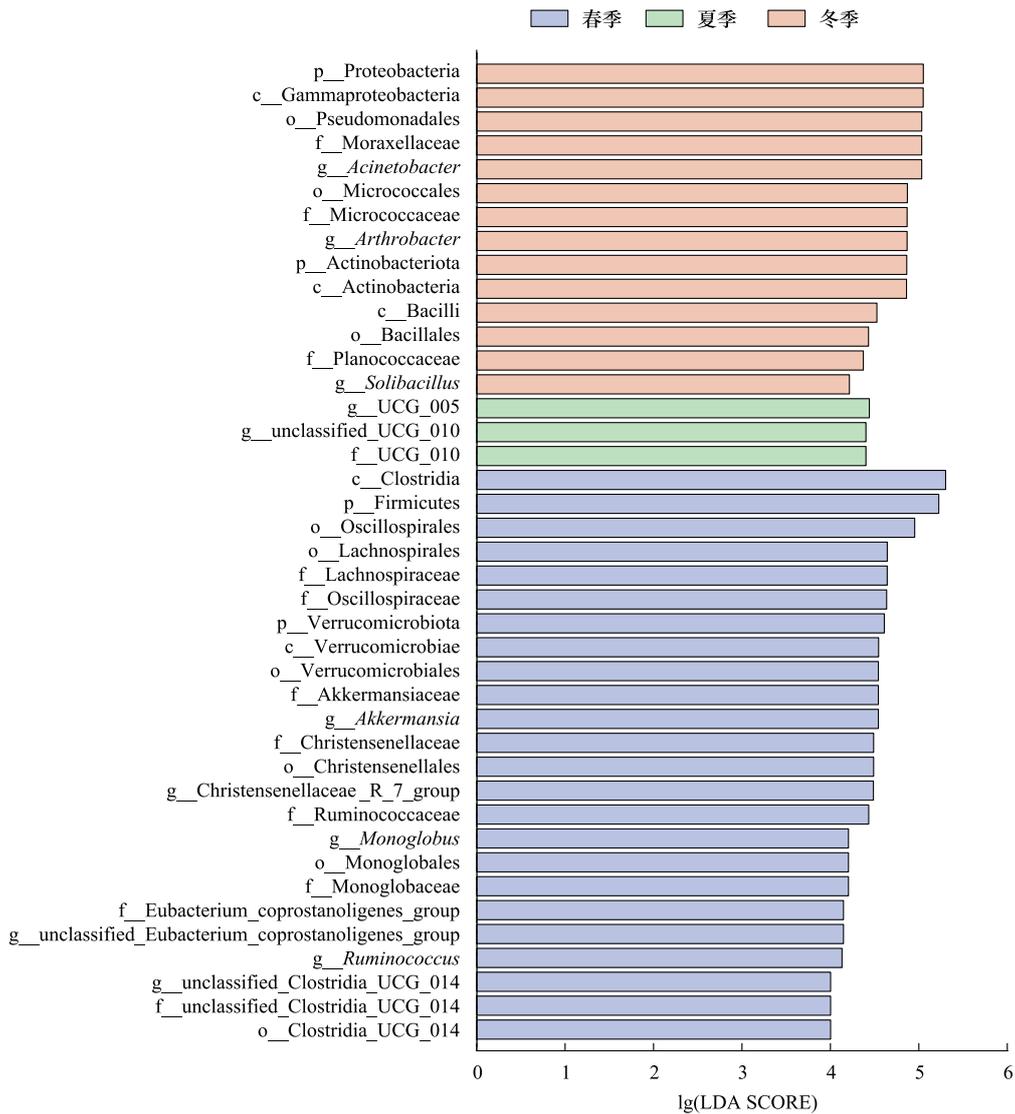


图 5 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物 LefSe 分析差异

Fig.5 LefSe analysis of gut microbiota in *Ovis ammon polii* in different seasons

LEfSe:线性判别分析效应量;LDA SCORE:线性判别分析评分;LDA score 条形图展示了 LDA SCORE>4 的显著差异物种;柱状图的颜色代表各自组别,长短代表 LDA SCORE,即不同组间显著差异物种的影响程度

