

DOI: 10.12264/JFSC2024-0120

水体中泥沙含量对虹鳟生存、生理和体表微生物的影响

刘浩¹, 李洁¹, 李亚军¹, 康鹏天², 张国维², 邵东宏², 王建福¹

1. 甘肃农业大学动物科学技术学院, 甘肃 兰州 730070;

2. 甘肃省渔业技术推广总站, 甘肃 兰州 730070

摘要: 为探讨养殖水体中泥沙含量急剧增加对虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)免疫和抗氧化能力以及体表微生物群落的影响, 选用黄河泥沙, 利用水泵原池循环+鼓风机曝气法使泥沙保持悬浮, 设置 0、1000 和 10000 mg/L 共 3 个泥沙含量梯度组开展虹鳟急性应激试验。连续检测其应激后虹鳟血清中的碱性磷酸酶(AKP)、溶菌酶(LZM)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)活性和丙二醛(MDA)含量的变化, 以及应激养殖 7 d 后其皮肤和鳃部微生物群落差异。结果显示, 泥沙含量急性升高会造成虹鳟血清中 AKP 和 LZM 活力在 3~6 h 内发生显著变化, 但之后就能逐渐恢复稳态; T-SOD 和 POD 在泥沙应激的 24 h 内分别有降低和升高的趋势, 但 48 h 后都能恢复稳态; CAT 在应激后出现显著升高, 但不具有明显的泥沙含量依赖性; MDA 在应激后则出现显著下降, 且具有明显的泥沙含量依赖性。在检测的虹鳟皮肤黏液和鳃组织两个部位中, 相较于对照组, 泥沙应激后的食酸菌属(*Acidovorax*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)的相对丰度均显著升高($P<0.05$), 而鞘氨醇杆菌属(*Sphingobacterium*)的相对丰度显著降低($P<0.05$)。以上结果表明, 泥沙急性应激会在短期内造成虹鳟的免疫和抗氧化能力紊乱, 并使其体表有害微生物增加。

关键词: 虹鳟; 泥沙含量; 免疫酶; 抗氧化酶; 体表微生物群落

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)11-1365-10

虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)是一种在全球范围内广泛养殖的溪流冷水性鱼类, 也是 FAO 向世界推荐的优秀淡水鱼品种之一, 具有很高的食用价值和经济价值。近年来, 在山区溪流冷水资源丰富的地区以及高原河流型水库的敞水区开展流水和网箱养殖虹鳟成为了新的养殖方向^[1]。然而, 在以降水和涌泉作为主要水源的山区溪流水和拦河型水库的敞水网箱养殖区内, 雨季洪水激增以及上游人为的采砂活动都会使水体中泥沙含量急剧增加, 从而对这两种养殖模式下的鱼类健康造成十分严重的影响。另外, 拦河型水库的鱼类自然种群和网箱养殖鱼类也会在汛期受到河道区和过渡区泥沙含量增加的严重影响^[2-3]。早在 1985

年, Bruton^[4]就通过研究悬浮体浓度对鱼类的影响, 发现高含沙量会降低幼鱼存活率、影响鱼类繁殖甚至堵塞鱼鳃造成鱼类直接死亡。孙麓垠等^[5]研究发现, 水体中泥沙含量增加会影响鱼类的活动和生存, 且细颗粒泥沙含量较高会堵塞和损坏鱼鳃, 水体的溶解氧浓度也会随着含沙量的增加而减少, 最终可能导致鱼类急性致死。刘晓庆等^[6]研究发现, 水体泥沙会加剧鱼类在溶解氧过饱和和水体的死亡率。最新研究发现, 水体中的泥沙还会导致鱼类黏液脱落, 进而引起继发性感染发病或死亡, 并对幼鱼影响最甚^[7]。

目前, 水体中泥沙对鱼类影响的相关研究主要集中在泥沙含量对鱼类生存、行为及种群多样

收稿日期: 2024-06-03; 修订日期: 2024-07-10.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32060257); 甘肃省渔业技术推广总站横向合作项目(GSAU-JSFW-2022-03); 甘肃农业大学学科团队项目(GAU-XKTD-2022-23).

作者简介: 刘浩(1998-), 男, 硕士研究生, 主要从事水产动物健康养殖相关研究. E-mail: 1404234158@qq.com

通信作者: 王建福, 副教授, 主要从事水产动物健康养殖相关研究. E-mail: wangjf@gsau.edu.cn

性影响等方面^[8-11]。本研究根据水利部发布的 2023 年《中国河流泥沙公报》、宁夏水利研究院和德州市水利局对含沙水体的调查^[12-13], 依据现有试验条件, 选定 0、1000 和 10000 mg/L 共 3 个泥沙浓度梯度进行试验, 利用水泵原池循环+鼓风机曝气法模拟携带大量泥沙的洪水环境, 对虹鳟在泥沙水体的生存、生理及体表微生物进行研究, 希望能够为实际养殖中遭遇强降雨、库区崩塌和采砂活动等养殖不良影响的应对方案制定提供参考和帮助。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼及分组

试验用虹鳟实验个体来自甘肃景中景渔业科技有限公司虹鳟养殖场, 选用遗传背景相同, 大小一致[平均体重(200±10) g, 体长(28±1) cm]的健康个体, 暂养两周后开始正式试验。养殖容器为 1.5 m³ 的圆形帆布鱼池, 养殖期间保持溶氧>9.0 mg/L, 水温 12~13 °C, 泥沙应激试验期间不投喂。试验期间, 随时记录各组死鱼数量, 统计致死率。

试验共分为 3 组, 泥沙含量分别为: 0 mg/L (C 组)、1000 mg/L (L 组) 和 10000 mg/L (H 组)。每个试验组放鱼 15 尾, 每组设置 3 个重复。3 个试验组所采集的皮肤黏液和鳃组织样品分别标记为 Cs (C 组皮肤黏液)、Cg (C 组鳃组织)、Ls (L 组皮肤黏液)、Lg (L 组鳃组织)、Hs (H 组皮肤黏液) 和 Hg (H 组鳃组织)。

