



基于多组学分析的荷包红鲤肠道菌群与性腺重关联机制研究

万柏祺^{1†}, 王园秀^{1†}, 叶昀¹, 毛毛雨¹, 郭婷婷¹, 张万昌², 万金发³, 吴金鸳^{1*}, 杨慧^{1*}

1. 江西农业大学生物科学与工程学院, 南昌 330045

2. 南昌大学生命科学学院, 南昌 330031

3. 江西省婺源县江源科技农业发展有限公司, 上饶 333200

† 同等贡献

* 联系人, E-mail: wjy1205@jxau.edu.cn; yhuijxau@hotmail.com

收稿日期: 2025-06-26; 接受日期: 2025-09-17; 网络版发表日期: 2025-10-22

赣鄱俊才支持计划·高校领军人才培养项目(批准号: QN2023015)、赣鄱俊才支持计划·主要学科学术带头人培养项目(批准号: 20243BCE51147)和国家自然科学基金(批准号: 32360830, 32302739)资助

摘要 繁殖是鱼类生命周期的重要生理过程, 性腺重与成熟系数是评估其繁殖性能的重要指标. 在集约化养殖模式下, 鱼类常出现性成熟延迟、繁殖力下降等问题. 现有研究多集中于营养或外源激素调控, 对肠道微生物及其代谢物与生殖功能之间的互作机制仍缺乏系统解析. 本研究以中国特有地方品种荷包红鲤(*Cyprinus carpio wuyuanensis*)为研究对象, 采集217尾个体的肠道内容物样本, 同步测定其体重、性腺重和内脏重等表型性状. 以性腺重作为衡量繁殖性能的指标, 系统探究肠道微生物及其代谢产物与繁殖性能之间的潜在关联. 研究结果显示, 荷包红鲤肠道微生物以变形菌门和厚壁菌门为优势菌门, 气单胞菌属、无色杆菌属和假单胞菌属为主要优势菌属. 通过肠型聚类分析, 发现荷包红鲤肠道细菌群主要分为无色杆菌属肠型、气单胞菌属肠型和生丝微菌属肠型. 其中, 气单胞菌属主导的肠型个体表现出显著更高的性腺重($P < 0.05$), 提示其可能促进性腺发育. 进一步采用two-part模型结合共丰度网络分析(co-abundance groups, CAGs), 鉴定出25个ASVs与性腺重显著相关. 其中, 以气单胞菌属为核心的CAG1与性腺重呈显著正相关($R = 0.39$, $P = 2.24 \times 10^{-7}$), 而CAG5(包含微小杆菌等细菌)与性腺重呈显著负相关($R = -0.36$, $P = 3.12 \times 10^{-6}$). 血清代谢组学分析鉴定出457种与性腺重显著相关的代谢物, 正相关代谢物显著富集于甘油磷脂代谢和氨基酸代谢通路(如精氨酸和脯氨酸代谢). 值得注意的是, 环脯氨酸二肽类等氨基酸衍生物与气单胞菌属丰度呈最显著正相关, 提示其可能为微生物-宿主互动的重要代谢媒介. 综上所述, 本研究揭示了荷包红鲤肠道微生物(尤其是气单胞菌属)在调节宿主繁殖性能中的潜在作用, 推测其可能通过影响宿主的氨基酸和脂质代谢途径进而调控性腺发育, 为鱼类繁殖性能的微生物调控机制提供了新的理论参考.

关键词 鱼, 肠道微生物, 性腺重, 代谢物, 肠型

引用格式: 万柏祺, 王园秀, 叶昀, 等. 基于多组学分析的荷包红鲤肠道菌群与性腺重关联机制研究. 中国科学: 生命科学, 2025, 55: 2297–2309

Wan B Q, Wang Y X, Ye Y, et al. Multi-omics analysis reveals gut microbiota-gonadal weight association in *Cyprinus carpio wuyuanensis* (in Chinese).

Sci Sin Vitae, 2025, 55: 2297–2309, doi: [10.1360/SSV-2025-0194](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0194)

荷包红鲤(*Cyprinus carpio wuyuanensis*)是鲤的一个地方特有变种, 隶属于鲤形目鲤科, 因体形侧扁宽厚、形似传统荷包而得名, 原产于中国江西省婺源县。荷包红鲤是集观赏与食用于一体的特色淡水鱼类, 体态丰满宽厚, 通体呈鲜红色, 具有显著的观赏性; 其肉质细嫩, 味道鲜美, 食用品质优良, 具备较高的经济价值。此外, 荷包红鲤作为杂交育种的重要亲本材料, 表现出良好的种间亲和性, 与其他鲤类品种杂交后, 其后代常表现出生长速度快、抗病力强等优良性状^[1]。

繁殖是鱼类生命周期至关重要的生理过程, 性腺重和成熟系数是评估鱼类繁殖性能的重要指标。然而, 在集约化养殖模式下, 鱼类常面临性成熟延迟、性腺发育受阻及繁殖力下降等问题^[2]。以宝蓝鸚鵡鱼为例, 当养殖密度超过2.32 kg/m³时, 其产卵数下降约40%, 孵化率降低约15%^[3]。为缓解集约化养殖对鱼类繁殖性能的不利影响, 现有研究多采用营养调控策略(如补充特定脂肪酸、维生素或氨基酸)^[4,5]或外源激素干预(如应用促性腺激素释放激素类似物)^[6], 旨在通过改善亲本营养状态或人工诱导性腺成熟来提升繁殖效率。然而, 这些方法在实际应用中常面临成本较高、操作复杂或存在残留风险等限制, 因此亟需开发更为安全、可持续的新型调控途径。

值得关注的是, 鱼类肠道微生物不仅是抵御病原体的重要防线^[7], 还广泛参与宿主的生理调节、营养吸收及免疫应答等过程^[8,9]。已有研究表明, 肠道益生菌可以促进鱼类的生长和繁殖性能^[10]。鱼类胃肠道中的微生物群由需氧菌、兼性厌氧菌和专性厌氧菌构成^[11], 主要包括变形菌门、梭杆菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、放线菌门和疣微菌门等^[12,13]。不同环境下的鱼类肠道菌群组成存在差异, 如海水鱼类肠道菌群的优势菌群是兼性厌氧菌等^[14], 而淡水鱼类肠道菌群则以气单胞菌、假单胞菌和A型拟杆菌为主^[13]。Gu等人^[15]探究了不同生长阶段北京鲮的肠道细菌群落组成, 发现北京鲮肠道菌群结构在不同性腺发育阶段存在显著差异。此外, Ghosh等人^[16]报道, 在鱼的生殖阶段饲料中添加益生菌可提升雌鱼的繁殖性能。本研究旨在探讨荷包红鲤肠道微生物及其代谢产物是否对其繁殖性能产生影响。因此, 系统研究鱼类肠道微生物群落的结构与功能, 对深入理解其在鱼类健康与繁殖调控中的作用机制具有重要意义。

本研究以200余尾2龄的荷包红鲤为研究对象, 系

统测定其体重和性腺重等表型性状。利用16S rRNA基因测序技术, 解析荷包红鲤肠道微生物的组成结构, 进一步探讨荷包红鲤繁殖性能与肠道微生物群及代谢物之间的关联性。在此基础上, 揭示肠道微生物调控鱼类繁殖性能的潜在作用机制, 为鱼类生殖生理研究及繁殖育种策略的优化提供重要的理论依据和科学参考。

