

硝化型和异养型生物絮团养殖系统罗非鱼养殖效果和微生物群落结构比较

杜欣泽, 刘文畅, 谭洪新, 罗国芝, 万玉美

Comparison of culture effects and microbial community structure of tilapia in nitrifying and heterotrophic bioflocs culture systems

DU Xinze, LIU Wenchang, TAN Hongxin, LUO Guozhi, WAN Yumei

在线阅读 View online: <https://doi.org/10.12024/jsou.20210403412>

您可能感兴趣的其他文章

Articles you may be interested in

不同温度对中华绒螯蟹生长及肠道微生物菌群的影响

Effects of different temperatures on growth and gut microbiota of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)

上海海洋大学学报. 2022, (2): 384 <https://doi.org/10.12024/jsou.20210303325>

驯化硝化型生物絮团养殖南美白对虾的初步研究

Preliminary study on domesticating nitrifying bio-flocs to rear *Litopenaeus vannamei*

上海海洋大学学报. 2017, 26(4): 490 <https://doi.org/10.12024/jsou.20161101909>

稻蟹共作与蟹单作模式下中华绒螯蟹肠道及养殖环境细菌群落组成比较

A comparative study of microbiota from the intestine of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) and their culture environment, between rice-crab co-culture and crab monoculture models

上海海洋大学学报. 2017, 26(5): 682 <https://doi.org/10.12024/jsou.20170301999>

稻田环境对鲤血清生化指标、肠道组织形态及细菌群落结构的影响

Effects of paddy field environment on serum biochemical indexes, intestinal tissue morphology and bacterial community structure of common carp (*Cyprinus carpio*)

上海海洋大学学报. 2021, 30(4): 601 <https://doi.org/10.12024/jsou.20200302976>

上海港到港船舶压载水沉积物细菌群落多样性

Bacterial diversity of ship ballast water sediment in Shanghai Port

上海海洋大学学报. 2018, 27(3): 344 <https://doi.org/10.12024/jsou.20171210007>

文章编号: 1674-5566(2022)05-1108-12

DOI:10.12024/jsou.20210403412

硝化型和异养型生物絮团养殖系统罗非鱼养殖效果和微生物群落结构比较

杜欣泽¹, 刘文畅^{1,2}, 谭洪新^{1,2}, 罗国芝^{1,2}, 万玉美^{1,3}

(1. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306; 2. 上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 3. 河北农业大学 海洋学院, 河北 秦皇岛 066000)

摘要: 为了解硝化型和异养型生物絮团养殖系统的养鱼效果, 在硝化组和异养组中试养吉富罗非鱼 (*GIFT Oreochromis niloticus*) 幼鱼 51 d, 比较研究罗非鱼的生长性能、非特异性免疫酶活以及消化酶活性、水体及肠道微生物的群落结构。结果显示, 两组罗非鱼的成活率和增重率无显著性差异; 异养组罗非鱼的非特异性免疫酶活性显著高于硝化组。硝化组罗非鱼肠道的淀粉酶和脂肪酶活性均显著高于异养组, 异养组的蛋白酶显著高于硝化组。罗非鱼肠道微生物占比前 5 的优势门均为变形菌门 (Proteobacteria)、放线菌门 (Actinobacteria)、绿弯菌门 (Chloroflexi)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和衣原体门 (Chlamydiae), 其中变形菌门是各组中最主要的菌群。硝化型水中占比前 4 的优势门为变形菌门, 绿弯菌门, 拟杆菌门 (Bacteroidetes), 浮霉菌门 (Planctomycetes); 异养型水中占比前 4 的优势门为变形菌门, 绿弯菌门, 拟杆菌门, 放线菌门。分枝杆菌属 (*Mycobacterium*) 是水体和肠道中最主要的潜在致病菌, 而 *Diplorickettsiaceae* 和邻单胞菌属 (*Plesiomonas*) 均保持在较低水平。水体和肠道中除梭菌属 (*Clostridium*) 外其余潜在致病菌如气单胞菌属 (*Aeromonas*), 黄杆菌属 (*Flavobacterium*) 等含量水平硝化型组均高于异养型组。通过鱼类生化指标以及肠道和水体微生物群落结构的对比结果发现异养型生物絮团更有利于罗非鱼幼鱼的养殖。

关键词: 生物絮团; 罗非鱼; 微生物; 非特异性免疫; 消化酶

中图分类号: S 965.125

文献标志码: A

罗非鱼 (tilapia) 是世界各地集约化养殖的主要品种, 现已在全球 100 多个国家和地区进行养殖, 在水产养殖业具有重要的经济价值^[1-2]。生物絮团养殖是水产养殖行业生态友好型可持续发展的养殖模式。

异养型生物絮团系统通过向水体中添加额外的有机碳源, 调控养殖水环境的碳氮比 (C/N), 刺激水体中自然存在的异养菌的生长, 该种类型的细菌可以将未食用的饲料和代谢废物中的有毒含氮化合物转化为可以食用的生物絮凝物^[3]。硝化型生物絮团系统不需要添加额外的碳源, 通过低 C/N 定向驯化生物絮团可以得到自养硝化型生物絮团^[4]。RAY 等^[5]比较硝化型和

异养型生物絮团对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 养殖过程中的水质和生长状况的影响。朱亦晨等^[6]研究了在硝化型生物絮团中养殖凡纳滨对虾的水质和生长状况。MOHAMMADI 等^[7]研究了异养型生物絮团添加益生菌对罗非鱼养殖的水质、生长性能和免疫的影响。以上学者的研究主要对比硝化型和异养型生物絮团在养殖过程中的水质波动和对养殖生物的生长性能的影响, 而对于两种类型的生物絮团对养殖生物的生理生化、肠道和水体微生物的对比研究较少。鱼类肠道微生物具有提供营养、防御病菌感染、肠道黏膜免疫、体内平衡和新陈代谢等功能, 在宿主健康中发挥着重要的作用^[8], 因此有必要

收稿日期: 2021-04-24 修回日期: 2021-09-27

基金项目: 上海市科学技术委员会资助项目 (19DZ2284300); 农业农村部渔业渔政管理局资助项目 (125A0604); 河北省重点研发计划项目 (20326701D)

作者简介: 杜欣泽 (1995—), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖污染调控。E-mail: 1246100979@qq.com

通信作者: 谭洪新, E-mail: hxtan@shou.edu.cn

进行重点研究。

本实验的目的是对比硝化型和异养型生物絮团养殖系统对吉富罗非鱼幼鱼生长、生化指标及两种类型的生物絮团对罗非鱼肠道微生物的影响,以期从两者中找到最适合罗非鱼幼鱼养殖的生物絮团的类型。

1 材料与方 法

1.1 养殖系统及养鱼试验

试验采用 6 个 100 L 的塑料桶,规格为直径 46 cm,全高 60 cm,养殖容积为 70 L,分为两个实验组,N 组和 H 组。其中 N 组为仅添加饲料来促进化学自养硝化细菌生长的硝化型生物絮团养殖系统,H 组为定期添加葡萄糖促进异养细菌对氨同化的异养型生物絮团养殖系统,每组 3 个重复。初始的生物絮团接种自上海海洋大学循环水研发平台 1 号养殖跑道生物滤器中成熟的硝化型生物絮团,接种后总悬浮颗粒物(TSS)浓度为 (75.2 ± 1.3) mg/L。根据投入系统的饲料中的氮被鱼利用后约有 75% 排出体外的理论值,计算葡萄糖的添加量,维持水体 C/N 为 15。

