

DOI: 10.12264/JFSC2024-0322

水霉病感染与健康状态下巨须裂腹鱼肠道微生物多样性差异

汪昱言^{1,2}, 刘怡萱^{1,2}, 王万良^{1,3}, 曹鹏熙^{1,2}

1. 西藏大学生态环境学院, 青藏高原生物多样性与生态环境保护教育部重点实验室, 西藏 拉萨 850000;
2. 西藏大学, 那曲麦地卡高寒湿地生态系统西藏自治区野外科学观测研究站, 西藏 那曲 852000;
3. 西藏自治区农牧科学院水产科学研究所, 西藏 拉萨 850000

摘要: 巨须裂腹鱼(*Schizothorax macropogon*)是国家二级保护动物, 具有较高生态价值和经济价值, 目前相关研究多集中于资源调查、个体生物学和群体遗传学等方面, 有关肠道微生物的研究较少。本研究分别提取了患水霉病和健康状态的巨须裂腹鱼的肠道内容物, 通过高通量测序分析了肠道微生物的 OTU 数量、菌群组成、丰度及 Alpha 多样性, 并预测其功能。经 Alpha 多样性分析可得, 健康组巨须裂腹鱼的肠道微生物群落丰富度和多样性高于患病组; 经 PCoA 分析可得, 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道微生物之间具有显著差异。通过物种分布柱状图可得, 健康组与患病组巨须裂腹鱼肠道微生物在群落结构组成具有相似性, 但相对丰度具有差异。细菌共获得了 7 个优势菌门, 包括蓝藻门(Cyanobacteriia)、变形菌门(Proteobacteria)和梭杆菌门(Fusobacteriota)等; 与健康组相比, 患病组特有属为拟杆菌属(*Bacteroides*)和蛋白质小链菌属(*Proteocatella*)等。真菌共获得 5 个优势菌门, 包括子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)和罗兹菌门(Rozellomycota)等; 健康组的特有属为 *Ceratorhiza*; 患病组的特有属为 *Boeremia* 和 *Tausonia*。根据 LDA 判别图统计, 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道之间存在 38 个细菌标志物种、45 个真菌标志物种。巨须裂腹鱼肠道微生物的共现性网络具有较高的连接性和连通性; 根据功能预测分析, 健康组与患病组巨须裂腹鱼的肠道细菌功能菌群存在显著差异($P < 0.05$), 且健康组的相对丰度高于患病组。本研究揭示了巨须裂腹鱼肠道微生物的群落组成和多样性特征, 初步解析了巨须裂腹鱼健康状况与其肠道微生物之间的关系, 为西藏地区特有鱼类肠道菌群的研究提供了数据基础。

关键词: 青藏高原; 巨须裂腹鱼; 肠道微生物; 优势菌群; 功能预测

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2025)03-0372-15

淡水生态系统为人类社会提供了至关重要的商品和服务, 受到气候变化和人类活动的严重影响, 生物多样性面临多种威胁^[1]。鱼类是淡水生态系统中的重要组成部分, 研究鱼类有助于了解和保护生物多样性^[2]。青藏高原特有的气候条件和地理环境孕育了独特的高原鱼类, 这些鱼类对于高原生态系统的健康和稳定起到关键作用。巨须裂腹鱼(*Schizothorax macropogon*)隶属于鲤形目(Cypriniformes)、裂腹鱼亚科(Schizothoracinae)、

裂腹鱼属(*Schizothorax*)^[3], 主要分布于青藏高原雅鲁藏布江流域, 是西藏重要的土著经济鱼类之一, 在雅鲁藏布江水生生态系统中具有较多种群数量和较高的生态位, 是具有重要影响力的物种^[4-5]。近年来, 我国学者对于巨须裂腹鱼的研究主要集中在资源动态^[5], 早期发育特征^[6]、年龄与生长^[7]等方面。关于巨须裂腹鱼肠道微生物群落结构和多样性的研究还相对较少。

水霉病(saprolegniasis)也叫肤霉病或白毛病,

收稿日期: 2024-10-17; 修订日期: 2025-01-17.

基金项目: 西藏自治区科技计划重点研发项目(XZ202301ZY0006G, XZ202501JD0016); 那曲市科技计划重点研发项目(NQKJ-2023-15); 中央财政支持地方高校建西藏麦地卡湿地站建设项目([2023]1 号, [2024]1 号).

作者简介: 汪昱言(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向为青藏高原微生物生态学. E-mail: yyWang0@126.com

通信作者: 曹鹏熙, 讲师, 研究方向为青藏高原微生物生态学. E-mail: pxcao@utibet.edu.cn

是淡水水产养殖中广泛存在的真菌感染^[8-9],是影响巨须裂腹鱼生存和繁殖的严重问题。腐殖质增生是鱼类发育中的胚胎所遭受的病理的次要表现。水霉菌一般广泛存在于淡水生态系统,以游动孢子形式迅速扩散,对水产动物的种类没有选择性。主要表现为在躯体上形成白色如棉絮状覆盖物,受伤的鱼类和死卵更容易受到感染。水霉病防治难度较大,给淡水鱼养殖业带来巨大的经济损失^[10]。自从特效药物孔雀石绿禁用后,直至目前水霉病的防治仍然是困扰渔业的一大难题。已有的研究表明,水霉菌(*Saprolegnia*)会感染鱼类的伤口或寄生虫感染处^[11]。在孔庆辉等^[12]的研究中,感染水霉菌的巨须裂腹鱼脾脏组织中有1889个基因发生差异表达,其中1414个基因上调,475个基因下调。这表明水霉病感染可以显著影响巨须裂腹鱼脾脏组织的基因表达模式。水霉病的感染会影响巨须裂腹鱼的正常游泳、食欲、消化系统和排泄系统等,使巨须裂腹鱼的免疫力下降。巨须裂腹鱼是西藏的特有鱼类,本实验在2021年11月以不同健康状况的巨须裂腹鱼为研究对象,通过16S rRNA扩增子测序,首次对巨须裂腹鱼肠道微生物的结构特征及潜在功能开展研究,并分析患病和健康巨须裂腹鱼肠道菌群之间的差异性,为巨须裂腹鱼的保护和水霉病的防治提供参考。

我们对于动物微生物肠道的了解很大程度上是基于对哺乳动物的研究。为了更好地了解动物宿主和本土微生物之间的共生关系的进化基础,有必要研究非哺乳动物和脊椎动物物种的肠道微生物群^[13]。肠道是鱼类消化系统的重要组成部分,参与消化和吸收过程。肠道微生物影响肠道发育并与宿主的免疫系统相互作用,对宿主的健康具有重要意义^[14]。肠道微生物维持着肠道内环境的平衡,对宿主的健康具有重要意义,且在不同的宿主间存在差异,这些差异可能受环境、年龄、生理状况、饮食等因素的影响。鱼类肠道微生物影响着鱼类的疾病预防、代谢健康、免疫系统调节、与环境的交互等功能^[15-17],同时可能是鱼类分解有机物的主控因素^[18]。肠道微生物的多样性受到食性的影响,巨须裂腹鱼主要摄食水中的底

栖无脊椎动物和水生昆虫,兼食硅藻。感染水霉病可能会导致病菌的增殖,从而引起肠炎等消化系统疾病。一些肠道微生物具有抗真菌活性,能够抑制水霉病的生长^[19]。肠道微生物在保持宿主肠道的健康、促进肠道正常发育、提高机体能量吸收和脂肪代谢、抵抗病原入侵等方面具有重要意义^[14]。目前,关于鱼类肠道微生物的信息主要是基于培养研究得出,这些方法只能揭示有限范围内的微生物多样性^[20]。通过比较分析水霉病感染与健康状态下巨须裂腹鱼肠道微生物多样性差异,可以更全面地了解巨须裂腹鱼肠道菌群组成及其在生长发育中的重要作用,对于野生鱼类资源养护与利用有重要指导意义。

1 材料与方法

1.1 样本采集

本次实验的样本采集工作于2021年11月在西藏自治区农科院雅鲁藏布江曲水水产养殖基地进行。通过在湖中布设捕捞网,成功捕获了15条巨须裂腹鱼。捕获后,将这些鱼样本放入无菌自封袋中,并立即存放在-20℃的车载冰箱内,以保持样本的新鲜度。回到实验室后,对这些样本进行了解冻,并从中提取了肠道样本(图1)。通过观察和分类,确定其中10条巨须裂腹鱼处于健康状态,而另外5条则患有水霉病。随后,将这些肠道样本保存在含有95%酒精的容器中,并将其存放在-20℃的冰箱中以备后续分析。最后,对这15个样本进行了DNA测序工作。

1.2 DNA的提取和肠道微生物多样性的测定

提取巨须裂腹鱼肠道细菌和真菌总DNA。使用338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')作为通用引物对DNA样本中的16S rRNA基因V3~V4区域进行PCR扩增^[18]。采用ITS1F(5'-CTTGGTC-ATTAGAGGAAGTAA-3')和ITS2R(5'-GCTGC-GTTCCTTCATCGATGC-3')引物,对真菌ITS1~ITS2区域PCR扩增^[19]。PCR的反应条件为:使用20 μL PCR反应体系(10×Bufferrv 2 μL; 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL; 正反引物(5 μmol/L)各0.8 μL; rTaq聚合酶0.2 μL; 牛血清白蛋白0.2 μL; 10 ng DNA



图 1 巨须裂腹鱼标本与肠道处理图

a. 巨须裂腹鱼标本图; b. 患病巨须裂腹鱼肠道; c. 健康巨须裂腹鱼肠道.

