

白乌鱼胴体粘液中耐热菌的耐热性及特征菌种鉴定

张龙翼, 张崑, 陈平平, 陈婷婷, 方鉴宇, 王林果, 柯欢, 熊伟

(成都大学肉类加工四川省重点实验室, 四川成都 610106)

摘要: 为了进一步分析白乌鱼胴体粘液中特征微生物的耐热性, 并对其中的特征菌进行鉴定, 本文对白乌鱼胴体粘液进行了热处理, 然后对热处理粘液中的特征菌进行了分离纯化, 并对其种属进行了鉴定。通过比较热处理后白乌鱼胴体粘液的外表特征、耐热性、特征菌的形态特征、特征菌的生长曲线和特征菌 S3 的耐高温性, 发现新鲜白乌鱼胴体粘液呈淡红色, 随着处理温度的升高逐渐呈淡绿色; 接种了 30 °C 热处理粘液的培养基有三种菌落 (S1、S2 和 S3), 接种了 50 °C 热处理粘液的培养基有 S2 和 S3 两种菌, 而接种了 70 °C、90 °C 和煮沸处理粘液的培养基, 只生长了 S3 菌, 空白组中无菌落生长。进一步对 S1、S2 和 S3 菌进行分析, 得出 S1 为革兰氏阴性菌, S2 和 S3 为革兰氏阳性菌; 菌株 S3 在 105 °C 高压灭菌锅中处理 20 min 之后仍能存活; 菌株 S2、S3 分别在培养 14 h、16 h 时达到生长高峰; 通过 16S rDNA 序列测序, 发现菌株 S1 属于不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.), 菌株 S2 属于嗜根考克氏菌属 (*Kocuriarhizophila* sp.), 菌株 S3 属于芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。因此, 白乌鱼胴体粘液中的耐热菌为枯草芽孢杆菌 (*Bacillus subtilis*)。

关键词: 白乌鱼; 鱼胴体粘液; 耐热性; 菌株; 鉴定

文章编号: 1673-9078(2018)11-77-82

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2018.11.013

Heat Resistance and Identification of Characteristic Strain of Thermophilic Bacteria from Epidermal Mucus of White Mullet Fish (*Opniocephalus argus* var. *kimnra*)

ZHANG Long-yi, ZHANG Yin, CHEN Ping-ping, CHEN Ting-ting, FANG Jian-yu, WANG Lin-guo, KE Huan, XIONG Wei

(Key Laboratory for Meat Processing of Sichuan Province, Chengdu University, Chengdu 610106, China)

Abstract: To deeply analyze the heat resistance of the characteristic microbes and identifying the characteristic strain in the epidermal mucus of white mullet fish, the carcass mucus of white mullet was heat treated, then the characteristic bacteria in the heat treated mucus were isolated and purified, and their species were identified. By comparing the appearance characteristics and heat resistance of the heated mucus, and morphological features of the characteristic bacteria, the growth curve of the characteristic bacteria and the heat resistance of the strain S3 were investigated. Results showed that the fresh mucus was faint red. The mucus was gradually became light green with the increase of heat temperature. Three kinds of colonies, namely S1, S2, S3, were observed in the culture medium inoculated with the 30 °C, and S2 and S3 in the culture medium inoculated with the 50 °C, while only S3 in the culture medium inoculated with the 70 °C, 90 °C, boiling treated mucus. No colony was found in the control medium. Further analysis of S1, S2 and S3 bacteria showed that S1 was gram-negative bacterial strains S2 and S3 were gram-positive bacterial strains. The strain S2 and S3 reached the peak of growth when they were cultured for 14h and 16h, respectively. By analyzing 16S rDNA sequence of S1, S2 and S3, it was found that strain S1 belonged to *Acinetobacter* sp., strain S2 belonged to *Kocuriarhizophila* sp., and strain S3 belonged to *Bacillus* sp. Therefore, the thermophilic bacterium in epidermal mucus of white mullet fish is *Bacillus subtilis*.

