DOI:10.12441/spyswjs.20251126002 [文章编号] 1673-1689(2026)04-0028-10

植物乳植杆菌 ALAC-G2 的益生特性及其对白假丝酵母菌抑制机理的初探

王瑞雪 杨朋浩 满都拉 孙子羽 陈忠军*

(内蒙古农业大学食品科学与工程学院,内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:【目的】探究植物乳植杆菌 ALAC-G2 的益生特性及其所产抗菌肽 AFP 抑制白假丝酵母菌的作用机理。**【方法】**通过体外试验测定植物乳植杆菌 ALAC-G2 的自聚集力、细胞表面疏水性、耐酸性、耐胆盐性及对人工胃肠液的耐受性来评估其益生特性;通过测定 AFP 对白假丝酵母菌的最小抑菌浓度(minimum inhibitory concentrations,MIC)、生长曲线、细胞膜通透性、菌丝相转换、生物被膜形成的影响,解析其抑制白假丝酵母菌的机理。**【结果】**植物乳植杆菌 ALAC-G2 自聚集力达 59.70%、表面疏水性为 21.43%,且对酸、胆盐及人工胃肠液具有良好耐受性,表现出良好的益生潜力。AFP 对白假丝酵母菌的 MIC 为 16 mg/mL,其不仅能有效抑制白假丝酵母菌的生长繁殖,还能破坏菌体细胞壁与细胞膜完整性,减弱菌体向菌丝相转变的能力,并显著抑制菌体黏附性和生物被膜的形成。**【结论】**该研究明确了植物乳植杆菌 ALAC-G2 的益生功能与所产抗菌肽 AFP 的抑菌机理,为该菌株在食品防腐保鲜及肠道微生态调节剂开发等领域的创新应用提供了依据。

关键词:植物乳植杆菌;益生特性;白假丝酵母菌;抑菌机理

Preliminary Study on the Probiotic Properties of *Lactiplantibacillus plantarum* ALAC-G2 and Its Inhibitory Mechanism Against *Candida albicans*

*WANG Ruixue YANG Penghao Mandlaa SUN Ziyu CHEN Zhongjun**

(College of Food Science and Engineering, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010018, China)

Abstract: [**Objective**] This study aimed to explore the probiotic properties of *Lactiplantibacillus plantarum* (*L. plantarum*) ALAC-G2 and the inhibition mechanism of its antifungal peptide AFP against *Candida albicans*(*C. albicans*). [**Method**] The probiotic properties of *L. plantarum* ALAC-G2 were evaluated by *in vitro* experiments, including self-aggregation ability, cell surface hydrophobicity, acid tolerance, bile salt tolerance, and artificial gastrointestinal fluid tolerance. The inhibition mechanism of AFP against *C. albicans* was analyzed by determining the minimum inhibitory concentration (MIC), growth curve, cell wall and membrane permeability, hyphal phase transition, and biofilm formation of *C. albicans*. [**Result**] *L. plantarum* ALAC-G2 had a self-aggregation ability of 59.70% and a surface hydrophobicity of 21.43%, and it showed good tolerance to acid, bile salt, and artificial gastrointestinal fluid, showcasing good probiotic potential. The MIC of AFP against *C. albicans* was 16 mg/mL. AFP not only effectively inhibited the growth and reproduction of *C. albicans* but also caused damage to integrity of the cell wall and cell membrane, weakened the ability of transforming into the hyphal form, and significantly inhibited the adhesion and biofilm formation of the fungus. [**Conclusion**] This study clarified the probiotic functions of *L. plantarum* ALAC-G2 and the inhibition mechanism of the antifungal peptide AFP it produces, providing

基金项目:内蒙古自治区自然科学基金项目(2025MS03057)。

通信作者:陈忠军(1971—),女,博士,教授,博士研究生导师,主要从事发酵工程与食品微生物学研究。E-mail:nmndchen@163.com

收稿日期:2025-11-26 **修回日期:**2025-12-03

important technical support for the innovative application of this strain in food preservation and the development of intestinal microecological regulators.

Keywords: *Lactiplantibacillus plantarum*; probiotic property; *Candida albicans*; antifungal mechanism

白假丝酵母菌作为一种条件性致病真菌，既是食品工业中常见的致腐微生物，可导致乳制品、肉制品、果蔬制品等发生霉变和腐败，造成严重的经济损失[1]；也是人体肠道内常见的定植菌，当机体免疫功能降低或肠道微生态失衡时，易引发黏膜感染乃至全身真菌感染，对食品质量安全和人类健康构成双重威胁[2]。目前，食品领域主要依赖化学防腐剂（如山梨酸钾、苯甲酸钠）来控制真菌污染，但长期使用易导致真菌耐药性增强以及潜在的食品安全风险；医疗领域抗真菌药物的滥用同样引发耐药菌株的扩散[3]。因此，挖掘天然、安全且高效的抗真菌资源成为食品与微生物领域的研究热点。

益生菌作为一类对宿主健康有益的活性微生物，在调节肠道微生态平衡、抑制病原微生物定植等方面具有显著优势[4]。其中，植物乳植杆菌因来源广泛、耐受性强及功能多样等特点[5]，成为抗真菌研究的重点菌株。已有研究证实，植物乳植杆菌可通过代谢产生有机酸、细菌素、抑菌蛋白、抗菌肽等活性物质抑制真菌生长[6]。其中，抗菌肽因具有广谱抗菌活性而备受关注。抗菌肽的抑菌机理复杂且多样[7]，目前大多数研究主要聚焦于对细菌的抑制作用[8]，而针对其抗真菌机理，特别是对白假丝酵母菌的作用路径尚未完全阐明。

