



Open Access

引用格式:张宇航,张袁率,龙昊,等.封闭式对虾养殖中生物絮团微生物群落演替及关键氮代谢微生物[J].海南大学学报(自然科学版中英文), DOI: 10.65658/j.hndk.2025112701.

Citation:ZHANG Yuhang, ZHANG Yuanshuai, LONG Hao, et al. Succession Pattern of Microbial Communities and Key Microorganisms Involved in Nitrogen Metabolism in Closed Litopenaeus vannamei Aquaculture System Based on Biofloc Technology[J]. Natural Science of Hainan University, DOI: 10.65658/j.hndk.2025112701.

封闭式对虾养殖中生物絮团微生物群落 演替及关键氮代谢微生物

张宇航^{ID}, 张袁率^{ID}, 龙昊^{ID}, 曾艳华^{ID}, 谢珍玉[✉]

(海南大学 海洋生物与水产学院, 海南 海口 570228 中国)

摘要: 基于生物絮团的封闭式对虾养殖模式可以有效隔绝病原微生物等外部环境微生物对养殖水环境的干扰,同时可以通过添加益生菌等方法,实现对该系统微生物群落的定向操纵。因此,鉴定该模式的关键微生物、调控方法以及揭示其微生物群落演替规律,是实现其微生物群落定向操纵的关键。为此,本文采用微生物多样性分析和宏基因组分析方法,探究基于生物絮团的封闭式对虾养殖系统中的微生物群落演替规律并鉴定其关键功能基因;结合水质变化规律与环境因子关联分析,寻找影响微生物群落的重要因素和鉴定水质改良关键微生物。研究结果表明,该系统群落微生物群落演替受水体氨氮与亚硝酸盐影响,系统群落微生物多样性指数趋势与水体亚硝酸盐浓度基本一致;其中,隶属于 Saccharimonadales 目的 TM7a 属细菌丰度与亚硝酸盐浓度呈极显著正相关($p < 0.001$),可能是参与反硝化的关键微生物,另外该目下 OTU3181 菌株在养殖后期与氨氮的浓度呈极显著正相关($p < 0.001$),可能是这一时期的氨氮去除关键微生物;宏基因组代谢分析显示,反硝化与异化硝酸盐还原(DNRA)相关基因占比较高,可能是该系统主要氮代谢途径;水体环境条件与优势菌群的高度相关表明可以通过调控关键环境条件和添加特定菌株,人工定向引导微生物群落的演化轨迹。本文为在对虾养殖的高效净化水质生物絮团培养及其微生物定向重构提供了重要参考。

关键词: 凡纳滨对虾; 封闭式对虾养殖; 生物絮团; 微生物组; 亚硝酸盐

中图分类号: S967.9 文献标志码: A

DOI: 10.65658/j.hndk.2025112701 CSTR: 32403.14.hndk.2025112701

Succession Pattern of Microbial Communities and Key Microorganisms Involved in Nitrogen Metabolism in Closed Litopenaeus vannamei Aquaculture System Based on Biofloc Technology

ZHANG Yuhang^{ID}, ZHANG Yuanshuai^{ID}, LONG Hao^{ID}, ZENG Yanhua^{ID}, XIE Zhenyu[✉]

(School of Marine Biology and Fisheries, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: The closed shrimp farming model based on bioflocs effectively isolates external environmental microorganisms, such as pathogenic microbes, from interfering with the aquaculture water environment. Simultaneously, it enables targeted manipulation of the microbial community within this system through

Received: 2025-11-27; Revised: 2026-01-24; Accepted: 2026-01-27.

✉ Corresponding author(s): XIE Zhenyu, E-mail: xiezyscuta@163.com.

methods like probiotic supplementation. Therefore, identifying the key microorganisms in this model, determining regulatory methods, and revealing the succession patterns of its microbial community are crucial for achieving targeted microbial community manipulation. This study employs microbial diversity analysis and metagenomic analysis to investigate microbial community succession patterns within the biofloc-based closed shrimp farming system and identify its key functional genes. By analyzing water quality dynamics in relation to environmental factors, the study identified critical factors influencing microbial communities and pinpointed key microorganisms for water quality improvement. Results indicate that microbial community succession in this system is influenced by ammonia nitrogen and nitrite concentrations in the water, with trends in microbial diversity indices largely consistent with nitrite concentrations. Among these, the abundance of bacteria belonging to the genus TM7a within the order Saccharimonadales showed a highly significant positive correlation ($p < 0.001$) with nitrite concentration, suggesting they may be key microorganisms involved in denitrification. Additionally, the OTU3181 strain within this order exhibited a highly significant positive correlation with ammonia nitrogen concentration during the later aquaculture phase ($p < 0.001$), suggesting it may be a key microorganism for ammonia nitrogen removal during this period. Metagenomic metabolic analysis revealed a high proportion of denitrification and dissimilatory nitrate reduction (DNRA)-related genes in the biofloc, suggesting these represent the primary nitrogen metabolic pathways in this system. The high correlation between aquatic environmental conditions and dominant microbial communities indicates that the evolutionary trajectory of microbial communities can be artificially guided by regulating key environmental factors and introducing specific bacterial strains. This research offers direct applications for cultivating efficient biological flocs for water purification in shrimp farming and facilitates the targeted microbial reconstruction of these systems.

Keywords: *Litopenaeus vannamei*; closed shrimp farming; biological floc; microbiome; nitrite.

0 引言

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)作为全球水产养殖的主要经济物种,其产量在过去二十年中呈现指数级增长,目前已占全球对虾养殖总量的80%以上。对虾养殖量的增长主要得益于通过集约化养殖所实现的高密度生物量承载、全流程环境控制及资源集约化利用^[1]。然而该方式也伴随着严峻的环境与健康挑战。其中,氮污染导致的水质恶化问题尤为突出:残饵与排泄物导致水体氨氮(NH_4^+)和亚硝酸盐(NO_2^-)累积,从而引发对虾免疫抑制、生长迟缓甚至大规模死亡^[2-5]。因此,开发新型可持续的绿色健康对虾养殖技术已成为产业转型的核心需求^[6]。

