

野生和养殖兰州鲇肠道菌群结构的比较

阮超岭 赖章龙 肖伟 俞兆曦 刘凯 刘彦斌 赛清云 田永华 李敏敏 柳婷 杨立强 杨瑞兰 连总强 王玉涛

COMPARATIVE STUDY ON INTESTINAL FLORA STRUCTURE OF WILD AND CULTURED *SILURUS LANZHOUENSIS*

RUAN Chao-Ling, LAI Zhang-Long, XIAO Wei, YU Zhao-Xi, LIU Kai, LIU Yan-Bin, SAI Qing-Yun, TIAN Yong-Hua, LI Min-Min, LIU Ting, YANG Li-Qiang, YANG Rui-Lan, LIAN Zong-Qiang, WANG Yu-Tao

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.7541/2023.2022.0479>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

兰州鲇与鲇消化系统的形态学及组织学比较研究

COMPARATIVE STUDY ON MORPHOLOGY AND HISTOLOGY OF DIGESTIVE SYSTEM OF *SILURUS LANZHOUENSIS* AND CATFISH (*SILURUS ASOTUS*)

水生生物学报. 2017, 41(1): 174–181 <https://doi.org/10.7541/2017.22>

饥饿与重摄食对河蟹肠道菌群结构的影响

EFFECTS OF STARVATION AND REFEEDING ON INTESTINAL MICROFLORA OF CHINESE MITTEN CRAB (*ERIOCHEIR SINENSIS*)

水生生物学报. 2019, 43(4): 748–756 <https://doi.org/10.7541/2019.088>

兰州鲇精液超低温冷冻保存技术研究及细胞损伤检测

STUDY OF SPERM CRYOPRESERVATION IN *SILURUS LANZHOUENSIS* AND DETECTION OF CELL DAMAGES AFTER CRYOPRESERVATION

水生生物学报. 2021, 45(3): 547–556 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.020>

基于微卫星多重PCR技术的兰州鲇亲子鉴定

PARENTAGE ASSIGNMENT OF *SILURUS LANZHOUENSIS* USING MULTIPLEX PCR OF MICROSATELLITES

水生生物学报. 2021, 45(3): 530–540 <https://doi.org/10.7541/2021.2020.030>

基于第二代测序技术兰州鲇线粒体基因组全序列测定与分析

SEQUENCING AND ANALYSIS OF THE COMPLETE MITOCHONDRIAL GENOME OF *SILURUS LANZHOUENSIS* BASED ON NEXT GENERATION SEQUENCING TECHNOLOGIES

水生生物学报. 2017, 41(2): 334–345 <https://doi.org/10.7541/2017.41>



关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2022.0479

野生和养殖兰州鲇肠道菌群结构的比较

阮超岭¹ 赖章龙¹ 肖伟^{2,3,4} 俞兆曦^{2,3,4} 刘凯^{2,3,4} 刘彦斌^{2,3,4} 赛清云^{2,3,4}
田永华^{2,3,4} 李敏敏⁵ 柳婷⁵ 杨立强⁵ 杨瑞兰⁵ 连总强^{1,2,3,4*} 王玉涛^{1,6*}

(1. 喀什大学生命与地理科学学院, 喀什 844000; 2. 宁夏回族自治区水产研究所(有限公司), 银川 750001; 3. 宁夏渔业工程技术研究中心, 银川 750001; 4. 宁夏渔业科技院士工作站, 银川 750001; 5. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 兰州 730070; 6. 新疆帕米尔高原生物资源与生态重点实验室, 喀什 844000)

摘要: 研究以不同生境兰州鲇群体为研究对象, 通过细菌16S rDNA V3—V4区域高通量测序的方法, 开展不同环境下肠道菌群组成、丰富度、多样性差异和功能预测的研究。实验共分为4组, 其中养殖型为池塘组(CT)和网箱组(WX); 野生型为陶乐组(TL)和磴口组(DK)。结果显示, 兰州鲇肠道核心菌门为梭杆菌门(*Fusobacteria*)和变形菌门(*Proteobacteria*); 核心菌属为鲸杆菌属(*Cetobacterium*)和邻单胞菌属(*Plesiomonas*)。肠道菌群 α 和 β 多样性分析结果显示, 26.5℃较20℃的兰州鲇肠道菌群多样性更高; 单一模式的网箱养殖较其他养殖模式的兰州鲇肠道菌群多样性更低。进一步对兰州鲇肠道菌群组成及丰度进行组间差异性分析, 结果显示, CT组拟杆菌门(*Bacteroidetes*)的相对丰度与TL组有极显著差异($P \leq 0.01$)、与WX组有显著性差异($P \leq 0.05$); 而CT组放线菌门(*Actinobacteria*)的相对丰度显著高于野生型两组($P \leq 0.05$), 甲基杆菌属(*Methylobacterium*)丰度显著高于WX组和TL组($P \leq 0.05$)。进一步结合环境因子分析表明, 温度、pH和氨氮浓度可能是兰州鲇肠道菌群组成和丰度的重要影响因素。预测的肠道菌群功能表明, 不同的环境会影响兰州鲇肠道菌群的代谢能力。综上所述, 不同的生长环境对兰州鲇肠道菌群的组成、丰富度和预测的菌群功能具有显著影响, 这有助于通过改善pH、温度和氨氮浓度, 有效控制兰州鲇肠道菌群, 进而降低兰州鲇患病概率和提高兰州鲇苗种的驯食转化率, 从而促进兰州鲇养殖业的可持续发展。

关键词: 16S rDNA; 肠道菌群; 多样性差异; 功能预测; 兰州鲇

中图分类号: S965.1; Q938.8

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2023)11-1734-11



肠道作为鱼类重要的消化器官和免疫器官, 其作用会受到自身常驻菌群、外界饵料携带菌群及环境微生物所构成的微生物菌群影响^[1,2]。鱼类肠道菌群包括好氧细菌、兼性厌氧细菌和专性厌氧细菌^[3], 存在于肠道壁、肠道黏膜及其内容物中, 其组成结构具有物种、食性、食物来源和环境的特异性^[4-6], 对促进鱼类生长与发育、营养吸收与代谢、免疫屏障与健康等具有重要作用^[7]。因此开展鱼类与其肠道菌群结构间的相互作用研究对促进鱼体健康、提高生产性能、筛选培育有益菌、定向创制新种质具有重要意义。

兰州鲇(*Silurus lanzhouensis*)隶属于鲇科(*Siluri-*

dea)、鲇属(*Silurus*), 为黄河中上游流域特有大型肉食性底层鱼类, 被评为“黄河水生生物名片”^[8], 生长快速, 肉质鲜美, 营养价值高, 市场需求大, 养殖前景广阔。目前国内外有关兰州鲇研究主要以形态学^[9]、保护遗传学^[10]、繁殖学^[11]、遗传育种学^[12-15]和饲料营养^[16,17]为主, 为兰州鲇种质救护保存^[18]、人工驯养、人工繁育、良种选育和生态养殖提供了重要技术支持。杜文勇等^[19]开展了兰州鲇肠道细菌的组成及其特性和代表性细菌的产酶能力、生长特性研究, 为兰州鲇肠道微生物菌群研究提供了重要数据资料。兰州鲇在养殖过程中, 极易暴发细菌性出血病, 笔者对原生境与养殖条件下兰州鲇

收稿日期: 2022-11-29; 修订日期: 2023-01-31

基金项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901202); 宁夏重点研发计划(2017BN06)资助 [Supported by the National Key R & D Program of China (2018YFD0901202); the Ningxia Key R & D Program of China (2017BN06)]

作者简介: 阮超岭(1997—), 男, 硕士研究生; 主要从事鱼类遗传育种与繁殖研究。E-mail: saier26@163.com

通信作者: 连总强(1980—), 男, 博士, 正高级工程师; 主要从事鱼类遗传育种与繁殖研究。E-mail: lianzq04@163.com 王玉涛(1979—), 男, 博士, 教授; 主要从事动物生态与分子进化研究。E-mail: wangyts@163.com *共同通信作者

