

健康与致病菌感染双峰驼肠道细菌和真菌群落的比较分析

白茹¹,袁青青¹,张晓乐¹,吾尔恩·阿合别尔迪^{1,2*},木古丽·木哈西^{1,2}

(1.伊犁师范大学 生物科学与技术学院,新疆 伊宁 835000;2.伊犁师范大学 微生物资源保护与开发利用重点实验室,新疆 伊宁 835000)

摘要:文章利用高通量测序技术,分析4只新疆巴里坤县成年双峰驼粪便样本的细菌及真菌菌群多样性和结构组成,反映致病菌感染双峰驼肠道菌群特点及肠道菌群失衡与双峰驼健康的关系,并在细菌和真菌水平进行基因功能预测。结果表明,CG.101、CG.103和CG.104三个样本的微生物群落结构特征没有显著差异($P > 0.05$),例如细菌群落门、科、属水平上最大的分类类群均为:厚壁菌门、瘤胃球菌科、拟杆菌属;真菌优势门均为子囊菌门和担子菌门。与以上三个样本相比,CG.102样本微生物多样性和有益菌相对丰度均较低,条件致病菌、致病菌相对丰度较高。在细菌门水平上CG.102样本中厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度较低,而变形菌门和放线菌门相对丰度较高;在细菌科水平上,阿克曼菌科、瘤胃球菌科、克里斯滕森菌科、理研菌科等相对丰度非常低;在细菌属水平上,阿克曼菌属、拟杆菌属、瘤胃球菌属、芽孢杆菌属相对丰度低于其他三个样本;在种水平上,该样本中检测出占比很高的绿脓杆菌和洛菲不动杆菌。CG.102样本真菌群落以单一的子囊菌门,囊菌科,丝胞菌属,多育赛多孢子菌为主。基因功能的预测说明CG.102骆驼免疫力下降并感染疾病。

关键词:高通量测序;粪便;菌群失衡;细菌多样性;真菌多样性

中图分类号:Q938.1 **文献标识码:**A **文章编号:**1008-9659(2024)04-0036-08

我国骆驼的主要类型是双峰驼,以驯养为主^[1]。骆驼养殖在新疆有着悠久的历史,被称为“沙漠之舟”的骆驼曾在丝绸之路上发挥着重要的运输作用,在今天的新疆,骆驼也有重要的生态和经济价值^[2]。骆驼在新疆旅游业中吸引着众多游客,同时新疆骆驼乳因其独特的营养价值^[3]越来越受到人们的欢迎。巴里坤哈萨克自治县(以下简称巴里坤县)的天然草场是新疆重要的双峰驼养殖区,被称为“万驼之城”^[4]。近年来,养驼业已成为巴里坤县牧民增收致富的新途径,养殖过程中骆驼的健康状况逐渐引起人们的重视。

肠道微生物直接影响宿主的生理功能、代谢平衡和健康状况^[5],肠道菌群结构也会受到宿主饮食、年龄、基因、疾病等诸多因素的影响^[6]。研究表明,菌群多样、结构稳定的肠道环境在维持机体的健康稳态中发挥着重要的作用,当肠道微生态紊乱时,条件致病菌和致病菌很容易侵入肠道,致使宿主免疫力下降,消化和代谢功能失调,极易引发肠道炎症^[7],菌群失衡还与肿瘤、心血管、神经系统等多种疾病密切相关^[8]。骆驼在养殖过程中容易出现各种传染性疾病,研究发现,常见的细菌性疾病有炭疽芽孢杆菌(*Bacillus anthracis*)引起的炭疽病、假结核棒状杆菌(*Corynebacterium pseudotuberculosis*)引起的脓肿病、金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)引起的布鲁士杆菌病等,而一些致病性真菌会引起皮肤病,进而引发坏死杆菌(*Fusobacterium necrophorum*)、化脓杆菌(*Bacillus pyogenes*)等细菌滋生。细菌性传染病传播速度快、发病急,具有很强的危害性和致死性;真菌性疾病会对骆驼的皮肤造成严重危害,导致骆驼生长发育不良^[9]。因此,及时发现患病个体并加以治疗能够降低骆驼在养殖过程中发生大规模传染病的概率。肠道微生物在骆驼健康监测方面具有较大潜力,益生菌占比较多时宿主的免疫功能更容易得到建立和完善,而肠道被病原菌感染的宿主应

[收稿日期]2024-02-01

[修回日期]2024-04-08

[基金项目]伊犁师范大学微生物资源保护与开发利用重点实验室项目(YLUKLM2018003)。

[作者简介]白茹(1998-),女,硕士研究生,主要从事微生物学方面研究,E-mail:1260212749@qq.com。

*[通讯作者]吾尔恩·阿合别尔迪(1979-),男,副教授,主要从事微生物学方面研究,E-mail:oren79@163.com。

该受到关注并及时治疗。通过饮食调节和针对性用药等方式^[10],可以减少骆驼死亡率和牧民的经济损失。

随着高通量测序技术的发展和成熟,已有很多学者对骆驼不同胃肠道段的菌群结构进行了分析。相对于解剖,对骆驼粪便进行研究不仅能够较好地反映骆驼肠道菌群结构,而且更加人性化。何静等人^[11]对内蒙古巴彦淖尔市双峰驼肠道微生物进行研究,发现成年双峰驼肠道细菌菌群以厚壁菌门、拟杆菌门为主,该研究从骆驼粪便中筛选到产纤维素酶的菌株,有利于双峰驼源益生菌株的开发。相较于家骆驼,野骆驼与感染疾病和癌症以及免疫系统相关的通路显著较高,患病概率更大;Ming等人^[12]比较分析了中国内蒙古自治区和蒙古国的家养及野生双峰驼肠道菌群,该研究表明相同环境中具有相似饮食习惯的野生驼和家骆驼肠道菌群没有显著差异;Lei等人^[13]对罗布泊、敦煌的双峰驼粪便样本进行高通量测序,结果表明,梭菌IV、瘤胃球菌科、梭菌目和厚壁菌门是在属、科、目和门水平上最大的细菌分类群,野骆驼饮食环境更复杂,胃肠道微生物多样性高于家骆驼。

