

植物乳杆菌及其近缘种部分看家基因的系统发育分析

乌日拉嘎¹, 徐海燕¹, 宋宇琴¹, 冯淑贞¹, 孙志宏¹, 斯琴巴特尔², 包英姝², 张和平¹, 孟和毕力格¹
 (1. 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)
 (2. 锡林郭勒盟蒙医研究所, 内蒙古锡林浩特 026000)

摘要: 本文研究了 16S rRNA 基因、*pheS* 和 *pyrG* 部分基因序列对 *Lactobacillus plantarum* (*L. plantarum*) 及其近缘种的区分能力, 采用分离自酸面团、酸牛奶和泡菜中的 10 株 *L. plantarum* 为研究对象, 以其看家基因 *pheS* 和 *pyrG* 部分基因序列作为分子标记, 结合已上传至 GeneBank 的近缘种的相应序列构建系统发育树并与以 16S rRNA 基因构建的系统发育树进行比较。结果表明: 基于 16S rRNA 基因序列不能区分 *L. plantarum* 及其近缘种, 而看家基因 *pheS* 和 *pyrG* 部分基因序列能够很好的区分植物乳杆菌种及其近缘种, 其中, *pheS* 在植物乳杆菌种内分型时相较于 *pyrG* 基因效果更好, 以及将 *pheS* 和 *pyrG* 部分基因序列串联使用后, 试验菌株与参考菌株的分类关系更加明晰, 因此, 联合基因 (*pheS-pyrG*) 可作为 16S rRNA 基因的辅助工具用于 *L. plantarum* 及其近缘种和植物乳杆菌种内分型的快速分类鉴定。

关键词: 植物乳杆菌; 系统发育分析; 16S rRNA 基因

文章编号: 1673-9078(2017)1-100-105

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2017.1.106

Phylogenetic Analysis of *Lactobacillus plantarum* and Related Species Using Partial Housekeeping Genes

WURI La-ga¹, XU Hai-yan¹, SONG Yu-qin¹, FENG Shu-zhen¹, SUN Zhi-hong¹, SIQIN Ba-te-er², BAO Ying-shu², ZHANG He-ping¹, MENGHE Bi-li-ge¹

(1. Key Laboratory of Dairy Biotechnology and Engineering, Ministry of Education, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China) (2. Mongolian Medicine Research Institute, Xilin Gol 026000, China)

Abstract: Phylogenetic trees of *L. plantarum* strains were constructed to explore the usage of the 16S rRNA gene, *pheS* and *pyrG* gene sequences for distinguishing *Lactobacillus plantarum* from its related species. The phylogenetic trees of ten *L. plantarum* strains isolated from sourdough, yoghurt, and pickles were constructed using partial sequences of housekeeping genes, *pheS* and *pyrG*, as molecular markers. These trees were compared with other phylogenetic trees constructed using the 16S rRNA gene sequence of *L. plantarum* combined with the corresponding gene sequences of closely related strains already published in GenBank. The results showed that *L. plantarum* and its related species could be distinguished by analyzing the 16S rRNA gene sequence; however, *pheS* and *pyrG* sequences could be used for this classification. Additionally, it was found that sequential use of *pheS* and *pyrG* could clearly distinguish strains from reference strains. Thus, a combination of genes (*pheS-pyrG*) could be used as an auxiliary tool along with 16S rRNA gene analysis for rapid classification and identification of *L. plantarum* and related species.

