

碳离子辐照对猪链球菌部分生物学特性的影响

陆萍¹ 焦安心¹ 常沛玺¹ 胡步荣² 付谦¹ 孙裴¹ 魏建忠¹ 李郁¹

¹ (安徽农业大学动物科技学院 合肥 230036)

² (中国科学院近代物理研究所 兰州 730000)

摘要 为了解 30 Gy 和 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对猪链球菌部分生物学特性的影响, 采用微生物学法和毒理学法检测亲本株和突变株的溶血性、对 18 种抗生素的敏感性、生物被膜形成能力、表面疏水性及毒力。结果显示, 与亲本株相比, 30 Gy 突变株的溶血性、对抗生素的敏感性、生物被膜形成能力, 表面疏水性及毒力无显著差异($p \geq 0.05$); 50 Gy 突变株对庆大霉素、复方新诺明、链霉素、甲氧苄啶和洁霉素的敏感性差异显著($p \leq 0.05$), 但溶血性、生物被膜形成能力、表面疏水性及毒力无显著差异($p \geq 0.05$)。结果表明, 30 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照不能导致猪链球菌生物学特性显著改变, 而 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌能够导致部分突变株对部分抗生素敏感性的显著改变, 但不同突变株对不同种类抗生素的敏感性改变不同。

关键词 碳离子, 辐照, 猪链球菌, 生物学特性, 影响

中图分类号 TL72

DOI: 10.11889/j.1000-3436.2015.rj.33.010401

猪链球菌是一种能够引致人和动物多种疾病的致病菌, 在世界范围内不仅给养殖业造成了巨大的经济损失, 还威胁到人类的公共健康。尽管现代科学技术已经发展到一定水平, 但目前无论在发达国家还是在发展中国家并没有得到很好地控制, 动物或人感染猪链球菌的报道依然不断^[1-2]。 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子是一种新兴的重离子辐照诱变源, 具有生物诱变作用强、突变频率高、突变体稳定及辐照损伤小等优点, 近年来被越来越多的领域重视和利用^[3]。目前, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照的研究主要集中在植物、动物细胞及产生人类所需要的次级代谢产物的菌株等方面, 特别是在植物诱变育种方面, 已经取得了长足的发展^[4]。而 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照致病菌的研究较少, $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对猪链球菌的影响的研究尚未见报道。

本研究通过对猪链球菌亲本株、30 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照突变株 (以下简称 30 Gy 突变株) 以及 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照突变株 (以下简称 50 Gy 突变株) 部分生物学特性的研究, 比较猪链球菌亲本株与 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照突变株之间部分生物学特性的差异, 了解 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对猪链球菌部分生物学特性的影响,

为研究 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对猪链球菌的生物学效应奠定基础, 及为研究猪链球菌的变异提供新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 试验菌株

猪链球菌亲本株 (编号为 HJ17) 由安徽农业大学动物科技学院传染病研究室分离、鉴定与保存; 60 株 30 Gy 突变株和 60 株 50 Gy 突变株为猪链球菌亲本株经中国科学院近代物理研究所重离子加速器 30 Gy 和 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照后随机挑选的 60 个单菌落, 编号为 30-1、30-2……30-60 和 50-1、50-2……50-60。

1.2 主要材料与试剂

胰酪胨大豆酵母浸膏肉汤(TSB)、胰酪胨大豆酵母浸膏琼脂(TSA)、水解酪蛋白琼脂(M-H)购于绍兴天恒生物科技有限公司; 18 种抗生素药敏纸片均购于杭州天和微生物试剂有限公司; 胎牛血清购于杭州四季青有限公司; 96 孔板购自赛默飞世尔科技公

基金资助: 安徽省长三角联合攻关项目(1101c0603065)、安徽农业大学学位点建设项目(XKXWD2013006)、安徽农业大学大学生创新基金项目(2011053)和安徽省生猪产业体系基金联合资助

