

一株植物乳杆菌 MMB-03 的筛选鉴定及抑菌特性研究

赵永慧¹, 杨杰¹, 朱卿正¹, 郭长明², 柴金龙¹, 王淑军¹, 房耀维¹, 盘赛昆^{1*}

(1. 江苏海洋大学, 江苏连云港 222061; 2. 江苏农牧科技职业学院, 江苏泰州 225300)

摘要 [目的]从发酵酸鱼中筛选鉴定得到一株产植物乳杆菌素的植物乳杆菌 MMB-03, 通过研究植物乳杆菌素的酸、温度稳定性及抑菌效果, 确定了该植物乳杆菌素的抑菌特性。[方法]采用形态学、生理生化、16S rDNA 分析鉴定该菌株为植物乳杆菌。采用打孔法测定植物乳杆菌素的抑菌效果。[结果]该植物乳杆菌素在 pH 4.0~7.0 时均有较强的抑菌活性; 121 °C 处理 20 min 仍有良好的抑菌活性; 对指示菌金黄色葡萄球菌、大肠杆菌、蜡样芽孢杆菌等均有良好的抑菌效果。[结论]植物乳杆菌 MMB-03 在水产饲料和食品保藏方面具有良好的应用前景。

关键词 植物乳杆菌; 鉴定; 细菌素; 理化性质; 抑菌

中图分类号 TS 201.3 文献标识码 A

文章编号 0517-6611(2020)17-0189-04

doi: 10.3969/j.issn.0517-6611.2020.17.049



开放科学(资源服务)标识码(OSID):

Screening Identification and Bacteriostasis Characteristics of *Lactobacillus plantarum* MMB-03

ZHAO Yong-hui, YANG Jie, ZHU Qing-zheng et al (Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu 222061)

Abstract [Objective] A strain of *Lactobacillus plantarum* MMB-03 was obtained from fermented acid fish. The antibacterial properties of plantaricin from *Lactobacillus plantarum* MMB-03 were determined by researching acid stability, temperature stability, and bacteriostatic activity. [Method] The strain was identified as *Lactobacillus plantarum* by morphology, physiological and biochemical and 16S rDNA. The bacteriostatic effect of plantaricin was determined by punching. [Result] The plantaricin had strong bacteriostatic activity at pH 4.0-7.0, and had good bacteriostatic activity at 121 °C for 20 min. It also had good bacteriostatic effect on indicator bacteria *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus cereus*. [Conclusion] *Lactobacillus plantarum* MMB-03 has a good application prospect in aquatic feed and food preservation.

Key words *Lactobacillus plantarum*; Appraisal; Bacteriocins; Physical and chemical properties; Bacteriostatic

乳酸菌在自然界中广泛存在, 是“公认安全”的微生物, 其产物已被允许添加到食品工业中^[1-2]。细菌素是由核糖体合成的具有抑菌作用的一类蛋白类物质^[3], 已被广泛应用于食品工业、动物生产和医疗以及畜禽饲料等领域^[4-5]。乳酸菌生成的细菌素能够有效抑制食品中的腐败菌, 延长食品货架期, 可被用作生物保鲜剂^[6-7], 如乳酸链球菌素(Nisin)已在食品中大量应用^[8-9]。

植物乳杆菌是乳酸菌的一种, 常见于肉类、奶类及蔬菜的发酵制品中, 是人体胃肠道的益生菌群, 具有增强机体免疫力、降低胆固醇、预防心血管疾病和促进营养物质吸收等多种功能^[10]。植物乳杆菌来源的细菌素被称为植物乳杆菌素, 植物乳杆菌素属于 I 类或 II 类细菌素, 分子量较小、热稳定性高, 可被蛋白酶降解^[11]。目前, 研究较为深入的植物乳杆菌素有 Plantaricin C、Plantaricin EF、Plantaricin JK^[12]。有研究者从传统泡菜、果蔬酱、畜禽肠道^[13]中筛选得到植物乳杆菌产生的植物乳杆菌素具有良好的抑菌活性。但目前报道的植物乳杆菌素抑菌谱较窄, 限制了其在食品工业中的大规模应用。因此, 筛选出产广谱抑菌性植物乳杆菌素的植物乳杆菌, 对于开发新的防腐抑菌剂具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 样品。供试植物乳杆菌采自实验室自制发酵酸鱼。

