

综 述

几种微生物制剂和微藻在水产养殖中的应用

祁 真 杨京平
(浙江大学生命科学学院, 杭州 310029)

APPLICATION OF MICROBIOLOGICAL PREPARATION AND MICROALGAE IN AQUACULTURE

QI Zhen and YANG JingPing
(College of Life Science, Zhejiang University, Hangzhou 310029)

关键词: 水产养殖; 微生物; 微藻; 应用

Key words: Aquaculture; Microbiological preparation; Microalgae; Application

中图分类号: S917.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2004)01-0085-05

工厂化高密度养殖,需人工大量投喂饲料,饵料残余及水产动物的排泄物溶解于水中,对养殖水体造成污染,危害养殖对象的健康生长。对鱼虾疾病用药物防治只是暂时性手段,广谱抗生素杀死或抑制了敏感细菌而保留了耐药的致病菌,破坏或干扰了水体原有的正常微生物区系的生态平衡,更增加了养殖动物感染病菌的机会,抗生素在生物体内的残留,最终会对人体产生危害。微生物应用于水产养殖来改善水体生态环境,抑制杀死病原微生物,并可作为饲料添加剂,补充营养成分,改善养殖动物胃肠道有益菌群^[1-2],达到生态防治的目的,使养殖生产良性发展,取得更好的经济效益、生态效益。本文对目前国内外较为普遍应用于水产养殖的几种微生物、微藻类在水处理、防治病原微生物和病害发生方面的应用情况和发展动态进行了分析。

1 应用于水产养殖的微生物

1.1 光合细菌(Photosynthetic bacteria)

光合细菌(Photosynthetic bacteria,简称PSB)是广泛分布于水田、河川、海洋和土壤中的一种微生物类群。光合细菌为革兰氏阴性细菌,可以在有光无氧的条件下生长、繁殖,也可在无光有氧的条件下生长。有光时菌体能利用光能,以H₂S和有机物作为氢供体,以CO₂或有机物作为碳源而生长发育。当环境是有氧无光时,菌体则可以通过有氧呼吸,使有机物氧化,从中获取能量。

1.1.1 水质改良剂 光合细菌作为养殖水质净化剂,目前

国内外均已进入生产性应用阶段。日本、中国、东南亚各国的养虾池和养鱼池均已普遍投放光合细菌以改善水质,亦有多数取得明显效果的报道文献。丁爱中等用光合细菌来调节水质。增加水中氧气的含量,静态试验由2.01mg/L增至11.10mg/L,现场试验由3.70mg/L升至9.94mg/L;降低有害氮含量(NH₄⁺-N),静态试验由0.30mg/L降至0.01mg/L,现场试验也较对照组降低很多^[3]。曾宇等用光合细菌对养鱼塘进行养鱼污水处理试验,结果证明:用光合细菌净水剂处理污水效果理想。对各主要污染物去除率分别为: BOD₅: 81.4%—87.8%、COD_{Cr}: 76%—78.9%、TN: 63%—65.3%、TP: 36.7%—52.5%、SS: 72.6%—93.3%^[4]。

1.1.1 饲料添加剂 有研究表明 PSB 的菌体无毒,营养丰富,蛋白质含量高达 64.15%—66%,脂肪 7.18%,粗纤维 2.78%,碳水化合物 23%,灰分 4.28%,每克干菌体相当于 21KJ 热量。PSB 不仅蛋白质丰富,而且氨基酸组成齐全,并含有丰富的维生素、辅酶 Q、抗病毒物质和生长促进因子,以及光合色素,特别是维生素 B₁₂ 叶酸及生物素的含量是酵母的几千倍,还含有丰富的微量元素及类胡萝卜素^[5]。作为饲料或饲料添加剂可显著地提高养殖动物的存活率、增长率、抗病力。即可改良水质,又可作为养殖动物的饵料,降低饵料系数,达到节省饲料、提高经济效益的目的。