肠道菌群结构全面分析研究有助于为减少病害提供一定的理论参考数据。

近年来兰州鲇养殖产业发展中面临苗种培育成活率低、饲料驯食成功率低、养殖群体肠道免疫疾病易发等制约瓶颈,造成市场苗种供应不足,养殖成活率、产量、效益不高。鉴于此,本研究应用16S rRNA高通量测序技术开展兰州鲇野生和养殖不同生境条件下肠道菌群结构研究,以期对兰州鲇肠道微生态研究、益生菌筛选、良种定向培育、养殖环境调控和养殖病害防控等提供支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验于2022年6—7月分别采集4个不同生活环境兰州鲇样本,其中TL与DK为野生型、WX与CT为养殖型(表 1)。每个地点随机选取3条体质量约150 g的个体,活鱼充氧运回实验室,MS222(50 mg/L)麻醉后立即在无菌的条件下解剖,采集200 mg前、中、后肠内容物置于5 mL冷存管中,液氮速冻后-80℃冰箱保存备用,其余内容物用于分析其食物组成。

1.2 水质指标测定

使用YSI水质分析仪(美国)测定样本采集时黄河干流采样点、池塘与网箱水体氨氮、总氮、总磷、水温和pH等指标。

1.3 肠道微生物总DNA提取及检测

使用E.Z.N.A. Stool DNA Kit(Omega, 美国)提取兰州鲇肠道菌群总DNA,方法参照说明书进行。用1%琼脂糖凝胶电泳检测提取DNA的质量,核酸浓度测定仪(杭州奥盛 Nano-300)检测DNA浓度,将提取质量合格的DNA保存在-20℃的冰箱中。

1.4 PCR扩增及测序分析

使用细菌通用引物: 338F(5'-ACTCCTACGGG AGGCAGCAG-3')与806R(5'-GGACTACHVGGGTW TCTAAT-3')。PCR反应体系(20 μL): 2×Taq Plus Master Mix(10 μL)、PCR Forward Primer(0.8 μL)、PCR Reverse Primer(0.8 μL)、Template DNA(1 μL)、dd H₂O(7.4 μL),扩增程序: 95℃预变性3min; 95℃

变性30s, 55℃退火30s, 72℃延伸45s, 27个循环; 保持72℃延伸10min结束。每样设3次重复,制成混合PCR产物。用2%琼脂糖凝胶电泳检测条带大小是否合适,然后用AxyPrep™ DNA Gel Extraction Kit (Axygen, 美国)回收纯化。将提纯后合格的扩增产物与测序接头连接,构建测序文库,送到广州基迪奥生物科技有限公司进行第二代高通量测序。

1.5 数据分析

测序完成后,使用FLASH(1.2.11)软件进行序列拼接^[20]、DADA2(1.14.1)对拼接完成的序列进行质控^[21]、UCHIME去除嵌合体序列^[22]、UPARSE软件在97%相似度下进行OUT聚类分析^[23]、RDP Classifier(2.2)数据库进行物种注释^[24]、Qiime(1.9.1)进行多样性分析^[25]和PICRUS(2.1.4)软件进行肠道菌群功能预测^[26]。相关数据统计应用SPSS Statistics 26进行单因素方差分析,并通过R语言Vegan包进行RDA冗余、NMDS、Adonis、welch's t检验和Turkey HSD分析。

2 结果

2.1 环境因子分析

依据《地表水环境质量标准(GB3838-2002)》评价水质,黄河采样点水质评级为Ⅱ类,养殖采样点水质为Ⅲ类(表 2)。其中,4组水体TN、TP差异不显著($P>0.05$);养殖水体氨氮含量和水温均显著高于野生水体($P\leq 0.05$);4个采样点中WX组的pH显著高于CT组的,而WX、CT和TL组的pH均显著高于DK的($P\leq 0.05$)。

2.2 测序数据

通过Reads过滤、Tags拼接,每个样品平均测得126255条reads,经过质控后,平均得到73958条有效数据。将此序列以97%的同一性聚类为OTUs,共获得6576个OTUs,后将其通过Naïve Bayesian assignment算法,与RDP Classifier数据库进行物种注释,4个样本组共发现14个门,23个纲,45个目,62科,79个属菌群。

2.3 α多样性分析

Rank丰度曲线在横轴上的跨度与肠道菌群的

表 1 供试材料

Tab. 1 Experimental material

样本 Sample	样本量 Sample size (n)	饵料来源 Source of fish feed	采集点 Collection point
TL	3	虾、鲫、摇蚊幼虫、蜻蜓幼虫、雅罗鱼、沟虾、鲢	宁夏回族自治区石嘴山市平罗县
DK	3	鲤、虾、鲫、浮游、沟虾	内蒙古自治区巴彦淖尔市磴口县
CT	3	冰鲜鳊鱼	宁夏回族自治区银川市贺兰县宁夏水产研究所池塘
WX	3	鲈鱼1号饲料	宁夏回族自治区银川市贺兰县宁夏水产研究所网箱

丰富度成正比,在纵轴上曲线的平滑程度和肠道菌群的均匀度成正比。在本研究中,CT组跨度和平滑程度最大,DK、WX组次之,TL组最小(图1)。故4组样本肠道菌群的丰富度和均匀程度分别为CT>DK>WX>TL。

α 多样性是指特定生境或者生态系统内的多样性情况,通常利用物种丰富度与物种均匀度两个重要参数来计算。对4组样本进行Alpha多样性分析(表3)。结果显示,全部样本饱和度均高于0.99,说明样本中肠道菌群被充分检出,测序质量良好。sobs、Chao1、ACE指数与肠道菌群的物种丰富程度成正比,结果显示CT组的指数值最高,其次为DK、WX组,最后为TL组,此结果与Rank丰度曲线结果

相符。对4组样本多样性指数进行Kruskal-Wallis秩和检验,结果显示野生型和养殖型两组无显著性差异($P>0.05$);养殖型CT组的sobs、Chao1、Ace和香浓指数均高于野生型TL组($P\leq 0.05$);而Simpson指数在4组间并没有显著性差异($P>0.05$)。

2.4 β 多样性分析

β 多样性是一种不同生态系统之间物种多样性的比较,基于OTU水平的物种进化距离对4组样本进行非度量多维尺度分析(Nonmetric multidimensional scaling, NMDS; 图2), stress ≤ 0.1 ,表示模型可靠。其中,养殖型和野生型兰州鲇肠道菌群样本互有交叉,表明养殖型和野生型兰州鲇物种进化距离较近,肠道菌群的物种多样性差异度较低;在野生型两组间,其肠道菌群互有交叉,表明野生型两组间物种进化距离较近,肠道菌群的物种多样性差异性较小;而养殖型两组间肠道菌群样本分布在不同的空间区域,表明两组物种进化距离较远,肠道菌群的物种多样性差异性较大。进一步通过置换多因素方差分析(Permutational MANOVA, Permanova)进行分组信息检验(图2),结果表明各组之间显著分离($P=0.018$)。

2.5 肠道菌群结构组成

门分类水平上 共鉴定出14个菌门,其中梭杆菌门(Fusobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、放线菌门(Actinobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为主要菌门,其余9个菌门平均相对丰度均不足2%。对平均相对丰度top10的菌门进行分析(已知的丰度均值排名在10以上的物种被归类为Others,未知的物种被标记为Unclassified)(图3A),结果显示:TL组的优势菌门为梭杆菌门(53.62%)和变形菌门(34.65%);DK组的优势菌门为梭杆菌门(49.59%)、变形菌门(40.63%)、厚壁菌门(4.67%)和拟杆菌门(2.37%);CT组的优势菌门为梭杆菌门(18.47%)、变形菌门(43.94%)、厚壁菌门(7.59%)、拟杆菌门(5.22%)和放线菌门(5.27%);WX组的优势菌门为梭杆菌门(20.33%)、变形菌门(51.20%)和厚壁菌门(16.86%)。利用Tukey HSD秩和检验分析兰州鲇肠道菌门(图4A),结果显示:

