Song S Z, Peng X Q, Huang L, *et al*. Antibacterial activity and mechanism of *Gardenia jasminoides* essential oil against *Streptococcus agalactiae* in *Acrossocheilus fasciatus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(4): 042612. [宋尚泽, 彭先启, 黄雷, 等. 栀子花精油对光唇鱼无乳链球菌的抑菌活性与机理研究 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(4): 042612.]

栀子花精油对光唇鱼无乳链球菌的抑菌活性与机理研究

宋尚泽[1,2] 彭先启[2] 黄 雷[2] 蔺凌云[2] 陈 瑜[3] 何辉林[2] 陈 亮[2] 刘玉龙[2]
吕泽平[4*] 姚嘉赟[1,2*]

(1. 吉林农业大学动物科学技术学院, 长春 130118; 2. 浙江省淡水水产研究所(浙江省淡水渔业环境监测站), 农业农村部淡水渔业健康养殖重点实验室, 浙江省鱼类健康与营养重点实验室, 湖州市渔业环境与水产品质量安全重点实验室, 湖州 313001; 3. 常州市武进动物药品有限公司, 常州 213166; 4. 绍兴市上虞区水产技术推广中心, 绍兴 312300)

摘要: 本研究旨在探究栀子花精油(Gardenia essential oil, GEO)对无乳链球菌(*Streptococcus agalactiae*)的抑菌活性及作用机制。采用超临界CO_2流体萃取法提取GEO, 并通过气相色谱−质谱联用(GC-MS)技术分析其化学成分, 结果显示GEO的主要成分为醇类和烯烃类化合物。体外实验显示, GEO对GBS的最小抑菌浓度(Minimum inhibitory concentration, MIC)和最小杀菌浓度(Minimum bactericidal concentration, MBC)分别为3.13和12.50 mg/mL; 1/2 MIC的GEO可显著抑制细菌生长, 破坏细胞膜完整性, 导致蛋白质泄漏及碱性磷酸酶活性升高(P<0.05)。扫描电镜和透射电镜观察表明, 1/2 MIC的GEO可引起细胞膜破裂、胞质渗漏和空泡化等细胞超微结构损伤。同时, 1/2 MIC的GEO可显著抑制生物被膜的形成及群体感应信号AI-2的产生。体内实验显示, 饲喂含GEO的饲料(2 g/kg)能显著提高光唇鱼在感染GBS后的存活率, 并显著降低肝脏、脑组织中的细菌载量。上述结果表明, GEO对无乳链球菌具有较强的抑菌活性, 可能通过破坏细胞结构发挥抑菌作用, 具备开发为绿色渔用制剂的潜力。

关键词: 无乳链球菌; 栀子花精油; 抗菌药物; 抑菌作用; 光唇鱼

中图分类号: S941.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2026)04-042612-08

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0320 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0320

光唇鱼(*Acrossocheilus fasciatus*)是我国山区特色水产养殖物种, 具有重要的经济价值[1]。然而, 其养殖产业化面临病害频发的挑战, 其中无乳链球菌是危害最大的病原之一。无乳链球菌又名B族链球菌(Group B *Streptococcus,* GBS), 为革兰氏阳性链球菌, 可导致光唇鱼出现螺旋游动、体表出血、腹部肿胀等急性症状。该病原传播快、致死率高, 常引起养殖群体短时间内大量死亡[2]。目前, GBS防控主要依赖抗生素, 但过量使用或滥用抗生素不仅导致耐药性加剧, 也增加了养殖成本与生态环境风险[3]。因此, 开发高效、安全且环境友好的抗生素替代品, 已成为水产病害防控的迫切需求和研究热点。

植物精油(Essential Oils, EOs)因其广谱抗菌性、低残留及不易诱导耐药性等优势, 被视为替代抗生素的潜在制剂之一[4]。EOs具有较强的脂溶性, 可通过穿透微生物细胞膜、破坏膜完整性、干扰能量代谢和酶功能, 进而发挥杀菌作用[5]。已有研究报道, EOs对副溶血弧菌(*Vibrio parahaemolyticus*)、嗜水气单胞菌(*Aeromonas hydrophila*)、海豚

收稿日期: 2025-09-14; **修订日期:** 2025-12-12

基金项目: 浙江省“领雁”研发攻关计划(2024C02005); 浙江省“三农九方”科技协作计划(2025SNJF023); 湖州市公益农业应用研究项目(2023GZ28); 台州市科技计划(25nya19)资助 [Supported by the “Leading Goose” R & D Program of Zhejiang (2024C02005); Zhejiang Technology Collaboration Project of “San Nong Jiu Fang” (2025SNJF023); Huzhou Municipal Public Welfare Agricultural Applied Research Project (2023GZ28); Taizhou Science and Technology Program (25nya019)]

作者简介: 宋尚泽, 男, 硕士研究生; 主要从事水生动物病害研究。E-mail: song727499@163.com

通信作者: 吕泽平, 工程师; E-mail: lvzeping@126.com 姚嘉赟, 博士, 研究员; E-mail: yaojiayun@126.com *共同通信作者

©The Author(s) 2026. This is an open access article under the CC-BY 4.0 License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

链球菌(*Streptococcus iniae*)等水产常见致病菌具有显著抑制效果[6—8], 并可增强尼罗罗非鱼、南美白对虾(*Litopenaeus vannamei*)等水产动物抗无乳链球菌、副溶血弧菌等病原的抗感染能力[9, 10], 显示出其作为绿色渔用制剂的开发潜力。

