

养殖水体悬浮物对对虾生长和浮游细菌群落的影响

陈伟¹, 杜世聪¹, 刘佳佳¹, 张德民¹, 金中文², 申屠基康², 姚志远^{1*}

(1.宁波大学 海洋学院, 浙江 宁波 315823; 2.宁波市海洋与渔业研究院, 浙江 宁波 315010)

摘要: 悬浮物在养殖水体中普遍存在, 但对水体浮游细菌的影响却鲜有报道. 本文通过 Illumina 测序探讨去除悬浮物对对虾生长、水体理化指标及浮游细菌群落的影响, 结果表明: 去除悬浮物能显著提高对虾产量及饲料效率, 改善水质(显著降低水体中亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐浓度, 显著提高水体中溶解氧). 此外, 去除悬浮物能显著增加浮游细菌群落的均匀度, 影响浮游细菌群落的结构; 温度、盐度、亚硝酸盐和总磷是驱动浮游细菌群落结构变异的主要环境因子. 相似度百分比分析表明, 微杆菌科、黄杆菌科、腐败螺旋菌科、红杆菌科等是造成处理间群落差异大的关键科, 这些浮游细菌丰度的变化特征与其已知的生态功能相一致.

关键词: 悬浮物; Illumina 测序; 凡纳滨对虾; 浮游细菌; 养殖水质

中图分类号: Q938.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2019) 03-0001-08

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是世界对虾养殖产量最高的三大品种之一, 具有优良的养殖属性, 抗逆能力强^[1]. 生产中为了追求更高的经济效益, 对虾养殖方式由传统的土塘养殖转向高密度、集约化的高位池养殖. 由于养殖过程中饲料过量的投喂, 极易产生大量由剩余饵料、对虾排泄物以及生物残骸等组成的悬浮物^[2], 加重水体负荷. 目前生产中为了维持良好的水质, 通常会进行大量的排换水, 但极易造成附近水域水体富营养化、病害大范围传播等一系列问题^[3]. 在养殖后期, 累积的大量悬浮物会降低水体透光度, 影响藻类、浮游植物等的光合作用^[4], 进而导致水体自净和缓冲能力降低, 氨氮和亚硝酸盐浓度上升^[5], 生化需氧量增加^[6], 水体中的溶解氧以及pH降低^[7]等一系列水质指标的恶化, 不利于对虾健康生长^[8]. 悬浮物本身还会对水产动物(鱼)鳃结构造成损害^[9], 诱导行为改变^[10], 影响幼虫发育等^[11], 甚至会引起应激反应, 导致死亡^[12]. 此外, 一些污染物也极易吸附在悬浮物表面, 若被对虾摄食, 则会在对虾体内积累, 进而影响人类食品安全^[13]. 以往关于悬浮物

的研究大多集中在悬浮物对对虾生长及水质指标的影响, 但关于对养殖水体浮游细菌的影响却鲜有报道.

养殖水体的浮游细菌是养殖生态系统的核心, 与养殖动物健康关系密切, 发挥着耦合水体理化因子、浮游生物和肠道微生物等的枢纽作用, 在水质净化和物质能量循环流动中扮演着重要角色^[14]. 对虾养殖水体浮游细菌群落结构变化趋势是可预测的^[15], 浮游细菌可作为对虾健康状态的评价指标^[16]. 因此, 本研究通过过滤去除悬浮物作为处理组, 同时设置正常养殖作为对照组, 探讨悬浮物对养殖水质和对虾生长的影响, 并通过 Illumina 测序比较处理组和对照组的水体浮游细菌群落变化, 分析浮游细菌群落与对虾生长及水体理化的相关性, 为有效控制悬浮物浓度, 促进对虾健康养殖提供科学依据.

1 材料与方法

1.1 实验设计及样品采集

实验于 2016 年 9 月 28 日至 11 月 4 日在宁波

收稿日期: 2018-06-19.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家自然科学基金(31672658); 宁波市自然科学基金(2017C110001).

第一作者: 陈伟(1990-), 男, 湖北襄阳人, 在读硕士研究生, 主要研究方向: 微生物生态. E-mail: 1511085819@nbu.edu.cn

*通信作者: 姚志远(1990-), 女, 山东聊城人, 讲师, 主要研究方向: 微生物生态. E-mail: yaozhiyuan@nbu.edu.cn

市海洋与渔业科技创新基地进行。9月28日将室内养殖池中的凡纳滨对虾(初始体重 (1.03 ± 0.24) g)转至8个底面积为 4.5 m^2 (直径2.4 m, 水深1 m)的圆形养殖桶中, 密度为 $450 \text{ 尾} \cdot \text{m}^{-2}$, 同时将原养殖池中的水加至圆形养殖桶。暂养3 d后(10月1日)正式开始实验, 并记为第1天, 实验周期为35 d。实验设置对照组和处理组: 对照组进行正常养殖管理, 处理组的养殖水体在通过生化过滤棉连续过滤去除水体悬浮物后, 重新循环回到养殖桶中, 理论上, 水体每天可循环9.6次, 处理组实验中采用英霍夫锥形管沉降30 min 观测不到悬浮物。每个处理设置4个平行。实验中每2 d换水1次, 换水量20%; 在第3天、第14天和第35天早晨喂料前, 从每个养殖桶采集3 L水样, 第35天实验结束, 并收集虾样。

