

## 小管福寿螺间接胁迫对大型溞生长、繁殖和肠道微生物的影响

刘洺源<sup>1</sup>, 隋长润<sup>1</sup>, 赵文煜<sup>1,2</sup>, 邱铸钧<sup>1,2</sup>, 范冲辉<sup>1,2</sup>, 张 瑶<sup>1,2</sup>, 王侯晴<sup>1,2</sup>,  
张 倩<sup>1</sup>, 刘 鹰<sup>1,3</sup>

(1. 大连海洋大学 设施渔业教育部重点实验室, 辽宁 大连 116023; 2. 大连海洋大学 海洋科技与环境学院, 辽宁 大连 116023; 3. 浙江大学 生物系统工程与食品科学学院, 浙江 杭州 310058)

**摘 要:** 小管福寿螺(*Pomacea canaliculata*)的入侵严重威胁本土物种的生存, 破坏本土生态系统的功能。大型溞(*Daphnia magna*)繁殖迅速、具有体型可塑性、易于观察, 常被用作评估环境风险研究的模式物种。本研究旨在分析小管福寿螺入侵对大型溞生活史、形态、抗氧化性能及其肠道微生物群落的影响, 设置无螺对照组(Ctr)、本土中国圆田螺对照组(CC)、限制菌群的小管福寿螺组(LBPC)与小管福寿螺组(PC)。结果显示, 小管福寿螺入侵促进大型溞生长及繁殖, 并影响其生命周期。PC组大型溞的体长和尾刺长度显著降低( $P < 0.05$ ), 种群数量和产仔率显著升高( $P < 0.05$ ), 同时其抗氧化酶活性显著增强( $P < 0.05$ )。此外, 大型溞的肠道微生物 $\beta$ 多样性在PC组显著改变( $P < 0.05$ ), 并且肠道微生物预测通路向抗炎方向改变, 代谢能力增强。而抑制小管福寿螺肠道内病原菌则会缓解其对大型溞在生长、繁殖及肠道微生物组成方面的间接胁迫作用。小管福寿螺通过非捕食性间接胁迫, 显著影响大型溞的生理特征和肠道微生物群落, 从而可能对本土的淡水生态系统造成潜在风险。本研究丰富了小管福寿螺与本土浮游动物的种间互作机理, 对小管福寿螺生活史策略的揭示具有重要的意义。

**关键词:** 小管福寿螺; 大型溞; 非捕食性间接胁迫; 抗氧化性能; 肠道微生物; 生态影响

**中图分类号:** Q 178; S 968.3

**文献标志码:** A

随着经济全球化进程的推进, 生物入侵成为全球共同面临的五大环境问题之一<sup>[1]</sup>。相比本土物种, 入侵物种具有更强的生态适应力与更广的生态幅, 能够快速抢夺生态系统中的资源, 对本土物种造成极强的竞争与捕食压力, 导致生物多样性下降, 甚至引发本土生态系统功能的衰退与崩溃<sup>[2]</sup>。除了直接捕食, 许多入侵物种拥有特殊的生活史策略, 可通过分泌化学物质或病原菌威胁本土物种的生存。例如, 入侵捷克地区的小龙虾通过分泌信息素使当地的蝌蚪处于应激状态, 改变其发育表型<sup>[3]</sup>。而植食性入侵鱼类通过排泄物改变局部的营养盐平衡, 进而改变区域生物组成<sup>[4]</sup>。这些可通过间接作用影响本土物种生存的入侵物种, 更容易在本土生态系统中占据优势地位。

小管福寿螺(*Pomacea canaliculata*)在世界范围内广泛分布, 也是我国最常见的入侵物种之一<sup>[5-7]</sup>。小管福寿螺食性广泛, 以植食性为主, 但也可捕食腹足类<sup>[8-10]</sup>、蛙类<sup>[11]</sup>及浮游动物<sup>[12]</sup>等。小管福寿螺对浮游植物与藻类的巨大取食量直接或间接影响了生态系统的初级生产力, 可能会引起食物网的失衡, 导致其他生物长期处于饥饿压力之下<sup>[7]</sup>。长期以来, 研究者普遍认为小管福寿螺对生态系统的危害主要源于其捕食与竞争作用, 然而, 越来越多的研究表明<sup>[5-6]</sup>, 小管福寿螺的间接胁迫作用同样不可忽视。其在进食过程中产生了大量食物碎屑与排泄物, 引起水体营养盐失衡, 水质恶化或富营养化<sup>[8, 13-15]</sup>, 使本土物种因缺氧或氨中毒而死亡或区域灭绝, 进而明显改变本土生态系统的生物结构<sup>[16-18]</sup>。此外, 小管福

收稿日期: 2024-12-25 修回日期: 2025-04-23

基金项目: 辽宁省教育厅项目(LJKMZ20221107); 国家贝类产业技术体系设施养殖岗位(CARS-49)

作者简介: 刘洺源(1995—), 男, 博士研究生, 研究方向为入侵生态学。E-mail: 630398422@qq.com

通信作者: 张 倩, E-mail: zhangqian726@sina.com

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>

寿螺肠道内定殖着大量的病原菌<sup>[19-21]</sup>,这些病原菌可以通过小管福寿螺的生命活动进入水体,感染本土底栖动物,导致氧化应激、肠道微生物组成变化甚至死亡<sup>[5, 22-23]</sup>,抑制小管福寿螺肠道内病原菌的活性会减弱其对本土底栖动物的影响<sup>[23]</sup>。因此,释放肠道内共生的病原菌可能是小管福寿螺对本土物种产生间接胁迫的主要途径之一。

浮游动物是水生食物网中的关键生物,一般被认为是初级生产者与高级消费者之间的桥梁,对维持淡水生态系统的稳定至关重要<sup>[24]</sup>。大型溞(*Daphnia magna*)广泛分布于池塘、湖泊等各种水体中,常被用作生态环境研究的模式动物<sup>[25]</sup>。大型溞具有多种诱导防御性状,包括生活史、形态和行为的变化,这些变化通常由捕食者释放的化学线索(包括代谢物、分泌物与共生微生物等)所触发<sup>[26-27]</sup>。大型溞肠道微生物的组成与多样性高度依赖于其生存环境<sup>[27-28]</sup>,良好的肠道微生物组成有助于大型溞的生长代谢、毒性耐受以及营养物质供给<sup>[29-31]</sup>,肠道菌群紊乱的大型溞可能会出现炎症反应,甚至死亡。因此,大型溞的防御表型及肠道微生物组成的改变可以用于评估环境压力。

相较于直接胁迫,小管福寿螺的间接胁迫在引起本土物种种群衰退中起着更为关键的作用<sup>[32]</sup>,然而已有的研究仅针对本土底栖动物,缺少小管福寿螺间接胁迫对本土其他生态位物种影响的科学证据。浮游动物作为水生生态系统中的关键类群,其种群动态和适应性变化对维持生态平衡具有重要意义。大型溞对外界环境反应迅速,在面对小管福寿螺的入侵时,会在形态与生活史方面产生一系列的进化反应来响应压力。本研究以实验室稳定传代的大型溞为实验对象,研究小管福寿螺入侵的非捕食性间接胁迫对大型溞生活史、形态、抗氧化性能和肠道微生物的影响,为小管福寿螺入侵对本土浮游动物群落的生态风险评估提供了重要的理论依据,有效支撑生物入侵防控策略的研发。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物的饲养