1.2 样品采集方法

分别在应激处理后的 3、6、12、24 和 48 h 每组随机选取共 6 尾, 利用 50 mg/L 的 MS-222 麻醉后采集尾部血管血液 1.5 mL, 操作小心谨慎, 采血后在鱼鳍做好标记, 放回原鱼池。采集的血液冰上静置 60 min 后, 4 °C, 4000 r/min, 离心 10 min, 采集上清液放入 1.5 mL 的冻存管, 液氮快速冷冻后-80 °C 冰箱保存, 用于后续酶活力测定。应激处理 7 d 后, 每组随机选择共 5 尾, 麻醉后, 分别用无菌剪刀和载玻片, 剪取鳃丝中部组织以及刮取背部两侧的黏液各约 0.5 g, 放入 1.5 mL 的冻存管, 液氮快速冷冻后-80 °C 冰箱保

存, 用于 16SrDNA 测序。

1.3 检测试剂

用于检测碱性磷酸酶(AKP)、溶菌酶(LZM)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)的试剂盒, 均来自南京建成生物工程研究所。检测按照试剂盒说明书操作流程进行。

1.4 16S rDNA 测序方法

采集的全部样品于干冰保存送至华大基因科技有限公司进行 16SrDNA 测序, 具体如下: 使用 TGuide S96 磁珠法提取待测样品 DNA, PCR 扩增 16SrDNA 的 V3~V4 可变区序列。引物为 338F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCA-3' 和 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3'。使用 Agencourt AMPure XP 磁珠纯化 PCR 产物并溶于 Elution Buffer, 贴标签完成建库, Agilent 2100 Bioanalyzer 对文库的片段大小与浓度进行检测, 检测完成后根据插入片段的大小, 通过 Illumina HiSeq 进行测序。

1.5 多样性指数分析方法

Sob 指数: 直接统计检测到的 OUT/物种总数。

Chao 指数计算方法: $Chao = S_{obs} + \{[F_1(F_1-1)]/[2 F_2(F_2+1)]\}$ 。 S_{obs} 为检测到的物种数; F_1 是样本中丰度为 1 的物种数; F_2 是样本中丰度为 2 的物种数。

ACE 指数计算方法: $S_{ace} = S_{common} + (S_{rare}/C_{ace}) + [(F_1/C_{ace}) \times \gamma_{ace}^2]$ 。 S_{common} 是样本中丰度超过 10 的物种数; S_{rare} 是样本中丰度低于 10 的物种数; C_{ace} 表示低丰度物种中非 Singleton (即该物种只包含一条序列, 称为 Singleton) 的物种数占低丰度物种数的比例; γ_{ace}^2 表示变异系数。

Shannon 指数计算方法: $H = -\sum (P_i)(\log_2 P_i)$ 。 P_i 是样本中第 i 个物种的个体数占总个体数的比例。

Simpson 指数计算方法: $D_s = \sum (P_i)^2$

Coverage 指数计算方法: $C = 1 - (F_1/N)$ 。 N 表示样本中所有 OTU 的总数。

1.6 PCoA 分析方法

使用软件 QIIME (v1.80), 采用迭代算法, 以加权 UniFrac 为距离度量方法, 得到最终 PCoA 展示图。

1.7 数据分析方法

数据采用统计软件 SPSS 29.0 单因素 ANOVA 方差分析, Duncan’s 多重检验, $P<0.05$ 表示差异显著, $P>0.05$ 表示差异不显著, 图中不同字母表示存在显著性差异, 相同字母表示不存在显著性差异, 用 Origin2019 绘图。

2 结果与分析

2.1 不同泥沙含量对虹鳟实验个体的致死情况统计

在养殖试验的 7 d 内, 除对照组外, 两个泥沙应激组均有虹鳟个体死亡, 且高泥沙含量组致死率高于低泥沙含量组(表 1)。

表 1 泥沙应激死亡率统计
Tab. 1 Mortality rate caused by suspended sediment stress

组别 group	指标 indicator	统计结果 statistical result							
C 组	应激天数/d days under stress	1	2	3	4	5	6	7	1-7
	致死量/ind number of deaths	0	0	0	0	0	0	0	0
	致死率/% mortality rate	0	0	0	0	0	0	0	0
L 组	应激天数/d days under stress	1	2	3	4	5	6	7	1-7
	致死量/ind number of deaths	0	0	0	0	4	3	5	12
	致死率/% mortality rate	0	0	0	0	8.89	6.67	11.1	26.7
H 组	应激天数/d days under stress	1	2	3	4	5	6	7	1-7
	致死量/ind number of deaths	0	0	0	2	9	6	3	20
	致死率/% mortality rate	0	0	0	4.44	20	13.3	6.67	44.4

2.2 血清酶活力测定结果与分析

相较于对照组, 两个泥沙应急组虹鳟血清中 AKP 活力在应激后 6 h 显著上升($P<0.05$), 之后逐渐恢复至正常水平(图 1a)。高泥沙含量组虹鳟血清中 LZM 和 T-SOD 活力在应激后 6 h 显著降低($P<0.05$), 之后逐渐恢复至正常水平(图 1b、c)。泥沙应激后, 虹鳟血清中的 POD 和 CAT 活力有被激活的趋势, 但应激后期低泥沙含量组对 POD 的激活作用不明显(图 1d、e)。泥沙应激初期会造成虹鳟血清中的 MDA 含量上升, 但 12 h 后应激组 MDA 含量又显著低于对照组($P<0.05$)(图 1f)。

2.3 体表微生物群落检测结果与分析

2.3.1 OTU 统计分析 本试验中样品的测序深度和抽样数量均能够满足需求, 30 个检测样本中共获得有效序列 1785781 条, 717 个 OUT (图 2a、b)。其中, 各试验组共有的 OTU 为 288 个, C 组、L 组和 H 组特有的 OTU 数分别为 56 个、41 个和 56 个, 各组虹鳟体表微生物 OTU 数量相似(图 3)。

2.3.2 多样性分析 对各组虹鳟体表样品微生物检测结果的 Alpha 多样性指数分析显示, 各组样本微生物检测的 coverage 均达到了 0.998 以上,

