

鳃弧菌菌液OD值与其活菌数相关性研究

杨子涵

天津农学院水产学院, 天津

收稿日期: 2026年5月23日; 录用日期: 2026年6月15日; 发布日期: 2026年6月24日

摘要

分光光度法和平板计数法对细菌培养液进行测定, 确定细菌培养液的OD600和活菌数在对数生长期的函数关系, 根据不同的需要, 有效地利用和控制细菌的浓度具有重要的意义。本研究对线纹海马肠道分离出的鳃弧菌菌株H-VA, 在对数增长期稀释不同浓度的细菌培养液分别通过分光光度法和活菌计数法测定菌液的OD600值和活菌数并绘制标准曲线, 为鳃弧菌生物学特性研究提供数据支撑。

关键词

鳃弧菌, OD600, 活菌数, 标准曲线

A Study on the Correlation between the OD Value and Live Bacterial Count in *Vibrio anguillarum* Culture

Zihan Yang

College of Fisheries, Tianjin Agricultural University, Tianjin

Received: May 23, 2026; accepted: June 15, 2026; published: June 24, 2026

Abstract

Bacterial cultures were analyzed using spectrophotometry and plate counting to determine the functional relationship between OD600 and viable cell count during the logarithmic growth phase. Effectively utilizing and controlling bacterial concentrations according to specific needs is of great significance. In this study, the *Vibrio anguillarum* strain H-VA, isolated from the intestine of the striped seahorse, was used. Bacterial culture solutions diluted to different concentrations during the logarithmic growth phase were analyzed using spectrophotometry and direct plate counting to determine OD600 values and viable cell counts, and standard curves were plotted to provide data support for

research on the biological characteristics of *Vibrio anguillarum*.

Keywords

Vibrio anguillarum, OD600, Viable Cell Count, Standard Curve

Copyright © 2026 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

鳃弧菌是海水养殖中最常见的条件致病菌之一，可感染大菱鲆[1]、虹鳟[2]、牡蛎[3]、半滑舌鳎[4]、鳗鲡[5]等数十种经济水产动物，引发的弧菌病死亡率可达 30%~70%，每年给水产养殖行业造成数十亿的经济损失。当前针对鳃弧菌的研究，无论是药敏试验筛选有效渔药、疫苗攻毒保护效果评价，还是抑菌剂、益生菌的防控效果验证，都需要精准控制菌液浓度——攻毒剂量偏差一个数量级就可能导致攻毒试验失去意义，药敏试验的菌液浓度不达标会直接导致药敏结果误判，因此快速、准确测定鳃弧菌活菌数是所有相关研究的基础前提。

在细菌的耐药性检测和日常保存工作中常需要对细菌菌液的浓度进行测定，目前常规的测定细菌菌液浓度的方法主要有比浊法[6]、平板计数法[7]和显微镜计数法[8]等但该方法在日常检测工作中往往存在一定的不便利，例如比浊法所需的麦氏比浊仪在常规实验室中并不普遍，标准比浊管在日常使用中也会由于不同细菌的菌体大小差异，其浊度与菌液浓度的关系存在较大偏差。显微镜计数和平皿计数法虽然准确性较比浊法要高，但此两种方法均存在费时费力、操作不便、耗时长等缺点，龚军辉等对稀释涂布平板法计数微生物活菌数的易错问题进行了剖析，介绍了菌落计数的基本原则以及相关的计算公式[9]。李亭玉等通过比较研究发现，显微计数法和平板计数法在计数大肠杆菌时存在各自的特点，但平板计数法的准确性较高[10]。因此在日常检测中，尤其是在进行药敏检测、攻毒感染等对菌液浓度具有较高要求的试验中，很难选出适合的方法，不利于工作的开展。

分光光度法，是一种光散射测量技术，通过测量透过悬浮质点介质的光强度来确定悬浮物质浓度的方法。具有简单、快速等优点，对无色素产生、菌液颜色较浅的细菌而言，是一个不错的选择[11]。近年来，有研究者利用细菌的不同特点，采用分光光度测定细菌浓度的方法进行探讨，结合平板计数法得到菌液活菌数，在一定浓度内与吸光度呈良好的线性关系，进而通过吸光度测定能够快速获得菌液活菌数。2015 年张裕民的研究显示，分光光度法在枯草芽孢杆菌、短小芽孢杆菌和藤黄微球菌三种细菌的活菌数测定中均表现出了良好的线性关系，相关系数 R^2 均超过 0.999，证明了该方法在不同细菌种类中的适用性[12]。2017 年王晓旭等通过分光光度法对猪链球菌的菌悬液浓度进行了测定，其建立的回归方程为 $y = 0.2749x - 0.2141$ ($R^2 = 0.9845$)，可见猪链球菌活菌数与吸光度之间的线性关系良好，为快速测定猪链球菌活浓度提供了有效的方法[13]。2019 年李亭玉等通过比较研究发现，大肠杆菌的 OD600 值与活菌数之间存在线性关系，其回归方程为 $y = 27.067x - 4.025$ ，相关系数较高[10]。近年来，许明清等通过研究四种不同细菌的吸光度值与菌液浓度之间的线性关系并计算其拟合程度，结果显示，大肠杆菌、沙门氏菌、葡萄球菌以及鸭疫里默氏杆菌菌悬液的实际细菌计数数值与曲线计算数值拟合程度均达到了 90%以上，具有较高的可信度，进一步验证了分光光度法在多种细菌计数中的有效性[14]。由此可知，探究菌液 OD 与活菌数量关系方程在统计学上有着较强的意义，但有关弧菌菌液 OD 与活菌数量关系的相关文献未见