表2 环境水质参数

Tab. 2 Environmental water quality parameters

指标 Index	分组Group			
	TL	DK	CT	WX
pH	8.650 $\pm$ 0.04 ^{ab}	8.295 $\pm$ 0.015 ^c	8.550 $\pm$ 0.05 ^b	8.750 $\pm$ 0.05 ^a
T (°C)	19.420 $\pm$ 0.18 ^c	20.475 $\pm$ 0.045 ^b	26.500 $\pm$ 0.2 ^a	26.700 $\pm$ 0.2 ^a
NH ₃ -N (mg/L)	0.035 $\pm$ 0.005 ^b	0.035 $\pm$ 0.005 ^b	0.284 $\pm$ 0.0465 ^a	0.193 $\pm$ 0.009 ^a
TN (mg/L)	1.845 $\pm$ 0.005	1.720 $\pm$ 0.05	1.600 $\pm$ 0.1	1.505 $\pm$ 0.245
TP (mg/L)	0.035 $\pm$ 0.005	0.035 $\pm$ 0.005	0.178 $\pm$ 0.102	0.167 $\pm$ 0.073

注:表中数据为3个重复平均值,表中同行数据中不同字母上标表示显著性差异($P\leq 0.05$);下同

Note: Data are the means of three replicates, different letter superscripts in the peer data indicate significant differences ($P\leq 0.05$). The same applies below

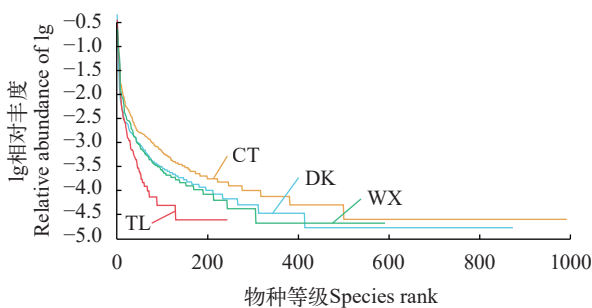


图1 丰度等级曲线(OTU水平)

Fig. 1 The Rank-Abundance curves of OUT level

表3 样本多样性指数

Tab. 3 The Alpha diversity indices of four samples

样品 Sample	sobs指数 Observed species	Chao1指数 Chao1	Ace指数 Ace	香浓指数 Shannon	辛普森指数 Simpson	饱和度 Good's Coverage
TL	208.33 ^b	224.94 ^b	239.87 ^b	2.42 ^b	0.67	0.9988
DK	716.00 ^{ab}	741.17 ^{ab}	775.85 ^{ab}	3.28 ^{ab}	0.73	0.9983
CT	868.00 ^a	898.08 ^a	944.10 ^a	4.79 ^a	0.88	0.9969
WX	399.67 ^{ab}	409.15 ^{ab}	423.69 ^{ab}	3.15 ^{ab}	0.71	0.9991

CT组中的拟杆菌门相对丰度较高, 与TL组有极显著差异($P \leq 0.01$), 与WX组有显著性差异($P \leq 0.05$); CT组中的放线菌门相对丰度显著高于野生型($P \leq 0.05$)。

属分类水平上 共鉴定出79个菌属, 其中鲸杆菌属(*Cetobacterium*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、邻单胞菌属(*Plesiomonas*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、甲基杆菌属(*Methylobacterium*)和埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)为主要菌属, 其余72个菌属平均相对丰度均小于2%。对平均相对丰度top10的菌属进行分析。由图 3B可见: 4个不同生境群体共有优势菌

属为鲸杆菌属(TL: 53.62%, DK: 49.59%, CT: 18.47%, WX: 20.33%)、邻单胞菌属(TL: 8.08%, DK: 3.63%, CT: 4.14%, WX: 23.36%); 气单胞菌属为TL、DK和CT组共有优势菌属, 其组内相对丰度占比分别为8.08%、3.63%和4.14%; 甲基杆菌属为DK和CT组共有优势菌属, 其组内相对丰度占比分别为13.12%和18.37%。TL组特有优势菌属为不动杆菌属(13.38%)和希瓦氏菌属(5.85%), WX组特有优势菌属为埃希氏-志贺氏菌属(21.00%)。利用Tukey HSD秩和检验分析兰州鲇肠道菌属(图 4B): CT组中的甲基杆菌属丰度显著高于WX组和TL组($P \leq 0.05$), 而野生型两组间差异没有显著性($P > 0.05$)。

2.6 RDA冗余分析

通过RDA冗余分析研究3种具有显著性差异的环境指标、样本分组和主要菌门与属之间的关联关系。

门分类水平上 养殖型兰州鲇肠道菌群中的厚壁菌门、变形菌门、拟杆菌门和放线菌门丰度较高, 与3种环境因子呈正相关关系。其中, WX组厚壁菌门和变形菌门丰度较高, 受pH影响较大; CT组拟杆菌门和放线菌门丰度较高, 受 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度影响较大。野生型两组间差异较小, 其梭杆菌门丰度较高, 与水温呈负相关关系(图 5A)。

属分类水平上 野生型兰州鲇肠道菌群中的鲸杆菌属、气单胞菌属、希瓦氏菌属和不动杆菌属丰度较高, 与3种环境因子呈负相关。其中, TL组中鲸杆菌属、不动杆菌属和希瓦氏菌属丰度较高, 受水温和 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度影响较大; DK组中气单

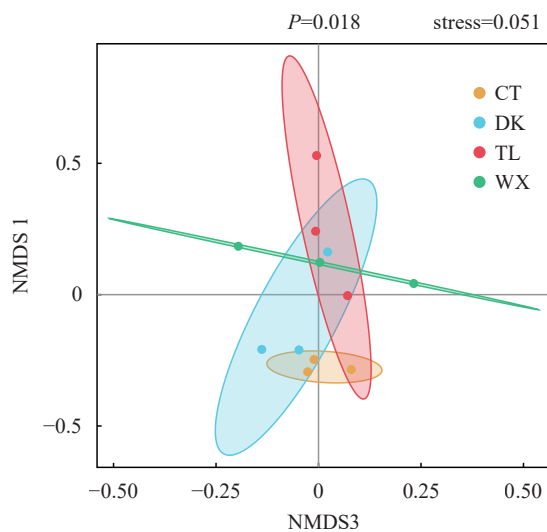


图 2 NMDS图(OUT水平)

Fig. 2 The NMDS diagram of OUT level

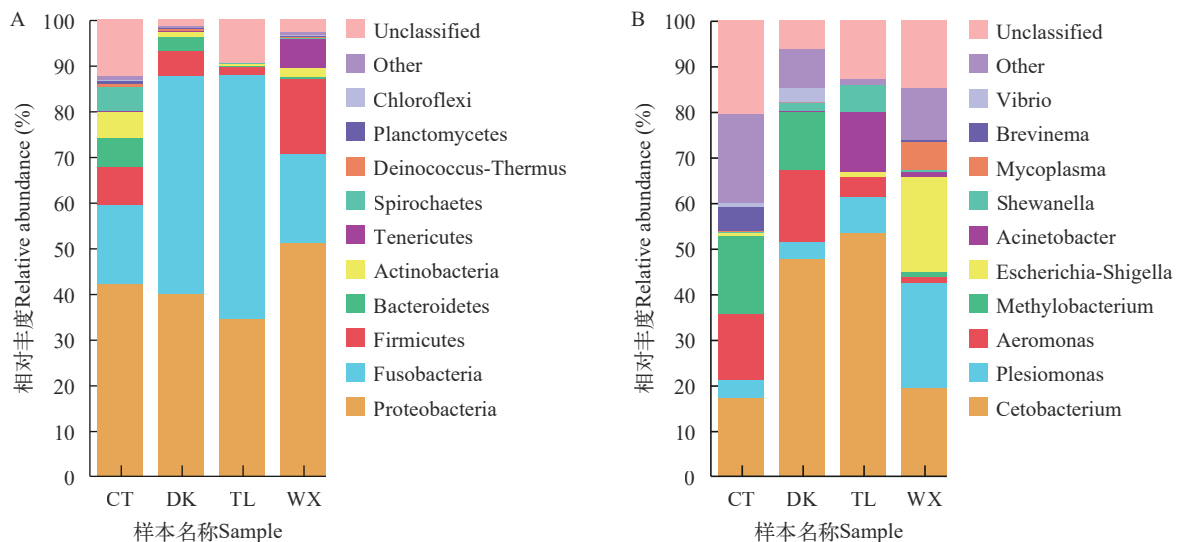


图 3 不同生境兰州鲇肠道菌群相对丰度堆叠图

Fig. 3 Relative abundance of intestinal flora of *S. lanzhouensis* in different habitats

