

龙宇, 胡丽, 黎标, 等. 红螯螯虾室内养殖不同生长阶段适宜水质的水体细菌群落结构及多样性分析[J]. 江苏农业学报, 2025, 41(7): 1375-1387.

doi: 10.3969/j.issn.1000-4440.2025.07.014

红螯螯虾室内养殖不同生长阶段适宜水质的水体细菌群落结构及多样性分析

龙宇¹, 胡丽², 黎标², 吴亮³, 黄水娥⁴, 杨海君¹

(1.湖南农业大学资源学院, 湖南长沙 410128; 2.湖南中拓环境工程有限公司, 湖南长沙 410000; 3.湖南省分析测试中心有限公司, 湖南长沙 410131; 4.长沙排水有限责任公司, 湖南长沙 410000)

摘要: 为探究红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)室内养殖不同生长阶段适宜水环境下的细菌群落特征, 本研究以广东省揭阳市南区红螯螯虾室内养殖基地的虾苗(XMP)池、半成品虾(BCPC)池、成品虾(CPP)池1和成品虾(CPP)池2适宜水质的水体为研究对象, 通过Illumina MiSeq高通量测序法分析了水体中细菌群落结构、多样性及其与水体理化因子的关联性。结果表明, 水体中pH与水温(WT)之间显著正相关($P < 0.05$), 总硬度(TH)与水温、pH之间为显著负相关($P < 0.05$)。水体中细菌群落优势菌门为变形菌门、拟杆菌门和骸骨细菌门等, 优势菌属为多核杆菌属、norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis、norank_Chloroplast和hgcl_clade等。通过皮尔逊(Pearson)相关性分析发现, 细菌群落多样性与丰富度均受亚硝酸盐氮($\text{NO}_2\text{-N}$)含量显著影响。在属水平上, 相对丰度前20的属细菌与水体理化因子的斯皮尔曼(Spearman)相关性分析发现, 水体pH、总硬度、氨态氮($\text{NH}_4\text{-N}$)含量、亚硝酸盐氮含量、总氮(TN)含量和化学需氧量对细菌群落结构具有显著影响。利用Tax4Fun2进行基因功能预测, 结果表明主要优势功能基因为全球与概览图、碳水化合物代谢和氨基酸代谢等。聚类分析发现相邻生长阶段的细菌群落功能基因更为相似, 成品虾池水体中细菌群落功能基因也更加稳定。采用FAPROTAX注释得出, 氮代谢循环功能类群的相对丰度在成品虾生长阶段明显增加。本研究结果显示, 红螯螯虾室内养殖水体中的菌群结构随生长时期的推进分布更均匀, 相关细菌在维持养殖水体健康中发挥了重要作用。

关键词: 红螯螯虾; 水质; 环境微生物; 细菌群落

中图分类号: S917.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-4440(2025)07-1375-13

Analysis of the bacterial community structure and diversity in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

LONG Yu¹, HU Li², LI Biao², WU Liang³, HUANG Shui'e⁴, YANG Haijun¹

(1. College of Resources, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Hunan Zhongtuo Environmental Engineering Co., Ltd., Changsha 410000, China; 3. Hunan Analysis and Test Center Co., Ltd., Changsha 410131, China; 4. Changsha Drainage Co., Ltd., Changsha 410000, China)

Abstract: To investigate the bacterial community characteristics in water environments suitable for indoor *Cherax quadricarinatus* culture at different growth stages, this study focused on the water quality of the shrimp seedling (XMP) pool, semi-finished shrimp (BCPC) pool, finished shrimp (CPP) pool 1, and finished shrimp (CPP) pool 2 at a breeding base in

收稿日期: 2024-10-29

基金项目: 湖南省自然科学基金-省市联合项目(2022JJ50247); 长沙市自然科学基金项目(kg2208137)

作者简介: 龙宇(1999-), 女, 湖南永州人, 硕士研究生, 研究方向为农业资源利用。(E-mail) 285984550@qq.com

通讯作者: 杨海君, (E-mail) yhj@hunau.edu.cn

Jieyang, Guangdong. Using Illumina MiSeq high-throughput sequencing, we analyzed the bacterial community structure, diversity, and their association with physicochemical factors in water samples. The results showed that pH was significantly positively correlated with water temperature (WT) ($P < 0.05$), while total hardness (TH) was significantly

negatively correlated with WT and pH ($P < 0.05$). The dominant bacterial phyla in the water samples were Proteobacteria, Bacteroidota, and Patescibacteria, while dominant genera included *Polynucleobacter*, *norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis*, *norank_Chloroplast*, and *hgcI*-clade. Pearson correlation analysis revealed that bacterial community diversity and richness were significantly influenced by nitrite-nitrogen (NO_2^- -N) concentration. At the genus level, Spearman correlation analysis of the top 20 genera showed that pH, TH, ammonia nitrogen (NH_4^+ -N) concentration, NO_2^- -N concentration, total nitrogen (TN) concentration, and chemical oxygen demand significantly impacted the bacterial community structure. Gene function prediction using Tax4Fun indicated that the main functional pathways included global and overview maps, carbohydrate metabolism, and amino acid metabolism. Clustering analysis demonstrated that the functional genes of bacterial communities at adjacent growth stages were more similar, and the functional genes in finished shrimp pool samples were also more stable. FA-PROTAX annotation revealed that the relative abundance of functional groups involved in the nitrogen-metabolism cycle significantly increased during the growth stage of finished shrimp. The research results indicate that, in indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus*, the bacterial community structure in water becomes more evenly distributed as the growth stage progresses. The relevant bacteria play a crucial role in maintaining the water quality of the aquaculture environment.

Key words: *Cherax quadricarinatus*; water quality; environmental microbiota; bacterial community

随着生活水平的提高,人们对饮食的丰富性越来越重视。其中,水产品的供应量较以往有了大幅度提高,而天然水产品资源有限,发展绿色生态、规模化、集约化、工厂化的水产养殖已成为大趋势^[1]。然而,水产养殖过程中会产生大量的废水,如果废水不经过处理就直接外排,不仅会破坏周边区域水体生态平衡,还会影响水产品的品质和产量,危害人们身体健康^[2]。世界著名经济虾种红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)肉质鲜美可口,营养价值高,深受国内外消费者青睐^[3]。红螯螯虾养殖业的迅速发展虽然带来了显著的经济效益,但是也产生了养殖方面的一些技术难题。如红螯螯虾规模化、集约化养殖水体氮素污染的处理问题^[4]。为了解决红螯螯虾养殖水体的污染问题,人们尝试采用循环水养殖系统、内循环流水槽养鱼系统、智能化温控系统、水净化系统、供氧系统以及生物调控手段等在室内或者大棚内养殖^[5-10],实现了省料、省药、节水、减污及反季节养殖,摸索出了不同生长阶段红螯螯虾适宜养殖水环境条件^[11]。然而,如何确保养殖全过程水质安全仍是难点。室内养殖红螯螯虾,微生物在水质管理方面起关键作用^[12],管控好养殖水体中微生物的正常代谢,可优化微生物群落结构,提高微生物多样性^[13]。细菌群落特征是红螯螯虾养殖水体生物多样性的具体体现,细菌在残饵、排泄物及生物残体等分解和氮循环过程中发挥核心作用,可降低水体中氨态氮、亚硝态氮和硝态氮等的浓度^[14],稳定红螯螯虾养殖水质,形成健康的水体生态系统。此外,用益生菌可以控制水体氮素污染,抑制病原菌

的繁殖,降低疾病暴发风险,从而提高水生生物的存活率,保证良好的健康状况^[15]。然而,目前未见红螯螯虾不同生长阶段适宜水环境下细菌群落结构及多样性的研究。为此,本研究以广东省揭阳市南区红螯螯虾养殖基地室内养殖虾苗(XMP)池、半成品虾(BCPC)池、成品虾(CPP)池1及成品虾(CPP)池2适宜水质的水体为研究对象,利用高通量测序技术^[16]开展红螯螯虾不同生长阶段适宜水环境中细菌多样性研究,考察红螯螯虾养殖水体细菌群落结构与水体理化因子的关联性,以期为红螯螯虾室内养殖水体的微生物调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 室内养殖基地概况

