

# 刺参龙须菜混养系统中细菌数量与群落组成

高菲<sup>1</sup> 孙慧玲<sup>1\*</sup> 王肖君<sup>1</sup> 谭杰<sup>1</sup> 燕敬平<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 以刺参龙须菜混合养殖生态系统为研究对象,研究了系统中细菌数量的变化规律,沉积物中细菌群落结构和多样性的变化。结果表明,实验期间,刺参单养组及不同配比的刺参龙须菜混养组,围隔内底层水体中细菌数量均呈增高趋势,细菌数量在  $2.14 \times 10^6 \sim 4.27 \times 10^6$  cells/ml 之间。不同刺参龙须菜配比的养殖系统内沉积物中的细菌数量在  $1.55 \times 10^8 \sim 3.39 \times 10^8$  cells/gdw 之间,比水体中的细菌数量高两个数量级。DGGE 图谱的 UPGMA 树状结构聚类分析图表明,不同取样时间(6月17日、7月7日)的沉积物细菌组成差异较大。系统发育分析表明,刺参龙须菜混养围隔内沉积物的优势细菌主要归属于拟杆菌纲(Bacteroidetes)、 $\gamma$ -变形菌纲( $\gamma$ -proteobacteria)、 $\delta$ -变形菌纲( $\delta$ -proteobacteria)和  $\alpha$ -变形菌纲( $\alpha$ -proteobacteria)。

**关键词** 刺参 龙须菜 细菌 混养

中图分类号 S968.9 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2012)04-0089-10

## The amount and community composition of bacteria in the co-culture system of *Apostichopus japonicus* and *Gracilaria lemaneiformis*

GAO Fei<sup>1</sup> SUN Hui-ling<sup>1\*</sup> WANG Xiao-jun<sup>1</sup>

TAN Jie<sup>1</sup> YAN Jing-ping<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** The variation of amount and community composition of bacteria in the sea water and sediments of monoculture (*Apostichopus japonicus*) and co-culture systems (*A. japonicus* co-cultured with *Gracilaria lemaneiformis*) were evaluated. The total numbers of bacteria ( $2.14 \times 10^6 \sim 4.27 \times 10^6$  cells/ml) in the bottom water of the monoculture and co-culture systems increased during the period of the experiment. The bacteria numbers in the surface sediments ranged from  $1.55 \times 10^8$  to  $3.39 \times 10^8$  cells/gdw in the systems, which were much higher than those in the bottom sea water. UPMGA cluster analysis of DGGE fingerprint from sediments revealed the bacterial community in the same sampling date had higher similarity than those in different sampling dates. Phylogenetic analysis showed that the dominant bacteria of

国家自然科学基金青年基金(41106145)、国家科技支撑计划项目(2011BAD13B02)、国家 863 计划(2012AA10A412)、中国博士后科学基金(20090451355)和山东省博士后创新资金项目(200902007)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: sunhl@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85819199

收稿日期:2011-08-25;接受日期:2012-02-21

作者简介:高菲(1981-),女,博士,助理研究员,主要从事养殖生态学研究。E-mail:gaofei@ysfri.ac.cn, Tel: (0532)85803375

the sediment in the monoculture and co-culture systems belong to  $\alpha$ -proteobacteria,  $\gamma$ -proteobacteria,  $\delta$ -proteobacteria and bacteroidetes.

**KEY WORDS** *Apostichopus japonicus* *Gracilaria lemaneiformis*  
Bacteria Co-culture

大型藻类与养殖动物具有生态上的互补性,大型藻类能吸收养殖动物释放到水体中多余的营养盐,转化为具有较高经济价值的产品,同时大型藻类能固碳、产生氧气,调节水体的 pH 值,从而达到对养殖环境的生物修复和生态调控作用。现已发展了大型藻类与鱼(Vandemeulen *et al.* 1990; Neori *et al.* 1991; Chopin *et al.* 1999)、虾(王吉桥等 2001;Marinho-Soriano *et al.* 2002)、贝类(Evans *et al.* 2000; Demetropoulos *et al.* 2004)和大型藻类与几种生物(Neori *et al.* 2000; Chow *et al.* 2001)混养的多种综合养殖模式。

龙须菜 *Gracilaria lemaneiformis* 能有效吸收和去除栉孔扇贝 *Chlamys farreri*、文蛤 *Meretrix eretrix* 和黑鲷 *Sebastes fuscus* 等的排泄物,可以作为生物过滤器与养殖动物进行综合养殖,随着龙须菜的收获,降低水体的营养负荷,同时提高养殖的经济效益和生态效益(胡海燕等 2003;毛玉泽等 2006;孙伟等 2006)。

