

李 旭,李 雪,胡秀彩,等. 鲫鱼肠道中枯草芽孢杆菌的分离鉴定及药敏试验[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):244-246.

鲫鱼肠道中枯草芽孢杆菌的分离鉴定及药敏试验

李 旭,李 雪,胡秀彩,蔡婷婷,许 健,余 红,朱爱华,吕爱军

(江苏师范大学生命科学学院,江苏徐州 221116)

摘要:从鲫鱼肠道中分离纯化获得 1 株革兰氏阳性菌,编号为 CB-1,通过细菌形态学观察、理化特性等研究,初步鉴定为枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*),该菌株能利用葡萄糖产酸, β -半乳糖苷、明胶液化试验为阳性,葡萄糖酸盐、硫化氢、吲哚试验等为阴性;药敏试验结果表明,CB-1 菌株对头孢噻吩、卡那霉素、阿奇霉素等抗生素敏感,对洁霉素、甲硝唑、制霉菌素等不敏感。为进一步研究枯草芽孢杆菌与鱼类健康养殖关系提供参考。

关键词:鲫鱼;肠道细菌;枯草芽孢杆菌;分离鉴定;药敏试验

中图分类号: S917.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0244-02

枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*)是一种短杆状、无荚膜能运动的革兰氏阳性细菌,能产中生芽孢,广泛分布于土壤、湖泊、海洋、动植物体表及其栖息地^[1]。2003 年,我国农业部公布了能够用于生产微生态制剂菌种包括:枯草芽孢杆菌(*B. subtilis*)、地衣芽孢杆菌(*B. licheniformis*)、蜡样芽孢杆菌(*B. cereus*)等^[2]。最近,白延琴等从秸秆堆底层土壤中分离得到 1 株枯草芽孢杆菌^[1]。周金敏等从黄颡鱼肠道中筛选出 1 株益生性芽孢杆菌^[3],结果表明,枯草芽孢杆菌的抗逆性及在消化道中稳定性强于其他益生菌。马如龙等研究斜带石斑鱼幼鱼肠道的优势菌为芽孢杆菌,对石斑鱼生长和健康具有促进作用^[4]。本研究以鲫鱼肠道细菌为主要研究对象,从中分离纯化获得 1 株芽孢杆菌,并进行了染色特性、菌体形态、生理生化特性及药敏反应等研究,以期对鲫鱼肠道细菌的鉴定、微生态制剂开发等提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

鲫鱼购自江苏省徐州市某市场,体重约 100 g。普通琼脂培养基、细菌生化微量鉴定管及药敏纸片购自杭州微生物试

剂有限公司。

1.2 方法

1.2.1 肠道细菌的分离与鉴定 参考吕爱军等方法^[5]进行,将新鲜鲫鱼肠道中的菌液,均匀涂布在普通琼脂平板,30 ℃ 恒温培养 24 h 后,挑取典型单菌落,采用平板划线法,纯化传代 2~3 次,转种于 4 ℃ 冰箱保藏、备用。细菌生理生化特性试验等按常规方法进行,分别挑取单菌落涂片进行革兰氏染色及孔雀绿芽孢染色,镜检观察分离菌株的染色及形态特征。

1.2.2 药敏试验 采用纸片扩散法,用无菌操作将纸片置于接种分离菌株的普通琼脂平板,置于 30 ℃ 温箱中培养 24 h 后,量取抑菌圈的直径,根据药敏试验判断标准书,确定该菌对不同药物的敏感程度。

2 结果与分析

2.1 菌落及形态特征

从鲫鱼肠道中分离纯化获得 1 株细菌,暂时编号为 CB-1,接种于普通琼脂平板 30 ℃ 恒温培养 24 h 后,形成表面干燥、褶皱、扁平、不透明、乳白色、边缘不整齐、直径 2~5 mm 的中大菌落;CB-1 菌株为革兰氏阳性大杆菌,产芽孢,芽孢呈椭圆、中生状(图 1)。

2.2 生理生化特性

细菌生理生化试验结果,分离菌 CB-1 菌株葡萄糖酸盐利用试验、硫化氢产生试验、吲哚产生试验及 MR 试验为阴性,可利用葡萄糖产酸不产气,不能还原硝酸盐、水解淀粉、分解尿素,不能产生脱羧酶利用赖氨酸、鸟氨酸脱羧生成胺和二

收稿日期:2013-10-02

基金项目:国家自然科学基金(编号:31272692,30800847),江苏省高校重点专业类建设项目(编号:2012-2015)。

作者简介:李 旭(1992—),男,江苏徐州人,主要从事水产动物微生物学研究。

通信作者:吕爱军,副教授,主要从事微生物及免疫学研究,E-mail: lajand@126.com。

[12]王志铮,吕敢堂,许 俊,等. Cr^{6+} 、 Zn^{2+} 、 Hg^{2+} 对凡纳滨对虾幼虾急性毒性和联合毒性研究[J]. 海洋水产研究,2005,26(2):6-12.

