

绿背山雀人工巢箱真菌多样性差异分析

辛佳佳^① 曹和琴^{②③} 张海波^{①④} 胡灿实^{①③*}

① 贵州大学生命科学学院 贵阳 550025; ② 贵州大学林学院 贵阳 550025;

③ 贵州大学生物多样性与自然保护研究中心 贵阳 550025; ④ 贵阳阿哈湖国家湿地公园管理处 贵阳 550007

摘要: 真菌是巢穴微生物的重要组成部分, 与鸟类的生存、繁殖和环境适应息息相关。本研究通过悬挂人工巢箱招引绿背山雀 (*Parus monticolus*) 入住, 基于内转录间隔区 (ITS) 测序技术, 对绿背山雀繁殖成功巢箱与筑巢未产卵巢箱真菌群落的组成差异进行探究。结果显示, 在门水平上, 子囊菌门 (Ascomycota, 98.81%) 是繁殖成功巢箱内微生物的主要菌门; 子囊菌门 (85.59%) 和担子菌门 (Basidiomycota, 8.33%) 是筑巢未产卵巢箱内微生物的主要菌门。在属水平上, 繁殖成功巢箱的优势属为拟单宽皿菌属 (*Phialemoniopsis*, 83.04%)、曲霉属 (*Aspergillus*, 4.75%)、子囊菌属 (*Arthroderma*, 4.29%) 和柄帚霉属 (*Scopulariopsis*, 1.78%); 筑巢未产卵巢箱的优势属为拟单宽皿菌属 (36.06%)、曲霉属 (14.53%)、青霉属 (*Penicillium*, 6.22%)、单端孢霉属 (*Trichothecium*, 5.80%)、德巴利酵母菌属 (*Debaryomyces*, 1.67%) 和蝶孔耳属 (*Papiliotrema*, 1.09%)。Alpha 多样性分析表明, 筑巢未产卵巢箱中真菌的多样性和丰富度均显著高于繁殖成功巢箱 ($P < 0.05$); Beta 多样性分析表明, 繁殖成功巢箱和筑巢未产卵巢箱之间的真菌群落存在显著差异; LEfSe 分析共检测到 19 个具有统计学差异的生物标记物, 繁殖成功巢箱和筑巢未产卵巢箱的显著生物标志物分布在子囊菌门和担子菌门中, 两种巢箱的标记物种存在显著差异。整体来说, 与繁殖成功巢箱相比, 筑巢未产卵巢箱内分布有更多的潜在病原菌。

关键词: 绿背山雀; 巢微生物多样性; 真菌; 内转录间隔区测序

中图分类号: Q958 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2023) 06-916-10

Analysis of Fungal Differences in Artificial Nest Boxes of *Parus Monticolus*

XIN Jia-Jia^① CAO He-Qin^{②③} ZHANG Hai-Bo^{①④} HU Can-Shi^{①③*}

① College of Life Science, Guizhou University, Guiyang 550025; ② College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025;

③ Research Center for Biodiversity and Nature Conservation, Guizhou University, Guiyang 550025;

④ Aha Lake National Wetland Park, Guiyang 550007, China

Abstract: [objectives] Fungi are important components of nest microbiota, which are closely related to the

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32160126), 2016 年中央财政林业补助资金项目-贵阳阿哈湖国家湿地公园鸟类招引及相关研究;

* 通讯作者, E-mail: cshu@gzu.edu.cn;

第一作者简介 辛佳佳, 女, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: xjj20210901@163.com.

收稿日期: 2022-08-18, 修回日期: 2023-08-06 DOI: 10.13859/j.cjz.202322211

survival, reproduction, and environmental adaptation of birds. However, most of the research on the relationship between birds and microbiota is mainly focused on intestinal microbes, but few studies focused on the micro-ecological environment in the nest. So, we want to investigate the fungal community diversity in the nest of the Green-backed Tit (*Parus monticolus*). **[Methods]** From April to June 2020, in Aha Lake National Wetland Park in Guiyang, Guizhou Province, the Green-back Tits were attracted by hanging artificial nesting boxes. All nests were inspected once a week in the early breeding period, and once every 2 days after the emergence of nest materials. Microbial samples were collected from successful breeding nests and the nests without laying eggs. Based on internal transcribed spacer (ITS) sequencing technology, the differences in fungal community composition between successful breeding nests and the nests without laying eggs of Green-backed Tit were investigated. **[Results]** At the phylum level, the results showed that Ascomycota (98.81%) was the main phyla of successful breeding nests, Ascomycota (85.59%) and Basidiomycota (8.33%) were the main phyla of the nests without laying eggs (Fig. 2a). At the genus level, the dominant genera of successful breeding nests were *Phialemoniopsis* (83.04%), *Aspergillus* (4.75%), *Arthroderma* (4.29%) and *Scopulariopsis* (1.78%), and the dominant genera of the nests without laying eggs were *Phialemoniopsis* (36.06%), *Aspergillus* (14.53%), *Penicillium* (6.22%), *Trichothecium* (5.80%), *Debaryomyces* (1.67%) and *Papiliotrema* (1.09%) (Fig. 2b). Alpha diversity analysis showed that the diversity and richness of fungi in the nests without laying eggs were significantly higher than that in successful breeding nests ($P < 0.05$) (Fig. 3). Beta diversity analysis showed that there were significant differences in fungal communities between successful breeding nests and the nests without laying eggs (Fig. 4). A total of 19 biomarkers with statistical differences were detected by LEfSe (Linear discriminant analysis effect size) analysis. The significant biomarkers of successful breeding nests and the nests without laying eggs were distributed in Ascomycota and Basidiomycota, and there were significant differences between these two biomarker species (Fig. 5). **[Conclusion]** In general, by comparing the differences in fungal composition in successful breeding nests and the nests without laying eggs, we find that birds may affect the composition structure of microbiota in the nests during breeding, showing more potential pathogens in the nests without laying eggs than in successful breeding nests.