Key words: *Lactobacillus plantarum*; phylogenetic analysis; 16S rRNA gene; *pheS*; *pyrG*

植物乳杆菌(*L. plantarum*)属于乳杆菌科, 乳杆菌属, 革兰氏阳性, 兼性厌氧菌, 且不产芽孢, 属于同型

收稿日期: 2015-12-10

基金项目: 内蒙古科技重大专项(20140125); 中国农业研究体系(CARS-37)

作者简介: 乌日拉嘎(1992-), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 食品微生物

通讯作者: 孟和毕力格(1965-), 男, 博士, 教授, 研究方向: 乳品微生物与生物技术

发酵乳酸菌^[1], 是一种常分离于蔬菜、肉类、奶制品和胃肠道等生态环境中的微生物^[2]。植物乳杆菌种目目前包含 5 个近缘种: *L. fabifermentans*、*L. paraplantarum*、*L. pentosus*、*L. plantarum* subsp. *Argentoratensis* 和 *L. plantarum* subsp. *plantarum*, 其中具有益生特性的 *L. plantarum* 和 *L. pentosus* 的基因组序列同源性较高, 相似性大于 99%, 而植物乳杆菌作为益生菌被广泛应用于生产应用和研究中, 因此, 准

确区分和鉴别植物乳杆菌种及其近缘种是非常必要的[3]。

植物乳杆菌与人类的生活关系密切,在食品方面:植物乳杆菌作为发酵剂广泛应用于蔬菜^[4]、肉^[5]和奶制品等发酵食品中^[6,7],同时植物乳杆菌是对宿主健康有着重要作用的益生菌^[8]。郭建林^[9]等人研究发现,在酸乳中添加 3.00×10^6 cfu/g的益生菌 *L. plantarum* P-8,能够有效控制霉菌和酵母菌对酸乳的污染,起到延长酸乳保质期的作用;Lee等^[10]用分离自泡菜中的 *L. plantarum* LHB55 菌株发酵酸奶进行研究,发现该酸奶具有较好的抑菌功效。因此,植物乳杆菌可作为生物防腐剂而被广泛应用到食品工业中。在医疗方面:植物乳杆菌也具有增强免疫力、拮抗致病菌和降低胆固醇等作用。Yoshitaka^[11]等人对健康人群服用 *L. plantarum* LP20 (含有20%的HK-LP和80%的糊精)研究分析发现,健康成人每天摄入 Heat-Killed *L. plantarum* L-137 (HK-LP)有助于增强免疫力;Maragkoudakisa等^[12]对乳制品中29株乳杆菌的益生特性进行体外研究,发现 *L. plantarum* ACA-DC146 菌株能抑制大肠杆菌和沙门氏菌对Caco-2细胞的黏附。植物乳杆菌在工业中的应用如此广泛,但作为细菌分类鉴定的“黄金标准”16S rRNA 基因分子标记由于分辨率的局限,不足以对近缘种种间进行分类鉴定^[13,14],因此,为植物乳杆菌提供快速准确的分类方法显得尤为重要。近几年,研究表明看家基因作为一些重要蛋白的编码基因,进化速率快且分辨能力强而准确,特别适用于近缘菌种之间的区别和鉴定^[15]。

本研究利用16S rRNA 基因序列结合看家基因 *pheS* (phenylalanyl-tRNA synthetase subunit alpha) 和 *pyrG* (CTP synthetase) 的部分基因序列对分离自酸面团、酸牛奶和泡菜的10株植物乳杆菌的系统发育关系进行全面阐述,从分子和基因水平来认识植物乳杆菌的遗传结构组成和分类,从而充实多相分类鉴定,以使分类学定位更准确无误,为植物乳杆菌在工业上的应用提供快速准确的鉴定方法。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 试验菌株

本研究所用10株植物乳杆菌均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提供,试验菌株的16S rRNA 基因、*pheS* 和 *pyrG* 基因序列登录号见表1。

1.1.2 主要试剂和仪器

Applied biosystems PCR 仪;ND-1000 型微量紫外分光光度计;ML-30L 型全自动高压蒸汽灭菌器;HH-SI-NI 恒温水浴锅;CDS8000 型 UPV 凝胶成像分析系统;DHP-9272 型电热恒温培养箱;HZS-H 水浴振荡器;PL303/01 电子天平;Eppendorf 5810R 高速冷冻离心机;DG82 型干燥箱;DYY-12 电泳仪等。