第一作者: 陆萍, 女, 1988 年 12 月出生, 2012 年毕业于安徽农业大学, 现为该校在读硕士研究生, 主要从事动物传染病研究

通讯作者: 李郁, 硕士, 教授, E-mail: liyouer@163.com

收稿日期: 初稿 2014-08-11; 修回 2014-08-30

司; 昆明小鼠(4 周龄, 18–20 g)购于安徽医科大学动物实验中心; 酶标仪 (BioTek 公司, eon 型号); 其他试剂购于天根生物有限公司。

1.3 溶血性检测

1.3.1 PA 法检测溶血类型

将菌株接种于含5%兔血 TSA 平板, 37 °C 培养 24 h, 观察菌落周围溶血状态。单菌落周围有透明溶血环的菌株判定为 β 溶血; 单菌落周围有草绿色溶血环的菌株判定为 α 溶血; 不发生溶血的菌株为 γ 溶血。

1.3.2 Micro-ELISA 法检测溶血价

将菌株接种于含 5%血清 TSB, 37 °C 静止培养 24 h 制成种子液, 取种子液按 1%比例接种于含 5%血清 TSB, 37 °C 静止培养, 接种后 8、12、16、20 和 24 h 取培养液, 12000 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 5 min, 取上清, 10 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ Tris-HCl (pH=7.8) 生理盐水倍比稀释, 将不同倍数稀释的上清液和等量 1%兔红细胞加入 96 孔板中, 振荡混匀, 37 °C 作用 2 h, 4 °C 过夜沉淀, 测 OD_{540} 。溶解 50%红细胞的上清液的稀释倍数即为溶血价, 以五个时间点中测定的最高溶血价作为该菌株的溶血价^[5]。

1.4 药物敏感性检测

K-B 纸片法检测对抗生素的敏感性。采用美国临床实验室标准化委员会推荐的 K-B 纸片琼脂扩散法及判定标准检测菌株的药物敏感性^[6]。

1.5 生物被膜检测

结晶紫染色法检测生物被膜形成能力。将菌液浓度调至 OD_{570} 值为 0.8, 取 20 μL 菌液与 180 μL 含 5%血清 TSB 加入 96 板, 37 °C 静止培养 56 h, 弃去培养液, PBS 洗涤 3 次, 37 °C 烘干, 甲醇固定 15 min, PBS 洗涤 3 次, 1%结晶紫染色 15 min, PBS 洗涤 3 次, 33%乙酸脱色 10 min, 测定 OD_{570} 。判断依据: 以阴性对照孔测得 OD_{570} 的 2 倍作为判断生物被膜形成能力临界点 ODc , $\text{OD}_{570}\leq\text{ODc}$ 时, 判断细菌无生物被膜形成能力; $\text{ODc} < \text{OD}_{570}<2\text{ODc}$ 时, 判断细菌生物被膜形成能力较弱; $\text{OD}_{570}\geq2\text{ODc}$ 时, 细菌形成生物被膜的能力较

强^[7]。

1.6 表面疏水性检测

盐析法检测表面疏水性。将菌株接种于含 5%血清 TSA 平板, 37 °C 培养 18 h, 用 pH=6.8 浓度 0.02 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸钾缓冲液混悬洗涤后将细菌稀释成 $1.0\times10^{10}\text{CFU}\cdot\text{mL}^{-1}$, 在载玻片上取 15 μL 细菌与等量不同浓度硫酸铵溶液混合, 2 min 内观察细菌凝集情况。细菌在浓度小于 0.01 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液中凝集, 为自凝; 在 0.01–0.2 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液中凝集, 为高疏水性细菌; 在 0.2–1.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液中凝集, 为疏水性细菌; 在大于 1.5 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液中凝集, 为亲水性细菌^[8]。

1.7 毒力检测

动物试验检测毒力。小鼠毒性试验测定亲本株半数致死量(LD_{50}), 酶标仪测定亲本株 LD_{50} 时细菌浓度的 OD_{570} , 将各菌株的浓度调至与亲本株 LD_{50} 时相同的 OD_{570} , 每组 8 只, 每只 0.2 mL, 腹腔注射, 两周内观察小鼠的死亡情况。

