

一株 *Photobacterium Leiognathi* N1 发光细菌的分离及鉴定

谢海平^{1,2} 吴亚梅² 张亮² 王华接²

(1. 中山大学生命科学学院, 广东广州 510275;

2. 广东省海洋与渔业环境监测中心, 广东广州 510222)

摘要: 对从海鱼(鲮鱼)表面分离到的1株发光强度很高的细菌N1进行系统分类鉴定。采用常规方法进行分离培养,以形态学特征、培养特性、生理生化特征以及分子生物学等方法对其进行分类鉴定。结果可知,该菌株为兼性厌氧发酵型革兰氏阴性杆菌,其16S rDNA核苷酸序列测定与*Photobacterium Leiognathi*(鮫发光杆菌)的同源性达99.8%,系统进化树也显示,菌株N1与*Photobacterium leiognathi*构成一个分支;其形态特征与生理生化特性与*Photobacterium Leiognathi*(鮫发光杆菌)完全吻合。确定此发光细菌为*Photobacterium Leiognathi*(鮫发光杆菌),命名为*Photobacterium Leiognathi* N1。

关键词: *Photobacterium Leiognathi* N1, 发光细菌, 分类鉴定, 16S rDNA

Isolation and characterization of a luminous bacteria strain named *Photobacterium Leiognathi* N1

XIE Hai-ping^{1,2}, WU Ya-mei², ZHANG Liang², WANG Hua-jie²

(1. School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Guangdong Provincial Oceanic and Fishery Environment Monitoring Center, Guangzhou 510222, China)

Abstract: A luminous bacteria strain N1 was isolated from a sea fish (mullet), and it was classified systematically using routine methods, such as classified and characterized by its morphological, cultural, physiological and biochemical features, and molecular biological. The results indicated that this strain belonged to facultative anaerobe fermentation and Gram-negative rod-shape bacteria. 16S rDNA nucleotide sequence testing showed it was most similar to *Photobacterium Leiognathi* and the homology was up to 99.8%. Phylogenetic tree also showed that N1 and *Photobacterium leiognathi* strains were from a batch. The cultural and physiological of this strain was totally identical to the *Photobacterium Leiognathi* additionally. So the strain was preliminary identified as *Photobacterium Leiognathi* N1.

Key words: *Photobacterium Leiognathi* N1; luminous bacteria; classification and identification; 16S rDNA

中图分类号: TS201.2

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2011)08-0230-03

发光细菌是一类在适宜条件下以及正常的生理条件下能够发射可见光的异养细菌,这种可见荧光波长在450~490nm之间,在黑暗处肉眼可见^[1]。目前,全世界已发现和命名的发光细菌有11种,分别属于弧菌属(*Vibrio*)、发光杆菌属(*Photobacterium*)、希瓦氏菌属(*Shewanella*)和异短杆菌属(*Xenorhabdus*)^[2-3]。它们除了在水中自由浮游生存外,还能寄生于其他生物体的体表、消化道和发光器官上以及水中的沉降物中。通过文献^[4]检索可知,许多生物的发光与发光细菌有关,但不同种类发光细

菌的发光机理是相同的,是由特异性的荧光酶(LE)、还原性的黄素(FHNH₂)、八碳以上长碳脂肪醛(RCHO)以及氧分子(O₂)所参与的复杂反应。我们采集了多个冰鲜鱼(鲮鱼)样品,通过培养、分析、分离等方法得到一株发光强度很强的菌株N1,并对此进行了系统的分类研究。

1 材料与方法

1.1 实验材料

样品来源 从广州白云区萧岗农贸市场采集的多个冰鲜鱼(鲮鱼)样品;发光细菌培养基^[5] 胰蛋白胨0.5%、酵母膏0.5%、甘油0.3%、KH₂PO₄0.1%、Na₂HPO₄0.5%、NaCl 3%、琼脂2% pH 6.5;营养琼脂培养基、三糖铁琼脂培养基、柠檬酸盐培养基、明胶蛋白胨培养基、1%赖氨酸脱羧酶、1%精氨酸双水解

收稿日期: 2010-07-15

作者简介: 谢海平(1974-),男,工程师,主要从事水产品药物残留检测及质量安全管理方面的研究。

表4 $L_9(3^4)$ 正交实验设计及结果

实验号	A	B	C	D	总黄酮(mg/g)	SOD(u/g)	评价指数
1	1	1	3	1	2.58	54.93	57.51
2	1	2	2	2	2.53	53.98	56.51
3	1	3	1	3	2.52	53.71	56.23
4	2	1	1	3	2.50	54.36	56.86
5	2	2	3	1	2.48	51.68	54.16
6	2	3	2	2	2.46	51.77	54.23
7	3	1	2	2	2.51	52.63	55.14
8	3	2	1	3	2.45	51.84	54.29
9	3	3	3	1	2.42	51.69	54.11
k_1	56.75	56.50	55.79	55.26			
k_2	55.08	54.99	55.29	55.29			
k_3	54.51	54.86	55.26	55.79			
R	2.24	1.64	0.53	0.53			

