两种有鳞类爬行动物消化道微生物的研究

施曼玲① 邱清波② 计 翔①

(①杭州师范学院生物学系 杭州 310012; ②琼州大学生物学系 海南通什 572200)

摘要 从北草蜥的胃、小肠和大肠中分离出 7 个属 8 种细菌和 2 个属的霉菌 从中国石龙子的胃、小肠和大肠中分离到 6 个属 7 种细菌和 3 个属的霉菌 酵母菌和放线菌都未发现。北草蜥胃、小肠和大肠中的细菌数量分别为 2.27×10^6 2.06×10^6 和 9.78×10^8 个/g 霉菌数量为 2.5×10^4 2.15×10^4 1.33×10^4 个/g。细菌在中国石龙子胃、小肠和大肠中的数量分布依次为 3.51×10^6 2.25×10^6 1.42×10^9 个/g;霉菌分布数量为 2.19×10^4 1.67×10^4 和 1.61×10^4 个/g。

关键词 北草蜥 :中国石龙子 :微生物类群和数量

中图分类号:Q935 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2000)06-12-04

Study on the Microorganisms in the Digestive Tracts of two Squamate Reptiles

SHI Man-Ling^① QIU Qing-Bo^② JI Xiang^①

(Department of Biology , Hangzhou Teachers College Hangzhou 310012 ,China ;

Department of Biology , Qiongzhou University Hainan Tongshi 572200 ,China)

Abstract Eight species of bacteria and two genus of mold were isolated from the stomach , small intestine and large intestine of Takydromus septentrionalis , and seven species of bacteria and three genus of mold were isolated from Eumeces chinensis , but no yeasts and actinomycetes were found. The bacteria numbers in digestive tracts from Takydromus septentrionalis were 2.27×10^6 2.06×10^6 and 9.78×10^8 , respectively ; The mold number were 2.5×10^4 2.15×10^4 and 1.33×10^4 . The bacteria number in digestive tracts from Eumeces chinensis were 3.51×10^6 , 2.25×10^6 and 1.42×10^9 , respectively ; The mold number were 2.19×10^4 , 1.67×10^4 and 1.61×10^4 .

Key words: Takydromus septentrionalis; Eumeces chinensis; Microorganism group and number

作为成功的陆生脊椎动物,有鳞类爬行动物的研究价值日益被重视。国内外的研究面较广,但尚未涉及消化道微生物的研究。本文重点研究两个种:北草蜥(Takydromus septentrionalis)和中国石龙子(Eumeces chinensis)的胃、小肠和大肠内微生物的类群及数量分布,并比较两者的异同。本项研究结果将为阐明爬行动物消化道微生物生理作用提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 样品采集与微生物的分离纯化 10 条北草蜥和 10 条中国石龙子皆来自浙江丽水。

第一作者介绍 施曼玲 ,女 ,30 岁 ,讲师 ,硕士 ;研究方向 .微生物学 ;

收稿日期:1999-06-03,修回日期:2000-07-05

- 1.1.1 培养基 细菌采用牛肉膏蛋白胨培养基、血琼脂培养基、中国蓝培养基 真菌(霉菌和酵母菌)用马丁氏琼脂培养基,放线菌用改良Sauton's 培养基、高氏一号培养基、硫乙醇酸钠肉汤培养基、M3、培养基和 TPY 培养基 1~3]。
- 1.1.2 分离纯化 北草蜥和中国石龙子在无菌操作下进行解剖,分别取出胃液、小肠液和大肠中的粪便,用稀释涂布平板法进行分离纯化⁴]。需氧菌在普通温箱中 37℃ 培养 24 小时,厌氧菌采用厌氧罐抽气换气法 37℃恒温培养 48 小时。
- 1.2 微生物计数与鉴定 用平板菌落计数法进行计数。从平板上挑取表征各异细菌单菌落 转接斜面 $2\sim3$ 次,再接种到血琼脂平板和中国蓝平板上,每个样品重复两次。然后进行

革兰氏染色、形态观察、生理生化反应检测等。 按文献进行鉴定^[5~8],对霉菌、放线菌、酵母菌 进行形态观察,并按文献进行鉴定^[6~8]。

2 结果与讨论

2.1 微生物的数量分布 实验结果表明,各类 微生物在北草蜥和中国石龙子消化器官中的数量分布没有明显差异。微生物的主要类群都是细菌和霉菌,放线菌和酵母菌未分离出。细菌在大肠中数量最多,胃与小肠次之。霉菌在胃中分布最多,小肠和大肠中数量逐渐减少。霉菌在消化道中的存在可能主要是由食物带入,经消化液的作用,数量逐渐减少。10条北草蜥和 10条中国石龙子每克胃、小肠和大肠内含物中的微生物平均数量分别如表 1。

