

· 综述 ·

海水虾池弧菌生态归趋特征与调控策略

席峰¹, 宋娜杰², 钟幼平¹

(1. 集美大学水产学院, 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;

2. 睿科集团(厦门)股份有限公司, 福建 厦门 361001)

[摘要] 弧菌(*Vibrio* spp.)为水产养殖危害极大的常见优势致病菌,其生态调控势在必行。综合弧菌生态研究进展,分析硫代硫酸钠-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂(TCBS)生态模型,发现弧菌生态归趋特征为嗜盐、嗜铁、较低碳氮比(5~10)、较低表面张力和中性至弱碱性环境与环境骤变。据此,虾池弧菌生态调控,在于缓解对虾环境应激,同时培育弧菌的营养竞争者,压缩病原弧菌生态位,塑造有利于对虾生长的生态环境。其调控策略包括:1)短效策略——通过添加小分子有机酸或能发酵为小分子有机酸的有机碳源,提高C/N,促进异养益生菌而抑制弧菌增殖;2)中效策略——构建有益微藻、异养益生菌、硝化细菌和光合细菌等共同主导的生物絮团微生态系统;3)长效策略——构建挺水性盐生植物、有益微藻、鞭毛虫和纤毛虫、异养益生菌、硝化细菌和光合细菌等共同主导的生态系统。在对虾发病情况下,虾池弧菌速效逆转策略为:先行速效无残留消毒,再行短效有机酸C/N调控,最后相继进行中、长效调控。

[关键词] 弧菌;海水虾池;生态归趋;调控策略

[中图分类号] S 968.22

The Regulation Strategy on *Vibrio* Proliferation in Seawater Shrimp Pond According to Its Ecological Fate Characteristics

XI Feng¹, SONG Najie², ZHONG Youping¹

(1. Fisherise College & Key Laboratory of Healthy Manculture for East China Sea of Ministry Agriculture and Rural Affairs, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Raykol Group Corp. Ltd., Xiamen 361001, China)

Abstract: The pathogen *Vibrio* spp. predominates in aquaculture systems, causing significant losses annually. Effective control of *Vibrio* is crucial. Through a comprehensive analysis of the thiosulphate-citrate-bile salt sucrose (TCBS) microecological model for *Vibrio*, it is observed that *Vibrio* thrives in environments with high Na⁺ and Fe, low C/N (5~10), low surface tension, neutral to weakly alkaline pH, and sudden environmental stress. The ecological regulation strategy involves reducing environmental stress, fostering nutrition competitors to outcompete *Vibrio*, and creating a suitable ecological environment for shrimp development. Microecological control is implemented through three approaches: 1) Short-term control involves increasing the C/N by supplementing organic carbon sources that decompose into low-molecular-weight organic acids, promoting the proliferation of heterotrophic probiotic biofloc (BF); 2) Medium-term control focuses on structuring BF communities with beneficial microalgae, probiotics such as bacillus, lactobacillus, nitrifying bacteria, and

[收稿日期] 2023-08-07

[基金项目] 厦门市产学研补助项目(2023CXY0306);福建省科技引导性项目(2020N0014)

[作者简介] 席峰(1972—),男,博士,副教授,硕导,从事环境微生物学研究。E-mail: xifeng@jmu.edu.cn

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

photosynthetic bacteria; 3) Long-term control focuses on structuring the ecosystem with emerging halophytes, beneficial microalgae, flagellates, ciliates, and dominant probiotics. In the case of vibriosis, the control strategy includes a short-term, non-residue disinfection prior to C/N regulation, followed by medium and long-term regulation.

Keywords: *Vibrio*; seawater shrimp pond; ecology fate; regulatory strategy

0 引言

弧菌 (*Vibrio*) 是变形菌门 (Proteobacteria) γ -变形菌纲 (Gammaproteobacteria) 弧菌目 (Vibrionales) 弧菌科 (Vibrionaceae) 弧菌属 (*Vibrio*) 中物种的统称, 是一类形体短小, 呈直杆状或弯曲弧形, 尾部带一根或少数多根极性鞘状鞭毛, 运动活泼的革兰氏阴性 (G^-) 细菌。弧菌是海洋与河口优势菌群, 已发现 126 种及 2 亚种, 其中约 20 种为人类与动物常见病原菌^[1]。霍乱弧菌 (*V. cholerae*)、哈维氏弧菌 (*V. harveyi*)、副溶血弧菌 (*V. parahaemolyticus*)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、发光菌坎贝氏弧菌 (*V. campbellii*) 等是对虾常见致病菌^[2-3]。弧菌病使亚洲对虾产量损失 20%^[4], 仅对虾急性肝胰腺坏死病 (acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND) 年损失即达 440 亿美元^[5]。因此, 弧菌病已成为全球对虾养殖业关注的焦点, 各国学者对致病弧菌进行了大量研究^[2-6]。

生态归趋反映特定生态系统发展趋势与归宿, 以特定生态格局形成为标志。生态系统归趋研究可揭示系统特定生态格局的成因机制。全球各地海水虾池弧菌疾病频发, 说明虾池弧菌增殖不应是偶然事件, 而应存在必然的归趋机制。但是, 对虾与弧菌虽共处海水养殖生态系统中, 弧菌疾病的发生、发展与转归并不仅仅是弧菌与对虾两者相互作用的结果, 还应是诸多生态因子共同作用的结果。因此, 海水虾池弧菌高丰度生态格局形成, 必然存在其生态归趋机制。

海水虾池弧菌生态调控, 有赖于其丰度演绎的驱动性和抑制性生态因子的揭示, 有赖于高丰度致病弧菌生态格局生态成因机制的阐明。然而, 关于海水虾池弧菌生态归趋机制尚未见报道。为此, 本文拟在综合以往弧菌与生态因子相关性文献基础上, 分析虾池弧菌生态归趋, 以期把握对虾养殖系统弧菌丰度演绎脉搏, 提出针对性生态调控策略, 塑造和维系可持续的对虾养殖系统生态格局。

1 弧菌生态归趋研究进展

1.1 海洋弧菌丰度与生态因子相关性

生态调查研究表明, 海洋弧菌丰度受温度、盐度等生态因子驱动显著, 而溶氧 (DO)、总氮、磷酸盐、pH、叶绿素 *a* 和浊度等因素对弧菌丰度影响较小^[6]。也有研究^[7]表明, 弧菌丰度从河口至海湾外区富营养化递减而下降, 与可溶性无机磷和可溶性无机氮等营养因子呈正相关, 受总有机碳、pH、盐度、总可溶性磷和总可溶性氮等营养因子影响, 随冬、春、秋、夏季节性富营养化加剧而相继升高^[8]。不同研究结论相异, 可能与弧菌丰度还受微食物环影响有关^[9], 既受水域浮游植物溶解有机质驱动^[10], 又受弧菌噬菌体^[11]、鞭毛虫^[12]、纤毛虫^[13]等生物因子压制。