作者以从内蒙古传统发酵食品中分离的植物乳植杆菌ALAC-G2为研究对象，先验证其益生潜力与抑菌特性，继而研究抗菌肽AFP对白假丝酵母菌的作用机理，旨在为传统发酵食品来源益生菌的开发利用提供理论支撑，同时为食品真菌污染的绿色防控及肠道致病性白假丝酵母菌感染的微生态干预开辟新路径。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

植物乳植杆菌ALAC-G2：作者所在课题组前期从内蒙古传统发酵食品中分离，保藏于−80 ℃冰箱中；白假丝酵母菌CICC32380：中国工业微生物菌株保存管理中心。

脑心浸液肉汤：分析纯，青岛海博生物技术有限公司；正十六烷：分析纯，天津市光复科技发展有限公司；人工胃液、人工肠液：分析纯，北京索莱宝科技有限公司；硫酸铵：分析纯，广东环凯微生物科技有限公司；钙荧光白（calcofluor white，CFW）：分析纯，美国Sigma-Aldrich公司；酵母提取粉、大豆蛋白胨、葡萄糖、氯化钠、细菌学蛋白胨、牛肉浸膏、琼脂：分析纯，北京陆桥生物技术有限公司；磷酸盐、结晶紫：分析纯，上海国药集团化学试剂有限公司；苯胺蓝：分析纯，上海Macklin生化科技有限公司。

1.2 仪器与设备

双人单面净化工作台：HCB-1300V型，青岛海尔特种电器有限公司；旋转蒸发仪：RV10型，德国IKA公司；全自动高压灭菌锅：SX-500型，日本Tomy公司；隔水式恒温培养箱：GHP-9080型，上海一恒科学仪器有限公司；恒温振荡培养箱：THZ-98C型，上海一恒科学仪器有限公司；高速冷冻离心机：3-18ks型，美国Sigma-Aldrich公司；全波长酶标仪：Epoch型，美国BioTek公司；倒置光学显微镜：BDS400型，重庆奥特光学仪器有限责任公司；原子吸收分光光度计：ZA3300型，日本Hitachi公司。

1.3 益生特性评估

1.3.1 自聚集力测定

用MRS液体培养基将对数生长期的植物乳植杆菌ALAC-G2的活菌浓度调整至1×10^6 CFU/mL，测定其在600 nm处的初始吸光度。37 ℃静置培养4 h，吸取上层菌液，再次于600 nm处测定吸光度。菌株的自聚集力按式（1）计算。

$$S=\left(1-\frac{A_1}{A_0}\right)\times 100\% \quad (1)$$

式中：

S——自聚集力，%；

A_0——培养0 h时菌液的初始吸光度；

A_1——培养4 h后上层菌液的吸光度。

1.3.2 表面疏水性测定

将对数生长期的植物乳植杆菌ALAC-G2菌液

于 4 ℃、8 000 r/min 下离心 5 min，弃去上清液。菌体细胞用无菌磷酸盐缓冲液（PBS，0.02 mol/L，pH 6.2）洗涤 3 次后，用相同 PBS 重悬并调整菌悬液在 600 nm 处的吸光度至 1.00±0.02。取 4 mL 菌悬液，加入 1 mL 正十六烷，涡旋振荡 1 min 使两相充分混合，室温静置 10 min 至完全分层。吸取下层水相，于 600 nm 处测定吸光度。菌株的表面疏水性按式（2）计算。

$$H=\left(1-\frac{A_3}{A_2}\right)\times 100\% \quad (2)$$

式中：

H——表面疏水性，%；

A_2——与正十六烷混合前，菌悬液的吸光度；

A_3——与正十六烷作用后，下层水相的吸光度。

1.3.3 人工胃肠液耐受能力分析

取 1 mL 处于对数生长期的植物乳植杆菌 ALAC-G2 菌液，分别接种于 9 mL 人工胃液和人工肠液中，37 ℃静置培养 3 h。分别于 0 h 和 3 h 取样，进行活菌计数。菌株对人工胃肠液的耐受能力以存活率表示，并按式（3）计算。

$$R=\frac{N_1}{N_0}\times 100\% \quad (3)$$

式中：

R——存活率，%；

N_0——0 h 时菌液的活菌浓度，CFU/mL；

N_1——3 h 时菌液的活菌浓度，CFU/mL。

1.3.4 耐酸、耐胆盐能力分析

取 1 mL 处于对数生长期的植物乳植杆菌 ALAC-G2 菌液，分别接种于 9 mL 不同 pH（2.0、3.0、4.0）或不同胆盐质量分数（0.1%、0.3%、0.5%）的 MRS 液体培养基中，37 ℃静置培养 3 h。培养结束后，测定各组菌液在 600 nm 处的吸光度，以评估菌株对酸和胆盐的生长耐受性。

1.4 抗菌肽 AFP 的抑菌特性分析

1.4.1 抗菌肽 AFP 的制备

将对数生长期的植物乳植杆菌 ALAC-G2 菌液于 4 ℃、8 000 r/min 下离心 5 min，弃去菌体细胞。上清液经 0.22 μm 微孔滤膜过滤后，用旋转蒸发仪浓缩至原体积的 1/25。向浓缩液中加入饱和硫酸铵溶液，使其饱和度达到 60%。4 ℃冰箱静置 24 h 后，于 4 ℃、8 000 r/min 下离心 5 min，弃去上清液。沉淀用等体积的无菌 PBS 重悬后，置于透析袋（截留相对分子质量 5 000 的物质）中，4 ℃冰箱透析 24 h 以去除小分子杂质。透析后的样品经过超滤、G-50 凝胶过滤层析进一步分离，最终冷冻干燥获得抗菌肽 AFP[9]。

