

DOI: 10.12264/JFSC2021-0493

汕头南澳海域龙须菜栽培系统细菌群落结构特征

赵秀^{1,2}, 胡晓娟², 任丽娟¹, 杨宇峰¹

1. 暨南大学水生生物研究所, 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海), 广东 广州 510632;
2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300

摘要: 为研究养殖规划调整后汕头南澳海域龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)栽培系统的细菌群落结构特征, 于 2021 年 4 月, 龙须菜生物量最大时, 选择龙须菜栽培区(原为贝藻混合养殖区, 且常年开展牡蛎养殖)和邻近的自然海区(对照区), 调查比较了水体、沉积物、龙须菜藻体及其凋落物的细菌群落结构及环境特征, 并分离鉴定了龙须菜及其凋落物附着可培养优势细菌种类。结果发现, 龙须菜栽培区表层和底层水体细菌总数分别为 3.96×10^5 copies/mL 和 4.97×10^5 copies/mL, 均显著高于对照区($P < 0.05$), 沉积物细菌数量差异不显著($P > 0.05$), 龙须菜藻体附着细菌数量和可培养细菌数量均显著高于凋落物($P < 0.05$)。相对水体和藻体附着细菌, 龙须菜栽培区和对照区沉积物细菌多样性和丰富度最高, 相对于对照区沉积物, 龙须菜栽培区沉积物中拟杆菌门(Bacteroidetes)和厚壁菌门(Firmicutes)相对丰度更高; 两区域水体优势菌群结构类似, 但龙须菜栽培区 Rhodobacteraceae 的相对丰度(21.1%~29.1%)显著高于对照区(11.9%~12.1%)($P < 0.05$)。龙须菜及其凋落物附着优势菌以盖丝藻属(*Geitlerinema*)、弧菌属(*Vibrio*)和假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)为主。可培养优势细菌为溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)、食环芳弧菌(*Vibrio cyclitrophicus*)和假交替单胞菌(*Pseudoalteromonas* sp.)等。通过冗余分析(redundancy analysis, RDA)发现, 水体 pH、溶解氧和盐度是影响水体和藻体附着优势菌群的主导因子, 总磷含量是影响沉积物细菌优势群落组成的主导因子。综上所述, 龙须菜的生长与凋落对区域水体细菌群落结构会产生较大影响, 栽培龙须菜及其凋落物体表能形成独特的微生物区系, 影响龙须菜栽培生态系统的结构和功能。

关键词: 龙须菜栽培; 凋落物; 细菌群落区系; 可培养优势菌

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)09-1312-14

大型海藻龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)隶属于红藻门(Rhodophyta), 杉藻目(Gigartinales), 江蓠属。藻体富含琼脂, 具有生长快、营养价值高的特点。龙须菜能通过光合作用吸收水体中的碳、氮、磷等营养物质, 净化水质, 增加水体溶解氧, 具有重要的生态修复功能^[1]。大型海藻的规模化栽培是增加海洋碳汇和解决近海环境问题的有效途径^[2]。南澳岛位于广东省汕头市, 是广东省重要的海水养殖基地。龙须菜自 2000 年引入汕头南

澳海域, 栽培面积由 0.067 hm^2 增加到 1500 hm^2 。南澳海域近几年龙须菜栽培面积稳定在 1000 hm^2 左右, 是我国重要的龙须菜栽培基地^[2-3]。

在海洋生态系统中, 海洋微生物是“海洋微生物泵”的驱动者^[4], 同时也是各种有机物的分解者和转化者, 在物质循环和能量流动中具有重要作用^[5-6]。微生物的群落结构和多样性水平是海洋生态系统结构和功能评估的重要指标^[7]。南澳海域龙须菜规模栽培已 20 多年, 胡晓娟^[8]、谢欣斐^[9]、

收稿日期: 2021-11-01; **修订日期:** 2022-01-05.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目(41977268); 南方海洋科学与工程广东省实验室(珠海)创新团队建设项目(311021006).

作者简介: 赵秀(1997-), 女, 硕士研究生, 研究方向为大型海藻与微生物生态. E-mail: zhaoxiu9701@163.com

通信作者: 杨宇峰, 教授, 研究方向为海洋环境与水生生物学, E-mail: tyf@jnu.edu.cn; 胡晓娟, 副研究员, 研究方向为养殖微生物生态调控, E-mail: xinr129@163.com

裴鹏兵等^[10]先后调查了南澳龙须菜栽培区及自然海域对照区水体、沉积物及藻体附着细菌群落组成, 但缺乏龙须菜凋落物及其附着微生物的研究资料。规模栽培大型海藻能在数月内形成巨大生物量, 未被收获的藻体、被鱼类等摄食或生长不良脱落的藻体以凋落物^[11]形式沉积在沉积物表面, 在较短时间内释放富集的碳、氮、磷, 成为碳、氮、磷内源^[12-14]。研究表明海洋微生物在海藻凋落分解过程中发挥着重要作用^[14-16], 同时海藻碎屑对沉积物微生物群落结构改变有重要影响^[9]。本研究聚焦龙须菜栽培生态系统, 以期揭示水体、沉积物、栽培藻体及凋落物的细菌群落结构和功能特征, 为科学评估龙须菜栽培的资源环境效应和大型海藻产业的可持续发展提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 采样时间及采样点的设置

采样时间为2021年4月, 采样点位于广东省汕头市南澳县深澳湾(116°56'E~117°09'E, 23°23'N~23°29'N), 设置龙须菜栽培区(*Gracilaria* culture area, G)及无养殖活动的自然海域对照区(control area, C)(图1), 每个区域设置3个采样点, 分别记为G1、G2、G3, C1、C2、C3。其中龙须菜栽培区的3个站点在2020年前为贝藻混养区, 且常年开展牡蛎养殖。

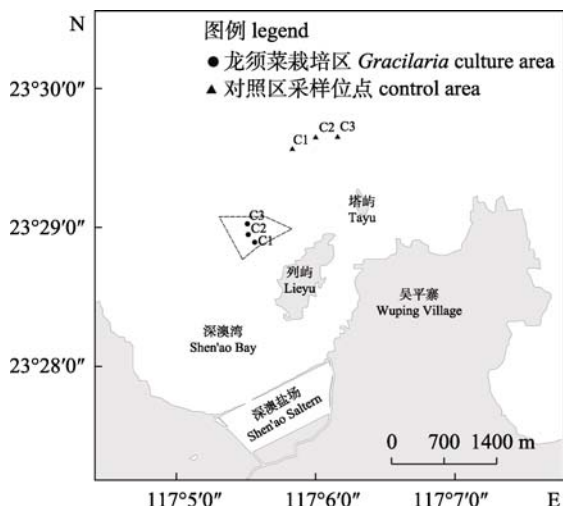


图1 南澳深澳湾采样点分布图

Fig. 1 The distributions of sampling sites in the Shen'ao Bay of Nan'ao Island

1.2 样品采集与理化因子的测定

现场用多参数水质测量仪(YSI556)测定水体温度、盐度、pH和溶解氧浓度(DO), 用有机玻璃采水器采集各站点表、底层水体样品, 用抓斗式采泥器采集沉积物样品及龙须菜凋落物样品, 现场从夹绳中采集栽培龙须菜样品。采集250 mL水体样品及500 g沉积物样品, 依据《海洋调查规范》(GB/T 12763—2007)^[17]和《海洋监测规范》(GB17378—2007)^[18], 测定水体和沉积物总氮(TN)、总磷(TP)和总有机碳(TOC)含量。采集100 mL水样及50 g泥样用于细菌数量分析; 采集1 L水样及50 g沉积物样用于细菌群落结构分析; 采集100 g栽培龙须菜及其凋落物样品用于藻体附着细菌数量及菌群结构分析; 用于细菌数量与群落结构测定的水样均经0.2 μm Millipore GTTP滤膜过滤处理。