Key words: *Parus monticolus*; Nest microbial diversity; Fungi; Internal transcribed spacer

动物巢穴具有稳定的小气候条件, 为微生物的生长提供了适宜的条件, 巢微生物的物种多样性和丰度在维持宿主营养和防御方面发挥着重要作用 (Margaret et al. 2013)。巢穴动物能够塑造和维持巢内微生物共生体 (Lucas et al. 2017), 巢内微生物也可以通过生产一些抗菌化学物质来净化巢内微环境 (Madden et al. 2013)。对于鸟类来说, 雏鸟的生理状况更多地会受到栖息在巢中的微生物影响 (Zabłotni et al. 2020), 因此, 巢微生物环境与动物宿主的健康发育密切相关。

鸟巢内部环境相对稳定, 适宜于多种微生物栖息 (Burt et al. 1999), 其中, 巢内真菌主要来源于巢材、成鸟和土壤等 (Kornilowicz et al. 2018), 并且在鸟类和巢材之间、成鸟和雏鸟之间都可能发生相互转移 (Pugh 1996), 对鸟类的繁殖发挥着重要作用。真菌可以通过许多不同的方式与宿主相互作用, 一些真菌在某些情况下可以作为有益菌在宿主中存活 (Photita et al. 2004), 如从鸟类羽毛中分离出来的嗜角化真菌可以降解羽毛, 有利于羽毛更换 (Pugh 1996); 还有一些是潜在致病菌, 如

从鸟巢中分离出来的烟曲霉 (*Aspergillus fumigatus*) 容易引起鸟类肺部和气囊的真菌感染 (Barathidasan et al. 2013)。因此, 研究巢内微生物组成对于了解鸟类的繁殖、发育以及环境适应具有重要参考价值。然而, 目前有关鸟类和微生物之间关系的研究主要集中在肠道微生物方面, 关于巢内微生态环境的相关研究较少 (Goodenough et al. 2010), 仅针对少部分鸟种进行初探, 主要见于大山雀 (*Parus major*) 和蓝山雀 (*Cyanistes caeruleus*) (Goodenough et al. 2010)、高山兀鹫 (*Gyps himalayensis*) (Barathidasan et al. 2013) 和一些湿地鸟类 (Korniłowicz et al. 2013) 等, 但巢微生物在鸟类的繁殖发育过程中同样具有重要影响作用。

绿背山雀 (*P. monticolus*) 隶属于雀形目 (Passeriformes) 山雀科 (Cardinae), 是一种栖息于中低海拔山区的鸟类, 广泛分布于我国陕西、甘肃、湖南、广西、云南、四川、贵州等地。绿背山雀为典型次级洞巢鸟类, 本研究利用人工巢箱招引绿背山雀入住, 采用内转录间隔区 (internal transcribed spacer, ITS) 测序技术对其巢内微生物进行系统研究, 并对比分析了繁殖成功巢与筑巢未产卵巢内真菌的物种组成及丰富度差异, 以期了解绿背山雀巢内微生物的组成结构差异, 为探究鸟巢内部微生态环境提供一定的依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

于 2020 年 4 月至 6 月鸟类繁殖期, 在贵州省贵阳市阿哈湖国家湿地公园 (106°36'59" ~ 106°40'44" E, 26°30'40" ~ 26°33'55" N, 海拔 1 100 ~ 1 350 m) 通过悬挂人工巢箱招引绿背山雀。巢箱于繁殖期前 3 个月悬挂在野外, 相邻巢箱间距大于 50 m。为减少其他干扰因素的影响, 所有巢箱均置于环境均质、连续且人为干扰少的林地中。繁殖前期每周对所有巢箱进行一次检查, 出现巢材后每 2 d 检查一次。挑

选出在监测期间未发现巢捕食的所有巢箱, 从中随机挑选 4 个繁殖成功巢箱 (巢箱内有完整巢材, 并且有 1 只及以上雏鸟成功离巢) 以及 4 个筑巢未产卵巢箱 (巢箱内有完整巢材, 但是亲鸟未产卵)。针对繁殖成功巢, 当观察到巢内所有雏鸟成功离巢即采集巢内微生物样品。对于筑巢未产卵巢, 当巢内出现完整巢材但连续 3 次查巢 (6 d) 过程中未出现产卵现象时, 即采集巢内微生物样品; 并且, 在采样后持续对该巢箱进行监测, 确保无产卵现象的发生。采集样品时, 使用无菌棉拭子, 经无菌水预湿润后, 擦拭巢箱四壁及巢材边缘 10 s, 然后以交叉的形式穿过底部 (Goodenough et al. 2017), 最后放入无菌采样管中封存标记。采样管先储存至 -20 °C 车载冰箱中, 然后转移至 -80 °C 超低温冰箱中冷冻保存。

1.2 DNA 提取及 PCR 扩增

使用 E.Z.N.A.[®] Soil DNA 试剂盒 (Omega Bio-tek, Norcross, GA, USA) 在无菌条件下提取 DNA, 经 1% 琼脂糖凝胶电泳评估 DNA 样本质量, 并使用 NanoDrop NC2000 紫外分光光度计 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, USA) 测定 DNA 样本的浓度和纯度。使用真菌通用引物 ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3') 和 ITS2 (5'-GCT GCG TTC TTC ATC GAT GC-3') 进行扩增。PCR 反应体系参照文献 (Mu et al. 2018)。PCR 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳, 然后使用 DNA 凝胶回收试剂盒 (Axygen Biosciences, Union City, CA, USA) 进行纯化回收, 回收产物利用 Illumina Miseq 测序平台, 对群落 DNA 片段进行双端高通量测序。