采集的水样来源于广东省揭阳市南区红螯螯虾室内养殖基地(116.493 080 0°E, 23.137 634 0°N)。虾池为埋地式,水深1.0 m。每个水池单独建立,一个池一个大棚,每池面积0.067 hm²,池底使用高强度防渗膜覆盖,与土壤隔绝,顶部为钢架结构,上面覆盖微蓝无滴膜。无滴膜不仅有助于控制冬季塑料棚内养殖水体的温度,而且可降低大棚内雾气和空气湿度,从而降低气温变化对红螯螯虾生长的影响。根据红螯螯虾的生活习性,在养殖池中放有一定数量的虾屋,虾屋由8~10层蓝色PP材质的长方形“井”字格隔板搭建而成,高0.8 m,宽0.2 m,按行排列,每排之间的间距为0.5 m。每排虾屋的底部和两侧用空心砖固定。放养密度为1 hm² 7.5×10⁴~9.0×10⁴尾。同时,虾池内安装增氧曝气系统,每隔两排虾屋安装

1个微孔增氧曝气圆盘,曝气圆盘按“Z”字形布局,溶解氧含量维持在5 mg/L左右。每天分早晚2次投喂,投喂量占体重的5%~8%,其中晚上的投喂量占全天的70%~80%。在虾苗阶段投喂粉末状饵料,半成品虾阶段前期投喂粉末状饵料,后期转为颗粒状饵料,成品虾阶段投喂颗粒状饵料。

1.2 水样采集与理化指标测定

2023年10月14日上午11:00采集水样,分别采自虾苗(XMP)池(虾长2~3 cm,强化虾苗)、半成品虾(BCPC)池(虾长4~5 cm)、成品虾(CPP)池1(虾长7~8 cm)、成品虾(CPP)池2(虾长10~12 cm,亚成体)。采用五点取样法,使用5 L有机玻璃采水器采集每个养殖池水下50 cm处的水体,每个点各采集150 mL水,充分混匀后保留500 mL,装入无菌塑料瓶中,重复3次,放入冰盒保存。养殖池水体温度(WT)、pH和溶解氧(DO)含量采用雷磁DZB712便携台式多参数水质分析仪(上海仪电科学仪器股份有限公司产品)现场测定;氨态氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)含量使用纳氏试剂分光光度法(HJ 535-2009)测定;亚硝酸盐氮($\text{NO}_2\text{-N}$)含量使用分子吸收分光光度法(GB 7493-1987)测定;总硬度(TH)采用EDTA滴定法(GB 7477-1987)测定;总氮(TN)含量使用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法(GB 11894-1989)测定;总磷(TP)含量使用钼酸铵分光光度法(GB 11893-1989)测定;化学需氧量(COD_{Cr})使用重铬酸盐法(HJ 828-2017)测定。

1.3 水样DNA提取及高通量测序

水样采集完成后带回实验室,使用BioVac630B型真空抽滤泵(德国Wiggens公司产品)进行抽滤,使用的S-Pak滤膜(美国Millipore公司产品)的孔径为0.22 μm ,直径47 mm,抽滤装置事先用无水酒精擦拭后再用无菌水冲洗,水样抽滤完成后立即将滤膜装入2 mL无菌冻存管,放入液氮保存用于DNA提取,提取的DNA送至生工生物工程(上海)有限公司进行测序。使用E.Z.N.ATM Mag-Bind Soil DNA Kit试剂盒提取细菌群落基因组DNA,使用Qubit[®] 4.0 DNA检测试剂盒对基因组DNA精确定量后,确定PCR反应应加入的DNA量,以样品DNA为模板,采用引物Nobar-341F/Nobar-505R对细菌的16S rRNA基因V3~V4高变区片段进行扩增,引物序列为Nobar-341F(5'-CCTACGGGNGGCWGCAG-3')与Nobar-505R(5'-GACTACHVGGGTATCTAATCC-3')。PCR反应扩增

步骤:预变性(95 $^{\circ}\text{C}$, 3 min),变性(94 $^{\circ}\text{C}$, 20 s),退火(52 $^{\circ}\text{C}$, 20 s),延伸(72 $^{\circ}\text{C}$, 30 s),最后延伸(72 $^{\circ}\text{C}$, 5 min),共5个循环。PCR扩增产物用2%琼脂糖凝胶电泳进行检测,使用通用的Illumina适配器和索引构建文库,其中Illumina适配器用于连接目标DNA片段的两端,确保文库片段能够在测序平台上进行扩增和测序;索引则用于对不同样本的文库进行标记,从而实现多样本混合测序。样品高通量测序工作在Illumina MiSeq测序平台上完成。

1.4 数据处理及分析

利用SPSS 26.0软件对水样理化因子进行皮尔逊(Pearson)相关性分析。使用QIIME软件对操作分类单元(OTUs)列表进行差异性分析,生成不同分类水平(门、属)上的物种丰度表和物种分布图。以OTU为单位,用软件Mothur计算各水样的细菌群落多样性指数。水样理化因子与细菌群落多样性进行皮尔逊相关性分析,对水样理化因子与属水平细菌群落进行斯皮尔曼(Spearman)相关性分析。使用Tax4Fun和FAPROTAX对细菌进行功能预测分析,通过将测定的16S rRNA基因序列数据与已知代谢功能的微生物参考基因组数据进行比较,预测分析水样细菌的代谢功能。采用Origin 2022软件制图。

2 结果与分析

2.1 红螯螯虾室内养殖不同生长阶段适宜水质水体理化特征

从表1可知,不同生长阶段红螯螯虾养殖水体的水温变化范围为19.0~22.0 $^{\circ}\text{C}$,均处于红螯螯虾养殖适宜水温(15~30 $^{\circ}\text{C}$)范围内^[17];pH值的变化范围为7.13~7.50,处于《渔业水质标准》(GB11607-1989)pH值最适宜的范围(6.5<pH<8.5)。水体溶解氧含量波动范围较小,为4.73~4.95 mg/L,处于正常养殖水体溶解氧含量范围内。总硬度(以 CaCO_3 计)为112~134 mg/L。 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 质量浓度差异较小,为0.322~0.493 mg/L。 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度为0.004~0.174 mg/L,BCPC池水中的 $\text{NO}_2\text{-N}$ 质量浓度明显高于其他养殖池。总氮含量为2.535~6.986 mg/L, CPP池1和CPP池2水体中总氮含量明显高于BCPC池和XMP池。化学需氧量为22~58 mg/L, CPP池1和CPP池2水体中化学需氧量明显高于BCPC池和XMP池。

不同生长阶段水样理化指标的皮尔逊相关性分析结果(表2)显示,水体理化指标中pH与WT为显

著正相关($P<0.05$), TH 与 WT、pH 为显著负相关 ($P<0.05$)。

表 1 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质的水体理化特征

Table 1 Physicochemical characteristics of water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

水体理化指标	生长阶段			
	虾苗(XMP)	半成品虾(BCPC)	成品虾 1(CPP1)	成品虾 2(CPP2)
水温(°C)	22.0	20.0	19.0	19.0
pH	7.50±0.09	7.22±0.22	7.13±0.18	7.20±0.05
溶解氧含量(mg/L)	4.88±0.15	4.95±0.02	4.73±0.11	4.95±0.08
总硬度(mg/L)	112±4.23	130±7.51	133±3.84	134±6.12
NH ₄ ⁺ -N质量浓度(mg/L)	0.322±0.020	0.345±0.070	0.493±0.010	0.367±0.060
NO ₂ ⁻ -N质量浓度(mg/L)	0.075±0.030	0.174±0.012	0.005±0.001	0.004±0.002
总氮含量(mg/L)	2.958±0.800	2.535±0.400	6.986±1.500	5.358±0.600
化学需氧量(mg/L)	22±1.5	30±3.3	56±2.4	58±3.2

