مجلة دجلة • المجلد ٦ ،العدد ٤ (٢٠٢٣)، ص: ٤٦٥ ـ ٤٧٦
ISSN: 2222-6583

تاثير بكتريوسين بكتريا *Lactobacillus fermentum* و *Lactobacillus planturum* على التعبير الجيني لجين LasB في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

مروان عبد الهادي حسين[1]، وائل محمد مهدي[2]، زيد أكرم ثابت[3]

١ قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة سامراء، العراق

٢ قسم التقانات الاحيائية، كلية العلوم التطبيقية، جامعة سامراء، العراق

٣ مركز بحوث التقنيات الاحيائية، جامعة النهرين، العراق

الخلاصة:

اجري الكشف الجزيئي لجين LasB المشفر لبروتين الايلاستين في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المستخدم في تكوين الاغشية الحيوية، اذ بينت النتائج ان العزلة الثانية من بكتريا*Pseudomonas aeruginosa* هي التي تمتلك الجين، واظهرت نتائج الترحيل الكهربائي ان الوزن الجزيئي للجين هو 500 bp، وبينت النتائج انخفاضا في التعبير الجيني لجين LasB عند مستوى معنوية ($P < 0.05$) اثناء معاملته ببكتريوسين بكتريا *Lactobacillus fermentum* اذ بلغت قيمة التعبير ٠.٨٣ مقارنة بقيمة التعبير في مجموعة السيطرة والتي بلغت ١، ونلاحظ ايضا انه يوجد فرق في التعبير الجيني بين المعاملة ببكتريوسين بكتريا *Lactobacillus fermentum* وبكتريوسين *Lactobacillus planturum* عند مستوى معنوية ($P < 0.05$)، بينما لا نلاحظ انه يوجد فرق في التعبير الجيني عند معاملته ببكتريوسين بكتريا *Lactobacillus planturum* اذ بلغت 0.99 مقارنة بقيمة التعبير في مجموعة السيطرة.

الكلمات المفتاحية: بكتريوسين، *L. fermentum*، *L. planturum*، LasB، *Pseudomonas aeruginosa*

The effect of bacteriocins Lactobacillus fermentum and Lactobacillus planturum on the gene expression of the lasB gene in Pseudomonas aeruginosa

Abstract:

Molecular detection was conducted for the LasB gene encoding elastase protein in Pseudomonas aeruginosa bacteria used in the formation of biofilms, The results revealed that the second isolate of Pseudomonas aeruginosa possesses the gene. Electrophoretic migration results indicated that the molecular weight of the gene is 500 base pairs (bp), The results demonstrated a significant decrease in gene expression of the LasB gene when treated with

Lactobacillus fermentum bacteria, with an expression value of 0.83 compared to the control group with an expression value of 1 ($P < 0.05$). Furthermore, a notable difference in gene expression was observed between treatment with Lactobacillus fermentum bacteria and Lactobacillus plantarum bacteria ($P < 0.05$), On the other hand, no significant difference in gene expression was observed when treated with Lactobacillus plantarum bacteria, as the expression value reached 0.99 compared to the control group.

Keywords: Bacteriocin, *L. fermentum*, *L. plantarum*, LasB, *Pseudomonas aeruginosa.*

المقدمة:

