



梵净山同域分布黔金丝猴和藏酋猴肠道寄生虫比较研究

黄小龙^{1,2,3}, 李海波^{2,4}, 张旭^{1,2}, 程绍传^{1,2}, 晏玉莹^{1,2},
杨伟^{2,4}, 蒙秉顺¹, 王丞⁵, 杨杰⁶, 冉景丞^{1,2,3}

(1. 贵州省林业科学研究院, 贵阳, 550005;

2. 梵净山森林生态系统国家级定位观测研究站, 江口, 554400;

3. 贵州省林业科学研究院西南喀斯特山地生物多样性保护国家林业和草原局重点实验室, 贵阳, 550005;

4. 梵净山国家级自然保护区管理局, 江口, 554400;

5. 湖南张家界大鲵国家级自然保护区事务中心, 张家界, 427400;

6. 贵州师范大学生命科学学院, 贵阳, 550025)

稿件运行过程

收稿日期: 2024-01-18

修回日期: 2024-02-20



关键词: 黔金丝猴;
藏酋猴;
肠道寄生虫;
高通量测序;
功能预测

Keywords: *Rhinopithecus brelichi*;
Macaca thibetana;
Intestinal parasites;
High-throughput sequencing;
Functional prediction

中图分类号: Q958.9

文献标志码: A

文章编号:

2310-1490(2024)-04-0744-13

DOI: 10.12375/ysdwxb.20240407

摘要

肠道寄生虫可作为反映宿主生存状态的指标,为了解梵净山同域分布黔金丝猴(*Rhinopithecus brelichi*)和藏酋猴(*Macaca thibetana*)的肠道寄生虫组成,基于18S rRNA高通量测序技术对采集的42份冬季粪便样本进行鉴定。结果表明:共获得44个属于寄生虫类群的ASVs,归属于10门26属;二者的肠道寄生虫主要由线虫动物门(Nematoda)组成,其中鞭虫属(*Trichuris*)线虫为黔金丝猴的主要寄生类群,鞭虫属和宫脂线虫属(*Hysterothylacium*)线虫为藏酋猴的主要寄生类群;藏酋猴肠道寄生虫 α 多样性(Shannon、Simpson和Richness指数)均高于黔金丝猴,但未达到显著水平, β 多样性分析发现二者肠道寄生虫组成差异显著($R = 0.406, P < 0.05$);PICRUST1功能预测分析表明二者肠道寄生虫功能基因在Level 1水平上主要与生物合成、前体代谢物和能量的产生有关,且二者差异显著($P < 0.05$),在Level 2水平上与28类代谢通路相关,其中6类具有显著性差异;代谢通路物种组成差异分析表明,在属级分层上有14属与28类Level 2代谢通路相关联,每条代谢通路可由多种物种共同协作完成,并发挥不同程度的作用。本研究初步了解了梵净山同域分布黔金丝猴和藏酋猴的肠道寄生虫组成和功能,可为后续研究肠道寄生虫对宿主的影响及野生和圈养非人灵长类动物的保护提供思路。

基金项目: 贵州省林业科研项目(黔林科合J字[2022]10号,黔林科合J字[2022]13号,黔林科合[2024]14号);贵州省科技计划项目(黔科合支撑[2023]一般188,黔科合支撑[2024]一般129,黔科合服企[2023]009)

第一作者简介: 黄小龙(1989—),男,高级工程师;主要从事野生动植物保护与利用研究。E-mail:guidah365@126.com

* **通信作者:** 冉景丞, E-mail: Rjc68cn@163.com

The Comparative Study on Intestinal Parasites of *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* in Fanjingshan

HUANG Xiaolong^{1,2,3}, LI Haibo^{2,4}, ZHANG Xu^{1,2}, CHENG Shaochuan^{1,2}, YAN Yuying^{1,2}, YANG Wei^{2,4}, MENG Bingshun¹, WANG Cheng⁵, YANG Jie⁶, RAN Jingcheng^{1,2,3}

(1. Guizhou Academy of Forestry, Guiyang, 550005, China;

2. Guizhou Fanjingshan Forest Ecosystem National Observation and Research Station, Jiangkou, 554400, China;

3. Key Laboratory of National Forestry and Grassland Administration on Biodiversity Conservation in Karst Mountainous Areas of Southwestern China, Guizhou Academy of Forestry, Guiyang, 550005, China;

4. Fanjingshan National Nature Reserve Administration, Jiangkou, 554400, China;

5. Hunan Zhangjiajie Giant Salamander National Nature Reserve Affairs Center, Zhangjiajie, 427400, China;

6. School of Life Sciences Guizhou Normal University, Guiyang, 550025, China)

Abstract: Intestinal parasites could be used as the indicators of the host survival status. In order to understand the composition of intestinal parasites in *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* in Fanjingshan, China, forty-two winter feces samples were identified based on 18S rRNA high-throughput sequencing technology. The results showed that a total of 44 ASVs belong to parasite groups, including 26 genera, 10 phyla. The intestinal parasites of *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* were mainly composed of Nematoda, in which *Trichuris* nematode was the main parasitic group of *Rhinopithecus brelichi*, and *Trichuris* and *Hysterothylacium* nematode were the main parasitic group of *Macaca thibetana*. The alpha diversity indexes (Shannon, Simpson and Richness) of intestinal parasites in *M. thibetana* were higher than those in *Rhinopithecus brelichi*. The β -diversity analysis showed significant difference in intestinal parasite composition between the two groups ($R = 0.406$, $P < 0.05$). Functional prediction analysis of PICRUST showed that the functional genes of the two group intestinal parasites were mainly related to biosynthesis, generation of precursor metabolite and energy at the level 1, and there was a significant difference between *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* ($P < 0.05$). At the level 2, it was associated with 28 metabolic pathways, there were six types of metabolic pathways with significant differences. The analysis of species composition differences of metabolic pathways showed that 14 genera were associated with 28 types of level 2 metabolic pathways at the generic level, and each metabolic pathway could be completed jointly by multiple species and play different roles. Through the study, the intestinal parasite composition and function of *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* distributing in the same domain in Fanjingshan could be preliminary understood, which provided ideas for the subsequent study of the effects of intestinal parasites on the host and the protection of wild and captive non-human primates.

肠道寄生虫是动物赖以生存的生态网络中的重要组成部分,对宿主的生长发育和免疫疾病起着重要作用,可以作为宿主健康状况的重要指标^[1]。肠道寄生虫能够在不杀死宿主的情况下有效地存活和繁殖,并保持它们在宿主中继续繁殖的能力^[2]。然而,大多数寄生虫感染后可能导致宿主生理变化、营养紊乱^[3],有些寄生虫甚至可以感染动物的内脏和血液,导致动物消瘦、腹泻^[4],严重时可导致宿主自

然流产、先天畸形甚至死亡^[5]。非人灵长类动物是人类进化史上亲缘关系最近的类群,在认知能力、繁殖和生育等方面与人类具有高度同源性^[6-7],同时也是人类病原体(包括致病性病毒、细菌和寄生虫)的潜在宿主,因此比其他动物具有更高的人兽共患风险^[8]。现有研究对非人灵长类动物肠道寄生虫的情况了解较少,且与肠道寄生虫有关的研究主要限于圈养动物^[9-10],而由肠道寄生虫引起的传染性疾病可

能对濒危野生非人灵长类动物的保护构成重大威胁,甚至影响其生存和繁殖,同时携带的某些寄生虫类群可能具有潜在的人兽共患风险,可传播给共享同一栖息地的人,威胁人体健康^[11-12]。传统的肠道寄生虫鉴定主要采用沉淀法、漂浮法和染色等方法处理粪便样本,通过显微镜直接观察直径较大的寄生虫虫卵或卵囊,进而确定寄生虫的形态和感染率^[13-15],这些方法具有简便、快速等优点,但在很大程度上依赖寄生虫的形态大小,只有囊、卵和成虫才能被识别^[16]。高通量测序技术又被称为“下一代”测序技术,一次可以同时几十万到几百万的DNA分子进行序列测定,使得对特定物种的转录组和基因组进行细致全面地分析成为可能^[17]。本研究主要对18S rRNA基因的V9高度可变区进行PCR扩增来对黔金丝猴(*Rhinopithecus brelichi*)和藏酋猴(*Macaca thibetana*)的肠道寄生虫进行鉴定。该技术已被用于川金丝猴(*Rhinopithecus roxellana*)、赤褐倭狐猴(*Microcebus rufus*)和西部大猩猩(*Gorilla gorilla*)等非人灵长类动物粪便肠道寄生虫的检测中^[18-20]。

黔金丝猴是中国最濒危的灵长类动物之一,被列为国家一级重点保护野生动物^[21],仅分布于梵净山国家级自然保护区(以下简称“梵净山保护区”)内^[22-23],而藏酋猴是中国分布最广的灵长类动物之一,在梵净山保护区内广域分布,藏酋猴环境适应能力较强,生活在多种栖息地类型中^[24-25]。在梵净山保护区内二者栖息地空间重叠度极高,且冬季栖息地重叠更加明显,这与食物资源的可获得性有关,冬季食物资源比较匮乏,二者的食物竞争可能加剧^[26]。Yue *et al.*^[27]的研究表明同域分布的这两种灵长类,藏酋猴具有更宽的食物生态位,且在冬季二者的食物生态位几乎完全重叠。由于饮食结构相似,二者会通过竞争来获得资源和空间,相比于黔金丝猴,藏酋猴种群数量更多、活动范围更广,这使得藏酋猴能获得更多的资源和空间。有研究发现,野生藏酋猴理毛行为时间的长短影响不同肠道寄生虫的感染率^[28]。在峨眉山景区采集的藏酋猴粪便肠道寄生虫以筒线虫属(*Gongylonema*)和内阿米巴属(*Entamoeba*)为主^[29],在黄山生态旅游区采集的藏酋猴粪便中,美丽筒线虫(*Gongylonema pulchrum*)感染率最高^[30],表明不同栖息地分布的藏酋猴肠道寄生虫种类可能存在一定相似性。目前,关于黔金丝猴肠道寄生虫的研究主要集中在圈养种群,研究发现在中

国分布的3种金丝猴在圈养条件下对胃肠道寄生虫敏感,尤其以毛首属线虫(*Trichuris sp.*)的感染率最高^[31]。Wenz-Mücke *et al.*^[2]将接触人类环境的食蟹猕猴(*Macaca fascicularis*)种群与自然环境中的森林种群的肠道寄生虫进行比较,发现与人类接触频率更高的食蟹猕猴种群中粪类圆线虫(*Strongyloides stercoralis*)和单睾吸虫属(*Haplorchis sp.*)的感染率更高。动物肠道寄生虫种类可能与动物饮食结构、物种种类、栖息地和动物行为等息息相关。目前关于同域物种肠道寄生虫的研究较少,本研究旨在通过高通量测序技术确定共享栖息地黔金丝猴和藏酋猴的肠道寄生虫组成情况,有助于对两种动物健康状况和疾病风险的理解,对圈养和野生非人灵长类动物的保护具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区域和粪便收集

梵净山保护区(27°49'50"—28°1'30" N, 108°45'55"—108°48'30" E)位于贵州省东北部,武陵山脉主峰。保护区内动植物资源极其丰富,为多种珍稀濒危动植物提供了优良的栖息环境,是黔金丝猴野外种群的唯一栖息地^[23]。2022年10月,采集位于梵净山东北部的黔金丝猴和藏酋猴种群的新鲜粪便,采集时佩戴一次性医用手套,用一次性无菌镊和解剖刀剔除粪便样本表面的泥土、植物枝叶等附着物,选取无污染样本的中间部分装入50 mL冻存管中,标记后放入密封袋内,并记录现场地理信息(图1)。样本采集完后置于液氮罐中带回实验室,-80 °C保存备用。

1.2 DNA提取、PCR扩增及测序

在梵净山保护区共收集45份粪便样本,采用基于线粒体COI基因的DNA条形码技术对粪便样本进行鉴定,发现有31份属于黔金丝猴,11份属于藏酋猴,3份为无效样本。使用OMEGA Soil DNA Kit (D5625-01) (Omega Bio-Tek, Norcross, USA)试剂盒提取样本总DNA,并用0.8%琼脂糖凝胶电泳检测分子大小,用紫外分光光度计检测DNA浓度。采用以下引物对18S rRNA基因的V9高度可变区进行PCR扩增,目标长度200~300 bp, PE250测序,引物序列为Euk1391F (5'-GTACACACCGCCCGTC-3'), EukBR (5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3')。PCR扩增体系为Q5 high-fidelity DNA polymerase

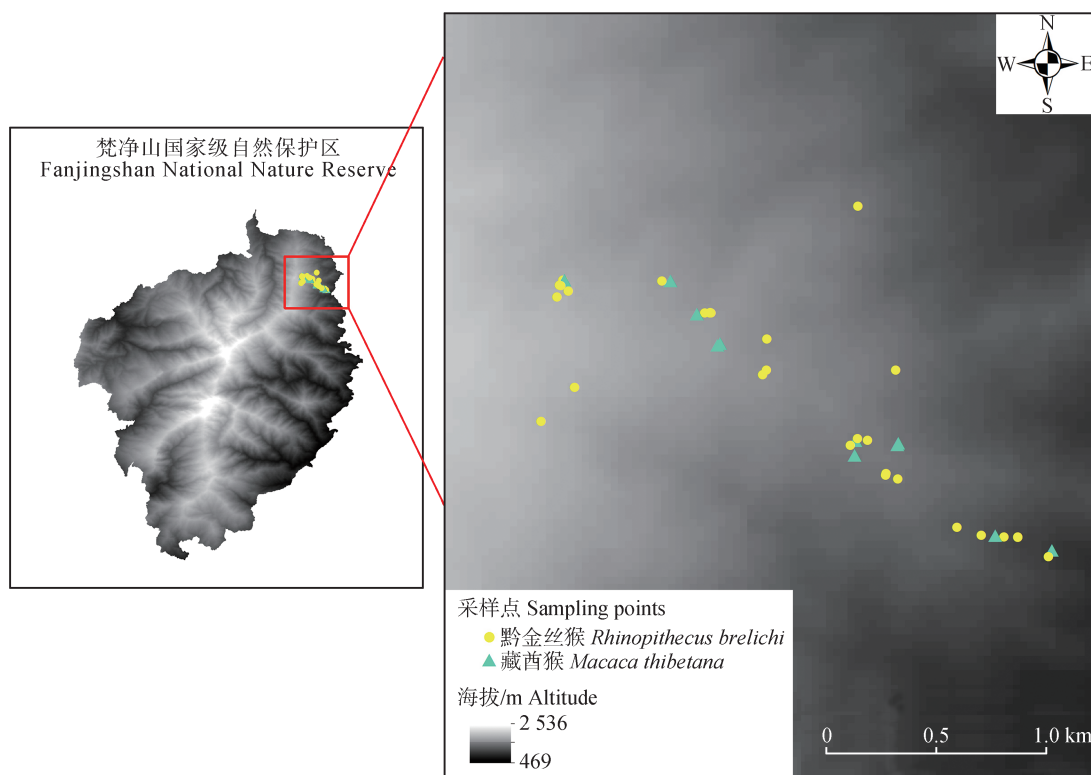


图1 粪便采样点分布

Fig. 1 Distribution of fecal sampling points

0.25 μL , 5 \times Reaction Buffer 5.00 μL , 5 \times High GC Buffer 5.00 μL , dNTP (10 mmol/L) 2.00 μL , 模板 DNA 2.00 μL (以 ddH₂O 为空白对照), 引物各 1.00 μL , ddH₂O 8.75 μL 。扩增 (PCR 仪: ABI GeneAmp[®] 2720) 程序: 98 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 30 s; 98 $^{\circ}\text{C}$ 变性 15 s, 50 $^{\circ}\text{C}$ 退火 30 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 30 s, 25 个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸 5 min, 最后 4 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。扩增产物进行 2.0% 琼脂糖凝胶电泳后送至上海派森诺生物科技有限公司 (Illumina NovaSeq 平台) 完成测序。

1.3 测序数据处理与注释

采用 Illumina 平台对群落 DNA 片段进行双端 (paired-end) 测序, 得到数据使用 QIIME2 2019.4 版本 (<https://docs.qiime2.org/2019.4/tutorials/>) 进行分析。具体分析流程: (1) 原始序列数据使用 demux 插件进行解码处理, qiime cutadapt trim-paired 切除序列的引物片段, 弃去未匹配引物的序列; (2) 用 qiime dada2 denoise-paired 调用 DADA2 进行质控、去噪、拼接和去嵌合体, 按照 100% 的序列相似度对获得的序列进行聚类, 生成扩增子序列变体特征序列 (amplicon sequence variants, ASVs) 以及丰度数据表格; (3) 采用 nt 数据库, 利用 BROCC 算法^[32], 首先使用

blastn, 将序列与 nt 数据库中的核酸或蛋白质序列进行比对, 再调用 brocc.py 脚本, 依据推荐的参数获取注释信息, 获取每个 ASVs 所对应的分类学信息。PICRUSt2 能在多个功能数据库中预测 18S rRNA 基因序列, 本研究选择 MetaCyc 数据库注释结果, 获得肠道寄生虫基因代谢通路丰度表。

1.4 统计分析

使用获得的 ASVs 物种注释丰度表, 统计各 ASVs 注释结果在每个样本中对应的丰度信息, 并且按照最小样本序列数对样本序列抽平, 然后使用派森诺基因云平台 (<https://www.genescloud.cn/home>) 绘制所有样本的 Goods_coverage 指数和 Shannon index 稀疏曲线, 以确定粪便样本测序相对充分; 使用美吉生物云平台 (<https://cloud.majorbio.com/page/tools.html>) 绘制二者门水平上的饼图, 属水平和种水平上的丰度 Circos 图。使用 QIIME2 软件计算 Chao1、Shannon、Simpson 和 Pielou 指数, 以分析肠道寄生虫组成多样性, Origin 软件绘制箱线图, 通过 Kruskal-Wallis 秩和检验和 Dunn-test 作为事后检验, 验证差异的显著性。采用主坐标分析 (principal coordinates analysis, PCoA) 和非度量多维尺度分析 (non-metric

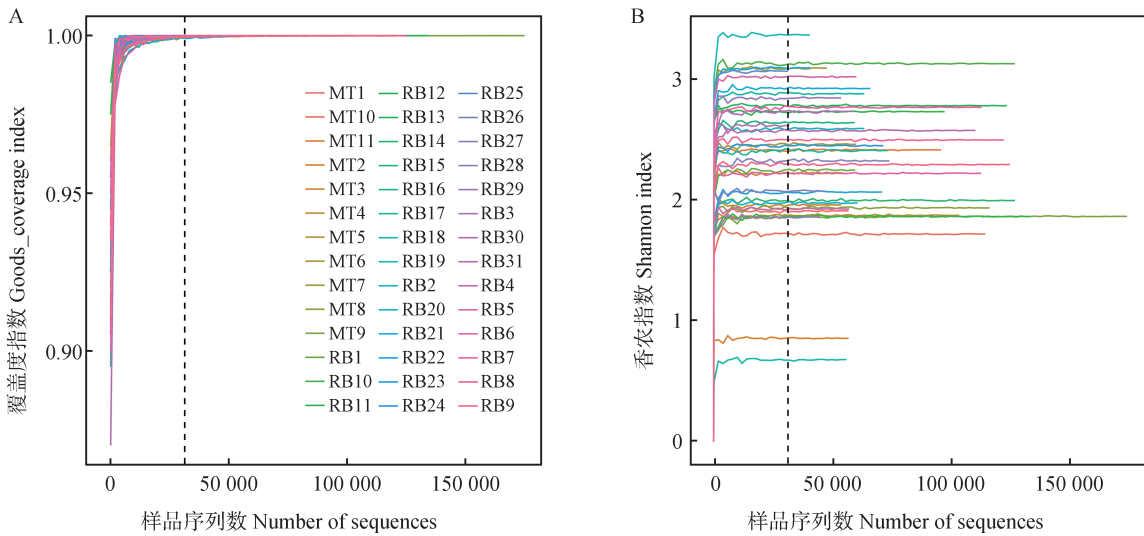
multidimensional scaling, NMDS)开展不同组间的 β 多样性分析,以比较二者肠道寄生虫组成的差异性。基于Bray-Curtis相似性距离算法,采用相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)进行组间差异性检验。基于MetaCyc数据库比对获得MetaCyc肠道寄生虫基因功能丰度信息,进行二者代谢功能相关的组间分析;根据adj *P* value和log₂(fold change)筛选组间差异代谢通路,并对代谢通路上的物种组成进行分析。PCoA、NMDS和KEGG差异柱状图均使用联川生物云平台(<https://www.omicstudio.cn/home>)绘制。

2 结果与分析

2.1 样本序列统计分析

42份粪便样本原始序列经质控后得到有效序列

3 991 238条,其中黔金丝猴2 914 959条,藏酋猴1 076 279条。所有样本的Goods_coverage稀疏曲线均变为一渐近线(图2A),Shannon指数的稀疏曲线逐渐趋于平缓(图2B),表明所有样本的菌群多样性已达到平台期,黔金丝猴(RB)和藏酋猴(MT)粪便样本菌群测序相对充分。将获得的序列按100%的相似度进行归并,共获得1 579个ASVs,黔金丝猴与藏酋猴样本中分别鉴定出1 321个和516个ASVs(图3A)。将获得的1 579个ASVs去除不是寄生虫的类群后,共有44个ASVs属于寄生虫类群,其中约70.45%的ASVs由黔金丝猴特有,二者共有的ASVs为5个,占比约为11.36%(图3B)。



MT. 藏酋猴;RB. 黔金丝猴。下同。
MT. *Macaca thibetana*; RB: *Rhinopithecus brelichi*. The same blow.

图2 42份样本的Goods_coverage(A)和Shannon指数(B)稀疏曲线
Fig. 2 The rarefaction curves of Goods_coverage (A) and Shannon index (B) for the 42 samples

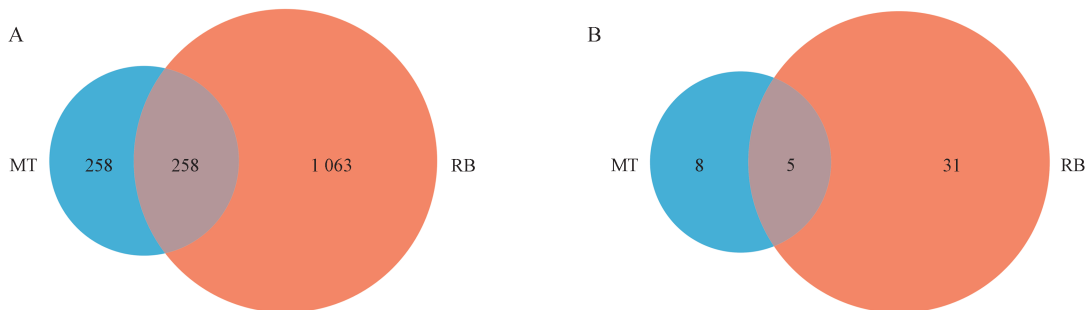
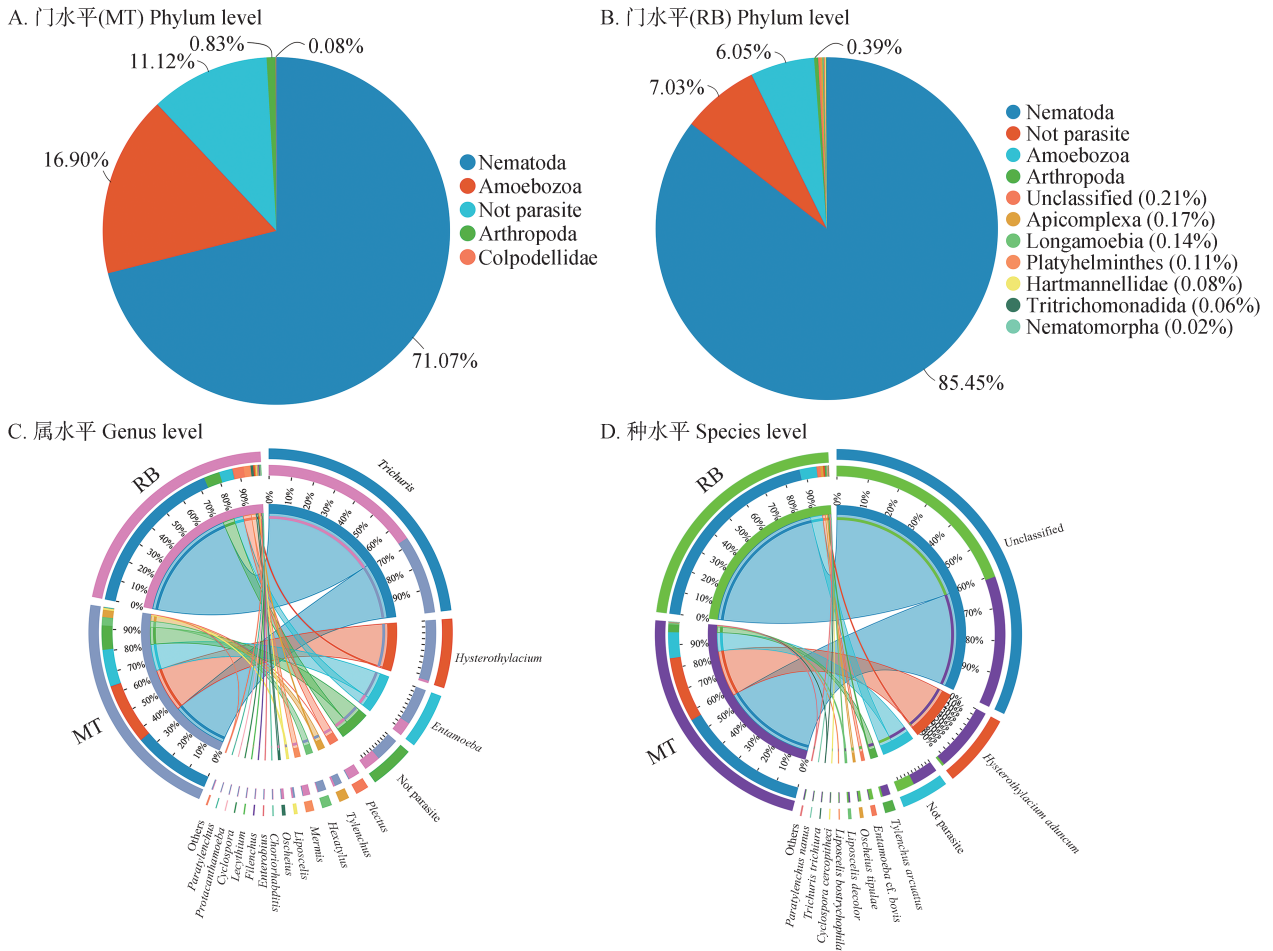


图3 有效序列聚类后(A)和属于肠道寄生虫序列聚类后(B)的韦恩图
Fig. 3 Venn diagram after effective sequence clustering (A) and belonging to intestinal parasite sequence clustering (B)

2.2 肠道寄生虫组成

对获得的44个属于寄生虫类群的ASVs进行不同分类水平鉴定,可划分为10门26属。在门水平上,藏酋猴共鉴定出4门,分别为线虫动物门(Nematoda)、变形虫门(Amoebozoa)、节肢动物门(Arthropoda)和Colpodellidae,相对丰度分别为71.07%、16.90%、0.83%和0.08%(图4A);黔金丝猴共鉴定出10门,丰度较高的类群为线虫动物门(85.45%)和变形虫门(6.05%),其他类群相对丰度均在5.00%以下(图4B)。在属水平上(丰度小于0.10%的类群被合并为others),藏酋猴共鉴定到9属,其中鞭虫属(*Trichuris*)、宫脂线虫属(*Hysterothylacium*)、内阿米

巴属、*Hexatylys*和垫刃线虫属(*Tylenchus*)相对丰度较高;黔金丝猴共鉴定到23属,其中鞭虫属、内阿米巴属、绕线属(*Plectus*)、索线虫属(*Mermis*)和小杆属(*Oscheius*)相对丰度较高(图4C)。二者肠道寄生虫存在共有属,分别为宫脂线虫属、内阿米巴属、书虱属(*Liposcelis*)、绕线属、鞭虫属和垫刃线虫属。从种水平上看(丰度小于0.1%的类群被合并为others),共有18种寄生虫可鉴定到种水平,藏酋猴肠道寄生虫以内弯宫脂线虫(*Hysterothylacium aduncum*)的丰度最高,其次为弓形垫刃线虫(*Tylenchus arcuatus*);黔金丝猴以*Entamoeba cf. bovis*和小杆线虫(*Oscheius tipulae*)丰度较高,其他类群丰度较低(图4D)。



C、D.左半圆表示样本的物种组成,外层彩带代表样本来自哪一分组,内层彩带的颜色代表不同的物种,长度代表该物种在对应样本中的相对丰度;右半圆表示该分类水平下物种在不同样本中的分布比例,外层彩带代表物种,内层彩带的颜色代表分组,长度代表该样本在某一物种中的分布比例。

The left half circle of C, D diagram represents the species composition of the sample, the outer color band represents the sample group, the color of the inner color band represents different species, and the length represents the relative abundance of the species in the corresponding sample. The right half circle represents the distribution ratio of species in different samples, the outer band represents the color of the inner band of species represents different samples, and the length represents the distribution ratio of the sample in a certain species.

图4 藏酋猴(MT)和黔金丝猴(RB)在门水平、属水平和种水平上的肠道寄生虫组成

Fig. 4 Composition of intestinal parasites in *Macaca thibetana* and *Rhinopithecus brelichi* at phylum level, genus level and species level

2.3 肠道寄生虫多样性分析

根据黔金丝猴和藏酋猴肠道寄生虫 ASVs 数量, 对其进行 α 多样性分析。如图 5A-D 所示, 藏酋猴肠道寄生虫类群 Shannon、Simpson 和 Richness 指数均高于黔金丝猴肠道寄生虫类群, 但 3 种指数在二者间均无显著差异性; 而黔金丝猴的 Chao1 指数高于藏酋猴, 但无显著差异。基于 Bray-Curtis 距离矩阵的 β 多

样性分析表明, PCoA 分析解释了二者肠道寄生虫类群总变异的 50.67%, 藏酋猴有 6 个样本点与黔金丝猴样本点明显分开, 二者肠道寄生虫组成差异显著 ($P < 0.05$, 图 5E); 此外 NMDS 分析表明, Stress 值为 0.195, 小于 0.200, 可较好地反映数据真实排列信息并准确反映藏酋猴与黔金丝猴肠道寄生虫类群组成的差异程度, 其结果与 PCoA 分析结果一致 (图 5F)。

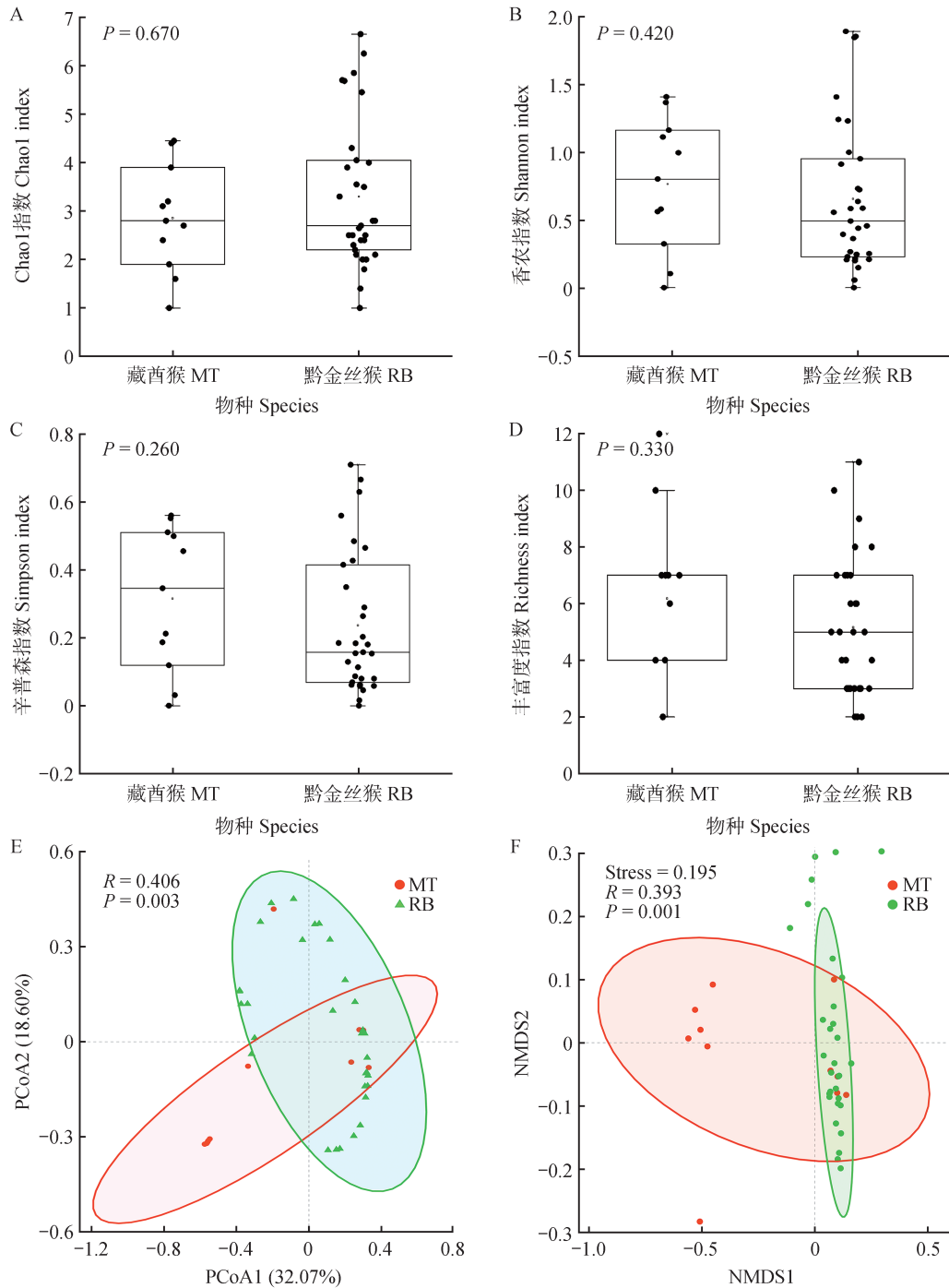


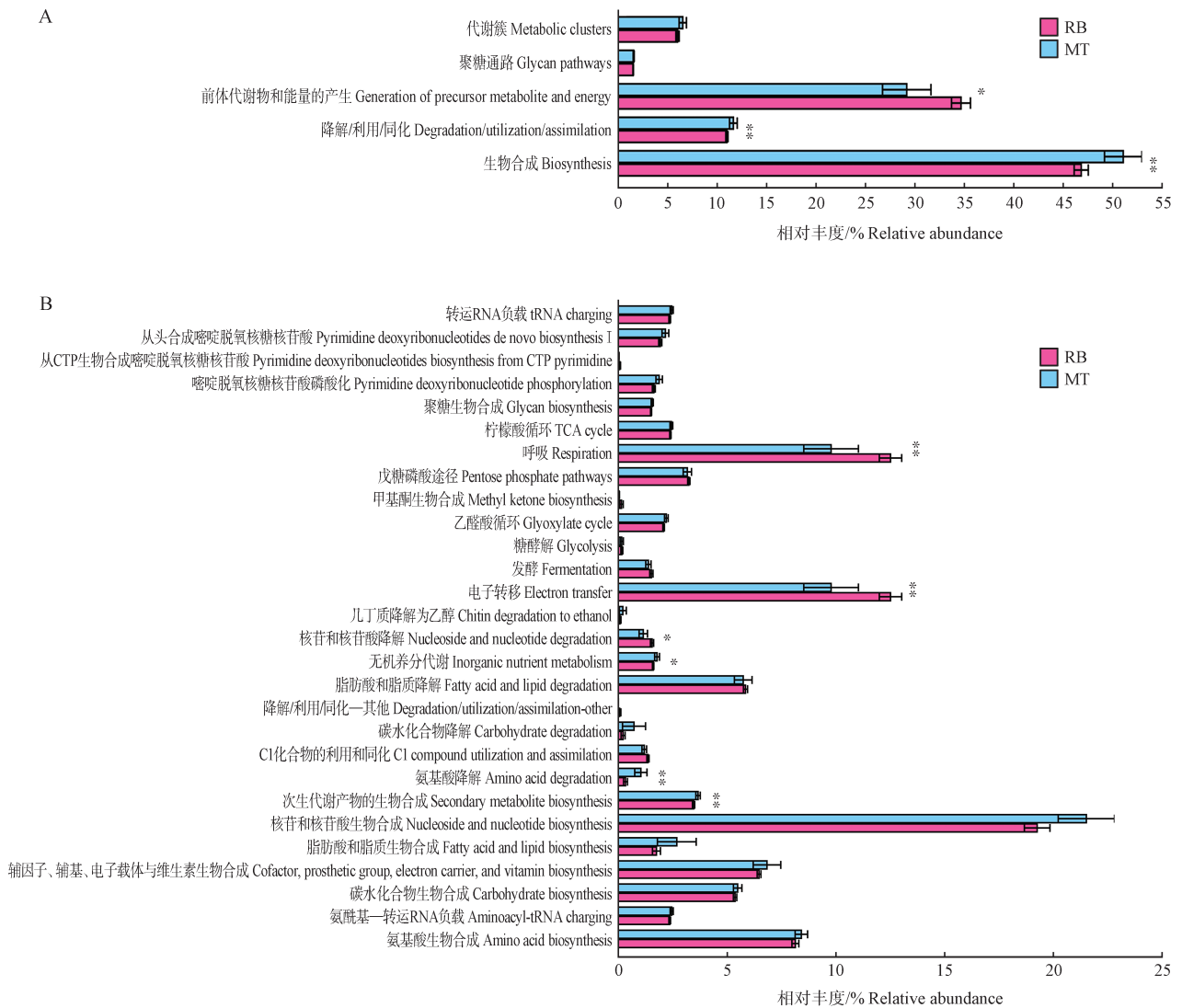
图5 藏酋猴(MT)与黔金丝猴(RB)肠道寄生虫多样性分析(A-D)及PCoA(E)和NMDS(F)聚类分析

Fig. 5 Intestinal parasite diversity analysis(A-D) and PCoA(E) and NMDS(F) cluster analysis of *Macaca thibetana*(MT) and *Rhinopithecus brelichi*(RB)

2.4 肠道寄生虫功能富集差异分析

基于MetaCyc数据库进行肠道寄生虫基因功能注释分析可知,在Level 1水平上,二者肠道寄生虫基因与5类代谢通路相关,其中有3类代谢通路具有显著性差异。藏酋猴生物合成(biosynthesis)和降解/利用/同化(degradation/utilization/assimilation)的功能基因丰度显著高于黔金丝猴,而前体代谢物和能量的产生(generation of precursor metabolite and energy)的功能基因丰度显著低于黔金丝猴(图6A)。在Level 2水平上,二者肠道寄生虫基因与28类代谢通路相关,其中有6类代谢通路具有显著性差异。藏酋猴次生代谢产物的生物合成(secondary metabolite biosynthesis)、氨基酸降解(amino acid degradation)和

无机养分代谢(inorganic nutrient metabolism)3类功能基因的丰度显著高于黔金丝猴,而核苷与核苷酸降解(nucleoside and nucleotide degradation)、电子转移(electron transfer)和呼吸(respiration)3类功能基因的丰度显著低于黔金丝猴(图6B)。生物合成是二者肠道寄生虫基因最主要的功能(RB丰度46.83%,MT丰度51.08%),主要集中在核苷和核苷酸生物合成(nucleoside and nucleotide biosynthesis)、氨基酸生物合成(amino acid biosynthesis)、辅因子、辅基、电子载体与维生素生物合成(cofactor, prosthetic group, electron carrier, and vitamin biosynthesis)及碳水化合物生物合成(carbohydrate biosynthesis)等。



*. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$ 。

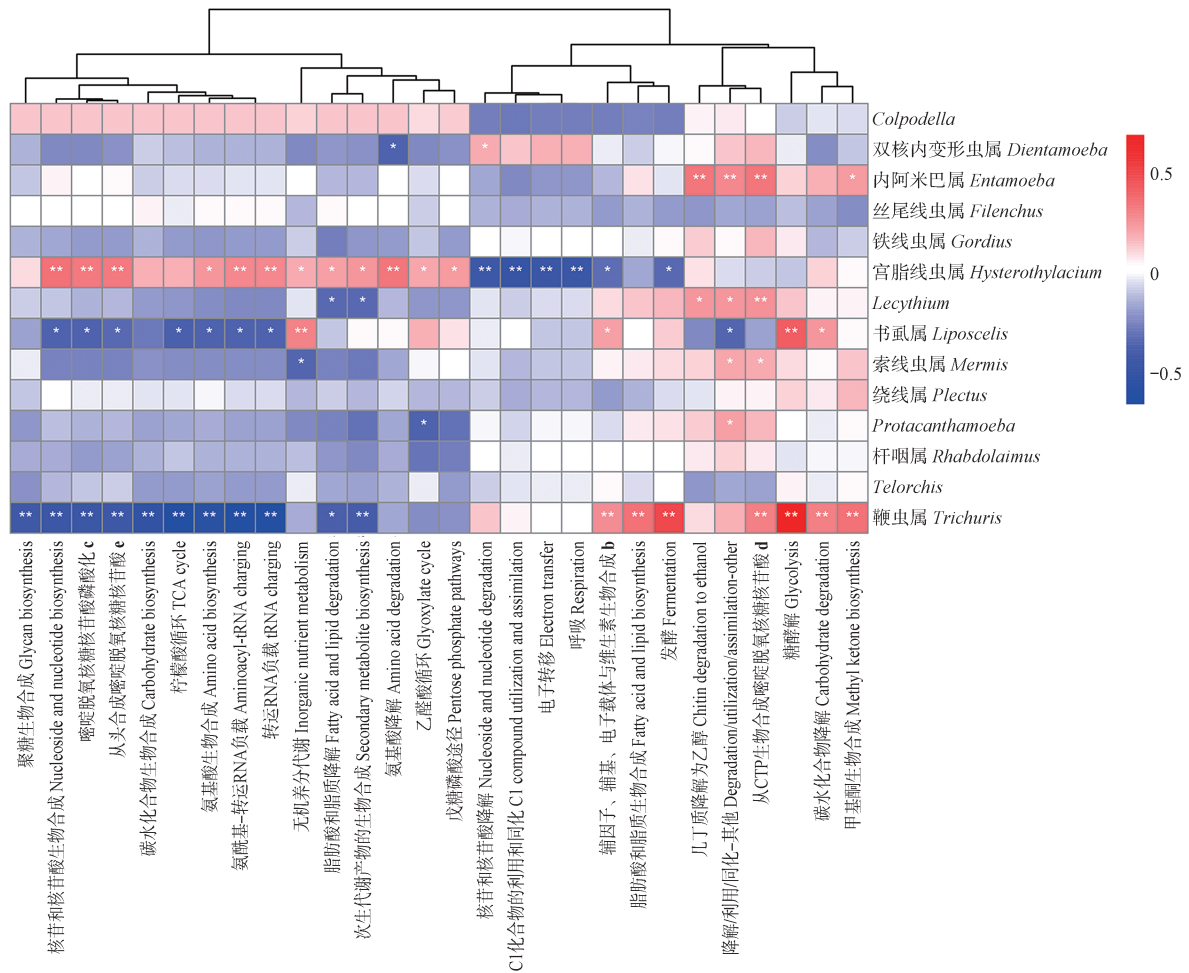
图6 基于MetaCyc数据库的功能注释及Level 1(A)、Level 2(B)水平上代谢功能的组间差异

Fig. 6 Functional annotation based on MetaCyc database and analysis of inter-group differences in metabolic function at Level 1 (A) and Level 2 (B)

2.5 代谢通路物种组成差异分析

为了解哪些物种编码了这些具有功能潜能的基因,使用分层的样本代谢通路丰度表进行通路的物种组成分析。在属级分层上,有14属与二者的28类Level 2代谢通路相关联,每条代谢通路可由多种物种共同协作完成。由图7可知,在藏酋猴与黔金丝猴肠道中,丰度最高的鞭虫属线虫与核苷和核苷酸生物合成、氨基酸生物合成、转运RNA负载(tRNA charging)、脂肪酸和脂质降解(fatty acid and lipid degradation)以及次生代谢产物的生物合成等代谢通路呈显著负相关,而与丰度第二的宫脂线虫属线虫呈显著正相关。潜在致病性内阿米巴属线虫与从CTP生物合成嘧啶脱氧核糖核苷酸(pyrimidine de-

oxyribonucleotides biosynthesis from CTP)、降解/利用/同化-其他、几丁质降解为乙醇(chitin degradation to ethanol)和甲基酮生物合成(methyl ketone biosynthesis)4类代谢通路呈显著正相关。丰度较低的类群书虱属与多数代谢通路呈显著负相关;双核内变形虫属(*Dientamoeba*)丰度与氨基酸降解代谢通路呈显著负相关,与核苷和核苷酸降解代谢通路呈显著正相关;*Protacanthamoeba* 丰度与乙醛酸循环(glyoxylate cycle)代谢通路呈显著负相关,与降解/利用/同化-其他代谢通路呈显著正相关;*Colpodella*、铁线虫属(*Gordius*)、杆咽属(*Rhabdolaimus*)和*Telorchis*等类群与不同代谢通路呈不同程度的相关性,但无显著差异。



颜色深浅表示相关程度,红色表示正相关,蓝色表示负相关。* $P < 0.05$; ** $P < 0.01$ 。b. 辅因子、辅基、电子载体与维生素生物合成;c. 嘧啶脱氧核糖核苷酸磷酸化;d. 从CTP生物合成嘧啶脱氧核糖核苷酸;e. 从头合成嘧啶脱氧核糖核苷酸。

Color depth indicates degree of correlation, positive correlation is shown in red, negative correlation is shown in blue. * $P < 0.05$; ** $P < 0.01$. b. Cofactor, prosthetic group, electron carrier, and vitamin biosynthesis; c. Pyrimidine deoxyribonucleotide phosphorylation; d. Pyrimidine deoxyribonucleotides biosynthesis from CTP pyrimidine; e. Pyrimidine deoxyribonucleotides de novo biosynthesis I.

图7 物种组成丰度与Level 2代谢通路的Spearman相关性热图

Fig. 7 Spearman correlation heat map of species composition abundance and Level 2 metabolic pathways

3 讨论与结论

3.1 肠道寄生虫组成与多样性

肠道寄生虫感染往往导致宿主免疫力下降、体质减轻,严重时甚至影响宿主生存和繁殖,使种群数量受到严重威胁^[33]。黔金丝猴种群仅在梵净山保护区内分布,数量稀少,栖息地活动范围又与藏酋猴高度重叠,因此交叉感染寄生虫的风险更高。本研究表明,在所有检测样本中,二者肠道寄生虫主要由线虫动物门组成,其中鞭虫属线虫为主要寄生类群,且在黔金丝猴肠道内的丰度高于藏酋猴。二者肠道内均存在的毛首鞭形线虫(*Trichuris trichiura*),简称鞭虫,是金丝猴体内常见且危害严重的一种寄生虫^[34]。鞭虫主要通过口服食物、水和土壤中存在的具有传染性的虫卵进行传播,在各种哺乳动物宿主中引起鞭虫病^[35],研究者已在川金丝猴、食蟹猕猴和猕猴(*Macaca mulatta*)等猴类体内发现多种鞭虫属寄生线虫^[35-37]。此外,宫脂线虫属线虫也是藏酋猴肠道内的主要寄生类群,有研究发现该属寄生线虫可造成猕猴黏膜出血损坏,也是人畜共患寄生线虫,是一种危害公共健康的潜在病原^[38]。本研究发现,内弯宫脂线虫在藏酋猴肠道内丰度最高,其主要是大多数鱼类感染较严重的寄生虫^[39],即使该物种广泛分布于鱼类中,但其与人类感染和病理的关系仍然值得探索^[40]。先前的研究表明,内弯宫脂线虫只生活在冷血生物中,因此它不适应哺乳动物消化道中普遍存在的条件,通常被认为是非人畜共患^[41]。目前关于该寄生虫对藏酋猴的危害原理尚不清楚,而它在藏酋猴肠道内广泛分布的原因可能是在冬季食物缺乏时,藏酋猴易接触到人类,通过人类投喂的某些食物或饮水感染。垫刃线虫属主要是寄生在植物和土壤中的线虫^[42-43],而弓形垫刃线虫在藏酋猴体内丰度较高可能是与其倾向于在地上取食有关,目前关于该线虫对藏酋猴的危害尚不清楚。小杆线虫属于小杆目(*Rhabditia*),通常存在于土壤环境、脊椎动物和人类体内,其主要食物来源是细菌,因此该类群很容易在各种环境中生长和维持,目前关于该线虫的研究主要集中在对土壤和昆虫的危害上,关于脊椎动物还尚未有研究^[44-46],在黔金丝猴体内丰度较高可能是在地面取食时进行的传播。本研究发现,潜在致病性内阿米巴属寄生虫在二者肠道内也广泛分布,先前的研究表明该属寄生虫在滇金丝猴

(*Rhinopithecus bieti*)、川金丝猴和猕猴等猴类中也广泛分布,也是一种常见的人兽共患寄生虫^[47-48]。

本研究发现的44个属于寄生虫类群的ASVs中,仅有11.36%的ASVs属于二者共有,黔金丝猴和藏酋猴分别发现了31个(70.45%)和8个(18.18%)不同的ASVs,说明二者肠道寄生虫组成及丰度存在差异, β 多样性分析也表明二者肠道寄生虫群落结构组间差异显著。肠道寄生虫群落具有一定的可塑性,有研究表明同一栖息地生存的两种猕猴属(*Macaca*)动物肠道寄生虫组成差异显著^[49],表明遗传因素可影响肠道寄生虫的组成。藏酋猴肠道寄生虫丰富度高于黔金丝猴,可能是在梵净山保护区内藏酋猴具有更大的种群规模、更多的种间接触以及更喜欢在靠近人类的生境活动,这些条件更有利于促进寄生虫的传播。高种群密度被认为能够增加寄生虫感染的风险,有研究报道称,生活在墨西哥东南部的墨西哥吼猴(*Alouatta palliata mexicana*)和懒吼猴(*A. pigra*)由于前者种群规模更大,个体中感染*Trypanoxyuris minutus*的概率更高,表明种群密度在寄生虫的传播中起着重要作用^[50]。此外,有研究发现动物地面觅食的时间与寄生虫感染呈正相关^[2],而黔金丝猴在冬季表现出对树芽的“专食性”,更多在树冠层活动,而藏酋猴更多在地面活动^[24]。另有研究发现共享栖息地的青长尾猴(*Cercopithecus mitis*)和灰颊冠白脸猴(*Lophocebus albigena*)肠道寄生虫的多样性、均匀度和丰富度均无显著性差异^[51],这可能与二者之间共享食物和水等基本资源有关。高通量测序技术与传统鉴定方法相比,虽然能更全面地鉴定动物肠道寄生虫种类,但仍存在一定局限,如只能以相对丰度表征物种数量,大多数寄生虫也仅能鉴定到属水平,仅有少部分寄生虫能鉴定到种水平。

3.2 肠道寄生虫功能预测

通过MetaCyc数据库比对发现,黔金丝猴和藏酋猴肠道寄生虫编码的大多数基因与生物合成有关,且在二者间差异显著,在Level 2水平上核苷和核苷酸生物合成代谢通路丰度最高。核苷酸参与哺乳动物肠道的生长发育及肝脏的生长,还参与上皮细胞的增殖、成熟和凋亡过程^[52]。在二者肠道内丰度最高的鞭虫属线虫与核苷和核苷酸生物合成代谢通路呈显著负相关关系,表明鞭虫属对该代谢通路起到抑制作用。有研究表明核苷和核苷酸可增强T细胞介导的免疫反应,能增加宿主对病原菌感染的

抵抗力,缺乏核苷和核苷酸可能会对细胞介导的免疫反应和肠道发育产生不利影响^[53]。二者 Level 2 水平上有 6 类代谢通路具有显著性差异,推测可能与宿主本身、寄生虫种类组成及代谢活动有关。研究证明,代谢潜力是控制病原体毒力及其在感染宿主体中生存的关键因素,通过调节代谢能力,寄生虫能够根据宿主环境的变化调整生长,为广泛的宿主范围提供潜在途径^[54]。由于寄生虫与宿主共同经历了长期的进化选择过程,一些寄生虫已经适应了宿主免疫系统的识别和清除作用,而且宿主对寄生虫长期的慢性感染也产生了一定程度的耐受^[55]。肠道寄生虫经常引起肠道炎症,病原体会引起宿主生理变化,如果这些变化对寄生虫有益,就会被基因选择^[56]。本研究结果表明,在属级分层上有 14 属寄生虫参与二者的 28 类 Level 2 代谢通路途径,每条代谢通路是由多种物种协作完成,不同物种可参与不同的代谢通路途径。已有研究证明肠道寄生虫的代谢活动、寄生部位与宿主免疫系统的相互作用影响肠道菌群的多样性^[57],由于在脊椎动物宿主体内的肠道菌群与肠道寄生虫共享相同的环境,它们相互作用对维持肠道内稳态至关重要,各种肠道和肠外疾病都与生态失调有关,当肠道菌群失调时,个体更容易感染机会性病原体^[58-59]。尽管绝大多数宿主同时感染多种寄生虫,但大多数研究寄生虫对个体宿主或者宿主种群的影响都集中在对单一寄生虫物种上^[60],因此本研究结果可为后续研究肠道寄生虫对宿主的影响以及野生和圈养非人灵长类动物的保护提供思路。

参考文献:

- [1] VITAZKOVA S K, WADE S E. Parasites of free-ranging black howler monkeys (*Alouatta pigra*) from Belize and Mexico [J]. American Journal of Primatology, 2006, 68(11): 1089-1097.
- [2] WENZ-MÜCKE A, SITHITHAWORN P, PETNEY T N, et al. Human contact influences the foraging behaviour and parasite community in long-tailed macaques [J]. Parasitology, 2013, 140(6): 709-718.
- [3] RONDÓN S, ORTIZ M, LEÓN C, et al. Seasonality, richness and prevalence of intestinal parasites of three neotropical primates (*Alouatta seniculus*, *Ateles hybridus* and *Cebus versicolor*) in a fragmented forest in Colombia [J]. International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife, 2017, 6(3): 202-208.
- [4] TEO S Z, TUEN A A, MADINAH A, et al. Occurrence of gastrointestinal nematodes in captive non-human primates at Matang Wildlife Centre, Sarawak [J]. Tropical Biomedicine, 2019, 36(3): 594-603.
- [5] LI M, ZHAO B, LI B, et al. Prevalence of gastrointestinal parasites in captive non-human primates of twenty-four zoological gardens in China [J]. Journal of Medical Primatology, 2015, 44(3): 168-173.
- [6] LIU Z J, QIAN X K, HONG M H, et al. Global view on virus infection in non-human primates and implications for public health and wildlife conservation [J]. Zoological Research, 2021, 42(5): 626-632.
- [7] 陆媚静, 范鹏来, 孙涛, 等. 非人灵长类动物肠道寄生虫与宿主相互作用的研究进展 [J]. 广西师范大学学报(自然科学版), 2022, 40(5): 354-365.
- [8] LU M J, FAN P L, SUN T, et al. Research progress on interaction between non-human primate gastrointestinal parasite and host [J]. Journal of Guangxi Normal University (Natural Science Edition), 2022, 40(5): 354-365.
- [9] MENU E, DAVOUST B, MEDIANNIKOV O, et al. Occurrence of ten protozoan enteric pathogens in three non-human primate populations [J]. Pathogens, 2021, 10(3): 280.
- [10] SMEJKALOVÁ P, PETRŽELKOVÁ K J, POMAJBÍKOVÁ K, et al. Extensive diversity of intestinal trichomonads of non-human primates [J]. Parasitology, 2012, 139(1): 92-102.
- [11] DOS SANTOS C S, DE JESUS V L T, MCINTOSH D, et al. Morphological, ultrastructural, and molecular characterization of intestinal tetratrichomonads isolated from non-human primates in southeastern Brazil [J]. Parasitology Research, 2017, 116(9): 2479-2488.
- [12] PAFČO B, TEHLÁROVÁ Z, POMAJBÍKOVÁ K J, et al. Gastrointestinal protists and helminths of habituated agile mangabeys (*Cercocebus agilis*) at Bai Hokou, Central African Republic [J]. American Journal of Primatology, 2018, 80(2): e22736.
- [13] KEBEDE T, BECH N, ALLIENNE J F, et al. Genetic evidence for the role of non-human primates as reservoir hosts for human schistosomiasis [J]. PLoS Neglected Tropical Diseases, 2020, 14(9): e0008538.
- [14] GUERRERO M F, SERRANO-MARTÍNEZ E, TANTALEÁN V M, et al. Identification of gastrointestinal parasites in nonhuman primates of the Pucallpa Natural Zoological Park, Peru [J]. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú, 2012, 23(4): 469-478.
- [15] 范克伟, 张宁, 孙晓双, 等. 采用 Mini-Flotac 和 PCR 方法检测圈养野生动物肠道寄生虫 [J]. 中国预防兽医学报, 2020, 42(2): 195-199.
- [16] FAN K W, ZHANG N, SUN X S, et al. A survey of gastrointestinal parasites in zoo animals by Mini-Flotac and PCR from Fujian, China [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2020, 42(2): 195-199.
- [17] VONFELD I, PRENANT T, POLACK B, et al. Gastrointestinal parasites in non-human primates in zoological institutions in France [J]. Parasite, 2022, 29: 43.
- [18] WYLEZICH C, CACCIO S M, WALOCHNIK J, et al. Untargeted metagenomics shows a reliable performance for synchro-

- nous detection of parasites [J]. *Parasitology Research*, 2020, 119(8): 2623-2629.
- [17] 孙翌昕, 李英滨, 李玉辉, 等. 高通量测序技术在线虫多样性研究中的应用[J]. *生物多样性*, 2022, 30(12): 200-210. SUN Y X, LI Y B, LI Y H, *et al.* Application of high-throughput sequencing technique in the study of nematode diversity [J]. *Biodiversity Science*, 2022, 30(12): 200-210.
- [18] ZHAO G H, CONG M M, BIAN Q Q, *et al.* Molecular characterization of *Cyclospora*-like organisms from golden snub-nosed monkeys in Qinling Mountain in Shaanxi Province, northwestern China [J]. *PLoS One*, 2013, 8(2): e58216.
- [19] AIVELO T, MEDLAR A, LÖYTYNOJA A, *et al.* Tracking year-to-year changes in intestinal nematode communities of rufous mouse lemurs (*Microcebus rufus*) [J]. *Parasitology*, 2015, 142(8): 1095-1107.
- [20] VLČKOVÁ K, KREISINGER J, PAFČO B, *et al.* Diversity of *Entamoeba* spp. in African great apes and humans: an insight from Illumina MiSeq high-throughput sequencing [J]. *International Journal for Parasitology*, 2018, 48(7): 519-530.
- [21] 国家林业和草原局, 农业农村部. 国家重点保护野生动物名录(2021年2月1日修订)[J]. *野生动物学报*, 2021, 42(2): 605-640. National Forestry and Grassland Administration, Ministry of Agriculture and Rural Affairs. List of national key protected wild animals (revised on February 1, 2021) [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2021, 42(2): 605-640.
- [22] GUO Y Q, ZHOU J, XIE J H, *et al.* Altitudinal ranging of the Guizhou golden monkey (*Rhinopithecus brelichi*): patterns of habitat selection and habitat use [J]. *Global Ecology and Conservation*, 2018, 16: e00473.
- [23] 王丞, 李海波, 杨朝辉, 等. 梵净山东北部同域黔金丝猴与藏酋猴的时空分布格局[J]. *林业科学*, 2022, 58(3): 117-128. WANG C, LI H B, YANG C H, *et al.* Temporal and spatial distribution patterns of *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* in the same region of the northeast Fanjingshan [J]. *Scientia Silvae Sinicae*, 2022, 58(3): 117-128.
- [24] 王丞, 粟海军, 胡灿实, 等. 梵净山保护区同域分布黔金丝猴与藏酋猴的空间分布初探[J]. *兽类学报*, 2020, 40(2): 193-200. WANG C, SU H J, HU C S, *et al.* Spatial distribution of sympatric *Rhinopithecus brelichi* and *Macaca thibetana* in Fanjingshan National Nature Reserve, Guizhou, China [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2020, 40(2): 193-200.
- [25] LI W B, YANG P P, XIA D P, *et al.* Current distribution of two species of Chinese macaques (*Macaca arctoides* and *Macaca thibetana*) and the possible influence of climate change on future distribution [J]. *American Journal of Primatology*, 2023, 85(6): e23493.
- [26] 贾伟, 何青青, 闫莎莎, 等. 梵净山黔金丝猴与藏酋猴冬季生态位分化初探[J]. *动物学杂志*, 2022, 57(4): 503-513. JIA W, HE Q Q, YAN S S, *et al.* Preliminary study on the niche differentiation of grey snub-nosed monkey and Tibetan macaque in Fanjing Mountain in winter and spring [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2022, 57(4): 503-513.
- [27] YUE L, WANG C, MENG B S, *et al.* The food niche overlap and interspecific relationship between the sympatric Tibetan macaque and grey snub-nosed monkey [J]. *Animals*, 2023, 13(15): 2536.
- [28] 张洁, 陈仕望, 田红卫, 等. 野生藏酋猴理毛行为与肠道寄生虫感染的关系[J]. *兽类学报*, 2024, 44(1): 50-57. ZHANG J, CHEN S W, TIAN H W, *et al.* The relationship between grooming behavior and parasite infections in wild Tibetan macaques [J]. *Acta Theriologica Sinica*, 2024, 44(1): 50-57.
- [29] YANG J D, OKYERE S K, ZHENG J, *et al.* Seasonal prevalence of gastrointestinal parasites in macaques (*Macaca thibetana*) at Mount Emei scenic area in China [J]. *Animals*, 2022, 12(14): 1816.
- [30] ZHU Y, JI H, LI T H, *et al.* First report of the wild Tibetan macaque (*Macaca thibetana*) as a new primate host of *Gongylonema pulchrum* with high incidence in China [J]. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 2012, 11(24): 4514-4518.
- [31] 贾婷, 赵素芬, 罗静, 等. 阿苯达唑对3种金丝猴毛首线虫驱虫效果试验[J]. *中国兽医杂志*, 2021, 57(4): 117-122; 129. JIA T, ZHAO S F, LUO J, *et al.* Study on the insecticidal effect of albendazole on *Trichurus* sp. of three kinds of golden monkeys [J]. *Chinese Journal of Veterinary Medicine*, 2021, 57(4): 117-122; 129.
- [32] NILSSON R H, RYBERG M, KRISTIANSSON E, *et al.* Taxonomic reliability of DNA sequences in public sequence databases: a fungal perspective [J]. *PLoS One*, 2006, 1(1): e59.
- [33] 李夷平, 高琳, 白加德, 等. 北京南海子麋鹿苑麋鹿肠道寄生虫研究[J]. *野生动物学报*, 2022, 43(4): 1108-1113. LI Y P, GAO L, BAI J D, *et al.* Study on intestinal parasites of Père David's deer in Beijing Nanhaizi Milu Park [J]. *Chinese Journal of Wildlife*, 2022, 43(4): 1108-1113.
- [34] 李梅, 杨光友. 我国金丝猴寄生虫种类及其疾病研究概况[J]. *动物医学进展*, 2015, 36(6): 155-158. LI M, YANG G Y. An overview of golden monkey parasites and parasitosis in China [J]. *Progress in Veterinary Medicine*, 2015, 36(6): 155-158.
- [35] XIE Y, ZHAO B, HOBERG E P, *et al.* Genetic characterisation and phylogenetic status of whipworms (*Trichuris* spp.) from captive non-human primates in China, determined by nuclear and mitochondrial sequencing [J]. *Parasites & Vectors*, 2018, 11(1): 516.
- [36] SRICHARERN W, INPANKAEW T, KAEWMONGKOL S, *et al.* Molecular identification of *Trichuris trichiura* and *Hymenolepis diminuta* in long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*) in Lopburi, Thailand [J]. *Veterinary World*, 2021, 14(4): 884-888.
- [37] SESTAK K, MERRITT C K, BORDA J, *et al.* Infectious agent and immune response characteristics of chronic enterocolitis in captive rhesus macaques [J]. *Infection and Immunity*, 2003, 71(7): 4079-4086.