实验鱼来自广州市花鲳水产养殖场,为吉富品系罗非鱼,初始质量为 (3.50 ± 0.30) g,每桶放养 25 尾,初始放养密度为 1.25 kg/m^3 。每天 4 次投喂,每 5 天随机捞取 5 尾鱼,称质量后根据体质量变化调整每日投喂量,鱼体质量的 5% 为日投喂量。实验所用饲料为广东省中山市统一企业有限公司罗非鱼饲料,其产品成分为:粗蛋白 $\geq 32.0\%$,粗脂肪 $\geq 2.0\%$,粗纤维 $\leq 8.0\%$,粗灰分 $\leq 12.0\%$,钙 $\geq 2.0\%$, $0.6\% \leq$ 总磷 $\leq 3.5\%$,水分 $\leq 12.0\%$,赖氨酸 $\geq 1.4\%$ (数据由厂家提供)。整个养殖期间不换水仅补充因取样和蒸发损耗的水量以维持水位。

1.2 水质和生长性能测定方法

每 2 天使用 WTW 多参数便携水质分析仪(Multi 3430, WTW, 德国)测定 pH、溶解氧和温度。使用次溴酸钠氧化法测定总氨氮(TAN),N-(1-萘基)-乙二胺光度法测定 NO_2^- -N,紫外分光光度法测定 NO_3^- -N。

实验结束前一天停止喂食,取样时记录每个养殖桶中的罗非鱼数量及体质量,生长指标使用的计算公式:

$$S_R = N_1/N \times 100 \quad (1)$$

$$W_{GR} = (W_2 - W_1)/W_1 \times 100 \quad (2)$$

$$F_D = W_2 \times N_1/V \quad (3)$$

$$S_{CR} = [(\ln W_2 - \ln W_1)/(t_2 - t_1)] \times 100 \quad (4)$$

$$F_{CR} = F/(W_2 N_2 - W_1 N_1) \quad (5)$$

式中: S_R 为成活率,% ; W_{GR} 为增重率,% ; F_D 为试验结束密度, kg/m^3 ; S_{CR} 为特定增长率,%/d ; F_{CR} 为饵料系数; N_1 为放养尾数; N_2 为收获尾数; t_1 和 t_2 分别为实验第 1 天和最后 1 天; W_1 和 W_2 为实验第 1 天和实验最后 1 天的平均体质量,g ; F 为整个实验期间食物总摄入量,g ; V 为养殖桶的养殖水体的体积,L。

1.3 样品的采集

使用丁香酚(75 mg/mL)麻醉鱼,每个养殖桶取 5 尾鱼,从尾静脉中抽血 1.5 mL 放到有抗凝血剂的 PE 管中,在 4 °C 的冰箱中静置 4 h 后,4 °C 下 6 000 r/min 离心 5 min,取血清。用吸水纸将肝脏和肠道表面的水分吸干,分别剪碎后放入 -80 °C 冰箱中保存。

每个养殖桶取 50 mL 水样,经过 0.22 μm 无菌微孔滤膜抽滤后,-80 °C 保存。每个养殖桶取 5 尾鱼,使用质量浓度为 75% 的乙醇擦拭试验鱼体表,使用无菌水冲洗出肠道内容物装入 2 mL 的无菌离心管中,-80 °C 保存。实验结束后将无菌离心管送至上海美吉生物科技有限公司进行 DNA 的抽提和测序。

1.4 酶活性的测定

用南京建成生物工程研究所的碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP),丙二醛(malondialdehyde,MDA)检测试剂盒测定血清和肝脏中的这两种酶活性。其他酶活性的测定由上海哈灵生物科技有限公司完成,蛋白酶(protease, PTS),淀粉酶(amyase, AMS),脂肪酶(lipase, LPS),溶菌酶(lysozyme, LZM),免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM),皮质醇(cortisol)等采用相关的 ELISA 检测试剂盒检测。

1.5 DNA 的抽提和高通量测序

使用 FastDNA[®] Spin Kit for Soil (MP Biomedicals, USA) DNA 抽提试剂盒按照使用说明提取样品中细菌的 DNA。使用超微量分光光度计(NanoDrop2000, Thermo Fisher Scientific, USA)测定提取到的细菌总 DNA 的浓度和纯度。

PCR 扩增 16S rRNA(16S V3-V4 高变区)使用的引物为 338F(CTCCTACGGGAGGCAGCAG)

和 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT)。利用 Illumina 公司的 Miseq PE300 平台进行测序。

1.6 生物信息学分析

原始测序使用 Trimmomatic 软件进行质控,原始序列的拼接使用 FLASH 软件。使用 UPARSE 软件 (version 7.1 <http://drive5.com/uparse/>),按照 97% 相似性对非重复序列进行 OTU 聚类,使用 UCHIME 软件剔除嵌合体,得到 OTU 代表序列。采用 RDP classifier 贝叶斯算法对 97% 相似水平的 OTU 代表序列进行分类学分析,在门 (Phylum),纲 (Class),属 (Genus) 水平上统计各样本的群落物种组成。使用 ACE, Chao, Sobs 和 Shannon, Simpson 分别计算细菌群落的 α 多样性的丰富度和多样性。使用 Bray-Curtis 距离算法对样本群落距离矩阵进行聚类分析,构建样本层级聚类树。对一系列特征值和特征向量进行排序,选择最主要的特征值,使用 Bray-Curtis 距离算法进行主坐标分析 (Principal co-ordinates analysis, PCoA 分析)。使用 Lefse 物种差异判别分析找到丰度有差异的微生物类群,水体样本和肠道中 LDA 判别分析分值为 3.5,多组比较策略均为 All-against-all。

1.7 数据处理

采用 Excel 软件对数据汇总归纳整理,并使用 GraphPad Prism 8 软件进行图表的绘制。实验结果数值以平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 的形式表示,采用 SPSS 19.0 统计软件进行单因素方差分析 (One-Way ANOVA),差异性显著水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 养殖水质的变化

如图 1a 所示,N 组 TAN 的浓度在第 3 天达到峰值 1.43 mg/L,在第 7 天降到 0.019 mg/L,此后始终维持在最低水平。H 组 TAN 在第 5 天降低到 0.045 mg/L。N 组 NO_2^- -N 在第 5 天达到峰值,此后浓度一直维持在较低水平 (图 1b)。 NO_3^- -N 的浓度在整个养殖周期一直是积累的状态 (图 1c)。两组的 DO 保持在 7.82 mg/L 以上,pH 为 7.64 ~ 8.32,温度为 23.7 ~ 26.7 $^{\circ}\text{C}$ (表 1)。

2.2 生长状况

N 组和 H 组的罗非鱼的成活率分别为 86.67% \pm 0.02% 和 88.00% \pm 0.04%,无显著性差异。饵料系数 (FCR)、末均质量 (FW)、终末密度 (FD)、增重率 (WGR) 和特定生长率 (SGR) 无显著差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 生化指标

2.3.1 非特异性免疫酶活

由表 3 可知,H 组罗非鱼的血清中皮质醇 (cortisol),溶菌酶 (lysozyme, LZM),免疫球蛋白 M (immunoglobulin M, IgM),丙氨酸转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT) 均显著高于 N 组 ($P < 0.05$)。两组的血清中碱性磷酸酶 (alkaline phosphatase, AKP) 存在显著性差异 ($P < 0.05$),H 组罗非鱼血清中 AKP 活性高于 N 组 29.60%。生活在异养型组中的罗非鱼具有更高的非特异性免疫能力。

表 1 养殖期间两个组中各水质指标的平均值、最小值和最大值

Tab. 1 Mean, mini and max values of each water quality index in the two groups during the breeding period

