

戊糖片球菌的抑菌与共凝聚能力及其对水体中副溶血性弧菌的净化效应

杨振泉^{1,2}, 高璐¹, 靳彩娟¹, 王晓霖¹, 方维明¹, 顾瑞霞^{1,2}

(1. 扬州大学食品科学与工程学院, 江苏扬州 225127)

(2. 江苏省乳品生物技术与安全控制重点实验室, 江苏扬州 225127)

摘要: 研究了7株戊糖片球菌对副溶血性弧菌的抑菌特性和共凝聚能力, 探讨了不同抑菌和凝聚特性的戊糖片球菌的细胞形态特征及其对水体中副溶血性弧菌的影响。结果表明7株戊糖片球菌对副溶血性弧菌的抑制作用是同pH值乳酸的1.1~1.3倍, 抑菌活性对过氧化氢酶、蛋白酶以及加热处理不敏感。戊糖片球菌对副溶血性弧菌的2h共凝聚率在14.8~37.6%之间, 具有显著菌株差异性, 其中菌株F28-8达到37.6%, 显著高于其它菌株($P < 0.01$)。扫描电镜结果显示菌株F28-8具有独特的细胞表面结构和粘连模式。戊糖片球菌对水体中副溶血性弧菌具有促凝聚和减菌作用, 副溶血性弧菌悬液经过F28-8处理60h, 上层悬液中的可培养细胞浓度比未经处理的对照组降低了3.1 Log₁₀ CFU/mL, 显著高于低凝聚性菌株H13($P < 0.01$), 而凝聚物中可培养细胞比对照组降低了1.6 Log₁₀ CFU/mL, 与H13处理无显著差异($P > 0.05$)。

关键词: 戊糖片球菌; 抑菌能力; 共凝聚能力; 副溶血性弧菌

文章编号: 1673-9078(2015)8-47-52

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.8.009

Antibacterial and Coaggregation Activities of *Pediococcus pentosaceus* and Its Putification Effect on *Vibrio parahaemolyticus*-contaminated Water

YANG Zhen-quan^{1,2}, GAO Lu¹, JIN Cai-juan¹, WANG Xiao-lin¹, FANG Wei-ming¹, GU Rui-xia^{1,2}

(1. College of Science and Engineering, Yangzhou University, Yangzhou 225127, China)

(2. Jiangsu Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Safety Control, Yangzhou 225127, China)

Abstract: Coaggregation and antibacterial activity of seven *P. pentosaceus* strains against *Vibrio parahaemolyticus* ATCC33847 were evaluated. And their cellular morphological characteristics as well as impact on *Vibrio parahaemolyticus* ATCC33847 in contaminated water, were explored. The results showed that the inhibitory effect of the seven *P. pentosaceus* strains tested was 1.1 to 1.3 times that of lactic acid at the same pH, while the antibacterial activity was resistant to catalase, proteinase, and heat treatments. The 2-h coaggregation rate of the seven isolates against *V. parahaemolyticus* varied between 14.8% and 37.6%, showing a significant inter-strain difference. Among the seven isolates, the coaggregation activity of F28-8 reached 37.6%, which was significantly higher than those of other strains ($p < 0.01$). The results from scanning electron microscopy (SEM) showed that strain F28-8 had a unique cell surface structure and cell adhesion pattern. *P. pentosaceus* also played a role in promoting aggregation and reducing numbers of viable *V. parahaemolyticus* in water. After a suspension of *V. parahaemolyticus* was treated with strain F28-8 for 60 h, the concentration of culturable cells in the upper suspension layer was lowered by 3.1 Log₁₀ CFU/mL compared to that of the untreated group, which was significantly higher than that of strain H13, which showed low coaggregation activity (2.5 log₁₀ CFU/mL). On the other hand, the concentration of culturable cells in the coaggregates was 1.6 log₁₀ CFU/mL, which was lower than that of the control group and showed no significant change with H13 treatment ($p > 0.05$).

