

引用格式:

张飞燕, 金洁, 马玉华, 陈佳琪, 谢丽分, 张晓迪, 邬继文, 吕龙宝. 野生树鼩实验动物化过程中粪便菌群的多样性及组成[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2020, 46(4): 449–455.

ZHANG F Y, JIN J, MA Y H, CHEN J Q, XIE L F, ZHANG X D, WU J W, LYU L B. Microbial community and diversity in the feces of wild tree shrew as laboratory animal[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2020, 46(4): 449–455.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



野生树鼩实验动物化过程中粪便菌群的多样性及组成

张飞燕¹, 金洁¹, 马玉华¹, 陈佳琪¹, 谢丽分¹, 张晓迪¹, 邬继文¹, 吕龙宝^{1,2*}

(1.中国科学院昆明动物研究所, 云南 昆明 650000; 2.中国科学院昆明灵长类研究中心, 云南 昆明 650223)

摘要:从云南昆明西郊野外捕捉6只成年野生树鼩,于中国科学院昆明灵长类研究中心人工驯养6个月。于刚捕捉回(野生组)和人工驯养6个月(驯养组)时,收集新鲜粪便样本,共12份,运用Illumina MiSeq测序平台,以16S rRNA的V3–V4区域为目标进行高通量测序,比较分析树鼩在人工驯养前后粪便菌群的多样性及组成。结果表明:树鼩粪便菌群的OTU多样性Shannon指数和Simpson指数组间的差异均无统计学意义,野生组树鼩粪便菌群的OTU丰富度Chao指数、Ace指数、Sobs指数均显著高于驯养组的;PCoA主成分分析结果显示,野生树鼩与人工驯养树鼩的粪便菌群具有明显的差异,但同组内个体间的菌群差异不明显;在门水平上,树鼩粪便的优势菌门主要有厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门,但其在不同组树鼩粪便菌群的相对丰度不同;在纲水平上,野生组菌群主要有芽孢杆菌纲和拟杆菌纲,驯养组菌群主要有拟杆菌纲、梭菌纲和厌氧菌纲, γ -变形菌纲、厌氧菌纲相对丰度在2组间的差异有统计学意义($P < 0.05$);在目水平上,野生组菌目主要有乳杆菌目和拟杆菌目,驯养组菌目主要有拟杆菌目和梭菌目,驯养组的Selenomonadales相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$);在科水平上,野生组菌科主要有链球菌科和普雷沃氏菌科,驯养组菌科主要有普雷沃氏菌科和韦荣氏球菌科,驯养组的韦荣氏球菌科相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$);在属水平上,野生组菌属主要有链球菌属和乳球菌属,驯养组菌属主要有普雷沃氏菌属和巨单胞菌属,野生组的链球菌属相对丰度极显著高于驯养组的($P < 0.01$),驯养组的巨单胞菌属相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$)。可见,野生树鼩经过人工驯养后,粪便微生物区系中的一些菌群发生了变化,菌群结构与野生组有差异,但不显著,粪便菌群结构变化呈简单化的趋势。

关键词: 树鼩; 人工驯养; 粪便; 菌群组成

中图分类号: S852.61 文献标志码: A 文章编号: 1007–1032(2020)04–0449–07

Microbial community and diversity in the feces of wild tree shrew as laboratory animal

ZHANG Feiyan¹, JIN Jie¹, MA Yuhua¹, CHEN Jiaqi¹, XIE Lifan¹, ZHANG Xiaodi¹, WU Jiwen¹, LYU Longbao^{1,2*}

(1.Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650000, China; 2.Kunming Primate Research Center, Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan 650223, China)

Abstract: To analyze the feces microbial diversity differences between the tree shrews captured from the wild in Kunming and those after six months of feeding at Kunming Primate Research Center, Chinese Academy of Sciences. Twelve fresh samples of feces were collected to extract total bacterial DNA and used Illumina Miseq platform. The α diversity index analysis showed that there Shannon and Simpson index were no significant difference between the wild and the captive groups($P > 0.05$), while the Chao and Ace index were significant different. The PCoA analysis could distinguish the wild group from the captive group, bacterial populations were similar among six tree shrews. At phylum