微生物是养殖生态系统的重要组成部分,在养殖生态系统的物质循环和能量流动中发挥着巨大作用(郑天凌等 1994)。尽管国内外对不同尺度的多元综合养殖生态系统中养殖生物的生长特性、营养盐排泄和吸收效率、系统输出和经济效益评估等有很多报道,但对微生物在不同养殖模式下的数量、群落结构的变化等研究较少。

我国的刺参增殖养殖业发展迅速,现已成为我国海水养殖单一经济总量最大的养殖品种。然而,长期以来刺参以单养模式为主,既不利于充分利用水体空间和饵料资源,也不利于保持养殖系统的稳定。本研究以刺参龙须菜混合养殖生态系统为研究对象,研究了养殖系统水体和沉积物中细菌数量的变化规律、沉积物中细菌群落结构和多样性的变化,获得了养殖环境中微生物群落结构的初步研究结果,可为探讨刺参龙须菜多元养殖系统中的微生物动力学提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

实验于 2010 年 5 月 19 日~7 月 7 日在山东省乳山市刺参养殖池内进行。围隔用帆布制作,用木桩固定在养殖池中,面积为 2.25 m<sup>2</sup>,实验期间水深 1.1~1.3 m。每个围隔内放置 4 个波纹板框架。实验刺参初始重量为 8.01±0.01g,龙须菜从福建莆田购买,空运至养殖池,暂养 7d 后夹苗。

实验共设 3 个处理,每个处理设 3 个平行。每个围隔内刺参均为 45 头,龙须菜分为 3 个初始密度:0、180、360 g/m<sup>2</sup>。

### 1.2 样品采集

用自制采水器从每个围隔底部采集海水,加入终浓度为 2% 的无菌甲醛固定,冷藏带回实验室,冷藏保存并于 48 h 内用荧光显微镜观察计数细菌数量。

用药匙从波纹板上刮取沉积物于灭菌冻存管中。现场从所取的沉积物中称取 0.5 g 于另一冻存管中用于细菌数量测定,记号笔编号后在冻存管中加 5 ml 无菌水,混匀后加终浓度为 5% 的甲醛,冷藏带回实验室。其余沉积物样品用于细菌多样性分析。

实验期间水温为 17.2~30.1 ℃,盐度在 31.96~32.86 之间,pH 值变化范围为 7.09~8.51。水温、盐度和 pH 值等指标使用美国 YSI-556 型水质分析仪现场测定。

### 1.3 水体细菌数量测定

养殖水体细菌数量测定采用吖啶橙荧光计数法。取5 ml 固定后水样加入1 ml(0.1%)吖啶橙染色3 min。取适量染色后样品,将细菌抽滤到孔径为0.22  $\mu\text{m}$ 的去荧光聚碳酸酯滤膜(Whatman)上,用荧光显微镜拍照计数,每个样品随机计数10个视野,每个视野细菌数在30~100个为宜(张喆 2008;李彬等 2010)。

### 1.4 沉积物细菌数量测定

表层沉积物细菌数量采用吖啶橙荧光计数法测定。将固定的样品离心(1 000 r/min, 10 min)后,取1 ml 上清液48 h内荧光观察计数。荧光计数方法同水体细菌计数方法。

### 1.5 沉积物 DNA 提取

取冷冻保存的围隔内沉积物样品,解冻后,10 000 g 离心3 min(4  $^{\circ}\text{C}$ ),弃上清液。搅匀后称取相同质量的泥样,用Epicentre土壤DNA提取试剂盒进行基因组总DNA的提取(高菲等 2010)。提取的DNA通过琼脂糖凝胶电泳(1.0%)检测。

### 1.6 细菌 16S rDNA V3 区 PCR 扩增

以提取的沉积物基因组DNA为模板,进行细菌16S rDNA V3区PCR扩增。细菌通用引物序列为:GC-341f(5'-CGC CCG CCG CGC GCG GCG GGC GGG GCG GGG GCA CGG GGG GCC TAC GGG AGG CAG CAG-3') (Muyzer *et al.* 1993)和907r(5'-CCG TCA ATTCMTTTGAG TTT-3') (Alawi *et al.* 2007)。PCR程序为:94  $^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min,然后94  $^{\circ}\text{C}$ 变性45 s,65  $^{\circ}\text{C}$ 退火45 s(每个循环降0.8  $^{\circ}\text{C}$ ,进行18个循环)(Touchdown PCR),72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸45 s,然后再进行12个循环:94  $^{\circ}\text{C}$  45s,55  $^{\circ}\text{C}$  45 s,72  $^{\circ}\text{C}$  45 s,最后72  $^{\circ}\text{C}$ 延伸10 min。扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳进行检测。

