



主持人:任明迅

清澜港养殖海域大型污损动物初始附着区 真核微生物群落特征研究

陈英洁¹, 陈新², 李建聪¹, 刘宗岳¹, 唐敏¹

(1. 海南大学 生态与环境学院, 海口 570228; 2. 海南大学 物理与光电工程学院, 海口 570228)

摘要: 在海南清澜港近岸养殖海域, 采用聚乙烯 (Polyethylene, PE)、聚酰胺 (Polyamide, PA) 和聚甲基丙烯酸甲酯 (Polymethyl Methacrylate) 3种材料, 通过实海挂板方式和高通量测序技术, 比较分析了华美盘管虫 (*Hydroides elegans*)、纹藤壶 (*Balanus amphitrite*) 和萨氏膜孔苔虫 (*Membranipora savartii*) 3种大型污损动物初始附着区 (IAA) 微生物膜中真核微生物群落特征。结果表明, 在3种材料上, 相同物种的大型污损动物初始附着区的微生物群落结构呈现较高相似度。不同污损动物 IAA 真核微生物群落的优势属不同, 华美盘管虫、纹藤壶和萨氏膜孔苔虫的相关群落优势属分别为石莼属 (43.02% ~ 93.31%)、微绿藻属 (10.74% ~ 60.86%) 和小单宫属 (12.08% ~ 34.78%)。萨氏膜孔苔虫 IAA 真核微生物群落的 Alpha 多样性最高; 共现网络分析表明真核微生物群落中的种间关系以互利共生为主。功能预测分析显示 IAA 真核微生物群落中与生物合成、降解/利用/同化、前体代谢产物和能量产生相关功能的类群丰度较高。该研究有助于深入了解大型污损动物附着与基底微生物的相关性, 为海水养殖业的防污工作提供参考资料。

关键词: 大型污损动物; 初始附着区; 真核微生物群落; 清澜港

中图分类号: X172 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-7054 (2024) 06-0791-09

陈英洁, 陈新, 李建聪, 等. 清澜港养殖海域大型污损动物初始附着区真核微生物群落特征研究 [J]. 热带生物学报, 2024, 15(6): 792-800. doi: 10.15886/j.cnki.rdxswxb.20240027

海洋生物污损危害主要由污损生物在人工材料表面附着生长造成, 其中以大型污损动物为主。生物污损几乎存在于各种海事活动中, 如航运、养殖、海洋监测等。在热带和亚热带海域, 污损动物附着量大、生长迅速、附着时间长、清理难度大, 带来巨大的经济损失和潜在的生态风险。目前, 我国热带海水养殖业进入快车道, 在养殖种类和规模上都呈现出迅速的发展势头, 生物污损已成为南海海水养殖业发展的重要限制因素。为了有针对性地促进防污技术研发, 需要在深入理解污损动物生物学特征基础上, 探寻适宜的防污切入点。

在很多大型污损动物生活史中, 由浮游幼虫附着变态为固着生长的成体是一个关键阶段, 也常是防污技术研发的关注焦点。在自然海域中,

大型污损动物幼虫附着时直接接触的是基底材料表面的微生物膜^[1], 研究表明微生物膜中有些细菌能促进大型污损动物幼虫的附着^[2-3], 细菌的胞外物质会影响污损动物幼虫的附着和变态^[4-5]; 微生物膜中原核及真核微生物群落与大型污损动物幼虫的附着直接相关^[6-8]。

Lee等^[9]研究了香港牛尾海潮间带和潮下带形成的天然微生物膜对纹藤壶 (*Balanus amphitrite*) 幼虫附着的影响, 发现微生物膜中的原核微生物群落结构对纹藤壶幼虫附着起主要作用, 并推测变形菌或蓝细菌中的菌株与纹藤壶幼虫的附着有关。Liang等^[10]发现在舟山枸杞岛挂板期间聚氨酯 (Polyurethane, PU) 涂层、环氧树脂 (Epoxy Polymer, EP) 涂层与玻璃3种材料表面形成的微生物膜菌群

收稿日期: 2024-02-09

修回日期: 2024-03-14

基金项目: 国家自然科学基金项目 (32160270, 31660128); 海南省自然科学基金高层次人才项目 (2019RC039)

第一作者: 陈英洁 (1999-), 女, 海南大学生态与环境学院 2021 级硕士研究生。E-mail: 1875926831@qq.com

通信作者: 唐敏 (1972-), 女, 教授。研究方向: 微生物生态, 生态毒理。E-mail: tangmin@hainanu.edu.cn

结构有明显差异,涂层表面厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)的沉降率显著低于玻璃表面。刘倩倩等^[11]测试了在山东威海小石岛挂板28 d的丙烯酸酯涂层和铁红涂层表面形成的微生物膜,发现两类涂层中的 *Neptuniibacter* sp. CAR-SF 和 *Cellvibrionales unclassified* 细菌含量差异明显,并推测出 *Neptuniibacter* 的存在对玻璃海鞘(*Ciona intestinalis*)的附着具有诱导作用。Sun^[12]等观察到在山东威海小石岛挂板24 d添加不同碳纳米管(Carbon Nanotubes, CNTs)的聚二甲基硅氧烷(Polydimethylsiloxane, PDMS)复合材料表面的真核微生物组成有所不同。对微生物膜群落组成结构与污损动物附着关系的研究之前大都是在实验室进行,采用的是单一或几种细菌培养形成的微生物膜,目前在自然海域微生物膜中真核微生物群落与污损动物的相关性研究尚未见报道。

