

牡蛎养殖对大鹏澳环境因子与浮游菌落扰动研究

佟 飞^{1,2}, 冯 雪¹, 袁华荣^{1,2}, 陈钰祥¹, 舒黎明^{1,2}, 刘 雁¹, 陈丕茂^{1,2}

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部南海渔业资源环境科学观测实验站/农业农村部海洋牧场重点实验室, 广东广州 510300
2. 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海), 广东珠海 519000

摘要: 为评估牡蛎养殖对典型半封闭海湾环境及其生态系统的影响, 深入理解其在海洋环境治理和修复中的地位 and 作用, 采用高通量测序技术, 对位于典型城市半封闭海湾——大鹏澳的牡蛎养殖区 4 个季节的水体菌落结构和功能变化进行了分析, 并对比了养殖区与对照区在水体和沉积物环境因子的差异特征。结果表明, 牡蛎养殖对大鹏澳水体营养盐等环境因子的扰动相对较小, 但其生物沉积作用却增强了海区总有机碳 (Total organic carbon, TOC)、硫化物 (Sulfide, Sul) 和部分重金属的富集。高通量测序结果显示, 冬季牡蛎养殖区中的绿弯菌门、脱硫杆菌门和放线菌门等菌落的相对丰度显著高于对照区 ($p < 0.05$)。冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 结果揭示了硅酸盐 (SiO_3^{2-})、海水表面温度 (Sea surface temperature, SST) 和盐度是影响冬季牡蛎养殖区与对照区水体菌落结构差异的主要环境因子。此外, 基于 FAPROTAX 模型预测的水体菌落生物地球化学功能分析表明, 冬季牡蛎养殖区细菌介导的氮 (N) 和硫 (S) 元素的生物地球化学作用显著高于对照区 ($p < 0.05$)。综上, 牡蛎养殖对大鹏澳海水菌落结构组成有一定的扰动, 但其影响程度和范围受到了理化因子的季节性变化和水文条件等综合因素的制约。同时, 牡蛎养殖也促进了 N 和 S 的生物地球化学循环。

关键词: 牡蛎养殖; 环境因子; 浮游菌落; 大鹏澳

中图分类号: S 949

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Study on disturbance of oyster culture on environmental factors and bacterioplankton in Dapeng Cove

TONG Fei^{1,2}, FENG Xue¹, YUAN Huarong^{1,2}, CHEN Yuxiang¹, SHU Liming^{1,2}, LIU Yan¹, CHEN Pimao^{1,2}

1. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Scientific Observing and Experimental Station of South China Sea Fishery Resources and Environments, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Key Laboratory of Marine Ranching, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China
2. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai), Zhuhai 519000, China

Abstract: In order to assess the environmental and ecological effects of oyster culture in typical semi-enclosed bays, as well as to elucidate the role and significance of oysters in the management and restoration of marine environments. Based on high-throughput sequencing technology, we explored the characteristics of the changes in the structure and function of water body colonies in the oyster culture area within a typical urban semi-enclosed bay (Dapeng Cove) in four seasons, and compared the characteristics of the differences in environmental factors in the water body and sediment between the culture area and the control area in the four seasons. The results indicate that oyster culture caused relatively little disturbance to environmental factors

收稿日期: 2024-06-17; 修回日期: 2024-08-29

基金项目: 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海)资助项目 (SML2023SP237); 广东省重点领域研发计划项目 (2020B1111030002); 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项目 (2023TD06)

作者简介: 佟 飞 (1988—), 男, 助理研究员, 博士, 研究方向为资源养护与海洋牧场。E-mail: tongfei@scsfri.ac.cn

通信作者: 陈丕茂 (1969—), 男, 研究员, 研究方向为海洋牧场及渔业资源保护与利用。E-mail: chenpm@scsfri.ac.cn

such as nutrients in the water of Dapeng Cove, but its biological sedimentation enhanced the enrichment of total organic carbon (TOC), sulfides (Sul), and some heavy metals in the sea area. The high-throughput sequencing results show that the relative abundance of colonies such as Chloroflexi, Desulfobacteraceae and Actinobacteria in the winter oyster culture area was significantly higher than that in the control area ($p < 0.05$). The redundancy analysis (RDA) reveals that the main environmental factors affecting bacterioplankton structure between the oyster culture area and the control area in winter were SiO_3^{2-} , sea surface temperature (SST) and salinity. The results of biogeochemical function of water colonies predicted based on the FAPROTAX model show that the biogeochemical effects of nitrogen (N) and sulfur (S) mediated by bacteria in the oyster culture area in winter were significantly higher than those in the control area ($p < 0.05$). In conclusion, oyster culture causes certain disturbances to the bacterial structure and composition of seawater in Dapeng Cove, but its degree and scope of influence are constrained by a combination of factors such as seasonal changes in physical and chemical factors and hydrological conditions. Furthermore, oysters culture facilitates the biogeochemical cycling of elements such as nitrogen and sulfur.

Keywords: Oyster culture; Environmental factors; Bacterioplankton; Dapeng Cove

牡蛎可通过高效的滤食作用去除水体中的浮游生物,从而改善水质,在为人类供给优质食物蛋白的同时提供了生态系统服务功能^[1]。近年来,国内外针对牡蛎增养殖与环境生态相互作用的研究逐渐增多^[2-3]。Ray 和 Fulweiler^[4]的研究表明,牡蛎通过刺激菌落的反硝化作用降低了环境中的氮(N)负荷,有效地促进了海洋生态系统的营养循环;Labrie 等^[5]也发现牡蛎筏式养殖通过微生物反硝化作用和牡蛎收获可显著提高永久性氮的去除率,并指出反硝化作用的强弱与牡蛎养殖区的氮沉降、底层水体溶解氧含量、营养盐浓度的年际和季节波动显著相关;Pan 等^[6]通过分析钦州湾牡蛎养殖区营养盐浓度、叶绿素 *a* (Chl *a*) 和同位素的季节变化特征,揭示其通过增强沉积物中浮游植物同化-牡蛎过滤和反硝化作用的耦合,促进了水体中营养盐的去除;此外,牡蛎的收获也可直接将水体的 N、磷(P)等生源要素从水体脱离,降低了水体营养盐负荷^[7]。

牡蛎筏式养殖是现代化海洋牧场的重要组成部分,然而,其对近岸海洋生态环境的影响尚有争议。Cerco 和 Noel^[8]认为牡蛎对上层水体的修复能力有限,建议将牡蛎修复作为减少营养负荷的补充措施之一,而不是替代措施。随着牡蛎养殖密度的增加,其对周围环境产生了一系列不良影响^[9],包括栖息地入侵^[10]、改变当地的水文特征^[11]和沉积环境特征^[12]、溶珊瑚弧菌(*Vibrio coralliilyticus*)交叉感染珊瑚^[13]并改变浮游生物群落的结构与功能等^[14]。Ray 和 Fulweiler^[4]认为引入或重新引入牡蛎到近岸生态系统可能会带来负面的生态影响,尤其是为了环境或资源修复而使用了非本地土著物种的水生生物。近期研究表明,双壳贝类养殖可能成为二氧化碳(CO₂)的汇,促使人们探索将其纳入碳排