基金项目 江苏省兽用生物制药高技术研究重点实验室开放课题(NSFK201803); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(SJCX19_0958)。

作者简介 赵永慧(1994—), 女, 山东潍坊人, 硕士研究生, 研究方向: 食品加工与安全。*通信作者, 副教授, 博士, 硕士生导师, 从事食品加工与安全研究。

收稿日期 2020-03-12; **修回日期** 2020-04-03

1.1.2 指示菌。大肠杆菌(CICC 10003)、金黄色葡萄球菌(CICC 23656)、蜡样芽孢杆菌(CICC 23828)、维氏气单孢菌、嗜水气单孢菌、创伤弧菌、副溶血性弧菌均来自实验室保藏。

1.1.3 培养基和试剂。MRS 培养基: 牛肉膏 10 g, 蛋白胨 10 g, 乙酸钠 5 g, 磷酸氢二钾 2 g, 柠檬酸氢铵 2 g, 七水硫酸镁 0.58 g, 一水硫酸锰 0.19 g, 葡萄糖 20 g, 吐温-80 1 mL, 蒸馏水 1 L, pH 6.2~6.4, 115 °C、20 min 灭菌备用, 固体培养基另加 1.5%~2.0% 的琼脂。

LB 培养基: 酵母粉 5 g, 蛋白胨 10 g, 氯化钠 5 g, 蒸馏水 1 L, pH 7.0, 121 °C、20 min 灭菌备用, 固体培养基另加 1.5%~2.0% 的琼脂。

革兰氏染色试剂盒, 杭州百思生物科技有限公司; 细菌基因组提取试剂盒, 美国 Omega 公司; 过氧化氢酶, 美国 Sigma 公司; 其他试剂均为国产分析纯。

1.1.4 仪器与设备。Spx-150B-Z 型生化培养箱, 上海博讯实业有限公司医疗设备厂; 高速冷冻离心机, 美国赛默飞世尔科技有限公司; Mastercycler nexus 聚合酶链式反应(polymerase chain reaction, PCR)仪, 德国 Eppendorf 有限公司。

1.2 方法

1.2.1 样品的采集。用无菌勺子舀取少量酸鱼酸汤, 转接至 100 mL 已灭菌三角瓶中, 标记编号。

1.2.2 乳酸菌 MMB-03 的分离。取 1 mL 样品滤液接种到 100 mL MRS 培养基中, 37 °C 静置培养 12 h。取 1 mL 富集后的样液梯度稀释至 10⁻⁶, 分别选择 10⁻⁴、10⁻⁵、10⁻⁶ 浓度的稀释液 100 μL 涂布于含 0.3% 碳酸钙的 MRS 固体培养基上, 37 °C 静置培养 48 h。挑选具有钙溶圈的菌株于 MRS 固体培养基重复划线分离, 得到单菌落后甘油管保藏菌种。

挑取上述分离的纯种菌株接种于 MRS 培养基中,37 ℃ 静置培养 48 h,发酵液以 8 000 r/min 离心 15 min 后取上清。以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌为指示菌,采用打孔法对分离得到的菌株上清液进行产乳酸菌素的筛选^[14]。

1.2.3 乳酸菌 MMB-03 菌种鉴定。

1.2.3.1 乳酸菌 MMB-03 的生理生化鉴定。根据《伯杰氏细菌鉴定手册》对菌株 MMB-03 进行形态观察和生理生化鉴定^[15]。

1.2.3.2 16S rRNA 的扩增与序列分析。用细菌基因组快速提取试剂盒提取 MMB-03 的基因组,进行 16S rRNA 扩增。PCR 扩增引物选择细菌通用引物,27F:5'-AGAGTTTGATC-CTGGCTCAG-3';1492R:5'-GGTACCTTGTTACGACTT-3'。反应体系为 50 μL;dd H₂O 38.0 μL,10×buffer 5.0 μL,Mg²⁺ 1.0 μL,dNTP 2.5 μL,上下游引物各 1.0 μL,模板 1.0 μL,DNA 聚合酶 0.5 μL。反应程序:94 ℃ 预变性 5 min;94 ℃ 变性 30 s,54 ℃ 退火 30 s,72 ℃ 延伸 90 s,35 个循环;72 ℃ 终延伸 5 min。PCR 扩增产物测序,所得序列提交 Gen Bank。将该序列与 Gen Bank 数据库中的序列进行比对,用 MEGA 7.0 软件进行 16S rRNA 序列的比对分析,并构建系统发育树。

1.2.4 抑菌物质的确定。将菌株以 1% 的接种量接种于 MRS 培养基中,37 ℃ 静置培养 48 h,8 000 r/min 离心 15 min 后取上清液。上清液体积浓缩 1 倍后,调节不同 pH 以排除有机酸的抑菌影响;选用过氧化氢酶处理以排除过氧化氢对抑菌效果的影响;胃蛋白酶和胰蛋白酶处理后采用打孔法确认抑菌活性,对照选择同样处理的 MRS 液体培养基,确定发

酵产物中的抑菌物质。

1.2.5 植物乳杆菌素的热稳定性。将植物乳杆菌 MMB-03 的发酵上清液,分别在 4、25、50 和 100 ℃ 处理 30 min,121 ℃ 下处理 20 min(使用灭菌锅处理),对照选择没有处理的发酵上清液。处理完成后立即进行抑菌试验。

1.2.6 植物乳杆菌素的酸稳定性。用 3 mol/L NaOH 溶液将植物乳杆菌 MMB-03 的发酵上清液 pH 调节至 4.0、5.0、6.0 和 7.0,并保持 30 min,处理结束后采用打孔法测试抑菌活性。

1.2.7 植物乳杆菌素的抑菌活性验证。分别以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、蜡样芽孢杆菌、维氏气单胞菌、嗜水气单胞菌、创伤弧菌、副溶血性弧菌为指示菌做抑菌试验,验证该植物乳杆菌素对食品中常见革兰氏阴性菌和革兰氏阳性菌的抑菌效果。

2 结果与分析

2.1 菌株的筛选 分别以大肠杆菌、金黄色葡萄球菌和蜡样芽孢杆菌为指示菌,采用打孔法对从实验室自制发酵酸鱼中分离得到 3 株菌的抑菌圈直径进行测定,结果分别为(10.00±0.28)、(13.25±0.07)、(10.34±0.37) mm,说明它们均有良好的抑菌效果,挑选其中抑菌性最强的一株作为继续研究的对象,并将该菌株命名为 MMB-03。

2.1.1 植物乳杆菌的鉴定。菌株 MMB-03 的形态学观察结果见图 1。菌株 MMB-03 为革兰氏阳性菌,菌体短杆状,无鞭毛和芽孢。菌株 MMB-03 在 MRS 培养基上培养 24 h 后,菌落边缘整齐无锯齿状,呈乳白色,表面光滑不透明。



注:a. 菌株 MMB-03 菌落形态;b. 菌株 MMB-03 革兰氏染色

Note:a. Colonial morphology of strain MMB-03;b. Gram stain of strain MMB-03

图 1 菌株 MMB-03 的形态观察结果

Fig. 1 Morphological observation results of strain MMB-03

菌株 MMB-03 的部分生理生化特征结果见表 1。由表 1 可知,菌株 MMB-03 不能使明胶液化、发酵葡萄糖不产气、接触酶试验呈阴性,能够利用发酵葡萄糖、麦芽糖、果糖、蔗糖、乳糖,但不能利用木糖和阿拉伯糖。

2.1.2 16S 测序结果。利用 16S rRNA 进行 PCR 扩增测序,将所得序列与 Gen Bank 数据库中的序列进行同源性比较,发现与菌株 MMB-03 相似度较高的菌株均为植物乳杆菌,且

相似性达到 100%(图 2)。因此,将菌株 MMB-03 鉴定为植物乳杆菌(*Lactobacillus plantarum*)。

2.2 抑菌物质的确定

2.2.1 排酸试验结果。调节发酵液 pH 分别为 4.0 和 4.5,对照选择使用乳酸调节至相同 pH 的 MRS 液体培养基,抑菌试验验证结果如图 3 所示。由图 3 可知,调节发酵液 pH 至 4.0,抑菌活性无明显下降,对照抑菌活性显著下降;调节发