1.4.2 抑菌活性的测定

在无菌培养皿中加入 10 mL 水琼脂培养基作为下层，待其完全凝固后，垂直放置牛津杯于水琼脂表面。将白假丝酵母菌培养至对数生长期，用 YEPD 液体培养基调整其活菌浓度至 1×10^6 CFU/mL。按体积比 1∶25 将该菌悬液与 45 ℃的 YEPD 琼脂培养基混合均匀，加到水琼脂上层制成双层平板。待上层培养基完全凝固后，轻轻取出牛津杯，向孔穴中加入 200 μL 质量浓度为 128 mg/L 的 AFP。将平板置于 30 ℃恒温培养箱中静置培养 24 h，观察抑菌圈形成情况并测定其直径[10]。

1.4.3 MIC 的确定

在 96 孔板第一列各孔中加入 200 μL 质量浓度为 128 mg/L 的 AFP，其余各孔加入 100 μL 无菌水，采用二倍稀释法依次对前一列中的 AFP 进行稀释，最后一列弃去 100 μL 稀释液以保证各孔的体积一致，并以不添加 AFP 的组别为对照组。向所有孔中分别加入 100 μL 活菌浓度为 1×10^6 CFU/mL 的白假丝酵母菌菌悬液，30 ℃静置培养 36 h，然后测定各孔在 600 nm 处的吸光度。

1.5 抑菌机理研究

1.5.1 白假丝酵母菌生长活性的测定

将活菌浓度为 1×10^6 CFU/mL 的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的 AFP 等体积混合，使 AFP 最终质量浓度分别为 1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加 AFP 的组别为对照组。将混合后的菌液置于 30 ℃恒温振荡培养箱中，180 r/min 振荡培养 36 h。培养期间每隔 4 h 取样，测定其在 600 nm 处的吸光度。

1.5.2 白假丝酵母菌细胞壁完整性的测定

将活菌浓度为 1×10^6 CFU/mL 的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的 AFP 等体积混合，使 AFP 最终质量浓度分别为 1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加 AFP 的组别为对照组。混合菌液于 30 ℃、180 r/min 下振荡培养 8 h，在 4 ℃、

8 000 r/min下离心5 min，收集菌体，用无菌PBS洗涤并重悬至原体积。分别加入质量分数为0.1%的苯胺蓝溶液或质量浓度为8 μg/mL的CFW，30 ℃避光孵育5 min。孵育结束后，用无菌PBS洗涤细胞以去除未结合的过量染料，再次重悬于等体积的无菌PBS中。采用多功能酶标仪检测其荧光强度，间接反映细胞壁组分中β-葡聚糖与几丁质的暴露量[11]。

1.5.3　白假丝酵母菌细胞膜通透性的测定

将活菌浓度为1×10^6 CFU/mL的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的AFP等体积混合，使AFP最终质量浓度分别为1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加AFP的组别为对照组。将混合后的菌液置于30 ℃恒温振荡培养箱中，180 r/min振荡培养8 h。培养结束后，在4 ℃、8 000 r/min下离心5 min，收集上清液，采用原子吸收分光光度计测定上清液中K^+的质量浓度[12]。

1.5.4　白假丝酵母菌形态转换的测定

将活菌浓度为1×10^6 CFU/mL的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的AFP等体积混合，使AFP最终质量浓度分别为1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加AFP的组别为对照组。将混合菌液接种于6孔板中，37 ℃静置培养12 h，采用倒置光学显微镜观察并记录白假丝酵母菌的细胞形态及生长情况。

1.5.5　白假丝酵母菌自聚集力的测定

将活菌浓度为1×10^6 CFU/mL的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的AFP等体积混合，使AFP最终质量浓度分别为1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加AFP的组别为对照组。待菌液混合均匀后，测定其在600 nm处的初始吸光度。30 ℃静置培养4 h后，吸取上层菌液，再次于600 nm处测定吸光度，计算菌株的自聚集力。

1.5.6　白假丝酵母菌表面疏水性的测定

将活菌浓度为1×10^6 CFU/mL的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的AFP等体积混合，使AFP最终质量浓度分别为1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加AFP的组别为对照组。混合菌液于30 ℃、180 r/min振荡培养36 h后，在4 ℃、8 000 r/min下离心5 min，弃去上清液。菌体细胞用无菌PBS洗涤3次后，用相同PBS重悬并调整菌悬液在600 nm处的吸光度至1.00±0.02。取4 mL该菌悬液，加入1 mL正十六烷，涡旋振荡1 min使两相充分混合，室温静置10 min至完全分层。吸取下层水相，于600 nm处测定吸光度，计算菌株的表面疏水性。

1.5.7　白假丝酵母菌生物被膜形成的测定

将活菌浓度为1×10^6 CFU/mL的白假丝酵母菌菌悬液与不同质量浓度的AFP等体积混合，使AFP最终质量浓度分别为1/2MIC、MIC、2MIC、4MIC，并以不添加AFP的组别为对照组。将混合后的菌液接种于96孔板中，37 ℃静置培养48 h以形成生物被膜。培养结束后，弃去上清液，用无菌PBS轻柔洗涤3次以去除浮游菌体。加入200 μL无水甲醇固定10 min，弃去固定液，加入200 μL质量分数为1.0%的结晶紫溶液染色20 min。染色完成后，用无菌PBS充分漂洗3次以去除未结合的过量染料，再加入200 μL体积分数为33%的冰乙酸溶液脱染20 min。待结晶紫完全溶解后，测定各孔在595 nm处的吸光度。生物被膜形成率按式(4)计算。

$$B=\frac{A_5}{A_4}\times 100\% \tag{4}$$

式中：

B——生物被膜形成率，%；

A_4——对照组的吸光度；

A_5——处理组的吸光度。

1.6　统计分析

使用GraphPad Prism 10软件进行数据分析和图像处理。所有试验均设置3次独立重复，结果以平均值±标准差表示。采用单因素方差分析(ANOVA)进行组间差异显著性检验，以P<0.05为标准判定差异是否具有统计学意义。