1 以芽孢杆菌(*Bacillus*)属为主的益生菌复合菌剂

益生菌制剂是从自然界中筛选、分离、诱导、强化培养得到的活性有益微生物,兼有好氧和厌氧双重代谢机制。以芽

收稿日期: 2002-10-17; 修订日期: 2003-9-2

基金项目: 国家 863 项目子专题(编号: H90290)资助

作者简介: 祁 真(1976—),女; 硕士研究生; 研究方向是苗种培育水质无害化技术

孢杆菌属为主的益生菌复合菌剂应用于水产养殖已有很多成功的例子。丁雷在养鱼水中加入不同浓度的芽孢菌,待其生长繁殖后测量各项水质指标,证明芽孢菌具有降解水中亚硝酸盐含量的作用,其最适使用浓度为 1.5×10^{10} 个/ m^3 [6]。张庆研究了罗非鱼养殖池中投放以芽孢杆菌为主的复合微生物对水质条件、罗非鱼生长状况的影响,结果表明:鱼池投放菌剂后底层溶氧明显增加,溶氧量增加 2 倍以上;有效降低氨氮和亚硝酸盐。菌剂还有促进罗非鱼生长的作用,对照组鱼增重 14% 左右,试验组鱼增重 30%,降低了饵料系数 [7]。李卓佳在养殖池添加以芽孢杆菌属菌类为主导菌的微生物复合制剂,利用其需氧微生物与厌氧微生物共栖,兼有需氧与厌氧代谢机制的特性。迅速而彻底地降解进入养殖池的有机物,减少有机物在池底的沉积,避免有毒因子的产生 [8]。Moriarty 报道用芽孢菌作为益生菌加入对虾池中来控制 *Vibrio* spp 病毒,超过 160d 而未出问题,虾生长很好,而未加芽孢菌的对照池在 80d 之内几乎全部对虾感染 *Vibrio* 病毒而死亡 [9]。

1.3 玉垒菌 (*S*₃₀)

玉垒菌 (*S*₃₀),由上海玉垒公司从日本引进的一种高科技微生物产品。玉垒菌是以放线菌为主的复合微生物制剂,适用于淡水养殖的水质净化,有极强的分解有机物的能力,为一般微生物的 40—60 倍 [10]。该菌在日本早已被应用于温室养鳖业,在国内也只见应用于养鳖业的水质净化,未见在其他品种的养殖中应用的报道。翟士君用“玉垒菌” (*S*₃₀) 5 次进行温室养鳖池水质净化效果的试验,前三次结果表明:“玉垒菌”对温室养鳖池的水质控制具有明显效果,试验池的换水次数可比对照池减少 3—5 次;后两次试验的直观效果略差于前两次,因为后期整个体增大,摄食量增加,池中污染物不断积累。这一结果表明“玉垒菌”净化水质的能力是有限的 [11]。

1.4 神克隆菌 (*Bdellovibrio bacteriovorus*)

神克隆菌主要组成为噬菌蛭弧菌 (*Bdellovibrio bacteriovorus*),是一种有噬菌性质的细菌,在水产养殖上对很多致病菌有溶菌作用。水产养殖动物的主要致病菌,如弧菌、假单胞菌、气单胞菌、爱德华氏菌等都是神克隆菌的最适宜的寄主,所以神克隆菌可以减少细菌病害的发生与蔓延 [12]。如中国水产科学院淡水渔业研究中心于 2000 年用四个 0.67 m^2 的鱼池分别饲养河蟹、对虾、河豚、甲鱼,另一个为对照池。结果使用神克隆菌的四个试验池均未发病,而对照池发了病。神克隆菌对河蟹养殖池的生态环境有一定的改善作用,水中的 COD、硫化物和氨氮得到有效的控制,对 pH 没有明显的影响 [13]。

1.5 硝化细菌

硝化细菌属于自营养性细菌,包括两种不同的代谢群体,亚硝化菌属 (*Nitrosomonas*) 及硝化杆菌属 (*Nitrobacter*)。它们都是好气性细菌,能在有氧的水中生长,并在水质净化过程中起着重要作用。

硝化细菌是不需要有机物就能生存及繁衍的细菌。首

先,亚硝化菌属细菌把水中的氨 (NH_3) 离子氧化成为亚硝酸离子 (NO_2^-),并从中获得生存所需要的能量,再从二氧化碳或碳酸根离子 (CO_2 或 HCO_3^-) 制造自身所需的有机物。而硝化杆菌属细菌能把水中的离子 NO_2^- 氧化成为硝酸离子 (NO_3^-),并能从中获得生存所需要的能量。亚硝化菌属细菌和硝化杆菌属细菌通过接力的方式,把水中的有毒氨 (NH_3) 最终氧化成硝酸离子 (NO_3^-)。

