

# 底播虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)肠道可培养细菌动态分析

张媛, 孙欣, 许晓冬, 赵艳琪, 梁峻, 李明\*

獐子岛集团股份有限公司, 辽宁 大连  
Email: zhangyuan@zhangzidao.com, bioliming@163.com

收稿日期: 2021年7月23日; 录用日期: 2021年8月15日; 发布日期: 2021年8月26日

## 摘要

本研究旨在研究底播虾夷扇贝肠道微生物多样性及其动态变化, 并分离潜在益生菌应用于虾夷扇贝幼体培育。实验用底播虾夷扇贝于2014年12月份底播, 分别于2015年1月、4月和7月进行样品采集。以2216E培养基对肠道细菌进行分离、纯化, 提取DNA并通过16S rDNA测序对分离的细菌进行鉴定。结果表明所有可培养细菌属于变形菌门、厚壁菌门和放线菌门, 其中变形菌门占比78.9%, 占绝对优势。属水平上, 肠道分离可培养细菌隶属于弧菌属*Vibrio*, *Aliivibrio*, 希瓦氏菌属*Shewanella*, 科迪单胞菌属*Kordiimonas*, 假交替单胞菌属*Pseudoalteromonas*, 假单胞菌属*Pseudomonas*, 气单胞菌属*Aeromonas*, 海洋居住菌属*Pelagicola*, 黑杆菌属*Phaeobacter*, 沈氏菌属*Shimia*, 噬琼胶菌属*Agarivorans*, 噬冷杆菌属*Psychrobacter*, 海单胞菌属*Marinomonas*, 克鲁维菌属*Kluyvera*, 芽孢杆菌属*Bacillus*, 漫游球菌属*Vagococcus*, 香味菌属*Myroides*, 黄杆菌属*Tenacibaculum*和微球菌属*Micrococcus*。从多样性指数分析看, 1月(4.24)和4月(4.28)的Shannon多样性指数高于7月(3.96)。1月、4月和7月的Pielou指数分别为0.97、0.97和0.95, 说明三个采样日的物种分布较为均匀。Bray-Curtis和Sørensen相似性指数显示, 7月份肠道微生物菌群与1月和4月份相似性较低(分别为0.27和0.23), 随着底播时间和季节转化, 底播虾夷扇贝肠道微生物变化较大, 尤其夏季(7月份)与春季(4月份)和冬季(1月份)差异较大。

## 关键词

多样性, 肠道菌群, 虾夷扇贝

## Bacterial Dynamic Analysis in Intestine of Bottom Sowing Yesso Scallop (*Patinopecten yessoensis*)

Yuan Zhang, Xin Sun, Xiaodong Xu, Yanqi Zhao, Jun Liang, Ming Li\*

\*通讯作者。

文章引用: 张媛, 孙欣, 许晓冬, 赵艳琪, 梁峻, 李明. 底播虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)肠道可培养细菌动态分析[J]. 微生物前沿, 2021, 10(3): 137-144. DOI: 10.12677/amb.2021.103017

## Abstract

The aim of the study was to examine the bacterial community associated with the intestine of Yesso scallop (*Patinopecten yessoensis*), and to isolate potential probiotics for juvenile culture of Yesso scallop. The scallops were bottom sowing in December 2014 and samples were collected in January, April and July 2015. Polymerase chain reaction and partial 16S rDNA sequencing were performed on DNA from bacteria cultivated on Zobell 2216E medium. The results showed that all the isolates were classified into Proteobacteria, Firmicutes and Actinobacteria, with the dominant Phylum of culturable intestinal microbiota being Proteobacteria (78.9%). At the genus level, *Vibrio*, *Aliivibrio*, *Shewanella*, *Kordiimonas*, *Pseudoalteromonas*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Pelagicola*, *Phaeobacter*, *Shimia*, *Agarivorans*, *Psychrobacter*, *Marinomonas*, *Kluyvera*, *Bacillus*, *Vagococcus*, *Myroides*, *Tenacibaculum* and *Micrococcus* were isolated from the intestine. Shannon diversity index in January (4.24) and April (4.28) was higher than that in July (3.96). The Pielou index in January, April and July was 0.97, 0.97 and 0.95, respectively, indicating that the distribution of species on the three sampling days was relatively uniform. The similarity index of Bray-Curtis and Sørensen showed that the intestinal microflora in July was less similar to that in January and April (0.27 and 0.23, respectively), and the intestinal microflora of scallop was significantly changed with the time and seasonal transformation of bottom Sowing. In particular, summer (July) is different from spring (April) and winter (January).