较优。

3 结论

采用 GLPZ-5 型高速离心造粒喷雾干燥机进行喷雾干燥, 确定制备青稞麦绿素粉的最佳工艺条件为: 进风温度 230℃, 出风温度 100℃, 雾化器转速 13800r/min, 进料速度 70.6mL/min, 料液比 1:4。在此制备条件下测得总黄酮含量 2.58mg/g, SOD 含量 54.93u/g。

参考文献

[1] 杨素珍, 王伟. 麦绿素保健食品的研制[J]. 食品工业, 2002(7): 94-96.

[2] 邵承斌, 吴四维, 陈静华. 麦草粉的抗氧化作用研究[J]. 天然产物研究与开发 2001, 13(2): 27-29.

[3] 张秋英, 叶定生, 张绍南. 大麦草营养利用探讨[C]. 大麦文集 2002, 12(5): 52-55.

[4] 邹家柱. 离心喷雾干燥机的调试及现场问题的处理[J]. 机械研究与应用 2005, 18(6): 52-53.

[5] 肖香兰, 罗仁才, 张楠. 保健食品中总黄酮的测定方法[J]. 中国卫生检验杂志 2007, 17(6): 1037-1142.

[6] 王光亚. 保健食品功效成分测定方法[M]. 北京: 中国轻工业出版社 2002.

(上接第 231 页)

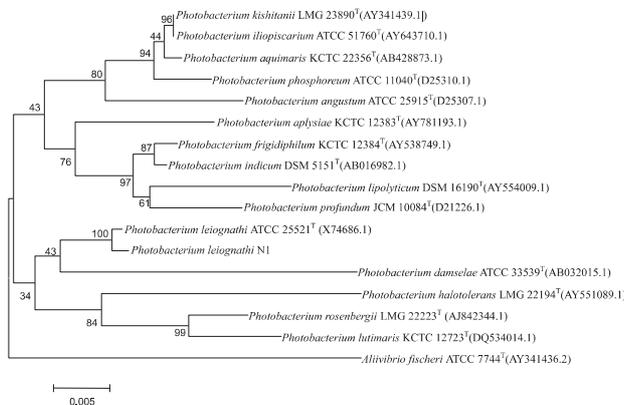


图2 根据菌株 N1 的 16S rDNA 序列构建的系统进化树

Photobacterium Leiognathi N1。这同时也说明了冰海鱼(鳕鱼)的发光现象是由于其体表和体内聚集大量的鳕发光杆菌繁殖所致。

根据文献^[10]检索而知, 发光细菌对人而言, 没有致病作用, 因此, 从市场上买回的海鱼夜晚发出蓝色的荧光, 不必引起广大市民的恐慌。另外, 发光细菌在环保上有很大大功效, 可以分解海洋中的有机污染物、净化海洋环境, 在环境监测中, 我们能结合现代的光电监测手段, 作为测定环境中毒物的指标。

本实验筛选出的 *Photobacterium Leiognathi* N1 为开发利用发光细菌提供了新的资源, 菌株 N1 作为发光细菌在这方面的应用未有相关报道, 还有待于进一步的研究。

参考文献

[1] 黄正. 发光细菌的生理特性及其在环境监测中的应用[J]. 环境科学, 1995, 16(3): 87-90.

[2] 许鸿章, 毕可纺, 姜旭光. 烟台海域一株发光细菌的分离鉴定[J]. 齐鲁渔业, 1990(3): 38-40.

[3] John G Holt, Noel R, Krieg H, et al. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Ninth Edition) [M]. Williams & Wilkins Baltimore, 1994: 371-377.

[4] 杜宗军, 王祥红, 李海峰, 等. 一株海洋发光细菌的分离鉴定及其发光条件的初步研究[J]. 海洋湖沼通报, 2003(2): 58-63.

[5] 侯静涛, 徐芙蓉, 王广启, 等. 对一株海洋发光细菌保存方法的探究[J]. 环境科学与管理 2008, 33(10): 167-169.

[6] 布坎南 R E, 吉本期 N E. 伯杰氏细菌鉴定手册[M]. 第八版. 北京科学出版社, 1984.

[7] 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.

[8] Syn C K C, Swarup S. A Scalable Protocol for the Isolation of Large-Sized Genomic DNA within an hour from several Bacterial [J]. Analytical Biochemistry 2000, 278: 886-901.

[9] 都立辉, 刘芳. 16S rDNA 基因在细菌菌种鉴定中的应用[J]. 乳业科学与技术 2006(5): 207-209.

[10] 明儒成, 商文东, 侯继斌, 等. 一株 ganhwense 发光杆菌的分类鉴定及相关特性的研究[J]. 微生物学杂志, 2008, 28(1): 54-58.