

南海中国沿海发光细菌的分离鉴定

沈建伟* 朱文杰 吴自荣
钱玲妹 梁培青 杨颐康

(华东师范大学, 上海)

提要 对从南海中国沿海分得的119株海洋发光细菌作了广泛的表型特性测定, 并采用 Sokal 和 Michener 的符合系数(Matching coefficient)及单连锁方法借助电子计算机对测定结果进行了数值分析。结果将119株南海分得的发光细菌及已知的典型菌株分成二大簇群, 分别包括了鳕鱼发光杆菌和哈氏弧菌的典型菌株。根据这个结果并参比《伯杰氏系统细菌学手册》, 将这两个簇群的菌株分别定名为鳕鱼发光杆菌 *Photobacterium leiognathi* (85株) 和哈氏弧菌 *Vibrio harveyi* (34株)。

由于发光细菌的发光特性及其广泛的应用价值, 发光细菌很早就引起了人们的注意, 已有大量的研究报道: 可用于环境污染监测; 测定与氧、黄素单核苷酸及长链脂肪醛有关的生物化学反应; 用于诱捕鱼群; 提供特殊情况下的完全照明; 筛选致癌物质等^[2,4,8,10]。因此研究发光细菌显得越来越重要。

发光细菌在海洋水域分布广泛, 如海水、海洋动物体表及肠道内、有些海洋动物具有的发光器官等^[9]。目前, 世界上已被定名的有9种^[3]。国内学者对黄海、东海中国沿海发光细菌已作了报道^[1,3,5,11], 共分得6种发光细菌, 包括明亮发光杆菌 *Photobacterium phosphoreum*、鳕鱼发光杆菌 *P. leiognathi*、哈氏弧菌 *Vibrio harveyi*、美丽弧菌生物型 I *V. splendidus biover I*、费氏弧菌 *V. fischeri* 和东方弧菌 *V. orientalis*。

本文报道的是从南海中国沿海的海水和海洋动物体表分得的119株发光细菌, 作了广泛的表型特性测定, 采用数值分类方法并参比《伯杰氏系统细菌学手册》的描述对这些细菌进行了鉴定。

一、材料与方 法

1. 菌种 均取自南海我国湛江沿海。1982年10月至11月分离。菌株来源列于表1。

2. 培养基^[6] 人工海水(ASW)配方为0.4 mol NaCl, 0.1 mol MgSO₄ · 7H₂O, 0.02 mol KCl, 0.02 mol CaCl₂ · 2H₂O。基本培养基(BM)配方为含有50 mmol Tris-HCl, pH7.5, 19 mmol K₂HPO₄ · 3H₂O, 0.1 mmol FeSO₄ · 7H₂O 和1/2浓度的ASW。酵母膏肉汤培养基的成分是在BM中加5%酵母膏。发光培养基是在BM中再加0.3%甘油, 0.5%酵母膏, 0.5%胰蛋白胨, 0.1% CaCO₃。以上培养基加2%琼脂即为固体培养基。

* 现在上海交通大学生物技术研究所有工作。

收稿日期: 1986年6月27日。

表 1 菌株编号和菌株来源

Tab. 1 The strain number and the source of isolation

鳗鱼发光杆菌 <i>Photobacterium leiognathi</i>			
菌株编号	分离来源	菌株编号	分离来源
901,931,936, 937,952	F, 乌鲷	910,920,940, 960	F, 鳗鱼
902,903,938, 939,944,945	F, 黑鲷	921,977—979, 984	F, 鳗鱼
904,914—917, 919,922,913, 926,927,932, 941,958,959, 961—965	F, 叫姑	909,924,954 925,982,985	F, 鱼 SW
905,934,942, 943	F, 白姑	928,929	F, 黑鲷
906—908,911—913, 969—974,983	F, 带鱼	930	F, 石鲈
928,947—951, 955—957,976	蟹	933,966	F, 海蜇
		935	F, 鳗鱼
		946	虾
		953,980,981	F, 鲱鱼
		967	F, 刺鲀
		968	F, 大黄鱼
		975	F, 鲢子鱼
哈氏弧菌 <i>Vibrio harveyi</i>			
988—990, 992—9113, 9115—9117,9119	SW	987	蟹
986	F, 叫姑	991	虾
		9114	F, 带鱼
		9118	F, 鳗鱼

注: F 表示体表; SW 表示海水。

3. 表型特性测定 细胞形状、大小和运动性, 鞭毛染色, 钠和生长因子的需要, 生长温度, 发光, 碳水化合物发酵和利用, V. P. 反应, 胞外酶的产生, 聚 β -羟基丁酸在细胞内的累积等项目的试验方法是采用 Stanier 等的方法。除鞭毛染色和生长温度的测定在 20℃ 外, 其余试验均在 22℃ 下进行, 具体操作方法见文献[6]。