Key words: white mullet fish; epidermal mucus; heat resistance; strain; identification

收稿日期: 2018-08-05

基金项目: “十三五”国家重点研发计划专项 (2017YFB0305400); 国家自然科学基金 (31501505)

作者简介: 张龙翼 (1995-), 女, 硕士研究生, 畜产品加工与保藏

通讯作者: 张崑 (1981-), 男, 博士, 教授, 畜产品加工与保藏

鱼类的皮肤上皮组织中分布有大量粘液细胞, 在应激条件下可分泌粘液于体表^[1], 构成对外界威胁的有效防护屏障, 起到保护鱼体免遭外界环境中的病菌、寄生虫和病毒侵袭等作用^[2]。Smith 等^[3]对虹鳟鱼的体表粘液特性研究, 认为虹鳟鱼体表粘液是不同于

鱼体血液的另外一种免疫系统。Guo 等^[4]发现大鲵皮肤的黏液具有毒性,低剂量注射小鼠可致其出现水肿或痛觉,经腹腔给药可致小鼠死亡。Lobb 等^[5]从羊头鲷皮肤粘液中,分离出了2种形式的免疫球蛋白。我们课题组在对白乌鱼胴体粘液进行初步分析时发现,白乌鱼胴体粘液在经过煮沸处理后,其中仍然存在部分微生物^[6],但未对这些微生物进行分离鉴定。鉴于耐热微生物关系到后期烹调或加工鱼肉产品的质量安全,所以有必要进一步明确白乌鱼胴体粘液中的耐热微生物种属。

白乌鱼(*Opniocephalusargusvar kinnra*)是我国自主培育的珍稀淡水鱼种,其肉质细嫩,营养丰富,除具有较高的食用价值外,还具有一定的药用和观赏价值,未来市场潜力巨大^[7]。目前,国内外对白乌鱼胴体粘液中的功效成分、微生物等方面研究相对较少。由于白乌鱼宰杀后,其表面有较多粘液,而且其中还存在能耐高温的微生物,所以如果不对其中的微生物进行分离鉴定,不仅会引起烹调或精深加工产品的食用安全隐患,而且可能会使粘液中的一些功能性微生物随着粘液的废弃而浪费。此外,微生物通常能产生酶和功能性蛋白质,但是大部分微生物的耐热性不高^[8],尤其在微生物作为酶使用的时候,耐热性更加重要。因此,为了进一步分析白乌鱼胴体粘液中的特征微生物的生物特性,本文对白乌鱼胴体粘液的特征菌进行了分离纯化,并对特征菌进行了鉴定。

1 材料与方法

1.1 仪器与材料

1.1.1 实验设备

实验所用的主要仪器有 THZ-98C 恒温振荡器(上海一恒科学仪器有限公司);HH-6 数显恒温水浴锅(常州澳华仪器有限公司);LE104E/02 电子天平(梅特勒-托利多(上海)有限公司);SHB-III型循环水式多用真空泵(北京科伟永兴仪器有限公司);智能型电热恒温鼓风干燥箱(上海琅玕实验设备有限公司);标准型超纯水机(四川沃特尔水处理设备有限公司);无菌操作台(苏州市金净净化设备科技有限公司);SPX-80 型生化培养箱(北京科伟永兴仪器有限公司);UV756CRT 紫外可见分光光度计(上海佑科仪器仪表有限公司);YM75ZI 智能型不锈钢立式电热压力蒸汽灭菌器(上海三申医疗器械有限公司);XW-80A 旋涡混合器(江苏海门市麒麟医用仪器厂);FR980 凝胶成像仪(上海复日科技仪器有限公司);2720 thermal cycler PCR 仪、3730XL 测序仪(Applied Biosystems)。

1.1.2 实验材料

新鲜白乌鱼购自成都市龙泉驿区三联汽车城水产市场;蛋白胨购自北京奥博星生物技术有限责任公司;琼脂粉购自成都金山化学试剂有限公司;酵母提取物购自广州市华粤瑞科科学器材有限公司;氯化钠(分析纯)购自成都科龙化工试剂厂;Ezup 柱式细菌基因组 DNA 抽提试剂盒(SK8255)、SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒(SK8131)、dNTP 购自生工生物工程(上海)股份有限公司。

1.2 实验方法

1.2.1 白乌鱼胴体粘液的收集

参考张龙翼等^[6]的白乌鱼胴体粘液的收集方法。新鲜白乌鱼用自来水暂养,间隔半小时换一次水,连续3次,宰杀后刮去鱼鳞,然后用乳胶手套轻捋其体表,让粘液流入灭菌后的器皿中,分装后4℃保存备用。

