



# 高原鼠兔细菌群落的生物地理图谱

史顺琴<sup>1</sup>, 钱源<sup>1</sup>, 王彧<sup>1</sup>, 俞巧玲<sup>1</sup>, 毕婕<sup>1</sup>, 史宸玮<sup>1</sup>, 李欢<sup>1,2\*</sup>

(1. 兰州大学公共卫生学院, 兰州, 730000;  
2. 兰州大学草地微生物研究中心, 兰州, 730000)

## 稿件运行过程

收稿日期: 2024-11-11  
修回日期: 2024-12-06



**关键词:** 高原鼠兔;  
肠道细菌群落;  
生物地理图谱;  
多样性;  
网络共现

**Keywords:** Plateau pika (*Ochotona curzoniae*);  
Intestinal bacterial community;  
Biogeographic mapping;  
Diversity;  
Network co-occurrence

中图分类号: Q938.1

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2025)-02-0301-11

DOI: 10.12375/ysdwx.20250207

## 摘要

高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)是青藏高原最具特色的小型哺乳动物之一,对青藏高原的生态系统有着重要作用。对高原鼠兔特定部位的细菌群落已有一些研究,但对多个部位细菌群落的生物地理图谱研究较少。为了探究高原鼠兔不同部位的细菌群落组成差异,从青藏高原门源地区捕捉高原鼠兔,分别采集其脸部、毛发、肝脏、胃部、小肠和盲肠的样本,使用16S rRNA基因测序技术表征这些部位的细菌群落。结果表明:高原鼠兔不同部位的细菌群落组成差异较大,其脸部、毛发、肝脏、胃部和小肠中变形菌门(Proteobacteria)的相对丰度最高,而在盲肠中厚壁菌门(Firmicutes)的相对丰度最高。盲肠中细菌 $\alpha$ 多样性最高,肝脏中最低。 $\beta$ 多样性分析显示,高原鼠兔脸部和毛发的细菌图谱与消化器官(肝脏、胃部、小肠和盲肠)的细菌图谱存在显著差异( $P < 0.05$ )。网络分析显示,高原鼠兔脸部和毛发的细菌网络复杂性高于消化器官。群落组装分析显示,脸部、毛发、肝脏和盲肠的细菌群落组装以确定性过程为主导,而胃部和小肠的细菌群落组装以随机性过程为主导。结果揭示了高原鼠兔不同部位间的生物地理图谱差异,并确定了不同部位中的特征细菌群落。这对于阐明区域微生物生态位和绘制完整的高原鼠兔微生物组的生物地理图谱具有重要意义。

## Biogeographic Mapping of the Bacterial Community of the Plateau Pika

SHI Shunqin<sup>1</sup>, QIAN Yuan<sup>1</sup>, WANG Yu<sup>1</sup>,  
YU Qiaoling<sup>1</sup>, BI Jie<sup>1</sup>, SHI Chenwei<sup>1</sup>, LI Huan<sup>1,2\*</sup>

(1. Public Health School of Lanzhou University, Lanzhou, 730000, China;  
2. Center for Grassland Microbiome of Lanzhou University,  
Lanzhou, 730000, China)

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(32471575)

第一作者简介: 史顺琴(1998—),女,硕士研究生;主要从事动物微生物组学研究。E-mail:15111708220@163.com

\*通信作者: 李欢, E-mail: lihuanzky@163.com

**Abstract:** The plateau pika (*Ochotona curzoniae*) is one of the most distinctive small mammals on the Qinghai-Xizang Plateau and plays an important role in the ecosystem of the plateau. There have been some studies of the bacterial community of specific sites in the plateau pika, but fewer studies of biogeographic mapping of bacterial communities at multiple sites. In order to explore the difference in bacterial community composition in different part of the plateau pika, we captured plateau pikas from the Menyuan region of the Qinghai-Xizang Plateau, collected samples from their faces, fur, livers, stomachs, small intestines, and cecum, and probed the bacterial communities in these parts of the pika using 16S rRNA gene sequencing. The results of the study revealed that the bacterial community composition varied greatly among different parts of the plateau pika. Relative abundance of Proteobacteria was highest in the face, fur, liver, stomach and small intestine of plateau pikas, whereas Firmicutes was highest in the cecum. The highest  $\alpha$  diversity was found in the cecum and the lowest in the liver.  $\beta$  diversity analysis showed that the bacterial profiles of the face and fur of plateau pikas differed significantly from those in the digestive organs (liver, stomach, small intestine, and cecum). Network analysis showed that the complexity of bacterial networks on the face and fur of plateau pikas was higher than that of the digestive organs. Community assembly analyses revealed that bacterial community assembly in the face, fur, liver, and cecum was dominated by deterministic processes, whereas bacterial community assembly in the stomach and small intestine was dominated by stochastic processes. The results revealed biogeographic mapping differences between different parts of the plateau pika and identify characteristic bacterial community in different parts. It is important for elucidating the regional microbial ecological niche and mapping the complete biogeographic profile of the plateau pika microbiome.

动物的体表部位和消化道器官是与周围空气直接或间接接触的部位,其中体表部位包括皮肤和毛发,这些部位和器官在宿主的生理调节、代谢过程以及免疫防御中发挥着至关重要的作用<sup>[1]</sup>。体表部位和消化道器官中居住着数以万亿的微生物,形成了不同的微生物群落<sup>[2]</sup>。动物不同部位创造了特定的环境条件和生态位,从而导致微生物种群的区域特异性<sup>[3]</sup>。肝脏作为人体最大的消化器官,既往认为肝脏是一个无菌器官,但是近年来的研究打破了这个观点,在人和小鼠的肝脏中发现了变形菌门(Proteobacteria)的富集<sup>[4]</sup>,并证明了肝脏免疫依赖于细菌群落。所以每个部位的细菌群落不是随机获得的,而是通过动态的相互作用和特定的宿主需求精心制定的<sup>[3]</sup>。同一个器官的不同区域或部位的细菌群落可能不同,如结肠近端和远端细菌群落组成存在差异<sup>[3]</sup>,这种器官间细菌群落差异有助于肠道细菌功能性状的变异和可塑性<sup>[5]</sup>。哺乳动物的肠道微生物群由数百到数千种微生物组成,它们参与宿主的新陈代谢、免疫和发育过程<sup>[6]</sup>。鉴于肠道菌群对动物健康的重要作用,它被认为是哺乳动物的一个新“器官”<sup>[7]</sup>。除了以上功能,肠道细菌在改善宿主的环境适应能力方面发挥着重要作用。例如,生活在高海拔的哺乳动物的肠道细菌富含厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteria),这些肠道

