

文章编号:1005-8737(2001)02-0092-05

益生菌制剂在水产养殖中的应用

The application of probiotic preparation to aquaculture

俞勇,李会荣,李筠,陈刚,纪伟尚,徐怀恕*

(青岛海洋大学海洋生命学院,山东青岛266003)

YU Yong, LI Hui-rong, LI Yun, CHEN Gang, JI Wei-shang, XU Huai-shu
(College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

关键词:益生菌制剂;水产养殖

Key words: probiotic preparation; aquaculture

中图分类号:S942.3

文献标识码:A

长期使用抗生素和其他化学药物防治养殖病害已引发了一系列环境和社会问题^[1,2]。近年来,人们开始尝试在养殖水体中施用益生菌(Probiotics)来改善养殖生态环境,提高养殖动物的免疫力,抑制病原微生物,从而减少疾病的发生。在欧美、日本以及印度尼西亚、泰国等国家的水产养殖业中,益生菌制剂得到日益广泛的应用,并已创造了巨大的经济效益,有望成为未来水产养殖动物病害防治的一个新方向。本文对近几年来国内外益生菌制剂在水产养殖中的应用状况予以系统介绍并对今后的发展趋势进行阐述。

1 益生菌浅析

1974年Parker首次将益生菌定义为有助于肠道菌群平衡的微生物和物质(可能含有抗生素)^[3]。而Fuller则认为益生菌是一种活的微生物饲料添加剂,通过改善肠道内菌群平衡而对动物产生有利的影响^[4]。但Tannock^[5]发现在许多情况下并不能证明益生菌可以改善肠道菌群平衡,他又把益生菌定义为有助于增进动物健康的活微生物饲料添加剂。Kozasa^[6]首次将益生菌应用于水产养殖,用1株从土壤中分离的芽孢杆菌(*Bacillus toyoi*)处理日本鳗鲡降低了由爱德华氏菌引起的死亡后,益生菌的研究便得到迅速发展,同时益生菌的概念也相应得到了发展。水生生物与水环境密切相关,许多情况下可直接添加有益微生物于养殖水体中,通过

收稿日期:2000-09-06

基金项目:国家“九五”攻关项目(96-005-03-01);国家“九七三”资助项目(G1999012012)

作者简介:俞勇(1977-),青岛海洋大学硕士生,从事海洋微生物研究。

*为本文责任作者

拮抗病原、降解多余有机质等而对养殖动物产生有益的影响。因此Moriarty^[7]把益生菌的含义扩展为一类添加到养殖水体中的有益微生物。

2 益生菌的种类

目前已发现包括细菌、真菌、微藻等在内的多种益生菌(表1),它们大都具有以下3个基本特征:体外实验中能拮抗病原菌或(和)快速降解有机质;能在养殖动物肠道、养殖水体中存活;感染实验中能提高养殖动物对病原体的抵抗力,促进动物生长。

3 益生菌制剂在水产养殖中的应用

现代微生态学研究表明,微生物在水产养殖中占有重要地位,直接影响着产量、物质循环、动物营养、水质、疾病控制和排放水质量^[8]。益生菌制剂就是由益生菌经筛选、鉴定、优化组合并经过一定工艺加工而成,符合清洁养殖要求的活菌制剂^[9]。在水产养殖上根据用途可分为改善水质的水质调节剂、控制病原的微生物控制剂以及提高动物抵抗力增进健康的饲料添加剂等3类。

3.1 水质调节剂

目前应用于水产养殖过程中的水质调节剂按其菌种特性大致可分为两大类,即光合细菌菌剂和化能异养菌菌剂。

3.1.1 光合细菌菌剂 从1965年起,日本就开展光合细菌在水产养殖中的应用研究,并取得了很大成功,研究成果已在日本、东南亚和我国台湾省等地得到了普遍应用^[10]。关于这方面的研究国内也有大量报道^[40-42]。崔竞进^[41]用几株光合细菌混合菌液作为中国对虾苗期水质净化剂取得明显效果,育苗池水透明度提高约20cm;王怡平等^[42]将固定化光合细菌应用于中华绒螯蟹育苗中,发现实验池水中NH₃