表1 试验菌株的16S rRNA、*pheS*和*pyrG*基因序列号

Table 1 Strains and accession number of the 16S rRNA gene, *pheS*, and *pyrG*

Strains	16S rRNA	<i>pheS</i>	<i>pyrG</i>
IMAU10246	GU138574	KU234147	KU234157
IMAU10722	HM218444	KU234148	KU234158
IMAU80031	GU125453	KU234149	KU234159
IMAU80033	GU125455	KU234150	KU234160
IMAU80053	GU125475	KU234151	KU234161
IMAU80063	GU125485	KU234152	KU234162
IMAU80093	GU125515	KU234153	KU234163
IMAU80107	GU125529	KU234154	KU234164
IMAU80117	GU125539	KU234155	KU234165
IMAU80183	GU125603	KU234156	KU234166

1.1.3 试验所用引物

通过比较基因组学分析,选择 *pheS* 和 *pyrG* 两个单拷贝且含有多变区的基因为目标序列,结合序列比对信息,采用 Primer 5.0 设计通用引物并由上海美吉生物医药科技有限公司合成,引物信息见表2。

表2 PCR 扩增引物

Table 2 Primers used in PCR

Gene	Primer	Sequence(5'-3')	Size/bp
<i>pheS</i>	p-F	CCGTGAAGAAGCTGGAACA	18
	p-R	CCTAACCCAAAGGCAAAA	18
<i>pyrG</i>	p-F	AGTGATTAGGTTCCGACAA	20
	p-R	TGCATTCCCAAGCAGATA	18

1.2 DNA 提取、PCR 扩增和测序

菌株 DNA 提取采用 CTAB-液氮冻融法^[16]。将提取的基因组 DNA 稀释到 100 ng/ μ L 作为 PCR 扩增模板,反应体系 50 μ L。其中 *pheS* 基因的扩增条件为:95 $^{\circ}$ C 预变性 5 min;95 $^{\circ}$ C 变性 1 min,52 $^{\circ}$ C 退火 45 s,72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min,30 个循环;72 $^{\circ}$ C 末端延伸 10 min。*pyrG* 基因扩增条件的除了退火温度为 56 $^{\circ}$ C,其余反应条件均与 *pheS* 一致。PCR 产物用 1.2% 的琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物质量,并将扩增成功的产物送上海美吉生物医药科技有限公司测序。

1.3 序列分析与系统发育树的构建

10 株试验菌株的 *pheS* 和 *pyrG* 基因扩增产物经纯化、测序获得其核苷酸序列。然后从 GenBank 数据库下载试验菌株、参考菌株的 16S rRNA 基因序列, 以及参考菌株的 *pheS* 和 *pyrG* 基因序列 (序列登录号

见表 3), 采用 Mega 6.0 软件进行 Clustal W 比对, 运用邻接法 (Neighbour-joining, N-J) 分别构建试验菌株、参考菌株的 16S rRNA 基因和 *pheS*、*pyrG* 部分基因序列的系统发育树, 数据自展重复抽样次数 1000 次。

表 3 参考菌株及基因序列

Table 3 Strains and GenBank accession numbers of reference strains

strains	Genbank access number	preservation number
<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ATCC 14917 ^T	ACGZ00000000	ATCC14917
<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> ST-III	CP002222	CGMCC0847
<i>L. plantarum</i> 16	CP006033	NCIMB41875
<i>L. plantarum</i> subsp. <i>plantarum</i> P-8	CP005942	CGMCC6312
<i>L. plantarum</i> ZJ316	CP004082	CGMCC1.2167
<i>L. plantarum</i> JDM1	CP001617	CGMCC1.2986
<i>L. plantarum</i> WCFS1	AL935263	NCIMB8826
<i>L. pentosus</i> DSM20314 ^T	AZCU01000001	DSM20314