生物絮团技术(Biofloc Technology, BFT)是一种创新且环保的水产养殖技术^[7],其通过调控微生物群落的动态增值,在优化养殖环境的同时,还为养殖生物提供额外的营养来源^[8]。BFT技术的应用是实现可持续水产养殖的关键,可以解决传统水产养殖中饲料成本过高、水污染和对有限自然资源依赖等问题^[9-13]。也就是说,BFT利用培养系统中富含微生物的环境,实现多余营养物质回收并重新生成饲料资源^[14],减少了养殖对外部饲料投入的需求和降低了传统水产养殖中常见的环境影响问题。然而,其工业化推广仍受制于絮团稳定性和菌群调控等问题^[15],尤其是微生物群落在系统中的功能复杂性尚未被充分解析,限制了其精准调控策略的开发。

在水产养殖中,通过添加益生菌来改善水质^[16],以及通过对水体微生物的调控,进行水质管理已成为水产养殖的常规应用手段^[17-19]。而在对虾养殖中,微生物调控不仅是水质管理的核心,更是维系对虾健康的关键^[20-22]。近年研究发现,添加乳酸菌(*Lactobacillus sp.*)或芽孢杆菌(*Bacillus sp.*)等益生菌可增强对虾肠道屏障功能,并分泌群体感应抑制物以减少弧菌定植^[23]。然而,如何保持微生物群落的稳定性,以及通

过精准的微生物调控来解决实际养殖过程中的问题, 仍是亟待解决的难题。

近年来, 在中国对虾养殖区域开发出一种新兴的养殖模式: 小型温棚对虾养殖模式, 这种养殖模式可以高效隔绝了外部环境对养殖水环境的干扰, 尤其是病原入侵, 从而降低了对虾的患病几率, 增加了对虾的存活率。

本文借鉴小型温棚对虾养殖模式的微生物生态学原理, 构建一种新型对虾养殖模式——基于生物絮团的封闭式对虾养殖模式, 通过探究该养殖系统微生物群落结构的演替规律、功能及其与水质的相关性, 为可控的封闭式对虾养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验系统 凡纳滨对虾苗种由海南海壹水产种苗有限公司提供, 于海南蓝泰邦生物技术有限公司养殖。幼苗经过病原检测, 不携带任何病原。养殖池由纤维强化塑料(俗称“玻璃钢”)制成, 直径 2.5 m、高度 1.6 m。采用透明膜将养殖池与外界隔绝。养殖池与超滤机通过 PVC 塑料管道相连, 全程封闭。每个养殖池内安装 3 个微孔曝气盘(气管长度 2.0 m), 充入过滤空气。

1.2 实验设计 引入虾苗前, 将天然海水经超滤后加入养殖池, 调节盐度至 10。随后将分离自三亚蜈支洲岛海域国家级海洋牧场海水样品的枯草芽孢杆菌 X7 活化扩大培养后(浓度为 10^6 CFU/mL)投放至养殖池, 投放 300 mL 菌液, 同时加入 50g 饲料与 50g 蔗糖进行肥水。对虾首先集中于一个养殖池暂养, 随后进行分池培养。以分池当天为参数记录第一天。

投放 P10 规格的虾苗开始养殖, 初始养殖密度为 1 000 尾/ m^3 , 溶氧量 ≥ 5 mg/L。每天按体重的 3% ~ 5% 的比例, 分 3 次(07:00、12:00 和 17:00)投喂饲料(粗蛋白 ≥ 43.0 , 粗脂肪 ≥ 5.0 , 粗纤维 ≤ 5.0 , 粗灰分 ≤ 16.0 , 总磷 0.8-2.0, 赖氨酸 ≥ 2.6)。自然日光; 养殖全程不换水, 不添加抗生素等药物; 水温保持在 28.0 ± 3.0 °C、C/N 保持在 8:1; 通过添加碳酸氢钠(NaHCO_3), 保持水体的总碱度 ≥ 110 mg/L(以 CaCO_3 计)。

1.3 水质参数分析 使用便携式水质分析仪(OctademW-1, 无锡奥克丹生物科技有限公司, 中国无锡)测量水体溶解氧、pH、 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 NO_2^- 。通过温度计实时监测水体温度, 采用总碱度检测试剂盒(东莞市渔嘉旺生物科技有限公司, 中国广东)分析总碱度。以上数参数每天 17:00 测量一次。

1.4 样本采集 从生物絮团开始形成时(约养殖 6 周后)收集微生物样本, 每 6 天采样一次, 每次收集 6 个样本, 每个养殖池各两个。主要操作为: 三个养殖池作为三个平行, 每个养殖池先采用 600 目筛绢过滤收集生物絮团样本, 代号为 BF; 过滤后的水再使用 0.22 μm 滤纸过滤收集水体微生物样本, 代号为 BP; 收集 14 批, 共 84 个样品; 所有样品存储于 -80 °C。

1.5 宏基因组提取与 16S rDNA 测序 根据 E.Z.N.A.® soil DNA kit (Omega Bio-tek, Norcross, GA, U.S.) 说明书进行微生物群落总基因组 DNA 抽提, 使用 NanoDrop2000(美国 Thermo Scientific 公司)测定 DNA 浓度和纯度。以 DNA 为模板, 使用携带 Barcode 序列的上游引物 338F (5'-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3') 和下游引物 806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3') 对 16S rRNA 基因 V3-V4 可变区进行 PCR 扩增, 使用 2% 琼脂糖凝胶回收 PCR 产物, 利用 DNA 凝胶回收纯化试剂盒(PCR Clean-Up Kit, 中国逾华)进行回收产物纯化, 并用 Qubit 4.0 (Thermo Fisher Scientific, USA) 对回收产物进行检测定量。

1.6 微生物群落分析 使用 NEXTFLEX Rapid DNA-Seq Kit 对纯化后的 PCR 产物进行建库。利用 Illumina Nextseq2000 平台进行测序(上海美吉生物医药科技有限公司)。原始数据上传至 NCBI SRA 数据库(PRJNA1251302)。使用 Majorbio Cloud Platform (<http://www.majorbio.com>) 分析微生物群落组成。

1.7 水质参数与微生物群落相关性分析 使用 Majorbio Cloud Platform 平台上的环境因子关联分析(db-RDA 分析)模块, 分析水质参数因子和微生物的相关性, 确定影响微生物群落的重要环境驱动因子, 以及与环境变化相关的关键物种。

1.8 宏基因组测序分析 宏基因组测序由 Majorbio Bio-Pharm Technology Co.公司完成。所有原始宏基因组数据集均存入 NCBI SRA 数据库 (PRJNA1251302)。在 Majorbio Cloud Platform 平台上使用 Diamond(<https://github.com/bbuchfink/diamond>, version 2.0.13)将非冗余基因集的氨基酸序列与 NR 数据库

