

传统发酵豆瓣中产毒黄曲霉高效拮抗菌的筛选

高雅¹ 丁文¹ 张琦² 王立明² 杨志荣¹ 孙群^{1*}

(1. 四川大学生命科学学院 四川省资源微生物与微生物技术重点实验室 四川 成都 610064)

(2. 四川大学生命科学学院 四川 成都 610064)

摘要: 从自然发酵的豆瓣中筛选出对产毒黄曲霉菌的生长及其毒素合成均有抑制作用的细菌, 在蚕豆天然培养基(BAM)上利用菌落对峙实验初筛和滤纸片复筛得到 1 株有较高抑制产毒黄曲霉活性的菌株 L4。对 L4 进行形态学、生理生化特征及 16S rRNA 序列同源性分析, 鉴定此菌株为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。在抑制黄曲霉生长和黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)合成的研究中表明, 在 L4 与黄曲霉菌共同培养 15 d 后, 黄曲霉菌丝产量和黄曲霉毒素 B₁ 产量均比黄曲霉单独培养时显著降低($P < 0.01$), AFB₁ 合成受到明显抑制, 抑制率达 93.7%。当黄曲霉孢子液与 L4 发酵上清液 1: 1 (V/V)混合后接种在玉米粒上时, 黄曲霉在玉米上的生长和孢子萌发均得到完全抑制。

关键词: 黄曲霉, 黄曲霉毒素 B₁, 黄曲霉拮抗菌, 鉴定, 抑制作用

Screening of Antagonistic Bacteria Against Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* from Fermented Bean Paste

GAO Ya¹ DING Wen¹ ZHANG Qi² WANG Li-Ming² YANG Zhi-Rong¹ SUN Qun^{1*}

(1. Key Laboratory of Microbial-resource and Microbial-technique, College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064, China)

(2. College of Life Sciences, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610064, China)

Abstract: The mixture of broad bean and wheat flour during fermentation was used to screen antagonistic bacteria against aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. A strain L4 with strong antifungal activity against the aflatoxin-producing *Aspergillus flavus* was selected using broadbean agar medium (BAM). According to its morphological, physiological and biochemical characteristics and 16S rRNA gene sequence homology analysis, L4 was identified as *Bacillus subtilis*. When L4 and *Aspergillus flavus* were co-cultured for 15 days, the weight of the mycelium and the production of aflatoxin B₁ were both significantly lower than those of *Aspergillus flavus* cultured without L4. The accumulation of AFB₁ was inhibited significantly, the values of the reduction was 93.7%. When L4 culture supernatant was mixed with the spore suspension of *A. flavus* at ratio of 1: 1 and then inoculated on corns, the germination and growth of *A. flavus* was inhibited completely.

Keywords: *Aspergillus flavus*, Aflatoxin B₁, Antifungal bacteria, Identification, Inhibitory activity

黄曲霉(*Aspergillus flavus*)是粮食和食品中最常见的污染真菌, 黄曲霉污染后产生的主要次级代谢

产物黄曲霉毒素 B₁ (AFB₁)是一种毒性很强的肝毒素,有致癌、致畸、致细胞突变的“三致”作用^[1],给人和动物带来极大的健康危害和经济影响,因此黄曲霉毒素对粮食和食品的污染成为一个重要的公共卫生问题。然而,黄曲霉毒素以目前的物理化学方法不仅难以去除,而且这些方法对食品的色、香、味以及营养成分会产生不同程度的破坏和影响,同时易产生副产物和处理剂残留形成二次污染,对人和动物产生危害。基于此,从食品安全角度出发,利用微生物之间的拮抗作用,以生物控制方法来预防黄曲霉生长和产毒具有重要的理论意义和应用价值。目前,许多国外的研究小组均致力于利用微生物控制黄曲霉的污染,例如 Dorner 等^[2-3]应用非产毒黄曲霉菌株的拮抗作用控制产毒菌株在花生、玉米中的污染;Hua 等^[4]发现酵母能有效控制黄曲霉污染坚果;关于细菌对黄曲霉菌的抗菌能力和抑制活性的研究也有少量报道^[5-7]。但是,国内对黄曲霉及其毒素的研究主要集中在优化黄曲霉毒素的检测方法上,采用微生物法,特别是在传统发酵食品中,利用生物防治黄曲霉的报道极少。