## Keywords

Biodiversity, Intestinal Microflora, *Patinopecten yessoensis*

Copyright © 2021 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

虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)是北黄海最重要的经济贝类之一,尤其是在长海县獐子岛,随着市场需求的增加规模逐渐扩大,截止2011年增养殖面积已经达到30平方千米,年产量20万吨[1]。然而,微生物病原引起的流行病学制约着虾夷扇贝产业的可持续发展,造成虾夷扇贝大规模的死亡,如灿烂弧菌 *Vibrio splendidus* [2]和查氏弧菌 *Vibrio chagasii* [3]。研究细菌与宿主动物健康之间的相互作用具有重要的意义,消化道中正常的微生物群包括胃肠道发育、营养、免疫反应和抗病能力[4] [5] [6]。肠道细菌与水生寄主动物之间可能存在几种类型的联系,如摄食的、过渡的和常驻的种群,而许多因素,如内部结构、肠道内膜(围食膜)、饮食、寄主条件、季节等都可能影响水生无脊椎动物的肠道细菌[4]。贝类被认为是滤食性动物,食物来源复杂,严重依赖其栖息地。不同粒径的浮游生物、颗粒状有机物、有机物碎片和微生物可诱导扇贝产生复杂的肠道菌群[7] [8]。本研究探索了虾夷扇贝底部增殖后肠道可培养菌群的多样性及其随时间的变化,为后续的益生菌筛选、虾夷扇贝状态评估提供研究基础。

## 2. 材料和方法

### 2.1. 材料

实验用底播虾夷扇贝于 2014 年 12 月份底播, 分别于 2015 年 1 月、4 月和 7 月份进行拖网取样, 每次取样 15 个扇贝, 样品标记为 M1、M4 和 M7。

### 2.2. 方法

#### 2.2.1. 肠道获取方法

取 15 只底播虾夷扇贝, 以无菌海水冲洗贝壳表面并以 70% 酒精擦拭[9], 随后进行无菌解剖, 取出整个肠道, 以手术刀将肠道剪开, 采用无菌生理盐水进行冲洗去除肠道内含物。将 10 只扇贝肠道合并称重, 加入 9 倍体积(w/v)无菌生理盐水、匀浆, 选取合适稀释度, 取 0.01 mL 涂布于 2216E 培养基, 于 20°C 培养 7 天。选取可计数稀释度的培养基(菌落数在 30~300 之间)随机挑选 30 个菌落进行纯化, 纯化至单菌落以后分别于 4°C 斜面保种和-80°C 液体保种[10]。

#### 2.2.2. 细菌 DNA 的提取、PCR 扩增及序列的测定

将纯菌株接种到 2216E 液体培养基过夜培养, 采用使用土壤基因组 DNA 快速抽提试剂盒[生工生物工程(上海)股份有限公司]提取细菌基因组 DNA。以引物 F27/R1492, 对细菌 16S rRNA 基因片段进行扩增, 引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, PCR 反应体系及反应程序参考文献。用 10 g/L 琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物是否符合目标条带。由生工生物工程(上海)股份有限公司完成 PCR 产物的测序。

#### 2.2.3. 数据处理和分析

将各菌株序列在 Eztaxon (<http://www.ezbiocloud.net/>) 公共数据库中进行检索和同源性比对, 从结果中取相似性最高的序列, 采用 Mega 5.0 进行统计和聚类分析采用邻接法获得分子系统树, 并通过自举分析(bootstrap)进行置信度检测, 自举数据集为 1000 次[11]。为比较底播之后不同时间虾夷扇贝肠道可培养细菌多样性, 计算 Shannon's 指数[12]、Pielou's 指数[13]、Bray-Curtis 指数[14]和 Sorensen 指数[15]。