-N 变化处于较低水平, 最高不超过 0.78 mg/L, 而对照池却在较高水平变化, 最高点超过 1.2 mg/L; 育成率(7.4%)比对照池(5.8%)提高了 1.6%。光合细菌具有独特光合作

用能力, 能直接消耗利用水中有机物、氨态氮, 还可利用硫化氢, 并可通过反硝化作用除去水中的亚硝酸氮, 从而改善水质, 促进生长。

表 1 益生菌主要种类

Table 1 Probiotics reported

益生菌 Probiotics	养殖动物 Host
中间气单胞菌 <i>Aeromonas media</i>	太平洋牡蛎 <i>Crassostrea gigas</i> ^[11]
河豚毒素交替单胞菌 <i>Alteromonas haloplanktis</i>	扇贝 <i>Argopecten purpuratus</i> ^[12]
芽孢杆菌 <i>Bacillus</i> sp.	斑节对虾 <i>P. monodon</i> ^[13] , 对虾 <i>Penaeid</i> ^[7]
广布肉杆菌 <i>Carnobacterium divergens</i>	大西洋鳕 <i>Gadus morhua</i> ^[14, 15]
肉杆菌 <i>C.</i> sp.	大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i> ^[16]
黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> sp.	大西洋鲑 <i>Salmo salar</i> , 虹鳟 <i>Oncorhynchus mykiss</i> ^[17]
植物乳杆菌 <i>Lactobacillus plantarum</i>	日本对虾 <i>P. japonicus</i> ^[18]
乳酸乳球菌 <i>Lactococcus lactis</i>	大菱鲆 <i>S. maximus</i> ^[16]
水螅交替单胞菌 <i>Pseudoalteromonas undina</i>	卤虫 <i>Brachionus plicatilis</i> ^[19]
荧光假单胞菌 <i>Pseudomonas fluorescens</i>	黄鲈 <i>Caranx bartholomaei</i> ^[20]
假单胞菌 <i>P.</i> sp., 嗜纤维菌 <i>Cytophaga</i> sp., 黄杆菌 <i>Flavobacterium</i> sp.	虹鳟 <i>O. mykiss</i> ^[21] , 大西洋鲑 <i>S. salar</i> ^[22]
假单胞菌 <i>P.</i> sp.	庸鲽 <i>Hippoglossus hippoglossus</i> ^[23]
尿肠球菌 <i>Streptococcus faecium</i>	虹鳟 <i>O. mykiss</i> ^[24]
溶藻胶弧菌 <i>Vibrio alginolyticus</i>	鲤 <i>Cyprinus carpio</i> ^[25]
坎氏弧菌 <i>V. campbelli</i> , 漂浮弧菌 <i>V. natriegens</i>	大西洋鲑 <i>S. salar</i> ^[26] , 万氏对虾 <i>P. vannamei</i> ^[27]
海弧菌 <i>V. pelagius</i>	中国对虾 <i>P. chinensis</i> ^[28]
弧菌 <i>Vibrio</i> sp.	大菱鲆 <i>S. maximus</i> ^[29]
赫伦魏斯氏菌 <i>Weissella hellenica</i>	扇贝 <i>A. purpuratus</i> ^[30] , 大菱鲆 <i>S. maximus</i> ^[31]
光合细菌 Photosynthetic Bacteria	牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i> ^[32]
Bacteria (CA2)	鱼 Fish, 蟹 Crab, 虾 Penaeid, 等 ^[33]
Bacteria (PM-4)	太平洋牡蛎 <i>C. gigas</i> ^[34]
Bacteria (SK-05)	蟹 <i>Portunus trituberculatus</i> ^[35] , 斑节对虾 <i>P. monodon</i> ^[36]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Skekinema costatum</i> ^[37]
四鞭藻 <i>Tetraselmis succicia</i>	马非鱼 <i>Tilapia</i> ^[38]
	大西洋鳕 <i>G. morhua</i> ^[39]

