淡水养殖罗非鱼中病原菌和腐败菌的分离与鉴定初探

刘寿春[1]，周　康[1]，钟赛意[1]，李平兰[1]，马长伟[1,*]，彭朝辉[2]
(1.中国农业大学食品科学与营养工程学院，北京　100083；
2.北京北水食品工业有限公司，北京　101108)

摘　要：本实验分析了刚捕获淡水养殖罗非鱼的体表黏液、腮、肠道、腐败肉和养殖池水的细菌菌相，结果表明，以上样品的菌落总数分别为1.0×10^3CFU/cm^2、2.2×10^3CFU/g、1.4×10^5CFU/g、5.4×10^7CFU/g和2.6×10^4CFU/ml；共分离出353株菌，以革兰氏阴性菌为主。池水和新鲜鱼体的优势菌为芽孢杆菌、肠杆菌科、弧菌科，其主导地位随样品不同而有所差异，还有少量假单胞菌属、肠球菌属、葡萄球菌属等。腐败肉中的菌相较单一，优势菌为洋葱假单胞菌、嗜水气单胞菌和短芽孢杆菌，迟钝爱德华菌和克吕沃尔菌属少量。同时参照GB和SN标准对刚捕获罗非鱼的体表黏液、腮、肠道中病原菌进行分析，结果表明，在鱼体中检出大肠埃希氏菌、粪链球菌和铜绿假单胞菌，未检出单核增生李斯特氏菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、副溶血弧菌和溶血性链球菌等病原菌。

关键词：罗非鱼；菌相；病原菌；腐败菌

Isolation and Identification of Pathogens and Spoilage Bacteria on Cultured Hybrid Tilapia

LIU Shou-chun[1], ZHOU Kang[1], ZHONG Sai-yi[1], LI Ping-lan[1], MA Chang-wei[1,*], PENG Zhao-hui[2]
(1.College of Food Science and Nutritional Engineering, China Agricultural University, Beijing　100083, China;
2.Beijing Beishui Food Industry Co. Ltd., Beijing　101108, China)

Abstract: The bacterial flora occurring in pond water, surface mucus, gills, intestine and putrid meat of healthy tilapia cultured in freshwater, were estimated both quantitatively and qualitatively. The results showed that total viable count of bacteria in above samples respectively were 2.6×10^4 CFU/ml, 1.0×10^3 CFU/cm^2, 2.2×10^3 CFU/g, 1.4×10^5 CFU/g and 5.4×10^7 CFU/g. Total 353 isolates were dominated by Gram-negative bacteria. *Bacillus* sp., *Enterobacteriaceae* sp. and *Vibrionaceae* sp. were predominant in pond water and fresh fish, with a small number of *Pseudomonas* sp, *Enterococcus* sp., *Staphylococcus* sp. and so on; but the dominant position were changed with different samples. The bacterial flora were simple in putrid meat, *Pseudomonas cepacie*, *Aeromonas hydrophila* and *Bacillus brevis* were dominant spoilage organism, with a small number of *Edwardsiella tarda* and *Kluyvera* spp. In addition, GB and SN standard methods were used in detecting the pathogens on surface mucus, gills and intestine of newly-harvested tilapia, *Escherichia* coli, *Pseudomonas aeruginosa* and *Streptococcus faecalis* were detected, but *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus*, *Vibrio parahaemolyticus* and hemolytic streptococcus were not detected.