本研究以目前海水网箱养殖常用的聚乙烯、聚酰胺和聚甲基丙烯酸甲酯材料^[13-14]为实验挂板材料,主要通过18S rRNA高通量测序技术,分析养殖海域不同大型污损动物初始附着区(Initial Attachment Area, IAA,以大型污损动物初始附着点为圆心半径1 cm的圆内)微生物膜中真核微生物群落特征差异,以阐明微生物膜与大型污损动物附着的关系,为研发新型环保的防污材料提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验位点 实验挂板位点处于海南亚热带海水养殖区(19°32'6"N, 110°50'35"E),是清澜港潮汐通道入海口,潮汐属不正规日潮。取样期间海水平均温度在28 °C, pH7.7, 盐度为32 ± 2‰。附近有渔民居住区、海水养殖区、航运通道。

1.2 材料 采用聚乙烯(PE)、聚酰胺(PA)、聚甲基丙烯酸甲酯(PMMA)3种在海水养殖中常用材料制成挂板。挂板表面清洗干净后,在挂板浸入海水前用75%乙醇进行表面消毒。浸海挂板固定在养殖浮筏上,挂板浸海深度为0.5 m。

1.3 样品采集 挂板30 d后,根据3种材料上污损动物的附着情况,结合《中国海洋生物图集》^[15]及相关污损生物生态调查资料^[16]进行污损种类鉴定。用无菌刀片分别刮取华美盘管虫(*Hydroides elegans*)、纹藤壶(*Balanus amphitrite*)和萨氏膜孔苔虫(*Membranipora savartii*)初始附着区微生物膜样品,迅速装入已灭菌的离心管,运回实验室后

-80 °C保存,用于后续测序。同时,剪取各挂板材料表面包含不同大型动物初始附着区微生物膜的基底材料,装入含天然海水的瓶中,运回实验室后用于后续的扫描电镜分析。

1.4 海水理化因子的测定 参照海洋调查(GB/T 12763.4-2007)和海洋监测规范(GB 17378.4-2007)第四部分,现场利用圆盘法测定挂板位点的海水透明度,溶氧仪(三信, SX725)测量溶解氧和温度。采集海水水样运回实验室,用多参数水质分析仪(吉大小天鹅, GDYS-201M)测定氨氮、亚硝酸盐氮、硝酸盐氮和总磷含量, pH计(希玛, 818)测量pH, 盐度计(速为, LS10T)测量盐度。利用乙醇法测量叶绿素a含量^[17]。

1.5 SEM分析 样品经2.5%戊二醛固定后用PBS(1 mol·L⁻¹磷酸缓冲液, pH7.0)洗涤3次,乙醇系列脱水^[18],待干燥后喷金,最后使用扫描电子显微镜(Hitachi, S-3000N型)观察样品表面形貌特征。

1.6 微生物群落总DNA提取、扩增和高通量测序 使用OMEGA Soil DNA Kit试剂盒(OMEGA公司,美国)提取样品总DNA,利用1.2%琼脂糖凝胶电泳检测抽提基因组DNA,采用正向引物(5'-CCAGCASCYGC GGTAATTCC-3')和反向引物(5'-ACTTTCGTTCTTGATYRA-3')扩增真核微生物18S rRNA V4区。PCR反应条件:98 °C预变性5 min, 98 °C变性30 s, 46 °C退火30 s, 72 °C延伸45 s, 33个循环;最后在72 °C延伸5 min。PCR产物使用Vazyme VAHTSTM DNA Clean Beads凝胶回收试剂盒进行纯化,得到的扩增子使用Illumina NovaSeq平台进行2×250 bp的双端测序(上海派森诺生物科技股份有限公司)。

1.7 数据分析 对于高通量测序的原始数据,按照QIIME2 da2da2分析流程对序列进行质量过滤、去噪、合并和去除嵌合体获得ASVs(Amplicon Sequence Variant, 扩增子序列变体)。参考nt数据库(<ftp://ftp.ncbi.nih.gov/blast/db/>),采用QIIME2的classify-sklearn算法对每个ASVs的特征序列进行物种分类学注释和抽平处理,便于后续分析。利用QIIME2和R语言(ggplot2包)计算Alpha多样性。使用QIIME2对抽平后的ASVs数据进行统计,实现各样本在属分类水平上组成分布的可视化,并以柱状图呈现分析效果。利用QIIME2和R语言

(ape包)计算Bray_Curtis距离矩阵,进行主坐标分析(PCoA)。为进一步比较样本间属水平物种组成差异,使用R语言(pheatmap包)绘制聚类热图。使用Gephi(version 0.10.1)软件选取相对丰度前40的属,参数设置 $r > 0.6$ 且 $P < 0.05$ 绘制共现网络图,识别微生物群落物种间的相互关系。使用PICRUS2软件对微生物群落的代谢通路进行比较分析,对比微生物群落功能差异。利用Canoco5软件绘制典范对应分析(canonical correspondence analysis, CCA)图,以反映微生物群落与环境因子间的相关性。

2 结果与分析

2.1 不同大型污损动物初始附着区微生物膜的表面微观形貌

在3种材料表面,发现不同大型污损动物初始附着区的微生物膜中有大量硅藻和细菌附着,并在其周围出现大量颗粒物。在萨氏膜孔苔虫IAA硅藻较丰富,且形成的絮状物较厚,结果如图1所示。

