科学通报 2026 年 第 71 卷 第 28-29 期: 6833 ~ 6847
循古道尔世纪之路: 中国生物多样性研究与保护探索专辑 论 文
《中国科学》杂志社 SCIENCE CHINA PRESS

基于宏基因组学揭示迁地保护重塑岩羊肠道微生物的结构和功能

高红梅[1†], 江峰[1†], 宋鹏飞[1], 迟翔文[2], 顾海峰[1], 蔡振媛[1], 王小虎[3], 李斌[1,4], 梁程博[1,4], 张萌[1,4], 张瑞东[1], 张同作[1*]

1. 中国科学院西北高原生物研究所, 青海省动物生态基因组学重点实验室, 西宁 810008
2. 青海大学学生工作处, 西宁 810016
3. 广西科学院, 南宁 523083
4. 中国科学院大学, 北京 100049

† 同等贡献
* 联系人, E-mail: zhangtz@nwipb.cas.cn

2026-02-06 收稿, 2026-04-12 修回, 2026-06-02 接受, 2026-06-12 网络版发表
国家自然科学基金(32300421, 32570609)和中国科学院青海省人民政府三江源国家公园联合研究专项(LHZX-2023-02)资助

摘要 肠道微生物在宿主食物能量转化、环境适应和免疫稳态维持中发挥重要作用. 为评估迁地保护对野生动物肠道微生物的影响, 本研究采用非损伤采样法采集40份岩羊(*Pseudois nayaur*)新鲜粪便样本, 开展宏基因组测序, 系统比较冷暖季野生与圈养岩羊肠道微生物的组成、功能及潜在风险因子特征. 结果表明, 岩羊肠道微生物以细菌为绝对优势类群, 形成以厚壁菌门和拟杆菌门为核心的群落结构. 细菌群落同时受季节和生存环境的显著影响, 而病毒群落及功能结构主要受生存环境驱动. 野外岩羊肠道微生物表现出更强的季节可塑性, 暖季富集短链脂肪酸相关菌群及糖苷水解酶, 冷季则强化中心碳代谢和复杂植物多糖降解相关功能; 同时, 暖季野外组中病毒家族与细菌群落结构之间表现出更强的跨界耦合关系. 相比之下, 圈养环境显著削弱了肠道微生物的季节性波动, 并使功能谱整体向氮源利用和基础合成代谢方向偏移. 风险因子分析显示, 圈养岩羊更易累积获得性耐药基因及代谢适应相关毒力模块, 面临潜在的健康风险. 值得注意的是, 暖季野外组poxtA的相对富集提示家畜—环境—野生岩羊之间可能存在耐药基因共享传播现象. 综上, 迁地保护从群落组成、功能潜力、风险因子及病毒—细菌关联等多个层面重塑了岩羊肠道微生态系统, 在迁地保护实践中应重视肠道微生态"原真性"的维持, 并加强对关键耐药基因及潜在风险因子的长期动态监测.

关键词 岩羊, 宏基因组, 肠道微生物, 病毒, 耐药基因, 青藏高原

在长期的协同进化过程中, 肠道微生物与宿主形成了紧密的互利共生关系, 在食物降解、短链脂肪酸生成及免疫系统调控过程中发挥重要作用[1]. 作为宿主重要的"代谢器官", 肠道微生物不仅参与营养物质转化与能量获取, 还在宿主应对环境胁迫、维持免疫稳态和能量平衡方面具有关键作用[2,3]. 同时, 肠道微生物具有较高的可塑性, 其组成与功能易受到宿主食性、季节、生存环境及人为管理方式等多种因素的共同影响[4].

近年来, 随着保护力度的不断加强, 迁地保护已成为珍稀野生动物保护和种群恢复的重要手段之一[5]. 然而, 迁地保护条件下, 野生动物往往面临活动空间受

引用格式: 高红梅, 江峰, 宋鹏飞, 等. 基于宏基因组学揭示迁地保护重塑岩羊肠道微生物的结构和功能. 科学通报, 2026, 71: 6833–6847
Gao H, Jiang F, Song P, et al. Metagenomic insights into the effects of *ex situ* conservation on gut microbial composition and function in blue sheep (in Chinese). Chin Sci Bull, 2026, 71: 6833–6847, doi: 10.1360/CSB-2026-0181

© 2026《中国科学》杂志社

限、食物组成相对单一以及近人环境暴露等变化，这些因素可能导致其肠道微生物组成和功能发生重塑，已有研究表明，圈养环境常伴随着肠道微生物多样性下降、群落同质化增强以及部分潜在风险菌群或功能模块富集等现象[6~9]. 在功能层面，由于缺乏野外复杂植物性底物的持续刺激，圈养宿主肠道微生物中与特定碳水化合物降解相关的功能潜力可能减弱，从而影响宿主对天然食物资源的适应能力[10]. 此外, 圈养环境中抗性基因和潜在风险因子的累积也可能增加潜在病原微生物传播与宿主健康管理的复杂性，进而带来一定的生态安全和公共卫生风险[11,12].

岩羊(*Pseudois nayaur*)是青藏高原高寒生态系统代表性偶蹄目物种，在维持地区食物网稳定性和生物多样性方面具有关键生态学意义[13]. 岩羊主要栖息于海拔2100~6300 m的裸岩生境, 其生存面临着极端的环境选择压力，包括高寒、低氧胁迫和显著的季节性营养限制[14,15]. 尤其在冷季，植被生物量和营养成分降低, 迫使岩羊采食灌木和枯草[16]. 这种严酷的营养挑战要求宿主必须具备高效的能量获取和代谢适应机制，以维持生理稳态.

尽管前期研究已揭示岩羊肠道细菌群落在分类学水平上存在季节和环境差异，但针对迁地保护背景下岩羊肠道微生物组的宏基因组学研究仍相对不足，尤其缺乏对群落结构、功能潜力、风险因子以及病毒—细菌关联的综合解析. 因此, 本研究基于宏基因组学方法，系统比较冷暖季野外与圈养岩羊肠道微生物的组成、功能及潜在风险因子特征，阐明季节与生存环境共同作用下岩羊肠道微生物的变化规律，并从细菌—病毒关联角度揭示迁地保护对岩羊肠道微生态系统的潜在影响，为野生动物迁地保护管理和种群健康监测提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 样品采集

本研究使用的岩羊粪便样品来源于青海省玛多县花石峡镇(野生种群)和西宁野生动物园(圈养种群). 样品采集地点、时间、非损伤性采集方法、季节在前期研究中有详细描述[17](中国科学院西北高原生物研究所实验动物福利伦理审查委员会, 批准号: 2018-01). 基于16S rRNA扩增子测序结果，在不同分组中共选择出40份样品进行宏基因组测序以及基因组文库的构建，包括冷季(冬季)野外组(cold-season/winter wild group, WW, 12份)、暖季(夏季)野外组(warm-season/summer wild group, SW, 10份)、冷季圈养组(winter captive group, WC, 9份)和暖季圈养组(summer captive group, SC, 9份).

1.2 建库测序流程

检查测序样本的DNA质量后，将合格的DNA样本用Covaris超声波破碎仪随机打断成长度约为350 bp的片段, 构建DNA文库. 将样品稀释至2 ng/uL后, 使用Q-PCR(文库的有效浓度超过3 nmol/L)对文库进行定量, 并通过Illumina PE150进行测序，得到下机数据(raw data). 为保证后续数据分析的准确性, 对原始数据进行质控及宿主过滤, 最终得到有效数据(clean data), 完成Metagenome组装. 使用MetaGeneMark进行基因预测, 将获得的基因信息与NCBI的MicroNR数据库中的细菌、真菌、古菌和病毒序列进行比较，获得每个单基因的物种注释信息以及每个样本在门、纲、目、科、属和种水平上的丰度信息. 将获得的基因信息与京都基因和基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)和碳水化合物活性酶数据库(Carbohydrate-Active enzymes Database, CAZy)进行注释, 使用综合耐药性数据库(The Comprehensive Antibiotic Resistance Database, CARD)完成抗性基因的注释, 使用毒力因子数据库(Virulence Factor Database, VFDB)完成毒力因子的注释. 所有样品测序委托诺禾致源(中国)完成(测序数据已上传至国家生物信息中心(https://www.cncb.ac.cn/), 登录号为PRJCA024157).

1.3 统计分析

所有数据处理与统计分析均在R(v4.2.3)环境中进行. 根据分类学注释, 原始丰度表被拆分为细菌和病毒(已剔除RNA病毒条目)两个独立数据集，并将绝对丰度转化为相对丰度用于组成展示与群落分析. 数据的整理、转换及分组主要使用dplyr和tidyr包完成.