硝化细菌是自养性微生物,需要在体内制造有机物供其生长,这就决定了硝化细菌的繁殖速度要比异养生物慢得多,一般异养性微生物可几十分钟内增殖一倍数量,而硝化细菌则要 1—2d 才能增殖一倍的数量;另外,硝化细菌不喜欢有机物,水体中过多的有机物反而会抑制硝化细菌的生长 [14]。

硝化细菌广泛应用于水处理与工业化水产养殖系统,在水中会自动形成生物膜,几天后即可成熟。Thompson 报道实验池清理后重新注入水 3d 后即可检测到生物膜(硝化细菌和一些藻类)的存在,并且很快即表现出很高的去除氨氮的效率。生物膜使水中氨氮保持稳定且在很低的浓度范围: $5.94-16.09 \mu mol/L$,而对照池的氨氮浓度最大达到了 $83.99 \mu mol/L$ [15]。

1.6 EM 复合微生物菌剂

EM 复合微生物菌剂是各种有益微生物的组合,EM 菌是以光合细菌、乳酸菌、酵母菌和放线菌为主的 10 个属 80 余种微生物复合而成的一种微生物活菌制剂。

采用单一微生物菌种(如 PSB,硝化细菌)等来控制、净化水质的方法都存在一定的局限性。而复合微生物中的光合细菌、硝化细菌、芽孢杆菌、枯草杆菌等都参与有机物的降解过程,它们发挥氧化、氨化、亚硝化、硝化、硫化、固氮等作用,分泌胞外酶素,消除水体中的有机物、 NH_3 、 H_2S 等有害物质,降低化学耗氧量(COD)和生物耗氧量(BOD),间接增加水体中的溶解氧含量,改善水体质量。吴伟用以假单胞菌属和芽孢杆菌属为主的复合微生物试验对其养殖水体的处理效果,其中 NO_2^- -N、 PO_4^{3-} 、 S^{2-} 的最大降幅可达 100%,而 NH_4^+ -N、 COD_{Cr} 的最大降幅可达 95%,悬浮物的最大去除率达 74%,同时溶氧含量可上升 16% [16]。为减少甲鱼疾病发生和污水排放,李清禄研究比较聚合硫酸铁(PFS)、聚二甲基二烯丙基氯化铵(PDMAAC)、优势复合菌群(EM)和 PFS+PDMAAC 与 PFS+PDMAAC+EM 各种净化水体方法。结果表明,联合使用 20mg/L 的 PFS、0.5mg/L 的 PDMAAC 和 20ml/ m^3 的 EM 效果最好。絮凝率达 92% 以上, COD_{Cr} 去除率达 88%—90%, BOD_5/COD_{Cr} 由 0.61 降至 0.28,水质各项指标均符合特种水产养殖水质标准。水质稳定,池水与排污水体水质基本一致,达到无污染排放水体的效果 [17]。

除了水质净化的作用外,EM 复合微生物菌剂还可以提高养殖动物机体的免疫力,促进生长,提高饲料利用率。用 EM 饲料喂养鱼类,生长速度明显提高,吃食性鱼类增重 30% 以上,滤食性鱼类增重 20%—25%,饲养密度提高 30% 以上。同时,使用 EM 制剂能防治鱼病,可产生或含有抗菌

物质和多种免疫促进因子,对肠炎、赤皮、烂鳃等细菌性疾病,治疗效果显著,促进鱼类微生态平衡,将死亡率降到几乎为零的程度,提高了经济效益^[18]。如光合细菌在水中繁殖时可释放具有抗病能力的酶,对水中可引起细菌性疾病的病

原体如嗜水气单胞菌、爱德华氏菌、霉菌等均具有一定抑制作用。表 1 列出了 Skjermo 等^[19]报道的大西洋比目鱼育苗过程中加入复合菌与不加(对照)的成活率与变异系数的比较。

表 1 两种处理(加菌与对照)下大西洋比目鱼成活率与变异系数比较
Tab. 1 Survival and coefficient of variance of the survival of Atlantic halibut yold asc larvae,
incubated in water added bacteria and in control groups

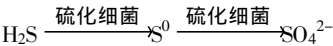
	加菌(Added bacteria)		对 照(ck)	
	成活率(%)	变异系数	成活率(%)	变异系数
组 1	90. 7±3. 2	7. 5	71. 3±23. 9	56. 7
组 2	67. 2±3. 4	12. 2	52. 7±13. 9	49. 1
组 3	50. 4±2. 2	8. 8	45. 4±7. 5	30. 4

