

DOI: 10.12264/JFSC2022-0160

南海岛礁海域金带齿颌鲷组织 and 肠道菌群结构及其肠道菌群对碳源的利用特征

王晶晶^{1,2}, 胡晓娟², 曹煜成², 苏浩昌², 文国樑^{1,2}, 张月星¹

1. 浙江海洋大学国家海洋设施养殖工程技术研究中心, 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, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300

摘要: 为比较南海岛礁海域金带齿颌鲷(*Gnathodentex aurolineatus*)鳃组织和肠道菌群结构及其肠道菌群对碳源的利用特征, 从南海 3 个岛礁海域采集优势岛礁鱼类——金带齿颌鲷的鳃组织和肠道样品, 采用高通量测序技术分析其细菌群落结构组成, 利用 Biolog Eco 微板法分析可培养肠道微生物的碳代谢功能。结果显示, 各海域金带齿颌鲷鳃组织和肠道样品微生物菌群存在较高相似性, 但门和属水平相对丰度存在显著差异。所有样品共有可操作分类单元 (operational taxonomic unit, OTU) 数为 151 个, 其中永暑礁肠道样品的 OTU 数高达 1022 个, 琛航岛肠道样品 OTU 数仅 492 个; 门水平上, 鳃组织和肠道样品共有的优势菌均为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、厚壁菌门(Firmicutes), 特有的优势菌为放线菌门(Actinobacteria)和梭杆菌门(Fusobacteria); 属水平上, 鳃组织共有优势属为埃希氏-志贺氏菌属(*Escherichia-Shigella*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)、*Marispirillum* 属、*Pandoraea* 属; 肠道样品中共有优势属为埃希氏-志贺氏菌属和拟杆菌属, 其他优势属存在显著差异。肠道菌群的代谢活性和对氨基酸、糖类、脂类 3 类碳源的利用率由高到低均为渚碧礁组(ZB)、永暑礁组(YS)、琛航岛组(CH), 3 组间差异显著($P < 0.05$); 功能预测结果显示代谢类相关功能基因所占比例高, 对 3 类碳源的利用与可培养菌群碳源利用规律一致。研究表明, 金带齿颌鲷肠道微生物菌群具有较高的碳源代谢能力, 后续可尝试从肠道微生物中挖掘高产酶菌株。

关键词: 金带齿颌鲷; 菌群结构; 碳源利用; 岛礁海域

中图分类号: S941

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)12-1788-12

金带齿颌鲷(*Gnathodentex aurolineatus*)隶属于脊索动物门(Chordata), 辐鳍鱼纲(Actinopterygii), 鲈形目(Perciformes), 俗名黄点鲷, 体长最大为 30 cm。鱼体呈银白色至棕色, 鱼体背部具成排的深色鳞片, 两侧 4~5 条棕色至金色的纵纹, 背鳍后部下方有橘黄色斑块。常栖息于水深 2~30 m 的沿岸潜水礁坡、外礁坡及泻湖^[1], 幼鱼独居于海藻-

海草微生境, 成鱼在珊瑚礁区营群居生活^[2], 是重要的珊瑚礁食肉鱼类^[3], 以底栖性多毛类、贝类等为食。金带齿颌鲷主要分布于我国南海海域及东沙群岛、南沙群岛、西沙群岛、中沙群岛等^[1], 是南沙渚碧礁海域的常住种^[4], 永暑礁海域的优势种^[5]。

鳃作为鱼体与外界环境进行水和气体交换的器官, 对鱼类的健康至关重要。研究表明鳃组织

收稿日期: 2022-05-09; 修订日期: 2022-06-28.

基金项目: 农业农村部财政专项(NFZX2021); 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-48); 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2020TD54); 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项目(2021SD08); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金项目(2019KJ149).

作者简介: 王晶晶(1992-), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋微生物. E-mail: 2424257877@qq.com

通信作者: 文国樑, 研究员, 研究方向为养殖水环境调控与修复. E-mail: wgl610406@163.com

中含有大量的细菌^[6], 对鳃组织菌群结构的研究有助于更好地了解栖息水环境与鱼体内微生物菌群的关系。肠道菌群是近年来的研究热点之一, 鱼类肠道菌群与鱼的栖息环境^[7]、食性^[8]、营养消化^[9]等密切相关。开展鱼类肠道菌群结构及其功能研究, 有助于了解肠道菌群结构与鱼类机体之间的关系。1953 年, Margolis^[10]首次通过培养法研究了饥饿状态下的云斑鲷(*Ameiurus nebulosus*)和美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)的肠道菌群。随着分子生态学的发展, 越来越多的鱼类肠道菌群的结构与功能被研究和发现。目前, 已报道的淡水鱼类的肠道菌群有鲫(*Carassius auratus*)^[11]、异齿裂腹鱼(*Schizothorax o'connori*)^[12]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[8,13]等, 海水鱼有大西洋鲑(*Salmo salar*)^[7]、花鲈(*Lateolabrax japonicus*)、日本黄姑鱼(*Argyrosomus japonicus*)^[14]等, 但对海洋珊瑚礁鱼类鳃组织和肠道菌群的研究较少。我国对珊瑚礁鱼类的研究主要集中于鱼类多样性^[4,15]和生物学初步特征^[4-5]等方面。珊瑚礁食肉鱼类在维持珊瑚礁系统的生态平衡方面发挥着至关重要的作用^[3], 而且其代谢产生的粪便有益于活珊瑚和其他底栖生物的健康^[16]。因此, 开展珊瑚礁食肉鱼类体内鳃组织和肠道菌群结构组成及其肠道菌群碳代谢功能的研究是非常必要的。

南海拥有独特而丰富的珊瑚礁生态系统。金带齿颌鲷作为南海典型珊瑚礁食肉鱼类之一, 在南海多个岛礁海域均有分布。微生物菌种资源是重要的生物种质资源之一。传统的可培养微生物分离筛选方法主要存在工作量大, 菌株背景信息易丢失等问题。本研究从南海渚碧礁、永暑礁和琛航岛海域采集金带齿颌鲷鳃组织和肠道样品, 利用 16S 多样性分析技术及 Biolog EcoPlateTM 微板分析, 开展金带齿颌鲷鳃组织和肠道的细菌群落组成及肠道菌群对碳源的代谢功能研究, 以期分析鱼类食性及其水环境对典型岛礁鱼类微生物群落结构与功能的影响, 并从肠道微生物群落对不同碳源的利用效率的角度出发, 尝试初步建立可培养高酶活性功能菌株的筛选评价平台, 为南海渔源可培养功能微生物菌种资源的挖掘提供数据支持和科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品的采集与处理

2019 年春季搭乘“南锋号”科学考察船在南海渚碧礁海域(10°54'48"N, 114°03'04"E)、永暑礁海域(9°37'N, 112°58'E)、琛航岛海域(16°27'11"N, 111°42'41"E)采集金带齿颌鲷鱼样(平均体长 141 mm、平均体重 71 g), 现场解剖并无菌取其鳃组织和肠道。鳃组织样品放入保存液, 用于鳃组织细菌群落结构特征分析。肠道样品分为两部分, 一部分放入保存液, 用于肠道细菌群落结构特征分析; 另一部分放入保种液, 用于可培养肠道菌群对碳源利用特征分析。其中保存液成分为无水乙醇 750 mL/L, 0.5 mol/L EDTA 10 mL/L, 无菌水 240 mL/L; 保种液成分为 NaCl 25 g/L, 甘油 150 mL/L。鳃组织和肠道样品均存放于-20 °C 冰柜中并带回实验室备用。