1.8 数据分析

试验数据用 $\bar{x}\pm s$ 表述, 数据组间采用 SAS9.0 软件进行生物学统计分析。

2 结果

2.1 溶血性检测

亲本株、60 株 30 Gy 突变株和 60 株 50 Gy 突变株溶血类型均为 β 溶血, 溶血价均为 1:32, 30 Gy、50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌其溶血性无统计学差异($p\geq0.05$)。

2.2 药物敏感性检测

60 株 30 Gy 突变株对 18 种抗生素的敏感性无显著差异($p\geq0.05$); 60 株 50 Gy 突变株中有 5 株对链霉素、洁霉素、复方新诺明、甲氧苄啶和庆大霉素的敏感性差异显著($p\leq0.05$) (见表 1)。

2.3 生物被膜检测

亲本株, 60 株 30 Gy 突变株, 60 株 50 Gy 突变株形成生物膜的能力均较弱 (见表 2)。30 Gy 和 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌其生物被膜形成能力无统计学差异($p\geq0.05$)。

表 1 亲本株、5 株 50 Gy 突变株对 5 种抗生素抑菌圈的直径大小

Table 1 The bacteriostatic circle diametral size of parent strains, 5 strains 50 Gy mutant strains to 5 kinds of antibiotics (unit: mm, $n=3$, $\bar{x} \pm s$)

菌株编号 Strain code	复方新诺明 <i>Trimesulf</i>	链霉素 <i>Streptomycin</i>	甲氧苄啶 <i>Trimethoprim</i>	庆大霉素 <i>Gentamycin</i>	洁霉素 <i>Lincomycin</i>
HJ17	15.06 ± 0.37	0	14.58 ± 0.51	9.70 ± 0.39	0
50-7	15.38 ± 0.70	0	0*	10.250 ± 0.79	10.98 ± 0.45*
50-9	14.88 ± 0.61	15.96 ± 0.17*	14.40 ± 0.42	0*	0
50-18	17.08 ± 0.31	0	14.46 ± 0.47	18.14 ± 0.71*	0
50-31	15.88 ± 0.60	9.45 ± 0.13*	13.51 ± 0.26	10.04 ± 0.07	0
50-37	24.04 ± 0.37*	0	15.02 ± 0.16	10.06 ± 0.22	0

注：上述数值为 3 个重复的平均值与标准差，0 表示无抑菌圈；* $p < 0.05$ ，与同一列亲本株相比，*表示差异显著。

Note: The values above were the mean value and standard deviation of three repeated values, 0 means there are not bacteriostatic ring;

* $p < 0.05$, compared with parental strain in the same column, *indicates significant difference.