### 1.7 DGGE 凝胶电泳、条带切割、克隆与测序

取16S rDNA V3区PCR产物用Bio-Rad公司D-code System电泳仪进行DGGE电泳分离,电泳程序见高菲等(2010)。从DGGE凝胶上小心切下DGGE条带,用200  $\mu\text{l}$ 无菌水冲洗3次后,加入50  $\mu\text{l}$ 无菌水在4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜。12 000 g 离心5 min,收集上清液。以此作为模板,用引物341f(不含GC-clamp)、907r进行16S rDNA V3区PCR扩增。克隆与测序程序参考高菲等(2010)。

### 1.8 16S rDNA 序列分析

所得序列用BLAST程序进行同源性比对,获得与本研究所得序列相似性最高的序列。将这些序列与本研究获得的16S rDNA序列一起,使用CLUSTAL W工具进行多序列比对,然后使用MEGA中的Kimura双参数修正模型进行系统发育树的构建(Li *et al.* 2008)。

## 2 结果与分析

### 2.1 刺参和龙须菜的生长情况

刺参和龙须菜的生长情况见表1。龙须菜初始养殖密度为360  $\text{g}/\text{m}^2$ 的处理组,刺参的特定增长率最高,其次是龙须菜初始养殖密度为180  $\text{g}/\text{m}^2$ 的处理组,未混养龙须菜的围隔中的刺参特定增长率最低。而初始养殖密度为180  $\text{g}/\text{m}^2$ 处理组中龙须菜的特定增长率高于初始养殖密度为360  $\text{g}/\text{m}^2$ 的处理组。

### 2.2 混养系统底层水体细菌总数的变化

图1显示的是实验期间不同配比的刺参龙须菜混养系统底层水体的细菌总数的变化情况。实验过程中,

不同处理的混养系统中底层水体的细菌数量均呈增长趋势。实验结束时(7月7日)L0处理组的细菌总数显著高于初始值( $P < 0.05$ ),6月17日,L180处理组细菌数量显著高于初始值,而后细菌数量又下降,L360处理组的细菌数量在实验过程中持续增加,在实验结束时显著高于初始值( $P < 0.05$ )。

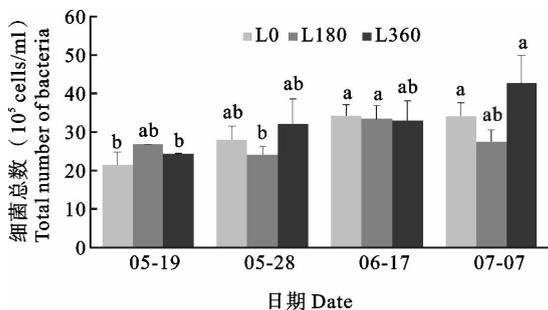
表1 刺参和龙须菜的生长情况

Table 1 The growth performance of *A. japonicus* and *G. lemaneiformis*

组别 Group	刺参 <i>A. japonicus</i>			龙须菜 <i>G. lemaneiformis</i>		
	初始平均湿重	终平均湿重	特定增长率	初始湿重	终湿重	特定增长率
	Initial wet weight(g)	Final wet weight(g)	SGR(%/d)	Initial wet weight(g)	Final wet weight(g)	SGR(%/d)
L0	8.01±0.02	18.62±1.29	0.99±0.08	/	/	/
L180	8.02±0.01	17.47±0.37	1.03±0.04	405.06±6.23	685.21±238.61	1.01±0.70
L360	8.01±0.01	18.63±2.49	1.17±0.13	810.26±8.94	1 242.08±102.75	0.89±0.18

### 2.3 混养系统沉积物细菌总数的变化

6月17日和7月7日不同配比的刺参龙须菜混养系统沉积物中的细菌数量见图2。6月17日L0、L180、L360处理组的细菌数量分别为 $3.39 \times 10^8$ 、 $1.55 \times 10^8$ 、 $1.56 \times 10^8$  cells/gdw,7月7日L0、L180、L360处理组的细菌数量分别为 $1.61 \times 10^8$ 、 $1.89 \times 10^8$ 、 $3.32 \times 10^8$  cells/gdw。



同一处理组的柱上相同字母表示差异不显著( $P > 0.05$ )

