

文章编号: 1674-5566(2024)02-0380-09

DOI: 10.12024/jsou.20230304122

## 致土腥味链霉菌的拮抗菌筛选、鉴定及抑制作用

徐岩<sup>1</sup>, 李慷<sup>1,2,3</sup>, 刘晟<sup>1</sup>, 纪霜<sup>1</sup>, 罗雪能<sup>1</sup>, 刘利平<sup>1,2,3</sup>

(1. 上海海洋大学 中国-东盟海水养殖技术“一带一路”联合实验室(上海), 上海 201306; 2. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 3. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306)

**摘要:** 为筛选可抑制水产养殖中产土臭素(GSM)和2-甲基异茨醇(2-MIB)的链霉菌生长能力的益生菌, 以嗜热一氧化碳链霉菌、蓝微褐链霉菌和玫瑰黄链霉菌为指示菌株, 进行抑菌活性筛选, 并对具有抑菌活性菌株进行鉴定。共筛选获得8株拮抗菌, 结果表明其中2株为地衣芽孢杆菌, 6株为枯草芽孢杆菌。所筛选菌株对供试链霉菌的生长均有抑制作用, 其中2株可抑制嗜热一氧化碳链霉菌和玫瑰黄链霉菌的生长, 另外6株对嗜热一氧化碳链霉菌的生长有抑制作用。筛选出的8株细菌可作为防控土腥味的益生菌, 为生物控制和去除水产养殖中的土腥味提供了理论参考和实践依据。

**关键词:** 土臭素; 2-甲基异茨醇; 拮抗菌; 筛选; 鉴定

**中图分类号:** X 172 **文献标志码:** A

土臭素(GSM)和2-甲基异茨醇(2-MIB)是水产养殖中常见的土腥味物质, 是多种微生物群落产生的次生代谢产物, 包括放线菌、蓝细菌、变形菌和真菌等<sup>[1]</sup>。水产品中存在土腥味是当前淡水养殖业面临的重要问题之一, 会影响水产品销售和水产养殖业发展。常见的水产养殖鱼类如大西洋鲑(*Salmo salar*)、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)和罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)等已经受到土腥味物质的影响<sup>[2-8]</sup>。由于水产品土腥味问题导致产品无法上市的情况时有发生, 例如厄瓜多尔出口到美国的对虾, 因土腥味强烈而被禁止上市; 2001年在美国, 塘口价值约4.45亿美元斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)因土腥味问题造成约1 500万~2 300万美元的直接经济损失<sup>[6]</sup>。因此, 寻找行之有效且简便安全的方法来控制和去除水产养殖中的土腥味物质迫在眉睫<sup>[2, 9-12]</sup>。

异味净化过程是当前去除鱼体内土腥味物质最有效的方法<sup>[2, 13]</sup>, 但该过程需要大量的

洁净水, 在净化过程中鱼的体质量会下降导致生产成本大幅增加<sup>[11]</sup>; 物理吸附法和化学氧化法存在去除率低、成本高以及副产物等问题<sup>[12-14]</sup>。生物处理法相较于其他控制和去除土腥味物质的方法具有节约成本、节省试剂且经济环保等优点, 具有广阔的发展前景<sup>[1, 6]</sup>。

目前国内外对于利用微生物控制土腥味物质已有研究, 发现了多种GSM或2-MIB降解菌<sup>[12-15]</sup>和产GSM或2-MIB细菌的拮抗菌<sup>[16]</sup>。目前发现的GSM或2-MIB降解菌主要为芽孢杆菌属(*Bacillus*)、节杆菌属(*Arthrobacter*)、红球菌属(*Rhodococcus*)、新鞘脂菌属(*Novosphingobium* spp.)和假单胞菌属(*Pseudomonas*)等<sup>[12-13, 16-18]</sup>。BOONPENG<sup>[16]</sup>筛选出一株产GSM和2-MIB链霉菌的拮抗菌株——地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*) BL23。徐岩等<sup>[19]</sup>研究发现一株枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*) 2-16和解淀粉芽孢杆菌(*B. amyloliquefaciens*) 1-45对茅台大曲中GSM的生产

收稿日期: 2023-03-21 修回日期: 2023-07-07

基金项目: 上海市科技兴农技术创新项目(沪农科创字[2021]第3-1号); 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”重点专项(2019YFD0900303)

作者简介: 徐岩(1998—), 女, 硕士研究生, 研究方向为生态养殖。E-mail: 1820562265@qq.com

通信作者: 李慷, E-mail: kli@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

者之一桑氏链霉菌(*Streptomyces sampsonii*)具有拮抗作用。

本研究以水产养殖系统产生 GSM 和 2-MIB 的链霉菌——嗜热一氧化碳链霉菌(*Streptomyces thermocarboxydus*)、蓝微褐链霉菌(*S. cyaneofuscatus*)和玫瑰黄链霉菌(*S. roseoflavus*)为供试菌株,通过琼脂打孔抑菌法筛选 3 株链霉菌的拮抗菌株,为生物处理法控制和去除水产养殖中的土腥味物质奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 供试菌株