Fig. 1 Diagram of *Schizothorax macropogon* with gut treatment

a. Diagram of an individual *S. macropogon*; b. Gut of sick *S. macropogon*; c. Gut of healthy *S. macropogon*.

模板; 将 ddH₂O 补充至 20 μ L。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}$ C 3 min, 95 $^{\circ}$ C 30 s, 56 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 45 s, 共 25 个循环。使用 Nano Drop 2000 测试 DNA 纯度与浓度, 琼脂糖凝胶电泳用于检查 PCR 成功率。所有样本均送至上海美吉生物医药科技有限公司进行测序分析。

1.3 数据分析

使用 Flash 和 Trimmomatic 软件对测序后得到的双端序列进行拼接、过滤。再采用 Usearch 软件对所得数据进行聚类分析。为了确定样本分组是否可行, 采用 ANOSIM 相似性和 Adonis 置换多因素方差分析对样本进行分析。对 Sobs、Shannon、Simpson、Ace、Chao 和 Coverage 指数进行分析, 并通过 Welch T 检验进行 Alpha 多样性组间差异检验; 运用主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 对巨须裂腹鱼肠道微生物群落相似性进行分析。基于 R 语言的 PSYCH 包中的 corr.test 函数, 以属水平的细菌和真菌丰度为基础, 生成共现性网络图。利用 Gephi 软件计算网络的节点、网络直径、平均路径、模块化指数等。本研究的部分数据还借助美吉云平台进行了分析。

支持本研究结果的数据上传至国家微生物科学数据中心 (NMDC), 编号为 NMDC1001935, 链

接为 <https://nmcc.cn/resource/genomics/project/detail/>。

2 结果与分析

2.1 巨须裂腹鱼肠道微生物群落结构及多样性

2.1.1 测序结果 巨须裂腹鱼肠道样本经过测序并按最小样本序列数进行抽平共得到 401349 原始细菌序列和 766794 条原始真菌序列。肠道细菌共注释到 1587 个 OTUs, 共检测到 34 个门、92 个纲、215 个目、362 个科、662 个属和 1044 个种; 两组样本共有的 OTU 为 416 个, 健康组和患病组样本特有的 OTU 数量分别为 529 和 230 (图 2c)。肠道真菌共注释到 1815 个 OTUs, 共检测到 11 个门、38 个纲、102 个目、215 个科、385 个属和 560 个种; 健康组和患病组样本特有的 OTU 数量分别为 714 和 218 (图 2d)。由图 2a 和 2b 得, Shannon 稀释曲线逐渐趋于平缓, 表明细菌和真菌样本测序数量充足, 测序结果可靠, 可以反映样品中绝大多数的微生物的信息。

2.1.2 肠道微生物的 Alpha 多样性分析 对健康组和患病组巨须裂腹鱼的肠道微生物在 OTU 水平上进行 Alpha 多样性指数分析 (图 3), 每组样本的 coverage 指数均达 0.99 以上, 表明检测结果可靠。Sobs、Ace、Chao 指数可以反映群落丰富度,

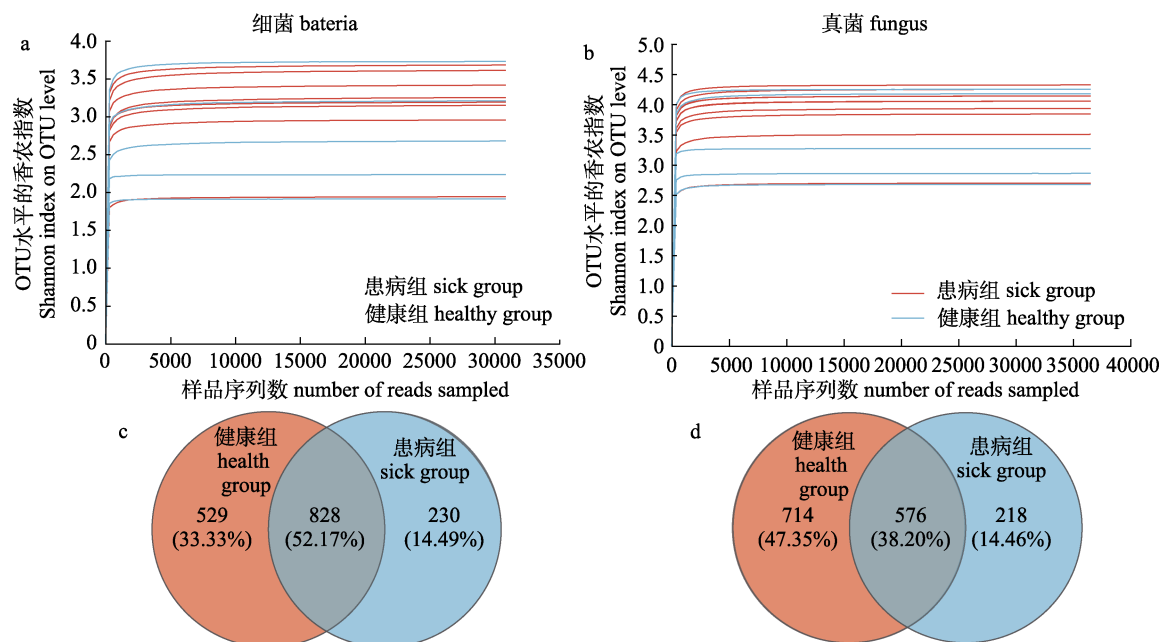


图 2 细菌和真菌高通量测序的 Shannon 稀释性曲线和 OTU Venn 图

Fig. 2 Shannon dilancy curves and OTU Venn plots for high-throughput sequencing of bacteria and fungus

Shannon 指数和 Simpson 指数可以反映群多样性。分析发现健康组与患病组间肠道微生物的多样性指数存在较大差异。从细菌群落来看(图 3a~3e), 健康组与患病组的 Ace 指数和 Sobs 指数具有显著差异 ($P<0.05$), Chao 指数具有极显著差异 ($P<0.01$)。健康组的 Ace 指数、Sobs 指数、Shannon 指数和 Chao 指数大于患病组样本, 表明两个分组的样本的群落丰富度具有显著差异, 且健康组的群落丰富度和多样性高于患病组。从真菌群落来看(图 3f~3j), 两个分组的样本的 Ace 指数、Sob 指数和 Chao 指数具有极显著差异 ($P<0.01$), Shannon 指数和 Simpson 指数的组间差异不显著, 健康组的多样性指数高于患病组, 表明健康组的群落丰富度和多样性大于患病组样本。

2.2 巨须裂腹鱼肠道微生物群落相似性比较

基于 OTU 水平对健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道微生物群落结构的相似性进行 PCoA 分析, 对巨须裂腹鱼肠道细菌群落结构进行分析可得, PCoA1 轴和 PCoA2 轴的贡献率分别为 51.2%和 14.69%, 二者积累贡献率为 65.89%, PCoA 分析 ($R^2=0.2363$, $P=0.027$)显示, 健康组和患病组样本的细菌群落之间存在明显的分离, 说明健康组和

患病组巨须裂腹鱼细菌群落之间有显著的差异(图 4a)。对巨须裂腹鱼肠道真菌群落结构进行分析可得, PCoA1 轴和 PCoA2 轴的贡献率分别为 39.16%和 15.14%, 二者积累贡献率为 54.3%, PCoA 分析 ($R^2=0.2093$, $P=0.007$), 健康组和患病组巨须裂腹鱼真菌群落之间存在明显的分离, 说明健康组和患病组巨须裂腹鱼真菌群落之间有显著的差异。

2.3 健康巨须裂腹鱼微生物群落物种组成分析

2.3.1 门和属水平上的细菌群落组成

通过高通量测序对健康组与患病组巨须裂腹鱼肠道细菌群落进行分析, 在门水平上, 共获得了 7 个优势细菌门(相对丰度 $>1\%$)(图 5a), 包括蓝藻门(Cyanobacteria)、梭杆菌门(Fusobacteriota)、变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidta)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteriota)和绿弯菌门(Chloroflexi)。整体上, 健康组与患病组的细菌群落结构具有相似性, 但在菌群相对丰度上具有差异。健康组的肠道细菌优势菌门为蓝藻门、变形菌门和梭杆菌门; 患病组的肠道细菌优势菌门为变形菌门、梭杆菌门和厚壁菌门。通过比较门水平的健康组和患病组巨须裂腹鱼细菌