在Alpha多样性分析中，基于相对丰度计算Shannon和Simpson指数(vegan::diversity)，基于原始read count计算观测物种指数(observed species, Sobs)和Chao1指数. 组间差异比较前，运用Shapiro-Wilk检验(stats::shapiro.test)评估数据正态性，随后采用双侧Wilcoxon秩和检验比较各分组(SC-SW、WC-WW、SC-WC和SW-WW)间的差异. 显著性结果可视化由

ggplot2、ggsignif和ggpubr包完成. 在Beta多样性分析中, 基于相对丰度矩阵计算bray-curtis距离(vegan::vegdist). 采用主坐标分析(PCoA, ape::pcoa)、Hellinger转换型主成分分析(tb-PCA, vegan::decostand与rda)以及非度量多维标度分析(NMDS, vegan::metaMDS)进行群落排序. 随后, 利用PERMANOVA(vegan::adonis2)检验季节、生存环境及其交互作用对群落结构变异的显著性影响, 相关排序图主要使用ggplot2包绘制. 功能分析基于样本的KEGG和CAZy丰度矩阵展开. 整体功能结构差异通过计算bray-curtis距离并进行PERMANOVA检验(vegan::vegdist与adonis2)评估. 对于单个功能条目的差异分析, 将相对丰度经反正弦平方根转换后, 构建双因素线性模型(Abundance~Season * Lifestyle), 并采用Benjamini-Hochberg(BH)方法进行多重检验校正(显著性阈值FDR<0.05). 功能热图的绘制使用pheatmap与scales包. 风险因子分析则基于CARD和VFDB数据库分别构建抗性基因(ARG, 已剔除NonARO等无效项)和毒力因子(virulence factor, VF)丰度矩阵. 针对ARG计算了总负荷(burden)和丰富度(richness)(vegan::diversity). ARG和VF的整体结构与单个条目差异分析策略与上述功能分析一致. 散点图和气泡矩阵图利用ggplot2和scales包绘制. 病毒-细菌群落耦合网络分析中, 鉴于病毒属水平数据的强稀疏性和高零值特征, 本研究选取病毒科与细菌科的相对丰度开展Mantel-Spearman联合分析. 各组内筛选检出率高且平均丰度排名前10的病毒科, 采用Spearman检验分析其共现关系. 特定病毒科与细菌整体群落结构(基于bray-curtis距离)的关联利用Mantel检验(999次置换, linkET::mantel_test)进行评估. 检验结果依据相关系数(r<0.2、0.2~0.4、≥0.4)和显著性(P<0.01、0.01~0.05、≥0.05)进行分级, 并采用BH方法计算FDR, 用于结果判定与讨论, 网络图的计算与绘制由linkET和ggplot2完成.

2 结果与讨论

2.1 岩羊肠道微生物组成及Alpha多样性分析

40个岩羊粪便样品进行宏基因组测序后共产生3492978110条序列, 获得下机数据523946.72 Mbp, 经质控后获得有效数据523080.91 Mbp(表S1), 组装后获得Contigs共27245974条, 总长为29276.57 Mbp, N50长度为1106±132 bp(表S2). 经基因预测与去冗余后, 共构建非冗余基因集20703457条, 总长度为12207.97 Mbp, 平均基因长度为589.66 bp.

在界水平上, 岩羊肠道微生物总体呈现出以细菌(bacteria, 79.71%)为绝对主导的分布格局, 病毒(viruses, 2.41%), 古菌(archaea, 0.60%)和真核生物(eukaryota, 0.01%)的丰度相对较低(图1(a)), 这种以细菌为核心的菌群结构与反刍动物的“核心菌群”特征一致[18,19], 反刍动物依赖细菌发酵并降解食物中的纤维素和半纤维素, 以获取短链脂肪酸[20]. 与此同时, 古菌丰度较低, 古菌在反刍动物肠道中主要由产甲烷菌组成, 甲烷的生成过程会伴随着宿主能量的损失[21], 较低的产甲烷菌丰度是高原动物适应高寒、低氧及能量匮乏环境的一种趋同进化策略[3]. 在门水平上(图1(b)), 岩羊肠道微生物表现出以厚壁菌门(Bacillota, 49.54%)和拟杆菌门(Bacteroidota, 19.57%)为核心菌门的典型特征[22], 协助岩羊降解食物中的纤维和复杂多糖[23]. 值得注意的是, 属于病毒的尾噬菌体门(Uroviricota, 1.97%)高居第三位, 可能通过裂解宿主细菌影响菌群的演替与稳态. 属水平上, 为了更清晰地展示细菌和病毒优势属的组成特征, 本研究将细菌属和病毒属数据分别单独提取后重新归一化, 因此图中百分比反映的是属水平内部的相对构成. Top 10优势细菌属的平均相对丰度累计占比达51.98%. 其中, 梭菌属(*Clostridium*, 15.45%)为绝对优势属, 其次为瘤胃球菌属(*Ruminococcus*, 6.48%)、*Pseudoflavonifractor*(6.32%)、拟杆菌属(*Bacteroides*, 5.23%)和另枝菌属(*Alistipes*, 4.73%)等(图1(c)). Top 10优势病毒属的平均相对丰度累计占比为47.36%. 优势病毒属以噬菌体类群为主, 其中*Donellivirus*为最优势属(15.44%), 其次依次为*Afonbuvirus*(8.58%)、*Thornevirus*(6.39%)、*Cequinquevirus*(4.33%)和*Buchavirus*(3.51%)(图1(d)). 与此同时, 我们在界水平上对岩羊肠道微生物成分进行了组间差异分析(图1(e)), 整体上细菌表现为野外组显著高于圈养组(P<0.01), 病毒表现为圈养组显著高于野外组(P<0.01), 这种变化揭示了环境压力下宿主肠道微生物的内部变化, 圈养环境不仅改变了岩羊肠道微生物结构, 还影响了细菌与病毒之间的关系.

在Alpha多样性分析中, 细菌群落选取Chao1指数(图1(f))和Shannon指数(图1(g))进行比较. 结果显示, 暖季圈养组(SC)的Chao1指数和Shannon指数均显著高于暖季野外组(SW), 冷季圈养组(WC)的Shannon指数显著高于冷季野外组(WW). 在野外, 表现为冷季野外组的Chao1指数和Shannon指数显著高于暖季野外组,

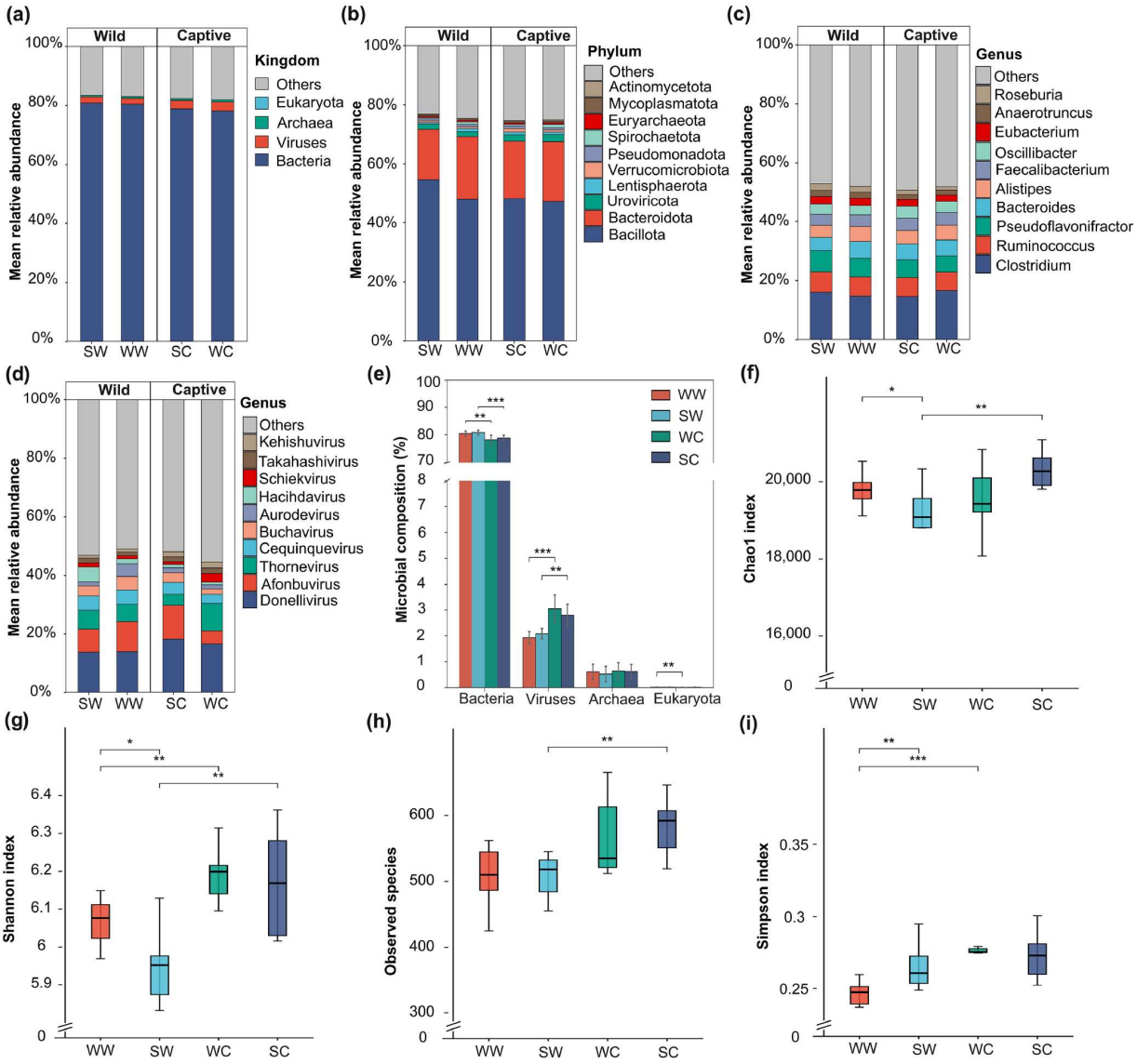


图 1 岩羊肠道微生物群落组成及Alpha多样性差异分析. (a) 界水平微生物群落平均相对丰度组成; (b) 门水平微生物群落平均相对丰度组成; (c) 细菌属水平相对丰度组成; (d) 病毒属水平相对丰度组成; (e) 界水平微生物群落相对丰度组间差异分析; (f) 细菌群落Chao1指数; (g) 细菌群落Shannon指数; (h) 病毒群落观测物种指数; (i) 病毒群落Simpson指数. WW: 冷季野外组; SW: 暖季野外组; WC: 冷季圈养组; SC: 暖季圈养组. 显著性水平标记为*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(Wilcoxon秩和检验)

Figure 1 Taxonomic composition and alpha-diversity differences of the gut microbiota in blue sheep. (a) Mean relative abundance of the microbial community at the kingdom level. (b) Mean relative abundance of the microbial community at the phylum level. (c) Relative abundance of bacteria at the genus level. (d) Relative abundance of viruses at the genus level. (e) Group-wise differential analysis of the relative abundance of the microbial community at the kingdom level. (f) Chao1 index of the bacterial community. (g) Shannon index of the bacterial community. (h) Observed species index of the viral community. (i) Simpson index of the viral community. WW, cold-season wild group; SW, warm-season wild group; WC, cold-season captive group; SC, warm-season captive group. Significance levels are indicated as *P<0.05, **P<0.01, and ***P<0.001 (Wilcoxon rank-sum test)

