

丰产鲫细菌性败血症病原 CSS-4-2 的生长特性

黄文芳* 李小波**

(华南师范大学生命科学学院 广州 510631)

摘要: 对患败血症的丰产鲫 (*Carassius auratus* of penze (♀) × *Cyprinus acutidorsalis* (♂)) 脾脏中分离到的病原菌—豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas caviae*) CSS-4-2 菌株的生长特性进行了研究。CSS-4-2 在胰蛋白胨液体培养基中振荡培养时, 0~3h 为延迟期, 3~30h 为对数生长期, 30~36h 为稳定期, 36h 后为衰亡期; 其最适生长温度为 25℃~30℃, 最适 pH 值为 5~10, 最适培养液 NaCl 浓度为 0~1%。

关键词: 丰产鲫, 豚鼠气单胞菌, 生长特性

中图分类号: Q935 **文献标识码:** A **文章编号:** 0253-2654 (2004) 01-0014-03

THE GROWTH PROPERTY OF THE PATHOGENIC BACTERIUM CSS-4-2 OF THE BACTERIAL SEPTICEMIA OF CARASSIUS AURATUS OF PENZE (♀) × CYPRINUS ACUTIDORSALIS (♂)

HUANG Wen-Fang LI Xiao-Bo

(College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract: The growth property of pathogenic bacterium *Aeromonas caviae* strain CSS-4-2 which was isolated from the spleen of *Carassius auratus* of penze (♀) × *Cyprinus acutidorsalis* (♂) that diseased septicemia was studied. The growth curve of CSS-4-2: lag phase was in 0~3h, log phase was in 3~30h, stationary phase was in 33~36h, decline phase was after 36h when CSS-4-2 was cultured shaking in tryptone liquid medium. It's optimum growth temperature ranges from 25℃ to 30℃, optimum growth pH ranges from 5 to 10, and optimum salinity ranges from 0% to 1% NaCl concentration.

Key words: *Carassius auratus* of penze (♀) × *Cyprinus acutidorsalis* (♂), *Aeromonas caviae*, Growth property

豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas caviae*) CSS-4-2 菌株是作者从患败血症的丰产鲫脾脏中分离纯化到的病原细菌, 其分离纯化、分类鉴定、形态特征已作报道^[1]。本文只对其生长特性和外界条件对其生长的影响进行了研究, 为该病的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验菌株

豚鼠气单胞菌 (*Aeromonas caviae*) CSS-4-2 菌株本室保存。

1.2 病原菌 CSS-4-2 的生长和生理特性测定

1.2.1 CSS-4-2 液体菌种及液体培养基的制备^[2]: 把 CSS-4-2 接种到斜面培养基上 28℃ 培养 24h 后, 接种到盛有液体培养基的锥形瓶中, 在全温振荡培养箱中 180r/min, 28℃ 下振

* 联系人 Tel: (020) 85213469, E-mail: zhangshl@scau.edu.cn

** 现工作单位: 广东药学院

收稿日期: 2003-01-20, 修回日期: 2003-03-30

荡培养 24h 即制成液体菌种。按试验要求分别制成含胰蛋白胨的液体培养基(蛋白胨 5g, 胰蛋白胨 5g, 牛肉膏 5g, 酵母膏 3g, K_2HPO_4 2g, NaCl 5g, 水 1,000mL, pH7.2) 及不同的 pH 值(用精密 pH 试纸测定)、不同 NaCl (%) 浓度和不同漂白粉浓度的胰蛋白胨液体培养基, 分装于 100mL 锥形瓶中, 每瓶 30 mL, 高压蒸汽灭菌后备用。

1.2.2 CSS-4-2 生长曲线的测定: 将液体菌种 1mL 接种于含胰蛋白胨的液体培养基中, 置于 HZQ-F 全温振荡培养箱中, 在 180r/min, 28℃ 条件下振荡培养, 每隔 3h 从培养液中取样用 752 型紫外光栅分光光度计测其 OD_{560} 值。以培养时间为横坐标, OD_{560} 值为纵坐标绘制病原菌的生长曲线^[3]。实验设 3 个重复, OD_{560} 取平均值。