1.3 细菌总数及其群落结构的测定

分别取10 g栽培龙须菜及龙须菜凋落物, 采用50 W功率超声洗脱1.5 min, 洗脱液备用^[8]。使用德国QIAGEN公司的DNA提取试剂盒提取洗脱液中的微生物总DNA, 并使用厦门智汇联丰生物科技有限公司的细菌数量检测试剂盒和实时荧光定量PCR法, 测定了不同海域水体、沉积物及栽培龙须菜及其凋落物体表附着细菌的细菌总数。水体、沉积物、栽培龙须菜及凋落物的微生物群落组成分析由明科生物技术(杭州)有限公司使用Illumina MiSeq平台进行高通量测序分析。选择16S rDNA的V4区为扩增区间, 扩增引物为: 515F (5'-GTGCCAGCMGCCGCGGTAA-3')和806R (5'-GGACTACHVGGGTWTCTAA T-3')。采用R语言制作多样性指数箱线图、各分类水平上的物种组成相对丰度图、Heatmap图等, 并进行统计检验。

1.4 可培养细菌数量分析及其优势菌鉴定

采用稀释涂布法将栽培龙须菜及其凋落物体表附着细菌的洗脱液涂布于普通海水2216E培养基上^[19], 28 °C倒置培养5 d后计数可培养细菌数量^[8]。挑取栽培龙须菜及凋落物附着可培养细菌中不同菌落形态的优势菌, 分离纯化培养。

采用天根生化科技(北京)有限公司生产的细菌基因组DNA提取试剂盒提取分离菌株的DNA, 经16S rDNA的PCR扩增后, 送生工生物工程(上

海)股份有限公司进行序列测定。获得的序列通过 BLAST 在 GenBank 基因库中进行同源性比较。

1.5 数据处理与分析

本研究的数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm SD$)表示, 利用 R 语言进行方差分析, $P<0.05$ 为差异性显著。空间插值应用 ArcGIS 地理统计分析 Geostatistical Analyst 模块完成。系统进化树分析采用 BLAST 程序进行序列比对, 采用 MEGA 4.0 软件的邻接法进行系统进化树的构建及多样性分析。冗余分析(redundancy analysis, RDA)采用 CANOCO 5.1

软件进行优势细菌组成与环境因子相关性分析。

2 结果与分析

2.1 细菌总数

龙须菜栽培区表层和底层水体细菌总数分别为 3.96×10^5 copies/mL 和 4.97×10^5 copies/mL, 均显著高于对照区($P<0.05$)(图 2a)。龙须菜栽培区及对照区沉积物细菌数量差异不显著($P>0.05$)(图 2b), 然而, 栽培龙须菜表面附着细菌数量显著高于凋落物表面附着细菌数量($P<0.05$)(图 2c)。

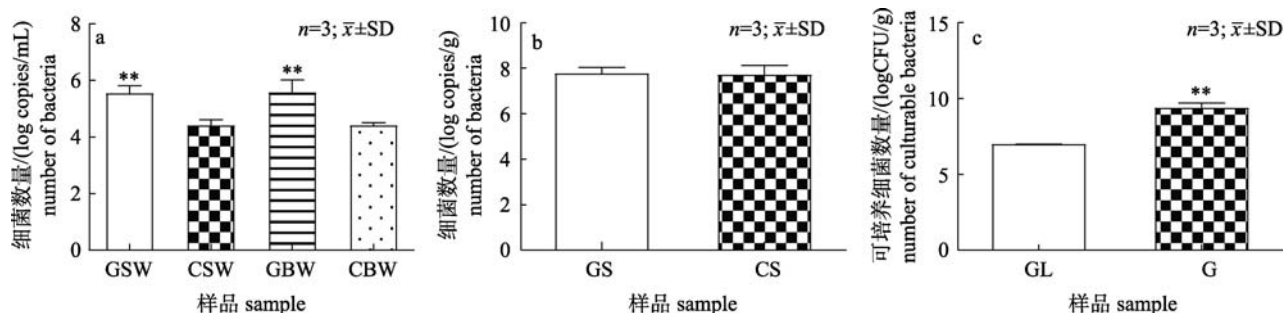


图 2 水体(a)、沉积物(b)和龙须菜藻体附着(c)细菌数量

GSW: 龙须菜栽培区表层水; CSW: 对照区表层水体; GBW: 龙须菜栽培区底层水体; CBW: 对照区底层水体; GS: 龙须菜栽培区沉积物; CS: 对照区沉积物; GL: 龙须菜凋落物; G: 栽培龙须菜. **表示与对照组相比差异极显著($P<0.01$).

Fig. 2 Number of bacteria in water (a), sediment (b) and on the surface of *Gracilaria lemaneiformis* (c)

GSW: surface water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CSW: surface water in the control area; GBW: bottom water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CBW: bottom water in the control area; GS: sediment in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CS: sediment in the control area; GL: *Gracilaria lemaneiformis* litter; G: Cultivated *Gracilaria lemaneiformis*. ** indicates extremely significant difference compared with control ($P<0.01$).

2.2 细菌群落 α 多样性分析

ACE 指数和 Chao1 指数可作为细菌群落丰富度的表征参数, 而 Shannon 指数和 Simpson 指数是细菌群落多样性的表征, 其中 Shannon 指数越大多样性越高, Simpson 指数越小多样性越高^[20]。栽培区和对照区沉积物细菌多样性和丰富度最高, 但两组之间无显著性差异($P>0.05$); 其次是栽培区和对照区表、底层水体细菌多样性与丰富度, 但 4 组间无显著性差异($P>0.05$); 栽培龙须菜及龙须菜凋落物附着细菌多样性和丰富度最低, 且两组间无显著性差异($P>0.05$)(图 3), 但沉积物、水体及藻体附着细菌间差异显著($P<0.05$)。

2.3 细菌群落结构组成分析

2.3.1 门水平细菌群落结构分析 龙须菜栽培区表、底层水体样本 OTU 分属 43 个门, 对照区表、

底层水体样本 OTU 分属 41 个门(图 4)。龙须菜栽培区表、底层水体细菌的优势菌群(相对丰度值 $>1\%$ ^[21])一致, 分别为: 变形菌门(*Proteobacteria*)(相对丰度分别为 56.9%和 55.8%, 其中 α -变形菌 45.5%和 44.2%, γ -变形菌 11.0%和 10.8%, δ -变形菌 0.4%和 0.8%)、拟杆菌门(*Bacteroidetes*)(相对丰度分别为 22.0%和 21.0%)、蓝细菌门(*Cyanobacteria*)(相对丰度分别为 7.5%和 9.2%)、放线菌门(*Actinobacteria*)和浮霉菌门(*Planctomycetes*)。对照海域表层水体的优势菌群为: 变形菌门(相对丰度为 47.7%, 其中 α -变形菌 27.6%, γ -变形菌 18.8%, δ -变形菌 1.2%)、拟杆菌门(相对丰度为 17.1%)、蓝细菌门(相对丰度为 9.8%)、放线菌门、浮霉菌门、厚壁菌门(*Firmicutes*)。对照海域底层水体的优势菌群为: 变形菌门(相对丰度为 53.4%,