1.2 细菌群落结构组成分析

采用 Mobio 粪便微生物基因组提取试剂盒提取保存液中的金带齿颌鲷鳃组织和肠道样品的 DNA, 并由明科生物技术(杭州)有限公司使用 Illumina MiSeq 平台进行 16S rDNA 测序分析。选择 V4 区为扩增区间, 扩增引物为: 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3') 和 806R (5'-GGACTACHVGGG TWTCTAAT-3')。

1.3 可培养细菌对碳源的利用特征分析

采用 Biolog EcoPlateTM 微板分析测定肠道细菌群落对不同碳源的利用特征。Biolog EcoPlateTM 微板是有 96 个微孔的无菌成品板, 每 32 个微孔为 1 个重复, 每板共计 3 个重复。除未加碳源的微孔加水作对照外, 其余微孔分别加入 31 种单一碳源底物和等量的四唑染料。通过显色反应, 每 24 h 测定各孔吸光值, 表征可培养细菌对不同碳源的利用特征。

取保种液中的肠道样品至无菌研磨棒中研磨, 研磨后将样品置于含有 50 mL 无菌复苏液的离心管中, 30 °C 微需氧条件下培养, 不定时用手摇动, 每 24 h 观察菌液, 72 h 后获得活力旺盛的菌液。无菌复苏液的成分为牛肉膏 3 g/L、蛋白胨 10 g/L、氯化钠 5 g/L、可溶性淀粉 5 g/L、橄榄油 3 mL/L、

磷酸二氢钾 1 g/L。复苏液配制好后经 121 °C 灭菌 20 min。菌液摇匀后, 取 20 mL 加入无菌加样槽中, 用八道移液枪将菌液加入 Biolog EcoPlate™ 微板的微孔中, 各微孔依次加入菌液 150 μL。30 °C 恒温培养 168 h, 每 24 h 在 595 nm 下读取各孔吸光值^[17], 吸光值用于分析细菌群落平均活性和细菌群落对 3 类碳源的利用能力。

1.4 数据处理与分析

1.4.1 高通量测序数据分析 采用 Trimmomatic、FLASH 对 reads 的质量进行质控过滤。用 Usearch (v5.10 <http://drive5.com/uparse/>) 对优化序列提取非重复序列, 用 Usearch 软件和 gold 数据库, 采用 denovo 和 reference 结合的方式去除嵌合体。用 RDP Classifier 将代表性序列分类为 97% 相似性水平的 OTU, 置信度阈值为 0.7 (Qiime 平台, RDP Classifier), 用 R 语言软件统计和制作 OTU Venn 图。基于物种注释及相对丰度结果, 使用 R 语言软件进行物种组成柱状图分析。采用 Uclust 软件对 OTU 代表序列进行分类学分析; 根据分类学分析结果, 利用 R 语言软件制图。根据需要将数据进行物种或样本间丰度相似性聚类, 用 R 语言分析并作图。利用测得的 16S rDNA 序列对金带齿颌鲷组织和肠道样品进行基因功能预测。获得的预测结果通过 KEGG 对基因家族进行分类, 进一步统计。

1.4.2 Biolog EcoPlate™ 微板分析

(1) 细菌群落平均活性分析

用 Excel 软件计算 31 个孔吸光值的平均值 (average well color development, AWCD) 进行菌群平均活性分析。计算公式为:

$$AWCD = \left[\sum (C_i - R) \right] / 31$$

式中, C_i 是除对照孔外各孔吸光值, R 是对照孔吸光值^[17]。

(2) 肠道菌群对 3 类碳源的利用分析

鉴于杨莺莺等^[18]和张燕燕等^[19]对 ECO 板碳源的分类及其鱼类的食物成分, 选取 ECO 板中的 16 种碳源, 分为氨基酸、糖类和脂类 3 大类, 用于金带齿颌鲷肠道菌群对 3 类碳源的利用特征分析。其中, 氨基酸包括 L-精氨酸、L-天冬酰胺酸、

L-苯基丙氨酸、L-丝氨酸、L-苏氨酸和甘氨酸-L-谷氨酸; 糖类包括 β -甲基 D-葡萄糖苷、D-木糖、I-赤藻糖醇、D-甘露醇、N-乙酰基-D-葡萄糖胺、D-纤维二糖和 α -D-乳糖; 脂类包括丙酮酸甲酯、吐温 40 和吐温 80。肠道可培养菌群对 3 类碳源的利用率以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm SD$) 表示。

1.4.3 方差分析 采用 SPSS(19.0) 统计软件中的单因素方差分析 (one-way ANOVA) 对 3 个海域金带齿颌鲷样品各组数据的差异显著性进行检验, 显著性水平设置为 0.05。

2 结果与分析

2.1 金带齿颌鲷组织和肠道细菌群落结构分析

2.1.1 3 个岛礁海域金带齿颌鲷组织和肠道细菌之间的关系 选取相似水平为 97% 的 OTU 样本分析 3 个岛礁海域金带齿颌鲷组织和肠道中共有和独有的细菌 OTU 数。如图 1 可见, 渚碧礁金带齿颌鲷组织样品 (ZBGA-G) 总 OTU 数为 832, 独有的 OTU 数为 184, 渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品 (ZBGA-I) 总 OTU 数为 529, 独有的 OTU 数为 109; 永暑礁金带齿颌鲷组织样品 (YSGA-G) 总 OTU 数为 684, 独有的 OTU 数为 149, 永暑礁金带齿颌鲷肠道样品 (YSGA-I) 总 OTU 数为 1022, 独有的 OTU 数为 254; 琛航岛金带齿颌鲷组织样品 (CHGA-G) 总 OTU 数为 798, 独有的 OTU 数为 168, 琛航岛金带齿颌鲷肠道样品 (CHGA-I) 总 OTU 数为 492, 独有的 OTU 数为 76。上述所有样品的共有 OTU 数目为 151 个。

其中 YSGA-I 的 OTU 数最多, 各海域金带齿颌鲷组织和肠道样品的共有 OTU 数较多, 所有样品共有 OTU 数占 YSGA-I 总 OTU 数的 14.8%, 分别占 ZBGA-I 与 CHGA-I 总 OTU 数的 28.5% 和 30.1%。渚碧礁和永暑礁海域金带齿颌鲷肠道样品总 OTU 数小于其鳃组织样品, 而永暑礁海域金带齿颌鲷肠道样品总 OTU 数远大于其鳃组织样品。

2.1.2 金带齿颌鲷组织和肠道细菌群落结构组成分析 3 个海域金带齿颌鲷组织样品中, 渚碧礁海域金带齿颌鲷组织细菌群落 (ZBGA-G) 隶属于 30 门、432 属; 永暑礁海域金带齿颌鲷