供试菌株为在水产养殖系统中能够产生 GSM 或 2-MIB 的 3 株链霉菌,分别为嗜热一氧化碳链霉菌(BNCC 153409)、蓝微褐链霉菌(BNCC 152414)和玫瑰黄链霉菌(BNCC 228869),购自北纳创联生物科技有限公司(中国北京)。嗜热一氧化碳链霉菌能够产生 GSM,蓝微褐链霉菌能够产生 GSM,玫瑰黄链霉菌能够同时产生 GSM 和 2-MIB。15 株芽孢杆菌来自实验室筛选储备菌种。

#### 1.1.2 主要实验用品及仪器

胰酪大豆胨琼脂培养基(TSA,中华人民共和国药典),胰酪大豆胨液体培养基(TSB,中华人民共和国药典),青岛海博生物技术有限公司;Taq 酶, DNA marker,天根生化科技有限公司;引物,生工生物(上海)股份有限公司;培养皿(直径 90 mm);五孔琼脂打孔器(孔径 6 mm);DHP-9052 型电热恒温培养箱,上海一恒科学仪器有限公司;THZ-312 型台式恒温振荡器,上海精宏实验设备有限公司;Centrifuge 5415R 离心机, Eppendorf;DSX-24L 手提式高压蒸汽灭菌锅,上海申安医疗器械厂;SW-CJ-1FD 单人单面洁净工作台,苏州苏洁净化设备有限公司;WGZ-XT 细菌浊度仪,杭州沃森生物技术有限公司。

### 1.2 抑菌实验

#### 1.2.1 菌悬液制备

将甘油冷冻保存的菌株划线接种至 TSA 固体培养基,使用封口膜封口,倒置于恒温培养箱中 37 °C 培养 24 h。挑取单菌落接种至 20 mL TSB 液体培养基中,置于振荡培养箱中 37 °C、175 r/min 振荡 48 h。振荡后的菌液 4 °C、10 000 r/min,离心 10 min,去除上清液,加入 10 mL 0.85% (质量分

数)的 NaCl 溶液,振荡均匀,即为 1:10 的稀释菌液。取 1:10 的稀释菌液 1 mL 注入含 9 mL 的 0.85% (质量分数)的 NaCl 溶液中,制成 10<sup>-2</sup> 的稀释菌液;取 10<sup>-2</sup> 的稀释菌液 1 mL 注入含 9 mL 的 0.85% (质量分数)的 NaCl 溶液中,制成 10<sup>-3</sup> 的稀释菌液,重复上述操作,并使用细菌浊度仪测定菌液浓度,直至菌液浓度稀释至 10<sup>6</sup> CFU/mL,记录数据。

#### 1.2.2 实验平板制备

实验采用预加菌液倾注平板法<sup>[20]</sup>,往已冷却至 50 °C 左右的 TSA 培养基(约 20 mL)中注入 1 mL 浓度为 1×10<sup>6</sup> CFU/mL 的链霉菌菌液,混合均匀后倒平板,水平静置凝固。用已灭菌的五孔琼脂打孔器在试验平板上打孔,挑去培养基小块以做成圆孔,往孔中注入 20 μL 浓度为 1×10<sup>6</sup> CFU/mL 的益生菌菌液。平板封口后正置于恒温培养箱中 37 °C 培养 24 h。

#### 1.2.3 抑菌圈测量

取出培养好的实验平板,使用游标卡尺,以其没有明显生长为界限,采用十字交叉法测量抑菌圈直径,以直径表示抑菌圈的大小,分析菌株的抑菌作用<sup>[21-22]</sup>。

### 1.3 菌株鉴定

#### 1.3.1 菌株形态观察

通过平板划线法观察具有抑菌能力的细菌菌落形态,参照东秀珠等<sup>[23]</sup>编写的《常见细菌系统鉴定手册》上的方法,用肉眼进行观察,将平板培养皿放在自然光下,从不同的角度进行观察,菌落的各种特征及其描述如下,直径:使用游标卡尺测量菌落直径,以毫米(mm)计算;颜色:白色、乳白色、黄色等;形状:圆形、丝形、不规则、似梭形等;突起:扁平、隆起、凸起、脐状等;边缘:光滑、锯齿形、丝状等。

#### 1.3.2 16S rRNA 基因分子鉴定

采用细菌 16S rRNA 通用引物 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') 和 1492R (5'-CGGTTACCTTGTTACGACTT-3') 扩增保守序列。PCR 反应体系(20 μL): 2×Taq mix 10 μL, 正、反向引物各 1 μL, 模板 DNA 1 μL, ddH<sub>2</sub>O 7 μL。PCR 的反应条件:95 °C 初始变性 3 min;95 °C 高温变性 15 s, 54 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 2 min, 循环 35 次;最后 72 °C 延伸 5 min, 4 °C 保存。用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测 PCR 产物,PCR 反应产物送至生工生物工程(上海)股份有限公司基因测序。将

返回的测序菌种的16S rRNA基因扩增序列通过NCBI数据库进行序列同源性分析。用MEGA 11.0软件将NCBI数据库中获得的相似度较高的序列和其他种属的序列进行多序列比对,采用邻接法(Neighbor-Joining Algorithm)构建系统发育树,并通过自举分析(Bootstrap)进行置信度检测,自举数据集为1 000次。