放市场^[15]。因此,牡蛎在海洋生态环境中的作用和地位,至今仍是国内的研究热点。

近海牡蛎增养殖业经常受到污水排放、海洋工程建设等人为扰动的影响,且牡蛎病害时有发生^[16],这些因素明显改变了牡蛎养殖区微生物的结构与功能。在人类活动密集、营养物质丰富的地区,常出现大量的病原体指示菌,例如粪大肠菌群或肠球菌(*Enterococcus* sp.)^[17]。环境微生物作为一种有效的监测手段,常用于探索和评估牡蛎养殖对海区生态系统健康状况的影响。但目前环境微生物在半封闭城市海湾内的牡蛎增养殖系统中所起的作用与地位尚不明确,也不清楚牡蛎的高滤食效率是否对水体中的菌落结构和功能产生了长期影响。为此,本研究采用高通量测序技术,对半封闭城市海湾内牡蛎养殖区4个季节的水体菌落功能变化进行分析,并结合海区水体与沉积物的理化特征,探究了牡蛎养殖对海区水体菌落特征的影响,为牡蛎养殖对生态系统潜在影响的评估及海水养殖管理策略的制定提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 研究区域

本研究在深圳市东部的大鹏澳海域进行,研究区域为一个受亚热带季风影响的半封闭海湾,面积约 10 km²,每年 10 月至次年 4 月受东北季风影响,而 5—9 月则以西南季风为主,年平均潮差 0.49 m,海区的水体流速较低(2~6 cm·s⁻¹),主要受到 2 种类型的季节性环流影响,即夏季的气旋环流以及秋、冬和春季的反气旋环流^[18]。大鹏澳 3 条入海河流流量大小为王母河>龙歧河>南涌河^[19]。为探究牡蛎养殖对海区微生物群落的影响,本研究将

海区南部有葡萄牙牡蛎 (*Crassostrea angulata*) 养殖筏架分布的 9 个调查站位设为牡蛎养殖区, 北部其他 9 个站位设为对照区 (图 1)。筏式养殖区面积约 2 km², 每年分 2 个周期进行筏式吊绳增养殖, 分别在夏、冬季进行投苗与收获, 每个牡蛎壳体上约附着 10~20 个蚝卵, 每根绳子上约 20 个牡蛎壳, 每条吊绳长 3 m, 绳间隔约 30 cm, 近年年产量约为 6.6×10^4 t, 牡蛎养殖区约占调查海湾面积的 1/5。

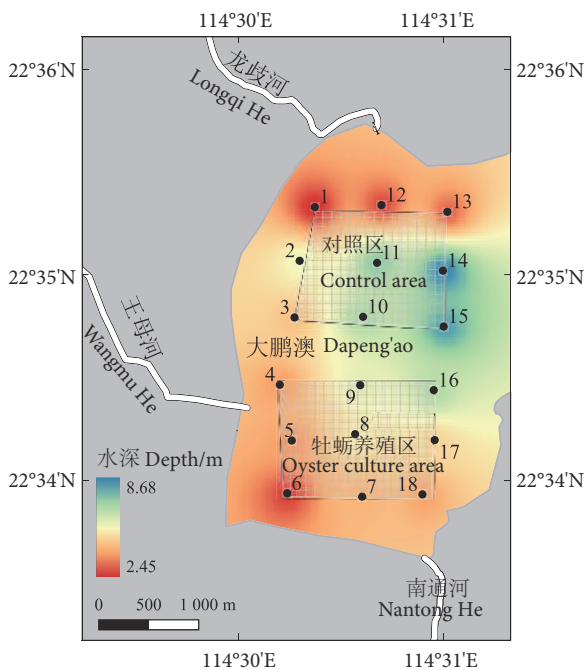


图1 取样站位布设示意图

Fig. 1 Schematic diagram of sampling station layout

1.2 样品采集

本研究从 2020 年 11 月持续至 2021 年 8 月, 在春季 (5 月)、夏季 (8 月)、秋季 (11 月) 和冬季 (2 月), 进行了 4 个航次的调查。调查站位均匀覆盖了整个大鹏澳海域, 合计 18 个采样点, 每个采样点间距约为 600 m。使用尼斯金采样器收集水样。由于海湾内水深小于 10 m (平均 5.2 m), 在每个采样点采取表层水样。水样采集后, 通过预酸清洗和预燃烧 (500 °C, 5 h) 的 0.22 μm 孔径 Whatman GF/F 过滤器, 过滤约 1 000 mL 水样。滤膜立即放入液氮罐中保存, 待进一步进行高通量测序。将滤液收集在 500 mL 经过酸预清洗过的聚乙烯瓶中, 低温保存, 24 h 内运回实验室并立即进行水体营养盐分析。

使用便携式叶绿素 *a* 荧光测试仪 (Aquafluor, Turner Designs, 美国) 测定叶绿素 *a* 浓度, 使用便

携式 CTD (CastAway, YSI, 美国) 测量海水表面温度 (Sea surface temperature, SST)、海水底温 (Bottom sea temperature, BST)、盐度与深度, 使用便携式浊度计 (WZB-175, 雷磁) 分析海水的浊度 (Tur), 使用便携式水质分析仪 (6600EDS, YSI, 美国) 测定 pH 与溶解氧 (DO)。按照《海洋监测规范第 4 部分: 海水分析》(GB 17378.4—2007) 与《海洋调查规范第 4 部分: 海水化学要素调查》(GB/T 12763.4—2007), 使用分光光度计测定铵态氮 (NH₄⁺)、硝态氮 (NO₃⁻)、亚硝态氮 (NO₂⁻)、硅酸盐 (SiO₃²⁻)、化学需氧量 (Chemical oxygen demand, COD) 和可溶性活性磷酸盐 (Soluble reactive phosphate, SRP), 检出限分别为 0.000 7 mg·L⁻¹、0.000 7 mg·L⁻¹、0.000 3 mg·L⁻¹、0.1 μmol·L⁻¹、0.15 mg·L⁻¹ 和 0.02 μmol·L⁻¹。每个样品进行 3 次重复测定, 重复测定样品的相对标准偏差 (RSD) 小于 5%。

使用抓斗式沉积物采样器 (Van Veen, OSIL, 丹麦) 一式三份采取各站位的表层沉积物 (0~10 cm), 用 2 mm 的网筛分沉积物样品以去除结石和植物根部, 然后密封在无菌塑料袋中^[20]。沉积物中的总有机碳 (Total organic carbon, TOC) 采用重铬酸钾氧化-还原容量法测定, 总氮 (TN) 采用凯氏滴定法测定, 总磷 (TP) 采用分光光度法测定, 硫化物 (Sul) 采用亚甲基蓝分光光度法测定。通过原子吸收分光光度计 (Z-2010, 日立, 日本) 法评估沉积物中的重金属 [铜 (Cu)、铅 (Pb)、锌 (Zn)、砷 (As)、汞 (Hg) 和镉 (Cd)]。用原子荧光光度计 (AFS-8520, 北京海光) 测定 As 和 Hg。沉积物样品均按照《海洋监测规范第 5 部分: 沉积物分析》(GB 17378.5—2007) 进行收集、保存、运输和检测, 沉积物粒径 (Sediment grain size, SGS) 按照《海洋调查规范第 8 部分: 海洋地质地球物理调查》(GB/T 12763.8—2007) 采用筛析法进行分析。

