

文章编号: 1000-0615(2019)04-0988-09

DOI: 10.11964/jfc.20180311209

不同密度生态基系统内细菌群落组成与草鱼生长的关系

张军旺^{1,2}, 王广军¹, 谢骏¹, 王金林¹, 郁二蒙^{1*},
余德光¹, 李志斐¹, 张凯¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所,
农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东广州 510380;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为了研究生态基系统中细菌群落组成与草鱼生长的关系, 实验按生态基表面积占养殖水体表面积的比值50%、100%、150% (S-50、S-100、S-150), 设置3个不同密度的生态基养殖系统。首先测量处理组和对照组的草鱼生长性状, 进而利用高通量测序技术分析水体中和生态基上的细菌群落组成, 探索生态基系统内细菌群落与草鱼生长的关系。结果显示, S-100和S-150组的草鱼增重率与特定生长率均显著高于S-50和对照组; S-100组的存活率显著高于其他组; S-100和S-150组的饲料转换率均显著低于对照组。细菌群落分析发现: ①与水体相比, 生态基上 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)比例增加, 且该菌在S-100组中显著高于其他组; ②水体中细菌主要以黄杆菌属(*Flavobacterium*)、红细菌属(*Rhodobacte*)、鲸杆菌属(*Cetobacterium*)和浮霉状菌属(*Planctomyces*)为主, 生态基上不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)占较高比例, 并且后3种细菌在S-100组中比例显著高于其他组; ③在可鉴定的种水平上, 生态基上的细菌主要以产碱假单胞菌(*P. alcaligene*)和蜡样芽胞杆菌(*Bacillus cereu*)为主, 其中产碱假单胞菌在S-100和S-150组最高。综合草鱼生长性状、细菌群落组成及生态基生产成本分析发现, 生态基比表面积为100%时效果最佳, 即细菌多样性和潜在益生菌比例高, 饵料系数最低, 草鱼的存活率和增重率最高。

关键词: 草鱼; 生态基; 细菌群落组成; 有益菌

中图分类号: S 965.112

文献标志码: A

生态基是一种生物膜载体, 在水中难分解、无环境污染, 已被大量应用于水产养殖中以改善水质^[1]和提高养殖产量^[2]。一方面, 生态基通过吸附水体中悬浮物、鱼虾排泄物, 为微生物提供充分营养, 促使微生物种类和生物量增加, 利用微生物代谢作用去除水中污染物, 以净化水体。另一方面, 生态基上由细菌、真菌、原生动物、植物、浮游动物、底栖生物和碎屑构成的生物膜能给养殖对象提供额外的食物来源^[3]。作为一种极高生物附着表面积材料, 阿科蔓(AquaMats)生态基已被应用于不同水产动

物养殖中, Weerasooriya等^[4]将阿科蔓生态基应用于尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼苗养殖中, 结果发现生态基并没有促进罗非鱼生长, 甚至在投饵条件下降低了罗非鱼的产量和成活率。在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)养殖中发现同样现象, 阿科蔓生态基没有提高虹鳟的生长率^[5]。但在凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的应用中, 阿科蔓生态基显著提高对虾的生长速率并降低其饵料系数^[6]。Yu等^[7]研究也发现, 阿科蔓生态基能显著提高草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)产量, 降低饵料系数。这些研究表明, 养殖

收稿日期: 2018-03-19 修回日期: 2018-10-17

资助项目: 广州市科技计划(201804010163); 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-45-21)

通信作者: 郁二蒙, E-mail: boyem34@hotmail.com

对象是生态基应用效果的影响因素之一。但是,关于生态基放置密度与应用效果的研究仍较少。Azim等^[8]研究竹子生态基50%和100%(比表面积)的放置密度,发现100%效果最优,而放置密度大于100%时养殖动物产量是否仍会继续提高需进一步探讨。

很多学者研究了水产养殖中生态基上吸附的营养物质与养殖对象生长性能之间的关系,但较少研究生态基上细菌群落组成^[9-10]。在已有的生态基上细菌分析中,仅发现测定养殖系统中总蛭弧菌(*Bdellovibrio*)数量^[11],而对单一生态基养殖系统中细菌群落组成的分析则较少^[6-7]。据报道,生态基所形成的微生物系统含有多种有益菌,它们通过各种生理生化反应(如固氮等)将养殖池中的排泄物、残留的饵料转化为营养物质或其他的无机盐类,从而改善养殖水质^[12]。本团队前期将无纺布生态基应用于草鱼养殖中,利用PCR-DGGE技术分析养殖水体和生态基上优势细菌种群的动态变化,结果发现生态基的应用改变了水体细菌群落组成,减少了养殖水体和草鱼肠道中一些条件致病菌的存在^[13]。而本实验使用了阿科蔓生态基,采用可鉴定更低丰度细菌的高通量测序技术,将草鱼养殖周期从以前的30 d延长至60 d,分析不同密度生态基系统内水体和生态基的时间动态变化,这将有助于进一步探索生态基和养殖对象生长性能之间的关系。