在众多植物精油中, 栀子花精油(Gardenia essential oil, GEO)富含醇类、酯类和烯烃类等活性成分表现出优异的抗菌潜力。柠檬醛、橙花醇等[11, 12]醇类物质可破坏细胞膜、诱导氧化应激, 从而有效抑制金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*)、无乳链球菌等多种病原体的生长; 而石竹烯等[13]烯烃类成分则通过抑制代谢酶活性及损伤细胞膜发挥抑菌作用。现有研究多集中于GEO对陆生动植物病原的抑制作用, 而其对水产病原菌, 尤其是GBS的抗菌效应尚不明确。因此, 本研究通过体外与体内实验系统评估GEO对GBS的抑菌作用, 以期为水产链球菌病的绿色防控提供重要依据。

1 材料与方法

1.1 药物和试剂

实验用栀子花购自江西某中药市场, 结晶紫购自阿拉丁生物技术有限公司, 二甲基亚砜购自阿拉丁生物技术有限公司, 刃天青购自上海源叶生物科技有限公司, 电镜固定液购自武汉赛维尔生物科技有限公司, BHI肉汤购自青岛海博生物技术有限公司, 磷酸盐缓冲液购自北京索莱宝科技有限公司, BCA蛋白浓度试剂盒(货号P0012S)购自上海碧云天生物技术股份有限公司, 碱性磷酸酶(AKP)测试盒(货号A059-2-2)购自南京建成生物工程研究所, 微生物自诱导物2 (AI-2) ELISA试剂盒(货号JM-1313102)购自江苏晶美生物科技有限公司。

1.2 栀子花精油萃取及成分鉴定

精油萃取 参照陈运江[14]所述的超临界CO_2萃取仪(Applied Separations SFE-2, USA)进行栀子花精油提取, 具体步骤: 取100 g干燥栀子花粉末(过40目筛), 置于萃取釜中, 设定萃取压力5 MPa、萃取温度35℃, 分离压15 MPa、分离温度25℃。收集分离釜出口样品, 经冷冻离心去除水分, 即得栀子花精油。精油经甲醇稀释后, 通过气相色谱−质谱联用仪(Agilent 7890B-5977A GC/MSD, USA)测定其成分。

精油成分鉴定 参照王雪娇等[15]所述的气相色谱−质谱联用(GC-MS)方法鉴定栀子花精油成分, 具体实验条件: 使用HP-5MS石英毛细管色谱柱(30 m×0.25 mm×0.25 μm; Agilent J&W, USA); 氦气为载气, 流速0.8 mL/min; 进样量为1 μL; 进样口220℃; 分流比50∶1; 程序升温: 50℃ (1min) → 110℃ (1min) → 220℃ (5min)。电子能量70 eV; 离子源温度230℃; 四极杆温度150℃; 扫描范围10—400 m/z; 采用美国国家标准与技术研究院(NIST) 2008谱库进行谱图检索, 采用峰面积归一化方法来定性化合物相对含量(表 1)。

1.3 菌株培养

实验所用无乳链球菌ACRO-0708 (GenBank ID: NW073926)由本实验室从患病光唇鱼肾脏中分离并保存。菌株活化步骤: 从–80℃冰箱中取出保存的菌株, 划线接种于BHI固体培养基, 于28℃培养48h, 获得形态一致的单菌落。挑取单菌落接种于BHI肉汤培养基, 于28℃、180 r/min振荡培养72h, 基于分光光度法用无菌生理盐水调整菌液浓度, 用于后续实验。

1.4 最小抑菌浓度(MIC)与最小杀菌浓度(MBC)测定

分别采用刃天青显色法[16]和平板菌落计数法测定GEO对无乳链球菌的MIC和MBC, 主要步骤: 用含5% DMSO的PBS配制浓度为100 mg/mL的GEO母液, 每孔吸取100 μL添加到96孔板的第一列中, 用BHI培养基逐列倍比稀释, 得到50—0.01 mg/mL系列浓度, 每孔加入100 μL菌悬液(终浓度10^5 CFU/mL), 并设置阴性(仅含培养基)和阳性对照(含菌培养基)。28℃培养24h后, 加入50 μL刃天青溶液, 继续孵育12h。溶液呈蓝色表明无细菌生长; 若变为粉红色, 则表示有细菌生长。将MIC及以上浓度菌液涂布BHI琼脂平板, 28℃培养48h后, 以无菌落生长的最低浓度判定为MBC。

1.5 生长曲线测定

参照蔡雪等[17]所述方法测定细菌生长曲线, 步骤如下: 将GBS菌液浓度调整至1×10^8 CFU/mL, 分别加入终浓度为MIC和1/2 MIC的GEO, 对照组(Ctrl)加入等量PBS, 每组3个重复。将所有菌液置于28℃、180 r/min条件下震荡培养, 每隔4h取培养液于600 nm测吸光值并计算浓度, 分别以培养时间和600 nm吸光值作为横纵坐标绘制生长曲线。

1.6 细胞膜通透性测定

将GBS菌液浓度调整至1×10^8 CFU/mL, 分别加入终浓度为MIC和1/2 MIC的GEO, Ctrl组加入等量PBS(n=3), 于28℃、180 r/min培养4h后, 离心后取上清液, 按BCA试剂盒测胞外蛋白含量: 以0—0.5 mg/mL标准品制作标准曲线, 样品同法操作, 加工作液后37℃孵育20—30min, 于562 nm测吸光值并计算浓度。其余样品继续培养至12h, 按AKP试剂盒步骤测碱性磷酸酶活性: 分别设置空白、标准

及测定孔, 37℃反应15min后显色, 根据标准曲线计算酶活性。

1.7　生物被膜含量测定

将GBS菌液浓度调整至1×10^8 CFU/mL并分装至96孔板(每孔200 μL), 分别加入终浓度为MIC和1/2 MIC的GEO。Ctrl组加等量PBS (*n*=6)。28℃静置培养48h后, 弃去菌液, 用PBS轻柔洗涤3次, 甲醇固定15min并干燥。随后以1%结晶紫染色20min, 去离子水洗净, 干燥后加入33%冰醋酸溶解结合染料, 于590 nm测定吸光值。

