DOI:10.12441/spyswjs.20240304001 [文章编号] 1673-1689(2025)05-0116-11

宏基因组分析新疆北部地区马乳中菌群结构及功能基因

高沙尔·卡依尔哈力[1] 付志昂[2] 欧阳单华[1] 海妮·巴音达[1] 巴哈提古丽·马那提拜[1*]

(1. 乌鲁木齐海关技术中心,新疆 乌鲁木齐 830063; 2. 新疆农业大学食品科学与药学学院,新疆 乌鲁木齐 830012)

摘要:【目的】马乳营养价值高且风味独特,这与其复杂的微生物构成密不可分,而不同的地理位置、气候会对马乳菌群结构产生影响,作者探究了不同地理位置对马乳菌群结构的影响。**【方法】**基于宏基因组技术分析新疆北部3个不同地区14批马乳样品(每批为12匹马的马乳混合样)的微生物多样性,挖掘其功能基因。**【结果】**共鉴定出26种微生物,分属于9门14纲25目28科45属,优势菌种有瑞士乳杆菌、巴氏醋酸杆菌、弯曲乳酸杆菌、酒香酵母;不同地区共有11个属,优势菌属均为乳杆菌属,优势菌种均为瑞士乳杆菌,但不同地区相对丰度存在差异;与鲜马乳相比,发酵马乳中乳杆菌属、醋菌属、短乳杆菌属、酒香酵母属的相对丰度增加,而链球菌属、土孢杆菌属、葡萄球菌属、肠球菌属、弯曲杆菌属、克雷伯氏菌属的相对丰度降低;KEGG数据库注释到23 547个基因,涉及碳水化合物代谢、氨基酸代谢、翻译过程、膜运输、能量代谢、核苷酸代谢、辅助因子和维生素的代谢;eggNOG数据库注释结果表明,马乳细菌中含有丰富的与复制重组和修复相关的基因,以及与碳水化合物运输和代谢、氨基酸运输和代谢等相关的基因;马乳细菌中含有丰富的糖苷水解酶、糖基转移酶基因,基因数分别为12 155 454和1 130 442。其次是氧化还原酶基因及糖类酯解酶基因,基因数分别为184 638和465 134。**【结论】**不同地理位置会对马乳菌群结构产生影响,不同马乳类型菌群结构也存在差异。

关键词:马乳;宏基因组;微生物多样性;功能注释

Metagenomic Analysis of Microbial Community Structure and Functional Genes in Horse Milk from Northern Xinjiang

KAYIERHALI Gaoshaer[1] *FU Zhiang*[2] *OUYANG Danhua*[1] *BAYINDA Haini*[1] *MANATBAY Bakhetgul*[1*]

(1. Urumqi Customs Technology Center, Urumqi 830063, China; 2. College of Food Science and Pharmacy, Xinjiang Agricultural University, Urumqi 830012, China)

Abstract: [**Objective**] Horse milk has a high nutritional value and a unique flavor, which are closely related to its complex microbial composition, and different geographical locations and climates will affect the microbial community structure of horse milk. This study aims to explore the effects of different geographical locations on the microbial community structure in horse milk. [**Method**] Metagenomic technology was employed to analyze the microbial diversity of 14 batches of horse milk samples from 3 different regions in northern Xinjiang, and the functional genes were excavated. [**Result**] A total of 26 species of microorganisms were identified, belonging to 9 phyla, 14 classes, 25 orders, 28 families, and 45 genera. The dominant species were *Lactobacillus helveticus*, *Acetobacter pasteurianus*, *Lactobacillus crispatus*, and *Brettanomyces bruxellensis*. There were 11 common genera in

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(面上)项目(2021A01033);新疆维吾尔自治区国际科技合作计划项目(2022E01002)。

通信作者:巴哈提古丽·马那提拜(1979—),女,博士,高级兽医师,主要从事食品、化妆品的微生物检测和研究工作。E-mail:1361574883@qq.com

收稿日期:2025-03-04 **修回日期:**2025-04-25

the samples from different regions, with the dominant genus being *Lactobacillus* and the dominant species being *L. helveticus*, while the relative abundance was different in the samples from different regions. Compared with fresh horse milk, fermented horse milk showed increased relative abundance of *Lactobacillus*, *Acetobacter*, *Lentilactobacillus*, and *Brettanomyces*, and decreased relative abundance of *Streptococcus*, *Terrisporobacter*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Campylobacter*, and *Klebsiella*. The annotation in the KEGG database revealed 23 547 genes, which were involved in carbohydrate metabolism, amino acid metabolism, translation, membrane transport, energy metabolism, nucleotide metabolism, and cofactor and vitamin metabolism. The annotation results with the eggNOG database showed that the bacteria in horse milk contained abundant genes related to replication, recombination and repair, carbohydrate transport and metabolism, amino acid transport and metabolism, etc. Glucoside hydrolase genes (12 155 454) and glycosyl transferase genes (1 130 442) were abundant in horse milk bacteria, followed by auxiliary activity genes (184 638) and carbohydrate esterase genes (465 134). [**Conclusion**] Different geographical locations can affect the microbial community structure in horse milk, and the microbial community structure varies among different types of horse milk.

Keywords: horse milk; metagenome; microbial diversity, functional annotation

近年来，人们对乳品的营养要求越来越高，马乳因营养丰富而渐受青睐。马乳自身特有的风味及口感跟马乳中的微生物菌群相关联，微生物会把鲜马乳中的各类营养物质（碳水化合物、蛋白质、脂肪酸等）进行分解和代谢，生成相应的风味物质以及具有特定功能的生物活性成分[1-2]。在微生物检测中普遍采用的技术是16S rRNA，但是用该方法检测马乳微生物多样性具有一定的局限，检测的微生物只能确定到属水平，不能精确到种水平。

宏基因组测序技术是基于提取特定环境中全部微生物的DNA，构建宏基因组文库，来探索微生物群落功能，挖掘功能基因的一门技术[3-4]。目前，虽然已经有大量对马乳中微生物多样性的研究，但是鉴定到种水平上的相关研究比较少，关于其功能基因的研究也几乎处于空白阶段，需要开展深入研究。