本研究随机选取4只骆驼,通过高通量测序技术对其新鲜粪便进行检查,其目的是分析骆驼肠道含量较高的益生菌菌种并对其进行分离。研究意外发现,其中1只双峰驼的肠道菌群结构与其他3只存在显著差异,菌群失衡,检测出较高比例的病原体,而这只双峰驼表现出明显的食欲不振、精神不振,体型也较瘦小,推测肠道病原体严重影响骆驼的健康生长。为验证此推测,探索致病菌感染双峰驼肠道菌群特点,本研究比较分析这只骆驼与健康成年双峰驼肠道菌群结构和基因功能差异。研究结果反映菌群失衡对骆驼健康状况的影响,为双峰驼病原体的检测,肠道疾病的诊断和治疗提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 样品采集

新鲜粪便样本采自新疆巴里坤县随机选取的4只成年双峰驼。为了最大限度地减少外部杂菌污染,将其粪便样本进行无菌采集后储存在冰盒中,及时送至实验室处理,4个粪便样本分别记为CG.101、CG.102、CG.103、CG.104,和其他3只相比,采集CG.102样本的双峰驼体型较为瘦小,食欲不振,精神不振。

1.2 肠道微生物基因组DNA的提取

骆驼粪便样本总DNA的提取使用强力土壤DNA提取试剂盒(Qiagen, Hilden, Germany),具体操作步骤参照说明书。用1.0%的琼脂糖凝胶电泳检测DNA的相对浓度和质量,使用无菌水稀释DNA样本至1ng/ μ L。

1.3 肠道细菌16SrRNA及真菌ITS序列PCR扩增

以稀释后的DNA样本为模板,以341F和805R作引物对细菌V3-V4区进行PCR扩增;以ITS5-1737F和ITS2-2043R作引物对真菌ITS1区进行PCR扩增。PCR反应体系参照说明书,PCR反应条件:98 $^{\circ}$ C 1min, 98 $^{\circ}$ C 10s, 50 $^{\circ}$ C 30s, 72 $^{\circ}$ C 30s, 30个循环;72 $^{\circ}$ C 5min,使用2%的琼脂糖凝胶电泳对PCR产物进行检测后,送至北京诺禾致源生物信息科技有限公司完成Illumina测序。

1.4 数据分析

利用Uparse软件在97%一致性下对所有样品的有效序列(Effective Tags)进行OTUs聚类。根据OTUs聚类结果,对OTU的代表序列做物种注释。细菌和真菌分别运用Silva(138.1)和Unite(V9.0)数据库进行比对,得到对应的物种信息以及各个分类水平上的菌群丰度分布情况。运用QIIME软件分析微生物Alpha多样性指数,包括Ace指数、Chao1指数、Simpson和Shannon-Wiener指数。PICRUST用于预测细菌测序数据的基因功能,根据所有样本在KEGG数据库的功能预测和丰度信息,选择丰度排名前35的功能及其在每个样本中的丰度信息绘制热图,然后进行聚类分析以评估功能差异。使用FunGuild^[17]对真菌测序数据进行基因功能预测,根据营养策略进行功能分组,选取置信度排名Probable和Highly probable的数据结果,根据其相对丰度和guild绘制热图。

2 结果

2.1 肠道微生物群落多样性

通过Illumina高通量测序分别获得256564条有效细菌16S rRNA序列和256780条有效真菌ITS区质控序列,按97%相似性聚类,其中细菌5900个OTU、真菌769个OTU,各样品文库覆盖率均在99.6%以上,能够

反映试验动物肠道微生物群落的真实情况。细菌和真菌 Alpha 多样性分析显示,CG.102 样本 Shannon、Simpson、Chao1 和 Ace 指数均低于其他三个样本,而其他三个样本相应指数相仿,说明 CG.102 样本微生物群落多样性和丰富度均低于其余三个样本(表 1)。

表 1 骆驼肠道样本细菌和真菌多样性指数

微生物类别	Alpha 多样性指数	样本名称			
		CG.101	CG.102	CG.103	CG.104
细菌	Ace 指数	1534.975	1298.465	1538.351	1531.713
	Chao1 指数	1508.053	1266.071	1513.859	1550.731
	Shannon 指数	8.015	5.776	8.165	7.731
	Simpson 指数	0.988	0.879	0.990	0.984
真菌	Ace 指数	220.535	131.695	190.056	232.188
	Chao1 指数	220.143	132.231	187.545	228.786
	Shannon 指数	4.378	1.395	3.876	4.230
	Simpson 指数	0.912	0.319	0.869	0.897