1 材料与方法

1.1 荷包红鲤家系构建及表型测量

本研究于2021年春季在江西省婺源县荷包红鲤良种场开展荷包红鲤F₂代家系构建。首先从F₁代群体中筛选生长性能良好、健康状况优良的亲本个体, 并依据体型大小将其划分为大、中、小三个等级。随后, 通过人工配组设计, 构建四个F₂代家系: 选用中体型雌鱼与中体型雄鱼杂交建立8号家系(FN8); 小体型雌鱼与小体型雄鱼杂交构建11号家系(FN11); 大体型雌鱼与中体型雄鱼杂交分别构建15号家系(FN15)和16号家系(FN16)。各F₂代家系在孵化后第一年分别养殖于同一渔场的四个独立池塘中, 以避免家系间混杂。进入第二年养殖周期后, 所有个体经体外标记后转入同一池塘进行共养, 以消除环境差异, 并统一饲喂相同配方的商业饲料, 确保营养条件一致。2023年春季, 共采集F₂代荷包红鲤125尾雌鱼和92尾雄鱼, 进行活体解剖并测定内脏重、性腺重、体重等表型数据, 计算鱼的成熟系数, 其中内脏重是性腺重和其他内脏重量之和。成熟系数计算公式如下:

$$\text{成熟系数} = \frac{\text{性腺重}}{\text{鱼体重}} \times 100\%.$$

1.2 鱼盲肠内容物样品的采集与16S rRNA基因扩增子测序

荷包红鲤个体解剖后, 采集盲肠内容物样品, 立即放入1.5 mL无菌离心管中, 随后迅速浸入液氮并于-80℃冰箱保存, 共采集了217尾荷包红鲤盲肠内容物样品。微生物基因组DNA的提取采用QIAamp Fast DNA Stool Mini Kit(Qiagen, Germany)试剂盒, 严格按照制造商提供的操作流程进行, 以最大限度去除PCR抑制物并获得高纯度DNA。提取后, 用Nanodrop1000超微量分光光度计测定DNA样品的浓度和纯度, 并使用0.8%琼脂凝胶电泳进行DNA质量检测。为保证扩增效率与一致性, 将合格DNA样本按1:10的比例进行稀

释, 取1 μL 稀释后的DNA样品用于PCR扩增. 本研究选用细菌通用引物338F(5'-ACTCCTACGGGAGGCAG-CA-3')和806R(5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3')对16S rRNA基因的V3-V4区进行扩增^[17]. PCR扩增产物经纯化后, 利用Illumina TruSeq DNA建库试剂盒构建双端测序文库. 最终文库经定量与质检合格后, 采用Illumina MiSeq高通量测序平台对217份盲肠内容物DNA样本进行独立测序.

1.3 16S rRNA基因测序数据处理

数据下机后, 原始测序数据经Trimmomatic (v.0.39)^[18]软件处理, 去除接头序列、引物序列、低质量碱基以及短于50 bp的reads, 以确保后续分析的数据质量. 对质控后的双端序列, 采用QIIME2平台中的q2-dada2插件(v.2023.2.0)^[19]进行序列拼接、去噪和嵌合体序列识别与剔除, 最终生成去噪后的特征表(feature table)和代表性序列. 采用SILVA138分类学分类器^[20]对生成的特征表进行物种注释, 鉴定每个序列对应的微生物种类. 使用q2-diversity插件计算alpha多样性和beta多样性.

1.4 鱼肠道微生物肠型分析

为识别荷包红鲤肠道微生物群落的肠型(entero-type-like clusters), 首先在属水平对微生物组成数据进行标准化处理, 计算样本间的Jensen-Shannon(JSD)距离, 以衡量群落结构的相异程度^[21]. 基于JSD距离矩阵, 采用Calinski-Harabasz(CH)指数评估不同聚类数量的分类有效性, 选取CH指数最大值时对应的K值作为最优聚类数目, 即确定肠道菌群的潜在肠型数量. 随后, 采用围绕中心点划分(partitioning around medoids, PAM)算法对样本进行非监督聚类分析^[22], 将样本划分为3个互斥的簇. 为可视化聚类结果, 基于JSD距离矩阵进行主坐标分析, 并在坐标图中展示各样本的分布模式及聚类归属. 每个肠型中相对丰度最高的属被定义为该肠型的“驱动属”.

1.5 ASV共丰度组(CAGs)分析

为了筛选出具有统计意义的微生物特征, 将相对丰度高于 1×10^{-4} , 至少在10%个体中出现的ASVs用于后续分析, 共得到501个ASVs. 利用Spearman算法计算ASV之间的相关性并将其转换为相关性距离矩阵. 使

用R包stats中hclust函数^[23]将距离矩阵进行聚类, 采用多因素方差分析对co-abundance groups(CAGs)间的差异性进行置换检验^[24]. 最后, 使用Cytoscape软件(v.3.10.2)对权重值大于0.35的ASVs进行网络可视化展示^[25]. 使用psych包中的corr.test函数^[26]计算每个CAG与性腺重之间的相关性, 并使用Bonferroni方法对P值进行了多重校正.

1.6 使用two-part模型分析肠道菌群与性腺重的相关性

本研究采用two-part混合效应模型计算过滤后的ASVs与性腺重之间的关联性^[27]. 该模型的优势在于同时考虑了二元模型与数量性状模型, 克服了微生物数据非正态分布的难题. 二元模型用于检测肠道微生物存在与否对表型值的影响, 公式为:

$$y = \beta_1 b + e,$$

y 为经过性别、家系校正后的表型值, β_1 表示二元模型的估计效应, b 代表二元特征(0/1), e 是残差; 数量模型则解释了微生物的丰度对表型值的影响, 表达式为:

$$y = \beta_2 q + e,$$

y 为经过性别、家系校正后的表型值, β_2 表示数量模型的估计效应, q 代表数量特征(相对丰度), e 是残差. 为进一步整合两模型的统计证据, 采用未加权Z-score整合法对二元模型与数量模型所得的P值进行荟萃分析, 得到(meta P-value). 最终, 将每个ASV的关联显著性定义为三个P值中的最小值, 即: 二元模型P值、数量模型P值和荟萃分析P值中的最小值为最后P值(final P-value).

1.7 TM广靶血清代谢组学实验

鉴于鱼类血清样本采集难度较大, 在本研究中, 从217尾荷包红鲤中共成功收集了166份血清样本. 每份样品取50 μL 到离心管, 加入300 μL 20%乙腈-甲醇内标提取液, 涡旋3 min, 在4 $^{\circ}\text{C}$ 条件下, 11270 $\times g$ 离心10 min, 取上清液200 μL 到另一离心管, 在-20 $^{\circ}\text{C}$ 下静置30 min, 再离心3 min, 移取上清液180 μL 到内衬管. 此外, 所有样本提取液等量混合形成QC样本, 所有实验样本和QC样本在LC-QTOF-MS/MS平台进行非靶向检测. 然后, 基于迈维整合DB-all公共数据库(含Metlin, HMDB, KEGG等数据库)、自建标品数据库

MWDB、AI预测库以及MetDNA进行准确性。利用三重四极杆质谱的多反应监测模式对所有样本代谢物的提取离子色谱峰分别进行峰面积积分, 并对其中同一代谢物在不同标本中的色谱峰进行积分校正, 完成MRM精确定量。对得到的定性与定量的代谢物进行数据预处理, 使用每行(代谢物)最小值的1/5对缺失值进行填充, 然后计算QC样本CV值, 保留CV值小于0.3的物质, 最终得到1899个代谢物用于后续分析。这166个体的代谢物与表型及微生物的相关性分析是利用R软件corr.test函数包, 参数选的是Spearman相关, 并对P值进行了Bonferroni多重校正。代谢物的通路富集分析使用了在线网站 <https://www.metaboanalyst.ca/>。

2 结果

2.1 荷包红鲤表型分布

本研究测定了217尾2龄的F₂代荷包红鲤的性腺

重、内脏重、体重等表型数据, 并计算了鱼的成熟系数。各表型指标的平均值分别为: 性腺重52.10 g, 内脏重86.44 g, 体重649.48 g(图1A)。不同性别间性腺重表型差异不显著($P>0.05$), 而成熟系数在不同性别间具有显著差异($P<0.05$)(图1B)。值得注意的是, 性腺重和成熟系数表型在F₂代的4个家系间差异显著, 且呈现明显的梯度变化趋势: 从FN8, FN11, FN15至FN16家系, 性腺重与成熟系数表型依次递增(图1C), 提示遗传背景以及早期养殖环境对繁殖性状可能具有重要调控作用。进一步通过Spearman相关分析评估各表型性状间的关联性, 结果显示各性状之间具有高度正相关性(图1D)。其中, 性腺重与内脏重相关性最高($R=0.97$, $P<0.05$), 其次是性腺重与成熟系数($R=0.95$, $P<0.05$), 体重与性腺重之间也呈较强相关性($R=0.89$, $P<0.05$)。鉴于性腺重与成熟系数之间存在高度共线性($R=0.95$), 后续研究聚焦于性腺重作为核心的繁殖性能指标, 用于解析其与肠道微生物群落的关联机制。