郫县豆瓣是川菜의 必备调料,被誉为“川菜之魂”。然而郫县豆瓣多采用传统工艺自然发酵,且时间长、工序多,很容易受到黄曲霉的污染导致黄曲霉毒素超标。因此本研究旨在利用发酵豆瓣中生物拮抗作用的自然存在,从传统发酵的豆瓣中分离可抑制产毒黄曲霉菌生长的菌株,经鉴定为非致病或非腐败菌后,考察其对黄曲霉生长和 AFB₁ 合成的抑制作用,并初步探讨其在玉米上黄曲霉菌抑制的应用,为在食品中采用微生物法控制黄曲霉菌生长及其毒素提供理论基础。

1 材料与amp;方法

1.1 材料

1.1.1 实验材料: 蒸煮拌面制曲发酵后蚕豆瓣子(简称霉瓣子)、自然发酵 12 个月的发酵豆瓣(简称阴瓣子),由四川郫县豆瓣厂提供。

1.1.2 主要试剂: 黄曲霉毒素 B₁ 酶联免疫定量测试盒(江苏苏微微生物研究有限公司);质粒抽提试剂盒(TIANprep Mini Plasmid Kit);*E. coli* DH5 α 感受态细胞(天根公司);试剂均为市售分析纯。

1.1.3 培养基: 蚕豆天然培养基(BAM):蚕豆研磨

成粉,取 50 g 于 1000 mL 水中小火煮沸 30 min,纱布过滤,加入琼脂 15 g/L、水定容至 1000 mL,自然 pH, 1×10^5 Pa 灭菌 20 min。

花生查氏培养基^[8]; SM 筛选培养基^[8];改良 MRS 培养基^[9];牛肉膏蛋白胨培养基^[9];PDB 培养基^[9]。

1.2 筛选方法

1.2.1 细菌的分离: 称取霉瓣子或阴瓣子各 25 g,无菌状态下粉碎,用无菌生理盐水梯度稀释,取不同梯度的稀释液 0.1 mL 加入培养皿,并分别浇注牛肉膏蛋白胨培养基、改良 MRS 固体培养基,30°C 培养 48 h。待长出菌落后用无菌牙签挑取单菌落纯化后的菌株于 4°C 保藏备用。

1.2.2 黄曲霉产毒菌株的筛选: 取上述梯度稀释液 0.1 mL 分别涂布于花生查氏培养基、SM 筛选培养基,28°C 培养观察 5-8 天。将培养至第 5 天的平板倒置于紫外灯(365 nm)下观察,如果菌落周围的培养基中出现蓝紫色或黄绿色荧光即为产黄曲霉毒素的阳性菌株,至第 8 天仍无荧光者可判断为阴性菌株^[8],将纯化后的阳性菌株于查氏培养基中 4°C 保藏备用。

1.2.3 细菌数和霉菌孢子数测定: 采用血球板计数法和平板菌落计数法(CFU/mL)。

1.2.4 拮抗菌筛选: 初筛采用菌落对峙试验,将黄曲霉单孢子分离培养在蚕豆天然培养基平板中央,3 cm 直径外点接 10 μ L 待选菌液体培养物,28°C 培养 8-10 d,观察生长状况及抗菌表型。

复筛采用滤纸片法,用无菌磷酸盐缓冲液(含 5%的吐温 80)将黄曲霉孢子浓度调整为 10^7 CFU/mL,待用。取 100 μ L 孢子悬液涂布于 BAM 培养基平板。向滤纸片中央加入 10 μ L 细菌发酵全菌液或上清液,平板在室温下扩散 2 h 后,于 28°C 下培养 72 h,测抑菌圈直径。

1.3 菌株的鉴定

1.3.1 形态和生理生化特征: 根据《伯杰氏细菌鉴定手册(第 8 版)》^[10]进行鉴定。

1.3.2 16S rRNA 序列测定及系统发育分析: 参照《分子克隆实验指南(第 3 版)》^[11],提取菌株基因组 DNA。利用纯化后提取菌株基因组 DNA 为模板,采用细菌通用引物 PCR 扩增其 16S rRNA 片段。引物为 Eu27F: 5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3',