1.2.2 白乌鱼胴体粘液的耐热性分析

取6份白乌鱼胴体粘液5 mL于离心管中,将其中5份离心管分别放在30℃、50℃、70℃、90℃、煮沸条件下热处理20 min。将0.5 mL纯水、0.5 mL新鲜粘液、0.5 mL 30℃处理粘液、0.5 mL 50℃处理粘液、0.5 mL 70℃处理粘液、0.5 mL 90℃处理粘液、0.5 mL 煮沸处理粘液分别均匀接种到灭菌后的LB固体培养基中,再放入生化培养箱中,在37℃恒温培养24 h,观察菌落生长状况,每组平行3次。

1.2.3 特征菌分离及形态观察

按无菌操作作用接种环分别挑取3种单菌落进行多次平板划线培养,直至获得纯培养物,编号保藏于4℃冰箱。观察各菌株的平板菌落特征,以及在显微镜下菌体形态和染色特征。

1.2.4 菌株耐热性分析

以无菌操作挑取菌株,接入LB液体培养基静止培养24 h作种子液,分别取盛有50 mL无菌LB液体培养基的250 mL三角瓶5个,用1 mL无菌吸管分别准确吸取1 mL种子液加入5个三角瓶中,于37℃下恒温培养24 h后,放入高压灭菌锅中,分别在100℃、105℃、110℃、115℃、121℃温度下处理20 min,然后分别取0.5 mL均匀接种到灭菌后的LB固体培养基中,再放入生化培养箱中,在37℃恒温培养24 h,观察菌株生长状况,每组平行3次。

1.2.5 微生物生长曲线测定

以无菌操作分别挑取菌株,接入LB液体培养基静止培养18 h作种子液。分别取盛有50 mL无菌LB液体培养基的250 mL三角瓶16个,分别编号为0 h、

0.5 h、1 h、1.5 h、2 h、3 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、14 h、16 h、18 h、20 h、24 h。用 2 mL 无菌吸管分别准确吸取 2 mL 种子液加入已编号的 16 个三角瓶中，于 37 °C 下振荡培养，分别按对应时间将三角瓶取出，测定 OD₆₀₀ 值。以时间为横坐标，OD₆₀₀ 值为纵坐标，绘制生长曲线。

1.2.6 16S rDNA 鉴定

按 SK8255 试剂盒说明方法进行 DNA 提取。细菌 16S rDNA 引物为 27F(5'-AGTTTGATCMTGGCTCAG-3') 和 1492R(5'-GGTTACCTTGTACGACTT-3')。采用 16S rDNA 引物进行 PCR 扩增。采用 25 μL PCR 扩增反应体系：10×PCR Buffer 2.5 μL，dNTP 1 μL，Taq 酶 (5 U/μL) 0.2 μL，模板 0.5 μL，16S (F) 和 16S (R) 各 0.5 μL，加双蒸水补足到 25 μL。PCR 循环条件为 94 °C，4 min；20 循环 (94 °C，45 s；55 °C，45 s；72 °C，1 min)，72 °C 10 min，4 °C 保温。采用质量分数为 1% 琼脂糖电泳，150 V、100 mA 20 min 电泳观察。PCR 产物电泳条带切割所需 DNA 目的条带，根据 SanPrep 柱式 DNA 胶回收试剂盒 (SK8131) 说明书的详细步骤进行 PCR 产物的回收纯化。得到序列信息后登陆美国国家生物技术信息所 (national center for biotechnology information, NCBI) 页面，利用局部相似性基本查询工具 (basic local alignment search tool, BLAST) 对比分析所测得的序列和 GenBank 中现有细菌的 16S rDNA 序列，挑选相似性序列。

1.2.7 数据分析

利用 EXCEL 2016 对数据进行统计分析，并绘图。

2 结果与讨论

2.1 热处理后白乌鱼胴体粘液的变化

由于要对鱼体粘液中的杂菌进行热处理去除，所以必须对粘液进行加热。通过不同加热温度处理后的鱼体粘液见图 1。图 1 显示，未加热鱼胴体粘液呈现淡红色，随着加热温度上升，鱼体粘液由淡红色逐渐变为淡绿色。这与我们之前报道的白乌鱼体粘液加热后的颜色变化状况一致^[6]。