## 3. 结果与分析

按照相似性大于 99% 作为同一个种的原则[16], 从底播虾夷扇贝肠道中分离得到 90 株细菌鉴定为 37 个种(表 1)。发育树(图 1)显示 37 个具有代表性的分离株进化关系密切。所有可培养细菌属于 4 门: 变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门; 5 纲:  $\alpha$ -变形菌纲、 $\gamma$ -变形菌纲、芽孢杆菌纲、黄杆菌纲和放线菌纲; 12 目: 弧菌目、交替单胞菌目、柄杆菌目、假单胞菌目、气单胞菌目、红杆菌目、海洋螺菌目、肠杆菌目、芽孢杆菌目、乳杆菌目、黄杆菌目、微球菌目; 16 科: 弧菌科、希瓦氏菌科、科迪单胞菌科、假交替单胞菌科、假单胞菌科、交替单胞菌科、气单胞菌科、红杆菌科、噬琼胶菌科、莫拉氏菌科、海

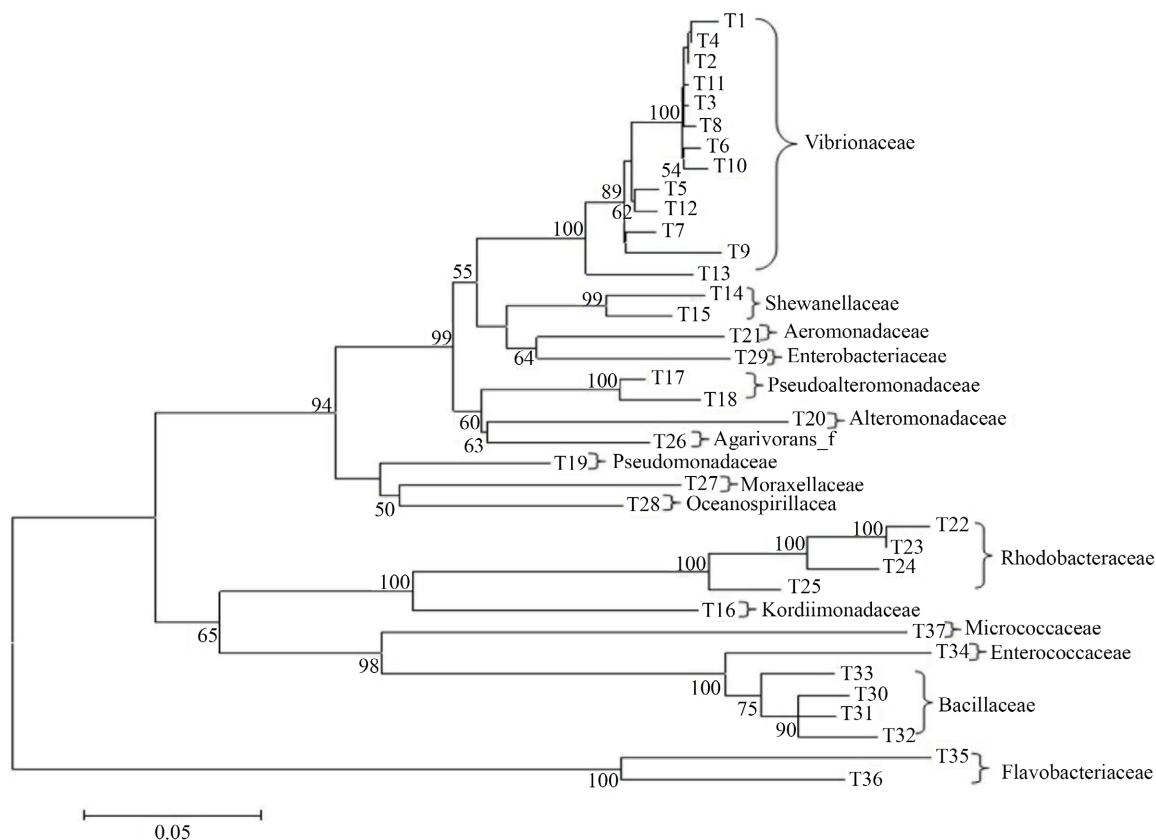
**Table 1.** Representative 16S rDNA sequences of cultured microbiota isolated from the intestine of Yesso scallop

