

季节变化对珠江口棘头梅童鱼肠道和水体中细菌群落结构的影响

郑秋实^{1,2}, 刘 永², 李纯厚², 吴 鹏², 肖雅元², 林 琳², 刘 玉², 邹 剑²

1. 浙江海洋大学 水产学院, 浙江 舟山 316022

2. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室/广东珠江口生态系统野外科学观测研究站/广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300

摘要: 棘头梅童鱼 (*Collichthys lucidus*) 是珠江口常见的优势种和经济鱼类物种。为揭示棘头梅童鱼的生物生态学特征, 利用 16S rRNA 基因的高通量测序技术, 探究了季节变化对珠江口棘头梅童鱼肠道和水体中细菌群落结构的影响。结果表明, 鱼类肠道细菌以变形菌门居多 (78.89%), 其次为厚壁菌门 (6.70%) 和拟杆菌门 (5.45%); 水体细菌以变形菌门 (40.32%) 和拟杆菌门 (37.97%) 为主。棘头梅童鱼肠道中的优势菌属存在明显季节变化, 春、夏季鱼类肠道中优势细菌为嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*), 秋季为发光杆菌 (*Photobacterium*), 而冬季为假单胞菌 (*Pseudomonas*)、Sva0996_marine_group、弧菌 (*Vibrio*) 和甲基杆菌 (*Methylobacterium*)。冬季棘头梅童鱼肠道菌群的 α 多样性指数最高, 秋季最低。春季和夏季鱼类肠道细菌组成无显著性差异 ($p>0.05$), 而其余季节间存在显著性差异 ($p<0.05$)。水体细菌群落组成的季节变化与鱼类肠道菌群变化相似。水环境中黄杆菌 (*Tenacibaculum*)、嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*)、*Candidatus_Actinomarina*、*Salinimonas* 和 OM60NOR5_clade 共 5 个菌属与鱼类肠道细菌组成之间存在显著相关性 ($r>0.4, p<0.01$)。细菌共现网络分析显示冬季鱼类肠道和水环境的共有菌群比例最低, 而夏季最高。研究表明, 季节变化对珠江口棘头梅童鱼的肠道菌群和水体细菌群落组成均存在影响。

关键词: 棘头梅童鱼; 肠道菌群; 共现网络; 16S rRNA 基因; 珠江口

中图分类号: S 931.1

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID) :



Seasonal effects on bacterial community between intestine of *Collichthys lucidus* and water environment from Pearl River Estuary

ZHENG Qiushi^{1,2}, LIU Yong², LI Chunhou², WU Peng², XIAO Yayuan², LIN Lin², LIU Yu², ZOU Jian²

1. School of Fisheries, Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China

2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Scientific Observation and Research Station of Pearl River Estuary Ecosystem of Guangdong Province/Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology Environment, Guangzhou 510300, China

Abstract: *Collichthys lucidus* is a common dominant and economically important fish species in the Pearl River Estuary. To reveal the ecological characteristics of *C. lucidus*, we applied high-throughput sequencing technology of 16S rRNA gene to investi-

收稿日期: 2024-02-02; 修回日期: 2024-05-06

基金项目: 广州市科技计划项目 (202102080509); 农业财政专项项目 (NHZX2024); 广东省基础与应用基础研究基金项目 (2022A1515010896); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2023TD16); 中国水产科学研究院南海水产研究所中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助 (2021SD04, 2020SY01); 珠海市社会发展领域科技计划项目 (2320004343)

作者简介: 郑秋实 (1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋渔业环境保护。E-mail: zqs528491@163.com

通信作者: 吴 鹏 (1985—), 男, 副研究员, 博士, 研究方向为海洋渔业生态保护。E-mail: wupeng@scsfri.ac.cn

gate the effects of seasonal changes on the bacterial community structure in the intestines and water body of the Pearl River Estuary. The bacterial community in the fish intestines was predominantly composed of members of Proteobacteria (78.89%), followed by Firmicutes (6.70%) and Bacteroidota (5.45%), while Proteobacteria (40.32%) and Bacteroidota (37.97%) dominated the surrounding water. Besides, we observed the seasonal changes in the dominant bacterial genera in the intestine of *C. lucidus*. The relative abundance of *Psychrobacter* was significantly higher in spring and summer, whereas *Photobacterium* predominated in autumn. However, *Pseudomonas*, Sva0996 marine group, *Vibrio* and *Methylobacterium* were more abundant in winter. The α -diversity index values of the intestinal bacteria of *C. lucidus* were highest in winter but lowest in autumn. PCoA and ANOSIM analyses reveal no significant differences in the intestinal bacterial composition between spring and summer ($p>0.05$), whereas significant differences were observed in the other seasons ($p<0.05$). The seasonal changes in the bacterial composition of surrounding water were similar to those in the fish intestinal bacteria. Mantel test analysis finds out that five bacterial genera (*Tenacibaculum*, *Psychrobacter*, *Candidatus_Actinomarina*, *Salinimonas*, OM60NOR5_clade) in water environment showed a significantly positive correlation with the intestinal bacteria of *C. lucidus* ($r>0.4$, $p<0.01$). Bacterial co-occurrence network analysis shows that the proportion of shared bacterial communities between the fish intestines and the water environment was lowest in winter but highest in summer. The results indicate that seasonal changes can impact both the intestinal bacterial communities of *C. lucidus* from the Pearl River Estuary and bacterial communities in water body.

Keywords: *Collichthys lucidus*; Intestinal bacterial community; Co-occurrence network; 16S rRNA gene; Pearl River Estuary

肠道细菌在鱼类生长发育(包括免疫反应、消化代谢等)过程中发挥着重要作用^[1-2]。鱼类肠道细菌主要来自于周围的水环境及其进食^[3]。随着鱼类的生长发育及其周围水环境的变化,其肠道菌群也不断变化^[4-5]。鱼类物种^[6]、食性^[7]和生活水体环境^[8]均可影响其肠道细菌的组成。有研究表明季节变化是影响鱼类肠道菌群结构的关键因素,对湖红点鲑(*Salvelinus namaycush*)肠道细菌的研究显示,季节变化解释了1/3的肠道细菌差异,致病性假单胞菌(*Pseudomonas*)在冬季最为丰富^[9]。有研究发现,夏季和冬季的鱼类肠道菌群组成存在差异:冬季以革兰氏阳性发酵菌(如乳酸菌)为主,夏季以革兰氏阴性弧菌科细菌为主,表明季节因素对鱼类肠道菌群的组成有一定影响^[10]。季节变化也会影响鱼类周围的水体环境,使水体物理、化学因子和细菌组成等发生变化。太湖水体中菌群结构存在显著的季节性变化,主要与水体的温度、总氮等因素有关^[11]。Ward等^[12]对温带沿海区域的研究表明,海水细菌群落在夏季和冬季形成了明显不同的特征,且年际间的季节变化相同。

珠江口是我国三大河口之一,生物饵料丰富,是许多经济鱼、虾、蟹和珍稀水生动物的产卵场、索饵场及洄游通道,珠江口内的万山渔场是我国六大渔场之一^[13-14]。笔者团队前期分析了珠江口4种优势种鱼类——凤鲚(*Coilia mystus*)、棘头梅童鱼(*Collichthys lucidus*)、鳙(*Ilisha elongata*)和短吻鲳(*Leiognathus brevirostris*)的肠道细菌组成,发现不

同鱼类物种中的肠道菌群存在差异,并且通过共现网络分析鱼类及其生活水环境的菌群关系发现,鱼类肠道与水体的菌群网络关系也存在物种差异^[15]。然而,季节变化下鱼类肠道细菌与周围水环境细菌的关系尚缺乏研究。