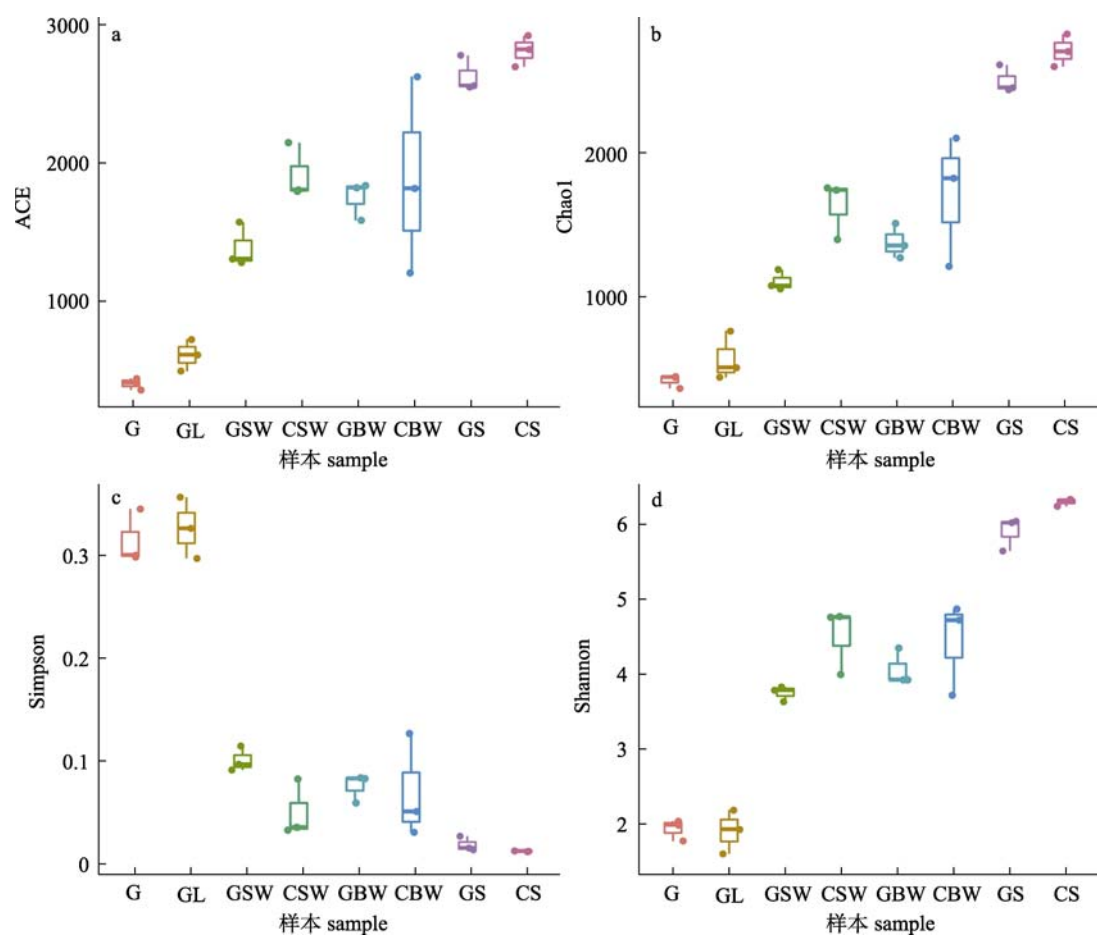


图 3 细菌群落 α 多样性指数分组箱线图

a. ACE 指数, b. Chao1 指数, c. Simpson 指数, d. Shannon 指数.
G: 栽培龙须菜; GL: 龙须菜凋落物; GSW: 龙须菜栽培区表层水; CSW: 对照区表层水体;
GBW: 龙须菜栽培区底层水体; CBW: 对照区底层水体; GS: 龙须菜栽培区沉积物; CS: 对照区沉积物.
Fig. 3 Box plot showing the comparisons of bacterial α -diversity
a. ACE index, b. Chao1 index, c. Simpson index, d. Shannon index.
G: cultivated *Gracilaria lemaneiformis*; GL: *Gracilaria lemaneiformis* litter; GSW: surface water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CSW: surface water in the control area; GBW: bottom water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CBW: bottom water in the control area; GS: sediment in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CS: sediment in the control area.

其中 α -变形菌 34.7%, γ -变形菌 16.9%, δ -变形菌 1.7%)、拟杆菌门(相对丰度为 16.2%)、放线菌门(相对丰度为 8.6%)、蓝细菌门、浮霉菌门、厚壁菌门、疣微菌门(Verrucomicrobia)。

沉积物样本 OTU 分属 52 个门, 其中龙须菜栽培区沉积物细菌的优势菌群为: 变形菌门(相对丰度为 42.2%, 其中 α -变形菌 3.9%, γ -变形菌 18.3%, δ -变形菌 19.6%)、拟杆菌门(相对丰度为 11.1%)、酸杆菌门(Acidobacteria)(相对丰度为 7.6%)、厚壁菌门、绿弯菌门(Chloroflexi)、浮霉菌门、放线菌门、Latescibacteria、芽单胞菌门

(Gemmatimonadetes)。对照区沉积物的优势菌群为: 变形菌门(相对丰度为 53.9%, 其中 α -变形菌 5.2%, γ -变形菌 28.4%, δ -变形菌 19.9%)、酸杆菌门(相对丰度为 10.3%)、浮霉菌门(相对丰度为 9.0%)、绿弯菌门、拟杆菌门、放线菌门、芽单胞菌门、Latescibacteria、蓝细菌门。在沉积物细菌优势门的组成上, 龙须菜栽培区拟杆菌门、厚壁菌门等的相对丰度更高, 且龙须菜栽培区没有对照区的优势门——蓝细菌门, 对照区没有龙须菜栽培区的厚壁菌门。

藻体附着样本 OTU 分属 26 个门, 其中龙须

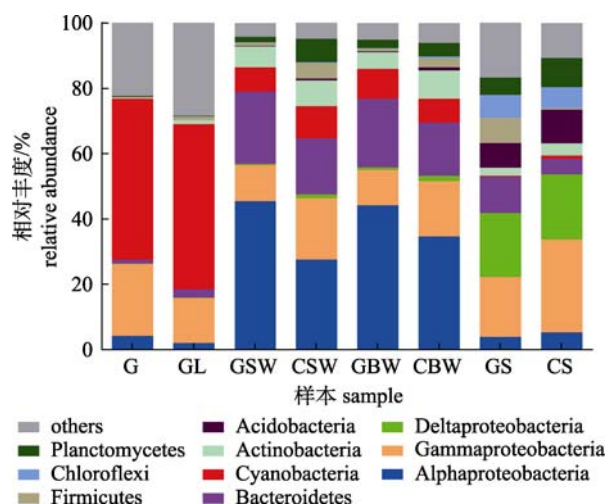


图 4 龙须菜栽培对门水平细菌群落相对丰度的影响

GSW: 龙须菜栽培区表层水; CSW: 对照区表层水体;

GBW: 龙须菜栽培区底层水体; CBW: 对照区底层水体;

GS: 龙须菜栽培区沉积物; CS: 对照区沉积物;

GL: 龙须菜凋落物; G: 栽培龙须菜。

Fig. 4 The influence of the culture of *Gracilaria lemaneiformis* on relative abundance of bacteria community structure at the phylum level

GSW: surface water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CSW: surface water in the control area;

GBW: bottom water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CBW: bottom water in the control area;

GS: sediment in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*;

CS: sediment in the control area; GL: *Gracilaria lemaneiformis*

litter; G: Cultivated *Gracilaria lemaneiformis*.