表中数据为平均值±标准差。

表 2 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质理化指标 Pearson 相关系数

Table 2 Pearson correlation coefficients of physicochemical parameters of water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

水体理化指标	WT	pH	DO 含量	TH	NH ₄ ⁺ -N含量	NO ₂ ⁻ -N含量	TN 含量	COD _{Cr}
WT	1.000							
pH	0.969*	1.000						
DO 含量	0.182	0.247	1.000					
TH	-0.983*	-0.977*	-0.062	1.000				
NH ₄ ⁺ -N含量	-0.666	-0.708	-0.853	0.571	1.000			
NO ₂ ⁻ -N含量	0.416	0.244	0.495	-0.247	-0.565	1.000		
TN 含量	-0.724	-0.650	-0.692	0.590	0.892	-0.856	1.000	
COD _{Cr}	-0.906	-0.797	-0.322	0.818	0.708	-0.760	0.899	1.000

WT:水温;DO 含量:溶解氧含量;TH:总硬度;TN 含量:总氮含量;COD_{Cr}:化学需氧量。*表示指标间显著相关($P<0.05$)。

2.2 红螯螯虾室内养殖适宜水质水体中细菌多样性

通过高通量测序得到的有效序列与 NCBI 中的 BLAST 数据库进行比对,采用 RDP classifier 贝叶斯算法对同源性大于 97%的 OTU 代表序列进行分类学分析,4 个水样共获得有效序列 538 048 条,共得到 6 167 个 OTU,平均每个水样获得有效序列 134 512 条和 1 657 个 OTU。由图 1 可知,4 个水样共有 154 个 OTU,其中 XMP 池、BCPC 池、CPP 池 1、CPP 池 2 水体中分别具有特有微生物 OTU 463 个、167 个、553 个、792 个。各养殖池水样的覆盖度(Coverage)均超过了 99.70%(表 3),表明测序结果反映了样本的真实情况。Sobs 指数用来表征实际 OTU,从表 3 可知,Sobs 指数范围为 535~2 561。Chao1 指数和 Ace 指数表示群落丰富度,指数越大越表明样本丰富度越高,从表 3 可知,红螯螯虾不同生长阶段水样丰富度指数由大到小顺序为 CPP 池 2>CPP 池 1>XMP 池>BCPC 池。Simpson 指数和 Shannon 指数为群落多样性指数,Shannon 指数越大,Simpson 指数越小,说明群落多

样性越高,从表 3 可知,水样 Shannon 指数由大到小顺序为 CPP 池 2>CPP 池 1>XMP 池>BCPC 池,Simpson 指数由小到大顺序为 CPP 池 2<CPP 池 1<XMP 池<BCPC 池。CPP 池 2 的物种丰富度和多样性均最高,说明随着红螯螯虾养殖生长期的推进,需要适宜的水质满足其生长,这样其生长的水体细菌群落的结构更稳定,多样性也更高。BCPC 池的物种丰富度和多样性均最低,说明在 BCPC 池水体中环境微生物的多样化最低。

2.3 红螯螯虾室内养殖适宜水质的水体中细菌群落结构及组成

基于门水平研究不同生长阶段红螯螯虾养殖水体中细菌群落结构及组成(图 2)。从图 2 可知,4 个生长阶段水样中共鉴定到 10 个细菌门(水样中丰度占比小于 1%的物种归为“其他”),分别是变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、髌骨细菌门(Patescibacteria)、蓝细菌门(Cyanobacteria)、放线菌门(Actinobacteriota)、浮霉菌门(Planctomycetota)、

疣微菌门(Verrucomicrobiota)、酸杆菌门(Acidobacteriota)、绿弯菌门(Chloroflexi)、SAR324_clade(Marine_group_B)构成,其中共有的优势菌门为变形菌门。XMP池水体中优势菌门为变形菌门和蓝细菌门,BCPC池水体中变形菌门占据绝对优势地位,CPP池1水体中与CPP池2水体中细菌群落结构较为相似,优势菌门为变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和骸骨细菌门。红螯螯虾养殖水体中细菌群落的优势菌门由XMP池水体中最初的变形菌门、蓝菌门转变为BCPC池水体中的变形菌门,再转变为CPP池1水体中的与CPP池2水体中的变形菌门、放线菌门、拟杆菌门和骸骨细菌门,说明随着红螯螯虾养殖生长时期的推进,水体中细菌群落多样性也会上升,细菌分布逐渐均匀,细菌群落趋于稳定。

表3 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质水体中细菌多样性与丰富度

Table 3 Bacterial diversity and richness in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

样本	丰富度指数			多样性指数		覆盖度 (%)
	Sobs 指数	Chao1 指数	Ace 指数	Simpson 指数	Shannon 指数	
XMP池水样	1 339	1 420.093 426	1 473.904 474	0.077 857	3.868 695	99.73
BCPC池水样	535	536.473 684	536.370 112	0.188 973	2.948 253	99.99
CPP池1水样	2 194	2 236.652 174	2 229.863 560	0.009 249	5.787 783	99.94
CPP池2水样	2 561	2 623.313 559	2 632.117 592	0.009 048	5.941 497	99.90

XMP为虾苗,BCPC为半成品虾,CPP为成品虾。

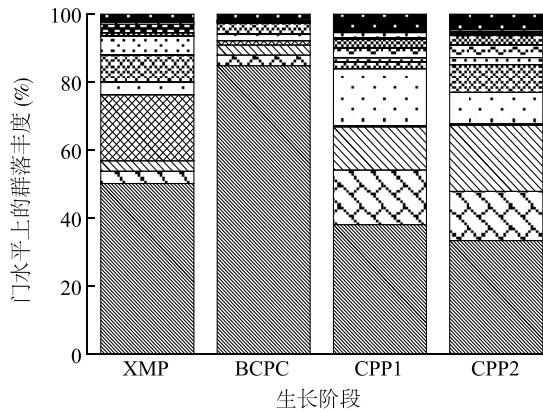


图2 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质的水体中细菌门水平的组成

XMP、BCPC、CPP 见表3注。

Fig.2 Phylum-level bacterial community composition in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