未加热的鱼胴体粘液呈淡红色，这可能是鱼在宰杀去鳞后收集粘液时，带入了一些鱼体血液所致；但是经过不同加热温度处理后的鱼胴体粘液，其颜色由淡红色逐渐变为淡绿色。血液受热通常会变成暗紫色^[9]，但是在粘液中的血液受热后却变为淡绿色。这与我们之前的研究现象相同^[6]。对引起这一颜色变化的原因还有待进一步研究确定。

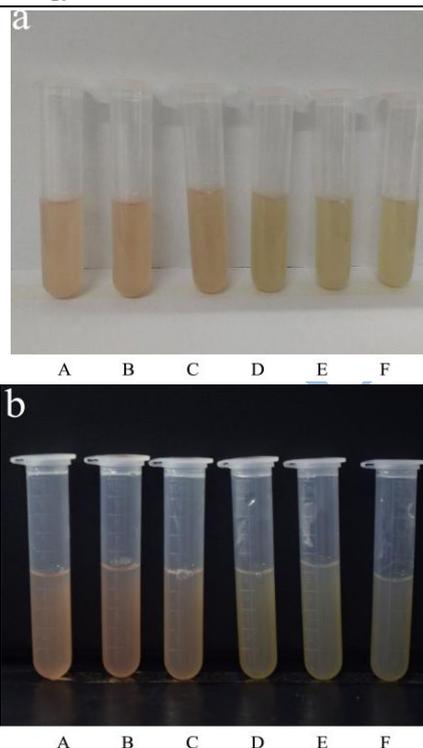


图 1 热处理后鱼胴体粘液的外表特征

Fig.1 Appearance of fish carcass mucus after heat treatment

注：A 管为新鲜粘液；B 管为 30 °C 处理后的粘液；C 管为 50 °C 处理后的粘液；D 管为 70 °C 处理后的粘液；E 管为 90 °C 处理后的粘液；F 管为煮沸处理后的粘液。

2.2 热处理粘液中的微生物分析

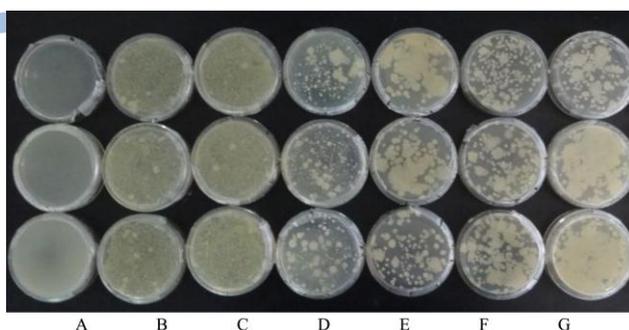


图 2 鱼胴体粘液的耐热性比较

Fig.2 Comparison of heat resistance of fish carcass mucus

注：A：取 0.5 mL 纯水；B：0.5 mL 新鲜粘液；C：0.5 mL 30 °C 处理后的粘液；D：0.5 mL 50 °C 处理后的粘液；E：0.5 mL 70 °C 处理后的粘液；F：0.5 mL 90 °C 处理后的粘液；G：0.5 mL 煮沸处理后的粘液。

在对粘液热处理基础上，取 0.5 mL 粘液，在 LB 固体培养基中于 37 °C 恒温培养 24 h，观察微生物的生长状况 (见图 2)。由图 2 可知，随着加热温度增加，粘液中的微生物种类呈明显减少趋势。通过比较不同温度下粘液中的微生物种类发现，粘液中主要有 3 种菌落 (命名为 S1、S2、S3)，而且在 50 °C 处理粘液

的培养基中有 S2 和 S3, 而在 70 °C、90 °C 和煮沸粘液的培养基中, 只生长了 S3, 空白组中无菌落生长。

由图 2 中不同温度处理粘液在培养基上微生物生长状况及空白对照可知, 培养基中所生长的菌落并非空气中的杂菌, 而是鱼体粘液中自带微生物。由培养基中微生物种类随温度变化情况可知, 50 °C 热处理导致 S1 菌死亡, S2 和 S3 菌能耐 50 °C 的高温处理; S3 菌最耐热, 在煮沸 (96 °C) 温度下仍然可以存活, 这与我们之前的研究结果相符^[6]。