1.3 PCR 扩增和高通量 MiSeq 测序

本研究采用改良的 CTAB 法提取水体样品总基因组 DNA^[20]。用 1% (w) 琼脂糖凝胶检测 DNA 的浓度和纯度。根据浓度用无菌水将 DNA 稀释至 1 ng·L⁻¹。使用带有条形码的特异性引物 (338F—806R) 扩增 16S rDNA 基因的 V3—V4 可变区^[21]。所有 PCR 反应均使用试剂盒制成 20 μL 的反应体系 (High-Fidelity PCR Master Mix, 英格兰生物实验室, 英国), 其中包括 0.8 μL 的上、下游引物和约

10 ng 的模板 DNA。反应条件设置参考 Fang 等^[21]的研究, 反应结束后, 在 2% (w) 琼脂糖凝胶上进行电泳检测。将 PCR 产物等比例混合。然后使用凝胶回收试剂盒 (Qiagen, 希尔登, 德国) 对 PCR 产物进行纯化^[22]。使用 Quantus™ 荧光计 (Promega, 麦迪逊, 美国) 对 DNA 进行定量。

PCR 纯化产物送测序公司, 在 Illumina MiSeq 平台上对文库进行测序, 得到 250 bp 的双端序列。

1.4 数据处理与统计分析

使用 QIIME (V1.9.1) 软件分析原始序列读数。去除短于 200 bp、质量控制得分低于 20 以及条形码或引物中不匹配的序列。使用 UPARSE 7.0 软件对相似度为 97% 的序列进行聚类 (Operational Taxonomic Unit, OTU), 并使用 UCHIME 识别和删除嵌合序列。使用 RDP (V2.13) 基于 SILVA (V138) 软件对每个样本的序列进行分类注释。对于下游分析, 保留至少在 3 个样本中的测序序列数 ≥ 5 的 OTU, 并去除比对到叶绿体 (Chloroplast) 和线粒体 (Mitochondria) 序列的 OTU。

计算样本的 Alpha 多样性 (Shannon, Simpson, Chao 1, Shannoneven), 统计不同季节水体之间的差异。使用置换多元方差分析 (Permutational multivariate analysis of variance, PERMANOVA) 和相似性分析 (Analysis of similarities, ANOSIM) 研究微生物群落结构的时空差异。通过非度量多维尺度分析 (Non-metric multidimensional scaling, NMDS) 可视化分析群落的相似性。使用 Kruskal-Wallis (KW) 检验分析统计学差异, 事后检验采用 Tukey-kramer 检验, $p < 0.05$ 为差异显著。实验数据以 “平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$)” 表示。

使用 R (V4.2.1) vegan 包中冗余分析 (Redundancy analysis, RDA) 评估菌落与环境因子之间的关系。利用 LEfSe (LDA effect size) 基于非参数 KW 检测不同组间的物种相对丰度差异, 进而获得显著差异的标志物种, 运用 LEfSe (Linear discriminant analysis effect size) 分析估计这些差异物种对组间差异的影响大小。使用 Networkx (V3.1) 分别分析水样品中细菌共生网络关系 (Spearman ≥ 0.7 , $p < 0.05$)。以上运算主要借助美吉云平台开展计算 (<https://www.majorbio.com>)。利用 FAPROTAX 模型预测水体中微生物的生物化学过程 [碳 (C)、N 和硫 (S) 循环], 并基于 Wilcoxon 秩和检验统计

并绘制差异分析柱形图。

2 结果

2.1 牡蛎养殖区与对照区理化因子差异特征

t 检验的结果表明 (表 1), 牡蛎养殖区水体环境因子年度均值中, 仅浊度显著高于对照区, 两区域其他水体环境因子 [SST、盐度、 NH_4^+ 、 NO_3^- 、无机氮 (DIN)、SPR、 SiO_3^{2-} 、Chl *a* 和 DO] 均无显著性差异; 牡蛎养殖区沉积物的 TOC、Sul、Cd、Pb、Cu、Zn 和 Cr 均显著高于对照区 ($p < 0.05$, 表 2), 而 SGS 显著低于对照区。从季节上看, 水体春季 SST、盐度、Chl *a* 和 DO, 夏季 SRP 和硅磷比 (Si/P), 秋季 Si/P, 冬季 SST、盐度、Tur 有显著性差异 ($p < 0.05$); 牡蛎养殖区沉积物中的 TOC、Pb、Cu、Zn 在各个季节均显著高于对照区 ($p < 0.05$)。

2.2 牡蛎养殖区与对照区菌落分类学特征

牡蛎养殖区与对照区的水体中以黄杆菌科、蓝藻科、红杆菌科和 γ -变形菌纲的哈里菌科等为优势科 (图 2), 占水体总科类群的 60% 以上。牡蛎养殖区与对照区水体 OTU 分布如图 3 所示, 牡蛎养殖区的水体 OTU 平均数量 (1 436 个) 高于对照区 (1 310 个)。两区域共有的 OTU 数量为 1 124 个, 占总 OTU 的 69.30%。

2.3 牡蛎养殖区与对照区菌落结构特征

基于 Wilcoxon 秩和检验的统计分析结果表明, 牡蛎养殖区与对照区水体的菌落年度整体的 α 多样性差异不显著 ($p > 0.05$); 两区域水体仅在冬季有显著性差异 (Shannon 和 Chao, $p < 0.05$) (表 3), 牡蛎养殖区的 Shannon 多样性和 Chao 丰富度具有显著性差异, 但 Invsimpson 与 Shannoneven 指数差异不显著。

基于 Bray-Curtis 距离 (OTU 水平) 的 PCoA 分析结果表明, 从年度整体来看, 牡蛎养殖区和对照区的水体菌落结构无显著性差异, 仅在冬季牡蛎养殖区与对照区间水体中的菌落结构 (OTU 水平) 存在显著性差异 (ANOSIM, $r=0.26$, $p=0.004$) (图 4)。

采用 Wilcoxon 秩和检验进一步分析冬季牡蛎养殖区与对照区浮游菌落的差异特征 (门水平), 统计结果表明, 冬季两区域平均相对丰度前 15 的门中, 水体的浮游菌落有 7 个门具有显著性差异 ($p < 0.05$), 牡蛎养殖区中的绿弯菌门、脱硫杆菌门和酸杆菌门等显著高于对照区 (图 5)。

表1 大鹏澳牡蛎养殖区与对照区水体与沉积物水环境因子 *t* 检验分析

Table 1 Analysis of water environment factors by *t*-test between oyster culture area and control area in Dapeng Cove

