

东山湾海带养殖区海洋浮游细菌的群落结构变化

张飞^{1,2,3}, 刘双¹, 王昕怡¹, 李和阳^{1,2,3}, 马勇^{1,2,3}, 汤坤贤^{1,2,3*}

(1. 自然资源部第三海洋研究所, 福建厦门 361005;

2. 福建省海洋生态保护与修复重点实验室, 福建厦门 361005; 3. 自然资源部海洋生态保护与修复重点实验室, 福建厦门 361005)

摘要 对福建省东山湾一处海带养殖区海水中浮游细菌群落进行考察, 以了解在海带生长不同阶段海洋浮游细菌的群落结构变化特征。结果表明, 在未挂养海带前, 海水中的优势浮游细菌为亚硫酸杆菌属细菌, 在海带生长的凹凸期、薄嫩期、厚成期、成熟期, 海水中优势浮游细菌分别为假单胞菌属、普里斯特氏菌属、假交替单胞菌属、假交替单胞菌属细菌。该研究深化了对海洋细菌与海带相互作用的认知, 为海带生长过程中的科学管理提供了理论依据。

关键词 海带养殖区; 海洋浮游细菌; 群落结构; 东山湾

中图分类号 S917.1 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2023)05-0061-03

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2023.05.015

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Changes of the Community Structure of Marine Planktonic Bacteria in the Kelp Culture Area of Dongshan Bay

ZHANG Fei^{1,2,3}, LIU Shuang¹, WANG Xin-yi et al (1. Third Institute of Oceanography, MNR, Xiamen, Fujian 361005; 2. Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Ecological Conservation and Restoration, Xiamen, Fujian 361005; 3. Key Laboratory of Marine Ecological Conservation and Restoration, Ministry of Natural Resources, Xiamen, Fujian 361005)

Abstract The planktonic bacterial community in seawater of a kelp culture area in Dongshan Bay, Fujian Province was investigated to understand the changes of bacterial structure characteristics at different life stages of kelp. It was found that the dominant planktonic bacteria on a genus level were strains of *Sulfitobacter* before kelp was hooked and raised. Strains in *Pseudomonas*, *Priestia* and *Pseudoalteromonas* were dominant at different life stages of *Saccharina japonica*. This study deepened the understanding of the interaction between marine bacteria and kelp, and provided a theoretical basis for the scientific management of kelp growth process.

Key words Kelp culture area; Marine planktonic bacteria; Community structure; Dongshan Bay

我国于 1927 年开始引进种植海带, 距今已有近百年历史。海带可以为人们提供海藻多糖、蛋白质等营养物质, 不但具有很高的食用价值和药用价值, 同时也是工业上提取碘、甘露醇和海藻酸钠的重要原料^[1-4]。随着研究的深入, 人们发现海带除了具有重要的经济价值外, 在其生长过程中还可以移除大气中的 CO₂、增加海水氧含量、减缓海水富营养化, 因而具有重要的生态价值^[5]。我国是世界上最大的海带养殖国家, 海带种植面积和产量均居世界首位^[6]。福建是我国海带养殖第一大省^[7], 位于该省南部的东山湾多年来一直是海带养殖的重要区域。

海带等藻类在生长过程中会向周围环境中释放大量有机物, 包括糖类、多肽、氨基酸等, 为周围的海洋细菌提供了营养物质^[8-10]。同时一些海洋细菌会与海藻竞争环境中的无机营养^[11-12], 在其生长代谢过程中产生的维生素、激素对海藻产生影响^[13-14], 甚至本身就是致病菌, 使海带等藻类致病或死亡^[15-16]。该研究将考察处于东山湾的海带养殖区中海洋浮游细菌在海带不同生长阶段的群落结构特点, 进一步了解海洋细菌与海带的相互作用, 为海带生长过程中的科学管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 采样区域及方法

基金项目 国家重点研发计划项目(2020YFA0607603); 福建省科技计划项目(2022Y0068, 2021Y0066); 福建省海洋经济发展专项资金项目(FUHJF-L-2022-11)。