指标 Index	N 组 Group N	H 组 Group H
pH	8.01 \pm 0.17, 7.64, 8.30	8.04 \pm 0.15, 7.73, 8.32
DO/(mg/L)	8.25 \pm 0.18, 7.91, 8.51	8.15 \pm 0.14, 7.82, 8.32
T/ $^{\circ}\text{C}$	25.52 \pm 0.62, 23.7, 26.7	25.57 \pm 0.6, 24.3, 26.6
TAN/(mg/L)	0.14 \pm 0.33, 0.014, 1.43	0.11 \pm 0.11, 0.015, 0.153
NO_2^- -N/(mg/L)	0.06 \pm 0.14, 0, 0.726	0.07 \pm 0.08, 0, 0.166
NO_3^- -N/(mg/L)	38.19 \pm 27.23 ^a , 1.93, 83.30	17.12 \pm 14.06 ^b , 1.74, 44.95

注:同行数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

表 2 生物絮团系统中罗非鱼的生长指标
Tab.2 Effects of BFT systems on growth performance of tilapia

组别 Group	成活率 SR/%	饵料系数 FCR	末均质量 FW/g	终末密度 FD/(kg/m ³)	增重率 WGR/%	特定生长率 SGR/%
N 组 Group N	86.67 ± 0.02	1.76 ± 0.07	18.26 ± 0.90	5.66 ± 0.42	424.07 ± 50.93	3.31 ± 0.19
H 组 Group H	88.00 ± 0.04	1.66 ± 0.06	18.68 ± 0.51	5.87 ± 0.35	436.83 ± 57.88	3.35 ± 0.21

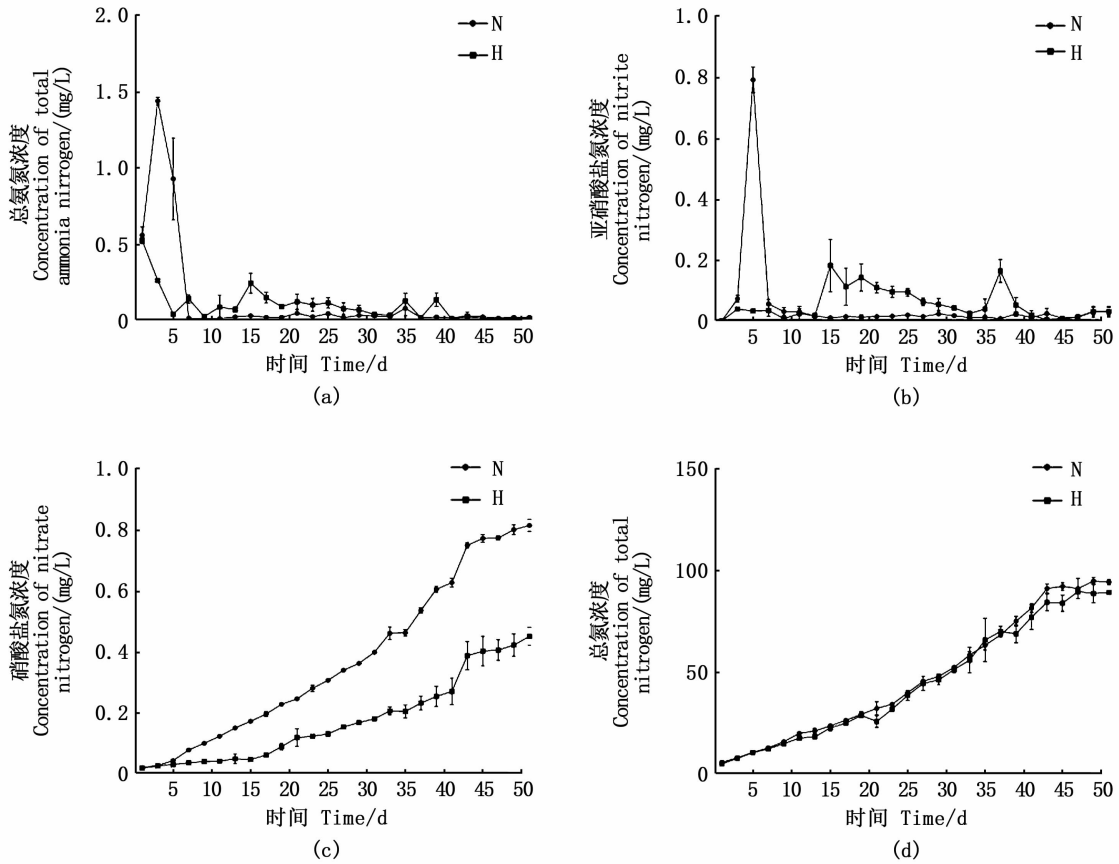


图 1 养殖期间总氨氮浓度 (a),亚硝酸盐氮浓度 (b),硝酸盐氮浓度 (c) 和总氮浓度 (d) 的动态变化
Fig.1 Dynamics of total ammonia nitrogen (a), nitrite nitrogen (b), nitrate nitrogen (c), total nitrogen (d) throughout the culture period

表 3 生物絮团养殖系统中罗非鱼的非特异性免疫酶
Tab.3 Effects of BFT systems on non-specific immune related enzymes of tilapia

组别 Group	非特异性免疫酶 Non-specific immune related enzymes				
	溶菌酶 LZM/ (U/L)	碱性磷酸酶 AKP/ (U/L)	免疫球蛋白 IgM/ (ng/mL)	丙氨酸转氨酶 ALT/ (U/L)	皮质醇 Cortisol/ (pg/mL)
N 组 Group N	4.15 ± 0.23 ^a	4.79 ± 0.23 ^a	1 646.32 ± 31.71 ^a	51.91 ± 0.13 ^a	1 272.99 ± 21.67 ^a
H 组 Group H	5.99 ± 0.41 ^b	6.21 ± 0.39 ^b	2 382.88 ± 146.13 ^b	72.52 ± 1.09 ^b	1 583.73 ± 8.22 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$)。
Notes: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.3.2 消化酶活性

由表 4 可知, H 组罗非鱼肠道的蛋白酶 (protease, PTS) 活性高于 A 组 14.02%, 存在显

著性差异 ($P < 0.05$)。但是 N 组罗非鱼肠道的淀粉酶 (amylase, AMS) 和脂肪酶 (lipase, LPS) 的活性均显著高于 H 组 ($P < 0.05$)。

表 4 生物絮团养殖系统中罗非鱼的消化酶活性

Tab. 4 Effects of BFT systems on digestive enzyme activity of tilapia

组别 Group	消化酶 Digestive enzyme		
	蛋白酶 Protease/ (U/mL)	淀粉酶 Amylase/ (IU/L)	脂肪酶 Lipase/ (U/L)
N 组 Group N	1 462.99 ± 12.68 ^a	252.23 ± 11.02 ^a	523.32 ± 10.04 ^a
H 组 Group H	1 667.95 ± 2.84 ^b	119.08 ± 6.19 ^b	452.14 ± 8.45 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。
Notes: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.3.3 抗氧化酶活性

由表 5 所示, 各指标反映肝脏的抗氧化能力, H 组的乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH), 苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH), 果糖 1, 6 二磷酸酶 (fructose-1, 6-diphosphatase, FDPase), 还原性谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH) 活性高于 A 组 ($P < 0.05$), 其中 FDPase, H 组活性高于 N 组 50.39%, 只有丙二醛 (malondialdehyde, MDA)