3.1.2 化能异养菌菌剂 随着研究的深入, 发现已有的光合细菌菌种过于单一, 对进入水体中大量大分子有机物质(如养殖动物排泄物、残存饲料、浮游生物残体等)不能很好地分解利用。美国学者研制的 ALKEN CLEARFLO 系列制剂, 用于疾病防治和水产废物分解, 在美国、东南亚等地得到广泛应用^[43]。李卓佳等^[44]应用以芽孢杆菌为主的微生物复合菌剂进行分解养鱼池有机污泥的试验, 经 1 个月, 池底原有厚 3~5 cm 的有机污泥被分解, 鱼类促生长作用明显; 张庆等^[45]每隔 15 d 向罗非鱼养殖水体中添加菌剂能明显改善水质条件, 底层 DO 增加 2 倍以上, 有效降低氨氮与亚硝酸盐, 营造良好的水色, 促进罗非鱼的生长。这是由于益生菌进入养殖池后, 发挥其氧化、氨化、硝化、反硝化、解磷、硫化、固氮等作用, 把养殖动物的排泄物、残存饲料、幼植物残骸等有机物迅速分解为 CO₂、硝酸盐、磷酸盐等, 为单细胞藻类生长繁殖提供营养。单细胞藻类的光合作用又为有机物的氧化分解、微生物及养殖生物的呼吸提供溶解氧。构成一个良性生态循环, 使养殖池里的菌藻趋于平衡, 维持和营造良好的水质条件。

3.2 微生物控制剂

拮抗是微生物之间普遍存在的自然现象。在同一生态位中微生物通过营养竞争、空间竞争或分泌抗生素、细菌素等毒素抑制其他微生物的生长。微生物控制技术便是应用这一原理, 将具有拮抗特性的益生菌施入养殖水体, 杀死或抑制病原微生物, 为养殖动物营造良好的生存环境。Maeda 等^[46]最早将这一技术应用于水产养殖中, 将分离的益生菌 PM-4 加入虾、蟹育苗水体, 以抑制弧菌和某些真菌, 促进幼体生长, 提高成活率。Garriques 等^[27]用溶藻胶弧菌竞争性排斥育苗水体中潜在的病原菌, 以提高万氏对虾幼苗的产量。印度尼西亚将芽孢杆菌制剂应用于成虾养殖, 成功地改善了水体和底泥中的细菌组成, 发光弧菌的数目明显减少, 有效地控制了弧菌病的发生^[7]。一些海洋细菌也具有抗病毒活性^[20, 47]。Maeda 等^[20]用在水螅交替单胞菌的去细胞上清液中培养 3 h 的 IHNV 病毒 (Infectious Hematopoietic Necrosis Virus) 感染 EPC (Epithelioma Papillosum Cyprini) 细胞, 发现与对照相比病变细胞明显减少, 将此菌用于黄鲈育苗水体能提高幼体成活率, PCR 检测表明, 对照池有 SJNNV

病毒 (Sima-aji Neuro Necrosis Virus) 存在, 而实验池却检测不到。

3.3 饲料添加剂

养殖动物体内正常的菌群其机体的健康有着重要的影响。它们与宿主间的微生态平衡保证了宿主动物的正常代谢, 提高了宿主的免疫抗病力, 同时还能为宿主的生长发育提供丰富的维生素等营养物质。因此以改善动物肠道菌群、促进动物健康的益生菌制成的饲料添加剂, 在国内外得到普遍重视, 发展迅速, 其主要作用有以下几个方面:

3.3.1 抑制有害微生物 益生菌进入消化道后, 大量繁殖, 并与消化道有益菌形成强有力的优势菌群, 抑制有害菌的增殖。其作用机理主要有: ①分泌抑菌物质抑制病原菌增长。乳酸菌通过分泌细菌素、 H_2O_2 、有机酸等物质抑制微生物生长^[48]; 益生菌溶藻胶弧菌的去细胞上清液冷冻干燥粉能有效抑制病原菌杀鲑气单胞菌、鳃弧菌和病海鱼弧菌^[25]。②与病原菌争夺营养或附着位点。荧光假单胞菌 Ah2 通过分泌铁载体与鳃弧菌争夺游离铁离子^[21]。Olsson 用体外实验证实从大菱鲆肠道分离的细菌能抑制鳃弧菌, 其在肠道黏液比鳃弧菌具有更强的黏附与生长能力^[49]。③改变消化道 pH 和 Eh。乳酸菌在代谢过程中产生乳酸等有机酸, 可调节生境内的 pH 和 Eh, 从而抑制病原菌的生长、繁殖^[48]。

3.3.2 补充营养, 改善机体代谢, 降低饲料系数 作为饲料添加剂的许多益生菌, 其菌体本身就含有大量的营养物质, 如 PSB 富含蛋白质, 粗蛋白含量高达 65%, 还含有多种维生素、钙、磷和多种微量元素、辅酶 Q 等^[10], 同时, 随着它们在动物消化道内的繁衍、代谢, 可产生动物生长所必需的营养物质, 如氨基酸、维生素、胆盐等; 益生菌还可产生淀粉酶、脂肪酶和蛋白酶等消化酶类, 协助动物消化饲料; 产生各种 B 族维生素, 加强营养代谢, 从而提高饲料的转化率。

3.3.3 刺激免疫系统, 提高免疫力 饲料添加剂中的益生菌是良好的免疫激活剂, 能有效提高干扰素和巨噬细胞的活性, 通过产生非特异性免疫调节因子等激发机体免疫功能, 增强机体免疫力和抗病力。孙舰军等^[50]把光合细菌拌入饲料投喂中国对虾 22 d 后发现虾体 PO、SOD、溶菌和抗菌活力分别比对照组高 102.2%、22.1%、53.4% 和 14.0%, 血细胞数目高出 67.2%。

3.3.4 改善养殖动物的商品性能 使用益生菌制剂, 能减少抗生素的使用, 改善养殖动物的肉质与体色, 提高其耐受力与应激力。张庆等^[51]以芽孢杆菌为主导菌的复合制剂投喂斑节对虾, 对虾肉质与体质得到改善, 虾体水份降低, 粗蛋白含量升高, 呈味氨基酸明显增加, 在 NH_4^+ 1.8~2.0 mg/L、 NO_2^- 0.4~0.5 mg/L 和 DO 0.29~0.32 mg/L 条件下, 试验组半致死时间分别比对照组延长 2.1 h 和 3 h。

4 益生菌制剂研制和应用中存在的问题

4.1 菌种的筛选

目前虽然许多商品益生菌制剂也用于水产养殖, 但其原

本是陆生动物设计的, 其菌株并不适合在水产动物消化道和养殖水体中增殖^[9]。Maeda 等^[36]发现海水中的许多细菌能抑制鱼苗的生长。因此在筛选益生菌时应注意菌株来源, 着重考虑养殖水体和动物消化道中的土著菌。

迄今, 在筛选益生菌时, 人们常偏重于产生抑菌物质的菌株, 这种菌株有可能使致病菌产生抗性。因此在选择益生菌时更应注重那些具有占位竞争与营养竞争能力的菌株。同时应注意, 同一菌株在不同实验条件下可能有不同的拮抗能力, 尤其在体外和体内实验中。所以筛选益生菌时不应把在体外实验中是否具有拮抗能力作为最主要指标而把那些体外条件下不具有此种特性的菌株排除在外^[30,33]。