进行比对,并通过 NR 库对应的分类学信息数据库获得物种注释,然后使用物种对应的基因丰度总和计算该物种的丰度;使用 Diamond 将非冗余基因集的氨基酸序列与 KEGG 数据库进行比对,获得基因对应的 KEGG 功能,使用 KO、Pathway、EC、Module 对应的基因丰度总和计算对应功能类别的丰度。

1.9 氮代谢主要代谢途径及其关键微生物 采用 Majorbio Cloud Platform 平台上的 FAPROTAX 功能预测数据库,解析不同养殖阶段水体微生物的主要功能;同时采用 NR 数据库和 KEGG 数据库,注释物种和功能基因;聚焦于养殖过程中的氮代谢主要途径及其关键微生物,将成功注释的微生物物种与功能基因进行关联分析。

1.10 统计分析 使用 SPSS 对处理后的数据进行单因素方差分析和邓肯检验法分析,当两组间 $p < 0.05$ 认为存在显著差异,使用 origin 2024 作图软件绘制水质变化折线图。

2 实验结果与分析

2.1 养殖水质变化分析 以开始收集样品当天为 D1,随着养殖的进行,氨氮在 D13 开始上升,在 D25 达到 0.76mg/L ,在 D25 ~ D31 与 D43 ~ D55 这两段时间内有所下降,但整体依旧保持在一个较高区间内(图 1a)。而亚硝酸盐在这两段时间内均有上升,且在 D25 时显著升高, D31 达到峰值,约为 1mg/L (图 1b)。

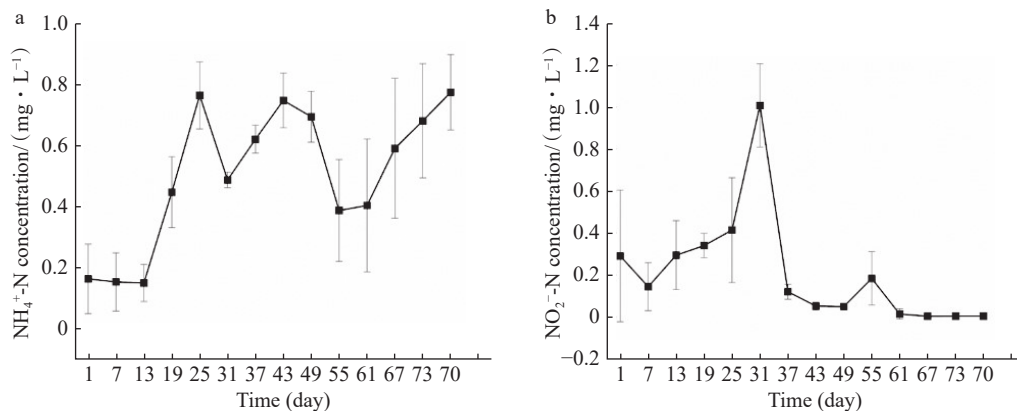


图 1 生物絮团对虾养殖过程中的水质变化。

2.2 微生物群落分析

2.2.1 微生物群落组成 分别选取门水平和科水平微生物的相对丰度,探究养殖过程中微生物群落组成及动态变化。如图 2a 所示,优势菌门为变形菌门(Proteobacteria)、拟杆菌门(Bacteroidota)、放线菌门(Actinobacteriota)、酸杆菌门(patescibacteria)、绿湾菌门(Chloroflexi)、厚壁菌门(Firmicutes)。其中,酸杆菌门在 D13 ~ D31 与 D73 ~ D79 这两段时间内的丰度有明显增加,同时,变形菌门的丰度则有所降低。浮霉菌门(Planctomycetota)在养殖后期(D31 ~ D79)出现,而在这一阶段,系统生物絮团量较大。厚壁菌门作为对虾养殖中重要益生菌门,存在于整个养殖过程。

在科水平上,红杆菌(Rhodobacteraceae)在各个时期均占优势, saccharimonadaceae 的丰度在 D13 ~ D31 最高, saccharimonadales 是 D73 ~ D79 这一时期的优势菌科(图 2b)。

2.2.2 微生物群落演替规律 在对虾养殖过程中,水体微生物多样性指数的变化趋势与养殖水体中亚硝酸盐浓度的变化趋势基本一致(图 1a 和图 3a): D1 ~ D31 之间,水中亚硝酸盐的浓度较低且变化趋势不大,这一阶段水体的微生物多样性指数(chao index)同样较低且基本保持不变; D31 ~ D61 之间,水中亚硝酸盐的浓度变化较大且出现了两个明显的高峰期,这一阶段水体的微生物多样性指数持续增加,出现高峰值的时间和亚硝酸盐浓度的高峰期基本吻合;在 D61 之后,水中亚硝酸盐的浓度基本不变且一直维持在最低值,这一阶段水体的微生物多样性指数也基本维持不变。

主成分分析显示出类似的微生物聚类规律(图 3b): D1 ~ D31 号这一阶段的微生物群落聚成一个簇,生物絮团细菌群落和浮游细菌群落有明显差异; D43 ~ D61 号这一阶段的生物絮团细菌群落和浮游细菌

2.3 水质与微生物群之间的关联 为了探究不同水质指标对系统微生物群落结构的影响,研究进行了环境因子关联分析(db-RDA 分析),结果表明,氨氮浓度和亚硝酸盐浓度对养殖水体中微生物群落结构的影响最显著(图 4a)。环境因子相关性热图揭示了许多与氨氮浓度和/或亚硝酸盐浓度呈显著相关性的 OTU(图 4b)。

ZHANG Yuhang et al. Succession Pattern of Microbial Communities and Key Microorganisms Involved in Nitrogen Metabolism ...
Natural Science of Hainan University (ISSN 1004-1729) <https://hndk.hainanu.edu.cn>

