

研究报告

## 内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳中乳酸菌的多样性分析

呼斯楞 刘红新 于洁 刘文俊 孙天松\*

(内蒙古农业大学 乳品生物技术与工程教育部重点实验室 内蒙古 呼和浩特 010018)

**摘要:**【目的】对内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中乳酸菌资源的生物多样性进行研究。

【方法】采用纯培养和 16S rRNA 基因序列分析法对内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳中的乳酸菌进行多样性分析。【结果】从 8 份传统发酵乳制品(6 份酸牛奶和 2 份酸马奶)样品中分离到 24 株乳酸菌,通过 16S rRNA 基因序列分析和系统进化关系分析将 24 株乳酸菌鉴定为 2 株 *Lactobacillus kefiranofaciens*、2 株 *Lactobacillus kefir*、5 株 *Lactobacillus paracasei*、3 株 *Lactobacillus plantarum*、1 株 *Lactobacillus rhamnosus*、6 株 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*、2 株 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*、2 株 *Streptococcus thermophilus* 和 1 株 *Enterococcus faecium*。【结论】*Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 为内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品的优势菌种,占总分离株的 25%,其次为 *Lactobacillus paracasei*, 占总分离株的 20.83%。

**关键词:** 乳酸菌, 多样性分析, 16S rRNA 基因序列分析, 系统发育树

## Diversity of lactic acid bacteria associated with traditional fermented milk from Hulun Buir in Inner Mongolia

HU Si-Leng LIU Hong-Xin YU Jie LIU Wen-Jun SUN Tian-Song\*

(Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot, Inner Mongolia 010018, China)

**Abstract:** [Objective] The diversity of lactic acid bacteria in traditional fermented milk from Hulun Buir in Inner Mongolia was studied. [Methods] The samples were analyzed using pure culture and 16S rRNA gene sequence analysis. [Results] A total of 24 strains of lactic acid bacteria were obtained from eight fermented milk samples (6 fermented cow milk and 2 fermented mare milk). All the isolates were classified to 5 genera and 9 species: *Lactobacillus kefiranofaciens* (2 strains), *Lactobacillus kefir* (2 strains), *Lactobacillus paracasei* (5 strains), *Lactobacillus plantarum* (3 strains), *Lactobacillus rhamnosus* (1 strain), *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (6 strains), *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* (2 strains), *Streptococcus thermophilus* (2 strains), and *Enterococcus faecium* (1 strain). [Conclusion] *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* is the dominant species, held 25% of the total isolated lactic acid bacteria, and *Lactobacillus paracasei* occupied

**Foundation item:** Key Technologies R & D Program of China (No. 2013BAD18B01); National Natural Science Foundation of China (No. 31471711)

\*Corresponding author: E-mail: sts9940@sina.com

**Received:** November 15, 2015; **Accepted:** March 14, 2016; **Published online** (www.cnki.net): March 14, 2016  
基金项目: 国家科技支撑计划项目(No. 2013BAD18B01); 国家自然科学基金项目(No. 31471711)

\*通讯作者: E-mail: sts9940@sina.com

收稿日期: 2015-11-15; 接受日期: 2016-03-14; 优先数字出版日期(www.cnki.net): 2016-03-14

20.83% of the total lactic acid bacteria isolates as the predominant species of traditional fermented milk from Hulun Buir in Inner Mongolia.

**Keywords:** Lactic acid bacteria, Diversity, 16S rRNA gene sequence analysis, Phylogenetic tree

乳酸菌是指能利用可发酵碳水化合物并产生以乳酸为主要代谢产物的革兰氏染色阳性、不运动、不产气、无芽孢, 兼性厌氧或厌氧性细菌的总称<sup>[1]</sup>。乳酸菌是一种习惯叫法, 但不是微生物分类学上的名称。乳酸菌通常包括乳杆菌属(*Lactobacillus*)、链球菌属(*Streptococcus*)、乳球菌属(*Lactococcus*)、明串珠菌属(*Leuconostoc*)、片球菌属(*Pediococcus*)、双歧杆菌属(*Bifidbacterium*)和肠球菌属(*Enterococcus*)。其中, 乳杆菌属、双歧杆菌属、肠球菌属、链球菌属和乳球菌属中部分菌种, 由于其能够在寄主肠道存活生长, 并且通过改善其寄主肠道微生物平衡的作用而有益于寄主, 所以又称其为原生菌或益生菌(Probiotics)<sup>[2]</sup>。

