

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.20240121

福寿螺肠道微生物群落结构与功能的性别差异

黄哲^{1,2}, 房苗^{2,3}, 徐猛^{2,3}, 余梵冬^{2,3}, 舒璐^{2,3}, 韦慧^{2,3},
汪学杰^{2,3}, 金诗语¹, 顾党恩^{2,3*}, 罗思^{1*}

¹淮阴工学院生命科学与食品工程学院, 江苏 淮安 223003; ²中国水产科学研究院珠江水产
研究所/农业农村部外来入侵水生生物防控重点实验室, 广东 广州 510380;
³中国水产科学研究院外来物种与生态安全重点实验室, 广东 广州 510380

摘要:【目的】探究福寿螺肠道微生物群落结构和功能的性别差异,为解析福寿螺入侵过程中环境适应性的性别差异提供科学依据。【方法】采用高通量测序技术分析来自不同地理区域(海南、广东、福建)的福寿螺肠道样品,综合利用肠道微生物群落的多样性指数,非度量多维尺度排序法、置换多因素方差分析和Tax4Fun 功能预测分析福寿螺雌雄个体间肠道微生物群落的组成、丰度差异,结构相似性和功能差异。【结果】福寿螺肠道微生物的 α 多样性指数除Chao1指数存在显著的性别差异外($P<0.05$),其余指数均无显著差异($P>0.05$);福寿螺肠道微生物丰度在部分门(厚壁菌门、拟杆菌门、螺旋体门、蓝细菌门)和属(乳球菌属)水平不同性别间差异显著($P<0.05$);地理位置显著影响福寿螺肠道微生物群落的 β 多样性,而性别对其的影响并不显著。此外,来自海南的福寿螺肠道微生物的KEGG通路丰度均无显著的性别差异;来自广东的福寿螺肠道微生物中,仅雄螺在膜转运通路上的丰度显著高于雌螺($P<0.05$);来自福建的福寿螺肠道微生物中,雄螺的细胞过程和信号传导通路丰度显著大于雌螺($P=0.01$),雌螺的翻译通路则显著大于雄螺($P<0.05$)。【结论】性别主要改变福寿螺肠道微生物群落的丰度而非多样性,而地理位置则对福寿螺肠道微生物的群落结构与功能有显著塑造作用。

关键词: 福寿螺; 肠道微生物; 群落特征; 性别差异



开放科学标识码
(OSID 码)

Sex differences in the structure and function of
gut microbiota in *Pomacea canaliculata*

HUANG Zhe^{1,2}, FANG Miao^{2,3}, XU Meng^{2,3}, YU Fandong^{2,3}, SHU Lu^{2,3}, WEI Hui^{2,3},
WANG Xuejie^{2,3}, JIN Shiyu¹, GU Dang'en^{2,3*}, LUO Si^{1*}

¹School of Life Sciences and Food Engineering, Huaiyin Institute of Technology, Huaian, Jiangsu 223003, China; ²Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Prevention and Control for Aquatic Invasive Alien Species, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou, Guangdong 510380, China; ³Key Laboratory of Alien Species and Ecological Security (CAFS), Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou, Guangdong 510380, China

Abstract: 【Aim】 This study explores the sex differences in the structure and function of gut microbiota in *Pomacea canaliculata*, aiming to provide a scientific basis for analyzing the sex differences in the environmental adaptability of *P. canaliculata* during the invasion process. 【Method】 High-throughput sequencing was employed to analyze the gut samples of male and female snails from different geographical locations (Hainan, Guangdong, and Fujian). The diversity indices of gut microbiota were comprehensively analyzed. Non-metric multidimensional scaling (NMDS), permutational multivariate analysis of variance (PERMANOVA), and Tax4Fun functional prediction were conducted to analyze the composition, abundance differences, structural similarities, and functional differences of gut microbiota in male and female snails. 【Result】 The Chao1 index of gut microbiota showed sex differences ($P<0.05$), which were not observed in other alpha diversity indices ($P>0.05$). Sex differences ($P<0.05$) existed in the abundance of

收稿日期(Received): 2024-09-09 接受日期(Accepted): 2024-11-30
基金项目: 广州市科技计划项目(2023B03J1306); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2024SJRC12); 国家大宗淡水鱼产业技术体系(CARS-45); 广东省现代农业产业共性关键技术研发创新团队建设项目(2023KJ134); 中国水产科学研究院基本科研业务费(2023TD17)
作者简介: 黄哲, 男, 硕士研究生。研究方向: 外来水生动物入侵生态学。E-mail: 18237252686@163.com
* 通信作者(Author for correspondence), 顾党恩, E-mail: gudangen@163.com; 罗思, E-mail: luosi@hyit.edu.cn

some phyla (Firmicutes, Bacteroidota, Spirochaetota, and Cyanobacteria) and a genus (*Lactococcus*) of the gut microbiota. The geographical location significantly affected the β diversity of gut microbiota in *P. canaliculata*, while sex had no significant effect on it. In addition, there was no significant difference in the abundance of KEGG pathways in the gut microbiota of male and female snails from Hainan. Male snails had higher abundance of membrane transport pathways than female snails from Guangdong ($P<0.05$). Among the samples from Fujian, male snails had higher abundance of cellular processes and signaling pathways ($P=0.01$), and female snails had higher abundance of translation pathways ($P<0.05$). 【Conclusion】 Sex mainly changes the abundance rather than diversity of gut microbiota, while geographical location significantly shapes the community structure and function of gut microbiota in *P. canaliculata*.