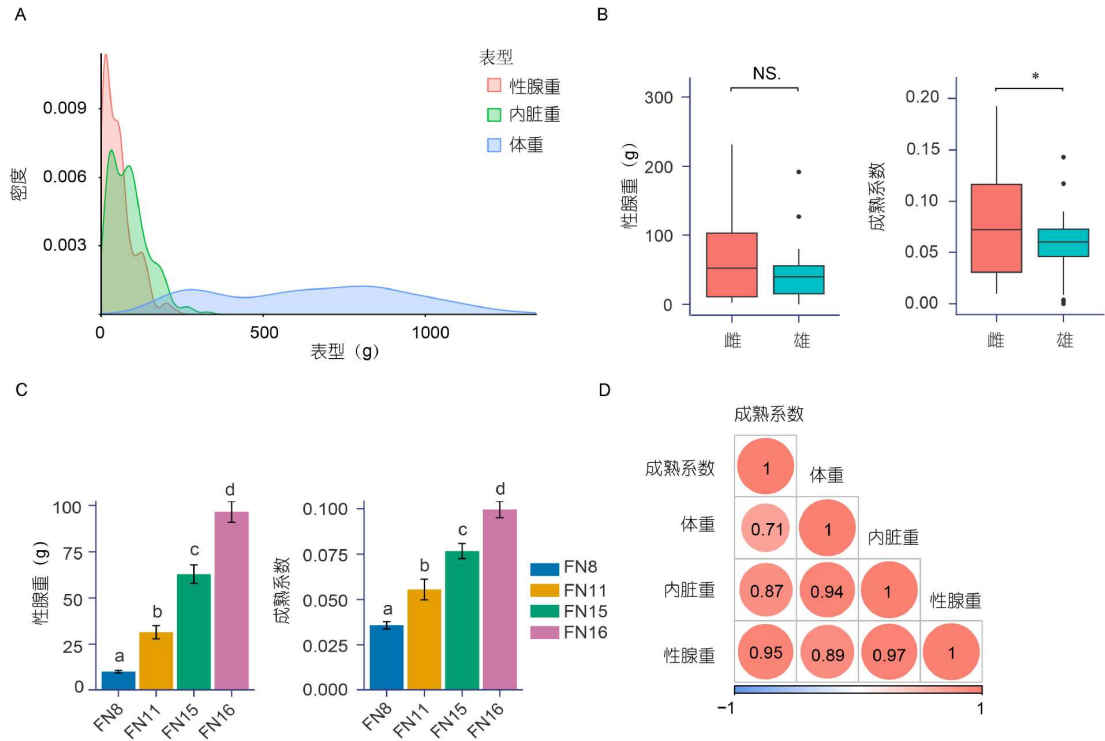


图 1 荷包红鲤表型分布. A: 217尾荷包红鲤表型的分布; B: 荷包红鲤性腺重和成熟系数在不同性别间的差异分析; C: 荷包红鲤性腺重和成熟系数在不同家系中有显著差异. 不同小写字母表示组间存在显著差异($P<0.05$); D: 荷包红鲤表型间相关性分析. 数值代表相关性系数

Figure 1 Phenotypic distribution of the Hebao Red common carp. A: Distribution of phenotypes of 217 Hebao Red common carp; B: differences in gonadal weight and maturity coefficient between female and male fishes; C: there were significant differences in the gonadal weight and maturity coefficient among different families; D: correlation analysis among different phenotypes. The numerical value represents the correlation coefficient

2.2 荷包红鲤盲肠微生物群落结构和组成

将收集到的217份荷包红鲤盲肠内容物微生物DNA样品全部进行16S rRNA基因测序和分析,共检测到72个细菌门、627个科和1380个属.荷包红鲤肠道微生物中丰度最高的门依次是变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)和放线菌门(Actinobacteriota) (图2A).在属水平上,丰度排名前三的分别是气单胞菌属(*Aeromonas*)、无色杆菌属(*Achromobacter*)和假单胞菌属(*Pseudomonas*) (图2B).

为了进一步分析荷包红鲤肠道微生物的群落结构,本研究采用Arumugam等人^[28]提出的方法进行鱼肠道微生物肠型分析.荷包红鲤肠道细菌主要聚集成三种肠型,分别是*Achromobacter*属主要驱动的肠型1(ET1)、*Aeromonas*菌属驱动的肠型2(ET2)和*Hyphomicrobium*菌属为主的肠型3(ET3) (图2C).这三个代表菌的丰度在三种肠型中存在显著差异(图2D).此外,本研究发现肠型对性腺重有显著影响,相较于肠型ET3个体,肠型ET1和肠型ET2个体有更高的性腺重(图2E).但肠型ET1和肠型ET2个体间性腺重没有显著差异.此结果提示*Aeromonas*菌属肠型和*Achromobacter*菌属肠

型可能对性腺重表型有促进作用.

2.3 荷包红鲤性腺重相关的肠道微生物种类

由于荷包红鲤性腺重和成熟系数在不同家系和性别间有显著差异,所以在进行荷包红鲤性腺重与肠道微生物的相关性分析时,采用two-part模型将表型校正性别和家系效应.在 $P<0.05$ 时,共检测到25个ASVs与性腺重显著相关,其中有11个ASVs与性腺重呈正相关,剩余的14个ASVs则与性腺重呈负相关(图3A).14个负关联的ASVs中,2个ASVs被注释到泛菌属(*Pantoea*),4个ASVs注释到假单胞菌属(*Pseudomonas*)和3个ASVs注释到微小杆菌属(*Exiguobacterium*).而11个与性腺重呈正相关的ASVs主要注释到气单胞菌属(*Aeromonas*)、真细菌属(*Eubacterium*)和分枝杆菌属(*Mycobacterium*)等.有趣的是,尽管已对表型数据进行家系效应校正,但这25个与性腺重相关的ASVs在不同家系间仍呈现显著的丰度差异(图3B).

利用Spearman方法对过滤后的501个ASVs进行相关分析,聚类共得到10个共丰度网络(CAGs) (图3C).在这10个CAGs中,本研究发现CAG1与性腺重显著正