1.2 水质及生长指标测定

实验期间每天早上使用便携式水质监测仪(YSI Pro Plus, USA)测定温度、溶解氧(DO)、pH和盐度。在实验的第3、第14、第35天测量水体中的亚硝酸盐(NO_2^- -N)、硝酸盐(NO_3^- -N)、磷酸盐(PO_4^{3-} -P)、总磷(TP)浓度, 分析方法均参考《海洋监测规范》(GB 17378.4-2007)。实验结束(第35天)时, 统计各实验单元对虾的平均体重、成活率、产量和饲料效率、特定增长率。

1.3 水体浮游细菌群落 DNA 提取及高通量测序

水样先通过 $100 \mu\text{m}$ 孔径的纱绢进行初筛, 然后再通过 $0.2 \mu\text{m}$ 孔径聚碳酸酯膜(直径45 mm, Millipore, Boston, MA, USA)过滤, 收集水体微生物。采用Power Soil[®] DNA试剂盒(MOBIO, USA)提取总DNA, 用NanoDrop ND-2000型核酸定量仪(Thermo, USA)测定DNA浓度和纯度。DNA样品放置于 -80°C 冰箱保存。

采用引物515F(5'-GTGYCAGCMGCCGCGGTAA-3')和806R(5'-GGACTACNVGGGTWTCTAAT-3')扩增16S rRNA基因V4可变区^[17-18], 上下游引物的5'端各带有6-bp的Barcode序列用于区分样品DNA目标片段。每个样品设置3个PCR重复, 以降低扩增造成的偏差。PCR反应体系为 $20 \mu\text{L}$, 扩增条件为: 95°C 预变性3 min, 95°C 变性30 s, 53°C 退火30 s, 72°C 延伸45 s, 28个循环; 72°C 延伸10 min。PCR产物用片段纯化试剂盒(TaKaRa biotech,

Japan)纯化取等量PCR产物混合, 通过Illumina MiSeq测序平台(Illumina, San Diego, USA)进行测序。

1.4 高通量测序数据的处理及统计分析

测序数据在QIIME 1.9.1平台经过质控和嵌合体去除^[19-20]; 应用Uclust将相似性大于97%的序列归为同一个分类操作单元(Operational Taxonomic Unit, OTU)^[20], 选取每个OTU中丰度最高的序列作为该OTU的代表序列^[21], 在Silva128数据库中比对OTU代表序列, 以获得物种分类信息, 随后去除古菌、叶绿体、线粒体以及不能分类的细菌序列。为了避免由于测序深度不同造成的偏差, 每个样品随机选取49 700条序列(所有样品中的最低序列数)进行分析。

利用R中vegan软件包计算香农指数(Shannon-Wiener index)、辛普森指数(Simpson)、均匀度指数(Pielou's evenness)。

相应计算公式如下:

香农指数(H):

$$H = -\sum P_i \ln P_i,$$

式中: P_i 样品中属于第 i 种的个体的丰度比例。

辛普森指数(D):

$$D = 1 - \sum P_i^2.$$

均匀度指数(E):

$$E = \frac{H}{\ln S},$$

式中: S 为丰富度指数; H 为Shannon指数。

在SPSS V.13.0软件中用独立样本 t 检验(Independent t -test)检验水体理化指标、生长指标、细菌相对丰度、 α -多样性指数差异的显著性, 利用R中vegan和labdsv软件包进行基于Bray-Curtis距离的非度量多维尺度分析(Nonmetric Multidimensional Scaling, NMDS)来表征群落的 β -多样性, 进而评估去除悬浮物对水体细菌群落整体结构的影响。置换多元方差分析(PERMANOVA)比较处理与时间对群落变异的影响^[22]; 为分析细菌群落之间关系, 基于Bray-Curtis距离的多元线性模型挑选出显著影响水体浮游细菌群落的理化因子^[23-24], 使用R中vegan软件包中的envfit函数(Bray-Curtis矩阵上的微生物群落的NMDS排序)和spearman分析^[25]来建立显著影响细菌群落结构的理化因子

和细菌类群之间的关系. 利用相似度百分比分析 (SIMPER) 找出每个时间点造成处理间浮游细菌群落差异贡献度大于 1% 的关键科.