的含量 N 组高于 H 组 ($P < 0.05$)。总体上来说 H 组的罗非鱼肝脏的抗氧化能力高于 N 组中的罗非鱼。

2.4 水体和肠道微生物群落

2.4.1 水和肠道中细菌的 Alpha 多样性分析

12 个样品所测的原始序列经过去杂、拼接质控然后去除嵌合体后一共获得有效序列 293 928 条。使用 Uparse (vsesion 7.1) 软件, 对有效序列按照 97% 的相似度共聚类为 1 672 个 OTUs。Shannon 指数反映的细菌群落多样性在水中为 4.28 ~ 5.20, 在肠道中为 3.53 ~ 3.61; 反映群落多样性的指数 Chao 在水中的范围为 950.5 ~ 1 048.93, 在肠道中的范围为 432.71 ~ 517.89 (表 6)。这些结果表明肠道微生物的丰富度和多样性都要低于生物絮团养殖水。N 组罗非鱼肠道微生物的丰富度指数均大于 H 组, 在水体中, N 组的丰富度指数也均大于 H 组。由此可以推测, 养殖水环境的微生物对养殖生物的肠道微生物产生了一定程度的影响。

表 5 两种生物絮团养殖系统中罗非鱼的抗氧化酶活性

Tab. 5 Effects of two BFT systems on antioxidant enzyme activity of tilapia

组别 Group	抗氧化酶 Antioxidant enzyme				
	乳酸脱氢酶 LDH (U/g 鲜质量)	苹果酸脱氢酶 MDH (U/g 鲜质量)	果糖 1, 6 二磷酸酶 FDPase/ (nmol/g 鲜质量)	还原性谷胱甘肽 GSH/(μ g/g 鲜质量)	丙二醛 MDA/(nmol/g 鲜质量)
N 组 Group N	381.67 ± 11.21 ^a	10 034.32 ± 9.19 ^a	345.36 ± 13.25 ^a	759.45 ± 4.49 ^a	27.32 ± 1.08 ^a
H 组 Group H	530.02 ± 3.94 ^b	11 291.07 ± 176.31 ^b	519.40 ± 16.52 ^b	854.82 ± 21.80 ^b	18.41 ± 0.39 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异 ($P < 0.05$)。
Notes: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

表 6 各组中微生物多样性分析

Tab. 6 Analysis of microbial community in each group

组别 Group	丰富度指数 Richness			多样性指数 Diversity	
	Ace	Chao	Sobs	Shannon	Simpson
GN	509.65 ± 26.5	517.89 ± 26.35	427.33 ± 30.66	3.53 ± 0.25	0.08 ± 0.01
GH	439.94 ± 22.96	432.71 ± 23.64	364.67 ± 28.29	3.61 ± 0.25	0.06 ± 0.02
WN	1 027.69 ± 60.45	1 048.93 ± 71.77	860.33 ± 53.82	5.20 ± 0.18	0.09 ± 0.02
WH	941.62 ± 6.21	950.50 ± 5.94	742.67 ± 3.79	4.28 ± 0.24	0.08 ± 0.01

注: GN 和 GH 分别为 N 组和 H 组肠道样本; WN 和 WH 分别为水体样本。
Notes: GN and GH are gut samples of group N and H respectively; WN and WH are water samples respectively.

2.4.2 样品间微生物群落 OTU 数量关系

鱼类肠道中 N 组和 H 组获得的 OTU 数分别为 1 197 和 1 070 个, 养殖水体中 N 组和 H 组获得的 OTU 数分别为 713 和 579 个。N 组肠道独有的 OTU 数为 115 个, 占 N 组肠道 OTU 数的 21.8%, H 组肠道独有的 OTU 数为 59 个, 占 H 组

肠道 OTU 数的 10.2%。N 组中肠道与水体共有的 OTU 数为 67 个, 占 N 组肠道 OTU 数的 9.4%, H 组中肠道与水体共有的 OTU 数为 54 个, 占 H 组肠道 OTU 数的 9.3%, N 组中肠道和水体共有的 OTU 数大于 H 组中肠道和水体共有的 OTU 数。

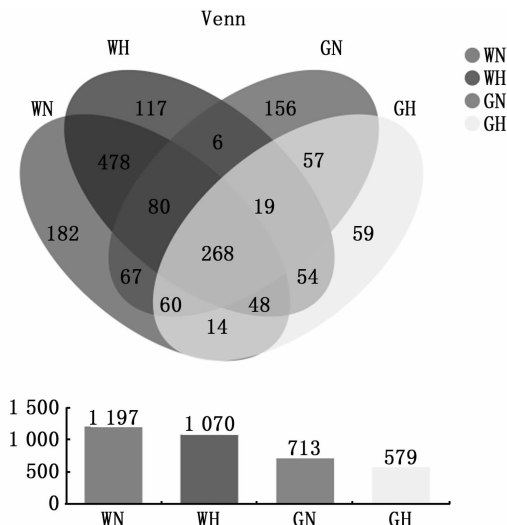


图2 肠道(GN和GH)和水体(WN和WH)样本的韦恩图
 Fig. 2 Venn diagram of gut (GN and GH) and water (WN and WH) samples

2.4.3 两种养殖环境中水和肠道细菌群落的差异

进行多变量统计分析来比较肠道和养殖水细菌群落的整体结构。通过基于 Bray-Curtis 距离算法进行主坐标分析(PCoA),如图3,可以看出养殖水环境和肠道细菌群落分别聚集到主坐标的不同位置,表明硝化型生物絮团水中和异养型生物絮团水中的细菌群落划分明确,在不同的养殖环境中,罗非鱼肠道微生物群落也出现了明确的划分。

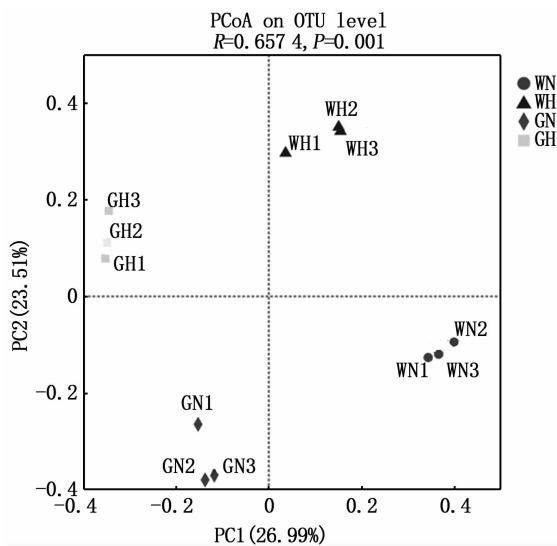


图3 主坐标微生物群落分析
 Fig. 3 PCoA microbial community analysis

2.4.4 微生物群落组成分析

N组水体中占比前4的优势门为变形菌门,绿弯菌门,拟杆菌门,浮霉菌门;H组水体中占比前4的优势门为变形菌门,绿弯菌门,拟杆菌门,放线菌门。罗非鱼肠道占比前5的优势门均为变形菌门,放线菌门,绿弯菌门,厚壁菌门,衣原体门。变形菌门是各组中最主要的菌群(图4)。

在纲水平上,N组水体中丰度占比前5的纲是拟杆菌纲(Bacteroidia), α -变形菌纲(Alphaproteobacteria),厌氧绳菌纲(Anaerolineae), γ -变形菌纲(Gammaproteobacteria), δ -变形菌纲(Deltaproteobacteria)。H组水体中丰度占比前5的纲是 α -变形菌纲,拟杆菌纲,放线菌纲,厌氧绳菌纲, γ -变形菌纲(图4)。