Key words: *Pediococcus pentosaceus*; antibacterial activity; coaggregation activity; *Vibrio parahaemolyticus*

收稿日期: 2014-10-22

基金项目: 国家自然科学基金项目(31371806); 苏北科技发展计划项目(No. BC2013438); 江苏省重点实验室开放课题; 江苏省自然科学基金项目(No. BK2011448)

作者简介: 杨振泉(1975-), 男, 博士, 副教授, 主要从事食品微生物资源开发与利用研究

副溶血性弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*, Vp)广泛分布于近岸海洋及江河入海口环境, 是海产品引发食物中毒重要病原菌^[1], 也是水产动物细菌性疾病的重要致病因子^[2]。抗生素及化学制剂的应用是目前防治水生动物弧菌病、降低水体中副溶血性弧菌载量的重要手段, 但随之导致耐药性细菌产生及抗生素残留等问

题,对食品安全造成重大影响。乳酸菌能够产生有机酸、过氧化氢、双乙酰、细菌素等^[3],是海洋弧菌的天然抑菌物质^[4-5],另一方面,研究表明乳酸菌与致病菌的共凝聚作用能够使病原菌更容易从肠道环境中排出,有利于宿主抵抗感染^[6]。戊糖片球菌(*Pediococcus pentosaceus*, Pp)是乳酸菌中的一个种,广泛分布于蔬菜、干酪、香肠等传统发酵食品中,对提高发酵食品的风味及安全性具有重要作用。该菌代谢糖类产生乳酸,并产生IIa类片球菌素,对病原菌及腐败微生物产生强烈的抑制效应^[7],其中一些菌株具有提高动物天然免疫能力、促进健康以及抵抗病原菌的侵袭等益生特性^[8],以戊糖片球菌及其代谢产物研发新型抑菌剂和微生态制剂对食品和环境中的弧菌净化控制以及弧菌病的生物防治具有潜在价值和广阔前景。但是,目前戊糖片球菌对副溶血性弧菌的作用还鲜有报道,另一方面,戊糖片球菌抗菌作用机制主要集中在抑菌性^[9-10]和免疫调节性^[11]等方面,对菌株凝聚特性及其应用研究尚不多见。本研究从代谢产物抑菌性、共凝聚性、表面微观结构探讨了不同戊糖片球菌菌株差异性及其对水体中副溶血性弧菌净化效应,为戊糖片球菌筛选应用及环境和食品中致病性副溶血性弧菌控制提供新方法和思路。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株

本实验中使用的7株戊糖片球菌菌株F28-8、Y45-30、F3、Y27-4、H13、H6和H10由扬州大学江苏省乳品生物技术与安全控制重点实验室分离鉴定和保存;致病性副溶血性弧菌菌株ATCC33847(*tdh*基因阳性)由扬州大学食品微生物实验室保藏。

1.1.2 培养基与试剂

MRS培养基,广州环凯生物试剂有限公司产品;TCBS培养基,杭州微生物试剂有限公司产品;LBS培养基为细菌肉汤培养基(LB),杭州微生物试剂有限公司产品,添加2.5% NaCl配制;胰蛋白酶、过氧化氢酶为上海生工生物工程有限公司产品;蛋白酶K为德国Merck公司产品;其它化学试剂均为国产分析纯。

1.1.3 主要仪器

UV-7504C分光光度计,上海欣茂仪器有限公司;S-4800场发射扫描电镜,日本日立公司;TG16-WS型台式高速离心机,湘仪离心仪器有限公司;SX-500型高压蒸汽灭菌锅,日本TOMMY公司;DGX-9053B-2型生化培养箱,上海福玛实验设备有限

公司;厌氧培养罐,德国Merck公司;XW-80C型漩涡混合器,上海医科大学仪器厂;ZHJH-C1209B型超净工作台,上海智诚分析仪器制造有限公司。

1.2 方法

1.2.1 菌株复苏培养

将戊糖片球菌保种液0℃解冻,无菌吸取200μL接种10mL MRS液体培养基中,37℃厌氧培养24h,取培养物划线接种MRS固体平板,37℃厌氧培养24h,挑取单菌落接种5mL MRS液体培养基,37℃厌氧培养24h,备用。副溶血性弧菌接种LBS液体培养基,37℃振荡培养16h;取培养物划线于TCBS平板,37℃培养20h,挑取单菌落接种5mL LBS液体培养基,37℃恒温振荡培养12h,备用。

