

洋葱对草鱼细菌性烂鳃病原菌的抑菌作用*

徐大勇, 韦汉群, 张文丽

(西昌学院 动物科学系, 四川 西昌 615013)

【摘要】分别采用药敏片法和试管法研究洋葱对草鱼细菌性烂鳃病原菌——柱状屈挠杆菌的抑菌和杀菌效果。结果表明:洋葱对该菌有一定的抑菌效果,药物敏感测定表现为抑菌圈的直径为 16mm,最小抑菌浓度测定在浓度为 5 和 10 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 效果显著,低于 5 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 效果不显著,在供试浓度范围内对该菌无杀菌作用。

【关键词】洋葱;草鱼;柱状屈挠杆菌;抑菌

【中图分类号】S941.42+4 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2007)04-0031-02

草鱼细菌性烂鳃病是由柱状屈挠杆菌引起草鱼鳃部病变的水产养殖中最常见的病害之一。此病发病季节长、流行广,各种养殖阶段都易发生,常常造成大批的鱼尤其鱼种死亡,给草鱼养殖造成较大的危害。目前在疾病防治上多采用化学药物,但化学药物易导致病原体产生耐药性和水环境药物残留,有较强的毒副作用。健康、无公害养殖是现代渔业养殖的主题。本试验选择洋葱作为草鱼细菌性烂鳃病的防治药物,不仅可以避免上述问题,还可降低用药成本,为细菌性烂鳃病的防治用药提供新的途径。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 病原菌:草鱼细菌性烂鳃病原菌为笔者 2006 年从患病草鱼分离、提纯和鉴定的病原菌为柱状屈挠杆菌。

1.1.2 洋葱:为市售新鲜洋葱,主用球茎。

1.1.3 培养基:固体培养基为营养琼脂,液体培养基为普通肉汤。

1.2 方法

1.2.1 菌液制备:将复壮后的新鲜培养基用无菌生理盐水洗下菌苔,稀释至约 $10^9/\text{mL}$ 的菌悬液备用。

1.2.2 药液制备:将洋葱称取 20g 加水 150mL 煎煮

30min,换两次水各煎煮 30min,将 3 次药液进一步煎煮浓缩至 10mL 过滤,过滤液即为原液,放入试管,高压灭菌后 4℃ 冰箱保存。

1.2.3 药敏片制备:将洋葱称取 50g 加水 250mL 煎煮 30min,换两次水各煎煮 30min,将 3 次药液进一步煎煮浓缩至 10mL 过滤,放入 100 片直径为 1cm 圆形滤纸,于 25℃ 烘箱烘干备用。

1.2.4 药敏片的测定:取该菌种,用灭菌接种环致密划线于琼脂平板表面,用无菌镊子将洋葱药敏片贴于培养基表面,37℃ 培养 24h 观察结果。

1.2.5 最小抑菌浓度的测定

试管法 按日本化学疗法学会的标准进行。即首先用灭菌生理盐水将制成的药液从 100 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 稀释至 0.2 $\mu\text{L}/\text{mL}$ 的 10 个 2 倍系列浓度。然后在盛有 2.6mL 无菌肉汤培养基中分别加入 0.3mL 稀释后的药液。最后在不同浓度的药物培养基中分别加入 0.1mL 的活菌悬液,25℃ 培养 3d,肉眼观察证实无菌生长的试管中的药物浓度即为该药物的最小抑菌浓度。

1.2.6 最小杀菌浓度测定:从洋葱药液的 MIC 和高于 MIC 浓度的各试管中吸取 50 μL 培养基,转接种于营养琼脂斜面培养基上,25℃ 培养 3d 后,观察有无菌落形成,无菌落形成的相应试管中的药液浓度即为该药物对该菌株的最小杀菌浓度 (MBC)。

2 结果

收稿日期 2007-09-10

*基金项目:西昌学院自然科学课题(A0S09)

