

不同健康状态下粉尘螨共生菌的差异性研究*

凌敏^{1**} 许新月^{2**} 胡璐璐² 陈曦¹ 孟苏怡³
杨亚雯¹ 李嘉慧⁴ 陈冰⁴ 刘影^{2***} 孙恩涛^{2***}

(1. 皖南医学院公共卫生学院, 芜湖 241003; 2. 皖南医学院检验学院, 芜湖 241003;
3. 皖南医学院临床医学院, 芜湖 241003; 4. 皖南医学院基础医学院, 芜湖 241003)

摘要 【目的】分析粉尘螨 *Dermatophagoides farinae* 健康与亚健康状态下共生菌群差异及其对宿主的影响。【方法】利用 Pacbio 三代测序技术对健康组 (FM) 和亚健康组 (MF) 实验室饲养粉尘螨进行 16S rRNA 基因全长测序, 通过 OTU 聚类、Alpha/Beta 多样性及 KEGG 功能预测比较菌群特征。【结果】获得粉尘螨体内细菌 16S rRNA 有效序列共 169 740 条, 聚类 72 个 OTUs, 共注释到细菌类群 13 个门, 21 个纲, 31 个目, 47 个科, 62 个属。与健康组相比, 亚健康组 Alpha 多样性 (Shannon 指数 1.47) 较高, 且特定菌属 (如赖氨酸芽孢杆菌 *Lysinibacillus*) 对差异影响较大, 表明不同健康状态下粉尘螨共生细菌结构存在一定差异。Beta 多样性显示健康组和亚健康组共生细菌组成存在差异, 但无显著性 ($P>0.05$)。功能分析显示两组均在物质代谢通路有较高丰度。【结论】粉尘螨健康状态不同伴随共生菌群结构改变, 赖氨酸芽孢杆菌等有致病潜力的特定菌属可能参与宿主病理过程, 为开发靶向杀螨剂提供理论支持。

关键词 粉尘螨; 健康状态; 共生细菌; 多样性; 菌群结构

Differential study of symbiotic bacteria of dust mites in different health states

LING Min^{1**} XU Xin-Yue^{2**} HU Lu-Lu² CHEN Xi¹ MENG Su-Yi³
YANG Ya-Wen¹ LI Jia-Hui⁴ CHEN Bing⁴ LIU Ying^{2***} SUN En-Tao^{2***}

(1. School of Public Health, Wannan Medical College, Wuhu 241003, China; 2. School of Laboratory Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241003, China; 3. School of Clinical Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241003, China; 4. School of Basic Medical Sciences, Wannan Medical College, Wuhu 241003, China)

Abstract [Aim] Analyzing differences in symbiotic flora between healthy and sub healthy states of *Dermatophagoides farinae* and their effects on the host. [Methods] Full-length sequencing of the 16S rRNA gene of laboratory-reared dust mites in the healthy (FM) and sub healthy (MF) groups was performed using Pacbio triple sequencing, and the characteristics of the comparative colonies were characterized by OTU clustering, Alpha/Beta diversity, and KEGG functional prediction. [Results] A total of 169 740 valid sequences of bacterial 16s rRNA in dust mites were obtained, clustered into 72 OTUs, and annotated to 13 phyla, 21 orders, 31 orders, 47 families and 62 genera of bacterial taxa. Compared to the healthy group, the sub-healthy group exhibited higher alpha diversity (Shannon index = 1.47), and specific bacterial genera, such as *Lysinibacillus*, contributed significantly to the observed differences, indicating distinct symbiotic bacterial structures in dust mites under different health conditions. Beta diversity analysis showed differences in the composition of commensal bacteria between the healthy and sub-healthy groups, but without statistical significance ($P > 0.05$). Functional analysis showed that both groups had a higher abundance in substance metabolic pathways. [Conclusion] Different health states of dust mites are accompanied by changes in the structure of symbiotic flora, and specific bacterial genera with pathogenic potential (e.g., *Lysinibacillus*) may be involved in host pathology, providing theoretical support for the development of targeted acaricides.

Key words *Dermatophagoides farinae*; health status; symbiotic bacterial; diversit; microbial community structure

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31870352); 皖南医学院博士科研启动基金项目 (WYRCQD2023011)

**共同第一作者 Co-first authors, E-mail: 2097374932@qq.com; 2131649850@qq.com

***共同通讯作者 Co-corresponding authors, E-mail: liuyingwuhu@wnmc.edu.cn; asdentao@126.com

收稿日期 Received: 2025-05-09; 接受日期 Accepted: 2025-09-05

粉尘螨 *Dermatophagoides farinae* 属蛛形纲 Arachnida, 无气门亚目 Astigmata, 麦食螨科 Pyroglyphidae, 普遍存在于人居和工作的室内环境中, 常孳生于褥垫的灰屑和饲料、酵母、谷物尘屑中。粉尘螨种群具有特定的生长模式, 包括一个缓慢生长的滞后期, 随后是指数增长, 最后是下降阶段, 此时螨虫数量下降并最终死亡 (Zhang *et al.*, 2019)。粉尘螨生活周期短、繁殖速度快、环境适应性强, 不仅造成储藏物数量的损失, 其分泌物和排泄物是引起过敏性哮喘、过敏性鼻炎等 I 型变态反应性疾病的主要变应原 (Hubert *et al.*, 2021b)。因此, 有效防控粉尘螨至关重要, 由于化学药品的滥用, 导致螨类对常规杀螨剂具有抗性, 加大了螨类防控难度。近年来共生菌在昆虫的防治领域获得一定成果, 但共生菌在螨类防治方面的作用机制尚未清楚。共生细菌是指与宿主经过长期的协同进化, 不受宿主的免疫系统攻击, 能够稳定地存在于宿主体内的细菌群落。共生细菌在宿主的生长发育、生殖调控、环境适应等诸多方面发挥重要作用 (Nesvorna *et al.*, 2021)。在营养缺乏的条件下, 共生细菌为宿主提供营养物质, 如必需氨基酸和维生素 (Li *et al.*, 2022)。共生细菌可以调控宿主的免疫和防御病原体的能力, 从而避免或减轻病原体的入侵 (Hartman *et al.*, 2019)。共生细菌在环境适应方面也发挥一定作用, 可以提高宿主对不利环境的适应性, 提高存活率 (Nicoletti *et al.*, 2024)。共生细菌对宿主健康的有益贡献已被普遍认可, 然而它们也可能产生负面影响。已有研究表明, 共生细菌组成或位置的扰动可能导致病理状态和宿主死亡 (Bravo *et al.*, 2022)。有研究表明昆虫体内共生菌的失调可能会影响宿主的健康和对疾病的易感性 (Mondal *et al.*, 2023)。Lee 等 (2022b) 对果蝇的研究发现, 共生细菌的负面相互作用可能缩短了宿主的寿命, 对宿主的生活史产生影响。目前对螨类不同种群、地理、发育阶段等因素影响下的共生菌多样性进行了系统性的研究 (Hubert *et al.*, 2021a; Wu-Chuang *et al.*, 2023), 但有关粉尘螨不同健