酵液 pH 至 4.5, 抑菌活性减弱, 对照已无抑菌性。说明发酵上清液中含有除乳酸以外的抑菌物质。

表 1 菌株 MMB-03 的生理生化试验结果

Table 1 Physiological and biochemical results of strain MMB-03

项目 Item	结果 Result	项目 Item	结果 Result
明胶液化 Gelatin liquefaction	-	果糖 Fructopyranose	+
葡萄糖产气 Glucose aerosis	-	蔗糖 Saccharose	+
接触酶 Catalase	-	乳糖 Lactose	+
葡萄糖 Glucose	+	木糖 Xylopyranose	-
麦芽糖 Malt sugar	+	阿拉伯糖 Pectinose	-

注: +表示反应呈阳性; -表示反应呈阴性。
Note: +, Positive; -, Negative

2.2.2 排过氧化氢试验结果。乳酸菌发酵过程中代谢产生

的过氧化氢同样具有抑菌作用, 过氧化氢酶充分酶解发酵上清液, 结果原发酵液、酶处理、对照的抑菌圈直径分别为 (12.02±0.06)、(11.35±0.04)、0 mm, 发酵液经过氧化氢酶处理后, 与原发酵液相比, 抑菌性无显著性下降, 同样处理的 MRS 培养基对照组则无抑菌性, 说明发酵液中抑菌作用不是过氧化氢产生的。

2.2.3 蛋白酶分解试验结果。分别使用胃蛋白酶和胰蛋白酶处理发酵液, 结果如图 4 所示。由图 4 可知, 经蛋白酶处理后, 发酵液抑菌性显著下降, 说明菌株 MMB-03 产生的抑菌物质可以被蛋白酶部分分解。排除酸和过氧化氢对抑菌效果的影响后, 蛋白酶分解上清液, 抑菌效果下降, 说明发酵液中的抑菌物质为蛋白类物质细菌素。

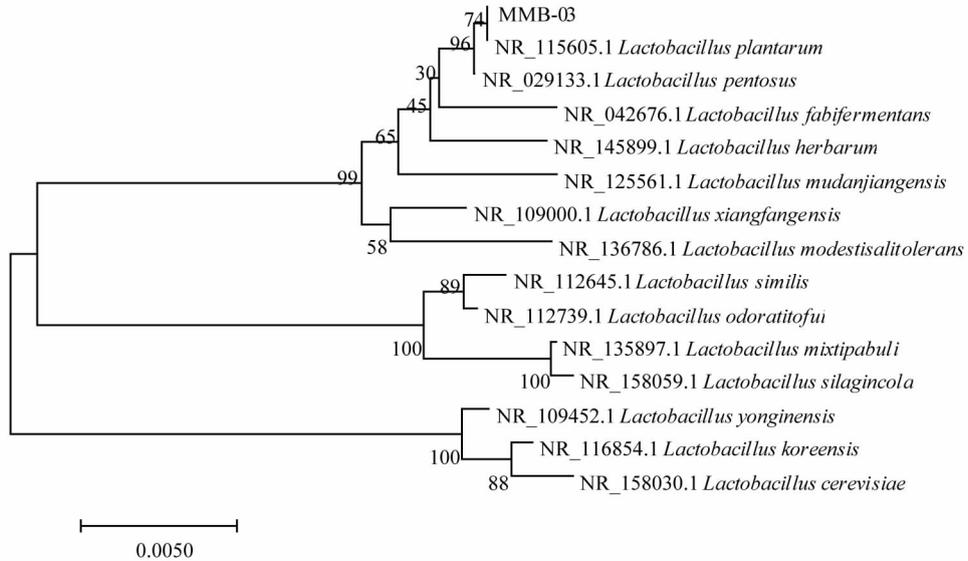


图 2 基于 16S rRNA 序列菌株 MMB-03 的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of strain MMB-03 based on 16S rRNA sequence

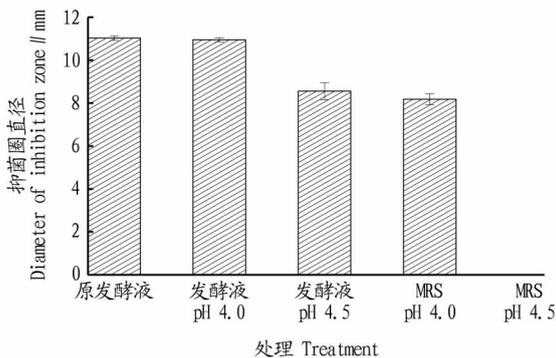


图 3 排酸试验结果

Fig. 3 Experimental results excluding the influence of acid

2.3 植物乳杆菌素的热稳定性 将植物乳杆菌 MMB-03 的发酵上清液在不同温度下处理一定时间, 其抑菌结果如图 5 所示。由图 5 可知, 不同温度处理后, 其抑菌性无显著性差异。121 °C 处理 20 min 后, 与对照相比, 抑菌性无明显下降。说明该植物乳杆菌素的热稳定性较好, 一般的热加工对其抑菌性影响不大。

2.4 植物乳杆菌素的酸稳定性 由图 6 可知, 随着 pH 的逐

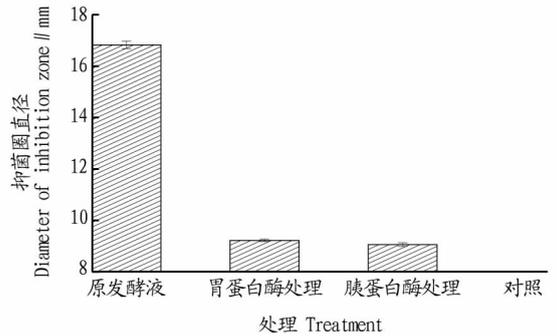


图 4 酶处理实验结果

Fig. 4 Results of enzyme treatment experiment

渐升高, 菌株 MMB-03 发酵上清液的抑菌性逐渐下降, 在 pH 中性条件下, 菌株 MMB-03 发酵上清液仍有良好的抑菌性, 说明菌株 MMB-03 发酵上清液具有良好的酸稳定性。

2.5 抑菌活性验证 以食品中常见的革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌为指示菌进行抑菌试验, 研究 MMB-03 的抑菌活性, 结果如图 7 所示。由图 7 可知, MMB-03 的发酵产物对食品中常见的革兰氏阳性、阴性菌具有良好的抑菌效果。

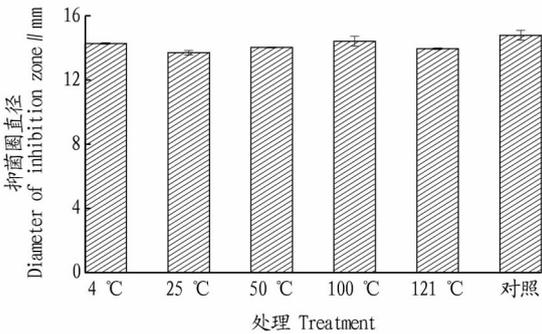


图5 温度稳定性试验结果

Fig. 5 Experimental results of temperature stability

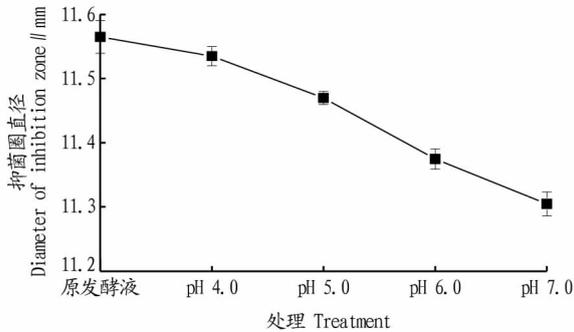


图6 酸稳定性试验结果

Fig. 6 Acid stability test results

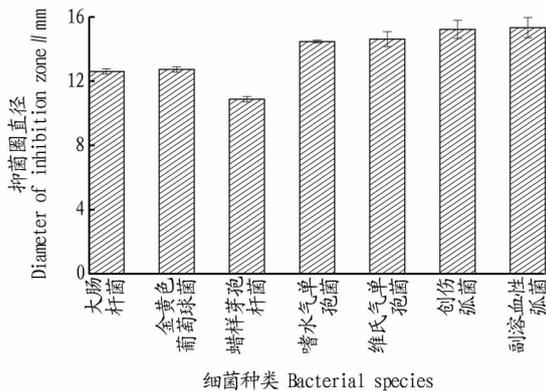


图7 植物乳杆菌对细菌的抑制效果

Fig. 7 The inhibition of plant lactobacillus on bacteria

3 讨论

生物防腐剂替代化学防腐剂成为食品防腐研究的趋势。细菌素 Nisin 等虽然已经被大量应用到食品中,但 Nisin 抗菌谱较窄,仅对革兰氏阳性菌有很好的抑制效果;纳他霉素则能够有效抑制和杀死酵母菌和霉菌^[16]。杨焯建等^[17]从链霉菌 FIM-0916 的代谢产物中分离得到具有抗菌活性的环脂肽化合物 0916A,其对革兰氏阳性菌具有很好的抑制作用。因此,开发研究具有广谱抑菌效果的生物源防腐剂具有重要意义。

目前,发酵食品已经成为筛选植物乳杆菌的重要来源^[18-19],也有研究者从鸡鸭粪便^[20-21]、畜禽肠道^[13]中筛选到植物乳杆菌。该研究是从自制可食用酸鱼中筛选出植物乳杆菌,菌株来源安全卫生。目前发现的植物乳杆菌素抑菌谱

较窄,应用局限性大。葛菁萍等^[22]从酸菜中分离得到一株植物乳杆菌产细菌素 paracin,其仅能够抑制沙门氏菌、大肠杆菌等病原菌。plantaricin 35d^[23]和 ST28MS^[24]对大肠杆菌没有抑制作用。Bac TN365 对革兰氏阴性菌和霉菌有抑菌效果^[25]。该研究发现的植物乳杆菌素可以有效抑制食品中常见的革兰氏阳性、阴性菌,抑菌范围更广。高鹏^[14]研究的细菌素虽然有广谱的抑菌作用,但其在 90 °C 处理 10 min 后,细菌素的抑菌性急剧下降;处理 30 min 后细菌素已无抑菌性。而该研究发现的植物乳杆菌素在 121 °C 处理 20 min 后抑菌性没有显著变化,具有良好的热稳定性。

4 结论

该研究从实验室自制酸鱼中筛选得到 1 株具有较强抑菌活性的菌株,通过对该菌株进行生理生化鉴定和分子生物学鉴定,确认该菌株为植物乳杆菌 (*Lactobacillus plantarum*),根据其编号命名为 *Lactobacillus plantarum* MMB-03,并确定了 *Lactobacillus plantarum* MMB-03 的系统发育关系。通过排除有机酸、过氧化氢,并且经过胰蛋白酶、胃蛋白酶处理后,确定 *Lactobacillus plantarum* MMB-03 可产细菌素。分析表明,该植物乳杆菌素具有良好的热稳定性,抑菌性受酸影响小,能够有效抑制食品中常见的革兰氏阳性、阴性菌。该研究为开发新型天然防腐剂奠定了理论基础。

参考文献

- [1] KÖNIG H, FRÖHLICH J. Lactic acid bacteria. Biology of microorganisms on grapes, in must and in wine[M]. Heidelberg: Springer, 2009: 3-29.
- [2] FRANKOS V H, SCHMITT D F, HAWS L C, et al. Generally recognized as safe (GRAS) evaluation of 4-hexylresorcinol for use as a processing aid for prevention of melanosis in shrimp[J]. Regulatory toxicology & pharmacology, 1991, 14(2): 202-212.
- [3] 朱双, 张爱忠, 姜宁, 等. 细菌素及其在动物生产中的应用[J]. 动物营养学报, 2014, 26(2): 327-333.
- [4] DAVIDSON B E. Bacteriocin piscicolin 126; US6054163[P]. 2000-04-25.
- [5] REA M C, SIT C S, CLAYTON E, et al. Thuricin CD, a posttranslationally modified bacteriocin with a narrow spectrum of activity against *Clostridium difficile*[J]. Proceedings of the national academy of sciences, 2010, 107(20): 9352-9357.
- [6] 方士元, 谢晶. 乳酸菌及其细菌素在海水鱼保鲜中应用的研究进展[J]. 微生物学杂志, 2019, 39(2): 111-116.
- [7] 陈凯, 朱璐丹, 谭宏亮, 等. 2 株乳酸菌抑菌作用研究及安全性评价[J]. 南方水产科学, 2019, 15(5): 118-125.
- [8] BAHRAMI A, DELSHADI R, JAFARI S M, et al. Nanoencapsulated nisin: An engineered natural antimicrobial system for the food industry[J]. Trends in food science & technology, 2019, 94: 20-31.
- [9] 雷涛. 生物防腐剂在食品加工中的应用[J]. 食品安全导刊, 2017(36): 44.
- [10] 曹承旭, 郭晶晶, 乌日娜, 等. 植物乳杆菌的生理功能和组学研究进展[J]. 乳业科学与技术, 2018, 41(1): 33-39.
- [11] 陈一然, 张明. 植物乳杆菌细菌素的研究与应用[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(9): 853-856.
- [12] ANDERSEN E L, DIEP D B, NES I F, et al. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: Two new two-peptide bacteriocins, plantaricin EF and JK, and the induction factor plantaricin A[J]. Applied & environmental microbiology, 1998, 64(6): 2269-2272.
- [13] 刘韶娜, 张斌, 相德才, 等. 一株植物乳杆菌的分离、鉴定及其特性研究[J]. 饲料研究, 2019, 42(9): 73-77.
- [14] 高鹏. 广谱抗菌乳酸菌的分离鉴定及细菌素的提取、纯化及结构鉴定[D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
- [15] 布坎南 R E, 吉本斯 N E. 伯杰细菌鉴定手册[M]. 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 477-478.
- [16] 冯林慧, 李迎秋. 纳他霉素和乳酸链球菌素复配在食品中的应用[J]. 中国调味品, 2019, 44(2): 190-192.

对乡镇土地开发利用给予严格的监督,更希望在李官这片适宜远志生长的土地上,推广远志林下间作栽培技术^[10],尽早建立起远志栽培基地。

表4 兰山区药用植物科数量统计

Table 4 Statistics of the number of families of medicinal plants in Lanshan District

序号 No.	类型 Type	科数 Number of families	科名(种数) Family name (number of species)
1	季种科(>20种)	4	菊科(40)、豆科(29)、禾本科(24)、蔷薇科(22)
2	叔种科(11~20种)	5	唇形科(12)、蓼科(11)、莎草科(11)、茄科(11)、十字花科(11)
3	仲种科(2~10种)	35	百合科(9)、木犀科(8)、毛茛科(7)、大戟科(7)、石竹科(6)、锦葵科(6)、伞形科(6)、旋花科(6)、桑科(5)、葫芦科(5)、萝藦科(5)、苋科(4)、茜草科(4)、紫草科(4)、马鞭草科(4)、玄参科(4)、杨柳科(3)、藜科(3)、报春花科(3)、天南星科(3)、木贼科(2)、松科(2)、胡桃科(2)、木兰科(2)、牻牛儿苗科(2)、芸香科(2)、鼠李科(2)、椴树科(2)、柳叶菜科(2)、夹竹桃科(2)、车前科(2)、忍冬科(2)、桔梗科(2)、鸢尾科(2)、鸭跖草科(2)
4	伯种科(1种)	38	卷柏科、银杏科、柏科、壳斗科、榆科、杜仲科、商陆科、紫茉莉科、番杏科、马齿苋科、蜡梅科、樟科、防己科、睡莲科、马兜铃科、罂粟科、景天科、虎耳草科、酢浆草科、蒺藜科、苦木科、楝科、远志科、槭树科、漆树科、无患子科、凤仙花科、卫矛科、葡萄科、瑞香科、堇菜科、千屈菜科、姜科、石榴科、龙胆科、紫葳科、香蒲科、兰科

3.2 可探讨“农业+旅游+中药”产业捆绑发展 兰山区初具规模的种植基地只有2家,分别是同德中医院的汪沟种植基地和天源种植基地,种植的品种主要有丹参、黄芩,少量的牡丹、芍药、半夏等,不成气候。倒是当地农民散户种植的桃树、银杏树、山楂树、莲等成就了药食两用植物的大规模。但无论是桃还是桃仁,藕还是荷叶、藕节,当今都是以食材、原料的低级产品模式出售,农民种的很辛苦,原料利用不充分,利润空间提不上去。建议政府在高铁附近建一个配套大型中药产业加工厂(罐头厂等),让销售的低级模式转化为加工产品销售,增加利润空间和原料的综合利用,提高当地就业率,增加农民收入。

兰山区李官镇为临沂市的“后花园”,每年4月都举办“全国李官桃花节”,素有“鲁南桃乡”之称;兰山区白沙埠镇是24孝之一“卧冰求鲤”王祥的家乡,也被称为“荷花之乡”,观赏性也极强。可探讨规划“中医药健康旅游示范区”模式,实现“农业+旅游+中药”的深度融合,高质量发展当地经济。

3.3 引导园林绿化趋势,发挥药用植物的欣赏价值 临沂是一个拥有了1130万人口的城市,其中兰山区人口密度最大,交通最拥堵,开发最过度,但沿着滨河两岸、沂河两岸的园林建设却被政府抓得有声有色,市民交口称赞。从兰山区野生中药资源普查的结果看,很多药用植物极适合在两岸绿化带种植,如木本植物银杏、杜仲、合欢、栗、楝、槐等;沂蒙道地药材金银花、丹参、牡丹、芍药、地黄、蛇床、青箱、紫苏等,

有望在不久的将来,能和园林大咖们达成共识,让河岸两道成为中医药知识的辨识长廊。

3.4 以普查为契机,培养学生成长,普查成果共享 为了上交一份最满意的腊叶标本,在植物标本的采集中一直秉持4或5株的原则,增加学生在户外课堂对植物形态的认知时间,提高对药用植物学的学习兴趣;在制作1600余份腊叶标本的同时也磨炼了性格,养成了精益求精的“工匠精神”。在选出普查上交的腊叶标本后,把剩余的标本充实了学校实验室,建立了兰山区常见药用植物展示平台,同时还将部分标本捐给兰山区的2所兄弟医院,共享普查成果,促进中医药文化的传播。

参考文献

- [1] 郭兰萍,陆建伟,张小波,等.全国中药资源普查技术规范制定[J].中国中药杂志,2013,38(7):937-942.
- [2] 张小波,郭兰萍,张燕,等.关于全国中药资源普查重点调查中药材名录的探讨[J].中国中药杂志,2014,39(8):1345-1359.
- [3] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(一部)[S].北京:中国医药科技出版社,2015:3-385.
- [4] 李建秀,周凤琴,张照荣.山东药用植物志[M].西安:西安交通大学出版社,2013:1-855.
- [5] 《中国植物志》编辑委员会. FRPS《中国植物志》全文电子版网站[DB/OL]. [2020-01-05]. <http://www.iplant.cn/frps/cname>.
- [6] 中国科学院植物研究所.中国高等植物图鉴[M].北京:科学出版社,1983.
- [7] 李法曾.山东植物精要[M].北京:科学出版社,2004:1-556.
- [8] 马克平.中国常见植物野外识别手册:山东册[M].北京:高等教育出版社,2009:1-378.
- [9] 吴兆洪,秦仁昌.中国蕨类植物科属志[M].北京:科学出版社,1991.
- [10] 牛晓峰.远志林下间作栽培技术[J].现代化农业,2020(1):39-40.

(上接第192页)

- [17] 杨煌建,张祝兰,黄小珍,等. FIM-0916菌株中代谢产物的抗菌活性及稳定性考察[J].海峡药学,2014,26(3):151-155.
- [18] 郝永伟.植物乳杆菌的筛选、鉴定及制备工艺研究[D].济南:齐鲁工业大学,2014.
- [19] O'SULLIVAN L, ROSS R P, HILL C. Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality[J]. Biochimie, 2002, 84(5):593-604.
- [20] 张飞燕,张根伟,刘倩倩,等.一株鸡源性植物乳杆菌的分离鉴定及特性研究[J].饲料研究,2016(10):5-8.
- [21] 刘芳丹.一株鸭源植物乳杆菌的分离鉴定及其对肉鸭生产性能和免疫机能的影响[D].泰安:山东农业大学,2015.

- [22] 葛菁萍,邹鹏,宋刚,等.酸菜发酵液中乳酸菌的分离与鉴定[J].食品工业科技,2007,28(10):83-84.
- [23] MESSI P, BONDI M, SABIA C, et al. Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain[J]. International journal of food microbiology, 2001, 64(1/2):193-198.
- [24] TODOROV S D, DICKS L M T. *Lactobacillus plantarum* isolated from molasses produces bacteriocins active against Gram-negative bacteria[J]. Enzyme and microbial technology, 2005, 36(2/3):318-326.
- [25] SMAOUI S, ELLEUCH L, BEJAR W, et al. Inhibition of fungi and gram-negative bacteria by bacteriocin BacTN635 produced by *Lactobacillus plantarum* sp. TN635[J]. Applied biochemistry & biotechnology, 2010, 162(4):1132-1146.