

DOI: 10.12264/JFSC2023-0197

健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物菌群结构特征

田甜, 张建明, 张德志, 朱欣, 李洋

中国长江三峡集团有限公司中华鲟研究所, 三峡工程鱼类资源保护湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443100

摘要: 为探究中华鲟(*Acipenser sinensis*)皮肤黏膜层微生物菌群结构和其骨板褪色症之间的关系, 本研究通过 Illumina 高通量测序, 分析健康和患病中华鲟背骨板皮肤、躯干部皮肤微生物菌群结构特征。结果显示: 4 种来源皮肤黏膜层共有 3406 个 OTU。与健康组相比, 疾病组背骨板皮肤 OTUs 数量下降 84%, 躯干部皮肤 OTUs 数量下降 55%。在门分类水平, 健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤的优势菌门组成较为相似, 均以变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为主, 三者占比超过 75%; 拟杆菌门在疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤高度富集, 前者相对丰度由 11.15% 升高至 67.99%, 后者相对丰度由 20.28% 升高至 53.48%。在属分类水平, 黄杆菌属(*Flavobacterium*)在疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤中相对丰度分别为 42.83% 和 21.78%, 均高于健康组样品(4.20% 和 16.92%); 金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)在疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤中相对丰度分别为 23.34% 和 27.65%, 均高于健康组样品(0.33% 和 2.16%)。多样性分析显示, 健康组和疾病组皮肤黏膜层之间的 Chao 指数和 Shannon 指数具有显著差异($P < 0.01$)。显著性差异分析显示, 黄杆菌属、金黄杆菌属、食酸菌属(*Acidovorax*)和氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*) 4 个菌属在疾病组中显著上调($P < 0.05$)。本研究表明, 与健康组相比, 疾病组中华鲟背骨板皮肤和躯干部皮肤 OTUs 数量均明显降低, 丰富度和多样性均显著下降($P < 0.01$)。拟杆菌门的黄杆菌属和金黄杆菌属在疾病组皮肤黏膜层高度富集, 可能是此次疾病的主要致病菌。

关键词: 中华鲟; 皮肤黏膜层; 高通量测序; 菌群结构

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)10-1259-12

鱼类黏膜层主要包括皮肤、鳃、肠道及鼻咽等^[1-2], 共同构成抵御外界病原入侵的第一道屏障, 在宿主健康成长和免疫应答中发挥极其重要的作用^[3-4]。在鱼类黏膜层微生物研究中, 肠道黏膜层微生物研究较为广泛和深入, 已证实肠道菌群在宿主营养与健康状态中具有重要的作用^[5-7]。鱼类皮肤长期暴露于水环境中, 是与外界接触面积最大的黏膜层组织, 目前鱼类皮肤黏膜层的微生物研究还处于初始阶段^[4]。当鱼体处于健康状态时, 皮肤黏膜层微生物处于相对稳定的动态平衡, 而这种平衡被打破后, 菌群失衡可直接影响宿主的健康状态。例如感染鲤春病毒血症病毒(spring viremia of carp virus, SVCV)的鲤(*Cyprinus carpio*)和患溃疡病的舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*), 二者皮肤黏膜层中的变形菌门丰度显著升高^[8-9]。东星斑(*Plectropomus leopardus*)发生溃烂病后, 其皮肤黏膜层中的 OTUs 数量明显减少, 菌群多样性降低, 弧菌属(*Vibrio*)细菌相对丰度显著升高^[10]。

中华鲟(*Acipenser sinensis*)是我国特有的大型江海洄游性鱼类。由于环境污染、过度捕捞、生境破坏等因素的影响, 其自然种群资源急剧下降, 已被国际自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)列为极危级(critically endangered, CR)物种^[11-13]。自 20 世纪 80 年代开始, 国内多家科研院所对中华鲟开展积极的保护研究工作, 包括就地保护、迁地保护、

收稿日期: 2023-08-07; 修订日期: 2023-09-06。

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(32202967)。

作者简介: 田甜(1984-), 女, 硕士, 高级工程师, 研究方向为中华鲟、长江鲟等长江珍稀鱼类病害. E-mail: cocotian1234@126.com

增殖放流、人工种群梯队建设、全人工繁殖等，中华鲟物种保护研究工作不断取得新突破。然而，随着中华鲟迁地保护规模的扩大以及集约化程度的不断提高，病害问题也日趋增多。迄今为止，国内外学者对中华鲟病害的研究主要集中在细菌分离鉴定、组织病理学观察、致病力研究、药物敏感性以及基因表达研究等方面^[14-17]，鲜见对患病中华鲟开展微生物菌群结构研究。

中华鲟皮肤裸露，身披五行骨板，体表分泌大量黏液保护自我。研究发现，除水霉病、肿嘴病、烂鳃病、细菌性败血症四种疾病体表存在霉斑、充血、溃疡等症状外，其他类型疾病以体内症状为主^[14-15,18-21]。2023年2月，中国长江三峡集团有限公司中华鲟研究所养殖的中华鲟零星出现以背骨板充血，周围皮肤褪色为主要症状的疾病。体表病害的发生与其皮肤黏膜层微生物菌群结构紧密关联。本研究采用高通量测序技术，从微生物菌群结构角度，探究皮肤黏膜层微生物菌群结构和中华鲟病害之间的关系，为中华鲟健康养殖和细菌性疾病的诊断提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验样品为中华鲟研究所2022年10月繁殖的子二代中华鲟。2023年2月，中华鲟全长(24.65±1.17)cm，体重(33.23±6.76)g，出现以背骨板充血、周围皮肤褪色为主要症状的疾病(图1、2)。在无菌条件下，对6尾健康和6尾患病中华鲟背骨板皮肤和躯干部皮肤进行取样。样本采集方法

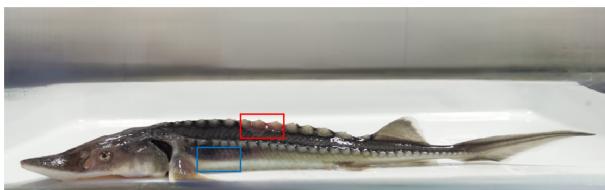


图1 患病中华鲟整体远观图

红色长方形为背骨板皮肤取样位置，蓝色长方形为躯干部皮肤取样位置。

Fig. 1 Distal view of diseased *Acipenser sinensis*. The red rectangle is the skin sampling location of the dorsal plate, the blue rectangle is the skin sampling location of the trunk.



