

长牡蛎苗种培育用益生菌的筛选鉴定

赵天佑¹, 王子瑄², 黄煜烽³, 杨道鹏⁴, 李万野⁵, 李明^{2*}

¹大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁 大连

²獐子岛集团股份有限公司, 辽宁 大连

³大连深远海资源开发有限公司, 辽宁 大连

⁴长海县气象局, 辽宁 大连

⁵大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁 大连

收稿日期: 2025年4月29日; 录用日期: 2025年6月6日; 发布日期: 2025年6月17日

摘要

为筛选出长牡蛎*Crassostrea gigas*苗种培育用益生菌, 采用培养方法从牡蛎成体组织共分离出345株细菌, 经过产淀粉酶、脂酶、蛋白酶和纤维素酶能力测定从中筛选出8株菌产四种酶。对8株菌进行溶血试验, 7株为 γ -溶血, 即无潜在致病性。选出DX10和QX14菌株以终浓度为 1×10^6 cells/mL浸浴攻毒健康长牡蛎幼体7 d, 结果显示两菌株对长牡蛎幼体无毒性; 16S rRNA基因序列同源性分析表明, DX10菌株与*Shewanella aquimarina* SW-120菌株的序列相似性99.31%, QX14菌株与*Pseudoalteromonas* sp. P113-L017a菌株的序列相似性为100%; 将两菌株以终浓度 1×10^5 cells/mL添加在长牡蛎幼体培育水体中, 以不加菌为对照组, 分别在选育后的第3、6、12和15 d测定幼体壳高, 结果显示, DX10 (第6天至第15天)和QX14菌株(第3天至第15天)组幼体的壳高显著高于对照组($P < 0.05$); 幼体培育15 d后开始投放附着基以便苗种附着, 投放附着基10 d后(即选育后25 d)出库至海上养成, 并统计稚贝数量, 结果显示, DX10和QX14菌株组稚贝数量显著高于对照组($P < 0.05$)。研究表明, 益生菌希瓦氏菌DX10和假交替单胞菌QX14促进长牡蛎幼体生长和/或存活。

关键词

长牡蛎, 苗种培育, 益生菌, 筛选, 生长, 存活

Screening of Probiotics for Larviculture of Oyster *Crassostrea gigas*

Tianyou Zhao¹, Zixuan Wang², Yufeng Huang³, Daopeng Yang⁴, Wanye Li⁵, Ming Li^{2*}

¹Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian Liaoning

²Zhangzidao Group Company Limited, Dalian Liaoning

³Dalian Shenyuan Sea Resources Development Co., Ltd., Dalian Liaoning

*通讯作者。

文章引用: 赵天佑, 王子瑄, 黄煜烽, 杨道鹏, 李万野, 李明. 长牡蛎苗种培育用益生菌的筛选鉴定[J]. 微生物前沿, 2025, 14(2): 82-91. DOI: 10.12677/amb.2025.142011

⁴Changhai County Meteorological Bureau, Dalian Liaoning

⁵College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian Liaoning

Received: Apr. 29th, 2025; accepted: Jun. 6th, 2025; published: Jun. 17th, 2025

Abstract

In order to select the probiotics for larviculture of the oyster *Crassostrea gigas*, 345 bacterial strains were isolated from tissues of adult *C. gigas* using culture method. Eight strains were screened based on the abilities of the isolates producing amylase, lipase, protease and cellulase. Hemolysis was conducted on the 8 strains, and 7 strains showed γ -hemolysis, that is, they did not have potential pathogenicity. Healthy larvae were both challenged by strains DX10 and QX14 selected at 1×10^6 cells/mL for 7 d, confirming that both strains were non-toxic for oyster larvae. Similarity analysis of 16S rRNA gene sequences indicated that the strain DX10 had 99.31% similarity to *Shewanella aquimarina* SW-120 and the strain QX14 had 100% similarity to *Pseudoalteromonas* sp. P113-L017a. Two strains were added to seawater in tanks for larviculture of the oyster at final concentration of 1×10^5 cells/mL and no potential probiont was added to control tanks. The larvae were cultured and the shell height of the larvae were measured on the 3rd, 6th, 12th, and 15th days after breeding. The results showed that the shell height of the larvae in the strains DX10 (6th to 15th day) and QX14 (3rd to 15th day) groups was significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). After 15 days of larvae rearing, substrates were introduced for seedling attachment. Ten days later (that is, 25 days after breeding), the juveniles were transferred to sea area for farming, and the quantity of juveniles of each group were counted. The results showed that the quantity of juveniles of strains DX10 and QX14 groups were significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). These findings suggest that the probiotics *Shewanella* sp. DX10 and the *Pseudoalteromonas* sp. QX14 promote the growth and/or survival of *C. gigas* larvae.

