

DOI:10.3969/j.issn.2096-8248.2024.04.001

循环率对循环水凡纳滨对虾养殖系统水质和细菌群落组成的影响*

翟 玮^{1,3}, 孔祥青², 陈 钊^{3,4}, 丁祝进¹, 葛红星¹, 常志强^{3,4}

(1. 江苏海洋大学 海洋科学与水产学院, 江苏 连云港 222005; 2. 日照市东港区渔业技术推广站, 山东 日照 276827;
3. 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室(中国水产科学研究院黄海水产研究所), 山东 青岛 266071;
4. 青岛海洋科技中心 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266237)

摘要:为探究循环率对循环水凡纳滨对虾养殖系统水质和细菌群落组成结构的影响,分别设置10次/d(低循环率,LC)、15次/d(中循环率,MC)、20次/d(高循环率,HC)3个不同水循环率的试验系统并连续运行33d,期间监测并分析凡纳滨对虾生长、养殖系统水质和细菌群落变化情况。结果表明,各试验组凡纳滨对虾的生长无明显差异。LC,MC和HC组亚硝酸盐氮最高质量浓度分别为2.48,2.07,1.89 mg·L⁻¹,高循环率条件下的亚硝酸盐氮去除效率更高。菌群多样性随循环率的升高而降低。LC,MC和HC组对虾的存活率分别为61%,73.6%和79%。变形菌门(Proteobacteria)和拟杆菌门(Bacteroidetes)为生物滤池中两大优势菌群,LC,MC和HC组中变形菌门相对丰度占比分别为32.34%,36.91%和38.44%,变形菌门和拟杆菌门占比随循环率的升高而升高。生物滤池中起硝化作用的细菌主要是亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、硝化球菌属(*Nitrococcus*)和硝化螺旋菌属(*Nitrospira*)。高循环率的循环水系统水质更好,对虾存活率更高。

关键词:凡纳滨对虾;水循环率;水质;细菌群落;多样性

中图分类号:S966 文献标志码:A 文章编号:2096-8248(2024)04-0001-08

引用格式:翟玮,孔祥青,陈钊,等.循环率对循环水凡纳滨对虾养殖系统水质和细菌群落组成的影响[J].江苏海洋大学学报(自然科学版),2024,33(4):1-8.

Effects of Circulation Rate on Water Quality and Bacterial Community Composition in a Recirculating Aquaculture System for *Litopenaeus vannamei*

ZHAI Wei^{1,3}, KONG Xiangqing², CHEN Zhao^{3,4}, DING Zhujin¹, GE Hongxing¹, CHANG Zhiqiang^{3,4}

(1. School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China;
2. Fishery Technology Promotion Station, Donggang District of Rizhao City, Rizhao 276827, China;
3. State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 4. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao Marine Science and Technology Center, Qingdao 266237, China)

Abstract: In order to investigate effects of circulation rates on water quality and bacterial community structure of a recirculating aquaculture system for *Litopenaeus vannamei*, three different water circulation rates, LC (daily circulation rate of 10), MC (daily circulation rate of 15) and HC (daily circulation rate of 20), were set and run for 33 days. The changes of shrimp growth performance, water quality and bacterial community composition were analyzed during the study

* 收稿日期:2024-04-01;修订日期:2024-05-01

基金项目:国家重点研发计划专项课题(2023YFD2401704);国家虾蟹产业技术体系项目(CARS-48);中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2023TD50)

作者简介:翟玮(1998—),男,江苏泰州人,硕士研究生,研究方向为水产养殖,(E-mail)weizhai@jou.edu.cn。

通信作者:常志强(1976—),男,山东青岛人,研究员,研究方向为水产养殖,(E-mail)changzq@ysfri.ac.cn。

period. The results showed that the highest concentrations of LC, MC, and HC were 2.48, 2.07, and 1.89 mg · L⁻¹, respectively, during shrimp recirculating water aquaculture. The study demonstrated that the removal efficiency of the system for nitrite concentration was accelerated with the increase of the water recirculation rate. The diversity of biofilm microorganisms decreased with the increase of water circulation rate. The survival rates of shrimp in LC, MC and HC groups were 61%, 73.6% and 79%, respectively. Proteobacteria and Bacteroidetes were the two dominant phylum in the experimental systems, and the relative abundance of *Proteobacteria* in LC, MC, and HC groups was 32.34%, 36.91%, and 38.44%, respectively. The proportion of *Proteobacteria* and *Bacteroidetes* increased with the increase of circulation rate. The nitrifying bacteria were mainly *Nitrosomonas*, *Nitrococcus*, and *Nitrospira*. A high recirculation rate water recirculation system was better for water quality and shrimp survival.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; water circulation rate; water quality; bacterial community; diversity

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)肉质鲜美、营养丰富,在全球水产品贸易中占有重要地位,是养殖产量最高的对虾品种^[1]。对虾养殖过程中通常需要投喂大量的饲料^[2-3],在传统的池塘养殖模式中残饵、粪便容易积累,造成水体氨氮、亚硝酸盐等有害氮化合物超标^[4-6],影响水质稳定和对虾生长^[7],进而引发对虾病害的传播和蔓延。