Note: In the same treatment the same letter within columns represents no significant difference ( $P > 0.05$ )

图1 刺参龙须菜混养系统底层水体细菌总数的变化

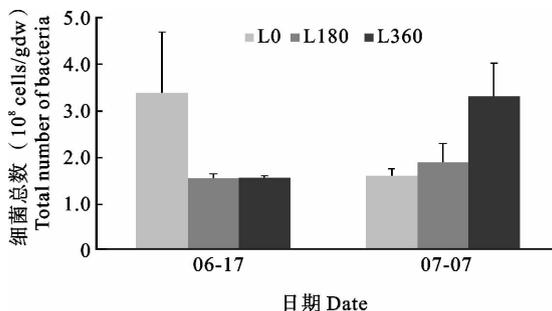
Fig.1 The total number of bacteria from bottom water in the co-culture system of *A. japonicus* and *G. lemaneiformis*

图2 刺参龙须菜混养系统沉积物细菌总数的变化

Fig.2 The total number of bacteria from sediment in the co-culture system of *A. japonicus* and *G. lemaneiformis*

### 2.4 沉积物细菌 16S rDNA V3 区特征片段 DGGE 指纹图谱分析

从 DGGE 图谱的 UPGMA 树状结构聚类分析图,可以得到不同处理组养殖系统细菌群落组成的相似性关系(图3):6月17日的所有样品聚集到一个分支上,7月7日的所有样品聚在另一个分支上。在6月17日的样品中,3个刺参单养围隔内的样品又聚为一簇,表明刺参单养组内细菌群落组成相似度最高;L180-2和L180-3的细菌组成相似度很高(86%),但与L180-1的相似度较低;比较而言,L360处理组内细菌组成的相似度最低。

### 2.5 沉积物细菌 16S rDNA 序列分析

刺参龙须菜混养系统沉积物的细菌 16S rDNA V3 区特征片段经 DGGE 分离、条带切割,共得到 32 条 DGGE 条带。将条带进行克隆、测序,所得到的序列大小在 559~589 bp 范围内。

将所得序列输入 GenBank,用 Blast 程序进行检索和同源性比较。结果表明,绝大多数最相似序列均为来

自于海洋环境的细菌克隆(30 条,表 2),其余的两条来自于淡水或土壤环境。其中 17 条来自海洋或河口沉积物,4 条来自海水,1 条来自养鱼场的外排水,3 条来自海绵组织,1 条来自大型藻类,1 条来自甲藻。

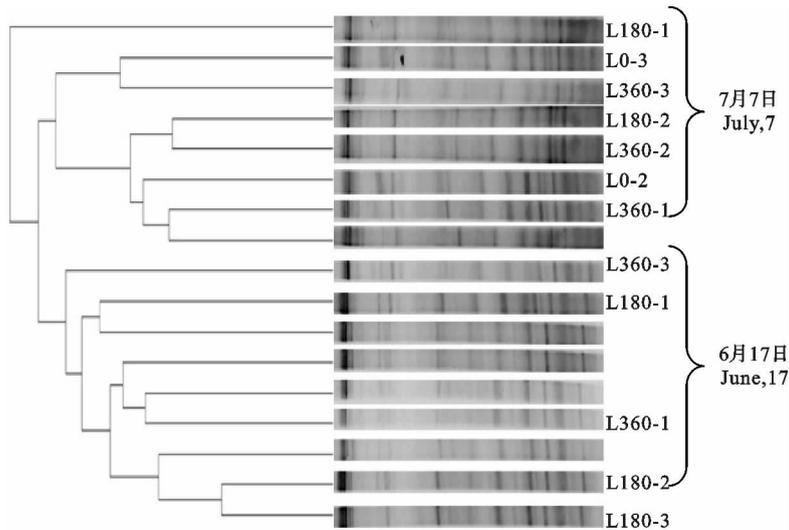


图 3 刺参龙须菜混养系统沉积物细菌群落的 UPGMA 聚类分析

Fig. 3 UPGMA cluster analysis of bacterial community from the sediments in the co-culture system of *A. japonicus* and *G. Lemaneiformis*

