

DOI: 10.12264/JFSC2021-0294

营养代谢过程中黄条鰺幼鱼消化道菌群的演变趋势

姜燕¹, 于超勇², 徐永江¹, 柳学周¹, 王滨¹, 崔爱君¹, 薛致勇³

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266071;
2. 山东省海洋科学研究院(青岛国家海洋科学研究中心), 山东 青岛 266104;
3. 海阳市黄海水产有限公司, 山东 烟台 265100

摘要: 为认识消化道菌群结构在宿主营养代谢过程中的变化规律, 并探讨饵料菌群对其的影响, 采用 16S rDNA 高通量测序技术, 对黄条鰺(*Seriola lalandi*)幼鱼一个完整摄食周期内的消化道菌群结构特征进行研究, 并解析其与饵料菌群的相关性。结果显示, 乳杆菌属(*Lactobacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、弧菌属(*Vibrio*)和 *Faecalibacterium* 等是黄条鰺胃、幽门盲囊和肠道的共有优势定植菌群。结合营养代谢过程中优势菌属变化规律, 将乳杆菌属、肠弧菌属(*Enterovibrio*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、假单胞菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、*Escherichia-Shigella*、类芽孢杆菌属(*Paenibacillus*)、鞘氨醇单胞菌属、拟杆菌属、甲基单胞菌属(*Methylobacter*)、链霉菌属(*Streptomyces*)、气单胞菌属、弧菌属、普氏菌属(*Prevotella*)、芽孢乳杆菌属(*Sporolactobacillus*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)和 *Faecalibacterium* 作为本研究黄条鰺幼鱼消化道的核心菌群; 其中的乳杆菌属、芽孢杆菌属、双歧杆菌属、芽孢乳杆菌属是水产养殖中常见的潜在益生菌; 而假单胞菌属、气单胞菌属、弧菌属和发光杆菌属中的部分菌株被视为潜在病原菌; 研究结果揭示了潜在益生菌与致病菌始终以动态平衡的状态定植于健康幼鱼的消化道内, 并参与宿主生理活动, 从微生态角度保障宿主健康。通过优势菌群结构演变趋势分析发现, 饵料菌群对营养代谢过程消化道菌群相对丰度的影响较大, 进一步揭示了饵料微生物安全的重要性。

关键词: 黄条鰺; 消化道; 核心菌群; 演变趋势; 高通量测序

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)02-0252-12

在所有生命体中共存在 130 种水解酶、22 种多糖裂解酶、16 种碳水化合物酯酶, 而微生物基因组能够编码其中的大部分^[1-2]。消化道中定植着数以万亿计的微生物, 其组成、活性与宿主的遗传信息、营养水平及生存环境等息息相关^[3-5]。研究显示, 肠道菌群有助于鱼体能量的吸收^[6], 并且肉食性鱼类肠道中产蛋白酶的菌群丰度较高, 而草食性鱼类肠道中产淀粉酶和纤维素酶的菌群占据优势地位^[7]。可见, 消化道菌群在宿主营养消

化吸收过程中发挥了至关重要的作用。

黄条鰺(*Seriola lalandi*)是一种全球性分布的大洋性经济鱼类, 因其具有生长速度快、个体大、营养丰富、口感佳等特点, 成为我国发展深远海养殖的优良鱼种^[8]。伴随着我国相关单位的不断深入研究, 其繁育与养殖技术逐渐趋于成熟。目前, 关于黄条鰺种质遗传特性^[9-10]、生理生态环境^[11]、生殖与生长内分泌调控机制^[12-14]等方面的研究已取得一定成果。然而, 关于黄条鰺消化道菌群组

收稿日期: 2021-06-29; 修订日期: 2021-08-16.

基金项目: 国家重点研发计划项目(2018YFD0901204, 2019YFD0900901); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项经费项目(20603022021011, TD47, 2021GH05); 山东省支持青岛海洋科学与技术试点国家实验室重大科技专项(2018SDKJ0303-1).

作者简介: 姜燕(1985-), 女, 博士, 助理研究员, 研究方向为海水鱼类肠道健康研究. E-mail: jiangyan@ysfri.ac.cn

通信作者: 柳学周, 研究员, 研究方向为海水鱼类增殖技术. E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

成信息与分布特征方面的研究较少, 尤其是关于其营养消化吸收过程中消化道菌群演变趋势研究更是鲜有报道。本研究针对人工养殖环境条件下黄条鰺幼鱼消化道菌群结构特征开展研究, 并以此为基础, 追踪完整摄食周期内消化道各组织菌群结构的变化规律, 明确黄条鰺幼鱼消化道中的核心菌群, 为黄条鰺本土益生菌群的筛选提供基础数据, 并为从微生态调控角度促进营养消化吸收提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

本研究在海阳市黄海水产有限公司的工厂化循环水车间开展, 实验用黄条鰺均来自于当年同一批受精卵孵化而来的幼鱼, 随机挑选 200 尾体表无任何病症的健康黄条鰺幼鱼进行实验, 其体重为(246.31±42.30) g, 体长为(22.62±1.17) cm。

1.2 实验设计

将挑选的实验鱼随机分布于 2 个 3 m×3 m×2 m 的工厂化循环水养殖池中, 水深 1.5 m, 每个养殖池 100 尾幼鱼。2 个养殖池位于黄条鰺幼鱼养殖车间, 实验幼鱼养殖水环境条件、饵料类型等与工厂化养殖的幼鱼的养殖管理完全相同。幼鱼入池后先进行一段时间的驯化, 驯化期间饵料为冰冻玉筋鱼(*Ammodytes personatus*)(实验幼鱼驯化与正式实验期间, 冰鲜饵料均经简单冲洗后再投喂), 每天 7: 00 和 17: 00 分别进行饱食投喂, 每次摄食结束 30 min 后换水 1/2, 养殖池内始终保持流水状态。每次投喂时观察实验鱼摄食情况, 准确称量、计算并记录每次的摄食量, 当幼鱼连续 3 d 的摄食量相对稳定后开始正式实验。正式实验开始前先对幼鱼进行 48 h 的饥饿处理, 开始后按照驯化期间的投喂频率与时间进行饱食投喂, 摄食结束后捞出养殖池内残余的饵料, 实验期间的养殖管理与驯化期间的相同。驯化与实验期间, 水温 19~21 ℃, 溶解氧不低于 5 mg/L, 盐度 29~31, 氨氮浓度低于 0.1 mg/L。

1.3 实验样品采集与预处理

由于黄条鰺游速快且极易受惊, 在现有条件下, 为避免受惊对营养消化吸收造成不良影响,

本实验对 2 个养殖池采取轮流采集及小范围围捕的策略, 以最大程度降低捞鱼操作对实验鱼的惊扰。

以正式实验开始时的幼鱼第一个完整摄食周期为目标, 即正式实验开始的第一次投喂前(0 h), 摄食结束后的 1 h、2 h、4 h、6 h、8 h、10 h 分别从 2 个养殖池中轮流取样, 每次随机捞取 3 尾, 经 MS-222 (Fluka, USA)麻醉后, 于无菌环境下解剖并迅速取出消化道, 剔除消化道表面的血管和脂肪组织后用 75%乙醇迅速擦拭表面, 再用预冷的无菌生理盐水冲洗后于无菌条件下分离胃、幽门盲囊和肠道组织。将幽门盲囊和肠道分别采用无菌冻存管保存于液氮中备用, 将胃组织于无菌环境下纵向剖开, 如果胃组织内存在块/粒状内容物, 则用无菌镊子轻轻夹出丢弃, 将剩余半流体状态的内容物与胃组织一同采用无菌冻存管于液氮中保存备用。同时, 在投喂前随机选取 3 尾完整的冰鲜鱼饵料采用无菌冻存管于液氮中保存备用。具体的样品采集信息见表 1。