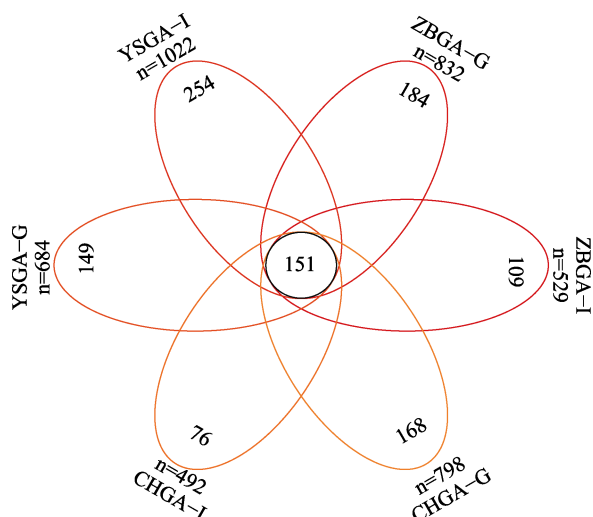


图 1 3 个岛礁海域金带齿颌鲷组织和肠道样品

共有和独有细菌可操作分类单元(OTU)数目

ZBGA-G 代表渚碧礁金带齿颌鲷组织样品, ZBGA-I 代表渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品, YSGA-G 代表永暑礁金带齿颌鲷组织样品, YSGA-I 代表永暑礁金带齿颌鲷肠道样品, CHGA-G 代表琛航岛金带齿颌鲷组织样品, CHGA-I 代表琛航岛金带齿颌鲷肠道样品, 图中数字为样品 OTU 数目。

Fig. 1 Common and unique bacterial(operational taxonomic units (OTUs) of gill and intestinal samples of *Gnathodentex aurolineatus* in 3 different areas

ZBGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, ZBGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, YSGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, YSGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, CHGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island, CHGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island. The digits in the figure are the OTU number of sample.

组织(YSGA-G)样品隶属于 23 门、380 属; 琛航岛海域金带齿颌鲷组织(CHGA-G)样品隶属于 28 门、384 属。三个海域金带齿颌鲷肠道样品中, 渚碧礁海域金带齿颌鲷肠道细菌群落(ZBGA-I)隶属于 21 门、296 属, 永暑礁样品(YSGA-I)隶属于 30 门、505 属, 琛航岛样品(CHGA-I)隶属于 22 门、280 属。

在门水平上, 渚碧礁、永暑礁和琛航岛海域金带齿颌鲷组织样品共有优势菌(相对丰度>4%)有变形菌门(Proteobacteria, 51.53%、61.06%、55.50%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 18.86%、13.87%、16.07%)、厚壁菌门(Firmicutes, 17.74%、13.61%、14.78%)。渚碧礁和琛航岛海域金带齿颌鲷组织样品的优势菌还有放线菌门(Actinobacteria, 5.23%、9.42%),

永暑礁组织样品的优势菌还有梭杆菌门(Fusobacteria, 4.64%)(图 2)。

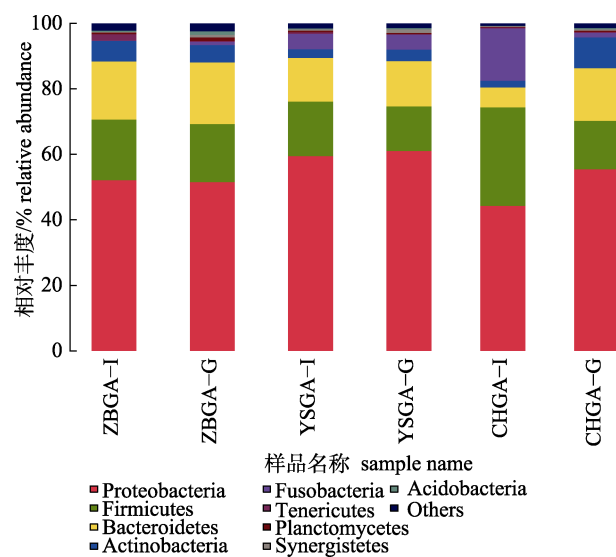


图 2 基于门水平金带齿颌鲷组织和肠道细菌群落相对丰度

ZBGA-G 代表渚碧礁金带齿颌鲷组织样品, ZBGA-I 代表渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品, YSGA-G 代表永暑礁金带齿颌鲷组织样品, YSGA-I 代表永暑礁金带齿颌鲷肠道样品, CHGA-G 代表琛航岛金带齿颌鲷组织样品, CHGA-I 代表琛航岛金带齿颌鲷肠道样品。

Fig. 2 Relative abundance of gill and intestinal bacterial communities of *Gnathodentex aurolineatus* on phylum level ZBGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, ZBGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, YSGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, YSGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, CHGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island, CHGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island.

渚碧礁、永暑礁和琛航岛海域金带齿颌鲷肠道样品共有优势菌为变形菌门(Proteobacteria, 52.13%、59.50%、44.30%)、厚壁菌门(Firmicutes, 18.53%、16.61%、30.04%)、拟杆菌门(Bacteroidetes, 17.72%、13.36%、6.12%)。此外, 渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品的优势菌还有放线菌门(Actinobacteria, 6.31%), 永暑礁和琛航岛海域肠道的优势菌还有梭杆菌门(Fusobacteria, 4.68%、15.92%)。

在属水平上, 3 个岛礁海域金带齿颌鲷组织样品在优势菌组成上相似性高, 但不同样品优势菌的相对丰度存在差异(图 3)。相对丰度前十的优势属中共有优势属有 7 个, 分别为埃希氏-志贺氏菌