将益生菌应用于生产时应对其进行长期监测, 以确保不发生致病突变。作为益生菌主要来源的肠杆菌科、弧菌科和假单胞菌属中存在着许多致病菌, 如溶藻胶弧菌既是益生菌又是致病菌, 但其基因型存在差异^[52]。Pizzutto 等^[53]认为哈维氏弧菌 (*V. harveyi*) 中真正具有毒性基因的菌株并不多, 一些菌株表现为毒性是由于毒性因子转移造成的。

4.2 保存技术

大量试验表明, 随着时间的推移, 菌剂中活菌数量不断地消减, 且其速度因微生物种类的不同而异, 以芽孢杆菌最为稳定。对此, 有学者认为脆弱的菌种不应作为益生菌制剂, 因其很难进行工业化生产, 但完全使用保存时间较长的菌类, 则品种过于单一。因此, 除了选育稳定性较强的菌株外, 还需对保存技术作进一步研究。菌剂中的细菌以休眠状态存在, 一旦在某种情况下复活会消耗掉本身贮存的养分而死亡, 变成无作用的菌体蛋白, 不能发挥其应有的作用。目前益生菌制剂都以液体或固体两种形式贮存。在保存中所受到的影响因素主要有温度、光照、湿度、氧环境等。为了生产实践的需要, 应主要针对常温、避光、干燥等条件下的菌剂保存技术进行研究, 选择合适的介质与包装材料。

4.3 施用技术和剂量

为了使益生菌发挥其最大作用, 有必要研究合适的施用技术和剂量。目前, 水产养殖中益生菌制剂使用方式主要有 3 种: ①生物体注射或浸浴; ②作为饲料添加剂被生物体摄食; ③直接加入水环境。这几种方式各有利弊, 在实际使用中可根据情况选择合适的方式。

注射或浸浴的方法可使益生菌与动物直接接触, 尽快发挥其作用, 但要注意剂量。Austin 等^[26]用 10^6 ml⁻¹ 和 10^8 ml⁻¹ 溶藻胶弧菌分别注射和浸浴大西洋鲑, 大大降低了杀鲑气单胞菌对鲑的感染率。这种方法适合于较大的动物, 而对体型较小的动物剂量较难掌握且操作不便, 同时注射造成的机械损伤为致病菌感染提供了条件。

益生菌作为饲料添加剂可被动物直接吞食而发挥作用, 但同时也受许多因素影响, 如饲料制粒过程中微生物死亡或其活力和稳定性受到破坏, 使得菌剂在实际应用中的效果不佳或不稳定。在临用前即时混合益生菌菌剂和饲料可部分解决这一问题, 但所需菌剂量较大且操作不便。Rengpipat

等^[13]在实验中使用益生菌(10^{12} CFU/g)与饵料的质量比达到了3:1。若能利用基因工程技术得到耐高温的菌株,将从根本上解决饵料制粒过程中益生菌受破坏的问题。

将益生菌直接加入养殖水体可避免上述不足,但也需特别注意:抗生素、消毒剂等化学物质的使用会降低益生菌的效力;尽可能的减少换水;在养殖过程中应定期的加入一定量的益生菌使其能够维持优势,中间如确需换水或使用消毒剂等化学物质,应在换水后或使用消毒剂几天后补加首次使用的剂量^[55]。同时,应用免疫探针和分子探针等先进技术^[56,57]对养殖水体和动物肠道细菌区系及益生菌在其中的地位和存活情况进行深入地研究,以确定合适的施用周期和剂量。

参考文献:

- [1] 许兵,纪伟尚,张鹏,等.对虾病原菌抑菌药物的研究[J].青岛海洋大学学报,1993,23(2):43-51.
- [2] Boyd C E, Massaut L. Risks associated with the use of chemicals in pond aquaculture[J]. Aqua Engin, 1999, 20(2): 113-132.
- [3] Park R B. Probiotics - The other half of the antibiotics story[J]. Anim Nutr Heal, 1974, 29: 4-8.
- [4] Fuller R. Probiotics in man and animals[J]. J Appl Bacteriol, 1989, 66:385-378.
- [5] Tannock G W. Modification of the normal microbiota by diet, stress, antimicrobial agents, and probiotics[A]. Gastrointestinal Microbiology, Vol. 2, Gastrointestinal Microbes and Host Interactions[C]. New York: Chapman and Hall Microbiology Series, International Thomson Publishing, 1997. 434-464.
- [6] Kozasa M. Toyocerin (*Bacillus toyoi*) as growth promotor for animal feeding[J]. Microbiol Aliment Nutr, 1986, 4: 121-135.
- [7] Moriarty D J W. Control of luminous *Vibrio* species in penaeid aquaculture ponds[J]. Aqua, 1998, 164(1/4): 351-358.
- [8] Moriarty D J W. The role of microorganisms in aquaculture ponds[J]. Aqua, 1997, 151:33-349.
- [9] Gatesoupe F J. The use of probiotics in aquaculture[J]. Aqua, 1999, 180:147-165.
- [10] 史家梁.光合细菌(PSB)与日本的水产养殖[J].水产科技情报,1995,22(5):212-216.
- [11] Gibson L F, Woodworth J, George A M. Probiotic activity of *Aeromonas media* on the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, when challenged with *Vibrio tubiashii* [J]. Aqua, 1998, 169: 111-120.
- [12] Riquelme C, Hayashida G, Araya R, et al. Isolation of a native bacterial strain from the scallop *Argopecten purpuratus* with inhibitory effects against pathogenic vibrios[J]. J Shellfish Res, 1996, 15: 369-374.
- [13] Rengpipat S, Phianphak W, Piyatiratitivorakul S, et al. Effects of a probiotic bacterium on black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth[J]. Aqua, 1998, 167:301-313.
- [14] Gildberg A, Mikkelsen H, Sandaker E, et al. Probiotic effect of lactic acid bacteria in the feed on growth and survival of fry of Atlantic cod (*Gadus morhua*) [J]. Hydrobiol, 1997, 352: 279-285.
- [15] Gildberg A, Mikkelsen H. Effects of supplementing the feed to Atlantic cod (*Gadus morhua*) fry with lactic acid bacteria and immuno-stimulating peptides during a challenge trial with *Vibrio anguillarum* [J]. Aqua, 1998, 167:103-113.
- [16] Gatesoupe F J. Lactic acid bacteria increase the resistance of turbot larvae, *Scophthalmus maximus*, against pathogenic vibrio [J]. Aquat Living Resour, 1994, 7:277-282.
- [17] Robertson P A W. Use of *Canobacterium* sp. as a probiotic for Atlantic salmon (*Salmo salar*, L.) and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum)[J]. Aqua, 2000, 185: 235-243.
- [18] Mo Zhaolan, Yu Yong, Wang Xianghong, et al. Inhibitory activities of a bacteriocin - producer strain QJ - 2[A]. Proceedings of international symposium on progress and prospect of marine biotechnology (ISPPMB'98)[C]. Beijing: China Ocean Press, 1999. 151-171.
- [19] Harzevili S, Van A R, Duffel H, et al. Use of a potential probiotic *Lactococcus lactis* AR21 strain for the enhancement of growth in the rotifer *Brachionus plicatilis* (Muller) [J]. Aquacult Res, 1998, 29:411-417.
- [20] Maeda M, Nogami K, Kanematsu M, et al. The concept of biological control methods in aquaculture[J]. Hydrobio, 1997, 356: 285-290.
- [21] Gram L, Melchiorson J, Spanggaard B, et al. Inhibition of *Vibrio anguillarum* by *Pseudomonas fluorescens* AH2 a possible probiotic treatment of fish[J]. Appl Envi Microbio, 1999, 65: 969-973.
- [22] Smith P, Davey S. Evidence for the competitive exclusion of *Aeromonas salmonicida* from fish with stress-inducible furunculosis by a fluorescent pseudomonad[J]. Fish Dis, 1993, 16:521-524.
- [23] Skjermo J, Vadstein O. Techniques for microbial control in the intensive rearing of marine larvae[J]. Aqua, 1999, 177:333-343.
- [24] Spanggaard B, Huber I, Nielsen T F, et al. Strategies for use of probiotic bacteria culture in aquaculture[A]. Responsible aquaculture in the new millennium (Abstracts of contributions presented at the International Conference AQUQ 2000) [C]. Oostendes Belgium: European Aquaculture Society, 2000. 675.
- [25] Bogut I, Milakovic Z, Bukvic Z, et al. Influence of probiotic (*Streptococcus faecium* M74) on growth and content of intestinal microflora in carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Czech J Anim Sci, 1998, 43: 231-235.
- [26] Austin B, Stuckey L F, Robertson P A W, et al. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing disease caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrio anguillarum* and *Vibrio ordalii* [J]. J Fish Dis, 1995, 18: 93-96.
- [27] Garriques D, Arevalo G. An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus vannamei* postlarvae in Ecuador [A]. Swimming through troubled water, proceedings of the spe-

