 DOI: 10.31276/VJST.2025.3512

Biến động cấu trúc hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) theo thời gian dưới tác động của ozone nanobubble

Phan Trọng Bình[1*], Nguyễn Hữu Nghĩa[2], Trương Thị Mỹ Hạnh[1], Tống Trần Huy[1], Phạm Thái Giang[1], Phan Thị Vân[2]

[1]Trung tâm Quan trắc Môi trường và Bệnh thuỷ sản miền Bắc, Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I, phường Từ Sơn, tỉnh Bắc Ninh, Việt Nam
[2]Viện Nghiên cứu Nuôi trồng Thuỷ sản I, phường Từ Sơn, tỉnh Bắc Ninh, Việt Nam

Ngày nhận bài 3/7/2025; ngày chuyển phản biện 5/7/2025; ngày nhận phản biện 31/7/2025; ngày chấp nhận đăng 5/8/2025

Tóm tắt:

Hệ vi sinh vật đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì chất lượng nước, sức khỏe của động vật thủy sản. Nghiên cứu này xác định sự biến đổi của cấu trúc hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng ở mô hình nuôi thâm canh trong nhà dưới tác động xử lý của ozone nanobubble (NB-O_3) bằng phương pháp giải trình tự gen 16S rRNA thế hệ mới. Thí nghiệm tiến hành trong thời gian 84 ngày với 2 nghiệm thức. Mẫu nước được thu vào các ngày 1, 60 và 84 của chu kỳ nuôi để phân tích. Ở mức phân loại ngành, Proteobacteria, Bacteroidota và Actinobacteriota chiếm ưu thế trong suốt quá trình nuôi, với tỷ lệ trung bình ở nghiệm thức NB-O_3 lần lượt là 66,8, 18,8 và 9,9%, trong khi đối chứng lần lượt là 59,0, 19,4 và 16,1%. Theo thời gian nuôi, tỷ lệ ngành Proteobacteria trong bể xử lý NB-O_3 có xu hướng giảm dần từ 80,0% (ngày 1) xuống 54,6% (ngày 84), trong khi Actinobacteriota lại tăng từ 2,5% (ngày 1) lên 18,7% (ngày 84). Chi vi khuẩn *Marivita* giảm mạnh từ 8,38% (ngày 1) xuống 0,43% (ngày 84), trong khi các chi vi khuẩn có lợi như *Mycobacterium*, *Ruegeria* và *Paracoccus* gia tăng rõ rệt ở nghiệm thức NB-O_3. Những kết quả này chứng tỏ xử lý NB-O_3 có khả năng ổn định cấu trúc hệ vi sinh vật nước nuôi theo hướng có lợi và góp phần duy trì ổn định đa dạng sinh học.

Từ khóa: **cấu trúc hệ vi sinh vật, giải trình tự gen 16S rRNA thế hệ mới, ozone nanobubble.**

Chỉ số phân loại: **1.6, 4.5, 4.6**

Temporal changes in microbial community structure in the culture water of whiteleg shrimp (*Penaeus vannamei*) treated with ozone nanobubbles

Trong Binh Phan[1*], Huu Nghia Nguyen[2], Thi My Hanh Truong[1], Tran Huy Tong[1], Thai Giang Pham[1], Thi Van Phan[2]

[1]Centre for Environment and Disease Monitoring in Aquaculture, Research Institute for Aquaculture No. 1, Tu Son Ward, Bac Ninh Province, Vietnam
[2]Research Institute for Aquaculture No. 1, Tu Son Ward, Bac Ninh Province, Vietnam

Received 3 July 2025; revised 31 July 2025; accepted 5 August 2025

Abstract:

Microbial communities play a crucial role in maintaining water quality and the health of aquatic animals. This study examined temporal changes in microbial community structure in the culture water of *Penaeus vannamei* cultured in an intensive indoor system under ozone nanobubble (NB-O_3) treatment, using 16S rRNA next-generation sequencing. The experiment was conducted for 84 days with two treatments. Water samples were collected on days 1, 60, and 84 of the culture period for microbial community analysis. At the phylum level, Proteobacteria, Bacteroidota, and Actinobacteriota dominated throughout the culture period, with average relative abundances of 66.8, 18.8, and 9.9%, respectively, in the NB-O_3 treatment, compared with 59.0, 19.4, and 16.1%, respectively, in the control. Over time, the relative abundance of Proteobacteria in the NB-O_3-treated tanks gradually decreased from 80% (day 1) to 54.6% (day 84), while Actinobacteriota increased from 2.5% (day 1) to 18.7% (day 84). The genus *Marivita* showed a sharp decline from 8.38% (day 1) to 0.43% (day 84), whereas beneficial genera such as *Mycobacterium*, *Ruegeria*, and *Paracoccus* increased in the NB-O_3 treatment. These findings suggest that NB-O_3 treatment can stabilise the microbial community structure in shrimp culture water in a beneficial direction and contribute to maintaining microbial diversity.

Keywords: **microbial community, ozone nanobubbles, 16S rRNA next-generation sequencing.**

Classification numbers: **1.6, 4.5, 4.6**

[*]Tác giả liên hệ: Email: trongbinh@ria1.org

1. Đặt vấn đề

Tôm thẻ chân trắng (*Penaeus vannamei*) là một trong những đối tượng thủy sản nuôi chủ lực tại Việt Nam, góp phần quan trọng vào giá trị xuất khẩu, doanh thu của các doanh nghiệp trong nước, đồng thời giữ vai trò then chốt trong đảm bảo an ninh lương thực và thúc đẩy phát triển kinh tế. Tuy nhiên, sự phát triển nhanh chóng của các hệ thống nuôi thâm canh và siêu thâm canh đã dẫn đến nhiều thách thức trong việc quản lý môi trường và dịch bệnh. Mật độ nuôi cao dễ dẫn đến tình trạng tăng tích tụ chất thải hữu cơ, sự gia tăng các hợp chất độc hại như ammonia và nitrite, cùng với nguy cơ bùng phát dịch bệnh do vi sinh vật gây hại, gây tổn thất lớn về kinh tế và môi trường [1-5].

Ozone (O_3) được biết đến với đặc tính oxy hóa mạnh, có khả năng phân hủy các hợp chất hữu cơ, giảm nồng độ ammonia và nitrite, đồng thời tiêu diệt hiệu quả mầm bệnh trong nước [6-8]. Bong bóng nano có kích thước siêu nhỏ (<200 nm) mang lại nhiều ưu điểm vượt trội, bao gồm diện tích bề mặt lớn, khả năng phân tán đồng đều và duy trì độ hòa tan cao trong nước [9]. Trong những năm gần đây, việc sử dụng kết hợp O_3 và công nghệ nanobubble để tạo ra NB-O_3 đã được quan tâm và nghiên cứu nhờ tiềm năng để cải thiện chất lượng nước và kiểm soát vi sinh vật trong các hệ thống nuôi thủy sản [10-14]. Một số nghiên cứu đã chứng minh rằng việc sử dụng NB-O_3 có thể cải thiện chất lượng nước và giảm nguy cơ dịch bệnh trong nuôi trồng thủy sản [11, 12, 14-16]. Tuy nhiên, ảnh hưởng của NB-O_3 đến hệ vi sinh vật trong môi trường nuôi tôm thẻ chân trắng vẫn chưa được nghiên cứu đầy đủ và hệ thống.