收稿日期: 2019–04–17

修回日期: 2019–06–14

作者简介: 张飞燕(1993—),女,云南陆良人,硕士,主要从事动物质量控制与检测研究,1175905001@qq.com; *通信作者,吕龙宝,研究员,主要从事实验动物学研究,lvlongbao@mail.kiz.ac.cn

level, the wild tree shrew possessed similar community structure to the captive tree shrews. Firmicutes, Bacteroidetes and Proteobacteria were dominant. At class level, Bacilli and Bacteroidia were dominant in the wild groups, while Bacteroidia, Clostridia and Negativicutes were dominant in the captive groups. Gammaproteobacteria and Negativicutes were found significantly different between two groups ($P < 0.05$). At order level, Lactobacillales and Bacteroidales were dominant in the wild groups, Bacteroidales and Clostridiales were dominant in the captive groups. Selenomonadales was found significantly different between two groups ($P < 0.05$). At family level, Streptococcaceae and Prevotellaceae were dominant in the wild groups, Prevotellaceae and Veillonellaceae were dominant in the captive groups. Veillonellaceae was found significantly different between two groups. At genus level, *Lactococcus* and *Streptococcus* were dominant in the wild groups, *Prevotella* and *Megamonas* were dominant in the captive groups. *Streptococcus* was found significantly different between two groups ($P < 0.01$), *Megamonas* was found significantly different between two groups ($P < 0.05$). *Lactococcus* in the wild tree shrews was significantly higher than the captive tree shrews. Bacterial populations were similar among the 6 tree shrews. The results prove that the faecal flora structure was difference but not significant, indeed the structure of flora has a tendency to complicate in the captive groups.

Keywords: tree shrew; captive; feces; microbial composition

寄生在动物消化系统中的微生物种群数量繁多, 种类庞大。一般来说, 细菌占粪便干重的40%~45%, 总数可以达到 10^{11} cfu/g^[1-3]。肠道微生物在宿主的能量代谢中起重要作用, 并影响宿主的免疫系统^[4-5]。相反, 肠道菌群的组成也受宿主基因型、饮食、年龄、社会环境、抗生素使用情况、宿主消化道结构及不同发育阶段等多种因素的影响^[6]。根据微生物与宿主的关系, 可以将微生物分为有益微生物、条件致病微生物、病原微生物3大类^[7]。其中, 有益微生物对动物机体具有生理作用, 是机体正常生命活动必不可少的组成部分^[8-9]。特别是肠道中的双歧杆菌, 不产生毒素, 无侵袭性, 是目前发现的唯一的对人体具有生理作用而无致病作用的细菌^[10]。

树鼩是生长于热带和亚热带地区的低等灵长类动物。由于树鼩体型小, 孕期短, 解剖学和生理学较其他实验动物更接近于人, 正日益受到国内外科技人员的关注, 将其应用于实验中。随着生物医学、药学等学科的发展, 树鼩作为新型实验动物广泛用于生物医学、药学及生命科学的诸多领域, 尤其是作为人类重大疾病的动物模型。然而, 目前只有实验树鼩微生物学等级及监测的地方和团体标准, 还没有相应的国家标准。实验树鼩标准化研究滞后, 导致实验用树鼩发展缓慢^[11-12]。制定出完善的人工驯养环境中树鼩携带微生物的国家标准迫在眉睫。虽然已有对树鼩肠道菌群的研究报道, 但这些研究多采用传统分离培养及分子指纹图谱的方法。这些方法的局限性使获得的信息量少且不够

深入。高通量测序技术因其准确性高、快速和信息量大等优点, 被广泛应用于人和动物的微生物研究。利用高通量测序技术对树鼩肠道微生物的研究具有重要的意义, 可为树鼩微生物学等级标准制定提供依据。树鼩肠道菌群的多样性受饮食和生活环境等多种因素的影响。本研究中, 从云南昆明野外捕捉6只树鼩, 并于中国科学院昆明灵长类研究中心人工驯养6个月, 采集刚捕回和驯养后的树鼩的新鲜粪便, 采用高通量测序技术对粪便内细菌的多样性进行分析, 比较野生树鼩在人工驯养前后粪便菌群的变化, 探讨其对环境的适应性, 旨在为进一步开发利用该实验动物提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

从云南昆明西郊野外捕捉6只成年野生树鼩, 饲养于中国科学院昆明灵长类研究中心的普通级环境中。饲喂全价颗粒饲料, 并辅以水果。于刚捕捉回(野生组)和人工驯养6个月(驯养组)时, 收集新鲜粪便样本。样品置于液氮罐中带回实验室, 于-80℃冰箱保存, 备用。野生树鼩获得的途径和方法保证了动物的福利, 并按实验动物使用的3R原则给予人道主义关怀。