تؤدي بكتيريا حمض اللاكتيك Lactic acid bacteria (LAB) أدوارا مهمة في مراحل إنتاج الغذاء ، المكملات الغذائية ، الزراعة، والطب البشري والحيواني (Bintsis T, 2018). تشكل LAB مجموعة متنوعة من البكتيريا إيجابية الجرام ، تنتج حمض اللاكتيك باعتباره المنتج الرئيس النهائي لتخمير الكربوهيدرات. تحتوي LAB على مجموعة من أجناس بما في ذلك *Lactobacillus, Lactococcus، Leuconostoc, Oenococcus, Pediococcus, Streptococcus* (Cholakov et al., 2017). توجد LAB في منافذ بيئية مختلفة ، وأثبتت العديد من الدراسات الاختلافات في الجينات والمستويات الفسيولوجية (Seddik et al., 2017). وتتضمن LAB بكتريا *L. fermentum* هي من الأنواع ذات التخمر الاجباري غير المتجانس التي تخمر السكر السداسي إلى حامض اللاكتيك وحامض الخليك والإيثانول وثاني أكسيد الكربون توجد على نطاق واسع في الطبيعة ، وغالبا ما تكون معزولة من المواد النباتية المخمرة (Nielsen et al., 2007)، منتجات الألبان، خبز (Russo et al., 2014)، النقانق المخمرة بشكل طبيعي (Kaban & Kaya, 2008) وتنتج *L. fermentum* ببتيدات مضادة للميكروبات تسمى (Fermenticins) تستخدم في التطبيقات الطبية و عمليات حفظ الأغذية (Fuochi et al., 2017). من انواع LAB بكتريا L. plantarum وهي واحدة من معظم الأنواع العالمية التي تنتج عددا من المواد المضادة البكتريا مثل: الأحماض العضوية ، بيروكسيد الهيدروجين ، ثنائي الأسيتيل والبكتريوسينات (Plantaricins) (Liu et al., 2018)، توجد *L. plantarum* بشكل عام في الجهاز الهضمي البشري والثدييات الأخرى واللعاب والمنتجات الغذائية المختلفة. علاوة على ذلك، تعد من الانواع المهمة في جنس *Lactobacillus* وهي موجبة الصبغة (Holzapfel et al., 2001)، في الآونة الأخيرة، تم زيادة التركيز على استخدام *L. plantarum*، لا سيما في إمكاناتها كمعززات حيوية (Khan et al., 2016) وكذلك تطبيقاتها في الأطعمة والمشروبات المخمرة المتنوعة (Russo et al., 2017) وتستخدم في تخمير منتجات الألبان مثل الجبن ومخلل الملفوف (Chang et al., 2016)، السيلاج (Valan Arasu et al., 2015) ،

النبيذ (Berbegal et al., 2016). علاوة على ذلك، منتجات اللحوم المخمرة، الخضروات المخمرة (Khemariya et al., 2016). والبكتريوسينات Bacteriocin مثل Fermenticins و Plantaricins هي ببتيدات مضادة للميكروبات تصنع بواسطة الريبوسومات البكتيرية، مع تاثير مثبط أو مبيد ضد مسببات الأمراض (Simons et al., 2020). يمكن إنتاجه بواسطة البكتيريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام. وتستخدم في الغالب في صناعة المواد الغذائية كمواد حافظة حيوية طبيعية بدلا من المواد الحافظة الكيميائية لحماية المنتجات من التلف والبكتيريا المسببة للأمراض (Barboza et al., 2022; Pato, Riftyan, Jonnaidi, et al., 2022; Todorov et al., 2019).

المواد وطرائق العمل:

عزل وتشخيص بكتريا *lactobacillus plantarum* و *lactobacillus fermentum*

تم وزن عينة ٢٥ غم من الجبن والمخللات في أكياس المعقمة ومزجها مع ٢٢٥ مل من ماء البيبتون المعقم ٠.١ % (w/v). بالنسبة لعينات اللبن والحليب، تمت إضافة ١ مل من العينة إلى ٩ مل من ماء البيبتون المعقم بنسبة ٠.١ %. واخذ ٠.٥ مل منها ووضع في اطباق MRS agar. تم حضن اطباق MRS عند ٣٧ درجة مئوية في ظل ظروف اللاهوائية لمدة ٤٨ ساعة. تم تنقية المستعمرات المختارة عن طريق اعادة زرعها بطريقة التخطيط على اطباق MRS agar وتحضينها تحت ٣٧ درجة مئوية لمدة ٤٨ ساعة. قبل فحصها لتحديد نوعها (Yang et al., 2012). وشخصت وفقا للخصائص المورفولوجية كالشكل واللون والحجم والحواف والارتفاع للمستعمرة الموجودة في طبق MRS agar ثم أخذ مسحة من المستعمرات وصبغت بصبغة كرام للتعرف على شكل وتجمع الخلايا ونوع اصطباغها (Harley & Prescott, 1996). اما كيموحيويا فاستخدام نظام VITEK-2 (جهاز BioMerieux).

تحضير البكتريوسين Preparation of bacteriocin

تم تحضير البكتريوسين عن طريق اضافة ١ مل من كل من عزلات *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus fermentum* ، بشكل منفصل ، في وسط مغذ سائل MRS 9 مل وتم تحضينها لمدة ٢٤ ساعة عند ٣٧ درجة مئوية لاهوائيا. في وقت لاحق، تمت إضافة ٢٪ من الوسط المغذي إلى ١٠٠ مل من الوسط المغذي MRS وتم تحضينها لاهوائيا عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٤٨ ساعة. بعد الحضن، تم طرد الاوساط الزرعية بالطرد المركزي عند ٤ درجات مئوية في ٨٠٠٠ دورة في الدقيقة لمدة ١٥ دقيقة وتم ترشيح الراشح من خلال مرشحات ٠.٢٢ مايكرومتر قبل تخزينها عند ٤ درجات مئوية (Lin et al., 2015).