(*Solibacillus*)、疣微菌门及该门的阿克曼氏菌属、放线菌门及该门的节杆菌属、变形杆菌门及该门的不动杆菌属在春冬季和夏季组间存在显著差异($P<0.05$) (图6)。

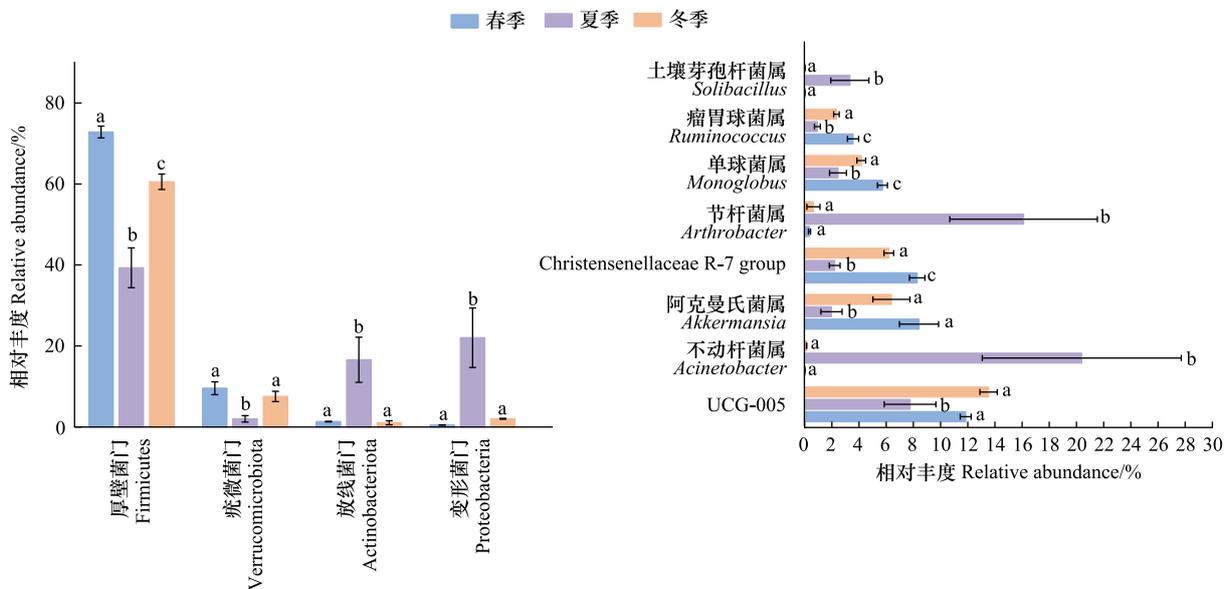


图6 不同季节盘羊肠道微生物门水平和属水平生物标识菌的差异

Fig.6 Differences of microbial biomarkers of gut microbiota at the phylum and genus levels in *Ovis ammon polii* in different seasons

图中条形柱上相同的小写字母表示无显著差异($P>0.05$),不同的小写字母表示有显著差异($P<0.05$)

2.4 不同季节帕米尔盘羊肠道微生物功能预测

基于16S rRNA测序结果及PICRUSt 2菌群代谢功能预测结果和KEGG数据库信息,结果显示,帕米尔盘羊肠道微生物菌群主要功能基因富集在一级代谢通路:新陈代谢(77.8%)、遗传信息处理(14.8%)、细胞过程(4.7%)、环境信息处理(2.1%),帕米尔盘羊肠道微生物注释到的基因在一级代谢通路中大多数与新陈代谢相关,其次是遗传信息处理和细胞过程。二级代谢通路:碳水化合物代谢(14.04%)、氨基酸代谢(13.77%)、辅因子和维生素的代谢(13.33%)、萜类化合物和聚酮化合物的代谢(9.94%)、DNA复制和修复(6.49%)、能量代谢(5.70%)、脂质代谢(5.16%)、外源化合物的生物降解和代谢(4.29%)、甘聚糖生物合成与代谢(3.99%)、折叠、分选和降解(3.57%),帕米尔盘羊肠道微生物注释到的基因在二级代谢通路中大多数与碳水化合物、氨基酸、辅因子和维生素代谢相关(图7)。