内蒙古地区牧民长期饮用的酸牛奶, 俗称“老酸奶”, 就是以鲜牛奶为原料, 未经任何处理在自然环境中发酵而成的乳制品。酸牛奶口味酸甜细滑, 营养丰富, 当地的人们一直认为这种靠自然发酵的乳制品是安全的并且具有治疗疾病的功效。而在一些研究中发现从自然发酵的乳制品中分离的乳酸菌具有强烈的抑菌特性, 从而抑制与食品安全有关的革兰氏阳性和阴性细菌的生长<sup>[3-4]</sup>。同时, 酸牛奶能降低血清胆固醇含量, 预防由冠状动脉硬化引起的心脏病<sup>[5]</sup>。此外, 还具有抗癌抗肿瘤、提高免疫力、调节炎症反应、延缓衰老等功效<sup>[6]</sup>。

本试验对内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中乳酸菌资源的生物多样性进行了研究, 不仅能够了解该地区几千年流传下来的传统发酵乳制品中乳酸菌的组成和种类, 同时可以丰富我国的乳酸菌菌库, 特别是为更好地筛选一些益生特性及发酵特性较好的乳酸菌奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 样品来源

研究所用的 8 份传统发酵乳制品是由内蒙古农

业大学乳品生物技术与工程教育部重点实验室的研究人员于 2014 年 8 月 5 日-2014 年 8 月 7 日, 在内蒙古呼伦贝尔市鄂温克旗 5 个地区采集的, 具体采样信息见表 1。样品采集后低温保存, 带回实验室于-80 °C 超低温保藏, 进行后续实验。

1.2 培养基及主要试剂

用于分离乳酸菌的培养基为 MRS 固体培养基(288210, 美国 BD), 购于无锡赛维技术有限公司; MRS 液体培养基(CM0359, 英国 OXOID 公司)、M17 固体培养基(CM0785B, 英国 OXOID 公司)、M17 液体培养基(CM0817B, 英国 OXOID 公司), 购于上海汉尼生物技术有限公司; 蛋白酶 K、DNA 聚合酶, 购于北京全式金生物技术有限公司; 10×EasyTaq Buffer、DNA Marker, 购于大连宝生物技术有限公司(TaKaRa); PCR 引物由上海桑尼生物科技有限公司合成。

表 1 内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品种类及来源

Table 1 Information of traditional fermented dairy products from Hulun Buir of Inner Mongolia

样品编号 Sample number	样品种类 Sample type	采样地 Site
HM2	酸牛奶	鄂温克旗巴音查岗苏木扎格达嘎查
HM7	酸牛奶	鄂温克旗巴音查岗苏木扎格达嘎查
HM18	酸牛奶	鄂温克旗孟根朝鲁苏木孟根朝鲁嘎查
HM19	酸马奶	鄂温克旗孟根朝鲁苏木孟根朝鲁嘎查
HM20	酸马奶	鄂温克旗东苏木
HM22	酸牛奶	鄂温克旗西苏木牧民新区
HM23	酸牛奶	鄂温克旗西苏木巴彦呼硕嘎查
HM24	酸牛奶	鄂温克旗西苏木巴彦呼硕嘎查

### 1.3 样品采集

采集样品时将液体发酵乳制品混匀,取 1.5 mL 置于螺口冻存管(内含 0.5 g 灭菌中和剂,淀粉:碳酸钙=50:1,质量比)中,混合均匀并标号;再用接种环将混合好的样品接种到斜面 MRS 固体培养基上,标号记录采样地点后封口低温(4 °C)储存。带回实验室尽快进行乳酸菌的分离及微生物组成的分析。