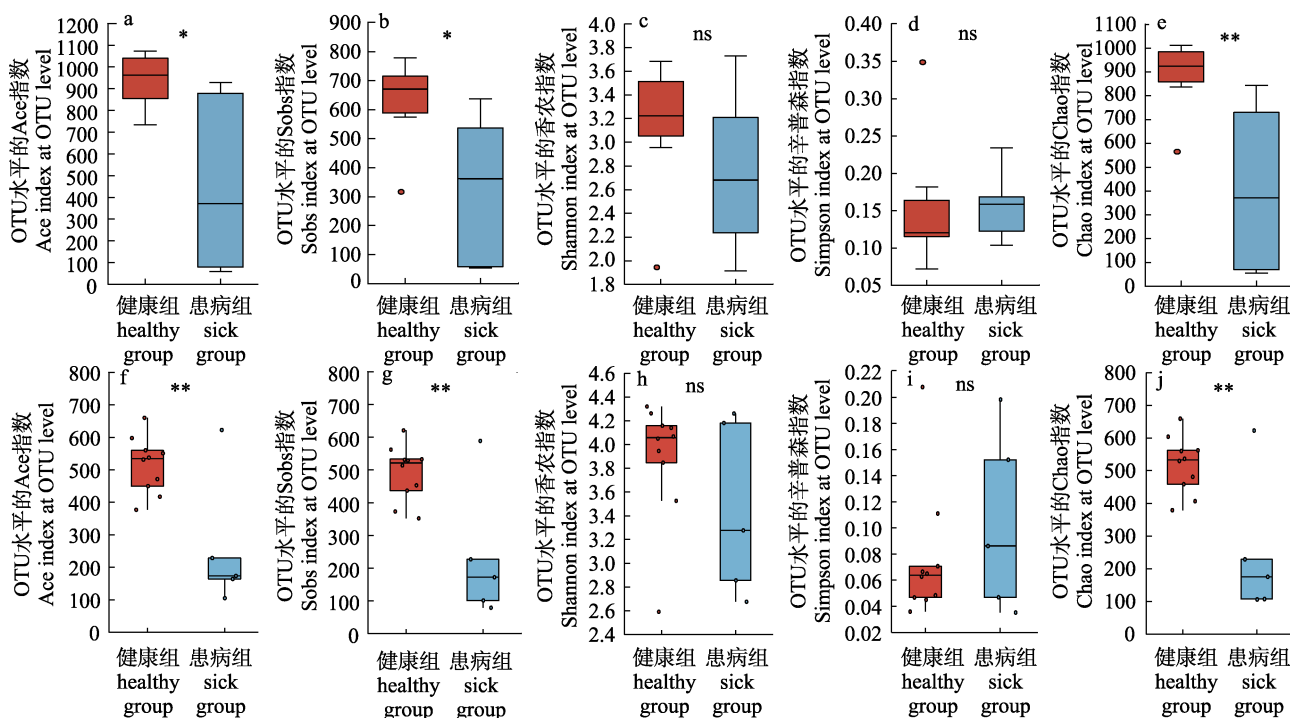


图 3 Alpha 多样性指数

a-e. 细菌 OTU 水平的 Alpha 多样性指数; f-j. 真菌群落 OTU 水平的 Alpha 多样性. ns: 差异不显著.

Fig. 3 Alpha diversity indices

a-e. Alpha diversity indices of bacteria at OTU level; f-j. Alpha diversity indices at OTU level for fungus. ns: no significant difference.

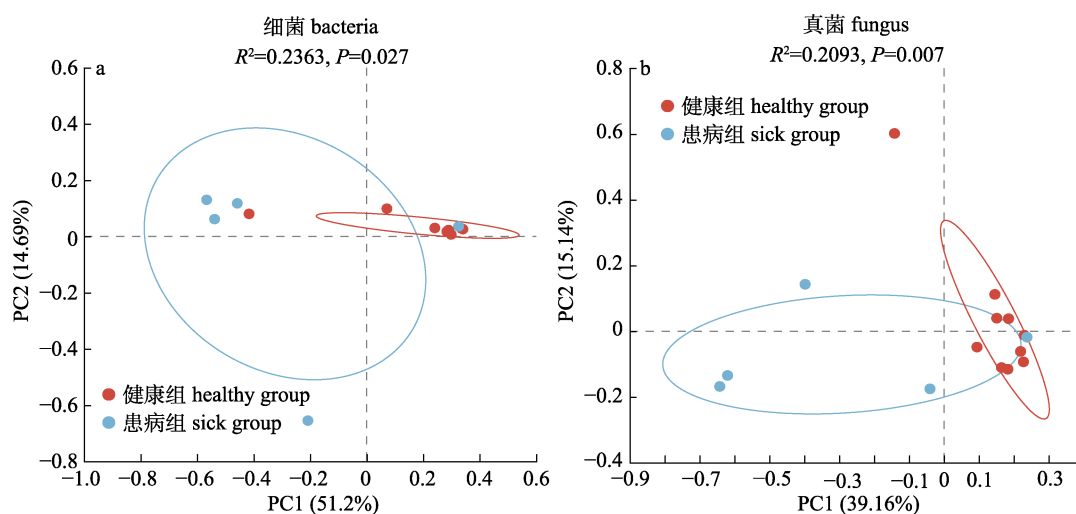


图 4 基于 PCoA 分析的群落结构相似性

Fig. 4 Community structural similarity based on PCoA analysis

群落相对丰度可得, 健康组蓝藻门相对丰度显著高于患病组; 且变形菌门、梭杆菌门和厚壁菌门的菌群丰度显著低于患病组。

细菌样本共注释到 662 个属(图 5b), 平均相对丰度在前 1% 的属共有 14 个。健康组以 norank_o_Chloroplast (58.30%)、*Cetobacterium*

(9.85%)、*Dechloromonas* (2.61%) 为主; 患病组以 *Cetobacterium* (17.37%)、o_Chloroplast (12.74%)、*Aeromonas* (13.62%)、*Clostridium_sensu_stricto_1* (9.74%)、*Burkholderia-Caballeronia-Paraburkholderia* (5.82%)。与健康组相比患病组特有属为拟杆菌属(*Bacteroides*)和蛋白质小链菌属(*Proteocatella*)等。

2.3.2 门和属水平上的真菌群落组成 根据分类学结果真菌共获得 5 个优势菌门, 包括子囊菌门(Ascomycota)、未分类真菌、担子菌门(Basidionmycota)、罗兹菌门(Rozellomycota)^[21]、壶菌门(Chytridiomycota)(图 5c)。两组样本的真菌群落结构在门水平上具有相似性, 但在物种相对丰度上具有差异。比较健康组与患病组巨须裂腹鱼肠道真菌相对丰度发现, 健康组的罗兹菌门相对丰度更高, 而子囊菌门和担子菌门的相对丰度较低。

真菌样本共注释到 385 个属(图 5d), 平均相对丰度在前 1%的属共有 20 个。健康组巨须裂腹鱼肠道真菌群落结构主要以未注释真菌(28.35%)、

小双腔菌属(*Didymella*)(15.78%)、枝孢菌属(*Cladosporium*)(4.96%)、*Ceratorhiza* (3.88%)为主; 患病组巨须裂腹鱼肠道真菌群落结构主要以*Cutaneotrichosporon* (16.27%)、未分类真菌(15.00%)、*Boeremia* (8.57%)、小双腔菌属 (*Didymella*)(7.58%)和小毛盘菌属(*Cistella*)(4.20%)为主。患病组巨须裂腹鱼肠道真菌中的小毛盘菌属、*Saitozyma*、假丝酵母属(*Candida*)的相对丰度高于健康组; 健康组的特有属有 *Ceratorhiza*; 患病组的特有属为 *Boeremia* 和 *Tausonia*。

2.4 巨须裂腹鱼微生物群落 LEfSe 分析
2.4.1 巨须裂腹鱼肠道细菌群落的 LEfSe 分析
通过 LEfSe 分析, 比较健康组和患病组巨须

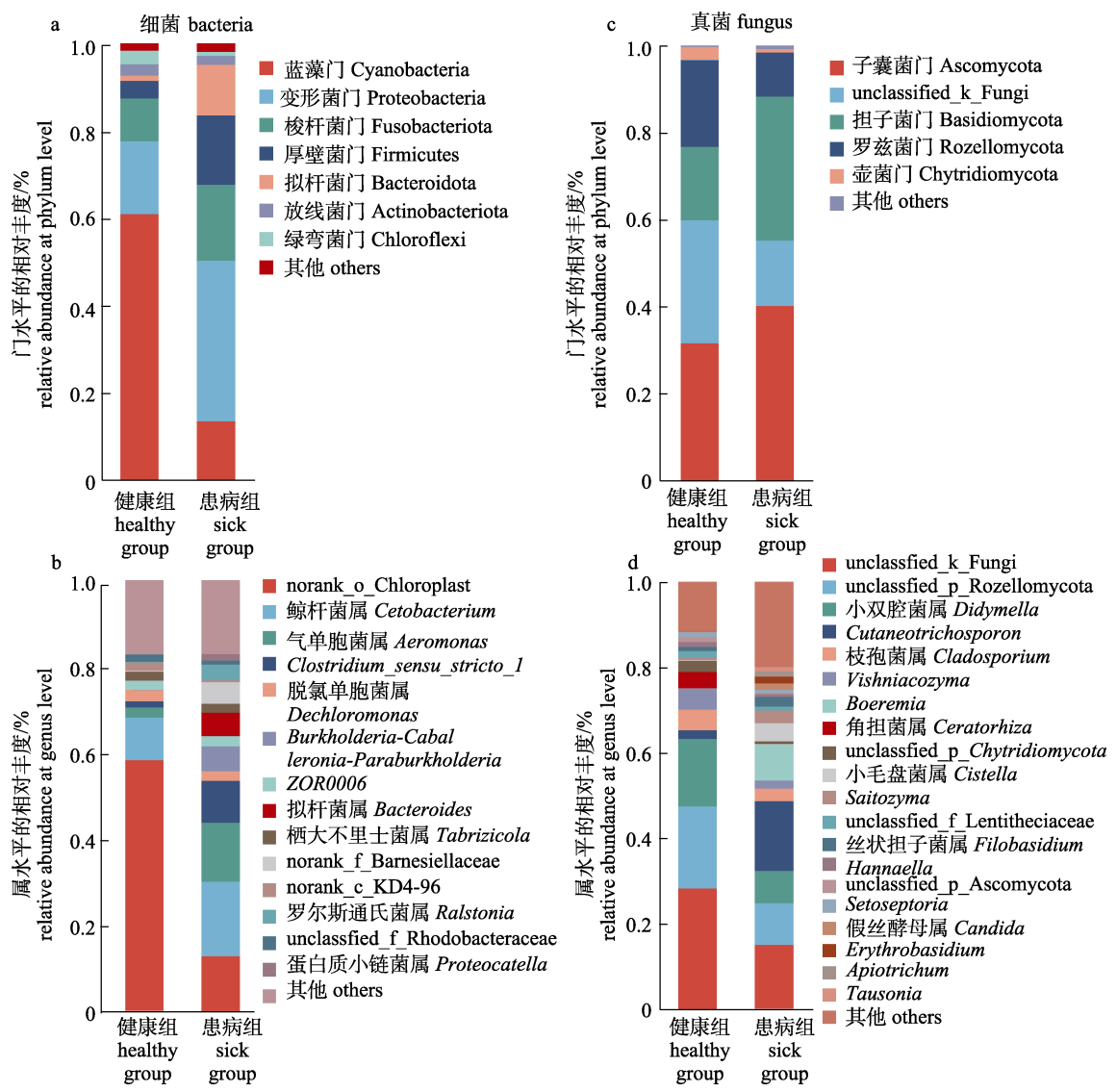


图 5 患病组与健康组巨须裂腹鱼的肠道细菌群落结构
Fig. 5 Gut bacterial community structure of *Schizothorax macropogon* in sick group and healthy group