表 2 各菌株生物被膜的形成能力

Table 2 OD₅₇₀ of Strains biofilm formation

菌株编号 Strain code	OD ₅₇₀	菌株编号 Strain code	OD ₅₇₀	菌株编号 Strain code	OD ₅₇₀	菌株编号 Strain code	OD ₅₇₀
HJ17	0.193 ± 0.044	30-30	0.179 ± 0.032	50-1	0.190 ± 0.026	50-32	0.194 ± 0.016
YD	0.076 ± 0.014	30-31	0.180 ± 0.015	50-2	0.203 ± 0.017	50-33	0.197 ± 0.015
30-1	0.198 ± 0.033	30-32	0.179 ± 0.034	50-3	0.198 ± 0.017	50-34	0.195 ± 0.018
30-2	0.187 ± 0.038	30-33	0.181 ± 0.019	50-4	0.195 ± 0.019	50-35	0.197 ± 0.018
30-3	0.185 ± 0.034	30-34	0.200 ± 0.015	50-5	0.192 ± 0.014	50-36	0.204 ± 0.019
30-4	0.187 ± 0.031	30-35	0.198 ± 0.020	50-6	0.197 ± 0.020	50-37	0.193 ± 0.013
30-5	0.179 ± 0.030	30-36	0.203 ± 0.010	50-7	0.196 ± 0.013	50-38	0.194 ± 0.011
30-6	0.186 ± 0.034	30-37	0.185 ± 0.036	50-8	0.189 ± 0.021	50-39	0.205 ± 0.017
30-7	0.184 ± 0.027	30-38	0.186 ± 0.003	50-9	0.193 ± 0.014	50-40	0.193 ± 0.017
30-8	0.189 ± 0.034	30-39	0.196 ± 0.029	50-10	0.195 ± 0.021	50-41	0.201 ± 0.015
30-9	0.210 ± 0.036	30-40	0.186 ± 0.020	50-11	0.197 ± 0.013	50-42	0.207 ± 0.021
30-10	0.184 ± 0.024	30-41	0.203 ± 0.019	50-12	0.194 ± 0.013	50-43	0.206 ± 0.019
30-11	0.186 ± 0.006	30-42	0.211 ± 0.028	50-13	0.179 ± 0.007	50-44	0.193 ± 0.019
30-12	0.185 ± 0.012	30-43	0.213 ± 0.027	50-14	0.188 ± 0.017	50-45	0.201 ± 0.015
30-13	0.192 ± 0.036	30-44	0.195 ± 0.033	50-15	0.191 ± 0.020	50-46	0.207 ± 0.015
30-14	0.192 ± 0.033	30-45	0.190 ± 0.024	50-16	0.185 ± 0.012	50-47	0.199 ± 0.022
30-15	0.212 ± 0.031	30-46	0.180 ± 0.031	50-17	0.195 ± 0.016	50-48	0.189 ± 0.008
30-16	0.198 ± 0.005	30-47	0.195 ± 0.035	50-18	0.186 ± 0.054	50-49	0.188 ± 0.018
30-17	0.196 ± 0.025	30-48	0.196 ± 0.022	50-19	0.192 ± 0.025	50-50	0.186 ± 0.024
30-18	0.195 ± 0.012	30-49	0.193 ± 0.023	50-20	0.195 ± 0.020	50-51	0.190 ± 0.011
30-19	0.193 ± 0.042	30-50	0.183 ± 0.024	50-21	0.193 ± 0.011	50-52	0.211 ± 0.017
30-20	0.183 ± 0.025	30-51	0.184 ± 0.030	50-22	0.203 ± 0.018	50-53	0.203 ± 0.017
30-21	0.198 ± 0.015	30-52	0.195 ± 0.031	50-23	0.198 ± 0.022	50-54	0.199 ± 0.023
30-22	0.187 ± 0.025	30-53	0.196 ± 0.031	50-24	0.199 ± 0.017	50-55	0.191 ± 0.017
30-23	0.179 ± 0.006	30-54	0.203 ± 0.015	50-25	0.198 ± 0.015	50-56	0.197 ± 0.024
30-24	0.189 ± 0.024	30-55	0.194 ± 0.025	50-26	0.188 ± 0.013	50-57	0.210 ± 0.019
30-25	0.176 ± 0.019	30-56	0.194 ± 0.017	50-27	0.203 ± 0.018	50-58	0.199 ± 0.020
30-26	0.187 ± 0.004	30-57	0.201 ± 0.016	50-28	0.204 ± 0.019	50-59	0.198 ± 0.033
30-27	0.186 ± 0.034	30-58	0.203 ± 0.022	50-29	0.197 ± 0.015	50-60	0.187 ± 0.038
30-28	0.185 ± 0.021	30-59	0.193 ± 0.016	50-30	0.193 ± 0.021	—	—
30-29	0.184 ± 0.003	30-60	0.191 ± 0.012	50-31	0.193 ± 0.011	—	—

注：上述 OD₅₇₀ 值均为 6 个重复的平均值与标准差，OD_C=0.152，2OD_C=0.304，YD 为阴性对照组。

Note: OD₅₇₀ values above were the mean value and standard deviation of repeated six OD₅₇₀ values, OD_C=0.156, 2OD_C=0.352. YD was the negative control group.