对不同季节帕米尔盘羊肠道微生物中丰度居高的功能进行差异分析,结果发现除K07090(在KEGG数据库中未分类到具体通路)外,其余功能的相对丰度均为夏季组显著低于春冬组($P<0.05$)。同时发现不同季节下帕米尔盘羊肠道微生物所有功能的相对丰度变化趋势相同(图8)。

由于帕米尔盘羊肠道微生物菌群主要功能基因富集在碳水化合物代谢通路,所以我们对不同季节糖苷酶在帕米尔盘羊肠道微生物中的富集情况进行差异分析。结果显示,夏季帕米尔盘羊肠道微生物菌群中与植物纤维素分解相关酶的丰度显著低于春冬季组,而与淀粉、半乳糖、麦芽糖分解相关的酶丰度显著高于春冬季组($P<0.05$) (表1)。

3 讨论

α 多样性指数的增加表明肠道微生物群落结构的稳定性和复杂性增强,即增强宿主对外界干扰的抵抗力并提高适应能力,最终有利于宿主的整体健康^[20]。肠道菌群的多样性有季节差异,肠道菌群可帮助宿主度过食物匮乏季节^[6]。本研究发现,春冬组帕米尔盘羊的肠道细菌丰富度、均一度、多样性皆比夏季组高,这与张