Keywords

Crassostrea gigas, Larviculture, Probiotics, Selection, Growth, Survival

Copyright © 2025 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

长牡蛎(*Crassostrea gigas*), 又称太平洋牡蛎, 具有生长速度快, 适应力强和产量高等优点, 是我国重要经济养殖贝类之一。随着牡蛎养殖规模的扩大, 对苗种需求量也不断增加, 但近年来, 长牡蛎苗种成活率低, 死亡率较高, 给长牡蛎养殖行业带来了较大的损失。Kim 等研究证明, 溶珊瑚弧菌(*Vibrio coralliilyticus*)是导致韩国长牡蛎幼虫死亡的原因[1]。潜在益生菌(*Phaeobacter gallaeciensis*)和假交替单胞菌 D41 能够显著提高长牡蛎幼体对溶珊瑚弧菌感染的抵抗力[2]。依据降解蛋白质从南非鲍 *Haliotis midae* 消化道筛选出的潜在益生菌可提高其对蛋白质的消化和吸收[3]。从刺参(*Apostichopus japonicus*)肠道中筛选出的具有产多种酶能力的潜在益生菌芽孢杆菌 BC26 和假交替单胞菌 BC228 可提高其消化作用及抗病力[4][5]。通过产多种酶能力从虾夷扇贝苗种培育水体筛选出的潜在益生菌埃氏假交替单胞菌 W115 可提高其幼体存活和生长[6]、消化和免疫功能[7]以及增强稚贝的抗病力[7]。国外有关长牡蛎幼体培育过程中益

生菌的应用研究多半限于实验室规模[2][8]-[10]。本研究中,从长牡蛎成体不同组织筛选出 2 株潜在益生菌,并在生产规模研究其对长牡蛎幼体生长和存活的影响,旨在为益生菌在长牡蛎大规模菌种培育中的应用提供参考。

2. 材料与方法

2.1. 材料

长牡蛎成体采集于辽宁省大连市庄河海域浮筏养殖。幼体取自獐子岛集团股份有限公司庄河合作育苗场。

2.2. 方法

2.2.1. 试验菌株的分离纯化

将 5 只新鲜的长牡蛎成体解剖,无菌取外套膜、鳃、肠道和生殖腺,无菌海水冲洗后将组织剪碎,放入匀浆器中研磨均匀,将组织匀浆液进行稀释,取稀释液 0.1 mL 涂布选择性培养基(淀粉培养基,脂酶培养基、蛋白酶培养基和产纤维素酶培养基,购于青岛海博生物技术有限公司)平板,25℃培养 3~7 d,在适当稀释度的平板上随机挑选菌落 20~30 个,在 2216E 平板上划线分离纯化,获得纯菌株分别于 4℃和 -80℃下培养保存。

2.2.2. 试验菌株的产酶能力

将试验菌株分别点种选择性培养基淀粉平板,25℃培养,检测其淀粉酶(3~5 d 后)[6]、脂酶(5 d 后,菌落周围出现不透明晕圈)、蛋白酶(5 d 后)[6]和纤维素酶(5~7 d 后,0.2%刚果红染液染色 1 h,超纯水、1 mol/L 的 NaCl 溶液洗涤,5%醋酸溶液固定,菌落周围出现无色透明圈)的产生。以水解圈直径(Dh)/菌落直径(Dc)比值(Dh/Dc)大小初步判定菌株产酶能力强弱。

2.2.3. 溶血试验

将活化的待测菌株点种于哥伦比亚血平板(购于广州环凯生物科技有限公司),25℃培养 24 h,菌落周围形成透明溶血环者判定为产生溶血素。

2.2.4. 潜在益生菌的毒性试验

将选出的 DX10 和 QX14 菌株进行液体培养(所使用液体培养基购于青岛海博生物技术有限公司),其菌悬液的制备方法同参考文献[6]。将选育后的健康长牡蛎 D 形幼虫置于 9 个盛有 100 L 砂滤海水的塑料桶(每组 3 桶)中,初始密度为 5 个/mL,其中,对照组无潜在益生菌添加,试验组添加终浓度为 1×10^6 cells/mL 的 DX10 和 QX14 菌株。期间持续充气培育,水温为 23~25℃,pH 为 7.8~8.2,盐度为 30.2~31.2,每日半量换水,并投饵加菌,持续 7 d 并在结束时测定幼体密度并计算死亡率,计算公式为

$$\text{死亡率}/\% = (A_0 - A_t)/A_0 \times 100\%$$

其中: A_t 为实验第 t 天时的幼体密度(ind./mL); A_0 为幼体初始密度(ind./mL)。

2.2.5. 潜在益生菌的初步鉴定

将无毒性的 DX10 和 QX14 菌株送至生工生物工程(上海)股份有限公司进行 16S rRNA 基因测序,对所得序列进行在线 Blast 检索分析,采用 MEGA11.0 软件,用邻接法(Neighbor-Joining)构建系统发育树,使用 Bootstrap method 法验证质量,重复 1000 次。