裂腹鱼肠道中差异显著的细菌群落, 本研究中检测到的大量 OTU 的计算复杂性, 因此仅从门到属的水平进行统计。LDA 判别柱形图统计多组中有显著作用的微生物类群, 通过 LDA 分析获得的 LDA 分值, LDA 分值越大, 代表物种丰度对差异效果影响越大。由图 6 可得, 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道细菌群落的显著差异物种小于 50 个, 且健康组和患病组的标志物种分别有 31 个和 7 个。其中, 健康组肠道细菌群落中的蓝藻门、蓝藻纲(Cyanophyceae)、Chloroplast 目等的相对丰度显著高于患病组; 患病组巨须裂腹鱼肠道细菌群落的 Gammaproteobacteria 纲、变形菌门、拟杆菌目(Bacteroidales)等的相对丰度显著高于健康组。

2.4.2 巨须裂腹鱼肠道真菌群落的 LEfSe 分析

通过 LEfSe 分析, 比较健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道中差异显著的真菌群落, 本研究中检测到的大量 OTU 的计算复杂性, 因此仅从门到属的水

平进行统计。LDA 判别柱形图统计多组中有显著作用的微生物类群, 通过 LDA 分析获得的 LDA 分值, LDA 分值越大, 代表物种丰度对差异效果影响越大。由图 7 可得, 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道真菌群落的显著差异物种小于 50 个, 且健康组和患病组的标志物种分别有 35 个和 10 个。其中健康组巨须裂腹鱼肠道真菌的小双腔菌属、芽枝菇科(Bulleribasidiaceae)、Vishniacozyma 属等的相对丰度显著高于患病组; 患病组巨须裂腹鱼肠道真菌的 *Barnettozyma* 属、散囊菌门(Eurotiomycetes)、青霉属(*Apitrichum*)等的相对丰度显著高于健康组。

2.5 巨须裂腹鱼肠道微生物共现性网络分析

对门水平的巨须裂腹鱼肠道微生物进行共现性网络互作分析, 结果表明肠道真菌(94.32%)的正相关边比例高于肠道细菌(72.82%), 表明肠道真菌之间存在更多的协同作用或相互依赖关系,

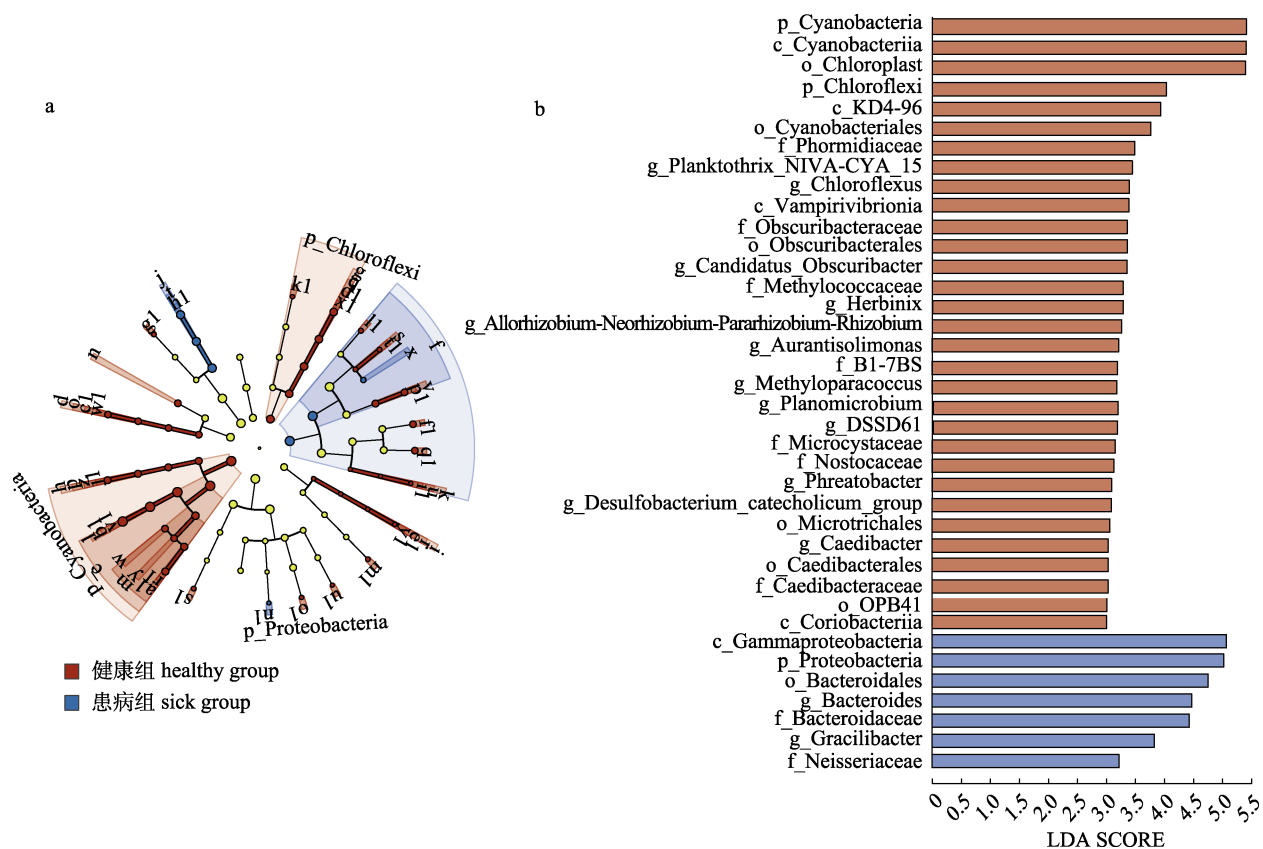


图 6 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道细菌的 LEfSe 分析

圆表示从门到属的系统发育水平; 圆的直径与相应分类单元的丰度成正比; 黄色圆表示在各组中丰度差异不显著的细菌类群。

Fig. 6 LEfSe analyses of intestinal bacteria in healthy group and sick group of *Schizothorax macropogon*

Circles indicate phylogenetic levels from phylum to genus, with their diameters proportional to corresponding taxa abundance, and the yellow circles represent bacterial taxa whose abundance did not differ significantly among the groups.

