

2株鱼源乳酸菌的生物学特性研究

杨红玲¹,孙云章^{1,2},叶继丹^{1,2},常建波^{1,2},陈政强¹,林文燕¹

(1 集美大学 水产学院 福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室,福建 厦门 361021;

2 集美大学 水产学院 厦门市饲料检测与安全评价重点实验室,福建 厦门 361021)

【摘要】 【目的】研究2株鱼源乳酸菌的生物学特性,为石斑鱼高效益生菌株的筛选提供试验依据。【方法】体外检测乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 产乳酸及超氧化物歧化酶(SOD)的能力,以及2菌株对不同 pH 值、胆盐、胃蛋白酶和高温的耐受能力。【结果】菌株 EA-1 和 Y4-2 均具有较强的产乳酸能力,培养液中的乳酸含量在 96 h 内随培养时间延长呈上升趋势,EA-1 产乳酸速度相对较快。菌株 EA-1 和 Y4-2 均能在培养 24 h 后产生活性稳定的 SOD,培养 48 h 后 EA-1 产生的 SOD 活性显著高于 Y4-2 ($P<0.05$)。菌株 EA-1 和 Y4-2 经 pH 2.5~4.5 处理 4 h 后存活数维持在 10^6 mL⁻¹ 以上,菌株 Y4-2 对 pH 1.5 低酸环境的耐受能力强于 EA-1。2 菌株在 1 g/L 胆盐质量浓度下存活数均较高;胆盐质量浓度达到 2 g/L 时,EA-1 和 Y4-2 的存活数可维持在 10^5 mL⁻¹ 以上,提示 2 菌株对 ≤ 2 g/L 的胆盐具有一定的耐受性。经 4~10 g/L 的蛋白酶处理 30 min 后,EA-1 和 Y4-2 的存活数均维持在 10^6 mL⁻¹ 以上。经 60 °C 处理 30 min 后 EA-1 和 Y4-2 的存活数均维持在 10^6 mL⁻¹ 以上, Y4-2 对 80 °C 高温的耐受能力较 EA-1 强,说明 EA-1 和 Y4-2 具有一定的热耐受性。【结论】EA-1 和 Y4-2 产乳酸和 SOD 能力均较强,且对低 pH 值、高胆盐、胃蛋白酶和高温具有一定的耐受能力。

【关键词】 乳酸菌;乳酸;石斑鱼;SOD;耐受

【中图分类号】 R378.992

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-9387(2008)08-0025-06

Biological characteristics of two lactic acid bacteria from orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) larvae

YANG Hong-ling¹, SUN Yun-zhang^{1,2}, YE Ji-dang^{1,2}, CHANG Jian-bo^{1,2},
CHEN Zheng-qiang¹, LIN Wen-yan¹

(1 The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College, Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China; 2 Xiamen Key Laboratory of Feed Detection and Safety Evaluation, Fisheries College,

Jimei University, Xiamen, Fujian 361021, China)

Abstract: 【Objective】 Biological characters of 2 strains of lactic acid bacteria were studied to provide theoretic support in good probiotics strain selection for grouper. 【Method】 Lactic acid and SOD production by lactic acid bacteria strains EA-1 and Y4-2 from Orange-spotted Grouper (*Epinephelus coioides*) larvae, and the tolerance of the two strains to low pH, bile salt, protease and heat were studied. 【Result】 EA-1 and Y4-2 exhibited good lactic acid and SOD producing capability. Lactic acid concentration in two cultures increased as incubation proceeded, EA-1 produced lactic acid more rapidly. EA-1 and Y4-2 produced stable amount of SOD after 24 h of incubation, and the amount of SOD produced by EA-1 was significantly higher than Y4-2 after 48 h of incubation ($P<0.05$). The survival counts of Y4-2 and EA-1 were above 10^6 mL⁻¹

* 【收稿日期】 2007-09-12

【基金项目】 国家自然科学基金项目(30600461);集美大学科研基金项目(C60616)