Key words: *Pomacea canaliculata*; gut microbiota; community characteristics; sex differences

福寿螺 *Pomacea canaliculata* Lamarck 又名大瓶螺、苹果螺, 隶属于软体动物门 Mollusca 腹足纲 Gastropoda 中腹足目 Mesogastropoda 瓶螺科 Pilidae 瓶螺属 *Pomacea*, 是一种原产于南美洲亚马逊河流域的大型两栖淡水螺类(胡云逸等, 2021)。福寿螺拥有极强的繁殖能力(刘巧等, 2016)和破坏性, 对水稻 *Oryza sativa* L.、莲 *Nelumbo nucifera* Gaertn.、茭白 *Zizania latifolia* (Griseb.) Turcz. ex Stapf、芋头 *Colocasia esculenta* (L.) Schott、菱角 *Trapa bispinosa* Roxb. 等作物均构成严重危害(刘义满等, 2019), 目前已成为我国长江以南大部分地区水生农作物面临的具有严重危害的入侵物种(王蝉娟等, 2021)。2000 年, 福寿螺被世界自然保护联盟(International Union for Conservation of Nature, IUCN)列入全球 100 种恶性外来入侵物种名单(冼晓青等, 2022); 2022 年, 被我国农业农村部等部门列入《重点管理外来入侵物种名录》(顾党恩等, 2023)。

福寿螺是一种广泛分布且适应性极强的入侵物种, 能够在多样的生境条件下生存, 其极强的适应能力可能与其肠道微生物群落的结构和功能可随环境变化而快速调整有关(Dulski *et al.*, 2020; Kang *et al.*, 2022)。在富含有机物的环境中, 福寿螺肠道内的微生物可以帮助其分解有机物质、提高营养利用效率(Liu *et al.*, 2018), 并促进宿主组织发育(Wang *et al.*, 2018); 而在污染环境中, 某些肠道微生物能降解有害物质, 协助宿主减轻毒性影响(D'Argenio & Salvatore, 2015), 并抑制病原菌感染(Romani, 2024), 提升宿主的免疫能力(王红芳和胥保华, 2020)。大量研究表明, 福寿螺的生存能力在不同性别间存在较大差异, 野外调查中发现雌螺的数量往往多于雄螺(Xu *et al.*, 2016; Yusa *et al.*, 2016), 且雌性平均寿命大于雄性(刘军等, 2012)。此外, 雌螺的功能反应(徐武兵等, 2011)、耐寒力

(郭靖等, 2014)和肌肉水分、粗脂肪等含量(欧芳等, 2019)均大于雄螺。这些由于性别而出现的差异也很可能与福寿螺的肠道微生物的差异有关。一是因为肠道微生物与宿主的适合度息息相关(Zheng *et al.*, 2020), 二是以往的研究发现福寿螺肠道微生物可以增强自身的生长与增殖能力、免疫能力和生态耐受性(刘川等, 2022)。

大量研究表明, 肠道微生物在不同性别间存在较大差异, 大鳍弹涂鱼 *Periophthalmus magnuspinnatus* Lee, Choi & Ryu (Ma *et al.*, 2018)、大黄鱼 *Larimichthys crocea* Richardson (魏娜, 2016)、中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* Milne-Edward (金贝, 2016)雌雄个体间的肠道微生物多样性差异显著, 家蚕 *Bombyx mori* L. (许刚等, 2015)的肠道微生物组成和丰度比率也受性别影响。但也有文献表明, 肠道微生物在性别间差异不显著, 如滇金丝猴 *Rhinopithecus bieti* Milne-Edwards (余小丽, 2020)的肠道微生物群落的多样性并不存在显著的性别差异, 群落结构也较为相似; 克氏原螯虾 *Procambarus clarkii* Girard 肠道菌群在多样性、物种丰度和菌群功能预测上均未检测到性别间的差异(谢梦琪等, 2021)。以上研究表明, 不同动物间性别差异引起的自身肠道微生物的群落特征变化程度不尽相同。

研究表明, 福寿螺雌雄个体间肠道微生物多样性和丰度存在较大差异(李淑贤等, 2022; 刘川等, 2022; Chen *et al.*, 2021)。但这些研究存在样本量小、采样尺度小(局限在某一城市)、生境单一(局限在某一生境中)等问题, 对福寿螺雌雄个体间肠道微生物的组成、群落结构及其功能缺乏整体的认识。为了弥补上述研究的不足, 本研究加大了福寿螺肠道样品的采集量(451 个), 采样尺度跨越了 3 个省份(海南、广东、福建), 采样生境充分考虑了福寿螺生活的常见生境(稻田、沟渠和池塘)。本研究

旨在探讨福寿螺雌雄个体间肠道微生物群落结构和功能的一般变化规律,以期为更深入了解福寿螺生态适应性的性别差异提供科学依据。

1 材料和方法

1.1 样品采集

2023 年 8—9 月,在海南省澄迈(19°72'N, 110°04'E)、儋州(19°52'N, 109°53'E)、琼海(19°15'N, 110°31'E)、广东省广州(23°26'N, 113°83'E)、河源(23°72'N, 114°67'E)、梅州(24°40'N, 116°57'E)和福建省漳州(24°48'N, 117°75'E)、三明(26°35'N, 117°72'E)、南平(27°34'N, 117°52'E)、福州(26°24'N, 118°93'E)、莆田(25°42'N, 119°02'E) 11 个采样点共采集到福寿螺成螺样品 451 只,其中海南 67 只(雌螺 36 只,雄螺 31 只),广东 144 只(雌螺 72 只,雄螺 72 只)和福建 240 只(雌螺 120 只,雄螺 120 只)。通过壳形分析(Hayes *et al.*, 2012),使用引物 LCO1490 或 HCO2198 扩增细胞色素氧化酶亚基 I (CO I) 基因,初步确认从 11 个采样点采集的福寿螺为小管福寿螺,对其肠道微生物进行测序分析(Yang *et al.*, 2019),并测量了每只螺的体重、壳高、壳宽和壳口宽。

为使采集的福寿螺更具代表性,采样时考虑到不同生境(稻田、沟渠和池塘),采用巢式取样法,每个采样点的每种生境下,设置了不同的样方(1 m²),在每个样方中随机采集符合要求的福寿螺 1 只,并鉴别其性别(观察螺体内部结构,雄螺存在明显的生殖器;同时雌螺的厣甲中央平滑略凹陷,雄螺的厣甲中央外凸,且边缘向内微凹)。在解剖取肠道样品前将所有采集到的符合要求的福寿螺个体先用 75%乙醇擦拭 3 次,后用蒸馏水冲洗 2 次,然后小心地取出整个肠道内容物。每个肠道样品置于无菌管内并储存在液氮中,后储存在-80 ℃的冰箱中以便进行高通量测序分析。