作者简介 张飞(1983—), 男, 内蒙古包头人, 助理研究员, 博士, 从事环境科学方面研究。*通信作者, 正高级工程师, 从事海洋生态保护与修复方面研究。

收稿日期 2022-07-17

一处多年海带养殖区(117°32'7.33"E, 23°47'58.23"N), 分别于 2021 年 10 月 23 日、12 月 3 日、2022 年 1 月 25 日、4 月 6 日、5 月 10 日采集该区域表层海水(0 m)。取约 30 mL 海水存放于 50 mL 无菌离心管中, 保存于 0~4 °C 直到进一步分析。

1.2 样品处理

1.2.1 海洋细菌分离。吸取“1.1”海水 1 mL 加至 49 mL 灭菌海水中, 混匀后吸取 50 μL 于无菌 2216E 固体培养基(蛋白胨 5.0 g/L, 酵母膏 1.0 g/L, 海盐 31 g/L, 琼脂 16 g/L, pH 为 7.2~7.4)上均匀涂布, 25 °C 培养 2~3 d, 直到培养基上出现若干直径 2~3 mm 单菌落。随机挑选 50~100 个上述单菌落做好标记, 分别于 2216E 固体培养基上划线纯化, 对纯化后的单菌落进行保种。

1.2.2 海洋细菌基因组 DNA 提取及 16S rRNA 序列扩增。挑取上述单菌落进行 2216E 液体培养基扩大培养, 后吸取 0.5 mL 菌液利用基因组 DNA 提取试剂盒(TIAN amp Bacteria DNA Kit, DP302)提取细菌基因组 DNA。16S rRNA 序列扩增采用 27F 和 1492R 引物, 具体参考郭亚平^[17]的方法。

1.2.3 16S rRNA 序列测序及比对。PCR 扩增后的 16S rRNA 序列送上海美吉生物医药科技有限公司测序, 将拼接后的测序结果与 GenBank 数据库已有序列进行比对分析, 根据其亲缘关系最近的参考菌株确定该菌株的分类信息。

1.3 数据处理 试验数据采用 Microsoft Excel 2019 进行整理和分析。

2 结果与分析

基于属水平的不同时间点东山湾海带养殖区海洋浮游细菌构成及相对丰度见表 1。2021 年 10 月, 该海带养殖区还

未挂养海带,因此可作为对照组。

表1 基于属水平的不同时间点东山湾海带养殖区海洋浮游细菌构成及相对丰度

Table 1 Composition and relative abundance of marine planktonic bacteria in Dongshan Bay kelp culture area at different time points based on genus level

时间 Time	菌落构成(相对丰度) Bacteria structure (relative abundance)	菌落数量 Number of total bacteria
2021-10	亚硫酸杆菌属 <i>Sulfitobacter</i> (88.46%)、盐碱芽孢杆菌属 <i>Alkalihalobacillus</i> (5.77%)、盐假单胞菌属 <i>Halopseudomonas</i> (1.92%)、其他 (3.85%)	52
2021-12	假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i> (100%)	84
2022-01	普里斯特氏菌属 <i>Priestia</i> (53.62%)、芽孢杆菌属 <i>Bacillus</i> (42.03%)、盐碱芽孢杆菌属 <i>Alkalihalobacillus</i> (2.90%)、地芽孢杆菌属 <i>Geobacillus</i> (1.45%)	69
2022-04	假交替单胞菌属 <i>Pseudoalteromonas</i> (93.33%)、亚硫酸杆菌属 <i>Sulfitobacter</i> (5.00%)、弧菌属 <i>Vibrio</i> (1.67%)	60
2022-05	假交替单胞菌属 <i>Pseudoalteromonas</i> (42.00%)、寡养单胞菌属 <i>Stenotrophomonas</i> (20.00%)、嗜冷杆菌属 <i>Psychrobacter</i> (8.00%)、尼尔氏菌属 <i>Niallia</i> (6.00%)、亚硫酸杆菌属 <i>Sulfitobacter</i> (4.00%)、奥利氏菌属 <i>Olleya</i> (4.00%)、弧菌属 <i>Vibrio</i> (4.00%)、赖氨酸芽孢杆菌属 <i>Lysinibacillus</i> (4.00%)、微杆菌属 <i>Microbacterium</i> (4.00%)、交替单胞菌属 <i>Alteromonas</i> (2.00%)、中温黄杆菌属 <i>Mesoflavibacter</i> (2.00%)	50