1.8　群体感应信号分子(AI-2)含量测定

将GBS菌液浓度调整至1×10^8 CFU/mL, 分别加入终浓度为MIC和1/2 MIC的GEO, Ctrl组加入等量PBS (*n*=3), 28℃、180 r/min培养4h。4℃、5000 r/min离心10min收集上清, 经0.22 μm滤膜过滤后, 按AI-2检测试剂盒说明操作: 设置标准孔与样本孔, 加入酶标抗体并温育, 洗板后加底物显色, 以450 nm测定吸光值, 依据标准曲线计算AI-2活性。

1.9　扫描电镜(SEM)与透射电镜(TEM)样品制备与观察

将GBS菌液浓度调整至1×10^8 CFU/mL, 分别加入终浓度为MIC和1/2 MIC的GEO, Ctrl组加入等量PBS (*n*=3)。28℃、180 r/min分别培养12h和24h后, 分别取1.5 mL菌液, PBS重悬、漂洗后, 经2.5%戊二醛4℃固定过夜。SEM样品经梯度乙醇脱水、镀膜, 用Inspect S50型扫描电镜观察; TEM样品经漂洗、固定、脱水、包埋切片和染色后, 使用Hitachi H-7650型透射电镜观察。

1.10　攻毒保护实验

将150尾体重为(15.2±2.0) g的健康光唇鱼随机分为5组: 攻毒对照(Ctrl)、空白对照及高(2 g/kg)、中(1 g/kg)、低(0.5 g/kg)浓度的GEO饲喂组, 每组3平行, 每个平行30尾鱼。在(24.0±0.5)℃、溶解氧(6.5±0.5) mg/L条件下养殖, 每日投喂2次并换水50%。所有组连续投喂相应饲料5d, 随后(除空白组外)腹腔注射0.1 mL/尾GBS菌液, 攻毒浓度采用前期实验确定的LD_{50}浓度1.2×10^7 CFU/mL。次日起, 所有组别改投不含药物的普通饲料。记录7d内死亡情况, 按以下公式计算存活率: 存活率(%)=(结束存活尾数/初始尾数)×100。实验流程如图 1所示。

1.11　组织细菌载量测定

于攻毒后3d, 取各组光唇鱼肝脏与脑组织进行细菌载量测定。取肝脏组织约0.1 g, 加入0.9 mL PBS进行匀浆, 随后补充PBS至总体积为1 mL, 即得浓度为0.1 g/mL的初始匀浆液。将匀浆液混匀后进行10倍系列稀释, 取100 μL 10^{5}稀释度的匀浆液均匀涂布于BHI平板, 于28℃培养24h后进行菌落计数。脑组织采用体积法取样, 无菌吸取10 μL脑组织, 加入90 μL PBS, 充分混匀, 制成1∶10的脑组织匀浆。从上述匀浆中吸取50 μL涂布于BHI平板, 培养24h后进行菌落计数。

1.12　数据分析

实验数据以均值±标准差表示, 使用DMSAS软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)和方差齐性检验(Homogeneity of variance test), P<0.05表示差异有统计学意义, 文中绘图用Origin 2024软件进行制作。

2　结果

2.1　GEO成分分析

采用GC-MS分析GEO的化学成分, 共鉴定出橙花醇、石竹烯、顺式香叶醇、β-蒎烯、石竹烯氧化物、柠檬醛、甲酸香叶酯、α-蒎烯和β-柠檬醛等9种化合物。这些组分的总峰面积占总色谱峰面积的81.80% (图 2a)。其中, 橙花醇、顺式香叶醇、石竹烯与β-蒎烯为主要成分, 占比超过70% (图 2b)。

2.2　体外抑菌活性

基于MIC、MBC及细菌生长曲线, 综合评价GEO对GBS的体外抑菌效果。结果显示, 当GEO浓度大于3.13 mg/mL时, 菌液保持蓝色, 表明细菌生长被完全抑制, 据此判定其MIC为3.13 mg/mL (图 3a)。进一步将MIC及以上浓度的菌液涂布于平板, 发现在浓度大于12.50 mg/mL时无任何菌落形成, 据此判定其MBC为12.50 mg/mL (图 3b)。生长曲线分析显示, 与Ctrl组相比, GEO处理组(MIC、1/2 MIC)的600 nm吸光值显著降低, 并呈现浓度依赖性抑制; 其中MIC组的吸光值在整个培养期间始终维持在