2.4.5 物种差异分析

LEfSe 采用线性判别分析可以找到丰度显著性差异的类群。LDA 判别分析分值为3.5,在N组罗非鱼肠道存在差异的细菌有3种如:脱硫弧菌属(*Desulfovibrio*),甲壳菌科(*Chitinophagaceae*),类诺卡氏属(*Nocardioides*);在H组罗非鱼肠道存在差异的细菌有26种如:*Micropruina*(属水平),丙酸杆菌目(*Propionibacteriales*),丙酸杆菌科(*Propionibacteriaceae*),潮湿球菌科(*Nakamurellaceae*),*Nakamurella*(属水平),*Frankiales*(目水平)等。LDA 判别分析分值为3.5,在N组养殖水中存在差异的细菌有43种,例如厌氧绳菌纲(*Anaerolineae*), γ -变形菌纲(*Gammaproteobacteria*),暖绳菌科(*Caldilineaceae*),暖绳菌目(*Caldilineales*), δ -变形菌纲(*Deltaproteobacteria*)等;H组养殖水中存在差异的细菌有17种 *Geminicoccaceae*(科水平),*Candidatus_Alysiosphaera*(属水平),立克次体目(*Tistrellales*), α -变形菌纲(*Alphaproteobacteria*),放线菌门(*Actinobacteria*),放线菌纲(*Actinobacteria*)等(图5)。

2.4.6 水体和肠道中的潜在病原菌

表7显示了水体和肠道中潜在病原菌的差异。分枝杆菌属(*Mycobacterium*)是水体和肠道中最主要的潜在致病菌。*Diploricettsiaceae*和邻单胞菌属(*Plesiomonas*)在水体和肠道中均保持在较低水平。潜在致病菌除梭菌属(*Clostridium*)外其余如气单胞菌属(*Aeromonas*),黄杆菌属(*Flavobacterium*)等7种潜在病原菌在鱼类肠道中含量水平N组均高