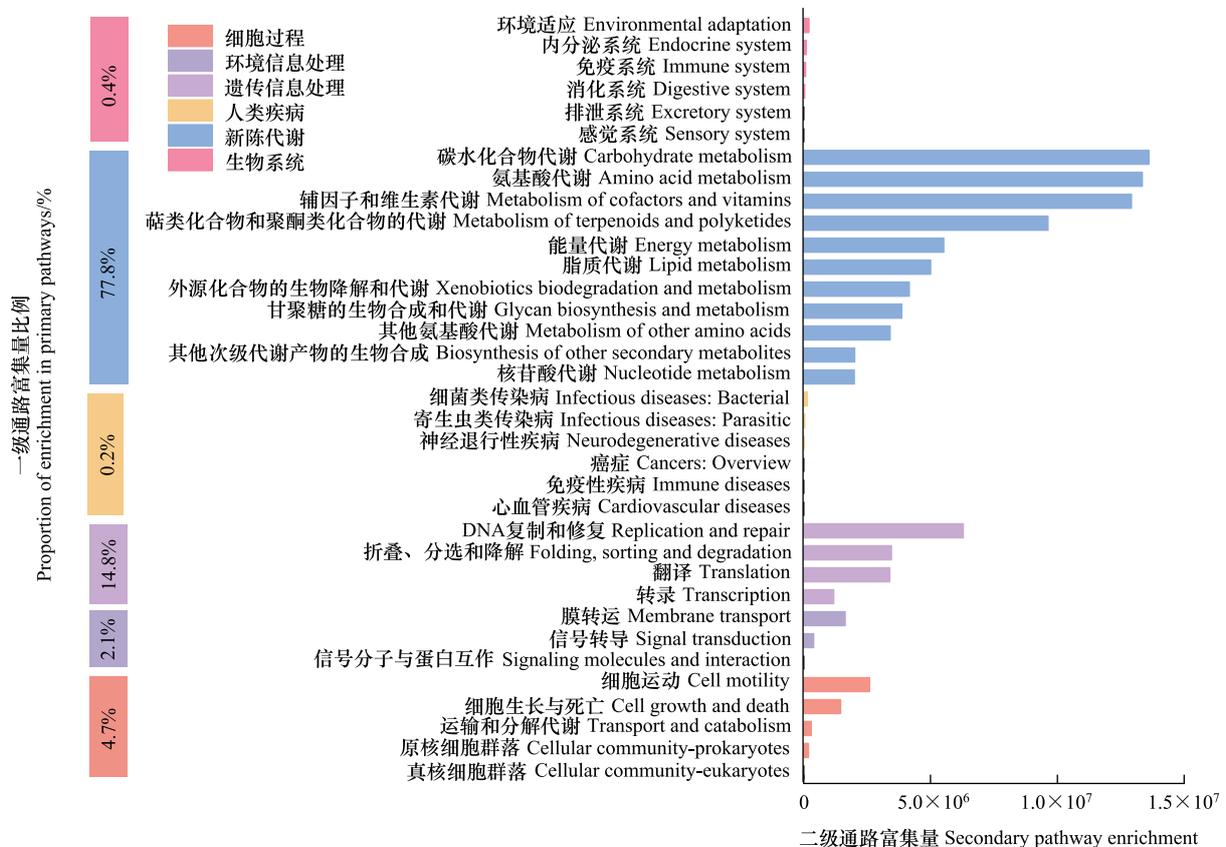


图7 帕米尔盘羊肠道菌群在 KEGG 一级和二级通路的富集情况

Fig.7 Gut microbiota of *Ovis ammon polii* in the KEGG primary and secondary pathways

左侧条形色块表示一级通路的占比情况,右侧条形图 Y 轴是二级通路名称, X 轴是二级通路的富集量数值

丽娇等^[21]对帕米尔盘羊食性与肠道微生物的季节变化特征研究结果一致,说明帕米尔盘羊在食物贫瘠的冬季通过增加肠道菌群的多样性可以提高帕米尔盘羊对恶劣环境的抵抗力,以顺利度过寒冷且缺少食物的冬季。

厚壁菌门和拟杆菌门为健康肠道菌群中的主要细菌门,与肠粘膜相互作用,维持宿主健康^[22]。王循刚等^[23]分析了藏系绵羊瘤胃与粪便微生物群落结构差异分析发现,反刍动物粪便中厚壁菌门的丰度大于拟杆菌门,高丰度的厚壁菌门和拟杆菌门使宿主动物具备了高效利用植物性饲料的能力。膳食纤维是影响肠道厚壁菌门的关键因素之一,一段时间的高纤维饮食可以上调厚壁菌门丰度^[22, 24],厚壁菌门细菌具有降解纤维素、半纤维素、淀粉和寡糖的功能,拟杆菌门细菌与寡糖降解,乙酸和丙酸产生及非纤维类物质的降解有关^[25],可通过帮助消化复杂碳水化合物、胆酸的生物转化、维生素的合成和免疫系统的发育使宿主受益^[26-27]。厚壁菌门中 UCG-005 是一种纤维素降解菌,其丰度的提高使肠道菌群能更好适应含有丰富纤维成分的饲料^[24]。Christensenellaceae R-7 group 广泛存在于宿主的肠道和粘膜中,是机体健康所必需的,同时也参与氨基酸和脂类代谢。瘤胃球菌属参与反刍动物瘤胃中纤维素和半纤维素的降解,它可以产生相应的酶将膳食纤维转化为各种营养物质,瘤胃球菌属也参与反刍动物的食物消化和碳水化合物代谢^[28]。在懒吼猴肠道微生物季节性变化中发现,当能量摄入最低时,瘤胃球菌科的相对丰度最高^[29]。帕米尔盘羊在我国分布于帕米尔高原,栖息在海拔 3500m 以上,气候干旱寒冷,降雨量稀少,多年平均降水量在 70 mm 左右^[10],栖息地多为荒漠区,冬季植被枯黄稀少,而夏季植被丰度和多样性相较春冬季节高,这使得盘羊的野外生存压力极大。本研究发现:厚壁菌门在不同季节均为优势菌门,并且差异显著;厚壁菌门和拟杆菌门是春冬季的主要类群,厚壁菌门的丰度大于拟杆菌门;厚壁菌门中 UCG-005, Christensenellaceae R-7 group, 瘤胃球菌属丰度在春