注: 带“T”的为模式菌株。

2 结果与讨论

2.1 基于 16S rRNA 基因的系统发育分析

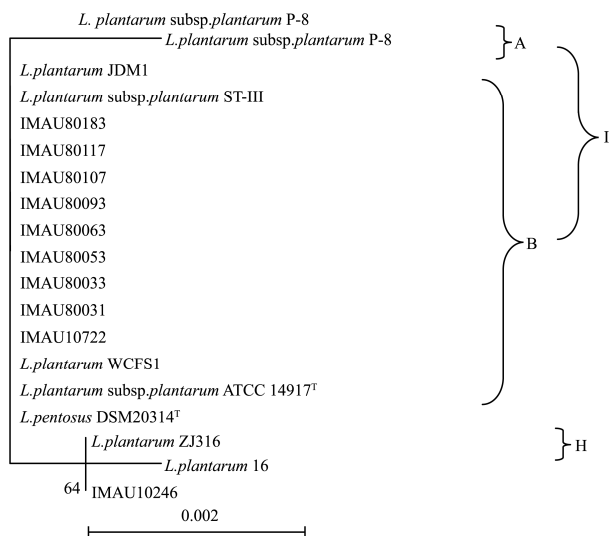


图 1 10 株试验菌株与参考菌株的 16S rRNA 基因系统发育树

Fig.1 Phylogenetic tree constructed using 16S rRNA gene sequences of ten strains and references

注: 系统发育树分支点上的数值表示 1000 次重复抽样得到的置信度; 标尺长度表明每个位点发生 0.002 次置换。

10 株试验菌株和 8 株参考菌株的 16S rRNA 基因序列下载自 GenBank 核酸序列数据库。通过多重序列比对, 获得比对整齐的序列文件, 并构建系统发育树。结果如图 1 所示, 共划分为两个大类 (I 和 II), I 类群分成 2 个亚群 (A 和 B)。其中, I 类 B 亚群即 9 株试验菌株与 *L. plantarum* JDM1、*L. plantarum* subsp. *plantarum* ST-III、*L. plantarum* WCFS1、*L. plantarum*

subsp. *plantarum* ATCC 14917^T 和 *L. pentosus* DSM20314^T 聚为一类, 它们的 16S rRNA 基因相似性为 100%; I 类群中两个分支 A 亚群 *L. plantarum* subsp. *plantarum* P-8 菌株与 B 亚群菌株两两之间的平均相似性为 99.9%; II 类群即试验菌株 IMAU10246 与 2 株参考菌株 *L. plantarum* ZJ316 和 *L. plantarum* 16 聚为一类, 三株菌 16S rRNA 基因序列相似性大于 99.9%。另外, I 类群即 *L. plantarum* 与 *L. pentosus* 的 16S rRNA 基因序列相似性差异较小, 仅为 0.01%, 这与 Parente^[17] Bruyne^[18] 等人的研究结论一样, 即植物乳杆菌种与近缘种 *L. pentosus* 的 16S rRNA 基因序列相似性大于 99%, 二者不能被有效区分, 本研究的结果也印证了这一结论。表明 16S rRNA 基因在植物乳杆菌种间的进化速率较低, 当对植物乳杆菌种及其近缘种之间进行区别时, 需要选用一种较 16S rRNA 分辨率高的方法及手段。

2.2 基于 *pheS*、*pyrG* 和 *pheS-pyrG* 基因部分序列的系统发育分析

基于 *pheS* 部分基因序列构建的系统发育树中, 10 株试验菌株与 8 株参考菌株构建的系统发育树仍形成较为稳定的两个大类 (I 和 II), I 类群分成 2 个亚群 (A 和 B), 但相似性与 16S rRNA 基因不同。如图 2a 所示, I 类群中, 9 株试验菌株与 7 株参考菌株聚为一类 (A 亚群), A 亚群又分为 3 个小的分支, 其中试验菌株 IMAU80093 与参考菌株 *L. plantarum* subsp. *plantarum* ST-III 为一个分支, 8 株试验菌株与 4 株参考菌株 *L. plantarum* ZJ316、*L. plantarum* JDM1、*L.*