循环水养殖是一种现代、高效、环保的水产养殖模式^[8],目前主要应用于海、淡水鱼类养殖生产中^[9],也有部分关于凡纳滨对虾养殖生产的应用报道^[10]。生物滤池是循环水养殖系统中的重要功能单元,其中的微生物群落扮演着重要角色^[11],它们参与了有机物降解和水体氮循环^[12]等关键过程,能够净化水质^[13],维护养殖系统的稳定生产^[14]。微生物可以将养殖水体中的氨氮转化为亚硝酸盐,进而转化为对养殖动物危害较小的硝酸盐^[15],从而完成氨氮、亚硝酸盐等有害物质的去除过程,此过程主要通过硝化细菌和反硝化细菌等微生物来完成。生物滤池的效率取决于附着滤料上的微生物群落和丰度。因此,监测生物滤池中的细菌群落和多样性可以提供关键信息,帮助人们评估生物滤池的性能和稳定性,有助于循环水系统的设计和运行。

循环水养殖通过水质净化处理和循环利用,在提高水产养殖效率的同时显著减少了环境污染,其中水循环率是表征循环水养殖系统运行管理状态的关键参数,影响着水质、系统稳定和养殖效果^[8]。已有的针对大菱鲆等海水鱼循环水养殖系统的研究结果表明,不同的水循环率会影响生物滤池中微生物群落组成的多样性和丰富度^[16],进而影响水质稳定性和动物生长^[17]。然而,虾类和鱼类在摄食、消化、游泳、栖

息等生物学特性上以及对氨氮、亚硝酸盐等有害化合物的耐受性方面有明显差异。因此,虾类和鱼类循环水养殖系统的水循环率设定往往也不相同^[18-19]。

本试验通过设计3个不同的水循环率,连续33 d监测循环水对虾养殖系统的水质指标动态变化情况,并采用高通量测序方法分析生物滤池中微生物群落的组成情况,以期揭示水循环率对循环水对虾养殖系统中微生物群落组成多样性和功能特征的影响。研究结果能够为进一步优化循环水对虾养殖系统运行管理技术提供科学依据,对于促进对虾养殖的绿色可持续发展具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 试验设计

试验在山东省东营市中朗海洋科技有限公司8-1车间进行。采用3套中型循环水对虾养殖试验系统,每套系统由养殖桶(1个,0.8 m³水体)、生物滤池(1个,0.4 m³水体,K5多孔填料体积0.08 m³,持续曝气)、微型过滤器(1套,40目,0.005 m³)、提水泵(1台,30 W,4 m³/h)、管道系统和供氧系统组成(见图1)。试验用水为超滤海水,盐度29~30。正式试验开始时,在3套系统的养殖桶中分别投放平均体质量(0.7±0.1)g的凡纳滨对虾500尾,密度即625尾/m³,每日分4次(6:00, 11:00, 16:00, 21:00)投喂人工配合饲料(粗蛋白含量43%),初始投喂量为体质量的7%,日增6%,并根据摄食情况调整。试验前3 d养殖水体不循环,待对虾适应环境之后开启循环,3套系统分别设定不同的水循环率:低(LC,日循环10次)、中(MC,日

循环15次)、高(HC,日循环20次),水流速分别为0.4,0.6,0.8 m³/h。试验期共计33 d。



图1 凡纳滨对虾循环水养殖系统

Fig. 1 Recirculating aquaculture system for *L. vannamei*

1.2 样品采集与处理

试验期间,每3 d于上午9:00使用便携式多参数水质分析仪(YSI 556MPS,美国)测量各试验系统养殖水体的温度、盐度、pH和溶解氧(DO)等参数,并在生物滤池的进水口采集水样100 mL,经孔径0.45 μm的滤膜过滤后,用于检测氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐等水质指标。氨氮采用靛酚蓝分光光度法,亚硝酸盐采用N-(1-萘基)-乙二胺分光光度法,硝酸盐采用紫外分光光度法进行测定。每7 d随机采集各试验系统生物滤池中的K5填料样品10个,用灭菌的剪刀和镊子剪取约0.25 g填料样品置于5 mL冻存管,-20 °C保存,用于微生物DNA提取和测序分析。

1.3 对虾生长性能测定

分别于试验开始和结束时记录各试验系统养殖桶中存活的凡纳滨对虾的数量,计算试验期间对虾的存活率(survival rate, SR)。同时,随机选择30尾对虾测量个体质量,计算试验期间对虾的特定生长率(specific growth rate, SGR),并结合试验期间的饲料摄取量,计算试验期间对虾养殖的饲料系数(feed conversion ratio, FCR)。计算公式为

$$\text{存活率} = N_t \times 100 / N_0,$$

$$\text{特定生长率} = (\ln W_t - \ln W_0) \times 100 / t,$$

$$\text{饲料系数} = F_0 / (W_t - W_0)。$$

式中: N_0 , N_t 分别为对虾养殖开始和结束时的数量; W_0 , W_t 分别为对虾的平均初、末质量; t 为养殖试验时间(d); F_0 为饲料摄取量。