2 结果与分析

2.1 水体理化性质及对虾生长指标

实验期间养殖水体温度波动较大(17.2~28.7 °C), 并随时间呈下降趋势. 盐度波动范围 19.2‰~22.5‰, 两组之间没有显著差异. 养殖水体中的亚硝酸盐和活性磷酸盐浓度随养殖时间呈先升高后降低的趋势, 而硝酸盐和总磷浓度随时间逐渐升高. 第 3 天和第 14 天, 处理组水体亚硝酸盐和硝酸盐浓度均显著($P<0.05$)低于对照组, 第 35 天磷酸盐浓度显著低于对照组($P<0.05$)(图 1). 第 14 天处理组水体溶解氧和 pH 均显著高于对照组($P<0.01$)(图 1). 此外, 去除悬浮物提高了对虾末均重、存活率和特定生长率, 并显著提高了对虾总产量($P<0.05$)及饲料效率($P<0.05$)(表 1).

2.2 养殖水体浮游细菌 α -多样性及群落组成

处理组水样浮游细菌多样性高于对照组, 其中, 第 14 天辛普森指数($P<0.001$)、均匀度指数($P<0.05$)均显著高于对照组(表 2). 浮游细菌组成在第 3 天和第 14 天无显著差别, 但第 35 天处理组的 α -变形菌纲($P<0.01$)、 γ -变形菌纲($P<0.05$)平均相对

表 1 第 35 天各实验组对虾生长指标

指标	对照组	处理组
末均重/g	4.36±0.16	5.22±0.40
产量/g	3.09±0.40 ^b	4.39±0.70 ^a
存活率/%	36.03±7.16	42.08±2.96
特定生长率/(%·d ⁻¹)	4.11±0.21	4.60±0.42
饲料效率/%	10.77±4.15 ^b	24.24±7.34 ^a

注: 1) 数据为均值±标准差($n=4$), 下同; 2) 同行不同的小写字母上标表示组间有显著性差异($P<0.05$).

丰度显著高于对照组, 而 δ -变形菌纲($P<0.05$)和 β -变形菌纲($P<0.05$)平均相对丰度显著低于对照组, 其他各门/纲的差别不显著(图 2).

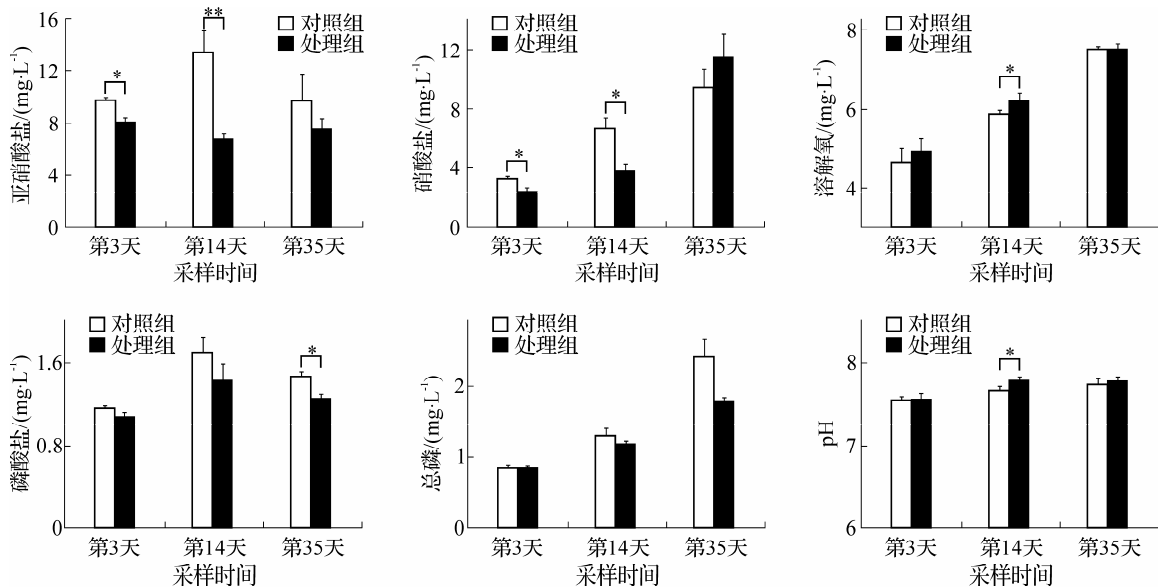
表 2 各实验组浮游细菌群落 α -多样性指数随时间的变化

采样时间	组别	香农指数	辛普森指数	均匀度指数
第 3 天	对照组	5.91±0.43	0.93±0.02	0.58±0.04
	处理组	5.17±0.56	0.90±0.02	0.53±0.05
第 14 天	对照组	5.07±0.28	0.86±0.01 ^b	0.51±0.02 ^b
	处理组	5.49±0.24	0.95±0.01 ^a	0.57±0.03 ^a
第 35 天	对照组	5.32±0.12	0.90±0.05	0.55±0.02
	处理组	5.42±0.09	0.93±0.02	0.56±0.02

注: 不同的小写字母上标表示在同一采样时间点组间有显著性差异($P<0.05$).