1.2 文库构建及测序

按照 OMEGA EZNA 试剂盒说明书提取树鼩粪便样本的细菌基因组。针对 16sRNA 的 V3-V4 区扩增引物合成带有 barcode 的特异引物。每个样本3个重复, 进行 PCR 扩增。将同一样本的 PCR 产物

混合后,用 2%琼脂糖凝胶电泳检测;使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒(AXYGEN)切胶回收 PCR 产物;纯化后的样品使用 Thermofisher 的 Ion Plus Fragment Library Kit 48 rxns 文库试剂盒进行文库构建;构建好的文库经过 Qubit 定量和文库检测合格后,使用 Thermofisher 的 Ion S5TMXL 测序。测序由上海美吉生物医药有限公司利用 Illumina MiSeq 测序平台完成。

1.3 生物信息分析流程

测序后的数据先运用 Cutadapt(V1.9.1, <http://cutadapt.readthedocs.io/en/stable/>)处理得到有效数据;再利用 Uparse(Uparse v7.0.1001, <http://drive5.com/uparse/>)对所有样品的全部有效数据进行聚类,默认以 97%的一致性将序列聚类成为分类单元(OTU)。通过聚类操作,基于样品 OTUs 数与测试的深度变化的关系,分析 α 多样性,并绘制稀释曲线;基于 unweighted UniFrac distances 的 PCoA,分析 β 多样性。对 OTUs 代表序列进行物种注释,用 Mothur 法与 SILVA(<http://www.arb-silva.de/>)的 SSUrRNA 数据进行物种注释分析,获得在各个分类水平(门、纲、目、科、属)上各样本的群落组成。运用 Student *t* 检验统计学方法,对 2 组样本微生物群落之间的物种

进行假设检验,评估物种丰度差异的显著性水平,获得 2 组间具有显著性差异的物种;进行 LEfSe 多级物种差异判别分析,采用线性判别分析(LDA)来估算每个组分(物种)丰度对差异效果影响的大小。

2 结果与分析

2.1 测序收获水平

检测的 12 个样本共获得 671 994 条序列,平均每个样本获得 55 999 条序列。这些序列属于 10 个门、17 个纲、32 个目、58 个科、129 个属和 188 个种。通过物种韦恩图分析显示,野生组树鼩粪便样本和驯养组的样本共享 115 个 OTUs,野生组独有 57 个 OTUs,驯养组独有 16 个 OTUs。

2.2 树鼩粪便菌群的多样性

2.2.1 α 多样性和丰富度指数

从表 1 可知,树鼩粪便菌群的 OTU 丰富度 Chao 指数、Ace 指数、Sobs 指数组间的差异均有统计学意义($P < 0.05$);树鼩粪便菌群的 OTU 多样性 Shannon 指数和 Simpson 指数组间的差异均无统计学意义。说明野生树鼩经人工驯养后,粪便菌群的多样性变化不明显,而丰富度显著下降。

表 1 树鼩粪便菌群的 α 多样性和丰富度指数

组别	Sobs 指数	Ace 指数	Chao 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
驯养组	111.33±20.01	124.56±12.28	125.25±10.63	2.39±0.61	0.09±0.06
野生组	208.00±26.06	222.92±13.15	229.00±12.63	3.19±0.66	0.19±0.10
<i>P</i>	0.007	0.001	0.000	0.200	0.230

随着测序深度的增加,2 组样本的稀释曲线(图 1)都趋于平缓,且 2 组样本的覆盖度分别达 99.97%、

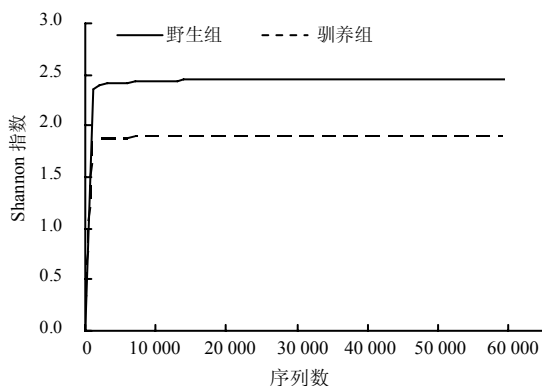


图 1 树鼩粪便菌群的物种稀释曲线

Fig.1 The rarefaction curves of observed species of fecal flora of tree shrews

99.96%,说明对粪便样本微生物群落的检测比率接近饱和,目前的测序量能覆盖样本中的绝大部分物种。同时也反映了在树鼩人工驯养繁殖过程中,肠道微生物丰富度逐渐下降。

