

南非斑节对虾肠道组织结构及菌群特征、代谢活性研究*

王晓璐¹, 李乐¹, 王友红¹, 盖春蕾¹, 叶海斌¹, 刘洪军¹, 樊英^{1**}, 郭萍萍¹, 穆川川², 马星坤²

(1. 山东省海洋生物研究院, 山东省海水养殖病害防治重点实验室, 山东青岛 266104; 2. 山东滨州北海经济开发区海洋与渔业局, 山东滨州 251907)

摘要:为阐述南非斑节对虾(*Penaeus monodon*)在工厂化养殖模式中肠道微生物的作用,本研究基于 HE 染色组织切片、高通量测序、Biolog ECO 技术,探讨工厂化养殖模式中南非斑节对虾肠道组织结构形态、菌群特征及肠道微生物代谢活性。结果显示,南非斑节对虾肠道组织结构类似于凡纳滨对虾,肠壁结构薄且清晰,肠上皮细胞紧密连接,微绒毛排列整齐、致密,外层结缔组织厚,可见血窦分布。通过 Operational Taxonomy Unit (OTU)数量、Chao 1、Simpson、Shannon 指数呈现了南非斑节对虾肠道菌群丰富度和多样性变化,测序数据合理;肠道菌群结构中门类主要包括变形菌门 Proteobacteria、浮霉菌门 Planctomycetes、放线菌门 Actinobacteria、疣微菌门 Verrucomicrobia;目水平中含量最高的是红杆菌目 Rhodobacterales,其次是浮霉菌目 Planctomycetales;属水平上含量表现为 unclassified>鲁杰氏菌属 *Ruegeria*>玫瑰变色菌属 *Roseovarius* 等,物种热图分析呈现相同结果。通过平均吸光值(Average Well Color Development, AWCD)显示肠道微生物代谢活性总体变化趋势,24 h 微生物代谢活性较弱,随着时间的延长,代谢活性逐渐增加,直至 144 h 后趋于平稳。本研究分析了南非斑节对虾肠道特征,为后续研究及健康养殖提供理论依据。

关键词:南非斑节对虾 肠道微生物 高通量测序 组织结构 菌群特征 代谢活性

中图分类号: S968.22 文献标识码: A 文章编号: 1002-7378(2019)04-0325-07



微信扫一扫,与作者在线交流(OSID)

0 引言

南非斑节对虾(*Penaeus monodon*)又名金刚对虾,分类学上隶属于节肢动物门(Arthropoda)甲壳纲(Crustacea)十足目(Decapoda)对虾科(Penaeidae)对虾属(*Penaeus*),是对虾属中大型种。原产于非洲莫桑比克等地,具有个体大、肉质鲜美、营养丰富、生长

速度快、抗病能力较强、离水后耐力强等优良特性,烹饪后虾体呈鲜红色,品相优良,饲料蛋白含量要求相对较低,更为符合农业绿色环保的要求,适应盐度范围 2~30,适宜集约化(工厂化)、生态工业化、淡水半精养、海水生态化等多种养殖模式^[1]。

肠道是对虾体内最重要的消化吸收器官,肠道微生物在水产动物生长代谢、营养吸收和免疫抗病等方

* 山东省现代农业产业技术体系虾蟹类创新团队项目(SDAIT-13)和山东省 2018 年度农业重大应用技术创新项目资助。

【作者简介】

王晓璐(1985—),男,博士,助理研究员,主要从事水产动物健康养殖及病害防控研究。

【**通信作者】

樊英(1980—),女,副研究员,主要从事水产动物健康养殖及病害防控研究,E-mail:fy_fy123@126.com。

【引用本文】

DOI:10.13657/j.cnki.gxkxyxb.20191129.003

王晓璐,李乐,王友红,等.南非斑节对虾肠道组织结构及菌群特征、代谢活性研究[J].广西科学院学报,2019,35(4):325-331.

WANG X L, LI L, WANG Y H, et al. Research on organization structure, micro-flora characteristics and metabolic activity of *Penaeus monodon* [J]. Journal of Guangxi Academy of Sciences, 2019, 35(4): 325-331.