2021年10月份的海水样品中,亚硫酸杆菌属(*Sulfitobacter*)细菌占主导地位,在已分离的52株海洋细菌中,其相对丰度可达88.46%,处于第二位的是盐碱芽孢杆菌属(*Alkalihalobacillus*)细菌,但是相对丰度仅有5.77%。2021年12月(凹凸期)的样品中,分离到的84株细菌全部属于假单胞菌属(*Pseudomonas*)。在2022年1月份,海带大致处于生长阶段的薄嫩期,此时环境中的浮游细菌以普里斯特氏菌属(*Priestia*)和芽孢杆菌属(*Bacillus*)为主,二者占比分别为53.62%和42.03%,盐碱芽孢杆菌属和地芽孢杆菌属(*Geobacillus*)细菌占少数。2022年4月份(厚成期)样品中,假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)菌株占绝对多数,其比例可达93.33%,亚硫酸杆菌属和弧菌属(*Vibrio*)细菌分别占比5.00%和1.67%。在海带处于成熟期的2022年5月份样品中,细菌多样性明显高于其他时间点的多样性;在已筛选到的50株海洋细菌中,假交替单胞菌属细菌占比为42.00%,其次为寡养单胞菌属(*Stenotrophomonas*)细菌,其占比为20.00%;嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)和尼尔氏菌属(*Niallia*)细菌占比分别为8.00%和6.00%,亚硫酸杆菌属、奥利氏菌属(*Olleya*)、弧菌属、赖氨酸芽孢杆菌属(*Lysinibacillus*)、微杆菌属(*Microbacterium*)占比均为4.00%,交替单胞菌属(*Alteromonas*)和中温黄杆菌属(*Mesoflavibacter*)细菌占比均为2.00%。

3 讨论

根据不同生长发育阶段,海带孢子体大体可以分为幼龄期、凹凸期、薄嫩期、厚成期、成熟期和衰老期^[18]。该研究的采样时间除2021年10月作为无海带挂养的对照组外,2021年12月、2022年1月、4月、5月大致分别对应于海带生长的凹凸期、薄嫩期、厚成期和成熟期。在海带的不同生长阶段,不仅形态特征差异较大,与周围环境的相互作用也各不相同。研究在海带不同生长阶段养殖区海水中浮游细菌的群落结构特征,具有重要的代表性。

该研究采用经典的野外采样、分离培养、纯菌株筛选、分析鉴定的方法,虽然可以在一定程度上反映出在海带不同生

长阶段周围海水中浮游细菌的群落结构特征,包括细菌群落中的优势菌群,但是由于培养条件的选择性(包括培养种类、培养温度等),筛选用于测序菌落的随机性,不可避免地导致最终结果可能无法完全反映出培养现场的细菌群落结构特征。比如在该研究2021年12月的样品中,已测序的所有84株细菌在属水平上全部属于假单胞菌属,更体现出此方法的局限性。虽然采用此方法可以获得用于进一步研究的菌株资源,但是需要结合诸如宏基因组分析的方法,才能更全面地了解培养现场的细菌群落,尤其是针对一些难培养细菌及在细菌群落中占比较小细菌的信息。

2021年10月份的样品中,亚硫酸杆菌属细菌占可培养细菌的88.46%,处于明显的主导地位。可能的原因为此时海区尚未有海带苗挂养,且该海区经过近半年没有大型海藻等生产者对有机碳的输入,因此溶解有机碳和颗粒有机碳均处于较低水平。亚硫酸杆菌属细菌是一类严格的有机化能营养菌,在有机碳源存在的情况下,它们可以利用硫代硫酸盐和亚硫酸的氧化为其生命活动提供能量^[19],因此在有机物较缺乏的环境中具有生长优势。2021年12月,此时海带大致处于凹凸期,发现此样品中浮游细菌在属水平上全部属于假单胞菌属。在第一次测序约50株细菌后,又随机挑选了30多株,共84株细菌测序后,仍发现所获得的菌株全部属于假单胞菌属。假单胞菌属是一个很大的属,截至目前(2022年7月15日)共有505种细菌^[20],同时有很多种分离自海洋环境;来源于海洋环境的该属细菌很多可以产生丰富的次级代谢产物,包括抑菌物质等^[21],这可能是在这一样品中出现大量假单胞菌属细菌的原因之一。2022年1月的样品中存在较多的普里斯特氏菌属和芽孢杆菌属细菌,还包括盐碱芽孢杆菌属和地芽孢杆菌属细菌,它们都属于芽孢杆菌科(Bacillaceae)。多数芽孢杆菌会形成内生孢子,抗逆性较强,可分泌多种蛋白酶对外界蛋白质消化利用^[22],这可能是此样品中海水浮游细菌多为芽孢杆菌的原因之一。2022年4月的样品中假交替单胞菌属细菌占绝大多数。已有研究表明某些来源于海洋环境的这一属细菌可以合成生物活性分