## 2 结果

### 2.1 琼脂扩散抑菌实验

抑菌圈直径测量结果如表1所示,15株菌株

中有8株具有抑菌能力,4-2、5-1、8-2、8-5、8-6和11-1共6株菌株对嗜热一氧化碳链霉菌有抑制作用,且抑菌圈直径均大于13 mm,属于高敏感抑制作用,而6株菌株对蓝微褐链霉菌和玫瑰黄链霉菌无抑制作用(表1)。8-1和8-3共2株菌株对嗜热一氧化碳链霉菌和玫瑰黄链霉菌有抑制作用,且抑菌圈直径均大于13 mm,属于高敏感抑制作用,而2株菌株对蓝微褐链霉菌无抑制作用(表1)。

表1 15株细菌与3株链霉菌共生长的抑菌圈直径

Tab. 1 Antibacterial zone diameter of symbiosis between 15 bacteria and 3 *Streptomyces* spp. mm

所筛菌株 Screened strains	嗜热一氧化碳链霉菌 <i>S. thermocarboxydus</i>	蓝微褐链霉菌 <i>S. cyaneofuscatus</i>	玫瑰黄链霉菌 <i>S. roseoflavus</i>
4-1	0	0	0
4-2	14.01±1.11	0	0
4-3	0	0	0
5-1	16.11±1.16	0	0
5-2	17.76±2.80	0	0
8-1	13.85±0.46	0	13.82±1.06
8-2	0	0	0
8-3	16.87±1.22	0	13.31±1.32
8-4	0	0	0
8-5	17.12±1.37	0	0
8-6	15.33±0.81	0	0
11-1	15.53±2.78	0	0
11-2	0	0	0
11-3	0	0	0
11-4	0	0	0

注:数值为平均值±标准差(SD), $n=5$ 。

Notes: Values are mean ± standard deviation (SD),  $n=5$ .

图1为4-2、5-1、5-2、8-1、8-3、8-5、8-6和11-1共8株菌株对嗜热一氧化碳链霉菌的抑菌实验结果,从图中可以看到各菌株与嗜热一氧化碳链霉菌的抑菌平板中5个抑菌孔周围均产生明显抑菌圈(图1)。

图2为菌株8-1和8-3对玫瑰黄链霉菌的抑菌实验结果,可以看出2株菌株与玫瑰黄链霉菌的抑菌平板中5个抑菌孔周围均能够产生明显抑菌圈。

图3为4-2、5-1、5-2、8-1、8-3、8-5、8-6和11-1共8株菌株对蓝微褐链霉菌的抑菌实验结果,可以看出各菌株与蓝微褐链霉菌的抑菌平板中5个抑菌孔周围均未产生明显抑菌圈。

### 2.3 菌株形态学鉴定

根据《常见细菌系统鉴定手册》上的方法鉴定8株具有抑制能力细菌的菌落形态,5-1菌落直径为5~6 mm,8-1菌落直径为4~5 mm,4-2、5-2和8-3菌落直径为3~4 mm,8-5和8-6菌落直径为2~3 mm,11-1菌落直径为1~2 mm;8株细菌菌落颜色均为乳白色,边缘均呈锯齿形;5-1形状不规则,其余7株均为圆形;5-2菌落隆起,其余7株菌落扁平(图4)。

### 2.4 菌株的分子生物学鉴定

利用MEGA 11.0软件构建8株菌株的系统发育树,结果如图5所示,菌株4-2和5-2为地衣芽孢杆菌属;菌株5-1、8-1、8-3、8-5、8-6和11-1为枯草芽孢杆菌属(图5)。

### 3 讨论

随着社会经济的不断发展,人们对于水产品的需求也日益增加,但是由于高密度养殖、有机质过多以及底泥过多等养殖过程中的一些常见问题<sup>[24]</sup>,导致水产品土腥味严重,影响水产品的品质,GSM和2-MIB的存在已经严重影响到了水产养殖的经济发展<sup>[6,25]</sup>。因此,控制和去除土腥味物质是非常有必要的,但是目前仍然缺少控制和去除土腥味物质行之有效的方法。

本实验通过琼脂扩散抑菌实验筛选出8株对产土腥味物质的嗜热一氧化碳链霉菌和玫瑰黄链霉菌具有抑制作用的益生菌,8株菌株浓度为

$10^6$  CFU/mL时可有效抑制同浓度链霉菌的生长,通过平板划线分离出单菌落,并进行菌株鉴定,鉴定8株益生菌属于地衣芽孢杆菌属和枯草芽孢杆菌属。BOONPENG<sup>[16]</sup>发现一株能够抑制产GSM和2-MIB的嗜热一氧化碳链霉菌和蓝微褐链霉菌生长的地衣芽孢杆菌BL23,平板实验结果显示: $10^6$  CFU/mL浓度的地衣芽孢杆菌BL23能够有效抑制同浓度的嗜热一氧化碳链霉菌和蓝微褐链霉菌生长,且通过注射实验证明地衣芽孢杆菌BL23对罗非鱼的健康无不利影响。同样,徐岩等<sup>[19]</sup>通过抑菌实验验证发现一株枯草芽孢杆菌2-16和解淀粉芽孢杆菌1-45对茅台大曲中GSM的生产者之一桑氏链霉菌具有拮抗作用。