2.2 骆驼肠道菌群的组成分析

在门水平上,CG.101、CG.103、CG.104 三个样本菌群结构基本一致,其细菌群落以厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)为主,平均相对丰度分别为 56.2% 和 25.1%;相对丰度大于 1% 的还有变形菌门(*Proteobacteria*, 3.8%)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*, 2.9%)、放线菌门(*Actinobacteria*, 3.5%)、螺旋体门(*Spirochaetes*, 2.3%),圣诞岛盐菌门(*Kiritimatiellaeota*, 1%);CG.102 中变形菌门、放线菌门相对丰度明显高于其他三个样本,而厚壁菌门、拟杆菌门的相对丰度显著低于其他三个样本。CG.101、CG.103、CG.104 中最占优势真菌为子囊菌门(*Ascomycota*),占 64.3%;其次为担子菌门(*Basidiomycota*)和新美鞭菌门(*Neocallimastigomycota*),分别占 18% 和 4.4%;毛霉门(*Mucoromycota*)相对丰度较低,仅占 0.4%。CG.102 与其他三个样本相比,以单一的子囊菌门为主,其占比高达 92%,如图 1 所示。

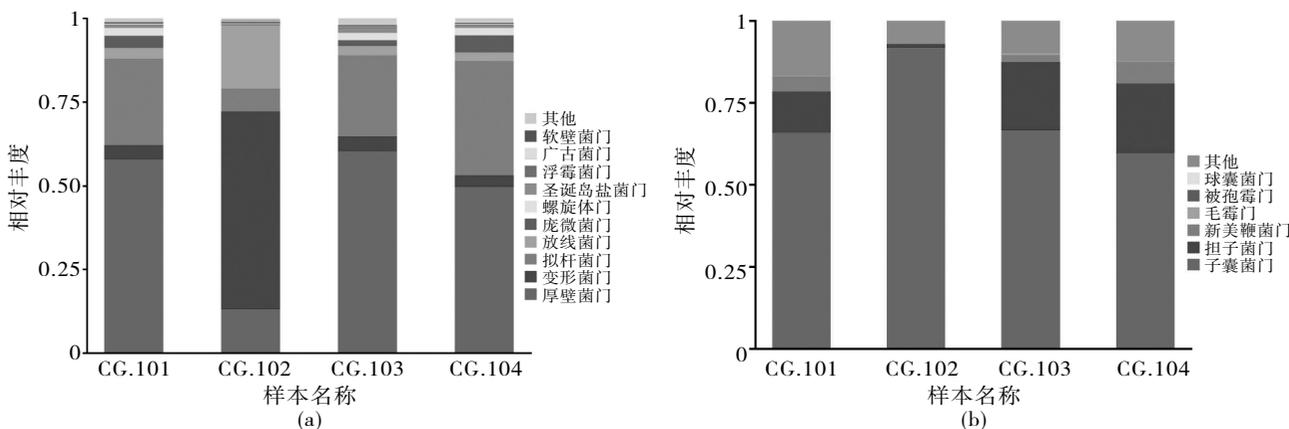


图 1 门水平上骆驼肠道细菌(a)和真菌(b)群落特征

在细菌科水平上,CG.101、CG.103、CG.104 菌群结构相似,以瘤胃球菌科(*Ruminococcaceae*)和克里斯腾森菌科(*Christensenellaceae*)为主,而在 CG.102 样本中检测出多个其他三个样本中不占优势的科,包括黄单胞菌科(*Xanthomonadaeae*)、假单胞菌科(*Pseudomonadaceae*)、伯克氏菌科(*Burkholderiaceae*)、纤维单胞菌科(*Cellulomonadaceae*)等,瘤胃球菌科、克里斯腾森菌科、理研菌科(*Rikenellaceae*)、拟杆菌科(*Bacteroidaceae*)、毛螺旋菌科(*Lachnospiraceae*)所占比例均低于其他三个样本。在真菌层面,CG.101、CG.103、CG.104 三个样本相对丰度较高的物种有:子囊菌门的寡囊盘菌科(*Thelebolaceae*, 17.8% ~ 22.3%)、毛球壳科(*Lasiosphaeriaceae*, 10.7% ~ 16.8%)、粪盘菌科(*Ascobolaceae*, 13.2% ~ 22.7%)、曲霉科(*Aspergillaceae*, 3.4% ~ 9.2%)、夹胞腔菌科(*Sporormiaceae*, 0.6% ~ 1%)、火丝菌科(*Pyronemataceae*, 0.2% ~ 1.2%)、囊菌科(*Microascaceae*, 1.2% ~ 1.6%);

担子菌门的线黑粉菌科(*Filobasidiaceae*, 8% ~ 15.6%)、隐球酵母科(*Cryptococcaceae*, 3.4% ~ 5.2%), 而CG.102样本真菌物种较单一, 子囊菌门的囊菌科(*Microascaceae*)比例占82.4%, 如图2所示。