1.2 海水虾池弧菌丰度与生态因子相关性

1.2.1 海水虾池弧菌丰度与营养性生态因子相关性

研究^[14]表明, 我国沿海省份污染负荷总量与水产养殖总量呈正相关, 其总氮、总磷和 COD 相关系数分别高达 0.974、0.975 和 0.996。因此, 海水养殖是近海富营养化重要根源, 养殖密集区则是其主要源头。饲料是鱼虾养殖系统富余营养主要输入源^[15], 来自饲料的 N、P 占总输入的 86.31% 与 98.83%^[16], 而饲料营养仅约 1/3 以对虾产品形式输出^[17]。对虾残饵、粪便及其代谢产物持续输入虾池水体, 一方面给虾池弧菌提供了充足营养源^[18], 另一方面可导致虾池与周边水域富营养化和赤潮爆发^[19]。富含弧菌的周边水域与养殖水体进行往复交换又是养殖水体弧菌病频发的重要源头。经海水虾池调查发现, 虾池弧菌丰度始终高于周边水域, 与其正相关的生态因子包括浊度、 NH_4^+ 、

NO_3^- 和 PO_4^{3-} [20]。

1.2.2 海水虾池弧菌丰度与非营养性生态因子相关性

非营养性生态因子也是海水虾池弧菌优势生态格局形成与维系的生态基础[21]。在春夏雨季, 温暖环境有利于弧菌增殖; 暴雨过后, 盐度应激超出对虾渗透调节能力[20]; 虾池水体光合作用产氧减少, 而藻类死亡增多, 呼吸作用耗氧增多, 导致虾池水体溶氧不足, NH_4^+ 难以硝化为 NO_3^- , 使 NO_2^- 增多; 同时, 有机质无氧呼吸加剧, 导致水体 pH 下降。温度、盐度、溶氧和 pH 骤变, 影响对虾内环境稳定, 一方面导致对虾免疫力下降[22], 降低对弧菌防御力; 另一方面使对虾对饲料的消化吸收率下降, 引发其肠道和虾池水体弧菌增殖[23]。

然而, 弧菌对不良环境耐受力极强, 对有利环境响应则极为迅速。霍乱弧菌可以在非可培养状态下耐受低温、低盐和贫营养等不良环境[24]。副溶血弧菌代时仅 10 min [25], 能响应浮游植物水华而呈现爆发性增殖[26]。弧菌兼性厌氧, 在缺氧或厌氧环境下仍可受营养因子驱动而增殖为优势菌群[27]。因此, 环境应激对对虾的影响大而对弧菌的影响小, 这是对虾弧菌病发生和发展的生态机制。研究[28-29]表明, 应激条件下, 病原弧菌可通过脂多糖、溶血素、蛋白酶、群体感应系统、铁载体、Ⅲ型分泌系统等毒力因子粘附与入侵对虾。弧菌致病性与丰度呈正相关, 虾池弧菌丰度达 $10^4 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 时感染风险极大[20]。

综上, 海水虾池弧菌可能受虾池自身及周边水域温度、盐度、pH、溶解氧等非营养性生态因子与 C、N、P 等营养性生态因子的共同驱动, 环境应激条件下对虾免疫力与弧菌丰度的此消彼长, 可能是虾池弧菌增殖致病的重要生态归趋机制。

1.3 弧菌生态归趋研究瓶颈分析

弧菌生态归趋研究面临的瓶颈在于, 无论是基于非培养技术的 16S rRNA 基因或宏基因组生物信息学研究[30-33], 还是基于可培养技术的弧菌生态学研究[34-35], 始终难以充分阐释弧菌丰度变化的生态归趋机制, 难以应用于弧菌生态调控。

究其原因, 弧菌生态归趋属于微生态研究范畴。弧菌代时短, 以小时甚至分钟计, 对环境变化响应极其迅速。以较大时空尺度的虾池养殖系统, 或更大时空尺度的海洋生态系统的调查结果来追溯弧菌微小时空尺度的生态归趋规律, 显然难以精确把握其定量变化脉搏, 仅能进行定性描述。同时, 采样时某一时空弧菌群落结构与丰度是诸多生物与非生物生态因子综合作用的结果, 在大时空尺度自然生态系统中, 难以做到控制诸多变量而探究某种或某几种生态因子对弧菌丰度的影响。

因此, 弧菌生态归趋研究应回归其微生态本质, 立足于微生态模型分析。

2 弧菌微生态归趋模型

自全球第 7 次霍乱大流行以来, 依据弧菌生理所研制的硫代硫酸钠-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂培养基 (thiosulphate-citrate-bile salt sucrose, TCBS), 一直是世界霍乱联合研究中心推荐用于弧菌分离的首选培养基。它不仅适用于霍乱弧菌, 其他弧菌 (如副溶血弧菌和创伤弧菌 (*V. vulnificus*) 等) 也能在 TCBS 琼脂上生长良好[36-37]。因此, TCBS 提供的营养与非营养因子的选择压力可作为弧菌微生态压力参考模型。在当前对虾生产中, TCBS 广泛应用于海水虾池致病性弧菌丰度监测。

TCBS 作为弧菌选择性培养基, 意味着弧菌较其他菌群对 TCBS 选择压力的耐受能力更强, 能在 TCBS 提供的诸多营养与非营养因子压力竞争中成为优势菌群。如果虾池等宏观生态环境能够持续提供与 TCBS 相似的微生态营养与非营养选择性环境, 其弧菌优势生态格局成因的微生态机制即可在一定程度上得以阐释。因此, TCBS 可作为虾池弧菌微生态压力参比模型, 为虾池弧菌微生态归趋分析提供一个管中窥豹的微生态窗口。

TCBS 国标配方为: 1 L 蒸馏水中加入蛋白胨 10.0 g、酵母粉 5.0 g、柠檬酸钠 ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$) 10.0 g、氯化钠 (NaCl) 10.0 g、胆酸钠 ($\text{C}_{24}\text{H}_{39}\text{NaO}_5$) 8.0 g、蔗糖 20.0 g、柠檬酸铁 ($\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7$)

1.0 g、硫代硫酸钠 ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 10.0 g、溴麝香草酚蓝 0.04 g、琼脂 15.0 g, 调节 pH 值至 8.6。