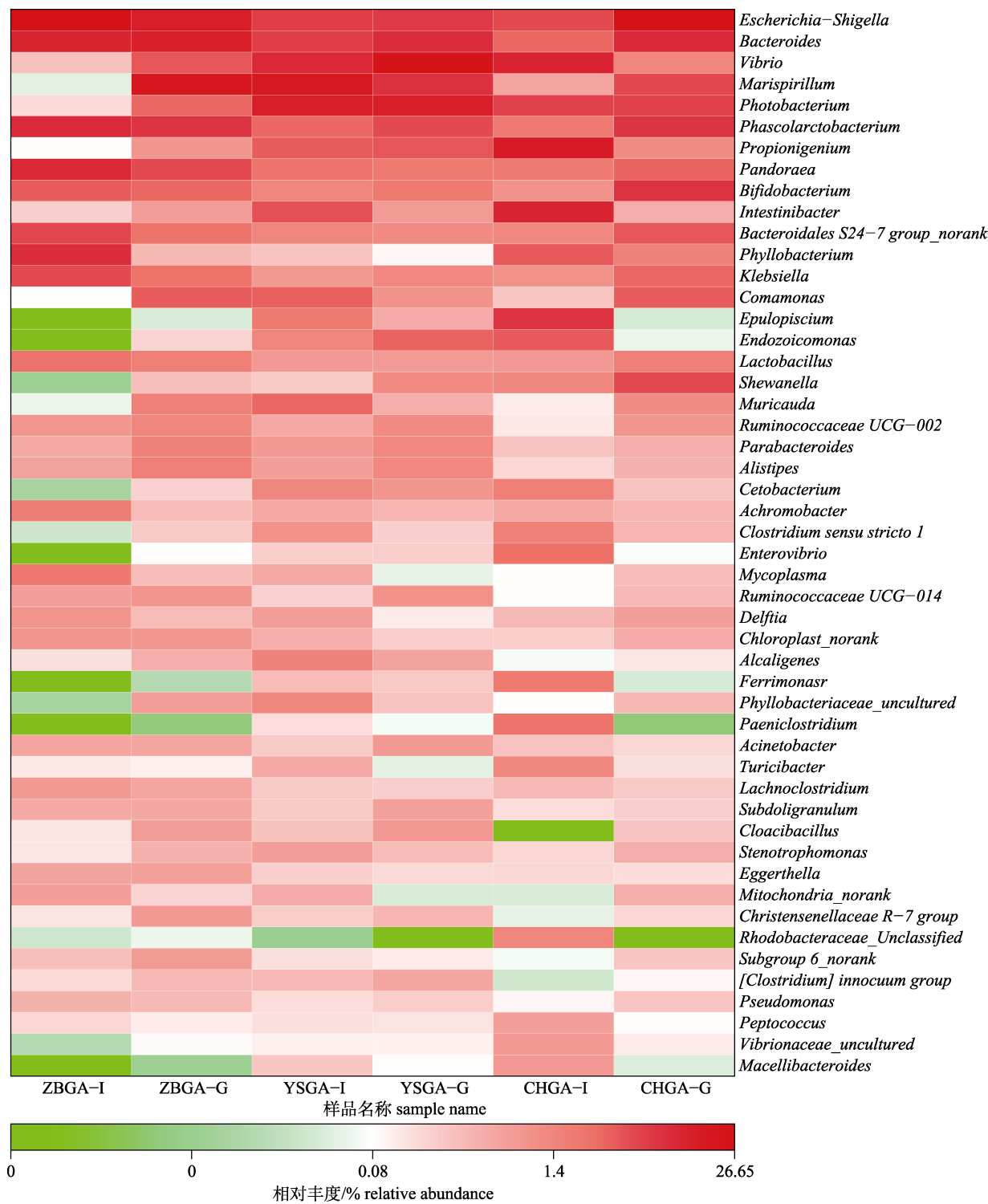


图 3 基于属水平的金带齿颌鲷鳃组织和肠道样品相对丰度热图

ZBGA-G 代表渚碧礁金带齿颌鲷鳃组织样品, ZBGA-I 代表渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品, YSGA-G 代表永暑礁金带齿颌鲷鳃组织样品, YSGA-I 代表永暑礁金带齿颌鲷肠道样品, CHGA-G 代表琛航岛金带齿颌鲷鳃组织样品, CHGA-I 代表琛航岛金带齿颌鲷肠道样品。

Fig. 3 Heatmap of relative abundance of gill and intestinal samples of *Gnathodentex aurolineatus* on genus level

ZBGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, ZBGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, YSGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, YSGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, CHGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island, CHGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island.

属(*Escherichia-Shigella*)、拟杆菌属(*Bacteroides*)、双歧杆菌属(*Bifidobacterium*)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)、*Marispirillum* 和 *Pandoraea*。ZBGA-G 样品除了 7 种优势菌外, 还有弧菌(*Vibrio*, 3.59%)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*, 3.16%)及克雷伯氏菌属(*Klebsiella*, 2.35%); YSGA-G 样品还有弧菌属(20.89%)、产丙酸菌属(*Propionigenium*, 3.77%)、*Endozoicomonas* (3.02%), CHGA-G 样品还有希瓦氏菌属(*Shewanella*, 4.57%)、*Bacteroidales* S24-7 group (3.91%)和丛毛单胞菌属(3.48%)。

较鳃组织样品相比, 3 个岛礁海域金带齿颌鲷肠道样品中的共有优势属较少, 仅 2 个, 分别为埃希氏-志贺氏菌属和拟杆菌属。在 ZBGA-I 样品中埃希氏-志贺氏菌属(22.93%)、拟杆菌属(10.35%)、伯克氏菌属(*Pandoraea*, 9.33%)、考拉杆菌属(*Phascolarctobacterium*, 8.15%)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*, 7.80%)、*Bacteroidales* S24-7 group (4.58%)、克雷伯氏菌(*Klebsiella*, 4.44%)、双歧杆菌(*Bifidobacterium*, 3.23%)、*Lactobacillus* (2.18%)和支原体属(*Mycoplasma*, 1.96%)占优势; 在 YSGA-I 样品中, *Marispirillum* (15.30%)、发光杆菌属(*Photobacterium*, 12.44%)、弧菌属(*Vibrio*, 9.09%)、埃希氏-志贺氏菌属(5.89%)、拟杆菌属(5.87%)、*Intestinibacter* (3.99%)、产丙酸菌属(*Propionigenium*, 3.37%)、丛毛单胞菌属(*Comamonas*, 3.14%)、鼠尾菌(*Muricauda*, 2.94%) 和 考 拉 杆 菌 属 (*Phascolarctobacterium*, 2.92%)占优势; CHGA-I 样品的优势菌属包括产丙酸菌属(*Propionigenium*, 14.20%)、弧菌属(*Vibrio*, 10.90%)、*Intestinibacter* (10.76%)、刺骨鱼菌属(*Epulopiscium*, 7.59%)、发光杆菌属(*Photobacterium*, 5.77%)、埃希氏-志贺氏菌属(4.76%)、叶杆菌属(*Phyllobacterium*, 3.83%)、*Endozoicomonas* (3.75%)、拟杆菌属(2.98%)和肠弧菌属(*Enterovibrio*, 2.66%)。

2.2 可培养肠道菌群对碳源的利用特征分析

3 个岛礁海域金带齿颌鲷肠道可培养菌群对碳源的利用能力如图 4 所示。各样品的 AWCD 曲线在 0~96 h 斜率较大, 而随后较为稳定。渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品可培养细菌群落(ZB)的 AWCD

值在 0~96 h 之间为指数增长期, 随后进入稳定期, 168 h 达到最高, 其值为 1.83。永暑礁金带齿颌鲷肠道样品可培养细菌群落(YS)的 AWCD 值在 0~120 h 之间为增长期, 144 h 达到最高, 最高值为 1.43, 随后略微下降; 琛航岛金带齿颌鲷肠道样品可培养细菌群落(CH)的 AWCD 值在 0~24 h 之间为增长期, 随后进入稳定期, 120 h 达到最高, 其值为 1.05。72~168 h, 各样品的 AWCD 为 $AWCD_{ZB} > AWCD_{YS} > AWCD_{CH}$, 各样品组间差异显著($P < 0.05$)。

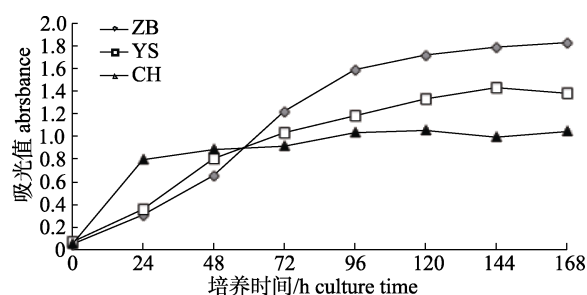


图 4 3 个岛礁海域金带齿颌鲷可培养肠道菌群平均吸光值(AWCD)随时间的变化

ZB 表示渚碧礁海域金带齿颌鲷可培养肠道细菌群落样品, YS 表示永暑礁海域金带齿颌鲷可培养肠道细菌群落样品, CH 表示琛航岛海域金带齿颌鲷可培养肠道细菌群落样品。

Fig. 4 Changes of average well color developments (AWCDs) of cultivable intestinal bacterial communities of *Gnathodentex aurolineatus* in different reef waters with time
ZB indicates the sample of cultivable intestinal bacterial communities of *G. aurolineatus* in the area of Zhubi Reef, YS indicates the sample of cultivable intestinal bacterial communities of *G. aurolineatus* in the area of Yongshu Reef, CH indicates the sample of cultivable intestinal bacterial communities of *G. aurolineatus* in the area of Chenhang Island.