康状态的共生菌研究尚未见报道。

本研究基于实验室培养过程中粉尘螨健康状况改变的现象, 利用高通量测序对共生菌 16S rRNA 基因全长扩增, 进行系统分析不同健康状态下的粉尘螨共生细菌多样性和差异, 并探索不同健康状态下物种的潜在功能, 为深入研究调控粉尘螨生命活动的关键微生物提供基础和新思路。

1 材料与方法

1.1 主要仪器及试剂

1.1.1 主要仪器 无菌操作台、水浴锅、振荡机、粉碎研磨仪、离心机、高压灭菌锅 (HVE-50)、PCR 仪 (ABI GeneAmp® 9700 型)、移液枪 (Eppendorf)、电泳仪 (Tanon ESP100)、凝胶成像系统 (Fluorcnem FC3)。

1.1.2 主要材料 E.Z.N.A.® DNA 试剂盒、EP 管、灭菌枪头、无水乙醇、蛋白酶 K、Tris-HCl 洗脱液、冰乙酸、2Taq PCR Mastermix (KT201)、琼脂糖 (BIOWEST)、AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒、 $0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA、 $50 \times$ TAE 电泳缓冲液等。

1.2 样本准备

1.2.1 实验室培养 利用直径 0.15 mm, 100 目的筛子筛取实验室培养的粉尘螨样本, 获取的粉尘螨样本置于洁净培养盒, 加入灭菌饲料。饲料由全麦粉、玉米粉、鱼粉、酵母粉、豆粕等混合而成。在温度 (25 ± 1) °C、相对湿度 85%、无光照的条件下, 纯培养粉尘螨。

1.2.2 镜检分离 在解剖镜下, 使用洁净毛笔挑取身体饱满透亮, 活动良好, 移速较快, 75%酒精刺激时能够迅速躲避, 响应时间小于 2 s 的粉尘螨, 则记为健康组, 置于 1.5 mL EP 管中, 饥饿处理 8 h。再使用 75%酒精对螨体表消毒, 无菌水冲洗, 最后置于 1.5 mL 的 EP 管中, 每管 100 只, 共 3 个样本, 样本编号分别为 FM-1、FM-2、FM-3。同样在解剖镜下, 使用洁净毛笔挑取身

体扁平凹陷,足肢僵直,体色加深变红褐色,活动缓慢的粉尘螨,75%酒精刺激时能够迅速躲避,响应时间大于2 s的粉尘螨,则记为亚健康组,置于1.5 mL EP管中,处理方法同上,每管100只,共3个样本,样本编号分别为MF-1、MF-2、MF-3。挑取的两组粉尘螨为同一批次培养。

1.3 DNA 提取

使用 E.Z.N.A.® DNA 提取试剂盒提取总 DNA。

1.4 PCR 扩增和测序

1.4.1 PCR 扩增 使用引物 27F (5'-AGAGT-TTGATCCTGGCTCAG-3')和 1492R (5'-GGTTA-CCTTGTTACGACTT-3')对 16S rRNA 基因全长序列进行聚合酶链反应 (PCR) 扩增。

PCR 反应条件: 95 °C 预变性 5 min, 95 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 复性 45 s, 共 30 个循环, 72 °C 延伸 10 min, 10 °C 保温。扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测, 使用 AxyPrep DNA 凝胶回收试剂盒进行纯化。

1.4.2 测序 测序工作委托上海凌恩生物有限公司完成。

1.5 数据分析

Pacbio 下机数据处理后获得 Subreads, 通过 SMRTLink 8.0 中的 ccs 模块工具进行优化提取和过滤 (minfullpass=3, minPredictedAccuracy=0.99), 从而获得 Circular consensus (CCS) read。利用软件 USEARCH (v10) 对优质序列在 97% 相似性的水平上进行操作分类单元 (Operational taxonomic unit, OTU) 聚类, 使用 Qiime 软件和 Silva 数据库进行物种注释, 并分别在各个分类水平 (界、门、纲、目、科、属、种) 注释其群落的物种信息。使用 Mothur 软件进行 Alpha 指数分析。利用 R 软件进行统计学分析, Wilcoxon 秩和检验对健康组和亚健康组进行物种差异分析; 使用 ANOSIM 非参数检验统计方法对健康组与亚健康组 PCA 主成分分析进行差异检验。利用 PICRUST 软件对不同健康状态下粉尘螨共生细菌进行功能预测分析。

2 结果与分析

2.1 序列特征、OTU 聚类和物种组成分析

通过 Pacbio 三代高通量测序, 对粉尘螨体内细菌 16S rRNA 全长进行扩增, 得到单样本有效序列数范围为 32 561-38 553 条 (健康组: 34 475-35 971 条, 亚健康组: 32 561-38 553 条), 健康组平均单样本序列数 35 039 条, 亚健康组平均单样本序列数 36 308 条, 总有效序列数达 214 040 条; 样本平均读长 1 451 bp (健康组: 1 452-1 454 bp, 亚健康组: 1 447-1 451 bp), 读长覆盖细菌 16S rRNA 基因全长 (约 1 500 bp), 保证序列完整性。经质控拼接后共获得有效序列总数序列 169 740 条, 见表 1。在 97% 相似度下, 粉尘螨体内细菌通过聚类分析共获得 72 个 OTUs。分别从健康组和亚健康组获得有效序列 84 870 和 84 870 条, 在 97% 的相似度下, OTU 聚类显示, 健康组 (FM) 共有 65 个 OTUs, 亚健康组 (MF) 共有 68 个 OTUs。

OTUs 的分类结果表明, 粉尘螨两组样本中细菌分属于 13 个门, 21 个纲, 31 个目, 47 个科, 62 个属。利用 Venn 图在门、属分类学水平, 对粉尘螨细菌群落进行分析, 见图 1 (A, B)。结果发现, 在门水平上, 粉尘螨健康 (FM) 和亚健康 (MF) 组共同存在菌门 11 个, 亚健康组和健康组各有 1 个特有菌门。在属水平上, 粉尘螨健康和亚健康组共有菌属有 54 个, 健康组有出芽小链球菌属 *Blastocatellales*、*Usitatibacter* 菌属和 *Candidatus* 菌属 3 种特有菌属, 亚健康组有类芽孢八叠球菌属 *Paenisporosarcina*、拉氏杆菌属 *Rathayibacter*、寡养单胞菌属 *Stenotrophomonas*、海洋浮游菌属 *Planktomarina* 和红色小梨形菌属 *Rubripirellula* 5 种特有菌属。