2.2.2 β 多样性

PCoA 分析中,第 1 个主坐标(PC1)捕获了 54.30%的变异,第 2 个主坐标(PC2)捕获了 24.25%的变异,野生组聚在一边,人工驯养 6 个月后的聚在一边(图 2)。可见,人工驯养后树鼩和野生树鼩粪便的细菌群落组成存在明显差异,但同组内 6 个样本间差异不大。

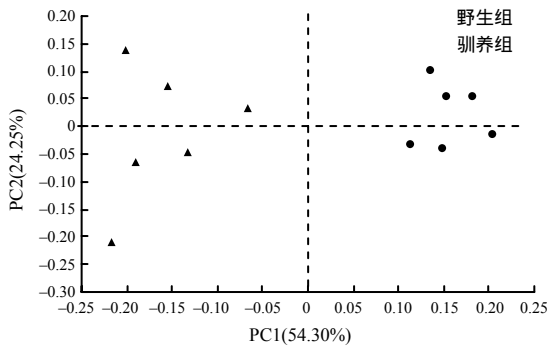


图 2 树鼯粪便菌群的 PCoA 分析结果

Fig.2 The result of PCoA analysis of fecal flora of tree shrew

2.3 不同分类水平上的树鼯粪便菌群的物种组成

2.3.1 门水平上的物种差异

如表 2 所示,在门水平上,野生组粪便中厚壁菌门(Firmicutes)的平均相对丰度最高(68.57%),占主要地位,其次是拟杆菌门(Bacteroidetes)、变形菌门(Proteobacteria),此 3 个门的平均相对丰度和为 96.82%;驯养组粪便中拟杆菌门的平均相对丰度最高(52.69%),占主要地位,其次是厚壁菌门(42.76%),此 2 个门的相对丰度和为 95.45%;野生组鉴定出 Saccharibacteria,驯养组鉴定出 Deinococcus-Thermus。可见,在门水平上,2 组样本的优势物种相同,但相对丰度不同。

表 2 门水平上树鼯粪便菌群的相对丰度

Table 2 The relative abundance of tree shrew fecal flora at phylum level

菌门	平均相对丰度/%		P
	野生组	驯养组	
厚壁菌门	68.57±21.77	42.76±14.99	0.17
拟杆菌门	20.13±21.13	52.69±19.26	0.12
变形菌门	8.12±4.11	2.07±1.73	0.08
梭杆菌门	0.92±1.32	1.95±3.20	0.63
放线菌门	1.16±1.47	0.47±0.25	0.47
螺旋体门	1.03±1.60	0.03±0.04	0.34
柔膜菌门	0.05±0.07	0.01±0.01	0.37
脱铁杆菌门	0.01±0.07	0.01±0.01	0.95
Saccharibacteria	0.01±0.01	—	0.13
Deinococcus-Thermus	—	0.01±0.01	0.37

2.3.2 纲水平上的物种差异

如表 3 所示,在纲水平上,野生组粪便菌群主要有芽孢杆菌纲(Bacilli)和拟杆菌纲(Bacteroidia),平均相对丰度分别为 54.76%和 20.13%;驯养组粪便菌群主要有拟杆菌纲,其次是梭菌纲(Clostridia)

和厌氧菌纲(Negativicutes),平均相对丰度分别为 52.61%、18.07%和 16.67%;野生组的 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)的平均相对丰度显著高于驯养组的($P < 0.05$),驯养组的厌氧菌纲的平均相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$),野生组的芽孢杆菌纲的平均相对丰度(54.76%)高于驯养组的(7.08%),但二者间的差异无统计学意义。