3 海水虾池与 TCBS 微生态相似性比较

3.1 海水虾池与 TCBS 的碳源比较

1) TCBS 碳源 TCBS 中蔗糖、柠檬酸钠、柠檬酸铁、蛋白胨、酵母粉均可提供 C 源。溴麝香草酚蓝作为 pH 指示剂可区分不同弧菌发酵蔗糖能力。不能发酵蔗糖产酸的弧菌只能用通用的 C 源柠檬酸钠、柠檬酸铁、蛋白胨、酵母粉作为 C 源和能源, 其呼吸代谢后产生的代谢产物为比柠檬酸盐 pH 更高的碳酸盐和氨, 使 TCBS 琼脂培养基微环境中 pH 升高。之所以将 TCBS 的 pH 值调至 8.6, 是因酸性环境抑制弧菌增殖, 而 8.6 以上的弱碱性环境能抑制其他菌增殖但弧菌仍可增殖。麝香草酚蓝在 $\text{pH}=2.8\sim 8.0$ 时显黄色, 至 $\text{pH}=9.6$ 时显蓝色。因此, 能发酵蔗糖产酸的弧菌在 TCBS 琼脂微环境中的 pH 值降至 8.0 以下时显黄色, 俗称“黄弧菌”, 如虾池常见的溶藻弧菌和哈维氏弧菌等; 另一类不能发酵蔗糖产酸的弧菌则呈现 TCBS 培养基原有的浅绿色, 但实际观测到的这类弧菌菌落一般呈蓝绿色或深绿色, 俗称“绿弧菌”, 如副溶血弧菌和河流弧菌 (*V. fluvialis*) 等; 还有一些能在 TCBS 上生长的其他菌, 如气单胞菌和假单胞菌, 在 $\text{pH}>9.6$ 时能形成蓝色菌落。当然, 能发酵蔗糖的黄色弧菌一旦将有机酸耗尽, 其培养基 pH 值也会升至 8.0 以上, 菌落同样会呈浅绿色。少数情况下能在 TCBS 上生长的菌落如变形杆菌等, 经厌氧发酵使硫代硫酸钠还原为硫化氢 (H_2S), 进而与柠檬酸铁合成不溶产物硫化亚铁 (FeS), 使菌落呈现中间黑边缘黄的色泽。从 C 源角度分析, 不同颜色弧菌危害性不同。绿色与蓝色菌在 TCBS 中只能以柠檬酸盐、蛋白胨、酵母粉为 C 源进行增殖, 但虾池中一般都缺乏柠檬酸这类 C 源^[38], 只能以环境中类似蛋白胨和酵母粉之类的高蛋白物质 (如对虾受损的粘膜、虾壳、肌肉等组织) 作为 C 源, 意味着 TCBS 绿色与蓝色菌群通过损伤对虾组织获取 C 源进行生长繁殖, 具备“肉食性”菌^[39]的生态特征, 致病性更大。

2) 海水虾池碳源 海水虾池 C 源较为复杂, 主要包括没有被对虾摄食与消化吸收的残饵, 及其蜕皮、分泌物、排泄物, 养殖水体中各类浮游生物分泌物, 衰老死亡各类动物、植物、微生物所含糖类、脂类、蛋白质、氨基酸及核酸等各类有机 C 源。伯杰氏手册中的弧菌有机 C 源多达 40 种以上, 包括淀粉、虾蟹与浮游动物外骨骼和硅藻壳中的几丁质等多糖, 蔗糖、纤维二糖等二糖, 葡萄糖、甘露醇等单糖, 甘油、醋酸盐、卵磷脂等脂类化合物, 明胶等蛋白质和 DNA 等^[40], 甚至烷烃、芳香烃和苯甲酸酯等极难降解的石油化合物, 也可为其 C 源与能源^[41]。这意味着虾池可为弧菌增殖提供各类有机 C 源。

3.2 海水虾池与 TCBS 的氮源比较

TCBS 在弱碱性环境下以蛋白胨、酵母粉为 N 源。文献 [37] 即采用弱碱性蛋白胨为霍乱弧菌选择性培养基。酵母粉不仅提供 N 源, 而且含有丰富的维生素和各类生长因子, 从而促进弧菌增殖。虾池可为弧菌提供残饵、对虾蜕皮、死亡对虾的尸体和各类浮游生物尸体等高蛋白 N 源物质, 以及氨氮、亚硝酸盐和硝酸盐等无机氮源, 促进弧菌增殖。

3.3 海水虾池与 TCBS 的碳氮比 (C/N) 比较

TCBS 培养基 C/N 约为 7, 适宜弧菌增殖。虾池弧菌营养源中, 对虾饲料、死亡浮游动物、微藻和菌体粗蛋白均高达 40 % 以上, 其 C/N 小于 7, 若同时考虑对虾呼吸所耗的有机碳和粪尿所含的无机氮, 水体中 C/N 将更低。因此, 虾池能为适应较低 C/N 的弧菌提供适宜的营养生态位, 使弧菌成为虾池优势菌。

研究^[42]表明, 适宜乳酸菌和芽孢杆菌增殖的 C/N 分别为 10 与 15 以上, 适宜弧菌增殖的 C/N 在 5 到 10 之间, 施加有机 C 源提高 C/N 可遏制弧菌而有利于芽孢杆菌与乳酸菌等有益菌群增殖。这说明环境 C/N 对于弧菌丰度塑造有重要影响, 弧菌的较低 C/N 生态策略意味着它能比芽孢杆菌和乳酸菌更节能“低 C”地建构自己的“高 N”菌体蛋白, 从而在虾池富营养化环境竞争中处于优势地位。

因此, 虾池 C/N 是弧菌微生态调控的重要指标。

3.4 海水虾池与 TCBS 中的 Fe 营养比较

TCBS 中大量添加柠檬酸铁是出于 Fe 对弧菌增殖的促进效应。Westrich 等^[43]报道, 来自撒哈拉沙漠沙尘暴沉降的 Fe 引发了海洋弧菌爆发性增殖。Fe 是对虾必需微量元素, 但对虾血液是以铜蓝蛋白而非血红蛋白携载氧气, 因而对虾饲料中的 Fe 吸收利用率低。由于 Fe 在海水虾池等弱碱性养殖环境的沉淀性物理化学行为, 使水体中的 Fe 往往不足, 弧菌通过合成铁载体等方式竞争 Fe 资源^[27]。因此, 残饵、粪便所含的 Fe, 是虾池弧菌增殖的又一营养因子。尤其在强对流天气下, 海水虾池底泥中的 Fe、 PO_4^{3-} 及其吸附的无机 N 等沉积性营养素通过垂直对流上溢至水体, 共同为弧菌爆发性增殖奠定了营养基础。

3.5 海水虾池与 TCBS 渗透压环境比较

依据弧菌对高 Na^+ 嗜中性, 在 TCBS 中添加各种 Na 盐^[40,44] 形成高渗环境, 可抑制其他菌群增殖。研究^[45] 表明, 海水虾池所分离的 TCBS 菌中 100% 为弧菌, 而淡水虾池分离的 TCBS 菌中极少为弧菌。河口区弧菌仅集中在盐度较高的下游区域^[46]。只有在高盐度海域 TCBS 菌群与弧菌才为强相关关系^[47]。弧菌是严格嗜盐菌, 只有在盐度 20 以上的海水虾池中 TCBS 菌群才以弧菌为主要菌群。因此, 海水虾池可为弧菌提供适宜的盐度环境。调节虾池水体盐度也可成为弧菌生态调控手段, 但是, 考虑到盐度骤变下对虾产生的渗透压应激, 淡化调控幅度不宜过大。

3.6 海水虾池与 TCBS 表面张力环境比较

TCBS 中胆酸钠可降低表面张力, 抑制革兰氏阳性菌 (G^+), 而弧菌等 G^- 菌外膜中存在亲水与疏水两性结构脂多糖, 对表面活性剂具有固有的抵抗力。研究^[48] 表明, 副溶血弧菌胆盐耐受性通过多药物外排转运体基因过表达而实现。在对虾养殖中作为常用添加剂的胆汁酸, 和作为虾池消毒剂的苯扎溴铵等表面活性剂^[49], 以及对虾投喂后未消化吸收的残饵粪便有机物在水体表面形成的浮沫, 都能使水体表面张力降低。因此, 海水虾池能提供与 TCBS 相似的表面张力环境。

