

背景意义

- 丁酸梭菌 *Clostridium butyricum* (CB) 属于芽孢杆菌科, 梭菌属, 是一种专性厌氧的革兰阳性芽孢杆菌。其广泛存在于健康的动物(胃肠道或粪便)或土壤、发酵食品中。丁酸梭菌的主要代谢产物是丁酸, 可促进肠道上皮组织细胞再生和修复。近年来的研究表明, 丁酸梭菌作为饲料添加剂, 可改善鱼类的生长性能, 提高饲料利用率, 增强消化酶活性, 抑制病原体入侵, 介导免疫反应, 提高抗病能力, 调节肠道微生物并改变鱼类的肠道结构。
- 本研究从健康黄鳝的肠道内分离出1株丁酸梭菌, 经过形态学观察和16S rDNA基因序列分析, 确定该菌株为丁酸梭菌, 将其命名为YF1。进一步研究其生长特性, 短链脂肪酸代谢物, 耐药性, 药敏性等生物学特性, 并进行全基因组测序和分析。本研究结果为YF1菌株的后续应用和研究提供了科学依据, 旨在为黄鳝的绿色健康养殖提供新思路。

结果

1, 丁酸梭菌的分离与鉴定

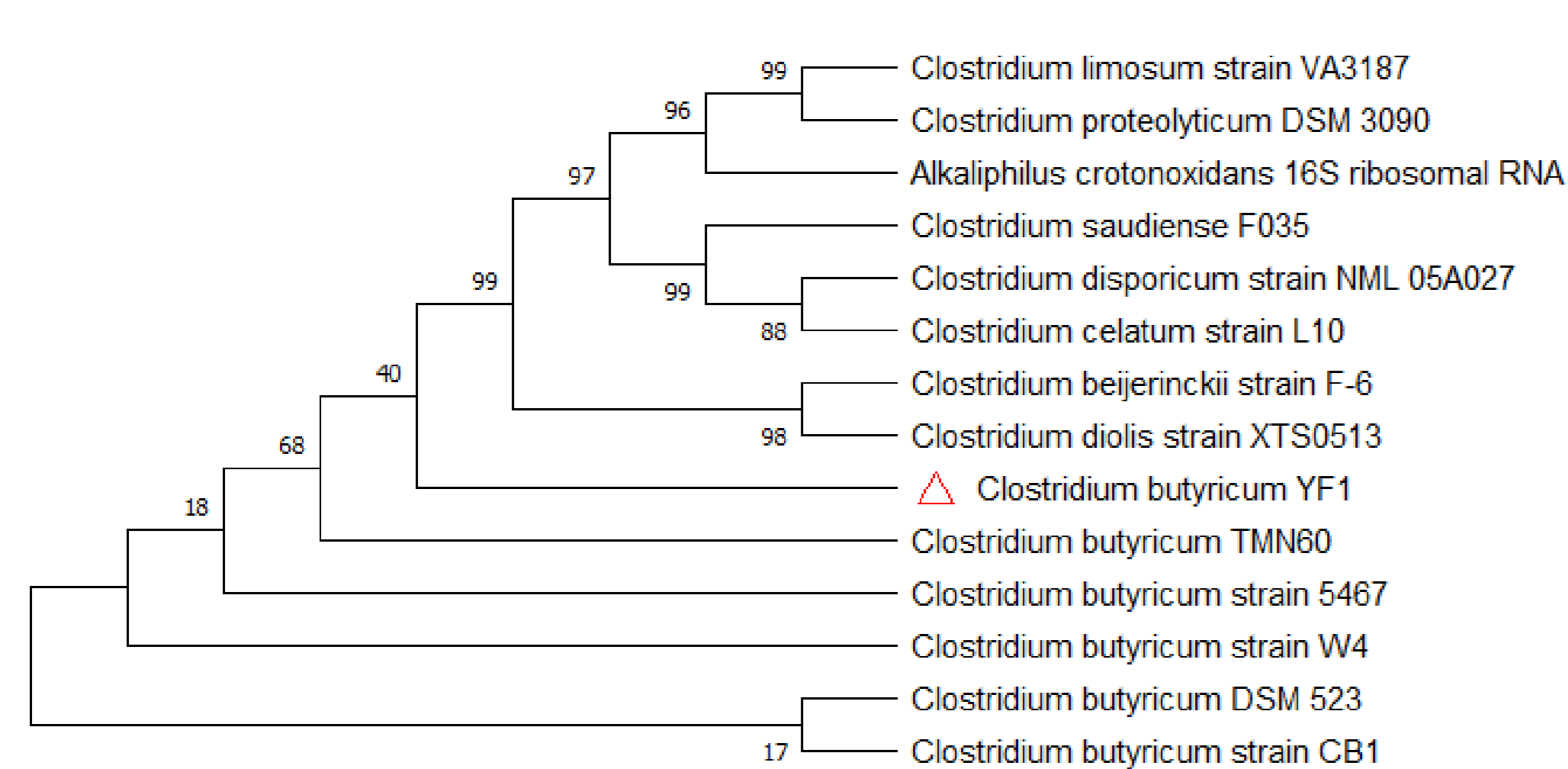


图1. 基于16S rDNA基因构建的系统发育树。

2, YF1的生长特性和代谢产物

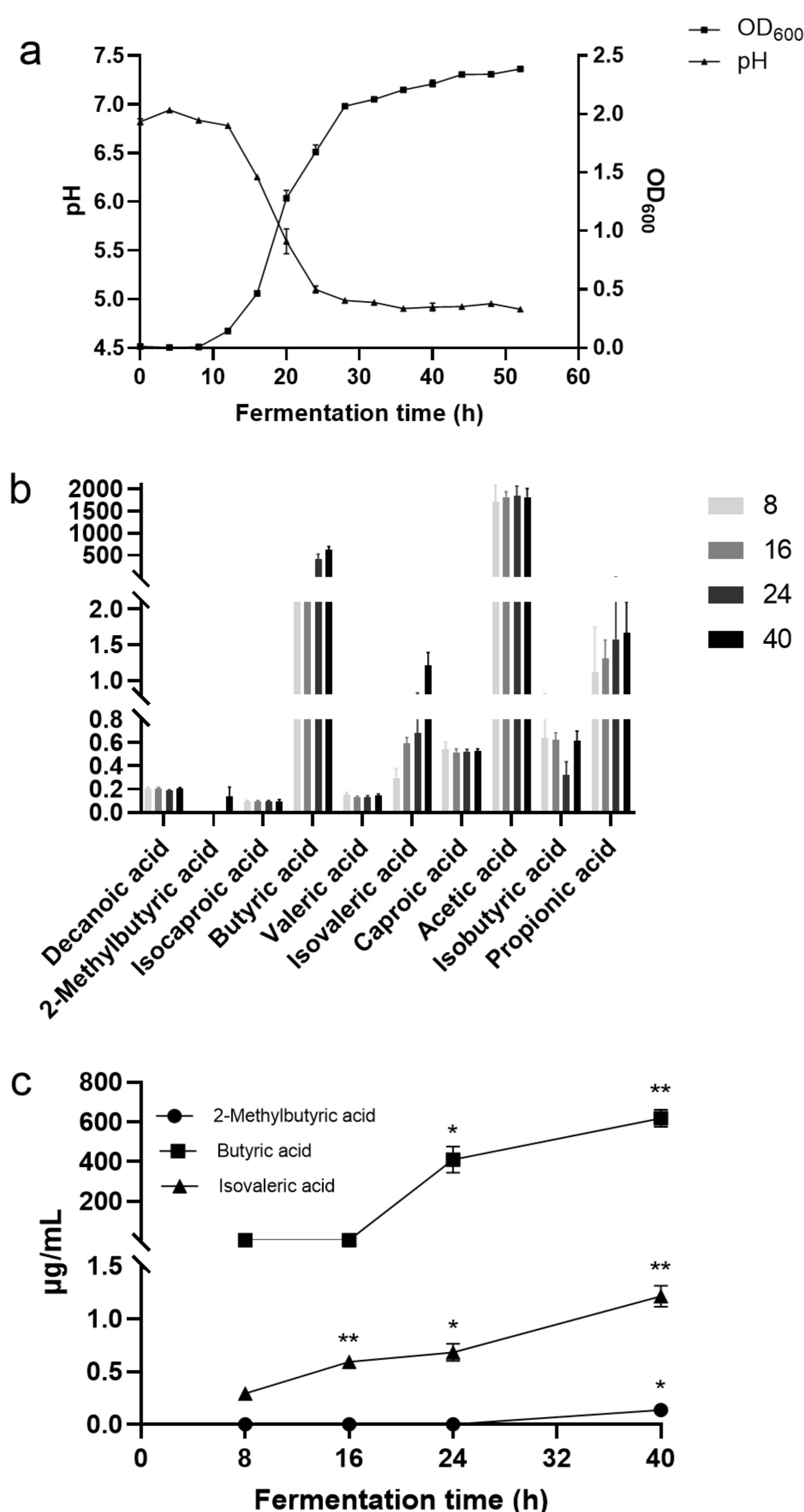


图2. YF1的生长特性和代谢物。(a) YF1在不同培养时间的OD600和pH值;(b) YF1在体外发酵中产生的10种SCFAs;(c) 丁酸、异戊酸和2-甲基丁酸含量在不同培养时间点的显著差异含量。