Key words: tilapia; bacterial flora; pathogens; spoilage bacteria
中图分类号：S965.125　　文献标识码：A　　文章编号：1002-6630(2008)05-0327-05

罗非鱼是我国重要的养殖鱼类之一，具有重要的经济价值，在出口创汇方面发挥了重要作用，其食用安全性也越来越受到关注[1]。对罗非鱼的养殖环境、产品本身的主要腐败菌和病原菌进行检测和有效控制是实现罗非鱼产品质量安全，保障该养殖产业健康发展的关键[2]。

谢骏等[3]探讨了罗非鱼养殖环境和自身体表黏液细

收稿日期：2007-11-30
基金项目：欧盟第六框架科技计划项目(FP6-016333-2)
作者简介：刘寿春(1980-)，女，博士研究生，研究方向为水产品加工及贮藏工程。E-mail：lx810104@163.com
* 通讯作者：马长伟(1965-)，男，教授，博士，研究方向为水产品加工及贮藏工程。E-mail：changweima@263.net

菌菌相的相互关系；也有研究报道从罗非鱼体中分离出了致病性的链球菌、嗜水气单胞菌、假单胞菌、爱德华氏菌等[4]；而许钟等[5-6]建立了罗非鱼在0～15℃恒温和波动温度储藏下特定腐败菌的生长曲线和货架期预测模型。罗非鱼在捕获后处理、加工、储运和销售过程中极易受到微生物的污染，导致肉质腐败，影响食用安全性。这方面的研究极少见于报道。本实验初步探讨罗非鱼的养殖池水、刚捕获的新鲜鱼体、货价期终点腐败肉样的菌落总数和菌群组成，同时参照GB和SN标准对刚捕获新鲜罗非鱼鱼体的病原菌进行检测与计数；从而了解罗非鱼的养殖环境和原料自身的细菌学特征，为后续加工有效控制微生物腐败和潜在危害提供依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

鲜活奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*)取自广东省某淡水罗非鱼养殖场，选择健康活鱼15尾，每尾重400～500g，立即放入冰水中冷休克，层冰层鱼层冰放置于隔热泡沫箱中，保持鱼体温度在0～4℃，并于3h内运往实验室分析检验。

1.2 微生物取样

1.2.1 新鲜鱼体取样

1.2.1.1 体表黏液

采用棉试法，共取鱼体两侧25cm^{2}黏液于225ml无菌生理盐水中。

1.2.1.2 肠道

用含75%酒精棉球拭擦鱼体表，无菌取出13尾鱼的肠道，置于无菌广口瓶中，混匀，取5g于45ml无菌生理盐水中。

1.2.1.3 腮

取样方法同肠道。

1.2.2 货价期终点的腐败肉样

冷休克致死后的鱼随机抽取2尾，去鳞、内脏和鳃，洗净沥干，置洁净托盘中，用保鲜膜密封，于37℃培养箱中有氧储藏至感官判定腐败。沿脊骨剖切，取一侧带皮鱼肉，放入组织捣碎机搅碎，取25g于225ml无菌生理盐水中。

1.2.3 养殖池的水样

分别取罗非鱼养殖池四边形的四个点，采用无菌水样瓶取距离水面以下15～20cm的水样，灌注并密封，于0～4℃下保存至实验室分析。分析前，4瓶水混匀，取25ml于225ml无菌生理盐水中。

以上所有样品，充分混匀后按需要做稀释倍数，取3个合适浓度倾注平板，每个浓度2个平板。按以下不同的测定方法进行培养和分析。

1.3 微生物分析方法

分别以鱼的体表黏液、肠道、腮、腐败肉和池水为样品，采用含0.5% NaCl的平板计数琼脂(PCA)30℃有氧培养48h。选取菌落总数在30～100的平板，分离整个平板一半的菌株或整个平板的所有菌株。肉眼观察菌落特征完全相同的菌落，并计数，数量最多的3～4种菌株作为优势菌，采用营养琼脂划线纯化，革兰氏染色，观察细胞形态，最后参照文献[7]结合API系统(法国生物梅里埃公司)进行细菌鉴定和分类。为进一步确认罗非鱼的微生物安全性，本实验还采用GB和SN标准针对新鲜鱼体检测以下可能存在的病原菌，并对检出的病原菌进行计数。具体方法见表1。