细菌与能量的高效获取相关<sup>[8]</sup>。受宿主特征和细菌群落动态的影响,人类整个胃肠道中细菌的丰度和多样性通常从近端到远端增加<sup>[9]</sup>。迄今为止,关注区域差异的新兴研究揭示了对哺乳动物生活至关重要的微生物群落的多方面生理作用<sup>[10]</sup>。既往研究主要集中于模式动物的研究,对一些生活在极端气候环境下(如高海拔地区)野生动物的研究较少。

高原鼠兔(*Ochotona curzoniae*)主要分布在青藏高原,这种低温缺氧环境被它们视为正常的生存环境,是一种经过无数代的自然选择且对高原低温缺氧环境适应而保留下来的青藏高原特有的本土动物<sup>[11]</sup>。高原鼠兔在青藏高原的生态系统中扮演着多种重要角色。高原鼠兔适度的干扰有利于提高植物多样性<sup>[12]</sup>、促进土壤养分循环<sup>[13]</sup>,而且高原鼠兔的洞穴为其他物种提供了栖息和繁殖的空间<sup>[14]</sup>。然而,在高原鼠兔的干扰过大时,会降低土壤养分含量<sup>[15]</sup>,减少可食牧草比例<sup>[16]</sup>。已有的研究主要集中于高原鼠兔对缺氧环境的适应机制<sup>[17]</sup>、能量需求<sup>[18]</sup>及其肠道微生物在极端气候环境下的适应机制<sup>[19]</sup>。

基于以上研究背景,本研究以高原鼠兔为模式动物,通过16S rRNA基因测序系统比较了其体表部位、消化器官的细菌群落组成、多样性差异,以及群落构建模式和网络关系,以期为高原鼠兔微生物组生物

地理图谱的完整绘制提供科学理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品采集

在青海省门源县(37°22'36.7" N, 101°37'8.9" E)用绳套法捕捉高原鼠兔8只,平均体质量为(131.16 ± 21.13) g,雄性和雌性的比例为3:1。为了比较高原鼠兔体内与体外细菌组成的差异,以其毛发和脸部样本作为体外样本,以肝脏、胃部、小肠和盲肠作为消化器官样本。对所有高原鼠兔实施安乐死(乙醚麻醉致死)。用无菌剪刀剪下高原鼠兔背部的毛和肝脏分别放入50 mL无菌管中;用无菌剪刀剪下胃、小肠和盲肠后,分别将内容物采集到50 mL无菌管中;用蘸有无菌生理盐水的无菌棉签擦拭高原鼠兔的脸部1 min,然后用无菌剪刀剪下棉签头部放入50 mL无菌管中。共收集48份样本。本试验经过兰州大学伦理委员会批准(伦理编号:IRB23100501)。

### 1.2 DNA提取和PCR扩增

使用Ezup柱式土壤DNA提取试剂盒(Sangon Biotech, 中国),按照生产商的说明提取样本DNA。用NanoDrop 2000分光光度计(Thermo Scientific, Waltham, IL, 美国)对提取的DNA定量。使用通用引物515F和909R扩增细菌的16S rRNA基因的V4—V5区域<sup>[20]</sup>,每个样本所使用的上游引物515F均含有独特的12 bp barcode序列,以便区分每个PCR产物。PCR具体步骤和程序与冯天舒等<sup>[21]</sup>的研究相同,扩增

产物在NanoDrop 2000平台定量,之后将所有纯化后的PCR产物等量混合。最后在Illumina MiSeq测序平台进行高通量测序。原始16S rRNA基因的fastq序列已经上传到欧洲核苷酸数据库(European nucleotide archive),登录号为PRJEB82437。

### 1.3 生物信息学分析

在QIIME平台上处理原始数据。首先基于Flash软件进行双末端拼接<sup>[22]</sup>。根据barcode进行样品拆分。使用FASTX-Toolkit软件将fastq序列转换为fasta格式的序列<sup>[23]</sup>。根据Usearch 8.0的denovo模式<sup>[24]</sup>,去除嵌合体序列。然后根据UCLUST将所有序列划分为操作分类单元(OTUs)<sup>[25]</sup>,将序列相似性大于97%的序列归类为一种OTU。选择序列最长的为代表性OTU,并对其进行物种注释,生成OTU表,删除不属于细菌的OTUs,即删除线粒体、叶绿体序列及单例序列。为了减少测序深度不均匀的影响,采用“Daisy chopper”脚本对OTU表抽平<sup>[26]</sup>,从每个样本中随机获得4 148条序列。去除低质量序列后,脸部、毛发、肝脏、胃部、小肠和盲肠分别保留6、7、6、6、8、8个样本,合计41个高质量样本(表1)。使用Origin2017(OriginLab, 北安普顿, 美国)可视化门和属水平上细菌群落的组成。用细菌群落的Chao1指数、观察到物种数(observed species)和香农指数(Shannon)评估 $\alpha$ 多样性。利用Bray-Curtis距离矩阵分析细菌群落结构的差异来评估 $\beta$ 多样性,用主成分分析(principal components analysis, PCA)可视化 $\beta$ 多样性。

表1 样品信息

Table 1 Samples information

编号 Code number	脸部 Face	毛发 Fur	肝脏 Liver	胃部 Stomach	小肠 Small intestine	盲肠 Cecum
高原鼠兔1 Plateau pika1	—	Fur1	Liver1	—	Small intestine1	Cecum1
高原鼠兔2 Plateau pika2	—	Fur2	—	Stomach2	Small intestine2	Cecum2
高原鼠兔3 Plateau pika3	Face3	—	Liver3	—	Small intestine3	Cecum3
高原鼠兔4 Plateau pika4	Face4	Fur4	Liver4	Stomach4	Small intestine4	Cecum4
高原鼠兔5 Plateau pika5	Face5	Fur5	Liver5	Stomach5	Small intestine5	Cecum5
高原鼠兔6 Plateau pika6	Face6	Fur6	Liver6	Stomach6	Small intestine6	Cecum6
高原鼠兔7 Plateau pika7	Face7	Fur7	—	Stomach7	Small intestine7	Cecum7
高原鼠兔8 Plateau pika8	Face8	Fur8	Liver8	Stomach8	Small intestine8	Cecum8

注: —. 不合格的样本。

Note: —. A nonconforming sample.