菜凋落物附着细菌的优势菌群: 蓝细菌门(相对丰度为 50.5%)、变形菌门(相对丰度为 15.9%, 其中 α -变形菌 2.0%, γ -变形菌 13.8%, δ -变形菌 0.1%)、拟杆菌门(相对丰度为 2.6%)、放线菌门、厚壁菌门。栽培龙须菜附着细菌的优势菌群: 蓝细菌门(相对丰度为 49.3%)、变形菌门(相对丰度为 26.3%, 其中 α -变形菌 4.2%, γ -变形菌 22.0%, δ -变形菌 0.1%)、拟杆菌门(相对丰度为 1.1%)。在主要优势门的组成上, 龙须菜凋落物和栽培龙须菜组成相似, 但龙须菜凋落物优势门的种类更丰富。

2.3.2 属水平细菌群落结构分析 在属水平上, 龙须菜栽培区表层水体细菌的优势属多为不可培养的种类, 主要有不可培养 Rhodobacteraceae (相对丰度为 29.1%)、Surface 1 norank (相对丰度为 10.1%)、不可培养 Cryomorphaceae (相对丰度为 5.5%)和 *Candidatus Actinomarina* (图 5)。龙须菜栽培区底层水体细菌的优势属与表层类似, 有不

可培养 Rhodobacteraceae (相对丰度为 21.1%)、Surface 1 norank (相对丰度为 15.7%)和 Cyanobacteria norank (相对丰度为 5.3%)。对照区表层水体细菌的优势属有: 不可培养 Rhodobacteraceae (相对丰度为 11.9%)、Surface 1 norank (相对丰度为 9.1%)、嗜冷杆菌属(*Psychrobacter*)(相对丰度为 5.9%)、Cyanobacteria norank。对照区底层水体细菌的优势属有: Surface 1 norank (相对丰度为 15.4%)、不可培养 Rhodobacteraceae (相对丰度为 12.1%)、*Candidatus actinomarina* (相对丰度为 5.1%)。龙须菜栽培区与对照区水体的优势菌群类似, 但龙须菜栽培区具有更高丰度的不可培养 Rhodobacteraceae。龙须菜栽培区和对照区沉积物细菌的优势菌属均为 JTB255 marine benthic group (相对丰度分别为 6.4%和 12.4%)和脱硫球茎菌属(*Desulfobulbus*)(相对丰度分别为 4.2%和 5.2%)。龙须菜凋落物附着细菌的优势属为盖丝藻属(*Geitlerinema*)(相对丰度为 48.8%)、弧菌属(*Vibrio*)(相对丰度为 5.5%)、假单胞菌属(*Pseudomonas*)(相对丰度为 4.2%)和假交替单胞菌属(*Pseudoalteromonas*)。栽培龙须菜附着细菌的优势属为盖丝藻属(相对丰度为 49.2%)、假交替单胞菌属(相对丰度为 7.2%)和弧菌属(相对丰度为 6.8%)。

2.4 龙须菜栽培系统细菌群落的功能预测

使用 PICRUST 软件预测龙须菜栽培系统水体、沉积物和藻体细菌群落的功能基因组成, 发现该系统细菌群落功能类别相似。COG 注释结果显示, 该系统的细菌群落功能主要与一般功能预测(general function prediction only)、氨基酸转运与代谢(amino acid transport and metabolism)、转录(transcription)、能量生产和转化(energy production and conversion)和细胞壁/细胞膜/包膜合成(cell wall/membrane/envelope biogenesis)等有关(图 6a)。KEGG 功能注释发现, 细菌群落功能主要与氨基酸代谢(amino acid metabolism)、膜运输(membrane transport)、碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)、复制与修复(replication and repair)、能量代谢(energy metabolism)、翻译(translation)等有关。与栽培区水体相比, 龙须菜藻体附着细菌在“细胞迁移(cell motility)”、“膜运



图 5 属水平细菌群落热图

G: 栽培龙须菜; GL: 龙须菜凋落物; GSW: 龙须菜栽培区表层水; CSW: 对照区表层水体; GBW: 龙须菜栽培区底层水体; CBW: 对照区底层水体; GS: 龙须菜栽培区沉积物; CS: 对照区沉积物。

Fig. 5 Genus level bacterial community heatmap

G: Cultivated *Gracilaria lemaneiformis*; GL: *Gracilaria lemaneiformis* litter; GSW: surface water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CSW: surface water in the control area; GBW: bottom water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CBW: bottom water in the control area; GS: sediment in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; CS: sediment in the control area.



图 6 不同组样品细菌 COG 和 KEGG 功能预测分类

a. 第 2 层级 COG 功能预测; b. 基因簇在第 2 层级 KEGG 的功能预测。

GSW: 龙须菜栽培区表层水; GBW: 龙须菜栽培区底层水体; G: 栽培龙须菜; GL: 龙须菜凋落物; GS: 龙须菜栽培区沉积物。

Fig. 6 The predicted COG and KEGG function classification of bacterial communities

a. COG level 2; b. KOs in KEGG level 2.

GSW: surface water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; GBW: bottom water in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*; G: Cultivated *Gracilaria lemaneiformis*; GL: *Gracilaria lemaneiformis* litter; GS: sediment in the cultivation area of *Gracilaria lemaneiformis*.

输”、“细胞过程与信号(cellular processes and signaling)”功能水平更高,在“能量代谢”功能水平较低(图 6b)。

2.5 龙须菜藻体附着可培养优势菌组成

龙须菜凋落物体表附着可培养细菌数量为 1.78×10^5 CFU/g,栽培龙须菜体表附着可培养细

菌数量为 1.11×10^6 CFU/g (图 7), 栽培龙须菜体表附着可培养细菌数量显著高于龙须菜凋落物体表附着细菌数量($P < 0.05$)。

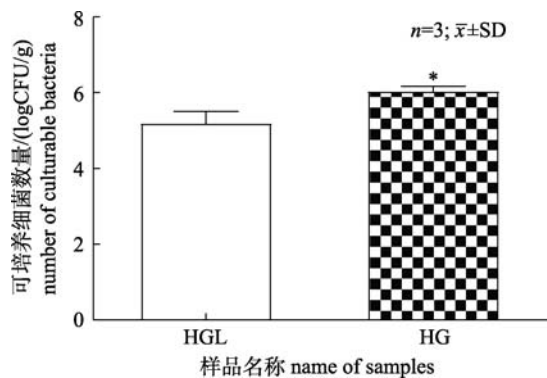


图 7 龙须菜凋落物及栽培龙须菜体表附着可培养细菌数量

HGL: 龙须菜凋落物; HG: 栽培龙须菜. *表示差异显著($P < 0.05$).

Fig. 7 Number of culturable bacteria attached to the litter of *Gracilaria lemaneiformis* and cultivated *Gracilaria lemaneiformis*

HGL: *Gracilaria lemaneiformis* litter; HG: Cultivated *Gracilaria lemaneiformis*. * indicates significant difference($P < 0.05$).