3.7 海水虾池与 TCBS 的 pH 环境比较

研究^[50] 表明, pH 可通过影响哈维氏弧菌增殖而影响日本对虾的死亡率。pH 值在 7.64 ~ 8.41 时, 其丰度随 pH 值上升而下降。副溶血弧菌和霍乱弧菌也分别在 pH 值为 7.2 和 7.1 时增殖最快^[51]。这与暴雨后虾池 pH 值下降而弧菌病高发的现象一致, 说明弧菌适宜 pH 仍为中性。

研究^[52] 表明, 有机酸可抑制弧菌增殖。有机酸解离程度低, 未解离部分可穿透弧菌等 G^- 菌脂多糖外膜而进入菌体内部, 抑制弧菌代谢酶活性。因此, 有机酸与能发酵为有机酸的有机碳源, 可抑制弧菌增殖, 成为弧菌生态调控工具。

表 1 所示的 TCBS 与海水虾池弧菌生态因子对比分析表明, 虾池环境可促进弧菌增殖, 与对虾养殖弧菌病频发现状相吻合。然而, TCBS 可培养的弧菌也仅占弧菌种类的 60%^[53]。因此, TCBS 模型未能涵盖所有弧菌驱动性生态因子。但是, 虾池 TCBS 弧菌占可培养异养菌总数的比例高达 33%^[54], 高于近海河口区的 10%^[55], 说明以 TCBS 微生态模型解析海水虾池弧菌微生态归趋特征具有可行性。

表 1 TCBS 与虾池弧菌微生态环境对比

Tab. 1 The comparison of ecological factors between TCBS and shrimp pond

因子 Factor	海水虾池 Mariculture shrimp pond	TCBS
碳源 Carbon source	对虾残饵、粪便、蜕皮, 以及各类生物尸体中所含的糖类、脂类、蛋白质、氨基酸类、核酸等 ^[40] The bait residue, feces and molt of shrimp, all kinds of biological carcasses containing sugars, lipids, proteins, amino acids, nucleic acids, etc. ^[40]	蔗糖、柠檬酸钠、柠檬酸铁、蛋白胨、酵母粉 ^[36-37] Sucrose, sodium citrate, ferric citrate, peptone, yeast ^[36-37]

续表

因子 Factor	海水虾池 Mariculture shrimp pond	TCBS
氮源 Nitrogen source	对虾残饵、粪便、蜕皮,以及各类生物尸体中所含的蛋白质、氨基酸类、核酸等 ^[40] The bait residue, feces and molt of shrimp, all kinds of biological carcasses containing proteins, amino acids, nucleic acids, etc. ^[40]	蛋白胨、酵母粉 ^[36-37] Peptone, yeast ^[36-37]
碳氮比 C/N	<7(根据虾池主要营养源——粗蛋白占 40% 以上的虾料计算得出)(Calculated according to the shrimp feed which is the main nutrient source of shrimp ponds, its crude protein is more than 40%)	7(根据 TCBS 组成计算得出)(Calculated according to the TCBS composition)
Fe 源 Ferrous source	对虾残饵、粪便和各类生物尸体所含的 Fe The bait residue, feces and all kinds of biological carcasses containing ferrous	柠檬酸铁 ^[36-37] Ferric citrate ^[36-37]
盐度 Salinity	海水, 20 以上 ^[47] Seawater, over 20 ^[47]	NaCl、Na ₃ C ₆ H ₅ O ₇ 、Na ₂ S ₂ O ₃ 、胆酸钠, 约为 30 ^[36-37] Sodium chloride, sodium citrate, sodium thiosulfate, sodium cholate, about 30 ^[36-37]
表面活性剂 Surfactant	残饵及粪便在水体表面形成的浮沫、苯扎溴铵等 ^[49] Scum formed by waste bait or feces on the water body surface, benzalkonium bromide, etc. ^[49]	胆酸钠 ^[36-37] Sodium cholate ^[36-37]
pH	7.64 ~ 8.41 ^[50]	8.6 ^[36-37]

4 海水对虾肠道与 TCBS 微生物相似性比较

4.1 海水对虾不同体组织弧菌丰度差异

研究^[45]表明,海水对虾体组织中弧菌丰度范围为 $0.9 \times 10^4 \sim 16 \times 10^4$ CFU · mL⁻¹,较养殖水体高 1~2 个数量级。无论是健康虾还是病虾,其肠道异养菌丰度均为 $10^6 \sim 10^7$ CFU · g⁻¹,弧菌也为 $10^6 \sim 10^7$ CFU · g⁻¹^[56],说明弧菌是对虾消化道正常优势菌群,对虾消化道可维系较高丰度弧菌。虾体肌肉中异养菌与弧菌均为 $10^3 \sim 10^5$ CFU · g⁻¹;肝胰脏中异养菌为 $10^3 \sim 10^7$ CFU · g⁻¹,弧菌为 $10^2 \sim 10^7$ CFU · g⁻¹^[56]。病虾异养菌与弧菌丰度远高于健康虾,说明弧菌也是对虾内脏与肌肉等组织的优势菌,对虾发病与否更多体现为内脏与肌肉组织中所含的以弧菌为代表的异养菌的丰度差异。

4.2 海水对虾肠道与 TCBS 微生物相似性分析

海水对虾将饲料中的淀粉经肠道淀粉酶分解为葡萄糖,为弧菌提供 C 源。饲料中鱼粉、鸡肉粉、豆粕等可被对虾消化腺分泌的蛋白酶酶解为蛋白胨和氨基酸,为弧菌增殖提供 C 源和 N 源。目前,对虾饲料中粗蛋白含量均在 40% 以上,以此计算其 C/N 低于 6,较 TCBS 的 C/N 更低,有利于弧菌增殖。虾饲料中的钠和铁可在消化道被弧菌摄取,虾池水中的 Na⁺ 还可通过鳃和触角腺 Na⁺/K-ATPase 转运吸收^[57]。因此,对虾消化道营养浓度总体高于虾池水体,可维系弧菌更高丰度。以添加剂形式输入对虾消化道的胆汁酸^[48],也与 TCBS 胆酸钠产生相似的菌群选择效应。此外,对虾肠道饲料可通过缓冲效应使肠道 pH 降至更利于弧菌增殖的中性环境。

因此,对虾肠道具有与 TCBS 相似的营养与非营养环境,是较高丰度的弧菌存在的内在机制。当对虾健康时,弧菌为与对虾争夺饲料营养的潜在竞争者;当对虾发病,摄食减少或不摄食,处于饥饿状态时,弧菌则为对虾肠粘膜组织中营养物质的掠夺者。TCBS 中的弧菌丰度,尤其是“绿弧菌”丰度可提示虾池微生态环境的危机状况。