1.3 数据分析

Illumina Miseq 测序得到的序列根据 DADA2 (divisive amplicon de-noising algorithm 2) 方法对序列进行质量过滤、去噪、合并和去除嵌合体 (Callahan et al. 2016), 最后得到各样本的有效序列。选用 UPARSE 算法按 97% 相似度进行操作分类单元 (operational taxonomic

units, OTU) 聚类, 根据 UNITE 数据库 (Release 8.0, <https://unite.ut.ee/>) 进行物种分类学注释 (Koljalg et al. 2013)。基于聚类结果, 计算绘制韦恩图反映各巢箱样本共有的 OTU 个数, 同时绘制稀疏曲线反映样本测序数据的合理性。

使用 mothur 软件计算每个样品基于 OTU 的 Alpha 多样性指数, 其中, 香农 (Shannon)、辛普森 (Simpson) 指数用于反映群落的多样性, 香农指数和辛普森指数值越高, 表明群落多样性越高。Chao1 指数和 Observed species 指数用于反映该微生物群落的丰富度, Chao1 指数和 Observed species 指数越大, 表明群落的丰富度越高。通过克鲁斯卡尔-沃利斯 (Kruskal-Wallis) 秩和检验作为事后检验。基于 Bray-curtis 算法在 OTU 水平上对巢箱中真菌组成进行主坐标分析 (principal co-ordinates analysis, PCoA) (Ramette 2007), 样品在主坐标分析图中的距离越远, 表示样品真菌组成差异越大。LEfSe (linear discriminant analysis effect size) 分析使用非参数 Kruskal-Wallis 秩和检验来检测样本组间具有丰度差异的菌群 (Segata et al. 2011)。以上分析在派森诺基因云平台上完成 (<https://www.genescloud.cn/login>)。

1.4 序列登陆号

本研究的原始测序数据已上传至 NCBI

SAR 数据库中, 序列登陆号为 SUB11548297。

2 结果

2.1 内转录间隔区测序与操作分类单元 (OTU) 结果分析

利用 Illumina Miseq 测序平台对 4 个绿背山雀繁殖成功巢和 4 个筑巢未产卵巢微生物群落的内转录间隔区基因产物序列进行检测, 从 8 个样本中共获得有效序列 1 021 663 条, 单个样品的序列长度范围为 110 ~ 340 bp, 平均序列长度为 225 bp。Chao1 指数稀疏曲线趋于平缓, 表明测序数据量足够大, 有效反映了样本中大部分的微生物多样性信息 (图 1a)。以 97% 的序列相似性得到 823 个操作分类单元 (OTU)。繁殖成功巢中操作分类单元 (OTU) 为 304 个, 筑巢未产卵巢中操作分类单元 (OTU) 为 631 个, 二者特有的操作分类单元 (OTU) 占比分别为 23.32% 和 63.06% (图 1b)。

2.2 巢内真菌群落组成

绿背山雀巢内真菌内转录间隔区测序后, 在门水平上, 共鉴定出 7 个主要的菌门 (图 2a)。其中, 子囊菌门 (Ascomycota, 相对丰度 98.81%) 是繁殖成功巢微生物的主要菌门; 子囊菌门 (相对丰度 85.59%) 和担子菌门 (Basidiomycota, 相对丰度 8.33%) 是筑巢未

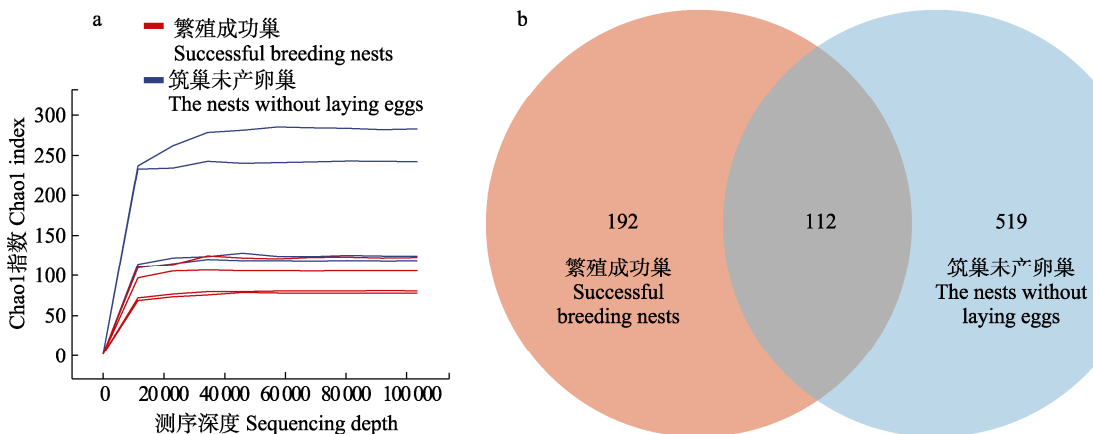


图 1 绿背山雀繁殖成功巢和筑巢未产卵巢内真菌的稀疏曲线 (a) 和韦恩图 (b)

Fig. 1 The rarefaction curves (a) and venn diagram (b) of fungi in successful breeding nests and the nests without laying eggs of Green-backed Tit