### 1.4 统计分析

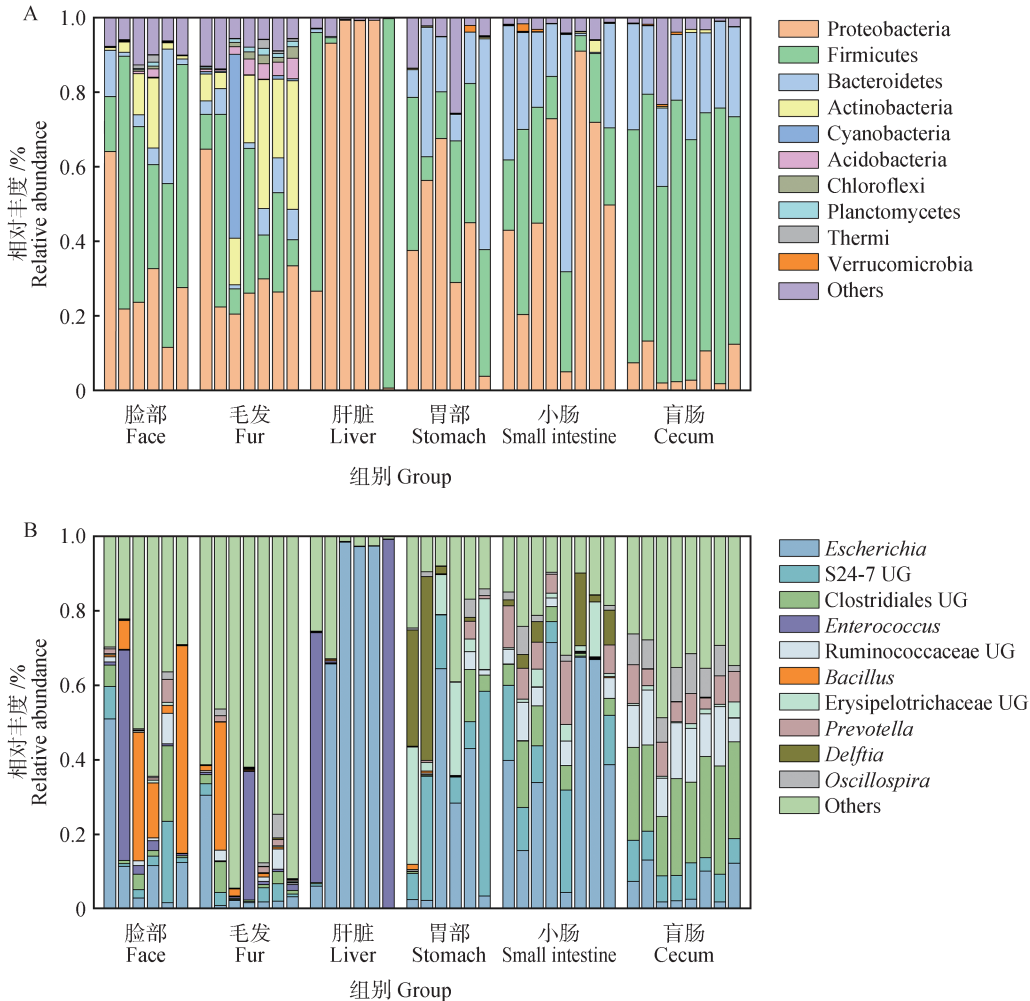
高原鼠兔不同部位细菌群落α多样性的差异使用SPSS 26.0的独立样本Mann-Whitney U检验,并使用单因素方差分析(one-way ANOVA)的Tukey事后检验分析不同部位的门和属水平上细菌群落组成差异。使用置换多元方差分析(PERMANOVA)分析不同部位间细菌β多样性的差异。使用R 4.2.1中的“vegan”包绘制热图,以确定各个部位显著富集的门和属,使用“psych”包(|r| > 0.6, P < 0.05)生成优势OTU矩阵(平均相对丰度 > 0.01%),然后利用Gephi 0.9.2软件可视化优势OTU的网络共现模式。使用R 4.2.1中的“NST”软件包,根据零模型使用修正随机比率(modified stochasticity ratio, MST)来确定随机性和确定性在高原鼠兔不同部位的细菌群落中的相

对贡献。如果MST大于0.5,则随机过程主导群落组装,如果MST小于0.5,则确定性过程主导群落组装,显著性水平α = 0.05。

## 2 结果

### 2.1 高原鼠兔体表部位和消化器官细菌群落的组成

在高原鼠兔的体表部位和消化器官中共检测到31个细菌门,其中毛发携带的细菌门数量最多,为29个,其次是脸部19个;胃部、小肠、盲肠和肝脏中的细菌门依次减少,分别为17、15、12、11个。本研究只展示了相对丰度前10的细菌门的组成(图1A)。在毛发、脸部、肝脏、胃部和小肠中的优势门均为变形菌门和厚壁菌门,盲肠中的优势门是厚壁菌门和拟杆菌门(Bacteroidetes)。



A. 门水平; B. 属水平; UG. 未分类的属。  
A. Phylum level; B. Genus level; UG. Unclassified genus.

图1 高原鼠兔不同部位的细菌群落组成

Figure 1 Bacterial community composition of different parts of plateau pika

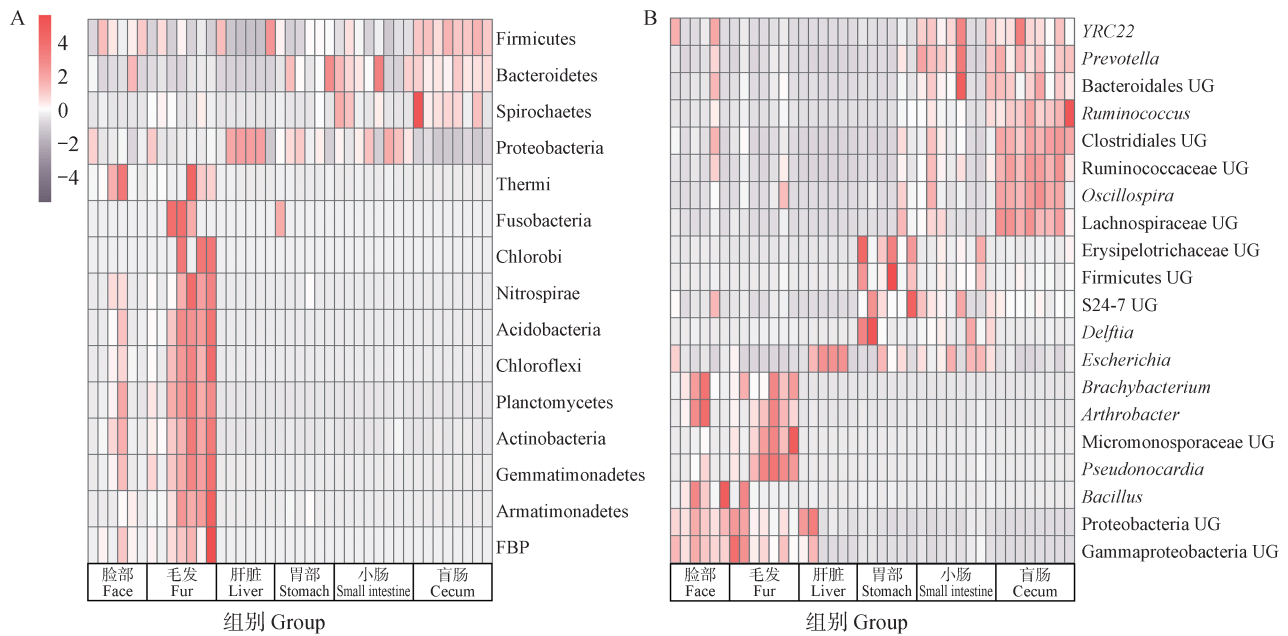
在属水平上,总共检测到了637个菌属,其中毛发、脸部、小肠、胃部、盲肠和肝脏中检测到的菌属数分别为559、325、177、156、116、67个。在属水平上也只展示了相对丰度前10的属(图1B)。在毛发中优势属是埃希氏杆菌属(*Escherichia*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*),在脸部优势属是肠球菌属(*Enterococcus*)和芽孢杆菌属。在肝脏中优势属是埃希氏杆菌属和肠球菌属。在胃部和小肠的优势属是埃希氏杆菌属和S24-7科某属(S24-7 unclassified genus),在盲肠中优势属是梭菌目某属(*Clostridiales unclassified genus*)和瘤胃球菌科某属(*Ruminococcaceae unclassified genus*)。