面发挥着重要作用,与宿主相互依赖、相互制约,在长期的进化过程中形成独特的肠道微生态系统,其结构多样性与组成是影响宿主健康的重要因素^[2-4]。肠道正常菌群的结构和功能在对虾养殖中作用突出,其既可以增强对虾机体的免疫机能,又可以与肠道黏膜构成病原菌防控的有力屏障,共同抵御病原微生物的入侵,保持机体内环境的稳定^[5-6]。对南非斑节对虾肠道特征的研究有助于了解宿主与菌群间的相互作用关系,并为南非斑节对虾养殖用微生物制剂的研发和环保饲料配方的优化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

健康、规格整齐的南非斑节对虾来自山东滨州某养殖场,体长约(5±0.5) cm,随机放入养殖池内,500尾/m²。试验所用基础饲料为大乐饲料有限公司对虾专用配合饲料,主要营养成分见表1。

表1 基础饲料的成分

Table 1 Ingredients of basal diet

营养成分 Nutrient ingredients	质量比 Mass fraction (%)	营养成分 Nutrient ingredients	质量比 Mass fractio (%)
粗蛋白质 Crude protein	≥44.0	钙 Calcium	≤5.0
粗脂肪 Crude fat	≥4.0	总磷 Total phosphorus	≥1.2
粗纤维 Crude fibre	≤6.0	赖氨酸 Lysine	≥2.2
粗灰分 Crude ash	≤16.0	湿度 Moisture	≤11

1.2 饲养条件

试验水源为自然海水,水温(26±1)℃,pH值为7.2~7.8,24 h充气,溶氧量为5.5~6.5 mg/L,氨氮<0.4 mg/L。养殖池面积40 m²,水深1 m,养殖水源为地下水曝气消毒后经调温直接流入养殖池中,每日添加10%新水作为补充,试验过程中正常管理,每天分别于6:00,14:00,22:00饱食投喂,投饵量以投饵后2 h内吃完为佳。

1.3 样品采集及检测

1.3.1 样品采集

正常养殖试验一月后,随机从每个平行中抽取50尾活力健康的南非斑节对虾(按照四角加中心位置,每点随机取10尾对虾,五点共50尾),经本实验室PCR检测,不携带对虾白斑症病毒(WSSV)、对虾桃拉病毒(TSV)、对虾肝胰腺坏死综合症致病性弧

菌(AHPND)、对虾肝肠胞虫(EHP)等主要病原。样品在无菌条件下,冰上剖取前中肠样品,无菌预冷生理盐水冲洗、一次性无菌棉球擦拭干燥后,将肠道组织和内容物分别保存,取部分前肠样品置于Bouin氏液中,内容物置于-80℃保存备用。

1.3.2 组织结构

静置24 h的组织样品,进行常规石蜡连续横切片,厚度为7 μm,苏木素-伊红染色,光学显微镜(Olympus, BX53)下(100×, 400×)进行观察、拍照。

1.3.3 肠道菌群结构特征

利用QUAGEN试剂盒提取肠道内容物基因组DNA,扩增V3+V4区(引物319F: 5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3', 806R: 5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3');通过杭州联川生物技术股份有限公司Illumina MiSeq 2×300 bp paired-end测序平台进行分析,步骤如下:(1)将原始数据去除reads的barcode和接头序列,去除含有无法确定碱基信息>5%的序列,去除低质量序列,进行有效序列和优质序列的统计;(2)在97%相似度下将16S rRNA Unique Reads聚类进行Operational Taxonomy Unit (OTU)丰度统计,初步说明样品中物种丰富程度;(3)通过绘制OTU数目变化与聚类similarity值之间的关系图,从中选择最佳的similarity值进行OTU分析和分类学分析;(4)统计Alpha多样性值,包括Shannon、Simpson、Chao1指数,揭示物种群落差异,且从门水平上对不同菌群分布的均匀度进行分析;(5)稀释曲线(Rarefaction curve),对测序序列进行随机抽样,以抽到的序列数与其所能代表OTU的数目构建曲线;(6)将门、目、属水平上的分类信息分别进行聚类分析后作出Heatmap图,能够反应样品的相似性。

1.3.4 肠道微生物代谢特征

Average Well Color Development (AWCD)可以用来指示南非斑节对虾肠道微生物随时间的变化的整体代谢平均活性。将3个平行组的随机样品分别低温混合后用于Biolog ECO检测(参照李志斐等^[7]方法,结合仪器说明书进行)。Biolog™的ECO测试板(ECO MicroPlate, USA)含有3套31种不同碳源(其中氨基酸类6种、糖类10种、羧酸类7种、聚合物类4种、胺类2种和酚类2种)。将样品混合物按照一定比例用0.9%(W/V)生理盐水稀释后,倒在无菌加样槽中,然后加样于25℃预热的Biolog ECO微平板中,每孔加入150 μL。将加好样的Biolog