反向引物为 1490R: 5'-GGTTACCTTGTTACGACT T-3'。扩增条件: 94°C 4 min; 94°C 1min, 55°C 1 min, 72°C 1.5 min, 30 个循环; 4°C 终止反应。取 PCR 产物进行 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测后, 将 PCR 产物回收、纯化, 回收片段连接到 pMD18-T 载体, 转化 *E. coli* DH5 α , 经蓝白斑筛选, 质粒双酶切验证获得阳性克隆。重组质粒由华大基因(北京)测定序列。测序结果在 NCBI 网页上用 BLAST 进行比对, 找到与 GenBank 中同源性高的相关基因序列, 相似度大于 97% 的菌株视为同种菌株。用 Clustal X1.83 软件对同源性较高的的序列进行多重比对, 再通过 MEGA4.0 软件用 Neighbor-joining 法构建系统进化树, 并进行 1000 次 Bootstrap 检验。

1.4 对黄曲霉生长和黄曲霉毒素 B₁ 合成抑制作用的测定

将 500 μ L 拮抗菌培养液(1×10^6 CFU/mL)和 500 μ L 黄曲霉孢子悬液(1×10^5 CFU/mL)同时接种到 50 mL 新鲜 PDB 中, 对照组则以 500 μ L 无菌培养液替代拮抗菌培养液, 28°C 培养, 在 0、3、6、9、12 d 时分别测定测量菌丝干重和培养液中黄曲霉毒素含量。用 Whatman No. 4 滤纸过滤培养液, 得到的菌丝于 90°C 烘干过夜, 称重。黄曲霉毒素的提取方法按照参考文献[12], 测量采用固相酶联免疫吸附方法(ELISA)测定, 450 nm 酶标仪读数, 对照标准曲线计算 AFB₁ 含量。试验重复 3 次, 以菌丝和 AFB₁ 产量的平均值进行统计, 采用 SPSS13.0 中 One-way ANOVA 法进行方差分析和差异显著性检验。AFB₁ 合成抑制率按下式计算:

$$y = \frac{x_1 - x_2}{x_1} \times 100\%$$

x_1 代表对照组 AFB₁ 含量, x_2 代表处理组 AFB₁ 含量, y 代表抑制率。

1.5 对黄曲霉在玉米上生长的抑制作用

挑选颗粒饱满的新鲜玉米, 用 10% 的 NaClO 浸泡 60 s 后用无菌水洗涤 2 次, 按 15 g 每瓶分装在 100 mL 无菌三角瓶中, 纱布封口, 45°C 烘干。将黄曲霉悬浮在含 5% 吐温 80 的磷酸盐缓冲液中, 调整孢子浓度为 1×10^5 CFU/mL, 备用。拮抗菌于 BAM 培养基中 37°C 摇床培养 36 h 后, 5000 r/min 离心 5 min 取上清液。保持液体总量为 100 μ L, 将孢子悬液与发酵上清液按 6: 1、3: 1、1: 1 (V/V) 混匀, 分别加入无菌三角瓶中, 摇匀后 28°C 培养 5 d, 观

察玉米霉变情况。

2 结果与分析

2.1 产毒黄曲霉的筛选与鉴定

筛选得到一株 365 nm 紫外灯下在花生查氏培养基和 SM 培养基上均产生蓝绿荧光的菌株, 结合标准形态学观察鉴定为黄曲霉毒素产毒菌株, 命名为 WG08。

2.2 黄曲霉拮抗菌株的筛选

从霉瓣子和阴瓣子中分离得到 102 株细菌, 利用菌落对峙实验初筛得到 17 株对产毒黄曲霉有抑制作用的菌株。根据抑制作用表型的不同, 可将细菌划分为生长接触抑制型(细菌菌落接触黄曲霉菌丝体后表现出生长抑制作用)和生长抑制带抑制(菌落周围产生清晰生长隔离条), 见图 1。



图 1 菌落对峙实验中黄曲霉拮抗菌的抑菌表型

Fig. 1 Phenotypes of antagonistic bacteria during coculture with *A. flavus*

注: iz: 生长抑制带抑制; ic: 生长接触抑制。

Note: iz: Zone of growth inhibition; ic: Contact growth inhibition.

