

文章编号: 1674-5566(2024)06-1380-12

DOI: 10.12024/jsou.20240304438

不同水域刀鲚和短颌鲚肠道菌群比较分析

李辰钰^{1,2}, 李乐康³, 高小平³, 孔赤平³, 许群³, 张宝³, 鲍宝龙^{1,2}, 龚小玲^{1,2}

(1. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 3. 九江市农业科学院, 江西 九江 332000)

摘要: 为了探究鄱阳湖刀鲚和短颌鲚的来源地, 采集了长江干流、鄱阳湖、长江口和嵎泗海域, 不同月份样本, 运用16S rRNA高通量测序法, 比较分析了它们肠道微生物差异, 结果显示: (1) 刀鲚不同群体之间, 3月份彭泽段样本的肠道菌群丰富度显著高于鄱阳湖、青草沙和嵎泗的; PCoA分析结果显示, 4月份鄱阳湖刀鲚(PC-4)有一组样本以及青草沙的样本菌群组成与嵎泗(SC-3)的相似度高, 提示它们可能是从嵎泗洄游而来。(2) 在短颌鲚不同采样群体之间, 不同水域短颌鲚肠道菌群差异较大, 同一水域不同月份之间的差异较小, 而5月份鄱阳湖短颌鲚的肠道菌群和其余月份显著不同, 提示其可能从不同地方洄游而来。(3) 鄱阳湖短颌鲚肠道菌群平均丰富度和多样性均高于鄱阳湖刀鲚的。以上肠道微生物组成分析表明, 鄱阳湖的刀鲚和短颌鲚群体肠道菌群的分析结果看, 它们可能都存在洄游群体。

关键词: 刀鲚; 短颌鲚; 鄱阳湖; 肠道微生物; 洄游

中图分类号: S 917.4 **文献标志码:** A

刀鲚(*Coilia nasus*), 又称长颌鲚, 其上颌骨向后延长超过鳃盖后缘, 且每年春季性成熟的刀鲚个体会聚集成群, 逆流而上沿江河进行生殖洄游^[1-3]; 与刀鲚外形比较相近的短颌鲚(*Coilia brachygnathus*), 其上颌骨也向后延长, 但不超过鳃盖后缘, 有研究认为短颌鲚为长颌鲚不同的生态型而非独立种^[4-5], 最近的遗传研究支持刀鲚和短颌鲚是两者不同物种^[6-8]。

鄱阳湖是长江刀鲚、短颌鲚重要的繁殖场所^[9], 对湖区、长江干流, 甚至临近沿海的刀鲚具有极其重要的补充潜力^[10]。通过耳石微化学分析耳石锶钙比值(Sr/Ca)发现鄱阳湖中存在溯河洄游的刀鲚和淡水定居的短颌鲚^[11-12]; 鄱阳湖短颌鲚是否一直生活在鄱阳湖, 是否存在来自其他江湖洄游的群体, 目前尚不清楚。

机体肠道大量而复杂的微生物在演变和适应过程中逐渐形成了肠道菌群^[13]。王瑞旋等^[14]对军曹鱼(*Rachycentron canadum*)肠道微生物

群结构研究中发现, 水环境的变化、种群多样性、群落组成及水质因子等因素和生态系统的平衡直接影响肠道菌群结构。SUGITA等^[15]指出莫桑比克罗非鱼肠道微生物部分来自鱼类生活的水体环境。CAHILL等^[16]也发现, 生活水环境中微生物会对鱼类肠道微生物的组成产生影响, 鱼类肠道微生物来自水体环境或所摄食的饵料生物中所携带的微生物。因此肠道微生物在一定程度上反映了鱼类生活环境及栖息地来源。本研究运用16S rRNA测序技术^[17], 通过比较不同水域和不同月份的刀鲚和短颌鲚肠道菌群组成差异, 以期探究区分鄱阳湖的刀鲚、短颌鲚是否存在洄游现象提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

分别于2023年1月和2月对长江口青草沙水库, 2023年3月对长江干流彭泽段, 4月和5月对

收稿日期: 2024-03-03 修回日期: 2024-05-14

基金项目: 国家重点研发计划(2022YFD2400100); 九江市2024年度科技计划项目农业专项(JXSSJC-2024-03)

作者简介: 李辰钰(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为发育生物学。E-mail: 542275268@qq.com

通信作者: 龚小玲, E-mail: xlgong@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

江西省九江市鄱阳湖湖区各采样点由本实验组进行实地采样,以及2023年3月在嵯泗岛捕捞采集当地野生群体。其中,4月份鄱阳湖的刀鲚和短颌鲚采于永修曾米洲(S6)和火焰山(S2),5月份刀鲚和短颌鲚采于鄱阳水域(S5),3月份短颌

鲚采于姑塘(S1)和火焰山,采样点及洄游路线如图1所示。溯河洄游路线为由东海,沿着长江流域到不同水域。采集的刀鲚和短颌鲚按地点、月份和种类归类,测量全长、体长和体质量(表1)。

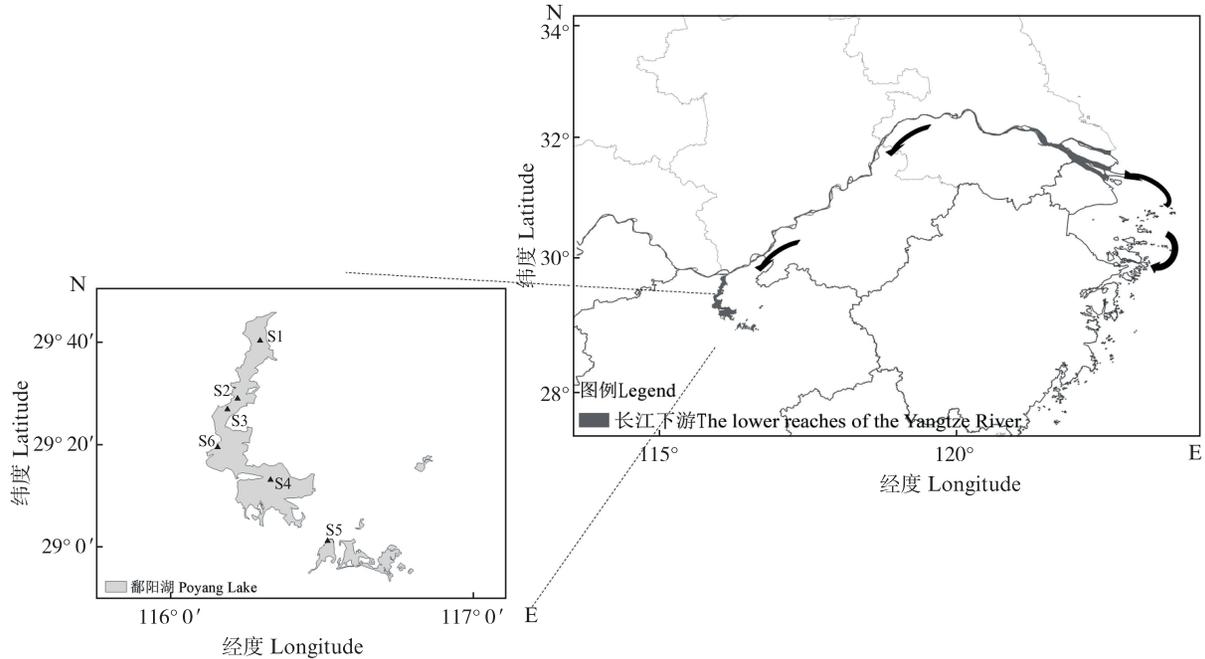


图1 采样点及洄游路线

Fig. 1 Sampling point and the migration route

表1 刀鲚和短颌鲚样本信息表

Tab. 1 Sampling basic information of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus*