3, 耐受性试验

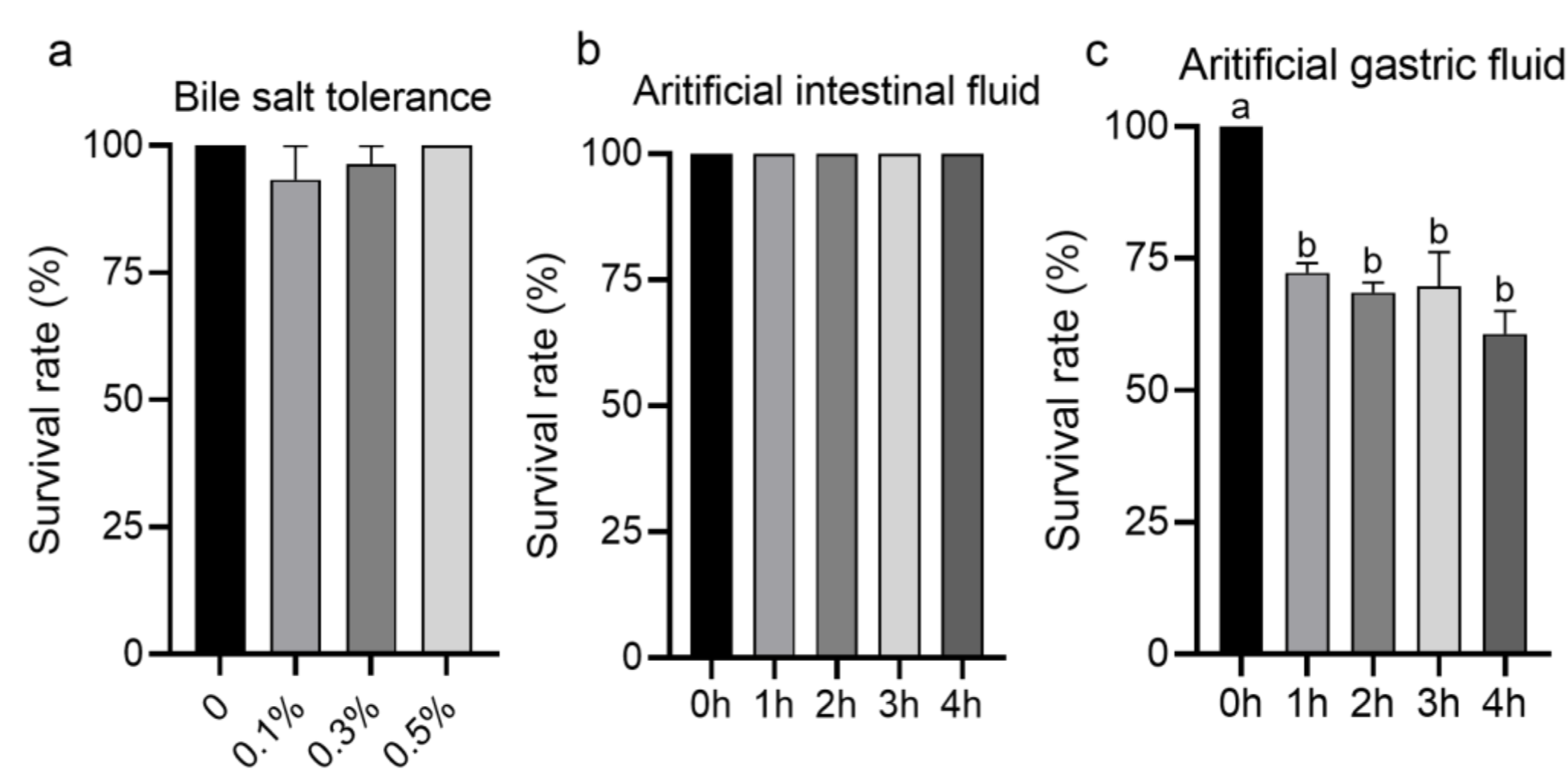


图3. YF1对胆盐、人工肠液和人工胃液的耐受性。

4, 药敏性试验

表1. YF1对不同抗生素的耐药性。

Antibiotics	Content	Diameter of inhibition circle (mm)	Sensitivity
Penicillin	10 µg/tablet	31.23±1.76	S
Ampicillin	10 µg/tablet	31.83±0.34	S
Carbenicillin	100 µg/tablet	31.9±0.43	S
Peracillin	100 µg/tablet	33.07±0.48	S
Cephalexin	30 µg/tablet	32.1±1.31	S
Cefazolin	30 µg/tablet	38.43±1.14	S
Cefradine	30 µg/tablet	29.1±0.42	S
Cefuroxime	30 µg/tablet	23.17±0.6	S
Ceftriaxone	30 µg/tablet	34.23±1.08	S
Cefoperazone	75 µg/tablet	38.4±0.65	S
Tetracycline	30 µg/tablet	31.5±0.51	S
Doxycycline	30 µg/tablet	30.07±0.25	S
Minocycline	30 µg/tablet	28.53±0.83	S
Erythromycin	15 µg/tablet	26.63±0.71	S
Norflaxacin	10 µg/tablet	20.33±1.45	S
Ofloxacin	5 µg/tablet	27.23±0.62	S
Ciprofloxacin	5 µg/tablet	26.27±0.12	S
Vancocycin	30 µg/tablet	26.47±0.39	S
Furazolidone	300 µg/tablet	31.93±0.33	S
Chloramphenicol	30 µg/tablet	36.4±2.16	S
Clindamycin	2 µg/tablet	24.3±1.42	S
Oxacillin	1µg/tablet	10.83±0.37	I
Butanicana	30 µg/tablet	13.07±0.25	I
Kanamycin	30 µg/tablet	10.07±0.09	I
Medemycin	30 µg/tablet	17.00±1.20	I
Ceftazidime	30 µg/tablet	0.00±0.00	R
Gentamicin	10 µg/tablet	0.00±0.00	R
Neomycin	30 µg/tablet	0.00±0.00	R
Polymyxin B	300 IU/tablet	0.00±0.00	R
Cotrimoxazole	19 µg/tablet	0.00±0.00	R