### 1.4 样品中乳酸菌的计数

在无菌条件下,用灭菌枪头吸取 0.5 mL 液体样品于 4.5 mL 的生理盐水(质量分数 0.85%)中,充分混匀,以 10 倍稀释法对其进行梯度稀释后,吸取 1 mL 稀释度为  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  的稀释液于无菌培养皿中(每个稀释梯度做 2 个平行),然后倒入已经灭菌并处于保温状态的几种不同的培养基,向每个平皿中倾注 20 mL,旋转平皿,小心混合样品稀释液与培养基。待平板中培养基冷却凝固后,倒置平皿放入厌氧培养罐中(气体条件为  $\text{CO}_2:\text{H}_2:\text{N}_2=10:10:80$ )并置于 30 °C 培养 48–72 h。菌落形成后,选择菌落数在 30–300 之间的平板,进行计数<sup>[7]</sup>。

### 1.5 乳酸菌的组成分析、分离纯化与保存

乳酸菌计数:采用倾注法。将样品用漩涡振荡器混匀,用 0.85% 的无菌生理盐水以 10 倍稀释法对样品进行梯度稀释,分别选取稀释度为  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  的稀释液 1 mL 于无菌培养皿中,与 MRS 和 M17 平板计数培养基混匀,置于 30 °C 恒温培养箱中倒置厌氧培养 48 h。然后计数即为每毫升样品的菌落数<sup>[8]</sup>。

将上述梯度为  $10^{-5}$ 、 $10^{-6}$ 、 $10^{-7}$  的稀释液分别涂布于含有 0.01% (体积比)放线菌酮的无菌 MRS、M17 固体培养基上,30 °C 厌氧培养 48 h,挑取形态学特征不同的单个菌落于相应的液体培养基中,30 °C 培养 24 h。选取过氧化氢阴性、革兰氏阳性的纯培养物,加入含 0.1% 谷氨酸钠的脱脂乳保护剂,分装于无菌安瓿管中和冻存管中于 -80 °C

保存,备用<sup>[9]</sup>。

### 1.6 乳酸菌基因组 DNA 的提取以及纯度检测

纯化好的菌株用 CTAB 法和冻融法相结合提取基因组 DNA<sup>[8-9]</sup>。使用 ND-1000 型微量紫外分光光度计检测基因组 DNA 的浓度和纯度。

### 1.7 乳酸菌 16S rRNA 基因的 PCR 扩增

PCR 扩增 16S rRNA 基因所用引物为通用引物,正向引物为 FA-27F (5'-GCAGAGTTCTCGGAGTCACGAAGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3');反向引物为 RA-1495R (5'-AGCGGATCACTTCACACAGGACTACGGCTACCTTGTACGA-3')<sup>[10]</sup>。

16S rRNA 基因的 PCR 扩增体系:5  $\mu\text{L}$  10×EasyTaq Buffer (含  $\text{Mg}^{2+}$ );4  $\mu\text{L}$  High Pure dNTPs (2.5 mmol/L);1.5  $\mu\text{L}$  引物 FA-27F (10 mmol/L);1.5  $\mu\text{L}$  引物 RA-1495R (10 mmol/L);0.5  $\mu\text{L}$  EasyTaq DNA polymerase (5 U/ $\mu\text{L}$ );2  $\mu\text{L}$  DNA 模板(100 mg/L);35.5  $\mu\text{L}$  ddH<sub>2</sub>O。

16S rRNA 基因的 PCR 扩增条件:94 °C 5 min;94 °C 1 min,58 °C 1 min,72 °C 2 min,30 个循环;72 °C 10 min<sup>[11]</sup>。扩增反应完毕后,取约 2  $\mu\text{L}$  的 PCR 扩增产物用 1.0% 的琼脂糖凝胶电泳检测,若在 1 500 bp 处有清晰的扩增条带且无拖尾、弥散现象,则 PCR 扩增成功。