1.4 高通量测序

使用TIANamp Genomic DNA Kit试剂盒(Tian Gen)提取细菌样本的DNA,并利用质量分数1%琼脂糖凝胶电泳检测DNA的纯度和浓度。通

过PCR(ABI GeneAmp®9700型)对V3—V4可变区进行扩增,扩增引物为515F(5'—CCTAYGGGRBG-CASCAG—3')和806R(5'—GGACTACNNGGG-TATCTAAT—3')。PCR扩增程序为98 °C预变性1 min,30个循环(98 °C变性10 s;50 °C退火30 s;72 °C延伸15 s),72 °C充分延伸7 min。PCR产物经质量分数2%琼脂糖凝胶电泳检测,使用E. Z. N. A.®胶回收试剂盒(Omega USA)回收PCR产物。NanoDrop 2000检测胶回收产物质量(Thermo USA),合格后送至天津诺禾致源生物信息科技有限公司,使用Illumina Miseq PE250平台进行测序。

1.5 多样性分析

使用Trimmomatic软件将测序获得的原始序列进行质控和过滤。使用Flash软件根据原始序列之间的重叠关系进行双端序列拼接,用Uchinme程序剔除嵌合体。使用Uparse算法根据97%的相似性对非重复序列的操作分类单位(operational taxonomic units, OTU)进行聚类。基于OTU聚类分析结果,使用ribosomal database project (RDP) Classifier程序参照细菌Silva数据库对OTU代表性序列进行分类注释和分析,设置置信阈值为0.7,并在门和属分类水平上对样本的细菌多样性进行统计。使用Qiime软件分析不同组样品Alpha和Beta多样性。

1.6 数据处理和统计分析

采用Excel和Origin 2019软件进行数据处理,结果使用平均值±标准差(means±SD)表示。使用ANOVA进行方差分析, $P < 0.05$ 表示显著性差异。

2 结果

2.1 对虾生长状况

整个试验期间,凡纳滨对虾的存活和生长状况如表1所示。LC, MC和HC试验组对虾的存活率分别为61%, 73.6%和79%;LC, MC和HC试验组对虾的特定生长率(SGR)分别为5.44%, 5.07%和5.03%;LC, MC和HC试验组对虾的饲料系数(FCR)分别为1.14, 1.34和1.36。

表1 试验对虾的存活和生长状况

Table 1 Survival and growth status of the experimental shrimp

分组	初体质量/g	末体质量/g	存活率/%	SGR/%	FCR
LC	0.7	4.97	61.0	5.44	1.14
MC	0.7	4.35	73.6	5.07	1.34
HC	0.7	4.29	79.0	5.03	1.36

2.2 循环水系统水质情况

试验期间,凡纳滨对虾的养殖系统水质指标如表2所示。LC,MC和HC组养殖水体的温度、溶解氧、盐度、pH均无显著性差异($P>0.05$)。

表2 养殖水体水质指标

Table 2 Water quality indicators for aquaculture water

分组	温度/°C	溶解氧 DO/ ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	盐度	pH
LC	29.08 ± 1.88	6.51 ± 0.30	29.81 ± 0.46	8.02 ± 0.35
MC	29.22 ± 1.65	6.61 ± 0.38	29.58 ± 0.41	8.07 ± 0.38
HC	29.58 ± 1.27	6.59 ± 0.41	29.70 ± 0.49	8.10 ± 0.45

LC,MC和HC组养殖水体的氨氮质量浓度在33d试验期间的变化情况如图2所示。养殖过程中,LC,MC和HC3个组在养殖水体中的氨氮质量浓度变化趋势基本一致,且氨氮质量浓度始终保持较低水平,最高质量浓度水平为 $0.19 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。LC,MC和HC氨氮的最终质量浓度分别是 0.19 、 0.17 和 $0.17 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。

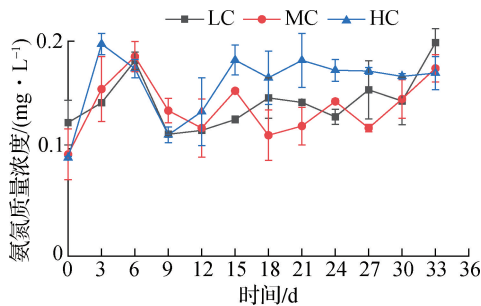


图2 养殖过程中氨氮质量浓度的变化情况

Fig. 2 Changes of ammonia-nitrogen concentrations during the breeding process

LC,MC和HC组养殖水体的亚硝酸盐氮质量浓度在33d试验期间的变化情况如图3所示。在养殖过程中,LC,MC和HC3个组在养殖水体中的亚硝酸盐氮质量浓度变化趋势基本一致。0~9d,养殖水体的亚硝酸盐氮质量浓度呈上升趋势,在养殖第9d亚硝酸盐氮质量浓度达到峰值,LC组为 $2.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,MC组为 $2.07 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HC组为 $1.89 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HC组显著低于LC和MC组($P<0.05$),之后亚硝酸盐氮质量浓度呈下降趋势,且逐渐平缓。LC组亚硝酸盐氮的最终质量浓度为 $0.52 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,MC组亚硝酸盐氮的最终质量浓度为 $0.48 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HC组亚硝酸盐氮的最终质量浓度为 $0.28 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HC组亚硝酸盐氮最终质量浓