采集地点 Sampling location	经纬度 Longitude and latitude	采集时间 Sampling time	种类 Species	组 Group	数量 Number /尾	全长 Total length/cm	体长 Body length/cm	体质量 Body mass/g
长江干流(彭泽段) Yangtze River Mainstream (Pengze section)	116°33'E 29°53'N	2023.3	刀鲚	CC-3	9	23.00±2.45	19.67±2.05	50.00±4.08
鄱阳湖 Poyang Lake	116°01'E~ 116°23'E 29°00'N~ 29°39'N	2023.4	刀鲚	PC-4	9	34.33±1.25	31.00±0.82	115.33±24.53
		2023.5	刀鲚	PC-5	9	35.33±0.94	32.00±0.82	112.67±4.87
		2023.3	短颌鲚	PD-3	9	35.33±1.25	31.33±1.25	123.83±17.46
		2023.4	短颌鲚	PD-4	9	29.33±1.70	26.00±1.41	65.17±8.99
青草沙水库 Qingcaosha Reservoir	121°34'E31°27'N	2023.5	短颌鲚	PD-5	9	24.00±3.74	20.00±2.94	35.00±14.71
		2023.1	刀鲚	QC-1	9	30.67±1.70	27.33±1.25	109.83±19.54
		2023.6	刀鲚	QC-6	9	27.00±1.41	23.69±0.94	50.83±8.39
嵯泗海域 Shengsi waters	122°23'E30°45'N	2023.1	短颌鲚	QD-1	9	23.83±0.24	20.67±0.47	43.17±7.03
		2023.6	短颌鲚	QD-6	9	22.67±2.62	19.67±2.62	33.00±9.90
嵯泗海域 Shengsi waters	122°23'E30°45'N	2023.3	刀鲚	SC-3	9	24.33±0.47	21.67±0.47	42.00±2.16

1.2 样品的处理

每个采样群体随机选取9尾样本在无菌条件

下用乙醇棉球擦拭鱼体表后,再用剪刀从刀鲚、短颌鲚肛门处沿腹部剪开,分离出完整肠道。将

肠道放入培养皿中,用镊子轻刮肠道内壁,同时用生理盐水清洗去除肠道内容物,并使用缓冲液冲洗掉肠壁上的血液、脂肪,每3尾处理干净的肠道混样为一组,用液氮速冻后置于2 mL冻存管,并于-80 °C超低温冰箱中保存。

1.3 细菌总DNA提取和测序

将保存的样本送至上海派森诺生物科技股份有限公司进行测序。使用E.Z.N.A. soil DNA kit (Omega M5636-02)提取肠道菌群群落的总DNA。通过1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA质量,并使用NanoDrop 2000测定DNA的浓度和纯度。设计上游引物(5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和下游引物(5'-CCGTCAATTCMTTTRAGTTT-3')扩增16S rRNA的V4~V5(a)可变区。PCR扩增程序:95 °C下3 min预变性;然后进行27个循环,每个循环包括95 °C变性30 s,56 °C退火30 s,72 °C延伸30 s。最后在72 °C下延伸10 min,4 °C保存。PCR反应的体系:5×TransStart FastPfu缓冲液4 μL,2.5 mmol/L dNTPs 2 μL,上、下游引物(各5 μmol/L)各0.8 μL,TransStart FastPfu DNA聚合酶0.4 μL,DNA模板10 ng,用无菌双蒸水补足至20 μL。最后,在Illumina MiSeq平台(Illumina, San Diego, USA)上测序,设置3组重复。

1.4 高通量测序结果的生物信息学分析

使用Qiime cutadapt trim-paired来切除引物片段,清除未匹配的序列;通过Qiime dada2 denoise-paired调用DADA2进行序列的质控、去噪、拼接和去嵌合体的处理。去噪之后,合并ASVs(Amplicon Sequence Variants)的特征序列和ASV表格,并去除Singletons ASVs(在全体样本中序列总数仅为1的ASV,默认操作)。为了进行序列长度分布的统计,使用R语言脚本对所有样本中包含的高质量序列进行了长度分布的分析。在高通量测序的原始下机数据中,对终序列进行OTU分析,采用UCLUST以相似性97%为标准进行归并和OTU划分。在每个OTU中,选择丰度最高的序列作为该OTU的代表序列,以便进一步分析样品间的物种丰富度差异。

1.5 数据分析

为了能较为全面地评估微生物群落的Alpha多样性,以Chao1指数表征丰富度,以Shannon和Simpson指数表征多样性,以Good's coverage指数表征覆盖度。计算公式:

$$\text{Chao1} = \text{Sobs} + n_1(n_1 - 1) / (2(n_2 + 1)) \quad (1)$$

式中:Chao1为估计的OTU数;Sobs为观测到的OTU数; n_1 为只有1条序列的OTU数目; n_2 为只有2条序列的OTU数目。

$$H_{\text{Shannon}} = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i \quad (2)$$

$$D_{\text{Simpson}} = 1 - \sum_{i=1}^s p_i^2 \quad (3)$$

式中:设种*i*的个体数占群落中总个体数的比例为*p*,那么,随机取种*i*个个体的联合概率就为*p*²。

Beta多样性是通过主坐标分析(Principal coordinate analysis,PCoA)比较沿着环境梯度变化的不同群落之间,物种组成的相异性或物种沿环境梯度的更替速率。它通过将样本距离矩阵经过投影后,在低维度空间进行展开,并最大限度地保留原始样本的距离关系。

2 结果与分析

2.1 肠道菌群的测序质量

在OTU水平(图2a)上,曲线呈现不同的趋势,并不是所有样品测序深度都到达平台期,但在Shannon指数稀疏曲线(图2b)上,所有样品的曲线均趋于平缓,表明测序深度已经足够反映当前样本所包含的多样性水平。因此本研究所获得的16S rRNA基因V4-V5高变区序列包含的信息较齐全,可以反映样本肠道菌群的绝大部分信息。

以样本量为横坐标被检测的物种数为纵坐标做物种累积曲线(图3),结果反映了在样本量较少时,随着新样本的加入,将有较大可能性发现大量的新物种,此时曲线呈现急剧上升的形态;当样本量已经较大时,曲线也趋于平缓。因此,表明样本量已足以反映群落的物种组成。

2.2 鄱阳湖、青草沙和嵎泗不同月份的刀鲚肠道菌群组成比较

从表2可见,鄱阳湖、青草沙和嵎泗在不同月份的刀鲚肠道菌群数据覆盖率均接近1.0,进一步表明样品中未被测序的菌群概率非常低,数据的可靠性较高。在Alpha多样性分析中,Chao1指数值越大,OTU数目越多,样品的肠道菌群物种数较多,即肠道菌群群落丰富度较高。Shannon和Simpson指数表征物种多样性,数值越大,表示群落多样性越高。结果显示不同群体刀鲚之间肠道菌群的丰富度和多样性存在差异:(1)嵎泗