A. 门水平; B. 属水平

A. phylum level; B. genus level

胞菌属丰度较高,受pH影响较大。养殖型WX组兰州鲇肠道菌群中的邻单胞菌属和埃希氏-志贺氏菌

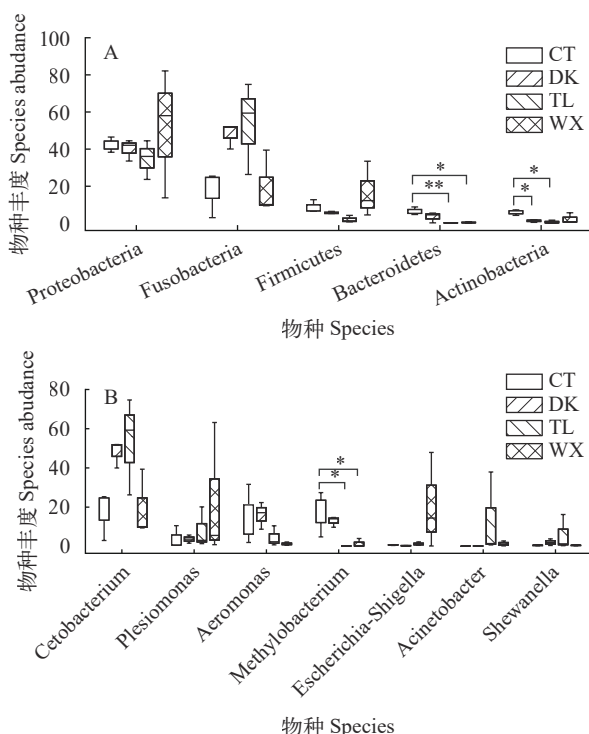


图4 不同生境肠道菌群Tukey HSD秩和检验箱形图

Fig. 4 Box plot of Tukey HSD rank sum test for intestinal flora in different habitats

A. 门水平; B. 属水平. 两组之间存在显著性差异用 * 表示 $P \leq 0.05$, 极显著性差异用 ** 表示 $P \leq 0.01$

A. phylum level; B. genus level. Significant differences between the two groups are indicated by * $P \leq 0.05$ and highly significant differences are indicated by ** $P \leq 0.01$

属丰度较高,与pH呈正相关;而甲基杆菌属在CT组和DK组丰度较高,与pH呈负相关、与 $\text{NH}_3\text{-N}$ 浓度呈正相关(图5B)。

2.7 肠道菌群功能预测

基于PICRUST2对4组样本的肠道菌群进行功能预测,并通过KEGG Pathway数据库对测序数据进行比对,得到二级通路33种和三级通路178种。在二级通路中,有11种参与新陈代谢;4种参与遗传信息处理;3种参与环境信息处理;4种参与细胞过程;7种参与生物体系统;4种参与人类疾病一级功能通路。然后对二级功能通路丰度聚类分析并进行Kruskal-Wallis秩和检验,绘制肠道菌群功能预测热图(图6)。研究结果显示,两种类型兰州鲇肠道菌群在功能上存在差异。野生型的功能预测为脂代谢、其他次级代谢产物的生物合成、免疫系统、碳水化合物代谢和环境适应力等;养殖型的功能预测为细胞运动性、心血管疾病、传染病、排泄系统、消化系统和信号分子和相互作用等。显著性分析结果显示,CT和DK组的发育和癌功能通路丰度,显著高于TL和WX组($P \leq 0.05$);而TL组的免疫性疾病功能通路丰度较另外3组高且具有显著性($P \leq 0.05$)。

对三级功能通路进行Kruskal-Wallis秩和检验(表4)。研究结果表明,共有11条通路在组间具有显著性差异($P \leq 0.05$)。在所有分组中,相对丰度大于0.1%的通路有氨基酸代谢、光合作用和D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢,其他8种预测的三级功能通路相对丰度低于0.1%。

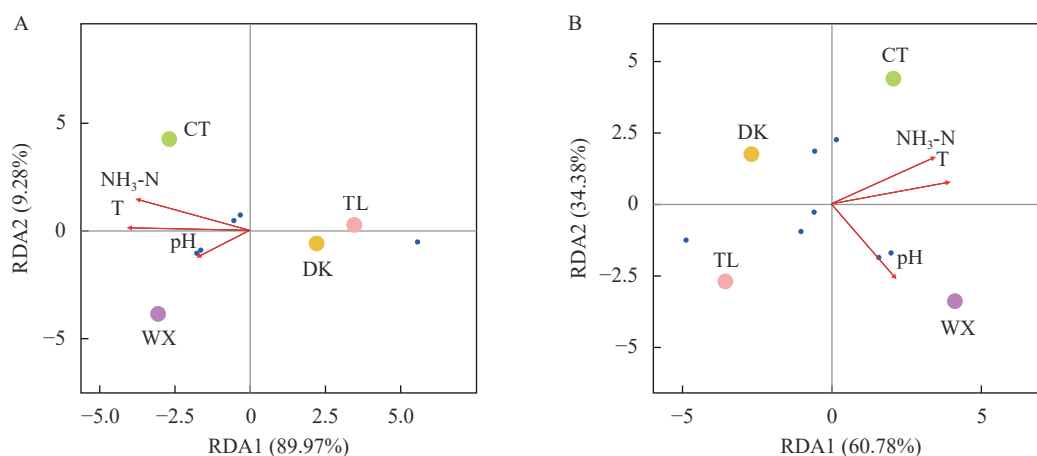


图5 不同生境兰州鲇肠道菌群RDA图

Fig. 5 RDA diagram of the intestinal flora of *S. lanzhouensis* in different habitats

A. 门水平(蓝点表示物种, 左下为变形菌门、厚壁菌门, 左上为放线菌门、拟杆菌门, 右下为梭杆菌门); B. 属水平(蓝点表示物种, 左下为鲸杆菌属、不动杆菌属、希瓦氏菌属, 左上为气单胞菌属, 右上为甲基杆菌属, 右下为邻单胞菌属、埃希氏-志贺氏菌属)

A. Phylum level (blue dots indicate species; Proteobacteria, Firmicutes at lower left; Actinobacteria, Bacteroidetes at upper left; Fusobacteria at lower right); B. Genus level (Cetobacterium at lower left; Acinetobacter, Shewanella, Aeromonas on the upper left; Methylobacterium on the upper right; Plesiomonas, Escherichia-Shigella on the lower right)

3 讨论

3.1 肠道菌群多样性差异

肠道菌群多样性往往与宿主健康状况成正比^[27], 且与益生菌^[28]、食物^[29]和环境理化性质^[30-32]等有着密切的关系。在本研究中, CT组和WX组之间不同饵料投喂的差别尤为明显: α 多样性分析结果显示, CT组肠道菌群多样性高于WX组, 尤其是两者的丰富度有极大的差异, 该结果与大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)^[29]的研究结果一致; β 多样性分析结果也说明, CT组和WX组之间的多样性差异显

著($P \leq 0.05$)。与池塘相比, 兰州鲇在网箱的活动空间小、摄食种类单一且存在严重的互食现象, 因此推测, 单一种类的网箱养殖较其他养殖模式的鱼类肠道菌群多样性低^[33, 34]。此外, 温度的差异也可能起重要作用^[31]。野生型和养殖型兰州鲇之间的 α 多样性分析结果显示: CT组肠道菌群组成的丰富度高于野生型, 并显著高于TL组。而养殖型兰州鲇采样时的温度显著较高, 且有研究显示, 20℃下的大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)肠道菌群的丰富度和均匀度高于12℃和28℃^[31], 因此推测26.5℃较20℃更能提高兰州鲇肠道菌群多样性, 有益于兰