作者采用宏基因组测序技术，对新疆不同地区马乳中的优势微生物菌群进行鉴定，分析传统鲜马奶、酸马奶中微生物多样性，并挖掘马乳微生物功能基因，以期为我国马乳产业的发展提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　样品来源

马乳样品来自新疆北部伊犁地区、塔城地区、阿勒泰地区。每个地区选取2个采样点，分别采集鲜马乳、发酵12 h的初发酵马乳、发酵48 h的酸马乳，每批马乳样品为12匹马的混合样。经宏基因组测序DNA质检，最终共有14批样品，详见表1。

表1　样品信息

Table 1　Sample information

地区	采样点	马乳类型	样品编号
伊犁地区	特克斯	鲜马乳	YL-T-X
		初发酵马乳	YL-T-C
		酸马乳	YL-T-S
	尼勒克	鲜马乳	YL-N-X
		酸马乳	YL-N-S
塔城地区	裕民	初发酵马乳	TC-Y-C
		酸马乳	TC-Y-S
	托里	初发酵马乳	TC-T-C
		酸马乳	TC-T-S
阿勒泰地区	吐尔洪	鲜马乳	A-TRH-X
		初发酵马乳	A-TRH-C
		酸马乳	A-TRH-S
	恰库尔特	初发酵马乳	A-Q-C
		酸马乳	A-Q-S

1.2　方法

1.2.1　DNA提取

采用磁珠法提取样品DNA。样品预处理：首先取2 mL的马乳样品加入提前灭菌处理的2 mL离心管中，室温下于10 000 r/min离心3 min去上清液，然后将带有沉淀的离心管倒置在吸水纸上1 min，保证离心管中上清液全部流出。预处理后的样品根据E.Z.N.A™ Mag-Bind Soil DNA Kit提取试剂盒步骤提取DNA。采用1 g/dL琼脂糖凝

胶检测DNA完整性，DNA检测合格后保存至−20 ℃以便后续分析。

1.2.2 宏基因组测序

使用NEB Next® Ultra™ DNA Library Prep Kit for Illumina®试剂盒进行文库构建。Illumina™二代测序平台进行宏基因组测序。通过Fastp对测序下机数据进行质检除杂，得到相对准确的有效数据；使用megahit、bowite2、SPAdes进行拼接组装；使用Metawrap组合套件进行Binning分箱[5]；采用Prodigal进行ORF预测。

1.2.3 基因集构建与丰度计算

用CD-HIT软件对各样品的预测基因序列去冗余，获得非冗余的基因集，根据序列相似性，设定阈值为95% identity和90% coverage[6]。使用Salmon软件将非冗余基因集构建特异性索引，采用双向并行推理（dual-phase）算法以及构建偏差模型的方法进行丰度计算[7]。

1.2.4 物种与功能注释

使用DIAMOND将基因集与NCBI、KEGG、eggNOG等数据库进行比对，使用HMMER3将基因集与碳水化合物活性酶数据库CAZy（carbohydrate-active enzymes database）进行比对，获得基因的物种注释信息和功能注释信息。

1.2.5 统计分析

根据基因的丰度信息以及注释信息，可以获得物种及功能的丰度，运用R语言工具对物种与功能的组成、差异、相关性等进行统计分析。分析过程中将丰度小于0.01的物种或功能合并为others。

2 结果与讨论

2.1 测序数据质控结果

对3个不同地区的14个样品进行了宏基因组测序，测序与组装信息见表2，结果显示每个样品平均产生了57 881 460条原始序列（raw reads），每个样品碱基质量在Q_{20}以上的比例均大于93%。经质控处理后，每个样品的干净序列（clean reads）均占原始序列的98%以上。拼接组装得到重叠群数为1 534 935。通过基因预测，平均ORF序列数为1 466 077。以上数据保证了结果的完整性与有效性。

表2 宏基因的测序和组装信息

Table 2 Sequencing and assembly information of metagenomes

样品	原始序列的重叠群数	Q_{20}比例/%	干净序列占比/%	重叠群数	N_{50}/bp	N_{90}/bp
YL-T-X	65 094 856	96.19	99.69	1 534 935	1 089	570
YL-T-C	41 693 992	96.39	99.70			
YL-T-S	44 510 590	95.94	99.70			
YL-N-X	60 138 178	96.62	99.69			
YL-N-S	51 378 278	96.46	99.80			
TC-Y-C	55 652 582	96.59	99.71			
TC-Y-S	62 763 680	96.12	99.71			
TC-T-C	68 549 384	96.64	99.69			
TC-T-S	73 822 540	96.74	99.69			
A-TRH-X	56 070 036	95.92	99.71			
A-TRH-C	65 464 228	96.67	99.70			
A-TRH-S	50 219 268	95.97	99.71			
A-Q-C	58 177 044	96.55	99.70			
A-Q-S	56 805 788	96.08	99.71			

注：N_{50}（N_{90}）指将各重叠群数的序列按长度排序，从大至小逐一扫描各条序列的长度值，进行累加，当该累加值第一次超过所有序列总长度50%（90%）时，扫描到的序列长度值[8]。

2.2 马乳微生物丰度分析

将基因集在界的水平上进行分类，细菌（bacteria）占比最高，为98.52%；真菌（fungi）占1.39%；古菌（archaea）和病毒（viruses）占比不足0.1%。

从所采集的14批样品中共鉴定出26种微生物，分属于9门14纲25目28科45属。在门水平

上，14批样品中检测到9个门，细菌基因来自3个主要的门类，包括厚壁菌门（Firmicute）、变形菌门（Proteobacteria）、放线菌门（Actinobacteria），相对丰度分别为73.40%、23.51%、0.64%；真菌基因主要为子囊菌门（Ascomycota），相对丰度仅为1.38%。门水平物种相对丰度见图1。相关研究表明，生鲜牛乳中优势菌门也是变形菌门、厚壁菌门等[9]，说明牛乳和马乳中的优势菌门存在相似性。