2.2.6. 潜在益生菌在长牡蛎苗种培育中的应用

长牡蛎幼体培育过程在獐子岛集团股份有限公司庄河合作育苗场进行,使用无菌筛绢网收集各阶段

幼体。幼体受精后 24 h 进行选育，选育后将 D 形幼虫随机分配到盛有 25 m³ 砂滤海水的育苗池中(每组 3 池)。对照组不添加潜在益生菌，试验组根据预试验结果分别添加终浓度为 1 × 10⁵ cells/mL 得 DX10 和 QX14 菌株。幼虫初始密度为 3 个/mL，初始壳高为 75 μm，培育期间 24 h 不间断充气，水温等条件和管理参考毒性试验。根据幼体生长和摄食情况选择投喂叉鞭金藻、小新月菱形藻以及青岛大扁藻和调整投喂量。分别在选育后的第 3、6、12 和 15 d 随机抽取 30 个个体测定幼体壳高。培育 15 d 后，因实验组眼点率超过 50%，开始投放栉孔扇贝壳制作的附着基以便苗种附着，附着后未对生长进行监测。投放附着基 10 d 后(即选育后 25 d)出库至海上养成，并统计稚贝数量。

2.3. 数据处理

试验数据以平均值 ± 标准差表示，使用 SPSS 26.0 软件对幼体的壳高和稚贝数量(对照组和试验组)数据进行独立样本 T 检验，P < 0.05 为差异显著。

3. 结果与分析

3.1. 分离菌株的产酶能力

Table 1. Strains producing four enzymes
表 1. 产四种酶的菌株

菌株 strain	淀粉酶(Dh/Dc) amylase	脂酶(Dh/Dc) lipase	蛋白酶(Dh/Dc) protease	纤维素酶(Dh/Dc) cellulase
DW18	3.3	3.0	1.2	2.5
FS12	4.0	4.1	1.3	3.0
DX10	2.0	2.8	1.7	4.0
DX17	2.5	3.7	1.2	3.7
GX11	1.7	2.7	1.7	2.1
QX14	5.6	2.7	1.2	5.0
QZ12	4.1	2.9	3.7	2.8
GZ2	1.3	4.3	1.2	6.0

注：Dh/Dc 代表水解圈直径(Dh)和菌落直径(Dc)之比。

从长牡蛎成体共分离出 345 株细菌，其中从外套膜、鳃、肠道和生殖腺分别分离出 91 株、91 株、82 株和 81 株。产淀粉酶 84 株，包括外套膜 24 株，鳃 1 株，肠道 29 株和生殖腺 15 株，其中 52 株 Dh/Dc < 3，21 株 3 ≤ Dh/Dc < 5，11 株 Dh/Dc ≥ 5，QZ7 菌株(生殖腺) Dh/Dc 值最大为 13.3；产脂酶 235 株，包括外套膜 66 株，鳃 43 株，肠道 43 株和生殖腺 53 株，其中 71 株 Dh/Dc < 3，124 株 3 ≤ Dh/Dc < 5，40 株 Dh/Dc ≥ 5，FW9 菌株(外套膜) Dh/Dc 值最大为 7.6。产纤维素酶测定了 285 株，仅 35 株产纤维素酶，包括外套膜 13 株，鳃 4 株，肠道 13 株和生殖腺 5 株，其中 4 株 Dh/Dc < 3，15 株 3 ≤ Dh/Dc < 5，16 株 Dh/Dc ≥ 5，DX15 菌株(肠道) Dh/Dc 值最大为 9.3。产蛋白酶只测定了 13 株(即产淀粉酶、脂酶和纤维素酶三种酶的菌株)，有 8 株产生蛋白酶，包括外套膜 1 株，鳃 1 株，肠道 4 株和生殖腺 2 株，其中 7 株 Dh/Dc < 3，QZ12 菌株(生殖腺) Dh/Dc 值最大为 3.7。总体来看，从四种组织分离出的产脂酶菌株数量最多，产纤维素酶菌株数量较少。从肠道分离细菌的产酶能力比从外套膜、鳃和生殖腺分离细菌的产酶能