如图 2 (A, B), 在门水平上, 健康组优势菌门为假单胞菌门 Pseudomonadetes 和拟杆菌门 Bacteroidota。亚健康组优势菌门为假单胞菌门 Pseudomonadetes、拟杆菌门 Bacteroidota 和放线菌门 Actinobacteriota。在属水平上, 健康组优势菌属为伯克霍尔德氏菌属 *Burkholderia*、巴尔通氏体属 *Bartonella*、罗尔斯通氏菌属 *Ralstonia*、

表 1 不同健康状态下粉尘螨共生细菌序列和 Alpha 多样性指数

Table 1 Sequences and Alpha diversity indices of symbiotic bacteria of dust mites in different health states

样品名称 Sample name	OTU 数目 OTU number	有效序列数 Valid sequences	香农指数 Shannon index	辛普森指数 Simpson index	ACE 丰富度 估计值 ACE richness estimate	观测 物种数 Observed features number	覆盖度 Coverage
FM-1	57	28 290	1.456 658	0.435 666	60.913 822	57	0.999 788
FM-2	56	28 290	1.095 030	0.583 878	58.213 634	56	0.999 823
FM-3	51	28 290	0.846 039	0.682 953	55.593 920	51	0.999 788
平均值 Average	54	28 290	1.132 576	0.567 499	58.240 450	54	0.999 800
MF-1	58	28 290	1.672 815	0.351 144	58.566 025	58	0.999 929
MF-2	62	28 290	1.616 681	0.390 933	62.220 124	62	0.999 965
MF-3	53	28 290	1.113 436	0.555 257	53.235 802	53	0.999 965
平均值 Average	57	28 290	1.467 644	0.432 444	58.007 317	57	0.999 953
合计 Total	72	169 740	-	-	-	-	-
P 值 P-value (FM-MF)	-	-	0.19	0.19	1	0.38	0.07

FM 为健康组, MF 为亚健康组。同一列数据后不同字母表示显著差异 ($P < 0.05$, Wilcoxon 秩和检验)。

FM: Healthy group; MF: Subhealthy group. Different lowercase letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$, Wilcoxon rank-sum test).

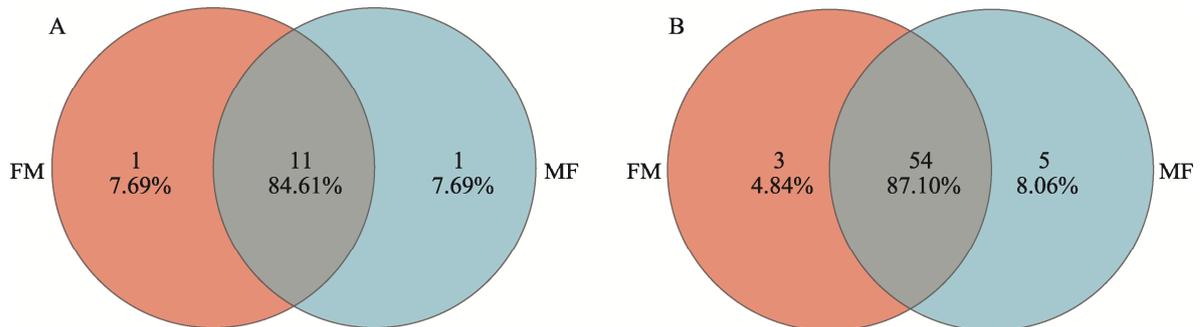


图 1 在门水平上的 Venn 图 (A) 和属水平上的 Venn 图 (B)

Fig. 1 Venn diagrams at the gate level (A) and at the genus level (B)

FM: 粉尘螨健康组; MF: 粉尘螨亚健康组。下图同。

FM: Dust mite healthy group; MF: Dust mite subhealthy group. The same below.

纯水菌属 *Hydrobacter*、非洲野驴杆菌属 *Asinibacterium*、慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium*; 亚健康组优势菌属为伯克霍尔德氏菌属 *Burkholderia*、*Bartonella*、*Ralstonia*、*Hydrobacter*、*Asinibacterium*、*Bradyrhizobium*、考克氏菌属 *Kocuria*、*Mixta*。

2.2 Alpha 多样性指数分析

Alpha 多样性指数表中 (表 1) 各样本

Coverage 指数均大于 99.97%, 稀释曲线均趋于平坦, 说明本次测序量足够, 覆盖率足够, 测序数据合理且准确可靠。如图 3 (A-C), 对粉尘螨两组分别进行物种丰富度指数 (Sobs 指数) 和物种多样性指数 (Shannon 指数和 Simpson 指数) 差异检验, 结果表示粉尘螨亚健康组多样性和丰度略高于健康组, 两组的细菌多样性指数存在差异, 但不具有统计学意义 ($P > 0.05$)。