刀鲚的平均肠道菌群丰富度(Chao1 指数)、平均多样性(Shannon 指数、Simpson 指数)高于鄱阳湖,青草沙水库样本肠道菌群的丰富度和多样性都最低。(2)3月份长江干流(彭泽段)(CC-3)的肠

道菌群丰富度和多样性显著高于鄱阳湖湖区、青草沙水库及嵯泗海域,说明刚洄游至长江下游的刀鲚可能由于历经海-陆不同水域,肠道菌群组成更丰富。

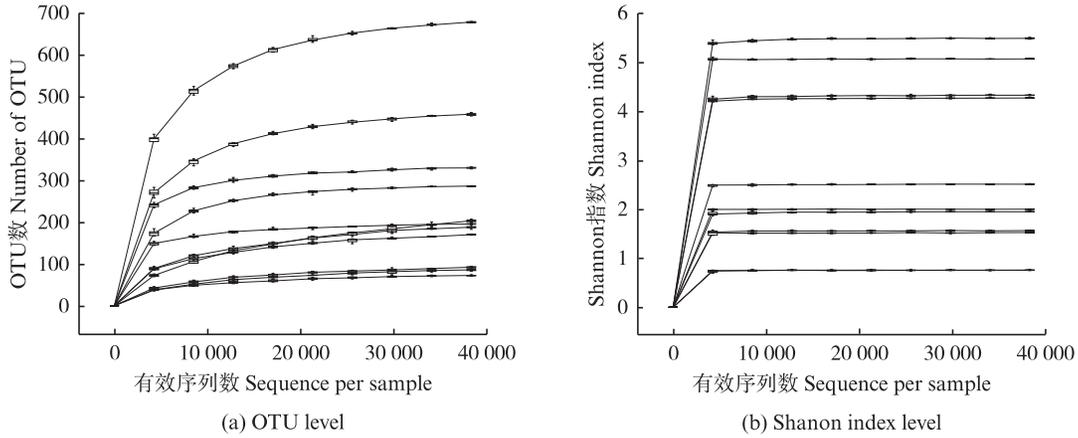


图2 样本稀疏曲线分析
Fig. 2 Rarefaction curve of different samples

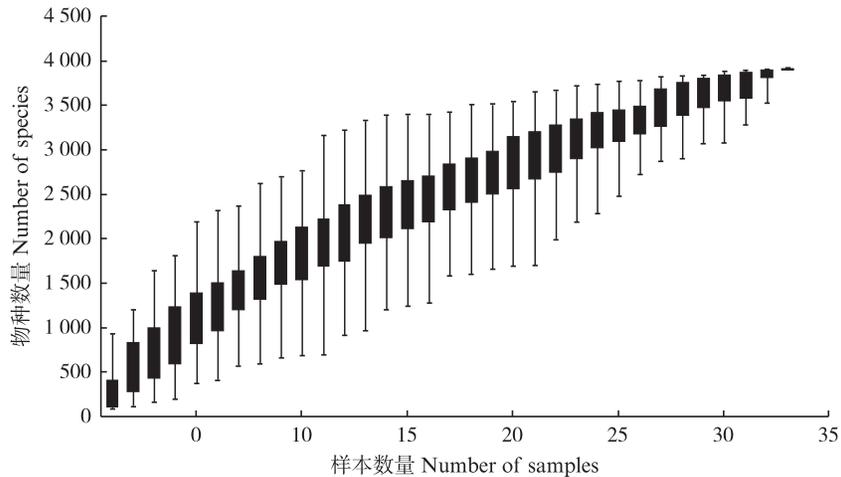
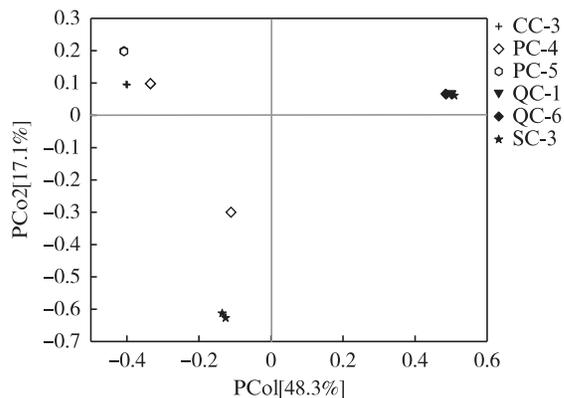


图3 物种累积曲线分析
Fig. 3 Rarefaction curve of species accumulation curves

表2 刀鲚 Alpha 多样性指数统计表
Tab. 2 Alpha diversity index statistical table of *Coilia nasus*

水域 Waters	组 Group	Chao1 指数 Chao1	覆盖度 Good's coverage	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson
长江干流(彭泽段) Yangtze River Mainstream (Pengze section)	CC-3	699.27±5.49	0.998 7±0.000 1	5.48±0.01	0.91±0.00
鄱阳湖 Poyang Lake	PC-4	224.96±111.53	0.998 9±0.000 5	2.51±1.79	0.58±0.22
	PC-5	288.49±3.13	0.999 7±0.000 0	1.95±0.01	0.35±0.00
	Mean±SD	256.73±31.77	0.999 1±0.000 4	2.23±0.47	0.47±0.12
青草沙水库 Qingcaosha Reservoir	QC-1	102.93±7.59	0.999 5±0.000 1	0.76±0.01	0.19±0.00
	QC-6	187.24±2.30	0.999 3±0.000 0	1.52±0.00	0.33±0.00
	Mean±SD	145.09±42.16	0.999 4±0.000 1	1.14±0.38	0.26±0.07
嵯泗海域 Shengsi waters	SC-3	342.76±180.47	0.999 6±0.000 3	4.26±2.43	0.71±0.33

通过主坐标分析 (Principal coordinates analysis, PCoA) 将样本距离矩阵经过投影后, 在低维度空间进行展开, 并最大限度地保留原始样本的距离关系。分析显示鄱阳湖刀鲚(PC-4、PC-5)和长江干流(彭泽段)(CC-3)刀鲚肠道菌群样本主要沿 PCo2 坐标轴形成一个簇, 其中3月份彭泽段刀鲚(CC-3)和5月份鄱阳湖刀鲚(PC-5)组内样本近乎重合, 而4月份鄱阳湖刀鲚(PC-4)3组样本中有一组与其余两组明显分离, 与岷泗3月份刀鲚(SC-3)样本聚集在一个区域内, 鄱阳湖刀鲚样本与青草沙刀鲚样本明显分离; SC-3有一组样本与青草沙刀鲚样本几乎重叠在一起, 表明它们肠道菌群组成非常相似(图4)。



其中 CC-3、PC-5、QC-1、QC-6 有 3 组数据重合, PC-4 两组数据重合。

CC-3, PC-5, QC-1, and QC-6 each have three sets of overlapping data, while PC-4 has two sets of overlapping data.