2.3 养殖水体浮游细菌群落结构及主要驱动因子

由图 3 可见, 浮游细菌群落按时间聚集在一起,



注: *代表两组间有显著差异($P<0.05$), **代表两组之间有极显著差异($P<0.01$), 图 2 相同.

图 1 各实验组水体理化参数随时间的动态变化

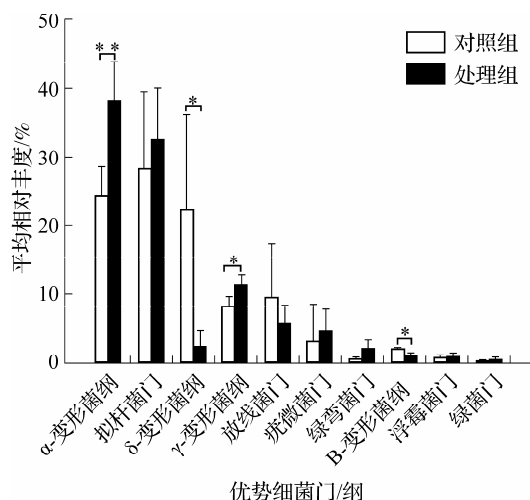


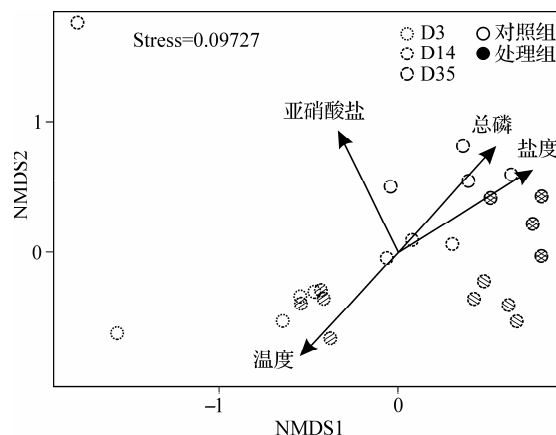
图2 第35天各实验组优势细菌门/纲(相对丰度>1%)的组成

随养殖时间呈现从中部向右上方的演替趋势。在第14天和第35天处理组和对照组浮游群落明显分开;与对照组相比,处理组整体向右的演替趋势更加平稳。PERMANOVA分析结果进一步表明,时间对浮游细菌群落有极显著影响($R^2=0.208$, $P=0.001$),去除悬浮物对浮游细菌群落有显著影响($R^2=0.063$, $P<0.05$)。在第14天和第35天,处理组和对照组的水体浮游细菌群落间存在显著差异(第14天, $R^2=0.512$, $P<0.05$;第35天, $R^2=0.512$, $P<0.05$,表3)。多元线性模型分析表明,温度($P<0.01$)、盐度($P<0.01$)、亚硝酸盐($P<0.01$)、总磷($P<0.05$)与浮游细菌群落 β 多样性均显著相关。温度与浮游群落演替趋势呈负相关性,总磷和盐度与浮游群落演替趋势呈正相关性,亚硝酸盐与第14天和第35天处理组的浮游细菌群落呈负相关性(图3)。

表3 基于Bray-Curtis的置换多元方差分析(PERMANOVA)分析时间、处理及其交互作用对细菌群落组成的影响

项目	置换多元方差分析	
	R^2	P
第3天	0.153	0.470
第14天	0.512	0.025 ¹⁾
第35天	0.512	0.021 ¹⁾
时间	0.208	0.001 ¹⁾
处理	0.063	0.047 ¹⁾
时间×处理	0.048	0.165