北草蜥 中国石龙子 微生物种类 -胃 大肠 胃 小肠 大肠 小肠 细菌 2.27×10^{6} 2.06×10^{6} 9.78×10^{8} 3.51×10^{6} 2.25×10^{6} 1.42×10^9 霉菌 2.5×10^{4} 2.15×10^{4} 1.33×10^{4} 2.19×10^{4} 1.67×10^{4} 1.61×10^{4} 酵母菌 0 0 0 0 放线菌 0 0

表1 各类微生物的数量(个/g)

2.2 微生物的分类鉴定 中国石龙子的胃、小肠和大肠中都分离到霉菌,分别属于青霉属(Pencillium)曲霉属(Aspergillus)和毛孢子菌属(Trichosporon),青霉属占绝大多数。在北草蜥的胃、小肠和大肠中也都分离到霉菌,分别属于青霉属和毛孢子菌属,同样青霉属数量居多。

从北草蜥和中国石龙子的胃、小肠和大肠中分离到 12 株细菌 ,它们的形态、培养特征、生理生化反应以及鉴定结果如表 2。

在 10 条北草蜥和 10 条中国石龙子的胃、小肠和大肠中,惟一共同检出的细菌是枯草芽孢杆菌(Bacillus subtilis)。其在北草蜥消化器官中的检出率都为 20%,在中国石龙子中为90%、70%和 60%。枯草芽孢杆菌很可能是随食物带入,因为它广泛分布在枯草、尘埃、土壤和水中,且未见报道它是人和动物肠道的正常菌群,它对动物一般无致病性。在北草蜥和中

国石龙子的小肠和大肠中,都分离到厌氧菌普 通类杆菌(Bacterium vulgave),检出率分别为 100% 在两者的胃中都分离到奇异变形菌 (Proteus mirabilis),检出率为 30% 和 10%。 北草蜥消化器官中的好氧优势菌群是普通变形 杆菌(Proteus vulgaris),在胃、小肠和大肠中检 出率皆为 100% ,它是人与动物正常的肠道菌 群。此外北草蜥大肠中还有产气肠杆菌(Enterobacter aerogenes) 检出率为 20% ;铜绿假单 胞菌(Pseudomonas aeruginosa),20% ;大肠杆 菌(Escherichia coli),20%;粪肠球菌(Enterococcus faecalis) 20%。中国石龙子消化器官中 的好氧优势菌群是弗氏柠檬酸杆菌(Citrobacter freundii),它在胃、小肠和大肠中的检出率 分别为 70%、80% 和 100% 是人与动物的肠道 菌群 ,也是条件致病菌 ,可引起腹泻和肠道外感 染等。观察中国石龙子粪便 未发现腹泻 ,可见 它是中国石龙子肠道的正常菌群。此外中国石 龙子胃和小肠中有表皮葡萄球菌(Staphylococcus epidermidis),检出率都为 10%;大肠中还有阴沟肠杆菌(Enterobacter cloacac),40%;差异柠檬酸杆菌(Citrobacter diversus),10%。在北草蜥大肠中分离到人大肠中检出率 100%的大肠杆菌和肠球菌⁹¹,但在中国石龙子大肠中

未发现。北草蜥和中国石龙子同为有鳞类爬行动物,但两者消化器官中的菌群分布差异明显,好氧优势菌群截然不同,这是否与两者取食休栖地、生活习性等的差异有关,其原因有待进一步研究。