2　结果与讨论

2.1　植物乳植杆菌ALAC-G2的益生特性

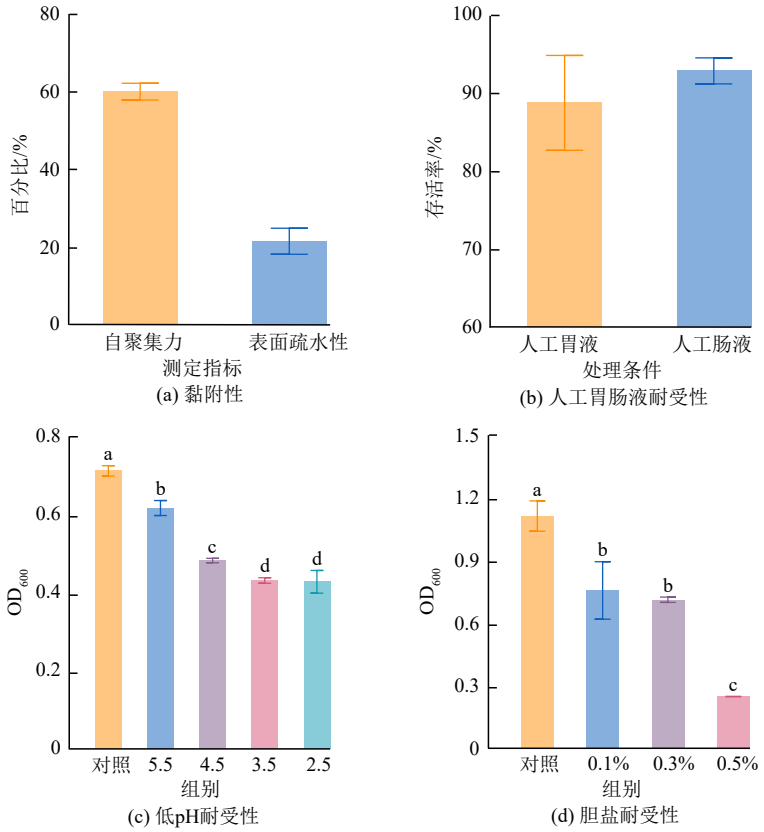
益生菌发挥益生特性的关键在于其能否在胃肠道内成功定植并持续存活。黏附性是决定其定植能力的重要指标，它与自聚集力和表面疏水性有一定的相关性。自聚集力和表面疏水性越强，菌株的黏附能力越强，越有利于在肠道上皮细胞表面定植[13]。如图1(a)所示，植物乳植杆菌

ALAC-G2 的自聚集力为 59.70%，表面疏水性为 21.43%。这表明该菌株具有良好的自聚集力，高于陈志娜等[5]报道的植物乳植杆菌 CHEN1 的自聚集力。按照 Tyfa 等[14]的划分标准，细胞表面疏水性属于中度疏水性。因此，植物乳植杆菌 ALAC-G2 可形成菌群聚集体，锚定宿主肠道上皮细胞，减少被胃肠物理排出的概率，并为后续特异性黏附肠道上皮细胞创造条件。

胃体壁细胞分泌的胃酸营造的低 pH 环境，构成了益生菌进入肠道的关键屏障。胆盐是肝脏在分解代谢胆固醇时产生的表面活性物质，同时也是益生菌进入小肠后必须应对的关键环境挑战[15]。人工胃肠液耐受性试验表明，植物乳植杆菌 ALAC-G2 在人工胃液中处理 3 h 后，存活率为 88.69%；在人工肠液中存活率达 92.79%，见图 1（b）。低 pH 耐受性试验表明，植物乳植杆菌 ALAC-G2 的活性随 pH 降低呈逐步下降趋势，但当 pH 为 2.5 时，其 OD_{600} 仍为 0.428，见图 1（c）。胆盐耐受性试验显示，胆盐质量分数的升高抑制了植物乳植杆菌 ALAC-G2 的生长，但当胆盐质量分数为 0.5% 时，菌株仍能存活，OD_{600} 为 0.248，见图 1（d）。该结果与 Lu 等[13]报道的相似，说明该菌株对人工胃肠液、酸及胆盐具备较强的耐受能力，能够有效抵御不利环境的影响，保障足够数量的活菌到达肠道并发挥益生功能。

2.2 AFP 的抑菌特性

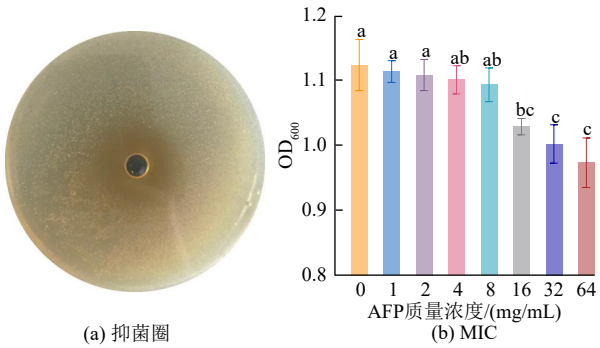
双层板法试验结果表明，植物乳植杆菌 ALAC-G2 所产抗菌肽 AFP 对白假丝酵母菌有显著抑制作用，其抑菌圈直径达（33.33±0.75）mm，见图 2（a）。采用二倍稀释法对 AFP 的抑菌能力进一步分析，发现随着 AFP 质量浓度的升高，OD_{600} 逐渐降低，白假丝酵母菌生长受到的抑制作用增强，见图 2（b）。当 AFP 质量浓度达到 16 mg/mL 时，OD_{600} 下降趋势最为显著。因此，可以确定 AFP 对白假丝酵母菌的 MIC 为 16 mg/mL。