表 1 采集样品编号信息表							
Tab. 1 The ID information of collected samples							
样品 sample	采集时间/h collecting time						
	0	1	2	4	6	8	10
胃 stomach	AS	BS	CS	DS	ES	FS	GS
幽门盲囊 pyloric caecum	AP	BP	CP	DP	EP	FP	GP
肠道 gut	AG	BG	CG	DG	EG	FG	GG
饵料 feed	F						

1.4 微生物总 DNA 提取与高通量测序

将液氮中保存的样本取出, 分别于低温条件下充分研磨、混匀后, 分别取一小部分采用 Soil DNA Kit (OMEGA, USA)试剂盒提取微生物总 DNA, 通过 barcode 的特异性引物(341F: 5'-CC-TACGGGNGGCWGCAG-3', 806R: 3'-GGACTAC-HVGGGTATCTAAT-5')扩增 16S rDNA V3~V4 高变区序列, 然后 PCR 扩增产物切胶回收, 用 QuantiFluorTM 荧光计进行定量。将纯化的扩增产物进行等量混合, 连接测序接头, 构建测序文库, 采用 Hiseq2500 的 PE250 模式上机测序。

1.5 数据处理

对测序所得的原始数据进行质控、拼接、过

滤和去嵌合体等一系列处理,得到有效序列。按照相似性高于 97% 的序列聚类为 1 个 OTU (operational taxonomic units) 的原则,采用 Uparse (usearch v9.2.64) 软件对所有的有效序列进行归类操作,并选取每一个 OTU 的代表性序列,通过 RDP Classifier (version 2.2) 与 Silva (version v128) 数据库进行物种注释,其中的置信度阈值为 0.8~1; 采用 Tax4fun (0.3.1) 进行 Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) 功能预测。

通过 SPSS 25.0 对结果数据进行单因素方差分析(ANOVA),利用 Duncan's 检验对同一消化道组织不同取样时间点间的差异性进行多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。所有数值均采用平均值 $\pm$ 标准误($\bar{x} \pm SE$)表示。

2 结果与分析

2.1 测序结果

通过对测序数据的一系列处理,共得到 2450752 条有效序列,平均每个样品测序深度为 37133 条,结合基于 OTU 水平的稀释曲线可以看出,该实验的测序深度已经基本覆盖到样品中的所有物种(图 1)。基于 OTU 水平的秩丰度(rank abundance)曲线如图 2 所示,从图中可以看出,实验样品的菌群丰富度均较高,并且物种的分布也相对比较均匀。

2.2 消化道菌群结构特征

在胃内,魏斯氏菌属(*Weissella*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、弧菌属(*Vibrio*)和普氏菌属(*Prevotella*)等为摄食前的优势菌属(图 3a)。摄食后 1 h 时,魏斯氏菌属、乳杆菌属、乳球菌属、弧菌属等的相对丰度迅速下降,而不动杆菌属、鞘氨醇单胞菌属(*Sphingomonas*)、假单胞菌属、*Escherichia-Shigella* 和拟杆菌属(*Bacteroides*)等的相对丰度迅速上升。随着营养的消化吸收,魏斯氏菌属、乳球菌属、假单胞菌属整体呈现逐渐下降的趋势;乳杆菌属、弧菌属的相对丰度在 2 h 时出现上升趋势,之后相对比较稳定,但是 10 h 时乳杆菌属的相对丰度低于摄食前,而弧菌属的则高于摄食前。不动杆菌

属、鞘氨醇单胞菌属、*Escherichia-Shigella* 和拟杆菌属的相对丰度在 2 h 时出现下降趋势,随后又出现一定范围的波动,但 10 h 时的相对丰度仍然高于摄食前的。双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)整体呈现上升-下降-上升的趋势,在 4 h 和 10 h 时相对丰度较高。

幽门盲囊内乳杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、弧菌属、鲸杆菌属(*Cetobacterium*)、发光

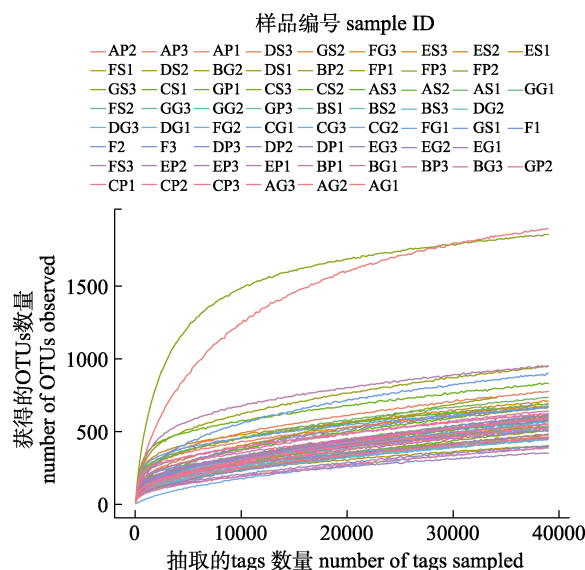


图 1 黄条鲷幼鱼消化道和饵料样品的稀释曲线

AS、BS、CS、DS、ES、FS 和 GS 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的胃组织,其中,AS1、AS2 和 AS3 分别表示 0 h 时胃组织的 3 个平行样本;AP、BP、CP、DP、EP、FP 和 GP 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的幽门盲囊样品,其中,AP1、AP2 和 AP3 分别表示 0 h 时幽门盲囊的 3 个平行样本;AG、BG、CG、DG、EG、FG 和 GG 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的肠道组织,其中,AG1、AG2 和 AG3 分别表示 0 h 时肠道组织的 3 个平行样本;F 表示饵料,其中, F1、F2 和 F3 分别表示 3 个平行样本。

Fig. 1 Rarefaction curves of juvenile *Seriola lalandi* gastrointestinal tract and feed

AS, BS, CS, DS, ES, FS and GS represent the stomach samples at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AS1, AS2 and AS3 represent three parallel samples for AS. The same for other stomach samples. AP, BP, CP, DP, EP, FP and GP represent the pyloric caecum sample at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AP1, AP2 and AP3 represent three parallel samples for AP. The same for other pyloric caecum samples. AG, BG, CG, DG, EG, FG and GG represent the gut sample at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AG1, AG2 and AG3 represent three parallel samples for AG. The same for other gut samples. F represents the feed samples, while F1, F2 and F3 represent three parallel samples.