表明采样测序结果数据量充足, 可真实反映微生物群落多样性。各组虹鳟皮肤黏液中微生物的 Sobs 指数、Chao 指数以及 Ace 指数均显著高于鳃组织($P<0.05$)。泥沙应激组虹鳟皮肤黏液和鳃组织中微生物的 Shannon 指数均显著低于对照组($P<0.05$), Simpson 指数显著高于对照组($P<0.05$), 说明泥沙应激导致了虹鳟体表微生物多样性的下降(表 2)。

PCoA 分析结果显示(图 4), Hs 和 Ls 组, Hg 和 Lg 组的微生物菌群结构比较相近, 均与 Cs 和 Cg 组差异显著($P<0.05$)。

2.3.3 泥沙应激对虹鳟体表微生物群落的影响 与对照组相比, 泥沙应激组皮肤黏液的金黄杆菌属、假单胞菌属、食酸菌属和甲基娇养杆菌属(*Methylobacter*)的菌群丰度显著上升($P<0.05$), 鞘氨醇杆菌属、紫色杆菌属、氢噬胞菌属(*Hydrogenophaga*)、黄杆菌属、军团杆菌属和马赛菌属的菌群丰度显著下降($P<0.05$)(表 3)。在鳃组织中, 泥沙应激组的金黄杆菌属、假单胞菌属和食酸菌属的菌群丰度显著上升($P<0.05$), 土地杆菌属、紫色杆菌属、马赛菌属和鞘氨醇杆菌属

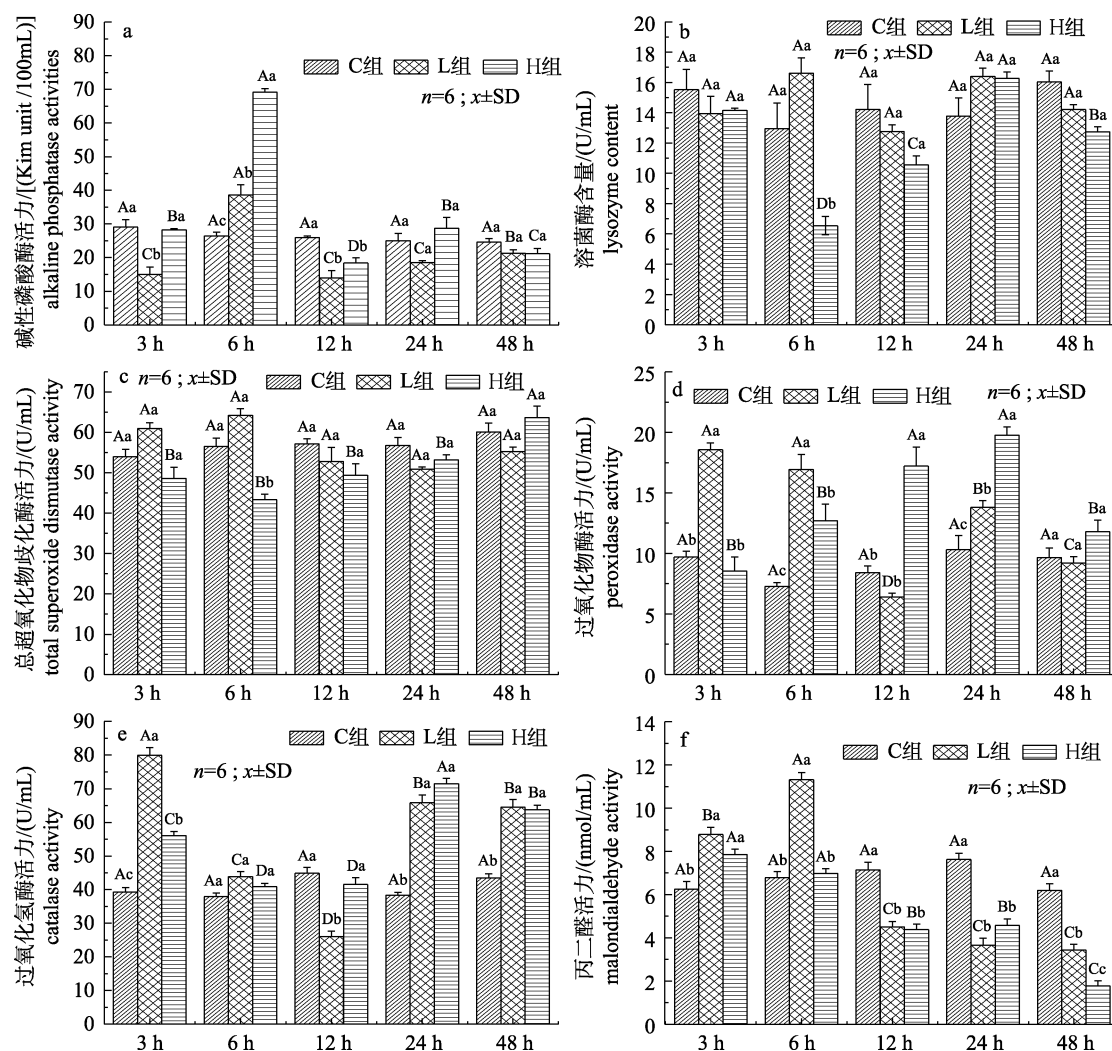


图 1 应激处理后 3 个实验组虹鳟血清中 AKP (a)、LZM (b)、T-SOD (c)、POD (d)、CAT (e) 和 MDA (f) 的变化
不同小写字母表示同一时间不同组别差异显著 ($P < 0.05$), 不同大写字母表示同一组别不同时间差异显著 ($P < 0.05$).

Fig. 1 After stress treatment, the changes in AKP (a), LZM (b), T-SOD (c), POD (d), CAT (e) and MDA (f) levels in rainbow trout serum in three experimental groups

Different lowercase letters indicate significant differences between different groups at the same time ($P < 0.05$), while different uppercase letters indicate significant differences within the same group among different times ($P < 0.05$).