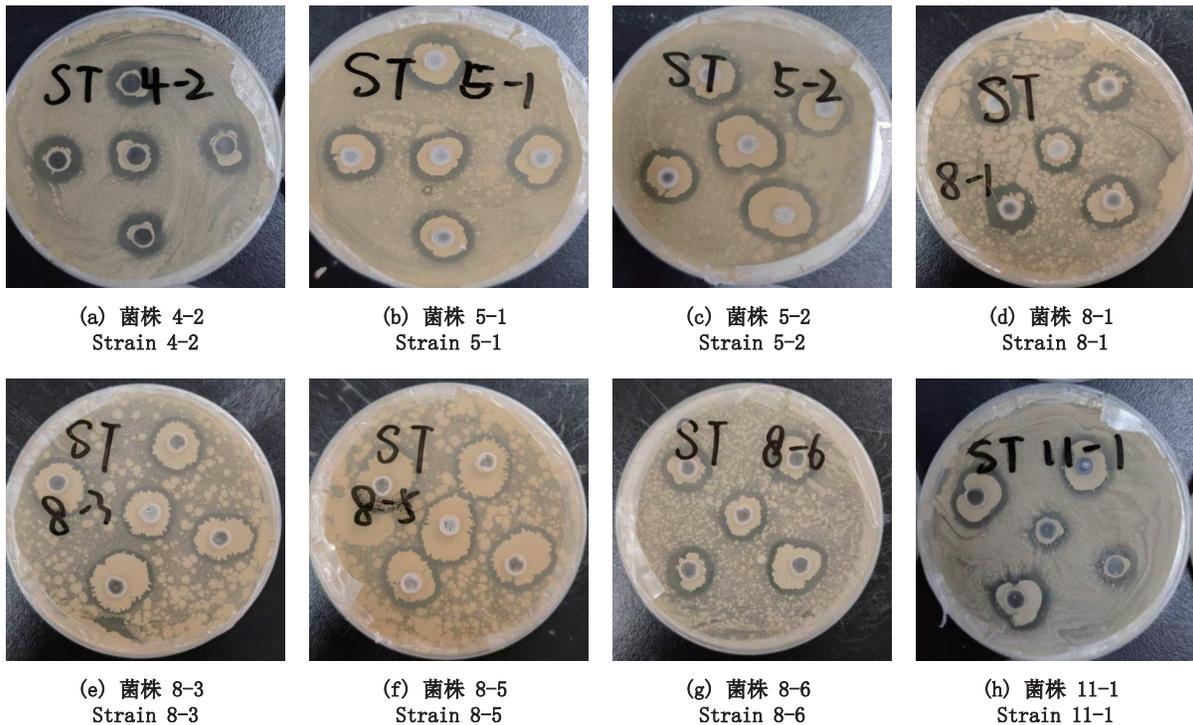


图1 对嗜热一氧化碳链霉菌具有抑菌效果的菌株  
Fig. 1 Antibacterial effect of isolated strains on *S. thermocarboxydus*

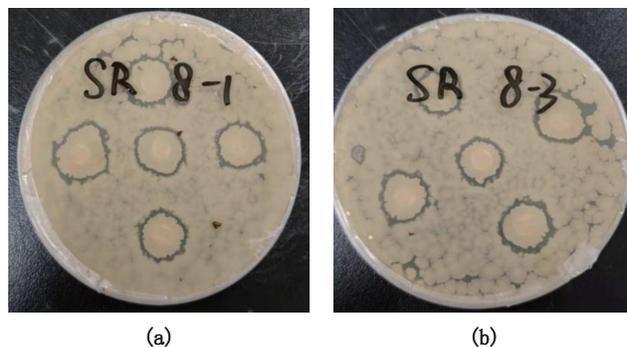


图2 对玫瑰黄链霉菌具有抑菌效果的菌株  
Fig. 2 Bacteriostatic effect of isolated strains on *S. roseoflavus*