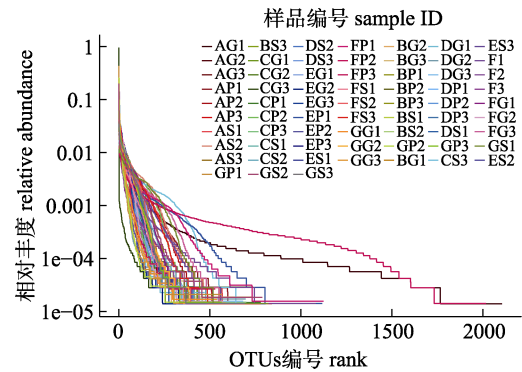


图 2 黄条鰺幼鱼消化道和饵料样品的 Rank-abundance 曲线

AS、BS、CS、DS、ES、FS 和 GS 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的胃组织, 其中, AS1、AS2 和 AS3 分别表示 0 h 时胃组织的 3 个平行样本; AP、BP、CP、DP、EP、FP 和 GP 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的幽门盲囊样品, 其中, AP1、AP2 和 AP3 分别表示 0 h 时幽门盲囊的 3 个平行样本; AG、BG、CG、DG、EG、FG 和 GG 分别表示不同取样时间 0 h、1 h、2 h、4 h、6 h、8 h 和 10 h 的肠道组织, 其中, AG1、AG2 和 AG3 分别表示 0 h 时肠道组织的 3 个平行样本; F 表示饵料, 其中, F1、F2 和 F3 分别表示 3 个平行样本。

Fig. 2 The Rank-abundance distribution curves of juvenile *Seriola lalandi* gastrointestinal tract and feed AS, BS, CS, DS, ES, FS and GS represent the stomach samples at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AS1, AS2 and AS3 represent three parallel samples for AS. The same for other stomach samples. AP, BP, CP, DP, EP, FP and GP represent the pyloric caecum sample at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AP1, AP2 and AP3 represent three parallel samples for AP. The same for other pyloric caecum samples. AG, BG, CG, DG, EG, FG and GG represent the gut sample at 0 h, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 10 h, respectively, while AG1, AG2 and AG3 represent three parallel samples for AG. The same for other gut samples. F represents the feed samples, while F1, F2 and F3 represent three parallel samples.

杆菌属(*Photobacterium*)和拟杆菌属等为摄食前的优势菌属(图 3b)。摄食后 1 h 时, 乳杆菌属、不动杆菌属、假单胞菌属、弧菌属、鲸杆菌属和发光杆菌属相对丰度均出现下降趋势, 而拟杆菌属、普氏菌属、*Faecalibacterium* 和双歧杆菌属等, 则出现上升趋势。伴随营养的消化吸收, 乳杆菌属、弧菌属、普氏菌属整体呈现下降-上升-下降的趋势, 乳杆菌属 8 h 时相对丰度(4.17%)仍然低于摄食前(5.01%), 普氏菌属在 6 h 时相对丰度(2.38%)高于摄食前(1.49%); 不动杆菌属、假单胞菌属、发光杆菌属呈现先下降后上升趋势, 分别在 4 h、2 h 和 6 h 时相对丰度最低, 均在 10 h 时

最高(分别为 33.89%、6.56%和 4.81%); 鲸杆菌属、拟杆菌属、双歧杆菌属和拟杆菌属整体呈现先上升后下降趋势, 分别在 4 h、2 h、6 h 和 2 h 时相对丰度最高(分别为 1.66%、6.56%、2.27%和 6.56%)。

肠道内的鞘氨醇单胞菌属、不动杆菌属、克雷伯氏菌属(*Klebsiella*)、乳球菌属、乳杆菌属、魏斯氏菌属和 *Escherichia-Shigella* 等为摄食前的优势菌属(图 3c)。摄食后 1 h 时, 除弧菌属、拟杆菌属和发光杆菌属相对丰度上升外, 其余优势菌属相对丰度均下降。随着营养的消化吸收, 鞘氨醇单胞菌属、乳杆菌属呈现下降-上升-下降趋势, 鞘氨醇单胞菌属 6 h 时相对丰度(3.26%)低于摄食前(8.91%), 乳杆菌属 4 h 时相对丰度(3.36%)高于摄食前(2.53%); 不动杆菌属、假单胞菌属整体呈现上升趋势, 均在 10 h 时相对丰度最高(分别为 29.98%、10.05%); 克雷伯氏菌属相对丰度在摄食后均低于 0.05%; 乳球菌属、魏斯氏菌属、*Escherichia-Shigella*、普氏菌属、拟杆菌属和发光杆菌属整体呈现先上升后下降趋势, 分别在 2 h、4 h、8 h、2 h 和 2 h 时相对丰度最高(分别为 2.91%、8.09%、4.19%、1.92%和 32.78%)。

2.3 饵料菌群结构特征

饵料中相对丰度高于 1%的优势菌属组成信息如表 2 所示。从图中可以看出, 饵料中发光杆菌属相对丰度最高, 为 38.74%, 希瓦氏菌属(*Shewanella*)(19.45%)次之, 弧菌属相对丰度为 9.47%, 不动杆菌属相对丰度为 3.45%。

表 2 黄条鰺幼鱼饵料中优势菌属的组成
Tab. 2 The composition of dominant microbiota in feed for juvenile *Seriola lalandi* at the genus level %

属 genus	相对丰度 relative abundance
发光杆菌属 <i>Photobacterium</i>	38.74
希瓦氏菌属 <i>Shewanella</i>	19.45
弧菌属 <i>Vibrio</i>	9.47
<i>Aliivibrio</i>	6.37
不动杆菌属 <i>Acinetobacter</i>	3.45
乳球菌属 <i>Lactococcus</i>	1.37
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	1.25
其他 others	19.90
发光杆菌属 <i>Photobacterium</i>	38.74
希瓦氏菌属 <i>Shewanella</i>	19.45

2.4 菌群结构相似性分析

在主成分分析中,可以看出主成分一和主成分二的贡献率分别为 60.3%~70.2%、17.3%~33.1% (图 4)。在黄条鰺幼鱼消化道各组织中,与饵料中

的菌群相比,营养消化吸收的不同时间点间的菌群组成与分布更为相近。在胃内,摄食前的菌群结构与摄食后 1 h 的相似性最小,与 4~6 h 时的相似性也不高,而与 8~10 h 时的相似性较高(图 4a)。