表 3 纲水平上树鼯粪便菌群的相对丰度

Table 3 The relative abundance of tree shrew fecal flora at class level

菌纲	平均相对丰度/%		P
	野生组	驯养组	
拟杆菌纲	20.13±21.13	52.61±19.24	0.12
芽孢杆菌纲	54.76±31.18	7.08±5.10	0.06
梭菌纲	8.69±7.01	18.07±21.01	0.50
厌氧菌纲	3.78±3.12	16.67±4.10	0.01
γ -变形纲	5.11±1.86	1.34±1.18	0.04
梭杆菌纲	0.92±1.32	1.96±3.20	0.63
β -变形菌纲	1.94±2.76	0.45±0.39	0.41
丹毒丝菌纲	1.34±1.03	0.94±0.32	0.55
放线菌纲	1.16±1.47	0.47±0.25	0.47
螺旋体纲	1.03±1.60	0.03±0.04	0.34

2.3.3 目水平上的物种差异

如表 4 所示,在目水平上,野生组粪便菌目主要有乳杆菌目(Lactobacillales)和拟杆菌目(Bacteroidales),平均相对丰度分别为 49.68%和 20.13%;驯养组粪便菌目主要有拟杆菌目和梭菌目(Clostridiales),平均相对丰度分别为 52.61%和 18.07%;驯养组的 Selenomonadales 的相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$)。

表 4 目水平上树鼯粪便菌群的相对丰度

Table 4 The relative abundance of tree shrew fecal flora at order level

菌目	平均相对丰度/%		P
	野生组	驯养组	
拟杆菌目	20.13±21.13	52.61±19.24	0.12
乳杆菌目	49.68±32.20	5.67±3.55	0.08
梭菌目	8.69±7.01	18.07±21.01	0.50
Selenomonadales	3.78±3.12	16.67±4.10	0.01
芽孢杆菌目	5.09±5.44	1.41±1.56	0.32
假单胞菌目	3.22±2.68	0.34±0.58	0.14
梭杆菌目	0.92±1.32	1.96±3.20	0.63
伯克氏菌目	1.91±2.78	0.37±0.37	0.40
丹毒丝菌目	1.34±1.03	0.94±0.32	0.55
肠杆菌目	1.30±1.51	0.09±0.15	0.24

2.3.4 科水平上的物种差异

如表 5 所示，在科水平上，野生组树鼩粪便菌科主要有链球菌科(*Streptococcaceae*)和普雷沃氏菌科(*Prevotellaceae*)，平均相对丰度分别为 40.02%和 12.01%；驯养组树鼩粪便菌科主要有普雷沃氏菌科和韦荣氏球菌科(*Veillonellaceae*)，平均相对丰度分别为 42.08%和 15.47%；驯养组的韦荣氏球菌科的相对丰度显著高于野生组的($P<0.05$)。

表 5 科水平上树鼩粪便菌群的相对丰度
Table 5 The relative abundance of tree shrew fecal flora at family level

菌科	平均相对丰度/%		P
	野生组	驯养组	
普雷沃氏菌科	12.01±10.18	42.08±35.83	0.23
链球菌科	40.02±27.92	2.08±1.85	0.08
韦荣氏球菌科	3.13±2.49	15.47±6.09	0.03
拟杆菌科	7.83±10.79	10.48±17.61	0.83
乳杆菌科	3.69±3.14	12.91±14.97	0.35
明串珠菌科	7.86±6.38	1.83±1.33	0.18
消化链球科	1.03±0.85	4.67±5.80	0.34
动球菌科	4.41±5.63	0.02±0.02	0.25
瘤胃菌科	3.90±3.10	0.49±0.24	0.13
莫拉菌科	3.09±2.57	0.16±0.27	0.12

2.3.5 属水平上的物种差异

如表 6 所示，在属水平上，野生组树鼩粪便的主要菌属有链球菌属(*Streptococcus*)和乳球菌属(*Lactococcus*)，平均相对丰度分别为 19.84%和

19.35%；驯养组树鼩粪便的主要菌属有普雷沃菌属(*Prevotella*)和巨单胞菌属(*Megamonas*)，平均相对丰度分别为 40.45%和 15.38%；野生组的链球菌属相对丰度极显著高于驯养组的($P<0.01$)，驯养组的巨单胞菌属的相对丰度显著高于野生组的($P<0.05$)。

表 6 属水平上树鼩粪便菌群的相对丰度
Table 6 The relative abundance of tree shrew fecal flora at genus level