棘头梅童鱼属鲈形目、石首鱼科,是一种底栖性的小型低级肉食性鱼类,体长一般为9~14 cm,主要以虾类等小型甲壳类动物为食,是珠江口常见的优势种和经济鱼类物种^[16-18]。2017—2020年春季和秋季的底拖网调查发现,棘头梅童鱼在珠江口的种群整体生长发育良好,但其栖息地较1988年有所退化并处于过度捕捞状态^[19]。本研究采用16S rRNA基因的高通量测序方法,比较分析了棘头梅童鱼肠道细菌群落结构的季节差异,以及季节变化对鱼类肠道细菌与水体细菌关系的影响,为揭示棘头梅童鱼的生物生态学特征提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集

2019年12月(冬季)、2020年8月(夏季)、2021年4月(春季)和2021年10月(秋季)4个季节均在珠江口内伶仃洋站点(113°44.767'E, 22°24.022'N)开展渔业资源调查,捕获棘头梅童鱼样品。在各个季节选取规格相近、体长约12 cm的棘头梅童鱼,每个季节9条。用75%(φ)乙醇对鱼体进行消毒,用无菌剪刀从肛门沿腹部进行解剖,从靠近尾部与肛门部将肠剪断,将肠道内容物用无

菌镊子挤出, 主要分析肠道中的过路菌群。每3条棘头梅童鱼的肠道内容物混合后放入2 mL 无菌离心管中, 形成1个样本, 每个季节获得3个样本。所有采集到的样品立即放入液氮中快速冷冻, 直到实验室中进行DNA提取。与此同时, 在相同地点采集表层和底层海水各5 L, 考虑到采样站点的水深较浅(仅6.8 m), 因此将表、底层水样混合均匀后置于无菌采水袋中, 然后立即用0.2 μm 孔径的Millipore 滤膜过滤, 每张滤膜过滤1 L 混合海水, 每个季节收集3份滤膜, 放入无菌离心管并置入液氮中保存, 与肠道样品一同带回实验室。样品采集时间春季、夏季、秋季和冬季分别用Spr、Sum、Fal 和 Win 表示, CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样, 数字代表样品标号。

1.2 DNA 提取与高通量测序分析

利用 QIAmp® Fast DNA stool mini kit 试剂盒(QIAGEN, 美国)提取鱼类肠道细菌总DNA, 使用 E.Z.N.A® Water DNA Kit 试剂盒(Omega, 美国)从海水滤膜中提取总DNA。然后, 使用提取的肠道细菌总DNA 和水样总DNA 作为模板, 通过带有Barcode 的特异性引物341F (5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3') 和806R (5'-GGACTACHVGGGTATCTAAT-3') 对细菌16S rRNA 基因的V3—V4 区域进行PCR 扩增。扩增后的PCR 产物通过 AM-Pure XP Beads 进行纯化, 并经过建库检测, 将符合条件的样本文库送至 Illumina HiSeq 2500 平台进行高通量测序, 测序服务由广州基迪奥生物科技有限公司提供。测序后的4个季节的棘头梅童鱼肠道细菌和水中细菌序列分别提交至NCBI 的Sequence Read Archive (SRA) 数据库, 其中鱼类肠道细菌序列号为SAMN39512587—SAMN39512598 和SAMN35618142—SAMN35618150, 水体细菌序列号为SRR27665057—SRR27665049 和SRR12277938—SRR12277940。

1.3 数据分析

通过使用FASTP 和FLASH 工具对测序数据进行质量控制和序列拼接, 进而通过UCHIME 算法去除嵌合体, 并使用Upase 软件进行OTUs 聚类分析及物种注释, 最后利用QIIME 软件计算 α 多样性指标。根据样品中的OTUs 的Bray-Curtis 距离, 进行主坐标分析(Principal coordinate analysis, PCoA) 探讨不同季节棘头梅童鱼肠道及其所在水域

的细菌组成变化。同时, 通过相似性分析(Analysis of similarities, ANOSIM) 比较了基于细菌Bray-Curtis 距离的水体与鱼类肠道细菌组成的显著性差异。根据测序得到每个季节棘头梅童鱼肠道样品中OTUs 个数的平均值, <1 的值不纳入统计分析, 采用Upset 图分析肠道样品间的OTUs 组成交互关系。

分析水环境中相对丰度大于1% 的细菌优势属对棘头梅童鱼肠道菌群结构的影响, 通过R4.3.1 软件中vegdist 函数将鱼类肠道细菌物种矩阵和水环境菌群结构数据矩阵转换为距离矩阵, 随后使用Mantel 函数对这两类矩阵进行Spearman 相关性分析获得相关系数 r 值和 p 值, 最后通过vegan 和ggcor 程序包完成Mantel 检验, 并进行可视化绘图。通过共现网络图分析鱼类肠道和水中环境中细菌优势属的关系, 为了降低细菌网络关系的复杂性, 在分析过程中保留了样品中相对丰度高于0.01%, 且在2个及以上样本中出现的细菌优势属, 然后在R 4.3.1 软件中用cor 函数计算Pearson 相关系数, 保留了相关系数 $r>0.7$ 、 $p<0.05$ 的数据, 最后将这些数据导入Cytoscape 软件中绘制网络图。

2 结果

2.1 肠道和水中细菌组成

使用Illumina HiSeq 平台对16S rRNA 基因进行高通量测序, 从肠道样品和水样中共获取3 408 215 条原始序列。经过一系列的质量控制和过滤步骤后, 保留2 992 669 条有效序列(Effective tags), 这些有效序列占总原始序列的87.81%, 经分类鉴定分析发现共有6 433 个OTUs。

在门分类水平上, 春季和夏季鱼类肠道细菌组成相似, 均以变形菌门为优势类群, 其相对丰度均高于90%, 其次为拟杆菌门和厚壁菌门; 秋季, 鱼类肠道细菌以变形菌门(98.97%) 占绝对优势, 其余门类细菌的相对丰度均较低(<0.1%); 冬季, 变形菌门是最主要的细菌门类, 相对丰度为44.90%, 其次是拟杆菌门(13.02%) 和蓝细菌门(12.39%), 其余门类细菌相对丰度均低于10%。水环境菌群的季节变化与鱼类肠道细菌变化相似: 春、夏两季水体菌群组成相似, 均以拟杆菌门占据优势; 秋季以变形菌门(74.34%) 占绝对优势, 冬季相对丰度最高的是放线菌门(37.24%) 和变形菌门(34.93%) (图1)。