**表 1.** 肠道可培养细菌 16S rDNA 比对结果

Phylogenetic group	Isolate code	Closest strain	Identity (%)	No. of strains		
				Jan.	Apr.	Jul.
Proteobacteria						
Vibrionaceae	T1	<i>Vibrio toranzoniae</i> Vb 10.8 <sup>(T)</sup> ; HE978310	98.5			1
	T2	<i>Vibrio atlanticus</i> Vb 11.11 <sup>(T)</sup> ; EF599163	99.2	1	2	2
	T3	<i>Vibrio pomeroyi</i> LMG 20537 <sup>(T)</sup> ; AJ491290	99.9			1

## Continued

	T4	<i>Vibrio cyclitrophicus</i> P-2P44 <sup>(T)</sup> ; X74710	99.2	1		
	T5	<i>Vibrio mediterranei</i> CIP 103203 <sup>(T)</sup> ; U57919	99.3	1	1	1
	T6	<i>Vibrio tasmaniensis</i> LMG 21574 <sup>(T)</sup> ; AJ514912	99.6			1
	T7	<i>Vibrio scophthalmi</i> LMG 19158 <sup>(T)</sup> ; AFWE01000105	99.1	2	2	
	T8	<i>Vibrio crassostreae</i> CAIM 1405 <sup>(T)</sup> ; EF094887	99.5			2
	T9	<i>Vibrio owensii</i> DY05 <sup>(T)</sup> ; GU018180	99.4	1	2	
	T10	<i>Vibrio artabrorum</i> Vb 11.8 <sup>(T)</sup> ; EF599164	99.2		2	
	T11	<i>Vibrio gigantis</i> CAIM 25 <sup>(T)</sup> ; EF094888	99.1			1
	T12	<i>Vibrio tapetis</i> CECT 4600 <sup>(T)</sup> ; Y08430	99.7		2	
	T13	<i>Aliivibrio fischeri</i> ATCC 7744 <sup>(T)</sup> ; X74702	98.2	1		
Shewanellaceae	T14	<i>Shewanella aquimarina</i> SW-120 <sup>(T)</sup> ; AY485225	98.6		3	
	T15	<i>Shewanella japonica</i> KMM 3299 <sup>(T)</sup> ; AF145921	99.7	2		1
Kordiimonadaceae	T16	<i>Kordiimonas aquimaris</i> MEBiC06554 <sup>(T)</sup> ; GU289640	99.4			2
Pseudoalteromonadaceae	T17	<i>Pseudoalteromonas espejiana</i> NCIMB 2127 <sup>(T)</sup> ; X82143	99.9	2	2	
	T18	<i>Pseudoalteromonas shioyasakiensis</i> SE3 <sup>(T)</sup> ; AB720724	99.0	1		1
Pseudomonadaceae	T19	<i>Pseudomonas marincola</i> KMM 3042 <sup>(T)</sup> ; AB301071	99.5	2	2	
Alteromonadaceae	T20	<i>Alteromonas simiduii</i> BCRC 17572 <sup>(T)</sup> ; DQ836766	99.2			2
Aeromonadaceae	T21	<i>Aeromonas media</i> ATCC 33907 <sup>(T)</sup> ; X74679	99.2	2		
Rhodobacteraceae	T22	<i>Pelagicola litoralis</i> CL-ES2 <sup>(T)</sup> ; EF192392	98.6			1
	T23	<i>Pelagicola litoralis</i> CL-ES2 <sup>(T)</sup> ; EF192392	99.4		2	
	T24	<i>Phaeobacter leonis</i> 306 <sup>(T)</sup> ; HE661585	99.8	1		2
	T25	<i>Shimia isopora</i> SW6 <sup>(T)</sup> ; FJ976449	99.1			1
Agarivorans_f	T26	<i>Agarivorans gilvus</i> WH0801 <sup>(T)</sup> ; GQ200591	98.8	1	1	2
Moraxellaceae	T27	<i>Psychrobacter pulmonis</i> CECT 5989 <sup>(T)</sup> ; AJ437696	99.9		1	1
Oceanospirillaceae	T28	<i>Marinomonas alcarazii</i> IVIA-Po-14b <sup>(T)</sup> ; EU188442	99.4	2	2	
Enterobacteriaceae	T29	<i>Kluyvera intermedia</i> ATCC 33110 <sup>(T)</sup> ; AF310217	99.1	2	1	1
Firmicutes						
Bacillaceae	T30	<i>Bacillus methylotrophicus</i> CBMB205 <sup>(T)</sup> ; EU194897	99.0	2	1	
	T31	<i>Bacillus vietnamensis</i> 15-1 <sup>(T)</sup> ; AB099708	99.7	1		1
	T32	<i>Bacillus firmus</i> NCIMB 9366 <sup>(T)</sup> ; X60616	99.6		1	2
	T33	<i>Bacillus anthracis</i> ATCC 14578 <sup>(T)</sup> ; AB190217	100	1		
Enterococcaceae	T34	<i>Vagococcus fluvialis</i> CCUG 32704 <sup>(T)</sup> ; Y18098	98.0	1	1	1
Bacteroidetes						
Flavobacteriaceae	T35	<i>Myroides marinus</i> JS-08 <sup>(T)</sup> ; GQ857652	99.0	1	2	1
	T36	<i>Tenacibaculum gallaicum</i> A37.1 <sup>(T)</sup> ; AM746477	99.2	2		
Actinobacteria						
Micrococcaceae	T37	<i>Micrococcus aloeverae</i> AE-6 <sup>(T)</sup> ; KF524364	99.0			2