【作者简介】 杨红玲(1976—),女,湖北石首人,助教,主要从事水产微生物研究。

【通讯作者】 孙云章(1976—),男,湖北石首人,讲师,博士,主要从事动物消化道微生物研究。E-mail: sunyunzhang@yahoo.com.cn

after 4 h of treatment at pH 2.5-4.5. Y4-2 was more tolerant to low pH compared with EA-1. EA-1 and Y4-2 were able to survive well within 1 h incubating with 1 g/L bile salt. The survival counts of Y4-2 and EA-1 were above 10^5 mL⁻¹ incubating with 2 g/L bile salt, which indicated that Y4-2 and EA-1 could tolerate bile salt concentration under 2 g/L. Pepsin had negative effect on the survival of EA-1 and Y4-2 strains, the survival counts of Y4-2 and EA-1 were above 10^6 mL⁻¹ after 30 min of treatment with 4-10 g/L Pepsin. The survival counts of Y4-2 and EA-1 were above 10^6 mL⁻¹ after 30 min of treatment at 60 ℃, Y4-2 was relatively more tolerant to high temperature than that of EA-1. **【Conclusion】** EA-1 and Y4-2 exhibited good lactic acid and SOD producing capability and showed good tolerance to low pH, bile salt, protease and heat.

Key words: lactic acid bacteria; lactic acid; grouper; SOD; tolerance

石斑鱼是近年来人工育苗成功的一种名贵海水养殖鱼种,在我国东南沿海已有较大规模的养殖。在石斑鱼的人工养殖过程中,引起高死亡率的各种细菌性疾病是影响生产的棘手问题^[1-2]。目前,生产中多使用各种抗菌药物来预防和治疗鱼类的细菌性疾病,但抗菌药物的大量使用带来的药物残留和出现耐药菌株等问题,已引起了学术界和消费者的高度关注。为此,国内外科学家都致力于各种抗菌药物替代品的研究,其中绿色环保鱼用益生菌的研发已成为国际上的研究热点。但是,鱼用益生菌的作用效果并不稳定,其中一个很重要的原因可能是益生菌的选择不当,目前许多鱼用益生菌株并非分离自鱼类消化道,而是来自于环境或恒温动物。这些益生菌往往因为不能在鱼类消化道定植或定植的时间太短,难以发挥其益生作用。因此,理想的益生菌株最好来自动物自身胃肠道^[3-4]。水产养殖中益生菌制剂可以通过养殖水体或饵料投喂进入鱼类胃肠道,益生菌株必须能耐受鱼胃肠道环境的影响(如胆盐、酸性环境、胃蛋白酶等的影响),方可在鱼胃肠道内大量存活,发挥其益生作用^[5-6]。EA-1 和 Y4-2 菌株是笔者从斜带石斑鱼体内分离筛选到的抑菌能力较强的乳酸菌,为了深入了解这 2 株菌的生物学特性,本试验对其产乳酸和超氧化物歧化酶(SOD)的能力及对低酸、高胆汁酸盐、胃蛋白酶、高温的耐受能力进行了研究,现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌株 乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 由集美大学福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室保存,分离自斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)仔鱼体内。

1.1.2 试剂 胃蛋白酶购自 Sigma 公司;猪胆盐

购自国药集团化学试剂有限公司。

1.2 乳酸含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定

将 EA-1 和 Y4-2 分别在 MRS 液体培养基中培养 24 h 活化,活化的乳酸菌培养液按体积分数 5% 接种到 MRS 液体培养基中,每个菌株设 3 个重复,28 ℃静置培养。分别于培养的 0,24,48,72,96 和 120 h 取培养液样品,按照南京建成生物工程研究所提供的测定试剂盒说明书测定乳酸含量和超氧化物歧化酶(SOD)活性。SOD 活性单位定义为:每 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个活性单位(U)。

1.3 pH 值对乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

用 1 mol/L HCl 调节 MRS 液体培养基 pH 值分别为 1.5,2.5,3.5 和 4.5,以未经调节的 MRS 液体培养基(pH 值 6.6)为对照。将 EA-1 或 Y4-2 活化菌种接种至各处理培养基,接种量为体积分数 5%,28 ℃静置培养。4 h 后取上述各处理培养菌液,用 30 g/L NaCl 无菌液梯度稀释。取 $10^{-4} \sim 10^{-7}$ 稀释度菌液 0.2 mL 进行平板计数^[7],每个梯度做 2 个重复。本研究平板计数试验中均用 MRS 固体培养基,28 ℃常规培养。

1.4 胆盐对乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

试验设 4 个不同胆盐处理组(1,2,3 和 4 g/L),以不加胆盐(0 g/L)的培养基(pH 值 6.6)为对照组,各处理组培养基均用 1 mol/L 的 NaOH 和 HCl 溶液调节 pH 与对照组相同。分别接种 EA-1 或 Y4-2 活化菌种于各处理组及对照组培养基中,接种量同 1.3 节。28 ℃条件下静置培养 1 h 后,取样进行平板菌落计数。