[13]张冰艳,蔺玉华,关海虹,等. 铜、锌双因子对幼鲤及草鱼胚胎的毒性影响[J]. 水产学杂志,1996,9(1):58-61.

[14]柳学周,徐永江,兰功刚. 几种重金属离子对半滑舌鳎胚胎发育和仔稚鱼的毒性效应[J]. 海洋水产研究,2006,27(2):33-42.

[15]柳敏海,陈 波,罗海忠,等. 五种重金属对早繁鲢鱼胚胎和仔鱼的毒性效应[J]. 海洋渔业,2007,29(1):57-62.

[16]Rainbow P S,唐森铭. 海洋生物对重金属的积累及意义[J]. 海

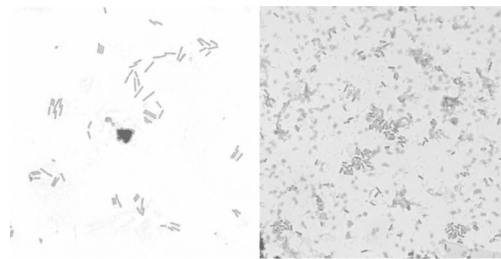
洋环境科学,1992,11(1):44-52.

[17]王银秋,张迎梅,赵东芹. 重金属镉、铅、锌对鲫鱼和泥鳅的毒性[J]. 甘肃科学学报,2003,15(1):35-38.

[18]王 莹,郝家胜,陈 娜,等. 铅、镉和锌 3 种重金属离子对水螅的联合毒性研究[J]. 生命科学研究,2006,10(1):91-94.

[19]陈建青,黄幸纾,吴景初. 锌对镉毒性的拮抗作用[J]. 国外医学:卫生学分册,1990,17(5):279-282.

[20]周启星,高拯民. 作物籽实 Cd 与 Zn 的交互作用及其机理的研究[J]. 农业环境保护,1994,13(4):148-151,193.



A. 革兰氏染色 B. 芽孢染色

图1 分离菌CB-1菌体染色形态

氧化碳; β -半乳糖苷、明胶液化试验为阳性。对 CB-1 菌株进行形态学观察、生理生化特性分析,发现与《常见细菌系统鉴定手册》^[6]描述基本一致,初步鉴定为枯草芽孢杆菌。

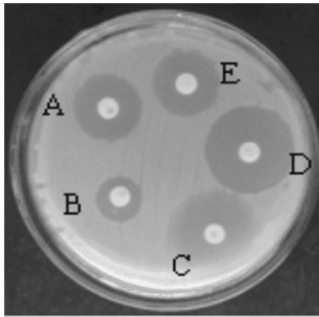
2.3 药敏试验

采用 26 种抗生素对 CB-1 菌株进行药敏试验,测量抑菌圈直径,计算平均值。结果表明,CB-1 菌株对头孢菌素类(头孢噻吩、头孢哌酮、先锋霉素 IV)、氨基糖甙类(丁胺卡那霉素、庆大霉素、卡那霉素、氯霉素、乙基西梭霉素)、大环内酯类(阿奇霉素、红霉素)等抗生素敏感;对洁霉素、甲硝唑、制霉菌素等不敏感(表 1)。

表 1 CB-1 菌株的药敏试验结果

药物	抑菌圈直径 (mm)	敏感性	药物	抑菌圈直径 (mm)	敏感性
阿奇霉素	30	S	四环素	25	S
萘啶酸	18	I	头孢噻吩	10	R
洁霉素	0	I	头孢哌酮	28	S
诺氟沙星	23	S	先锋霉素 IV	28	S
万古霉素	19	S	新霉素	15	I
阿莫西林	29	S	氨苄西林	33	S
氯霉素	18	S	庆大霉素	16	S
利福平	20	S	制霉菌素	0	I
克拉霉素	29	S	哌拉西林	29	S
呋喃妥因	19	S	头孢克肟	9	R
头孢噻吩	34	S	乙基西梭霉素	21	S
甲硝唑	0	I	丁胺卡那霉素	20	S
红霉素	30	S	卡那霉素	19	S