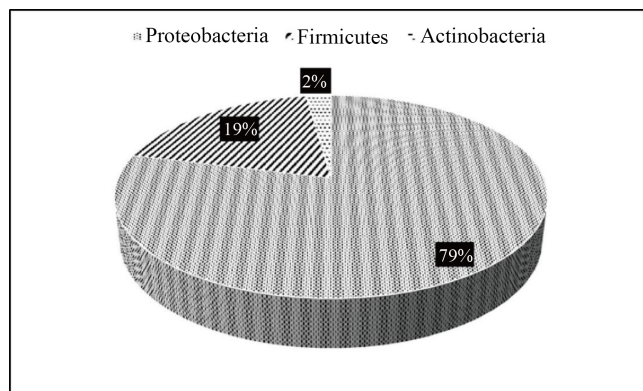


**Figure 1.** Neighbor-joining phylogenetic tree showing the relationships of 16S rRNA gene sequences retrieved from the intestines of Yesso scallop

**图 1.** 底播虾夷扇贝肠道细菌系统发育树分析

洋螺菌科、肠杆菌科、芽孢杆菌科、黄杆菌科、肠球菌科、微球菌科；19 属：弧菌属，*Aliivibrio*，希瓦氏菌属，科迪单胞菌，假交替单胞菌属，假单胞菌属，气单胞菌属，海洋居住菌属，黑杆菌属，沈氏菌属，噬琼胶菌属，噬冷杆菌属，海单胞菌属，克鲁维菌属，芽孢杆菌属，漫游球菌属，香味菌属，黄杆菌属和微球菌属。