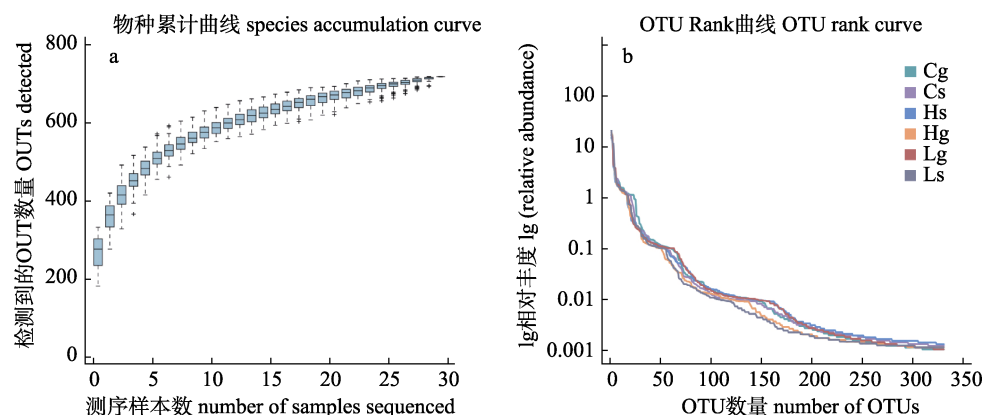


图 2 物种累积曲线(a)和 OTU 丰度等级曲线(b)

Fig. 2 Species accumulation curve (a) and OTU rank curve (b)

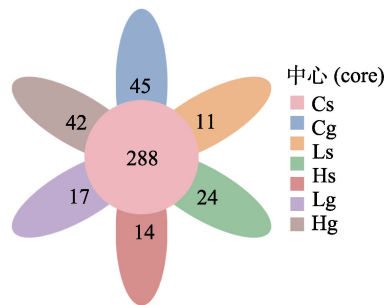


图 3 虹鳟体表微生物 OTU 花瓣图

Fig. 3 OTU petal diagram of surface microorganisms of rainbow trout

的菌群丰度显著下降($P<0.05$)(表 4)。两个组织的菌群在变化上具有一致性,泥沙应激后,有害菌群丰度显著增加。

表 2 各组虹鳟体表微生物菌群 α 多样性分析结果

Tab. 2 The α diversity of microflora on the body surface of rainbow trout in different grou							
样本 sample	样本量 number of samples	sobs 指数 sobs index	chao 指数 chao index	ace 指数 ace index	Shannon 指数 Shannon index	Simpson 指数 Simpson index	覆盖率/% coverage
Cs	5	305.80±19.12 ^{ab}	340.84±13.82 ^b	346.69±18.96 ^{ab}	3.22±0.02 ^a	0.09±0.00 ^b	0.99910
Cg	5	237.00±33.87 ^c	268.70±36.04 ^c	279.05±32.09 ^c	3.34±0.13 ^a	0.08±0.02 ^b	0.99926
Ls	5	289.80±14.22 ^b	353.03±12.62 ^b	359.30±12.64 ^b	2.97±0.05 ^{bc}	0.12±0.01 ^a	0.99872
Lg	5	240.00±21.21 ^c	284.50±17.05 ^c	286.03±18.11 ^c	2.99±0.14 ^b	0.12±0.01 ^a	0.99921
Hs	5	304.20±27.22 ^a	376.46±30.74 ^a	380.06±25.18 ^a	2.91±0.10 ^c	0.13±0.01 ^a	0.99866
Hg	5	242.00±34.26 ^c	276.49±37.52 ^c	280.67±33.49 ^c	3.05±0.10 ^b	0.11±0.01 ^a	0.99928

注: Cs (0 mg/L 组皮肤黏液), Cg (0 mg/L 组鳃组织), Ls (1000 mg/L 组皮肤黏液), Lg (1000 mg/L 组鳃组织), Hs (10000mg/L 组皮肤黏液) 和 Hg (10000 mg/L 组鳃组织)。

Note: Cs (skin mucus group with 0 mg/L), Cg (gill tissue group with 0 mg/L), Ls (skin mucus group with 1000 mg/L), Lg (gill tissue group with 1000 mg/L), Hs (skin mucus group with 10000 mg/L), and Hg (gill tissue group with 10000 mg /L)。

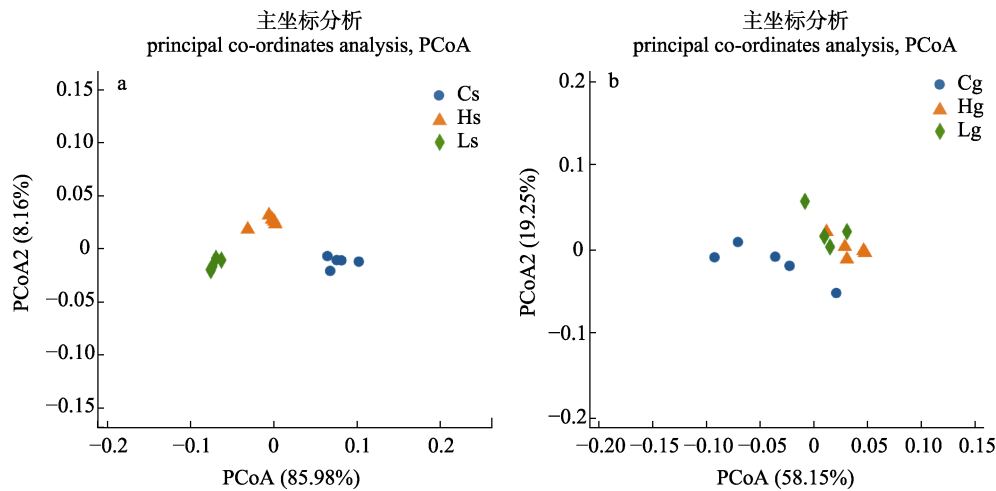


图 4 虹鳟皮肤黏液(a)和鳃组织(b)微生物群落 PCoA 分析图

Fig. 4 PCoA analysis of rainbow trout skin mucous (a) and gill (b) microflora community

3 讨论

3.1 泥沙应激对虹鳟生存的影响

水体中泥沙含量会影响鱼类的活动和生存,大量的泥沙因强降雨、崩滑等灾害的发生,流入养殖库区和水域,造成经济损失。研究发现,粒径在 150 μm 以下的细颗粒泥沙更容易堵塞鱼鳃,且泥沙颗粒越细,堵塞越为严重,粒径较大的粗颗粒泥沙则容易直接导致鱼鳃和皮肤组织的机械损伤,从而影响其功能和健康程度^[14]。本研究使用的是 80~160 μm 的黄河细沙,既可能造成鱼鳃的堵塞,也可能直接造成鱼鳃和皮肤组织的机械损伤。本研究发现,泥沙应激 7 d 后,两个泥沙应激