2.3 粘液中 3 种特征菌的分离及形态学观察

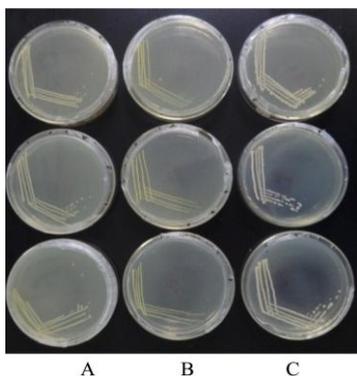


图 3 平板划线培养

Fig.3 Streak plate culture

注: A: 菌株 S1, B: 菌株 S2, C: 菌株 S3。

为了分析粘液中 3 种特征菌的生物特性, 对 3 种单菌落经过平板划线进行分离纯化 (见图 3)。图中的三种微生物形态显示, 所分离得到的 S1、S2 和 S3 菌株无杂菌污染, 分离效果好。通过观察各菌株的平板菌落特征, 以及染色后在显微镜下观察菌体形态, 发现 S1 菌株革兰氏染色呈阴性, 菌体球杆状, 在 LB 固体培养基上菌落呈微黄色, 边缘整齐, 表面光滑、湿润; S2 菌株革兰氏染色呈阳性, 菌体球状, 在 LB 固体培养基上菌落呈金黄色, 边缘不整齐, 表面粗糙、湿润有光泽; S3 菌株革兰氏染色呈阳性, 菌体杆状, 在 LB 固体培养基上菌落呈白色, 边缘不整齐, 表面粗糙、不透明。S1、S2 和 S3 菌株特征描述见表 1。

2.4 特征菌生长曲线

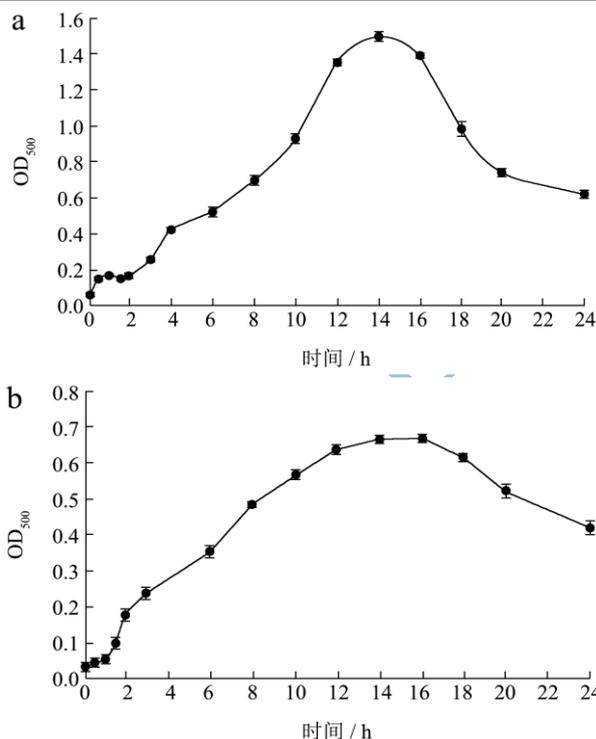


图 4 微生物生长曲线图

Fig.4 Microorganism growth curve

注: a: 菌株 S2 的生长曲线; b: 菌株 S3 的生长曲线。

为了进一步分析耐热菌的生物特性, 对耐 50 °C 以上的菌株 S2 和 S3 的生长曲线进行了测定, 结果见图 4。图 4a 中数据显示, 0~2 h 为菌株 S2 的生长停滞期, 细菌数量极少; 2 h 以后进入对数生长期, 菌体数量急剧增多; 14 h 达到生长最高峰, 12~14 h 为菌株 S2 的生长稳定期, 菌体生长缓慢; 14 h 之后细菌数量开始减少, 菌株 S2 进入衰亡期。图 4b 中数据显示, 0~1.5 h 为菌株 S3 的生长停滞期, 细菌数量极少; 1.5 h 以后进入对数生长期, 菌体数量急剧增多; 16 h 达到生长最高峰, 12~16 h 为菌株 S3 的生长稳定期, 菌体生长缓慢; 16 h 之后菌株 S3 进入衰亡期。

由于微生物生长曲线可表示细菌从开始生长到死亡的全过程动态, 对于研究微生物生理和工业发酵具有重要指导意义。由图 4 中菌株 S2 和 S3 的生长曲线可知, 菌株 S2 的对数生长期和衰亡期菌落数变化均较菌株 S3 快速。