1.5 蛋白酶对乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

试验设 4 个不同质量浓度的胃蛋白酶处理(分别为 4,6,8 和 10 g/L),以不加蛋白酶(0 g/L)的培

培养基(pH 值 6.6)为对照,各处理组培养基均用 1 mol/L 的 NaOH 和 HCl 溶液调节 pH 值与对照组相同。向各处理组及对照组培养基中分别接种 EA-1 或 Y4-2 活化菌种,接种量同 1.3 节。28 ℃ 条件下静置培养 30 min,取样进行平板菌落计数。

1.6 温度对乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

将活化的乳酸菌菌液按体积分数 5% 接种于 MRS 液体培养基,取菌液分别于 28(对照),40,60 和 80 ℃ 处理 30 min,取样进行平板菌落计数。

1.7 数据处理

乳酸含量和 SOD 活性数据经 Microsoft Excel 初步整理后,利用 SPSS11.5 单因子方差分析中的 Duncan 法进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 乳酸含量及 SOD 活性随培养时间的变化

由图 1 可见,菌株 EA-1 和 Y4-2 培养液中的乳酸含量在 96 h 内随培养时间的延长呈上升趋势;培养 72 h 后 2 株菌乳酸产量明显上升,但 EA-1 产乳酸速度较快,乳酸含量在 96 h 左右达到最大值,此后下降,这可能是由于随培养时间的延长,乳酸菌逐渐衰老,生长能力下降,此前产生的乳酸为乳酸菌本身代谢所利用,导致培养液中乳酸含量下降;培养后

期(96 和 120 h),EA-1 培养液中的乳酸含量显著高于 Y4-2($P<0.05$)。

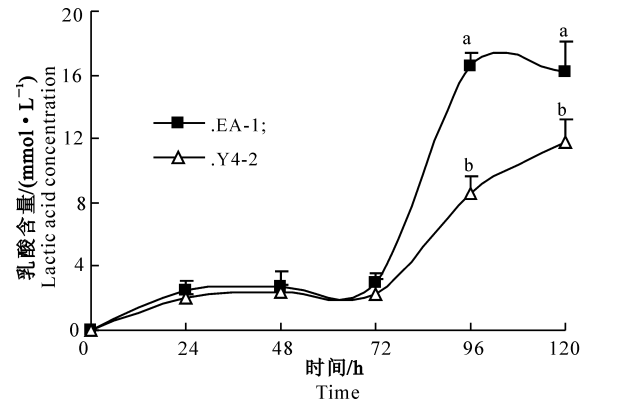


图 1 不同培养时间对乳酸菌乳酸含量的影响
同一时间点数据标注不同小写字母者表示差异显著 ($P<0.05$)

Fig.1 Variation of lactic acid concentration during different incubation time
Values in the same time with different small letters differ significantly ($P<0.05$)

由表 1 可知,在整个培养过程中,EA-1 和 Y4-2 各自产生的 SOD 活性比较稳定,差异不显著;培养 24 h 时,EA-1 与 Y4-2 菌株的 SOD 活性差异不显著,培养 48 h 后(包括 48 h),EA-1 培养液中的 SOD 活性显著高于 Y4-2 ($P<0.05$)。

表 1 不同培养时间对乳酸菌 SOD 活性的影响					
Table 1 SOD activity of lactic acid bacteria at different incubation time					U/mL
乳酸菌株 Lactic acid bacterium	24 h	48 h	72 h	96 h	120 h
EA-1	22.74±0.82	22.30±2.15 a	24.30±0.12 a	25.43±0.26 a	22.78±0.35 a
Y4-2	20.82±3.00	17.33±2.12 b	21.33±1.72 b	20.18±0.09 b	22.10±0.06 b

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著($P<0.05$)。
Note: values in the same column with different small letters differ significantly ($P<0.05$).

2.2 pH 值对 EA-1、Y4-2 存活的影响

由表 2 可知,EA-1 在 pH 为 1.5 时存活数低于 $5.0\times10^4\text{ mL}^{-1}$,说明 EA-1 对 pH 1.5 耐受性差;在 $\text{pH}\geq 2.5$ 时 EA-1 的存活数维持在 10^6 mL^{-1} 以上,

说明 EA-1 对 pH 2.5 以上酸性环境有一定耐受性;Y4-2 在 $\text{pH}\geq 1.5$ 时,存活数 $\geq 1.5\times10^7\text{ mL}^{-1}$,说明 Y4-2 对低酸环境具有较好的耐受性,其对低酸环境的耐受能力较 EA-1 强。

表 2 乳酸菌在不同 pH 值条件下的存活数					
Table 2 Survival counts of lactic acid bacteria under different pH					mL ⁻¹
乳酸菌株 Lactic acid bacterium	对照 Control	pH 4.5	pH 3.5	pH 2.5	pH 1.5
EA-1	1.0×10^9	2.5×10^7	4.5×10^6	2.5×10^6	$<5.0\times10^4$
Y4-2	5.0×10^8	1.0×10^8	2.0×10^7	1.6×10^7	1.5×10^7

2.3 胆盐质量浓度对 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

由表 3 可知,在胆盐质量浓度为 1 g/L 时,EA-1 和 Y4-2 的存活数均较高,分别为 $1.0\times10^7\text{ mL}^{-1}$ 和 $5.0\times10^6\text{ mL}^{-1}$,当胆盐质量浓度达到 2 g/L 时,

EA-1 和 Y4-2 的存活数量仍维持在 10^5 mL^{-1} 以上,提示 EA-1 和 Y4-2 对 $\leq 2\text{ g/L}$ 的胆盐具有一定的耐受性;当胆盐质量浓度 $\geq 3\text{ g/L}$ 时,2 株菌存活数均低于 $5.0\times10^4\text{ mL}^{-1}$ 。

表 3 乳酸菌在不同胆盐质量浓度条件下的存活数

Table 3 Survival counts of lactic acid bacteria under different bile concentrations					mL ⁻¹
乳酸菌株 Lactic acid bacterium	胆盐质量浓度/(g·L ⁻¹) Bile salt concentration				
	对照 Control	1	2	3	4
EA-1	2.0×10 ⁸	1.0×10 ⁷	5.0×10 ⁵	<5.0×10 ⁴	<5.0×10 ⁴
Y4-2	1.0×10 ⁸	5.0×10 ⁶	7.5×10 ⁵	<5.0×10 ⁴	<5.0×10 ⁴

2.4 胃蛋白酶对 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

由表 4 可知,胃蛋白酶对 EA-1 和 Y4-2 的存活有一定的影响,经 4~10 g/L 的胃蛋白酶处理 30 min 后,EA-1 和 Y4-2 的存活数均在 10⁶ mL⁻¹ 以上,说明 EA-1 和 Y4-2 对胃蛋白酶有一定的耐受性。

表 4 乳酸菌在不同胃蛋白酶质量浓度下的存活数

Table 4 Survival counts of lactic acid bacteria under different pepsin concentrations					mL ⁻¹
乳酸菌株 Lactic acid bacterium	胃蛋白酶质量浓度/(g·L ⁻¹) Pepsin concentration				
	对照 Control	4	6	8	10
EA-1	2.0×10 ⁸	1.3×10 ⁶	1.4×10 ⁶	1.4×10 ⁶	1.4×10 ⁶
Y4-2	1.0×10 ⁸	2.5×10 ⁶	2.5×10 ⁶	2.5×10 ⁶	2.5×10 ⁶

2.5 温度对 EA-1 和 Y4-2 存活的影响

由表 5 可知,EA-1 和 Y4-2 活菌数随着处理温度的升高而下降,40 ℃时 EA-1 和 Y4-2 的存活数均较高,分别为 1.9×10⁸ mL⁻¹ 和 5.0×10⁹ mL⁻¹;60 ℃时 EA-1 和 Y4-2 的存活数≥10⁶ mL⁻¹;80 ℃时,Y4-2 存活数维持在 5.0×10⁶ mL⁻¹,而 EA-1 存活数低于 5.0×10⁴ mL⁻¹,提示 Y4-2 对高温的耐受能力较 EA-1 强。

表 5 乳酸菌在不同温度下的存活数

Table 5 Survival of lactic acid bacteria under different temperatures		mL ⁻¹			
乳酸菌株 Lactic acid bacterium	对照 Control	40 ℃	60 ℃	80 ℃	
EA-1	5.0×10 ¹⁰	1.9×10 ⁸	1.0×10 ⁶	<5.0×10 ⁴	
Y4-2	6.0×10 ⁹	5.0×10 ⁹	5.0×10 ⁶	5.0×10 ⁶	

3 讨 论

3.1 乳酸菌产乳酸及 SOD 能力

乳酸菌能分泌各种抑菌物质抑制病原微生物增殖,其中乳酸是最常见的抑菌物质之一^[3,8]。乳酸菌在肠道大量繁殖,产生的乳酸可降低消化道 pH 值,从而抑制病原菌的生长和繁殖^[9]。本试验以 2 株抑菌能力较强的鱼源乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 为研究对象,测定了其培养液中乳酸含量,结果表明,2 株乳酸菌均具有较强的产乳酸能力,且培养液中的乳酸含量在 96 h 内随培养时间延长呈上升趋势,因此作者推测这 2 株乳酸菌可能具有良好的应用前景。

超氧化物歧化酶(SOD)是一种重要的抗氧化酶,可清除体内自由基,保护细胞免受损害,使细胞能正常合成各种酶类,对增强吞噬细胞活性和整个机体的免疫功能具有重要作用^[10]。当 SOD 活性降低时,生物体内自由基积累,导致生理功能失调,免疫水平下降,容易发生疾病^[11]。有研究表明,益生菌能刺激机体使 SOD 活性上升,从而增强机体非特异性免疫功能,但有关益生菌自身产生 SOD 的报道很少^[3,12]。本试验结果显示,EA-1 和 Y4-2 菌株均

能在培养 24 h 后产生一定量的 SOD,因此作者推测,EA-1 和 Y4-2 菌株可增强动物的免疫功能,提高动物的抗病力。

3.2 乳酸菌的环境耐受能力

水产养殖中,益生菌菌株进入鱼胃肠道后必须能耐受鱼胃肠道环境因素,如胃肠道酸性环境、胆盐、胃蛋白酶等的作用,方可在胃肠道内存活,发挥其益生作用^[5-6]。海水鱼胃内的 pH 值在 2.0~4.0,这种低 pH 值环境对乳酸菌有很大的抑制作用^[13]。本试验研究了乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 在 pH 值 1.5~4.5 低酸环境中的存活情况。结果表明,乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 经 pH 2.5~4.5 处理 4 h 后,存活数分别维持在 10⁶ mL⁻¹ 和 10⁷ mL⁻¹ 以上,表明大部分的 EA-1 和 Y4-2 菌株有望顺利通过鱼胃;经 pH 1.5 处理后,Y4-2 存活数量为 1.5×10⁷ mL⁻¹,而 EA-1 存活数低于 5.0×10⁴ mL⁻¹。因此,相对于 EA-1 菌株,Y4-2 菌株对低酸环境的耐受能力更强,通过鱼胃进入肠道的可能性更大。

除耐受胃内的低酸环境外,益生菌还需具备耐受小肠中胆盐等形成的高渗透压环境的能力,所以对胆盐的耐受性也是筛选益生菌的一个重要指标。

有研究表明,乳酸菌具有一定的胆盐耐受能力^[13-14]。本试验中,乳酸菌 Y4-2 和 EA-1 在 1 g/L 胆盐质量浓度条件下存活数均较高;当胆盐质量浓度达到 2 g/L 时,EA-1 和 Y4-2 的存活数仍维持在 10^5 mL^{-1} 以上,提示 EA-1 和 Y4-2 对 $\leq 2 \text{ g/L}$ 的胆盐具有一定的耐受性。虽然目前缺乏海水鱼肠道内胆盐质量浓度的数据,但鱼胆囊内胆盐含量在 $2 \sim 10 \text{ g/L}$ ^[15-16],进入肠道被稀释,肠道内胆盐质量浓度要远低于胆囊内胆盐含量。由此而知,EA-1 和 Y4-2 菌株能否耐受鱼肠道胆盐的影响,在鱼肠道内存活,尚需进一步研究。

益生菌除要能耐受低酸和高胆盐环境外,还必须能耐受胃肠道蛋白酶的降解。据报道,当 pH 值高于 2.5 时,含 10 g/L 胃蛋白酶的人工胃液对乳酸菌存活的影响很小^[17]。本试验结果表明,胃蛋白酶对乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 的存活有一定的影响,但经 $4 \sim 10 \text{ g/L}$ 的胃蛋白酶处理后,EA-1 和 Y4-2 的存活数均维持在 10^6 mL^{-1} 以上,说明 EA-1 和 Y4-2 菌株对胃蛋白酶的耐受能力较强。因此,Y4-2 和 EA-1 菌株有望能抵御胃蛋白酶的降解,在胃肠道中保持较高的存活率,发挥益生作用。

通过饵料投喂动物,益生菌须能耐受饵料加工时的高温。据报道,乳酸菌通常不能耐受高温,经 80°C 处理 $5 \sim 15 \text{ min}$ 后存活数低于 $1.0 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ ^[18]。本试验中,EA-1 和 Y4-2 菌株经 60°C 处理 30 min 后存活数 $\geq 10^6 \text{ mL}^{-1}$,经 80°C 处理 30 min 后,Y4-2 存活数维持在 $5.0 \times 10^6 \text{ mL}^{-1}$,而 EA-1 存活数低于 $5.0 \times 10^4 \text{ mL}^{-1}$ 。表明,EA-1 和 Y4-2 菌株均具有一定的热耐受性,Y4-2 对高温的耐受能力更强,有望耐受饲料加工过程中的高温。

本研究结果表明,鱼源乳酸菌 EA-1 和 Y4-2 产乳酸和 SOD 能力较强,且对低 pH 值、高胆盐、胃蛋白酶和高温具有一定的耐受能力,有望能在鱼胃肠道中存活并发挥其益生作用,有进一步研究开发的

[参考文献]

- [1] Diggles B K, Carson J, Hine P M, et al. *Vibrio* species associated with mortalities in hatchery-reared turbot (*Colistium nudipinnis*) and brill (*C. guntheri*) in New Zealand [J]. *Aquacult*, 2000, 183: 1-12.
- [2] 黄志坚,何建国. 鲢点石斑鱼细菌病原的分离鉴定和致病性 [J]. *中山大学学报*, 2002, 41(5): 64-67.
Huang Z J, He J G. Isolation, identification and pathogenicity of the bacterial pathogen in *Epinephelus fario* [J]. *Acta Scientia-*

- rum Naturalium Universitatis Sunyenesi*, 2002, 41(5): 64-67. (in Chinese)
- [3] Verschuere L, Ronboud G, Sorgeloos P, et al. Probiotic bacteria as biological control agents in aquaculture [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2000, 64(4): 655-671.
- [4] Ringo E, Olsen R E, Mayhew T. Electron microscopy of the intestinal microflora of fish [J]. *Aquacult*, 2003, 227: 395-415.
- [5] Irianto A, Audtin B. Probiotics in aquaculture [J]. *J Fish Dis*, 2002, 25: 633-642.
- [6] 邱宝生,林炜铁,杨继国,等. 益生菌在水产养殖中的应用 [J]. *水产科学*, 2004, 23(7): 39-41.
Qiu B S, Lin W T, Yang J G, et al. Application of probiotics in aquaculture [J]. *Fisheries Science*, 2004, 23(7): 39-41. (in Chinese)
- [7] 钱存柔,黄仪秀. 微生物学实验教程 [M]. 北京:北京大学出版社,1999:176-182.
Qian C R, Huang Y X. *Microbiology experiments* [M]. Beijing: Beijing University Press, 1999: 176-182. (in Chinese)
- [8] 吴惠芬,毛胜勇,姚文,等. 猪源乳酸菌产酸及其抑菌特性研究 [J]. *微生物学通报*, 2005, 32(1): 81-86.
Wu H F, Mao S Y, Yao W, et al. Lactic acid production and antagonistic effect of lactic acid bacteria from piglet intestine [J]. *Micro Biology*, 2005, 32(1): 81-86. (in Chinese)
- [9] Vazquez J A, Gonezalez M P, Murado M A. Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish [J]. *Aquacult*, 2005, 245: 149-161.
- [10] 牟海洋,江晓路,刘树青,等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1999, 29(3): 463-468.
Mo H J, Jiang X L, Liu S Q, et al. Effects of immunopolysaccharide on the activities of acid phosphatase, alkaline phosphatase and superoxide dismutase in *Chlamys farreri* [J]. *Jornal of Ocean University of Qindao*, 1999, 29(3): 463-468. (in Chinese)
- [11] 丁美丽,林林,李光友,等. 有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究 [J]. *海洋与湖沼*, 1997, 28: 17-21.
Ding M L, Lin L, Li G Y, et al. Effects of organic pollution on *Penaeus Chinensis* body's intraenvironment and external environment [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 1997, 28: 17-21. (in Chinese)
- [12] 姚翠鸾,王维娜,王安利. 水生动物体内超氧化物歧化酶的研究进展 [J]. *海洋科学*, 2003, 27(10): 18-21.
Yao C L, Wang W N, Wang A L. Progress of studies on superoxide dismutase in the body of aquatic animals [J]. *Marine Sciences*, 2003, 27(10): 18-21. (in Chinese)
- [13] 赵瑞香,孙俊良,李元瑞,等. 嗜酸乳杆菌抗胆盐能力的研究 [J]. *西北农林科技大学学报:自然科学版*, 2004, 32(2): 57-60.
Zhou R X, Sun J L, Li Y R, et al. Study on the intolerance ability of *Lactobacillus acidophilus* on pH and bile salt [J]. *Journal of Northwest Science and Technology Universtiy of Agriculture and Forest: Natural Science Edition*, 2004, 32(2):