1.4 理化指标测定

在取样前后27d内，每天早中晚分别测定水温、溶氧、pH、盐度、亚硝酸氮(NO_2^--N)和氨氮(NH_4^+-N)。

2 结果与分析

2.1 罗非鱼养殖池水的理化指标分析

罗非鱼养殖池水的理化指标如表2，采样前后的27d内，池水温度较高，pH中性，溶氧、亚硝酸氮和氨氮浓度适宜。本实验池为纯淡水，盐度几乎为零。

2.2 淡水养殖罗非鱼的池水、黏液、腮、肠及其腐

表1 淡水养殖的罗非鱼体中不同病原菌的分析方法

Table 1 Standard methods on different pathogens of freshwater cultured tilapia

病原菌	参考标准	培养基
大肠埃希氏菌及计数	GB/T 4789.6－2003	乳糖胆盐发酵培养基、EMB培养基、生化试验配套试剂
单核增生李斯特氏菌	SN 0184－93	FRASER增菌液、OXA平板、TSA-TE、TSB-YE、生化试验配套试剂
沙门氏菌	GB/T 4789.4－2003	BP缓冲液、SC增菌液、SS琼脂、生化试验配套试剂
金黄色葡萄球菌	GB/T 4789.10－2003	7.5%NaCl肉汤、Baird-parker琼脂、血平板、生化试验配套试剂
副溶血弧菌	GB/T 4789.7－2003	氯化钠结晶紫增菌液、NaCl蔗糖培养基、嗜盐琼脂培养基、生化试验配套试剂
溶血性链球菌	GB/T 4789.11－2003	葡萄糖肉浸液、血平板、生化试验配套试剂
粪链球菌及计数	SN/T 0475－95	叠氮化钠培养基、PSE 琼脂、生化试验配套试剂
铜绿假单胞菌	GB 7918.4－87	SCDLP、十六烷三甲基溴化铵培养基、生化试验配套试剂
假单胞菌属计数	－	假单胞菌选择性培养基，25℃培养48h

注：以上选择性培养基均购于广东环凯生物技术有限公司。

表2 罗非鱼养殖池水的理化指标 ($\bar{X} \pm SD$)

Table 2 Physicochemical parameters in pond culture water ($\bar{X} \pm SD$)

测定天数(n=27)	水温(℃)	pH	溶氧(mg/L)	NO_2^--N(mg/L)	NH_4^+-N (mg/L)	盐度(‰)
实测值	28～35	6.7～7.2	3.47～4.28	0～0.1	0～0.1	≈0
2007/5/14～06/08	32.17±2.06	6.97±0.11	4.15±0.58	0.05±0.04	0.25±0.29	纯淡水
适宜范围	25～34	7.0～8.5	3～7		<0.3	

表3 养殖罗非鱼的池水、体表黏液、腮、肠和腐败肉的微生物菌相组成

Table 3 Microbial flora of isolates in pond water, surface mucus, gills, intestine and putrid sample of tilapia