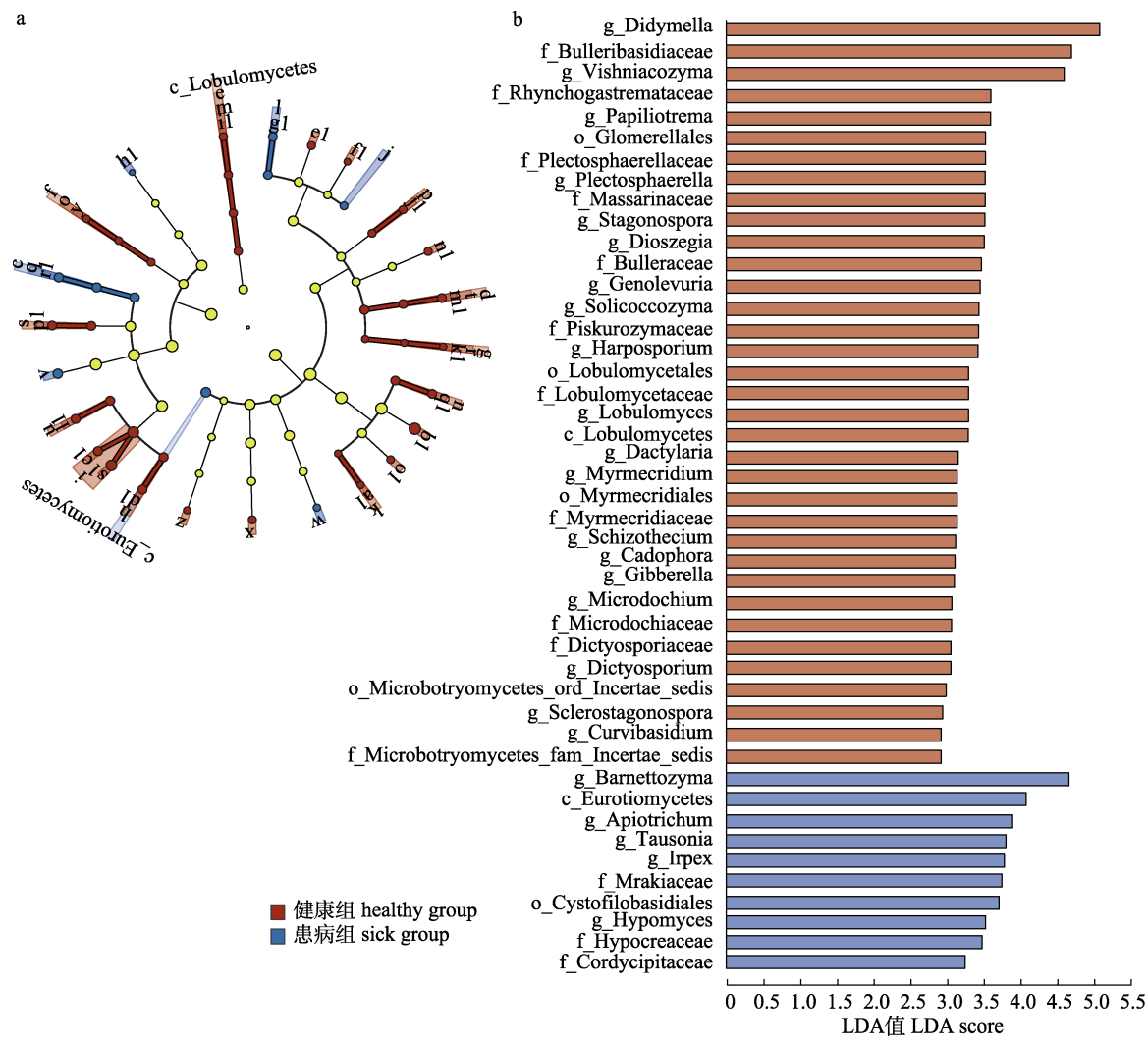


图 7 健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道真菌的 LEfSe 分析
圆表示从门到属的系统发育水平; 圆的直径与相应分类单元的丰度成正比;
黄色圆表示在两组中丰度差异不显著的真菌类群。

Fig.7 LEfSe analyses of gut fungi in healthy group and sick group of *Schizothorax macropogon*
Circles indicate phylogenetic levels from phylum to genus, with their diameters proportional to corresponding taxa abundance, and the yellow circles represent fungal taxa whose abundance did not differ significantly among the groups.

比肠道细菌具有更高的稳定性。在肠道细菌共现性网络中(图 8a、表 1), 由 98 个节点和 1619 条边组成, 模块化指数为 0.17, 表明肠道细菌网络具有一定的模块化结构, 划分出许多小的社区, 网络结构具有一定的复杂性和连通性。从整个肠道细菌网络组成来看, 肠道细菌以变形菌门(41.84%)、蓝藻门(21.43%)、放线菌门(10.20%)、厚壁菌门(9.18%)、拟杆菌门(6.12%)等为主。在肠道真菌共现性网络中(图 8、表 1), 由 94 个节点 1003 条边组成, 模块化指数为 0.23, 表明肠道真菌网络具有一定的模块化结构, 划分出许多小的

社区, 网络结构具有一定的复杂性和连通性。从整个肠道真菌网络组成来看, 肠道真菌主要以未分类真菌门(unclassified_unclassified_Fungi)(31.91%)、子囊菌门(26.6%)、担子菌门(24.47%)、罗兹菌门(14.89%)和壶菌门(2.13%)为主。

2.6 巨须裂腹鱼肠道细菌表型和功能预测

使用 Bugbase 基于 16S rRNA 基因序列 OTU 对巨须裂腹鱼肠道微生物的需氧情况、可移动元件、兼性厌氧、生物膜形成、革兰氏阴性/阳性和耐受性等 8 种表型的生物水平覆盖情况进行了预测(表 2)。结果显示, 多样性较高的患病组巨须裂

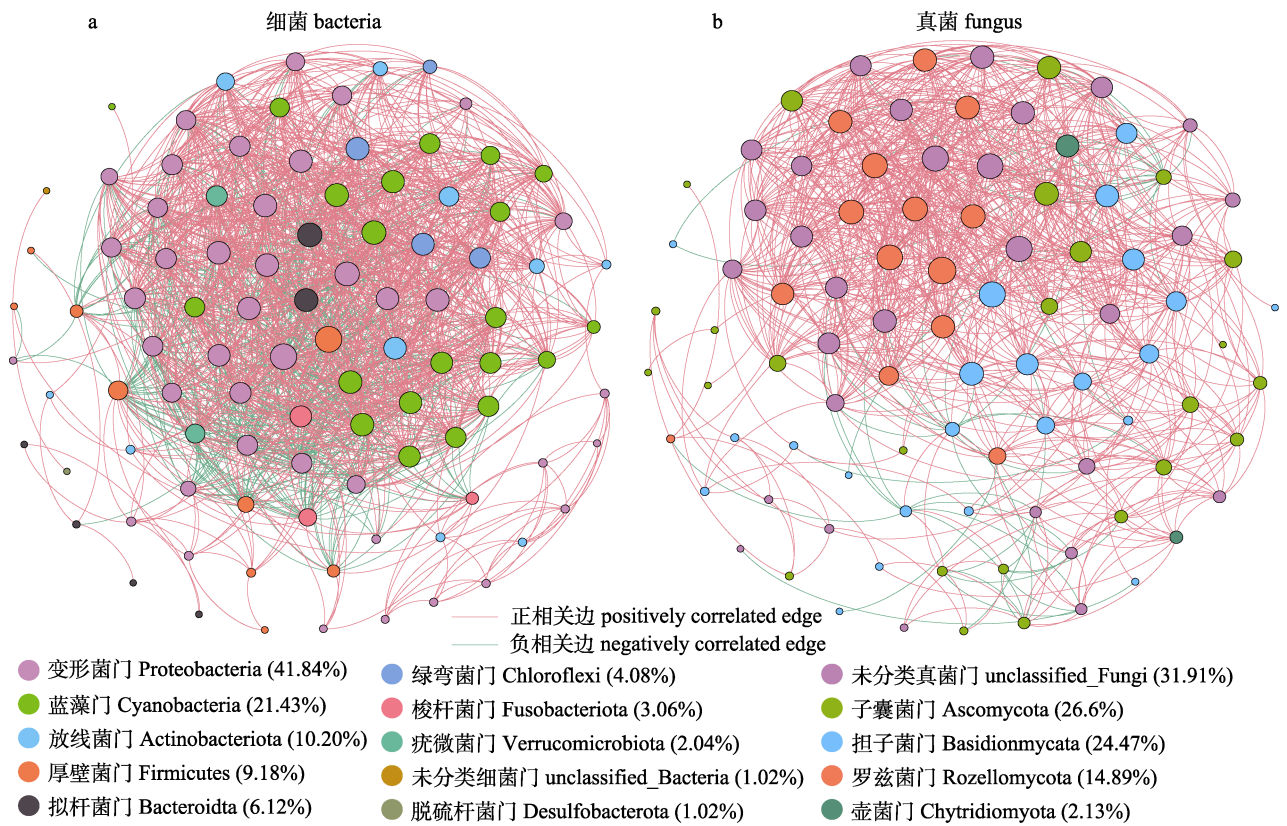


图 8 门水平的巨须裂腹鱼肠道微生物共现性网络分析

Fig. 8 Gut microbial co-occurrence network analysis of *Schizothorax macrobarbatus* at phylum level

表 1 共现网络的拓扑结构特征

网络拓扑指标 network topology metrics		细菌 bacteria	真菌 fungus
节点数 number of nodes		98.00	94.00
边数 number of edges		1619.00	1003.00
平均度 average degree		33.04	21.34
平均加权度 average weighted degree		33.04	21.34
网络直径 network diameter		6.00	6.00
图密度 graph density		0.34	0.23
模块化指数 modularity index		0.17	0.23
连接部件 connected components		2.00	2.00
平均聚类系数 average clustering coefficient		0.73	0.63
平均路径长度 average path length		2.11	2.32
正相关比例 positive correlation ratio		72.82%	94.32%
负相关比例 negative correlation ratio		27.18%	5.68%

腹鱼肠道的厌氧菌多于好氧菌，健康组巨须裂腹鱼肠道内的厌氧菌和好氧菌比较均衡。厌氧微生物常表现出与宿主的共生关系，贴壁生长；好氧微生物由于其需氧性常远离肠道壁生存。在预测革兰氏菌的微生物水平覆盖率中，革兰氏阴性菌的比例远高于革兰氏阳性菌，革兰氏阳性菌可以

产生外毒素，这些毒素在细菌死亡时释放，可能导致疾病；革兰氏阴性菌可以产生内毒素，这些毒素是细胞壁的一部分，在细菌死亡或细胞壁受损时会释放，引起强烈的免疫反应。对肠道细菌群落的耐受性分析发现，健康组肠道细菌群落具有更高比例的耐受菌群，更能适应环境的变化，

更具有稳定性。

使用 FAPROTAX 基于 16S rRNA 基因对巨须裂腹鱼肠道细菌群落进行功能组差异检验(图 9),对硫化化合物的暗反应、硫氧化、无氧光自养等 65 种生态功能进行分析,挑选占比较高的 9 种功能绘制功能预测组间差异。整体上,健康组巨须裂腹鱼肠道细菌功能菌群与患病组之间具有显著差异($P<0.05$),且健康组的相对丰度高于患病组。健

康组中硫化化合物的暗反应和硫氧化的占比最高,肠道中的硫酸盐还原菌,如脱硫弧菌(*Desulfovibrio*),能够通过代谢途径产生硫化氢,有助于保护肠道黏膜,并且可以促进某些物质的代谢;本研究在超过 38.46% 的样本中检测到该菌属,但其相对丰度较小,这一结果与功能预测结果基本吻合,说明样本中存在较高比例的硫化化合物暗反应和硫氧化菌群。

