

DOI: 10.12264/JFSC2024-0006

凡纳滨对虾盐碱水养殖池塘浮游细菌群落变化特征

余鑫瑞¹, 吴桃², 王浩², 闫海明³, 韩剑钧³, 管卫兵^{1,4}

1. 上海海洋大学海洋科学与生态环境学院, 上海 200120;
2. 鄂尔多斯市农牧技术推广中心, 内蒙古 鄂尔多斯 017000;
3. 达拉特旗畜牧水产发展保护中心, 内蒙古 鄂尔多斯 014300;
4. 农业农村部稻渔综合种养生态重点实验室, 上海 200120

摘要: 为探讨盐碱水凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)养殖系统中浮游细菌的群落变化特征, 基于 16S rRNA 高通量测序技术, 解析了内蒙古河套地区凡纳滨对虾盐碱水养殖池塘中浮游细菌群落的全过程动态变化。结果显示, 在整个养殖过程中, 主要优势菌门为厚壁菌门(Firmicutes) (33.82%)、变形菌门(Proteobacteria) (25.82%)、蓝细菌门(Cyanobacteria) (17.36%)和放线菌门(Actinobacteriota) (17.36%)。主要优势属包括微小杆菌属(*Exiguobacterium*)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)和 *Cyanobium_PCC-6307*。微小杆菌属在前中期(0~30 d)的样品中富集较多(19.57%~55.17%), 而中后期(40~60 d)的样品中富集较少(13.32%~24.84%); 嗜冷杆菌属在 0、10 和 40 d 的样品中富集较少(0.07%~0.53%), 在随后的 50 d 样品中相对丰度上升至 49.21%。*Cyanobium_PCC-6307* 在 40 d 样品中出现了相对丰度的大幅上升(42.92%), 在其余样品中波动较小(3.87%~13.12%); 游动球菌属在放苗前的水体中丰度最高(9.68%), 在之后的养殖阶段中降低; 马赛菌属(8.09%)和金黄杆菌属(6.36%)仅在 30 d 样品中特异性富集。在 0、10、20、30、40、50 和 60 d 的样品中形成了各自独特的浮游细菌群落, 水温、氮磷营养元素和 pH 驱动了浮游细菌群落演替。在致病菌相对丰度较低的情况下, 蓝细菌可能是该地区盐碱水养殖的主要威胁, 微小杆菌属和嗜冷杆菌属可视为当地水源和池塘中的主要益生菌, 能够抑制蓝细菌大量繁殖, 维持水体环境的健康。

关键词: 内陆盐碱地水产养殖; 盐碱水; 凡纳滨对虾; 浮游细菌; 高通量测序; 内蒙古河套地区

中图分类号: S966

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)08-0940-14

我国盐碱地面积为 $9.93 \times 10^{11} \text{ m}^2$, 低洼盐碱水约为 $4.60 \times 10^{11} \text{ m}^2$, 遍及我国 19 个省、市和自治区^[1]。暗管排水排盐技术是我国治理盐碱地的重要措施。根据“盐随水来, 盐随水去”的水盐运移原理, 通过暗管将水排出土体达到淋盐洗盐的效果^[2]。地下盐碱水普遍具有高盐度、高碳酸盐碱度等特点, 水体生产力低, 无法直接用于日常生活与农牧业^[3]。直接排放盐碱水易造成周边区域的次生盐碱化。发展以渔业利用为基础的盐碱水体养殖已成为开发盐碱水资源的重要方法之一^[4]。

在盐碱地区进行水产养殖, 可以有效降低水中碱度, 起到以渔治碱的生态作用^[5]。位于黄河几字湾的内蒙古河套平原是我国开发较早的引黄灌区, 也是我国土地盐碱化最严重的地区之一^[6]。内蒙古自治区的盐碱水土资源丰富, 随着“蓝色粮仓”重点专项课题的开展, 内蒙古沿黄盐碱地区的水产养殖已初具规模, 通过收集耕地洗盐渗透的地下盐碱水, 因地制宜地利用盐碱水进行水产养殖, 可以解决盐碱水的去向问题, 具有良好的经济与生态效益。

收稿日期: 2024-01-17; **修订日期:** 2024-03-23.

基金项目: 宁夏回族自治区科技重点研发计划项目(2020BBF02009); 鄂尔多斯市科技计划项目(2022YY025).

作者简介: 余鑫瑞(1999-), 男, 硕士研究生, 研究方向为盐碱地生态养殖. E-mail: 1252931382@qq.com

通信作者: 管卫兵, 博士, 教授, 研究方向为生态渔业和恢复生态学. E-mail: wbguan@shou.edu.cn

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是传统的海水养殖经济品种,但由于其优良的盐耐受性和较高的经济价值,许多国家(如美国、印度、中国等)的凡纳滨对虾养殖区域已经不局限于海边,而是扩展到了远离海岸的内陆低盐度水域,利用内陆盐碱水或者是调配的低盐度水进行养殖,这满足了内陆人们对海产品的需求,在粮食安全、经济、社会发展和盐碱地生态修复方面发挥了重要作用^[7-10]。关于盐碱水养殖凡纳滨对虾的研究,多集中在离子比例对凡纳滨对虾生长、生理的影响^[11-13]。调配适宜的离子浓度是养殖成功的关键。

养殖水体是对虾的直接生存环境,浮游细菌在养殖过程中发挥着重要作用。浮游细菌会影响养殖过程中水生生物肠道细菌的定植^[14-16],能够降低水体中氮、磷营养物质的浓度来维持水质健康^[17-18],通过复杂的菌-藻相互作用来改善养殖环境,抑制有害藻类的过度繁殖等^[19-21]。但关于对虾池塘浮游细菌群落特征的研究多集中于海水池塘,关于淡水/内陆盐碱水对虾养殖地区的池塘浮游细菌群落特征研究较少。有研究表明,淡水与海水养殖环境中的细菌组成类似,但相对丰度不同;淡水养殖环境中的细菌多样性高于海水养殖环境;由于盐度胁迫,相比于海水,内陆水源中的致病弧菌更少,这可视为内陆淡水养殖的一个优势^[22-23]。么宗利等^[24]和周凯等^[25]使用常规细菌鉴定方法研究了盐碱地区对虾养殖池塘可培养细菌的群落特征,然而,这些方法往往受限于能够培养的细菌种类,难以全面揭示环境中的微生物复杂性。与此相比,16S rRNA 高通量测序技术作为一种非培养依赖的方法,能够覆盖更广泛的微生物种类,从而提供更加全面、深入的浮游细菌群落特征信息。因此,有必要使用该手段揭示内陆盐碱地区的对虾养殖池塘的浮游细菌群落特征,为盐碱地水产养殖区的微生态研究带来新的见解。

本研究基于16S rRNA 高通量测序技术,调查分析了内蒙古河套盐碱地区采用地下盐碱水进行对虾养殖池塘的浮游细菌群落特征和动态变化,以期理解几字湾盐碱地区养殖水体的微生态特征提供基础数据,推动西北内陆地区盐碱水对虾

养殖产业的健康可持续发展。

1 材料与方法

1.1 养殖基本情况

实验池塘位于内蒙古自治区鄂尔多斯市东海心村盐碱地上的“稻渔梦工厂”综合种养基地(109.88°E, 40.51°N),随机选择3个池塘作为平行采样点进行监测,每个池塘面积约为1335 m²,使用地下盐碱水与黄河水按照1:3的比例勾兑成养殖用水,并使用工业用无水氯化钙、七水硫酸镁、氯化钾补充钙、镁、钾离子,定期补水使池塘水深维持在1.1~1.2 m。

地下盐碱水的水化学组成基本情况如下:Ca²⁺质量浓度为134.46 mg/L, Mg²⁺质量浓度为51.63 mg/L, Na⁺质量浓度为884.73 mg/L, K⁺质量浓度为7.85 mg/L,总碱度为576.42 mg/L, pH为7.86,盐度为6。调水后各指标分别为:Ca²⁺质量浓度为41.72 mg/L, Mg²⁺质量浓度为28.35 mg/L, Na⁺质量浓度为1011.43 mg/L, K⁺质量浓度为29.80 mg/L,总碱度为216.88 mg/L, pH为8.14,盐度为2。

凡纳滨对虾苗种首先在温棚中进行淡化和标粗(5月20日—6月23日),驯化阶段密度约为1500尾/m³,淡化至盐度2,标粗至2000尾/kg后投入池塘,池塘养殖阶段的放养密度约为30尾/m³,根据对虾生长阶段的不同,选择1号料(粗蛋白含量:40%,在对虾体长8 cm以下时使用,每日投喂量约为总体重的5%)和2号料(粗蛋白含量:38%,在对虾体长8 cm以上时使用,每日投喂量约为总体重的3%)进行投喂。具体投喂量根据天气和料盘上的饲料情况进行调整。经过外塘养殖60~70 d收虾(8月21日开始收获),收获规格为54~60尾/kg,产量为480~600 kg。此外,根据养殖期间实际池塘水色状况和水质情况,定期施用乳酸菌、EM菌、芽孢杆菌等微生态制剂产品。