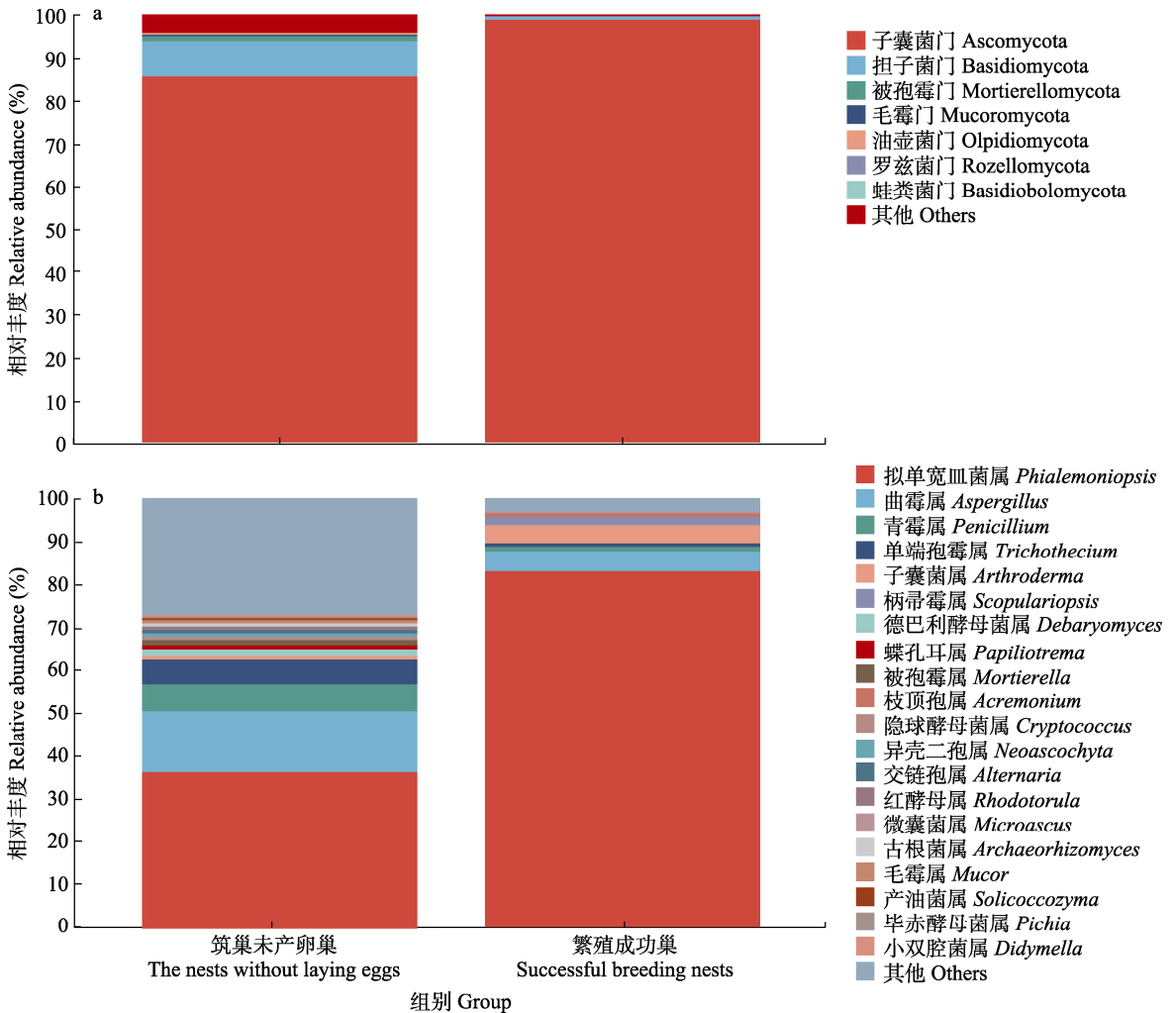


图 2 绿背山雀巢内真菌群落在门水平 (a) 和属水平 (b) 的相对丰度

Fig. 2 The relative abundance of fungal communities at phylum level (a) and genus level (b) in nests of Green-backed Tit

产卵巢微生物的主要菌门。繁殖成功巢和筑巢未产卵巢内的真菌在门水平上没有显著性差异 ($P > 0.05$)。

在属水平上, 繁殖成功巢有 4 个优势属, 分别为拟单宽皿菌属 (*Phialemoniopsis*, 83.04%)、曲霉属 (*Aspergillus*, 4.75%)、子囊菌属 (*Arthroderma*, 4.29%) 和柄帚霉属 (*Scopulariopsis*, 1.78%); 筑巢未产卵巢有 6 个优势属, 分别为拟单宽皿菌属 (36.06%)、曲霉属 (14.53%)、青霉属 (*Penicilliu*, 6.22%)、单端孢霉属 (*Trichothecium*, 5.80%)、德巴利

酵母菌属 (*Debaryomyces*, 1.67%) 和蝶孔耳属 (*Papiliotrema*, 1.09%) (图 2b)。繁殖成功巢中的拟单宽皿菌属在属水平上显著高于筑巢未产卵巢 ($P < 0.05$)。

2.3 真菌区系多样性分析

繁殖成功巢与筑巢未产卵巢内真菌群落 Alpha 多样性指数之间存在显著性差异, 表现为繁殖成功巢的香农指数 (图 3a) 和辛普森指数 (图 3b) 显著低于筑巢未产卵巢 (Kruskal-Wallis 检验, $P < 0.05$)。繁殖成功巢的 Chao1 指数 (图 3c) 和 Observed species 指数 (图 3d)

显著低于筑巢未产卵巢（Kruskal-Wallis 检验， $P < 0.05$ ）。这表明繁殖成功巢真菌的多样性和丰富度均显著低于筑巢未产卵巢。

2.4 繁殖成功巢和筑巢未产卵巢的真菌组成差异性分析

对巢箱中真菌组成进行主坐标分析，主坐标 1（PCo1）和主坐标 2（PCo2）分别解释了 51.4%和 23.8%的差异性贡献率，各样本点之间

的距离能够最大程度地反映样本的相似性。繁殖成功巢样本点表现出明显的组内聚集，而筑巢未产卵巢组内变异较大，样本点分布较为分散。繁殖成功巢和筑巢未产卵巢相比，二者的真菌群落结构存在明显差异（图 4）。