从门水平看(图 2)，变形菌门占比 78.9%，占绝对优势，其中放线菌门只有在 M7 样品中出现。



**Figure 2.** Culturable intestinal microbiota of Yesso scallop (at the class level)

**图 2.** 虾夷扇贝肠道可培养细菌(门水平)



从属水平上看(图 3), 弧菌属 *Vibrio* (28/90)占 31.1%, 占绝对优势, 其次为芽孢杆菌属 *Bacillus* (9/90) 占比 10%, 希瓦氏菌属 *Shewanella* 和假交替单胞菌属 *Pseudoalteromonas* (5/90)均占比 5.56%, 其余均属占比均低于 5%。从底播后不同时间段看, 1 月份肠道微生物中弧菌占比(26.67%)低于 4 月份(36.67%)和 7 月份(30%), 而 1 月份肠道微生物中假交替单胞菌占比(10%)高于 4 月份(3.33%)和 7 月份(3.33%)。而 *Aliivibrio* 和气单胞菌 *Aeromonas* 仅在 1 月份虾夷扇贝肠道分离得到, 沈氏菌属 *Shimia* 和微球菌属 *Micrococcus* 仅在 7 月份虾夷扇贝肠道分离得到。从多样性指数分析看, 1 月(4.24)和 4 月(4.28)的 Shannon 多样性指数高于 7 月(3.96)。1 月、4 月和 7 月的 Pielou 指数分别为 0.97、0.97 和 0.95, 说明三个采样日的物种分布较为均匀。Bray-Curtis 和 Sørensen 相似性指数显示, 7 月份肠道微生物菌群与 1 月和 4 月份相似性较低(分别为 0.27 和 0.23)。

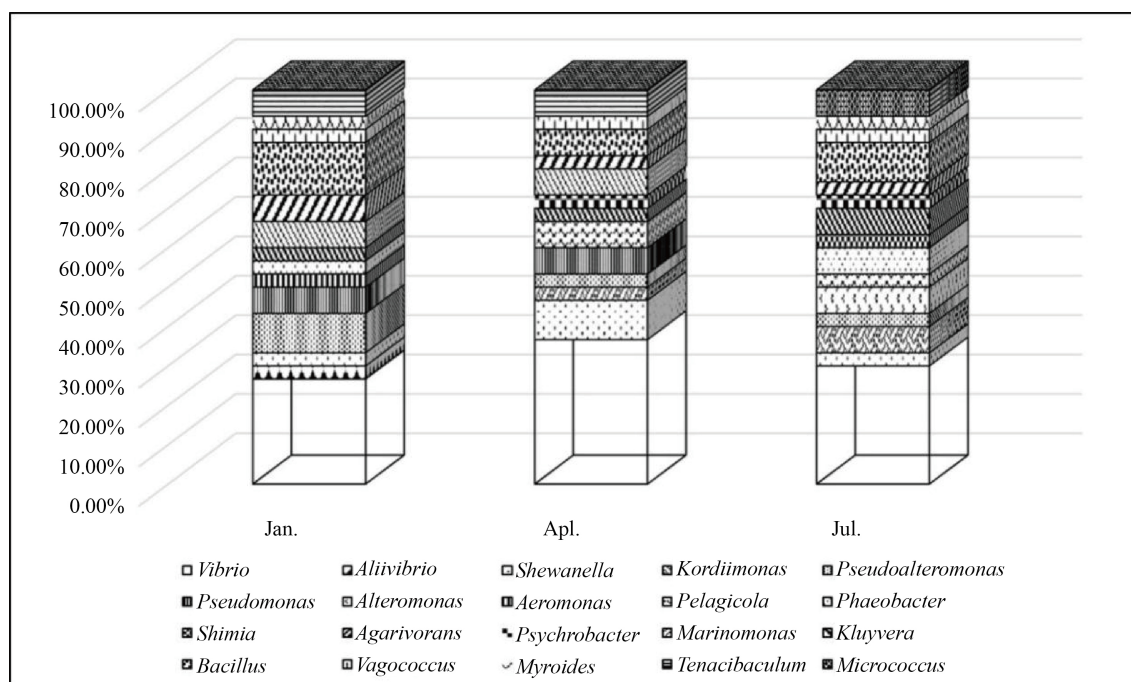


Figure 3. Culturable intestinal microbiota of Yesso scallop sampled in different stages (at genus level)

图 3. 不同时期虾夷扇贝底播虾夷扇贝肠道可培养细菌(属水平)