- [38] OVERSTREET R M, MEYER G W. Hemorrhagic lesions in stomach of rhesus monkey caused by a piscine ascaridoid nematode[J]. The Journal of Parasitology, 1981, 67(2): 226–235.
- [39] PEKMEZCI G Z, BOLUKBAS C S, GURLER A T, *et al.* Occurrence and molecular characterization of *Hysterothylacium aduncum* (Nematoda: Anisakidae) from *Merlangius merlangus euxinus* and *Trachurus trachurus* off the Turkish coast of Black Sea [J]. Parasitology Research, 2013, 112(3): 1031–1037.
- [40] CAVALLERO S, LOMBARDO F, SALVEMINI M, *et al.* Comparative transcriptomics reveals clues for differences in pathogenicity between *Hysterothylacium aduncum*, *Anisakis simplex* sensu stricto and *Anisakis pegreffii*[J]. Genes, 2020, 11(3): 321.
- [41] BAO M, CIPRIANI P, GIULIETTI L, *et al.* Quality issues related to the presence of the fish parasitic nematode *Hysterothylacium aduncum* in export shipments of fresh northeast Arctic cod (*Gadus morhua*) [J]. Food Control, 2021, 121: 107724.
- [42] 林丽飞, 刘春国, 许春, 等. 云南省灯盏花根际土壤广东垫刃线虫的鉴定[J]. 西南大学学报(自然科学版), 2008, 30(6): 88–90.
- LIN L F, LIU C G, XU C, *et al.* Identification of *Tylenchus* parasites in rhizosphere soil of *Erigeron breviscapus* in Yunnan Province [J]. Journal of Southwest University (Natural Science Edition), 2008, 30(6): 88–90.
- [43] DJIWANTI S R. Taxa status of some reported plant parasitic nematodes in Indonesia [J]. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 2019, 250: 012100.
- [44] 李清月, 龚治忠, 冯佳慧, 等. 升金湖和菜子湖越冬白额雁肠道寄生线虫多样性研究[J]. 生态科学, 2022, 41(6): 202–210.
- LI Q Y, GONG Z Z, FENG J H, *et al.* Intestinal parasitic nematode diversity in communities of wintering greater white-fronted geese (*Anser albifrons*) between Caizi Lake and Shengjin Lake in China [J]. Ecological Science, 2022, 41(6): 202–210.
- [45] MCGLYNN R D. Genomic regulation of abiotic stress response in the soil nematode *Oscheius tipulae* [D]. Moorhead: University of North Dakota, 2018.
- [46] CAMPOS-HERRERA R, PŮŽA V, JAFFUEL G, *et al.* Unraveling the intraguild competition between *Oscheius* spp. nematodes and entomopathogenic nematodes: implications for their natural distribution in Swiss agricultural soils [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2015, 132: 216–227.
- [47] AFONSO E, FU R, DUPAIX A, *et al.* Feeding sites promoting wildlife-related tourism might highly expose the endangered Yunnan snub-nosed monkey (*Rhinopithecus bieti*) to parasite transmission [J]. Scientific Reports, 2021, 11(1): 15817.
- [48] 吕向辉, 陈旭旭, 袁美群, 等. 圈养川金丝猴、猕猴肠道寄生虫感染及其形态观察[J]. 经济动物学报, 2010, 14(2): 92–95.
- LŪ X H, CHEN X X, YUAN M Q, *et al.* The intestinal parasitic infection and its morphology of *Rhinopithecus roxellanae* and *Macaca mulatta* [J]. Journal of Economic Animal, 2010, 14(2): 92–95.
- [49] 李进. 广西野生熊猴、恒河猴肠道寄生虫调查[J]. 中国实验动物学杂志, 1994, 3(4): 172–173.
- LI J. Investigation on intestinal parasites of *Macaca assamensis* and *Macaca mulatta* in Guangxi [J]. Chinese Journal of Laboratory Animal Science, 1994, 3(4): 172–173.
- [50] TREJO-MACÍAS G, ESTRADA A. Risk factors connected to gastrointestinal parasites in mantled *Alouatta palliata mexicana* and black howler monkeys *Alouatta pigra* living in continuous and in fragmented rainforests in Mexico [J]. Current Zoology, 2012, 58(3): 375–383.
- [51] OCHIENG J R, RWEGO I B, KISAKYE J J M, *et al.* Gastrointestinal parasites of blue monkeys (*Cercopithecus mitis*) and grey-cheeked mangabeys (*Lophocebus albigena*) at the Ngogo Research Site in Kibale National Park, Uganda [J]. African Journal of Ecology, 2021, 59(2): 489–496.
- [52] LI G Y, XIE C Y, WANG Q H, *et al.* Uridine/UMP metabolism and their function on the gut in segregated early weaned piglets [J]. Food & Function, 2019, 10(7): 4081–4089.
- [53] ADJEI A A, JONES J T, ENRIQUEZ F J, *et al.* Dietary nucleosides and nucleotides reduce *Cryptosporidium parvum* infection in dexamethasone immunosuppressed adult mice [J]. Experimental Parasitology, 1999, 92(3): 199–208.
- [54] SONG C, CHIASSON M A, NURSIMULU N, *et al.* Metabolic reconstruction identifies strain-specific regulation of virulence in *Toxoplasma gondii* [J]. Molecular Systems Biology, 2013, 9: 708.
- [55] BABAYANS A, LIUW, HAMILTONG, *et al.* The immune and non-immune pathways that drive chronic gastrointestinal helminth burdens in the wild [J]. Frontiers in Immunology, 2018, 9: 56.
- [56] BOSI G, MAYNARD B J, PIRONI F, *et al.* Parasites and the neuroendocrine control of fish intestinal function: an ancient struggle between pathogens and host [J]. Parasitology, 2022, 149(14): 1842–1861.
- [57] CORTÉS A, PEACHEY L, SCOTTI R, *et al.* Helminth-microbiota cross-talk—a journey through the vertebrate digestive system [J]. Molecular and Biochemical Parasitology, 2019, 233: 111222.
- [58] BERRILLI F, DI CAVE D, CAVALLERO S, *et al.* Interactions between parasites and microbial communities in the human gut [J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2012, 2: 141.
- [59] WANG L Y, CAO L T, CHANG Y K, *et al.* Microbiome-metabolomics analysis of the impacts of *Cryptosporidium muris* infection in BALB/C mice [J]. Microbiology Spectrum, 2023, 11(1): e0217522.
- [60] BUDISCHAK S A, JOLLES A E, EZENWA V O. Direct and indirect costs of co-infection in the wild: linking gastrointestinal parasite communities, host hematology, and immune function [J]. International Journal for Parasitology Parasites and Wildlife, 2012, 1: 2–12.