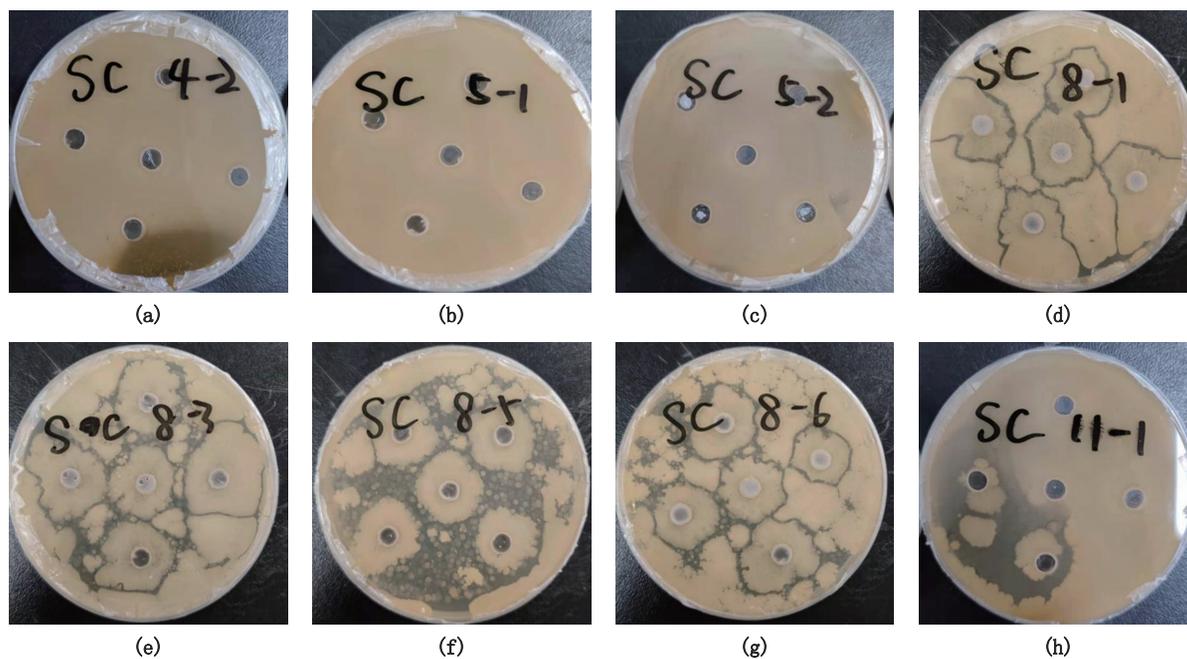


图3 菌株对蓝微褐链霉菌的抑制效果  
Fig. 3 Inhibitory effect of strains on *S. cyaneofuscatus*

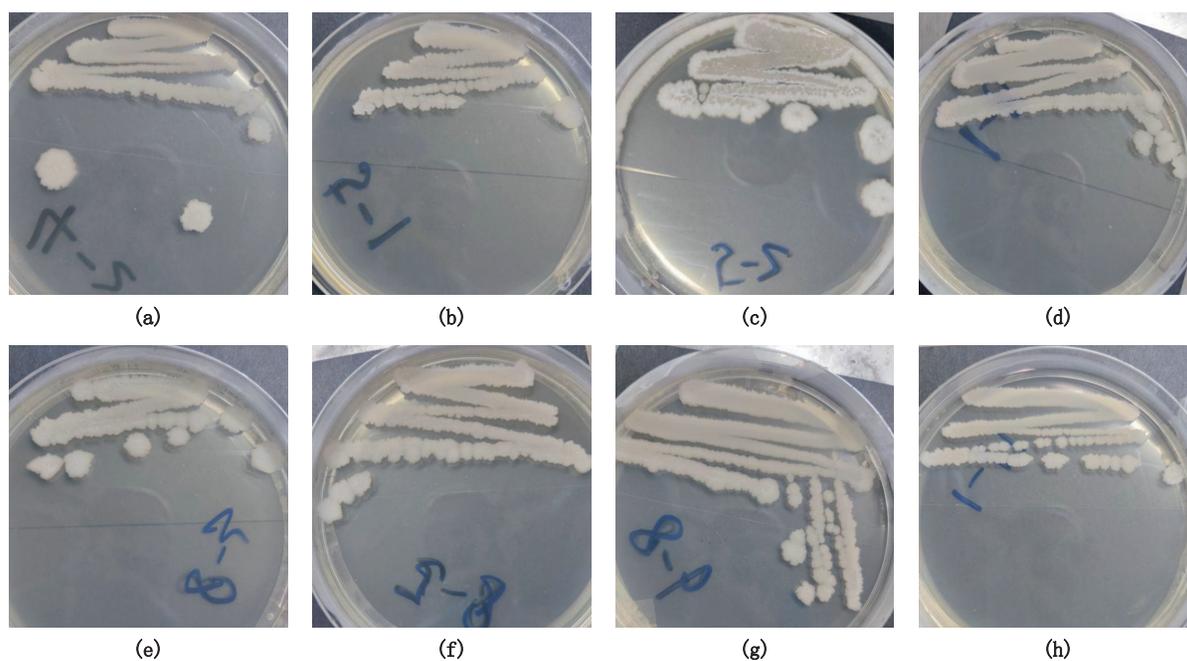


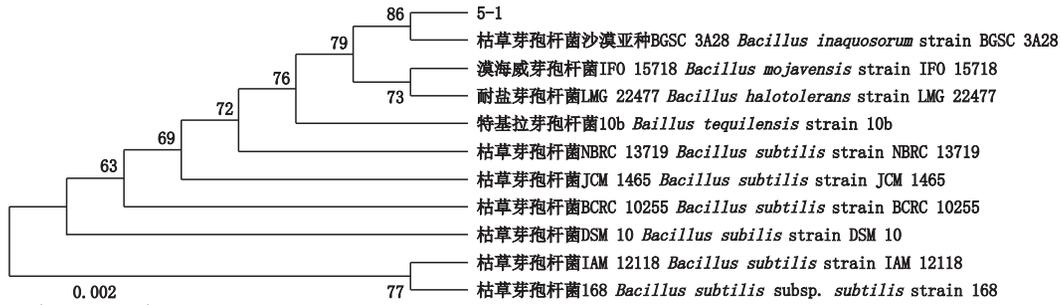
图4 菌株平板划线分离的单菌落形态  
Fig. 4 Morphology of single colony isolated from strains by stripe plate

实验中所筛菌株的抑菌机制可能是与链霉菌竞争养分和空间,或分泌代谢物质抑制链霉菌的生长。地衣芽孢杆菌和枯草芽孢杆菌为革兰氏阳性菌,菌株具有发达的分泌系统,能够产生多种次生代谢产物,具有广泛的抗生素活性,同时分泌的代谢物质使其在养分和空间竞争中具有强大的竞争力<sup>[26]</sup>。表面活性肽为芽孢杆菌的次生代谢产物,是一种具有抑菌能力和生物降解性的细菌环状脂肽,具有显著的抗菌活性<sup>[27]</sup>,有