- cial session on shrimp farming, *Aquaculture* 95 [C]. Baron Rouge; World Aquaculture Society, 1995. 53-59.
- [28] 王祥红, 李军, 祁自忠, 等. 中国对虾肠道有益菌对其幼体的作用[A]. 对虾苗期细菌病害的诊断与控制[C]. 北京: 海洋出版社, 1999. 88-96.
- [29] Ringø E, Vadstein O. Colonization of *Vibrio pelagius* and *Aeromonas caviae* in early developing turbot (*Scophthalmus maximus* L.) Larvae[J]. *J Appl Microbio*, 1998, 84:227-233.
- [30] Riquelme C, Araya R, Vergara N, et al. Potential probiotic strains in the culture of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819)[J]. *Aqua*, 1997, 154:17-26.
- [31] Gatesoupe F J. Siderophore production and probiotic effect of *Vibrio* sp. associated with turbot larvae, *Scophthalmus maximus*[J]. *Aquat Living Resour*, 1997, 10: 239-246.
- [32] Cai Y, Benno Y, Nakase T, et al. Specific probiotic characterization of *Weissell hellenica* DS-12 isolated from flounder intestine [J]. *J Gene and Appl Microbio*, 1998, 44(5): 311-316.
- [33] 刘春潮, 欧阳春, 钱新民, 等. 光合细菌在水产养殖中应用现状作用机理探讨[J]. *中国饲料*, 1996, 5:25-27.
- [34] Douillet P A, Langdon C J. Use of a probiotic for the culture of larvae of the Pacific oyster (*Crassostrea gigas* Thunberg)[J]. *Aqua*, 1994, 119: 25-40.
- [35] Nogami K, Maeda M. Bacteria as biocontrol agents for rearing larvae of the crab *Portunus trituberculatus*[J]. *Can J Fish Aquat Sci*. 1992, 49: 2 373-2 376.
- [36] Maeda M, Liao I C. Effect of bacterial population on the growth of a prawn larvae, *Penaeus monodon*[J]. *Aqua*, 1992, 21: 25-29.
- [37] Rico - Mora R, Voltolina D, Villaescusa - Celaya J A. Biological control of *Vibrio alginolyticus* in *Skeletonema costatum* (*Bacillariophyceae*) cultures[J]. *Aqua Engi* 1998, 19(1):1-6.
- [38] Tsai H J, Chi W K, Chang C C, et al. Enhancement of tilapia growth by dietary administration of recombinant yeast lysates as a supplement[J]. *J Fish Soc Taiwan*, 1993, 20(4): 339-345.
- [39] Austin B, Eaudet E, Stobie M. Inhibition of bacterial fish pathogens by *Tetraselmis succica* [J]. *J Fish Dis*, 1992, 15:55-61.
- [40] 郑耀通, 胡开辉. 固定化光合细菌净化养鱼水质试验[J]. *中国水产科学*, 1999, 6(4):55-58.
- [41] 崔竞进, 丁美丽. 光合细菌在对虾育苗生产中的应用[J]. *青岛海洋大学学报*, 1997, 27(2): 191-194.