因为微生物所产生的酶系不同, 所以不同的微生物可利用不同的碳源。结果发现, 3 个南海岛礁海域金带齿颌鲷可培养肠道菌群对氨基酸、糖类、脂类 3 大类碳源的利用率在 120~168 h 均呈现出渚碧礁海域肠道样品(ZB)>永暑礁海域肠道样品(YS)>琛航岛海域肠道样品(CH)的趋势, 各样品间存在显著差异(图 5, $P < 0.05$)。其中, 对氨基酸类碳源的利用率在 0~48 h 为 $CH > YS > ZB$; 而在 72~96 h 呈现出 $ZB > YS > CH$ 的趋势, 差异显著($P < 0.05$)。0~120 h, YS 对糖类的利用率和 CH 基本一致, 差异不显著($P > 0.05$), 0~48 h CH 对糖类的利用率最高; 72~168 h YS 对糖类的利用率最高;

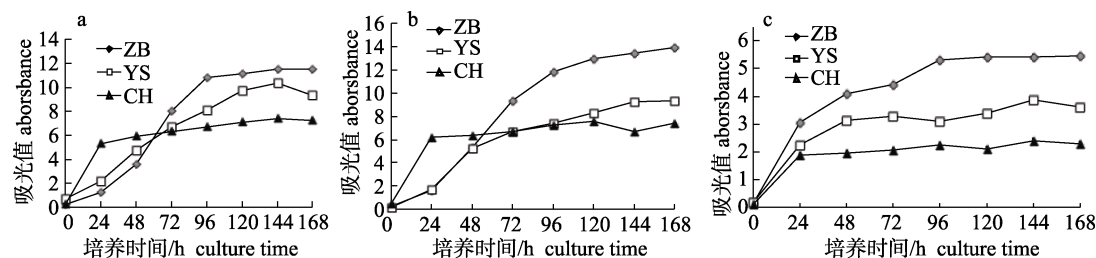


图 5 渚碧礁(ZB)、永暑礁(YS)和琛航岛(CH)海域金带齿颌鲷可培养肠道细菌群落对氨基酸(a)、糖类(b)和脂类(c)碳源的利用情况比较

Fig. 5 Comparison of the utilization of amino acids (a), carbohydrate (b), and lipid (c) carbon sources by culturable intestinal bacterial communities of *Gnathodentex aurolineatus* in Zhubi Reef (ZB), Yongshu Reef (YS) and Chenhang Island (CH) area

对脂类的利用率在 24~168 h 均为 ZB>YS>CH, 差异显著($P<0.05$)。

2.3 金带齿颌鲷肠道和鳃组织细菌群落的功能预测

对金带齿颌鲷肠道和鳃组织细菌群落的功能基因预测发现, 代谢类相关功能基因所占比例高, 尤其是 ZBGA-I 组在整个基因功能表达方面显著高于其他组($P<0.05$, 图 6)。其余各组肠道菌群和鳃组织样品基因丰度相差较小, 在 3 个岛礁海域金带齿颌鲷肠道样品中对三类碳源的利用均为 ZBGA-I>YSGA-I>CHGA-I, 这与可培养菌群碳源利用规律一致。占比例较高的功能主要有膜转运(membrane transport)、氨基酸代谢(amino acid metabolism)、碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、复制和修复(replication and repair)、能量代谢(energy metabolism)、不良特征(poorly characterized)、细胞过程和信号(cellular processes and signaling)、翻译(translation)、辅助因子和维生素的代谢(metabolism of cofactors and vitamins)、脂类代谢(lipid metabolism)、异生素生物降解和代谢(xenobiotics biodegradation and metabolism); 其次是核苷酸代谢(nucleotide metabolism)、新陈代谢(metabolism)、转录(transcription)、细胞动力学(cell motility)、遗传信息处理(genetic information processing)、糖聚糖的生物合成和代谢(glycan biosynthesis and metabolism)、折叠、分类和降解(folding, sorting and degradation)、信号传导(signal transduction)、其他氨基酸的代谢(metabolism of other amino acids)、萜类和聚酮类物质的代谢(metabolism of terpenoids and polyketides)、酶家族(enzyme families)、

其他次生代谢物的生物合成(biosynthesis of other secondary metabolites)等。

3 讨论

3.1 金带齿颌鲷鳃组织和肠道的菌群结构分析

目前, 有研究表明部分鱼类鳃组织的优势菌群主要为变形菌门和厚壁菌门^[20-21], 与肠道菌群相比, 鳃组织的菌群与水环境菌群结构的相似性更高。庄康等^[22-23]研究了 2019 年春季(与本研究同一时间同一航次)南海海域永暑礁、美济礁、琛航岛南海海水微生物群落组成, 发现金带齿颌鲷鳃菌群与相应海域海水菌群的优势菌在门分类水平上基本一致; 但是在属分类水平上, 各岛礁金带齿颌鲷鳃组织样品中优势属种类丰富且与南海岛礁水环境中的优势属差异显著。金带齿颌鲷鳃组织主要的优势属包括埃希氏-志贺氏菌属、拟杆菌属、双歧杆菌属、发光杆菌属、考拉杆菌属、*Marispirillum*、*Pandoraea*、弧菌、丛毛单胞菌属、克雷伯氏菌属、产丙酸菌属、*Endozoicomonas*、希瓦氏菌属、*Bacteroidales S24-7 group* 等, 南海海水体中主要的优势属包括弧菌属、嗜冷菌属(*Psychrobacter*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)和 *Nitratireductor*^[22-23]。造成这一现象的原因可能是金带齿颌鲷鳃组织对栖息水体中的微生物有一定的选择性, 或者体内外环境的差异造成优势菌的不同。但是, 本研究结果与孙豪等^[24]应用 PCR-DGGE 和 Q-PCR 得出的养殖斑点叉尾鲷鳃组织与水环境优势属均为肠杆菌科、气单胞菌属和肠球菌属的结论不一致, 推测这可能与摄食、宿主本身因素以及生境不同有关。