菌名	池水		黏液		腮		肠道		腐败肉	
	分离出菌株数	分离出菌占总菌株比例(%)	分离出菌株数	分离出菌占总菌株比例(%)	分离出菌株数	分离出菌占总菌株比例(%)	分离出菌株数	分离出菌占总菌株比例(%)	分离出菌株数	分离出菌占总菌株比例(%)
凝结芽孢杆菌 *Bacillus firmus*	3	4.3	12	17.1	—	—	—	—	—	—
巨大芽孢杆菌*Bacillus megaterium*	7	10.0	—	—	—	—	15	16.1	—	—
环状芽孢杆菌 *Bacillus circulans*	—	—	—	—	10	15.9	—	—	—	—
蜡状芽孢杆菌 *Bacillus cereus*	—	—	3	4.3	—	—	—	—	—	—
短芽孢杆菌*Bacillus brevis*	10	14.3	5	7.1	8	12.7	5	5.4	8	14.0
粪肠球菌 *Enterococcus faecalis*	5	7.1	—	—	3	4.8	5	5.4	—	—
耐久肠球菌 *Enterococcus durans*	—	—	4	5.7	—	—	—	—	—	—
表皮葡萄球菌*Staphylococcus eqidermidis*	—	—	8	11.4	4	6.3	—	—	—	—
类志贺邻单胞菌*Plesiomonas shigelloides*	3	4.3	—	—	—	—	—	—	—	—
嗜水气单胞菌 *Aeromonas hydrophila*	10	14.3	7	10.0	6	9.5	22	23.7	12	21.1
洋葱假单胞菌*Pseudomonas cepacie*	4	5.7	3	4.3	4	6.3	—	—	22	38.6
铜绿假单胞菌*pseudomonas aeruginosa*	—	—	—	—	—	—	3	3.2	—	—
大肠埃希氏菌 *Escherichia coli*	3	4.3	5	7.1	2	3.2	2	2.2	—	—
阴沟肠杆菌 *Enterobacter cloacea*	5	7.1	4	5.7	4	6.3	15	16.1	—	—
产气肠杆菌 *Enterobacter aerogenes*	6	8.6	—	—	—	—	4	4.3	—	—
迟钝爱德华菌*Edwardsiella tarda*	—	—	—	—	—	—	—	—	4	7.0
液化沙雷氏菌 *Serratia liquefaciens*	2	2.9	3	4.3	5	7.9	6	6.5	—	—
弗氏柠檬酸杆菌 *Citrobacter freundii*	3	4.3	—	—	—	—	—	—	—	—
克吕沃尔菌属*Kluyvera* spp.	—	—	—	—	—	—	—	—	5	8.8
放射根瘤菌*Rhizobium radiobacter*	—	—	—	—	10	15.9	—	—	—	—
泛菌属 *Pantoea* spp.	—	—	7	10.0	—	—	8	8.6	—	—
未鉴定	9	12.9	9	12.9	7	11.1	8	8.6	6	10.5
菌株总数	70		70		63		93		57	
革兰氏阳性菌	25	35.7	32	45.7	25	39.7	25	26.9	8	14.0
革兰氏阴性菌	36	51.4	29	41.4	31	49.2	60	64.5	43	75.4

注：“—”表示未检出。

败肉的细菌菌相分析

从罗非鱼的体表黏液、腮、肠道、腐败肉和池水中共分离出353株菌，革兰氏阴性菌(G^-菌)占56.4%，革兰氏阳性菌(G^+菌)占32.6%，未鉴定菌株占11%，隶属于7个科13个属21个种。G^-菌中主要是肠杆菌科(22.1%)、弧菌科(17.0%)和假单胞菌属(10.2%)，还有部分根瘤菌和泛菌属。G^+菌主要是芽孢杆菌(24.4%)、肠球菌和葡萄球菌(共8.2%)。以上各样品，除了黏液的G^+菌(45.7%)稍多于G^-菌(41.4%)以外，其余样品中G^-菌均多于G^+菌，在肠道和腐败肉中尤为明显；表明淡水养殖罗非鱼的新鲜鱼体和池水以G^-菌为主，肠杆菌、芽孢杆菌、弧菌科是优势菌(＞10%)，假单胞菌、葡萄球菌和肠球菌比例很低，但不同样品中各优势菌的主导地位有变化。其中黏液的菌相与其他样品明显不同，其G^+菌多于G^-菌，且葡萄球菌和泛菌属也是优势菌；而池水、腮和肠道的菌相比较相近。在腐败肉中，菌相比较单一，洋葱假单胞菌(38.6%)、嗜水气单胞菌(21.1%)和短芽孢杆菌(14.0%)是优势菌，还有少量克吕沃尔菌属和迟钝爱德华菌。

由表3可知，肠杆菌科广泛存在于新鲜鱼体和池水中，但科内的种属较多，各种间比例不高。在腐败肉菌相中隶属于肠杆菌科的只有迟钝爱德华菌(7%)和克吕沃尔菌属(8.8%)。嗜水气单胞菌始终以较高的比例(9.5%～23.7%)存在于各样品中，尤其在肠道和腐败肉中比例大于20%。气单胞菌属对鱼类和人均致病，0℃仍能生长，是淡水鱼的典型菌株[8]。假单胞菌在刚捕获罗非鱼体和池水中比例较低(＜10%)，但在腐败肉中占绝对优势(38.6%)。