对可培养优势菌进行分离与纯化, 共获得 6 株优势菌(表 1)。龙须菜凋落物附着细菌分别记为 YD1、YD2、YD3, 经鉴定为假交替单胞菌属、*Cobetia* 属、亚硫酸杆菌属(*Sulfitobacter*)。栽培龙须菜附着细菌经鉴定分别属于弧菌属(ZT1 和 ZT3)和 *Tenacibaculum* (ZT2)(图 8)。

2.6 细菌群落组成与环境因子的相关性分析

水体、沉积物的环境因子如表 2 所示。选取水体、沉积物和藻体附着细菌优势菌门的 OTU 数

据与相应的环境因子进行 RDA。结果显示, 水体微生物群落组成与环境因子的 RDA 分析(图 9a)所得出的前两个排序轴与细菌群落组成变化解释的程度为 56.8%, 龙须菜凋落物及栽培龙须菜体表附着细菌群落组成与环境因子的 RDA 分析(图 9b)所得出的前两个排序轴与细菌群落组成变化解释的程度为 97.3%。由于藻际环境与水体环境相似, 主导水体和藻体附着优势菌群的环境因子一致, 均为 pH、DO 和盐度。其中水体优势菌门厚壁菌门、放线菌门和浮霉菌门受 DO 和盐度的影响较大, 并呈正相关关系。而对水体和藻体附着的优势菌门与环境因子的 RDA 分析表明, 变形菌门、拟杆菌门与 pH 和 DO 呈负相关。沉积物微生物群落组成与环境因子的 RDA 分析(图 9c)得出的前两个排序轴与细菌群落组成变化的解释程度为 46.6%, TOC、TN、TP 对沉积物细菌优势群落组成的影响均较大, 其中, 除拟杆菌门和厚壁菌门与 TP 呈负相关外, 绝大多数优势菌门分布与 TP 呈正相关。

3 讨论

3.1 细菌群落结构特征

微生物群落结构是反映水生态系统状态的重要指标^[22]。许多研究者通过 DGGE 法、高通量测序等方法研究了不同生境中细菌群落结构组成, 关注优势菌类的相对丰度^[8-10]。细菌总数能反映不同生境细菌的绝对数量, 能够更客观地评估细菌在生态系统中的功能与作用^[23]。本研究采用荧光定量 PCR 法检测了龙须菜栽培系统中水体、沉积物等的细菌数量, 发现龙须菜栽培区表、底层

表 1 龙须菜凋落物及栽培龙须菜附着可培养优势菌的菌落特征

Tab. 1 Characteristics of culturable dominant bacterial colonies attached to *Gracilaria lemaneiformis* litter and cultivated *Gracilaria lemaneiformis*

菌落编号 colony number	菌落特征 characteristics of colonies
YD1	菌落为白色, 呈圆形, 直径约为 4 mm, 菌落边缘整齐、湿润
YD2	菌落为灰色, 呈圆形, 直径约为 3 mm, 菌落边缘整齐, 菌落表面凹凸、干燥
YD3	菌落为白色, 呈圆形, 直径约为 1 mm, 菌落边缘整齐、湿润
ZT1	菌落为白色, 呈圆形, 直径约为 1.5 mm, 菌落边缘整齐、湿润
ZT2	菌落为黄色, 呈无规则形状, 菌落边缘不整齐、湿润
ZT3	菌落为白色, 呈无规则形状, 菌落边缘不整齐、湿润

注: YD1–YD3 为龙须菜凋落物附着细菌; ZT1–ZT3 为栽培龙须菜附着细菌。
Note: TD1–YD3 are bacteria on the surface of *Gracilaria lemaneiformis* litter; ZT1–ZT3 are bacteria on the surface of cultivated *Gracilaria lemaneiformis*.

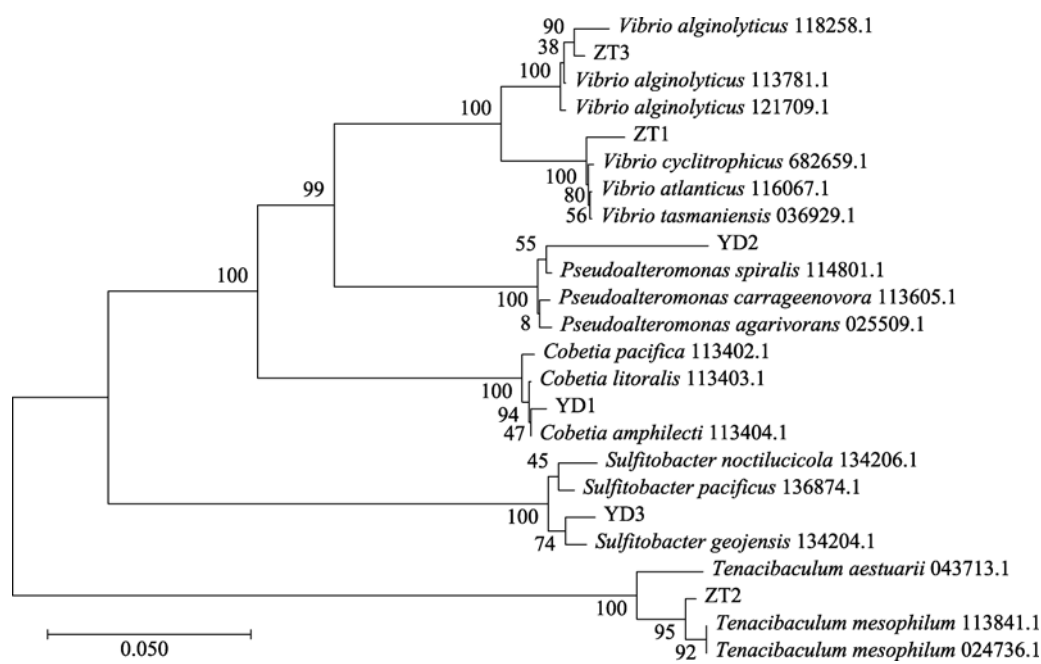


图 8 龙须菜凋落物及栽培龙须菜体表附着可培养优势细菌系统进化树

Fig. 8 Phylogenetic tree of dominant culturable bacteria attached to *Gracilaria lemaneiformis* litter and cultivated *Gracilaria lemaneiformis*

表 2 南澳水体、沉积物理化因子特征

Tab. 2 Physicochemical properties in water and sediment in Nan'ao

n=3; $\bar{x}\pm SD$						
采样区域 sampling area	龙须菜栽培区 <i>Gracilaria</i> culture area			对照区 control area		
采样点位置 sampling site	表层水体 surface water	底层水体 bottom water	沉积物 sediment	表层水体 surface water	底层水体 bottom water	沉积物 sediment
水深/m depth		7.03±0.06			10.67±0.06	
水温/℃ WT	20.23±0.40	19.47±0.06	/	19.87±0.29	19.87±0.29	/
盐度 salinity	32.85±0.01	32.85±0.01	/	32.95±0.04	32.95±0.04	/
pH	8.17±0.01	8.17±0.01	/	8.20±0.00	8.20±0.00	/
溶解氧/(mg/L) DO	6.33±0.12	6.33±0.12	/	6.75±0.22	6.75±0.22	/
总有机碳 TOC	1.27±0.06 mg/L	1.27±0.06 mg/L	(1.14±0.07)%	1.27±0.12 mg/L	1.37±0.21 mg/L	(0.88±0.10)%
总氮 TN	0.10±0.04 mg/L	0.17±0.03 mg/L	621.00±31.10 mg/kg	0.14±0.04 mg/L	0.29±0.09 mg/L	492.00±50.32 mg/kg
总磷 TP	0.04±0.01 mg/L	0.06±0.02 mg/L	24.75±8.56 mg/kg	0.03±0 mg/L	0.06±0.05 mg/L	21.23±8.17 mg/kg

水体细菌数量均显著高于对照区($P<0.05$), 但沉积物细菌数量两区域差异不显著($P>0.05$)。

胡晓娟^[8]、解欣斐^[9]分别在 2012 年 2 月和 2014 年 4 月对龙须菜栽培海域与对照海域水体和沉积物细菌群落结构进行了调查研究。胡晓娟^[8]采用 DGGE 法发现两区域表层水体优势菌相似, 包括变形菌门、拟杆菌门、蓝细菌门、厚壁菌门, 对照区还有放线菌, 两区域沉积物优势菌相似, 包括变形菌门、酸杆菌门、放线菌门、厚壁菌门和

浮霉菌门, 此外对照区还有拟杆菌门。解欣斐^[9]采用 16S rRNA 高通量测序法发现龙须菜栽培区和对照区表层水体微生物群落结构差异不明显, 但底层水体和沉积物中微生物群落结构差异显著, 表层及底层水体中, 拟杆菌门, α -变形菌和 γ -变形菌均为优势菌, 但其相对丰度在两区域间有差异, 沉积物中的优势菌为拟杆菌门、 γ -变形菌及 ϵ -变形菌。本研究选择在南澳海域养殖规划调整后的 2021 年 4 月, 比较了南澳龙须菜栽培区和对照海