### 1.8 16S rRNA 基因序列测定和构建系统发育树

将检测后片段长度约为 1 500 bp 的阳性产物直接送上海美吉生物科技有限公司进行序列测定。采用 DNASTar 5.01 软件中的 SeqMan 模块,对所测得菌株的两条 16S rRNA 基因序列进行整理、拼接、校准,得到 1 300 bp 左右的有效序列,于 NCBI 数据库中利用 BLAST (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)工具与 GenBank 数据库中已知菌株的 16S rRNA 基因序列进行比对鉴定<sup>[12]</sup>,寻找同源性最高的已知分类学地位的菌种。

利用软件 MEGA 6.0 中的 Neighbor-Joining 法对 24 株乳酸菌作系统进化树,比较它们之间的亲缘关系进化距离<sup>[7,13]</sup>。

2 结果与分析

2.1 乳酸菌计数

样品活菌数显示了样品的新鲜程度或在储运过程的保存状况, 由表 2 可知从内蒙古呼伦贝尔地区采集的样品活菌数在 6.80–9.00 lgCFU/mL 之间。有 2 份样品活菌数大于 10<sup>7</sup> CFU/mL, 有 4 份样品活菌数大于 10<sup>6</sup> CFU/mL, 其余 2 份样品小于 10<sup>6</sup> CFU/mL。大部分样品的活菌数高于 10<sup>6</sup> CFU/mL, 符合新的酸奶国家标准和国家卫生标准, 有利于进一步分离与研究。由于本次采样并未按照特定时间点进行, 是随机采样, 有的样品发酵和贮藏时间长, 有的样品发酵和贮藏时间短, 所以其中乳酸菌活菌数量存在较大差异。李道敏等<sup>[14]</sup>对木糖醇酸奶发酵、贮藏期间质量变化做过研究, 闫志国<sup>[15]</sup>对发酵乳在贮藏期间的理化性质的变化也做过详细报道, 均阐述自然发酵乳制品中微生物随着发酵和贮藏时间的延长, 乳酸菌种属和数量有较大的变化。

2.2 乳酸菌的鉴定结果

2.2.1 乳酸菌的表型特征: 从 8 份传统发酵乳制品中分离出革兰氏阳性、过氧化氢酶阴性的疑似乳酸菌菌株 24 株。在 MRS 固体培养基上, 菌株的菌落形态均为乳白色、边缘规则的圆形菌落, 菌落

直径为 1.0–1.5 mm, 有些菌落表面光滑, 有些菌落表面较粗糙。对分离出的 24 株菌株进行革兰氏染色, 并在 100 倍油镜下观察菌体特征。结果表明, 供试菌株均为革兰氏阳性菌株, 其菌体形态各有不同, 有球状的有杆状的, 排列方式有单个、短链和成对。

2.2.2 菌种 DNA 提取和 16S rRNA 基因扩增: DNA 浓度和 OD<sub>260/280</sub> 的测定: OD<sub>260/280</sub> 值在 1.8–2.0 间即为纯 DNA 样品。将其浓度稀释至 100 mg/L 后进行 16S rRNA 基因扩增。

对乳酸菌分离株 16S rRNA 基因进行扩增。经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测后, 可以观察到在大约 1 500 bp 的位置处有一条清晰明亮的条带, 并且无弥散现象, 无明显非特异扩增现象。这表明菌株的 16S rRNA 基因扩增产物可以满足测序的要求。将 16S rRNA 基因扩增产物送上海美吉生物科技有限公司测序。所有的 16S rRNA 基因序列都与 GenBank 数据库中的标准菌株有 99% 及以上的相似度。

2.2.3 系统发育树的构建和乳酸菌鉴定: 为了将待测菌株鉴定到种, 登录 NCBI 中的 BLAST 分析所有待测菌株的 16S rRNA 基因的核苷酸序列。再将拼接好的序列上传到 GenBank 数据库中。利用 MEGA 6.0 (<http://www.megasoftware.net>) 软件进行乳酸菌模式株和分离株系统发育关系研究和系统进化树构建。内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中分离菌株用 MEGA 6.0 构建系统发育树, 如图 1 所示。