表 1 特征菌的形态特征

Table 1 Morphological characteristics of characteristic bacteria

编号	菌落形态				菌体形状	革兰氏染色
	形状	颜色	边缘	表面		
S1	圆形、凸起	微黄色	整齐	光滑、湿润	球杆状	G ⁻
S2	圆形、凸起	金黄色	不整齐	粗糙、湿润、有光泽	球状	G ⁺
S3	椭圆、扁平	乳白色	不整齐	粗糙、不透明	杆状	G ⁺

因此,在菌株 S2 培养过程中,应严格控制 OD₆₀₀ 值。根据图 4 的生长曲线可知,对于菌株 S2,采用 12~14 h 的菌液作为菌种较为合适;对于菌株 S3,采用 12~16 h 的菌液作为菌种较为合适。这个阶段下的菌株,既可以保持高的细胞活力,又可获得多的细胞数。

2.5 菌株 S3 耐热性比较

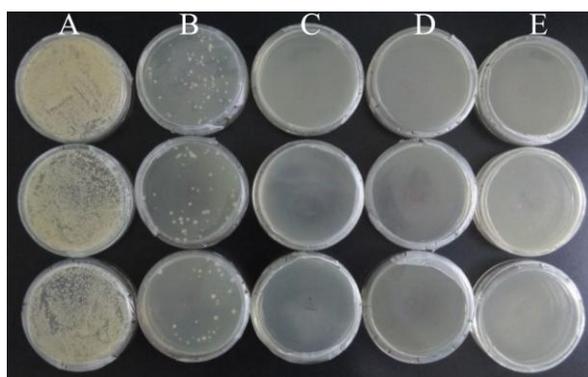


图 5 不同温度处理下菌株 S3 耐热性比较

Fig.5 Comparison of heat resistance of strain S3 under different temperature treatment

注: A: 100 °C 处理; B: 105 °C 处理; C: 110 °C 处理; D: 115 °C 处理; E: 121 °C 处理。

为了进一步分析菌株 S3 的最高耐热温度,取 0.5 mL 菌液,分别在 100 °C、105 °C、110 °C、115 °C 和 121 °C 处理,然后分别接种到 LB 固体培养基中,再放入生化培养箱中于 37 °C 恒温培养 24 h,观察菌株 S3 的生长状况(见图 5)。由图可知,100 °C 和 105 °C 处理菌液的培养基中生长出了菌株 S3,而 110 °C、115 °C、121 °C 处理菌液的培养基中无菌落生长。由图 5 中不同温度处理下菌株 S3 的生长状况可知,菌株 S3 是一种能耐受 105 °C 高温高压处理 20 min 的耐热菌,当温度达到 110 °C 时,菌株 S3 不能存活。因此,菌株 S3 可作为物化性质类似白乌鱼粘液,且中心温度为 105~110 °C 物料杀菌工艺的对象菌(指示菌),以衡量某杀菌工艺是否彻底。同时,图 5 的杀菌结果显示,白乌鱼体粘液即使在高温煮沸处理下,其中仍有活菌存在。因此,有必要对粘液中的微生物种属进行鉴定,以明确其是否为有害菌。

2.6 粘液中特征菌的种属鉴定

微生物的 16S rDNA 结构具有保守性,能反应出生物物种的亲缘关系,为生物系统的进化提供线索,也是生物物种的特征核苷酸序列。目前,16S rDNA 序列分析已经成为细菌系统分类研究中最有力也是最常用的工具。通过对 S1、S2 和 S3 菌的 16S rDNA 进

行 PCR 扩增,并对所得 16S rDNA 片段进行电泳分析,所得结果见图 6。从电泳结果可知,3 种菌株 PCR 扩增产物的分子量均为 1500 bp 左右。用 PCR 引物对 PCR 产物进行测序。对测序获得的菌株 S1、S2 和 S3 的 16S rDNA 序列,利用 NCBI 进行 BLAST 序列相似性检索,结果见表 2。