子,这些活性分子具有抗菌、溶菌、裂解及杀灭藻类的活性,进而在竞争营养物质和形成菌落方面发挥优势^[23]。2022年5月,海带大致处于成熟期,海带藻体生物量已累积到最大且不再明显增多;此时海带叶片产生孢子囊群并伴随着孢子的放散,大量的颗粒和溶解有机碳进入水体,进而为不同种类海洋细菌提供了碳源和能源,这可能是此时间点海洋浮游细菌多样性最高的原因之一;作为此样品中相对丰度第二的寡养单胞菌属,它们具有较特殊的生存策略,某些该类细菌与植物关系密切,甚至可以通过改变植物叶片表面的性质来提高自身的附着能力,因此可能在与其它浮游细菌的竞争中获得优势。

海带在生长过程中会产生大量的颗粒及溶解有机碳^[24],在生长不同阶段的海带产生不同种类和数量的有机碳是影响浮游细菌群落结构变化的关键因素。当然,伴随着海带生长不同阶段的温度、溶解氧等其他环境因素也是造成海带生长环境中浮游细菌群落结构变化的重要原因。

4 结论

通过对福建省东山湾一处海带养殖区中海洋浮游细菌群落结构在海带养殖期间的分析,发现在未挂养海带前,海水中的优势细菌为亚硫酸杆菌属细菌。在海带生长的凹凸期、薄嫩期、厚成期、成熟期,海水中优势浮游细菌分别为假单胞菌属、普里斯特氏菌属、假交替单胞菌属、假交替单胞菌属细菌,但在成熟期海水中浮游细菌的多样性更高。伴随着海带生长的不同阶段,养殖区中的优势浮游细菌群落也发生更替。

参考文献

- [1] 姚海芹,王飞久,刘福利,等.食用海带品系营养成分分析与评价[J].食品科学,2016,37(12):95-98.
- [2] 金振辉,刘岩,张静,等.中国海带养殖现状与发展趋势[J].海洋湖沼通报,2009(1):141-150.
- [3] 薛长湖,陈磊,李兆杰,等.岩藻聚糖硫酸酯体外抗氧化特性的研究[J].青岛海洋大学学报(自然科学版),2000,30(4):583-588.
- [4] 陈婉珠,芮汉明,张玲.海带的工业化应用[J].食品与药品,2006,8(8):70-72.
- [5] GAO G,GAO L,JIANG M J,et al.The potential of seaweed cultivation to achieve carbon neutrality and mitigate deoxygenation and eutrophication[J].Environmental research letters,2022,17(1):1-15.
- [6] FAO.Fishery and aquaculture statistics:Global aquaculture production 1950-2020[M].Rome:FAO,2022.
- [7] 农业农村部渔业渔政管理局,全国水产技术推广总站,中国水产学会.

中国渔业统计年鉴(2016—2021)[M].北京:中国农业出版社,2016-2021.