1.2.2 抑菌能力测定

将戊糖片球菌培养物12000×g离心15min,取上清,通过0.22μm的微孔滤膜除菌获得无细胞提取液。使用琼脂孔扩散法对菌株无细胞提取液的抑菌能力进行测定。用无菌生理盐水将副溶血性弧菌悬液稀释到10⁸CFU/mL,移取1mL于LBS固体平板中,涂布均匀,于超净工作台中晾干15min,用打孔器在平板中均匀打直径为10mm的小孔,每孔加入200μL无细胞提取液和用过氧化氢酶(9mg/mL)、蛋白酶K(1mg/mL)和胰蛋白酶(1mg/mL)处理,以及不同温度(70℃、100℃、121℃)处理的无细胞提取液,每个菌株做3孔平行,室温扩散5h,然后放置于37℃下培养过夜,抑菌圈直径用游标卡尺进行测量并记录(mm)。将MRS液体培养基pH用乳酸调节到与受试菌株无细胞提取液相等作为对照,并比较不同处理组的抑菌效果。

1.2.3 共凝聚能力测定

戊糖片球菌菌株培养物5000×g离心10min收集菌体,生理盐水洗涤两次,用生理盐水调整受试菌株悬液浓度,使其在600nm波长下吸光值约为0.4(A₆₀₀=0.4)。调好浓度的戊糖片球菌悬液与相应的副溶血性弧菌悬液各取2mL混合于15mL带刻度的试管中,涡旋120s,37℃静置2h,吸取1mL上层溶液于600nm下测定吸光值,记作A_{mix},每个混合液平行做3管重复,以未混合的菌悬液作为对照,细菌共凝聚率按公式 $\{[(A_p+A_v)/2]-A_{mix}\}/(A_p+A_v)/2 \times 100$ 计算,其中A_p和A_v分别为戊糖片球菌和副溶血性弧菌悬液在600nm处测所测的A值。

1.2.4 凝聚细胞的电镜观察

选择自凝聚和共凝聚2h的样品进行扫描电镜观察。吸取自凝聚及共凝聚的下层溶液1mL,加入等体

积 5% 的戊二醛溶液固定过夜；双蒸水洗涤 3 次，每次 15 min；用 50%、70%、80%、90%、100% 乙醇梯度脱水；乙酸乙酯和无水乙醇等比例混合作用 30 min，离心弃上清；乙酸乙酯作用 30 min，离心弃上清；沉淀重悬于乙酸乙酯溶液中，样品加入点样盘中，烘干；镀膜，上镜观察。

1.2.5 凝聚过程中副溶血性弧菌存活细胞测定

按照乳酸菌与致病菌共凝聚测定方法制备戊糖片球菌悬液及起始浓度为 9.1 和 5.5 Log₁₀CFU/mL 副溶血性弧菌悬液，不加戊糖片球菌作为对照，混合菌悬液在 37 °C 静置 2 h、12 h、24 h、60 h、96 h 后分别吸取样品中上层和下层溶液各 1 mL，无菌生理盐水 10 倍稀释后涂布 TCBS 平板，每个稀释度取 200 μL 涂布 3 个平板，TCBS 平板于 37 °C 培养 24 h。培养结束后选择菌落数在 30~300 之间的稀释度，用 3 个平板上菌落数的平均值计算体系中细菌浓度 (Log₁₀ CFU/mL)。

1.2.6 数据分析

所有试验重复进行三次，结果用平均值±标准差 (mean±SD) 表示，菌株间以及不同处理间的差异采

用 SPSS 16.0 中 One-Way (ANOVA) 进行统计和显著性分析。

2 结果与讨论

2.1 戊糖片球菌对副溶血性弧菌抑制作用

戊糖片球菌具有广泛的抑菌谱，其代谢产物对革兰氏阳性和阴性菌都显示了良好的抑菌效应^[9-10, 12]。本研究中的 7 株戊糖片球菌的代谢产物对致病性副溶血性弧菌 ATCC33847 都显示了强烈的抑制效应，抑菌圈直径在 21.0 mm 至 25.5 mm 之间 (如表 1 所示)，是同 pH 乳酸对照的 1.1 至 1.3 倍，不同菌株大小顺序为：F3>H13, H6>F28-8, Y27-4, Y45-30, H10。培养上清经过氧化氢酶、胰蛋白酶、蛋白酶 K 以及加热处理后抑菌效果有不同程度的降低，但残留抑菌效果仍在 75~96% 之间，结果表明戊糖片球菌代谢产生的有机酸是对副溶血性弧菌生长抑制作用的主要因素，过氧化氢产生以及细菌素等蛋白质类抑菌成分作用相对较小，结果同前期报道^[13]中乳酸菌与其它革兰氏阴性细菌作用结果一致。