#### 4. 讨论

本研究表明底播虾夷扇贝肠道微生物主要隶属于变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和放线菌门, 并且变形菌门占比 78.9% 占绝对优势, 与栉孔扇贝消化盲囊细菌组成一致[17]。从属水平上看, 弧菌属占 31.1%, 占绝对优势, 丁君等[18]利用 454 焦磷酸测序分析虾夷扇贝外套膜菌群多样性, 弧菌属占比 26.3%, 可以看出弧菌属在虾夷扇贝体内是常驻优势菌。而关于栉孔扇贝消化盲囊的研究中同样表明弧菌属为其优势菌[19]。然而, 弧菌的存在已被普遍认为是双壳类幼虫培养的致死因子, 同时脓胞病等引起的大量死亡主要是由于弧菌的存在[2] [3]。除了弧菌属, 希瓦氏菌属、假交替单胞菌属、假单胞菌属、微球菌属、噬冷杆菌属和漫游球菌属都曾在虾夷扇贝体内分离得到[18] [19] [20]。而科迪单胞菌, 海洋居住菌属, 黑杆菌属, 沈氏菌属, 噬琼胶菌属, 噬冷杆菌属, 海单胞菌属, 克鲁维菌属, 漫香味菌属, 黄杆菌属之前未在虾夷扇贝机体中分离得到。

本研究对肠道细菌多样性进行了分析, 底播后不同时间肠道细菌 Shannon 指数在 3.96~4.28 之间, 丁

君等[18]利用于 454 焦磷酸测序分析虾夷扇贝外套膜细菌 Shannon 指数为 3.31, Shannon 指数的差异可能受实验方法和组织差别影响。Bray-Curtis 和 Sorensen 相似性指数表明底播虾夷扇贝随着底播时间肠道微生物菌群相似性低, 因为胃肠道中的一些微生物群被认为是短暂的(外来的), 而另一些(本地的)是作为与肠粘膜相关的已建立菌群的成员而存在的[16]。不同粒径的浮游生物、颗粒状有机物、有机物碎片和微生物也可诱导形成复杂的肠道菌群[7] [8]。

本研究采用传统培养基分离方法分离底播虾夷扇贝肠道微生物分析其微生物多样性, 其中气单胞菌、芽孢杆菌、假交替单胞菌和假单胞菌也被作为益生菌应用于双壳贝类的苗种繁育过程[21] [22] [23]。而本文利用保种细菌进行产酶和拮抗病原分析为后续虾夷扇贝育苗提供依据和基础。

