水生生物学报
ACTA HYDROBIOLOGICA SINICA

水下噪音对杂交鲟行为及肠道微生物的影响

高跃 刘春华 姜泽建 郑跃平 徐嘉楠 范厚勇 王有基 胡梦红

UNDERWATER NOISE ON THE BEHAVIOR AND GUT MICROBIAL COMPOSITION OF HYBRID STURGEON

GAO Yue, LIU Chun-Hua, JIANG Ze-Jian, ZHENG Yue-Ping, XU Jia-Nan, FAN Hou-Yong, WANG You-Ji, HU Meng-Hong

在线阅读 View online: https://doi.org/10.7541/2023.2022.0106

关注微信公众号，获得更多资讯信息

doi: 10.7541/2023.2022.0106

水下噪音对杂交鲟行为及肠道微生物的影响

高 跃[1,2,3] 刘春华[1,2] 姜泽建[2] 郑跃平[3,4] 徐嘉楠[3,4] 范厚勇[3,4]
王有基[1,2] 胡梦红[1,2]

(1. 上海海洋大学水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 上海海洋大学上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 3. 长江口水生生物监测与保护联合实验室, 上海 200092; 4. 上海市水生野生动植物保护研究中心, 上海 200003)

摘要: 为探究水下噪音对杂交鲟行为变化(游泳速率、摄食速率、空间分布)及其肠道微生物的影响, 在(145±5) dB, 400 Hz的噪音条件下对杂交鲟进行了0、24h、48h、7d和14d 的噪音刺激, 随后置于无胁迫噪音的自然环境中恢复48h。结果显示, 噪音刺激后杂交鲟游泳速度和摄食速度显著减慢, 空间分布发生改变, 噪音刺激开始时杂交鲟聚集于远离噪音源的一侧, 3min后却逐渐接近噪音源。噪音对杂交鲟的肠道微生物的丰富度无显著性影响; 不同时间段的各组肠道微生物的优势种群存在差异, 且随时间变化优势种群反复改变; 以上微生物分析结果通过COG预测显示, 噪音胁迫48h和7d时“细胞信号传递过程”, “碳水化合物的转运”及“氨基酸的运输和代谢功能”显著低于其他组。结果表明, 噪音对杂交鲟摄食速率、游泳速率及空间分布影响显著, 改变了其肠道微生物组成和占比, 影响了其氨基酸代谢等多条生命活动相关通路。实验模拟了水下各类噪音源的混合噪音对杂交鲟行为和肠道微生物的影响, 为探讨杂交鲟的健康生态养殖和逆境生理响应机制提供基础资料。

关键词: 水下噪音; 摄食速率; 空间分布; 肠道微生物; 杂交鲟

中图分类号: Q178.1 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2023)06-0931-09

水下噪音来源种类繁多, 主要来自船舶行驶[1]、施工建设[2—4]和养殖设施[5]等。有研究表明, 全球变暖, 海洋酸化等环境因素使海洋吸收噪音的能力减弱[6]。据统计, 海上船舶增多导致水下低频噪声以平均每年0.5 dB的速度增加[7]。邸凌杰等[8]的研究发现长江上游涪陵至丰都河段船舶水下噪声为150—185 dB。张华武等[9]探讨了船舶水下噪声对海洋动物的影响, 提到每种海洋动物都有大致固定的噪声耐受阈值。环境噪声超过该阈值, 动物会受到不可挽回的物理损伤。另外, Popov等[10]的研究表明打桩噪声引起了长江江豚(*Neophocaena asiaeorientalis*)的暂时性听觉阈位移(TTS), 也有研究表明, 水下勘探采用水下爆破技术清理航道时产生的噪声声压级能到达190 dB, 甚至更高[11]。声呐被广泛应用于鱼雷制导、水雷引信、鱼群探测和水文测量的同时也干扰了水生动物接收声音信号[12]。总之, 人为活动产生了越来越多的水体噪音污染。

中华鲟(*Acipenser sinensis*)、白鲟(*Psephurus gladius*)和长江鲟(*Acipenser dabryanus* Dumeril)作为长江中水生生态系统健康状况的重要指示生物, 其栖息地遭受着严重的噪音污染[13]。1988年, 我国将这三种鲟列为国家一级保护动物[14], 截至目前, 现有的其他鲟均列入《濒危野生动植物物种国际贸易公约》[15], 在过去的几十年中, 鲟资源显著下降, 白鲟现已宣布功能性灭绝, 中华鲟自2017年后也未发现自然产卵现象[16]。杂交鲟是非保护动物, 养殖已有一定规模且来源稳定。因其味道鲜美, 对环境适应能力较强而深受大众喜爱, 因此近几年杂交鲟养殖数量不断增加[17]。西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)、史氏鲟(*Acipenser schrencki*)和中华鲟同属

收稿日期: 2022-03-24; **修订日期:** 2022-08-12

基金项目: 上海市水生野生动植物保护研究中心专项(2021-01号)资助 [Supported by the Shanghai Aquatic Wildlife Protection Research Center Special Project (2021-01)]

作者简介: 高跃(1996—), 女, 硕士研究生; 主要研究方向是水生生物对环境胁迫的生理生态响应和适应性。E-mail: 15754761841@163.com

通信作者: 胡梦红(1982—), 女, 博士; E-mail: mhhu@shou.edu.cn

于鲟形目鲟科鱼类, 它们生活在水体中下层, 以底栖生物为食, 其消化系统中既有硬骨鱼类的幽门盲囊, 又有软骨鱼类的瓣肠, 具有很高的水化吸收功能[18]。因此, 本实验将通过探索噪声对杂交鲟(西伯利亚鲟×史氏鲟)的影响在一定程度上反映噪音胁迫对中华鲟等珍稀鲟鱼的影响。

水下噪音作为水环境中的一种应激源, 会改变鱼类的行为和活动方式, 进而对鱼类的摄食、代谢和生长等造成影响[19—21]。在噪音胁迫下, 斑点鹟鳚(*Aetoba tusocellatus*)的逃逸行为增加[19], 三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)注意力转移, 觅食能力下降[20], 两种共生鱼类真鱥(*Phoxinus phoxinus*)和三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)的觅食成功率降低[21]。Neo等[22]的研究表明, 噪音暴露下欧洲鲈游得更快, 潜得更深。Heenehan等[23]发现风力发电场产生的声音能吸引和聚集鱼类, 改变了鱼类及其捕食者的空间分布。