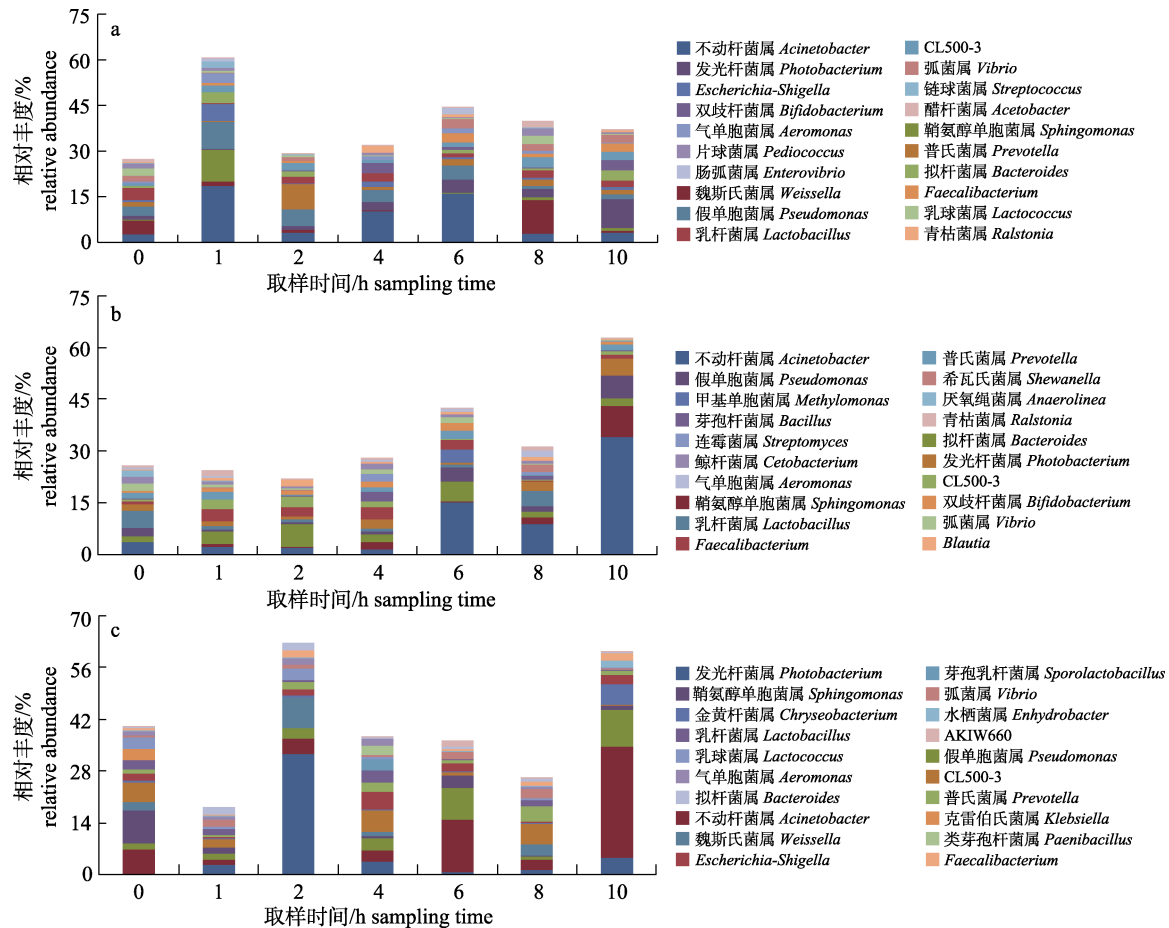


图 3 黄条鰺幼鱼消化道优势菌属结构变化情况

a. 胃组织; b. 幽门盲囊组织; c. 肠道组织.

Fig. 3 Structure changes of dominant microbiota in juvenile *Seriola lalandi* gastrointestinal tract at the genus level

a. Stomach; b. Pyloric caecum; c. Gut.

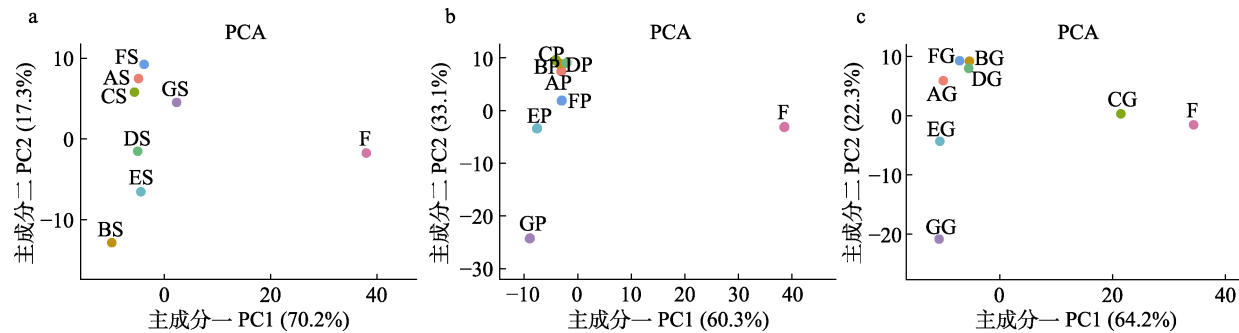


图 4 基于属水平的样品菌群主成分分析

a. 胃组织; b. 幽门盲囊组织; c. 肠道组织.

Fig. 4 The principal components analysis (PCA) of microbiota in samples at the genus level

a. Stomach; b. Pyloric caecum; c. Gut.

幽门盲囊内, 摄食前的菌群结构与摄食后 10 h 的相似性最小, 与摄食后 6~8 h 时的相似性次之, 而与 1~4 h 时的相似性最高(图 4b)。肠道内, 除摄食后 2 h 的外, 其余时间点的菌群结构相似性情况均与幽门盲囊内的相近(图 4c)。

2.5 消化道菌群功能特征分析

通过 KEGG Pathway 分析可以发现, 一级水平下菌群基因参与的信号通路大部分为新陈代谢通路; 在三级水平下, 对消化道各组织菌群参与的环境信息处理、新陈代谢、遗传信息处理通路的基因相对丰度进行分析(图 5 和表 3)。消化道各组织中菌群基因参与的主要信号通路相同, 但在基因丰度方面存在一定差异, 按菌群基因丰度排列主要包括环境信息处理中的 ABC 转运载体(7.43%~8.87%)和双组分系统(6.89%~8.08%)、新陈代谢中的嘌呤代谢(3.24%~3.54%)、遗传信息处理中的氨酰生物合成(2.69%~3.18%)、新陈代谢中的嘧啶代谢(2.14%~2.40%)等。

摄食后, 胃内菌群基因参与 ABC 转运载体、双组分系统、氨酰生物合成、嘧啶代谢、氧化磷酸化、淀粉和蔗糖代谢等信号通路的相对丰度在摄食后出现短暂的小幅下降后逐渐上升并保持相对稳定, 参与嘌呤代谢的相对丰度基本保持平稳状态, 参与氮代谢和细菌分泌系统的相对丰度呈现缓慢升高的趋势, 参与精氨酸和脯氨酸代谢的相对丰度出现先升高后下降趋势并逐渐趋于稳定。摄食后, 幽门盲囊内菌群基因参与 ABC 转运载体、双组分系统、嘌呤代谢、氮代谢、精氨酸和脯氨酸代谢的相对丰度呈现缓慢升高的趋势, 参与氨酰生物合成、嘧啶代谢的相对丰度基本保持平稳状态, 参与淀粉和蔗糖代谢的相对丰度呈现下降-升高-下降的趋势, 氨基糖和核苷糖代谢、氧化磷酸化的相对丰度呈现缓慢下降趋势。摄食后, 肠道内菌群基因参与双组分系统的相对丰度呈现缓慢升高的趋势, 参与嘌呤代谢、氨酰生物合成的相对丰度呈现相对平稳状态, 参与 ABC 转运载体、嘧啶代谢的相对丰度呈现一定的下降趋势, 参与淀粉和蔗糖代谢、氨基糖和核苷糖代谢的相对丰度呈现先上升后下降的趋势。