LEfSe 结果显示，LDA 得分大于 2 时，共检测到 19 个具有统计学差异的生物标记物，其中，繁殖成功巢中 2 个，筑巢未产卵巢中 17

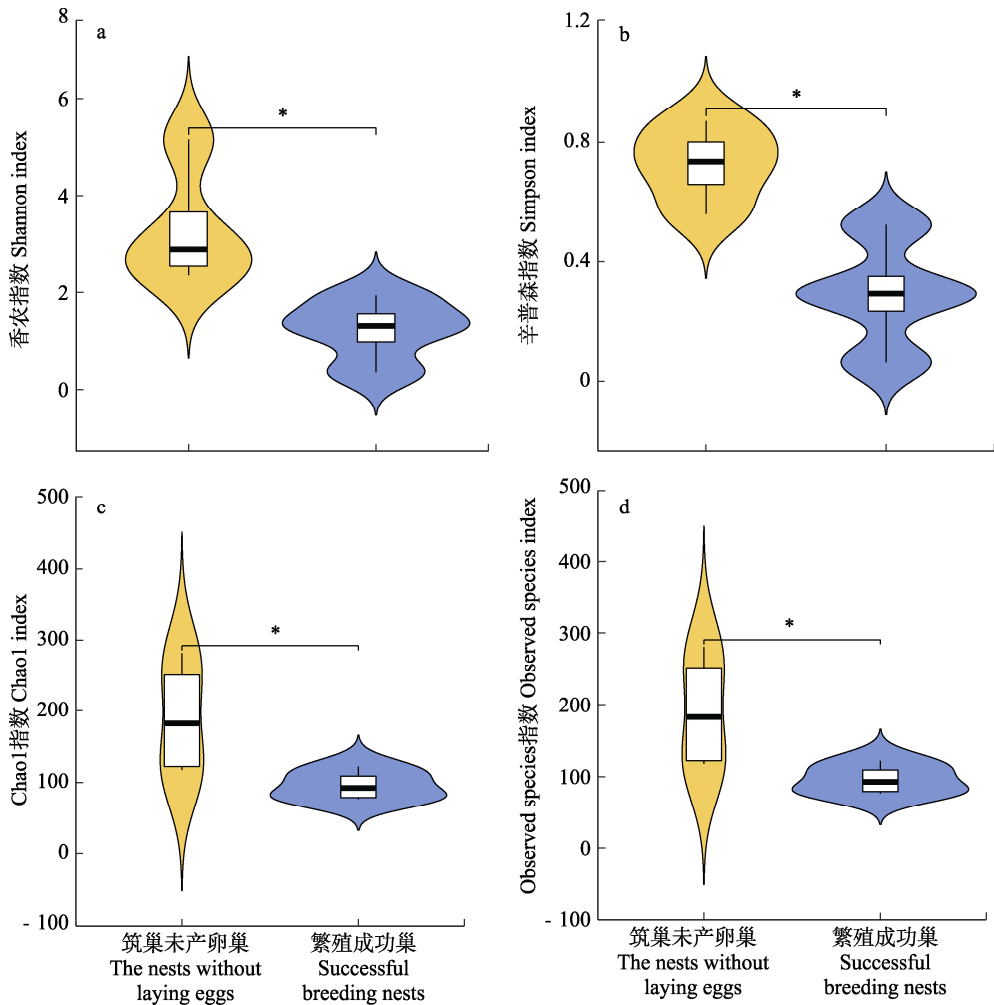


图 3 绿背山雀繁殖成功巢与筑巢未产卵巢内真菌群落的 Alpha 多样性指数

Fig. 3 Alpha diversity index of fungi in successful breeding nests and the nests without laying eggs of Green-backed Tit

a. 香农指数; b. 辛普森指数; c. Chao1 指数; d. Observed species 指数; Kruskal-Wallis 检验: * $P < 0.05$ 。

a. Shannon index; b. Simpson index; c. Chao1 index; d. Observed species index; Kruskal-Wallis test: * $P < 0.05$.

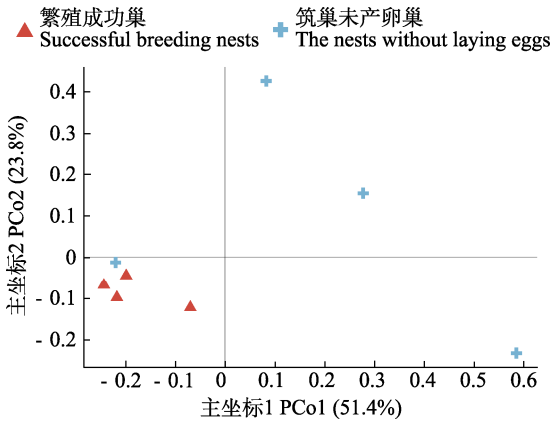


图4 绿背山雀繁殖成功巢和筑巢未产卵巢内真菌组成的主坐标分析

Fig. 4 The PCoA analysis of fungi in successful breeding nests and the nests without laying eggs of Green-backed Tit

个(图5a);繁殖成功巢和筑巢未产卵巢的显著生物标志物分布在子囊菌门(繁殖成功巢中2个,筑巢未产卵巢中9个)和担子菌门(繁殖成功巢中8个)中。LEfSe分支图显示,繁殖成功巢和筑巢未产卵巢的标记物种存在显著差异(图5b)。