2.3 刚捕获的罗非鱼中肠道、腮、黏液中的病原菌的检出情况

表4 刚捕获罗非鱼肠道、腮、黏液中病原菌的检出情况

Table 4 Detection results on different pathogens of newly-harvested tilapia

病原菌	检测结果
大肠埃希氏菌	肠道、黏液、腮中检出
粪链球菌	同上
铜绿假单胞菌	肠道中检出；腮和黏液中未检出
单核增生李斯特氏菌	肠道、腮、黏液均未检出
沙门氏菌	同上
金黄色葡萄球菌	同上
副溶血弧菌	同上
溶血性链球菌	同上

如表4所示，鱼体中未检出单核增生李斯特氏菌、沙门氏菌、金黄色葡萄球菌、溶血性链球菌、副溶血弧菌等致病菌；检出大肠埃希氏菌、粪链球菌(也叫粪肠球菌)和铜绿假单胞菌(假单胞菌属)，与表3菌相分析结果一致。同时测定刚捕获新鲜鱼体的黏液、腮和肠道中大肠埃希氏菌、粪链球菌和假单胞菌属的数量，但大肠埃希氏菌和粪链球菌的含量均很低(见表5)，可能池水受粪便污染较小；也可能与鱼品种存在一定关系，罗非鱼较其他鱼种抗病性强，因其体表和体内存在非特异性抗菌因子，对致病菌有一定的抵抗性[9]，这可能是罗非鱼鱼体附着的致病菌较少、微生物数量较低的原因之一。

许多研究从罗非鱼体中分离出致病性链球菌[10]，这与本实验结果一致。副溶血弧菌嗜盐是海水典型菌株[11]，也是海产品的主要致病菌，本实验中未检出弧菌，可能因为鱼池为纯淡水，盐度低，不适合弧菌生长。

2.4 刚捕获罗非鱼的池水、体表黏液、腮、肠道和腐败肉的微生物数量

结果表明，与罗非鱼相关的各样品中微生物数量不同(见表5)，其中有氧菌落总数(APC)：腐败肉(10^7CFU/g)＞肠道(10^5CFU/g)＞池水(10^4CFU/ml)＞腮(10^3CFU/g)＞黏液(10^3CFU/cm^2)；在各样品中假单胞菌和APC的初始菌数极为相似；在刚捕获的鱼体和池水中假单胞菌含量较少，当罗非鱼至货价期终点时，肉中的假单胞菌和APC均达到10^7CFU/g；与表3实验结果吻合，此时腐败肉的菌相比较单一，假单胞菌占绝对优势(38.6%)，表明假单胞菌是引起有氧储藏罗非鱼肉的主要腐败菌；许钟等[5-6]研究表明假单胞菌是低温有氧储藏罗非鱼的特定腐败菌，其数量的多少直接影响罗非鱼的货价期，本实验结果与之一致。有学者认为在温带、亚热带或热带水域中，假单胞菌和希瓦氏菌是特定腐败菌，这对于所有鱼贝类和甲壳类都是适用的[12]。

3 讨论

3.1 刚捕获罗非鱼的鱼体和池水的细菌菌相

刚捕获的鱼类其身上的初始细菌组成与生活环境、季节、捕获方法等有关[13]。Al-Harbi等[14-16]研究了海水养殖罗非鱼的池水、沉积物、肠道和腮的菌相；谢骏等[3]探讨了淡水罗非鱼体表黏液与养殖环境细菌菌相的相互关系。海水养殖的罗非鱼鱼体中主要优势菌为弧菌属、链球菌属、腐败希瓦氏菌等，本实验中未检出弧菌属和希瓦氏菌属，可能与池水的盐度和培养基的盐分太低有关。而在淡水养殖的罗非鱼体表黏液中，优势菌为芽孢杆菌属、葡萄球菌属、微球菌属、弧菌科和不动杆菌属，主要以葡萄球菌属和芽孢杆菌属占主导地位[3]，这与本实验部分结果一致，即芽孢杆菌、葡萄球菌、肠杆菌和弧菌科是优势菌。