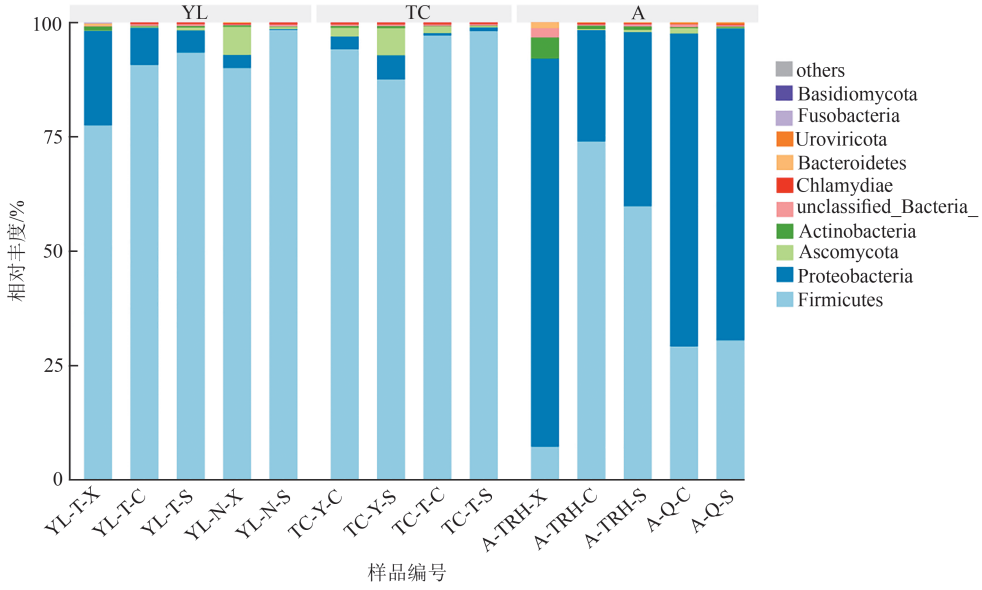


图1　门水平上的微生物的相对丰度

Fig. 1　Relative abundance of microbial phyla

在属水平上共检测到45个属。相对丰度在前10的菌属分别是：乳杆菌属（*Lactobacillus*）60.59%、醋菌属（*Acetobacter*）8.98%、肠杆菌属（*Enterobacter*）5.24%、土孢杆菌属（*Terrisporobacter*）2.86%、葡萄球菌属（*Staphylococcus*）1.91%、链球菌属（*Streptococcus*）1.87%、克雷伯氏菌属（*Klebsiella*）1.86%、柠檬酸杆菌属（*Citrobacter*）1.48%、乳球菌属（*Lactococcus*）1.26%、弯曲杆菌属（*Campylobacter*）1.20%，最优势菌属为乳杆菌属。

在种水平上共鉴定出26种微生物，相对丰度较大的菌种分别是：瑞士乳杆菌（*Lactobacillus helveticus*）54.26%、土孢杆菌（*Terrisporobacter othiniensis*）2.86%、巴氏醋酸杆菌（*Acetobacter pasteurianus*）2.20%、伪中间型葡萄球菌（*Staphylococcus pseudintermedius*）1.64%、弯曲乳酸杆菌（*Lactobacillus crispatus*）1.19%、酒香酵母（*Brettanomyces bruxellensis*）0.78%。此外还有未鉴定到种的乳杆菌属（相对丰度2.56%）、乳酸菌属（相对丰度0.56%）、醋杆菌属（相对丰度2.56%）的微生物，可能是此次采集的马乳样品中特有的微生物菌种。

2.3　不同地区马乳菌群多样性分析

不同采样地区的地理位置、气候等不同可能会导致马乳中微生物菌群结构不同。通过对3个采样地区马乳菌群的门水平进行分析，可知阿勒泰地区采集的样品中最优势菌门为变形菌门，而塔城地区和伊犁地区采集的样品中最优势菌门均为厚壁菌门，见表3。

表3　门水平上不同地区马乳菌群的相对丰度

Table 3　Relative abundance of microbial phyla in the horse milk from different regions

门	相对丰度/%		
	阿勒泰	塔城	伊犁
厚壁菌门	40.18	94.20	89.99
变形菌门	56.70	2.33	7.28
放线菌门	1.29	1.29	0.33
子囊菌门	0.40	2.40	1.55

由表4可知，阿勒泰地区样品中共检测到26个属，最优势菌属为乳杆菌属（相对丰度30.87%），其次是醋菌属（相对丰度21.47%）、肠杆菌属（相对丰度14.60%）、乳球菌属（相对丰度3.24%）。塔城地区样品中共检测到27个属，最优势菌属为乳杆菌属

表 4　不同地区马乳中菌属分布及相对丰度

Table 4　Distribution and relative abundance of microbial genera in the horse milk from different regions

菌属	相对丰度/%		
	阿勒泰	塔城	伊犁
乳杆菌属 *Lactobacillus*	30.87	87.65	68.65
短乳杆菌属 *Lentilactobacillus*	0.67	0.88	0.74
Lactiplantibacillus	0.34	0.83	0.68
Lacticaseibacillus	0.22	0.75	0.60
片球菌属 *Pediococcus*	0.30	0.44	0.37
酒球菌属 *Oenococcus*	0.23	0.23	0.25
Limosilactobacillus	0	0.62	0.27
Loigolactobacillus	0	0.23	0.17
Fructilactobacillus	0	0.17	0
Levilactobacillus	0	0.13	0.14
Companilactobacillus	0	0.12	0
Ligilactobacillus	0	0.07	0
Latilactobacillus	0	0.06	0
链球菌属 *Streptococcus*	2.70	0.10	2.46
乳球菌属 *Lactococcus*	3.24	0.14	0.19
肠球菌属 *Enterococcus*	0.30	0.23	0.71
芽孢杆菌属 *Bacillus*	0	0.15	0.16
李斯特菌属 *Listeria*	0	0	0.28
盐芽孢杆菌属 *Halobacillus*	0	0.06	0
葡萄球菌属 *Staphylococcus*	0	0.13	5.16
土孢杆菌属 *Terrisporobacter*	0	0.15	7.80
Clostridioides	0	0	0.14
醋菌属 *Acetobacter*	21.47	1.87	2.18
Komagataeibacter	0.55	0	0.33
葡糖杆菌属 *Gluconobacter*	0.28	0	0
肠杆菌属 *Enterobacter*	14.60	0	0
克氏杆菌属 *Klebsiella*	4.64	0	0.53
柠檬酸杆菌属 *Citrobacter*	4.15	0	0
埃希氏杆菌属 *Escherichia*	1.17	0	0
沙门氏菌属 *Salmonella*	0.87	0	0
不动杆菌属 *Acinetobacter*	1.94	0	0
莫拉克斯氏菌属 *Moraxella*	0.19	0	0.39
嗜血杆菌属 *Haemophilus*	0	0	0.21
假单胞菌属 *Pseudomonas*	0.94	0	0
黄单胞菌属 *Stenotrophomonas*	0.80	0	0
弯曲杆菌属 *Campylobacter*	0	0.08	3.21
罗思氏菌属 *Rothia*	0.76	0	0
Kocuria	0.19	0.07	0
Chlamydia	0	0.43	0.31
双歧杆菌属 *Bifidobacterium*	0	0.12	0
拟分枝杆菌属 *Mycobacteroides*	0.26	0	0
金黄杆菌属 *Chryseobacterium*	0.25	0	0
Tannerella	0	0	0.14
酒香酵母属 *Brettanomyces*	0.38	2.14	0.13
克鲁维氏酵母属 *Kluyveromyces*	0	0.21	1.37