表 3 虹鳟皮肤粘液菌群在属水平上组成差异(相对丰度>1%)

Tab. 3 The difference in the composition of skin mucus flora of rainbow trout at the genus level (relative abundance >1%)

属 Genus	Cs/%	Hs/%	P	Ls/%	P
金黄杆菌属 <i>Chryseobacterium</i>	22.948	26.501	0.012	30.375	0.012
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	22.124	21.358	—	11.595	0.012
假单胞菌 <i>Pseudomonas</i>	7.296	12.080	0.012	15.147	0.012
鞘氨醇杆菌属 <i>Sphingobacterium</i>	5.608	0.488	0.012	0.456	0.012
食酸菌属 <i>Acidovorax</i>	5.364	9.857	0.012	10.793	0.012
紫色杆菌属 <i>Janthinobacterium</i>	3.815	2.736	0.012	3.304	—
氢噬胞菌属 <i>Hydrogenophaga</i>	2.586	1.648	0.012	1.922	0.012
军团杆菌属 <i>Legionella</i>	1.144	0.384	0.012	0.525	0.012
马赛菌属 <i>Massilia</i>	1.025	0.664	0.012	0.786	0.037
甲基娇养杆菌属 <i>Methylobacter</i>	0.779	1.376	0.012	1.955	0.012

注: “—”代表相对丰度<1%或不具有显著性差异的数据. Cs (0 mg/L 组皮肤黏液), Hs (10000 mg/L 组皮肤黏液), Ls (1000 mg/L 组皮肤黏液). Cs、Ls 和 Hs 组样本采集量均为 5 个样本.

Note: “—” represents data with a relative abundance of <1% or no significance. Cs (skin mucus group with 0 mg/L), Hs (skin mucus group with 10000 mg/L) and Ls (skin mucus group with 1000mg/L). The sample size for the groups Cs, Ls, and Hs is 5 each.

组均出现了虹鳟实验个体的部分死亡,并在鳃部发现泥沙残留和鳃丝破裂的情况,且死亡率随着泥沙含量的升高而增加;对照组并无实验个体死亡现象出现.采血操作并未直接导致虹鳟实验个体死亡.

3.2 泥沙应激对虹鳟血清酶活力的影响

鱼类作为水域生态系统的重要组成部分,其生理活动极易被水环境中的污染物所影响,为抵御环境污染物的氧化胁迫,鱼体内有一套完整的抗氧化机制,其中主要包括 AKP、POD、T-SOD 和 CAT 等抗氧化酶组成的氧化防御系统^[15],但当胁迫因子的强度和持续时间超过鱼体自我防御的能力时,鱼体中过量产生的活性氧(Reactive oxygen species, ROS)会攻击蛋白质、脂质和核酸等生物大分子,产生大量的脂质过氧化物,诱导氧化应

表 4 虹鳟鳃组织菌群在属水平上组成差异(相对丰度>1%)

Tab. 4 The difference in the composition of the gill microflora of rainbow trout at the genus level (relative abundance >1%)

属 Genus	Cg/%	Hg/%	P	Lg/%	P
金黄杆菌属 <i>Chryseobacterium</i>	15.418	22.153	0.012	21.928	0.037
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	7.579	9.278	0.037	9.676	0.037
食酸菌属 <i>Acidovorax</i>	7.840	8.649	0.037	9.536	0.037
土地杆菌属 <i>Pedobacter</i>	7.664	6.101	—	4.558	0.012
紫色杆菌属 <i>Janthinobacterium</i>	5.738	2.699	0.012	2.827	0.012
马赛菌属 <i>Massilia</i>	1.615	0.653	0.012	0.721	0.012
鞘氨醇杆菌属 <i>Sphingobacterium</i>	1.104	0.784	0.037	0.457	0.012

注: “—”代表相对丰度<1%或不具有显著性差异的数据. Cg (0 mg/L 组鳃组织), Hg (10000 mg/L 组鳃组织), Lg (1000 mg/L 组鳃组织). Cg、Lg 和 Hg 组样本采集量均为 5 个样本.

Note: “—” represents data with a relative abundance of <1% or no significance. Cg (gill tissue group with 0 mg/L), Hg (gill tissue group with 10000 mg/L) and Lg(gill tissue group with 1000mg /L). The sample size for the groups Cs, Ls, and Hs is 5 each.

激,进而导致机体非特异性免疫能力下降^[16].调查发现,虹鳟在盐度^[17]、高温^[18]和氨氮^[19]的胁迫中,免疫和抗氧化酶的活力均出现了显著变化.抗氧化酶在清除活性氧和防治机体受损方面具有重要的作用,可以清除活性氧产生的危害,维持机体的活性氧处于正常水平,从而避免过多活性氧对细胞产生毒害作用^[20].

AKP 是水生动物重要的免疫标志酶和解毒酶类^[21],LZM 是鱼类非特异免疫系统中的重要组成部分之一,其酶活性越强,表明机体的非特异性免疫能力越强^[22].本研究发现,泥沙应激后,虹鳟 AKP 和 LZM 的活力表现出一定程度的抑制结果,虽在 48 h 后恢复稳态,但仍然低于正常水平.研究发现,强度较弱的胁迫,如 30 min 的捕捞,可以使虹鳟的 LZM 含量得到升高或者抑制,而高强度的胁迫,比如 2 h 的连续运输或者急性的水体污染,会明显减少 LZM 的含量^[23],这与本研究的结果相似.李晓梅等^[24]在牡蛎上进行的铅胁迫试验,也表现出 LZM 在应激前期明显的抑制,后