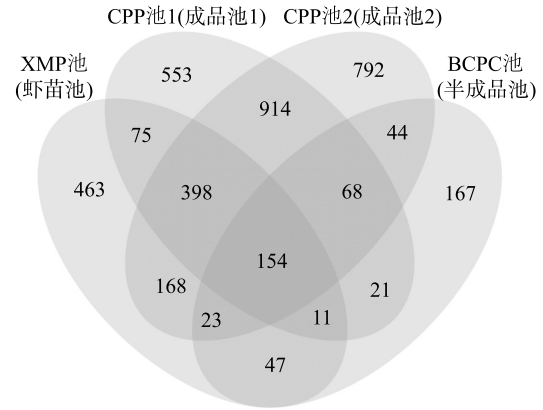


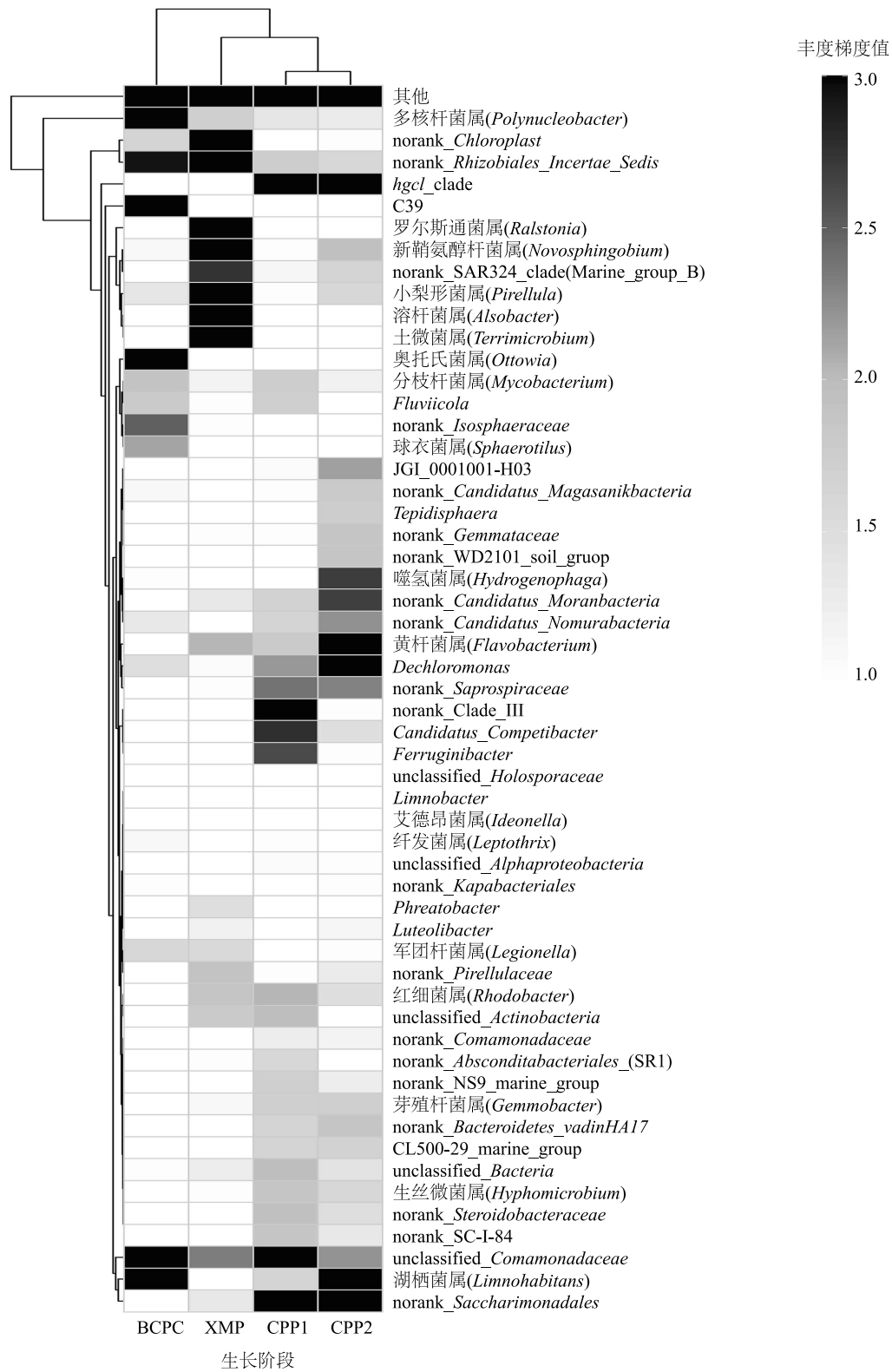
图1 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质的水体中细菌群落组成

Fig.1 Bacterial community composition in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

从图3可知,在属水平上4个生长阶段水体中共鉴定到55个属,对细菌群落结构相似性进行聚类分析发现,不同生长阶段水体中细菌群落结构存在多样性和差异性。其中多核杆菌属(*Polynucleobacter*)细菌、*norank_Chloroplast*细菌、*norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis*细菌、*hgcl_clade*细菌、未分类的*Comamonadaceae*细菌、湖栖菌属(*Limnohabitans*)细菌和C39细菌为红螯螯虾室内养殖池水体中的优势类群。XMP池水体中优势类群为 *norank_Chloroplast* 细菌、*norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis* 细菌和 *Ralstonia* 细菌等,BCPC池水体中优势类群为多核杆菌属细菌和C39细菌等,CPP池1水体中优势类群为 *hgcl_clade* 细菌和未分类的 *Comamonadaceae* 细菌等,CPP池2水体中优势类群为湖栖菌属细菌、*norank_Saccharimonadales* 细菌和 *hgcl_clade* 细菌等。

2.4 理化因子对红螯螯虾室内养殖适宜水质水体中细菌群落结构的影响

不同生长阶段水体中细菌群落的丰富度、多样性与理化因子的皮尔逊相关性分析结果如表4所示,水



XMP、BCPC、CPP 见表 3 注。

图 3 不同生长阶段红螯螯虾室内养殖适宜水质水体中属水平细菌群落的聚类热图

Fig.3 Cluster heatmap of genus-level bacterial communities in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus* at different growth stages

样中NO₂-N含量与 OTU、Chao1 指数、Ace 指数、Shannon 指数呈显著负相关($P<0.05$),与 Simpson 指数呈极显著性正相关($P<0.01$)。这说明NO₂-N含量的增加会导致水体中微生物群落的丰富度和多样性 Shannon 指数下降,而多样性 Simpson 指数上升。

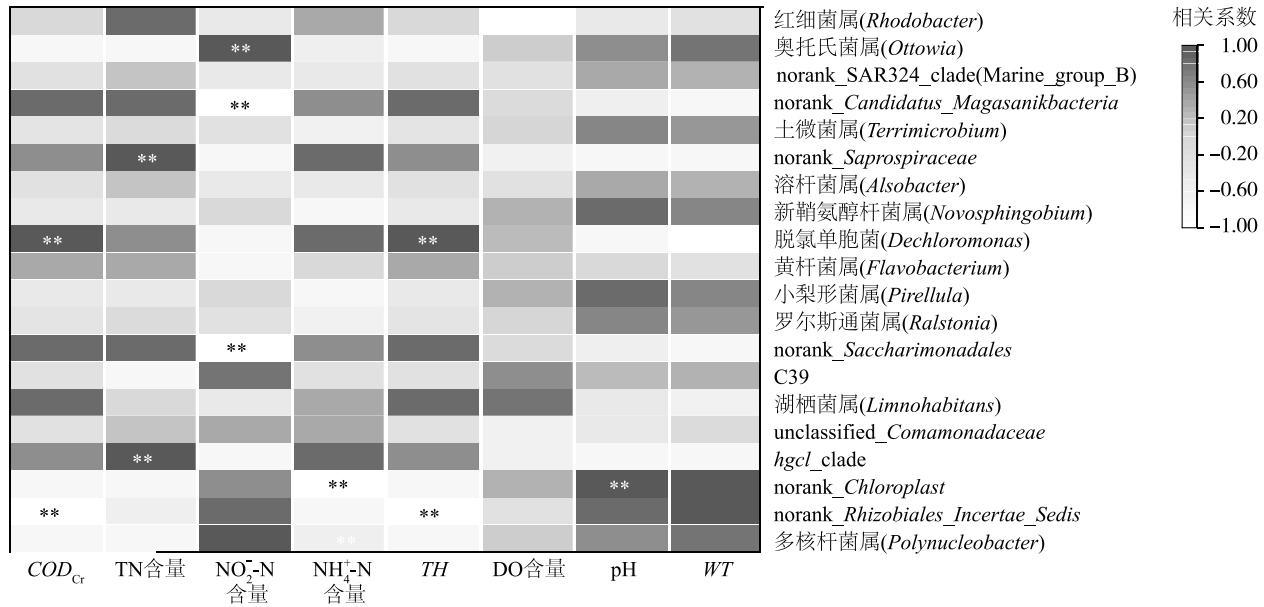
在属水平上对相对丰度前 20 的属与理化因子进行斯皮尔曼相关分析,结果如图 4 所示。其中,NO₂-N含量与优势属多核杆菌属呈极显著性正相关($P<0.01$),与 norank_Saccharimonadales 呈极显著性负相关($P<0.01$);pH 与优势属 norank_Chloroplast 呈极显著性正相关($P<0.01$);NH₄⁺-N 含量与 norank_Chloroplast 呈极显著性负相关($P<0.01$);TH、COD_{Cr} 与 norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis 呈显著性负相关($P<0.01$);TN 含量与 norank_Saprospiraceae、hgcl_clade 呈极显著正相关($P<0.01$),TN 含量与 hgcl_clade 之间的关系与 Ruprecht 等^[18]的研究结果一致。

表 4 红螯螯虾室内养殖适宜水质水体理化因子与微生物多样性的皮尔逊相关性分析

Table 4 Pearson correlation analysis of physicochemical factors and microbial diversity in water suitable for indoor aquaculture of *Cherax quadricarinatus*

水体理化指标	OTU	Chao1 指数	Ace 指数	Shannon 指数	Simpson 指数
WT	-0.540	-0.514	-0.489	-0.641	0.382
pH	-0.351	-0.322	-0.294	-0.480	0.209
DO 含量	-0.340	-0.338	-0.333	-0.437	0.499
TH	0.391	0.363	0.336	0.495	-0.211
NH ₄ ⁺ -N 含量	0.513	0.497	0.480	0.644	-0.550
NO ₂ -N 含量	-0.976*	-0.979*	-0.981*	-0.964*	0.999**
TN 含量	0.844	0.833	0.821	0.920	-0.842
COD _{Cr}	0.844	0.827	0.811	0.905	-0.735

OTU:操作分类单元;WT、DO 含量、TH、TN 含量、COD_{Cr}见表 2 注。*表示二者之间显著相关($P<0.05$),**表示二者之间极显著相关($P<0.01$)。



WT、DO 含量、TH、TN 含量、COD_{Cr}见表 2 注。*表示二者之间显著相关($P<0.05$),**表示二者之间极显著相关($P<0.01$)。

图 4 水样中优势菌属与理化因子的相关性

Fig.4 Correlation between dominant bacterial genera and physical and chemical factors in water samples

2.5 红螯螯虾室内养殖适宜水质水体中细菌群落功能预测

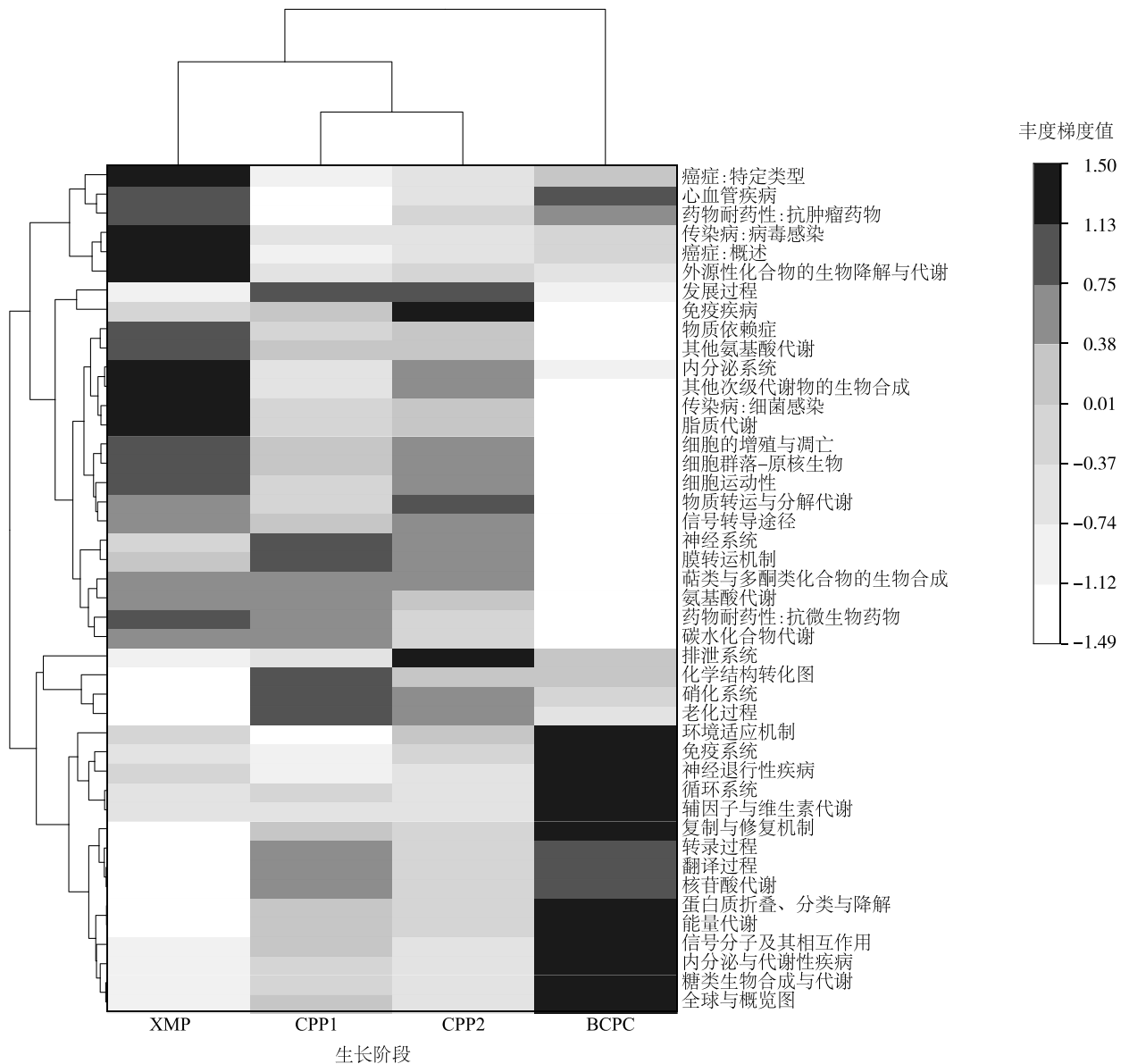
细菌群落的功能对保持红螯螯虾适宜水体环境的稳定性起至关重要的作用。本研究基于 16S rRNA 基因,通过 Tax4Fun2 研究了红螯螯虾不同生长阶段养殖池水体中细菌的相关功能,得到 KEGG 途径中 3 个级别的功能基因的相对丰度:一级通路得到水体中

菌群的优势功能基因,按相对丰度由高到低顺序依次为新陈代谢(75.72%~78.74%)、环境信息处理(7.49%~9.33%)、细胞过程(4.01%~6.28%)、遗传信息处理(3.91%~4.99%)、人类疾病(3.12%~3.40%)和有机系统(1.43%~1.53%)。二级通路共得到水体中细菌相关功能基因 44 个(图 5),相对丰度排名前 10 的分别为全球与概览图(37.08%~40.83%)、碳水

化合物代谢(8.64%~9.11%)、氨基酸代谢(7.72%~8.00%)、膜转运机制(4.42%~4.77%)、信号转导途径(3.05%~4.59%)、能量代谢(3.55%~4.56%)、细胞群落-原核生物(2.64%~4.41%)、辅助因子与维生素代谢(3.25%~4.18%)、脂质代谢(2.56%~3.99%)和外源性化合物的生物降解与代谢(2.85%~4.00%)。聚类分析发现 CPP 池 1 水体和 CPP 池 2 水体中细菌群落首先聚为一类,然后 XMP 池水体中细菌群落与 CPP 池 1 水体中细菌群落和 CPP 池 2 水体中细菌群落形成一个更大的分支,最后 BCPC 池水体中细菌群

落与其他所有水体中细菌群落聚类在一起。

采用 FAPROTAX 对水体中细菌代谢及生态功能进行注释,共得到 49 种细菌群落功能,表 5 为相对丰度排名前 20 的 FAPROTAX 细菌预测功能,结果显示化学异养与好氧化学异养在各生长阶段相对丰度均较高,XMP 池水体中细菌群落中叶绿体的相对丰度最高,表明养殖水体受光合作用的影响较大。此外,本研究发现随着红螯螯虾养殖生长时期的推进, CPP 池 1 水体与 CPP 池 2 水体中硝酸盐还原、氮呼吸和硝酸盐呼吸的相对丰度明显增加。



XMP: 虾苗; BCPC: 半成品虾; CPP: 成品虾。

图 5 二级通路 Tax4Fun2 基因功能预测热图

Fig.5 Heatmap of gene functional prediction for secondary KEGG pathways using Tax4Fun2

表5 基于FAPROTAX细菌功能预测

Table 5 Bacterial functional prediction based on FAPROTAX

FAPROTAX 功能预测	XMP池中 细菌功能 相对丰度 (%)	BCPC池中 细菌功能 相对丰度 (%)	CPP池1中 细菌功能 相对丰度 (%)	CPP池2中 细菌功能 相对丰度 (%)
化学异养	12.77	7.26	10.22	12.36
好氧化学异养	7.31	6.45	8.88	11.48
叶绿体	12.93	0.82	0.04	0.19
硝酸盐还原	0.61	1.21	2.96	3.90
氮呼吸	0.50	0.75	2.34	3.27
硝酸盐呼吸	0.50	0.75	2.34	3.27
细胞内寄生	0.88	1.08	0.61	0.56
芳香族化合物降解	5.25	0.67	0.33	0.26
尿素分解	5.45	0.06	0.11	0.11
烃类降解	5.19	0.05	0.22	0.21
氯酸盐还原	0.21	0.67	1.37	2.25
芳香烃类降解	5.18	0	0	0.05
光合作用	0.96	0.26	1.36	0.57
暗氢氧化	0.05	0.17	0.18	1.84
光异养	0.91	0.05	1.20	0.51
发酵	0.18	0.50	1.14	0.73
锰氧化	0.05	0.30	0.13	0.02
动物寄生或共生	0.16	0.70	0.35	0.23
人类病原体	0.15	0.69	0.32	0.21
甲基营养	0.22	0.31	0.31	0.16

XMP: 虾苗, BCPC: 半成品虾, CPP: 成品虾。

3 讨论

3.1 不同生长阶段养殖池水体理化因子

水体理化因子是影响水产养殖的关键因素^[19], 可通过研究理化因子之间的相关性优化水体环境管理策略。本研究红螯螯虾为室内养殖, 有利于控制水温、溶解氧、pH值等理化因子, 从而降低水产养殖疾病的暴发, 提高虾苗的成活率和生长速度^[5,20]。前人研究表明, 红螯螯虾养殖水体适宜pH值应保持在7~8, 水温在20~30℃, 溶氧量含量维持在5.0 mg/L以上, 盐度在0.2~14.0 g/L, 总氨态氮含量低于0.5 mg/L, NO₂⁻-N含量低于0.3 mg/L, 总硬度大于50 mg/L^[5,17,21], 本研究中XMP池水体pH值为7.5, 明显高于BCPC池、CPP池1和CPP池2养殖水体, 这是因为人工投加的大量小球藻进行光合作用消耗了XMP池水体中CO₂导致pH值升高所

致^[22]。4个生长阶段水体总硬度由大到小排序为CPP池2>CPP池1>BCPC池>XMP池, 这是由于红螯螯虾在生长过程中要经历10~13次蜕壳, 在生长后期, 水体中需要补充更多的钙来满足虾蜕壳需要, 所以在红螯螯虾生长后期水体总硬度偏高^[23]。本研究对不同生长阶段红螯螯虾适宜养殖水体理化因子之间进行皮尔逊相关性分析发现, 水样pH与水温(WT)为显著正相关($P<0.05$), 这是因为WT上升使水体中藻类和光合细菌的光合作用效率提高, 并在光合作用过程中消耗水体中的CO₂, 从而导致pH值上升。TH与WT、pH为显著负相关($P<0.05$), 这是由于水体pH偏碱性和WT升高会导致水体中碳酸钙的溶解度降低, 从而使水体总硬度也随之降低^[24]。说明WT的变化会影响水体pH值和总硬度, 养殖过程中, 特别是在虾蜕壳期间需要密切监测和调控WT、pH和TH, 确保红螯螯虾生活在适宜的水质条件下。

3.2 不同生长阶段水体中细菌群落结构特征

本研究通过Illumina MiSeq高通量测序方法对不同生长阶段红螯螯虾养殖池水体进行细菌多样性分析, 结果发现CPP池1中和CPP池2中细菌群落的多样性和丰富度高于XMP池和BCPC池, 这可能是由于红螯螯虾的体重决定了每天投喂的饵料量^[23], 进而影响到降解水体中排泄物与残饵等的微生物特征^[20]。因此, 随着红螯螯虾生长时期的推进, 水体中细菌群落物种丰富度和多样性也随之上升。这与Feng等^[25]对养殖环境微生物群与宿主微生物群之间的关系以及袁若男等^[26]对池塘养殖不同个体大小红螯螯虾肠道微生物多样性研究的结果一致。但是BCPC池水体中微生物群落的多样性和丰富度均最低, Simpson指数最大, 在门、属水平上分析发现BCPC池水体中变形菌门占84.85%, 多核杆菌属占51.55%, 可能是半成品虾处于养殖中期, 投喂的饵料从虾苗期的粉末更换为颗粒, 其主要成分的构成也相应发生了变化所致。这与Lu等^[27]对拟穴青蟹的研究发现饲养模式的变化会导致水体中细菌群落结构也随着变化的结果一致。CPP池1和CPP池2水体中细菌群落多样性指数和丰富度指数高, 是因为投喂了大量的饵料, 虾产生了大量的排泄物, 为水体中微生物提供了丰富的营养源。此外, 本研究发现CPP1和CPP2经历了多个生长期, 并长期保持相对稳定的生长环境, 因此, 养殖水体生态系统

趋于稳定,细菌群落结构也较为稳定。这表明饵料投喂量、换饵料期和不同生长期等因素都可能对红螯螯虾养殖水体中细菌群落的多样性和丰富度产生重要影响。优化饵料投喂策略、管理红螯螯虾养殖密度以及维持稳定的水环境有助于提高水体中细菌群落的多样性和丰富度。

在不同生长阶段红螯螯虾养殖水体中发现优势菌门均为变形菌门,其次为蓝菌门、放线菌门、拟杆菌门、髌骨菌门。XMP、BCPC、CPP1 和 CPP2 4 个养殖阶段水体中变形菌门丰度分别为 50.20%、84.85%、38.11%、33.45%,变形菌门在养殖水体中的优势地位与 Moschos 等^[28]和李卢国等^[29]的研究结果一致,它参与氮循环,包括氮的硝化和反硝化,分解有机物质并转化为无机物,促进有机废物的降解^[30]。本研究发现 XMP 池水体中的优势菌门除变形菌门外还有蓝细菌门。蓝细菌门细菌作为光合作用生物,能够利用光能将无机物质转化为有机物质,为水体生态系统提供了重要的能量来源^[31]。CPP 池 1 和 CPP 池 2 水体中优势菌门除变形菌门外还有放线菌门、拟杆菌门、髌骨细菌门,说明红螯螯虾生长中后期水体细菌群落分布逐渐均匀,结构趋于平稳。在属水平上,通过聚类分析得到 XMP 池水体中细菌群落与 BCPC 池水体中细菌群落聚为一类,可能是生长环境相对简单,饵料投喂量少,有机物含量低,因此细菌群落的多样性和丰富度较低。CPP 池 1 水体中细菌群落与 CPP 池 2 水体中细菌群落聚为一类,可能是因为红螯螯虾经历了多个生长期,水体中有较多的有机物质和营养源,形成了复杂多样的细菌群落,提高了养殖水体系统的稳定性和韧性,增强了养殖水体系统对环境变化的适应能力。随着生长时期的推进, *hgcl_clade* 细菌、湖栖菌属细菌、黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 细菌和脱氯单胞菌 (*Dechloromonas*) 属细菌相对丰度明显增加。 *hgcl_clade* 细菌参与水体氮循环,具有反硝化和固氮的能力^[18]。湖栖菌属细菌既是水产养殖重要的碳循环菌,也是将碳从初级生产者输送到更高营养水平的关键细菌^[32]。黄杆菌属细菌和脱氯单胞菌为反硝化细菌,可以增强养殖水体硝化和反硝化能力,从而降低水体含氮化合物的浓度^[33-34],但也有研究结果表明,某些黄杆菌属细菌为鱼类病原体,能够引起鱼鳃损伤、皮肤病变和深度坏死性溃疡等疾病^[35],目前未见黄杆菌属细菌对红螯螯虾造成病原性伤害的

报道。

3.3 不同生长阶段水体理化因子对细菌群落的影响

细菌群落的变化不仅受到不同生长阶段养殖对象的影响,水体理化因子也在调控微生物群落结构和功能方面起关键作用,甚至影响养殖水体生态系统的稳定性及健康状况。水体中细菌在水生生态系统的生物地球化学循环中起着至关重要的作用,对水质变化有重要影响^[36]。前人的研究主要集中在对不同生长阶段红螯螯虾肠道微生物与水体理化因子之间的关系^[9,26],忽略了对养殖水体中微生物重要性的探究。本研究发现水体理化因子 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量与不同生长阶段红螯螯虾水体中细菌群落的 Chao1 指数、Ace 指数、Shannon 指数呈显著负相关关系。氮素对养殖动物和养殖水体中微生物具有重要影响^[27,37]。在红螯螯虾养殖水体中氮素主要来源于残饵和排泄物,养殖过程中通过曝气增氧有利于养殖水体中硝化细菌和亚硝化细菌的生长,进而通过硝化作用和反硝化作用促进养殖水体脱氮^[38]。本研究发现, $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量与多核杆菌属细菌呈极显著正相关,与 *norank_Saccharimonadales* 细菌呈极显著负相关; pH 与优势属 *norank_Chloroplast* 细菌呈极显著正相关; $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量与 *norank_Chloroplast* 细菌呈极显著负相关; TH、 COD_Cr 与 *norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis* 细菌呈显著负相关; TN 含量与 *hgcl_clade* 细菌呈极显著正相关,说明这些理化因子对水体中微生物群落结构具有显著影响。许郑超等^[39]对中华绒螯蟹养殖水体的研究发现,WT、pH、DO 和 TH 对水体中细菌群落结构有显著影响。

3.4 不同生长阶段水体中细菌群落功能预测

功能基因在微生物群落中的作用至关重要,决定了微生物的代谢能力、生态功能及其与环境的相互作用。通过 Tax4Fun2 功能基因预测发现,一级通路得到不同生长阶段养殖水体中细菌群落的优势功能基因丰度变化不大,以新陈代谢为主。微生物的新陈代谢是各类菌属与环境之间物质和能量交换的主要过程^[40]。在养殖水体中微生物新陈代谢主要参与营养物质的摄取、有机物的分解、能量的产生以及废物的排泄,微生物可以通过新陈代谢活动分解养殖水体的有机物,并转化为无机物^[41]。二级通路得到不同生长阶段养殖水体中主要的优势功能基因均为全球与概览图、碳水化合物代谢、氨基酸代谢、膜转运机制、信号转导途径、能量代谢等,这些功能

涵盖了微生物群落的基本生命活动,包括能量获取、物质转运、信息传递以及物质代谢^[42]。聚类分析发现, CPP池1水体中细菌群落和 CPP池2水体中细菌群落首先聚为一类,随后与 XMP池水体中细菌群落形成一个更大的分支,最后 BCPC池水体中细菌群落与所有水体中细菌群落聚类在一起,说明相邻生长阶段水体中细菌群落功能基因更为相似,功能基因从 XMP阶段过渡到 BCPC阶段时通过适应和调整,最终在 CPP1和 CPP2阶段趋于稳定。FA-PROTAX注释结果显示,主要功能预测包括化学异养、好氧化学异养、叶绿体、硝酸盐还原、氮呼吸和硝酸盐呼吸,说明在不同生长阶段养殖水体以碳代谢和氮代谢为主。碳代谢是微生物获得能量的主要途径,微生物通过碳代谢分解有机物,减少水体中的有机污染物,从而提高水质^[43]。氮代谢是生物地球化学循环的关键过程^[44]。氮代谢过程如硝化作用、反硝化作用和固氮作用是氮循环的重要组成部分,维持水体中氮平衡,防止过量氮污染,通过反硝化作用和硝酸盐还原作用,微生物可以将有害的氮化合物转化为氮气或其他无害形式,从而达到改善水质的目的^[45]。因此,本研究养殖水体中碳代谢和氮代谢发挥着关键作用。在红螯螯虾不同生长阶段养殖水体化学异养和好氧化学异养相对丰度均较高,这与 Xie等^[46]对克氏原螯虾不同生长阶段肠道菌群的主要功能预测结果一致。化学异养菌和好氧化学异养菌通过氧化无机物质(如硫、氮等)来获取能量,在水产养殖中,可以帮助分解有机废物,从而改善水质^[47]。本研究发现随着红螯螯虾生长时期的推进,养殖水体中硝酸盐还原、氮呼吸和硝酸盐呼吸微生物的相对丰度也逐渐增加,反映了与氮循环相关的代谢活动随着养殖生长时期的推进而增强,有助于减少含氮化合物积累,维持养殖水体健康。

4 结论

本研究利用高通量测序技术研究了不同生长阶段红螯螯虾养殖水体细菌群落的结构、组成、功能以及与水体理化因子之间的关系。不同生长阶段红螯螯虾养殖适宜水体中 pH与 WT呈显著正相关($P < 0.05$), TH与 WT、pH呈显著负相关($P < 0.05$)。红螯螯虾不同生长阶段适宜水质水体均具有丰富的细菌群落组成,主要细菌门有变形菌门、蓝菌门、放线菌门、拟杆菌门、颤骨菌门等,优势细菌属有多核杆

菌属、norank_Rhizobiales_Incertae_Sedis、unclassified_Comamonadaceae和湖栖菌属等。养殖水体细菌群落物种多样性主要受水体理化因子 $\text{NO}_2\text{-N}$ 含量的影响。不同生长阶段适宜水质水体细菌群落功能基因组较为相似,主要优势功能为全球与概览图、碳水化合物代谢、氨基酸代谢和膜转运机制等。氮代谢循环功能类群的相对丰度在成品虾生长阶段明显增加。本研究结果为红螯螯虾室内养殖水体中微生物调控提供科学依据。

参考文献:

- [1] 张文兵,解绶启,徐皓,等.我国水产业高质量发展战略研究[J].中国工程科学,2023,25(4):137-148.
- [2] 梁利权,郭春霞,陈小华,等.水产养殖清塘过程污染排放特征及对周边水体影响:以太湖下游典型鱼类集约化养殖区为例[J].湖泊科学,2023,35(1):181-191.
- [3] 王广军,孙悦,郁二蒙,等.澳洲淡水龙虾与克氏原螯虾肌肉营养成分分析与品质评价[J].动物营养学报,2019,31(9):4339-4348.
- [4] ZHENG T M, WANG P F, HU B, et al. Mass variations and transfer process of shrimp farming pollutants in aquaculture drainage systems; effects of DOM features and physicochemical properties[J]. Journal of Hazardous Materials, 2024, 469: 133978.
- [5] CHENG S, JIA Y Y, CHI M L, et al. Culture model of *Cherax quadricarinatus*: temporary shelter in shed and pond culture[J]. Aquaculture, 2020, 526: 735359.
- [6] 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.
- [7] 刘梅,原居林,练青平,等.池塘内循环流水养殖模式对养殖塘上覆水-沉积物-间隙水磷时空分布特征及释放通量的影响[J].水生生物学报,2021,45(5):1045-1056.
- [8] 吴小峰.水产养殖温度调控系统智能化设计[J].农机化研究,2018,40(11):136-139,146.
- [9] 徐文倩,叶姜瑜.复合菌剂 M5 对红螯螯虾 (*Cherax quadricarinatus*) 高密度养殖系统水质及其肠道微生物群落影响的初步研究[J].微生物学杂志,2020,40(5):58-66.
- [10] 蒋建明,乔增伟,朱正伟,等.水产养殖复合式自动增氧系统设计及试验[J].农业机械学报,2020,51(10):278-283.
- [11] MASSER M P, ROUSE D B. Australian red claw crayfish [M]. Stoneville: Southern Regional Aquaculture Center, 1997.
- [12] DAUDA A B. Biofloc technology: a review on the microbial interactions, operational parameters and implications to disease and health management of cultured aquatic animals[J]. Reviews in Aquaculture, 2020, 12(2): 1193-1210.
- [13] GARCIA-GARCERA M, ROCHA E P C. Community diversity and habitat structure shape the repertoire of extracellular proteins in bacteria[J]. Nature Communications, 2020, 11(1): 758.

- [14] 任丽娟,何 聃,邢 鹏,等. 湖泊水体细菌多样性及其生态功能研究进展[J]. 生物多样性,2013,21(4):422-433.
- [15] LIU B N, ZHOU W M, WANG H, et al. *Bacillus baekryungensis* MSI regulates the growth, non-specific immune parameters and gut microbiota of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 102:133-139.
- [16] INFANTE-VILLAMIL S, HUERLIMANN R, JERRY D R. Microbiome diversity and dysbiosis in aquaculture [J]. Reviews in Aquaculture, 2021, 13(2):1077-1096.
- [17] HAUBROCK P J, OFICIALDEGUI F J, ZENG Y W, et al. The redclaw crayfish: a prominent aquaculture species with invasive potential in tropical and subtropical biodiversity hotspots [J]. Reviews in Aquaculture, 2021, 13(3):1488-1530.
- [18] RUPRECHT J E, BIRRER S C, DAFFORN K A, et al. Wastewater effluents cause microbial community shifts and change trophic status [J]. Water Research, 2021, 200:117206.
- [19] GEPHART J A, GOLDEN C D. Environmental and nutritional double bottom lines in aquaculture [J]. One Earth, 2022, 5(4):324-328.
- [20] CHEN Z, LI J, ZHAI Q Q, et al. Nitrogen cycling process and application in different prawn culture modes [J]. Reviews in Aquaculture, 2024, 16(4):1580-1602.
- [21] MANOR R, SEGEV R, LEIBOVITZ M P, et al. Intensification of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* culture [J]. Aquacultural Engineering, 2002, 26(4):263-276.
- [22] 秦保平,孙 韧,王德龙,等. 引滦河道中水质偏碱的起因研究 [J]. 环境科学研究, 1999, 12(5):38-42.
- [23] 徐芯渝. 澳洲淡水龙虾养殖水体的微生物调控 [D]. 重庆:重庆大学, 2019.
- [24] PIEDRAHITA R H, SELAND A. Calculation of pH in fresh and sea water aquaculture systems [J]. Aquacultural Engineering, 1995, 14(4):331-346.
- [25] FENG Y, LI M H, DUAN H M, et al. Microbial analysis reveals the potential colonization of pathogens in the intestine of crayfish (*Procambarus clarkii*) in traditional aquaculture environments [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 224:112705.
- [26] 袁若男,杨慧赞,黄黎明,等. 池塘养殖红螯螯虾个体大小与肠道细菌的关系分析 [J]. 西南农业学报, 2021, 34(12):2790-2797.
- [27] LU Z B, LIN W C, LI Q, et al. Recirculating aquaculture system as microbial community and water quality management strategy in the larviculture of *Scylla paramamosain* [J]. Water Research, 2024, 252:121218.
- [28] MOSCHOS S, KORMAS K A, KARAYANNI H. Prokaryotic diversity in marine and freshwater recirculating aquaculture systems [J]. Reviews in Aquaculture, 2022, 14(4):1861-1886.
- [29] 李卢国,骆云慧,徐善良. 循环水养殖黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 水体中循环率对水质因子和细菌群落多样性的影响 [J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(2):318-327.
- [30] YU M J, SU W Q, HUANG L B, et al. Bacterial community structure and putative nitrogen-cycling functional traits along a chaoosphere gradient under waterlogged conditions [J]. Soil Biology and Biochemistry, 2021, 162:108420.
- [31] 胡高宇,张 翔,陈 琛,等. 海水养殖尾水处理系统中微生物群落对水处理阶段的响应 [J]. 水生生物学报, 2021, 45(1):161-171.
- [32] PROPS R, DENEFF V J. Temperature and nutrient levels correspond with lineage-specific microdiversification in the ubiquitous and abundant freshwater genus *Limnohabitans* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2020, 86(10):e00140-20.
- [33] XU J J, ZHANG N, YANG G J, et al. Revealing the behavior of perfluorooctane sulfonic acid in an aerobic granular sludge system: fate and impact [J]. Chemical Engineering Journal, 2023, 454:140478.
- [34] WANG F, CUI Q, LIU W A, et al. Synergistic denitrification mechanism of domesticated aerobic denitrifying bacteria in low-temperature municipal wastewater treatment [J]. NPJ Clean Water, 2024, 7:6.
- [35] LAFRENTZ B R, KRÁLOVÁ S, BURBICK C R, et al. The fish pathogen *Flavobacterium columnare* represents four distinct species; *Flavobacterium columnare*, *Flavobacterium covae* sp. nov., *Flavobacterium davisii* sp. nov. and *Flavobacterium oreochromis* sp. nov., and emended description of *Flavobacterium columnare* [J]. Systematic and Applied Microbiology, 2022, 45(2):126293.
- [36] LI Z, DU Q Y, JIAO T Y, et al. Effects of probiotic supplementary bioflocs (*Rhodospirillum rubrum*, *Bacillus subtilis*, *Providencia rettgeri*) on growth, immunity, and water quality in cultures of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) [J]. Aquaculture, 2024, 591:741141.
- [37] LIU Z T, WANG P D, LI J L, et al. Comparative metagenomic analysis of microbial community compositions and functions in cage aquaculture and its nearby non-aquaculture environments [J]. Frontiers in Microbiology, 2024, 15:1398005.
- [38] WANG M, FAN Z J, WANG R N, et al. Nitrogen removal performance, and microbial community structure of water and its association with nitrogen metabolism of an ecological engineering pond aquaculture system [J]. Aquaculture Reports, 2022, 25:101258.
- [39] 许郑超,邓燕飞,周 军,等. 中华绒螯蟹养殖池塘菌群结构和功能特征 [J]. 生态学杂志, 2021, 40(7):2223-2233.
- [40] 杨文焕,邓子威,徐 岩,等. 光合细菌对活性污泥微生物群落结构及功能的影响 [J]. 中国环境科学, 2024, 44(3):1314-1323.
- [41] 王 涛,刘青松,李 华,等. 生物絮团技术在水产养殖水处理系统中作用与管理的研究进展 [J]. 海洋湖沼通报, 2019, 41(1):119-125.
- [42] ZHAO Q, XIE F X, ZHANG F F, et al. Analysis of bacterial community functional diversity in late-stage shrimp (*Litopenaeus vannamei*) ponds using Biolog EcoPlates and PICRUSt2 [J]. Aquaculture, 2022, 546:737288.
- [43] 卢培利,杨 涵,丁阿强,等. 碳源与氮源限制下细菌代谢调节

- 研究进展[J]. 微生物学报, 2023, 63(3): 946-962.
- [44] 陶苗苗, 李亚楠, 宋海滢, 等. 挺水植物菖蒲根区沉积物细菌群落结构和功能特征分析[J]. 环境化学, 2024, 43(6): 1942-1953.
- [45] KUYPERS M M M, MARCHANT H K, KARTAL B. The microbial nitrogen-cycling network [J]. Nature Reviews. Microbiology, 2018, 16(5): 263-276.
- [46] XIE M Q, ZHANG S Y, XU L L, et al. Comparison of the intestinal microbiota during the different growth stages of red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 696281.
- [47] EBELING J M, TIMMONS M B, BISOGNI J J. Engineering analysis of the stoichiometry of photoautotrophic, autotrophic, and heterotrophic removal of ammonia - nitrogen in aquaculture systems [J]. Aquaculture, 2006, 257(1/2/3/4): 346-358.

(责任编辑:黄克玲)