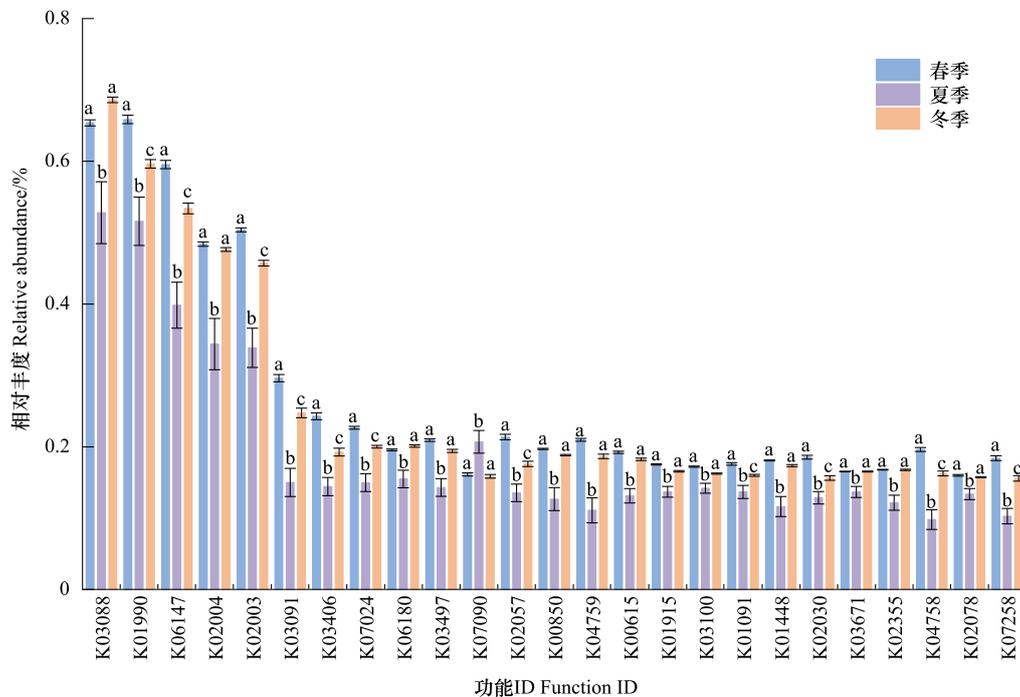


图 8 不同季节预测功能丰度差异

Fig.8 Differences in predicted functional abundance in different seasons

条形柱上相同小写字母表示无显著差异,不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

冬季显著高于夏季;帕米尔盘羊粪便微生物中与纤维素分解相关的糖苷酶丰度差异也表现为春冬季显著高于夏季。由此推断夏季转入冬季,因帕米尔盘羊采食植被中可发酵碳水化合物比例下降,纤维比例增加,冬季植被稀少,能量摄入量低,使厚壁菌门、UCG-005、Christensenellaceae R-7 group,瘤胃球菌属丰富度显著增高,以帮助帕米尔盘羊适应冬季漫长的枯草期和食物短缺的生存压力。

表 1 不同季节具有显著性差异的酶

Table 1 EC with significant differences in different seasons

糖苷酶 Glycosidase	春季 Spring	夏季 Summer	冬季 Winter
内切葡聚糖酶 endoglucanase	49539.66±2812.34a	38451.13±6331.82a	70812.96±1624.54b
内切-1,4-β-木聚糖酶 endo-1,4-beta-xylanase	5771.00±903.65a	2696.75±429.35b	5624.77±349.44a
α-甘露糖苷酶 alpha-mannosidase	2173.79±199.49a	2131.39±289.21a	3057.05±124.17b
α-淀粉酶 alpha-amylase	1451.79±161.03a	6155.75±1131.69b	3609.85±276.75c
6-磷酸-β-半乳糖苷酶 6-phospho-beta-galactosidase	15.28±1.621a	117.15±47.57b	24.91±3.06a
7-磷酸-β-葡萄糖苷酶 6-phospho-beta-glucosidase	486.18±31.68a	2261.67±799.64b	669.14±54.67a
麦芽糖-6-磷酸葡萄糖苷酶 maltose-6'-phosphate glucosidase	154.47±9.368a	1671.25±603.76b	303.85±56.57a
麦芽寡糖基海藻糖水解酶 maltooligosyltrehalose trehalohydrolase	225.76±33.99a	14786.98±5135.49b	856.30±378.41a
溶菌酶 lysozyme	115.83±24.73a	8611.00±3403.67b	1161.60±231.03c