又升高的结果。

SOD 和 CAT 作为生物体抗氧化的第一道防线^[25], 能够清除过量 ROS 降低细胞氧化损伤, SOD 可以将超氧阴离子自由基歧化为 O_2 和 H_2O_2 , 而 CAT 可以进一步催化 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 , 从而在一定程度上阻止氧化损伤的发生, 维持机体氧化与抗氧化防御动态平衡^[26]。通常情况下, CAT 的活性与 SOD 保持一致^[27]。POD 则具有消除 H_2O_2 和酚、氨、醛、苯类毒性的双重作用^[28], MDA 是脂质过氧化的几种副产物之一, 在生物研究中, MDA 的量可以反映机体氧化损伤的程度^[29]。本研究发现, 泥沙应激后, H 组的 SOD 活性在 3~6 h 均低于正常水平, L 组在 3~6 h 却高于正常水平, 应激 12~48 h, 试验组 SOD 活性逐步恢复稳态, 与 CAT 的变化趋势一致。此外, 分析 POD 活性的变化趋势, 发现其活力的增长顺序具有一定的浓度依赖性变化, 本研究发现, 短期的泥沙应激, 并未对虹鳟的氧化应激免疫系统造成明显损伤。MDA 的活力变化也证实了这一结论, MDA 活力在 3~6 h 虽高于正常水平, 但这可能是环境的剧烈变化导致机体生成过多的 ROS, 应激 12~48 h, MDA 恢复稳态且显著降低($P<0.05$), 表明并未有过多的 ROS 在机体内聚集。

3.3 泥沙应激对虹鳟体表微生物群落结构的影响

皮肤和黏膜以及与之共生的微生物构成了宿主与外界环境接触的第一道屏障^[30]。研究表明, 黏液中栖息着大量微生物, 并参与鱼体关键的生理过程^[31], 它们与环境和鱼体共同构成生物和物理免疫屏障, 在鱼类的免疫系统中发挥着重要作用^[32]。但是皮肤也潜藏着各种潜在的机会性病原体, 当宿主被其他病原体入侵或处于微生物失衡状态时, 这些病原体的丰度可能会增加, 从而导致严重的疾病^[33]。

本研究针对水体泥沙对虹鳟体表和鳃组织微生物群落结构的影响, 利用 16S rDNA 分子标记进行微生物多样性分析, 结果显示, 泥沙应激后, 皮肤黏液的金黄杆菌属、假单胞菌属、食酸菌属和甲基娇养杆菌属的丰度显著上升, 其平均涨幅超过 25%, 其中假单胞菌和甲基娇养杆菌属涨幅可达 100%, 同时黄杆菌属、鞘氨醇杆菌属、紫色

杆菌属、氢噬胞菌属、军团菌属和马赛菌属的丰度显著下降, 特别的鞘氨醇杆菌属相对丰度下降超过 1000%, 趋近消失。对鳃组织的菌群结构分析后发现, 其菌群丰度变化与皮肤黏液有很高的相似性, 泥沙应激后, 其金黄杆菌属、假单胞菌属和食酸菌属也呈现显著上升的趋势, 紫色杆菌属、马赛菌属和鞘氨醇杆菌属显著下降。这种变化可直接导致虹鳟患病的几率增加。金黄杆菌、假单胞菌和食酸菌等都是条件致病菌, 在机体免疫力低下或抗生素滥用的情况下会引起内源性感染, 导致鱼鳍粗糙, 身体溃烂和食欲不振等症状, 对虹鳟危害极大^[34-35], 而鞘氨醇杆菌对芳香化合物有极为广泛的代谢能力, 可以净化水体环境^[36]。本研究结果表明, 水体泥沙浓度的增加, 会增加虹鳟患细菌性皮肤病的可能。鞘氨醇杆菌丰度的降低, 也表明水体泥沙会降低水质净化菌群的丰度, 增加养殖泥沙水体水质进一步恶化的可能性。

4 结论

水体中泥沙含量短期急剧增加会对虹鳟的生理和生存产生严重影响, 随着泥沙含量增加致死率升高, 在泥沙急性应激的 3~6 h 内, 虹鳟血清酶活力会发生较大变化, 但机体在 12~48 h 内一般均能较好地恢复稳态; 短期泥沙含量增加, 使虹鳟体表微生物菌群发生了显著变化, 有害菌群丰度显著增加, 表明水体泥沙可能通过菌群的组成变化对其生长和健康产生长远影响。

参考文献:

- [1] Chen F P. Rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) culturing experiment with natural flow-through aquaculture system[J]. Journal of Fisheries Research, 2020, 42(3): 276-280. [陈方平. 虹鳟天然溪流生态养殖初探[J]. 渔业研究, 2020, 42(3): 276-280.]
- [2] Xu M J, Xu Z H, Li C Z. Common economical diseases of rainbow trout and the systematic diagnosis method named "four levels and eight indicators"[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2024, 48(4): 707-712. [徐民俊, 徐泽蕙, 李长忠. 虹鳟常见重要病害及“四级八标”系统化诊断方法[J]. 水生生物学报, 2024, 48(4): 707-712.]
- [3] Crosa G, Castelli E, Gentili G, et al. Effects of suspended sediments from reservoir flushing on fish and macroinvertebrates in an alpine stream[J]. Aquatic Sciences, 2010, 72(1):