但圈养组季节间的差异不显著, 整体保持相对较高且稳定的多样性水平. 这一结果与前期基于16S rRNA测序的研究结果并不完全一致[17]. 我们推测, 这种差异可能与测序策略、分类分辨率及数据库注释深度不同有关, 16S rRNA测出了野生动物肠道菌群“未知多样性”, 而宏基因组测出了圈养动物的“已知多样性”. 从生态学角度看, 冬季岩羊摄入更多粗纤维、木质化程度较高的植物组分(如枯草和灌木枝条), 可能为不同纤维降解菌群提供更多生态位, 从而维持较高的群落丰富度和多样性[2]; 而圈养组多样性较高且组间差异较小, 则

可能与稳定饲喂条件下肠道微生物群落的持续维持有关[24]. 病毒群落方面, 选取观测物种指数(Sobs)(图1(h))和Simpson指数(图1(i))进行Alpha多样性分析. 观测物种指数反映样本中实际检测到的病毒种数, 结果显示, 暖季圈养组的观测物种指数和Simpson指数均显著高于暖季野外组, 表明圈养条件下观测到的病毒种数更多, 且病毒群落整体多样性更高. 与此同时, 暖季野外组的Simpson指数显著高于冷季野外组, 提示野外岩羊肠道病毒群落在暖季表现出更高的多样性或更均匀的组成格局.

2.2 岩羊肠道微生物Beta多样性及组间差异物种分析

Beta多样性分析结果显示, 对细菌来说(图2(a~c)), 双因素PERMANOVA分析结果揭示了生存环境(R^2=0.178, P=0.001)和季节(R^2=0.099, P=0.001)共同驱动了细菌群落的分化, 且存在显著的交互作用(R^2=0.071, P=0.001), PCoA与NMDS(stress=0.136)也表明了岩羊肠道细菌群落结构存在显著差异. 基于四组的PERMANOVA分析结果, 分组总体解释了34.8%的群落结构变异(R^2=0.348, P=0.001), 季节变化对细菌群落结构的影响在野外与圈养条件下呈现出不同的变化规律. 野外组的细菌群落在冷暖季间发生了较大的结构转变, 而圈养组两个季节间的差距相对较小(图2(b)). 这与Alpha多样性显示出的“圈养组季节间更稳定”结果一致, 共同支持了圈养条件下稳定的食物供给削弱了肠道细菌群落的可塑性的结论[25]. 病毒群落展现出比细菌更强的组间分离度(图2(d~f)), 分组因子解释了高达56.4%的群落变异(R^2=0.564, P=0.001). 双因素PERMANOVA分析结果揭示了与细菌完全不同的驱动格局, 生存环境是塑造病毒群落结构的显著驱动因子(R^2=0.528, P=0.001), 相反, 季节因子及其交互作用均无统计学意义(P>0.1). 结合Alpha多样性结果(圈养组病毒物种丰富度更高), 表明岩羊肠道病毒组的结构几乎是由生存环境这一生态因素决定, 季节性食物变化对其影响很小.

基于细菌属水平的差异物种分析(图2(g))可见, 野外组(WW/SW)富集的*Roseburia*、*Propionispora*、*Acetatifactor*、*Agathobacter*和*Marvinbryantia*多为肠道厌氧发酵相关菌群, 功能上与植物性碳源利用和短链脂肪酸生成密切相关. 其中, *Roseburia*和*Agathobacter*是典型的丁酸产生菌, 通过发酵复杂碳水化合物为宿主提供重要能量底物, 并参与维持肠道屏障稳态和抗炎环境[26~29]. *Acetatifactor*、*Propionispora*和*Marvinbryantia*与乙酸、丁酸、丙酸和乙酸等短链脂肪酸相关代谢以及寡糖利用过程有关[30,31]. 这些菌属在野外组中的富集表明了野生岩羊肠道微生物更依赖对天然植物性底物, 尤其是复杂多糖和纤维性成分的深度发酵, 以维持短链脂肪酸供给和宿主能量平衡. 相比之下, 圈养组(WC/SC)显著富集*Mogibacterium*、*Casaltella*、*Pontiella*和*Treponema*等菌群, 表明其肠道微生物群落的底物利用模式发生了明显转变. 其中, *Mogibacterium*更偏向氨基酸和蛋白质相关底物利用[32,33], *Treponema*在传统生活方式人群和部分动物肠道中常被视为与复杂碳水化合物利用相关的特征类群, 其富集可能反映肠道菌群对特定结构性多糖或可发酵底物的利用方式发生了调整[34,35]. *Pontiella*的已知功能主要来自环境分离株, 具有复杂多糖降解和氮代谢相关潜力[36], 总体而言, 圈养组富集菌群反映出稳定、易消化饲料背景下肠道菌群功能重心的偏移, 但这种长期精细化的饲喂方式可能削弱原生有益菌群优势和肠道定植抗性, 并在一定程度上增加宿主发生微生态失衡及代谢紊乱的风险[37,38].

基于病毒属水平的差异物种分析(图2(h)), 圈养环境下病毒组的波动幅度明显高于野外环境, 圈养环境引发了大量噬菌体属的爆发式增殖. 冷季圈养组显著富集*Gamaleyavirus*、*Whopevirus*、*Weaselvirus*、*Junduvirus*、*Paundivirus*、*Muminvirus*、*Saphexavirus*和*Myunavirus*等多种噬菌体属, 以及*Klosneuvirus*、*Tupanvirus*、*Enceladusvirus*、*Agatevirus*和*Epseptimavirus*等环境巨型病毒, 圈养条件下肠道细菌可能经历了选择性扩张与重排, 从而带动噬菌体群落同步发生重构. 已有研究表明, 肠道噬菌体可通过裂解宿主细菌、影响细菌竞争关系及促进基因交换等方式参与微生物群落动态平衡的维持[39,40], 环境巨型病毒通常存在于水土原生生物体内[41]; 暖季圈养组则相对富集*Alphabaculovirus*、*Myrnavirus*、*Sarumanvirus*和*Finchvirus*等真核病毒相关属. 相比之下, 野外组保留了更为稳定的本底病毒组成, 仅少数自然环境相关优势属如*Pandoravirus*、*Rosemountvirus*、*Nitunavirus*和*Webervirus*保持较高丰度. 该结果表明, 圈养条件下饮水、垫料、饲料等人工环境因素, 可能扩大了病毒输入来源并增强了病毒组组成波动, 而野外个体的肠道病毒组整体上接近自然环境背景下形成的相对稳定状态.