plantarum WCFS1 和 *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917^T 聚为一个分支, 剩下的 2 株参考菌株 *L. plantarum* subsp. *plantarum* P-8 与 *L. plantarum* 16 为一个分支, 其与 B 亚群 IMAU10246 菌株基因序列两两之间的平均相似性为 89.55%; I 类与 II 类 *L. pentosus* DSM20314^T 菌种基因序列之间的平均相似性为 80.28%; *pheS* 基因分辨率高于 16S rRNA 基因, 这与 Naser^[19]等人研究的植物乳杆菌种 *L. plantarum*、*L. paraplantarum*、*L. pentosus* 的 16S rRNA 基因序列相似性大于 99%, 而看家基因 *pheS* 相似性为 90%的结果一致, 其 *pheS* 基因能更好的区分植物乳杆菌种及其近缘种。这表明相较于 16S rRNA 基因序列利用 *pheS* 基因能更好的将植物乳杆菌不同的菌株间进行区分, 进而可以分析植物乳杆菌株间的亲缘关系。Liu^[20]等人对干酪乳杆菌群(*Lactobacillus casei* group)内 5 个种和 4 个亚种的 23 个代表菌株的苯丙氨酰-tRNA 合成酶 α 亚基基因(*pheS*)序列和 18 个 16S rRNA 基因序列进行系统发育学分析, 结果表明, *pheS* 基因序列群内种间的差异率 6.8%~34%之间, 种内最大差异率可达 3%, 其变异率远高于 16S rRNA 基因, 具有更高的分辨率一致, 因此, 看家基因能够较好的区分和鉴定近缘种之间的关系。

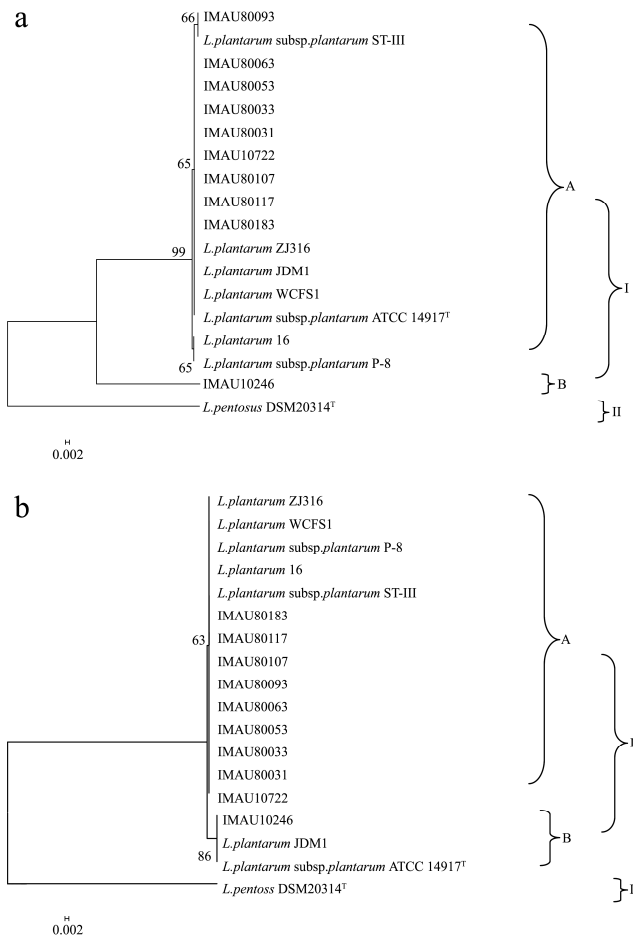


图 2 10 株试验菌株与参考菌株的基因系统发育树
Fig.2 Phylogenetic tree constructed sequences of ten strains and references

注: a, *pheS*; b, *pyrG*; c, *pheS-pyrG*。系统发育树分支点上的数值表示 1000 次重复抽样所得到的置信度; 标尺长度表明每个位点发生 0.002 次置换。