力强, 共 67 株(产淀粉酶、脂酶和纤维素酶) Dh/Dc ≥ 5 , 其中从肠道分离的为 26 株, 占 39%。共 8 株产四种酶, 其中从肠道分离的占 50%, 各菌株的 Dh/Dc 值见表 1。

3.2. 溶血试验

对产四种酶的 8 株菌进行溶血试验, 结果见表 2, 其中 DX17 菌株菌落周围形成无色透明的溶血环, 为 β -溶血, 视为具有潜在的致病性, 其余 7 株为 γ -溶血, 即不分泌溶血素。

Table 2. Hemolysis of bacterial strains

表 2. 菌株的溶血

菌株 strain	溶血 hemolysis
DW18	γ -溶血
FS12	γ -溶血
QX14	γ -溶血
DX10	γ -溶血
DX17	β -溶血
GX11	γ -溶血
QZ12	γ -溶血
GZ2	γ -溶血

3.3. 益生菌的毒性

根据产酶和溶血试验结果, 选取潜在益生菌 DX10 和 QX14 菌株进行浸浴攻毒试验, 结果显示, 两个试验组和对照组幼体死亡率无显著差异(表 3), 表明两株菌在 1×10^6 cells/mL 浓度下对长牡蛎幼体无毒性。

Table 3. Toxicity of strains DX10 and QX14 to *C. gigas* larvae

表 3. DX10 和 QX14 菌株对长牡蛎幼体的毒性

组别 group	幼体死亡率 larval mortality/%
对照 control	15.68 $\pm$ 11.09
DX10 菌株 strain DX10	13.73 $\pm$ 10.00
QX14 菌株 strain QX14	9.80 $\pm$ 13.01

3.4. 潜在益生菌的初步鉴定

16S rRNA 基因序列同源性分析表明, DX10 菌株与 *Shewanella aquimarina* SW-120 的序列相似性 99.31%, 与 *Shewanella loihica* PV-4 的相似性为 99.24%, 其系统发育树见图 1, 故将 DX10 菌株初步鉴定为希瓦氏菌属; QX14 菌株与假交替单胞菌 P113-L017a 的序列相似性为 100%, 且与 *Pseudoalteromonas hodoensis* H7 和 *Pseudoalteromonas atlantica* 234 的相似性均为 99.93%, 其系统发育树见图 2, 故将 QX14 菌株初步鉴定为假交替单胞菌属。

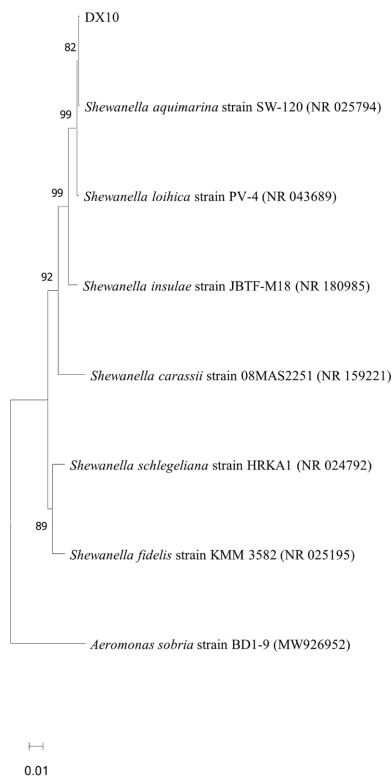


Figure 1. Phylogenetic tree constructed based on the 16S rRNA gene sequence of DX10 strain
图 1. 基于 DX10 菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