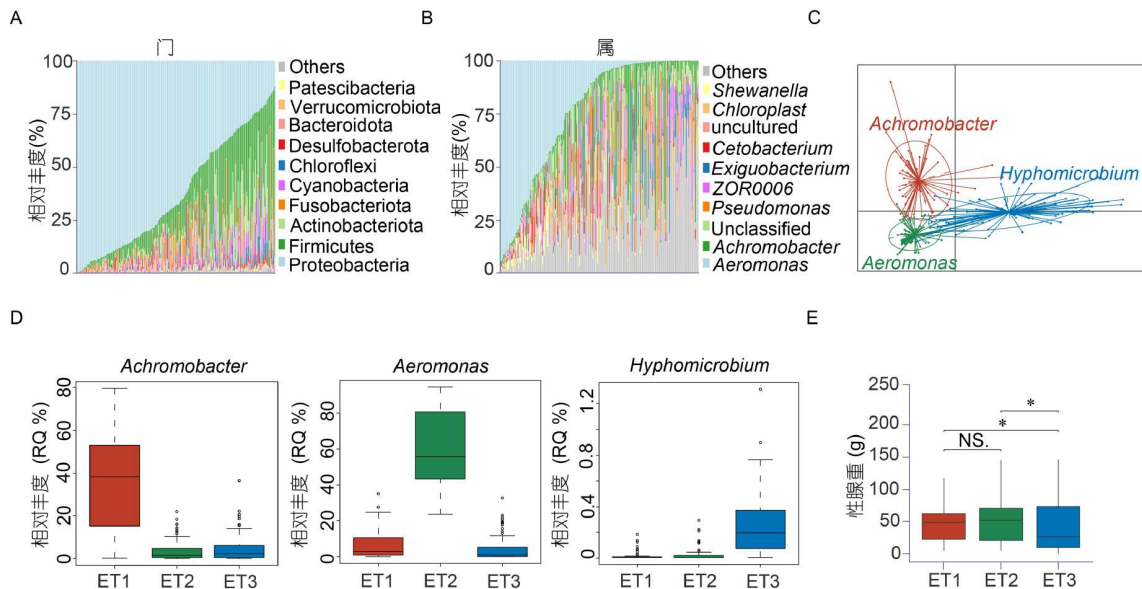


图 2 荷包红鲤盲肠微生物群落组成. A: 在门水平, 荷包红鲤盲肠微生物组成; B: 在属水平, 荷包红鲤盲肠微生物的组成; C: 217个盲肠样品的微生物肠型分类; D: 肠型驱动菌在3个肠型中的丰度; E: 不同肠型间性腺重比较, *表示 $P<0.05$, NS表示 $P>0.05$

Figure 2 The composition of gut microbiota in the cecum of Hebao Red common carp. A: Microbial composition in the cecum of the Hebao Red common carp at the phylum level; B: microbial composition in the cecum of the Hebao Red common carp at the genus level; C: enterotype classification of 217 cecal samples; D: the abundance of enterotype-driven bacteria; E: comparison of gonadal weights among different intestinal types, * indicates $P<0.05$, NS indicates $P>0.05$

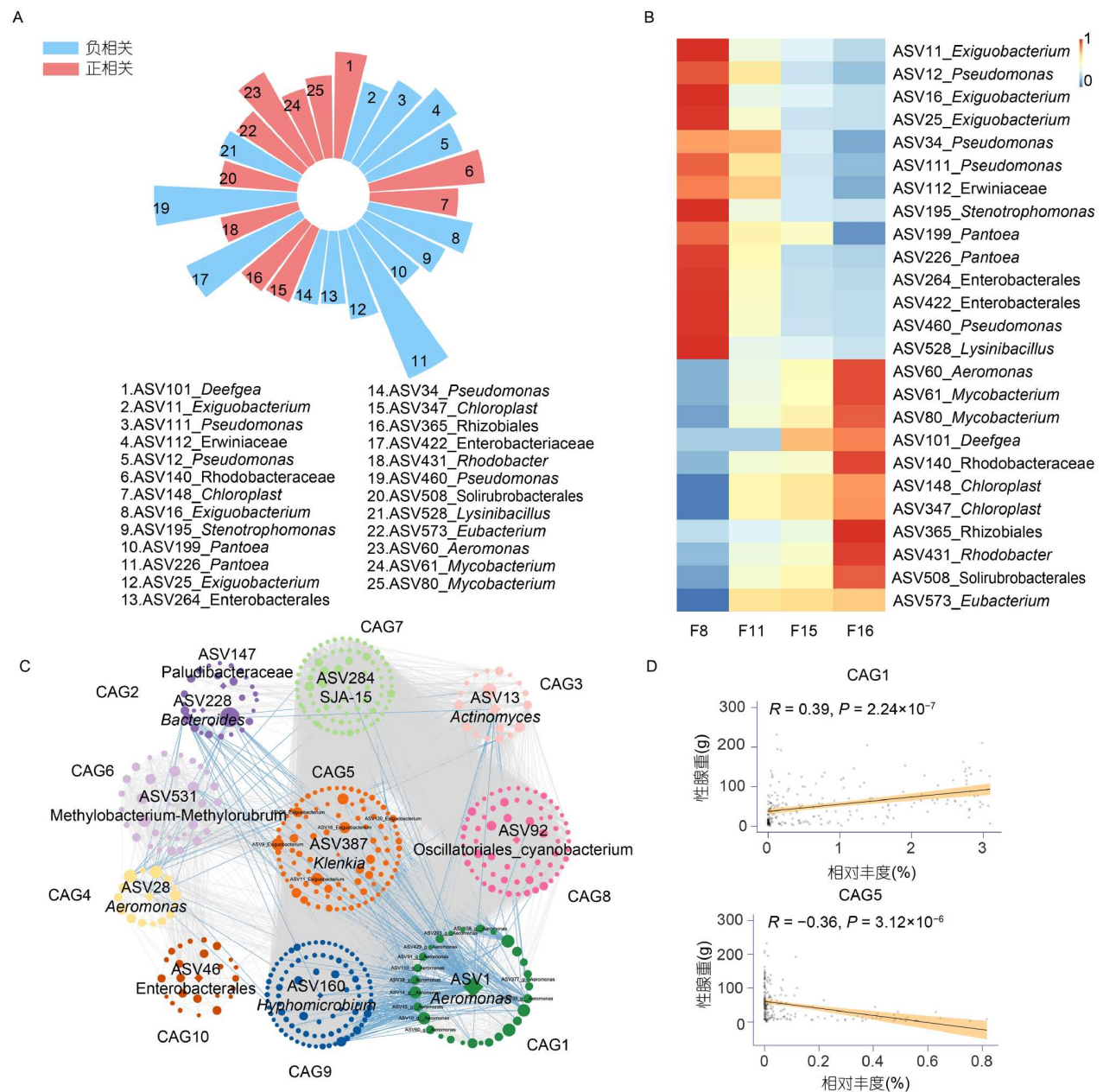


图 3 与性腺重显著相关的细菌。A: Two-part模型鉴定到25个与性腺重相关的ASVs。柱高表示Z值绝对值, 红色为正值, 蓝色为负值。B: 25个与性腺重相关的ASVs在家系间丰度比较; C: 共丰度网络图。Spearman相关系数>0.35的ASV在图中被展示。灰线代表节点间的正相关性, 蓝线代表节点间的负相关性, 点的大小表示ASV的丰度。网络图使用Cytoscape软件绘制。D: 共丰度簇与性腺重的关联性

Figure 3 Bacteria significantly related to gonadal weight. A: Two-part model identified 25 ASVs related to gonadal weight. The column height represents the absolute value of the Z value. B: Comparison of the abundance of 25 ASVs related to gonadal weight among pedigrees; C: co-abundance network diagram. ASVs with a Spearman correlation coefficient>0.35 were plotted in the network. The grey lines show the positive correlation between nodes, the blue line represents the negative correlation between nodes, and the size of the node indicates the abundance of ASV. The network plot was drawn using Cytoscape software. D: The association between co-abundance clusters and the gonadal weight

相关($R=0.39, P=2.24 \times 10^{-7}$), 而CAG5则与性腺重显著负相关($R=-0.36, P<0.01$), 其余CAGs则与性腺重无显

著关联(图3D)。CAG5包含了99个ASVs, 主要注释到根瘤菌属(*Allorhizobium-Neorhizobium-Pararhizobium-*

Rhizobium), 甲基杆菌属(*Methylobacterium-Methylorubrum*)和微小杆菌(*Exiguobacterium*). CAG1 包含了31个ASVs, 主要注释到气单胞菌属和鲸杆菌属, 且气单胞菌是CAG1中的核心菌. 这些结果提示, 气单胞菌属在促进性腺重表型中可能起着关键作用.