于H组,在水体样本中也是同样的情况。注释结果发现,H组幼鱼肠道含有的 γ -变形菌纲的细菌较为单一,大部分属于肠杆菌目肠杆菌科,N组幼

鱼肠道 γ -变形菌纲主要有肠杆菌目、交替单胞菌目、着色菌目、海洋螺菌目、假单胞菌目、硫发菌目和弧菌目等。

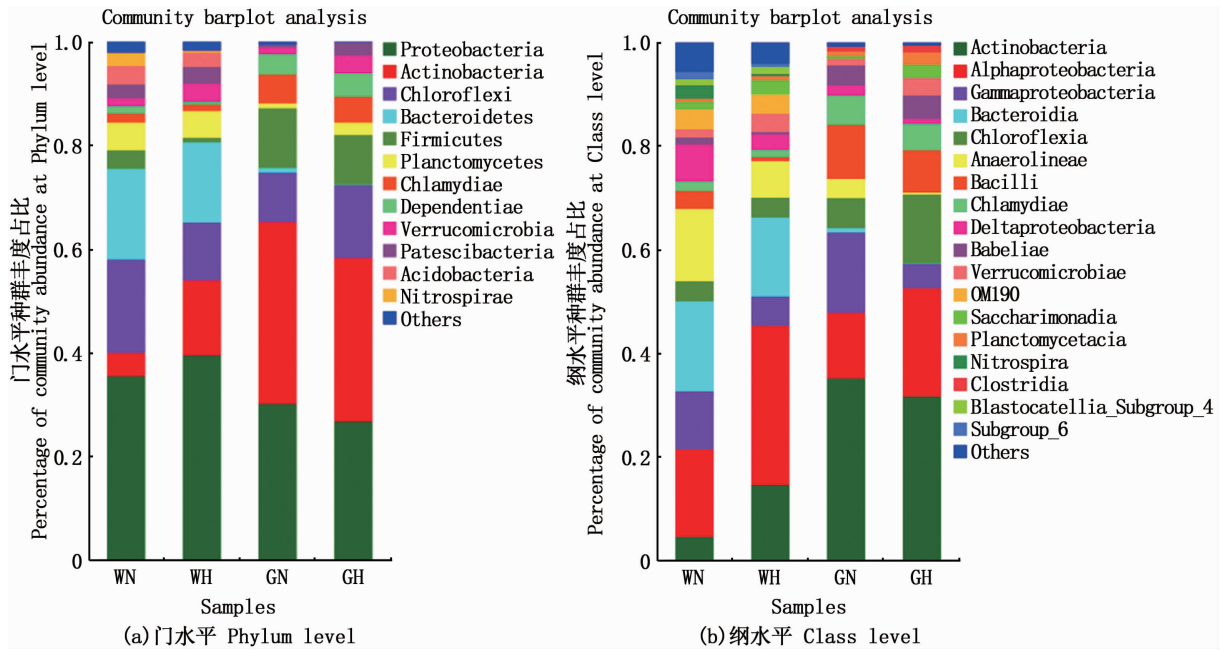


图4 群落柱状图

Fig. 4 Community histogram

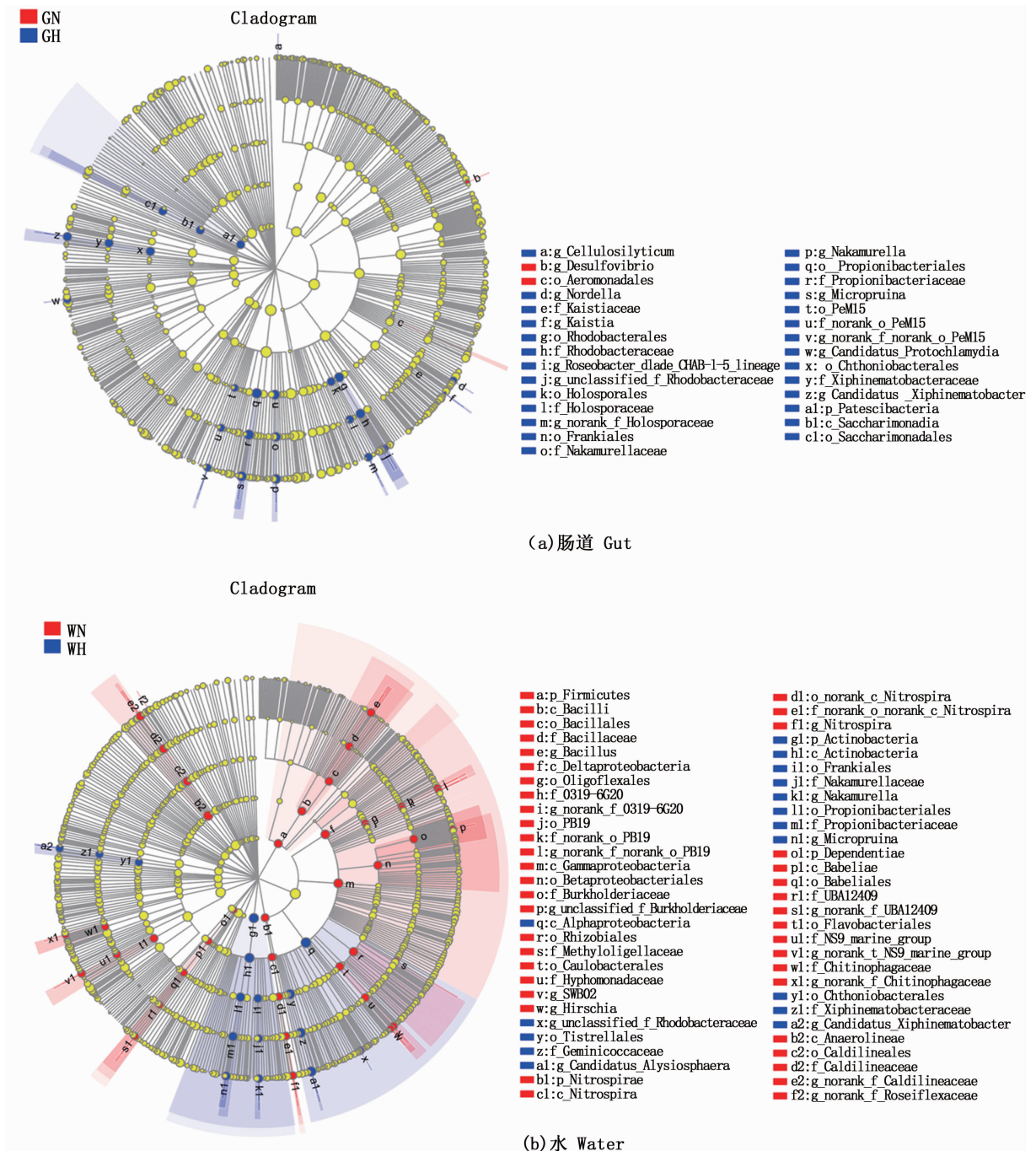
表7 水和肠道中的潜在致病菌

Tab. 7 Potential pathogenic bacteria in water and intestines

组别 Group	水体 Water		肠道 Gut	
	WA	WB	GA	GB
梭菌属 <i>Clostridium</i>	4.00 ± 1.00 ^a	7.00 ± 1.00 ^b	15.00 ± 2.65 ^a	216.33 ± 12.01 ^b
气单胞菌属 <i>Aeromonas</i>	17.33 ± 1.53 ^a	3.67 ± 1.15 ^b	10.67 ± 1.15 ^a	1.00 ± 1.00 ^b
<i>Diplorickettsiaceae</i>	3.00 ± 1.00 ^a	0 ^b	2.33 ± 1.53	1.67 ± 0.58
黄杆菌属 <i>Flavobacterium</i>	100.67 ± 30.75 ^a	33.67 ± 4.16 ^b	1.67 ± 0.58 ^a	0.33 ± 0.58 ^b
分枝杆菌属 <i>Mycobacterium</i>	480.33 ± 23.50 ^a	395.67 ± 10.02 ^b	1 572.67 ± 44.6 ^a	1 319.00 ± 58.64 ^b
邻单胞菌属 <i>Plesiomonas</i>	14.00 ± 1.00 ^a	0.33 ± 0.58 ^b	5.33 ± 0.58	5.67 ± 2.89
假单胞菌属 <i>Pseudomonas</i>	18.33 ± 4.93 ^a	4.67 ± 2.08 ^b	14.67 ± 4.04 ^a	1.67 ± 1.53 ^b
玫瑰单胞菌 <i>Roseomonas</i>	16.67 ± 5.51 ^a	6.33 ± 1.53 ^b	15.67 ± 3.06 ^a	1.00 ± 1.00 ^b

注: 同行数据上标不同表示组间存在显著差异($P < 0.05$)。

Notes: Values in the same row with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).



不同颜色节点表示在对应组别中显著富集,且对组间差异存在显著影响的微生物类群;淡黄色节点表示在不同分组中均无显著差异,或对组间差异无显著影响的微生物类群。

Nodes with different colors indicate microbial groups that are significantly enriched in the corresponding groups and have a significant impact on differences between groups; light yellow nodes indicate microbial groups that have no significant differences in different groups or have no significant impact on differences between groups.

图 5 Lefse 多级物种差异判别分析
Fig. 5 Discriminant analysis of Lefse multi-level species

3 讨论

3.1 两种类型生物絮团系统对水质和罗非鱼生长性能的影响

水体中有毒含氮化合物维持在较低的浓度

水平。实验过程 TAN 的浓度水平与 EMERENCIANO 等^[9]报道的 0.01 ~ 1.13 mg/L 具有相似性。图 1 显示,在实验初期 N 组出现了 TAN 和 NO₂⁻-N 的积累,说明水中自养硝化细菌可能在功能的建立期,无法快速处理有毒含氮化

合物。在 7 d 内, H 组 TAN 和 NO_2^- -N 都可以快速降到较低的水平, 这可能是由于碳源的加入提高了水体的碳氮比, 使得异养细菌大量增殖, 从而将溶解的氮化合物转化为絮凝物^[10]。

AVNIMELECH^[11] 研究发现, 生物絮团中的养殖生物可以直接摄食生物絮团作为额外的食物, 其中的占比更是达到了日摄食量的 50%。表 2 可以看出 H 组的成活率, 饵料系数、末均质量、终末密度、增重率和特定生长率都优于 N 组。这是由于碳源的添加促进了异养菌的大量繁殖, 通过吸收有机碳源合成自身的菌体蛋白, 提供蛋白源^[12]。张亚卓等^[13]测定低盐度条件下以糖蜜为碳源的生物絮团的营养成分粗蛋白含量达 34.38%。BAKSHI 等^[14]在生物絮团养殖鲤的过程中添加玉米淀粉, 显著提高了鲤增重率以及特定生长率。李朝兵等^[15]使用生物絮团养殖小规格罗非鱼, 发现絮团组终末质量和增重率都要优于清水组。由于罗非鱼是杂食性鱼类, 可以有效地利用生物絮团作为食物, 使得生物絮团养殖罗非鱼取得了广泛的应用^[16], 但是在草鱼^[17](草食性鱼类)和杂交鳊^[18](肉食性鱼类)的养殖中提高 C/N 并不能显著影响鱼类的生长。本研究中异养型组的养殖效果要优于硝化型组, 其中异养型组的总悬浮颗粒物浓度高于硝化型组, 可以说说明罗非鱼可以较好地摄食和利用生物絮团。

3.2 两种类型生物絮团系统对罗非鱼生理功能的影响

本实验中异养型组罗非鱼各项生理指标普遍优于硝化型组罗非鱼, 这可能是异养型生物絮团中的菌体蛋白和附着的微生物更有利于生物的健康。WILÉN 等^[19]研究表明, 碳源的添加使得异养细菌大量繁殖, 并且含有较高的菌体蛋白。

在消化酶方面 H 组的蛋白酶活性高于 N 组, 淀粉酶和脂肪酶则相反, 推测其原因可能是不同类型的生物絮团营养成分含量不同导致, 自养型生物絮团具有较低的蛋白质含量和较高的脂质和碳水化合物的含量^[20-21], 而异养型生物絮团则具有较高的蛋白质和较低的脂质含量^[3]。XU 等^[21]的研究证明生物絮凝剂具有胞外蛋白酶和淀粉酶的活性。有其他研究发现生活在 BFT 中的养殖生物其消化酶得到改善, 在 C/N 为 15 和 20 的 BFT 系统中发现饲养的南美白对虾幼体消

化腺中蛋白酶活性有所提高。

鱼体中的血清皮质醇能够促进脂肪的分解和糖类的合成, 能够使机体在应激条件下获得足够的能量, 来抵御外界环境的变化。水产动物自身免疫系统发育不健全, 主要依靠非特异性免疫来抵抗外界的病原体^[22]。溶菌酶在鱼类免疫活动中发挥着重要的作用, 可以增强其他免疫因子对于细菌的敏感性, 与其他免疫因子合作抵抗细菌的入侵, 还可以清除残留的细菌残渣^[23], 本实验中 H 组罗非鱼的溶菌酶含量显著高于 N 组, 说明异养型生物絮团的成分被鱼体摄入后可以增强抵御外部细菌的入侵。这与李朝兵等^[15]在生物絮团中养殖鳊鱼的研究结果相似, 鳊鱼的血清溶菌酶(LYS)显著提高, 机体免疫力得到增强。