微藻

应用于水产养殖的微生物除了各种菌类外,微藻在这一领域也得到了广泛应用。微藻是一种微型单细胞植物,通常具有太阳能利用率高、个体小、营养丰富、生长繁殖迅速、对环境的适应能力强、容易培养等优点。

1 作为水质改良剂

可利用微藻光合作用放出的大量氧气和吸收水中的富营养化成分来净化污水和保持良好的水环境条件。因为微藻能有效地进行光合作用,将光能、H₂O、CO₂ 和无机盐如 NH₄⁺-N 转化为体内有机化合物,产生氧气,提高溶氧水平,并使水体 pH 值升高,从而促进细菌的矿化作用,在细菌的作用下使 H₂S 变成无毒的硫酸盐,反应可表示如下:



因此微藻一定量的存在,对改善和稳定水体生态系统起重要作用。Lefebvre^[20]的试验结果表明,集约化养鱼池塘流出的废水富含一些无机物质(N、P、Si 等),可利用这些废水培养硅藻(*Diatom*),同时可起到净化废水的作用,3—5d 废水净化率可达 90%。董俊德^[21]用极大螺旋藻(*Spirulina maxima*)进行污水除氮试验,处理后硝态氮浓度为 129. 80mg/L,吸收氮总量为 282. 20mg/L,除氮率为 68. 5%,可见极大螺旋藻有较强的吸收氮的能力。颤藻、两栖颤藻(*Oscillatoriaceae amphilia*)有较强的吸收磷的能力,对污水的无机磷去除能力较强。实验水体中约 3/4 的磷在藻类生长过程中被吸收,另有 1/4 的磷是在藻体基本停止生长后被藻细胞吸收聚集的。Dumas^[22]报道鲍氏席藻(*Phormidium bohneri*)对养殖废水氮去除可达 80%。Thompson^[13]在自动生成的生物膜中检测到硅藻属和鞭毛藻(*Flagdlate*),不仅可以去除氨氮,又可促进虾生长:试验组虾体增重率为 103%,而对照组只有 33%。

作为水产动物的饵料

微藻由于其营养价值,已被广泛用做水产动物的饵料。随着水产养殖业的发展,微藻作为水产动物饵料的需求量越来越大。国外已开发出 40 余种微藻应用于鱼、虾、贝类的育苗生产中。比等鞭金藻(*Isochrysis galbana*)生长快,细胞密度

高,而且富含蛋白质,适宜北方 3、4 月份培养,可作为中国对虾幼体和海湾扇贝幼虫的优良饵料,效果良好。在微藻培育系统中找不到弧菌,如同时以微藻为饵料可有效控制弧菌的数量^[23]。小球藻干粉或提取物添加到鱼类的食物中,可改善鱼的肉质。例如在饵料中添加小球藻干粉或提取物对黄尾鱼进行的实验,可增强鱼对疾病的抵抗力,改善鱼肉的质量^[24]。

3 增强养殖动物抗病能力

通过微藻生态调控,改善养殖环境来提高养殖对象的抗病力,是对水产生态调控防病的重要组成部分。微藻所含有或产生的生物活性物质如抗生素,包含抗细菌或真菌的物质,可以杀死水中的致病菌^[25]。黄翔鹄^[26]等人工引入波吉卵囊藻(*Oocystis borgei snow*)和微绿球藻(*Nannochloris oculata*)于凡纳对虾(*Penaeus vannamei*)养殖环境中,结果表明,引入波吉卵囊藻和微绿球藻能改善养殖水体的水质,凡纳对虾的血细胞数目,血清蛋白的含量以及酚氧化酶、超氧化物歧化酶、溶菌酶,抗菌酶的活性都较对照组显著提高。

微藻的使用要强调其连续性,要始终保持一定的密度,否则,会给致病菌以机会,而起不到防病的作用。

3 微生物利用技术

为了提高微生物在水产养殖水处理效果以及作为饵料的利用率,要选择合适的使用技术。

3.1 施用方法

对于应用于防病和促进生长方面,可选用下面三种使用方法:(1)直接给动物注射或浸浴。注射或浸浴的方法可使菌剂与动物直接接触,尽快发挥作用,但要注意剂量;(2)作为饲料添加剂,随同饲料一起进入体内发生作用;(3)将微生态制剂直接加入水体或激活后加入水体^[27]。应用该法要注意水体环境是否适合该制剂有效成分的生长繁殖,水体在加入抗生素或在消毒时不要同时加入微生物菌剂。Rengpipat, S^[28]分别将鲜活的、用 NSS 包埋的和冰冻失活的芽孢杆菌加入养虾池中,发现虾的成活率和增重率都是加入鲜活菌剂的池子最高。