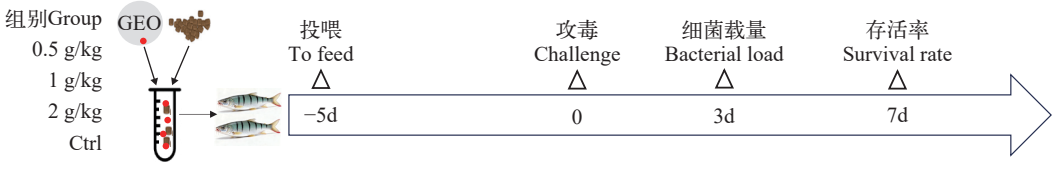


图 1　实验流程图

Fig. 1　Experimental procedure

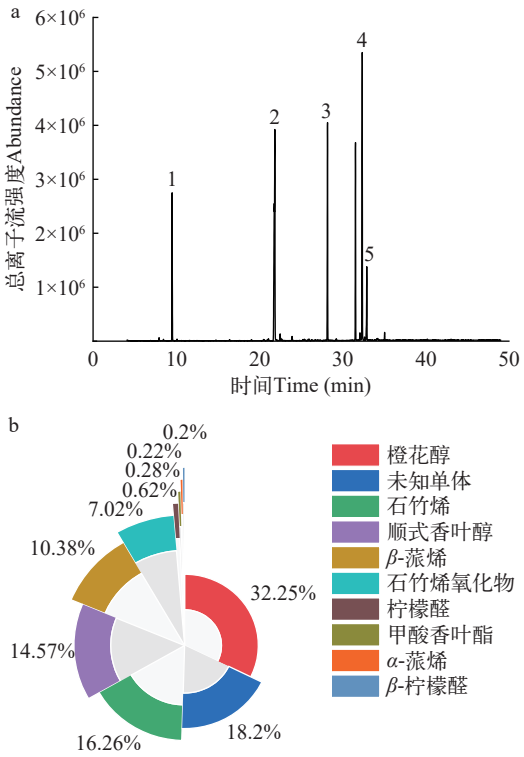


图 2 栀子花精油的总离子流图(a)及成分占比图(b)

Fig. 2 Total ion chromatogram (a) and composition percentage chart (b) of GEO

1. β-蒎烯; 2. 顺式香叶醇; 3. 石竹烯; 4. 橙花醇; 5. 石竹烯氧化物

1. β-Pinene; 2. cis-Geraniol; 3. Caryophyllene; 4. Nerol; 5. Caryophyllene oxide

表 1 栀子花精油主要化学成分

Tab. 1 Main chemical components of GEO

保留时间 Retention time	化合物名称 Compound name	CAS号 CAS number	分子式 Molecular formula	分子量 Molecular weight	含量 Content (%)
7.94	α-蒎烯α-Pinene	7785-70-8	$C_{10}H_{16}$	136.23	0.22
9.51	β-蒎烯β-Pinene	18172-67-3	$C_{10}H_{16}$	136.23	10.38
21.08	β-柠檬醛β-Citral	106-26-3	$C_{10}H_{16}O$	152.23	0.20
21.79	顺式香叶醇(Z)-Geraniol	106-25-2	$C_{10}H_{18}O$	154.25	14.57
22.49	柠檬醛 Citral	5392-40-5	$C_{10}H_{16}O$	152.23	0.62
23.93	甲酸香叶酯Geranyl formate	105-86-2	$C_{11}H_{18}O_2$	182.26	0.28
28.19	石竹烯 Caryophyllene	87-44-5	$C_{15}H_{24}$	204.35	16.26
31.55	橙花醇 Nerol	40716-66-3	$C_{15}H_{26}O$	222.37	32.25
32.08	石竹烯氧化物 Caryophyllene oxide	1139-30-6	$C_{15}H_{24}O$	220.35	7.02

较低水平(图 3c)。

2.3 细胞膜通透性

通过检测胞外蛋白质含量及AKP活性, 评估GEO对GBS细胞膜通透性的影响。结果显示, Ctrl组胞外蛋白质含量为(0.07±0.02) μg, MIC和1/2 MIC组中蛋白质含量分别显著增至Ctrl组的9.4和4.2倍(P<0.05; 图 4a)。Ctrl组AKP含量为(2.47±0.32)金氏单位/mL, MIC组和1/2 MIC组分别显著提高至Ctrl组的1.56和1.27倍(P<0.05; 图 4b)。

2.4 生物被膜与AI-2含量

结晶紫染色结果显示, Ctrl组生物被膜的590 nm吸光值为0.2±0.01, 与Ctrl组相比, MIC组和1/2 MIC组中生物被膜含量分别降低35.30%和27.21% (P<0.05; 图 5a)。Ctrl组AI-2含量为(54.61±4.23) ng/mL, 与Ctrl组相比, MIC和1/2 MIC组中AI-2含量分别降低39.58%和25.26% (P<0.05; 图 5b)。

2.5 电镜观察结果

SEM结果显示, Ctrl组菌体形态规则、表面光滑、排列紧密(图 6a); 经GEO处理12h后, 细菌表面

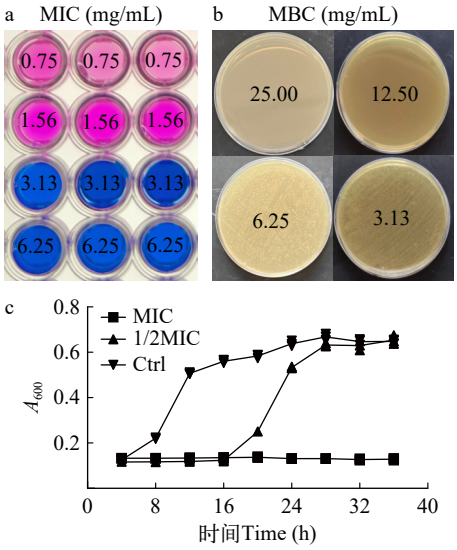


图 3 GEO对GBS的MIC (a)、MBC (b)及细菌生长曲线(c)

Fig. 3 MIC (a), MBC (b), and bacterial growth curve (c) of GEO against GBS

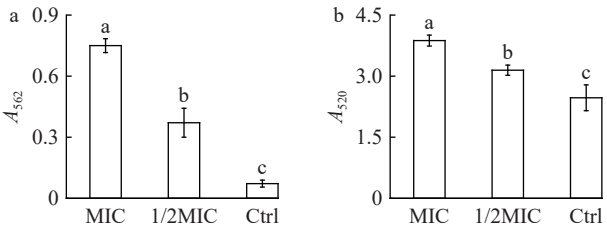


图 4 GEO对GBS胞外蛋白质含量(a)及AKP活性(b)的影响

Fig. 4 Effects of GEO on the extracellular protein content (a) and alkaline phosphatase activity (b) of GBS