表 1 7 株戊糖片球菌对副溶血性弧菌 ATCC33847 的抑菌作用

Table 1 Inhibition effect of *Pediococcus pentosaceus* strains on the *Vibrio parahaemolyticus* ATCC33847

Strain	Supernatant	Lactic acid	Treatment group					
			Catalase	Trypsase	Proteinase	70°C	100°C	121°C
F28-8	21.0±1.0	18.5±0.0	18.7±1.9	17.7±1.0	18.5±0.5	17.7±0.3	20.2±0.3	18.3±0.3
Y27-4	21.5±0.0	18.3±0.3	19.0±0.9	19.2±0.6	19.8±0.6	19.8±2.1	20.3±1.7	19.8±0.8
Y45-30	21.7±0.6	18.3±0.3	20.8±1.0	19.7±0.6	20.2±0.8	19.7±0.6	19.5±0.5	19.7±0.3
H13	23.3±0.5	18.5±0.0	22.3±0.6	18.3±0.6	19.3±0.6	19.2±0.6	20.3±0.6	17.7±0.6
H6	22.3±1.0	18.3±0.3	20.5±1.3	21.8±0.5	20.0±1.5	20.8±0.3	20.7±0.3	20.5±0.5
H10	21.3±0.3	20.2±0.3	19.3±1.6	20.2±0.3	19.5±0.5	20.2±1.2	19.3±0.3	17.5±1.3
F3	25.5±0.5	20.2±0.3	19.7±0.6	19.5±0.5	19.3±0.6	19.2±0.3	19.5±0.5	19.7±0.8

注：图中数据表示为平均值±标准差 (n=3)，单位 mm。

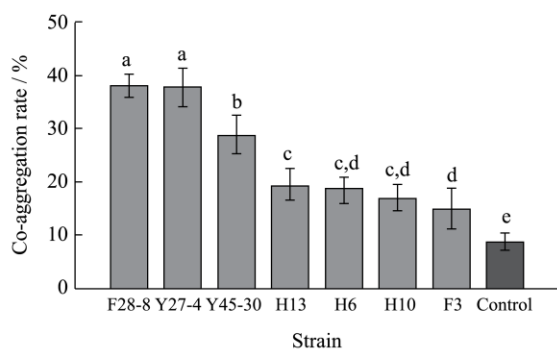


图 1 戊糖片球菌与副溶血性弧菌共凝聚率结果

Fig.1 Result of co-aggregation between *Pediococcus pentosaceus* and *Vibrio parahaemolyticus*

注：图中数据为 3 次重复的结果，表示为平均值±标准差，

不同斜体字母表示具有显著差异 (P<0.05)。

2.2 戊糖片球菌对副溶血性弧菌共凝聚作用

乳酸菌与致病菌的共凝聚效应有利于致病菌清除^[6]，同时由于凝集物的形成使得乳酸菌产生的抑菌物质近距离发挥作用，有利于杀菌作用产生^[14]。本实验应用分光光度法测定了 7 株戊糖片球菌与副溶血性弧菌 ATCC33847 的共凝聚能力，结果如图 1 所示。结果表明戊糖片球菌具有明显促进致病性副溶血性弧菌聚集的能力，但共凝聚能力具有显著的菌株差异性。不同戊糖片球菌与副溶血性弧菌 ATCC33847 的共凝聚率在 14.8~37.6% 之间，大小顺序为：F28-8、Y27-4>Y45-30>H13、H6、H10>F3，所有菌株均显著

高于不加戊糖片球菌的对照组 ($P<0.01$), 其中 F28-8 和 Y27-4 共凝聚率最高, 分别为 37.5% 和 36.9% 显著高于其它菌株 ($P<0.01$), 结果为水体中副溶血性弧菌的净化和减菌化处理提供了候选菌株。