4. 数值分析 计算机处理参考 Sneath 的方法^[10]。相似性估计采用 Sokal 和 Michener 符合系数 (Matching coefficient) (Ssm) 归群采用单连锁方法。程序用 FORTRAN 语言编制, 在计算机 MC 68000 上运行。

二、结果与讨论

所有菌株的表型特性与鳗鱼发光杆菌和哈氏弧菌的典型菌株的表型特性一起进行数值分析, 其结果列入图 1。菌株 901—985 和 986—9119 均在 86% 相似性水平分别归入鳗鱼发光杆菌 *Photobacterium leiognathi* 和哈氏弧菌 *Vibrio harveyi*。

表 2 是本文鉴定的这两种发光细菌的表型特性与《伯杰氏系统细菌学手册》所描述的特性^[9]相比较的概要说明。

本文鉴定的 901—985 菌株的主要表型特性基本上与伯杰手册描述的标准菌种相似, 加上数值分析的结果, 可以将这些菌株定名为鳗鱼发光杆菌 *Photobacterium leiognathi*。但

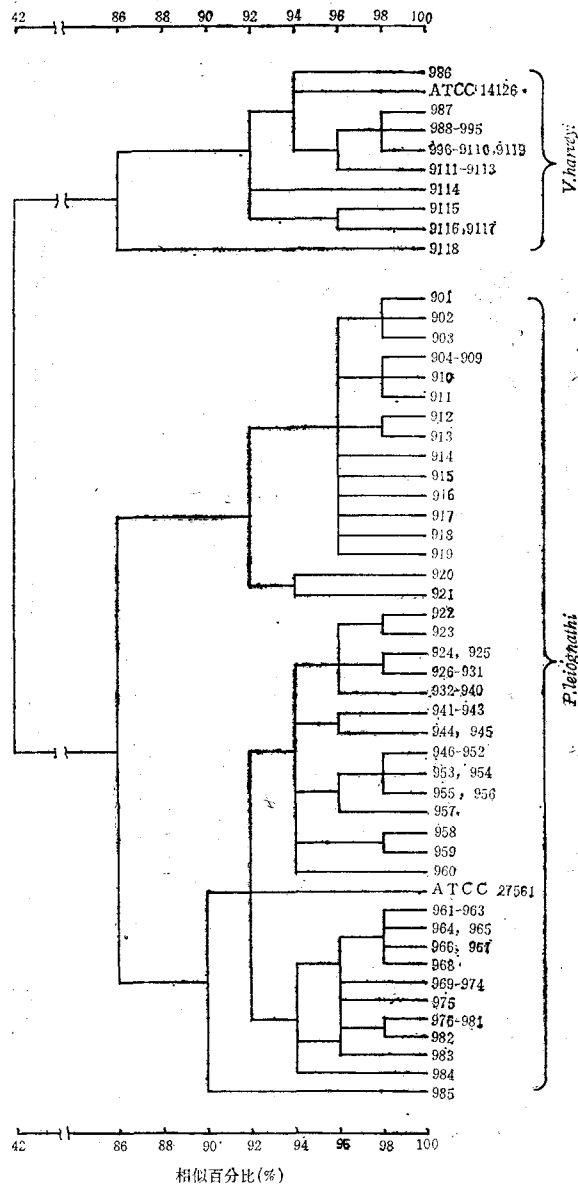


图 1 表型特性的数值分析

Fig. 1 Numerical analysis of phenotypic properties

● 示典型菌株

是,这些菌株中有 95% 能利用葡萄糖产气,而标准菌种只有 7%;有 51% 能够利用麦芽糖,而标准菌种则不能利用。并且,这些菌株对 D-葡萄糖酸、乙酸、DL-乳酸的利用率低,产生脂酶的菌株也较少。另外,都不能利用癸酸和 DL-苹果酸。能够利用葡萄糖产气的特点是同从黄海和东海中国沿海分得的鳊鱼发光杆菌相同的^[3,5,11]。

本文鉴定的 986—9119 菌株的表型特性与《伯杰氏系统细菌学手册》描述的哈氏弧菌是基本相同的,唯一的差别是所有菌株能够利用水杨苷和辛酸,而标准菌种的利用率分别

表 2 本文鉴定的与前人描述的发光细菌的表型特性比较

Tab. 2 The comparison of phenotypic properties between the luminous bacteria identified in this study and the luminous bacteria previously characterized