2.4 鉴定与性腺重相关的血清代谢物

本研究采集了166份荷包红鲤血清样品进行TM广靶代谢物检测, 利用UPLC-MS/MS检测平台共鉴定出1899个血清代谢物. 为了检测数据稳定性和可靠性,

本研究对数据中的15个QC样本进行了Pearson相关性分析, 所有QC样本的相关性基本都在0.99以上, 说明检测过程稳定性好, 整体数据质量高(图4). 接着为了鉴定与性腺重相关的血清代谢物, 我们将1899个血清代谢物与性腺重进行相关性分析, 检测到357个代谢物与性腺重显著正相关($P<0.05$), 且100个代谢物与性腺重显著负相关($P<0.05$) (图5A). 将这些与性腺重正相关和负相关的代谢物分别进行通路富集分析, 发现正相关的代谢物主要富集在甘油磷脂代谢和氨基酸代谢如精氨酸和脯氨酸代谢、苯丙氨酸代谢、甘氨酸,

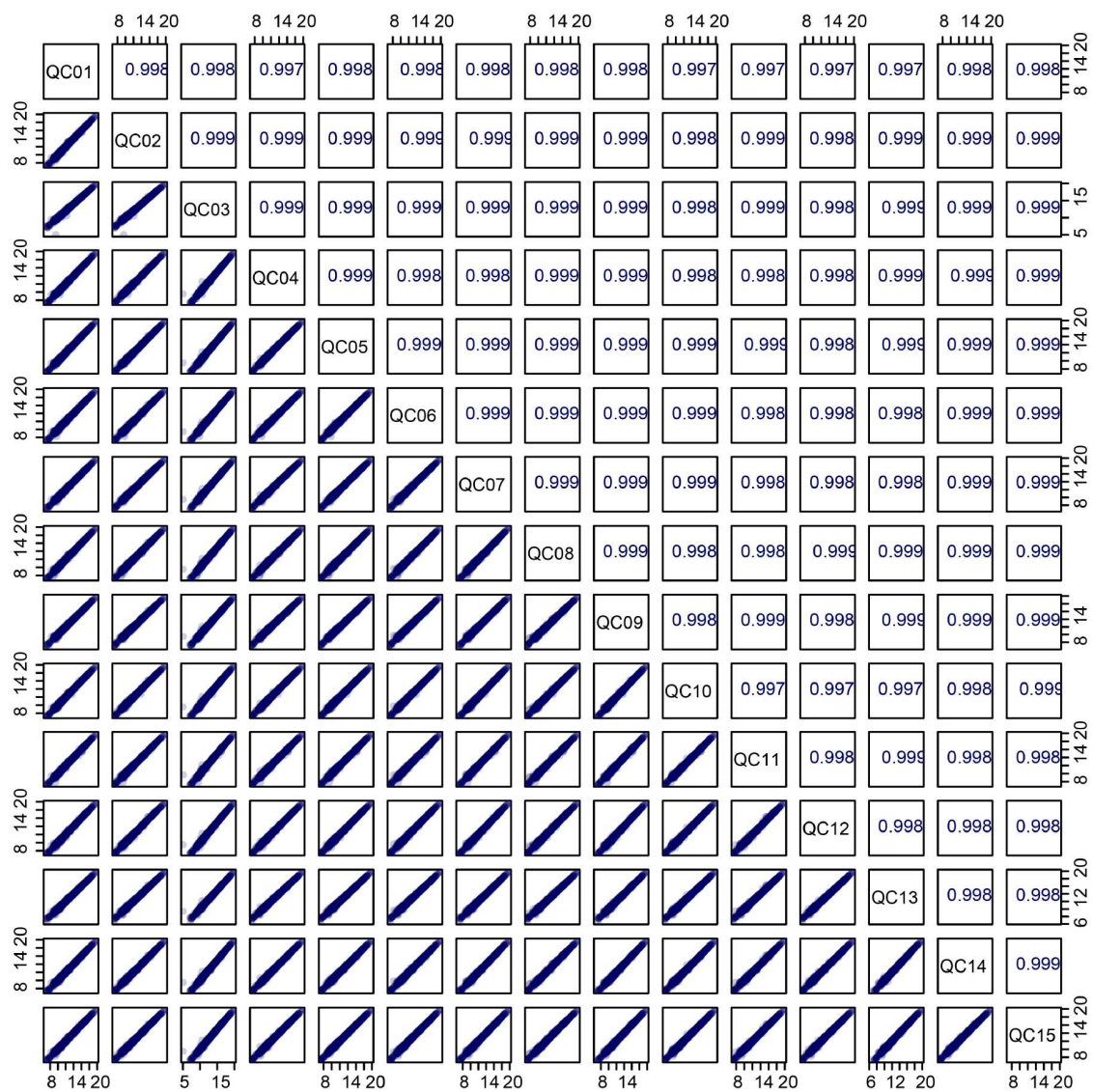


图 4 代谢物QC样品间的相关性
Figure 4 The correlation among QC samples of metabolites

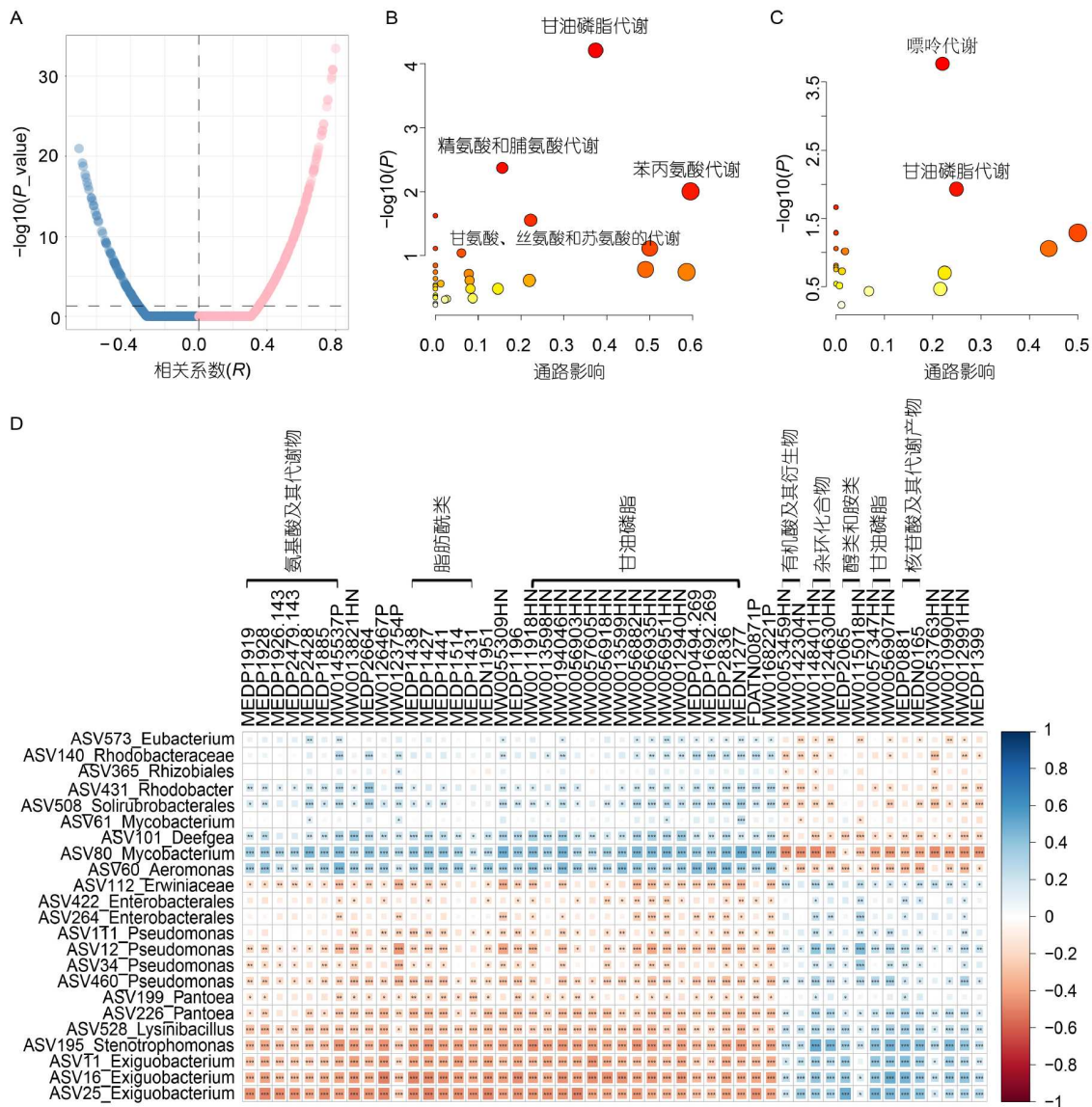


图5 血清代谢物与微生物关联性。A: 血清代谢物与性腺重相关性分析, 横坐标为相关系数, 纵坐标为 $-\log_{10}(P\text{值})$, 蓝色代表负相关, 红色代表正相关; B: 与性腺重正相关代谢物的通路富集; C: 与性腺重负相关代谢物的通路富集; D: 关联细菌与代谢物的相关分析