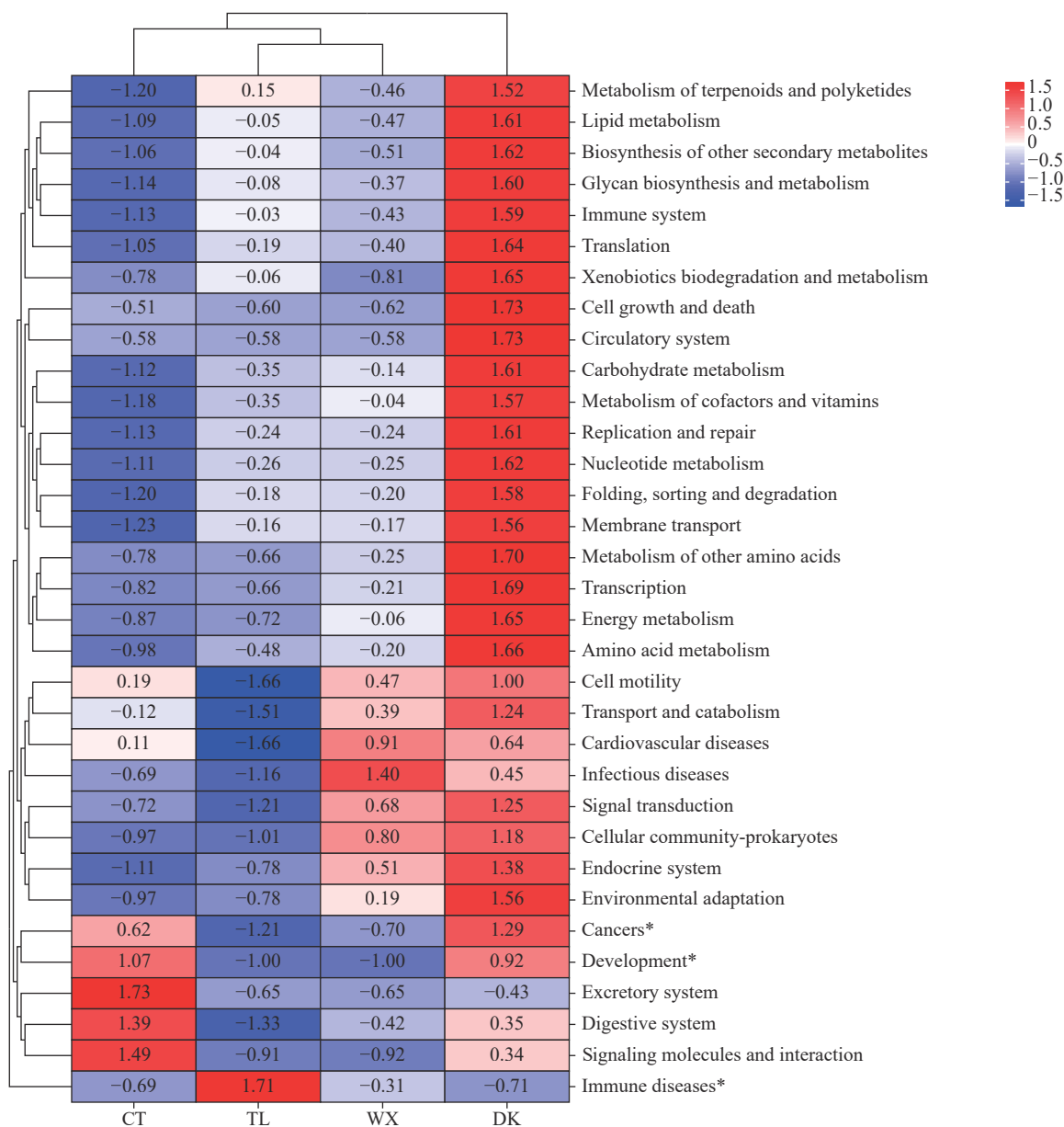


图6 二级功能预测热图

Fig. 6 Functional prediction heat map level 2

组间存在显著性差异用 * 表示 $P \leq 0.05$

Significant differences between groups are indicated by * $P \leq 0.05$

州鲇的生长发育。

3.2 肠道菌群结构分析

研究鱼类肠道菌群,对提高鱼类生存环境条件、提升水产品品质,具有重要的意义^[35]。本研究运用16S rDNA技术,分析4种不同环境下兰州鲇肠道菌群组成和相对丰度,研究发现变形菌门、拟杆菌门、厚壁菌门和梭杆菌门在所有样本中较为普遍存在,符合鳊(*Siniperca chuatsi*)^[36]、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)^[37]、似鲇高原鳅(*Triplophysa siluroides*)^[38]和黄鲢(*Monopterus albus*)^[39]等常见肉食性淡水鱼类肠道菌群的研究结果。此外,在门水平上进行组间差异分析发现拟杆菌门和放线菌门在养殖条件下相对丰度更高并具有显著性。相关研究报道,拟杆菌门主要作用是类固醇和多糖的代谢^[40],而肠道微生物群中厚壁菌门和拟杆菌门比值的增加表明宿主的能量收集能力更强^[41]。养殖型兰州鲇的食物分别以鲈鱼1号饲料和冰鲜鳊鱼为主,它们的蛋白质和脂肪含量很高,而野生型兰州鲇的食物以小鱼、小虾为主,它们的营养价值较低且饮食不稳定。这可能导致了野生型兰州鲇肠道菌群F/B比值更高,可以更有效地消化食物,以帮助宿主在野生环境中获得更多的能量。而放线菌门则可保护宿主及其营养资源免受病原体攻击^[42],是大部分天然抗菌药、抗癌药、抗蠕虫药、抗霉菌药、免疫抑制剂的来源^[43]。在对水质理化性质指标对比分析中,发现野生环境较养殖环境的水质更好,因此推测养殖型兰州鲇肠道菌群的变化可能与环境理化因子和微生物群有关^[6,30]。

在属、种水平上,4组样本中鲸杆菌属占绝对优势,其次为邻单胞菌属的类志贺邻单胞菌(*Plesiomonas shigelloides*)、气单胞菌属和甲基杆菌属

等,这与健康黄鳊的肠道菌群组成较为相似^[39],对组间差异进一步分析发现,甲基杆菌属在养殖型CT组兰州鲇肠道菌群中显著较高。前人的研究表明鲸杆菌属在产生维生素B12中起到重要作用^[44],*Cetobacterium_ceti*在最近的研究中也被证明具有维生素B12生物合成能力,对海豚的血红蛋白和肌红蛋白的供给起着显著的作用^[45]。而其他的物种已被证实对人类和动物具有致病性,例如:类志贺邻单胞菌、气单胞菌属为革兰氏阴性、氧化酶阳性杆菌^[46,47],均是鲇形目淡水鱼胃肠道中常见的病原体^[48];龙苏等^[49]从患病的胡子鲇(*Clarias fuscus*)中分离出的5株病原菌均属于气单胞菌属;而类志贺邻单胞菌易引起细菌性肠胃炎、中枢神经系统疾病、眼部感染等疾病^[46];有研究表明甲基杆菌属具有形成生物膜的能力^[50]且能够在免疫功能低下的患者中引起感染^[51],近年研究发现,*Methylobacterium radiotolerans*会引起人体血管通路感染^[52]。这可能是因为在养殖环境中,冰鲜鳊鱼会携带更多微生物、长期单一品种密集养殖、与人类相关微生物接触的增加及药物干预都为机会性致病菌的传播提供了途径,从而导致了养殖型和野生型兰州鲇肠道菌群的差异^[33,53]。而在兰州鲇养殖的过程中,很容易出现突发性的细菌性出血病,推测可能与兰州鲇肠道菌群中的甲基杆菌属、气单胞菌属和邻单胞菌属丰度增加有关,后结合环境因子分析结果,有望通过改变水环境的pH和氨氮浓度而控制其丰度,从而降低兰州鲇的发病概率。