图4 刀鲚肠道菌群主坐标分析

Fig. 4 Principal coordinates analysis of intestinal flora of *Coilia nasus*

从门分类水平将丰度大于1%的细菌类群进行统计, 而将丰度小于1%的细菌类群进行合并, 并命名为“others”。不同水域刀鲚肠道菌群主要分为假单胞菌门 (Pseudomonadota)、杆菌门 (Bacillota)、拟杆菌门 (Bacteroidota)、放线菌门 (Actinomycetota)、奇球菌门 (Deinococcota)、蓝藻门 (Cyanobacteriota)、浮霉菌门 (Planctomycetota)、梭杆菌门 (Fusobacteriota)、支原体 (Mycoplasmata)、酸杆菌门 (Acidobacteriota) 等 10 个门 (图 5a)。每个门类细菌在不同水域刀鲚

肠道中的丰度略有差异, 在彭泽、鄱阳湖和岷泗刀鲚中放线菌门、杆菌门和拟杆菌门为优势菌门, 而在青草沙刀鲚中极少; 假单胞菌门在青草沙水库中的丰度大于鄱阳湖和岷泗水域。

不同水域刀鲚肠道菌群在属水平主要分为赫夫勒氏菌属 (*Hoeflea*)、沙雷氏菌属 (*Serratia*)、梭菌属 (*Clostridium*)、球杆菌属 (*Phocaeicola*)、嗜冷杆菌 (*Psychrobacter*)、青枯菌属 (*Ralstonia*)、不动杆菌属 (*Acinetobacter*)、拟杆菌属 (*Bacteroides*) 和代尔夫特菌属 (*Delftia*) 等 9 个属 (图 5b)。在不同水域中各属的相对丰度存在显著差异: 赫夫勒氏菌属在彭泽刀鲚肠道菌群和鄱阳湖刀鲚肠道菌群中几乎没有, 但在青草沙刀鲚和岷泗刀鲚中占比较大; 梭菌属和沙雷氏菌属在彭泽和鄱阳湖刀鲚中占有一定比例, 但在青草沙刀鲚和岷泗刀鲚中丰度近似为 0。不同水域之间刀鲚肠道菌群的差异表明水域环境可能对肠道菌群的组成产生显著影响。

2.3 鄱阳湖和青草沙水库短颌鲚肠道菌群组成比较

由表 3 可知, 鄱阳湖和青草沙在不同月份的短颌鲚肠道菌群样品覆盖度都接近 1, 即未被测序的概率非常低。在 Alpha 多样性分析发现: (1) 鄱阳湖短颌鲚样本的肠道菌群相较于青草沙水库的表现出较高的群落丰富度和多样性; (2) 对于短颌鲚, 4 月份鄱阳湖 (PD-4) 的肠道菌群丰富度显著高于 3、5 月份的, 同样采于鄱阳湖火焰山的短颌鲚, 4 月份的样本丰富度和多样性比 3 月份都显著提高。

PCoA 分析显示: 鄱阳湖短颌鲚肠道菌群样本主要沿 PCo1 负半轴坐标分布, 而青草沙短颌鲚样本主要沿 PCo1 正半轴坐标分布, 表明两个水域短颌鲚肠道菌群组成差异大 (图 6)。5 月份鄱阳湖短颌鲚 (PD-5) 与 3 (PD-3)、4 (PD-4) 月份鄱阳湖样本明显分离。由于不同月份的青草沙短颌鲚肠道菌群样本重叠在一起, 表明它们之间相似度极高, 差异极小, 表明月份对同一地方的短颌鲚肠道菌群影响较小。

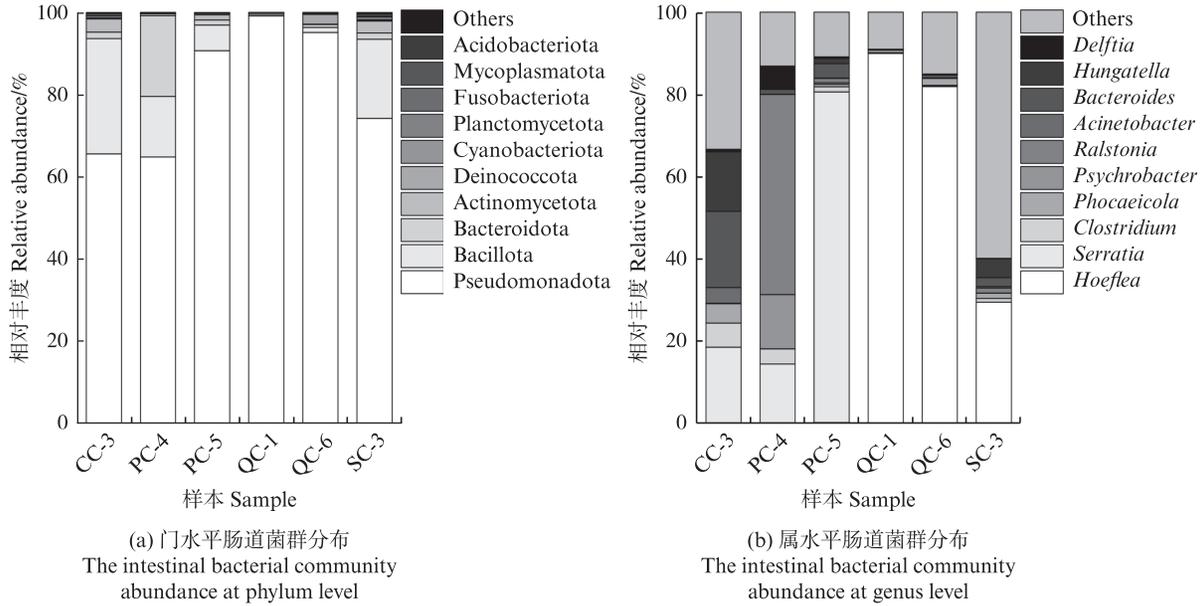
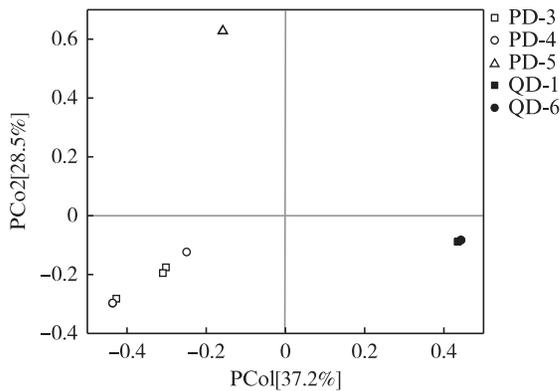


图5 刀鲚肠道菌群分布
Fig. 5 Intestinal bacterial community abundance of *Coilia nasus*

表3 短颌鲚 Alpha 多样性指数统计表
Tab. 3 Alpha diversity index statistical table of *Coilia brachygnathus*

水域 Waters	组 Group	Chao1 指数 Chao1	覆盖度 Good's coverage	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson
鄱阳湖 Poyang Lake	PD-3	265.6±122.17	0.998 2±0.000 8	1.56±0.57	0.38±0.15
	PD-4	470.76±89.14	0.999 2±0.000 7	4.32±0.57	0.79±0.10
	PD-5	202.47±4.34	0.999 7±0.000 0	5.06±0.01	0.90±0.01
	Mean±SD	312.95±114.53	0.999 0±0.000 6	3.65±1.50	0.69±0.22
青草沙水库 Qingcaosha Reservoir	QD-1	97.52±3.57	0.999 5±0.000 1	0.75±0.11	0.20±0.00
	QD-6	80.48±1.69	0.999 7±0.000 1	2.00±0.00	0.64±0.00
	Mean±SD	89.00±8.52	0.999 6±0.000 1	1.38±0.63	0.42±0.22



其中PD-5、QD-1、QD-6有3组数据重合,PD-4两组数据重合。PD-5, QD-1, and QD-6 each have three sets of overlapping data, while PD-4 has two sets of overlapping data.