قياس كمية البكتريوسين Determination of Bacteriocin

مجلة دجلة • المجلد ٦ ،العدد ٤ (٢٠٢٣)، ص: ٤٦٥ ـ ٤٧٦
ISSN: 2222-6583

قدرت كمية البكتريوسين المنتج من بكتريا *Lactobacillus plantarum* و *Lactobacillus fermentum*، بشكل منفصل اعتمادا على طريقة لوري Lowry بوساطة جهاز المطياف الضوئي Spectrophotometer للكشف عن كمية البروتين (Rajaram et al., 2010) باستخدام kit من شركة (Biolabo.).

التركيز المثبط الأدنى الكمي Quantitative MIC

تم توزيع ١٠٠ul من Mueller Hinton Broth في جميع حفر ال microtiter باستخدام micropipette. ثم اخذ ١٠٠ul من البكتريوسين باستخدام micropipette ووضعت في الحفرة في العمود ١ (أقصى يسار microtiter)، مزج البكتريوسين باستخدام micropipette مع الوسط المغذي السائل الموضوع مسبقا في الحفرفي العمود ١ ل ٦–٨ مرات، ثمسحب ١٠٠ul من العمود ١ وأضف هذا إلى العمود ٢. هذا يجعل العمود مخفف مرتين بالنسبة للعمود ١. نقل ١٠٠ul إلى العمود ٣. كرر الإجراء وصولا إلى العمود ١١. يمكن استخدام نفس مجموعة الخطوات لسلسلة التخفيف بأكملها، وترمى ١٠٠ul المسحوبة من العمود ١١ بدلا من وضعه في العمود ١٢، توزع البكتيريا المرضية في جميع الحفر باستثناء حفر العمود ١٢ (اذ تستخدم كمجموعة سيطرة سالبة). اما حفر الصف ٨ فتحتوي فقط على الوسط والبكتريا المرضية (اذ تعتبر كمجموعة موجبة)، وبعد حضن microtiter عند ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة، فحصت باستخدام قارئ BioTek ELX800 Microplate على ٦٣٠ نانومتر، اذ يمكن اعتبار MIC أقل تركيز للبكتريوسين الذي يقلل بأكثر من ٥٠٪ أو ٩٠٪ من نمو البكتريا على التوالي (Turgis et al., 2012).

استخراج الحامض النووي وتضخيمه

تم استخراج الحمض النووي الجينومي الكلي باستخدام مجموعة ABIOpure TM Total DNA (ABIOpure.USA) باتباع إرشادات الشركة المصنعة. وقد صممت البوادئ لهذه الدراسة وكان تسلسل البادئ الامامي 5′ CATTTCGTCGCCAACATCGC 3′ اما البادئ العكسي فكان تسلسله 5′ TGCTTGTAGGTGTTGGTCGG 3′. تم استخدام البادئ للكشف عن جين LasB (500 pb)، وقد ضخم الجين تحت ظروف عملية PCR مع عملية المسخ الاولية عند ٩٥ درجة مئوية لمدة ٥ دقائق ، تليها ٣٥ دورة PCR اذ تتكون كل دورة من مسخ عند ٩٥ درجة مئوية لمدة ٣٠ ثانية ، بعدها الارتباط عند ٥٨ درجة مئوية لمدة ٣٠ ثانية ، واستطالة عند ٧٢ درجة مئوية لمدة ٣٠ ثانية. وتنتهي العملية باطالة نهائية عند ٧٢ درجة مئوية لمدة ٧ دقائق(Rajaram et al., 2010).

التعبير الجيني Gene Expression

تم عزل RNA من عينة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* وفق لتعليمات الشركة المنتجة لمستحضر TRIzol ™ Reagent، حددت كمية RNA باستخدام طريقة الفلورسنت باستخدام جهاز Quantus Fluorometer لكشف تركيز RNA المستخلصة من أجل تحديد جودة العينات.