肠道环境的形成和稳定影响宿主的生长发育、代谢转化、免疫和许多重要的生理功能[24—26]。苟妮娜等[24]基于16S RNA高通量测序分析了在野生和养殖条件下多鳞白甲鱼(*Scaphesthes macrolepis*)的肠道微生物群落的区别, 发现野生样本中优势菌群主要是鲸杆菌属(*Cetobacterium*), 养殖样品中优势菌群主要是乳杆菌属(*Lactobacillus*); 汪倩等[25]发现耐寒性暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)的肠道微生物的 OTUs、丰富度和多样性均小于养殖型暗纹东方鲀, 经过长期低温驯化的耐寒性暗纹东方鲀肠道微生物种类趋于一致。可见环境胁迫因子可以显著改变鱼类的肠道微生物组成, Hang等[26]在噪声对循环养殖系统中大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)影响的试验中发现环境组(未接受噪音刺激组)的平均增重率约为噪声组平均增重率的2.2倍, 说明噪音刺激显著影响了大口黑鲈的消化吸收。林听听等[27]发现, 噪音胁迫后肠道菌群, 如芽孢杆菌和乳杆菌等相对丰度显著降低, 但目前国内外对于噪音胁迫下肠道微生物的研究仍较少。因此, 本研究将通过模拟水下噪音环境, 探究噪音对杂交鲟摄食行为及肠道微生物组成的影响, 为噪声胁迫下中华鲟等珍稀鱼类消化生理的相关研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 实验对象来源

本研究于上海市水生野生动植物保护研究中心(后简称水野中心)开展, 选用养殖的杂交鲟(西伯利亚鲟×施氏鲟)。实验鱼[体重(50±5) g, 体长(27.5±2.5) cm]在实验前于实验池驯化7d, 选择大小相似的健康个体用于实验。实验前12h停止投喂。每天控制养殖池的温度为(22±1)℃, 溶氧为 9.5—10 mg/L, pH为7—8。实验鱼每日上午8时, 中午12时, 下午4时, 晚上8时按投饵率2.9%投喂鲟鱼饲料。

本实验微生物取样分为7组, 包括暴露0、24h、48h、7d和14d及恢复正常环境48h的6个时间点的6组肠道样品及水环境样品1组, 每组3个重复。实验鱼养殖在同一循环水养殖系统(规格: 直径为2 m, 高2.5 m的圆形养殖池)中。

1.2 实验装置

实验装置(图 1)包括声音输入装置(MP3、水下扬声器、功放)、声音输出装置(水听器、电脑)、监控系统(摄像头)和养殖系统。

水听器(DHP8501, 嘉兴中科声学科技有限公司)主要用于水下环境噪声监测。具有对瞬态信号采集、处理、记录和分析功能。图 2是数字水听器的工作示意图。一体化的数字水听器包括水听器、电子仓、转接盒、水密接头和水密电缆。系统采用外部供电, 在计算机控制下采集信号和处理数据。水下声音通过水听器(声压: 0—180 dB; 采样率: 0.1 Hz—196 kHz; 高增益)收集声音信号, 电子仓经DSP滤波之后将声信号变为电压信号, 并把信号处理的结果数据上传到SD卡以wav.的格式存储, 采样时水听器置于水下 3 m 水层。将存储在SD卡中的声音文件导入电脑中, 然后用 MATLAB

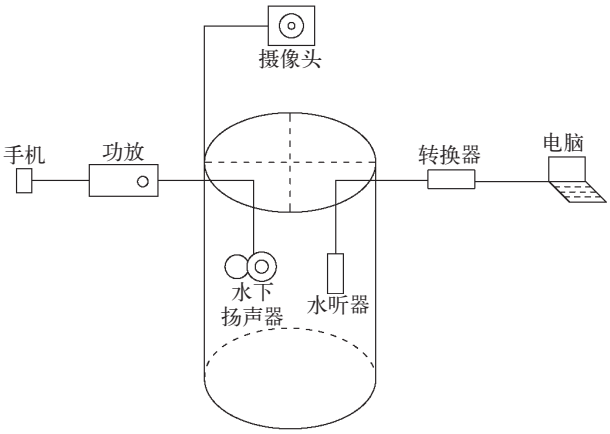

图 1 实验装置模拟图

Fig. 1 Experimental setup simulation diagram

在实验过程中, 杂交鲟暴露在噪音前后两种不同的声学条件下, 利用水下扬声器开启实验噪音监测, 以未开启噪音前养殖在实验桶中的实验鱼为空白组

During the experiment, the hybrid sturgeon is exposed to two different acoustic conditions before and after noise, and the experimental noise monitoring is turned on by underwater loudspeaker, and the experimental fish cultured in the experimental bucket before the noise is turned on as the blank group

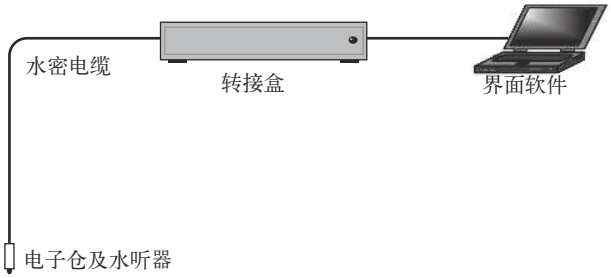

图 2　水听器的工作示意图

Fig. 2　Schematic diagram of the working of hydrophone

(R2010b, The Mathworks, Natick, MA)声音分析程序进行数据处理和分析。

1.3　模拟噪声的选择和产生方式

参考项杰等[13]关于鲟听觉阈值的研究, 长江鲟在 100—500 Hz 的频率范围内的声压测定范围是 130—150 dB, 其最敏感为 300 Hz, 声压为 (133±0.5) dB。另外, 湖鲟(*Acipenser fulvescens*)的听觉阈值(频率为 200 Hz, 声压为 130.5 dB)和匙吻鲟(*Aspiolucius merzbacheri*)听觉阈值(频率为 300 Hz, 声压为 133 dB)[28]与长江鲟的结果也较为相近。本实验中所用的杂交鲟(西伯利亚鲟×施氏鲟)虽尚未有关其听觉阈值的研究, 但结合长江鲟与实验所用的杂交鲟母本同属鲟科鲟属, 且以人为噪音活动为特征的水生生境(如船舶)和某些水产养殖系统的噪音水平为依据[1, 29], 本实验选择了3个噪音水平[(135±5) dB, 300 Hz; (145±5) dB, 300 Hz和(145±5) dB, 400 Hz]对杂交鲟进行预实验胁迫。结果表明(145±5) dB, 400 Hz的噪音条件下, 杂交鲟出现趋避游泳行为(逃避, 游泳速度加快), 因此最终选择(145±5) dB, 400 Hz作为行为及肠道微生物的声胁迫条件。