注: 1)表示存在显著差异($P<0.05$)。



注: 箭头表示 NMS 排序变量与环境变量之间的多重回归, 方向和长度分别表示变化的方向和强度。

图3 基于Bray-Curtis距离的NMS图表征水体理化因子和浮游细菌群落组成之间关系图

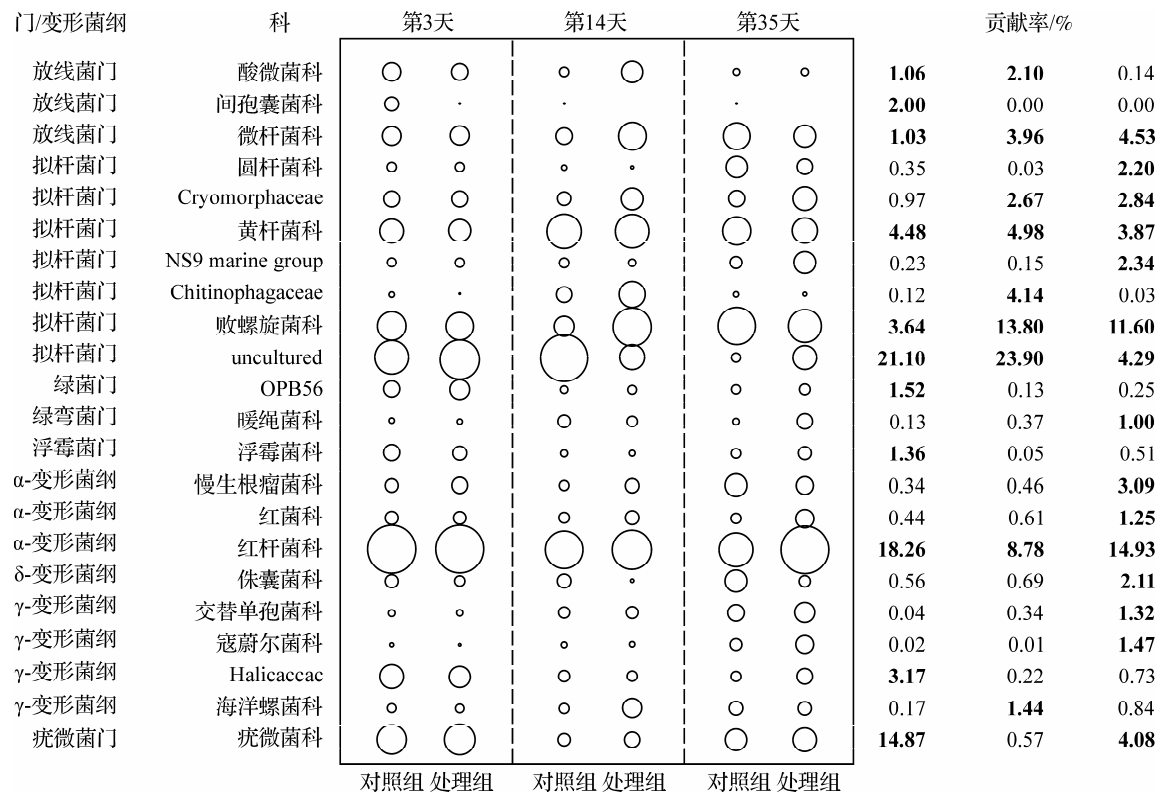
2.4 驱动浮游细菌群落变异的关键科

通过相似度百分比分析筛选出22个造成各时间点群落差异的关键科(贡献度大于1%),分属于9个门/纲(变形菌门分到纲)(图4)。其中5个科在3个时间点对群落差异贡献度均大于1%:微杆菌科(Microbacteriaceae,放线菌门)、黄杆菌科(Flavobacteriaceae,拟杆菌门)、腐败螺旋菌科(Saprospiraceae,拟杆菌门)、鞘脂杆菌目下未培养科(uncultured,拟杆菌门)、红杆菌科(Rhodobacteraceae, α -变形菌纲)。红杆菌科在整个养殖周期中相对丰度都较高,对照组中红杆菌科相对丰度随时间逐渐降低,处理组中相对丰度随着时间先降低后增加,在第14天和第35天中,相对丰度明显高于对照组;在3个采样时间点处理组黄杆菌科相对丰度均低于对照组。腐败螺旋菌科和微杆菌科的相对丰度在对照组和处理组变化趋势不同,处理组的腐败螺旋菌和微杆菌科相对丰度在第14天高于对照组,而第3天和第35天低于对照组。

3 讨论

3.1 去除悬浮物改善了养殖水体水质并促进对虾生长

去除悬浮物能显著改善水质,即显著降低水体中亚硝酸盐、硝酸盐、磷酸盐浓度,极显著提高水体中溶解氧。水体中剩余饵料、对虾排泄物以及生物残骸等形成的悬浮物富含有机物质,过滤去



注: 圆圈直径大小与该细菌相对丰度成正比, 贡献度数字加黑表示贡献度大于 1%.

图 4 造成各实验组浮游细菌群落变异的关键科

除了水体中的悬浮物, 避免了有机质溶解在水中释放大量的氮磷等物质, 而使水体富营养化. 因此, 去除悬浮物能改善水质, 降低环境对对虾的胁迫, 增强对虾抗逆性以及病原菌的抵抗力, 进而促进对虾产量和饲料效率的提高. 这与 Gaona 等^[7]发现在凡纳滨对虾养殖中, 低浓度悬浮物情况下, 水质对对虾生长性状显著优于中、高浓度组的结论一致. 然而, Xu 等^[26]研究结果表明, 生物絮团养殖体系中通过调节水体碳氮比形成的悬浮物, 能稳定水质, 促进对虾生长, 这与本研究的结论相反. 生物絮团养殖体系中, 调控碳氮比形成的悬浮物含有大量的生物絮团, 而生物絮团具有改善水质、调节对虾生长的作用. 本研究属于常规养殖体系, 养殖过程中没有额外添加碳源, 因此悬浮物中生物絮团含量很低, 生物絮团的效果并不明显, 所以去除悬浮物的净化水质效果反而更突出.