破损、形态不均; 处理24h后, 细胞结构崩解、边界模糊(图 6b和6c)。TEM图像显示, Ctrl组细胞呈规则球状, 细胞膜结构完整, 胞质分布均匀(图 6d); GEO处理12h后, 细胞膜、壁局部破损, 胞质因浓缩而呈现染色不均, 表面呈现颗粒状(图 6e); 处理24h后, 细胞损伤加剧, 出现胞质外溢、空泡化等现象, 菌体明显膨胀(图 6f)。

2.6　体内实验结果

相对保护率　攻毒实验结果显示, Ctrl组光唇鱼于第2d开始死亡, 7d内全部死亡。GEO处理组存活率呈剂量依赖性趋势, 其中HC、MC和LC组的7d存活率分别为36.7%、26.7%和0 (图 7); 空白对照组实验鱼在整个实验期间无发病、死亡(数据未展示)。

细菌载量　GBS攻毒3d后测定各组光唇鱼肝和脑中GBS数量, 结果显示, Ctrl组中肝脏细菌载量为(2.57±0.33)×10^5 CFU/g。与Ctrl组相比, GEO处理组(HC、MC和LC)细菌载量分别降低89.88%、90.38%和81.58% (P<0.01; 图 8a)。Ctrl组脑组织细菌载量为(1.46±0.25)×10^2 CFU/μL, 与Ctrl组相比, 3个GEO处理组细菌载量分别降低75.47%、67.60%和69.15% (P<0.01; 图 8b)。

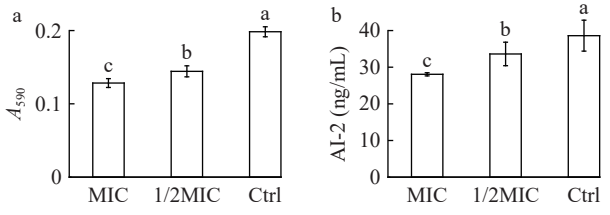


图 5　GEO对GBS生物被膜形成(a)及AI-2含量(b)的影响

Fig. 5　Effects of GEO on biofilm formation (a) and AI-2 production (b) in GBS

3　讨论

本研究发现, GEO对GBS的MIC和MBC值分别为3.13和12.50 mg/mL, 优于松针精油(MIC=7.81 mg/mL)及艾草精油(MIC=15.63 mg/mL)[18], 表明GEO对GBS的体外抗菌活性较强。经GEO处理后, GBS细菌胞外蛋白质泄漏量和碱性磷酸酶活性均显著上升, 表明细胞膜通透性改变及功能受损。SEM/TEM结果进一步提供了直观证据: GEO处理后, GBS细胞局部破损, 出现膜破裂、胞质外溢及空泡化等不可逆形态改变。GEO的抑菌能力可能源于其复杂的化学成分及各组分间的协同作用。GC-MS分析结果显示, GEO中以橙花醇、顺式香叶醇为代表的醇类成分, 以及石竹烯、β-蒎烯为代表的烯烃类成分占总成分的70%以上, 这些成分已被广泛报道具有显著抗菌活性。其中含量最高的橙花醇可通过分子中羟基与细菌膜磷脂极性头部形成氢键, 并特异性结合革兰氏阳性菌细胞壁中的磷壁酸, 从而破坏细胞壁稳定性[19]。橙花醇也可通过多靶点机

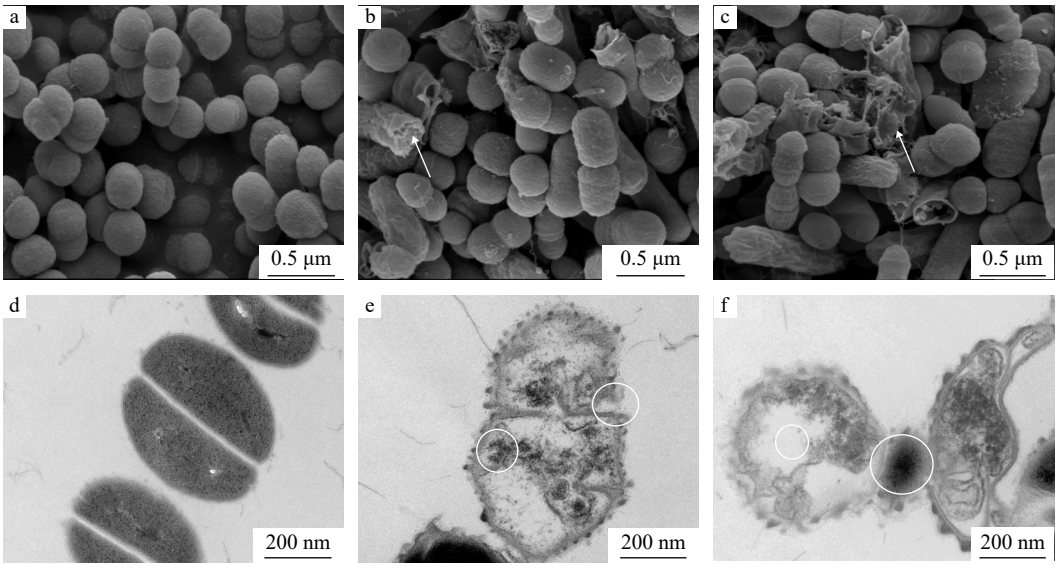


图 6　GEO对GBS细胞形态的影响

Fig. 6　Effect of GEO on cellular morphology of GBS

A—C. SEM图; D—F. TEM图; A、D. Ctrl组; B、E. GEO培养12h组; C、F. GEO培养24h组; 白色箭头表示菌体表面结构破损; 白色圆圈表示细胞膜破裂、内部颗粒状物质聚集、细胞器形态异常降解