度显著低于LC和MC组($P<0.05$)。

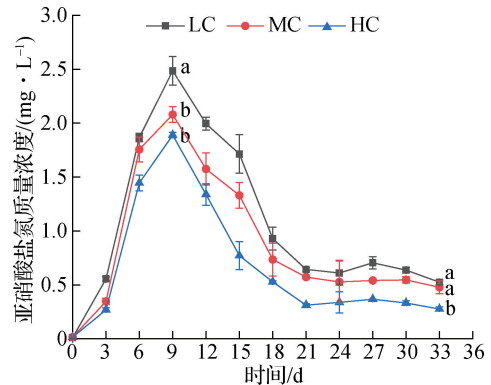


图3 养殖过程中亚硝酸盐氮质量浓度的变化情况

Fig. 3 Changes of nitrite concentrations during the breeding process

LC,MC和HC组养殖水体的硝酸盐氮质量浓度在33d试验期间的变化情况如图4所示。LC,MC和HC3个组在养殖水体中的硝酸盐氮质量浓度变化趋势基本一致。0~9d,LC,MC和HC组硝酸盐氮质量浓度均缓慢上升,之后持续升高。LC,MC和HC组最终硝酸盐氮质量浓度为 12.49 、 13.4 和 $15.47 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,HC组硝酸盐氮最终质量浓度显著高于LC与MC组($P<0.05$)。

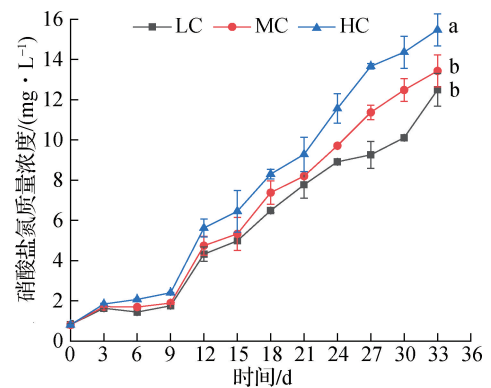


图4 养殖过程中硝酸盐氮质量浓度的变化情况

Fig. 4 Changes of nitrate nitrogen concentrations during the breeding process

2.3 生物滤池细菌多样性与群落组成

2.3.1 Alpha多样性 测序结果显示,样本共产生3518277条有效序列,平均有效序列数目为83769条,平均序列长度为418bp,16S rRNA测序聚类获得3816个OTU。生物膜样品细菌群落Alpha多样性指数如表3所示。依据生物反应器测序数据量

与对应的物种数来构建稀释曲线如图 5 所示,各曲线末端趋向平坦,说明在当前的数据量下,已经检测到系统中大部分的物种,符合后续分析要求。Alpha 多样性指数分析结果显示,相比较于 MC 和 HC 组,LC 组的丰富度指数(Chao1)和多样性指数

(Ace)更大,即代表养殖末期 LC 组的微生物丰富度指数最高,HC 组的微生物丰富度指数最低。与 LC 和 HC 组相比,MC 组香浓指数(Shannon)和辛普森指数(Simpson)更大,说明 MC 组微生物物种多样性最高。

表 3 生物膜细菌群落 Alpha 多样性指数
Table 3 Alpha diversity index of biofilm bacterial community

分组	Alpha 多样性指数			
	丰富度指数 Chao1	多样性指数 Ace	香农指数 Shannon	辛普森指数 Simpson
LC	835.49±22.02	848.31±18.99	6.79±0.02 ^{ab}	0.97±0.00 ^{ab}
MC	810.64±38.98	821.01±37.18	6.85±0.12 ^a	0.98±0.00 ^a
HC	783.74±9.58	791.68±14.33	6.50±0.00 ^b	0.97±0.00 ^b

注:同一列数据上标不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

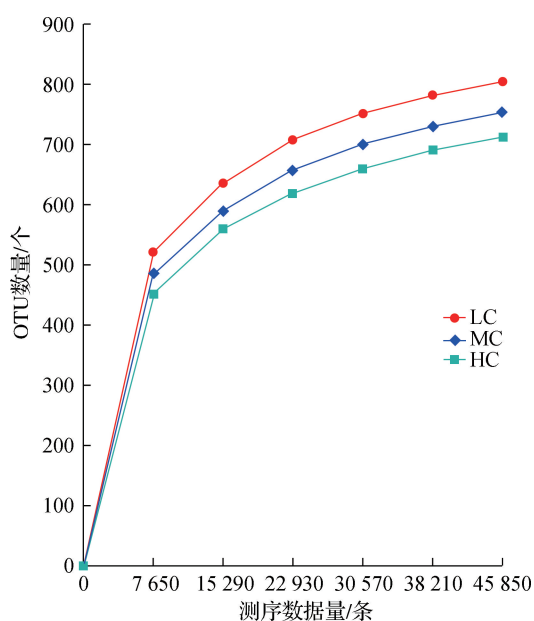


图 5 养殖后期生物反应器基于 OTU 构建的稀释曲线
Fig. 5 Dilution curves for OTU-based construction of late-stage bioreactors in aquaculture