3.3 肠道菌群功能预测分析

鱼类肠道菌群在维持鱼体健康中发挥重要作用,具有促进鱼类新陈代谢、增强免疫、调节神经内分泌、激发肠上皮细胞增殖等作用^[7,53-55]。通

表4 三级功能预测分析

Tab. 4 Three-level function prediction analysis

三级功能 Level 3 fuction	分组(丰度)Group (abundance)				P值 P-value
	TL	DK	CT	WX	
氰基氨基酸代谢Cyanoamino acid metabolism	2112.86	16997.79	11459.16	11880.79	0.025
光合作用Photosynthesis	1748.21	12735.86	7496.21	8720.94	0.018
D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢D-Arginine and D-ornithine metabolism	43.57	8992.39	7804.29	2077.01	0.033
细胞凋亡Apoptosis	155.42	1817.90	1593.92	270.02	0.038
癌症通路Pathways in cancer	0.00	873.92	639.58	180.03	0.034
减数分裂-酵母Meiosis-yeast	8.11	701.57	615.08	131.77	0.048
甾体生物合成Steroid biosynthesis	5.31	577.48	558.33	130.48	0.041
全身性红斑狼疮Systemic lupus erythematosus	173.97	3.08	4.86	31.95	0.033
背腹轴线形成Dorso-ventral axis formation	0.00	2.83	3.06	0.00	0.024
吞噬体Phagosome	0.00	0.62	0.60	0.00	0.022
基础转录因子Basal transcription factors	0.00	0.00	1.18	0.00	0.013

过PICRUST2揭示4组样本肠道菌群对宿主的功能影响差异,发现新陈代谢和生物系统功能通路在二级功能通路中占比较大,对兰州鲇的生长发育具有十分重要的影响。在二级功能预测热图分析中,野生型兰州鲇肠道菌群的脂代谢、碳水化合物代谢等通路丰度较高,这与其F/B比值更高具有一致性。进一步进行显著性分析发现,TL组的免疫性疾病代谢丰度较其他组高,此外,在门水平肠道菌群比较中,TL组放线菌门丰度更低,这表明放线菌门对宿主免疫力有着不可忽视的作用^[42, 43];CT和DK组的发育、甾体生物合成代谢丰度高可能与拟杆菌门在这2组中的相对丰度较高有关,相关研究充分证明了拟杆菌门在分解聚糖和类固醇的代谢方面的作用^[40, 56]。在三级功能通路中,氨基氨基酸、D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢在TL组丰度最低,在最近的一些研究中,表明了氨基氨基酸、D-精氨酸和D-鸟氨酸代谢通路在调节免疫反应中起到了重要的作用^[57, 58],这或许也与TL组放线菌门丰度较低有关。

本研究对不同生境下兰州鲇的肠道菌群丰度、多样性和功能预测进行了综合分析,加深了对兰州鲇这一物种肠道菌群组成的理解,探究了温度是调节兰州鲇肠道菌群多样性的关键因素。此外,核心肠道菌群的发现和肠道菌群功能预测为建立兰州鲇肠道菌群与其健康状况之间的联系提供了宝贵的信息。环境理化因子的研究为针对性改变兰州鲇肠道菌群提供了方向,可能通过改善环境,降低兰州鲇患病概率和提高兰州鲇苗种的驯食转化率,进而保障兰州鲇养殖产业的可持续发展。

参考文献:

- [1] Tu Y F, Song D J. Intestinal tissue structure and functional adaptability of fish [J]. *Jiangxi Feed*, 2004(4): 16-19. [涂永锋, 宋代军. 鱼类肠道组织结构及其功能适应性 [J]. *江西饲料*, 2004(4): 16-19.]
- [2] Feng D, Gao X D, Li Y K. Research progress and application prospect of gut microbiota of marine fish [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2021, 40(1): 255-265. [冯丹, 高小迪, 李云凯. 海洋鱼类肠道微生物研究进展及应用前景 [J]. *生态学杂志*, 2021, 40(1): 255-265.]
- [3] Ringø E, Strøm E, Tabachek J A. Intestinal microflora of salmonids: a review [J]. *Aquaculture Research*, 1995, 26(10): 773-789.
- [4] Ringø E, Sperstad S, Kraugerud O F, et al. Use of 16S rRNA gene sequencing analysis to characterize culturable intestinal bacteria in Atlantic salmon (*Salmo salar*) fed diets with cellulose or non-starch polysaccharides from soy [J]. *Aquaculture Research*, 2008, 39(10): 1087-1100.
- [5] Li T, Long M, Li H, et al. Multi-omics analysis reveals a correlation between the host phylogeny, gut microbiota and metabolite profiles in cyprinid fishes [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017(8): 454.
- [6] Sun P, Zhang H, Jiang Y, et al. Relationships between the gut microbiota of juvenile black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*) and associated environment compartments in different habitats [J]. *Microorganisms*, 2021, 9(12): 2557.
- [7] Wang A R, Ran C, Ringø E, et al. Progress in fish gastrointestinal microbiota research [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2018, 10(3): 626-640.
- [8] Aquatic organisms such as finless porpoises were selected as "Top Ten River Business Cards" [J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2014, 41(4): 216. [江豚等水生生物入选“十大河流名片”[J]. *水产科技情报*, 2014, 41(4): 216.]
- [9] Li L L, Xiao W, Xing L M, et al. Study on morphological characteristics and embryonic development of the gynogenesis *Silurus lanzhouensis* [J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2020, 42(5): 820-828. [李兰兰, 肖伟, 邢露梅, 等. 雌核发育兰州鲇胚胎发育和形态特征的研究 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2020, 42(5): 820-828.]
- [10] Wu X D, Lian Z Q, Hou Y X, et al. Genetic structure analyses between wild population and artificial breeding ones of *Silurus lanzhouensis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2011, 41(3): 34-38. [吴旭东, 连总强, 侯玉霞, 等. 兰州鲇野生群体和人工繁育群体遗传结构的比较研究 [J]. *淡水渔业*, 2011, 41(3): 34-38.]
- [11] Li L L, Xing L M, Yu Z X, et al. Parentage assignment of *Silurus lanzhouensis* using multiplex PCR of microsatellites [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, 45(3): 530-540. [李兰兰, 邢露梅, 俞兆曦, 等. 基于微卫星多重PCR技术的兰州鲇亲子鉴定 [J]. *水生生物学报*, 2021, 45(3): 530-540.]
- [12] Lian Z Q, Gun S B, Li L, et al. Sequencing and analysis of the complete mitochondrial genome of *Silurus lanzhouensis* based on next generation sequencing technologies [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(2): 334-345. [连总强, 滚双宝, 李力, 等. 基于第二代测序技术兰州鲇线粒体基因组全序列测定与分析 [J]. *水生生物学报*, 2017, 41(2): 334-345.]
- [13] Li M M, Yu Z X, Zhang L P, et al. Cloning and localization of gonadal aromatase gene in *Silurus lanzhouensis* [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37(5): 654-667. [李敏敏, 俞兆曦, 张利平, 等. 兰州鲇性腺型芳香化酶cyp19a1a基因克隆及表达定位分析 [J]. *福建农业学报*, 2022, 37(5): 654-667.]
- [14] Yu Z X, Lian Z Q, Wu X D, et al. Cloning and bioinformatics analysis of *MyoD* gene in *Silurus lanzhouensis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 46(2): 10-15. [俞兆曦, 连总强, 吴旭东, 等. 兰州鲇MyoD基因的克隆与生物信息学分析 [J]. *淡水渔业*, 2016, 46(2): 10-15.]