罗非鱼鱼体和池水的细菌组成主要是G^-菌。肠杆菌、芽孢杆菌、弧菌科为优势菌，但不同样品中各优势菌的主导地位有变化，可能与鱼体不同部位的营养组分和细菌具有选择性吸附能力有关[3]。温水域中的微生物主要是嗜冷的G^-杆菌，包括假单胞菌、摩拉氏菌、不动杆菌、希瓦氏菌、黄杆菌属，在不同的地域发现G^+菌如芽孢杆菌、微球菌、梭菌属、乳杆菌、棒状杆菌，但主要还是G^-菌群[17]。Shewan等[18]认为G^+菌如芽孢杆菌和微球菌是热带水域的优势菌，也有许多学者认为热带水域的微生物菌群与温带水域的菌群相似[8,19]。其中Liston等[20]研究结果表明在热带鱼中会有稍高含量的G^+菌和肠杆菌，但是菌群和温带水域相似。这与本实验结果一致，即在池水和鱼体中检出含量较高(21.5%～28.6%)的G^+菌(芽孢杆菌、葡萄球菌和肠球菌)和肠杆菌(17.1%～29.0%)，但主要还是G^-菌(56.4%)。张庆等[21]的研究结果表明，选用芽孢杆菌为主导菌的复合

表5 刚捕获罗非鱼的池水、黏液、腮、肠道及其腐败肉的微生物数量

Table 5 Bacterial load in pond water, surface mucus, gills, intestine and putrid sample of tilapia

测定指标	池水(CFU/ml)	黏液(CFU/cm^2)	腮(CFU/g)	肠道(CFU/g)	腐败肉(CFU/g)
有氧菌落总数	2.6×10^4	1.0×10^3	2.2×10^3	1.4×10^5	5.4×10^7
假单胞菌属	3.8×10^2	4.0×10^2	1.2×10^3	1.1×10^5	4.8×10^7
大肠埃希氏菌	ND	＜3	＜3	9.1	ND
粪链球菌	ND	＜0.3	2.3	2.3	ND

注：ND表示未测定。

微生物加入罗非鱼养殖池中，能有效改善水质，同时能起到促生长、降低饵料系数的作用，这反过来说明池塘中芽孢杆菌属等分解有机物能力很强的G⁺菌占据主导地位有可能是高产鱼池自身的选择。

3.2 刚捕获罗非鱼的鱼体和池水的微生物数量

鱼体和水体的微生物数量与水温关系密切，夏秋季节水温高，中温菌数量多，冬春季节水温低，则菌数少[16]。谢骏等[3]研究结果表明，池水中好氧异养细菌波动区域为(0.26～9.20)×10^5CFU/ml，罗非鱼体表黏液细菌的种类和数量来自于水环境，好氧菌为(0.02～1.00)×10^4CFU/cm^2，与大型浮游生物显著相关($p < 0.01$)，可能与鱼的食性及活动习性有关。本实验结果池水(2.6×10^4CFU/ml)和黏液(1.0×10^3CFU/cm^2)的菌落总数与谢骏研究结果一致。Al-Harbi等[16]报道淡水养殖罗非鱼的肠道微生物数量为6.8×10^6～7.5×10^7CFU/g，本实验肠道菌含量(1.4×10^5CFU/g)稍偏低。鱼肠道中微生物数量高，可能与高温(≥28℃)水体中促进鱼的摄入量和代谢活动有关。本实验罗非鱼以自然水体为食，生长速度和摄入量受到控制，可能导致肠道微生物数量较低。