本研究中所用实验动物大型溞从中国科学院水生生物研究所获得,在实验室中经过多代培养得到纯品系品种。将实验室单克隆的大型溞

培养在装有 COMBO 培养基的 1 L 烧杯中。实验期间大型溞的饲养条件维持不变[(温度 25 °C, 光暗比 14 h: 10 h, 光强 30  $\mu\text{mol}/(\text{m}\cdot\text{s})$ )]。大型溞的种群密度维持在低于 60 只/L,隔天投加蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),每两周更新培养基。以含有 5 个新生大型溞的烧杯作为亲本杯,取亲虫产出的第 3 窝大型溞新虫(<12 h 龄)为受试个体。

小管福寿螺采集于广东省肇庆市一个天然湖泊,中国圆田螺(*Cipangopaludina chinensis*)采集于山东微山湖,用于本土物种对照。两种螺各 100 只,分别被饲养于 76 L 的塑料水族箱中,其内含有 50 L 的曝气自来水,暂养 14 d 即可用于实验。每天以 0.1 mg/ind. 的量投喂商品鱼饲料粉末(Tetramin, 德国)。

由于病原菌被认为是小管福寿螺产生间接胁迫的主要原因之一,通过 LIU 等的方法<sup>[23]</sup>建立了小管福寿螺限菌模型(Limiting bacteria *P. canaliculata* model, LBPC),添加 0.1 g/L 的抗菌肽(诺必清, 中国)处理小管福寿螺 4 d。前期研究已证明使用该抗菌肽可限制小管福寿螺肠道内病原菌的活性,且对其无致死作用。

### 1.2 实验设计

本实验采用非接触式暴露实验,在容积为 1 250 mL 的圆形聚乙烯盒内放入带有小孔的聚乙烯小盒,允许水流通过,并确保两侧动物无法相互接触。无螺对照组(Ctr)的小盒内不放置任何动物,本土中国圆田螺对照组(CC)在小盒内放置 1 只中国圆田螺[体质量( $3.0 \pm 0.2$ )g],小管福寿螺组(PC)放置 1 只小管福寿螺[体质量( $7.0 \pm 0.5$ )g],限制菌群的小管福寿螺组(LBPC)则放置 1 只 LBPC 小管福寿螺[体质量( $7.0 \pm 0.5$ )g]。每个体系内放置有 6 只<12 h 龄的大型溞,所有体系均进行 3 次重复。实验持续 14 d,每 24 h 记录初始存活个体和新生个体数量,在实验结束时测量了 6 龄(性成熟期)和 10 龄的大型溞的体长及尾刺长度,并计算相对尾刺长(尾刺长/体长)。

### 1.3 抗氧化活性检测

在实验结束时各组分别取 3 只 10 龄的大型溞,加入 1.5 mL 生理盐水后在冰上匀浆,低温离心(2 500 r/min)10 min 后,收集上清液,使用商用试剂盒(南京建成生物工程研究所, 中国南京)测量丙二醛((MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和过

氧化氢酶(CAT)。每组样品以蛋白质含量进行标准化计算,所有实验均重复3次。

#### 1.4 肠道微生物检测

取 Ctr、LBPC 与 PC 组的 6 龄大型蚤用于肠道菌群组成分析。3 只来自于同一实验组的性成熟的大型蚤在无菌环境下以无菌 PBS 冲洗 3 次后,用 75% 的乙醇体表处理 2~3 min,继续用无菌 PBS 冲洗 3 次,快速使用液氮冻存, -80 °C 保存。根据 DNA 试剂盒[天根生物科技(北京)有限公司]的说明从大型蚤样品中提取总基因组 DNA。使用引物对 338F: 5'- ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3' 和 806R: 5'- GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3' 扩增细菌 16S rRNA 基因的 V3-V4 区。使用 USEARCH(版本 10.0)将具有超过 97% 相似性阈值的合格序列分配给一个操作分类单元(OTU)。OTU/ASV 的分类注释是基于 QIIME2 及 SILVA 数据库进行的,置信度阈值为 70%。使用 QIIME2 软件分析各样本的 Alpha 多样性。通过主坐标分析(PCoA)分析 Beta 多样性,以评估样本多样性的物种复杂性。通过 PICRUST2 软件预测大型蚤肠道微生物的功能。

#### 1.5 数据分析

数据以平均数 ± 标准误(SE)表示,使用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。若数据呈正态分布,对于仅有两组的实验,采用双尾 Student's t 检验分析显著性差异;对于多个组,采用 Tukey 检验的方差分析(ANOVA)确定组间的显著性差异。 $P < 0.05$  表示差异有统计学意义,使用 GraphPad Prism 绘制结果图。

## 2 结果

### 2.1 小管福寿螺间接胁迫对大型蚤 6 龄期的可测性状的影响

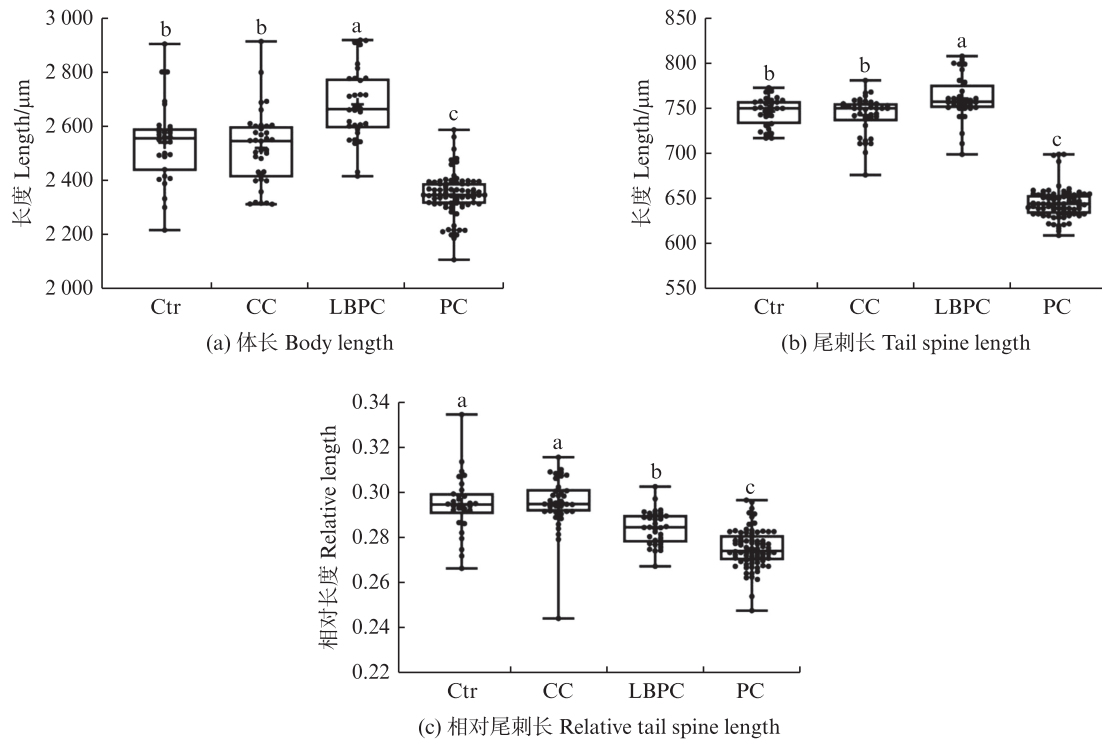
小管福寿螺间接胁迫能够诱导 6 龄期大型蚤体型缩小和尾刺长度缩短,而中国圆田螺以及 LBPC 小管福寿螺则无该能力。PC 组 6 龄期大型蚤的体长  $[(2\,347.61 \pm 80.50) \mu\text{m}]$  显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 1a), 而 LBPC 组的体长  $[(2\,680.81 \pm 132.92) \mu\text{m}]$  显著高于 Ctr 组