1.2.3 温度对 CSS-4-2 生长的影响: 取液体菌种 1 mL 接种于含胰蛋白胨的液体培养基中, 置于 HZQ-F 全温振荡培养箱中, 分别于 10℃、15℃、20℃、25℃、30℃、35℃、40℃ 条件下培养, 转速 180 r/min。33h 后取样用 752 型紫外光栅分光光度计测其 OD_{560} 值。以培养温度为横坐标, OD_{560} 值为纵坐标绘制曲线。实验设 3 个重复, OD_{560} 值取平均值。

1.2.4 CSS-4-2 生长的最适 pH 值实验: 将液体菌种 1 mL 分别接种于 pH 分别为 3、4、5、6、7、8、9、10、11 的胰蛋白胨液体培养基中, 28℃、180 r/min 条件下振荡培养, 33h 后取样用 752 型紫外光栅分光光度计测其 OD_{560} 值。以液体培养基初始 pH 值为横坐标, OD_{560} 值为纵坐标绘制曲线。实验设 3 个重复, OD_{560} 值取平均值。

1.2.5 CSS-4-2 的耐盐性实验: 将液体菌种 1 mL 分别接种于含 NaCl (%) 0、0.5、1、2、3、4、6、8、10 的胰蛋白胨液体培养基中, 28℃、180 r/min 条件下振荡培养, 33h 后取样用 752 型紫外光栅分光光度计测其 OD_{560} 值。以液体培养基 NaCl 含量 (%) 为横坐标, OD_{560} 值为纵坐标绘制曲线。实验设 3 个重复, OD_{560} 值取平均值。

1.2.6 病原菌 CSS-4-2 对漂白粉耐受性实验: 将液体菌种分别接种于含漂白粉(市售商品) (%) 0、0.25、0.5、1 的液体培养基中, 28℃、180 r/min 条件下振荡培养, 33h 后取样用 752 型紫外光栅分光光度计测其 OD_{560} 值。以液体培养基漂白粉含量 (%) 为横坐标, OD_{560} 值为纵坐标绘制曲线。实验设 3 个重复, OD_{560} 值取平均值。

2 结果

2.1 CSS-4-2 的生长曲线

CSS-4-2 在胰蛋白胨液体培养基中的生长曲线如图 1。从图 1 可知, 0~3h 为生长延迟期, 3~30h 为对数生长期, 30~36h 为稳定期, 36h 后为衰亡期。