3 固定化技术

在水处理方面选用比较多的方法是将细胞固定化。该技术是以化学或物理的手段将游离微生物定位或限制在一个特定的空间,使其保持活性,可以被反复利用。固定化微生物的密度高、活性强、反应速度快,而且流失少,与利用游离微生物处理废水相比,具有明显的优越性。微生物固定化的主要技术有载体结合法、交联法和包埋法。吴伟^[29]报道菌株固定化细胞对养殖水体中的NH₄⁺-N和NO₂⁻-N转化去除速率明显优于游离细胞。若将3菌株按2∶1∶2的比例组合成复合菌株并进行固定化,其生物转化的效率则比单一菌株为佳。

用硝化细菌富集培养基摆床驯化污泥,选用聚乙烯醇(PVA)作为包埋载体,添加适量粉末活性炭包埋硝化污泥,制备固定化小球,驯化后处理废水中NH₄⁺-N,结果表明:经6周驯化后,硝化细菌从最初的13个/mL增至2.7×10⁷个/mL。混凝沉淀处理可显著降低养殖水体的化学需氧量(COD),但对NH₄⁺-N无影响。应用固定化小球结合混凝沉淀处理合

成废水24h,COD去除率为86.4%,NH₄⁺-N去除率达99%;处理养殖废水24h,COD去除率为74.9%,NH₄⁺-N去除率达82.5%^[30]。将斜生栅藻(*Scenedesmus*)包埋在褐藻酸钙凝胶中,对人工配制的废水进行净化,结果表明,固定化斜生栅藻对氨氮和正磷酸盐的净化效率明显高于未固定的,对氨氮的净化效率由43%提高到78.7%,对磷酸盐的净化效率提高到82.7%^[31]。

3.3 微藻和微生物共培养

将微藻和微生物共同培养,益生菌可以利用微藻释放出来的各种营养物质和死去的藻体,而使菌体数量迅速扩大并保持稳定。Gomez Gil B^[32]等报道将*Vibrio alginolyticus* C7b菌和微藻*Chaetoceros muelleri*共同培养,*Vibrio alginolyticus* C7b菌迅速增长并在9d的成熟过程中保持稳定的高浓度。而*V. alginolyticus* C7b单独培养时,1d后数量即开始减少。所以,在养殖池中加入微藻和微生物可以让它们更好的发挥作用。表2给出了以上几种微生态制剂的使用技术。

表 几种微生物利用技术
Tab. 2 The application technology of some kinds of microorganism

	施用方法	施用场所	固定基质
光合细菌	固定化 加入池中 饲料中	养殖池和净化池	PVA+ 沸石
芽孢菌	加入池中	养殖池	_____
玉垒菌	加入池中	养殖池	_____
神克隆菌	加入池中	养殖池	_____
硝化细菌	固定化	净化池	PVA+ 硼酸+ 活性炭
复合菌	投入池中或加入饲料中	养殖池	_____
微藻	固定化和加入饲料中	养殖池和净化池	聚乙酰几丁质或藻酸钙

3.4 结语

目前,国内外对水产养殖病害的研究主要集中在疾病的种类、诊断、病理、致病菌的致病性及对疾病的控制方面,而在保健、防病方面的研究相对较少。同时,微生态制剂在禽畜饲料中应用较多,在水产养殖中应用较多的只有光合细菌,复合微生物制剂的应用才刚刚起步。作者在南美白对虾(*Penaeus vannamei* Boone)工厂化养殖试验过程中,将以光合细菌为主的复合菌剂加入到养殖池和生物处理池中,对南美白对虾的生长、疾病控制和水质优化起了一定的作用。各种菌剂的使用方法,合理剂量等方面的工作仍需要作进一步的研究、试验、主动地推广应用,可用于养殖水处理的微生物的筛选以及细胞固定化所选用的包埋剂种类,都将是今后水产养殖微生物研究和应用的方向。

参考文献:

[1] Verschuere L, Heang H, Criel G. Selected bacterial strains protect *Artemia* spp. from the pathogenic effects of *Vibrio proteolyticus* CW8T2[J]. *Appl Environ Microbiol*, 2000, **66**: 1139—1146
[2] Orozco Medina César, Maeda Marí nez Alejandro M, López Cortés Alejandro. Effect of aerobic Granr positive heterotrophic bacteria as

sociated with *Artemia franciscana* cysts on the survival and development of its larvae [J]. *Aqua*, 2002, **13**: 15—29
[3] Ding A Z, Chen F Z. Water quality for aquaculture improved by photosynthetic bacteria[J]. *AgrorEnvironmental Protection*, 2000, **19** (6): 339—341, 344[丁爱中,陈繁忠. 光合细菌调控水产养殖水质的研究. 农业环境保护, 2000, **19**(6): 339—341, 344]
[4] Zeng Y, Qin S. Application of PSB method sewage purification[J]. *Urban Environment & Urban Ecology*, 2000, **13**(6): 29—31. [曾宇,秦松. 光合细菌法在水处理中的应用. 城市环境与城市生态, 2000, **13**(6): 29—31]
[5] Zhang W Q. Semicultural manual of *Penaeus vannamei* Boone[C]. <Ocean Science> editor section, Institute of Oceanology Chinese Academy of Sciences. [张伟权. 南美白对虾半精养生产技术指南. 中国科学院海洋研究所《海洋科学》编辑部, 115—121]
[6] Ding L, Yue Y S, Li G J, et al. Study on the effect of *Bacillus* on aquacultural water[J]. *Freshwater Fisheries*, 1999, **9**(10): 7—10. [丁雷,岳永生,李贵杰,等. 芽孢菌对养鱼水质影响的研究. 淡水渔业, 1999, **9**(10): 7—10]
[7] Zhang Q, Li Z J, Chen K D, et al. The effect of microbiological compound on ecological factors in culture waters[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 1999, **8**(1): 43—47. [张庆,李卓