3 讨论

真菌广泛存在于自然界中,不仅是许多动物饮食的主要成分(Wallis et al. 2012),还是巢穴微生物的重要组成部分(Goodenough et al. 2010)。本研究基于内转录间隔区测序技术,首次针对绿背山雀巢内真菌多样性开展研究。结果显示,繁殖成功巢与筑巢未产卵巢内真菌多样性具有显著差异。其中,在门水平上,子囊菌门是绿背山雀繁殖成功巢以及筑巢未产卵巢内共有的主要菌门,占繁殖成功巢内真菌的98.81%,占筑巢未产卵巢内真菌的85.59%,与绿背山雀同科物种蓝山雀和大山雀巢内真菌多样性的研究结果较为一致(Goodenough et al. 2010)。子囊菌门是真菌中最大的门,适应性广泛,在多种环境条件下都能生存(施笑笑等 2020,谭占坤等 2022,王争艳等 2022)。另

外,相关研究表明,担子菌门是一种常见的森林病原菌,具有使树木腐朽的作用(Yuan et al. 2021),繁殖成功巢内担子菌门占比(0.63%)小于筑巢未产卵巢(8.33%),可能担子菌门在绿背山雀筑巢过程中受到抑制。洞巢鸟类在繁殖期,可能会通过引入巢材或者自身携带的微生物(体表或肠道)等多种途径,抑制担子菌门等有害微生物的生长(Shawkey et al. 2007)。

繁殖成功巢和筑巢未产卵巢在属水平上的真菌种类差异较大,其中,拟单宽皿菌属和曲霉属的相对丰度较大,并且繁殖成功巢中拟单宽皿菌属的相对丰度(83.04%)显著高于筑巢未产卵巢(36.06%)。拟单宽皿菌属是一种植物茎皮内生真菌,对金黄色葡萄球菌和大肠杆菌具有较强的抑菌活性(胡永志等 2021),因此,该菌可能对巢内的致病菌具有一定的抑制作用,可以降低鸟类感染病菌的风险,从而为雏鸟的发育提供有利条件(Mennerat et al. 2009)。另外,曲霉属是一种鸟类常见致病菌,会引起鸟类肺部和气囊的真菌感染(Barathidasan et al. 2013),普遍分布在日本鹌鹑(*Coturnix japonica*) (Huff et al. 1992)、火鸡(*Meleagris gallopavo*) (Quist et al. 2000)、家麻雀(*Passer domesticus*)和金翅雀(*Carduelis chloris*) (Lawson et al. 2006)等鸟类的肠道、羽毛及巢中。本研究结果显示,绿背山雀繁殖成功巢内的曲霉属占比(4.75%)小于筑巢未产卵巢(14.53%),这表明在鸟类繁殖过程中,相关潜在致病菌受到一定程度的抑制。

除此之外,子囊菌属和柄帚霉属是绿背山雀繁殖成功巢中的优势属,而在筑巢未产卵巢中占比却不足1%。已有研究发现,子囊菌属和柄帚霉属均具有一定的抑菌作用(McQuilken et al. 2001,肖晗汕等 2020),因此,这两个属的真菌对于绿背山雀来说可能是有益菌,对巢内微环境具有积极的影响作用。另外,在绿背山雀筑巢未产卵巢中还检测到一些潜在的病原菌,如青霉属、单端孢霉属和德巴利酵母菌属。姚婉玉等(2011)研究发现,青霉属经