### 2.2 高原鼠兔体表部位和消化器官细菌群落组成的差异

由图2A可见,在高原鼠兔体表部位显著富集的菌门较多。在毛发中显著富集梭杆菌门(*Fusobacteria*)、绿菌门(*Chlorobi*)和硝化螺旋菌门(*Nitrospirae*) ( $P < 0.05$ )等,脸部显著富集了Thermi、浮霉菌门(*Planctomycetes*)和放线菌门( $P < 0.05$ )等。消化器官显著富集的菌门较少。在胃部显著富集了螺旋体菌门(*Spiro-*

*chaetes*)和拟杆菌门( $P < 0.05$ ),在小肠显著富集了变形菌门和拟杆菌门( $P < 0.05$ ),在盲肠显著富集了拟杆菌门、厚壁菌门和螺旋体菌门( $P < 0.05$ ),在肝脏显著富集的菌门最少,只有变形菌门1类( $P < 0.05$ )。

由图2B可见,在高原鼠兔盲肠中显著富集的属最多,如普雷沃氏菌属(*Prevotella*)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*)和颤螺菌属(*Oscillospira*)等( $P < 0.05$ );在肝脏中显著富集的属最少,为埃希氏杆菌属( $P < 0.05$ )。在其他部分显著富集的细菌属在数量和种类上都不同,其中脸部显著富集的属有 $\gamma$ -变形菌纲某属(*Gammaproteobacteria unclassified genus*)、变形菌门某属(*Proteobacteria unclassified genus*)和节杆菌属(*Arthrobacter*)等( $P < 0.05$ );在毛发中显著富集的属有假诺卡氏菌属(*Pseudonocardia*)、小单孢菌科某属(*Micromonosporaceae unclassified genus*)和节杆菌属( $P < 0.05$ )等;在胃部显著富集的有戴尔福特菌属(*Delftia*)、S24-7科某属和厚壁菌门某属(*Firmicutes unclassified genus*)等。在小肠显著富集了普雷沃氏菌属和YRC22( $P < 0.05$ )。



A. 显著富集的菌门; B. 显著富集的菌属; UG. 未分类的属。

A. Significantly enriched phylum; B. Significantly enriched genus; UG. Unclassified genus.

图2 高原鼠兔不同部位细菌群落组成的差异性

Figure 2 Bacterial community composition of different parts of plateau pika

### 2.3 高原鼠兔体表部位和消化器官细菌多样性差异

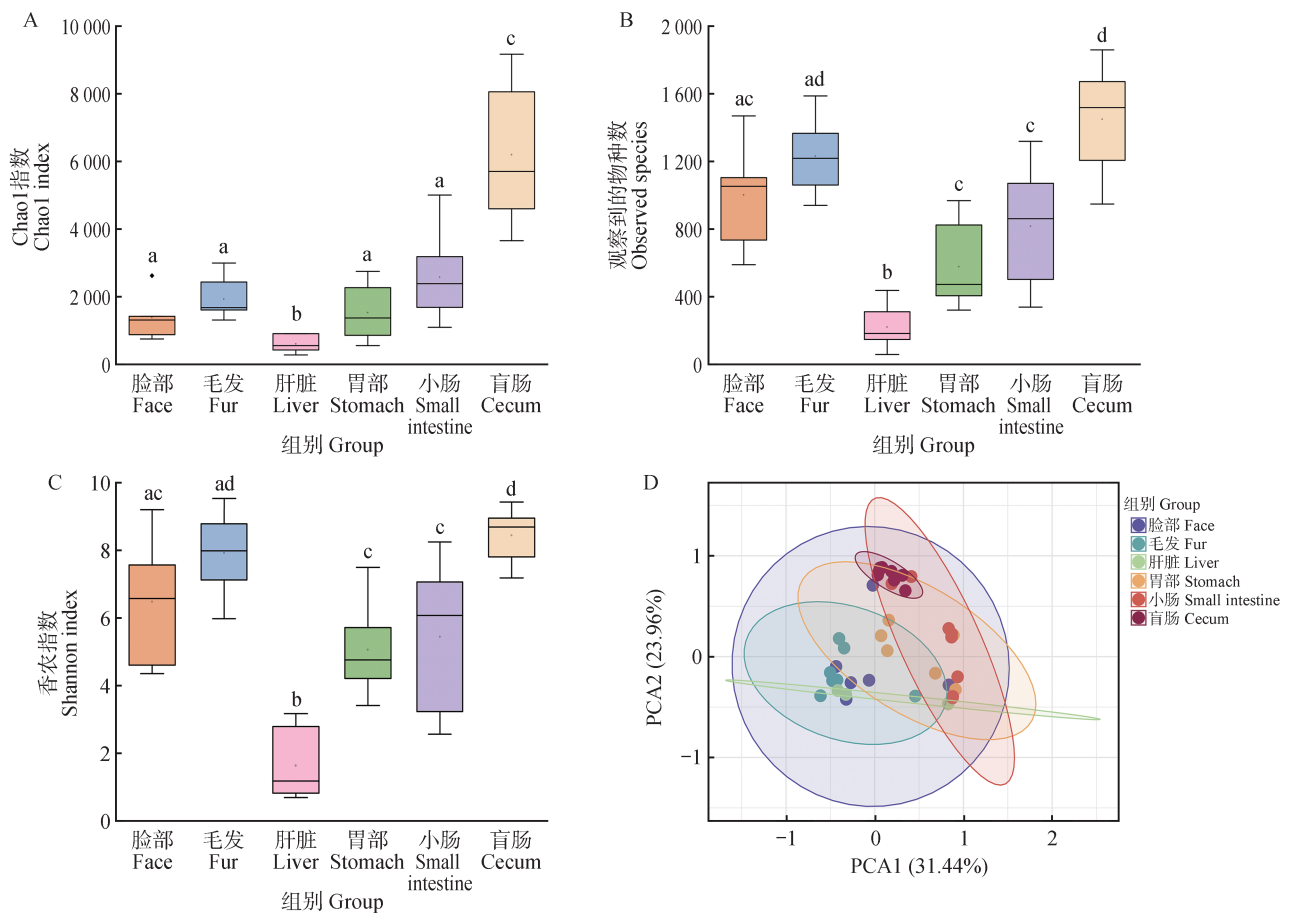
由Chao1指数可见(图3A),盲肠中细菌多样性显著高于其他部位(Mann-Whitney  $U$  检验,  $P <$