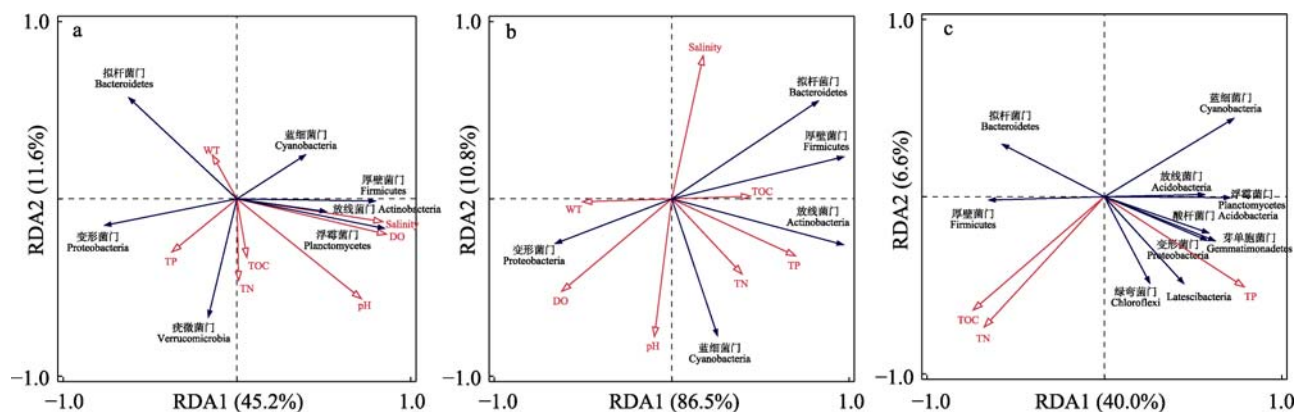


图9 水体主要优势菌(a)、龙须菜藻体附着主要优势菌(b)和沉积物主要优势菌(c)与环境因子的 RDA 分析

Fig. 9 RDA ordination of dominant bacteria in water (a), attach to *Gracilaria lemaneiformis* (b), and in sediment (c) with environmental factors

域表、底层水体及沉积物的细菌总数及细菌群落结构组成, 所获结果与解欣斐^[9]和胡晓娟^[8]的结果存在一定相似性和差异性。变形菌门和拟杆菌门是海洋异养细菌的两大优势类群^[24], 对南澳海洋微生物的研究发现, 变形菌门与拟杆菌门在不同时期始终保持较高的相对丰度水平。本研究与前期研究略有差异, 推测原因可能与研究方法的不同有关, 也有可能是由于南澳栽培区的重新规划, 采样调查选取的空间差异有关^[9]。此外, 龙须菜栽培区表层和底层水体的主要优势菌“Rhodobacteraceae”较对照区水体具有更高的相对丰度。这类菌对有机化合物的代谢多样性高, 可借助藻类分泌物和裂解物在水环境细菌群落中大量繁殖, 对水体无机碳氮循环发挥重要作用^[24-25]。本研究结果显示, 栽培区表、底层水体微生物数量显著高于对照区, 且优势菌属和相对丰度差异明显, 说明龙须菜的栽培促进了栽培区水体细菌数量的增加, 影响了细菌群落的组成和分布^[26]。

大型海藻体表是附着微生物的重要栖息地。藻类生长过程中向环境释放大量的有机物质, 藻类细胞周围能形成独特的微环境^[27-28]。胡晓娟^[8]、解欣斐^[9]和裴鹏兵等^[10]对南澳栽培龙须菜体表优势细菌研究发现主要有变形菌门、拟杆菌门和蓝细菌门等。这与本研究龙须菜体表优势菌群的鉴定结果一致。本研究还比较了栽培龙须菜与龙须菜凋落物藻体附着细菌总数及细菌群落结构组成的差异, 发现龙须菜凋落物附着细菌总数虽显著

低于栽培龙须菜, 并且主要优势菌门组成上和栽培龙须菜相似, 但龙须菜凋落物细菌 α 多样性更高, 这可能由于凋落物脱落到海底, 增加了生境异质性^[29]。此外, 在龙须菜及其凋落物体表均发现了相对丰度较高的蓝细菌门的盖丝藻属, 在我国, 它是 2014 年才被发现的新属, 是一种水生植物叶表面常见的附着蓝藻, 具有抗紫外损伤和固氮的作用^[30]。基于 COG 和 KEGG 的功能预测, 龙须菜栽培区的水体、沉积物和藻体附着细菌群落具有相似的代谢功能。与栽培区水体比较, 龙须菜藻体附着细菌在“细胞迁移”、“膜运输”、“细胞过程与信号”功能水平更高, 藻体表面有机质丰富, 微生物更利于在藻体表面附着繁殖。

3.2 龙须菜藻体附着可培养菌群特征

可培养细菌是水生态系统微生物群落中最重要的组成部分之一, 虽然仅占环境微生物总量的 1%^[19], 但具有很大的应用潜能, 一些大型海藻体表附着菌可促进藻类生长, 为藻类提供营养^[28,31-32], 应予以关注。本研究中栽培龙须菜体表的细菌总数和异养细菌数较高, 分别为 2.82×10^9 copies/g 和 1.11×10^6 CFU/g, 这可能是由于藻类和微生物群落之间存在着双向选择, 体表微生物群落与新鲜藻体共同营造出优良的生境^[25]。龙须菜凋落物体表的细菌总数和异养细菌数相对较低, 分别为 9.47×10^6 copies/g 和 1.78×10^5 CFU/g, 可能与凋落物分解有关^[33-34]。

通过 16S rRNA 多样性分析及分离的可培养

细菌发现,假交替单胞菌和弧菌是龙须菜体表的主要附着细菌。据报道假交替单胞菌是普遍存在于大型海藻表面的附着细菌之一,对藻类的正常生长和发育起着重要作用,不同的假交替单胞菌能分泌不同的胞外活性物质,表现出抗菌、溶菌、抗附着等生物活性^[35-36]。但一些假交替单胞菌也可能成为养殖海藻的致病菌^[37-38]。弧菌是海洋环境中最常见的细菌类群之一,也是常见的养殖生物条件致病菌。Dobretsov 等^[39]发现网石莼表面分离的弧菌属菌株(*Vibrio*)的水提物表现出抗附着活性。Lavilla-Pitogo^[40]从患有叶状体腐烂综合症的江蓠属海藻(*Gracilaria*)上分离出可以降解琼胶的病原弧菌。本研究发现龙须菜的藻体附着可培养弧菌有两种,分别是溶藻弧菌(*Vibrio alginolyticus*)和食环芳弧菌(*Vibrio cyclitrophicus*),其中溶藻弧菌是海洋动物致病弧菌之一,对多种海水养殖动物具有致病性^[19],需引起关注。

3.3 影响微生物群落结构的环境因子特征

Meta-群落假说^[41]认为影响细菌群落组成的因素分为内部因子和外部因子。对于水体流动性强的近海海岸,一般认为细菌多样性是内部环境因子和不同生境间随机分布共同作用的影响^[42]。本研究对水体、沉积物和藻体附着优势菌群与对应的外部环境因子进行 RDA 分析,发现不同环境因子对不同菌群的影响不同。解欣斐^[9]认为大型海藻龙须菜可吸收水体无机营养物质,增加水体 DO 和 pH,这可能是改变龙须菜栽培区水体和沉积物中微生物群落的驱动力。本研究发现影响藻体附着与水体微生物的主导因子同为 pH、DO 和盐度,而影响沉积物微生物的主要环境因子与解欣斐^[9]研究结果存在差异,推测可能与龙须菜栽培区的位置和规模重新规划有关。在本研究中,龙须菜栽培区沉积物的氮、碳含量均显著高于对照区,这可能与该区域多年贝类养殖有关。在南澳养殖规划调整的背景下,大型海藻栽培对区域环境因子的影响与作用值得深入研究。

参考文献:

[1] Yang Y F, Chai Z Y, Wang Q, et al. Cultivation of seaweed *Gracilaria* in Chinese coastal waters and its contribution to

environmental improvements[J]. *Algal Research*, 2015, 9: 236-244.