报道。

为此，本文选用紫外分光光度法测定鳃弧菌 H-VA 不同菌液浓度的吸光度结合平板计数结果，建立标准曲线，便于日后利用菌液吸光度快速计算出鳃弧菌液活菌数浓度，为后续弧菌属生长特性及防控等研究工作的开展奠定基础。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

菌种 H-VA 由线纹海马肠道内容物培养分离鉴定。

2216E 固体培养基和 LB 液体培养基：胰蛋白胨 10 g/L，酵母膏 5 g/L，氯化钠 10 g/L，pH 值 7.0，121℃灭菌 15 min；0.9%无菌生理盐水。

2.2. 实验方法

取 10 μl H-VA 菌种保存液接种于 5 ml LB 液体培养基，共接种 6 管，28℃恒温 200 r/min 振荡培养 16 h。

离心机 4000 g 离心 5 min 收集菌落，用生理盐水对所有菌落进行充分吹匀打散和混合，获得初始菌液，随后用生理盐水对初始菌液进行梯度稀释，最终获得 8 个不同浓度的菌液并通过分光光度机测定菌液 OD600 值。

将上述 8 个不同梯度的菌液各取出 1 mL 加入 9 mL 无菌的生理盐水中，混匀后取出 1 ml 加入下一支 9 mL 无菌的生理盐水中，依次类推，进行逐级稀释 $10^3\sim 10^5$ 倍，之后吸取 10 μL 稀释液涂布于 2216E 培养基进行平板计数测定菌落数(CFU)，每个稀释液设置三个平行，于 28℃培养箱培养 24 H。计数菌落取平均值，将计数的菌落 * 100 即可换算出 CFU/ml 的数值。

用 GraphPad Prism 10 以菌液浓度(CFU/ml)为横坐标，OD600 值为纵坐标，绘制拟合标准曲线。

3. 结果与分析

3.1. 鳃弧菌计数结果

鳃弧菌不同稀释度的吸光度和活菌计数的结果如下表 1。

Table 1. Count results for *Vibrio anguillarum* H-VA in media with different absorbance values

表 1. 鳃弧菌 H-VA 同吸光度平板计数结果

OD600	活菌数(CFU/ml)
2.271	2.95×10^9
1.962	2.27×10^9
1.698	1.97×10^9
1.272	21.5×10^8
0.662	6.45×10^8
0.261	3.02×10^8
0.119	1.58×10^8
0.064	6.97×10^7

3.2. OD600 与活菌数的线性回归方程

测定 8 个梯度浓度的 OD600 值, 以其为 x 轴, 以活菌数为 y 轴, 得到一条鳗弧菌活菌数关于 OD600 值的数学曲线(如图 1), 并得出相关的回归方程: $Y = 7.538e - 10 * X + 0.0479$ ($R^2 = 0.9545$; $p < 0.001$), 拟合度优。

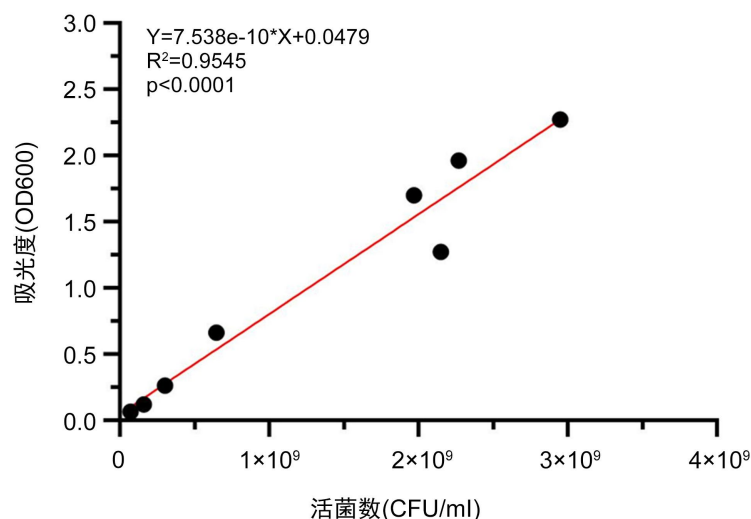


Figure 1. Simulated curves between OD600 and CFU in H-VA strain
图 1. H-VA 菌株 OD600 和菌落数的拟合曲线