- 85-95.
- [4] Bruton M N. The effects of suspensoids on fish[J]. *Hydrobiologia*, 1985, 125(1): 221-241.
- [5] Sun L Y, Bai Y, Niu C J, et al. Acute stress caused by sand discharging on Yellow River carp (*Cyprinus carpio*) in Xiaolangdi Reservoir[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2012, 32(7): 2204-2211. [孙麓垠, 白音包力皋, 牛翠娟, 等. 小浪底水库排沙对黄河鲤鱼的急性胁迫[J]. *生态学报*, 2012, 32(7): 2204-2211.]
- [6] Liu X Q, Wang J J, Sun J P, et al. Acute effects of TDG supersaturated water with high concentration sediment on rock carp (*Procypris rabaudi*)[J]. *Journal of Hydroelectric Engineering*, 2017, 36(10): 93-101. [刘晓庆, 王俊杰, 孙井沛, 等. TDG 过饱和和高含沙水体对岩原鲤的急性效应研究[J]. *水力发电学报*, 2017, 36(10): 93-101.]
- [7] Luo F C. Artificial propagation techniques of rainbow trout [J]. *Animals Breeding and Feed*, 2022, 21(4): 43-45. [罗芳成. 虹鳟的人工繁殖技术[J]. *养殖与饲料*, 2022, 21(4): 43-45.]
- [8] Ma M Y, Guo J Y, Ma X D, et al. Influences of sediment concentration on the survival of *Schizothorax prenanthi* in different river morphologies[J]. *Journal of Sediment Research*, 2022, 47(3): 73-80. [马铭悦, 郭静瑜, 马旭东, 等. 不同河道形态下泥沙浓度对齐口裂腹鱼生存影响研究[J]. *泥沙研究*, 2022, 47(3): 73-80.]
- [9] Li N, Feng C X, Wang J J, et al. Effects of TDG supersaturated water and suspended sediment on juvenile *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Hydroecology*, 2019, 40(3): 92-98. [李娜, 冯翠霞, 王俊杰, 等. TDG 过饱和和高含沙水体对鲤幼鱼的影响[J]. *水生态学杂志*, 2019, 40(3): 92-98.]
- [10] Sun J P, Shi H R, Liu X Q, et al. Tolerance of fish to TDG supersaturated water with sediments[J]. *Advances in Science and Technology of Water Resources*, 2019, 39(1): 28-33. [孙井沛, 施浩然, 刘晓庆, 等. 鱼类在 TDG 过饱和和含沙水体中的耐受性[J]. *水利水电科技进展*, 2019, 39(1): 28-33.]
- [11] Affandi F A, Ishak M Y. Impacts of suspended sediment and metal pollution from mining activities on riverine fish population-a review[J]. *Environmental Science and Pollution Research International*, 2019, 26(17): 16939-16951.
- [12] Gu J C, Liu X J, Lu L G, et al. An analysis of the relationship between water turbidity and sediment in Ningxia Yellow River[J]. *China Rural Water and Hydropower*, 2016(11): 35-37. [顾靖超, 刘学军, 陆立国, 等. 宁夏黄河水浊度与含沙量关系分析[J]. *中国农村水利水电*, 2016(11): 35-37.]
- [13] Li N, Zhang Z H, Song Y, et al. Study on forecasting method of sediment concentration change process in the Yellow River[J]. *Journal of Irrigation and Drainage*, 2023, 42(S1): 89-92. [李楠, 张振华, 宋扬, 等. 黄河含沙量变化过程预报方法研究[J]. *灌溉排水学报*, 2023, 42(S1): 89-92.]
- [14] Bai Y, Chen X R. Research progress of impacts of sediment flushing on downstream fish[J]. *Journal of Sediment Research*, 2012, 37(1): 74-80. [白音包力皋, 陈兴茹. 水库排沙对下游河流鱼类影响研究进展[J]. *泥沙研究*, 2012, 37(1): 74-80.]
- [15] 周东来, 刘凡, 杨琼, 李庆荣, 等. 桑叶水提物对鳊生长、脂质代谢、抗氧化能力和肝脏肠道健康的影响[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(2): 206-217. [Zhou D L, Liu F, Yang Q, et al. Effects of mulberry leaf water extract on growth, lipid metabolism, antioxidant capacity, and liver and intestinal health of *Siniperca chuatsi*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(2): 206-217.]
- [16] Hu Y, Huang Y, Zhong L, et al. Effects of ammonia stress on the gill Na^+/K^+ -ATPase, microstructure and some serum physiological-biochemical indices of juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(4): 538-545. [胡毅, 黄云, 钟蕾, 等. 氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶、组织结构及血清部分生理生化指标的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(4): 538-545.]
- [17] Yang J W, Zhou Y G, Huang M, et al. Comparative studies on digestive and antioxidant enzyme activities between juvenile Rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) and steelhead Trout (*O. mykiss*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2019, 49(3): 119-128. [杨静雯, 周演根, 黄铭, 等. 盐度对虹鳟和硬头鳟幼鱼消化酶和抗氧化酶活性的比较研究[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(3): 119-128.]
- [18] Jiang X Y, Huang M, Yang X G, et al. Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute high-temperature stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(1): 57-65. [姜旭阳, 黄铭, 杨小刚, 等. 急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(1): 57-65.]
- [19] Han Y, Lin J W, Lyu X N, et al. Comparison of tolerance between diploid and triploid female rainbow trout under acute ammonia nitrogen stress[J]. *Journal of Northeast Agricultural University*, 2021, 52(5): 49-58. [韩英, 蔺佳文, 吕晓楠, 等. 氨氮急性胁迫下二、三倍体雌性虹鳟应激耐受性比较[J]. *东北农业大学学报*, 2021, 52(5): 49-58.]
- [20] Xu D D, Lou B, Zhan W, et al. Effect of high temperature stress on growth performance and activities of antioxidant enzymes in liver of olive flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(7): 1099-1105. [徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲆生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. *水产学报*, 2010, 34(7): 1099-1105.]
- [21] Gao J W, Wu H, Li S M, et al. Ammonia nitrogen and cadmium stress on antioxidant system and immune function

- of Furong crucian carp (*Cyprinus capio* Furong ♀ × *Carassius auratus* red var. ♂)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2022, 46(4): 448-456. [高金伟, 吴浩, 李绍明, 等. 氨氮和镉胁迫对芙蓉鲤鲫抗氧化系统和免疫机能的影响[J]. *水生生物学报*, 2022, 46(4): 448-456.]
- [22] Zhang H, Zeng L, Xiong Y F, et al. Mechanism of salinity acclimation in *Larimichthys crocea* improving tolerance to salinity stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(3): 334-343. [张惠, 曾霖, 熊逸飞, 等. 盐度驯化改善大黄鱼盐度胁迫耐受性的作用机制[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(3): 334-343.]
- [23] Wang W B, Li A H. The effect of environmental stress to fish immune system[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(4): 368-374. [王文博, 李爱华. 环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究概况[J]. *水产学报*, 2002, 26(4): 368-374.]
- [24] Li X M, Guo T H, Zhang L J, et al. Effect of lead stress on lysozyme activity of oyster near the Yangtze River under the background of ocean acidification[J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, 44(12): 297-299. [李晓梅, 郭体环, 张来军, 等. 海洋酸化背景下铅胁迫对近江牡蛎溶菌酶活性的影响[J]. *江苏农业科学*, 2016, 44(12): 297-299.]
- [25] Li Z Q, Liu X J, Jiang F J, et al. The effects of water temperature on growth, antioxidant enzyme and immune enzyme activities of juvenile sea cucumber, *Holothuria scabra* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2023, 30(12): 1429-1444. [李智巧, 刘旭佳, 姜发军, 等. 水温对糙海参幼参生长、抗氧化酶及免疫酶活力的影响[J]. *中国水产科学*, 2023, 30(12): 1429-1444.]
- [26] Zeng Y Y, Lai Z N, Yang W L, et al. Responses towards oxidative stress of juvenile Guangdong bream *Megalobrama terminalis* to Cu^{2+} and Cd^{2+} exposure[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2014, 23(12): 1972-1979. [曾艳艺, 赖子尼, 杨婉玲, 等. 广东鲂幼鱼对铜、镉胁迫的氧化应激响应及其指示意义[J]. *生态环境学报*, 2014, 23(12): 1972-1979.]
- [27] Asagba S O, Eriyamremu G E, Igberaese M E. Bioaccumulation of cadmium and its biochemical effect on selected tissues of the catfish (*Clarias gariepinus*)[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2008, 34(1): 61-69.
- [28] Chen X, Zuo T, Zhou S J, et al. Effects of transport density and duration on transport water quality, resuscitation rate and antioxidant ability in juvenile *Lates calcarifer*[J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(2): 122-128. [陈旭, 左涛, 周胜杰, 等. 尖吻鲈幼鱼运输密度和时长对运输水质及其复苏率和抗氧化能力的影响[J]. *南方水产科学*, 2021, 17(2): 122-128.]
- [29] Gül Ş, Belge-Kurutaş E, Yıldız E, et al. Pollution correlated modifications of liver antioxidant systems and histopathology of fish (Cyprinidae) living in Seyhan Dam Lake, Turkey[J]. *Environment International*, 2004, 30(5): 605-609.
- [30] Rajeev R, Adithya K K, Kiran G S, et al. Healthy microbiome: A key to successful and sustainable shrimp aquaculture[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 13(1): 238-258.
- [31] Zhan M T, Huang Z Y, Cheng G F, et al. Alterations of the mucosal immune response and microbial community of the skin upon viral infection in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2022, 23(22): 14037.
- [32] Gomez D, Sunyer J O, Salinas I. The mucosal immune system of fish: The evolution of tolerating commensals while fighting pathogens[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 35(6): 1729-1739.
- [33] Tyor A K, Kumari S. Biochemical characterization and antibacterial properties of fish skin mucus of fresh water fish, *Hypophthalmichthys nobilis*[J]. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2016, 8(6): 132-136.
- [34] Cai J, Wu J Y, Pan Y X, et al. Isolation, identification and drug resistance analysis of *Chryseobacterium* sp. from pseudosciaena crocea[J]. *China Animal Husbandry & Veterinary Medicine*, 2022, 49(3): 1135-1143. [蔡杰, 吴佳怡, 潘苑霞, 等. 1 株大黄鱼源金黄杆菌的分离鉴定和耐药性分析[J]. *中国畜牧兽医*, 2022, 49(3): 1135-1143.]
- [35] Chen M Q, Pan Y Z, Mou Z B, et al. Analysis of potential pathogenic microorganisms in skin lesions of three cold-water fishes in Tibet[J]. *Southwest China Journal of Agricultural Sciences*, 2019, 32(9): 2245-2252. [陈美群, 潘瑛子, 牟振波, 等. 西藏 3 种冷水鱼皮肤病灶中潜在病原微生物分析[J]. *西南农业学报*, 2019, 32(9): 2245-2252.]
- [36] Gou M, Qu Y Y, Yang H, et al. *Sphingomonas* sp.: A novel microbial resource for biodegradation of aromatic compounds [J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2008, 14(2): 276-282. [苟敏, 曲媛媛, 杨桦, 等. 鞘氨醇单胞菌: 降解芳香化合物的新型微生物资源[J]. *应用与环境生物学报*, 2008, 14(2): 276-282.]

Effects of suspended sediment content in water on the survival, physiology and surface microbial community of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*

LIU Hao¹, LI Jie¹, LI Yajun¹, KANG Pengtian², ZHANG Guowei², SHAO Donghong², WANG Jianfu¹

1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Fishery Technology Extension Station, Lanzhou 730070, China

Abstract: This study aimed to explore the effects of a notable increase of suspended sediment content in aquaculture water on the immune and antioxidant capacity of rainbow trout as well as the microbial community on the body surface. The sediment from the Yellow River was used and maintained suspended using the pump pool cycle and blower aeration method. Three suspended sediment content gradient groups of 0, 1000, and 10000 mg/L were set up for the rainbow trout acute stress test. The activity changes of alkaline phosphatase (AKP), lysozyme (LZM), total superoxide dismutase (T-SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) in serum were detected continuously after stress culture, as well as the differences of skin and gill microbial communities after 7 days of stress culture. The results showed that the activity of AKP and LZM in the rainbow trout serum significantly changed within 3–6 h after the acute increase of sediment content, but then the stable state was gradually restored. T-SOD and POD decreased and increased, respectively, within 24 h of sediment stress, but they all returned to a steady state after 48 h. CAT increased significantly after stress, with no significant dependence on sediment content. MDA decreased significantly after stress, and it was dependent on sediment content. On the body surface of rainbow trout, Bacteroidetes and Proteobacteria were the dominant bacteria groups; however, the number and richness of microorganisms in the skin mucus were significantly higher than those in the gill tissue. The tissues sites tested revealed a significant increase in the relative abundance of Acidovorax, Pseudomonas, and Chryseobacterium compared to the control group under suspended sediment stress ($P<0.05$). The relative abundance of Sphingobacterium decreased significantly ($P<0.05$). The results above indicate that the acute stress of suspended sediment can disrupt the immune and antioxidant capacity of rainbow trout in a short period and increase the harmful microorganisms on their body surface.

Key words: *Oncorhynchus mykiss*; suspended sediment content; immunoenzyme; antioxidant enzymes; surface microorganism

Corresponding author: WANG Jianfu. E-mail: wangjf@gsau.edu.cn