基于 *pyrG* 部分基因序列构建的系统发育树如图 2b 所示, 通过图可以看出 10 株试验菌株与 8 株参考菌株仍可形成两个大类 (I 和 II), I 类群分成 2 个亚群 (A 和 B), I 类 A 亚群即 9 株试验菌株与 5 株参考菌株 *L. plantarum* ZJ316、*L. plantarum* WCFS1、*L. plantarum* subsp. *plantarum* P-8、*L. plantarum* 16 和 *L. plantarum* subsp. *plantarum* ST-III 聚为一类, 它们基因序列两两之间的相似性为 100%; A 亚群与 B 亚群 IMAU10246、*L. plantarum* JDM1、*L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917^T 3 株菌之间平均相似性为 99.5%; I 类 (A 和 B 亚群) 植物乳杆菌株与 II 类 *L. pentosus* DSM20314^T 菌株两两之间基因序列的平均相似性为 83.35%, *pyrG* 基因区分植物乳杆菌种及近缘种的分辨率高于 16S rRNA 基因; 然而, 相对于 *pheS* 基因而言, *pyrG* 基因不能把部分参考菌株区分开来, 菌种间内分型能力较低, 但菌种间相似性差异大于 16S rRNA 基因。

基于 *pheS-pyrG* 联合基因序列构建的系统发育树如图 2c 所示, 通过图可以看出 10 株试验菌株与 8 株参考菌株构建的系统发育树也形成两个大类 (I、II), I 类群分成 2 个亚群 (A、B), 其 I 类 A 亚群可分为 4 个小的分支, 其中试验菌株 IMAU80093 与参考菌株 *L. plantarum* subsp. *plantarum* ST-III 为一个分支, 8 株试验菌株与 2 株参考菌株 *L. plantarum* ZJ316 和 *L. plantarum* WCFS1 聚为一个分支, *L. plantarum* subsp. *plantarum* P-8 与 *L. plantarum* 16 为一个分支, 剩下的 2 株参考菌株 *L. plantarum* subsp. *plantarum* ATCC 14917^T 与 *L. plantarum* JDM1 为一个分支, 其与 B 亚

群的 IMAU10246 菌株两两之间基因序列的平均相似性为 94.11%，表明植物乳杆菌菌株间分型较好，I 类植物乳杆菌种与 II 类的 *L. pentosus* DSM20314^T 菌株间的平均相似性为 81.65%，比 16S rRNA 基因序列能更好的区分 *L. plantarum* 及其近缘种。因此，相对于单一的 *pheS* 和 *pyrG* 基因，联合基因 (*pheS-pyrG*) 发育树更能明晰分析植物乳杆菌种与近缘种 *L. pentosus* DSM20314^T 和植物乳杆菌种间的亲缘关系。吕婧^[13] 等人利用 16S rRNA 基因以及 *dnaA*、*murC* 和 *pyrG* 看家基因序列相结合的方式对肠膜明串珠菌及其近缘种之间的系统发育关系进行了区分，结果表明：看家基因相较于 16S rRNA 基因具有更高的分辨率，在近缘种的系统发育关系的研究中更具有优势。因此，这些

结果表明看家基因 *pheS* 和 *pyrG* 可以作为辅助工具区分植物乳杆菌种间分型及其近缘种的亲缘关系。

另对构建系统发育树的 10 株试验菌株以及参考菌株的两个看家基因及 16S rRNA 基因序列进行多态性分析 (表 4)，结果表明，2 个看家基因的多位点比率都比 16S rRNA 基因高，*pheS* 基因的多态位点比率最高，为 21.31%，将两个看家基因串联，其多态位点比率达到 18.53%，远高于 16S rRNA 基因的多态位点比率。遗传距离可以反映同属不同种之间基因差别的程度，各看家基因的遗传距离也大于 16S rRNA，表明看家基因相较于 16S rRNA 基因在区分植物乳杆菌和近缘种及其种间和种内分型时有着更高的分辨率。

表 4 植物乳杆菌 16S rRNA 基因及看家基因多态性分析

Table 4 Analysis of polymorphisms in the 16S rRNA and housekeeping genes of *L. plantarum* and related strains