2.3 不同凝聚能力的戊糖片球菌细胞的扫描电镜结果

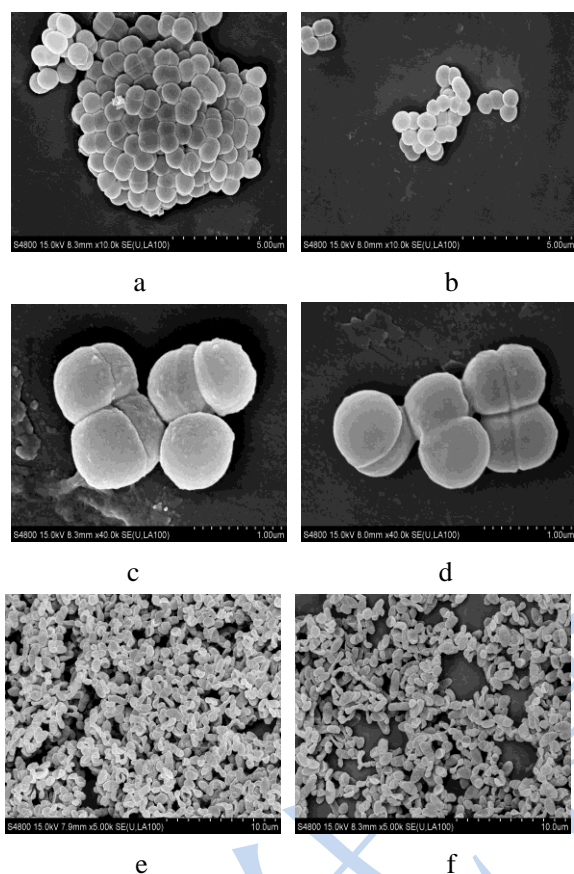


图 2 不同凝聚性的戊糖片球菌细胞的扫描电镜结果

Fig.2 Cell morphology of *Pediococcus pentosaceus* strains with different coaggregation activities observed by SEM

注: a: F28-8($\times 10000$), b: H13($\times 10000$), c: F28-8($\times 40000$), d: H13($\times 40000$), e: F28-8 与 VpATCC33847 凝聚物($\times 5000$), f: (F)H13 与 VpATCC33847 凝聚物($\times 5000$)。

应用扫描电镜对高凝聚性菌株 F28-8 和低凝聚性菌株 H13 的细胞形态进行观察和比较, 结果如图 2 (a~f) 所示。结果显示高凝聚性菌株 F28-8 的菌体细胞牢牢地黏结在一起, 易于形成大的菌团 (图 2a), 而低凝聚性菌株 H13 细胞比较分散, 只有少量细胞黏着在一块 (图 2b), 视野中大的菌团较为少见。在细胞聚集方式上, H13 细胞表面比较光滑, 无突起结构, 细胞间主要通过四连体或者二联体四端连接, 容易形

成链状或片状, 而 F28-8 细胞表面更为粗糙, 附着有突起结构, 细胞聚集不仅通过四端黏结, 而且通过侧面叠加连结, 形成大的立体团簇 (图 2c 和 d)。菌株 F28-8 和 H13 对副溶血性弧菌 ATCC33847 的共凝聚物扫描结果如图 2 (e 和 f)。在共凝聚物中, F28-8 使 ATCC33847 紧密地堆积在一起, 形成的凝集物紧密结实 (图 2e), 而 H13 凝聚 ATCC33847 细胞则比较松散 (图 2f), 易于重新悬浮。结果表明戊糖片球菌对副溶血性弧菌的共凝聚能力与菌株的表面结构及细胞凝聚的紧密程度有关。前期报道认为不同种属乳酸菌对致病菌促凝聚作用可能与细胞表面的多糖^[15]和蛋白^[16]有关, 但对种内菌株间促凝聚能力的差异机制目前尚不明确, 本研究通过对比戊糖片球菌高凝聚性菌株与低凝聚性菌株细胞形态, 表明菌株表面微观结构及粘聚方式多样性可能导致促凝聚能力差异性。