- [15] Wang F X, Lian Z Q, Wu X D, *et al.* Cloning and sequence analysis of growth hormone (GH) gene in *Silurus lanzhouensis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2015, **45**(4): 20-25. [王发新, 连总强, 吴旭东, 等. 兰州鲇生长激素 (GH) 基因的克隆及序列分析 [J]. *淡水渔业*, 2015, **45**(4): 20-25.]
- [16] Lian Z Q, Chen Q F, Wang Y, *et al.* Microencapsulated forage for *Silurus lanzhouensis* larvae and juvenile aquaculture [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2020, **35**(3): 254-259. [连总强, 陈启发, 王燕, 等. 专用微胶囊饲料驯养培育兰州鲇稚幼鱼效果研究 [J]. *福建农业学报*, 2020, **35**(3): 254-259.]
- [17] Sai Q Y, Wang Y J, Wu X D, *et al.* Preliminary studies on dietary protein and energy requirement of juvenile *Silurus lanzhouensis* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2012, **42**(4): 53-58. [赛清云, 王远吉, 吴旭东, 等. 黄河鲇幼鱼对饲料蛋白和能量需要的初步研究 [J]. *淡水渔业*, 2012, **42**(4): 53-58.]
- [18] Xing L M, Xiao W, Li L L, *et al.* Study of sperm cryopreservation in *Silurus lanzhouensis* and detection of cell damages after cryopreservation [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, **45**(3): 547-556. [邢露梅, 肖伟, 李兰兰, 等. 兰州鲇精液超低温冷冻保存技术研究及细胞损伤检测 [J]. *水生生物学报*, 2021, **45**(3): 547-556.]
- [19] Du W Y, Bai F K, Xu Z X, *et al.* The composition, enzyme production capacity and growth characteristics of intestinal bacteria from *Silurus lanzhouensis* [J]. *Laboratory Science*, 2022, **25**(4): 15-20. [杜文勇, 白发凯, 徐振兴, 等. 兰州鲇肠道细菌组成、产酶能力及生长特性研究 [J]. *实验室科学*, 2022, **25**(4): 15-20.]
- [20] Magoč T, Salzberg S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, **27**(21): 2957-2963.
- [21] Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, *et al.* DADA2: High-resolution sample inference from Illumina amplicon data [J]. *Nature Methods*, 2016, **13**(7): 581-583.
- [22] Edgar R C, Haas B J, Clemente J C, *et al.* UCHIME improves sensitivity and speed of chimera detection [J]. *Bioinformatics*, 2011, **27**(16): 2194-2200.
- [23] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads [J]. *Nature Methods*, 2013, **10**(10): 996-998.
- [24] Wang Q, Garrity G M, Tiedje J M, *et al.* Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2007, **73**(16): 5261-5267.
- [25] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, *et al.* QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data [J]. *Nature Methods*, 2010, **7**(5): 335-336.
- [26] Douglas G M, Maffei V J, Zaneveld J, *et al.* PICRUST2: An improved and extensible approach for metagenome inference [J]. *BioRxiv*, 2019: 672295.
- [27] Wang H M, Ding X J, Chen J, *et al.* Effects of dietary mannan-oligosaccharides on growth performance, serum immune indices, transcriptome and intestinal microflora of *Epinephelus fuscoguttatus* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂ [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2021, **33**(12): 6982-6998. [王红明, 丁雪婧, 陈俭, 等. 饲料中添加甘露寡糖对珍珠龙胆石斑鱼生长性能、血清免疫指标、转录组及肠道菌群的影响 [J]. *动物营养学报*, 2021, **33**(12): 6982-6998.]
- [28] Wang M M, Lü C J, Yang D L, *et al.* Effects of Lactobacillus plantarum (LP HMX-3) on growth, digestion, immunity and intestinal flora of *Apostichopus japonicus* [J/OL]. *Journal of Fisheries of China*, 2022(11): 1-11. [王梦美, 吕成杰, 杨顶珑, 等. 植物乳杆菌(LP HMX-3)对仿刺参生长、消化、免疫和肠道菌群的影响 [J/OL]. *水产学报*, 2022(11): 1-11.]
- [29] Yu E M, Zhang Z N, Xia Y, *et al.* Effects of different diets on intestinal microflora of largemouth bass (*Micropterus salmoides*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, **39**(1): 118-126. [郁二蒙, 张振男, 夏耘, 等. 摄食不同饵料的大口黑鲈肠道菌群分析 [J]. *水产学报*, 2015, **39**(1): 118-126.]
- [30] Qi X Z. Effects of ammonia nitrogen stress on immune system and intestinal microflora structure of *Carassius auratus* [D]. Yangling: Northwest Agricultural and Forestry University, 2017. [戚晓舟. 氨氮胁迫对鲫免疫系统及肠道菌群结构的影响 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2017.]
- [31] Liu Y L, Lv H R, Li H D, *et al.* Effect of temperature on intestinal flora composition of *Paraloach macrolepis* [J]. *China Fisheries*, 2022(1): 94-97. [刘艳丽, 吕惠蓉, 李海东, 等. 温度对大鳞副泥鳅肠道菌群组成的影响研究 [J]. *中国水产*, 2022(1): 94-97.]
- [32] Sylvain F É, Cheaib B, Llewellyn M, *et al.* pH drop impacts differentially skin and gut microbiota of the Amazonian fish tambaqui (*Colossoma macropomum*) [J]. *Scientific Reports*, 2016(6): 32032.
- [33] Xia Y, Yu D G, Xie J, *et al.* Effects of different aquaculture models on intestinal bacterial community of bighead carp (*Aristichthys nobilis*) [J]. *Journal of Southern Aquaculture*, 2017, **48**(5): 907-912. [夏耘, 余德光, 谢骏, 等. 不同养殖方式对鳊肠道细菌群落结构的影响 [J]. *南方农业学报*, 2017, **48**(5): 907-912.]
- [34] Zhai Z S. The research of intestinal microbial in *Hypophthalmichthys molitrix* and *Aristichthys nobilis* in three different environment [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014. [蔡仲石. 三种不同环境中鲢鳊肠道微生物研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.]
- [35] Chen X X, Wu Z X, Zhou W H. Research progress on the function and influencing factors of fish digestive tract flora [J]. *Animals Breeding and Feed*, 2006(3): 37-40. [陈孝煊, 吴志新, 周文豪. 鱼类消化道菌群的作用与影响因素研究进展 [J]. *养殖与饲料*, 2006(3): 37-40.]
- [36] Sun L F. Effect of feeding habits domestication on intestinal