Figure 5 Serum metabolites and their association with microorganisms. A: Correlation analysis of serum metabolites and gonadal weight, the X-axis is shown as the correlation coefficient, and the Y-axis as $-\log_{10}(P\text{-value})$. Blue dot represents negative correlation and red dot represents positive correlation; B: pathway enrichment of metabolites that are positively correlated with the gonadal weight; C: pathway enrichment of metabolites negatively related to gonadal weight; D: correlation analysis of related bacteria and metabolites

丝氨酸和苏氨酸代谢(图5B), 而负相关的代谢物主要富集在甘油磷脂代谢和嘌呤代谢(图5C)。

为了研究与性腺重关联的代谢物是否受到微生物的影响, 本研究将关联的微生物与代谢物进行相关分析, 发现氨基酸类代谢物特别是脯氨酸相关代谢物如(环L-亮氨酸-L-脯氨酸)(MEDP1919)、环脯

氨酸-缬氨酸(MEDP1928)、环脯氨酸-苯丙氨酸(MEDP1926*143)、脯氨酸-异亮氨酸(MEDP1885)等。此外, 还有甘油磷脂类和脂肪酸类代谢物与气单胞菌、分枝杆菌和Deefgea等菌显著正相关, 而这些代谢物与微小杆菌、寡养单胞菌、泛菌和赖氨酸杆菌等有显著负相关(图5D)。有意思的是, 一些多胺类代谢物

(MEDP2065, MW0115018HN)和核苷酸类代谢物(MEDP0881, MEDN0165)与气单胞菌、分枝杆菌和*Deefgea*等菌显著负相关,而与微小杆菌、寡养单胞菌、泛菌和赖氨酸杆菌等显著正相关. 这些结果说明,荷包红鲤性腺重与血清代谢组、肠道微生物组存在密切关联,特定微生物群(如气单胞菌)及其代谢网络(如氨基酸和脂代谢)可能对性腺发育起一定调控作用.

3 讨论

本研究构建了荷包红鲤F₂代家系,测量并计算了217尾2龄鱼的性腺重、内脏重、体重和成熟系数等表型数据.性腺重和成熟系数均反映性腺发育程度,但性腺重反映的是绝对发育状态(如配子数量、性腺组织质量),而成熟系数反映的是相对发育状态(性腺与全身能量分配的权衡).有趣的是,Spearman相关分析检测到性腺重与成熟系数高度相关($R=0.95$),且性腺重与体重表型数据的相关性也达到0.89.这些结果说明,虽然荷包红鲤鱼的性腺发育与整体生长高度同步,但性腺发育更依赖绝对增长(性腺重增加),而非体重调节,也提示荷包红鲤的繁殖策略可能是“整体生长优先”,而非“性腺优先”的能量分配模式.此外,比较性腺重和成熟系数在不同性别间的差异,发现雌鱼不管性腺重还是成熟系数都是大于雄鱼,尽管在性腺重表型中没有达到显著差异.此结果提示在相同饲养条件下,雌鱼可能将更多能量分配给性腺(相对体重),为卵子发生提供储备.

人^[29]、猪^[30]和小鼠^[31]中等多篇研究报道肠道微生物会影响繁殖性能,为了揭示肠道微生物对鱼繁殖性能的影响,本研究采集了荷包红鲤的盲肠内容物并进行了16S rRNA 基因测序.荷包红鲤的肠道微生物组成主要是变形菌门、厚壁菌门和放线菌门,与其他鱼类的研究报道一致^[12,13,32].多项研究结果表明,淡水鱼中优势菌属是气单胞菌属和假单胞菌属等^[13,14].肠型最初被提出是用于对人类肠道微生物群进行分类,现在越来越多地用于研究各种动物物种的肠道微生物.范倩等人^[33]探究番鸭的生长性能和胴体性状与肠型的关联,鉴定了链球菌属、念珠菌和拟杆菌三个肠型,揭示了番鸭与肠型相关的胴体性状存在显著差异.袁中阳等人^[34]鉴定肉鸡十二指肠的三个肠型,并发现肠型对表型性能和营养代谢有一定的影响.本研究鉴

定到荷包红鲤盲肠有三种肠型,分别是无色杆菌属为主的肠型(ET1),气单胞菌属为主的肠型(ET2)和生丝微菌属为主驱动肠型(ET3),且这三种代表菌的丰度在三种肠型个体中存在显著差异.相较于其他肠型,气单胞菌属肠型个体有更高的性腺重.此外,CAGs分析也鉴定气单胞菌为核心的CAG与性腺重呈显著正相关,而微小杆菌属为主的CAG与性腺重呈显著负相关.肠型分析和CAG分析都提示,气单胞菌不仅是荷包红鲤盲肠群落的核心菌,还可能在性腺发育过程起重要作用.

Two-part模型结果验证到与性腺重呈正相关的是真杆菌属、分枝杆菌属和气单胞菌属等.真杆菌属是肠道微生物群的核心菌属之一^[35],真杆菌属的许多菌种产生的短链脂肪酸对维持健康具有多种重要作用,例如,产生的丁酸盐在能量稳态、结肠运动、免疫调节和抑制肠道炎症中起关键作用^[36].分枝杆菌属包含多种菌株,有些是致病性菌株(如*M. tuberculosis*, *M. bovis*)通常会导致宿主疾病.但也有一些非致病性/环境菌株(如*M. vaccae*, *M. smegmatis*, *M. chelonae*)对宿主的生长有间接调节作用.Lokesh和Kiron^[37]在健康大西洋鲑皮肤和肠道中检测到低丰度的分枝杆菌(如*M. chelonae*),发现其存在与较高的有益菌(如乳酸菌)丰度相关.Gauthier和Rhodes^[38]综述报道了环境分枝杆菌在健康鱼类中可能作为共生菌维持微生物平衡.气单胞菌是一类广泛分布于水生环境中的革兰氏阴性细菌.Syakuri等人^[39]用盐和中草药混合制剂饲喂纵带纹唇鱼,发现添加草药可增加鱼肠道中气单胞菌的丰度,其中包括维罗氏气单胞菌、鱼子化气单胞菌和詹氏气单胞菌.在水蛭体内,维氏气单胞菌被认为是一种共生菌,参与血液的消化过程,为宿主提供营养物质,并可能抑制其他细菌的生长^[40].此外,Brunt和Austin^[41]报道在饲料中添加活的维氏气单胞菌可有效保护鳟鱼不受病原菌感染.Gibson等人^[42]报道*Aeromonas media* A199菌株可作为益生菌防止牡蛎幼虫在受到结核弧菌攻击时死亡.许多气单胞菌能分泌脂肪酶、淀粉酶和蛋白酶,帮助分解饲料中的大分子营养物质(如脂肪和蛋白质),释放短链脂肪酸和氨基酸,促进宿主吸收.在TM广靶代谢组实验,本研究确实发现氨基酸类代谢物,特别是环脯氨酸二肽如Cyclo(Pro-Leu), Cyclo(Pro-Phe)等与气单胞菌属显著正相关,并且这些代谢物与性腺重表型也显著正相关.而环二肽在肠道

中可能作为小分子转运体, 帮助金属离子(如锌、铁)的吸收, 而锌是性腺发育必需的微量元素。这些结果提示, 气单胞菌等一些肠道共生菌可能代谢产生氨基酸类物质(如环脯氨酸二肽), 从而改善宿主对氨基酸和微量元素吸收, 为性腺发育提供关键物质基础。