2.2 3种大型污损动物初始附着区真核微生物群落组成结构差异

2.2.1 Alpha多样性分析

根据18S rRNA测序结

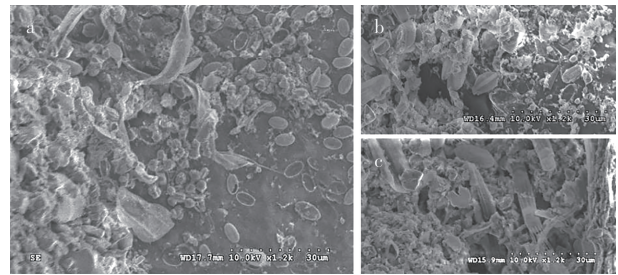


图1 不同大型污损动物初始附着区微生物膜的SEM图像
a. PA表面华美盘管虫初始附着区; b. PE表面纹藤壶初始附着区; c. PMMA表面萨氏膜孔苔虫初始附着区。

Fig. 1 SEM images of biofilms on the IAA of different macrofoulers

a. PA surface IAA of *H. elegans*; b. PE surface IAA of *B. amphitrite*; c. PMMA surface IAA of *M. savatii*.

果,共得到1 257 383条原始数据,处理后得到1 038 595条高质量序列,2 195个ASV。在萨氏膜孔苔虫、华美盘管虫和纹藤壶的IAA,真核微生物群落组成结构呈现明显差异。与华美盘管虫和纹藤壶相比,萨氏膜孔苔虫初始附着区真核微生物群落在3种材料上的物种总体丰富度、多样性和均匀度均较高,而纹藤壶在PM上丰富度最低,华美盘管虫在PA上多样性、均匀度最低。此外,与PE和PA两种材料相比,在PM表面的华美盘管虫和纹藤壶IAA群落的多样性均较低(表1)。

表1 3种大型污损动物的初始附着区的真核微生物群落多样性指数

Tab. 1 Eukaryotic community diversity index on the IAA of three macrofoulers

样品 Sample	丰富度估计量 Chao1	香农-威纳指数 Shannon	辛普森多样性指数 Simpson	均匀度 Pielou_e	物种数量 Observed_species
DPEM	489	6.838	0.956	0.779	440
DPAM	381	6.457	0.959	0.763	353
DPM	250	6.472	0.973	0.813	250
DPEH	349	4.148	0.764	0.505	296
DPAH	423	4.851	0.850	0.577	341
DPMH	214	1.281	0.233	0.176	155
DPEB	294	4.765	0.855	0.594	261
DPAB	328	6.041	0.958	0.740	287
DPMB	160	3.214	0.645	0.446	148

注:PE. 聚乙烯;PA. 聚酰胺;PM. 聚甲基丙烯酸甲酯。M. 萨氏膜孔苔虫;H. 华美盘管虫;B. 纹藤壶。

Note: PE. polyethylene, PA. polyamide, PM. polymethyl methacrylate. M. *M. sabotii*, H. *H. elegans*, B. *B. amphitrite*.

2.2.2 不同大型污损动物IAA真核微生物群落组成结构

在属水平,不同初始附着区的真核微生物群落的物种组成比例差异明显(图2-a),在华美

盘管虫(H)、纹藤壶(B)和萨氏膜孔苔虫(M)IAA占优势的分别是石莼属 *Ulva* (43.02% ~ 93.31%)、微绿藻属 *Picochlorum* (10.74% ~ 60.86%) 和小单宫属

Monhystrella (12.08% ~ 34.78%), 且均在 PM 上占比最大。此外, *Heliospora* 在 PE 上的纹藤壶 IAA 占比达 36.23%, *Metacyatholaimus* 在 PA 上占比达 13.92%。

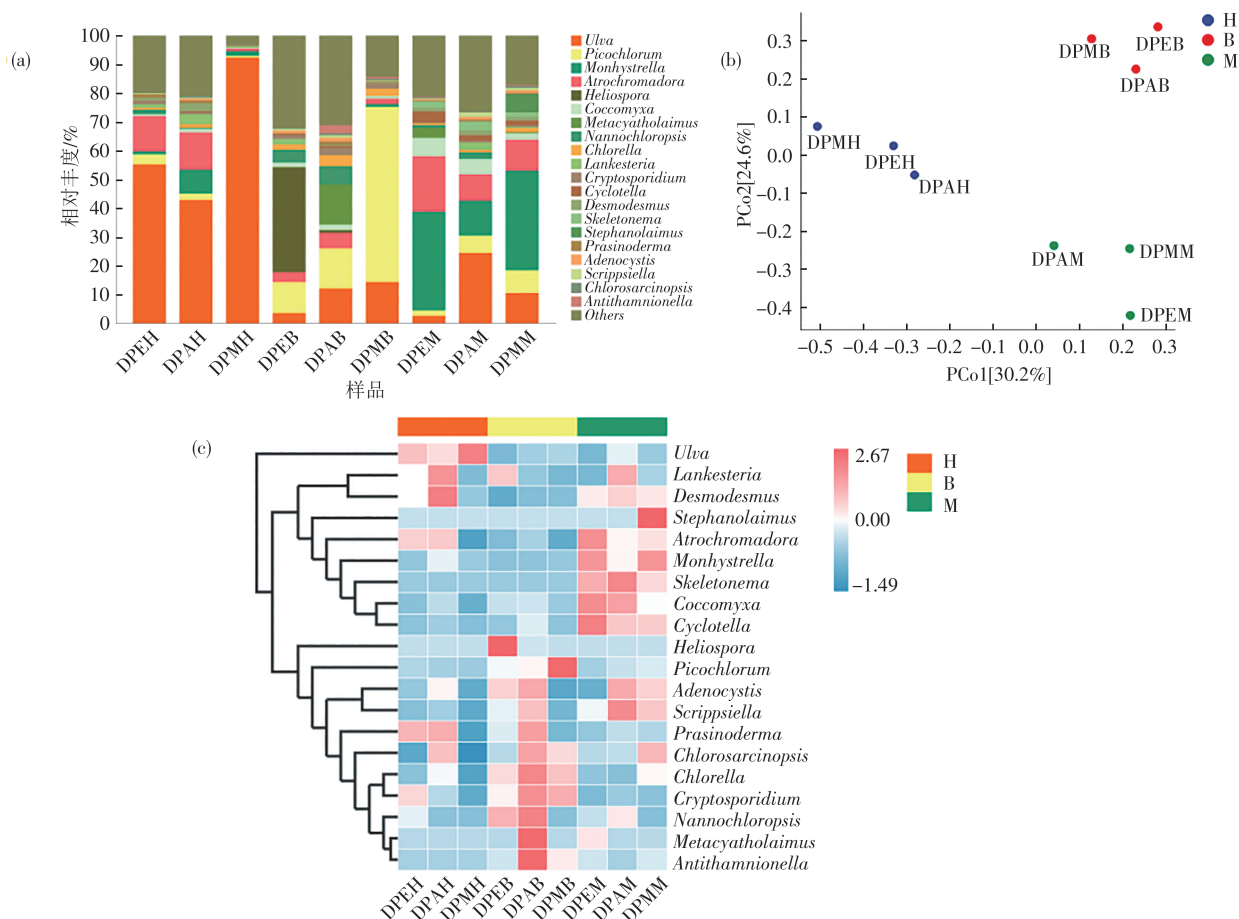


图2 真核微生物群落属水平物种组成(a)、PCoA分析图(b)和属水平物种聚类分析热图(c) (取丰度位于前20的属)。

Fig. 2 Composition of eukaryotic community at the genus level (a), PCoA analysis diagram (b), cluster analysis heat map (c) (top 20 genera by relative abundance).

主坐标分析图(PCoA)(图2-b)显示同种污损动物IAA的真核微生物群落组成相似度高,即IAA真核微生物群落的结构组成呈现出明显的污损动物相关性。聚类分析热图进一步分析发现PA上的纹藤壶IAA真核微生物群落的结构组成与其他8种样品的相差较大。具体表现在华美盘管虫(H)IAA的优势属为石莼属(*Ulva*);萨氏膜孔苔虫(M)IAA的优势属为小单宫属(*Monhystrella*)、骨条藻属(*Skeletonema*)、胶球藻属(*Coccomyxa*)、小环藻属(*Cyclotella*),*Stephanolaimus*在DPMM中占优势;而在纹藤壶(B)IAA中,不同基底材料表面的优势属明显不同,PE为*Heliospora*,PM为*Picochlorum*,PA为小球藻属(*Chlorella*)、*Cryptosporidium*、微拟球藻

属(*Nannochloropsis*)、*Metacyatholaimus*、拟对丝藻属(*Antithamnionella*)(图2-c)。

2.3 大型污损动物IAA真核微生物群落的共现网络

华美盘管虫、纹藤壶、萨氏膜孔苔虫IAA真核微生物群落正相关连线数分别占89.71%、61.84%、53.89%。萨氏膜孔苔虫IAA网络图的节点数、边数和平均度最大(表2)。在共现网络图中(图3),3种不同污损动物初始附着区的真核微生物群落互作网络较为复杂,华美盘管虫IAA的网络图连接最为紧密,萨氏膜孔苔虫IAA的模块化程度最高。且3种不同污损动物初始附着区具有高连通性的物种存在一定差异。华美盘管虫IAA真核微生物群落共有15个高连通性的属,大部分属于绿藻门

(Chlorophyta)、硅藻门(Bacillariophyta),其中石莼属(*Ulva*)的负连线数最多。纹藤壶共有 14 个高连通性的属,大部分属于绿藻门(Chlorophyta)、顶复动物

亚门(Apicomplexa)。萨氏膜孔苔虫共有 15 个高连通性的属,大部分属于线虫动物门(Nematoda)、硅藻门(Bacillariophyta)、顶复动物亚门(Apicomplexa)。

表 2 3种大型污损动物初始附着区真核微生物群落共现网络拓扑属性

Tab. 1 Topological features of the co-occurrence network of eukaryotic community on the IAA of three macrofauners

网络拓扑属性 Network topology features	华美盘管虫(<i>H. elegans</i>)	纹藤壶(<i>B. amphitrite</i>)	萨氏膜孔苔虫(<i>M. savartii</i>)
节点数 Node Number	31	35	36
边数 Number of edges	146	152	193
正边/负边数量 Number of positive/negative edges	131/15	94/58	104/89
平均度 average degree	9.419	8.686	10.722
网络密度 Network density	0.314	0.255	0.306