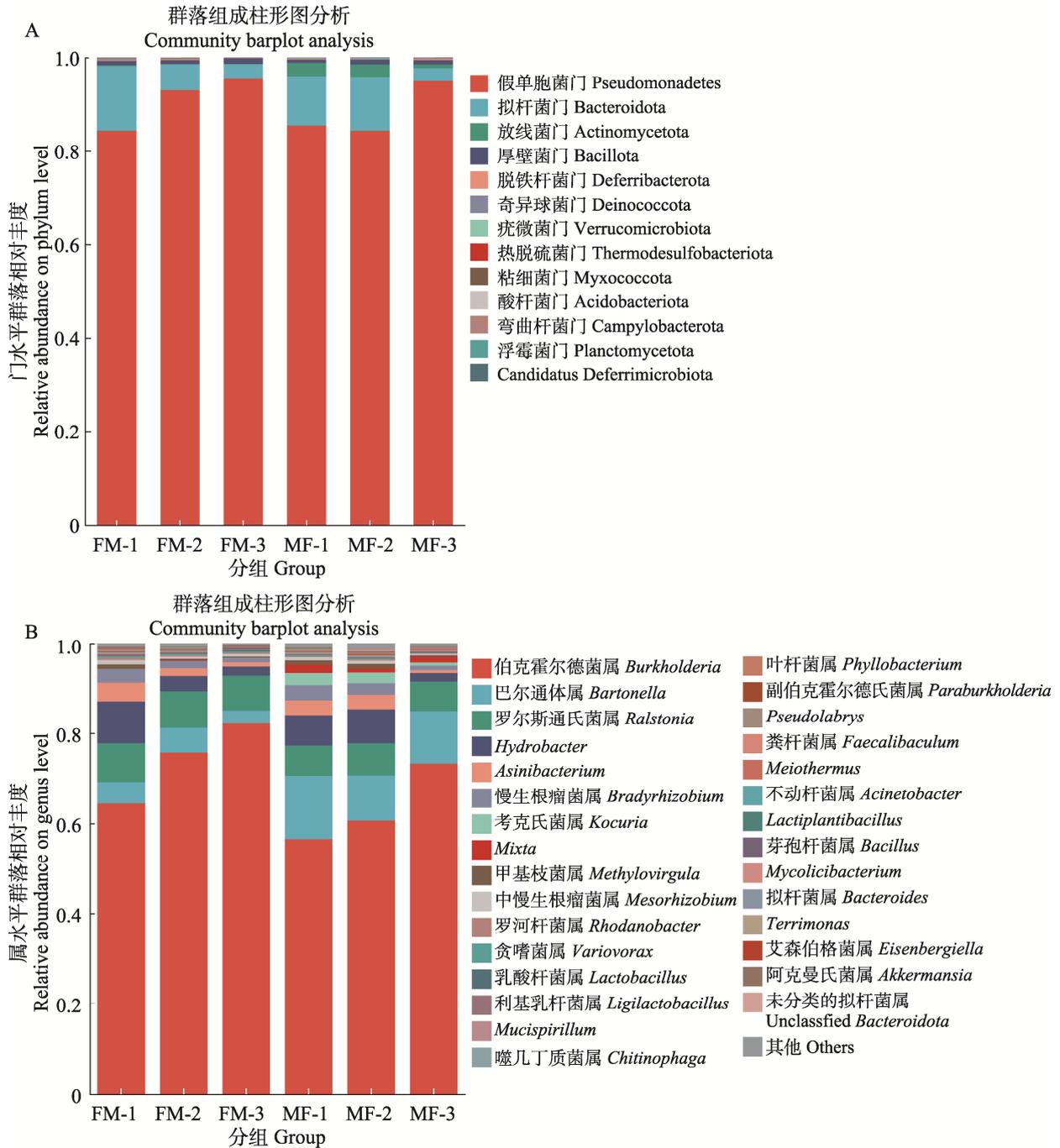


图 2 不同健康状态下粉尘螨共生细菌群落组成柱状图

Fig. 2 Histograms of symbiotic bacterial community composition of dust mites in different health states

A. 在门水平上细菌群落组成柱状图；B. 在属水平上细菌群落柱状图。

A. Histograms of bacterial community composition at the phylum level; B. Histograms of bacterial community at the genus level.

2.3 Beta 多样性分析

如图 4, PCA 分析显示, 不同健康状态下的粉尘螨样本间存在一定距离, 说明健康组和亚健

康组在共生菌群落组成上存在差异, 同一样本内的 3 个样品多数存在于同一象限, 但也存在距离较远的样品, 推测可能为个体间差异影响。

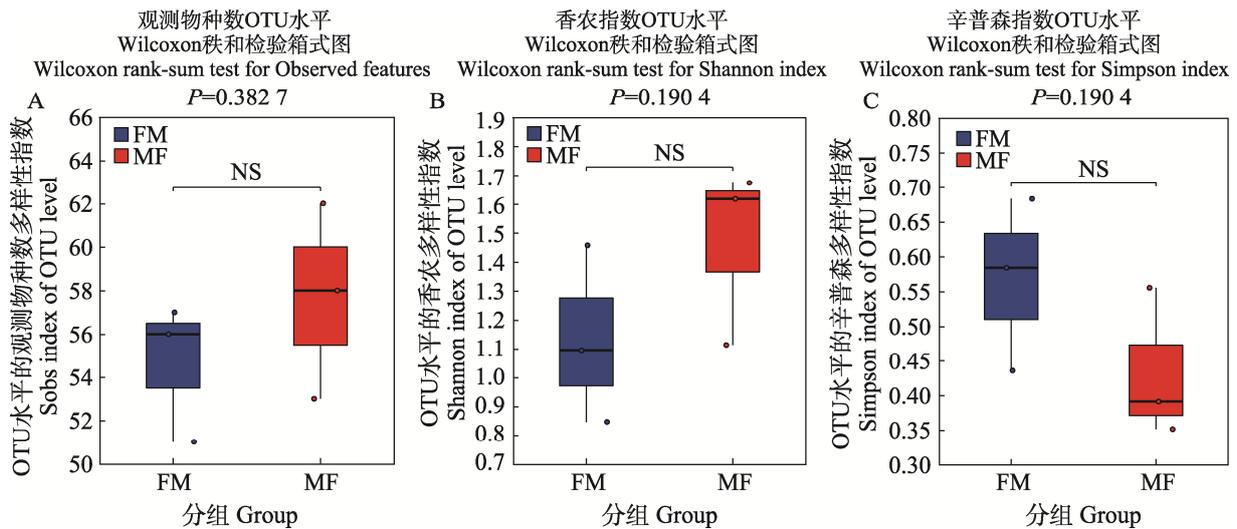


图 3 不同健康状态下粉尘螨共生细菌多样性和丰度

Fig. 3 Diversity and abundance of symbiotic bacteria of dust mites in different health states

A. 观测物种数箱式图; B. 香农指数箱式图; C. 辛普森指数箱式图。

柱上标有 NS 表示差异不显著 ($P > 0.05$, Wilcoxon 秩和检验)。

A. Box plot of observed features; B. Box plot of Shannon index; C. Box plot of Simpson index.

Histograms with NS indicate no significant difference ($P > 0.05$, Wilcoxon rank-sum test).

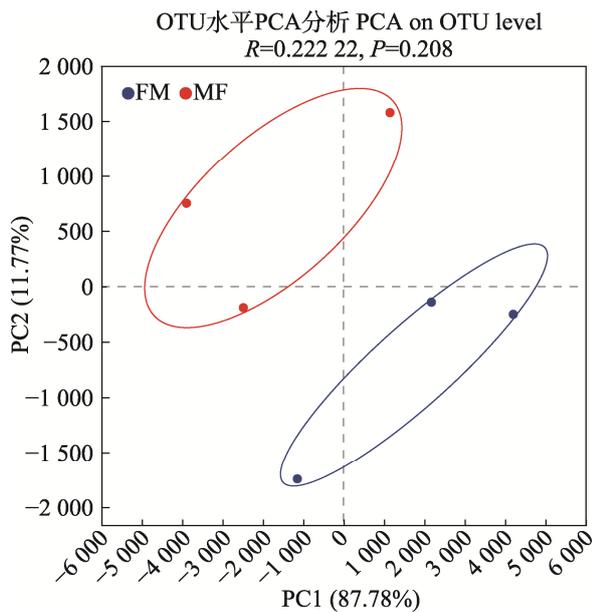


图 4 Beta 多样性分析 PCA 分析图

Fig. 4 Plot of PCA analysis for Beta diversity analysis

$P > 0.05$, ANOSIM 非参数检验。

$P > 0.05$, ANOSIM test.