تقنية One-Step RT-PCR

عادة ما تتضمن الخطوات التالية:

١. تحضير مزيج التفاعل: يتم تحضير مزيج التفاعل الذي يحتوي على جميع المكونات اللازمة للتحويل العكسي للRNA وتضاعف ال DNA الناتج، بما في ذلك إنزيم ال Reverse Transcriptase وإنزيم ال DNA polymerase الموجودة في عدة GoTaq® 1-Step RT-qPCR System بإضافة الى المؤشرات اللازمة للكشف عن الجين المستهدف.

٢. إضافة العينة: يتم إضافة RNA المستخرج من الفقرة ١.١٧ إلى مزيج التفاعل الذي تم تحضيره في الخطوة السابقة.

٣. تحديد شروط الجهاز: يتم ضبط شروط درجة الحرارة والزمن لجهاز Mic qPCR Cycler وذلك لتحويل الرنا إلى cDNA وتضاعف المنتج المستهدف في نفس الوقت كما موضح في جدول (١).

٤. تحليل المنتج: يتم تحليل الناتج باستخدام GoTaq® 1-Step RT-qPCR System لتقييم نوعية وكمية المنتج المستهدف.

جدول (١) يوضح البرنامج لتحويل الRNA إلى cDNA

الخطوات	درجة الحرارة	الزمن	عدد الدورات
RT. Enzyme Activation	٣٧ مْ	١٥ دقيقة	١
Initial Denaturation	٩٥ مْ	5 دقيقة	
Denaturation	٩٥ مْ	٢٠ ثانية	٤٠
Annealing	٥٨ مْ	٢٠ ثانية	
Extension	٧٢ مْ	٢٠ ثانية	

النتائج والمناقشة:

بين فحص نظام VITEK-2 لخلايا المستعمرات التي كان يشك في إن صفاتها تعود إلى جنس بكتريا عصيات حامض اللاكتيك، وأوضح الفحص المجهري إن غالبيتها تكون عصوية الشكل، طويلة أو قصيرة وقد تكون منحنية أو مستقيمة وقد تكون مفردة أو ثنائية أو بشكل سلاسل متكونة من ٤-٨ خلايا وموجبة لصبغة غرام وهذا يتفق مع ما ذكره آخرون (Carr et al., 2002) .

مجلة دجلة • المجلد ٦ ،العدد ٤ (٢٠٢٣)، ص: ٤٦٥ ـ ٤٧٦
ISSN: 2222-6583

بلغ تركيز البروتين في بكتريوسين بكتريا *L. Planturum* 7.30 ملغم/ مل اما بكتريوسين بكتريا *L. Fermentum* فقد بلغ تركيز البروتين 8.1 ملغم/ مل حدد التركيز المثبط الادنى لبكتريوسين بكتريا *L. Planturum* و *L. Fermentum* باستخدام طريقة تخفيف الوسط المغذي بواسطة ال Microtiter، فحددت فعالية كل تركيز باعتبار ان MIC هو أقل تركيز للبكتريوسين الذي يقلل بأكثر من ٥٠ ٪ أو ٩٠ ٪ من نمو البكتريا وكما موضح بالجدول (٢)، الذي يبين ان التركيز المثبط الأدنى لبكتريوسين بكتريا *L.Planturum* لبكتريا *K. Pneumonia* كان هو الأعلى اذ بلغ 1.83 وتلتها بكتريا *P. aeruginosa* بتركيز 0.91 ثم تساوت كل من *E. coli O157* و *S. enterica* بتركيز ال MIC اذ بلغ 0.23 اما *E. coli* فحصلت على ادنى تركيز بلغ 0.11 .

ويظهر الجدول المذكور أعلاه ان التركيز المثبط الأدنى لبكتريوسين بكتريا *L.Fermentum* لبكتريا *K. Pneumonia* كان هو الأعلى اذ بلغ 1.01 وتلتها بكتريا *P. aeruginosa* بتركيز 0.51 ثم تساوت كل من *E. Coli* و *E. coli O157* و *S. enterica* بتركيز ال MIC اذ بلغ 0.03 وهو ادنى تركيز للبكتريوسين.