菌属	平均相对丰度/%		P
	野生组	驯养组	
普雷沃菌属	9.17±6.88	40.45±34.76	0.20
链球菌属	19.84±4.29	1.79±1.50	0.00
乳球菌属	19.35±29.51	0.29±0.42	0.33
拟杆菌属	7.83±10.79	10.48±17.61	0.83
巨单胞菌属	2.81±2.23	15.38±6.10	0.03
魏斯氏菌属	7.75±6.30	1.77±1.34	0.18
<i>Peptoclostridium</i>	1.03±0.85	4.67±5.80	0.34
未分类的毛螺菌属	0.74±0.71	4.58±7.61	0.43
瘤胃球菌属	0.38±0.49	4.26±3.98	0.17
<i>Blautia</i>	1.62±1.37	2.58±3.70	0.69

2.4 LEfSe 多级物种差异判别分析结果

从图 3 可知，当 LDA 阈值为 4 时，野生组和驯养组粪便内分别发现 12 个和 7 个相对丰度差异的分类群；野生组中芽孢杆菌纲、乳杆菌目(*Lactobacillales*)、链球菌科、乳球菌属显著富集，驯养组中厌氧菌纲、Selenomonadales、韦荣氏球菌科、巨单胞菌属显著富集。

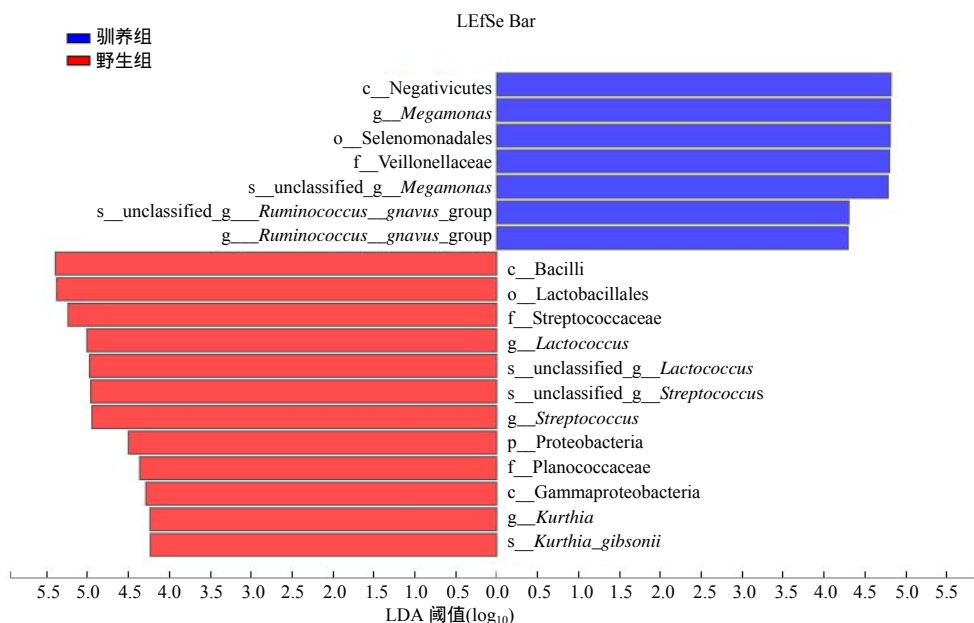


图 3 组间菌群差异线性分析(LEfSe)结果

Fig.3 The result of linear analysis of inter-group flora differences(LEfSe)

3 结论与讨论

本研究中, 稀释曲线及样品检测的覆盖度达 99.97%, 说明对所取样本微生物群落的检测比率接近饱和, 测序量能够覆盖样本中的绝大部分物种。野生组 OTU 丰富度(Chao 指数、Sobs 指数、Ace 指数)显著高于驯养组的, 这可能是由于驯养组树鼯长期生活在人工定制的环境中, 饲料、饮水、饲养笼具、垫料饲养工具、室内外及周围长期使用各种消毒剂或灭菌等, 导致驯养组树鼯生活的环境存在的微生物丰富度降低。树鼯粪便中的微生物与微生物存在的环境有密切的关系, 树鼯生存环境中存在的微生物也影响着树鼯粪便微生物的组成。另外, 从饮食的角度来看, 驯养组树鼯的饲料主要是全价饲料、水果、面包虫、鸡蛋等, 而野外树鼯主要以虫类为主, 还食用一些幼鸟、鸟蛋、谷类、果类、树叶等, 推测由于饮食的变化也影响了粪便菌群的组成。2 组样本检测到的菌群多样性指数(Shannon 指数、Simpson 指数)差异无统计学意义。一般环境改变 1 个月, 即可形成稳定的菌群^[13]。本研究选择人工驯养 6 个月后进行采样, 发现野生组树鼯经过人工驯养后, 粪便微生物区系中的一些菌群发生变化, 菌群结构间差异无统计学意义, 说明人工驯养 6 个月后的树鼯粪便菌群已趋于稳定, 可以适应环境一定的改变, 同时也说明中国科学院昆明灵长类研究中心提供的饲料能满足其生活要求。