2.4 表面疏水性检测

亲本株在 $0.6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液产生凝聚, 为疏水性细菌, 60 株 30 Gy 突变株、60 株 50 Gy 突

株均在 $0.5\text{--}0.7 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 硫酸铵溶液产生凝集, 为疏水性细菌 (见图 1、图 2), 30 Gy 和 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌其表面疏水性无显著差异 ($p \geq 0.05$)。

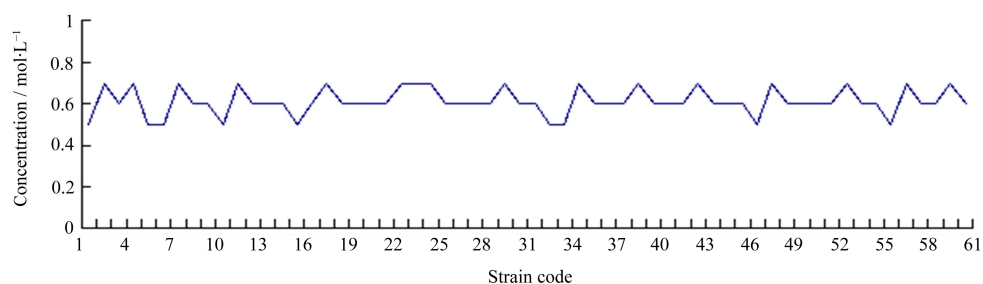


图1 60 株 30 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照突变株产生凝集的硫酸铵浓度

Fig.1 The concentration of ammonium sulfate makes 60 strains 30 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ ion irradiation mutant produce agglutination

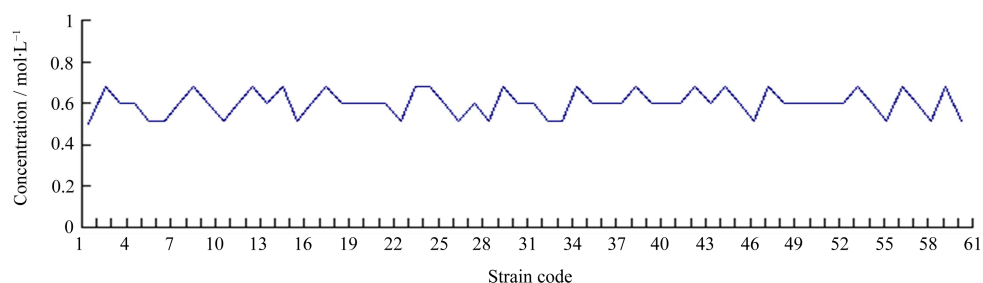


图2 60 株 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照突变株产生凝集的硫酸铵浓度

Fig.2 The concentration of ammonium sulfate makes 60 strains 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ ion irradiation mutant produce agglutination

2.5 毒力检测

在相同剂量下, 亲本株、60 株 30 Gy 突变株、60 株 50 Gy 突变株进行小鼠毒性试验, 小鼠死亡数

均在 3–5 只 (见表 3), 30 Gy, 50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌其毒力无显著差异 ($p \geq 0.05$)。

表3 各菌株致死小鼠数量
Table 3 The death number of each strain

菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths
HJ17	4	30-30	4	50-1	5	50-32	5
YD	0	30-31	4	50-2	5	50-33	4
30-1	4	30-32	4	50-3	4	50-34	5
30-2	4	30-33	4	50-4	4	50-35	4
30-3	5	30-34	3	50-5	4	50-36	4
30-4	3	30-35	3	50-6	3	50-37	3
30-5	4	30-36	4	50-7	5	50-38	4
30-6	5	30-37	5	50-8	5	50-39	3
30-7	4	30-38	4	50-9	3	50-40	4
30-8	5	30-39	5	50-10	5	50-41	5
30-9	5	30-40	3	50-11	5	50-42	3
30-10	5	30-41	5	50-12	3	50-43	5
30-11	3	30-42	3	50-13	3	50-44	4
30-12	4	30-43	4	50-14	4	50-45	4
30-13	3	30-44	3	50-15	3	50-46	5
30-14	3	30-45	5	50-16	3	50-47	5