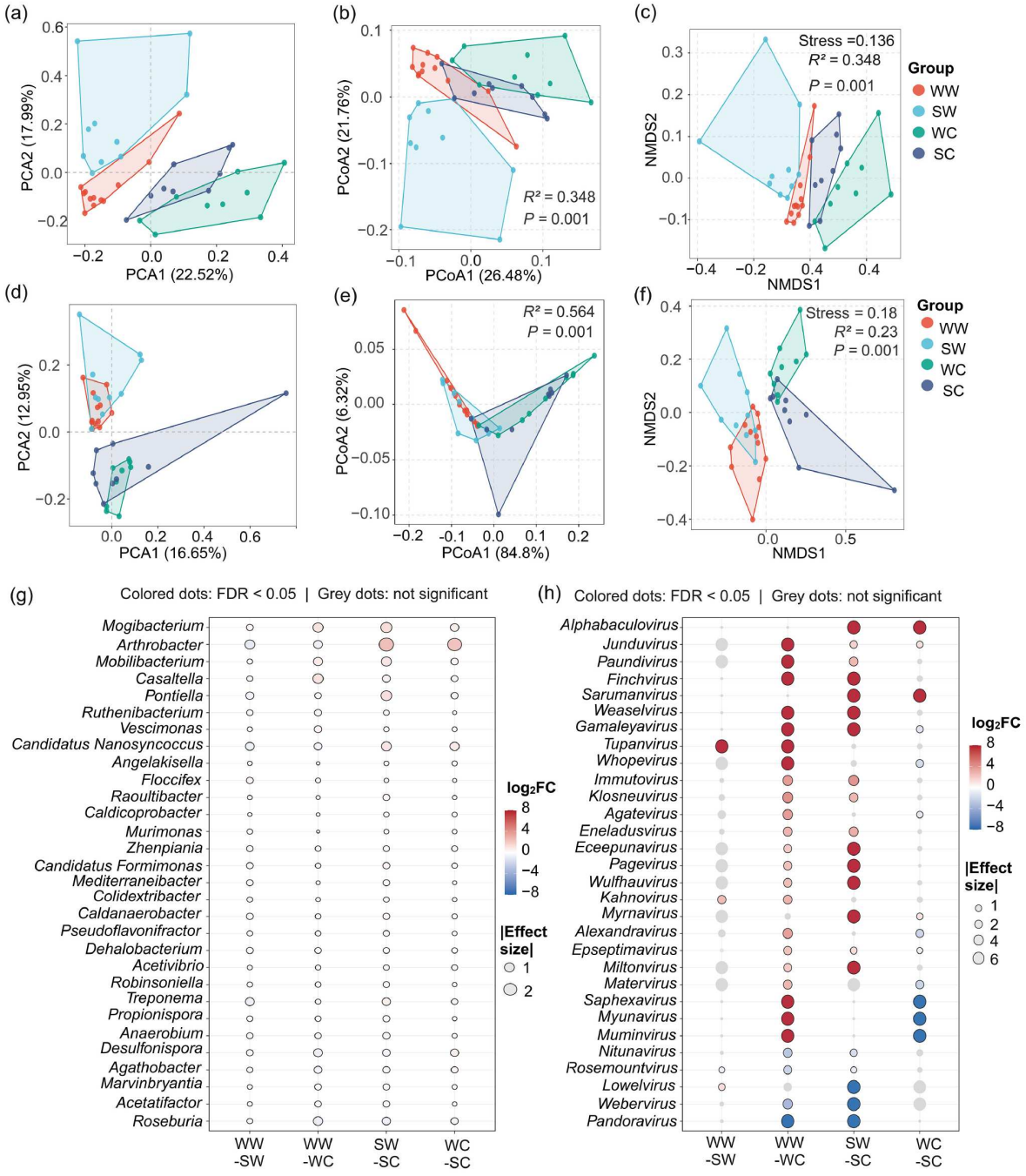


图 2 岩羊肠道微生物Beta多样性及差异物种分析. (a~c) 细菌群落的PCA、PCoA和NMDS分析; (d~f) 病毒群落的PCA、PCoA和NMDS分析; (g) 细菌属水平差异物种丰度气泡矩阵图; (h) 病毒属水平差异物种丰度气泡矩阵图. *X*轴表示四组两两比较(WW *vs*. SW、WW *vs*. WC、SW *vs*. SC、WC *vs*. SC), *Y*轴表示差异显著的属(按平均$\log_2$FC排序). 气泡大小表示效应量大小(|$\log_2$FC|), 填充色表示差异(蓝色表示前一组丰度较高, 红色表示后一组丰度较高), 灰色圆点表示差异不显著. WW: 冷季野外组; SW: 暖季野外组; WC: 冷季圈养组; SC: 暖季圈养组

Figure 2 Beta-diversity patterns and differential taxa of the gut microbiota in blue sheep. (a–c) PCA, PCoA, and NMDS analyses of the bacterial community. (d–f) PCA, PCoA, and NMDS analyses of the viral community. (g) Bubble matrix of differentially abundant bacterial genera. (h) Bubble matrix of differentially abundant viral genera. The *X*-axis shows pairwise comparisons among the four groups (WW *vs*. SW, WW *vs*. WC, SW *vs*. SC, and WC *vs*. SC), and the *Y*-axis shows significantly differential genera ranked by mean $\log_2$FC. Bubble size indicates effect size (|$\log_2$FC|), and fill color indicates the direction of change (blue indicates higher abundance in the former group, whereas red indicates higher abundance in the latter group). Gray circles indicate non-significant differences. WW, cold-season wild group; SW, warm-season wild group; WC, cold-season captive group; SC, warm-season captive group

2.3 岩羊肠道微生物功能分析

基于KEGG数据库的功能注释结果，岩羊肠道微生物组在高层级功能组成上表现出较为稳定但具有明确分组趋势的功能结构. 整体上来说，Level 1水平上以代谢功能(metabolism)和遗传信息处理(genetic information processing)占主导地位，表明岩羊肠道微生物整体上以营养底物转化、能量获取及基础生物合成为核心功能特征. 在Level 2水平上，碳水化合物代谢、氨基酸代谢、翻译、能量代谢、核苷酸代谢及辅因子和维生素代谢构成了主要功能类别(图3(a))，进一步说明岩羊肠道微生物组的功能主要围绕植物性底物降解与宿主营养维持展开. 具体到各个分组层面，暖季野外组表现出较高的碳水化合物代谢潜力，冷季野外组则相对强化了翻译、能量代谢及遗传信息处理相关功能；暖季圈养组表现出更明显的代谢功能占比，而冷季圈养组则在核苷酸代谢及部分环境适应相关功能上相对更高. 这些组成差异揭示了不同生存环境和季节背景下，岩羊肠道微生物群落已在较高功能层级上表现出资源利用策略的分化[42].

CAZy数据库的结果进一步揭示了岩羊肠道微生物在碳水化合物活性酶组成上的总体特征. 在Level 1水平上，糖苷水解酶(glycoside hydrolases, GHs)始终是最优势的功能类群，其次为糖基转移酶(glycosyl transferases, GTs)，表明植物性多糖降解及糖链加工是岩羊肠道微生物最核心的功能之一. 在Level 2水平上(图3(b))，糖苷水解酶家族(GH2)、糖基转移酶家族(GT2、GT4)和碳水化合物酯酶家族(carbohydrate esterases, CEs)(CE1)等家族在各组中均保持较高丰度，在岩羊肠道中普遍存在，是维持植物性底物降解和微生物群落更新的重要基础. 具体到各个分组层面，野外组，尤其是暖季野外组(SW)，整体上表现出更高的糖苷水解酶相关家族丰度，提升对复杂植物性多糖和细胞壁成分的降解能力[43]. 而圈养组则相对强化了糖基转移酶家族、碳水化合物酯酶家族和部分辅助活性酶家族(auxiliary activities, AAs)相关功能，表明圈养环境下微生物群落可能更偏向于糖链重塑、酯键修饰和辅助氧化等过程，以适应稳定且较易消化的饲料结构[44].

PCoA分析结果显示，生存环境对功能结构的影响强于季节效应. 基于KEGG level 3的PERMANOVA结果，生存环境可解释59.6%的功能结构变异(R^2=0.596, P=0.001)，明显高于季节效应(R^2=0.046, P=0.010)，且两者之间存在显著交互作用(R^2=0.030, P=0.041)；CAZy Level 2也显示生存环境(R^2=0.330, P=0.001)和季节(R^2=0.094, P=0.001)均显著，也存在显著交互作用(R^2=0.058, P=0.005)(图3(c, d))). 这些结果共同说明，迁地保护背景下的圈养生存环境是驱动岩羊肠道微生物功能重塑的主导因素，而季节变化更多是在不同生存环境背景上进一步调节功能谱，宿主摄食生态、纤维来源及圈养管理方式可共同塑造岩羊肠道微生物的KEGG和CAZy功能[45,46].

KEGG Level 3热图分析结果(图3(e, f))进一步揭示了不同分组间代谢策略的分化. 生存环境主导的显著通路主要集中在氮代谢、嘌呤和嘧啶代谢、丙氨酸/天冬氨酸/谷氨酸代谢、烟酸和烟酰胺代谢以及三羧酸循环等，而季节主导项则更多涉及卟啉代谢、谷胱甘肽代谢、甘油脂代谢和硫代谢等. 生存环境是差异最强的两组，在冷季(WC/WW)中，圈养组显著富集氮代谢以及丙氨酸、天冬氨酸和谷氨酸代谢，而糖酵解/糖异生、丙酮酸代谢、磷酸戊糖途径、果糖和甘露糖代谢、戊糖与葡萄糖醛酸相互转化等，中心碳代谢和碳水化合物转化通路则明显降低；在暖季(SC/SW)中也观察到类似趋势，即圈养暖季个体的氮代谢和氨基酸相关代谢增强，而淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷酸糖代谢以及磷酸戊糖途径等碳水化合物利用通路相对减弱. 该结果表明，圈养条件下稳定且更易消化的饲料结构可能促使肠道微生物功能重心由复杂植物性碳源利用转向含氮底物和基础合成代谢. 反刍动物肠道和瘤胃微生物的氮代谢及氨基酸代谢对日粮组成高度敏感，而蛋白质和氮源结构变化可显著重塑相关代谢网络[47]. 较之下，野生条件下的季节比较显示暖季野外组更偏向多样化植物底物的利用，而冷季野外组则更依赖高效中心碳代谢来应对天然生境中食物质量下降和环境胁迫增强的双重压力[42]. 这种“圈养偏向氮源利用、野外偏向复杂碳源利用”的功能分化，也与其他野生动物在圈养条件下出现的功能谱重塑趋势一致，即稳定人工环境会削弱肠道微生物对季节性食源波动的响应幅度，并使其逐渐适应于标准化日粮结构[48,49].

CAZy Level 2热图分析同样支持上述结论(图3(g, h))). 生存环境主导的差异家族主要包括糖苷水解酶家族(GH3、GH5、GH28、GH35、GH38)、碳水化合物结合模块家族(carbohydrate-binding modules, CBMs)(CBM14)及糖基转移酶家族(GTs)，其中冷季不同生存环境的(WC/WW)比较中，圈养冷季个体的糖苷水解酶家族(GH3、GH5、GH28、GH34和GH38等)显著降低，而暖季组(SC/SW)中糖苷水解酶家族(GH3)、碳水化合