（相对丰度87.65%），其次是酒香酵母属（相对丰度2.14%）、醋菌属（相对丰度1.87%）。伊犁地区样品中共检测到27个属，最优势菌属为乳杆菌属（相对丰度68.65%），其次是土孢杆菌属（相对丰度7.80%）、葡萄球菌属（相对丰度5.16%）。此外，通过宏基因组测序，检测出了各个采样地区样品中的低相对丰度菌属。

3个地区采集的样品中共有11个属，包括乳杆菌属、乳球菌属、醋菌属、酒香酵母属等，且最优势菌属均为乳杆菌属。

在种水平上，阿勒泰地区共检出21种微生物，优势菌种为瑞士乳杆菌（*Lactobacillus helveticus*）27.73%、巴氏醋杆菌（*Acetobacter pasteurianus*）4.49%、可可豆醋杆菌（*Acetobacter fabarum*）2.35%、布氏肠杆菌（*Enterobacter asburiae*）1.95%、乳酸乳球菌（*Lactococcus lactis*）1.44%。塔城地区共检出26种微生物，优势菌种为瑞士乳杆菌78.42%、酒香酵母（*Brettanomyces bruxellensis*）2.11%、卷曲乳酸杆菌（*Lactobacillus crispatus*）1.79%、马乳酒样乳杆菌（*Lactobacillus kefiranofaciens*）1.39%、巴氏醋杆菌0.92%。伊犁地区共检出26种微生物，优势菌种为瑞士乳杆菌61.48%、土孢杆菌（*Terrisporobacter othiniensis*）7.80%、伪中间型葡萄球菌（*Staphylococcus pseudintermedius*）4.47%、卷曲乳酸杆菌1.39%、马克斯克鲁维酵母（*Kluyveromyces marxianus*）1.29%。

3个地区采集的样品中最优势菌种均为瑞士乳杆菌，但是不同地区相对丰度存在差异。表明马乳中高相对丰度物种较稳定，不会因气候环境等改变。本研究的优势菌属结果与前人研究结果[10-13]相近，说明乳杆菌、醋杆菌是马乳中常见的微生物。

PCoA（principal co-ordinates analysis）是一种研究数据相似性或差异性的可视化方法，通过PCoA可以观察个体或群体间的差异[14]。基于Jaccard算法计算样本中的物种距离，将原始复杂信息进行降维排序，找出数据中最主要的元素或结构，样品组成越相近，反映在PCoA图中的距离越近[15]。如图2所示，阿勒泰地区采集的样品微生物群落结构相似，可以聚为一类；塔城地区和伊犁地区采集的样品微生物群落结构相似，可以聚为一类。

2.4　鲜马乳、发酵马乳菌群多样性分析

由于发酵过程会导致发酵后的酸马乳菌群结构发生一定的变化，因此作者对采集的鲜马乳、初发酵马乳、酸马乳样品在各级水平上的菌群结构进行分析。

在门水平上，鲜马乳、发酵马乳优势菌门均为厚壁菌门、变形菌门。从鲜马乳到发酵马乳的过程中，菌群结构呈现动态变化，发酵马乳厚壁菌门相对丰度高于鲜马乳，变形菌门相对丰度低于鲜马乳。

在属水平上，从鲜马乳到发酵马乳过程中，乳杆菌属、醋菌属、短乳杆菌属、酒香酵母属等有益菌属相对丰度增加，而链球菌属、土孢杆菌属、葡萄球菌属、肠球菌属、弯曲杆菌属、克雷伯氏菌属等具有致病性的菌属相对丰度降低。表5为相对丰度前10名的菌属变化。

在种水平上，与鲜马乳相比，发酵后的马乳中乳杆菌、醋酸杆菌种类增加，且相对丰度增加。例如，YL-T-X鲜马乳样品中乳杆菌属仅有瑞士乳杆菌，而发酵48 h的YL-T-S样品中乳杆菌种类增加，包括弯曲乳酸杆菌、马乳酒样乳杆菌、戊糖片球菌等，且瑞士乳杆菌相对丰度增加。同时，鲜马乳中含有一些具有致病性的微生物，包括土孢杆菌、伪中间型葡萄球菌、金黄色葡萄球菌、血链球菌等。可能的原因是传统方式挤奶过程中马乳会被周边环境、空气、粪便中的部分微生物污染。而发酵马乳中这些致病微生物相对丰度下降或相对丰度为0，可能是随着发酵过程的进行，pH降低会使得菌群结构发生变化。表6为鲜马乳和发酵马乳部分菌种相对丰度动态变化。

2.5　功能注释

马乳富含蛋白质和碳水化合物等营养物质，其中的微生物可编码代谢这些化合物的基因，同时微生物所特有的功能基因也是形成酸马奶特有风味的关键，因此对酸马奶蛋白质和碳水化合物代谢功能基因的注释分析具有重要意义。

2.5.1　KEGG功能注释

将非冗余基因集与KEGG数据库进行对比，共有23 547个不同基因被注释，分属于KEGG数据库6大类46个KEGG通路中，分别是新陈代谢（metabolism）、人类疾病（human diseases）、生命系统（organismal systems）、细胞进程（cellular processes）、环境信息处理（environmental information processing）、遗传信息处理（genetic information processing）。