1.2 实验设计与样品采集

3口池塘从放苗前初始阶段开始采集浮游细菌样品,养殖期间每10 d采样一次,3个平行池塘均采集7次样品(第0、10、20、30、40、50和60天样品),总共21个样品。固定采样时间为10:00。

使用五点采样法采集每个池塘表层水样, 采水器置于水下 20 cm 处, 弃去前端水样后, 将各个点位样品混合均匀, 收集到 500 mL 无菌采样瓶中, 用 4 °C 车载冰箱保存带回实验室进行样品的处理。

每 5 d 测定一次水体理化指标。水体的理化指标包括水温(WT)、氨氮($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、亚硝态氮($\text{NO}_2^-\text{-N}$)、硝态盐氮($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、活性磷($\text{PO}_4^{3-}\text{-P}$)、总氮(TN)、总磷(TP)。采用便携式水温测量仪现场监测水温, 其他水化学参数取 5 L 水样低温保存带回实验室检测。测定方法按照海洋监测规范第 4 部分: 海水分析 (GB 17378.4—2007) 进行测定。

1.3 浮游细菌样品分析

浮游细菌样品在 4 h 内用 0.22 μm 微孔滤膜过滤(津腾, MCE 水系, 50 mm, 中国)。滤膜于 -80 °C 保存待测, 委托上海美吉生物医药科技有限公司完成建库与高通量测序等工作。

采用细菌通用引物 338F (5'-ACTCCT-ACGGGAGGCAGCAG-3')、806R (5'-GGACTAC-HVGGGTWTCTAAT-3') 对样品 16S rRNA 的 V3~V4 高变区进行扩增, PCR 反应体系(20 μL): 5×FastPfu Buffer 4 μL , 2.5 mmol/L dNTPs 2 μL , FastPfu DNA Polymerase 0.4 μL , 正、反向引物 (5 $\mu\text{mol/L}$) 各 0.8 μL , 样品 DNA 10 ng, 补 ddH₂O 至 20 μL 。PCR 反应条件: 95 °C 3 min; 95 °C 30 s, 50 °C 30 s, 72 °C 30 s, 27 个循环; 72 °C 5 min。

采用 Illumina MiSeq 测序平台对扩增产物进行测序。测序数据经拼接、质控、去接头之后获得优化序列, 按照 97% 相似度将有效序列进行 OTU (operational taxonomic unit) 聚类, 分别从门(phylum)、属(genus)分类水平上统计各样本浮游细菌群落组成及相对丰度。使用同一采样时间 3 个平行池塘的浮游细菌数据的平均值, 代表不同时期的浮游细菌特征。使用 R 语言工具软件绘制样品间细菌群落门和属水平显著性差异图 (Kruskal-Wallis 秩和检验); 基于 Bray-Curtis 距离算法的非度量多维尺度分析(non-metric multidimensional scaling, NMDS), 使用相似性分析(analysis of similarities, ANOSIM)评估整体差异; 浮游细菌群落与环境因子的冗余分析(redundancy analysis, RDA), 使用 envfit 函数检验显著性。使用 Mothur

(v1.30.2) 进行 α 多样性分析(Shannon、Simpson 和 Chao 指数), 用单因素方差分析(one-way ANOVA)来检验不同时间样品的组间差异, $P < 0.05$ 表明组间差异具有统计学意义。

2 结果与分析

2.1 水质测定结果

共对 3 个池塘完整周期内的池塘水质进行监测(图 1), 外塘养殖期间, 在 0~45 d (6 月 23 日—8 月 7 日) 时保持较适宜的水温(24.23~28.20 °C), 之后由于气温降低导致水温降低(22.47~23.67 °C)。氮营养指标(氨氮、亚硝态氮、硝态氮、总氮)和磷营养指标(活性磷、总磷)呈波动上升状态, 氨氮、亚硝态氮、硝态氮、总氮、活性磷、总磷质量浓度最高分别为 0.30、0.19、0.84、4.61、0.15、0.93 mg/L。0~35 d 时的 pH 变化范围为 8.10~8.58, 在 35~40 d 时出现了大幅上升, 40 d 之后一直维持在较高水平(9.13~8.72)。碱度数值在养殖过程中发生了一定程度的波动, 变化范围为 186.67~225.33 mg/L。总体而言, 养殖之后的碱度比初始状态有所降低。

2.2 浮游细菌群落组成分析

2.2.1 浮游细菌群落门类组成 21 个浮游细菌样品共测得 3291 个 OTU (97% 相似性), 经过序列对比分析, 共检测到细菌 43 门、127 纲、307 目、511 科和 1004 属。将所有样品合并, 相对丰度大于 1% 的细菌门类依次为厚壁菌门(Firmicutes) (33.82%)、变形菌门(Proteobacteria) (25.82%)、蓝细菌门(Cyanobacteria) (17.36%)、放线菌门(Actinobacteriota) (17.36%)、疣微菌门(Verrucomicrobiota) (3.17%)、拟杆菌门(Bacteroidota) (2.53%) 和其他门类(3.48%) (图 2)。

7 次样品的组间差异显著性检验(图 3)表明, 各样品中的主要门类在各养殖阶段均有显著性差异。其中, 厚壁菌门、蓝细菌门、疣微菌门、拟杆菌门、绿弯菌门(Chloroflexi)、和 unclassified_k_norank_d_Bacteria 在 7 组间具有显著性差异 ($P < 0.05$); 变形菌门、放线菌门、酸杆菌门(Patescibacteria)和奇异球菌门(Deinococcota)在各组间具有极显著差异($P < 0.01$)。0 d 和 10 d 的浮游

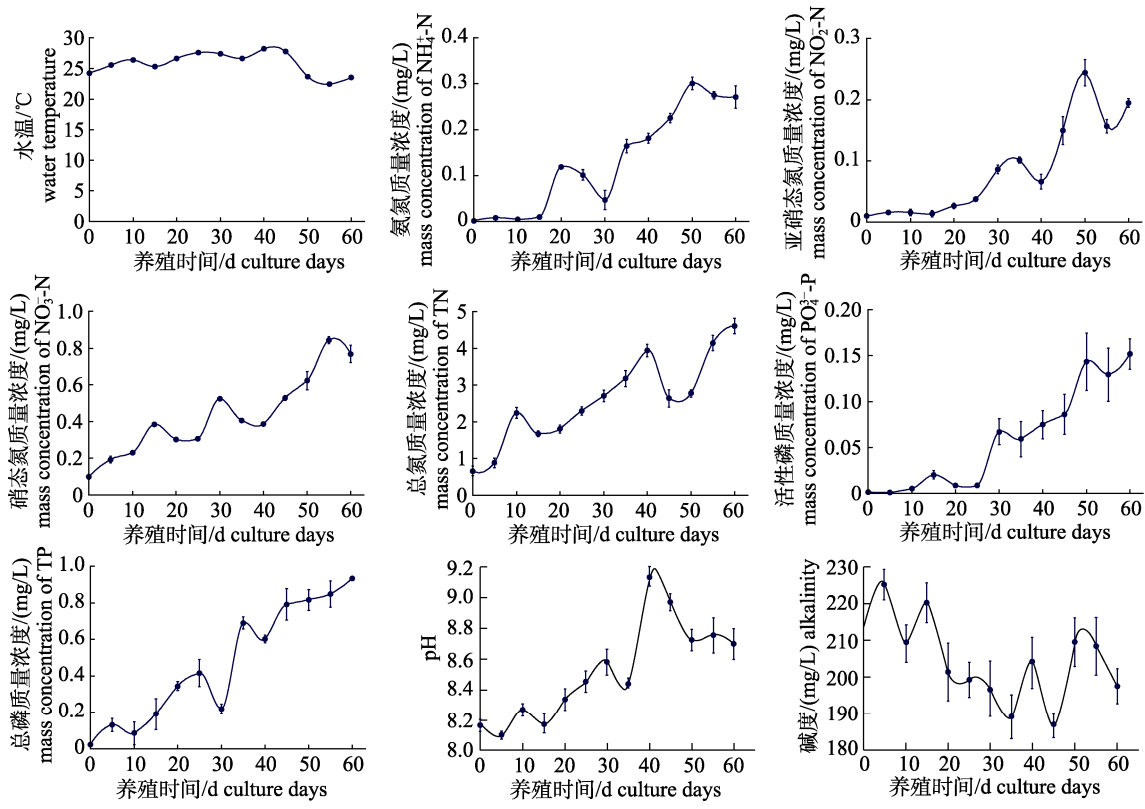


图 1 盐碱水养殖池塘水质参数变化情况
Fig. 1 Changes in water quality parameters in saline-alkaline aquaculture ponds