5 海水虾池弧菌致病的生态归趋机制分析

综上,海水虾池为弧菌提供了高盐、高Fe、低C/N、低表面张力和中性至弱碱性pH环境等适宜生长的生态环境,使其趋向于形成高丰度弧菌微生态格局。但是,弧菌为条件致病菌,高丰度弧菌未必立即致病,是否引发疾病,还与对虾免疫状况有关。如前所述,暴雨^[20]、大降温^[22]等引发的虾池水温^[20]、盐度^[58]、溶氧^[27]、pH^[51,58-59]突变,水体氨氮、亚硝酸盐等毒物浓度的升高^[23],环境应激与毒物的损伤作用,使对虾免疫力低下,从而使得能适应骤变环境的致病弧菌得以乘虚入侵虾体组织,引发对虾疾病。这应为海水虾池弧菌致病的生态归趋的主要机制。

环境应激导致对虾摄食与消化吸收能力下降,未能摄食的饲料和未被消化吸收的饲料分别促使水体中和消化道中的弧菌迅速增殖。随着病虾摄食量下降甚至拒食,高丰度饥饿的弧菌为了持续生存与生长,通过群体感应系统调控分泌内毒素及溶血素、蛋白酶等外毒素,粘附、侵蚀、分解病虾消化道粘膜组织为其提供营养^[3]。弧菌的低C/N营养适应性使其可继续入侵虾体组织,并经血液与淋巴蔓延扩散至全身,继而损伤对虾鳃、肝胰脏和肌肉等不同组织^[60],引发毒血症甚至败血症^[61],并与寄生虫^[62]、病毒^[63-64]等综合作用,引发对虾黄鳃、红鳃、黑鳃、红腿、红体、白斑、白浊等诸多症状,甚至导致对虾死亡。

6 弧菌生态调控策略

6.1 弧菌生态短效调控策略

鉴于较高C/N与较低pH可抑制弧菌增殖,弧菌生态短效调控,可在缓解对虾环境应激基础上,依据弧菌与海水对虾有益菌群(如乳酸菌和芽孢杆菌等)对C/N的营养响应差异,借助小分子有机酸(如乳酸等)抑制弧菌增殖,或如糖蜜等能发酵为小分子有机酸的有机物^[65],通过促进对环境耐受与适应性极强的芽孢杆菌等有益菌增殖,将环境中游离的富余营养物质转化为有序的菌体结构组分,压缩弧菌营养生态位,形成有利于对虾等水产动物生长的微生物絮团(biofloc, BF)环境^[66]。这种抑制弧菌增殖的调控策略,简称为“以菌制菌”策略。

研究^[67-68]表明,通过提高C/N形成BF,不仅有助于提高对虾免疫力和改善抗氧化状态,而且能改善高密度零交换养殖系统的水质,提高对虾生长性能。通过合理调控C/N来稳定BF,可以在试验环境下降低对虾AHPND爆发风险^[69]。由于不同C源被虾池微生物分解与代谢的速率不一,理想状态为有机C源分解释放的有机酸,与虾池消费者和分解者分解含氮有机物产生的 NH_4^+ 速率一致。张哲等^[70]比较了不同C源对凡纳滨对虾育苗池水体BF的结构、营养成分、细菌群落及水质的影响,发现红糖效果较好。

由于细菌代时较短,菌相随时间推移变化剧烈,“以菌制菌”有效调控时间较短,故为短效策略。其中C源应根据系统 NH_4^+ 等无机氮浓度与菌群丰度变化状况经常性地适量添加。

6.2 弧菌生态中效调控策略

添加有机C源提高C/N的弧菌调控策略,虽可通过有机C源将 NH_4^+ 转化为菌体蛋白而消减其毒性,但有益异养菌在此过程中须通过呼吸作用耗氧并消耗有机C源化学能用于菌体蛋白合成。因此,更为节能、节氧的系统调控措施更适用于对虾养殖。

硝化细菌化能自养,也能将 NH_4^+ 通过亚硝化和硝化反应转化为几乎无毒的硝酸盐(NO_3^-),且这一过程无须额外添加有机C源,既更为节能,又有助于系统稳定,且硝化细菌也能和弧菌一样适应低C/N生态位。因此,硝化细菌也常用于虾池弧菌控制研究^[71]。但是,硝化细菌生长缓慢,代时长达20h以上^[72],其BF形成须一个月以上,难以满足对虾弧菌病发生时应急调控所需,且与异养菌BF相似,也存在耗氧和使系统pH下降的缺陷。

光合细菌也是低C/N有益菌,可利用光能,在不耗氧情况下将虾池 NH_4^+ 与小分子有机物合成菌体蛋白^[73],也可在厌氧环境下与弧菌竞争营养而应用于弧菌生态调控。

微藻能将光能转化为化学能,合成系统 C/N 调控所需的有机 C 源,并在产氧同时使系统 pH 提高,同时,微藻吸纳虾池水体中 N、P、Fe 等营养素合成藻体,抢占弧菌生态位。研究^[74]表明,在 C/N 为 6 时添加扁藻 (*Platymonas* sp.),其效果与 C/N 为 10 的添加蔗糖组相当。在稳定的微藻 BF 系统中停止添加红糖,对系统去除总 NH_4^+ 和 NO_2^- 效果几乎没有影响^[75]。

因此,在光照条件下,可将微藻与芽孢杆菌、乳酸菌、硝化细菌、光合细菌等有益菌在虾池进行更为稳定高效的系统群落建构,由生产者(有益微藻)与分解者(有益菌)协同遏制弧菌增殖。藻—菌微生态系统结构与功能更为稳定,可持续性较“以菌制菌”更强,因而为中效调控策略。

6.3 弧菌生态长效调控策略

从海洋生态系统微食物环角度分析,与弧菌相关的生产者、消费者、分解者,乃至病毒,均为弧菌丰度的有效调控者。例如,弧菌丰度与硅藻和针胞藻的相关性高于甲藻,说明微藻可通过分泌的有机 C 源差异而参与弧菌生态调控^[76]。海洋纤毛虫、鞭毛虫的摄食胁迫对弧菌种群生长起着显著的抑制作用,它们也是弧菌生态调控者^[77]。此外,海洋蛭弧菌^[78]和病毒^[79]也是弧菌群落结构与丰度的有力调控者。

此外,在海水虾池采用代时比微藻更长,固定 N、P 等营养素更持久,且能以植株形式收获输出的挺水性盐生植物或耐盐植物,汲取虾池 N、P 等富余营养,将太阳光能转化为植株有机 C 源所含的化学能,既可以产品形式输出虾池富余营养,也可将植株就地加工为有机碳源,有序输入虾池以调控 C/N。通过 C 循环驱动虾池异养菌群等分解者,与鞭毛虫、纤毛虫浮游动物等消费者,结合微藻等生产者,共同建构结构和功能较上述短效与中效调控更为健全的生态系统,同化富营养化水体中无机 C、N、P、Fe 等营养元素,形成较高 C/N、低 P、低 Fe 和富含氧气的较高 pH 环境,使弧菌缺乏相应营养与非营养生态位而难以存续,塑造有利于对虾生存与生长的生态环境。这可能是虾池乃至近海海域生态修复的可持续长效机制策略。但是,目前尚无此类针对弧菌的涵盖生产者、消费者与分解者的大规模多营养级生态系统建构研究的报道。