图2 患病中华鲟的背骨板皮肤近观图

Fig. 2 Close-up view of the dorsal plate skin of diseased *Acipenser sinensis*

如下：用无菌水冲洗鱼体表面3遍，用无菌镊分别刮取背骨板处皮肤黏液和躯干部皮肤黏液各1g，分装至2mL无菌Eppendorf管中，液氮速冻后于-80℃保存备测。

1.2 DNA提取、PCR扩增和高通量测序

利用Fast DNA®Spin Kit for Soil (MP Biomedical, USA)试剂盒提取背骨板皮肤和躯干部皮肤总DNA，用1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的完整性。使用V3~V4变异区通用引物(338F: 5'-ACT-CCTACGGGAGGCAGCAG-3'，806R: 5'-GGAC-TACHVGGGTWTCTAAT-3')进行PCR扩增。PCR反应条件为：95℃预变性3min；95℃变性30s；53℃退火30s，72℃延伸45s，连续29个循环；最后72℃延伸10min。PCR产物经回收、纯化等处理后置于上海美吉生物医药科技有限公司的Illumina MiSeq PE300平台进行高通量测序。

1.3 数据处理和分析

在美吉生物云平台完成数据处理及生物信息学分析工作。使用Fastp (version 0.19.6)软件对测序得到的原始数据进行质控，使用Flash (version 1.2.11)软件进行拼接。使用Uparse (version11)软件根据97%的相似度对序列进行OTU聚类并剔除嵌合体。采用PDR Classifier (version 2.13)软件对每条序列进行物种注释分类，比对Silva 16S rRNA数据库(version 138)。按照最小样本序列数对数据抽平处理后，采用R语言(version3.3.1)工具制作韦恩图、群落柱形图、群落饼图；利用Mothur (version 1.30.2)软件计算 α 多样性；通过非度量多维尺度(nonmetric multi-dimensional scaling, NMDS)，探索不同样本在多维空间上的差异；通过Wilcoxon秩和检验找到健康组和疾病组皮肤

黏膜层微生物组成差异显著的群落。

2 结果与分析

共采集到健康中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液样品 24 个, 根据采样位置分别命名为 HD、DD、HT、DT。将所有样品经高通量测序和序列优化后, 共获得 892793 条优化序列, 序列平均长度为 418~425 bp, 覆盖率超过 99% (表 1)。各样品稀释曲线(图 3)显示稀释曲线已到达平台期, 表明本次测序几乎已覆盖所有的细菌, 可真实反映出细菌群落结构和多样性。

2.1 不同来源皮肤黏膜层微生物群落组成

韦恩图(图 4)显示, 4 种来源皮肤黏膜层共有 3406 个 OTU, 其中各自独有的 OTU 数量最多, 有 2191 个, 占全部 OTU 的 64.33%, 2 种来源共享的 OTU 有 726 个, 占比 21.32%, 3 种来源共享的 OTU 有 355 个, 占比 10.42%, 4 种来源共享的 OTU 只有 134 个, 占比 3.93%。4 种来源皮肤黏膜层 OTU 数量由高到低顺序为 HD (2066)>HT (1959)>DT (882)>DD (337)。

门级水平上, 健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤的优势菌门组成较为相似, 前者排名前 5 名的主要菌门相对丰度由高到低排序为厚壁菌门 (41.62%)、变形菌门 (23.64%)、放线菌门 (Actinobacteria, 13.35%)、拟杆菌门 (11.15%)、粘菌门 (Myxococcota, 3.79%), 后者排名前五名的

表 1 各样品高通量测序数据

Tab. 1 High-throughput sequencing data of samples

$n=24$

样品	序列数	碱基数	平均序列长度	覆盖率/%
sample	sequence	base number	average sequence length	coverage
HD	255992	107024471	418	99.44
DD	221588	94223161	425	99.88
HT	199948	84971306	424	99.65
DT	215265	91599623	425	99.70

注: HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。

Note: HD, DD, HT, DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively.

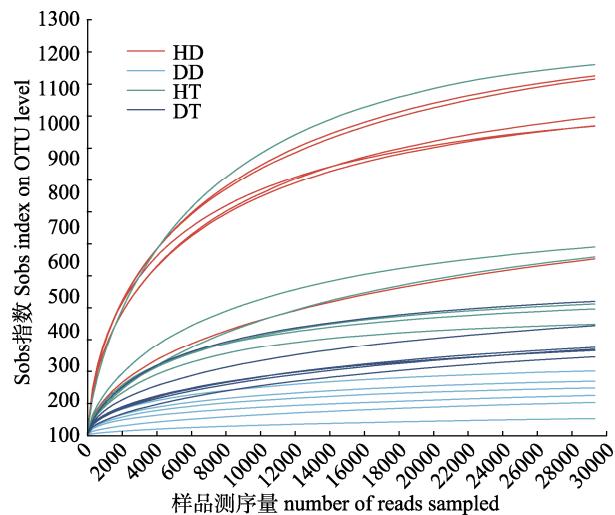


图 3 样品稀释曲线

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。

Fig. 3 Rarefaction curves of different samples
HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively.

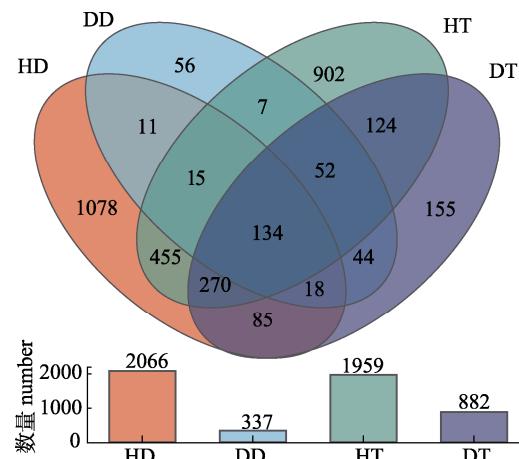


图 4 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物群落组成韦恩图

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。

Fig. 4 Venn diagram representing shared OTUs among skin mucosa of healthy and diseased *Acipenser sinensis*
HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively.

主要菌门相对丰度由高到低排序为变形菌门(61.98%)、拟杆菌门(20.28%)、厚壁菌门(9.28%)、梭杆菌门(*Fusobacteria*, 3.45%)、放线菌门(2.14%)。疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤呈现相

同的变化趋势: 拟杆菌门大幅度增加, 成为第一优势菌门, 其中 DD 组拟杆菌门相对丰度由 11.15% 升高至 67.99%, DT 组拟杆菌门相对丰度由 20.28% 升高至 53.48% (图 5)。