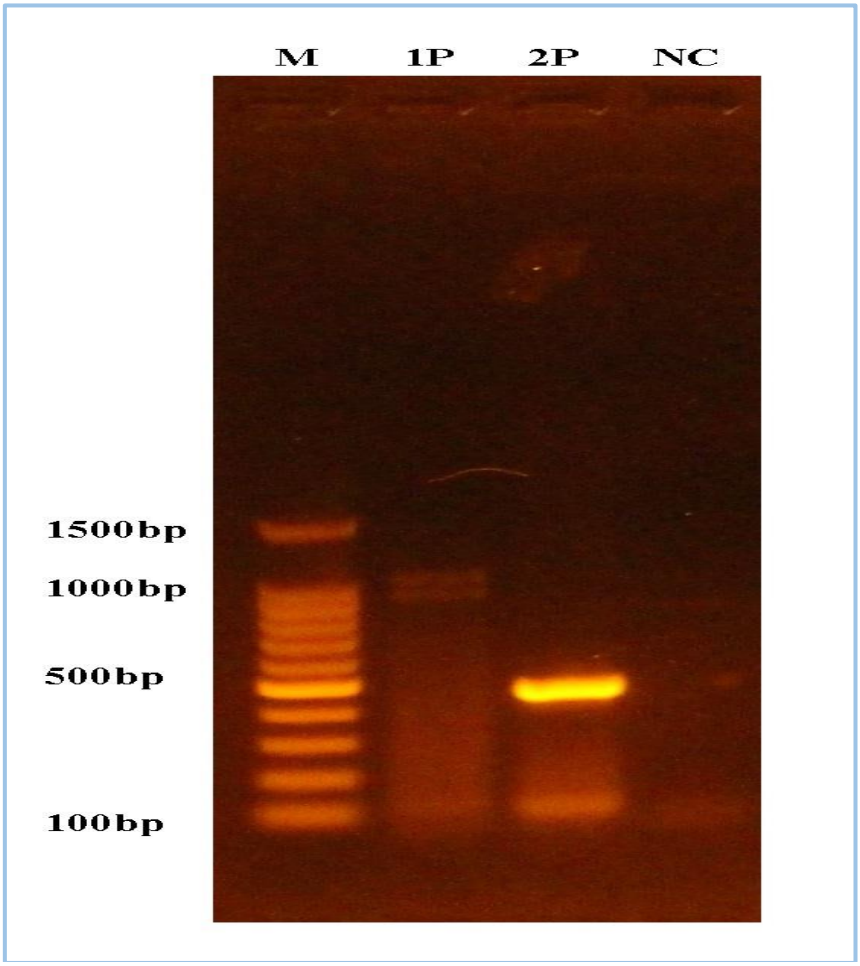
جدول (٢): يوضح تراكيز ال MIC لبكتريوسين L.Planturum و L.Fermentum

اسم العزلة	التركيز المثبط الأدنى *L. Planturum*	التركيز المثبط الأدنى *L. Fermentum*
E. coli	0.11	0.03
E. coli O157	0.23	0.03
Klebsiella Pneumonia	1.83	1.01
Pseudomonas aeruginosa	0.91	0.51
Salmonella enterica	0.23	0.03

ذكر (Al-Tawfiq & Abed, 2012) أن التركيز المثبط الأدنى للبكتيريوسين يختلف بين الأنواع المختلفة من البكتيريا الممرضة، ويتراوح بين النوع الواحد والآخر. يختلف التركيز المثبط الأدنى (MIC) للبكتريوسين بين الأنواع البكتيرية الممرضة وذلك لعدة أسباب، ومن أهمها: تركيب الجدران الخلوية فتختلف الأنواع البكتيرية في تركيب جدرانها الخلوية، وهذا يؤثر على مدى فعالية البكتريوسين في منع نموها وتكاثرها. بالإضافة الى وجود المقاومة طبيعية اذ تمتلك بعض الأنواع البكتيرية مقاومة طبيعية للبكتريوسين نظراً لوجود آليات دفاعية لديها. كما ان الظروف المحيطة يمكن أن تؤثر في فعالية البكتريوسين على البكتيريا. بالإضافة الى الجرعة والتركيز اذ يعتمد تأثير البكتريوسين على التركيز والجرعة المستخدمة. فبجرعات أعلى، يمكن أن يزيد تأثير البكتريوسين على البكتريا (Meade et al., 2020).

مجلة دجلة • المجلد ٦ ،العدد ٤ (٢٠٢٣)، ص: ٤٦٥ ـ ٤٧٦
ISSN: 2222-6583

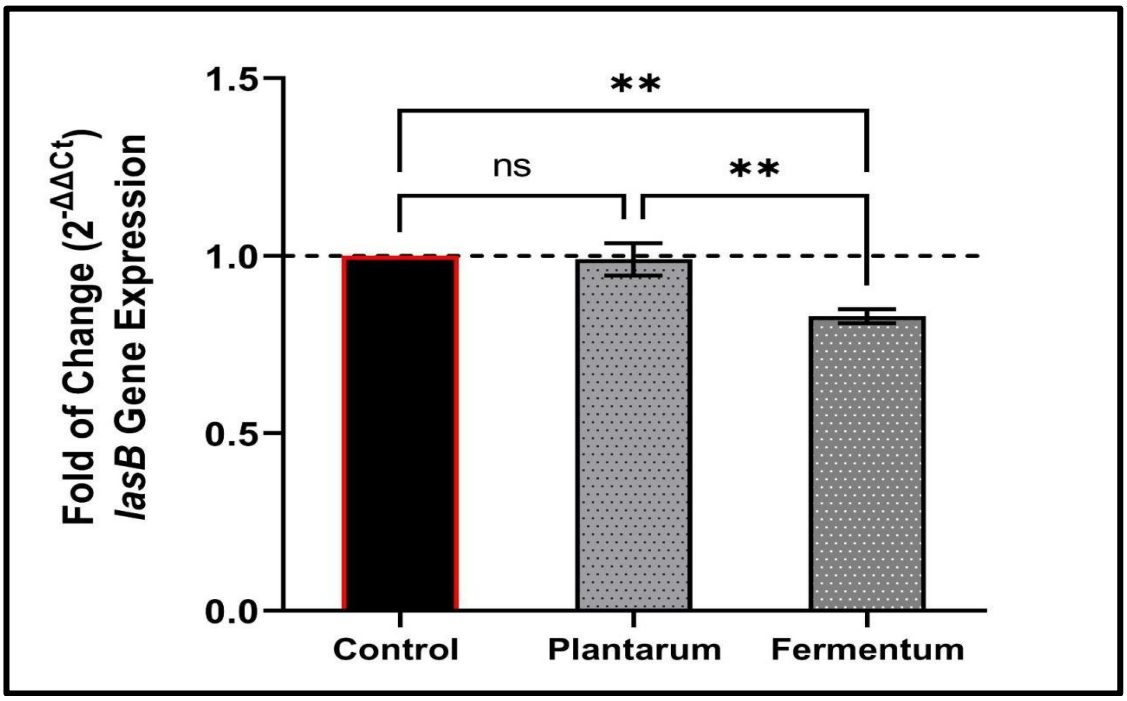
تم الكشف عن جين LasB الذي يشفر عن بروتين الايلاستين في عزلات بكتيرية التي تعود لبكتريا *P. aeruginosa*، وأظهرت نتائج RT-PCR أن العزلة الثانية 2P تحتوي على جين LasB وكما هو موضح في الشكل (١) الذي بين الكشف الجزيئي عن الجين LasB الذي حجمه ٥٠٠ زوج قاعدة بتقانة (PCR) ظهر في العزلة البكتيرية الثانية، وبالمقارنة بين الحزم المتضاعفة والحزم التابعة الى الدليل الحجمي سلم DNA وجد ان الحزم الناتجة كانت ذات ورن جزيئي ٥٠٠ زوج قاعدة.



شكل (١) يوضح الترحيل الكهربائي لجين LasB لبكتريا *P. aeruginosa* وبإستعمال سلم الحمض النووي (bp1500–bp١٠٠).

وتم كشف تاثير كل من بكتريوسين بكتريا *L. fermentum* و *L. planturum* على التوالي في تعبير جين LasB في بكتريا P. aeruginosa، اذ أظهرت النتائج في الشكل (٢) انخفاضا في التعبير الجيني لجين LasB عند مستوى معنوية ($P < 0.05$) اثناء معاملته ببكتريوسين بكتريا *L. Fermentum* اذ بلغت قيمة التعبير ٠.٨٣ مقارنة بقيمة التعبير في مجموعة السيطرة والتي بلغت ١. ونلاحظ ايضا انه يوجد فرق في التعبير الجيني بين المعاملة ببكتريوسين بكتريا *L. Fermentum*

وبكتريوسين *L. Planturum* عند مستوى معنوية ($P < 0.05$)، بينما لا نلاحظ انه يوجد فرق في التعبير الجيني عند معاملته ببكتريوسين بكتريا *L. Planturum* اذ بلغت 0.99 مقارنة بقيمة التعبير في مجموعة السيطرة.



شكل (٢) يوضح تأثير بكتريوسين بكتريا حامض اللاكتيك على التعبير الجيني لجين LasB.