## 2.6 沉积物细菌 16S rDNA 系统发育分析

系统发育分析(图 4)可以看出,获得的 32 条序列分别归属于 4 个细菌类群:拟杆菌纲(Bacteroidetes)、 $\gamma$ -变形菌纲( $\gamma$ -proteobacteria)、 $\delta$ -变形菌纲( $\delta$ -proteobacteria)和  $\alpha$ -变形菌纲( $\alpha$ -proteobacteria),其中 16 条序列(hy1、hy2、hy3、hy4、hy6、hy8、hy9、hy12、hy13、hy14、hy15、hy16、hy18、hy19、hy20、hy25)属于拟杆菌纲,10 条序列(hy11、hy21、hy23、hy24、hy26、hy29、hy30、hy31、hy32、hy34)属于  $\gamma$ -变形菌纲,3 条序列(hy22、hy27、hy33)属于  $\delta$ -变形菌纲,1 条序列(hy28)属于  $\alpha$ -变形菌纲。

## 3 讨论

### 3.1 刺参龙须菜混养水体的细菌数量

实验期间,围隔内底层水体中的细菌数量在  $2.14 \times 10^6 \sim 4.27 \times 10^6$  cells/ml 之间。细菌数量与李 彬等(2010)调查的秋、冬季节刺参养殖池塘底层水体的细菌数量在相同的数量级。与山东沿岸海域包括日照沿海、威海沿海及青岛沿海(丁字湾、小海湾、胶州湾、唐岛湾及琅琊湾)夏季及秋季浮游细菌丰度相当(分别介于  $2.74 \times 10^6 \sim 9.60 \times 10^6$  cells/ml 和  $1.76 \times 10^6 \sim 5.26 \times 10^6$  cells/ml 之间)(赵三军等 2005;张 喆 2008)。这一结果远高于采用培养法测定的刺参养殖池塘水体细菌数量( $10.8 \times 10^3 \sim 3.2 \times 10^4$  cells/ml)(关晓燕等 2010)。

在春、夏季,随着养殖时间的延长,养殖水体异养细菌数量呈增加趋势(高尚德等 1995;郭 平等 1994)。本研究在 5~7 月进行,实验期间,刺参单养组及不同配比的刺参龙须菜混养组水体中细菌数量都呈增高趋势。实验期间正处于水温上升阶段,养殖池塘水温从实验开始时的  $17.2^\circ\text{C}$  逐渐上升到实验结束时的  $30.1^\circ\text{C}$ ,水温升高可能是引发养殖水体细菌数量增加的一个主要因素,已有很多学者报道养殖水体的细菌数量随水温的升高而升高(郭 平等 1994;晏荣军等 2002;关晓燕等 2010)。在春、夏季养殖系统中水温呈上升趋势,随着养殖池塘水温的上升,物质循环也加快,水体中营养丰富,异养细菌繁殖越来越旺盛,细菌的数量在水体中呈上升趋势。