从图 1 中可以看出菌株 IMAU11180、IMAU11181、IMAU11184、IMAU11204 和 IMAU11201 与标准菌株 *Lactobacillus paracasei* ATCC 25302<sup>T</sup> 聚为一类, 且相似性为 100% 或 99%, 将其鉴定为 *Lactobacillus paracasei*。菌株 IMAU11190 与标准菌株 *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469<sup>T</sup> 聚为一类, 且相似性为 100%, 因此可将其归为 *Lactobacillus rhamnosus*。菌株 IMAU11191、IMAU11209 和 IMAU11205 与标准菌

表 2 内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中乳酸菌活菌计数结果

样品编号 Sample number	乳酸菌数 Lactic acid bacteria viable counts (lgCFU/mL)
HM2	8.54±0.02
HM7	7.50±0.08
HM18	6.86±0.08
HM19	9.00±0.04
HM20	8.05±0.07
HM22	7.93±0.01
HM23	6.80±0.06
HM24	8.26±0.04

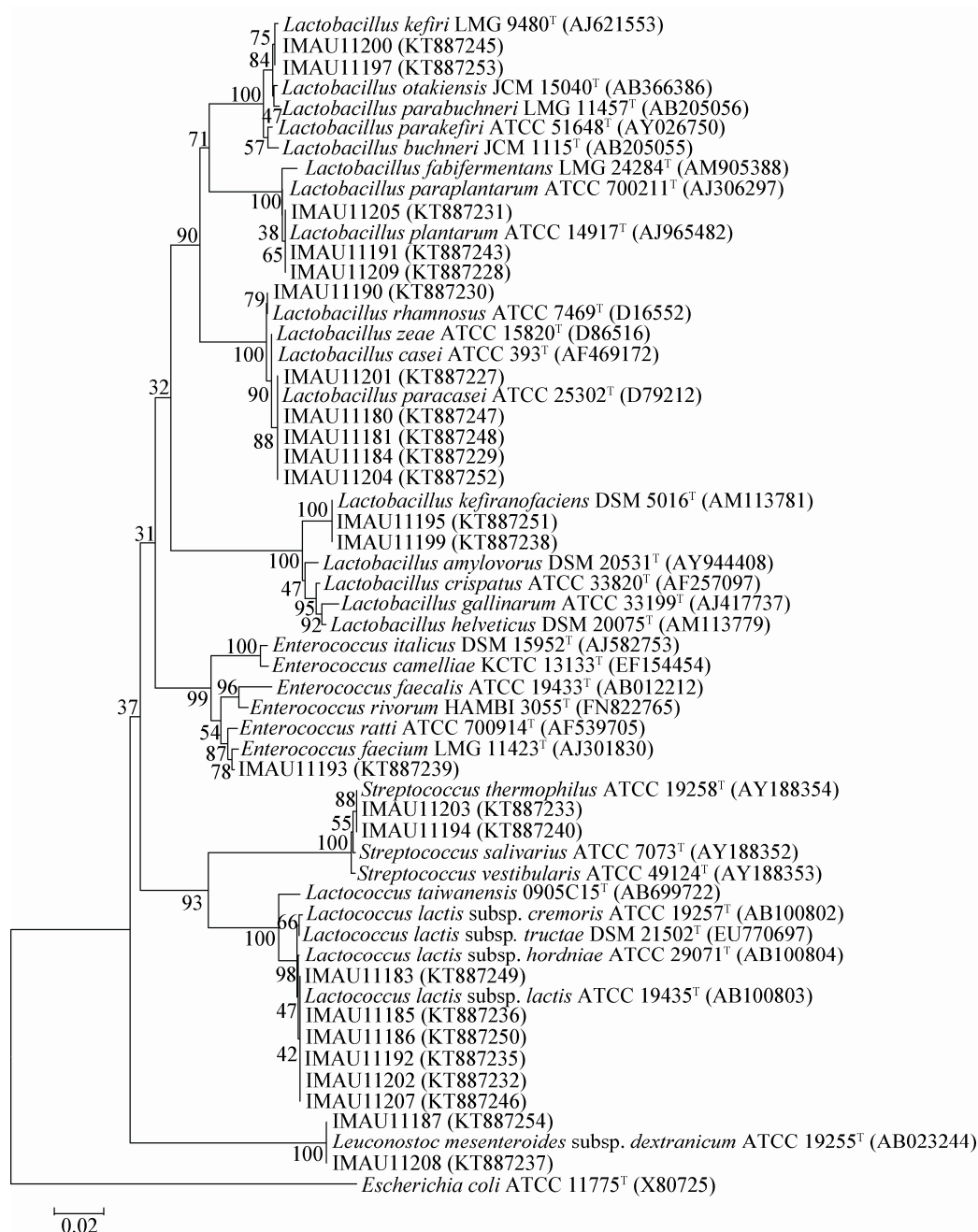


图 1 内蒙古呼伦贝尔地区分离株的 16S rRNA 基因序列的系统发育树

Figure 1 Phylogenetic analysis of 16S rRNA gene sequences of the isolates in Hulun Buir of Inner Mongolia

株 *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917<sup>T</sup> 聚为一类，且相似性为 100%，故将其鉴定为 *Lactobacillus plantarum*。菌株 IMAU11197 和 IMAU11200 与标准菌株 *Lactobacillus kefir* LMG 9480<sup>T</sup> 聚为一类，且相似性分别为 100% 和 99%，因此可将其归为

*Lactobacillus kefir*。菌株 IMAU11193 与 *Enterococcus faecium* LMG 11423<sup>T</sup> 聚为一类，且相似性为 100%，因此将其鉴定为 *Enterococcus faecium*。菌株 IMAU11195 和 IMAU11199 与标准菌株 *Lactobacillus kefiranofaciens* DSM 5016<sup>T</sup> 聚为一

类, 且相似性分别为 99%和 100%, 因此可将其归为 *Lactobacillus kefiranofaciens*。菌株 IMAU11185、IMAU11186 、 IMAU11192 、 IMAU11202 、 IMAU11207和IMAU11183 与标准菌株 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ATCC 19435<sup>T</sup>聚为一类, 且相似性为 100%或 99%, 故将其鉴定为 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*。