不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 1 植物乳植杆菌 ALAC-G2 的益生特性

Fig. 1 Probiotic properties of *L. plantarum* ALAC-G2



(a) 抑菌圈　(b) MIC

不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 2　AFP 的抑菌活性

Fig. 2　Antifungal activity of AFP

2.3　AFP 对白假丝酵母菌生长的影响

为了验证 AFP 对白假丝酵母菌生长的抑制作用，采用时间-生长曲线法检测在不同质量浓度 AFP 的处理下白假丝酵母菌的生长动态。由图 3 可知，白假丝酵母菌迅速生长，菌体浓度在 28 h 达到峰值，随后进入稳定期。经 MIC 的 AFP 处理后，白假丝酵母菌的生长曲线明显右移，且峰值降低。随着 AFP 质量浓度的增加，生长曲线右移幅度增大，峰值持续降低。这表明 AFP 可有效抑制白假丝酵母菌的生长，且抑制效果随其质量浓度的升高而增强。

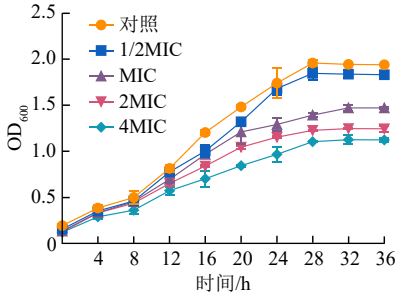


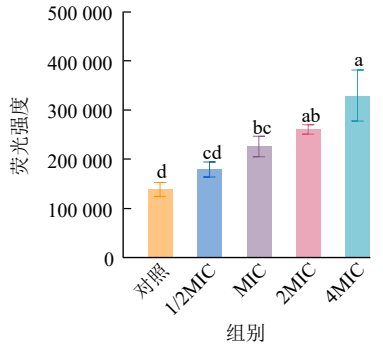
图 3　AFP 对白假丝酵母菌生长的影响

Fig. 3　Effects of AFP on *C. albicans* growth

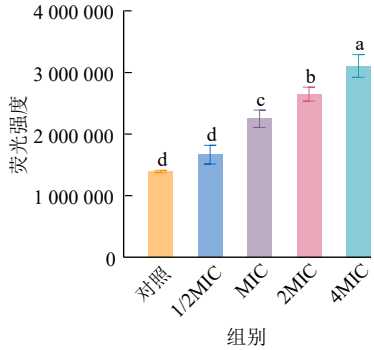
2.4　AFP 对白假丝酵母菌细胞通透性的影响

2.4.1　AFP 对白假丝酵母菌细胞壁的影响

β-葡聚糖和几丁质是白假丝酵母菌细胞壁的重要组成成分，是维持细胞完整性的关键物质。苯胺蓝和 CFW 可分别与 *β*-葡聚糖、几丁质特异性结合，产生荧光信号；通过荧光强度的变化，可反映细胞壁中 *β*-葡聚糖和几丁质的暴露程度，从而间接反映细胞壁结构的完整性和损伤情况[16]。由图 4 可知，随着 AFP 质量浓度的升高，荧光强度逐渐加强，*β*-葡聚糖和几丁质的暴露程度也随之增加。这可能是由于 AFP 破坏了细胞壁的正常结构，导致原本被遮挡的 *β*-葡聚糖和几丁质暴露在外，特异性荧光染料得以结合，从而增强荧光信号。宁亚维等[11]发现，植物乳植杆菌 HB13-2 的上清液可以损伤白假丝酵母菌的细胞壁，导致几丁质补偿性增加。同样，李敏宇等[12]发现，副干酪乳酪杆菌源抗真菌肽 APT 可以破坏粘红酵母的细胞壁结构，增加 *β*-1,3-葡聚糖和几丁质的暴露，从而抑制细胞生长。因此，AFP 可以破坏白假丝酵母菌细胞壁的完整性，导致通透性改变，从而抑制其生长繁殖。



(a) 苯胺蓝结合*β*-葡聚糖的荧光强度



(b) CFW结合几丁质的荧光强度

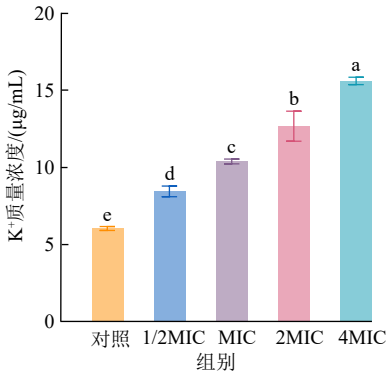
不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 4　AFP 对白假丝酵母菌细胞壁的影响

Fig. 4　Effects of AFP on *C. albicans* cell wall

2.4.2　AFP 对白假丝酵母菌细胞膜的影响

K^+作为细胞内最主要的阳离子，与细胞膜的功能密切相关。当细胞膜受到损伤时，K^+会从细胞内大量外泄，导致细胞内外离子平衡失调[17]。由图 5 可知，K^+质量浓度随着 AFP 质量浓度的增加而显著升高。当 AFP 质量浓度为 MIC 时，细胞



不同字母表示差异显著(P<0.05)。

图 5 AFP 对白假丝酵母菌细胞膜的影响

Fig. 5 Effects of AFP on *C. albicans* cell membrane

外 K^+ 质量浓度为 10.38 μg/mL。这可能是由于 AFP 的存在损伤了白假丝酵母菌的细胞膜结构，导致大量的 K^+ 从细胞内释放到细胞外，破坏了细胞内外正常的离子平衡。Dong 等[18]研究发现，副干酪乳酪杆菌源抗菌肽 APTs 可以在白假丝酵母菌细胞膜表面形成孔道，使胞内 K^+ 泄漏，导致细胞膜通透性增强。许晓燕等[19]研究发现，乳酸乳球菌乳亚种 NCU036018 细菌素可破坏金黄色葡萄球菌的细胞膜完整性，导致胞内 K^+ 外流，从而抑制甚至杀死细胞。因此，AFP 可以通过破坏白假丝酵母菌的细胞膜结构，引起胞内 K^+ 外流，导致细胞膜通透性增加，进而破坏细胞的正常生理功能。