实验所选用的船舶噪音于2021年7月在南支南港北槽水道Z22点(经度121°32.15′纬度31°28.32′)和Z23点(经度121°49.42′, 纬度31°18.47′), 用录音机随船航行过程中录制而成; 工地打桩等施工噪音录制于水野中心二期施工现场; 车间噪音录制于水野中心电路间。

本次实验将采集录制的3种噪音(船舶航行噪音、工地施工噪音及车间养殖系统噪音)混合后, 使用Audition音频剪辑软件(Adobe, 美国)将音频文件分别设置成400 Hz和500 Hz, 后经声频功率放大器(广州特美生电器有限公司)放大后由水下扬声器(Electro-Voice, 型号UW-30)播放。实验开始前, 水听器、信号放大器和水下扬声器先在未放鱼的养殖桶中调试, 用水听器实测声压级, 调到所设定的声压级后, 关闭噪声源, 将水下扬声器等设备移至养殖桶。

1.4　行为学观察方法

实验在直径为1.5 m桶内进行, 桶正上空0.5 m处悬挂摄像头, 用来记录噪音胁迫前后杂交鲟行为学上的变化。

游泳速率: 在桶沿上找任意1点, 以此点到圆心设置基准线, 记录实验鱼在游动状态下游过其身体全长所用时间(s), 单位: m/s。

摄食速率: 记录开始投喂到养殖池中饵料全部被消耗的时间, 按每次投喂3.5 g计算, 摄食速率等于摄食总量除以摄食时长, 单位: g/s。

群体空间分布检测: 根据摄像头记录影像, 随机截取噪音开始前和噪音开始3 min后鱼群在实验桶内的分布, 并进行图像的描绘(俯视图)。

1.5　样本采集和肠道微生物检测

驯化期结束后, 分别在噪音开启后0、24h、48h、7d和14d以及停止噪音后48h这6个时间节点在养殖池中每次随机抽取3条杂交鲟取肠道样本。随机在实验养殖池中采集3份水样, 每份5 mL, 与肠道微生物一起检测。

杂交鲟肠道样本的收集过程在无菌条件下进行, 将鱼体表面全部用酒精棉球擦拭消毒, 取出完整肠道后挤出肠道内容物2 mL, 实验样品放置在冻存管内, 样品取完后立即使用液氮速冻后送至检测公司(上海欧易生物技术有限公司)进行杂交鲟肠道高通量的委托测试。

首先使用FastDNA® SPIN Kit for Soil试剂盒(MP Biomedicals, 美国)提取肠道内容物微生物的总 DNA; 用引物341F(5′-CCTACGGGNGGCWGCAG-3′) 和 805R (5′-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3′) 扩增16S rRNA 基因的V3—V4 区。提取DNA的过程需要通过琼脂糖凝胶电泳检测基因组DNA 的完整性及通过Nanodrop 2000(10×Genomics, 美国)和Qubit3.0 分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)检测基因组 DNA的浓度和纯度; 最后采用 Illumina NovaSeq 6000 测序仪(Illumina, 美国)上机测序。肠道微生物测序方法参考Wang等[30]的实验。

1.6　统计分析

实验数据采用Excel软件进行结果统计, 由GragpPad Prism软件进行相关图表的绘制, 采用SPSS 19.0 统计软件对数据进行ANOVA 单因素方差分析, $P<0.05$为差异性显著。

2　结果

2.1　行为学观察

观察发现, 噪音刺激前后杂交鲟游泳速率显著

增加。噪音刺激24h后杂交鲟摄食速率显著降低, 48h后下降至最低, 且在恢复正常环境48h后摄食速率无法恢复到起始水平。将养殖池分成四等份(类似田字形状), 噪音刺激开始时杂交鲟聚集于远离噪音源的一侧, 3min后杂交鲟群体逐渐接近噪音源。噪音刺激前后, 杂交鲟游泳速度和摄食速度出现显著性变化, 空间分布发生改变(图 3和图 4)。

2.2 肠道微生物组成

Alpha多样性 OTU即Operational Taxonomic Unit(可操作分类单元), 用来代表群落的物种丰富度。本实验以 97% 的序列相似度进行 OTU 划分并对肠道菌群和水体菌群Alpha指数进行了以下统计分析(图 5)。

S1—S7中7组微生物的OTU数为48944—49022, 用SPSS 19.0 统计软件对各组数据进行单因素方差分析, $P>0.05$, 差异不显著。结果表明(图 6), 在噪音干扰下, 杂交鲟的肠道微生物OTU数并没有发生显著性变化; S5(暴露14d)和S6(暴露后恢复48h)后的chao1指数相较于其他组别有所增加; S3(暴露48h)和S4(暴露7d)的Shannon指数较其他组有所降低, 对应的Simpon指数也具有相同的降低趋势。

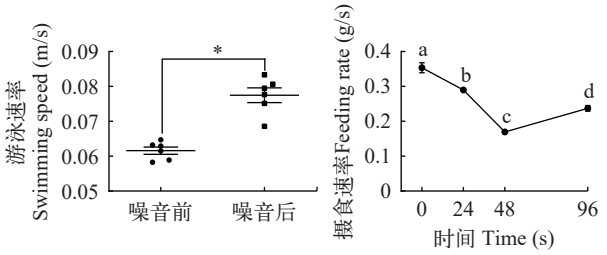

图 3 噪音前后杂交鲟的游泳速率和摄食速率

Fig. 3 Swimming rate and feeding rate of hybrid sturgeon before and after noise

不同小写字母表示差异显著($P<0.05$),*表示差异显著($P<0.05$)

Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$), and * indicates significant difference ($P<0.05$)