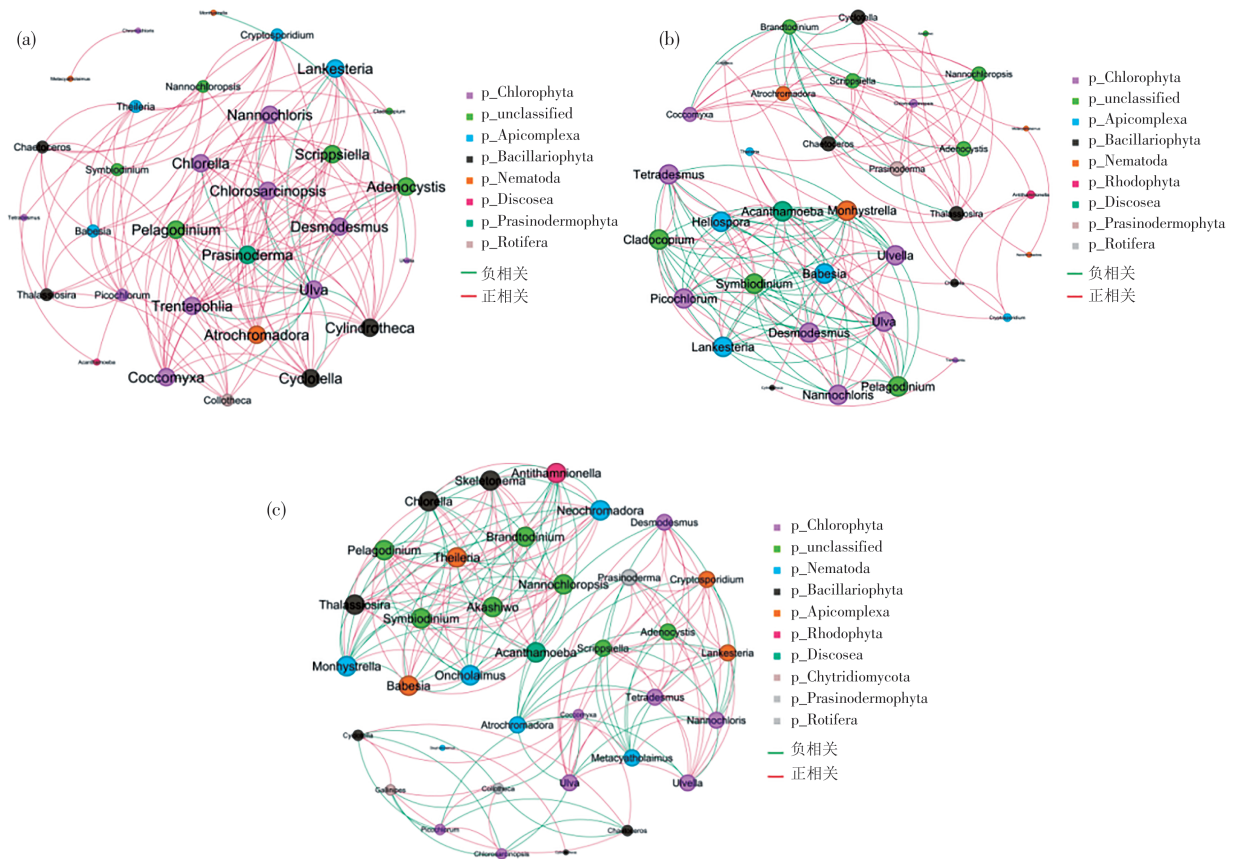


图 3 初始附着区真核微生物群落的共现网络分析

(a). 华美盘管虫;(b). 纹藤壶;(c). 萨氏膜孔苔虫。节点表示属水平物种;节点的颜色表示所在的门;节点大小表示与其他节点连线数的多少;边表示相关关系,绿色表示负相关,红色表示正相关。

Fig. 3 Co-occurrence network analysis of the eukaryotic community on the IAA of the macrofauners

(a) *H. elegans*, (b) *B. amphitrite*, (c) *M. savartii*. Nodes represent genus level species. The color of the node represents the phylum it is located in. The size of the node represents the number of connections with other nodes. The edges represent correlations between genera, green represents negative correlation, and red represents positive correlation.

2.4 大型污损动物 IAA 真核微生物群落的功能预测 基于 MetaCyc 数据库划分真核微生物群落的功能通路(图 4)。真核微生物群落的 3 种主要

功能类群是生物合成(Biosynthesis)、降解/利用/同化(Degradation/Utilization/Assimilation)、前体代谢产物和能量的产生(Generation of Precursor

Metabolite and Energy), 而核苷与核苷酸的生物合成(Nucleoside and Nucleotide Biosynthesis)、氨基酸代谢(Amino acid metabolism)是生物合成的主要代谢途径; 电子转移(Electron Transfer)、呼吸

(Respiration)是前体代谢产物和能量产生的主要代谢途径; 脂肪酸和脂质降解(Fatty Acid and Lipid Degradation)是降解/利用/同化的主要代谢途径。