微生物菌群组成和数量的变化与采样方法、微生物检测技术和环境的差异性有关。所用培养基不同对微生物计数有影响，如采用胰大豆蛋白胨琼脂(TSA)更适合培养嗜温菌[14]。根据不同水域的含盐量和水温，调整培养基的组分、培养温度和时间，从而更有效的分离培养不同水域、不同微生物种类的菌落数，尤其是海洋水域中的嗜盐菌和低温菌。因此，由于采样地点、时间以及研究手段等差异，所得微生物的种类和数量也存在差异。

参考文献：

[1] 张海明. 罗非鱼的养殖及其发展前景[J]. 饲料广角, 2004(11): 40-43.
[2] 刘俊荣, OAFSDÓTTIR G R. 国际水产品市场法规新趋势—欧盟TraceFish计划[J]. 水产科学, 2005(4): 42-43.
[3] 谢骏, 方秀珍, 缪为民, 等. 鱼池中不同生物体表面水生细菌区系分布的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2000(1): 23-28.
[4] 孔繁德, 陈琼, 王生育, 等. 福建家养淡水鱼暴发传染病的细菌分离鉴定与防治[J]. 福建农业学报, 2004, 19 (4): 213-218.
[5] 许钟, 肖琳琳, 杨宪时. 罗非鱼特定腐败菌生长动力学模型和货架期预测[J]. 水产学报, 2005, 29(4): 540-546.
[6] 许钟, 杨宪时, 郭全友, 等. 波动温度下罗非鱼特定腐败菌生长动力学模型和货架期预[J]. 微生物学报, 2005, 45(5): 798-801.
[7] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京: 科学出版社, 2001.
[8] GRAM L. Spoilage of three Senegalese fish species stored in ice and at ambient temperature[M]//Halifax: Seafood Science and Technology, 1992: 225-238.
[9] RUIZ J, LEARY J H, JASO-FRIEDMANN L. Phosphorylation-induced activation of tilapia nonspecific cytotoxic cells by serum cytokines [J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2001, 46(2): 129-137.
[10] AL-HARBI A H. First isolation of *Streptococcus* sp. From hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) in Saudi Arabia[J]. Aquaculture, 1994, 128: 195-201.
[11] 郭全友, 许钟, 杨宪时. 冷藏养殖大黄鱼品质变化特征及细菌相分析[J]. 上海水产大学学报, 2006(2): 216-221.
[12] GRAM L, HUSS H H. Microbiological spoilage of fish and fish products [J]. International Journal of Food Microbiology, 1996, 33: 121-137.
[13] 郭全友, 许钟, 杨宪时. 东海养殖大黄鱼细菌多样性分析[J]. 海洋渔业, 2005(3): 241-245.
[14] AL-HARBI A H, UDDIN N. Bacterial diversity of tilapia (*Oreochromis niloticus*) cultured in brackish water in Saudi Arabia[J]. Aquaculture, 2005, 250(3/4): 566-572.
[15] AL-HARBI A H. Faecal coliforms in pond water, sediments and hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*) in Saudi Arabia [J]. Aquaculture Research, 2003, 34: 517-524.
[16] AL-HARBI A H, UDDIN M N. Seasonal variation in the intestinal bacterial flora of hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) cultured in earthen ponds in Saudi Arabia[J]. Aquaculture, 2004, 229: 37-44.
[17] HUSS H H. Quality and quality changes in fresh fish[C]//Rome: FAO Fisheries Technical Paper－348, 1995: 53-60.
[18] SHEWAN J M. The bacteriology of fresh and spoiling fish and the biochemical changes induced by bacterial action[C]//Proceedings of the Conference on Handling, Processing and Marketing of Tropical Fish London: Tropical Products Institute, 1977: 51-66.
[19] ACUFF G, LZAT A L, FINNE G, Microbial flora on pond-reared tilapia (*Tilapia aurea*) held on ice[J]. Journal of Food Protection, 1984, 47: 778-780.
[20] LISTON J. Advances in fishery science an technology[M]//CONNELL J J. Microbiology in fishery science. Farnham: Fishing News Books Ltd, 1980, 138-157.
[21] 张庆, 李卓佳, 陈康德, 等. 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.