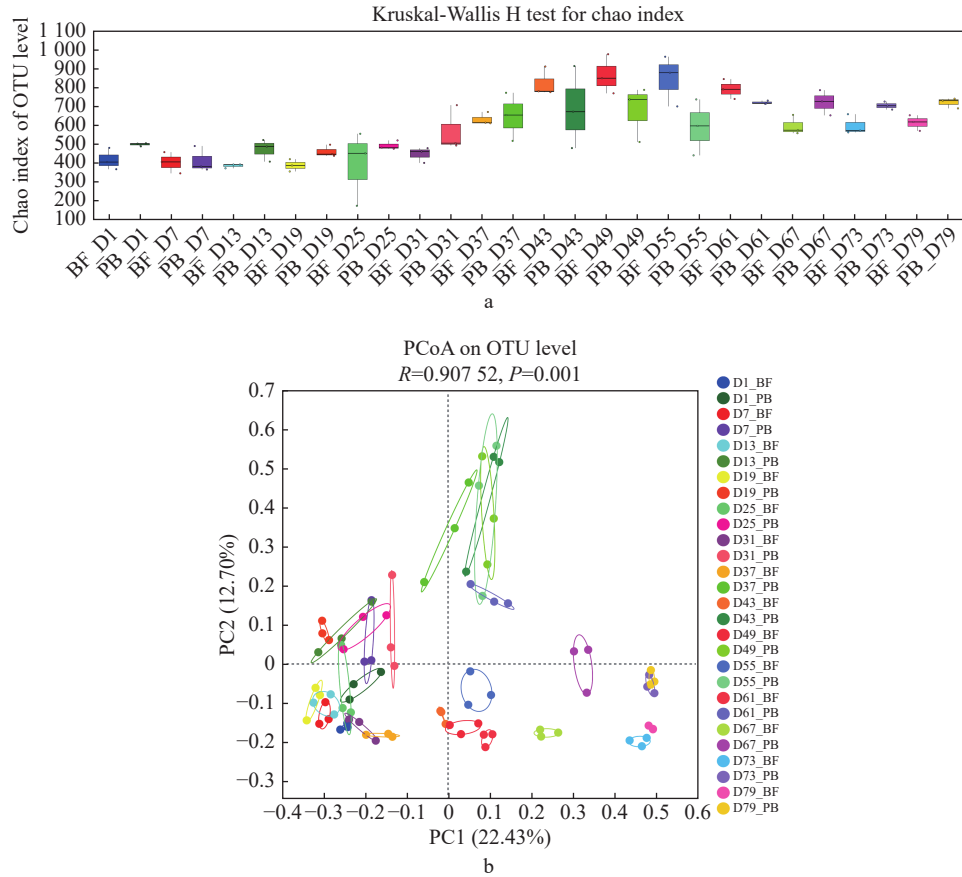


图3 不同时期养殖系统中微生物的动态变化

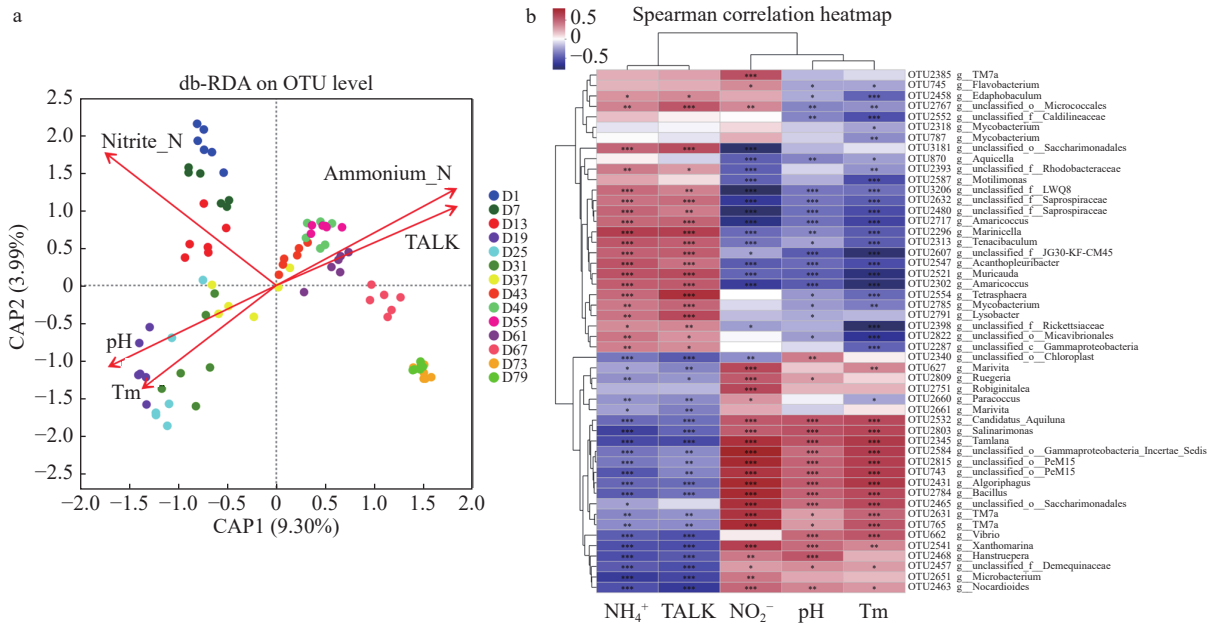


图4 环境因子与微生物关联图

2.4 微生物功能分析

2.4.1 FAPROTAX 功能预测 研究首先采用 FAPROTAX 功能预测数据库初步解析了不同养殖阶段水体微生物的主要功能, 结果表明, 与脱氮相关的功能在不同阶段的养殖水体中占绝对优势; 以反硝化功能为例(图 5a), 在 D61 之前(D7 的浮游细菌除外), 反硝化功能占的比例始终较高; D61 开始, 反硝化功能占