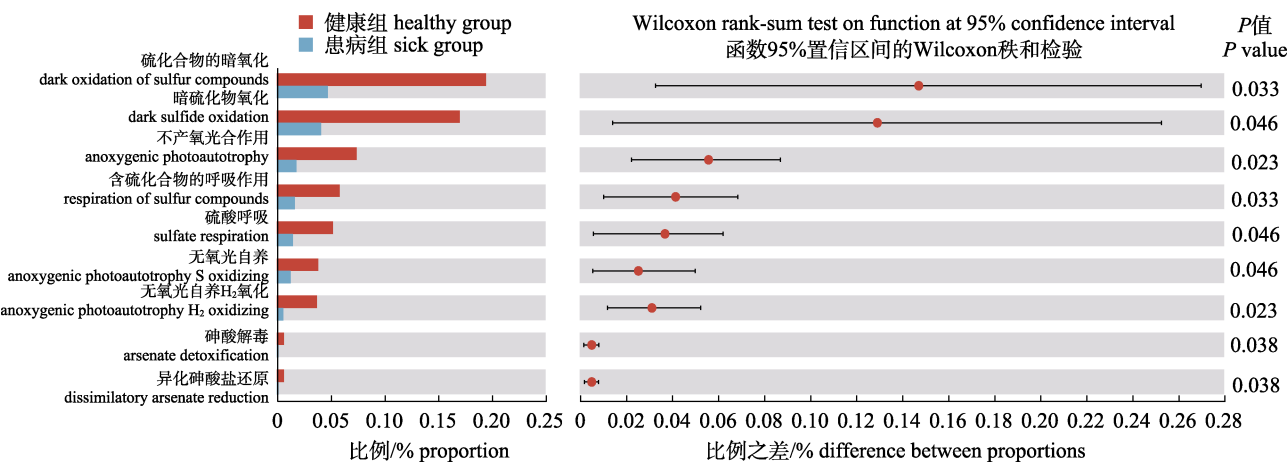


图 9 巨须裂腹鱼肠道细菌群落的组间功能预测差异分析
Fig. 9 Analysis of predicted differences in the component function of the gut bacterial of *Schizothorax macrobarbatus*

表 2 巨须裂腹鱼肠道微生物预测表型的相对丰度
Tab. 2 The relative abundance of predicted phenotypes of intestinal microbes in *Schizothorax macrobarbatus*

表型 phenotype	健康组 healthy group	患病组 sick group
需氧情况 aerobic	3.53	3.06
可移动元件 contains mobile elements	4.52	12.90
兼性厌氧性 facultatively anaerobic	3.99	6.51
生物膜形成 forms biofilms	6.28	7.25
革兰氏阴性 Gram-negative	33.57	30.35
革兰氏阳性 Gram-positive	5.86	15.69
耐受性 stress tolerance	36.02	22.66

3 讨论

高原鱼类在生物多样性和生态系统中占有重要地位。Kumarasan 等^[21]的研究讨论了鱼类肠道微生物群落结构组成,影响鱼类肠道微生物组成的因素以及鱼类肠道微生物的免疫作用,对于逐步完善鱼类肠道微生物的研究具有重要意义,有利于促进渔业产业化健康发展。肠道微生物的比

较分析在疾病防控^[22-23]、环境适应以及摄食管理^[24]方面具有重要意义。当外界环境发生变化,宿主会通过调节自身肠道微生物组成来适应外界食物资源变化带来的挑战^[25]。本研究以西藏特有种不同健康状况的巨须裂腹鱼为研究对象,收集其肠道样本,利用高通量测序技术获得两组样本肠道菌群组成和功能差异,发现健康组巨须裂腹鱼的 Shannon 指数和 Chao 指数显著高于患病组巨须

裂腹鱼。高菌群多样性是维持免疫系统稳定的关键原因之一^[26],表明巨须裂腹鱼患水霉病后,肠道微生物群落较健康组样本更简单,抵抗外界干扰能力,适应能力和恢复自身平衡的能力均低于健康组巨须裂腹鱼。

本研究发现健康组巨须裂腹鱼肠道微生物群落的细菌门主要是蓝藻门、变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门等,这与前人的研究结果相一致^[27-29]。其中蓝藻门是两组巨须裂腹鱼中的绝对优势菌门,是一类能够通过产氧光合作用获取能量的细菌,部分也可通过异营来获取能量。这表明蓝藻门在巨须裂腹鱼肠道能量获取和转换方面扮演着重要角色,对宿主的健康和能量平衡具有重要影响^[30]。巨须裂腹鱼是杂食性鱼类,其肠道中的厚壁菌门能够帮助宿主消化分解植物纤维大分子物质^[31-32],促进对相关营养物质的吸收,在多种免疫因子调节和肠道保护方面起到重要作用。在前人的研究中,厚壁菌门是大多数鱼类肠道中的重要微生物类群^[33]。在本研究中患病组巨须裂腹鱼肠道中的厚壁菌门的相对丰度高于健康组,在 Ye 等^[34]的研究中,巨须裂腹鱼肠道中前肠与后肠的厚壁菌门相对丰度存在差异,这可能反映了肠道不同区域的微生物组成随消化过程而变化。这些研究结果共同强调了厚壁菌门在鱼类肠道健康和功能中的重要性,并揭示了其在疾病状态下可能发挥的不同作用。患病组巨须裂腹鱼的变形菌门相对丰度远高于健康组巨须裂腹鱼,这反映了患水霉病后肠道微生物群落结构更加不稳定。在其他鱼类疾病的研究中,变形菌门的增加与病原体的入侵和肠道微生物群落的失衡有关,在 Yang 等^[35]的研究中,感染了特定病原体的鱼类变形菌门相对丰度增加,这可能与病原体的繁殖和宿主免疫反应的激活有关。

在属水平上,拟杆菌属和变形杆菌属是患病组巨须裂腹鱼的特有属。巨须裂腹鱼与其他鱼类相比,显示出一些特有种和相对丰度差异明显的菌群,如昆明裂腹鱼与鳊鱼共有的优势菌群包括乳酸杆菌属(*Limnobacter*)和假单胞杆菌属(*Pseudomonas*),而滇池高背鲫中红杆菌属(*Rhodobacter*)、发酵单胞菌属(*Zymomonas*)^[19]。拟杆菌

属与动物宿主肠道健康和疾病状态密切相关,在宿主的营养代谢和免疫系统中扮演着重要角色^[36]。在孙豪等^[37]的研究中,拟杆菌属是斑点叉尾鲴肠道的优势菌群。这与我们的研究结果存在差异。这种差异可能源于不同鱼类宿主的生理特性和环境适应性,以及他们所处的不同环境条件。变形杆菌属广泛分布于自然界,在土壤、污水和垃圾中可检测出,也可寄生于人和动物的肠道^[38]。在肠道微生物群落中,变形杆菌属丰富较高可能指示肠道菌群失衡的一个标志^[39]。有研究表明,变形杆菌属与宿主体内的验证具有相关性,特别是在肠道损伤中^[40],这与我们的研究结果相呼应,也进一步强调其在动物肠道微生物群落中的重要性。

真菌种类繁多,在生态系统中占有重要地位,对营养和能量循环的干预程度相对较大,能够通过循环有机物将营养物质输送到不同的营养级^[41]。鱼类肠道真菌的研究是一个较新的领域,对于理解鱼类的健康、疾病防治具有重要意义。本研究发子囊菌门和担子菌门是巨须裂腹鱼肠道中的绝对优势真菌门,这与 Zhou 等^[42]的研究具有相似性,在他们的研究中子囊菌门和担子菌门是罗非鱼和鳙鱼肠道的优势菌门。进一步的,我们发现患病组的巨须裂腹鱼子囊菌门的相对丰度高于健康组,这与子囊菌门在鱼类健康和营养代谢中的重要作用相符合^[43],子囊菌门能够分解一些细菌难以分解的复杂有机物,以及参与调节鱼类肠道的免疫反应^[44]。在先前的研究中子囊菌门和担子菌门是藏猪仔粪便^[45]、土壤真菌群落^[46]中的优势菌门,这一发现与我们的研究结果相呼应,进一步强调了这两个真菌门在不同宿主和不同生态系统之间的普遍性和重要性。

假丝酵母属是真菌感染最常见的病原体之一,在患病组的肠道中的相对丰度更高,这可能与肠道微生物的失衡有关。健康组的特有属有 *Ceratorhiza*,通常与兰科植物形成菌根^[47],可能具有抗病原体的特性,可以用于生物防治,控制植物病原菌^[48]。患病组的特有属为 *Boeremia* 和 *Tausonia*。*Boeremia* 和 *Tausonia* 主要在植物中被检测出,是重要的植物病原真菌,能够引起多种植物病害^[49]。在巨须裂腹鱼肠道中检测出,可能与其摄食种类

存在关系,在自然环境下,草叶、树叶等含有较高含量的真菌,为鱼类肠道贡献了部分外源性真菌^[50]。

健康的肠道微生物群落可以通过产生抗菌物质、竞争营养和附着位点来抑制病原微生物的生长^[51]。肠道微生物产生的代谢产物,如短链脂肪酸,会影响生物体的代谢和炎症状态,这些代谢产物可以通过影响宿主的代谢途径来调节宿主对水霉病的易感性。本研究中采用高通量测序技术对巨须裂腹鱼肠道微生物群落进行分析,但尚未对水霉病相关的特定菌群进行筛选和分离。未来的研究中考考虑增加代谢组测序技术,对水霉病的相关菌群进行更精确的分类和筛选,进一步探讨肠道微生物对水霉病的调控作用。