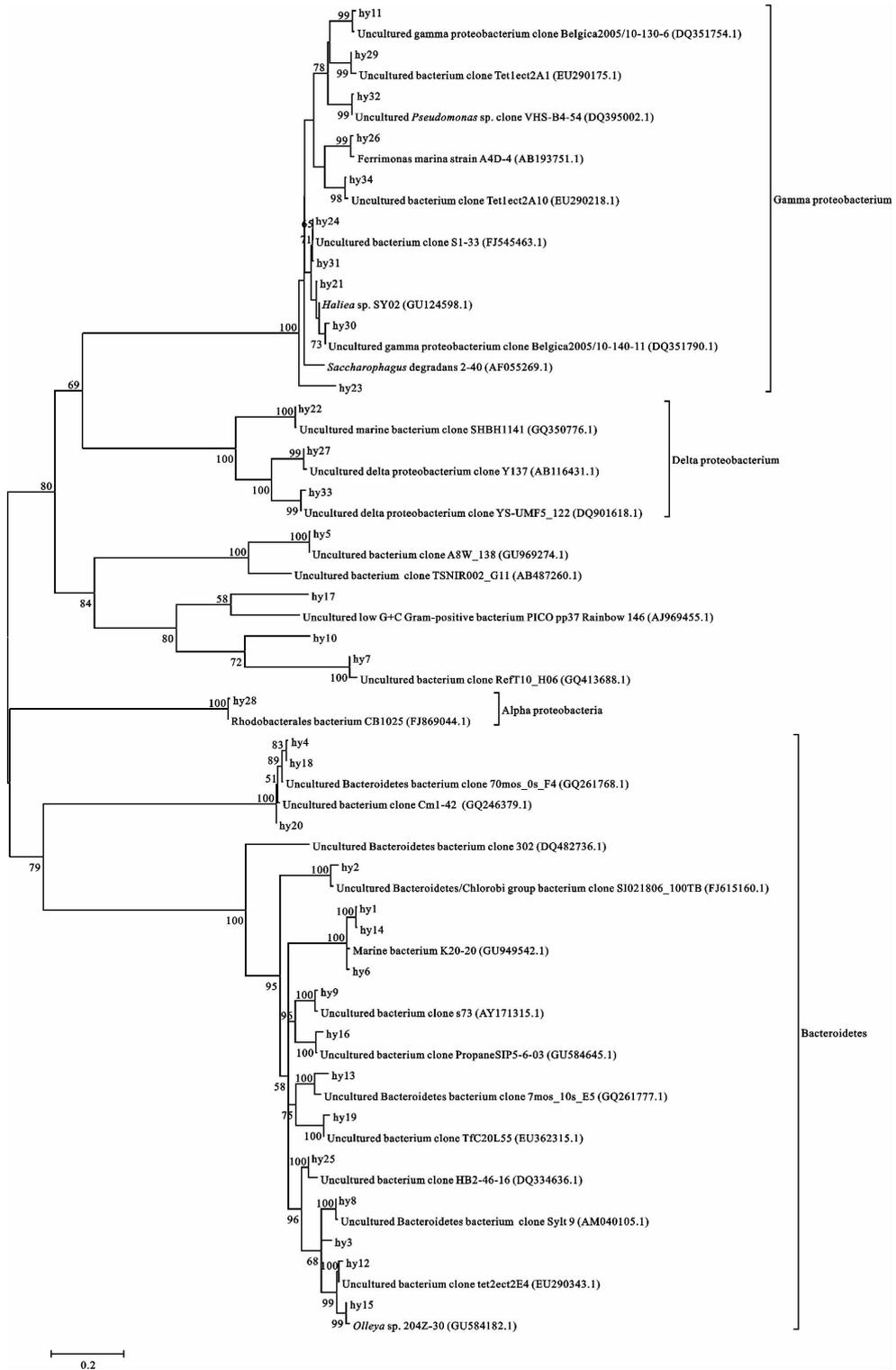


图 4 刺参龙须菜混养系统沉积物细菌 16S rDNA 系统发育树

Fig. 4 Phylogenetic analyses of bacterial 16S rDNA V3 fragments retrieved from DGGE bands of the sediments in the co-culture system of *A. japonicus* and *G. lemaneiformis*

在实验结束时,混养龙须菜数量最多(L360组)的围隔底层水体的细菌数量高于刺参单养组,L180组的底层水体的细菌数量低于刺参单养组,但无显著差异。这一结果表明,水温对细菌数量的影响作用可能大于养殖生物。中国对虾和黑鲷混养系统水体中的异养细菌、弧菌和硝酸盐还原菌的数量在5月16日~6月26日也没有显著差异(李秋芬等 2002),然而到7月底,中国对虾和黑鲷混养系统水体中的异养细菌、弧菌和硝酸盐还原菌的数量显著低于对虾单养池(李秋芬等 2002);虾-蟹混养体系以及虾-罗非鱼混养系统水体中异养细菌的数量也出现相似的变化规律(钟硕良等 1997),作者分析认为养殖体系中有机的含量是影响异养细菌总数的另一重要环境因子。

### 3.2 沉积物的细菌组成

6月17日和7月7日不同刺参龙须菜配比的养殖系统内沉积物中的细菌数量在 $1.55 \times 10^8 \sim 3.39 \times 10^8$  cells/gdw之间,比水体中的细菌数量高两个数量级。凡纳滨对虾养殖池塘沉积物中可培养异养细菌数量通常比水体中高2~3个数量级( $1.0 \times 10^6 \sim 2.2 \times 10^7$  CFU/g)(李烁寒等 2009)。中国对虾和黑鲷混养池塘底泥中的可培养异养细菌数量高于同期水中菌量1~2个数量级(7月底的最高值为 $1.07 \times 10^6$  CFU/g)(李秋芬等 2002;查广才等 2006)。

从DGGE图谱的UPGMA树状结构聚类分析图可以看出,不同取样时间(6月17日、7月7日)的沉积物细菌组成差异较大,这种差异大于不同处理组的细菌组成差异。而在混养实验进行到30d时的沉积物样品中,刺参单养组与刺参龙须菜混养处理组的沉积物组成差异较大,刺参单养组内细菌群落组成相似度最高。这一结果表明,刺参养殖系统沉积物中的细菌群落组成受水温、养殖生物组成等多种因素的影响。关晓燕等(2010)采用PCR-DGGE技术研究了不同季节、不同刺参养殖池塘水体的细菌群落组成,他们的研究结果也表明,不同取样时间养殖水体的细菌群落组成大于不同池塘间的差异。