ECO 微平板加盖, 28℃ 恒温培养, 每隔 24 h 读取各孔在 590 nm 波长下的光密度, 连续测定 5 d, 每个样品做 3 个重复。肠道微生物的整体代谢活性用平均吸光值 AWCD 表示, 其计算公式为 $AWCD = \sum(C_i - R) / n$, 式中: C_i 为所测定的 31 个碳源孔的吸光值; R 为对照孔的吸光值; n 为培养基碳源总数(本研究中为 31)。

2 结果与分析

2.1 肠道组织形态特征

如图 1 所示, 南非斑节对虾肠壁结构薄且清晰, 由内腔面向外依次为上皮(单层柱状上皮细胞)、基膜、肌层和结缔组织; 肠上皮细胞紧密连接, 细胞游离面丰富的微绒毛排列整齐、致密; 外层结缔组织较厚, 可见血窦分布。

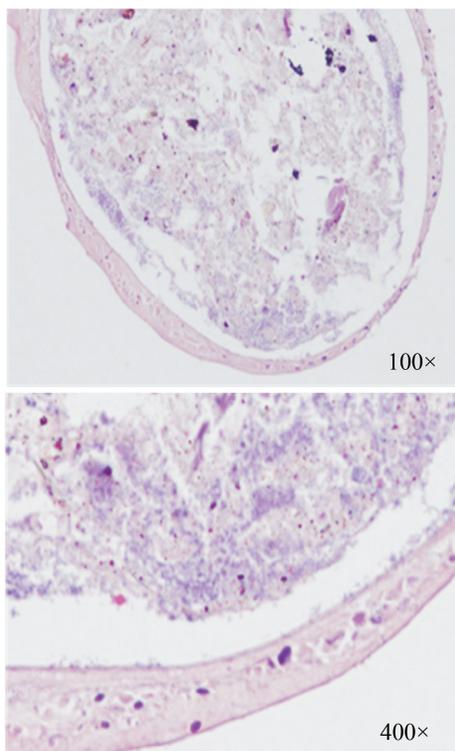


图 1 南非斑节对虾肠道组织形态结构

Fig. 1 Intestinal section morphology of *Penaeus monodon*

2.2 肠道菌群结构特征

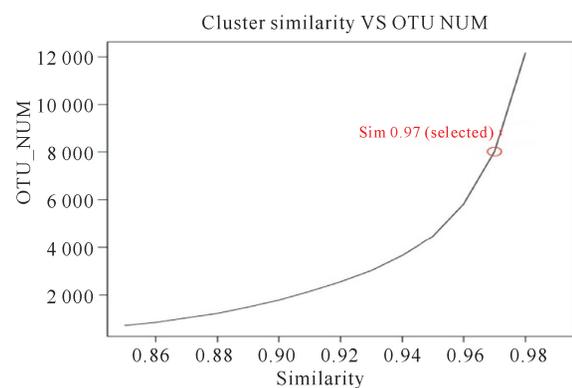
表 2 呈现了南非斑节对虾肠道菌群结构特征, 反映了肠道中细菌的优势关系。统计获得相似性 > 97% 的 OTU 数量达 4 264。Chao 1 指数代表群落丰富度, Shannon、Simpson 指数与群落多样性指数呈正比, 分别为 29 049.62, 4.84, 0.04。后续进行 OTU 分析和分类学分析的最佳聚类 Similarity 值如图 2 所示。使用 97% 相似度的 OTU 制作的稀释曲线图

不仅表现了样本中物种的丰富度, 也说明了样本的测序数据量的合理性; 曲线趋向平坦时, 测序数据量合理, 更多的数据量只会产生少量新的 OTU(图 3)。

表 2 南非斑节对虾肠道菌群的丰富度和多样性指数

Table 2 Richness and diversity indexes of gut microflora in *Penaeus monodon*

Valid data	High sequences	OTU	Diversity indexes		
			Chao 1	Simpson	Shannon
82 912	74 183	4 264	29 049.62	0.04	4.84