2.5 AFP 对白假丝酵母菌菌丝形成的影响

作为典型的双态真菌，白假丝酵母菌有酵母和菌丝两种形态。相较于酵母形态，菌丝形态是其介导高毒力表达的关键形态[20]。如图 6 所示，经不同质量浓度 AFP 处理后，白假丝酵母菌的菌丝形成受到显著抑制，且该抑制效应呈现浓度依赖性。随着 AFP 质量浓度的升高，白假丝酵母菌多数维持酵母形态，菌丝形态细胞数量显著减少。当 AFP 质量浓度达到 4MIC 时，几乎无肉眼可见的菌丝形成。该结果可能与 AFP 损伤了白假丝酵母菌的细胞膜结构有关，使菌体缺乏从酵母相转换为菌丝相的形态构建基础，导致低质量浓度时开始受到抑制，高质量浓度时几乎完全被阻断。王志新等[21]研究发现，爱媛类芽孢杆菌抗菌肽不仅抑制了白色念珠菌转换为菌丝相，还抑制了酵母

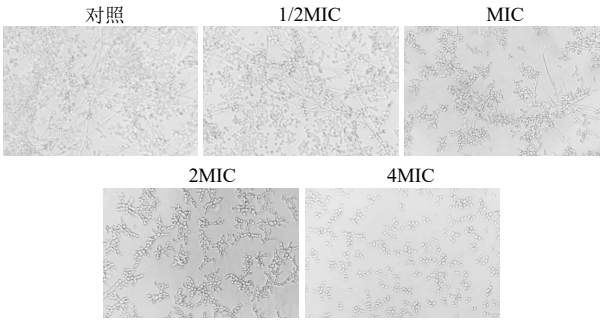


图 6 AFP 对白假丝酵母菌菌丝的影响

Fig. 6 Effects of AFP on *C. albicans* hyphae

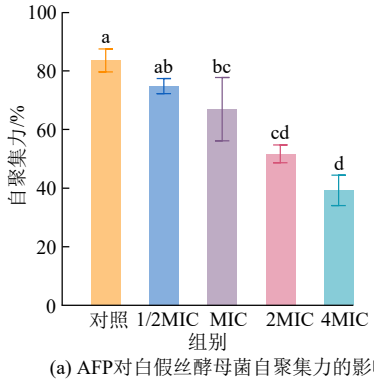
相的生长繁殖。因此，AFP 能够通过特异性抑制白假丝酵母菌的酵母-菌丝形态转换，下调其毒力表达水平。

2.6 AFP 对白假丝酵母菌生物被膜形成的影响

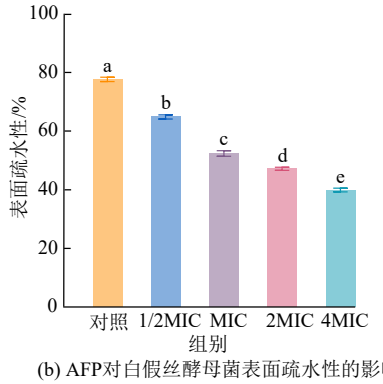
生物被膜的形成是一个复杂的过程：白假丝酵母菌首先黏附于生物表面，然后增殖并分泌大量胞外基质，最终形成结构复杂的成熟生物被膜[22]。该结构对外部环境具有较强的抵御能力，极难被抗生素等杀菌剂清除，容易引发一系列食品安全问题，对公共健康构成严重威胁[23]。

2.6.1 AFP 对白假丝酵母菌黏附性的影响

由图 7(a)可知，白假丝酵母菌的自聚集能力随着 AFP 质量浓度的增加而降低。当 AFP 质量浓度为 MIC 时，白假丝酵母菌的自聚集力从 83.59% 显著下降到 66.94%，而在 AFP 质量浓度达到 4MIC 时，自聚集力进一步降低至 39.23%。由图 7(b)可知，经过 AFP 处理后，白假丝酵母菌的表面疏水性显著降低，与 AFP 质量浓度的增加呈负相关。当 AFP 质量浓度为 1/2MIC 时，表面疏水性从 77.63% 显著下降至 64.83%。造成该结果的原因可能与白假丝酵母菌的细胞膜被破坏有关，其细胞表面的电荷分布及疏水基团发生变化，影响了细胞间的相互作用力与黏附力。这一结果与叶国良等[24]的研究类似，其报道显示戊糖乳杆菌 Z097 提取物可以显著降低单增李斯特菌的表面疏水性与自聚集力，从而抑制致病菌的黏附侵袭能力。因此，AFP 可以通过削弱白假丝酵母菌的自聚集力和表面疏水性，降低其黏附能力，进而影响其生物被膜形成的初始阶段。



(a) AFP对白假丝酵母菌自聚集力的影响



(b) AFP对白假丝酵母菌表面疏水性的影响

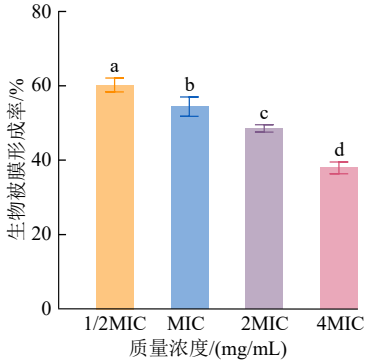
不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 7　AFP 对白假丝酵母菌黏附性的影响