菌株 IMAU11203 和 IMAU11194 与标准菌株 *Streptococcus thermophilus* ATCC 19258<sup>T</sup>聚为一类, 且相似性为 100%, 因此可将归为 *Streptococcus thermophilus*。菌株 IMAU11208和IMAU11187 与标准菌株 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum* ATCC 19255<sup>T</sup>聚为一类, 且相似性为 100%, 因此将其鉴定为 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*。

2.3 内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中优势菌种分析

8 份乳制品共分离出 24 株乳酸菌, 分别为 9 个种及亚种。内蒙古呼伦贝尔地区 8 份乳制品样品的菌株分离鉴定结果见表 3。

由表 3 可知, 8 份样品中有 4 份样品能够分离得到 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 且共分离得到 6 株, 占总分离株的 25%, 说明 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 为呼伦贝尔地区发酵乳制品中乳酸菌

的优势种。3 份样品中能够分离得到 *Lactobacillus paracasei* (20.83%), 3 份样品中能够分离得到 *Lactobacillus plantarum* (12.5%), 其他菌种, 包括: *Enterococcus faecium*、*Lactobacillus kefiranofaciens*、*Lactobacillus kefir*、*Lactobacillus rhamnosus*、*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*、*Streptococcus thermophilus* 在样品中分离数量相对较少。值得一提的是, *Lactobacillus rhamnosus* 只有在酸马奶中分离, 而在酸牛奶中没有。由于本次采样酸马奶的样本较少, 需在以后的研究中改进。由表 3 还可以得出, 内蒙古呼伦贝尔地区酸牛乳样品中, 共分离出 8 个种 18 株菌, 其中 *Lactobacillus paracasei* 为优势菌群, 占酸牛乳总分离株的 22%。而酸马奶样品中, 共分出 4 个种 6 株菌。其中 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 为优势菌群, 占酸马奶总分离株的 50%。

综上所述, 本研究传统乳制品样品中的优势菌株为 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, 其次分离菌株数较多的是 *Lactobacillus paracasei*。本研究与一些文献报道一致。卿蔓君研究内蒙古东部地区发酵酸牛乳中发现 *Lactobacillus helveticus*、*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*、*Lactobacillus casei* 和 *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*