本研究基于 16S rRNA 高通量测序对高原巨须裂腹鱼健康组和患病组的肠道微生物多样性特征进行分析,揭示了健康组与患病组肠道微生物的差异与共同点,有助于我们更全面地了解自然状态下生长的巨须裂腹鱼肠道内的微生态环境状况,以及更好地理解生物如何适应极端环境,对丰富高原硬骨鱼类核心菌群的研究提供数据支撑,对于保护生物多样性和生态环境具有重要意义。然而,本研究开展于青藏高原地区,采样难度较大,随机性强、样本数量少等限制性因素也导致分析结果有一定的局限性,但对于野生鱼类肠道样品的采集这种状况还难以避免。

4 结论

本研究提取了患水霉病和健康状态的巨须裂腹鱼的肠道内容物并通过高通量测序分析,结果表明,健康组巨须裂腹鱼的肠道微生物群落丰富度和多样性高于患病组,且肠道微生物群落之间具有显著差异($P<0.05$);健康组与患病组巨须裂腹鱼肠道微生物在群落组成上具有相似性,但相对丰度具有明显差异;LDA 判别图显示了健康组和患病组巨须裂腹鱼肠道之间存在 38 个细菌标志物种和 45 个真菌标志物种。根据功能预测分析,健康组巨须裂腹鱼肠道细菌功能菌群与患病组之间具有显著差异($P<0.05$),且相对丰度高于患病组。本研究揭示了健康组与患病组巨须裂腹鱼肠道微生物的差异与共同点,为理解鱼类与其肠道

微生物之间的相互作用提供了新的见解。本研究有助于更全面地了解自然状态下生长的巨须裂腹鱼肠道内的微生态环境状况,以及更好地理解生物如何适应极端环境,对丰富高原硬骨鱼类核心菌群的研究提供数据支撑,也为西藏地区特有鱼类肠道菌群的保护和管理提供了重要的理论依据,对于保护生物多样性和生态环境具有重要意义。未来的研究可以在此基础上,进一步探讨肠道微生物与巨须裂腹鱼健康之间的具体作用机制,以及如何通过调节肠道微生物来促进鱼类的健康和疾病防治。

参考文献:

- [1] Geist J. Integrative freshwater ecology and biodiversity conservation[J]. Ecological Indicators, 2011, 11(6): 1507-1516.
- [2] Dudgeon D, Arthington A H, Gessner M O, et al. Freshwater biodiversity: Importance, threats, status and conservation challenges[J]. Biological Reviews, 2006, 81(2): 163-182.
- [3] Liu J Y. Study on biology and population dynamics of *Schizothorax macropogon* in the Yarlung Tsngpo River[D]. Alar: Tarim University, 2016. [刘洁雅. 西藏巨须裂腹鱼个体生物学和种群动态研究[D]. 阿拉尔: 塔里木大学, 2016.]
- [4] Wei Y Z, Zhang G R, Huo B, et al. A comparative study on lactate dehydrogenase isozymes in six species of Schizothoracinae[J]. Freshwater Fisheries, 2017, 47(5): 3-8. [魏玉众, 张桂蓉, 霍斌, 等. 雅鲁藏布江中游 6 种裂腹鱼乳酸脱氢酶同工酶的比较研究[J]. 淡水渔业, 2017, 47(5): 3-8.]
- [5] Yang H Y, Huang D M, Xie S, et al. Status quo of fishery resources in the middle reach of Brahmaputra River[J]. Journal of Hydroecology, 2010, 31(6):120-126. [杨汉运, 黄道明, 谢山, 等. 雅鲁藏布江中游渔业资源现状研究[J]. 水生态学杂志, 2010, 31(6): 120-126.]
- [6] Liu H P, Liu M J, Liu Y C. Characteristics of early development of *Schizothorax macropogon* in Xizang autonomous region, China[J]. Acta Hydrobiologica Singca, 2019, 43(2): 367-378. [刘海平, 刘孟君, 刘艳超. 西藏巨须裂腹鱼早期发育特征[J]. 水生生物学报, 2019, 43(2): 367-378.]
- [7] Zhu X F, Chen Y F. Preliminary study on the age and growth characteristics of *Schizothorax macropogon*[J]. Chinese Journal of Zoology, 2009, 44(3): 76-82. [朱秀芳, 陈毅峰. 巨须裂腹鱼年龄与生长的初步研究[J]. 动物学杂志, 2009, 44(3): 76-82.]
- [8] Forneris G, Bellardi S, Palmegiano G B, et al. The use of

- ozone in trout hatchery to reduce saprolegniasis incidence[J]. *Aquaculture*, 2003, 221(1-4): 157-166.
- [9] Zhang N. Study on the major pathogenic *Saprolegnia* species in freshwater aquaculture of China and Saprolegniasis early outbreak detection[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014. [张楠. 中国主要致病性水霉菌病原及水霉病暴发预警研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.]
- [10] Quiniou S M A, Bigler S, Clem L W, et al. Effects of water temperature on mucous cell distribution in channel catfish epidermis: A factor in winter saprolegniasis[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 1998, 8(1): 1-11.
- [11] Van Den Berg A H, McLaggan D, Diéguez-Urbeondo J, et al. The impact of the water moulds *Saprolegnia diclina* and *Saprolegnia parasitica* on natural ecosystems and the aquaculture industry[J]. *Fungal Biology Reviews*, 2013, 27(2): 33-42.
- [12] Kong Q H, Liu H P, Liu S Z, et al. Isolation, identification and the effect of Saprolegniasis on the spleen transcriptome of *Schizothorax macropogon*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2023, 47(8): 135-144. [孔庆辉, 刘海平, 刘锁珠, 等. 巨须裂腹鱼水霉菌的分离鉴定及其对脾脏转录组的影响[J]. *水产学报*, 2023, 47(8): 135-144.]
- [13] Kim P S, Shin N R, Lee J B, et al. Host habitat is the major determinant of the gut microbiome of fish[J]. *Microbiome*, 2021, 9(1): Article No.166.
- [14] Guo Q Q, Hu J N, Wei J S, et al. Study method of intestinal microflora on aquatic animal[J]. *Henan Fisheries*, 2019(1): 17-20. [郭倩倩, 胡军娜, 魏金锁, 等. 水产动物肠道微生物的研究方法[J]. *河南水产*, 2019(1): 17-20.]
- [15] Talwar C, Nagar S, Lal R, et al. Fish gut microbiome: Current approaches and future perspectives[J]. *Indian Journal of Microbiology*, 2018, 58(4): 397-414.
- [16] Wang A R, Ran C, Ringø E, et al. Progress in fish gastrointestinal microbiota research[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(3): 626-640.
- [17] Meng X L, Nie G X. Advances of intestinal microbiota and lipid metabolism of fish[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(6): 1221-1229. [孟晓林, 聂国兴. 鱼类肠道菌群与机体脂质代谢关系研究进展[J]. *中国水产科学*, 2019, 26(6): 1221-1229.]
- [18] Mouchet M A, Bouvier C, Bouvier T, et al. Genetic difference but functional similarity among fish gut bacterial communities through molecular and biochemical fingerprints[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2012, 79(3): 568-580.
- [19] Rong H, Xie Y Q, Zhao T, et al. Comparative analysis of the composition and diversity of the intestinal microflora of four fishes with different feeding habits[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2024, 45(4): 75-85. [荣华, 谢雨晴, 赵涛, 等. 四种不同食性鱼类肠道微生物群落组成及多样性比较分析[J]. *渔业科学进展*, 2024, 45(4): 75-85.]
- [20] Wong S, Rawls J F. Intestinal microbiota composition in fishes is influenced by host ecology and environment[J]. *Molecular Ecology*, 2012, 21(13): 3100-3102.
- [21] Yukgehnaish K, Kumar P, Sivachandran P, et al. Gut microbiota metagenomics in aquaculture: Factors influencing gut microbiome and its physiological role in fish[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(3): 1903-1927.
- [22] Dai W F, Sheng Z L, Chen J, et al. Shrimp disease progression increases the gut bacterial network complexity and abundances of keystone taxa[J]. *Aquaculture*, 2020, 517: 734802.
- [23] Wu Z B, Zhang Q Q, Zhang T L, et al. Association of the microbiota dysbiosis in the hepatopancreas of farmed crayfish (*Procambarus clarkii*) with disease outbreaks[J]. *Aquaculture*, 2021, 536: 736492.
- [24] Du Q P, Xie G T, Zhong Z X, et al. Comparison of intestinal microbial community structure and predictive metabolic function of two important economic groupers[J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2024, 55(1): 253-264. [杜倩平, 谢广婷, 钟仲轩, 等. 两种重要经济石斑鱼肠道微生物群落结构及代谢功能的比较分析[J]. *海洋与湖沼*, 2024, 55(1): 253-264.]
- [25] Lai Z, Sheng Y, Xiao L T, et al. Gut microbiota structure and function of Siberian crane (*Grus leucogeranus*) overwintering in Poyang Lake[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2023, 63(11): 4302-4314. [赖政, 盛颖, 肖力婷, 等. 鄱阳湖越冬白鹤肠道微生物群落结构及功能预测分析[J]. *微生物学报*, 2023, 63(11): 4302-4314.]
- [26] Ley R E, Peterson D A, Gordon J I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine[J]. *Cell*, 2006, 124(4): 837-848.
- [27] Huotari J, Tsitko I, Honkapää K, et al. Characterization of microbiological quality of whole and gutted Baltic herring[J]. *Foods*, 2022, 11(4): 492.
- [28] Ramirez-Martínez M E, Rodríguez-Castillejos G C, Hernández-Jiménez M C, et al. Analysis of bacterial diversity in raw fish ceviche[J]. *Journal of Microbiology, Biotechnology & Food Sciences*, 2022, 11(5): e3321.
- [29] Zhao Z F, Jin W J, Zhao J, et al. Response of intestinal microbiome of *Gymnocypris przewalskii* to different salinity stresses[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2024, 39(2): 225-233. [赵子丰, 金文杰, 赵静, 等. 青海湖裸鲤肠道菌群对不同盐度胁迫的响应[J]. *大连海洋大学学报*, 2024, 39(2): 225-233.]
- [30] Kormas K A, Lymperopoulou D S. Cyanobacterial toxin degrading bacteria: Who are they?[J]. *BioMed Research International*, 2013, 2013: 463894.

