

吴道义, 马金萍, 王明进, 等. 唾液乳杆菌的分离鉴定及其全基因组分析 [J]. 畜牧与兽医, 2025, 57 (2): 62-70.

WU D Y, MA J P, WANG M J, et al. Isolation and identification of *Lactobacillus salivarius* and sequencing analysis of its whole genome [J]. Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 2025, 57 (2): 62-70.

唾液乳杆菌的分离鉴定及其全基因组分析

吴道义¹, 马金萍^{1*}, 王明进¹, 姬亚茹², 王霞¹, 曾继晶¹, 周礼扬¹, 罗耀¹, 李坤²

(1. 毕节市畜牧兽医科学研究所, 贵州 毕节 551799;

2. 南京农业大学动物医学院, 江苏 南京 210095)

摘要: 旨在更好地研究贵州威宁黄牛源唾液乳杆菌的特征和益生特性, 开发益生菌产品。采用传统微生物学方法, 对该菌株的生物学特性和益生性能进行深入分析后, 通过纳米孔测序技术完成了对其全基因组测序和比较基因组分析。结果: 分离得到 5 株唾液乳杆菌 (T1~T5), 与 OR430873.1 的同源性高达 99.86%~100%; T1~T5 菌株均有良好的耐酸和耐胆盐能力, T4 株对大肠杆菌和沙门菌有良好的抑制效果; T4 株的基因组序列总长度为 1 918 675 bp, GC 含量为 33.01%; 唾液乳杆菌基因组中预测到 1 861 个编码基因, 22 个 rRNA 操纵子和 79 个 tRNA; 通过基因本体论 (GO)、直系同源簇 (COG) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 数据库对编码基因进行对比分析, 发现参与细胞翻译、核糖体结构、生物合成、新陈代谢和细胞过程的基因数较多。结论: 获得了有良好耐酸和耐胆盐能力的唾液乳杆菌, 具有良好的抗菌效果, 有望进一步开发为益生菌产品。

关键词: 唾液乳杆菌; 纳米孔测序技术; 全基因组测序; 基因信息注释

中图分类号: S852.6 **文献标志码:** A **文章编号:** 0529-5130(2025)02-0062-09

Isolation and identification of *Lactobacillus salivarius* and sequencing analysis of its whole genome

WU Daoyi¹, MA Jinping^{1*}, WANG Mingjin¹, JI Yaru², WANG Xia¹, ZENG Jijing¹,
ZHOU Liyang¹, LUO Yao¹, LI Kun²

(1. Bijie Institute of Animal Husbandry and Veterinary Science, Bijie 551799, China;

2. College of Veterinary Medicine, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: In order to better study the characteristics and probiotic properties of the *Lactobacillus salivarius* strain from Weining cattle in Guizhou Province, and to subsequently develop probiotic products, this study used traditional microbiological methods to conduct in-depth analyses of the strain's biological characteristics and probiotic properties. After completing its whole genome sequencing and comparative genomic analysis using the nanopore sequencing technology, the study aimed to provide a foundation for further research on the strain. The results were as follows: Five strains of *Lactobacillus salivarius* (T1-T5) were isolated, and their homology with OR430873.1 was 99.86%~100%. The T1-T5 strains had good acid and bile salt resistance, and the T4 strain had good inhibition effect on *Escherichia coli* and *Salmonella*. The total length of genome sequence of T4 was 1 918 675 bp, and the GC content was 33.01%. 1861 coding genes, 22 rRNA operons and 79 trnas were predicted in the *Lactobacillus salivarius* genome. A comparative analysis of the coding genes through gene Ontology (GO), lineal Homologous cluster (COG) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) showed that there were more genes involved in cell translation, ribosome structure, biosynthesis, metabolism and cellular processes. In conclusion, *Lactobacillus salivarius* with good acid and bile salt resistance was obtained here, which had a good antibacterial effect and would be expected to be further developed as probiotic products.

Keywords: *Lactobacillus salivarius*; nanopore sequencing technology; whole genome sequencing; gene information annotation

收稿日期: 2024-03-16; 修回日期: 2024-12-19

基金项目: 贵州省科技支撑计划项目 (黔科合支撑 [2021] 一般 153); 喀斯特山区粮改饲技术集成示范与产业化项目 (黔科合服企 [2021] 12-03 号); 农业农村部国家肉牛牦牛产业技术体系毕节试验站项目 (CARC-37); 贵州省威宁县威宁黄牛繁育基地贵州省第六批人才基地项目 (黔人领发 [2018] 3 号)

第一作者: 吴道义, 男, 硕士研究生, 高级畜牧师

* 通信作者: 马金萍, 高级兽医师, 主要研究方向为基础兽医学, E-mail: 499583220@qq.com.

唾液乳杆菌 (*Lactobacillus salivarius*) 是一种具有益生菌活性的重要革兰阳性杆菌, 有良好的耐酸、耐胆盐和产酸特性, 广泛地存在于人和动物的胃肠道中^[1]。此外, 它还常分布于口腔中, 作为口腔正常菌群, 能够抑制龋病的病原菌生长, 从而抑制龋病的发生发展等^[2]。唾液乳杆菌能够调节肠道菌群, 抑制致病菌和刺激免疫应答^[1]。该菌大小为 $0.6 \sim 0.9 \mu\text{m} \times 1.5 \sim 5 \mu\text{m}$, 其两端钝圆、呈短杆状或圆形, 无鞭毛、不产芽胞, 不具触酶、氧化酶和运动性。在厌氧环境下产生乳酸, 具有耐酸性, 可耐酸至 pH 值为 2.5 以及耐胆盐至 0.4%。适宜生长温度在 $35 \sim 40 \text{ }^\circ\text{C}$, 最适 pH 值为 $5.0 \sim 5.5$ ^[2]。由于唾液乳杆菌具有很多重要的生理功能和作用, 因此被批准为可以使用的食品生产加工菌种之一^[3]。

全基因组测序 (WGS) 技术是一种用于确定生物体细胞核 DNA 或细胞质 DNA (例如线粒体 DNA) 完整基因组序列的方法。通过此种方法, 能够获得生物体的完整基因组序列, 对其序列进行分析和功能注释, 能够更好地了解生物体的结构及功能。嗜血流感杆菌 (*Haemophilus influenzae*) 是世界上第 1 个测序完成全基因组序列的细菌^[4]。