Hệ vi sinh vật trong nước nuôi đóng vai trò quan trọng trong việc duy trì chất lượng môi trường và sức khỏe của tôm [17, 18]. Các vi sinh vật có lợi như vi khuẩn nitrat hóa *(Nitrosomonas, Nitrobacter)* và vi khuẩn phân hủy chất hữu cơ *(Bacillus* spp.) giúp loại bỏ các chất ô nhiễm và duy trì cân bằng sinh thái [19-21]. Ngược lại, sự phát triển quá mức của vi sinh vật gây hại, đặc biệt là vi khuẩn *Vibrio* spp. có thể dẫn đến sự bùng phát của bệnh hoại tử gan tụy cấp tính (AHPND) cùng nhiều bệnh lý nghiêm trọng khác [22]. Trong đánh giá hệ vi sinh vật, các chỉ số đa dạng như đa dạng alpha (alpha diversity) và đa dạng beta (beta diversity) được xem là những công cụ quan trọng phản ánh mức độ phong phú, cân bằng và sự khác biệt của cộng đồng vi sinh vật trong môi trường [23, 24]. Sự biến động của các chỉ số này không chỉ cho thấy tình trạng môi trường mà còn có mối liên hệ mật thiết với sức khỏe và khả năng đề kháng của vật nuôi. Do đó, việc phân tích cấu trúc và các chỉ số đa dạng vi sinh vật trong môi trường nước là cơ sở để xây dựng các chiến lược quản lý ao nuôi tôm thẻ chân trắng bền vững. Tuy nhiên, đến nay vẫn thiếu những nghiên cứu chi tiết về sự thay đổi cấu trúc và đa dạng hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm ở từng giai đoạn phát triển, đặc biệt trong điều kiện ứng dụng NB-O_3.

Nghiên cứu này đánh giá tác động của NB-O_3 đến hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng qua các giai đoạn nuôi. Kết quả phân tích thành phần, cấu trúc và chức năng vi sinh vật cung cấp bằng chứng khoa học về cơ chế ảnh hưởng của NB-O_3, đồng thời định hướng giải pháp cải thiện môi trường, kiểm soát dịch bệnh và phát triển bền vững ngành nuôi tôm

2. Phương pháp nghiên cứu

2.1. Thiết kế thí nghiệm

Thí nghiệm được thiết kế theo nghiên cứu của P.T. Binh và cs (2025) [10], bao gồm 2 nhóm nghiệm thức: (1) Nghiệm thức xử lý NB-O_3 và (2) Nghiệm thức đối chứng - nuôi bổ sung sục khí thông thường, mỗi nghiệm thức được lặp lại 3 lần. Tôm thẻ chân trắng (*P. vannamei*) được lấy từ trại sản xuất giống của Công ty Cổ phần Ninh Thuận, vận chuyển về địa điểm thí nghiệm và tiến hành thuần dưỡng ở các bể nuôi trong vòng 15 ngày trước khi bố trí thí nghiệm. Trọng lượng trung bình của tôm ở thời điểm bắt đầu thí nghiệm là 0,124±0,029 g. Tôm được ngừng cho ăn 1 ngày trước khi phân chia vào các bể thí nghiệm.

Mật độ nuôi ở mỗi bể thí nghiệm là 350 tôm/m^3. Tất cả các bể thí nghiệm ở hai nghiệm thức được vận hành trong điều kiện đồng nhất bao gồm: sục khí liên tục 24h/ngày, cho ăn 6 lần/ngày ở các thời điểm 6:00, 9:00, 12:00, 15:00, 18:00 và 21:00 bằng thức ăn công nghiệp có độ đạm 35-40% (De Heus, Việt Nam).

Ở các bể của nghiệm thức có sử dụng NB-O_3, hệ thống xử lý NB-O_3 được vận hành trong thời gian 60 phút để đạt nồng độ ozone trong nước là 0,3 mg/l, đo bằng máy ozone (DOZ-30, Dino Purification Co., Ltd., Trung Quốc). Độ mặn trong các bể thí nghiệm được kiểm tra lại sau mỗi lần thay hoặc bổ sung nước bằng khúc xạ kế Atago, model PAL-06S (Atago, Trung Quốc) và được duy trì ở mức 15‰ trong suốt quá trình thí nghiệm.

Các thông số nhiệt độ, DO, pH, ORP được theo dõi hàng ngày bằng máy đo Pro 1020 (YSI, Mỹ). Trong đó, giá trị DO, pH, ORP trong các bể thí nghiệm ở nghiệm thức xử lý bằng NB-O_3 lần lượt là 20,41±1,82, 7,41-8,04 và 12,64±0,73°C, trong các bể đối chứng lần lượt là 20,44±1,53°C, 7,66-8,05 và 168,36±9,69 mV.

2.2. Thu mẫu và xử lý

500 ml nước được thu từ các bể thí nghiệm ngay sau khi bổ sung NB-O_3 đối với nghiệm thức xử lý ở các mốc thời gian ngày 1, 60 và 84. Mẫu nước sau khi thu được bảo quản lạnh ở nhiệt độ 3-5°C và chuyển về phòng thí nghiệm. Tại đây, các mẫu được lọc qua màng lọc vô trùng có đường kính lỗ lọc là 0,2 µm (Millipore Membrane Filter, Merck Millipore Ltd., Đức).

2.3. Phân tích mẫu

Các màng lọc được thu thập ở trên được cắt nhỏ và cho vào ống Eppendorf tiệt trùng dung tích 2,0 ml. Một mililit (1,0 ml) dung dịch đệm TE (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA-2Na) được thêm vào và lắc đều bằng máy vortex. Sau đó, ống được ly tâm ở 10.000 g, 4ºC trong 10 phút và phần dung dịch nổi phía trên được loại bỏ. Các ống mẫu sau đó được tách chiết bằng kít Qiagen DNeasy PowerSoil Kit (Qiagen, Đức) theo hướng dẫn của nhà sản xuất. DNA đã được tách chiết, sau đó được khuếch đại vùng V1-V9 của gen 16S rRNA và giải trình tự trên nền tảng Illumina MiSeq sử dụng chế độ đọc cặp đầu 2×150 tại Công ty KTest (TP. Hồ Chí Minh, Việt Nam).

Phân tích dữ liệu trình tự gen: Các tệp thô chứa dữ liệu basecall (bcl) được giải multiplex bằng phần mềm bcl2fastq, cho phép tối đa một sai lệch trong trình tự mã vạch kép. Adapter, mồi (primers) và các trình tự chất lượng thấp được loại bỏ khỏi dữ liệu đọc thô bằng Trimmomatic (v.0.39) và Cutadapt (v.2.10), với điểm chất lượng tối thiểu là 20 và độ dài tối thiểu là 100 bp. Các tệp fastq sau xử lý tiếp tục được xử lý bằng quy trình QIIME2-DADA2 (v.2021.11). Các trình tự đọc được nhóm và xử lý trùng lặp thành các biến thể trình tự amplicon (ASV). Các trình tự chimeric cũng được loại bỏ bằng quy trình QIIME2-DADA2. Việc gán phân loại được thực hiện bằng phương pháp classify-consensus-blast của QIIME2, đối chiếu với cơ sở dữ liệu tham chiếu SILVA SSURef phiên bản 138 với độ tương đồng trình tự 99%.

Phân tích đa dạng alpha được thực hiện trong QIIME2 bằng script alpha-rarefaction trên cơ sở dữ liệu Amplicon Sequence Variant (ASV). Ba chỉ số được dùng bao gồm Observed features, Shannon, Pielou evenness.