采用滤纸片法复筛得到 7 株具较强抑菌活性的菌株(表 1), 其中菌株 L4 不论是菌悬液还是发酵上清液的抑制活性都最强。因此, 在以后实验中选择 L4 作为供试菌株进行抑制黄曲霉毒素产生和玉米上黄曲霉生长和毒素积累影响的研究。菌株 L4 采用滤纸片法抑制产毒黄曲霉的抑菌图如图 2 所示。

2.3 菌株鉴定

2.3.1 形态学及生理生化特征: 菌株 L4 在牛肉膏蛋白胨培养基上培养 2 d 后菌落呈圆形、边缘不整齐、表面起皱、奶油偏褐色、不透明、直径 0.3 cm–0.4 cm。革兰氏染色阳性, 镜检细胞呈杆状、有芽孢、两端钝圆、单个排列、偶尔 2–3 个细菌排成短链, 经涂片干燥的细菌(0.6–0.8) μ m \times (1–2.5) μ m, 其扫描电子显微镜形态见图 3。

菌株 L4 的主要生理生化特征见表 2。结合这些特征并依据《伯杰氏细菌鉴定手册(第 8 版)》，初步鉴定菌株 L4 为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)。

2.3.2 16S rRNA 序列分析: 以菌株 L4 基因组总 DNA 为模板, 采用通用 16S rRNA 引物进行 PCR 扩增, 得到约 1.6 kb 的特异性扩增产物。菌株 L4 的 16S rRNA 序列与 GenBank 中已登录的 16S rRNA 序列同源性比对, 显示菌株 L4 与芽孢杆菌属菌株的 16S rRNA 有很高相似性, 其中与 *Bacillus subtilis* BCRC 10058 菌株的相似性最高, 达 99.9%。基于 16S rRNA 基因序列构建了与菌株 L4 相近菌种的系统发育树(图 4)。该系统发育树表明, 菌株 L4 与 *B. subtilis* BCRC 10058 (DQ993674) 的进化距离最近。菌株 L4 的序列已在 GenBank 中注册, 登录号为 GQ421472。

在形态学和生理生化鉴定基础上, 结合 16S rRNA 序列分析结果显示, 菌株 L4 与 *B. subtilis* 16S

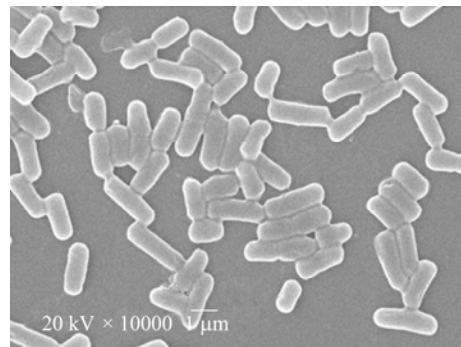


图 3 菌株 L4 细胞形态的扫描电镜图($\times 10000$)

Fig. 3 Cell morphology of strain L4 under scanning electron microscopy ($\times 10000$)

菌株编号 Strain No.	抑菌表型 Antagonistic phenotype	抑菌圈直径 (mm) Average diameter of inhibition zone (mm)	
		全菌液 Full cell culture	上清液 Supernatant
		L4	iz
L14	ic	21.0 \pm 0.87	-
B14	ic	22.8 \pm 1.32	16.6 \pm 1.01
DL16	iz	28.2 \pm 1.61	24.2 \pm 1.22
DL17	ic	20.4 \pm 1.44	17.5 \pm 0.76
WR22	iz	24.0 \pm 0.56	20.8 \pm 0.67
DL20	ic	22.2 \pm 0.12	19.4 \pm 0.34

注: 滤纸片直径为 13 mm.

Note: The diameter of the scrip is 13 mm.

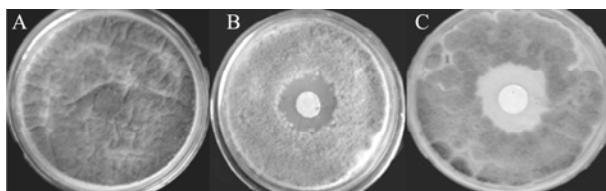


图 2 菌株 L4 对产毒黄曲霉的抑制作用

Fig. 2 Results of antagonistic of L4 with aflatoxigenic *A. flavus*

注: A: BAM 液体培养基对照; B: 发酵液离心上清液; C: 发酵全菌液.