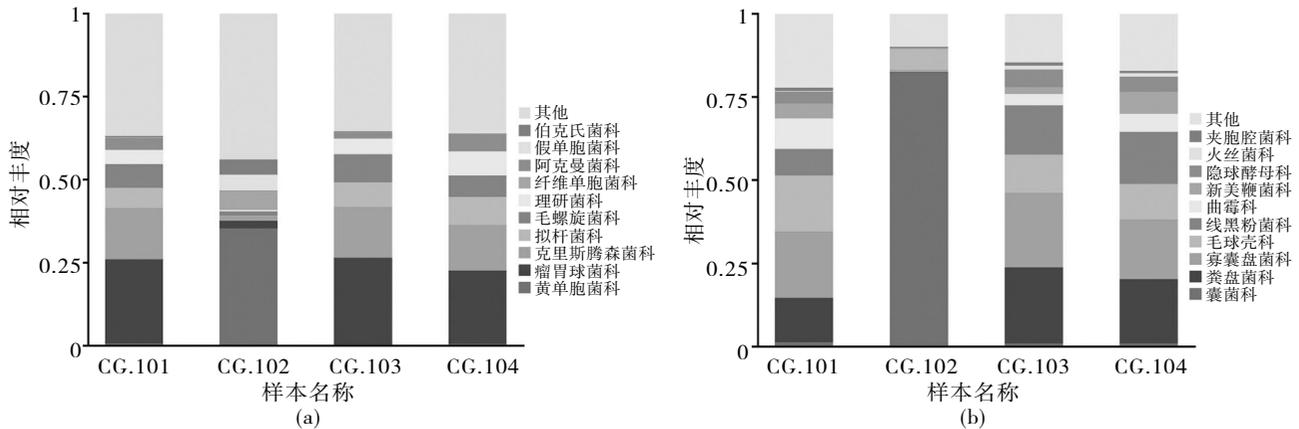


图2 科水平上骆驼肠道细菌(a)和真菌(b)群落特征

在属水平上, CG.101, CG.103, CG.104细菌菌群以拟杆菌属(*Bacteroides*, 61.2% ~ 85.3%), 阿克曼菌属(*Akkermansia*, 1.7% ~ 5.1%), 未分类的瘤胃细菌属(*Unidentified ~ Ruminococcaceae*, 2.1% ~ 2.7%), 芽孢杆菌属(*Bacillus*, 1% ~ 2.6%)为主, 而在CG.102样本中这些属占比显著偏低, 而海藤黄色单胞菌属(*Luteimonas*)、纤维单胞菌属(*Cellulomonas*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、不动杆菌属(*Acithrobacter*)、戴沃斯菌属(*Devosia*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)等都普遍较高。真菌属水平上CG.101, CG.103, CG.104三个样本优势菌群为子囊菌门的粪盘菌属(*Ascobolus*)、寡囊盘菌属(*Thelebolus*)、柄孢壳属(*Podospora*)、曲霉属(*Aspergillus*)、担子菌门的Naganishia、隐球菌属(*Cryptococcus*)、新美鞭菌门的新考玛脂霉属(*Necallimastix*), 真菌丰度高, 而CG.102以单一囊菌科的丝胞菌属(*Scedosporium*)为主, 占82.4%, 如图3所示。

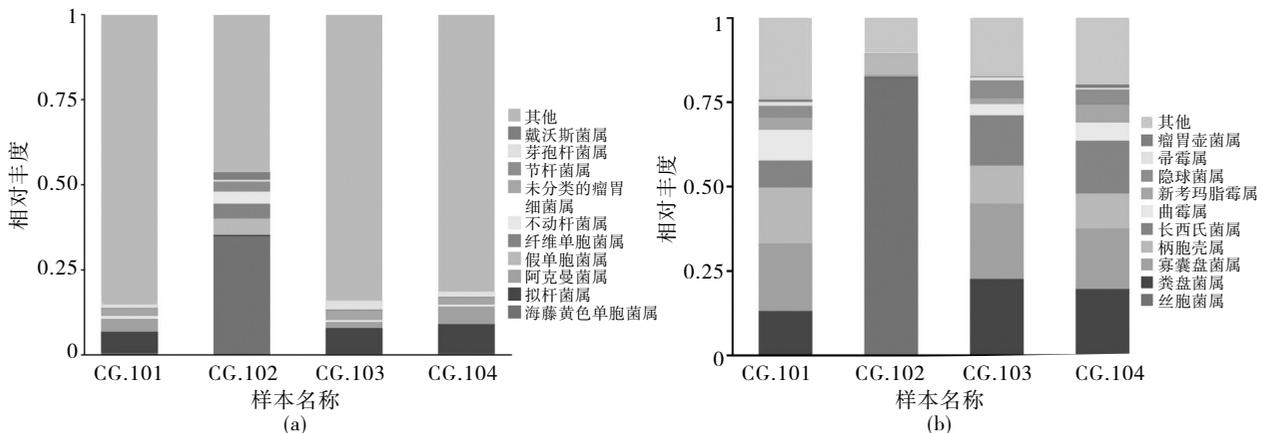


图3 属水平上骆驼肠道细菌(a)和真菌(b)群落特征

在种水平上CG.102样本中检测出占比相对较高的铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)和不动杆菌属的洛菲不动杆菌(*Acinetobacter lwoffii*)等细菌类群以及优势真菌多育赛多孢子菌(*Scedosporium prolificans*), 如图4所示。

2.3 细菌和真菌水平上基因功能的预测

如图5所示, 通过PICRUST分析发现, 四个样本肠道细菌主要分布在新陈代谢方面(46.9% ~ 48.7%), 其次是遗传信息处理(16.8% ~ 20.2%)。与其他三个样本相比, 在CG.102样本中, 肠道菌群在环境适应、细胞运动、内分泌系统、传染病、癌症、萜类和聚酮代谢、氨基酸代谢、信号转导、外源生物降解与代谢、循环系统、神经变性疾病、细胞进程和信号传导、脂质代谢、不良特征等功能基因丰度表达显著高于其他三个样本; 在辅助因子和维生素代谢、代谢、细胞的生长和死亡、能量代谢、神经系统、代谢疾病、免疫系统、基因信息处理、碳水化合物代谢、核苷酸代谢、转录、翻译、酶家族、复制与修复等方面参与度较低。