- Observed features (Observed ASVs): Số lượng ASV được phát hiện trong mỗi mẫu, phản ánh độ phong phú loài (richness) mà không tính đến sự đồng đều [25].

- Chỉ số Shannon (Shannon diversity index, H): Chỉ số này phản ánh cả độ phong phú và sự đồng đều trong phân bố của các ASV, được tính theo công thức sau [26]:

$$H = -\sum_{i=1}^{S} pi \ln(pi)$$

trong đó: S: tổng số ASV được quan sát trong mẫu; p_i: tần suất tương đối của ASV thứ i trong tổng số trình tự của mẫu. Chỉ số Shannon càng lớn, cộng đồng vi sinh vật càng đa dạng và cân bằng.

- Chỉ số đồng đều Pielou (Pielou's evenness, J): Đo lường mức độ phân bố đồng đều của các ASV, được tính theo công thức sau [27]:

$$J = \frac{\mathrm{H}}{\ln(S)}$$

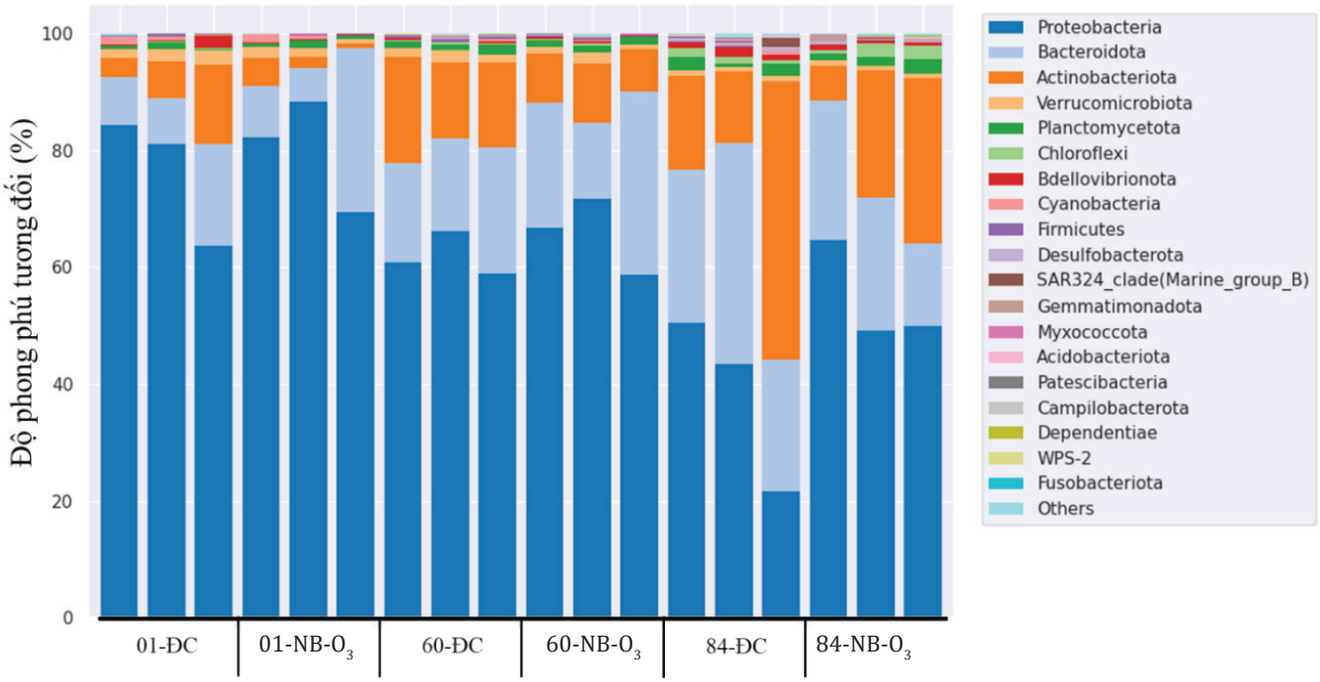
trong đó: H: chỉ số Shannon; S: số ASV quan sát được. Giá trị J dao động từ 0 đến 1; càng gần 1 thì cộng đồng càng đồng đều.

Phân tích đa dạng beta (PCoA) dựa trên phương pháp UniFrac được thực hiện bằng script beta diversity trong QIIME2 nhằm đánh giá sự khác biệt về cấu trúc cộng đồng vi sinh vật giữa các mẫu. Phân tích phương sai đa biến theo hoán vị (PERMANOVA) được thực hiện dựa trên độ không đồng nhất Bray-Curtis và khoảng cách Jaccard với 999 phép hoán vị để xác định mức độ ý nghĩa thống kê.

3. Kết quả

3.1. Biến đổi cấu trúc hệ vi sinh trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng theo thời gian

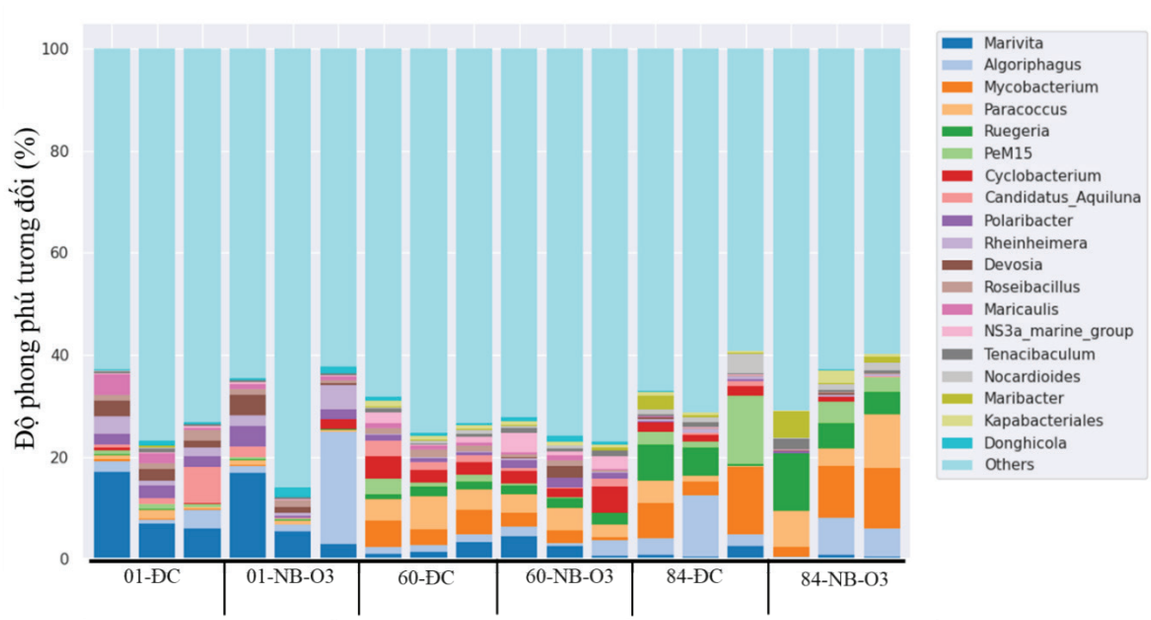
Ở mức độ phân loại ngành, Proteobacteria, Bacteroidota và Actinobacteriota là ba ngành chiếm ưu thế trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng ở cả hai nhóm đối chứng và NB-O_3, lần lượt là 21,6-88,3, 5,9-37,8 và 0,8-47,7%. Ngoài ra, các ngành như Verrucomicrobiota, Planctomycetota, Chloroflexi, Bdellovibrionota, Cyanobacteria, Firmicutes, Desulfobacterota, SAR324_clade, Gemmatimonadota, Myxococcota, Acidobacteriota, Patescbacteria, Campylobaterota, Dependentiae, WSP-2, Fusobacteriota có tỷ lệ hiện diện thấp hơn trong thành phần loài vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng (hình 1). Theo thời gian nuôi, tỷ lệ các ngành vi sinh vật trong nước có sự biến đổi đáng kể. Ngành Proteobacteria có xu hướng giảm dần trong các bể thí nghiệm NB-O_3 vào các ngày 1, 60 và 84, với tỷ lệ trung bình lần lượt là 80, 65,8 và 54,6%, cao hơn so với các bể đối chứng, tương ứng là 76,4, 62 và 38,5%. Ngành Actinobacteriota có xu hướng tăng theo thời gian ở cả hai nghiệm thức đối chứng và NB-O_3. Cụ thể, tỷ lệ trong các bể đối chứng lần lượt là 7,7, 15,2 và 25,3%, trong khi ở bể NB-O_3, tỷ lệ này là 2,5, 8,6 và 18,7%. Ngành Bacteroidota cũng cho



