

## 不同低聚糖对生物絮团形成及其菌群结构的影响

仇宗胜<sup>1,2,3</sup>, 钱仁东<sup>1,2,3</sup>, 罗巧华<sup>1,2,3</sup>, 赵建华<sup>1,2,3</sup>, 徐奇友<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 湖州师范学院生命科学学院, 浙江 湖州 313000;

2. 湖州师范学院, 水生动物繁育与营养国家地方联合工程实验室, 浙江 湖州 313000;

3. 湖州师范学院, 浙江省水生生物资源养护与开发技术研究重点实验室, 浙江 湖州 313000)

**摘要:** 本研究旨在探究不同低聚糖对生物絮团形成及生物絮团菌群结构特征的影响。以葡萄糖 (GLU) 为对照, 采用低聚木糖 (XOS)、低聚果糖 (FOS)、甘露寡糖 (MOS)、大豆低聚糖 (SBOS)、低聚麦芽糖 (MTOS) 作为碳源构建生物絮团, 氯化铵为氮源, 碳氮比 (C/N) 为 15。结果显示, SBOS 组与其他各组相比, 显著提高水中悬浮颗粒物含量及生物絮团体积, 其他低聚糖组与对照组相比差异不显著。氨氮逐渐下降然后趋于稳定, SBOS 组与对照组和其他实验组相比, 显著降低了氨氮水平, 其中除 FOS 组外, 其他实验组降低氨氮能力均高于对照组。亚硝态氮降解作用均没有显著差异。硝态氮呈现先降低后升高的趋势, 除 XOS 组外均可降低硝态氮的积累, 其中 SBOS 组与 MTOS 组显著降低硝态氮的积累。XOS 组与对照组相比, 显著降低生物絮团菌群的丰度与微生物多样性指数。从门水平上分析, 变形菌门在各实验组中均丰度最大, 各低聚糖组与对照组相比, 对拟杆菌门、变形菌门均有不同程度提高, 其中 FOS 组显著提高变形菌门与拟杆菌门的丰度。从属水平上分析, 实验组与对照组相比均降低蛭弧菌比例, 其中 FOS 组与对照组及其他实验组相比, 显著提高 *unclassified\_f\_Rhodobacteraceae* 的丰度, 显著降低 *norank\_f\_Microscillaceae* 与 *norank\_f\_Enterobacteriaceae* 丰度。研究表明, 低聚糖作为碳源构建生物絮团, 可改善水质, 优化菌群结构, 提高有益菌数量, 降低有害菌数量。本研究为低聚糖作为碳源应用于生物絮团提供理论依据。

**关键词:** 低聚糖; 生物絮团; 碳源; 菌群结构

**中图分类号:** S 949

**文献标志码:** A

集约化水产养殖模式带动我国水产养殖的快速发展, 但高产量却对养殖水质带来负面影响。所投喂的饲料中约有 70% 的氮没有被养殖动物吸收利用而进入水中, 造成养殖水体恶化与饲料的浪费<sup>[1]</sup>, 并增加病原体感染和疾病暴发的风险<sup>[2]</sup>, 导致养殖动物存活率降低<sup>[3]</sup>。同时, 过度使用抗生素和化合物药物导致耐药细菌的产生, 并在养

殖水体和鱼类组织中积累抗生素, 导致环境进一步恶化, 从而改变了微生物菌群结构<sup>[4-5]</sup>。因此, 亟须寻找绿色、安全的养殖模式。

生物絮团技术 (biofloc technology, BFT) 是近年来发展起来的一种新型水质调控技术, 通过向养殖水体中添加碳源, 提高水体碳氮比 (C/N), 从而促进水体中异养微生物的生长。养殖生产中形

收稿日期: 2022-02-28 修回日期: 2023-01-09

资助项目: 国家自然科学基金 (31972800); 浙江省自然科学基金 (LTGN23C190002)

第一作者: 仇宗胜 (照片), 从事水产动物营养与饲料研究, E-mail: oyhoyh@qq.com

通信作者: 徐奇友, 从事动物营养与饲料研究, E-mail: 02655@zhu.edu.cn



成的有机碎屑被细菌与藻类黏附在一起, 形成生物絮团, 其中包括多种细菌、藻类、原生动物和其他浮游生物<sup>[6]</sup>, 不仅可以净化水体, 还可以作为水产动物的饵料, 提高饲料利用率, 进而提高经济效益<sup>[7]</sup>。生物絮团中微生物种类对其功能的行使起着重要作用。传统上一般使用糖蜜、淀粉等碳源建立生物絮团系统, 研究表明, 碳源可影响生物絮团微生物群落。其中, 功能性低聚糖是指由 2~10 个单糖, 通过糖苷键聚合而成的低聚糖, 具有不为动物内源酶降解、不被吸收、能促进动物体内双歧杆菌 (*Bifidobacterium* spp.)、乳酸菌 (*Lactobacillales*) 等有益菌增殖等作用<sup>[8]</sup>。以低聚糖作为碳源可以提升有益菌数量<sup>[9]</sup>, 有益菌通过与病原菌竞争生存空间与营养素来抑制病原菌的生长与繁殖<sup>[10]</sup>, 减少病原体的引入, 提高养殖对象的抗病力及存活率, 在改善养殖系统的生物安全性方面具有明显的优势。

关于功能性低聚糖作为碳源对生物絮团微生物菌群的影响研究还较少, 目前我国农业农村部批准可在饲料中使用的功能性低聚糖有低聚木糖、低聚壳聚糖、半乳甘露寡糖、果寡糖、甘露寡糖、壳寡糖等<sup>[11]</sup>。其中, 低聚木糖、低聚果糖、甘露寡糖、大豆低聚糖和低聚麦芽糖被广泛应用于水产饲料添加剂并取得很好的效果, 且造价成本与提取工艺较其他低聚糖作为碳源具有很大的优势。哪种低聚糖对生物絮团中微生物具有更好的促进作用有待深入研究。本实验通过以不同低聚糖作为碳源构建生物絮团, 探讨不同低聚糖对生物絮团形成及菌群结构特征的影响, 为生物絮团菌群结构优化与调节提供策略。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

葡萄糖 (AR) 购自国药集团化学试剂有限公司。氯化铵 (99.8%) 购自上海麦克林生化科技有限公司。低聚木糖 (95.5%)、低聚果糖 (95.2%)、甘露寡糖 (99.9%)、大豆低聚糖 (BR)、低聚麦芽糖 (95%) 均购自上海源叶生物科技有限公司。

### 1.2 实验设计

实验在湖州师范学院生命科学学院温室养殖系统进行。生物絮团系统构建在 24 个容积为 80 L 的玻璃缸中进行。实验以葡萄糖为对照, 低聚木糖 (XOS)、低聚果糖 (FOS)、甘露寡糖 (MOS)、

大豆低聚糖 (SBOS)、低聚麦芽糖 (MTOS) 作为碳源, 每组 4 个重复。实验开始添加 80 L 已曝气自来水, 以氯化铵为氮源, 调整碳氮比为 15 : 1。实验添加 1 次氮源和碳源, 后期不再补充; 24 h 曝气, 以日光灯为光源进行 12 h 照明, 12 h 黑暗; 温度为 (25±1) °C, 溶解氧 (DO) 含量为 (5.90±0.36) mg/L, 实验周期为 15 d。

### 1.3 水质检测

每天 13:00 使用便携式多参数水质检测仪 (YSI Pro Plus) 检测水体温度 (T)、pH、DO。每 3 天取 100 mL 水样经 0.45 μm 滤膜抽滤, 使用流动注射水质分析仪 (QC8500) 测定水体中氨氮 (NH<sup>4</sup>-N)、亚硝态氮 (NO<sup>2</sup>-N)、硝态氮 (NO<sup>3</sup>-N) 含量。取 1 L 水样使用英霍夫锥形管测定生物絮团体积, 采用浊度仪 (wtw430) 测定水体浑浊度 (NTU)。

### 1.4 微生物菌群结构分析

实验第 15 天, 每缸取 100 mL 水样, 经 0.22 μm 滤膜抽滤, 直至滤膜表面有明显附着物, 将滤膜放置无菌 10 mL 离心管中, 于 -80 °C 超低温冰箱保存。微生物菌群结构由上海美吉生物医药科技有限公司采用 16S rRNA 高通量测序技术进行检测。

### 1.5 数据分析

用 Excel 软件进行实验数据结果统计, 图表使用 Origin 2018 软件进行绘制, 实验数据采用平均值±标准差 (mean±SD) 表示, 采用 IBM SPSS Statistics 23.0 统计软件对相关数据进行 ANOVA 单因素方差分析。高通量测序技术数据采用 Kruskal-Wallis 秩和检验进行多重比较, 检验组间差异显著性, 采用 Chao 和 Ace 指数分析估计群落的丰度、采用 Shannon 指数分析估计群落多样性。P<0.05 为显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 生物絮团含量及悬浮颗粒物含量分析

观察发现, 实验第 2 天 FOS 组和 SBOS 组产生生物絮团, 第 3 天 MTOS 组产生生物絮团、第 4 天 GLU 组产生生物絮团, 第 5 天 MOS 组产生生物絮团。除 XOS 组外均产生明显肉眼可见絮团, 其中 MOS 组为粉红色贴壁絮团, 其余组为白色絮团。对照组与实验组水体中生物絮团体积随着实验进行不断升高。其中, SBOS 组产生的生物絮团体积显著高于对照组与其他实验组 (P<0.05),

其余各组无显著差异 (图 1)。对照组与实验组水中浑浊度不断升高, 悬浮颗粒物含量不断上升, MOS 组在第 3 天达到最大值, 随后先下降再升高, SBOS 组水体中悬浮颗粒物含量显著高于对照组与其他实验组 ( $P<0.05$ ) (图 2)。

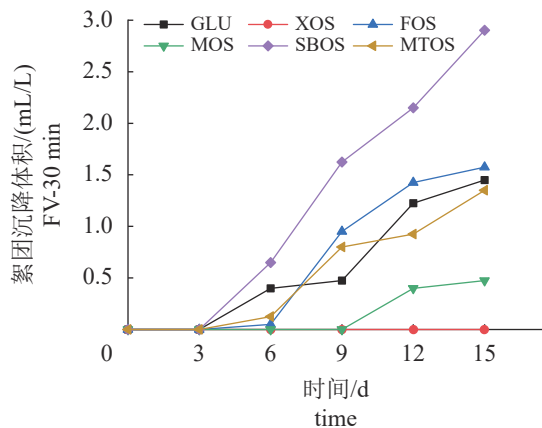


图 1 生物絮团体积变化情况

GLU. 葡萄糖组, XOS. 低聚木糖组, FOS. 低聚果糖组, MOS. 甘露寡糖组, SBOS. 大豆低聚糖组, MTOS. 低聚麦芽糖组; 下同。

Fig. 1 Change of biological floc volume

GLU. glucose group, XOS. xylo-oligosaccharides group, FOS. fructo-oligosaccharides group, MOS. mannan-oligosaccharides group, SBOS. soy oligosaccharides group, MTOS. malto-oligosaccharides group; the same below.

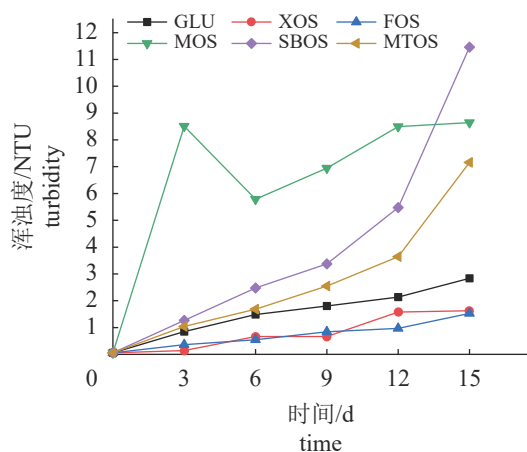


图 2 浑浊度变化情况

Fig. 2 Turbidity change

## 2.2 生物絮团系统中氮的变化情况

氨氮逐渐下降然后趋于稳定, SBOS 组与对照组和其他实验组相比, 显著降低了氨氮水平 ( $P<0.05$ ) (图 3)。亚硝态氮先升高后下降, 后又逐渐升高。各实验组与对照组相比, 均没有显著降

低亚硝态氮水平 ( $P>0.05$ ) (图 4)。硝态氮在实验期间, 除 XOS 组外, 其余各组呈现先降低后升高再降低的趋势, SBOS 组与 MTOS 组显著降低了硝态氮的积累 ( $P<0.05$ ) (图 5)。

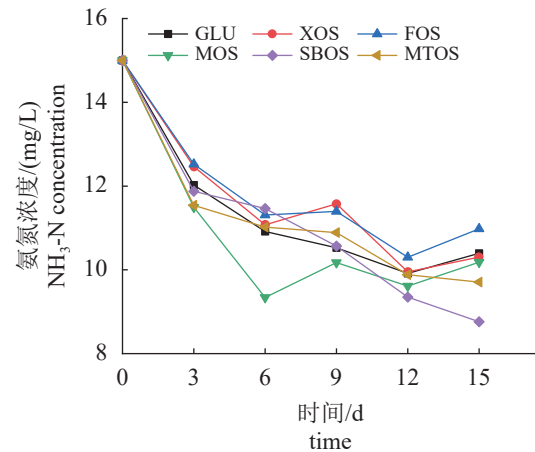


图 3 氨氮的变化情况

Fig. 3 Change of NH<sub>3</sub>-N

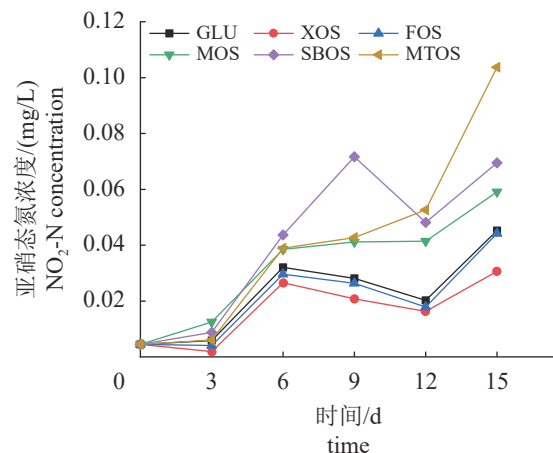


图 4 亚硝态氮的变化情况

Fig. 4 Changes of NO<sub>2</sub>-N

## 2.3 生物絮团系统微生物多样性及丰度

通过高通量测序技术对生物絮团样本进行菌群结构与多样性分析, FOS 组和 MOS 组提高生物絮团 OTU 数, XOS 组具有最低 OTU 数 (表 1)。比较生物絮团微生物群落丰度可知, MOS 组丰度最大, XOS 丰度最小。从微生物多样性指数分析, SBOS 组>MOS 组>FOS 组>GLU 组>MTOS 组>XOS 组, XOS 组与对照组相比显著降低微生物多样性指数 ( $P<0.05$ )。

## 2.4 生物絮团中优势菌群结构分析

门水平上, GLU 组检测出 22 个细菌门,

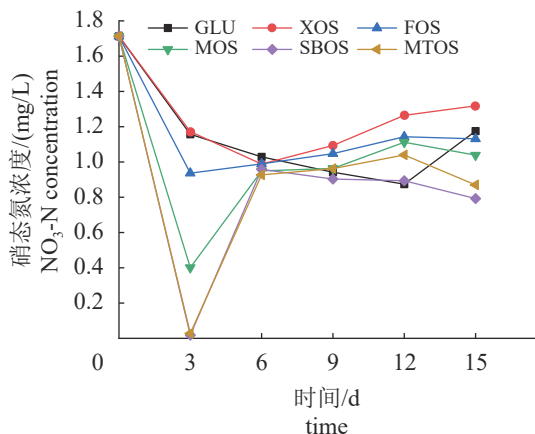


图5 硝态氮变化情况

Fig. 5 Changes of NO<sub>3</sub>-N

XOS组为19个, FOS组24个, MOS组25个, SBOS组24个, MTOS组22个。对生物絮团中优势菌群进行门水平分析, GLU、FOS、SBOS、MTOS组微生物物种丰度排名前5的优势菌群为变形菌门(Proteobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、Bdellovibrionota、拟杆菌门(Bacteroidota)、粘球菌门(Myxococcia)。XOS组优势菌群为变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门、粘球菌门、疣微菌门(Verrucomicrobiota)(图6)。MOS组优势菌群为变形菌门、Bdellovibrionota、拟杆菌门、粘球菌门和疣微菌门。其中变形菌门在所有组中均丰度最大。变形菌门在各组的丰度为MTOS组>FOS组>SBOS组>GLU组>XOS组>MOS组。对各组排名前20的优势菌群进行门水平比较分析, 各低聚糖组与对照组相比, 拟杆菌门、变形菌门丰度均有不同程度提高。FOS组变形菌门与拟杆菌门丰度显著高于对照组与其他实验组( $P<0.05$ )。

属水平上, GLU组检测出350个细菌属, XOS组为304个, FOS组393个, MOS组372个,

SBOS组345个, MTOS组374个。对生物絮团属水平进行微生物菌群分析, GLU组絮团微生物物种丰度排名前5的优势菌属为不粘柄菌属(*Asticcacaulis*) 13.25%、*DSSF69* 12.22%、梭菌属(*Clostridium\_sensu\_stricto\_1*) 10.99%、假单胞菌属(*Pseudomonas*) 7.82%、蛭弧菌属(*Bdellovibrio*) 6.68%(图7)。XOS组优势菌属为不粘柄菌属40.17%、*norank\_f\_norank\_o\_Micavibrionales* 8.72%、黄色杆菌属(*Xanthobacter*) 7.58%、柄杆菌属(*Caulobacter*) 6.43%、假单胞菌属5.92%。FOS组优势菌属为假单胞菌属18.48%、不粘柄菌属15.54%、*unclassified\_f\_Comamonadaceae* 9.81%、*Elstera* 9.24%、黄杆菌属(*Flavobacterium*) 5.36%。MOS组优势菌属为*norank\_f\_Microscillaceae* 18.02%、黄色杆菌属16.88%、不粘柄菌属8.95%、假单胞菌属6.82%、*Elstera* 5.59%。SBOS组优势菌属为假单胞菌属11.27%、黄色杆菌属9.20%、不粘柄菌属8.14%、柄杆菌属7.11%、产黄菌属(*Flavobacterium*) 5.58%。MTOS组优势菌属为不粘柄菌属22.17%、假单胞菌属14.16%、*DSSF69* 12.50%、肠杆菌属(*Enterobacter*) 9.23%、黄色杆菌属6.78%。与对照组相比, 实验组均降低蛭弧菌属比例。FOS组与对照组及其他实验组相比, 显著提高*unclassified\_f\_Rhodobacteraceae* 丰度, 显著降低*norank\_f\_Microscillaceae* 与*norank\_f\_Enterobacteriaceae* 丰度( $P<0.05$ )。

### 3 讨论

#### 3.1 不同低聚糖建立的生物絮团系统对水质的影响

异养细菌利用碳源, 将水体中氨氮、亚硝态氮等有害氮源转化成菌体蛋白, 经生物絮凝作用

表1 生物絮团中微生物多样性与丰度

Tab. 1 Microbial diversity and abundance in biological flocs

| 组号 groups | OTU | Ace                        | Chao                       | Shannon                 |
|-----------|-----|----------------------------|----------------------------|-------------------------|
| GLU       | 687 | 464.19±42.59 <sup>ab</sup> | 456.67±40.52 <sup>ab</sup> | 2.83±0.23 <sup>ab</sup> |
| XOS       | 534 | 372.68±26.68 <sup>c</sup>  | 362.52±22.18 <sup>c</sup>  | 2.62±0.42 <sup>c</sup>  |
| FOS       | 712 | 462.49±28.89 <sup>ab</sup> | 462.31±36.16 <sup>ab</sup> | 2.97±0.03 <sup>ab</sup> |
| MOS       | 724 | 488.18±23.90 <sup>a</sup>  | 486.64±21.87 <sup>a</sup>  | 3.05±0.20 <sup>ab</sup> |
| SBOS      | 634 | 415.48±17.41 <sup>bc</sup> | 409.10±19.97 <sup>bc</sup> | 3.16±0.10 <sup>a</sup>  |
| MTOS      | 685 | 444.01±40.62 <sup>ab</sup> | 441.70±31.32 <sup>ab</sup> | 2.83±0.32 <sup>ab</sup> |

注: 表格中同行上标不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ); 下同。

Notes: In the same row, values with different mall letter superscripts mean significant differences ( $P<0.05$ ); the same below.

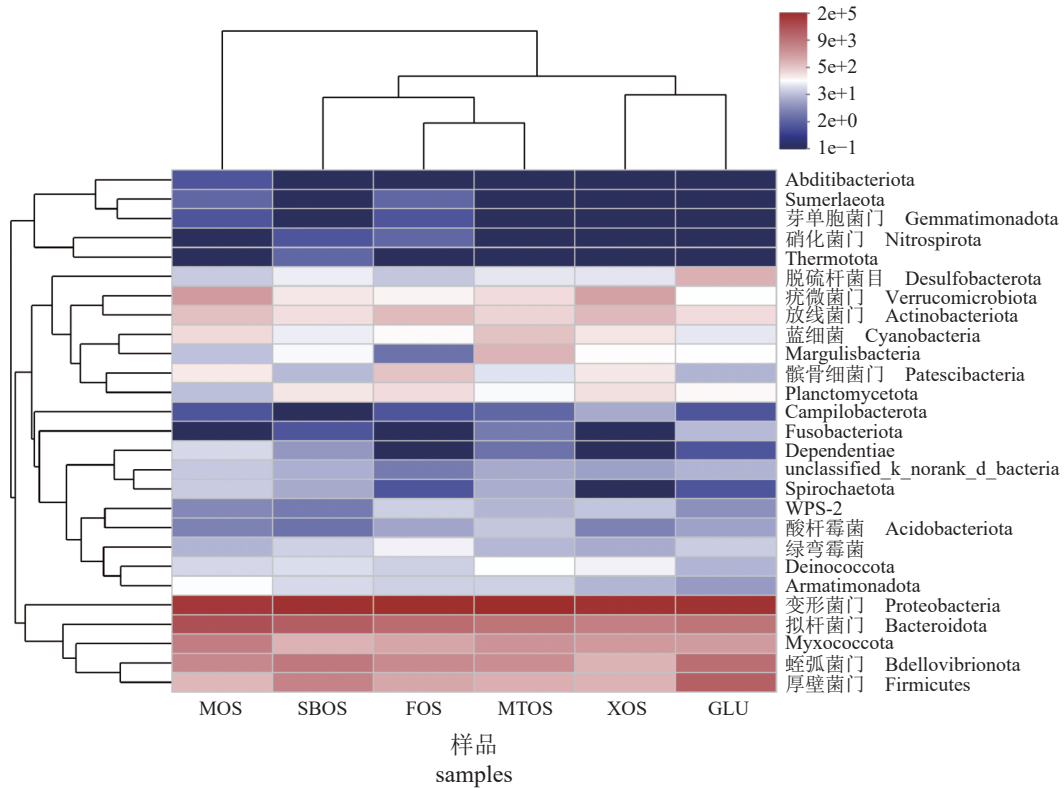


图 6 各组生物絮团中门水平优势菌群

Fig. 6 Floc dominant flora in Phylum

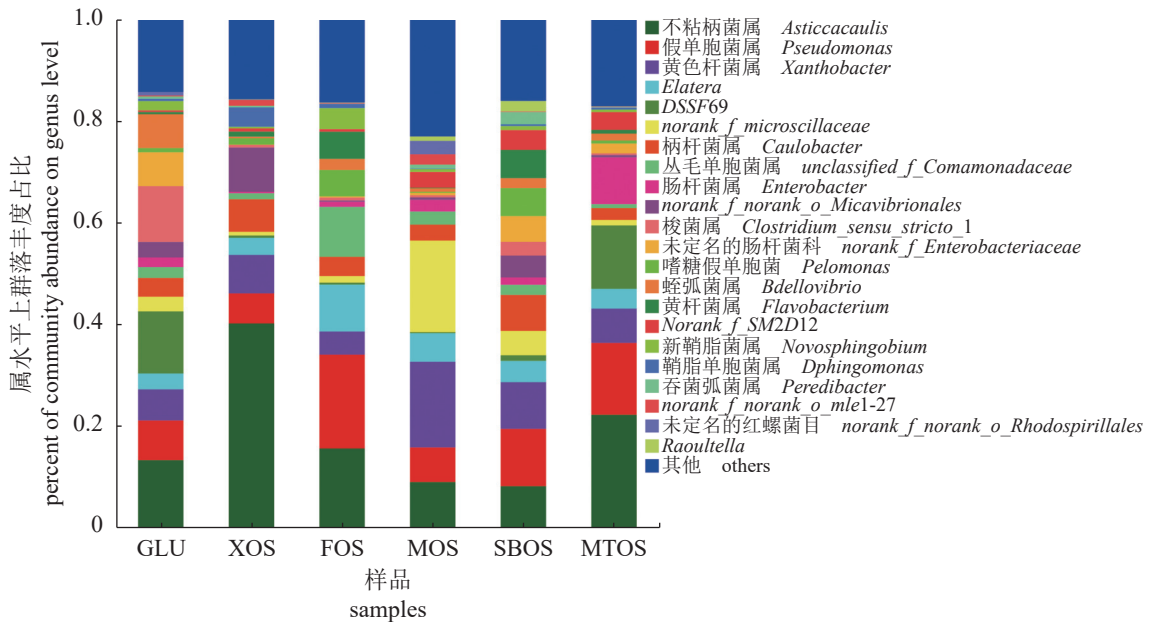


图 7 生物絮团中属水平优势菌群

Fig. 7 Floc dominant flora in Genus

悬浮在水体中<sup>[12-13]</sup>。体积是判断生物絮团微生物絮凝作用能力大小的指标<sup>[14]</sup>。研究表明, 单糖与双糖形成的生物絮团对于水质指标的降低效果显著高于多糖, 因为多糖需要更多的时间转化为单

糖, 从而降低氮的转化速率<sup>[15]</sup>。但目前关于低聚糖作为生物絮团碳源研究较少, Kishawy 等<sup>[9]</sup>以甘露寡糖作为碳源建立生物絮团研究发现, 甘露寡糖作为碳源可以提高生物絮团体积, 降低水体中

氨氮、亚硝态氮、硝态氮的积累, 表明添加甘露寡糖的生物絮团系统可以优化水体养殖环境。研究表明, 碳源种类的不同, 影响着生物絮团的形成速率、颜色及作用效果<sup>[16-17]</sup>, 因此添加适宜的碳源对生物絮团的产生至关重要。本实验结果表明, 添加不同低聚糖, MOS 组形成不同于其他实验组的红色絮团, 原因是不同碳源培养的生物絮团中不同的异养微生物造成颜色的差别。除 XOS 组外, 均可形成肉眼可见的生物絮团, 通过对生物絮团体积与不粘柄菌属丰度分析, XOS 组絮凝作用弱于其他处理组, 絮凝作用较小, 推测可能由于 XOS 组不粘柄菌属丰度较大, 导致生物絮团絮凝作用减小, 因此没有形成肉眼可见的絮团。SBOS 组与 FOS 组絮团体积均大于 GLU 组, SBOS 组、MTOS 组、MOS 组均提高水体中悬浮颗粒物含量。以上表明了低聚糖作为生物絮团碳源具有可行性<sup>[18-19]</sup>。

氨氮与亚硝态氮是养殖水体中的重要指标, 过高将会对水产动物产生毒害作用, 因此需要在养殖期间实时监控变化情况<sup>[12-13]</sup>。生物絮团系统中, 由于持续的硝化作用, 硝态氮会在生物絮团中积累<sup>[20-21]</sup>。实验结果显示, 添加低聚糖作为碳源, 均可降低水中氨氮含量。除 FOS 组, 其余各组降低水体中氨氮的能力均高于葡萄糖组, 其中, SBOS 组与对照组相比显著降低水体中氨氮水平。除 XOS 组外, 其余各实验组与对照组相比均缓解硝态氮的积累, 添加 SBOS 与 MTOS 可以显著缓解硝态氮的积累。低聚糖可提高水体中悬浮颗粒物含量, 悬浮颗粒物可促进细菌的定殖, 并且悬浮颗粒物可通过负电荷等作用吸收水体中的有害氮, 促进硝化作用<sup>[22-23]</sup>。这与 Kishawy 等<sup>[9]</sup>的研究结果一致, 添加甘露寡糖可有效降低水体中氨氮、硝态氮的积累。表明以低聚糖作为碳源, 可以清除养殖水体有害物质, 优化水体环境。

以低聚糖作为培养生物絮团碳源, 可提高生物絮团含量, 降低水中氨氮及硝态氮含量, 对于生物絮团净化水质具有优化促进作用, 其中以大豆低聚糖最优。

### 3.2 不同低聚糖建立的生物絮团系统对微生物菌群的影响

碳源的添加对微生物菌群的构建具有重要影响<sup>[24]</sup>, 生物絮团形成过程中监测到潜在的益生菌逐渐取代条件致病菌<sup>[25]</sup>。养殖水体中菌群的构建关系着水体的环境稳定性<sup>[26]</sup>, 在养殖前期, 水体

中菌群结构的多样性有助于水体的稳定性, 养殖后期, 水体菌群的多样性有助于有益菌与有害菌竞争, 抑制有害菌的繁殖<sup>[26-27]</sup>。本实验结果表明, 除 XOS 组外, 各实验组与对照组相比, 微生物多样性指数均有所提高。XOS 组显著降低微生物多样性指数, 可能原因为生物絮团体积小、悬浮颗粒物含量低, 不利于细菌的生长繁殖<sup>[28-29]</sup>。

生物絮团中有益微生物对水产动物病害具有抑制作用, 当植物乳杆菌和乳酸乳球菌为生物絮团主要菌群时, 对虾可成功抵抗弧菌的感染<sup>[30]</sup>。不同碳源建立的生物絮团优势菌群存在差异<sup>[31]</sup>, 本研究表明以低聚糖作为碳源, 与葡萄糖相比均提高絮团中微生物的多样性指数。通过对不同组进行门水平的分析, 结果显示, 不同低聚糖较葡萄糖组均提高了变形菌门的丰度。研究表明, 鱼体肠道微生物的优势菌群为变形菌门<sup>[32]</sup>, FOS 组可显著提高变形菌门的丰度, 推测本实验结果可提高养殖鱼体肠道微生物优势菌群丰度, 从而使养殖动物肠道优势菌群更加稳定。FOS 组可显著提高拟杆菌门丰度, 拟杆菌门可以产生益生物质, 从而促进养殖动物健康<sup>[33]</sup>。变形菌门和拟杆菌门对水体中有机物的降解起到重要的作用, 在生物絮团系统中它们多为优势菌群<sup>[34-35]</sup>。从属水平上分析, 应降低水体中蛭弧菌比例, 蛭弧菌虽然可以清除养殖水体中的病原菌, 但同时也会对水体中本身存在的有益菌产生干扰, 从而导致养殖水环境更加不稳定<sup>[36-37]</sup>。*unclassified\_f\_Rhodobacteriaceae* 是一种紫色非硫细菌 (*purple nonsulfur bacteria*), 可利用多种基质作为碳源进行异养光合代谢反应<sup>[38]</sup>。*norank\_f\_Enterobacteriaceae* 是水产养殖中比较常见的致病菌, 对水产动物的健康具有较大影响<sup>[39-41]</sup>。添加 FOS 作为碳源可降低水体中病原菌 *norank\_f\_Enterobacteriaceae* 丰度, 减小有害菌对有益菌繁殖所带来的竞争, 从而导致养殖水环境更加安全稳定。从门水平与属水平分析来看, 这与 Kishawy 等<sup>[9]</sup>以甘露寡糖为碳源可以提高水体中芽孢杆菌等有益菌的丰度, 降低水体中弧菌等有害菌的结果一致。由此可知以低聚糖作为生物絮团的碳源, 可以优化微生物菌群结构, 提高水体稳定性与养殖安全性。

综上所述, 低聚糖为碳源可提高生物絮团有益菌丰度, 降低有害菌丰度, 以低聚果糖最优, 有助于提高水体菌群结构的稳定性及安全性。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

## 参考文献 (References):

- [1] 罗国芝, 李文清, 陈佳捷, 等. 生物絮凝技术在我国水产养殖中的应用研究现状和发展趋势分析[J]. 中国水产, 2013(11): 64-67.  
Luo G Z, Li W Q, Chen J J, *et al.* Research status and development trend of biological flocculation technology in Aquaculture in China[J]. China Fisheries, 2013(11): 64-67 (in Chinese).
- [2] Rosa J, Lemos M F L, Crespo D, *et al.* Integrated multi-trophic aquaculture systems - potential risks for food safety[J]. Trends in Food Science & Technology, 2020, 96: 79-90.
- [3] Chen S W, Liu C H, Hu S Y. Dietary administration of probiotic *Paenibacillus ehimensis* NPUST1 with bacteriocin-like activity improves growth performance and immunity against *Aeromonas hydrophila* and *Streptococcus iniae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 84: 695-703.
- [4] Han Q F, Zhao S, Zhang X R, *et al.* Distribution, combined pollution and risk assessment of antibiotics in typical marine aquaculture farms surrounding the Yellow Sea, North China[J]. Environment International, 2020, 138: 105551.
- [5] Shen X X, Jin G Q, Zhao Y J, *et al.* Prevalence and distribution analysis of antibiotic resistance genes in a large-scale aquaculture environment[J]. Science of the Total Environment, 2020, 711: 134626.
- [6] De Schryver P, Crab R, Defoirdt T, *et al.* The basics of bio-flocs technology: the added value for aquaculture[J]. Aquaculture, 2008, 277(3-4): 125-137.
- [7] Zhao Z G, Xu Q Y, Luo L, *et al.* Effect of feed C/N ratio promoted bioflocs on water quality and production performance of bottom and filter feeder carp in minimum-water exchanged pond polyculture system[J]. Aquaculture, 2014, 434: 442-448.
- [8] 王少伟, 张金秋, 戚繁, 等. 功能性低聚糖的应用研究进展[J]. 现代食品, 2020(18): 59-61.  
Wang S W, Zhang J Q, Qi F, *et al.* Advance and application of functional oligosaccharide[J]. Modern Food, 2020(18): 59-61 (in Chinese).
- [9] Kishawy A T Y, Sewid A H, Nada H S, *et al.* Mannan-oligosaccharides as a carbon source in biofloc boost dietary plant protein and water quality, growth, immunity and *Aeromonas hydrophila* resistance in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Animals, 2020, 10(10): 1724.
- [10] Emerenciano M, Gaxiola G, Cuzon G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry[M]//Matovic M D. Biomass now - cultivation and utilization. Rijeka, Croatia: InTech, 2013: 301-328.
- [11] 明建华, 刘波, 周群兰, 等. 功能性寡糖在水产动物饲料中的应用[J]. 水产科学, 2008, 27(9): 490-493.  
Ming J H, Liu B, Zhou Q L, *et al.* Application of functional oligosaccharide in feed in aquatic animals[J]. Fisheries Science, 2008, 27(9): 490-493 (in Chinese).
- [12] 罗国芝, 鲁璐, 杜军, 等. 循环水养殖用水中反硝化碳源研究现状[J]. 渔业现代化, 2011, 38(3): 11-17.  
Luo G Z, Lu L, Du J, *et al.* Current status of the research about the carbon source of the heterotrophic denitrification of recirculating aquaculture system[J]. Fishery Modernization, 2011, 38(3): 11-17 (in Chinese).
- [13] 柳泽锋, 罗国芝, 谭洪新, 等. 碳源添加方式对海水生物絮凝系统启动效率的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(2): 257-266.  
Liu Z F, Luo G Z, Tan H X, *et al.* Effect of carbohydrates addition methods on start-up efficiency of seawater biofloc technology system[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2019, 28(2): 257-266 (in Chinese).
- [14] Avnimelech Y. Biofloc technology: a practical guide book[M]. World Aquaculture Society, 2009.
- [15] 张哲, 杨章武, 葛辉, 等. 不同碳源对凡纳滨对虾育苗标粗水体生物絮团的结构、营养成分、细菌群落及其水质的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(3): 639-649.  
Zhang Z, Yang Z W, Ge H, *et al.* Effects of different carbon sources on the biofloc formation, nutritional ingredients and bacterial community and water quality in *Litopenaeus vannamei* culture tank[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(3): 639-649 (in Chinese).
- [16] 邓应能, 赵培, 孙运忠, 等. 生物絮团在凡纳滨对虾封闭养殖试验中的形成条件及作用效果[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(2): 69-75.  
Deng Y N, Zhao P, Sun Y Z, *et al.* Conditions for biofloc formation and its effects in closed culture system of *Litopenaeus vannamei*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2012, 33(2): 69-75 (in Chinese).
- [17] 刘克明, 尤宏争, 马林, 等. 不同碳源培养生物絮团对南美白对虾养殖影响试验[J]. 河北渔业, 2019(4): 28-

30.  
Liu K M, You H Z, Ma L, *et al.* Effects of biological flocs cultured with different carbon sources on the culture of *Penaeus vannamei*[J]. *Hebei Fisheries*, 2019(4): 28-30 (in Chinese).
- [18] Avnimelech Y. Carbon/nitrogen ratio as a control element in aquaculture systems[J]. *Aquaculture*, 1999, 176(3-4): 227-235.
- [19] 罗亮, 张家松, 李卓佳. 生物絮团技术特点及其在对虾养殖中的应用[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(5): 129-133.
- Luo L, Zhang J S, Li Z J. Characteristics of bio-flocs technology and its further application in shrimp culture[J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, 32(5): 129-133 (in Chinese).
- [20] Abu Bakar N S, Mohd Nasir N, Lananan F, *et al.* Optimization of C/N ratios for nutrient removal in aquaculture system culturing African catfish, (*Clarias gariepinus*) utilizing bioflocs technology[J]. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 2015, 102: 100-106.
- [21] Luo G Z, Gao Q, Wang C H, *et al.* Growth, digestive activity, welfare, and partial cost-effectiveness of genetically improved farmed tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in a recirculating aquaculture system and an indoor biofloc system[J]. *Aquaculture*, 2014, 422-423: 1-7.
- [22] 张学青, 夏星辉, 杨志峰. 水体颗粒物对有机氮转化的影响[J]. *环境科学*, 2007, 28(9): 1954-1959.
- Zhang X Q, Xia X H, Yang Z F. Effect of suspended sediment on the transformation of organic nitrogen[J]. *Environmental Science*, 2007, 28(9): 1954-1959 (in Chinese).
- [23] Pauer J J, Auer M T. Nitrification in the water column and sediment of a hypereutrophic lake and adjoining river system[J]. *Water Research*, 2000, 34(4): 1247-1254.
- [24] Kumar S, Anand P S S, De D, *et al.* Effects of biofloc under different carbon sources and protein levels on water quality, growth performance and immune responses in black tiger shrimp *Penaeus monodon* (Fabricius, 1978)[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(3): 1168-1182.
- [25] Gutiérrez S M, del Carmen Monroy Dosta M, Partida A H, *et al.* Effect of two carbon sources in microbial abundance in a biofloc culture system with oreochromis niloticus (Linnaeus, 1758)[J]. *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 2016, 4(3): 421-427.
- [26] 何润端, 宁为民, 温崇庆, 等. 糖蜜添加对凡纳滨对虾养殖水体菌群结构的影响[J]. *水产学报*, 2022, 46(9): 1620-1631.
- He R D, Ning W M, Wen C Q, *et al.* Effects of molasses addition on bacterial community structure of rearing water of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2022, 46(9): 1620-1631 (in Chinese).
- [27] Schneider O, Sereti V, Machiels M A M, *et al.* The potential of producing heterotrophic bacteria biomass on aquaculture waste[J]. *Water Research*, 2006, 40(14): 2684-2694.
- [28] 罗继虹, 王璐璐. 以农业废弃物作为反硝化脱氮固体碳源的研究现状[J]. *现代农业科技*, 2009(7): 248, 251.
- Luo J H, Wang L L. Research status of agricultural waste as solid carbon source for denitrification[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2009(7): 248, 251 (in Chinese).
- [29] 李素珍, 夏星辉, 张菊. 不同河流水体颗粒物对硝化过程的影响[J]. *环境化学*, 2007, 26(4): 419-424.
- Li S Z, Xia X H, Zhang J. Effects of suspended solids on nitrification in different water systems[J]. *Environmental Chemistry*, 2007, 26(4): 419-424 (in Chinese).
- [30] El-Sayed A F M. Use of biofloc technology in shrimp aquaculture: a comprehensive review, with emphasis on the last decade[J]. *Reviews in Aquaculture*, 2021, 13(1): 676-705.
- [31] Ekasari J, Crab R, Verstraete W. Primary nutritional content of bio-flocs cultured with different organic carbon sources and salinity[J]. *HAYATI Journal of Biosciences*, 2010, 17(3): 125-130.
- [32] Feng J B, Hu C Q, Luo P, *et al.* Microbiota of yellow grouper (*Epinephelus awoora* Temminck & Schlegel, 1842) fed two different diets[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 41(12): 1778-1790.
- [33] 符冬岩, 余晓亭, 王丰. 复合微生物制剂对鲤鱼生产性能及水质的影响[J]. *饲料研究*, 2005(8): 43-45.
- Fu D Y, Yu X T, Wang F. Effects of compound microbial preparations on carp production performance and water quality[J]. *Feed Research*, 2005(8): 43-45 (in Chinese).
- [34] Hu M, Wang X H, Wen X H, *et al.* Microbial community structures in different wastewater treatment



- plants as revealed by 454-pyrosequencing analysis[J]. *Bioresource Technology*, 2012, 117: 72-79.
- [35] Zhao P, Huang J, Wang X H, *et al.* The application of bioflocs technology in high-intensive, zero exchange farming systems of *Marsupenaeus japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2012, 354-355: 97-106.
- [36] 陈康勇, 钟为铭, 高志鹏. 蛭弧菌在水产养殖中应用研究进展[J]. 水产科学, 2018, 37(2): 283-288.  
Chen K Y, Zhong W M, Gao Z P. Research progress on utilization of *Bdellovibrio* in aquaculture[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(2): 283-288 (in Chinese).
- [37] 赵海永. 水产用蛭弧菌11问[J]. 当代水产, 2020, 45(7): 88-91.  
Zhao H Y. *Bdellovibrio* aquaticus 11 questions[J]. *Current Fisheries*, 2020, 45(7): 88-91 (in Chinese).
- [38] 钦颖英, 李道荣, 杨虹. 给水生物预处理反应器的细菌种群多样性和群落结构[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(1): 104-107.  
Qin Y Y, Li D T, Yang H. Population diversity and community structure of bacteria on biofilms in a potable water pretreating bioreactor[J]. *Chinese Journal of Applied & Environmental Biology*, 2007, 13(1): 104-107 (in Chinese).
- [39] 冯栋亮, 李勤慎, 刘哲, 等. 虹鳟细菌性疾病病原菌分离鉴定及药敏试验[J]. 实验室科学, 2021, 24(2): 59-64.  
Feng D L, Li Q S, Liu Z, *et al.* Isolation and identification of pathogenic bacteria of rainbow trout bacterial diseases and drug susceptibility test[J]. *Laboratory Science*, 2021, 24(2): 59-64 (in Chinese).
- [40] 佟延南, 熊静, 郭松林, 等. 采用16S rDNA片段鉴定鳗鲡病原菌的初步研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2010, 15(3): 179-184.  
Tong Y N, Xiong J, Guo S L, *et al.* Classification of pathogenic bacteria isolated from eels by partial 16S rDNA sequencing[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science Edition)*, 2010, 15(3): 179-184 (in Chinese).
- [41] 徐伯亥, 李伟, 葛蕊芳, 等. 大肠埃希氏菌引起的虹鳟鱼病的初步研究[J]. 水生生物学报, 1993, 17(4): 309-317.  
Xu B H, Li W, Ge R F, *et al.* *Escherichia coli* as a pathogen in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, 17(4): 309-317 (in Chinese).

## Effects of different oligosaccharides on the formation of bioflocs and the structure of the bacterial community

QIU Zongsheng<sup>1,2,3</sup>, QIAN Rendong<sup>1,2,3</sup>, LUO Qiaohua<sup>1,2,3</sup>, ZHAO Jianhua<sup>1,2,3</sup>, XU Qiyou<sup>1,2,3\*</sup>

(1. School of Life Sciences, Huzhou University, Huzhou 313000, China;

2. National and Local Joint Engineering Laboratory of Aquatic Animal Breeding and Nutrition, Huzhou University, Huzhou 313000, China;

3. Zhejiang Provincial Key Laboratory for Conservation and Development of Aquatic Biological Resources, Huzhou University, Huzhou 313000, China)

**Abstract:** To investigate the effects of different oligosaccharides on the formation of biofloc and the structural characteristics of biofloc flora. Using glucose (GLU) as control, xylo-oligosaccharides (XOS), fructooligosaccharides (FOS), mannan-oligosaccharides (MOS), soybean oligosaccharides (SBOS), and maltose oligosaccharides (MTOS) were used as carbon sources to culture biofloc, ammonium chloride was used as nitrogen source and C/N was 15. The results showed that suspended particulate matter content and biofloc volume in the SBOS group were significantly increased ( $P<0.05$ ) compared with other groups, and there were no significant differences between other oligosaccharide groups and the control group ( $P>0.05$ ). Ammonia nitrogen gradually decreased and then stabilized. Compared with the control group and other experimental groups, the level of ammonia nitrogen in the SBOS group was significantly decreased ( $P<0.05$ ). Except for the FOS group, the ability to reduce ammonia nitrogen in other experimental groups was higher than that in the control group. There was no significant difference in nitrite nitrogen degradation ( $P>0.05$ ). Nitrate nitrogen showed a trend of decrease first and then increased, and the accumulation of nitrate nitrogen was decreased in all groups except the XOS group, and the accumulation of nitrate nitrogen was significantly decreased in the SBOS group and MTOS group ( $P<0.05$ ). Compared with the control group, the abundance of biofloc and microbial diversity index was significantly decreased in the XOS group ( $P<0.05$ ). From the analysis of phyla level, proteobacteria had the highest abundance in all experimental groups. Compared with the control group, proteobacteria and Proteobacteria in oligosaccharide groups were improved, and the abundance of Proteobacteria and Bacteroidetes in the FOS group was significantly increased ( $P<0.05$ ). Regarding subordinate level, the proportion of *Bdellovibrio* decreased in the experimental group compared with the control group ( $P>0.05$ ). Compared with the control group and other experimental groups, the FOS group significantly increased the abundance of *unclassified\_f\_Rhodobacteraceae* and significantly decreased the abundance of *unclassified\_f\_Rhodobacteraceae* and *norank\_f\_Enterobacteriaceae* ( $P<0.05$ ). The results show that the biofloc constructed by oligosaccharide as carbon source can improve water quality, optimize bacterial community structure, increase the number of beneficial bacteria, and reduce the number of harmful bacteria. This study provides some theoretical basis for applying of oligosaccharides as carbon source in biofloc.

**Key words:** oligosaccharides; biofloc; carbon source; bacterial community structure

**Corresponding author:** XU Qiyou. E-mail: [02655@zjhu.edu.cn](mailto:02655@zjhu.edu.cn)

**Funding projects:** National Natural Science Foundation of China (31972800); Natural Science Foundation of Zhejiang Province (LTGN23C190002)