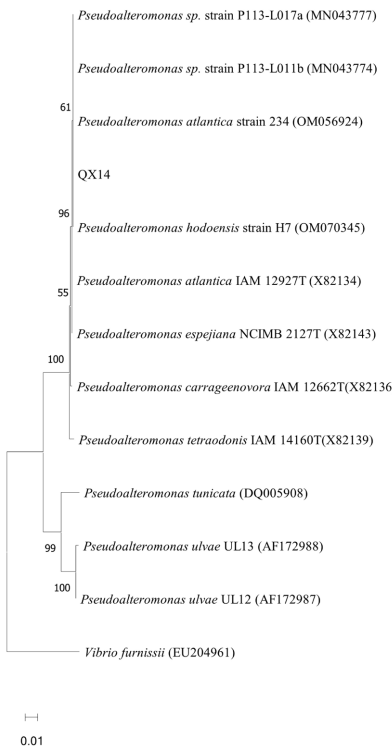
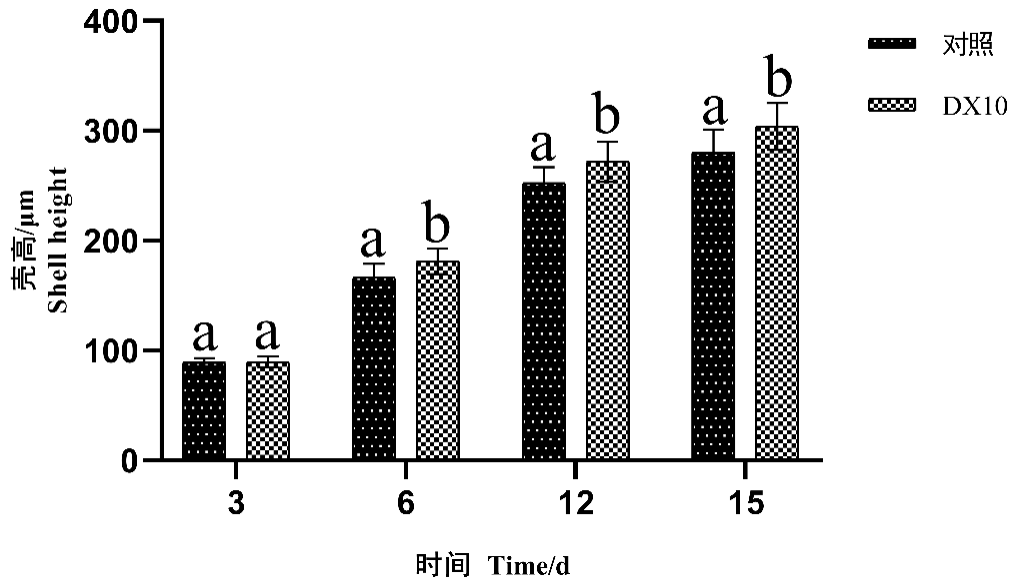


Figure 2. Phylogenetic tree constructed based on the 16S rRNA gene sequence of QX14 strain
图 2. 基于 QX14 菌株 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树

3.5. 潜在益生菌在长牡蛎苗种培育中的应用

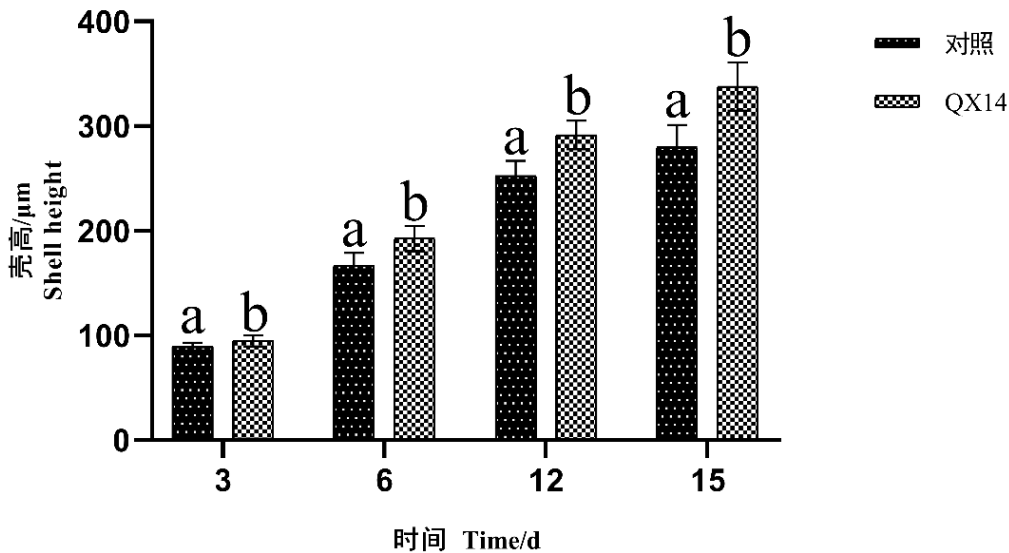
图 3 和图 4 可见, DX10 菌株组选育后第 6 天至第 15 天和 QX14 菌株组第 3 天至第 15 天幼体的壳高显著高于对照组($P < 0.05$); 投放附着基 10 d 后 DX10 菌株组稚贝数量和对照组没有显著差异, QX14 菌株组稚贝数量显著高于对照组($P < 0.05$) (图 5)。



同一培育时间标有不同小写字母者表示组间有显著性差异($P < 0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P > 0.05$)。