6.4 发病虾池弧菌生态速效逆转策略

对于弧菌疾病已经发生的虾池,采用长效策略不易迅速逆转,宜采取先迅速消毒再调控 C/N 来速效培育有益菌群的调控策略,后续再相继采取中、长效调控措施。

消毒剂不仅要安全,还应速效,最好在 30 min 内即可消毒完毕,且消毒后无残留,并对消毒后立即加入的有益菌不产生抑杀效应。如此,在迅速杀灭弧菌和其他菌群后,立即向虾池及对虾饲料中加入已充分活化的高丰度益生菌与速效增殖 C 源,迅速抢占弧菌生态位,抑制弧菌死灰复燃。

从生态系统物流与能流角度分析,速效且无残留消毒是关键过程。消毒时间越长,虾池中各种细菌死亡殆尽,系统分解代谢停滞,虾池积滞的富余能源物质和 N、P 等无机营养物质越多,则后续微生态修复耗氧越多,越不利于对虾的生存与生长。电解次氯酸水^[80-81]、臭氧^[82]、二氧化氯^[83-84]、过硫酸盐^[85]等均可作为虾池弧菌速效消毒剂。

7 展望

上述弧菌生态归趋及其生态调控策略,仅基于 TCBS 微生态模型进行分析,并将海水虾池与 TCBS 微生态环境进行比较分析而得出,仍存在缺陷。例如,TCBS 无法完全区分致病与非致病性弧菌。并非所有弧菌有害,有些弧菌不仅无害,反而有益,如益生性弧菌 *V. diabolicus* 和 *V. hepatarius* 能够定植于南美白对虾幼体,抵御副溶血弧菌的攻击^[86]。因此,较 TCBS 更为科学的微生态模型还有待后续弧菌生物学与微生态研究的突破。

同时,生产者、消费者、分解者和病毒均参与弧菌生态调控,它们与病原弧菌相互作用的现场定量实验研究缺乏,目前尚难以有效应用于弧菌生态调控。因此,弧菌生态的可持续有效调控,仍有待其生态归趋机制被更为广泛深入地阐明与突破。

[参 考 文 献]

- [1] 张晓华,林禾雨,王晓磊,等. 弧菌在海洋有机碳循环中的重要作用[J]. 中国科学: 地球科学,2018,48(12):1527-1539.
- [2] BONNIN J M, COPIN S, BRIS C L, et al. *Vibrio* species involved in seafood-borne outbreaks (*Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus* and *V. vulnificus*): review of microbiological versus recent molecular detection methods in seafood products[J]. Crit Rev Food Sci Nutr,2019,59:597-610.
- [3] MUTHUKRISHNAN S, SHARIFF M, INA-SALWANY MY, et al. Expression of AHPND toxin genes (*pirAB*), quorum sensing master regulator gene (*luxR*) and transmembrane transcriptional regulator gene (*toxR*) in *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio harveyi* during infection of *Penaeus vannamei* (Bonne, 1931)[J]. Aquaculture,2022,551:737895.
- [4] FLEGEL T W. Historic emergence, impact and current status of shrimp pathogens in Asia[J]. J Invertebr Pathol,2012,110(2):166-173.
- [5] TANG K F J, BONDAD-REANTASO M G. Impacts of acute hepatopancreatic necrosis disease on commercial shrimp aquaculture[J]. Rev Sci Tech (Intl Ofc Epizoot),2019,38(2):477-490.
- [6] TAKEMURA A F, CHIEN D M, POLZ M F. Associations and dynamics of *Vibrionaceae* in the environment, from the genus to the population level[J]. Front in Microbiol,2014,5:38.
- [7] 谢立民. 柘林湾细菌、弧菌和异养菌数量的时空分布和细菌生产力研究[D]. 广州:暨南大学,2004:41.
- [8] 陈星. 北部湾海洋弧菌多样性及其群落结构研究[D]. 南宁:广西大学,2021:58.
- [9] WAN L L, CAO L F, SONG C L, et al. Metagenomic insights into feasibility of agricultural wastes on optimizing water quality and natural bait by regulating microbial loop[J]. Environmental Research,2023,217:114941.
- [10] LI N, ZHAO H, JIANG G, et al. Phylogenetic responses of marine free-living bacterial community to *Phaeocystis globosa* bloom in Beibu Gulf, China[J]. Front Microbiol,2020,11:1624.
- [11] NAWEL Z, RIMAO, AMIRA B. An overview on *Vibrio* temperate phages: integration mechanisms, pathogenicity, and lysogeny regulation[J]. Microb Path,2022,165:105490.
- [12] MIKHAIL V Z, MICHAEL A S. Assimilation efficiency of *Vibrio* bacterial protein biomass by the flagellate *Pteridomonas*: assessment using flow cytometric sorting[J]. FEMS Microbiol Ecol,2005,54(2):281-286.
- [13] STENEN J T, GARY L T. Rates of benthic bacterivory of marine ciliates as a function of prey concentration[J]. J Exp Mar Biol Ecol,2014,460:129-134.
- [14] 陈一波,宋国宝,赵文星,等. 中国海水养殖污染负荷估算[J]. 海洋环境科学,2016,35(1):1-7.
- [15] CHATVIJITKUL S, BOYD C E, DAVIS D A, et al. Pollution potential indicators for feed-based fish and shrimp culture[J]. Aquaculture,2017,477:43-49.
- [16] 赵艳飞,钟声平,王贤丰,等. 拟穴青蟹、斑节对虾和缢蛏不同混养系统氮、磷收支的研究[J]. 水产科学,2021,40(4):483-491.
- [17] DIEN L D, HIEP L H, HAO N V, et al. Comparing nutrient budgets in integrated rice-shrimp ponds and shrimp grow-out ponds[J]. Aquaculture,2018,484:250-258.
- [18] LUCAS R, COURTIES C, HERBLAND A, et al. Eutrophication in a tropical pond: understanding the bacterioplankton and phytoplankton dynamics during a vibriosis outbreak using flow cytometric analyses[J]. Aquaculture,2010,310:112-121.
- [19] TERKULA I B, KASAN N A. Recent advances in shrimp aquaculture wastewater management[J]. Heliyon,2021,7(11):e08283.
- [20] FERREIRA N, BONETTI C, SEIFFER W. Hydrological and water quality indices as management tools in marine shrimp culture[J]. Aquaculture,2011,318(3):425-433.
- [21] HERVIO-HEATH D, COLWELL R R, DERRIEN A, et al. Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France[J]. J Appl Microbiol,2002,92(6):1123-1135.
- [22] TSENG I T, CHEN J C. The immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under nitrite stress[J]. Fish Shellfish Immunol,2004,17:325-333.
- [23] JIANG S C, FU W. Seasonal abundance and distribution of *Vibrio cholerae* in coastal waters quantified by a 16S-23S inter-