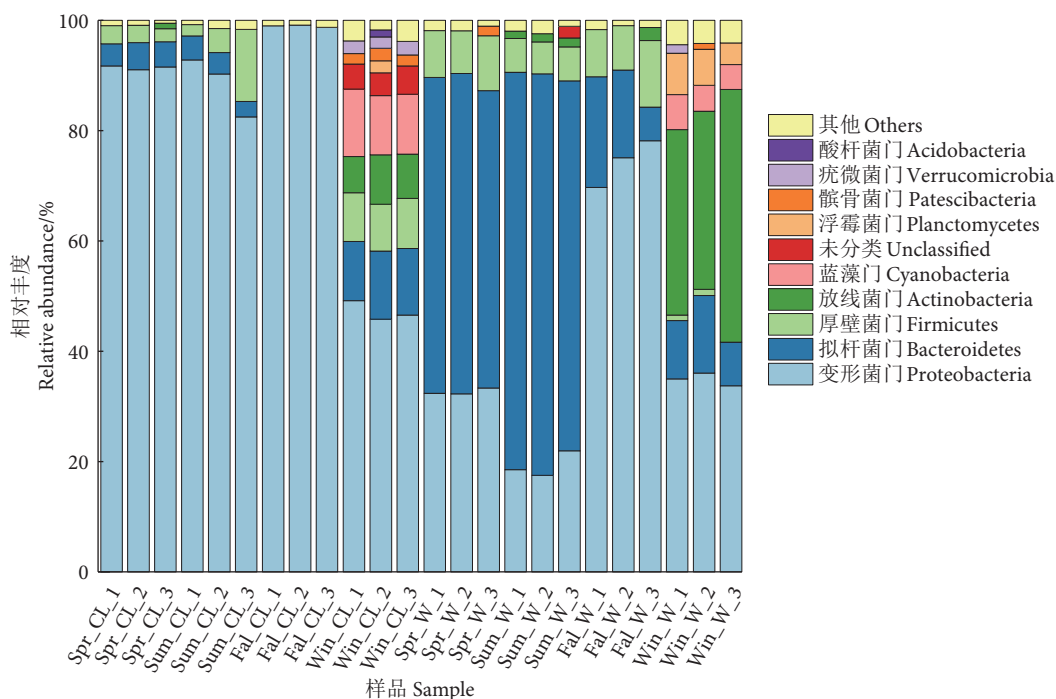


图1 门分类水平下棘头梅童鱼肠道和水环境中优势细菌的相对丰度

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样；数字代表样品标号。

Fig. 1 Relative abundance of dominant bacteria in intestine of *C. lucidus* and water environment on phyla level

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal, and Win, respectively; CL and W represent *C. lucidus* and water samples, respectively; and the numbers represent sample labels.

在属的分类水平上，春季和夏季的鱼类肠道中主要的细菌为嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*)，其相对丰度分别为 88.34% 和 84.96%。秋季鱼类肠道中的优势菌属为发光杆菌 (*Photobacterium*, 89.74%)。然而，嗜冷杆菌和发光杆菌在冬季棘头梅童鱼肠道中极少发现，其相对丰度均低于 0.1%。冬季鱼类肠道中相对丰度较高的属为假单胞菌 (*Pseudomonas*, 6.72%)、Sva0996 marine group (5.12%)、弧菌 (*Vibrio*, 4.90%) 和甲基杆菌 (*Methylobacterium*, 4.65%)，其相对丰度均显著高于其余 3 个季节 ($p < 0.01$)。

春季和夏季水环境中的细菌优势属为嗜冷杆菌和黄杆菌 (*Tenacibaculum*)；秋季水环境中相对丰度最高的属为嗜冷杆菌，其次为交替单胞菌 (*Alteromonas*)、*Salinimonas* 和假交替单胞菌 (*Pseudoalteromonas*)，而黄杆菌相对丰度较低；冬季水环境细菌组成与其余 3 个季节差异显著 ($p < 0.05$)，*Candidatus_Actinomarina* 占据绝对优势。春、夏和秋 3 个季节中水环境的细菌优势属在冬季相对丰度均较低 (图 2)。4 个季节中棘头梅童鱼肠道样品中共有细菌属 94 个，春、夏和秋季特有的细菌属分别为 15、23 和 11 个，而冬季特有的属为 134 个，远高于其他 3 个季节 (图 3)。

2.2 不同季节鱼类肠道和水环境中细菌多样性的变化

在 4 个季节中，冬季鱼类肠道菌群的 Shannon 指数 (4.88 ± 0.18)、Simpson 指数 (0.97 ± 0.01) 和 Pielou 均匀度指数 (0.7 ± 0.02) 均最高，而春、夏和秋季鱼类肠道菌群的多样性指数相对较低。水体菌群的多样性指数变化与鱼类肠道菌群变化相类似。在 4 个季节中，冬季水体中菌群多样性指数均最高，而春、夏和秋季水体菌群多样性指数差别较小 (图 4)。

PCoA 分析发现，春、夏季的棘头梅童鱼肠道样品细菌组成差异较小，基本重合在一起，但是这 2 个季节的肠道菌群组成与秋、冬季之间存在差异。不同季节水样细菌群落组成与肠道菌群的季节变化规律类似，说明春季与夏季的细菌组成结构相似，同时肠道样品和水样中春、夏季和秋、冬季之间的差异相对较大 (图 5)。ANOSIM 分析发现，春季和夏季肠道中细菌组成无显著性差异 ($p = 0.154$)，而其余季节间肠道菌群组成均存在显著性差异 ($p < 0.05$)；与此同时，相同季节中的棘头梅童鱼肠道和水环境之间的细菌组成差异显著 ($p < 0.05$, 表 1)。

2.3 水环境细菌优势种和肠道菌群的相互关系

利用 Mantel 检验分析了 4 个季节中珠江口水

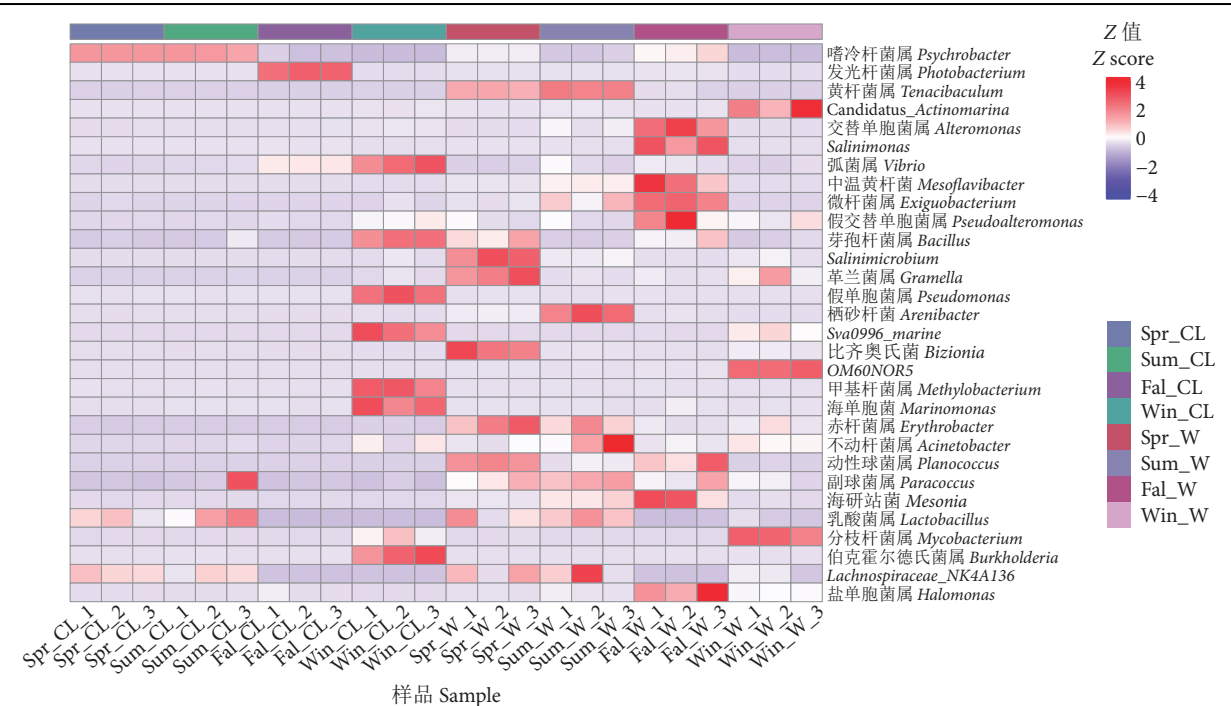


图2 属水平下棘头梅童鱼肠道和水环境中优势菌群结构

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样；数字代表样品标号。

Fig. 2 Composition of dominant bacterial genus in intestines of *C. lucidus* and water environment on genera level

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal and Win, respectively; CL and W represent *C. lucidus* and water samples, respectively; and the numbers represent sample labels.