4. 结论

在对病原菌进行研究时, 需要对菌液浓度进行严格的测定, 单纯的采用平板计数法操作复杂, 不切实际。本实验建立起了利用分光光度法快速测定鳗弧菌菌液浓度, 得出相关的回归方程 $Y = 7.538e - 10 * X + 0.0479$ ($R^2 = 0.9545$; $p < 0.001$), 可信性高。2017 年林静等对 5 种常见致病菌菌液 OD 值与其活菌数相关性研究得出表皮葡萄球菌: $y = 4 \times 108e^{24.73x}$ ($R^2 = 0.928$); 牛链球菌: $y = 8 \times 109e^{68.21x}$ ($R^2 = 0.971$) 2 种可信度较高的细菌的菌液 OD600 值与菌液中活菌数量的关系方程[15]; 2025 年, 董晶晶的研究表明, 600 nm 是枯草芽孢杆菌的最适吸收波长, 其活菌数量与 OD600 呈直线线性相关, 其回归方程为: $y = 1.4935x - 0.0276$, 相关系数 $R^2 = 0.9922$ [16], 综上所述, 不同菌液的 OD 值与活菌数的线性方程各不同, 这是由于 OD 测量受多种参数影响, 如细胞大小, 然而不同生长阶段或条件下, 细胞形状和大小会发生变化, 比如药物刺激、盐度变化等从而改变拟合曲线, 所以此方法存在一定的局限性[17], 仅可根据所需的菌液浓度通过公式反推出相对适合的吸光度参考, 在很大程度上增加了实验操作的便利性, 也为实验结果的准确性奠定了良好的基础。

参考文献

- [1] López-Romalde, S., Nuñez, S., Toranzo, A.E., et al. (2003) Black Spot Sea Bream (*Pagellus bogaraveo*), a New Susceptible Host for *Pseudomonas anguilliseptica*. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, **23**, 258-264.
- [2] Urku, C., Secer, F.S., Onalan, S. and Akayli, T. (2024) Investigation of Vibriosis Caused by *Vibrio anguillarum* in Rainbow Trout (*O. mykiss*). *Cellular and Molecular Biology*, **70**, 32-38. <https://doi.org/10.14715/cmb/2024.70.8.4>
- [3] DiSalvo, L.H., Blecka, J. and Zebal, R. (1978) *Vibrio anguillarum* and Larval Mortality in a California Coastal Shellfish Hatchery. *Applied and Environmental Microbiology*, **35**, 219-221. <https://doi.org/10.1128/aem.35.1.219-221.1978>
- [4] Zhang, X., Wang, S., Chen, S., Chen, Y., Liu, Y., Shao, C., et al. (2015) Transcriptome Analysis Revealed Changes of

- Multiple Genes Involved in Immunity in *Cynoglossus semilaevis* during *Vibrio anguillarum* Infection. *Fish & Shellfish Immunology*, **43**, 209-218. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2014.11.018>
- [5] Chart, H. and Munn, C.B. (1980) Experimental Vibriosis in the Eel (*Anguilla anguilla*). In: Ahne, W., Ed., *Fish Diseases*, Springer, 39-44. https://doi.org/10.1007/978-3-642-67854-7_7
- [6] 胡功允, 张琪霞, 谢旭一. 比浊法测定抗生素微生物检定试验菌菌液浓度[J]. 西北药学杂志, 1997(3): 104-105.
- [7] 李元芳. 有效活菌数的测定方法、允许差与判定[J]. 土壤肥料, 1997(4): 43-44.
- [8] 许明清, 汪建华, 王振, 等. 4种细菌计数分光光度计法的建立及应用[J]. 山东畜牧兽医, 2024, 45(6): 8-10.
- [9] 龚军辉, 王晶. 稀释涂布平板法计数活菌的方法简介[J]. 生物学教学, 2018, 43(2): 70-71.
- [10] 李亭玉, 孔洁, 王元, 等. 大肠杆菌计数方法的比较与相关性分析[J]. 延边大学农学学报, 2019, 41(3): 71-75.
- [11] 俞晓峰, 涂瀛. 分光光度计检测微生物悬液浓度的初步研究[J]. 中国消毒学杂志, 1990(1): 46-47.
- [12] 张裕民. 可见分光光度法对3种细菌计数的研究[J]. 中国药事, 2015, 29(10): 1066-1068
- [13] 王晓旭, 徐峰, 沈丽萍, 等. 分光光度法测定猪链球菌菌悬液浓度[J]. 上海畜牧兽医通讯, 2017(5): 40-41.
- [14] 许明, 汪建华, 王振, 等. 4种细菌计数分光光度计法的建立及应用[J]. 山东畜牧兽医, 2024, 45(6): 8-10.
- [15] 林静, 何佳茜, 尚翠玲, 等. 5种常见致病菌菌液OD值与其活菌数相关性研究[J]. 天津农学院学报, 2017, 24(4): 42-45.
- [16] 董晶晶. 运用分光光度法对枯草芽孢杆菌计数的研究[J]. 山西化工, 2025, 45(1): 123-124, 168.
- [17] Stevenson, K., McVey, A.F., Clark, I.B.N., Swain, P.S. and Pilizota, T. (2016) General Calibration of Microbial Growth in Microplate Readers. *Scientific Reports*, **6**, Article No. 38828. <https://doi.org/10.1038/srep38828>