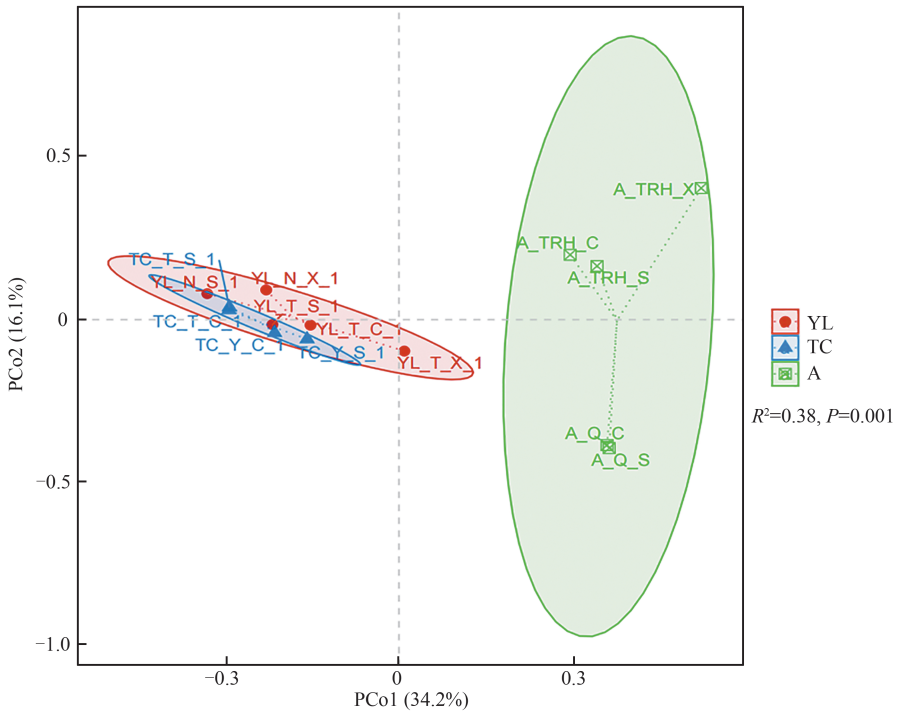


图 2　种水平上微生物的 PCoA 主坐标分析

Fig. 2　PCoA of microbial species

表 5　鲜、发酵马乳菌属相对丰度

Table 5　Relative abundance of microbial genera in fresh and fermented horse milk

菌属	相对丰度/%					
	YL-T-X	YL-T-S	YL-N-X	YL-N-S	A-TRH-X	A-TRH-S
乳杆菌属	3.84	86.21	76.90	92.13	0.10	59.46
醋菌属	0.73	6.08	0.53	0.86	0.20	21.73
短乳杆菌属	0.04	1.15	0.45	0.77	0.20	0.88
酒香酵母属	0.04	0.44	0	0.19	0	0.44
链球菌属	10.90	0	1.29	0.06	5.15	3.62
土孢杆菌属	34.69	0	4.15	0.03	0.15	0
葡萄球菌属	23.26	0.09	2.29	0.07	0.13	0
弯曲杆菌属	14.27	0	1.68	0	0.11	0
克雷伯氏菌属	2.44	0	0.20	0	10.25	2.57
肠球菌属	2.46	0.20	0.48	0.20	0.21	0.15

对代谢通路相关基因展开二级 KEGG 注释，富集差异表达基因最多的 10 个 KEGG 通路，见图 3。分别为全局图和概览图（global and overview maps）、碳水化合物代谢（carbohydrate metabolism）、氨基酸代谢（amino acid metabolism）、翻译过程（translation）、膜运输（membrane transport）、能量代谢（energy metabolism）、核苷酸代谢（nucleotide metabolism）、辅助因子和维生素的代谢（metabolism of cofactors and vitamins）、复制和修复（replication and repair）、脂质代谢（lipid metabolism）。除 YL-T-X 外，不同地区和不同马乳类型的二级 KEGG 注释结果没有显著差异。

2.5.2　eggNOG 数据库注释

采集的马乳中细菌含有丰富的复制、重组和修复（replication，recombination and repair）、碳水化合物运输和代谢谢（Carbohydrate transport and metabolism）、氨基酸运输和代谢（amino acid transport and metabolism）、无机离子运输和代谢（inorganic ion transport and metabolism）等相关基因。

图 4 为每个样品注释结果的比较分析。不同地区样品功能注释涉及的代谢类型基本一致，丰度差异也较小。与初发酵及发酵马乳相比，鲜马乳中涉及复制、重组和修复的基因丰度较小。

2.5.3　碳水化合物活性酶注释

CAZy 是碳水化合物活性酶相关的专业数据库，内容包括能催化碳水化合物降解、修饰以及生物合成的相关酶系家族。包含 5 个主要分类：糖苷水解酶（glycoside hydrolases，GH）、糖基转移酶（glycosyl transferases，GT）、多糖裂解酶（polysaccharide lyases，PL）和糖类酯解酶（carbohydrate

表 6　鲜马乳和发酵马乳菌种相对丰度

Table 6　Relative abundance of microbial species in fresh and fermented horse milk

菌种	相对丰度/%					
	YL-T-X	YL-T-S	YL-N-X	YL-N-S	A-TRH-X	A-TRH-S
土孢杆菌 *Terrisporobacter othiniensis*	34.69	0	4.15	0	0	0
伪中间型葡萄球菌 *Staphylococcus pseudintermedius*	20.34	0	1.95	0	0	0
金黄色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*	2.38	0	0.28	0	0	0
血链球菌 *Streptococcus sanguinis*	7.47	0	0.77	0	0	0
Mycobacteroides abscessus	0.13	0	0.07	0	1.08	0
Klebsiella pneumoniae	2.43	0	0.20	0	3.09	0.44
瑞士乳杆菌 *Lactobacillus helveticus*	3.45	76.49	69.74	82.74	0	44.40
弯曲乳酸杆菌 *Lactobacillus crispatus*	0	2.29	1.12	1.69	0	0.76
马乳酒样乳杆菌 *Lactobacillus kefiranofaciens*	0	1.23	1.07	1.39	0	0.9
母鸡乳杆菌 *Lactobacillus gallinarum*	0	0.78	0.55	0.68	0	0.49
Lactiplantibacillus plantarum	0	0.80	0.42	0.67	0	0.48
戊糖片球菌 *Pediococcus pentosaceus*	0	0.26	0	0.21	0	0.32
Acetobacter malorum	0	0.39	0	0.33	0	1.79
巴氏醋酸杆菌 *Acetobacter pasteurianus*	0.38	1.96	0	0.29	0	5.75
酒香酵母 *Brettanomyces bruxellensis*	0	0.44	0	0.13	0	0.44