1.2 DNA 提取和 PCR 扩增

使用十六烷基三甲基溴化铵(cetyltrimethylammonium bromide, CTAB)方法提取每个样品的全基因组 DNA (gDNA)。利用特异性细菌引物 341F (CCTAYGGGRBGCASCAG) 和 806R (GGACTAC-NNGGGTATCTAAT) 扩增了 16S rDNA 基因的 V3~V4 高变区。所有 PCR 混合液加入 15 μL Phusion® High-Fidelity PCR Master Mix (New England Biola-

bs)、0.2 μmol · L⁻¹引物和 10 ng 基因组 DNA 模板,在 98 ℃下进行 1 min 的第一次变性,然后在 98 ℃ (10 s)、50 ℃ (30 s) 和 72 ℃ (30 s) 下进行 30 次循环,最后在 72 ℃下保持 5 min。PCR 产物使用 2% 浓度的琼脂糖凝胶进行电泳检测;对检测合格的 PCR 产物进行磁珠纯化,采用酶标定量,根据 PCR 产物浓度进行等量混样,充分混匀后使用 2% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,对目的条带使用通用型 DNA 纯化回收试剂盒(TianGen)回收产物。使用 NEBNext® Ultra™ II FS DNA PCR-free Library Prep Kit 建库试剂盒(New England Biolabs)进行文库构建,构建好的文库经过 Qubit 和 Q-PCR 定量,文库合格后,使用 NovaSeq 6000 进行 PE250 上机测序。

1.3 测序数据分析

根据 Barcode 序列和 PCR 扩增引物序列从下机数据中拆分出各样本数据。截去 Barcode 和引物序列后,使用 FLASH (Version 1.2.11, <http://ccb.jhu.edu/software/FLASH/>) 对每个样本的 reads 进行拼接,得到的拼接序列为原始 Tags 数据(Raw Tags)。使用 fastp 软件(Version 0.23.1)对拼接得到的 Raw Tags 经过严格的过滤处理得到高质量的 Tags 数据(Clean Tags)。经过以上处理后得到的 Tags 需要进行去除嵌合体序列的处理,Tags 序列通过与物种注释数据库(Silva database, <https://www.arbsilva.de/>)进行比对检测嵌合体序列,并最终去除其中的嵌合体序列,得到最终的有效数据(Effective Tags)。对以上得到的 Effective Tags,使用 QIIME2 (Version QIIME2-202006) 软件中的 DADA2 模块进行降噪,从而获得最终的扩增子序列变异(amplicon sequence variants, ASVs)以及特征表。使用 QIIME2 软件基于 Silva138.1 数据库进行物种注释,并进行快速多序列比对,得到所有 ASVs 序列的系统发生关系。最后对各样本的数据进行均一化处理,以样本中数据量最少的为标准进行均一化处理,并基于均一化处理后的数据进行后续分析。

基于 R 软件中的 vegan 程序包中的“diversity”函数,利用均一化处理后的 ASVs 数据表,计算出福寿螺肠道微生物群落的 α 多样性指数(Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数、Chao1 指数和 Pielou 均匀度指数)。通过 lme4 和 lmerTest 程序包构建线性混合效应模型(linear mixed-effects models, LMMs)检验不同性别和不同省份对福寿螺肠道微生物群落 α 多样性

指数的影响,其中分别以 Simpson 指数、Shannon-Wiener 指数、Chao1 指数和 Pielou 均匀度指数为响应变量,福寿螺性别和省份为固定效应,采样点为随机效应。鉴于福寿螺性别和省份间无显著的交互作用,数据分析中使用 emmeans 程序包中的“emmeans”函数对性别和省份之间进行多重比较,后验检验的多重比较采用图基校正 (Tukey’adjustment) 的方法在置信水平为 95% 的条件下进行。

选取福寿螺肠道微生物在门和属水平上排名前十的物种,分别以相对丰度为响应变量,以福寿螺性别为固定效应,采样点为随机效应,构建线性混合效应模型,检验雌雄螺之间这些物种的相对丰度是否存在差异。通过非度量多维尺度分析 (non-metric multidimensional scaling, NMDS) 方法,使用 “metaMDS” 函数基于 “vegdist” 函数计算的 Bray-Curtis 距离分析雌雄螺肠道微生物群落的相关性,并使用 “adonis” 函数进行置换多变量方差分析 (permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA),检验雌雄螺之间的肠道微生物群

落相异性的显著性,该部分分析均在程序包 vegan 中进行。

为研究雌雄螺肠道微生物间的功能是否存在差异,基于 Silva 数据库和京都基因和基因组百科全书 (KEGG) 数据库,通过 Tax4Fun 程序包预测福寿螺肠道微生物群落中功能基因的丰度和代谢途径,并通过构建 LMMs 分析雌雄螺的肠道菌群基因功能预测结果的 KEGG 途径在第二水平上的基因相对丰度的差异,模型的构建与分析雌雄螺的肠道菌群在门和属水平上物种相对丰度差异的相类似。

2 结果

2.1 肠道微生物群落的 α 多样性

福寿螺雌雄个体肠道微生物群落的 α 多样性除 Chao1 指数存在显著差异外 ($P<0.05$) (图 1), Shannon 指数、Simpson 指数和 Pielou 均匀度指数均不存在显著差异 ($P>0.05$),但雌螺肠道微生物群落的 α 多样性整体大于雄螺。不同地理位置 (省份) 间的福寿螺肠道微生物群落的 α 多样性整体为海南>福建>广东,但不存在显著差异 ($P>0.05$)。