$0.05$ ),而肝脏中细菌多样性显著低于其他部位( $P < 0.05$ )。毛发、脸部、胃部和小肠4组间的细菌多样性无显著差异。从观察到的物种数来看(图3B),也是盲肠的细菌多样性最高,显著高于脸部、肝脏、胃部 and

小肠( $P < 0.05$ );肝脏的细菌多样性显著低于其他部位( $P < 0.05$ );毛发的细菌多样性显著高于胃部和小肠( $P < 0.05$ )。在香农指数上(图3C),与观察到的物种数的结果一样,即盲肠中的细菌多样性最高,肝脏中的细菌多样性最低( $P < 0.05$ )。

PCA分析显示高原鼠兔不同部位细菌的 $\beta$ 多样性。由图3D可见,不同部位间的细菌图谱分离明显。根据PERMANOVA结果(表2)显示,高原鼠兔脸部和

毛发与肝脏、胃部、小肠和盲肠的 $\beta$ 多样性存在显著差异( $P < 0.05$ ),但脸部与毛发的 $\beta$ 多样性不存在显著差异( $P > 0.05$ )。除此之外,盲肠与肝脏、胃部和小肠的 $\beta$ 多样性也存在显著差异( $P < 0.05$ )。综上所述,高原鼠兔体表部位与消化器官之间的细菌图谱存在显著差异。同时,不同的消化道器官之间也表现出明显的差异。



不同小写字母表示组间显著差异, Mann-Whitney  $U$  检验,  $P < 0.05$ 。

Different letters indicate significant differences, Mann-Whitney  $U$  test,  $P < 0.05$ .

图3 高原鼠兔不同部位的细菌多样性及主成分分析

Figure 3 Bacterial diversity and principal component analysis of different parts of the plateau pika

## 2.4 高原鼠兔体表部位和消化器官细菌的网络共现模式

筛选出平均相对丰度大于0.01%的优势OTUs构建高原鼠兔脸部、毛发、肝脏、胃部、小肠和盲肠的网络共现模式(图4)。由图4可以观察到与消化器官相比,体表部位的网络复杂性更高。在网络拓扑特征参数中(表3),平均度和网络密度可以描述网络的复杂性,平均聚类系数用来描述网络的层次结构程度,

模块化用来描述网络可以划分为多少个模块的程度。研究表明,高原鼠兔脸部的网络最复杂(节点为902个,边为47 208条,平均度为104.674,网络密度为0.116),此后依次是毛发、胃部、肝脏、盲肠和小肠。脸部的细菌网络层次结构最多(平均聚类系数为0.938),其次是肝脏、毛发、胃部、盲肠和小肠。小肠的细菌网络模块化程度最高(模块化为0.867),其次是盲肠、毛发、脸部、胃部和肝脏。

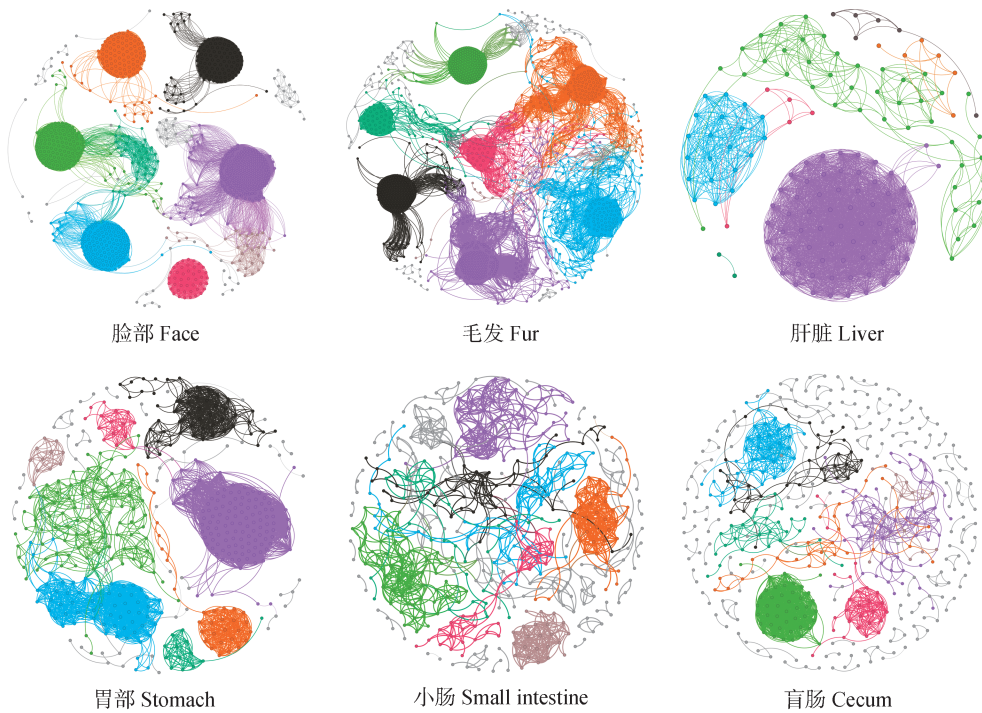
表2 高原鼠兔不同部位细菌图谱的置换多元方差分析结果

Table 2 Differences in bacterial profiles of different parts of plateau pika as indicated by PERMANOVA analysis