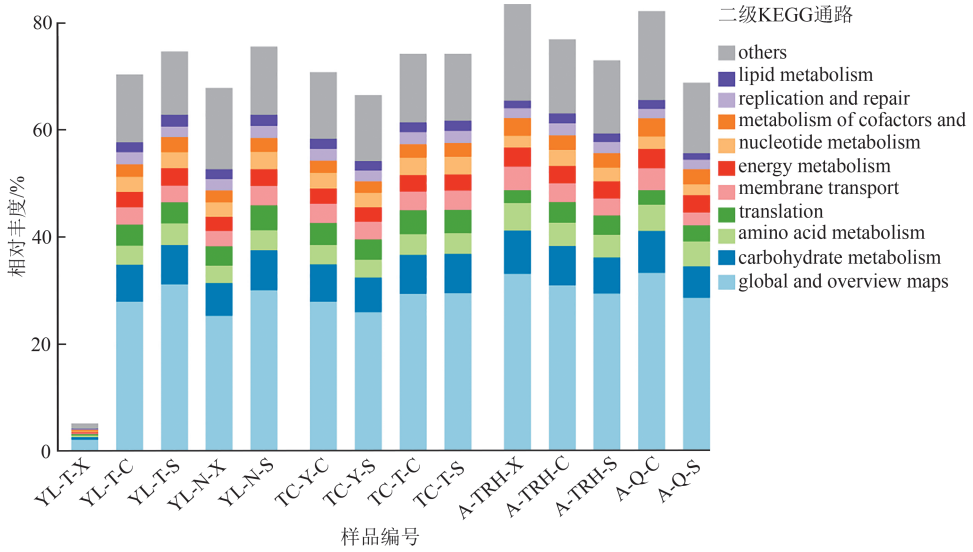


图 3　KEGG 二级注释通路相对丰度

Fig. 3　Relative abundance of KEGG secondary metabolism pathways

esterases，CE）、氧化还原酶（Auxiliary Activities，AA）以及碳水化合物结合结构域（carbohydrate-binding modules，CBM）[16]。通过 CAZy 注释结果可知，马乳细菌中含有丰富的糖苷水解酶家族和糖基转移酶家族基因，基因数分别为 12 155 454 和 1 130 442；其次是氧化还原酶（184 638）及糖类酯解酶（465 134），多糖裂解酶家族（2 401）和碳水化合物结合结构域（基因数 2）极少，见图 5。

马乳中富含碳水化合物，同时也存在多种多样的利用该化合物的微生物。分析马乳中的糖苷水解酶基因信息，可以了解细菌对碳水化合物的生物转化作用，从而优化其生长并生产有价值的代谢产物。研究表明，糖苷水解酶家族 GH1 能够广泛水解 2 种或多种碳水化合物以及碳水化合物和非碳水化合物之间的糖苷键，通常与磷酸转移酶系统相关，而马乳中的乳糖被转运到细胞中并通过磷酸转