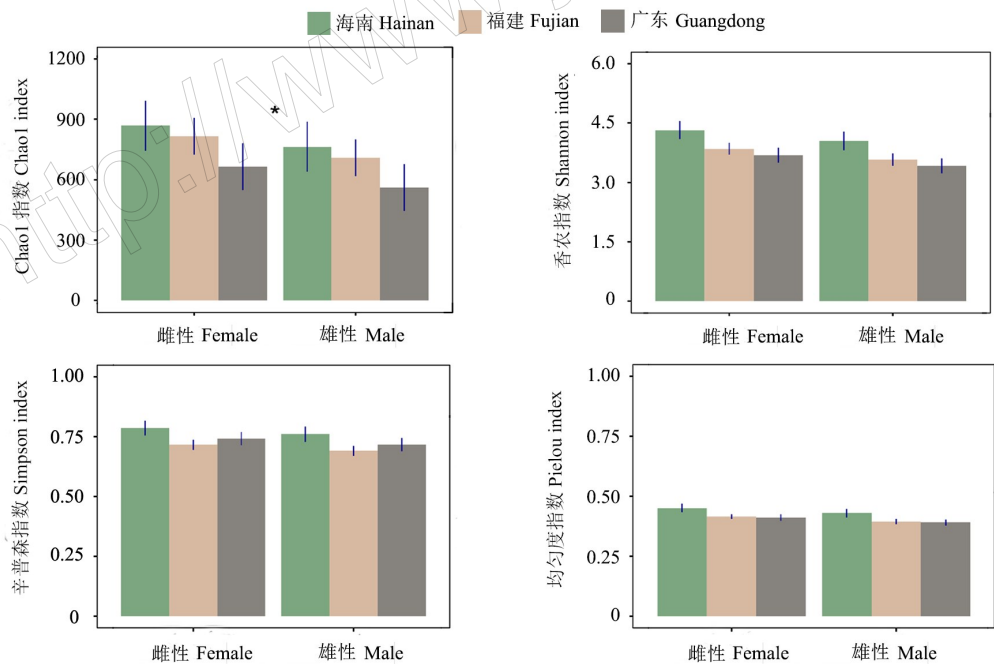


图 1 来自不同省份雌雄福寿螺肠道微生物群落的 α 多样性
Fig.1 α diversity of gut microbiota in male and female *P. canaliculata* from different provinces

2.2 不同分类单元尺度的丰度差异

采自海南的福寿螺肠道微生物群落中丰度最高的门为放线菌门 Actinobacteriota,其后依次为拟杆菌门 Bacteroidota、蓝细菌门 Cyanobacteria、广古菌门 Euryarchaeota、厚壁菌门 Firmicutes、梭杆菌门

Fusobacteriota、硝化螺旋菌门 Nitrospirota、变形菌门 Proteobacteria、螺旋体门 Spirochaetota、疣微菌门 Verrucomicrobiota (图 2A);排名前十的属分别为:拟杆菌属 *Bacteroides*、鲸杆菌属 *Cetobacterium*、梭状芽孢杆菌属 *Clostridium_sensu_stricto_1*、乳球菌属

Lactococcus、甲烷杆菌属 *Methanobacterium*、甲烷短杆菌属 *Methanobrevibacter*、*Methyloglobulus*、支原体属 *Mycoplasma*、罗尔斯通氏菌属 *Ralstonia*、*unidentified_Chloroplast* (图 2B); 这些门和属的相对丰度在雌螺与雄螺的肠道中均无显著差异 ($P>0.05$)。

采自广东的福寿螺,其肠道微生物群落的门类组成与采自海南的福寿螺基本一致。仅在硝化螺旋菌门和脱硫菌门丰度上存在较大差异;在属水平上,主要是在罗尔斯通氏菌属、*Methyloglobulus*、脱硫弧菌属 *Desulfovibrio* 和慢生根瘤菌属 *Bradyrhizobium* 丰度上存在较大差异。其中,广东雌螺肠道微生物中厚壁菌门的相对丰度显著小于雄螺 ($P<0.05$),而

拟杆菌门和螺旋体门表现为雌螺显著大于雄螺 ($P<0.05$) (图 2C)。此外,雄螺的乳球菌属的相对丰度显著高于雌螺 ($P<0.05$) (图 2D),其他门和属的相对丰度存在不同但未达到显著水平。

来自福建的福寿螺,其肠道微生物组成中排名前十的门和属的和广东的保持一致,但相对丰度不同,其中雌螺的蓝细菌门和螺旋体门的相对丰度显著大于雄螺 ($P<0.01$; $P<0.05$) (图 2E),雌螺的 *unidentified_Chloroplast* 也显著大于雄螺 ($P<0.05$) (图 2F),其他门和属的相对丰度也存在差异,但未达到显著水平。