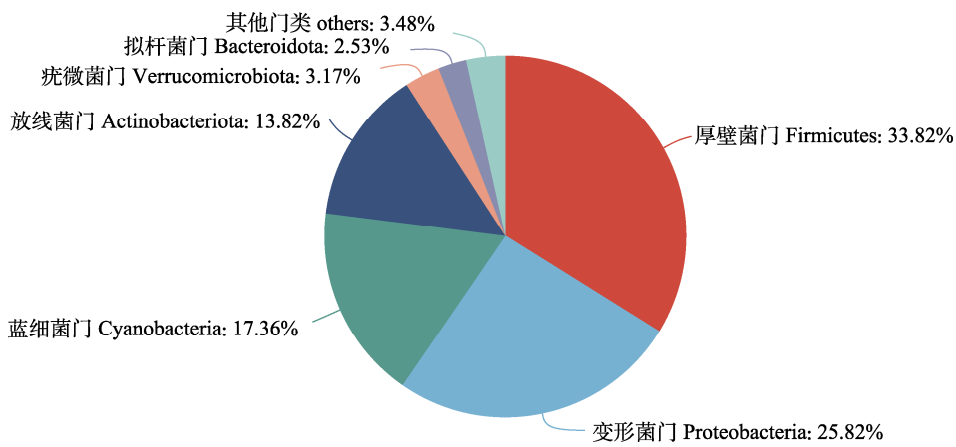


图 2 盐碱水养殖池塘所有样品中的浮游细菌门类组成
相对丰度小于 1% 的门类被归入其他门类。
Fig. 2 Composition of phylum of bacterioplankton in all samples of saline-alkaline aquaculture ponds
Phyla with less than 1% abundance were merged into others.

细菌相对丰度组成类似, 从第 20 天开始发生较大变化, 在养殖前期(0~20 d), 厚壁菌门相对丰度占比较高(21.86%~56.34%), 之后有所下降; 在中期(30 d)和后期(50~60 d)发现了变形菌门的相对丰度上升(16.86%~58.23%); 放线菌门的相对丰度

在前期持续上升(11.93%~37.09%); 而蓝细菌在中期(40 d)阶段出现了激增(49.46%)(图 4)。

2.2.2 浮游细菌属水平群落组成 在细菌属水平选取相对丰度占比前 10 的属进行 7 次样品间的显著性差异分析(图 5), 结果表明微小杆菌属

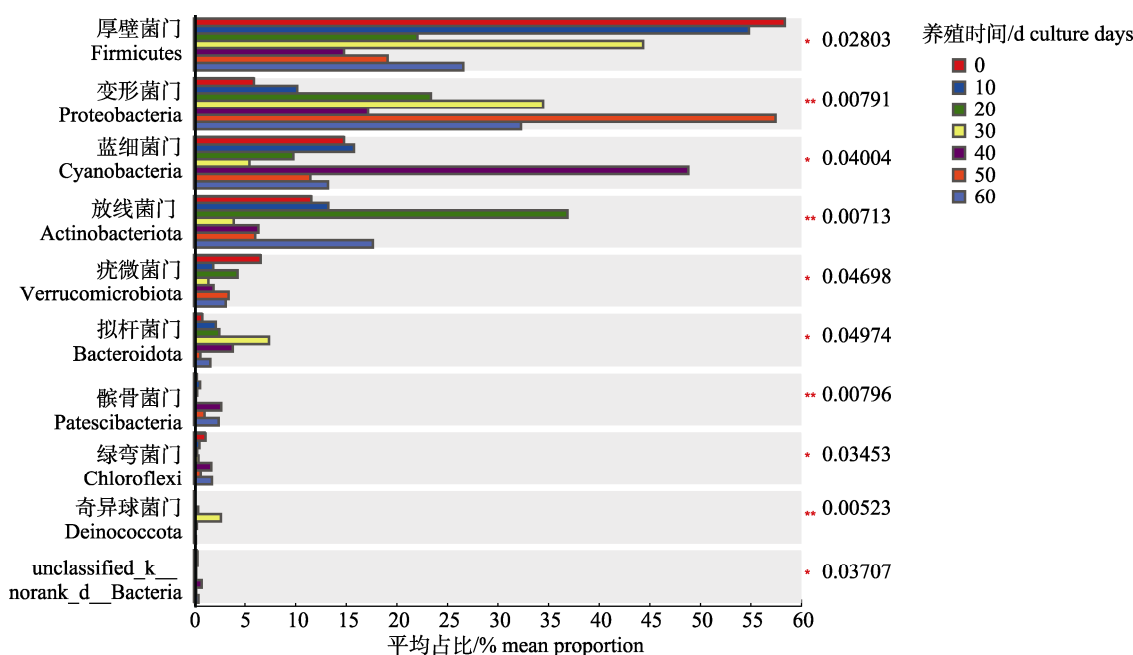


图 3 盐碱水养殖池塘不同时期门水平的浮游细菌相对丰度比较

*表示差异显著($P < 0.05$), **表示差异极显著($P < 0.01$).

Fig. 3 Comparison of the relative abundance of bacterioplankton on phylum level in saline-alkaline aquaculture ponds at different time points

* stands for significant difference ($P < 0.05$), ** stands for extremely significant difference ($P < 0.01$).

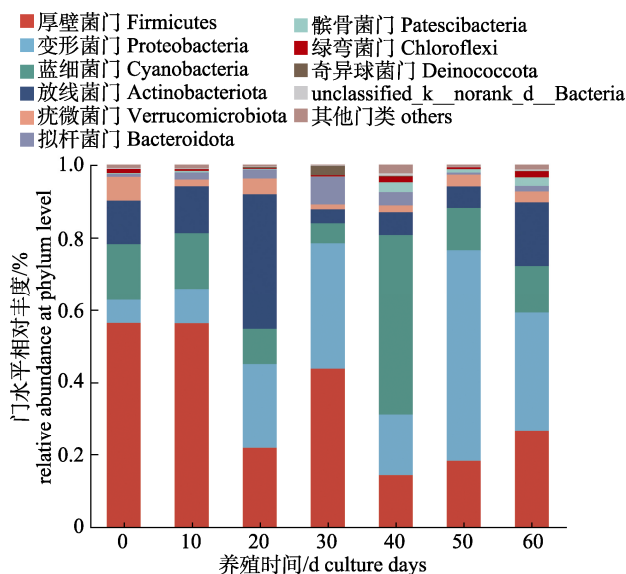


图 4 盐碱水养殖池塘不同时期门水平的浮游细菌组成

Fig. 4 The composition of bacterioplankton on phylum level in saline-alkaline aquaculture ponds at different time points

Exiguobacterium、*Cyanobium_PCC-6307*、CL500-29_marine_group、LD29、游动球菌属(*Planococcus*)和 norank_f_norank_o__*Chloroplast* 在 7 组间具有显著性差异($P < 0.05$); 嗜冷杆菌属(*Psychro-*

bacter)、*Candidatus_Aquiluna*、*hgcI_clade* 和副球菌属(*Paracoccus*)在各组间具有极显著差异($P < 0.01$)。0 d 和 10 d 的浮游细菌相对丰度组成类似,从第 20 天开始发生较大变化,微小杆菌属在前中期(0~30 d)的样品中富集较多(19.57%~55.17%),而中后期(40~60 d)较少(13.32%~24.84%);嗜冷杆菌在 0、10 和 40 d 的样品中发现较少(0.07%~0.53%),在随后的 50 d 样品中出现了相对丰度的大幅上升(49.21%);*Cyanobium_PCC-6307* 在 40 d 样品中出现了相对丰度的大幅上升(42.92%),在其余样品中波动较小(3.87%~13.12%);游动球菌属在放苗前的水体中(0 d)丰度最高(9.68%),在之后的养殖阶段中降低;在 30 d 样品中,马赛菌属(*Massilia*) (8.09%) and 金黄杆菌属(*Chryseobacterium*) (6.36%)存在特异性富集(图 6)。

2.3 浮游细菌群落多样性分析

在 OTU 水平上使用基于 Bray-Curtis 算法的 non-metric multidimensional scaling (NMDS)分析比较 7 个时期样本的浮游细菌群落结构(图 7a),各个时期的浮游细菌群落互相分离,表明各养殖