图6 短颌鲚肠道菌群主坐标分析
Fig. 6 Principal coordinates analysis of intestinal flora of *Coilia brachygnathus*

根据短颌鲚肠道门水平和属水平的菌群分布(图7)发现,鄱阳湖和青草沙水库之间短颌鲚的肠

道菌群分布差异较大:鄱阳湖短颌鲚肠道菌群中的拟杆菌门(Bacteroidota)和放线菌门(Actinomycetota)丰度较高、沙雷氏菌属(*Serratia*)和梭菌属(*Clostridium*)是优势菌属,而在青草沙短颌鲚肠道菌群中拟杆菌门和放线菌门占比极少,赫夫勒氏菌属(*Hoeflea*)和代尔夫特菌属(*Delftia*)为优势菌属。同一水域不同月份之间的肠道细菌类群差异较小,表现为鄱阳湖短颌鲚在3、4月份的肠道菌群样本优势菌门、优势菌属基本相同,青草沙短颌鲚1月和6月肠道菌群样本优势菌门、优势菌属也相同。5月份鄱阳湖短颌鲚和3、4月份相比,假单胞菌门(*Pseudomonadot*)、蓝藻门(*Cyanobacteriota*)显著减少,拟杆菌门、放线菌门显著增多,进一步证明5月份鄱阳湖短颌鲚样本可能来源于不同地方。所以不同水域环境对肠道菌群的影响大于同一区域不同月份的影响。

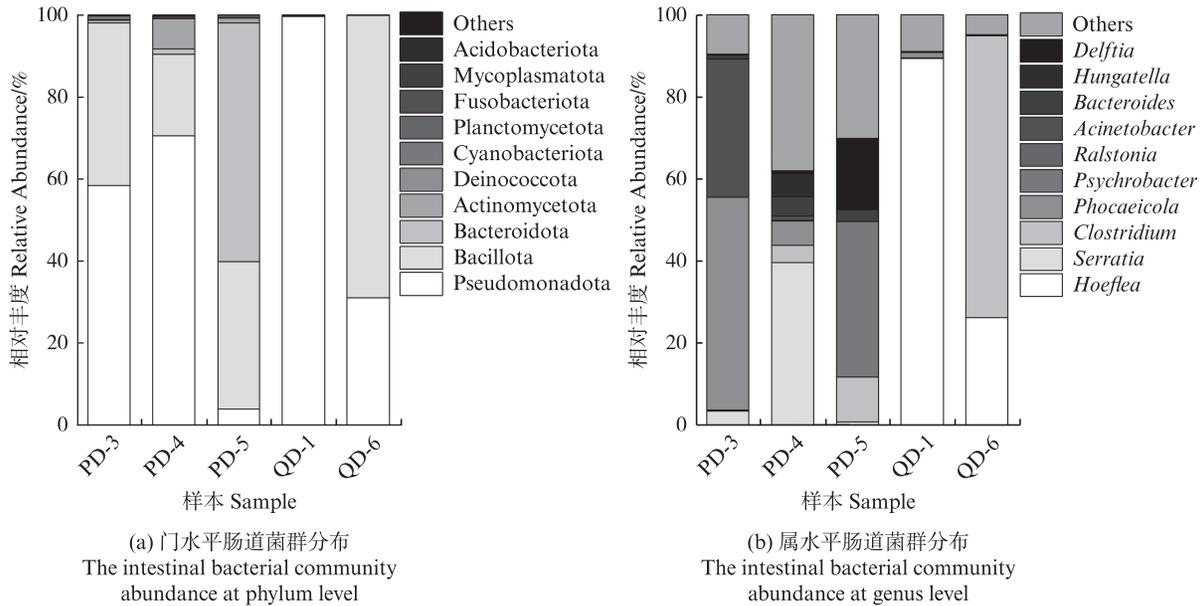


图7 短颌鲚肠道菌群分布
Fig. 7 Intestinal bacterial community abundance of *Coilia brachygnathus*

2.4 鄱阳湖刀鲚和短颌鲚肠道菌群对比

从鄱阳湖刀鲚和短颌鲚样本各月份肠道菌群均值(表4)看:鄱阳湖短颌鲚 Chao1 指数、

Shannon 指数及 Simpson 指数平均值都大于刀鲚的,表明鄱阳湖短颌鲚肠道菌群平均丰富度和多样性均高于刀鲚的。

表4 鄱阳湖刀鲚、短颌鲚 Alpha 多样性指数统计表
Tab. 4 Alpha diversity index statistical table of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake

种类 Species	组 Group	Chao1 指数 Chao1	覆盖度 Good's coverage	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson
刀鲚 <i>Coilia nasus</i>	Mean±SD	256.73±31.77	0.999 1±0.000 4	2.23±0.47	0.47±0.12
短颌鲚 <i>Coilia brachygnathus</i>	Mean±SD	312.95±114.53	0.999 0±0.000 6	3.65±1.50	0.69±0.22

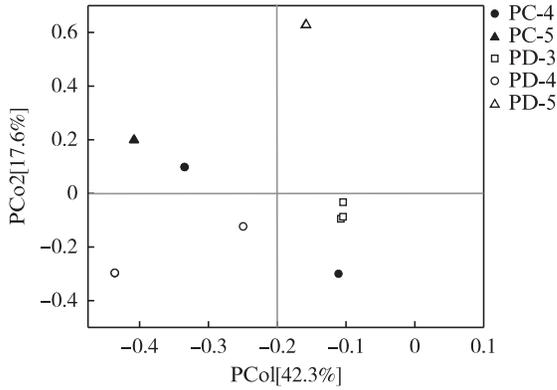
PCoA 分析显示:鄱阳湖5月份短颌鲚肠道菌群3组样本重叠在一起,与3、4月份的明显分离;鄱阳湖4月份刀鲚的肠道菌群与5月份的距离较远。4月份鄱阳湖刀鲚有一组采于火焰山的样本与采于鄱阳水域的3月份鄱阳湖短颌鲚3组肠道菌群样本接近,说明这4组样本可能来源于相同地方。总体上,刀鲚、短颌鲚不同种类肠道菌群之间的差异大于同一种不同月份之间的差异,但是除了5月份短颌鲚肠道菌群样本明显分离之外,其余月份刀鲚和短颌鲚菌群较为接近(图8),由此可知,相同水域环境对不同月份的刀鲚和短颌鲚肠道菌群影响较小。

通过对比鄱阳湖刀鲚和短颌鲚肠道菌群门和属的结构(图9),结果显示鄱阳湖刀鲚和短颌鲚肠道菌群分布除了假单胞菌门(*Pseudomonadota*)、杆菌门(*Bacillota*)、拟杆菌门

(*Bacteroidota*),沙雷氏菌属(*Serratia*)、梭菌属(*Clostridium*)、球杆菌属(*Phocaeicola*)等优势菌门(图9a)、菌属(图9b)相对丰度有些差异外,结构上却比较相似,所以在同一水域中,群体的不同对肠道菌群的影响较小。

3 讨论

鱼类肠道内存在着丰富多样的微生物群落,这一群落的组成受到鱼类所处环境和肠道不同区段的影响^[18]。研究^[19]表明,鱼类肠道微生物群落一定程度上反映其生活环境。鱼类洄游过程中,肠道微生态系统会由于动态平衡而发生变化,尤其在刀鲚和短颌鲚的洄游与定居问题上存在一些争议。通过分析它们在不同水域中肠道微生物组成的差异,或许可以深入探讨刀鲚和短颌鲚的洄游来源问题。



其中PC-5、PD-5有3组数据重合,PC-4、PD-4两组数据重合。PC-5 and PD-5 each have three sets of overlapping data, PC-4 and PD-4 has two sets of overlapping data.

图8 鄱阳湖刀鲚和短颌鲚肠道菌群主坐标分析
Fig. 8 Principal coordinates analysis of intestinal flora of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake

3.1 鄱阳湖刀鲚不同采样群体的肠道菌群差异

本研究发现,3月份长江支流彭泽段(CC-3)的肠道菌群丰富度和多样性显著高于鄱阳湖湖区、青草沙水库及嵊泗海域,嵊泗刀鲚的平均肠道菌群丰富度、平均多样性高于鄱阳湖的,青草沙水库样本肠道菌群的丰富度和多样性都最低。同一水域不同月份之间的相差较小。由于各个季节细菌丰度呈现出不同的水平分布特征:春、秋季由长江口向外海逐渐升高,夏季南北两侧细菌丰度较高、中部海区较低,冬季舟山群岛东北处是细菌丰度高值区;不同环境细菌的多样性和群落结构也有明显差异,长江河口

内以陆源或淡水生境的细菌种类为主,海区则以海洋环境的种类为主,长江口门区则同时包含了海-陆两类环境的细菌16S rRNA基因序列^[20]。因此,采于3月份长江干流彭泽区段的刀鲚,可能刚由海入江洄游至长江下游,历经不同水域,肠道菌群组成更丰富。水体环境中的微生物会对鱼类肠道微生物组成产生影响^[15-16]。鄱阳湖刀鲚和长江干流彭泽段肠道菌群较接近,其中3月份彭泽段刀鲚(CC-3)和5月份鄱阳湖刀鲚(PC-5)组内样本近乎重合,采集于永修曾米洲和火焰山的4月份鄱阳湖刀鲚(PC-4)样本,有一组与同月份其余两组明显分离且接近嵊泗3月份刀鲚(SC-3)样本,说明PC-4可能有一部分样本是从嵊泗海域洄游而来的;鄱阳湖刀鲚样本与青草沙刀鲚样本明显分离,差异较大;SC-3有一组样本与青草沙刀鲚样本接近,提示青草沙水库刀鲚可能有一部分也是从嵊泗海域洄游而来的。在不同水域的刀鲚中,肠道菌群在数量和种类上存在差异,杆菌门、拟杆菌门和梭菌属在青草沙水库中的丰度显著小于彭泽、鄱阳湖和嵊泗水域。此外,不同水域刀鲚在门和属水平上的肠道菌群差异大于同一水域不同月份的肠道菌群,即不同水域对肠道菌群的影响大于不同月份的影响。因此,鄱阳湖不同采样刀鲚群体的肠道菌群差异在一定程度上反映了其洄游来源的差异。

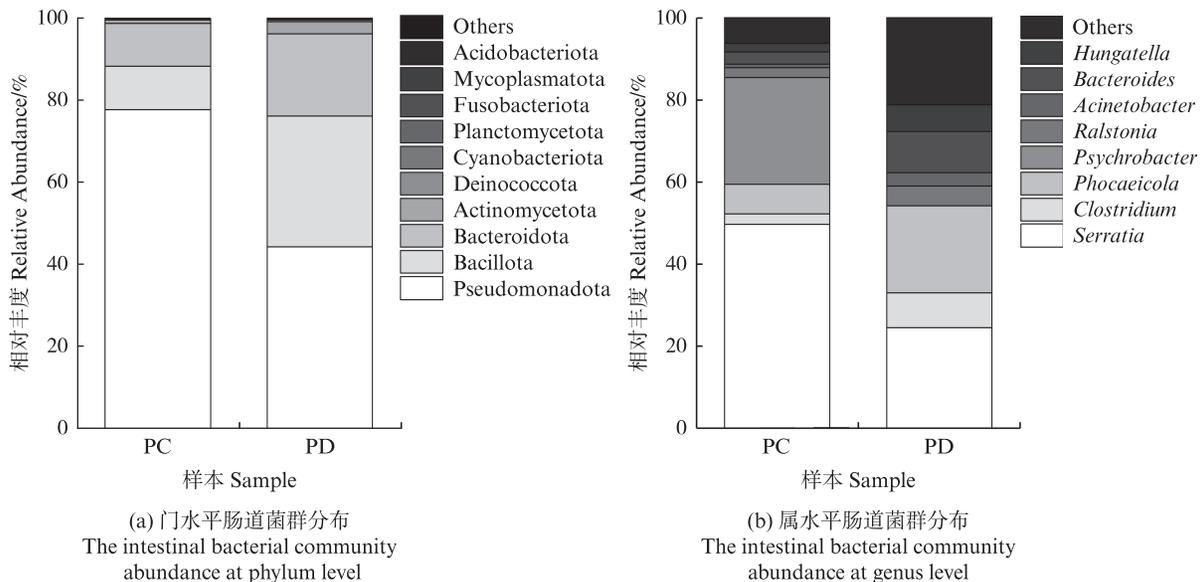


图9 鄱阳湖刀鲚和短颌鲚肠道菌群分布
Fig. 9 Intestinal bacterial community abundance of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake

3.2 鄱阳湖短颌鲚不同采样群体肠道菌群的差异

鄱阳湖短颌鲚样本的肠道菌群相较于青草沙水库的表现出较高的群落丰富度和多样性;4月份鄱阳湖(PD-4)的肠道菌群丰富度显著高于3、5月份的,同样采于鄱阳湖火焰山的短颌鲚,4月份的样本丰富度和多样性比3月份都显著提高。已有研究人员发现,长江口及其邻近海域水体细菌丰度具有明显的季节变化,平均丰度为春季>秋季>夏季>冬季^[20]。曾楠楠^[21]运用16S rRNA高通量测序技术对在22℃、28℃、34℃下饲养罗非鱼的肠道微生物进行了测序,结果显示在28℃的吉富罗非鱼肠道微生物群的丰度最高。4月份正值春季,温度回暖,所以4月份鄱阳湖短颌鲚的肠道菌群丰度都显著高于3月份。鄱阳湖短颌鲚的肠道菌群样本与青草沙短颌鲚样本在PCoA分析图中明显分离,即不同水域短颌鲚肠道主成分显著不同;5月份鄱阳湖短颌鲚(PD-5)与3、4月份鄱阳湖样本明显分离,提示3、4月份鄱阳湖短颌鲚可能来源于同一地方,而5月份鄱阳湖短颌鲚样本可能来源于不同地方。由于不同月份的青草沙短颌鲚肠道菌群样本相似度很高,进一步说明不同环境对肠道菌群的影响大于月份的影响。鄱阳湖和青草沙水库之间短颌鲚的肠道菌群分布存在较大差异,优势菌门、优势菌属不同;而同一水域不同月份之间的差异较小,鄱阳湖短颌鲚在3、4月份的肠道菌群样本优势菌门、优势菌属基本相同,青草沙短颌鲚1月和6月肠道菌群样本优势菌门、优势菌属也相同。5月份鄱阳湖短颌鲚的肠道菌群样本与鄱阳湖其他月份显著不同,菌群丰富度上升而多样性下降,可能由于蓝藻门减少、放线菌门增多造成的,水质没有藻类增殖的现象,使微生物多样性增高^[22],因此再次提示5月份鄱阳湖短颌鲚与3、4月份鄱阳湖短颌鲚来源地不同。所以,鄱阳湖不同采样短颌鲚群体肠道菌群的差异反映了其来源地的差异。

3.3 鄱阳湖刀鲚与短颌鲚肠道菌群差异

通过对比鄱阳湖刀鲚和短颌鲚的肠道菌群,发现除了5月份鄱阳湖短颌鲚(PD-5)丰富度略低于刀鲚(PC-5)外,4月份鄱阳湖短颌鲚的Chao1指数、Shannon指数及Simpson指数和4、5月份短颌鲚样本各指数的平均值均大于刀鲚样本。随着刀鲚体长的增加,摄食强度也增加,肠道微生

物丰富度增高^[23]。这表明,5月份的微小差异可能是5月份短颌鲚体长较短的原因。刀鲚在溯河洄游过程中不会摄食大型游泳动物;进入鄱阳湖产卵场后会开始摄食桡足类和枝角类^[24]。而短颌鲚在性成熟后便开始稳定摄入小型鱼、虾^[4,25]。CHEN等^[2,6]的研究发现,随着栖息地的变化,凤鲚会表现出不同的饮食方式,进而影响其肠道微生物组成。在对长江口8种野生鱼类的肠道菌群的比较中,李可俊等^[27]发现鱼类肠道菌群多样性的差异与鱼类的食性相关,且食性差异大的鱼类之间肠道菌群差异也更为显著。根据实验结果,鄱阳湖短颌鲚各个月份的肠道微生物丰富度和多样性大于刀鲚,原因可能是刀鲚的摄食强度更晚开始加强,短颌鲚为定居型的,而刀鲚是洄游型的。鄱阳湖短颌鲚肠道菌群样本5月份的与3、4月份明显分离;4月份鄱阳湖刀鲚有一组采于火焰山的样本与采于鄱阳水域的3月份鄱阳湖短颌鲚3组肠道菌群样本接近,说明这4组样本可能来源于相同地方。毛婕^[28]以黄鳍东方鲀(*Takifugu xanthopterus*)为研究对象,分析12个月份的肠道菌群,结果显示春季变形菌门含量最高,而秋季变形菌门含量最低。可见,由于季节变换导致的水环境变化同样会对鱼类的肠道微生物产生影响。因此,刀鲚洄游过程中水温的变化可能会对其肠道微生物的数量和种类产生影响。从总体上看,同一月份鄱阳湖刀鲚和短颌鲚的差别大于不同月份刀鲚群体之间、短颌鲚群体之间的差别,即种群因素对肠道菌群的影响大于时间因素。但是除了4月份的刀鲚和5月份的短颌鲚肠道菌群样本明显分离之外,其余月份刀鲚和短颌鲚菌群较为接近。可以发现,相同的水域环境对不同月份的刀鲚和短颌鲚肠道菌群影响较小。此外,鄱阳湖刀鲚和短颌鲚在肠道菌群的门水平和属水平上的分布除了假单胞菌门、杆菌门、拟杆菌门、沙雷氏菌属、梭菌属、球杆菌属等优势菌门、菌属相对丰度有些差异外,门水平和属水平的菌群分布相对一致。这反映了在鄱阳湖这一环境中,不同种群之间的肠道菌群结构相对相似,而更大的差异存在于不同水域之间。即影响刀鲚和短颌鲚肠道菌群组成的因素环境>种群>时间。因此,鄱阳湖刀鲚与短颌鲚肠道菌群差异反映了种间的差异。

4 结论

不同水域、不同月份刀鲚、短颌鲚肠道菌群组成的差异,引起的菌群多样性和丰度的差异,可能与其特定的洄游时期或生命周期阶段有关,也可能是不同水域短颌鲚的定居状态、来源地和刀鲚的洄游来源不同造成的,本研究表明鄱阳湖的刀鲚和短颌鲚肠道菌群组成不同,提示可能存在洄游群体,且这些群体的来源地可能存在差异。

参考文献:

- [1] 袁传宓,秦安龄,刘仁华,等. 关于长江中下游及东南沿海各省的鲚属鱼类种下分类的探讨[J]. 南京大学学报(自然科学版), 1980(3): 67-82.
YUAN C M, QIN A L, LIU R H, et al. On the classification of the anchovies, coilia, from the lower Yangtze river and the Southeast coast of China[J]. Journal of Nanjing University (Natural Sciences), 1980(3): 67-82.
- [2] 袁传宓. 长江中下游刀鲚资源和种群组成变动状况及其原因[J]. 动物学杂志, 1988, 23(3): 12-15.
YUAN C M. Resource and population composition changes of hilsa fish in the middle and lower reaches of the Yangtze River and Their Causes [J]. Zoological Research, 1988, 23(3): 12-15.
- [3] 袁传宓. 刀鲚的生殖洄游[J]. 生物学通报, 1987(12): 1-3.
YUAN C M. Reproductive migration of hilsa fish [J]. Bulletin of Biology, 1987(12): 1-3.
- [4] 刘引兰,吴志强,胡茂林. 我国刀鲚研究进展[J]. 水产科学, 2008, 27(4): 205-209.
LIU Y L, WU Z Q, HU M L. Advances on tapertail anchovy coilia ectenes in China [J]. Fisheries Science, 2008, 27(4): 205-209.
- [5] 程方圆,陶紫玉,李晨虹. 应用单核苷酸多态性(SNP)标记鉴定短颌鲚、湖鲚和刀鲚[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(1): 10-19.
CHENG F Y, TAO Z Y, LI C H. Species identification of *Coilia brachygnathus*, *C. nasus* and *C. nasus taihuensis* with SNP markers [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(1): 10-19.
- [6] 佟佳琦,陈锦辉,高春霞,等. 基于栖息地适应性指数的长江口刀鲚时空分布特征[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(4): 584-593.
TONG J Q, CHEN J H, GAO C X, et al. Temporal-spatial distribution of *Coilia nasus* in the Yangtze River Estuary based on habitat suitability index [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(4): 584-593.
- [7] 姜涛,周昕期,刘洪波,等. 鄱阳湖刀鲚耳石的两种微化学特征[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 239-244.
JIANG T, ZHOU X Q, LIU H B, et al. Two microchemistry patterns in otoliths of *Coilia nasus* from Poyang Lake, China [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 239-244.
- [8] 李宇,陈建华,冯广朋,等. 基于耳石微化学的刀鲚群体生境履历研究进展[J]. 渔业信息与战略, 2022, 37(3): 196-203.
LI Y, CHEN J H, FENG G P, et al. Research progress on habitat resume of *Coilia nasus* based on otolith microchemistry [J]. Fisheries Information & Strategy, 2022, 37(3): 196-203.
- [9] 姜涛,杨健,刘洪波,等. 鄱阳湖饶河口溯河洄游型刀鲚研究[J]. 科学养鱼, 2022(4): 72-73.
JIANG T, YANG J, LIU H B, et al. Study on the anadromous *Coilia ectenes* in Rao river mouth of Poyang Lake[J]. Scientific Fish Farming, 2022(4): 72-73.
- [10] 唐文乔,胡雪莲,杨金权. 从线粒体控制区全序列变异看短颌鲚和湖鲚的物种有效性[J]. 生物多样性, 2007, 15(3): 224-231.
TANG W Q, HU X L, YANG J Q. Species validities of *Coilia brachygnathus* and *C. Nasus taihuensis* based on sequence variations of complete mtDNA control region [J]. Biodiversity Science, 2007, 15(3): 224-231.
- [11] 许志强,葛家春,黄成,等. 基于颌骨长度和线粒体Cyt b序列变异探讨短颌鲚的分类地位[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(3): 242-246.
XU Z Q, GE J C, HUANG C, et al. Taxonomy of shortjaw tapertail anchovy *Coilia brachygnathus* by jaw length and mitochondrial Cytochrome b gene analysis [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2009, 24(3): 242-246.
- [12] 王倩,程方圆,李晨虹. 鲚属单核苷酸多态性位点(SNPs)标记开发及在物种界定中的应用初探[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(1): 8-16.
WANG Q, CHENG F Y, LI C H. Developing SNP markers for *Coilia* and its application in species delimitation [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(1): 8-16.
- [13] 罗亮,赵志刚,都雪,等. 鱼类肠道菌群与免疫力的相关性研究[J]. 水产学杂志, 2018, 31(6): 51-54.
LUO L, ZHAO Z G, DU X, et al. Relationship between intestinal flora and immunity in fish [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2018, 31(6): 51-54.
- [14] 王瑞旋,王江勇,徐力文,等. 军曹鱼肠道及水体异养菌和弧菌的周年变化[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 1008-1015.
WANG R X, WANG J Y, XU L W, et al. Annual changes of heterotrophic bacteria and vibrios in intestine and rearing water of maricultured cobia, *Rachycentron cannadum* Linnaeus [J]. Journal of Fishery Sciences of