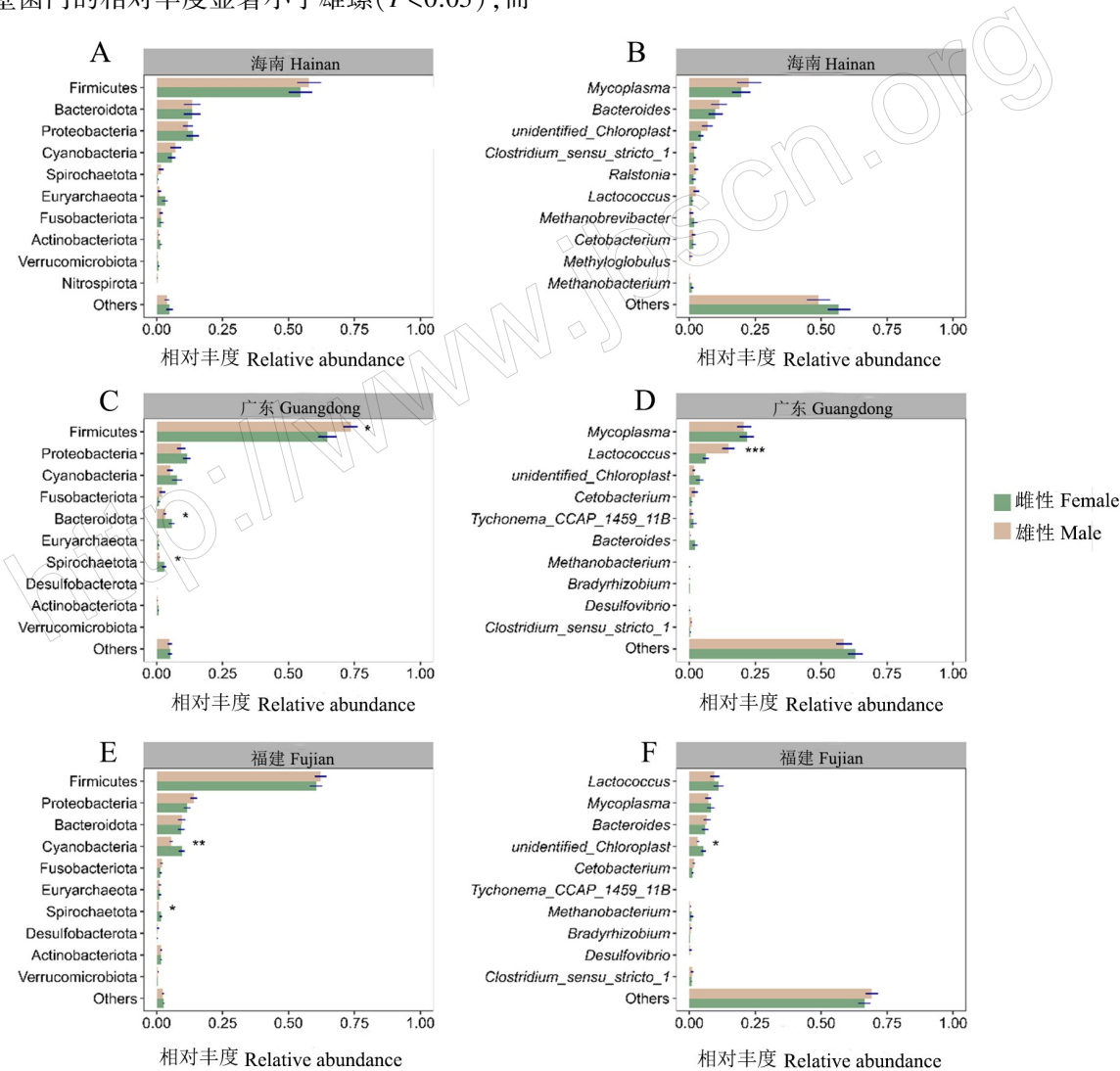


图 2 福寿螺雌雄个体肠道微生物组成的相对丰度

Fig.2 The relative abundance of gut microbiota composition between male and female *P. canaliculata*

A、C、E 分别表示来自海南、广东、福建的雌雄螺的肠道微生物组成在排名前十的门水平上的相对丰度;B、D、F 分别表示来自海南、广东、福建的雌雄个体福寿螺肠道微生物组成在排名前十的属水平上相对丰度。* : $P<0.05$; ** : $P<0.01$; *** : $P<0.001$ 。

A, C and E represent the relative abundance of intestinal microbial composition (at the level of top 10 phyla) of male and female snails from Hainan, Guangdong and Fujian, respectively. B, D and F represented the relative abundance of intestinal microbial composition (at the level of top 10 genera) of male and female snails from Hainan, Guangdong and Fujian, respectively. * : $P<0.05$; ** : $P<0.01$; *** : $P<0.001$.

2.3 非度量多维尺度分析

福寿螺肠道微生物的结构整体显著受采样点的影响,而性别的影响未达到显著水平。其中,采自海南与福建的福寿螺,其肠道微生物的结构受到采样点 ($F=7.9, R^2=0.19, P=0.001; F=7.54, R^2=0.11, P=0.001$) 的显著影响,雌雄螺之间差异不显著 ($F=0.92, R^2=0.01, P=0.47; F=1.15, R^2=0.004, P=0.27$),但采样点和性别的交互作用对其影响显著 ($F=3.14, R^2=0.07, P=0.002; F=1.65, R^2=0.02, P=0.016$) (图 3A、C);采自广东的福寿螺,肠道微生物的结构只受到采样点的显著影响 ($F=7.76, R^2=0.10, P=0.001$),性别 ($F=1.56, R^2=0.01, P=0.053$) 以及采样点和性别的交互作用 ($F=0.92, R^2=0.01, P=0.62$) 均未达到显著水平(图 3B)。

2.4 肠道微生物的功能注释分析

福寿螺肠道微生物的功能注释结果表明,共有 6610 个 KEGG Orthology (KO) 被映射到 390 个 3 级 KEGG 通路中,然后被分类为 44 个 2 级 KEGG 通路。在这 44 个次级 KEGG 途径中,12 个途径与代谢有关,8 条途径与生物体系统有关,8 条途径与人类疾病有关,5 条途径与未分类功能有关,4 条途径与细胞过程有关,4 条途径与遗传信息处理有关,3 条途径与环境信息处理有关。在 1 级 KEGG 通路中,代谢在预测的功能途径中所占比例最高,其次是遗传信息处理、环境信息处理、人类疾病、细胞过程、未分类和生物体系统。其中,来自海南的雌雄

螺,其肠道微生物 44 个 2 级 KEGG 通路虽然存在差异,但均未达到显著水平(图 4A);来自广东的雌雄螺,其肠道微生物 44 个 2 级 KEGG 通路中,仅在膜转运(membrane transport)通路上存在显著差异,且雄性的相对丰度大于雌性 ($F=4.27, P=0.04$) (图 4B)。来自福建的雌雄螺,其肠道微生物 44 个 2 级 KEGG 通路中,雌性翻译通路(translation)的相对丰度显著大于雄性 ($F=7.17, P=0.008$),而雄性细胞过程和信号传导(cellular processes and signaling)显著大于雌性 ($F=6.77, P=0.01$),其余通路雌雄螺之间均不存在显著差异(图 4C)。

3 讨论

本研究中,雌性福寿螺的肠道微生物群落 α 多样性整体高于雄螺,这与福寿螺相关研究中的结论一致(李淑贤等,2022; Chen *et al.*, 2021),但雌雄螺在不同地理位置之间不存在显著差异。雌雄螺肠道微生物的多样性指数中仅 Chao1 指数间差异显著。福寿螺雌雄个体肠道微生物之间存在的差异,这在程天印等(2015)以及 Li *et al.* (2019)的研究中得到了证实。本研究中福寿螺肠道中拟杆菌属、乳球菌属和支原体属的相对丰度较高,与斑点福寿螺 *Pomacea maculata* Perry 的肠道菌群研究存在明显差异(李淑贤等,2022; Li *et al.*, 2019),这可能是由于肠道微生物具有一定的宿主依赖性。雌螺较高的肠道微生物多样性可能会增强其适应不同环境和应对外部压力的能力。