- 佳, 陈康德等. 复合微生物对养殖水体生态因子的影响. 上海水产大学学报, 1999, **8**(1): 43—47]
- [8] Li Z J, Zhang Q. The effect of probiotic on prawn culture[J]. *China Fisheries*, 1997, (6): 30—31. [李卓佳, 张庆. 有益微生物在虾池中的作用. 中国水产, 1997, (6): 30—31]
- [9] Moriarty D J W. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds[J]. *Aqua*, 1998, **164**: 351—358
- [10] Ren A, Liu N. The application of microorganism technology on the production of crab [J]. *AgroEnvironmental Protection*, 1999, **18**(5): 222—225. [任翱, 刘宁. 微生物技术在河蟹育苗生产中的应用. 农业环境保护, 1999, **18**(5): 222—225]
- [11] Zhai S J, Zhu X C. “Yulei” microorganism effect on the water purification in turtle cultivation with greenhouse[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1996, **3**(3): 121—123. [翟士君, 朱选才. “玉垒菌”对温室养鳖池水质净化效果的试验. 水产科技情报, 1996, **3**(3): 121—123]
- [12] Chen J C. Application of *Bdellovibrio bacteriovorus* on crab culture [J]. *Scientific Fish Farming*, 2001, **7**: 35—35. [陈家长. 神克隆菌在河蟹养殖中的应用. 科学养鱼, 2001, **7**: 35—35]
- [13] Tian B F, Zhao M S. Application of *Bdellovibrio bacteriovorus* on aquaculture[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2001, **8**(4): 171—175. [田宝凤, 赵明森. 神克隆菌在水产养殖上的应用. 水产科技情报, 2001, **8**(4): 171—175]
- [14] Ding Y W, Ai H. The application of microorganism on aquaculture [J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 2000, **0**(1): 68—73. [丁彦文, 艾红. 微生物在水产养殖中的应用. 湛江海洋大学学报, 2000, **0**(1): 68—73]
- [15] Thompson Fabiano Lopes, Abreu Paulo Cesar, Wasielesky Wilson. Importance of biofilm for water quality and nourishment in intensive shrimp culture[J]. *Aqua*, 2002, **03**(3—4): 263—278
- [16] Wu W. Study on controlling the water quality in fish pond by using the compound microbiological preparations[J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 1997, **17**(1): 16—20. [吴伟. 应用复合微生物制剂控制养殖水体水质因子初探. 湛江海洋大学学报 1997, **17**(1): 16—20]
- [17] Lin X H, Chen Q, Li Q L, *et al.* Using three compound substances to purify aquaculture water[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, **8**(4): 82—86. [林新华, 陈强, 李清禄, 等. 联合使用 3 种制剂净化特种水产养殖水体. 中国水产科学, 2001, **8**(4): 82—86]
- [18] Chen D L. The application of EM technologies on aquaculture production [J]. *Scientific Fish Farming*, 1997, (7): 34—34. [陈大良. EM 技术在水产养殖上的应用. 科学养鱼, 1997, (7): 34—34]
- [19] Skjermo Jorunn, Vadstein Olav. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae[J]. *Aqua*, 1999, **177**(1—4): 333—343
- [20] Lefebvre S, hussenot J, Brossard N. Water treatment of land based fish farm effluents by outdoor culture of marine diatoms[J]. *Journal of Applied phycology*, 1996, **8**: 193—200
- [21] Dong J D, Wu B T, Huang Y T, *et al.* Effect of microalgae on removal of nitrogen and phosphorus in sewage[J], *Tropic Oceanology*, 1999, **18**(1): 52—58. [董俊德, 吴伯堂, 黄羽庭等. 微藻在污水中的除磷脱氮作用. 热带海洋, 1999, **18**(1): 52—58]
- [22] A Duma, Lalberte G. Biotreatment of fish farm effluents using the cyanobacterium *Phormidium bohneri* [J]. *Aqua Engi*, 1998, **17**: 57—68
- [23] Liang Y, Mai K S. A review of the application of microalgae[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1999, (2): 70—82. [梁英, 麦康森. 微藻的应用概述. 海洋湖沼通报, 1999, (2): 70—82]
- [24] Mustafa M, Nakagawa H. A review: Dietary benefits of algae as an additive in fish feed[J]. *Aqua*, 1995, **47**: 163—172
- [25] Huang X G, Li C L, Liu C W, *et al.* Studies on two microalgae improving environment of shrimp pond and strengthening anti disease ability of penaeus[J]. *Acta hydrobiologica Sinica*, 2002, **6**(4): 342—347. [黄翔鹤, 李长玲, 刘楚吾, 等. 两种微藻改善虾池环境增强凡纳对虾抗病力的研究. 水生生物学报, 2002, **6**(4): 342—347]
- [26] Ling L Y. Present situation and prospects of exploit and utilization of several bioactive substances in marine microalgae[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1999, **18**(2): 168—171. [林丽玉. 海洋微藻中若干活性物质的开发现状与展望. 台湾海峡, 1999, **18**(2): 168—171]
- [27] Yu Y, Li H R, Li J, *et al.* The application of probiotic preparation to aquaculture[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, **8**(2): 92—96. [俞勇, 李会荣, 李筠, 等. 益生菌制剂在水产养殖中的应用. 中国水产科学, 2001, **8**(2): 92—96]
- [28] Rengpipat Srinat. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth[J]. *Aqua*, 1998, **167**: 301—313
- [29] Wu W, Yu X L. Transformation of NH_4^+ -N and NO_2^- -N by immobilized microorganisms in aquaculture water[J]. *Applied & Environmental Biology*, 2001, **7**(2): 158—162. [吴伟, 余晓丽. 固定化微生物对养殖水体中 NH_4^+ -N 和 NO_2^- -N 的转化作用. 应用与环境生物学报, 2001, **7**(2): 158—162]
- [30] Huang Z. Removing ammonia nitrogen from fishery wastewater by immobilized nitrifying bacteria[J]. *Journal of Huazhong University of Science and Technology (Health Sciences)*, 2002, **1**(1): 18—20. [黄正. 固定化硝化细菌去除养殖废水中氨氮的研究. 华中科技大学学报(医学版), 2002, **31**(1): 18—20]
- [31] Li H H, Tan H X, Luo G Z, *et al.* Application of immobilized microbial technique in water treatment of closed recirculating aquacultural system[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2001, **8**(2): 51—54. [李辉华, 谭洪新, 罗国芝, 等. 固定化微生物技术及其在闭合循环养殖系统水处理中的应用. 水产科技情报, 2001, **8**(2): 51—54]
- [32] Gomez Gil B, Roque A, Velasco Blanco G. Culture of *Vibrio alginolyticus* C7b, a potential probiotic bacterium, with the microalgae *Chaetoceros muelleri*[J]. *Aqua*, 2002, **11**: 43—48