作者简介:徐大勇(1973-)男,讲师,主要从事水产养殖的教学与研究。

2.1 药敏片测定结果

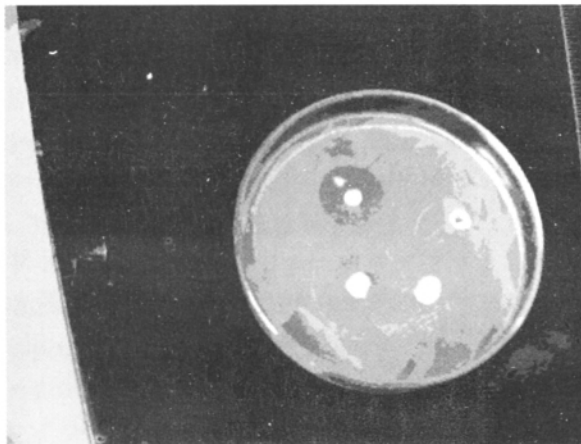


图 1 药物敏感试验结果

从图 1 可以看出,抑菌圈非常清晰明显,其直径在 16.0mm,说明洋葱有较好的抑菌作用。

2.2 MIC 测定结果:

在试管液体培养条件下,测定洋葱在 72h 内对粘球菌的杀菌能力,结果见表 1。

表 1 表明,药物浓度在 5 和 10 (μL/mL)试管内无菌生长,即药物对粘球菌有抑制生长的作用,药物浓度在低于 5 (μL/mL)试管内有菌生长,即该药物浓度范围对粘球菌无抑制生长的作用。

2.3 MBC 测定结果:

洋葱在选择的浓度范围内无杀菌作用,说明洋葱的 MBC 应在 10μL/mL 以上。

3 讨论

3.1 选择适当的中草药用于疾病防治,具有天然性和多功能性,一方面能抑制病原体的繁殖和生长,同时也能促进机体的生理代谢,增强正常的生理机能,提高抗病能力。此外中草药还具有来源广、价格便宜、制作无污染、使用方便和安全系数大的优点。

3.2 试验表明,洋葱对粘球菌具有较强的抑制效果,但其 MIC 值亦较高,如果具体应用于生产,其成本也不低;并且在以往的危害防治实践中发现单纯使用一种中草药防治病害作用慢、效果差。如果能使用中草药合剂或是将中草药与抗生素合用效果可能会更好一些,需要进一步研究。

3.3 在试验药敏片的制备中洋葱悬浊物不易去除,易形成凝固物,药敏片效果不佳。

3.4 本试验中测得的抑菌药物是在致病菌人工培养液中所获得,其菌浓度与其他条件与鱼体有差异,因此,防治和治疗所用浓度应再进一步研究。本试验结果只能说明洋葱杀菌能力的大小和是否具有杀菌能力。

表 1 药物对草鱼致病粘球菌杀菌作用

药物名称	药物浓度 (μL/mL)									
	0.020	0.039	0.078	0.156	0.312	0.625	1.25	2.5	5	10
洋葱水煎液	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-

“+”表示有菌生长 - 表示无菌生长

参考文献:

[1]战文斌. 水产动物病害学[M]. 北京:中国农业出版社 2004 2.
 [2]武汉大学等. 微生物学(第 2 版)[M]. 北京:高等教育出版社,1980.
 [3]湖北省水生生物研究所. 草鱼烂鳃病的研究[J]. 水生生物学集刊,1975,5(6):315-324.
 [4]叶元士,等. 鲤烂鳃病的发生原因与杀菌药物研究[J]. 西南农业学报,1998,11(4):111-118.
 [5]徐欣. 五种中草药对河蟹腐败假单胞菌的抑菌作用[J]. 水产科学,2002,21(2):24-25.
 [6]朱彤. 浮萍防治草鱼烂鳃病、肠炎病和赤皮病效果试验[J]. 中国兽医医学杂志,2004,29(2):111-118.
 [7]汪长友. 中草药在鱼病防治中的应用[J]. 水产学杂志,2003,16(2):90-93.
 [8]冯长根,等. 洋葱的化学成分及药理作用研究进展[J]. 上海中医药杂志,2003,37(7):63-64.