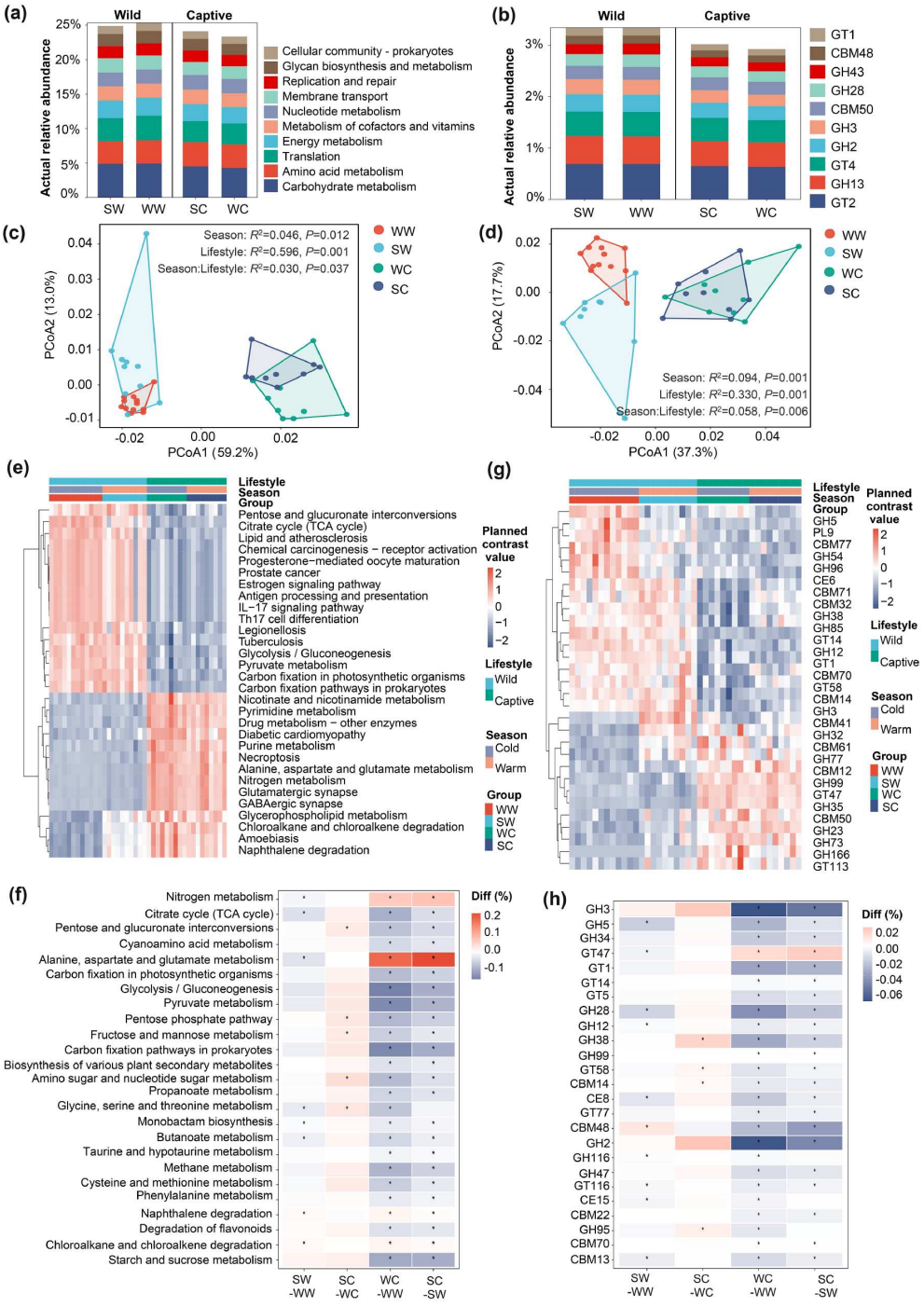


图 3 岩羊肠道微生物功能组成及差异分析. (a) KEGG Level 2功能组成图; (b) CAZy Level 2碳水化合物活性酶组成图; (c) KEGG Level 3的PCoA分析; (d) CAZy Level 2的PCoA分析; (e) KEGG Level 3双因素差异热图; (f) KEGG Level 3组间差异丰度热图; (g) CAZy Level 2双因素差异热图; (h) CAZy Level 2组间差异丰度热图. WW: 冷季野外组; SW: 暖季野外组; WC: 冷季圈养组; SC: 暖季圈养组. 显著性水平标记为*P<0.05 (Wilcoxon秩和检验)

Figure 3 Functional composition and differential analysis of the gut microbiota in blue sheep. (a) KEGG Level 2 functional composition. (b) CAZy Level 2 composition of carbohydrate-active enzymes. (c) PCoA analysis of KEGG Level 3. (d) PCoA analysis of CAZy Level 2. (e) Two-factor differential heatmap of KEGG Level 3. (f) Heatmap of intergroup differential abundance of KEGG Level 3. (g) Two-factor differential heatmap of CAZy Level 2. (h) Heatmap of intergroup differential abundance of CAZy Level 2. WW, cold-season wild group; SW, warm-season wild group; WC, cold-season captive group; SC, warm-season captive group. Significance levels are indicated as *P<0.05 (Wilcoxon rank-sum test)

物结合模块家族(CBM14、CBM48)和糖基转移酶家族(GT1)等也明显下降. 糖苷水解酶(GH3、GH5、GH28、GH43、GH67)等家族与植物细胞壁多糖、寡糖及半纤维素侧链的降解密切相关，表明野生岩羊在冷季背景下，更依赖肠道微生物对复杂植物多糖的深度分解能力来缓冲天然食物质量下降带来的营养压力; 相反, 圈养个体由于摄食底物结构更稳定、更易利用，降低了对部分复杂植物底物降解家族的依赖[50,51]. 此外, 暖季野外组(SW)富集糖苷水解酶家族(GH2、GH3、GH31)及部分与淀粉降解相关的家族, 说明暖季野外岩羊肠道微生物处于较高效的植物多糖水解状态; 冷季野外组(WW)则富集糖苷水解酶家族(GH10、GH9、GH51)及多个碳水化合物结合模块家族(CBMs)，提示其更适应处理高度木质化的枯草和灌木[52,53]. 而圈养组中碳水化合物酯酶家族和糖基转移酶家族相关家族的升高，则反映出在稳定供给和加工化程度较高的饲料背景下，有利于提高圈养条件下的饲料利用效率[54]. 值得注意的是，暖季圈养组中糖苷水解酶家族(GH95、GH29、GH33)和糖基转移酶家族(GT4)的富集提示部分细菌可能增强了对宿主来源糖链的利用，在一定程度上提示圈养岩羊可能存在潜在的肠道屏障侵蚀风险[55]. 总体来看, 岩羊肠道微生物的功能重塑并不是单一的季节变化或圈养效应，而是二者共同作用的结果, 其中生存环境的改变起主导作用，季节则主要影响野外环境下的功能可塑性.

2.4 岩羊肠道微生物耐药基因和毒力因子分析

ARG分析显示，圈养环境显著改变了岩羊肠道耐药基因谱的组成与累积方式. ARG总负荷在圈养组(WC/SC)中整体高于野外组(WW/SW)，而丰富度在各组间变化较小(图4(a))；统计分析也显示，ARG总负荷主要受生存环境影响, 而丰富度指数差异不显著, 表明圈养并未明显扩大耐药基因种类范围，而更可能促进部分优势ARG的选择性扩增. ARG差异分析结果显示(图4(b))，同一季节不同生存环境之间的差异最强，显著高于季节影响，生存环境是驱动ARG重塑的主导因素, 且这种效应在冷季更为明显. 风险散点图和双因素气泡图共同表明(图4(c, d)), amrB、adeF、tetQ、tetW、tet(W/N/W)、CfxA2、lnuC和poxtA是本研究中最值得关注的核心ARG. 其中，野外组相对富集amrB和adeF, 反映了宿主应对植物次生代谢物及环境天然毒素的内源性防御机制[56]；而圈养组显著富集tetQ、tetW、tet(W/N/W)、CfxA2和lnuC等获得性耐药基因, 表明在圈养环境、饲料暴露或共生菌群间基因交换作用下，特定ARG更易累积，其潜在风险不仅在于圈养岩羊肠道微生态向耐药化背景偏移，还在于这些基因可能作为可传播的耐药储存库，在动物个体、圈舍环境及相关接触界面之间持续扩散，从而增加后续健康管理和公共卫生监测的复杂性. 值得注意的是，poxtA在四组中均有检出，但在暖季野外组相对丰度最高，poxtA不仅介导对兽用抗生素氟苯尼考的耐药性，同时导致细菌对药物利奈唑胺的交叉耐药性[57]，结合采样地夏季轮牧现象较为显著，家畜与野生岩羊共享草场和水源, poxtA在暖季野外组中的升高可能与家畜—环境—野生岩羊共享传播界面增强有关，该结果表明耐药基因可能正通过环境介质从家畜向野生动物种群扩散.

VFDB分析结果表明，岩羊肠道毒力因子功能谱的变化主要表现为组成重构，而非总体负荷的显著累积. 毒力因子总负荷在四组间整体稳定，但丰富度存在明显波动(图4(e)). 组间差异丰度热图进一步表明, 冷季圈养组与冷季野外组为最强的毒力组差异对比，其次为暖季圈养组与暖季野外组、暖季野外组与冷季野外组, 而暖季圈养组与冷季圈养组的显著条目相对较少，表明圈养背景下季节变化对毒力因子功能谱的影响弱于野外背景(图4(f, g)). 在具体功能上, 圈养组更倾向富集Nitrate reductase、Pyrimidine biosynthesis、Lap及部分代谢适应相关模块(图4(g))，圈养环境下岩羊肠道微生物可能更偏向于稳定饲喂条件下的代谢维持与环境适应; 其中, 硝酸还原相关途径常被认为是细菌在低氧或炎症微环境中维持生长和适存的重要机制，而嘧啶生物合成和Lap等功能则与细菌生长、蛋白代谢及毒力调控有关[58,59]. 野外组则相对富集LOS、Capsule/Polysaccharide capsule、GroEL、Adherence; porin、Streptococcal plasmin receptor/GAPDH和Yersiniabactin等条目, 表明野外微生物群在表面结构、黏附、铁获取及环境应激适应方面保留了更高的功能多样性，从而维持宿主互作能力和资源竞争潜力[60]. 整体效应分析进一步显示，无论是ARG还是VFDB，生存环境的解释度均明显高于季节效应，表明圈养环境是推动岩羊肠道风险因子谱重塑的首要因素(图4(h)). 圈养岩羊肠道微生物群落更倾向于富集少数高丰度获得性耐药基因，并同步重塑以代谢维持和定植适应为主的毒力相关功能谱; 而野外岩羊则保留了更典型的环境型耐药组以及更复杂的黏附、表面结构和营养竞争相关毒力组特征.

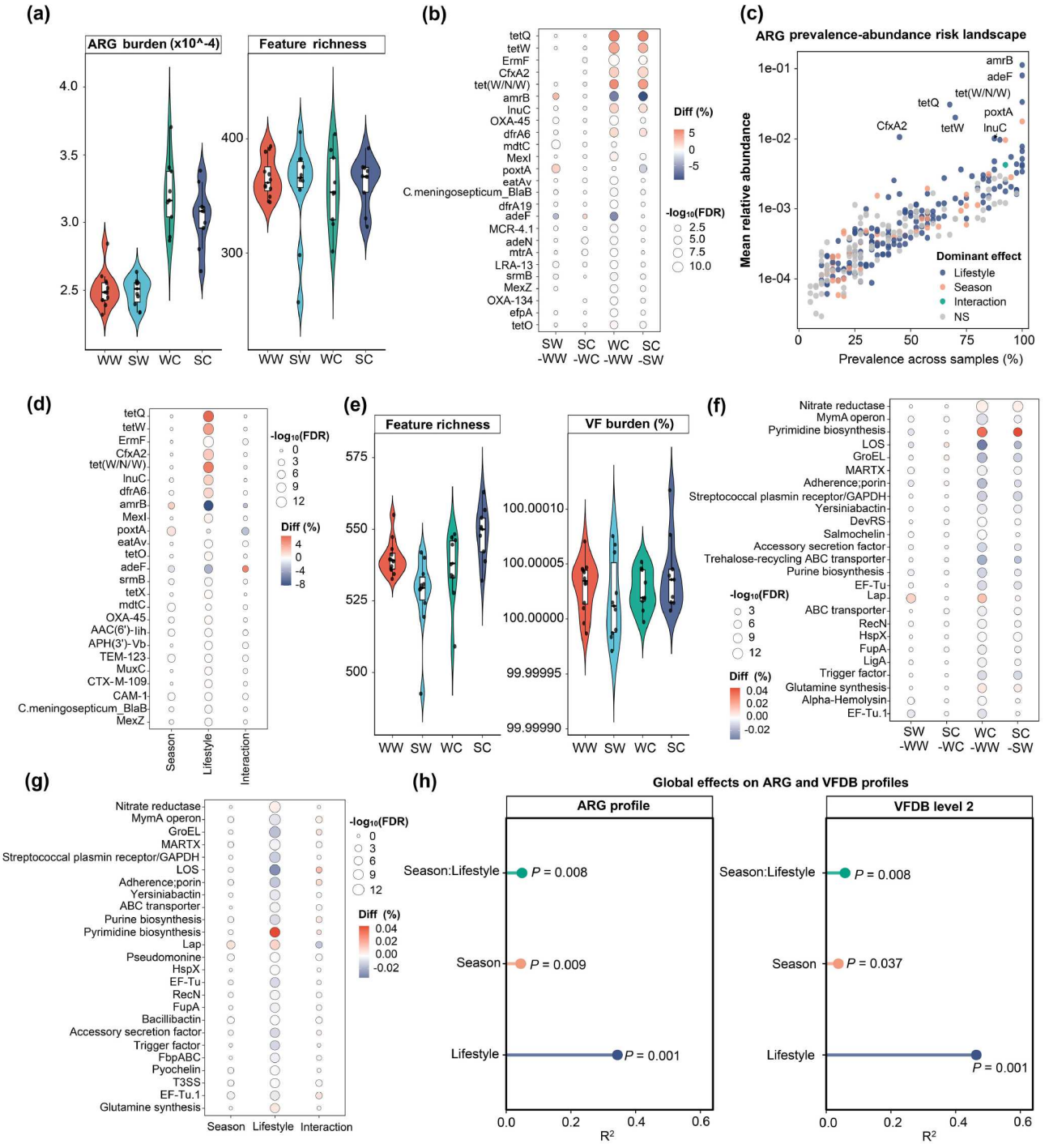


图 4 岩羊肠道耐药基因和毒力因子的组成及差异分析. (a) ARG总负荷和丰富度的组间比较; (b) ARG差异丰度气泡图; (c) ARG检出率-平均丰度风险散点图; (d) ARG双因素差异气泡图; (e) VF总负荷和丰富度的组间比较; (f) VFDB level 2差异丰度气泡图; (g) VFDB level 2双因素差异气泡图; (h) ARG和VFDB全局效应比较图. WW: 冷季野外组; SW: 暖季野外组; WC: 冷季圈养组; SC: 暖季圈养组

Figure 4 Profiles and differential patterns of antibiotic resistance genes and virulence factors in the gut microbiota of blue sheep. (a) Group-wise comparison of ARG burden and feature richness. (b) Bubble plot ofdifferential abundance for ARGs. (c) Prevalence-abundance risk landscape of ARGs. (d) Bubble plot of two-factor responses of ARGs. (e) Group-wise comparison of VF burden and feature richness. (f) Bubble plot of differential abundance for VFDB level 2 features. (g) Bubble plot of two-factor responses of VFDB level 2 features. (h) Summary of global effects on ARG and VFDB profiles. WW, cold-season wild group; SW, warm-season wild group; WC, cold-season captive group; SC, warm-season captive group

2.5 岩羊肠道细菌与病毒群落的交互作用分析

整体来看，不同分组的病毒—细菌耦合模式存在明显差异，其中暖季野外组呈现出最强的跨界关联信号, Herelleviridae、Inoviridae、Microviridae、Mimiviridae和Straboviridae均与细菌群落结构显著相关；相比之下, 冷季野外组仅Inoviridae呈现边缘相关趋势, 冷季圈养组仅Suoliviridae显示较弱原始显著性，而暖季圈养组未观察到稳定的显著关联(图5). 这表明，在暖季野外条件下，岩羊肠道病毒与细菌群落的协同变化更为活跃，提示自然放牧背景、食源多样化和更开放的

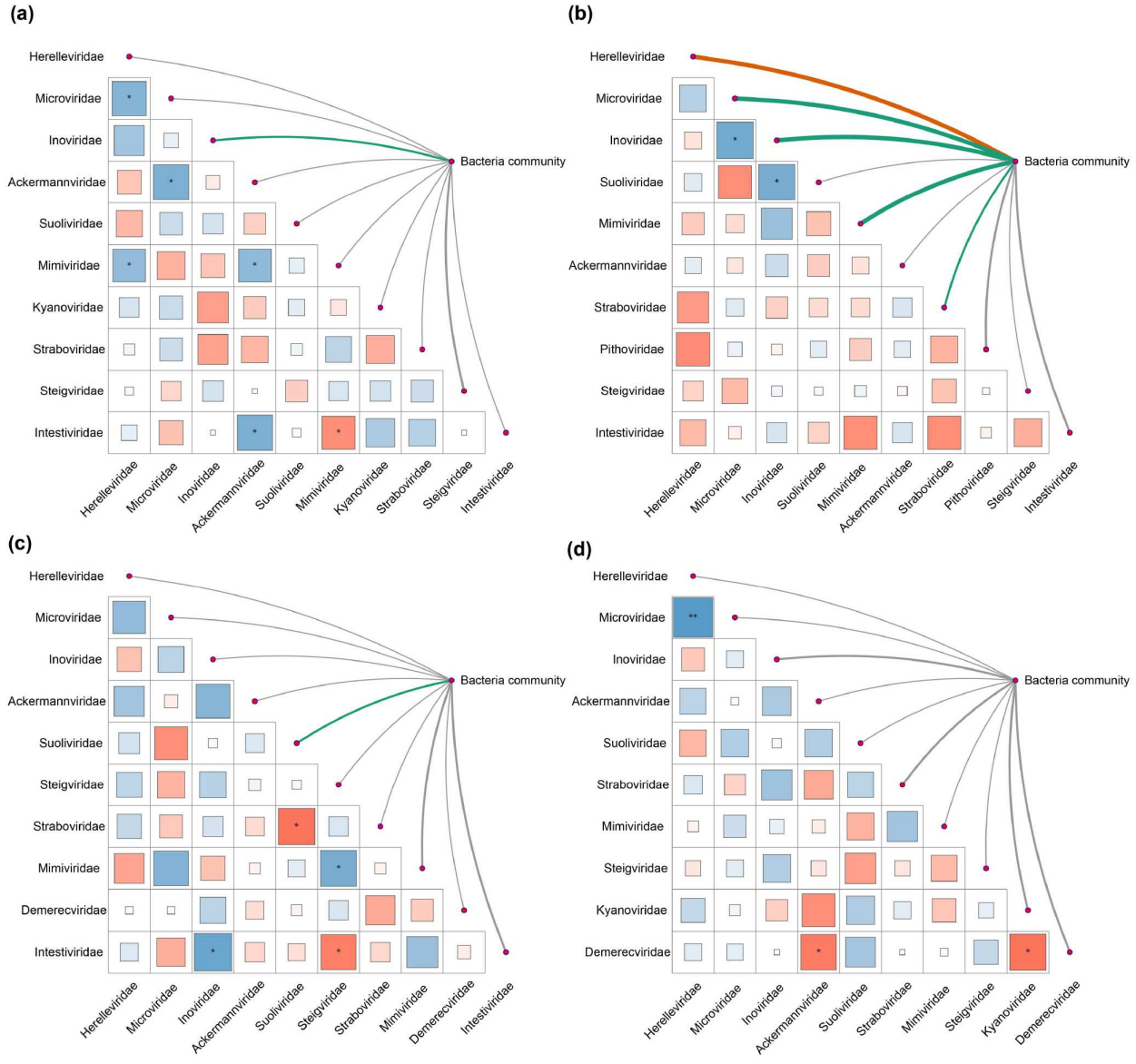


图 5 不同季节和生存环境下岩羊肠道病毒与细菌群落结构的Mantel-Spearman联合分析. (a) WW组; (b) SW组; (c) WC组; (d) SC组. 左侧下三角热图表示优势病毒家族之间的Spearman相关关系, 星号表示显著相关; 右侧连线表示各病毒家族与细菌群落整体结构之间的Mantel相关强度和显著性. WW: 冷季野外组; SW: 暖季野外组; WC: 冷季圈养组; SC: 暖季圈养组. 显著性水平标记为*P<0.05, **P<0.01, ***P<0.001(Wilcoxon秩和检验)

Figure 5 Mantel-Spearman analysis of associations between gut viral and bacterial community structure in blue sheep across seasons and habitats. (a) WW group; (b) SW group; (c) WC group; (d) SC group. The lower triangular heatmap shows Spearman correlations among dominant viral families, with asterisks indicating significant correlations. Curved lines on the right indicate the strength and significance of mantel associations between each viral family and the overall bacterial community structure. WW, cold-season wild group; SW, warm-season wild group; WC, cold-season captive group; SC, warm-season captive group. Significance levels are indicated as *P<0.05, **P<0.01, and ***P<0.001 (Wilcoxon rank-sum test)

环境暴露，可能共同增强了病毒组与细菌群落结构之间的耦合程度. 在显著相关的病毒家族中，Herelleviridae和Inoviridae尤其值得关注. Herelleviridae作为典型的双链DNA噬菌体，在暖季野外组中与细菌群落结构呈现最强相关之一，提示其可能与优势细菌类群的周转和群落重排密切相关. Inoviridae则在暖季野外组中同样呈现显著相关，并在冷季野外组中保留一定趋势. 考虑其通常以慢性感染方式存在，并可影响宿主细菌的生物膜形成、黏附能力和环境适应性[61]，这一结果提示在野外环境中，尤其是在食源丰富且环境波动更大的暖季背景下，Inoviridae可能与肠道细菌群落的稳定定植和生态位维持存在更紧密的耦合关系. 值得注意的是，Mimiviridae在暖季野外组中也与细菌群落结构显著相关，但由于该类巨型病毒通常感染真核微生物而非细菌，其关联更可能反映暖季野外环境中水体、土壤及植物表面等多来源暴露所造成的共同生态过滤. 综合而言，岩羊肠道中的病毒—细菌跨界关联具有明显的季节和生存环境依赖性：暖季野外环境可能提供了更强的宿主—病毒接触与群落重塑机会，而圈养环境则削弱了这种复杂的跨界耦合.

3 结论与保护管理建议

本研究表明，岩羊肠道微生物以细菌为绝对优势类群，厚壁菌门和拟杆菌门构成核心菌群. 细菌群落同时受季节和生存环境显著影响，而病毒群落及整体功能结构则主要受生存环境的驱动. 野外岩羊肠道微生物表现出更强的季节可塑性，在冷季依赖中心碳代谢和复杂植物多糖降解相关功能以应对高寒、低营养条件; 相比之下，圈养环境削弱了肠道微生物的季节性变化，并使功能谱整体向氮源利用和基础合成代谢方向偏移. 此外，圈养环境还促进了获得性耐药基因和代谢适应相关毒力模块的累积，迁地保护显著重塑了圈养岩羊肠道微生物组的组成、功能及风险因子谱. 暖季野外组中poxtA相对富集，提示家畜—环境—野生岩羊之间可能存在耐药基因共享传播界面；暖季野外组中更强的病毒—细菌跨界耦合关系，则进一步说明自然放牧和开放环境暴露能够增强肠道微生物群之间的协同变化. 总体来看，迁地保护在维持种群存续的同时，也可能削弱岩羊肠道微生态对天然生境的适应特征. 因此，在保护管理中应重视肠道微生态“原真性”的维持，优化圈养条件下的饲喂模式与环境管理，并加强对关键耐药基因及潜在风险因子的长期监测. 对于野外种群，尤其在夏季轮牧重叠区域，应加强对家畜—环境—野生动物共享界面的耐药基因与潜在风险因子的长期动态监测，以降低人类活动对自然种群肠道微生态的干扰.

参考文献

1 Hicks A L, Lee K J, Couto-Rodriguez M, et al. Gut microbiomes of wild great apes fluctuate seasonally in response to diet. Nat Commun, 2018, 9: 1786
2 Bi Y, Li C, Liu L, et al. IL-17A-dependent gut microbiota is essential for regulating diet-induced disorders in mice. Sci Bull, 2017, 62: 1052–1063
3 Zhang Z, Xu D, Wang L, et al. Convergent evolution of rumen microbiomes in high-altitude mammals. Curr Biol, 2016, 26: 1873–1879
4 Gomez A, Rothman J M, Petrzelkova K, et al. Temporal variation selects for diet-microbe co-metabolic traits in the gut of *Gorilla* spp. ISME J, 2016, 10: 514–526
5 Jiang F, Zhang J, Song P, et al. Conservation status, decline factors, and strategies for globally endangered musk deer (*Moschus* spp.) in China. Wildlife Lett, 2026, 4: 42–55
6 Gao H, Chi X, Qin W, et al. Comparison of the gut microbiota composition between the wild and captive Tibetan wild ass (*Equus kiang*). J Appl Microbiol, 2019, 126: 1869–1878
7 Gao H, Jiang F, Zhang J, et al. Effects of *ex situ* conservation on diversity and function of the gut microbiota of the Tibetan wild ass (*Equus kiang*). Integr Zool, 2023, 18: 1089–1104
8 Jiang F, Song P, Wang H, et al. Comparative analysis of gut microbial composition and potential functions in captive forest and alpine musk deer. Appl Microbiol Biotechnol, 2022, 106: 1325–1339
9 Li B, Gao H, Song P, et al. Captivity shifts gut microbiota communities in white-lipped deer (*Cervus albirostris*). Animals, 2022, 12: 431
10 Chen X, Yan F, Liu T, et al. Ruminal microbiota determines the high-fiber utilization of ruminants: evidence from the ruminal microbiota transplant. Microbiol Spectr, 2022, 10: e00446-22
11 Gao H, Li N, Huang Y, et al. Taxonomic status of Chinese blue sheep (*Pseudois nayaur*): new evidence of a distinct subspecies. Integr Zool, 2020, 15: 202–212

12 Huang H. Captivity and geography influence the antibiotic resistome of non-human primates. Front Vet Sci, 2022, 9: 1020276
13 Jiang T Y, Wang X M, Ding Y Z, et al. Behavioral responses of blue sheep (*Pseudois nayaur*) to nonlethal human recreational disturbance. Chin Sci Bull, 2013, 58: 2237–2247
14 Cui S, Hu T H, Yu M Q, et al. The activity rhythm and home range characteristics of blue sheep in Helan Mountain area (in Chinese). J Wildl, 2024, 45: 480–489 [崔爽, 胡天华, 余梦琦, 等. 贺兰山岩羊活动节律与家域特征. 野生动物学报, 2024, 45: 480–489]
15 Zhu Z, Sun Y, Zhu F, et al. Seasonal variation and sexual dimorphism of the microbiota in wild blue sheep (*Pseudois nayaur*). Front Microbiol, 2020, 11: 1260
16 Sun Y. DNA metabarcoding-based diet analysis of blue sheep and red deer in Helan Mountains (in Chinese). Master Thesis. Harbin: Northeast Forestry University, 2024 [孙悦. 基于DNA宏条形码技术贺兰山岩羊和马鹿的食性研究. 硕士学位论文. 哈尔滨: 东北林业大学, 2024]
17 Gao H, Chi X, Song P, et al. Maintaining the native gut microbiota of bharal (*Pseudois nayaur*) is crucial in *ex situ* conservation. Front Microbiol, 2024, 15: 1357415
18 Liang C, Li B, Song P, et al. The plasticity of gut microbiota contributes to inter-region dietary differences adaptation of ungulates in the Qinghai-Xizang Plateau. mSystems, 2025, 10: e00422–25
19 Zhang M, Liang C, Li B, et al. Gut microbiome and diet contribute to ecological niche differentiation between argali (*Ovis ammon hodgsoni*) and blue sheep (*Pseudois nayaur*) on the Qinghai-Xizang Plateau. Commun Biol, 2025, 8: 930
20 Bergman E N. Energy contributions of volatile fatty acids from the gastrointestinal tract in various species. Physiol Rev, 1990, 70: 567–590
21 Shi W, Moon C D, Leahy S C, et al. Methane yield phenotypes linked to differential gene expression in the sheep rumen microbiome. Genome Res, 2014, 24: 1517–1525
22 Svartström O, Alneberg J, Terrapon N, et al. Ninety-nine *de novo* assembled genomes from the moose (*Alces alces*) rumen microbiome provide new insights into microbial plant biomass degradation. ISME J, 2017, 11: 2538–2551
23 Evans J G, Fraser M D, Owen I, et al. An evaluation of two perennial ryegrass cultivars (AberDart and Fennema) for sheep production in the uplands. J Agric Sci, 2011, 149: 235–248
24 Trevelline B K, Fontaine S S, Hartup B K, et al. Conservation biology needs a microbial renaissance: a call for the consideration of host-associated microbiota in wildlife management practices. Proc R Soc B, 2019, 286: 20182448
25 McKenzie V J, Song S J, Delsuc F, et al. The effects of captivity on the mammalian gut microbiome. Integr Comp Biol, 2017, 57: 690–704
26 Turnbaugh P J, Ley R E, Mahowald M A, et al. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. Nature, 2006, 444: 1027–1031
27 Koh A, De Vadder F, Kovatcheva-Datchary P, et al. From dietary fiber to host physiology: short-chain fatty acids as key bacterial metabolites. Cell, 2016, 165: 1332–1345
28 Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, et al. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. Nature, 2013, 504: 446–450
29 La Rosa S L, Leth M L, Michalak L, et al. The human gut Firmicute *Roseburia intestinalis* is a primary degrader of dietary β-mannans. Nat Commun, 2019, 10: 905
30 Pfeiffer N, Desmarchelier C, Blaut M, et al. *Acetatifactor muris* gen. nov., sp. nov., a novel bacterium isolated from the intestine of an obese mouse. Arch Microbiol, 2012, 194: 901–907
31 Rey F E, Faith J J, Bain J, et al. Dissecting the *in vivo* metabolic potential of two human gut acetogens. J Biol Chem, 2010, 285: 22082–22090
32 Nakazawa F, Sato M, Poco S E, et al. Description of *Mogibacterium pumilum* gen. nov., sp. nov. and *Mogibacterium vescum* gen. nov., sp. nov., and reclassification of *Eubacterium timidum* (Holdeman et al., 1980) as *Mogibacterium timidum* gen. nov., comb. nov. Int J Systatic Evolary Microbiol, 2000, 50: 679–688
33 Uematsu H, Sato N, Hossain M Z, et al. Degradation of arginine and other amino acids by butyrate-producing asaccharolytic anaerobic Gram-positive rods in periodontal pockets. Arch Oral Biol, 2003, 48: 423–429
34 Obregon-Tito A J, Tito R Y, Metcalf J, et al. Subsistence strategies in traditional societies distinguish gut microbiomes. Nat Commun, 2015, 6: 6505
35 Angelakis E, Bachar D, Yasir M, et al. Treponema species enrich the gut microbiota of traditional rural populations but are absent from urban individuals. New Microbes New Infects, 2019, 27: 14–21
36 Liu N, Kivenson V, Peng X, et al. *Pontiella agarivorans* sp. nov., a novel marine anaerobic bacterium capable of degrading macroalgal polysaccharides and fixing nitrogen. Appl Environ Microbiol, 2024, 90: e00914-23
37 David L A, Maurice C F, Carmody R N, et al. Diet rapidly and reproducibly alters the human gut microbiome. Nature, 2014, 505: 559–563
38 Clayton J B, Vangay P, Huang H, et al. Captivity humanizes the primate microbiome. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: 10376–10381
39 Shkoporov A N, Hill C. Bacteriophages of the human gut: the “Known Unknown” of the microbiome. Cell Host Microbe, 2019, 25: 195–209
40 Gasparrini A J, Wang B, Sun X, et al. Persistent metagenomic signatures of early-life hospitalization and antibiotic treatment in the infant gut