Fig. 7　Effects of AFP on *C. albicans* adhesion

2.6.2　AFP 对白假丝酵母菌生物被膜形成率的影响

结晶紫染色结果显示，白假丝酵母菌生物被膜的形成率随着 AFP 质量浓度的升高显著降低。当 AFP 质量浓度为 2MIC 时，生物被膜的形成率只有 48.51%，抑制率高达 50% 以上。当 AFP 质量浓度增至 4MIC 时，生物被膜形成率进一步下降至 37.90%，抑制效果极为显著，见图 8。该结果可能与 AFP 抑制白假丝酵母菌的黏附力密切相关，通过阻碍生物被膜形成的初始黏附阶段，从而阻断生物被膜的发育。此外，该结果也可能与 AFP 抑制菌体向菌丝转换有关，菌丝是生物被膜结构的关键支撑，菌丝形成受阻会直接削弱生物被膜的构建与成熟。郭媛媛等[25]发现，植物乳植杆菌 Z139 提取物对金黄色葡萄球菌、大肠杆菌的单种和混种生物被膜的形成均具有显著抑制作用，且对单菌的抑制作用高于混菌。任青霞等[26]发现，植物乳植杆菌抗菌肽 PNMGL2 可有效抑制单增李斯特菌生物被膜的形成，且抑制效果呈现浓度依赖性。这表明 AFP 不仅能干扰白假丝酵母菌的初始黏附过程，还能有效阻断其后续生物被膜的成熟发育。



不同字母表示差异显著（$P<0.05$）。

图 8　AFP 对白假丝酵母菌生物被膜形成的影响

Fig. 8　Effects of AFP on *C. albicans* biofilm formation

3　结论

植物乳植杆菌 ALAC-G2 对酸性环境及胆盐具有良好的耐受性，能在人工胃肠环境中稳定存活，具备良好的益生特性。该菌株分泌的抗菌肽 AFP 对白假丝酵母菌具有良好的抑制作用，MIC 为 16 mg/mL。AFP 能够显著抑制白假丝酵母菌的增殖与菌丝分化，同时破坏白假丝酵母菌细胞壁与细胞膜的完整性：一方面致使细胞内原本位于细胞壁内侧的 β-葡聚糖及几丁质大量暴露，引发细胞壁结构明显紊乱；另一方面诱导细胞内 K^+ 大量外流，严重破坏细胞膜的屏障功能。此外，AFP 还能通过干扰白假丝酵母菌的自聚集力与表面疏水性，降低菌株黏附力，并在生物被膜形成各阶段持续发挥抑制作用，从而有效遏制生物被膜的成熟与稳定。

作者将植物乳植杆菌 ALAC-G2 的益生特性与抑菌特性研究相结合，为乳酸菌在抗真菌领域的应用提供了新的菌种资源与理论依据，同时揭示了 AFP 对白假丝酵母菌的多靶点作用机理，丰富了抗真菌肽的作用理论体系。但该研究仍存在一些局限性，例如未对 AFP 的抑菌机理进行更深入的基因层面研究，缺乏对相关基因表达调控的系统解析。后续研究可结合转录组学与蛋白质组学技术，进一步探究 AFP 作用下白假丝酵母菌的基因表达变化，以明确 AFP 对白假丝酵母菌关键信号通路及功能基因的调控机理，从而全面揭示其多靶点作用网络。未来还需对 AFP 的实际应用进行深入探索，评估其在面对复杂生物环境时的稳定性与活性保持能力，验证其在食品防腐保鲜及肠道微生态调节剂开发等领域中的可行性。

参考文献

[1] LIU L，CHEN X，LI Y L，et al. Biofilm formation，hyphae growth，and transcriptome characteristics of *C. albicans* surviving high-pressure processing [J]. LWT-Food Science and Technology，2023，187：115332.

[2] 林欣. 乳酸菌对假丝酵母的抑制作用及其抗真菌应用[D]. 广州：华南理工大学，2022.

[3] PATNE K，RATH P P，KHAN F M，et al. Antifungal therapeutic potential of *Candida albicans* Fun30：screening and validation of novel inhibitors against *Candida albicans* [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2025，322：147031.

[4] 余达浪，晏生望. 益生菌抗白色念珠菌感染的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报，2025，41(5)：553-558.
YU D L，YAN S W. Research progress in probiotics against *Candida albicans* infection[J]. Chinese Journal of Zoonoses，2025，41(5)：553-558.(in Chinese)

[5] 陈志娜，操诗怡，尹琳琳，等. 植物乳植杆菌CHEN1的安全性、益生性评价及其对豆乳低聚糖的代谢分析[J]. 食品工业科技，2025，46(10)：202-211.
CHEN Z N，CAO S Y，YIN L L，et al. Safety and probiotic evaluation of *Lactiplantibacillus plantarum* CHEN1 and its metabolic analysis of soymilk oligosaccharides [J]. Science and Technology of Food Industry，2025，46(10)：202-211.(in Chinese)

[6] ZENG Y，FADAAK A，ALOMEIR N，et al. Effect of probiotic *Lactobacillus plantarum* on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans* clinical isolates from children with early childhood caries [J]. International Journal of Molecular Sciences，2023，24(3)：2991.

[7] MA M G，LI A，FENG J，et al. Antifungal mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* P10 against *Aspergillus niger* and its *in-situ* biopreservative application in Chinese steamed bread[J]. Food Chemistry，2024，449：139181.

[8] CHEN J M，LI K N，ZHANG W Y，et al. The antifungal activity of *Lactiplantibacillus plantarum* P9 relates to fatty acid synthesis and purine metabolism-related genes [J]. Food Bioscience，2024，59：103987.

[9] REN Q X，ZHANG M，XUE R，et al. Purification and characterization of a novel low-molecular-weight antimicrobial peptide produced by *Lactiplantibacillus plantarum* NMGL2 [J]. International Journal of Biological Macromolecules，2023，248：125932.