3.3 水体微生物群落结构对肠道微生物群落结构的影响

生物絮团养殖环境中微生物群落结构复杂, 水生生物由于其消化道短, 肠道中的菌群结构更容易受到外界环境的影响。从表 6 可以看出 N 组罗非鱼肠道和水质比 H 组拥有更高的物种丰富度, 可以推测水环境中的微生物在一定程度上影响了罗非鱼肠道菌群的结构。WEBSTER 等^[24]将野生和人工繁殖的大西洋鲑转移到 3 种常见的养殖环境中, 通过易位养殖实验发现鱼类肠道微生物群落的丰富度和多样性与养殖水环境有关。环境对于肠道微生物群落结构的影响巨大, 在相同的环境下微生物进入的顺序也会影响微生物群落的结构^[25]。早先定植或原生的微生物群落会抑制或限制后进入环境的微生物的生态位。在微生物定植和建立的阶段, 微生物组成是动态变化的, 十分容易受到周围环境条件和微生物群落的影响^[26]。ABDULR 等^[27]研究发现无论育苗阶段是在不同的环境中还是遗传因素的影响, 在转移到相同的养殖环境后, 随着鱼类的生长, 肠道菌群都会变得极为相似。生命早期环境的变化对微生物结构产生重要影响^[28], 因此, 在鱼类生命早期调节微生物群落结构来改善其健康状况和抗病能力会有利于幼鱼的生长。

在肠道和养殖水中发现的主要门类是拟杆菌门, 厚壁菌门, 放线菌门, 变形菌门, 这与 SUN 等^[29]的研究相似, 在不同鱼类中这些优势菌群在肠道菌群中占 90% 以上, 并影响着鱼类肠道的功能^[30]。从 Shannon 和 Simpson 指数可以看出与生

物絮团养殖水中的微生物多样性相比,罗非鱼肠道微生物多样性要低。SUN 等^[29]在研究中华绒螯蟹肠道微生物与养殖水和池塘沉积物微生物的关系时发现蟹肠 OTU 的多样性显著低于环境微生物的多样性。可以假设由于肠道氧气含量, pH 等环境因素和自身免疫的影响会对来自环境的微生物进行选择,说明水中的微生物并不会全部在罗非鱼肠道中被吸收和定植。

3.4 水体中潜在病原菌对肠道病原菌的影响

LYONS 等^[31]和 YE 等^[32]研究发现,宿主体内的优势菌群的失衡可能会导致宿主疾病的发生。从两个组的肠道中可以看出在门水平上变形菌门所占丰度相对较高(N 组 30.12%; H 组 26.71%),变形菌门包括一些病原菌,例如大肠杆菌,假单胞菌和弧菌等,因此变形菌门在肠道所占丰度的提高可能反映了肠道菌群的失衡^[33]。注释结果发现,N 组幼鱼肠道 γ -变形菌纲主要有肠杆菌目、交替单胞菌目、着色菌目、海洋螺菌目、假单胞菌目、硫发菌目、弧菌目等。有研究发现,在肠杆菌科、假交替单胞菌目和弧菌目含有许多致病菌,值得我们注意。枯草芽孢杆菌可以调节宿主肠道健康和宿主的免疫系统。H 组枯草芽孢杆菌丰度高于 N 组。在肠道样本中发现了潜在致病菌分枝杆菌属(*Mycobacterium*),是一种典型的抗酸细菌,可以引起鱼类全身的慢性感染^[34],黄杆菌属为条件致病菌,这两种细菌的数量在硝化型组鱼体肠道中要高于异养型组。硝化型组水体和肠道中的病原菌数量普遍高于异养型组,推测可能是水体中的病原菌进入肠道,从而增加了肠道致病菌的数量。

参考文献:

[1] 王慧芝,车斌,陈国平. 中国罗非鱼出口现状及应对措施[J]. 山西农业科学, 2010, 38(8): 81-83.
WANG H Z, CHE B, CHEN G P. Export status of China's tilapia and the corresponding measures[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2010, 38(8): 81-83.

[2] 程香菊,肖耿锋,谢骏,等. 室内循环养殖系统中曝气流量对尼罗罗非鱼生长的影响[J]. 水产学报, 2020, 44(7): 1075-1085.
CHENG X J, XIAO G F, XIE J, et al. Influence of aeration flow rates on *Oreochromis niloticus* growth in indoor recirculating aquaculture system[J]. Journal of fisheries of china, 2020, 44(7): 1075-1085.

[3] EMERENCIANO M, CUZON G, ARÉVALOM, et al. Biofloc

technology in intensive broodstock farming of the pink shrimp *Farfantepenaeus duorarum*: spawning performance, biochemical composition and fatty acid profile of eggs[J]. Aquaculture Research, 2014, 45(10): 1713-1726.

[4] 谭洪新,庞云,王潮辉,等. 驯化硝化型生物絮体养殖南美白对虾的初步研究[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(4): 490-500.
TAN H X, PANG Y, WANG C H, et al. Preliminary study on domesticating nitrifying bio-flocs to rear *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(4): 490-500.

[5] RAY A J, LOTZ J M. Comparing a chemoautotrophic-based biofloc system and three heterotrophic-based systems receiving different carbohydrate sources [J]. Aquacultural Engineering, 2014, 63: 54-61.

[6] 朱亦晨,谭洪新,罗国芝. 养殖密度对硝化型生物絮团系统中凡纳滨对虾生长和水质的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2020, 29(1): 27-35.
ZHU Y C, TAN H X, LUO G Z. Effect of different stocking density on growth performance of *Litopenaeus vannamei* and water quality in nitrifying bio-floc system [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2020, 29(1): 27-35.

[7] MOHAMMADI G, RAFIEE G, TAVABE K R, et al. The enrichment of diet with beneficial bacteria (single- or multi-strain) in biofloc system enhanced the water quality, growth performance, immune responses, and disease resistance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2021, 539: 736640.

[8] NAYAK S K. Role of gastrointestinal microbiota in fish[J]. Aquaculture Research, 2010, 41(11): 1553-1573.

[9] EMERENCIANO M, GAXIOLA G, CUZON G. Biofloc technology (BFT): a review for aquaculture application and animal food industry [M]. Biomass Now-Cultivation and Utilization, 2013.

[10] HARGREAVES J A. Photosynthetic suspended-growth systems in aquaculture[J]. Aquacultural Engineering, 2006, 34(3): 344-363.

[11] AVNIMELECH Y. Feeding with microbial flocs by tilapia in minimal discharge bio-flocs technology ponds [J]. Aquaculture, 2007, 264(1/4): 140-147.

[12] KLANIAN M G, DÍAZ M D, SOLÍS M J S, et al. Effect of the content of microbial proteins and the poly- β -hydroxybutyric acid in biofloc on the performance and health of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings fed on a protein-restricted diet [J]. Aquaculture, 2020, 519: 734872.