本研究发现,刺参单养围隔或刺参龙须菜混养围隔内沉积物的优势细菌主要归属于 $\gamma$ -变形菌纲、 $\delta$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲和拟杆菌纲。海水养殖系统细菌群落普遍归属于这几个纲,另外比较常见的还有厚壁菌门(Firmicute)和放线菌门等。底播刺参栖息地底泥的细菌群落主要归属于 $\gamma$ -变形菌纲、 $\delta$ -变形菌纲、 $\epsilon$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲、拟杆菌纲和放线菌纲(未发表)。马英等(2009)研究发现,对虾养殖池沉积物的优势细菌主要归属于 $\gamma$ -变形菌纲细菌、 $\delta$ -变形菌纲、 $\alpha$ -变形菌纲、酸杆菌纲、放线菌门和厚壁菌门。李可(2007)通过16S rDNA文库技术发现对虾养殖环境表层沉积物的细菌主要有变形细菌(52.3%),拟杆菌门(Bacteroidetes, 9.3%),浮霉状菌(Planctomycete, 4.7%),厚壁菌类群(Firmicute, 1.9%)和放线菌门(Actinobacteria, 0.9%)。

刺参为沉积食性,主要靠楯状触手扒取底质表面的沉积物为食,其消化道比许多海洋生物都简单。脂肪酸标志法分析表明,细菌是刺参重要的食物来源之一(高菲等 2010),刺参超过70%的能量需求来自于细菌(隋锡林 1988)。本实验中,龙须菜初始养殖密度为 $360\text{g}/\text{m}^2$ 的养殖系统中刺参的特定生长率最高;而且实验结束时,该配比的混养系统表层沉积物中的细菌含量也最高。因此作者推测L360组刺参的特定生长率较高可能与沉积物中细菌含量较高有关。在实验的中后期,随季节变化,养殖环境水温逐渐升高,龙须菜的脱落碎屑也逐渐增多,脱落的龙须菜碎屑一方面直接作为刺参的食物来源,另一方面被细菌分解,增加了沉积物中细菌的数量,为刺参提供了更多的细菌性食物来源。本研究表明,刺参与龙须菜混养能更加有效地利用水体空间和饵料资源,提高单位面积的产出,增加经济效益。

### 参 考 文 献

- 马英,钱鲁闽,王永胜. 2009. 对虾养殖池沉积物细菌的遗传多样性. 海南大学学报(自然科学版),27(4):369~374  
王吉桥,靳翠丽,张欣,刘革利. 2001. 不同密度的石莼与中国对虾的混养实验. 水产学报,25(1):32~37  
毛玉泽,杨红生,周毅,胡宗福,袁秀堂,游奎,王如才. 2006. 龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)的生长、光合作用及其对扇贝排泄氮磷的吸收. 生态学报,26(10):3 225~3 231  
关晓燕,周遵春,陈仲,姜北,汪笑宇,董颖,杨爱馥,邓欢,徐晓红. 2010. 应用PCR-DGGE指纹技术分析高温季节仿刺参养殖水环境中