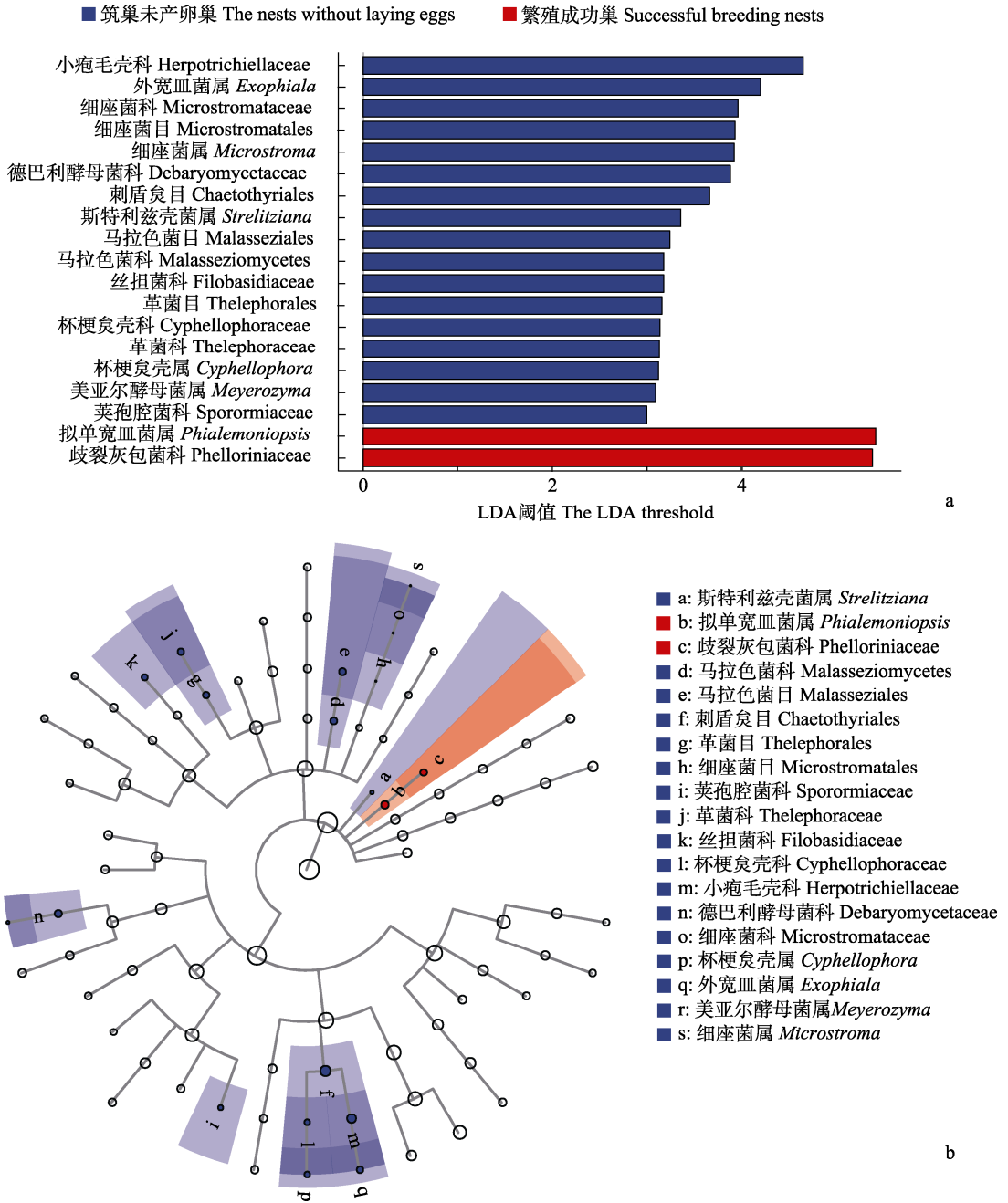


图 5 绿背山雀繁殖成功巢和筑巢未产卵巢真菌 LefSe 分析

Fig. 5 The LefSe analysis of fungi in successful breeding nests and the nests without laying eggs of Green-backed Tit

a. 线性判别 (LDA) 分布柱状图。纵坐标为组间具有显著差异的分类单元，横坐标则以条形图直观地展示各分类单元的 LDA 分析对数得分值；b. 分类学分支图。样本群落中从门到属 (从内圈到外圈) 主要分类单元的分类等级关系。

a. Histogram of lineal discriminant analysis (LDA) value distribution. The ordinate is the taxa with significant differences between the groups, the abscissa visually shows the score of LDA analysis of each taxa with a bar chart; b. Taxonomic cladogram. The taxonomic hierarchy of major taxa in the sample community from phyla to genus (from inner to outer circle) in the community.

呼吸道吸入可引起动物肺部感染而致病；而单端孢霉属和德巴利酵母菌属通常会导致植物病害和腐败变质(戴蓬博 2019, 郑鄯燕等 2020)。这些潜在病原真菌在繁殖成功巢中的占比极低，这表明繁殖成功巢内的菌群环境可能更有利于绿背山雀繁殖和雏鸟发育。

本研究发现，绿背山雀巢箱内巢材主要以苔藓植物为主，包括美灰藓属(*Eurohypnum*)、青藓属(*Brachythecium*)以及羽藓属(*Thuidium*)等。Meenakshi等(2007)研究表明，苔藓植物普遍具有抑制多种真菌的作用。洞巢鸟类巢内的苔藓植物巢材，可能是鸟类筑巢环境微生物的主要来源(Goodenough et al. 2010)，可以降低鸟类感染病菌的风险，从而为雏鸟的发育提供有利条件(Mennerat et al. 2009)。进一步说明鸟类在繁殖过程中会影响和塑造巢内微生物组成结构，其中，通过引入苔藓巢材是最直接的方式。

整体来说，繁殖成功巢内真菌的多样性和丰富度均显著低于筑巢未产卵巢($P < 0.05$)。并且，主坐标分析分析结果表明，繁殖成功巢组内真菌群落组成相似度较高，存在明显组内聚集，而筑巢未产卵巢组内变异较大。由于巢内微生物在自然界中处于一个动态变化的过程，受到多种因素的调控，真菌可能会在亲鸟、雏鸟以及巢材之间相互转移，互相影响(Pugh 1996)。因此，绿背山雀成功入住巢箱后，影响了巢内真菌群落的多样性、物种组成及数量，通过亲鸟引入、巢材引入或其他方式有效抑制潜在病原菌的生长，这可能是影响鸟类繁殖成功的关键因素之一。

本研究通过分析绿背山雀巢箱内真菌群落组成，发现繁殖成功巢箱与筑巢未产卵巢箱巢内真菌群落结构和多样性具有明显差异，繁殖成功巢内分布更多有益菌，而筑巢未产卵巢内病原菌分布更多。因此，研究巢内微生物的组成及功能，有助于明确鸟类与微生物之间的相互作用关系。