通过比较不同分类水平上的物种组成发现, 在门水平上, 优势菌门主要为厚壁菌门、拟杆菌门、变形菌门, 但 2 组间的相对丰度不同, 野生树鼯经人工驯养 6 个月后, 拟杆菌门的相对丰度明显升高。有研究^[13]报道, 长期食用高动物蛋白、高脂肪的人, 其肠道内拟杆菌数量较多。野生树鼯经人工驯养饲养的是全价饲料, 全价饲料含的粗蛋白和脂肪都比较高, 推测拟杆菌门的相对丰度升高可能是由于饮食的改变所致。在纲水平上, 野生组 γ -变形菌纲的相对丰度显著高于驯养组的($P < 0.05$), 驯养组厌氧菌纲的相对丰度显著高于野生组的。芽孢杆菌纲在 2 组间的差异无统计学意义, 但野生组的芽孢杆菌纲相对丰度为 54.76%, 明显高于驯养组的 7.08%。在目和科水平上, 驯养组 Selenomonadales、韦荣氏球菌科的相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$)。在属水平上, 野生组链球菌属的相对丰度极显著高于

驯养组的($P < 0.01$), 而驯养组中巨单胞菌属的相对丰度显著高于野生组的($P < 0.05$)。乳球菌属为野生组的优势菌属, 相对丰度为 19.35%, 而驯养组的乳球菌属相对丰度仅为 0.29%。乳球菌属细菌比较常见, 无致病性, 是肠道内正常菌群之一。驯养组的乳球菌属所占的比例明显降低, 这是否是人工驯养树鼯的饲养环境或饮食的改变所致, 还值得进一步的探讨。通过 LEfSe 分析(LDA 阈值为 4)发现, 芽孢杆菌纲、乳杆菌目、链球菌科、乳球菌属在野生组样本显著富集, 厌氧菌纲和 Selenomonadales、韦荣氏球菌科、巨单胞菌属在驯养组样本富集。高家红等^[14]、邢进等^[15]、刘丽君等^[16]、王晓娟等^[17]关于树鼯肠道菌群的研究显示, 肠道菌群以肠杆菌属、葡萄球菌属、链球菌属为主。本研究结果与他们的结果差异较大, 这可能是本研究的样本为树鼯粪便, 分离出一些厌氧菌, 与采的活体树鼯肛拭子和盲肠内容物还是有区别所致。

综上所述, 野生树鼯经过人工驯养后, 粪便微生物区系中的一些菌群发生了变化, 菌群结构有差异, 但不显著。人工驯养后粪便菌群结构变化呈简单化的趋势。

参考文献:

- [1] AKIN D E . Biological structure of lignocellulose and its degradation in the rumen[J] . Animal Feed Science and Technology , 1988 , 21(2/3/4):295-310 .
- [2] BARTOSCH S , FITE A , MACFARLANE G T , et al . Characterization of bacterial communities in feces from healthy elderly volunteers and hospitalized elderly patients by using real-time PCR and effects of antibiotic treatment on the fecal microbiota[J] . Applied and Environmental Microbiology , 2004 , 70(6) : 3575-3581 .
- [3] ZHU H , ZENG D , WANG N , et al . Microbial community and diversity in the feces of Sichuan takin(*Budorcas taxicolor tibetana*) as revealed by Illumina Miseq sequencing and quantitative real-time PCR[J] . AMB Express , 2018 , 8 : 68 .
- [4] 时云朵, 孙豪, 曾东, 等 . 肠道菌群与肠道免疫系统相互作用研究进展[J] . 饲料博览 , 2017(9) : 7-10 .
SHI Y D , SUN H , ZENG D , et al . Interaction between gut microbiota and intestinal immune system[J] . Feed Review , 2017(9) : 7-10 .
- [5] 李菊, 张日俊 . 动物肠道菌群结构与代谢化学成分的相互关系[J] . 中国微生物学杂志 , 2008 , 20(2) : 189-190 .
LI J , ZHANG R J . Interaction between intestinal flora