此外, 本研究发现这些与性腺重关联的微生物在不同家系间差异也非常显著, 家系间肠道菌群的差异一方面可能是由于遗传背景的差异导致的。本研究构建的4个家系(FN8, FN11, FN15, FN16)分别来自F₁代不同体型等级的亲本组合。已有研究表明宿主基因型对肠道菌群组成有显著影响。陈松林院士团队^[43]对半滑舌鳎的研究发现, *cyp27a1*基因可上调胆汁酸合成通路, 促进有益菌*Phaeobacter*的定殖, 增强抗弧菌感染能力。Feng等人^[44]研究宿主与微生物组之间的相互作用及其对鲤鱼生长特征的调控机制时发现, RCC2位点的突变可能会干扰细胞周期的调控, 导致免疫相关的细菌增加, 显著影响鲤鱼的生长速度。另一方面可能是早期养殖环境的影响, F₂代4个家系尽管是饲养在同一个鱼场并饲喂相同饲料, 但在孵化后的第一年分别是分别饲养在4个独立水塘, 然后第二年给鱼打上标签, 再饲养在同一个水塘, 这种早期分离可能导致菌群定殖的差异。

然而, 本研究仍存在一定局限性。16S rRNA基因扩增子测序仅能检测到属水平的微生物, 不能精确到种及菌株水平的微生物, 后续可考虑使用高深度宏基因组测序来捕捉影响性腺重的微生物菌种及功能。其次, 研究结果仅能揭示肠道菌群、代谢产物与性腺重之间的关联性, 无法明确三者间的因果关系及具体调控机制。未来研究拟开展系统的体内实验验证工作,

构建特定菌株定植的无菌动物模型, 通过干预目标菌丰度, 动态监测宿主性腺发育指标及代谢谱变化, 以明确关键菌株的调控效应; 同时将采用代谢物干预实验, 通过饮食补充等方式观察其对性腺的影响, 验证代谢物对性腺发育的作用; 此外, 还将结合转录组学与蛋白质组学技术, 解析菌群代谢物调控性腺发育的分子机制, 完善“肠道菌群-代谢物-性腺轴”调控通路的理论框架。

4 结论

本研究通过对荷包红鲤F₂代家系的表型、肠道微生物组和血清代谢组的综合分析, 揭示了肠道微生物与性腺发育的潜在关联。肠型分析发现, 气单胞菌属肠型和无色杆菌属肠型个体的性腺重显著高于丝状菌属肠型个体。此外, 共丰度网络分析进一步证实, 以气单胞菌为核心的CAG1与性腺重呈显著正相关, 而富含微小杆菌属的CAG5则与性腺重负相关。血清代谢组分析显示, 与性腺重正相关的代谢物主要富集于氨基酸代谢(如脯氨酸、苯丙氨酸代谢)和甘油磷脂代谢途径。其中, 环脯氨酸二肽如Cyclo(Pro-Phe)等与气单胞菌属呈显著正相关, 提示这些微生物可能通过促进氨基酸吸收或脂质代谢, 间接调控性腺发育。综上, 本研究在荷包红鲤中首次揭示了肠道微生物(如气单胞菌等)可能通过调节宿主代谢如氨基酸和脂质代谢影响性腺发育, 这为鱼类繁殖性能的微生物调控机制提供了新见解。未来研究可通过微生物移植或益生菌干预实验进一步验证特定菌群对性腺发育的因果作用, 为水产养殖中的高效育种和健康养殖提供理论依据。

参考文献

- 1 Tadmor-Levi R, Doron-Faigenboim A, Marcos-Hadad E, et al. Different transcriptional response between susceptible and resistant common carp (*Cyprinus carpio*) fish hints on the mechanism of CyHV-3 disease resistance. *BMC Genomics*, 2019, 20: 1019
- 2 Guan M, Zhang D Z, Shu D B, et al. Effects of stocking density on growth performance, biochemical indexes, and gonadal development of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) (in Chinese). *J Fish Sci China*, 2023, 30: 25–36 [管敏, 张德志, 舒德斌, 等. 养殖密度对中华鲟生长性能、生化指标及性腺发育的影响. *中国水产科学*, 2023, 30: 25–36]
- 3 Xiao J C, Zhao Y F, Shi Y H, et al. Effects of culture density on growth, physiology and reproduction of *Archocentrus nigrofasciatus* var. *× Mikrogeophagus ramirezi* (in Chinese). *J Trop Biol*, 2025, 16: 304–311 [肖佳程, 赵一方, 石耀华, 等. 养殖密度对宝蓝鹦鹅鱼生长、生理与繁殖的影响. *热带生物学报*, 2025, 16: 304–311]
- 4 Rohani M F, Tarin T, Hasan J, et al. Vitamin E supplementation in diet ameliorates growth of *Nile tilapia* by upgrading muscle health. *Saudi J Biol Sci*, 2023, 30: 103558

- 5 Wang S, Li X, Zhang M, et al. Dietary supplementation of crystalline amino acid improves growth performance and health of yellow catfish that reduced by plant proteins replacement of fishmeal. [Aquacult Nutr](#), 2022, 2022: 1–14
- 6 Falahatkar B, Poursaeid S, Sheridan M A. Repeated intraperitoneal injection of ovine growth hormone accelerates growth in sub-yearling Siberian sturgeon *Acipenser baerii*. [Heliyon](#), 2022, 8: e09667
- 7 Hu J, Chen J, Xu X, et al. Gut microbiota-derived 3-phenylpropionic acid promotes intestinal epithelial barrier function via AhR signaling. [Microbiome](#), 2023, 11: 102
- 8 López Nadal A, Ikeda-Ohtsubo W, Sipkema D, et al. Feed, microbiota, and gut immunity: using the zebrafish model to understand fish health. [Front Immunol](#), 2020, 11: 114
- 9 Uma A, Subash P, Abraham T J. Importance of gut microbiota in fish—a review. [Indian J Anim Health](#), 2020, 59: 181–194
- 10 Salam M A, Islam M A, Paul S I, et al. Gut probiotic bacteria of *Barbonymus gonionotus* improve growth, hematological parameters and reproductive performances of the host. [Sci Rep](#), 2021, 11: 10692
- 11 Meng X L, Li W J, Nie G X. Effect of different factors on the fish intestinal microbiota (in Chinese). *J Fish China*, 2019, 43: 143–155 [孟晓林, 李文均, 聂国兴. 鱼类肠道菌群影响因子研究进展. *水产学报*, 2019, 43: 143–155]
- 12 Talwar C, Nagar S, Lal R, et al. Fish gut microbiome: current approaches and future perspectives. [Ind J Microbiol](#), 2018, 58: 397–414
- 13 Wang A R, Ran C, Ringø E, et al. Progress in fish gastrointestinal microbiota research. [Rev Aquacult](#), 2018, 10: 626–640
- 14 Nayak S K. Role of gastrointestinal microbiota in fish. [Aquacult Res](#), 2010, 41: 1553–1573
- 15 Gu H, Feng Y, Yang Z. Differential study of the *Parabramis pekinensis* intestinal microbiota according to different gonad development stages. [Fish Sci](#), 2022, 88: 721–731
- 16 Ghosh S, Sinha A, Sahu C. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. [Aquacult Res](#), 2007, 38: 518–526
- 17 Johnson J S, Spakowicz D J, Hong B Y, et al. Evaluation of 16S rRNA gene sequencing for species and strain-level microbiome analysis. [Nat Commun](#), 2019, 10: 5029
- 18 Bolger A M, Lohse M, Usadel B. Trimmomatic: a flexible trimmer for Illumina sequence data. [Bioinformatics](#), 2014, 30: 2114–2120
- 19 Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, et al. DADA2: high-resolution sample inference from Illumina amplicon data. [Nat Methods](#), 2016, 13: 581–583
- 20 Quast C, Pruesse E, Yilmaz P, et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. [Nucleic Acids Res](#), 2013, 41: D590–D596
- 21 Nielsen F. On a generalization of the Jensen-Shannon divergence and the Jensen-Shannon centroid. [Entropy](#), 2020, 22: 221
- 22 Gu Y, Preisser J S, Zeng D, et al. Partitioning around medoids clustering and random forest classification for GIS-informed imputation of fluoride concentration data. [Ann Appl Stat](#), 2022, 16: 551–572
- 23 R Core Team. R: A Language and Environment for Statistical Computing. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2025
- 24 Zhang Q, Wu Y, Wang J, et al. Accelerated dysbiosis of gut microbiota during aggravation of DSS-induced colitis by a butyrate-producing bacterium. [Sci Rep](#), 2016, 6: 27572
- 25 Shannon P, Markiel A, Ozier O, et al. Cytoscape: a software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. [Genome Res](#), 2003, 13: 2498–2504
- 26 William R. psych: Procedures for Psychological, Psychometric, and Personality Research. Evanston: Northwestern University, 2025
- 27 Fu J, Bonder M J, Cenit M C, et al. The gut microbiome contributes to a substantial proportion of the variation in blood lipids. [Circ Res](#), 2015, 117: 817–824
- 28 Arumugam M, Raes J, Pelletier E, et al. Enterotypes of the human gut microbiome. [Nature](#), 2011, 473: 174–180
- 29 Lv S, Huang J, Luo Y, et al. Gut microbiota is involved in male reproductive function: a review. [Front Microbiol](#), 2024, 15: 1371667
- 30 Liu M, Zhang J, Zhou Y, et al. Gut microbiota affects the estrus return of sows by regulating the metabolism of sex steroid hormones. [J Anim Sci Biotechnol](#), 2023, 14: 155
- 31 Trigg N A, Zhou S K, Harris J C, et al. A lack of commensal microbiota influences the male reproductive tract intergenerationally in mice. [Reproduction](#), 2025, 169: e240204
- 32 Li J Z, Hou J, Zhang P F, et al. Comparative study of intestinal microbial community structure in different species of carp in aquaponics system (in Chinese). *South China Fish Sci*, 2016, 12: 42–50 [李建柱, 侯杰, 张鹏飞, 等. 鱼菜共生模式中不同鱼类肠道微生物群落结构的比较. *南方*