$[(2\,540.20 \pm 147.05) \mu\text{m}]$  与 CC 组  $[(2\,520.32 \pm 136.37) \mu\text{m}]$ 。6 龄期大型蚤的尾刺长度在各组的变化与体长一致,PC 组  $[(644.84 \pm 17.21) \mu\text{m}]$  显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 1b), 而 LBPC 组  $[(761.00 \pm 25.23) \mu\text{m}]$  则显著高于 Ctr 组  $[(746.47 \pm 15.94) \mu\text{m}]$  与 CC 组  $[(742.43 \pm 21.65) \mu\text{m}]$ 。相似的,6 龄期大型蚤的相对尾刺长在 PC 组显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 1c), 而 LBPC 组的相对尾刺长显著高于 PC 组 ( $P < 0.05$ ) 但显著低于 Ctr 组和 CC 组 ( $P < 0.05$ )。

小管福寿螺也可诱导 10 龄期大型蚤体型和尾刺长度的减小,这与 6 龄期的趋势是一致的。PC 组的 10 龄期大型蚤体长  $[(3\,259.56 \pm 74.40) \mu\text{m}]$  显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 2a), 而 CC 组的体长  $[(3\,824.59 \pm 77.10) \mu\text{m}]$  显著高于 Ctr 组与 LBPC 组, Ctr 组的 10 龄期大型蚤体长  $[(3\,727.78 \pm 101.39) \mu\text{m}]$  显著高于 LBPC 组  $[(3\,574.57 \pm 113.32) \mu\text{m}]$ 。PC 组的 10 龄期大型蚤的尾刺长  $[(669.89 \pm 9.27) \mu\text{m}]$  显著低于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 2b), LBPC 组的尾刺长  $[(764.62 \pm 12.26) \mu\text{m}]$  显著高于 Ctr 组  $[(764.00 \pm 13.31) \mu\text{m}]$  与 CC 组  $[(777.14 \pm 12.98) \mu\text{m}]$ 。相对尾刺长度方面, LBPC 组显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 2c)。

### 2.2 小管福寿螺间接胁迫对大型蚤生命周期的影响

小管福寿螺间接胁迫具有诱导大型蚤快速繁殖与发育的能力。经过 14 d 的间接暴露,PC 组的大型蚤平均数量为 107.00 ind., 显著高于 Ctr 组。PC 组的幼年大型蚤(75.00 ind.)与 6 龄期大型蚤(25.67 ind.)的平均数量显著高于 Ctr 组 ( $P < 0.05$ , 图 3a), 而 LBPC 组幼年大型蚤的平均数量(31.67 ind.)也显著高于 Ctr 组(14.67 ind.), 但 6 龄期大型蚤平均数量(10.67 ind.)与 Ctr 组(10.00 ind.)无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。各组 10 龄期大型蚤平均数量无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。PC 组的大型蚤平均产生后代数(17.11 ind.)显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ , 图 3b), LBPC 组(7.39 ind.)则显著高于 Ctr 组(3.67 ind.)。

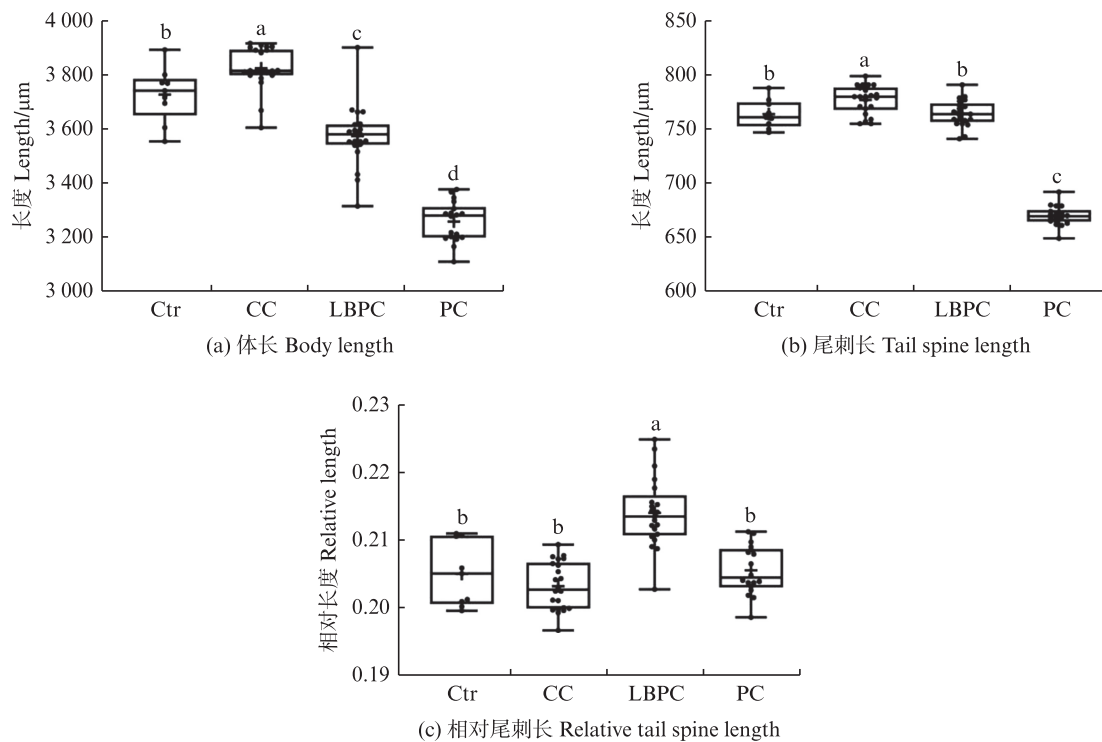


Ctrl.  $n=30$ ; CC.  $n=37$ ; LBPC.  $n=32$ ; PC.  $n=77$ 。数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Ctrl.  $n=30$ ; CC.  $n=37$ ; LBPC.  $n=32$ ; PC.  $n=77$ 。Value columns with different lowercase letters mean significant difference ( $P < 0.05$ )。

图1 不同螺的间接胁迫对大型溞6龄期时可测性状的影响

Fig. 1 Effects of indirect stress of different snails on the measurable traits of *Daphnia magna* at 6th instar