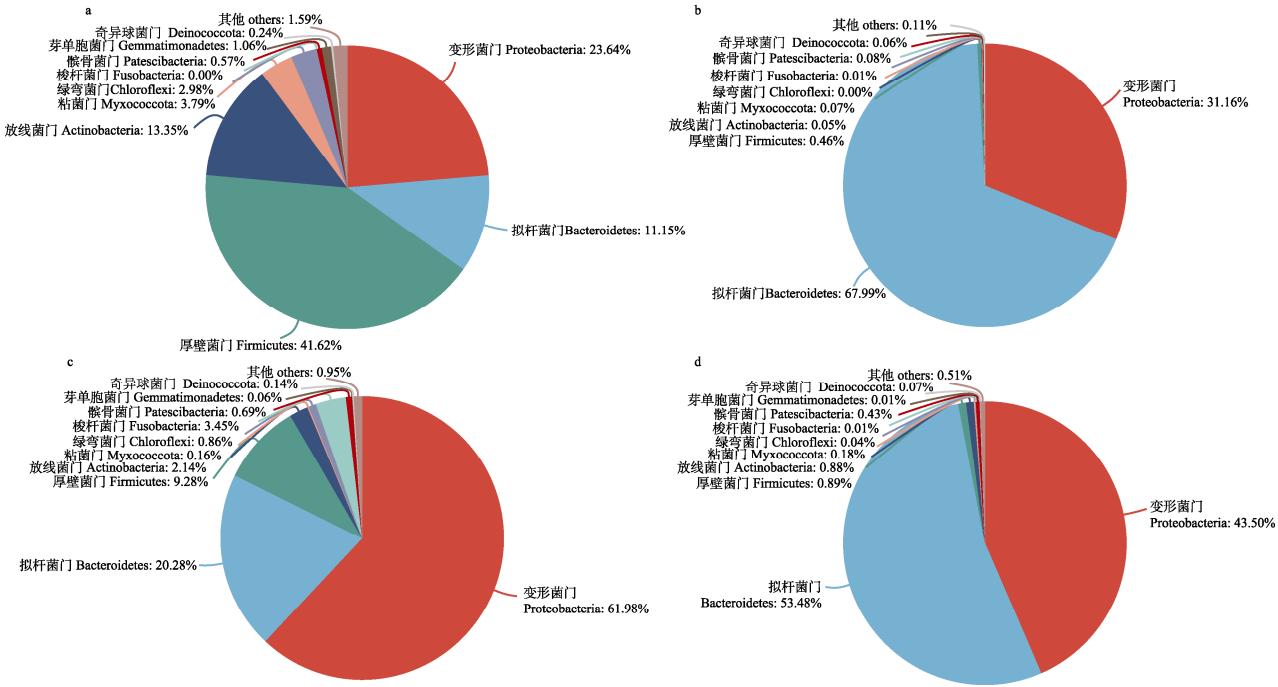


图 5 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层的菌群相对丰度和组成(门水平)

a. HD 细菌群落饼状图; b. DD 细菌群落饼状图; c. HT 细菌群落饼状图; d. DT 细菌群落饼状图。

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。

Fig. 5 Relative abundance and composition of bacteria in skin mucosa from healthy and diseased *Acipenser sinensis* at phylum level
a. Community analysis pieplot of HD; b. community analysis pieplot of DD; c. community analysis pieplot of HT; d. community analysis pieplot of DT.
HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively.

进一步细化到属, 健康组背骨板皮肤的主要优势菌属是 *Clostridium_sensu_stricto_1* (10.45%)、土孢杆菌属(*Terrisporobacter*, 5.65%)、苏黎士杆菌属(*Turicibacter*, 5.13%)、不动杆菌属(*Acinetobacter*, 4.24%)、黄杆菌属(4.20%)、芽孢杆菌属(*Bacillus*, 2.63%)和氢噬胞菌属(2.54%); 躯干部皮肤的主要优势菌属是 *Candidatus_Branchiomonas* (20.75%)、黄杆菌属(16.92%)、*Hafnia-Obesumbacterium* (9.49%)、不动杆菌属(7.59%)、从单孢菌属(*Comamonas*, 6.75%)、芽孢杆菌属(4.12%)和气单孢菌属(*Aeromonas*, 3.05%)。疾病组背骨板皮肤的主要优势菌属是黄杆菌属(42.83%)、金黄杆

菌属(23.34%)、不动杆菌属(9.32%)、食酸菌属(7.90%)、氢噬胞菌属(7.21%); 躯干部皮肤的主要优势菌属是金黄杆菌属(27.65%)、黄杆菌属(21.78%)、*Candidatus_Branchiomonas* (11.24%)、不动杆菌属(9.21%)、食酸菌属(6.31%)、氢噬胞菌属(6.30%)。与健康组背骨板皮肤相比, 疾病组黄杆菌属和金黄杆菌属的相对丰度明显升高, 其中前者由 4.20% 升高至 42.83%, 后者由 0.33% 升高至 23.34%, 而 *Clostridium_sensu_stricto_1* 则由 10.45% 降低至 0.0017%。与健康组躯干部皮肤相比, 疾病组金黄杆菌属比例明显上升, 由 2.16% 上升至 27.65%, 黄杆菌属比例略有上升, 由

16.92%上升至21.78%, *Candidatus_Branchiomonas*缩减至原来的一半(图6)。

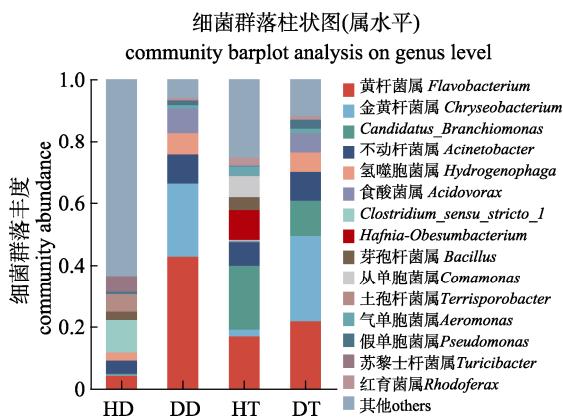


图6 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层的菌群
相对丰度和组成(属水平)

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。

Fig. 6 Relative abundance and composition of bacteria in skin mucosa from healthy and diseased *A.sinensis* at genus level

HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively.

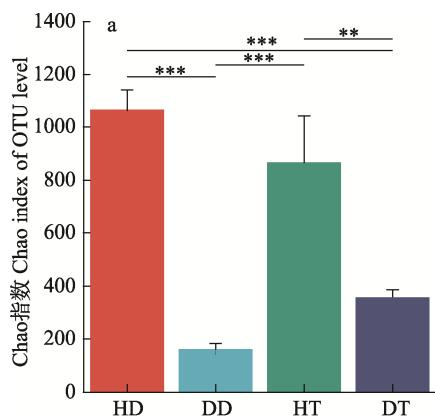


图7 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物 α 多样性分析

a. Chao 指数(OTU 水平); b. Shannon (OTU 水平).

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。*. $P<0.05$; **. $P<0.01$; ***. $P<0.001$.

2.2 不同来源皮肤黏膜层微生物群落多样性分析

为了了解中华鲟皮肤黏膜层细菌群落的物种丰富度和多样性,选取 Chao 指数和 Shannon 指数。比较不同来源 α 多样性指数发现健康和患病中华鲟背骨板皮肤和躯干部皮肤菌群丰富度和多样性具有明显差异(图7)。与健康组相比,疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤丰富度和多样性均显著下降($P<0.01$),且背骨板皮肤丰富度和多样性均处于最低水平。基于 bray_curtis 算法的 NMDS (图 8a)显示,健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤之间距离较远,说明二者之间的菌群结构具有一定的差异性;而疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤之间距离较近,且大部分样本重叠在一起,说明二者之间的菌群结构组成较为相似。基于相同距离算法的样本层级聚类分析结果(图 8b)与 NMDS 类似,健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤各自单独聚为一簇,而疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤相互交叉总体聚为一簇。

2.3 不同来源皮肤黏膜层微生物群落差异性分析

为了进一步了解健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物群落结构的差异性,将健康和患病中华鲟背骨板皮肤、健康和患病中华鲟躯干部皮肤两

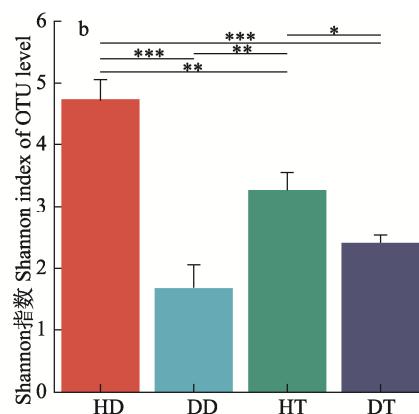


图7 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物 α 多样性分析

a. Chao 指数(OTU 水平); b. Shannon (OTU 水平).