References:

Agaliya, P. J., & Jeevaratnam, K. (2016). Screening of Lactobacillus plantarum isolated from fermented idli batter for probiotic properties. African Journal of Biotechnology, 11(65), 12856–12864. https://doi.org/10.4314/ajb.v11i65.

Al-Tawfiq, A. S., & Abed, Z. A. (2012). Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, and Pseudomonas aeruginosa isolated from hospitalized patients in Saudi Arabia. Journal of Medical Microbiology, 6(1), 63–68.

Barboza, G., ALMEIDA, J., and, N. S.-F. S., & 2021 ،undefined. (2022). Use of natural substrates as an alternative for the prevention of microbial contamination in the food industry .Food Science and Technology, 42. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/fst.05720.

Berbegal, C., Peña, N., Russo, P., Grieco, F., Pardo, I., Ferrer, S., Spano, G., & Capozzi, V. (2016). Technological properties of Lactobacillus plantarum strains isolated from grape must fermentation. Food Microbiology, 57, 187–194. https://doi.org/10.1016/J.FM.2016.03.002

Bintsis T. (2018). Lactic acid bacteria: their applications in foods. Journal of Bacteriology & Mycology, 6(2.(

Carr, F. J. , Chill, D. , & Maida, N. (2002). The lactic acid bacteria: a literature survey. Critical Reviews in Microbiology, 28(4), 281–370.

Chang, M.-H., Hong, S.-F., Chen, J.-H., Lin, M.-F., Chen, C.-S., & Wang, S.-C. (2016). Antibacterial activity Lactobacillus plantarum isolated from fermented vegetables and investigation of the plantaricin genes. African Journal of Microbiology Research, 10(22), 796–803. https://doi.org/10.5897/AJMR2016.7922

Cholakov, R., Tumbarski, Y., Yanakieva, V., Dobrev, I., Salim, Y., & Denkova, Z. (2017). ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF LEUCONOSTOC LACTIS STRAIN BT17, ISOLATED FROM A SPONTANEOUSLY FERMENTED CEREAL BEVERAGE (BOZA). Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 7(1), 47–49. https://doi.org/10.15414/JMBFS.2017.7.1.47-49

Fuochi, V., Volti, G., & Furneri, P. (2017). Probiotic Properties of Lactobacillus fermentum Strains Isolated from Human Oral Samples and Description of their Antibacterial Activity. Current Pharmaceutical Biotechnology, 18(2), 138–149. https://doi.org/10.2174/1389201017666161229153530

Harley, J. P., & Prescott, L. M. (1996). Microbiology: Laboratory Exercises (3rd Edition). McGraw-Hill Companies, New York.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Björkroth, J., & Schillinger, U. (2001). Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. The American Journal of Clinical Nutrition, 73(2), 365s–373s. https://doi.org/10.1093/AJCN/73.2.365S

Huang, R., Tao, X., Wan, C., Li, S., Xu, H., Xu, F., … N. S.-J. of dairy, & 2015 ، undefined. (2015). In vitro probiotic characteristics of Lactobacillus plantarum ZDY 2013 and its modulatory effect on gut microbiota of mice .Elsevier .

Kaban, G., & Kaya, M. (2008). Identification of Lactic Acid Bacteria and Gram-Positive Catalase-Positive Cocci Isolated from Naturally Fermented Sausage (Sucuk). Journal of Food Science, 73(8), M385–M388. https://doi.org/10.1111/J.1750-3841.2008.00906.X

Khan, I., Control, S. K.-F., & 2016 ،undefined. (2016). Probiotic potential of nutritionally improved Lactobacillus plantarum DGK-17 isolated from Kimchi–A traditional Korean fermented food .Elsevier.

Khemariya, P., Singh, S., Jaiswal, N., & Chaurasia, S. N. S. (2016). Isolation and Identification of Lactobacillus plantarum from Vegetable Samples, 30(1), 49–62. https://doi.org/10.1080/08905436.2015.1132428

Li, C., Chen, Y., Kwok, L. Y., Chen, X., Yu, H., Yang, H., Yang, J., Xue, J., Sun, T., & Zhang, H. (2015). Identification of potential probiotic Lactobacillus plantarum isolates with broad-spectrum antibacterial activity. Dairy Science and Technology, 95(3), 381–392. https://doi.org/10.1007/S13594-014-0206-1

Lin, X., Chen, X., Chen, Y., Jiang, W., & Chen, H. (2015). The effect of five probiotic lactobacilli strains on the growth and biofilm formation of Streptococcus mutans. Oral Diseases, 21(1), e128–e134. https://doi.org/10.1111/ODI.12257