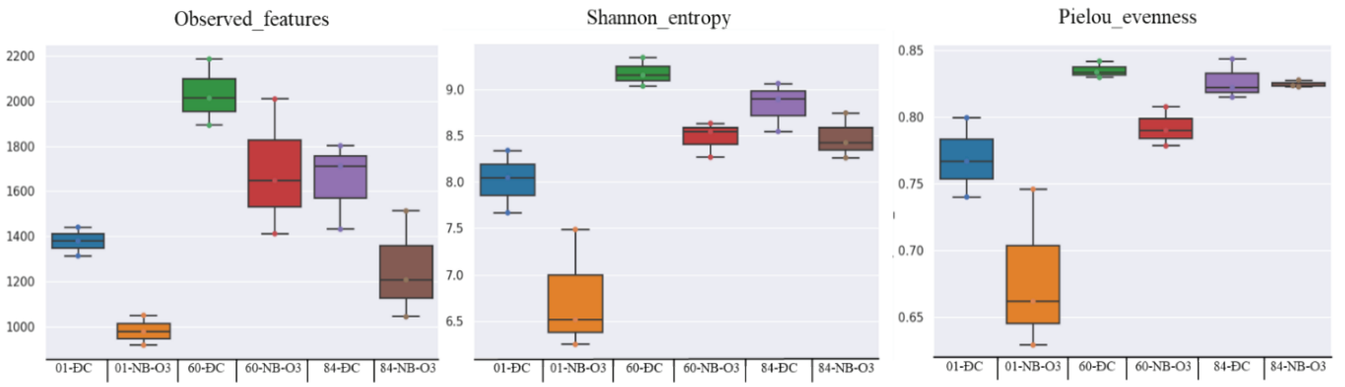
Hình 1. Thành phần vi sinh vật trong mẫu nước nuôi tôm thẻ chân trắng ở mức phân loại ngành. ĐC: đối chứng; 1, 60, 84: ngày thu mẫu.

thấy xu hướng tăng dần trong bể đối chứng, với tỷ lệ lần lượt là 1,2, 18,2 và 28,9%. Tuy nhiên, trong nghiệm thức NB-O_3, tỷ lệ này tăng từ 14,2 lên 21,9% trong giai đoạn từ ngày 1 đến 60, sau đó giảm nhẹ xuống 20,2% vào ngày 84. Kết quả phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ ngành Actinobacteriota ở giai đoạn nuôi ngày 60 và Desolfobacterota ở giai đoạn nuôi ngày 84 trong nghiệm thức đối chứng cao hơn so với trong nghiệm thức NB-O_3 ($p<0,05$).

Cấu trúc hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng ở mức phân loại chi thể hiện ở hình 2. Chi Marivita chiếm ưu thế trong cả hai nghiệm thức, với tỷ lệ ban đầu là 10% ở bể đối chứng và 8,4% ở bể NB-O_3, nhưng giảm dần theo thời gian. Ở bể đối chứng, tỷ lệ này giảm còn 1,9% vào ngày 60 và 1,3% vào ngày 84, trong khi ở bể NB-O_3, tỷ lệ giảm xuống 2,5% vào ngày 60 và 0,4% vào



Hình 2. Thành phần hệ vi sinh vật trong mẫu nước nuôi tôm thẻ chân trắng ở mức phân loại chi. ĐC: đối chứng; 1, 60, 84: ngày thu mẫu.



Hình 3. Chỉ số đa dạng alpha giữa các nhóm mẫu. C: đối chứng; 1, 60, 84: ngày thu mẫu (n=3).

ngày 84. Ngược lại, các chi Mycobacterium, Ruegeria và Paracoccus có xu hướng tăng dần theo thời gian, đặc biệt trong nghiệm thức NB-O_3. Cụ thể, Mycobacterium có tỷ lệ lần lượt là 0,1, 1,9 và 8%, Ruegeria tăng từ 0,1 lên 2% và đạt 6,9% vào ngày 84, Paracoccus cũng tăng dần với tỷ lệ 0,7, 3,4 và 7% theo các mốc thời gian thu mẫu.

Bảng 1. Kết quả kiểm định PERMANOVA so sánh đa dạng beta giữa các nhóm mẫu.

(A) Bray-Curtis		Sample size	Permutations	pseudo-F	p-value	q-value
Nhóm 1	*Nhóm 2*					
C1	C2	6	999	9.149	0.117	0.135
C1	C3	6	999	6.003	0.093	0.135
C 2	C3	6	999	5.685	0.101	0.135
T1	T2	6	999	5.688	0.105	0.135
T1	T 3	6	999	5.153	0.092	0.135
T2	T3	6	999	4.965	0.097	0.135
C1	T1	6	999	1.042	0.413	0.443
C2	T2	6	999	1.367	0.106	0.135
C3	T3	6	999	0.962	0.616	0.616
(B) Jaccard		**Sample size**	**Permutations**	**pseudo-F**	**p-value**	**q-value**
Nhóm 1	*Nhóm 2*					
C1	C2	6	999	4.773	0.103	0.132
C1	C3	6	999	3.737	0.105	0.132
C 2	C3	6	999	3.623	0.110	0.132
T1	T2	6	999	4.619	0.102	0.121
T1	T 3	6	999	3.719	0.105	0.121
T2	T3	6	999	3.436	0.103	0.121
C1	T1	6	999	1.345	0.098	0.132
C2	T2	6	999	1.297	0.099	0.132
C3	T3	6	999	1.039	0.208	0.208

A: dựa trên Bray-Curtis dissimilarity; B: dựa trên Jaccard distance; C: đối chứng; T: nghiệm thức ozone nanobubble; 1, 2, 3: ngày thu mẫu (1, 60, 84).

3.2. Chỉ số đa dạng alpha của hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng

Chỉ số đa dạng alpha của hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng được trình bày ở hình 3. Chỉ số Observed features trong các bể NB-O_3 có giá trị dao động 919-1255 và có xu hướng tăng từ ngày 1 đến 60, sau đó giảm vào ngày 84. Trong khi ở các bể đối chứng giá trị Observed features dao động 1314-2185. Có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê giữa ngày 1 và 60 ở cả bể đối chứng và bể xử lý NB-O_3 ($p<0,05$).