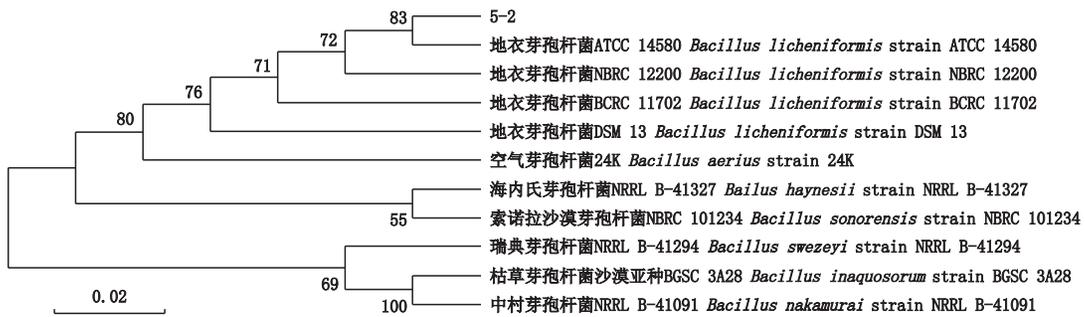
研究<sup>[28]</sup>表明,表面活性肽的抑菌功能主要是通过破坏细胞膜的完整性来实现。徐岩等<sup>[19]</sup>研究发现,地衣芽孢杆菌产生的两种抗菌脂肽——Lichenysin 和 Surfaction 及同系物能够抑制白酒中产 GSM 的链霉菌生长并对 GSM 的合成有显著的抑制作用,且不影响白酒中有益微生物的生长。魏军林等<sup>[29]</sup>发现从高温酿造大曲中筛选的芽孢杆菌能够合成表面活性肽,抑制了大曲中产 GSM 的链霉菌的生长。



(a)



(b)



(c)



(d)

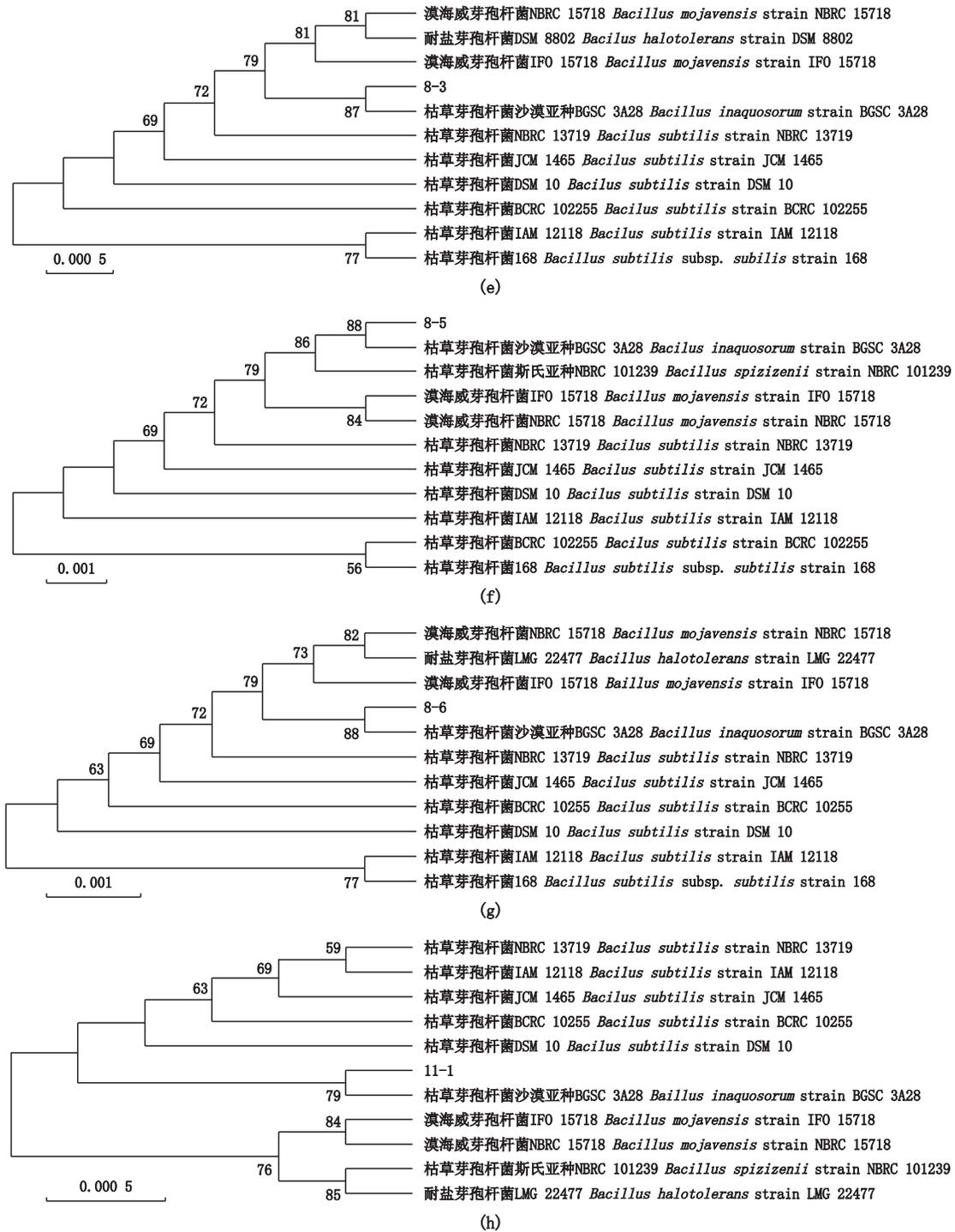


图5 基于16S rRNA基因序列构建的8株筛选菌株的系统发育进化树

Fig. 5 Phylogenetic tree of 8 screened strains constructed based on 16S rRNA gene sequence