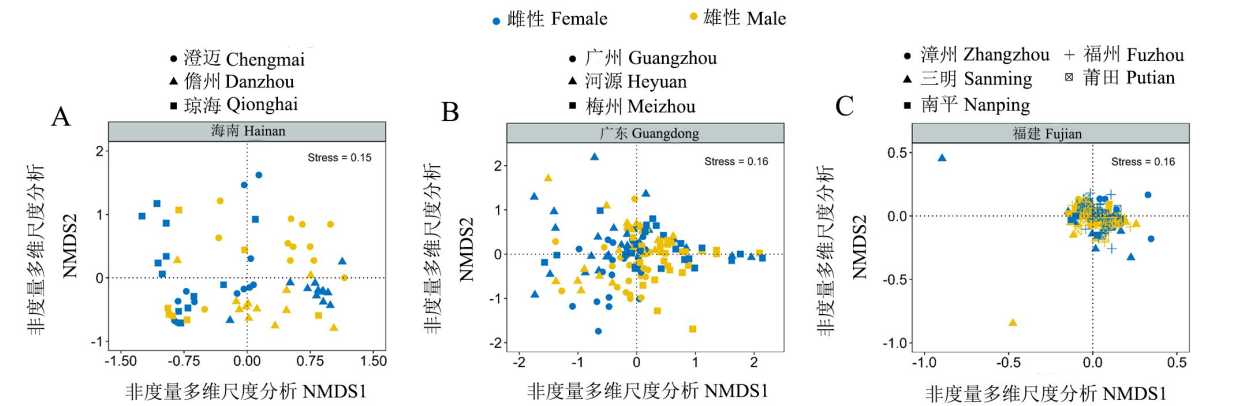


图 3 基于不同采样点和不同性别的福寿螺肠道微生物的 Bray-Curtis 距离的非度量多维尺度 (NMDS)

Fig.3 Non-metric multidimensional scaling (NMDS) of Bray-Curtis distances of gut microbiota from *P. canaliculata* based on different sampling sites and sexes

置换多变量方差分析 (PERMANOVA) 显示,不同采样点的福寿螺肠道微生物群落结构存在显著差异 ($P<0.05$; 置换次数=999)。

PERMANOVA showed that there were significant differences in intestinal microbial community structure among different sampling sites ($P<0.05$; permutation times=999).

与来自海南的福寿螺相比,来自广东的福寿螺肠道微生物组成中硝化螺旋菌门被脱硫菌门取代,后者在重金属解毒方面有特殊作用(刘聪辉,2018),这一变化可能与地理环境的差异有关。在属水平上,罗尔斯通氏菌属和 *Methyloglobulus* 被脱硫弧菌属和慢生根瘤菌属取代,可能是由于福寿螺肠道微生物与所处周围环境的微生物之间进行了交换,短暂丰富了其肠道微生物的多样性(Wu *et al.*, 2021);在广东地区,雌螺肠道中厚壁菌门的相对丰度较低,可能与采样时福寿螺所处环境的食物资源或自身的健康状态有关。

肠道微生物产生的物质可以调控宿主的生理机能,肠道微生物群落只有保持稳定,才能为宿主提供有利的生存条件(杨季等,2020)。本研究发现,拟杆菌门在雌螺中的相对丰度较高,与 Chen *et al.* (2021) 的研究差异较大,这可能是与样品取自人工池塘,生境单一且样本量较少有关。同时,宿主周围环境的不同也可能引起肠道微生物的变化(张思琪等,2024)。来自福建的福寿螺肠道微生物组成在门和属水平上与广东相似,但相对丰度不同,表明两地福寿螺的肠道微生物既有共性,也受地区环境的影响。雌螺的蓝细菌门、螺旋体门以及 *unidentified_Chloroplast* 相对丰度显著高于雄螺,这可能与雌螺在产卵期间需要更多的食物和能量,摄食了大量藻类以满足其生长、繁殖和日常活动的需要有关(刘巧等,2016)。本研究发现,雌雄福寿螺肠道中的厚壁菌门、拟杆菌门、螺旋体门、蓝细菌门和乳球菌属等微生物在丰度上存在显著差异,这些微生物在生态学上具有重要功能,如厚壁菌门与分解碳水化合物,产生短链脂肪酸相关,可以维持肠道健康(Flint *et al.*, 2012);拟杆菌门与分解植物性食物相关,可以促进营养吸收和氮素利用(François *et al.*, 2011);螺旋体门可以帮助消化难消化的多糖(Leser & Lars, 2009);蓝细菌门则与固氮、改善氮素代谢和免疫等过程相关(Zehr & Kudela, 2011);乳球菌属作为益生菌,可以产生乳酸,支持免疫系统和营养平衡(郝露露,2020)。因此,这些微生物丰度的变化影响着福寿螺的消化、营养和健康。本研究中,福寿螺肠道中主要与纤维素和多糖类物质的分解、氮和磷的吸收以及抗疾病能力有关的微生物丰度之间存在差异。例如,拟杆菌门在氮循环中的作用尤其突出(François *et al.*, 2011);乳球菌属

则可以通过维持肠道酸性环境,抑制病原菌的生长,增强宿主的免疫功能(郝露露,2020)。这些微生物门和属的丰度变化不仅反映了雌雄螺在肠道微生物结构上的差异,也揭示了它们在不同地理区域中的环境适应策略可能也存在一定的差异,这对进一步了解福寿螺的环境适应性具有重要意义。

来自海南和福建的福寿螺的肠道微生物结构显著受采样点影响,不同性别之间无显著差异,但采样点和性别的交互作用对其的影响显著,而来自广东的福寿螺肠道微生物结构仅受采样点影响,性别和采样点的交互作用对其无显著影响。本研究表明,地理位置对福寿螺肠道微生物的影响大于性别差异,类似结果也在地理位置对非洲大蜗牛 *Achatina fulica* Bowdich 肠道微生物的影响中发现(谢婧等,2023)。此外,不同养殖环境或野外环境,尼罗罗非鱼 *Oreochromis nilotica* L. 肠道微生物菌群分布及丰度也有显著差异(张婧怡等,2020;周玥祺等,2024),这也证实了水生动物的肠道微生物受到周围环境的显著塑造作用。

KEGG 通路的 1 级分类中,代谢途径占主导地位,这与福寿螺高效的代谢能力有关,因为福寿螺经常通过肺囊呼吸以提高代谢能力来适应低溶氧的环境(王蝉娟等,2021),这一现象也在肺螺类软体动物中发现(Cardoso *et al.*, 2018; Joynson *et al.*, 2017)。海南雌雄螺肠道微生物尽管在 44 个 2 级 KEGG 通路上存在差异,但未达到显著水平,这可能与海南热带气候全年温度相对比较恒定有关,与李淑贤等(2022)和谢梦琪等(2021)的研究结果一致。在广东地区,雄螺的膜转运通路相对丰度显著高于雌螺,可能表明雌雄螺在物质吸收和转运上存在一定的生理差异。在福建地区,雌螺的翻译通路相对丰度显著高于雄螺,可能表明该地区的雌螺比雄螺具有更高的蛋白质合成能力或需求;雄螺在细胞过程和信号传导上的相对丰度显著高于雌螺,这些差异可能是因为福建的气候类型为亚热带季风气候(温差大)以及福寿螺的生存环境不同导致的。雌雄螺肠道微生物的 KEGG 代谢通路的差异在生态学上反映了物种的适应性、生态系统的功能性分工及物种间的相互作用(Kanehisa & Sato, 2020)。综上所述,这些差异展示了物种如何通过独特的代谢路径应对不同环境压力,减少竞争并维持生态位分化。此外,这些代谢通路的变化还可以