Chỉ số Shannon entropy có xu hướng tăng dần từ ngày 1 đến 60 và duy trì ổn định từ ngày 60 đến 84. Kết quả phân tích cho thấy, có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về Shannon entropy giữa ngày 1 và 60, cũng như giữa ngày 1 và 84 ở cả hai nghiệm thức ($p<0,05$). Chỉ số Pielou evenness trong các bể NB-O_3 có xu hướng tăng dần qua các thời điểm thu mẫu (ngày 1, 60 và 84). Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê được ghi nhận giữa ngày 1 và 60, cũng như giữa ngày 60 và 84 ($p<0,05$).

3.3. Chỉ số đa dạng beta của hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng

Kết quả kiểm định PERMANOVA được sử dụng để so sánh các chỉ số đa dạng beta giữa hai nhóm, được tính toán bằng hai phương pháp: (A) độ bất đồng nhất Bray-Curtis và (B) khoảng cách Jaccard (bảng 1). Không có sự khác biệt có ý nghĩa thống kê về chỉ số đa dạng beta giữa nhóm đối chứng và nhóm xử lý NB-O_3 tại các thời điểm thu mẫu ($p>0,05$).

4. Bàn luận

Hệ vi sinh vật trong nước đóng vai trò quan trọng đối với nuôi trồng thủy sản [28]. Hiểu rõ sự biến động và cấu trúc hệ vi sinh vật trong nước là nền tảng để đưa ra các biện pháp kiểm soát vi sinh hiệu quả và đảm bảo môi trường nuôi ổn định. Điều này không chỉ giúp xác định chế độ giám sát tối ưu mà còn góp phần ổn định môi trường nước, nâng cao hiệu quả quản lý và cải thiện năng suất nuôi trồng [29]. Theo hiểu biết của chúng tôi, đây là nghiên cứu đầu tiên báo cáo kết quả biến đổi cấu trúc thành phần hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng trong suốt 1 chu kỳ nuôi khi xử lý bằng NB-O_3. Hệ vi sinh vật được phân tích qua các giai đoạn phát triển khác nhau của tôm, bao gồm ngày 1, 60 và 84 trong chu kỳ nuôi. Ở mức độ phân loại ngành, Proteobacteria, Bacteroidota và Actinobacteriota là các ngành vi sinh vật chiếm ưu thế trong cả hai nhóm nghiệm thức đối chứng và NB-O_3 ở cả 3 giai đoạn nuôi, kết quả này phù hợp với các nghiên cứu trước đây về hệ vi sinh vật trong hệ thống nuôi tôm thẻ chân trắng cũng như trong các hệ thống nuôi tuần hoàn khép kín khác [17, 18, 30-34].

Proteobacteria là nhóm vi khuẩn chiếm ưu thế trong cấu trúc hệ vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng, với tỷ lệ dao động từ 21,6 đến 88,3%. Nhóm này có vai trò quan trọng trong chu trình chuyển hóa nitơ và phân hủy chất hữu cơ, đặc biệt trong môi trường giàu dinh dưỡng như hệ thống nuôi thâm canh [35]. Trong suốt quá trình nuôi, tỷ lệ Proteobacteria có xu hướng giảm ở cả hai nghiệm thức, với mức giảm 34,6% trong nghiệm thức NB-O_3 và 36,9% ở đối chứng. Xu hướng này có thể phản ánh sự phát triển sinh trưởng của tôm cũng như tác động của NB-O_3 trong việc kiểm soát vi khuẩn, đặc biệt là *Vibrio* spp., một tác nhân gây bệnh nguy hiểm trên tôm [10, 11, 13, 14]. Ngược lại, Actinobacteriota có xu hướng gia tăng trong suốt thời gian nuôi. Trong nhóm đối chứng, tỷ lệ tăng từ 7,7 lên 25,3%, trong khi nghiệm thức NB-O_3 ghi nhận mức tăng từ 2,5 lên 18,7%. Actinobacteriota bao gồm nhiều loài vi sinh vật có lợi, tham gia phân hủy hợp chất hữu cơ và hỗ trợ kiểm soát hệ vi sinh vật gây bệnh, qua đó duy trì cân bằng hệ vi sinh vật và hạn chế mầm bệnh trong điều kiện tích lũy hữu cơ theo thời gian nuôi [36]. Sự suy giảm dưới tác động NB-O_3 có thể do tính oxy hóa mạnh và không chọn lọc của ozone, ảnh hưởng đồng thời đến vi khuẩn có lợi và cơ hội. Tuy nhiên, Actinobacteriota có khả năng thích ứng cao với biến động môi trường, trong đó có tác động oxy hóa của ozone [37]. Do đó, sự gia tăng Actinobacteriota ở cuối chu kỳ nuôi cho thấy khả năng phục hồi và linh hoạt của nhóm này, dù chịu ảnh hưởng của NB-O_3. Kết quả nghiên cứu trước đây cũng chỉ ra mối liên hệ giữa hệ vi sinh vật nước và hệ vi sinh vật đường ruột tôm [18]. Theo báo cáo của P.T. Binh và cs (2025) [10], xu hướng thay đổi tương tự được ghi nhận ở đường ruột: Proteobacteria giảm từ 72,3 (ngày 1) xuống 45,7% (ngày 84), trong khi Actinobacteriota tăng từ 13,8 lên 40,2%. Điều này cho thấy, sự biến đổi của hai ngành vi khuẩn chủ đạo trong nước nuôi phần nào phản ánh sự điều chỉnh cộng đồng vi sinh trong ruột tôm dưới tác động NB-O_3.

Sự thay đổi tỷ lệ Bacteroidota có sự khác biệt giữa hai nghiệm thức. Ở nhóm đối chứng, tỷ lệ tăng từ 1,2 lên 28,9%, trong khi nghiệm thức NB-O_3 ghi nhận sự ổn định, thậm chí giảm từ 21,9 xuống 20,2% ở giai đoạn cuối. Đây là nhóm vi khuẩn phân hủy polysaccharides từ chất thải và chất hữu cơ trong nước [38]. Sự gia tăng mạnh trong đối chứng có thể phản ánh tình trạng tích lũy hữu cơ, trong khi NB-O_3 góp phần hạn chế xu hướng này thông qua cơ chế oxy hóa, phân hủy chất hữu cơ, qua đó kìm hãm sự phát triển quá mức của Bacteroidota [11, 12, 14, 39, 40]. Một số ngành vi sinh vật khác như Verrucomicrobiota, Planctomycetota, Chloroflexi xuất hiện với tỷ lệ thấp (<5%), nhưng vẫn góp phần tạo nên sự đa dạng hệ vi sinh vật trong môi trường nước nuôi. Một số nhóm vi khuẩn như Firmicutes hoặc Cyanobacteria thường liên quan đến điều kiện yếm khí hoặc hiện tượng tảo nở hoa. Tuy nhiên, tỷ lệ thấp của chúng trong nghiên cứu này gợi ý rằng môi trường nuôi được quản lý tốt và ít chịu áp lực từ các yếu tố gây bất ổn. Phân tích thống kê cho thấy, tỷ lệ Desulfobacterota ở đối chứng cao hơn so với NB-O_3 ở giai đoạn ngày 84 ($p<0,05$). Đây là nhóm vi khuẩn khử sulfate sinh khí độc H_2S trong điều kiện yếm khí, gây nguy hại đến sức khỏe tôm và chất lượng nước [41]. Việc NB-O_3 duy trì tỷ lệ Desulfobacterota thấp hơn cho thấy hiệu quả trong việc hạn chế sự phát triển vi khuẩn sinh khí độc, cải thiện điều kiện oxy và giảm nguy cơ tích tụ H_2S. Tổng hợp những kết quả trên cho thấy, mặc dù NB-O_3 có thể làm giảm một phần vi sinh vật có lợi, tuy nhiên lại có tác dụng tích cực trong kiểm soát chi vi khuẩn yếm khí trong nước, nhất là ở giai đoạn cuối vụ nuôi, góp phần cải thiện an toàn sinh học và chất lượng môi trường nuôi.