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液。*. $P<0.05$; **. $P<0.01$; ***. $P<0.001$.

Fig. 7 Alpha diversity analysis of the skin mucosa from healthy and diseased *Acipenser sinensis*
a. Chao index of OTU level; b. Shannon index of OTU level.

HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A.sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A.sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A.sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A.sinensis*, respectively. *. $P<0.05$; **. $P<0.01$; ***. $P<0.001$.

两比较, 使用 Wilcoxon 秩和检验进行显著性差异分析。对于背骨板皮肤而言, 疾病组中华鲟黄杆

菌属、金黄杆菌属和食酸菌属的相对丰度较健康组中华鲟显著增加(图 9a, $P<0.05$)。其中, 黄杆

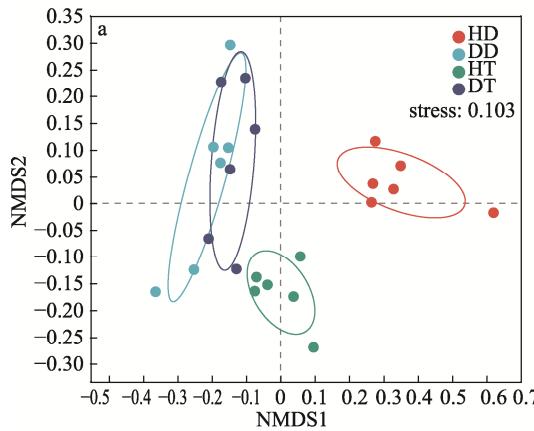


图 8 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物 β 多样性分析

a. NMDS 排序图(属水平); b. 层级聚类分析图(属水平).

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、

健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液.

Fig. 8 Beta diversity analysis of the skin mucosa from healthy and diseased *A. sinensis*

a. NMDS plot of genus level; b. hierarchical clustering analysis of genus level.

HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A. sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A. sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A. sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A. sinensis*, respectively.

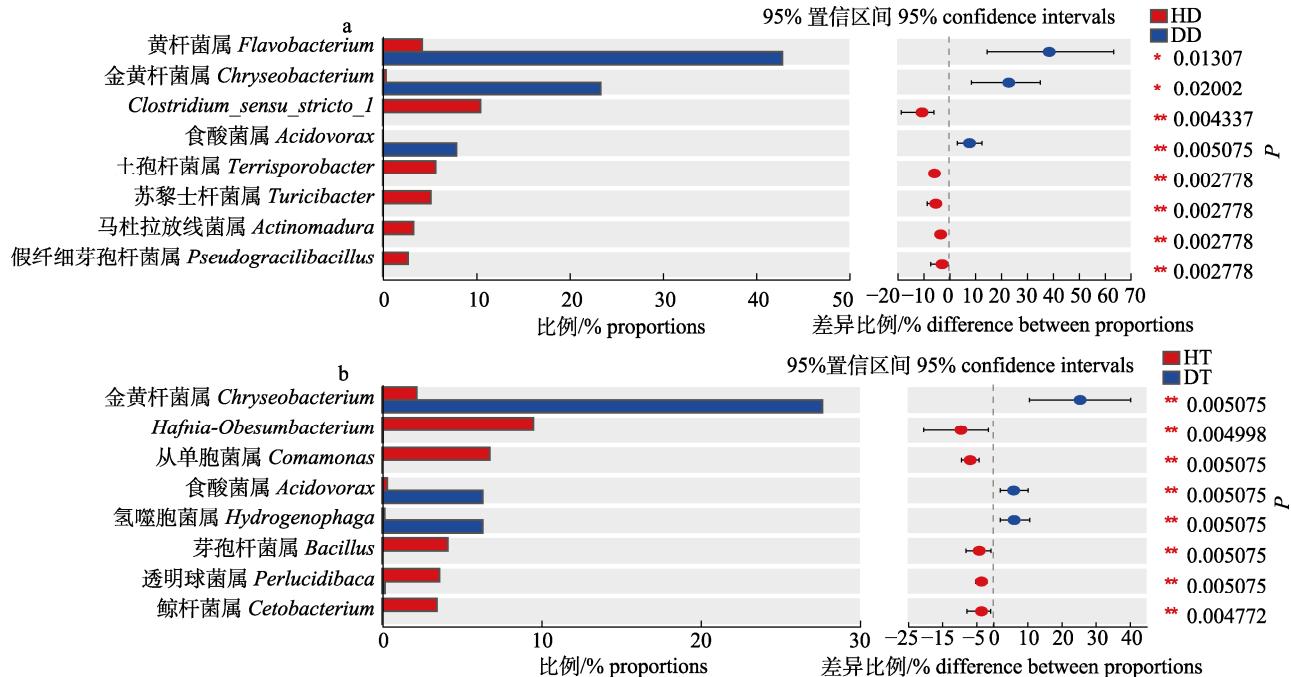


图 9 健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物差异菌群分析(属水平)

a. HD 与 DD; b. HT 与 DT.

HD、DD、HT、DT 分别表示健康中华鲟背骨板皮肤黏液、患病中华鲟背骨板皮肤黏液、
健康中华鲟躯干部皮肤黏液、患病中华鲟躯干部皮肤黏液.

Fig. 9 Differential bacterial community of the skin mucosa from healthy and diseased *Acipenser sinensis* (based on the genus level)

a. HD and DD; b. HT and DT.

HD, DD, HT, and DT indicate samples of dorsal plate skin mucus of healthy *A. sinensis*, dorsal plate skin mucus of diseased *A. sinensis*, trunk skin mucus of healthy *A. sinensis*, trunk skin mucus of diseased *A. sinensis*, respectively.

属的相对丰度最高, 贡献了 38.63% 的差异率; 金黄杆菌属的相对丰度次之, 贡献 23.01% 的差异率; 食酸菌属的相对丰度最低, 贡献了 7.87% 的差异率。对于躯干部皮肤而言, 疾病组金黄杆菌属、食酸菌属、氢噬胞菌属相对丰度较健康组中华鲟显著增加(图 9b, $P<0.05$), 3 种菌属的相对丰度排序为金黄杆菌属>食酸菌属>氢噬胞菌属, 各自贡献的差异率分别为 25.49%, 6.00%, 6.15%。将疾病组中华鲟皮肤黏膜层微生物中 4 种显著增加的差异菌属进行统计, 这些细菌主要隶属于拟杆菌门和变形菌门, 其中黄杆菌属和金黄杆菌属可导致多种水生动物患病, 而食酸菌属和氢噬胞菌属尚无关于水生动物致病的报道。