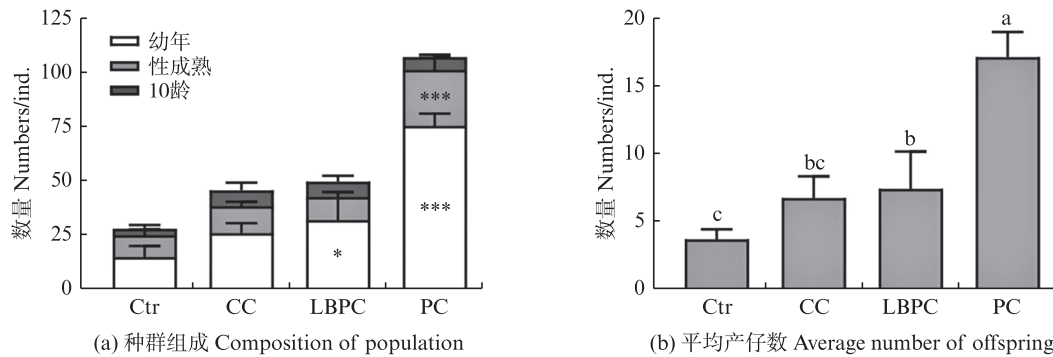
Ctrl.  $n=9$ ; CC.  $n=22$ ; LBPC.  $n=21$ ; PC.  $n=18$ 。数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Ctrl.  $n=9$ ; CC.  $n=22$ ; LBPC.  $n=21$ ; PC.  $n=18$ 。Value columns with different lowercase letters mean significant difference ( $P < 0.05$ )。

图2 不同螺的间接胁迫对大型溞10龄期时可测性状的影响

Fig. 2 Effects of indirect stress of different snails on the measurable traits of *Daphnia magna* at 10th instar





数据柱形标注“\*”表示与Ctr组相比差异显著 ( $P < 0.05$ ), “\*\*\*”表示差异极其显著 ( $P < 0.001$ )。数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Value columns with “\*” above mean significant difference ( $P < 0.05$ ) with the Ctr group, while “\*\*\*” mean a highly significant difference ( $P < 0.001$ ). Value columns with different lowercase letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ).

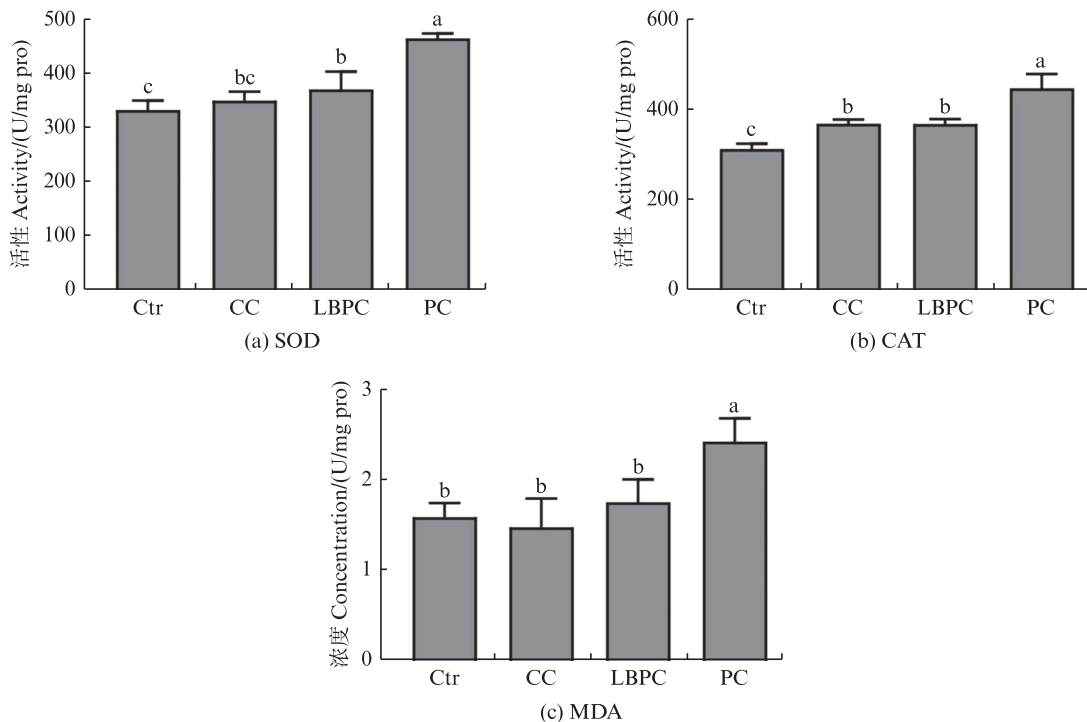
图3 不同螺的间接胁迫对大型溞种群生命周期的影响

Fig. 3 Effects of indirect stress of different snails on the life cycle of *Daphnia magna* population

### 2.3 小管福寿螺间接胁迫对大型溞抗氧化酶活性的影响

小管福寿螺的间接暴露引起了大型溞的氧化应激,而中国圆田螺及LBPC小管福寿螺则没有此效果。PC组的SOD活性与CAT活性显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ,图 4a~b),其SOD活性分别是Ctr、CC组

与LBPC组的1.40倍、1.32倍与1.25倍,CAT活性则分别达到1.43倍、1.21倍与1.21倍。而LBPC组与CC组的CAT活性也显著高于Ctr组 ( $P < 0.05$ ),为其活性的1.18倍。PC组的MDA浓度显著高于其他各组 ( $P < 0.05$ ,图 4c),其浓度达到 Ctr 组、CC 组与 LBPC 组的1.64倍、1.53倍与1.38倍。



数据柱形标注不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ )。

Value columns with different lowercase letters mean significant difference ( $P < 0.05$ ).

图4 不同螺的间接胁迫对大型溞的抗氧化酶活性的影响

Fig. 4 Effects of indirect stress of different snails on antioxidant enzyme activities of *Daphnia magna*

## 2.4 小管福寿螺间接胁迫对大型溞肠道微生物的影响

为系统解析小管福寿螺间接胁迫对大型溞肠道菌群的影响,通过分析肠道微生物多样性、肠道微生物组成以及预测的功能,揭示入侵胁迫作用下宿主-肠道微生物互作关系的潜在作用机制。

### 2.4.1 小管福寿螺间接胁迫对大型溞肠道微生物多样性的影响

Ctr、LBPC 与 PC 组的大型溞的肠道微生物  $\alpha$

多样性存在差异,其中 Ctr 组与 PC 组的 ACE 指数、Chao1 指数、Simpson 指数均显著高于 LBPC 组 ( $P < 0.05$ , 表 1), 而 Ctr 组的 Shannon 指数显著高于 PC 组与 LBPC 组 ( $P < 0.05$ )。基于细菌群落的 Bary - Curtis 距离,通过主坐标分析 (PCoA) 评估了 Ctr、LBPC 与 PC 组的大型溞肠道微生物组成的差异,发现 3 组的大型溞肠道微生物存在着明显的差异 (图 5)。

表 1 三种处理方式下的大型溞的肠道菌群  $\alpha$  多样性指数

Tab. 1  $\alpha$  diversity index of intestinal microbes of *Daphnia magna* under three treatments

分组 Group	ACE 指数 ACE index	Chao1 指数 Chao1 index	Simpson 指数 Simpson index	Shannon 指数 Shannon index	覆盖度 Coverge
Ctr	1 507.45 $\pm$ 12.78 <sup>a</sup>	1 504.89 $\pm$ 12.15 <sup>a</sup>	0.98 $\pm$ 0 <sup>a</sup>	8.05 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>	0.999 7
LBPC	834.98 $\pm$ 59.14 <sup>b</sup>	831.48 $\pm$ 60.38 <sup>b</sup>	0.83 $\pm$ 0.01 <sup>b</sup>	4.70 $\pm$ 0.09 <sup>c</sup>	0.999 5
PC	1 413.17 $\pm$ 128.73 <sup>a</sup>	1 412.42 $\pm$ 128.18 <sup>a</sup>	0.97 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	7.89 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>	0.999 7

注:同行不同小写字母表示显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

Notes: Different lowercase letters in the same row indicate significant differences ( $P < 0.05$ ).