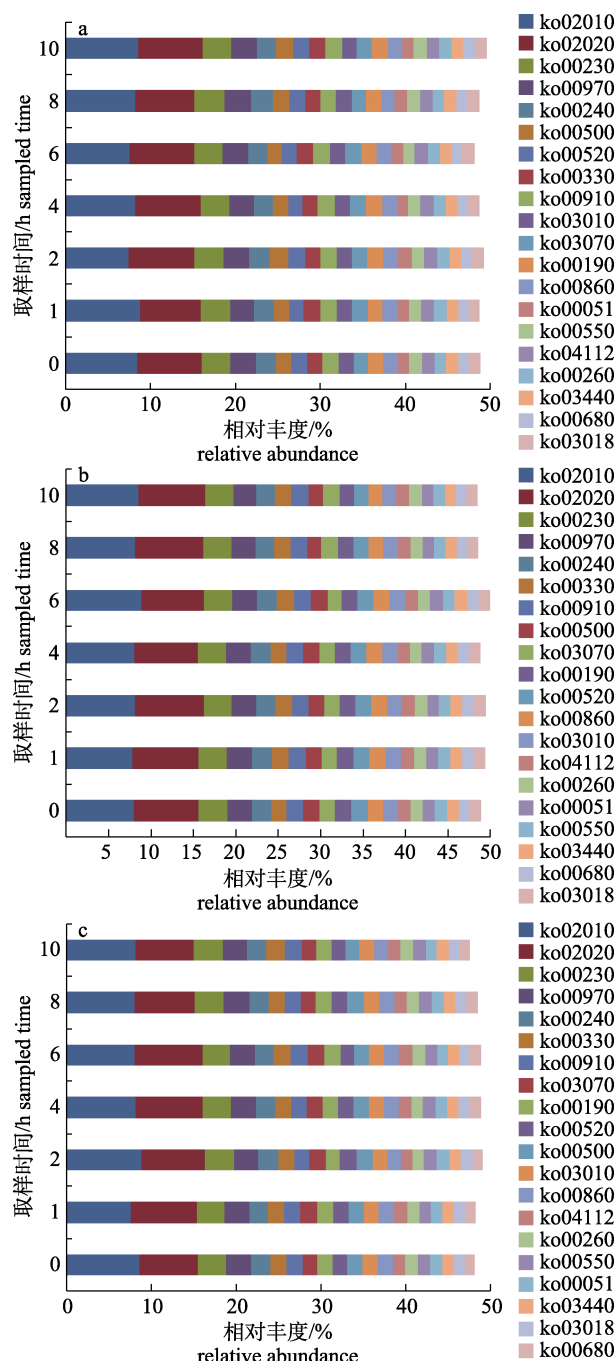


图5 黄条鰺幼鱼消化道菌群每个 Pathway 相对丰度变化情况

a. 胃组织; b. 幽门盲囊组织; c. 肠道组织。

Fig. 5 Relative abundance changes of each pathway of microbiota in juvenile *Seriola lalandi* gastrointestinal tract
a. Stomach; b. Pyloric caecum; c. Gut.

3 讨论

3.1 黄条鰺幼鱼消化道核心菌群

在正式实验开始前对实验鱼进行饥饿处理, 使黄条鰺幼鱼处于空腹状态以确保其营养代谢水

表 3 KEGG 途径注释信息

Tab. 3 The annotation information of KEGG pathway

n=3; $\bar{x} \pm SE$

途径 pathway	注释信息 annotation information
ko00051	新陈代谢; 碳水化合物代谢; 果糖和甘露糖代谢 metabolism; carbohydrate metabolism; fructose and mannose metabolism
ko00190	新陈代谢; 能量代谢; 氧化磷酸化 metabolism; energy metabolism; oxidative phosphorylation
ko00230	新陈代谢; 核苷酸代谢; 嘌呤代谢 metabolism; nucleotide metabolism; purine metabolism
ko00240	新陈代谢; 核苷酸代谢酶类; 嘧啶代谢 metabolism; nucleotide metabolism; pyrimidine metabolism
ko00260	新陈代谢; 氨基酸代谢; 甘氨酸、丝氨酸和苏氨酸代谢 metabolism; amino acid metabolism; glycine, serine and threonine metabolism
ko00330	新陈代谢; 氨基酸代谢; 精氨酸和脯氨酸代谢 metabolism; amino acid metabolism; arginine and proline metabolism
ko00500	新陈代谢; 碳水化合物代谢; 淀粉和蔗糖代谢 metabolism; carbohydrate metabolism; starch and sucrose metabolism
ko00520	新陈代谢; 碳水化合物代谢; 氨基糖和核苷糖代谢 metabolism; carbohydrate metabolism; amino sugar and nucleotide sugar metabolism
ko00550	新陈代谢; 多糖生物合成与代谢; 肽聚糖生物合成 metabolism; glycan biosynthesis and metabolism; peptidoglycan biosynthesis
ko00680	新陈代谢; 能量代谢; 甲烷代谢 metabolism; energy metabolism; methane metabolism
ko00860	新陈代谢; 辅酶因子和维生素代谢; 卟啉和叶绿素代谢 metabolism; metabolism of cofactors and vitamins; porphyrin and chlorophyll metabolism
ko00910	新陈代谢; 能量代谢; 氮代谢 metabolism; energy metabolism; nitrogen metabolism
ko00970	遗传信息处理; 翻译; 氨酰生物合成 genetic information processing; translation; aminoacyl-trna biosynthesis
ko02010	环境信息处理; 膜转运; abc 转运载体 environmental information processing; membrane transport; abc transporters
ko02020	环境信息处理; 信号转导; 双组分系统 environmental information processing; signal transduction; two-component system
ko03010	遗传信息处理; 翻译; 核糖体 genetic information processing; translation; ribosome
ko03018	遗传信息处理; 折叠、分类和降解; rna 降解 genetic information processing; folding, sorting and degradation; rna degradation
ko03070	环境信息处理; 膜转运; 细菌分泌系统 environmental information processing; membrane transport; bacterial secretion system
ko03440	遗传信息处理; 复制和修复; 同源重组 genetic information processing; replication and repair; homologous recombination
ko04112	细胞转化; 细胞生长和死亡; 细胞循环-柄杆菌属 cellular processes; cell growth and death; cell cycle-caulobacter

平一致, 因此, 在黄条鰺幼鱼摄食前其消化道中的菌群为定植菌属。结合消化道各组织菌群结构特点, 乳杆菌属、假单胞菌属、不动杆菌属、鞘氨醇单胞菌属、拟杆菌属、气单胞菌属、弧菌属、普氏菌属、发光杆菌属和 *Faecalibacterium* 是消化道定植菌属。其中, 不动杆菌属、发光杆菌属、弧菌属、假单胞菌属、普氏菌属和乳杆菌属的相对丰度均高于 1%。朱伟星等^[15]研究发现, 养殖斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)消化道各段消化酶活性在摄食 3 h 内显著上升, 3~30 h 内保持相对平稳, 之后呈现显著下降趋势; 在养殖牙鲆(*Parali-*

chthys olivaceus)消化道蛋白酶活性研究中发现, 摄食后 5~8 h 时肠道蛋白酶活性比较高^[16]。可见养殖鱼摄食后均会出现一个消化酶活性较高的阶段, 揭示此阶段内对营养的消化吸收比较旺盛, 但是由于鱼的品种、养殖环境、实验条件的不同而存在一定差异。笔者发现, 黄条鰺摄食后 4~6 h 各消化酶活性较高(相关研究待发表)。此阶段消化道各组织中部分菌群的相对丰度达最高值, 包括胃内的肠弧菌属、弧菌属、双歧杆菌属, 幽门盲囊内的 *Faecalibacterium*、甲基单胞菌属、连霉菌属、拟杆菌属、普氏菌属、双歧杆菌属、芽孢

杆菌属, 肠道内的 *Escherichia-Shigella*、类芽孢杆菌属、气单胞菌属、乳杆菌属和芽孢乳杆菌属。因此, 根据消化道的共有定植菌属和消化生理特性, 将乳杆菌属、肠弧菌属、双歧杆菌属、假单胞菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属、*Escherichia-Shigella*、类芽孢杆菌属、鞘氨醇单胞菌属、拟杆菌属、甲基单胞菌属、链霉菌属、气单胞菌属、弧菌属、普氏菌属、芽孢乳杆菌属、发光杆菌属和 *Faecalibacterium* 作为本实验黄条鰺幼鱼消化道核心菌群。