本实验按生态基表面积占养殖水体表面积比值(比表面积)50%、100%和150%(S-50、S-100和S-150),分别设置3个不同密度的生态基养殖系统,首先,分析不同养殖时间点(20、40、60 d)不同系统内草鱼的生长性能和饲料系数,并结合生态基的成本和草鱼的最终产量,获得生态基放置的最佳密度;再进一步采用可鉴定更多细菌群落组成和更低丰度细菌的高通量测序技术,从生态基和养殖水体的细菌群落组成方面,分析有助于草鱼生长的潜在有益菌;最后,综合探索生态基系统内细菌群落和草鱼生长之间的关系,以期为草鱼的养殖生产提供科学参考。

1 材料与方法

1.1 实验设计与管理

实验在珠江水产研究所养殖基地进行,实

验时间为60 d。实验共用2.0 m×2.0 m的正方形室内水泥池12个,且水深为1 m。水源来自于附近池塘的水。实验前,每个养殖池先用高锰酸钾消毒,然后曝气1周后垂直悬挂阿科蔓生态基,其作用是供生物膜的形成,为了更好地将其在水体表面平行铺开,应在生态基上系一坠石。3个实验组按生态基表面积占水池水体表面积比值(比表面积)50%、100%和150%(S-50、S-100和S-150),分别悬挂1、2、3块阿科蔓生态基(每块生态基的表面积为2 m²),对照组不悬挂生态基,每组均有3个平行实验。每个水泥池中放入草鱼[(120±7) g]50条,用含有30%粗蛋白的配方颗粒饲料投喂(中国通威公司)。前30 d每日投饵率为鱼体总体质量的2%,30 d后逐渐增加至鱼体总体质量的3%,分别在9:00和16:00对每个水泥池的草鱼进行喂养。实验期间不换水,并对养殖池水体的pH、温度和溶解氧进行持续的监测,每个养殖池均使用曝气圆盘增氧。

1.2 水质指标测定

从悬挂生态基的第1天开始,每20天取水样1次,采样时间均为10:00。采样完成后4 h内在实验室进行分析处理,并采用merckPharo100多参数水质分析仪(德国)测定水体的氨态氮(NH₄⁺-N)、硝态氮(NO₃⁻-N)、亚硝态氮(NO₂⁻-N);采用化学需氧量(COD)分析仪(美国)测定COD。

1.3 草鱼生长指标的测定

排干池水,收获草鱼,统计存活率,并记录个体质量(Denver-XP-3 000;精度=0.1 g)。能够反映草鱼生长指标的计算如下:

$$\text{增重率(WGR, \%)} = (\text{末重} - \text{初重}) / \text{初重} \times 100\%$$

$$\text{特定生长率(SGR, \% / d)} = [(\ln \text{最终重量} - \ln \text{初始重量}) \times 100\%] / \text{实验天数(d)}$$

$$\text{饲料转化率(FCR, \%)} = [\text{饲料消耗(干重)} / \text{活体增重(湿重)}] \times 100\%$$

1.4 通过高通量测序分析水体和不同密度生态基的细菌群落组成

每20天对每组的养殖水体细菌和生态基上细菌进行取样,然后提取细菌总DNA,进行测序分析。收集水体细菌:将200 mL的水样用0.2 μm滤膜真空抽滤,将滤膜用灭菌剪刀剪碎保存于50 mL灭菌离心管中备用。收集生态基细菌:在生态基的上、中、下部分分别取一小段材料,共

收集3 g (湿重)生态基样品, 转移到无菌锥形瓶中, 并置于200 mL无菌水中摇动2 h, 用0.2 μm滤膜真空抽滤, 滤膜上所有细菌即为生态基细菌。使用PowerFecal DNA分离试剂盒提取总细菌DNA (MO BIO Laboratories, Carlsbad, USA)。然后委托BGI-深圳华大基因科技有限公司进行测序分析。扩增16S rDNA序列的V3可变区, 引物序列为5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'和3'-CCTACGGGAGGCAGCAG-5'。扩增每个样本的引物序列前均单独加入长度为8个碱基的不同碱基序列标签, 用以标记不同的样本。PCR的反应体系: 含15 mmol/L MgCl₂的10×Buffer 10.0 μL, 2.5 mmol/L dNTP 2.0 μL, 10 μmol/L引物各5 μL, 5 U/μL Taq 酶1.0 μL, DNA模板4.0 μL, 灭菌去离子水73 μL, 总体积100 μL。PCR反应条件为94 °C预变性5 min; 之后94 °C变性30 s, 56 °C退火30 s, 72 °C延伸50 s, 连续30个循环; 最后72 °C延伸10 min。扩增好的DNA序列, 经琼脂糖电泳检测阳性, 经过测序平台Illumina MiSeq 2×250分析。

1.5 数据分析

使用Excel进行数据处理, 并使用SPSS 18.0软件中的单因素方差分析进行数据分析。鱼类生长数据和细菌群落数据均以平均值±标准差表示。 $P<0.05$ 被认为是差异显著。

2 结果

2.1 不同处理组养殖水质指标

不同处理养殖水体的温度(T)、溶解氧(DO)和pH差异不显著($P>0.05$), 温度在29.2~29.7 °C范围内, 溶解氧最低值为4.72 mg/L, 最高值达到5.08 mg/L, pH 7.11~7.32。除了硝态氮(NO₃⁻-N)差异不显著($P>0.05$), S-100和S-150处理组水体的氨态氮(NH₄⁺-N)和亚硝态氮(NO₂⁻-N)浓度显著高于其他处理组($P<0.05$)(图1-a); 对照组的COD显著高于其他处理组($P<0.05$), 不同处理组之间COD含量差异不显著($P>0.05$), 最低值出现在S-100处理组中(图1-b)。

2.2 不同处理组草鱼的生长性能

S-100和S-150处理组草鱼的增重率及特定生长率均显著高于S-50处理组和对照组($P<0.05$, 图2-a)。S-100组的存活率显著高于其他组($P<0.05$, 图2-a), S-100和S-150处理组的饲料转换率均显著低于对照组($P<0.05$, 图2-b), 说明生态基的比表面积等于及大于100%放置量时, 能够有效地降低草鱼的饲料残留, 提高饲料的利用率。

2.3 不同处理组养殖水体和生态基的细菌群落结构

对照组和生态基系统内养殖水体细菌群落

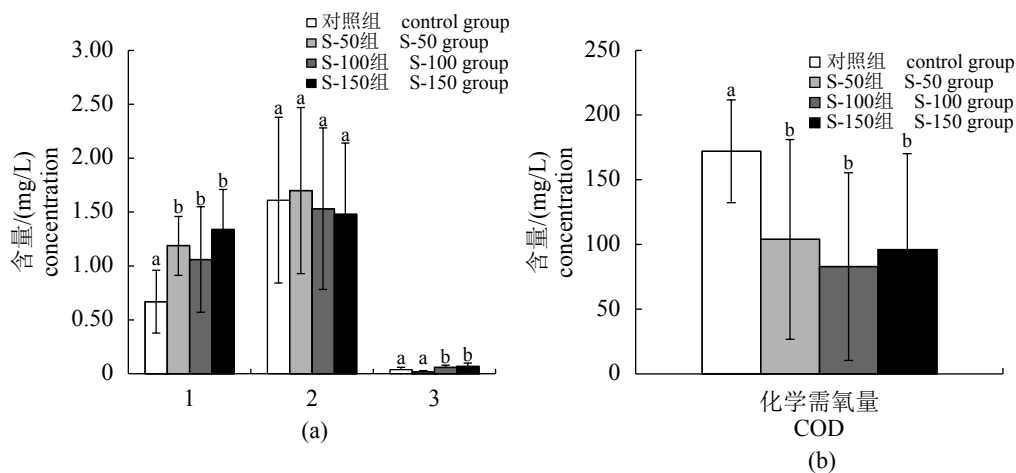


图1 不同处理组养殖水质参数

同一参数数据中不同字母表示存在显著性差异($P<0.05$); S-50、S-100和S-150代表生态基表面积占水池水体表面积比值(比表面积)50%、100%和150%; 下同。

Fig. 1 Water quality parameters in different treatments

1. NH₄⁺-N, 2. NO₃⁻-N, 3. NO₂⁻-N, different letters in the same parameter denote significant differences between treatments ($P<0.05$); S-50, S-100 and S-150 denote the specific surface area ratio (specific surface area) 50%, 100% and 150%; the same below.

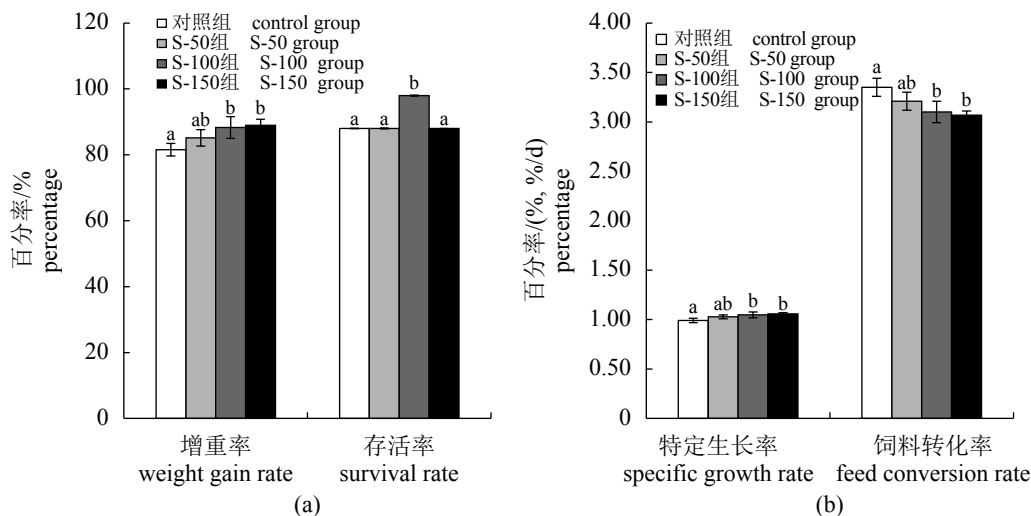


图 2 不同处理组草鱼生长指标

Fig. 2 Growth parameters of *C. idella* in different treatments

组成相似(图3), 水体主要细菌均包括 β -变形菌纲(Betaproteobacteria)、 α -变形菌纲(Alphaproteobacteria)、浮霉状菌纲(Planctomycetia)、 γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria)、鞘脂杆菌纲(Sphingobacteriia)、

纤维粘网菌(Cytophagia)和 δ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)等, β -变形菌纲为养殖水体的优势菌。生态基细菌群落上主要细菌有 γ -变形菌纲、黄杆菌纲(Flavobacteriia)、 β -变形菌纲、 α -变形菌纲、

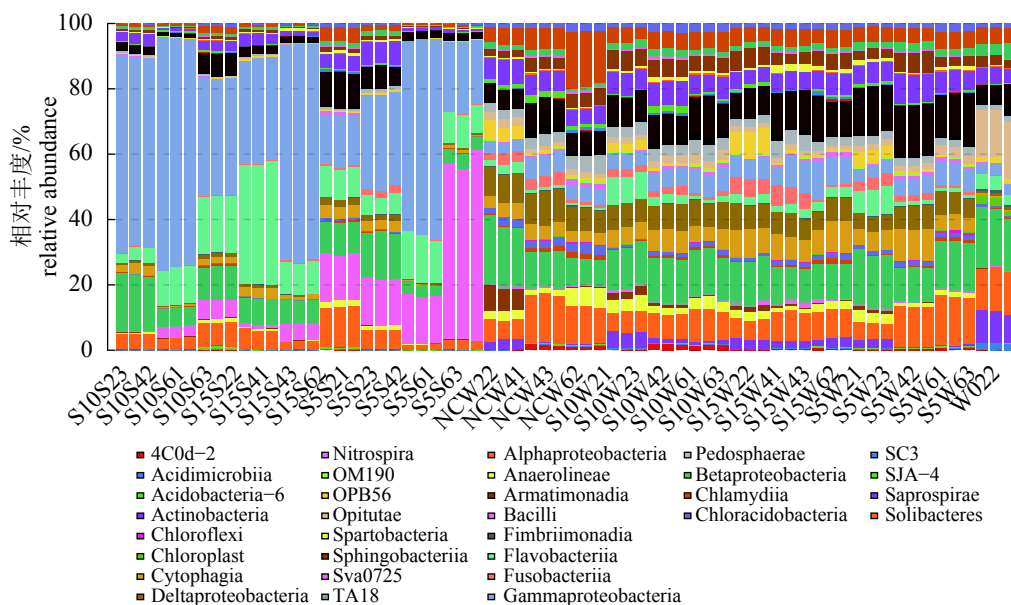


图 3 不同处理组水体及生态基细菌群落在纲水平的比例

W代表养殖水体; S代表生态基; W0代表养殖水源; NCW代表未放置生态基的养殖水体; S5W、S10W和S15W分别代表生态基比表面积为50%、100%和150%处理组的养殖水体; S5S、S10S和S15S分别代表生态基比表面积为50%、100%和150%处理组的生态基; 21~23、41~43和61~63分别代表第20天、第40天和第60天S10S、S15S、S5S、NCW、S5W、S10W和S15W的3个重复, 下同

Fig. 3 Percentages of water and substrate bacterial communities of different treatment groups at the class level

W denotes aquaculture water; S denotes periphyton substrate; W0 denotes water source; NCW denotes that there is no substrate attached to the aquaculture water; S5W, S10W, and S15W denote that the specific surface area of substrate is 50%, 100% and 150% of water of the treatment groups, respectively. S5S, S10S and S15S denote that the specific surface area of substrate is 50%, 100% and 150% of substrate of the treatment groups, respectively. 21-23, 41-43 and 61-63 denote three replicates of S10S, S15S, S5S, NCW, S5W, S10W, and S15W on the 20th, 40th and 60th day, respectively, the same below

芽孢杆菌纲(Bacil)和浮霉状菌纲, 而 γ -变形菌纲占有所有细菌的比例最高, 其在S-100处理组中显著高于其他处理组。从图3可知, 占比例最高的是变形菌纲, 在处理组水体和生态基上的平均比例分别为34.87%和58.06%。在生态基上只有 γ -变形菌纲的比例在增加, β -变形菌纲、 δ -变形菌纲的比例有所下降。在3种养殖系统(S-50、S-100和S-150)生态基上, γ -变形菌纲、 β -变形菌纲、 α -变形菌纲、浮霉状菌纲和黄杆菌属是优势菌。

在属水平上, 处理组养殖水体中细菌主要以黄杆菌属(*Flavobacterium*)、红细菌属(*Rhodobacte*)、鲸杆菌属(*Cetobacterium*)和浮霉状菌属(*Planctomyces*)为主, S-100和S-150处理组生态基中不动杆菌属(*Acinetobacter*)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)和金黄杆菌属(*Chryseobacterium*)的比例显著高于S-50处理组和对照组, 这3种细菌尤其在S-100处理组中比其他处理组细菌群落中占有绝对优势(图4)。在3种养殖系统(S-50、S-100和S-150)中, 不动杆菌属和假单胞菌属的比例占主要优势; 红细菌属、浮霉状菌属和黄杆菌属(除S-150外)的比例在3种养殖系统中没有明显的变化; 而在S-100养殖系统中, 不动杆菌属、假单胞菌属、金黄杆菌属和福格斯氏菌属(*Vogesella*)的比

例比S-50、S-150和对照组的高, 黄杆菌属在S-150养殖系统中的比例最高。

在种水平上, 能够分类鉴定的细菌种类仅有6种, 在每个处理组生态基上的细菌主要以产碱假单胞菌(*P. alcaligene*)和蜡样芽孢杆菌(*Bacillus cereu*)为主, 其中在生态基放置量为S-100和S-150的处理组中产碱假单胞菌的比例显著高于放置量为S-50处理组, 同时也显著高于不同养殖水体处理组的产碱假单胞菌的比例(图5)。未鉴定出的细菌比例较大。

3 讨论

在养殖水体中, COD是水环境污染的主要监测指标之一^[14], 降低水体COD能够促进养殖对象的生长^[15]。本实验中, 对照组COD显著高于处理组, 不同处理组之间COD含量差异不显著, 说明了生态基对水体中的有机物具有一定的吸附作用。在不同生态基的放置密度中, COD最低值出现在S-100处理组中, 表明比面积为100%的生态基放置密度能够最大限度降低有机物的浓度, 进而有利于草鱼生长。本研究中, 处理组水体氨态氮和亚硝态氮浓度显著高于对照组, 但均处于安全浓度范围内, 这与本团队前期应

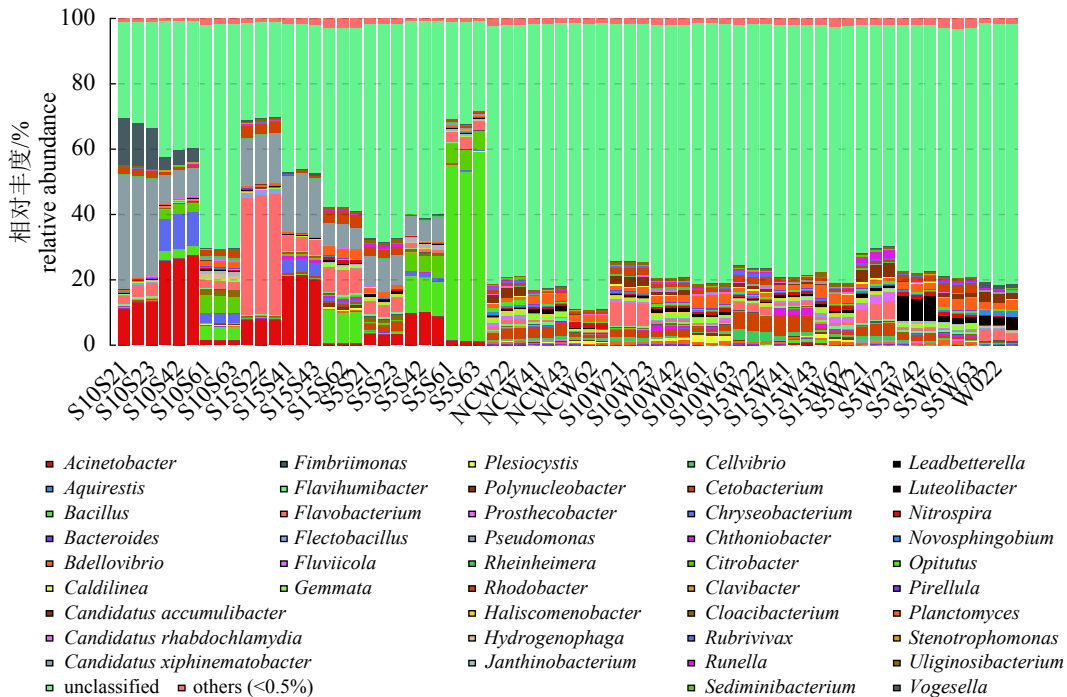


图4 不同处理组水体及生态基细菌群落在属水平的比例

Fig. 4 Percentages of water and substrate bacterial communities of different treatment groups at the genus level

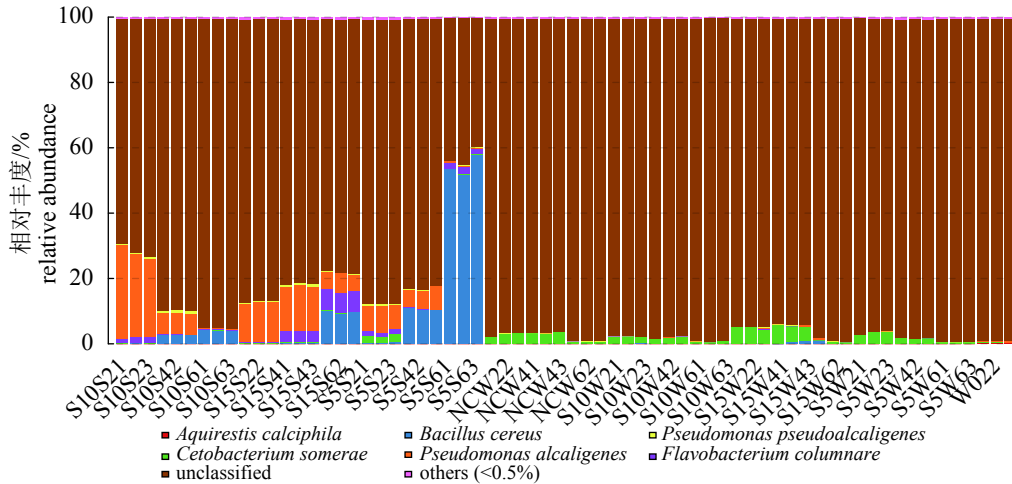


图 5 不同处理组水体及生态基细菌群落在种水平的比例

Fig. 5 Percentages of water and substrate bacterial communities of different treatment groups at the species level

用无纺布生态基在草鱼养殖中的研究结果一致^[13]。导致处理组亚硝态氮浓度偏高的原因可能是处理组硝化螺旋菌(*Nitrospira*)的数量均低于对照组, 有研究指出, 硝化螺旋菌是一种自养型硝化细菌, 可将亚硝态氮氧化为硝态氮^[16]。本实验中硝化螺旋菌数量不足, 从而不能将亚硝态氮氧化为硝酸盐态氮, 导致硝态氮浓度偏高。

本实验发现, S-100和S-150组草鱼的增重率及特定生长率均显著高于S-50组和对照组, 说明生态基的比表面积达到100%放置量时, 更有利于草鱼的生长, 这与Azim等^[8]研究结果一致。但本实验增加了比表面积值为150%的放置密度, 结果表明, 此放置密度也能够提高草鱼的增重率和特定生长率。然而, S-100处理组草鱼的存活率显著高于S-150、S-50处理组的和对照组的, 同时饲料转换率也低于S-150处理组的。综合养殖成本等因素, S-100组能够最大程度提高草鱼的生长性能和降低养殖成本, 所以在养殖过程中选择比表面积100%是最佳的放置密度。

生态基所形成的生物膜上定殖着许多有益菌和条件致病菌, 这些细菌为养殖水体和水产动物肠道提供了一个稳定的菌群结构^[13]。在本实验的纲水平上, 其每个处理组养殖水体变形菌的比例均高于32%, β-变形菌纲、α-变形菌纲、浮霉状菌纲、γ-变形菌纲的比例也显著高于其他细菌, 而β-变形菌和γ-变形菌的丰富分布是水体环境中微生物多样性最显著的特征之一^[17]。生态基上的优势菌也是以变形菌为主, 其占每个处理组细菌比例的48%以上, 特别是S-100处理组

的γ-变形菌纲的比例高达72%左右, 而γ-变形菌可利用一些未知的能量来源对有机碳和无机碳进行固定, 进而改善水质^[18]。Besemer等^[19]对溪流中生物膜的研究结果表明, 生物膜上的β-变形菌的比例明显高于γ-变形菌的比例, 此结果正好与本实验结果相反。有研究指出溪流生物膜内微生物潜在选择机制的诱导因素为流体动力学^[20], 而本实验是在静态的水泥池中进行, 流体动力学对微生物群落影响较小, 这可能是造成本实验中生物膜和溪流生物膜的细菌群落结构差异的原因之一。生物膜形成与碳源量有关, 当可用碳源耗尽后, γ-变形菌纲的不动杆菌属就会从生物膜表面脱离^[21]。在细菌群落的属水平, S-100组中不动杆菌属、假单胞菌属和金黄杆菌属占有绝对优势, 而假单胞菌和金黄杆菌参与了生物膜的反硝化作用^[22]。本实验推测, 生态基系统内草鱼的快速生长和γ-变形菌纲、不动杆菌属、假单胞菌属和金黄杆菌属的相互关系值得进一步研究。

进一步对细菌群落的种水平组成分析发现, 不同处理组中生态基上和水中蜡样芽胞杆菌的比例均是对照组水体的130~1 200倍, 它是水产养殖中一种常见的益生菌, 由于它的细胞壁上存在肽聚糖及其裂解产物, 是良好的免疫激活剂, 能够提高水产动物的免疫力^[23]。将蜡样芽胞杆菌添加至饲料中投喂凡纳滨对虾, 结果发现, 无论是添加蜡样芽胞杆菌生物膜还是游离态芽胞杆菌, 均能够改变对虾肠道的微生物组成, 提高其生长速率, 增强免疫力^[24]。蜡样芽胞

杆菌在鲤(*Cyprinus carpio*)养殖过程中减少了病原体的负载和离子残留量^[25]。本实验推测, 蜡样芽胞杆菌可能是生态基系统中促进草鱼生长的潜在益生菌。另外, 本实验发现S-100组生态基上的产碱假单胞菌的比例显著高于其他处理组, 同时也显著高于对照组和其他处理组养殖水体的比例。然而产碱假单胞菌是一种条件致病菌, 它能够产生溶血素和肠毒素^[26], 在黄鳝(*Monopterus albus*)的研究中已证明产碱假单胞菌是致病因子^[27]。也有学者从患病中华鲟(*Acipenser sinensis*)的内脏中分离与鉴定出产碱假单胞菌, 感染实验证实该菌的致病性^[28]。本实验发现S-100组中草鱼存活率最高, 可能是由于生态基所形成的生物膜上的群落结构能够平衡养殖水体的细菌群落组成, 使得一些条件致病菌吸附在生态基上, 从而维持了水体和草鱼肠道菌群的稳定。

参考文献:

- [1] Huggett M J, Nedved B T, Hadfield M G. Effects of initial surface wettability on biofilm formation and subsequent settlement of *Hydroides elegans*[J]. Biofouling, 2009, 25(5): 387-399.
- [2] Arnold S J, Coman F E, Jackson C J, et al. High-intensity, zero water-exchange production of juvenile tiger shrimp, *Penaeus monodon*: an evaluation of artificial substrates and stocking density[J]. Aquaculture, 2009, 293(1-2): 42-48.
- [3] Azim M E, Wahab M A. Periphyton-based pond polyculture[M]//Azim M E, Verdegem M C J, van Dam A A, et al. Periphyton: Ecology, Exploitation and Management. Cambridge, UK: CABI Publishing, 2005: 207-222.
- [4] Weerasooriya A C, Yi Y. Effects of AquaMats™ on growth of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fry in earthen ponds at AIT, Thailand[J]. Tropical Agricultural Research, 2002, 14: 72-79.
- [5] Arndt R E, Routledge M D, Wagner E J, et al. The use of AquaMats® to enhance growth and improve fin condition among raceway cultured rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum)[J]. Aquaculture Research, 2002, 33(5): 359-367.
- [6] Santhana Kumar V, Pandey P K, Anand T, et al. Effect of periphyton (aquamat) on water quality, nitrogen budget, microbial ecology, and growth parameters of *Litopenaeus vannamei* in a semi-intensive culture system[J]. Aquaculture, 2017, 479: 240-249.
- [7] Yu E M, Xie J, Wang J L, et al. Surface-attached and suspended bacterial community structure as affected by C/N ratios: relationship between bacteria and fish production[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2016, 32(7): 116.
- [8] Azim M E, Verdegem M C J, Rahman M M, et al. Evaluation of polyculture of Indian major carps in periphyton-based ponds[J]. Aquaculture, 2002, 213(1-4): 131-149.
- [9] Garcia F, Romera D M, Sousa N S, et al. The potential of periphyton-based cage culture of Nile tilapia in a Brazilian reservoir[J]. Aquaculture, 2016, 464: 229-235.
- [10] Garcia F, Sabbag O J, Kimpara J M, et al. Periphyton-based cage culture of Nile tilapia: an interesting model for small-scale farming[J]. Aquaculture, 2017, 479: 838-844.
- [11] Asaduzzaman M, Wahab M A, Verdegem M C J, et al. C/N ratio control and substrate addition for periphyton development jointly enhance freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* production in ponds[J]. Aquaculture, 2008, 280(1-4): 117-123.
- [12] 周艳红, 黎颖治, 黄凤莲, 等. 阿科蔓(AquaMats)生态基+复合微生物原位修复养殖水体中磷的动态[J]. 农业环境科学学报, 2008, 27(3): 1168-1172.
- Zhou Y H, Li Y Z, Huang F L, et al. Phosphorus dynamics in water in intertidal planting- aquaculture system being restored in-site with Aqua-Mats ecobase and multimicrobial community[J]. Journal of Agro-Environment Science, 2008, 27(3): 1168-1172(in Chinese).
- [13] 夏耘, 王一飞, 郁二蒙, 等. 生态基对草鱼生长性能、肠道及水体微生物的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1410-1420.
- Xia Y, Wang Y F, Yu E M, et al. Effects of eco-substrates on growth performance, intestine and water bacterial community composition of *Ctenopharyngodon idella*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1410-1420(in Chinese).
- [14] Kawai M, Nagao N, Kawasaki N, et al. Improvement of COD removal by controlling the substrate degradability during the anaerobic digestion of recalcitrant wastewater[J]. Journal of Environmental Management, 2016, 181: 838-846.

- [15] Findlay R H, Watling L. Prediction of benthic impact for salmon net-pens based on the balance of benthic oxygen supply and demand[J]. Marine Ecology Progress Series, 1997, 155: 147-157.
- [16] Asaduzzaman M, Rahman M M, Azim M E, *et al.* Effects of C/N ratio and substrate addition on natural food communities in freshwater prawn monoculture ponds[J]. Aquaculture, 2010, 306(1-4): 127-136.
- [17] Cottrell M T, Kirchman D L. Natural assemblages of marine proteobacteria and members of the *Cytophaga-Flavobacter* cluster consuming low- and high-molecular-weight dissolved organic matter[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2000, 66(4): 1692-1697.
- [18] Nikrad M P, Cottrell M T, Kirchman D L, *et al.* Uptake of dissolved organic carbon by gammaproteobacterial subgroups in coastal waters of the west Antarctic peninsula[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2014, 80(11): 3362-3368.
- [19] Besemer K, Peter H, Logue J B, *et al.* Unraveling assembly of stream biofilm communities[J]. The International Society for Microbia Ecology Journal, 2012, 6(8): 1459-1468.
- [20] Besemer K, Singer G, Hödl I, *et al.* Bacterial community composition of stream biofilms in spatially variable-flow environments[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75(22): 7189-7195.
- [21] McDougald D, Rice S A, Barraud N, *et al.* Should we stay or should we go: mechanisms and ecological consequences for biofilm dispersal[J]. Nature Reviews Microbiology, 2012, 10(1): 39-50.
- [22] 蔺凌云, 尹文林, 潘晓艺, 等. 自然微生物挂膜处理水产养殖废水的效果及微生物群落分析[J]. 水生生物学报, 2017, 41(6): 1327-1335.
- Lin L Y, Yin W L, Pan X Y, *et al.* The study of natural biofilm formation for nitrogen removal from aquaculture wastewater and analysis on microbial community in biofilm[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(6): 1327-1335(in Chinese).
- [23] 秦艳, 李卫芬, 余东游. 蜡样芽孢杆菌发酵条件的优化[J]. 饲料工业, 2008, 29(2): 34-37.
- Qin Y, Li W F, Yu D Y. Optimization of fermentation conditions of *Bacillus cereus*[J]. Feed Industry, 2008, 29(2): 34-37(in Chinese).
- [24] 刘文亮, 许华, 唐杨, 等. 饲料中补充蜡样芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*)生物膜对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)生长、抗病力及其肠道微生物组成的影响[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(4): 87-95.
- Liu W L, Xu H, Tang Y, *et al.* The effect of diet with *Bacillus cereus* biofilm on the growth rate, disease resistance and intestinal microflora of *Litopenaeus vannamei*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(4): 87-95(in Chinese).
- [25] Lalloo R, Ramchuran S, Ramduth D, *et al.* Isolation and selection of *Bacillus* spp. as potential biological agents for enhancement of water quality in culture of ornamental fish[J]. Journal of Applied Microbiology, 2007, 103(5): 1471-1479.
- [26] 史顺玉, 刘永定, 沈银武. 细菌溶藻的初步研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(2): 219-221.
- Shi S Y, Liu Y D, Shen Y W. Preliminary research on the algae lyzing characteristics of bacterium (Strain DC23)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004, 28(2): 219-221(in Chinese).
- [27] 马有智, 舒妙安. 黄鳝产碱假单胞菌的分离与鉴定[J]. 淡水渔业, 2000, 30(5): 33-34.
- Ma Y Z, Shu M A. Isolate and identification of *Pseudomonas alcaligenes* of *Monopterus albus*[J]. Freshwater Fisheries, 2000, 30(5): 33-34(in Chinese).
- [28] Xu J, Zeng X H, Jiang N, *et al.* *Pseudomonas alcaligenes* infection and mortality in cultured Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*[J]. Aquaculture, 2015(446): 37-41.

Relationship between bacterial community composition and *Ctenopharyngodon idella* growth in periphyton substrate systems with different densities

ZHANG Junwang^{1,2}, WANG Guangjun¹, XIE Jun¹, WANG Jinlin¹, YU Ermeng^{1*},
YU Deguang¹, LI Zhifei¹, ZHANG Kai¹

(1. Pearl River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510380, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to study the relationship between bacterial community composition and *Ctenopharyngodon idella* growth in the periphyton substrate systems, the ratios of substrate surface area to pool water surface area were set at 50%, 100% and 150% (S-50, S-100 and S-150). Firstly, the growth traits of *C. idella* in three systems and control groups were measured, and then the high-throughput sequencing technology was used to analyze the bacterial community composition in the water and the substrates, finally, the relationship between bacterial community and *C. idella* growth in the culture system was explored. The results showed that the weight gain rate and specific growth rate of *C. idella* in S-100 and S-150 groups were significantly higher than those in S-50 and control group. The survival rate of S-100 group was significantly higher than other groups. The feed conversion rates of the S-100 and S-150 groups were significantly lower than the control group. Bacterial community analysis demonstrated that 1) the proportion of Gammaproteobacteria increased in the substrates compared with the water, and the bacteria was significantly higher in the S-100 group than the other groups; 2) the bacteria in the water mainly consist of *Flavobacterium*, *Rhodobacte*, *Cetobacterium* and *Planctomyces*, and in the substrates *Acinetobacter*, *Pseudomona* and *Chryseobacterium* accounted for a high proportion, and the latter three bacteria were significantly higher in the S-100 group than those in the other groups; 3) at the identifiable species level, *Pseudomonas alcaligene* and *Bacillus cereu* were mainly in the substrates, and *Pseudomonas faecalis* was the highest in the S-100 and S-150 groups. Comprehensive analysis of *C. idella* growth, bacterial community composition and substrate cost, showed that the best effect was the 100% substrate group, in which there were the high bacterial diversity and potential probiotics ratio, the minimum feed coefficient and the highest of *C. idella* survival rate and weight gain rate. These data from this study provided the scientific data for the practical application of substrates in the aquaculture.

Key words: *Ctenopharyngodon idella*; periphyton substrate; bacterial community composition; beneficial bacteria

Corresponding author: YU Ermeng. E-mail: boyem34@hotmail.com

Funding projects: Guangzhou Science and Technology Plan Project (201804010163); China Agriculture Research System (CARS-45-21)