红字标示的是本次分析使用的 Similarity 值

The red character indicates the similarity value used in this analysis

图 2 OTU 数目与聚类 Similarity 值(0.86~0.99)关系

Fig. 2 Relation of OTU number and cluster similarity value (0.86—0.99)

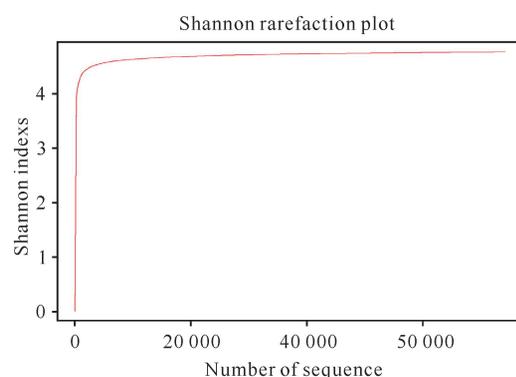


图 3 Alpha 指数稀释曲线

Fig. 3 Dilution curve of Alpha index

南非斑节对虾肠道中优势菌门类主要包括变形菌门 Proteobacteria、浮霉菌门 Planctomycetes、放线菌门 Actinobacteria、疣微菌门 Verrucomicrobia, 其中变形菌门的含有量高达 65.69%(表 3)。从目的水平上分析, 肠道菌群中比例最高的是红杆菌目 Rhodobacterales, 占 53.97%; 其次是浮霉菌目

Planctomycetales, 占 14.86%, 再次是酸微菌目 Acidimicrobiales, 占 6.26% (表 4)。从属的水平上分析, 含量表现为 unclassified > 鲁杰氏菌属 *Ruegeria* > 玫瑰变色菌属 *Roseovarius* > 肠杆菌属 *Ilumatobacter* > 红假单胞菌属 *Rhodopirellula* > 热带单胞菌 *Tropicimonas* > *Thermogutta* (表 5)。经聚类分析后 heatmap, 不同的位置条带表示不同的细菌菌属, 聚类分析结果同丰度结果相同(图 4)。

表 3 南非斑节对虾肠道菌群细菌门水平及其相对丰度百分比

Table 3 Frequency and relative abundance percentage of phylum in microbial communities from *Penaeus monodon*

门 Phylum	Frequency (%)	门 Phylum	Frequency (%)
变形菌门 Proteobacteria	65.69	拟杆菌门 Bacteroidetes	1.77
厚壁菌门 Firmicutes	1.44	疣微菌门 Verrucomicrobia	2.23
放线菌门 Actinobacteria	9.69	浮霉菌门 Planctomycetes	15.51

2.3 肠道微生物代谢活性变化

通过平均吸光值 AWCD 显示肠道微生物代谢活性总体变化趋势, 24 h 呈现较低吸光值(即微生物代谢活性较弱), 随着时间的延长, 吸光值呈上升趋势(即微生物代谢活性逐渐增加), 直至 144 h 后微生物代谢活性趋于平稳(图 5)。

表 4 南非斑节对虾肠道菌群细菌目水平及其相对丰度百分比

Table 4 Frequency and relative abundance percentage of Order in microbial communities from *Penaeus monodon*

目 Order	Frequency (%)	目 Order	Frequency (%)
红杆菌目 Rhodobacterales	53.97	疣微菌目 Verrucomicrobiales	1.88
Planctomycetales	14.86	海洋螺菌目 Oceanospirillales	1.39
酸微菌目 Acidimicrobiales	6.26	放线菌目 Actinomycetales	3.11
交替单胞菌目 Alteromonadales	1.93	脱硫杆菌目 Desulfobacterales	2.37
黄杆菌目 Flavobacteriales	1.43	Unclassified	4.28

表 5 南非斑节对虾肠道菌群细菌属水平及其相对丰度百分比

Table 5 Frequency and relative abundance percentage of Genus in microbial communities from *Penaeus monodon*

属 Genus	Frequency (%)	属 Genus	Frequency (%)
Unclassified	18.91	<i>Marivita</i>	2.03
鲁杰氏菌属 <i>Ruegeria</i>	14.41	<i>Aliiroseovarius</i>	1.43
玫瑰变色菌属 <i>Roseovarius</i>	11.67	<i>Oceanicola</i>	2.53
<i>Thermogutta</i>	3.18	热带单胞菌 <i>Tropicimonas</i>	3.77
肠杆菌属 <i>Ilumatobacter</i>	5.75	<i>Blastopirellula</i>	2.21
红假单胞菌属 <i>Rhodopirellula</i>	4.08	<i>Gimesia</i>	2.08

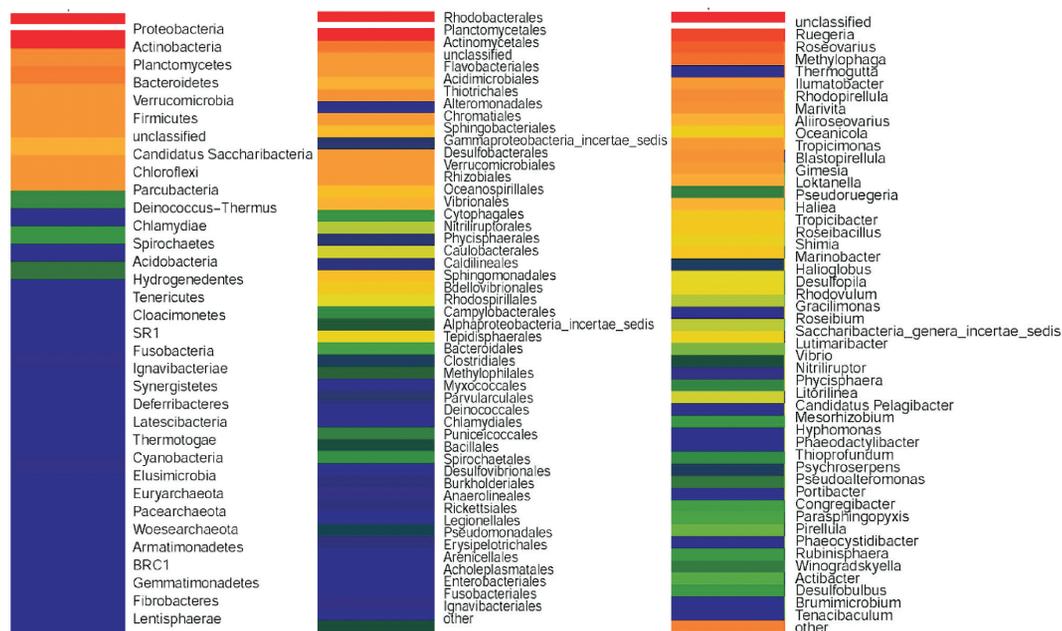


图 4 门、目、属水平物种热图分析

Fig. 4 Species heat map analysis at Phyla, Order and Genus level

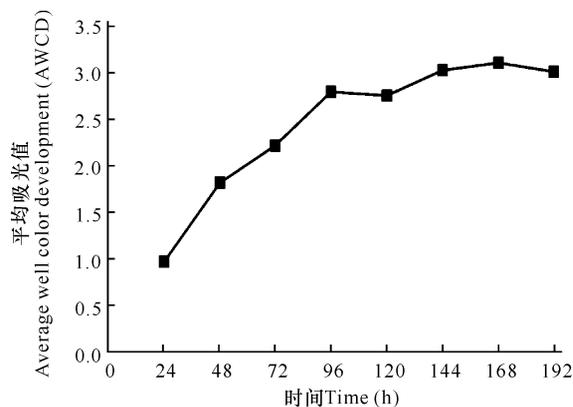


图5 南非斑节对虾肠道微生物平均吸光值 AWCD 变化特征

Fig. 5 Variation characteristics of average well color development (AWCD) of intestine microorganism in *Penaeus monodon*

3 讨论

南非斑节对虾肠道组织结构和凡纳滨对虾基本一致,其肠道作为对虾消化吸收的主要部位,同时行使着机械屏障、免疫屏障和生物屏障 3 大功能^[8-9]。南非斑节对虾肠上皮细胞发挥着吸收和分泌黏液的功能,表层紧密的微绒毛可通过增大细胞表面积而提高营养物质的吸收和有益微生物的附着,正常的组织结构亦是保证肠道免疫功能、维持肠道健康的基础。当外界有益物质给予或病害入侵时,肠道组织结构可作为反映宿主机体健康的指标之一。熊家等^[10]、郑晓婷等^[11]分别研究了酵母水解物、植物乳酸杆菌对凡纳滨对虾肠道组织形态的影响,结果均反映了对虾肠道组织结构的重要性以及对外界干预条件的效果评价,为后续研究奠定基础。

肠道微生物研究最早是通过传统培养技术实现的,如微生物富集培养、分离纯化、生化鉴定和血清学鉴定等;然而,传统技术受培养条件的局限性,且只能进行一般的表性特性描述,导致了诸多未可培养微生物占了一定的比例,因此,无法完整地反映出分析样本中的微生物群落结构^[12-13]。后来兴起的 DGGE 和 RFLP 等技术,是以细菌 16S rRNA 为基础,但这些方法的分析通量有限,难以揭示肠道微生物的复杂多样性结构或潜在的功能性特征^[14-15]。近年来,高通量测序技术迅速发展,借助大数据软件,能够准确地反映出微生物整体的菌群结构,即使含量很少的微生物菌群也能检测到,因此被广泛运用到目前的研究中^[16-18]。本研究利用 Illumina 高通量测序技术分析南非斑节对虾肠道细菌群落组成,更加全面地反映了

南非斑节对虾肠道微生物菌群组成及丰度信息,可为后期病害防控、功能预测等奠定基础,为从群落水平上了解认识微生物活动提供了可能性。结果显示,南非斑节对虾肠道菌群结构中门水平上变形菌门含量最多,其次是浮霉菌门,目水平上是红杆菌目、浮霉菌目,而属水平上含量最多的是未分类菌属,其次是鲁杰氏菌属、玫瑰变色菌属。这与凡纳滨对虾的研究结果相似。在本团队以前的研究中发现^[19],变形菌是对虾肠道内主要的菌群;杨坤杰等^[20]通过对健康和患病凡纳滨幼虾肠道群落分析发现,在健康幼虾肠道中变形菌纲丰度较高,能够维持肠道微生物的多样性,从而可以增强宿主健康,减少病害的发生;尚碧娇等^[21]利用高通量测序技术研究益生菌对凡纳滨对虾肠道菌群结果的影响,结果显示,益生菌可以扩增对虾肠道微生物菌群丰度,并能抑制弧菌属等有害菌群的生长,从而提高对虾体质量增加率并降低死亡率。目前,关于南非斑节对虾肠道细菌多样性的研究鲜有报道,本研究的数据能够为南非斑节对虾肠道组织结构及其微生物特性研究提供有效的可靠的参考。在今后的研究中对优势菌群进行深入分析,发现细菌群落结构在时间或空间上的动态变化,结合大片段基因组文库或组学技术发现新的序列或功能,进而探讨肠道微生物在养殖动物生长、健康方面的作用机制。

微生物代谢功能的研究是环境微生物群落研究的核心内容之一,肠道微生物更是肠道生态环境中的主要角色。Biolog ECO 技术是根据环境微生物单一碳源利用活性和类型,对不同微生物群体差异进行分析的方法,因其具有灵敏度高、分辨力强、无须分离纯培养、测定简便等优点而被广泛使用^[22-24]。Biolog ECO 分析使微生物对不同碳源的代谢能力分析效率大大提高,在微平板上通过平均颜色变化读数反映微生物对不同碳源的整体利用能力。微生物群落水平多样性不仅关系着微生物对营养物质尤其是碳源的利用情况,而且关系着对其中某一营养物质的绝对利用情况,进而更好地了解微生物群落代谢特征^[25]。本实验中南非斑节对虾肠道 AWCD 表现出了代谢活性的变化情况,Biolog ECO 微平板培养 24 h 肠道微生物整体代谢活性较弱,然而随着时间的延长,微生物利用碳源能力逐渐增强,直至 144 h 后趋于平稳,推测是肠道微生物相关代谢产物提供了一定的营养物质,加速了其碳源的利用以及对有机物的降解,致使 AWCD 值逐渐升高,直观地体现微生物群落反应速度和最终达到的程度。这些结果可为后续

研究肠道微生物参与机体代谢以及从代谢功能方面评价外源添加剂在养殖中的应用效果提供理论数据参考。

4 结论

本研究基于 HE 染色组织切片、高通量测序、Biolog ECO 技术,探讨工厂化养殖模式中南非斑节对虾肠道组织结构形态、菌群特征及肠道微生物代谢活性,本研究结果能够为南非斑节对虾肠道组织结构、微生物特性以及后续代谢研究提供有效的、可靠的参考,对于实际养殖南非斑节对虾具有一定的指导意义。

参考文献

- [1] 杨纪忠,谢林荣,何家才,等. 南非斑节对虾低盐度养殖试验[J]. 水产养殖,2018(5):41-42.
- [2] 王栋栋,田相利,汪多,等. 五种不同添加剂对凡纳滨对虾肠道菌群结构影响的研究[J]. 海洋湖沼通报,2018(3):132-141.
- [3] CAHENZLI J, KÖLLER Y, WYSS M, et al. Intestinal microbial diversity during early-life colonization shapes long-term IgE levels [J]. *Cell Host & Microbe*,2013,14(5):559-570.
- [4] 陈晓瑛,王国霞,孙育平,等. 饲料中添加低聚木糖对凡纳滨对虾幼虾消化酶活力、肠道形态及细菌数量的影响[J]. 动物营养学报,2018,30(4):1522-1529.
- [5] 张家松,段亚飞,张真真,等. 对虾肠道微生物菌群的研究进展[J]. 南方水产科学,2015,11(6):114-119.
- [6] 郁维娜,戴文芳,陶震,等. 健康与患病凡纳滨对虾肠道菌群结构及功能差异研究[J]. 水产学报,2018,42(3):399-409.
- [7] 李志斐,谢骏,郁二蒙,等. 基于 Biolog-ECO 技术分析杂交鳢和大口黑鲈高产池塘水体微生物碳代谢特征[J]. 农业环境科学学报,2014,33(1):185-192.
- [8] VAUGHAN E E, SCHUT F, HEILIG H G H J, et al. A molecular view of the intestinal ecosystem [J]. *Current Issues in Intestinal Microbiology*,2000,1(1):1-12.
- [9] LI X H, ZHOU L, YU Y H, et al. Composition of gut microbiota in the gibel carp (*Carassius auratus gibelio*) varies with host development [J]. *Microbial Ecology*,2017,74(1):239-249.
- [10] 熊家,袁野,罗嘉翔,等. 酵母水解物对凡纳滨对虾生长、消化酶活性和肠道形态的影响[J]. 中国水产科学,2018,25(5):1012-1021.
- [11] 郑晓婷,段亚飞,董宏标,等. 植物乳酸杆菌对凡纳滨对虾生长、消化酶活性和肠道组织形态的影响[J]. 水产科学,2016,35(1):1-6.
- [12] 曹荣,张井,孟辉辉,等. 高通量测序与传统纯培养方法在牡蛎微生物群落分析中的应用对比[J]. 食品科学,2016,37(24):137-141.
- [13] AMANN R I, LUDWIG W, SCHLEIFER K H. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation [J]. *Microbiological Reviews*,1995,59(1):143-169.
- [14] 罗鹏,胡超群,张吕平,等. 凡纳滨对虾海水养殖系统内细菌群落的 PCR-DGGE 分析[J]. 中国水产科学,2009,16(1):31-38.
- [15] 孙庆华,柏耀辉,赵翠,等. DGGE、T-RFLP、LH-PCR 对两种活性污泥的微生物种群多样性分析的比较[J]. 环境工程学报,2009,3(8):1365-1370.
- [16] 李志勇,何丽明,吴杰,等. 基于 PCR-DGGE 基因指纹的对虾体内优势细菌组成分析[J]. 微生物学通报,2005,32(3):82-86.
- [17] 温崇庆,何瑶瑶,薛明,等. 高通量测序分析 DNA 提取引起的对虾肠道菌群结构偏差[J]. 微生物学报,2016,56(1):130-142.
- [18] 周子寒,彭绍亮,伯晓晨,等. 基于高通量测序技术的微生物检测数据分析方法[J]. 生物化学与生物物理进展,2017,44(1):58-69.
- [19] 樊英,王晓璐,李乐,等. 基于高通量测序的不同养殖系统下凡纳滨对虾肠道和水体中微生物的多样性[J]. 广西科学院学报,2017,33(4):261-267,273.
- [20] 杨坤杰,王欣,熊金波,等. 健康和患病凡纳滨对虾幼虾消化道菌群结构的比较[J]. 水产学报,2016,40(11):1765-1773.
- [21] 尚碧娇,左志哈,窦春萌,等. 高通量测序法分析两株益生菌对凡纳滨对虾肠道菌群结构的影响[J]. 水产学报,2018,42(12):113-122.
- [22] 席劲瑛,胡洪营,钱易. Biolog 方法在环境微生物群落研究中的应用[J]. 微生物学报,2003,43(1):138-141.
- [23] Biolog [EB/OL]. [2019-10-11]. <https://www.biolog.com>.
- [24] GARLAND J L, MILLS A L. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization [J]. *Applied and Environmental Microbiology*,1991,57(8):2351-2359.
- [25] 陈禹竹,唐琦勇,顾美英,等. 盐爪爪根部微生物分布特征及盐浓度对碳源代谢分析的影响[J]. 微生物学通报,2019,46(11):2900-2908.