水环境因子 Water environment factor	牡蛎养殖区 Oyster culture area	对照区 Control area	<i>p</i> 值 <i>p</i> -value				
			年均 Annual mean	春 Spring	夏 Summer	秋 Autumn	冬 Winter
海水表面温度 SST/℃	25.94±3.34	26.04±3.45	0.900	0.005**	0.444	0.166	0.009**
盐度 Salinity/‰	32.96±1.00	33.03±0.97	0.749	0.036*	0.510	0.738	0.003**
铵态氮 NH ₄ ⁺ /(mg·L ⁻¹)	0.10±0.04	0.10±0.04	0.813	0.720	0.113	0.555	0.650
硝态氮 NO ₃ ⁻ /(mg·L ⁻¹)	0.09±0.02	0.09±0.02	0.871	0.523	0.609	0.248	0.330
可溶性无机氮 DIN/(mg·L ⁻¹)	0.19±0.04	0.18±0.04	0.764	0.927	0.25	0.89	0.830
可溶性活性磷酸盐 SPR/(μg·L ⁻¹)	6.13±2.34	6.53±2.85	0.521	0.159	0.006**	0.168	0.338
硅酸盐 SiO ₃ ²⁻ /(mg·L ⁻¹)	0.12±0.06	0.11±0.06	0.664	0.288	0.313	0.054	0.555
硅磷比 Si/P	25.29±16.89	25.73±18.83	0.916	0.105	0.032*	0.030*	0.478
化学需氧量 COD/(mg·L ⁻¹)	0.95±0.43	0.98±0.45	0.827	0.742	0.773	0.520	0.678
叶绿素 <i>a</i> Chl <i>a</i> /(μg·L ⁻¹)	0.87±0.55	0.78±0.62	0.529	0.001**	0.826	0.653	0.329
溶解氧 DO/(mg·L ⁻¹)	7.51±0.76	7.63±0.57	0.418	0.037*	0.618	0.682	0.914
浊度 Turbidity/NTU	5.37±2.12	4.44±1.65	0.021*	0.066	0.224	0.122	0.040*

注：* 代表存在显著性差异 (* . *p*<0.05; ** . *p*<0.01; *** . *p*<0.001); *n*=36。

Note: * represents significant differences (* . *p*<0.05; ** . *p*<0.01; *** . *p*<0.001); *n*=36.

表2 大鹏澳牡蛎养殖区与对照区沉积物环境因子 *t* 检验分析

Table 2 Analysis of sediment environment factors by *t*-test between oyster culture area and control area in Dapeng Cove

沉积物环境因子 Sediment environment factor	牡蛎养殖区 Oyster culture area	对照区 Control area	<i>p</i> 值 <i>p</i> -value				
			年均 Annual mean	春 Spring	夏 Summer	秋 Autumn	冬 Winter
总有机碳 TOC/%	1.15±0.44	0.56±0.25	<0.001***	0.003**	0.003**	0.006**	0.007**
总氮 TN/%	0.13±0.06	0.11±0.05	0.0550	0.413	0.201	0.284	0.073
总磷 TP/%	0.21±0.06	0.19±0.08	0.257	0.413	0.08	0.047*	0.983
碳氮比 C/N	12.33±12.33	8.43±9.15	0.133	0.258	0.546	0.007**	0.007**
硫化物 Sulfide/(mg·kg ⁻¹)	67.72±70.03	24.99±20.65	<0.001***	0.220	0.052	0.092	0.109
镉 Cd/(mg·kg ⁻¹)	0.04±0.04	0.03±0.02	0.022*	0.213	0.179	0.430	0.100
铅 Pb/(mg·kg ⁻¹)	44.54±18.05	19.64±9.08	<0.001***	0.021*	<0.001***	<0.001***	<0.001***
铜 Cu/(mg·kg ⁻¹)	34.81±15.54	8.16±4.98	<0.001***	0.005**	<0.001***	0.001**	<0.001***
锌 Zn/(mg·kg ⁻¹)	83.32±34.79	38.66±20.08	<0.001***	0.003**	0.001**	0.002**	0.012*
铬 Cr/(mg·kg ⁻¹)	63.54±21.41	40.79±21.95	<0.001***	0.013*	0.633	<0.001***	<0.001***
沉积物粒径 Sediment grain size/mm	0.01±0.01	0.02±0.02	<0.001***	0.064	0.734	0.104	0.190

注：* 代表存在显著性差异 (* . *p*<0.05; ** . *p*<0.01; *** . *p*<0.001); *n*=36。

Note: * represents significant differences (* . *p*<0.05; ** . *p*<0.01; *** . *p*<0.001); *n*=36.

2.4 牡蛎养殖区与对照区菌落结构差异的环境驱动因子

冗余分析 (RDA) 揭示了冬季水体牡蛎养殖区

与对照区菌落特征的关系 (图 6)，所调查的水环境因子在 OTU 水平上的前两轴共解释了总方差的 47.78%。冬季水体中驱动牡蛎养殖区与对照区菌落

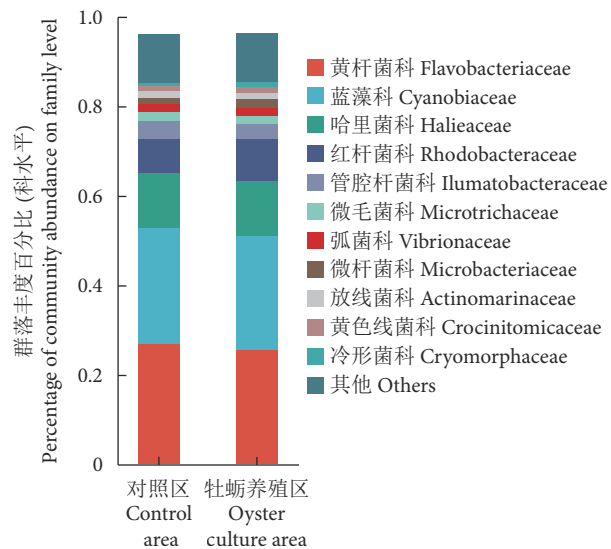


图2 牡蛎养殖区与对照区的水体中浮游细菌科水平的百分含量分布柱状图

Fig. 2 Bar plot of bacterioplankton percentage distribution between oyster culture area and control area on family level

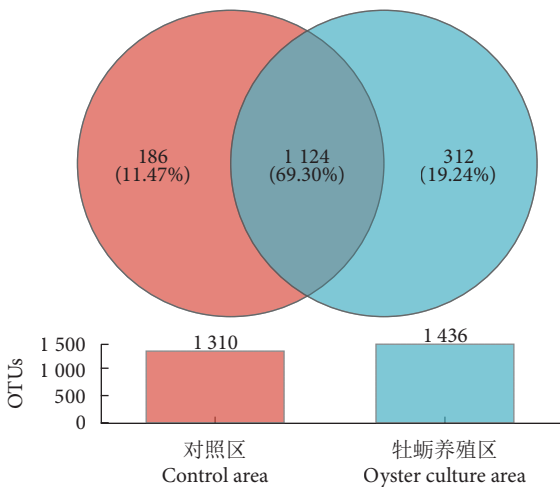


图3 牡蛎养殖区与对照区的水体菌落 OTU 水平 Venn 图

Fig. 3 Venn plots of OTU levels in water body colonies between oyster culture area and control area

结构差异主要的环境因子为 SiO_3^{2-} 、SST、盐度、pH、 NH_4^+ 和 DO。

2.5 牡蛎养殖区与对照区菌落的生物地球化学功能差异

根据 FAPROTAX 的功能注释, 冬季牡蛎养殖区与对照区的水体菌落共比出 67 个生物地球化学循环相关功能, 其中化能异养、需氧化能异养的相对丰度较高, 占全部预测功能丰度的 85%。67 个相关功能中, 有 11 个在两区域间有显著性差异 (Wilcoxon 秩和检验, $p<0.05$) (图 7)。对照区的需氧化能异养与暗氢氧化显著高于牡蛎养殖区, 而牡蛎养殖区的硝酸盐还原、发酵、硫酸盐呼吸、硫