黄条鰺幼鱼消化道核心菌群中的乳杆菌属、芽孢杆菌属、双歧杆菌属、芽孢乳杆菌属是常见的潜在益生菌, 其中的乳杆菌属、双歧杆菌属、芽孢杆菌属能够促进鲟(*Acipenser baerii*)幼鱼的生长^[17-19]。并且, 女性在孕期中经常食用鱼类, 能够对出生婴儿粪便微生物群产生有益影响, 使其以双歧杆菌为主而非大肠杆菌^[20]。Yaghoobfar 等^[21]研究发现, *Faecalibacterium* 在微生物法治疗肠炎中具有重要作用; 拟杆菌属中的部分菌株能够合成并分泌具有抗炎特性的多聚糖 A^[22]; 链霉菌属微生物是抗生素类的重要源泉之一^[23-24]; 类芽孢杆菌属因能够合成并分泌葡萄糖化酶、几丁质酶等而成为植物健康生长的重要益生菌^[25-27]; 人肠道中普氏菌属的丰度增加可能有助于膳食纤维诱导的葡萄糖代谢改善^[28]; 甲基单胞菌属是甲烷氧化菌的一种, 能够以甲烷为主要碳源合成并分泌琥珀酸盐, 而琥珀酸盐是农业、食品和制药行业中最重要化学原料之一^[29]。并且, 目前在海水鱼类养殖过程中也尚未有上述几类菌致病的报道, 因此, 本实验条件下, 将上述几类微生物视为非致病菌。不动杆菌属中的多数菌株是水产养殖中的潜在病原菌^[30-31], 但是, 从废水中分离的 *Acinetobacter towneri* 和 PDD-57b-25 鞘氨醇单胞菌对氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和总磷具有很好的生物净化能力, 能够使蟹的工厂化循环水养殖系统中无机氮和总磷水平保持在临界值以下, 并且还能促进养殖蟹的产量和质量^[32]。有研究发现 *Escherichia-Shigella* 可能不利于心脏瓣膜置换患者对相关抗凝治疗的反应^[33], 但未见 *Escherichia-Shigella* 对养殖鱼类致病的研究报道。在水产养

殖中, 假单胞菌属、气单胞菌属、弧菌属和发光杆菌属中的部分菌株经常被视为潜在病原菌^[34-36], 这些有害菌属能够正常定植于健康养殖鱼类消化道内壁上^[35,37], 并且与潜在益生菌间维持动态平衡关系, 是保障肠道健康的关键因素之一。

3.2 黄条鰺幼鱼消化道菌群演变规律

本研究中, 通过 Rank-abundance 曲线可以看出, 饵料中菌群丰富度相对比较高, 携带微生物的饵料进入黄条鰺幼鱼胃内后逐渐被消化至半流体状态才能逐渐进入幽门盲囊、肠道, 在消化道各组织内进行自身生长繁殖的同时参与宿主的各种生理活动, 并与消化道内定植菌群间形成竞争或协同的作用, 从而导致摄食 1 h 时消化道内菌群相对丰度发生较大改变, 随后伴随着营养的消化吸收, 消化道各组织内相对应的核心菌群相对丰度整体呈现先上升后下降趋势, 在 4~6 h 时达到一个较高值。在消化道排空速度研究中发现, 摄食冰鲜鱼后 1 h 时矛尾复虾虎鱼(*Synechogobius hasta*)前肠内就能监测到食糜, 3 h 时中肠能检测到食糜^[38]。另外, 在营养代谢过程中, 食糜中的大分子营养物质在消化道各组织内不断被降解为小分子易被吸收的营养成分, 使消化道各组织内的营养水平不断发生变化^[38], 而营养组分的变化能明显改变消化道菌群结构^[39], 这可能也是摄食后胃、幽门盲囊、肠道内菌群结构发生变化的主要原因。同时, 冰鲜鱼饵料携带的发光杆菌属和弧菌属等相对丰度较高, 推测消化道各组织中发光杆菌属、弧菌属等相对丰度的不断变化与饵料携带菌群有直接关系, 而消化道各组织内的菌群处于动态平衡状态之中, 这两个菌属相对丰度的变动必然引起其他相关菌属的改变。通过研究发现, 鱼的种类、摄食习性、生理阶段、养殖环境条件等因素都能够不同程度影响消化道排空的时间^[15,40-41]。本实验中, 黄条鰺幼鱼的投喂频率与时间间隔参照养殖场的管理进行, 至 10 h 时幼鱼胃内仍含有少量食糜(均为半流体状态), 推测这可能是实验结束时消化道各组织内菌群结构与摄食前存在较大差异的主要原因。由此可见, 在黄条鰺幼鱼营养代谢过程中, 摄食饵料中的菌群对消化道优势菌群结构的影响比较明显, 这与

Jiang 等^[42]研究结果一致。并且,本实验中所用冰鲜鱼饵料未经任何处理,其携带的潜在病原菌相对丰度较高,如若长期投喂势必打破消化道菌群的平衡状态,导致疾病暴发,这也从侧面警示从业人员要特别重视冰鲜饵料投喂前的处理,以保障养殖动物饵料的微生物安全。

3.3 消化道菌群功能变化趋势

消化道是一个复杂的生态系统,其内部定植菌群携带的基因数量远超宿主基因组的上百倍,并且可通过内部结构调整使自身功能基因在某一信号通路中富集,从而在营养、免疫等多方面参与并影响宿主的生理活动^[3,6-7]。本研究中,通过菌群基因主要富集的信号通路可以看出,消化道菌群功能主要包括碳水化合物代谢、氨基酸代谢、能量代谢、核苷酸代谢、膜转运和信号转导等。黄条魮幼鱼摄食后,消化道各组织中菌群结构发生变化,其协同宿主进行的各种生理活动也随之改变,分子层面的表现主要为信号通路富集的基因相对丰度出现波动。从而导致双组分系统、ABC 转运载体、嘌呤代谢和嘧啶代谢、遗传信息处理下的氨酰生物合成信号通路富集的基因相对丰度出现一定波动。其中,细菌和古细菌基因组中大概有 1%~3% 的基因是编码 ABC 转运载体蛋白的,可以说 ABC 转运载体蛋白家族是目前已知的最大蛋白家族,其底物种类比较广泛^[43];双组分系统是菌群对环境刺激作出反应的多重信号转导过程,是某些菌群应对高浓度氨氮环境的主要方式^[44-45],而消化道营养代谢过程中形成的氨基酸经脱氨基作用产生大量的氨,氨不稳定常常以 NH_4^+ 的形式存在,这可能是双组分系统和 ABC 转运载体等始终占据优势地位的一个主要原因。由此推测,营养代谢过程中消化道内的氨氮浓度相对较高,后续可针对营养代谢过程中黄条魮幼鱼消化道中的核心菌群进行分离培养,以获取与 N、P 降解相关的菌群并开展工厂化循环水调控研究,为构建高效的生物膜系统提供理论参考。

4 结论

通过对定植菌群和营养代谢过程中优势菌群演变趋势分析,获得黄条魮幼鱼消化道核心菌群,

主要包括乳杆菌属、双歧杆菌属、假单胞菌属、不动杆菌属、芽孢杆菌属、拟杆菌属、链霉菌属、弧菌属、芽孢乳杆菌属、发光杆菌属和 *Faecalibacterium* 等;营养代谢过程中,消化道内的潜在益生菌群与致病菌群间仍然保持动态平衡状态;结合摄食饵料菌群结构特征,揭示饵料菌群对营养代谢过程中消化道菌群影响明显,进而提示从业者应注重微生物质量安全问题。

参考文献:

- [1] Cantarel B L, Coutinho P M, Rancurel C, et al. The carbohydrate-active enzymes database (CAZy): An expert resource for glycogenomics[J]. *Nucleic Acids Research*, 2009, 37(suppl_1): D233-D238.
- [2] Flint H J, Scott K P, Duncan S H, et al. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut[J]. *Gut Microbes*, 2012, 3(4): 289-306.
- [3] Dwivedi M, Ansarullah, Radichev I, et al. Alteration of immune-mechanisms by human microbiota and development and prevention of human diseases[J]. *Journal of Immunology Research*, 2017, 2017: 6985256.
- [4] Li X M, Yu Y H, Feng W S, et al. Host species as a strong determinant of the intestinal microbiota of fish larvae[J]. *The Journal of Microbiology*, 2012, 50(1): 29-37.
- [5] Nicholson J K, Holmes E, Kinross J, et al. Host-gut microbiota metabolic interactions[J]. *Science*, 2012, 336(6086): 1262-1267.
- [6] Zhang M L, Li M, Sheng Y, et al. Citrobacter species increase energy harvest by modulating intestinal microbiota in fish: Nondominant species play important functions[J]. *mSystems*, 2020, 5(3): e00303-20.
- [7] Banerjee G, Ray A K. Bacterial symbiosis in the fish gut and its role in health and metabolism[J]. *Symbiosis*, 2017, 72(1): 1-11.
- [8] Liu X Z, Xu Y J, Li R, et al. Analysis and evaluation of nutritional composition of the muscle of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 128-135. [柳学周, 徐永江, 李荣, 等. 黄条魮(*Seriola aureovittata*)肌肉营养组成分析与评价[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(1): 128-135.]
- [9] Cui A J, Xu Y J, Wang B, et al. Genome-wide association analysis of growth traits in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(2): 71-78. [崔爱君, 徐永江, 王滨, 等. 黄条魮生长性状全基因组关联分析[J]. *渔业科学进展*, 2021, 42(2): 71-78.]
- [10] Cui A J, Wang B, Jiang Y, et al. Development of SNP mark-

- ers for yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) by 2b-RAD simplified genome sequencing[J]. Conservation Genetics Resources, 2020, 12(3): 403-407.
- [11] Liu X Z, Shi B, Liu Y S, et al. Effects of sharp changes in salinity on osmotic regulation function in juvenile yellowtail kingfish *Seriola aureovittata*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2019, 34(6): 767-775. [柳学周, 史宝, 刘永山, 等. 盐度突变对黄条鰺幼鱼渗透调节功能的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(6): 767-775.]
- [12] Xu Y J, Zhang Z R, Liu X Z, et al. Morphometric characteristics of the embryonic and postembryonic development of yellowtail kingfish, *Seriola aureovittata*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(1): 172-182. [徐永江, 张正荣, 柳学周, 等. 黄条鰺早期生长发育特征[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 172-182.]
- [13] Sun R R, Shi B, Liu X Z, et al. Molecular cloning and tissue and temporal expression of PTEN gene in early development of goldstriped amberjack *Seriola aureovittata*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2019, 34(1): 47-55. [孙冉冉, 史宝, 柳学周, 等. 黄条鰺 PTEN 基因克隆、组织分布及早期发育阶段的表达分析[J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(1): 47-55.]
- [14] Wang B, Zhang Y X, Liu Q, et al. Molecular identification and developmental expression patterns of growth hormone and its receptors in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*)[J]. Molecular Biology Reports, 2020, 47(9): 7305-7312.
- [15] Zhu W X, Hua X M, Zhong G F, et al. Patterns of gastric evacuation and digesta characteristics in the gastrointestinal tract of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) when fed plant protein based diet[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(4): 529-538. [朱伟星, 华雪铭, 钟国防, 等. 斑点叉尾鲷对全植物蛋白饲料的胃排空及消化道内容物特性研究[J]. 水产学报, 2015, 39(4): 529-538.]
- [16] Bian H H, Huang J, Wang X H, et al. Protease activity and chyme protein tracing by GFP in the digestive tract of flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(6): 36-41. [边慧慧, 黄健, 王秀华, 等. 牙鲆幼鱼消化道内蛋白酶活性及食糜蛋白的 GFP 示踪[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(6): 36-41.]
- [17] Sanders M E, Morelli L, Tompkins T A. Sporeformers as human probiotics: *Bacillus*, *Sporolactobacillus*, and *Brevibacillus*[J]. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2003, 2(3): 101-110.
- [18] Sayed Hassani M H, Jourdehi A Y, Zelti A H, et al. Effects of commercial superzist probiotic on growth performance and hematological and immune indices in fingerlings *Acipenser baerii*[J]. Aquaculture International, 2020, 28(1): 377-387.
- [19] Chen Y N, Meenu M, Xu B J. A narrative review on micro-encapsulation of obligate anaerobe probiotics *Bifidobacterium*, *Akkermansia muciniphila*, and *Faecalibacterium prausnitzii*[J/OL]. Food Reviews International, (2021-01-18). <https://doi.org/10.1080/87559129.2020.1871008>.
- [20] Simione M, Harshman S G, Castro I, et al. Maternal fish consumption in pregnancy is associated with a *Bifidobacterium*-dominant microbiome profile in infants[J]. Current Developments in Nutrition, 2020, 4(1): nzz133.
- [21] Yaghoubfar R, Behrouzi A, Fateh A, et al. Effects of *Akkermansia muciniphila* and *Faecalibacterium prausnitzii* on serotonin transporter expression in intestinal epithelial cells[J]. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 2021, 20(1): 1-5.
- [22] Hidalgo-Cantabrana C, Moro-García M A, Blanco-Míguez A, et al. *In silico* screening of the human gut metaproteome identifies Th17-promoting peptides encrypted in proteins of commensal bacteria[J]. Frontiers in Microbiology, 2017, 8: 1726.
- [23] Fu J Z, Ji L X, Xie C F. Biologically active natural products from *Streptomyces microorganisms*[J]. Drug Evaluation Research, 2010, 33(2): 153-158. [傅俊曾, 冀兰鑫, 谢春锋. 链霉菌属微生物来源的生物活性天然产物[J]. 药物评价研究, 2010, 33(2): 153-158.]
- [24] Chai B Z, Yan C, Xiang R X, et al. Antibacterial secondary metabolites produced by marine *Streptomyces* sp. MMHS020[J]. Microbiology China, 2021, 48(6): 1854-1861. [柴保中, 闫岑, 项仁鑫, 等. 一株海洋链霉菌 MMHS020 的抗菌活性代谢产物[J]. 微生物学通报, 2021, 48(6): 1854-1861.]
- [25] Kim Y C, Hur J Y, Park S K. Biocontrol of *Botrytis cinerea* by chitin-based cultures of *Paenibacillus elgii* HOA73[J]. European Journal of Plant Pathology, 2019, 155(1): 253-263.
- [26] Lincoln L, More V S, More S S. Purification and biochemical characterization of extracellular glucoamylase from *Paenibacillus amylolyticus* strain[J]. Journal of Basic Microbiology, 2019, 59(4): 375-384.
- [27] Yu W Q, Xiao J J, Liu W Z, et al. Advances in mechanisms of *Paenibacillus* to promote growth & diseases-defending in plant[J]. Journal of Microbiology, 2020, 40(6): 102-112. [于文清, 肖俊杰, 刘文志, 等. 类芽胞杆菌(*Paenibacillus*)对植物促生御病机理研究进展[J]. 微生物学杂志, 2020, 40(6): 102-112.]
- [28] Kovatcheva-Datchary P, Nilsson A, Akrami R, et al. Dietary fiber-induced improvement in glucose metabolism is associated with increased abundance of *Prevotella*[J]. Cell Metabolism, 2015, 22(6): 971-982.
- [29] Nguyen D T N, Lee O K, Hadiyati S, et al. Metabolic engineering of the type I methanotroph *Methylomonas* sp. DH-1