组别 Group	布雷柯蒂斯距离 Bray-Curtis distance			组别 Group	布雷柯蒂斯距离 Bray-Curtis distance		
	<i>F</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>P</i>		<i>F</i>	<i>R</i> <sup>2</sup>	<i>P</i>
脸部 vs. 毛发 Face vs. Fur	1.784	0.140	0.137	毛发 vs. 盲肠 Fur vs. Cecum	23.759	0.646	0.002*
脸部 vs. 肝脏 Face vs. Liver	3.787	0.275	0.013*	肝脏 vs. 胃部 Liver vs. Stomach	3.103	0.237	0.057
脸部 vs. 胃部 Face vs. Stomach	3.236	0.244	0.048*	肝脏 vs. 小肠 Liver vs. Small intestine	5.697	0.322	0.006*
脸部 vs. 小肠 Face vs. Small intestine	8.043	0.401	0.004*	肝脏 vs. 盲肠 Liver vs. Cecum	18.304	0.604	0.001*
脸部 vs. 盲肠 Face vs. Cecum	10.208	0.460	0.001*	胃部 vs. 小肠 Stomach vs. Small intestine	2.196	0.155	0.105
毛发 vs. 肝脏 Fur vs. Liver	7.610	0.409	0.012*	胃部 vs. 盲肠 Stomach vs. Cecum	9.246	0.435	0.001*
毛发 vs. 胃部 Fur vs. Stomach	8.408	0.433	0.002*	小肠 vs. 盲肠 Small intestine vs. Cecum	13.105	0.483	0.002*
毛发 vs. 小肠 Fur vs. Small intestine	18.542	0.588	0.003*				

注：\*，显著性为  $P < 0.05$ 。

Note: \*, Significance is  $P < 0.05$ .



$|r| > 0.6, P < 0.05$ 。

图4 高原鼠兔不同部位的细菌网络共现模式

Figure 4 Patterns of bacterial network co-occurrence in different parts of the plateau pika

表3 高原鼠兔不同部位网络拓扑特征参数

Table 3 Characterization parameters of network topology in different parts of the plateau pika

组别 Group	节点/个 Nodes	边/条 Edges	平均度 Average degree	平均路径长度 Average path length	直径 Graph diameter	网络密度 Graph density	平均聚类系数 Average clustering coefficient	模块化 Modularity
脸部 Face	902	47 208	104.674	4.746	12	0.116	0.938	0.734
毛发 Fur	1 321	52 047	78.799	9.678	27	0.060	0.814	0.741
肝脏 Liver	146	2 350	32.192	1.677	9	0.222	0.922	0.289
胃部 Stomach	447	7 875	35.235	3.574	15	0.079	0.811	0.449
小肠 Small intestine	444	1 354	6.099	11.785	31	0.014	0.604	0.867
盲肠 Cecum	454	1 674	7.374	3.510	12	0.016	0.695	0.750

## 2.5 高原鼠兔体表部位和消化器官细菌群落的组装过程

使用零模型来评估高原鼠兔不同部位细菌群落的组装过程(图5)。经计算,高原鼠兔脸部、毛发、肝脏和盲肠的MST平均值小于0.5,表明高原鼠兔这些部位细菌群落组装以确定性过程为主,而胃部和小肠的MST平均值大于0.5,表明其细菌群落组装以随机性过程为主。

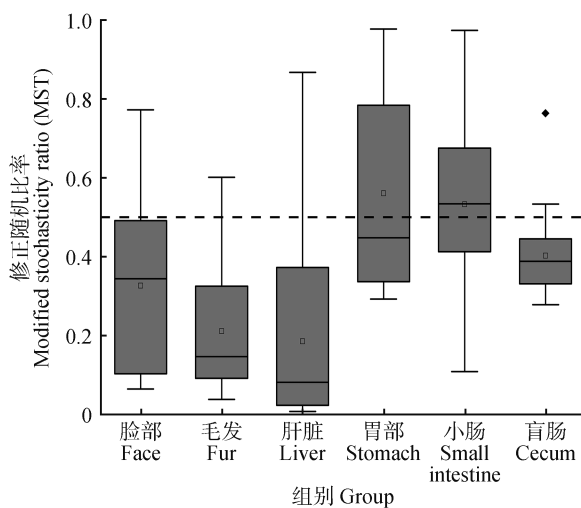


图5 高原鼠兔不同部位细菌的群落组装

Figure 5 Community assembly of bacteria from different parts of the plateau pika

## 3 讨论

### 3.1 高原鼠兔盲肠中的细菌多样性显著高于其他部位

既往研究表明哺乳动物肠道不同区域有不同的微生物群落<sup>[27]</sup>。这些微生物群落在宿主的食物消

化、能量获取、营养吸收、免疫调节和肠道发育中发挥着关键作用<sup>[28]</sup>。本研究结果显示高原鼠兔盲肠中的细菌群落以厚壁菌门和拟杆菌门为主,这与 Li *et al.*<sup>[19]</sup>的研究结果一致。在高原鼠兔的脸部和毛发有较大比例的变形菌门,这可能与周围环境中的植物和土壤细菌群落主要以变形菌门为主有关<sup>[29]</sup>。本研究结果还显示,高原鼠兔盲肠的细菌群落具有更高的 $\alpha$ 多样性(图3)。这一发现与 Lu *et al.*<sup>[27]</sup>的研究结果相似。盲肠中的中性pH可能比高酸性的胃提供了一个更有利的内部环境。对于后肠发酵的鼠兔来说,盲肠是参与植物性食物发酵的主要器官,因此,多样化的细菌群落可能贡献一组独特的消化酶,提高食物的加工和消化,并且高原鼠兔盲肠中明显富含普雷沃氏菌属和瘤胃球菌属,之前有研究报道这些菌株含有编码碳水化合物降解酶的基因,如编码纤维素酶、半纤维素酶或寡糖降解酶的各种基因<sup>[30]</sup>。所以这些菌属有利于高原鼠兔发酵难降解食物的多糖。此外,较高的物种多样性通常与较强的稳定性和生产性能有关。例如,人肠道群落中的高微生物多样性与膳食纤维的发酵效率呈正相关<sup>[31]</sup>。同样,高原鼠兔盲肠中的高细菌多样性可能提供更多的弹性来抵御外来干扰,且拥有更加多样化的细菌代谢途径,并促进高原鼠兔从难降解的植物多糖中获取更多的能量。这些结果说明高原鼠兔盲肠中含有丰富的细菌,同时拥有多样的细菌功能,这些细菌功能是高原鼠兔视青藏高原为正常生存环境的重要原因。

### 3.2 高原鼠兔的肝脏中存在细菌群落

既往认为肝脏是一个受保护的无菌器官。然而本研究结果显示,高原鼠兔的肝脏中富集了变形菌

门,之前也有研究报道在小鼠和人的肝脏中检测到了变形菌门<sup>[4]</sup>,并且该研究表明肝脏中的细菌群落以一种高度选择性的方式从肠道中聚集出来。既往研究报道人和小型啮齿类动物的血液中含有不同的细菌群落<sup>[32-34]</sup>,所以我们推测肝脏中的部分细菌群落可能来自血液。众所周知肠道微生物群落参与肠道和其他部位的免疫,之前研究还证明了肝脏免疫特别依赖于拟杆菌门这类菌群<sup>[4]</sup>。所以,肝脏细菌在调节肝免疫方面至关重要,并为基于微生物治疗肝脏疾病提供了理论依据。