Figure 3. Effect of strain DX10 on the larval growth of *C. gigas*

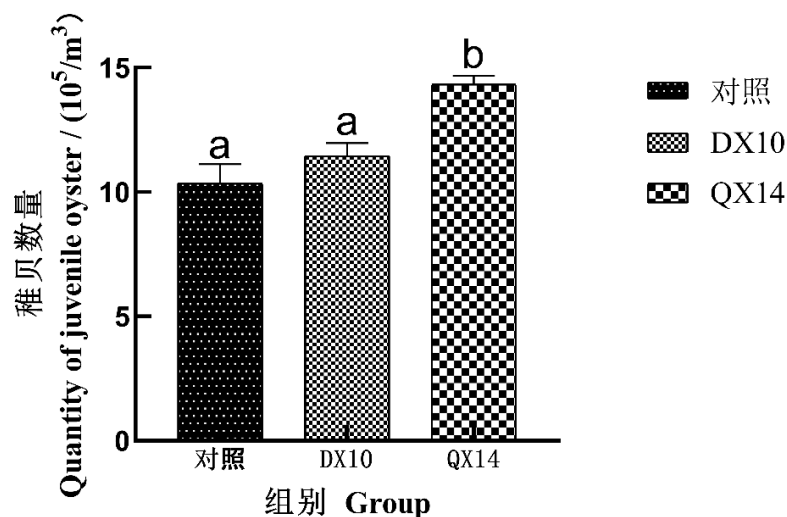
图 3. DX10 菌株对长牡蛎幼体生长的影响



同一培育时间标有不同小写字母者表示组间有显著性差异($P < 0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P > 0.05$)。

Figure 4. Effect of strain QX14 on the larval growth of *C. gigas*

图 4. QX14 菌株对长牡蛎幼体生长的影响



试验组与对照组标有不同小写字母者表示组间有显著性差异($P < 0.05$), 标有相同小写字母者表示组间无显著性差异($P > 0.05$)。

Figure 5. Effect of strains DX10 and QX14 on the larval survival of *C. gigas*

图 5. DX10 和 QX14 菌株对长牡蛎幼体存活的影响

4. 讨论

4.1. 长牡蛎苗种培育用潜在益生菌的筛选和鉴定

牡蛎体内定殖着丰富的共生菌群, 这些共生菌群共同维持宿主内环境的稳态[11][12]。牡蛎体内的菌群组成在幼体发育至成体的过程中虽然会受到发育时期的影响, 但由共生菌群参与的一些营养物质代谢的功能通路差异不大[13]。牡蛎在 D 形幼虫期开始摄食, 滤入体内的部分细菌会进入其消化器官, 从而改变宿主内部特别是肠道群落的组成, 从而影响其体内菌群的稳定性[13]。从长牡蛎成体中筛选出的菌株, 可以助长牡蛎体内稳定生活, 也具有促进营养物质代谢的功能, 有作为牡蛎幼体培育益生菌的应用潜力。

本研究中, 依据产酶能力、溶血和毒性试验结果, 从长牡蛎成体筛选出 2 株产淀粉酶、脂酶、蛋白酶和纤维素酶, 不产生溶血素和对长牡蛎幼体无毒性的潜在益生菌希瓦氏菌 DX10 和假交替单胞菌 QX14。另外, 也对取自庄河兰店育苗室 D 形幼虫和壳顶幼虫分离的 111 株细菌的产酶能力进行了测定(数据未显示), 与成体分离的产酶菌株比较, 从幼体分离菌株产酶能力较低, 因此选用从成体分离的产酶能力强的菌株进行应用试验。

前人从近江牡蛎肠道分离出产蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶和纤维素酶的菌株[14]。一些产胞外酶的菌株可以促进水产养殖动物对饵料的消化和吸收[3]-[5]。推测从长牡蛎肠道中分离出的产酶细菌可能参与其对饵料的消化吸收。溶血试验通常用于排除具有潜在致病性的菌株[15], Kehlet-Delgado 等发现多株弧菌对长牡蛎幼体具有致病性, 在与长牡蛎幼体毒力相关的弧菌基因中, 预测为溶血素和蛋白酶的基因直接与疾病机制相关联[16], 产蛋白酶兼溶血素的菌株很可能是牡蛎幼体潜在病原菌。另外, 从肠道细菌促进饵料消化的方面来看, 若细菌可分泌多种胞外酶, 则通过摄食进入肠道可帮助分解饵料, 为牡蛎幼体的生长繁殖提供营养。为确保筛选潜在益生菌的安全性, 通常采用体外浸浴法[6][17]检验其对宿主的致病性。本试验中采用与前人研究类似的方法, 筛选出对长牡蛎幼体无毒性的潜在益生菌 DX10 和 QX14 菌株。16S rRNA 基因序列同源性分析一般用于潜在益生菌的初步鉴定[6][18]。用长牡蛎幼体筛选的抵抗病原菌溶珊瑚弧菌感染的潜在益生菌 D16 和 DM14 菌株通过 16S rRNA 基因序列分析鉴定为假交替单胞菌