本研究筛选获得8株对产GSM和2-MIB的链霉菌具抑菌活性的益生菌,分别属于地衣芽孢杆菌属和枯草芽孢杆菌属。本研究为生物处理法控制和去除水产养殖中的土腥味物质提供了参考,为8株益生菌今后在水产养殖中的生产应用提供了基础数据。

#### 参考文献:

- [1] 古小超,姜伟,李泽利,等. 土臭素和2-甲基异苊醇去除方法和路径研究进展[J]. 环保科技, 2021, 27(2): 58-64.
- GU X C, JIANG W, LI Z L, et al. Latest research progress on the removal methods and mechanism of Geosmin and 2-Methylisoborneol [J]. Environmental

- Protection and Technology, 2021, 27(2): 58-64.
- [2] LINDHOLM-LEHTO P C, VIELMA J. Controlling of geosmin and 2-methylisoborneol induced off-flavours in recirculating aquaculture system farmed fish—A review [J]. Aquaculture Research, 2019, 50(1): 9-28.
- [3] JEREMIAH J J, NOWAK B, ELIZUR A, et al. Impacts of the marine hatchery built environment, water and feed on mucosal microbiome colonization across ontogeny in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi* [J]. Frontiers in Marine Science, 2021, 8: 676731.
- [4] LIN X, PETER P. Cool water off-flavor algae and water quality in four arkansas commercial catfish farms [J]. Journal of Fisheries & Livestock Production, 2016, 4(1): 158.
- [5] KIM H W, LEE S M, SEO J A, et al. Effects of pH and cultivation time on the formation of styrene and volatile compounds by *Penicillium expansum* [J]. Molecules, 2019, 24(7): 1333.
- [6] 刘利平, 李慷, 闫莉. 水产动物体内土腥味物质的来源、检测及其防控与去除的研究进展[J]. 水产学报, 2021, 45(5): 813-829.
- LIU L P, LI K, YAN L. Sources, determination, prevention and elimination of off-flavour compounds in aquatic animals [J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(5): 813-829.
- [7] MARMEN S, FADEEV E, AL ASHHAB A, et al. Seasonal dynamics are the major driver of microbial diversity and composition in intensive freshwater aquaculture [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 679743.
- [8] XUE D D, HE T P, YOU M C, et al. Effects of different treatments on fishy odor of fish soups [J]. Journal of Aquatic Food Product Technology, 2018, 27(6): 722-732.
- [9] LV H, HU W H, XIONG S B, et al. Depuration and starvation improves flesh quality of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Aquaculture Research, 2018, 49(9): 3196-3206.
- [10] SCHRAM E, KWADIJK C, BLOM E, et al. Interactive effects of temperature and water exchange of depuration tanks on geosmin excretion by Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. Aquaculture, 2021, 535: 736358.
- [11] AZARIA S, VAN RIJN J. Off-flavor compounds in recirculating aquaculture systems (RAS): production and removal processes [J]. Aquacultural Engineering, 2018, 83: 57-64.
- [12] 韩正双, 韩宏大, 闫慧敏, 等. 生物法去除水中土臭素和2-甲基异茨醇的研究进展[J]. 供水技术, 2016, 10(3): 7-12.
- HAN Z S, HAN H D, YAN H M, et al. Review on the biological process for removing geosmin and 2-methylisoborneol from source water [J]. Water Technology, 2016, 10(3): 7-12.
- [13] AZARIA S, NUSSINOVITCH A, NIR S, et al. Removal of geosmin and 2-methylisoborneol from aquaculture water by novel, alginate-based carriers: performance and metagenomic analysis [J]. Journal of Water Process Engineering, 2021, 42: 102125.
- [14] 马晓雁. 土臭素和二甲基异冰片的控制技术及其机理研究[D]. 上海: 同济大学, 2007.
- MA X Y. Control technology and mechanism of geosim and 2-methylisoborneol [D]. Shanghai: Tongji University, 2007.
- [15] 杜康. 生物降解2-甲基异茨醇的特性及分子机理研究[D]. 北京: 北京科技大学, 2018.
- DU K. Property and molecular mechanism of 2-MIB biodegradation [D]. Beijing: University of Science and Technology Beijing, 2018.
- [16] BOONPENG N. Impacts of probiotics on geosmin and 2-methylisoborneol producing actinomycetes [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- BOONPENG N. Impacts of probiotics on geosmin and 2-methylisoborneol producing actinomycetes [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [17] 张森, 王君, 郑磊, 等. 嗅阈值法测定生活饮用水中嗅味[J]. 环境化学, 2020, 39(9): 2602-2607.
- ZHANG M, WANG J, ZHENG L, et al. Use of threshold odor number for determination of odor in drinking water [J]. Environmental Chemistry, 2020, 39(9): 2602-2607.
- [18] 周梦瑶. 嗅味物质降解菌的筛选及其特征[D]. 北京: 中国地质大学(北京), 2019.
- ZHOU M Y. Screening and characteristics of odor-degrading bacteria [D]. Beijing: China University of Geosciences (Beijing), 2019.
- [19] 徐岩, 吴群, 邳岩. 一种利用地衣芽孢杆菌控制白酒中土臭味的方法: 中国, 104087526B[P]. 2014-10-08.
- XU Y, WU Q, ZHI Y. A method for controlling the soil odor in liquor by *Bacillus icheniformis*: CN, 104087526B [P]. 2014-10-08.
- [20] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.
- TAN C D, ZHU M J, DU S X, et al. Study on the inhibition zone method in antimicrobial test [J]. The Food Industry, 2016, 37(11): 122-125.
- [21] 刘晓燕, 王玲玲, 栾会妮, 等. 一株枯草芽孢杆菌的分离鉴定、生物学特性及其对水质净化的作用[J]. 微生物学通报, 2021, 48(2): 449-461.
- LIU X Y, WANG L L, LUAN H N, et al. Isolation and identification of a *Bacillus subtilis* strain for water purification [J]. Microbiology China, 2021, 48(2): 449-461.