此外, 养殖水体中微藻含有叶绿体, 是可以进行光合作用的自养生物, 能通过光合作用去除养殖水体中的氮磷等营养盐, 并转化成养殖动物所需的物质^[27]. 然而, 高营养、低光照条件会抑制部

分微藻生长^[28]. 本研究在室内进行, 光照强度较弱, 养殖水体富营养化可能导致养殖水体中微藻数量较少, 对养殖水体的净化效果不明显, 因此过滤去除悬浮物对微藻对养殖水体净化作用的影响不明显. 此外, 第 35 天亚硝酸盐、硝酸盐浓度在两组中差异不显著, 可能与实验后期温度降低, 喂料量减少, 水体负荷减轻有关.

3.2 去除悬浮物改变了浮游细菌群落多样性及群落结构

Chapin 等^[29]研究发现, 在受到外界干扰后, 均匀度指数变化一般比丰富度指数更快, 这与本研究中去除悬浮物后, 水体中细菌均匀度指数显著增加, 而香农多样性指数变化相对滞后的结果相一致(图 2). 细菌群落的均匀性对抵抗外来物种入侵, 维持群落功能的稳定性具有重要意义^[30]. 本研究去除悬浮物后, 水体浮游细菌群落均匀度增加, 可使群落稳定性更好, 病原菌入侵的机会更少. 本研究还发现, 浮游细菌群落结构随时间呈明显的演替趋势, 去除悬浮物显著改变了浮游细菌群落结构, 使浮游细菌群落更聚集, 而对照组的细菌群

落更分散. 浮游植物和浮游细菌常附着或悬浮于悬浮物表面^[6], 过滤去除悬浮物的过程可同时去除其表面的浮游细菌, 因此可能会导致处理组浮游细菌群落结构改变. 此外, 去除悬浮物改善了水质, 研究表明, 细菌群落的分布与氮磷的浓度存在一定的相关性^[31]; 养殖后期中, 水体的氮、磷浓度增加, 水体富营养化严重, 从而影响浮游细菌群落, 包括益生菌的减少和潜在的病原菌增加^[32]. 本研究中, 在去除悬浮物后, 处理组水体富营养化程度降低, 亚硝酸盐浓度和总磷浓度降低, 进而改变了处理组的浮游细菌群落结构. 此外, 养殖水体温度和盐度也与浮游细菌群落结构显著相关, 这可能是因为养殖水体温度和盐度通过影响细菌的代谢速率和细菌的生理生化过程进而改变浮游细菌的群落结构^[16,33].

3.3 导致浮游细菌群落差异的关键细菌

养殖水体中拟杆菌门、 α -变形菌纲、 δ -变形菌纲、放线菌门、 γ -变形菌纲等是主要优势菌, 这与吴金凤等^[32]研究养殖后期水体中优势细菌结果一致. 相似度百分比分析表明, 红杆菌科、微杆菌科、黄杆菌科、腐败螺旋菌科等是造成处理组水体浮游群落差异贡献度较大的优势科. 其中红杆菌科存在于对虾生长的各个阶段, 能够净化水质, 目前多用于高浓度污水的处理^[34]. 大多数红杆菌科的成员具有从头合成维生素B12的路径, 而维生素B12已被证明为对虾的膳食必需品^[35]. 此外, 红杆菌科玫瑰杆菌属(*Roseobacter*)对鱼类病原菌鳃弧菌有抑制活性, 已被作为益生菌应用于水产养殖^[36]. 本研究中的处理组水质更好, 对虾产量更高, 红杆菌科丰度更高, 可能与红杆菌科对水质净化和对虾的益生作用都有关.

黄杆菌科的黄杆菌属(*Flavobacterium*)细菌已被确定是引起鱼类烂鳃病、鱼类柱形病的主要病原菌^[37]. Suzuki等^[38]研究发现, 在大西洋鲑鱼溃疡性疾病爆发期间黄杆菌科占主导地位. 而本研究中的处理组对虾产量更高, 可能与黄杆菌科细菌丰度较低有关, 说明处理组对虾受到的外界病原菌胁迫较弱. 腐败螺旋菌科在分解环境的复杂有机化合物中扮演重要角色, 而微杆菌科也可高效利用低浓度有机碳^[39]. 腐败螺旋菌和微杆菌科在第14天处理组相对丰度更高, 而此时期养殖负荷较

大, 这可能与它们对大分子有机物的降解能力有关, 从而起到净化水质的作用, 促进了对虾生长. 然而, 在实验后期, 由于水温大幅度降低, 喂料量减少, 水体负荷减轻, 同时可能温度对细菌的影响更大, 因此对照组的腐败螺旋菌和微杆菌科丰度反而更高.