属[10]。本试验基于 16S rRNA 基因序列构建的系统发育树, 将 DX10 和 QX14 菌株分别初步鉴定为希瓦氏菌属和假交替单胞菌属。

4.2. 潜在益生菌在长牡蛎苗种培育中的应用

前期预试验选用 10^4 、 10^5 、 10^6 cells/mL 的 DX10、QX14 菌株进行初步了投喂试验并在苗种附着阶段统计, 因 10^5 cells/mL 出现较好效果, 因此直接在生产试验进行, 为保障菌和育苗水体的占用, 故只使用了最优浓度进行不同阶段的取样监测和规模化生产试验。已有研究表明, 在凡纳滨对虾养殖过程中投喂含鲍希瓦氏菌(*Shewanella haliotis*) D4 [19]和希瓦氏菌 MR-7 [20]饵料, 可促进其生长。本试验中, DX10 菌株可有效提高长牡蛎幼体生长。假交替单胞菌 D16 和 DM14 可提高长牡蛎幼体经病原菌溶珊瑚弧菌感染后的相对存活率[10]。将产淀粉酶、纤维素酶和蛋白酶的埃氏假交替单胞菌 W115 [6]和产蛋白酶、淀粉酶和脂酶的假交替单胞菌 F15 [18]加入到苗种培育水中, 能提高虾夷扇贝幼体的生长和存活率。将 CA2 菌株添加于幼体培育水中, 能提高长牡蛎幼体的存活和生长[8]。本研究中, 将 QX14 菌株以 10^5 cells/mL 加入到苗种培育水中, 可有效提高长牡蛎幼体生长和存活, 这与 Douillet 和 Langdon [8] [9]的研究结果类似, 其原因可能与该菌株可为长牡蛎幼体提供营养或通过提供酶来改善幼体的消化有关[8] [9], 试验菌株的作用机制有待于进一步研究。

5. 结论

长牡蛎成体外套膜、鳃、肠道和生殖腺含有产淀粉酶、脂酶、蛋白酶和纤维素酶的细菌; 从肠道分离的产多种酶且不分泌溶血素细菌希瓦氏菌 DX10 和假交替单胞菌 QX14 以 10^5 cells/mL 加入长牡蛎苗种培育水中可显著提高长牡蛎幼体生长和存活。

致 谢

感谢国家贝类产业技术体系(CARS-49)对本实验的基金资助。

参考文献

- [1] Kim, H.J., Jun, J.W., Giri, S.S., Chi, C., Yun, S., Kim, S.G., *et al.* (2020) Identification and Genome Analysis of *Vibrio coralliilyticus* Causing Mortality of Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*) Larvae. *Pathogens*, **9**, Article 206. <https://doi.org/10.3390/pathogens9030206>
- [2] Kesarcodi-Watson, A., Miner, P., Nicolas, J. and Robert, R. (2012) Protective Effect of Four Potential Probiotics against Pathogen-Challenge of the Larvae of Three Bivalves: Pacific Oyster (*Crassostrea gigas*), Flat Oyster (*Ostrea edulis*) and Scallop (*Pecten maximus*). *Aquaculture*, **344**, 29-34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.029>
- [3] Macey, B.M. and Coyne, V.E. (2005) Improved Growth Rate and Disease Resistance in Farmed *Haliotis midae* through Probiotic Treatment. *Aquaculture*, **245**, 249-261. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2004.11.031>
- [4] 刘姣, 韩华, 孙飞雪, 等. 饵料中添加芽孢杆菌 BC26 对刺参幼参消化酶、免疫反应和抗病力的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28(6): 568-572.
- [5] Ma, Y., Sun, F., Zhang, C., Bao, P., Cao, S. and Zhang, M. (2014) Effects of *Pseudoalteromonas* sp. BC228 on Digestive Enzyme Activity and Immune Response of Juvenile Sea Cucumber (*Apostichopus japonicus*). *Journal of Ocean University of China*, **13**, 1061-1066. <https://doi.org/10.1007/s11802-014-2340-z>
- [6] 赵学伟, 李明, 梁峻, 等. 1 株虾夷扇贝苗种培育用益生菌的筛选及其对幼体存活和生长的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2017, 32(5): 514-519.
- [7] Ma, Y., Liu, J., Li, M., Tao, W., Hao, Z., Liu, Y., *et al.* (2019) Effects of *Pseudoalteromonas espejiana* W115 on Enzyme Activity and Disease Resistance of the Yesso Scallop *Patinopecten yessoensis*. *Journal of Shellfish Research*, **38**, 581-586. <https://doi.org/10.2983/035.038.0309>
- [8] Douillet, P. and Langdon, C.J. (1993) Effects of Marine Bacteria on the Culture of Axenic Oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg) Larvae. *The Biological Bulletin*, **184**, 36-51. <https://doi.org/10.2307/1542378>
- [9] Douillet, P.A. and Langdon, C.J. (1994) Use of a Probiotic for the Culture of Larvae of the Pacific Oyster (*Crassostrea*