2.3.2 Beta 多样性 通过 Bray-Curtis 距离算法对 3 组(LC,MC 和 HC 组)生物滤池生物膜菌群进行 Beta 多样性分析,并以 PCoA 为手段,对 3 组(LC,MC 和 HC 组)生物滤池生物膜微生物群落进行分析。结果显示,同一水循环率下两点是比较靠近的,甚至出现交叠现象(MC 组),不同水循环率生物膜的微生物群落组成总体上可以明显看出是分开的,说明生物滤池中不同水循环率的细菌群落组成不同(如图 6 所示)。

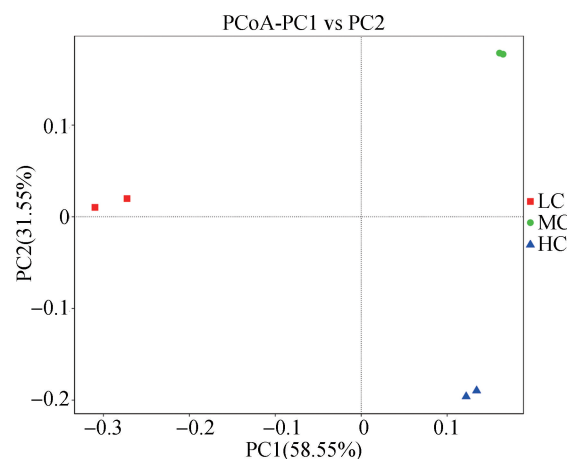


图 6 基于 Bray-Curtis 距离对 3 组(LC,MC 和 HC)的生物膜菌群进行 PCoA 分析
Fig. 6 PCoA analysis of biofilm flora in three groups (LC, MC, HC) based on Bray-Curtis distance

2.3.3 细菌群落结构组成 Venn 分析结果显示,在 OTU 水平上,LC,MC 和 HC 组样本微生物共有的 OTU 数量为 395(见图 7)。LC 独有的 OTU 数量为 218,MC 独有的 OTU 数量为 174,HC 独有的 OTU 数量为 140。LC 与 MC 共有的 OTU 数量为 504,MC 与 HC 共有的 OTU 数量为 483,HC 与 LC 共有的 OTU 数量为 474。上述结果表明,LC,MC 和 HC 组生物滤池中存在微生物差异性与重叠性。

在门分类水平上,生物膜细菌群落主要由变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidetes)、脱硫杆菌门(Desulfobacterota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、粘球菌门(Myxococcota)组成,5 个门在群落中所占比例约为 75%。其中,LC 中变形菌门、拟杆菌门、脱硫杆菌门为优势菌门(相对丰度 $> 10\%$);

LC 中变形菌门相对丰度占比为 32.34%，拟杆菌门相对丰度占比为 17.75%，脱硫杆菌门相对丰度占比为 15.18%。MC 中变形菌门、拟杆菌门、绿弯菌门、粘球菌门为优势菌门；MC 中变形菌门相对丰度占比为 36.91%，拟杆菌门相对丰度占比为 18.33%，绿弯菌门相对丰度占比为 11.53%，粘球菌门相对丰度占比为 11.32%。HC 中变形菌门和拟杆菌门为优势菌门；HC 中变形菌门相对丰度占比为 38.44%，拟杆菌门相对丰度占比为 26.89% (见图 8)。由图 8 可知，不同水循环率的前两大优势菌门均为变形菌门与拟杆菌门，并且变形菌门和拟杆菌门的相对丰度占比随水循环率升高而升高。

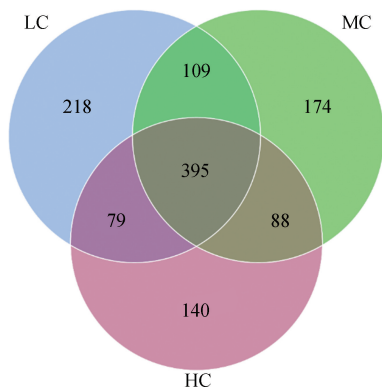


图 7 养殖后期基于 OTU 构建的韦恩图

Fig. 7 Wayne diagram constructed based on OTU in the late stage of breeding

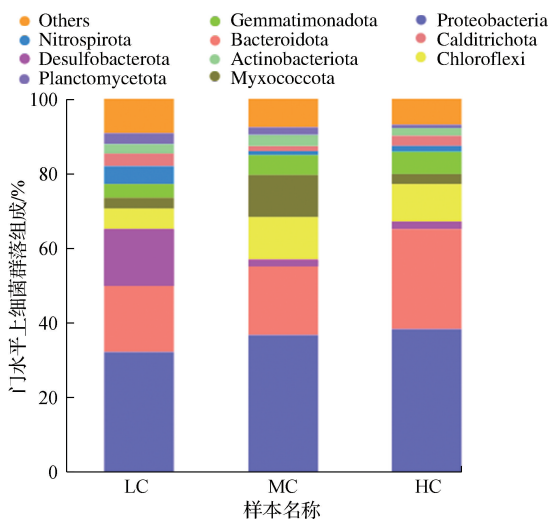


图 8 养殖后期生物膜细菌在门水平上的分类组成

Fig. 8 Taxonomic composition of biofilm bacteria at the phylum level in the late stage of breeding