相同小写字母表示没有显著差异,不同小写字母表示有显著差异($P < 0.05$)

本研究中发现,夏季变形杆菌门丰度显著增加。相关研究发现,变形杆菌增加是微生物群落结构失调的标志,也是疾病的潜在诊断标准,其菌群数量较少时,宿主无炎症反应,当数量达到某个范围时,可能会引发炎症^[30]。不动杆菌属隶属于变形菌门,是条件致病菌,与健康黄颡鱼相比患细菌性出血病的黄颡鱼后肠肠道菌群中不动杆菌属相对丰度增加^[31]。疣微菌门、阿克曼氏菌属在保持胃肠道完整性,改善宿主代谢功能,免疫应答和癌症治疗方面具有重要价值,嗜黏蛋白阿克曼氏菌隶属于阿克曼氏菌属,在炎症性肠病(IBD)患者肠

道中丰度降低,胃肠道屏障功能下降^[32-34]。溶菌酶是一种具有溶解细菌细胞壁的酶^[35],其广泛存在于反刍动物胃中,从皱胃进入肠中可以起到杀菌抗腹泻的作用^[36]。溶菌酶也可以降低肠道内有害微生物,促进有益微生物的生长繁殖,维护肠道菌群有效的动态平衡^[37]。帕米尔盘羊肠道菌群中发现,夏季组不动杆菌属丰度升高,阿克曼氏菌属丰度降低,肠道微生物基因功能注释中发现,溶菌酶基因在夏季显著高于春冬季,结合夏季组帕米尔盘羊肠道微生物多样性低于春冬季,推测夏季盘羊产溶菌酶类微生物增多。

在营养缺乏的情况下,肠道微生物发酵不易消化的植物纤维,为宿主提供能量^[38]。在本研究中发现,不同季节帕米尔盘羊肠道微生物注释到的基因整体在一级代谢通路中大多数与新陈代谢相关,其次是遗传信息处理和细胞过程,二级通路水平中主要是碳水化合物代谢,对注释到的功能比较发现,帕米尔盘羊春冬季肠道菌群功能相对丰度显著高于夏季,可见春冬季帕米尔盘羊肠道微生物通过增强新陈代谢相关基因来增强其对食物的利用从而应对食物短缺的压力。

4 结论

本研究通过对不同季节帕米尔盘羊肠道微生物群落结构分析发现,春冬季帕米尔盘羊肠道微生物的丰度显著高于夏季组;春冬季组中纤维素降解相关微生物类群显著高于夏季组。肠道微生物功能预测结果同样表明,春冬季组帕米尔盘羊肠道微生物菌群中与植物纤维素分解相关酶的丰度显著高于夏季组。因此,帕米尔盘羊可能通过调整肠道微生物类群及代谢模式以适应严酷冬季环境。

参考文献(References):