### 3.3 高原鼠兔体表部位细菌网络共现模式复杂于消化器官

本研究的网络分析结果显示,高原鼠兔体表部位和消化器官的网络拓扑特征表现出明显的差异(表3)。脸部的平均聚类系数和网络密度均高于胃部、小肠和盲肠。较低的平均聚类系数和网络密度说明细菌网络主要由相对孤立的节点或松散的节点群组成,反映了较高的系统发育多样性和功能冗余<sup>[35]</sup>。所以高原鼠兔胃部、小肠和盲肠的细菌群落可能比毛发的细菌群落具有更高的功能冗余。模块化结果显示,小肠和盲肠中的模块化高于其他部位。模块化被定义为网络中高度互联的节点或节点组的数量和大小。模块化越高,对小环境扰动的恢复能力越强,但对较大的环境扰动恢复能力越弱<sup>[36]</sup>。高原鼠兔的小肠和盲肠细菌网络具有较高的模块化值,这表明小肠和盲肠细菌群落可能在较小的环境扰动中表现出较强的恢复能力,但在较大的环境扰动下相对脆弱。高原鼠兔的脸部和毛发拥有较低的 $\alpha$ 多样性和更复杂的网络交互关系。该研究结果与一些研究<sup>[37-38]</sup>相似,这些结果显示网络相互作用与细菌多样性呈负相关。

### 3.4 高原鼠兔体表部位和消化器官的细菌群落组装方式不同

群落组装指的是不同物种以随机性还是确定性组合成群落的过程,是群落生态学的核心论题之一。研究群落组装有助于解释群落在全球变化背景下的生态响应模式<sup>[39]</sup>。生态学家先后提出中性理论和生态位理论以解释群落的构建过程<sup>[40-41]</sup>。中性理论认为当一个群落主要受随机过程控制时,该过程可能会受到随机事件的驱动,如随机扩散、定植和局部灭绝。群落内部的差异也可能是不可预测的<sup>[42]</sup>。与此对应,生态位理论则强调环境因子(温度、pH和湿度等)和生物因子(物种特性、种间互作等)是控制群落结构

的关键因素,也被称作确定性过程,如果一个群落主要由确定性过程控制,那么在类似的环境条件下,选择或筛选可能会导致类似群落的出现<sup>[43]</sup>。有研究表明随机性过程和确定性过程可同时对群落的组装产生作用,并在不同的环境和宿主条件下表现出一定的主次关系<sup>[44]</sup>。本研究结果显示,高原鼠兔脸部和毛发的细菌群落组装以确定性过程为主。这可能与青藏高原的高海拔、强紫外和低温寒冷的气候环境有关,在这种强压力环境下可能导致高原鼠兔脸部和毛发中的细菌群落以确定性为主。高原鼠兔的肝脏和盲肠中的细菌群落组装也以确定性为主,这可能与宿主的免疫相关<sup>[45]</sup>。小肠和胃部的细菌群落组装以随机性为主。高原鼠兔食物来源广泛,包括植物和牦牛(*Bos grunniens*)粪便<sup>[18]</sup>,这些饮食习惯可能增加了不同种群在高原鼠兔胃部和小肠中的扩散成功率,提高了随机性在群落组装过程中的占比。

### 参考文献:

- [1] SHE J J, LIU W X, DING X M, *et al.* Defining the biogeographical map and potential bacterial translocation of microbiome in human 'surface organs' [J]. *Nature Communications*, 2024, 15(1): 427.
- [2] LLOYD-PRICE J, ABU-ALI G, HUTTENHOWER C. The healthy human microbiome [J]. *Genome Medicine*, 2016, 8(1): 51.
- [3] MARTINEZ-GURYN K, LEONE V, CHANG E B. Regional diversity of the gastrointestinal microbiome [J]. *Cell Host & Microbe*, 2019, 26(3): 314-324.
- [4] LEINWAND J C, PAUL B, CHEN R N, *et al.* Intrahepatic microbes govern liver immunity by programming NKT cells [J]. *The Journal of Clinical Investigation*, 2022, 132(8): e151725.
- [5] HEINTZ-BUSCHART A, WILMES P. Human gut microbiome: function matters [J]. *Trends in Microbiology*, 2018, 26(7): 563-574.
- [6] CHO I, BLASER M J. The human microbiome: at the interface of health and disease [J]. *Nature Reviews Genetics*, 2012, 13(4): 260-270.
- [7] BAQUERO F, NOMBELA C. The microbiome as a human organ [J]. *Clinical Microbiology and Infection*, 2012, 18(Suppl. 4): 2-4.
- [8] FU H B, ZHANG L Z, FAN C, *et al.* Environment and host species identity shape gut microbiota diversity in sympatric herbivorous mammals [J]. *Microbial Biotechnology*, 2021, 14(4): 1300-1315.
- [9] TROPINI C, EARLE K A, HUANG K C, *et al.* The gut microbiome: connecting spatial organization to function [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21(4): 433-442.

- [10] JAMES K R, GOMES T, ELMENTAITE R, *et al.* Distinct microbial and immune niches of the human colon[J]. *Nature Immunology*, 2020, 21(3): 343–353.
- [11] 马兰, 格日力. 高原鼠兔低氧适应分子机制的研究进展[J]. *生理科学进展*, 2007, 38(2): 143–146.
- MA L, GE R L. Progress on the molecular mechanism of hypoxia adaptation in plateau pika [J]. *Progress in Physiological Sciences*, 2007, 38(2): 143–146.
- [12] SMITH A T, FOGGIN J M. The plateau pika (*Ochotona curzoniae*) is a keystone species for biodiversity on the Tibetan Plateau[J]. *Animal Conservation*, 1999, 2(4): 235–240.
- [13] 孙飞达, 郭正刚, 尚占环, 等. 高原鼠兔洞穴密度对高寒草甸土壤理化性质的影响[J]. *土壤学报*, 2010, 47(2): 378–383.
- SUN F D, GUO Z G, SHANG Z H, *et al.* Effects of density of burrowing plateau pikas (*Ochotona curzoniae*) on soil physical and chemical properties of alpine meadow soil [J]. *Acta Pedologica Sinica*, 2010, 47(2): 378–383.
- [14] 潘璇, 米玛旺堆. 高原鼠兔生态学进展[J]. *生态学杂志*, 2016, 35(9): 2537–2543.
- PAN X, MIGMAR WANGDWEI. Plateau pika ecology: a review [J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2016, 35(9): 2537–2543.
- [15] YU C, PANG X P, WANG Q, *et al.* Soil nutrient changes induced by the presence and intensity of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) disturbances in the Qinghai-Tibet Plateau, China[J]. *Ecological Engineering*, 2017, 106: 1–9.
- [16] GUO Z G, LI X F, LIU X Y, *et al.* Response of alpine meadow communities to burrow density changes of plateau pika (*Ochotona curzoniae*) in the Qinghai-Tibet Plateau [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(1): 44–49.
- [17] 齐新章, 王晓君, 朱世海, 等. 高原鼯鼠和高原鼠兔心脏对低氧环境的适应[J]. *生理学报*, 2008, 60(3): 348–354.
- QI X Z, WANG X J, ZHU S H, *et al.* Hypoxic adaptation of the hearts of plateau zokor (*Myospalax baileyi*) and plateau pika (*Ochotona curzoniae*) [J]. *Acta Physiologica Sinica*, 2008, 60(3): 348–354.
- [18] SPEAKMAN J R, CHI Q S, OŁDAKOWSKI Ł, *et al.* Surviving winter on the Qinghai-Tibetan Plateau: pikas suppress energy demands and exploit yak feces to survive winter[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2021, 118(30): e2100707118.
- [19] LI H, LI T T, YAO M J, *et al.* Pika gut may select for rare but diverse environmental bacteria [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2016, 7: 1269.
- [20] LI H, QU J P, LI T T, *et al.* Diet simplification selects for high gut microbial diversity and strong fermenting ability in high-altitude pikas [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2018, 102(15): 6739–6751.
- [21] 冯天舒, 俞巧玲, 周蕊, 等. 高原鼠兔和高原鼯鼠肠道微生物组及常见抗生素抗性基因的比较[J]. *野生动物学报*, 2020, 41(4): 897–911.
- FENG T S, YU Q L, ZHOU R, *et al.* The comparison of gut microbiome and common antibiotic resistance genes between plateau pika and plateau zokor [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2020, 41(4): 897–911.
- [22] MAGOČ T, SALZBERG S L. FLASH: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies [J]. *Bioinformatics*, 2011, 27(21): 2957–2963.
- [23] WANG Y J, ZHOU R, YU Q L, *et al.* Gut microbiome adaptation to extreme cold winter in wild plateau pika (*Ochotona curzoniae*) on the Qinghai-Tibet Plateau [J]. *FEMS Microbiology Letters*, 2020, 367(16): fnaa134.
- [24] YOON S H, HA S M, KWON S, *et al.* Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2017, 67(5): 1613–1617.
- [25] EDGAR R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST [J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460–2461.
- [26] GILBERT J A, FIELD D, SWIFT P, *et al.* The seasonal structure of microbial communities in the western English Channel [J]. *Environmental Microbiology*, 2009, 11(12): 3132–3139.
- [27] LU H P, LAI Y C, HUANG S W, *et al.* Spatial heterogeneity of gut microbiota reveals multiple bacterial communities with distinct characteristics [J]. *Scientific Reports*, 2014, 4: 6185.
- [28] HOOPER L V. Bacterial contributions to mammalian gut development [J]. *Trends in Microbiology*, 2004, 12(3): 129–134.
- [29] 李冰, 李玉双, 魏建兵, 等. 不同土地利用方式对土壤细菌分子生态网络的影响[J]. *环境科学*, 2020, 41(3): 1456–1465.
- LI B, LI Y S, WEI J B, *et al.* Effects of different land use types on the molecular ecological network of soil bacteria [J]. *Environmental Science*, 2020, 41(3): 1456–1465.
- [30] DAI X, TIAN Y, LI J T, *et al.* Metatranscriptomic analyses of plant cell wall polysaccharide degradation by microorganisms in the cow rumen [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 2015, 81(4): 1375–1386.
- [31] TAP J, FURET J P, BENZAADA M, *et al.* Gut microbiota richness promotes its stability upon increased dietary fibre intake in healthy adults [J]. *Environmental Microbiology*, 2015, 17(12): 4954–4964.
- [32] SATO J, KANAZAWA A, IKEDA F, *et al.* Gut dysbiosis and detection of “live gut bacteria” in blood of Japanese patients with type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(8): 2343–2350.
- [33] COHEN C, TOH E, MUNRO D, *et al.* Similarities and seasonal variations in bacterial communities from the blood of rodents and from their flea vectors [J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(7): 1662–1676.

- [34] PAÏSSÉ S, VALLE C, SERVANT F, *et al.* Comprehensive description of blood microbiome from healthy donors assessed by 16S targeted metagenomic sequencing [J]. *Transfusion*, 2016, 56(5): 1138–1147.
- [35] SUN M Y, DAFFORN K A, JOHNSTON E L, *et al.* Core sediment bacteria drive community response to anthropogenic contamination over multiple environmental gradients [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(9): 2517–2531.
- [36] ELDRIDGE D J, WOODHOUSE J N, CURLEVSKI N J A, *et al.* Soil-foraging animals alter the composition and co-occurrence of microbial communities in a desert shrubland [J]. *The ISME Journal*, 2015, 9(12): 2671–2681.
- [37] SHI S J, NUCCIO E E, SHI Z J, *et al.* The interconnected rhizosphere: high network complexity dominates rhizosphere assemblages [J]. *Ecology Letters*, 2016, 19(8): 926–936.
- [38] LI H, LI T T, BERASATEGUI A, *et al.* Gut region influences the diversity and interactions of bacterial communities in pikas (*Ochotona curzoniae* and *Ochotona daurica*) [J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2017, 93(12): fix149.
- [39] SANTOS A M C, CIANCIARUSO M V, BARBOSA A M, *et al.* Current climate, but also long-term climate changes and human impacts, determine the geographic distribution of European mammal diversity [J]. *Global Ecology and Biogeography*, 2020, 29(10): 1758–1769.
- [40] ROSINDELL J, HUBBELL S P, ETIENNE R S. The unified neutral theory of biodiversity and biogeography at age ten [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2011, 26(7): 340–348.
- [41] CHAVE J. Neutral theory and community ecology [J]. *Ecology Letters*, 2004, 7(3): 241–253.
- [42] PURVES D W, TURNBULL L A. Different but equal: the implausible assumption at the heart of neutral theory [J]. *Journal of Animal Ecology*, 2010, 79(6): 1215–1225.
- [43] DINI-ANDREOTE F, STEGEN J C, VAN ELSAS J D, *et al.* Disentangling mechanisms that mediate the balance between stochastic and deterministic processes in microbial succession [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2015, 112(11): E1326–E1332.
- [44] CHASE J M. Stochastic community assembly causes higher biodiversity in more productive environments [J]. *Science*, 2010, 328(5984): 1388–1391.
- [45] HONDA K, LITTMAN D R. The microbiota in adaptive immune homeostasis and disease [J]. *Nature*, 2016, 535(7610): 75–84.