57-60. (in Chinese)

[14] De Boever P,Wouters R,Verstraete W. Combined use of Lactobacillus reuteri and soygerm powder as food supplement [J]. Lett Appl Microbiol,2001,33:420-424.

[15] Grosell M,O'Donnell M J,Wood C M. Hepatic versus gallbladder bile composition;*in vivo* transport physiology of the gallbladder in rainbow trout [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol,2000,278:1674-1684.

[16] Baldisserotto B,Lopez-Vasquez K,Silva L V F, et al. Ionic levels of the gallbladder bile of some teleosts from the Rio Negro, Amazon [J]. J Fish Biol,2004,65:287-292.

[17] 艾连中,辛 羚,张 灏,等. 两株益生菌生物学特性的研究 [J]. 中国乳品工业,2005,33(3):13-15.

Ai L Z,Xin L,Zhang H,et al. Study on the biological characteristics of the two probiotics strains [J]. China Dairy Industry,2005,33(3): 13-15. (in Chinese)

[18] 吴惠芬,毛胜勇,姚 文,等. 2 株猪源乳酸菌对低 pH 值、胆盐耐受性和热稳定性的研究 [J]. 华中农业大学学报,2005,24(3):265-268.

Wu H F,Mao S Y,Yao W,et al. Survival of two lactic acid bacteria of piglet intestine under low pH, bile salt and heat treatment [J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2005,24(3):265-268. (in Chinese)

(上接第 24 页)

[13] 滑 静,郭玉琴,张淑萍,等. 肉仔鸡日粮中添加枯草芽孢杆菌对平均日增重和血液生化指标的影响 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2003(2):14-15.

Hua J,Guo Y Q,Zhang S Q,et al. Effects of dietary *Bacillus subtilis* Supplementation on average daily gains and biochemical paramet [J]. Heilongjiang Journal of Animal Science and Veterinary Medicine,2003(2):14-15. (in Chinese)

[14] 萨仁娜,张 琪,谷春涛,等. 微生物饲料添加剂对肉仔鸡大肠杆菌抑制及血液生化指标的影响[J]. 饲料研究,2006(3):4-7.

Sa R N,Zhang Q,Gu C T,et al. *E.coli*. inhibiting effect of probiotics and its influence on blood biochemical index in broiler [J]. Feed Research,2006(3):4-7. (in Chinese)

[15] 朱学芝,郑石轩,潘庆军,等. 芽孢杆菌对凡纳滨对虾免疫和生化指标的影响 [J]. 饲料研究,2007(4):56-59.

Zhu X Z,Zhen S X,Pan Q J,et al. Effect of bacillus on growth immunity and blood biochemical index for *Litopenaeus vannamei* [J]. Feed Research,2007(4):56-59. (in Chinese)

[16] 全艳玲. 地衣芽孢杆菌对有害微生物的拮抗作用 [J]. 食品科学,2002,23(8):67-69.

Quan Y L. Antibiosis Effect of *Bacillus Licheniformis* on pathogenic microorganism [J]. Food Science,2002,23(8):67-69. (in Chinese)

[17] 刘 莹,杨翔华,张 全,等. 拮抗菌株的筛选及其发酵滤液的抑菌活性 [J]. 西北农业学报,2006,15(5):202-205.

Liu Y,Yang X H,Zhang Q,et al. Screening of antagnologic bacterium strain and its restraint activity of ferment filtrate [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2006, 15(5):202-205. (in Chinese)