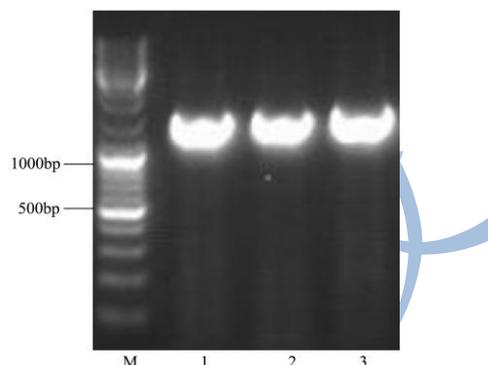


图 6 16S rDNA PCR 扩增产物的电泳结果

Fig.6 Electrophoretic results of 16S rDNA PCR amplification products

注: M 为 Maker 参照; 1 为菌株 S1 的 16S rDNA 扩增片段; 2 为菌株 S2 的 16S rDNA 扩增片段; 3 为菌株 S3 的 16S rDNA 扩增片段。

通常在种的分类等级上,若两个分类单位间的 16S rDNA 序列的同源性高于 97.5%,则可把这两个分类单位归于同一个种^[10]。根据表 2 中 16S rDNA 序列分析结果可知,菌株 S1 属于不动杆菌属(*Acinetobacter* sp.),与 *pittii* 不动杆菌(*Acinetobacter pittii* Strain)的一致性为 100%;菌株 S2 属于嗜根考克氏菌属(*Kocuriarhizophila* sp.),与嗜根考克氏菌(*Kocuriarhizophila* Strain)的一致性为 99%;菌株 S3 属于芽孢杆菌属(*Bacillus* sp.),与枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis* Strain)的一致性为 99%。因此,白乌鱼胴体粘液中的高耐热菌为枯草芽孢杆菌。鉴于枯草芽孢杆菌是需氧菌,少量存在对人体不仅无害,而且还有一定的抑菌效果,而 *pittii* 不动杆菌、嗜根考克氏菌具有潜在食品安全风险,所以对于白乌鱼的食用,应高温烹调后再食用较好。

此外,不动杆菌属细菌具有代谢多样性,产生的生物表面活性剂可以降解己内酰胺、除草剂、有机磷农药和多种石油烃组分等,在未来非常有希望应用于石油烃的修复工程^[11]。嗜根考克氏菌属是药敏实验的常用靶菌之一^[12],是一种可以产电的微生物,对改善和提高微生物燃料电池(Microbial fuel cells, MFCs)的产电性能具有重要意义^[13]。芽孢杆菌属对水产中的有害微生物有很强的抑制作用,在鱼类养殖和鱼类疾病防治方面表现出广阔的应用前景。

表 2 16S rDNA 鉴定结果

Table 2 16S rDNA identification results

菌株编号	同源性检索	登录号	一致性/%
S1	pittii 不动杆菌 (<i>Acinetobacterpittii</i>)	CP028574.1	100%
S2	嗜根考克氏菌 (<i>Kocuriarhizophila</i>)	KM577162.1	99%
S3	枯草芽孢杆菌 (<i>Bacillus subtilis</i>)	MF616407.1	99%

3 结论

通过比较热处理后白乌鱼胴体粘液的外表特征,发现新鲜白乌鱼胴体粘液呈淡红色,随着处理温度的升高逐渐呈淡绿色。比较鱼胴体粘液的耐热性,发现接种了 30 °C 热处理粘液的培养基有三种菌落 (S1、S2 和 S3),接种了 50 °C 热处理粘液的培养基有 S2 和 S3 两种菌,而接种了 70 °C、90 °C 和煮沸处理粘液的培养基,只生长了 S3 菌,空白组中无菌落生长。比较粘液中 3 种特征菌的形态特征,发现 S1 为革兰氏阴性菌, S2 和 S3 为革兰氏染色阳性菌。比较菌株 S3 的耐热性,发现菌株 S3 在 105 °C 高压灭菌锅中处理 20 min 之后仍能存活。通过测定菌株 S2 和 S3 的生长曲线,发现菌株 S2、S3 分别在培养 14 h、16 h 时达到生长高峰。通过 16S rDNA 序列测序,发现菌株 S1 属于不动杆菌属 (*Acinetobacter* sp.); 菌株 S2 属于嗜根考克氏菌属 (*Kocuriarhizophila* sp.); 菌株 S3 属于芽孢杆菌属 (*Bacillus* sp.)。白乌鱼胴体粘液中的高耐热菌为枯草芽孢杆菌。