2.4 不同凝聚能力的戊糖片球菌对水体中副溶血性弧菌的净化效应

应用选择性平板对戊糖片球菌共凝聚体系中副溶血性弧菌的可培养细胞数进行计数, 结果显示对照组中的可培养细胞数随放置时间的延长缓慢下降, 可能细胞发生死亡或者进入存活但不可培养 (viable but nonculturable, VBNC) 状态^[17], 而经过菌株 F28-8 和 H13 共凝聚处理均显著加剧了体系中可培养细胞数的下降 (图 3a~d)。起始浓度为 $9.1 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ 的副溶血性弧菌悬液经 F28-8 凝聚作用 2 h, 上层悬液中的可培养细胞比对照组低 $1.8 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$, 在 24 h 低于对照组 $2.7 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$, 在作用 60 h 下降最多, 低于对照 $3.1 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$; 而低凝聚菌株 H13 作用 2 h、24 h 和 60 h 后分别低于对照组 0.9、2.0 和 $2.5 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$, 减菌效果显著低于 F28-8 ($P<0.05$), 但在 96 h 后 F28-8 和 H13 的减菌效果没有显著差异 ($P>0.05$), 均低于对照 $2.6 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ (图 3a)。起始浓度为 $5.5 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ 的副溶血性弧菌悬液经过戊糖片球菌处理也导致了可培养细胞的显著减少, 下降趋势与高浓度悬液一致, 但减菌效果较弱, 在作用 24 h 后 F28-8 处理组比对照组降低了 $1.3 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$, 而 H13 处理降低了 $0.8 \text{ Log}_{10} \text{ CFU/mL}$ (图 3c)。对下层悬液中 (包含凝集物) 副溶血性弧菌的分析结果显示凝集物中的残存细胞数也显著低于对照组, 高浓度悬液在 12 h 后显著低于对照 (图 3b); 而低浓度悬液在 60 h 后显著低于对照组 (图 3d)。

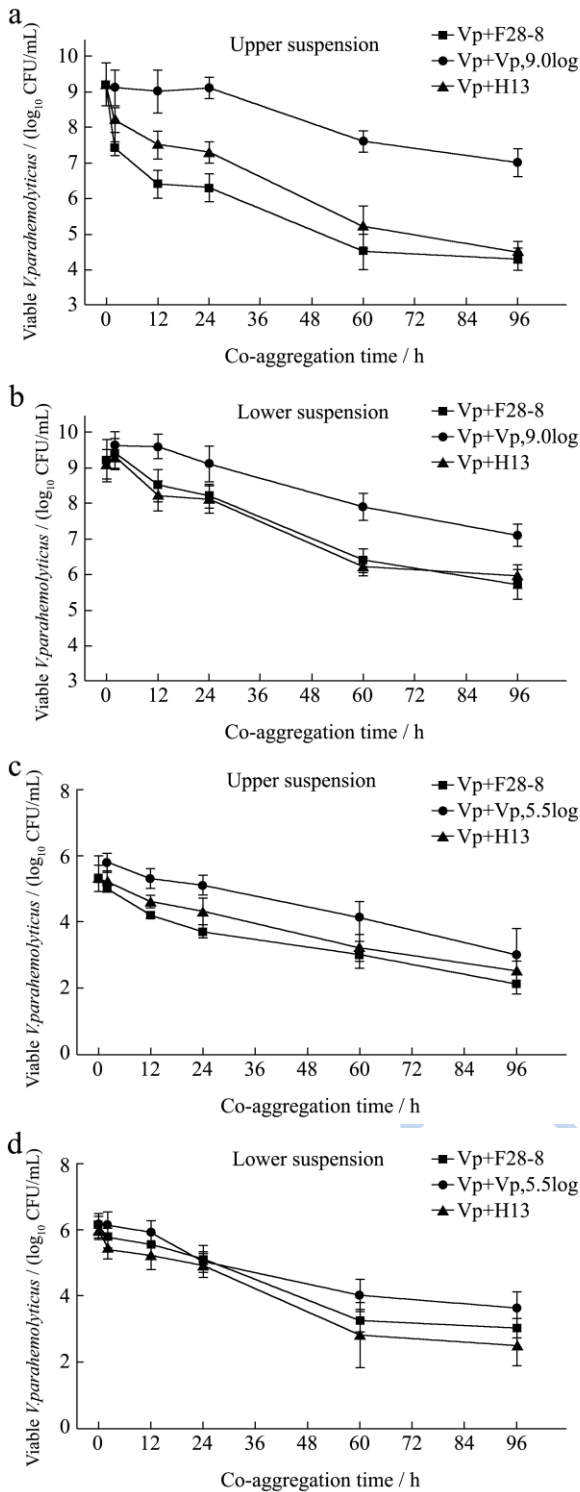


图3 戊糖片球菌共凝聚对水体中副溶血性弧菌可培养细胞数的影响

Fig.3 Influence of *Pediococcus pentosaceus* coaggregation on the viable counts of *Vibrio parahaemolyticus* in water