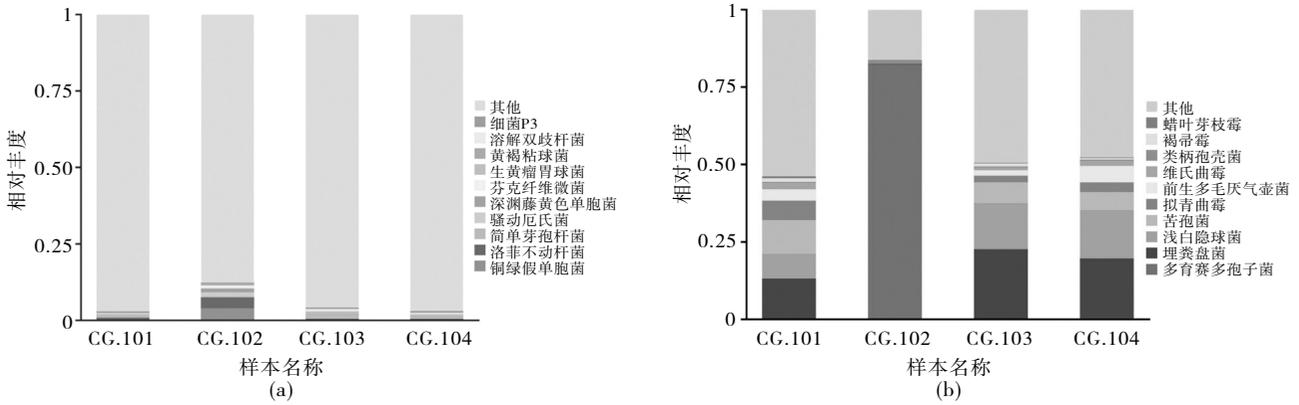


图4 种水平上骆驼肠道细菌(a)和真菌(b)群落特征

通过 FunGuild 对 4 个样本真菌群落 OTU 进行营养类型功能注解分析,共检测出 8 种营养类型,分别为腐生型、腐生-共生型、病理型、病理-腐生营养型、病理-腐生-共生型、病理-共生型、共生型、致病-腐生-共生型。4 个样本肠道真菌中腐生菌占比最大,占 45.7% ~ 83.5%。与其他三个样本相比,CG102 样本中腐生菌群占比偏高,占 83.5%。

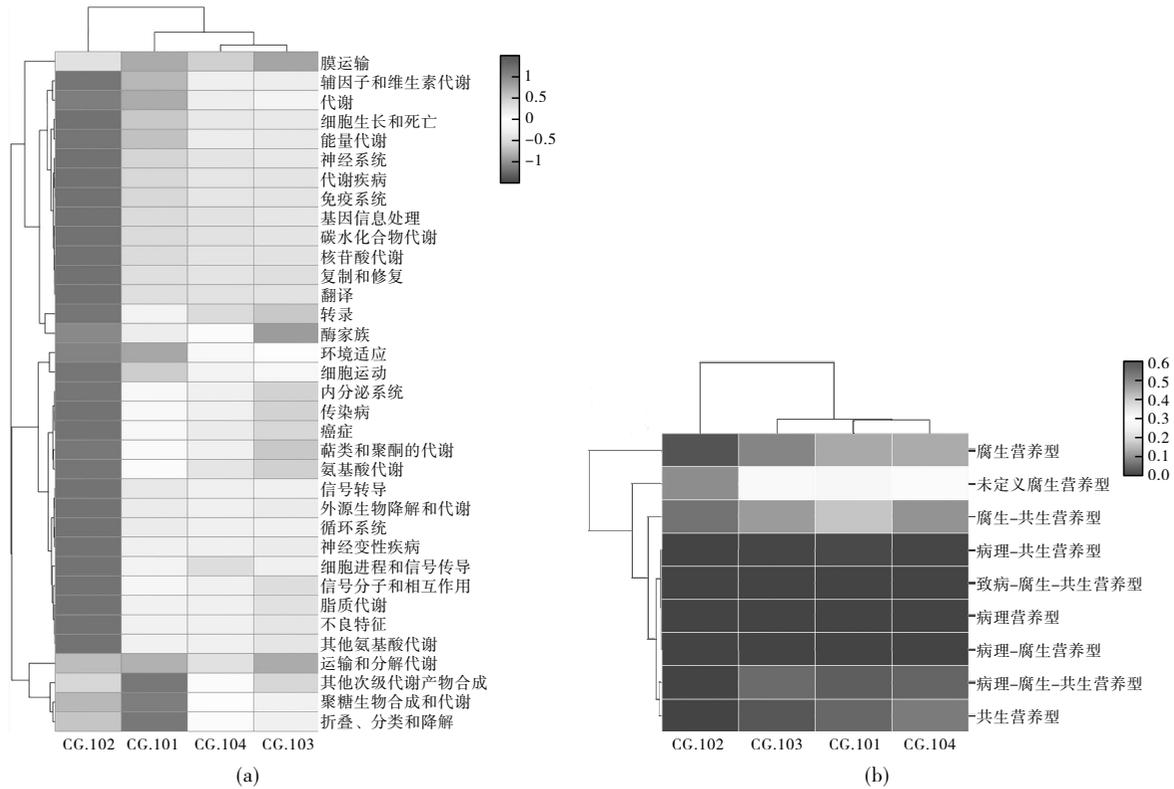


图5 细菌(a)和真菌(b)水平的功能丰度聚类热图

3 讨论

近年来,随着高通量测序技术的发展和成熟,其费用和周期大幅度降低,相较于传统微生物诊断技术具有更大优势,因此越来越多应用于动物传染病研究中^[14-16]。

研究表明,双峰驼在一岁左右断奶并开始以植物性食物为食后,肠道微生物组成趋向稳定^[16]。因此本研究中CG.101、CG.103、CG.104样本测序结果在一定程度上可以反映新疆巴里坤县健康成年双峰驼肠道正常菌群。在细菌群落中门、目、科、属水平上最占优势的类群为厚壁菌门、梭菌目、瘤胃球菌科、拟杆菌属,这与何静^[11]、Lei 等人^[13]的研究结果一致;子囊菌门和担子菌门为优势真菌菌群,与之前的伊犁马^[17]、藏仔猪^[18]、华北豹^[19]等的研究结果一致。而CG.102微生物多样性差,菌群失衡,有益菌占比小,检测出较高比例