的比例显著下降。

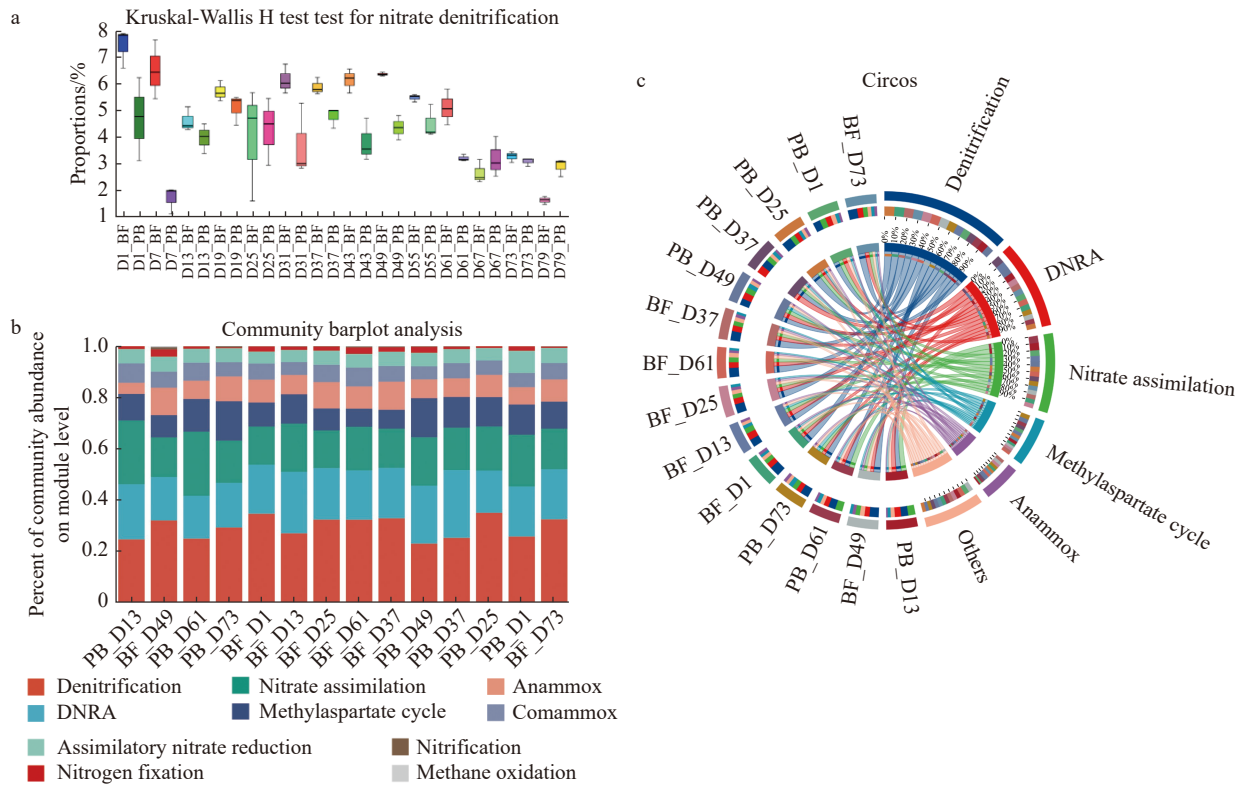


图5 微生物功能分析

2.4.2 宏基因组氮代谢分析 为弥补 FAPROTAX 功能预测的局限性, 研究进一步采用宏基因组测序技术测定成熟自养型生物絮团中氮循环的细菌功能基因, 对比 NR 数据库和 KEGG 数据库对样本进行物种和功能注释。通过注释结果可以看出(图 5b), 各个时期的不同氮代谢途径基本保持一致, 在样本中反硝化与异化硝酸盐(DNRA)还原两个途径占比较大(图 5c), 在整个养殖中, 反硝化与 DNRA 占据着主要地位, 同时, 硝酸盐同化也有着不小的占比。

2.5 氮代谢功能基因 本文利用 KEGG 数据库的氮代谢通路(ko00910)分析了实验所涉及到的硝化、反硝化、同化硝酸盐还原(DNRA)、异化硝酸盐还原及固氮等 5 个模块并绘制了氮转化途径图(图 6a), 结合图 2a 所展示结果, 针对反硝化与 DNRA 进行研究。评估根据 KEGG 数据库注释到的反硝化与 DNRA 基因(*narG*、*narH*、*narI*、*napA*、*napB*、*nirK*、*nirS*、*norB*、*norC*、*nosZ*、*nirB*、*nirD*、*nrfA*、*nrfH*)的基因丰度, 计算其相对丰度并绘制气泡图(图 6c), 同时结合优势菌属丰度绘制物种与功能贡献分析图(图 6b)与相关性热图(图 6d)。

本文发现与反硝化基因呈显著正相关的菌大多属于假单胞菌门(*Pseudomonadota*), 如下水道球菌属(*Amaricoccus*)、海球菌属(*Halioglobus*)、伍斯氏菌属(*Woeseia*)和海胞菌属(*Marinicella*), 拟杆菌门(*Bacteroidota*)的鼠尾菌属(*Allomuricauda*)也表现出了不错的反硝化能力。而和 DNRA 基因显著正相关的菌在几大生物絮团养殖常见的菌门(放线菌门、拟杆菌门和假单胞菌门)中均有发现, 分析结果表明到这些菌和 *nirB* 基因相关性更强, 这表明 *nirB* 基因可能是整个生物絮团养殖系统的 DNRA 能力的关键基因。在反硝化中, *napAB*、*nirKS* 和 *nosZ* 等基因对优势菌属行使反硝化能力的正相关性较为一致, 如伍斯氏菌属和海胞菌属。因此, 我们推测: 这几个基因是反硝化作用的关键基因。

对相对丰度前 10 的基因进行物种贡献度分析发现, 四联球状菌属(*Tetrasphaera*), 在 *nirK*、*norB*、*narG*、*narH*、*narI* 中的均有较大的贡献度占比, 鲁杰氏菌属(*Ruegeria*)与下水道球菌属(*Amaricoccus*)对反硝化途径中的基因也都有着重要的贡献。而对 DNRA 途径的关键基因 *nirB* 贡献最大是微杆菌属(*Microbacterium*)和脱醌菌属(*Demequina*)。

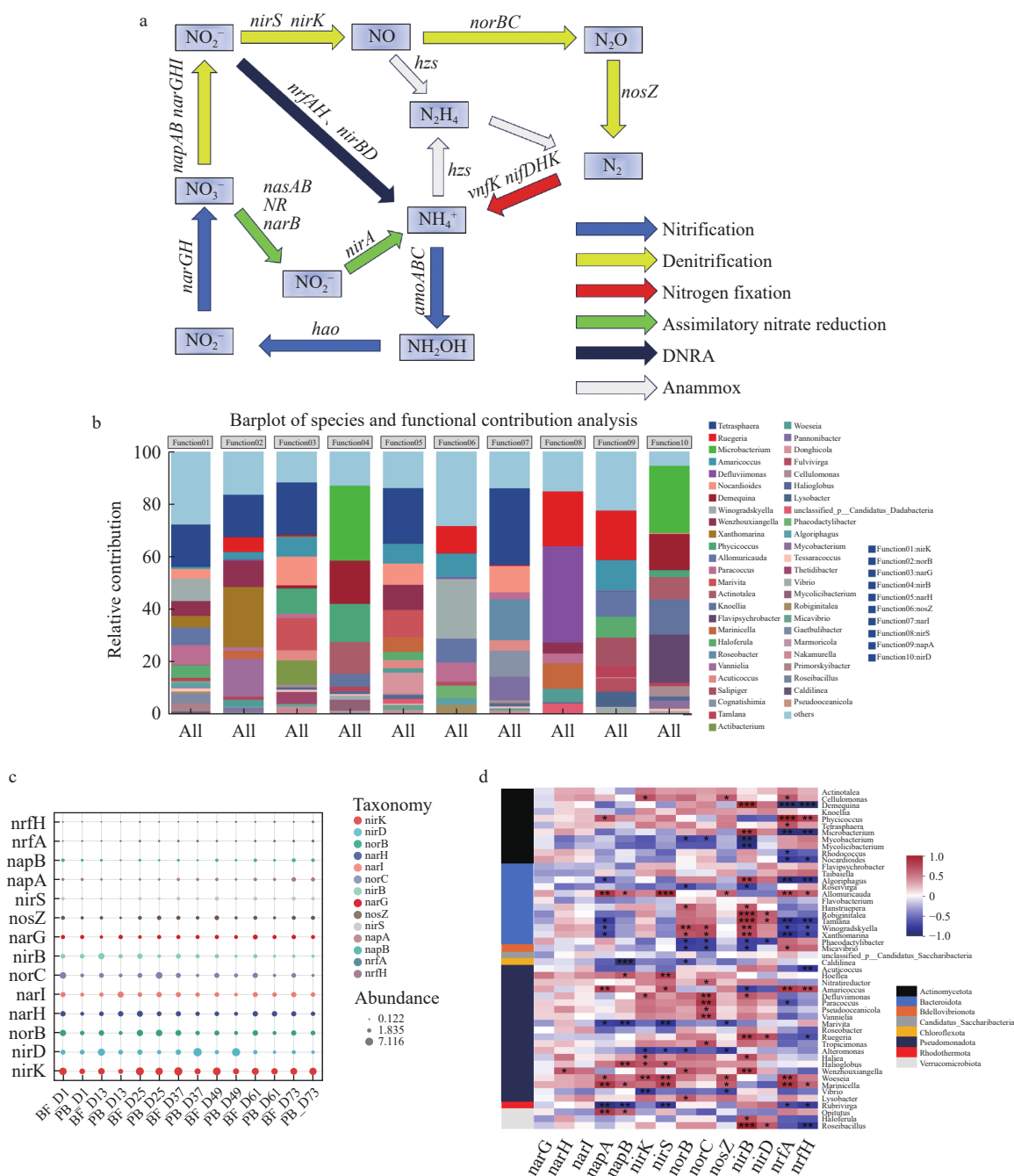


图 6 氮代谢关键基因及关键微生物

3 讨 论

3.1 水质变化分析 在本文搭建的封闭式生物絮团对虾养殖系统中,在相同投饲强度的条件下,养殖水体氨氮浓度始终处于一个相对较低水平。虽然该系统养殖末期的投饵量已达到 0.075 kg/m^3 远高于池塘养殖的 0.0289 kg/m^3 ,但是本文所搭建的系统仍能将水体氨氮浓度控制在 0.8 mg/L 左右,低于一般池塘养殖的水体氨氮浓度 (1.0 mg/L)^[24]。在养殖过程中,养殖水体氨氮浓度一直在浮动,且整体在缓慢增加,这与当前小棚虾养殖系统的前期变化趋势一致^[25]。这是由于随着养殖时间的增加,投饵量也在逐步上升。不过,相对于小棚虾的氨氮浓度,本系统中养殖水体的氨氮浓度升高的程度明显更低。

3.2 微生物群落分析

养殖系统微生物的来源除养殖过程中添加的芽孢杆菌^[26,27]之外,并未添加其他菌

种,系统微生物组发生了自然演替,并形成了以变形菌门、拟杆菌门、放线菌门、髌骨细菌门、绿湾菌门和厚壁菌门为优势菌门的微生物群落。研究表明,变形菌门、拟杆菌门和绿湾菌门是生物絮团养殖系统中的主要门,在生物絮团养殖系统中扮演着关键角色,与水质调控和氮循环密切相关^[9]。在本系统中,变形菌门始终处于优势,仅在髌骨菌门丰度增加时有所降低。这很可能是由于这两个菌门在水质处理上有着相同的生态位,并都可以降解有机物^[28]。浮霉菌门作为在养殖后期的优势菌门,在处理水体亚硝酸盐上也有着优异的能力^[29],在该系统中,养殖后期生物絮团量增大,产生了部分厌氧区域,形成了浮霉菌门的生态位,这导致了养殖后期浮霉菌门成为优势门。从科水平上来看,红杆菌科(隶属于变形菌门)是系统中的优势菌科,是重要的反硝化细菌。红杆菌科作为异养微生物,在活性污泥系统的脱氮过程中表现出显著的反硝化能力^[30],是维持系统氮代谢功能的重要贡献者。

3.3 微生物与水质关联分析 TM7a 属的动态变化表明,其在系统养殖中期对亚硝酸盐的去除具有重要作用。TM7a 属隶属于 Saccharimonadales,研究表明 Saccharimonadales 常用于脱氮和除磷,是工厂化养殖中重要微生物。Paracoccus(副球菌属,隶属于 Rhodobacteraceae)也是参与反硝化的主要细菌属之一^[31],该属的丰度在 D49 ~ D67 之间最高,很可能是这一阶段参与反硝化的关键微生物。在养殖的最后阶段(D73 ~ D79),OTU3181(隶属于 Saccharimonadales 目)的丰度始终非常高(图 2d),与氨氮的浓度呈极显著正相关($p < 0.001$),与亚硝酸盐浓度呈极显著负相关($p < 0.001$)(图 4b),推测是这一阶段的氨氮去除关键微生物。除了亚硝酸盐之外,水温同样是影响微生物群落的关键因素之一^[1],本文系统中水温变化也优势菌变化一致。因此,温度也可能通过影响水体微生物群落组成,进而影响水体亚硝酸盐积累,后续将进一步研究温度在养殖过程中的重要调控作用。

3.4 微生物与氮代谢功能基因分析 在本文中,Tetrasphaera 作为对反硝化途径功能基因贡献最大的菌属,无疑是这个系统中重要微生物之一,Tetrasphaera 的 nirK、norB 和 nosZ 表达,可通过反硝化作用来消除系统中的亚硝酸盐。Ruegeria 与 Amaricoccus 在消除水体亚硝酸盐的过程也应该起着重要作用,它们作为反硝化菌,均已被用于各类水处理当中^[32,33]。还有研究表明,Tetrasphaera 具有除磷的功能^[34],因此该微生物在系统中的功能,还值得深入研究。

3.5 封闭式生物絮团养殖 利用生物絮团构建的高密度养殖模式^[35],其核心在于通过微生物驱动的氮循环实现养殖水的原位净化。在高密度养殖条件下,养殖水中氮负荷较高,需对氮进行快速转化以避免毒性积累,本文表明,通过对碳氮比、溶解氧和水温等参数的调控而构建出的封闭式生物絮团系统可以通过微生物驱动的氮循环,实现养殖水的原位净化,基本达到了尾水“零排放”^[36,37]。今后,可进一步探索开发以反硝化功能菌群为主的健康生物絮团精准构建技术,以提高养殖系统的脱氮效能并保持其能够与稳定运行。

参考文献:

- [1] CALERO PRECIADO C, BOXALL J, SORIA-CARRASCO V, et al. Implications of climate change: how does increased water temperature influence biofilm and water quality of chlorinated drinking water distribution systems?[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2021, 12: 658927.
- [2] ABAKARI G, WU X, HE X, et al. Bacteria in biofloc technology aquaculture systems: roles and mediating factors[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2022, 14(3): 1260–1284.
- [3] CRAB R, AVNIMELECH Y, DEFOIRDT T, et al. Nitrogen removal techniques in aquaculture for a sustainable production[J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1/2/3/4): 1–14.
- [4] ROBLES-PORCHAS G R, GOLLAS-GALVÁN T, MARTÍNEZ-PORCHAS M, et al. The nitrification process for nitrogen removal in biofloc system aquaculture[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2020, 12(4): 2228–2249.
- [5] LI K, JIANG R T, QIU J Q, et al. How to control pollution from tailwater in large scale aquaculture in China: a review[J]. *Aquaculture*, 2024, 590: 741085.
- [6] CIJI A, AKHTAR M S. Stress management in aquaculture: a review of dietary interventions[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021,

- 13(4): 2190–2247.
- [7] YU Y B, LEE J H, CHOI J H, et al. The application and future of biofloc technology (BFT) in aquaculture industry: a review[J]. *Journal of Environmental Management*, 2023, 342: 118237.
- [8] KHANJANI M H, MOHAMMADI A, EMERENCIANO M G C. Microorganisms in biofloc aquaculture system[J]. *Aquaculture Reports*, 2022, 26: 101300.
- [9] XU W J, HUANG F, ZHAO Y Z, et al. Carbohydrate addition strategy affects nitrogen dynamics, budget and utilization, and its microbial mechanisms in biofloc-based *Penaeus vannamei* culture[J]. *Aquaculture*, 2024, 589: 740907.
- [10] LIMA P C M, SILVA A E M, SILVA D A, et al. Effect of stocking density of *Crassostrea* sp. in a multitrophic biofloc system with *Litopenaeus vannamei* in nursery[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735913.
- [11] 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.
- [12] WEI X F, MENG S T, WANG Y T, et al. Effects of replacing fish meal with biofloc meal on growth performance, nutrients metabolism, immune response and intestinal microbiota of common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Aquaculture*, 2024, 591: 741124.
- [13] NGUYEN M T, PHAM N T A, VO L T, et al. Integrated mariculture of co-cultured whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and grey mullet (*Mugil cephalus*) in sequence with red tilapia (*Oreochromis* spp.) in a closed biofloc-based system[J]. *Aquaculture*, 2023, 566: 739200.
- [14] KHANJANI M H, MOZANZADEH M T, SHARIFINIA M, et al. Biofloc: a sustainable dietary supplement, nutritional value and functional properties[J]. *Aquaculture*, 2023, 562: 738757.
- [15] DA SILVEIRA L G P, ROSAS V T, KRUMMENAUER D, et al. Comparison between horizontal and vertical substrate in shrimp super-intensive culture in bioflocs system[J]. *Aquacultural Engineering*, 2022, 96: 102218.
- [16] KIM M S, MIN E, KIM J H, et al. Growth performance and immunological and antioxidant status of Chinese shrimp, *Fennerpenaeus chinensis* reared in bio-floc culture system using probiotics[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 47(1): 141–146.
- [17] AL-AJEEL S, SPASOV E, SAUDER L A, et al. Ammonia-oxidizing archaea and complete ammonia-oxidizing *Nitrospira* in water treatment systems[J]. *Water Research X*, 2022, 15: 100131.
- [18] LI J Y, ZHU Z, LV X L, et al. Exploring single-stage oxic process for simultaneous rapid recovery of phosphate and nitrate via bioflocs to promote circular economic[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 497: 154575.
- [19] YANG Z C, ZHOU Q, SUN H M, et al. Metagenomic analyses of microbial structure and metabolic pathway in solid-phase denitrification systems for advanced nitrogen removal of wastewater treatment plant effluent: a pilot-scale study[J]. *Water Research*, 2021, 196: 117067.
- [20] LIU K F, CHIU C H, SHIU Y L, et al. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(5/6): 837–844.
- [21] HOSTINS B, LARA G, DECAMP O, et al. Efficacy and variations in bacterial density in the gut of *Litopenaeus vannamei* reared in a BFT system and in clear water supplemented with a commercial probiotic mixture[J]. *Aquaculture*, 2017, 480: 58–64.
- [22] TEPAAMORNDECH S, NOOKAEW I, HIGDON S M, et al. Metagenomics in bioflocs and their effects on gut microbiome and immune responses in Pacific white shrimp[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2020, 106: 733–741.
- [23] ARUNKUMAR M, LEWIS OSCAR F, THAJUDDIN N, et al. *In vitro* and *in vivo* biofilm forming *vibrio* spp: a significant threat in aquaculture[J]. *Process Biochemistry*, 2020, 94: 213–223.
- [24] 吴堃, 钟志伟, 陈勇贵, 等. 气候变化和饵料投喂管理与凡纳滨对虾养殖池塘氨氮、亚硝氮和硝氮的关系 [J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2017, 56(1): 102–114.