2.4 物种差异分析

对健康组和亚健康组的共生细菌进行线性判别分析 (Lefse), 并用 LDA 值来衡量物种对差异效果影响大小, 以探究两组之间的差异菌属。

如图 5, 在健康组中, 占主要的菌属是罗尔斯通氏菌属 *Ralstonia*、乳杆菌属 *Lactobacillus*。在亚健康组中, 对差异贡献大的菌属为巴尔通氏体属 *Bartonella*、考克氏菌属 *Kocuria*、赖氨酸芽孢杆菌属 *Lysinibacillus* ($LDA > 4$, 从属到属)。

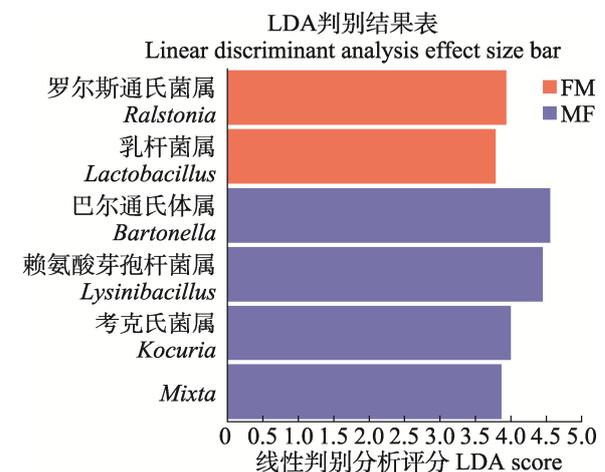


图 5 LDA 判别柱形图

Fig. 5 LDA discriminant bar graph

通过 LDA 分析(线性回归分析)获得的 LDA 分值, LDA 分值越大, 代表物种丰度对差异效果影响越大。

LDA scores obtained by LDA analysis (linear regression analysis); Larger LDA scores represent a greater effect of species abundance on the differential effect.

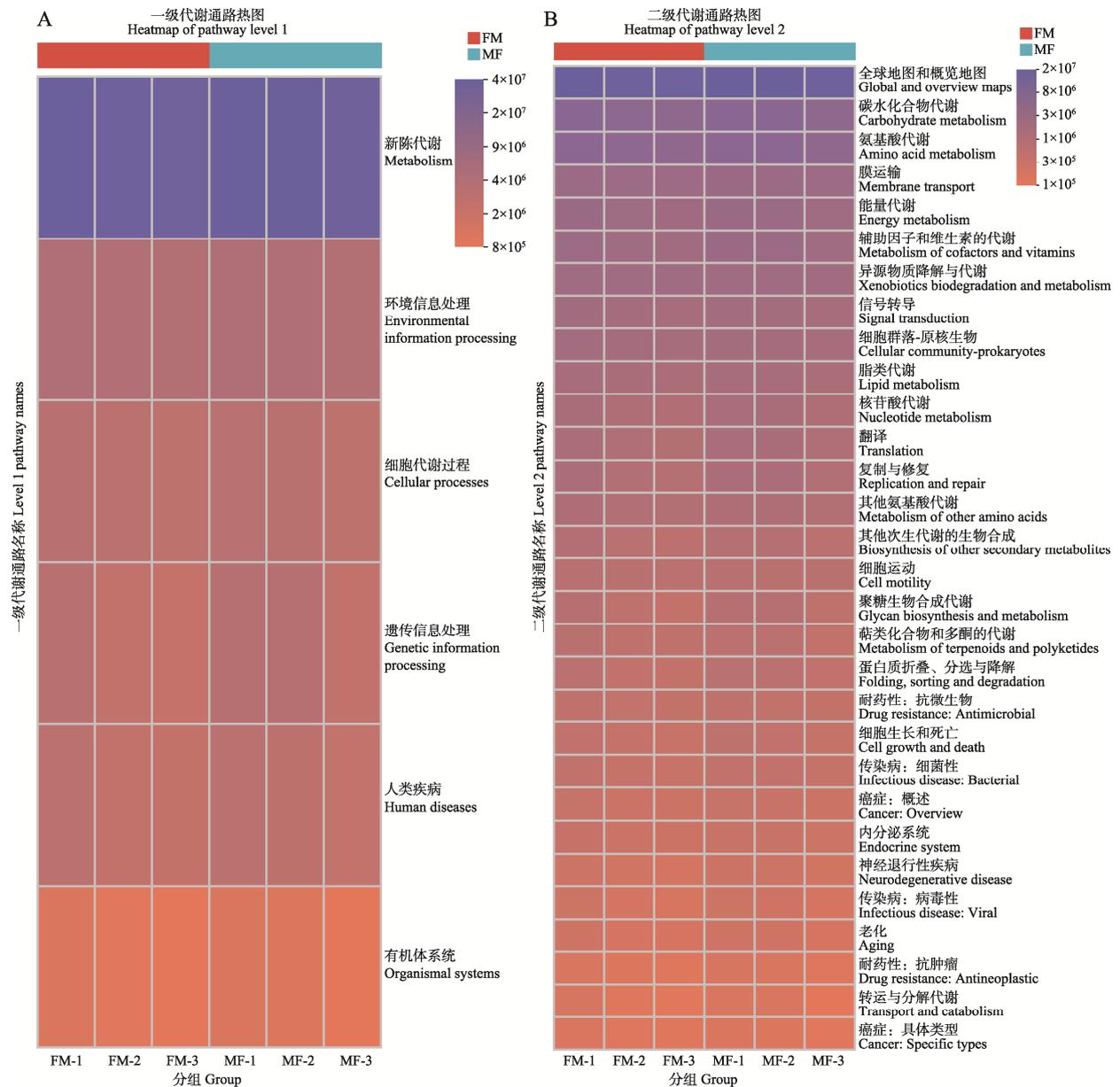
2.5 功能预测

使用 PIRUST2 软件来预测粉尘螨健康组和亚健康组共生菌的相关 KEGG 功能的相关丰度，并分析结果。如图 6 (A-D)，KEGG 功能分类显示，健康组和亚健康组功能相似。在 Level 1 水平上，健康组和亚健康组功能丰度都集中于新陈代谢。在 Level 2 水平上，健康组和亚健康组在全局和概括 (Global and overview maps)、碳水化合物代谢 (Carbohydrate metabolism)、氨基酸代谢 (Amino acid metabolism)、膜转运 (Membrane transport)、能量代谢 (Energy

metabolism) 等代谢通路发挥作用，维持正常生命活动。在 Level 3 水平上，两组主要在代谢途径、次生代谢物的合成等途径丰度较高。在酶水平上其中 2.7.7.7DNA 导向聚合酶及 1.6.5.3NADH: 泛醌还原酶丰度呈现亚健康组两种酶功能预测丰度均略高于健康组。