A—C. SEM images; D—F. TEM images; A and D. Control group; B and E. GEO 12h group; C and F. GEO 24h group; the white arrows indicate damage to the bacterial surface structure; the white circles indicate cell membrane rupture, aggregation of intracellular granular material, and abnormal degraded organelle morphology

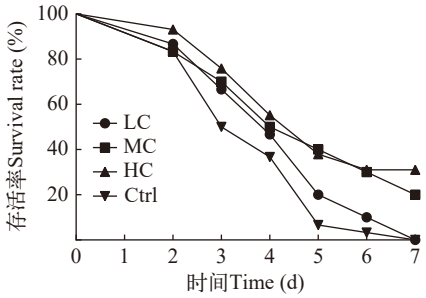


图 7 GBS攻毒7d后各组光唇鱼的存活率

Fig. 7 Survival rates of *A. fasciatus* in different groups after 7-day challenge with GBS

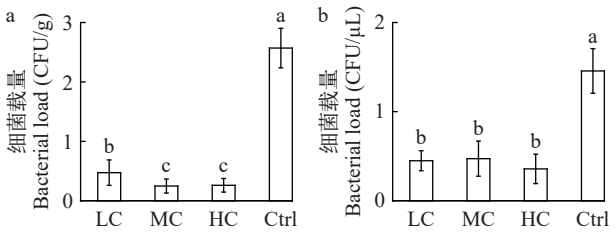


图 8 光唇鱼肝脏(a)、脑组织(b)中细菌载量

Fig. 8 Bacterial load in the liver (a) and brain (b) of *A. fasciatus*

制, 抑制环磷酰胺引起的氧化应激、炎症反应、细胞凋亡及纤维化进程, 进而减轻肝、肾组织损伤[20, 21]; 而石竹烯等萜烯类成分则凭借其疏水性插入细胞膜脂质双层, 增加膜流动性并形成孔道, 导致胞内物质泄漏[22]。这种“极性与非极性成分协同”的作用模式, 可能协同瓦解了细菌细胞的结构屏障。虽然GEO对GBS表现出较强的抑菌活性, 但仍面临着生产成本较高、适口性不足等问题, 未来仍需优化其制备工艺以降低成本, 并通过微胶囊化、风味修饰等策略改善其适口性, 以实现绿色养殖应用。

在本研究中, GEO在亚抑菌浓度(1/2 MIC)下即可显著抑制GBS生物被膜的形成, 并伴随群体感应信号分子AI-2含量下降。生物被膜是细菌在不利环境中形成的一种保护性结构, 可增强其对抗菌药物的抵抗能力和在宿主组织中的定植能力[23]。群体感应(QS)是细菌依赖细胞密度调控群体行为(包括毒力因子表达和生物被膜形成)的通讯系统[24], 其中自诱导剂-2 (AI-2)作为一种广泛存在的种间QS信号分子, 在调控生物被膜形成中发挥关键作用。在本研究中, GEO剂量依赖性地抑制AI-2的生成, 表明其可能通过干扰QS信号通路, 间接影响下游生物被膜相关基因的表达, 从而削弱细菌的群体行为与致病力。这一“减毒”策略不仅有助于宿主免疫系统更有效地清除病原体, 还可降低因强杀菌压力引发的耐药性风险。本研究结果与现有关于AI-2/LuxS系统调控毒力的认识一致。例如, Roy Varnika等[25]报道AI-2类似物可协同庆大霉素清除成熟生物被膜, 表明干扰细菌通讯能恢复病原菌对抗生素的敏感性; 王丽涵等[26]报道LuxS/AI-2群体感应系统通过c-di-AMP信号通路负调控生物被膜形成, 其缺失会通过提升胞外多糖含量而增强生物被膜能力; 陈苗苗等[27]报道姜黄素通过上调AI-2合成基因*luxS*的同时抑制其转运与调控基因, 从而破坏细菌的信号通信, 最终实现对其毒力因子蛋白酶产生的抑制。因此, GEO作为天然来源的AI-2信号抑制剂, 其抑制生物被膜形成的作用机制正符合靶向群体感应的调控规律, 为理解其多靶点抑菌机理提供了关键支撑。

体内实验表明, 饲喂添加GEO (2 g/kg)的饲料可显著提高光唇鱼应对GBS感染的能力。攻毒实验显示, GEO高浓度组的7d累计相对保护率达到36.7%, 显著高于中、低浓度组及攻毒对照组; 同时, 肝脏和脑组织中的细菌载量显著降低, 说明GEO有效抑制了GBS在鱼体内的繁殖与扩散。与本研究结论一致, 王喜涛等[28]发现饲喂富含柠檬醛的山苍子精油可显著降低弗氏柠檬酸杆菌(*Citrobacter freundii*)攻毒后比目鱼(*Pleuronectiformes*)的死亡率, 并有效缓解肠道黏膜损伤与炎症反应。宋千辉等[29]报道, 饲喂富含柠檬醛的山苍子精油可显著降低凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)在副溶血弧菌感染后的死亡率。GEO对光唇鱼的保护作用可能与其抑菌和减毒机制有关。一方面, GEO通过破坏细胞膜结构、引起胞内物质泄漏, 直接抑制病原菌增殖; 另一方面, 在亚抑菌浓度下可干扰GBS的毒力表现, 如抑制生物被膜形成和AI-2产生, 从而显著削弱GBS的侵袭力和环境适应性。综上, GEO可能通过直接杀菌、抑制毒力表达及调节宿主免疫等多重机制, 增强光唇鱼对GBS感染的抵抗力, 但尚需后续实验予以验证。

4 结论

本研究表明, GEO可通过破坏细胞膜结构、抑制生物被膜形成、干扰群体感应信号分子AI-2产生等机制, 发挥抗GBS作用。日粮添加2 g/kg GEO的饲料能有效提高光唇鱼对抗无乳链球菌感染的能力, 显著降低死亡率和组织细菌载量。综上所述, GEO显示出开发为绿色渔用制剂的潜力, 可用于水产链球菌病的防控, 未来仍需进一步探究其关键活性成分纯化、药物分子靶点解析以及GEO实际应用方案。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

[1] Li S S, Zhang W J, Gao Y, *et al*. Correlation between the intestinal microbiota of larval and juvenile *Acrossocheilus fasciatus* and bacterial community of culture water [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2023, **47**(8): 1313-1322. [李珊珊, 张伟佳, 高阳, 等. 光唇鱼仔稚幼鱼肠道菌群与养殖水体细菌群落的相关性 [J]. 水生生物学报, 2023, **47**(8): 1313-1322.]