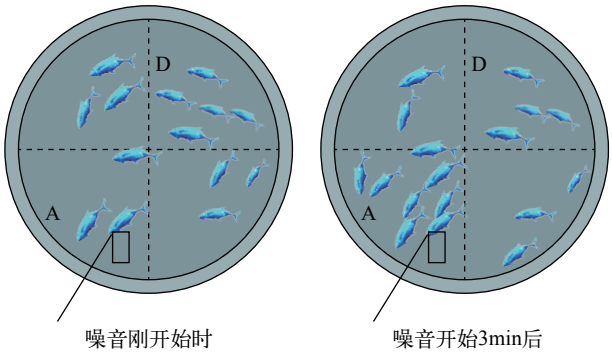

图 4 噪音对杂交鲟在池中的分布的影响

Fig. 4 Effect of noise on distribution of hybrid sturgeon in tank

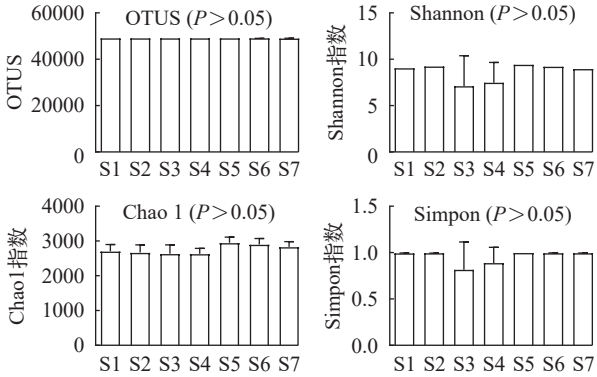

图 5 肠道微生物群和水微生物群的Alpha指数的统计

Fig. 5 Statistics of Alpha index of intestinal microbiota and aquatic microbiota

S1—S6样本分别为噪音胁迫后0、24h、48h、7d和14d及恢复自然环境48h后的肠道样本, S7为水环境样本; 下同

Groups S1—S6 are intestinal samples of 0, 24h, 48h, 7d and 14d after noise stress respectively and 48h after recovery to the natural environment, group S7 is the water samples; the same applies below

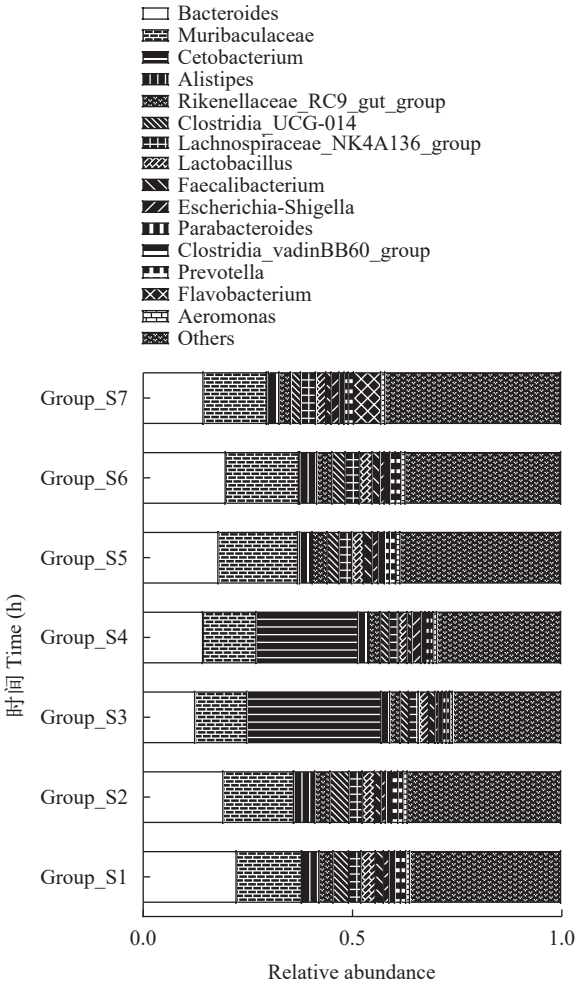

图 6 丰度排名TOP15物种组成

Fig. 6 Abundance ranking TOP 15 species composition

Shannon指数值越低, 表明群落的多样性越低。表明在暴露48h和7d时杂交鲟肠道微生物丰富度较低。

物种组成　结果显示属水平下拟杆菌(*Bacteroides*)、*Muribaculacea*和*Rikenellaceae_RC9_gut_group*在S1—S7各组中均存在, 说明这三种属稳定存在于杂交鲟的肠道和水环境中。*Bacteroides*和*Muribaculacea*在S3组(噪音暴露48h)和S4组(噪音暴露7d)两种菌均有所降低, 而*Clostridia-UCG-014*的占比在S3(噪音暴露48h)和S4(噪音暴露7d)两组中增加。普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae*)在水环境样本中所占比例多于其他所有组别的肠道样本, 且在暴露48h和7d的占比明显较少。黄杆菌属(*Flavobacterium*)只存在于水环境样品中(在丰度排名前15的物种组成中)。48h和7d后的鲸杆菌属(*Cetobacterium*)水平明显高于其他组(其他肠道样本中以及水环境中的鲸杆菌属含量接近于零)。随着暴露时间增加, 杂交鲟肠道内的鲸杆菌属在48h和7d时成为优势菌种(图 7)。

类杆菌纲(Parcubacteria)和革兰氏菌纲(Gracilibacteria)两种纲存在于所有检测样本中, 但水环境样品中的类杆菌纲和革兰氏菌纲含量明显高于杂交鲟鱼的肠道组, 嗜酸细菌纲(Acidbacteria)存在于所有肠道样本中但未在水环境检测到; 暴露前的肠道的优势纲为嗜酸细菌纲(Acidbacteria)和蛭弧菌纲(Bdellovibrionia), 暴露24h后优势纲为嗜酸细菌纲和α-变形菌(Alphaprotebacteria), 暴露48h后优势纲为革兰氏变形杆菌纲(Grammaproteobacteria), 蛭弧菌纲(Bdellovibrionia)和放线菌纲(Actinobacteria), 这样的结果持续到7d, 但在14d后的检测中革兰氏变形杆菌(Grammaproteobacteria)和蛭弧菌纲(Bdellovibrionia)被α-变形菌纲(Alphaprotebacteria)和嗜酸细菌纲(Acidbacteria)代替。为了更直观反映肠道内微生物群落优势菌种随时间的变化, 对纲水平下各组样本中的优势纲进行统计(表 1)。

基于16S的COG功能预测　将预测 COG 结果进行统计分析(表 2), 选取差异结果中 Top10(排除3个重复项, 最终选取7个)。 COG功能预测结果显示, 杂交鲟的肠道微生物在“细胞信号传递过程”“碳水化合物的转运”和“氨基酸的运输和代谢”等功能中起重要作用。在S3(噪音暴露48h)和S4(噪音暴露7d)后, “细胞信号传递过程”“碳水化合物的转运”及“氨基酸的运输和代谢功能”丰度显著低于其

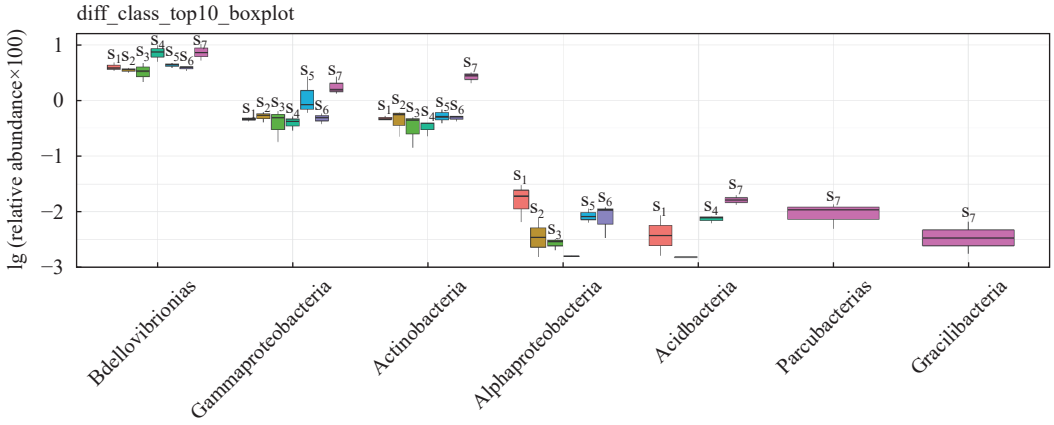

图 7　纲水平下各组肠道微生物中优势菌群

Fig. 7　The dominant population of intestinal microorganisms in each group at class level

表 1　各组样本中的优势纲统计

Tab. 1　Statistics of dominant populations in each group at class level

纲Class	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7
蛭弧菌纲Bdellovibrionia	Yes	NO	Yes	Yes	NO	NO	NO
革兰氏变形杆菌纲Grammaproteobacteria	NO	NO	Yes	Yes	NO	NO	Yes
放线菌纲Actinobacteria	NO	NO	Yes	Yes	Yes	NO	NO
α-变形菌纲Alphaprotebacteria	NO	Yes	NO	NO	Yes	NO	NO
嗜酸细菌纲Acidbacteria	Yes	Yes	NO	NO	Yes	Yes	NO
类杆菌纲Parcubacteria	NO	NO	NO	NO	NO	NO	Yes
革兰氏菌纲Gracilibacteria	NO	NO	NO	NO	NO	NO	Yes

注: S1—S6样本分别为噪音胁迫后0、24h、48h、7d和14d及恢复自然环境48h后的肠道样本, S7为水环境样本

Note: Groups S1—S6 are intestinal samples of 0, 24h, 48h, 7d and 14d after noise stress respectively and 48h after recovery to the natural environment, group S7 is the water sample

他组。前文结果中提到噪音胁迫48h和7d时革兰氏变形杆菌纲(Grammaproteobacteria)、蛭弧菌纲(Bdellovibrionia)和放线菌纲(Actinobacteria)为优势纲, 据此推测这三类优势肠道微生物是作为细胞信号传导, 氨基酸运输和代谢以及碳水化合物的转运等生理过程的重要介质。

3 讨论

3.1 噪音对杂交鲟行为的影响

本实验选取(145±5) dB, 400 Hz的噪音刺激区段作为杂交鲟实验中的暴露条件, 通过对杂交鲟行为的观察, 发现其游泳速率在噪音暴露后显著增加, 林听听等[27]的研究中也出现了相同的现象, 游速加快说明声音信号使杂交鲟产生兴奋, 惊慌或者不安。摄食速率在噪音暴露24h后显著下降, 结合Wale等[31]的研究(船只的噪音改变了岸蟹的觅食行为), 推测噪音刺激影响了杂交鲟的进食速度。Rafael等[32]的研究发现, 噪音暴露后斑马鱼(*Brachydanio rerio var*)选择光亮一侧的时间较噪音暴露前增加, 变得焦虑。因此推断本实验中杂交鲟空间分布在噪音暴露后发生变化是噪音刺激前后杂交鲟产生焦虑造成的。

3.2 噪音对肠道微生物Alpha多样性的影响

本实验对杂交鲟肠道内和水环境中微生物进行了Alpha多样性分析, 结果表明, 在噪音干扰下, 杂交鲟的肠道微生物丰富度并没有发生显著性变化。Simpson指数和Shannon指数在噪音暴露48h和7d均有下降趋势, 这与汪倩等[25]对暗纹东方鲀肠道微生物群落结构的分析中Simpson指数和Shannon指数在温度改变后表现出的趋势一致。

3.3 噪音对肠道微生物物种组成的影响

从总体上看, 噪音前后杂交鲟肠道微生物群落中主要细菌组成虽然相似, 但不同组别细菌组成的占比差异较大。李晨阳[33]的研究表明, *Muribaculaceae*的相对丰度与脾脏铁、粪便铁和肝脏铁水平负相关, 本研究结果显示噪音干扰后两种拟杆菌属(*Bacteroides*和*Muribaculaceae*)在48h和7d组两种菌均有所降低, 因此推断, 噪音暴露48h—7d的脾脏、粪便和肝脏增加了铁元素的代谢。在属水平的结果中发现鲸杆菌属(*Cetobacteriumj*)是杂交鲟肠道内的暴露48h后和7d后的优势菌种, 此种菌群被张书环等[34]在饲喂枯草芽孢杆菌的杂交鲟中也检测到。鲸杆菌属(*Cetobacteriumj*)可产生抗菌物质[35], 抑制有害微生物的繁殖, 降解肠道中的营养成分。这与本研究中杂交鲟的摄食速率的变化一致。因此, 推测鲸杆菌属(*Cetobacteriumj*)可依靠自身产生的细菌蛋白酶改善肠道内环境。另外, 普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae*)增多时鲸杆菌属(*Cetobacteriumj*)减少, 推测鲸杆菌属(*Cetobacteriumj*)和普雷沃氏菌属(*Prevotellaceae*)可能是杂交鲟肠道中相互制约的两种菌群。邢薇等[36]首次比较分析了西伯利亚鲟(*Acipenser baerii*)和欧洲鳇(*Huso huso*)肠道菌群的差异菌种, 张书环等[35]分析了饲喂枯草芽孢杆菌对杂交鲟生长和肠道菌群结构的影响, 李艳[37]分析了饲料中添加肌醇对杂交鲟幼鱼生长、营养物质利用率及肠道微生物的影响, 以上研究显示鲟鱼肠道微生物中优势种为拟杆菌属(*Bacteroide*和*Muribaculacea*), 与本实验中杂交鲟的优势菌群一致。另外, 噪音胁迫下肠道微生物样本中的优势纲反复改变, 说明杂交鲟在噪音环境暴露期间肠道微生物组成不断变化, 肠道菌群出现紊乱, 这与杨杰等[38]的高通量测序结果显示一致。