水产科学, 2016, 12: 42–50]

- 33 Fan Q, Xu Y, Xiao Y, et al. Linking growth performance and carcass traits with enterotypes in Muscovy ducks. *Anim Biosci*, 2024, 37: 1213–1224
- 34 Yuan Z Y, Yan W, Wen C L, et al. Enterotype identification and its influence on regulating the duodenum metabolism in chickens. *Poultry Sci*, 2020, 99: 1515–1527
- 35 Mukherjee A, Lordan C, Ross R P, et al. Gut microbes from the phylogenetically diverse genus *Eubacterium* and their various contributions to gut health. *Gut Microbes*, 2020, 12: 1802866
- 36 Lu H, Xu X, Fu D, et al. Butyrate-producing *Eubacterium rectale* suppresses lymphomagenesis by alleviating the TNF-induced TLR4/MyD88/NF- κ B axis. *Cell Host Microbe*, 2022, 30: 1139–1150.e7
- 37 Lokesh J, Kiron V. Transition from freshwater to seawater reshapes the skin-associated microbiota of Atlantic salmon. *Sci Rep*, 2016, 6: 19707
- 38 Gauthier D T, Rhodes M W. Mycobacteriosis in fishes: a review. *Vet J*, 2009, 180: 33–47
- 39 Syakuri H, Soedibya P H T, Marnani S, et al. Growth performance and intestinal *Aeromonas* spp. of bonylip barb (*Osteochilus vittatus*) after receiving diet containing salt and herbal concoction supplementation. *Indones Aquacult J*, 2025, 19: 111–122
- 40 GRAF J. Symbiosis of *Aeromonas veronii* biovar sobria and *Hirudo medicinalis*, the medicinal leech: a novel model for digestive tract associations. *Infect Immun*, 1999, 67: 1–7
- 41 Brunt J, Austin B. Use of a probiotic to control lactococcosis and streptococcosis in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). *J Fish Dis*, 2005, 28: 693–701
- 42 Gibson L F, Woodworth J, George A M. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture*, 1998, 169: 111–120
- 43 Zhou Q, Zhu X, Li Y, et al. Intestinal microbiome-mediated resistance against vibriosis for *Cynoglossus semilaevis*. *Microbiome*, 2022, 10: 153
- 44 Feng L, Xu Q, Feng J, et al. Exploring the potential regulation mechanisms of host-microbiome comprehensive interactions on growth traits in *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 2025, 605: 742522

Multi-omics analysis reveals gut microbiota-gonadal weight association in *Cyprinus carpio wuyuanensis*

WAN BoQi^{1†}, WANG YuanXiu^{1†}, YE Yun¹, MAO MaoYu¹, GUO TingTing¹, ZHANG WanChang²,
WAN JinFa³, WU JinYuan^{1*} & YANG Hui^{1*}

¹ School of Bioscience and Bioengineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang 330045, China

² School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China

³ Wuyuan Jiangyuan Science and Technology Agricultural Development Co., Ltd, Shangrao 333200, China

† Contributed equally to this work

* Corresponding authors, E-mail: wjy1205@jxau.edu.cn; yhuijxau@hotmail.com

Reproduction is a vital physiological process in the life cycle of fish. Gonadal weight and maturity coefficient are important indicators for assessing reproductive performance. Under intensive aquaculture conditions, fish often experience issues such as delayed sexual maturity and decreased fertility. While many studies have focused on the nutritional regulation or exogenous hormone interventions, systematic analyses of the interactions between intestinal microbiota and their metabolites, and host reproductive performance remain scarce. In this study, we collected 217 cecum content samples from *Cyprinus carpio wuyuanensis*, a native subspecies of common carp native, and recorded phenotypic traits including body weight, gonadal weight and visceral weight. Taking gonadal weight as an index to evaluate reproductive performance, we systematically investigated the potential relationship between gut microbiota and their metabolites, and reproductive performance. Results showed that Proteobacteria and Firmicutes were the dominant bacterial phylum, with *Aeromonas*, *Achromobacter* and *Pseudomonas* being the most abundant genera. Enterotype-like clustering identified three distinct gut microbial types: an *Achromobacter*-dominant type (ET1), an *Aeromonas*-dominant type (ET2), and a *Hyphomicrobium*-dominant type (ET3). Among these, the *Aeromonas* type (ET2) showed significantly higher gonadal weight ($P < 0.05$), suggesting a potential promotive effect on gonadal development. Furthermore, a Two-Part model combined with co-abundance group (CAGs) analysis found that 25 ASVs were significantly correlated with gonadal weight. CAG1, which featured *Aeromonas* as the hub genus, was positively correlated with gonadal weight ($R = 0.39$, $P = 2.24 \times 10^{-7}$), while CAG5 (containing *Exiguobacterium* spp.) was significantly negatively correlated with gonadal weight ($R = -0.36$, $P = 3.12 \times 10^{-6}$). Serum metabolomic profiling identified 457 metabolites significantly related to gonadal weight. Metabolites positively correlated with gonadal weight were enriched in glycerol phospholipids and amino acid metabolic pathways, such as arginine and proline metabolism. Notably, amino acid derivatives, including cycloproline-containing dipeptides, showed the most significant positive correlation with *Aeromonas* abundance, suggesting their role as key metabolic mediators in microbiota–host interactions. In conclusion, this study highlights the potential role of gut microbiota, particularly *Aeromonas* spp., in regulating fish reproductive performance via modulation of amino acid and lipid metabolism. These findings provide new theoretical insights into the microbial mechanisms influencing fish reproduction.

fish, gut microbiota, gonadal weight, metabolites, enterotype

doi: [10.1360/SSV-2025-0194](https://doi.org/10.1360/SSV-2025-0194)