表 3 内蒙古呼伦贝尔地区传统发酵乳制品样品中菌株分离鉴定结果									
Table 3 The distribution of lactic acid bacteria from traditional fermented milk from Hulun Buir in Inner Mongolia									
菌株鉴定结果	样品编号 Sample number								Total
Identification result	HM2	HM7	HM18	HM22	HM23	HM24	HM19	HM20	
<i>E. faecium</i>				IMAU11193					1
<i>L. kefiranofaciens</i>					IMAU11195	IMAU11199			2
<i>L. kefir</i>						IMAU11197 IMAU11200			2
<i>L. paracasei</i>	IMAU11201 IMAU11204		IMAU11180 IMAU11181				IMAU11184		5
<i>L. plantarum</i>	IMAU11205	IMAU11209		IMAU11191					3
<i>L. rhamnosus</i>								IMAU11190	1
<i>Lac. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	IMAU11202	IMAU11207		IMAU11192			IMAU11183 IMAU11185 IMAU11186 IMAU11187		6
<i>Leu. mesenteroides</i> subsp. <i>dextranicum</i>		IMAU11208							2
<i>S. thermophilus</i>	IMAU11203			IMAU11194					2
Total	5	3	2	4	1	3	5	1	24

为其中的优势菌株<sup>[16]</sup>。雷霞从内蒙古伊敏河岸和海拉尔河岸牧区传统乳制品中共分离出 33 株乳酸菌, 它们被鉴定为 4 个属 *Lactobacillus*、*Lactococcus*、*Enterococcus* 和 *Leuconostoc*, 其中 *Lactobacillus plantarum* 和 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 为该地区传统乳制品中的优势菌群<sup>[17]</sup>。而 Sun 等对蒙古国戈壁阿拉泰、东戈壁等地区采集自然发酵牛乳样品进行研究发 现, *Lactobacillus fermentum* 和瑞士乳杆菌 *Lactobacillus helveticus* 为该地区自然发酵牛乳的优势乳酸菌<sup>[18]</sup>。剧柠对新疆传统发酵乳制品的研究发 现 *Lactobacillus helveticus* 为该地区的优势菌株<sup>[19]</sup>。这表明不同地区的自然发酵牛乳, 因其地理位置、气候因素等差异, 形成多样的乳酸菌菌相。

### 3 结论

本研究从呼伦贝尔地区采集的 8 份传统发酵乳制品样品中, 共分出 24 株菌。通过 16S rRNA 基因同源性比较及系统发育树分析, 它们分别属于乳球菌属、肠球菌属、乳杆菌属、链球菌属、明串珠菌属, 共 5 个属 9 个种或亚种。其中 *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* 为呼伦贝尔地区传统发酵乳制品中的优势菌株, 占分离株的 25%。8 份样品活菌数为 6.80–9.00 lgCFU/mL。