表3 冬季牡蛎与对照区水体浮游菌落 α 多样性
Table 3 Alpha diversity of bacterioplankton in water body between oyster culture area and control area in winter

多样性指数 Diversity index	牡蛎养殖区 Oyster culture area	对照区 Control area	p 值 p-value
Shannon	3.14±0.15	2.91±0.12	0.01
Chao	458.65±101.09	344±43.01	0.01
Invsimpson	11.11±1.67	9.77±1.65	0.13
Shannoneven	0.55±0.01	0.53±0.02	0.13

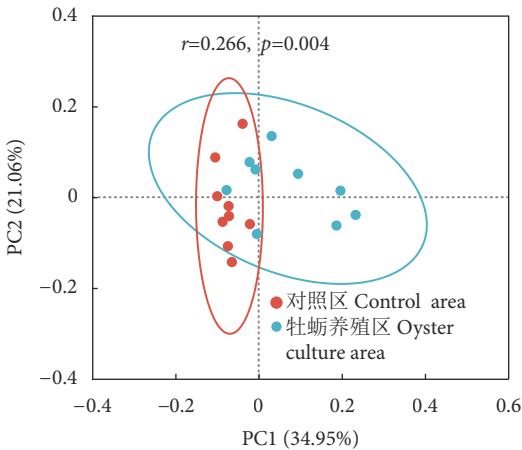


图4 冬季牡蛎养殖区与对照区水体浮游菌落 PCoA 分析 (OTU 水平)

Fig. 4 PCoA analysis of bacterioplankton in water body between oyster culture area and control area in winter (OTU level)

化物的暗氧化和硫代硫酸盐呼吸等显著高于对照区 ($p<0.05$)。

3 讨论

3.1 牡蛎养殖对海区环境因子的扰动

贝类筏式养殖场通常设在风浪较小、水动力较弱的海域, 但高密度、集约化的水产养殖可能会因残饵与排泄物的积累而引起海区环境因子的变化^[23]。例如, 爱尔兰基拉里港筏式养殖的贻贝 (*Mytilus edulis*) 每年向海区排放的 C 与 N 分别为 8.5 和 1.1 $\text{kg}\cdot\text{hm}^{-2}$ ^[24]。中国黄渤海沿岸养殖的贻贝每年向海区排放约 101 t 的 N 和 15.5 t 的 P^[23]。牡蛎通过直接排泄和生物沉积物矿化作用产生的 NH_4^+ , 经过氧化作用, 可能会将大量的 NO_3^- 释放到水体中^[17]。而本研究发现, 4 个季节的牡蛎养殖区与对照区水体的 NH_4^+ 、 NO_3^- 、 SiO_3^{2-} 和 COD 均无显著性差异, 表明大鹏澳海域的牡蛎筏式养殖对半封闭海湾水体营养盐浓度的扰动相对较小。本研究还发现, 夏季牡蛎养殖区的 SPR 显著高于对照区。这可能是由于夏季水温高, 牡蛎代谢旺盛, 生

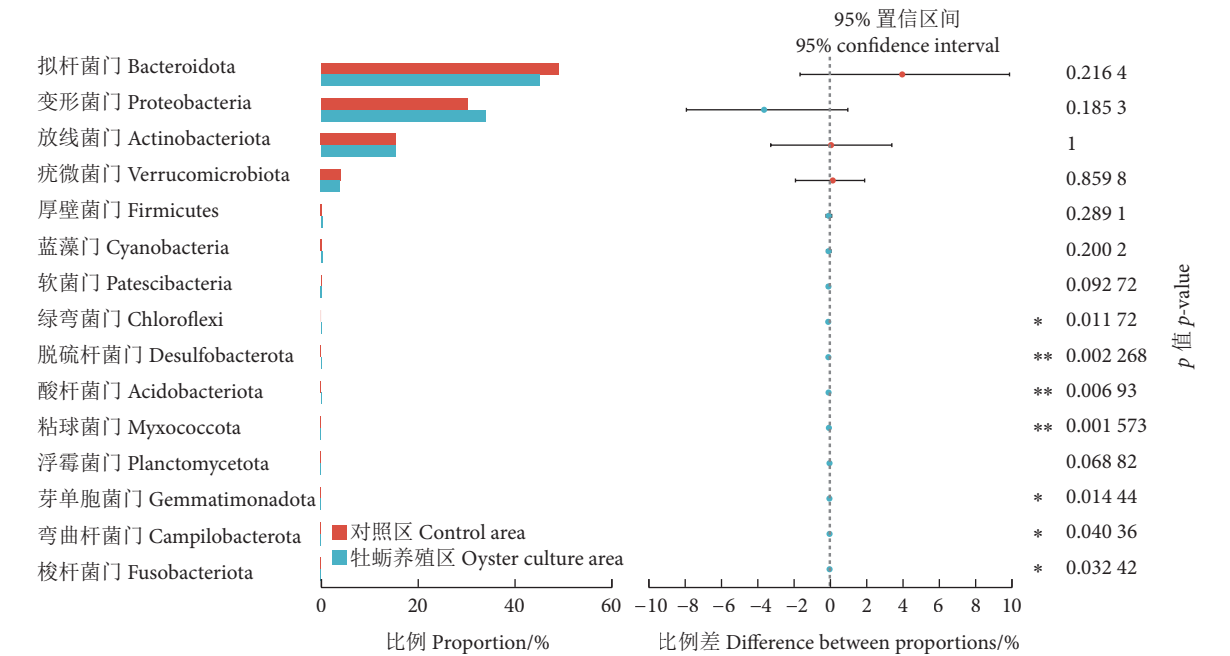


图5 冬季牡蛎养殖区与对照区水体浮游菌落差异检验柱状图(门水平)
注: * 代表存在显著性差异 (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$)。

Fig. 5 Wilcoxon rank-sum test bar plot for bacterioplankton in water body between oyster culture area and control area in winter (Phylum level)
Note: * represents significant differences (*, $p<0.05$; **, $p<0.01$; ***, $p<0.001$).

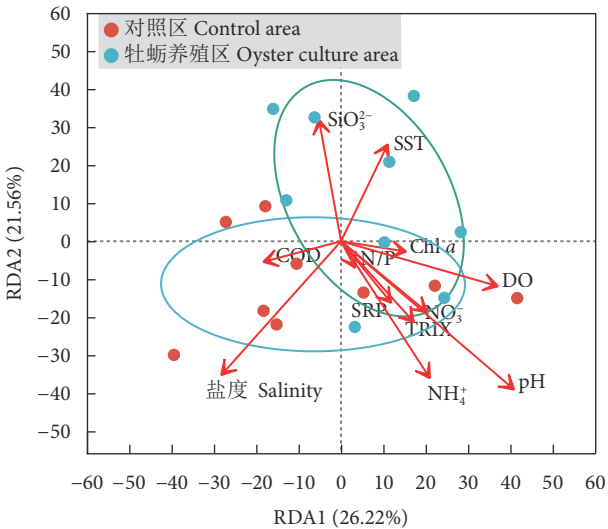


图6 冬季牡蛎养殖区与对照区水体浮游菌落与环境因子 RDA 分析(OTU 水平)
注: 椭圆为 95% 的置信区间; SST. 海水表面温度; DO. 溶解氧; Chl a. 叶绿素 a; NH₄⁺. 铵态氮; NO₃⁻. 硝态氮; SiO₃²⁻. 硅酸盐; COD. 化学需氧量; SRP. 可溶性活性磷酸盐。

Fig. 6 RDA analysis of bacterioplankton and environmental factors in water body between oyster culture area and control area in winter (OTU level)
Note: Ellipse represents 95% confidence interval; SST. Sea surface temperature; DO. Dissolved oxygen; Chl a. Chlorophyll a; NH₄⁺. Ammonium nitrogen; NO₃⁻. Nitrate nitrogen; SiO₃²⁻. Silicate; COD. Chemical oxygen demand; SRP. Soluble reactive phosphate.