- 菌群多样性. 海洋湖沼通报, (1): 82~88
- 孙伟, 张涛, 杨红生, 刘保忠, 周毅, 刘鹰. 2006. 龙须菜在滩涂贝藻混养系统中的生态作用模拟研究. 海洋科学, 30(12): 72~76
- 李可. 2007. 对虾养殖环境微生物多样性分析和微生态制剂的研究和应用. 见: 厦门大学博士研究生学位论文
- 李秋芬, 陈碧鹃, 曲克明, 李健, 孙修涛, 赵法箴. 2002. 鱼虾混养生态系中细菌动态变化的研究. 应用生态学报, 13(6): 731~734
- 李烁寒, 李卓佳, 杨莺莺, 曹煜成, 胡晓娟, 杨宇峰. 2009. 秋冬季凡纳滨对虾养殖池塘细菌的数量动态. 暨南大学学报(自然科学版), 30(3): 343~348
- 李彬, 荣小军, 姜卓, 廖梅杰, 王印庚, 薛太山, 李华. 2010. 秋、冬季节刺参养殖池塘浮游细菌数量变化规律的研究. 渔业科学进展, 31(3): 44~48
- 张喆. 2008. 山东近岸海域浮游细菌、病毒生态学调查及沉积物细菌多样性研究. 见: 中国海洋大学博士研究生学位论文
- 郑天凌, 王海黎, 洪华生. 1994. 微生物在碳的海洋生物地球化学循环中的作用. 生态学杂志, 13(4): 47~50
- 赵三军, 肖天, 李洪波, 徐剑虹. 2005. 胶州湾异养细菌及大肠菌群的分布及对陆源污染的指示. 海洋与湖沼, 36(6): 541~547
- 胡海燕, 卢继武, 周毅, 杨红生. 2003. 龙须菜在鱼藻混养系统中的生态功能. 海洋科学集刊, 45: 167~175
- 查广才, 周昌清, 麦雄伟. 2006. 凡纳滨对虾低盐度高产虾池环境微生物生态研究. 生态科学, 25(3): 231~235
- 钟硕良, 陈月忠, 林克冰, 陈碧霞, 蔡清海, 陈木. 1997. 虾池底质中  $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 、 $\text{S}^{2-}$  和异养细菌含量的变化及其相关性研究. 台湾海峡, 16(4): 449~454
- 晏荣军, 林小涛, 许忠能, 梁郁强, 朱建洪. 2002. 斗门地区养殖水源细菌数量的变化动态. 生态学杂志, 21(6): 65~67
- 高尚德, 陈旭仁, 吴以平. 1994. 中国对虾养成期间虾池水体和底质中细菌含量的变化. 水产学报, 18(2): 138~142
- 高菲, 孙慧玲, 许强, 谭杰, 燕敬平, 王清印. 2010. 刺参消化道内含物细菌群落组成的 PCR-DGGE 分析. 中国水产科学, 17(4): 671~680
- 高菲, 许强, 杨红生. 2010. 运用脂肪酸标志法分析刺参食物来源的季节变化. 水产学报, 34(5): 760~767
- 郭平, 许美美. 1994. 对虾养殖池水域环境细菌的动态变化. 海洋与湖沼, 25(6): 625~629
- 隋锡林. 1988. 海参增养殖. 北京: 农业出版社
- Alawi, M., Lipski, A., and Sanders, T. 2007. Cultivation of a novel cold-adapted nitrite oxidizing betaproteobacterium from the Siberian Arctic. The ISME Journal, 1(3): 256~264
- Chopin, T., Yarish, C., Wilkes, R., Belyea, E., Lu, S., and Mathieson, A. 1999. Developing *Porphyra*/salmon integrated aquaculture for bioremediation and diversification of the aquaculture industry. J. Appl. Phycol. 11(5): 463~472
- Chow, F., Macciavello, J., SantaCruz, S., Fonck, E., and Olivares, J. 2001. Utilization of *Gracilaria chilensis* (Rhodophyta: Gracilariaceae) as biofilters in the deputation of effluents from tank cultures of fish, oyster, and sea urchins. J. World Aquac. Soc. 32: 214~220
- Demetropoulos, C. L., and Langdon, C. J. 2004. Enhanced production of Pacific dulse (*Palmaria mollis*) for co-culture with abalone in a land based system: nitrogen, phosphorus, and trace metal nutrition. Aquaculture, 235(1-4): 433~455
- Evans, F., and Langdon, C. J. 2000. Co-culture of dulse *Palmaria mollis* and red abalone *Haliotis rufescens* under limited flow conditions. Aquaculture, 185(1-2): 137~158
- Li, Y., Li, F., Zhang, X., Qin, S., Zeng, Z., Dang, H., and Qin, Y. 2008. Vertical distribution of bacterial and archaeal communities along discrete layers of a deep-sea cold sediment sample at the East Pacific Rise (~13°N). Extremophiles, 12(4): 573~585
- Marinho-Soriano, E., Morales, C., and Moreira, W. S. C. 2002. Cultivation of *Gracilaria* (Rhodophyta) in shrimp pond effluents in Brazil. Aquacul. Res. 33(13): 1081~1086
- Muyzer, G., de Waal, E. C., and Uitterlinden, A. G. 1993. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. Applied and Environmental Microbiology, 59(3): 695~700
- Neori, A., Cohen, I., and Gordin, H. 1991. Ulvalactuca biofilters for marine fish pond effluents: II. Growth rate, yield and C:N ratio. Bot Mar, 34: 483~489
- Neori, A., Shpigel, M., and Ben-Ezra, D. 2000. A sustainable integrated system for culture of fish, seaweed and abalone. Aquaculture, 186(3-4): 279~291
- Vandemeulen, H., and Gordin, H. 1990. Ammonium uptake using *Ulva* (Chlorophyta) in intensive fish pond systems: mass culture and treatment of effluent. J. Appl. Phycol. 2(4): 363~374