Liu, Y. W., Liong, M. T., & Tsai, Y. C. (2018). New perspectives of Lactobacillus plantarum as a probiotic: The gut-heart-brain axis. Journal of Microbiology vol.56(9), 601–613. https://doi.org/10.1007/S12275-018-8079-2

Meade, E., Slattery, M. A., & Garvey, M. (2020). Bacteriocins, Potent Antimicrobial Peptides and the Fight against Multi Drug Resistant Species: Resistance Is Futile? Antibiotics, 9(1). https://doi.org/10.3390/ANTIBIOTICS9010032

Milioni, C., Martínez, B., Degl'Innocenti, S., Turchi, B., Fratini, F., Cerri, D., & Fischetti, R. (2015). A novel bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum LpU4 as a valuable candidate for biopreservation in artisanal raw milk cheese. Dairy Science and Technology, 95(4), 479–494. https://doi.org/10.1007/S13594-015-0230-9/FIGURES/6

Nielsen, D. S., Teniola, O. D., Ban-Koffi, L., Owusu, M., Andersson, T. S., & Holzapfel, W. H. (2007). The microbiology of Ghanaian cocoa fermentations analysed using culture-dependent and culture-independent methods.

International Journal of Food Microbiology, 114(2), 168–186. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2006.09.010

Pato, U., Riftyan, E., Jonnaidi, N., MS Wahyuni. (2022). Isolation, characterization, and antimicrobial evaluation of bacteriocin produced by lactic acid bacteria against Erwinia carotovora .Food Science and Technology, 42. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1590/fst.11922.

Rajaram, G. , Manivasagan, P. , Thilagavathi, B. , & Saravanakumar, A. (2010). Purification and characterization of a bacteriocin produced by Lactobacillus lactis isolated from marine environment. Adv J Food Sci Technol, 2(2), 138–144.

Russo, P., Arena, M. P., Fiocco, D., Capozzi, V., Drider, D., & Spano, G. (2017). Lactobacillus plantarum with broad antifungal activity: A promising approach to increase safety and shelf-life of cereal-based products. International Journal of Food Microbiology, 247, 48–54. https://doi.org/10.1016/J.IJFOODMICRO.2016.04.027

Russo, P., Capozzi, V., Arena, M. P., Spadaccino, G., Dueñas, M. T., López, P., Fiocco, D., & Spano, G. (2014). Riboflavin-overproducing strains of Lactobacillus fermentum for riboflavin-enriched bread. Applied Microbiology and Biotechnology, 98(8), 3691–3700. https://doi.org/10.1007/S00253-013-5484-7/METRICS

Seddik, H. A., Bendali, F., Gancel, F., Fliss, I., Spano, G., & Drider, D. (2017). Lactobacillus plantarum and Its Probiotic and Food Potentialities. Probiotics and Antimicrobial Proteins, 9(2), 111–122. https://doi.org/10.1007/S12602-017-9264-Z/METRICS

Simons, A., Alhanout, K., & Duval, R. E. (2020). Bacteriocins, Antimicrobial Peptides from Bacterial Origin: Overview of Their Biology and Their Impact against Multidrug-Resistant Bacteria. Microorganisms,Vol.8,5 Page 639-639. https://doi.org/10.3390/MICROORGANISMS8050639

Todorov, S. D., de Melo Franco, B. D. G., & Tagg, J. R. (2019). Bacteriocins of Gram-positive bacteria having activity spectra extending beyond closely-related species. 10(3), 315–328. https://doi.org/10.3920/BM2018.0126

Valan Arasu, M., Jung, M. W., Kim, D. H., Park, H. S., Ilavenil, S., Al-Dhabi, N. A., & Choon Choi, K. (2015). Identification and phylogenetic characterization

of novel Lactobacillus plantarum species and their metabolite profiles in grass silage. Annals of Microbiology, 65(1), 15–25. https://doi.org/10.1007/S13213-014-0830-2/FIGURES/6

Wood, B. J. B. , & Holzapfel, W. H. (1995). The Genera of Lactic Acid Bacteria. Blackie Academic and Professional, London.

Yang, E., Fan, L., Jiang, Y., Doucette, C., & Fillmore, S. (2012). Antimicrobial activity of bacteriocin-producing lactic acid bacteria isolated from cheeses and yogurts. AMB Express, 2(1), 1–12. https://doi.org/10.1186/2191-0855-2-48/FIGURES/4