物沉积的矿化作用增强^[25],从而提高了水体中的 SPR 浓度;同时,夏季雨水较多,牡蛎养殖区附近

王母河的磷酸盐通量高于对照区的龙歧河^[26-27],这也可能是导致 SPR 浓度差异的原因之一。本研究还表明,除了对水体营养盐的扰动外,牡蛎筏式养殖还可能影响海区的浊度。在春、夏与秋季,由于海区水动力条件较好,牡蛎养殖区与对照区的浊度差异不显著,而在水动力较弱的冬季^[28],两区域的浊度差异显著。这可能是因为筏式养殖降低了海区水体流速,导致在冬季水动力条件较差时,水体中的颗粒悬浮物停留时间延长,使水体浊度显著增加^[11,29]。

贝类养殖对海区环境影响的主要因素是其生物沉积作用,以及由此导致的养殖水域营养盐滞留^[23]。本研究结果显示,牡蛎养殖区沉积物中的 TOC 显著高于对照区,这很可能是由于牡蛎滤食后的粪便和假粪等生物沉积物,显著增加了沉积物中 TOC 的含量。这一结果与 Xu 等^[30]在广西茅尾海的研究结果相吻合。此外,牡蛎的生物沉积作用可能对海区的碳循环过程产生了显著性影响。牡蛎养殖区沉积物中的 Sul 也显著高于对照区,这与多项先前的研究结果一致^[31-33]。有研究指出,随着牡蛎养殖区的撤离,酸挥发性硫化物的浓度会迅速下降^[34],这主要由于牡蛎的生物沉积作用提高了海区 TOC、Sul 等含量,促进了沉积物中颗粒有机物

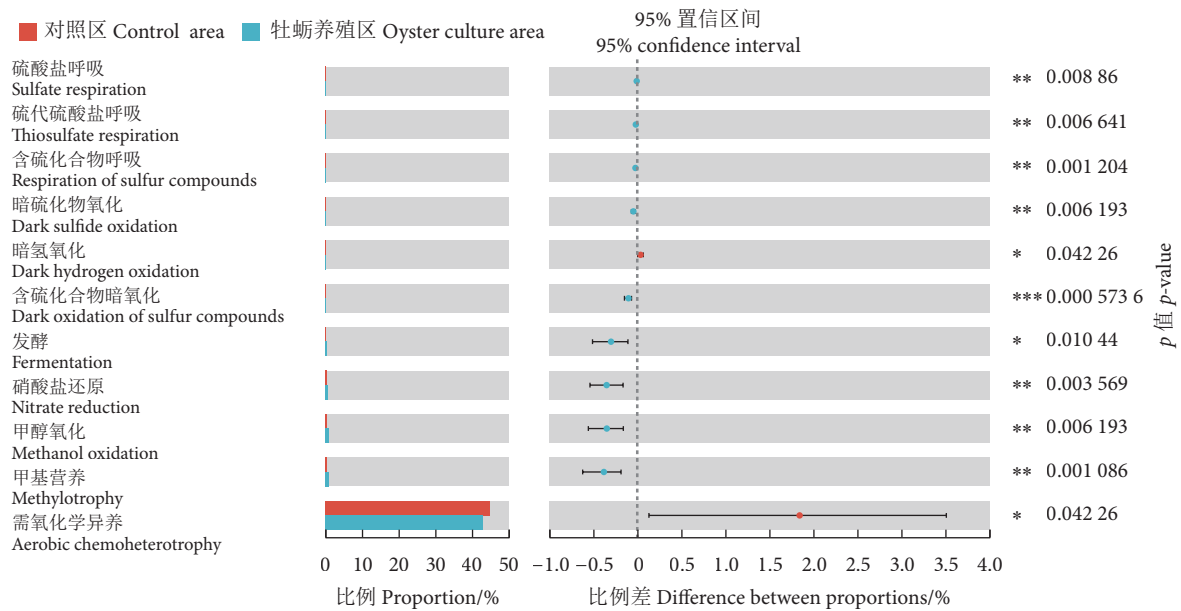


图7 冬季牡蛎养殖区与对照区水体中菌落潜在生物地球化学功能差异

注: * 代表存在显著性差异 (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$)。

Fig. 7 Analysis of potential biogeochemical functional differences of bacterioplankton in water body between oyster culture area and control area in winter

Note: * represents significant differences (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $P < 0.001$).

中 C、N 等元素的降解与利用, 而硫化物由于不易被微生物利用, 因此在沉积物中滞留^[35]。此外, 本研究发现牡蛎养殖区沉积物中 Cd、Zn 和 Cr 等重金属元素含量显著增加, 这与 Liu 等^[36]在象山港褶牡蛎 (*Crassostrea plicatula*) 研究中观察到的生物沉积显著提高了沉积物中重金属含量的结果一致。这可能由于牡蛎对重金属有较强的富集效应, 而其组织对重金属的富集能力有限^[37], 超出这一能力的重金属将随着生物沉积一起沉积在海底; 牡蛎的滤食和生物沉积作用, 可能改变了沉积物的粒径, 导致沉积物中的重金属含量与沉积物粒径呈负相关, 而与有机物含量呈正相关^[38]。由于假粪等生物沉积物中具有较高的比表面积和有机物含量, 这些细颗粒可能会吸收更多的重金属^[39]。另一方面, 牡蛎养殖区沉积物中的高 Sul 改变了大型底栖生物和菌落的结构^[40-41], 减少了沉积物中大型底栖生物和菌落的生物扰动, 以及对重金属的富集作用, 导致牡蛎养殖区沉积物中重金属含量增加。