作为生态系统对环境变化的指示器,帮助预测生态系统功能的变化和适应能力。

本研究发现,雌雄螺肠道微生物的群落多样性相对稳定,但其丰度会随着性别和地理位置的不同而产生显著差异,这表明福寿螺的肠道微生物具有较强的环境适应性,能够通过调节肠道微生物的丰度来适应不同的生态环境。福寿螺肠道微生物的 KEGG 通路丰度在不同性别和地区之间存在显著差异,表明雌雄福寿螺间的肠道微生物群落存在地域性差别,这可能与福寿螺的肠道微生物群落的生态适应性相关。尽管本研究得到了上述明确的结论,但仍存在一定的局限性。首先,本研究未能充分探讨季节性变化或福寿螺不同发育阶段对其肠道微生物群落结构的影响。其次,本研究未深入考虑不同地区的环境因素(如温度、溶氧、pH 等)对福寿螺肠道微生物群落的潜在影响。因此,未来的研究应结合多时间序列采样和多环境因素,进一步探讨这些变量对福寿螺肠道微生物群落的调控作用。未来的研究方向应包括深入探讨雌雄螺肠道微生物群落的共现网络关系,分析群落构建过程,以此深入了解福寿螺入侵与其肠道微生物群落地理分布格局之间的关系。

参考文献

程天印,曲凌玄,王晓君,2015. 应用 PCR-DGGE 技术分析福寿螺胃肠道菌群. 中国农学通报, 31(11): 98-102.

顾克恩,罗刚,黄宏坤,贾涛,张弛,沈禹羲,陈熹贤,徐猛,韦慧,房苗,余梵冬,舒璐,汪学杰,胡隐昌,2023. 农业农村部等六部门发布《重点管理外来入侵物种名录》. 中国水产 (1): 8-11.

郭靖,徐武兵,章家恩,赵本良,罗明珠,2014. 雌雄福寿螺耐寒能力的差异. 应用生态学报, 25(6): 1791-1798.

郝露露,2020. 乳酸乳球菌 C15 产细菌素发酵条件优化及应用研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南农业大学.

胡云逸,朱梓锋,孙希,吴忠道,2021. 入侵物种福寿螺对不同生态系统的破坏性影响. 热带医学杂志, 21(10): 1364-1368.

金贝,2016. 阳澄西湖中华绒螯蟹肠道菌群结构的研究. 硕士学位论文. 南京: 南京农业大学.

李淑贤,林英,祁雯,陈燊,李雪霞,朱善良,卫蔚,李宏,陈炼,2022. 斑点福寿螺肠道菌群结构及功能研究. 南京师大学报(自然科学版), 45(1): 64-73.

刘川,万自学,喻夜兰,杨海君,2022. 福寿螺肠道微生物

群落特征与其入侵关系的研究进展. 湖南农业科学 (9): 99-104.

刘聪辉,2018. 基于多组学数据对福寿螺生物入侵机制的探究. 博士学位论文. 北京: 中国农业科学院.

刘军,何跃进,谭济才,许成香,钟浪,王志高,廖千国,2012. 自然条件下福寿螺繁殖特性. 应用生态学报, 23(2): 559-565.

刘巧,赵柳兰,杨淞,严太明,何智,章家恩,2016. 福寿螺卵抗逆性研究进展. 生态学杂志, 35(4): 1072-1079.

刘义满,戢小梅,李长林,杨守坤,王爱新,许林,王湛昌,钟兰,2019. 福寿螺 [*Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1819)] 的世界分布. 湖北农业科学, 58(6): 70-72, 77.

欧芳,吴迪,刘小红,王志坚,金丽,2019. 雌雄福寿螺肌肉营养比较分析与评价//第八届中国西部动物学学术研讨会会议摘要汇编. 贵阳: 四川省动物学会: 45.

王蝉娟,宋增福,鲁仙,王玲,骆楠,姚立农,张饮江,2021. 我国福寿螺入侵现状和防控研究进展. 生物安全学报, 30(3): 178-182.

王红芳,胥保华,2020. 蜜蜂肠道微生物与其社会性的关系. 生物技术通报, 36(2): 71-76.

魏娜,2016. 大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 肠道菌群结构及其与宿主经济性状间的关系. 硕士学位论文. 厦门: 集美大学.

冼晓青,王瑞,陈宝雄,张宏斌,李奎奎,万方浩,张桂芬,刘万学,2022. “世界 100 种恶性外来入侵物种”在我国大陆的入侵现状. 生物安全学报, 31(1): 9-16.

谢婧,张怡悦,唐仲辉,孙新,2023. 城市化梯度下入侵生物非洲大蜗牛肠道微生物群落特征. 应用生态学报, 34(10): 2813-2819.

谢梦琪,张诗雨,许荔立,蒋飞,袁军法,吴志新,陈孝煊,2021. 不同性别和生长阶段对克氏原螯虾肠道菌群多样性的影响. 水生生物学报, 45(6): 1243-1254.

徐武兵,钟秋华,李林峰,章家恩,罗明珠,赵本良,秦钟,2011. 雌雄福寿螺取食和对异性选择行为的差异. 生态学杂志, 30(11): 2528-2533.

许刚,孙振丽,胡小龙,薛仁宇,曹广力,贡成良,2015. 基于 16S rRNA 基因序列分析家蚕肠道细菌的多样性. 蚕业科学, 41(4): 641-649.

杨季,王思博,赵旦华,马渭青,许丽,2020. 鸡肠道微生物组成及影响因素的研究进展. 黑龙江畜牧兽医 (9): 34-37.