3 结论与讨论

共生细菌在螨类的生长发育、免疫防御等诸多方面发挥重要作用，为揭示共生细菌对宿主健康状态的影响，本研究采用 Pacbio 三代测序技



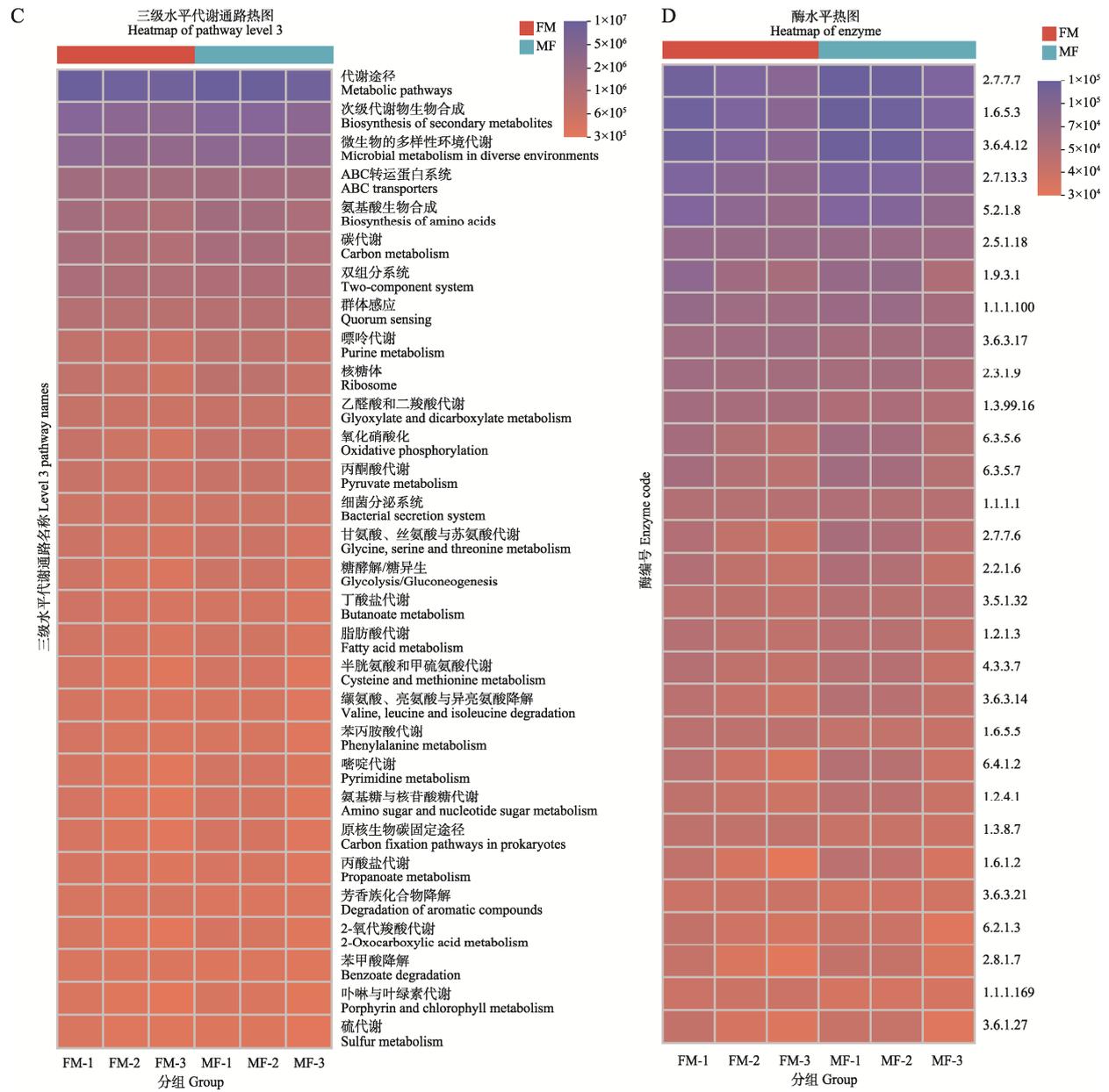


图 6 KEGG 分析的功能热图

Fig. 6 Functional heatmap of KEGG analysis

- A. 共生细菌在一级水平上的功能预测; B. 共生细菌在二级水平上的功能预测;
- C. 共生细菌在三级水平上的功能预测; D. 共生细菌在酶水平上的功能预测。

- A. Functional prediction of symbiotic bacteria at level 1; B. Functional prediction of symbiotic bacteria at level 2;
- C. Functional prediction of symbiotic bacteria at level 3; D. Functional prediction of symbiotic bacteria at enzymes.

术对来自不同状态的粉尘螨样本进行多样性研究, 结果表明, 粉尘螨体内共生细菌群落注释到了 13 个门, 21 个纲, 31 个目, 47 个科, 62 个属。本研究观察到亚健康组菌群多样性略升高, 这与多数宿主-菌群互作研究中“疾病伴随菌群失调”的经典结论存在差异 (徐杨, 2024)。然

而, 本研究的反向趋势可能与宿主病理状态下“菌群代偿性适应”有关。类似现象可见于 Aljohani 等 (2024) 对尘螨的研究, 家庭环境中抗生素使用虽未显著改变菌群多样性, 但可能通过选择压力驱动特定耐药基因的富集。此外, Qin 等 (2024) 在珊瑚白化研究中提出, 半白化

状态（中间健康状态）的菌群网络复杂性最高，可能与宿主对压力环境的适应性调节相关。本研究中亚健康组菌群多样性稍高，虽未达到显著性水平，但仍可能反映了粉尘螨在病理条件下菌群生态位的动态调整，例如菌群多样性的稳定性可能掩盖了功能冗余或关键菌群的替代作用，需结合代谢组学进一步验证。

其中，在门水平上，粉尘螨健康组的优势菌门为假单胞菌门和拟杆菌门，亚健康组优势菌门为假单胞菌门、拟杆菌门和放线菌门。放线菌门广泛存在于土壤和周围环境中，被认为能够合成几丁质降解酶，帮助宿主分解有机化合物（Brzezinska *et al.*, 2019），亚健康组的营养消化功能可能受损，需大量摄入环境中存在的放线菌门来维持正常生理功能（Nesvorna *et al.*, 2019），且放线菌门本身可能产生抗生素如链霉素、四环素等，影响粉尘螨正常的共生菌组成及分布，进而导致其成为优势菌门之一。