### 参 考 文 献

- [1] Zhang G. Lactic Acid Bacteria-Based, Technology and Application[M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2007 (in Chinese)  
张刚. 乳酸细菌—基础、技术和应用[M]. 北京: 化学工业出版社, 2007
- [2] Xu CY, Guo BH, Wu H, et al. Advance in both starter cultures in yoghurt and breeding of lactic acid bacteria by biotechnology[J]. China Biotechnology, 2004, 24(7): 55-59 (in Chinese)  
徐成勇, 郭本恒, 吴昊, 等. 酸奶发酵剂和乳酸菌生物技术育种[J]. 中国生物工程杂志, 2004, 24(7): 55-59
- [3] Benkerroum N, Boughdadi A, Bennani N, et al. Microbiological quality assessment of Moroccan camel's milk and identification of predominating lactic acid bacteria[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2003, 19(6): 645-648
- [4] Caridi A. Identification and first characterization of lactic acid bacteria isolated from the artisanal ovine cheese Pecorino del Poro[J]. International Journal of Dairy Technology, 2003, 56(2): 105-110
- [5] Zhang JC, Luo CX. Study on the ability of removing cholesterol by lactic acid bacteria from foods[J]. Food Science, 1998, 19(3): 20-22 (in Chinese)  
张佳程, 骆承庠. 乳酸菌对食品中胆固醇脱除作用的研究——乳酸菌菌种(株)的筛选[J]. 食品科学, 1998, 19(3): 20-22
- [6] Zong XF. Nutrition value and health function of yogurt[J]. Food and Nutrition in China, 2008(9): 60-61 (in Chinese)  
宗宪峰. 酸奶的营养价值与保健功能[J]. 中国食物与营养, 2008(9): 60-61
- [7] Yu J, Wang WH, Menghe BLG, et al. Diversity of lactic acid bacteria associated with traditional fermented dairy products in Mongolia[J]. Journal of Dairy Science, 2011, 94(7): 3229-3241
- [8] Zhou J, Bruns MA, Tiedje JM. DNA recovery from soils of diverse composition[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1996, 62(2): 316-322
- [9] Zhu H, Qu F, Zhu LH. Isolation of genomic DNAs from plants, fungi and bacteria using benzyl chloride[J]. Nucleic Acids Research, 1993, 21(22): 5279-5280
- [10] Sun ZH, Liu WJ, Gao W, et al. Identification and characterization of the dominant lactic acid bacteria from kurut: the naturally fermented yak milk in Qinghai, China[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2010, 56(1): 1-10
- [11] Yu J, Gao W, Qing MJ, et al. Identification and characterization of lactic acid bacteria isolated from traditional pickles in Sichuan, China[J]. The Journal of General and Applied Microbiology, 2012, 58(3): 163-172
- [12] Altschul SF, Madden TL, Schäffer AA, et al. Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs[J]. Nucleic Acids Research, 1997, 25(17): 3389-3402
- [13] Tamura K, Dudley J, Nei M, et al. MEGA4: molecular evolutionary genetics analysis (MEGA) software version 4.0[J]. Molecular Biology and Evolution, 2007, 24(8): 1596-1599
- [14] Li DM, Liu KY, Zhang M, et al. Study on quality changes of xylitol yoghurt during fermentation and storage[J]. Food Science, 2009, 30(9): 184-186 (in Chinese)  
李道敏, 刘开永, 张敏, 等. 木糖醇酸奶发酵、贮藏期间质量变化的研究[J]. 食品科学, 2009, 30(9): 184-186
- [15] Yan ZG. Fermented milk during storage change of physical and chemical properties[J]. Journal of Dairy Science and Technology, 2011(2): 74-76, 86 (in Chinese)  
闫志国. 发酵乳在贮藏期间的理化性质的变化[J]. 乳业科学与技术, 2011(2): 74-76, 86
- [16] Qing MJ. Isolation and identification of lactic acid bacteria from traditional fermented milk in Eastern Inner Mongolia[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2011 (in Chinese)  
卿蔓君. 内蒙古东部地区传统发酵酸牛乳中乳酸菌的分离鉴定[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2011
- [17] Lei X. Isolation and identification of lactic acid bacteria from dairy and dairy products in the bank of Yimin and Hailaer river pastoral area and screening of probiotic *in vitro*[D]. Hohhot: Master's Thesis of Inner Mongolia Agricultural University, 2005 (in Chinese)  
雷霞. 伊敏河和海拉尔河两岸牧区乳及乳制品中益生乳酸菌的分离鉴定及其体外筛选[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学硕士学位论文, 2005
- [18] Sun ZH, Liu WJ, Zhang JC, et al. Identification and characterization of the dominant lactic acid bacteria isolated from traditional fermented milk in Mongolia[J]. Folia Microbiologica, 2010, 55(3): 270-276
- [19] Ju N. Biodiversity of *Lactobacilli* from traditional fermented milk in Tibet, Xinjiang and Yunnan of China[D]. Hohhot: Doctoral Dissertation of Inner Mongolia Agricultural University, 2009 (in Chinese)  
剧柠. 西藏、新疆和云南地区传统发酵乳制品中乳杆菌的生物多样性研究[D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学博士学位论文, 2009