

大弹涂鱼肠道细菌学分析

王伟霞², 李福启², 李信书²

(1. 江苏省海洋生物技术重点建设实验室, 江苏连云港222005; 2. 淮海工学院海洋学院, 江苏连云港222005)

摘要 对大弹涂鱼肠道菌群数量和种类组成进行了分析。从其肠道中分离出102株细菌, 它们分别属于哈夫尼亚菌属(*Hafnia*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)、气单胞菌属(*Aeromonas*)、芽孢杆菌属(*Bacillus*)、致病杆菌属(*Xenorhabdus*)、柠檬酸菌属(*Citrobacter*)、假单胞杆菌属(*Pseudomonas*)、拉恩氏菌属(*Rahnella*)、弧菌属(*Vibrio*)、葡萄球菌属(*Staphylococcus*)和链球菌属(*Streptococcus*); 其中哈夫尼亚菌属、发光杆菌属、气单胞菌属和芽孢杆菌属为优势菌群。

关键词 大弹涂鱼; 肠道菌群; 数量; 种类

中图分类号 Q936 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2007)12-03545-01

Analysis of Intestinal Microflora of *Boleophthalmus pectinirostris*

WANG Wei-xia et al (Key Lab of Marine Biotechnology of Jiangsu Province, College of Marine Science, Haihai Institute of Technology, Lianyungang, Jiangsu 222005)

Abstract The group of intestinal microflora of *Boleophthalmus pectinirostris* was studied in the paper. 102 strains of bacteria were isolated. There exist *Hafnia*, *Photobacterium*, *Aeromonas*, *Bacillus*, *Xenorhabdus*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Vibrio*, *Staphylococcus*, and *Streptococcus* among which, *Hafnia*, *Photobacterium*, *Aeromonas* and *Bacillus* were predominant genus.

Key words *Boleophthalmus pectinirostris*; Intestinal microflora; Number; Sort

鱼类肠道是多种微生物的良好生存环境, 其中定居着大量的有益微生物, 对宿主具有屏障、营养、免疫等功能, 对维持宿主组织器官的正常结构和功能起着重要的作用^[1-2]。大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*) 俗称花跳、星跳、花弹涂鱼等, 隶属于鲈鱼目, 弹涂鱼科, 大弹涂鱼属, 系沿岸暖水广温广盐性两栖鱼类^[3]。大弹涂鱼主食底栖硅藻, 具有适应性强、食物链短、病害少、易于养殖和养殖成本低等特点^[4], 其个体虽小, 但营养丰富, 味道鲜美^[5]。目前, 有关大弹涂鱼的研究报道主要集中在形态特征、养殖技术等方面^[6-8], 尚未见到大弹涂鱼肠道菌群分析方面的报道。笔者对大弹涂鱼肠道菌群组成进行了研究, 旨在为大弹涂鱼疾病防治、育种以及微生态制剂的开发提供基本资料。

1 材料与方 法

1.1 材料 大弹涂鱼, 来自连云港沿海地区。

1.2 培养基 PGY 培养基: 蛋白胨5g, 葡萄糖2g, 酵母膏1g, 琼脂20g, 陈海水500ml, 蒸馏水500ml, pH值7.7。牛肉膏蛋白胨培养基: 牛肉膏3g, 蛋白胨10g, NaCl 5g, 琼脂20g, 蒸馏水1000ml, pH值7.2。

1.3 方 法

1.3.1 取样。 大弹涂鱼表面用70%酒精消毒, 在超净台内, 按照无菌操作程序, 解剖取出肠道。研碎, 加一定量的无菌海水充分混匀制成 10^{-1} 浓度样品稀释液, 然后进行梯度稀释, 分别得到 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 、 10^{-5} 、 10^{-6} 、 10^{-7} 、 10^{-8} 等稀释液。取上述稀释液各0.2ml, 分别涂布于PGY培养基平板上, 28℃培养48h。挑取单菌落, 分离纯化。

1.3.2 细菌鉴定。 参考赵庆新^[9]的方法。具体步骤如下:

(1) 首先进行革兰氏染色, 将细菌分为革兰氏阳性菌和革兰氏阴性菌。

(2) 如为革兰氏阴性菌, 同时进行接触酶试验和氧化酶试验。接触酶阴性且氧化酶阳性为弧菌科(*Vibrionaceae*); 接

触酶阳性且氧化酶阳性为奈瑟氏球菌属(*Neisseria*)或假单胞杆菌属(*Pseudomonas*); 接触酶阳性, 氧化酶阴性为肠杆菌科(*Enterobacteriaceae*)。根据各属的特征进一步确定所鉴定菌株的属。

(3) 如为革兰氏阳性菌, 首先作芽孢染色试验, 阳性者为芽孢杆菌科(*Bacillaceae*), 阴性者为微球菌科(*Micrococcaeae*)或链球菌科(*Streptococcus*)或乳杆菌科(*Lactobacillaceae*); 再作接触酶试验, 阳性者为微球菌科, 阴性者为链球菌科和乳杆菌科, 链球菌科和乳杆菌科通过镜检可分开。根据各属的特征进一步确定所鉴定菌株的属。