余小丽,2020. 雌雄滇金丝猴不同季节肠道微生物群落结构差异的研究. 硕士学位论文. 南充: 西华师范大学.

张婧怡,2020. 不同品种及不同养殖环境的罗非鱼肠道微生物分析研究. 硕士学位论文. 南宁: 广西大学.

张婧怡,肖俊,梁军能,王婧杰,张旭,罗永巨,2020. 不同养殖环境下罗非鱼肠道微生物的比较分析. 广西科学学报, 36(2): 164-170.

- 张思琪, 侯瑞, 徐向荣. 2024. 水生动物肠道微生物与环境污染物互作机制的研究进展. *环境生态学*, 6(4): 27–38.
- 周玥祺, 黄杰, 王志强, 邓小红, 林举星, 吴芸露, 易弋, 2024. 人工养殖对尼罗罗非鱼肠道菌群的影响. *饲料研究*, 47(4): 56–62.
- CARDOSO A M, CAVALCANTE J J V, CANTÃO M E, THOMPSON C E, FLATSCHART R B, GLOGAUER A, SCAPIN S M N, SADE Y B, BELTRÃO P J M S I, GERBER A L, MARTINS O B, GARCIA E S, SOUZA W D, VASCONCELOS A T R, 2018. Metagenomic analysis of the microbiota from the crop of an invasive snail reveals a rich reservoir of novel genes. *PLoS ONE*, 7(11): e48505.
- CHEN L, LI S X, XIAO Q, LIN Y, LI X X, QU Y F, WU G G, LI H, 2021. Composition and diversity of gut microbiota in *Pomacea canaliculata* in sexes and between developmental stages. *BMC Microbiology*, 21(1): 200.
- D'ARGENIO V, SALVATORE F, 2015. The role of the gut microbiome in the healthy adult status. *Clinica Chimica Acta*, 451: 97–102.
- DULSKI T, KOZŁOWSKI K, CIESIELSKI S, 2020. Habitat and seasonality shape the structure of tench (*Tinca tinca* L.) gut microbiome. *Scientific Reports*, 10(1): 4460.
- FRANÇOIS T, HEHEMANN J H, REBUFFET E, CZJZEK M, GURVAN M, 2011. Environmental and gut bacteroidetes: the food connection. *Frontiers in Microbiology*, 2: 93.
- FLINT H J, SCOTT K P, DUNCAN S H, PETRA L, FORANO E, 2012. Microbial degradation of complex carbohydrates in the gut. *Gut Microbes*, 3(4): 289–306.
- HAYES K A, COWIE R H, THIENGO S C, STRONG E E, 2012. Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166(4): 723–753.
- JOYNSON R, JOYNSON R, PRITCHARD L, OSEMWEKHA E, FERRY N, 2017. Metagenomic Analysis of the gut microbiome of the common black slug arion ater in search of novel lignocellulose degrading enzymes. *Frontiers in Microbiology*, 8: 2181.
- KANG W, KIM P S, TAK E J, SUNG H, SHIN N R, HYUN D W, WHON T W, KIM H S, LEE J Y, YUN J H, JUNG M J, BAE J W, 2022. Host phylogeny, habitat, and diet are main drivers of the cephalopod and mollusk gut microbiome. *Animal Microbiome*, 4(1): 30.
- KANEHISA M, SATO Y, 2020. KEGG Mapper for inferring cellular functions from protein sequences. *Protein Science: a Publication of the Protein Society*, 29(1): 28–35.
- LESER T D, LARS M, 2009. Better living through microbial action: the benefits of the mammalian gastrointestinal microbiota on the host. *Environmental Microbiology*, 11(9): 2194–2206.
- LI L H, LV S, LU Y, BI D Q, GUO Y H, WU J T, YUE Z Y, MAO G Y, GUO Z X, ZHANG Y, TANG Y F, 2019. Spatial structure of the microbiome in the gut of *Pomacea canaliculata*. *BMC Microbiology*, 19(1): 273.
- LIU C H, ZHANG Y, REN Y W, WANG H C, LI S Q, JIANG F, YIN L J, QIAO X, ZHANG G J, QIAN W Q, LIU B, FAN W, 2018. The genome of the golden apple snail *Pomacea canaliculata* provides insight into stress tolerance and invasive adaptation. *GigaScience*, 7. DOI: 10.1093/giga-science/giy101.
- MA R, WANG S, ZHAO F, XU C, JI Y, SONG C, WANG Y, ZHUANG P, 2018. Comparative study on intestinal bacterial communities of *Boleophthalmus pectinirostris* and *Periophthalmus magnuspinnatus* with different sexes and feeding strategies. *Annals of Microbiology*, 68(3): 123–133.
- ROMANIL, 2024. The role of microbiome in human health and disease. *Clinica Chimica Acta*, 558(S1): 118593.
- WANG A R, CHAO R, RINGØ E, ZHOU Z G, 2018. Progress in fish gastrointestinal microbiota research. *Reviews in Aquaculture*, 10(3): 626–640.
- WU B, HUANG L, CHEN J, ZHANG Y, WANG J, HE J, 2021. Gut microbiota of homologous Chinese soft-shell turtles (*Pelodiscus sinensis*) in different habitats. *BMC Microbiology*, 21(1): 142–142.
- XU M, FANG M, YANG Y X, JAIMIE D T A, SONG H M, LUO D, MU X D, GU D E, LUO J R, HU Y C, 2016. Spatial variation in adult sex ratio across multiple scales in the invasive golden apple snail, *Pomacea canaliculata*. *Ecology and Evolution*, 6(8): 2308–2317.
- YANG Q, LIU S, HE C, COWIE R H, YU X, HAYES K A, 2019. Invisible apple snail invasions: importance of continued vigilance and rigorous taxonomic assessments. *Pest Management Science*, 75(5): 1277–1286.
- YUSA Y, KITAURA J, EACUTE, CAZZANIGA N J, 2016. Variation in the sex ratio of apple snails (*Pomacea* spp.) in their native range. *Malacologia*, 59(2): 239–245.
- ZEHR J P, KUDELA R M, 2010. Nitrogen cycle of the open ocean: from genes to ecosystems. *Annual Review of Marine Science*, 3(1): 197–225.
- ZHENG D P, LIWINSKI T, ELINAV E, 2020. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Research*, 30(S1): 492–506.