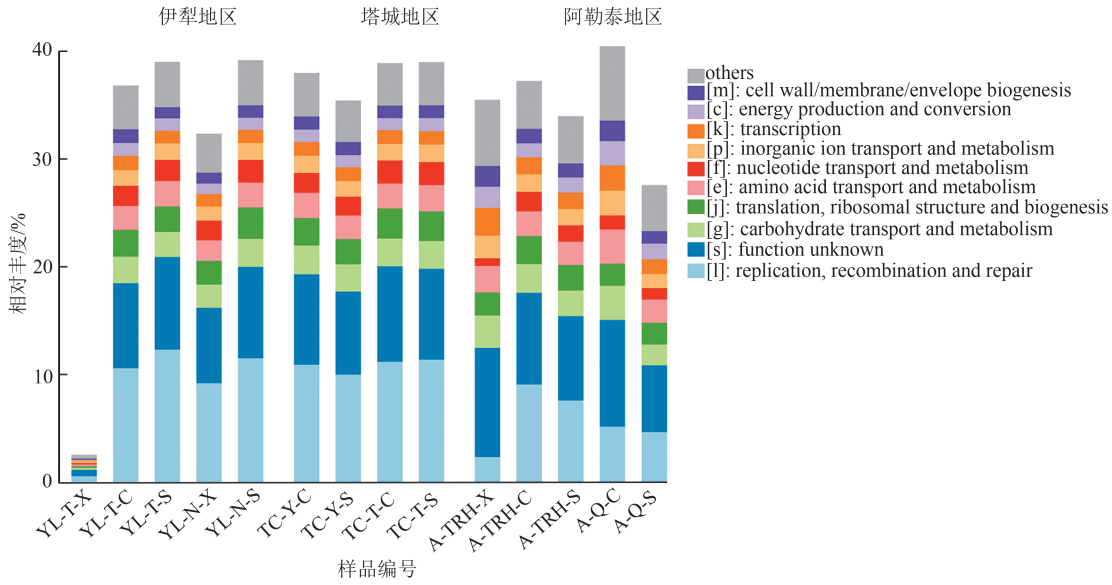


图 4　eggNOG 数据库注释相对丰度

Fig. 4　Relative abundance of pathways annotated in the eggNOG database

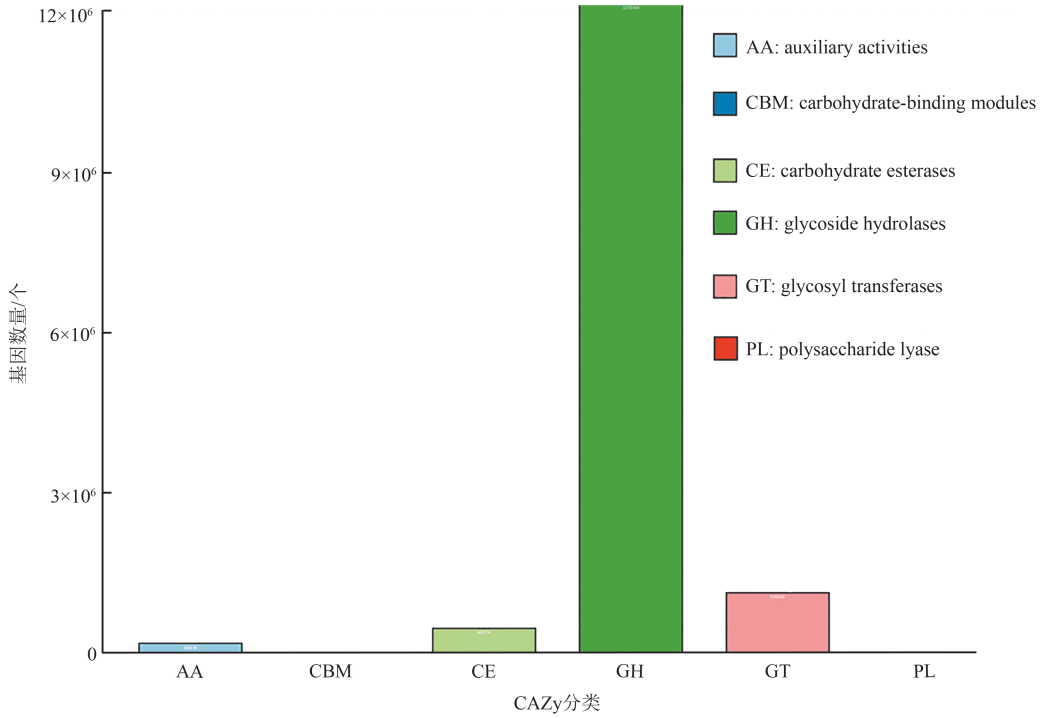


图 5　CAZy 功能分类

Fig. 5　Classification of CAZy functions

移酶系统磷酸化[17-18]。因此推断，马奶中细菌参与编码大量的糖苷水解酶家族基因，尤其是与乳糖和半乳糖相关的水解酶类基因，这可能跟其富含乳糖的特性相关。糖原是用来储存碳水化合物的主要形式之一，研究表明，能够合成糖原的细菌可以占据更多样的生态位[19-20]，而细菌与环境和宿主的相互作用主要取决于细菌糖，细菌糖的特异性主要由糖基转移酶决定[21]。因此，分析马乳中的糖基转移酶基因也具有重要的生物学意义。

对每个样品注释结果进行比较分析，结果见图 6。除 YL-T-X 外，不同地区和不同马乳类型的 CAZy 注释结果没有显著差异。

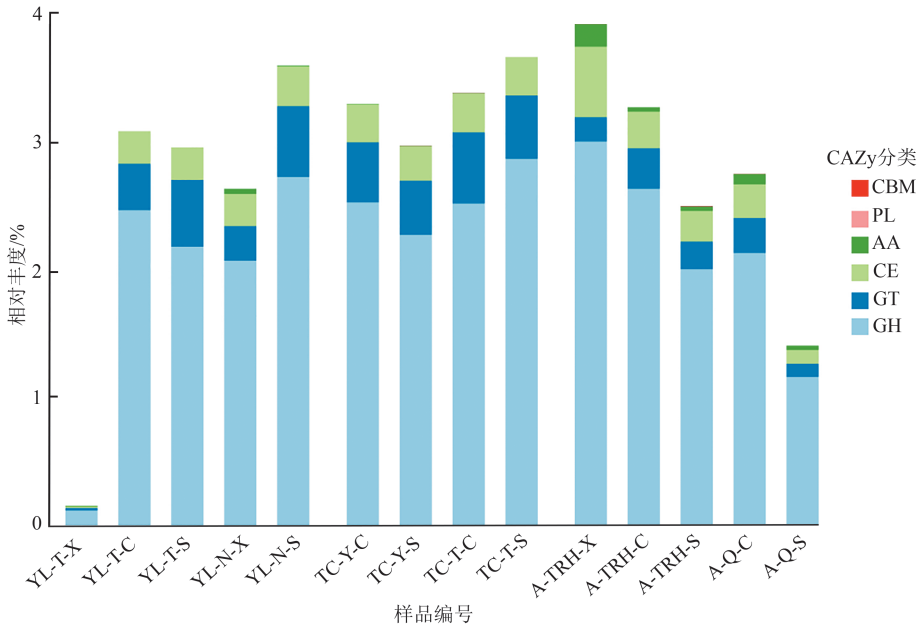


图 6　CAZy 功能基因相对丰度

Fig. 6　Relative abundance of CAZy functional genes

3　结论

作者基于宏基因组技术，从新疆北部 3 个不同地区 14 批马乳样品中共鉴定出 26 种微生物，分属于 9 门 14 纲 25 目 28 科 45 属，优势菌种有瑞士乳杆菌、巴氏醋酸杆菌、弯曲乳酸杆菌、酒香酵母。不同地区共有 11 个属，优势菌属均为乳杆菌属，优势菌种均为瑞士乳杆菌，但不同地区相对丰度存在差异。与鲜马乳相比，发酵马乳中乳杆菌属、醋菌属、短乳杆菌属、酒香酵母属相对丰度增加，而链球菌属、土孢杆菌属、葡萄球菌属、肠球菌属、弯曲杆菌属、克雷伯氏菌属的相对丰度降低。

KEGG 数据库注释到 23 547 个基因，涉及碳水化合物代谢、氨基酸代谢、翻译、膜运输、能量代谢、核苷酸代谢、辅助因子和维生素的代谢。eggNOG 数据库注释结果表明，马乳中细菌含有丰富的与复制、重组和修复相关基因以及与碳水化合物运输和代谢、氨基酸运输和代谢等相关基因。这些基因对马乳中细菌的多样性及其特有风味的形成具有重要意义。通过 CAZy 注释结果可知，马乳细菌中含有丰富的糖苷水解酶家族和糖基转移酶家族基因。

参考文献

[1] 夏亚男，刘皓，双全. 基于宏基因组分析酸马奶的微生物多样性及功能基因[J]. 中国食品学报，2022，22(2)：301-309.
XIA Y N，LIU H，SHUANG Q. Analysis on microbiological diversity and functional genes of koumiss based on metagenomic technology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2022，22(2)：301-309.(in Chinese)

[2] 布仁巴雅尔，赵建军，乔晓宏. 马奶营养及其保健作用[J]. 当代畜禽养殖业，2023(3)：43-44，47.
布仁巴雅尔，ZHAO J J，QIAO X H. Nutrition of horse milk and its health care function[J]. Modern Animal Husbandry，2023(3)：43-44，47.(in Chinese)

[3] TANG H，MA H M，HOU Q C，et al. Profiling of koumiss microbiota and organic acids and their effects on koumiss taste[J]. BMC Microbiology，2020，20(1)：85.