Kết quả nghiên cứu về sự thay đổi thành phần của các chi vi sinh vật trong nước nuôi tôm khi sử dụng NB-O_3 phù hợp với một số xu hướng được ghi nhận trong các nghiên cứu trước đây về tác động của ozone trong thủy sản. Marivita là nhóm vi sinh vật phát triển mạnh

trong môi trường giàu dinh dưỡng, có khả năng hấp thụ và chuyển hóa các hợp chất vô cơ và hữu cơ trong nước [42-46]. Kết quả nghiên cứu tương đồng với báo cáo của I. Qiao và cs (2025) [47] khi cho thấy, Marivita là chi vi sinh vật chiếm ưu thế trong môi trường nước nuôi trồng thủy sản. Tuy nhiên, ở nghiên cứu này, sự suy giảm mạnh của chi Marivita (từ 8,4 xuống 0,4% ở NB-O_3) là do NB-O_3 tăng chỉ số ORP và DO trong nước, tăng khả năng oxy hóa các hợp chất hữu cơ từ đó hạn chế nguồn dinh dưỡng của nhóm vi sinh vật. Điều này cũng giải thích tại sao Mycobacterium, Ruegeria và Paracoccus, những chi có khả năng oxy hóa các hợp chất hữu cơ để lấy năng lượng, carbon và electron [48-52], thích nghi cao với môi trường oxy hóa cao và giàu oxy, lại tăng mạnh trong nghiệm thức NB-O_3. Đặc biệt, sự gia tăng của Ruegeria (6,9% ở ngày 84) có thể do vai trò của NB-O_3 trong việc kích thích nhóm vi khuẩn quang dưỡng, tham gia tích cực vào chu trình sulfur và cố định carbon, góp phần ổn định chất lượng nước. Tương tự, Paracoccus là chi vi khuẩn khử nitrate, tăng lên do lượng chất thải ngày càng tăng theo chu kỳ nuôi. NB-O_3 có khả năng kiểm soát vi khuẩn trong nước trong quá trình nuôi. Vi sinh vật trong nước cũng có khả năng thích nghi với NB-O_3 sau thời gian dài. Kết quả phân tích chỉ số đa dạng alpha chứng minh cho điều trên khi cho thấy xu hướng gia tăng của các chỉ số từ ngày 1 đến 60 và sau đó ổn định. Chỉ số Shannon entropy và Pielou evenness của nhóm NB-O_3 có xu hướng tăng dần qua các thời điểm thu mẫu, cho thấy sự đồng đều hơn trong phân bố vi khuẩn. Điều này phù hợp với nghiên cứu của Q. Huang và cs (2023) [53], trong đó NB-O_3 giúp cải thiện sự cân bằng hệ vi sinh vật.

Kết quả cho thấy, NB-O_3 dù có thể ảnh hưởng đến một số nhóm vi sinh vật có lợi, nhưng vẫn hiệu quả trong việc kiểm soát vi sinh vật có hại, duy trì đa dạng sinh học và góp phần cải thiện điều kiện nuôi. Bên cạnh những kết quả đạt được, nghiên cứu này vẫn tồn tại một số hạn chế. Thứ nhất, do chi phí phân tích của công nghệ giải trình tự thế hệ mới (NGS) còn cao nên số lượng mẫu được phân tích chưa nhiều, điều này có thể ảnh hưởng đến tính khái quát của kết quả. Thứ hai, việc sử dụng phương pháp giải trình tự NGS chỉ cho phép mô tả cấu trúc cộng đồng vi sinh ở các cấp phân loại cao (ngành, lớp, chi), trong khi nhiều trình tự chưa được định danh đến mức loài. Điều này là một hạn chế quan trọng bởi các loài trong cùng một chi có thể có đặc tính sinh thái và vai trò khác biệt. Do đó, trong các nghiên cứu tiếp theo, việc áp dụng kỹ thuật shotgun metagenomic sẽ cần được xem xét để cung cấp cái nhìn chi tiết hơn về thành phần, chức năng và tiềm năng sinh thái của cộng đồng vi sinh vật trong hệ thống nuôi tôm ứng dụng NB-O_3 [54]. Ngoài ra, việc vận hành hệ thống liên tục trong môi trường nước mặn - lợ đòi hỏi chi phí đáng kể, đặc biệt về điện năng và độ bền thiết bị. Do đó, cần xác định thời điểm áp dụng phù hợp nhằm tối ưu hóa hiệu quả kinh tế trong quá trình nuôi.

5. Kết luận

Nghiên cứu này cho thấy, cấu trúc cộng đồng vi sinh vật trong nước nuôi tôm thẻ chân trắng biến đổi theo thời gian và chịu ảnh hưởng rõ rệt từ công nghệ NB-O_3. Thành phần vi sinh vật trong nước nuôi có tỷ lệ cao bao gồm các ngành Proteobacteria, Actinobacteriota và Bacteroidota, trong đó Proteobacteria là nhóm chiếm ưu thế xuyên suốt quá trình nuôi. Ở cấp độ chi, các nhóm như Ruegeria và Paracoccus có tỷ lệ hiện diện đáng kể và gia tăng về cuối chu kỳ nuôi. NB-O_3 không làm thay đổi có ý nghĩa chỉ số đa dạng beta so với hệ thống sục khí thông thường nhưng đã tạo ra những biến động đáng kể về thành phần vi sinh. Cụ thể, NB-O_3 giúp kiểm soát nhóm vi khuẩn yếm khí sinh khí độc và tham gia phân giải chất hữu cơ như Desulfobacterota, đồng thời làm suy giảm một phần các nhóm vi khuẩn hiếu khí có lợi như Actinobacteriota, phản ánh tác động oxy hóa không chọn lọc của ozone. Đáng chú ý, sự gia tăng tỷ lệ các chi tiềm năng có lợi như Ruegeria và Paracoccus cho thấy NB-O_3 có thể góp phần tái cấu trúc cộng đồng vi sinh theo hướng có lợi cho môi trường nuôi.

LỜI CẢM ƠN

Nghiên cứu này được thực hiện với sự hỗ trợ tài chính từ Chính phủ Vương quốc Anh - Bộ Y tế và Chăm sóc Xã hội (DHSC), Quỹ Đổi mới Kháng kháng sinh Toàn cầu (GAMRIF) và Trung tâm Nghiên cứu Phát triển Quốc tế (IDRC), Ottawa, Canada. Tác giả Phan Trọng Bình được tài trợ bởi Chương trình học bổng đào tạo thạc sĩ, tiến sĩ trong nước của Quỹ Đổi mới sáng tạo Vingroup (VINIF), mã số VINIF.2023.TS.013. Các tác giả xin chân thành cảm ơn.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

[1] S. Hamilton (2013), "Assessing the role of commercial aquaculture in displacing mangrove forest", *Bulletin of Marine Science*, **89(2)**, pp.585-601, DOI: 10.5343/bms.2012.1069.