注：图 a 和 b 起始浓度为 9.1 Log₁₀CFU/mL 的副溶血性弧菌共凝聚后上层悬液和下层凝聚物中可培养细胞数的变化；图 c 和 d 分别为起始浓度为 5.5 Log₁₀CFU/mL 的副溶血性弧菌上层悬液和下层凝聚物可培养细胞数的变化；图中数据点为 3 次重复的结果，表示为平均值±标准差。

结果表明在共凝聚体系中戊糖片球菌不仅能够通过共凝聚作用使悬浮在水体中的副溶血性弧菌细胞粘结在一起形成大的絮凝体通过沉降而去除，而且在絮凝体中戊糖片球菌也能够产生抑菌物质导致副溶血性弧菌失活，达到水体中副溶血性弧菌的减菌效果。尽管乳酸菌在培养基中形成的代谢产物的抑菌和杀菌作用在前期研究中已有报道^[3-5]，但水环境中由于营养物的限制，乳酸菌产生的代谢产物种类和数量有限^[18]，凝集物的形成有利于乳酸菌产生的抑菌物质近距离发挥作用^[14]，戊糖片球菌通过共凝聚作用缩小细胞间的作用距离可能是水体环境中发挥杀菌作用的重要途径。

3 结论

本研究主要研究了 7 株戊糖片球菌对致病性副溶血性弧菌抑菌性能、共凝聚能力、并探讨了不同凝聚特性的菌株细胞形态及其对水体中副溶血性弧菌的净化效应，以为水体中的副溶血性弧菌的生物减菌剂筛选提供依据。结果表明：7 株戊糖片球菌对致病性副溶血性弧菌 ATCC33847 都显示了良好的抑制效应，抑菌圈直径是同 pH 乳酸对照的 1.1~1.3 倍，抑菌活性对氧化氢酶、蛋白酶以及高温处理均不敏感。戊糖片球菌具有促进水体中副溶血性弧菌凝聚的特性，但能力具有显著的菌株差异性，其中菌株 F28-8 的共凝聚率显著高于其它菌株 (P<0.01)。获得的高凝聚性菌株 F28-8 具有独特的细胞表面结构和细胞粘聚方式，易于自凝聚形成大的团簇，并与副溶血性弧菌形成紧密的共凝聚物。水体中的副溶血性弧菌经戊糖片球菌 F28-8 和 H13 共凝聚作用后可培养细胞的均显著减少，但高凝聚性菌株 F28-8 的除菌效应显著高于低凝聚性菌株 H13。共凝聚是作用早期减菌作用的主要因素，作用后期共凝聚导致的絮凝体形成能够缩小细胞间的作用距离，有利于戊糖片球菌代谢物对副溶血性弧菌产生杀灭作用，表明菌株共凝聚能力是筛选乳酸菌生物减菌剂的重要指标。

参考文献

[1] YANG Zhen-quan, JIAO Xin-an, ZHOU Xiao-hui, et al. Isolation and molecular characterization of *Vibrio parahaemolyticus* from fresh, low-temperature preserved, dried, and salted seafood products in two coastal areas of eastern China [J]. International Journal of Food Microbiology, 2008, 125(3): 279-285