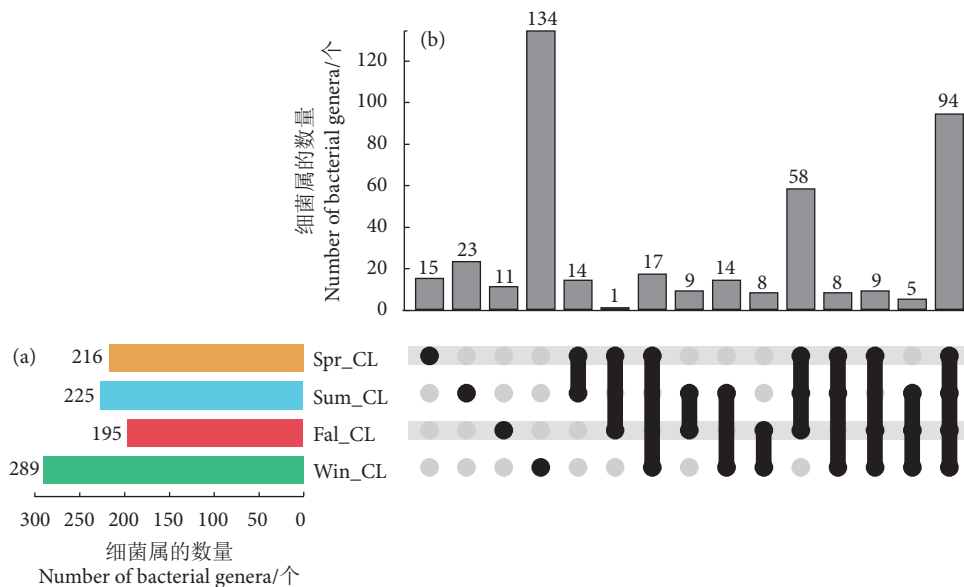


图3 不同季节棘头梅童鱼肠道中菌属数量 (a) 和肠道特有及共有的属数量 (b)

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 代表棘头梅童鱼。

Fig. 3 Number of bacterial genera in intestines of *C. lucidus* in different seasons (a) and number of unique and common genera in intestines in different seasons (b)

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal, and Win, respectively; CL represent *C. lucidus*.

体细菌 (平均相对丰度大于 1% 的属) 与棘头梅童鱼肠道细菌群落组成的相关性 (图 6)。水环境中黄杆菌、嗜冷杆菌、*Candidatus_Actinomarina*、*Salinimonas* 和 OM60NOR5_clade 5 个菌属与棘头梅童鱼

肠道细菌组成之间存在显著相关性, 是与棘头梅童鱼肠道菌群相互关系最高的细菌 ($r>0.4$, $p<0.01$)。在水环境中的其他优势属, 如 *Salinimicrobium*、革兰菌 (*Gramella*)、栖砂杆菌 (*Arenibacter*)、比齐

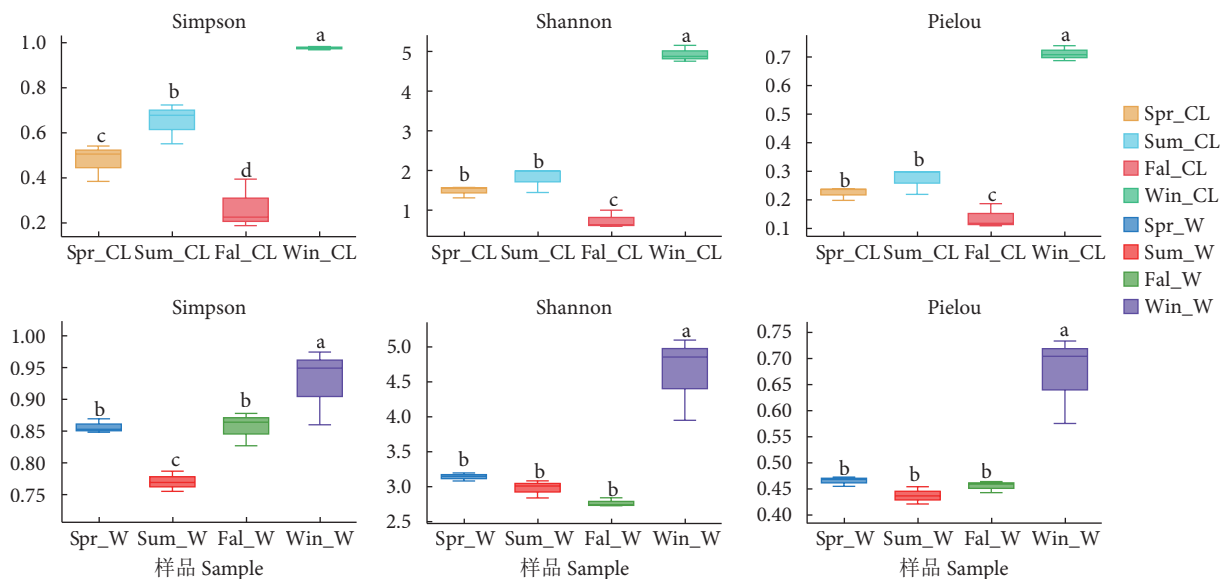


图4 棘头梅童鱼肠道和水体中的细菌群落多样性指数的季节变化

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样；不同字母表示存在显著性差异 ($p<0.05$)。

Fig. 4 Seasonal variation of bacterial diversity in intestines of *C. lucidus* and water environment

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal and Win, respectively; CL and W represent *C. lucidus* and water samples, respectively; Different letters represent significant differences ($p<0.05$).

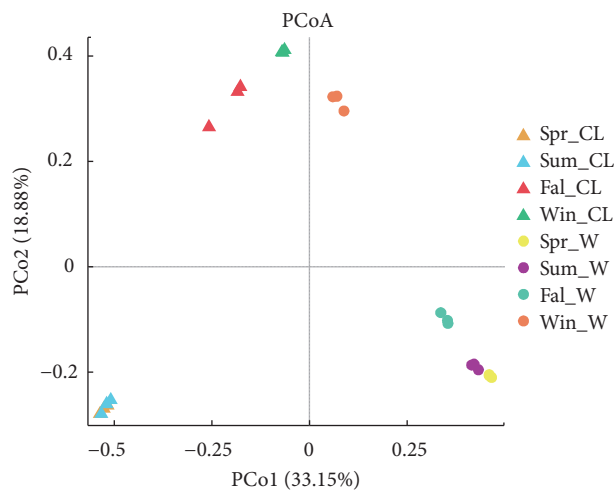


图5 基于 Bray-Curtis 距离的水体和肠道细菌群落的主坐标分析

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样；* 表示存在显著性差异 ($p<0.05$)。

Fig. 5 Principal coordinate analysis (PCoA) of bacterial composition in intestines of *C. lucidus* and water environment based on Bray-Curtis distance

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal, and Win, respectively; CL and W represent *C. lucidus* and water samples, respectively; * represents significant differences ($p<0.05$).