在属分类水平上(见图 9), Others 表示图中显示的属水平之外的其他所有属的相对丰度之和 (75%)。LC 组的亚硝化单胞菌属(*Nitrosomonas*)、

硝化螺菌属(*Nitrospira*)、眉藻属(*Calothrix*)为优势菌群;MC 组的亚硝化单胞菌属、硝化球菌属(*Nitrococcus*)、*Taeaga* 为优势菌群;HC 组的亚硝化单胞菌属、硝化球菌属、*Tagaea* 为优势菌群。有 3 种硝化细菌被检测到,分别为硝化球菌属、亚硝化单胞菌属和硝化螺菌属。

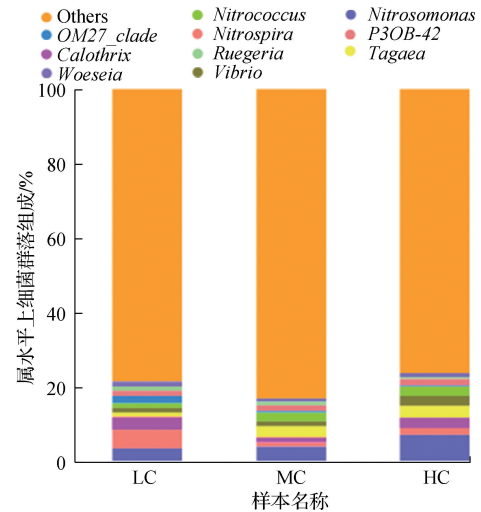


图 9 养殖后期生物膜细菌在属水平上的分类组成

Fig. 9 Taxonomic composition of biofilm bacteria at the genus level in late stage of breeding

试验期间,具有硝化功能的细菌(属水平)群落分布如表 4 所示。LC,MC 和 HC 组的亚硝化单胞菌属和硝化球菌属的相对丰度随着水循环率的提高而增加,硝化螺菌属在 LC 组中占比较高,达到 4.82%,在 MC 和 HC 组中分别占比为 1.07%和 1.68%。

表 4 养殖末期硝化细菌(属水平)的群落分布

Table 4 Community distribution of nitrifying bacteria (genus level) at the end of breeding

菌属分类	相对丰度/%		
	LC	MC	HC
<i>Nitrosomonas</i>	3.97±0.73 ^b	4.39±0.03 ^b	7.55±0.13 ^a
<i>Nitrospira</i>	4.82±0.49 ^b	1.07±0.13 ^a	1.68±0.03 ^a
<i>Nitrococcus</i>	1.11±0.16 ^b	2.29±0.28 ^a	2.40±0.10 ^a

注:同一行数据上标不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

对虾养殖过程中死虾、残饵、粪便分解会产生氨氮和亚硝酸盐,二者积累会对对虾的健康和生长产生负面影响。控制养殖过程中氨氮和亚硝酸盐氮浓度是保证养殖成功的关键环节之一。本研究中,3 个试验系统水体氨氮和亚硝酸盐氮一直保持较为安全的

质量浓度水平。在整个养殖周期,氨氮浓度一直维持在较低水平,最高质量浓度不超过 $0.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。亚硝酸盐氮浓度在养殖前 9 d 出现累积现象,从第 9 d 开始,亚硝酸盐氮质量浓度达到峰值并开始下降,LC,MC 和 HC 组的最高质量浓度分别为 2.24, 2.03, $1.94 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,随着水循环率的提高,系统对亚硝酸盐的去除效率加快。田喆等^[15]研究发现,在大菱鲆循环水养殖中,提高水循环率可降低氨氮和亚硝酸盐氮的积累速度,这与本研究结果一致。本研究中前期亚硝酸盐氮出现累积现象,可能由于在养殖系统循环的初始阶段,细菌群落处于不稳定状态,此阶段氨氧化细菌活性较高,亚硝酸盐氧化细菌活性较低,导致这一阶段亚硝酸盐氮并不能完全转化为硝酸盐氮,使得亚硝酸盐氮出现累积现象。而 Kuhn 等^[20]认为,在凡纳滨对虾养殖过程中,硝酸盐质量浓度应该低于 $220 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,本研究硝酸盐质量浓度呈持续上升趋势,但一直保持安全浓度($<16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

袁光年等^[21]发现 3 种不同填料的循环水养殖系统中,氨氮和亚硝酸盐氮质量浓度越低,对虾存活率越高。本研究中氨氮质量浓度一直保持在较低水平,各养殖阶段 LC 组亚硝酸盐氮质量浓度都要低于 HC 组,LC 组对虾存活率最低,HC 组对虾存活率最高。本研究中 LC 组对虾的特定生长率较高,饲料系数较低的原因可能是 LC 组对虾存活率较低,死虾在养殖桶中未能及时捞出,导致其余活虾摄食死虾,提高了对虾的特定生长率,降低了饲料系数。水循环率对对虾特定生长率和饲料系数的影响有待进一步研究。