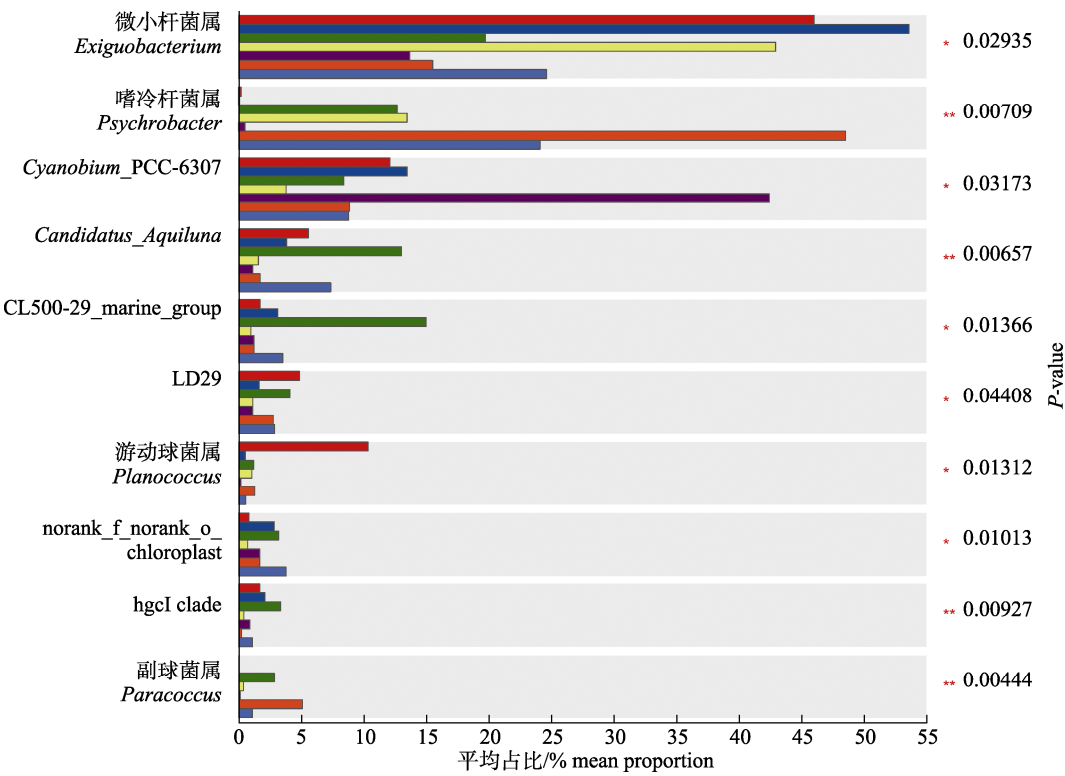


图 5 盐碱水养殖池塘不同时期属水平的浮游细菌相对丰度比较

*表示差异显著($P<0.05$), **表示差异极显著($P<0.01$).

Fig. 5 Comparison of the relative abundance of bacterioplankton on genus level in saline-alkaline aquaculture ponds at different time points

* stands for significant difference ($P<0.05$), ** stands for extremely significant difference ($P<0.01$).

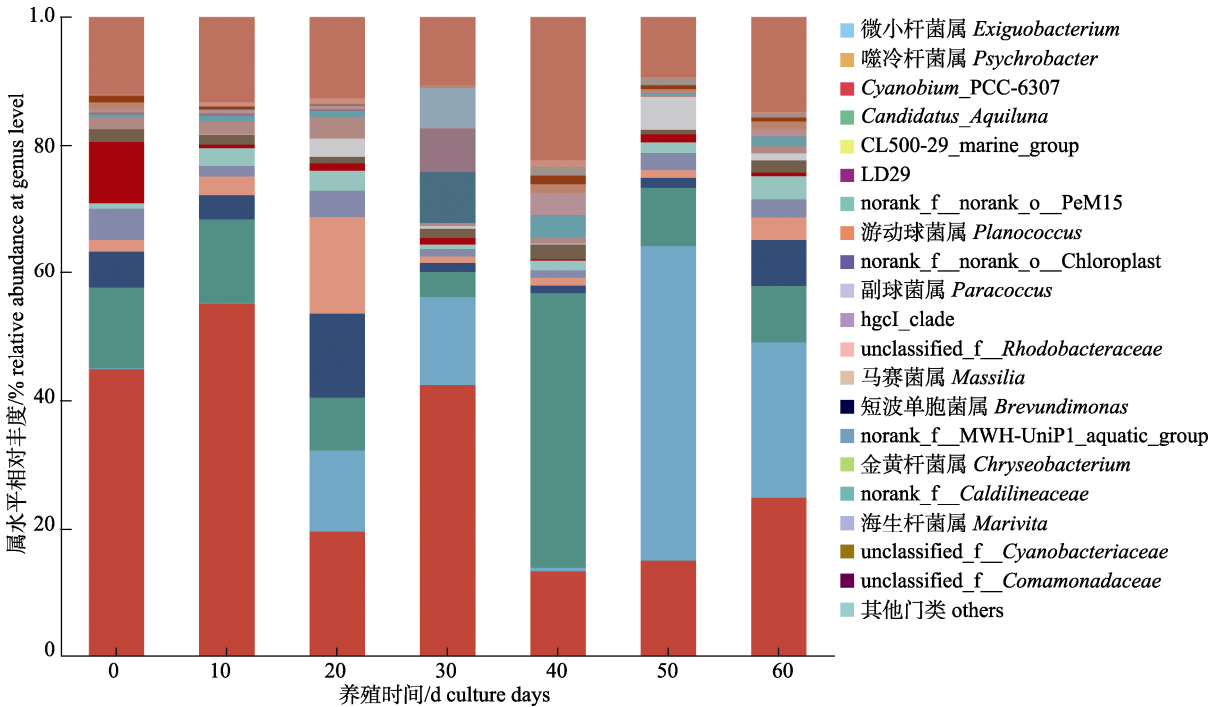


图 6 盐碱水养殖池塘不同时期属水平的浮游细菌组成

Fig. 6 The composition of bacterioplankton on genus level in saline-alkaline aquaculture ponds at different time points

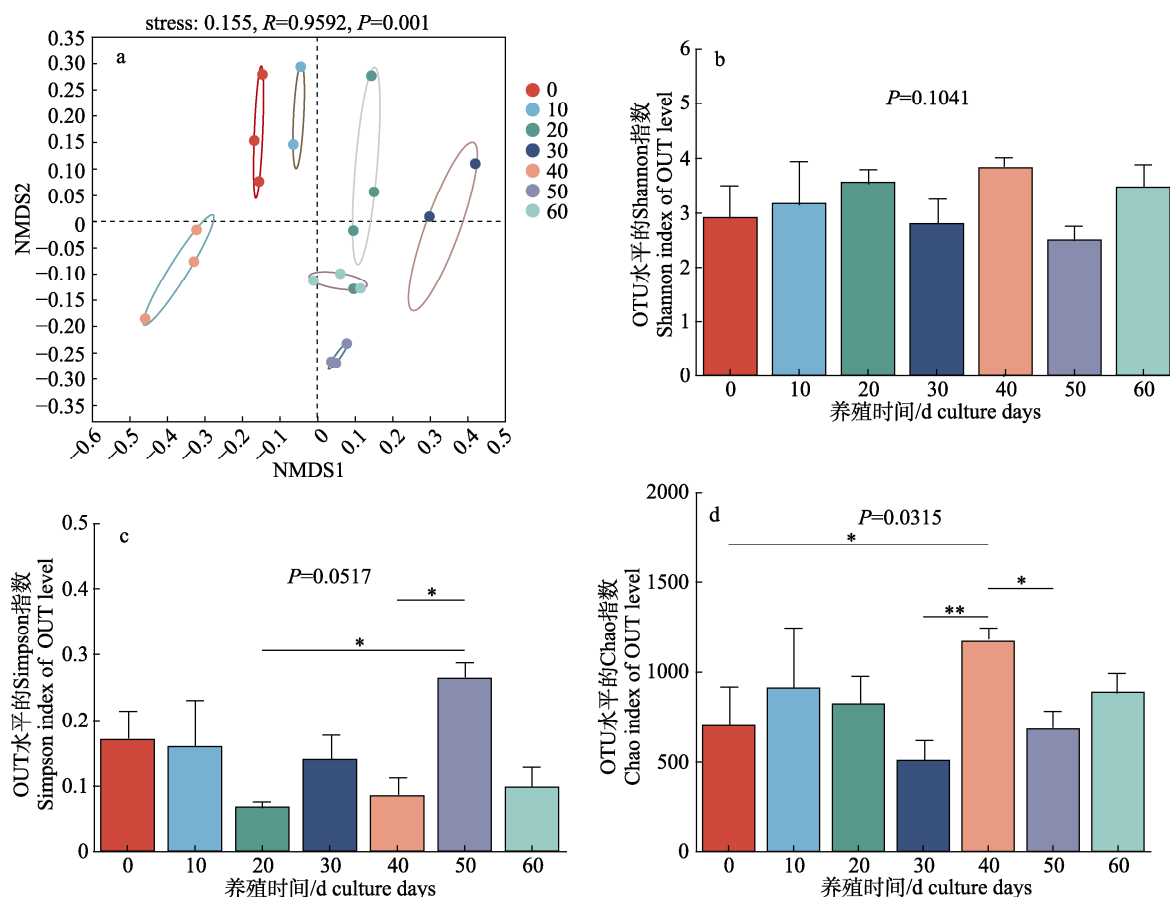


图 7 浮游细菌群落结构 NMDS 分析(a)、Shannon 指数(b)、Simpson 指数(c)和 Chao 指数(d)

*表示差异显著($P<0.05$), **表示差异极显著($P<0.01$).