的致病菌和条件致病菌。

在门水平上,研究发现,厚壁菌门与脂肪酸的吸收有关,其比例与胃肠道炎症呈负相关,而拟杆菌门具有较强的碳水化合物代谢能力^[20],厚壁菌门和拟杆菌门的比例随年龄的变化而变化^[21],其比例紊乱及肥胖和很多代谢疾病有一定的相关性^[22]。研究表明变形菌门丰度的增加是宿主免疫失调和代谢紊乱的标志^[23]。王小琪等人比较了青藏高原柴达木马亚成体腹泻与健康个体粪便微生物菌群差异,发现与健康组相比,腹泻组粪便微生物多样性以及厚壁菌门相对丰度显著下降,而变形菌门相对丰度显著增加^[24]。本研究CG.102样本肠道菌群多样性显著下降,厚壁菌门和拟杆菌门比例偏低,引起胃肠道炎症和代谢疾病的可能性大,变形菌门相对丰度显著上升,与之前的腹泻相关研究结果一致。

在科水平上,瘤胃球菌和克里斯滕森菌被认为是潜在的益生菌,在调节肠道方面起着积极的作用。瘤胃球菌能够产生短链脂肪酸,与纤维素等多糖的消化代谢密切相关^[25];克里斯滕森菌在动物肠道黏膜中普遍存在,对宿主的健康有较大影响;理研菌科在动物的消化道中分布广泛,能够产生短链脂肪酸,主要包括乙酸和丙酸,这两种有机酸能够增加抗菌肽的表达,并调节免疫介质的产生,从而增强宿主的肠道免疫力^[26]。在CG.102样本中,以上有益菌丰度显著减少,占位性保护作用减弱,肠黏膜屏障易被破坏,肠道pH值改变,致使致病菌在肠道内迅速增多并定植;致病菌产生的毒素又会致使肠道炎症的发生,引起肠道内环境的改变,进而促使致病菌的生长,如此反复,造成持续感染。同时有益菌减少会导致糖类分解减少,肠腔渗透压增加,液体在肠腔聚集增多,导致腹泻发生^[27]。

在属水平上,研究表明,阿克曼菌作为一种新型益生菌,有利于改善代谢、减少肥胖、促进肠道干细胞增殖,缓解动物肠道炎症^[28]。研究发现拟杆菌属、瘤胃球菌属、类芽孢杆菌属、梭菌属、粪杆菌属在家养和野生双峰驼肠道纤维消化中均发挥着至关重要的作用^[11]。王小琪等人^[24]也发现,健康马中拟杆菌属、瘤胃球菌属、梭菌属、纤杆菌属和帕鲁迪菌属(*Paludibacter*)的相对丰度远高于腹泻马,这表明这些属对骆驼的健康至关重要。本研究发现与其他三个样本相比,CG.102样本中阿克曼菌属、拟杆菌属、瘤胃球菌属、芽孢杆菌属所占比例较低,推断其可能存在肠道炎症,消化功能失调等问题。

在种水平上,CG.102样本中检测出含量较高的铜绿假单胞菌、洛菲不动杆菌和多育赛多孢子菌,可能混合感染并造成炎症反应,严重影响骆驼的健康。铜绿假单胞菌可引起各种动物的脏器脓肿,主要造成化脓性炎症及败血症,并常与其他细菌混合感染,如葡萄球菌和大肠杆菌(*Escherichia coli*),奶牛感染后会引发腹泻^[28];洛菲不动杆菌是一种条件致病菌,已成为继鲍曼不动杆菌之后引起医院感染的重要原因^[29];多育赛多孢子菌是一种条件致病真菌,可导致无症状的真菌定植或局部感染,当宿主免疫力较低时会引起大规模散发性真菌感染^[30]。

物种丰度分析显示CG102样本优势真菌为单一的多育赛多孢子菌,该真菌是营腐生的条件致病菌,因此真菌FunGuid功能预测中该类群被分类为腐生型真菌。PICRUST分析发现,CG.102样本中辅助因子和维生素代谢功能丰度低,辅因子能够促进酶及反应物处于活化状态下,从而加速酶催化反应,因此CG.102样本中酶家族丰度也较低。维生素是微生物所必需的某些少量有机化合物,在新陈代谢、生长、发育和健康中发挥着至关重要的作用^[31]。研究表明,双峰驼在缺水的情况下会通过减少结肠组织的RNA合成来降低新陈代谢^[32]。很多研究表明患病群体代谢功能紊乱^[33-34],CG.102宿主新陈代谢、碳水化合物代谢和能量代谢均低于健康骆驼的平均水平,表明其营养物质利用异常,食欲不振,饮水摄入量少,生长发育所需能量不足;脂代谢偏高,可能处于消耗其驼峰内存储脂肪阶段,因此体型较其他3只瘦小。这可能与肠道菌群失衡有关,厚壁菌门比例低造成脂肪酸吸收障碍,碳水化合物代谢低也与拟杆菌门相对丰度偏低有关;另外,内分泌和代谢功能紊乱,致病细菌可以利用宿主的分泌系统来破坏宿主的一些功能^[35],这可能与铜绿假单胞菌、洛菲不动杆菌等致病菌感染以及缺少有益于纤维素代谢的瘤胃球菌科、有利于肠道黏膜健康的克里斯滕森菌科等有益菌有关。在生物体系统方面,CG.102宿主免疫力差,神经系统调节能力差,病原体入侵宿主细胞会对宿主的免疫系统产生影响^[36]。通过遗传信息处理,可以激发蛋白质的活性,使蛋白质所具有的酶、激素、抗原抗体、血红蛋白的载氧能力等生物功能发挥出来。CG.102宿主遗传信息处理能力较差,免疫调节能力差;细胞的生长和死亡功能丰度低,推测宿主伤口愈合能力弱;传染疾病、退化性疾病富集显著高于其他三个样本,这可能与多种病原体混合感染有关。由此可知,CG.102骆驼免疫力低,易感染疾病,代谢功能紊乱,可能