- [42] 王怡平, 姜荣, 梅贤君, 等. 固定化光合细菌在中华绒螯蟹人工育苗中的应用[J]. *水产学报*, 1999, 23(2): 156-161.
- [43] 刘靖, 段若玲. 利用生物工程技术的水产养殖良药—介绍美菌方 Alken Clear - FLO[J]. *现代渔业信息*, 1994, 9(12):22-25.
- [44] 李卓佳, 张庆, 陈康德. 有益微生物改善养殖生态研究 I 复合微生物分解底泥及对鱼类的促生长效应[J]. *湛江海洋大学学报*, 1998, 8(1): 5-8.
- [45] 张庆, 李卓佳, 陈康德. 复合微生物对养殖水体生态因子的影响[J]. *上海水产大学学报*, 1999, 8(1):43-47.
- [46] Maeda M, Nogami K. Some aspects of the biocontrolling methods in aquaculture[A]. *Current Topics in Marine Biotechnology*[C]. Tokyo: Japan Soc Mar Biotechnol, 1989. 395-398.
- [47] Direkbusarakom S, Yoshimizu M, Ezura Y, et al. *Vibrio* spp., the dominant flora in shrimp hatchery against some fish pathogenic viruses[J]. *J Mar Biotech*, 1998, 6: 266-267.
- [48] Ringø E, Gatesoupe, F - J. Lactic acid bacteria in fish; a review [J]. *Aqua*, 1998, 160: 177-203.
- [49] Olsson J C, Westerdahl A, Conway P L, et al. Intestinal colonization potential of turbot (*Scophthalmus maximus*) - and dab (*Limanda limanda*) - associated bacteria with inhibitory effects against *Vibrio anguillarum* [J]. *Appl and Environ Micro*, 1992, 58(2): 551-556.
- [50] 孙舰军, 丁美丽. 改善虾池环境增强中国对虾抗病力的研究[J]. *海洋科学*, 1999, 1:3-5.
- [51] 张庆, 李卓佳, 陈康德. 活性微生物对斑节对虾生长和品质的影响[J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 1998, (增刊): 19-22.
- [52] Vandenberghe L. Vibrios associated with *Litopenaeus vannamei* larvae, postlarvae, broodstock, and hatchery probiotics[J]. *Appl Environ Micro*, 1999, 65(6): 2 592-2 597.
- [53] Pizzuto M, Hirst R G. Classification of isolates of *Vibrio harveyi* virulent to *Penaeus monodon* larvae by protein profile analysis and M13 DNA fingerprinting[J]. *Dis Aqua Org*, 1995, 21: 61-68.
- [54] Corre V L, Janeiro R, Caipang C M, et al. Use of probiotics and reservoirs with "green water" and other tips for a successful shrimp culture[J]. *Aqua Asia*, 2000, 5(2): 34-38.
- [55] Ringø E, Bendiksen H R, Gausen S J, et al. The effect of early exposure to *Vibrio pelagius* on the aerobic bacterial flora of turbot *Scophthalmus maximus* (L.) larvae [J]. *J Appl Bacte*, 1996, 81: 207-211.
- [56] Austin B. Biotechnology and diagnosis and control of fish pathogens[J]. *J Mar Biotech*, 1998, 6: 1-2.