注:R 表示耐药;I 表示中间;S 表示敏感。



A—乙基西梭霉素; B—新霉素; C—克拉霉素;
D—先锋霉素 IV; E—丁胺卡那霉素

图2 CB-1菌株的部分药敏试验结果

3 讨论

国内对鲫鱼肠道中枯草芽孢杆菌的分离鉴定,尚未见相关文献报道。近年来,枯草芽孢杆菌在水产养殖上作为饲料添加剂已被广泛应用。Munro 等发现鱼类肠道菌群主要来源于所摄取的活饲料而不是养殖水体^[7]。邱燕等通过添加适量枯草芽孢杆菌,发现可改善草鱼肠道黏膜形态,促进草鱼对营养物质的吸收利用^[8]。江永明等在饲料中添加枯草芽孢杆菌,能显著促进奥尼罗非鱼的生长^[9]。赵士豪等利用大肠杆菌为抑菌对象分离到 4 株芽孢杆菌,研究高效复合益生菌来替代抗生素,减少抗生素对鱼类养殖的不利影响^[10]。唐家毅等从水产养殖环境中筛选出 1 株芽孢杆菌能够有效降解水体中的氨氮、亚硝酸盐氮^[11]。丁祥力等分离 1 株枯草芽孢杆菌,可有效改善淡水养殖水体的水质^[12]。贺刚等从草鱼肠道分离出 1 株枯草芽孢杆菌并进行药敏试验,结果表明,该菌株对诺氟沙星、头孢哌酮、庆大霉素等抗生素高度敏感^[13]。本研究从鲫鱼肠道中分离纯化出 1 株枯草芽孢杆菌,药敏试验结果表明,CB-1 菌株对诺氟沙星、头孢哌酮、庆大霉素等敏感,本研究结果与已有报道结果基本一致^[13]。关于鲫鱼肠道中枯草芽孢杆菌的 16S rDNA 基因分子鉴定及微生物制剂研制,还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] 白延琴,辛小玲,来有志,等. 枯草芽孢杆菌的分离筛选[J]. 畜牧兽医学报,2013,32(2):24-31.

[2] 徐海燕,曹 斌,辛国芹,等. 一株芽孢杆菌的分离鉴定及其益生潜质分析[J]. 家畜生态学报,2012,33(3):48-53.

[3] 周金敏,吴志新,曾令兵,等. 黄颡鱼肠道病原拮抗性芽孢杆菌的筛选与特性研究[J]. 水生生物学报,2012,36(1):78-84.

[4] 马如龙,杨红玲,孙云章,等. 2 株渔源芽孢杆菌的生物学特性研究[J]. 水产科学,2010,29(9):505-509.

[5] 吕爱军,杨正行,刘 欢,等. 斑马鱼肠道细菌的分离与生理生化特性[J]. 中国农学通报,2010,26(24):412-415.

[6] 东秀珠,蔡妙英. 常见细菌系统鉴定手册[M]. 北京:科学出版社,2001.

[7] Munro P D, Barbour A, Birkbeck T H. Comparison of the gut bacterial flora of start feeding larval turbot reared under different conditions[J]. Journal of Applied Bacteriology, 1994, 77(5):560-566.

[8] 邱 燕,蔡春芳,戴小芳,等. 枯草芽孢杆菌对草鱼生长性能与肠道黏膜形态的影响[J]. 中国饲料,2010(19):34-36.

[9] 江永明,付天玺,张 丽,等. 微生物制剂对奥尼罗非鱼生长及消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报,2011,35(6):998-1004.

[10] 赵士豪,杨会琴,赵春海. 益生菌芽孢杆菌的分离与初步鉴定[J]. 中国农学通报,2012,28(18):271-275.

[11] 唐家毅,刘 婕,于铁妹,等. 一株水产芽孢杆菌的鉴定及其培养基优化的研究[J]. 淡水渔业,2008,38(6):26-30.

[12] 丁祥力,王 震,陈 薇,等. 枯草芽孢杆菌 WH-5 的分离鉴定及净水研究[J]. 湖南农业科学,2012(1):15-19.

[13] 贺 刚,何 力,王朝元,等. 草鱼肠道枯草芽孢杆菌的耐药性分析[J]. 现代农业科技,2008(22):219-222.

刘光明,邢克智,田云臣,等.云存储在水产健康养殖中的应用[J].江苏农业科学,2014,42(7):246-248.