参考文献

- [1] Harris J E, Hunt S. The fine structure of the epidermis of two species of salmonid fish, the Atlantic salmon (*Salmosalar* L.) and the brown trout (*Salmotrutta* L.). I. General organization and filament-containing cells [J]. Cell & Tissue Research, 1975, 163(4): 535-543
- [2] 黄智慧,马爱军,汪岷.鱼类体表黏液分泌功能与作用研究进展[J].海洋科学,2009,33(1):90-94
HUANG Zhi-hui, MA Ai-jun, WANG Min. Research progression in secretion of fish skin mucous and its function [J]. Marine Sciences, 2009, 33(1): 90-94
- [3] Smith V J, Fernandes J M, Jones S J, et al. Antibacterial proteins in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. Fish Shellfish Immunol, 2000, 10(3): 243-260
- [4] Guo W, Ao M, Li W, et al. Major biological activities of the skin secretion of the Chinese giant salamander, *Andrias davidianus* [J]. Zeitschrift Fur Naturforschung Section C-a Journal of Biosciences, 2012, 67(1-2): 86-92
- [5] Lobb C J, Clem L W. The metabolic relationships of the immunoglobulins in fish serum, cutaneous mucus, and bile [J]. Journal of Immunology, 1981, 127(4): 1525-9
- [6] 张龙翼,陈平平,王林果,等.白乌鱼胴体黏液抗菌活性分析[J].成都大学学报(自然科学版),2018,37(2):155-158
ZHANG Long-yi, CHEN Ping-ping, WANG Lin-guo, et al. Preliminary study of the antibacterial activity of epidermal mucus from white mullet fish (*Opniocepnalusargusvar kimmra*) [J]. Journal of Chengdu University (Natural Science Edition), 2018, 37(2): 155-158
- [7] 牟春艳,任胜杰,乔国贤,等.白甲乌鳢诺卡氏菌病的防治一例[J].科学养鱼,2015,V31(3):65-65
MOU Chun-yan, REN Sheng-jie, QIAO Guo-xian, et al. Prevention and treatment of Nocardia disease in *Opniocepnalusargusvar kimmra* [J]. Scientific Fish Farming, 2015, V31(3): 65-65
- [8] 肖容雍,赵鹤飞,李铭.常温即食食品的主要杀菌技术研究进展[J].农产品加工,2018,12:64-69
XIAO Rong-yong, ZHAO He-fei, LI Ming. Advances in main sterilization technologies for ready-to-eat food [J]. Farm Products Processing, 2018, 12: 64-69
- [9] 孟宪军,史志旭,徐怀善,等.贮存血液颜色变暗紫色原因分析[J].中国输血杂志,2003,16(6):411-412
MENG Xian-jun, SHI Zhi-xu, XU Huai-shan, et al. Analysis of the cause of color dark purple in storage blood [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2003, 16(6): 411-412
- [10] 张洁,徐桂花,尤丽琴.16SrDNA 序列分析法鉴定乳酸菌[J].农产品加工(创新版),2009,4:47-49
ZHANG Jie, XU Gui-hua, YOU Li-qin. Identification of Lactic acid bacteria by 16S rDNA sequencing [J]. Innovational Edition of Farm Products Processing, 2009, 4: 47-49
- [11] 刘玉华,王慧,胡晓珂.不动杆菌属(*Acinetobacter*)细菌降解石油烃的研究进展[J].微生物学通报,2016,43(7):1579-1589
LIU Yu-hua, WANG Hui, HU Xiao-ke. Recent advances in the biodegradation of hydrocarbons by *Acinetobacter* species [J]. Microbiology China, 2016, 43(7): 1579-1589
- [12] Tang J S, Gillevet P M. Reclassification of ATCC 9341 from *Micrococcus luteus* to *Kocuria rhizophila* [J]. Int J Syst Evol Microbiol, 2003, 53(Pt 4): 995-997

[13] 李明,梁湘,骆健美,等.一株产电菌嗜根考克氏菌(*Kocuria rhizophila*)的分离及其产电性能优化[J].环境科学学报,2015,35(10):3078-3087

LI Ming, LIANG Xiang, LUO Jian-mei, et al. Isolation of an

exoelectrogen *Kocuria rhizophila* from the anodic biofilm and optimization of its power generation [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2015, 35(10): 3078-3087