奥氏菌 (*Bizionia*) 和赤杆菌 (*Erythrobacter*) 等与棘头梅童鱼肠道菌群之间的相关性较低 ($r<0.2$, $p>0.05$)。

春、夏、秋、冬 4 个季节中珠江口棘头梅童鱼肠道菌群和水环境菌群之间的网络图中，4 个季节

表1 不同季节棘头梅童鱼肠道与水体中的细菌组成差异分析

Table 1 Difference of bacterial composition between intestines of *C. lucidus* and water environment in different seasons

分组 Group	r^2	p
Spr_CL-vs-Sum_CL	0.939	0.154
Spr_CL-vs-Fal_CL	0.814	0.030*
Spr_CL-vs-Win_CL	0.871	0.025*
Sum_CL-vs-Fal_CL	0.766	0.032*
Sum_CL-vs-Win_CL	0.818	0.041*
Fal_CL-vs-Win_CL	0.923	0.028*
Spr_CL-vs-Spr_W	0.854	0.018*
Sum_CL-vs-Sum_W	0.929	0.022*
Fal_CL-vs-Fal_W	0.740	0.025*
Win_CL-vs-Win_W		0.029*

注：春季、夏季、秋季、冬季分别用 Spr、Sum、Fal、Win 表示；CL 和 W 分别代表棘头梅童鱼和水样；* 表示存在显著性差异 ($p<0.05$)。

Note: Spring, summer, fall and winter are denoted by Spr, Sum, Fal, and Win, respectively; CL and W represent *C. lucidus* and water samples, respectively; * represents significant differences ($p<0.05$).

鱼类肠道和水体中共有属分别为 38、54、50 和 27 个，分别占相应季节总节点数量的 47.72%、63.53%、58.14% 和 19.15%，冬季鱼类肠道和水环境的共有菌群比例最低，而夏季最高 (图 7)。

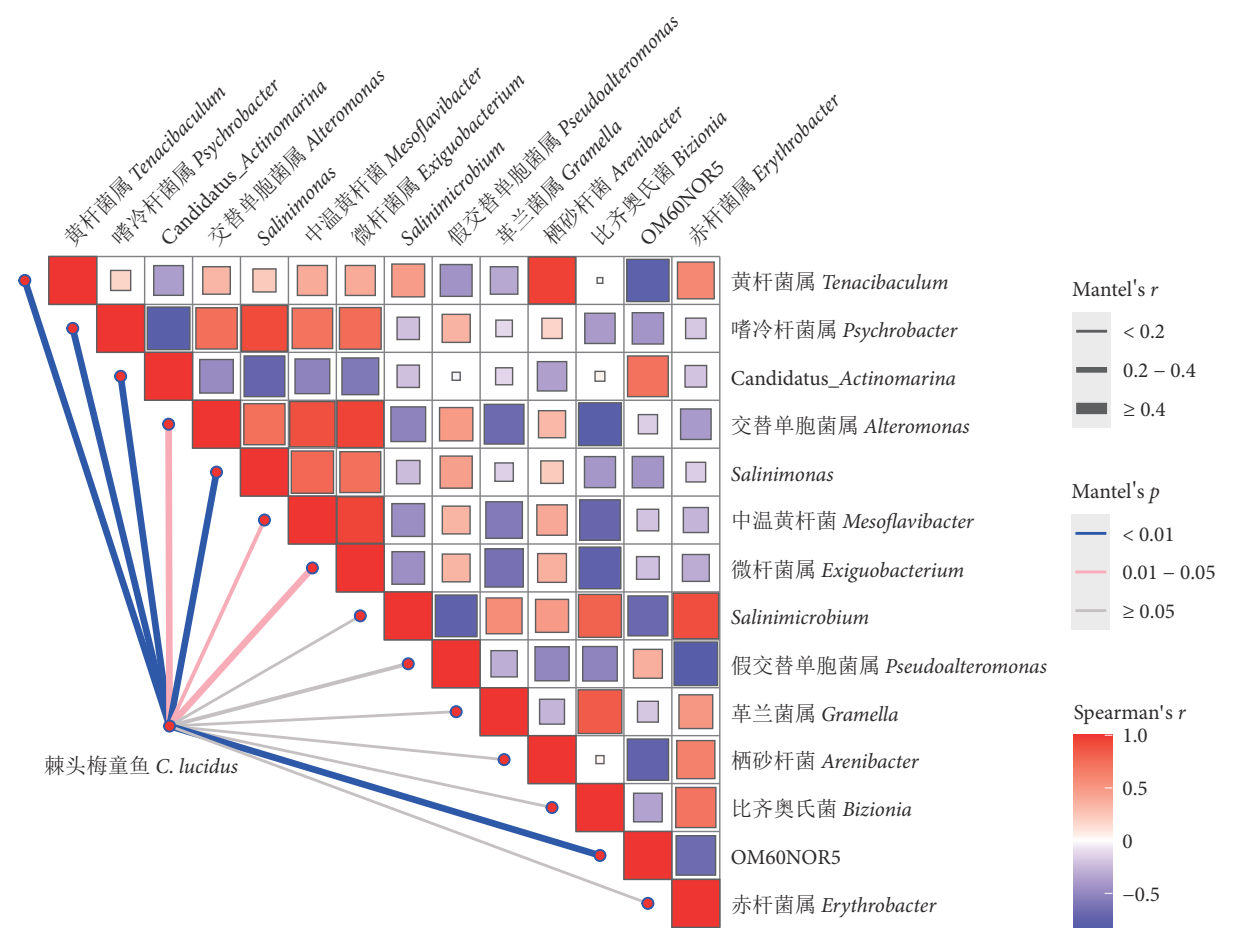


图6 水环境优势种对棘头梅童鱼肠道细菌组成的影响

Fig. 6 Effects of dominant bacterial genus in water environment on intestinal bacteria of *C. lucidus*