云存储在水产健康养殖中的应用

刘光明,邢克智,田云臣,华旭峰

(天津农学院,天津 300384)

摘要:针对目前水产大规模、高密度的集约化养殖使得管理、控制的难度增大,数据存储面临的资源利用率低、维护成本高等问题,运用 HDFS(Hadoop Distributed File System) API 的方式设计了云存储服务平台,实现了水产养殖用户访问模块、水产养殖用户管理模块、目录管理模块、资源管理模块和集群管理模块及数据存储,以及对集群的状态监控和管理等功能。该系统可以提高服务器、存储和网络等资源利用率,实现水产养殖环境的有效检测、信息化生产管理、精细饲喂、病害防控、安全可追溯,增加经济效益,对保护农业环境和绿色无公害食品生产具有重要意义。

关键词:水产养殖;云存储;海量数据;HDFS;健康养殖

中图分类号: S126 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0246-02

伴随着人们的消费模式已转变为质量型,在不破坏环境前提下,规范化、标准化、集约化的信息管理、健康养殖智能化方式是未来水产养殖业发展的方向^[1]。如今水产制品在生产 and 流通过程中,质量的检验监督还刚刚起步,水产制品质量安全问题存有一定的隐患。水产制品健康养殖的信息化建设水平不高,数据分布不均匀,更新速度慢,并且在健康养殖过程中还有很多数据、图表存储和查询汇总等工作^[2]。随着水产健康养殖管理工作的不断开展,对健康养殖手段提出了更高、更新的要求,怎样运用信息化技术提高水产健康养殖管理水平成了急需解决的问题^[3]。开发的适合水产健康养殖的云存储系统,可以很好地解决这些问题,实现以下功能:(1)适应水产健康养殖数据存储不断的发展,支撑存储节点的不断增加,使数据可以在每个存储单元均匀分布,均衡存储空间与带宽的负载;(2)建立海量数据存储系统,可迅速查询到所需数据,减少平均响应时间和吞吐量;(3)可提高硬件的利用率,减少管理成本。结合云存储技术与数字化信息平台的特点,应用云存储技术解决水产健康养殖管理相关的问题,改善目前信息平台服务器存储单一管理的现状,笔者介绍了云存储技术在水产健康养殖中的作用,建立了水产健康养殖云存储服务的功能模块。

1 云存储系统对水产健康养殖的作用

1.1 水产养殖品种的选育管理

利用云存储技术,同步各养殖品种基础数据,用户可通过这些数据进行良种引入、选育和自育、繁殖、提纯复壮工作,实行自动数据对接,并对系统运行进行分析,进一步指导生产,

为水产健康养殖提供基础。现阶段,水产养殖抗疾病、品种品系的抗逆实施还刚刚开始,要进一步在这方面取得进展,就需要信息技术与传统育种技术相结合。

1.2 科学放养

用户将养殖品种搭配、放养密度、投入产出水平等数据上传云存储,然后系统根据不同品种、池塘的生产条件、资金、设备等得出相应的放养模式与密度。健康养殖应当是合理搭配品种结构,投入和产出水平最佳,水产养殖业、种植业、畜牧业与云存储技术相结合,利用废弃物循环,取得各种资源的最佳效果,可以极大地降低养殖过程中废弃物的排放,使生态环境得到保护和经济效益得到提升。

1.3 溯源管理

将养殖环境数据上传至云存储系统,用户可利用水产品条形码或二维码等相关数据,通过互联网查询此产品产自于哪个养殖场、何时出场、水产种群规模、养殖周期、水产品健康情况等,达到放心食用的目的^[4]。

1.4 饲料配方和投喂管理

投饲、投喂管理是开展健康、可持续发展水产养殖的关键。用户把饲料的存储量、种群需要的营养成分和成本价格等各方面信息传入云存储,经过系统计算得出合理的饲料配方,而后将配方传至云存储。通过输入饲料类型、投喂条件和所需的营养标准、营养成分及相关价格,便可从存储系统中查询出饲料配方。然后通过系统控制的饲料投喂技术,满足养殖生物生长的需要,减少对饲料的浪费和养殖环境的污染。

1.5 健康管理和病害控制

目前,水产养殖的病害控制和健康养殖直接影响我国水产养殖的发展^[5]。水产养殖中健康管理和病害控制主要包括:水产健康养殖管理系统、病害控制系统和无公害鱼药系统^[6]。将以上 3 个系统接入云存储后,把常见疾病进行整理和分类,按病理名、病理图、病源类、症状、防治方法及治疗药物实时同步进系统。通过利用海量数据推算,帮助用户判断水产动物的疾病症状,并进行及时、有效的治疗和预防。

2 技术实现

云存储系统使用 HDFS(Hadoop Distributed File System)

收稿日期:2013-10-14

基金项目:公益性行业(农业)科研专项(编号:201203017);国家星火计划(编号:2011GA610009)。

作者简介:刘光明(1980—),男,天津人,硕士,实验师,主要研究方向为网络信息技术。Tel:(022)23793887;E-mail:liugm2005@126.com。

通信作者:邢克智(1956—),男,天津人,教授,博士生导师,主要从事水产养殖的研究。E-mail:kzxing@yahoo.com.cn。