Fig. 7 NMDS analysis of bacterioplankton community (a), Shannon index of OTU level (b), Simpson index of OTU level (c) and Chao index of OTU level (d) * stands for significant difference($P<0.05$), ** stands for extremely significant difference $P<0.01$.

时期群落结构差异显著($R=0.9592$, $P=0.0010$)。

α 多样性指数反映生物环境内物种的丰富度。根据测序结果对盐碱地对虾养殖池塘浮游细菌 α 多样性指数 Shannon、Simpson 和 Chao 指数进行计算(图 7b、7c 和 7d)。仅 Chao 指数存在显著性组间差异($P<0.05$)。40 d 的 Shannon 指数(3.825 ± 0.1869)和 Chao 指数(1166 ± 123.5)最高, Simpson 指数(0.0843 ± 0.02599)较低,说明 40 d 的浮游细菌群落多样性最高。

2.4 环境因子关联分析

对 7 个环境变量与 OTU 水平细菌群落进行冗余分析(RDA), 评估养殖阶段菌群与环境因子之间关系。盐碱地对虾池塘中浮游细菌的 57.13%的变异可由选定的环境因素解释(图 8), 水温(WT,

$R^2=0.372$, $P<0.05$)、氨氮(NH_4^+-N , $R^2=0.716$, $P<0.01$)、亚硝态氮(NO_2^--N , $R^2=0.779$, $P<0.01$)、硝态氮(NO_3^--N , $R^2=0.272$, $P>0.05$)、总氮(TN, $R^2=0.302$, $P<0.05$)、活性磷($\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$, $R^2=0.597$, $P<0.01$)、总磷(TP, $R^2=0.667$, $P<0.01$)、pH ($R^2=0.294$, $P<0.05$)和碱度(ALK, $R^2=0.075$, $P>0.05$)。除硝态氮和碱度外, 其余环境因素与池塘浮游细菌群落之间存在显著相关性($P<0.05$), 不同养殖阶段的浮游细菌群落被环境因素明显区分, 前期 0 d 和 10 d, 浮游细菌群落与水温呈正相关, 而与营养盐指标和 pH 呈负相关; 从 20 d 开始, 浮游细菌群落开始与各种形式的各个氮、营养盐指标和 pH 呈正相关; 后期 50 d 和 60 d, 浮游细菌群落与水温呈负相关。

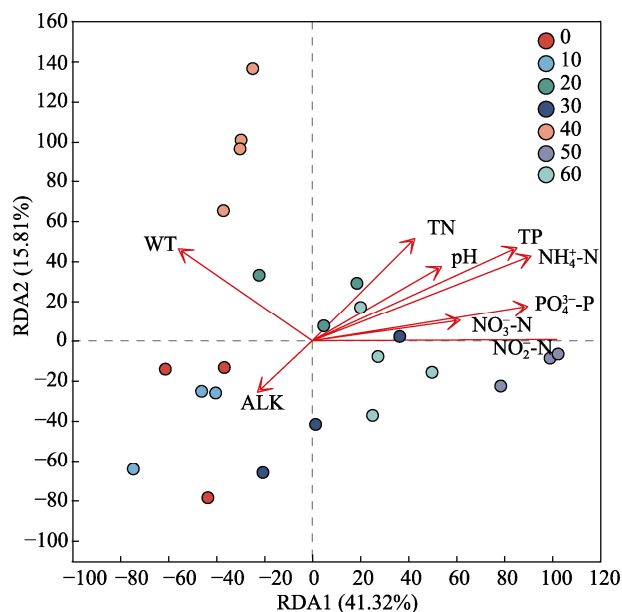


图 8 盐碱水养殖池塘浮游细菌群落与
环境因子 RDA 分析

Fig. 8 RDA analysis between bacterioplankton community and environmental factors in saline-alkaline aquaculture ponds

3 讨论

3.1 盐碱水凡纳滨对虾养殖池塘水体浮游细菌群落特征

盐碱地水土资源综合利用对保障国家粮食安全、端牢中国饭碗具有重要战略意义。盐碱水养殖是拓展我国水产养殖空间的重要途径,同时也是水产生态健康养殖的重要模式之一。凡纳滨对虾已在国内外被广泛证明可以适应内陆盐碱水养殖环境^[1,9]。本次研究在西北内陆盐碱地上开展了盐碱水养殖凡纳滨对虾的实验,利用高通量测序技术解析了养殖系统内浮游细菌的全过程动态特征。在门水平上,变形菌门、厚壁菌门、蓝细菌门、拟杆菌门和疣微菌门已被证明是低盐度水凡纳滨对虾养殖池塘中的浮游细菌优势门类^[23,26-28]。本次调查的盐碱水凡纳滨对虾养殖池塘浮游细菌共检测到 43 个细菌门类,其中有 7 个相对丰度大于 1% 的细菌门类,分别为厚壁菌门(33.82%)、变形菌门(25.82%)、蓝细菌门(17.36%)、放线菌门(17.36%)、疣微菌门(3.17%)和拟杆菌门(2.53%),这与已有报道的优势浮游细菌门类组成较为类似,但是各菌类相对丰度差异较大。这表明盐碱地区

养殖用水中的细菌门类组成与常规淡水养殖中的门类组成类似,但相对丰度不同,可能是由于使用的水源不同和具体养殖实践过程不同导致的。

在属水平上,本次研究中发现的主要优势属为微小杆菌属、嗜冷杆菌属、*Cyanobium_PCC-6307*、*Candidatus_Aquihuna*、CL500-29_marine_group。值得注意的是,在本研究中发现,微小杆菌属在未放苗的水体和养殖过程中的水体里均拥有较高的相对丰度,是盐碱地实验池塘中相对丰度最高的细菌属,该属广泛分布于海洋及非海洋环境中,能适应复杂多样的生境。微小杆菌属也在其他池塘中被报道,通常认为是益生菌,能够在健康的养殖环境和凡纳滨对虾肠道中富集^[29],具有分解复杂有机物、转化重金属、促生长等极具实用价值的功能^[30],参与固氮和硝化作用^[31],并涉及生物氢烷的生产^[32]。*Cyanobium_PCC-6307* 是一种淡水中常见的蓝细菌^[33],随着营养输入导致的富营养化以及一些环境因子的变化(如水温升高)可能会发生水华,蓝细菌会迅速爆发并占据优势种地位,这会导致水体透明度降低,并会释放蓝藻毒素对水生生物产生毒害,其迅速衰败会导致水体中溶解氧的降低^[34-35]。在弧菌丰度较小、使用内陆水源的养殖地区,需要尤其注意蓝细菌的影响,特别是在盐碱地区,土塘盐碱成分(HCO_3^- 和 CO_3^{2-})会刺激有害蓝细菌的生长和蓝藻毒素的释放^[36],构成养殖中的潜在风险。本研究在 *Cyanobium_PCC-6307* 在 40 d 的样品中发现了相对丰度的大幅上升,这可能与水体中较高的营养负荷以及较高的水温有关。有研究表明,微小杆菌属能有效抑制蓝藻水华和改善水质^[37]。微小杆菌属能分泌多种杀藻物质,有效抑制蓝细菌的生长,而对绿藻(水产养殖中常见的有益藻类)没有活性^[38]。本研究发现,当微小杆菌属丰度较低时,*Cyanobium_PCC-6307* 占主导地位(40 d 样品),而在其他微小杆菌属丰度较高的样品中,蓝细菌的相对丰度低,这可能与两者之间的相互作用有关。一项基于 16S rRNA 技术进行的关于黄河内蒙古段细菌群落结构特征的研究中,未检出较大丰度的微小杆菌属,而 CL500-29_marine_group 属于优势菌^[39]。CL500-29_marine_group 通常在营养丰富