- [2] Yang Y F, Luo H T, Wang Q, et al. Large-scale cultivation of seaweed is effective approach to increase marine carbon sequestration and solve coastal environmental problems[J]. *Bulletin of Chinese Academy of Sciences*, 2021, 36(3): 259-269. [杨宇峰, 罗洪添, 王庆, 等. 大型海藻规模栽培是增加海洋碳汇和解决近海环境问题的有效途径[J]. *中国科学院院刊*, 2021, 36(3): 259-269.]
- [3] The People's Government of Nan'ao County. Beach planning of aquaculture waters in Nan'ao County, Shantou City (2018-2030)[R]. [南澳县人民政府. 汕头市南澳县养殖水域滩涂规划(2018-2030 年)[R].]
- [4] Jiao N Z. *Marine Microbial Ecology*[M]. Beijing: Science Press, 2006. [焦念志. 海洋微生物生态学[M]. 北京: 科学出版社, 2006.]
- [5] Azam F, Malfatti F. Microbial structuring of marine ecosystems[J]. *Nature Reviews Microbiology*, 2007, 5(10): 782-791.
- [6] Madoni P, Braghiroli S. Changes in the ciliate assemblage along a fluvial system related to physical, chemical and geomorphological characteristics[J]. *European Journal of Protistology*, 2007, 43(2): 67-75.
- [7] Hu D, Wang L P, Zhao R, et al. The diversity changes of bacterial community in mariculture water of *Litopenasus vannamei* at Zhangpu, Fujian Province[J]. *Haiyang Xuebao*, 2017, 39(8): 89-98. [胡东, 王丽萍, 赵蓐, 等. 福建漳浦凡纳滨对虾海水养殖中后期水体细菌群落多样性分析[J]. *海洋学报*, 2017, 39(8): 89-98.]
- [8] Hu X J. Analysis on microbial community characteristics in the typical sea areas in Guangdong Province[D]. Guangzhou: Jinan University, 2013. [胡晓娟. 广东典型海域微生物群落特征分析[D]. 广州: 暨南大学, 2013.]
- [9] Xie X F. The structure and function of microbial communities in A seaweed cultivation ecosystem of *Gracilaria lemaneiformis*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2017. [解欣斐. 大型海藻龙须菜栽培生态系统微生物群落结构及功能研究[D]. 广州: 暨南大学, 2017.]
- [10] Pei P B, Chen Y, Deng S H, et al. Analysis of the bacterial community composition of the epiphytes on diseased *Gracilaria lemaneiformis* using PCR-DGGE fingerprinting technology[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(5): 1040-1050. [裴鹏兵, 陈洋, 邓绍鸿, 等. PCR-DGGE 指纹图谱技术分析发病龙须菜附生菌菌群组成[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(5): 1040-1050.]
- [11] Armson K A. *Forest Soil: Properties and Processes*[M]. Beijing: Science Press, 1984: 33-46. [阿姆森 K A. 森林土壤: 性质和作用[M]. 北京: 科学出版社, 1984: 33-46.]

- [12] Dai X J, Hu R, Luo H T, et al. Effects of the decomposition of *Gracilaria lemaneiformis* on seawater quality[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2021, 40(1): 91-98. [戴晓娟, 胡韧, 罗洪添, 等. 大型海藻龙须菜凋落物分解对水质的影响[J]. 热带海洋学报, 2021, 40(1): 91-98.]
- [13] He P M, Liu Y Y, Zhang J W, et al. Research progress on the effects of macroalgae on carbon sink[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(3): 588-595. [何培民, 刘媛媛, 张建伟, 等. 大型海藻碳汇效应研究进展[J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 588-595.]
- [14] Zou M. Study on decomposition of macroalgae debris under different environment factors[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2017. [邹敏. 不同环境要素影响下大型海藻碎屑分解研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2017.]
- [15] Smith B D, Foreman R E. An assessment of seaweed decomposition within a southern Strait of Georgia seaweed community[J]. Marine Biology, 1984, 84(2): 197-205.
- [16] Liu Y M, Zhang S Y, Zhou X J, et al. C/N stable isotope analysis of macro algae litters in kelp bed in Gouqi Island[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(3): 438-444. [刘雨蒙, 章守宇, 周曦杰, 等. 枸杞岛海藻场大型海藻凋落物碳氮稳定同位素分析[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(3): 438-444.]
- [17] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 12763.4-2007 Specifications for oceanographic survey. Part 4: Survey of Chemical Parameters in Sea Water[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 12763.4-2007 海洋调查规范. 第4部分: 海水化学要素调查[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.]
- [18] General Administration of Quality Supervision, Inspection and Quarantine of the People's Republic of China. Standardization Administration of the People's Republic of China. GB/T 17378.4-2007 The specification for marine monitoring. Part 4: Seawater analysis[S]. Beijing: Standards Press of China, 2007. [中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局, 中国国家标准化管理委员会. GB/T 17378.4-2007 海洋监测规范. 第4部分: 海水分析[S]. 北京: 中国标准出版社, 2007.]
- [19] Zhang X H. Marine microbiology[M]. 2nd ed. Beijing: Science Press, 2016. [张晓华. 海洋微生物学[M]. 第2版. 北京: 科学出版社, 2016.]
- [20] Fan N, Peng Z D, Bai W B. Analysis of soil bacterial composition, abundance and diversity based on high-throughput sequencing[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2021, 37(20): 66-70. [范娜, 彭之东, 白文斌. 基于高通量测序的土壤细菌组成、丰度及多样性分析[J]. 中国农学通报, 2021, 37(20): 66-70.]
- [21] Peng K, Dong Z, Di Y M, et al. Contrasting analysis of microbial community composition in the water and sediments of the north canal based on 16S rRNA high-throughput sequencing[J]. Environmental Science, 2021, 42(11): 5424-5432. [彭柯, 董志, 邸琰茗, 等. 基于16S rRNA高通量测序的北运河水体及沉积物微生物群落组成对比分析[J]. 环境科学, 2021, 42(11): 5424-5432.]
- [22] Paerl H W, Dyble J, Twomey L, et al. Characterizing man-made and natural modifications of microbial diversity and activity in coastal ecosystems[J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2002, 81(1): 487-507.
- [23] Ji F Y. Microbial community composition of Pearl River Estuary in seawater and Liaohe River Estuary in sediment[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016. [季风云. 珠江口海水和辽河口沉积物中微生物丰度及群落结构分析[D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.]
- [24] Dong J, Qu L P, Liu H X, et al. The dynamics of bacteria and Archaea in pond water associated with different growth phases of *Penaeus vannamei*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 39(9): 3057-3067. [董俊, 曲立平, 刘红霞, 等. 对虾生长不同阶段虾塘水体细菌和古菌的动态特征[J]. 生态学杂志, 2020, 39(9): 3057-3067.]
- [25] Bischoff V, Bunk B, Meier-Kolthoff J P, et al. Cobaviruses—a new globally distributed phage group infecting Rhodobacteraceae in marine ecosystems[J]. The ISME Journal, 2019, 13(6): 1404-1421.
- [26] Hu C J, Xiong J B, Chen H P, et al. Distribution of bacterioplankton communities in cage culture and non-cultured areas of Xiangshan Bay, Ningbo, China[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(24): 8053-8061. [胡常巨, 熊金波, 陈和平, 等. 象山港网箱养殖区与非养殖区的细菌群落分布[J]. 生态学报, 2015, 35(24): 8053-8061.]
- [27] Xu Y J, Le G Z, Zhang Y P. Comparison with several methods to isolate epiphytic bacteria from *Gracilaria lemaneiformis* (rhodophyta)[J]. Microbiology, 2007, 34(1): 123-126. [徐永健, 乐观宗, 张友平. 龙须菜体表附生细菌的几种分离方法比较[J]. 微生物学通报, 2007, 34(1): 123-126.]
- [28] Jensen P R, Kauffman C A, Fenical W. High recovery of culturable bacteria from the surfaces of marine algae[J]. Marine Biology, 1996, 126(1): 1-7.
- [29] Cao P, He J Z. A preliminary theoretical framework of microbial ecology[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(22): 7263-7273. [曹鹏, 贺纪正. 微生物生态学理论框架[J]. 生