- gigas* Thunberg). *Aquaculture*, **119**, 25-40. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)90441-3](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)90441-3)
- [10] Madison, D., Schubiger, C., Lunda, S., Mueller, R.S. and Langdon, C. (2022) A Marine Probiotic Treatment against the Bacterial Pathogen *Vibrio coralliilyticus* to Improve the Performance of Pacific (*Crassostrea gigas*) and Kumamoto (*C. sikamea*) Oyster Larvae. *Aquaculture*, **560**, Article ID: 738611. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2022.738611>
- [11] Dai, W., Ye, J., Liu, S., Chang, G., Xu, H., Lin, Z., *et al.* (2022) Bacterial Community Dynamics in Kumamoto Oyster *Crassostrea sikamea* Hatchery during Larval Development. *Frontiers in Microbiology*, **13**, Article 933941. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.933941>
- [12] Zhu, J., Dai, W., Qiu, Q., Dong, C., Zhang, J. and Xiong, J. (2016) Contrasting Ecological Processes and Functional Compositions between Intestinal Bacterial Community in Healthy and Diseased Shrimp. *Microbial Ecology*, **72**, 975-985. <https://doi.org/10.1007/s00248-016-0831-8>
- [13] 戴文芳, 叶静, 刘圣, 等. 熊本牡蛎幼体、葡萄牙牡蛎幼体和长牡蛎幼体共生菌群构成随宿主发育的演替差异分析[J]. 海洋与湖沼, 2024, 55(4): 967-978.
- [14] 祝玲, 杨吉霞, 蔡俊鹏, 等. 近江牡蛎肠道细菌及其产酶能力[J]. 湛江海洋大学学报, 2005(1): 10-13.
- [15] Schulze, A.D., Alabi, A.O., Tattersall-Sheldrake, A.R. and Miller, K.M. (2006) Bacterial Diversity in a Marine Hatchery: Balance between Pathogenic and Potentially Probiotic Bacterial Strains. *Aquaculture*, **256**, 50-73. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2006.02.008>
- [16] Kehlet-Delgado, H., Häse, C.C. and Mueller, R.S. (2020) Comparative Genomic Analysis of Vibrios Yields Insights into Genes Associated with Virulence Towards *C. gigas* Larvae. *BMC Genomics*, **21**, Article No. 599. <https://doi.org/10.1186/s12864-020-06980-6>
- [17] Lim, H.J., Kapareiko, D., Schott, E.J., Hanif, A. and Wikfors, G.H. (2011) Isolation and Evaluation of New Probiotic Bacteria for Use in Shellfish Hatcheries: I. Isolation and Screening for Bioactivity. *Journal of Shellfish Research*, **30**, 609-615. <https://doi.org/10.2983/035.030.0303>
- [18] Ma, Y., Liu, J., Li, M., Tao, W., Yu, Z. and Liu, Y. (2019) The Use of *Pseudoalteromonas* sp. F15 in Larviculture of the Yesso Scallop, *patinopecten yessoensis*. *Aquaculture Research*, **50**, 1844-1850. <https://doi.org/10.1111/arc.14066>
- [19] Hao, K., Liu, J., Ling, F., Liu, X., Lu, L., Xia, L., *et al.* (2014) Effects of Dietary Administration of *Shewanella halotis* D4, *Bacillus cereus* D7 and *Aeromonas bivalvium* D15, Single or Combined, on the Growth, Innate Immunity and Disease Resistance of Shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture*, **428**, 141-149. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.03.016>
- [20] Wei, C., Wang, X., Li, C., Zhou, H., Liu, C., Mai, K., *et al.* (2021) Effects of Dietary *Shewanella* sp. MR-7 on the Growth Performance, Immunity, and Intestinal Microbiota of Pacific White Shrimp. *Aquaculture Reports*, **19**, Article ID: 100595. <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2021.100595>