综上所述, 养殖中过滤去除养殖水体悬浮物, 能显著改善养殖水质, 提高对虾产量, 显著影响微生物群落, 提高水体细菌的均匀性. 本研究中挑选的一些关键细菌部分可能是潜在的益生菌, 可为益生菌剂的开发提供参考, 一些潜在的病原菌在后续研究中需要关注. 然而, 本文主要关注的是秋季养殖的中后期, 且周期较短, 未能对悬浮物的微生物群落及成分进行研究, 后续尚需要设计相关实验进行系统研究.

参考文献:

- [1] Saoud I P, Davis D A, Rouse D B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture[J]. Aquaculture, 2003, 217(1/4):373-383.
- [2] 于冬冬. 海水循环水养殖系统中微细颗粒去除技术的研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014.
- [3] Yingkajorn M, Mitraparparthorn P, Nuanualsuwan S, et al. Prevalence and quantification of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* during shrimp culture in Thailand[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2014, 112(2):103-111.
- [4] Devi P A, Padmavathy P, Aanand S, et al. Review on water quality parameters in freshwater cage fish culture [J]. International Journal of Applied Research, 2017, 3(5):114-120.
- [5] Chiam C K, Sarbatly R. Purification of aquacultural water: Conventional and new membrane-based techniques[J]. Separation & Purification Methods, 2011, 40(2):126-160.
- [6] Yong R N, Mulligan C N, Fukue M. Geoenvironmental Sustainability[M]. United Kingdom: CRC Press, 2006: 61-87.
- [7] Gaona C A P, Almeida M S D, Viau V, et al. Effect of different total suspended solids levels on a *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931) BFT culture system during biofloc formation[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(3): 1070-1079.
- [8] 张健, 赵方圆, 章文军, 等. 一株氮氧化菌的分离鉴定及其活性影响因子分析[J]. 宁波大学学报(理工版), 2011, 24(3):11-14.

- [9] Chong K W, Pak I A P, Liu X J. Gill damage to juvenile orange spotted grouper, *Epinephelus coioides* (Hamilton, 1822) following exposure to suspended sediments[J]. Aquaculture Research, 2013, 44(11):1685-1695.
- [10] Robertson M J, Scruton D A, Clarke K D. Seasonal effects of suspended sediment on the behavior of juvenile *Atlantic Salmon*[J]. Transactions of the American Fisheries Society, 2007, 136(3):822-828.
- [11] Martins C I M, Pistrin M G, Ende S S W, et al. The accumulation of substances in recirculating aquaculture systems (RAS) affects embryonic and larval development in common carp *Cyprinus carpio*[J]. Aquaculture, 2009, 291(1/2):65-73.
- [12] 姜辉. 工厂化养殖水处理方法及预排污系统的设计与建设[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [13] Mulligan C N, Davarpanah N, Fukue M, et al. Filtration of contaminated suspended solids for the treatment of surface water[J]. Chemosphere, 2009, 74(6):779-786.
- [14] 裘钱玲琳. 微生物菌剂对对虾养殖水体和肠道细菌群落的影响[D]. 宁波: 宁波大学, 2015.
- [15] Xiong J, Zhu J, Wang K, et al. The temporal scaling of bacterioplankton composition: High turnover and predictability during shrimp cultivation[J]. Microbial Ecology, 2014, 67(2):256-264.
- [16] Zhang D, Wang X, Xiong J, et al. Bacterioplankton assemblages as biological indicators of shrimp health status[J]. Ecological Indicators, 2014, 38(38):218-224.
- [17] Apprill A, McNally S, Parsons R, et al. Minor revision to V4 region SSU rRNA 806R gene primer greatly increases detection of SAR11 bacterioplankton[J]. Aquatic Microbial Ecology, 2015, 75(2):129-137.
- [18] Walters W, Hyde E R, Berglyons D, et al. Improved bacterial 16S rRNA Gene (V4 and V4-5) and fungal internal transcribed spacer marker gene primers for microbial community surveys[J]. Msystems, 2016, 1(1): 9-15.
- [19] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. Nature Methods, 2010, 7(5):335-336.
- [20] Bokulich N A, Subramanian S, Faith J J, et al. Quality-filtering vastly improves diversity estimates from Illumina amplicon sequencing[J]. Nature Methods, 2013, 10(1):57-59.
- [21] DeSanits T Z, Hugenholtz P, Keller K, et al. NAST: A multiple sequence alignment server for comparative analysis of 16S rRNA genes[J]. Nucleic Acids Research, 2006, 34:394-399.
- [22] Kelly B J, Gross R, Bittinger K, et al. Power and sample-size estimation for microbiome studies using pairwise distances and permanova[J]. Bioinformatics, 2015, 31(15):2461-2468.
- [23] Zhou L, Li G, Shin H S, et al. Study on nutrient removal performance and biological community structure in hybrid biofilm reactor[J]. Advanced Materials Research, 2013, 777:213-220.
- [24] 钱鹏, 王思鹏, 梁春玲, 等. 宁波象山海域表层沉积物细菌群落季节性分布特征研究[J]. 宁波大学学报(理工版), 2017, 30(6):28-35.
- [25] Coreteam R. R: A language and environment for statistical computing [J]. Computing, 2015, 1(1):2-21.
- [26] Xu W J, Morris T C, Samocha T M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality, and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system[J]. Aquaculture, 2016, 453:169-175.
- [27] McVey J P, Stickney R R, Yarish C, et al. Aquatic polyculture and balanced ecosystem management: New paradigms for seafood production[C]//Stickney, McVey J P. Responsible Marine Aquaculture. CAB International, Oxon, UK, 2002:91-104.
- [28] 蒲新明, 吴玉霖, 张永山. 长江口区浮游植物营养限制因子的研究[J]. 海洋学报, 2001, 23(3):60-66.
- [29] Chapin Iii F S, Zavaleta E S, Eviner V T, et al. Consequences of changing biodiversity[J]. Nature, 2000, 405(6783):234-238.
- [30] Emery S M, Gross K L. Dominant species identity, not community evenness, regulates invasion in experimental grassland plant communities[J]. Ecology, 2007, 88(4): 954-964.
- [31] 杜萍, 刘晶晶, 曾江宁, 等. 长江口低氧区异养细菌及氮磷细菌分布[J]. 应用生态学报, 2011, 22(5):1316-1324.
- [32] 吴金凤, 熊金波, 王欣, 等. 肠道菌群对凡纳滨对虾健康的指示作用[J]. 应用生态学报, 2016, 27(2):611-621.
- [33] Bakke I, Åm A L, Kolarevic J, et al. Microbial community dynamics in semi-commercial RAS for production of *Atlantic salmon* post-smolts at different salinities[J]. Aquacultural Engineering, 2017, 78:42-49.
- [34] 于燕光. 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)工厂化养殖中添加甘蔗渣对水质、细菌区系及对虾消化酶和免疫酶活力的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.
- [35] Sañudowilhelmy S A, Gómezconsarnau L, Suffridge C, et al. The role of B vitamins in marine biogeochemistry[J]. Annual Review of Marine Science, 2014, 6(1):339-367.