3 讨论

鱼类生活的水环境中富含多种病原微生物, 皮肤黏膜层是黏膜免疫系统的重要组成部分, 也是阻止病原微生物入侵的首要防线^[22-23]。正常的皮肤黏膜层微生物与宿主互利共生, 共同维持黏膜层微生物环境的生态平衡^[4]。环境恶化、病原入侵都可能造成微生物菌群失衡。研究发现皮肤黏膜层微生物的菌群结构特征可以直接影响鱼体的健康状态^[9]。本研究采用 Illumina 高通量测序技术, 对健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物菌群结构进行比较分析, 结果显示健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物结构存在差异性。

研究发现细菌、病毒和寄生虫感染均会对黏膜层(肠道、皮肤等)微生物菌群结构造成一定的影响^[10]。朱文根等通过人工浸泡感染方式研究草鱼呼肠孤病毒(Grass Carp Reovirus, GCRV)对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)肠道菌群的影响, 结果显示感染组肠道菌群多样性显著低于对照组($P<0.05$)^[24]。Nie 等^[25]研究发现香鱼(*Plecoglossus altivelis*)感染鳗弧菌(*Vibrio anguillarum*)后肠道菌群多样性和均匀度降低。张雪萍等^[26]报道患烂皮肤病棘胸蛙(*Quasipaa spinosa*)溃烂皮肤微生物菌群的多样性和丰富度均显著低于健康皮肤。本研究结果与上述研究结果相似, 与健康组相比, 疾病组皮肤黏膜层菌群 OTUs 数量明显降低, 其中背骨板皮肤 OTUs 数量下降 84%, 躯干部皮肤 OTUs

数量下降 55%; 疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤丰富度和多样性均显著下降($P<0.01$), 且背骨板皮肤丰富度和多样性均处于最低水平。以上研究结果符合多样性抗性假说, 即宿主微生物群落越多样性, 对病原菌入侵的抵抗能力可能越强^[27]。这可能是入侵的病原体在与微生物菌群的竞争中胜出, 从而降低了多样性。微生物多样性在维持生态功能方面具有重要作用, 多样性的降低可能直接导致微生物群落功能稳定性的降低, 从而增加患病的风险^[28]。

在对鱼类皮肤黏膜层微生物的研究中, 在门水平, 虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)以变形菌门和拟杆菌门为主^[29]; 小头裸裂尻鱼(*Herzensteinia microcephalus*)以放线菌门和变形菌门为主^[30]; 大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)优势菌门为蓝菌门(Cyanobacteria)、变形菌门和厚壁菌门^[31]。而在中华鲟中我们发现健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤的优势菌门组成较为相似, 均以变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门为主, 三者占比超过 75%。与上述学者研究结果有所差异, 这说明不同组织来源、不同种类的微生物菌群因其宿主特征、饵料种类、养殖方式不同, 其优势菌门会呈现不同组成变化。研究发现, 与健康组相比, 疾病组病原体对应菌门比例呈现升高趋势。比如: 草鱼感染嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)后肠道中梭杆菌门比例上升^[32]。健康棘胸蛙皮肤黏膜层优势菌门以蓝菌门/叶绿体(Chloroplast)、变形菌门和厚壁菌门为主, 而患病棘胸蛙皮肤黏膜层优势菌门为变形菌门^[26]。本研究中, 拟杆菌门在疾病组中华鲟背骨板皮肤和躯干部皮肤均出现大幅度上升现象, 其中背骨板皮肤拟杆菌门相对丰度 11.15% 升高至 67.99%, 躯干部皮肤组拟杆菌门相对丰度由 20.28% 升高至 53.48%。本研究发现, 拟杆菌门在疾病组皮肤黏膜层高度富集, 这揭示拟杆菌门与中华鲟的感染发病存在密切的关系。

在属水平, 健康组背骨板皮肤的主要优势菌属是 *Clostridium_sensu_stricto_1*、土孢杆菌属、苏黎士杆菌属、不动杆菌属、黄杆菌属、芽孢杆菌属和氢噬胞菌属; 躯干部皮肤的主要优势菌属是 *Candidatus_Branchiomonas*、黄杆菌属、*Hafnia-*

Obesumbacterium、不动杆菌属、从单胞菌属、芽孢杆菌属和气单胞菌属。疾病组背骨板皮肤的主要优势菌属是黄杆菌属、金黄杆菌属、不动杆菌属、食酸菌属和氢噬胞菌属；躯干部皮肤的主要优势菌属是金黄杆菌属、黄杆菌属、*Candidatus_Branchiomonas*、不动杆菌属、食酸菌属和氢噬胞菌属。健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤共计 11 个优势菌属，全部隶属于拟杆菌门、变形菌门和厚壁菌门；二者共同优势菌属 3 个，占比 27.27%。疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤共计 6 个优势菌属，全部隶属于拟杆菌门和变形菌门；二者共同优势菌属 5 个，占比 83.88%，且前两个优势菌属相同。物种组成分析结果显示，比较发现健康组和疾病组中华鲟皮肤黏膜层在门水平和属水平微生物群落结构均明显不同；健康组内不同来源皮肤黏膜层微生物结构在门水平二者较为相似，在属水平具有一定的差异性；疾病组内不同来源皮肤黏膜层微生物结构在门水平和属水平均较为相似。本研究中，Beta 分析结果与物种分析结果相一致。在属水平，健康组背骨板皮肤和躯干部皮肤菌群结构具有一定的差异性；而疾病组背骨板皮肤和躯干部皮肤菌群结构组成较为相似。分析认为产生此现象的原因有两个：一是背骨板和躯干部皮肤虽然都属于皮肤黏膜层，但由于二者的化学结构和生理功能有所差异，因此二者之间既有相似性又有差异性。二是病原菌入侵导致皮肤微生态环境的急剧恶化，背骨板和躯干部皮肤菌群均失去原有平衡而发生紊乱，病原菌过度繁殖成为整个皮肤黏膜层的绝对优势细菌，皮肤菌群丰富度和均匀度降低，物种组成趋于一致。这提示我们微生物多样性和物种组成结构可作为鱼类健康状态的标志物。

通过 Wilcoxon 秩和检验进行显著性差异分析发现，与健康组中华鲟皮肤相比，黄杆菌属、金黄杆菌属、食酸菌属和氢噬胞菌属四个菌属在疾病组皮肤中显著上调($P<0.05$)。其中黄杆菌属主要富集在背骨板皮肤，贡献了 38.63% 的差异率；金黄杆菌属和食酸菌属同时富集在背骨板皮肤和躯干部皮肤，分别贡献了 23.01%~25.49% 和 6.00%~7.87% 的差异率，氢噬胞菌属主要富集在躯干部