的环境中富集,菌群能有氧使用各种溶解性有机碳^[31,40]。这说明本研究养殖用水中的微小杆菌属可能来源于地下盐碱水,而 CL500-29_marine_group 可能来源于调配养殖用水时引入的黄河水。该地区的水源中有较高丰度的微小杆菌属,并且在养殖过程中,该属能够适应当地的养殖环境,在各阶段均维持了较高的相对丰度,这可视为该地区盐碱水养殖的一个优势,其与蓝细菌以及其他藻类的复杂关系有助于维持良好的浮游植物和浮游细菌群落。在未来可以尝试开发以该属细菌作为盐碱水养殖过程中调控水环境的益生菌。嗜冷杆菌属是水产养殖系统中的一种益生菌,对几种致病弧菌具有拮抗作用,并且适应低温^[41]。一项关于凡纳滨对虾白便病的研究表明,健康池塘中会富集更多微小杆菌属和嗜冷杆菌属^[42],同时该属细菌还具有反硝化功能,对于水体的氮循环有重要作用^[43]。*Candidatus_Aquiluna* 也在其他凡纳滨对虾池塘中被广泛检出^[44-45],其在驱动浮游细菌群落演替中发挥着至关重要的作用^[46],并且可能是去除氮的功能细菌^[47]。这些细菌属有助于吸收转换、去除氮营养元素,有助于改善水质,在维持健康的水生生态环境中发挥着重要作用。

在有关盐碱地养虾池塘中的细菌群落的研究中发现,盐碱水凡纳滨对虾养殖水体中主要优势菌属为产碱菌属、弧菌属、气单胞菌属、棒杆菌属等^[24-25],这与本研究有较大差异。本研究中未发现较高丰度的以上细菌属,推测这可能与水源、放养密度以及检测方法有关。由于当时的条件限制,上述的两项研究使用的是传统培养鉴定细菌的方法,而本研究使用了 16S rRNA 技术开展调查,这可能导致了结果的较大差异。此外,上述的两项研究中均检测到了较高丰度的条件致病菌——弧菌属和气单胞菌属,但在本研究中未发现较高丰度的弧菌和气单胞菌等病原菌,可能与本研究中所使用水源的浮游细菌群落整体较为健康,以及对虾放养密度较低、水体营养负荷较小有关。

3.2 池塘理化因子变化和对浮游细菌群落的影响

在凡纳滨对虾池塘中,饲料是主要营养物质(碳、氮、磷)的输入源,输入的氮和磷约有 18.1%

和 6.4%会释放到水体中^[48],对虾摄食饲料之后会产生粪便进入到水生环境中,残饵和粪便中未被吸收营养物质的释放会导致水体营养盐浓度的上升。氨氮、亚硝态氮和硝态氮的产生是无可避免的。池塘中氮的初始形式通常为有机氮(残饵和粪便),首先通过氨化作用转化为氨氮,然后通过亚硝化作用转化为亚硝态氮,再通过硝化作用转化成硝态氮^[49]。而对于凡纳滨对虾来说,长期暴露在高浓度氨氮和亚硝态氮的水体环境中会给免疫、生长、呼吸等带来多重负面影响,而硝态氮毒性较小^[50]。在低盐度养殖环境中,氨氮的安全质量浓度为 0.69~1.49 mg/L^[51-53];亚硝态氮的安全质量浓度为 0.25~0.62 mg/L^[53-54]。水体中营养盐的浓度与养殖密度密切相关,因为养殖密度决定了饲料投喂量的大小。本研究中,养殖密度较小(30 尾/m³),各营养指标随养殖进程的推进呈波动上升状态,但总体在可接受范围内,其中氨氮和亚硝态氮质量浓度最高分别为 0.30 mg/L 和 0.19 mg/L,未超出凡纳滨对虾的安全质量浓度范围,表明满足该放养密度的饲料投喂量不会超过养殖水体的自净范围,也不会对凡纳滨对虾的生长产生胁迫。在养殖技术成熟的情况下,未来可适当增加放养密度来获取更大的经济效益。

值得注意的是,pH 过高及其与氨氮等环境因子的协同效应,会对凡纳滨对虾的生长与摄食产生胁迫^[55-56],高 pH 也是蓝细菌快速生长的主要条件之一^[57]。本研究中 pH 在 35~40 d 时出现了大幅上升(升至 9.13),这可能会对凡纳滨对虾产生了急性胁迫,后续通过换水和微生态制剂的使用,使 pH 恢复正常水平。过高的碱度也会对凡纳滨对虾产生胁迫,尤其是在盐碱地区,盐碱水中的初始碱度可达 400~600 mg/L^[58]。本研究中,通过将盐碱水勾兑黄河水,有效将碱度维持在了适合养殖行业的碱度水平(186.67~225.33 mg/L),养殖期间未发现凡纳滨对虾出现急性胁迫偷死的现象。此外,随着养殖的进行,水体中碱度较初始阶段有所下降,也证明了水产养殖能够降低水体碱度,但在以渔治碱的实践中,仍需要综合考虑其他环境因素的影响。

水体中的浮游细菌在自然界营养物质循环中

发挥着重要作用,对水温、氮、磷营养盐等水体理化因子的变动敏感,并会对富营养化做出迅速的响应。浮游细菌对氮、磷营养盐的利用有助于维持健康的养殖环境,减少对虾的胁迫和防止藻类过度生长^[59-61]。总体来说,池塘中富营养化导致多种营养元素的积累并可能促进较低丰度群体的发展,最终导致高细菌群落多样性^[46,59,61]。在本研究中,养殖前期由于饲料投喂总量不大,浮游细菌群落多样性变化不大,而进入中期,高温、有机物积累和富营养化导致了 40 d 样品中群落多样性的显著性上升($P<0.05$)。通常认为,较高的细菌群落多样性意味着更稳定的细菌群落,而 Shade^[62]却认为过高的多样性不一定更好、更健康,特别是在水产养殖中,需要重点考虑病原菌的存在,因为病原菌的丰度也会通过参与营养物质的循环来增长。根据 RDA 分析,本研究中不同养殖阶段的浮游细菌群落被环境因素明显区分,水温、氨氮、亚硝态氮、总氮、磷酸盐、总磷和 pH 显著驱动了浮游细菌群落的动态变化($P<0.05$),养殖中后期的细菌群落组成与各营养盐指标呈正相关。养殖初期由于气温较低,池塘中营养盐含量低,蓝细菌相对丰度较低;高温、营养盐积累和 pH 的上升可能导致了 40 d 样品中蓝细菌丰度的上升,随后由于气温降低,蓝细菌的增长受到抑制,而嗜冷杆菌由于更适合较低的温度,在竞争中获得了优势而导致相对丰度上升。位于几字湾的内蒙古、宁夏地区,有大量盐碱水养殖池塘,这些地区由于纬度较高,适宜的养殖周期较短,外塘养殖后期面临水温较低的问题。本研究中养殖后期水温仅为 22.47~23.67 °C,不是凡纳滨对虾的适宜生长温度范围,而后期饲料投喂量较大,水体中能够适应较低温度的嗜冷杆菌的富集有助于维持水体氮循环的通畅^[43],并能通过抢占蓝细菌生态位,防止在富营养化的后期阶段暴发蓝细菌水华。环境参数与微生物群落之间的显著相关性可能意味着这些参数会影响微生物群的结构和功能^[63],因此需要注意控制养殖过程中氨氮、亚硝态氮和 pH 等环境因子,可通过定期补水、换水、补充益生菌来实现。

4 结论

本研究采用高通量测序技术分析了盐碱水养殖凡纳滨对虾池塘内的浮游细菌群落动态变化特征和菌群与环境因子的关系,每个养殖阶段都有独特的细菌组成特征,主要优势门包括厚壁菌门、变形菌门、蓝细菌门、放线菌门、拟杆菌门和疣微菌门;主要优势属包括微小杆菌属、嗜冷杆菌属、*Cyanobium_PCC-6307*、*Candidatus_Aquiluna* 和 *CL500-29_marine_group*。总之,研究区域内的凡纳滨对虾盐碱水养殖池塘中拥有较为健康的浮游细菌群落组成,蓝细菌属的成员可能是养殖环境中的主要威胁,而微小杆菌属和嗜冷杆菌属能够适应当地养殖水体环境的变化,对于抑制蓝细菌水华的爆发和维持水质健康有重要意义,具有潜在的益生菌开发价值。

参考文献:

- [1] Chen X Z, Lai Q F, Yao Z L, et al. Saline-alkali water green aquaculture technology model[J]. China Fisheries, 2020(9): 61-63. [陈学洲, 来琦芳, 么宗利, 等. 盐碱水绿色养殖技术模式[J]. 中国水产, 2020(9): 61-63.]
- [2] Yu S H, Liu J T, Li Z X, et al. Mechanism of saline-alkali lands improvement of subsurface pipe drainage systems and agro-ecosystem response[J]. Chinese Journal of Eco-Agriculture, 2012, 20(12): 1664-1672. [于淑会, 刘金铜, 李志祥, 等. 暗管排水排盐改良盐碱地机理与农田生态系统响应研究进展[J]. 中国生态农业学报, 2012, 20(12): 1664-1672.]
- [3] Zhou Y J. Effects of saline-alkali stress on growth, reproduction and immune function of *Fenneropenaeus chinensis*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2023. [周玉洁. 盐碱胁迫对中国对虾生长、繁殖及免疫功能的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023.]
- [4] Liu Y X, Fang H, Lai Q F, et al. The current state and development strategy for China's saline-alkaline fisheries[J]. Strategic Study of CAE, 2016, 18(3): 74-78. [刘永新, 方辉, 来琦芳, 等. 我国盐碱水渔业现状与发展对策[J]. 中国工程科学, 2016, 18(3): 74-78.]
- [5] Ge J M, Zi F Z, Wang X Y, et al. A comparative study on fish growth and nutritional composition under pond ecological farming in Xinjiang[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2023, 30(5): 559-572. [葛建民, 瞿方泽, 王新月, 等. 新疆盐碱水湖塘生态养殖模式下鱼类生长及肌肉营养品质[J]. 中国水产科学, 2023, 30(5): 559-572.]