- WU K, ZHONG Z W, CHEN Y G, et al. The relationship between climate change, feeding management and ammonia, nitrite and nitrate nitrogen in the *Litopenaeus vannamei* aquaculture ponds[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2017, 56(1): 102–114.
- [25] 王彩蕴, 王连勇, 付晓伟, 等. 水质改良剂硒黄腐酸钠 对淡水小棚养殖凡纳滨对虾的效果 [J]. 河北渔业, 2019(5): 11–12, 54, doi:10.3969/j.issn.1004-6755.2019.05.003.
- WANG C Y, WANG L Y, FU X W, et al. Effects of Sodium selenohydroxyfulvic acid, a water quality improver, on freshwater cage-raised *Litopenaeus vannamei*[J]. *Hebei Fisheries*, 2019(5) : 11–12, 54, doi:10.3969/j.issn.1004-6755.2019.05.003.(查阅网上资料, 未找到本条文献英文翻译, 请确认)
- [26] HE X, ABAKARI G, TAN H X, et al. Effects of different probiotics (*Bacillus subtilis*) addition strategies on a culture of *Litopenaeus vannamei* in biofloc technology (BFT) aquaculture system[J]. *Aquaculture*, 2023, 566: 739216.
- [27] LIU K F, CHIU C H, SHIU Y L, et al. Effects of the probiotic, *Bacillus subtilis* E20, on the survival, development, stress tolerance, and immune status of white shrimp, *Litopenaeus vannamei* larvae[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2010, 28(5/6): 837–844, doi:10.1016/j.fsi.2010.01.012.(查阅网上资料, 本条文献与第 20 条文献重复, 请确认)
- [28] NIU B H, ZHANG M, MENG S J, et al. Integration of membrane bioreactor with a weak electric field: mitigating membrane fouling and improving effluent quality targeting low energy consumption[J]. *Chemical Engineering Journal*, 2024, 495: 153336.
- [29] ZHENG R K, WANG C, LIU R, et al. Physiological and metabolic insights into the first cultured anaerobic representative of deep-sea *Planctomycetes* bacteria[J]. *eLife*, 2024, 12: RP89874.
- [30] YU M J, SU W Q, HUANG L B, et al. Bacterial community structure and putative nitrogen-cycling functional traits along a charosphere gradient under waterlogged conditions[J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2021, 162: 108420.
- [31] HUAN C C, YAN Z Y, SUN J, et al. Nitrogen removal characteristics of efficient heterotrophic nitrification-aerobic denitrification bacterium and application in biological deodorization[J]. *Bioresource Technology*, 2022, 363: 128007.
- [32] LIU W L, YANG Y L, LU Z D, et al. Innovative approaches for enhanced nutrient (N and P) removal and biosecurity in marine recirculating aquaculture systems using biofloc and ultrafiltration combined systems[J]. *Separation and Purification Technology*, 2025, 356: 129766.
- [33] WANG K M, SHEN Y, JIANG S F, et al. The effect of different static biocarriers on process performance, membrane fouling and microbial community in submerged membrane bioreactor treating municipal wastewater under high and low carbon/nitrogen ratios[J]. *Journal of Water Process Engineering*, 2022, 47: 102709.
- [34] GU C K, LI X Y, ZHANG S J, et al. Advanced nitrogen and phosphorus removal in pilot-scale anaerobic/aerobic/anoxic system for municipal wastewater in northern China[J]. *Bioresource Technology*, 2024, 399: 130616.
- [35] SHARAWY Z Z, ABBAS E M, ABDELKHALEK N K, et al. Effect of organic carbon source and stocking densities on growth indices, water microflora, and immune-related genes expression of *Litopenaeus vannamei* Larvae in intensive culture[J]. *Aquaculture*, 2022, 546: 737397.
- [36] 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.
- [37] WHANGCHAI N, KLAHAN R, BALAKRISHNAN D, et al. Development of aeration devices and feeding frequencies for oxygen concentration improvement in 60-tones freshwater recirculating aquaculture and biofloc ponds of Asian seabass (*Lates calcarifer*) rearing[J]. *Chemosphere*, 2022, 307: 135761.

作者贡献声明

张宇航: 研究构思与设计、数据收集与处理、数据分析与解释、论文撰写; 张袁率: 数据收集与处理; 龙昊: 论文撰写、指导与监督; 曾艳华: 数据分析与解释; 谢珍玉: 经费与资源支持、指导与监督、评审与修改。

AI 使用声明

本文未使用人工智能(AI)协助撰写。

伦理声明

动物实验遵循海南大学动物伦理委员会的指导原则。实验仅对养殖水体进行检测、采集,全程未对实验动物进行任何捕捉、注册或其他行为的伤害。

利益冲突声明

作者声明,其不存在已知的可能影响本论文所报告工作的竞争性经济利益或个人关系。

数据可用性

支持论文结论所需的所有数据均已包含在稿件或电子补充材料中。如需获取与本文相关的其他数据,可向通信作者提出申请。

致谢/Acknowledgements

本文得到国家重点研发计划“海洋牧场生态系统演变过程与固碳增汇途径(2022YFD2401301);海南省科技人才创新项目“封闭式对虾养殖系统的弧菌多样性解析及基于拮抗作用的弧菌病原防控技术开发(KJRC2023C40);海南省虾产业技术体系病害防治与质量控制岗位(HNARS-10-G03)支持。

This work was supported by the National Key Research and Development Program of China: "Ecosystem Evolution Processes and Pathways for Carbon Sequestration and Sink Enhancement in Marine Ranching" (Grant No. 2022YFD2401301); Hainan Provincial Science and Technology Talent Innovation Project: "Analysis of Vibrio Diversity in Closed Shrimp Aquaculture Systems and Development of Pathogenic Vibrio Control Technology Based on Antagonism" (Grant No. KJRC2023C40); Disease Prevention, Control, and Quality Control Specialist Position of the Hainan Provincial Shrimp Industry Technology System (Grant No. HNARS-10-G03).

作者简介

张宇航(2000—),男,河南焦作人,农学学士(2022);农学硕士(2025);已发表论文两篇;当前研究方向为微生物资源开发与利用。E-mail: 945927091@qq.com。

张袁率(1997—),男,江苏南通人。工学学士(2020);农学硕士(2025);已发表论文一篇;当前研究为水产健康养殖。E-mail: 782297035@qq.com。

龙 昊(1980—),理学博士(2015)。

曾艳华(1988—),女,山东济宁人,海南大学海洋生物与水产学院副研究员。环境科学学士(2011),环境科学博士(2018)。清华大学博士后(2018—2021),海南大学副研究员(2022—)。E-mail: zengyanhua@hainanu.edu.cn。

谢珍玉(1974—),男,教授,江西吉安人,博士,教授。研究方向:水生生物健康养殖与病害控制。E-mail: xiezyscuta@163.com。

(责任编辑:王玖琪)



This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC BY 4.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

© The Author(s) 2026. Published by Journal Editorial Department of Hainan University.