表 3 (续)

菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths	菌株编号 Strain code	死亡数 Deaths
30-15	4	30-46	3	50-17	4	50-48	3
30-16	4	30-47	4	50-18	5	50-49	4
30-17	4	30-48	3	50-19	4	50-50	3
30-18	5	30-49	5	50-20	5	50-51	5
30-19	5	30-50	4	50-21	5	50-52	4
30-20	3	30-51	3	50-22	4	50-53	3
30-21	3	30-52	3	50-23	3	50-54	4
30-22	4	30-53	4	50-24	5	50-55	4
30-23	5	30-54	5	50-25	5	50-56	5
30-24	3	30-55	5	50-26	3	50-57	4
30-25	4	30-56	4	50-27	4	50-58	4
30-26	5	30-57	3	50-28	3	50-59	3
30-27	4	30-58	4	50-29	4	50-60	4
30-28	4	30-59	4	50-30	4	—	—
30-29	5	30-60	3	50-31	4	—	—

注：每组小鼠均为 8 只，YD 为阴性对照组。
Note: Each group of mice were eight, YD was the negative control group.

3 讨论

近年来，随着 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照技术的不断发展，利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变微生物的研究越来越多，而且取得了可喜的进展。王曙阳等^[9]利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变阿佛曼链霉菌获得了一株产阿维菌素 B1a 组分提高 30% 的突变株；周翔等^[10]利用 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变海迪茨氏菌获得了一株降解石油污染能力提高了 18% 的突变株。目前研究 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变微生物主要集中在能够产生人类所需次级代谢产物的菌株上，研究 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变致病菌微生物的报道较少，但利用其他重离子辐照诱变致病菌的研究已早有报道^[11]。1995 年，李莉等^[12]利用 N^+ 离子辐照沙门氏菌，发现辐照后营养缺陷型突变概率显著高于自发突变；2012 年，Song 等^[13]研究 N^+ 离子辐照大肠杆菌发现，辐照后其菌落形态呈多样性，且多次辐照能够增加突变谱和突变菌株的遗传稳定性。本研究中，与亲本株相比，50 Gy $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌突变株，其对庆大霉素，复方新诺明，链霉素，甲氧苄啶，洁霉素的敏感性差异显著，表明 $^{12}\text{C}^{6+}$ 与其他重离子一样能够导致致病菌的突变，且适当剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照能够导致猪链球菌生物学特性的显著改变。

$^{12}\text{C}^{6+}$ 离子作为一种重离子辐照诱变源，其生物学效应不仅具有突变频率高，突变体稳定，辐照损伤小等优点，也具有其他重离子辐照诱变复杂性的

特点。大量研究表明，不同剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照同一菌株，其突变株之间会有较大差异，相同剂量碳离子辐照同一菌株，其突变株间也不相同^[14-17]。本研究中，30 Gy 剂量时，突变株的生物学特性无显著差异，而 50 Gy 时，突变株对抗生素敏感性差异显著，且不同突变株对不同种类的抗生素的敏感性改变不同，表明不同剂量 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照对猪链球菌生物学特性影响不同，相同剂量突变株之间生物学特性的改变也不相同，体现了碳离子辐照猪链球菌突变机制的复杂性，为进一步研究 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照诱变微生物尤其是致病菌的生物学效应提供科学的实验依据，为研究猪链球菌的变异提供新的思路和方法。此外，在检测的五种生物学特性中，溶血性，生物被膜形成能力，表面疏水性及毒力均无显著差异，主要原因可能是 30 Gy 和 50 Gy 的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子能量沉积不足够导致其相应基因发生突变，而 50 Gy 突变株对抗生素的敏感性差异显著，这可能与细菌耐药基因常通过可移动遗传元件获得而导致的耐药基因结构不稳固性有关。若要弄清 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照猪链球菌的突变机制，还需进一步从 DNA 水平进行探索。