3.2 牡蛎养殖对海区浮游菌落结构及其潜在生物地球化学功能的扰动

牡蛎作为滤食性贝类, 其选择性滤食行为可能直接影响浮游生物的生物量与群落结构^[42]。牡蛎养殖海区的营养盐浓度和比例差异, 也会引起浮游

生物群落结构的相应改变^[43]。在年度尺度上, 牡蛎养殖区与对照区的水体菌落优势种之间的差异不显著, 这可能与水体的介质属性有关。大鹏澳牡蛎养殖区和对照区水体间的浮游菌落能够通过水体流动实现有效的动态交换。尽管有研究指出, 牡蛎代谢排泄的氨氮等无机和有机废物, 以及生物沉积物经过矿化后进入水体, 会刺激水体营养盐的变化, 从而引起局部“上行效应”^[44], 改变周围海水中的微生物群落^[45], 但是这种影响可能在时间与空间上均有限。在水动力较强的季节 (春、夏和秋季), 大鹏澳海域主要受潮汐作用影响^[19], 局域波动的菌落可能被流动的海水迅速扩散稀释到邻近海域, 因此并未观察到牡蛎养殖区与对照区水体浮游菌落的显著性差异。而在水交换较弱的冬季^[28], 牡蛎养殖区与对照区水体浮游菌落结构出现显著性差异。细菌群落的结构特征显著受到环境因素影响^[46], RDA 分析进一步揭示了环境因子在冬季对牡蛎养殖区与对照区水体菌落特征的驱动作用 (图 6), 其中 SiO_3^{2-} 、SST、盐度和 NH_4^+ 等是影响菌落结构差异的主要环境因子。本研究表明, 在水动力较弱的条件下, 牡蛎养殖区的浮游菌落易受到氮负荷如 NH_4^+ 等的影响, 进而改变水体菌落的结构。

本研究利用 FAPROTAX 模型对冬季调查海区

的菌落生物地球化学功能进行了预测,牡蛎养殖区与对照区之间的生物地球化学循环对比结果表明,牡蛎养殖活动增强了冬季水体菌落硝酸盐还原和硫酸盐呼吸等与 N、S 循环相关的功能过程。Yan 等^[35]发现牡蛎养殖可显著富集海区中的 S 和铁 (Fe) 循环相关的微生物,与本研究观察到牡蛎养殖区中的脱硫杆菌门、绿弯菌门、厚壁菌门和 Sva0485 显著高于对照区的结果相符。这可能是由于牡蛎养殖区为反硝化菌落提供不稳定的碳源,促进了反硝化硝酸作用^[47]。同时,菌落生物地球化学功能的显著性差异,较好响应了环境中显著富集的 TOC、硫酸盐以及重金属等环境因子的变化。总之,牡蛎养殖可能通过扰动海区水体中的菌落结构特征,影响当地的生物地球化学循环^[48],这些结果同时也进一步支持了牡蛎养殖可能影响当地的反硝化、厌氧氨氧化和硝酸盐异化还原成铵过程的观点^[5,32]。

4 结论

本研究通过监测海区浮游菌落结构的动态变化特征,评估了大鹏澳海区在牡蛎养殖影响下水体和沉积物的扰动情况,有助于深入理解牡蛎养殖在海湾环境中的作用和地位。本研究发现,牡蛎养殖改变了水体浊度,通过其生物沉积加剧了海区 TOC、Sul 和部分重金属的聚集。高通量测序结果进一步显示,牡蛎养殖对海水菌落结构产生了一定影响,但这种影响的程度和范围受到季节性理化因子变化和水文条件等因素的限制。此外,牡蛎养殖通过浮游菌落的介导作用,促进了海区 N 与 S 等元素的生物地球化学循环。研究表明,单个季度的调查难以全面揭示牡蛎养殖区与环境的相互作用,通过不同季节的监测和评估,可更全面地理解牡蛎养殖区对水环境的影响。下一步将结合宏基因组等先进技术,进行月度监测与评估,以更准确地反映牡蛎养殖对海湾环境的影响。

参考文献:

- [1] MARTÍNEZ-BAENA F, LANHAM B S, MCLEOD I M, et al. Remnant oyster reefs as fish habitat within the estuarine seascape[J]. *Mar Environ Res*, 2022, 179: 105675.
- [2] 邓云龙, 曹煜成, 徐煜, 等. 贝、藻耦合对集约化养殖尾水的净化效果研究[J]. *南方水产科学*, 2023, 19(5): 113-122.
- [3] 杨小彤, 叶灵通, 卢洁, 等. 广东近岸海域贝类寄生派琴虫流行病学调查研究[J]. *南方水产科学*, 2022, 18(1): 128-134.
- [4] RAY N E, FULWEILER R W. Meta-analysis of oyster impacts on coastal biogeochemistry[J]. *Nat Sustain*, 2021, 4(3): 261-269.
- [5] LABRIE M S, SUNDERMEYER M A, HOWES B L. Quantifying the effects of floating oyster aquaculture on nitrogen cycling in a temperate coastal embayment[J]. *Estuar Coast*, 2023, 46(2): 494-511.
- [6] PAN K, LAN W L, LI T S, et al. Control of phytoplankton by oysters and the consequent impact on nitrogen cycling in a subtropical bay[J]. *Sci Total Environ*, 2021, 796: 149007.
- [7] CLEMENTS J C, COMEAU L A. Nitrogen removal potential of shellfish aquaculture harvests in eastern Canada: a comparison of culture methods[J]. *Aquac Rep*, 2019, 13: 100183.
- [8] CERCO C, NOEL M. Can oyster restoration reverse cultural eutrophication in Chesapeake Bay?[J]. *Estuaries Coasts*, 2007, 30(2): 331-343.
- [9] OKUMURA Y, MASUDA Y, MATSUTANI M, et al. Influence of oyster and seaweed cultivation facilities on coastal environment and eukaryote assemblages in Matsushima Bay, northeastern Honshu, Japan[J]. *Front Mar Sci*, 2023, 9: 1022168.
- [10] HOSACK G R, DUMBAULD B R, RUESINK J L, et al. Habitat associations of estuarine species: comparisons of intertidal mudflat, seagrass (*Zostera marina*), and oyster (*Crassostrea gigas*) habitats[J]. *Estuar Coast*, 2006, 29(6): 1150-1160.
- [11] GAURIER B, GERMAIN G, KERVELLA Y, et al. Experimental and numerical characterization of an oyster farm impact on the flow[J]. *Eur J Mech B-FLUIDS*, 2011, 30(5): 513-525.
- [12] COMEAU L A, MALLET A L, CARVER C E, et al. Impact of high-density suspended oyster culture on benthic sediment characteristics[J]. *Aquac Eng*, 2014, 58: 95-102.
- [13] USHIJIMA B, RICHARDS G P, WATSON M A, et al. Factors affecting infection of corals and larval oysters by *Vibrio coralliilyticus*[J]. *PLoS One*, 2018, 13(6): e0199475.
- [14] NEWELL R I E, KEMP W M, III J D H, et al. Top-down control of phytoplankton by oysters in Chesapeake Bay, USA: comment on Pomeroy et al. (2006)[J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 2007, 341: 293-298.
- [15] PERNET F, DUPONT S, GATTUSO J P, et al. Cracking the myth: bivalve farming is not a CO₂ sink[J/OL]. *Rev Aquac*, [2024-08-31]. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/raq.12954>.
- [16] 张卓, 李政菊, 江天久. 大鹏澳海域麻痹性贝类毒素时空动态变化特征[J]. *海洋环境科学*, 2018, 37(6): 808-812.
- [17] ROSE J M, BRICKER S B, TEDESCO M A, et al. A role for shellfish aquaculture in coastal nitrogen management[J]. *Environ Sci Technol*, 2014, 48(5): 2519-2525.
- [18] RAO Y Y, CAI L Z, CHEN B W, et al. How do spatial and environmental factors shape the structure of a coastal macrobenthic community and meroplanktonic larvae cohort? Evidence from Daya Bay[J]. *Mar Pollut Bull*, 2020, 157: 111242.
- [19] 郑利涛. 深圳大亚湾水质模拟与风险扩散预测研究[D]. 天津: 天津大学, 2022: 25-51.
- [20] PIERANGELI G M F, DOMINGUES M R, CHOUERI R B, et al. Spatial variation and environmental parameters affecting the