5, YF1的基因组特征

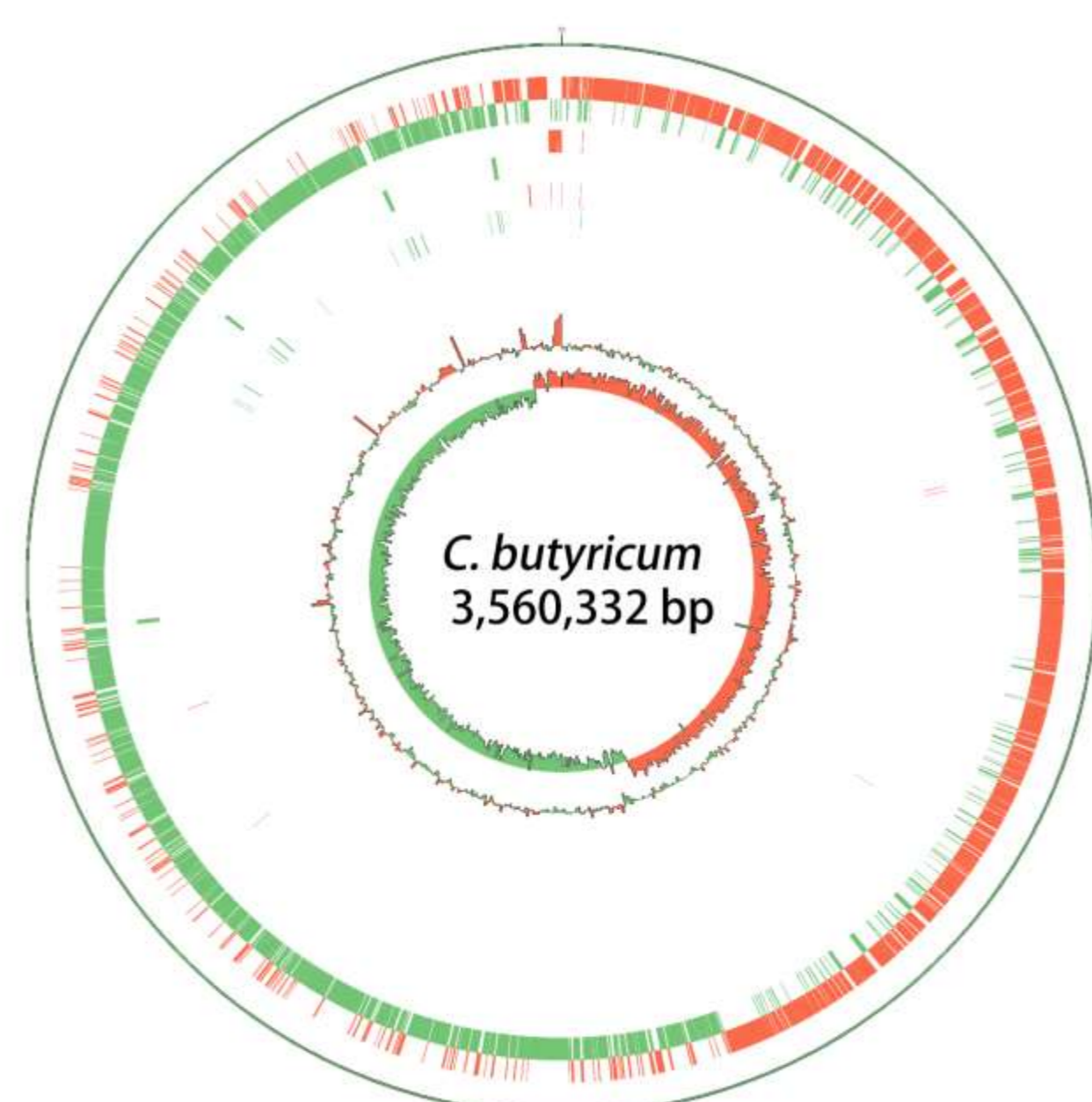


图4. YF1环状染色体的可视化图。

6, YF1基因组的注释分析

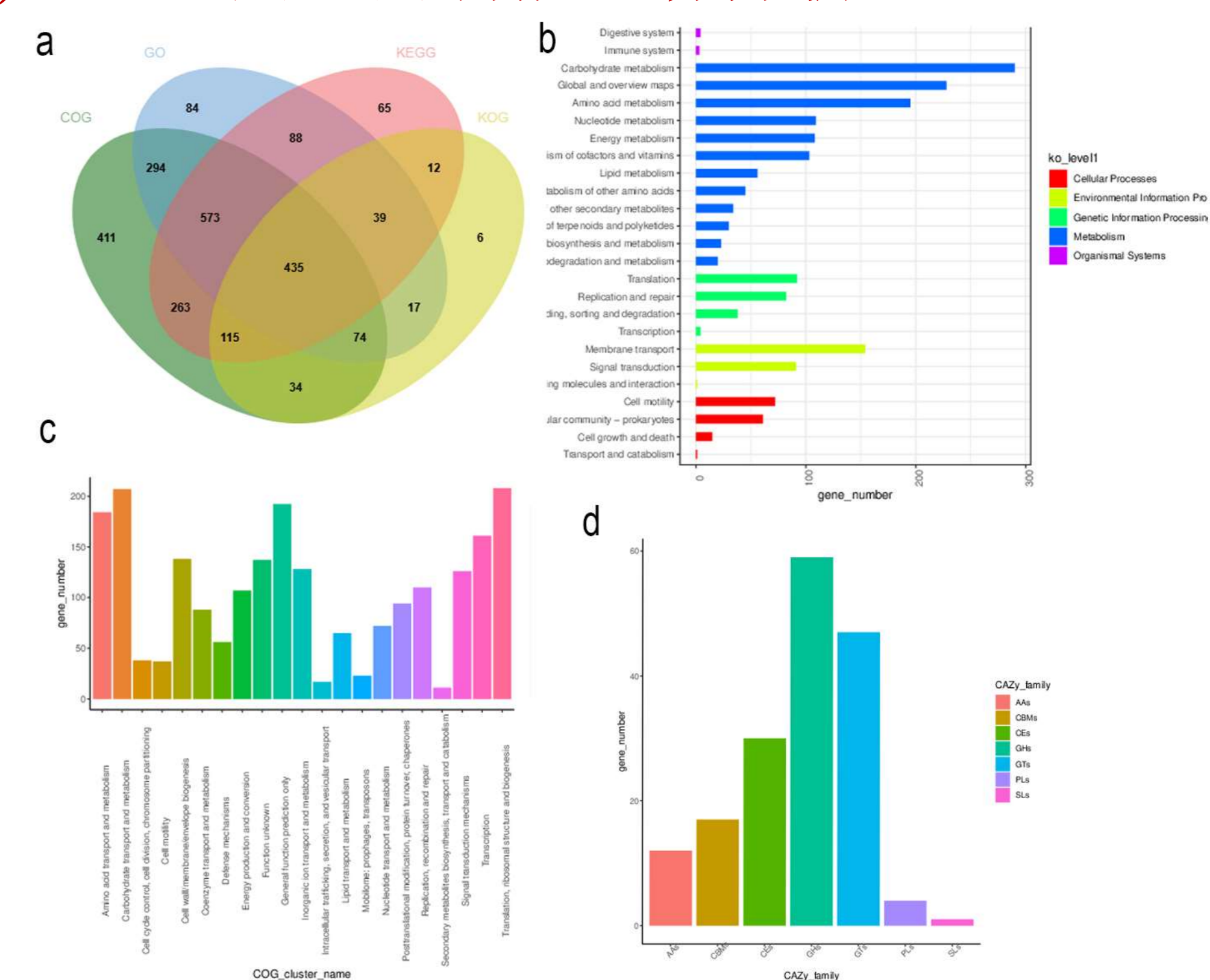


图5. YF1基因组在 (a) COG,KEGG,GO,和KOG 数据库中注释基因数目; (b) KEGG中注释分类; (c) COG中注释分类; (d) CAZy中注释。

7, YF1的抗性基因和致病基因注释分析

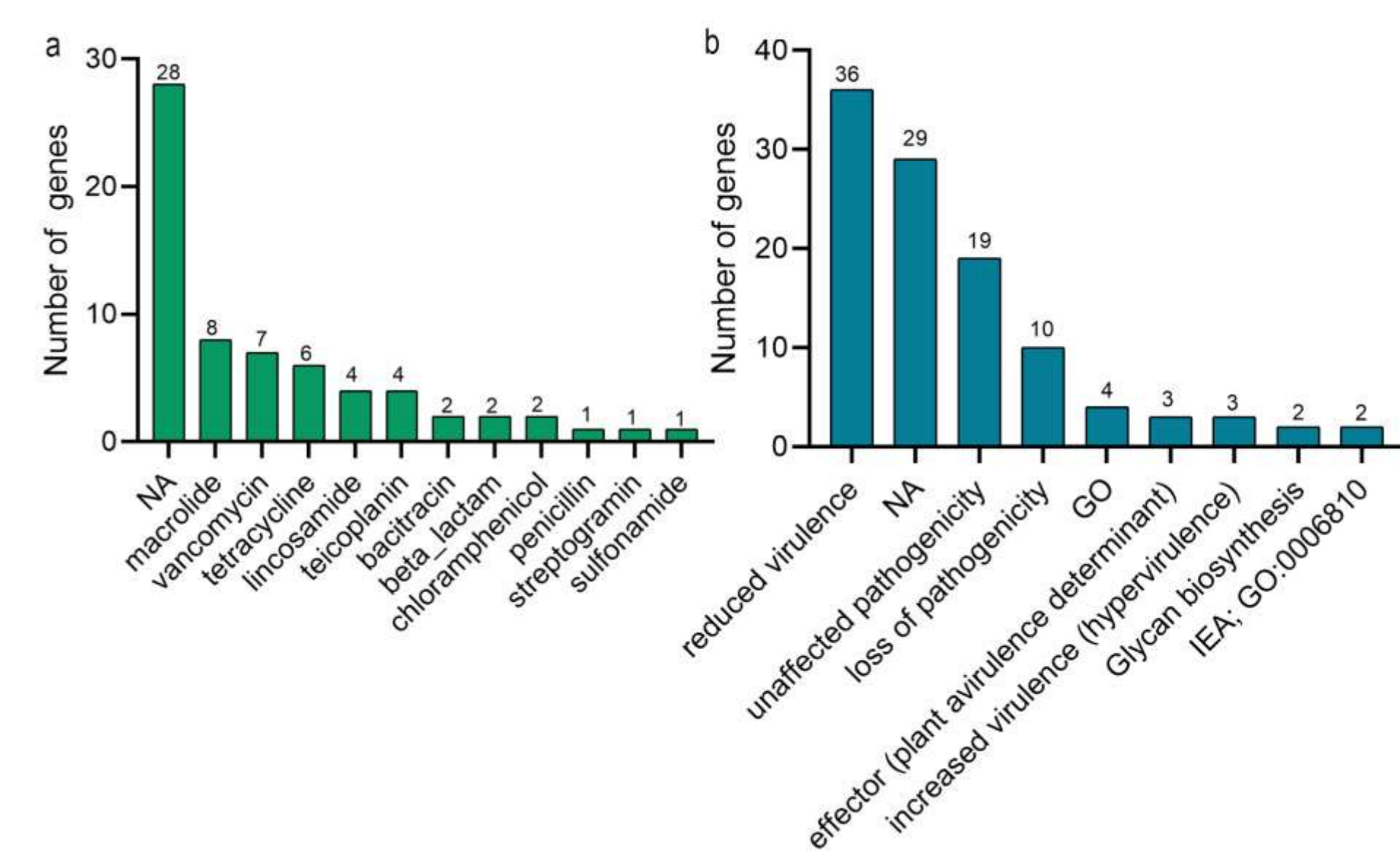


图6. YF1基因组在 (a) ARDB和CARD数据库中共同的抗性基因; (b) PHI和VFDB数据库中共同的致病基因。

结论

- 本研究从黄鳝肠道中分离出一株丁酸梭菌YF1, 该菌株表现出较高的生长速率, 可产生10种短链脂肪酸, 尤其高产丁酸, 对胆盐, 人工胃肠液具有耐受性, 对大部分抗生素敏感。
- 丁酸梭菌 YF1 基因组 DNA 总长度 4, 314, 266 bp, 其中包含1条环状染色体DNA和1条环状质粒, 共检测到3, 853个蛋白编码基因。研究结果为 YF1 的开发和应用提供了理论依据。