The Onion's Antibacterial Activity to the Pathogen of the Bacterial Gill Rot Disease in Grass Carp

XU Da-yong, WEI Han-qun, ZHANG Wen-li

(下转 38 页)

- [3] John MW and Simon PB. Effect of humidity on development of tomato powdery mildew (*Oidium lycopersici*) in the glasshouse. *European Journal of Plant Pathology*. 2000, 106: 395 – 397.
- [4] 贾菊生. 新疆番茄病害一新记录 – 番茄白粉病[J]. *植物保护*, 1990 (4) 5.
- [5] 程志明. 黑龙江番茄新病害番茄白粉病[J]. *北方园艺*, 1992 (6): 40.
- [6] 王世喜, 赵博虎, 金辉, 许国华. 番茄白粉病的发生与防治[J]. *植物保护*, 1993, 19(5): 50.
- [7] 房德纯, 王振东, 刘志恒, 秦志蓉. 番茄新病害白粉病[J]. *辽宁农业科学*, 1992(5): 51 – 52.
- [8] 王媛媛, 陈立杰, 段玉玺, 吕国忠. 沈阳地区温室番茄发生白粉病[J]. *植物保护*, 2004, 30(5): 91.
- [9] 赵桂琴, 刘忠双. 10% 施宝灵防治番茄白粉病效果显著[J]. *植物保护*, 1995, 21(4): 49 – 50.
- [10] 陈林年, 张玉梅, 史登玉, 赵平和, 尚海英. 不同药剂防治加工番茄白粉病试验研究初报[J]. *农业科技与信息* 2007, (2): 30 – 31.
- [11] 李成伟, 王晓武, Guusje Bonnema. 番茄植株与白粉病菌互作过程中叶片胞间蛋白变化的初步分析[J]. *中国蔬菜*, 2003(3): 8 – 10.
- [12] 王联德, Stefan Vidal, 黄建, 等. 番茄感染白粉病对丽蚜小峰寄主搜索行为的影响[A]. *农业生物灾害预防与控制研究* [C], 2005: 977 – 978.
- [13] 卫丽, 黄晓书, 谢慧玲, 等. 番茄抗白粉病基因的 AFLP 标记[J]. *河南农业大学学报*, 2005, 39(2): 187 – 189.

Research Progress on Resistant Breeding to Tomato Powdery Mildew in China

WANG Hai – long , DONG Hua – fang

(*Xichang College, Xichang, Sichuan 615013*)

Abstract: This paper explained the research progress of resistant characters to tomato powdery mildew in China, including methods of chemical prevention, resistant materials screening laws, heredity laws of resistance and mechanisms of resistance to tomato powdery mildew. Some questions in tomato powdery mildew resistant breeding were discussed.

Key words: Tomato powdery mildew; Resistant materials screening laws; Heredity laws of resistance; Resistant breeding

(责任编辑 张荣萍)

(上接 32 页)

(*Department of Animal Science, Xichang College, Xichang, Sichuan 615013*)

Abstract: In this paper, the drug sensitivity method and the tube method are adopted to study the onion's antibacterial effect to *Flavobacterium columnaris* – the pathogen of the bacterial gill rot disease in grass carp. The result indicates that the onion has some antibacterial effect to this pathogen. Through drug sensitivity tests, it shows that the diameter of bacteria inhibiting ring is 16mm; the effect is obvious when the minimal bacteriostatic concentration is 5 or 10(uL/mL); when the concentration is below 5(uL/mL), the effect is not obvious; and the onion's antibacterial activity can't work in selective concentration range.

Key words: Onion; Grass carp; *Flavobacterium Columnaris*; Antibacterial

(责任编辑 张荣萍)