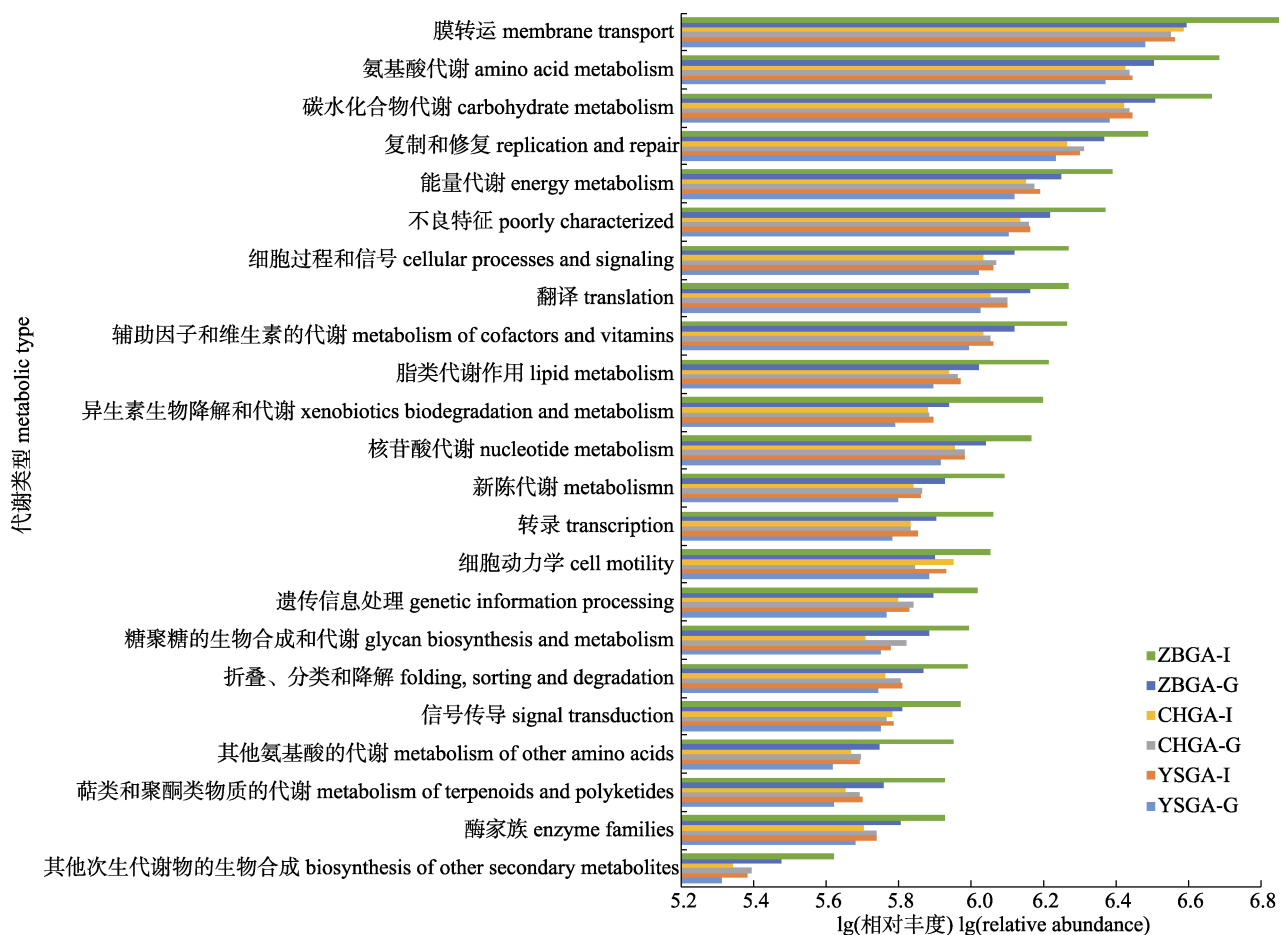


图 6 基于京都基因与基因组百科全书-2 级(KEGG-L2)水平样品簇状图

ZBGA-G 代表渚碧礁金带齿颌鲷组织样品, ZBGA-I 代表渚碧礁金带齿颌鲷肠道样品, YSGA-G 代表永暑礁金带齿颌鲷组织样品, YSGA-I 代表永暑礁金带齿颌鲷肠道样品, CHGA-G 代表琛航岛金带齿颌鲷组织样品, CHGA-I 代表琛航岛金带齿颌鲷肠道样品。

Fig. 6 Cluster diagram based on KEGG-L2 (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes level 2) samples ZBGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, ZBGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Zhubi Reef, YSGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, YSGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Yongshu Reef, CHGA-G represents gill tissue sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island, CHGA-I represents intestinal sample of *G. aurolineatus* in Chenhang Island.

鱼类肠道菌群的研究表明, 其优势菌门多以变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门为主^[11,14], 本研究结果与之相印证。Miyake 等^[25]指出摄食是影响刺尾鱼科(*Acanthuridae*)肠道微生物群落结构的重要因素之一, 其中植食性珊瑚礁鱼类的优势属主要为刺骨鱼菌属(7 种植食性鱼类的优势属)、脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*)、鲸杆菌属(*Cetobacterium*)等。肉食性珊瑚礁鱼类的肠道优势菌属为嗜冷菌属、埃希氏-志贺氏菌属和弧菌属等^[3]; 杂食性海洋鱼类肠道中支原体属、发光杆菌属、丙酸杆菌属、弧菌属、希瓦氏菌属等占优势^[26]。本研究金

带齿颌鲷肠道菌群的优势属既有刺骨鱼菌属, 又有埃希氏-志贺氏菌属和弧菌属, 还包括支原体属、发光杆菌属、丙酸杆菌属和希瓦氏菌属等。2019 年渚碧礁海域金带齿颌鲷肠道菌群较 Gao 等^[3]2017 年渚碧礁海域肠道优势菌更加丰富多样, 变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门的相对丰度由 98% (最低)下降至 88.54% (最高), 3 个岛礁中均未发现嗜冷菌属占优势, 只在琛航岛海域金带齿颌鲷肠道中发现刺骨鱼菌属。此外, Li 等^[27]指出不同食性鱼类的 OTUs 数量差异显著且食性显著影响胃肠道菌群优势属的出现, 本研究 3 个岛礁海域金

带齿颌鲷 OTUs 存在显著差异,其中最多达到 1022,最少为 492。造成这一现象的原因可能与赵洪强^[28]的研究结论一致,即东海带鱼摄食习性会因为区域的改变由主要摄食磷虾转为摄食鱼类,故推测栖息区域水环境的变化可能导致其摄食习性和食物的变化,从而影响了其肠道菌群的结构。

3.2 金带齿颌鲷肠道菌群的碳源代谢功能分析

蛋白质、糖类、脂肪是最重要的 3 大营养物质^[29]。本研究不仅分析了不同海域金带齿颌鲷肠道菌群对 31 种碳源的平均利用活性,还针对性地探究了肠道菌群对氨基酸、糖类和脂类 3 大类碳源的利用效率。本研究结果发现,渚碧组(ZB)可培养肠道菌群的平均代谢活性最高且对氨基酸、糖类和脂类的利用率最强,永暑组(YS)肠道菌群次之,琛航组(CH)肠道菌群最低。这一结果表明,金带齿颌鲷作为渚碧礁的常住种,永暑礁海域的优势种,其肠道微生物对 3 类碳源的利用在渚碧礁海域被强化,而在琛航岛海域却明显减弱。这可能是由于 3 个岛礁海域可利用碳源的差异所致,环境中碳源种类和数量的差异也可造就微生物独特的代谢特征^[19]。庄康等^[22-23]利用 Biolog EcoPlateTM 微板法研究了南海永暑礁、美济礁和琛航岛水体可培养细菌群落对碳源的利用特征,结果显示永暑礁和琛航岛海域水体细菌群落的 AWCD 值最高,分别为 1.25 和 0.97,永暑礁海域水体菌群对氨基酸类、糖类的利用率在 0~168 h 时显著高于琛航岛海域。本研究各海域金带齿颌鲷肠道菌群稳定后的 AWCD 值和对 3 类碳源利用的总吸光值均高于水体。由此可见,南海肉食性鱼类肠道将是筛选和挖掘可培养功能微生物菌种资源的重要来源之一。

鱼类肠道微生物的功能之一是通过分泌消化酶辅助鱼类营养物质的消化,从而促进营养物质的转化和吸收^[30]。施兆鸿等^[31]研究表明云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)幼鱼消化道的微生物组成直接影响外源性消化酶的种类与活性。其中,拟杆菌门菌株可产生丰富的糖基转移酶和大量的聚合物降解酶,特别是肽酶^[32];从变形菌门 γ -变形菌纲^[33](Gammaproteobacteria)可分离产蛋白酶菌株;厚壁菌门芽孢杆菌属的大多数菌株可以产生蛋白