[2] V. Hatje, M.M. de Souza, L.F. Ribeiro, et al. (2016), "Detection of environmental impacts of shrimp farming through multiple lines of evidence", *Environmental Pollution*, **219**, pp.672-684, DOI: 10.1016/j.envpol.2016.06.056.

[3] T.Q. Huy, H.T. Giang, T.Q. Phu (2025), "Ammonia and nitrite excretion of whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in environment with different salinity levels", *CTU Journal of Science*, **61(4)**, pp.191-200, DOI: 10.22144/ctujos.2025.123 (in Vietnamese).

[4] F.P. Osuna (2001), "The environmental impact of shrimp aquaculture: A global perspective", *Environmental Pollution*, **112**, pp.229-231, DOI: 10.1016/S0269-7491(00)00111-1.

[5] S. Thitamadee, A. Prachumwat, J. Srisala, et al. (2016), "Review of current disease threats for cultivated penaeid shrimp in Asia", *Aquaculture*, **452**, pp.69-87, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2015.10.028.

[6] J. Hoigne, H. Bader (1978), "Ozonation of water: Kinetics of oxidation of ammonia by ozone and hydroxyl radicals", *Environmental Science & Technology*, **12**, pp.79-84, DOI: 10.1021/es60137a005.

[7] N.H. Nghia, N.T. Nguyen, P.T. Binh, et al. (2022a), "Effect of nanobubbles (oxygen, ozone) on the Pacific white shrimp (Penaeus vannamei), Vibrio parahaemolyticus and water quality under lab conditions", *Fisheries and Aquatic Science*, **25(8)**, pp.429-440, DOI: 10.47853/FAS.2022.e39.

[8] J. Schroeder, P. Croot, B.V. Dewitz, et al. (2011), "Potential and limitations of ozone for the removal of ammonia, nitrite, and yellow substances in marine recirculating aquaculture systems", *Aquacultural Engineering*, **45(1)**, pp.35-41, DOI: 10.1016/j.aquaeng.2011.06.001.

[9] A. Agarwal, W.J. Ng, Y. Liu (2011), "Principle and applications of microbubble and nanobubble technology for water treatment", *Chemosphere*, **84**, pp.1175-1180, DOI: 10.1016/j.chemosphere.2011.05.054.

[10] P.T. Binh, P.T. Van, N.H. Nghia, et al. (2025), "Impact of ozone nanobubble on water quality, gut microbiota, and growth performance of white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) in an intensive indoor farming system", *Energy Nexus*, **18**, DOI: 10.1016/j.nexus.2025.100450.

[11] K. Imaizumi, S. Tinwongger, H. Kondo, et al. (2018), "Disinfection of an EMS/AHPND strain of *Vibrio parahaemolyticus* using ozone nanobubbles", *Journal of Fish Diseases*, **41(4)**, pp.725-727, DOI: 10.1111/jfd.12783.

[12] C. Jhunkeaw, N. Khongcharoen, N. Rungrueng, et al. (2021), "Ozone nanobubble treatment in freshwater effectively reduced pathogenic fish bacteria and is safe for Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)", *Aquaculture*, **534**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2020.736286.

[13] N.H. Nghia, N.D. Binh, P.T. Giang, et al. (2022b), "Investigating water quality and disease in white leg shrimp (*Penaeus vannamei*) culture applying Nanobubble technology", *Vietnam Journal of Science and Technology - MOST*, **64(5)**, pp.58-64, DOI: 10.31276/VJST.64(5).58-64 (in Vietnamese).

[14] N.H. Nghia, P.T. Van, P.T. Giang, et al. (2021), "Control of *Vibrio parahaemolyticus* (AHPND strain) and improvement of water quality using nanobubble technology", *Aquaculture Research*, **52(6)**, pp.2727-2739, DOI: 10.1111/are.15124.

[15] T.L. Dien, N.V. Linh, P. Sangpo, et al. (2021), "Ozone nanobubble treatments improve survivability of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) challenged with a pathogenic multi-drug-resistant Aeromonas hydrophila", *Journal of Fish Diseases*, **44(9)**, pp.1435-1447, DOI: 10.1111/jfd.13451.

[16] V.T. Trang, P.T. Giang, V. Stejskal, et al. (2025), "Nanobubbles of oxygen and ozone are effective tools for pathogen treatment and for improving the survival rates of common carp larvae (*Cyprinus carpio*) - A case study", *Aquaculture*, **601**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2025.742292.

[17] L. Fan, Z. Wang, M. Chen, et al. (2019), "Microbiota comparison of Pacific white shrimp intestine and sediment at freshwater and marine cultured environment", *Science of The Total Environment*, **657**, pp.1194-1204, DOI: 10.1016/j.scitotenv.2018.12.069.

[18] F. Huang, L. Pan, M. Song, et al. (2018), "Microbiota assemblages of water, sediment, and intestine and their associations with environmental factors and shrimp physiological health", *Applied Microbiology and Biotechnology*, **102**, pp.8585-8598, DOI: 10.47853/FAS.2022.e39.

[19] D. Han, Z. Hu, D. Li, et al. (2022), "Nitrogen removal of water and sediment in grass carp aquaculture ponds by mixed nitrifying and denitrifying bacteria and its effects on bacterial community", *Water*, **14(12)**, DOI: 10.3390/w14121855.

[20] Z. Chen, J. Li, Q. Zhai, et al. (2024), "Nitrogen cycling process and application in different prawn culture modes", *Reviews in Aquaculture*, **16(3)**, pp.1580-1602, DOI: 10.1111/raq.12912.

[21] M.H. Khanjani, A. Mohammadi, M.G.C. Emerenciano (2022), "Microorganisms in biofloc aquaculture system", *Aquaculture Reports*, **26(1)**, DOI: 10.1016/j.aqrep.2022.101300.

[22] J. Bauer, F. Teitge, L. Neffe, et al. (2021), "Impact of a reduced water salinity on the composition of *Vibrio* spp. in recirculating aquaculture systems for Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) and its possible risks for shrimp health and food safety", *Journal of Fish Diseases*, **44**, pp.89-105, DOI: 10.1111/jfd.13270.

[23] C.A. Lozupone, M. Hamady, S.T. Kelley, et al. (2007), "Quantitative and qualitative β diversity measures lead to different insights into factors that structure microbial communities", *Applied and Environmental Microbiology*, **73(5)**, pp.1576-1585, DOI: 10.1128/AEM.01996-06.

[24] C.A. Lozupone, R. Knight (2008), "Species divergence and the measurement of microbial diversity", *FEMS Microbiology Reviews*, **32(4)**, pp.557-578, DOI: 10.1111/j.1574-6976.2008.00111.x.

[25] A.K. Thukral (2017), "A review on measurement of Alpha diversity in biology", *Agricultural Research Journal*, **54(1)**, DOI: 10.5958/2395-146X.2017.00001.1.

[26] C.E. Shannon (1948), "A mathematical theory of communication", *The Bell System Technical Journal*, **27(3)**, pp.379-423, DOI: 10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x.

[27] E.C. Pielou (1966), "The measurement of diversity in different types of biological collections", *Journal of Theoretical Biology*, **13**, pp.131-144, DOI: 10.1016/0022-5193(66)90013-0.

[28] D. Hu, L. Wang, R. Zhao, et al. (2022), "Core microbiome involved in nitrite removal in shrimp culture ponds", *Aquaculture Research*, **53**, pp.1663-1675, DOI: 10.1111/are.15698.