3.4 噪音胁迫下杂交鲟肠道微生物与其养殖水环境的相互关系

Miao等[39]的研究中提到水环境中细菌多样性高于2龄鲎。丁红秀等[40]发现草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)肠道微生物群落与养殖水体和沉积物相似。Wang等[41]发现中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)鳃和内脏中的微生物和水中的不同, 说明外部环境在决定内部微生物组的组成方面起着重要作用, 但肠道微生物种类并不是完全来源于所处的水环境中的微生物群。本实验不仅检测了杂交鲟肠

表 2 COG功能预测下各组OTU含量

Tab. 2 Prediction of OTU content in each group under COG function

功能Function	S1	S2	S3	S4	S5	S6	*P*-value
细胞过程信号传递Cellular processes signaling	7510	7920	4737	5420	6976	7302	0.0069
碳水化合物转运代谢Carbohydratetransport metabolism	11044	10241	6356	7422	9779	10182	0.0074
糖基水解酶Glycosyl hydrolase	10778	11567	6596	7799	10021	10462	0.0074
核苷酸运输代谢Nucleotide transport metabolism	2871	2969	1531	1816	2391	2781	0.0079
丙酮酸激酶缺乏症PyruvateKinase deficiency	4815	4881	2824	3363	4272	4617	0.0085
氨基酸运输和代谢Amino acid transport and metabolism	11677	12650	8061	8852	13325	12241	0.0090
细胞内运输和分泌Intracellular trafficking and secretion	198	224	187	372	282	255	0.0091

道的微生物, 同时也检测了水环境中的微生物, 旨在分析噪音胁迫下杂交鲟肠道中微生物和水环境中微生物的关系。在本实验中, 纲水平下嗜酸细菌纲(Acidbacteria)在噪音暴露48h、7d和14d的肠道样本中都显示出优势, 而类杆菌纲(Parcubacteria)和革兰氏菌纲(Gracilibacteria)则在水环境样本中呈现出优势。这说明肠道内微生物和水环境中优势菌并不完全一致。属水平下黄杆菌属(*Flavobacterium*)只存在于水环境样品中, 肠道中未检测到。黄杆菌属(*Flavobacterium*)可引起肺炎, 也可导致脑膜炎、败血症等疾病[42], 本实验表明该类细菌并没有进入杂交鲟肠道内, 推测杂交鲟可能对此类细菌有较强的免疫功能, 但其对鱼体的潜在风险仍不可忽视。

综上所述, 本实验基于各类水下噪音对杂交鲟的行为和肠道微生物进行了研究, 结果表明, 水下噪音对杂交鲟的行为(游泳速率、摄食速率及空间分布)有显著性影响, 对其肠道微生物丰富度无显著影响, 但其肠道微生物组成和优势菌纲在暴露前后存在一定差异。这些结果揭示了水下噪音对杂交鲟的危害, 为杂交鲟及其他所处相似噪音胁迫条件下的鲟鱼保护提供了数据支持。

参考文献:

[1] Filiciotto F, Vazzana M, Celi M, *et al*. Behavioural and biochemical stress responses of *Palinurus elephas* after exposure to boat noise pollution in tank [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, **84**(1-2): 104-114.

[2] Lucke K, Siebert U, Lepper P A, *et al*. Temporary shift in masked hearing thresholds in a harbor porpoise (*Phocoena phocoena*) after exposure to seismic airgun stimuli [J]. *Journal of the Acoustical Society of America*, 2009, **125**(6): 4060-4070.

[3] Leunissen E M, Dawson S M. Underwater noise levels of pile-driving in a New Zealand harbour, and the potential impacts on endangered *Hector's dolphins* [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2018, **135**(10): 195-204.

[4] Spiga I, Aldred N, Caldwell G S. Anthropogenic noise compromises the anti-predator behaviour of the European seabass, *Dicentrarchus labrax* (L.) [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, **122**(1-2): 297-305.

[5] Cai Y S, Zhang G, Han X L, *et al*. De-noising and prejudgment of accurate dynamic weighing signal in automatic feeding based on HHT [J]. *Journal of Hebei Agricultural University*, 2019, **42**(1): 106-113. [蔡永胜, 张刚, 韩祥兰, 等. 基于HHT的精确投饵动态称重信号的降噪和预判研究 [J]. 河北农业大学学报, 2019, **42**(1): 106-113.]

[6] Ross D. Ship sources of ambient noise [J]. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*, 2005, **30**(2): 257-261.

[7] National (US). Ocean Noise and Marine Mammals [M]. Washington, D. C.: National Academies Press, 2003: 2.

[8] Di L J. Characterization of underwater noise sources from ships in the Fuling to Fengdu section of the Upper Yangtze River [D]. Chongqing: Chongqing Jiaotong University, 2021: 57-58. [邸凌杰. 长江上游涪陵至丰都河段船舶水下噪声声源特性研究 [D]. 重庆: 重庆交通大学, 2021: 57-58]

[9] Zhang H W, Hu Y H, Zhang C L. Discussion on the influence of underwater noise on marine animals and its control [J]. *Marine Technology*, 2013(3): 44-46. [张华武, 胡以怀, 张春林. 船舶水下噪声对海洋动物的影响及控制探讨 [J]. 航海技术, 2013(3): 44-46.]

[10] Popov V V, Supin A Y, Wang D, *et al*. Noise-induced temporary threshold shift and recovery in Yangtze finless porpoises *Neophocaena phocaenoides asiaeorientalis* [J]. *Journal of the Acoustical Society of America*, 2011, **130**(1): 574-584.

[11] Pei S B, Liu R Z, Guo R. Analysis of acoustic characteristics of continuous underwater explosion [J]. *Journal of Nanjing University of Science and Technology* (Natural Science Edition), 2015, **39**(2): 144-148. [裴善报, 刘荣忠, 郭锐. 水下连续爆炸声学特性分析 [J]. 南京理工大学学报(自然科学版), 2015, **39**(2): 144-148.]

[12] Au W W, Floyd R W, Penner R H, *et al*. Measurement of echolocation signals of the Atlantic bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus* Montagu, in open waters [J]. *The Journal of the Acoustical Society of America*, 1974, **56**(4): 1280-1290.

[13] Xiang J, Zou Q L, Du H, *et al*. Auditory thresholds of juvenile Yangtze sturgeon [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*. 2022(3): 1-10. [项杰, 邹巧林, 杜浩, 等. 长江鲟幼鱼的听觉阈值研究 [J]. 水生生物学报, 2022(3): 1-10.]

[14] Wei Q W. Conservation Biology of Chinese Sturgenon [M]. Beijing: Science Press, 2019: 1-2. [危起伟. 中华鲟保护生物学 [M]. 北京: 科学出版社, 2019: 1-2.]

[15] Liu T, Fan E Y, Xing Y C, *et al*. Sturgeon trade and resource protection under the management of the convention on international trade in endangered species of wild fauna and flora [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2012, **40**(10): 382-387. [刘涛, 樊恩源, 邢迎春, 等. 《濒危野生动植物种国际贸易公约》管理下的鲟鱼贸易及其资源保护 [J]. 江苏农业科学, 2012, **40**(10): 382-387.]

[16] Wei Q W. Conservation of Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) based on its life history: dilemma and breakthrough [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2020, **32**(5): 1297-1319. [危起伟. 从中华鲟(*Acipenser sinensis*)生活史剖析其物种保护: 困境与突围 [J]. 湖泊科学, 2020, **32**(5): 1297-1319.]

[17] Zhang M Y, Zeng S, Yang X, *et al*. Comparative study on nutrient components in muscle of hybrid sturgeon at different growth stages [J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2019, **31**(9): 4378-4386. [张美彦, 曾圣, 杨星, 等.

不同生长阶段杂交鲟肌肉营养成分的比较研究 [J]. 动物营养学报, 2019, **31**(9): 4378-4386.]

[18] Chen X H. Current Situation of Biology and Resources of Sturgeon Fishes [M]. Beijing: Ocean Press, 2007: 42-48. [陈细华. 鲟形目鱼类生物学与资源现状 [M]. 北京: 海洋出版社, 2007: 42-48.]

[19] Cecile B, David L. Influence of boat noises on escape behaviour of white-spotted eagle ray *Aetobatus ocellatus* at Moorea Island (French Polynesia) [J]. *Comptes Rendus Biologies*, 2016, **339**(2): 99-103.

[20] Purser J, Radford A N. Acoustic noise induces attention shifts and reduces foraging performance in three-spined sticklebacks (*Gasterosteus aculeatus*) [J]. *PLoS One*, 2011, **6**(2): e17478.

[21] Voellmy I K, Purser J, Flynn D, *et al*. Acoustic noise reduces foraging success in two sympatric fish species via different mechanisms [J]. *Animal Behaviour*, 2014, **89**(3): 191-198.

[22] Neo Y Y, Ufkes E, Kastelein R A, *et al*. Impulsive sounds change *European seabass* swimming patterns: Influence of pulse repetition interval [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2015, **97**(1-2): 111-117.

[23] Heenehan H L, Parijs S M, Bejder L, *et al*. Natural and anthropogenic events influence the soundscapes of four bays on Hawaii Island [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2017, **124**(1): 9-20.

[24] Gou N N, Zhong M Z, Wang K F. Intestinal microbial community of wild and cultured *Onychostoma macrolepi* based on 16S rRNA high-throughput sequencing [J]. *Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica*, 2021, **30**(7): 963-970. [苟妮娜, 钟明智, 王开锋. 基于16S rRNA高通量测序的野生和养殖多鳞白甲鱼肠道微生物群落组成研究 [J]. 西北农业学报, 2021, **30**(7): 963-970.]

[25] Wang Q, Zhai W Y, Han S, *et al*. Effects of low temperature stress on gut microbial community structure of different strains of obscure puffer *Takifugu fasciatus* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2022, **37**(1): 80-87. [汪倩, 翟万营, 韩爽, 等. 低温胁迫对不同品系暗纹东方鲀肠道微生物群落结构的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2022, **37**(1): 80-87.]

[26] Hang S Y, Zhao J, Ji B M, *et al*. Impact of underwater noise on the growth, physiology and behavior of *Micropterus salmoides* in industrial recirculating aquaculture systems [J]. *Environmental Pollution*, 2021(291): 11-12.

[27] Lin T T, Liu X, Wang C B, *et al*. Effects of ship noise pressure level on swimming, feeding behaviors and immuno-physiological indicators of *Larimichthys crocea* juveniles [J]. *Marine Fisheries*, 2020, **42**(1): 61-72. [林听听, 刘鑫, 王昌勃, 等. 船舶噪声声压级对大黄鱼幼鱼游泳、摄食行为及免疫生理指标的影响 [J]. 海洋渔业, 2020, **42**(1): 61-72.]

[28] Lovell J M, Findlay M M, Nedwell J R, *et al*. The inner ear morphology and hearing abilities of the Paddlefish (*Polyodon spathula*) and the Lake sturgeon (*Acipenser fulvescens*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*: *Molecular & Integrative Physiology*, 2005, **142**(3): 286-296.

[29] Shi W J, Wang Z T, Fang L, *et al*. A preliminary study on impact of piling underwater noise on the Yangtze finless porpoise (*Neophocaena asiaeorientalis asiaeorientalis*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2015, **39**(2): 399-407. [时文静, 王志陶, 方亮, 等. 打桩水下噪声对长江江豚影响初探 [J]. 水生生物学报, 2015, **39**(2): 399-407.]

[30] Wang X, Hu M, Gu H, *et al*. Short-term exposure to norfloxacin induces oxidative stress, neurotoxicity and microbiota alteration in juvenile large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* [J]. *Environmental Pollution*, 2020(267): 115397.

[31] Wale M A, Simpson S D, Radford A N. Noise negatively affects foraging and antipredator behaviour in shore crabs [J]. *Animal Behaviour*, 2013, **86**(1): 111-118.