酶、淀粉酶等^[34];长吻鲟(*Polyodon spathula*)^[35]肠道菌群以梭杆菌门-梭杆菌纲(*Fusobacteria*)、变形菌门 γ -变形菌纲和拟杆菌门-拟杆菌纲(*Bacteroidia*)为主,在营养代谢方面,肠道菌群在碳水化合物发酵中的发酵能力高于食道和胃。目前,已分离的高酶活性菌株多隶属于芽孢杆菌属、*Enterobacteriaceae*、不动杆菌属(*Acinetobacter*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、产黄菌属(*Flavobacterium*)、发光杆菌属、假单胞细菌属、弧菌属、*Microbacterium*、*Micrococcus* 和葡萄球菌属(*Staphylococcus*)等^[36]。结合本研究金带齿颌鲷肠道菌群的组成和其对碳源的平均代谢活性和利用率,推测其肠道菌群中存在潜在的高酶活性菌株。此外,本研究通过基因功能预测发现,渚碧礁海域组肠道菌群在代谢方面的功能如氨基酸、碳水化合物和脂类的代谢占比高且显著优于其他组,这与可培养碳源利用的结果一致。这为后续将 16S 多样性分析技术与 Biolog EcoPlateTM 微板分析结合,构建可培养高酶活性功能菌株的筛选评价平台奠定了较好的数据基础。鉴于南海海域独特的海洋环境和战略地位,及金带齿颌鲷肠道菌群对氨基酸、糖类和脂类 3 大类碳源的利用效率,后续将进一步开展金带齿颌鲷肠道高产酶菌株的筛选与功能验证研究,以期深入挖掘南海渔源功能微生物种质资源。

参考文献:

- [1] Fang H D, Lyu X L. Reef fish identification of Nansha Islands[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2019. [方宏达,吕向立.南沙群岛珊瑚礁鱼类图鉴[M].青岛:中国海洋大学出版社,2019.]
- [2] Du J G, Hu W J, Nagelkerken I, et al. Seagrass meadows provide multiple benefits to adjacent coral reefs through various microhabitat functions[J]. Ecosystem Health and Sustainability, 2020, 6(1): 1812433.
- [3] Gao Y M, Zou K S, Zhou L, et al. Deep insights into gut Microbiota in four carnivorous coral reef fishes from the South China Sea[J]. Microorganisms, 2020, 8(3): 426.
- [4] Li Y J. Biodiversity and biological characteristics of dominant fish species of typical reef fishes in South China Sea[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020. [李媛洁.南海典型岛礁鱼类多样性及优势种生物学特征研究[D].上海:上海海洋大学,2020.]

- [5] Zhang J, Chen Z Z, Chen G B. A preliminary study on biology of Glowfish (*Gnathodentex aureolineatus*) in Yongshu Reef of Nansha area in the South China Sea[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(5): 108-116. [张俊, 陈作志, 陈国宝. 南沙海域永暑礁金带齿颌鲷生物学特征初步研究[J]. 南方水产科学, 2015, 11(5): 108-116.]
- [6] Ma R R, Wang Y, Zhao S, et al. Bacterial flora in the gill tissues and intestinal tracts of male and female Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*) with different diets in a mud pond[J]. Current Microbiology, 2021, 78(6): 2291-2297.
- [7] 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 (Amsterdam, Netherlands), 2017, 467: 149-157.
- [8] Ingerslev H C, von Gersdorff Jørgensen L, Lenz Strube M, et al. The development of the gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) is affected by first feeding and diet type[J]. Aquaculture, 2014, 424-425: 24-34.
- [9] Jiang Y, Yu C Y, Xu Y J, et al. Analysis of the evolution trend of gastrointestinal tract microflora of juvenile yellowtail kingfish, *Seriola lalandi* during nutrient metabolism[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(2): 252-263. [姜燕, 于超勇, 徐永江, 等. 营养代谢过程中黄条鲷幼鱼消化道菌群的演变趋势[J]. 中国水产科学, 2022, 29(2): 252-263.]
- [10] Margolis L. The effect of fasting on the bacterial flora of the intestine of fish[J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1953, 10(2): 62-63.
- [11] Li T T, Qi M T, Gatesoupe F J, et al. Adaptation to fasting in crucian carp (*Carassius auratus*): Gut Microbiota and its correlative relationship with immune function[J]. Microbial Ecology, 2019, 78(1): 6-19.
- [12] Shang Z D, Kong Q H, Liu S Z, et al. Dynamic distribution of intestinal microbes in *Schizothorax o'connori* at different growth stages[J]. Fisheries Science, 2020, 86(1): 87-95.
- [13] Huyben D, Vidaković A, Werner Hallgren S, et al. High-throughput sequencing of gut microbiota in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed larval and pre-pupae stages of black soldier fly (*Hermetia illucens*)[J]. Aquaculture, 2019, 500: 485-491.
- [14] Zhang C, Wang Y, Zheng X F, et al. Bacterial diversity in the gut of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) and giant croaker (*Nibea japonica*) reared in seawater net pens[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(9): 1113-1124. [张琛, 王岩, 郑侠飞, 等. 海水网箱养殖花鲈和日本黄姑鱼肠道细菌的多样性[J]. 中国水产科学, 2020, 27(9): 1113-1124.]
- [15] Li Y J, Zhang J, Chen Z Z, et al. Study on taxonomic diversity of fish in Zhubi Reef of Nansha Islands[J]. South China Fisheries Science, 2020, 16(1): 36-41. [李媛洁, 张俊, 陈作志, 等. 南沙群岛渚碧礁鱼类分类多样性研究[J]. 南方水产科学, 2020, 16(1): 36-41.]
- [16] Smriga S, Sandin S A, Azam F. Abundance, diversity, and activity of microbial assemblages associated with coral reef fish guts and feces[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2010, 73(1): 31-42.
- [17] Hu X J, Li Z J, Cao Y C, et al. Influence of heavy rain on microbial community in *Litopenaeus vannamei* culture ponds in western Guangdong Province[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(5): 987-995. [胡晓娟, 李卓佳, 曹煜成, 等. 强降雨对粤西凡纳滨对虾养殖池塘微生物群落的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 987-995.]
- [18] Yang Y Y, Li Z J, Liang X H, et al. Influences of *Bacillus* on metabolic functions of microbial communities in fishponds [J]. Journal of Microbiology, 2009, 29(3): 11-17. [杨莹莹, 李卓佳, 梁晓华, 等. 芽胞杆菌对鱼池微生物群落代谢功能的影响[J]. 微生物学杂志, 2009, 29(3): 11-17.]
- [19] Zhang Y Y, Qu L Y, Chen L D. An amendment on information extraction of biolog EcoPlateTM[J]. Microbiology, 2009, 36(7): 1083-1091. [张燕燕, 曲来叶, 陈利顶. Biolog EcoPlateTM 实验信息提取方法改进[J]. 微生物学通报, 2009, 36(7): 1083-1091.]
- [20] Nie Z J, Xu G C, Cheng Q Q, et al. Construction and analysis of PCR-DGGE gene fingerprint of bacterial community in *Coilia nasus* from sea[J]. Marine Sciences, 2014, 38(10): 63-69. [聂志娟, 徐钢春, 程起群, 等. 海洋生境刀鲚菌群 PCR-DGGE 指纹图谱构建及分析[J]. 海洋科学, 2014, 38(10): 63-69.]
- [21] Nie Z J, Xu G C, Cheng Q Q, et al. Fingerprint and diversity analysis of the predominant bacterial community in *Coilia ectenes taihuensis* and its growing environment with PCR-DGGE[J]. Freshwater Fisheries, 2015, 45(1): 8-14. [聂志娟, 徐钢春, 程起群, 等. 湖鲚体内与生长环境菌群 PCR-DGGE 指纹图谱及多样性分析[J]. 淡水渔业, 2015, 45(1): 8-14.]
- [22] Zhuang K, Hu X J, Cao Y C, et al. Bacterial community structure and its utilization characteristics of carbon sources in water of South China Sea under different low-nutrient culture conditions[J]. Microbiology China, 2020, 47(9): 2697-2710. [庄康, 胡晓娟, 曹煜成, 等. 不同寡营养培养条件下南海水体细菌群落结构及其对碳源的利用特征[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2697-2710.]
- [23] Zhuang K. Analysis of bacterial community and characteristics of diesel degrading bacteria in Islands area of the South China Sea[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2021. [庄康. 南海岛礁海域细菌群落特征及柴油降解菌特性分

- 析[D]. 舟山: 浙江海洋大学, 2021.]
- [24] Sun H, Shi Y D, Ni X Q, et al. Application of PCR-DGGE and Q-PCR to analyze microflora of skin, gills, and the gastrointestinal tract of *Ictalurus punctatus* with different weights[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(1): 156-164. [孙豪, 时云朵, 倪学勤, 等. 应用 PCR-DGGE 和 Q-PCR 分析不同体重斑点叉尾鲴皮肤、鳃和胃肠道菌群结构[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 156-164.]
- [25] Miyake S, Ngugi D K, Stingl U. Diet strongly influences the gut microbiota of surgeonfishes[J]. Molecular Ecology, 2015, 24(3): 656-672.
- [26] Givens C E, Ransom B, Bano N, et al. Comparison of the gut microbiomes of 12 bony fish and 3 shark species[J]. Marine Ecology Progress Series, 2015, 518: 209-223.
- [27] Li J, Ni J, Li J, et al. Comparative study on gastrointestinal microbiota of eight fish species with different feeding habits [J]. Journal of Applied Microbiology, 2014, 117(6): 1750-1760.
- [28] Zhao H Q. Studies on the feeding habits of *Trichiurus lepturus* in East China Sea[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2014. [赵洪强. 东海带鱼摄食习性的研究[D]. 舟山: 浙江海洋学院, 2014.]
- [29] Sun C B, Liu Z J, Liu F, et al. Impact of dietary components on gut microbiota structure[J]. Food Research and Development, 2018, 39(9): 178-182. [孙长豹, 刘志静, 刘飞, 等. 食物成分对肠道菌群结构的影响[J]. 食品研究与开发, 2018, 39(9): 178-182.]
- [30] Song Z F, Wu T X. Review on intestinal normal microflora in fish[J]. Fisheries Science, 2007, 26(8): 471-474. [宋增福, 吴天星. 鱼类肠道正常菌群研究进展[J]. 水产科学, 2007, 26(8): 471-474.]
- [31] Shi Z H, Wang J J, Gao Q X. Isolation and identification of enzyme-producing bacteria from the digestive tract of *Epinephelus moara* in re-circulating aquaculture systems[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(5): 941-949. [施兆鸿, 王建建, 高权新. 工厂化循环水养殖条件下云纹石斑鱼消化道产酶菌的分离鉴定[J]. 中国水产科学, 2015, 22(5): 941-949.]
- [32] Fernández-Gómez B, Richter M, Schüller M, et al. Ecology of marine Bacteroidetes: A comparative genomics approach [J]. The ISME Journal, 2013, 7(5): 1026-1037.
- [33] Yang J Y, Feng Y Y, Chen X L, et al. Family-level diversity of extracellular proteases of sedimentary bacteria from the South China Sea[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2019, 38(12): 73-83.
- [34] Larrea-Murrell J A, Rojas-Badia M M, García-Soto I, et al. Diversity and enzymatic potentialities of *Bacillus* sp.[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2018, 34(2): 28.
- [35] Yang G, Tao Z Y, Xiao J, et al. Characterization of the gastrointestinal microbiota in paddlefish (*Polyodon spathula*)[J]. Aquaculture Reports, 2020, 17: 100402.
- [36] Ray A K, Ghosh K, Ringø E. Enzyme-producing bacteria isolated from fish gut: A review[J]. Aquaculture Nutrition, 2012, 18(5): 465-492.

Gill tissue and intestinal flora bacterial community structure and carbon source utilization characteristics of the intestinal flora of *Gnathodentex aurolineatus* in reef waters of the South China Sea

WANG Jingjing^{1,2}, HU Xiaojuan², CAO Yucheng², SU Haochang², WEN Guoliang^{1,2}, ZHANG Yuexing¹

1. National Engineering Research Center for Marine Aquaculture, 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; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China

Abstract: The intestinal flora of fishes has attracted considerable attention in recent years; however, most scholars focus their attention on farmed fish rather than wild coral reef fish. Here, we collected gill and intestinal samples of *Gnathodentex aurolineatus* from three reefs in the South China Sea to compare the structures of their intestinal bacterial community and carbon source utilization characteristics. MiSeq high-throughput sequencing technology was used to investigate the intestinal bacterial community structure of *G. aurolineatus* and the Biolog Eco microplate method was used to analyze the carbon source utilization characteristics of bacterial communities in different reef waters. The results showed that the gill tissue and intestinal bacterial communities were highly similar across various seas. Nevertheless, significant differences in relative abundance of phyla and genera were observed. A total of 151 common operational taxonomic units (OTUs) were observed among all samples, and a total of 1022 OTUs were identified from the Yongshu Reef group. A total of 492 OTUs were identified from the Chenhang Island group. At the phylum level, Proteobacteria, Bacteroidetes, and Firmicutes were the dominant phyla in all groups, and the unique dominant phyla were Actinobacteria and Fusobacteria. At the genus level, *Escherichia-Shigella*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Phascolarctobacterium*, *Photobacterium*, *Marispirillum*, and *Pandoraea* dominated in all gill tissue samples. However, the most common dominant genera were *Escherichia-Shigella* and *Bacteroides* in all intestinal samples, and other dominant genera were significantly dissimilar. Metabolic activity and utilization rate of carbon sources of amino acids, carbohydrates, and lipids ranged from high to low in Zhubi Reef group (ZB), Yongshu Reef group (YS), and Chenhang Island group (CH), with significant differences among the three groups ($P < 0.05$). Gene functional prediction results showed a high proportion of metabolism-related functional genes, and the utilization of the three types of carbon sources was consistent with that of carbon sources in culturable intestinal bacteria. The intestinal bacterial community of *G. aurolineatus* has a high metabolic capacity for carbon sources. Therefore, we plan to isolate high enzyme-producing strains from the intestines of this species in the future.

Key words: *Gnathodentex aurolineatus*; bacterial community structure; carbon source utilization; reef sea area

Corresponding author: WEN Guoliang. E-mail: wgl610406@163.com