	表 2 细菌的形态、培养特征及生理生化反应									
菌 株	菌体 形态	芽 孢		鞭毛	革兰氏 染色	牛肉膏蛋白胨 平板	血琼脂 平板	生理生化反应	鉴定 结果	
1	杆状	-	-	周生	G ⁻	菌落可形成薄膜, 布满整个平板 ,乳 白色	溶血	KIA:K/A, 气体+, H ₂ S+, 吲哚+, 甲基红+, V-P-, 枸橼酸盐+, 丙二酸盐-, 动力+, 脲酶+, 苯丙氨酸脱氨酶+, 赖氨酸脱羧酶-, 鸟氨酸脱羧酶-, _B -半乳糖苷酶-	普通变 形菌	
2	杆状	-	-	周生	G ⁻	大部分菌落可形成薄膜 少数菌落 独立 乳白色	溶血	$KIA: K/A$,气体 $^-$, H_2S^+ , 例 $ ^-$, 中基红 $^+$, $V-P^+$, 枸橼酸盐 $^+$,丙二酸盐 $^-$,动力 $^+$,脲酶 $^+$,苯丙氨酸脱氨酶 $^+$, 赖氨酸脱羧酶 $^-$,鸟氨酸脱羧酶 $^+$, $_2$ 半乳糖苷酶 $^-$		
3	短杆状	-	+	周生	G ⁻	菌落大,湿润,粘液状,灰白色	不溶血	KIA:A/A,气体+,H ₂ S-,吲哚-,甲基红-,V-P+,枸橼酸盐+,丙二酸盐+,动力+,脲酶-,苯丙氨酸脱氨酶-,赖氨酸脱羧酶+,乌氨酸脱羧酶+,乌半乳糖苷酶+		
4	短杆状	-	+	周生	G ⁻	菌落较大,圆形凸起,光滑湿润,边缘整齐,乳白色	溶血	KIA :A/A ,气体		
5	短杆状	-	-	周生	G ⁻	菌落圆形 ,光滑湿 润 ,边缘整齐 ,灰 白色	不溶血	KIA: K/A ,气体+ $_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{_{$	弗氏柠 檬酸杆 菌	
6	杆状	-	-	周生	G ⁻	菌落圆形 ,湿润隆起 ,边缘整齐 ,灰白色	不溶血	$KIA: K/A$, 气体 $^+$, $I_{2}S^{-}$ 则	差异柠 檬酸杆 菌	
7	短杆状	-	+	周生	G ⁻	菌落大,圆形,湿润,灰白色	不溶血	KIA:A/A,气体	阴沟肠 杆菌	
8	粗短 杆状	+	-	周生	G ⁺	菌落不整形 ,表面粗糙 ,干燥有皱纹 ,灰白色	溶血	卵磷脂酶-,甘露醇+,阿拉伯糖+,木糖+	枯草芽 孢杆菌	
9	球杆状	-	-	端生	G ⁻	菌落大,扁平湿润,边缘不整齐, 表面有金属光泽, 灰绿,黄绿色	溶血	42℃生长试验+,硝酸盐产气+,葡萄糖氧化发酵+,吲哚-液化明胶-乳糖-蔗糖-氧化酶+,触酶+,乙酰胺酶+,精氨酸双水解酶+,赖氨酸脱羧酶-,鸟氨酸脱羧酶-	铜绿假 单胞菌	
10	圆、椭 圆形	-	-	=	G^+	菌落较小 ,圆形湿润 ,灰白色 ,不透明	溶血	触酶 - ,6.5% NaCl 生长试验 + ,精氨酸水解 + ,胆汁-七叶苷试验 + ,甘露醇 + ,山梨醇 + ,山梨糖 - ,菊糖 - ,阿拉伯糖 - 蔗糖 - 棉子糖 -	粪肠球 菌	
11	圆形	_	_	-	G^+	菌落圆形 ,光滑凸起 ,边缘整齐 ,白色	不溶血	触酶+ 凝固酶- 蕈糖- 新生霉素 S ,甘露醇发酵-	表皮葡 萄球菌	
12	杆状	-	-	-	G ⁻	菌落圆形较小 ,稍 隆起 ,灰白色 ,不 透明	不溶血	麦芽糖+,甘露醇-,蔗糖+,乳糖+,阿拉伯糖+,海藻糖-木糖+,葡萄糖+,硝酸盐还原-,水杨素-,七叶苷+,液化明胶+,触酶-	普通类 杆菌	

乔宾福主编, 实用微生物技术, 上海:上海科学技术文

献出版社,1994.246~247.

陈天寿主编 微生物培养基的制造与应用 北京:中国

农业出版社 1995.514~522.

[3] Mordarska M., M. Goodfellow, Chemotaxonomic charac-

ters and classification of some nocardioform bacteria. I.

Gen. Microbiol., 1972, 71, 77~86. 祖若夫 胡宝龙 周德庆编. 微生物学实验教程. 上海 :复

旦大学出版社 1993.143~146.

[5] 杨苏声主编. 细菌分类学. 北京:中国农业出版社, $1997.65 \sim 144.$ [6] 张纪忠主编 微生物分类学 上海:复旦大学出版社,

[9] 周德庆主编 微生物学教程 北京:高等教育出版社,

Williams & Wilkins , 1994. 3~787.

 $1993.278 \sim 280$.

 $1990.16 \sim 425.$ [7] 俞树荣主编. 微生物学和微生物学检验. 北京:人民卫

生出版社 1997.143~438.

[8] Bergev, R., Darid Hendricks, John G. Holt. Bergev's

Manual of Determinative Bacteriology, 9th ed. Baltimore: