



基于 SMRT 测序技术的 塔里木马鹿冬季肠道菌群多样性分析

祁程¹, 姜李欢¹, 阿卜杜萨拉木·努尔麦麦提¹, 王开彦², 单文娟¹, 钟林强^{1*}

(1. 新疆大学生命科学与技术学院, 新疆生物资源基因工程重点实验室, 乌鲁木齐, 830017;
2. 新疆沙雅县林业和草原局, 沙雅, 842200)

稿件运行过程

收稿日期: 2023-02-23

修回日期: 2023-04-05



关键词: 塔里木马鹿;
肠道菌群;
单分子实时测序 (SMRT);
PICRUSt 功能预测

Key words: Tarim red deer (*Cervus elaphus yarkandensis*);
Gut microbiota;
Single molecule real-time sequencing;
PICRUSt function prediction

中图分类号: Q938

文献标识码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-01-0058-09

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240108

摘要

为探究塔里木河流域塔里木马鹿 (*Cervus elaphus yarkandensis*) 冬季肠道菌群群落结构、多样性与功能, 采用 PacBio 平台的单分子实时测序技术 (single molecule real-time sequencing, SMRT) 对塔里木河上游湿地自然保护区采集并筛选的 25 份塔里木马鹿粪便样本的 16S rRNA 基因全长进行测序, 共获得 298 578 个 clean reads, clean reads 聚类获得 28 026 个 OTU, 包括 25 门 684 属。Alpha 多样性分析结果显示, 塔里木马鹿冬季肠道菌群 Shannon 指数为 (7.764±0.044), Simpson 指数为 (0.015±0.001), Chao1 指数为 (12 242.668±695.106), ACE 指数为 (9 366.423±407.612)。塔里木马鹿优势菌门为厚壁菌门 (Firmicutes, 60.51%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes, 26.02%)、变形菌门 (Proteobacteria, 3.61%)、疣微菌门 (Verrucomicrobia, 1.57%) 和浮霉菌门 (Planctomycetes, 1.46%)。相对丰富度在前 10 的菌属为 *Papillibacter* (5.48%)、拟杆菌属 (*Bacteroides*, 5.12%)、*Muribaculum* (4.69%)、*Phocaeicola* (4.49%)、*Lawsonibacter* (4.31%)、瘤胃球菌属 (*Ruminococcus*, 4.09%)、*Intestinimonas* (3.06%)、普氏菌属 (*Prevotella*, 2.87%)、克里斯滕森菌属 (*Christensenella*, 2.71%) 和弯曲杆菌属 (*Campylobacter*, 2.54%)。PICRUSt 16S 功能预测结果表明, 塔里木马鹿肠道菌群基因功能主要富集于新陈代谢 (48.58%)、遗传信息处理 (19.04%) 和环境信息处理 (12.08%); 其中新陈代谢主要以碳水化合物代谢 (9.47%)、氨基酸代谢 (9.93%) 为主, 并且环境信息处理的膜转运 (9.96%) 基因相对丰富度最高。研究揭示了野生塔里木马鹿冬季肠道菌群特征和功能, 为塔里木马鹿野生种群的保护提供基础数据。

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金项目 (2022D01C657); 新疆大学科研启动项目 (620321053); 新疆维吾尔自治区大学生创新训练计划项目 (S202210755079)

第一作者简介: 祁程 (1997—), 男, 硕士研究生; 主要从事有蹄类动物营养生态学研究。E-mail: 1115481172@qq.com

* **通信作者:** 钟林强, E-mail: zhonglinqiang@xju.edu.cn

Analysis of Gut Microbiota Diversity of Tarim Red Deer in Winter Based on the SMRT Sequencing

QI Cheng¹, JIANG Lihuan¹, ABDUSALAMU Nurmamati¹,
WANG Kaiyan², SHAN Wenjuan¹, ZHONG Linqiang^{1*}

(1. Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering,
College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi, 830017, China;
2. Forestry and Grassland Bureau of Shaya County, Shaya, 842200, China)

Abstract: The Tarim red deer (*Cervus elaphus yarkandensis*) is the only subspecies of red deer that has adapted to the desert habitat in China. However, there is limited knowledge about how the gut microbiota's structure and function of wild Tarim red deer adapted to desert plants. This study analyzed the gut microbiota of 25 fecal samples obtained from Tarim red deer located in the Upper Tarim River Nature Reserve using the PacBio single molecule real-time sequencing (SMRT) technique. A total of 298,578 clean reads were obtained and clustered into 28,026 OTU, belonging to 25 phyla and 684 genera. Alpha diversity analysis yielded Shannon index of (7.764±0.044), Simpson index of (0.015±0.001), Chao1 index of (12,242.668±695.106), and ACE index of (9,366.423±407.612). The dominant phyla in the gut microbiota of Tarim red deer were Firmicutes (60.51%), Bacteroidetes (26.02%), Proteobacteria (3.61%), Verrucomicrobia (1.57%), and Planctomycetes (1.46%). At the genus level, *Papillibacter* (5.48%), *Bacteroides* (5.12%), *Muribaculum* (4.69%), *Phocaeicola* (4.49%), *Lawsonibacter* (4.31%), *Ruminococcus* (4.09%), *Intestinimonas* (3.06%), *Prevotella* (2.87%), *Christensenella* (2.71%), and *Campylobacter* (2.54%) were the top 10 bacteria. PICRUSt analysis revealed that the predicted gene functions of the Tarim red deer gut microbiota were mainly in metabolism (48.58%), genetic information processing (19.04%), and environmental information processing (12.08%). Carbohydrate metabolism (9.47%) and amino acid metabolism (9.93%) were the main categories of metabolism, while membrane transport (9.96%) was the most enriched gene category of environmental information processing. This study provided the first insight into the characteristics and functions of the gut microbiota of wild Tarim red deer, which may serve as a basis for wild population conservation.

塔里木马鹿(*Cervus elaphus yarkandensis*)是栖息于塔里木河流域的典型荒漠有蹄类动物,国家一级重点保护野生动物。由于栖息地丧失与破碎化,现存塔里木马鹿种群数量降低、近亲繁殖严重、遗传多样性及种群生存力降低,野生种群已经下降到450只左右,处于极度濒危状态,形成了3个相对孤立种群(沙雅种群、尉犁种群和且末种群)^[1-2]。近年来,关于野生塔里木马鹿的研究主要集中于生境选择与利用^[3]、环境适应性^[4]与保护遗传学研究^[5-6],但对于野生塔里木马鹿肠道菌群多样性及功能的研究尚未见报道。

野生有蹄类动物肠道菌群所发挥的功能作用与宿主营养吸收和代谢、免疫防御等具有密切关系^[7],而肠道菌群会受生境^[8]、食性^[9]和季节^[10]等因素的

影响,其中,食性是影响肠道微生物的主要因素^[11-12]。沙雅县塔里木河上游湿地自然保护区冬季可食用荒漠植物种类少,植物营养成分含量低、盐碱含量高,塔里木马鹿可能面临极端干旱荒漠生境中的营养和能量限制。长期生活在极端干旱环境下,塔里木马鹿逐渐适应芦苇(*Phragmites australis*)^[13]、胡杨(*Populus euphratica*)和胀果甘草(*Glycyrrhiza inflata*)^[14]等荒漠植物,对高盐碱性、带刺、木质化及有特别气味的植物产生了适应性,对营养质量差、粗纤维含量高的荒漠植物具有很高的能量利用率^[14]。因此,了解塔里木马鹿冬季肠道菌群的多样性和功能对于理解肠道菌群协助宿主适应荒漠植物的机制具有重要意义。

当前,野生动物肠道菌群研究常采用 Illumina 高

通量测序平台对菌群 16S rRNA 基因的 V3—V5 区进行测序,但该技术测序读长短,准确度相对较低,随着 PacBio 第三代测序平台的发展,单分子实时测序(single molecule real-time sequencing, SMRT)技术能够为 16S rRNA 基因全长序列的微生物组研究提供更精准、更全面的信息^[15]。16S rRNA 基因全长测序具有读长更长、准确性高、无引物偏差和更高的物种分辨率等优点,已广泛运用于高质量微生物群落分析^[16]。因此,本研究采用 PacBio 平台单分子实时测序技术,分析新疆塔里木河上游湿地自然保护区的塔里木马鹿冬季肠道菌群的组成与多样性,并利用 PICRUSt 软件对肠道菌群基因进行功能预测,为后期野生塔里木马鹿保护与研究提供基础数据。

1 研究方法

1.1 研究区概况

塔里木河上游湿地自然保护区位于新疆维吾尔自治区阿克苏地区沙雅县(39°31'—41°25' N, 81°45'—84°47' E),处于塔里木盆地北部,塔克拉玛干沙漠向

沙雅绿洲的过渡地带,塔里木河流域中上游,总面积为 31 972.5 km²,降水稀少,极端干旱,炎热,该保护区植物种类主要是超旱生半乔木、旱生、盐生的灌木及小半灌木占优势的荒漠植物,主要保护对象为塔里木马鹿、鹅喉羚(*Gazella subgutturosa*)等濒危野生动物及荒漠河岸胡杨林。

1.2 样品采集

2022 年 1—2 月,在保护区通过样线调查采集塔里木马鹿冬季新鲜粪便样品,塔里木马鹿粪便呈堆状,通过粪便形态和大小来区分塔里木马鹿和鹅喉羚,为了避免杂菌污染,使用 PE 手套采集内部粪粒,放入 100 mL EP 管中,−20 °C 短期保存,−80 °C 长期保存。共采集 178 份粪便样本(图 1),成功提取 132 份粪便样本 DNA,利用 5 对微卫星分子标记(BM888、BM4208、BM5004、BM6438、BM6506)对粪便 DNA 进行扩增,其中 59 份样品全部微卫星扩增成功,使用 Cervus 3.0 进行个体识别,结果显示 59 份粪便 DNA 属于 54 只个体,从中筛选 25 份不同个体的粪便样品用于 16S rRNA 基因全长测序。

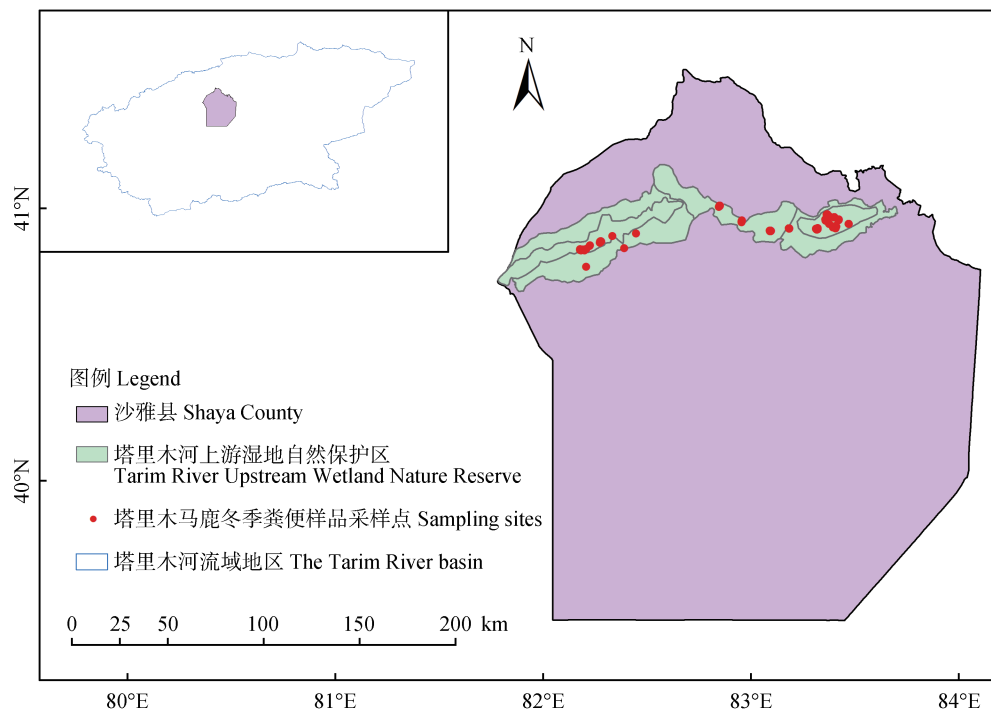


图 1 冬季塔里木马鹿粪便采样点分布

Fig. 1 Geographic locations of fecal sample of Tarim red deer in winter

1.3 粪便 DNA 提取与 PCR

使用 E. Z. N. A.® Soil DNA Kit (Omega Bio-Tek, Norcross, GA, U. S.) 试剂盒提取粪便样本中的微生

物组总 DNA。采用 16S rRNA 基因全长通用引物 27F 5'-AGRGTTYGATYMTGGCTCAG-3' 和 1492R 5'-RGYTACCTTGTACGACTT-3' 进行 PCR 扩增。PCR

反应体系 20.0 μL : 4.0 μL 5 \times FastPfu 缓冲液, 2.0 μL 2.5 mmol/L dNTPs, 上、下游引物各 0.8 μL (5.0 $\mu\text{mol/L}$), 0.4 μL FastPfu 聚合酶, 10 ng 模板 DNA, 使用双蒸水补充至 20 μL 。PCR 反应条件: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 2 min; 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性 30 s, 55 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 1 min, 共 35 个循环; 最后 72 $^{\circ}\text{C}$ 终延伸 5 min。扩增产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳后采用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit (Axygen Biosciences, Union City, CA, U. S.) 试剂盒参照说明书操作流程纯化。参照电泳初步定量结果, 将 PCR 产物用 QuantiFluorTM-ST 蓝色荧光定量系统 (Promega 公司) 检测定量, 之后按照每个样品的测序量要求进行相应比例混合。

1.4 16S rRNA 基因全长测序与数据统计分析

根据制造商的说明书制备 SMRT bell 文库后, 在 PacBio Sequel II 上测序, 获得 raw reads。使用 UPARSE (7.1 版, <http://drive5.com/uparse/>) 将 OTU 按照 98.65% 的相似性阈值聚类, 并使用 UCHIME 去除嵌合序列, 获得 clean reads。所有扩增子测序均由上海凌恩生物科技有限公司承担。对 clean reads 进行 OTU 划分, 并绘制韦恩图。Alpha 多样性通过 Mothur 软件计算 ACE 指数、Chao1 指数、Shannon 指数、Simpson 指数和 Coverage 指数, 并绘制 Shannon-Wiener 曲线验证测序深度的合理性。然后通过与 16S 数据库 (Silva) 对比进行物种组成分析, 获得各个样品所具有的所有菌群及比例, 并使用 R 中 reshape2 和 ggplot2 包绘制门、属水平的堆叠图。使用 vegan 包进行基于 Bray-Curtis 的非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS)。最后, 使用 PICRUSt 软件对塔里木马鹿肠道菌群基因进行功能预测, 将标准化后的 OTU 丰度表与 KEGG 数据库对比, 再使用 R 中 reshape2 和 ggplot2 包对基因注释结果进行可视化。

2 结果

2.1 16S rRNA 基因全长测序

通过对 16S rRNA 基因测序数据分析, 共获得 298 578 条 clean reads, 每个样品平均 clean reads 为 11 943 条, 平均长度为 1 459 bp, 基于 98.65% 的相似性聚类 28 026 个 OTU, 平均每个样品含有 1 121 个 OTU, 其中核心 OTU 数量为 178 (图 2)。Alpha 多样性分析结果显示, 塔里木马鹿肠道菌群 Shannon 指数

为 (7.764 \pm 0.044), Simpson 指数为 (0.015 \pm 0.001), Chao1 指数为 (12 242.668 \pm 695.106), ACE 指数为 (9 366.423 \pm 407.612) (表 1), 可见个别样品的肠道菌群多样性有一定的差异。塔里木马鹿肠道菌群 Shannon-Wiener 曲线随着测序深度的增加, 曲线逐渐上升并趋于平稳, 继续增加测序深度, 菌群多样性也不会有显著变化, 说明测序数据可靠性较高 (图 3)。

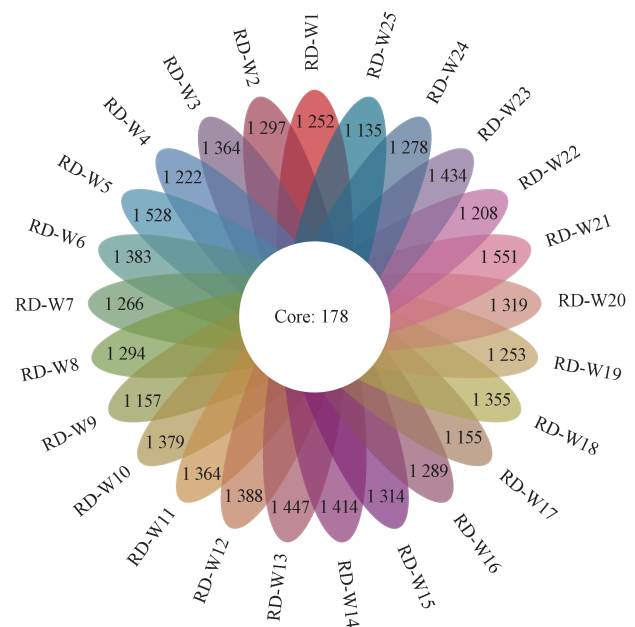


图 2 塔里木马鹿肠道菌群 OTU 韦恩图

Fig. 2 Venn diagram of core OTU of gut microbiota of Tarim red deer

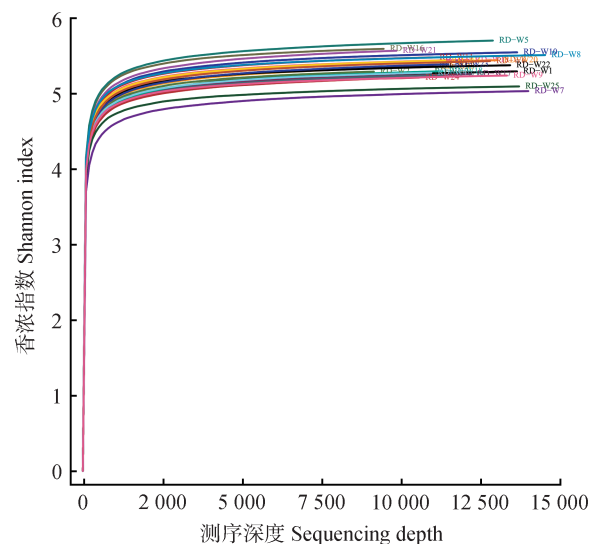


图 3 冬季塔里木马鹿肠道菌群 Shannon-Wiener 稀释曲线

Fig. 3 Rarefaction curve of Shannon-Wiener index of gut microbiota of Tarim red deer in winter

表1 塔里木马鹿肠道菌群Alpha多样性指数

Tab. 1 Alpha diversity of the gut microbiota in fecal samples of Tarim red deer

样本编号 Sample No.	序列数 Reads	Chao1 指数 Chao1 index	香浓指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	ACE 指数 ACE index	覆盖度 Coverage
RD-W1	13 634	15 299. 879	7. 658	0. 014	11 208. 396	0. 902
RD-W2	9 140	5 962. 011	7. 654	0. 016	5 658. 602	0. 898
RD-W3	11 379	14 818. 932	7. 868	0. 011	10 795. 543	0. 890
RD-W4	10 946	7 896. 880	7. 633	0. 014	7 100. 047	0. 905
RD-W5	12 876	16 044. 034	8. 248	0. 008	12 588. 012	0. 879
RD-W6	12 788	15 052. 710	7. 855	0. 015	10 452. 116	0. 894
RD-W7	13 990	13 382. 835	7. 280	0. 041	10 069. 903	0. 903
RD-W8	14 517	17 518. 703	7. 970	0. 010	11 703. 038	0. 902
RD-W9	13 321	14 304. 542	7. 578	0. 015	10 319. 647	0. 908
RD-W10	13 640	15 079. 074	8. 023	0. 011	11 193. 803	0. 893
RD-W11	11 006	10 185. 077	7. 925	0. 011	8 335. 743	0. 895
RD-W12	10 852	12 016. 122	7. 652	0. 017	10 140. 992	0. 885
RD-W13	11 057	12 401. 133	7. 753	0. 018	10 058. 847	0. 885
RD-W14	10 996	13 078. 085	7. 779	0. 016	10 240. 400	0. 884
RD-W15	12 117	12 661. 186	7. 880	0. 012	9 100. 945	0. 897
RD-W16	9 448	2 454. 559	8. 090	0. 009	3 300. 582	0. 919
RD-W17	12 194	11 526. 881	7. 608	0. 014	7 758. 609	0. 911
RD-W18	11 300	15 184. 983	7. 661	0. 018	9 826. 046	0. 889
RD-W19	11 334	8 150. 535	7. 590	0. 022	7 203. 295	0. 905
RD-W20	13 027	10 687. 484	7. 872	0. 012	9 760. 130	0. 901
RD-W21	9 850	13 860. 588	8. 054	0. 011	10 210. 934	0. 869
RD-W22	13 420	12 907. 544	7. 775	0. 012	9 514. 033	0. 908
RD-W23	11 481	16 413. 016	7. 793	0. 014	11 681. 856	0. 883
RD-W24	10 564	9 452. 639	7. 539	0. 015	7 543. 632	0. 898
RD-W25	13 701	9 727. 273	7. 370	0. 017	8 395. 428	0. 918

2.2 物种群落结构分析

根据门、属两个分类水平,25个样品共获得25个菌门和684个菌属。在门水平上,相对丰度前10的菌门分别是厚壁菌门(Firmicutes, 60. 51%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 26. 02%)、变形菌门(Proteobacteria, 3. 61%)、疣微菌门(Verrucomicrobia, 1. 57%)、浮霉菌门(Planctomycetes, 1. 46%)、Candidatus Saccharibacteria (0. 64%)、螺旋体门(Spirochaetes, 0. 51%)、放线菌门(Actinobacteria, 0. 34%)、黏胶球形菌门(Lentisphaerae, 0. 20%)和迷踪菌门

(Elusimicrobia, 0. 04%),厚壁菌门与拟杆菌门丰富度总和为86. 53%,两者之比为2. 33:1(图4)。在属水平上,相对丰度前10的菌属分别为 *Papillibacter* (5. 48%)、拟杆菌属(*Bacteroides*, 5. 12%)、*Muribaculum* (4. 69%)、*Phocaeicola* (4. 49%)、*Lawsonibacter* (4. 31%)、瘤胃球菌属(*Ruminococcus*, 4. 09%)、*Intestinimonas* (3. 06%)、普氏菌属(*Prevotella*, 2. 87%)、克里斯滕森菌属(*Christensenella*, 2. 71%)和弯曲杆菌属(*Campylobacter*, 2. 54%),均属于厚壁菌门和拟杆菌门(图5)。

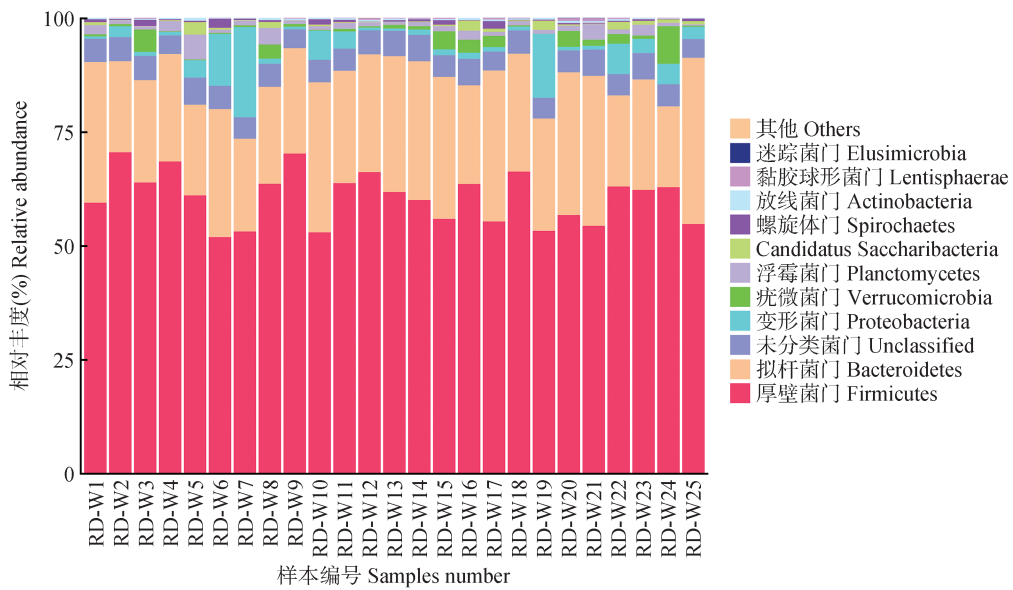


图4 塔里木马鹿肠道菌群门水平相对丰度

Fig. 4 Relative gut microbiota abundance at the phylum level in Tarim red deer

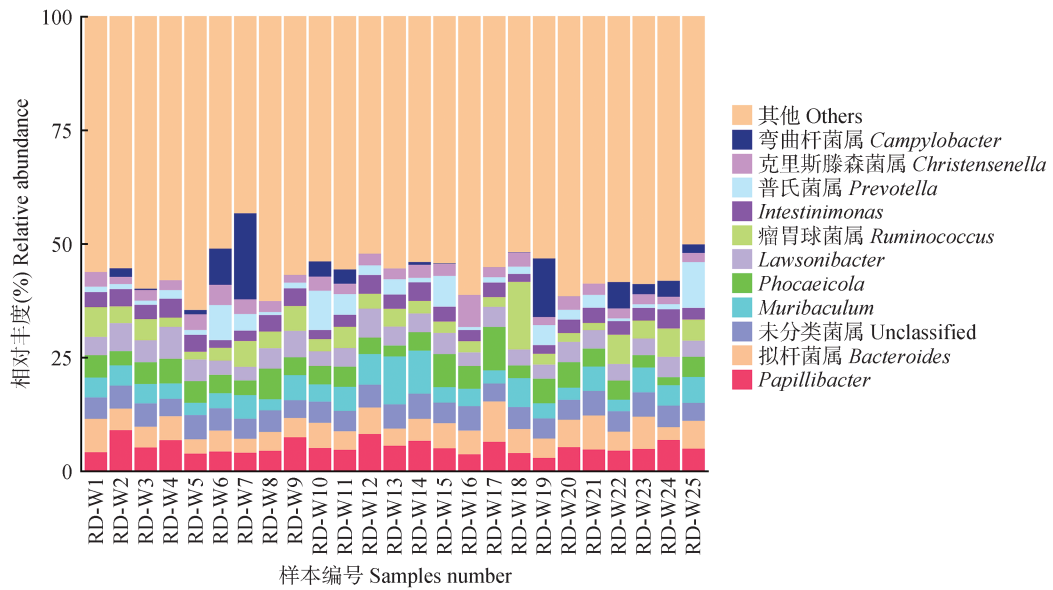


图5 塔里木马鹿肠道菌群属水平相对丰度

Fig. 5 Relative gut microbiota abundance at the genus level in Tarim red deer

2.3 非度量多维尺度分析

根据不同样本的OTU数据,绘制非度量多维尺度分析二维图,结果显示大部分样品都在置信圈内,并且NMDS stress值小于0.2,二维图完整地展现出高维度的信息,说明冬季塔里木马鹿肠道菌群无显著差异(图6)。

2.4 PICRUSt 16S功能预测

利用PICRUSt软件对塔里木马鹿肠道菌群的基因进行功能预测,预测结果展示了7个一级功能下的41种二级功能(图7)。在KEGG数据库中,注释

到的基因功能相对丰度从高到低依次为:新陈代谢(48.58%)、遗传信息处理(19.04%)、环境信息处理(12.08%)、细胞进程(4.25%)、人类疾病(0.09%)和生物体系统(0.07%)。在新陈代谢功能中,碳水化合物代谢(9.47%)和氨基酸代谢(9.93%)的相对丰度最高;在环境信息处理中,膜转运功能(9.96%)的相对丰度最高,其他功能与其相差甚远。遗传信息处理功能中,复制和修复(7.40%)及翻译(5.13%)功能相对较高。

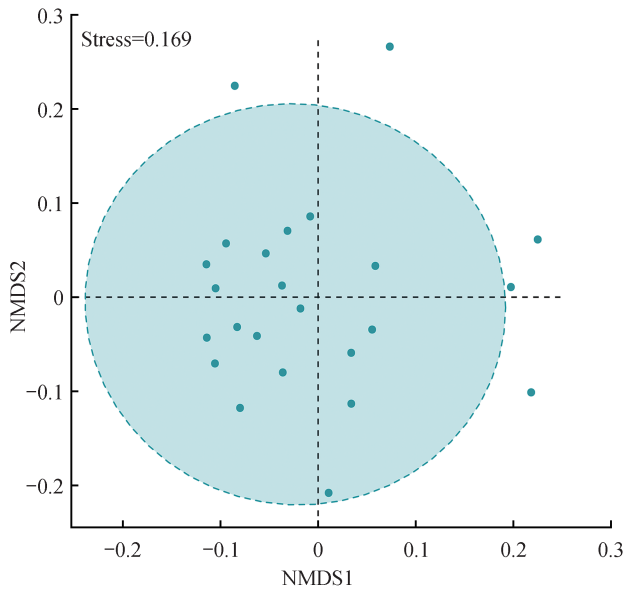


图6 塔里木马鹿肠道菌群非度量多维尺度分析

Fig. 6 Non-metric multidimensional scaling (NMS2) plots of gut microbiota of Tarim red deer

3 讨论

在野生动物研究中,科研工作者通常以粪便样品的微生物为代表,来反映整个胃肠道微生物的结构和组成。本研究通过单分子实时测序技术分析塔里木流域塔里木马鹿冬季肠道菌群组成和多样性,OTU聚类共得到的冬季塔里木马鹿肠道菌群隶属25个菌门,684个菌属,厚壁菌门与拟杆菌门是优势菌门,这与其他野生有蹄类动物的肠道菌群研究结果相似,如美国野牛(*Bison bison*)^[17]、阿拉善马鹿(*Cervus elaphus alashanicus*)^[18]、麋鹿(*Elaphurus davidianus*)^[19]和岩羊(*Pseudois nayaur*)^[20]等动物的肠道菌群的优势菌门均存在厚壁菌门与拟杆菌门。马来熊(*Helarctos malayanus*)^[21]、华北豹(*Panthera pardus japonensis*)^[22]和东北虎(*P. tigris altaica*)^[23]与塔里木马鹿的肠道菌群优势菌门均存在变形菌门,但与前三者相比,塔里木马鹿肠道菌群的变形菌门相对丰度较低。

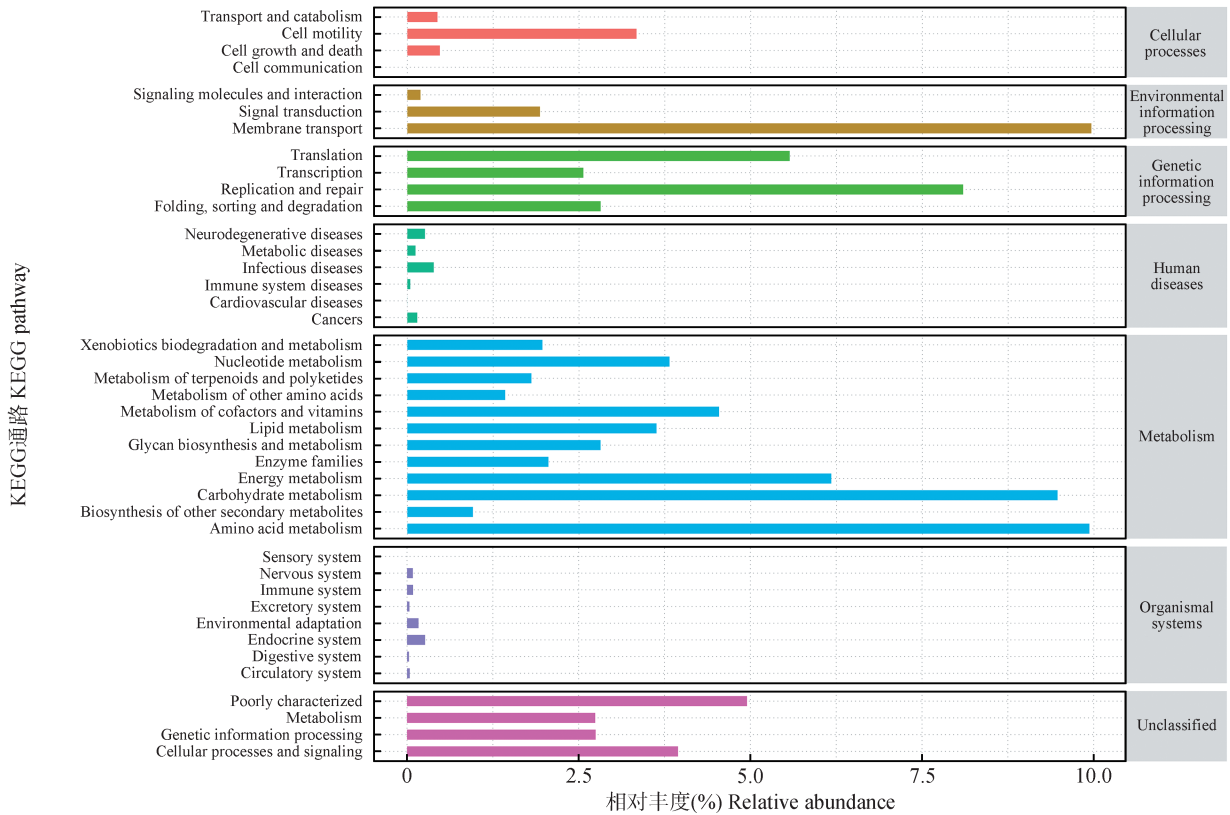


图7 塔里木马鹿肠道菌群功能预测相对丰度

Fig. 7 Predicted function of the gut microbiota relative abundance in Tarim red deer

冬季保护区内的荒漠植物干枯、叶片凋落,可食植物的营养价值、食物丰富度与可获得性显著降低,而肠道菌群中的厚壁菌门能有效地降解结构性碳水化合物,并生成短链脂肪酸,为宿主提供合成脂肪和

葡萄糖的原料,因此,短时间内采食纤维含量较高的食物会在肠道累积厚壁菌门^[24]。拟杆菌门在营养物质充足时,会充分利用糖原为宿主提供能量,若营养缺乏,会利用蛋白质的糖脂合成糖原^[25-27],笔者推测

塔里木马鹿采食蛋白质含量高的铃铛刺(*Caragana halodendron*)促进拟杆菌门在肠道富集。塔里木马鹿冬季肠道菌群的厚壁菌门与拟杆菌门比值为2.33:1,厚壁菌门与拟杆菌门的相对比例能够反映宿主对能量吸收和储藏的能力,这种较高的比例有利于塔里木马鹿在冬季更高效地吸收食物中的营养物质^[28]。圈养塔里木马鹿、卡拉库尔羊和新疆褐牛对相同饲料消化率的研究结果表明,塔里木马鹿对粗纤维消化率极显著高于卡拉库尔羊和新疆褐牛,对粗纤维含量较高的荒漠植物有较高的消化、利用能力^[29]。本研究在塔里木马鹿肠道菌群的优势菌属中,*Papillibacter*、*Phocaeicola*、拟杆菌属、*Muribaculum*和瘤胃球菌属等均能够帮助塔里木马鹿降解食物中的纤维素和半纤维素、抗性淀粉等结构性碳水化合物^[30-31]。其中,*Phocaeicola*是2009年划分为拟杆菌门的一个新属,与拟杆菌门的其他属相似,一些种类的*Phocaeicola*已被证实与炎症疾病有密切的关系,值得注意的是塔里木马鹿的主要食物中的胀果甘草,对炎症疾病有预防作用^[32]。

通过PICRUSt菌群基因功能预测结果可知,本研究中冬季塔里木马鹿肠道菌群基因功能在新陈代谢、遗传信息处理及环境信息处理方面显著富集,塔里木马鹿肠道菌群二级功能碳水化合物代谢、氨基酸代谢相对丰富度与青海藏羚(*Pantholops hodgsonii*)、藏羊(*Ovis aries*)^[33]相似,山羊(*Capra hircus*)^[34]的碳水化合物代谢和氨基酸代谢高于前3者,野猪(*Sus scrofa*)^[35]的这两种代谢丰富度较低。在环境信息处理的膜转运功能方面,塔里木马鹿肠道菌群的相对丰富度较高,特别是硫酸盐转运系统(K02048)、D-蛋氨酸转运系统(K02073)相关蛋白及钴/镍转运系统ATP结合蛋白(K02006)基因显著富集,这是否与其冬季大量采食盐碱含量较高的荒漠植物有关,还需将食物、食性营养成分及肠道菌群宏基因组研究相结合来探讨。为了深入了解沙雅县塔里木河上游湿地自然保护区内野生动物的肠道菌群特点和季节性差异,后期将会开展同域分布物种和不同季节塔里木马鹿的肠道菌群比较分析,从而为荒漠干旱区塔里木马鹿以及其他野生动物保护和研究提供基础数据。

参考文献:

- [1] 马合木提·哈力克, 吾玛尔·阿布力孜, 艾尼瓦尔·吐米尔, 等. 新疆马鹿塔里木亚种的现状与保护[J]. 兽类学报, 2004, 24(4): 329-332.
- [2] 董晓宇, 单文娟, 于丽娟, 等. 塔里木马鹿(*Cervus elaphus yarkandensis*)遗传结构及遗传多样性分析[J]. 生物技术, 2010, 20(5): 16-20.
- [3] 塔依尔江·麦麦提, 塔吉古丽·吐热甫, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 环境因子对塔里木马鹿种群遗传多样性的影响[J]. 野生动物学报, 2018, 39(4): 754-760.
- [4] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [5] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [6] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [7] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [8] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [9] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [10] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.
- [11] 塔依尔江·麦麦提, 苏比奴尔·艾力, 布威海丽且姆·阿巴拜科日, 等. 塔里木马鹿干旱环境适应相关基因的筛选、克隆及生物信息学分析[J]. 中国畜牧兽医, 2021, 48(6): 1906-1917.

- views Microbiology, 2008, 6(10): 776–788.
- [12] SCHWAB C, CRISTESCU B, NORTHRUP J M, *et al.* Diet and environment shape fecal bacterial microbiota composition and enteric pathogen load of grizzly bears [J]. PLoS One, 2011, 6(12): e27905.
- [13] 钱文熙, 敖维平, 玉苏普·阿布来提. 塔里木马鹿采食量与消化率研究[J]. 中国草食动物科学, 2014, 34(2): 31–32; 38. QIAN W X, AO W P, ABULET Y. Study on feed intake and digestibility of Tarim red deer [J]. China Herbivore Science, 2014, 34(2): 31–32; 38.
- [14] 乔建芳, 杨维康, 高行宜. 塔里木马鹿(*Cervus elaphus yarkandensis*)的食性分析与采食地选择 [J]. 科学通报, 2006, 51(增刊1): 121–125. QIAO J F, YANG W K, GAO X Y. Natural diet and food habitat use of the Tarim red deer, *Cervus elaphus yarkandensis* [J]. Chinese Science Bulletin, 2006, 51(Suppl. 1): 121–125.
- [15] 杨小娜, 张琳, 侯学霞, 等. 16S rDNA 全长高通量测序在蜱媒病原生物多样性研究中的应用 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2021, 32(4): 404–411. YANG X N, ZHANG L, HOU X X, *et al.* Application of 16S rDNA full-length high-throughput sequencing in the study of tick-borne pathogen biodiversity [J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2021, 32(4): 404–411.
- [16] WAGNER J, COUPLAND P, BROWNE H P, *et al.* Evaluation of PacBio sequencing for full-length bacterial 16S rRNA gene classification [J]. BMC Microbiology, 2016, 16(1): 274.
- [17] BERGMANN G T, CRAINE J M, ROBESON M S, *et al.* Seasonal shifts in diet and gut microbiota of the American bison (*Bison bison*) [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0142409.
- [18] 李俊乐, 高惠, 滕丽微, 等. 阿拉善马鹿冬季肠道菌群的多样性 [J]. 野生动物学报, 2020, 41(1): 15–21. LI J L, GAO H, TENG L W, *et al.* Diversity of intestinal flora of Alashan red deer (*Cervus elaphus alashanicus*) in winter [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2020, 41(1): 15–21.
- [19] WANG L, DING J J, YANG Z S, *et al.* Père David's deer gut microbiome changes across captive and translocated populations: implications for conservation [J]. Evolutionary Applications, 2019, 12(3): 622–635.
- [20] ZHU Z L, SUN Y W, ZHU F, *et al.* Seasonal variation and sexual dimorphism of the microbiota in wild blue sheep (*Pseudois nayaur*) [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1260.
- [21] 袁耀华, 刘群秀, 裴恩乐. 基于 Illumina 高通量测序的马来熊 (*Helarctos malayanus*) 粪便菌群多样性初探 [J]. 野生动物学报, 2019, 40(4): 882–889. YUAN Y H, LIU Q X, PEI E L. Illumina-based analysis of the fecal microbe diversity of sun bears (*Helarctos malayanus*) [J]. Chinese Journal of Wildlife, 2019, 40(4): 882–889.
- [22] HUA Y, CAO H Q, WANG J, *et al.* Gut microbiota and fecal metabolites in captive and wild north China leopard (*Panthera pardus japonensis*) by comparison using 16S rRNA gene sequencing and LC/MS-based metabolomics [J]. BMC Veterinary Research, 2020, 16(1): 363.
- [23] NING Y, QI J Z, DOBBINS M T, *et al.* Comparative analysis of microbial community structure and function in the gut of wild and captive Amur tiger [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1665.
- [24] SUN Y W, SUN Y J, SHI Z H, *et al.* Gut microbiota of wild and captive Alpine musk deer (*Moschus chrysogaster*) [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 10: 3156.
- [25] 黄红雨, 赵虎, 王佳, 等. 铃铛刺花营养成分的测定和评价 [J]. 食品研究与开发, 2017, 38(7): 115–118. HUANG H Y, ZHAO H, WANG J, *et al.* Determination and evaluation on nutritional composition from *Halimodendron halodendron* flower [J]. Food Research and Development, 2017, 38(7): 115–118.
- [26] QIN W, LI J R, XU C H, *et al.* Complete mitochondrial genome of *Gazella subgutturosa reginae* (Bovidae: Antilopinae) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 2021, 6(8): 2310–2312.
- [27] 李承义, 何明珠, 唐亮. 荒漠生态系统磷循环及其驱动机制研究进展 [J]. 生态学报, 2022, 42(12): 5115–5124. LI C Y, HE M Z, TANG L. Advances on phosphorus cycle and their driving mechanisms in desert ecosystems: a review [J]. Acta Ecologica Sinica, 2022, 42(12): 5115–5124.
- [28] CHONG R, CHENG Y Y, HOGG C J, *et al.* Marsupial gut microbiome [J]. Frontiers in Microbiology, 2020, 11: 1058.
- [29] 李运杰, 贾梦可, 钱文熙. 塔里木马鹿、卡拉库尔羊和新疆褐牛对高纤维日粮的消化特性比较研究 [J]. 塔里木大学学报, 2021, 33(4): 95–100. LI Y J, JIA M K, QIAN W X. Comparative study on digestion characteristics of high fiber diet for Tarim red deer, Karakul sheep and Xinjiang brown cattle [J]. Journal of Tarim University, 2021, 33(4): 95–100.
- [30] WANG L, CHRISTOPHERSEN C T, SORICH M J, *et al.* Increased abundance of *Sutterella* spp. and *Ruminococcus torques* in feces of children with autism spectrum disorder [J]. Molecular Autism, 2013, 4(1): 42.
- [31] LUKIĆ I, GETSELTTER D, ZIV O, *et al.* Antidepressants affect gut microbiota and *Ruminococcus flavefaciens* is able to abolish their effects on depressive-like behavior [J]. Translational Psychiatry, 2019, 9: 133.
- [32] 王莉莉, 阿力木江·排尔哈提, 李莉伟, 等. 新疆胀果甘草遗传多样性的 ISSR 分析 [J]. 中草药, 2021, 52(22): 6975–6982. WANG L L, PARHAT A, LI L W, *et al.* Genetic diversity ISSR analysis of *Glycyrrhiza inflata* from Xinjiang [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2021, 52(22): 6975–6982.
- [33] MA Y, MA S, CHANG L, *et al.* Gut microbiota adaptation to high altitude in indigenous animals [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2019, 516(1): 120–126.
- [34] GUERRA V, TIAGO I, AIRES A, *et al.* The gastrointestinal microbiome of browsing goats (*Capra hircus*) [J]. PLoS One, 2022, 17(10): e0276262.
- [35] CAO H Q, YANG X W, PENG C C, *et al.* Gut microbiota reveals the environmental adaption in gastro-intestinal tract of wild boar in karst region of southwest China [J]. Annals of Microbiology, 2022, 72:9.