2.2 温度对 CSS-4-2 生长的影响

10℃~15℃ 生长缓慢, 15℃~30℃ 生长速度急剧增加, 30℃ 达生长最高点, 高于 43℃ 不生长。最适生长温度范围为 25℃~30℃ (图 2)。

2.3 CSS-4-2 生长的最适 pH 值

pH 值低于 4 或高于 10 时不生长, 最适生长 pH 为 5.0~10.0, pH5.0 时生长最好(图 3)。

2.4 病原菌的耐盐性

在 0~1% NaCl 液体培养基中生长良好, 含盐量高于 1% 时生长速度急剧下降, 在 10% NaCl 液体培养基中基本不生长(图 4)。

2.5 病原菌对漂白粉的耐受性

在漂白粉浓度低于 0.5% 的液体培养基中生长, 高于 0.5% 则几乎不生长 (图 5)。

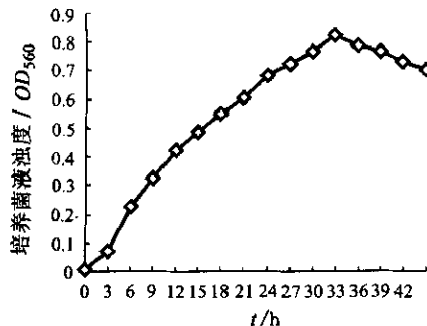


图 1 CSS-4-2 的生长曲线

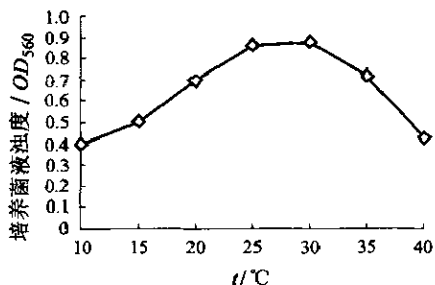


图 2 温度对 CSS-4-2 生长的影响

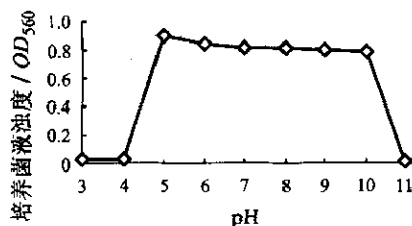


图 3 CSS-4-2 生长的最适 pH 值

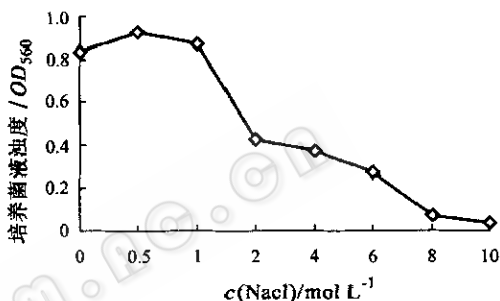


图 4 CSS-4-2 对 NaCl 浓度的耐受性

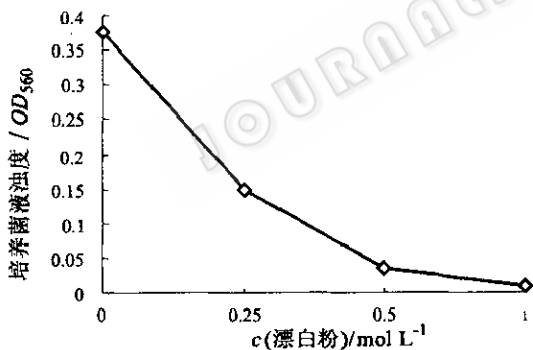


图 5 CSS-4-2 对漂白粉的耐受性

3 讨论

CSS-4-2 菌株的生理生长特性与安利国对从患竖鳞病的鲤分离到的豚鼠气单胞菌的研究结果^[4]较为接近, 但 CSS-4-2 对 pH 和 NaCl 浓度的选择范围更广。CSS-4-2 的最适生长温度范围为 25℃ ~ 30℃, 与该病暴发期的养殖水体温度一致, 其适应生长的 pH 值和 NaCl 浓度的范围较宽, 说明豚鼠气单胞菌能适应较广泛的生长环境。

CSS-4-2 在漂白粉 0.25% 时尚能生存生长, 说明其对漂白粉的耐受性比较强。因此, 用漂白粉消毒养殖水体是不理想的。一般认为豚鼠气单胞菌为条件致病菌, 当环境不好时会大量繁殖引起疾病, 因此改善养殖水体环境可以预防包括豚鼠气单胞菌在内的养殖鱼类细菌性疾病的发生。

参考文献

- [1] 李小波, 黄文芳. 微生物学通报, 2003, 30 (5): 56 ~ 60.
- [2] 沈 萍, 范秀容, 李广武主编. 微生物学实验 (第三版). 北京: 北京高等教育出版社, 1999
- [3] 钱存柔, 黄仪秀. 微生物学实验教程. 北京: 北京大学出版社, 1999. 16 ~ 170.
- [4] 安利国, 傅荣恕, 刑维贤, 等. 山东师大学报 (自然科学版), 1997. 12 (1): 65 ~ 69.