影响微生物群落的结构因素众多,如温度^[22]、盐度^[23]、pH^[24]、滤料类型^[25]等。李倩等^[26]曾对流化球填料在罗氏沼虾循环水养殖与大口黑鲈循环水养殖系统中微生物群落进行分析,发现尽管生物滤池中使用的填料相同,但是生物膜上的微生物群落并不相同,认为这是由于养殖环境不同从而影响了微生物群落的结构组成。本研究发现,生物膜微生物 OTU 数目随着水循环率的升高而降低,说明水循环率是影响本研生物膜微生物群落组成的主要因素。生物膜微生物的多样性随着水循环率的升高而降低。

本研究发现,在门水平上,不同水循环率下生物膜最优势菌群均为变形菌门和拟杆菌门。这与 Chen 等^[14]的研究结果一致,也与宫晗等^[27]发现的养殖水体与生物反应器中生物膜拥有的优势细菌门相一致。在循环水系统中,变形菌门可以附着在滤料表面,促进其他有益微生物的生长,减少病原微生物的生长,帮助建立稳定的微生物群落结构。本研究中拟杆菌

门为第二大优势菌,在生物滤池生物膜上,变形菌门和拟杆菌门为两大优势菌群,而胡东等^[28]研究发现,变形菌门和拟杆菌门在对虾的各个养殖时期的水体中同样为两大优势菌群。变形菌门和拟杆菌门不仅在对虾养殖水体中为主要菌群,在生物反应器滤料附着的微生物中同样也是主要菌群。本研究发现,变形菌门相对丰度占比在 LC,MC 和 HC 组中分别为 32.34%,36.91%和 38.44%。拟杆菌门相对丰度占比在 LC,MC 和 HC 组中分别为 17.75%,18.33%和 26.89%。变形菌门和拟杆菌门的相对丰度占比随着水循环率的升高而升高。这可能是由于随着水循环率的提高,生物膜微生物多样性降低,从而变形菌门和拟杆菌门丰度占比增加。

在属水平上,共有 3 种硝化细菌被检测到,即硝化球菌属、亚硝化单胞菌属和硝化螺菌属,表明其在氮循环中扮演着重要角色,这些细菌参与了氨氮向硝酸盐^[29]转化的过程,有助于维持水体氮素平衡、水质稳定性及生态系统健康。这与李敬源等^[30]的研究结果一致。黄志涛等^[31]对石斑鱼循环水养殖系统中滤料的生物膜进行分析,Lahav 等^[32]对海水金头鲷循环水养殖系统中的滤料生物膜微生物进行分析,均发现亚硝化单胞菌属和硝化螺旋菌属在生物滤池中起硝化作用。硝化细菌将氨氮和亚硝酸盐转化为硝酸盐,这有助于维持水质稳定,促进对虾生长,间接预防疾病发生,提高养殖效率,为对虾提供良好的生长环境。

4 结论

凡纳滨对虾循环水养殖过程中,随着水循环率的提高,系统对亚硝酸盐氮的去除效率加快。LC 组对虾存活率最低,HC 组对虾存活率最高。推荐使用高循环率循环水系统以维持良好水质,提高对虾存活率。凡纳滨对虾循环水养殖过程中,水循环率对生物反应器中生物膜细菌群落结构存在显著影响,生物膜微生物的多样性随着水循环率的升高而降低。变形菌门和拟杆菌门在生物滤池滤料附着的微生物中为主要菌群,变形菌门和拟杆菌门的相对丰度占比随着水循环率的升高而升高。共有 3 种硝化细菌被检测到,分别是硝化球菌属、亚硝化单胞菌属和硝化螺菌属。这 3 种菌在生物滤池中起硝化作用。

参考文献:

- [1] 王兴强,马甦,董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学研究进展[J]. 海洋湖沼通报,2004,8(4):94-100.