在属分类学水平上，粉尘螨健康组和亚健康组的共有菌属共 54 个，对宿主生命活动起积极作用，如伯克霍尔德菌属 *Burkholderia* 帮助宿主昆虫消化营养物质，对宿主环境适应方面也有一定作用（Lu *et al.*, 2024）；慢生根瘤菌属 *Rhizobium* 参与宿主氨基酸代谢，提高宿主固氮能力（Koch and Sessitsch, 2024）；假单胞菌属 *Pseudomonas* 已被证明参与淀粉的分解并具有一定的抗菌活性，但也可产生毒素导致宿主死亡（Setiaji *et al.*, 2020）。粉尘螨亚健康组特有菌属类芽孢八叠菌属 *Sporosarcina* 具有很强的脲酶活性，帮助降解尿素（胡利伟等, 2020）；寡养单胞菌属 *Stenotrophomonas* 可以分解角蛋白，为粉尘螨提供营养（Yaylacı *et al.*, 2025）。

巴尔通氏体属人类病原体，其潜在载体为节肢动物，在粉尘螨和屋尘螨中均有发现（Xiong *et al.*, 2024）。在本研究中，粉尘螨健康组和亚健康组都存在优势菌巴尔通氏体菌属，此结果与 Yi 等（2023）的研究一致，推测巴尔通氏体菌属是尘螨的核心菌属。根据 Alpha 多样性分析结果得出，粉尘螨亚健康组共生菌多样性和丰度高于健康组，亚健康组的考克氏菌属、赖氨酸芽孢

杆菌、肠杆菌科的某些菌属细菌数量增高，*Wolbachia* 细胞内共生体数量下降，此结果与 Nesvorna 等（2019）研究饥饿状态下腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae* 体内共生菌变化一致。推测粉尘螨亚健康组内共生细菌多样性和丰度较高，可能与粉尘螨营养状态下下降，大量摄入环境细菌有关。

LDA 判别分析中，粉尘螨亚健康组中，赖氨酸芽孢杆菌属 *Lysinibacillus* 对差异贡献较大（ $LDA > 4, P < 0.05$ ）。Sharma 和 Kumar（2022）研究表明球形赖氨酸芽孢杆菌菌株为昆虫致病菌，可以产生毒素，其与苏云金芽孢杆菌亚种同为控蚊中最有效的 2 种昆虫致病菌（Miranda *et al.*, 2024）。本研究中粉尘螨状态异常，可能为赖氨酸芽孢杆菌直接侵染，产生毒素导致粉尘螨健康状态的改变。此外，在病原菌侵染的条件下，宿主体内的常驻共生菌可以转变为病原菌，进一步促进或协助病原菌对宿主的致病作用。到目前为止，用于生物防治的微生物杀虫剂如苏云金芽孢杆菌，主要应用于鳞翅目等害虫（Miranda *et al.*, 2024）。依据现有对螨类的研究，本研究显示赖氨酸芽孢杆菌可能对粉尘螨存在致病作用（Pinos *et al.*, 2021），提供了一种新的生物防治方式，但具体杀螨机制有待进一步研究。

菌群功能预测显示，两组样本在物质代谢通路上均呈现高丰度，其中 2.7.7.7DNA 导向聚合酶与 1.6.5.3NADH：泛醌还原酶丰度在两组中存在一定差异，即亚健康组两种酶功能预测丰度均略高于健康组，且亚健康组呈现能量代谢代偿性优势，可能反映其陷入遗传稳定性维持受阻、呼吸链亢进的高能耗恶性循环；同时，亚健康组特异性富集非细胞色素 P450 酶系介导的异源物质降解功能（如萘/多环芳烃代谢酶），而经典 P450 通路基本无变化，可能提示该过程或由内源性代谢紊乱（如线粒体损伤致脂质过氧化毒素累积）引发（Lee *et al.*, 2022a; Zhuge *et al.*, 2023）。结合 KEGG 注释结果，推测以下机制可能参与调控：亚健康组菌群可能通过增强某些异源物质代谢能力（如降解宿主毒性代谢产物），缓解宿主氧化应激，但此过程加剧能量资源竞争，导致

宿主糖原耗竭, 最终形成代谢效率持续恶化的病理闭环(李富哲, 2023)。

综上所述, 本研究利用 Pacbio 三代测序技术对粉尘螨体内细菌 16S rRNA 基因全长进行测序, 阐明了粉尘螨不同健康状态下的共生细菌的组成和多样性, 并初步预测了部分功能。研究结果为进一步探究粉尘螨内共生细菌之间相互作用及杀螨机制的探究提供理论依据, 也为进一步开发微生物杀螨剂奠定基础。本研究存在一些不足之处, 如所有样本均来自实验室饲养群体, 未纳入自然环境中的粉尘螨, 可能导致菌群结构偏离真实生态, 后续将纳入不同地理区域、养殖环境的粉尘螨, 进而分析环境因子对菌群-宿主互作的影响。另外, Pacbio 三代测序对低丰度菌的检测能力有限, 后续需联合宏代谢组等多组学联用, 共同深入探究其具体机制。本研究阐明了粉尘螨健康组和亚健康组体内共生菌组成和结构存在差异, 亚健康组共生菌多样性和丰度略高于健康组, 不同状态的粉尘螨共生细菌组成有所差异。本研究为进一步探究微生物组成改变调控宿主生命活动的作用机制提供了基础资料, 为开发粉尘螨科学绿色高效防治手段奠定理论基础。

参考文献 (References)