项 目	鳕鱼发光杆菌 <i>P. leiognathi</i>		哈氏弧菌 <i>V. harveyi</i>	
	本文鉴定	伯杰手册	本文鉴定	伯杰手册
菌株数目	86	79	34	85
侧生鞭毛	—	—	97	86
PHB 累积	+	+	—	—
VP 反应	14	11	—	—
葡萄糖产气	95	7	—	—
生长在				
4℃	—	—	—	—
30℃	+	+	+	+
35℃	+	93	+	+
40℃	—	—	+	44
淀粉酶	—	—	94	+
明胶酶	—	—	94	99
脂酶	30	80	97	+
麦芽糖	51	—	+	+
纤维二糖	—	—	+	+
D-葡萄糖酸	47	+	97	99
乙酸	41	83	91	93
丙酸	—	—	+	+
DL-乳酸	67	+	+	+
甘露醇	—	—	91	+
L- α -丙氨酸	70	63	79	74
酪氨酸	—	—	94	+
L-阿拉伯糖	—	—	—	5
水杨苷	—	—	+	55
己酸	—	—	24	47
癸酸	—	40	+	80
DL-苹果酸	—	63	90	80
D-甘露糖	+	+	+	+
D-半乳糖	+	+	+	84
D-果糖	+	+	+	+
甘油	+	+	+	92
辛酸	—	—	+	67

为 55% 和 67%。加上数值分析结果, 可以将这些菌株定名为哈氏弧菌 *Vibrio harveyi*。

通过本文的研究, 表明发光细菌在中国沿海是普遍存在的, 北起黄海, 南至南海都有分布。而鳕鱼发光杆菌和哈氏弧菌则为广布种。这次在南海没有分得其它菌种可能与分离季节和地理位置有关。

参 考 文 献

- [1] 王定华, 杨颐康, 1985。一株海洋发光细菌的鉴定。华东师范大学学报 2:108—112。
- [2] 朱文杰, 杨颐康, 1984。利用发光细菌测定抗菌素的效价。海洋湖沼通报 3:34—39。

- [3] 沈建伟、杨颐康, 1987. 中国黄海发光细菌的分离鉴定. 海洋与湖沼 18(4): 333—340.
- [4] 杨颐康、唐法尧、吴自荣, 1981. 重金属离子对明壳发光杆菌 (*P. phosphoreum* A₂) 发光影响的研究. 华东师范大学学报 4:99—104.
- [5] 曹蕴慧、胡锡钢、王苏联, 1982. 长江口发光细菌的分布和组成. 海洋学报 4(1):89—94.
- [6] Baumann, L., P. Baumann, 1981. The Marine gram-negative eubacteria. In: The prokaryotes ed. by Starr, M. P., H. G. Triiper, A. Balews and H. G. schlegel, Springer-Verlag, New York, Heidelberg, Berlin, pp. 1302—1331.
- [7] Hendrai, M. S., W. Hodgkiss and J. M. Shewan, 1970. The identification, taxonomy and classification of luminous bacteria. *Journal of General Microbiology*. 64: 1165—1169.
- [8] Kavangh, F., 1963. Antiluminescent Assay analytic Microbiology. Academic Press, New York and London, pp. 138—141.
- [9] Jrieg, N. R. and J. G. Holt, 1984. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Williams and Wilkins Co., Baltimore, pp. 516—550.
- [10] Sneath, P. H. A., 1972. Computer taxonomy. In: Methods in Microbiolo Ed. by Norris, J. R. and D. W. Ribbons. Academic Press, New York, 7A: 29—98.
- [11] Yang, Y. K., L. Yeh, Y. Cao, L. Baumann, P. Baumann, J. S. Tang and B. Beaman, 1983. Characterization of marine luminous bacteria isolated off coast of China and description of *Vibrio orientalis* sp. nov. *Current Microbiology* 8: 95—100.

THE ISOLATION AND IDENTIFICATION OF MARINE LUMINOUS BACTERIA FROM THE WATERS OF THE SOUTH CHINA SEA*

Shen Jianwei*, Zhu Wenjie, Wu Zirong, Qian Lingmei,

Liang Peiqing and Yang Yikang

(East China Normal University, Shanghai)

ABSTRACT

One hundred and nineteen strains of marine luminous bacteria from the waters of the South China Sea were submitted to an extensive characterization. A numerical analysis of the results by computer grouped these strains and other typical strains into two clusters which were formed with the overall phenotypic similarity and single linkage. These two clusters include the typical strains of *Photobacterium leiognathi* and *Vibrio harveyi*. According to this analysis and the description of these two species in "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology", the strains of these two clusters are readily identified as *Photobacterium leiognathi* and *Vibrio harveyi* respectively.

* Now in "Institute of Biotechnicology, Shanghai Jiao Tong University, China".