- abundant and rare communities of bacteria and archaea in the sediments of tropical urban reservoirs[J]. *Microb Ecol*, 2022, 86: 297-310.
- [21] FANG G J, YU H L, SHENG H X, et al. Comparative analysis of microbial communities between water and sediment in Laoshan Bay marine ranching with varied aquaculture activities[J]. *Mar Pollut Bull*, 2021, 173: 112990.
- [22] RAJEEV M, SUSHMITHA T J, TOLETI S R, et al. Sediment-associated bacterial community and predictive functionalities are influenced by choice of 16S ribosomal RNA hypervariable region(s): an amplicon-based diversity study[J]. *Genomics*, 2020, 112(6): 4968-4979.
- [23] 崔毅, 陈碧鹃, 陈聚法. 黄渤海海水养殖自身污染的评估[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(1): 180-185.
- [24] RODHOUSE P G, RODEN C M, HENSEY M P, et al. Production of mussels, *mytilus edulis*, in suspended culture and estimates of carbon and nitrogen flow: Killary Harbour, Ireland[J]. *J Mar Biol Assoc U K*, 1985, 65(1): 55-68.
- [25] 沈雨欣, 李书杰, 李希磊, 等. 海湾扇贝养殖自身污染对养殖海区生态环境的影响[J]. *渔业研究*, 2018, 40(4): 324-328.
- [26] 孙丽华, 陈浩如, 彭云辉, 等. 大亚湾大鹏澳周边河流中营养盐的分布及入海通量的估算[J]. *台湾海峡*, 2003, 22(2): 211-217.
- [27] 任秀文, 姜国强, 刘爱萍, 等. 大亚湾主要入海河流污染物通量估算研究[C]//2013 中国环境科学学会学术年会论文集 (第四卷). 昆明: 中国环境科学学会, 2013: 1055-1064.
- [28] 孙振宇, 陈照章, 杨龙奇, 等. 大亚湾及周边海区潮流和余流的季节变化特征[J]. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 2020, 59(2): 278-286.
- [29] CAMPBELL M D, HALL S G. Hydrodynamic effects on oyster aquaculture systems: a review[J]. *Rev Aquac*, 2019, 11(3): 896-906.
- [30] XU C, YANG B, DAN S F, et al. Spatiotemporal variations of biogenic elements and sources of sedimentary organic matter in the largest oyster mariculture bay (Maowei Sea), Southwest China[J]. *Sci Total Environ*, 2020, 730: 139056.
- [31] LACOSTE É, GAERTNER-MAZOUNI N. Nutrient regeneration in the water column and at the sediment-water interface in pearl oyster culture (*Pinctada margaritifera*) in a deep atoll lagoon (Ahe, French Polynesia)[J]. *Estuar Coast Shelf Sci*, 2016, 182: 304-309.
- [32] ERLER D V, WELSH D T, BENNET W W, et al. The impact of suspended oyster farming on nitrogen cycling and nitrous oxide production in a sub-tropical Australian estuary[J]. *Estuar Coast Shelf Sci*, 2017, 192: 117-127.
- [33] AZANDÉGBÉ A, POLY F, ANDRIEUX-LOYER F, et al. Influence of oyster culture on biogeochemistry and bacterial community structure at the sediment-water interface[J]. *FEMS Microbiol Ecol*, 2012, 82(1): 102-117.
- [34] SIM B R, KIM H C, KANG S, et al. Geochemical indicators for the recovery of sediment quality after the abandonment of oyster *Crassostrea gigas* farming in South Korea[J]. *Korean J Fish Aquat Sci*, 2020, 53(5): 773-783.
- [35] YAN Q, SONG J T, ZHOU J, et al. Biodeposition of oysters in an urbanized bay area alleviates the black-malodorous compounds in sediments by altering microbial sulfur and iron metabolism[J]. *Sci Total Environ*, 2022, 817: 152891.
- [36] LIU Q, LIAO Y B, ZHU J H, et al. Influence of biodeposition by suspended cultured oyster on the distributions of trace elements in multiple media in a semi-enclosed bay of China[J]. *J Hazard Mater*, 2023, 443: 130347.
- [37] SHULKIN V M, PRESLEY B J, KAVUN V. Metal concentrations in mussel *Crenomytilus grayanus* and oyster *Crassostrea gigas* in relation to contamination of ambient sediments[J]. *Environ Int*, 2003, 29(4): 493-502.
- [38] LIANG J, LIU J, XU G, et al. Distribution and transport of heavy metals in surface sediments of the Zhejiang nearshore area, East China Sea: sedimentary environmental effects[J]. *Mar Pollut Bull*, 2019, 146: 542-551.
- [39] PING X Y, ZHANG H, JIANG Y Z, et al. Sediment properties and benthic fauna associated with stock enhancement and farming of marine bivalve populations in Xiangshan Bay, China[J]. *Aquac Res*, 2023, 2023: e4729267.
- [40] YAN Q, JIA Z P, SONG J T, et al. Oyster culture changed the phosphorus speciation in sediments through biodeposition[J]. *Environ Res*, 2023, 216: 114586.
- [41] LIAO Y B, LIU Q, SHOU L, et al. The impact of suspended oyster farming on macrobenthic community in a eutrophic, semi-enclosed bay: implications for recovery potential[J]. *Aquaculture*, 2022, 548: 737585.
- [42] LAVRENTYEV P J, GARDNER W S, YANG L. Effects of the zebra mussel on nitrogen dynamics and the microbial community at the sediment-water interface[J]. *Aquat Microb Ecol*, 2000, 21(2): 187-194.
- [43] LIU W, BAO Y L, LI K J, et al. The diversity of planktonic bacteria driven by environmental factors in different mariculture areas in the East China Sea[J]. *Mar Pollut Bull*, 2024, 201: 116136.
- [44] AULADELL A, BARBERÁN A, LOGARES R, et al. Seasonal niche differentiation among closely related marine bacteria[J]. *ISME J*, 2022, 16(1): 178-189.
- [45] VEZZULLI L, STAGNARO L, GRANDE C, et al. Comparative 16S rDNA gene-based microbiota profiles of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*) and the Mediterranean mussel (*Mytilus galloprovincialis*) from a shellfish farm (Ligurian Sea, Italy)[J]. *Microb Ecol*, 2018, 75(2): 495-504.
- [46] FANG G J, YU H L, SHENG H X, et al. Seasonal variations and co-occurrence networks of bacterial communities in the water and sediment of artificial habitat in Laoshan Bay, China[J]. *PeerJ*, 2022, 10: e12705.
- [47] ASHLEY R S, MICHAEL F P, JONATHAN H G. Habitat context influences nitrogen removal by restored oyster reefs[J]. *J Appl Ecol*, 2015, 52(3): 716-725.
- [48] AYVAZIAN S, MULVANEY K, ZARNOCH C, et al. Beyond bio-extraction: the role of oyster-mediated denitrification in nutrient management[J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55(21): 14457-14465.