存在肠炎腹泻等问题。需要在饮食上给予必要的维生素、碳水化合物,并且及时进行检查和治疗。

4 结论

成年双峰驼肠道正常菌群多样性和群落结构一般比较稳定,而免疫力下降,致病菌感染可能会导致生物多样性下降、菌群失衡、有益菌减少,并表现出基因功能紊乱。在双峰驼的感染性疾病诊断中使用高通量测序是可行的,研究结果可以为新疆双峰驼病原体的检测、传染病和菌群失调的诊断和治疗提供参考依据。

参考文献:

- [1] 吉日木图,陈钢粮,云振宇. 双峰驼与双峰驼乳[M]. 北京:中国轻工业出版社,2009.
- [2] 哈那提·吐尔逊汉,杰恩斯古丽·吐尔德拜. 浅谈骆驼的经济价值[J]. 新疆畜牧业,2010,(01):12-14.
- [3] 冯梦雅,崔莉,刘健康,等. 骆驼乳的营养价值及在预防疾病中的应用与作用机制研究进展[J]. 食品科学,2022,43(11):392-401.
- [4] 罗晨,张能能,赵爱云,等. 巴里坤县双峰驼种类鉴定及其携带病原的检测[J]. 动物医学进展,2020,41(04):131-136.
- [5] ROOKS M G, GARRETT W S. Gut Microbiota, Metabolites and Host Immunity[J]. Nature Reviews, 2016, 16(02):341-352.
- [6] 郑艺,张家超,郭壮,等. 基于高通量测序技术分析肠道菌群及其影响因素的研究进展[J]. 中国食品学报,2014,14(11):157-164.
- [7] 王姗姗,王佳堃,刘建新. 肠道微生物对宿主免疫系统的调节及其可能机制[J]. 动物营养学报,2015,27(02):375-382.
- [8] SCHUPACK D A, MARS R A T, VOELKER D H, et al. The Promise of the Gut Microbiome as Part of Individualized Treatment Strategies[J]. Nature Reviews, Gastroenterology & Hepatology, 2021, 19(01):7-25.
- [9] 阿依德古力·哈德依汗. 骆驼细菌性与真菌性疾病综合防治[J]. 畜牧兽医科学,2022,(03):62-63.
- [10] 郭坤杰,张萌萌,吉日木图,等. 饮食成分影响肠道菌群结构的研究进展[J]. 中国食品学报,2021,21(12):293-301.
- [11] 何静. 双峰驼肠道微生态特征及纤维素分解菌的研究[D]. 呼和浩特:内蒙古农业大学,2019.
- [12] MING L, YI L, SIRIGULENG, et al. Comparative Analysis of Fecal Microbial Communities in Cattle and Bactrian Camels[J]. PLoS One, 2017, 12(03):7-11.
- [13] LEI Y, QI A, YUN C, et al. Fecal Microbiota of Three Bactrian Camels (Camelus Ferus and Camelus Bactrianus) in China by High Throughput Sequencing of the V3-V4 Region of the 16S rRNA Gene[J]. Journal of Arid Land, 2017, 9(01):153-159.
- [14] NHU H N, SONG Z W, SCOTT T B, et al. FUNGuild: An Open Annotation Tool for Parsing Fungal Community Datasets by Ecological Guild[J]. Fungal Ecology, 2016, 20:241-248.
- [15] SUMINDA G G D, BHANDARI S, WON Y, et al. High-throughput Sequencing Technologies in the Detection of Livestock Pathogens, Diagnosis, and Zoonotic Surveillance[J]. Comput Struct Biotechnol Journal, 2022, 20:5378-5392.
- [16] HE J, HAI L, ORGOLDOL K, et al. High-throughput Sequencing Reveals the Gut Microbiome of the Bactrian Camel in Different Ages[J]. Current Microbiology, 2019, 76(07):810-817.
- [17] 陈雪静,吾尔恩·阿合别尔迪,木古丽·木哈西,等. 不同年龄成年伊犁马粪便真菌群落结构的分析[J]. 家畜生态学报, 2022, 43(05):35-40.
- [18] 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(07):1241-1249.
- [19] 华彦,郎鹏飞,王洪堂,等. 基于高通量测序技术对野生和圈养华北豹肠道真菌多样性的分析[J]. 野生动物学报,2020, 41(01):5-14.
- [20] 黄媛媛,陈华国,谢文,等. 多糖与肠道菌群相互作用及其构效关系研究进展[J]. 微生物学通报,2022,49(06):2325-2346.
- [21] 伍梓汐,苗俊杰,李珊珊,等. 老年人肠道菌群特征与代谢和免疫机能相关性的探究[J]. 营养学报,2017,39(03):228-233.
- [22] 张娴,陈容平,陈宏. 基于高通量测序技术分析肠道菌群与肥胖的研究进展[J]. 医学综述,2017,23(23):4577-4583.
- [23] SHIN N R, WHON T W, BAE J W. Proteobacteria: Microbial Signature of Dysbiosis in Gut Microbiota[J]. Trends Biotechnol, 2015, 33(09):496-503.
- [24] 王小琪,郝文静,张志超,等. 腹泻柴达木马亚成体粪便微生物多样性分析及其生物标记物的筛选[J]. 兽类学报,2022, 42(04):432-441.
- [25] 谢杭谕. 肠道菌群及其代谢产物短链脂肪酸和肠黏膜损伤标志物在 HIV 感染组和健康组的对比研究[D]. 泸州:西南医科大学,2017.