[29] J. Heyse, R. Props, P. Kongnuan, et al. (2021), "Rearing water microbiomes in white leg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) larviculture assemble stochastically and are influenced by the microbiomes of live feed products", *Environmental Microbiology*, **23(1)**, pp.281-298, DOI: 10.1111/1462-2920.15310.

[30] S.W. Dahle (2022), *Microbial Community Dynamics in Water and Biofilm of Recirculating Aquaculture Systems,* Doctoral Theses, Norwegian Research Information Repository.

[31] Z. He, L. Pan, M. Zhang, et al. (2020), "Metagenomic comparison of structure and function of microbial community between water, effluent and shrimp intestine of higher place *Litopenaeus vannamei* ponds", *Journal of Applied Microbiology*, **129(2)**, pp.243-255, DOI: 10.1111/jam.14610.

[32] Z. Huang, X. Li, L. Wang, et al. (2016), "Changes in the intestinal bacterial community during the growth of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*", *Aquaculture Research*, **47(26)**, pp.1737-1746, DOI: 10.1111/are.12628.

[33] S. Moschos, K.A. Kormas, H. Karayanni (2022), "Prokaryotic diversity in marine and freshwater recirculating aquaculture systems", *Reviews in Aquaculture*, **14(24)**, pp.1861-1886, DOI: 10.1111/raq.12677.

[34] H. Zhang, Z. Sun, B. Liu, et al. (2016), "Dynamic changes of microbial communities in *Litopenaeus vannamei* cultures and the effects of environmental factors", *Aquaculture*, **455**, pp.97-108, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2016.01.011.

[35] Q. Liu, X. Lei, J. Li, et al. (2023), "Microbial communities and nitrogen cycling in *Litopenaeus vannamei* and Mercenaria mercenaria polyculture ponds", *Aquaculture Reports*, **33**, DOI: 10.1016/j.aqrep.2023.101769.

[36] G. James, P.P. Geetha, S.T. Puthiyedathu, et al. (2023), "Applications of Actinobacteria in aquaculture: Prospects and challenges", *3 Biotech*, **13(2)**, DOI: 10.1007/s13205-023-03465-7.

[37] F. Haesler, A. Hagn, M. Engel, et al. (2014), "Impact of elevated atmospheric O3 on the actinobacterial community structure and function in the rhizosphere of European beech (*Fagus sylvatica* L.)", *Frontiers in Microbiology*, **5**, DOI: 10.3389/fmicb.2014.00036.

[38] L.S. McKee, S.L.L. Rosa, B. Westereng, et al. (2021), "Polysaccharide degradation by the Bacteroidetes: Mechanisms and nomenclature", *Environmental Microbiology Reports*, **13(5)**, pp.559-581, DOI: 10.1111/1758-2229.12980.

[39] C. Good, J. Davidson, C. Welsh, et al. (2011), "The effects of ozonation on performance, health and welfare of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* in low-exchange water recirculation aquaculture systems", *Aquacultural Engineering*, **44(3)**, pp.97-102, DOI: 10.1016/j.aquaeng.2011.04.003.

[40] A. Spiliotopoulou, P.R. Tirado, R.K. Chhetri, et al. (2018), "Ozonation control and effects of ozone on water quality in recirculating aquaculture systems", *Water Research*, **133**, pp.289-298, DOI: 10.1016/j.watres.2018.01.032.

[41] A.N. Tiet, F.P. Sánchez, S. Bertilsson, et al. (2025), "Identifying bacteria responsible for non-sulphate-based hydrogen sulphide production in aquaculture", *Environmental Microbiology*, **27(1)**, DOI: 10.1111/1462-2920.70024.

[42] C.P.B. Mesquita, J. Zhou, S. Theroux, et al. (2022), "Methylphosphonate degradation and salt-tolerance genes of two novel halophilic marivita metagenome-assembled genomes from unrestored solar salterns", *Genes*, **13(1)**, DOI: 10.3390/genes13010148.

[43] C.Y. Hwang, G.D. Bae, W. Yih, et al. (2009), "Marivita cryptomonadis gen. nov., sp. nov. and *Marivita litorea* sp. nov., of the family Rhodobacteraceae, isolated from marine habitats", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **59(7)**, pp.1568-1575, DOI: 10.1099/ijs.0.005462-0.

[44] M. Rajeev, J.C. Cho (2024), "Rhodobacteraceae are prevalent and ecologically crucial bacterial members in marine biofloc aquaculture", *Journal of Microbiology*, **62(11)**, DOI: 10.1007/s12275-024-00187-0.

[45] X. Wei, F. Shi, Z. Chen, et al. (2023), "Response of bacterial communities (Marivita, Marinobacter, and Oceanicaulis) in the phycosphere to the growth of *Phaeodactylum tricornutum* in different inorganic nitrogen sources", *Frontiers in Marine Science*, **10**, DOI: 10.3389/fmars.2023.1086166.

[46] Q. Zheng, J. Lu, Y. Wang, et al. (2019), "Genomic reconstructions and potential metabolic strategies of generalist and specialist heterotrophic bacteria associated with an estuary Synechococcus culture", *FEMS Microbiology Ecology*, **95(3)**, DOI: 10.1093/femsec/fiz017.

[47] L. Qiao, J. Bao, T. Li, et al. (2025), "Microbial community structure and its driving factors in the whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) aquaculture system", *Applied Ecology and Environmental Research*, **23(1)**, pp.671-686, DOI: 10.15666/aeer/2301_671686.

[48] Y. Fu, Q. Li, K. Liu, et al. (2011), "*Paracoccus oceanense* sp. nov., isolated from the West Pacific", *Current Microbiology*, **63(6)**, pp.561-567, DOI: 10.1007/s00284-011-0015-1.

[49] J. Lee, S.W. Roh, T.W. Whon, et al. (2011), "Genome sequence of strain TW15, a novel member of the genus Ruegeria, belonging to the marine Roseobacter clade", *J. Bacteriol.*, **193(13)**, DOI: 10.1128/jb.05067-11.

[50] J.H. Lee, Y.S. Kim, T.J. Choi, et al. (2004), "*Paracoccus haeundaensis* sp. nov., a gram-negative, halophilic, astaxanthin-producing bacterium", *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, **54(5),** pp.1699-1702, DOI: 10.1099/ijs.0.63146-0.

[51] M.A. Moran, R. Belas, M. Schell, et al. (2007), "Ecological genomics of marine Roseobacters", *Applied and Environmental Microbiology*, **73(14)**, pp.4559-4569, DOI: 10.1128/AEM.02580-06.

[52] Q. Zheng, Y. Wang, C. Chen, et al. (2011), "*Paracoccus beibuensis* sp. nov., isolated from the South China Sea", *Current Microbiology*, **62(2)**, pp.710-714, DOI: 10.1007/s00284-010-9768-1.

[53] Q. Huang, P.H. Ng, A.R.P. Marques, et al. (2023), "Effect of ozone nanobubbles on the microbial ecology of pond water and safety for jade perch (*Scortum barcoo*)", *Aquaculture*, **576**, DOI: 10.1016/j.aquaculture.2023.739866.

[54] F. Durazzi, C. Sala, G. Castellani, et al. (2021), "Comparison between 16S rRNA and shotgun sequencing data for the taxonomic characterization of the gut microbiota", *Scientific Reports*, **11(1)**, DOI: 10.1038/s41598-021-82726-y.