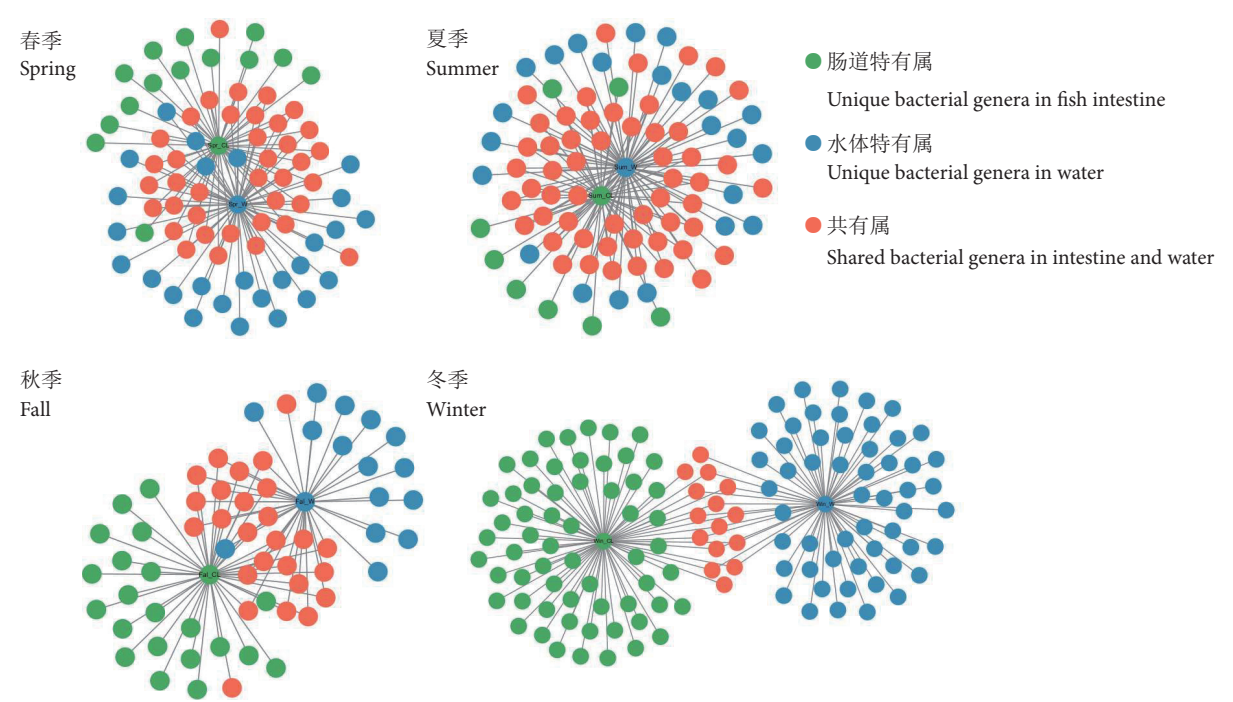


图7 不同季节棘头梅童鱼肠道和水环境特有和共有菌群网络分析

Fig. 7 Network of unique and shared bacterial composition in intestines of *C. lucidus* and water environments in different seasons

3 讨论

3.1 棘头梅童鱼肠道菌群多样性和优势属的季节性差异

细菌 α 多样性指数、PCoA 分析和 ANOSIM 分析均表明不同季节棘头梅童鱼肠道菌群结构存在差异。 α 多样性指数越高,意味着肠道内的细菌种类越丰富,每种细菌的数量分布也相对均衡,说明肠道菌群抗干扰能力更强,有利于宿主适应外界环境^[20]。以往研究也表明鱼类肠道菌群结构存在季节性差异,这可能与鱼类因季节变化而调整其活动模式、生理需求、摄食行为和生态习性有关^[21-22]。珠江口棘头梅童鱼在春季和夏季产卵繁殖^[19],饱食率低于其他季节^[23],这可能是导致其春、夏季肠道菌群多样性低的原因。有研究表明,夏季黑鲷 (*Megalobrama terminalis*) 通过调节肠道微生物组成和降解酶的活动,为产卵和迁移提供能量,该时期肠道菌群多样性显著降低,这被认为是一种关键的生理策略^[24]。秋季棘头梅童鱼肠道菌群多样性低,可能与其生长发育有关。秋季是珠江口棘头梅童鱼补充群体的育肥期,生物量明显增加^[25]。以往研究表明,棘头梅童鱼在 9—10 月生长迅速,入冬后生长速率变缓^[26]。鱼类不同的发育阶段也是影响肠道菌群结构的重要因素^[27]。对草食性的草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)、肉食性的鳊 (*Siniperca chuatsi*) 和南方鲇 (*Silurus meridionalis*) 3 种鱼类,从孵化后到成年阶段的肠道微生物群落的变化研究发现,在鱼类快速发育时期,肠道菌群结构开始显著变化,肠道菌群多样性显著下降^[28]。同样,对斑马鱼 (*Danio rerio*) 的研究也发现,快速发育时期其肠道菌群多样性最低^[29]。湖红点鲢的肠道菌群多样性在秋季同样最低^[9],与此同时生长速率较高^[30]。不同季节鱼类的生长速率存在显著性差异^[31],这可能是秋季棘头梅童鱼肠道菌群多样性最低的原因之一。冬季棘头梅童鱼肠道菌群多样性显著高于其他季节,可能与其摄食强度高有关。已有研究表明,虽然冬季棘头梅童鱼生长缓慢^[26],但摄食等级和饱食率均高于其他季节^[23,32]。珠江口棘头梅童鱼在春、夏季产卵,在冬季表现出较高的摄食强度,可能与其储备能量,为来年春季的洄游繁殖提供必要的能量有关^[33-34]。摄食强度会影响宿主的营养状态和代谢活动,从而影响肠道微生物群落的组成,例如可促进某些有益微生物的生长^[35]。

研究发现,摄食后双棘双锯鱼 (*Premnas biaculeatus*) 的肠道菌群多样性会显著增加^[36]。

以往的研究也表明,季节变化是影响鱼类肠道中细菌优势属发生变化的重要因素。不同季节奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 肠道内的细菌总数和优势细菌属均有所不同,春季和夏季肠道中优势属均为气单胞菌 (*Aeromonas*),秋季为发光杆菌,而冬季为假单胞菌^[37]。不同季节湖红点鲢的肠道细菌优势属也发生变化,春季为寡单胞菌 (*Stenotrophomonas*),夏季为溶酪大球菌 (*Micrococcus*),秋季为梭菌科 (*Clostridiaceae*),而冬季为假单胞菌^[9]。在本研究中,春季和夏季中棘头梅童鱼肠道细菌以嗜冷杆菌占绝对优势,秋季发光杆菌相对丰度最高,而冬季假单胞菌、弧菌、Sva0996_marine_group、甲基杆菌、芽孢杆菌 (*Bacillus*) 和 *Candidatus_Actinomarina* 相对丰度高于其他 3 个季节。研究发现嗜冷杆菌在促进鱼类生长、显著降低饵料系数、提高对食物的利用率等方面发挥重要作用^[38]。在大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的肠道菌群研究中,发光杆菌丰度同样在秋季最高^[21]。有研究也发现发光杆菌是棘头梅童鱼肠道中常见的优势属^[39]。假单胞菌作为肠道益生菌可改善水产动物的营养消化、生长以及提升动物的抗逆能力^[40]。草鱼和鲫 (*Carassius auratus*) 肠道内的假单胞菌可分泌胞外消化酶,如蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和纤维素酶,促进了鱼类对饵料的消化吸收^[41]。军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 体内也分离出具有较强的产蛋白酶能力的假单胞菌^[42]。Sva0996_marine_group 这种放线菌与宿主利用溶解性蛋白的能力有关^[43]。甲基杆菌可以降解碳水化合物和短链脂肪酸^[44]。芽孢杆菌具有抑制宿主的致病菌、加速生长和增强免疫力等作用,它们还产生各种细胞外酶,如淀粉酶、蛋白酶、脂肪酶,进一步帮助消化^[45]。

3.2 季节变化对棘头梅童鱼肠道细菌和水体细菌关系的影响

本研究发现 4 个季节中冬季水体细菌的 α 多样性最高。以往研究表明,北半球的海水细菌多样性峰值出现在 12 月,南半球则出现在 6 月,全球海水细菌群落多样性均在冬季最高^[46],并在夏季和冬季之间形成了明显的不同特征,这种年际变化每年都在重复^[12],本研究结果与之一致。鱼类肠道菌群受水体细菌的影响,同时肠道环境能够塑造独特的细菌群落,从而形成一个复杂的微生物群