- [8] FOGG G E.The extracellular products of algae[J].Oceanography and marine biology,1966,4:195-212.
- [9] LARSSON U,HAGSTRÖM Å.Fractionated phytoplankton primary production,exudate release and bacterial production in a Baltic eutrophication gradient[J].Marine biology,1982,67(1):57-70.
- [10] AMMERMAN J W,AZAM F.Bacterial 5-nucleotidase in aquatic ecosystems:A novel mechanism of phosphorus regeneration[J].Science,1985,227(4692):1338-1340.
- [11] FAUST M A,CORRELL D L.Comparison of bacterial and algal utilization of orthophosphate in an estuarine environment[J].Marine biology,1976,34(2):151-162.
- [12] WHEELER P A,KIRCHMAN D L.Utilization of inorganic and organic nitrogen by bacteria in marine systems[J].Limnology oceanography,1986,31(5):998-1009.
- [13] MARUYAMA A,MAEDA M,SIMIDU U.Occurrence of plant hormone (cytokinin)-producing bacteria in the sea[J].Journal of applied bacteriology,1986,61(6):569-574.
- [14] MARUYAMA A,YAMAGUCHI I,MAEDA M,et al.Evidence of cytokinin production by a marine bacterium and its taxonomic characteristics[J].Canadian journal of microbiology,1988,34(6):829-833.
- [15] SAWABE T,EZURA Y,KIMURA T.Characterization of an alginate marine bacterium from decaying Rishiri-kombu *Laminaria japonica* var. *ochotensis*[J].Nippon suisan gakkaiishi,1992,58(1):141-145.
- [16] SAWABE T,MAKINO H,TATSUMI M,et al.*Pseudoalteromonas bacteriolytica* sp. nov., a marine bacterium that is the causative agent of red spot disease of *Laminaria japonica*[J].International journal of systematic bacteriology,1998,48:769-774.
- [17] 郭亚平.一株耐受高浓度铯海洋细菌的筛选鉴定及耐受机理研究[D].厦门:厦门大学,2020.
- [18] 王飞久,孙修涛,高淳仁.海带苗种培育及无公害养殖技术(一)[J].科学养鱼,2008(7):14-16,85.
- [19] SOROKIN D Y,RAINEY F A,WEBB R I,et al.*Sulfitobacter* [M]//WHITMAN P W.Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria. New York:John Wiley & Sons,Ltd,2015:1-8.
- [20] PARTE A C,CARBASSE J S,MEIER-KOLTHOFF J P,et al.List of Prokaryotic names with Standing in Nomenclature (LPSN) moves to the DSMZ[J].International journal of systematic and evolutionary microbiology,2020,70(11):5607-5612.
- [21] ISNANSETYO A,KAMEI Y.Bioactive substances produced by marine isolates of *Pseudomonas*[J].Journal of industrial microbiology & biotechnology,2009,36(10):1239-1248.
- [22] LOGAN N A,VOS P D. *Bacillus* [M]//WHITMAN P W.Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria. New York:John Wiley & Sons, Ltd,2015:1-163.
- [23] HOLMSTRÖM C,KJELLEBERG S.Marine *Pseudoalteromonas* species are associated with higher organisms and produce biologically active extracellular agents[J].FEMS microbiology ecology,1999,30(4):285-293.
- [24] LI H M,ZHANG Z H,XIONG T Q,et al. Carbon sequestration in the form of recalcitrant dissolved organic carbon in a seaweed (kelp) farming environment[J].Environmental science & technology,2022,56(12):9112-9122.

(上接第60页)

- [15] 朱广伟,邹伟,国超旋,等.太湖水体磷浓度与赋存量长期变化(2005—2018年)及其对未来磷控制目标管理的启示[J].湖泊科学,2020,32(1):21-35.
- [16] 王沛芳,胡斌,王超,等.湖荡湿地对输水河道磷的截留净化作用[J].水资源保护,2013,29(1):1-5,9.
- [17] 张又,刘凌,姚秀岚,等.“引江济太”调水中望虞河水质变化的规律

[J].水资源保护,2013,29(2):53-57.

- [18] 麻林,刘凌,宋兰兰,等.调水过程中望虞河的水质风险分析[J].河海大学学报(自然科学版),2014,42(1):13-18.
- [19] 余茂蕾,洪国喜,许海,等.湖泊蓝藻水华对连通河道水质的影响[J].环境科学,2019,40(2):603-613.
- [20] 耿雪,文师龙,孙培荣,等.太湖草藻型湖区磷赋存特征及其环境意义[J].环境科学,2019,40(12):5358-5366.