[13] 张亚卓,郑忠明,华建权,等. 低盐度条件下生物絮团的营养成分及凡纳滨对虾和银鲫对其摄食效率的研究[J]. 宁波大学学报(理工版), 2016, 29(3): 29-33.
ZHANG Y Z, ZHENG Z M, HUA J Q, et al. Bio-floc nutrition and nitrogen uptake by shrimp and silver prussian carp in polyculture brackish water [J]. Journal of Ningbo

- University (Natural Science & Engineering Edition), 2016, 29(3): 29-33.
- [14] BAKHSHI F, NAJDEGERAMI E H, MANAFFAR R, et al. Use of different carbon sources for the biofloc system during the grow-out culture of common carp (*Cyprinus carpio* L.) fingerlings[J]. *Aquaculture*, 2018, 484: 259-267.
- [15] 李朝兵, 李志斐, 韩林强, 等. 生物絮团技术对室内培育小规格罗非鱼种的影响[J]. *水产养殖*, 2015, 36(7): 29-35.
- LI C B, LI Z F, HAN L Q, et al. Effect of biofloc technology (BFT) on tilapia fingerlings indoor cultivation[J]. *Journal of Aquaculture*, 2015, 36(7): 29-35.
- [16] 王仁龙, 王志宝, 刘立明, 等. 生物絮团技术在水产养殖中的应用现状[J]. *水产科技情报*, 2017, 44(6): 330-334, 339.
- WANG R L, WANG Z B, LIU L M, et al. Application status of biofloc technology in aquaculture[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2017, 44(6): 330-334, 339.
- [17] 卢炳国, 王海英, 谢骏, 等. 不同 C/N 水平对草鱼池生物絮团的形成及其水质的影响[J]. *水产学报*, 2013, 37(8): 1220-1228.
- LU B G, WANG H Y, XIE J, et al. Effect of C/N ratio on bioflocs formation and water quality in zero-water exchange grass carp tanks[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1220-1228.
- [18] 王广军, 王一飞, 夏耘, 等. 不同碳氮比对杂交鳊稚鱼生长及养殖水质的影响[J]. *甘肃农业大学学报*, 2016, 51(4): 7-13, 19.
- WANG G J, WANG Y F, XIA Y, et al. Effect of C/N ratio on the growth performance of hybrid snakehead and water quality of the tanks [J]. *Journal of Gansu Agricultural University*, 2016, 51(4): 7-13, 19.
- [19] WILÉNB M, JIN B, LANT P. The influence of key chemical constituents in activated sludge on surface and flocculating properties[J]. *Water Research*, 2003, 37(9): 2127-2139.
- [20] GANGADHARA B, KESHAVANATH P. Planktonic and biochemical composition of periphyton grown on some biodegradable and non-degradable substrates[J]. *Journal of Applied Aquaculture*, 2008, 20(3): 213-232.
- [21] XU W J, PAN L Q. Effects of bioflocs on growth performance, digestive enzyme activity and body composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* in zero-water exchange tanks manipulating C/N ratio in feed [J]. *Aquaculture*, 2012, 356-357: 147-152.
- [22] 于哲, 李良, 朱瑞, 等. 生物絮团对水产动物生长、消化及养殖水体水质的影响[J]. *渔业现代化*, 2019, 46(2): 15-21.
- YU Z, LI L, ZHU R, et al. Effects of biofloc on growth, digestion and aquaculture water quality of aquatic animals [J]. *Fishery Modernization*, 2019, 46(2): 15-21.
- [23] 瞿兰, 叶星, 田园园, 等. 罗非鱼 3 种 C 型溶菌酶重组蛋白的制备及与几种鱼虾溶菌酶溶菌谱的比较[J]. *生物技术通报*, 2012(11): 161-166.
- QU L, YE X, TIAN Y Y, et al. Preparation of three c-type recombinant lysozymes of *Oreochromis aureus* and comparison of their bacteriolytic spectrum with several other lysozymes [J]. *Biotechnology Bulletin*, 2012(11): 161-166.
- [24] WEBSTER T M U, RODRIGUEZ-BARRETO D, CASTALDO G, et al. Environmental plasticity and colonisation history in the Atlantic salmon microbiome: a translocation experiment[J]. *Molecular Ecology*, 2020, 29(5): 886-898.
- [25] SPROCKETT D, FUKAMI T, RELMAN D A. Role of priority effects in the early-life assembly of the gut microbiota [J]. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 2018, 15(4): 197-205.
- [26] FUKAMI T. Historical contingency in community assembly: integrating niches, species pools, and priority effects [J]. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 2015, 46: 1-23.
- [27] ABDULR S, GRIFFIN M J, MISCHKE C C, et al. Biotic and abiotic factors influencing channel catfish egg and gut microbiome dynamics during early life stages [J]. *Aquaculture*, 2019, 498: 556-567.
- [28] GENSOLEN T, IYER S S, KASPER D L, et al. How colonization by microbiota in early life shapes the immune system [J]. *Science*, 2016, 352(6285): 539-544.
- [29] 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.
- [30] ZHENG Y F, YU M, LIU Y, et al. Comparison of cultivable bacterial communities associated with Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larvae at different health statuses and growth stages [J]. *Aquaculture*, 2016, 451: 163-169.
- [31] LYONS P P, TURNBULL J F, DAWSON K A, et al. Exploring the microbial diversity of the distal intestinal lumen and mucosa of farmed rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum) using next generation sequencing (NGS) [J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(1): 77-91.
- [32] YE L, AMBERG J, CHAPMAN D, et al. Fish gut microbiota analysis differentiates physiology and behavior of invasive Asian carp and indigenous American fish [J]. *The ISME Journal*, 2014, 8(3): 541-551.
- [33] SHIN N R, WHON T W, BAE J W. *Proteobacteria*: microbial signature of dysbiosis in gut microbiota [J]. *Trends in Biotechnology*, 2015, 33(9): 496-503.
- [34] AUSTIN B. The bacterial microflora of fish, revised [J]. *The Scientific World Journal*, 2006, 6: 325830.

Comparison of culture effects and microbial community structure of tilapia in nitrifying and heterotrophic bioflocs culture systems

DU Xinze¹, LIU Wenchang^{1,2}, TAN Hongxin^{1,2}, LUO Guozhi^{1,2}, WAN Yumei^{1,3}

(1. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Ocean College of Hebei Agricultural University, Qinhuangdao 066000, Hebei, China)

Abstract: In order to understand the operating effects of the nitrification and heterotrophic biofloc culture systems, the experiment was conducted to culture GIFT *Oreochromis niloticus* juveniles in the nitrification group and the heterotrophic group for 51 days, and to compare the growth performance and non-specific immune enzyme activity, digestive enzyme activity of tilapia, and community structure of water and intestinal microorganisms. The results showed that there was no significant difference in the growth performance indicators such as survival rate and weight gain rate of the two groups of tilapia. The non-specific immune enzyme activity of the heterotrophic group tilapia was significantly higher than that of the nitrification group. The activities of amylase and lipase in the intestine of tilapia in the nitrification group were significantly higher than those in the heterotrophic group, and the protease in the heterotrophic group was significantly higher than that in the nitrification group. The top 5 dominant phyla of tilapia intestines are Proteobacteria, Actinobacteria, Chloroflexi, Firmicutes and Chlamydiae. Among them, the Proteobacteria phylum is the most important flora in each group. The top 4 dominant phyla in the water of the nitrification group are Proteobacteria, Chloroflexus, Bacteroidetes, and Planctomycetes; the top 4 dominant phyla in the water of the heterotrophic group are Proteobacteria, Chloroflexus, Bacteroides, and Actinomycetes. *Mycobacterium* is the most important potential pathogenic bacteria in water and intestinal tract, while *Diplorickettsiaceae* and *Plesiomonas* maintained at a low level. Except for *Clostridium*, other potential pathogenic bacteria such as *Aeromonas* and *Flavobacterium* in the water and intestines were higher in the nitrifying group than in the heterotrophic group. Through the comparison of the cultivation effect, fish biochemical indexes and intestinal microorganisms, it was found that heterotrophic bioflocs were more beneficial to the cultivation of juvenile tilapia.

Key words: biofloc; tilapia; microorganisms; non-specific immunity; digestive enzymes