落^[47-48]。以往的研究表明肠道细菌与环境菌群结构之间存在相互联系, 季节变化下的水环境细菌组成差异可能影响鱼类肠道菌群结构变化^[49]。从 Mantel t 检验分析中发现水环境中的黄杆菌、嗜冷杆菌、*Candidatus_Actinomarina*、*Salinimonas* 和 OM60NOR5_clade 5 个菌属对棘头梅童鱼肠道细菌组成影响最大。由共现网络图可以看出, 春、夏季肠道和水体细菌共有的数量和比例较高, 反映出更活跃的关系。春、夏季棘头梅童鱼肠道菌群更易受到水体菌群的影响, 同时也是鱼类水体病原菌感染的高发期。春、夏季水体中高丰度的黄杆菌是一种致病菌, 会导致海洋生物感染“烂皮病”, 而且研究表明鱼类的“烂皮病”主要在春、夏季爆发^[50]。在水温较高的季节, 鱼体内菌群失调更频繁, 鱼类感染疾病的风险增加, 水体中的细菌更容易影响鱼类^[51]。对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 养殖水环境和肠道细菌的研究也发现, 季节变化会导致水环境中的细菌变化, 夏季水体中病原体的生长更快, 如念珠菌 (*Candida*) 等, 会直接改变虾类肠道菌群的组成; 当病原体数量增加时, *Didymella*、线黑粉菌 (*Filobasidium*) 等有益菌可能会被抑制, 导致肠道环境更有利于病原体生存, 从而增加了虾类疾病发生的风险、干扰了肠道菌群的稳定性^[52]。已有研究表明, 在繁殖期前后, 鱼类脾脏的相对大小和头肾粒细胞的迁移活动均有所下降, 可能会使鱼类对病原体的抵抗力下降, 从而增加病原体感染的风险^[53]。此外, 研究发现在鲫生殖期间无法产生针对新抗原的抗体反应, 繁殖所需能量的增加可能降低鱼类的免疫功能^[54]。斑马鱼在繁殖期间, 更容易摄入水体中的一些致病菌, 如埃希氏菌 (*Escherichia*) 和拟杆菌 (*Bacteroides*) 等^[55]。上述研究表明, 春、夏季时棘头梅童鱼免疫力降低, 同时水体中病原体的生长更快, 可能是棘头梅童鱼肠道细菌群落组成在春、夏季更容易受到周围水体细菌群落影响的原因。秋季棘头梅童鱼肠道中相对丰度最高的属为发光杆菌。研究发现发光杆菌病是欧洲鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 最严重的细菌性疾病之一, 通常由水体中的发光杆菌感染鱼类^[56]。冬季棘头梅童鱼摄食强度高, 肠道菌群比较稳定。以往研究表明, 摄食强度对鱼类的健康、抵抗力至关重要, 低摄食率会导致鱼类免疫功能受损更容易感染疾病^[57]。因此冬季棘头梅童鱼肠道菌群不易受水体细菌组成的影响。

4 结论

通过 16S rRNA 基因高通量测序技术分析了珠江口棘头梅童鱼肠道和水中细菌组成的季节变化。棘头梅童鱼肠道菌群的多样性和肠道优势菌属均存在季节变化, 冬季肠道菌群多样性最高。季节变化对珠江口棘头梅童鱼肠道菌群结构和水中细菌组成均能产生影响, 水中的黄杆菌、嗜冷杆菌、*Candidatus_Actinomarina*、*Salinimonas* 和 OM60NOR5_clade 5 个菌属对棘头梅童鱼肠道细菌组成的影响最大。未来将开展鱼类体表细菌和鱼鳃细菌等与水体细菌关系的研究, 同时加强细菌功能方面的探讨。

参考文献:

- [1] CLEMENTS K D, ANGERT E R, MONTGOMERY W L, et al. Intestinal microbiota in fishes: what's known and what's not[J]. *Mol Ecol*, 2014, 23(8): 1891-1898.
- [2] DEARING M D, KOHL K D. Beyond fermentation: other important services provided to endothermic herbivores by their gut microbiota[J]. *Integr Comp Biol*, 2017, 57(4): 723-731.
- [3] GHANBARI M, KNEIFEL W, DOMIG K J. A new view of the fish gut microbiome: advances from next-generation sequencing[J]. *Aquaculture*, 2015, 448: 464-475.
- [4] SULLAM K E, ESSINGER S D, LOZUPONE C A, et al. Environmental and ecological factors that shape the gut bacterial communities of fish: a meta-analysis[J]. *Mol Ecol*, 2012, 21(13): 3363-3378.
- [5] DEHLER C E, SECOMBES C J, MARTIN S A M. Environmental and physiological factors shape the gut microbiota of Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquaculture*, 2017, 467: 149-157.
- [6] COSTELLO E K, STAGAMAN K, DETHLEFSEN L, et al. The application of ecological theory toward an understanding of the human microbiome[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1255-1262.
- [7] KOSKELLA B, HALL L J, METCALF C J E. The microbiome beyond the horizon of ecological and evolutionary theory[J]. Nat Publishing Group, 2017, 1(11): 1606-1615.
- [8] WU P, XIAO Y Y, WANG T, et al. The composition of intestinal microbiota from *Collichthys lucidus* and its interaction with microbiota from waters along the Pearl River Estuary in China Citation[J]. *Front Environ Sci*, 2021, 9: 67585.
- [9] SAVARD P, FERNANDES T, DAO A, et al. Seasons influence the native gut microbiome of lake trout *Salvelinus namaycush*[J]. *Appl Microbiol*, 2023, 3(1): 276-287.
- [10] TARNECKI A M, BURGOS F A, RAY C L, et al. Fish intestinal microbiome: diversity and symbiosis unravelled by metagenomics[J]. *J Appl Microbiol*, 2017, 123(1): 2-17.