Note: A: BAM liquid medium control; B: Supernatant; C: Full cell culture.

特征反应 Characterization	结果 Results
接触酶反应 Catalase test	+
V-P 实验 V-P test	+
酪蛋白水解 Casein hydrolysis	+
明胶水解 Gelatin hydrolysis	+
淀粉水解 Starch hydrolysis	+
硝酸盐还原 Nitrate reduction test	+
硫化氢生成 H ₂ S production	-
明胶液化 Gelatin hydrol	+
葡萄糖产气 Gas from glucose oxidation	-
葡萄糖产酸 Acid from glucose test	+
木糖产酸 Acid from xylose	+
甘露糖产酸 Acid from Mannose	+
阿拉伯糖产酸 Acid from Arabinose	-
吲哚试验 Indole test	-
于 4°C 生长 Growth at 4°C	-
于 45°C 生长 Growth at 45°C	+
于 45°C 生长 Growth at 45°C	+

注: +: 阳性反应; -: 阴性反应.

Note: +: Positive reaction; -: Negative reaction.

rRNA 序列同源性高达 99.9%, 形态特征和生理生化特征完全相同, 故鉴定菌株 L4 为枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)。

2.4 L4 对黄曲霉菌丝产量及黄曲霉毒素 B₁ 产量的影响

将黄曲霉菌生长拮抗菌株 L4 与产毒黄曲霉菌共同培养, 判断其对黄曲霉菌丝体产量及 AFB₁ 产量的抑制能力。结果如图 5 所示, 与对照组相比, 培养 15 d 后, 拮抗菌 L4 与黄曲霉孢子共同培养组的黄曲霉菌丝产量与 AFB₁ 产量均有极显著降低

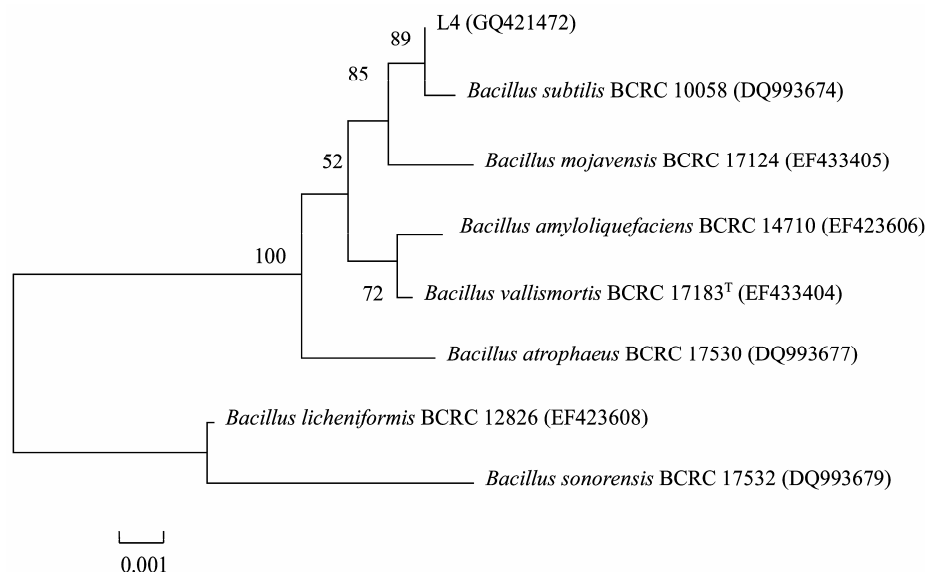


图4 基于16S rRNA基因序列菌株L4的Neighbour-joining法系统发育树图

Fig. 4 Neighbour-joining tree showing the phylogenetic position of *B. subtilis* L4 and representatives of some other related species based on 16S rRNA sequences

Note: Numbers at nodes present bootstrap percentages (based on 1000 samplings). Sequences from this study are in boldface type. The numbers in parentheses are accession numbers of sequences in GenBank. Bar: 0.001 sequence divergence.

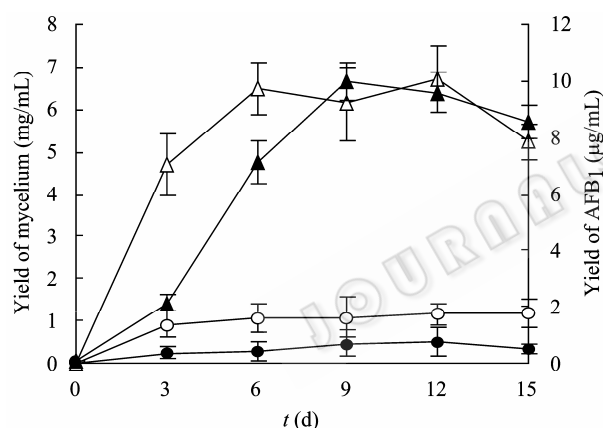


图5 菌株L4对黄曲霉毒素B₁合成的抑制作用结果

Fig. 5 Inhibitory activity of *B. subtilis* L4 on yield of mycelium and AFB₁

注: Δ : 对照组黄曲霉菌丝产量; \circ : L4处理组对照组黄曲霉菌丝产量; \blacktriangle : 对照组 AFB₁产量; \bullet : L4处理组 AFB₁产量。

Note: Δ : Yield of mycelium of control group; \circ : Yield of mycelium of L4 treatment group; \blacktriangle : Yield of AFB₁ of control group; \bullet : Yield of AFB₁ of L4 treatment group.

($P < 0.01$)。对照组中 AFB₁产量第8天至12天达到高峰, L4在第3、6、9、12、15天对 AFB₁产生的抑制率分别为82.7%、90.4%、92.8%、92.4%、93.7%。

2.5 菌株L4对黄曲霉在玉米上生长的抑制作用

观察用不同浓度的L4培养上清液与黄曲霉GW08共同接种玉米、储存4d后黄曲霉在玉米上的生长状况。结果如图6所示, 随着L4发酵上清液的



图6 L4发酵上清液对黄曲霉在玉米上生长的抑制结果
Fig. 6 The inhibitory activity of culture supernatant of *B. subtilis* L4 on the growth of *A. flavus* on corns

注: A: 对照组; B、C、D: 分别为黄曲霉孢子悬液; 发酵上清液为6:1、3:1、1:1 (V/V)。

Note: A: Control; B,C,D: Different treatments of spore suspension of *A. flavus*; Culture supernatant of *B. subtilis* L4 at 6:1, 3:1, 1:1 (V/V), respectively.

浓度增加, 黄曲霉的生长量减少; 与对照相比, 当黄曲霉孢子液与L4发酵上清液体积比为1:1时, 黄曲霉的生长和孢子萌发得到完全抑制。

3 讨论

当前在细菌对黄曲霉菌的拮抗作用的研究中发现的拮抗菌主要包括乳酸菌属(*Lactic acid bacteria* sp.)、短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*)、链霉菌(*Streptomyces* sp.)等^[7,13-16]。本实验利用胡豆天然培养基在自然发酵的郫县豆瓣中分离到一株具有显著

抑制产毒黄曲霉生长及AFB₁合成的枯草芽孢杆菌。枯草芽孢杆菌作为植物病原菌的拮抗菌已有很多报道,并且已作为生物农药在广泛使用。朱新贵^[17]等分离到一株枯草芽孢杆菌,该菌株在加入AFB₁标准的液体培养基后能使AFB₁量显著减少,但未见报道该菌对黄曲霉生长的拮抗以及黄曲霉合成的抑制作用。

在菌落对峙试验中,菌株L4的抑菌表型为生长抑制带抑制,可能的原因是拮抗菌产生可扩散的抗菌代谢产物而在固体培养基上表现出了分散的抑菌圈。这些物质可能为芽孢杆菌属细菌所产生的抗菌多肽,如Cho等在韩国酱油中分离到一株短小芽孢杆菌(*Bacillus pumilus*) HY-1,该菌通过分泌伊枯草菌素抑制产毒黄曲霉的生长^[15]。

Zucchi等在对*Streptomyces* sp. ASBV-1的研究中发现,当ASBV-1以 1×10^8 CFU/mL与*Aspergillus parasiticus*孢子浓度分别为 1×10^4 和 1×10^6 CFU/mL等体积接入培养基中,25°C培养7 d后,AFB₁合成的抑制率分别为98%和83.4%^[16]。在本研究中,等体积的拮抗菌株L4 (1×10^6 CFU/mL)与黄曲霉孢子(1×10^5 CFU/mL)在28°C共同培养15 d时,黄曲霉菌丝体生长和AFB₁的产生均得到有效抑制,其中对AFB₁合成的抑制率为93.7%。同时,虽然在本研究中L4对黄曲霉的生长和AFB₁合成影响是正相关的,然而关于L4抑制AFB₁合成的机理还有待于进一步研究。

本研究筛选得到抑制黄曲霉生长和毒素合成的枯草芽孢杆菌拮抗菌,对于在粮食、食品等方面控制黄曲霉生长和毒素积累将具有重要的应用价值。研究将进一步探讨菌株L4抑制黄曲霉生长和产毒的机理,为其在食品工业中的应用提供理论依据。

参 考 文 献

- [1] Eaton DL, Groopman JD. The toxicology of aflatoxins. human health, veterinary and agricultural significance. San Diego: Academic Press, 1994: 3-26.
- [2] Dorner JW, Cole RJ. Effect of application of nontoxicogenic strains of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* on subsequent aflatoxin contamination of peanuts in storage. *Stored Products Research*, 2002(38): 329-339.
- [3] Dorner JW. Biological control of aflatoxin contamination in corn using nontoxicogenic strain of *Aspergillus flavus*. *Journal of Food Protection*, 2009(4): 801-804.
- [4] Hua SS, Baker JL, Flores-Espiritu M. Interactions of saprophytic yeasts with a nor mutant of *Aspergillus flavus*. *Appl Environ Microbiol*, 1999(65): 2738-2740.
- [5] Palumbo JD, Baker JL, Mahoney NE. Isolation of bacterial antagonists of *Aspergillus flavus* from almonds. *Microbial Ecology*, 2006(52): 45-52.
- [6] Bluma RV, Etcheverry MG. Influence of *Bacillus* spp. isolated from maize agroecosystem on growth and aflatoxin B₁ production by *Aspergillus* section *Flavi*. *Pest Management Science*, 2006(62): 242-251.
- [7] Moyne AL, Shelby R, Cleveland TE, et al. Bacillomycin D: an iturin with antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Journal of Appl Microbiol*, 2001(90): 622-629.
- [8] 李云, 周应揆, 曹玉, 等. 黄曲霉毒素产毒菌株的快速筛选法. 云南大学学报(自然科学版), 1999, 21(2): 162-164.
- [9] 东秀珠, 蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册. 北京: 科学出版社, 2001: 370.
- [10] 希坎南 RE, 吉布斯 NE. 伯杰细菌鉴定手册. 第 8 版. 北京: 科学出版社, 1984: 729-739.
- [11] J 萨姆布鲁克, DW 拉塞尔. 分子克隆实验指南. 第 3 版. 北京: 科学出版社, 2002.
- [12] Teniola OD, Addo PA, Boost IM, et al. Degradation of aflatoxin B₁ by cell-free extracts of *Rhodococcus erythropolis* and *Mycobacterium fluoranthenivorans* sp. nov. DSM44556T. *International Journal of Food Microbiol*, 2005(105): 111-117.
- [13] 周启生, 孙长波, 张楠, 等. 拮抗放线菌 S24 的鉴定及其对黄曲霉的抑制作用. 微生物学通报, 2009, 36(12): 1832-1837.
- [14] 徐进. 乳酸菌抑制黄曲霉群某些菌种生长与产毒及对肠出血大肠杆菌 O157: H7 抑制作用的研究. 中国预防医学科学院博士学位论文, 2002.
- [15] Cho KM, Math RK, Hong SY, et al. Iturin produced by *Bacillus pumilus* HY1 from Korean soybean sauce (kanjang) inhibits growth of aflatoxin producing fungi. *Food Control*, 2009, 20(4): 402-406.
- [16] Zucchi TD, Moraes LAB, Melo IS. *Streptomyces* sp. ASBV-1 reduces aflatoxin accumulation by *Aspergillus parasiticus* in peanut grains. *Journal of Appl Microbiol*, 2008, 105(6): 2153-2160.
- [17] 朱新贵, 林捷. 几种食品微生物降解黄曲霉毒素作用的研究. 食品科学, 2001(22): 65-68.