microbiota and resistome. Nat Microbiol, 2019, 4: 2285–2297
41 Schulz F, Roux S, Paez-Espino D, et al. Giant virus diversity and host interactions through global metagenomics. Nature, 2020, 578: 432–436
42 Zhao F, Yang L, Zhang T, et al. Gut microbiome signatures of extreme environment adaption in Tibetan pig. npj Biofilms Microbiomes, 2023, 9: 27
43 Guo N, Wu Q, Shi F, et al. Seasonal dynamics of diet-gut microbiota interaction in adaptation of yaks to life at high altitude. npj Biofilms Microbiomes, 2021, 7: 38
44 Lombard V, Golaconda Ramulu H, Drula E, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy) in 2013. Nucleic Acids Res, 2014, 42: D490–D495
45 Muegge B D, Kuczynski J, Knights D, et al. Diet drives convergence in gut microbiome functions across mammalian phylogeny and within humans. Science, 2011, 332: 970–974
46 Wang X, Wang Z, Pan H, et al. Captivity influences the gut microbiome of *Rhinopithecus roxellana*. Front Microbiol, 2021, 12: 763022
47 Tan P, Liu H, Zhao J, et al. Amino acids metabolism by rumen microorganisms: nutrition and ecology strategies to reduce nitrogen emissions from the inside to the outside. Sci Total Environ, 2021, 800: 149596
48 Baniel A, Amato K R, Beehner J C, et al. Seasonal shifts in the gut microbiome indicate plastic responses to diet in wild geladas. Microbiome, 2021, 9: 26
49 Diaz J, Reese A T. Possibilities and limits for using the gut microbiome to improve captive animal health. Anim microbiome, 2021, 3: 89
50 Boraston A B, Bolam D N, Gilbert H J, et al. Carbohydrate-binding modules: fine-tuning polysaccharide recognition. Biochem J, 2004, 382: 769–781
51 Flint H J, Bayer E A, Rincon M T, et al. Polysaccharide utilization by gut bacteria: potential for new insights from genomic analysis. Nat Rev Microbiol, 2008, 6: 121–131
52 Kaoutari A E, Armougom F, Gordon J I, et al. The abundance and variety of carbohydrate-active enzymes in the human gut microbiota. Nat Rev Microbiol, 2013, 11: 497–504
53 Chu Y, Hao Z, Wang K, et al. The GH10 and GH48 dual-functional catalytic domains from a multimodular glycoside hydrolase synergize in hydrolyzing both cellulose and xylan. Biotechnol Biofuels, 2019, 12: 279
54 Biely P. Microbial carbohydrate esterases deacetylating plant polysaccharides. Biotechnol Adv, 2012, 30: 1575–1588
55 Tailford L E, Crost E H, Kavanaugh D, et al. Mucin glycan foraging in the human gut microbiome. Front Genet, 2015, 6: 81
56 Santhosh A, Suresh P, Arinarayanan S, et al. Genomic characterization of an environmental *Burkholderia thailandensis* strain from Kerala, India reveals virulence and antimicrobial resistance signatures. BMC Genomics, 2025, 26: 1146
57 Antonelli A, D'andrea M M, Brenciani A, et al. Characterization of poxtA, a novel phenicol-oxazolidinone-tetracycline resistance gene from an MRSA of clinical origin. J AntiMicrob ChemoTher, 2018, 73: 1763–1769
58 Toney A M, Koirala J, Stacy A, et al. Metabolic strategies that enable oral commensal persistence in a lower airway environment. mBio, 2025, 16: e0194825
59 Peres R S, Santos G B, Cecilio N T, et al. Lapachol, a compound targeting pyrimidine metabolism, ameliorates experimental autoimmune arthritis. Arthritis Res Ther, 2017, 19: 47
60 Miethke M, Marahiel M A. Siderophore-based iron acquisition and pathogen control. Microbiol Mol Biol Rev, 2007, 71: 413–451
61 Foxall R L, Means J, Marcinkiewicz A L, et al. *Inoviridae* prophage and bacterial host dynamics during diversification, succession, and Atlantic invasion of Pacific-native *Vibrio parahaemolyticus*. mBio, 2024, 15: e02851-23

补充材料

表S1 宏基因组测序质控后获得有效数据
表S2 宏基因组测序组装后Contigs表

本文以上补充材料见网络版csb.scichina.com. 补充材料为作者提供的原始数据, 作者对其学术质量和内容负责.

Summary for “基于宏基因组学揭示迁地保护重塑岩羊肠道微生物的结构和功能”

Metagenomic insights into the effects of *ex situ* conservation on gut microbial composition and function in blue sheep

Hongmei Gao[1†], Feng Jiang[1†], Pengfei Song[1], Xiangwen Chi[2], Haifeng Gu[1], Zhenyuan Cai[1], Xiaohu Wang[3], Bin Li[1,4], Chengbo Liang[1,4], Meng Zhang[1,4], Ruidong Zhang[1] & Tongzuo Zhang[1*]

[1] *Qinghai Provincial Key Laboratory of Animal Ecological Genomics, Northwest Institute of Plateau Biology, Chinese Academy of Sciences, Xining 810008, China*
[2] *Student Affairs Office, Qinghai University, Xining 810016, China*
[3] *Guangxi Academy of Sciences, Nanning 523083, China*
[4] *University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China*
† Equally contributed to this work
* Corresponding author, E-mail: zhangtz@nwipb.cas.cn

Gut microbiota plays a fundamental role in host nutrient metabolism, environmental adaptation, and immune regulation, and is highly sensitive to changes in habitat and management conditions. However, the influence of *ex situ* conservation on the gut microbial ecology of wild ungulates remains insufficiently understood. In this study, 40 fresh fecal samples were non-invasively collected from blue sheep (*Pseudois nayaur*) populations inhabiting wild and captive environments during warm and cold seasons. Metagenomic sequencing was subsequently performed to comprehensively evaluate variations in microbial community composition, metabolic function, viral characteristics, and potential microbial risk factors associated with captivity and seasonal transition. The gut microbiota of blue sheep was overwhelmingly dominated by bacteria, with Firmicutes and Bacteroidetes representing the core phyla across all groups. Comparative analyses demonstrated that bacterial community composition was jointly shaped by season and living environment, whereas viral community structure and microbial functional profiles were primarily associated with captivity status. Wild blue sheep exhibited substantially greater seasonal flexibility in gut microbial composition and function than captive individuals. During the warm season, wild populations showed significant enrichment of short-chain fatty acid–associated bacterial taxa and glycoside hydrolases involved in carbohydrate decomposition, indicating enhanced fermentation efficiency and utilization of nutrient-rich forage resources. In contrast, cold-season wild populations displayed elevated functional potential related to carbon metabolism and the degradation of structurally complex plant polysaccharides, reflecting adaptive microbial responses to seasonal dietary limitations and harsh alpine environments. In addition to bacterial functional shifts, the warm-season wild group exhibited stronger cross-domain associations between viral families and bacterial community structure, suggesting that natural environmental conditions may promote more dynamic and interconnected virus–bacterium ecological networks. By comparison, captivity markedly reduced the seasonal variability of the gut microbiota and shifted overall microbial functional profiles toward nitrogen-source utilization and basic biosynthetic pathways. These findings suggest that standardized diets and relatively stable captive conditions may constrain the ecological plasticity and adaptive capacity of the gut microbiome. Risk-factor analyses further revealed that captive blue sheep harbored higher abundances of acquired antimicrobial resistance genes and virulence-associated modules linked to metabolic adaptation, implying potential long-term health risks under captive management. Notably, the antimicrobial resistance gene poxtA was relatively enriched in the warm-season wild population, indicating a possible transmission interface of resistance determinants among livestock, environmental reservoirs, and wild blue sheep. This finding highlights the potential ecological connectivity of antimicrobial resistance dissemination within alpine ecosystems. Overall, *ex situ* conservation substantially reshaped the gut microecological system of blue sheep at multiple levels, including microbial composition, metabolic function, virus–bacterium interactions, and microbial risk-factor profiles. These results provide new insights into the ecological consequences of captivity on wildlife gut microbiota and emphasize the importance of preserving gut microecological authenticity during *ex situ* conservation practices. Strengthened long-term monitoring of antimicrobial resistance genes and other potential microbial risk factors is therefore essential for improving wildlife conservation strategies and captive population health management.

blue sheep (*Pseudois nayaur*), metagenomics, gut microbiota, viruses, antibiotic resistance genes, Qinghai-Xizang Plateau

doi: 10.1360/CSB-2026-0181