- [11] ZHU C M, ZHANG J Y, NAWAZ M Z, et al. Seasonal succession and spatial distribution of bacterial community structure in a eutrophic freshwater Lake, Lake Taihu[J]. *Sci Total Environ*, 2019, 669: 29-40.
- [12] WARD C S, YUNG C, DAVIS K M, et al. Annual community patterns are driven by seasonal switching between closely related marine bacteria[J]. *ISME J*, 2017, 11(6): 1412-1422.
- [13] 吴鹏, 刘永, 肖雅元, 等. 春季珠江口万山群岛毗邻海域渔业生态环境状况评价[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(5): 1-8.
- [14] 谢雨芳, 吴鹏, 刘永, 等. 珠江河口凤鲚的栖息地适宜性评价[J]. *南方水产科学*, 2023, 19(1): 22-29.
- [15] 郑秋实, 刘永, 吴鹏, 等. 珠江口优势种类肠道与水体中的微生物组成关系[J]. *农业环境科学学报*, 2023, 42(11): 2531-2540.
- [16] 李开枝, 尹健强, 黄良民, 等. 珠江口伶仃洋海域底层游泳动物的季节变化[J]. *生态科学*, 2012, 31(1): 1-7.
- [17] 唐广隆, 刘永, 吴鹏, 等. 珠江口万山群岛海域春季渔业资源群落结构特征及其与环境因子的关系[J]. *中国水产科学*, 2022, 29(8): 1198-1209.
- [18] 陆奎贤. 珠江口底拖网渔获物分析[J]. *水产科技情报*, 1993, 20(2): 82-83.
- [19] 赖丽华, 张申增, 陆丽仪, 等. 2017—2020年珠江口棘头梅童鱼的种群特征[J]. *应用生态学报*, 2022, 33(5): 1413-1419.
- [20] STOFFEL M, ACEVEDO W, MORALES N, et al. Early sexual dimorphism in the developing gut microbiome of northern elephant seals[J]. *Mol Ecol*, 2020, 29(11): 2109-2122.
- [21] HOVDA M B, FONTANILLAS R, MCGURK C, et al. Seasonal biota of farmed Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)[J]. *Aquac Res*, 2012, 43(1): 154-159.
- [22] AKIHIRO T, SAYDUR R, SIGEO N, et al. Lunar cycles and reproductive activity in reef fishes with particular attention to rabbitfishes[J]. *Fish Fish*, 2004, 5(4): 317-328.
- [23] 熊朋莉, 陈作志, 侯刚, 等. 珠江河口棘头梅童鱼生物学特征的年代际变化[J]. *南方水产科学*, 2021, 17(6): 31-38.
- [24] LIU Y Q, LI X H, LI J, et al. The gut microbiome composition and degradation enzymes activity of black Amur bream (*Megalobrama terminalis*) in response to breeding migratory behavior[J]. *Ecol Evol*, 2021, 11(10): 5150-5163.
- [25] 熊朋莉, 徐姗楠, 陈作志, 等. 珠江河口棘头梅童鱼时空分布以及影响因素的研究进展[J]. *海洋科学*, 2022, 46(8): 79-87.
- [26] 吴振兴, 陈贤亮. 棘头梅童鱼年龄与阶段生长的初步研究[J]. *浙江水产学院学报*, 1991, 10(2): 140-143.
- [27] LI X H, ZHOU L, YU Y H, et al. Composition of gut microbiota in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) varies with host development[J]. *Microbial Ecol*, 2017, 74(1): 239-249.
- [28] YAN Q Y, LI J J, YU Y H, et al. Environmental filtering decreases with fish development for the assembly of gut microbiota[J]. *Environ Microbiol*, 2016, 18(12): 4739-4754.
- [29] XIAO F S, ZHU W, YU Y H, et al. Host development overwhelms environmental dispersal in governing the ecological succession of zebrafish gut microbiota[J]. *Biofilms Microbi*, 2021, 7: 5.
- [30] MORBEY Y E, COUTURE P, BUSBY P, et al. Physiological correlates of seasonal growth patterns in lake trout *Salvelinus namaycush*[J]. *J Fish Biol*, 2010, 77(10): 2298-2314.
- [31] AXELLE G, OLGA O, ELODIE R, et al. Seasonality and growth in tropical freshwater ectotherm vertebrates: Results from 1-year experimentation in the African gray bichir, giraffe catfish, and the West African mud turtle[J]. *Ecol Evol*, 2023, 13(3): e9936.
- [32] 王森, 徐开达, 梁君. 杭州湾北部棘头梅童鱼繁殖群体生物学特征初步分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2018, 27(5): 781-788.
- [33] 王建峰, 赵峰, 宋超, 等. 长江口棘头梅童鱼食物组成和摄食习性的季节变化[J]. *应用生态学报*, 2016, 27(1): 291-298.
- [34] 薛莹金, 张波, 梁振林. 黄海中部小黄鱼的食物组成和摄食习性的季节变化[J]. *中国水产科学*, 2004, 11(3): 237-243.
- [35] HUANG Q, SHAM R C, DENG Y, et al. Diversity of gut microbiomes in marine fishes is shaped by host-related factors[J]. *Mol Ecol*, 2020, 29(24): 5019-5034.
- [36] PARRIS D J, MORGAN M M, STEWART F J. Feeding rapidly alters microbiome composition and gene transcription in the clownfish gut[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2018, 85(3): e2479.
- [37] HARBI A H, UDDIN M N. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia[J]. *Aquaculture*, 2004, 229(1/2/3/4): 37-44.
- [38] 杨红玲, 马如龙, 孙云章. 石斑鱼肠道原籍嗜冷杆菌 (*Psychrobacter* sp.) SE6 作为益生菌的体内外评价[J]. *海洋学报 (中文版)*, 2012, 34(2): 129-135.
- [39] 陈仕煊. 吕泗渔场主要渔获物脂肪酸组成及小黄鱼和棘头梅童鱼肠道微生物研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021: 39-46.
- [40] 陶诗, 何芳芳, 刘雪珠, 等. 海水养殖鱼类病原微生物研究进展[J]. *水产科学*, 2013, 32(3): 175-182.
- [41] 冯雪, 吴志新, 祝东梅, 等. 草鱼和银鲫肠道产消化酶细菌的研究[J]. *淡水渔业*, 2008, 38(3): 51-57.
- [42] 王瑞旋, 冯娟. 军曹鱼肠道细菌及其产酶能力的研究[J]. *海洋环境科学*, 2008, 27(4): 309-312.
- [43] ORSI W D, SMITH J M, LIU S, et al. Diverse, uncultivated bacteria and archaea underlying the cycling of dissolved protein in the ocean[J]. *ISME J*, 2016, 10(9): 2158-2173.
- [44] ZHANG C F, HU L Y, HAO J H, et al. Effects of plant-derived protein and rapeseed oil on growth performance and gut microbiomes in rainbow trout[J]. *BMC Microbiol*, 2023, 23: 255.
- [45] ZARKASI K Z, ABELL G C J, TAYLOR R S, et al. Pyrosequencing-based characterization of gastrointestinal bacteria of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) within a commercial mariculture system[J]. *J Appl Microbiol*, 2014, 117(1): 18-27.
- [46] LADAU J, SHARPTON T J, FINUCANE M, et al. Global marine bacterial diversity peaks at high latitudes in winter[J]. *ISME J*, 2013, 7(9): 1669-1677.
- [47] LI T T, LONG M, GATESOUE F, et al. Comparative analysis of the intestinal bacterial communities in different species of carp by pyrosequencing[J]. *Microbial Ecol*, 2015, 69(1): 25-36.

- [48] MENG L J, ZHANG Y, LI X X, et al. Comparative analysis of bacterial communities of water and intestines of silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) and bighead carp (*H. nobilis*) reared in aquaculture pond systems[J]. *Aquaculture*, 2021, 534: 736334.
- [49] 葛家良. 刺参浅海网箱养殖系统菌群结构特征及其与环境因子关系研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2023: 39-46.
- [50] 刘翠萍. 刺参 (*Apostichopus japonicus*) 感染两种病原菌前后体内凝集素的分离纯化与性质研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008: 7-17.
- [51] ROSADO D, XAVIER R, CABLE J, et al. Longitudinal sampling of external mucosae in farmed European seabass reveals the impact of water temperature on bacterial dynamics[J]. *ISME Commun*, 2021, 1: 28.
- [52] LI J, JIANG H Y, LI L, et al. The effect of disease and season to hepatopancreas and intestinal mycobiota of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Front Microbiol*, 2019, 10: 889.
- [53] KORTET R, TASKINEN J, SINISALO T, et al. Breeding-related seasonal changes in immunocompetence, health state and condition of the cyprinid fish, *Rutilus rutilus*, L[J]. *Biol J Linnean Soc*, 2003, 78(1): 117-127.
- [54] KRAMS I A, RUMVOLT K, SAKS L, et al. Reproduction compromises adaptive immunity in a cyprinid fish[J]. *Ecol Res*, 2017, 32(4): 559-566.
- [55] FU J L, YANG D, JIN M, et al. Aquatic animals promote antibiotic resistance gene dissemination in water via conjugation: role of different regions within the zebra fish intestinal tract, and impact on fish intestinal microbiota[J]. *Mol Ecol*, 2017, 26(19): 5318-5333.
- [56] GEORGIOU B, PANAGIOTIS A, HELEN M. Effect of temperature and seasonality principal epizootiological risk factor on vibriosis and photobacteriosis outbreaks for european sea bass in greece (1998–2013)[J]. *J Aquac Res Dev*, 2015, 6(5): 1-3.
- [57] MOHAMAD N, AMAL M, YASIN I S, et al. Vibriosis in cultured marine fishes: a review[J]. *Aquaculture*, 2019, 512: 734289.