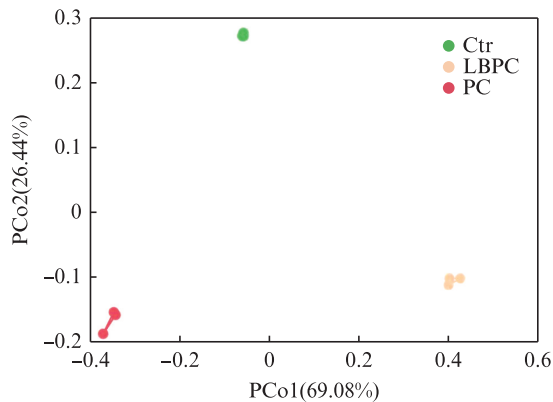


图 5 不同螺的间接胁迫下大型溞的肠道微生物  $\beta$  多样性 PCoA

Fig. 5 PCoA of  $\beta$  diversity in the intestinal microbes of *Daphnia magna* under indirect stress of different snails

### 2.4.2 小管福寿螺间接胁迫对大型溞肠道微生物组成的影响

各组在门水平上,相对丰度较大的为变形菌门 (Proteobacteria)、厚壁菌门 (Firmicutes) 与拟杆菌门 (Bacteroidota), 其中变形菌门在 Ctr 组的相对丰度是 PC 组的 1.98 倍。拟杆菌门在 PC 组的相对丰度分别是 LBPC 组与 Ctr 组的 3.84 倍与 2.13 倍 (图 6a)。在属水平上,另枝菌属 (*Alistipes*)、unclassified\_Muribaculaceae、unclassified\_Lachnospiraceae、拟杆菌属 (*Bacteroides*) 与 *Lachnospiraceae*\_NK4A136\_group 是 PC 组大型溞肠道中的优势菌属,但这些菌属在 Ctr 组及 LBPC 组的相对丰度并不高 (图 6b)。

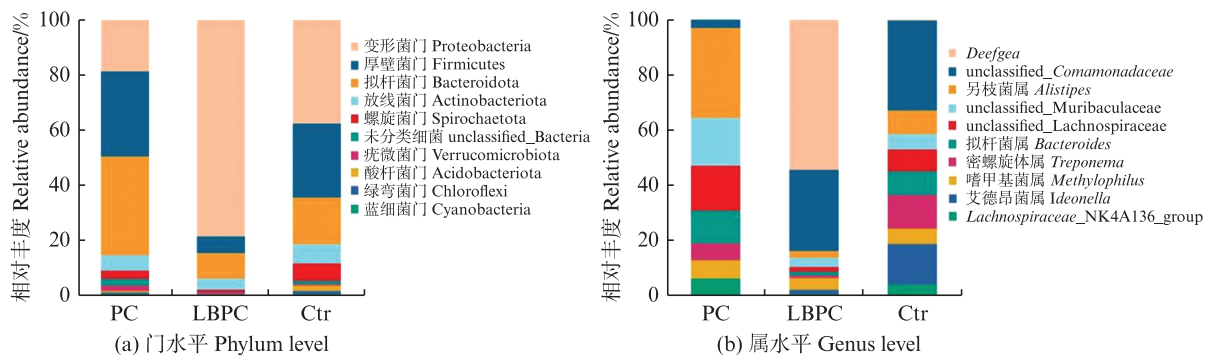


图 6 不同螺的间接胁迫对大型溞的肠道微生物组成的影响

Fig. 6 Effects of indirect stress of different snails on intestinal microbial composition of *Daphnia magna*

### 2.4.3 小管福寿螺间接胁迫对大型溞肠道微生物预测功能的影响

通过 Picrust 数据库预测了各组大型溞肠道微生物三级通路的基因功能,发现 16 条在 3 组内富集量>1% 的信号通路,其中有 10 条通路在 PC 组的相对丰度高于 Ctr 组与 LBPC 组,这些通路主要与氨基酸、核酸以及其次生产物的代谢与合成相关。除此外,PC 组的抗生素生物合成通路的相对丰度也高于 Ctr 组与 LBPC 组,但 PC 组的微生物新陈代谢、ABC 转运系统等 6 条与碳代谢、微生物信息及免疫相关的信号通路的相对丰度比 Ctr 组与 LBPC 组低(图 7)。

## 3 讨论

诱导型防御在维持水域生态系统的种间关系中发挥着重要的作用<sup>[33-34]</sup>。大型溞对其他物种释放的信息素、微生物及类似物质十分敏感,当大型溞受到环境胁迫时,其第一触角快速识别化学信号<sup>[35]</sup>,并将化学信号与受体结合<sup>[36]</sup>,随后整合神经元信号并转化为内分泌因子<sup>[37]</sup>,从而调节自身生长并产生诱导型防御<sup>[38]</sup>,这主要表现在体型与生命周期的迅速变化。因此,大型溞常作为

模式物种被用于评估其他动物产生的微生物或信息素等物质的作用机制<sup>[39-40]</sup>。

小管福寿螺的捕食作用会导致部分特定浮游动物的区域性灭绝<sup>[40]</sup>,且其可通过分泌病原微生物与其他化学物质危害本土物种<sup>[5]</sup>。大型溞在面对小管福寿螺的捕食性胁迫与分泌物胁迫的影响下,会发生多方面的诱导型防御,这种改变与大型溞在面对不良环境胁迫或鱼类捕食者胁迫时是一致的,即减小性成熟期个体的体长与尾刺长<sup>[40]</sup>,以减少构建机体所需的能量,而大量节省下来的能量被用于繁殖与加快自身的生命周期<sup>[39-41]</sup>,快速的产生大量小个体的子代,从而确保种群的延续<sup>[42]</sup>。在本研究中,PC 组的大型溞不论在 6 龄还是 10 龄体长均显著降低,繁殖量则显著提高,这提示了小管福寿螺对大型溞产生了间接胁迫压力,大型溞通过产生诱导型防御,减少了构建体型的能量投入<sup>[40]</sup>,而这种改变是长期而深远的,会逐渐减少大型溞子代的体型大小,最后使其生态位发生改变。而在 LBPC 组,大型溞的体型与 CC 组及 Ctr 组相似,这提示小管福寿螺外排的微生物可能是引起浮游动物产生诱导性防御的主要原因之一。

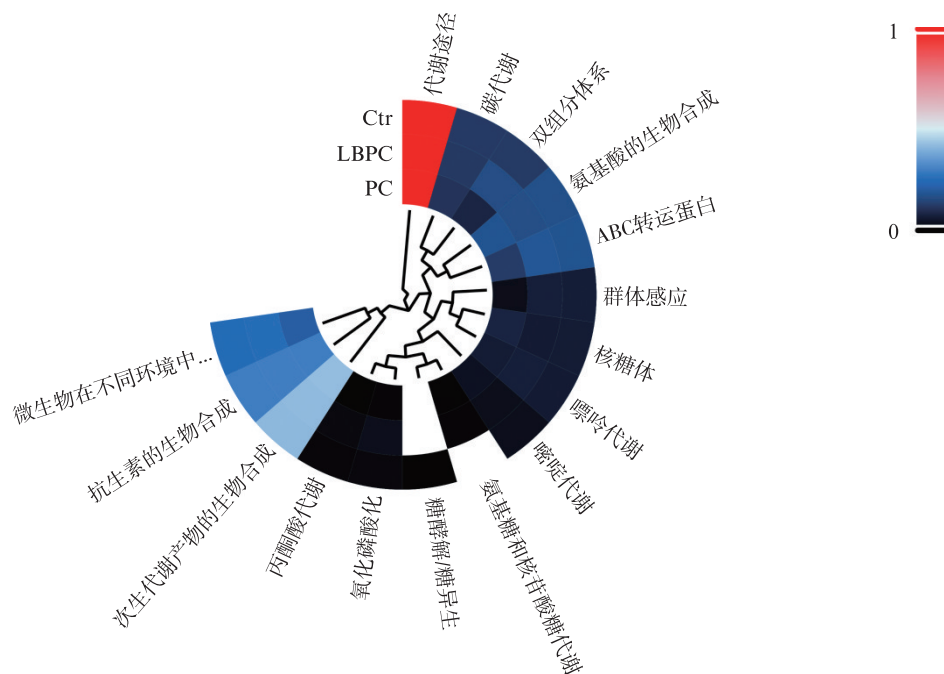


图 7 不同螺的间接胁迫对大型溞的肠道微生物功能基因预测的影响  
Fig. 7 Effects of indirect stress of different snails on the prediction of intestinal microbial functional genes in *Daphnia magna*

入侵物种对本土物种产生竞争与捕食作用,是生态系统中常见的生物性胁迫源,可导致本土物种处于长期的氧化应激状态。如入侵性的蜜蜂(*Vespa velutina*)可使本土蜜蜂种群产生广泛的氧化应激,从而导致其种群衰退<sup>[43]</sup>,小管福寿螺也被证实可以通过分泌物影响本土底栖动物,引起其种群内产生广泛的氧化应激<sup>[5]</sup>。氧化应激是指机体在内外环境有害刺激的条件下,体内产生的活性氧自由基(Reactive oxygen species, ROS)超过机体自身抗氧化系统的清除自由基能力,造成体内氧化系统和抗氧化系统失衡,产生氧化损伤,从而导致的细胞和组织的生理和病理反应。在抗氧化系统中, SOD 是抵抗氧化损伤的主要防线<sup>[44]</sup>,而 CAT 通过分解过氧化氢,在生物防御系统中发挥重要作用<sup>[44]</sup>,MDA 则是脂质过氧化的主要产物<sup>[45]</sup>。研究<sup>[46-47]</sup>指出,大型蚤在面对很强的环境污染时才会表现出明显的抗氧化酶活性改变,本研究也发现,小管福寿螺的暴露可以导致大型蚤群体出现氧化应激现象。使大型蚤体内的 SOD 与 CAT 的活性,及 MDA 的浓度显著上升,而本土的中国圆田螺,以及压制了肠道菌群的小管福寿螺则无此现象,这说明小管福寿螺向环境中外排的物质中含有促氧化剂,这很可能是它肠道内的病原菌,这是引起浮游动物氧化损伤的潜在原因之一,该结果与大型蚤的形态学及种群动态表现出一致性。

动物体内存在大量且复杂的共生细菌群落,它们具有高度的可塑性,能够根据环境变化重新配置,进而帮助宿主对外界生存环境做出快速响应<sup>[48-49]</sup>。在本研究中,小管福寿螺的入侵对大型蚤的肠道微生物组成产生了影响,另枝菌属、*unclassified\_Lachnospiraceae*、拟杆菌属与 *Lachnospiraceae\_NK4A136\_group* 具有调节机体炎症反应的能力<sup>[50-53]</sup>,而 *unclassified\_Muribaculaceae* 则是调节机体代谢的重要菌群<sup>[44]</sup>,以上菌群在 PC 组显著富集,而在 LBPC 组与 Ctr 组的丰度则很低,这说明在小管福寿螺的入侵下,大型蚤的肠道微生物向着抗炎与增强代谢能力方向漂变,从而使大型蚤可以适应小管福寿螺产生的间接胁迫,促进宿主快速的繁殖产生子代。通过 PICRUSt2 预测大型蚤的肠道微生物功能发现, LBPC 组与 Ctr 组的大型蚤肠道微生物的代谢功能预测通路极其相近,而 PC 组的大型

蚤代谢能力明显增强,提示大型蚤可能需要产生更多的能量应对小管福寿螺入侵后的不良环境。除此之外,大型蚤肠道微生物的抗生素合成与代谢能力增强,可能是用于抵抗小管福寿螺分泌的病原菌,而 ABC 转运能力的减弱可能标志着 PC 组的大型蚤肠道发生了慢性炎症。抗菌肽影响了小管福寿螺肠道微生物的组成,压制了病原菌的丰度<sup>[23]</sup>,导致小管福寿螺向水环境中外排的病原菌丰度减小。此外, LBPC 组小管福寿螺也可能存在未完全代谢的抗菌肽,其进入水体后可能影响小管福寿螺入侵水体的病原菌丰度,从而影响小管福寿螺对大型蚤在生长、繁殖及肠道微生物组成方面的间接胁迫作用。

综上所述,小管福寿螺入侵后的非捕食性胁迫会诱导大型蚤快速繁殖,减小其性成熟期的体型和尾刺长,同时引起了大型蚤种群的氧化应激,提高其肠道菌群中抗炎类的细菌丰度,并增强了代谢功能,从而使整体种群产生诱导型防御进化,而抑制小管福寿螺肠道内的病原菌丰度可缓解上述效果,这证明小管福寿螺释放的病原菌可能是引起浮游动物应激的主要因素之一。本研究丰富了小管福寿螺与本土浮游动物的种间互作机理,对小管福寿螺生活史策略的揭示具有重要的意义。

作者声明本文无利益冲突。

#### 参考文献:

- [1] SIMBERLOFF D, MARTIN J L, GENOVESI P, et al. Impacts of biological invasions: what's what and the way forward [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2013, 28 (1): 58-66.
- [2] STIEF P. Stimulation of microbial nitrogen cycling in aquatic ecosystems by benthic macrofauna: mechanisms and environmental implications [J]. *Biogeosciences*, 2013, 10(12): 7829-7846.
- [3] MELOTTO A, MANENTI R, FICETOLA G F. Rapid adaptation to invasive predators overwhelms natural gradients of intraspecific variation [J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3608.
- [4] ESCALAS A, AVOUAC A, BELMAKER J, et al. An invasive herbivorous fish (*Siganus rivulatus*) influences both benthic and planktonic microbes through defecation and nutrient excretion [J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 838: 156207.
- [5] LIU M Y, SUI C, WANG B L, et al. Effects of short-



- term exposure to *Pomacea canaliculata* secretions on *Limnodrilus hoffmeisteri* and *Propillocerus akamusi*: a study based on behavior, intestinal microbiota, and antioxidant system[J]. Ecology and Evolution, 2024, 14(6): e11591.
- [6] SUI C, LIU M Y, CHUAN S, et al. Responses of survival, antioxidant system and intestinal microbiota of native snail *Bellamya purificata* to the invasive snail *Pomacea canaliculata* [J]. Scientific Reports, 2024, 14(1): 21267.
- [7] 郭靖. 非专一性天敌对福寿螺的控制效果及其互作机制研究[D]. 广州: 华南农业大学, 2018.
- GUO J. Control effectiveness of nonspecific predators on *Pomacea canaliculata* and their interaction mechanisms [D]. Guangzhou: South China Agricultural University, 2018.
- [8] CARLSSON N O L, BRÖNMARK C, HANSSON L A. Invading herbivory: the golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands [J]. Ecology, 2004, 85(6): 1575-1580.
- [9] KWONG K L, CHAN R K Y, QIU J W. The potential of the invasive snail *Pomacea canaliculata* as a predator of various life-stages of five species of freshwater snails [J]. Malacologia, 2009, 51(2): 343-356.
- [10] MATSUKURA K, IZUMI Y, YOSHIDA K, et al. Cold tolerance of invasive freshwater snails, *Pomacea canaliculata*, *P. maculata*, and their hybrids helps explain their different distributions [J]. Freshwater Biology, 2016, 61(1): 80-87.
- [11] KARRAKER N E, DUDGEON D. Invasive apple snails (*Pomacea canaliculata*) are predators of amphibians in South China [J]. Biological Invasions, 2014, 16(9): 1785-1789.
- [12] WOOD T S, ANURAKPONGSATORN P, CHAICHANA R, et al. Heavy predation on freshwater bryozoans by the golden apple snail, *Pomacea canaliculata* Lamarck, 1822 (Ampullariidae) [J]. The Natural History Journal of Chulalongkorn University, 2006, 6(1): 31-36.
- [13] O'NEIL C M, GUO Y X, PIERRE S, et al. Invasive snails alter multiple ecosystem functions in subtropical wetlands [J]. Science of the Total Environment, 2023, 864: 160939.
- [14] 房苗. 入侵种福寿螺对本地种铜锈环棱螺的影响与作用机制[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- FANG M. Mechanism and effects of invasive species apple snails (*Pomacea canaliculata*) on indigenous species *Bellamya aeruginosa* [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.
- [15] 房苗, 徐猛, 罗渡, 等. 入侵种福寿螺的养殖液对水环境及本地种铜锈环棱螺的影响[J]. 生态学杂志, 2016, 35(7): 1879-1888.
- FANG M, XU M, LUO D, et al. Impact of aquaculture liquid from invasive species apple snails (*Pomacea canaliculata*) on water quality and indigenous species *Bellamya aeruginosa* [J]. Chinese Journal of Ecology, 2016, 35(7): 1879-1888.
- [16] MALDONADO M A, MARTÍN P R. Dealing with a hyper-successful neighbor: effects of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* on exotic and native snails in South America [J]. Current Zoology, 2019, 65(3): 225-235.
- [17] WANG J X, LU X N, ZHANG J E, et al. Regulating soil bacterial diversity, community structure and enzyme activity using residues from golden apple snails [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 16302.
- [18] 刘洛源, 张叶军, 衡洋, 等. 摇蚊幼虫及霍普水丝蚓的生物扰动缓解福寿螺对梨形环棱螺生理胁迫[J]. 生态学杂志, 2021, 40(7): 2164-2174.
- LIU M Y, ZHANG Y J, HENG Y, et al. The bioturbation from larvae of *Chironomus* sp. and *Limnodrilus hoffmeisteri* alleviated the physiological stress of native species *Bellamya purificata* after invasion of *Pomacea canaliculata* [J]. Chinese Journal of Ecology, 2021, 40(7): 2164-2174.
- [19] CHEN L, LI S X, XIAO Q, et al. Composition and diversity of gut microbiota in *Pomacea canaliculata* in sexes and between developmental stages [J]. BMC Microbiology, 2021, 21(1): 200.
- [20] LI L H, LV S, LU Y, et al. Spatial structure of the microbiome in the gut of *Pomacea canaliculata* [J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 273.
- [21] LI S X, QIAN Z J, YANG J N, et al. Seasonal variation in structure and function of gut microbiota in *Pomacea canaliculata* [J]. Ecology and Evolution, 2022, 12(8): e9162.
- [22] 刘洛源. 福寿螺对梨形环棱螺的生态挤压作用及底栖动物生物扰动的影响[D]. 大连: 辽宁师范大学, 2021.
- LIU M Y. The ecological squeeze effect of *Pomacea canaliculata* on *Bellamya purificata* and the bioturbation of benthic animals on it [D]. Dalian: Liaoning Normal University, 2021.
- [23] LIU M Y, SUI C, WANG B L, et al. Effect of *Pomacea canaliculata* on *Limnodrilus hoffmeisteri*: behavior, oxidative stress, and microbiota alterations [J]. Ecology and Evolution, 2024, 14(11): e70603.
- [24] HAYS G C. A review of the adaptive significance and ecosystem consequences of zooplankton diel vertical migrations [J]. Hydrobiologia, 2003, 503(1/3): 163-170.
- [25] 曾平平. 两种捕食者对大型溞形态可塑性和种群密度的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2024.

- ZENG P P. Effects of two predators on morphological plasticity and population density of *Daphnia magna* [D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2024.
- [26] 刘琪, 孙运菲, 谷磊, 等. 氮对蚤状溞诱导型反捕食生活史防御的抑制效应[J]. 生态与农村环境学报, 2024, 40(2): 245-254.
- LIU Q, SUN Y F, GU L, et al. Inhibitory effects of ammonia on the predator-induced life-history defense of *Daphnia pulex* [J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2024, 40(2): 245-254.
- [27] EFFERTZ C, VON ELERT E. Light intensity controls anti-predator defences in *Daphnia*: the suppression of life-history changes[J]. Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 2014, 281(1782): 20133250.
- [28] CALLENS M, WATANABE H, KATO Y, et al. Microbiota inoculum composition affects holobiont assembly and host growth in *Daphnia* [J]. Microbiome, 2018, 6(1): 56.
- [29] MUSHEGIAN A A, EBERT D. Presence of microbiota reverses the relative performance of *Daphnia* on two experimental diets[J]. Zoology, 2017, 125: 29-31.
- [30] COOPER R O, CRESSLER C E. Characterization of key bacterial species in the *Daphnia magna* microbiota using shotgun metagenomics [J]. Scientific Reports, 2020, 10(1): 652.
- [31] MACKE E, CALLENS M, DE MEESTER L, et al. Host-genotype dependent gut microbiota drives zooplankton tolerance to toxic cyanobacteria [J]. Nature Communications, 2017, 8(1): 1608.
- [32] 刘洺源, 张叶军, 陈乃菲, 等. 入侵种小管福寿螺对本土物种梨形环棱螺的生态挤压作用[J]. 动物学杂志, 2021, 56(5): 663-673.
- LIU M Y, ZHANG Y J, CHEN N F, et al. Ecological squeezing effect of the invasive species *Pomacea canaliculata* on the indigenous species *Bellamya purificata* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2021, 56(5): 663-673.
- [33] DEMILLE C M, ARNOTT S E, PYLE G G. Variation in copper effects on kairomone-mediated responses in *Daphnia pulicaria* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2016, 126: 264-272.
- [34] HEINE-FUSTER I, ARÁNGUIZ-ACUÑA A, RAMOS-JILIBERTO R. Pesticide increases transgenerational cost of inducible defenses in a freshwater rotifer [J]. Hydrobiologia, 2017, 799(1): 249-260.
- [35] 柯志新, 黄良民. 溞类(*Daphnia*)反捕食的表型可塑性及其研究进展[J]. 湖泊科学, 2009, 21(6): 758-767.
- KE Z X, HUANG L M. Advance in the study on the anti-predator phenotypic plasticity of *Daphnia* [J]. Journal of Lake Sciences, 2009, 21(6): 758-767.
- [36] WEISS L C, KRUPPERT S, LAFORSCH C, et al. *Chaoborus* and *Gasterosteus* anti-predator responses in *Daphnia pulex* are mediated by independent cholinergic and gabaergic neuronal signals [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e36879.
- [37] MIYAKAWA H, IMAI M, SUGIMOTO N, et al. Gene up-regulation in response to predator kairomones in the water flea, *Daphnia pulex* [J]. BMC Developmental Biology, 2010, 10(1): 45.
- [38] FAGGIO C, TSARPALI V, DAILIANIS S. Mussel digestive gland as a model tissue for assessing xenobiotics: an overview [J]. Science of the Total Environment, 2018, 636: 220-229.
- [39] LI D, HUANG J, ZHOU Q M, et al. Artificial light pollution with different wavelengths at night interferes with development, reproduction, and antipredator defenses of *Daphnia magna* [J]. Environmental Science & Technology, 2022, 56(3): 1702-1712.
- [40] LIU Q, DENG Z Y, CHEN H F, et al. Changes in induced-antipredation defense traits and transcriptome regulations of *Daphnia magna* in response to 5-HT<sub>1A</sub> receptor antagonist [J]. Environmental Science & Technology, 2024, 58(17): 7577-7587.
- [41] REEDE TINEKE. Life history shifts in response to different levels of fish kairomones in *Daphnia* [J]. Journal of Plankton Research, 1995, 17(8): 1661-1667.
- [42] XU W C, CHANG M J, LI J Z, et al. Local thermal adaption mediates the sensitivity of *Daphnia magna* to nanoplastics under global warming scenarios [J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 476: 134921.
- [43] LEZA M, HERRERA C, MARQUES A, et al. The impact of the invasive species *Vespa velutina* on honeybees: a new approach based on oxidative stress [J]. Science of the Total Environment, 2019, 689: 709-715.
- [44] DUAN T C, WANG X Y, DONG X Y, et al. Broccoli-derived exosome-like nanoparticles alleviate loperamide-induced constipation, in correlation with regulation on gut microbiota and tryptophan metabolism [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2023, 71(44): 16568-16580.
- [45] 杨培, 朱玉晓, 李男. 桃仁红花煎联合康复训练对脑缺血再灌注损伤患者神经功能及血清MDA、bFGF、PTX3水平的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2024, 45(16): 2005-2009.
- YANG P, ZHU Y X, LI N. Effects of Taoren Honghua decoction combined with rehabilitation training on neurological function and serum MDA, bFGF, PTX3 levels in patients with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2024, 45(16): 2005-2009.
- [46] LI Y, FAN W H, YANG X L, et al. Aging effects of titanium dioxide on Cu toxicity to *Daphnia magna*:

- exploring molecular docking and significance of surface properties[J]. *Water Research*, 2024, 254: 121377.
- [47] 高嘉蔚, 赵莎莎, 李富云, 等. 微塑料对大型溞摄食和抗氧化防御系统的影响[J]. *环境科学研究*, 2021, 34(5): 1205-1212.
- GAO J W, ZHAO S S, LI F Y, et al. Effects of microplastics on feeding behavior and antioxidant system of *Daphnia magna* [J]. *Research of Environmental Sciences*, 2021, 34(5): 1205-1212.
- [48] ALBERDI A, AIZPURUA O, BOHMANN K, et al. Do vertebrate gut metagenomes confer rapid ecological adaptation? [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2016, 31(9): 689-699.
- [49] MOELLER A H, SANDERS J G. Roles of the gut microbiota in the adaptive evolution of mammalian species [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2020, 375(1808): 20190597.
- [50] XU Y X, LIU L D, ZHU J Y, et al. *Alistipes indistinctus*-derived hippuric acid promotes intestinal urate excretion to alleviate hyperuricemia [J]. *Cell Host & Microbe*, 2024, 32(3): 366-381. e9.
- [51] HUANG S B, CHEN J Z, CUI Z J, et al. *Lachnospiraceae*-derived butyrate mediates protection of high fermentable fiber against placental inflammation in gestational diabetes mellitus [J]. *Science Advances*, 2023, 9(44): eadi7337.
- [52] WANG C, GUO H, BAI J Y, et al. The roles of different *Bacteroides uniformis* strains in alleviating DSS-induced ulcerative colitis and related functional genes [J]. *Food & Function*, 2024, 15(7): 3327-3339.
- [53] WU M L, WANG Q, LI X D, et al. Gut microbiota-derived 5-hydroxyindoleacetic acid from pumpkin polysaccharides supplementation alleviates colitis via MAPKs-PPAR $\gamma$ /NF- $\kappa$ B inhibition [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2024, 264: 130385.

## Impact of indirect stress from invasive *Pomacea canaliculata* on the growth, reproduction and gut microbiota of *Daphnia magna*

LIU Mingyuan<sup>1</sup>, SUI Changrun<sup>1</sup>, ZHAO Wenyu<sup>1,2</sup>, QIU Zhujun<sup>1,2</sup>, FAN Chonghui<sup>1,2</sup>, ZHANG Yao<sup>1,2</sup>, WANG Yuqing<sup>1,2</sup>, ZHANG Qian<sup>1</sup>, LIU Ying<sup>1,3</sup>

(1. Key Laboratory of Environment Controlled Aquaculture, Ministry of Education, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China; 2. College of Marine Science and Environment, Dalian Ocean University, Dalian 116023, Liaoning, China; 3. College of Biosystems Engineering and Food Science, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang, China)

**Abstract:** The invasion of *Pomacea canaliculata* poses a significant threat to the survival of native species and disrupts the functioning of native ecosystems. *Daphnia magna*, known for its rapid reproduction, malleable body shape, and ease of observation, is frequently used as a model organism in environmental risk assessment studies. This study aimed to explore the effects of the invasion of *P. canaliculata* on the life history, morphology, antioxidant performance, and gut microbiota of *D. magna* by establishing four experimental groups: no-snail control group (Ctr), native snail *Cipangopaludina chinensis* group (CC), limited-bacterial *P. canaliculata* group (LBPC) and *P. canaliculata* group (PC). The results showed that the invasion of *P. canaliculata* promoted the growth, and reproduction of *D. magna*, and affected its life cycle. *D. magna* in the PC group had significantly reduced body length and tail spine length ( $P < 0.05$ ), while the population size and reproductive rate were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Additionally, the activity of antioxidant enzymes was significantly enhanced ( $P < 0.05$ ). Additionally, the  $\beta$ -diversity of intestinal microbiota in *D. magna* was significantly altered in the PC group ( $P < 0.05$ ), with predicted microbial pathways shifting toward anti-inflammatory functions and enhanced metabolic capacity. However, inhibiting pathogenic bacteria in the intestinal tract of *P. canaliculata* alleviated its indirect stress effects on the growth, reproduction, and intestinal microbiota composition of *D. magna*. These findings indicate that *P. canaliculata* exerts significant indirect pressure through non-predatory interactions, affecting the physiological characteristics and gut microbial community of *D. magna*, potentially posing a risk to native freshwater ecosystems, which may be partly attributed to changes in its gut microbiota. This study enriches the understanding of the interspecific interaction mechanisms between *P. canaliculata* and native zooplankton, providing important insights into the life history strategies of *P. canaliculata*.

**Key words:** *Pomacea canaliculata*; *Daphnia magna*; non-predatory indirect stress; antioxidant performance; gut microbiota; ecological impact