- China, 2008, 15(6): 1008-1015.
- [15] SUGITA H, FUKUMOTO M, DEGUCHI Y. Changes in the fecal microflora of goldfish *Carassius auratus*, associated with diets[J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1988, 54(9): 1641-1645.
- [16] CAHILL M M. Bacterial flora of fishes: a review [J]. *Microb Ecol.* 1990, 19 (1): 21-41.
- [17] CLAEISSON M J, WANG Q, O'SULLIVAN O, et al. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions[J]. *Nucleic Acids Research*, 2010, 38(22): e200.
- [18] NI J J, YAN Q Y, YU Y H, et al. Fish gut microecosystem: a model for detecting spatial pattern of microorganisms [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2014, 32(1): 54-57.
- [19] 张东声. 长江口及其邻近海域微生物的多样性和生态分布特征研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2011.
- ZHANG D S. Diversity and distribution of microorganism in Changjiang Estuary and adjacent areas [D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2011.
- [20] SUGITA H, MIYAJIMA C, DEGUCHI Y. The vitamin B₁₂-producing ability of the intestinal microflora of freshwater fish[J]. *Aquaculture*, 1991, 92: 267-276.
- [21] 曾楠楠. 不同水温对吉富罗非鱼的饲料蛋白质需要量、生理代谢及肠道微生物的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- ZENG N N. Effects of different temperature on dietary protein requirement, physiological metabolism and intestinal microbial community of GIFT tilapia (*Oreochromis niloticus*) [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [22] 褚奇奇, 徐广昌, 黄晶, 等. 鄱阳湖流域河湖口微生物多样性研究[J]. *江西农业学报*, 2022, 34(11): 138-142, 148.
- CHU Q Q, XU G C, HUANG J, et al. Study on microbial diversity in estuary of Poyang Lake Basin [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 2022, 34(11): 138-142, 148.
- [23] 邓艳敏. 长江下游洄游型刀鲚(*Coilia nasus*)摄食生态研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2023.
- DENG Y M. Study on feeding ecology of migratory *Coilia nasus* in the lower reaches of the Yangtze River [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2023.
- [24] 姜涛, 刘洪波, 李孟孟, 等. 溯河洄游长江刀鲚(*Coilia nasus*)摄食虾类的调查[J]. *湖泊科学*, 2018, 30(2): 458-463.
- JIANG T, LIU H B, LI M M, et al. Investigation on shrimp feeding of *Coilia nasus* during its anadromous migration along the Yangtze River [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, 30(2): 458-463.
- [25] 王旭歌, 何勇凤, 李昊成, 等. 长湖短颌鲚的年龄与生长特性[J]. *淡水渔业*, 2016, 46(3): 29-33.
- WANG X G, HE Y F, LI H C, et al. Study on the age and growth characteristics of *Coilia brachygnathus* in lake Changhu [J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 46(3): 29-33.
- [26] CHEN Y F, ZHU S Q. Diet overlap of lake anchovy (*Coilia ectenes*) and ice fish (*Neosalanx tangkahkeii taihuensis*) and the relationship between their harvests in Lake Taihu [J]. *Journal of Freshwater Ecology*, 2008, 23 (3): 463-465.
- [27] 李可俊, 管卫兵, 徐晋麟, 等. PCR-DGGE对长江河口八种野生鱼类肠道菌群多样性的比较研究[J]. *中国微生物生态学杂志*, 2007, 19(3): 268-269, 272.
- LI K J, GUAN W B, XU J L, et al. PCR-DGGE analysis of bacterial diversity of the intestinal system in eight kinds of wild fishes from the Changjiang river estuary [J]. *Chinese Journal of Microecology*, 2007, 19(3): 268-269, 272.
- [28] 毛婕. 东海区黄鳍东方鲀毒性及肠道内食源性物种季节分析[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.
- MAO J. Toxicity of the Takifugu xanthopterus in the East China sea and seasonal analysis of foodborne species in the intestine [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019.

Comparative analysis of intestinal flora of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in different waters

LI Chenyu^{1,2}, LI Lekang³, GAO Xiaoping³, KONG Chiping³, XU Qun³, ZHANG Bao³, BAO Baolong^{1,2}, GONG Xiaoling^{1,2}

(1. Key Laboratory of Aquatic Germplasm Resources Discovery and Utilization, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. National Experimental Teaching Demonstration Center of Fisheries Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Jiujiang Academy of Agricultural Sciences, Jiujiang 332000, Jiangxi, China)

Abstract: The intestinal microbial composition of fish is closely related to their living environment. In order to investigate the origin of *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake, samples were collected from the the main stream of the Yangtze River, Poyang Lake, the Qingcaosha Reservoir in the Yangtze Estuary and the sea area of Shengsi in different months. The intestinal microorganisms of the samples were comparatively analyzed using 16S rRNA high-throughput sequencing technology. The results showed: (1) among the different sampling groups of *C. nasus*, the abundance of intestinal microorganisms of the samples from the section of Pengze in March was significantly higher than that of the samples from Poyang Lake, Qingcaosha and Shengsi. The richness of intestinal microorganisms of one group from the in Poyang Lake (PC-4) in April and one group from Qingcaosha had a high similarity with those of the samples from Shengsi (SC-3) through PCoA, suggesting that they may migrate from Shengsi. (2) The intestinal flora of *Coilia brachygnathus* varied greatly in different regions, while the differences between different months in the same region were smaller. But the intestinal flora in Poyang Lake in May was significantly different from the other sampling groups, indicating that they might have migrated from different places. (3) The average abundance and diversity of the intestinal flora of *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake were higher than those of *Coilia nasus* in Poyang Lake. The above results demanstrated that there may be migratory populations of both *Coilia nasus* and *Coilia brachygnathus* in Poyang Lake.

Key words: *Coilia nasus*; *Coilia brachygnathus*; Poyang Lake; intestinal microorganisms; migration