- [6] Fu L Z. Study on the remote sensing monitoring and the inducing factors of soil salinization in the Houtao Plain[D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing), 2016. [傅连珍. 内蒙古后套平原土地盐碱化遥感监测及成因研究[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2016.]
- [7] Roy L A, Davis D A, Saoud I P, et al. Shrimp culture in inland low salinity waters[J]. Reviews in Aquaculture, 2010, 2(4): 191-208.
- [8] Singh S, Jahan I, Sharma A, et al. Research paper inland saline aquaculture—A hope for farmers[J]. International Journal of Global Science Research, 2017, 4(2): 577-593.
- [9] Pimentel O A L F, Roy L A, dos Santos E P, et al. *Penaeus vannamei* inland farming: Perspectives and opinions[J]. Reviews in Aquaculture, 2023, 15(4): 1267-1273.
- [10] Xu W L, Wang H Q, Li Y H. Distribution and aquaculture application of saline alkali water at home and abroad[J]. China Fisheries, 2021(7): 50-53. [徐文龙, 汪惠庆, 李月红. 国内外盐碱水域分布及水产养殖应用[J]. 中国水产, 2021(7): 50-53.]
- [11] Feng W Y, Peng B C, Yao J, et al. Effects of Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} ion content and proportion on the desalination survival rate of shrimp seedlings in saline-alkali water[J]. Scientific Fish Farming, 2020(6): 10-11. [冯伟业, 彭本初, 姚静, 等. 盐碱水中 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 离子含量及比例对虾苗淡化成活率的影响[J]. 科学养鱼, 2020(6): 10-11.]
- [12] Yang F Y, Li X J, Tian M Z, et al. Relationship between growth of white leg shrimp *Litopenaeus vannamei* in body mass and environmental factors in carbonate saline-alkali waters[J]. Fisheries Science, 2008, 27(9): 438-442. [杨富亿, 李秀军, 田明增, 等. 盐碱水域对虾体质量生长与环境因子的相关性[J]. 水产科学, 2008, 27(9): 438-442.]
- [13] Hernández D P, Abdelrahman H A, Galkanda-Arachchige H S C, et al. Evaluation of aqueous magnesium concentration on performance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) cultured in low salinity water of West Alabama, USA[J]. Aquaculture, 2023, 565: 739133.
- [14] Sun F L, Wang Y S, Wang C Z, et al. Insights into the intestinal microbiota of several aquatic organisms and association with the surrounding environment[J]. Aquaculture, 2019, 507: 196-202.
- [15] Hou D W, Huang Z J, Zeng S Z, et al. Comparative analysis of the bacterial community compositions of the shrimp intestine, surrounding water and sediment[J]. Journal of Applied Microbiology, 2018, 125(3): 792-799.
- [16] Zeng S Z, Khoruamkid S, Kongpakdee W, et al. Dissimilarity of microbial diversity of pond water, shrimp intestine and sediment in Aquamimicry system[J]. AMB Express, 2020, 10(1): Article No.180.
- [17] Shan H, Obbard J. Ammonia removal from prawn aquaculture water using immobilized nitrifying bacteria[J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2001, 57(5-6): 791-798.
- [18] Hlordzi V, Kuebutornye F K A, Afriyie G, et al. The use of *Bacillus* species in maintenance of water quality in aquaculture: A review[J]. Aquaculture Reports, 2020, 18: 100503.
- [19] Natrah F M I, Bossier P, Sorgeloos P, et al. Significance of microalgal-bacterial interactions for aquaculture[J]. Reviews in Aquaculture, 2014, 6(1): 48-61.
- [20] Yang W, Zheng Z M, Lu K H, et al. Manipulating the phytoplankton community has the potential to create a stable bacterioplankton community in a shrimp rearing environment[J]. Aquaculture, 2020, 520: 734789.
- [21] Ding Y H, Chen N, Ke J D, et al. Response of the rearing water bacterial community to the beneficial microalga *Nannochloropsis oculata* cocultured with Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Aquaculture, 2021, 542: 736895.
- [22] Fan L F, Wang Z L, Chen M S, et al. Microbiota comparison of Pacific white shrimp intestine and sediment at freshwater and marine cultured environment[J]. Science of the Total Environment, 2019, 657: 1194-1204.
- [23] Cornejo-Granados F, Gallardo-Becerra L, Leonardo-Reza M, et al. A meta-analysis reveals the environmental and host factors shaping the structure and function of the shrimp microbiota[J]. PeerJ, 2018, 6: e5382.
- [24] Yao Z L, Zhou K, Luo Z, et al. Bacterial flora composition and its dynamics in shrimp pond during the culture period of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2011, 30(2): 225-228. [么宗利, 周凯, 罗璋, 等. 盐碱地养虾池塘养殖期间细菌组成分析[J]. 华中农业大学学报, 2011, 30(2): 225-228.]
- [25] Zhou K, Lai Q F, Luo Z, et al. Analysis and comparison on components of bacteria in five types of shrimp-feeding water in prophase of feeding[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(11): 39-44. [周凯, 来琦芳, 罗璋, 等. 对虾养殖前期5种类型水体中细菌的组成和比较研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2010, 40(11): 39-44.]
- [26] Qi F, Shawuti R, Xian Y L, et al. Spatio-temporal changes of bacterioplankton communities in *Litopenaeus vannamei* desalinated ponds and their responses to physicochemical factors[J]. South China Fisheries Science, 2023, 19(2): 50-61. [祁峰, 热比古丽·沙吾提, 咸玉兰, 等. 凡纳滨对虾淡化养殖池塘浮游细菌群落时空变化及其对理化因子的响应[J]. 南方水产科学, 2023, 19(2): 50-61.]