- [31] Bäckhed F, Ley R E, Sonnenburg J L, et al. Host-bacterial mutualism in the human intestine[J]. Science, 2005, 307(5717): 1915-1920.
- [32] Zhang S S, Nan X N, Wang Y G, et al. Gut bacteria flora from three kinds of herbivorous sawfly larvae based on PCR-DGGE technology[J]. Journal of Northwest Forestry University, 2017, 32(5): 154-160. [张帅帅, 南小宁, 王云果, 等. 基于 PCR-DGGE 技术的 3 种植食性叶蜂幼虫肠道细菌群落结构分析[J]. 西北林学院学报, 2017, 32(5): 154-160.]
- [33] Zhu G P, Wang M. Gut microbes of Antarctic marine organism: A review[J]. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(21): 8320-8330. [朱国平, 王敏. 南极海洋生物肠道微生物研究进展[J]. 生态学报, 2021, 41(21): 8320-8330.]
- [34] Ye L, Amberg J, Chapman D, et al. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish[J]. The ISME Journal, 2014, 8(3): 541-551.
- [35] Yang H T, Zou S S, Zhai L J, et al. Pathogen invasion changes the intestinal microbiota composition and induces innate immune responses in the zebrafish intestine[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2017, 71: 35-42.
- [36] Zafar H, Saier Jr M H. Gut *Bacteroides* species in health and disease[J]. Gut Microbes, 2021, 13(1): 1848158.
- [37] Sun H, Shi Y D, Ni X Q, et al. Application of PCR-DGGE and Q-PCR to analyze microflora of skin, gills, and the gastrointestinal tract of *Ictalurus punctatus* with different weights[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(1): 156-164. [孙豪, 时云朵, 倪学勤, 等. 应用 PCR-DGGE 和 Q-PCR 分析不同体重斑点叉尾鲷皮肤、鳃和胃肠道菌群结构[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 156-164.]
- [38] Drzewiecka D. Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments[J]. Microbial Ecology, 2016, 72(4): 741-758.
- [39] Shin N R, Whon T W, Bae J W. Proteobacteria: Microbial signature of dysbiosis in gut microbiota[J]. Trends in Biotechnology, 2015, 33(9): 496-503.
- [40] Zhang L F, Li J, Lu J X. Progress in research of antibiotic resistance of *Proteus mirabilis*[J]. Disease Surveillance, 2016, 31(5): 427-432. [张利锋, 李娟, 卢金星. 奇异变形杆菌耐药性研究进展[J]. 疾病监测, 2016, 31(5): 427-432.]
- [41] Hyde K D, Gareth Jones E B, Leañó E, et al. Role of fungi in marine ecosystems[J]. Biodiversity and Conservation, 1998, 7(9): 1147-1161.
- [42] Zhou L, Han Y Q, Wang D P, et al. Comparison of fungal community composition within different intestinal segments of *Tilapia* and bighead carp[J]. Journal of Oceanology and Limnology, 2021, 39(5): 1961-1971.
- [43] Scupham A J, Presley L L, Wei B, et al. Abundant and diverse fungal microbiota in the murine intestine[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2006, 72(1): 793-801.
- [44] Amend A, Burgaud G, Cunliffe M, et al. Fungi in the marine environment: Open questions and unsolved problems[J]. mBio, 2019, 10(2): e01189-18.
- [45] Kong Q H, Liu Y, Suolang S Z, et al. Fungal diversity in Tibetan piglet fecal samples[J]. Mycosystema, 2020, 39(7): 1241-1249. [孔庆辉, 刘瑶, 索朗斯珠, 等. 藏仔猪粪便真菌菌群多样性分析[J]. 菌物学报, 2020, 39(7): 1241-1249.]
- [46] Xie L L, Li W T, Pang X Y, et al. Soil properties and root traits are important factors driving rhizosphere soil bacterial and fungal community variations in alpine *Rhododendron nitidulum* shrub ecosystems along an altitudinal gradient[J]. Science of the Total Environment, 2023, 864: 161048.
- [47] Zhu G S, Gui Y, Liu Z Y. Study on mycorrhizal fungi of *Pleione yunnanensis*[J]. Seed, 2008, 27(10): 35-40, 43. [朱国胜, 桂阳, 刘作易. 云南独蒜兰菌根菌研究[J]. 种子, 2008, 27(10): 35-40, 43.]
- [48] Elsaba Y M, El-Hennawi H M, Ibrahim M M, et al. Production of a novel laccase from *Ceratorhiza hydrophila* and assessing its potential in natural dye fixation and cytotoxicity against tumor cells[J]. Journal of Genetic Engineering and Biotechnology, 2023, 21(1): Article No.14.
- [49] Wang M Q, Bai Q R, Wang D C, et al. Pathogen identification of soybean leaf spot caused by *Boeremia exigua* var. *exigua* in Jilin province[J]. Soybean Science, 2019, 38(3): 428-433, 454. [王梦奇, 白庆荣, 王大川, 等. 吉林省大豆茎点霉叶斑病原鉴定[J]. 大豆科学, 2019, 38(3): 428-433, 454.]
- [50] Chen C Y, Chen P C, Weng F C H, et al. Habitat and indigenous gut microbes contribute to the plasticity of gut microbiome in oriental river prawn during rapid environmental change[J]. PLoS One, 2017, 12(7): e0181427.
- [51] Lin H, Ou M L, Chen J J, et al. Research progress in the role of gut microbiota in human diseases[J]. International Journal of Biomedical Engineering, 2019, 42(3): 258-262. [林华, 欧明林, 陈洁晶, 等. 肠道微生物与人类疾病的研究进展[J]. 国际生物医学工程杂志, 2019, 42(3): 258-262.]

Differences in gut microbial diversity between *Schizothorax macropogon* with saprolegniasis and good health

WANG Yuyan^{1,2}, Liu Yixuan^{1,2}, WANG Wanliang^{1,3}, CAO Pengxi^{1,2}

1. Key Laboratory of Biodiversity and Environment on the Qinghai-Xizang Plateau, Ministry of Education; School of Ecology and Environment, Xizang University, Lhasa 850000, China;
2. Nagqu Mitika, Alpine Wetland Ecosystem, Observation and Research Station of Xizang Autonomous Region; Xizang University, Nagqu 852000, China;
3. Institute of Aquatic Sciences, Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Xizang Autonomous Region, Lhasa 850000, China

Abstract: *Schizothorax macropogon* is a second-grade protected animal with high ecological and economic value. Currently, most of the related research has focused on resource investigation, individual biology, and population genetics. However, to date, there have been relatively few studies on gut microorganisms. In this study, we extracted the intestinal contents of *S. macropogon* with saprolegniasis and healthy states, respectively. We analyzed the number of OTUs, colony composition, abundance, and Alpha diversity of intestinal microorganisms, and predicted their functions by high-throughput sequencing. Alpha diversity analysis showed that the richness and diversity of the gut microbial community in the healthy group was higher than that in the sick group. PCoA analysis showed that there was a significant difference between the gut microbes in the healthy and sick group of *S. macropogon*. The histogram of species distribution showed that the gut microorganisms in the healthy group and sick group of *S. macropogon* were similar in the composition of community structure but differed in relative abundance. Bacteria acquired a total of seven dominant phyla, including Cyanobacteria, Proteobacteria, and Fusobacteriota. The endemic genera in the diseased group were *Bacteroides*, and *Proteocatella*. Five dominant phyla of fungus were obtained, including Ascomycota, Basidobolomycota, and Rozellomycota. The endemic genus in the healthy group was *Cererhiza*, and the endemic genera in the sick group were *Boeremia* and *Tausonia*. The discriminant plot statistics showed that the healthy group had the highest number of fungi in the healthy group. The discriminant plot showed that there were 38 bacterial marker species and 45 fungal marker species between the healthy group and sick group in the gut of *S. macropogon*. The co-occurrence network of microorganisms in the intestine of *S. macropogon* had high connectivity and coherence. According to the functional prediction analysis, there was a significant difference in the functional flora of intestinal bacteria between the healthy group and the sick group ($P < 0.05$). The relative abundance of the healthy group was higher than that of the sick group. The present study revealed the community composition and diversity of the gut microorganisms of *S. macropogon*, preliminarily analyzed the relationship between the health status of *S. macropogon*, and its gut microorganisms, and provided a database for the study of the intestinal flora of endemic fishes in the Qinghai–Xizang Plateau.

Key words: Qinghai-Xizang Plateau; *Schizothorax macropogon*; gut microbiology; dominant flora; functional prediction

Corresponding author: CAO Pengxi. E-mail: pxcao@utibet.edu.cn