- for production of succinate from methane[J]. *Metabolic Engineering*, 2019, 54: 170-179.
- [30] Kozińska A, Paździor E, Pękala A, et al. *Acinetobacter johnsonii* and *Acinetobacter lwoffii*-the emerging fish pathogens[J]. *Bulletin of the Veterinary Institute in Pulawy*, 2014, 58(2): 193-199.
- [31] Li J, Cao J L, Wang X, et al. *Acinetobacter pittii*, an emerging new multi-drug resistant fish pathogen isolated from diseased blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala* Yih) in China[J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2017, 101(16): 6459-6471.
- [32] Shao Y, Zhong H, Mao X, et al. Biochar-immobilized *Sphingomonas* sp. and *Acinetobacter* sp. isolates to enhance nutrient removal: Potential application in crab aquaculture[J]. *Aquaculture Environment Interactions*, 2020, 12: 251-262.
- [33] Wang L, Liu L S, Liu X X, et al. The gut microbes, *Enterococcus* and *Escherichia-Shigella*, affect the responses of heart valve replacement patients to the anticoagulant warfarin[J]. *Pharmacological Research*, 2020, 159: 104979.
- [34] Wu H B, Pan J P. Progress in studies of vibriosis in aquaculture[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, 8(1): 89-93. [吴后波, 潘金培. 弧菌属细菌及其所致海水养殖动物疾病[J]. *中国水产科学*, 2001, 8(1): 89-93.]
- [35] Jiang Y, Wang Y G, Zhang Z, et al. Responses of microbial community structure in turbot (*Scophthalmus maximus*) larval intestine to the regulation of probiotic introduced through live feed[J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0216590.
- [36] Shao P, Wu Z, Yong P Z, et al. Isolation and identification of *Photobacterium damsela* from half-smooth tongue sole and evaluation of its pathogenicity[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2020, 50(6): 42-49. [邵蓬, 武尊, 雍朋政, 等. 半滑舌鳎源美人鱼发光杆菌的分离鉴定及致病性研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2020, 50(6): 42-49.]
- [37] Wu Z C, Zhang S S, Yang Z, et al. The influence of feeding CAVP on intestinal microbiota of tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(3): 546-558. [吴振聪, 张莎莎, 杨转, 等. 投喂鲍内脏多糖对罗非鱼肠道菌群结构的影响[J]. *中国水产科学*, 2019, 2019, 26(3): 546-558.]
- [38] Li X D, Luo Z, He D, et al. The evacuation rate of chymes in digestive tract of javelin goby *Synechogobius hasta* and changes in nutrient composition[J]. *Fisheries Science*, 2009, 28(2): 59-62. [李晓东, 罗智, 何东, 等. 食糜在矛尾复鰕虎鱼消化道排空速度及其营养含量的变化[J]. *水产科学*, 2009, 28(2): 59-62.]
- [39] Li Y X, Yang P, Zhang Y J, et al. Effects of dietary glycine on the growth performance, digestion, intestinal morphology and bacterial community of juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* L.[J]. *Aquaculture*, 2017, 479: 125-133.
- [40] Feng X B, Yang D G, Li X, et al. Gastric evacuation rate and daily food consumption of artificially-reared juvenile rock carp *Procypris rabaudi* (Tchang)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(4): 654-661. [冯宪斌, 杨德国, 李茜, 等. 人工养殖条件下岩原鲤幼鱼排空率与摄食量[J]. *中国水产科学*, 2012, 19(4): 654-661.]
- [41] Zhang P F, Chang Q, Chen S Q, et al. Diet feeding rhythm and analysis of gastric evacuation associated mathematical models in juvenile *Thamnaconus septentrionalis*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(1): 104-111. [张鹏飞, 常青, 陈四清, 等. 绿鳍马面鲀幼鱼昼夜摄食节律及胃排空模型研究[J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(1): 104-111.]
- [42] Jiang Y, Liu X Z, Xu Y J, et al. Microbiota characteristics in *Sebastes schlegelii* intestine in early life stages[J]. *Journal of Oceanology and Limnology*, 2020, 38(1): 275-287.
- [43] Liu Y Q, Zhao Y F. Structure and mechanism of ABC transporter[J]. *Chinese Bulletin of Life Sciences*, 2017, 29(3): 223-229. [刘艳青, 赵永芳. ABC转运蛋白结构与转运机制的研究进展[J]. *生命科学*, 2017, 29(3): 223-229.]
- [44] Galperin M Y, Makarova K S, Wolf Y I, et al. Phyletic distribution and lineage-specific domain architectures of archaeal two-component signal transduction systems[J]. *Journal of Bacteriology*, 2018, 200(7): e00681-17.
- [45] Zheng Y, Wu K N, Wang L, et al. Transcriptome and sRNA analyses of the response of *Bacillus subtilis* to ammonia nitrogen[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(2): 147-154. [郑姚, 吴开年, 王利, 等. 枯草芽孢杆菌对氨氮应答的转录组及 sRNA 分析[J]. *渔业科学进展*, 2021, 42(2): 147-154.]

Analysis of the evolution trend of gastrointestinal tract microflora of juvenile yellowtail kingfish, *Seriola lalandi* during nutrient metabolism

JIANG Yan¹, YU Chaoyong², XU Yongjiang¹, LIU Xuezhou¹, WANG Bin¹, CUI Aijun¹, XUE Zhiyong³

1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China;
2. Marine Science Research Institute of Shandong Province (National Oceanographic Center, Qingdao), Qingdao 266104, China;
3. Haiyang Yellow Sea Aquaculture Co., Ltd., Yantai 265100, China

Abstract: The yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) is a globally distributed marine economic fish. The consumer demand for this fish is growing because of its delicious taste and high nutritional value. With increasing catch numbers, its natural resources are gradually declining. Many countries, including China, have begun to artificially culture this species. We found that the development of the juvenile yellowtail kingfish gastrointestinal tract (stomach, pyloric caecum, and gut) was evident and strong, with a fast growth rate. Evaluating the characteristics of microbiota structure may contribute to analyzing the effect of the microbiota, introduced by feed, on the change rule of gastrointestinal tract microbiota during nutrient metabolism. In this study, 16S rDNA high-throughput sequencing was used to assess the characteristics of gastrointestinal tract microbiota structure of yellowtail kingfish juveniles during the whole feeding cycle and analyze the correlation with the microbiota in feed. Results showed that *Lactobacillus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Sphingomonas*, *Bacteroides*, *Aeromonas*, *Vibrio*, and *Faecalibacterium* were the shared and dominant genera colonizing the stomach, pyloric caecum, and gut. In combination with the changes in dominant genera during nutrient metabolism, *Lactobacillus*, *Enterovibrio*, *Bifidobacterium*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Escherichia-Shigella*, *Paenibacillus*, *Sphingomonas*, *Bacteroides*, *Methylobacterium*, *Streptomyces*, *Aeromonas*, *Vibrio* and *Faecalibacterium* were selected as the core microbiota in the gastrointestinal tract of yellowtail kingfish juveniles. These core microbiota contained both potential probiotics and pathogens; the relationship between the potential probiotics and pathogens in the gastrointestinal tract was maintained in a dynamic balance during nutrient metabolism of the host, which will protect the health of the host from a microecological perspective. Through analysis of the evolution trend of dominant microbiota structure, it was found that the microbiota introduced by feed had a great influence on the relative abundances of gastrointestinal tract microbiota during nutrient metabolism, which revealed the importance of the safety of the microbiota in feed. Our findings provide theoretical support for the screening of local probiotics of yellowtail kingfish juveniles and a reference for healthy culture management of the species.

Key words: *Seriola lalandi*; gastrointestinal tract; core microbiota; evolution trend; high-throughput sequencing

Corresponding author: LIU Xuezhou. E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn