

秦璐¹, 陈曦², 袁丽萍², 范立民², 宋超², 郑尧², 孟顺龙^{1,2}, 陈家长^{1,2}

¹南京农业大学无锡渔业学院, 江苏无锡 214081; ²中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 江苏无锡 214081

摘要: 本研究通过向罗非鱼养殖水体中添加小球藻, 旨在探究其对养殖水体N、P降解和微生物群落调控的最佳浓度, 以为水产养殖生产实践提供参考。本试验设置三个浓度梯度和一个对照组, 分别为对照组(NC)、低浓度组(LC)、中浓度组(MC)和高浓度组(HC), 探究了不同浓度小球藻对罗非鱼养殖水体中N、P的改善效果, 并采用16S rRNA高通量测序技术分析养殖水体细菌群落结构变化。与其它处理组相比, HC组水体N、P营养盐含量降低, 三种形态氮的降解速率 $\text{NH}_4^+\text{-N} > \text{NO}_3^-\text{-N} > \text{NO}_2^-\text{-N}$ 。对养殖水体进行高通量测序发现, 与NC组相比, MC组和HC组的微生物多样性降低; 各处理组变形菌门(*Proteobacteria*)相对丰度增加, 拟杆菌门(*Bacteroidetes*)相对丰度减少, 且HC组拟杆菌门相对丰度最高, 群落丰富度与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著相关。小球藻可以去除养殖水体中N、P营养盐, 调节水体微生物群落结构, 使变形菌门相对丰度增加, 拟杆菌门相对丰度减少, 使养殖水体水质状况得到改善, 为养殖生产实践提供理论依据。

关键词: 小球藻; 罗非鱼; 水质; 高通量测序; 细菌群落结构

研究方法

1. 罗非鱼养殖方法

小球藻和罗非鱼饲料混合投喂, 每天投喂饲料两次, 投喂量为体重的3%, 小球藻每10天添加一次。

2. 水质指标分析

每10天取样一次, 用5 L有机玻璃水质采集器在水下30 cm处采水, 装入5 L的塑料瓶中, 带回实验室测定水体理化指标。

3. 水体微生物分析

将采集的水样经过0.22 μm 混合纤维素酯滤膜抽滤, 用灭菌后的剪刀把滤膜剪碎后放入5 mL的无菌EP管中, 用于细菌DNA的提取。对细菌16S rRNA的V3~V4区进行PCR扩增, 然后进行Illumina Miseq高通量测序。

研究结果

1. 小球藻对养殖水体中N、P的影响

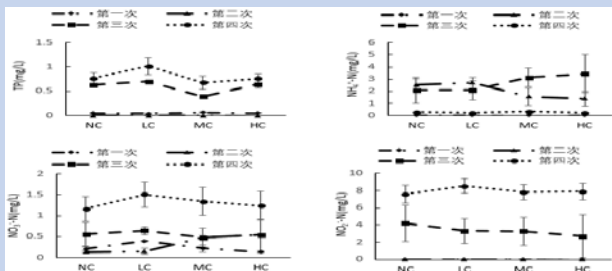


图1 养殖水体营养盐N、P浓度的变化

Fig 1 Changes of N and P concentrations in culture water

- 在整个养殖期间, 水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度整体呈现先上升后下降的趋势, 下降速率 $\text{HC} > \text{MC} > \text{LC} > \text{NC}$ 。
- 第4次取样时, LC组与MC组、MC组与HC组之间, 水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度差异显著($P < 0.05$)。
- 在养殖试验期间, 各处理组水体中 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度整体呈上升趋势, NC、MC和HC组的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度均呈上升趋势, 但MC组和HC组的上升趋势较平缓。

2. 小球藻对水体微生物群落结构的影响

2.1 细菌群落组成分析

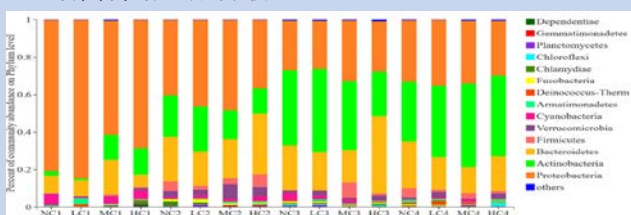


图2 门分类水平上的群落组成

Fig 2 Community abundance on phylum classification level

研究结果

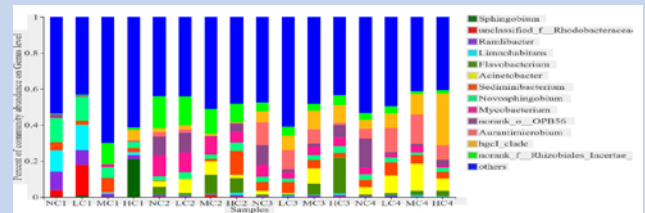


图3 属水平微生物群落结构组成分布

Fig 3 Distribution of microbial community structure on genus classification level

在整个养殖过程中, 各组的优势菌门主要为变形菌门(*Proteobacteria*)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)和放线菌门(*Actinobacteria*), 随着养殖周期的增加, 优势菌门由拟杆菌门变为放线菌门。

四次取样期间, 前两次取样时主要优势菌属为*norank-f-Rhizobiales-Incertae*和新鞘脂菌属(*Novosphingobium*), 取样后期优势菌属转变为*Aurantimicrobium*和*hgcl-clade*。

3. 水体微生物与环境之间的关系

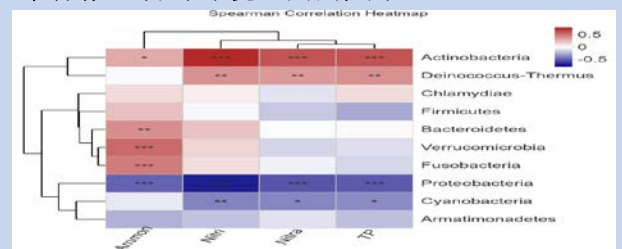


图4 门分类水平上环境因子与微生物组成相关性分析图

Figure 4 Correlation analysis diagram of environmental factors and microbial composition of phylum level

变形菌门细菌的丰富度和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 、 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和总磷都具有极显著的相关性, 但和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的相关性不大; 在四种水质指标中, 拟杆菌门(*Bacteroidetes*)、疣微菌门(*Verrucomicrobia*)和梭杆菌门(*Fusobacteria*)和 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 的相关性最高。

结论

小球藻可以一定程度降低罗非鱼养殖水体氮磷含量, 且高浓度组的去除效果更好, 对三种形态氮的去除率 $\text{NH}_4^+\text{-N} > \text{NO}_3^-\text{-N} > \text{NO}_2^-\text{-N}$ 。

小球藻可以改变养殖水体细菌组成结构, 使变形菌门相对丰度减小, 放线菌门相对丰度增加, 拟杆菌门群落丰富度与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量显著相关, 放线菌门的相对丰度和水体 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度呈正相关。在实际生产中, 可以通过向养殖池塘泼洒小球藻来调节养殖水体, 从而达到对水体微生物群落的调节, 也可以从微观层面解释微生物对水体的调控机理, 提高水体净化效率。