- genic spacer probe[J]. Microb Ecol, 2001, 42(4): 540-548.
- [24] 徐怀恕, COLWELL R R. 霍乱弧菌的越冬方式—活的非可培养状态及其检测方法 [J]. 青岛海洋大学学报, 1989, 19(2): 77-83.
- [25] JOSEPH S W, COLWELL R R, KAPER J B. *Vibrio parahaemolyticus* and related halophilic *Vibrios* [J]. Crit Rev Microbiol, 1982, 10: 77-124.
- [26] GILBERT J A, STEELE J A, CAPORASO J G, et al. Defining seasonal marine microbial community dynamics [J]. ISME J, 2012, 6: 298-308.
- [27] SKANE A, JENNIFER S M, GUSTAV V K, et al. Comparative proteomic profiling reveals specific adaption of *Vibrio anguillarum* to oxidative stress, iron deprivation and humoral components of innate immunity [J]. J Proteomics, 2022, 251: 104412.
- [28] MONTERO A B, AUSTIN B. Characterization of extracellular products from an isolate of *Vibrio harveyi* recovered from diseased post-larval *Penaeus vannamei* (Bonne) [J]. J Fish Dis, 1999, 22(5): 377-386.
- [29] YE J, MA Y, LIU Q, et al. Regulation of *Vibrio alginolyticus* virulence by the LuxS quorum sensing system [J]. J Fish Dis, 2008, 31(3): 161-169.
- [30] XU Q S, WANG P B, HUANG J H, et al. Co-occurrence of chromophytic phytoplankton and the *Vibrio* community during *Phaeocystis globosa* blooms in the Beibu Gulf [J]. Sci Tot Environ, 2022, 805: 150303.
- [31] KIM D D, WAN L L, CAO X Y, et al. Metagenomic insights into co-proliferation of *Vibrio* spp. and dinoflagellates *Prorocentrum* during a spring algal bloom in the coastal East China Sea [J]. Water Res, 2021, 204: 117625.
- [32] XU W, LIN W Z, WANG Z C, et al. Disentangling the abundance and structure of *Vibrio* communities in a semi-enclosed bay with mariculture (Dongshan Bay, Southern China) [J]. Comp Struct Biotech J, 2021, 19: 4381-4393.
- [33] IMAIZUMI K, MOLEX W, JITNAVEE C, et al. Bacterial and eukaryotic communities in pond water of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* and the bacterial communities of their stomach and midgut [J]. Aquaculture, 2022, 554: 738139.
- [34] FLEGEL T W. A future vision for disease control in shrimp aquaculture [J]. J World Aquacult Soc, 2019, 50: 249-266.
- [35] SUNG H H, HSU S F, CHEN C K, et al. Relationships between disease outbreak in cultured tiger shrimp (*Penaeus monodon*) and the composition of *Vibrio* communities in pond water and shrimp hepatopancreas during cultivation [J]. Aquaculture, 2001, 192(2/3/4): 101-110.
- [36] LEE J M, AZIZAH R N, KIM K S. Comparative evaluation of three agar media-based methods for presumptive identification of seafood-originated *Vibrio parahaemolyticus* strains [J]. Food Control, 2020, 116: 107308.
- [37] 孙楠, 黄杰, 于婷, 等. 硫代硫酸盐-柠檬酸盐-胆盐-蔗糖琼脂培养基行业标准验证 [J]. 中国药事, 2014, 28(12): 1367-1370.
- [38] BRENNER D J, HICKMANBRENNER F W, LEE J V, et al. *Vibrio furnissii* (formerly aerogenic biogroup of *Vibrio fluvialis*), a new species isolated from human feces and the environment [J]. J Clin Microbiol, 1983, 18(4): 816-824.
- [39] 王志刚, 吴展, 徐水凌, 等. 创伤弧菌经细胞 Toll 样受体 2、4 途径导致树突状细胞急性坏死的研究 [J]. 中华传染病杂志, 2013, 31(5): 263-268.
- [40] FARMER J J, JANDA J M, BRENNER F W, et al. *Vibrio pacini* 1854 [M] // BRENNER D J, KREIG N R, STALEY J T. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd ed. New York: Springer Science Business Media, 2005: 494-546.
- [41] WEST P A, OKPOKWASILI G C, BRAYTON P R, et al. Numerical taxonomy of phenanthrene degrading bacteria isolated from the Chesapeake Bay [J]. Appl Environm Microbiol, 1984, 48: 988-993.
- [42] 高磊, 包卫洋, 张天文, 等. 水体碳氮比对芽孢杆菌、乳酸菌与弧菌生长、拮抗作用及菌体碳氮比的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2013, 43(1): 34-40.
- [43] WESTRICH J R, EBLING A M, LANDING W M, et al. Saharan dust nutrients promote *Vibrio* bloom formation in marine surface waters [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2016, 113: 5964-5969.
- [44] IMOTHYJ, SULLIVAN J, NEIGEL E. Effects of temperature and salinity on prevalence and intensity of infection of blue crabs, *Callinectes sapidus*, by *Vibrio cholerae*, *V. parahaemolyticus*, and *V. vulnificus* in Louisiana [J]. J Invertebr Pathol, 2018, 151: 82-90.
- [45] 龚婷. 对虾养殖环境中 TCBS 类群细菌多样性及虾源气单胞菌噬菌体生物学特性研究 [D]. 厦门: 国家海洋局第三海洋研究所, 2014: 50-56.