## 5. 结论

本研究探索了虾夷扇贝底部增殖后肠道可培养菌群的多样性及其随时间的变化, 为后续的益生菌筛选、虾夷扇贝状态评估提供研究基础。

## 基金项目

国家重点研发计划项目课题(2018YFD0900703); 财政部和农业农村部: 国家现代农业产业技术体系资助。

## 参考文献

- [1] 王颖, 周露. 我国虾夷扇贝底播增殖产量影响因素研究——以獐子岛为例[J]. 中国渔业经济, 2014, 32(1): 104-109.
- [2] Liu, J.C., Sun, X.Y., Li, M., Zhang, C., Cao, S. and Ma, Y. (2015) *Vibrio* Infections Associated with Yesso Scallop (*Patinopecten yessoensis*) Larval Culture. *Journal of Shellfish Research*, **34**, 213-216. <https://doi.org/10.2983/035.034.0202>
- [3] 滕炜鸣, 李文姬, 张明, 于佐安, 李石磊, 刘项峰, 等. 虾夷扇贝脓胞病病原的分离、鉴定与致病性[J]. 水产学报, 2012, 36(6): 937-943.
- [4] Harris, J.M. (1993) The Presence, Nature, and Role of Gut Microflora in Aquatic Invertebrates: A Synthesis. *Microbial Ecology*, **25**, 195-231. <https://doi.org/10.1007/BF00171889>
- [5] Austin, B. (2006) The Bacterial Microflora of Fish, Revised. *Scientific World Journal*, **6**, Article ID: 325830. <https://doi.org/10.1100/tsw.2006.181>
- [6] Gómez, G.D. and Balcázar, J.L. (2008) A Review on the Interactions between Gut Microbiota and Innate Immunity of Fish. *Fems Immunology and Medical Microbiology*, **2**, 145-154. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2007.00343.x>
- [7] Alldredge, A.L. and Gotschalk, C.C. (1989) Direct Observations of the Mass Flocculation of Diatom Blooms: Characteristics, Settling Velocities and Formation of Diatom Aggregates. *Deep Sea Research Part A: Oceanographic Research Papers*, **36**, 159-171. [https://doi.org/10.1016/0198-0149\(89\)90131-3](https://doi.org/10.1016/0198-0149(89)90131-3)
- [8] Passow, U.A. and Alldredge, A.L. (1994) Distribution, Size and Bacterial Colonization of Transparent Exopolymer Particles (TEP) in the Ocean. *Marine Ecology Progress Series*, **113**, 185-198. <https://doi.org/10.3354/meps113185>
- [9] Luczkovich, J.J. and Stellwag, E.J. (1993) Isolation of Cellulolytic Microbes from the Intestinal Tract of the Pinfish, *Lagodon rhomboides*: Size-Related Changes in Diet and Microbial Abundance. *Marine Biology*, **116**, 381-388. <https://doi.org/10.1007/BF00350054>
- [10] Liu, Z.M., Ma, Y.X., Yang, Z.P., Li, M., Liu, J. and Bao, P.-Y. (2012) Immune Responses and Disease Resistance of the Juvenile Sea Cucumber *Apostichopus japonicus* Induced by *Metschnikowia* sp. C14. *Aquaculture*, **368-369**, 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.09.009>
- [11] Tamura, K.L., Dudley, M. and Nei, S. (2007) MEGA4: Molecular Evolutionary Genetics Analysis (MEGA) Software Version 4.0. *Molecular Biology and Evolution*, **24**, 1596-1599. <https://doi.org/10.1093/molbev/msm092>
- [12] Shannon, C.E. (1948) A mathematical Theory of Communication. *The Bell System Technical Journal*, **27**, 379-423. <https://doi.org/10.1002/j.1538-7305.1948.tb01338.x>
- [13] Pielou, E.C. (1966) The Measurement of Diversity in Different Types of Biological Collections. *Journal of Theoretical Biology*, **13**, 131-144. [https://doi.org/10.1016/0022-5193\(66\)90013-0](https://doi.org/10.1016/0022-5193(66)90013-0)

- 
- [14] Bray, J.R. and Curtis, J.T. (1957) An Ordination of the Upland Forest Communities of Southern Wisconsin. *Ecological Monographs*, **27**, 325-349. <https://doi.org/10.2307/1942268>
- [15] Sorensen, T. (1948) A Method of Establishing Groups of Equal Amplitude in Plant Sociology Based on Similarity of Species Content, and Its Application to Analyses of the Vegetation on Danish Commons. *Kongelige Danske Videnskabskabernes Selskabs Biologiske Skrifter*, **5**, 1-34.
- [16] Kim, D.H., Brunt, J. and Austin, B. (2007) Microbial Diversity of Intestinal Contents and Mucus in Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Applied Microbiology*, **102**, 1654-1664. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.03185.x>
- [17] 杨彩霞, 李赟, 张婧宇, 王崇明. 栉孔扇贝消化盲囊细菌群落组成的季节变化分析[J]. 水产学报, 2012, 36(10): 1579-1584.
- [18] 丁君, 窦妍, 徐高蓉, 王轶南, 常亚青. 基于 454 焦磷酸测序分析虾夷扇贝外套膜菌群多样性[J]. 应用生态学报, 2014, 25(11): 3344-3348.
- [19] 宋庆云, 罗挽涛, 王文兴, 薛清刚. 扇贝的养殖环境及其体内的细菌学分析[J]. 黄渤海海洋, 1997, No. 3, 26-30.
- [20] 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>
- [21] Gibson, L.F., Woodworth, J., George, A.M. (1998) Probiotic Activity of *Aeromonas Media* on the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*, When Challenged with *Vibrio tubiashii*. *Aquaculture*, **169**, 111-120. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00369-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00369-X)
- [22] Avendaño, R. and Riquelme, C. (1999) Establishment of Mixed-Culture Probiotics and Microalgae as Food for Bivalve Larvae. *Aquaculture Research*, **30**, 893-900. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.1999.00420.x>
- [23] Doeschate, K.I. and Coyne, V.E. (2008) Improved Growth Rate in Farmed *Haliotis midae* through Probiotic Treatment. *Aquaculture*, **284**, 174-179. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.07.018>