- [27] Zhao Y T, Duan C L, Zhang X X, et al. Insights into the gut microbiota of freshwater shrimp and its associations with the surrounding microbiota and environmental factors[J]. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2018, 28(6): 946-956.
- [28] Yano Y, Hamano K, Tsutsui I, et al. Occurrence, molecular characterization, and antimicrobial susceptibility of *Aeromonas* spp. in marine species of shrimps cultured at inland low salinity ponds[J]. *Food Microbiology*, 2015, 47: 21-27.
- [29] 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.
- [30] Zhang W W, Huang Z, Duan Y F, et al. Effects of different disinfectants on water quality and microbial community structure of *Litopenaeus vannamei*[J]. *South China Fisheries Science*, 2021, 17(2): 1-10. [张文伟, 黄忠, 段亚飞, 等. 不同消毒剂对凡纳滨对虾育苗水质和菌群结构的影响[J]. *南方水产科学*, 2021, 17(2): 1-10.]
- [31] Zhang X, Cui L J, Liu S L, et al. Seasonal dynamics of bacterial community and co-occurrence with eukaryotic phytoplankton in the Pearl River Estuary[J]. *Marine Environmental Research*, 2023, 192: 106193.
- [32] Khanthong K, Purnomo C W, Daosud W, et al. Microbial diversity of marine shrimp pond sediment and its variability due to the effect of immobilized media in biohydrogen and biohythane production[J]. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 2021, 9(5): 106166.
- [33] Callieri C. Picophytoplankton in freshwater ecosystems: The importance of small-sized phototrophs[J]. *Freshwater Reviews*, 2008, 1(1): 1-28.
- [34] Paerl H W, Tucker C S. Ecology of blue - green algae in aquaculture ponds[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1995, 26(2): 109-131.
- [35] Sinden A, Sinang S C. Cyanobacteria in aquaculture systems: Linking the occurrence, abundance and toxicity with rising temperatures[J]. *International Journal of Environmental Science and Technology*, 2016, 13: 2855-2862.
- [36] Yu J, Zhu H, Shutes B, et al. Salt-alkalization may potentially promote *Microcystis aeruginosa* blooms and the production of microcystin-LR[J]. *Environmental Pollution*, 2022, 301: 118971.
- [37] Santos A A, Guedes D O, Barros M U G, et al. Effect of hydrogen peroxide on natural phytoplankton and bacterioplankton in a drinking water reservoir: Mesocosm-scale study[J]. *Water Research*, 2021, 197: 117069.
- [38] Tian C, Liu X L, Tan J, et al. Isolation, identification and characterization of an algicidal bacterium from Lake Taihu and preliminary studies on its algicidal compounds[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2012, 24(10): 1823-1831.
- [39] Shi Y J, Li W B, Guo X. Characterization of bacterial community structure during the opening period of the Yellow River in Inner Mongolia[J]. *China Environmental Science*, 2024, 44(3): 1487-1496. [史玉娇, 李文宝, 郭鑫. 黄河内蒙段开河期水土介质中细菌群落结构特征研究[J]. *中国环境科学*, 2024, 44(3): 1487-1496.]
- [40] Xie G J, Tang X M, Shao K Q, et al. Bacterial diversity, community composition and metabolic function in Lake Tianmuhu and its dammed river: Effects of domestic wastewater and damming[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2021, 213: 112069.
- [41] Wang A R, Ran C, Wang Y B, et al. Use of probiotics in aquaculture of China-A review of the past decade[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 86: 734-755.
- [42] Alfiansah Y R, Peters S, Harder J, et al. Structure and co-occurrence patterns of bacterial communities associated with white faeces disease outbreaks in Pacific white-leg shrimp *Penaeus vannamei* aquaculture[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): Article No.11980.
- [43] Zheng H Y, Liu Y, Sun G D, et al. Denitrification characteristics of a marine origin psychrophilic aerobic denitrifying bacterium[J]. *Journal of Environmental Sciences*, 2011, 23(11): 1888-1893.
- [44] Fang Y, Li H, Wang L B, et al. Study on bacterial community structure in rearing water in small greenhouse of *Litopenaeus vannamei*[J]. *South China Fisheries Science*, 2023, 19(3): 29-41. [方圆, 黎慧, 王李宝, 等. 凡纳滨对虾小型温棚养殖模式水体微生物群落的研究[J]. *南方水产科学*, 2023, 19(3): 29-41.]
- [45] 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.
- [46] Yang W, Zhu J Y, Zheng C, et al. Succession of bacterioplankton community in intensive shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture systems[J]. *Aquaculture*, 2018, 497: 200-213.
- [47] 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.
- [48] Dien L D, Hiep L H, van Hao N, et al. Comparing nutrient budgets in integrated rice-shrimp ponds and shrimp grow-out

- ponds[J]. Aquaculture, 2018, 484: 250-258.
- [49] 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.
- [50] Mohanty R K, Ambast S K, Panigrahi P, et al. Water quality suitability and water use indices: Useful management tools in coastal aquaculture of *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 2018, 485: 210-219.
- [51] Barbieri E. Acute toxicity of ammonia in white shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels[J]. Aquaculture, 2010, 306(1-4): 329- 333.
- [52] Schuler D J, Boardman G D, Kuhn D D, et al. Acute toxicity of ammonia and nitrite to Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at low salinities[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2010, 41(3): 438-446.
- [53] Valencia-Castañeda G, Frías-Espicueta M G, Vanegas-Pérez R C, et al. Acute toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to shrimp *Litopenaeus vannamei* postlarvae in low-salinity water[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2018, 101(2): 229-234.
- [54] Ramírez-Rochín J, Frías-Espicueta M G, Fierro-Sañudo J F, et al. Acute toxicity of nitrite on white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles in low-salinity water[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(5): 2337-2343.
- [55] Yu Q R, Xie J, Huang M X, et al. Growth and health responses to a long-term pH stress in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture Reports, 2020, 16: 100280.
- [56] Chen H, Chen C, Yu J Q, et al. Growth and feed intake of *Litopenaeus vannamei* under stress-environment interaction[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2018, 27(2): 168-174. [陈亨, 陈琛, 於俊琦, 等. 不同环境胁迫因子耦合对凡纳滨对虾生长与摄食的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2018, 27(2): 168-174.]
- [57] Mutoti M, Gumbo J, Jideani A I O. Occurrence of cyanobacteria in water used for food production: A review[J]. Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C, 2022, 125: 103101.
- [58] Zhang R Q, Shi X, Guo J T, et al. Acute stress response in gill of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high alkalinity[J]. Aquaculture, 2024, 586: 740766.
- [59] Yang W, Zheng C, Zheng Z M, et al. Nutrient enrichment during shrimp cultivation alters bacterioplankton assemblies and destroys community stability[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2018, 156: 366-374.
- [60] Yang Y Z, Gao Y C, Huang X N, et al. Adaptive shifts of bacterioplankton communities in response to nitrogen enrichment in a highly polluted river[J]. Environmental Pollution, 2019, 245: 290-299.
- [61] Zhang H, Sun Z L, Liu B, et al. Dynamic changes of microbial communities in *Litopenaeus vannamei* cultures and the effects of environmental factors[J]. Aquaculture, 2016, 455: 97-108.
- [62] Shade A. Diversity is the question, not the answer[J]. The ISME Journal, 2017, 11(1): 1-6.
- [63] Zhang M Y, Pan L Q, Huang F, et al. Metagenomic analysis of composition, function and cycling processes of microbial community in water, sediment and effluent of *Litopenaeus vannamei* farming environments under different culture modes[J]. Aquaculture, 2019, 506: 280-293.

Dynamic changes of bacterioplankton communities in *Litopenaeus vannamei* farming pond using saline-alkaline water

YU Xinrui¹, WU Tao², WANG Hao², YAN Haiming³, HAN Jianjun³, GUAN Weibing^{1,4}

1. College of Oceanography and Ecological Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 200120, China;

2. Ordos Agriculture and Animal Husbandry Bureau, Ordos 017000, China;

3. Dalate Banner Animal Husbandry and Aquatic Products Development and Protection Center, Ordos 014300, China;

4. Key Laboratory of Integrated Rice-Fish Farming, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 200120, China

Abstract: The use of saline-alkaline water for aquaculture has become a notable method for the comprehensive utilization of water and land resources in saline-alkaline soil. *Litopenaeus vannamei* is an important species in saline-alkaline aquaculture. The microbial community in water plays an important role in aquaculture processes. However, the dynamic changes of bacterioplankton throughout the entire process in shrimp farming ponds in saline-alkaline soil should be investigated to reveal the microbiota characteristics. In the present study, 16S rRNA high-throughput sequencing technology and Illumina MiSeq sequencing platforms were used to analyze the bacterioplankton in the water samples from saline-alkaline *L. vannamei* aquaculture ponds in the Hetao Plain of Inner Mongolia. Forty-three phyla and 1004 bacterial genera were detected in samples collected at seven time points. Firmicutes (33.82%), Proteobacteria (25.82%), Cyanobacteria (17.36%), and Actinobacteria (17.36%) were the phyla with more than 10% abundance and they showed significant differences between different samples. At the genus level, the dominant genera were *Exiguobacterium*, *Psychrobacter*, and *Cyanobium*_PCC-6307 and their abundance were significantly different among all groups. *Exiguobacterium* were enriched during the early and middle stage (0–30 d, 19.57%–55.17%), with less relative abundance during the later stage (40–60 d, 13.32%–24.84%). *Psychrobacter* was less abundant on Day 0, Day 10, and Day 40 (0.07%–0.53%); however, its relative abundance increased notably on Day 50 (49.21%). *Cyanobium*_PCC-6307 showed an increase in abundance on Day 40, with small fluctuations in the remaining samples (3.87%–13.12%). *Planococcus* had the highest relative abundance in the water before the release of shrimp (9.68%) and decreased during the later culture stage. *Massilia* and *Chryseobacterium* were specifically enriched only on Day 30. Cyanobacteria could be considered as the major threat in inland saline-alkaline water aquaculture, with a low abundance of *Vibrio*. *Exiguobacterium* and *Psychrobacter* can be considered as the chief probiotics in the water source and saline-alkaline pond because of their ability to inhibit the bloom of Cyanobacteria. Unique bacterioplankton communities were formed in different aquaculture stages, with water temperature and nitrogen and phosphorus nutrients driving the succession of bacterioplankton communities.

Key words: inland saline-alkaline aquaculture; saline-alkaline water; *Litopenaeus vannamei*; bacterioplankton; high-throughput sequencing; Hetao Plain of Inner Mongolia

Corresponding author: GUAN Weibing. E-mail: wbguan@shou.edu.cn