- [46] 陈明霞,李和阳,马云飞,等. 九龙江口沉积物 TCBS (thiosulfate citrate bile salts sucrose) 菌群的分布 [J]. 微生物学报,2012,52(5):637-644.
- [47] 李和阳,陈明霞,郑天凌. 深圳海域水体和九龙江口沉积物中 TCBS 菌群与弧菌相关性的研究 [J]. 海洋学报,2011,30(3):394-399.
- [48] MATSUO T, OGAWA W, TSUCHIYA T, et al. Overexpression of *vmeTUV* encoding a multidrug efflux transporter of *Vibrio parahaemolyticus* causes bile acid resistance [J]. Gene, 2014, 541(1):19-25.
- [49] 全建安,徐有宏,黄锋. 斑节对虾高位池高密度高产养殖技术研究 [J]. 中山大学学报(自然科学版),2000,39(增刊1):38-40.
- [50] 钟硕良,陈月忠,周 宸. 环境因子对发光细菌的生长及日本对虾仔虾感染死亡率的影响 [J]. 中国水产科学,2001,8(1):41-45.
- [51] 胡兴娟,沈 飏,张文斌. pH 值及盐度对副溶血弧菌与霍乱弧菌生长的影响 [J]. 中华医院感染杂志,2011,21(22):4855-4857.
- [52] KOGA T, SAKAMOTO F, YAMOTO A, et al. Acid adaptation induces cross-protection against some environmental stresses in *Vibrio parahaemolyticus* [J]. J Gen Appl Microbiol, 1999, 45, 155: e161.
- [53] THOMPSON F L, GEVERS D, THOMPSON C C, et al. Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis [J]. Appl Environ Microbiol, 2005, 71: 5107-5115.
- [54] 胡晓娟,李卓佳,曹煜成,等. 强天气干扰条件下粤西凡纳滨对虾养殖池塘细菌群落动态特征 [J]. 南方水产科学, 2012, 8(5): 52-59.
- [55] LIANG J, LIU J, WANG X, et al. Spatiotemporal dynamics of free-living and particle-associated vibrio communities in the northern Chinese marginal seas [J]. Appl Environ Microbiol, 2019, 85: e00217-e00219.
- [56] 马悦欣,李君丰,陈营,等. 中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 养成期虾池水体和底质及虾体异养菌和弧菌含量的变化 [J]. 中国水产科学, 1995, 2(3): 15-21.
- [57] VALENZUELA M I E, VALENZUELA Q, ESPARZA L H M, et al. Effects of ionic composition on growth and survival of white shrimp *Litopenaeus vannamei* at low-salinity well water [J]. Rev Biol Mar Oceanog, 2017, 52(1):103-112.
- [58] PRAYITNO S B, LATCHFORD J W. Experimental infections of crustaceans with luminous bacteria related to *Photobacterium* and *Vibrio*; effect of salinity and pH on infectiosity [J]. Aquaculture, 1995, 132: 105-112.
- [59] DUAN Y F, WANG Y, LIU Q S, et al. Changes in the intestine barrier function of *Litopenaeus vannamei* in response to pH stress [J]. Fish Shellfish Immunol, 2019, 88: 142-149.
- [60] KUMAR V, ROY S, BARUAH K, et al. Environmental conditions steer phenotypic switching in acute hepatopancreatic necrosis disease-causing *Vibrio parahaemolyticus*, affecting PirAVP/PirBVP toxins production [J]. Environ Microbiol, 2020, 22(10):4212-4230.
- [61] VALENTE C S, WAN A H L. *Vibrio* and major commercially important vibriosis diseases in decapod crustaceans [J]. J Invertebr Pathol, 2021, 181: 107527.
- [62] SHEN H Y, ZHANG X C, QIAN D, et al. Pathobiology of *Enterocytozoon hepatopenaei* (EHP) in shrimp: diagnosis and interpretation from the gut bacterial community [J]. Aquaculture, 2022, 554: 738169.
- [63] WANG C S, TANG K F J, KOU G H, et al. Yellow head disease-like virus infection in kuruma shrimp *Penaeus japonicus* cultured in Taiwan [J]. Fish Pathol, 1996, 31: 177-182.
- [64] QIAO G, XU D H, WANG Z, et al. Comparison of immune response of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, after multiple and single infections with WSSV and *Vibrio anguillarum* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2015, 44(1):257-264.
- [65] 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.
- [66] CRAB R, DEFOIRDT T, BOSSIER P, et al. Biofloc technology in aquaculture: beneficial effects and future challenges [J]. Aquaculture, 2012, 356: 351-356.
- [67] XU W J, PAN L Q. Enhancement of immune response and antioxidant status of *Litopenaeus vannamei* juvenile in biofloc-based culture tanks manipulating high C/N ratio of feed input [J]. Aquaculture, 2013, 412: 117-124.
- [68] XU W J, MORRIS T C, SAMOCHA T M. Effects of C/N ratio on biofloc development, water quality and performance of *Litopenaeus vannamei* juveniles in a biofloc-based, high-density, zero-exchange, outdoor tank system [J]. Aquaculture, 2016,

- 453:169-175
- [69] HOSTINS B, WASIELESKY W, DECAMP O, et al. Managing input C/N ratio to reduce the risk of Acute Hepatopancreatic Necrosis Disease (AHPND) outbreaks in biofloc systems-A laboratory study[J]. *Aquaculture*, 2019, 508:60-65.
- [70] 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.
- [71] 田道贺, 桂福坤, 李华, 等. 硝化型生物絮团的驯化培养[J]. *南方水产科学*, 2019, 15(4):39-45.
- [72] FLORESI-VALENZUELA E, MIRANDA-BAEZA A, RIVAS-VEGA M E, et al. Water quality and productive response of *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc with addition of commercial strains of nitrifying bacteria and *Lactobacillus rhamnosus* [J]. *Aquaculture*, 2021, 542:736869.
- [73] SAEJUNG C, CHAIYARAT A, SANOAMUANG L. Optimization of three anoxygenic photosynthetic bacteria as feed to enhance growth, survival, and water quality in fairy shrimp (*Streptocephalus sirindhornae*) cultivation[J]. *Aquaculture*, 2021, 534:736288.
- [74] DONG S, LI Y, JIANG F J, et al. Performance of *Platymonas* and microbial community analysis under different C/N ratio in biofloc technology aquaculture system[J]. *J Water Process Eng*, 2021, 43:102257.
- [75] 韩天骄, 徐武杰, 徐煜, 等. 添加红糖对凡纳滨对虾生物絮团养殖系统水质和氮收支的影响[J]. *南方水产科学*, 2020, 16(6):81-88.
- [76] MAIN C R, SALVITTI L R, WHEREAT E B, et al. Community level and species-specific associations between phytoplankton and particle-associated *Vibrio* species in Delaware's Inland Bays[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2015, 81:5703-5713.
- [77] 许恒龙, 王梅, 朱明壮, 等. 海洋纤毛虫实验生态学研究Ⅲ:纤毛虫摄食胁迫对弧菌(*Vibrio* sp.)种群增长的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(1):75-78.
- [78] 陈慧黠, 韩民泳, 于佳豪, 等. 噬菌弧菌 N1 对淡水和海水养殖水体细菌群落影响 PCR-DGGE 分析[J]. *广东海洋大学学报*, 2019, 39(5):8-15.
- [79] KAUFFMAN K M, HUSSAIN F A, YANG J, et al. A major lineage of non-tailed dsDNA viruses as unrecognized killers of marine bacteria[J]. *Nature*, 2018, 554:118-122.
- [80] WANG J J, SUN W S, JIN M T, et al. Fate of *Vibrio parahaemolyticus* on shrimp after acidic electrolyzed water treatment [J]. *Int J Food Microbiol*, 2014, 179:50-56.
- [81] LI Y F, TAN L, GUO L X, et al. Acidic electrolyzed water more effectively breaks down mature *Vibrio parahaemolyticus* bio-film than DNase I[J]. *Food Control*, 2020, 117:107312.
- [82] PUMKAEW M, TAWEEPHITAKTHAI T, SATANWAT P, et al. Use of ozone for *Vibrio parahaemolyticus* inactivation alongside nitrification biofilter treatment in shrimp-rearing recirculating aquaculture system[J]. *J Water Process Eng*, 2021, 44:102396.
- [83] KIM J M, HUANG T S, MARSHALL M R, et al. Chlorine dioxide treatment of seafoods to reduce bacterial loads[J]. *J Food Sci*, 1999, 64:1089-1093.
- [84] 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.
- [85] JAVOER G F, LEONARDO R M, ASUNCION A M, et al. Application of persulfate salts for enhancing UV disinfection in marine waters[J]. *Water Res*, 2019, 163:114866.
- [86] RAMIREZ M, DOMINGUEZ-BORBOR C, SALAZAR L, et al. The probiotics *Vibrio diabolus* (Ili), *Vibrio hepatarius* (P62), and *Bacillus cereus sensu stricto* (P64) colonize internal and external surfaces of *Penaeus vannamei* shrimp larvae and protect it against *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Aquaculture*, 2022, 549:737826.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)