- tinal microflora, gut structure and function of mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016. [孙龙芳. 人工饲料驯食对鳊鱼肠道微生物和肠道结构功能的影响研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2016.]
- [37] Zhu H J, Qiang J, Xu G C, *et al.* Microbial community structure of hybrid yellow catfish in rice-fish co-culture system in Hani terrace [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, **45**(6): 1232-1242. [朱昊俊, 强俊, 徐钢春, 等. 哈尼梯田稻-渔共作模式下杂交黄颡鱼肠道微生物研究 [J]. 水生生物学报, 2021, **45**(6): 1232-1242.]
- [38] Zhao D P, Wang X L, Huang J Q, *et al.* Studies on intestinal bacterial composition, enzyme production capacity and growth characteristics of *Triplophysa siluroides* [J]. *Biotechnology*, 2021, **31**(3): 254-261. [赵得鹏, 王晓澜, 黄进强, 等. 似鲇高原鳊肠道细菌组成、产酶能力及生长特性研究 [J]. 生物技术, 2021, **31**(3): 254-261.]
- [39] Wang Y. Studies on intestinal flora of *Monopterus albus* and application of probiotics [D]. Nanchang: Jiangxi Agricultural University, 2021. [王颖. 黄鳝肠道菌群分析及益生菌应用的研究 [D]. 南昌: 江西农业大学, 2021.]
- [40] Fisgativa H, Tremier A, Le Roux S, *et al.* Understanding the anaerobic biodegradability of food waste: relationship between the typological, biochemical and microbial characteristics [J]. *Journal of Environmental Management*, 2017(188): 95-107.
- [41] Ley R E, Turnbaugh P J, Klein S, *et al.* Human gut microbes associated with obesity [J]. *Nature*, 2006, **444**(7122): 1022-1023.
- [42] Kaltenpoth M. Actinobacteria as mutualists: general healthcare for insects [J]? *Trends Microbiology*, 2009, **17**(12): 529-535.
- [43] Demain A L, Sanchez S. Microbial drug discovery: 80 years of progress [J]. *The Journal of Antibiotics*, 2009, **62**(1): 5-16.
- [44] Tsuchiya C, Sakata T, Sugita H. Novel ecological niche of *Cetobacterium somerae*, an anaerobic bacterium in the intestinal tracts of freshwater fish [J]. *Letters in Applied Microbiology*, 2008, **46**(1): 43-48.
- [45] Suzuki A, Shirakata C, Anzai H, *et al.* Vitamin B₁₂ biosynthesis of *Cetobacterium ceti* isolated from the intestinal content of captive common bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*) [J]. *Microbiology* (Reading, England), 2022, **168**(9): 001244.
- [46] Janda J M, Abbott S L, McIver C J. *Plesiomonas shigelloides* revisited [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2016, **29**(2): 349-374.
- [47] Janda J M, Abbott S L. The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection [J]. *Clinical Microbiology Reviews*, 2010, **23**(1): 35-73.
- [48] Duarte S, de Paula e Silva F C, Alves Gomes Zauli D, *et al.* Gram-negative intestinal indigenous microbiota from two Siluriform fishes in a tropical reservoir [J]. *Brazilian Journal of Microbiology*, 2014, **45**(4): 1283-1292.
- [49] Long S, Han S Y, Niu Z W, *et al.* Isolation and identification of pathogenic *Aeromonas* in *Clarias fuscus* and analysis of the correlation between its pathogenicity and virulence genotypes [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2016, **40**(3): 308-317. [龙苏, 韩书煜, 牛志伟, 等. 胡子鲶致病性气单胞菌的分离鉴定及其致病力与毒力基因型相关性 [J]. 水产学报, 2016, **40**(3): 308-317.]
- [50] Yano T, Kubota H, Hanai, *et al.* Stress tolerance of *Methylobacterium* biofilms in bathrooms [J]. *Microbes and Environments*, 2013, **28**(1): 87-95.
- [51] Lai C C, Cheng A, Liu W L, *et al.* Infections caused by unusual *Methylobacterium* species [J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, **49**(9): 3329-3331.
- [52] Kaneko M, Tominaga Y, Sakamoto K, *et al.* Hemodialysis vascular access infection caused by *Methylobacterium radiotolerans*: the first confirmed case in Japan [J]. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 2020, **26**(1): 107-109.
- [53] McKenzie V J, Song S J, Delsuc F, *et al.* The effects of captivity on the mammalian gut microbiome [J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2017, **57**(4): 690-704.
- [54] Ringø E. Intestinal microflora of fish larvae and fry [J]. *Aquaculture Research*, 1999, **30**(2): 73.
- [55] Chen L G, Lam J C W, Tang L, *et al.* Probiotic modulation of lipid metabolism disorders caused by perfluorobutanesulfonate pollution in zebrafish [J]. *Environmental Science & Technology*, 2020, **54**(12): 7494-7503.
- [56] Lapébie P, Lombard V, Drula E, *et al.* Bacteroidetes use thousands of enzyme combinations to break down glycans [J]. *Nature Communications*, 2019(10): 2043.
- [57] Lian B, He S, Jiang H, *et al.* Qin-Qiao-Xiao-Du formula alleviate influenza virus infectious pneumonia through regulation gut microbiota and metabolomics [J]. *Frontiers in Medicine*, 2022(9): 1032127.
- [58] Liu X D, Wang C, Meng X J, *et al.* A non-targeted metabolomics study on urine of occupational exposure people with titanium dioxide nanoparticles [J]. *Chinese Journal of Industrial Hygiene and Occupational Diseases*, 2021, **39**(5): 328-332.

COMPARATIVE STUDY ON INTESTINAL FLORA STRUCTURE OF WILD AND CULTURED *SILURUS LANZHOUENSIS*

RUAN Chao-Ling¹, LAI Zhang-Long¹, XIAO Wei^{2,3,4}, YU Zhao-Xi^{2,3,4}, LIU Kai^{2,3,4}, LIU Yan-Bin^{2,3,4},
SAI Qing-Yun^{2,3,4}, TIAN Yong-Hua^{2,3,4}, LI Min-Min⁵, LIU Ting⁵, YANG Li-Qiang⁵,
YANG Rui-Lan⁵, LIAN Zong-Qiang^{1,2,3,4} and WANG Yu-Tao^{1,6}

(1. School of Life and Geographic Sciences, Kashi University, Kashi 844000, China; 2. Ningxia Fisheries Research Institute, Yinchuan 750001, China; 3. Ningxia Fishery Engineering Technology Research Center, Yinchuan 750001, China; 4. Academician Workstation of Ningxia Fishery Science and Technology, Yinchuan 750001, China; 5. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China; 6. Key Laboratory of Biological Resources and Ecology of Pamirs Plateau in Xinjiang Uygur Autonomous Region, Kashi 844000, China)

Abstract: As a unique carnivorous groundfish in the middle and upper reaches of the Yellow River basin, *Silurus lanzhouensis* has a delicious meat quality, a large market demand and a promising breeding prospect. Because of its characteristics of feeding on live bait such as small fish and shrimps in natural waters, it is difficult to transform the breeding domestication, and the survival rate of fry breeding is low, which becomes an important bottleneck limiting the sustainable development of the *S. lanzhouensis* breeding industry. This study was conducted to predict the composition, abundance, diversity and function of the intestinal flora in different environments by high-throughput sequencing of the bacterial 16S rDNA V3—V4 region of the *S. lanzhouensis* population in different habitats. The results showed that the main phyla of the intestinal tract in *S. lanzhouensis* were Proteobacteria, Fusobacteria, Firmicutes, Bacteroidetes and Actinobacteria, and the main genera were *Cetobacterium*, *Plesiomonas*, *Aeromonas*, *Methylobacterium*, *Escherichia-Shigella*, *Acinetobacter* and *Shewanella*. Among them, Fusobacteria and Proteobacteria accounted for more than 60% of the four groups of species and were the core phyla; the core genera were *Cetobacterium* and *Plesiomonas*. The results of gut flora α and β diversity analysis showed that the richness and evenness of the gut flora were CT>DK>WX>TL; the diversity of gut flora species was different between the two groups of culture type; the diversity of gut flora was higher in *S. lanzhouensis* at 26.5°C than that at 20°C; the diversity of gut flora was lower in *S. lanzhouensis* in single species net tank culture than that in other culture modes. Further analysis of the composition and abundance of the intestinal flora of *S. lanzhouensis* showed that the relative abundance of Bacteroidetes in the CT group was significantly different from the TL group ($P \leq 0.01$) and the WX group ($P \leq 0.05$), while the relative abundance of Actinobacteria in the cultured CT group was significantly higher than that in the wild-type groups ($P \leq 0.05$), and the abundance of *Methylobacterium* was significantly higher than that in the WX and TL groups ($P \leq 0.05$). Further analysis in combination with environmental factors indicated that temperature, pH and ammonia concentration may be important factors influencing the composition and abundance of the intestinal flora in *S. lanzhouensis*. The predicted intestinal flora function indicated that different environments would affect the metabolic capacity of the intestinal flora of *S. lanzhouensis*. Among them, the DK group was a separate branch and its gut flora had higher abundance of lipid metabolism and carbohydrate metabolism pathways, which may be related to the higher F/B ratio of wild-type *S. lanzhouensis* gut flora to help the host to digest food more efficiently for more energy in the wild environment. In summary, different growth environments have significant effects on the composition, abundance, and predicted flora function of the *S. lanzhouensis* gut flora, which can help to promote sustainable *S. lanzhouensis* farming by changing external conditions and thus effectively controlling the *S. lanzhouensis* gut flora.

Key words: 16S rDNA; Intestinal microflora; Diversity; Function prediction; *Silurus lanzhouensis*