- structure and metabolic chemical components in animals [J]. Chinese Journal of Microecology, 2008, 20(2): 189-190.
- [6] 周雪雁, 刘翊中, 陈轶霞, 等. 动物肠道菌群结构分析方法进展[J]. 微生物学杂志, 2013, 33(5): 81-86. ZHOU X Y, LIU Y Z, CHEN Y X, et al. Advanced in analysis methods of animal intestinal flora structure[J]. Journal of Microbiology, 2013, 33(5): 81-86.
- [7] 李凡, 刘晶星. 医学微生物学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2008. LI F, Liu J X. Medical microbiology[M]. 7th ed. Beijing: People's Medical Publishing House, 2008.
- [8] 王进波, 初佳丽, 齐莉莉, 等. 益生菌与动物肠道自由基的关系[J]. 动物营养学报, 2014, 26(12): 3545-3549. WANG J B, CHU J L, QI L L, et al. The relationship between probiotics and animal intestinal free radical[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2014, 26(12): 3545-3549.
- [9] 王美伶. 益生菌在动物生产中的应用[J]. 饲料与畜牧, 2015(9): 42-44. WANG M L. Application of probiotics in animal production[J]. Journal of Feed and Animal Husbandry, 2015(9): 42-44.
- [10] 郭云霞, 王树香, 郝庆红, 等. 动物肠道微生态系统及益生菌的营养功能[J]. 饲料研究, 2009(6): 24-25. GUO Y X, WANG S X, HAO Q H, et al. Nutritional functions of animal intestinal microecosystem and probiotics[J]. Feed Research, 2009(6): 24-25.
- [11] 张飞燕, 金洁, 马玉华, 等. 利用 Illumina MiSeq 测序平台分析野生树鼩粪便微生物多样性[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(6): 786-792. ZHANG F Y, JIN J, MA Y H, et al. Diversity of fecal microbiota in the wild tree shrew assessed using the Illumina MiSeq sequencing platform[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2018, 26(6): 786-792.
- [12] 沈培清, 郑红, 刘汝文, 等. 中国树鼩实验动物化研究进展和展望[J]. 动物学研究, 2011, 32(1): 109-114. SHEN P Q, ZHENG H, LIU R W, et al. Progress and prospect in research on laboratory tree shrew in China[J]. Zoological Research, 2011, 32(1): 109-114.
- [13] 刘燕, 王曦, 刘学锋, 等. 北京动物园 3 只亚成体大熊猫粪便菌群比较分析[J]. 野生动物学报, 2018, 39(1): 19-23. LIU Y, WANG X, LIU X F, et al. Fecal bacteria diversity of three sub-adult giant panda of the Beijing zoo[J]. Chinese Journal of Wildlife, 2018, 39(1): 19-23.
- [14] 高家红, 江勤芳, 罗志武, 等. 树鼩正常肠道细菌的培养分离鉴定及其药敏试验研究[J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(12): 24-26. GAO J H, JIANG Q F, LUO Z W, et al. Culture isolation and identification of normal intestinal bacterial flora and their antibiotic susceptibility in tree shrew[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2009, 19(12): 24-26.
- [15] 邢进, 冯育芳, 付瑞, 等. 野生树鼩可培养细菌和真菌携带情况的调查[J]. 实验动物科学, 2012, 29(3): 34-38. XING J, FENG Y F, FU R, et al. The survey of culturable bacteria and fungi in wild tree shrews[J]. Laboratory Animal Science, 2012, 29(3): 34-38.
- [16] 刘丽君, 余柄廷, 胡凝珠, 等. 树鼩粪便细菌分离培养与鉴定[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(10): 64-68. LIU L J, YU B T, HU N Z, et al. Isolation, culture and identification of bacterial strains from tree shrews feces[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2015, 25(10): 64-68.
- [17] 王晓娟, 杨春, 苏建家. 树鼩在医学实验研究中的新进展[J]. 中国比较医学杂志, 2010, 20(2): 67-70. WANG X J, YANG C, SU J J. Development of application of tree shrew in experimental to medical research[J]. Chinese Journal of Comparative Medicine, 2010, 20(2): 67-70.

责任编辑: 邹慧玲

英文编辑: 柳正