[10] 杜旭婷，岳子尧，董晶，等. 食品加工、贮藏对乳杆菌源抗菌肽抑菌活性的影响及安全性评价[J]. 中国食品学报，2024，24(1)：110-118.
DU X T，YUE Z Y，DONG J，et al. Effect of food processing and preservation on antimicrobial activity of *Lactobacillus*-derived antimicrobial peptide and its safety evaluation[J]. Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology，2024，24(1)：110-118.(in Chinese)

[11] 宁亚维，孙颖，张东春，等. 植物乳杆菌HB13-2抑制白假丝酵母菌作用及机制[J]. 食品科学，2023，44(24)：164-170.
NING Y W，SUN Y，ZHANG D C，et al. Inhibitory effect and mechanism of *Lactiplantibacillus plantarum* HB13-2 on *Candida albicans*[J]. Food Science，2023，44(24)：164-170.(in Chinese)

[12] 李敏宇，李恋，李汇，等. 源自副干酪乳杆菌ALAC-4的抗真菌肽APT对粘红酵母细胞抑制作用的初步研究[J]. 食品与发酵工业，2025，51(7)：25-31.
LI M Y，LI L，LI H，et al. Preliminary study on inhibitory effect of antifungal peptide APT derived from *Lactobacillus paracasei* ALAC-4 on *Rhodotorula glutinis* [J]. Food and Fermentation Industries，2025，51(7)：25-31.(in Chinese)

[13] LU Y H，LIANG W S，WANG R，et al. Assessment of the safety and probiotic properties of *Lactiplantibacillus plantarum* HYY-DB9 based on comprehensive genomic and phenotypic analysis [J]. LWT-Food Science and Technology ，2024，203：116386.

[14] TYFA A，KUNICKA-STYCZYŃSKA A，ZABIELSKA J. Evaluation of hydrophobicity and quantitative analysis of biofilm formation by *Alicyclobacillus* sp. [J]. Acta Biochimica Polonica，2015，62(4)：785-790.

[15] RAHMATI-JONEIDABAD M，ALIZADEH B B，TAKI M，et al. Evaluation of the probiotic，anti-microbial，anti-biofilm，and safety properties of *Levilactobacillus brevis* Lb13H[J]. LWT-Food Science and Technology ，2024，207：116636.

[16] HENRY M，KHOUAS M，THÉBERGE-JULIEN G，et al. Manganese homeostasis modulates glucan and chitin unmasking in the opportunistic yeast *Candida albicans* [J]. Virulence，2025，16(1)：2569630.

[17] LIN Q，LI Y X，SHENG M K，et al. Antibiofilm effects of berberine-loaded chitosan nanoparticles against *Candida albicans* biofilm [J]. LWT-Food Science and Technology ，2023，173：114237.

[18] DONG J，ZHU L，SUN Z Y，et al. Purification and structural characterization of APTs，a novel antifungal

peptide produced by *Lactobacillus paracasei* ALAC-4, and its inhibitory effect on *Candida albicans*[J]. LWT-Food Science and Technology ,2024,199:116077.

[19] 许晓燕，彭珍，熊世进，等. 乳酸乳球菌乳亚种NCU036018细菌素的分离纯化及其抗菌机制[J]. 食品科学,2022,43(16):209-216.
XU X Y, PENG Z, XIONG S J, et al. Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria: isolation and purification of and antibacterial mechanism of bacteriocin [J]. Food Science,2022,43(16):209-216.(in Chinese)

[20] XU Z B, LI Y Q, XU A J, et al. Differential alteration in *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum* quorum-sensing systems and reduced *Candida albicans* yeast survival and virulence gene expression in dual-species interaction[J]. Microbiology Spectrum, 2024, 12(6): e0035324.

[21] 王志新,黄玉清,刘亚慧,等. 爱媛类芽孢杆菌抗菌肽对白色念珠菌生物膜的抑制作用机制[J]. 食品科学,2024,45(21):176-184.
WANG Z X, HUANG Y Q, LIU Y H, et al. Antimicrobial mechanism of antimicrobial peptide from *Paenibacillus ehimensis* against *Candida albicans* biofilms [J]. Food Science,2024,45(21):176-184.(in Chinese)

[22] ROUHI A, FALAH F, AZGHANDI M, et al. Investigating the effect of *Lactiplantibacillus plantarum* TW57-4 in preventing biofilm formation and expression of virulence genes in *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 [J]. LWT-Food Science and Technology , 2024, 191: 115669.

[23] PEREIRA R, SANTOS F R O, BRITO E H S, et al. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance[J]. Journal of Applied Microbiology, 2021, 131(1):11-22.

[24] 叶国良,张杏果,黄铭新,等. 戊糖乳杆菌Z097提取物对单增李斯特菌群体感应信号分子和生物被膜的抑制作用[J]. 食品与发酵工业,2025,51(3):64-71.
YE G L, ZHANG X G, HUANG M X, et al. Inhibition effects of *Lactiplantibacillus pentosus* Z097 extract against *Listeria monocytogenes* quorum sensing signaling molecule and biofilm [J]. Food and Fermentation Industries,2025,51(3):64-71.(in Chinese)

[25] 郭媛媛,李婷,植键莹,等. 植物乳植杆菌Z139提取物对两种食源性致病菌单菌和混菌的抗生物被膜作用[J]. 食品科学,2026,47(6):167-174.
GUO Y Y, LI T, ZHI J Y, et al. Anti-biofilm effects of *Lactiplantibacillus plantarum* Z139 extract on single and mixed cultures of two foodborne pathogens[J]. Food Science,2026,47(6):167-174.(in Chinese)

[26] 任青霞,周增佳,吴经纬,等. 植物乳杆菌抗菌肽PNMGL2对单增李斯特菌的抗菌机制[J]. 食品与发酵工业,2025,51(7):32-39.
REN Q X, ZHOU Z J, WU J W, et al. Antibacterial mechanism against *Listeria monocytogenes* by antimicrobial peptide PNMGL2 from *Lactiplantibacillus plantarum*[J]. Food and Fermentation Industries, 2025, 51(7):32-39.(in Chinese)