基因名	比对后片段长度/bp	保守位点	多态位点	多态位点比率/%	遗传距离	遗传距离平均值
<i>pheS</i>	535	421/535	114/535	21.31	0.0000~0.1997	0.0336
<i>pyrG</i>	415	353/415	62/415	14.94	0.0000~0.1691	0.0198
联合 Genes	950	774/950	176/950	18.53	0.0000~0.1861	0.0273
16S rRNA	1435	1431/1435	4/1435	0.28	0.0000~0.0028	0.0004

注：各基因比对后的片段长度由 mega 6.0 直接得出，保守位点以及多态位点的数目由 DNAsp5 计算得出，遗传距离由与遗传距离平均值由 mega 6.0 的 distance 计算得出。

3 结论

本研究通过比较 16S rRNA 基因，*pheS* 和 *pyrG* 基因构建的系统发育树，发现两个看家基因与 16S rRNA 基因的系统发育树表现出了较高的一致性，但基于 16S rRNA 基因序列不能区分 *L. plantarum* 及其近缘种，而看家基因 *pheS* 和 *pyrG* 基因序列都能够很好的区分植物乳杆菌种及其近缘种，其中，*pheS* 基因在植物乳杆菌种内分型上表现出优于比 *pyrG* 基因的能力，联合 *pheS* 和 *pyrG* 基因在种水平的区分能力也高于 *pheS* 基因 (图 2)，关系更加明晰，因此，联合基因 (*pheS-pyrG*) 可作为 16S rRNA 基因的辅助工具用于 *L. plantarum* 及其近缘种和植物乳杆菌种间内分型的快速分类鉴定。

参考文献

- [1] 王水泉,包艳,董喜梅,等.植物乳杆菌的生理功能及应用[J].中国农业科技导报,2010,12(4):49-55
WANG Shui-quan, BAO Yan, DONG Xi-mei, et al. Physiological function and application of *Lactobacillus plantarum* [J]. China's Agricultural Science and Technology Review, 2010, 12(4): 49-55
- [2] Siezen R J, Tzeneva V A, Anna C, et al. Phenotypic and

genomic diversity of *Lactobacillus plantarum* strains isolated from various environmental niches [J]. Environmental Microbiology, 2010, 12(3): 758-773

- [3] Huang C H, Lee F L, Liou J S. Rapid discrimination and classification of the *Lactobacillus plantarum* group based on a partial *dnaK* sequence and DNA fingerprinting techniques [J]. Antonie Van Leeuwenhoek, 2010, 97(3): 289-296
- [4] Wouters D, Grosu-Tudor S, Zamfir M, et al. Applicability of *Lactobacillus plantarum* IMDO 788 as a starter culture to control vegetable fermentations [J]. Journal of the Science of Food & Agriculture, 2013, 93(13): 3352-3361
- [5] Hong-xing Z, Li L, Yan-ling H, et al. Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BM-1 isolated from a traditionally fermented Chinese meat product [J]. Microbiology & Immunology, 2013, 57(11): 746-755
- [6] Zago M, Lanza B, Rossetti L, et al. Selection of *Lactobacillus plantarum* strains to use as starters in fermented table olives: oleuropeinase activity and phage sensitivity [J]. Food Microbiology, 2013, 34(1): 81-87
- [7] Tohno M, Kobayashi H, Tajima K, et al. Strain-dependent effects of inoculation of *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum* on fermentation quality of paddy rice (*Oryza*

- sativa* L. subsp. japonica) silage [J]. Fems Microbiology Letters, 2012, 337(2): 112-119
- [8] Vries M C D, Vaughan E E, Kleerebezem M, et al. *Lactobacillus plantarum*-survival, functional and potential probiotic properties in the human intestinal tract [J]. International Dairy Journal, 2006, 16(9): 1018-1028
- [9] 郭建林,高鹏飞,姚国强,等.益生菌 *Lactobacillus plantarum* P-8 在酸乳保鲜中的应用研究[J].食品科技,2013,10(10): 2-6
- GUO Jian-lin, GAO Peng-fei, YAO Guo-qiang, et al. Application of probiotic *Lactobacillus plantarum* P-8 in Yoghurt as preservative cultures [J]. Journal of Food Science and Technology, 2013, 10(10): 2-6
- [10] Lee S G, Lee Y J, Kim M K, et al. A study on the yogurt manufacture suitability and antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* LHB55 isolated from kimchi [J]. Journal of Animal Science and Technology, 2010, 52(2): 141-148
- [11] Yoshitaka H, Shinji M, Yoshihiro Y, et al. Daily intake of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 augments acquired immunity in healthy adults [J]. Journal of Nutrition, 2006, 136(12): 3069-3073
- [12] Maragkoudakisa P A, Zoumpoulou G, Miarisa C, et al. Probiotic potential of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products [J]. International Dairy Journal, 2006, 16(3): 189-199
- [13] 吕婧,陈明,徐海燕,等.柠檬明串珠菌及相近种部分持家基因的系统发育分析[J].微生物学报,2013,53(7):669-676
- LV Qiang, CHEN Ming, XU Hai-yan, et al. Phylogenetic analysis of closely related *Leuconostoc citreum* species based on partial housekeeping genes [J]. Acta Microbiologica Sinica, 2013, 53(7): 669-676
- [14] 张文羿,吕婧,徐海燕,等.粪肠、尿肠球菌及相近种部分持家基因的系统发育分析[J].微生物学通报,2014,41(2):297-303
- ZHANG Wen-yi, LV Qiang, XU Hai-yan, et al. Phylogenetic analysis of closely related *Enterococcus Faecalis*, *Enterococcus Faecium* species based on partial housekeeping genes [J]. Journal of Microbiology, 2014, 41(2): 297-303
- [15] 陈伟峰,洪舒音,赵秀玲.蛋白编码基因在细菌分类学中的应用[J].生物技术通报,2012,5:42-48
- CHEN Wei-feng, HONG Shu-yin, ZHAO Xiu-ling, et al. Application of protein-coding genes in bacterial taxonomy [J]. Journal of Biotechnology, 2012, 5: 42-48
- [16] 乌日娜,张和平,孟和毕力格.酸马奶中乳杆菌 *Lb.casei*. Zhang 和 ZL12-1 的 16S rDNA 基因序列及聚类分析[J].中国乳品工业,2005,33(6):4-9
- WU Ri-na, ZHANG He-ping, MENGHE Bi-li ge. 16S rDNA sequence and cluster analysis of *Lb. casei*. Zhang and ZL12-1 isolated from koumiss [J]. China Dairy Industry, 2005, 33(6): 4-9
- [17] Parente E, Ciocia F, Ricciardi A, et al. Diversity of stress tolerance in *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus* and *lactobacillus paraplantarum*: A multivariate screening study [J]. International Journal of Food Microbiology, 2010, 144(2): 270-279
- [18] Bruyne K D, Camu N, Vuyst L D, et al. *Lactobacillus fabifermentans* sp. nov. and *Lactobacillus cacaonum* sp. nov., isolated from Ghanaian cocoa fermentations [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2009, 59(Pt1): 7-12
- [19] Naser S M, Dawyndt P B, Gevers D, et al. Identification of *Lactobacilli* by pheS and rpoA gene sequence analyses [J]. International Journal of Systematic & Evolutionary Microbiology, 2007, 57(6): 2777-2789
- [20] Liu G Q, Liu Y, Li H, et al. Species identification of the *Lactobacillus casei* group by pheS gene sequences analysis [J]. Food & Fermentation Industries, 2011, 37(9): 94-97

(上接第 92 页)

- [16] 綦国红.食源假单胞菌群体感应信号分子的产生及其对食品腐败的影响[D].南京:南京农业大学,2006
- QI Guo-Hong. Production of quorum sensing signal molecules and effect on food spoilage in *Pseudomonas* isolated from food [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2006