参 考 文 献

- Barathidasan R, Singh S D, Saini M, et al. 2013. The first case of angioinvasive pulmonary aspergillosis in a Himalayan Griffon Vulture (*Gyps himalayensis*). *Avian Biology Research*, 6(4): 302–306.
- Burt E H, Ichida J M. 1999. Occurrence of feather degrading bacilli in the plumage of birds. *The Auk*, 116(2): 364–372.
- Callahan B J, McMurdie P J, Rosen M J, et al. (2016). Dada2: high-resolution sample inference from illumina amplicon data. *Nature Methods*, 13(7): 581–583.
- Goodenough A E, Stallwood B. 2010. Intraspecific variation and interspecific differences in the bacterial and fungal assemblages of Blue Tit (*Cyanistes caeruleus*) and Great Tit (*Parus major*) nests. *Microbial Ecology*, 59(2): 221–232.
- Goodenough A E, Stallwood B, Dandy S, et al. 2017. Like mother like nest: similarity in microbial communities of adult female Pied Flycatchers and their nests. *Journal of Ornithology*, 158(1): 233–244.
- Huff W E, Ruff M D, Chute M B. 1992. Characterisation of the toxicity of the mycotoxins aflatoxin, ochratoxin, and T-2 toxin in game birds. II. Ringneck pheasant. *Avian Diseases*, 36(1): 30–33.
- Koljalg U, Nilsson R H, Abarenkov K, et al. 2013. Towards a unified paradigm for sequence-based identification of fungi. *Molecular Ecology*, 22(21): 5271–5277.
- Kornilowicz K T, Kitowski I. 2018. Nests of Marsh harrier (*Circus aeruginosus* L.) as refuges of potentially phytopathogenic and zoopathogenic fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(1): 136–143.
- Kornilowicz T, Kitowski I. 2013. *Aspergillus fumigatus* and other thermophilic fungi in nests of wetland birds. *Mycopathologia*, 175(1/2): 43–56.
- Lawson B, MacDonald S, Howard T, et al. 2006. Exposure of garden birds to aflatoxins in Britain. *Science of the Total Environment*, 361(1/3): 124–131.
- Lucas J, Bill B, Stevenson B, et al. 2017. The microbiome of the ant-built home: the microbial communities of a tropical arboreal ant and its nest. *Ecosphere*, 8(2): e01639.

- Madden A A, Grassetti A, Soriano J A, et al. 2013. Actinomycetes with antimicrobial activity isolated from paper wasp (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) nests. *Environmental Entomology*, 42(4): 703–710.
- Margaret M N, Michael G H, Thomas C G B, et al. 2013. Animals in a bacterial world, a new imperative for the life sciences. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(9): 3229–3236.
- McQuilken M P, Gemmill J, Lahdenperä M L. 2001. *Gliocladium catenulatum* as a potential biological control agent of damping-off in bedding plants. *Journal of Phytopathology*, 149(3/4): 171–178.
- Meenakshi S, Rawat A K S, Govindarajan R. 2007. Antimicrobial activity of some Indian mosses. *Fitoterapia*, 38(2): 156–158.
- Mennerat A, Mirleau P, Blondel J, et al. 2009. Aromatic plants in nests of the Blue Tit *Cyanistes caeruleus* protect chicks from bacteria. *Oecologia*, 161(4): 849–855.
- Mu D Y, Meng J H, Bo X X, et al. 2018. The effect of cadmium exposure on diversity of intestinal microbial community of *Rana chensinensis* tadpoles. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 154(6): 6–12.
- Photita W, Lumyong S, Lumyong P, et al. 2004. Are some endophytes of *Musa acuminatalatent* pathogens? *Fungal Divers*, 16(1): 131–140.
- Pugh G J. 1996. Associations between birds' nests, their pH, and keratinophilic fungi. *Sabouraudia*, 5(1): 49–53.
- Quist C F, Bounous D I, Kilburn J V, et al. 2000. The effect of dietary aflatoxin on wild turkey poults. *Journal of Wildlife Diseases*, 36(3): 436–444.
- Ramette A. 2007. Multivariate analyses in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*, 62(2): 142–160.
- Segata, Izard J, Waldron L, et al. 2011. Metagenomic biomarker discovery and explanation. *Genome Biology*, 12(6): R60.
- Shawkey M D, Pillai S R, Hill G E, et al. 2007. Bacteria as an agent for change in structural plumage color: correlational and experimental evidence. *The American Naturalist*, 169(1): 112–121.
- Wallis I R, Claridge A W, Trappe J M. 2012. Nitrogen content, amino acid composition and digestibility of fungi from a nutritional perspective in animal mycophagy. *Fungal Biology*, 116(5): 590–602.
- Yuan Y, Chen J J, Korhonen K, et al. 2021. An updated global species diversity and phylogeny in the forest pathogenic genus *Heterobasidion* (Basidiomycota, Russulales). *Frontiers in Microbiology*, 11: 596393.
- Zablotni A, Kaliński A, Bańbura M et al. 2020. Experimental nest replacement suggests that the bacterial load of nests may mediate nestling physiological condition in cavity nesting Great Tits (*Parus major*). *Journal of Ornithology*, 161(3): 819–828.
- 戴逢博. 2019. 粉红聚端孢引致富士苹果心腐病的侵染特征及致病机制. 咸阳: 西北农林科技大学博士学位论文.
- 胡永志, 杨鑫凤, 周雅琴, 等. 2021. 两面针内生真菌遗传多样性分析及其抗菌活性研究. *中国中药杂志*, 46(13): 3349–3355.
- 施笑笑, 王教瑜, 王艳丽, 等. 2020. 子囊菌交配型位点与交配型基因研究进展. *微生物学通报*, 47(5): 1572–1581.
- 谭占坤, 池福敏, 商振达, 等. 2022. 放牧藏猪、舍饲藏猪与商品猪粪便真菌群落组成及其与饲料纤维消化的相关性研究. *微生物学报*, 62(1): 259–274.
- 王争艳, 雍晗紫, 胡海生. 2022. 共生菌与昆虫的免疫. *微生物学报*, 62(8): 2893–2904.
- 肖晗汕, 李滔滔, 汤涵, 等. 2020. 冠突散囊菌繁殖体提取物抑菌活性研究. *食品与发酵工业*, 46(14): 65–69.
- 姚婉玉, 罗青华, 梁伶, 等. 2011. 经呼吸道感染马尔尼菲青霉菌的动物实验研究. *中国皮肤性病学杂志*, 25(4): 264–267.
- 郑鄢燕, 赵力卉, 王宇滨, 等. 2020. 链格孢、粉红单端孢通过降解果皮细胞壁导致哈密瓜病害. *食品与发酵工业*, 46(10): 124–131.