- [22] 熊莉, 朱谦慧, 汪红, 等. 在本科微生物实验教学中拓展抑菌实验的探索[J]. 实验科学与技术, 2020, 18(4): 88-92.
- XIONG L, ZHU Q H, WANG H, et al. Exploration of comprehensive bacteriostatic experiment in microbiology experiment teaching for undergraduates [J]. Experiment Science and Technology, 2020, 18(4): 88-92.
- [23] 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: 353-363.
- DONG X Z, CAI M Y. Handbook for the systematic identification of common bacteria [M]. Beijing: Science Press, 2001: 353-363.
- [24] SCHRAM E, KWADIJK C, HOFMAN A, et al. Effect of feeding during off-flavour depuration on geosmin excretion by Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Aquaculture, 2021, 531: 735883.
- [25] KAWAGUCHI O, TANAKA M, YOSHII M, et al. Off-flavor of red sea bream *Pagrus major* reared in recirculating aquaculture systems with low salinity is caused by 2-methylisoborneol [J]. Fisheries Science, 2019, 85(3): 553-560.
- [26] MASLIENKO L, VORONKOVA A, DATSENKO L, et al. Secondary screening of strains of antagonists to a Phoma pathogen on sunflower [J]. BIO Web of Conferences, 2020, 21: 00017.
- [27] LIANG Z, QIAO J Q, LI P P, et al. A novel Rap-Phr system in *Bacillus velezensis* NAU-B3 regulates surfactin production and sporulation via interaction with ComA [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2020, 104(23): 10059-10074.
- [28] 徐岩, 张荣, 吴群, 等. 白酒中生物活性物质脂肽类化合物的鉴定及其功能的研究[J]. 酿酒科技, 2014(12): 1-4, 7.
- XU Y, ZHANG R, WU Q, et al. Identification and characterization of lipopeptides in baijiu (liquor) [J]. Liquor-Making Science & Technology, 2014(12): 1-4, 7.
- [29] 魏军林, 聂尧, 杜海, 等. 营养相互作用对传统发酵食品微生物群落构建的推动作用研究进展[J]. 微生物学通报, 2021, 48(11): 4412-4424.
- WEI J L, NIE Y, DU H, et al. How trophic interactions drive the spontaneous construction of microbial community in traditional fermented foods: a review [J]. Microbiology China, 2021, 48(11): 4412-4424.

## Screening, identification and inhibition of antagonistic bacteria against off-flavor-producing *Streptomyces*

XU Yan<sup>1</sup>, LI Kang<sup>1,2,3</sup>, LIU Sheng<sup>1</sup>, JI Shuang<sup>1</sup>, LUO Xueneng<sup>1</sup>, LIU Liping<sup>1,2,3</sup>

(1. China-ASEAN "The Belt and Road" Joint Laboratory of Marine Culture Technology (Shanghai), Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Key Laboratory of Exploitation and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** In order to screen probiotics that can inhibit the growth of *Streptomyces* spp. that produces geosmin (GSM) and 2-methylisoborneol (2-MIB) in aquaculture, *Streptomyces thermocarboxydus*, *S. cyaneofuscatus* and *S. roseoflavus* were used as test strains to carry out inhibition experiments, and the screened strains were identified. The results showed that eight strains of probiotics had inhibitory effects on the growth of *S. spp.*, 2 strains of them could inhibit the growth of *S. thermocarboxydus* and *S. roseoflavus*, meanwhile, the other 6 strains affected the growth of *S. thermocarboxydus*. 2 strains belonged to *Bacillus licheniformis* and 6 strains belonged to *B. subtilis*. The 8 screened strains can serve as probiotics for preventing and controlling off-flavor, providing theoretical reference and practical basis for biological control and removal of off-flavor in aquaculture.

**Key words:** geosmin; 2-methylisoborneol; antagonistic bacteria; screening; identification