参考文献

1 Lindeman C J, Portis E, Johansen L, *et al.* Susceptibility to antimicrobial agents among bovine mastitis pathogens

- isolated from North American dairy cattle, 2002–2010 [J]. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 2013, **25**(5): 581-591.
- 2 Abate H J, Falaschi A, Balbi L, *et al.* Nineteen-years of pneumococcal invasive disease surveillance in a children's hospital in Mendoza, Argentina [J]. *Archivos Argentinos de Oediatria*, 2014, **112**(4): 352-357.
- 3 缪建顺, 杨建设, 张苗苗, 等. 重离子辐照微生物效应及诱变育种进展 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2014, **32**(2): 020101.
MIAO Jianshun, YANG Jianshe, ZHANG Miaomiao, *et al.* Microbial mutagenic effects and mutation breeding advances induced by heavy ion beams [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2014, **32**(2): 020101.
- 4 Tsujii H, Kamada T. A review of update clinical results of carbon ion radiotherapy [J]. *Japanese Journal of Clinical Oncology*, 2012, **42**(8): 670-685.
- 5 陈国强, 姚火春, 陆承平, 等. 猪链球菌 2 型溶血毒素的产生条件及其特性分析[J]. *南京农业大学学报*, 2000, **23**(3): 71-75.
CHEN Guoqiang, YAO Huochun, LU Chengping, *et al.* Effects of cultural conditions on yield of Hemolytic toxin by *Streptococcus suis* and its characterization [J]. *Journal of Nanjing Agricultural University*, 2000, **23**(3): 71-75.
- 6 Clinical and Laboratory Standards Institute/NCCLS. Performance standards for antimicrobial Susceptibility testing, Fifteenth informational supplement. CLSI/NCCL S document M100-S15 [S]. Wayne: Pennsylvania, Clinical and Laboratory Standards Institute, 2005.
- 7 Hui Jin, Rui Zhou, Mingsong Kang, *et al.* Biofilm formation by field isolates and reference strains of *Haemophilus parasuis* [J]. *Veterinary Microbiology*, 2006, **118**(12): 117-123.
- 8 Ljungh A, Hjerten S, Wadström T. High surface hydrophobicity of autoaggregating *Staphylococcus aureus* strains isolated from human infections studied with the salt aggregation test [J]. *Infection and Immunity*, 1985, **47**(2): 522-526.
- 9 王曙阳, 陈积红, 李文建, 等. 阿佛曼链霉菌的 $^{12}\text{C}^{6+}$ 离子辐照效应及高产菌株选育 [J]. *原子核物理评论*, 2010, **27**(1): 83-86.
WANG Shuyang, CHEN Jihong, LI Wenjian, *et al.* Research on mutation breeding of high-producing strains from *Streptomyces Avermitilis* irradiated by ion beam of $^{12}\text{C}^{6+}$ [J]. *Nuclear Physics Review*, 2010, **27**(1): 83-86.
- 10 周翔, 梁剑平, 辛志君, 等. $^{12}\text{C}^{6+}$ 重离子诱变海迪茨氏菌及其修复柴油污染土壤的研究 [J]. *核农学报*, 2013, **27**(6): 823-830.
ZHOU Xiang, LIANG Jianping, XIN Zhijun, *et al.* Research on *Dietzia maris* strain induced by carbon-ion beams and its bioremediation of diesel oil contaminated soil [J]. *Journal of Nuclear Agricultural Sciences*, 2013, **27**(6): 823-830.
- 11 张明, 杨晓志, 苏珍, 等. 低能氮离子注入大肠杆菌诱发的生物学效应研究 [J]. *生物学杂志*, 2004, **21**(3): 23-26.
ZHANG Ming YANG Zhixiao SU Zhen, *et al.* Biological effect of low energy nitrogen ion implantation on *E.Coli* [J]. *Journal of Biology*, 2004, **21**(3): 23-26.
- 12 李莉, 李俊, 余增亮. 离子束辐照对鼠伤寒沙门氏菌 (LT2) 生物存活和营养缺陷突变的影响 [J]. *安徽 农业科学*, 1995, **23**(1): 6-7.
LI Li, LI Jun, YU Zengliang, *et al.* Effect of ion-beam irradiation on the survival and nutrition deficiency mutation of LT2 [J]. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 1995, **23**(1): 6-7.
- 13 Song Z, Luo L. *Escherichia coli* mutants induced by multi-ion irradiation [J]. *Journal of Radiation Research*, 2012, **53**(6): 854-859.
- 14 张飞, 陆栋, 王永刚, 等. C 离子辐照对酿酒酵母 DNA 损伤研究 [J]. *辐射研究与辐射工艺学报*, 2013, **31**(2): 1-020206.
ZHANG Fei, LU Dong, WANG Yonggang, *et al.* Study on DNA damage of *Saccharomyces cerevisiae* irradiated with C ion beams [J]. *Journal of Radiation Research and Radiation Processing*, 2013, **31**(2): 1-020206.
- 15 Matuo Y, Nishijima S, Hase Y, *et al.* Specificity of mutations induced by carbon ions in budding yeast *Saccharomyces cerevisiae* [J]. *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 2006, **602**(1-2): 7-13.
- 16 HU Guangrong, FAN Yong, ZHANG Lei, *et al.* Enhanced lipid productivity and photosynthesis efficiency in a *Desmodesmus* sp. mutant induced by heavy carbon ions [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(4): 1-8.
- 17 隋丽. 高 LET 辐射致 DNA 和生物体损伤的机制及其防护研究 [D]. 北京. 中国原子能科学研究院. 2006.
SUI Li. Investigation of mechanism of DNA or organism damage induced by high LET radiation and corresponding radioprotection [D]. Beijing. China Institute of Atomic Energy. 2006.