- [1] Rosshart S P, Vassallo B G, Angeletti D, Hutchinson D S, Morgan A P, Takeda K, Hickman H D, McCulloch J A, Badger J H, Ajami N J, Trinchieri G, Pardo-Manuel de Villena F, Yewdell J W, Rehermann B. Wild mouse gut microbiota promotes host fitness and improves disease resistance. *Cell*, 2017, 171(5): 1015-1028.e13.
- [2] Sampson T R, Mazmanian S K. Control of brain development, function, and behavior by the microbiome. *Cell Host & Microbe*, 2015, 17(5): 565-576.
- [3] Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota — Masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology*, 2013, 11(4): 227-238.
- [4] Levin D, Raab N, Pinto Y, Rothschild D, Zhanir G, Godneva A, Mellul N, Futorian D, Gal D, Leviatan S, Zeevi D, Bachelet I, Segal E. Diversity and functional landscapes in the microbiota of animals in the wild. *Science*, 2021, 372(6539): eabb5352.
- [5] Wei F W, Wu Q, Hu Y B, Huang G P, Nie Y G, Yan L. Conservation metagenomics: a new branch of conservation biology. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(2): 168-178.
- [6] 丁赞, 吴琦, 胡义波, 王潇, 聂永刚, 吴小平, 魏辅文. 野生哺乳动物肠道微生物组研究进展与展望. *兽类学报*, 2017, 37(4): 399-406.
- [7] 魏辅文. 中国兽类分类与分布. 北京: 科学出版社, 2022.
- [8] 汪松. 中国濒危动物红皮书-兽类. 北京: 科学出版社, 1998.
- [9] IUCN. 2014 IUCN Red List of Threatened Species. <https://www.iucnredlist.org>.
- [10] 汪沐阳, 张楚婕, 宓春荣, 韩雷, 李美玲, 徐文轩, 杨维康. 气候变化对中国马可波罗盘羊适宜生境的潜在影响. *应用生态学报*, 2021, 32(9): 3127-3135.
- [11] 李汉林, 何清, 刘新春, 赵权威. 帕米尔高原东部 PM₁₀ 输送路径及潜在源分析. *中国环境科学*, 2020, 40(11): 4660-4668.
- [12] 雅森江·库尔班, 王豫, 买买提艾力·买买提依明, 高佳程, 艾力亚尔·艾海提, 杨帆. 中国帕米尔高原太阳辐射演变规律. *太阳能学报*, 2023, 44(10): 237-244.
- [13] 余玉群, 姬明周, 刘楚光, 李克长, 郭松涛. 中国盘羊的地理分布和历史变迁. *生物多样性*, 2008, 16(2): 197-204.
- [14] 陈强强, 李美玲, 韩芳, 汪沐阳, 徐文轩, 杨维康. 新疆塔什库尔干野生动物自然保护区马可波罗盘羊种群调查. *四川动物*, 2018, 37(6): 637-645.
- [15] 赵永欣, 李孟华. 中国绵羊起源、进化和遗传多样性研究进展. *遗传*, 2017, 39(11): 958-973.
- [16] 张永浩, 肖逸, 郭丽君, 阿布都热合曼·吐尔逊, 王玉涛. 马可·波罗盘羊和5种家养绵羊 MHC-DRB3 基因第2外显子遗传多态性分析. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(3): 962-972.
- [17] 王玉涛, 戴志刚, 杨世杰, 罗玉柱. 东帕米尔高原盘羊分布与栖息地植被覆盖时空变化. *生态学报*, 2016, 36(1): 209-217.
- [18] 李美玲, 陈强强, 韩雷, 王鹏, 杨建伟, 汪沐阳, 杨维康. 新疆塔什库尔干野生动物自然保护区马可波罗盘羊生境适宜性评价. *生态学*