- [26] 王静,冉志玲. 小建中汤对脾虚泄泻幼鼠肠道菌群及肠粘膜免疫功能影响的研究[D]. 泸州:西南医科大学,2021.
- [27] 陆晓溪. 阿克曼菌促进肠干细胞增殖缓解肠炎机制的研究[D]. 南京:南京农业大学,2020.
- [28] 韩青松,简永利,涂宜强,等. 绿脓杆菌研究进展[J]. 畜牧与饲料科学,2012,33(01):122-124.
- [29] 施瑜,张汉园,王震,等. 鲍曼不动杆菌和洛菲不动杆菌的医院感染情况及耐药性分析[J]. 检验医学与临床,2020,17(10):1328-1331.
- [30] FLOWERS L, WITTE L, ZUROWSKI S M. Successful Treatment of Cutaneous *Scedosporium Prolificans*: An Emerging and Treatment-Resistant Fungal Pathogen[J]. *Cureus*, 2023, 15(09): e44738.
- [31] 赵翰卿,李欣怡,汪瑞琦,等. 维生素家族对免疫细胞影响的研究进展[J]. 生命科学,2020,32(04):343-348.
- [32] 方艳,周俊文,关伟军,等. 基于瘤胃转录组探究双峰驼沙漠适应性分子机制[J]. 畜牧兽医学报,2021,52(01):77-87.
- [33] 陆江,朱道仙,赵学刚,等. 高通量测序研究慢性肾衰竭对宠物犬肠道菌群多样性的影响及基因功能预测分析[J]. 畜牧兽医学报,2020,51(10):2590-2598.
- [34] 康宇婷,苏雅静,乔霞,等. 慢性阻塞性肺疾病患者肠道微生物组成及基因功能分析[J]. 中国微生态学杂志,2022,34(10):1122-1128.
- [35] RAPISARDA C, FRONZES R. Secretion Systems Used by Bacteria to Subvert Host Functions[J]. *Current Issues in Molecular Biology*, 2018, 25: 1-42.
- [36] GREEN E R, MECSAS J. Bacterial Secretion Systems: An Overview[J]. *Microbiology Spectrum*, 2016, 4(01): 215-239.

Diversity Analysis of Intestinal Bacterial and Fungal Communities between Healthy and Infected Bactrian Camels

BAI Ru¹, YUAN Qing-qing¹, ZHANG Xiao-le¹, WUEREN·Ahebieerdi^{1,2*}, MUGULI·Muhaxi^{1,2}

(1.College of Biological Sciences and Technology, Yili Normal University, Yining, Xinjiang, 835000, China;

2.Key Laboratory of Microbial Resources Protection Development and Utilization, Yili Normal University, Yining, Xinjiang, 835000, China)

Abstract: High-throughput sequencing technique was used to analyze the diversity and structural composition of bacterial and fungal flora in fecal samples of four adult bactrian camels in Barkun County, Xinjiang, reflect the characteristics of intestinal flora infected by pathogenic bacteria and the relationship between intestinal flora imbalance and bactrian camel health and the gene function was predicted at the bacterial and fungi level. The results showed that there was no significant differences in the microbial community structure characteristics among CG.101, CG.103 and CG.104 samples ($P > 0.05$), for example, the largest taxonomic groups at the level of phylum, family and genus of bacterial community were Firmicutes, Ruminococcaceae and Bacteroides; The dominant phylum of fungi included Ascomycetes and Basidiomycetes. Compared with the above three samples, sample CG.102 had lower microbial diversity and relative abundance of beneficial bacteria, but more Conditional pathogens and pathogenic bacteria. At the Phylum level, sample CG.102 had lower abundance of Firmicutes and Bacteroides, and higher abundance of Proteobacteria and Actinobacteria. At the family level, the relative abundant of Akkermansia, Ruminococcaceae, Christensenellaceae, Rikenellaceae was significantly lower; At the genus level, the relative abundance of Akkermansia, Bacteroides, Ruminococcaceae and Bacillus was obviously lower than that of the other three samples; At the species level, a high proportion of *Pseudomonas aeruginosa* and *Acithrobacter lwoffii* were detected in sample CG.102. The fungal community of sample CG.102 was dominated by a single Ascomycota, Ascomycodaceae, Hyphomycetes, *Scedosporium prolificans*. The prediction of bacterial indicated that the camel represented by CG.102 sample have decreased immunity and be infected with diseases.

Keywords: High-throughput sequencing; Feces; Unbalanced flora; Bacterial diversity; Fungal diversity