Research on Organization Structure, Micro-flora Characteristics and Metabolic Activity of *Penaeus monodon*

WANG Xiaolu¹, LI Le¹, WANG Youhong¹, GAI Chunlei¹, YE Haibin¹, LIU Hongjun¹,
FAN Ying¹, GUO Pingping¹, MU Chuanchuan², MA Xingkun²

(1. Shandong Key Laboratory of Disease Control in Mariculture, Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao, Shandong, 266104, China; 2. Marine and Fisheries Bureau of Shandong Binzhou Beihai, Binzhou, Shandong, 251907, China)

Abstract: In order to clarify the role of intestinal microorganisms in *Penaeus monodon* in factory culture mode, the intestinal tissue morphology, micro-flora characteristics and intestinal microbial metabolic activity of *P. monodon* in factory culture mode were explored based on HE stained tissue sections, high-throughput sequencing, and Biolog ECO technology. The results showed that the structure of the foregut in *P. monodon* was similar to that of *P. vannamei*. The structure of the gut wall was thin and clear. The intestinal epithelial cells were tightly connected. The microvilli were arranged neatly and densely, and the outer hoof tissue was thick, showing the distribution of sinusoids. The number of OTU (Operational taxonomy unit), Chao 1, Simpson and Shannon index effectively showed the richness and diversity of gut flora in *P. monodon*, the sequencing data were reasonable. The main components of the gut flora included Proteobacteria, Planctomyces, Actinobacteria and Verrucomicrobia. The highest level in the order was Rhodobacterales, followed by Planctomycetales. On the genus level, the content was unclassified >*Ruegeria* > *Roseovarius*, etc. The species heat map analysis showed the same results. The trend of intestinal microbial metabolic activity was shown by Average Well Color Development (AWCD). The microbial metabolic activity was weaker at 24 h, and gradually increased with time, until it stabilized after 144 h. This study analyzed the intestinal characteristics of *P. monodon*, providing theoretical basis for subsequent research and healthy breeding.

Key words: *Penaeus monodon*, gut microorganism, high-throughput, organization structure, micro-flora, metabolic activity

责任编辑: 陆雁

《广西科学院学报》致谢 2018—2019 年审稿专家

《广西科学院学报》在主办单位以及主编、编委和审稿专家的大力支持下,圆满完成了2019年1~4期的编辑和出版工作。专家们在百忙中承担繁重的审稿任务,你们严谨治学的态度及奉献精神保证了《广西科学院学报》的学术质量。同时,编辑和投稿作者也有幸得到了审稿专家的帮助。《广西科学院学报》编辑部在此谨向以下审稿专家致以诚挚的敬意和谢意!并祝各位在新的一年里身体健康,万事如意!

牛建峰	王勤	王瑁	王静	王玉霞	王桂文	王浩	邓雁如
韦宇拓	韦保耀	冯春华	冯家勋	申玉春	农旭华	刘小玲	刘布鸣
刘永学	刘永贤	刘连芳	刘洪波	吕跃进	吕镇梅	孙丰强	孙军
朱克诚	朱晓妹	江涛	许罕多	过杰	何斌	何铁光	何斌源
吴海一	宋金明	杜丽琴	张杰	张鸿雁	李文红	李先琨	李陶深
李晶	李高荣	李瑞杰	李鹏飞	杨键	陈刚	陈剑	陈宁江
陈庆锋	陈武华	陈洪松	周本杰	周放	庞浩	郑媛媛	胡小波
胡亚芹	胡宝清	郭慧	郝林华	唐立	唐亚	郭新宇	陶勇
高劲松	高英俊	梁士楚	温远光	黄凯	黄庶识	童张法	赖俊翔
翟军勇	谭伟福	谭光兴	谭宗琨	黎宁	黎广钊		

注:专家名单按姓氏笔画顺序排序,截止到2019年12月20日。

《广西科学院学报》编辑部
2019年12月20日