威宁黄牛是贵州威宁区地的牛种, 具有抗病能力强的特点, 特别是腹泻发病率低。本课题组前期测序发现威宁黄牛肠道的益生菌相对丰度较高^[5]。本研究通过对贵州威宁黄牛的唾液乳杆菌进行分离鉴定和益生特性研究, 并通过纳米孔测序技术进行全基因组测序以探究其潜在的益生功能, 这对唾液乳杆菌的开发具有重要意义, 并为后续唾液乳杆菌的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

溶菌肉汤 (LB)、德氏乳杆菌培养基 (MRS) 购自杭州滨和微生物试剂有限公司; 盐酸、牛胆盐购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 建库试剂盒购自北京百奥莱博科技有限公司; 蛋白酶 K 溶液、DNA 提取试剂盒等分别购自白鲨生物科技公司 and 德国凯杰公司。

1.2 样品来源

威宁黄牛肠道内容物 (35 份) 采自毕节某黄牛养殖场。

1.3 菌株

多重耐药大肠杆菌 (T1~T5) 和沙门菌 (T1~T5) 为南京农业大学中兽医实验室从腹泻犊牛粪便分离所得。

1.4 菌株的分离鉴定

肠道内容物样品使用无菌 MRS 肉汤进行稀释, 并在 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 条件下培养 2 h, 然后用 MRS 琼脂平板进行培养过夜。纯化培养获得单菌落后, 通过革兰染色镜检进行连续 3 代鉴定。参照张倪铭等^[5]的方法进行 16S rRNA 基因扩增和测序鉴定。

1.5 唾液乳杆菌的生长曲线及耐酸和耐胆盐测定

将鉴定后的唾液乳杆菌摇菌过夜, 取 $25 \mu\text{L}$ 菌液加入含有 2.975 mL MRS 培养基的 10 mL 离心管中, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床 (180 r/min) 培养, 在 0、1.5、4、4.5、5、6、7、8、9.5、11 和 12 h 分别取出 3 支离心管, 摇匀后测 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值, 每个时间点设置 3 个独立重复, 然后绘制生长曲线。

参照农庭镔等^[6]报道的方法, 配制 0.1%、0.2% 和 0.3% 的猪胆盐 MRS 培养基, 配制 pH 值分别为 3.0、4.0、5.0 和 6.0 的 MRS 液体培养基, 均高压灭菌后备用。在 10 mL 离心管中分别加入 $25 \mu\text{L}$ 摇菌 12 h 的唾液乳杆菌菌液和 2.975 mL 不同胆盐或盐酸浓度的 MRS 培养基, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床培养 12 h, 测 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值计算细菌存活率。每个浓度设置 3 个独立重复。

1.6 抗菌试验

参照王雪艳等^[7]报道的牛津杯法进行唾液乳杆菌上清液的抑制效果评估。在 LB 固体培养基上涂布大肠杆菌或沙门菌, 然后放置牛津杯并加入 $100 \mu\text{L}$ /孔过夜培养的唾液乳杆菌上清液, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温培养 12~16 h, 进行抑菌圈测定, 用以分析抑菌效果。设置空白对照, 每个上清液设置 3 个独立重复。

取若干支灭菌后的试管分别装入 3 mL LB 液体培养基, 每管加入 $25 \mu\text{L}$ 过夜培养的大肠杆菌菌液或沙门菌菌液, 对照组加入 $25 \mu\text{L}$ LB 培养基, 试验组每管加入 $50 \mu\text{L}$ 过夜培养的唾液乳杆菌上清液, $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温摇床培养, 在 0、2、4、6、8、10 和 12 h 取出 3 支试管, 摇匀后测 $OD_{600 \text{ nm}}$ 值, 每个时间点设置 3 个独立重复, 然后绘制抑菌曲线。

1.7 唾液乳杆菌的基因组测序分析

通过德国凯杰公司的 DNA 提取试剂盒进行细菌总 DNA 提取, Nanodrop 检测 DNA 纯度、Qubit 对 DNA 进行精确定量及电泳质检^[8]。然后通过北京百奥莱博科技有限公司建库试剂盒购置进行文库构建, 最后在武汉百亿汇能公司的 PromethION Sequencer 平台进行实时单分子测序。测序结果经过质控、拼接组装后进行功能分析。包括基因本体论 (GO)、直系同源簇 (COG) 和京都基因与基因组百科全书 (KEGG) 等对细菌基因组进行快速注释, 分析并得到相应的注释信息^[9]; 采用 Prodigal、RNAmmer 等

工具对编码基因、非编码基因、CRISPR（原基因组内的一段重复序列）、基因岛和重复序列进行注释与预测，并绘制唾液乳杆菌的基因组环形图谱^[10]。

1.8 数据统计与分析

通过 SPSS (26.0) 软件进行单因素方差分析，用 GraphPad Prism (7.0) 软件进行绘图。试验数据用“平均值±标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 分离菌鉴定

5 份威宁黄牛肠道样品在 MRS 培养基上长有 0.5~2.0 mm 的乳白色圆形菌落，主要特点是表面凸起，边缘光滑、整齐。革兰染色镜检后结果为紫色的短小杆菌。对这 5 株菌的 16S rRNA 基因扩增和测序，然后将得到的序列分别与 NCBI 数据库 (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) 进行比对。结果发现这 5 株菌的 16S rRNA 基因与唾液乳杆菌 (OR430873.1) 的同源性高达 99.86%~100%，将这 5 株唾液乳杆菌命名为 T1~T5。遗传进化分析发现这 5 株菌与唾液

乳杆菌位于同一个进化分支 (图 1)。

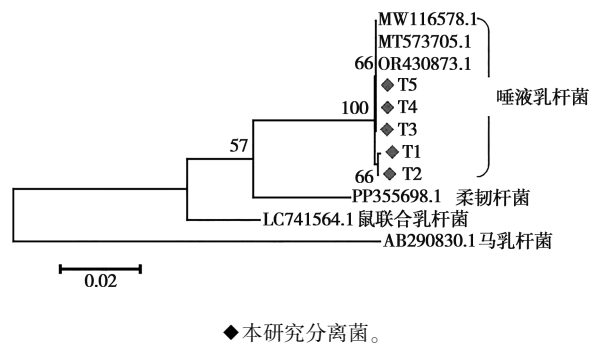


图 1 细菌分离株的遗传进化树

2.2 唾液乳杆菌的生长曲线和耐酸、耐胆盐情况

5 株唾液乳杆菌在 4~7 h 为对数生长期，10 h 以后进入稳定期 (图 2a)；T1~T5 在低 pH 条件下均能存活，有良好的抗酸能力 (图 2b)；耐胆盐试验结果发现这 5 株菌对不同浓度的胆盐都有一定的耐性 (图 2c)。

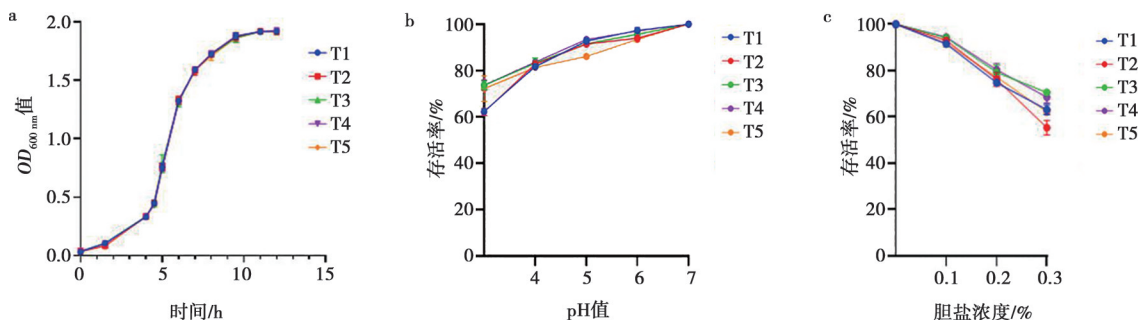
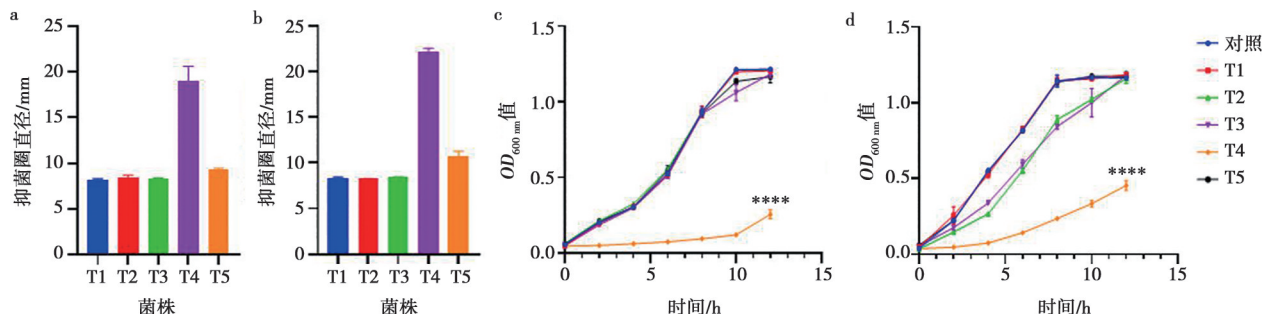


图 2 唾液乳杆菌的生长曲线 (a)、耐酸 (b) 和耐胆盐 (c) 比较

2.3 体外抑菌效果

牛津杯法发现唾液乳杆菌 T4 能够显著抑制多重耐药大肠杆菌 (3a) 和沙门菌 (3b) 的增殖。生长

曲线抑制法同样发现唾液乳杆菌 T4 能够显著抑制多重耐药大肠杆菌 (3c) 和沙门菌 (3d) 的增殖。因此，选择唾液乳杆菌 T4 进行后续的全基因组分析。



a. 大肠杆菌 (牛津杯法)；b. 沙门菌 (牛津杯法)；c. 大肠杆菌 (生长曲线抑制法)；d. 沙门菌 (生长曲线抑制法)；**** 表示 $P < 0.0001$ 。

图 3 唾液乳杆菌的体外抗菌效果

2.4 唾液乳杆菌的基因组测序

由表1、表2可知,原始测序共检测出碱基数为1 339 606 708 bp,而过滤测序获得的质控碱基数为1 302 174 425 bp,GC含量为33.01%。组装结果:

得到最终的基因组大小为1 918 675 bp,该菌株组装后有2个片段重叠群(contig),contig N50长度为1 740 760,最长contig长度为1 740 760 bp,最短contig长度为177 915 bp。

表1 数据统计与质控结果分析

数据类型	总碱基数/bp	测序数据序列 (reads)				
		数量	平均长度/bp	N50 长度/bp	最长长度/bp	平均质量
原始测序	1 339 606 708	229 508	5 836.86	14 232	126 949	12.39
过滤测序	1 302 174 425	221 949	5 867.00	14 296	126 949	12.61

注:过滤测序为通过质控的数据量。

表2 基因组碱基分布统计

碱基	数量/bp	基因组/%
A	646 631	33.70
T	638 599	33.28
G	319 323	16.64
C	314 122	16.37
N	0	0
GC	633 445	33.01
合计	1 918 675	100

对唾液乳杆菌 T4 菌株的编码区进行预测,总共得到1 861个完整的CDS,其编码的蛋白质长度图分布如图4。蛋白质长度主要为250~500 aa。

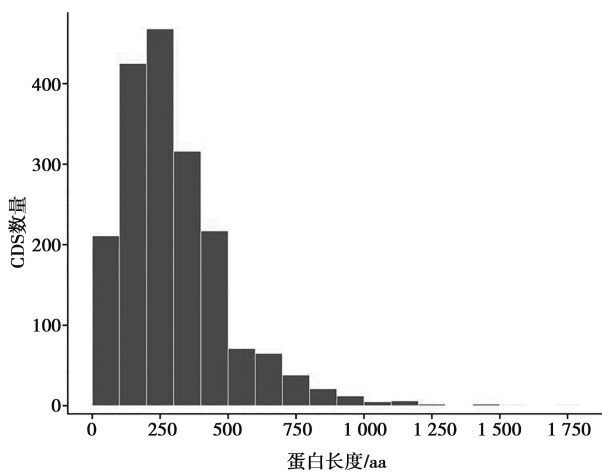


图4 编码蛋白长度分布

根据COG对唾液乳杆菌 T4 基因组的注释结果(图5)进行分析可知,共有1 478个基因得到了注

释,占比79.42%,共分成26个组,其中有67个基因功能还未明确,占总数的4.533%。基因注释数量最多的为翻译、核糖体结构和生物合成(translation, ribosomal structure and biogenesis),涉及199个基因,占总数的13.46%;几项功能分类占比较高的是,氨基酸运输及代谢(amino acid transport and metabolism)占9.202%,碳水化合物运输及代谢(carbohydrate transport and metabolism)占8.931%,仅预测通用功能(general function prediction only)占8.390%,细胞壁/膜/胞外被膜的生物合成(cell wall/membrane/envelope biogenesis)占8.119%,转录(transcription)占7.916%,复制、重组和修复(replication, recombination and repair)占6.969%;基因注释数量最少的是,细胞骨架(cytoskeleton)、细胞外结构(extracellular structures),分别占总数的0.203%和0.1353%;RNA加工与修饰(RNA processing and modification)、染色质结构与动力学(chromatin structure and dynamics)和核结构(nuclear structure)的基因注释数量为零。

将唾液乳杆菌 T4 的基因组与KEGG进行对比,其中941个基因得到注释,占比50.56%。根据注释结果(图6)可知,有299个基因参与新陈代谢(metabolism),占比31.77%,其中,参与碳水化合物代谢(carbohydrate metabolism)的基因最多,有117个,占比达12.43%;参与遗传信息处理(genetic information processing)的基因数量次之,有140个,占比14.88%;参与细胞过程(cellular process)的基因数量有35个,占比3.719%。

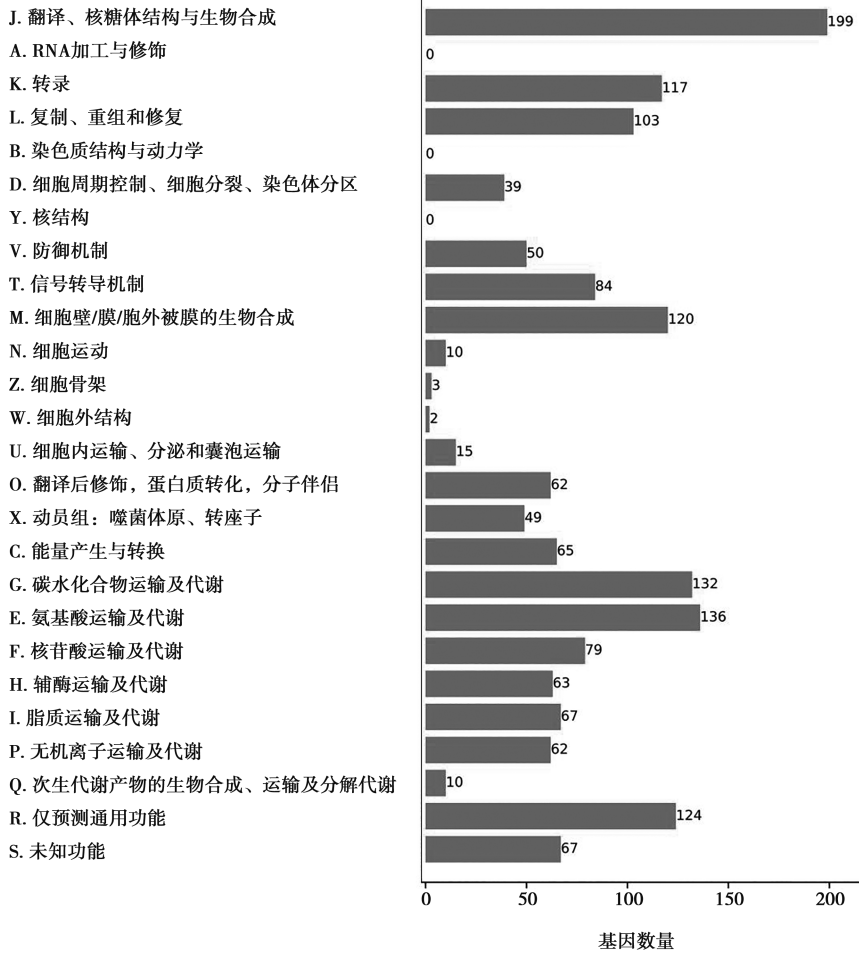


图 5 唾液乳杆菌 T4 基因组编码蛋白 COG 功能分类统计

将唾液乳杆菌 T4 基因组与 GO 进行对比注释, 有 1 138 个基因得到了注释, 占比 61. 15%。根据 GO 注释结果 (图 7) 可知, 参与生物过程 (biological process) 的基因数量最多, 其中有 633 个基因参与代谢过程 (metabolic process), 占比 55. 62%, 有 620 个基因参与细胞过程 (cellular process), 占比 54. 48%; 参与分子功能 (molecular function) 的基因数量次之, 其中有 563 个基因参与催化活性 (catalytic activity), 占比 49. 47%, 有 419 个基因参与结合 (binding), 占比 36. 82%; 而参与细胞成分 (cellular component) 的基因数量较少, 其中有 222 个基因参与细胞组分 (cell part), 占比 19. 51%。

根据唾液乳杆菌 T4 基因组的圈图 (图 8) 可知, 唾液乳杆菌基因总长度为 1 918 675 bp。由外到内, 第 1 圈和第 2 圈分为编码基因 (正义链) 和编码基因 (负义链), 该菌株编码基因的数量为 1 861 个。第 3 圈为 tRNA (橙色) 和 rRNA (紫色), 唾液乳杆菌基因组中共含有 22 个 rRNA, 79 个 tRNA。第 5 圈为 GC 含量, 绿色的部分表示该区域 GC 含量高于全基因组平均 GC 含量, 紫色部分则表示低于平均 GC 含量, 该唾液乳杆菌基因组的平均 GC 含量为 33. 01%。第 6 圈展示的是描述 DNA 序列中 GC 碱基分布的统计指标 GC-skew, 其值等于 $(G-C) / (G+C)$ 。最内一圈表示为基因组的测序深度。

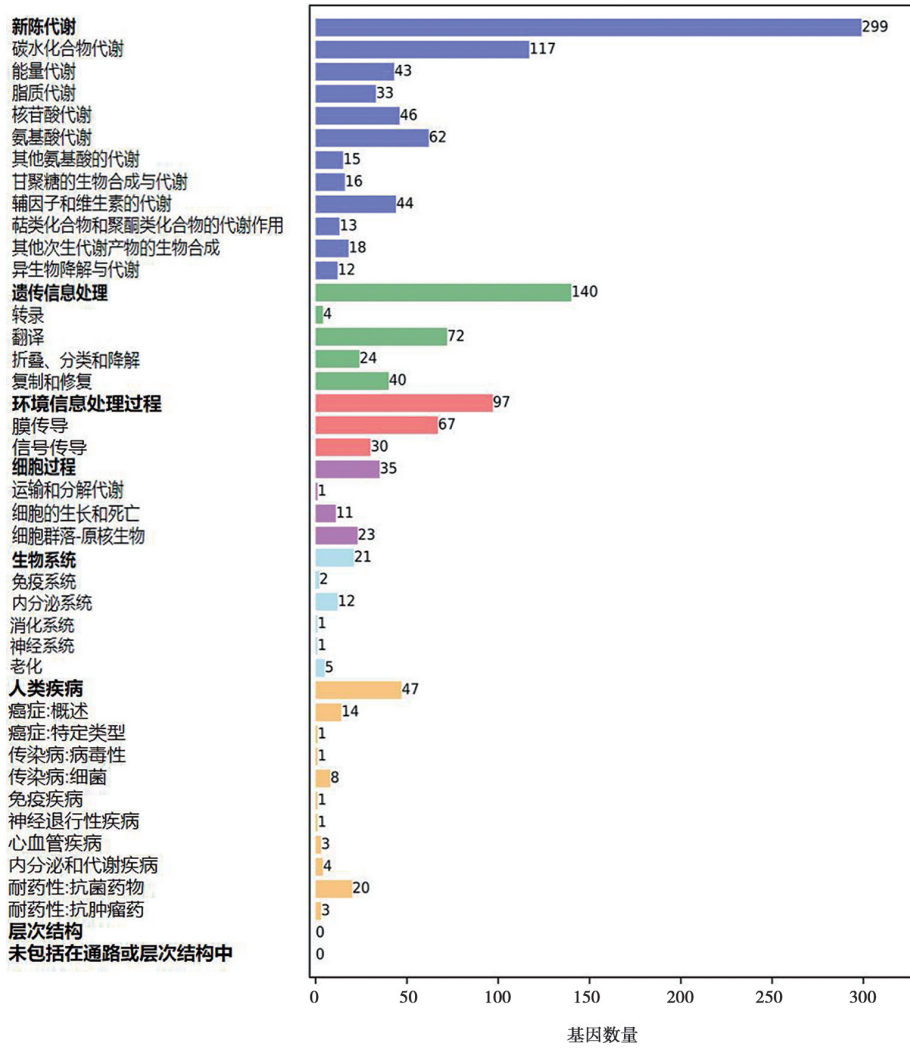


图 6 唾液乳杆菌 T4 基因组编码蛋白 KEGG 功能分类统计

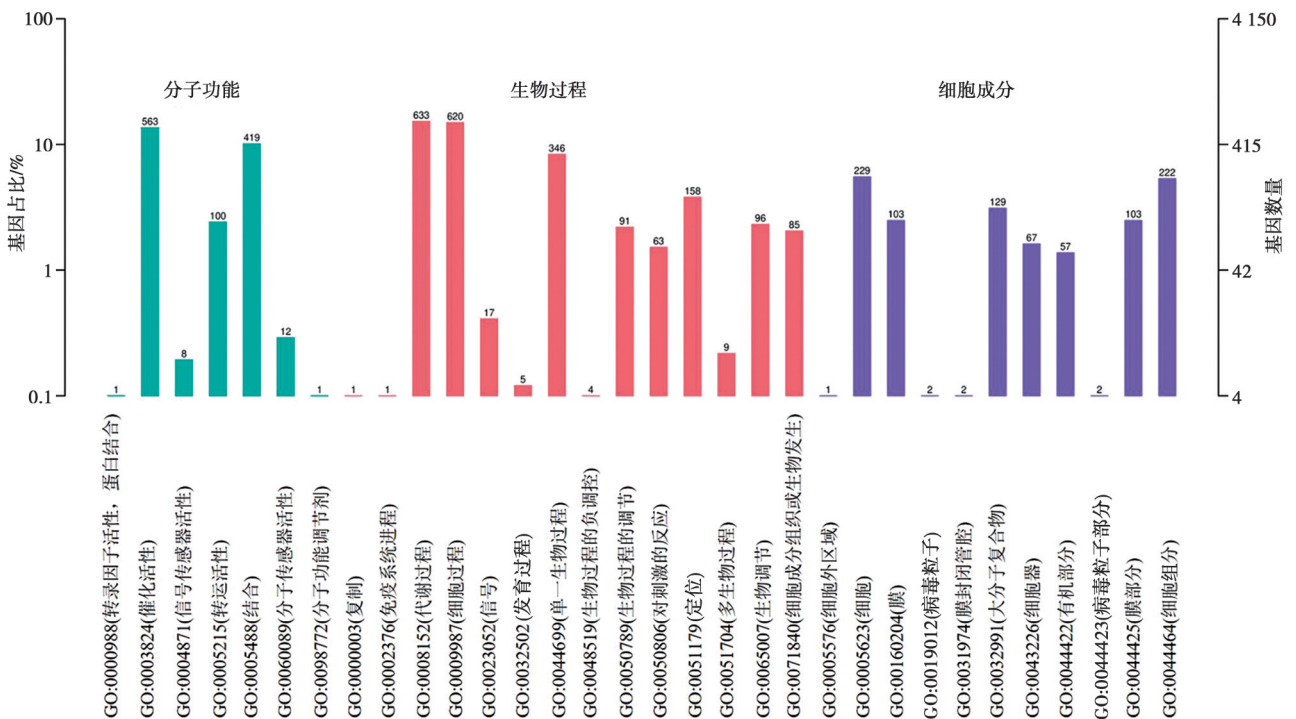


图 7 唾液乳杆菌 T4 基因组编码蛋白 GO 功能分类统计

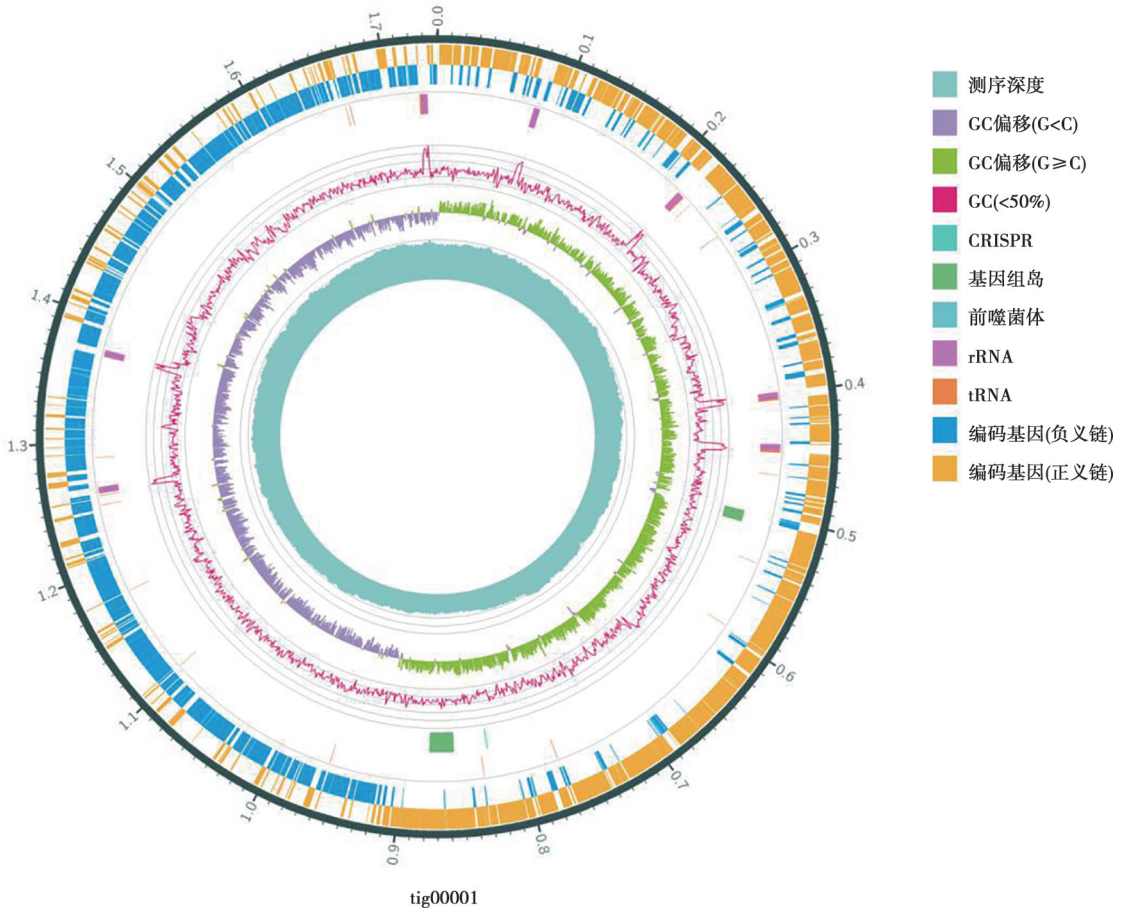


图 8 唾液乳杆菌 T4 基因组圈图

碳水化合物活性酶数据库 (CAZy) 的注释结果显示 (图 9), 唾液乳杆菌具有 158 个与糖苷水解酶 (GH) 相关的基因; 与糖基转移酶 (GT) 相关的基因数量次之, 为 139 个; 碳水化合物酯酶 (CE) 和碳水化合物结合模块 (CBM) 的数量分别为 19 个和 33 个; 而辅助氧化还原酶 (AA)、多糖裂解酶 (PL) 和锚定蛋白 (Dockerin) 的数量较少, 分别为 3 个、2 个和 1 个; 此外, 在注释结果中未发现与 S 层同源结构域 (SLH) 和黏连蛋白 (Cohesin) 相关的基因注释。

将唾液乳杆菌基因组与病原与宿主互作数据库 (PHI) 进行对比注释 (图 10), 共有 374 个基因得到了注释, 占比 20.10%。根据 PHI 数据注释结果可知, 毒力降低 (reduced virulence) 的占比最大, 为 53.14%; 未受影响的致病性 (unaffected pathogenicity) 次之, 占比 26.67%; 化学目标, 耐化学性和对化学品的敏感性 (chemistry target,

resistance to chemical and sensitivity to chemical) 占比最低, 都为 0.380%。

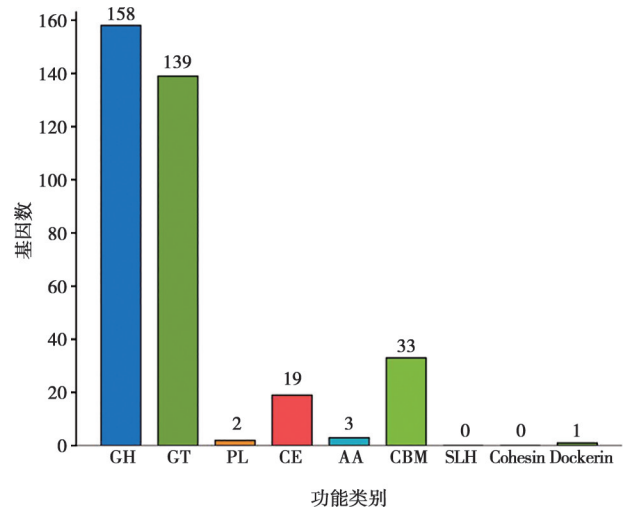


图 9 基因组编码蛋白 CAZy 功能分类统计

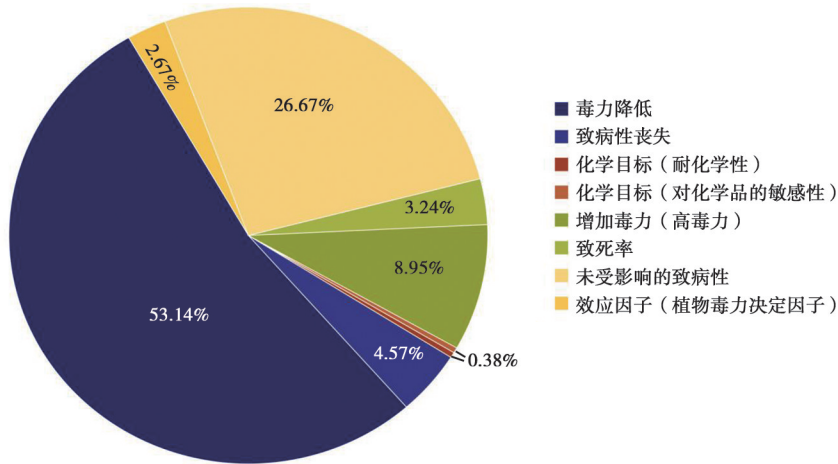


图 10 基因组编码蛋白 PHI 功能分类统计

3 讨论

唾液乳杆菌是一种乳酸菌，也是一种益生菌。益生菌是对人体有益的微生物^[10]，可以利用肠道中的营养来定植和代谢更多的消化酶，从而在宿主中发挥相互作用^[11]，进而促进肠道和口腔健康。此外，高附着能力也可以增强益生菌的作用^[12]。唾液乳杆菌具有多种潜在应用，尤其在口腔卫生和免疫支持方面。首先，唾液乳杆菌是口腔内的一种正常菌群，有助于维护口腔健康，它可以竞争其他有害细菌，从而有助于预防龋齿和口腔感染，还与其他口腔内细菌共生，形成复杂的微生物群落。它还可以与其他细菌协同作用，有助于防止病原菌的滋生，并促进口腔健康^[2]。一些口腔护理产品和口腔卫生制剂中含有唾液乳杆菌，以帮助维持口腔内微生态平衡^[13]。其次，唾液乳杆菌还可能有助于加强免疫系统。由于其具有较强的黏附能力，唾液乳杆菌可以通过调节相关炎症分子的表达水平，从而改善胃肠道免疫微环境，对于预防和治疗胃肠道炎症具有积极作用^[14-15]。最后，唾液乳杆菌也可以在初生婴儿中起到积极作用，维持肠道健康。母乳中含有益生菌，传递给婴儿有助于建立健康的肠道微生物群落，利用生长发育^[2-16]。

纳米孔测序技术是第三代测序技术的一种，也是一种现代 DNA 测序技术，它利用微孔（通常是纳米级别的孔）来逐个测序 DNA 分子的碱基序列；它的测序速度更快，准确性更高^[17]。本研究结合纳米孔测序对唾液乳杆菌菌株进行全基因组测序，并对该基因组的基本特征（序列长度、GC 含量、基因数量和功能注释等）进行了分析，以此来了解唾液乳杆菌基因组的基本结构和功能信息^[18]。

各种细菌在遗传组成、GC 含量和功能方面都不

一样，具有特殊性^[19]。根据本试验得出以下结论：基因组序列组装完成后，唾液乳杆菌 T4 基因组的大小为 1 918 675 bp。在基因组中有 1 861 个 CDS，79 个 tRNA，22 个 rRNA（分别转运 Gly、Glu、Asp、Ser 等多种不同的生物体所必需的氨基酸），2 个基因组岛，1 个原噬菌体区域，GC 含量为 33.01%。COG 是 NCBI 建立的一个注释蛋白质的数据库，通过基因之间的同源关系对蛋白进行注释并推断其功能，常用于原核生物的蛋白功能分析^[20]。通过 COG 对唾液乳杆菌 T4 基因组进行对比注释，结果显示，唾液乳杆菌 T4 菌株的 1 478 个编码蛋白基因被划分为 26 个 COG 亚类，占有编码蛋白基因的 79.42%，其中，基因注释数量最多的为翻译、核糖体结构和生物合成，共涉及 199 个基因，占总数的 13.46%，表明唾液乳杆菌 T4 参与翻译、核糖体合成生物合成的基因所占比例最高，参与物质运输和代谢的基因也较多，说明该菌株具有较强的生物合成和物质代谢的能力。KEGG 是一个有关生物系统较完善的数据库，整合了基因组、化学物质和系统功能信息^[8]。通过 KEGG 数据库的注释，可以便捷地寻找与某一类功能相关的所有已注释基因，对于基础生物学研究、医学研究、生物工程和药物研发等领域都具有重要意义。通过 KEGG 对唾液乳杆菌 T4 基因组进行对比注释，结果显示，唾液乳杆菌 T4 菌株 941 个编码蛋白基因分配到已知的 KEGG 通路中，占有编码蛋白基因的 50.15%，表明唾液乳杆菌 T4 参与新陈代谢的基因所占比例最高，其中，注释到碳水化合物、氨基酸、核苷酸代谢通路的基因数量比较多，说明该菌株具有较强的物质代谢能力，能提供足够的能量促进自身的生长发育^[10]。GO 注释是在生物学研究中非常重要的工具，有助于更好地理解基因和蛋白质的功能以及它们

在生物学过程中的作用^[12]。通过对比注释,结果显示,共有 1 138 个编码蛋白基因被注释,其中与生物学过程相关的基因数量最多。根据唾液乳杆菌 T4 基因组的圈图分析可知,该菌基因组的平均 GC 含量为 33.01%,每个 GC 峰值越高说明与平均 GC 含量之间的差距越大^[4]。GC 碱基分布的统计指标 GC-skew 生物学意义为,当 GC-skew>0 时,正链转录 CDS;当 GC-skew<0 时,负链转录 CDS^[4]。基因组圈图是一种数据可视化工具,可以更直观地理解复杂的基因组信息,发现潜在的模式和关联,并加深对基因组的认识。CAZy 是一个专注于研究碳水化合物相关酶的数据库^[7],通过对生物体内酶的分类来帮助解释和理解这些酶在碳水化合物降解、合成和利用中的作用,对于生物学、生物技术应用以及生态系统中碳循环等方面研究都具有重要意义。通过 CAZy 功能分类统计结果显示,唾液乳杆菌 T4 中具有大量的糖苷水解酶和糖基转移酶,说明该菌株对于碳水化合物的利用能力较强,能为该菌体的生命活动提供能量^[21]。

综上所述,唾液乳杆菌 T4 有较多新陈代谢过程相关的酶和蛋白质,具有较强的糖类、脂类、氨基酸、碳水化合物分解和代谢功能,推测该菌株在宿主体内具有较强的生存能力;还具有较多的糖苷水解酶,糖苷水解酶主要水解或降解糖苷键,帮助生物体分解利用碳水化合物,以供能量来维持生物体生命活动;与附着相关的基因也比较多,可增强唾液乳杆菌的在宿主体内发挥作用。此外,有研究证明,唾液乳杆菌还可以提高免疫和消化系统的健康等,进而促进断奶仔猪的生长和健康^[22]。唾液乳杆菌作为益生菌,可以抵抗病原体的入侵,从而维持宿主健康^[23]。本研究获得了有良好耐酸和耐胆盐能力的唾液乳杆菌,且有良好的抗菌效果,有望进一步开发为益生菌产品。

参考文献:

- [1] 崔艳伟,孟祥晨. 乳杆菌的分离及鉴定 [J]. 东北农业大学学报, 2008 (6): 115-119.
- [2] 李海龙,丁小玲,李吕木. 唾液乳杆菌的研究进展 [J]. 微生物学杂志, 2015, 35 (5): 94-97.
- [3] 陈新亮,邵启兵,王超,等. 唾液乳杆菌的分离鉴定及生物特性研究 [J]. 食品科学, 2016, 37 (13): 157-161.
- [4] WANG L, WU D, ZHANG Y, et al. Dynamic distribution of gut microbiota in cattle at different breeds and health states [J]. Front Microbiol, 2023, 16 (14): 1113730.
- [5] 张倪铭,陈李林,倪德芳,等. 一株茶毒蛾病原细菌的分离、鉴定及致病性测定 [J]. 福建农林大学学报 (自然科学版), 2024, 53 (1): 22-28.
- [6] 农庭缤,黄颖,马美红,等. 广西三黄鸡肠道中抗鸡白痢乳酸菌的分离鉴定 [J]. 中国家禽, 2024, 46 (9): 1-9.
- [7] 王雪艳,王乙茹,黄遵锡,等. 凝结芽孢杆菌培养液及其离心上清液、菌悬液的抑菌性能研究 [J]. 饲料工业, 2024, 45 (6): 111-117.
- [8] 田建军,张开屏,赵艳红,等. 风干肉中产脂肪酶瑞士乳杆菌 TR13 全基因组测序及序列分析 [J]. 食品科学, 2020, 41 (16): 101-109.
- [9] 党乔. 吉林省部分发酵食品中乳酸菌的分离鉴定及耐药性分析 [D]. 长春: 吉林农业大学, 2020.
- [10] 李雪飞,郭丽琼,叶志伟,等. 芒果源植物乳杆菌 FMNP01 的全基因组测序及序列分析 [J]. 中国食品学报, 2018, 18 (5): 232-238.
- [11] 范民婷. 植物乳杆菌在果酒发酵中的应用及固定化胞外酶性质研究 [D]. 烟台: 烟台大学, 2021.
- [12] 张欢畅,段云峰,徐黎明,等. 两株母乳源植物乳杆菌的全基因组测序分析 [J]. 微生物学通报, 2020, 47 (6): 1876-1887.
- [13] CUEVAS-GÓMEZ I, DE ANDRÉS J, CARDENAS N, et al. Safety assessment and characterization of *Ligilactobacillus salivarius* PS21603 as potential feed additive for swine [J]. Benef Microbes, 2022, 13 (5): 397-406.
- [14] MAYANAGI G, KIMURA M, NAKAYA S, et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21 - containing tablets on periodontopathichacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial [J]. J Clin Periodontol, 2009, 36 (6): 506-513.
- [15] PANPETCH W, SPINLER J K, VERSALOVIC J, et al. Characterization of *Lactobacillus salivarius* strains B37 and B60 capable of inhibiting IL-8 production in helicobacter pylori-stimulated gastric epithelial cells [J]. BMC Microbiol, 2016, 16 (1): 242.
- [16] 贾宏信,苏米亚,陈文亮,等. 母乳微生物的研究进展 [J]. 食品工业科技, 2014, 35 (4): 350-357.
- [17] YANG J, QIN S, ZHANG H. Precise strategies for selecting probiotic bacteria in treatment of intestinal bacterial dysfunctional diseases [J]. Front Immunol, 2022, 13: 1034727.
- [18] 付宇. 纳米孔靶向测序在病原微生物检测中的应用与评价 [D]. 武汉: 武汉大学, 2023.
- [19] YANG J, SHANG P, ZHANG B, et al. Genomic and metabonomic methods reveal the probiotic functions of swine-derived *Ligilactobacillus salivarius* [J]. BMC Microbiol, 2023, 23 (1): 242.
- [20] 吕逸辰. 小麦赤霉病抗源鉴定和拮抗细菌 I2 的全基因组测序分析 [D]. 成都: 四川农业大学, 2022.
- [21] 王霞,马伟超,雒林通,等. 牛分枝杆菌 CVCC68002 全基因组测序与功能分析 [J]. 甘肃农业大学学报, 2023, 58 (5): 11-24.
- [22] YANG J, WANG C, HUANG K, et al. Compound *Lactobacillus* sp. administration ameliorates stress and body growth through gut microbiota optimization on weaning piglets [J]. Appl Microbiol Biotechnol, 2020, 104: 6749-6765.
- [23] WANG Y, XU X, CHEN H, et al. Assessment of beneficial effects and identification of host adaptation-associated genes of *Ligilactobacillus salivarius* isolated from badgers [J]. BMC Genomics, 2023, 24 (1): 530.