The influence of some biological characteristics on *Streptococcus suis* irradiated by carbon ion

LU Ping¹ JIAO Anxin¹ CHANG Peixi¹ HU Burong² FU Qian¹ SUN Pei¹ WEI Jianzhong¹ LI Yu¹

¹ (Anhui Agricultural University, College of Animal Science and Technology, Hefei 230036, China)

² (Institute of Modern Physics, Chinese Academy of Sciences, Lanzhou 730000, China)

ABSTRACT In order to investigate the biological characteristics changes of *Streptococcus suis* after being irradiated by 30 Gy, 50 Gy ¹²C⁶⁺ ion, Microbiological methods and Toxicology methods were used to detect hemolytic, antibiotic sensitivity of 18 kinds of antibiotics, biofilm formation ability, surface hydrophobic, and virulence of parent *Streptococcus suis* strain and mutant strain. Compared with the parent strains, the results showed that there was no significant difference in 30 Gy¹²C⁶⁺ ion group in the aspect of hemolysis, antibiotic sensitivity, ability of biofilm formation, surface hydrophobicity and virulence ($p \geq 0.05$); the antibiotic sensitivity of *Streptococcus* to Trimesulf, Streptomycin, Trimethoprim, Gentamycin, Lincomycin in 50 Gy ¹²C⁶⁺ ion group was of significant difference ($p \leq 0.05$), but there was no significant difference in hemolytic, biological film forming ability, surface hydrophobicity and virulence ($p \geq 0.05$). In conclusion, there was no significant change in biological characteristics of *Streptococcus suis* after irradiation with 30 Gy ¹²C⁶⁺ ion, significant changes of the some antibiotic sensitivity were found in 50 Gy ¹²C⁶⁺ ion irradiation group, but different mutations change differently in sensitivity to different antibiotics.

KEYWORDS Carbon ion, Irradiation, *Streptococcus suis*, Biological characteristics, Influence

CLC TL72