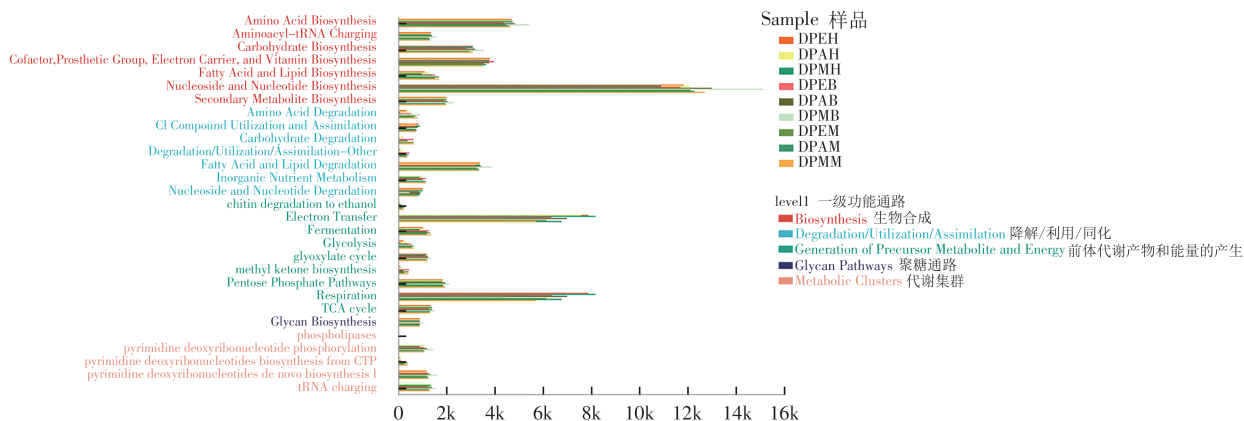


图4 基于PICRUSt2预测的真核微生物群落的功能通路

Fig. 4 Functional pathways of eukaryotic community predicted based on PICRUSt2

2.5 环境因子关联分析 基于CCA分析真核微生物群落与环境因子之间的相关性(图5)。在海水理化因子中, 温度(T)、盐度(Sali)对微生物群落组成产生显著影响($P=0.001$)。进一步分析其对丰度前20的属水平物种的影响发现, 水温与 *Skeletonema*、*Monhystrella*、*Cyclotella*、*Coccomyxa*、*Scrippsiella*、*Atrochromadora* 之间的夹角为锐角, 呈正相关关系。海水盐度与 *Cryptosporidium*、*Picochlorum*、*Chlorella*、*Ulva* 呈正相关关系。

3 讨论

3.1 大型污损动物IAA真核微生物群落的异质性特点 通过分析比较华美盘管虫、纹藤壶和萨氏膜孔苔虫初始附着区真核微生物群落结构, 发现即使在不同的基底材料, 在污损动物初始区的真核微生物群落结构组成也呈现出高度的动物种类相关性。这与以前其他相关研究者发现海洋无脊椎动物浮游幼虫附着的基底选择性行为^[19-20]以及部分真核生物形成微生物膜诱导幼虫附着等相关研究^[21-22]是相呼应的。

不同污损动物幼虫附着时对基底微生物膜群落的偏好选择机理尚不清楚, 推测可能与微生物膜释放的化学信号有关, 如组胺参与纹藤壶幼虫变态发育过程的信号传递^[23-24], 肾上腺素(Epinephrine, EP)参与厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)幼虫的变态^[25]; 此外, 可能与微生物膜的组成相关, 不同污损动物IAA真核微生物群落呈现高度的异质性, 推测这可能表明不同大型污损动物倾向于附着在特定组成的微生物群落上。华美盘管虫初始附着区石莼属(*Ulva*)相对丰度较高, 作为光合藻类可提高微生物膜的氧含量。研究表明, 幼虫的定居和变态与微生物膜产生的有机化合物浓度相关, 有机化合物的浓度取决于微生物膜的密度和组成, 缺氧会降低微生物膜的密度, 而低密度的缺

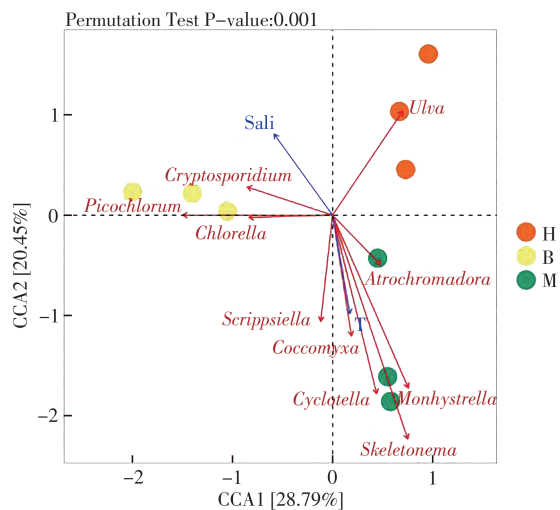


图5 真核微生物群落与环境因子CCA分析

Fig. 5 Canonical correspondence analysis of the impact of environmental factors on eukaryotic community composition

氧微生物膜会减少华美盘管虫幼虫的定居^[26-27], 推测华美盘管虫更倾向于定殖在氧含量较高的微生物膜表面。

萨氏膜孔苔虫初始附着区的硅藻(*Bacillariophyta*)较丰富, 这与之前的研究相类似, 如细菌密度以及复杂微生物膜中特定的硅藻和细菌的存在, 如曲壳藻属(*Achnanthes* sp.)、双眉藻属(*Amphora coffeaeformis*、*Amphora tenerrima*)、菱形藻属(*Nitzschia constricta*)会影响总合草苔虫(*Bugula neritina*)幼虫的沉降^[28], 而且, 硅藻密度与总合草苔虫(*Bugula neritina*)幼虫附着呈正相关^[29], 由此推测硅藻及其代谢物可能影响萨氏膜孔苔虫幼虫附着。

3.2 大型污损动物 IAA 真核微生物群落内的协同作用和功能差异 在海洋微生物群落中, 微生物之间通过复杂的相互作用而共同存在, 共同维系微生物群落的相对稳定^[30-31]。在不同大型污损动物 IAA, 具有高连通性属水平物种存在一定差异, 表明维持不同污损动物 IAA 群落网络稳定的关键物种不同, 关键物种对微生物组成结构和功能有较大影响^[32-33]。且在不同大型污损动物 IAA, 真核微生物群落物种内部的互利共生关系强于竞争关系, 表明污损动物初始附着区微生物群落中的优势类群和非优势类群的协同作用可能在维持真核微生物群落的稳定性和生态功能方面发挥重要作用。另外, 萨氏膜孔苔虫 IAA 真核微生物群落共现网络的负相关连线数目高于华美盘管虫和纹藤壶, 推测其微生物群落在资源利用方面经历了适应性的调整, 从而竞争更多的资源^[34]。

通过 PICRUST2 功能通路预测, 生物合成、降解/利用/同化、前体代谢产物和能量的产生有关的功能类群在真核微生物群落中丰度较高, 这与 Sun 等^[12]的研究结果相似, 其中核苷与核苷酸的生物合成功能群丰度最高, 它们是生物体内核酸的重要组成部分, 参与多种代谢和调节活动。

海水的一些理化性质影响微生物的定殖, 如温度、盐度等会影响海洋微生物膜群落的形成和组成^[35]。本文研究发现污损动物初始附着区微生物膜真核微生物群落组成会受到水温和盐度的影响。萨氏膜孔苔虫 IAA 微生物膜中的 *Monhystrella*、*Coccomyxa* 丰度较高, 可能与温度变化相关, 说明其能在温度较高的水体中富集。 *Picochlorum*

在纹藤壶 IAA 微生物膜中丰度较高, 推测其对相对高盐度的环境更为适应。

4 结 论

海南清澜港近岸养殖海域大型污损动物初始附着区的真核微生物群落组成结果具有明显的动物物种相关性。在属水平, 不同大型污损动物 IAA 微生物群落组成明显不同, 石莼属 *Ulva*、微绿藻属 *Picochlorum*、小单宫属 *Monhystrella* 分别是华美盘管虫、纹藤壶、萨氏膜孔苔虫真核微生物群落优势属。在 3 种不同污损动物 IAA 中, 萨氏膜孔苔虫初始附着区真核微生物群落丰富度、多样性和均匀度最高。IAA 真核微生物群落的种间关系以互利共生为主。水温和盐度是影响大型污损动物 IAA 真核微生物群落结构的主要环境因子。

参考文献:

- [1] HADFIELD M G. Biofilms and marine invertebrate larvae: what bacteria produce that larvae use to choose settlement sites [J]. *Annual Review of Marine Science*, 2011, 3: 453-470.
- [2] HUANG S, HADFIELD M G. Composition and density of bacterial biofilms determine larval settlement of the polychaete *Hydroides elegans* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 260: 161-172.
- [3] 周轩, 郭行磐, 陈芋如, 等. 低湿度表面的海洋附着细菌对厚壳贻贝附着的影响 [J]. *大连海洋大学学报*, 2015, 30(1): 30-35.
- [4] SHIKUMA N J, PILHOFER M, WEISS G L, et al. Marine tubeworm metamorphosis induced by arrays of bacterial phage tail-like structures [J]. *Science*, 2014, 343(6170): 529-533.
- [5] TAIT K, HAVENHAND J. Investigating a possible role for the bacterial signal molecules N-acylhomoserine lactones in *Balanus improvisus* cyprid settlement [J]. *Molecular Ecology*, 2013, 22(9): 2588-2602.
- [6] LEE J W, NAM J H, KIM Y H, et al. Bacterial communities in the initial stage of marine biofilm formation on artificial surfaces [J]. *The Journal of Microbiology*, 2008, 46(2): 174-182.
- [7] QIAN P Y, LAU S C K, DAHMS H U, et al. Marine biofilms as mediators of colonization by marine macroorganisms: implications for antifouling and aquaculture [J]. *Marine Biotechnology*, 2007, 9(4): 399-410.
- [8] DOBRETISOV S, RITTSCHOF D. Love at first taste: induction of larval settlement by marine microbes [J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(3): 731.
- [9] LEE O O, CHUNG H C, YANG J, et al. Molecular

- techniques revealed highly diverse microbial communities in natural marine biofilms on polystyrene dishes for invertebrate larval settlement [J]. *Microbial Ecology*, 2014, 68(1): 81–93.
- [10] LIANG X, PENG L H, ZHANG S, et al. Polyurethane, epoxy resin and polydimethylsiloxane altered biofilm formation and mussel settlement [J]. *Chemosphere*, 2019, 218: 599–608.
- [11] 刘倩倩, 史宏伟, 郭长禄, 等. 海鞘附着相关微生物膜中细菌原核群落结构解析 [J]. *生物技术通报*, 2020, 36(11): 76–84.
- [12] SUN Y, LANG Y, PAN Y, et al. Colonization characteristics of pioneer surface-associated eukaryotes during natural biofilm formation on PDMS-based composites via 18S rRNA gene sequencing methods [J]. *International Biodegradation & Biodegradation*, 2022, 166: 105341.
- [13] 石建高, 余雯雯, 赵奎, 等. 海水网箱网衣防污技术的研究进展 [J]. *水产学报*, 2021, 45(3): 472–485.
- [14] 王越, 张敏, 石建高, 等. 渔用防污材料的研究进展及其在渔业上的应用 [J]. *海洋渔业*, 2021, 43(2): 247–256.
- [15] 黄宗国, 林茂. 中国海洋生物图集-第四册, 2-动物界[M]. 北京: 海洋出版社, 2012.
- [16] 刘勰伶, 严涛. 南海污损生物生态研究进展 [J]. *海洋通报*, 2006, 25(1): 84–91.
- [17] 陈明华, 谢良国, 付志强, 等. 丙酮法和热乙醇法测定浮游植物叶绿素a的方法比对 [J]. *环境监测管理与技术*, 2016, 28(2): 46–48.
- [18] ZHANG B, YANG X, LIU L, et al. Spatial and seasonal variations in biofilm formation on microplastics in coastal waters [J]. *The Science of the Total Environment*, 2021, 770: 145303.
- [19] SALTA M, WHARTON J A, BLACHE Y, et al. Marine biofilms on artificial surfaces: structure and dynamics [J]. *Environmental Microbiology*, 2013, 15(11): 2879–2893.
- [20] VON AMMON U, WOOD S A, LAROCHE O, et al. The impact of artificial surfaces on marine bacterial and eukaryotic biofouling assemblages: a high-throughput sequencing analysis [J]. *Marine Environmental Research*, 2018, 133: 57–66.
- [21] JOUCHI T, SATUITO C G, KITAMURA H. Sugar compound products of the periphytic diatom *Navicula ramosissima* induce larval settlement in the barnacle, *Amphibalanus amphitrite* [J]. *Marine Biology*, 2007, 152(5): 1065–1076.
- [22] QIAN P Y, CHENG A, WANG R, et al. Marine biofilms: diversity, interactions and biofouling [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2022, 20: 671–684.
- [23] JIN C, QIU J, YU S, et al. Histamine promotes the larval metamorphic competence of barnacle *Amphibalanus amphitrite* [J]. *Marine Biology Research*, 2014, 10(8): 799–806.
- [24] 张娜. 纹藤壶幼虫发育与信号物质关系研究 [D]. 扬州: 扬州大学, 2018.
- [25] SHI X, WANG Y Q, YANG Y M, et al. Knockdown of two iodothyronine deiodinase genes inhibits epinephrine-induced larval metamorphosis of the hard-shelled mussel *Mytilus coruscus* [J]. *Frontiers in Marine Science*, 2022, 9: 914283.
- [26] LAGOS M E, WHITE C R, MARSHALL D J. Avoiding low-oxygen environments: oxytaxis as a mechanism of habitat selection in a marine invertebrate [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2015, 540: 99–107.
- [27] CHEUNG S G, CHAN C Y S, PO B H K, et al. Effects of hypoxia on biofilms and subsequently larval settlement of benthic invertebrates [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2014, 85(2): 418–424.
- [28] DAHMS H U, DOBRETsov S, QIAN P Y. The effect of bacterial and diatom biofilms on the settlement of the bryozoan *Bugula neritina* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2004, 313(1): 191–209.
- [29] DOBRETsov S, QIAN P Y. Facilitation and inhibition of larval attachment of the bryozoan *Bugula neritina* in association with mono-species and multi-species biofilms [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, 333(2): 263–274.
- [30] COYTE K Z, SCHLUTER J, FOSTER K R. The ecology of the microbiome: networks, competition, and stability [J]. *Science*, 2015, 350(6261): 663–666.
- [31] STEELE J A, COUNTWAY P D, XIA L, et al. Marine bacterial, archaeal and protistan association networks reveal ecological linkages [J]. *The ISME Journal*, 2011, 5(9): 1414–1425.
- [32] EILER A, HEINRICH F, BERTILSSON S. Coherent dynamics and association networks among lake bacterioplankton taxa [J]. *The ISME Journal*, 2012, 6(2): 330–342.
- [33] BANERJEE S, SCHLAEPPI K, VAN DER HEIJDEN M G A. Keystone taxa as drivers of microbiome structure and functioning [J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2018, 16: 567–576.
- [34] GORTER F A, MANHART M, ACKERMANN M. Understanding the evolution of interspecies interactions in microbial communities [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2020, 375(1798): 20190256.
- [35] CHIU J M Y, THIYAGARAJAN V, TSOI M M Y, et al. Qualitative and quantitative changes in marine biofilms as a function of temperature and salinity in summer and winter [J]. *Biofilms*, 2005, 2(3): 183–195.

Characteristics of Eukaryotic Microbial Communities on the Macrofouler Initial Attachment Areas at the Aquaculture Region in Qinglan Port

CHEN Yingjie¹, CHEN Xin², LI Jiancong¹, LIU Zongyue¹, TANG Min¹

(1. School of Ecology and Environment, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China; 2. School of Physics and Optoelectronic Engineering, Hainan University, Haikou, Hainan 570228, China)

Abstract: In the nearshore mariculture area in Qinglan Port, Hainan, three materials, polyethylene (PE), polyamide (PA), and polymethyl methacrylate (PMMA), were employed as sea-hanging panels in the mariculture area and microbial biofilms were collected from the macrofoulers on the panels for high-throughput sequencing and analysis. A comparative analysis of the characteristics of eukaryotic microbial communities in the initial attachment areas (IAA) of three macrofouler, including *Hydroides elegans*, *Balanus amphitrite* and *Membranipora savartii*, showed that the microbial community structures in the initial attachment areas of the same species of a macrofouler on the three materials exhibited high similarity. The dominant taxa in the eukaryotic microbial communities varied among different macrofouler IAAs, with *Ulva* (43.02% – 93.31%) dominating in *H. elegans*, *Picochlorum* (10.74% – 60.86%) in *B. amphitrite*, and *Monhystrella* (12.08% – 34.78%) in *M. savartii*. The alpha diversity of the eukaryotic microbial community in *M. savartii* IAA was the highest. Co-occurrence network analysis indicated that mutualistic symbiosis was the predominant interspecies relationship in the eukaryotic microbial community. Functional prediction analysis revealed higher abundances of taxa associated with biosynthesis, degradation/utilization/ assimilation, generation of precursor metabolite and energy production in the eukaryotic microbial communities of IAAs. This study contributes to a better understanding of the correlation between the attachment of large fouling animals and the underlying microbial community, providing reference data for anti-fouling work in mariculture.

Keywords: macrofouler; initial attachment areas; eukaryotic microbial communities; Qinglan Port

(责任编辑: 钟云芳)