[2] 吴后波,潘金培.弧菌属细菌及其所致海水养殖动物疾病[J]. 中国水产科学,2001,8(1):89-93

- WU Hou-bo, PAN Jin-pei. Progress in studies of vibriosis in aquaculture [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2001, 8(1): 89-93
- [3] 陈静,张玉苍,何连芳.乳酸菌产细菌素的研究进展及其应用前景[J].安徽农业科学,2011,39(4):1925-1927
CHEN Jin, ZHANG Yu-cang, HE Lian-fang. Research progress of bacteriocin-producing lactic acid bacteria and its application prospects [J]. Journal of Anhui Agricultural Science, 2011, 39(4): 1925-1927
- [4] 姜英辉,李光友.乳酸链球菌 L318 的培养及其对海洋弧菌的抑制作用[J].海洋科学,2002,26(2):54-57
JIANG Ying-hui, LI Guang-you. The culture of streptococcus lactis L318 and its inhibition effects on marine *Vibrio sp.* [J]. Marine Sciences, 2002, 26(2): 54-57
- [5] 窦晓明,孙高英,单虎.乳酸菌胞外产物对副溶血弧菌抑制作用的研究[J].河北渔业,2007,13(5):8-11
DOU Xiao-ming, SUN Gao-ying, SHAN Hu. Inhibitory effect of extracellular products from lactic acid bacteria on *vibrio parahaemolyticus* [J]. Hebei Fisheries, 2007, 13(5): 8-11
- [6] Cesena C, Morelli L, Alander M, et al. *Lactobacillus crispatus* and its nonaggregating mutant in human colonization trials [J]. Journal of Dairy Science, 2001, 84: 1001-1010
- [7] 张红星,刘丽,谢远红,等.产细菌素的戊糖片球菌的筛选及其细菌素的理化性质研究[J].现代食品科技,2011,27(2): 135-138
ZHANG Hong-xing, LIU Li, XIE Yuan-hong, et al. Screening of bacteriocin-producing *pediococcus pentosaceus* strain and study on physicochemical characteristics of bacteriocin [J]. Modern Food Science and Technology, 2011, 27(2): 135-138
- [8] Huang JB, Wu YC, Chi SC. Dietary supplementation of *pediococcus pentosaceus* enhances innate immunity, physiological health and resistance to *Vibrio anguillarum* in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2014, 39: 196-205
- [9] Albano H, Oliveira M, Aroso R, et al. Antilisterial activity of lactic acid bacteria isolated from "Alheiras" (traditional portuguese fermented sausages): in situ assays [J]. Meat Science, 2007, 76(4): 796-800
- [10] Skytta E, Hereijgers W, Mattila-Sandholm T. Broad spectrum antibacterial activity of *Pediococcus damnosus* and *Pediococcus pentosaceus* in minced meat [J]. Food Microbiology, 1991, 8(3): 231-237
- [11] Jonganurakkun B, Wang Q, Xu SH, et al. *Pediococcus pentosaceus* NB-17 for probiotic use [J]. Journal of Bioscience and Bioengineering, 2008, 106(1): 69-73
- [12] Vidhyasagar V, Jeevaratnam K. Evaluation of *Pediococcus pentosaceus* strains isolated from Idly batter for probiotic properties in vitro [J]. Journal of Functional Foods, 2013, 5: 235-243
- [13] Koga T, Mizobe T, Takumi K. Antibacterial activity of *Lactobacillus* species against *Vibrio* species [J]. Research in Microbiology, 1998, 153: 271-275
- [14] Reid G, McGroarty JA, Angotti R, et al. *Lactobacillus* inhibitor production against *Escherichia coli* and coaggregation ability with uropathogens [J]. Canadian Journal of Microbiology, 1988, 34(3): 344-351
- [15] Sabir F, Beyatli Y, Cokmus C, et al. Assessment of potential probiotic properties of *Lactobacillus spp.*, *Lactococcus spp.*, and *Pediococcus spp.* strains isolated from kefir [J]. Journal of Food Science, 2010, 75: M568-M573
- [16] Schachtsiek M, Hammes WP, Hertel C. Characterization of *Lactobacillus coryniformis* DSM 20001T surface protein CpF mediating coaggregation with and aggregation among pathogens [J]. Applied and Environmental Microbiology, 2004, 70: 7078-7085
- [17] Su CP, Jane WN, Wong H. Changes of ultrastructure and stress tolerance of *Vibrio parahaemolyticus* upon entering viable but nonculturable state [J]. International Journal of Food Microbiology, 2013, 160(3): 360-366
- [18] Gatesoupe FJ. The use of probiotics in aquaculture [J]. Aquaculture, 1999, 180: 147-165