2 结果与分析

从大弹涂鱼肠道中共分离了102株细菌, 绝大多数为革兰氏阴性菌, 占总菌株的74%。结果见表1。

表1 大弹涂鱼肠道的菌群组成

属名	株数 个	百分比 %
哈夫尼亚菌属(<i>Hafnia</i>)	27	26.5
致病杆菌属(<i>Xenorhabdus</i>)	4	3.9
柠檬酸菌属(<i>Citrobacter</i>)	4	3.9
假单胞杆菌属(<i>Pseudomonas</i>)	2	2.0
拉恩氏菌属(<i>Rahnella</i>)	1	1.0
发光杆菌属(<i>Photobacterium</i>)	19	18.6
气单胞菌属(<i>Aeromonas</i>)	12	11.8
弧菌属(<i>Vibrio</i>)	6	5.9
芽孢杆菌属(<i>Bacillus</i>)	14	13.7
葡萄球菌属(<i>Staphylococcus</i>)	5	4.9
链球菌属(<i>Streptococcus</i>)	8	7.8

通过对大弹涂鱼肠道的菌群组成分析, 结果显示哈夫尼亚菌属、发光杆菌属、芽孢杆菌属和气单胞菌属为优势菌群, 它们分别占肠道总菌株的26.5%、18.6%、13.7%和11.8%。

3 小结与讨论

大弹涂鱼肠道内以哈夫尼亚菌属、发光杆菌属、芽孢杆菌属和气单胞菌属为优势菌群, 表明这些优势菌群可能是参与消化生理活动的主要菌群。相对而言, 致病杆菌

(上接第3545页)

酸菌属、假单胞杆菌属、拉恩氏菌属、弧菌属、葡萄球菌属和链球菌属为劣势菌群。

正常的鱼类肠道内有微生物层存在,其总称为正常肠道菌群,它们对鱼类具有营养、免疫和拮抗等作用。杨吉霞等从尼罗罗非鱼肠道中分离出41株好氧菌,它们能够分泌蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶或纤维素酶等,在尼罗罗非鱼消化食饵过程中起重要的作用^[10]。郑永标以罗非鱼为材料,进行肠道细菌的分离纯化培养,筛选出对鱼类病原菌(气假单胞菌)有拮抗作用的优势菌株,用作罗非鱼饵料添加剂,使罗非鱼鱼苗成活率从26%提高到44%^[11]。

鱼类肠道菌群的数量与组成因栖息水域、是否摄饵和摄饵时间、饵料状况、药物、发育阶段和生理状态等有关^[2,12-13]。这些影响大弹涂鱼肠道菌群的因素值得进一步深入研究。对大弹涂鱼肠道菌群组成进行研究,调控其肠道微生物区系,对提高大弹涂鱼生长性能、饲料利用率以及鱼苗的成活率,或人为地添加某些定植力强的有益菌群,减少病原菌在肠道内的定植具有重要意义。

参考文献

- [1] 崔青曼,袁春营.鱼类消化道微生物区系调控技术的研究进展[J].水产科技情报,2003,30(6):257-260.
- [2] 陈孝煊,吴志新,周文豪.鱼类消化道菌群的作用与影响因素研究进展[J].养殖与饲料,2006(3):37-40.
- [3] 金春华,钟爱华,张海琪,等.大弹涂鱼不同组织器官的同工酶研究[J].海洋科学,2004,28(3):35-40.
- [4] 洪万树,张其永.大弹涂鱼规模化养殖技术[J].水产养殖,1999(5):8-9.
- [5] 彭国洪.关于弹涂鱼的养殖技术——大弹涂鱼简介[J].中国水产,2001(4):49.
- [6] 蒋静.大弹涂鱼淡水养殖技术[J].中国水产,2006(3):48-50.
- [7] 贾友宏.大弹涂鱼池塘养殖试验[J].科学养鱼,2006(5):36-37.
- [8] 叶启旺,洪万树,张其永,等.大弹涂鱼土池育苗技术研究[J].海洋科学,2006,30(4):1-5.
- [9] 赵庆新.鲤科(Cyprinidae)鱼肠道菌群分析[J].微生物学杂志,2001,21(2):18-20.
- [10] 杨吉霞,张昕,蔡俊鹏,等.尼罗罗非鱼肠道中产酶菌株的研究[J].水利渔业,2005,25(3):10-18.
- [11] 郑永标.罗非鱼肠道有益菌的分离及其作饵料添加剂的效果观察初报[J].福建农业科技,1997(6):16.
- [12] 周文豪,陈孝煊,张冬晓,等.摄食不同饵料对草鱼肠道菌群影响的研究[J].华中农业大学学报,1998,17(3):252-256.
- [13] HANSEN G H, STROME, OLAFSEN H A. Effect of different holding regimens on the intestinal microflora of herring (*Clupea harengus*) larvae [J]. American Society for Microbiology, 1992, 58(2):461-470.