- [2] 翁歆之. 生物絮团技术在凡纳滨对虾集约化养殖中的研究现状与展望[J]. 中国水产, 2022(8):66-68.
- [3] 徐霞倩. 浦东新区南美白对虾绿色养殖技术探讨[J]. 上海农业科技, 2021(5):59-60.
- [4] LI Xuanting, DENG Xisha, HOU Dongwei, et al. Effects of water ammonia nitrogen on hemolymph and intestinal microbiota of *Litopenaeus vannamei* [J]. Advanced Biotechnology, 2024, 2(1): s44307-023-00008-2.
- [5] XING Yifu, ZHU Yixuan, HANG Jianhua, et al. Toxic effects of microplastics and nitrite exposure on intestinal histology, digestion, immunity, and microbial community of shrimp *Litopenaeus vannamei* [J]. Marine Pollution bulletin, 2024, 200: 116077.
- [6] 凌涛. 凡纳滨对虾工厂化高效养殖技术探究[J]. 中国水产, 2018(8):85-88.
- [7] 罗俊标, 骆明飞, 盘润洪, 等. 南美白对虾淡水池塘简易温棚冬季养殖高产技术[J]. 中国水产, 2005(11):35-36.
- [8] 王玮, 陈军, 刘晃, 等. 中国水产养殖水体净化技术的发展概况[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(1):41-49.
- [9] 姜涛. 加州鲈工业化循环水养殖技术初探[J]. 科学养鱼, 2016(12):37-38.
- [10] 刘洋. 凡纳滨对虾工厂化循环水高效养殖工艺研究[D]. 大连:大连海洋大学, 2022.
- [11] 刘鹰. 海水工业化循环水养殖技术研究进展[J]. 中国农业科技导报, 2011, 13(5):50-53.
- [12] 王洋. 过硫酸氢钾对聚氨酯海绵生物膜硝化功能与菌群结构的影响[D]. 青岛:青岛理工大学, 2022.
- [13] 张海耿, 马绍赛, 李秋芬, 等. 循环水养殖系统(RAS)生物载体上微生物群落结构变化分析[J]. 环境科学, 2011, 32(1):231-239.
- [14] CHEN Zhao, CHANG Zhiqiang, ZHANG Long, et al. Effects of water recirculation rate on the microbial community and water quality in relation to the growth and survival of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. BMC Microbiology, 2019, 19(1): 192.
- [15] 田喆, 张延青, 刘鹰, 等. 不同水循环率对大菱鲆生长和水质的影响研究[J]. 渔业现代化, 2010, 37(6):1-5.
- [16] 张进凤, 李瑞伟, 刘杰凤, 等. 淡水养殖水体氨氮积累危害及生物控制的研究现状[J]. 河北渔业, 2009(6):41-44.
- [17] 王杰. 基于生命周期评价的大菱鲆水循环率研究[D]. 青岛:青岛理工大学, 2014.
- [18] 杨小东. 鳗鲡封闭式循环水养殖工艺研究与应用[D]. 厦门:集美大学, 2019.
- [19] 蔺凌云, 尹文林, 潘晓艺, 等. 自然微生物挂膜处理水产养殖废水的效果及微生物群落分析[J]. 水生生物学报, 2017, 41(6):1327-1335.
- [20] KUHN D D, SMITH S A, BOARDMAN G D, et al. Chronic toxicity of nitrate to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*: impacts on survival, growth, antennae length, and pathology[J]. Aquaculture, 2010, 309(1): 109-114.
- [21] 袁光年, 徐爱玲, 刘勇新, 等. 不同生物填料构建零换水凡纳滨对虾养殖系统研究[J]. 青岛理工大学学报, 2023, 44(6):99-107.
- [22] CLEMENTS E, NAHUM Y, CALLEJA P, et al. Effects of temperature on nitrifying membrane-aerated biofilms: an experimental and modeling study [J]. Water Research, 2024, 253: 121272.
- [23] LONG Lina, LIU Hang, LU Shimin. Effects of low salinity on growth, digestive enzyme activity, antioxidant and immune status, and the microbial community of *Litopenaeus vannamei* in biofloc technology aquaculture systems[J]. Journal of Marine Science and Engineering, 2023, 11(11): 2076.
- [24] 康振亚, 郭向辉, 向菲, 等. pH对拟态弧菌感染相关表型及胞外产物特性的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2023, 38(1):87-94.
- [25] 赵鑫. 除锰生物滤池生物膜微生物组演替及环境适应机制[D]. 哈尔滨:哈尔滨工业大学, 2020.
- [26] 李倩, 孙丽慧, 郭建林, 等. 循环水养殖系统中3种生物填料的挂膜、微生物群落组成及对大口黑鲈生长的影响[J]. 河南农业科学, 2023, 52(3):143-152.
- [27] 宫晗, 陈萍, 秦桢, 等. 凡纳滨对虾工厂化循环水养殖系统水质指标及微生物菌群结构的分析[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(1):125-136.
- [28] 胡东, 王丽萍, 赵苒, 等. 福建漳浦凡纳滨对虾海水养殖中后期水体细菌群落多样性分析[J]. 海洋学报, 2017, 39(8):89-98.
- [29] MA Qiao, QU Yuanyuan, SHEN Wenli, et al. Bacterial community compositions of coking wastewater treatment plants in steel industry revealed by Illumina high-throughput sequencing [J]. Bioresource Technology, 2015, 179: 436-443.
- [30] 李敬源, 林炜铁, 罗剑飞, 等. 典型对虾养殖水体中参与硝化与反硝化过程的微生物群落结构[J]. 微生物学报, 2012, 52(4):478-488.
- [31] 黄志涛, 宋协法, 李勋, 等. 基于高通量测序的石斑鱼循环水养殖生物滤池微生物群落分析[J]. 农业工程学报, 2016, 32(S1):242-247.
- [32] LAHAV O, MASSADA B, YACKOUBOV D, et al. Quantification of anammox activity in a denitrification reactor for a recirculating aquaculture system [J]. Aquaculture, 2008, 288(1): 76-82.
- [33] 葛红星, 郭洛宇, 申欣, 等. 不同密度三疣梭子蟹混养中国明对虾、青蛤对生长、经济效益及水质的影响[J]. 江苏海洋大学学报(自然科学版), 2023, 32(2):1-6.

(责任编辑:褚金红 实习编辑:易圣杰)