- Aljohani A, Clarke D, Byrne M, Fleming G, 2024. The bacterial microbiome and resistome of house dust mites in Irish homes. *Scientific Reports*, 14(1): 19621.
- Bravo M, Combes T, Martinez FO, Risco D, Gonçalves P, Garcia-Jimenez WL, Cerrato R, Fernandez-Llario P, Gutierrez-Merino J, 2022. Wildlife symbiotic bacteria are indicators of the health status of the host and its ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*, 88(1): e01385–e01321.
- Brzezinska MS, Urszula J, Agnieszka K, Joanna S, Klaudia Z, 2019. Characterization of chitinase from *Streptomyces luridiscabiei* U05 and its antagonist potential against fungal plant pathogens. *Journal of Phytopathology*, 167(7/8): 404–412.
- Hartman LM, Oppen VHJM, Blackall LL, 2019. The effect of thermal stress on the bacterial microbiome of *Exaerptasia diaphana*. *Microorganisms*, 8(1): 20.
- Hu LW, Xuan BB, Dai HX, Guo JH, Mou WJ, Liu Y, Zhai Z, Yan D, Cai XJ, Xi JQ, Xue CQ, Song JZ, 2020. Macrotranscriptome sequencing reveals the expression abundance and bacterial origin of brown soil urease gene. *Tobacco Science and Technology*, 53(11): 7–14. [胡利伟, 轩贝贝, 戴华鑫, 郭建华, 牟文君, 刘阳, 翟振, 闫鼎, 蔡宪杰, 奚家勤, 薛超群, 宋纪真, 2020. 宏转录组测序揭示褐土脲酶基因的表达丰度和细菌来源. 烟草科技, 53(11): 7–14.]
- Hubert J, Nesvorna M, Green SJ, Klimov PB, 2021a. Microbial communities of stored product mites: Variation by species and population. *Microbial Ecology*, 81(2): 506–522.
- Hubert J, Nesvorna M, Klimov PB, Erban T, Sopko B, Dowd SE, Scully ED, 2021b. Interactions of the intracellular bacterium *cardinium* with its host, the house dust mite *Dermatophagoides farinae*, based on gene expression data. *mSystems*, 6(6): e00916–e00921.
- Koch H, Sessitsch A, 2024. The microbial-driven nitrogen cycle and its relevance for plant nutrition. *Journal of Experimental Botany*, 75(18): 5547–5556.
- Lee E, Ahn H, Park S, Kim G, Kim H, Noh MG, Kim Y, Yeon JS, Park H, 2022a. *Staphylococcus epidermidis* WF2R11 suppresses PM_{2.5}-mediated activation of the aryl hydrocarbon receptor in HaCaT keratinocytes. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 14(5): 915–933.
- Lee HY, Lee SH, Min KJ, 2022b. The increased abundance of commensal microbes decreases *Drosophila melanogaster* lifespan through an age-related intestinal barrier dysfunction. *Insects*, 13(2): 219.
- Li FZ, 2023. Relationship between changes in intestinal microbial communities and their health status in the scallop *Patinopecten yessoensis*. Master dissertation. Dalian: Dalian Ocean University. [李富哲, 2023. 虾夷扇贝肠道微生物群落变化与其健康状态的关系. 硕士学位论文. 大连: 大连海洋大学.]
- Li GN, Zheng X, Zhu Y, Long YH, Xia XJ, 2022. *Bacillus* symbiont drives alterations in intestinal microbiota and circulating metabolites of lepidopteran host. *Environmental Microbiology*, 24(9): 4049–4064.
- Lu QC, Yu JM, Liu HL, Wu XL, Wei SJ, Lei M, Cai P, He HG, Pu DQ, 2024. Stable composition of gut microbiome in the Asian ladybeetle *Coccinella septempunctata* reared on natural and artificial diets. *Scientific Reports*, 14(1): 71.
- Miranda LS, Rudd SR, Mena O, Hudspeth PE, Barboza-Corona JE, Park HW, Bideshi DK, 2024. The perpetual vector mosquito threat and its eco-friendly nemeses. *Biology-Basel*, 13(3): 182.
- Mondal S, Somani J, Roy S, Babu A, Pandey AK, 2023. Insect microbial symbionts: Ecology, interactions, and biological significance. *Microorganisms*, 11(11): 2665.
- Nesvorna M, Bittner V, Hubert J, 2019. The mite *Tyrophagus putrescentiae* hosts population-specific microbiomes that respond

- weakly to starvation. *Microbial Ecology*, 77(2): 488–501.
- Nesvorna M, Pekar S, Shcherbachenko E, Molva V, Erban T, Green SJ, Klimov PB, Hubert J, 2021. Microbiome variation during culture growth of the European house dust mite, *Dermatophagoides pteronyssinus*. *FEMS Microbiology Ecology*, 97(4): fiab039.
- Nicoletti R, Russo E, Becchimanzi A, 2024. *Cladosporium*-insect relationships. *Journal of Fungi*, 10(1): 78.
- Pinos D, Andrés-Garrido A, Ferré J, Hernández-Martínez P, 2021. Response mechanisms of invertebrates to *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 85(1): e00007–e00020.
- Qin YK, Cheng KK, Jong MC, Zheng HN, Cai ZH, Xiao BH, Zhou J, 2024. Symbiotic bacterial communities and carbon metabolic profiles of *Acropora* coral with varying health status under thermal stress. *Marine Pollution Bulletin*, 209: 117116.
- Setiaji J, Feliatra F, Teruna HY, Lukistyowati I, Suharman I, Muchlisin ZA, Johan TI, 2020. Antibacterial activity in secondary metabolite extracts of heterotrophic bacteria against *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophila*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *F1000Research*, 9: 1491.
- Sharma M, Kumar V, 2022. Mosquito-larvicidal Binary (BinA/B) proteins for mosquito control programs: Advancements, challenges, and possibilities. *Current Research in Insect Science*, 2: 100028.
- Wu-Chuang A, Hartman D, Maitre A, Mateos-Hernández L, Frantová H, Urbanová V, Obregon D, Cabezas-Cruz A, Perner J, 2023. Variation of bacterial community assembly over developmental stages and midgut of *Dermanyssus gallinae*. *Microbial Ecology*, 86(4): 2400–2413.
- Xiong Q, Sopko B, Klimov PB, Hubert J, 2024. A novel *Bartonella*-like bacterium forms an interdependent mutualistic symbiosis with its host, the stored-product mite *Tyrophagus putrescentiae*. *mSystems*, 9(3): e0082923.
- Xu Y, Jiang Y, Hou JL, Li J, Feng XL, Liu XH, Li DL, Xiang JG, Li JH, 2024. Effects of stunting and crooked head disease on the skin flora of the metamorphosis-terminating spiny-breasted frog *Paa spinosa*. *Aquatic Biology*, 48(5): 839–848. [徐杨, 江昀, 侯金亮, 李娟, 冯兴浪, 刘新华, 李德亮, 向建国, 李军华, 2024. 发育不良和歪头病对变态末期棘胸蛙皮肤菌群的影响. *水生生物学报*, 48(5): 839–848.]
- Yaylacı EU, Kara A, Aksu İ, Yaylacı M, 2025. *Stenotrophomonas* strain DP30; A marine bacteria capable of precipitating calcium carbonate. *Geomicrobiology Journal*, 42(3): 177–182.
- Yi MH, Kim M, Yong TS, Kim JY, 2023. Investigating the microbiome of house dust mites in South Korea. *Frontiers in Allergy*, 4: 1240727.
- Zhang YX, Chen X, Wang JP, Zhang ZQ, Wei H, Yu HY, Zheng HK, Chen Y, Zhang LS, Lin JZ, Sun L, Liu DY, Tang J, Lei Y, Li XM, Liu M, 2019. Genomic insights into mite phylogeny, fitness, development, and reproduction. *BMC Genomics*, 20(1): 954.
- Zhuge AX, Li SJ, Yuan Y, Han SY, Xia JF, Wang QQ, Wang ST, Lou PC, Li B, Li LJ, 2023. Microbiota-induced lipid peroxidation impairs obeticholic acid-mediated antifibrotic effect towards nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Redox Biology*, 59: 102582.