- [36] Hjelm M, Bergh O, Riaza A, et al. Selection and identification of autochthonous potential probiotic bacteria from turbot larvae (*Scophthalmus maximus*) rearing units[J]. Systematic & Applied Microbiology, 2004, 27(3):360-371.
- [37] Bernardet J F, Segers P, Vancanneyt M, et al. Cutting a Gordian knot: Emended classification and description of the genus *Flavobacterium*, emended description of the family *Flavobacteriaceae*, and proposal of *Flavobacterium hydati* nom. nov. (basonym, *Cytophaga aquatilis* Strohl and Tait 1978)[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1996, 46(1):128-148.
- [38] Suzuki M, Nakagawa Y, Harayama S, et al. Phylogenetic analysis and taxonomic study of marine cytophaga-like bacteria: Proposal for *Tenacibaculum* gen. nov. with *Tenacibaculum maritimum* comb. nov. and *Tenacibaculum ovolyticum* comb. nov., and description of *Tenacibaculum mesophilum* sp. nov. and *Tenacibaculum amylolyticum* sp. nov.[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 2001, 51(5):1639-1652.
- [39] 薛明, 何瑶瑶, 邱孟德, 等. 高通量测序分析凡纳滨对虾育苗期水体菌群结构特征[J]. 水产学报, 2017, 41(5): 785-794.

Effects of suspended solids on the growth of shrimps and bacterioplankton community of aquaculture systems

CHEN Wei¹, DU Shi-cong¹, LIU Jia-jia¹, ZHANG De-min¹, JIN Zhong-wen²,
SHENTU Ji-kang², YAO Zhi-yuan^{1*}

(1.School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315823, China;

2.Ningbo Academy of Ocean and Fishery, Ningbo 315010, China)

Abstract: Suspended solids are ubiquitous in aquaculture waters, but its effect on bacterioplankton in the water remains largely unknown. In this study, Illumina sequencing was used to investigate the effects of suspended solids removal on shrimp growth, physical and chemical indicators of water and bacterioplankton communities. The results showed that the removal of suspended matter can significantly increase shrimp yield, feed efficiency, and improve water quality (significantly reduce the concentration of nitrite, nitrate and phosphate in water, and significantly increase dissolved oxygen in water). In addition, removing suspended solids can significantly increase the evenness of the bacterioplankton community and alter the structure of the bacterioplankton community. Temperature, salinity, nitrite and total phosphorus are the main environmental factors that drive the variation of bacterioplankton community structure. Similarity percentage (SIMPER) showed that the families of Microbacteriaceae, Flavobacteriaceae, Saprospiraceae and Rhodobacteraceae are the key families that cause great differences in the communities between treatments. The variation in the abundance of these bacterioplankton is consistent with their known ecological functions.

Key words: suspended solids; Illumina sequencing; *Litopenaeus vannamei*; bacterioplankton; aquaculture water quality

(责任编辑 章践立)