[32] Lara R A, Vasconcelos R O. Impact of noise on development, physiological stress and behavioural patterns in larval zebrafish [J]. *Scientific Reports*, 2021, **11**(1): 6615.

[33] Li C Y. Effects of dietary iron concentration on growth performance, hindgut flora structure and metabolites of growing-finishing pigs [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2021, 37-44. [李晨阳. 日粮铁浓度对生长育肥猪生长性能、后肠菌群结构及其代谢产物的影响研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2021, 37-44.]

[34] Zhang S H, Wu J P, Chu Z P, *et al*. Effects of feeding *Bacillus subtilis* on growth and intestinal microflora of hybrid sturgeon [J]. *Marine Fisheries*, 2021, **43**(1): 71-80. [张书环, 吴金平, 褚志鹏, 等. 饲喂枯草芽孢杆菌对杂交鲟生长和肠道菌群结构的影响 [J]. 海洋渔业, 2021, **43**(1): 71-80.]

[35] Fan W H, Li C Z, Chen Y, *et al*. Research progress on pathogenic mechanism and influencing factors of intestinal microbial community in patients with liver cirrhosis [J]. *Chinese Hepatology*, 2021, **26**(10): 1187-1190. [范文瀚, 李成忠, 陈怡, 等. 肝硬化患者肠道微生物群落致病机制及影响因素的研究进展 [J]. 肝脏, 2021, **26**(10): 1187-1190.]

[36] Xing W, Luo L. Comparative analysis of intestinal flora between Siberian sturgeon and bighead carp, and study on the effect of cottonseed protein replacing part of fish meal on intestinal flora of bighead carp [J]. *China Fisheries*, 2021(10): 83-88. [邢薇, 罗琳. 西伯利亚鲟和欧洲鲤肠道菌群的比较分析以及棉籽蛋白替代部分鱼粉对欧洲鲤肠道菌群的影响研究 [J]. 中国水产, 2021(10): 83-88.]

[37] Li Y. Effects of inositol addition to feed on growth, nutrient utilization and intestinal microorganisms of juvenile hybrid sturgeon [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020: 22-23. [李艳. 饲料中添加肌醇对杂交鲟幼鱼生长、营养物质利用率及肠道微生物的影响 [D].

上海: 上海海洋大学, 2020: 22-23.]

[38] Yang J, Fu H, Zhang J, *et al*. *Apocynum venetum* L. extract ameliorates metabolic dysbiosis and intestinal flora disorder induced by high-fat diet in mice [J]. *Journal of Army Medical University*, 2022, **44**(3): 266-274. [杨杰, 付慧, 张晋, 等. 罗布麻提取物改善小鼠高脂饮食诱导的代谢失调与肠道菌群紊乱 [J]. 陆军军医大学学报, 2022, **44**(3): 266-274.]

[39] Miao F Z, Zhao Z H, Li Q Z, *et al*. Impact of initial feeding and molting on *Tachypleus tridentatus* gut microbiota [J]. *Current Microbiology*, 2020, **77**(10): 2847-2858.

[40] Ding H X, Li Z Y, Liu J, *et al*. Comparison of intestinal microbiome composition and community characteristics of grass carp from different habitats [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, **61**(3): 729-739. [丁红秀, 李忠莹, 刘俊, 等. 不同生境草鱼肠道微生物组成和群落特征分析 [J]. 微生物学报, 2021, **61**(3): 729-739.]

[41] Wang C, Zhou Y, Lv D, *et al*. Change in the intestinal bacterial community structure associated with environmental microorganisms during the growth of *Eriocheir sinensis* [J]. *MicrobiologyOpen*, 2019, **8**(5): 3-4.

[42] Li L L, Xie R Q, Wang L, *et al*. Correlation analysis between gut microbiota and biochemical indicators of cirrhosis [J]. *Journal of Biology*, 2021, **38**(6): 82-86. [李莉莉, 谢瑞祺, 王莉, 等. 肝硬化患者肠道微生物与生化指标的关联性 [J]. 生物学杂志, 2021, **38**(6): 82-86.]

UNDERWATER NOISE ON THE BEHAVIOR AND GUT MICROBIAL COMPOSITION OF HYBRID STURGEON

GAO Yue[1, 2, 3], LIU Chun-Hua[1, 2], JIANG Ze-Jian[2], ZHENG Yue-Ping[3, 4], XU Jia-Nan[3, 4], FAN Hou-Yong[3, 4], WANG You-Ji[1, 2] and HU Meng-Hong[1, 2]

(1. *Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources*, *Ministry of Education*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 2. *Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture*, *Shanghai Ocean University*, *Shanghai* 201306, *China*; 3. *Joint Laboratory for Monitoring and Conservation of Aquatic Living Resources in the Yangtze Estuary*, *Shanghai* 200092, *China*; 4. *Shanghai Aquatic Wildlife Conservation Research Center*, *Shanghai* 200003, *China*)

Abstract: In order to investigate the effects of underwater noise on behavior (swimming rate, feeding rate, spatial distribution) and gut microorganisms of sturgeon, hybridized sturgeon were exposed to noise [(145±5) dB, 400 Hz] for 0, 48h, 7d, 7d, and 14d, followed by 48h of recovery in an environment without stressful noise. The results showed that the swimming and feeding rates of hybrid sturgeon were significantly reduced and the spatial distribution was changed after noise stimulation. At the beginning of the noise stimulation, the hybrid sturgeon gathered on the side away from the noise source, but gradually approached the noise source after 3min. The microbial composition was significantly different from the other groups at 7d of noise stress. There was no significant effect of noise on the abundance of gut microorganisms in hybrid sturgeon. Differences in the dominant populations of gut microorganisms existed in each group at different time periods and the dominant populations changed over time. The results of the above microbiological analysis showed that “cell signaling processes” “carbohydrate transport” and “amino acid transport and metabolic functions” were significantly lower than those of the other groups at 48h and 7d of noise stress as predicted by COG. The results showed that noise had significant effects on the feeding rate, swimming rate, and spatial distribution of hybrid sturgeon, changing the composition and proportion of its gut microorganisms and affecting various vital life pathways, such as amino acid metabolism. This experiment simulated the mixed noise of various underwater noise sources and explored their effects on the behavior and gut microorganisms of hybrid sturgeon for the first time, which can provide basic information for the in-depth exploration of healthy ecological breeding and physiological response mechanisms to adversity of hybrid sturgeon.

Key words: Underwater noise; Feeding; Spatial distribution; Intestinal flora; Hybrid sturgeon