[2] Lin L Y, Pan X Y, Yao J Y, *et al*. Identification and genetic characterization of *Streptococcus agalactiae* isolated from *Acrossocheilus fasciatus* cultured in Zhejiang [J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2021, **61**(10): 3159-3172. [蔺凌云, 潘晓艺, 姚嘉赟, 等. 光唇鱼源无乳链球菌的分离鉴定及遗传特征 [J]. 微生物学报, 2021, **61**(10): 3159-3172.]

[3] Okocha R C, Olatoye I O, Adedeji O B. Food safety impacts of antimicrobial use and their residues in aquaculture [J]. *Public Health Reviews*, 2018, **39**(1): 21.

[4] Srinivasan R, Jin X, Lin X, *et al*. Essential oil compounds as antibiotic alternatives: a comprehensive review of antibacterial, anti-quorum sensing, and antibiofilm effects against *Vibrio* spp. in aquaculture [J]. *Reviews in Aquaculture*, 2025, **17**(4): e70065.

[5] Yang P, Huo Y X, Yang Q L, *et al*. Synergistic antibiofilm strategy based on essential oils and its application in the food industry [J]. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 2025, **41**(3): 81.

[6] Sun Y, Wang X D, Zhu J L, *et al*. Antibacterial activity and mechanism of lemon grass essential oil (LG-EO) on *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science and Technology*, 2023, **23**(3): 157-167. [孙杨, 王晓迪, 朱军莉, 等. 柠檬草精油对副溶血性弧菌的抑菌活性及机制 [J]. 中国食品学报, 2023, **23**(3): 157-167.]

[7] Wang Y, Liang Y, Jiang Q, *et al*. Transcriptome-based investigation on the mechanism of bacterial inhibition of *Aeromonas hydrophila* by tea tree oil [J]. *Aquaculture*, 2025(601): 742259.

[8] Vazirzadeh A, Jalali S, Farhadi A. Antibacterial activity of *Oliveria decumbens* against *Streptococcus iniae* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and its effects on serum and mucosal immunity and antioxidant status [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019(94): 407-416.

[9] Brum A, Pereira S A, Owatari M S, *et al*. Effect of dietary essential oils of clove basil and ginger on Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) following challenge with Streptococcus agalactiae [J]. *Aquaculture*, 2017(468): 235-243.

[10] He W, Rahimnejad S, Wang L, *et al*. Effects of organic acids and essential oils blend on growth, gut microbiota, immune response and disease resistance of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) against *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017(70): 164-173.

[11] Dai J, Bai M, Li C, *et al*. Antibacterial properties of citral against *Staphylococcus aureus*: From membrane damage to metabolic inhibition [J]. *Food Bioscience*, 2023(53): 102770.

[12] Baldissera M D, Souza C F, da Silva A S, *et al*. Benefits of nanotechnology: Dietary supplementation with nerolidol-loaded nanospheres increases survival rates, reduces bacterial loads and prevents oxidative damage in brains of *Nile tilapia* experimentally infected by *Streptococcus agalactiae* [J]. *Microbial Pathogenesis*, 2020(141): 103989.

[13] Moo C L, Yang S K, Osman M A, *et al*. Antibacterial activity and mode of action of β-caryophyllene on *Bacillus cereus* [J]. *Polish Journal of Microbiology*, 2020, **69**(1): 1-6.

[14] Chen Y J. Study on supercritical CO_2 extraction process of volatile oil of the flower of *Gardenia jasminoides* [J]. *Guangzhou Chemistry*, 2009, **34**(3): 37-40. [陈运江. 栀子花挥发油超临界CO_2萃取工艺优选分析 [J]. 广州化学, 2009, **34**(3): 37-40.]

[15] Wang X J, Li M H. Identification and analysis of *Gardenia jasminoides* essential oil by gas chromatography and mass spectrometry [J]. *Shanghai Chemical Industry*, 2022, **47**(5): 46-49. [王雪娇, 郦明浩. 一款栀子花精油的气相色谱-质谱判别分析 [J]. 上海化工, 2022, **47**(5): 46-49.]

[16] Ismail T F, Nakamura A, Nakanishi K, *et al*. Modified resazurin microtiter assay for in vitro and in vivo assessment of sulfamonomethoxine activity against the fish pathogen *Nocardia seriolae* [J]. *Fisheries Science*, 2012, **78**(2): 351-357.

[17] Cai X, Huang L, Zheng A Q, *et al*. Antibacterial activity and mechanism of allicin E against *Vibrio parahaemolyticus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2025, **49**(2): 108-117. [蔡雪, 黄雷, 郑阿钦, 等. 大蒜E素对副溶血弧菌的抑菌活性及机制 [J]. 水生生物学报, 2025, **49**(2): 108-117.]

[18] Cao W X, Zheng Q, Yue L, *et al*. Antibacterial activity and synergistic enhancement of several natural plant essential oils [J]. *Journal of Food Science and Biotechnology*, 2024, **43**(5): 101-109. [曹文轩, 郑琦, 岳玲, 等. 几种天然植物精油的抑菌活性及协同增效研究 [J]. 食品与生物技术学报, 2024, **43**(5): 101-109.]

[19] Fajdek-Bieda A, Pawlińska J, Wróblewska A, *et al*. Evaluation of the antimicrobial activity of geraniol and selected geraniol transformation products against gram-positive bacteria [J]. *Molecules*, 2024, **29**(5): 950.

[20] Iqubal A, Ali Syed M, Ali J, *et al*. Nerolidol protects the liver against cyclophosphamide-induced hepatic inflammation, apoptosis, and fibrosis via modulation of Nrf2, NF-κB p65, and caspase-3signaling molecules in swiss albino mice [J]. *BioFactors*, 2020, **46**(6): 963-973.

[21] Iqubal A, Najmi A K, Md S, *et al*. Oral delivery of nerolidol alleviates cyclophosphamide-induced renal inflammation, apoptosis, and fibrosis via modulation of NF-

κB/cleaved caspase-3/TGF-β signaling molecules [J]. *Drug Delivery*, 2023, **30**(1): 2241661.

[22] Witzke S, Duelund L, Kongsted J, *et al*. Inclusion of terpenoid plant extracts in lipid bilayers investigated by molecular dynamics simulations [J]. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2010, **114**(48): 15825-15831.

[23] Nithyanand P, Boya B R, Lee J H, *et al*. Polymicrobial biofilms: interKingdom interactions, resistance and therapeutic strategies [J]. *Microbial Biotechnology*, 2025, **18**(8): e70218.

[24] Alum E U, Gulumbe B H, Izah S C, *et al*. Natural product-based inhibitors of quorum sensing: a novel approach to combat antibiotic resistance [J]. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 2025(43): 102111.

[25] Roy V, Meyer M T, Smith J A I, *et al*. AI-2 analogs and antibiotics: a synergistic approach to reduce bacterial biofilms [J]. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2013, **97**(6): 2627-2638.

[26] Wang L, Li S, Liu J, *et al*. The mechanism of curcumin inhibits *Bacillus cereus* protease production by modulating the Lu_xS/AI-2system [J]. *International Journal of Food Microbiology*, 2025(442): 111381.

[27] Chen M, Duan Y, Yang W, *et al*. Role of Lu_xS/AI-2 quorum sensing in *Staphylococcus aureus* biofilm formation, intestinal damage and pathogenesis in loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2025(167): 110691.

[28] Wang X, Cui H, Wang W, *et al*. Utilizing *Litsea cubeba* essential oil as a natural solution to combat *Citrobacter freundii* infections in turbot [J]. *Aquaculture*, 2025(603): 742416.

[29] Song Q, Jin L, Fang D, *et al*. Analysis of the antibacterial activity and mechanism of Litsea cubeba essential oil against *Vibrio parahaemolyticus* JD2305 causing translucent postlarvae disease [J]. *Aquaculture*, 2026(613): 743329.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY AND MECHANISM OF *GARDENIA JASMINOIDES* ESSENTIAL OIL AGAINST *STREPTOCOCCUS AGALACTIAE* IN *ACROSSOCHEILUS FASCIATUS*

SONG Shang-Ze[1, 2], PENG Xian-Qi[2], HUANG Lei[2], LIN Ling-Yun[2], CHEN Yu[3], HE Hui-Lin[2], CHEN Liang[2], LIU Yu-Long[2], LÜ Ze-Ping[4] and YAO Jia-Yun[1, 2]

(1. *College of Animal Science and Technology*, *Jilin Agricultural University*, *Changchun* 130118, *China*; 2. *Key Laboratory of Healthy Freshwater Aquaculture*, *Ministry of Agriculture and Rural Affairs*, *Key Laboratory of Fish Health and Nutrition of Zhejiang Province*, *Key Laboratory of Fishery Environment and Aquatic Product Quality and Safety of Huzhou City*, *Zhejiang Institute of Freshwater Fisheries* (*Zhejiang Freshwater Fishery Environmental Monitoring Station*), *Huzhou* 313001, *China*; 3. *Changzhou Wujin Animal Pharmaceutical Co.*, *Ltd.*, *Changzhou* 213166, *China*; 4. *Shangyu District Fisheries Technology Extension Center of Shaoxing City*, *Shaoxing* 312300, *China*)

Abstract: This study aimed to investigate the antibacterial activity and underlying mechanism of *Gardenia jasminoides* essential oil (GEO) against *Streptococcus agalactiae* (GBS). GEO was extracted using supercritical CO_2 fluid extraction, and its chemical composition was analyzed by gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS). Results showed that GEO was primarily composed of alcoholic and olefinic compounds. *In vitro* assays revealed that the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of GEO against GBS were 3.13 and 12.50 mg/mL, respectively. GEO at 1/2 MIC significantly inhibited bacterial growth, disrupted cell membrane integrity, and led to increased protein leakage and alkaline phosphatase activity (P<0.05). Observations via scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM) indicated that GEO at 1/2 MIC induced ultrastructural damage, including membrane rupture, cytoplasmic leakage, and vacuolization. Moreover, GEO at 1/2 MIC markedly suppressed biofilm formation and reduced the production of the quorum-sensing signal molecule autoinducer-2 (AI-2). *In vivo* challenge tests demonstrated that dietary supplementation with GEO (2 g/kg) significantly enhanced the survival rate of *Acrossocheilus fasciatus* upon GBS infection and notably reduced the bacterial load in the liver and brain tissues. These findings suggest that GEO possesses notable antibacterial activity against GBS, likely through the disruption of cellular structures, and exhibits potential for development as a green antibacterial agent in aquaculture.

Key words: *Streptococcus agalactiae*; *Gardenia jasminoides* essential oil; Antibacterial drugs; Bacteriostatic effect; *Acrossocheilus fasciatus*