- 报, 2020, 40(11): 3549-3559.
- [19] Gao Y Y, Zhang G X, Jiang S Y, Liu Y X. Wekemo Bioincloud: a user-friendly platform for meta-omics data analyses. *iMeta*, 2024, 3(1): e175.
- [20] Zhao H, Jiang F, Gu H F, Gao H M, Zhang J J, Zhang M, Zhang T Z. Seasonal variation of gut microbial composition and metabolism in *Tibetan antelopes* in hoh xil national nature reserve. *Animals*, 2023, 13(22): 3569.
- [21] 张丽娇, 迪拉拉·托留, 徐文轩, 吴永杰, 汪沐阳, 杨维康. 帕米尔盘羊食性与肠道微生物的季节变化特征. *生态学报*, 2025, 45(2): 629-643.
- [22] Sun Y G, Zhang S S, Nie Q X, He H J, Tan H Z, Geng F, Ji H H, Hu J L, Nie S P. Gut firmicutes: Relationship with dietary fiber and role in host homeostasis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2023, 63(33): 12073-12088.
- [23] 王循刚, 徐田伟, 刘宏金, 胡林勇, 张晓玲, 耿远月, 赵娜, 徐世晓. 基于高通量测序技术的藏系绵羊瘤胃与粪便微生物群落结构差异分析. *西北农业学报*, 2020, 29(5): 659-667.
- [24] 钟如意. 发酵桑枝叶对生长猪生产性能、养分表观消化率及粪便微生物菌群的影响[D]. 长沙: 湖南农业大学, 2022.
- [25] 陈凤梅, 程光民, 张永翠, 郭建强, 牛钟相, 胡士林. 复合微生态制剂对哺乳期犊牛生长性能及瘤胃微生态区系的影响. *动物营养学报*, 2020, 32(7): 3234-3245.
- [26] Söllinger A, Tveit A T, Poulsen M, Noel S J, Bengtsson M, Bernhardt J, Frydendahl Hellwing A L, Lund P, Riedel K, Schleper C, Højberg O, Urich T. Holistic assessment of rumen microbiome dynamics through quantitative metatranscriptomics reveals multifunctional redundancy during key steps of anaerobic feed degradation. *mSystems*, 2018, 3(4): e00038-18.
- [27] Spence C, Greg Wells W, Jeffrey Smith C. Characterization of the primary starch utilization operon in the obligate anaerobe *Bacteroides fragilis*: Regulation by carbon source and oxygen. *Journal of Bacteriology*, 2006, 188(13): 4663-4672.
- [28] Jiang F, Gao H M, Qin W, Song P F, Wang H J, Zhang J J, Liu D X, Wang D, Zhang T Z. Marked seasonal variation in structure and function of gut microbiota in forest and alpine musk Deer. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 699797.
- [29] Amato K R, Leigh S R, Kent A, Mackie R I, Yeoman C J, Stumpf R M, Wilson B A, Nelson K E, White B A, Garber P A. The gut microbiota appears to compensate for seasonal diet variation in the wild black howler monkey (*Alouatta pigra*). *Microbial Ecology*, 2015, 69(2): 434-443.
- [30] Shin N R, Whon T W, Bae J W. Proteobacteria: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [31] 周金敏. 黄颡鱼肠道菌群分析和益生菌的研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- [32] Rodrigues V F, Elias-Oliveira J, Pereira Í S, Pereira J A, Barbosa S C, Machado M S G, Carlos D. *Akkermansia muciniphila* and gut immune system: a good friendship that attenuates inflammatory bowel disease, obesity, and diabetes. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 934695.
- [33] Zhang T, Li Q Q, Cheng L, Buch H, Zhang F M. *Akkermansia muciniphila* is a promising probiotic. *Microbial Biotechnology*, 2019, 12(6): 1109-1125.
- [34] Macchione I G, Lopetuso L R, Ianiro G, Napoli M, Gibiino G, Rizzatti G, Petito V, Gasbarrini A, Scaldaferrri F. *Akkermansia muciniphila*: key player in metabolic and gastrointestinal disorders. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences*, 2019, 23(18): 8075-8083.
- [35] Fleming A. On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. *Proceedings of the Royal Society of London Series B, Containing Papers of a Biological Character*, 1922, 93(653): 306-317.
- [36] 杨杜基, 袁小迪, 李颀, 张雨寒, 孙鸿炜, 刘益丽, 袁国荣, 江明锋. 牦牛胃溶菌酶抗小鼠腹泻的研究. *动物营养学报*, 2024, 36(3): 1952-1963.
- [37] Marra A, Hanson M A, Kondo S, Erkosar B, Lemaitre B. *Drosophila* antimicrobial peptides and lysozymes regulate gut microbiota composition and abundance. *mBio*, 2021, 12(4): e0082421.
- [38] Wei X J, Dong Z, Cheng F S, Shi H M, Zhou X Z, Li B, Wang L, Wang W W, Zhang J Y. Seasonal diets supersede host species in shaping the distal gut microbiota of Yaks and Tibetan sheep. *Scientific Reports*, 2021, 11(1): 22626.