[4] GUO L，XU W L，LI C D，et al. Production technology，nutritional，and microbiological investigation of traditionally fermented mare milk (Chigee) from Xilin Gol in China[J]. Food Science & Nutrition，2020，8(1)：257-264.

[5] LIANG J S，MAO G N，YIN X L，et al. Identification and quantification of bacterial genomes carrying antibiotic resistance genes and virulence factor genes for aquatic microbiological risk assessment[J]. Water Research，2020，168：115160.

[6] 翟万营. 南极鱼亚目鱼类肠道、皮肤黏液及其生存水环境微生物结构和功能研究[D]. 上海：上海海洋大学，2020.

[7] 向昱龙，周敬祝，张燕，等. 贵州省少数民族自治州微小扇头蜱的宏基因组分析[J]. 中国媒介生物学及控制杂

志，2023，34(3)：319-325.
XIANG Y L，ZHOU J Z，ZHANG Y，et al. Metagenomic analysis of *Rhipicephalus microplus* from minority autonomous prefectures in Guizhou province，China[J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control，2023，34(3)：319-325.(in Chinese)

[8] 魏星，王丽，王紫玄，等. 马里亚纳海沟表层沉积物中微生物的群落组成和功能特征[J]. 上海海洋大学学报，2022，31(5)：1235-1247.
WEI X，WANG L，WANG Z X，et al. Composition and metabolic potential of microbial communities in the surface sediments of the *Mariana* Trench[J]. Journal of Shanghai Ocean University，2022，31(5)：1235-1247.(in Chinese)

[9] 苟萌，胡婕，张彤彤，等. 基于 Illumina MiSeq 和 IonS5 XL 测序对原料乳中微生物多样性的比较分析[J]. 食品与生物技术学报，2021，40(4)：67-75.
GOU M，HU J，ZHANG T T，et al. Comparative analysis of microbial community in raw milk by illumina MiSeq sequencing and IonS5 XL sequencing[J]. Journal of Food Science and Biotechnology，2021，40(4)：67-75.(in Chinese)

[10] 蔡宏宇，刘文俊，沈玲玲，等. 基于三代测序技术分析新疆鲜马奶和酸马奶中乳酸菌菌群结构[J]. 中国食品学报，2022，22(2)：291-300.
CAI H Y，LIU W J，SHEN L L，et al. Analysis of the structure of lactic acid bacteria in Xinjiang fresh mare milk and koumiss using three generation sequencing technology[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2022，22(2)：291-300.(in Chinese)

[11] 高世南，徐志华，李杨，等. 新疆新源县酸马奶细菌菌群分析[J]. 中国酿造，2021，40(5)：65-69.
GAO S N，XU Z H，LI Y，et al. Bacterial flora analysis of koumiss in Xinyuan county，Xinjiang[J]. China Brewing，2021，40(5)：65-69.(in Chinese)

[12] 孙哲航. 酸马奶源优势菌群与特征风味的探讨及代谢组学研究[D]. 杭州：浙江工商大学，2019.

[13] 陆东林，刘朋龙. 传统酸马奶中的微生物多样性及其益生作用[J]. 新疆畜牧业，2018，33(5)：7.
LU D L，LIU P L. Microbial diversity and probiotic effects in traditional acidic mare's milk[J]. Xinjiang Animal Husbandry，2018，33(5)：7.(in Chinese)

[14] 黄树武，闵凡贵，王静，等. 常见 SPF 级小鼠和大鼠肠道菌群多样性研究[J]. 中国实验动物学报，2019，27(2)：229-235.
HUANG S W，MIN F G，WANG J，et al. Diversity of intestinal flora in commonly used SPF mice and rats[J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica，2019，27(2)：229-235.(in Chinese)

[15] 李婷，田佳乐，刘洋，等. 基于固相微萃取-气相色谱-质谱与电子鼻技术分析发酵乳中的挥发性风味物质[J]. 食品与发酵工业，2020，46(10)：233-241.
LI T，TIAN J L，LIU Y，et al. Analysis of volatile flavor compounds in fermented milk based on solid-phase microextraction-gas chromatography-mass spectrometry and electronic nose technology[J]. Food and Fermentation Industries，2020，46(10)：233-241.(in Chinese)

[16] 姜午春. 富营养条件下红树林土壤微生物多样性及功能基因研究[D]. 汉中：陕西理工大学，2018.

[17] 陈泉冰，曹伟洁，李春，等. GH79 家族糖苷水解酶分子进化关系和蛋白结构研究[J]. 生物技术通报，2023，39(1)：104-114.
CHEN Q B，CAO W J，LI C，et al. Molecular evolutionary relationship and protein structure of glycoside hydrolases from GH79 family[J]. Biotechnology Bulletin，2023，39(1)：104-114.(in Chinese)

[18] YE J J，SAIER M H Jr. Cooperative binding of lactose and the phosphorylated phosphocarrier protein HPr(Ser-P) to the lactose/H^+ symport permease of *Lactobacillus brevis*[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America，1995，92(2)：417-421.

[19] 李磊. 细菌多糖和糖蛋白生物合成途径及相关酶类研究[D]. 济南：山东大学，2010.

[20] YOU L J，YANG C C，JIN H，et al. Metagenomic features of traditional fermented milk products[J]. LWT-Food Science and Technology，2022，155：112945.

[21] MCARTHUR J B，CHEN X. Glycosyltransferase engineering for carbohydrate synthesis[J]. Biochemical Society Transactions，2016，44(1)：129-142.

（责任编辑：李春丽）