皮肤，贡献了 6.15% 的差异率。黄杆菌属隶属于拟杆菌门、黄杆菌纲(Flavobacteria)、黄杆菌目(Flavobacteriales)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae)，革兰氏阴性菌，广泛分布于世界各地的水、土壤、植物等自然环境中，为条件致病菌，是水生动物细菌性疾病的重要病原菌^[33]。1994 年 Vandamme 等^[34]根据形态和生理生化特性将黄杆菌属划分为黄杆菌属和金黄杆菌属。柱状黄杆菌(*Flavobacterium columnare*)、嗜冷黄杆菌(*F. psychrophilum*)是黄杆菌属的主要致病菌，可引起虹鳟^[35]、鲤^[36]、草鱼^[37]、翘嘴鲌(*Siniperca chuatsi*)^[38]、中华鲟^[39]、西伯利亚鲟(*A. stellatus*)^[40]等多种鱼类烂鳃、体表溃疡。产吲哚金黄杆菌(*Chryseobacterium indologenes*)、约氏金黄杆菌(*C. joostei*)是金黄杆菌属的主要致病菌，可导致乌鳢(*Channa argus*)^[41]、中华鳖(*Pelodiscus sinensis*)^[42]、大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[43]、西伯利亚鲟^[44]等多种水生动物体表溃疡。食酸菌属和氢噬胞菌属均隶属于变形菌门、β-变形菌门(Beta-proteobacteria)、伯克氏菌目(Burk-olderiales)、丛毛单胞菌科(Comamonadaceae)，革兰氏阴性菌。西瓜食酸菌(*Acidovorax citrulli*)是食酸菌属的主要致病菌，可侵染西瓜(*Citrullus lanatus*)、甜瓜(*Cucumis melo*)、黄瓜(*Cucumis sativus*)等多种葫芦科植物引发果斑病^[45-47]，目前未见该属细菌关于水生动物致病的报道。氢噬胞菌属报道较少，研究发现氢噬胞菌 H7 (*Hydrogenophaga sp. H7*)具有降解芳香类化合物、氧化 As (III) 和除氮的作用^[48]，目前未见该属细菌关于动植物致病的报道。根据显著性差异分析结果，结合上述 4 种菌属的临床意义，本研究认为黄杆菌属和金黄杆菌属可能是此次疾病的主要致病菌。

4 结论

本研究利用高通量测序研究技术对健康和患病中华鲟皮肤黏膜层微生物多样性进行研究。与健康组相比，疾病组中华鲟背骨板皮肤和躯干部皮肤 OTUs 数量均明显降低，丰富度和多样性均显著下降($P<0.01$)。拟杆菌门的黄杆菌属和金黄杆菌属在疾病组皮肤黏膜层高度富集，可能是此次

疾病的主要致病菌。

参考文献:

- [1] Guardiola F A, Cuesta A, Arizcun M, et al. Comparative skin mucus and serum humoral defence mechanisms in the teleost gilthead seabream (*Sparus aurata*)[J]. *Fish and Shellfish Immunology*, 2014, 36:545-551.
- [2] Sheng X Z, Song M M, Zhu H, et al. Dynamic immune interaction between mucosal IgM and polymeric immunoglobulin receptor-like protein in Flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2022, 52(8): 31-39. [绳秀珍, 宋满满, 朱慧, 等. 牙鲆黏膜 IgM 与多聚免疫球蛋白受体同源分子的应答动态研究[J]. 中国海洋大学学报, 2022, 52(8): 31-39.]
- [3] Rajeev R, Adithya K K, Kiran G S, et al. Healthy microbiome: a key to successful and sustainable shrimp aquaculture[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 13(1): 238-258.
- [4] Zhang Y M, Yang G K, Li K K, et al. Research progress of mucosal microorganisms of fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, 46(4): 1117-1127. [张艳敏, 杨国坤, 李克克, 等. 鱼类黏膜层微生物研究进展[J]. 水产学报, 2022, 46(4): 1117-1127.]
- [5] Zhang S H, Wu J P, Chu Z P, et al. Effects of feeding *Bacillus subtilis* on growth and intestinal microflora of hybrid sturgeon[J]. *Marine Fisheries*, 2021, 43(1): 71-80. [张书环, 吴金平, 褚志鹏, 等. 饲喂枯草芽孢杆菌对杂交鲟生长和肠道菌群结构的影响[J]. 海洋渔业, 2021, 43(1): 71-80.]
- [6] Fan Z J, Zhang Z Y, Cao J M, et al. Effect of different initial feeding on gut microbiota structure of Tilapia (*Oreochromis niloticus*) during early development[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2023, 31(5): 1032-1042. [范梓健, 张紫玥, 曹建萌, 等. 不同开口饵料对罗非鱼发育早期肠道菌群结构的影响[J]. 农业生物技术学报, 2023, 31(5): 1032-1042.]
- [7] Xiong X Y, Wang X F, Peng Y H, et al. Variance analysis of intestinal bacterial community between healthy and diseased *Trachinotus ovatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(5): 1317-1325. [熊向英, 王贤丰, 彭银辉, 等. 健康和患病卵形鲳鲹肠道菌群结构的差异[J]. 水产学报, 2019, 43(5): 1317-1325.]
- [8] Meng K F, Ding L G, Wu S, et al. Interactions between commensal microbiota and mucosal immunity in teleost fish during viral infection with SVCV[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 654758.
- [9] Camara-Ruiz M, Cerezo I M, Guardiola F A, et al. Alteration of the immune response and the microbiota of the skin during a natural infection by *Vibrio harveyi* in European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. *Microorganisms*, 2021, 9(5): 964.
- [10] Wang L, Zhang T S, Liu Y, et al. High-throughput sequencing analysis of the main pathogens of ulcer diseased *Plectropomus leopardus*[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2023, 31(3): 617-628. [王磊, 张天时, 刘洋, 等. 高通量测序分析鉴定东星斑溃烂病主要致病菌[J]. 农业生物技术学报, 2023, 31(3): 617-628.]
- [11] Zheng Y P, Wang Y F, Fan H Y, et al. Preliminary study on hermaphroditism in a cultured F1 *Acipenser sinensis*[J]. *Marine Fisheries*, 2021, 43(3): 370-376. [郑跃平, 王轶凡, 范厚勇, 等. 1 例人工养殖子一代中华鲟雌雄同体现象的初步研究[J]. 海洋渔业, 2021, 43(3): 370-376.]
- [12] Zhang L F, Tang D D, Zheng C W, et al. Cloning and expression of *ASDIGIRR* and *ASTRAF6* genes of *Acipenser sinensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2021, 45(8): 1296-1306. [张利凤, 汤东东, 郑楚文, 等. 中华鲟 *ASDIGIRR* 与 *ASTRAF6* 基因的克隆与表达[J]. 水产学报, 2021, 45(8): 1296-1306.]
- [13] Wu J H, Chen J H, Gao C X. Research on the downstream migration and distribution characteristics of Chinese sturgeon in the Yangtze Estuary based on tagging and releasing information[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(12): 1559-1567. [吴建辉, 陈锦辉, 高春霞. 基于标志放流信息的长江口中华鲟降海洄游和分布特征[J]. 中国水产科学, 2021, 28(12): 1559-1567.]
- [14] Di J, Zhang S H, Huang J, et al. Isolation and identification of pathogens causing haemorrhagic septicaemia in cultured Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. *Aquaculture Research*, 2018, 49: 3624-3633.
- [15] Di J, Zhang S H, Huang J, et al. Isolation, identification and antibiotic sensitivity of *Elizabethkingia meningoseptica* from Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2018, 42(1): 120-130. [邸军, 张书环, 黄君, 等. 中华鲟脑膜败血伊丽莎白菌的分离鉴定及药敏特性[J]. 水产学报, 2018, 42(1): 120-130.]
- [16] Xu J, Zeng X H, Jiang N, et al. *Pseudomonas alcaligenes* infection and mortality in cultured Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*[J]. *Aquaculture*, 2015, 446: 37-41.
- [17] Yang J, Tian T, Xiao K, et al. Pathogenic infection and immune-related gene expression of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) challenged by *Citrobacter freundii*[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 2021, 114: 103872.
- [18] Tian T, Zhang J M, Du H J, et al. Isolation and identification of *Aeromonas veronii* from Chinese sturgeon and its antibiotic sensitivity[J]. *Journal of Anhui Agricultural University*, 2017, 44(6): 1011-1017. [田甜, 张建明, 杜合军, 等. 中华

- [18] 鲈源维氏气单胞菌的分离鉴定及其药敏特性[J]. 安徽农业大学学报, 2017, 44(6): 1011-1017.]
- [19] Pan D L, Liu J, Chen J H, et al. Clinical diagnosis and treatment on the severe diseases of Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*[J]. Fishery Modernization, 2009, 36(6): 29-33. [潘连德, 刘健, 陈锦辉, 等. 中华鲟主要病害临床诊断及控制技术[J]. 渔业现代化, 2009, 36(6): 29-33.]
- [20] Zhu Y J, Wei Q W, Yang D G, et al. The main diseases and their control of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)[J]. Freshwater Fisheries, 2005, 35(6): 47-50. [朱永久, 危起伟, 杨德国, 等. 中华鲟常见病害及其防治[J]. 淡水渔业, 2005, 35(6): 47-50.]
- [21] Zhang S H, Nie P, Shu S W, et al. Mycobacteriosis in cultured F₂ generation Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) and relevant blood physiological and biochemical indices[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(1): 136-145. [张书环, 聂品, 舒少武, 等. 子二代中华鲟分枝杆菌感染及血液生理生化指标的变化[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 136-145.]
- [22] Sheng X Z, Song M M, Zhu H, et al. Dynamic immune interaction between mucosal IgM and polymeria immunoglobulin receptor-like protein in Flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Periodical of ocean university of China, 2022, 52(8): 31-39. [绳秀珍, 宋满满, 朱慧, 等. 牙鲆黏膜 IgM 与多聚免疫球蛋白受体同源分子的应答动态[J]. 中国海洋大学学报, 2022, 52(8): 31-39.]
- [23] Lv A J, Hu X C, Sun J F, et al. Proteomics and immune responses in skin of fish[J]. Fisheries Science, 2016, 35(3): 302-307. [吕爱军, 胡秀彩, 孙敬锋, 等. 鱼类皮肤免疫应答及蛋白质组学[J]. 水产科学, 2016, 35(3): 302-307.]
- [24] Zhu W G, Li X H, Rao L Y, et al. Effects of reovirus infection on the intestinal microbiota diversity of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Acta hydrobiologica sinica, 2019, 43(1): 109-116. [朱文根, 李星浩, 饶刘瑜, 等. 感染草鱼呼肠孤病毒对肠道菌群多样性的影响[J]. 水生生物学报, 2019, 43(1): 109-116.]
- [25] Nie L, Zhou Q J, Qiao Y, et al. Interplay between the gut microbiota and immune responses of ayu (*Plecoglossus altivelis*) during *Vibrio anguillarum* infection[J]. Fish and shellfish immunology, 2017, 68: 479-487.
- [26] Zhang X P, Xu L, Fu H G, et al. Analysis of the bacterial diversity in the skin of Quasipaa spinosa affected with rotten-skin disease based on 16 sRNA amplicon sequencing[J]. Fujian Agricultural Science and Technology, 2022, 53(11): 1-9. [张雪萍, 徐莉, 符宏高, 等. 基于 16sRNA 扩增子测序分析患烂皮病棘胸蛙皮肤的细菌多样性[J]. 福建农业科技, 2022, 53(11): 1-9.]
- [27] Hill T C, Walsh K A, Harris J A, et al. Using ecological diversity measures with bacterial communities[J]. FEMS Microbiol Ecology, 2003, 43(1): 1-11.
- [28] Jones S E, Lennon J T. Dormancy contributes to the maintenance of microbial diversity[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2010, 107(13): 5881-5886.
- [29] Lowrey L, Woodhams D C, Tacchi L, et al. Topographical mapping of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) microbiome reveals a diverse bacterial community with antifungal properties in the skin[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2015, 81(19): 6915-6925.
- [30] Hao J H, Cai W J, Li K M, et al. Skin and intestinal microbial diversity of *Herzensteinia microcephalus* determined by high-throughput sequencing[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2023, 63(1): 233-250. [郝佳慧, 蔡伟杰, 李柯懋, 等. 高通量测序分析小头裸裂尻鱼皮肤和肠道的微生物多样性[J]. 微生物学报, 2023, 63(1): 233-250.]
- [31] Fan Y, Yu X Q, Li L, et al. Analysis of microbial diversity of skin mucus and intestinal contents in *Hexagrammos otakii* based on 16S rRNA high-throughput sequencing technology[J]. Current biotechnology, 2021, 11(1): 79-90. [樊英, 于晓清, 李乐, 等. 基于 16SrRNA 高通量测序分析大泷六线鱼表皮粘液及肠道内容物微生物多样性[J]. 生物技术进展, 2021, 11(1): 79-90.]
- [32] Li D L. Study of the intestinal florastructure of grass carp infection with *Aeromonas hydrophila*[D]. Xian: Northwest Agriculture and Forest University, 2016. [李东亮. 感染嗜水气单胞菌草鱼肠道菌群结构研究[D]. 西北农林科技大学, 2016.]
- [33] Liu L J, Wang H L, Wang Y J, et al. Isolation, identification, pathogenicity and drug susceptibility of *Flavobacterium columnare* from *Oxyeleotris marmoratus*[J]. Journal of Southern Agriculture, 2023, 54(2): 638-646. [刘丽娟, 王红莉, 王亚军, 等. 筏壳鱼源柱状黄杆菌的分离鉴定及致病性和药物敏感性[J]. 南方农业学报, 2023, 54(2): 638-646.]
- [34] Vandamme P, Bernardet J F, Segers P, et al. New perspectives in the classification of the flavobacteria: Description of *Chryseobacterium* gen.nov., *Bergeyella* gen. nov., and *Empedobacter* nom. Rev[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1994, 44(4): 827-831.
- [35] Chai J R, Wang D, Lu T Y, et al. Isolation, identification and pathogenicity of *Flavobacterium psychrophilum* from *Oncorhynchus mykiss*[J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(6): 929-939. [柴静茹, 王荻, 卢彤岩, 等. 虹鳟源嗜冷黄杆菌的分离鉴定及致病性[J]. 水产学报, 2021, 45(6): 929-939.]

- [36] Ravindra, Pradhan P K, Paria A, et al. Expression of immune genes in Indian major carp, Catla catla challenged with *Flavobacterium columnare*[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2019, 94: 599-606.
- [37] Chen T, Zhou J C, Qu Z L, et al. Administration of dietary recombinant hepcidin on grass (*Ctenopharyngodon idella*) against *Flavobacterium columnare* infection under cage aquaculture conditons[J]. Fish and Shellfish Immunology, 2020, 99: 27-34.
- [38] Zhang Y L, Zhao L J, Zhou W D, et al. Characterization and pathogenicity of a strain of *Flavobacterium columnare* isolated from *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2016, 35(2): 83-89. [张玉蕾, 赵丽娟, 周伟东, 等. 黄颡鱼源柱状黄杆菌的分离鉴定及其对翘嘴鲌的致病性[J]. 华中农业大学学报, 2016, 35(2): 83-89.]
- [39] Zhang J M, Tian T, Zhang D Z. The diagnosis and treatment in a bacterial gill-rot disease of the Chinese sturgeon juvenile (*Acipenser sinensis*)[J]. Fisheries Science and Technology Information, 2017, 44(5): 245-247. [张建明, 田甜, 张德志. 中华鲟幼鱼细菌性烂鳃病的诊断与治疗[J]. 水产科技情报, 2017, 44(5): 245-247.]
- [40] Chinchilla B, Vazquez-Fernandez E, Rebollada-Merino A, et al. First detection of *Flavobacterium psychrophilum* in juvenile Siberian sturgeons (*Acipenser baerii*) and description of the pathological findings[J]. Journal of Fish Diseases, 2023, 46(8): 887-894.
- [41] Wang X Y, Han Y N, Jin S, et al. Identification and analysis on extracellular products characteristics of *Chryseobacterium indologenes* isolation from *Channa argus*[J]. Acta hydrobiologica sinica, 2016, 40(3): 641-646. [王鑫毅, 韩艳楠, 金珊, 等. 乌鳢产吲哚金黄杆菌的鉴定及其胞外产物特性分析[J]. 水生生物学报, 2016, 43(3): 641-646.]
- [42] Yang Y B, Ai X H, Song Y, et al. Isolation, identification and antibiotic sensitivity of *Chryseobacterium indologenes* from *Trionyx sinensis*[J]. Acta hydrobiologica sinica, 2018, 42(2): 786-793. [杨移斌, 艾晓辉, 宋怿, 等. 中华鳖源致病性产吲哚金黄杆菌分离、鉴定及药敏特性分析[J]. 水生生物学报, 2018, 42(2): 786-793.]
- [43] Cai J, Wu J Y, Pan Y X, et al. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Chryseobacterium* sp. From *Pseudosiaena crocea*[J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2022, 49(3): 1135-1143. [蔡杰, 吴佳怡, 潘苑霞, 等. 1株大黄鱼源金黄杆菌的分离鉴定和耐药性分析[J]. 中国畜牧兽医, 2022, 49(3): 1135-1143.]
- [44] He S X, Ma G Q, Niu W J, et al. Pathogenicity study of *Chryseobacterium oncorhynchi* B8 isolated from sturgeon (*Acipenser baerii*) in North China[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2019, 21(4): 96-103. [何夙旭, 马国庆, 牛文静, 等. 一株北方地区鲟鱼源病原细菌金黄杆菌 B8 致病性研究[J]. 中国农业科技导报, 2019, 21(4): 96-103.]
- [45] Xie B B, Liu J, Youlituzi N, et al. Bioinformatics analysis and functional verification of copper resistance gene cueR in *Acidovorax citrulli*[J]. Microbiology China, 2020, 47(5): 1534-1543. [颉兵兵, 刘君, 优丽图孜·乃比, 等. 西瓜食酸菌抗铜基因 cueR 的生物信息学分析及功能验证[J]. 微生物学通报, 2020, 47(5): 1534-1543.]
- [46] Youlituzi N, Wang X D, Liu J, et al. Transcriptome analysis of the interaction between *Acidovorax citrulli* and cucumber[J]. Microbiology China, 2021, 48(10): 3667-3681. [优丽图孜·乃比, 王希东, 刘君, 等. 西瓜食酸菌与黄瓜互作转录组分析[J]. 微生物学通报, 2021, 48(10): 3667-3681.]
- [47] Chen L. High throughput screening for type three secretion system inhibitor in *Acidovorax citrulli*[D]. Beijing: China Agricultural University, 2016. [陈亮. 西瓜食酸菌(Acidovorax citrulli)III 型分泌系统抑制剂的高通量筛选[D]. 北京: 中国农业大学, 2016.]
- [48] Fan X. The mechanisms of simultaneous nitrogen removal, arsenite oxidation and degradation of hydroxybenzoate in *Hydrogenophaga* sp.H7[D]. Wuhan:Huazhong Agricultural University, 2020. [范霞. 氢噬胞菌属 H7 同时除氮、砷氧化及降解羟基苯甲酸机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2020.]

Analysis on skin mucosa microbial community structure of healthy and diseased Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)

TIAN Tian, ZHANG Jianming, ZHANG Dezhi, ZHU Xin, LI Yang

Institute of Chinese Sturgeon, China Three Gorges Corporation; Hubei Key Laboratory of Three Gorges Project for Conservation of Fishes, Yichang 443100, China

Abstract: To explore the relationship between the microbial community structure of the skin mucosa of Chinese sturgeons and plate discoloration disease, this study analyzed the structural characteristics of the microbial communities of the dorsal plate and trunk skins of healthy and diseased Chinese sturgeons using Illumina high-throughput sequencing. A total of 3406 operational taxonomic units (OTUs) were identified in the skin mucosa from the four sources. Compared to Chinese sturgeons in the healthy group, the number of OTUs in the dorsal plate skin in the disease group decreased by 84%, and that in the trunk skin decreased by 55%. At the phylum level, the composition of the dominant bacteria in the dorsal plate and trunk skins of Chinese sturgeons in the healthy group was relatively similar, with Proteobacteria, Firmicutes, and Bacteroidetes being the main bacteria, accounting for more than 75%. Bacteroidetes were highly enriched in the dorsal plate and trunk skins of the disease group; the relative abundance of the former increased from 11.15% to 67.99%, and the relative abundance of the latter increased from 20.28% to 53.48%. At the genus level, the relative abundances of *Flavobacterium* in the dorsal plate and trunk skins of the disease group were 42.83% and 21.78%, respectively, which were higher than that of the healthy group (4.20% and 16.92%, respectively). The relative abundances of *Chryseobacterium* in the dorsal plate and trunk skins of the disease group were 23.34% and 27.65%, respectively, which were higher than that of the healthy group (0.33% and 2.16%, respectively). Diversity analysis showed significant differences in the Chao and Shannon indices between the skin mucosa of Chinese sturgeons in the healthy and diseased groups ($P<0.01$). The significant difference analysis showed that *Flavobacterium*, *Chryseobacterium*, *Acidovorax* and *Hydrogenophaga* were significantly upregulated in the disease group ($P<0.05$). This study showed that compared with the healthy Chinese sturgeon group, the number of OTUs in the dorsal plate and trunk skins of the diseased Chinese sturgeon group as well as the richness and diversity were significantly reduced ($P<0.01$). *Flavobacterium* and *Chryseobacterium* of Bacteroidota were highly enriched in the skin mucosa of Chinese sturgeons in the disease group, and may be the main pathogenic bacteria of this disease.

Key words: *Acipenser sinensis*; skin mucosa; high-throughput sequencing; microbial community structure

Corresponding author: TIAN Tian. E-mail: cocotian1234@126.com