- 态学报, 2015, 35(22): 7263-7273.]
- [30] Wang M M, Yang L, Xu X Y, et al. *Geitlerinema ionicum*-A new species recorded in Cyanophyta from China[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(2): 258-262. [王梦梦, 杨丽, 徐肖莹, 等. 群动盖丝藻(*Geitlerinema ionicum*) 中国蓝藻门一个新纪录种[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(2): 258-262.]
- [31] Goecke F, Labes A, Wiese J, et al. Chemical interactions between marine macroalgae and bacteria[J]. Marine Ecology Progress Series, 2010, 409: 267-299.
- [32] Croft M T, Warren M J, Smith A G. Algae need their vitamins[J]. Eukaryotic Cell, 2006, 5(8): 1175-1183.
- [33] Fan B, Li X W, Zhang J, et al. Decomposition of triploid *Populus tomentosa* fine root and *Lolium multiflorum* grass root in a composite ecosystem and their nutrient dynamics[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2005, 16(11): 2030-2034. [范冰, 李贤伟, 张健, 等. 三倍体毛白杨-黑麦草复合生态系统林木细根与草根的分解及养分动态[J]. 应用生态学报, 2005, 16(11): 2030-2034.]
- [34] Sun Z G, Liu J S. Development in study of wetland litter decomposition and its responses to global change[J]. Acta Ecologica Sinica, 2007, 27(4): 1606-1618. [孙志高, 刘景双. 湿地枯落物分解及其对全球变化的响应[J]. 生态学报, 2007, 27(4): 1606-1618.]
- [35] Vynne N G, Månsson M, Nielsen K F, et al. Bioactivity, chemical profiling, and 16S rRNA-based phylogeny of *Pseudoalteromonas* strains collected on a global research cruise[J]. Marine Biotechnology, 2011, 13(6): 1062-1073.
- [36] Wu H Q, Liu M, Xiao T. Diversity analysis of *Pseudoalteromonas* isolated from surface of several red macroalgae[J]. Marine Sciences, 2013, 37(10): 17-23. [武洪庆, 刘敏, 肖天. 不同养殖区红藻表面假交替单胞菌多样性分析[J]. 海洋科学, 2013, 37(10): 17-23.]
- [37] Yan Y, Ma J H, Xu P, et al. *Pseudoalteromonas citrea*, the causative agent of green-spot disease of *Porphyra yezoensis* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2002, 9(4): 353-358. [闫咏, 马家海, 许璞, 等. 1 株引起条斑紫菜绿斑病的柠檬假交替单胞菌[J]. 中国水产科学, 2002, 9(4): 353-358.]
- [38] Sawabe T, Makino H, Tatsumi M, et al. *Pseudoalteromonas bacteriolytica* sp. nov., a marine bacterium that is the causative agent of red spot disease of *Laminaria japonica*[J]. International Journal of Systematic Bacteriology, 1998, 48(3): 769-774.
- [39] Dobretsov S V, Qian P Y. Effect of bacteria associated with the green alga *Ulva reticulata* on marine micro- and macrofouling[J]. Biofouling, 2002, 18(3): 217-228.
- [40] Lavilla-Pitogo C R. Agar-digesting bacteria associated with 'rotten thallus syndrome' of *Gracilaria* sp.[J]. Aquaculture, 1992, 102(1-2): 1-7.
- [41] Leibold m a, Holyoak m, Mouquet n, et al. The metacommunity concept: A framework for multi-scale community ecology[J]. Ecology Letters, 2004, 7(7): 601-613.
- [42] Brendan Logue J, Lindström E S. Biogeography of bacterioplankton in inland waters[J]. Freshwater Reviews, 2008, 1(1): 99-114.

Characteristics of bacterial community structure in the cultivation system of *Gracilaria lemaneiformis* in the Nan'ao area, Shantou

ZHAO Xiu^{1,2}, HU Xiaojuan², REN Lijuan¹, YANG Yufeng¹

1. Institute of Hydrobiology, Jinan University; Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhuhai), Guangzhou 510632, China;
2. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China

Abstract: Large-scale cultivation of *Gracilaria lemaneiformis* developed in the Nan'ao area, Shantou, Guangdong Province in 2005. Nan'ao Island is an important base for *Gracilaria* cultivation in China. This survey was conducted in a re-planning culture area of the *G. lemaneiformis* cultivation system in Nan'ao. Samples of water, sediment, cultivated *Gracilaria*, and their litter were collected from the seaweed cultivation area (G). The current *Gracilaria* cultivation area is a mixed cultivation area of shellfish and algae, where oyster culture has been performed for many years. Samples were also collected from the adjacent control area (C) when the seaweed exhibited the largest biomass. The results showed that the amounts of bacteria were 3.96×10^5 copies/mL and 4.97×10^5 copies/mL, respectively, in the surface and bottom water of the G area. They were significantly higher than that in the C area. However, sediment bacteria showed no significant differences between the G and C areas. The densities of sequenced bacteria and cultured bacteria on the *Gracilaria* surface were significantly higher than that in their litter. Among different habitats (water, sediment, and *G. lemaneiformis*), bacterial diversities of the two areas were higher in the sediment. Compared with the C area, the relative abundance of Bacteroidetes and Firmicutes was higher in the sediment of G area. For water samples, the dominant bacteria were similar between those two areas, but a higher relative abundance of Rhodobacteraceae was observed in the G area. The main dominant genus attached to *Gracilaria* and their litters were *Geitlerinema*, *Vibrio*, and *Pseudoalteromonas*. Correspondingly, *Vibrio alginolyticus*, *Vibrio cyclitrophicus*, and *Pseudoalteromonas* sp. were isolated and identified among the culturable dominant bacteria. Through the redundancy analysis (RDA), pH, DO, and salinity were the dominant factors affecting bacterial community compositions in water and on the surface of *G. lemaneiformis*. Total phosphorus (TP) was the dominant factor affecting bacterial community composition in sediments. The results indicated that large-scale cultivation of *G. lemaneiformis* plays an important role in the assembly of bacterial communities in both the water body and sediment in the seaweed cultivation ecosystem. Furthermore, the surface of cultivated *Gracilaria* and its litter had specific microflora, which may affect the structure and function of the seaweed cultivation ecosystem.

Key words: *Gracilaria lemaneiformis*; litter; bacterial community; culturable bacteria

Corresponding author: YANG Yufeng, E-mail: tyf@jnu.edu.cn; HU Xiaojuan, E-mail: xinr129@163.com